(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2004-41207
(P2004-41207A)
(43)公開日　平成16年2月12日(2004.2.12)

(51)Int.Cl.[7]	F I		テーマコード（参考）
C12N 15/09	C12N 15/00	ZNAA	4B024
A61K 31/711	A61K 31/711		4B063
A61K 38/00	A61P 31/20		4C084
A61P 31/20	C07K 14/18		4C086
C07K 14/18	C07K 16/10		4H045

審査請求 有　請求項の数 30　ＯＬ　（全 108 頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2003-272151(P2003-272151)
(22)出願日　平成15年7月9日(2003.7.9)
(62)分割の表示　特願2001-356707(P2001-356707)の分割
原出願日　平成6年4月27日(1994.4.27)
(31)優先権主張番号　93401099.2
(32)優先日　平成5年4月27日(1993.4.27)
(33)優先権主張国　欧州特許庁(EP)
(31)優先権主張番号　93402019.9
(32)優先日　平成5年8月5日(1993.8.5)
(33)優先権主張国　欧州特許庁(EP)

(71)出願人　596178419
エヌ・ブイ・インノジェネティクス・ソシエテ・アノニム
Ｎ．Ｖ．ＩＮＮＯＧＥＮＥＴＩＣＳ　Ｓ．Ａ．
ベルギー国、ビー－９７１０　ゲント、ボックス　４、インダストリーパーク・ツウィナード　７
(74)代理人　100078662
弁理士　津国　肇
(74)代理人　100075225
弁理士　篠田　文雄
(72)発明者　マエルテンス，ゲールト
ベルギー国、ベー－８３１０　ブリュッヘ、ジルベルスパーレンストラート　６４
最終頁に続く

(54)【発明の名称】Ｃ型肝炎ウイルス遺伝子型の新しい配列及び治療及び診断用薬剤としてのその使用

(57)【要約】　（修正有）

【課題】ＨＣＶ感染の検出を可能にするヌクレオチド及びアミノ酸配列を提供する。
【解決手段】ＨＣＶ３型のコア／Ｅ１領域；及び／又はＨＣＶ３型のＮＳ３領域、及び／又はＨＣＶ３型のＮＳ３／４領域；及び／又はＨＣＶ３ａ型のＢＲ３６亜群のＮＳ５領域；コア領域内のヌクレオチドで始まり、ＨＣＶ４ａ型のコーディング領域；及び／又はＨＣＶ４型のコーディング領域；及び／又はＨＣＶ４型のコーディング領域；及び／又はＨＣＶ５型のコーディング領域；からのヌクレオチド配列に対応する８個以上の隣接ヌクレオチドを含む少なくとも１つのポリ核酸を含んで成るか、又はこのポリ核酸より構成され、しかもこのポリ核酸には上述の領域内に既知ＨＣＶ１型及び／又はＨＣＶ２型ゲノムを含み、かつ少なくとも１つのヌクレオチドの差異を含む、ポリ核酸又はその相補体、その組成物の提供。
【選択図】なし

【特許請求の範囲】
【請求項１】
ＨＣＶ５型に特有であり、下記：
－　配列番号１５１に表されているとおりのコア領域の位置１～４９９にまたがるＨＣＶゲノム配列、
－　配列番号４１又は４３に表されているとおりのコア領域の位置１～５０７にまたがるＨＣＶゲノム配列、
－　配列番号４９、５１又は５３に表されているとおりのコア／Ｅ１領域の位置１～９５７にまたがるＨＣＶゲノム配列、
－　配列番号４５、４７、１５３、１５５又は１９５のいずれかに表されているとおりのコア／Ｅ１領域の位置３７９～９５７にまたがるＨＣＶゲノム配列、
－　配列番号１９５に表されているとおりのコア領域の位置５７４～９５７にまたがるＨＣＶゲノム配列、
－　配列番号１５７に表されているとおりのＥ１／Ｅ２領域の位置９８０～１５０９にまたがるＨＣＶゲノム配列、
－　配列番号２６９に表されているとおりのＮＳ３領域の位置３８５６～４２０９にまたがるＨＣＶゲノム配列、
－　配列番号１９７、１９９又は２６９のいずれかに表されているとおりのＮＳ４領域の位置４９３６～５２９１にまたがるＨＣＶゲノム配列、
－　配列番号１９７又は１９９に表されているとおりのＮＳ３／４領域の位置３８４１～５３２５にまたがるＨＣＶゲノム配列、
－　配列番号２６９に表されているとおりのＮＳ３／４領域の位置３８５０～５２９１にまたがるＨＣＶゲノム配列、
から選択されたＨＣＶゲノム配列を有する単離されたＨＣＶポリ核酸、
ストリンジェントな条件下で該ＨＣＶゲノム配列のいずれかにハイブリダイズするポリ核酸、又は
該ＨＣＶゲノム配列又は該ＨＣＶゲノム配列のいずれかにストリンジェントな条件下でハイブリダイズするポリ核酸のいずれかの相補物。
【請求項２】
請求項１に記載のＨＣＶゲノム配列に由来する８以上の連続するヌクレオチドからなる単離されたＨＣＶポリ核酸であって、該８以上の連続するヌクレオチドが、ＨＣＶ５型に特有である、単離されたＨＣＶポリ核酸。
【請求項３】
請求項１又は２に記載のＨＣＶポリ核酸を含む、単離されたポリ核酸。
【請求項４】
請求項１～３いずれか１項記載のＨＣＶ５型配列に由来するポリ核酸であって、上記ポリ核酸が、プライマーが由来する遺伝子型に属する所定のアイソレートのＨＣＶ５型核酸を特異的に増幅するためのプライマーとして作用することができる、ポリ核酸。
【請求項５】
請求項１～３いずれか１項記載のＨＣＶ５型配列に由来するポリ核酸であって、上記ポリ核酸が、ＨＣＶ５型核酸の特異的検出及び/又はＨＣＶ５型の分類のためのハイブリダイゼーションプローブとして作用することができる、ポリ核酸。
【請求項６】
少なくとも下記工程：
（ｉ）請求項５記載の１個以上のプローブを用いて適切な条件下で、生物学的サンプルの核酸をハイブリダイズさせること、
（ii）適切な条件下で洗浄すること、
（iii）形成されたハイブリッドを検出すること、
（iv）観察されたハイブリダイゼーションパターンから存在する１種以上のＨＣＶ遺伝子型の存在を推測すること

を含む、１種以上のＨＣＶ遺伝子型を含んでいる可能性の高い生物学的サンプル中に存在する、１種以上のＨＣＶ遺伝子型の存在をインビトロで検出するための、請求項１～５いずれか１項記載のポリ核酸の使用。

【請求項７】

請求項６の工程の前にサンプル核酸を抽出する工程を含む、１種以上のＨＣＶ遺伝子型を含んでいる可能性の高い生物学的サンプルに存在する、１種以上のＨＣＶ遺伝子型の存在をインビトロで検出するための、請求項６記載のポリ核酸の使用。

【請求項８】

請求項６の工程の前に、サンプル核酸を抽出する工程、及び請求項４記載のプライマー又は他のＨＣＶ２型、ＨＣＶ３型、ＨＣＶ４型、ＨＣＶ５型若しくは万能ＨＣＶプライマーの１種以上を用いて核酸を増幅する工程を含む、１種以上のＨＣＶ遺伝子型を含んでいる可能性の高い生物学的サンプルに存在する１種以上のＨＣＶ遺伝子型の存在をインビトロで検出するための、請求項６記載のポリ核酸の使用。

【請求項９】

請求項１～３いずれか１項記載のポリ核酸のいずれかによってコードされるＨＣＶポリペプチドからの少なくとも５以上の連続するアミノ酸からなる単離されたペプチド又はポリペプチドであって、該５以上の連続するアミノ酸がＨＣＶ５型に特有である、単離されたペプチド又はポリペプチド。

【請求項１０】

下記のアミノ酸残基：

Ｍ４４、Ｑ７０、Ａ８７、Ｎ１０６、Ｋ１１５、Ｖ１３４、Ｖ１３７、Ｇ１４２、Ｐ１６５、Ｉ１７８、Ｐ１９３、Ｉ２４２、Ｓ２４７、Ｆ２５１、Ｖ２５４、Ａ２６１、Ｙ２６４、Ｙ２９３、Ｑ２９７、Ａ２９９、Ｎ３０３、Ｑ３１７、Ｌ３３３、Ｓ３５１、Ａ３５８、Ａ３５９、Ａ３６３、Ｓ３６４、Ａ３６６、Ｔ３６９、Ｌ３７３、Ｆ３７６、Ｑ３８６、Ｉ３８７、Ｓ３９２、Ｉ３９９、Ｆ４０２、Ｉ４０３、Ｒ４０５、Ｄ４５４、Ａ４６１、Ａ４６３、Ｔ４６４、Ｋ４８４、Ｑ５００、Ｅ５０１、Ｓ５２１、Ｋ５２２、Ｈ５２４、Ｎ５２８、Ｓ５３１、Ｓ５３２、Ｖ５３４、Ｆ５３６、Ｍ５３９、Ｉ５４６、Ｈ１３１０、Ｖ１３１２、Ｑ１３２１、Ｐ１３６８、Ｖ１３７３、Ｋ１４０５、Ｑ１４０６、Ａ１４２４、Ａ１４２９、Ｃ１４３５、Ｓ１４３６、Ｓ１４５６、Ｈ１４９６、Ａ１５０４、Ｄ１５１０、Ｄ１５２９、Ｉ１５４３、Ｎ１５６７、Ｍ１５７２、Ｖ１５９５、Ｔ１６０６、Ｍ１６１１、Ｌ１６１２、Ｉ１６５６、Ｖ１６６７、Ａ１６８１、Ａ１７００、Ａ１７１３、Ｓ１７１４、Ｍ１７１８、Ｄ１７１９、Ｔ１７２１、Ｒ１７２２、Ａ１７２３、Ｇ１７２６、Ｅ１７３０、Ｆ１７３５、Ｉ１７３６、Ｓ１７３７、Ｔ１７３９、Ｇ１７４０、Ｋ１７４２、Ｔ１７４５、Ｌ１７４６、Ｋ１７４７、Ａ１７５０、Ｖ１７５３又はＮ１７５５

の少なくとも１個を含む、請求項９記載の単離されたＨＣＶペプチド又はポリペプチド。

【請求項１１】

下記のアミノ酸配列：

ＱＰＴＧＲＳＷＧＱ　（配列番号　９３）
ＶＰＹＲＮＡＳＧＩＹＨＶ　（配列番号　８４）
ＶＹＥＡＤＮＬＩＬＨＡ　（配列番号　８６）
ＶＭＴＧＮＶＳＲＣＷＶＱＩ　（配列番号　８８）
ＲＫＤＮＶＳＲＣＷＶＱＩ　（配列番号２４９）
ＡＰＳＬＧＡＶＴＡＰ　（配列番号　９０）
ＡＰＳＦＧＡＶＴＡＰ　（配列番号２５０）
ＲＰＲＱＨＡＴＶＱＮ　（配列番号　９２）
ＲＰＲＱＨＡＴＶＱＤ　（配列番号２６３）
ＬＳＧＫＰＡＩＩＰＤＲＥＡＬＹＱＱＦＤＥ（配列番号１０２）
ＬＳＧＫＰＡＩＩＰＤＲＥＶＬＹＱＱＦＤＥ（配列番号１０３）
ＳＡＳＬＰＹＭＤＥＴＲＡＩＡＧＱＦＫＥＫ（配列番号１０４）、又は

ＩＡＧＱＦＫＥＫＶＬＧＦＩＳＴＴＧＱＫＡ（配列番号１０５）
の少なくとも１つを含む、請求項９又は１０単離されたＨＣＶペプチド又はポリペプチド。
【請求項１２】
請求項９～１１いずれか１項記載のＨＣＶポリペプチドを含む、単離されたＨＣＶペプチド又はポリペプチド。
【請求項１３】
ベクター配列、適切な原核、真核又はウイルスプロモーター配列、続いて請求項１～３いずれか１項記載のポリ核酸配列を含む組換えベクターであって、上記組換えベクターが、裸のＤＮＡとして注入されたとき、原核若しくは真核宿主、又は生きた哺乳動物の中で、請求項９～１２いずれか１項記載のＨＣＶ５型に由来するポリペプチドの発現を可能にする組換えベクター。
【請求項１４】
下記アミノ酸位置にまたがる下記ＨＣＶ５型ポリペプチド：
－　コアタンパク質の発現について、位置１で始まり位置７０～３２６で終わる、ポリペプチド、
－　Ｅ１の発現について、位置１１７～１９２の間の領域のいずれかの位置で始まり２６３～３２６の領域のいずれかの位置で終わるか、又は推定の膜アンカーが欠失した形態である（位置２６４～２９３±８アミノ酸）ポリペプチド、又は
－　ＮＳ４タンパク質の発現について、位置１５５６～１６８８の間の領域のいずれかの位置で始まり位置１７３９～１７６４の間の領域のいずれかの位置で終わるポリペプチド
のいずれかの発現を可能にする、請求項１３記載の組換えベクター。
【請求項１５】
下記のアミノ酸位置にまたがる下記のＨＣＶ５型ポリペプチド：
－　Ｅ１の発現については、位置１１９～３２６のポリペプチド又は推定の膜アンカーが欠失した形態である（位置２６４～２９３±８アミノ酸）ポリペプチド
のいずれかの発現を可能にする、請求項１４記載の組換えベクター。
【請求項１６】
上記ポリペプチドが、請求項１３～１５いずれか１項記載の発現ベクターによって発現される組換えポリペプチドである、請求項９～１２いずれか１項記載のポリペプチド。
【請求項１７】
上記ペプチド又はポリペプチドの十分量を投与し免疫応答を生ずることを含む、ＨＣＶに対して哺乳動物を免疫化するための方法における使用のための、請求項９～１２いずれか１項記載のペプチド又はポリペプチド。
【請求項１８】
医薬的に許容可能なアジュバントとともに上記ペプチド又はポリペプチドの十分量を投与し免疫応答を生ずることを含む、ＨＣＶに対して哺乳動物を免疫化するための方法における使用のための、請求項９～１２いずれか１項記載のペプチド又はポリペプチド。
【請求項１９】
請求項１７又は１８記載の方法によって、請求項９～１２いずれか１項記載のペプチド又はポリペプチドを用いた免疫化で産生される抗体であって、請求項９～１２いずれか１項記載のポリペプチドのいずれかと特異的に反応する、抗体。
【請求項２０】
少なくとも下記工程：
（ｉ）請求項９～１２又は１６記載のペプチド又はポリペプチドのいずれかとＨＣＶ抗体の存在を分析すべき生物学的サンプルを接触させること、
（ii）結合していない成分を除去すること、
（iii）適切な条件下で、検出可能なラベルとコンジュゲートしている異種抗体と、分析すべきサンプル中に存在する抗体と特異的に結合するこの異種抗体とで形成される免疫複

合体をインキュベートすること、
（iv）視覚的に又はデンシトメトリーによって上記免疫複合体の存在を検出し、そしてＨＣＶの存在を推定すること
を含む、ＨＣＶを含んでいる可能性の高い生物学的サンプルにおけるＨＣＶの存在をインビトロで検出するための方法。
【請求項２１】
少なくとも下記工程：
（ｉ）ポリペプチドがビオチン化ポリペプチドの形態であり、そしてポリペプチドがストレプトアビジン又はアビジン複合体によって固体基質に共有結合されている、請求項９～１２又は１６記載のペプチド又はポリペプチドのいずれかをＨＣＶ抗体の存在のために分析すべき生物学的サンプルと接触させること、
（ii）結合していない成分を除去すること、
（iii）適切な条件下で検出可能なラベルとコンジュゲートしている異種抗体と、分析すべきサンプル中に存在する抗体と特異的に結合するこの異種抗体とで形成される免疫複合体をインキュベートすること、
（iv）視覚的に又はデンシトメトリーによって上記免疫複合体の存在を検出し、そしてＨＣＶの存在を推定すること
を含むＨＣＶを含んでいる可能性の高い生物学的サンプルにおけるＨＣＶの存在をインビトロで検出するための方法。
【請求項２２】
少なくとも下記工程：
（ｉ）免疫複合体の形成を可能にする適切な条件下での固定化形態における、請求項９～１２、又は１６記載の少なくとも１種以上のペプチド又はポリペプチドと、１種以上の血清型のＨＣＶ抗体又は抗原の存在について分析すべき生物学的サンプルを接触させること、
（ii）結合していない成分を除去すること
を含む、ＨＣＶを含んでいる可能性の高い生物学的サンプルにおける１種以上の血清型のＨＣＶの存在を検出するための血清型アッセイに組み込むための、請求項９～１２又は１６いずれか１項記載のペプチド又はポリペプチドの使用。
【請求項２３】
－　少なくとも１種の請求項５記載のプローブ組成物
－　バッファー、又はこのプローブと上記ＨＣＶ遺伝子型との間のハイブリダイゼーション反応を可能にするバッファーを生産するために必要な成分
－　上記ハイブリダイゼーションから得られたハイブリッドを検出しそして観察されたハイブリダイゼーションパターンからサンプルに存在するＨＣＶ遺伝子型を推定するための手段、
を含む、ＨＣＶを含んでいる可能性の高い生物学的サンプルに存在するＨＣＶ遺伝子型の存在を測定するためのキット。
【請求項２４】
－　請求項４記載のプライマー、ＨＣＶ５型プライマー又は万能ＨＣＶプライマーから選択されたいずれかのプライマーを含有する少なくとも１種のプライマー組成物、
－　請求項５記載の少なくとも１種のプローブ組成物、
－　バッファー、又はこのプローブと上記増幅産物との間のハイブリダイゼーション反応を可能にするバッファーを生産するために必要な成分
－　上記ハイブリダイゼーションから得られたハイブリッドを検出しそして観察されたハイブリダイゼーションパターンからサンプルに存在するＨＣＶ遺伝子型を推定するための手段、
を含む、ＨＣＶ遺伝子型を含んでいる可能性の高い生物学的サンプルに存在するＨＣＶ遺伝子型の存在を測定するためのキット。
【請求項２５】

－　請求項９～１２又は１６いずれか１項記載の少なくとも１種のペプチド又はポリペプチド、
－　バッファー、又はペプチド又はポリペプチドと生物学的サンプルに存在するＨＣＶに対する抗体との間の結合反応を可能にするバッファーを生産するために必要な成分、
－　上記結合反応において形成される免疫複合体を検出するための手段
を含む、ＨＣＶを含んでいる可能性の高い生物学的サンプルに存在するＨＣＶ抗体の存在を測定するためのキット。
【請求項２６】
下記工程：
（ｉ）サンプル核酸を用意すること、
（ii）請求項１～３いずれか１項記載のポリ核酸を増幅すること、
（iii）請求項１～３いずれか１項記載のポリ核酸の配列を決定すること
を含む、生物学的サンプルに存在するＨＣＶ遺伝子型をインビトロで検出又はスクリーニングするための方法。
【請求項２７】
下記工程：
（ｉ）サンプル核酸を用意すること、
（ii）請求項１～３いずれか１項記載のポリ核酸を特異的に増幅すること、
を含む、生物学的サンプルに存在するＨＣＶ遺伝子型を検出又はスクリーニングするための方法。
【請求項２８】
請求項１～５いずれか１項記載のポリ核酸を含むＨＣＶ遺伝子型の存在を測定するためのキット。
【請求項２９】
請求項１～５いずれか１項記載のポリ核酸を含む組成物。
【請求項３０】
請求項９～１２又は１６いずれか１項記載のペプチド又はポリペプチドを含む組成物。

【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
本発明はＣ型肝炎ウイルス（ＨＣＶ）遺伝子型の新しい配列及び治療及び診断用薬剤としての使用に関する。
【０００２】
本発明は、新しい２型亜型２ｄのコーディング領域に対応する新しいヌクレオチド及びアミノ酸配列、ＨＣＶ３ａ型に対応する型特異的配列、新しい亜型３ｃのコーディング領域に対応する新しい配列及びＨＣＶ４型及び５型亜型５ａのコーディング領域に対応する新しい配列；それらを調製するための方法、及び診断、予防及び治療のためのその使用に関する。
【０００３】
本発明の背景にある技術的問題点は、ＨＣＶ４型及び５型ならびにＨＣＶ２型及び３型の新しい変異体のコア、Ｅ１、Ｅ２、ＮＳ３、ＮＳ４及びＮＳ５領域の新しい型特異的配列を提供することにある。これらの新しいＨＣＶ配列は、生物学的試料の中で２型及び／又は３型及び／又は４型及び／又は５型のＨＣＶ遺伝子型の存在を診断するのに有用である。さらに、これらの新しい型特異的配列を利用可能とすることにより、ＨＣＶ検出の全体的感度を増大させることができ、同様に治療目的にも役立つことがわかるはずである。
【０００４】
Ｃ型肝炎ウイルス（ＨＣＶ）は、非Ａ非Ｂ型肝炎の主要な原因であることがわかってきた。いくつかのプロトタイプ分離株の完全なゲノムを網羅するｃＤＮＡクローンの配列が決定されている（Kato et al., 1990; Choo et al., 1991; Okamoto et al., 1991; Okam

oto et al., 1992）。これらの分離株の比較は、ヌクレオチド配列内の可変性を用いて、約６８％の平均相同性をもつ少なくとも２つの異なる遺伝子型、１型（ＨＣＶ－１及びＨＣＶ－Ｊ）及び２型（ＨＣ－Ｊ６及びＨＣ－Ｊ８）を区別することができるということを示している。各型の中に、約７９％の平均相同性をもつ少なくとも２つの亜型が存在する（例えばＨＣＶ－１及びＨＣＶＪで表わされる）。同じ亜型に属するＨＣＶゲノムは、９０％以上の平均相同性を示す（Okamoto et al., 1992）。しかしながらＨＣＶ－Ｔ分離株のＮＳ５領域の部分的ヌクレオチドは、以前に公表された配列とせいぜい６７％の相同性しか示さず、このことはさらにもう１つのＨＣＶ型の存在を表わしていた（Mori et. al., 1992）。この３型の５′非翻訳領域（ＵＲ）、コア、ＮＳ３及びＮＳ５領域の一部分が公表され、これはさらに３つの主要な遺伝子型とその亜型の間の類似の進化上の距離をさらに立証している（Chan et al.,1992）。

【０００５】

臨床的試料中の３型遺伝子型の同定は、ＮＳ５領域に対する型特異的プライマーを用いたＰＣＲを用いて達成できる。しかしながら、これが成功する度合は、血清中に存在するウイルス力価及び配列可変性によって大きく左右される。従って、特に３型及び本発明に記述されている新しい４型及び５型及び／又はＶ群（Cha et al., 1992）遺伝子型についての読取り枠内の型通りのＰＣＲは、成功しないものと予想することができる。保持レベルの高い５′ＵＲ内の変異に基づく新しい型分類システム（ＬｉＰＡ）は、５つの主要なＨＣＶ遺伝子型及びその亜型を決定できることから（Stuyver et al., 1993）、より有用なものであることが実証された。ネステッドＰＣＲでは４つのプライマーが新しい３型、４型及び５型の遺伝子型の未知の配列と整合することが必要であるのに対して、高力価の分離株の選択により、わずか２つのプライマーでクローニングするためのＰＣＲフラグメントを得ることができる。

【０００６】

５′の非翻訳領域（５′ＵＲ）の新しい配列が、Bukh et al. (1992)によってリストアップされた。これらのうちのいくつかについてのＥ１領域に関して、最近記述されている（Bukh et al., 1993)、Bukh et al. (1992)により記述されたＤＫ１２及びＨＫ１０及びChan et al (1991）により記述され３型として分類されたＥ－ｂ１～Ｅｂ８を含む一群の分離株に対して５′ＵＲにおいて類似の配列を伴う分離株が、５′ＵＲ、Ｅ１のカルボキシル末端部分及びＮＳ５領域においてIV群としてCha et al (1992; WO92/19743)によって報告され記述され、同様に、この出願の発明者によって分離株ＢＲ５６のための５′ＵＲの中で記述され３型として分類された（Stuyver et al., 1993）。

【０００７】

本発明の目的は、ＨＣＶ感染の検出を可能にする新しいＨＣＶヌクレオチド及びアミノ酸配列を提供することにある。

【０００８】

本発明のもう１つの目的は、ゲノムレベルでの型及び亜型に明確に結びつけられた異なる血清学的群に、感染した生物学的流体を分類することを可能にする新しいヌクレオチド及びアミノ酸ＨＣＶ配列を提供することにある。

【０００９】

本発明のもう１つの目的は、ＨＣＶ検出速度全体を改善する新しいヌクレオチド及びアミノ酸ＨＣＶ配列を提供することにある。

【００１０】

本発明のもう１つの目的は、ＨＣＶワクチン組成物の設計に有用な新しいＨＣＶ配列を提供することにある。

【００１１】

本発明のもう１つの目的は、治療又は診断のため、これらの新しいＨＣＶ配列によりコードされるポリペプチドに対して出現した抗体から成る薬学組成物を提供することにある。

【００１２】

本発明は、より特定的には、
－　ＨＣＶ３型ゲノム配列、より特定的には次の領域のいずれかの中の配列；
－　ＨＣＶ亜型３ａのコア／Ｅ１領域の位置４１７～９５７にまたがる領域、
－　ＨＣＶ３型のＮＳ３領域の位置４６６４～４７３０にまたがる領域、
－　ＨＣＶ３型のＮＳ３／４領域の位置４８９２～５２９２にまたがる領域、
－　ＨＣＶ亜型３ａのＢＲ３６亜群のＮＳ５領域の８０２３～８２３５にまたがる領域、
－　ＨＣＶ亜型３ｃのゲノム配列、さらに特定的には、上述の領域のコーディング領域内の配列；
－　ＨＣＶ亜型２ｄゲノム配列、より特定的にはＨＣＶ亜型２ｄのコーディング領域；
－　ＨＣＶ４型ゲノム配列、より特定的にはコーディング領域、より特定的には亜型４ａ、４ｅ、４ｆ、４ｇ、４ｈ、４ｉ及び４ｊのコーディング領域；
－　ＨＣＶ５型ゲノム配列、より特定的にはＨＣＶ５型のコーディング領域、より特定的には、コア、Ｅ１、Ｅ２、ＮＳ３及びＮＳ４をコードする領域、
といったＨＣＶ配列の少なくとも１つから選択された少なくとも５個、好ましくは８個以上の隣接ヌクレオチドを含む少なくとも１つのポリ核酸を含むか又はこれより構成された組成物に関し、ここで前記ヌクレオチド番号づけは、表１に示されている通りのＨＣＶ核酸の番号づけの関係にあるものであり、前記ポリ核酸には、上述の領域内に既知のＨＣＶ（１型、２型及び３型）ポリ核酸配列と少なくとも１つのヌクレオチドの差異を含むポリ核酸又はその相補体を含んでいる。

【００１３】

本発明のポリ核酸中のヌクレオチドの差異には、このポリ核酸によりコードされた対応するアミノ酸配列におけるアミノ酸の差異を伴っていてもいなくてもよい。

【００１４】

本発明の好ましい実施態様に従うと、本発明は、ポリ核酸がＨＣＶポリタンパク質をコードするＨＣＶヌクレオチド配列の少なくとも１部分に対応する少なくとも５つ、好ましくは少なくとも８個のヌクレオチドを含み、しかも前記ＨＣＶポリタンパク質がその配列中に、表記がその１文字コードでアミノ酸残基を表わす１つの文字とKato et al., 1990に従ったアミノ酸番号づけを表わす１つの番号で構成されている、次のアミノ酸残基のうちの少なくとも１つを含んでいる状態で、ＨＣＶポリタンパク質をコードする少なくとも１つのポリ核酸を含んで成る組成物に関する。

【００１５】

L7, Q43, M44, S60, R67, Q70, T71, A79, A87, N106, K115, A127, A190, S130, V134, G142, I144, E152, A157, V158, P165, S177又はY177, I178, V180又はE180又はF182, R184, I186, H187, T189, A190, S191又はG191, Q192又はL192又はI192又はV192又はE192, N193又はH193又はP193, W194又はY194, H195, A197又はI197又はV197又はT197, V202, I203又はL203, Q208, A210, V212, F214, T216, R217又はD217又はE217又はV217, H218又はN218, H219又はV219又はL219, L227又はI227, M231又はE231又はQ231, T232又はD232又はA232又はK232, Q235又はI235, A237又はT237, I242, I246, S247, S248, V249, S250又はY250, I251又はV251又はM251又はF251, D252, T254又はV254, L255又はV255, E256又はA256, M258又はF258又はV258, A260又はQ260又はS260, A261, T264又はY264, M265, I266又はA266, A267, G268又はT268, F271又はM271又はV271, I277, M280又はH280, I284又はA284又はL84, V274, V291, N292 又は S292, R293 又はI293又は Y293, Q294 又はR294, L297又は I297 又は Q297,A299又は K299 又は Q299,N303又は T303, T308 又は L308,T310又は F310 又は A310 又はD310又は V310, L313, G317 又は Q317, L333, S351, A358, A359, A363, S364, A366, T369, L373, F376, Q386, I387, S392, I399, F402, I403, R405, D454, A461, A463, T464, K484, Q500, E501, S521, K522, H524, N528, S531, S532, V534, F536, F537, M539, I546, C1282, A1283,H1310, V1312, Q1321, P1368,V1372, V1373, K1405, Q1406,S1409, A1424, A1429, C1435, S1436, S1456, H1496, A1504, D1510, D1529, I1543, N1567, D1556, N1567, M1572, Q1579, L1581, S1583, F1585, V1595, E1606 又はT1606, M1611, V1612 又は L1612, P1630, C1636, P1651, T1656又はI1656, L

1663, V1667, V1677, A1681, H1685, E1687, G1689, V1695, A1700, Q1704, Y1705, A1713, A1714又はS1714, M1718, D1719, A1721又はT1721, R1722, A1723 又は V1723, H1726又はG1726, E1730, V1732, F1735, I1736, S1737, R1738, T1739, G1740, Q1741, K1742, Q1743, A1744, T1745,L1746, E1747 又はK1747,T11749, A1750, T1751又はA1751, V1753, N1755, K1756, A1757, P1758, A1759, H1762, T1763, Y1764, P2645, A2647, K2650, K2653又はL2653, S2664,N2673, F2680, K2681, L2686,H2692, Q2695又は L2695又はI2695, V2712, F2715, V2719又は Q2719, T2722, T2724, S2725, R2726, G2729, Y2735, H2739, I2748, G2746又はI2746, I2748, P2752 又は K2752, P2754 又はT2754, T2757又は P2757。

【００１６】

上述の残基の各々は、コア、Ｅ１、Ｅ２、ＮＳ３、ＮＳ４及びＮＳ５領域についてＨＣＶのその他の型又は亜型の既知の配列と並べて比較した本発明の新しいアミノ酸配列を示す図２、５、７、１１又は１２のいずれかに見い出すことができる。

【００１７】

より特定的に言うと、本発明に従った組成物内に含まれるポリ核酸は、

－　図５に示されている通りの、ＨＣＶ亜型２ｄ、３型（より特定的には亜型３ａ及び３ｃのための新しい配列）、新しい４型亜型（より特定的には亜型４ａ、４ｅ、４ｆ、４ｇ、４ｈ、４ｉ及び４ｊのための新しい配列）及び５ａ型のコア／Ｅ１領域のアミノ酸位置１～３１９にまたがる新しい配列；

－　図１２に示されている通りの、ＨＣＶ亜型５ａのＥ１／Ｅ２領域のアミノ酸位置３２８～５４６にまたがる新しい配列；

－　図７又は１１に示されている通りの、ＨＣＶ３型（より特定的には新しい亜型３ａの配列）及び亜型５ａのＮＳ３／ＮＳ４領域のアミノ酸位置１５５６～１７６４にまたがる新しい配列；

－　図２に示されている通りの、ＨＣＶ亜型２ｄ、３型（より特定的には新しい亜型３ａ及び３ｃ）、新しい４型亜型（より特定的には亜型４ａ、４ｅ、４ｆ、４ｇ、４ｈ、４ｉ及び４ｊ）及び亜型５ａのＮＳ５領域のアミノ酸位置２６４５～２７５７にまたがる新しい配列

といった新しいＨＣＶアミノ酸配列をコードするＨＣＶ配列の少なくとも１つから選択された隣接ヌクレオチドの１配列に対応する少なくとも５個、好ましくは８個以上の隣接ヌクレオチドを含んでいる。

【００１８】

上述のＬｉＰＡシステムを用いて、高力価の３型のＣ型肝炎ウイルスをもつブラジル人の献血者、高力価の４型Ｃ型肝炎ウイルスをもつガボン人の患者及び高力価のＨＣＶ５型感染を受けたベルギー人の患者が選定された。これまで報告されたことのないコア、Ｅ１、ＮＳ５及びＮＳ４領域内のヌクレオチド配列を本発明の枠内で分析した。あらゆる４型分離株のコーディング配列（コア領域を除く）が初めて本発明において報告されている。新しい３型分離株についても、ＮＳ５ｂ領域を分析した。ＮＳ５ｂ配列を決定した後、Mori et al. (1992)により記述されたＴａ及びＴｂ亜型との比較が可能であり、３型配列を３ａ型遺伝子型として同定することができた。新しい４型の分離株は、ＮＳ５及びＥ１領域の中の得られた相同性に基づき１０個の亜型に分類した。新しい２型及び３型配列も同様に、ベルギー及びオランダで収集された血清からの以前に記述された２型又は３型の亜型から区別できた。

【００１９】

「ポリ核酸」という語は、完全ヌクレオチド配列に対して少なくとも５つの隣接ヌクレオチド（例えば少なくとも６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５個又はそれ以上の隣接ヌクレオチド）を含んでいてもよい１本鎖又は２本鎖の核酸配列を表す。長さが約１００ヌクレオチドまでのポリ核酸は往々にしてオリゴヌクレオチドとも呼ばれる。ポリ核酸は、デオキシリボヌクレオチド又はリボヌクレオチド、ヌクレオチド類似体又は修飾ヌクレオチドで構成されてもよいし、或いは、治療目的のため適合させられてい

てもよい。ポリ核酸は、クローニング目的又はインビボ治療又は予防のために使用することのできる２本鎖ｃＤＮＡクローンを含んでいてもよい。

【００２０】

「ポリ核酸組成物」という語は、基本的に前記ポリ核酸を含むあらゆる種類の組成物のことを言う。この組成物は、診断用又は治療用のいずれのものでもありうる。

【００２１】

「～に対応するヌクレオチド」という表現は、特定のＨＣＶ配列内の指示されたヌクレオチド又は領域内に対し相同性又は相補性をもつヌクレオチドのことを言う。

【００２２】

「コーディング領域」という語は、ＨＣＶポリタンパク質をコードするＨＣＶゲノムの領域に対応する。実際、これには、５′非翻訳領域及び３′非翻訳領域を除いて完全なゲノムが含まれる。

【００２３】

「ＨＣＶポリタンパク質」という語は、ＨＣＶ－Ｊ分離株のＨＣＶポリタンパク質のことを指す（Kato et al., 1990)。位置３３０にあるアデニン残基（Kato et al., 1990)は、ＨＣＶ－Ｊ及びその他の１ｂ型分離株内の３，０１０個のアミノ酸、及びＨＣＶ－１及びその他の１ａ型分離株内の３，０１１個のアミノ酸、及び２型分離株ＨＣ－Ｊ６及びＨＣ－Ｊ８内の３，０３３個のアミノ酸の長いＨＣＶポリタンパク質を開始するＡＴＧコドンの第１の残基である（Okamoto et al., 1992）。

【００２４】

本発明ではこのアデニンは、核酸レベルで位置１として呼ばれ、
このメチオニンはアミノ酸レベルで位置１と呼ばれる。１ａ型分離株は１つの余分なアミノ酸をＮＳ５ａ領域内に含んでいることから、１ａ型及び１ｂ型のコーディング配列はコア、Ｅ１、ＮＳ３及びＮＳ４領域の中の同一の番号づけを有するものの、表１に示されているようにＮＳ５ｂ領域では異なっていることになる。２型分離株は、１型分離株に比べてＥ２領域内に４つの余分なアミノ酸を、
又はＮＳ５領域内に１８個の余分なアミノ酸を有し、表１に表わされているようにＮＳ３／４領域及びＮＳ５ｂ領域の中の１型分離株と番号づけが異なることになる。

【００２５】

【表１】

表1

	領域	本発明において記述されている位置*	HCV-J について記述されている位置 (Kato et al., 1990)	HCV-1 について記述されている位置 (Choo et al., 1991)	HC-J6, HC-J8 について記述されている位置(Okamoto et al., 1992)
ヌクレオチド	NS5b	8023/8235 7932/8271	8352/8564 8261/8600	8026/8238 7935/8274	8433/8645 8342/8681
	NS3/4	4664/5292 4664/4730 4892/5292 3856/4209 4936/5292	4993/5621 4993/5059 5221/5621 4185/4528 5265/5621	4664/5292 4664/4730 4892/5292 3856/4209 4936/5292	5017/5645 5017/5083 5245/5645 4209/4762 5289/5645
		本発明のコーディング領域	330/9359	1/9033	342/9439
アミノ酸	NS5b	2675/2745 2645/2757	2675/2745 2645/2757	2676/2746 2646/2758	2698/2768 2668/2780
	NS3/4	1556/1764 1286/1403 1646/1764	1556/1764 1286/1403 1646/1764	1556/1764 1286/1403 1646/1764	1560/1768 1290/1407 1650/1768

【００２６】

表１：その他のプロトタイプ分離株について用いられている番号づけと、本発明で使用されているＨＣＶヌクレオチド及びアミノ酸番号づけシステム（*）の比較。例えば、８３５２／８５６４は、Kato et al. (1990)により記述されている通りのヌクレオチド８３５２～ヌクレオチド８５６４までの番号づけによって指定された領域を表わす。本発明の番号づけシステムは、ポリタンパク質開始部位で始まることから、Kato et al. (1990)により記述されている５′非翻訳領域の３２９個のヌクレオチドを差し引かなくてはならず、対応する領域はヌクレオチド８０２３（「８３５２－３２９」）から８２３５（「８５６４－３２９」）まで番号づけされる。

【００２７】

「ＨＣＶ型」という語は、ＨＣＶ－Ｊ分離株（Kato et al., 1990)の長いＨＣＶポリタンパク質の第１のＡＴＧコドン又は第１のメチオニンで始まる前記番号づけで、その群のその他の分離株のポリタンパク質に対して、その完全ゲノムが核酸レベルで７４％以上の相同性を示すか、そのヌクレオチド位置７９３２と８２７１の間のＮＳ５領域が核酸レベルで７４％以上の相同性を示すか、又はその完全ＨＣＶポリタンパク質がアミノ酸レベルで７８％以上の相同性を示すか、又は位置２６４５と２７５７のアミノ酸の間のＮＳ５領域がアミノ酸レベルで８０％以上の相同性を示すＨＣＶ分離株の一群に対応する。異なる型のＨＣＶに属する分離株は、完全ゲノム全体にわたり、核酸レベルで７４％未満、そしてアミノ酸レベルで７８％未満の相同性を示す。同じ型に属する分離株は、通常同じ亜型に属する場合、核酸レベルで約９２％～９５％、アミノ酸レベルで９５～９６％の相同性を示し、同じ型に属するものの亜型が異なる分離株は、好ましくは核酸レベルで約７９％、アミノ酸レベルで８５～８６％の相同性を示す。

【００２８】

より好ましくはＨＣＶ型の定義は、以下に詳述されている通り、
計算されたそのヌクレオチド距離に従ってＨＣＶ分離株の分類から結論される。

【００２９】

（１）ヌクレオチド７９３５と８２７４（Choo et al., 1991)又は８２６１と８６００（Kato et al., 1990)又は８３４２と８６８１（Okamoto et al., 1991）の間のＮＳ５ｂ領域内の核酸配列の系統分類分析に基づくと、同じＨＣＶ型に属する分離株は０．３４未満、通常は０．３３未満、そしてさらに普通には０．３２未満のヌクレオチド距離を示し、同じ亜型に属する分離株は、０．１３５未満、通常は０．１３未満、さらに普通には０．１２５未満のヌクレオチド距離を示し、その結果、同型であるが異なる亜型に属する分離株は０．１３５～０．３４、通常は０．１３８７～０．２４７７、さらに普通には０．１５～０．３２のヌクレオチド距離を示し、異なるＨＣＶ型に属する分離株は０．３４以上、通常は０．３５以上、さらに普通には０．３５８以上、さらに普通には０．１３８４～０．２９７７のヌクレオチド距離を示す。

【００３０】

（２）ヌクレオチド３７８と９５７の間のコア／Ｅ１領域の中の核酸配列の系統分類分析に基づくと、同じＨＣＶ型に属する分離株は０．３８未満、通常は０．３７未満、より普通には０．３６４未満のヌクレオチド距離を示し、同じ亜型に属する分離株は０．１７未満、通常は０．１６未満、さらに普通には０．１５未満、さらに普通には０．１３５未満、さらに普通には０．１３４未満のヌクレオチド距離を示し、結果として、同型であるが異なる亜型に属する分離株は０．１５～０．３８、通常は０．１６～０．３７、さらに普通には０．１７～０．３６、さらに普通には０．１３３～０．３７９の範囲のヌクレオチド距離を示し、異なるＨＣＶ型に属する分離株は０．３４、０．３５、０．３６以上、通常は０．３６５以上、さらに普通には０．３７以上のヌクレオチド距離を示す。

【００３１】

（３）ヌクレオチド４６６４と５２９２(Choo et al., 1991）又はヌクレオチド４９９３と５６２１（Kato et al., 1990)又はヌクレオチド５０１７と５６４５（Okamoto et al, 1991)の間のＮＳ３／ＮＳ４領域内の核酸配列の系統分類分析に基づくと、同じＨＣＶ型に属する分離株は０．３５未満、通常は０．３４未満、さらに普通には０．３３未満のヌクレオチド距離を示し、同じ亜型に属する分離株は０．１９未満、通常は０．１８未満、さらに普通には０．１７未満のヌクレオチド距離を示し、結果として同じ型ではあるが異なる亜型に属する分離株は０．１７～０．３５、通常は０．１８～０．３４、さらに普通には０．１９～０．３３のヌクレオチド距離を示し、異なるＨＣＶ型に属する分離株は０．３３以上、通常は０．３４以上、さらに普通には０．３５以上のヌクレオチド距離を示す。

【００３２】

【表２】

表2:分子の進化上の距離

領域	コア／E1579 bp	E1384 bp	NS5B 340 bp	NS5B 222 bp
分離株	0.0017 － 0.1347 (0.0750 ± 0.0245)	0.0026 － 0.2031 (0.0969 ± 0.0289)	0.0003 － 0.1151 (0.0637 ± 0.0229)	0.000 － 0.1323 (0.0607 ± 0.0205)
亜型	0.1330 － 0.3794 (0.2786 ± 0.0363)	0.1645 － 0.4869 (0.3761 ± 0.0433)	0.1384 － 0.2977 (0.2219 ± 0.0341)	0.117 － 0.3538 (0.2391 ± 0.0399)
型	0.3479 － 0.6306 (0.4703 ± 0.0525)	0.4309 － 0.9561 (0.6308 ± 0.0928)	0.3581 － 0.6670 (0.4994 ± 0.0495)	0.3457 － 0.7471 (0.5295 ± 0.0627)

【００３３】

ＰＨＹＬＩＰプログラムＤＮＡＰＩＳＴにより作り出された数字は最小から最大まで（平均±標準偏差）として表わされている。同じ亜型に属する分離株（「分離株」）、同じ型の異なる亜型に属する分離株（「亜型」）、及び異なる型に属する分離株（「型」）の

ための系統分類距離が示されている。

【００３４】

利用可能な配列の比較系統分類分析において、ゲノムの異なる領域についての分子の進化的距離の範囲は、系統分類推定パッケージＰＨＹＬＩＰバージョン３．５ＣのＤＮＡＤＩＳＴプログラムを用いた１９７８１の対比較に基づいて、計算された（Felsenstein, 1993)結果を表２に示すが、各領域の中の得られた大部分の距離が一定の分離株の分類と合致するものの、３４０bpのＮＳ５領域の中の得られた範囲のみが重複せず、従って決定的なものであることを表わしている。ただし、本発明において実施されたとおり、一定の与えられた分離株の最終的分類の前に少なくとも２つの領域からの配列情報を得ることが好ましい。

【００３５】

異なる型のＨＣＶに対する番号及びＨＣＶ型の学名の指定は、異なる型の発見の年代に基づいている。本発明において使用される番号づけシステムは、なおも国際的協定又は指針に従って変異する可能性がある。例えば、「４型」は「５型」又は「６型」へと変更されるかもしれないのである。

【００３６】

「亜型」という語は、ＨＣＶポリタンパク質の開始コドンのアデニン残基で始まっている前記番号づけが、同じ群のその他の分離株のゲノムの対応する部分に対して、その完全ポリタンパク質が核酸及びアミノ酸の両レベルで９０％以上の相同性を示すか、又はそのヌクレオチド位置７９３２と８２７１の間のＮＳ５領域が核酸レベルで９０％以上の相同性を示すＨＣＶ分離株の１群に対応する。同じＨＣＶ型であるが異なる亜型に属する分離株は、核酸レベルで７４％以上の、そしてアミノ酸レベルで７８％以上の相同性を示す。

【００３７】

「ＢＲ３６亜群」という語は、位置８０２３から８２３５までのＮＳ５ｂ領域の中の配列番号１、３、５、７、９、１１に表わされている通りの配列に対して９５％、好ましくは９５．５％、最も好ましくは９６％の相同性をもつ３ａ型ＨＣＶ分離株（ＢＲ３６、ＢＲ３３、ＢＲ３４）の一群のことを表わす。

【００３８】

Ｅ１、Ｅ２及びＮＳ４領域などの極端に可変的な領域がポリタンパク質の完全ゲノムの平均的相同性よりも低い相同性を示すことを理解すべきである。

【００３９】

この基準を用いて、ＨＣＶ分離株を少なくとも６つの型に分類することができる。位置７９３２と８２７１の間のＮＳ５の一部分を含むコーディング領域及び５′ＵＲの相同性に基づいて、１型、２型、３型及び４型の中に、１ａ、１ｂ、２ａ、２ｂ、２ｃ、２ｄ、３ａ、３ｂ、４ａ、４ｂ、４ｃ、４ｄ、４ｅ、４ｆ、４ｇ、４ｈ、４ｉ及び４ｊといった複数の亜型を明らかに区別することができる。報告された分離株の大部分及び本発明の型分類システムに従ったそれらの提案された分類ならびにその他の提案された分類の概観が、表３に示されている。

【００４０】

【表３】

表３

ＨＣＶの分類

	OKAMOTO	MORI	NAKAO	CHA	プロトタイプ
1a	I	I	Pt	GI	HCV-1, HCV-H, HC-J1
1b	II	II	K1	GII	HCV-J, HCV-BK, HCV-T, HC-JK1, HC-J4, HCV-CHINA
1c					HC-G9
2a	III	III	K2a	GIII	HC-J6
2b	IV	IV	K2b	GIII	HC-J8
2c					S83, ARG6, ARG8, I10, T983
2d					NE92
3a	V	V	K3	GIV	E-b1, Ta, BR36, BR33, HD10, NZL1
3b		VI	K3	GIV	HCV-TR, Tb
3c					BE98
4a					Z4, GB809-4
4b					Z1
4c					GB116, GB358, GB215, Z6, Z7
4d					DK13
4e					GB809-2, CAM600, CAM736
4f					CAM622, CAM627
4g					GB549
4h					GB438
4i					CAR4/1205
4j					CAR1/501
4k					EG29
5a				GV	SA3, SA4, SA1, SA7, SA11, BE95
6a					HK1, HK2, HK3, HK4

【００４１】

「相補体」という語は、指示された配列に相補的で、指示された配列にハイブリッド形成することのできるヌクレオチド配列のことを言う。

【００４２】

本発明の組成物は数多くの組合せを含むことができる。一例を挙げると、本発明の組成物は、以下のものを含むことができる：

－　同じ領域からの２つ（又はそれ以上の）核酸、又は、

－　同じ分離株又は異なる分離株について、それぞれ異なる領域からの２つ（又はそれ以上の）核酸、

－　又は、（同じ分離株又は異なる分離株についての）少なくとも２つの異なる領域から及び同じ領域からの核酸。

【００４３】

本発明は、より特定的には、上述の通りのポリ核酸組成物において、このポリ核酸が以下のＨＣＶ３型ゲノム配列のいずれかから選択されたヌクレオチド配列に対応している組成物に関する：

【００４４】

－　図４に示されているような、コア／Ｅ１領域の位置４１７～９５７にまたがる領域の中の、配列番号１３、１５、１７、１９、２１、２３、２５又は２７（ＨＤ１０、ＢＲ３６又はＢＲ３３配列）に表わされている通りの配列のいずれかに対して少なくとも６７％、好ましくは６９％以上、最も好ましくは７１％以上、さらに一層好ましくは７３％以上の相同性を有するＨＣＶゲノム配列；

【００４５】

－　図４に示されているような、Ｅ１領域の位置５７４～９５７にまたがる領域の中の、配列番号１３、１５、１７、１９、２１、２３、２５又は２７（ＨＤ１０、ＢＲ３６、又はＢＲ３３の配列）に表わされている通りの配列のいずれかに対して少なくとも６５％、好ましくは６７％以上、最も好ましくは６９％以上、さらに好ましくは７０％以上、最も好ましくは７４％以上の相同性を有するＨＣＶゲノム配列；

【００４６】

－　図４に示されているような、コア領域の位置１～３７８にまたがる領域の中の、配列番号１４７（ＨＶＣ３ｃ型のコア領域の位置１～３４６、配列ＢＥ９８を表わす）に表わされている通りの配列のいずれかに対して少なくとも７９％、より好ましくは少なくとも８１％、最も好ましくは８３％以上の相同性を有するＨＣＶゲノム配列；

【００４７】

－　図４に示されているような、コア／Ｅ１領域の位置４１７～９５７にまたがる領域の中の、配列番号１３、１５、１７、１９、２１、２３、２５又は２７（ＨＤ１０、ＢＲ３６又はＢＲ３３配列）に表わされている通りの配列のいずれかに対して少なくとも７４％、より好ましくは少なくとも７６％、最も好ましくは７８％以上の相同性を有するＨＶＣ３ａ型のＨＣＶゲノム配列、

【００４８】

－　図４に示されているような、Ｅ１領域の位置５７４～９５７にまたがる領域の中の、配列番号１３、１５、１７、１９、２１、２３、２５又は２７（ＨＤ１０、ＢＲ３６又はＢＲ３３配列）に表わされている通りの配列のいずれかに対して少なくとも７４％、好ましくは７６％以上、最も好ましくは７８％以上の相同性を有するＨＣＶ３ａ型のＨＣＶゲノム配列；

【００４９】

－　図６に示されているような、ＮＳ３領域の位置４６６４～４７３０にまたがる領域の中の、配列番号２９（ＨＣＣ１５３配列）に表わされている通りの配列に対して７３．５％以上、好ましくは７４％以上、最も好ましくは７５％の相同性を有するＨＣＶゲノム配列；

【００５０】

－　図６又は１０に示されているような、ＮＳ３／ＮＳ４領域の位置４８９２～５２９２にまたがる領域の中の、配列番号２９、
３１、３３、３５、３７又は３９（ＨＣＣ１５３、ＨＤ１０、ＢＲ３６配列）に表わされている通りの配列に対して７０％以上、好ましくは７２％以上、最も好ましくは７４％以上の相同性を有するＨＣＶゲノム配列；

【００５１】

－　図１に示されているような、ＮＳ５領域の位置８０２３～８２３５にまたがる領域の中の、配列番号５、７、１、３、９又は１１（ＢＲ３４、ＢＲ３３、ＢＲ３６配列）に表わされている通りの配列のいずれかに対して９５％以上、好ましくは９５．５％以上、最も好ましくは９６％以上の相同性を有するＨＣＶ３ａ型のＢＲ３６の亜群のＨＣＶゲノム配列；

【００５２】

－　図１に示されているような、ＮＳ５領域の位置８０２３～８１９２にまたがる領域の中の、配列番号５、７、１、３、９又は１１（ＢＲ３４、ＢＲ３３、ＢＲ３６配列）に表わされている通りの配列のいずれかに対して９６％以上、好ましくは９６．５％以上、最も好ましくは９７％以上の相同性を有するＨＣＶ３ａ型のＢＲ３６亜群のＨＣＶゲノム配

列；
【００５３】
－　図１に示されているような、ＮＳ５領域の位置７９３２～８２７１にまたがる領域の中の、配列番号１４９（ＢＥ９８配列）に表わされている通りの配列に対して７９％以上、より好ましくは８１％以上、最も好ましくは８３％以上の相同性を有するものとして特徴づけられているＨＣＶ３ｃ型のＨＣＶゲノム配列。
【００５４】
好ましくは上述のゲノムＨＣＶ配列は、上述の配列全てのコーディング領域からの配列を描いている。
【００５５】
ヌクレオチド距離分類システムに従うと（このヌクレオチド距離は前述の通りに計算される）、前記組成物の前記配列は、以下のものから選択される。
【００５６】
－　図４に示されている通り、コア／Ｅ１領域の位置４１７～９５７にまたがる領域の中の、配列番号１３、１５、１７、１９、２１、２３、２５又は２７に表わされている通りの配列のいずれかに対して０．４４未満、好ましくは０．４０未満、最も好ましくは０．３６未満のヌクレオチド距離を有するものとして特徴づけされているＨＣＶゲノム配列；
【００５７】
－　図４に示されている通り、Ｅ１領域の位置５７４～９５７にまたがる領域の中の、配列番号１９、２１、２３、２５又は２７に表わされている通りの配列のいずれかに対して０．５３未満、好ましくは０．４９未満、最も好ましくは０．４５未満のヌクレオチド距離を有するものとして特徴づけされているＨＣＶゲノム配列；
【００５８】
－　図３に示されている通り、コア領域の位置１～３７８にまたがる領域の中の、配列番号１４７に表わされている通りの配列のいずれかに対して０．１５未満、好ましくは０．１３未満、最も好ましくは０．１１未満のヌクレオチド距離を有するものとして特徴づけされているＨＣＶゲノム配列；
【００５９】
－　図４に示されている通り、コア／Ｅ１領域の位置４１７～９５７にまたがる領域の中の、配列番号１３、１５、１７、１９、２１、２３、２５又は２７に表わされている通りの配列のいずれかに対して０．３未満、好ましくは０．２６未満、最も好ましくは０．２２未満のヌクレオチド距離を有するものとして特徴づけされているＨＣＶ３ａ型のＨＣＶゲノム配列；
【００６０】
－　図４に示されている通り、Ｅ１領域の位置５７４～９５７にまたがる領域の中の、配列番号１３、１５、１７、１９、２１、
２３、２５又は２７に表わされている通りの配列のいずれかに対して、０．３５未満、好ましくは０．３１未満、最も好ましくは０．２７未満のヌクレオチド距離を有するものとして特徴づけされているＨＣＶ３ａ型のＨＣＶゲノム配列；
【００６１】
－　図１に示されている通り、ＮＳ５領域の位置８０２３～８２３５にまたがる領域の中の、配列番号５、７、１、３、９又は１１に表わされている通りの配列のいずれかに対して、０．０４２３未満、好ましくは０．０４２未満、好ましくは０．０３６２未満のヌクレオチド距離を有するものとして特徴づけされているＨＣＶ３ａ型のＢＲ３６亜群のＨＣＶゲノム配列；
【００６２】
－　図１に示されている通り、ＮＳ５領域の位置７９３２～８２７１にまたがる領域の中の、配列番号１４９に表わされている通りの配列に対して、０．２５５未満、好ましくは０．２５未満、より好ましくは０．２１未満、最も好ましくは０．１７のヌクレオチド距離を有するものとして特徴づけされているＨＣＶ３ｃ型のＨＣＶゲノム配列。

【００６３】
本出願においては、ＮＳ４エピトープ領域に加えて、Cha et al. (1992; WO92/19743)により開示されているＥ１のカルボキシ末端シグナルーアンカー配列と重複しないＥ１タンパク質の抗原外ドメインをコードするＥ１配列及びＮＳ５領域の一部分が、全て３ａ型（配列番号１、３、５、７、９、１１、１３、１５、１７、１９、２１、２３、２５、２７、２９、３１、３５、３７又は３９）に属するＢＲ３３、ＢＲ３４、ＢＲ３６、ＨＣＣ１５３及びＨＤ１０という４つの異なる分離株について開示されている。
【００６４】
同様に、新しい亜型３ｃの配列（コア及びＮＳ５領域内の分離株ＢＥ９８の配列番号１４７、１４９）も本発明の枠内に入る（図３及び１参照）。
【００６５】
最後に、本発明は又配列番号２１７に表わされている通りの新しい亜型３ａの配列にも関する（図１参照）。
【００６６】
同様に発明の範囲内に入るのは、上述の配列番号のいずれかに与えられているとおりのヌクレオチド配列のいずれかから選ばれたポリ核酸の配列変異体であり、この配列変異体は主としてオリゴヌクレオチドの端部（３′又は５′）に単数又は複数のヌクレオチドの欠失及び／又は挿入、又はいくつかの非必須ヌクレオチドとその他のヌクレオチド（修飾ヌクレオチド及び／又はイノシンを含む）の置換を含んでおり、例えば１型又は２型の配列は、図１（ＮＳ５領域）、図３（コア領域）、図４（コア／Ｅ１領域）、図６及び１０（ＮＳ３／ＮＳ４領域）に示されている通りの３型の型特異的ヌクレオチドと共に、１型又は２型の配列のいくつかのヌクレオチドを置換することにより、３型配列へと修飾することが可能である。
【００６７】
もう１つの実施態様に従うと、本発明はポリ核酸が以下のＨＣＶ５型ゲノム配列のいずれかから選択されたヌクレオチド配列に対応している、上述のとおりのポリ核酸組成物に関する。
【００６８】
－　図９及び３に示されている通り、コア領域の位置１～５７３にまたがる領域の中の、配列番号４１、４３、４５、４７、４９、
５１、５３（ＰＣ配列）又は１５１（ＢＥ９５配列）に表わされている通りの配列のいずれかに対して８５％以上、好ましくは８６％以上、最も好ましくは８７％以上の相同性を有するＨＣＶゲノム配列；
【００６９】
－　図４に示されている通り、Ｅ１の位置５７４～９５７にまたがる領域の中の、配列番号４１、４３、４５、４７、４９、５１、
５３（ＰＣ配列）、１５３又は１５５（ＢＥ９５、ＢＥ１００配列）に表わされている通りの配列のいずれかに対して６１％以上、好ましくは６３％以上、より好ましくは６５％以上、さらにより好ましくは６６％以上、最も好ましくは６７％以上（例えば６９及び７１％）の相同性を有するＨＣＶゲノム配列；
【００７０】
－　図６又は１０に示されているように、ＮＳ３領域の位置３８５６～４２０９にまたがる領域の中の、配列番号５５、５７、１９７又は１９９（ＰＣ配列）に表わされている通りの配列のいずれかに対して７６．５％以上、好ましくは７７％以上、
最も好ましくは７８％以上の相同性を有するＨＣＶゲノム配列；
【００７１】
－　図１３に示されている通り、Ｅ１／Ｅ２領域の位置９８０～１１７９にまたがる領域の中の、配列番号１５７（ＢＥ９５配列）に表わされている通りの配列と６８％以上、好ましくは７０％以上、最も好ましくは７２％以上の相同性を有するＨＣＶゲノム配列；
【００７２】

－　図６又は１０に示されている通り、ＮＳ４領域の位置４９３６～５２９６にまたがる領域の中の、配列番号５９又は６１（ＰＣ配列）に表わされている通りの配列のいずれかに対して５７％以上、好ましくは５９％以上、最も好ましくは６１％以上の相同性を有するＨＣＶゲノム配列；

【００７３】

－　図１に示されている通り、ＮＳ５領域の位置７９３２～８２７１にまたがる領域の中の、配列番号１５９又は１６１（ＢＥ９５又はＢＥ９６の配列）に表わされている通りの配列のいずれかに対して９３％以上、好ましくは９３．５％以上、最も好ましくは９４％以上の相同性を有するＨＣＶゲノム配列。

【００７４】

好ましくは、上述のゲノムＨＣＶ配列は、上述の全ての配列のコーディング領域からの配列を描いている。

【００７５】

ヌクレオチド距離分類システムに従うと（このヌクレオチド距離は、前述のとおりに計算される）、前記組成物の前記配列は、以下のものから選択されている：

【００７６】

－　上述の５型配列に対し、Ｅ１領域について０．５３未満、好ましくは０．５１未満、より好ましくは０．４９未満のヌクレオチド距離；

－　上述の５型配列に対し、コア領域について０．３未満、好ましくは０．２８未満、より好ましくは０．２６未満のヌクレオチド距離；

－　上述の５型配列に対し、ＮＳ５領域について０．０７２未満、好ましくは０．０７１未満、より好ましくは０．０７０未満のヌクレオチド距離。

【００７７】

Bukh et al (1992) により５′ＵＲ内で記されたＳＡ１、ＳＡ３及びＳＡ７を含む１群の分離株と５′ＵＲ内の類似の配列をもつ分離株が、Cha et al. (1992; WO92/19743) によりＶ群として報告され、５′ＵＲ及びＮＳ５領域の中の記述されている。この分離株の群は、本発明に記されている通り５ａ型に属している（配列番号４１、４３、４５、４７、４９、５１、５３、５５、５７、５９、６１、１５１、１５３、１５５、１５７、１５９、１６１、１９７及び１９９）。

【００７８】

同様に本発明の範囲内に含まれるのは、上述の配列番号のいずれかに記されているとおりのヌクレオチド配列のいずれかから選択されたポリ核酸の配列変異体であり、この配列変異体には、主としてオリゴヌクレオチドの末端（３′又は５′）に単数又は複数のヌクレオチドの欠失及び／又は挿入、或いはいくつかの非必須ヌクレオチド（すなわちＨＣＶの異なる遺伝子型を区別するのに必須でないヌクレオチド）のその他のヌクレオチド（修飾ヌクレオチド及び／又はイノシンを含む）による置換が含まれており、例えば、１型又は２型の配列は、１型又は２型の配列のいくつかのヌクレオチドを図３（コア領域）、図４（コア／Ｅ１領域）、図１０（ＮＳ３／ＮＳ４領域）、図１４（Ｅ１／Ｅ２領域）に示されている通りの５型の型特異的ヌクレオチドで置換することによって５型配列に修飾することが可能である。

【００７９】

Bukh et al (1992) により５′ＵＲ内で記述されている通りのＺ６及びＺ７を含む分離株と類似する５′ＵＲ内の配列をもつＢＵ７４及びＢＵ７９を含むもう１つの分離株の他の群が、本願の発明者によって５′ＵＲ内に記述され新しい４型として分類された（Stuyver et al., 1993）。この群に属する複数の新しいガボン人の分離株のコア、Ｅ１及びＮＳ５配列を含むコーディング配列が、
本発明において開示されている（配列番号１０６、１０８、１１０、１１２、１１４、１１６、１１８、１２０及び１２２）。

【００８０】

さらにもう１つの実施態様に従うと、本発明は、前記ポリ核酸が以下のＨＣＶ４型ゲノ

ム配列のいずれかから選択されたヌクレオチド配列に対応している、上述の通りの組成物に関する。

【００８１】

－　図４に示されている通り、配列番号１１８、１２０又は１２２（ＧＢ３５８、ＧＢ５４９、ＧＢ８０９配列）に表わされている通りの配列のいずれかに対して、位置５７４～９５７にまたがるＥ１領域の中の６６％以上、好ましくは６８％以上、最も好ましくは７０％以上の相同性を有するＨＣＶゲノム配列；

【００８２】

－　図４に示されている通り、Ｅ１領域の位置３７９～９５７にまたがる領域の中の、配列番号１１８、１２０又は１２２（ＧＢ３５８、ＧＢ５４９、ＧＢ８０９配列）に表わされている通りの配列のいずれかに対して７１％以上、好ましくは７２％以上、最も好ましくは７４％以上の相同性を有するＨＣＶゲノム配列；

【００８３】

－　図４に示されている通り、コア／Ｅ１領域の位置１～３７８にまたがる領域の中の、配列番号１６３又は１６５（ＧＢ８０９、
ＣＡＭ６００配列）に表わされている通りの配列のいずれかに対して９２％以上、好ましくは９３％以上、最も好ましくは９４％以上の相同性を有するＨＣＶゲノム配列；

【００８４】

－　図４に示されている通り、Ｅ１領域の位置３７９～９５７にまたがる領域の中の、配列番号１８３、１８５又は１８７（ＧＢ１１６、ＧＢ２１５、ＧＢ８０９配列）に表わされている通りの配列のいずれかに対して８５％以上、好ましくは８６％以上、より好ましくは８６．５％以上、最も好ましくは８７％以上、８８％以上又は８９％以上の相同性を有するＨＣＶゲノム配列（亜型４ｃ）；

【００８５】

－　図４に示されている通り、Ｅ１領域の位置３７９～９５７にまたがる領域の中の、配列番号１８９（ＧＢ９０８配列）に表わされている通りの配列に対して８１％以上、好ましくは８３％以上、最も好ましくは８５％以上の相同性を有するＨＣＶゲノム配列（亜型４ａ）；

【００８６】

－　図４に示されている通り、Ｅ１領域の位置３７９～９５７にまたがる領域の中の、配列番号１６７又は１６９（ＣＡＭ６００、
ＧＢ９０８配列）に表わされている通りの配列のいずれかに対して８５％以上、好ましくは８７％以上、最も好ましくは８９％以上の相同性を有するＨＣＶゲノム配列（亜型４ｅ）；

【００８７】

－　図４に示されている通り、Ｅ１領域の位置３７９～９５７にまたがる領域の中の、配列番号１７１又は１７３（ＣＡＭＧ２２、
ＣＡＭＧ２７配列）に表わされている通りの配列のいずれかに対して７９％以上、好ましくは８１％以上、最も好ましくは８３％以上の相同性を有するＨＣＶゲノム配列（亜型４ｆ）；

【００８８】

－　図４に示されている通り、Ｅ１領域の位置３７９～９５７にまたがる領域の中の、配列番号１７５（ＧＢ５４９配列）に表わされている通りの配列に対して８４％以上、好ましくは８６％以上、最も好ましくは８８％以上の相同性を有するＨＣＶゲノム配列（亜型４ｇ）；

【００８９】

－　図４に示されている通り、Ｅ１領域の位置３７９～９５７にまたがる領域の中の、配列番号１７７（ＧＢ４３８配列）に表わされている通りの配列に対して８３％以上、好ましくは８５％以上、最も好ましくは８７％以上の相同性を有する、ＨＣＶゲノム配列（亜型４ｈ）；

【００９０】
－　図４に示されている通り、Ｅ１領域の位置３７９～９５７にまたがる領域の中の、配列番号１７９（ＣＡＲ４／１２０５配列）
に表わされている通りの配列に対して７６％以上、好ましくは７８％以上、最も好ましくは８０％以上の相同性を有するＨＣＶゲノム配列（亜型４ｉ）；
【００９１】
－　図４に示されている通り、Ｅ１領域の位置３７９～９５７にまたがる領域の中の、配列番号１８１（ＣＡＲ４／９０１配列）に表わされている通りの配列に対して８４％以上、好ましくは８６％以上、最も好ましくは８８％以上の相同性を有するＨＣＶゲノム配列（亜型４ｊ）；
【００９２】
－　図４に示されている通り、ＮＳ５領域の位置７９３２～８２７１にまたがる領域の中の、配列番号１０６、１０８、１１０、１１２、１１４又は１１６（ＧＢ４８、ＧＢ１１６、ＧＢ２１５、ＧＢ３５８、ＧＢ５４９、ＧＢ８０９配列）に表わされている通りの配列のいずれかに対して７３％以上、好ましくは７５％以上、最も好ましくは７７％以上の相同性を有するＨＣＶゲノム配列；
【００９３】
－　図１に示されている通り、ＮＳ５領域の位置７９３２～８２７１にまたがる領域の中の、配列番号１０６、１０８、１１０又は１１２（ＧＢ４８、ＧＢ１１６、ＧＢ２１５、ＧＢ３５８配列）に表わされている通りの配列のいずれかに対して８８％以上、好ましくは８９％以上、最も好ましくは９０％以上の相同性を有するＨＣＶゲノム配列（亜型４ｃ）；
【００９４】
－　図１に示されている通り、ＮＳ５領域の位置７９３２～８２７１にまたがる領域の中の、配列番号１１６又は２０１（ＧＢ８０９又はＣＡＭ６００配列）に表わされている通りの配列のいずれかに対して８８％以上、好ましくは８９％以上、最も好ましくは９０％以上の相同性を有するＨＣＶゲノム配列（亜型４ｅ）；
【００９５】
－　図１に示されている通り、ＮＳ５領域の位置７９３２～８２７１にまたがる領域の中の、配列番号２０３（ＣＡＭＧ２２配列）に表わされている通りの配列に対して８７％以上、好ましくは８９％以上、最も好ましくは９０％以上の相同性を有するＨＣＶゲノム配列（亜型４ｆ）；
【００９６】
－　図１に示されている通り、ＮＳ５領域の位置７９３２～８２７１にまたがる領域の中の、配列番号１１４（ＧＢ５４９配列）に表わされている通りの配列に対して８５％以上、好ましくは８７％以上、最も好ましくは８９％以上の相同性を有するＨＣＶゲノム配列（亜型４ｇ）；
【００９７】
－　図１に示されている通り、ＮＳ５領域の位置７９３２～８２７１にまたがる領域の中の、配列番号２０７（ＧＢ４３７配列）に表わされている通りの配列に対して８６％以上、好ましくは８７％以上、より好ましくは８８％以上、より好ましくは８９％以上の相同性を有するＨＣＶゲノム配列（亜型４ｈ）；
【００９８】
－　図１に示されている通り、ＮＳ５領域の位置７９３２～８２７１にまたがる領域の中の、配列番号２０９（ＣＡＲ４／１２０５配列）に表わされている通りの配列に対して８４％以上、好ましくは８６％以上、最も好ましくは８８％以上の相同性を有するＨＣＶゲノム配列（亜型４ｉ）；
【００９９】
－　図１に示されている通り、ＮＳ５領域の位置７９３２～８２７１にまたがる領域の中の、配列番号２１１（ＣＡＲ１／５０１配列）に表わされている通りの配列に対して８１

％以上、
好ましくは８３％以上、最も好ましくは８５％以上の相同性を有するＨＣＶゲノム配列（亜型４ｊ）。
【０１００】
好ましくは、上述のゲノムＨＣＶ配列は、上述の配列全てのコーディング領域からの配列を描いている。
【０１０１】
ヌクレオチド距離分類システム（このヌクレオチド距離は前述のとおりに計算される）に従うと、前記組成物の前記配列は、以下のものから選択される。
【０１０２】
－　図４に示されている通り、コア／Ｅ１領域の位置１～９５７にまたがる領域の中の、配列番号１１８、１２０又は１２２に表わされている通りの配列のいずれかに対して０．５２、０．５０、
０．４８８０、０．４６、０．４４、０．４３未満、又は最も好ましくは０．４２未満のヌクレオチド距離を有するものとして特徴づけされているＨＣＶゲノム配列（４型）；
【０１０３】
－　図４に示されている通り、Ｅ１領域の位置３７９～９５７にまたがる領域の中の、配列番号１１８、１２０又は１２２に表わされている通りの配列のいずれかに対して０．３９、０．３６、０．３４、０．３２未満、又は最も好ましくは０．３１未満のヌクレオチド距離を有するものとして特徴づけされているＨＣＶゲノム配列（４型）；
【０１０４】
－　図４に示されている通り、Ｅ１領域の位置３７９～９５７にまたがる領域の中の、配列番号１８３、１８５又は１８７に表わされている通りの配列のいずれかに対して０．２７、０．２６、０．２４、０．２２、０．２０、０．１８、０．１７、０．１６２、０．１６未満、又は最も好ましくは０．１５未満のヌクレオチド距離を有するものとして特徴づけされているＨＣＶゲノム配列（亜型４ｃ）；
【０１０５】
－　図４に示されている通り、Ｅ１領域の位置３７９～９５７にまたがる領域の中の、配列番号１８９に表わされている通りの配列に対して０．３０、０．２８、０．２６、０．２４、０．２２、
０．２１未満、又は最も好ましくは０．２０５未満のヌクレオチド距離を有するものとして特徴づけされているＨＣＶゲノム配列（亜型４ａ）；
【０１０６】
－　図４に示されている通り、Ｅ１領域の位置３７９～９５７にまたがる領域の中の、配列番号１６７又は１６９に表わされている通りの配列のいずれかに対して０．２６、０．２５、０．２３、
０．２１、０．１９、０．１７、０．１６５未満、又は最も好ましくは０．１６未満のヌクレオチド距離を有するものとして特徴づけされているＨＣＶゲノム配列（亜型４ｅ）；
【０１０７】
－　図４に示されている通り、Ｅ１領域の位置３７９～９５７にまたがる領域の中の、配列番号１７１又は１７３に表わされている通りの配列のいずれかに対して０．２６、０．２４、０．２２、
０．２０、０．１８、０．１６、０．１５未満、又は最も好ましくは０．１４未満のヌクレオチド距離を有するものとして特徴づけされているＨＣＶゲノム配列（亜型４ｆ）；
【０１０８】
－　図４に示されている通り、Ｅ１領域の位置３７９～９５７にまたがる領域の中の、配列番号１７５に表わされている通りの配列に対して０．２０、０．１９、０．１８、０．１７未満、又は最も好ましくは０．１６未満のヌクレオチド距離を有するものとして特徴づけされているＨＣＶゲノム配列（亜型４ｇ）；
【０１０９】

－　図４に示されている通り、Ｅ１領域の位置３７９～９５７にまたがる領域の中の、配列番号１７７に表わされている通りの配列に対して０．２０、０．１９、０．１８、０．１７未満、及び最も好ましくは０．１６未満のヌクレオチド距離を有するものとして特徴づけされているＨＣＶゲノム配列（亜型４ｈ）；

【０１１０】

－　図４に示されている通り、Ｅ１領域の位置３７９～９５７にまたがる領域の中の、配列番号１７９に表わされている通りの配列に対して０．２７、０．２５、０．２３、０．２１未満、及び好ましくは０．１６未満のヌクレオチド距離を有するものとして特徴づけされているＨＣＶゲノム配列（亜型４ｉ）；

【０１１１】

－　図４に示されている通り、Ｅ１領域の位置３７９～９５７にまたがる領域の中の、配列番号１８１に表わされている通りの配列に対して０．１９、０．１８、０．１７、０．１６５未満、及び最も好ましくは０．１６未満のヌクレオチド距離を有するものとして特徴づけされているＨＣＶゲノム配列（亜型４ｊ）；

【０１１２】

－　図１に示されている通り、ＮＳ５領域の位置７９３２～８２７１にまたがる領域の中の、配列番号１０６、１０８、１１０、１１２、１１４又は１１６に表わされている通りの配列のいずれかに対して０．３５、０．３４、０．３２未満、及び最も好ましくは０．３０未満のヌクレオチド距離を有するものとして特徴づけされているＨＣＶゲノム配列（４型）；

【０１１３】

－　図１に示されている通り、ＮＳ５領域の位置７９３２～８２７１にまたがる領域の中の、配列番号１０６、１０８、１１０又は１１２に表わされている通りの配列のいずれかに対して０．１８、０．１６、０．１４、０．１３５、０．１３、０．１２７５、又は最も好ましくは０．１２５未満のヌクレオチド距離を有するものとして特徴づけされているＨＣＶゲノム配列（亜型４ｃ）；

【０１１４】

－　図１に示されている通り、ＮＳ５領域の位置７９３２～８２７１にまたがる領域の中の、配列番号１１６又は２０１に表わされている通りの配列のいずれかに対して０．１５、０．１４、０．１３５、０．１３未満、及び最も好ましくは０．１２５未満のヌクレオチド距離を有するものとして特徴づけされているＨＣＶゲノム配列（亜型４ｅ）；

【０１１５】

－　図１に示されている通り、ＮＳ５領域の位置７９３２～８２７１にまたがる領域の中の、配列番号２０３に表わされている通りの配列に対して０．１５、０．１４、０．１３５、０．１３未満、又は最も好ましくは０．１２５未満のヌクレオチド距離を有するものとして特徴づけされているＨＣＶゲノム配列（亜型４ｆ）；

【０１１６】

－　図１に示されている通り、ＮＳ５領域の位置７９３２～８２７１にまたがる領域の中の、配列番号１１４に表わされている通りの配列に対して０．１７、０．１６、０．１５、０．１４、０．１３未満、又は最も好ましくは０．１２５未満のヌクレオチド距離を有するものとして特徴づけされているＨＣＶゲノム配列（亜型４ｇ）；

【０１１７】

－　図１に示されている通り、ＮＳ５領域の位置７９３２～８２７１にまたがる領域の中の、配列番号２０７に表わされている通りの配列に対して０．１５５、０．１５、０．１４５、０．１４、０．１３５、０．１３未満、又は最も好ましくは０．１２５未満のヌクレオチド距離を有するものとして特徴づけされているＨＣＶゲノム配列（亜型４ｈ）；

【０１１８】

－　図１に示されている通り、ＮＳ５領域の位置７９３２～８２７１にまたがる領域の中の、配列番号２０９に表わされている通りの配列に対して０．１７、０．１６、０．１５、０．１４、０．１３未満、又は最も好ましくは０．１２５未満のヌクレオチド距離を有

するものとして特徴づけされているＨＣＶゲノム配列（亜型４ｉ）；
【０１１９】
－　図１に示されている通り、ＮＳ５領域の位置７９３２～８２７１にまたがる領域の中の、配列番号２１１に表わされている通りの配列に対して０．２１、０．２０、０．１９、０．１８、０．１７、０．１６、０．１５、０．１４、０．１３未満、及び最も好ましくは０．１２５未満のヌクレオチド距離を有するものとして特徴づけされているＨＣＶゲノム配列（亜型４ｊ）。
【０１２０】
同様に本発明の範囲内に含まれているのは、上述の配列番号のいずれかにおいて与えられている通りのヌクレオチド配列のいずれかから選択されるポリ核酸の配列変異体であり、この配列変異体には、主としてオリゴヌクレオチドの末端（３′又は５′のいずれか）における単数又は複数のヌクレオチドの欠失及び／又は挿入、
又はいくつかの非必須ヌクレオチド（すなわちＨＣＶの異なる遺伝子型の間で区別するのに必須でないヌクレオチド）のその他のヌクレオチド（修飾ヌクレオチド及び／又はイノシンを含む）による置換が含まれており、例えば、図３（コア領域）、図４（コア／Ｅ１領域）、図１０（ＮＳ３／ＮＳ４領域）、図１４（Ｅ１／Ｅ２領域）内に示されているような、４型の型特異的ヌクレオチドと１型又は２型の配列のいくつかのヌクレオチドを置換することによって、１型又は２型の配列を、４型配列へと修飾することが可能である。
【０１２１】
本発明は又、配列番号１９３（ＧＢ７２４配列）に表わされている通りの配列にも関する。
【０１２２】
ＧＢ４８、ＧＢ１１６、ＧＢ２１５、ＧＢ３５８、ＧＢ５４９及びＧＢ８０９のＮＳ５又はＥ１配列を並べて比較した後、これらの分離株は、明らかに４型の中の３つの亜型に分類された：ＧＢ４８、ＧＢ１１６、ＧＢ２１５及びＧＢ３５８は、４ｃと呼称される亜型に属し、ＧＢ５４９は亜型４ｇに、及びＧＢ８０９は亜型４ｅに属する。ＮＳ５では、ＧＢ８０９（亜型４ｅ）は、ＧＢ５４９（亜型４ｇ、７９．７％）に対してよりも亜型４ｃの分離株（８５．６－８６．８％）に対しより高い核酸相同性を示し、一方、ＧＢ５４９はその他の両方の亜型に対し類似の相同性を示した（亜型４ｃに対して７８．８～８０％、亜型４ｅに対して７９．７％）。Ｅ１では、亜型４ｃは、亜型４ｇ及び４ｅに対して７５．２％の等しい核酸相同性を示し、一方４ｇ及び４ｅは７８．４％の相同性を示した。しかしながら、アミノ酸レベルでは、亜型４ｅは亜型４ｃに対し正常な相同性（８０．２％）を示し、一方亜型４ｇは４ｃ（８３．３％）及び４ｅ（８４．１％）に対しより高い相同性を示した。
【０１２３】
さらにもう１つの実施態様に従うと、本発明は、前記ポリ核酸が、以下のＨＣＶ２ｄ型ゲノム配列のいずれかから選択されているヌクレオチド配列に対応する、上述の通りの組成物に関する。
【０１２４】
－　図４に示されている通り、コア／Ｅ１領域の位置３７９～９５７にまたがる領域の中の、配列番号（ＮＥ９２）１４３に表わされている通りの配列に対して７８％以上、好ましくは８０％以上、最も好ましくは８２％以上の相同性を有するＨＣＶゲノム配列；
【０１２５】
－　図４に示されている通り、位置５７４～９５７にまたがる領域の中の、配列番号１４３（ＮＥ９２）に表わされている通りの配列に対して７４％以上、好ましくは７６％以上、最も好ましくは７８％以上の相同性を有するＨＣＶゲノム配列；
【０１２６】
－　図１に示されている通り、ＮＳ５領域の位置７９３２～８２７１にまたがる領域の中の、配列番号１４５（ＮＥ９２）に表わされている通りの配列に対して８７％以上、好ましくは８９％以上、最も好ましくは９１％以上の相同性を有するＨＣＶゲノム配列。

【０１２７】
好ましくは、上述のゲノムＨＣＶ配列は、上述の配列全てのコーディング領域からの配列を描いている。
【０１２８】
ヌクレオチド距離分類システム（このヌクレオチド距離は前述の通りに計算される）に従うと、前記組成物の前記配列は、以下のものから選択される：
【０１２９】
－　上述の配列のいずれかに対して、Ｅ１領域（５７４～９５７）について０．３２未満、好ましくは０．３１未満、より好ましくは０．３０未満のヌクレオチド距離、
【０１３０】
－　上述の配列のいずれかに対して、コア領域（１～３７８）について０．０８未満、好ましくは０．０７未満、より好ましくは０．０６未満のヌクレオチド距離、
【０１３１】
－　上述の配列のいずれかに対して、ＮＳ５領域について０．１５未満、好ましくは０．１３未満、好ましくは０．１２未満のヌクレオチド距離。
【０１３２】
配列番号により表わされている通りの配列に対する相同性をもつ本発明に従ったポリ核酸配列は、型又は亜型特異的プライマーを用いた増幅、多少の差こそあれ厳格な条件下での型又は亜型特異的プローブでのハイブリダイゼーション、血清学的スクリーニング方法（例えば４及び１１）又はＬｉＰＡ型分類システムを介して当該技術分野において既知の技術のいずれかに従って特徴づけし分離することができる。
【０１３３】
当該例、図及び配列リストの中ではまだ描かれていない領域からの上述のゲノムのポリ核酸配列は、本発明の型又は亜型特異的配列からの適切なプライマーを用いた増幅技術のような当該技術分野において既知の技術のいずれかにより得ることができる。
【０１３４】
本発明は又、前記ポリ核酸が、プライマーが導かれる遺伝子型に属する或る種の分離株の核酸を増幅するためのプライマーとして作用する可能性の高いものである、上述のとおりの組成物にも関する。
【０１３５】
本発明のこの実施態様に従ったプライマーの一例は、表７に示されているようなＨＣＰ$_r$１５２である（配列番号７９）。
【０１３６】
「プライマー」という語は、コピーすべき核酸鎖に対し相補性をもつプライマー伸長産物の合成のための開始点として作用することのできる一本鎖ＤＮＡオリゴヌクレオチド配列のことをいう。プライマーの長さ及び配列は伸長産物の合成を引き出すのを許すようなものでなければならない。
【０１３７】
好ましくは、プライマーは約５～５０個のヌクレオチドである。
特異的な長さ及び配列は、必要とされるＤＮＡ又はＲＮＡ標的の複雑さならびに温度及びイオン強度のようなプライマーの使用条件によって左右されることになる。
【０１３８】
適切な増幅を保証するために増幅プライマーが対応する鋳型配列と正確に整合する必要はないという事実は、文献の中で充分に証明されている（Kwok et al., 1990)。
【０１３９】
使用される増幅方法は、ポリメラーゼ連鎖反応（ＰＣＲ：Saiki et al., 1988）、リガーゼ連鎖反応（ＬＣＲ：Landgren et al., 1988; Wu & Wallace, 1989; Barany, 1991)、核酸配列ベースの増幅（ＮＡＳＢＡ：Guatelli et al., 1990; Compton, 1991）、転写ベースの増幅システム（ＴＡＳ：Kwoh et al., 1989)、鎖移動増幅（ＳＤＡ；Duck, 1990; Walker et al., 1992)又はＱβレプリカーゼを用いた増幅（Lizardi et al., 1988; Lome

li et al., 1989)又はプライマー伸長を用いて核酸分子を増幅するためのその他のあらゆる適切な方法のいずれかであってよい。増幅中、増幅された産物は、標識づけされたプライマーを用いるか又は標識づけされたヌクレオチドを取り込むことにより、適切に標識づけすることができる。標識は、同位元素（^{32}Ｐ、^{35}Ｓなど）又は非同位元素（ビオチン、ジゴキシゲニンなど）であってよい。増幅反応は２０～８０回、有利には３０～５０回くり返される。

【０１４０】

本発明は又、前記オリゴヌクレオチドが場合によって標識づけされているか又は固体基材に付着されている状態で、前記ヌクレオチド配列を含む核酸の特異的検出及び／又は型分類のためのハイブリダイゼーションプローブとして前記ポリ核酸に作用できる、上述の通りの組成物にも関する。

【０１４１】

「プローブ」という語は、検出すべきＨＣＶ遺伝子型の標的配列に対して相補的な配列をもつ１本鎖配列特異的オリゴヌクレオチドのことを言う。

【０１４２】

好ましくは、これらのプローブは長さが約５～５０ヌクレオチド、より好ましくは約１０～２５ヌクレオチドである。

【０１４３】

「固体支持体」という語は、そのハイブリダイゼーション特性を保持していること及びハイブリダイゼーションの背景レベルが低い状態にとどまることを条件として、オリゴヌクレオチドプローブと結合することのできるあらゆる基材のことを言う。通常、固体基材は、マイクロタイタープレート、膜（例えばナイロン又はニトロセルロース）又はマイクロスフェア（ビーズ）である。膜への適用又は固定に先立って、固定を容易にしハイブリダイゼーション効果を改善するため核酸プローブを修飾することが適当でありうる。かかる修飾は、ホモポリマーテーリング、脂肪族基、NH_2 基、ＳＨ基、カルボシキル基といった異なる反応基との結合、又はビオチン又はハプテンとの結合を包含しうる。

【０１４４】

本発明は又、単数又は複数のＨＣＶ遺伝子型の存在を検出するため、より特定的には、それを含有している可能性の高い試料の中に存在する上述の通りのヌクレオチド配列を有するＨＣＶ遺伝子型のいずれかの核酸の存在を検出するため、少なくとも次の工程からなる上述の組成物の使用に関する。

（ｉ）場合によって試料の核酸を抽出する工程

（ii）場合によって上述のプライマー又はその他のあらゆるＨＣＶ亜型２ｄ、ＨＣＶ３型、ＨＣＶ４型、ＨＣＶ５型又は万能ＨＣＶプライマーの少なくとも１つを用いて核酸を増幅する工程；

（iii）好ましくは固体基材に付着されている状態の上述の通りの単数又は複数のプローブを用いて適切な条件下で、核酸が場合によって増幅中又は増幅後に標識づけされている状態で、場合によっては変性した条件下で、生物学的試料の核酸をハイブリッド形成する工程；

（iv）適切な条件で洗浄する工程；

（ｖ）形成されたハイブリッドを検出する工程；

（vi）観察されたハイブリッド形成パターンから存在する単数又は複数のＨＣＶ遺伝子型の存在を推定する工程。

【０１４５】

好ましくは、この技術は、コア又はＮＳ５領域の中の実施することができる。

【０１４６】

「核酸」という語は、又分析物鎖と言うこともでき、１本鎖又は２本鎖の核酸分子に対応する。この分析物鎖は、好ましくは正鎖又は負鎖のＲＮＡ、ｃＤＮＡ又は増幅したｃＤＮＡである。

【０１４７】

「生物学的試料」という語は、ＨＣＶ核酸を含むあらゆる生物学的試料（組織又は流体）より特定的には血清又は血漿試料のことをいう。

【０１４８】

「ＨＣＶ亜型２ｄプライマー」という語は、試料中に存在するＨＣＶ亜型２ｄ配列を特異的に増幅するプライマーのことをいう（実施例の項及び図面参照）。

【０１４９】

「ＨＣＶ３型プライマー」という語は、試料中に存在するＨＣＶ３型配列を特異的に増幅するプライマーのことをいう（実施例の項及び図面参照）。

【０１５０】

「ＨＣＶ４型プライマー」という語は、試料中に存在するＨＣＶ４型ゲノムを特異的に増幅するプライマーのことをいう。

【０１５１】

「万能ＨＣＶプライマー」という語は、ＨＣＶゲノムの保存された領域のいずれかに対し相補的なオリゴヌクレオチド配列のことをいう。

【０１５２】

「ＨＣＶ５型プライマー」という語は、試料中に存在するＨＣＶ５型ゲノムを特異的に増幅するプライマーのことをいう。

【０１５３】

「適切な」ハイブリダイゼーション及び洗浄条件というのは、厳格なものとして理解されるべきであり、当該技術分野において一般に知られているものである（例えばManiatis et al.,分子クローニング、その実験室マニュアル、New York, Cold Spring Harb又は Lab又はat又はy, 1982)。

【０１５４】

しかしながら、ハイブリダイゼーション溶液（ＳＳＣ、ＳＳＰＥなど）に従って、これらのプローブは、充分な特異性を達成するためその適切な温度でハイブリッド形成されるべきである。

【０１５５】

「標識づけされた」という語は、標識づけされた核酸の使用のことを言う。これには、Saiki et al. (1988) 又はBej et al. (1990) により例示されているような増幅のポリメラーゼ工程中又は当業者にとって既知のその他のあらゆる方法によって取り込まれた標識づけされたヌクレオチドの使用が含まれる。

【０１５６】

本発明の方法は、次の要素のうちの１つと、上述のとおりのプローブのいずれかを接触させる工程を含んでいる。

－　ハイブリダイゼーションのために核酸が利用できる生物学的試料、

－　又は、生物学的試料の中に含まれている精製された核酸－　又は、精製された核酸から誘導された単一のコピー、

－　又は、前記要素又は前記プローブが固体基材に付着している状態で、精製された核酸から誘導された増幅したコピー。

「観察されたハイブリダイゼーションパターンから単数又は複数のＨＣＶ遺伝子型の存在を推定する」という表現は、オリゴヌクレオチドプローブのパネルの結合パターンを分析することによる試料中のＨＣＶゲノムの存在の同定を意味する。単一のプローブは、試料中のＨＣＶゲノムの存在又は不存在に関する有用な情報を提供することができる。一方、ＨＣＶゲノムの変異体は、自然界に分散しており、従ってどのプローブも特定のＨＣＶゲノムだけを同定できるということはまれである。むしろＨＣＶ遺伝子型の同一性は異なるＨＣＶゲノムの（異なる）セグメントに特異的であるオリゴヌクレオチドプローブのパネルの結合パターンから推定することができる。これらのオリゴヌクレオチドプローブの選択に応じて、各々の既知のＨＣＶ遺伝子型は、特異的組合せのプローブを使用した時の特異的ハイブリダイゼーションパターンに対応することになる。各々のＨＣＶ遺伝子型も同様に、オリゴヌクレオチドプローブの選択に応じて同じプライマと増幅されたその他の

いずれかのＨＣＶ遺伝子型から区分されうる。予想されるハイブリダイゼーションパターンの図式に対して単数又は複数の未知のＨＣＶ配列を含む試料に対して正のハイブリッド形成力をもつプローブについて生成したパターンを比較することにより、この試料中に存在するＨＣＶ遺伝子型を明確に推定することができる。

【０１５７】

本発明は、かくして、単数又は複数のハイブリダイゼーションプローブが配列番号１、３、５、７、９、１１、１３、１５、１７、１９、２１、２３、２５、２７、２９、３１、３３、３５、３７、３９、４１、４３、４５、４７、４９、５１、５３、５５、５７、５９又は６１、１０６、１０８、１１０、１１２、１１４、１１６、１１８、１２０、１２２、１４３、１４５、１４７、１４９、１５１、１５３、１５５、１５７、１５９、１６１、１６３、１６５、１６７、１６９、１７１、１７３、１７５、１７７、１７９、１８１、１８３、１８５、１８７、１９８、１９１、１９３、１９５、１９７、１９９、２０１、２０３、２０５、２０７、２０９、２１１、２１３、２１５、２１７、２２２、２６９のうちのいずれか又はその配列変異体のうちのいずれかから選択されており、かかる配列変異体には、主としてその末端（３′又は５′）で、単数又は複数のヌクレオチドの欠失及び／又は挿入したものを含む配列変異体、又はいくつかの非必須ヌクレオチド（即ち遺伝子型間で弁別するのに必須でないヌクレオチド）
をその他のヌクレオチド（例えば修飾されたヌクレオチド又はイノシン）で置換したものを含む配列変異体、又は上述のオリゴヌクレオチドプローブのいずれかの相補体からなる前記配列変異体、又はデオキシリボヌクレオチドの代りにリボヌクレオチドからなる前記変異体に関し、ここでこれら全ての前記変異体プローブをその誘導原であるオリゴヌクレオチドプローブと同じ特異性でハイブリッド形成させることができるものであるという条件で上述の方法に関する。

【０１５８】

増幅されたＨＣＶゲノムを互いから区別するためには、ＨＣＶポリ核酸内に位置づけされたＨＣＶ遺伝子型領域を標的にする一組の配列特異的ＤＮＡプローブに対して、標的ポリ核酸をハイブリッド形成させる。

【０１５９】

これらのプローブの大部分は、ＨＣＶ遺伝子型の型特異的領域を標的にするが、いくつかは複数のＨＣＶ遺伝子型に対しハイブリッド形成させることのできるものである。

【０１６０】

ハイブリダイゼーション溶液（ＳＳＣ、ＳＳＰＥなど）に応じて、これらのプローブが、充分な特異性に到達するためには、その適切な温度で厳格にハイブリッド形成されなくてはならない。しかしながら、それらの末端（３′又は５′）で１つ又は数個のヌクレオチドを付加又は欠失させることによって、又はいくつかの非必須ヌクレオチド（すなわち型間で区別するのに必須でないヌクレオチド）をその他のヌクレオチド（修飾ヌクレオチド又はイノシンを含む）によって置換させるいずれかによって、ＤＮＡプローブをわずかに修飾することにより、これらのプローブ又はその変異体を同じハイブリダイゼーション条件（すなわち同じ温度及び同じハイブリダイゼーション溶液）下で特異的にハイブリッド形成させることができる。同様に、使用するプローブの量を変えることも又、より特異的なハイブリダイゼーション結果を得るために有利でありうる。この状況の下で、同じ長さのプローブはそれらのＧＣ含量の如何にかかわらず、ＴＭＡＣ１溶液内でほぼ同じ温度で特異的にハイブリッド形成することになるということに留意すべきである（Jacobset al., 1988）。

【０１６１】

試料中のオリゴヌクレオチドプローブと核酸配列との間で形成されたハイブリッドを検出する本発明の目的のために適切な検定方法には、従来のドット－ブロットフォーマット、サンドイッチハイブリダイゼーション又は逆ハイブリダイゼーションといった当該技術において既知の検定フォーマットのいずれかを含む。例えば、ドットブロットフォーマットを用いて検出を達成することができ、この場合、標識づけされていない増幅された試料

が膜に結合され、膜は適切なハイブリダイゼーション及び洗浄条件下で少なくとも１つの標識づけされたプローブと共に取り込まれ、結合されたプローブの存在が監視される。

【０１６２】

代替的な好ましい方法は、増幅された配列に１つの標識が含まれる「逆」ドットブロットフォーマットである。このフォーマットでは、標識づけされていないオリゴヌクレオチドプローブが固体支持体に結合され、適切な厳格なハイブリダイゼーション及びそれに続く洗浄条件下で、標識づけされた試料に露呈される。同様に、本発明に従ったオリゴヌクレオチドプローブと試料の核酸との間のハイブリッド形成に依存するその他のあらゆる検定方法も使用することができるということも理解すべきである。

【０１６３】

有利な実施態様に従うと、生物学的試料中に含まれている単数又は複数のＨＣＶ遺伝子型を検出する方法には、固体支持体上に平行線として固定化されたオリゴヌクレオチドプローブと、生物学的試料から誘導された増幅されたＨＣＶ核酸コピーを接触させる工程が含まれている。

【０１６４】

この有利な方法に従うと、プローブはラインプローブ検定（ＬｉＰＡ）フォーマットに固定化される。これは、平行線として複数のオリゴヌクレオチドプローブ（負又は正の対照オリゴヌクレオチド）を適切に上に適用することのできる膜片を用いた逆ハイブリダイゼーションフォーマット（Saiki et al., 1989）である。

【０１６５】

かくして本発明は又、平行線の形で支持体に結合された上述の単数又は複数のプローブを自らの表面上に支持している固体支持体、好ましくは膜片にも関する。

【０１６６】

ＬｉＰＡはきわめて迅速でユーザーが親しみやすいハイブリダイゼーション試験である。結果は増幅の開始から４時間後に読みとることができる。増幅産物内に通常非同位元素標識が取り込まれる増幅及びアルカリ性変性の後、増幅産物は膜上でプローブと接触させられ、約１～１．５時間ハイブリダイゼーションが実施され、ハイブリッド形成されたポリ核酸が検出される。生じたハイブリダイゼーションパターンから、ＨＣＶ型が目視によって、ただし好ましくは専用ソフトウエアによって推定することができる。ＬｉＰＡフォーマットは、市販の走査用装置と完全な適合性を有しており、
かくして、結果の自動的解釈は非常に信頼性の高いものである。これらの利点全てのためＬｉＰＡフォーマットは日常的セッティングにおけるＨＣＶ検出の使用に対して十分である。ＬｉＰＡフォーマットは、異なるＨＣＶ遺伝子型の存在を検出するため特に有利であるはずである。

【０１６７】

本発明は又、既知のＨＣＶゲノムとは異なる新規なＨＣＶ遺伝子型を検出し同定するための方法に関し、次の工程を含む。

－　上述の方法に従って、生物学的試料中に存在するヌクレオチドがどのＨＣＶ遺伝子型に属するかを決定する工程；

－表３に規定されているものと適合性のあるハイブリダイゼーションパターンを生じない試料を観察する場合、検出すべき新しいＨＣＶ遺伝子型の異常にハイブリッド形成するプローブに対応するＨＣＶゲノム配列の部分を配列決定する工程。

【０１６８】

本発明は又、それを含んでいる可能性の高い生物学的試料の中に存在するＨＣＶの単数又は複数の遺伝子型を検出するための、前述の通りの組成物の使用に関し、次の工程を含む。

（ｉ）場合によって試料の核酸を抽出する工程；

（ii）上述の通りのプライマの少なくとも１つで核酸を増幅する工程；

（iii）増幅された産物を配列決定する工程；

（iv）既知の全てのＨＣＶ配列に対する比較により、決定された配列から存在するＨＣ

Ｖ遺伝子型を推定する工程。

【０１６９】

本発明は又、表３に示されている通りの既知のＨＣＶ（１型及び／又は２型及び／又は３型）ポリタンパク質配列の対応する領域とは異なる少なくとも１つのアミノ酸を有する、上述のＨＣＶゲノム配列のうちの少なくとも１つによってコードされている隣接アミノ酸配列に対応する、少なくとも５つのアミノ酸の隣接配列を含む少なくとも１つのペプチド又はポリペプチド、又はその突然変異タンパク質から成る又はこれを含む組成物にも関する。

【０１７０】

アミノ酸配列のレベルでは、１つのアミノ酸の差（既知のＨＣＶアミノ酸配列との関係において）が必要であり、このことはすなわち、本発明のポリペプチドが、１つのアミノ酸の差異を伴うヌクレオチドの差異（既知のＨＣＶポリ核酸配列との関係において）を有するポリ核酸に対応するということを意味している、という点に留意すべきである。

【０１７１】

開示されているヌクレオチド配列（配列番号１～６２及び１０６～１２３及び１４３～２１８、２２３～２７０参照）から推定される通りの新しいアミノ酸配列は、ＮＳ４領域について１型及び２型のプロトタイプ配列とわずか５９．９～７８％の相同性しか示さず、Ｅ１領域について１型及び２型のプロトタイプ配列とわずか５３．９～６８．８％の相同性しか示さない。ＮＳ４領域は、例えば欧州特許公開明細書ＥＰ－Ａ－０　４８９９６８号で特徴づけされている、いくつかのエピトープを含んでいることがわかっており、又Ｅ１タンパク質はウイルスエンベロープの一部として免疫攻撃を受けること及びエピトープを含むことが予想されることから、

新しい３型、４型及び５型のＮＳ４及びＥ１エピトープは一貫して、１型及び２型の分離株内に存在するエピトープとは異なるだろう。このことは、例４に示されているようなＮＳ４合成ペプチドの型特異性及び例１１内の組換えＥ１タンパク質の型特異性によって例示される。

【０１７２】

新しい亜型２ｄ、型３、４及び５（配列番号１～６２及び１０６～１２３及び１４３～２１８、２２３及び２７０）アミノ酸配列を１ａ型、１ｂ型、２ａ型及び２ｂ型のプロトタイプ配列と並べて比較した後、図５及び図７に示されている通りに型及び亜型特異的可変領域を明確に記述することができる。

【０１７３】

本発明のポリペプチドから誘導された突然変異タンパク質については、表４が上述のとおりの突然変異タンパク質のいくつかのベースとなりうるアミノ酸置換の概要を与えている。

【０１７４】

本発明に従ったペプチドは、好ましくは少なくとも５つの隣接ＨＣＶアミノ酸、ただし好ましくは本発明の新しいＨＣＶ配列の少なくとも８個、少なくとも１０個又は少なくとも１５個の隣接アミノ酸（例えば少なくとも９、１１、１２、１３、１４、２０又は２５個のアミノ酸）を含んでいる。

【０１７５】

【表４】

表４

アミノ酸	同義群
Ser(S)	Ser, Thr, Gly, Asn
Arg(R)	Arg, His, Lys, Glu, Gln
Leu(L)	Leu, Ile, Met, Phe, Val, Tyr
Pro(P)	Pro, Ala, Thr, Gly
Thr(T)	Thr, Pro, Ser, Ala, Gly, His, Gln
Ala(A)	Ala, Pro, Gly, Thr
Val(V)	Val, Met, Ile, Tyr, Phe, Leu, Val
Gly(G)	Gly, Ala, Thr, Pro, Ser
Ile(I)	Ile, Met, Leu, Phe, Val, Ile, Tyr
Phe(F)	Phe, Met, Tyr, Ile, Leu, Trp, Val,
Tyr(Y)	Tyr, Phe, Trp, Met, Ile, Val, Leu
Cys(C)	Cys, Ser, Thr, Met
His(H)	His, Gln, Arg, Lys, Glu, Thr
Gln(Q)	Gln, Glu, His, Lys, Asn, Tur, Arg
Asn(N)	Asn, Asp, Ser, Gln
Lys(K)	Lys, Arg, Glu, Gln, His
Asp(D)	Asp, Asn, Glu Gln
Glu(E)	Glu, Gln, Asp, Lys, Asp, His, Arg
Met(M)	Met, Ile, Leu, Phe, Val

【０１７６】

本発明のポリペプチド、特にフラグメントは、従来の化学合成によって調製されうる。この合成は、均質溶液内又は固体相の中で行なうことができる。

【０１７７】

例えば、使用可能な均質な溶液中での合成技術は、E. Wunshにより編集された「Method der 又はganischen chemie」（有機化学の方法）、第１５－Ｉ巻、II巻、THIEME, Stuttgart 1974, という本の中でHoubenweylによって記述されているものである。

【０１７８】

本発明のポリペプチドは、「固相ペプチド合成」（IRL Press,Oxf 又はd, 1989)という題の本の中でAtherson及びShepard が記述した方法に従って固相内で調製することもできる。

【０１７９】

本発明に従ったポリペプチドは、Maniatis et al.,分子クローニング：実験室マニュアル, New York, Cold Spring Harb又はLab 又はat又はy, 1982)により記述されている通りの組換えＤＮＡ技術を用いて調製することができる。

【０１８０】

本発明は、特に前記隣接配列が以下のアミノ酸残基のうちの少なくとも１つをその配列中に含んでいる、上述の通りのポリペプチド又はペプチド組成物に関する：

L7, Q43, M44, S60, R67, Q70, T71, A79, A87, N106, K115, A127, A190, S130, V134, G142, I144, E152, A157, V158, P165, S177又はY177, I178, V180又はE180又はF182, R184, I186, H187, T189, A190, S191又は G191, Q192 又は L192 又はI192又はV192又は E192, N193 又は H193 又は P193, W194 又は Y194, H195, A197 又は I197 又は V197 又は T197,V202, I203又は L203, Q208, A210, V212,F214, T216, R217又はD217又はE217又はV217, H218又はN218, H219又はV219又はL219, L227又はI227, M231又はE231又はQ231, T232又はD232又はA232又はK232, Q235又はI235, A237又はT237, I242, I246, S247, S248, V249, S250又はY250, I251又はV251又はM251又はF251, D252, T254又はV254, L255又

はV255, E256又はA256, M258又はF258又はV258, A260又はQ260又はS260, A261, T264又はY264, M265, I266又はA266, A267,G268 又は T268,F271又はM271又はV271, I277, M280又はH280, I284又はA284又はL84, V274, V291, N292 又は S292, R293 又は I293 又はY293, Q294又は R294, L297 又は I297 又はQ297, A299又はK299又は Q299, N303 又は T303, T308 又は L308, T310 又はF310又は A310 又は D310 又は V310,L313, G317又は Q317, L333, S351, A358, A359, A363, S364,A366, T369, L373, F376, Q386, I387, S392, I399, F402, I403, R405, D454, A461, A463, T464, K484, Q500, E501, S521, K522, H524, N528, S531, S532, V534, F536, F537, M539, I546, C1282, A1283, H1310, V1312, Q1321, P1368, V1372, V1373, K1405,Q1406, S1409, A1424, A1429, C1435, S1436, S1456, H1496, A1504, D1510, D1529, I1543, N1567, D1556, N1567, M1572, Q1579, L1581, S1583, F1585, V1595, E1606又はT1606, M1611, V1612 又は L1612, P1630, C1636, P1651, T1656又はI1656,L1663, V1667, V1677, A1681, H1685, E1687, G1689, V1695, A1700, Q1704, Y1705, A1713, A1714 又はS1714, M1718, D1719, A1721又はT1721, R1722, A1723 又は V1723, H1726 又はG1726, E1730, V1732, F1735, I1736, S1737, R1738, T1739, G1740, Q1741, K1742,Q1743, A1744, T1745, L1746, E1747 又はK1747, I1749, A1750, T1751又はA1751, V1753, N1755,K1756, A1757, P1758, A1759, H1762, T1763, Y1764, P2645, A2647, K2650, K2653 又は L2653, S2664, N2673, F2680, K2681, L2686, H2692, Q2695 又はL2695 又はI2695, V2712, F2715,V2719 又は Q2719, T2722, T2724, S2725, R2726, G2729, Y2735, H2739, I2748, G2746 又は I2746, I2748, P2752又は K2752, P2754 又はT2754, T2757又はP2757.

【０１８１】

なおここで、この表記は、表１（その他の分離株との比較）の中に示されているとおりのKato et al., 1990 に従ったアミノ酸番号づけを表わす１つの番号と、その１文字コードでアミノ酸残基を表わしている１つの文字とで構成されている。同様に図２、５、７及び１１内の番号づけ（並べての比較アミノ酸配列）中の番号づけも参照のこと。

【０１８２】

本発明の特有で新しいアミノ酸残基の群の中で、以下の残基は、
本発明に使用されるＨＣＶ分類システムに従って以下のＨＣＶ型に対し特異的であることがわかった。

【０１８３】

－　図５及び２に示されている通り、本発明のＨＣＶ亜型２ｄ配列に対して特異的であるQ208, R217, E231, I235, I246, T264, I266, A267, F271, K299, L2686, Q2719；

【０１８４】

－　図５に示されている通り、本発明のＨＣＶ３型のコア／Ｅ１領域に対して特異的であるQ43, S60, R67, F182, I186, H187,A190,S191, L192, W194, V202, L203, V219, O231, D232,A237,T254, M280, Q299, T303, L308,及び／又はL313；

【０１８５】

－　図７に示されている通り、本発明のＨＣＶ３型配列のＮＳ３／４領域に対して特異的であるD1556, Q1579, L1581, S1584, F1585, E1606, V1612, P1630, C1636, T1656, L1663, H1685, E1687, G1689, V1695, Y1705, A1713, A1714, A1721, V1723, H1726, R1738, Q1743, A1744, E1747, I1749, A1751, A1759及び／又はH1762;

【０１８６】

－　図２に示されている通り、本発明のＨＣＶ３型のＮＳ５領域に対して特異的であるK2665, D2666, R2670;

【０１８７】

－　図５に示されている通り、本発明のＨＣＶ４型配列のコア／Ｅ１領域に対して特異的であるL7, A79, A127, S130, E152,V158, S177又はY177, V180又はE180, R184, T189, Q192又はE192又はI192, N193又はH193, I197又はV197, I203, A210, V212, E217, H218, H219, L227, A232, V249, I251又はM251, D252, L255又は V255, E256, M258 又はV258又はF258, A260又はQ260, M265, T268, V271, V274, M280, I284, N292又は S292, Q294, L29

7 又はI297, T308, A310又はD310又はV310又はT310, 及びG317；
【０１８８】
－ 図２に示されている通り、本発明のＨＣＶ４型配列のＮＳ５領域に対して特異的であるP2645, K2650, K2653, G2656, V2658,T2668, N2673又はN2673, K2681, H2686, D2691, L2692,Q2695 又はL2695 又はI2695, Y2704, V2712, F2715, V2719, I2722, S2725, G2729, Y2735, G2746又はI2746, P2752又は K2752, Q2753, P2754又は T2754, T2757 又はP2757;
【０１８９】
－ 図５に示されている通り、本発明のＨＣＶ５型配列のコア／Ｅ１領域に対して特異的であるM44, Q70, A87, N106, K115,V137, G142, P165, I178, F251, A299, N303, Q317;
【０１９０】
－ 図１２に示されている通り、本発明のＨＣＶ５型配列のＥ１／Ｅ２領域に対して特異的であるL333, S351, A358, A359, A363, S364, A366, T369, L373, F376, Q386, I387, S392, I399, F102, I403, R405, D454, A461, A463, T464, K484, Q500, E501, S521, K522, H524, N528, S532, V534, F537, M539, I546；
【０１９１】
－ 図７に示されている通り、本発明のＨＣＶ５型配列のＮＳ３／ＮＳ４領域に対して特異的であるC1282, A1283, V1312, Q1321, P1368, V1372, K1405, Q1406, S1409, A1424, A1429, C1435, S1436, S1456, H1496, A1504, D1510, D1529, I1543, N1567, M1572, V1595, T1606, M1611, L1612, I1656, V1667, A1681, A1700, A1713, S1714, M1718, D1719, T1721, R1722, A1723, G1726, F1735, I1736, S1737, T1739, G1740, K1742, T1745, L1746, K1747, A1750, V1753, N1755, A1757, D1758, T1763, 及びY1764;
【０１９２】
－ 図２に示されている通り本発明のＨＣＶ５型配列のＮＳ５領域に対して特異的であるA2647, L2653, S2674, F2680, T2724,R2726, Y2730, H2739 ；
【０１９３】
－ 図５及び７に示されている通り、本発明のＨＣＶ３型及び５型配列に対して特異的であるA256, P1631, V1677, Q1704,E1730, V1732, Q1741 及びT1751;
【０１９４】
－ 図５及び２に示されている通り、本発明のＨＣＶ３型及び４型配列に対して特異的であるT71, A157, I227, T237, T240, Y250,V251, S260, M271, T2673, T2722, I2748 ；
【０１９５】
－ 図５に示されている通り、本発明のＨＣＶ４型及び５型配列に対して特異的であるV192, Y194, A197, P249, S250, R294；
【０１９６】
－ 図５に示されている通り、本発明のＨＣＶ４型及び亜型２ｄ配列に対して特異的であるI293；
【０１９７】
－ 図５に示されている通り、本発明のＨＣＶ３型、４型及び５型配列に対して特異的であるD217及びR294；
【０１９８】
－ 図５に示されている通り、本発明のＨＣＶ３型及び亜型２ｄ配列に対して特異的であるL192；
【０１９９】
－ 図５に示されている通り、本発明のＨＣＶ３型、４型及び亜型２ｄ配列に対して特異的であるG191及びT197；
【０２００】
－ 図５に示されている通り、本発明のＨＣＶ亜型２ｄ及び５型配列に対して特異的であるK232。
【０２０１】

なおここで、この表記は、その１文字コードによりアミノ酸を明白に表わしている１つの文字、及びKato et al., 1990(その他の分離株との比較について表１も参照のこと）ならびに図２（ＮＳ５領域）、図５（コア／Ｅ１領域）、図７（ＮＳ３／ＮＳ４領域）、図１２（Ｅ１／Ｅ２領域）に従ったアミノ酸番号づけを表わす１つの番号で構成されている。上述のアミノ酸のいくつかは、型又は亜型特異的エピトープの中に内含されていてもよい。

例えば、Ｍ２３１（５型内に検出されるもの）は、位置２３１におけるメチオニンのことを言う。３型分離株内では同じ位置２３１にはグルタミン（Ｑ）が存在し、一方この位置は、１型分離株ではアルギニンにより又２型分離株ではリジン（Ｋ）又はアスパラギン（Ｎ）により占有されている（図５参照）。

【０２０２】

本発明のこの実施態様に従ったペプチド又はポリペプチドは、場合によって標識づけされていてもよいし、固体基材に付着されていてもよいし、或いは又ビオチンのような担体分子に結合されていても、又適切なアジュバントと混合されていてもよい。

【０２０３】

コアタンパク質内の可変的領域（図５中のＶ－ＣＯＲＥ）は、血清学的型分類のために役立つことが示されてきた（Machida et al., 1992）。この領域中の開示された５型配列の配列は、型特異的特徴を示す。アミノ酸７０～７８からのペプチドは本発明の配列に対して以下の非反復配列を示す。

QPTGRSWGQ（配列番号９３）
RSEGRTSWAQ（配列番号２２０）
及びRTEGRTSWAQ（配列番号２２１）
もう１つの好ましいＶ－コアにまたがる領域は、
SRRQPIPRARRTEGRSWAQ（配列番号２６８）
という配列を伴う亜型３ｃの位置６０～７８にまたがるペプチドである。

【０２０４】

図５に示されている通り、４つの遺伝子型のＥ１アミノ酸配列を並べて比較した後、５つの型特異的可変領域（Ｖ１～Ｖ５）を同定することができる。

【０２０５】

領域Ｖ１はアミノ酸１９２～２０３を包含し、これは、Ｅ１タンパク質のアミノ末端の１０個のアミノ酸である。図５に示されている通りの以下の非反復配列を推定することができる：

LEWRNTSGLYVL（配列番号８３）
VNYRNASGIYHI（配列番号１２６）
QHYRNISGIYHV（配列番号１２７）
EHYRNASGIYHI（配列番号１２８）
IHYRNASGIYHI（配列番号２２４）
VPYRNASGIYHV（配列番号８４）
VNYRNASGIYHI（配列番号２２５）
VNYRNASGVYHI（配列番号２２６）
VNYHNTSGIYHL（配列番号２２７）
QHYRNASGIYHV（配列番号２２８）
QHYRNVSGIYHV（配列番号２２９）
IHYRNASDGYYI（配列番号２３０）
LOVKNTSSSYMV（配列番号２３１）

【０２０６】

領域Ｖ２はアミノ酸２１３～２２３を包含する。図５に示されている通りＶ２領域内には、以下の非反復配列を見い出すことができる。

VYEADDVILHT（配列番号８５）
VYETEHHILHL（配列番号１２９）

VYEADHHIMHL（配列番号１３０）
VYETDHHILHL（配列番号１３１）
VYEADNLILHA（配列番号８６）
VWQLRAIVLHV（配列番号２３２）
VYEADYHILHL（配列番号２３３）
VYETDNHILHL（配列番号２３４）
VYETENHILHL（配列番号２３５）
VFETVHHILHL（配列番号２３６）
VFETEHHILHL（配列番号２３７）
VFETDHHIMHL（配列番号２３８）
VYETENHILHL（配列番号２３９）
VYEADALILHA（配列番号２４０）

【０２０７】

領域Ｖ３はアミノ酸２３０～２４２を包含する。図５から以下の非反復Ｖ３領域配列を推定することができる。

VQDGNTSTCWTPV（配列番号８７）
VQDGNTSACWTPV（配列番号２４１）
VRVGNQSRCWVAL（配列番号１３２）
VRTGNTSRCWVPL（配列番号１３３）
VRAGNVSRCWTPV（配列番号１３４）
EEKGNISRCWIPV（配列番号２４２）
VKTGNQSRCWVAL（配列番号２４３）
VRTGNQSRCWVAL（配列番号２４４）
VKTGNQSRCWIAL（配列番号２４５）
VKTGNVSRCWIPL（配列番号２４７）
VKTGNVSRCWISL（配列番号２４８）
VRKDNVSRCWVQI（配列番号２４９）

【０２０８】

領域Ｖ４は、アミノ酸２４８～２５７を包含している。図５から以下の非反復Ｖ４領域配列を推定することができる。

VRYVGATTAS（配列番号８９）
APYIGAPLES（配列番号１３５）
APYVGAPLES（配列番号１３６）
AVSMDAPLES（配列番号１３７）
APSLGAVTAP（配列番号９０）
APSFGAVTAP（配列番号２５０）
VSQPGALTKG（配列番号２５１）
VKYVGATTAS（配列番号２５２）
APYIGAPVES（配列番号２５３）
AQHLNAPLES（配列番号２５４）
SPYVGAPLEP（配列番号２５５）
SPYAGAPLEP（配列番号２５６）
APYLGAPLEP（配列番号２５７）
APYLGAPLES（配列番号２５８）
APYVGAPLES（配列番号２５９）
VPYLGAPLTS（配列番号２６０）
APHLRAPLSS（配列番号２６１）
APYLGAPLTS（配列番号２６２）

【０２０９】

領域Ｖ５はアミノ酸２９４～３０３を包含している。図５から以下の非反復Ｖ５領域ペ

プチドを推定することができる。
RPRRHQTVQT（配列番号９１）
QPRRHWTTQD（配列番号１３８）
RPRRHWTTQD（配列番号１３９）
RPRQHATVQN（配列番号９２）
RPRQHATVQD（配列番号２６３）
SPQHHKFVQD（配列番号２６４）
RPRRLWTTQE（配列番号２６５）
PPRIHETTQD（配列番号２６６）

【０２１０】
アミノ酸位置４７１～４８４にまたがる図１２に示されている通りの５ａ型のＥ２領域（ＨＶＲ－２）内の可変領域も、同様に、
TISYANGSGPSDDK（配列番号２６７）
という配列をもつ本発明に従った好ましいペプチドである。

【０２１１】
上述のペプチドリストはワクチン及び診断法の開発のため特に適している。

【０２１２】
同様に本発明に含まれているのは、それらのペプチド鎖の中に上述のペプチドから誘導された少なくとも５つの隣接アミノ酸を含むあらゆる合成ペプチド又はポリペプチドである。

【０２１３】
特定の実施態様に従うと、本発明は、前記隣接配列が以下のＨＣＶアミノ酸３型配列のいずれかから選択されている、上述の組成物に関する。

【０２１４】
－　図５に示されている通り、コア／Ｅ１領域の位置１４０～３１９にまたがる領域の中の、配列番号１４、１６、１８、２０、２２、２４、２６又は２８（ＨＤ１０、ＢＲ３６、ＢＲ３３配列）に表わされている通りのアミノ酸配列のいずれかに対して７２％以上、好ましくは７４％以上、より好ましくは７７％以上、最も好ましくは８０又は８４％以上の相同性を有する配列；

【０２１５】
－　図５に示されている通り、位置１９２～３１９にまたがるＥ１領域の中の、配列番号１４、１６、１８、２０、２２、２４、２６又は２８（ＨＤ１０、ＢＲ３６、ＢＲ３３配列）に表わされている通りのアミノ酸配列のいずれかに対して７０％以上、好ましくは７２％以上、より好ましくは７５％以上、最も好ましくは８１％以上の相同性を有する配列；

【０２１６】
－　図５に示されている通り、コア領域の位置１～１１０にまたがる領域の中の、配列番号１４８（３ｃ型）；ＢＥ９８に表わされている通りのアミノ酸配列に対して８６％以上、好ましくは８８％以上、最も好ましくは９０％以上の相同性を有する配列；

【０２１７】
－　図７及び１１に示されている通り、ＮＳ３／ＮＳ４領域の位置１６４６～１７６４にまたがる領域の中の、配列番号３０、
３２、３４、３６、３８又は４０（ＨＣＣ１５３、ＨＤ１０、ＢＲ３６配列）に表わされている通りのアミノ酸配列のいずれかに対して７６％以上、好ましくは７８％以上、最も好ましくは８０％以上の相同性を有する配列；

【０２１８】
－　図５に示されている通り、コア／Ｅ１領域の位置１４０～３１９にまたがる領域の中の、配列番号１４、１６、１８、２０、２２、２４、２６又は２８（ＨＤ１０、ＢＲ３６、ＢＲ３３配列）に表わされている通りのアミノ酸配列のいずれかに対して８１％以上、好ましくは８３％以上、最も好ましくは８６％以上の相同性を有する配列；

【０２１９】
－　図５に示されている通り、位置１９２～３１９にまたがるＥ１領域の中の、配列番号１４、１６、１８、２０、２２、２４、２６又は２８（ＨＤ１０、ＢＲ３６、ＢＲ３３配列）に表わされている通りのアミノ酸配列のいずれかに対して８１．５％以上、好ましくは８３％以上、最も好ましくは８６％以上の相同性を有する配列；
【０２２０】
－　図２に示されている通り、ＮＳ５領域の位置２６４５～２７５７にまたがる領域の中の、配列番号１５０（３ｃ型ＢＥ９８）に表わされている通りのアミノ酸配列に対して８６％以上、好ましくは８８％以上、最も好ましくは９０％以上の相同性を有する配列。
【０２２１】
　さらにもう１つの実施態様に従うと、本発明は、前記隣接配列が、以下のＨＣＶアミノ酸４型配列のいずれかから選択されている、上述の組成物に関する。
【０２２２】
－　図５に示されている通り、コア／Ｅ１領域の位置１２７～３１９にまたがる領域の中の、配列番号１１９、１２１及び１２３（ＧＢ３５８、ＧＢ５４９、ＧＢ８０９配列）に表わされている通りのアミノ酸配列のいずれかに対して８０％以上、好ましくは８２％以上、最も好ましくは８４％以上の相同性を有する配列；
【０２２３】
－　図５に示されている通り、コア／Ｅ１領域の位置１４０～３１９にまたがる領域の中の、配列番号１１９、１２１及び１２３（ＧＢ３５８、ＧＢ５４９、ＧＢ８０９配列）に表わされている通りのアミノ酸配列のいずれかに対して、位置１９２～３１９にまたがるＥ１領域の中の７３％以上、好ましくは７５％以上、最も好ましくは７８％以上の相同性を有する配列；
【０２２４】
－　図５に示されている通り、Ｅ１の位置１９２～３１９にまたがる領域の中の、配列番号１１９、１２１又は１２３（ＧＢ３５８、ＧＢ５４９、ＧＢ８０９配列）に表わされている通りのアミノ酸配列のいずれかに対して８５％以上、好ましくは８６％以上、最も好ましくは８７％以上の相同性を有する配列；
【０２２５】
－　図２に示されている通り、ＮＳ５領域の位置２６４５～２７５７にまたがる領域の中の、配列番号１０７、１０９、１１１、１１３、１１５又は１１７（ＧＢ４８、ＧＢ１１６、ＧＢ２１５、ＧＢ３５８、ＧＢ５４９、ＧＢ８０９配列）に表わされている通りのアミノ酸配列のいずれかに対して７３％以上、好ましくは７４％以上、最も好ましくは７５％以上の相同性を有する配列；
【０２２６】
－　図５に示されている通り、コア／Ｅ１領域の中の配列番号１６４又は１６６（ＧＢ８０９及びＣＡＭ６００配列）に表わされている通りの配列のいずれかを有する配列；
【０２２７】
－　図５に示されている通り、Ｅ１領域の中の配列番号１６８、１７０、１７２、１７４、１７６、１７８、１８０、１８２、１８４、１８６、１８８又は１９０（ＣＡＭ６００、ＧＢ８０９、ＣＡＭＧ２２、ＣＡＭＧ２７、ＧＢ５４９、ＧＢ４３８、ＣＡＲ４／１２０５、ＣＡＲ４／９０１、ＧＢ１１６、ＧＢ２１５、ＧＢ９５８、ＧＢ８０９－４配列）に表わされている通りの配列のいずれかを有する配列；
－　ＮＳ５領域の中の配列番号１９２、１９４、１９６、１９８、２００、２０２、２０４、２０６、２０８、２１０、２１２（ＧＢ３５８、ＧＢ７２４、ＢＥ１００、ＰＣ、ＣＡＭ６００、ＣＡＭＧ２２など）に表わされている通りの配列のいずれかを有する配列。
【０２２８】
　上述の４型ペプチドポリペプチドには、Simmonds et al., (1993, EG-29,図５参照）に開示されているコア配列を除いていずれかのＨＣＶ４型ポリタンパク質から選択された少なくとも１つのアミノ酸が含まれる。

【０２２９】
さらにもう１つの態様に従うと、本発明は、前記隣接配列が以下のＨＣＶアミノ酸５型配列のいずれかから選択される上述の通りの組成物に関する。
【０２３０】
－ 図５に示されている通り、配列番号４２、４４、４６、４８、５０、５２又は５４（ＰＣ配列）及び配列番号１５２（ＢＥ９５）に表わされている通りのアミノ酸配列のいずれかに対し、
コア位置１～１９１にまたがる領域の中の９３％以上、好ましくは９４％以上、最も好ましくは９５％以上の相同性を有する配列；
【０２３１】
－ 図５に示されている通り、配列番号４２、４４、４６、４８、５０、５２又は５４（ＰＣ配列）に表わされている通りのアミノ酸配列のいずれかに対し、Ｅ１位置１９２～３１９にまたがる領域の中の７３％以上、好ましくは７４％以上、最も好ましくは７６％以上の相同性を有する配列；
【０２３２】
－ 図５に示されている通り、コア／Ｅ１領域の位置１～３１９にまたがる領域の中の、配列番号、４２、４４、４６、４８、５０、５２、５４、１５４、１５６（ＢＥ９５、ＢＥ１００）（ＰＣ配列）に表わされている通りのアミノ酸配列のいずれかに対して７８％以上、好ましくは８０％以上、最も好ましくは８３％以上の相同性を有する配列；
【０２３３】
－ 図７又は１１に示されている通り、ＮＳ３領域の位置１２８６～１４０３にまたがる領域の中の、配列番号５６又は５８（ＰＣ配列）に表わされているアミノ酸配列のいずれかに対して９０％以上、好ましくは９１％以上、最も好ましくは９２％以上の相同性を有する配列；
【０２３４】
－ 図７又は１１に示されている通り、ＮＳ３／４領域の位置１６４６～１７６４にまたがる領域の中の、配列番号６０又は６２（ＰＣ配列）に表わされている通りのアミノ酸配列のいずれかに対して６６％以上、より特定的には６８％以上、最も特定的には７０％以上の相同性をもつ配列。
【０２３５】
さらにもう１つの実施態様に従うと、本発明は、前記隣接配列が以下のＨＣＶアミノ酸２ｄ型配列のいずれかから選択されている、
上述の組成物に関する。
【０２３６】
－ 図５に示されている通り、コア／Ｅ１領域の位置１～３１９にまたがる領域の中の、配列番号１４４（ＮＥ９２）に表わされている通りのアミノ酸配列に対して８３％以上、好ましくは８５％以上、最も好ましくは８７％以上の相同性を有する配列；
【０２３７】
－ 図１２に示されている通り、配列番号１４４（ＮＥ９２）に表わされている通りのアミノ酸配列に対して、Ｅ１位置１９２～３１９にまたがる領域の中の７９％以上、好ましくは８１％以上、最も好ましくは８４％以上の相同性を有する配列；－ 図２に示されている通り、ＮＳ５領域の位置２６４５～２７５７にまたがる領域の中の、配列番号１４６（ＮＥ９２）に表わされている通りのアミノ酸配列に対して９５％以上、より特定的には９６％以上、最も特定的には９７％以上の相同性を有する配列。
【０２３８】
本発明は又、組換えベクター、特にクローニング及び／又は発現のための組換えベクターに関し、該組換えベクターは、ベクター配列、適切な原核、真核又はウイルスプロモーター配列とそれに続いて上述のヌクレオチド配列を含み、かつ該組換えベクターは裸のＤＮＡとして注入された時、原核又は真核宿主又は生きた哺乳動物の中で、上述の通りのＨＣＶ２型及び／又はＨＣＶ３型及び／又は４型及び／又は５型の誘導ポリペプチドのいず

れか１つの発現を可能にし、そしてより特定的には、該組換えベクターは以下のアミノ酸位置にまたがる以下のＨＣＶ２ｄ型、３型、４型又は５型ポリペプチドのいずれかの発現を可能にする：

【０２３９】

－　位置１で始まり、位置７０と３２６の間の領域内のいずれかの位置で終わるポリペプチド、より特定的には、コアタンパク質の発現のためには、位置１～７０、位置１～８５、位置１～１２０、位置１～１５０、位置１～１９１、位置１～２００にまたがるポリペプチド、そしてコア及びＥ１タンパク質の発現のために位置１～２６３、位置１～３２６にまたがるポリペプチド；

【０２４０】

－　位置１１７と１９２の間の領域内のいずれかの位置で始まり、Ｅ１の発現のためには、位置２６３と３２６の間の領域内のいずれかの位置で終わるポリペプチド、又は推定上の膜アンカーが欠失した形態（位置２６４～２９３±８アミノ酸）；

【０２４１】

－　ＮＳ４領域の発現のために、位置１５５６と１６８８の間の領域内のいずれかの位置で始まり、位置１７３９～１７６４の間の領域内のいずれかの位置で終わるポリペプチド、より特定的にはＮＳ４ａ抗原の発現のために、位置１６５８で始まり、位置１７１１で終わるポリペプチド、より特定的にはＮＳ４ｂタンパク質又はその一部の発現のために位置１７１２で始まり、位置１７４３と１９７２の間、例えば１７１２－１７４３、１７１２－１７６４、１７１２－１７８２、１７１２－１９７２、１７１２－１７８２及び１９０２－１９７２の間で終わるポリペプチド。

【０２４２】

「ベクター」という語は、プラスミド、コスミド、ファージ又はウイルスを含んでもよい。

【０２４３】

E. coli のような細菌、又はS. cerevisiae のような真核細胞、又は培養した脊椎動物又は無脊椎動物の宿主、例えば昆虫細胞、チャイニーズハムスターの卵巣（ＣＨＯ）、ＣＯＳ、ＢＨＫ、及びＭＤＣＫ細胞の中で本発明のポリペプチドを発現させるため、以下の工程が行なわれる：

－　組換えベクターでの適切な細胞宿主の形質転換が、本発明のポリペプチドの１つをコードするヌクレオチド配列に適切な制御要素、特に細胞宿主のポリメラーゼにより認識されるプロモーターが、原核宿主の場合には、ヌクレオチド配列の該細胞宿主内での発現を可能にする適切なリボソーム結合部位（ＲＢＳ）の制御下で挿入される。真核宿主の場合には、どんなシグナル配列又はプリ／プロ配列でも提供することができ、或いは天然のＨＣＶシグナル配列でも利用することができ、例えばＥ１の発現のためには、アミノ酸位置１１７及び１７０の間で始まり、アミノ酸位置１９１で終わるシグナル配列が使用でき、ＮＳ４の発現のためには、アミノ酸位置１６４６と１６５９の間で始まるシグナル配列を使用することができる。

－　前記挿入物の発現を可能にする条件下での前記形質転換された細胞宿主の培養。

【０２４４】

本発明は又、前記ポリペプチドが、上述の通りの発現ベクターを用いて発現された組換えポリペプチドである、上述の組成物にも関する。

【０２４５】

本発明は又、免疫応答を生じさせるため、場合によって薬学的に受容可能なアジュバントを伴って、充分な量の組成物を投与することを含む、哺乳動物好ましくはヒトをＨＣＶに対して免疫化するための方法において使用するための、上述の通りの組成物、より特定的には、コア、Ｅ１又はＮＳ４領域から誘導されたＨＣＶ３型ポリペプチド及び／又はＨＣＶ４型及び／又はＨＣＶ５型ポリペプチド及び／又はＨＣＶ２ｄ型ポリペプチドを含むワクチン組成物にも関する。

【０２４６】

本発明は又、上述の通りの方法を用いて上述の通りの組成物での免疫したとき産生する抗体について、上述の通りのポリペプチドのいずれかと反応する抗体について、及び好ましくはモノクローナル抗体である前記抗体にも関する。

【０２４７】

本発明のモノクローナル抗体は、動物の脾細胞、特に本発明に従ったＨＣＶポリペプチド又はその突然変異体、又は上述のとおりのそのフラグメント、又一方では骨髄腫セルラインの細胞のフラグメントに対して免疫化された、マウス又はラットからの脾細胞から古典的方法に従って形成され、しかも動物の免疫化のために当初用いられたポリペプチドを認識するモノクローナル抗体を産生するハイブリドーマの能力によって選択される可能性の高いあらゆるハイブリドーマによって産生されうる。

【０２４８】

本発明に包まれる抗体は、酵素、螢光又は放射線タイプの適切な標識により標識づけされうる。

【０２４９】

本発明のこの好ましい実施態様に従ったモノクローナル抗体は、Ｈ及びＬ鎖に対しコードするマウス及び／又はヒトゲノムＤＮＡ配列の一部分から、又はＨ及びＬ鎖に対しコードするｃＤＮＡクローンから出発して、組換えＤＮＡ技術を用いて作られるマウスモノクローナル抗体の人体バージョンであってもよい。

【０２５０】

代替的には、本発明のこの好ましい実施態様に従ったモノクローナル抗体は、ヒトモノクローナル抗体であってよい。本発明の実施態様に従ったこれらの抗体は又、３型、４型又は５型ＨＣＶで感染を受けているか又はＨＣＶに対しワクチン接種を受けた患者のヒト末梢血リンパ球から誘導することも可能である。このようなヒトモノクローナル抗体は、例えば重症複合型免疫不全（ＳＣＩＤ）マウスのヒト末梢血リンパ球（ＰＢＬ）再増殖によって調製可能である（最近のレビューについては、Duchosal et al., 1992 を参照のこと）。

【０２５１】

本発明は又、レペルトワークローニング方法（Persson et al., 1991）による組換え抗体の選択のための、本発明のタンパク質、その突然変異体又はそれから誘導されたペプチドの使用にも関する。

【０２５２】

或る種の遺伝子型から誘導されたペプチドに向けられた抗体を、かかるＨＣＶ遺伝子型の検出のため、或いは又治療用薬剤として使用することができる。

【０２５３】

本発明は又、それを含んでいる可能性の高い生物学的試料の中に存在するＨＣＶを検出するため、免疫検定に取込むための少なくとも以下の工程を含む上述の通りの組成物の使用にも関する。

（ｉ）前記ポリペプチドが、ビオチニル化されたポリペプチドであり、ストレプトアビジン又はアビジン複合体を用いて固体基材に共有結合されている状態で、免疫複合体の形成を可能にする適切な条件下で好ましくは固定化された形態で、上述の通りの組成物のいずれかと、ＨＣＶ抗体の存在について分析すべき生物学的試料と接触させる工程；

（ii）未結合成分を除去する工程；

（iii）異種抗体が、適切な条件下で検出可能な標識に接合された状態で、分析すべき試料中に存在する抗体に特異的に結合するこの異種抗体を用いて形成された免疫複合体をインキュベートする工程；

（iv）目視で、又はデンシトメトリーを用いて、前記免疫複合体の存在を検出し、観察されたハイブリダイゼーションパターンから存在するＨＣＶ血清型を推定する工程。

【０２５４】

本発明は又、それを含んでいる可能性の高い生物学的試料の中に存在する単数又は複数のＨＣＶ血清型を検出するため、より特定的には１つの検定フォーマットに組合わされた

検定すべき異なる型のＥ１及びＮＳ４抗原又は抗体を検出するため、血清学的分類検定に取り込むための、少なくとも次の工程を含む上述のとおりの組成物の使用にも関する。

（ｉ）免疫複合体の形成を可能にする適切な条件下で、固定された形態である上述の組成物の少なくとも１つを、単数又は複数の血清型のＨＣＶ抗体又は抗原の存在について分析すべき生物学的試料と接触させる工程；

（ii）未結合成分を除去する工程；

（iii）異種抗体が、適切な条件下で検出可能な標識に接合された状態で、分析すべき試料中に存在する抗体に特異的に結合するこの異種抗体を用いて形成された免疫複合体をインキュベートする工程；

（iv）目視で、又はデンシトメトリーを用いて、前記免疫複合体の存在を検出し、観察された結合パターンから単数又は複数のＨＣＶ血清型の存在を推定する工程。

【０２５５】

本発明は又、上述の方法に従ってＨＣＶの遺伝子型又は存在を決定するため、固体基材上への固定化及び逆相ハイブリダイゼーション検定への取込み、好ましくは膜片のような固体支持体上への平行線としての固定化のための、上述の通りの組成物の使用にも関する。

【０２５６】

従って、本発明は又、それを含んでいる可能性の高い生物学的試料の中に存在する、上述の通りのＨＣＶ遺伝子型の存在を検出するための次のものを含むキットに関する。

－場合によって、上述のプライマー又はその他のあらゆるＨＣＶ３型及び／又はＨＣＶ４型及び／又はＨＣＶ５型又は万能ＨＣＶプライマーの中から選ばれたいずれかのプライマーを含む少なくとも１つのプライマー組成物、

－好ましくは固体基材上に、より好ましくは１つの同じ膜片上に固定化されている状態の、上述の通りの少なくとも１つのプローブ組成物、

－これらのプローブと場合によって増幅された産物との間のハイブリダイゼーション反応が行なえるようにする緩衝液又はそれを作るのに必要な成分、

－上記ハイブリダイゼーションの結果得られたハイブリッドを検出するための手段、

－場合によっては同様に、観察されたハイブリダイゼーションパターンから試料中に存在するＨＣＶ遺伝子型を推定するための、自動化された走査及び解釈用装置。

【０２５７】

遺伝子型は又、形成された免疫複合体を検出するべく、ＰＣＲにより後で増幅させることのできる、あらゆるポリヌクレオチド配列に連鎖されている上述の通りの型特異的抗体を用いて検出することも可能である（Immuno-PCR, Sano et al., 1992)；

【０２５８】

本発明は又、それを含んでいる可能性の高い生物学的試料の中に存在する上述の通りのＨＣＶ抗体の存在を検出するため、次のものを含むキットに関する。

－好ましくは固定基材上に、より好ましくは１つの同じ膜片上に固定されている状態の、好ましくはＨＣＶ１型、ＨＣＶ２型又はその他ＨＣＶ型からのその他のポリペプチド又はペプチドと組合せた形での、上述の少なくとも１つのポリペプチド組成物；

－これらのポリペプチドと生物学的試料中に存在するＨＣＶに対する抗体との間の結合反応を可能にする緩衝液又はそれを作るのに必要な成分、

－　上記結合反応によって形成された免疫複合体を検出するための手段、

－　場合によっては同様に、観察された結合パターンから試料中に存在するＨＣＶ遺伝子型を推定するための、自動化された走査及び解釈用装置。

【実施例】

【０２５９】

例１：ＨＣＶ３型のＮＳ５ｂ領域

一定数のブラジル人の献血者からのＩＮＮＯ－ＬｉＰＡ　ＨＣＶ研究キット（Stuyer et al., 1993)を用いて選択された３型血清は、ＨＣＶ抗体ＥＬＳＩＡ（InnotestＨＣＶＡｂII；Innogenetics）及び／又はＩＮＮＯ－ＬＩＡ　ＨＣＶＡｂII確認試験（Innogeneti

cs）において陽性であった。第一回目のＰＣＲ反応後に陽性であった血清（Stuyver et al., 1993）のみを、さらなる研究のために保持した。

逆転写及びネステッドＰＣＲ；ＲＮＡを５０μｌの血清から抽出し、記述された通りに（Stuyver et al., 1993）ｃＤＮＡ合成に付した。このｃＤＮＡをＰＣＲのための鋳型として用い、この合計体積は、各プライマーを１０pmolesずつと３μｌの１０×Ｐｆｕ緩衝液２（Stratagene）及び２．５ＵのＰｆｕＤＮＡポリメラーゼ（Stratagene）を含め５０μｌとなるまで増大させた。１分間９４℃、１分間５０℃及び２分間７２℃から成る４５サイクルにわたりｃＤＮＡを増幅させた。増幅させた産物を電気泳動により分離し、記述されている通りに隔離、クローニング及び配列を決定した（Stuyver et al., 1993）。

以下の通り、公表された配列（Mori et al., 1992)からＮＳ５領域内の３ａ型及び３ｂ型に特異的なプライマーを選択した：

３ａ型について：

HCPr161(+):5'-ACCGGAGGCCAGGAGAGTGATCTCCTCC-3'（配列番号６３）及び

HCPr162(-):5'-GGGCTGCTCTATCCTCATCGACGCCATC-3'（配列番号６４）

３ｂ型について：

HCPr163(+):5'-GCCAGAGGCTCGGAAGGCGATCAGCGCT-3'（配列番号６５）及び

HCPr164(-):5'-GAGCTGCTCTGTCCTCCTCGACGCCGCA-3'（配列番号６６）

ラインプローブ検定（ＬｉＰＡ）（Stuyver et al., 1993）を用いて、７つの高力価３型血清を選択し、その後３ａ型についてはプライマーセットＨＣＰｒ１６１／１６２、そして３ｂ型についてはＨＣＰｒ１６３／１６４を用いて分析した。これらの血清のどれも３ｂ型プライマーに対してポジティブでなかった。血清ＢＲ３６（ＢＲ３６－２３）、血清ＢＲ３３（ＢＲ３３－２）及び血清ＢＲ３４（ＢＲ３４－４）の３ａ型プライマーを用いて得たＮＳ５　ＰＣＲフラグメントを、クローニングのために選択した。以下の配列を、ＰＣＲフラグメントから得た：

フラグメントＢＲ３４－４から：

ＢＲ３４－４－２０（配列番号１）、ＢＲ３４－４－１９（配列番号３）、

フラグメントＢＲ３６－２３から：

ＢＲ３６－２３－１８（配列番号５）、ＢＲ３６－２３－２０（配列番号７）、

フラグメントＢＲ３３－２から：

ＢＲ３３－２－１７（配列番号９）、ＢＲ３３－２－２１（配列番号１１）。

既知の配列との配列番号１、５及び９をもつ配列の並べての比較が、図１に示されている。推定されたアミノ酸配列の並べての比較は、図２に示されている。３つの分離株は互いに（約９５％の相互相同性）そして３ａ型の公表された配列（Mori et al., 1992)に対して非常に近い関係をもっているが、１型及び２型の配列に対しては遠位に関連しているにすぎない（表５）。従って、ＬｉＰＡ選択された３型血清からのＮＳ５配列が実際３型ゲノムから誘導されていることが明確に実証されている。その上、Stuyver et al., (1993)に記述されている通りにいかなる５′ＵＲ配列も決定されなかった血清ＢＲ３４のＮＳ５領域を分析することにより、ＬｉＰＡを用いた型分類とヌクレオチド配列決定から推定される通りの遺伝子型分類の間には、さらに優れた相関関係が立証された。

【０２６０】

例２：ＨＣＶ３型のコア／Ｅ１領域

ＨＣＶ－１（Choo et al., 1991)、ＨＣＶ－Ｊ（Kato et al., 1990)、ＨＣ－Ｊ６（Okamoto et al,, 1991）及びＨＣ－Ｊ８（Okamoto et al., 1992）の配列を並べて比較した後、わずかな配列変異のこれらの領域の中のＰＣＲプライマーを選択した。プライマーHCPr23(+):5'-CTCATGGGGTACATTCCGCT-3'（配列番号６７）及びHCPr54(-):5'-TATTACCAGTTCATCATCATATCCCA-3'（配列番号６８）

を、３９２ＤＮＡ／ＲＮＡ合成装置（Applied Bio-systems)上で合成した。このプライマーセットは、アミノ酸１４０～３１９（Katoet al., 1990）；コアのカルボキシ末端からの５２個のアミノ酸及びＥ１の１２８個のアミノ酸（Kato et al., 1990)をコードするヌクレオチド３９７～９５７からの配列を増幅するために選択された。増幅産物ＢＲ３６－

９、ＢＲＲ３３－１及びＨＤ１０－２を記述どおり（Stuyver et al., 1993）にクローニングした。ＰＣＲフラグメントから以下のクローンを得た：
フラグメントＨＤ１０－２から：
ＨＤ１０－２－５（配列番号１３）、ＨＤ１０－２－１４（配列番号１５）、ＨＤ１０－２－２１（配列番号１７）
フラグメントＢＲ３６－９から；
ＢＲ３６－９－１３（配列番号１９）、ＢＲ３６－９－２０（配列番号２１）
フラグメントＢＲ３３－１から；
ＢＲ３３－１－１０（配列番号２３）、ＢＲ３３－１－１９（配列番号２５）、ＢＲ３３－１－２０（配列番号２７）。

既知のＥ１配列との配列番号１３、１９及び２３をもつ３型Ｅ１ヌクレオチド配列（ＨＤ１０、ＢＲ３６、ＢＲ３３）の並べての比較が図４に示されている。血清ＨＤ１０及びＢＲ３６からのＥ１クローン中には４つの変異が検出され、一方ＢＲ３３では２つしか発見されなかった。位置４０（Ｌ～Ｐ）及び１２５（Ｍ～Ｉ）での突然変異を除いて、全てサイレントの３番目の文字の変異である。１型及び２型のプロトタイプ配列をもつ３型Ｅ１領域（コア無し）
の相同性は、表５に描かれている。

合計で、異なる３つの分離株のコア／Ｅ１領域を網羅する８つのクローンを配列決定し、図５に示されている通り、既知の遺伝子型（表３）とＥ１部分を比較した。推定されたアミノ酸配列のコンピュータ解析の後、１ｂ型との類比を通して（Hijikata et al., 1991)ＬＥＷＲＮ配列（位置１９２、図５）より前での分割を促進する可能性のあるシグナル－アンカー配列がコアのカルボキシ末端で検出された。ＨＤ１０－２クローンの１つにおけるＬ－Ｐ突然変異はこのシグナル－アンカー領域内にあり、シグナルペプチダーゼによる認識を損なう可能性がある（コンピュータ予測）。かかる置換の例は前述の配列中のこの位置には全く発見されなかったため、
この突然変異は逆転写酵素又はＰｆｕポリメラーゼの誤取り込みの結果としてもたらされたものである可能性がある。同様にＨＣＶ１ａ型及び２型にも存在する４つのアミノ末端潜在的Ｎ連鎖グリコシル化部位は、３型においても保たれたままである。１ｂ型の中のＮ－グリコシル化部位（aa250, Kato et al., 1990）は、この亜型の独特の特徴でありつづけている。位置２７９においてアスパラギン酸を含む推定上の膜内外領域（ａａ２６４～２９３、コンピュータ予測）及び全てのＥ１システインは、３つのＨＣＶ型全ての中で保存されている。以下の超可変領域を明確に表わすことができる：ａａ１９２から２０３までのＶ１（番号づけはKato et al., 1990 に従う）、Ｖ２（２１３～２２３）、Ｖ３（２３０～２４２）、Ｖ４（２４８～２５７）及びＶ５（２９４～３０３）。
このような親水性領域は、宿主の防御メカニズムに露呈されていると考えられている。従ってこの可変性は、宿主の免疫応答によって誘発された。今日知られている全ての１ｂ型分離株内のＶ４領域中及びＨＣ－Ｊ８のＶ５領域（２ｂ型）中の付加的な推定上のＮ連鎖グリコシル化部位は、免疫応答のモジュレーションにさらに貢献する可能性がある。従って、３型及び４型配列についての本発明におけるこの領域の分析は、将来のワクチン及び診断法の開発にとってきわめて重要なものとなる、Ｅ１のＶ領域にあるエピトープの明確な描写において一助となるものであった。

【０２６１】

例３：ＨＣＶ３型のＮＳ３／ＮＳ４領域

ＮＳ３／ＮＳ４境界領域については、ＨＣＶ－１（Choo et al., 1991)、ＨＣＶ－Ｊ（Kato et al., 1990)、ＨＣ－Ｊ６（Okamoto et al., 1991）及びＨＣ－Ｊ８（Okamoto et al., 1992）の配列を並べて比較した後、ほとんど配列可変性の無い領域の中の以下のプライマーセットが選択された（クローニングを目的として付加されたヌクレオチドについては小文字レタリングが使用されている）；
セットＡ：
HCPr116(+): 5'-ttttAAATACATCATGRCITGYATG-3'（配列番号６９）

HCPr66(-): 5'-ctattaTTGTATCCCRCTGATGAARTTCCACAT-3'（配列番号７０）
セットＢ：
HCPr116(+): 5'-ttttAAATACATCATGRCITGYATG-3'（配列番号６９）
HCPr118(-): 5'-actagtcgactaYTGIATICCRCTIATRWARTTCCACAT-3' （配列番号７１）
セットＣ：
HCPr117(+): 5'-ttttAAATACATCGCIRCITGCATGCA-3'（配列番号７２）
HCPr66(-): 5'-ctattaTTGTATCCCRCTGATGAARTTCCACAT-3'（配列番号７０）
セットＤ：
HCPr117(+): 5'-ttttAAATACATCGCIRCITGCATGCA-3'（配列番号７２）
HCPr118(-): 5'-actagtcgactaYTGIATICCRCTIATRWARTTCCACAT-3' （配列番号７１）
セットＥ：
HCPr116(+): 5'-ttttAAATACATCATGRCITGYATG-3'（配列番号６９）
HCPr119(-): actagtcgactaRTTIGCIATIAGCCG/TRTTCATCCAYTG-3'(配列番号７３）
セットＦ：
HCPr117(+): 5'-ttttAAATACATCGCIRCITGCATGCA-3'（配列番号７２）
HCPr119(-): actagtcgactaRTTIGCIATIAGCCG/TRTTCATCCAYTG-3'(配列番号７３）
セットＧ：
HCPr131(+): 5'-ggaattctagaCCITCITGGGAYGARAYITGGAARTG-3' （配列番号７４）
HCPr66(-): 5'-ctattaTTGTATCCCRCTGATGAARTTCCACAT-3'（配列番号７０）
セットＨ：
HCPr130(+): 5'-ggaattctagACIGCITAYCARGCIACIGTITGYGC-3'（配列番号７５）
HCPr66(-): 5'-ctattaTTGTATCCCRCTGATGAARTTCCACAT-3'（配列番号７０）
セットＩ：
HCPr134(+): 5'-CATATAGATGCCCACTTCCTATC-3'（配列番号７６）
HCPr66(-): 5'-ctattaTTGTATCCCRCTGATGAARTTCCACAT-3'（配列番号７０）
セットＪ：
HCPr131(+): 5'-ggaattctagaCCITCITGGGAYGARAYITGGAARTG-3' （配列番号７４）
HCPr118(-): 5'-actagtcgactaYTGIATICCRCTIATRWARTTCCACAT-3' （配列番号７１）
セットＫ：
HCPr130(+): 5'-ggaattctagACIGCITAYCARGCIACIGTITGYGC-3'（配列番号７５）
HCPr118(-): 5'-actagtcgactaYTGIATICCRCTIATRWARTTCCACAT-3' （配列番号７１）
セットＬ：
HCPr134(+): 5'-CATATAGATGCCCACTTCCTATC-3'（配列番号７６）
HCPr118(-): 5'-actagtcgactaYTGIATICCRCTIATRWARTTCCACAT-3' （配列番号７１）
セットＭ：
HCPr3(+): 5'-GTGTGCCAGGACCATC-3'（配列番号７７）及び
HCPr4(-): 5'-GACATGCATGTCATGATGTA-3（配列番号７８）
セットＮ：
HCPr3(+): 5'-GTGTGCCAGGACCATC-3'（配列番号７７）及び
HCPr118(-): 5'-actagtcgactaYTGIATICCRCTIATRWARTTCCACAT-3' （配列番号７１）
セットＯ：
HCPr3(+): 5'-GTGTGCCAGGACCATC-3'（配列番号７７）及び
HCPr66(-): 5'-ctattaTTGTATCCCRCTGATGAARTTCCACAT-3'（配列番号７０）

【０２６２】

３型血清から得られたランダムプライミングされたｃＤＮＡ上では、プライマーセットＡ、Ｂ、Ｃ、Ｄ、Ｅ、Ｆ、Ｇ、Ｈ、Ｉ、Ｊ、
Ｋ、Ｌ、Ｍ及びＮでいかなるＰＣＲ産物も得られなかった。プライマーセットＯについては、フラグメントは３型血清から増幅できなかった。しかしながら、少数の弱可染色バンドを含むスミアが血清ＢＲ３６から得られた。アガロースゲル上で３００bp前後の部域から精製されクローニングされた複数のＤＮＡフラグメントの配列分析の後、わずか１つの

クローンＨＣＣ１５３（配列番号２９）のみがＨＣＶ情報を含むことが示された。プライマＨＣＰｒ１５２を設計するのにこの配列を使用した。

【０２６３】

ひき続き、新しいプライマーセットＰをいくつかの血清についてテストした。

セットＰ：

HCPr152(+): 5'-TACGCCTCTTCTATATCGGTTGGGGCCTG-3'（配列番号７９）及び

HCPr66(-): 5'-CTATTATTGTATCCCRCTGATGAARTTCCACAT-3'（配列番号７０）

血清ＢＲ３６（ＢＲ３６－２０）及び血清ＨＤ１０（ＨＤ１０－１）から４６４－bpのＨＣＰｒ１５２／６６フラグメントが得られた。以下のクローンをこれらのＰＣＲ産物から得た：

フラグメントＨＤ１０－１から：

ＨＤ１０－１－２５（配列番号３１）、ＨＤ１０－１－３（配列番号３３）、

フラグメントＢＲ３６－２０から：

ＢＲ３６－２０－１６４（配列番号３５）、ＢＲ３６－２０－１６５（配列番号３７）、ＢＲ３６－２０－１６６（配列番号３９）。

配列番号２９、３１、３３、３５、３７又は３９をもつクローンから得られたヌクレオチド配列は、図６にその他の型のＨＣＶのプロトタイプ分離株の配列と並べて比較した状態で示されている。１つのサイレント第３文字変異に加えて、１つの第２文字突然変異の結果として、ＢＲ３６の推定されたアミノ酸配列（図７）の位置１７５において１つのＥ－Ｇ置換がもたらされた。血清ＨＤ１０クローンは完全に同一であった。２つの３型分離株は、このＮＳ４領域の中のほぼ９４％相同であった。その他の型との相同性は表５に示されている。

【０２６４】

例４：型特異的ペプチドに対する抗－ＮＳ４応答の分析

ＮＳ４配列は、重要なエピトープクラスターについての情報を含んでいることから、又この領域に向かって抗体はほとんど交叉感受性を示さないと思われる（Chan et al., 1991)ため、この領域に対する型特異的抗体応答を調査することは行なう価値のあることであった。３つの遺伝子型ＨＣＶ－１（Choo et al., 1991)、ＨＣ－Ｊ６（Okamoto et al., 1991）及びＢＲ３６（本発明）の各々について、アミノ酸１６８８及び１７４３の間のエピトープ領域を網羅する３つの２０－mer ペプチドを合成した（表６に描かれている通り）。合成ペプチドを、膜片上に平行線として適用した。ＩＮＮＯ－ＬＩＡ　ＨＣＶＡｂIIキット（Innogenetics, Antwerp)について記述された手順に従って、抗－ＮＳ４抗体及び顕色の検出を行なった。9050 Pep Sxnthisiger (Millip又はe)上でペプチド合成を行なった。１５のＬｉＰＡ選択された３型血清とのインキュベーションの後、９つの試料は少なくとも２つの異なる型のＮＳ４ペプチドに対して反応性を示したが、１型及び２型の２つのＮＳ４型ペプチドに対しては陰性（血清ＢＲ３３及びＨＤ３０）又は不確定（血清ＤＫＨ）であるのに対して、３型ペプチドに対しては３つの血清（血清ＢＲ３３、ＨＤ３０及びＤＫＨ）には明らかに陽性の反応が見られた；試験した３つの血清は抗ＮＳ４抗体に対しては陰性という試験結果であった（図８）。上述のとおり及び図８に示されている通りの９つのペプチドでコーティングされた同じ膜片を用いて、３８の１型血清（１ａ型１０個、１ｂ型２８個）、１１の２型血清（２ａ型１０個、２ｂ型１個）、１２の３ａ型血清及び２つの４型血清（ＬｉＰＡ手順により決定された通り）も同様にテストした。表８に示されている通り、血清は、ＮＳ４エピトープと遺伝子型特異的な形で反応した。これらの結果は、幾人かの患者の血清の中に型特異的抗ＮＳ４抗体を検出することができるということを立証している。このような遺伝子型特異的合成ペプチドは、例えば上述のとおりの９つのペプチドの混合物など、血清型分類検定を開発するために利用されうるか、又はＨＣＶ４型又は６型遺伝子型から又はアミノ酸１６８８と１７４３の間の領域に対応する新しい遺伝子型からのＮＳ４ペプチド、又はＥ１タンパク質又はその欠失突然変異体と組合わされた６つの遺伝子型のうちの少なくとも１つのアミノ酸１６８８と１７４３の間のＮＳ４領域の合成ペプチド、又は少なくとも１つの遺伝子型の合成Ｅ１ペプチドと組合わ

せることができる。かかる組成物はさらには、例えばコアタンパク質のアミノ酸６８と９１の間の領域、又さらに好ましくはアミノ酸６８と７８の間の領域を含む型特異的ペプチド又はタンパク質でさらに伸長することができる。さらに、このような型特異的抗原は、現在の診断用スクリーニング及び確認検定及び／又はＨＣＶワクチンを改善するために有利に使用することができる。

【０２６５】

例５：ＨＣＶ５型のコア及びＥ１領域

唯一回のＰＣＲによるフラグメントのクローニングを可能にする高力価のＨＣＶ　ＲＮＡを検出することができるため、前述の通り（Stuyver et al., 1993）プロトタイプラインプローブ検定において陽性に反応した一群の血清から、試料ＢＥ９５を選択した。５型のいずれのコーディング領域からいかなる配列もまだ開示されたことがないため、ＨＣＶ－１（Choo et al., 1991)、ＨＣＶ－Ｊ（Kato et al., 1990)、ＨＣ－１６（Okamoto et al., 1991）、ＨＣ－Ｊ８（Okamoto et al., 1992）の配列及び本発明の新しい３型配列ＨＤ１０、ＢＲ３３及びＢＲ３６（図５、例２参照）を並べて比較した後、わずかな配列変異の領域の中のＰＣＲ増幅のための合成オリゴヌクレオチドを選択した。３９２ＤＮＡ／ＲＮＡ合成装置（Applied Biosystems）上で、以下のプライマーセットを合成した：

セット１：

HCPr52(+): 5'-atgTTGGGTAAGGTCATCGATACCCT-3'（配列番号８０）

及び

HCPr54(-): 5'-ctattaCCAGTTCATCATCATATCCCA-3'（配列番号７８）

セット２：

HCPr41(+): 5'-CCCGGGAGGTCTCGTAGACCGTGCA-3'（配列番号８１）

及び

HCPr40(-): 5'-ctattaAAGATAGAGAAAGAGCAACCGGG-3'（配列番号８２）

セット３：

HCPr41(+): 5'-CCCGGGAGGTCTCGTAGACCGTGCA-3'（配列番号８１）

及び

HCPr54(-): 5'-ccattaCCAGTTCATCATCATATCCCA-3'（配列番号７８）

上述のとおり（Stuyver et al., 1993）５型分離株ＰＣの領域を増幅するため、３セットのプライマーを用いた。Ｅ１領域を増幅するためにセット１を使用し、フラグメントＰＣ－４が生成された。セット２はコア領域を生成するべく設計され、そしてフラグメントＰＣ－２を生成した。セット３はコア及びＥ１領域を増幅するために使用され、フラグメントＰＣ－３を生成した。これらのフラグメントを上述のとおりにクローニングした（Stuyver et al., 1993）、ＰＣＲフラグメントから以下のクローンを得た：

フラグメントＰＣ－２から：

ＰＣ－２－１（配列番号４１）、ＰＣ－２－６（配列番号４３）、

フラグメントＰＣ－４から：

ＰＣ－４－１（配列番号４５）、ＰＣ－４－６（配列番号４７）、

フラグメントＰＣ－３から：

ＰＣ－３－４（配列番号４９）、ＰＣ－３－８（配列番号５１）。

図９には、配列番号４１、４３、４５、４７、４９及び５１を伴う配列の並べての比較が示されている。図５に描かれている通り３つのＰＣＲフラグメントの各々からクローニングされた２つのクローンの各々から、ヌクレオチド１と９５７の間の領域と重複する共通アミノ酸配列（ＰＣ　Ｃ／Ｅ１；配列番号５４）を推定することができる（Kato et al., 1990)。６つのクローンは、互いに非常に近い関係をもっている。（約９９．７％の相互相同性）。

図３には、コア／Ｅ１領域からの既知のヌクレオチド配列との配列番号５３又は１５１（分離株ＢＥ９５からのＰＣ　Ｃ／Ｅ１）を伴うヌクレオチド配列の並べての比較が示されている。クローンは、１型、２型、３型及び４型配列に対し遠位に関連づけされているにすぎない（表５）。

【０２６６】

例６：ＨＣＶ５型のＮＳ３／ＮＳ４領域

例５に記されている分離株ＢＥ９５のＮＳ３／ＮＳ４領域をクローニングするための試みを行なった。ＨＣＶ－１（Choo et al., 1991)、ＨＣＶ－Ｊ（Kato et al., 1991)、ＨＣ－Ｊ６（Okamoto et al., 1991）及びＨＣ－Ｊ８（Okamoto et al., 1992）の配列、及び本発明の３型血清から得られた配列（配列番号３１、３３、３５、３７及び３９）を並べて比較した後、配列可変性がほとんど無い領域の中の、以下のプライマーセットを選択した；クローニングを目的として付加されたヌクレオチドに対しては、小文字レタリングが用いられている。

セットＡ：
HCPr116(+): 5'-ttttAAATACATCATGRCITGYATG-3'（配列番号６６）
HCPr66(-): 5'-ctattaTTGTATCCCRCTGATGAARTTCCACAT-3'（配列番号７０）
セットＢ：
HCPr116(+): 5'-ttttAAATACATCATGRCITGYATG-3'（配列番号６９）
HCPr118(-): 5'-actagtcgactaYTGIATICCRCTIATRWARTTCCACAT-3'（配列番号７１）
セットＣ：
HCPr117(+): 5'-ttttAAATACATCGCIRCITGCATGCA-3'（配列番号７２）
HCPr66(-): 5'-ctattaTTGTATCCCRCTGATGAARTTCCACAT-3'（配列番号７０）
セットＤ：
HCPr117(+): 5'-ttttAAATACATCGCIRCITGCATGCA-3'（配列番号７２）
HCPr118(-): 5'-actagtcgactaYTGIATICCRCTIATRWARTTCCACAT-3'（配列番号７１）
セットＥ：
HCPr116(+): 5'-ttttAAATACATCATGRCITGYATG-3'（配列番号６９）
HCPr119(-): actagtcgactaRTTIGCIATIAGCCG/TRTTCATCCAYTG-3'（配列番号７３）
セットＦ：
HCPr117(+): 5'-ttttAAATACATCGCIRCITGCATGCA-3'（配列番号７２）
HCPr119(-): actagtcgactaRTTIGCIATIAGCCG/TRTTCATCCAYTG-3'（配列番号７３）
セットＧ：
HCPr131(+): 5'-ggaattctagaCCITCITGGGAYGARAYITGGAARTG-3'（配列番号７４）
HCPr66(-): 5'-ctattaTTGTATCCCRCTGATGAARTTCCACAT-3'（配列番号７０）
セットＨ：
HCPr130(+): 5'-ggaattctagACIGCITAYCARGCIACIGTITGYGC-3'（配列番号７５）
HCPr66(-): 5'-ctattaTTGTATCCCRCTGATGAARTTCCACAT-3'（配列番号７０）
セットＩ：
HCPr134(+): 5'-CATATAGATGCCCACTTCCTATC-3'（配列番号７６）
HCPr66(-): 5'-ctattaTTGTATCCCRCTGATGAARTTCCACAT-3'（配列番号７０）
セットＪ：
HCPr131(+): 5'-ggaattctagaCCITCITGGGAYGARAYITGGAARTG-3'（配列番号７４）
HCPr118(-): 5'-actagtcgactaYTGIATICCRCTIATRWARTTCCACAT-3'（配列番号７１）
セットＫ：
HCPr130(+): 5'-ggaattctagACIGCITAYCARGCIACIGTITGYGC-3'（配列番号７５）
HCPr118(-): 5'-actagtcgactaYTGIATICCRCTIATRWARTTCCACAT-3'（配列番号７１）
セットＬ：
HCPr134(+): 5'-CATATAGATGCCCACTTCCTATC-3'（配列番号７６）
HCPr118(-): 5'-actagtcgactaYTGIATICCRCTIATRWARTTCCACAT-3'（配列番号７１）
セットＭ：
HCPr3(+): 5'-GTGTGCCAGGACCATC-3'（配列番号７７）及び
HCPr4(-): 5'-GACATGCATGTCATGATGTA-3'（配列番号７８）
セットＮ：
HCPr3(+): 5'-GTGTGCCAGGACCATC-3'（配列番号７７）及び

HCPr118(-): 5'-actagtcgactaYTGIATICCRCTIATRWARTTCCACAT-3'（配列番号７１）
セットＯ：
HCPr3(+): 5'-GTGTGCCAGGACCATC-3'（配列番号７７）及び
HCPr66(-): 5'-ctattaTTGTATCCCRCTGATGAARTTCCACAT-3'（配列番号７０）
３型血清から得られたランダムプライミングされたｃＤＮＡ上では、プライマーセットＡ、Ｂ、Ｃ、Ｄ、Ｅ、Ｆ、Ｇ、Ｈ、Ｉ、Ｊ、
Ｋ、Ｌ、Ｍ及びＮを用いていかなるＰＣＲ産物も得られなかった。
しかしながら、セットＯは、予想された６２８の塩基対の代りに約１４５０塩基対と見積もられたＰＣＲ人工フラグメントと思われるものを生成した。ＰＣＲ人工フラグメントが実験中にターゲティングされた遺伝子又はゲノムについての情報を含んでいることは予想されないものの、フラグメントＰＣ－１と呼ばれたこの人工フラグメントのクローニングに努力が払われた。フラグメントＰＣ－１から、以下のクローンが得られた：
ＰＣ－１－３７（配列番号５９及び配列番号５５）、ＰＣ－１－４８（配列番号６１及び配列番号５７）。
クローンの５′末端及び３′末端から得た配列は、配列番号５５、５７、５９及び６１内に示されており、配列番号１９７及び１９９をもつ完全な配列は、図１０でその他のＨＣＶ型のプロトタイプ分離株の配列と並べて比較した状態で示されており、推定されたアミノ酸配列の並べての比較は図１１及び図７に示されている。
驚くべきことに、ＰＣＲ人工クローンはＨＣＶ情報を含んでいた。
ＨＣＶゲノム内の配列の位置は、クローニングされたＰＣＲ人工フラグメントの見積もられたサイズである１，４３７個のヌクレオチドの隣接ＨＣＶ配列と適合性あるものである。プライマーＨＣＰｒ６６は、ＨＣＶゲノム内の予想された位置で適正にプライミングした。従って、プライマーＨＣＰｒ３は、ＨＣＶゲノム内のその正当な位置より８０９ヌクレオチド上流の位置で偶発的に誤プライミングしたにちがいない。５型のコーディング領域からはいかなる配列情報も入手可能でないことから、これを予想することはできなかった。

【０２６７】
例７：ＨＣＶ５型のＥ２領域
ＨＣＶ５型のＥ２領域の一部分を増幅することをねらいとした実験のため、血清ＢＥ９５を選択した。
ＨＣＶ－１（２）、ＨＣＶ－Ｊ（１）、ＨＣ－Ｊ６（３）及びＨＣ－Ｊ８（４）の配列を並べて比較した後、ほとんど配列変異の無いこれらの領域の中の、ＰＣＲプライマーを選んだ。
Ｅ２／ＮＳ１領域のアミノ末端領域を増幅するためプライマーHCPr109(+): 5'-TGGGATATGATGATGAACTGGTC-3'（配列番号１４１）及びHCPr14(-): 5'-CCAGGTACAACCGAACCAATTGCC-3'（配列番号１４２）を組合わせ、３９２ＤＮＡ／ＲＮＡ合成装置（Applied Biosystems）上で合成した。プライマーＨＣＰｒ１０９及びＨＣＰｒ１４を用いて、Ｅ２アミノ末端をコードする領域からの４９２個の塩基とＥ１カルボキシ末端に対応する１６９個のヌクレオチドを含む、６６１bpのＰＣＲフラグメントを生成させた。
図１０では、既知の配列との配列番号１５８を伴う５型Ｅ１／Ｅ２配列の並べての比較が示されている。推定されたタンパク質配列を異なる遺伝子型（例１２、アミノ酸３２８～５４６）と比較した。Ｅ１領域の中のは、追加の構造的に重要なモチーフは全く見られなかった。Ｅ２のアミノ末端部分は、その他の遺伝子型と比較したとき超可変であった。このＥ２領域内に６つのＮ－グリコシル化部位全て及び７つのシステイン残基全てが保たれていた。並べての比較を保持するためには、２型の場合のようにａａ４８０と４８１の間ではなく、３ａ型の場合のようにａａ４７４と４７５の間に欠落を導入することが必要であった。

【０２６８】
例８：ＨＣＶ４型のＮＳ５ｂ領域
ラインプローブ検定（LiPA, Stuyver et al., 1993）を用いて選択された４型血清ＧＢ

４８、ＧＢ１１６、ＧＢ２１５及びＧＢ３５８、ならびにこのＬｉＰＡを用いて型分類され得なかった血清ＧＢ５４９及びＧＢ８０９（万能プローブでハイブリダイゼーションだけが観察された）を、ガボン人患者から選択した。５′非翻訳領域についての第１回のＰＣＲ反応の後、これらの血清は全て陽性であり（Stuyver et al., 1993）、さらなる研究のためこれらを保持した。

血清からＲＮＡを分離し、例１で記述されている通りにｃＤＮＡを合成した。

HCPr206(+): 5'-TGGGGATCCCGTATGATACCCGCTGCTTTGA-3'（配列番号１２４）及び

HCPr207(-): 5'-GGCGGAATTCCTGGTCATAGCCTCCGTGAA-3'（配列番号１２５）；

といった公表された配列の並べての比較後、ＮＳ５領域内の万能プライマーを選択し、３９２ＤＮＡ／ＲＮＡ合成装置（Applied Biosystesm）でこれを合成した。ラインプローブ検定（ＬｉＰＡ）

を用いて、分類され得なかった４つの高力価の４型血清及び２型血清を選択し、その後プライマーセットＨＣＰｒ２０６／２０７で分析した。血清ＧＢ４８（ＧＢ４８－３）、血清ＧＢ１１６（ＧＢ１１６－３）、血清ＧＢ２１５（ＧＢ２１５－３）、血清３５８（ＧＢ３５８－３）、血清ＧＢ５４９（ＧＢ５４９－３）及び血清ＧＢ８０９（ＧＢ８０９－３）からのこれらのプライマーを用いて得られたＮＳ５　ＰＣＲフラグメントをクローニングのために選択した。ＰＣＲフラグメントから以下の配列を得た：

フラグメントＧＢ４８－３から：ＧＢ４８－３－１０（配列番号１０６）、

フラグメントＧＢ１１６－３から：ＧＢ１１６－３－５（配列番号１０８）、

フラグメントＧＢ２１５－３から：ＧＢ２１５－３－８（配列番号１１０）、

フラグメントＧＢ３５８－３から：ＧＢ３５８－３－３（配列番号１１２）、

フラグメントＧＢ５４９－３から：ＧＢ５４９－３－６（配列番号１１４）

フラグメントＧＢ８０９－３から：ＧＢ８０９－３－１（配列番号１１６）

図１に、既知の配列との、配列番号１０６、１０８、１１０、１１２、１１４及び１１６をもつヌクレオチド配列の並べての比較が示されている。配列番号１０７、１０９、１１１、１１３、１１５及び１１７をもつ推定されたアミノ酸配列と既知の配列の並べての比較が、図２に示されている。ＬｉＰＡを用いて４型として型分類された４つの分離株は互いに非常に密に関連しているが（約９５％の相互相同性）、１型、２型及び３型配列に対しては遠位にしか関連していない（例えば、ＧＢ３５８はその他の遺伝子型と６５．６～６７．７％の相同性を示す、表４）。血清ＧＢ５４９及びＧＢ８０９から得られた配列は同様に、遺伝子型１、２、及び３と類似の相同性を示した（ＧＢ５４９については６５．９～６８．８％、ＧＢ８０９については６５．０～６８．５％、表４）

が、ＧＢ５４９又はＧＢ８０９とＧＢ４８、ＧＢ１１６、ＧＢ２１５及びＧＢ３５８から成る分離株の群との間、又はＧＢ５４９とＧＢ８０９の間には、７９．７～８６．８％の（往々にして同じ型の亜型の間に見られる）中間的相同性が存在する。これらのデータは、ＨＣＶ遺伝子型４内の３つの新しい亜型の発見を表わしている。本発明においては、これら３つの亜型は、分離株ＧＢ４８、ＧＢ１１６、ＧＢ２１５及びＧＢ３５８に代表される亜型４ｃ、分離株ＧＢ５４８に代表される亜型４ｇ及び分離株ＧＢ８０９に代表される亜型４ｅと呼称されている。ＮＳ５領域中の亜型の間で観察された相同性は亜型４ｃと４ｅの間のより近い関係を表わしていると思われるが、Ｅ１領域の中の観察された相同性は、亜型４ｇ及び４ｅが最も近い関係を示すことを表わしている（例８参照）。

【０２６９】

例９：ＨＣＶ４型のコア／Ｅ１領域

３つの新しい４型亜型の各々から、コア／Ｅ１領域の中のクローニング実験のため、１つの代表的血清を選択した。亜型４ｃ型から選択された分離株ＧＢ３５８と合わせて、ＧＢ５４９（亜型４ｇ）及びＧＢ８０９（亜型４ｅ）を分析した：

合成オリゴヌクレオチド：

ＨＣＶ－１（２）、ＨＣＶ－Ｊ（１）、ＨＣ－Ｊ６（３）及びＨＣＪ８（４）の配列を並べて比較した後、配列変異がほとんど無い領域の中のＰＣＲプライマーを選択した。

プライマーHCPr52(+): 5'-atgTTGGGTAAGGTCATCGATACCCT-3', HCPr23(+): 5'-CTCATGGGG

TACATTCCGCT-3', 及びHCPr54(-): 5'-CTATTACCAGTTCATCATCATATCCCA-3'. を、３９２ＤＮＡ／ＲＮＡ合成装置（Applied Biosystems）で合成した。プライマーセットＨＣＰｒ２３／５４及びＨＣＰｒ５２／５４を使用したが、プライマーセットＨＣＰｒ５２／５４でのみＰＣＲフラグメントを得ることができた。このプライマーセットは、アミノ酸１２７～３１９すなわちコアのカルボキシ末端からの６５個のアミノ酸及びＥ１の１２８個のアミノ酸をコードするヌクレオチド３７９～９５７の配列を増幅した。増幅産物ＧＢ３５８－４、ＧＢ５４９－４及びＧＢ８０９－４を例１で記述されているようにクローニングした。

以下のクローンをＰＣＲフラグメントから得た：

フラグメントＧＢ３５８－４から：ＧＢ３５８－４－１（配列番号１１８）、

フラグメントＧＢ５４９－４から：ＧＢ５４９－４－３（配列番号１２０）、

フラグメントＧＢ８０９－４から：ＧＢ８０９－４－３（配列番号１２２）。

既知の配列との、配列番号１１８、１２０及び１２２を伴う４型コア／Ｅ１ヌクレオチド配列の並べての比較が図４に示されている。１型、２型、３型及び５型プロトタイプ配列との４型Ｅ１領域（コア無し）の相同性は、表４に描かれている。非４型遺伝子型の代表的分離株では、５３～６６％の相同性が見られた。異なる亜型の間で４型内のＥ１領域の中の観察された相同性は、７５．２～７８．４％である。Simmonds et al., (1993) により描かれているエジプト人の４型分離株のコア領域の最近開示された配列（例えば図３中のＥＧ－２９）は、ＮＳＢ領域内のガボン人の配列（本発明で描かれている通りの）との並べての比較を許容せず、コア配列から推定できるように異なる４型亜型に属する可能性がある。配列番号１１９をもつ推定されたアミノ酸配列は、図５のその他のプロトタイプ配列と並べて比較されている。ここでも型特異的変異は、主として、本発明で呼称された可変Ｖ領域にあり、従って４型特異的アミノ酸又はＶ領域は、ＨＣＶ４型のための診断及び治療の手段となるだろう。

【０２７０】

例１０：新しいＨＣＶ２型、３型及び４型亜型のコア／Ｅ１及びＮＳ５ｂ領域

試料ＮＥ９２（亜型２ｄ）、ＢＥ９８（亜型３ｃ）、ＣＡＭ６００及びＧＢ８０９（亜型４ｅ）、ＣＡＭＧ２２及びＣＡＭＧ２７（亜型４ｆ）、ＧＢ４３８（亜型４ｈ）、ＣＡＲ４／１２０５亜型（４ｉ）、ＣＡＲ１／５０１（亜型４ｊ）、ＣＡＲ１／９０１（４？）及びＧＢ７２４（亜型４？）を、前述のとおり（Stuyver et al., 1993）陽極反応を起こしたもののプロトタイプラインプローブ検定で異常反応を示した一群の血清から選択した。Ｃ／Ｅ１領域の中のもう１つの５ａ型分離株ＢＥ１００も分析し、さらにＮＳ５ｂ領域の中のもう１つの５ａ型分離株ＢＥ９６を分離した。

高力価のＨＣＶ　ＲＮＡを検出することができ、唯一回のＰＣＲによりフラグメントのクローニングが可能となった。これらの亜型のどのコーディング領域からもいかなる配列も今だに開示されていないことから、ＨＣＶ－１（Choo et al., 1991)、ＨＣＶ－Ｊ（Kato et al., 1990)、ＨＣ－Ｊ６（Okamoto et al, 1991)、ＨＣ－Ｊ８（Okamoto et al., 1992）の配列及び本発明のその他の新しい配列を並べて比較した後、配列変異のほとんど無い領域の中からＰＣＲ増幅のための合成オリゴヌクレオチドを選択した。

上述のプライマーセット１、２及び３（例５を参照）を用いたが、セット１の場合にのみ、全ての分離株（ＢＥ９８、ＧＢ７２４及びＣＡＲ１／５０１を除く）からＰＣＲフラグメントを得ることができた。このプライマーセットは、アミノ酸１２７～３１９すなわちコアのカルボキシ末端からの６５のアミノ酸及びＥ１の１２８のアミノ酸をコードするヌクレオチド３７９～９５７からの配列を増幅した。セット３では、分離株ＮＥ９２及びＢＥ９８からのコア／Ｅ１領域を増幅させることができ、セット２では、ＧＢ３５８、ＧＢ７２４、ＧＢ８０９及びＣＡＭ６００のコア領域を増幅させることができた。例１に記述した通りに、増幅産物をクローニングにした。以下のクローンがＰＣＲフラグメントから得られた。

分離株ＧＢ７２４からは、コア領域からの配列番号１９３をもつクローン、

分離株ＮＥ９２からは、配列番号１４３をもつクローン、

分離株ＢＥ９８からは、配列の一部が分析され、配列番号１４７が与えられているコア／Ｅ１領域からのクローン、
分離株ＣＡＭ６００からは、図３に示されている通り、Ｅ１領域からの配列番号１６７又はコア／Ｅ１領域からの配列番号１６５をもつクローン。
分離株ＣＡＭＧ２２からは、図４に示されている通り、Ｅ１領域からの配列番号１７１をもつクローン、
分離株ＧＢ３５８からは、コア領域の中の配列番号１９１をもつクローン、
分離株ＣＡＭＧ２７からは、コア／Ｅ１領域からの配列番号１７３をもつクローン、
分離株ＧＢ４３８からは、コア／Ｅ１領域からの配列番号１７７をもつクローン、
分離株ＣＡＲ４／１２０５からは、コア／Ｅ１領域からの配列番号１７９をもつクローン、
分離株ＣＡＲ１／９０１からは、コア／Ｅ１領域からの配列番号１８１をもつクローン、
分離株ＧＢ８０９からは、コア／Ｅ１領域からの配列番号１８９をもつクローンＧＢ８０９－４、コア／Ｅ１領域からの配列番号１６９をもつクローンＧＢ８０９－２、及びコア領域からの配列番号１６３をもつクローン、
そして、分離株ＢＥ１００からは、図４に示されている通りコア／Ｅ１領域からの配列番号１５５をもつクローン。
図４では、既知のコア／Ｅ１配列をもつこれらのコア／Ｅ１配列の並べての比較が示されている。配列番号１４４、１４８、１６４、１６８、１７０、１７２、１７４、１７８、１８０、１８２、１９０、１９２、１９４、１５６、１６６をもつ推定されたアミノ酸配列は、図５でその他のプロトタイプ配列と並べて比較されている。ここでも又、型特異的変異は主として本発明で呼称されている可変Ｖ領域の中にあり、従って、２ｄ型、３ｃ型及び４型特異的アミノ酸又はＶ領域は、ＨＣＶ型（亜型）２ｄ、３ｃ又は異なる４型亜型のための診断及び治療の手段となるだろう。
分離株ＮＥ９２、ＢＥ９８、ＣＡＭ６００、ＣＡＭＧ２２、ＧＢ４３８、ＣＡＲ４／１２０５，ＣＡＲ１／５０１及びＢＥ９６のＮＳ５ｂ領域をプライマーＨＣＰｒ２０６及びＨＣＰｒ２０７（表７）で増幅した。対応するクローンをクローニングし、例１にあるとおりに配列決定し、（そのＢＥ９８が部分的に配列決定された）
対応する配列は以下の同定番号を受けた：
ＮＥ９２：配列番号１４５
ＢＥ９８：配列番号１４９
ＣＡＭ６００：配列番号２０１
ＣＡＭＧ２２：配列番号２０３
ＧＢ４３８：配列番号２０７
ＣＡＲ４／１２０５：配列番号２０９
ＣＡＲ１／５０１：配列番号２１１
ＢＥ９５：配列番号１５９
ＢＥ９６：配列番号１６１
既知のＮＳ５ｂ配列とのこれらのＮＳ５ｂ配列の並べての比較が図１に示されている。配列番号１４６、１５０、２０２、２０４、２０６、２０８、２１０、２１２、１６０、１６２を伴う推定されたアミノ酸配列は、図２でその他のプロトタイプ配列と並べて比較されている。ここでも又、亜型特異的変異を観察することができ、
従って、２ｄ型及び４型特異的アミノ酸又はＶ領域は、ＨＣＶ型（亜型）２ｄ、３ｃ又は異なる４型亜型のための診断及び治療の手段となるだろう。

【０２７１】

例１１：抗Ｅ１抗体の遺伝子型特異的反応性（血清型分類）
Ｅ１タンパク質は、ヌクレオチド位置３５５～９７８まで広がるコア／Ｅ１領域（プライマーＨＣＰｒ５２及びＨＣＰｒ５４を含む前述の例の中で記述されているコア／Ｅ１クローン）を含むワクシニアウイルス構成体から発現され、ＨＣＶポリタンパク質のＬ１１

９（イニシエーターメチニオンの後）からＷ３２６までのタンパク質を発現した。発現されたタンパク質は、ＨＣＶポリタンパク質のアミノ酸１９１と１９２の間の分割により及び高マンノースタイプの炭水化物モチーフの付加により、適当な宿主細胞（例えば、ＨｅＬａ、ＲＫ１３、ＨｕＴＫ－、ＨｅｐＧ２）の中での発現の時点で修飾された。従って、Ｃ型肝炎患者からの血清での検出を用いてウエスタンブロット上で３０～３２kDa の糖タンパク質を観察することができた。

参考として、分離株ＨＣＶ－Ｂから得られた遺伝子型１ｂクローンも同様に上述のものと同一の方法で発現され、組換えワクシニアウイルスｖｖＨＣＶ－１１Ａから発現された。

組換えワクシニアウイルスｖｖＨＣＶ－１１Ａから発現された１ｂ型タンパク質を含む細胞ライゼートとの反応性について、１０４の遺伝子型分類された血清のパネルをまずテストし、野生型ワクシニアウイルス（「Ｅ１／ＷＴ」）で感染されたＲＫ１３細胞の細胞ライゼートと比較した。ライゼートを、通常のＥＬＩＳＡマイクロタイタープレート（Nune maxis又はb)上に１／２０の希釈液としてコーティングさせ、それぞれの血清の１／２０希釈液と反応させた。このパネルは、１４の１ａ型、３８の１ｂ型、２１の２型、２１の３ａ型及び９つの４型血清から成っていた。次に、ヒト抗体を、ペルオキシダーゼと接合されたヤギ抗ヒトＩｇＧにより検出し、酵素活性を検出した。Ｅ１及び野生型ライゼートの光学密度値を分割し、切り捨てとして因数２をとり上げた。結果は表Ａに与えられている。１４の１ａ型血清のうち１１（７９％）、３８の１ｂ型血清のうち２５（６６％）、２１のうち６（２９％）、２１のうち５（２４％）が反応し、９つの４型又は５型血清はいずれも反応しなかった（０％）。これらの実験は、１型に感染した患者における１型Ｅ１タンパク質と反応する抗Ｅ１抗体の高い有病率（３６／５２（６９％））（１ａ型又は１ｂ型のいずれか）、ただし非１型血清における有病率の低さ又は不在（１１／５２（２１％））を、明確に示している。

【０２７２】

【表５】
表Ａ

血　清	E1/WT
1a型	
3748	3.15
3807	3.51
5282	1.99
9321	3.12
9324	2.76
9325	6.12
9326	10.56
9356	1.79
9388	3.5
8366	10.72
8380	2.27
10925	4.02
10936	5.04
10938	1.36

血　清	E1/WT
1b型	
5205	2.25
5222	1.33
5246	1.24
5250	13.58
5493	0.87
5573	1.75
8243	1.77
8244	2.05
8316	1.21
8358	5.04
9337	14.47
9410	5
9413	5.51
10905	1.26
10919	5.00
10928	8.72
10929	8.26
10931	2.3
10932	4.41
44	2.37
45	3.14
46	4.37
47	5.68
48	2.97
49	1.18
50	9.85
51	4.51
52	1.11
53	5.20
54	0.98
55	1.48
56	1.06
57	3.85
58	7.6
59	3.28
60	3.23
61	7.82
62	1.92

【０２７３】

【表６】
表Ａ（つづき）

血　清	E1/WT
2型	
23	0.91
24	1.16
25	2.51
26	0.96
27	1.20
28	0.96
29	2.58
30	8.05
31	0.92
32	0.82
33	5.75
34	0.79
35	0.86
36	0.85
37	0.76
38	0.92
39	1.08
40	2.33
41	2.83
42	1.21
43	0.91

血　清	E1/WT
3型	
1	6.88
2	1.47
3	3.06
4	6.52
5	10.24
6	2.72
7	1.11
8	1.54
9	1.60
10	1.21
11	1.07
12	1.00
13	0.85
14	0.96
15	0.51
16	1.00
17	1.09
18	0.99
19	1.04
20	1.04
21	0.96

血　清	E1/WT
4型	
22	0.87
GB48	0.49
GB113	0.68
GB116	0.73
GB215	0.52
GB358	0.56
GB359	0.71
GB438	1.08
GB516	1.04

血　清	E1/WT
5型	
BE95	0.86

【０２７４】
その後分離株ＢＲ３６（３ａ型）及びＢＥ９５（５ａ型）のコア／Ｅ１クローンを、それぞれウイルスｖｖＨＣＶ－６２及びｖｖＨＣＶ－６３へと組換えさせた。その後、組換えウイルスｖｖＨＣＶ－６２及びｖｖＨＣＶ－６３の感染を受けたＲＫ１３細胞から得られた細胞ライゼート上で、遺伝子型分類された血清パネルをテストした。試験は上述の通りに行なわれ、結果は以下の表（表Ｂ）内に与えられている。これらの結果から、いく分かの交叉反応が起こる（特に１型と３型の間）ものの、一定の与えられた血清について得

られた値が通常その相同性Ｅ１タンパク質上でもう１つの遺伝子型のＥ１タンパク質上よりも高いものであることが明らかにわかる。５型血清については、１型又は３型Ｅ１タンパク質上で５つの血清のいずれも反応性を示さず、一方５つのうち３つはその相同性５型タンパク質上で試験したとき抗－Ｅ１抗体を含むことが示された。従ってこの単純な試験システムにおいて、多数の血清がすでに血清型分類できる。型特異的ＮＳ４エピトープ又はＨＣＶポリタンパク質のその他の型特異的部分から誘導されたエピトープに対する反応性と組合わせて、主要なＨＣＶ型を識別するための血清型分類検定を開発することが可能である。交叉反応性の問題を克服するためには、当業者であれば交叉反応性エピトープの位置を決定することができ（例えば合成ペプチドとの反応性の競合を用いて）、又交叉反応をひき起こすエピトープを、血清型分類に含まれるべき組成物の外に置くこともできるし、或いは又交叉反応抗体を競合してしのぐべく試料の中に希釈剤を含み入れることもできる。

【０２７５】

【表７】

表Ｂ

血　清	E1^{1b}/WT	E1^{3a}/WT	E1^{5a}/WT
1b型			
8316	0.89	0.59	0.80
8358	2.22	2.65	1.96
9337	1.59	0.96	0.93
9410	16.32	9.60	3.62
9413	9.89	2.91	2.85
10905	1.04	0.96	1.05
10919	3.17	2.56	2.96
10928	4.39	2.28	2.07
10929	2.95	2.07	2.08
10931	3.11	1.49	2.11
5	0.86	0.86	0.96
6	3.48	1.32	1.32
7	6.76	4.00	3.77
8	10.88	3.44	4.04
9	1.76	1.88	1.58
10	9.88	7.48	7.20
11	8.48	8.99	8.45
12	0.76	0.72	0.76
13	5.04	5.67	5.37
14	10.48	10.54	11.22
15	5.18	1.62	1.65
3型			
8332	3.39	4.22	0.66
10907	3.24	4.39	0.96
10908	0.99	0.94	0.98
10934	0.86	0.90	0.90
10927	2.58	2.71	2.44
8210	0.82	0.80	0.86
8344	1.09	6.66	1.17
8351	1.21	1.29	1.22
30	0.85	4.11	0.98
32	0.85	2.16	1.04
5型			
	0.78	0.95	1.54
BE110	0.79	1.01	4.95
BE95	0.47	0.52	0.65
BE111	0.71	0.75	8.33
BE112	1.01	1.27	2.37
BE113	1.11	1.35	1.60

【０２７６】

【表８】

表５．新しいＨＣＶ配列のその他の既知のＨＣＶ型との相同性

領域（ヌクレオチド）	分離株（型）	1a HCV-1	1b HCV-J	2a HC-J6	2b HC-J8	3a T1	3a T7	3b T9	3b T10
コア(1-573)	PC(5)	83.8(91.6)	84.8(92.1)	82.6(90.1)	82.4(89.0)				
E1(574-957)	HD10(3)	61.5(68.0)	64.6(68.8)	57.8(55.5)	56.3(59.4)				
	BR36(3)	62.0(66.4)	62.5(67.2)	56.5(53.9)	55.2(58.6)				
	BR33(3)	60.7(67.2)	63.3(68.0)	56.5(54.7)	56.0(58.6)				
	PC(5)	61.4(64.0)	62.4(64.8)	54.1(49.6)	53.3(47.2)				
	GB358(4a)	62.5(69.1)	62.8(65.9)	59.4(54.0)	54.4(54.0)				
	GB549(4b)	66.0(72.2)	62.8(69.8)	59.1(56.4)	56.5(54.0)				
	GB809(4c)	63.3(69.1)	60.7(64.3)	56.7(53.2)	53.0(51.6)				
NS3 (3856-4209)	PC(5)	74.7(89)	76.1(86.4)	76.1(89.8)	78.0(89.0)				
NS4 (4892-5292)	BR36(3)	67.8(78.5)	69.8(75.1)	62.0(67.5)	61.7(66.0)				
	HD10(3)	69.8(74.6)	66.6(69.7)	57.8(59.9)	59.1(59.9)				
NS4 (4936-5292)	PC(5)	61.3(62.2)	63.0(65.5)	52.9(46.2)	54.3(43.7)				
NS5b (8023-8235)	BR34(3)	65.7	66.7	63.9	64.3	94.8	93.9	75.6	77.0
	BR36(3)	64.3	67.6	64.8	66.7	94.8	93.4	75.1	76.5
	BR33(3)	65.7	67.1	64.3	64.8	94.8	93.9	76.0	77.5
	GB358(4a)	67.7(76.1)	65.6(77.0)	66.5(70.8)	65.6(71.7)				
	GB549(4b)	68.8(76.1)	67.1(77.0)	65.9(71.7)	65.9(74.4)				
	GB809(4c)	68.5(73.5)	65.0(73.5)	67.7(69.9)	67.7(73.5)				

ここに示されているのは、左欄に表わされた領域についてのヌクレオチド相同性である（アミノ酸相同性はカッコ内に与えられている）。

【０２７７】

【０２７８】

表６．異なる遺伝子型のＮＳ４配列

ﾌﾟﾛﾄﾀｲﾌﾟ	型	合成ペプチド NS4-1 (NS4a)	合成ペプチド NS4-5 (NS4b)	合成ペプチド NS4-7 (NS4b)
位置->		1 1 6 7 9 0 0 0	1 1 7 7 2 3 0 0	1 1 7 7 3 4 0 0
HCV-1	1a	LSG KPALIPDREV LYREFDE	SQHLPYIEQ GMMLAEQFKQ K	LAEQFKQ KALGLLQTAS RQA
HCV-J	1b	LSG RPAVIPDREV LYQEFDE	ASHLPYIEQ GMQLAEQFKQ K	LAEQFKQ KALGLLQTAT KQA
HC-J6	2a	VNQ RAVVAPDKEV LYEAFDE	ASRAALIEE GQRIAEMLKS K	LAEMLKS KIQGLLQQAS KQA
HC-J8	2b	LND RVVVAPDKEI LYEAFDE	ASKAALIEE GQRMAEMLKS K	MAEMLKS KIQGLLQQAT RQA
BR-36	3a	LGG KPAIVPDKEV LYQQYDE	SQAAPYIEQ AQVIAHQFKE K	IAHQFKE KVLGLLQRAT QQQ
PC	5	LSG KPAIIPDREA LYQQFDE	AASLPYMDE TRAIAGQFKE K	IAGQFKE KVLGFISTIG QKA

＊　全ての遺伝子型内に保たれている残基。下線を伴うアミノ酸は型特異的であり、

＊のアミノ酸は３型及び５型の配列に独自のものである。

【表１０】

表7

配列番号	プライマー NO (極性)	５′～３′までの配列
63	HCPr161(+)	5'-ACCGGAGGCCAGGAGAGTGATCTCCTCC-3'
64	HCPr162(-)	5'-GGGCTGCTCTATCCTCATCGACGCCATC-3'
65	HCPr163(+)	5'-GCCAGAGGCTCGGAAGGCGATCAGCGCT-3'
66	HCPr164(-)	5'-GAGCTGCTCTGTCCTCCTCGACGCCGCA-3'
67	HCPr23(+)	5'-CTCATGGGGTACATTCCGCT-3'
68	HCPr54(-)	5'-CTATTACCAGTTCATCATCATATCCCA-3'
69	HCPr116(+)	5'-ttttAAATACATCATGRCITGYATG-3'
70	HCPr66(-)	5'-ctattaTTGTATCCCRCTGATGAARTTCCACAT-3'
71	HCPr118(-)	5'actagtcgactaYTGIATICCRCTIATRWARTTCCACAT-3'
72	HCPr117(+)	5'-ttttAAATACATCGCIRCITGCATGCA-3'
73	HCPr119(-)	5'-actagtcgactaRTTIGCIATIAGCCKRTTCATCCAYTG-3'
74	HCPr131(+)	5'-ggaattctagaCCITCITGGGAYGARAYITGGAARTG-3'
75	HCPr130(+)	5'-ggaattctagACIGCITAYCARGCIACIGTITGYGC-3'
76	HCPr134(+)	5'-CATATAGATGCCCACTTCCTATC-3'
77	HCPr3(+)	5'-GTGTGCCAGGACCATC-3'
78	HCPr4(-)	5'-GACATGCATGTCATGATGTA-3'
79	HCPr152(+)	5'-TACGCCTCTTCTATATCGGTTGGGGCCTG-3'
80	HCPr52(+)	5'-atgTTGGGTAAGGTCATCGATACCCT-3'
81	HCPr41(+)	5'-CCCGGGAGGTCTCGTAGACCGTGCA-3'
82	HCPr40(-)	5'-ctattaAAGATAGAGAAAGAGCAACCGGG-3'
124	HCPR206	5'-tggggatcccgtatgatacccgctgctttga-3'
125	HCPR207	5'-ggcggaattcctggtcatagcctccgtgaa-3'
141	HCPR109	5'-tgggatatgatgatgaactggtc-3'
142	HCPR14	5'-ccaggtacaaccgaaccaattgcc-3'

【０２７９】

【表１１】

表８：ＮＳ４血清型分別

血　清	１型ＮＳ４			２型ＮＳ４			３型ＮＳ４		
	1	5	7	1	5	7	1	5	7
1a型									
101	3	3	3	-	1	3	+/-	+/-	3
102	1	+/-	2	-	-	2	-	-	1
103	1	3	3	-	+/-	3	-	+/-	3
104	3	3	3	2	2	3	3	+/-	2
105	3	3	3	-	2	2	+/-	+/-	2
106	3	1	1	-	1	2	+/-	+/-	+/-
107	3	3	3	-	2	2	2	-	1
108	3	3	3	-	+/-	2	+/-	1	2
109	3	3	3	+/-	2	3	1	-	3
110	3	3	3	-	+/-	1	-	-	3
1b型									
111	+/-	+/-	-	-	-	-	-	-	-
112	-	2	3	-	-	2	-	-	3
113	2	3	3	-	-	1	-	-	3
114	2	3	3	1	+	2	+	1	3
115	3	3	3	-	+	3	-	-	3
116	3	3	3	-	+/-	1	-	-	1
117	3	-	-	3	+/-	+/-	+/-	-	-
118	1	2	3	-	+/-	2	-	+/-	3
119	+/-	2	2	+/-	+/-	2	+	1	2
120	-	3	3	- 3	+/-	+/-	-	-	-
121	3	3	3	+/-	2	2	2	2	3
122	3	3	1	-	1	2	2	1	1
123	3	3	2	-	1	2	-	1	1
124	3	3	3		+/-	2	-	-	2
125	3	3	3	1	1	3	2	1	3
126	1	2	2	1	1	1	1	1	1
127	3	2	+/-	-	+/-	1	+/-	+/-	+/-
128	3	3	3	-	+/-	1	2	+/-	+/-
129	2	3	3	-	-	3	-	-	3
130	-	2	1	+/-	-	-	-	-	-
131	-	1	1	-	-	-	-	-	+/-
132	-	-	-	+/-	-	+/-	+/-	-	-
133	3	3	3	-	1	3	-	1	3
134	-	2	2	-	-	-	-	-	-
135	3	3	3	1	+	2	2	1	3
136	-	3	3	+/-	+/-	+/-	+/-	-	3
137	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	-	-
138	3	3	3	+/-	2	2	1	+	3

【０２８０】

【表１２】

表８（つづき）

血　清	１型ＮＳ４			２型ＮＳ４			３型ＮＳ４		
	1	5	7	1	5	7	1	5	7
2a型									
139	3	-	-	3	3	+/-	1	-	-
140	+/-	-	-	3	3	3	3	-	-
141	2	-	-	2	1	+/-	2	-	-
142	-	-	-	-	+/-	-	-	-	-
143	-	+/-	+/-	1	2	1	1	+/-	+/-
144	1	1	+	1	3	2	1	1	2
145	-	+/-	+/-	3	1	2	2	+/-	+/-
146	-	-	-	+/-	+/-	-	-	-	-
147	-	+/-	-	3	1	3	-	-	-
148	-	-	-	+/-	-	-	+/-	-	-
2b型									
149	-	+/-	+/-	3	3	1	2	+/-	+/-
3型									
150	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	1	3	3
151	-	-	-	-	-	-	2	-	2
152	+/-	-	-	-	-	-	3	-	-
153	-	-	-	-	-	-	-	1	-
154	+/-	1	3	-	+/-	2	2	1	3
155	-	2	3	-	2	2	1	1	3
156	-	-	-	-	-	-	-	-	-
157	-	-	-	+/-	+/-	-	+/-	2	2
158	2	-	-	-	1	2	3	2	2
159	-	-	-	-	+/-	+/-	-	3	3
160	-	-	-	-	+/-	-	-	2	3
161	-	-	-	-	1	1	+/-	3	2
4型									
162	1	-	-	-	-	-	-	-	-
163	2	-	-	-	+/-	+/-	+/-	-	-

【０２８１】

参考文献

Barany F (1991).クローニングされた熱安定性リガーゼを用いた遺伝病検出及びＤＮＡ増幅。Proc Natl Acad Sci USA 88:189-193.

Bej A, Mahbubani M, Miller R, Di Cesare J, Haff L, Atlas R (1990).水中の病原菌及び指標生物の検出のための多重ＰＣＲ増幅及び固定化された捕獲プローブ。Mol Cell Probes 4:353-365.

Bukh J, Purcell R, Miller R (1992). Ｃ型肝炎ウイルスの５′非コーディング領域の配列分析。Rroc Natl Acad Sci USA 89: 4942-4946.Bukh J, Purcell R, Miller R (1993

).少なくとも１２の遺伝子型…PNAS 90, 8234-8238.Cha T, Beal E, Irvine B, Kolberg J, Chien D, Kuo G, Urdea M (1992).関係はあるものの全く異なるＣ型肝炎ウイルスの遺伝子型が少なくとも５つ存在する。Proc Natl Acad Sci USA 89: 7144-7148.

Chan S-W, Simmonds P, McOmish F, Yap P, Mitchell R, Dow B, Follett E (1991).３つの異なる型のＣ型肝炎ウイルスでの感染に対する血清学的応答。Lancet 338: 1991.

Chan S-W, McOmish F, Holmes E, Dow B, Peutherer J, Follett E, Yap P, Simmonds P (1992). 新しいＣ型肝炎ウイルス型の分析及び既知の変異体に対するその系統分類関係。J Gen Virol 73: 1131-1141.

Chomczynski P, Sacchi N (1987). 酸性グアニジウムチオシアン酸－フェノール－クロロホルム抽出による１工程ＲＮＡ分離方法。Anal Biochem 162: 156-159.Choo Q, Richman K, Han J, Berger K, Lee C, Dong C, Gallegos C, Coit D, Medina-Selby A, Barr P, Weiner A,Bradley D, Kuo G, Houghton M (1991).Ｃ型肝炎ウイルスの遺伝子組織と多様性。Proc Natl Acad Sci USA 88: 2451-2455. Compton J (1991). 核酸配列ベースの増幅。Nature, 350: 91-92.

Duchosai A, Eming S, Fisher P (1992). ｈｕ－ＰＢＬ－ＳＣＩＤマウスの免疫化及び組合せライブラリーを通してのヒトモノクローナルＦａｂフラグメントの再利用。Nature 355: 258-262.Duck P (1990).キメラ循環オリゴヌクレオチドに基づくプローブ増殖システム。Biotechniques 9, 142-147. Guatelli J, Whitfield K, Kwoh D, Barringer K, Richman D, Gengeras T (1990). レトロウイルス複製に倣った多酵素反応による核酸の等温インビトロ増幅。Proc Natl Acad Sci USA 87: 1874-1878. Hijikata M, Kato N, Ootsuyama Y, Nakagawa M, Shimotohmo K (1991). インビトロ処理分析によるＣ型肝炎ウイルスゲノムの推定上の構造領域の遺伝子地図作製。Proc Natl Acad Sci USA 88, 5547-5551. Jacobs K, Rudersdorf R, Neill S, Dougherty J, Brown E, Fritsch E (1988).オリゴヌクレオチド２重鎖の熱安定性は、テトラアルキルアンモニウム塩溶液中で配列依存性をもつ：組換えＤＮＡクローンの同定に対するその応用。Nucl Acids Res 16: 4637-4650. Kato N, Hijikata M, Ootsuyama Y, Nakagawa M, Ohkoshi S, Sugimura T, Shimotohno K (1990).非Ａ非Ｂ型肝炎の日本人患者からのヒトＣ型肝炎ウイルスゲノムの分子クローニング。Proc Natl Acad Sci USA 87: 9524-9528. Kwoh D, Davis G, Whitfield K, Chappelle H, Dimichele L,Gingeras T (1989). 転写ベースの増幅システム及びビードベースのサンドイッチハイブリダイゼーションフォーマットを用いた増幅されたヒト免疫不全症ウイルス１型の検出。Proc Natl Acad Sci USA, 86:1173-1177. Kwok S, Kellogg D, McKinney N, Spasic D, Goda L, Levenson C, Sinisky J, (1990). ポリメラーゼ連鎖反応に対するプライマー鋳型不整合の効果：ヒト免疫不全症ウイルス１型モデル研究。Nucl. Acids Res., 18: 999.

Landgren U, Kaiser R, Sanders J, Hood L (1988). リガーゼ媒介遺伝子検出技術。Science 241: 1077-1080.

Lizardi P, Guerra C, Lomeli H, Tussie-Luna I, Kramer F (1988).組換えＲＮＡハイブリダイゼーションプローブの対数の増殖。Bio/Technology 6: 1197-1202.Lomeli H, Tyagi S, Printchard C, Lisardi P, Kramer F (1989).複製可能なハイブリダイゼーションプローブの使用に基づく定量分析。Clin Chem 35: 1826-1831.Machida A, Ohnuma H, Tsuda F, Munekata E, Tanaka T, Akahane Y, Okamoto H, Mishiro S (1992) Hepatology 16, 886-891.Maniatis T, Fritsch E, Sambrook J (1982). 分子クローニング：実験室マニュアル。Cold Spring Harb又は Lab又はat又はy Press, Cold Spring Harbor, NY.Mori S, Kato N, Yagyu A, Tanaka T, Ikeda Y, Petchclai B, Chiewsilp P, Kurimura T, Shimotohno K (1992).タイにおける患者体内の新型のＣ型肝炎ウイルス。Biochem Biophys Res Comm 183: 334-342.Okamoto H, Okada S, Sugiyama Y, Kurai K, Iizuka H, Machida A, Miyakawa Y, Mayumi M (1991).人間のキャリヤから分離したＣ型肝炎ウイルスのゲノムＲＮＡのヌクレオチド配列：保存された領域及び発散領域についての報告済み分離株との比較。J Gen Virol 72: 2697-2704.Okamoto H, Kurai K, Okada S, Yamamoto K, Lizuka H, Tanaka T, Fukuda S, Tsuda F, Mishiro S (1992). 報告された分離株に対する低い相

同性をもつＣ型肝炎ウイルスゲノムの全長配列：４つの全く異なる遺伝子型の比較研究。Virology 188: 331-341.Persson M, Caothien R, Burton D (1991). レベルトワークローニングによるさまざまな高親和性ヒトモノクローナル抗体の生成。Proc Natl Acad Sci USA 89: 2432-2436.

Saiki R, Gelfand D, Stoffel S, Scharf S, Higuchi R, Horn G, Mullis K, Erlich H (1988).熱安定性ＤＮＡポリメラーゼを用いたＤＮＡのプライマー誘導型酵素増幅。Science 239: 487-491.

Saiki R, Walsh P, Levenson C, Erlich H (1989).固定化された配列特異的オリゴヌクレオチドプローブを用いた増幅ＤＮＡの遺伝分析。(1989) Proc Natl Acad Sci USA 86: 6230-6234.

Sano T, Smith C, Cantor C (1992). 免疫－ＰＣＲ：特異的抗体－ＤＮＡ複合体を用いた非常に感受性の高い抗原の検出。Science 258: 120-122. Simmonds P, McOmsh F, Yap P, Chan S, Lin C, Dusheiko G, Saeed A, Holmes E (1993), Ｃ型肝炎ウイルスの５′非コーディング領域中の配列可変性：新しいウイルス型の同定及び配列多様性に対する制限。J Gen Virology, 74: 661-668.Stuyver L, Rossau R, Wyseur A, Duhamel M, Vanderborght B, Van Heuverswyn H, Maertens G (1993).Ｃ型肝炎ウイルス（ＨＣＶ）分離株の型分類及びラインプローブ検定を用いた新しい（亜）型の特徴づけ。J Gen Virology, 74: 1093-1102.

Walker G, Little M, Nadeau J, Shank D (1992). 制限酵素／ＤＮＡポリメラーゼシステムによるＤＮＡの等温インビトロ増幅。Proc Natl Acad Sci USA 89: 392-396.

Wu D, Wallace B (1989). 連結増幅反応（ＬＡＲ）－鋳型依存型連結を逐次行なうことによる特異的ＤＮＡ配列の増幅。Genomics 4: 560-569.

【図面の簡単な説明】

【０２８２】

【図１－１】配列番号１、５、９をもつクローンから推定された３ａ型分離株ＢＲ３４、ＢＲ３６及びＢＲ３３；４型分離株ＧＢ４８、ＧＢ１１６、ＧＢ２１５、ＧＢ３５８、ＧＢ５４９、ＧＢ８０９、ＣＡＭ６００、ＣＡＭＧ２２、ＧＢ４３８、ＣＡＲ４／１２０５、ＣＡＲ１／５０１（配列番号１０６、１０８、１１０、１１２、１１４、１１６、２０１、２０３、２０５、２０７、２０９及び２１１）；ヌクレオチド７９３２～８２７１の間の領域からの５ａ型分離株ＢＥ９５及びＢＥ９６（配列番号１５９及び１６１）及び２ｄ型分離株ＮＥ９２（配列番号１４５）の各々についての共通配列と、分離株ＨＣＶ－１、ＨＣＶ－Ｊ、ＨＣ－Ｊ６、ＨＣ－Ｊ８、Ｔ１及びＴ９の対応する領域からの既知の配列及び表３に示されているその他の配列との並べての比較。

【図１－２】配列番号１、５、９をもつクローンから推定された３ａ型分離株ＢＲ３４、ＢＲ３６及びＢＲ３３；４型分離株ＧＢ４８、ＧＢ１１６、ＧＢ２１５、ＧＢ３５８、ＧＢ５４９、ＧＢ８０９、ＣＡＭ６００、ＣＡＭＧ２２、ＧＢ４３８、ＣＡＲ４／１２０５、ＣＡＲ１／５０１（配列番号１０６、１０８、１１０、１１２、１１４、１１６、２０１、２０３、２０５、２０７、２０９及び２１１）；ヌクレオチド７９３２～８２７１の間の領域からの５ａ型分離株ＢＥ９５及びＢＥ９６（配列番号１５９及び１６１）及び２ｄ型分離株ＮＥ９２（配列番号１４５）の各々についての共通配列と、分離株ＨＣＶ－１、ＨＣＶ－Ｊ、ＨＣ－Ｊ６、ＨＣ－Ｊ８、Ｔ１及びＴ９の対応する領域からの既知の配列及び表３に示されているその他の配列との並べての比較。

【図１－３】配列番号１、５、９をもつクローンから推定された３ａ型分離株ＢＲ３４、ＢＲ３６及びＢＲ３３；４型分離株ＧＢ４８、ＧＢ１１６、ＧＢ２１５、ＧＢ３５８、ＧＢ５４９、ＧＢ８０９、ＣＡＭ６００、ＣＡＭＧ２２、ＧＢ４３８、ＣＡＲ４／１２０５、ＣＡＲ１／５０１（配列番号１０６、１０８、１１０、１１２、１１４、１１６、２０１、２０３、２０５、２０７、２０９及び２１１）；ヌクレオチド７９３２～８２７１の間の領域からの５ａ型分離株ＢＥ９５及びＢＥ９６（配列番号１５９及び１６１）及び２ｄ型分離株ＮＥ９２（配列番号１４５）の各々についての共通配列と、分離株ＨＣＶ－１

、ＨＣＶ－Ｊ、ＨＣ－Ｊ６、ＨＣ－Ｊ８、Ｔ１及びＴ９の対応する領域からの既知の配列及び表３に示されているその他の配列との並べての比較。

【図１－４】配列番号１、５、９をもつクローンから推定された３ａ型分離株ＢＲ３４、ＢＲ３６及びＢＲ３３；４型分離株ＧＢ４８、ＧＢ１１６、ＧＢ２１５、ＧＢ３５８、ＧＢ５４９、ＧＢ８０９、ＣＡＭ６００、ＣＡＭＧ２２、ＧＢ４３８、ＣＡＲ４／１２０５、ＣＡＲ１／５０１（配列番号１０６、１０８、１１０、１１２、１１４、１１６、２０１、２０３、２０５、２０７、２０９及び２１１）；ヌクレオチド７９３２～８２７１の間の領域からの５ａ型分離株ＢＥ９５及びＢＥ９６（配列番号１５９及び１６１）及び２ｄ型分離株ＮＥ９２（配列番号１４５）の各々についての共通配列と、分離株ＨＣＶ－１、ＨＣＶ－Ｊ、ＨＣ－Ｊ６、ＨＣ－Ｊ８、Ｔ１及びＴ９の対応する領域からの既知の配列及び表３に示されているその他の配列との並べての比較。

【図１－５】配列番号１、５、９をもつクローンから推定された３ａ型分離株ＢＲ３４、ＢＲ３６及びＢＲ３３；４型分離株ＧＢ４８、ＧＢ１１６、ＧＢ２１５、ＧＢ３５８、ＧＢ５４９、ＧＢ８０９、ＣＡＭ６００、ＣＡＭＧ２２、ＧＢ４３８、ＣＡＲ４／１２０５、ＣＡＲ１／５０１（配列番号１０６、１０８、１１０、１１２、１１４、１１６、２０１、２０３、２０５、２０７、２０９及び２１１）；ヌクレオチド７９３２～８２７１の間の領域からの５ａ型分離株ＢＥ９５及びＢＥ９６（配列番号１５９及び１６１）及び２ｄ型分離株ＮＥ９２（配列番号１４５）の各々についての共通配列と、分離株ＨＣＶ－１、ＨＣＶ－Ｊ、ＨＣ－Ｊ６、ＨＣ－Ｊ８、Ｔ１及びＴ９の対応する領域からの既知の配列及び表３に示されているその他の配列との並べての比較。

【図１－６】配列番号１、５、９をもつクローンから推定された３ａ型分離株ＢＲ３４、ＢＲ３６及びＢＲ３３；４型分離株ＧＢ４８、ＧＢ１１６、ＧＢ２１５、ＧＢ３５８、ＧＢ５４９、ＧＢ８０９、ＣＡＭ６００、ＣＡＭＧ２２、ＧＢ４３８、ＣＡＲ４／１２０５、ＣＡＲ１／５０１（配列番号１０６、１０８、１１０、１１２、１１４、１１６、２０１、２０３、２０５、２０７、２０９及び２１１）；ヌクレオチド７９３２～８２７１の間の領域からの５ａ型分離株ＢＥ９５及びＢＥ９６（配列番号１５９及び１６１）及び２ｄ型分離株ＮＥ９２（配列番号１４５）の各々についての共通配列と、分離株ＨＣＶ－１、ＨＣＶ－Ｊ、ＨＣ－Ｊ６、ＨＣ－Ｊ８、Ｔ１及びＴ９の対応する領域からの既知の配列及び表３に示されているその他の配列との並べての比較。

【図１－７】配列番号１、５、９をもつクローンから推定された３ａ型分離株ＢＲ３４、ＢＲ３６及びＢＲ３３；４型分離株ＧＢ４８、ＧＢ１１６、ＧＢ２１５、ＧＢ３５８、ＧＢ５４９、ＧＢ８０９、ＣＡＭ６００、ＣＡＭＧ２２、ＧＢ４３８、ＣＡＲ４／１２０５、ＣＡＲ１／５０１（配列番号１０６、１０８、１１０、１１２、１１４、１１６、２０１、２０３、２０５、２０７、２０９及び２１１）；ヌクレオチド７９３２～８２７１の間の領域からの５ａ型分離株ＢＥ９５及びＢＥ９６（配列番号１５９及び１６１）及び２ｄ型分離株ＮＥ９２（配列番号１４５）の各々についての共通配列と、分離株ＨＣＶ－１、ＨＣＶ－Ｊ、ＨＣ－Ｊ６、ＨＣ－Ｊ８、Ｔ１及びＴ９の対応する領域からの既知の配列及び表３に示されているその他の配列との並べての比較。

【図１－８】配列番号１、５、９をもつクローンから推定された３ａ型分離株ＢＲ３４、ＢＲ３６及びＢＲ３３；４型分離株ＧＢ４８、ＧＢ１１６、ＧＢ２１５、ＧＢ３５８、ＧＢ５４９、ＧＢ８０９、ＣＡＭ６００、ＣＡＭＧ２２、ＧＢ４３８、ＣＡＲ４／１２０５、ＣＡＲ１／５０１（配列番号１０６、１０８、１１０、１１２、１１４、１１６、２０１、２０３、２０５、２０７、２０９及び２１１）；ヌクレオチド７９３２～８２７１の間の領域からの５ａ型分離株ＢＥ９５及びＢＥ９６（配列番号１５９及び１６１）及び２ｄ型分離株ＮＥ９２（配列番号１４５）の各々についての共通配列と、分離株ＨＣＶ－１、ＨＣＶ－Ｊ、ＨＣ－Ｊ６、ＨＣ－Ｊ８、Ｔ１及びＴ９の対応する領域からの既知の配列及び表３に示されているその他の配列との並べての比較。

【図１－９】配列番号１、５、９をもつクローンから推定された３ａ型分離株ＢＲ３４、ＢＲ３６及びＢＲ３３；４型分離株ＧＢ４８、ＧＢ１１６、ＧＢ２１５、ＧＢ３５８、ＧＢ５４９、ＧＢ８０９、ＣＡＭ６００、ＣＡＭＧ２２、ＧＢ４３８、ＣＡＲ４／１２０５

、ＣＡＲ１／５０１（配列番号１０６、１０８、１１０、１１２、１１４、１１６、２０１、２０３、２０５、２０７、２０９及び２１１）；ヌクレオチド７９３２～８２７１の間の領域からの５ａ型分離株ＢＥ９５及びＢＥ９６（配列番号１５９及び１６１）及び２ｄ型分離株ＮＥ９２（配列番号１４５）の各々についての共通配列と、分離株ＨＣＶ－１、ＨＣＶ－Ｊ、ＨＣ－Ｊ６、ＨＣ－Ｊ８、Ｔ１及びＴ９の対応する領域からの既知の配列及び表３に示されているその他の配列との並べての比較。

【図１－１０】配列番号１、５、９をもつクローンから推定された３ａ型分離株ＢＲ３４、ＢＲ３６及びＢＲ３３；４型分離株ＧＢ４８、ＧＢ１１６、ＧＢ２１５、ＧＢ３５８、ＧＢ５４９、ＧＢ８０９、ＣＡＭ６００、ＣＡＭＧ２２、ＧＢ４３８、ＣＡＲ４／１２０５、ＣＡＲ１／５０１（配列番号１０６、１０８、１１０、１１２、１１４、１１６、２０１、２０３、２０５、２０７、２０９及び２１１）；ヌクレオチド７９３２～８２７１の間の領域からの５ａ型分離株ＢＥ９５及びＢＥ９６（配列番号１５９及び１６１）及び２ｄ型分離株ＮＥ９２（配列番号１４５）の各々についての共通配列と、分離株ＨＣＶ－１、ＨＣＶ－Ｊ、ＨＣ－Ｊ６、ＨＣ－Ｊ８、Ｔ１及びＴ９の対応する領域からの既知の配列及び表３に示されているその他の配列との並べての比較。

【図１－１１】配列番号１、５、９をもつクローンから推定された３ａ型分離株ＢＲ３４、ＢＲ３６及びＢＲ３３；４型分離株ＧＢ４８、ＧＢ１１６、ＧＢ２１５、ＧＢ３５８、ＧＢ５４９、ＧＢ８０９、ＣＡＭ６００、ＣＡＭＧ２２、ＧＢ４３８、ＣＡＲ４／１２０５、ＣＡＲ１／５０１（配列番号１０６、１０８、１１０、１１２、１１４、１１６、２０１、２０３、２０５、２０７、２０９及び２１１）；ヌクレオチド７９３２～８２７１の間の領域からの５ａ型分離株ＢＥ９５及びＢＥ９６（配列番号１５９及び１６１）及び２ｄ型分離株ＮＥ９２（配列番号１４５）の各々についての共通配列と、分離株ＨＣＶ－１、ＨＣＶ－Ｊ、ＨＣ－Ｊ６、ＨＣ－Ｊ８、Ｔ１及びＴ９の対応する領域からの既知の配列及び表３に示されているその他の配列との並べての比較。

【図１－１２】配列番号１、５、９をもつクローンから推定された３ａ型分離株ＢＲ３４、ＢＲ３６及びＢＲ３３；４型分離株ＧＢ４８、ＧＢ１１６、ＧＢ２１５、ＧＢ３５８、ＧＢ５４９、ＧＢ８０９、ＣＡＭ６００、ＣＡＭＧ２２、ＧＢ４３８、ＣＡＲ４／１２０５、ＣＡＲ１／５０１（配列番号１０６、１０８、１１０、１１２、１１４、１１６、２０１、２０３、２０５、２０７、２０９及び２１１）；ヌクレオチド７９３２～８２７１の間の領域からの５ａ型分離株ＢＥ９５及びＢＥ９６（配列番号１５９及び１６１）及び２ｄ型分離株ＮＥ９２（配列番号１４５）の各々についての共通配列と、分離株ＨＣＶ－１、ＨＣＶ－Ｊ、ＨＣ－Ｊ６、ＨＣ－Ｊ８、Ｔ１及びＴ９の対応する領域からの既知の配列及び表３に示されているその他の配列との並べての比較。

【図１－１３】配列番号１、５、９をもつクローンから推定された３ａ型分離株ＢＲ３４、ＢＲ３６及びＢＲ３３；４型分離株ＧＢ４８、ＧＢ１１６、ＧＢ２１５、ＧＢ３５８、ＧＢ５４９、ＧＢ８０９、ＣＡＭ６００、ＣＡＭＧ２２、ＧＢ４３８、ＣＡＲ４／１２０５、ＣＡＲ１／５０１（配列番号１０６、１０８、１１０、１１２、１１４、１１６、２０１、２０３、２０５、２０７、２０９及び２１１）；ヌクレオチド７９３２～８２７１の間の領域からの５ａ型分離株ＢＥ９５及びＢＥ９６（配列番号１５９及び１６１）及び２ｄ型分離株ＮＥ９２（配列番号１４５）の各々についての共通配列と、分離株ＨＣＶ－１、ＨＣＶ－Ｊ、ＨＣ－Ｊ６、ＨＣ－Ｊ８、Ｔ１及びＴ９の対応する領域からの既知の配列及び表３に示されているその他の配列との並べての比較。

【図１－１４】配列番号１、５、９をもつクローンから推定された３ａ型分離株ＢＲ３４、ＢＲ３６及びＢＲ３３；４型分離株ＧＢ４８、ＧＢ１１６、ＧＢ２１５、ＧＢ３５８、ＧＢ５４９、ＧＢ８０９、ＣＡＭ６００、ＣＡＭＧ２２、ＧＢ４３８、ＣＡＲ４／１２０５、ＣＡＲ１／５０１（配列番号１０６、１０８、１１０、１１２、１１４、１１６、２０１、２０３、２０５、２０７、２０９及び２１１）；ヌクレオチド７９３２～８２７１の間の領域からの５ａ型分離株ＢＥ９５及びＢＥ９６（配列番号１５９及び１６１）及び２ｄ型分離株ＮＥ９２（配列番号１４５）の各々についての共通配列と、分離株ＨＣＶ－１、ＨＣＶ－Ｊ、ＨＣ－Ｊ６、ＨＣ－Ｊ８、Ｔ１及びＴ９の対応する領域からの既知の配

列及び表３に示されているその他の配列との並べての比較。
【図２－１】亜型３ａクローンＢＲ３４（配列番号２、４）、ＢＲ３６（配列番号６、８）及びＢＲ３３（配列番号１０、１２）、亜型３ｃクローンＢＥ９８（配列番号１５０）、及び４型クローンＧＢ４８（配列番号１０７）、ＧＢ１１６（配列番号１０９）、ＧＢ２１５（配列番号１１１）、ＧＢ３５８（配列番号１１３）、ＧＢ５４９（配列番号１１５）、ＧＢ８０９（配列番号１１７）；ＣＡＭ６００、ＣＡＭＧ２２、ＧＢ４３８、ＣＡＲ４／１２０５、ＣＡＲ１／５０１（配列番号２０２、２０４、２０６、２０８、２１０、２１２）；５ａ型クローンＢＥ９５及びＢＥ９６（配列番号１６０及び１６２）；ならびにアミノ酸２６４５～２７５７の間の領域からの亜型２ｄ分離株ＮＥ９２（配列番号１４６）からの図１に表わされている通りの核酸配列から推定されたアミノ酸配列と、分離株ＨＣＶ－Ｉ、ＨＣＶ－Ｊ、ＨＣ－Ｊ６及びＨＣ－Ｊ８、Ｔ１及びＴ９の対応する領域からの既知の配列及び表３に示されている通りのその他の配列との並べての比較。
【図２－２】亜型３ａクローンＢＲ３４（配列番号２、４）、ＢＲ３６（配列番号６、８）及びＢＲ３３（配列番号１０、１２）、亜型３ｃクローンＢＥ９８（配列番号１５０）、及び４型クローンＧＢ４８（配列番号１０７）、ＧＢ１１６（配列番号１０９）、ＧＢ２１５（配列番号１１１）、ＧＢ３５８（配列番号１１３）、ＧＢ５４９（配列番号１１５）、ＧＢ８０９（配列番号１１７）；ＣＡＭ６００、ＣＡＭＧ２２、ＧＢ４３８、ＣＡＲ４／１２０５、ＣＡＲ１／５０１（配列番号２０２、２０４、２０６、２０８、２１０、２１２）；５ａ型クローンＢＥ９５及びＢＥ９６（配列番号１６０及び１６２）；ならびにアミノ酸２６４５～２７５７の間の領域からの亜型２ｄ分離株ＮＥ９２（配列番号１４６）からの図１に表わされている通りの核酸配列から推定されたアミノ酸配列と、分離株ＨＣＶ－Ｉ、ＨＣＶ－Ｊ、ＨＣ－Ｊ６及びＨＣ－Ｊ８、Ｔ１及びＴ９の対応する領域からの既知の配列及び表３に示されている通りのその他の配列との並べての比較。
【図２－３】亜型３ａクローンＢＲ３４（配列番号２、４）、ＢＲ３６（配列番号６、８）及びＢＲ３３（配列番号１０、１２）、亜型３ｃクローンＢＥ９８（配列番号１５０）、及び４型クローンＧＢ４８（配列番号１０７）、ＧＢ１１６（配列番号１０９）、ＧＢ２１５（配列番号１１１）、ＧＢ３５８（配列番号１１３）、ＧＢ５４９（配列番号１１５）、ＧＢ８０９（配列番号１１７）；ＣＡＭ６００、ＣＡＭＧ２２、ＧＢ４３８、ＣＡＲ４／１２０５、ＣＡＲ１／５０１（配列番号２０２、２０４、２０６、２０８、２１０、２１２）；５ａ型クローンＢＥ９５及びＢＥ９６（配列番号１６０及び１６２）；ならびにアミノ酸２６４５～２７５７の間の領域からの亜型２ｄ分離株ＮＥ９２（配列番号１４６）からの図１に表わされている通りの核酸配列から推定されたアミノ酸配列と、分離株ＨＣＶ－Ｉ、ＨＣＶ－Ｊ、ＨＣ－Ｊ６及びＨＣ－Ｊ８、Ｔ１及びＴ９の対応する領域からの既知の配列及び表３に示されている通りのその他の配列との並べての比較。
【図２－４】亜型３ａクローンＢＲ３４（配列番号２、４）、ＢＲ３６（配列番号６、８）及びＢＲ３３（配列番号１０、１２）、亜型３ｃクローンＢＥ９８（配列番号１５０）、及び４型クローンＧＢ４８（配列番号１０７）、ＧＢ１１６（配列番号１０９）、ＧＢ２１５（配列番号１１１）、ＧＢ３５８（配列番号１１３）、ＧＢ５４９（配列番号１１５）、ＧＢ８０９（配列番号１１７）；ＣＡＭ６００、ＣＡＭＧ２２、ＧＢ４３８、ＣＡＲ４／１２０５、ＣＡＲ１／５０１（配列番号２０２、２０４、２０６、２０８、２１０、２１２）；５ａ型クローンＢＥ９５及びＢＥ９６（配列番号１６０及び１６２）；ならびにアミノ酸２６４５～２７５７の間の領域からの亜型２ｄ分離株ＮＥ９２（配列番号１４６）からの図１に表わされている通りの核酸配列から推定されたアミノ酸配列と、分離株ＨＣＶ－Ｉ、ＨＣＶ－Ｊ、ＨＣ－Ｊ６及びＨＣ－Ｊ８、Ｔ１及びＴ９の対応する領域からの既知の配列及び表３に示されている通りのその他の配列との並べての比較。
【図２－５】亜型３ａクローンＢＲ３４（配列番号２、４）、ＢＲ３６（配列番号６、８）及びＢＲ３３（配列番号１０、１２）、亜型３ｃクローンＢＥ９８（配列番号１５０）、及び４型クローンＧＢ４８（配列番号１０７）、ＧＢ１１６（配列番号１０９）、ＧＢ２１５（配列番号１１１）、ＧＢ３５８（配列番号１１３）、ＧＢ５４９（配列番号１１５）、ＧＢ８０９（配列番号１１７）；ＣＡＭ６００、ＣＡＭＧ２２、ＧＢ４３８、ＣＡ

Ｒ４／１２０５、ＣＡＲ１／５０１（配列番号２０２、２０４、２０６、２０８、２１０、２１２）；５ａ型クローンＢＥ９５及びＢＥ９６（配列番号１６０及び１６２）；ならびにアミノ酸２６４５～２７５７の間の領域からの亜型２ｄ分離株ＮＥ９２（配列番号１４６）からの図１に表わされている通りの核酸配列から推定されたアミノ酸配列と、分離株ＨＣＶ－Ｉ、ＨＣＶ－Ｊ、ＨＣ－Ｊ６及びＨＣ－Ｊ８、Ｔ１及びＴ９の対応する領域からの既知の配列及び表３に示されている通りのその他の配列との並べての比較。

【図２－６】亜型３ａクローンＢＲ３４（配列番号２、４）、ＢＲ３６（配列番号６、８）及びＢＲ３３（配列番号１０、１２）、亜型３ｃクローンＢＥ９８（配列番号１５０）、及び４型クローンＧＢ４８（配列番号１０７）、ＧＢ１１６（配列番号１０９）、ＧＢ２１５（配列番号１１１）、ＧＢ３５８（配列番号１１３）、ＧＢ５４９（配列番号１１５）、ＧＢ８０９（配列番号１１７）；ＣＡＭ６００、ＣＡＭＧ２２、ＧＢ４３８、ＣＡＲ４／１２０５、ＣＡＲ１／５０１（配列番号２０２、２０４、２０６、２０８、２１０、２１２）；５ａ型クローンＢＥ９５及びＢＥ９６（配列番号１６０及び１６２）；ならびにアミノ酸２６４５～２７５７の間の領域からの亜型２ｄ分離株ＮＥ９２（配列番号１４６）からの図１に表わされている通りの核酸配列から推定されたアミノ酸配列と、分離株ＨＣＶ－Ｉ、ＨＣＶ－Ｊ、ＨＣ－Ｊ６及びＨＣ－Ｊ８、Ｔ１及びＴ９の対応する領域からの既知の配列及び表３に示されている通りのその他の配列との並べての比較。

【図３－１】ヌクレオチド位置１と５００の間のコア領域内の分離株ＮＥ９２、ＢＥ９８、ＧＢ３５８、ＧＢ８０９、ＣＡＭ６００、ＧＢ７２４、ＢＥ９５（配列番号１４３、１４７、１９１、１６３、１６５、１９３及び１５１）からの２ｄ型、３ｃ型、４型及び５ａ型のヌクレオチド配列と、１型、２型、３型及び４型配列の対応する領域からの既知の配列との並べての比較。

【図３－２】ヌクレオチド位置１と５００の間のコア領域内の分離株ＮＥ９２、ＢＥ９８、ＧＢ３５８、ＧＢ８０９、ＣＡＭ６００、ＧＢ７２４、ＢＥ９５（配列番号１４３、１４７、１９１、１６３、１６５、１９３及び１５１）からの２ｄ型、３ｃ型、４型及び５ａ型のヌクレオチド配列と、１型、２型、３型及び４型配列の対応する領域からの既知の配列との並べての比較。

【図３－３】ヌクレオチド位置１と５００の間のコア領域内の分離株ＮＥ９２、ＢＥ９８、ＧＢ３５８、ＧＢ８０９、ＣＡＭ６００、ＧＢ７２４、ＢＥ９５（配列番号１４３、１４７、１９１、１６３、１６５、１９３及び１５１）からの２ｄ型、３ｃ型、４型及び５ａ型のヌクレオチド配列と、１型、２型、３型及び４型配列の対応する領域からの既知の配列との並べての比較。

【図３－４】ヌクレオチド位置１と５００の間のコア領域内の分離株ＮＥ９２、ＢＥ９８、ＧＢ３５８、ＧＢ８０９、ＣＡＭ６００、ＧＢ７２４、ＢＥ９５（配列番号１４３、１４７、１９１、１６３、１６５、１９３及び１５１）からの２ｄ型、３ｃ型、４型及び５ａ型のヌクレオチド配列と、１型、２型、３型及び４型配列の対応する領域からの既知の配列との並べての比較。

【図３－５】ヌクレオチド位置１と５００の間のコア領域内の分離株ＮＥ９２、ＢＥ９８、ＧＢ３５８、ＧＢ８０９、ＣＡＭ６００、ＧＢ７２４、ＢＥ９５（配列番号１４３、１４７、１９１、１６３、１６５、１９３及び１５１）からの２ｄ型、３ｃ型、４型及び５ａ型のヌクレオチド配列と、１型、２型、３型及び４型配列の対応する領域からの既知の配列との並べての比較。

【図４－１】亜型２ｄ分離株ＮＥ９２（配列番号１４３）、４型分離株ＧＢ３５８（配列番号１１８及び１８７）、ＧＢ５４９（配列番号１２０及び１７５）及びＧＢ８０９－２（配列番号１２２及び１６９）、ＧＢ８０９－４、ＢＧ１１６、ＧＢ２１５、ＣＡＭ６００、ＣＡＭＧ２２、ＣＡＭＧ２７、ＧＢ４３８、ＣＡＲ４／１２０５、ＣＡＲ４／９０１（配列番号１８９、１８３、１８５、１６７、１７１、１７３、１７７、１７９、１８１）のためのヌクレオチド配列、ヌクレオチド３７９と９５７の間の領域からの亜型３ａ分離株ＨＤ１０、ＢＲ３６及びＢＲ３３、（配列番号１３、１５、１７（ＨＤ１０））、１９、２１（ＢＲ３６）及び２３、２５又は２７（ＢＲ２３）及び亜型５ａの分離株ＢＥ９

５及びＢＥ１００（配列番号１４３及び１９５）の各々のための配列と、１型及び２型及び３型の対応する領域からの既知の配列との並べての比較。

【図４－２】亜型２ｄ分離株ＮＥ９２（配列番号１４３）、４型分離株ＧＢ３５８（配列番号１１８及び１８７）、ＧＢ５４９（配列番号１２０及び１７５）及びＧＢ８０９－２（配列番号１２２及び１６９）、ＧＢ８０９－４、ＢＧ１１６、ＧＢ２１５、ＣＡＭ６００、ＣＡＭＧ２２、ＣＡＭＧ２７、ＧＢ４３８、ＣＡＲ４／１２０５、ＣＡＲ４／９０１（配列番号１８９、１８３、１８５、１６７、１７１、１７３、１７７、１７９、１８１）のためのヌクレオチド配列、ヌクレオチド３７９と９５７の間の領域からの亜型３ａ分離株ＨＤ１０、ＢＲ３６及びＢＲ３３、（配列番号１３、１５、１７（ＨＤ１０））、１９、２１（ＢＲ３６）及び２３、２５又は２７（ＢＲ２３）及び亜型５ａの分離株ＢＥ９５及びＢＥ１００（配列番号１４３及び１９５）の各々のための配列と、１型及び２型及び３型の対応する領域からの既知の配列との並べての比較。

【図４－３】亜型２ｄ分離株ＮＥ９２（配列番号１４３）、４型分離株ＧＢ３５８（配列番号１１８及び１８７）、ＧＢ５４９（配列番号１２０及び１７５）及びＧＢ８０９－２（配列番号１２２及び１６９）、ＧＢ８０９－４、ＢＧ１１６、ＧＢ２１５、ＣＡＭ６００、ＣＡＭＧ２２、ＣＡＭＧ２７、ＧＢ４３８、ＣＡＲ４／１２０５、ＣＡＲ４／９０１（配列番号１８９、１８３、１８５、１６７、１７１、１７３、１７７、１７９、１８１）のためのヌクレオチド配列、ヌクレオチド３７９と９５７の間の領域からの亜型３ａ分離株ＨＤ１０、ＢＲ３６及びＢＲ３３、（配列番号１３、１５、１７（ＨＤ１０））、１９、２１（ＢＲ３６）及び２３、２５又は２７（ＢＲ２３）及び亜型５ａの分離株ＢＥ９５及びＢＥ１００（配列番号１４３及び１９５）の各々のための配列と、１型及び２型及び３型の対応する領域からの既知の配列との並べての比較。

【図４－４】亜型２ｄ分離株ＮＥ９２（配列番号１４３）、４型分離株ＧＢ３５８（配列番号１１８及び１８７）、ＧＢ５４９（配列番号１２０及び１７５）及びＧＢ８０９－２（配列番号１２２及び１６９）、ＧＢ８０９－４、ＢＧ１１６、ＧＢ２１５、ＣＡＭ６００、ＣＡＭＧ２２、ＣＡＭＧ２７、ＧＢ４３８、ＣＡＲ４／１２０５、ＣＡＲ４／９０１（配列番号１８９、１８３、１８５、１６７、１７１、１７３、１７７、１７９、１８１）のためのヌクレオチド配列、ヌクレオチド３７９と９５７の間の領域からの亜型３ａ分離株ＨＤ１０、ＢＲ３６及びＢＲ３３、（配列番号１３、１５、１７（ＨＤ１０））、１９、２１（ＢＲ３６）及び２３、２５又は２７（ＢＲ２３）及び亜型５ａの分離株ＢＥ９５及びＢＥ１００（配列番号１４３及び１９５）の各々のための配列と、１型及び２型及び３型の対応する領域からの既知の配列との並べての比較。

【図４－５】亜型２ｄ分離株ＮＥ９２（配列番号１４３）、４型分離株ＧＢ３５８（配列番号１１８及び１８７）、ＧＢ５４９（配列番号１２０及び１７５）及びＧＢ８０９－２（配列番号１２２及び１６９）、ＧＢ８０９－４、ＢＧ１１６、ＧＢ２１５、ＣＡＭ６００、ＣＡＭＧ２２、ＣＡＭＧ２７、ＧＢ４３８、ＣＡＲ４／１２０５、ＣＡＲ４／９０１（配列番号１８９、１８３、１８５、１６７、１７１、１７３、１７７、１７９、１８１）のためのヌクレオチド配列、ヌクレオチド３７９と９５７の間の領域からの亜型３ａ分離株ＨＤ１０、ＢＲ３６及びＢＲ３３、（配列番号１３、１５、１７（ＨＤ１０））、１９、２１（ＢＲ３６）及び２３、２５又は２７（ＢＲ２３）及び亜型５ａの分離株ＢＥ９５及びＢＥ１００（配列番号１４３及び１９５）の各々のための配列と、１型及び２型及び３型の対応する領域からの既知の配列との並べての比較。

【図４－６】亜型２ｄ分離株ＮＥ９２（配列番号１４３）、４型分離株ＧＢ３５８（配列番号１１８及び１８７）、ＧＢ５４９（配列番号１２０及び１７５）及びＧＢ８０９－２（配列番号１２２及び１６９）、ＧＢ８０９－４、ＢＧ１１６、ＧＢ２１５、ＣＡＭ６００、ＣＡＭＧ２２、ＣＡＭＧ２７、ＧＢ４３８、ＣＡＲ４／１２０５、ＣＡＲ４／９０１（配列番号１８９、１８３、１８５、１６７、１７１、１７３、１７７、１７９、１８１）のためのヌクレオチド配列、ヌクレオチド３７９と９５７の間の領域からの亜型３ａ分離株ＨＤ１０、ＢＲ３６及びＢＲ３３、（配列番号１３、１５、１７（ＨＤ１０））、１９、２１（ＢＲ３６）及び２３、２５又は２７（ＢＲ２３）及び亜型５ａの分離株ＢＥ９

５及びＢＥ１００（配列番号１４３及び１９５）の各々のための配列と、１型及び２型及び３型の対応する領域からの既知の配列との並べての比較。

【図４－７】亜型２ｄ分離株ＮＥ９２（配列番号１４３）、４型分離株ＧＢ３５８（配列番号１１８及び１８７）、ＧＢ５４９（配列番号１２０及び１７５）及びＧＢ８０９－２（配列番号１２２及び１６９）、ＧＢ８０９－４、ＢＧ１１６、ＧＢ２１５、ＣＡＭ６００、ＣＡＭＧ２２、ＣＡＭＧ２７、ＧＢ４３８、ＣＡＲ４／１２０５、ＣＡＲ４／９０１（配列番号１８９、１８３、１８５、１６７、１７１、１７３、１７７、１７９、１８１）のためのヌクレオチド配列、ヌクレオチド３７９と９５７の間の領域からの亜型３ａ分離株ＨＤ１０、ＢＲ３６及びＢＲ３３、（配列番号１３、１５、１７（ＨＤ１０））、１９、２１（ＢＲ３６）及び２３、２５又は２７（ＢＲ２３）及び亜型５ａの分離株ＢＥ９５及びＢＥ１００（配列番号１４３及び１９５）の各々のための配列と、１型及び２型及び３型の対応する領域からの既知の配列との並べての比較。

【図４－８】亜型２ｄ分離株ＮＥ９２（配列番号１４３）、４型分離株ＧＢ３５８（配列番号１１８及び１８７）、ＧＢ５４９（配列番号１２０及び１７５）及びＧＢ８０９－２（配列番号１２２及び１６９）、ＧＢ８０９－４、ＢＧ１１６、ＧＢ２１５、ＣＡＭ６００、ＣＡＭＧ２２、ＣＡＭＧ２７、ＧＢ４３８、ＣＡＲ４／１２０５、ＣＡＲ４／９０１（配列番号１８９、１８３、１８５、１６７、１７１、１７３、１７７、１７９、１８１）のためのヌクレオチド配列、ヌクレオチド３７９と９５７の間の領域からの亜型３ａ分離株ＨＤ１０、ＢＲ３６及びＢＲ３３、（配列番号１３、１５、１７（ＨＤ１０））、１９、２１（ＢＲ３６）及び２３、２５又は２７（ＢＲ２３）及び亜型５ａの分離株ＢＥ９５及びＢＥ１００（配列番号１４３及び１９５）の各々のための配列と、１型及び２型及び３型の対応する領域からの既知の配列との並べての比較。

【図４－９】亜型２ｄ分離株ＮＥ９２（配列番号１４３）、４型分離株ＧＢ３５８（配列番号１１８及び１８７）、ＧＢ５４９（配列番号１２０及び１７５）及びＧＢ８０９－２（配列番号１２２及び１６９）、ＧＢ８０９－４、ＢＧ１１６、ＧＢ２１５、ＣＡＭ６００、ＣＡＭＧ２２、ＣＡＭＧ２７、ＧＢ４３８、ＣＡＲ４／１２０５、ＣＡＲ４／９０１（配列番号１８９、１８３、１８５、１６７、１７１、１７３、１７７、１７９、１８１）のためのヌクレオチド配列、ヌクレオチド３７９と９５７の間の領域からの亜型３ａ分離株ＨＤ１０、ＢＲ３６及びＢＲ３３、（配列番号１３、１５、１７（ＨＤ１０））、１９、２１（ＢＲ３６）及び２３、２５又は２７（ＢＲ２３）及び亜型５ａの分離株ＢＥ９５及びＢＥ１００（配列番号１４３及び１９５）の各々のための配列と、１型及び２型及び３型の対応する領域からの既知の配列との並べての比較。

【図４－１０】亜型２ｄ分離株ＮＥ９２（配列番号１４３）、４型分離株ＧＢ３５８（配列番号１１８及び１８７）、ＧＢ５４９（配列番号１２０及び１７５）及びＧＢ８０９－２（配列番号１２２及び１６９）、ＧＢ８０９－４、ＢＧ１１６、ＧＢ２１５、ＣＡＭ６００、ＣＡＭＧ２２、ＣＡＭＧ２７、ＧＢ４３８、ＣＡＲ４／１２０５、ＣＡＲ４／９０１（配列番号１８９、１８３、１８５、１６７、１７１、１７３、１７７、１７９、１８１）のためのヌクレオチド配列、ヌクレオチド３７９と９５７の間の領域からの亜型３ａ分離株ＨＤ１０、ＢＲ３６及びＢＲ３３、（配列番号１３、１５、１７（ＨＤ１０））、１９、２１（ＢＲ３６）及び２３、２５又は２７（ＢＲ２３）及び亜型５ａの分離株ＢＥ９５及びＢＥ１００（配列番号１４３及び１９５）の各々のための配列と、１型及び２型及び３型の対応する領域からの既知の配列との並べての比較。

【図４－１１】亜型２ｄ分離株ＮＥ９２（配列番号１４３）、４型分離株ＧＢ３５８（配列番号１１８及び１８７）、ＧＢ５４９（配列番号１２０及び１７５）及びＧＢ８０９－２（配列番号１２２及び１６９）、ＧＢ８０９－４、ＢＧ１１６、ＧＢ２１５、ＣＡＭ６００、ＣＡＭＧ２２、ＣＡＭＧ２７、ＧＢ４３８、ＣＡＲ４／１２０５、ＣＡＲ４／９０１（配列番号１８９、１８３、１８５、１６７、１７１、１７３、１７７、１７９、１８１）のためのヌクレオチド配列、ヌクレオチド３７９と９５７の間の領域からの亜型３ａ分離株ＨＤ１０、ＢＲ３６及びＢＲ３３、（配列番号１３、１５、１７（ＨＤ１０））、１９、２１（ＢＲ３６）及び２３、２５又は２７（ＢＲ２３）及び亜型５ａの分離株ＢＥ

９５及びＢＥ１００（配列番号１４３及び１９５）の各々のための配列と、１型及び２型及び３型の対応する領域からの既知の配列との並べての比較。

【図４－１２】亜型２ｄ分離株ＮＥ９２（配列番号１４３）、４型分離株ＧＢ３５８（配列番号１１８及び１８７）、ＧＢ５４９（配列番号１２０及び１７５）及びＧＢ８０９－２（配列番号１２２及び１６９）、ＧＢ８０９－４、ＢＧ１１６、ＧＢ２１５、ＣＡＭ６００、ＣＡＭＧ２２、ＣＡＭＧ２７、ＧＢ４３８、ＣＡＲ４／１２０５、ＣＡＲ４／９０１（配列番号１８９、１８３、１８５、１６７、１７１、１７３、１７７、１７９、１８１）のためのヌクレオチド配列、ヌクレオチド３７９と９５７の間の領域からの亜型３ａ分離株ＨＤ１０、ＢＲ３６及びＢＲ３３、（配列番号１３、１５、１７（ＨＤ１０））、１９、２１（ＢＲ３６）及び２３、２５又は２７（ＢＲ２３）及び亜型５ａの分離株ＢＥ９５及びＢＥ１００（配列番号１４３及び１９５）の各々のための配列と、１型及び２型及び３型の対応する領域からの既知の配列との並べての比較。

【図４－１３】亜型２ｄ分離株ＮＥ９２（配列番号１４３）、４型分離株ＧＢ３５８（配列番号１１８及び１８７）、ＧＢ５４９（配列番号１２０及び１７５）及びＧＢ８０９－２（配列番号１２２及び１６９）、ＧＢ８０９－４、ＢＧ１１６、ＧＢ２１５、ＣＡＭ６００、ＣＡＭＧ２２、ＣＡＭＧ２７、ＧＢ４３８、ＣＡＲ４／１２０５、ＣＡＲ４／９０１（配列番号１８９、１８３、１８５、１６７、１７１、１７３、１７７、１７９、１８１）のためのヌクレオチド配列、ヌクレオチド３７９と９５７の間の領域からの亜型３ａ分離株ＨＤ１０、ＢＲ３６及びＢＲ３３、（配列番号１３、１５、１７（ＨＤ１０））、１９、２１（ＢＲ３６）及び２３、２５又は２７（ＢＲ２３）及び亜型５ａの分離株ＢＥ９５及びＢＥ１００（配列番号１４３及び１９５）の各々のための配列と、１型及び２型及び３型の対応する領域からの既知の配列との並べての比較。

【図４－１４】亜型２ｄ分離株ＮＥ９２（配列番号１４３）、４型分離株ＧＢ３５８（配列番号１１８及び１８７）、ＧＢ５４９（配列番号１２０及び１７５）及びＧＢ８０９－２（配列番号１２２及び１６９）、ＧＢ８０９－４、ＢＧ１１６、ＧＢ２１５、ＣＡＭ６００、ＣＡＭＧ２２、ＣＡＭＧ２７、ＧＢ４３８、ＣＡＲ４／１２０５、ＣＡＲ４／９０１（配列番号１８９、１８３、１８５、１６７、１７１、１７３、１７７、１７９、１８１）のためのヌクレオチド配列、ヌクレオチド３７９と９５７の間の領域からの亜型３ａ分離株ＨＤ１０、ＢＲ３６及びＢＲ３３、（配列番号１３、１５、１７（ＨＤ１０））、１９、２１（ＢＲ３６）及び２３、２５又は２７（ＢＲ２３）及び亜型５ａの分離株ＢＥ９５及びＢＥ１００（配列番号１４３及び１９５）の各々のための配列と、１型及び２型及び３型の対応する領域からの既知の配列との並べての比較。

【図４－１５】亜型２ｄ分離株ＮＥ９２（配列番号１４３）、４型分離株ＧＢ３５８（配列番号１１８及び１８７）、ＧＢ５４９（配列番号１２０及び１７５）及びＧＢ８０９－２（配列番号１２２及び１６９）、ＧＢ８０９－４、ＢＧ１１６、ＧＢ２１５、ＣＡＭ６００、ＣＡＭＧ２２、ＣＡＭＧ２７、ＧＢ４３８、ＣＡＲ４／１２０５、ＣＡＲ４／９０１（配列番号１８９、１８３、１８５、１６７、１７１、１７３、１７７、１７９、１８１）のためのヌクレオチド配列、ヌクレオチド３７９と９５７の間の領域からの亜型３ａ分離株ＨＤ１０、ＢＲ３６及びＢＲ３３、（配列番号１３、１５、１７（ＨＤ１０））、１９、２１（ＢＲ３６）及び２３、２５又は２７（ＢＲ２３）及び亜型５ａの分離株ＢＥ９５及びＢＥ１００（配列番号１４３及び１９５）の各々のための配列と、１型及び２型及び３型の対応する領域からの既知の配列との並べての比較。

【図４－１６】亜型２ｄ分離株ＮＥ９２（配列番号１４３）、４型分離株ＧＢ３５８（配列番号１１８及び１８７）、ＧＢ５４９（配列番号１２０及び１７５）及びＧＢ８０９－２（配列番号１２２及び１６９）、ＧＢ８０９－４、ＢＧ１１６、ＧＢ２１５、ＣＡＭ６００、ＣＡＭＧ２２、ＣＡＭＧ２７、ＧＢ４３８、ＣＡＲ４／１２０５、ＣＡＲ４／９０１（配列番号１８９、１８３、１８５、１６７、１７１、１７３、１７７、１７９、１８１）のためのヌクレオチド配列、ヌクレオチド３７９と９５７の間の領域からの亜型３ａ分離株ＨＤ１０、ＢＲ３６及びＢＲ３３、（配列番号１３、１５、１７（ＨＤ１０））、１９、２１（ＢＲ３６）及び２３、２５又は２７（ＢＲ２３）及び亜型５ａの分離株ＢＥ

９５及びＢＥ１００（配列番号１４３及び１９５）の各々のための配列と、１型及び２型及び３型の対応する領域からの既知の配列との並べての比較。

【図４－１７】亜型２ｄ分離株ＮＥ９２（配列番号１４３）、４型分離株ＧＢ３５８（配列番号１１８及び１８７）、ＧＢ５４９（配列番号１２０及び１７５）及びＧＢ８０９－２（配列番号１２２及び１６９）、ＧＢ８０９－４、ＢＧ１１６、ＧＢ２１５、ＣＡＭ６００、ＣＡＭＧ２２、ＣＡＭＧ２７、ＧＢ４３８、ＣＡＲ４／１２０５、ＣＡＲ４／９０１（配列番号１８９、１８３、１８５、１６７、１７１、１７３、１７７、１７９、１８１）のためのヌクレオチド配列、ヌクレオチド３７９と９５７の間の領域からの亜型３ａ分離株ＨＤ１０、ＢＲ３６及びＢＲ３３、（配列番号１３、１５、１７（ＨＤ１０））、１９、２１（ＢＲ３６）及び２３、２５又は２７（ＢＲ２３）及び亜型５ａの分離株ＢＥ９５及びＢＥ１００（配列番号１４３及び１９５）の各々のための配列と、１型及び２型及び３型の対応する領域からの既知の配列との並べての比較。

【図４－１８】亜型２ｄ分離株ＮＥ９２（配列番号１４３）、４型分離株ＧＢ３５８（配列番号１１８及び１８７）、ＧＢ５４９（配列番号１２０及び１７５）及びＧＢ８０９－２（配列番号１２２及び１６９）、ＧＢ８０９－４、ＢＧ１１６、ＧＢ２１５、ＣＡＭ６００、ＣＡＭＧ２２、ＣＡＭＧ２７、ＧＢ４３８、ＣＡＲ４／１２０５、ＣＡＲ４／９０１（配列番号１８９、１８３、１８５、１６７、１７１、１７３、１７７、１７９、１８１）のためのヌクレオチド配列、ヌクレオチド３７９と９５７の間の領域からの亜型３ａ分離株ＨＤ１０、ＢＲ３６及びＢＲ３３、（配列番号１３、１５、１７（ＨＤ１０））、１９、２１（ＢＲ３６）及び２３、２５又は２７（ＢＲ２３）及び亜型５ａの分離株ＢＥ９５及びＢＥ１００（配列番号１４３及び１９５）の各々のための配列と、１型及び２型及び３型の対応する領域からの既知の配列との並べての比較。

【図４－１９】亜型２ｄ分離株ＮＥ９２（配列番号１４３）、４型分離株ＧＢ３５８（配列番号１１８及び１８７）、ＧＢ５４９（配列番号１２０及び１７５）及びＧＢ８０９－２（配列番号１２２及び１６９）、ＧＢ８０９－４、ＢＧ１１６、ＧＢ２１５、ＣＡＭ６００、ＣＡＭＧ２２、ＣＡＭＧ２７、ＧＢ４３８、ＣＡＲ４／１２０５、ＣＡＲ４／９０１（配列番号１８９、１８３、１８５、１６７、１７１、１７３、１７７、１７９、１８１）のためのヌクレオチド配列、ヌクレオチド３７９と９５７の間の領域からの亜型３ａ分離株ＨＤ１０、ＢＲ３６及びＢＲ３３、（配列番号１３、１５、１７（ＨＤ１０））、１９、２１（ＢＲ３６）及び２３、２５又は２７（ＢＲ２３）及び亜型５ａの分離株ＢＥ９５及びＢＥ１００（配列番号１４３及び１９５）の各々のための配列と、１型及び２型及び３型の対応する領域からの既知の配列との並べての比較。

【図４－２０】亜型２ｄ分離株ＮＥ９２（配列番号１４３）、４型分離株ＧＢ３５８（配列番号１１８及び１８７）、ＧＢ５４９（配列番号１２０及び１７５）及びＧＢ８０９－２（配列番号１２２及び１６９）、ＧＢ８０９－４、ＢＧ１１６、ＧＢ２１５、ＣＡＭ６００、ＣＡＭＧ２２、ＣＡＭＧ２７、ＧＢ４３８、ＣＡＲ４／１２０５、ＣＡＲ４／９０１（配列番号１８９、１８３、１８５、１６７、１７１、１７３、１７７、１７９、１８１）のためのヌクレオチド配列、ヌクレオチド３７９と９５７の間の領域からの亜型３ａ分離株ＨＤ１０、ＢＲ３６及びＢＲ３３、（配列番号１３、１５、１７（ＨＤ１０））、１９、２１（ＢＲ３６）及び２３、２５又は２７（ＢＲ２３）及び亜型５ａの分離株ＢＥ９５及びＢＥ１００（配列番号１４３及び１９５）の各々のための配列と、１型及び２型及び３型の対応する領域からの既知の配列との並べての比較。

【図４－２１】亜型２ｄ分離株ＮＥ９２（配列番号１４３）、４型分離株ＧＢ３５８（配列番号１１８及び１８７）、ＧＢ５４９（配列番号１２０及び１７５）及びＧＢ８０９－２（配列番号１２２及び１６９）、ＧＢ８０９－４、ＢＧ１１６、ＧＢ２１５、ＣＡＭ６００、ＣＡＭＧ２２、ＣＡＭＧ２７、ＧＢ４３８、ＣＡＲ４／１２０５、ＣＡＲ４／９０１（配列番号１８９、１８３、１８５、１６７、１７１、１７３、１７７、１７９、１８１）のためのヌクレオチド配列、ヌクレオチド３７９と９５７の間の領域からの亜型３ａ分離株ＨＤ１０、ＢＲ３６及びＢＲ３３、（配列番号１３、１５、１７（ＨＤ１０））、１９、２１（ＢＲ３６）及び２３、２５又は２７（ＢＲ２３）及び亜型５ａの分離株ＢＥ

９５及びＢＥ１００（配列番号１４３及び１９５）の各々のための配列と、１型及び２型及び３型の対応する領域からの既知の配列との並べての比較。

【図４－２２】亜型２ｄ分離株ＮＥ９２（配列番号１４３）、４型分離株ＧＢ３５８（配列番号１１８及び１８７）、ＧＢ５４９（配列番号１２０及び１７５）及びＧＢ８０９－２（配列番号１２２及び１６９）、ＧＢ８０９－４、ＢＧ１１６、ＧＢ２１５、ＣＡＭ６００、ＣＡＭＧ２２、ＣＡＭＧ２７、ＧＢ４３８、ＣＡＲ４／１２０５、ＣＡＲ４／９０１（配列番号１８９、１８３、１８５、１６７、１７１、１７３、１７７、１７９、１８１）のためのヌクレオチド配列、ヌクレオチド３７９と９５７の間の領域からの亜型３ａ分離株ＨＤ１０、ＢＲ３６及びＢＲ３３、（配列番号１３、１５、１７（ＨＤ１０））、１９、２１（ＢＲ３６）及び２３、２５又は２７（ＢＲ２３）及び亜型５ａの分離株ＢＥ９５及びＢＥ１００（配列番号１４３及び１９５）の各々のための配列と、１型及び２型及び３型の対応する領域からの既知の配列との並べての比較。

【図４－２３】亜型２ｄ分離株ＮＥ９２（配列番号１４３）、４型分離株ＧＢ３５８（配列番号１１８及び１８７）、ＧＢ５４９（配列番号１２０及び１７５）及びＧＢ８０９－２（配列番号１２２及び１６９）、ＧＢ８０９－４、ＢＧ１１６、ＧＢ２１５、ＣＡＭ６００、ＣＡＭＧ２２、ＣＡＭＧ２７、ＧＢ４３８、ＣＡＲ４／１２０５、ＣＡＲ４／９０１（配列番号１８９、１８３、１８５、１６７、１７１、１７３、１７７、１７９、１８１）のためのヌクレオチド配列、ヌクレオチド３７９と９５７の間の領域からの亜型３ａ分離株ＨＤ１０、ＢＲ３６及びＢＲ３３、（配列番号１３、１５、１７（ＨＤ１０））、１９、２１（ＢＲ３６）及び２３、２５又は２７（ＢＲ２３）及び亜型５ａの分離株ＢＥ９５及びＢＥ１００（配列番号１４３及び１９５）の各々のための配列と、１型及び２型及び３型の対応する領域からの既知の配列との並べての比較。

【図４－２４】亜型２ｄ分離株ＮＥ９２（配列番号１４３）、４型分離株ＧＢ３５８（配列番号１１８及び１８７）、ＧＢ５４９（配列番号１２０及び１７５）及びＧＢ８０９－２（配列番号１２２及び１６９）、ＧＢ８０９－４、ＢＧ１１６、ＧＢ２１５、ＣＡＭ６００、ＣＡＭＧ２２、ＣＡＭＧ２７、ＧＢ４３８、ＣＡＲ４／１２０５、ＣＡＲ４／９０１（配列番号１８９、１８３、１８５、１６７、１７１、１７３、１７７、１７９、１８１）のためのヌクレオチド配列、ヌクレオチド３７９と９５７の間の領域からの亜型３ａ分離株ＨＤ１０、ＢＲ３６及びＢＲ３３、（配列番号１３、１５、１７（ＨＤ１０））、１９、２１（ＢＲ３６）及び２３、２５又は２７（ＢＲ２３）及び亜型５ａの分離株ＢＥ９５及びＢＥ１００（配列番号１４３及び１９５）の各々のための配列と、１型及び２型及び３型の対応する領域からの既知の配列との並べての比較。

【図５－１】位置１と３１９の間の領域からの分離株ＢＲ３３、ＢＲ３６、ＨＤ１０、ＧＢ３５８、ＧＢ５４９及びＧＢ８０９、ＰＣ又はＢＥ９５、ＣＡＭ６００及びＧＢ７２４（配列番号１４、２０、２４、１１９又は１９２、１２１、１２３又は１６４、５４又は１５２、１６６及び１９４）のコア／Ｅ１領域の新しいＨＣＶヌクレオチド配列から推定されたアミノ酸配列と、１ａ型（ＨＣＶ－１）、１ｂ型（ＨＣＶ－Ｊ）、２ａ型（ＨＣ－ＪＧ）、２ｂ型（ＨＣ－Ｊ８）、ＮＺＬ１、ＨＣＶ－ＴＲ、３ａ型（Ｅ－ｂ１）の位置７－８９、４ａ型（ＥＧ－２９）の位置８－８８との並べての比較。Ｖ－コア、コアタンパク質内の型特異的特徴を伴う可変領域；Ｖ１、Ｅ１タンパク質の可変領域１；Ｖ２、Ｅ１タンパク質の可変領域２；Ｖ３、Ｅ１タンパク質の可変領域３；Ｖ４、Ｅ１タンパク質の可変領域４；Ｖ５、Ｅ１タンパク質の可変領域５。

【図５－２】位置１と３１９の間の領域からの分離株ＢＲ３３、ＢＲ３６、ＨＤ１０、ＧＢ３５８、ＧＢ５４９及びＧＢ８０９、ＰＣ又はＢＥ９５、ＣＡＭ６００及びＧＢ７２４（配列番号１４、２０、２４、１１９又は１９２、１２１、１２３又は１６４、５４又は１５２、１６６及び１９４）のコア／Ｅ１領域の新しいＨＣＶヌクレオチド配列から推定されたアミノ酸配列と、１ａ型（ＨＣＶ－１）、１ｂ型（ＨＣＶ－Ｊ）、２ａ型（ＨＣ－ＪＧ）、２ｂ型（ＨＣ－Ｊ８）、ＮＺＬ１、ＨＣＶ－ＴＲ、３ａ型（Ｅ－ｂ１）の位置７－８９、４ａ型（ＥＧ－２９）の位置８－８８との並べての比較。Ｖ－コア、コアタンパク質内の型特異的特徴を伴う可変領域；Ｖ１、Ｅ１タンパク質の可変領域１；Ｖ２、Ｅ１

タンパク質の可変領域２；Ｖ３、Ｅ１タンパク質の可変領域３；Ｖ４、Ｅ１タンパク質の可変領域４；Ｖ５、Ｅ１タンパク質の可変領域５。

【図５－３】位置１と３１９の間の領域からの分離株ＢＲ３３、ＢＲ３６、ＨＤ１０、ＧＢ３５８、ＧＢ５４９及びＧＢ８０９、ＰＣ又はＢＥ９５、ＣＡＭ６００及びＧＢ７２４（配列番号１４、２０、２４、１１９又は１９２、１２１、１２３又は１６４、５４又は１５２、１６６及び１９４）のコア／Ｅ１領域の新しいＨＣＶヌクレオチド配列から推定されたアミノ酸配列と、１ａ型（ＨＣＶ－１）、１ｂ型（ＨＣＶ－Ｊ）、２ａ型（ＨＣ－ＪＧ）、２ｂ型（ＨＣ－Ｊ８）、ＮＺＬ１、ＨＣＶ－ＴＲ、３ａ型（Ｅ－ｂ１）の位置７－８９、４ａ型（ＥＧ－２９）の位置８－８８との並べての比較。Ｖ－コア、コアタンパク質内の型特異的特徴を伴う可変領域；Ｖ１、Ｅ１タンパク質の可変領域１；Ｖ２、Ｅ１タンパク質の可変領域２；Ｖ３、Ｅ１タンパク質の可変領域３；Ｖ４、Ｅ１タンパク質の可変領域４；Ｖ５、Ｅ１タンパク質の可変領域５。

【図５－４】位置１と３１９の間の領域からの分離株ＢＲ３３、ＢＲ３６、ＨＤ１０、ＧＢ３５８、ＧＢ５４９及びＧＢ８０９、ＰＣ又はＢＥ９５、ＣＡＭ６００及びＧＢ７２４（配列番号１４、２０、２４、１１９又は１９２、１２１、１２３又は１６４、５４又は１５２、１６６及び１９４）のコア／Ｅ１領域の新しいＨＣＶヌクレオチド配列から推定されたアミノ酸配列と、１ａ型（ＨＣＶ－１）、１ｂ型（ＨＣＶ－Ｊ）、２ａ型（ＨＣ－ＪＧ）、２ｂ型（ＨＣ－Ｊ８）、ＮＺＬ１、ＨＣＶ－ＴＲ、３ａ型（Ｅ－ｂ１）の位置７－８９、４ａ型（ＥＧ－２９）の位置８－８８との並べての比較。Ｖ－コア、コアタンパク質内の型特異的特徴を伴う可変領域；Ｖ１、Ｅ１タンパク質の可変領域１；Ｖ２、Ｅ１タンパク質の可変領域２；Ｖ３、Ｅ１タンパク質の可変領域３；Ｖ４、Ｅ１タンパク質の可変領域４；Ｖ５、Ｅ１タンパク質の可変領域５。

【図５－５】位置１と３１９の間の領域からの分離株ＢＲ３３、ＢＲ３６、ＨＤ１０、ＧＢ３５８、ＧＢ５４９及びＧＢ８０９、ＰＣ又はＢＥ９５、ＣＡＭ６００及びＧＢ７２４（配列番号１４、２０、２４、１１９又は１９２、１２１、１２３又は１６４、５４又は１５２、１６６及び１９４）のコア／Ｅ１領域の新しいＨＣＶヌクレオチド配列から推定されたアミノ酸配列と、１ａ型（ＨＣＶ－１）、１ｂ型（ＨＣＶ－Ｊ）、２ａ型（ＨＣ－ＪＧ）、２ｂ型（ＨＣ－Ｊ８）、ＮＺＬ１、ＨＣＶ－ＴＲ、３ａ型（Ｅ－ｂ１）の位置７－８９、４ａ型（ＥＧ－２９）の位置８－８８との並べての比較。Ｖ－コア、コアタンパク質内の型特異的特徴を伴う可変領域；Ｖ１、Ｅ１タンパク質の可変領域１；Ｖ２、Ｅ１タンパク質の可変領域２；Ｖ３、Ｅ１タンパク質の可変領域３；Ｖ４、Ｅ１タンパク質の可変領域４；Ｖ５、Ｅ１タンパク質の可変領域５。

【図５－６】位置１と３１９の間の領域からの分離株ＢＲ３３、ＢＲ３６、ＨＤ１０、ＧＢ３５８、ＧＢ５４９及びＧＢ８０９、ＰＣ又はＢＥ９５、ＣＡＭ６００及びＧＢ７２４（配列番号１４、２０、２４、１１９又は１９２、１２１、１２３又は１６４、５４又は１５２、１６６及び１９４）のコア／Ｅ１領域の新しいＨＣＶヌクレオチド配列から推定されたアミノ酸配列と、１ａ型（ＨＣＶ－１）、１ｂ型（ＨＣＶ－Ｊ）、２ａ型（ＨＣ－ＪＧ）、２ｂ型（ＨＣ－Ｊ８）、ＮＺＬ１、ＨＣＶ－ＴＲ、３ａ型（Ｅ－ｂ１）の位置７－８９、４ａ型（ＥＧ－２９）の位置８－８８との並べての比較。Ｖ－コア、コアタンパク質内の型特異的特徴を伴う可変領域；Ｖ１、Ｅ１タンパク質の可変領域１；Ｖ２、Ｅ１タンパク質の可変領域２；Ｖ３、Ｅ１タンパク質の可変領域３；Ｖ４、Ｅ１タンパク質の可変領域４；Ｖ５、Ｅ１タンパク質の可変領域５。

【図５－７】位置１と３１９の間の領域からの分離株ＢＲ３３、ＢＲ３６、ＨＤ１０、ＧＢ３５８、ＧＢ５４９及びＧＢ８０９、ＰＣ又はＢＥ９５、ＣＡＭ６００及びＧＢ７２４（配列番号１４、２０、２４、１１９又は１９２、１２１、１２３又は１６４、５４又は１５２、１６６及び１９４）のコア／Ｅ１領域の新しいＨＣＶヌクレオチド配列から推定されたアミノ酸配列と、１ａ型（ＨＣＶ－１）、１ｂ型（ＨＣＶ－Ｊ）、２ａ型（ＨＣ－ＪＧ）、２ｂ型（ＨＣ－Ｊ８）、ＮＺＬ１、ＨＣＶ－ＴＲ、３ａ型（Ｅ－ｂ１）の位置７－８９、４ａ型（ＥＧ－２９）の位置８－８８との並べての比較。Ｖ－コア、コアタンパク質内の型特異的特徴を伴う可変領域；Ｖ１、Ｅ１タンパク質の可変領域１；Ｖ２、Ｅ１

タンパク質の可変領域２；Ｖ３、Ｅ１タンパク質の可変領域３；Ｖ４、Ｅ１タンパク質の可変領域４；Ｖ５、Ｅ１タンパク質の可変領域５。
【図５－８】位置１と３１９の間の領域からの分離株ＢＲ３３、ＢＲ３６、ＨＤ１０、ＧＢ３５８、ＧＢ５４９及びＧＢ８０９、ＰＣ又はＢＥ９５、ＣＡＭ６００及びＧＢ７２４（配列番号１４、２０、２４、１１９又は１９２、１２１、１２３又は１６４、５４又は１５２、１６６及び１９４）のコア／Ｅ１領域の新しいＨＣＶヌクレオチド配列から推定されたアミノ酸配列と、１ａ型（ＨＣＶ－１）、１ｂ型（ＨＣＶ－Ｊ）、２ａ型（ＨＣ－ＪＧ）、２ｂ型（ＨＣ－Ｊ８）、ＮＺＬ１、ＨＣＶ－ＴＲ、３ａ型（Ｅ－ｂ１）の位置７－８９、４ａ型（ＥＧ－２９）の位置８－８８との並べての比較。Ｖ－コア、コアタンパク質内の型特異的特徴を伴う可変領域；Ｖ１、Ｅ１タンパク質の可変領域１；Ｖ２、Ｅ１タンパク質の可変領域２；Ｖ３、Ｅ１タンパク質の可変領域３；Ｖ４、Ｅ１タンパク質の可変領域４；Ｖ５、Ｅ１タンパク質の可変領域５。
【図５－９】位置１と３１９の間の領域からの分離株ＢＲ３３、ＢＲ３６、ＨＤ１０、ＧＢ３５８、ＧＢ５４９及びＧＢ８０９、ＰＣ又はＢＥ９５、ＣＡＭ６００及びＧＢ７２４（配列番号１４、２０、２４、１１９又は１９２、１２１、１２３又は１６４、５４又は１５２、１６６及び１９４）のコア／Ｅ１領域の新しいＨＣＶヌクレオチド配列から推定されたアミノ酸配列と、１ａ型（ＨＣＶ－１）、１ｂ型（ＨＣＶ－Ｊ）、２ａ型（ＨＣ－ＪＧ）、２ｂ型（ＨＣ－Ｊ８）、ＮＺＬ１、ＨＣＶ－ＴＲ、３ａ型（Ｅ－ｂ１）の位置７－８９、４ａ型（ＥＧ－２９）の位置８－８８との並べての比較。Ｖ－コア、コアタンパク質内の型特異的特徴を伴う可変領域；Ｖ１、Ｅ１タンパク質の可変領域１；Ｖ２、Ｅ１タンパク質の可変領域２；Ｖ３、Ｅ１タンパク質の可変領域３；Ｖ４、Ｅ１タンパク質の可変領域４；Ｖ５、Ｅ１タンパク質の可変領域５。
【図５－１０】位置１と３１９の間の領域からの分離株ＢＲ３３、ＢＲ３６、ＨＤ１０、ＧＢ３５８、ＧＢ５４９及びＧＢ８０９、ＰＣ又はＢＥ９５、ＣＡＭ６００及びＧＢ７２４（配列番号１４、２０、２４、１１９又は１９２、１２１、１２３又は１６４、５４又は１５２、１６６及び１９４）のコア／Ｅ１領域の新しいＨＣＶヌクレオチド配列から推定されたアミノ酸配列と、１ａ型（ＨＣＶ－１）、１ｂ型（ＨＣＶ－Ｊ）、２ａ型（ＨＣ－ＪＧ）、２ｂ型（ＨＣ－Ｊ８）、ＮＺＬ１、ＨＣＶ－ＴＲ、３ａ型（Ｅ－ｂ１）の位置７－８９、４ａ型（ＥＧ－２９）の位置８－８８との並べての比較。Ｖ－コア、コアタンパク質内の型特異的特徴を伴う可変領域；Ｖ１、Ｅ１タンパク質の可変領域１；Ｖ２、Ｅ１タンパク質の可変領域２；Ｖ３、Ｅ１タンパク質の可変領域３；Ｖ４、Ｅ１タンパク質の可変領域４；Ｖ５、Ｅ１タンパク質の可変領域５。
【図５－１１】位置１と３１９の間の領域からの分離株ＢＲ３３、ＢＲ３６、ＨＤ１０、ＧＢ３５８、ＧＢ５４９及びＧＢ８０９、ＰＣ又はＢＥ９５、ＣＡＭ６００及びＧＢ７２４（配列番号１４、２０、２４、１１９又は１９２、１２１、１２３又は１６４、５４又は１５２、１６６及び１９４）のコア／Ｅ１領域の新しいＨＣＶヌクレオチド配列から推定されたアミノ酸配列と、１ａ型（ＨＣＶ－１）、１ｂ型（ＨＣＶ－Ｊ）、２ａ型（ＨＣ－ＪＧ）、２ｂ型（ＨＣ－Ｊ８）、ＮＺＬ１、ＨＣＶ－ＴＲ、３ａ型（Ｅ－ｂ１）の位置７－８９、４ａ型（ＥＧ－２９）の位置８－８８との並べての比較。Ｖ－コア、コアタンパク質内の型特異的特徴を伴う可変領域；Ｖ１、Ｅ１タンパク質の可変領域１；Ｖ２、Ｅ１タンパク質の可変領域２；Ｖ３、Ｅ１タンパク質の可変領域３；Ｖ４、Ｅ１タンパク質の可変領域４；Ｖ５、Ｅ１タンパク質の可変領域５。
【図６－１】ヌクレオチド４６６４～５２９２の間のＮＳ３／４領域からの配列番号２９、３１、３３、３５、３７及び３９をもつクローンから推定された分離株ＨＣＣＬ５３、ＨＤ１０及びＢＲ３６のヌクレオチド配列と、分離株ＨＣＶ－１、ＨＣＶ－Ｊ、ＨＣ－Ｊ６及びＨＣ－Ｊ８、ＥＢ１、ＥＢ２、ＥＢ６及びＥＢ７の対応する領域からの既知の配列との並べての比較。
【図６－２】ヌクレオチド４６６４～５２９２の間のＮＳ３／４領域からの配列番号２９、３１、３３、３５、３７及び３９をもつクローンから推定された分離株ＨＣＣＬ５３、ＨＤ１０及びＢＲ３６のヌクレオチド配列と、分離株ＨＣＶ－１、ＨＣＶ－Ｊ、ＨＣ－Ｊ

６及びＨＣ－Ｊ８、ＥＢ１、ＥＢ２、ＥＢ６及びＥＢ７の対応する領域からの既知の配列との並べての比較。

【図６－３】ヌクレオチド４６６４～５２９２の間のＮＳ３／４領域からの配列番号２９、３１、３３、３５、３７及び３９をもつクローンから推定された分離株ＨＣＣＬ５３、ＨＤ１０及びＢＲ３６のヌクレオチド配列と、分離株ＨＣＶ－１、ＨＣＶ－Ｊ、ＨＣ－Ｊ６及びＨＣ－Ｊ８、ＥＢ１、ＥＢ２、ＥＢ６及びＥＢ７の対応する領域からの既知の配列との並べての比較。

【図６－４】ヌクレオチド４６６４～５２９２の間のＮＳ３／４領域からの配列番号２９、３１、３３、３５、３７及び３９をもつクローンから推定された分離株ＨＣＣＬ５３、ＨＤ１０及びＢＲ３６のヌクレオチド配列と、分離株ＨＣＶ－１、ＨＣＶ－Ｊ、ＨＣ－Ｊ６及びＨＣ－Ｊ８、ＥＢ１、ＥＢ２、ＥＢ６及びＥＢ７の対応する領域からの既知の配列との並べての比較。

【図６－５】ヌクレオチド４６６４～５２９２の間のＮＳ３／４領域からの配列番号２９、３１、３３、３５、３７及び３９をもつクローンから推定された分離株ＨＣＣＬ５３、ＨＤ１０及びＢＲ３６のヌクレオチド配列と、分離株ＨＣＶ－１、ＨＣＶ－Ｊ、ＨＣ－Ｊ６及びＨＣ－Ｊ８、ＥＢ１、ＥＢ２、ＥＢ６及びＥＢ７の対応する領域からの既知の配列との並べての比較。

【図６－６】ヌクレオチド４６６４～５２９２の間のＮＳ３／４領域からの配列番号２９、３１、３３、３５、３７及び３９をもつクローンから推定された分離株ＨＣＣＬ５３、ＨＤ１０及びＢＲ３６のヌクレオチド配列と、分離株ＨＣＶ－１、ＨＣＶ－Ｊ、ＨＣ－Ｊ６及びＨＣ－Ｊ８、ＥＢ１、ＥＢ２、ＥＢ６及びＥＢ７の対応する領域からの既知の配列との並べての比較。

【図６－７】ヌクレオチド４６６４～５２９２の間のＮＳ３／４領域からの配列番号２９、３１、３３、３５、３７及び３９をもつクローンから推定された分離株ＨＣＣＬ５３、ＨＤ１０及びＢＲ３６のヌクレオチド配列と、分離株ＨＣＶ－１、ＨＣＶ－Ｊ、ＨＣ－Ｊ６及びＨＣ－Ｊ８、ＥＢ１、ＥＢ２、ＥＢ６及びＥＢ７の対応する領域からの既知の配列との並べての比較。

【図６－８】ヌクレオチド４６６４～５２９２の間のＮＳ３／４領域からの配列番号２９、３１、３３、３５、３７及び３９をもつクローンから推定された分離株ＨＣＣＬ５３、ＨＤ１０及びＢＲ３６のヌクレオチド配列と、分離株ＨＣＶ－１、ＨＣＶ－Ｊ、ＨＣ－Ｊ６及びＨＣ－Ｊ８、ＥＢ１、ＥＢ２、ＥＢ６及びＥＢ７の対応する領域からの既知の配列との並べての比較。

【図７－１】分離株ＢＲ３６（配列番号３６、３８及び４０）及びＢＥ９５（配列番号２７０）のＮＳ３／ＮＳ４領域の新しいＨＣＶヌクレオチド配列から推定されたアミノ酸配列の並べての比較。ＮＳ４－１は、ＮＳ４領域の合成ペプチド１として合成された領域を表わし、ＮＳ４－５はＮＳ４領域の合成ペプチド５として合成された領域を表わし、ＮＳ４－７は、ＮＳ４領域の合成ペプチド７として合成された領域を表わす。

【図７－２】分離株ＢＲ３６（配列番号３６、３８及び４０）及びＢＥ９５（配列番号２７０）のＮＳ３／ＮＳ４領域の新しいＨＣＶヌクレオチド配列から推定されたアミノ酸配列の並べての比較。ＮＳ４－１は、ＮＳ４領域の合成ペプチド１として合成された領域を表わし、ＮＳ４－５はＮＳ４領域の合成ペプチド５として合成された領域を表わし、ＮＳ４－７は、ＮＳ４領域の合成ペプチド７として合成された領域を表わす。

【図７－３】分離株ＢＲ３６（配列番号３６、３８及び４０）及びＢＥ９５（配列番号２７０）のＮＳ３／ＮＳ４領域の新しいＨＣＶヌクレオチド配列から推定されたアミノ酸配列の並べての比較。ＮＳ４－１は、ＮＳ４領域の合成ペプチド１として合成された領域を表わし、ＮＳ４－５はＮＳ４領域の合成ペプチド５として合成された領域を表わし、ＮＳ４－７は、ＮＳ４領域の合成ペプチド７として合成された領域を表わす。

【図７－４】分離株ＢＲ３６（配列番号３６、３８及び４０）及びＢＥ９５（配列番号２７０）のＮＳ３／ＮＳ４領域の新しいＨＣＶヌクレオチド配列から推定されたアミノ酸配列の並べての比較。ＮＳ４－１は、ＮＳ４領域の合成ペプチド１として合成された領域を

表わし、ＮＳ４－５はＮＳ４領域の合成ペプチド５として合成された領域を表わし、ＮＳ４－７は、ＮＳ４領域の合成ペプチド７として合成された領域を表わす。
【図７－５】分離株ＢＲ３６（配列番号３６、３８及び４０）及びＢＥ９５（配列番号２７０）のＮＳ３／ＮＳ４領域の新しいＨＣＶヌクレオチド配列から推定されたアミノ酸配列の並べての比較。ＮＳ４－１は、ＮＳ４領域の合成ペプチド１として合成された領域を表わし、ＮＳ４－５はＮＳ４領域の合成ペプチド５として合成された領域を表わし、ＮＳ４－７は、ＮＳ４領域の合成ペプチド７として合成された領域を表わす。
【図８】Ｉｎｎｏ－ＬＩＡＨＣＶ　ＡｂII検定（Innogenetics）（左）上、及びＮＳ４－ＬＩＡ試験上での３つのＬｉＰＡ選択された（Stuyver et al., 1993）３型血清の反応性。ＮＳ４－ＬＩＡ試験の場合、ＮＳ４－１、ＮＳ４－５及びＮＳ４－７ペプチドは、表４に示されている通り、１型（ＨＣＶ－１）、２型（ＨＣ－Ｊ６）及び３型（ＢＲ３６）プロトタイプ分離株配列に基づいて合成され、指示されている通り、膜片上に平行線として適用された、１．血清ＢＲ３３、２．血清ＨＤ１０、３．血清ＤＫＨ。
【図９－１】亜型５ａ分離株ＢＥ９５の血清ＢＥ９５（ＰＣ－２－１（配列番号４１）、ＰＣ－２－６（配列番号４３）、ＰＣ－４－１（配列番号４５）、ＰＣ－４－６（配列番号４７）、ＰＣ３－４（配列番号４９）及びＰＣ－３－８（配列番号５１））から得られた、ＰＣＲフラグメントＰＣ－２、ＰＣ－３及びＰＣ－４から得られたコア／Ｅ１クローンのヌクレオチド配列。　配列番号５３をもつＰＣ　Ｃ／Ｅ１として示された、分離株ＢＥ９５のコア及びＥ１領域についての共通配列が示されている。Ｙ、Ｃ又はＴ、Ｒ、Ａ又はＧ、Ｓ、Ｃ又はＧ。
【図９－２】亜型５ａ分離株ＢＥ９５の血清ＢＥ９５（ＰＣ－２－１（配列番号４１）、ＰＣ－２－６（配列番号４３）、ＰＣ－４－１（配列番号４５）、ＰＣ－４－６（配列番号４７）、ＰＣ３－４（配列番号４９）及びＰＣ－３－８（配列番号５１））から得られた、ＰＣＲフラグメントＰＣ－２、ＰＣ－３及びＰＣ－４から得られたコア／Ｅ１クローンのヌクレオチド配列。　配列番号５３をもつＰＣ　Ｃ／Ｅ１として示された、分離株ＢＥ９５のコア及びＥ１領域についての共通配列が示されている。Ｙ、Ｃ又はＴ、Ｒ、Ａ又はＧ、Ｓ、Ｃ又はＧ。
【図９－３】亜型５ａ分離株ＢＥ９５の血清ＢＥ９５（ＰＣ－２－１（配列番号４１）、ＰＣ－２－６（配列番号４３）、ＰＣ－４－１（配列番号４５）、ＰＣ－４－６（配列番号４７）、ＰＣ３－４（配列番号４９）及びＰＣ－３－８（配列番号５１））から得られた、ＰＣＲフラグメントＰＣ－２、ＰＣ－３及びＰＣ－４から得られたコア／Ｅ１クローンのヌクレオチド配列。　配列番号５３をもつＰＣ　Ｃ／Ｅ１として示された、分離株ＢＥ９５のコア及びＥ１領域についての共通配列が示されている。Ｙ、Ｃ又はＴ、Ｒ、Ａ又はＧ、Ｓ、Ｃ又はＧ。
【図９－４】亜型５ａ分離株ＢＥ９５の血清ＢＥ９５（ＰＣ－２－１（配列番号４１）、ＰＣ－２－６（配列番号４３）、ＰＣ－４－１（配列番号４５）、ＰＣ－４－６（配列番号４７）、ＰＣ３－４（配列番号４９）及びＰＣ－３－８（配列番号５１））から得られた、ＰＣＲフラグメントＰＣ－２、ＰＣ－３及びＰＣ－４から得られたコア／Ｅ１クローンのヌクレオチド配列。　配列番号５３をもつＰＣ　Ｃ／Ｅ１として示された、分離株ＢＥ９５のコア及びＥ１領域についての共通配列が示されている。Ｙ、Ｃ又はＴ、Ｒ、Ａ又はＧ、Ｓ、Ｃ又はＧ。
【図９－５】亜型５ａ分離株ＢＥ９５の血清ＢＥ９５（ＰＣ－２－１（配列番号４１）、ＰＣ－２－６（配列番号４３）、ＰＣ－４－１（配列番号４５）、ＰＣ－４－６（配列番号４７）、ＰＣ３－４（配列番号４９）及びＰＣ－３－８（配列番号５１））から得られた、ＰＣＲフラグメントＰＣ－２、ＰＣ－３及びＰＣ－４から得られたコア／Ｅ１クローンのヌクレオチド配列。　配列番号５３をもつＰＣ　Ｃ／Ｅ１として示された、分離株ＢＥ９５のコア及びＥ１領域についての共通配列が示されている。Ｙ、Ｃ又はＴ、Ｒ、Ａ又はＧ、Ｓ、Ｃ又はＧ。
【図９－６】亜型５ａ分離株ＢＥ９５の血清ＢＥ９５（ＰＣ－２－１（配列番号４１）、ＰＣ－２－６（配列番号４３）、ＰＣ－４－１（配列番号４５）、ＰＣ－４－６（配列番

号４７）、ＰＣ３－４（配列番号４９）及びＰＣ－３－８（配列番号５１））から得られた、ＰＣＲフラグメントＰＣ－２、ＰＣ－３及びＰＣ－４から得られたコア／Ｅ１クローンのヌクレオチド配列。　配列番号５３をもつＰＣ　Ｃ／Ｅ１として示された、分離株ＢＥ９５のコア及びＥ１領域についての共通配列が示されている。Ｙ、Ｃ又はＴ、Ｒ、Ａ又はＧ、Ｓ、Ｃ又はＧ。

【図９－７】亜型５ａ分離株ＢＥ９５の血清ＢＥ９５（ＰＣ－２－１（配列番号４１）、ＰＣ－２－６（配列番号４３）、ＰＣ－４－１（配列番号４５）、ＰＣ－４－６（配列番号４７）、ＰＣ３－４（配列番号４９）及びＰＣ－３－８（配列番号５１））から得られた、ＰＣＲフラグメントＰＣ－２、ＰＣ－３及びＰＣ－４から得られたコア／Ｅ１クローンのヌクレオチド配列。　配列番号５３をもつＰＣ　Ｃ／Ｅ１として示された、分離株ＢＥ９５のコア及びＥ１領域についての共通配列が示されている。Ｙ、Ｃ又はＴ、Ｒ、Ａ又はＧ、Ｓ、Ｃ又はＧ。

【図９－８】亜型５ａ分離株ＢＥ９５の血清ＢＥ９５（ＰＣ－２－１（配列番号４１）、ＰＣ－２－６（配列番号４３）、ＰＣ－４－１（配列番号４５）、ＰＣ－４－６（配列番号４７）、ＰＣ３－４（配列番号４９）及びＰＣ－３－８（配列番号５１））から得られた、ＰＣＲフラグメントＰＣ－２、ＰＣ－３及びＰＣ－４から得られたコア／Ｅ１クローンのヌクレオチド配列。　配列番号５３をもつＰＣ　Ｃ／Ｅ１として示された、分離株ＢＥ９５のコア及びＥ１領域についての共通配列が示されている。Ｙ、Ｃ又はＴ、Ｒ、Ａ又はＧ、Ｓ、Ｃ又はＧ。

【図９－９】亜型５ａ分離株ＢＥ９５の血清ＢＥ９５（ＰＣ－２－１（配列番号４１）、ＰＣ－２－６（配列番号４３）、ＰＣ－４－１（配列番号４５）、ＰＣ－４－６（配列番号４７）、ＰＣ３－４（配列番号４９）及びＰＣ－３－８（配列番号５１））から得られた、ＰＣＲフラグメントＰＣ－２、ＰＣ－３及びＰＣ－４から得られたコア／Ｅ１クローンのヌクレオチド配列。　配列番号５３をもつＰＣ　Ｃ／Ｅ１として示された、分離株ＢＥ９５のコア及びＥ１領域についての共通配列が示されている。Ｙ、Ｃ又はＴ、Ｒ、Ａ又はＧ、Ｓ、Ｃ又はＧ。

【図９－１０】亜型５ａ分離株ＢＥ９５の血清ＢＥ９５（ＰＣ－２－１（配列番号４１）、ＰＣ－２－６（配列番号４３）、ＰＣ－４－１（配列番号４５）、ＰＣ－４－６（配列番号４７）、ＰＣ３－４（配列番号４９）及びＰＣ－３－８（配列番号５１））から得られた、ＰＣＲフラグメントＰＣ－２、ＰＣ－３及びＰＣ－４から得られたコア／Ｅ１クローンのヌクレオチド配列。　配列番号５３をもつＰＣ　Ｃ／Ｅ１として示された、分離株ＢＥ９５のコア及びＥ１領域についての共通配列が示されている。Ｙ、Ｃ又はＴ、Ｒ、Ａ又はＧ、Ｓ、Ｃ又はＧ。

【図１０－１】ヌクレオチド３８５６～５２９２の間のＮＳ３／４領域からの配列番号１９７及び１９９（ＰＣ配列、配列番号５５、５７、５９も同様に参照のこと）及び配列番号３５、３７及び３９（ＢＲ３６配列）をもつクローンのヌクレオチド配列と、分離株ＨＣＶ－１、ＨＣＶ－Ｊ、ＨＣ－Ｊ６及びＨＣ－Ｊ８の対応する領域からの既知の配列との並べての比較。

【図１０－２】ヌクレオチド３８５６～５２９２の間のＮＳ３／４領域からの配列番号１９７及び１９９（ＰＣ配列、配列番号５５、５７、５９も同様に参照のこと）及び配列番号３５、３７及び３９（ＢＲ３６配列）をもつクローンのヌクレオチド配列と、分離株ＨＣＶ－１、ＨＣＶ－Ｊ、ＨＣ－Ｊ６及びＨＣ－Ｊ８の対応する領域からの既知の配列との並べての比較。

【図１０－３】ヌクレオチド３８５６～５２９２の間のＮＳ３／４領域からの配列番号１９７及び１９９（ＰＣ配列、配列番号５５、５７、５９も同様に参照のこと）及び配列番号３５、３７及び３９（ＢＲ３６配列）をもつクローンのヌクレオチド配列と、分離株ＨＣＶ－１、ＨＣＶ－Ｊ、ＨＣ－Ｊ６及びＨＣ－Ｊ８の対応する領域からの既知の配列との並べての比較。

【図１０－４】ヌクレオチド３８５６～５２９２の間のＮＳ３／４領域からの配列番号１９７及び１９９（ＰＣ配列、配列番号５５、５７、５９も同様に参照のこと）及び配列番

号３５、３７及び３９（ＢＲ３６配列）をもつクローンのヌクレオチド配列と、分離株ＨＣＶ－１、ＨＣＶ－Ｊ、ＨＣ－Ｊ６及びＨＣ－Ｊ８の対応する領域からの既知の配列との並べての比較。

【図１０－５】ヌクレオチド３８５６～５２９２の間のＮＳ３／４領域からの配列番号１９７及び１９９（ＰＣ配列、配列番号５５、５７、５９も同様に参照のこと）及び配列番号３５、３７及び３９（ＢＲ３６配列）をもつクローンのヌクレオチド配列と、分離株ＨＣＶ－１、ＨＣＶ－Ｊ、ＨＣ－Ｊ６及びＨＣ－Ｊ８の対応する領域からの既知の配列との並べての比較。

【図１０－６】ヌクレオチド３８５６～５２９２の間のＮＳ３／４領域からの配列番号１９７及び１９９（ＰＣ配列、配列番号５５、５７、５９も同様に参照のこと）及び配列番号３５、３７及び３９（ＢＲ３６配列）をもつクローンのヌクレオチド配列と、分離株ＨＣＶ－１、ＨＣＶ－Ｊ、ＨＣ－Ｊ６及びＨＣ－Ｊ８の対応する領域からの既知の配列との並べての比較。

【図１０－７】ヌクレオチド３８５６～５２９２の間のＮＳ３／４領域からの配列番号１９７及び１９９（ＰＣ配列、配列番号５５、５７、５９も同様に参照のこと）及び配列番号３５、３７及び３９（ＢＲ３６配列）をもつクローンのヌクレオチド配列と、分離株ＨＣＶ－１、ＨＣＶ－Ｊ、ＨＣ－Ｊ６及びＨＣ－Ｊ８の対応する領域からの既知の配列との並べての比較。

【図１０－８】ヌクレオチド３８５６～５２９２の間のＮＳ３／４領域からの配列番号１９７及び１９９（ＰＣ配列、配列番号５５、５７、５９も同様に参照のこと）及び配列番号３５、３７及び３９（ＢＲ３６配列）をもつクローンのヌクレオチド配列と、分離株ＨＣＶ－１、ＨＣＶ－Ｊ、ＨＣ－Ｊ６及びＨＣ－Ｊ８の対応する領域からの既知の配列との並べての比較。

【図１０－９】ヌクレオチド３８５６～５２９２の間のＮＳ３／４領域からの配列番号１９７及び１９９（ＰＣ配列、配列番号５５、５７、５９も同様に参照のこと）及び配列番号３５、３７及び３９（ＢＲ３６配列）をもつクローンのヌクレオチド配列と、分離株ＨＣＶ－１、ＨＣＶ－Ｊ、ＨＣ－Ｊ６及びＨＣ－Ｊ８の対応する領域からの既知の配列との並べての比較。

【図１０－１０】ヌクレオチド３８５６～５２９２の間のＮＳ３／４領域からの配列番号１９７及び１９９（ＰＣ配列、配列番号５５、５７、５９も同様に参照のこと）及び配列番号３５、３７及び３９（ＢＲ３６配列）をもつクローンのヌクレオチド配列と、分離株ＨＣＶ－１、ＨＣＶ－Ｊ、ＨＣ－Ｊ６及びＨＣ－Ｊ８の対応する領域からの既知の配列との並べての比較。

【図１１－１】アミノ酸１２８６～１７６４の間のＮＳ３／４領域からの配列番号５６及び５８をもつ亜型５ａＢＥ９５分離株ＰＣクローンのアミノ酸配列と、分離株ＨＣＶ－１、ＨＣＶ－Ｊ、ＨＣ－Ｊ６及びＨＣ－Ｊ８の対応する領域からの既知の配列との並べての比較。

【図１１－２】アミノ酸１２８６～１７６４の間のＮＳ３／４領域からの配列番号５６及び５８をもつ亜型５ａＢＥ９５分離株ＰＣクローンのアミノ酸配列と、分離株ＨＣＶ－１、ＨＣＶ－Ｊ、ＨＣ－Ｊ６及びＨＣ－Ｊ８の対応する領域からの既知の配列との並べての比較。

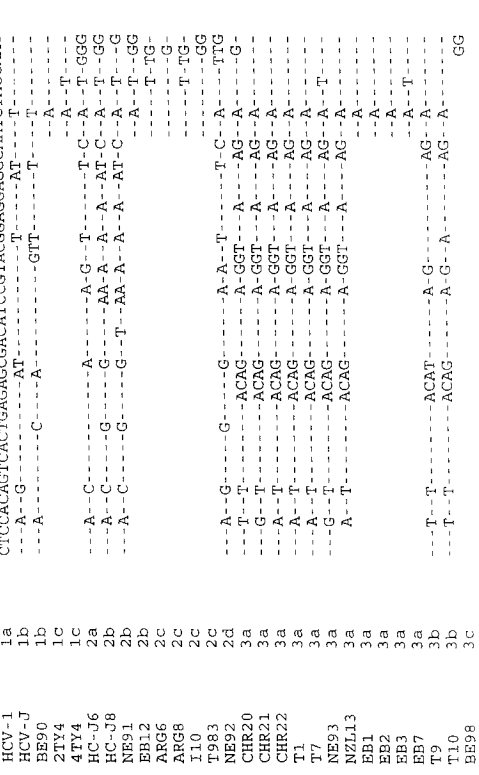
【図１１－３】アミノ酸１２８６～１７６４の間のＮＳ３／４領域からの配列番号５６及び５８をもつ亜型５ａＢＥ９５分離株ＰＣクローンのアミノ酸配列と、分離株ＨＣＶ－１、ＨＣＶ－Ｊ、ＨＣ－Ｊ６及びＨＣ－Ｊ８の対応する領域からの既知の配列との並べての比較。

【図１２－１】位置３２８～５４６にまたがるＥ１／Ｅ２領域内の亜型５ａ分離株ＢＥ９５（配列番号１５８）のアミノ酸配列と、分離株ＨＣＶ－１、ＨＣＶ－Ｊ、ＨＣ－Ｊ６、ＨＣ－Ｊ８、ＮＺＬ１及びＨＣＶ－ＴＲの相応する領域からの既知の配列（表３参照）との並べての比較。

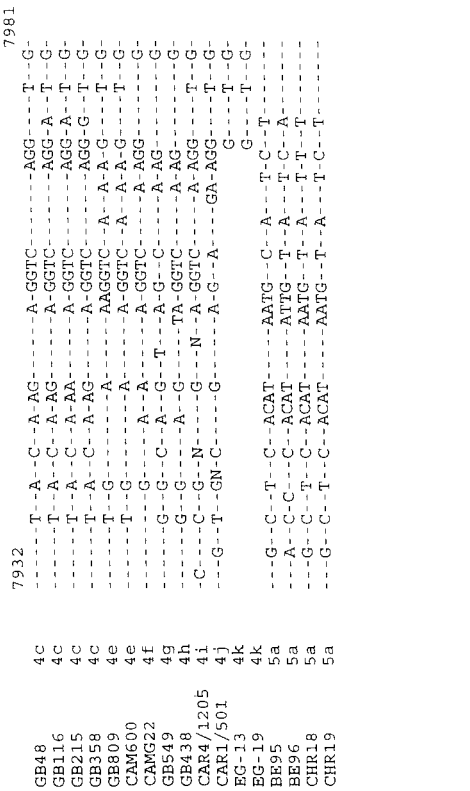
【図１２－２】位置３２８～５４６にまたがるＥ１／Ｅ２領域内の亜型５ａ分離株ＢＥ９

５（配列番号１５８）のアミノ酸配列と、分離株ＨＣＶ－１、ＨＣＶ－Ｊ、ＨＣ－Ｊ６、ＨＣ－Ｊ８、ＮＺＬ１及びＨＣＶ－ＴＲの相応する領域からの既知の配列（表３参照）との並べての比較。
【図１２－３】位置３２８～５４６にまたがるＥ１／Ｅ２領域内の亜型５ａ分離株ＢＥ９５（配列番号１５８）のアミノ酸配列と、分離株ＨＣＶ－１、ＨＣＶ－Ｊ、ＨＣ－Ｊ６、ＨＣ－Ｊ８、ＮＺＬ１及びＨＣＶ－ＴＲの相応する領域からの既知の配列（表３参照）との並べての比較。
【図１３－１】Ｅ１／Ｅ２領域内の亜型５ａ分離株ＢＥ９５（配列番号１５７）のヌクレオチド配列と、表３に示されている通りの既知のＨＣＶ配列との並べての比較。
【図１３－２】Ｅ１／Ｅ２領域内の亜型５ａ分離株ＢＥ９５（配列番号１５７）のヌクレオチド配列と、表３に示されている通りの既知のＨＣＶ配列との並べての比較。
【図１３－３】Ｅ１／Ｅ２領域内の亜型５ａ分離株ＢＥ９５（配列番号１５７）のヌクレオチド配列と、表３に示されている通りの既知のＨＣＶ配列との並べての比較。
【図１３－４】Ｅ１／Ｅ２領域内の亜型５ａ分離株ＢＥ９５（配列番号１５７）のヌクレオチド配列と、表３に示されている通りの既知のＨＣＶ配列との並べての比較。
【図１３－５】Ｅ１／Ｅ２領域内の亜型５ａ分離株ＢＥ９５（配列番号１５７）のヌクレオチド配列と、表３に示されている通りの既知のＨＣＶ配列との並べての比較。
【図１３－６】Ｅ１／Ｅ２領域内の亜型５ａ分離株ＢＥ９５（配列番号１５７）のヌクレオチド配列と、表３に示されている通りの既知のＨＣＶ配列との並べての比較。
【図１３－７】Ｅ１／Ｅ２領域内の亜型５ａ分離株ＢＥ９５（配列番号１５７）のヌクレオチド配列と、表３に示されている通りの既知のＨＣＶ配列との並べての比較。
【図１３－８】Ｅ１／Ｅ２領域内の亜型５ａ分離株ＢＥ９５（配列番号１５７）のヌクレオチド配列と、表３に示されている通りの既知のＨＣＶ配列との並べての比較。
【図１３－９】Ｅ１／Ｅ２領域内の亜型５ａ分離株ＢＥ９５（配列番号１５７）のヌクレオチド配列と、表３に示されている通りの既知のＨＣＶ配列との並べての比較。
【図１３－１０】Ｅ１／Ｅ２領域内の亜型５ａ分離株ＢＥ９５（配列番号１５７）のヌクレオチド配列と、表３に示されている通りの既知のＨＣＶ配列との並べての比較。
【図１３－１１】Ｅ１／Ｅ２領域内の亜型５ａ分離株ＢＥ９５（配列番号１５７）のヌクレオチド配列と、表３に示されている通りの既知のＨＣＶ配列との並べての比較。

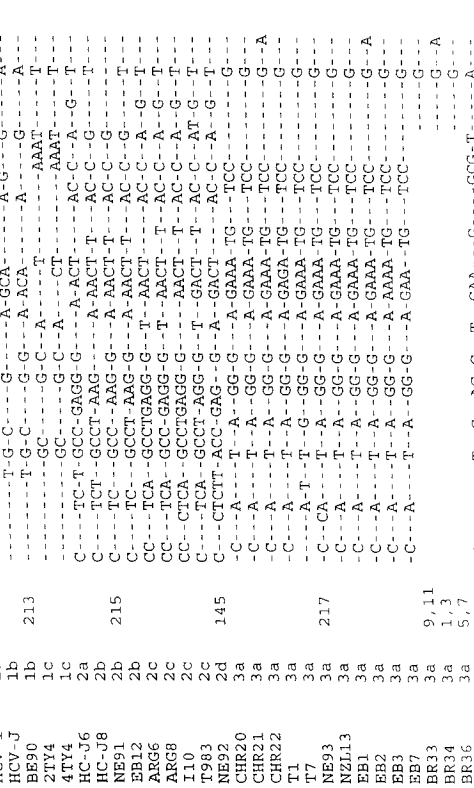
【図１－１】



【図１－２】

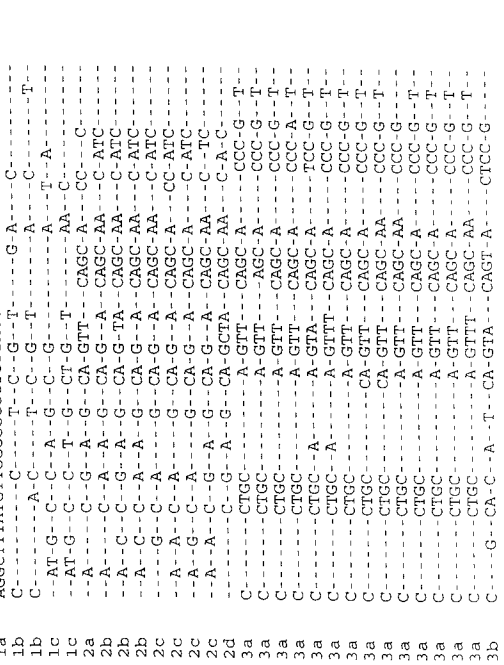


【図１－３】

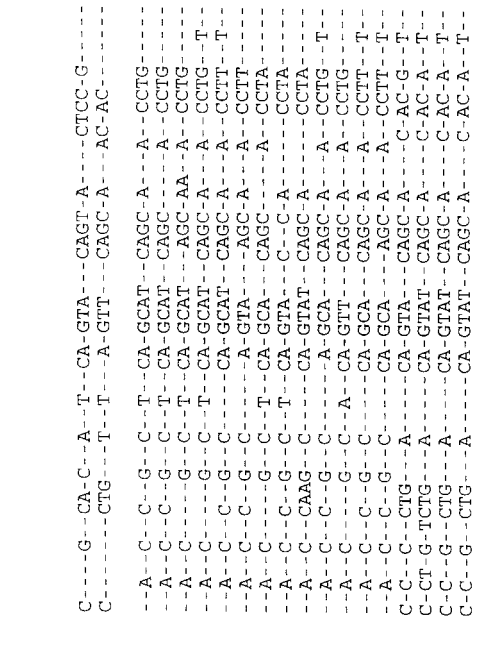


【図１－４】

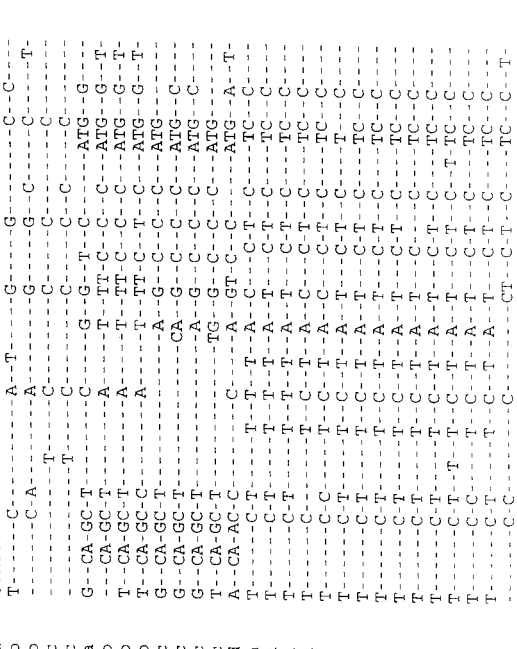
【図１－５】



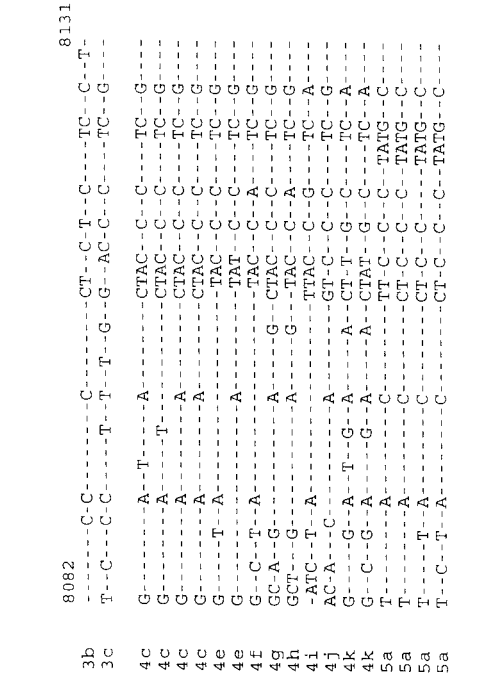
【図１－６】



【図１－７】



【図１－８】



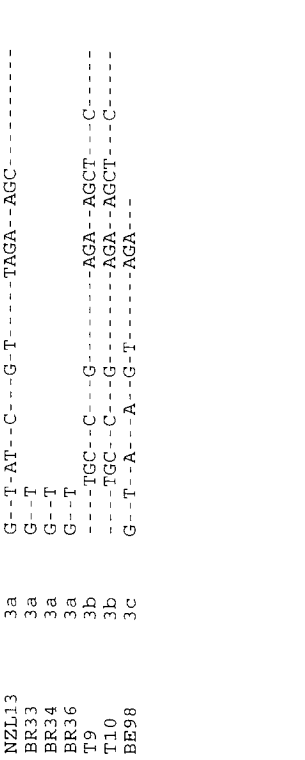
【図１－９】

【図１－１０】

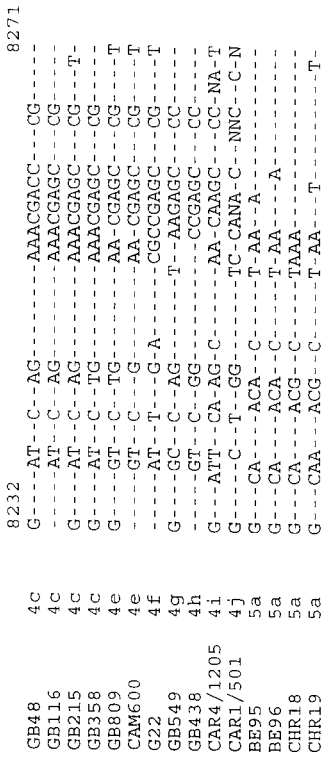
【図１－１１】

【図１－１２】

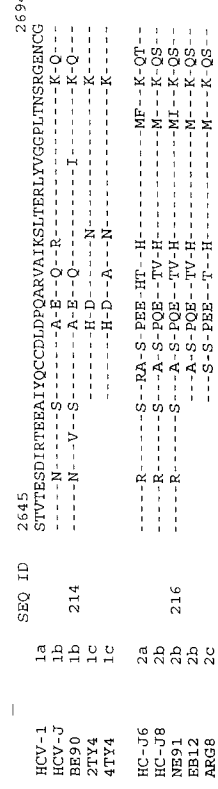
【図１－１３】



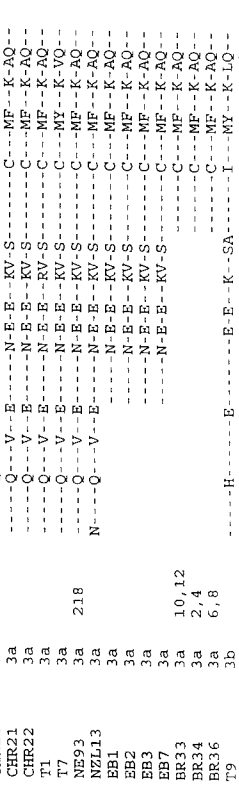
【図１－１４】



【図２－１】



【図２－２】



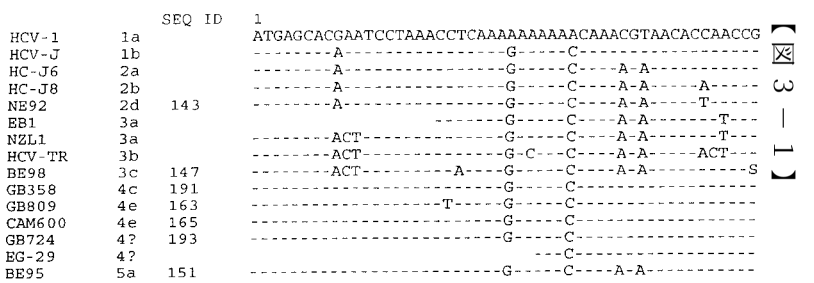
【図２－３】

【図２－４】

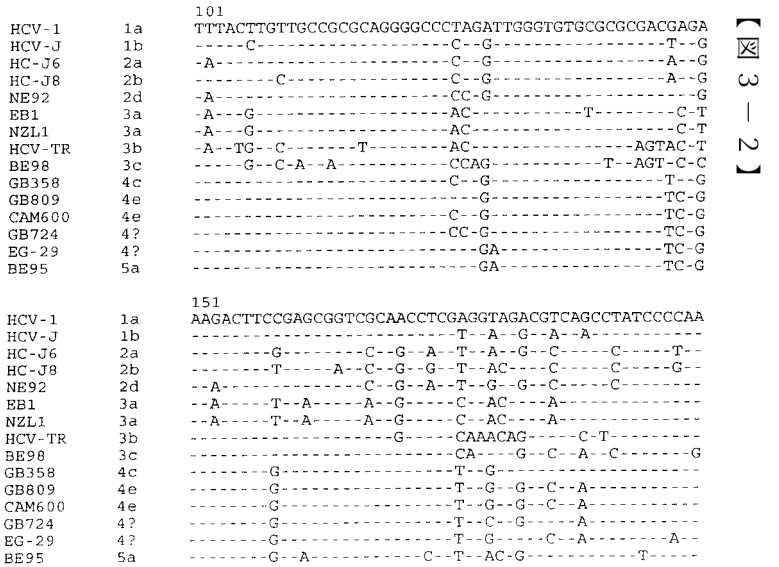
【図２－５】

【図２－６】

【図３－１】

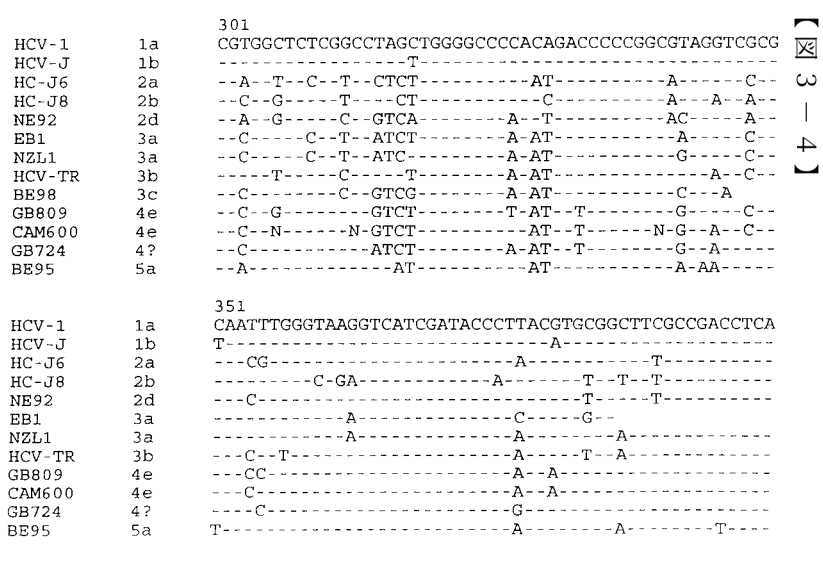


【図３－２】



【図３－３】

【図３－４】



【図３－５】

```
                                                                                401
                                                                                TGGGGTACATACCGCTCGTCGGCGCCCCTCTTGGAGGCGCTGCCAGGGCC
HCV-1                1a                                                         ----------T----T----------C--A--G----------
HCV-J                1b                                                         ----------T----T----------C--A--G----------
HC-J6                2a                                                         ----------C--TG----A----------G--C--C----TC-----A--T
HC-J8                2b                                                         ----------C--TG----T----------GG-----------TC-----A--T
NE92                 2d                                                         ----------C--TG-----------------AG-----T--T-TC-----A--T
NZL1                 3a                                                         ----------C-----------------T--G-A-----------TC--A-A--
HCV-TR               3b                                                         ----------T-----------------G-G--G----TC--A--A---
GB809                4e                                                         ---A-----C-----T--A---------CG-G--T----TC-----A---
CAM600               4e                                                         ---A-----C-----T--A---------CG-G--T----TC---------
GB724                4?                                                         ---A-----C-----------G-------CG-C--G----TC---------
BE95                 5a                                                         -------T--C-----------A----G---CA----G----TC--A-----T

                                                                                451
HCV-1                1a                                                         CTGGCGCATGGCGGTCCGGGTTCTGGAAGACGGCGTGAACTATGCAACAG
HCV-J                1b                                                         ----A-----T----------------------G----------------
HC-J6                2a                                                         --C----------GA-A--C-----G-----G--T--T-T-----------
HC-J8                2b                                                         -----A--C--T--TA---C-----G-----GA-A--T--C----------
NE92                 2d                                                         --C----------GA-A-----------------GA-A-----------
NZL1                 3a                                                         --C----------GA---CC--T----------GA-A--T-TC--------
HCV-TR               3b                                                         --C--T-----T--GA---CA--T-GG-----A----------------
GB809                4e                                                         -----A--C--T--TA---C-G----------GA-C----C--------
CAM600               4e                                                         -----A-----T--TA---C-G----------GA-C--T----------
GB724                4?                                                         ----------------A---C-G----G-----GA-T------N-G----
BE95                 5a                                                         --C--A--C--T--GA----C--T--G------G---A-----------
```

【図４－１】

```
                                                                                428
                                                                                ACGTGCGGCTTCGCCGACCTCATGGGGTACATACCGCTCGTCGGCGCCCC
HCV-1                1a                                                         ----------T----------------------------------
HCVEC1               1a                                                         ----------T----------------------------------
HCVHCT18             1a                                                         ----------T----------------------------------
HCVHCT23             1a                                                         ----------T----------------------------------
HCVHCT27             1a                                                         ----------T----------------------------------
HCVTH                1a                                                         ----------T----------------------------------
HCV-J                1b                                                         --A-------T----T----------------------------------

HC-J6                2a                                                         ----------T----------------------C--TG----A-------
HC-J8                2b                                                         ----T--T--T----------------------C--TG----T-------
NE92                 2d                  143                                    ----T----T----------------------C--TG----------

HD10                 3a                  13,15,17                               ----------T----------------------T----------T--
BR33                 3a                  23,25,27                               ----------T----------------------T----------T--
BR36                 3a                  19,21                                  ----------T----------------------T----------T--
NZL15                3a                                                         -------A----------------------C----------T--
HCV-TR               3b                                                         ----T--A----------------------T----------T--

GB809_4              4a                  189                                    ----------A----C----------G-------
GB116                4c                  183                                    --C-------T----------A----C----------A-------
GB215                4c                  185                                    --T-------T----------A----C----------A-------
GB358                4c                  118,187                                --T-------T----------A----C----------A-------
GB809_2              4e                  122,169                                --A----------A----C----T-A-------
CAM600               4e                  167                                    --A----------A----C----T-A-------
CAM322               4f                  171                                    --A----------A----C----T-G-------
CAM327               4f                  173                                    ----------T-C----------A----C----------A-------
GB549                4g                  120,175                                ----------T----------A----C----------G-------
GB438                4h                  177                                    ----------G----------A----C----------G----T--
CAR4/1205            4i                  179                                    --C----------A----C----------A-------
```

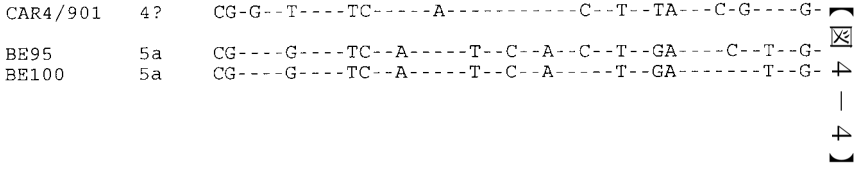
【図４－２】

```
                                                                                478
                                                                                TCTTGGAGGCGCTGCCAGGGCCCTGGCGCATGGCGTCCGGGTTCTGGAAG
HCV-1                1a                                                         ----------T----------A----C----------
HCVEC1               1a                                                         ----------T----------A----C----------
HCVHCT18             1a                                                         ----------C----------T----------
HCVHCT23             1a                                                         ----------T----------
HCVHCT27             1a                                                         ----------
HCVTH                1a                                                         ----------
HCV-J                1b                                                         ----------G-

HC-J6                2a                                                         G--C--C-----TC-----A--T--C----------GA-A--C-----G-
HC-J8                2b                                                         GG-----------TC-----A--T----A--C--T--TA-----C-----G-
NE92                 2d                                                         AG----T--T-TC-----A--T--C----------GA-A----------

HD10                 3a                                                         -G-A-------TC--A--A-----T----------GA---CC--T---
BR33                 3a                                                         CG-A-------TC--A--A-----T----------GA---CC--T--G-
BR36                 3a                                                         CG-A-------TC--A--A-----T----------GA---CC--T----
NZL15                3a                                                         -G-A-------TC--A--A-----C----------GA---CC--T----
HCV-TR               3b                                                         -G-G--G----TC--A--A-----C--T----T--GA---CA--T-GG-
GB809_4              4a                                                         CG----G----TC----------A-AA--C--T--TA---C-G----G-
GB116                4c                                                         -G-G--T----TC-----A----------AA-----T--TA---C-G----G-
GB215                4c                                                         CG-G--T----TC-----A----------A--C--T--TA---C-G----G-
GB358                4c                                                         -G-G--T----TC-----A----------A--C--T--TA---C-G------
GB809_2              4e                                                         CG-G--T----TC-----A----------A--C--T--TA---C-G------
CAM600               4e                                                         -G----T----TC-----A----T----A----C-G------
CAM322               4f                                                         -G-G--T----TC----------T----------A---C-G----G-
CAM327               4f                                                         -G-G--T----TC----------T----A-----T---A---CCG----G-
GB549                4g                                                         ----------TC----------T----A-----T---A---CCG----G-

GB438                4h                  AG-A----------TC-------A---T----------A---C-G----G-
CAR4/1205            4i                  CG-G----------TC-------AR T----------A---C--------
```

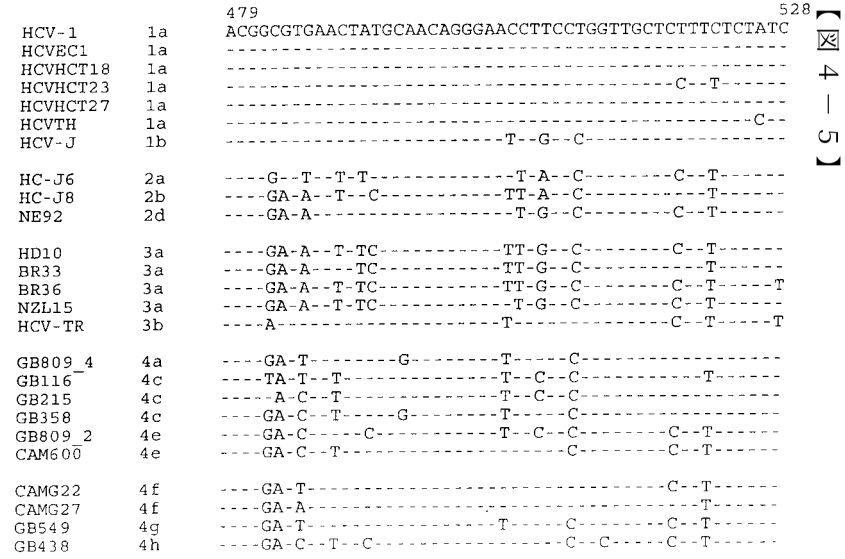
【図４－３】

```
HCV-1                1a
HCVEC1               1a
HCVHCT18             1a
HCVHCT23             1a
HCVHCT27             1a
HCVTH                1a
HCV-J                1b

HC-J6                2a
HC-J8                2b
NE92                 2d

HD10                 3a
BR33                 3a
BR36                 3a
NZL15                3a
HCV-TR               3b
GB809_4              4a
GB116                4c
GB215                4c
GB358                4c
GB809_2              4e
CAM600               4e
CAM322               4f
CAM327               4f
GB549                4g

GB438                4h
CAR4/1205            4i
```

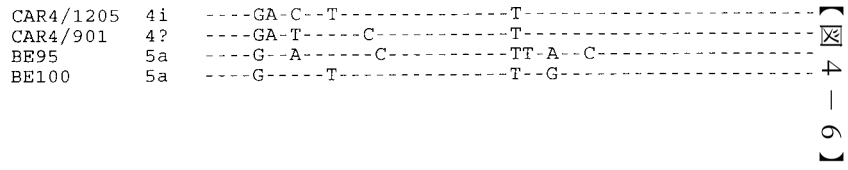
【図４－４】



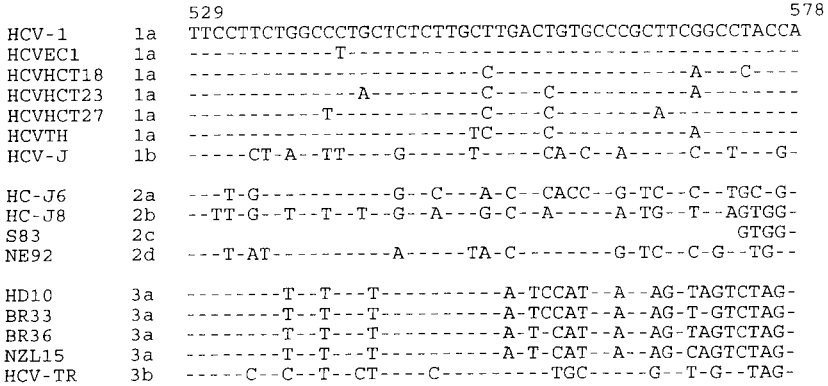
【図４－５】



【図４－６】



【図４－７】



【図４－８】

【図４－９】

【図４－１０】

【図４－１１】

【図４－１２】

```
                                                
```

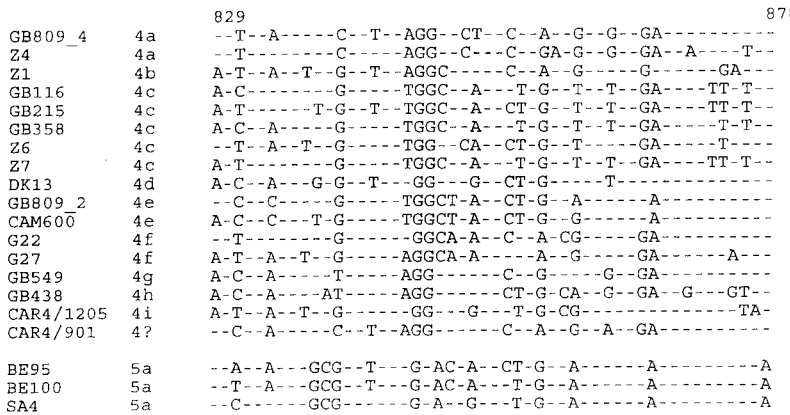
【図４－１６】

【図４－１７】

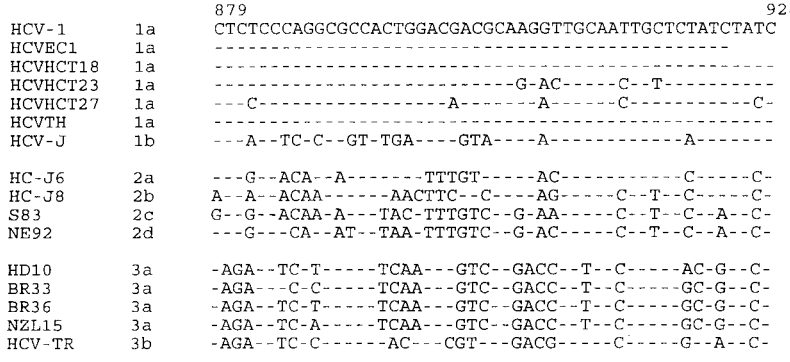
【図４－１８】

【図４－１９】

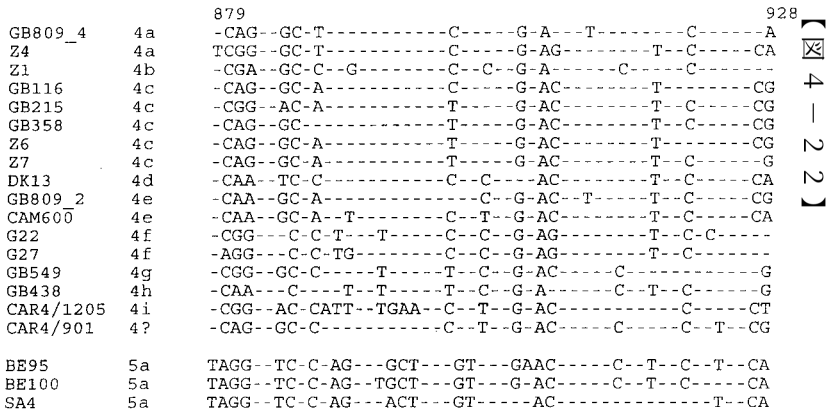
【図４－２０】



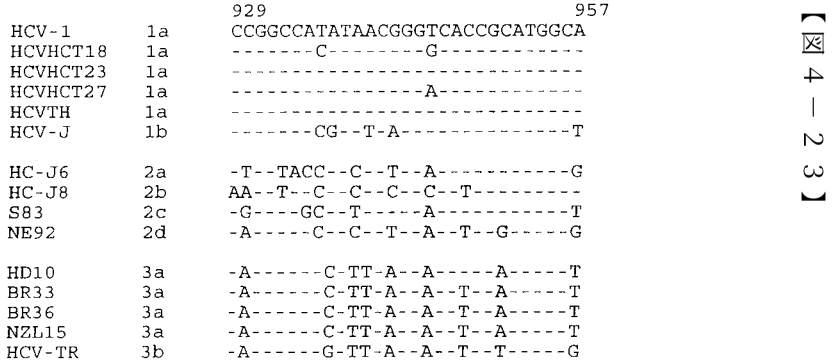
【図４－２１】



【図４－２２】

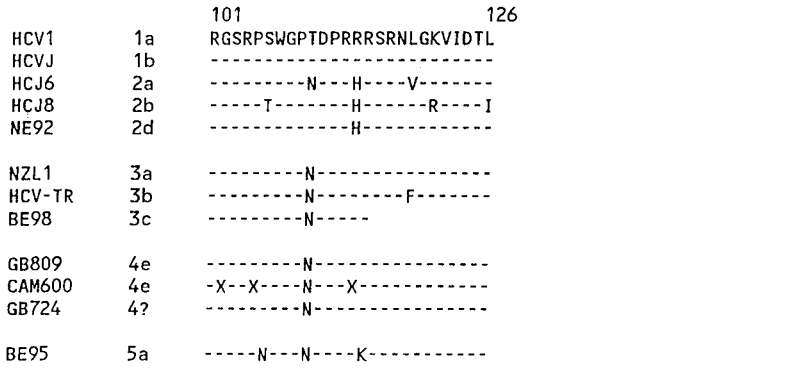


【図４－２３】

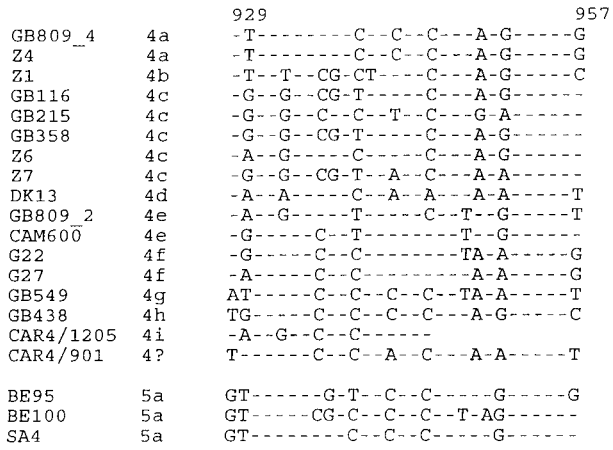


【図５－２】

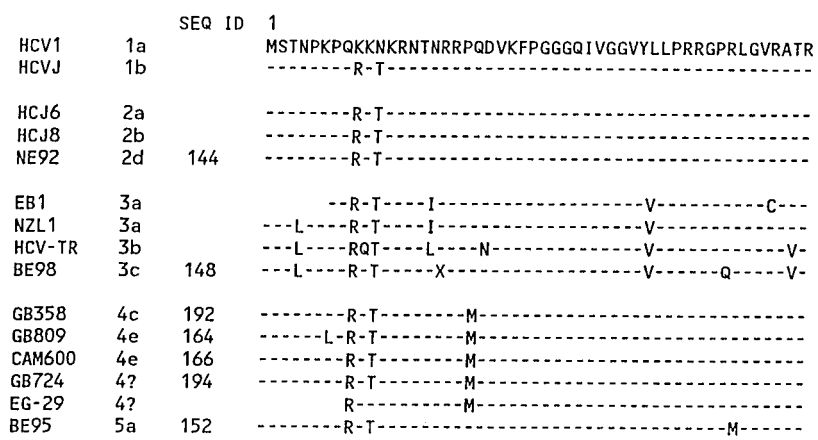
【図５－３】



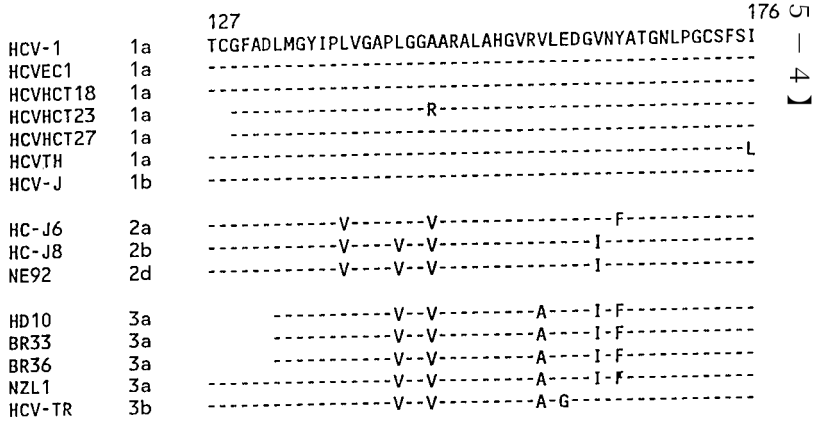
【図４－２４】



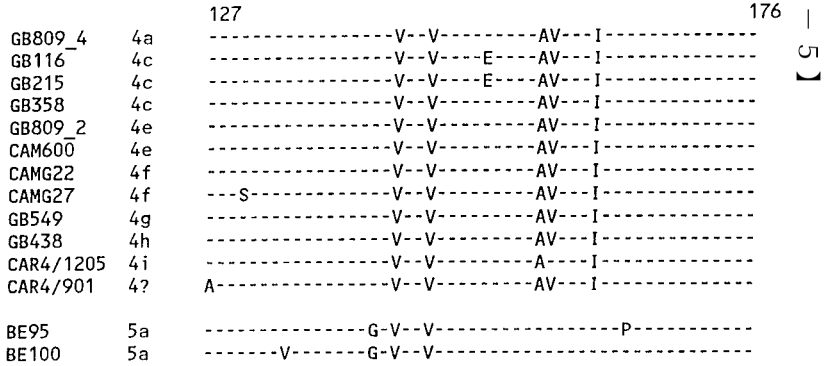
【図５－１】



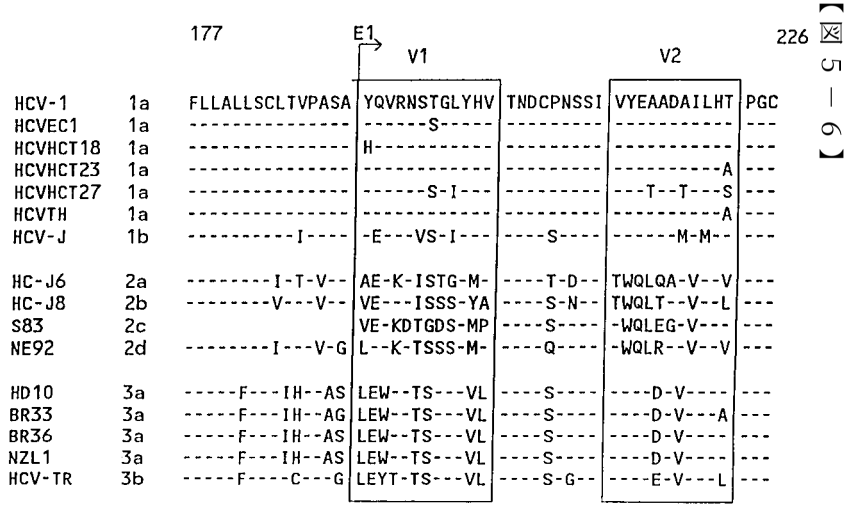
【図５－４】



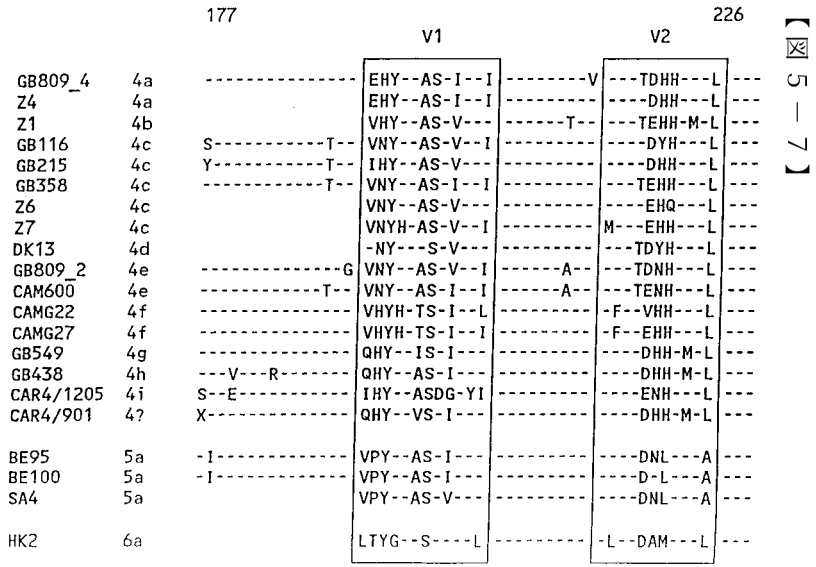
【図５－５】



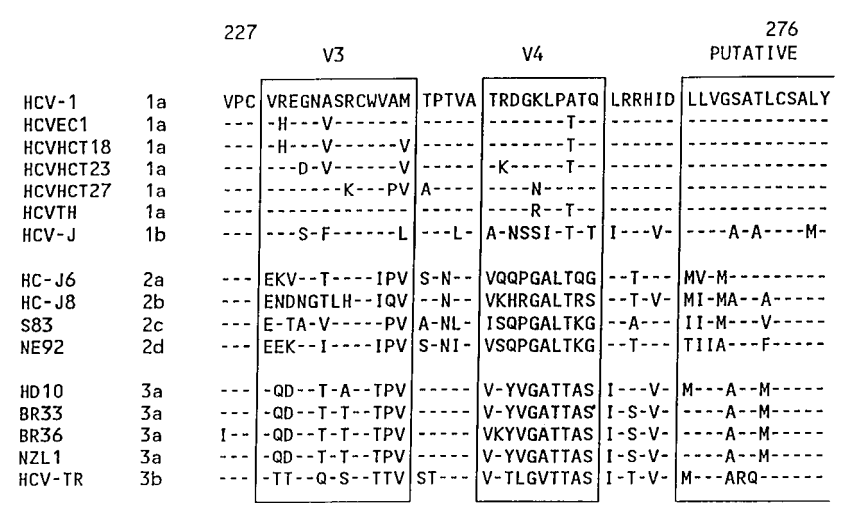
【図５－６】



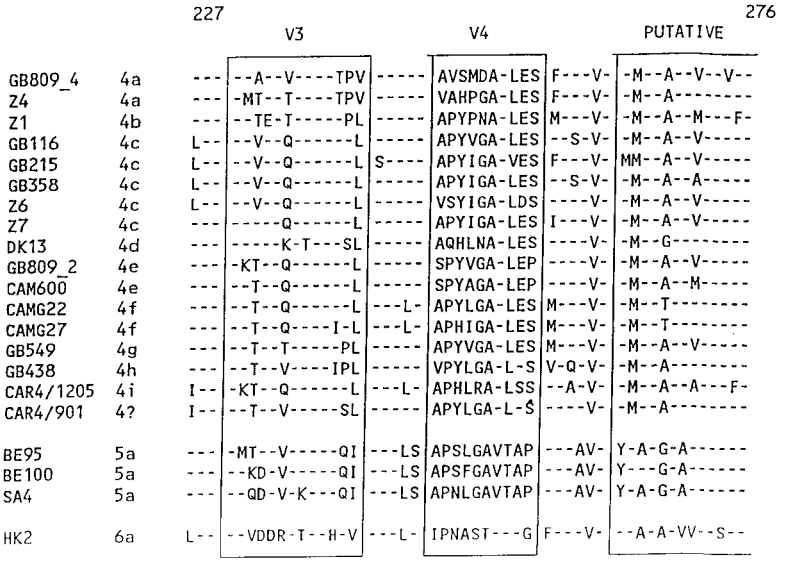
【図５－７】



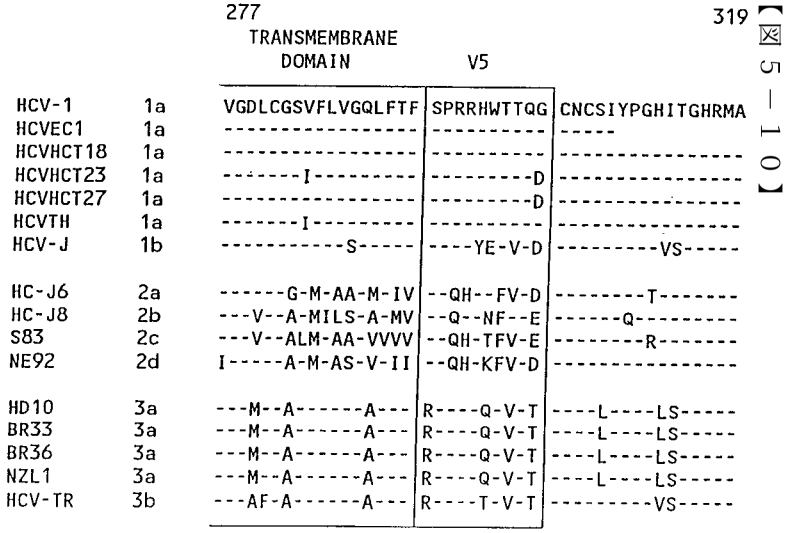
【図５－８】



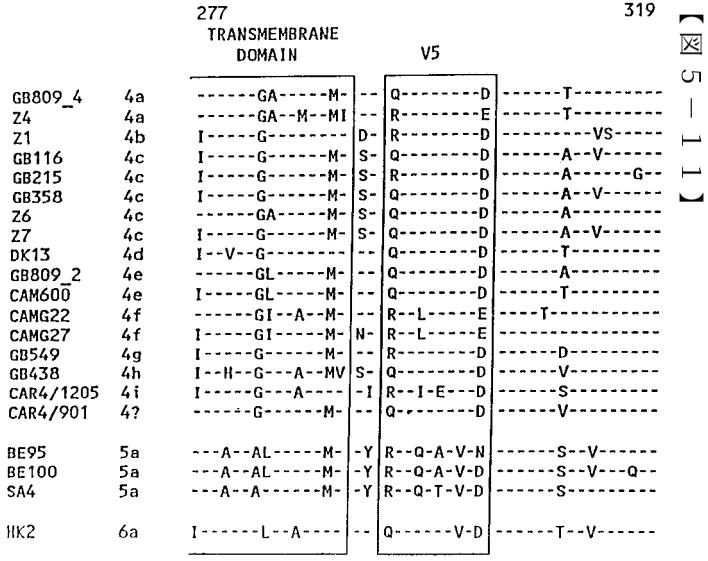
【図５－９】



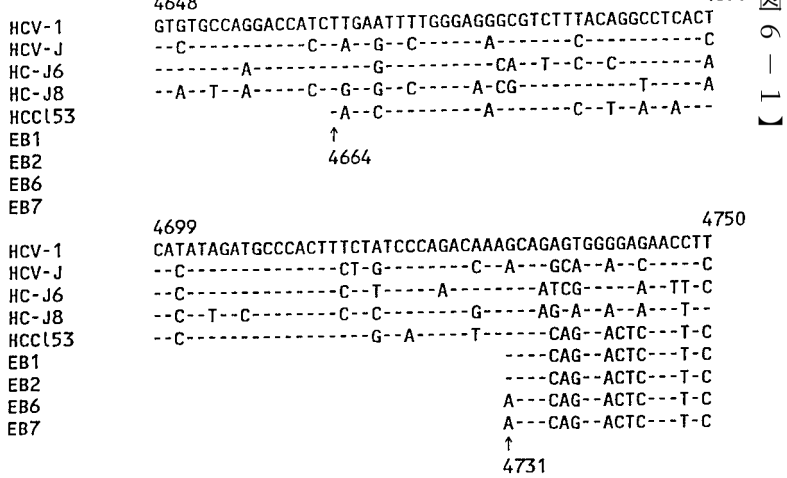
【図５－１０】



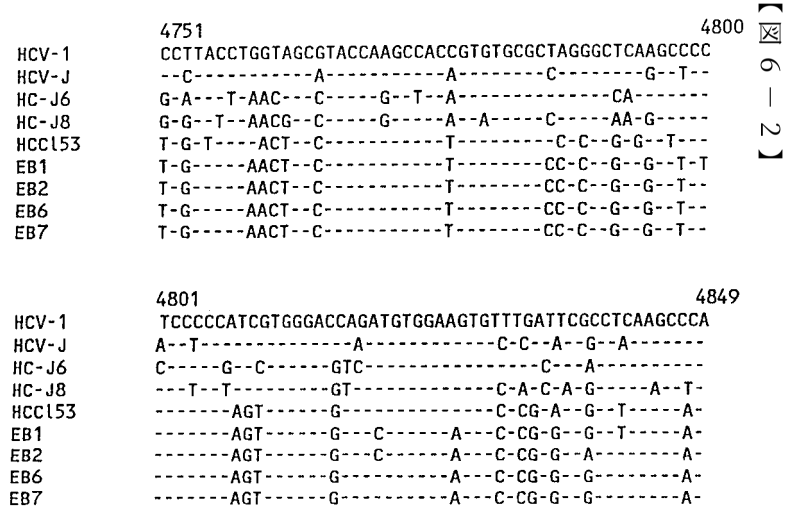
【図５－１１】



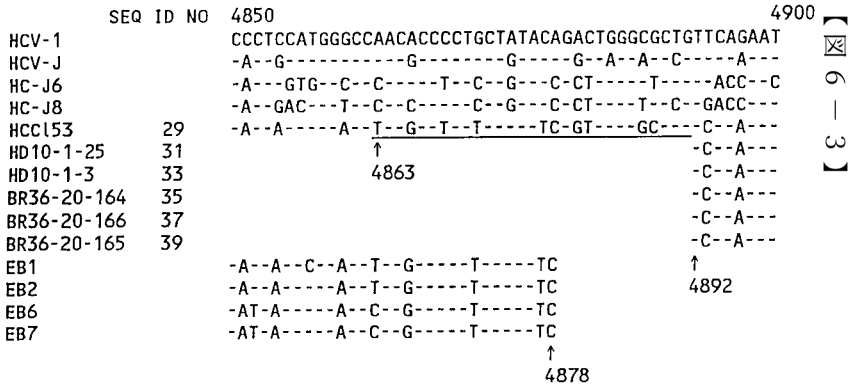
【図６－１】



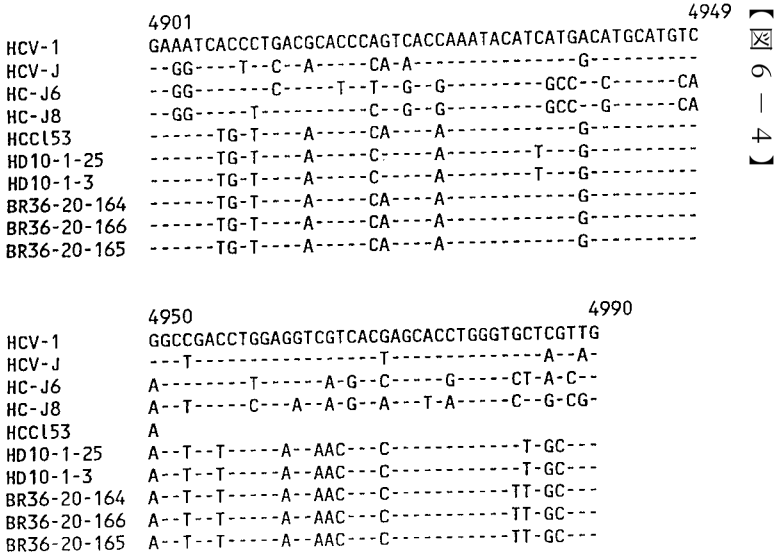
【図６－２】



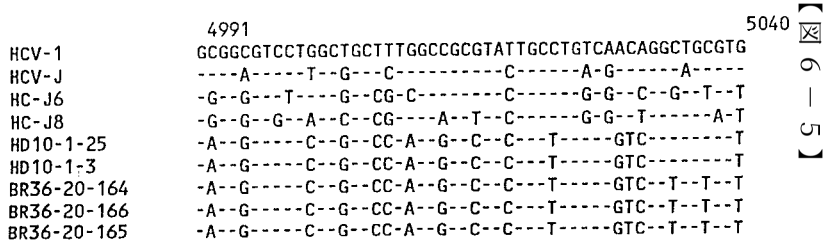
【図６－３】



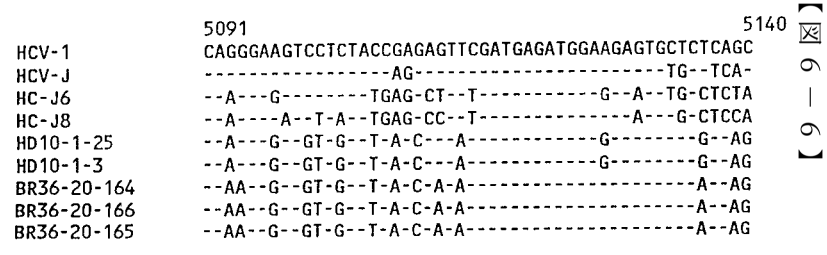
【図６－４】



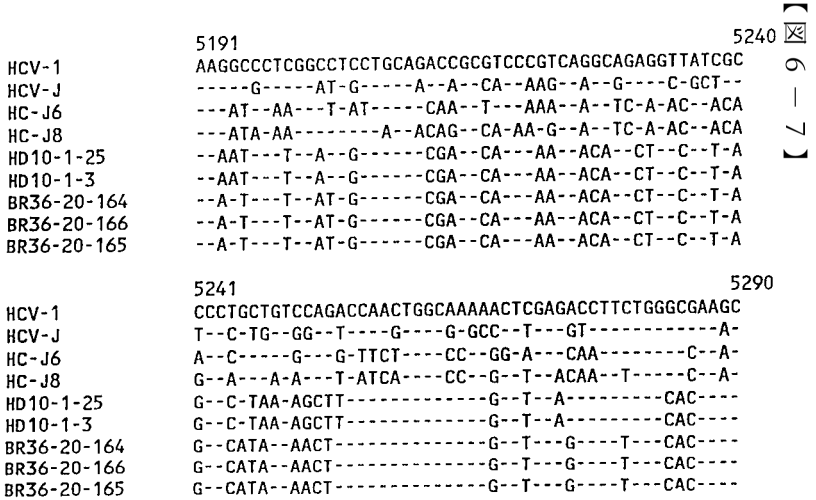
【図６－５】



【図６－６】

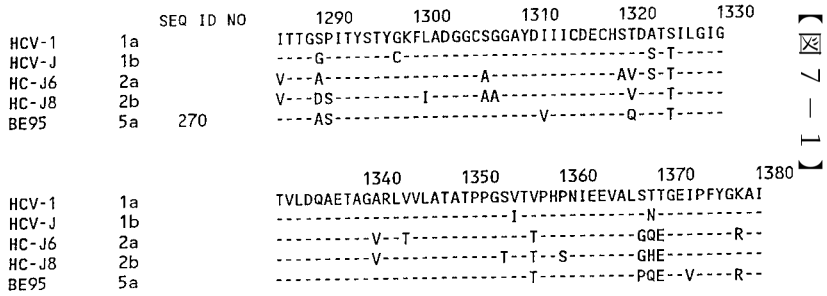


【図６－７】

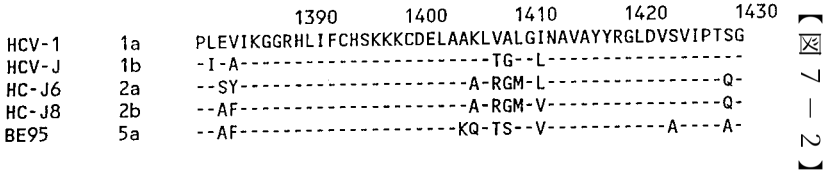


【図６－８】

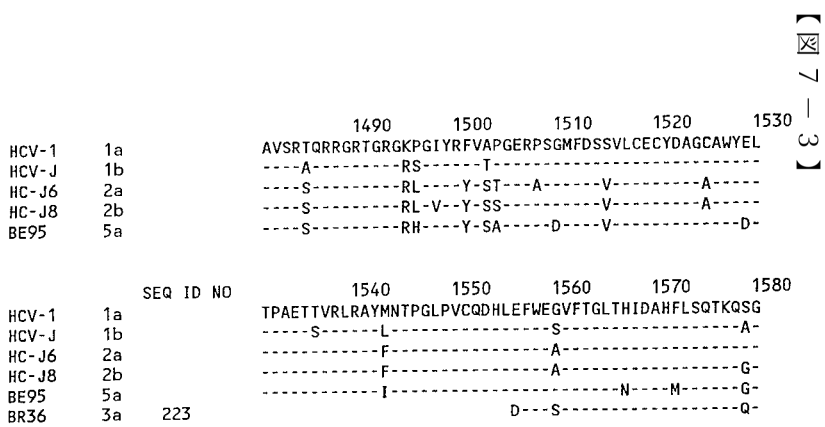
【図７－１】



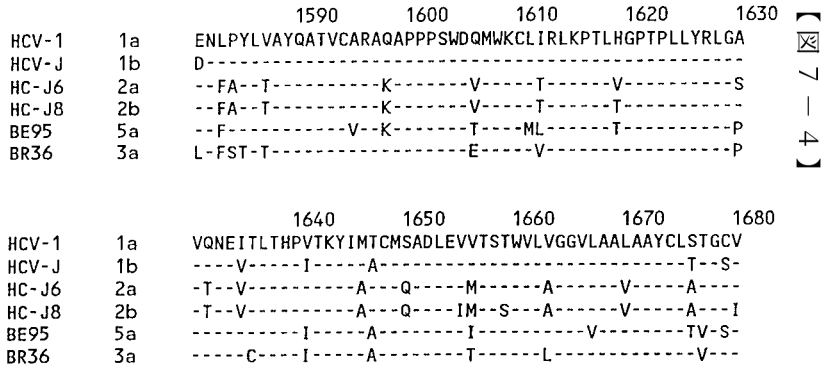
【図７－２】



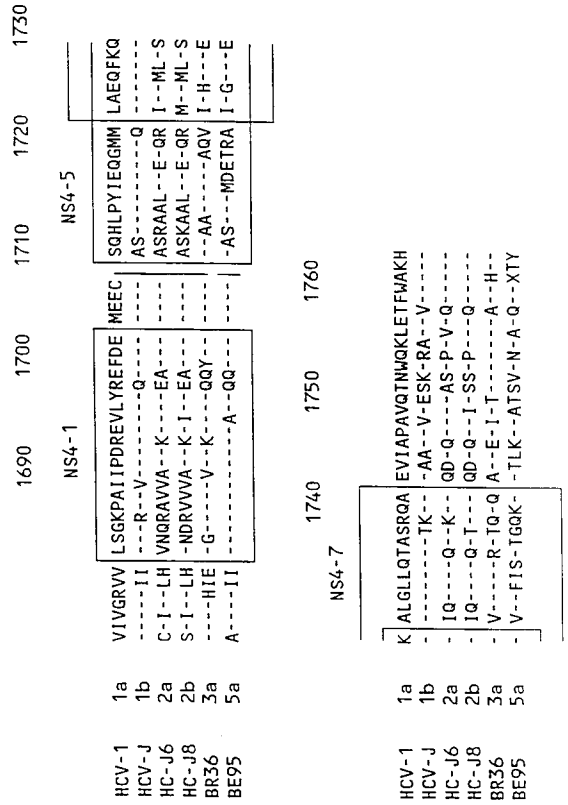
【図７－３】



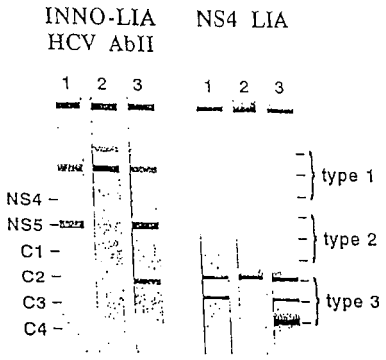
【図７－４】



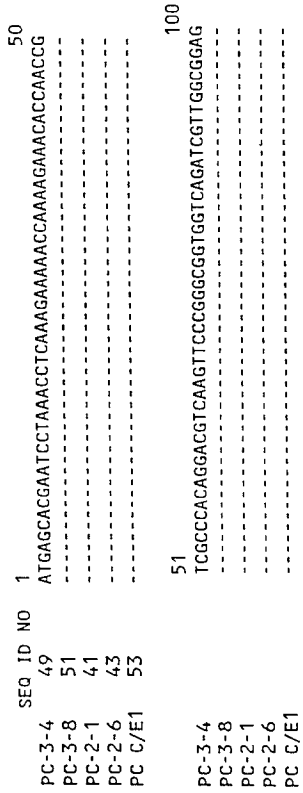
【図７－５】



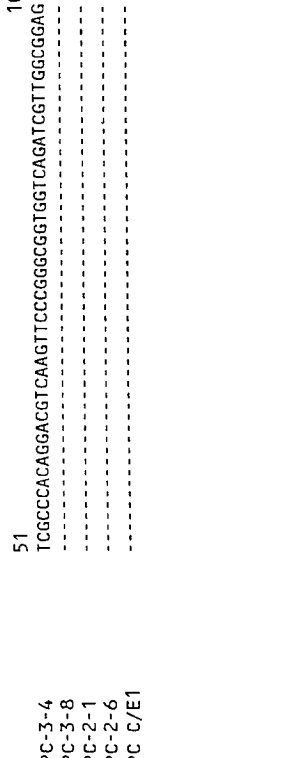
【図８】



【図９－１】



【図９－２】



【図９－３】

```
                                                                                                    250
201 GGCGCGCCAGCCCACGGGCCGGTCCTGGGGTCAACCCGGGTACCCTTGGC
PC-3-4 ----------------------------------------------------
PC-3-8 ----------------------------------------------------
PC-2-1 ----------------------------------------------------
PC-2-6 ----------------------------------------------------
PC C/E1 ---------------------------------------------------
                                                                                                    300
251 CCCTTTACGCCCAATGAGGGCCTCGGGTGGGCAGGGTGGCTGCTCTCCCCT
PC-3-4 ----------------------------------------------------
PC-3-8 ----------------------------------------------------
PC-2-1 ----------------------------------------------------
PC-2-6 ----------------------------------------------------
PC C/E1 ---------------------------------------------------
```

【図９－４】

```
                                                                                                    350
301 CGAGGCTCTCGGCCTAATTGGGGCCCCAATGACCCCCGGCGAAAATCGCG
PC-3-4 ----------------------------------------------------
PC-3-8 ----------------------------------------------------
PC-2-1 ----------------------------------------------------
PC-2-6 ----------------------------------------------------
PC C/E1 ---------------------------------------------------
                                                                                                    400
351 TAATTTGGGTAAGGTCATCGATACCCTAACGTGCGGATTCGCCGATCTCA
PC-3-4 ----------------------------------------------------
PC-3-8 ----------------------------------------------------
PC-2-1 ----------------------------------------------------
PC-2-6 ----------------------------------------------------
PC C/E1 ---------------------------------------------------
```

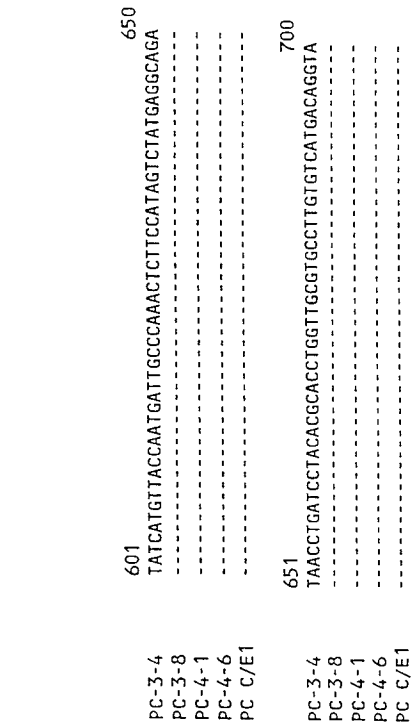
【図９－５】

```
                                                                                                    450
401 TGGGGTATATCCCGCTCGTAGGCGGCCCCATTGGGGGCGTCGCAAGGGCT
PC-3-4 -------C----------------------------G----------
PC-3-8 ----------------------------------------------
PC-2-1 ----------------------------------------------
PC-2-6 ----------------------------------------------
PC-4-1 ----------------------------------------------
PC-4-6 ----------------------------------------------
PC C/E1 -------Y----------------------R----------

                                                                                                    500
SEQ ID NO 451 CTCGCACACGGTGTGAGGGTCCTTGAGGACGGGGGTAAACTATGCAACAGG
PC-3-4 ----------------------------------------C------
PC-3-8 ----------------------------------------------
PC-2-1 ----------------------------------------------
PC-2-6 ----------------------------------------------
PC-4-1 45 ----------------------------------------------
PC-4-6 46 ----------------------------------------------
PC C/E1 ---------------------------------------S------
```

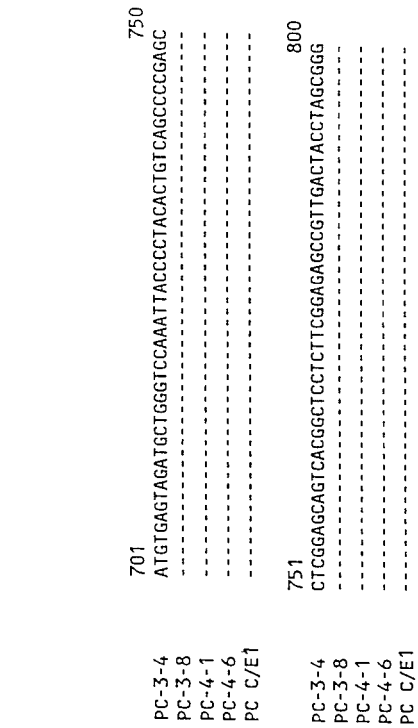
【図９－６】

```
                                                                                                    550
501 GAATTTACCCGGTTGCTCTTTCTCTATCTTTATTCTTGCTCTTCTCTCGT
PC-3-4 ----------------------------------------------------
PC-3-8 ----------------------------------------------------
PC-2-1 -------
PC-2-6 -------
PC-4-1 ----------------------------------------------------
PC-4-6 ----------------------------------------------------
PC C/E1 ---------------------------------------------------

                                                                                                    600
551 GTCTGACCGTTCCGGCCTCTGCAGTTCCCTACCGAAATGCCTCTGGGATT
PC-3-4 ----------------------------------------------------
PC-3-8 ----------------------------------------------------
PC-4-1 ----------------------------------------------------
PC-4-6 ----------------------------------------------------
PC C/E1 ---------------------------------------------------
```

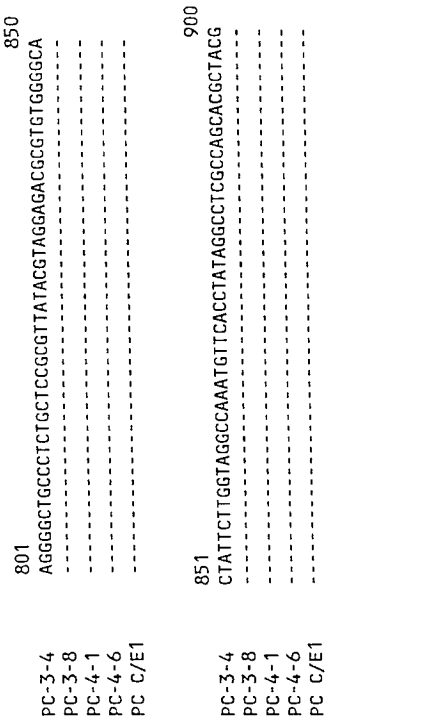
【図９－７】



【図９－８】



【図９－９】



【図９－１０】

【図１０－１】

【図１０－２】

【図１０－３】

【図１０－４】

【図１０－５】

4441
GCTGTCTCCCGCACTCAACGTCGGGGCAGGACTGGCAGGGGGAAGCCAGG
HCV-1 1a --G--G--G--TG-G--G---G--A--T-----------C-G-AGT--
HCV-J 1b --C-----C--C-----------A----------C-----------
HC-J6 2a ---A--TT-CG-A---T-AAC---C-----G---T--A---------
HC-J8 2b --A---T--G-G--T--AACG--C-----G-----A--A-----C---
PC1_37 5a -----TT-C--A-----T-----------A--A--C---T-T-C-C--
PC1_48 5a -----TT-N--A-----T-----------A--A--C--T-T-C-C--
BR36 3a CTC---T-CT-G-T---ACT--C-----------T----------C-C--
4491 4550
CATCTACAGATTTGTGGCACCGGGGGAGCGCCCCTCCGGCATGTTCGACT
HCV-1 1a ---------G------A-T--A--A--A--G-----A----------
HCV-J 1b ---------G------A-T--A--A--A--G-----A----------
HC-J6 2a T--T--T---G-A---TT-CA-T-T-T-----AG----A--A-----T---A
HC-J8 2b -G-T-----G-A---TT-GT-A--C---A-G--G--T--G---------A
PC1_37 5a ---A---C-G-A---CT-GG-T--A---A-A--G--T-----------
PC1_48 5a ---A---C-G-A---CT-GG-T--A---A-A--N--T-A---------
BR36 3a
4551 4590
CGTCCGTCCTCTGTGAGTGCTATGACGCAGGCTGTGCTTGGTATGAGCTC
HCV-1 1a -C--G----G-----------------------------C-----------
HCV-J 1b GTGTA--G-----C---------C--T-----GGCC--A----------
HC-J6 2a GCGTA--G-----C---------T--C--GGCA--C-----C-----T
HC-J8 2b -CGTG--G-----C---------C--T--C--A-----A-----C--T--G
PC1_37 5a -CGTG--G-----C---------C--T--C--A-----G---------T--G
PC1_48 5a
BR36 3a

【図１０－６】

4591 4640
ACGCCCGCCGAGACTACAGTTAGGCTACGAGCGTACATGAACACCCCGGG
HCV-1 1a ---------T-----CT-G-------T-G--G--T---C-A--T--A--A--
HCV-J 1b --A--A--G-----C--C--C---CA----A--TT-C-----A--T--
HC-J6 2a --A--T--T---------G--G--A--C---G--T--TT-C-----G--C--
HC-J8 2b --T--T-----------C--G---T-G---C--T---N-A---------C--
PC1_37 5a --T--T-----------C--G---T-G--C--T---A---------C--
PC1_48 5a
BR36 3a
4641 4690
GCTTCCCGTGTGCCAGGACCATCTTCAATTTTGGGAGGGCGTCTTTACAG
HCV-1 1a -T-G-----C-----------C--A--G--C-------A---------C---
HCV-J 1b TT-G--T-----------A---------G---------CA--T--C---C-
HC-J6 2a TT-G----A--T--A-----C--G--G---C-----A-CG----------
HC-J8 2b ---C--T---C--T---------T-G-----C---------G--G--C--G-
PC1_37 5a ---C--T--C--T---------T-G-----C---------G--G--C--G-
PC1_48 5a ---C--T--C--T---------T-G-----C---------G--G--C--G-
BR36 3a -A--C---------A---------C--T-
4691 4740
GCCTCACTCATATAGATGCCCACTTTCTATCCCAGACAAGCAGAGTGGG
HCV-1 1a -----C--C-----------CT-G-------C--A---GCA--A
HCV-J 1b -----C--C-----------CT-G-------C--A---GCA--A
HC-J6 2a ------A--C-----------C--T-----A---------ATCG---
HC-J8 2b -T------A--C--T--C---------C--C---------G-----AG-A--A
PC1_37 5a -G-----A-C--C--C--T---A-G--G--A-------C--A---G-----
PC1_48 5a -G-----A-C--C--C--T---A-G--G--A-------C--A---G-----
BR36 3a -A--A-----C-----------------------G--A-----T-----CAG--A

【図１０－７】

4741 4790
GAGAACCTTCCTTACCTGGTAGCGTACCAAGCCACCGTGTGCGCTAGGGC
HCV-1 1a --C-----C--C-----------A----------C-----
HCV-J 1b --A--TT-CG-A---T-AAC---C-----G---T--A---------
HC-J6 2a --A---T--G-G--T--AACG--C-----G-----A--A-----C-----
HC-J8 2b -----TT-C--A-----T-----------A--A--C---T-T-C-C--
PC1_37 5a -----TT-N--A-----T-----------A--A--C--T-T-C-C--
PC1_48 5a CTC---T-CT-G-T---ACT--C-----------T----------C-C--
BR36 3a
4791 4840
TCAAGCCCTCCCCCATCGTGGGACCAGATGTGGAAGTGTTTGATTCGCC
HCV-1 1a ---G--T--A--T-----------A----------C-C--A--G-
HCV-J 1b ---G--T--A--T-----------A----------C-C--A--G-
HC-J6 2a CA-------C-----G--C---------GTC----------C-----A-
HC-J8 2b AA-G---------T--T---------GT----------C-A-C-A-G-
PC1_37 5a GA----G--C-----CAGC------ACA----------A--CA--C--C--T-
PC1_48 5a GA----G--C-----CAGC------ACA----------A--CA--C-C--T-
BR36 3a G--G---T-----------AGT-------G----------C-CG-A--G-
4841 4890
TCAAGCCCACACCCTCCATGGGCCAACACCCCTGCTATACAGACTGGGCGCT
HCV-1 1a -A---------G----------G----------G--A--A--C
HCV-J 1b -A---------A--GTG--C--C-----T--C--G---C-CT-----T--
HC-J6 2a ----A--T--A--GAC---T--C--C-----C--G---C-CT-----T--C
HC-J8 2b ---A--G--NT-AAC---C--T--T-----CT-G-----G-----GC-C
PC1_37 5a --C----N---G-----A----------CA----------G-----T---G-
PC1_48 5a --C--A----------TG-T---A-----CA----A----------G-
BR36 3a -T-----A--A--A-----A--T--G--T--T-----TC-GT----GC--

【図１０－８】

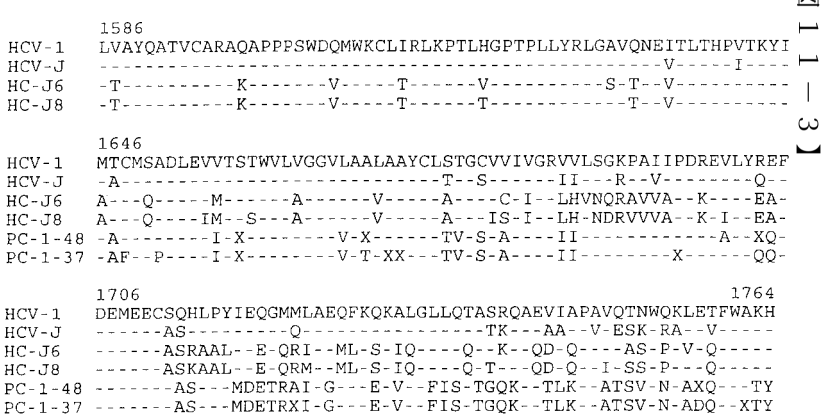
【図１０－９】

【図１０－１０】

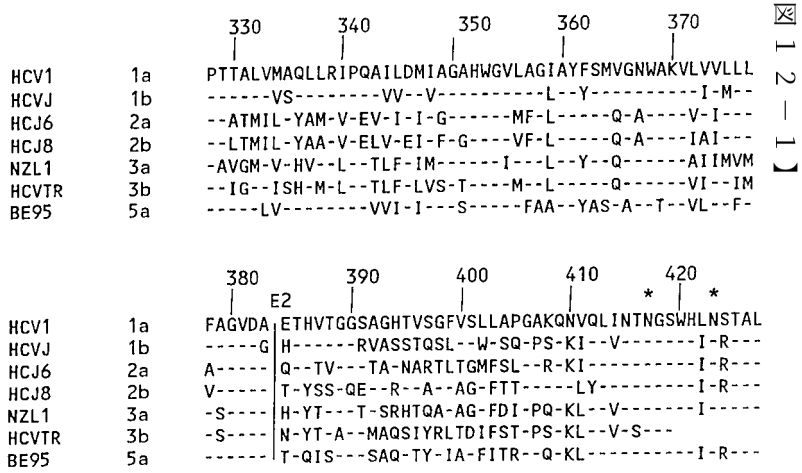
【図１１－１】

【図１１－２】

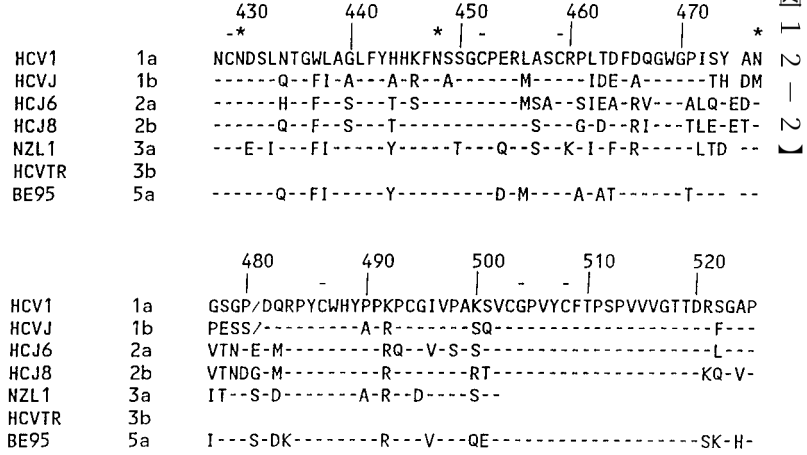
【図１１－３】



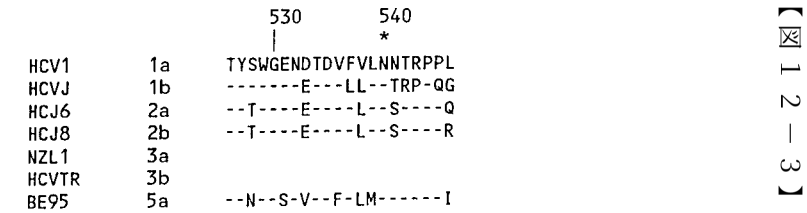
【図１２－１】



【図１２－２】



【図１２－３】



【図１３－１】

【図１３－２】

【図１３－３】

【図１３－４】

【図１３－５】

【図１３－６】

【図１３－７】

【図１３－８】

【図１３－９】

```
                                1380
                                ACCCCTTACCGATTTTGACCAGGGCTGGGGCCCTATCAGTTAT  GCCA
HCV-1                    1a     --G-----------C-----------T-----------C---  ----
HCH-H                    1a     --G-----------C-----------T-----------C---  ----
HC-J1                    1a     --G-----------C-----------T-----------C---  ----
HCV-J                    1b     C---A-CGAT--G--C-CT-----G-----T--C----C-C--  -AT-
HCV-BK                   1b     CA--A--GA-A-G--C--------A-----T--C--T-C---  --TG
HC-J4.83                 1b     C---A--GA-TGG--C-C-------A-----T--C----CC---  A-TG
HC-J4.91                 1b     C---A--GA--GG--C-C-------A-----T--C----CC---  A-TG
HCV-JTA                  1b     CT--A-CGA-A-G--C-CT-----A-----T--C----CC---  A--G
HCV-JTB                  1b     CT--A--GA-A-G--C-CT-----A-----T--C----CC---  A--G
HCV-CHINA                1b     C---A--GATACA--C--T-----------C----C-----  A-TG
HCV-T                    1b     TT--A--GA-A-G--C--T-----A-----T--C----CC---  A-TG
HCV-JK1                  1b     T---A--GA-AGG--C-CT--A--G-----T--C----CCC--  --TG
HCUNK                    1b     C---A--GATACA--C-CG-----G-----T--C----C---C  A-TG
HCV-N                    1b     CT--A--GA-A-G--C----------A-----T--C----C----  --TG
HC-J6                    2a     CAGTA-CGAG-CC---CGGGT---A-----G-CT-ACAA---GAG-A--
HC-J8                    2b     CGGG--GGA-----------CG-ATC-----AA-CT-GGAA--CGAAA--
HC-J5                    2a     CAG-A-CGAG-C----CCGGATA--G-----A-CT-GCAA--CGAG-AT-
HC-J7                    2b     TAAG--GGAT-------CG-ATC--G-----AA-CT-GGAA---GAGA--
NZL1                     3a     G---A-C--TTTC--CAGG-----A-----T--CT-A-CAG---  --T-
HEM26                    3a     G---A-C--TTCC--CAGG-----G-----T--CT-G-CAG---  --T-
TH85                     3a     G---A-C---TCC--CA-T-----G-----T--CT-G-CAG---  -AA-
US114                    3a     G---A-C--TTCC--CAGG-----G-----T-CT-G-CAG---  --T-
BE95                     5a     GG-----G--AC-----------------AA-------C---  ----
```

【図１３－１０】

```
                                1430
                                ACGGAAGCGGCCCC  GACCAGCGCCCCTACTGCTGGCACTACCCCCCA
HCV-1                    1a     ---G-A----------------------------T---  ----
HCH-H                    1a     ----------------------------------T---  ----
HC-J1                    1a     ----A----------T--T-----------G-G--T  ----
HCV-J                    1b     -----A-G--A--T-----------G-G--T  TGCCTGAGA--T-G
HCV-BK                   1b     -----A-G--A--T----------A-----T  -GTCT---A-AT-A
HC-J4.83                 1b     --T---A-G--T--T----------T--G-G--T  -GCCTGA-A----G
HC-J4.91                 1b     --T---A-G--T--T----------T--G-G--T  -GCCT-A-A----G
HCV-JTA                  1b     --T---A-G--T----------T---G-A--I  -GCCT--G-A--TG
HCV-JTB                  1b     --T---A-G--T----------T---G-A--T  -GCCTG-G-A-TTG
HCV-CHINA                1b     -----A-G--T--T----------T---G-G--T  -GCCTGATA--T-G
HCV-T                    1b     -----A-G--T--T----------G-A--C  -G-CTGA-AT--AG
HCV-JK1                  1b     -----AA-G--T----------G-A--T  -GTCTC---A--T-G
HCUNK                    1b     --T---A-G----T----------G-A--T  -GCCTCAT-ATTTG
HCV-N                    1b     ------A-G--T--T----------G-A---  -TCCT-AA-A---G
HC-J6                    2a     -T-TC-C-AAT--AGAG--TAT-A-A--G--T----------A---  ---
HC-J8                    2b     ---TC-C-AA-GATGGG---AT-A-G--G----------T-------G  ---
HC-J5                    2a     -T-TC-C-AAT--AGAA--TAT-A-A--A--T----------A---  ---
HC-J7                    2b     T-TT-C-AA-GAGGAG---AT-A-A--G----------T-----T--G
NZL1                     3a     --ATC-C---T--TTCT--TG-CA-A--A----------G-A--T
HEM26                    3a     --ATCTC---TT-GTCC--AG-CAAA--G----------G-A--T
TH85                     3a     --ATC-C---T---TCT--TG-CAAA--A----------G-A--T
US114                    3a     --ATC-C--ATT-TTCT--TG-CAAA--G----------G-A--T
BE95                     5a     --AT-TCG--T---AGT--TG-CAAA--A--T----------T----
```

【図１３－１１】

```
                                1480
                                AAACCTTGCGGTATTGTGCCCGCGAAGAGTGTG
HCV-1                    1a     -G-----T--C-----------A-----C---  ----
HCH-H                    1a     ----------C-----------A-----C--A  ----
HC-J1                    1a     CG---G-----G--C-----T---TC-CAG---  ----
HCV-J                    1b     CC--AA--TACC--C--A--T---TC-GAG---  ----
HCV-BK                   1b     CG---G--T-----C--A--------TC-CAG---  ----
HC-J4.83                 1b     CG---G--T-----C--A--------TC-CAG---  ----
HC-J4.91                 1b     CGG-AG--T-----C--A--T---TC-CAG---  ----
HCV-JTA                  1b     CGG-AG--T-----C--A--------TC-CAG---  ----
HCV-JTB                  1b     CG-AAG-----C--C--A--T---TC-GAG---  ----
HCV-CHINA                1b     CGG--G--T-----C--A--------TC-CAG---  ----
HCV-T                    1b     C----G--T-----C-----------TT-CAG---  ----
HCV-JK1                  1b     C----G--T-----------A--TT-CAG---  ----
HCUNK                    1b     C---AG--T-----CA-A---CG-TCCGAG-C-  ----
HCV-N                    1b     -G--AG--T---G-A--CT-------GCTC-----  ----
HC-J6                    2a     -GG-----------C--C--C--G--T-G--CG--T  ----
HC-J8                    2b     -----G--T--C--A--C---------G-TC-----  ----
HC-J5                    2a     --G-------C--C--CT-G--T----CG--C  ----
HC-J7                    2b     -G-----T-AC-----C--G--ATCA-------C  ----
NZL1                     3a     -G-----TACCG----C--A--ATCA-------C  ----
HEM26                    3a     -G-----TAAA-G---C--A--ATCA-------C  ----
TH85                     3a     -G-T---T-A--CC--C--G--ATCA-------C  ----
US114                    3a     CGG--G-----AG-G-----A--CC-AGAG--C  ----
BE95                     5a     ----------------------------------  ----
```

【配列表】
2004041207000001.xml

フロントページの続き

(51)Int.Cl.[7]	FI		テーマコード（参考）
Ｃ０７Ｋ 16/10	Ｃ１２Ｑ 1/68	Ａ	
Ｃ１２Ｑ 1/68	Ｃ１２Ｑ 1/70		
Ｃ１２Ｑ 1/70	Ｇ０１Ｎ 33/53	Ｍ	
Ｇ０１Ｎ 33/53	Ｇ０１Ｎ 33/53	Ｎ	
Ｇ０１Ｎ 33/566	Ｇ０１Ｎ 33/566		
Ｇ０１Ｎ 33/576	Ｇ０１Ｎ 33/576	Ｚ	
	Ａ６１Ｋ 37/02		

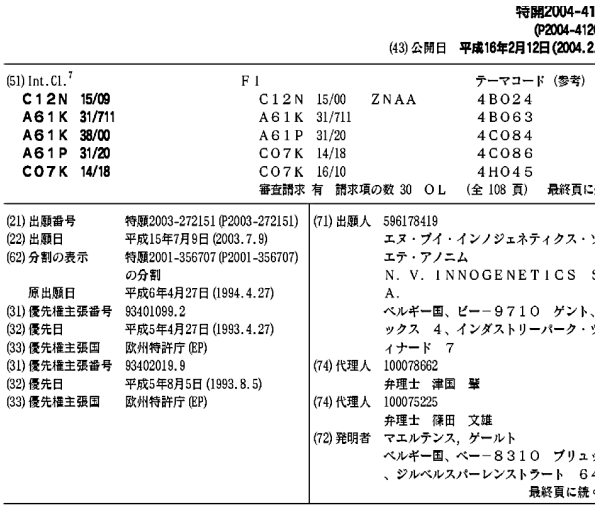
(72)発明者　スタイフェル，リーベン
ベルギー国、ベー－９３４０　レーデ、ホーグストラート　２７

Ｆターム(参考) 4B024 AA01 AA11 BA33 CA04 DA02 EA03 EA04 EA06
4B063 QA01 QA19 QQ42 QR32 QR55 QR62 QS34
4C084 AA01 BA01 BA22 BA35 NA14 ZB331
4C086 AA01 EA16 MA01 MA04 NA14 ZB33
4H045 AA10 AA11 AA30 BA10 CA02 DA75 DA86 EA50

专利名称(译)	新的丙型肝炎病毒基因型序列及其作为治疗和诊断剂的用途		
公开(公告)号	JP2004041207A	公开(公告)日	2004-02-12
申请号	JP2003272151	申请日	2003-07-09
[标]申请(专利权)人(译)	INNOJENETEIKUSU SA NV 基因创新有限公司		
申请(专利权)人(译)	NV-在卢武铉遗传学兴业ANONYME		
[标]发明人	マエルテンスゲールト スタイフェルリーベン		
发明人	マエルテンス,ゲールト スタイフェル,リーベン		
IPC分类号	G01N33/50 A61K31/711 A61K31/713 A61K35/76 A61K38/00 A61K39/00 A61K39/395 A61K48/00 A61P1/16 A61P31/12 A61P31/14 A61P31/20 C07K14/02 C07K14/10 C07K14/18 C07K16/00 C07K16/08 C07K16/10 C12N15/09 C12N15/40 C12N15/41 C12N15/51 C12Q1/68 C12Q1/70 G01N33/15 G01N33/53 G01N33/566 G01N33/576		
CPC分类号	A61K38/00 A61K39/00 A61P1/16 A61P31/12 A61P31/14 A61P31/20 C07K14/005 C12N2770/24222 Y02A50/396		
FI分类号	C12N15/00.ZNA.A A61K31/711 A61P31/20 C07K14/18 C07K16/10 C12Q1/68.A C12Q1/70 G01N33/53.M G01N33/53.N G01N33/566 G01N33/576.Z A61K37/02 A61K38/00 A61K38/16 C12N15/00.A C12N15/00.AZN.A		
F-TERM分类号	4B024/AA01 4B024/AA11 4B024/BA33 4B024/CA04 4B024/DA02 4B024/EA03 4B024/EA04 4B024/EA06 4B063/QA01 4B063/QA19 4B063/QQ42 4B063/QR32 4B063/QR55 4B063/QR62 4B063/QS34 4C084/AA01 4C084/BA01 4C084/BA22 4C084/BA35 4C084/NA14 4C084/ZB331 4C086/AA01 4C086/EA16 4C086/MA01 4C086/MA04 4C086/NA14 4C086/ZB33 4H045/AA10 4H045/AA11 4H045/AA30 4H045/BA10 4H045/CA02 4H045/DA75 4H045/DA86 4H045/EA50		
代理人(译)	津国 肇 筱田文雄		
优先权	1993401099 1993-04-27 EP 1993402019 1993-08-05 EP		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

解决的问题：提供能够检测HCV感染的核苷酸和氨基酸序列。 解决方案：HCV3型核心/ E1区；和/或HCV3型NS3区，和/或HCV3型NS3 / 4区；和/或HCV3a型BR36亚组NS5区；核苷酸在核心区 起始于HCV4a型编码区;和/或HCV4型编码区;和/或HCV4型编码区;和/或HCV5型编码区; 8个或更多与之对应的核苷酸序列 包含至少一个多核酸或由该多核酸组成，并且所述多核酸在上述区域中包含已知的HCV 1型和/或HCV 2型基因组，并且至少一个核苷酸差异 提供了一种多核酸或其补体及其组合物。 [选择图]无



特開2004-41
(P2004-412
(43)公開日 平成16年2月12日(2004.2

(51) Int.Cl.[7]		F I			テーマコード（参考）
C12N	15/09	C12N	15/00	ZNAA	4B024
A61K	31/711	A61K	31/711		4B063
A61K	38/00	A61P	31/20		4C084
A61P	31/20	C07K	14/18		4C086
C07K	14/18	C07K	16/10		4H045

審査請求 有 請求項の数 30 OL （全 108 頁） 最終頁に

(21) 出願番号	特願2003-272151 (P2003-272151)
(22) 出願日	平成15年7月9日 (2003.7.9)
(62) 分割の表示	特願2001-356707 (P2001-356707)の分割
原出願日	平成6年4月27日 (1994.4.27)
(31) 優先権主張番号	93401099.2
(32) 優先日	平成5年4月27日 (1993.4.27)
(33) 優先権主張国	欧州特許庁 (EP)
(31) 優先権主張番号	93402019.9
(32) 優先日	平成5年8月5日 (1993.8.5)
(33) 優先権主張国	欧州特許庁 (EP)

(71) 出願人 596178419
エヌ・ブイ・インノジェネティクス・ソ
エテ・アノニム
N. V. INNOGENETICS S
A.
ベルギー国、ビー－９７１０ ゲント、
ックス ４、インダストリーパーク・ゾ
ィナード ７
(74) 代理人 100078662
弁理士 津国 肇
(74) 代理人 100075225
弁理士 篠田 文雄
(72) 発明者 マエルテンス，ゲールト
ベルギー国、ベー－８３１０ ブリュ
、ジルベルスパーレンストラート ６
最終頁に続