(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)特許出願公表番号
特表2017-521654
(P2017-521654A)
(43)公表日　平成29年8月3日(2017.8.3)

(51)Int.Cl.		F I			テーマコード（参考）
G01N 33/569	(2006.01)	G01N	33/569	L	4B063
C12N 15/09	(2006.01)	C12N	15/00	ZNAA	4H045
C12Q 1/68	(2006.01)	C12Q	1/68	A	
C07K 14/18	(2006.01)	C07K	14/18		
G01N 33/53	(2006.01)	G01N	33/53	N	

審査請求 未請求　予備審査請求 未請求　（全 167 頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2016-575478 (P2016-575478)
(86)(22)出願日　平成27年6月26日 (2015.6.26)
(85)翻訳文提出日　平成29年2月24日 (2017.2.24)
(86)国際出願番号　PCT/US2015/038067
(87)国際公開番号　WO2015/200833
(87)国際公開日　平成27年12月30日 (2015.12.30)
(31)優先権主張番号　62/018,282
(32)優先日　平成26年6月27日 (2014.6.27)
(33)優先権主張国　米国(US)
(31)優先権主張番号　62/107,782
(32)優先日　平成27年1月26日 (2015.1.26)
(33)優先権主張国　米国(US)

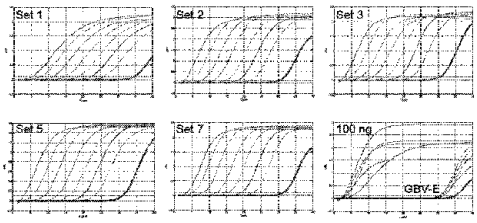
(71)出願人　391008788
アボット・ラボラトリーズ
ＡＢＢＯＴＴ　ＬＡＢＯＲＡＴＯＲＩＥＳ
アメリカ合衆国　イリノイ州　アボットパーク　アボット　パーク　ロード　１００
(71)出願人　507127440
ザ・リージエンツ・オブ・ザ・ユニバーシテイー・オブ・カリフオルニア
アメリカ合衆国、カリフォルニア・９４６０７－５２００、オークランド、フランクリン・ストリート・１１１１、トゥエルブス・フロアー
(74)代理人　110001173
特許業務法人川口國際特許事務所

最終頁に続く

(54)【発明の名称】ヒトペギウイルス２（ＨＰｇＶ－２）を検出するための組成物および方法

(57)【要約】
本明細書に、ヒトペギウイルス２（ＨＰｇＶ－２）を検出するための組成物、方法およびキットを提供する。ある特定の実施形態において、本明細書に、ＨＰｇＶ－２特異的核酸プローブおよびプライマー、ならびにＨＰｇＶ－２核酸を検出するための方法を提供する。他の実施形態において、本明細書に、ＨＰｇＶ－２免疫原性組成物、免疫原性ＨＰｇＶ－２ペプチドで対象を処置する方法、および試料中のＨＰｇＶ－２対象抗体を検出する方法を提供する。

FIG. 5A



【特許請求の範囲】
【請求項１】
対象におけるヒトペギウイルス２（ＨｇＶ－２）感染を検出する方法であって、
ａ）ＨＰｇＶ－２に対する対象抗体を含むことが疑われる対象からの試料をペプチドと接触させるステップであって、前記ペプチドが対象抗体に特異的に結合して複合体を形成するステップ、および
ｂ）複合体の存在を検出し、それによって対象における過去または現在のＨＰｇＶ－２感染の存在を検出するステップ
を含む方法。
【請求項２】
ペプチドが、配列番号２－１１、７６－８５または３０４－３５３のいずれか１つの一部分に少なくとも７５％の同一性を有し、一部分が少なくとも１０アミノ酸の長さである、請求項１に記載の方法。
【請求項３】
ペプチドが標識され、ペプチドが配列番号８６－９９および１００－２１８の群から選択される、請求項１に記載の方法。
【請求項４】
ペプチドが、Ｓタンパク質、Ｅ１タンパク質、Ｅ２タンパク質、Ｘタンパク質、ＮＳ２タンパク質、ＮＳ３タンパク質、ＮＳ４Ａタンパク質、ＮＳ４Ｂタンパク質、ＮＳ５Ａタンパク質およびＮＳ５Ｂタンパク質からなる群から選択される、ＨＰｇＶ－２の少なくとも一部分を含む、請求項１に記載の方法。
【請求項５】
ペプチドが標識を含み、試料を、前記標識に結合している部分を含む固体支持体と接触させるステップをさらに含む、請求項１に記載の方法。
【請求項６】
ｉ）ペプチドが患者抗体に特異的に結合して複合体を形成し、ｉｉ）標識が少なくとも１つの前記部分に結合することによって、複合体が固体支持体に結合するような条件下で、試料をインキュベートするステップをさらに含む、請求項５に記載の方法。
【請求項７】
固体支持体を洗浄するステップをさらに含む、請求項６に記載の方法。
【請求項８】
複合体中の患者抗体に結合することができる、検出可能に標識されている２次抗体を試料に添加するステップをさらに含む、請求項７に記載の方法。
【請求項９】
実質的に精製された組換えペプチドを含む組成物であって、組換えペプチドが、以下の少なくとも１つ：
ａ）ＨＰｇＶ－２　ＮＳ３タンパク質からの少なくとも１７個の連続したアミノ酸を含む、第１のアミノ酸配列；
ｂ）ＨＰｇＶ－２　ＮＳ５Ｂタンパク質からの少なくとも１３個の連続したアミノ酸を含む、第２のアミノ酸配列；
ｃ）ＨＰｇＶ－２　ＮＳ２タンパク質からの少なくとも１１個の連続したアミノ酸を含む、第３のアミノ酸配列；
ｄ）ＨＰｇＶ－２　ＮＳ４Ｂタンパク質からの少なくとも８個の連続したアミノ酸を含む、第４のアミノ酸配列；
ｅ）ＨＰｇＶ－２　ＮＳ４ａタンパク質からの少なくとも５個の連続したアミノ酸を含む、第５のアミノ酸配列；
ｆ）ＨＰｇＶ－２　Ｓタンパク質からの少なくとも６個の連続したアミノ酸を含む、第６のアミノ酸配列；
ｇ）ＨＰｇＶ－２　Ｅ１タンパク質からの少なくとも６個の連続したアミノ酸を含む、第７のアミノ酸配列；

ｈ）ＨＰｇＶ－２　Ｘタンパク質からの少なくとも８個の連続したアミノ酸を含む、第８のアミノ酸配列；
ｉ）ＨＰｇＶ－２　Ｅ２タンパク質からの少なくとも８個の連続したアミノ酸を含む、第９のアミノ酸配列；および
ｊ）ＨＰｇＶ－２　ＮＳ５Ａタンパク質からの少なくとも８個の連続したアミノ酸を含む、第１０のアミノ酸配列
を含む、組成物。
【請求項１０】
実質的に精製された組換えペプチドを含む組成物であって、組換えペプチドが、配列番号２－１１、７６－８５または３０４－３５３のいずれか１つの一部分に少なくとも７５％の同一性を有するアミノ酸配列を含み、前記一部分が少なくとも１０アミノ酸の長さである、組成物。
【請求項１１】
磁性ビーズをさらに含む、請求項１０に記載の組成物。
【請求項１２】
前記一部分が少なくとも１５アミノ酸の長さである、請求項１０に記載の組成物。
【請求項１３】
合成核酸分子を含む組成物であって、
合成核酸分子が、ストリンジェントな条件下で、ｉ）配列番号２９９－３０３、またはｉｉ）ヒトペギウイルス２（ＨＰｇＶ－２）のゲノム配列の領域１、領域２、領域３もしくは領域４にハイブリダイズする、少なくとも１２ヌクレオチドの長さのヌクレオチド配列またはその相補体を含み、
ＨＰｇＶ－２のゲノム配列は配列番号１または７５に示されるものであり、
領域１は配列番号１または７５のヌクレオチド１－１４０１であり、領域２は配列番号１または７５のヌクレオチド１４３１－４７７７であり、領域３は配列番号１または７５のヌクレオチド４８１８－８１３４であり、領域４は配列番号１または７５のヌクレオチド８１６７－９７７８である、組成物。
【請求項１４】
合成核酸分子が、ｉ）検出可能な標識を含み、ｉｉ）少なくとも１つの修飾された塩基を含み、ｉｉｉ）ＤＮＡを含み、および／または、ｉｖ）異種性の核酸配列に連結している、請求項１３に記載の組成物。
【請求項１５】
合成核酸分子が、５’ＵＴＲ、Ｓ遺伝子、Ｅ１遺伝子、Ｅ２遺伝子、Ｘ遺伝子、およびＮＳ２遺伝子からなる群から選択されるＨＰｇＶ－２ゲノムの一部分にハイブリダイズする、請求項１３に記載の組成物。
【請求項１６】
合成核酸分子を含む組成物であって、合成核酸分子が、ｉ）ストリンジェントな条件下で、１４０２－１４３０、４７７８－４８１７および８１３５－８１６６から選択される配列番号１または７５の３つの領域にハイブリダイズせず、ｉｉ）ストリンジェントな条件下で、
ａ）配列番号１のヌクレオチド１－１０３、配列番号７５のヌクレオチド１－１１０、配列番号２９９－３０１のヌクレオチド１－３２７、配列番号３０２のヌクレオチド１２－３２７または配列番号３０３のヌクレオチド２４－３２７に示される核酸配列を有する、ヒトペギウイルス２（ＨＰｇＶ－２）の５’非翻訳領域（５’ＵＴＲ）またはその相補体；
ｂ）配列番号２、７６、３０４、３１４、３２４、３３４または３４４に示されるアミノ酸配列を有するＨＰｇＶ－２　Ｓタンパク質をコードする、第１の核酸配列またはその相補体；
ｃ）配列番号３、７７、３０５、３１５、３２５、３３５または３４５に示されるアミノ酸配列を有するＨＰｇＶ－２　Ｅ１タンパク質をコードする、第２の核酸配列またはそ

の相補体；

ｄ）配列番号４、７８、３０６、３１６、３２６、３３６または３４６に示されるアミノ酸配列を有するＨＰｇＶ－２　Ｅ２タンパク質をコードする、第３の核酸配列またはその相補体；

ｅ）配列番号５、７９、３０７、３１７、３２７、３３７または３４７に示されるアミノ酸配列を有するＨＰｇＶ－２　Ｘタンパク質をコードする、第４の核酸配列またはその相補体；

ｆ）配列番号６、８０、３０８、３１８、３２８、３３８または３４８に示されるアミノ酸配列を有するＨＰｇＶ－２　ＮＳ２タンパク質をコードする、第５の核酸配列またはその相補体；

ｇ）配列番号７、８１、３０９、３１９、３２９、３３９または３４９に示されるアミノ酸配列を有するＨＰｇＶ－２　ＮＳ３タンパク質をコードする、第６の核酸配列またはその相補体；

ｈ）配列番号８、８２、３１０、３２０、３３０、３４０または３５０に示されるアミノ酸配列を有するＨＰｇＶ－２　ＮＳ４Ａタンパク質をコードする、第７の核酸配列またはその相補体；

ｉ）配列番号９、８３、３１１、３２１、３３１、３４１または３５１に示されるアミノ酸配列を有するＨＰｇＶ－２　ＮＳ４Ｂタンパク質をコードする、第８の核酸配列またはその相補体；

ｊ）配列番号１０、８４、３１２、３２２、３３２、３４２または３５２に示されるアミノ酸配列を有するＨＰｇＶ－２　ＮＳ５Ａタンパク質をコードする、第９の核酸配列またはその相補体；

ｋ）配列番号１１、８５、３１３、３２３、３３３、３４３または３５３に示されるアミノ酸配列を有するＨＰｇＶ－２　ＮＳ５Ｂタンパク質をコードする、第１０の核酸配列またはその相補体；

ｌ）配列番号１のヌクレオチド９４１０－９７７８、配列番号７５のヌクレオチド９４１７－９４３１または配列番号２９９－３０３のヌクレオチド９４９９－９８６７に示される核酸配列を有する、ヒトペギウイルス２（ＨＰｇＶ－２）の３’非翻訳領域（３’ＵＴＲ）である第１１の核酸配列またはその相補体

にハイブリダイズする、少なくとも１２ヌクレオチドの長さのヌクレオチド配列を含む、組成物。

【請求項１７】

合成核酸分子が、ｉ）検出可能な標識を含み、ｉｉ）少なくとも１つの修飾された塩基を含み、ｉｉｉ）ＤＮＡを含み、および／またはｉｖ）異種性の核酸配列に連結している、請求項１６に記載の組成物。

【請求項１８】

合成核酸分子を含む組成物であって、

合成核酸分子が、ｉ）配列番号２９９－３０３の一部分、またはｉｉ）配列番号１もしくは７５の領域１、領域２、領域３もしくは領域４の一部分に少なくとも７５％の同一性を有するヌクレオチド配列またはその相補体を含み、前記一部分が少なくとも１５ヌクレオチドの長さであり、

領域１が配列番号１または７５のヌクレオチド１－１４０１であり、領域２が配列番号１または７５のヌクレオチド１４３１－４７７７であり、領域３が配列番号１または７５のヌクレオチド４８１８－８１３４であり、領域４が配列番号１または７５のヌクレオチド８１６７－９７７８である、組成物。

【請求項１９】

ヌクレオチド配列が、前記一部分に少なくとも９０％の同一性を有し、または前記一部分が少なくとも２４ヌクレオチドの長さである、請求項１８に記載の組成物。

【請求項２０】

合成核酸分子が、ｉ）検出可能な標識を含み、ｉｉ）少なくとも１つの修飾された塩基

を含み、ｉｉｉ）ＤＮＡを含み、および／または、ｉｖ）異種性の核酸配列に連結している、請求項１８に記載の組成物。

【請求項２１】

ヒトペギウイルス２（ＨＰｇＶ－２）核酸を検出するための方法であって、

ａ）ＨＰｇＶ－２核酸を含むことが疑われる試料を、ストリンジェントな条件下で、ｉ）配列番号２９９－３０３、またはｉｉ）ヒトペギウイルス２（ＨＰｇＶ－２）のゲノム配列の領域１、領域２、領域３もしくは領域４にハイブリダイズする、少なくとも１２ヌクレオチドの長さのヌクレオチド配列またはその相補体を含む核酸分子と接触させるステップであって、

ＨＰｇＶ－２のゲノム配列は配列番号１に示されるものであり、

領域１は配列番号１または７５のヌクレオチド１－１４０１であり、領域２は配列番号１または７５のヌクレオチド１４３１－４７７７であり、領域３は配列番号１または７５のヌクレオチド４８１８－８１３４であり、領域４は配列番号１または７５のヌクレオチド８１６７－９７７８であるステップ；および

ｂ）核酸分子のＨＰｇＶ－２核酸に対するハイブリダイゼーションの存在または非存在を検出するステップであって、ハイブリダイゼーションの存在の検出が、試料中のＨＰｇＶ－２核酸の存在を示すステップ

を含む方法。

【請求項２２】

ヌクレオチド配列が少なくとも１５ヌクレオチドの長さであり、核酸分子が、長さ７５ヌクレオチド以下の長さである、請求項２１に記載の方法。

【請求項２３】

ヒトペギウイルス２（ＨＰｇＶ－２）核酸を検出するための方法であって、

ａ）ＨＰｇＶ－２核酸を含むことが疑われる試料を、ＨＰｇＶ－２増幅生成物が生成されるように、第１のプライマーと接触させるステップであって、第１のプライマーが、ストリンジェントな条件下で、ｉ）配列番号２９９－３０３、またはｉｉ）ヒトペギウイルス２（ＨＰｇＶ－２）のゲノム配列の領域１、領域２、領域３もしくは領域４にハイブリダイズする、少なくとも１２ヌクレオチドの長さのヌクレオチド配列またはその相補体を含み、

ＨＰｇＶ－２のゲノム配列は配列番号１または７５に示されるものであり、

領域１は配列番号１または７５のヌクレオチド１－１４０１であり、領域２は配列番号１または７５のヌクレオチド１４３１－４７７７であり、領域３は配列番号１または７５のヌクレオチド４８１８－８１３４であり、領域４は配列番号１または７５のヌクレオチド８１６７－９７７８であるステップ；および

ｂ）ＨＰｇＶ－２増幅生成物を検出し、それによって試料中のＨＰｇＶ－２核酸の存在を検出するステップ

を含む方法。

【請求項２４】

試料を、配列番号１、７５、または２９９－３０３にハイブリダイズする、少なくとも１２ヌクレオチドの長さのヌクレオチド配列またはその相補体を含む第２のプライマーと接触させるステップをさらに含む、請求項２３に記載の方法。

【請求項２５】

試料中のヒトペギウイルス２（ＨＰｇＶ－２）を検出するための方法であって、

ａ）ヒトペギウイルス２（ＨＰｇＶ－２）を含むことが疑われる試料を、ＨＰｇＶ－２の一部分に特異的に結合してＨＰｇＶ－２／抗体複合体を形成する抗体と接触させるステップであって、抗体が、完全な抗体または完全な抗体の抗原結合性部分であるステップ；および

ｂ）ＨＰｇＶ－２／抗体複合体の存在を検出し、それによってＨＰｇＶ－２の存在を検出するステップ

を含む方法。

【請求項２６】
ＨＰｇＶ－２が、配列番号１、７５または２９９－３０３に示される核酸配列によってコードされるアミノ酸配列を含む、請求項２５に記載の方法。
【請求項２７】
弱毒化もしくは不活化されたＨＰｇＶ－２粒子、および／またはＨＰｇＶ－２の抗原性部分を含む組成物を含む、対象に投与するのに適する免疫原性組成物。
【請求項２８】
ＨＰｇＶ－２の抗原性部分がペプチドを含み、ペプチドが、Ｓタンパク質、Ｅ１タンパク質、Ｅ２タンパク質、Ｘタンパク質、ＮＳ２タンパク質、ＮＳ３タンパク質、ＮＳ４Ａタンパク質、ＮＳ４Ｂタンパク質、ＮＳ５ＡタンパクＮＳ５Ｂタンパク質からなる群から選択される、ＨＰｇＶ－２の少なくとも一部分を含む、請求項２７に記載の組成物。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
本出願は、両方ともその全体を参照により本明細書に組み込む、２０１４年6月２７日出願の米国仮出願第６２／０１８，２８２号および２０１５年1月２６日出願の米国仮出願第６２／１０７，７８２号の優先権を主張するものである。
【０００２】
本発明は、米国国立衛生研究所によって授与される助成金番号Ｒ０１－ＨＬ１０５７０４の下に政府支援で行われた。政府は本発明において一定の権利を有する。
【０００３】
本明細書に、ヒトペギウイルス２（ＨＰｇＶ－２）を検出するための組成物、方法およびキットを提供する。ある特定の実施形態において、本明細書に、ＨＰｇＶ－２特異的核酸プローブおよびプライマー、ならびにＨＰｇＶ－２核酸を検出するための方法を提供する。他の実施形態において、本明細書に、ＨＰｇＶ－２免疫原性組成物、ＨＰｇＶ－２の免疫原性部分で対象を処置する方法、および試料中のＨＰｇＶ－２特異的対象抗体を検出する方法を提供する。
【背景技術】
【０００４】
フラビウイルス（Ｆｌａｖｉｖｉｒｉｄａｅ）科内の、ヘパシウイルス（Ｈｅｐａｃｉｖｉｒｕｓ）属に属するウイルスは、肝炎を引き起こすことが示されている（Ｃ型肝炎ウイルス（ＨＣＶ）およびＧＢウイルス（ＧＢＶ－Ｂ））。新たに規定されたペギウイルス（Ｐｅｇｉｖｉｒｕｓ）属は、ゲノム構成においてヘパシウイルスに類似するが、向性および随伴する病原性において異なるウイルスを含んでいる（Ｓｔａｐｌｅｔｏｎら、Ｊ Ｇｅｎ Ｖｉｒｏｌ、２０１１：９２：２３３－２４６）。フラビウイルス科のメンバーは全て、約１０ｋｂのポジティブセンス鎖の一本鎖ＲＮＡゲノムを含んでおり、このゲノムは、アミノ酸約３０００個の、単一の長いオープンリーディングフレーム（ＯＲＦ）のポリタンパク質をコードする（Ｌｉｎｄｅｎｂａｃｈら、Ｆｌａｖｉｖｉｒｉｄａｅ：Ｔｈｅ Ｖｉｒｕｓｅｓ ａｎｄ Ｔｈｅｉｒ Ｒｅｐｌｉｃａｔｉｏｎ、第３３章「Ｆｉｅｌｄｓ Ｖｉｒｏｌｏｇｙ第5版（Ｋｎｉｐｅら編集）」Ｗｏｌｔｅｒｓ Ｋｌｕｗｅｒ／Ｌｉｐｐｉｎｃｏｔｔ Ｗｉｌｌｉａｍｓ ａｎｄ Ｗｉｌｌｉａｍｓ、Ｐｈｉｌａｄｅｌｐｈｉａ ＰＡ、１１０１－１１５２頁）。ポリタンパク質は、宿主およびウイルスのプロテアーゼの組合せによって、小型の機能的な構造成分および非構造（ＮＳ）成分に切断される。ウイルスの構造タンパク質は、ゲノムのアミノ末端部分でコードされ、エンベロープの糖タンパク質およびヌクレオカプシドを含む。ＨＣＶおよびＧＢＶ－Ｂはヌクレオカプシドタンパク質をコードするが、ＨＰｇＶ－１はポリタンパク質におけるヌクレオカプシドタンパク質をコードしないと思われる。系統発生分析は、ＮＳ３ヘリカーゼ、およびＮＳ５ＲＮＡ依存的ＲＮＡポリメラーゼの酵素機能に関与する保存されているアミノ酸モチーフ以外は、属間で別個の進化系統を示す。ゲノムは、高度に保存され、ゲノ

ムの翻訳および複製の両方に関与する、５’および３’非翻訳領域（ＵＴＲ）とともに組織化される。

【０００５】

ペギウイルス属は、特定の病原性に関連しない持続性の（ｐｅ）ＧＢウイルス（ｇ）感染に対して命名される。１９９５－１９９６年、最初のヒトペギウイルスであるＧＶＢ－Ｃ（ＨＰｇＶ－１）が、非Ａ非Ｂ肝炎を有する患者からの血清中に、２群によって独立に検出された。ＨＰｇＶ－１は、もともと慢性肝炎患者において発見されたが、フォローアップの臨床試験および実験的試験において、リンパ指向性であり、肝臓指向性ではないと思われ、肝炎またはあらゆる他の臨床的疾患に関連していなかった。しかし、いくつかの試験は、ＨＰｇＶ－１との同時感染は、ＨＩＶ疾患の進行を緩徐化し得ることを示唆していた（Ｈｅｒｉｎｇｌａｋｅ Ｓ、Ｊ Ｉｎｆｅｃｔ Ｄｉｓ、１９９８；１７７：１７２３－１７２６）。ＨＣＶおよびＨＰｇＶ－１の発生率は一緒にすると、全世界人口の２－５％の間であることが推定される（Ｓｔａｐｌｅｔｏｎら、Ｊ Ｇｅｎ Ｖｉｒｏｌ、２０１１：９２：２３３－２４６）。

【０００６】

ペギウイルスは、それだけには限定されないが、チンパンジー、新世界霊長類、コウモリ、齧歯動物およびウマである、広範囲の哺乳動物に感染する。最近、新規なヘパシウイルス属およびペギウイルスが齧歯動物において同定され、コウモリはフラビウイルスのこれらの属にとって天然のリザーバーであり得ることを示すウイルス発見報告が存在する（Ｑｕａｎら、ＰＮＡＳ １１０：８１９４－８１９９、２０１３：Ｄｒｅｘｌｅｒら、ＰＬｏＳ Ｐａｔｈｏｇ、９（６）ｅ１００３４３８、２０１３：Ｋａｐｏｏｒら、ｍＢＩｏ、４（２）ｅ０００２１６－１３、２０１３）。ヒトに感染することが以前に知られていた唯一のペギウイルスは、ＨＰｇＶ－１である。ペギウイルスのバリアント間には、構造タンパク質、ならびに非構造のＮＳ３およびＮＳ５Ｂ遺伝子内の保存において、かなりの配列の相違が存在する（Ｋａｐｏｏｒ Ａ、ｍＢｉｏ、２０１３年３月－４月；４（２）：ｅ００２１６－１３）。異なる大陸からのコウモリの試料採取は、いくつかの別個のコウモリ由来のペグウイルス系統を示し、コウモリがペギウイルスにとって天然のリザーバーであることを示唆している（Ｑｕａｎ Ｐ、Ｐｒｏｃ Ｎａｔｌ Ａｃａｄ Ｓｃｉ ＵＳＡ、２０１３年５月１４日；１１０（２０）：８１９４－８１９９）。本特許に記載するＨＰｇＶ－２の特徴付けは、ウイルスのバリアントが、他のヒト向性ＨＰｇＶ－１ウイルスと別個であることを示す。

【０００７】

最近、ウマにおける急性肝炎の最も一般的な原因であるタイラー病は、ＧＢウイルスに系統学的に関係があり（Ｃｈａｎｄｒｉａｎａら、ＰＮＡＳ、１１０（１５）：Ｅ１４０７－１４１５、２０１３）、ペギウイルスと分類される、新たに記載されるウマフラビウイルスである、ＴＤＡＶ（タイラー病関連ウイルス）によって引き起こされる可能性があることが提唱されている。よって、疾患との明らかな関連が存在しなかった、ＨＰｇＶ－１に対する症例と異なり、ＴＤＡＶはウマにおける肝炎の症例に必然的に関係があると思われる。

【先行技術文献】

【非特許文献】

【０００８】

【非特許文献１】Ｓｔａｐｌｅｔｏｎら、Ｊ Ｇｅｎ Ｖｉｒｏｌ、２０１１：９２：２３３－２４６

【非特許文献２】Ｌｉｎｄｅｎｂａｃｈら、Ｆｌａｖｉｖｉｒｉｄａｅ：Ｔｈｅ Ｖｉｒｕｓｅｓ ａｎｄ Ｔｈｅｉｒ Ｒｅｐｌｉｃａｔｉｏｎ、第３３章「Ｆｉｅｌｄｓ Ｖｉｒｏｌｏｇｙ第５版（Ｋｎｉｐｅら編集）」Ｗｏｌｔｅｒｓ Ｋｌｕｗｅｒ／Ｌｉｐｐｉｎｃｏｔｔ Ｗｉｌｌｉａｍｓ ａｎｄ Ｗｉｌｌｉａｍｓ、Ｐｈｉｌａｄｅｌｐｈｉａ ＰＡ、１１０１－１１５２頁

【非特許文献３】Ｈｅｒｉｎｇｌａｋｅ Ｓ、Ｊ Ｉｎｆｅｃｔ Ｄｉｓ、１９９８；１

７７：１７２３－１７２６
【非特許文献４】Ｑｕａｎら、ＰＮＡＳ　１１０：８１９４－８１９９、２０１３
【非特許文献５】Ｄｒｅｘｌｅｒら、ＰＬｏＳ　Ｐａｔｈｏｇ、９（６）ｅ１００３４３８、２０１３
【非特許文献６】Ｋａｐｏｏｒら、ｍＢＩｏ、４（２）ｅ０００２１６－１３、２０１３
【非特許文献７】Ｃｈａｎｄｒｉａｎａら、ＰＮＡＳ、１１０（１５）：Ｅ１４０７－１４１５、２０１３
【発明の概要】
【発明が解決しようとする課題】
【０００９】
（発明の要旨）
本明細書に、ヒトペギウイルス１に対するある種の相同性に基づいて、「ヒトペギウイルス２」（ＨＰｇＶ－２）と命名されているヒトウイルスを検出するための組成物、方法およびキットを提供する。ある特定の実施形態において、本明細書に、ＨＰｇＶ－２特異的核酸プローブおよびプライマー、ならびにＨＰｇＶ－２核酸を検出するための方法を提供する。他の実施形態において、本明細書に、ＨＰｇＶ－２免疫原性組成物、免疫原性ＨＰｇＶ－２ペプチドで対象を処置する方法、および試料中のＨＰｇＶ－２特異的対象抗体を検出する方法を提供する。
【課題を解決するための手段】
【００１０】
一部の実施形態において、本明細書に、ヒトペギウイルス２（ＨＰｇＶ－２）から少なくとも１２個の（例えば、少なくとも１２・・・１５・・・２５・・・３５・・・４５もしくは５５個の）連続したヌクレオチドを含む合成核酸分子、ならびに／またはＵＣ０１２５．ＵＳ（別名「指標例」）、ＡＢＴ００７０Ｐ．ＵＳ、ＡＢＴ００９６Ｐ．ＵＳ、ＡＢＴ００２９Ａ、ＡＢＴ０２３９ＡＮ、ＡＢＴ００５５Ａ、ＡＢＴ００３０Ｐ．ＵＳ、ＡＢＴ００４１Ｐ．ＵＳ、ＡＢＴ０１８８Ｐ．ＵＳ、および／もしくはＡＢＴ０１２８ＡＵＳ型のような、このような核酸からコードされるペプチドを含む組成物を提供する。
【００１１】
ある特定の実施形態において、本明細書に、合成核酸分子を含む組成物を提供し、前記合成核酸分子は、ストリンジェントな条件（例えば、高度にストリンジェントな条件）下で、ヒトペギウイルス２（ＨＰｇＶ－２）のゲノム配列の領域１、領域２、領域３または領域４にハイブリダイズする、少なくとも１２ヌクレオチドの長さ（例えば、少なくとも１２・・・１５・・・１８・・・２７・・・３５個・・・など）のヌクレオチド配列またはその相補体を含み、ＨＰｇＶ－２のゲノム配列は配列番号１、７５および２９９－３０３に示されるものであり、領域１は配列番号１または７５のヌクレオチド１－１４０１であり、領域２は配列番号１または７５のヌクレオチド１４３１－４７７７であり、領域３は配列番号１または７５のヌクレオチド４８１８－８１３４であり、領域４は配列番号１または７５のヌクレオチド８１６７－９７７８である。
【００１２】
特定の実施形態において、合成核酸分子は、少なくとも１５ヌクレオチドの長さであり、７５ヌクレオチド以下の長さである。さらなる実施形態において、合成核酸分子は、検出可能な標識（例えば、蛍光標識、化学発光、酵素的など）を含む。さらなる実施形態において、合成核酸分子は、少なくとも１つの修飾された塩基（例えば、ヌクレアーゼ耐性、高結合効率などのための）を含む。ある特定の実施形態において、全てまたはほぼ全てのヌクレオチドが修飾されている。特定の実施形態において、少なくとも１つの修飾された塩基は、ホスホロチオエート、ボラノホスフェート、４’－チオ－リボース、ロックド核酸、２’－Ｏ－（２’－メトキシエチル）、２’－Ｏ－メチル、２’－フルオロ、２’－デオキシ－２’－フルオロ－ｂ－Ｄ－アラビノ核酸、ホスホノ酢酸、２’－３’－ｓｅｃｏ－ＲＮＡ、モルホリノ核酸類似体、ペプチド核酸類似体、ホスホロジチオエート、ホスホラミデート、メチルホスホネート、４－アセチルシトシン、８－ヒドロキシ－Ｎ６－

メチルアデノシン、アジリジニルシトシン、シュードイソシトシン、５－（カルボキシヒドロキシメチル）ウラシル、５－フルオロウラシル、５－ブロモウラシル、５－カルボキシメチルアミノメチル－２－チオウラシル、５－カルボキシメチルアミノメチルウラシル、ジヒドロウラシル、イノシン、Ｎ６－イソペンテニルアデニン、１－メチルアデニン、１－メチルシュードウラシル、１－メチルグアニン、１－メチルイノシン、２，２－ジメチルグアニン、２－メチルアデニン、２－メチルグアニン、３－メチルシトシン、５－メチルシトシン、Ｎ６－メチルアデニン、７－メチルグアニン、５－メチルアミノメチルウラシル、５－メトキシ－アミノメチル－２－チオウラシル、ベーター－Ｄ－マンノシルクエオシン、５’－メトキシカルボニルメチルウラシル、５－メトキシウラシル、２－メチルチオ－Ｎ６－イソペンテニルアデニン、ウラシル－５－オキシ酢酸メチルエステル、ウラシル－５－オキシ酢酸、オキシブトキソシン、シュードウラシル、クエオシン、２－チオシトシン、５－メチル－２－チオウラシル、２－チオウラシル、４－チオウラシル、５－メチルウラシル、Ｎ－ウラシル－５－オキシ酢酸メチルエステル、ウラシル－５－オキシ酢酸、シュードウラシル、クエオシン、２－チオシトシン、２，６－ジアミノプリン、２－アミノプリン、５－アミノ－アリルウラシル、５－ヒドロキシメチルシトシン、５－ヨードウラシル、５－ニトロインドール、５－プロピニルシトシン、５－プロピニルウラシル、ヒポキサンチン、Ｎ３－メチルウラシル、Ｎ６，Ｎ６－ジメチルアデニン、プリン、Ｃ－５－プロピニルシトシン、Ｃ－５－プロピニルウラシルおよびジフルオロトウイルからなる群から選択される。

【００１３】

特定の実施形態において、合成核酸分子はＤＮＡを含む（例えば、核酸分子の全体またはほぼ全体がＤＮＡである。）。さらなる実施形態において、組成物は、ハイブリダイゼーションおよび／または増幅バッファーをさらに含む。他の実施形態において、合成核酸分子は、異種性の核酸配列（例えば、発現ベクター、シークエンシングタグ、プロモーターなど）に連結している。

【００１４】

ある特定の実施形態において、合成核酸分子は、５’ＵＴＲ、Ｓ遺伝子、Ｅ１遺伝子、Ｅ２遺伝子、Ｘ遺伝子およびＮＳ２遺伝子からなる群から選択されるＨＰｇＶ－２ゲノムの一部分にハイブリダイズする。特定の実施形態において、５’ＵＴＲは、配列番号１のヌクレオチド１－１０３、配列番号７５のヌクレオチド１－１１０、配列番号２９９－３０１、４１９および４３０のヌクレオチド１－３２７、配列番号３０２のヌクレオチド１２－３２７、ならびに配列番号３０３のヌクレオチド２４－３２７であり；前記Ｓ遺伝子は、配列番号１のヌクレオチド１０４－４７５、配列番号７５のヌクレオチド１１１－４８２または配列番号２９９－３０３、４１９および４３０のヌクレオチド３２８－５６４であり；前記Ｅ１遺伝子は、配列番号１のヌクレオチド４７６－１０４８、配列番号７５のヌクレオチド４８３－１０５５または配列番号２９９－３０３のヌクレオチド５６５－１１３７であり；前記Ｅ２遺伝子は、配列番号１のヌクレオチド１０４９－２１１０、配列番号７５のヌクレオチド１０５６－２１１７または配列番号２９９－３０３、４１９および４３０のヌクレオチド１１３８－２１９９であり；前記Ｘ遺伝子は、配列番号１のヌクレオチド２１１１－２８２１、配列番号７５のヌクレオチド２１１８－２８２８または配列番号２９９－３０３、４１９および４３０のヌクレオチド２２００－２９１０であり；前記ＮＳ２遺伝子は、配列番号１のヌクレオチド２８２２－３５４１、配列番号７５のヌクレオチド２８２９－３５４８または配列番号２９９－３０３、４１９および４３０のヌクレオチド２９１１－３６３０である。ある特定の実施形態において、核酸分子は、ＮＳ３遺伝子、ＮＳ４Ａ遺伝子、ＮＳ４Ｂ遺伝子、ＮＳ５Ａ遺伝子、ＮＳ５Ｂ遺伝子および３’ＵＴＲ（例えば、あらゆる図においてこのような配列とともに示される通り）からなる群から選択される、前記ＨＰｇＶ－２ゲノムの一部分にハイブリダイズする。一部の実施形態において、ＮＳ３遺伝子は、配列番号１のヌクレオチド３５４２－５４２５、配列番号７５のヌクレオチド３５４９－５４３２または配列番号２９９－３０３、４１９および４３０のヌクレオチド３６３１－５５１４であり；前記ＮＳ４Ａ遺伝子は、配列番号１

のヌクレオチド５４２６－５５４８、配列番号７５のヌクレオチド５４３３－５５５５または配列番号２９９－３０３、４１９および４３０のヌクレオチド５５１５－５６３７であり；前記ＮＳ４Ｂ遺伝子は、配列番号１のヌクレオチド５５４９－６３３４、配列番号７５のヌクレオチド５５５６－６３４１または配列番号２９９－３０３、４１９および４３０のヌクレオチド５６３８－６４２３であり；前記ＮＳ５Ａ遺伝子は、配列番号１のヌクレオチド６３３５－７７０８、配列番号７５のヌクレオチド６３４２－７７１５または配列番号２９９－３０３、および４３０のヌクレオチド６４２４－７７９７または、配列番号４１９の６４２４－７７９４であり；前記ＮＳ５Ｂ遺伝子は、配列番号１のヌクレオチド７７０９－９４０９、配列番号７５のヌクレオチド７７１６－９４１６または配列番号２９９－３０３および４３０のヌクレオチド７７９８－９４９８または配列番号４１９の７７９５－９４９５であり；前記３’ＵＴＲの少なくとも一部分は、配列番号１のヌクレオチド９４１０－９７７８、配列番号７５のヌクレオチド９４１７－９４３１または配列番号２９９－３０３および４３０のヌクレオチド９４９９－９８６７または配列番号４１９の９４９６－９８６４である。

【００１５】

ある特定の実施形態において、本明細書に、合成核酸分子を含む組成物を提供し、合成核酸分子は、ｉ）１４０２－１４３０、４７７８－４８１７および８１３５－８１６６から選択される配列番号１または７５の３つの領域に、ストリンジェントな条件（例えば、高度にストリンジェントな条件）下でハイブリダイズせず、ｉｉ）ストリンジェントな条件（例えば、高度にストリンジェントな条件）下で、ａ）配列番号１のヌクレオチド１－１０３または配列番号７５のヌクレオチド１－１１０に示される核酸配列を有する、ヒトペギウイルス２（ＨＰｇＶ－２）の５’非翻訳領域（５’ＵＴＲ）またはその相補体、ｂ）配列番号２、７６、３０４、３１４、３２４、３３４または３４４に示されるアミノ酸配列を有するＨＰｇＶ－２　Ｓタンパク質をコードする、第１の核酸配列またはその相補体、ｃ）配列番号３、７７、３０５、３１５、３２５、３３５または３４５に示されるアミノ酸配列を有するＨＰｇＶ－２　Ｅ１タンパク質をコードする、第２の核酸配列またはその相補体、ｄ）配列番号４、７８、３０６、３１６、３２６、３３６または３４６に示されるアミノ酸配列を有するＨＰｇＶ－２　Ｅ２タンパク質をコードする、第３の核酸配列またはその相補体、ｅ）配列番号５、７９、３０７、３１７、３２７、３３７または３４７に示されるアミノ酸配列を有するＨＰｇＶ－２　Ｘタンパク質をコードする、第４の核酸配列またはその相補体、ｆ）配列番号６、８０、３０８、３１８、３２８、３３８または３４８に示されるアミノ酸配列を有するＨＰｇＶ－２　ＮＳ２タンパク質をコードする、第５の核酸配列またはその相補体、ｇ）配列番号７、８１、３０９、３１９、３２９、３３９または３４９に示されるアミノ酸配列を有するＨＰｇＶ－２　ＮＳ３タンパク質をコードする、第６の核酸配列またはその相補体、ｈ）配列番号８、８２、３１０、３２０、３３０、３４０または３５０に示されるアミノ酸配列を有するＨＰｇＶ－２　ＮＳ４Ａタンパク質をコードする、第７の核酸配列またはその相補体、ｉ）配列番号９、８３、３１１、３２１、３３１、３４１または３５１に示されるアミノ酸配列を有するＨＰｇＶ－２　ＮＳ４Ｂタンパク質をコードする、第８の核酸配列またはその相補体、ｊ）配列番号１０、８４、３１２、３２２、３３２、３４２または３５２に示されるアミノ酸配列を有するＨＰｇＶ－２　ＮＳ５Ａタンパク質をコードする、第９の核酸配列またはその相補体、ｋ）配列番号１１、８５、３１３、３２３、３３３、３４３または３５３に示されるアミノ酸配列を有するＨＰｇＶ－２　ＮＳ５Ｂタンパク質をコードする、第１０の核酸配列またはその相補体、ならびにｌ）配列番号１のヌクレオチド９４１０－９７７８、配列番号７５のヌクレオチド９４１７－９４３１または配列番号２９９－３０３のヌクレオチド９４９９－９８６７に示される核酸配列を有する、ヒトペギウイルス２（ＨＰｇＶ－２）の３’非翻訳領域（３’ＵＴＲ）またはその相補体にハイブリダイズする、少なくとも１２ヌクレオチドの長さ（例えば、少なくとも１２・・・１５・・・２５・・・または３５ヌクレオチドの長さ）のヌクレオチド配列を含む。

【００１６】

ある特定の実施形態において、合成核酸分子は、少なくとも１５ヌクレオチドの長さであり、７５ヌクレオチド以下の長さである。さらなる実施形態において、合成核酸分子は検出可能な標識を含む。他の実施形態において、組成物は、ハイブリダイゼーションおよび／または増幅バッファーをさらに含む。一部の実施形態において、合成核酸分子は、異種性の核酸配列に連結している。他の実施形態において、異種性の核酸配列は発現ベクターを含む。付加的な実施形態において、合成核酸分子は、少なくとも１つの修飾された塩基を含む。さらなる実施形態において、合成核酸分子はＤＮＡを含む。

【００１７】

特定の実施形態において、本明細書に、合成核酸分子を含む組成物を提供し、前記合成核酸分子は、配列番号１もしくは７５の領域１、領域２、領域３もしくは領域４の一部分、または配列番号２９９－３０３もしくは３５４－３５６の一部分に、少なくとも７５％の同一性（例えば、少なくとも７５％・・・８５％・・・９５％・・・９９％または９９．５％）を有するヌクレオチド配列またはその相補体を含み、前記一部分は、少なくとも１５ヌクレオチドの長さ（例えば、少なくとも１５・・・２５・・・３７・・・４８・・・５７・・・または６５ヌクレオチドの長さ）であり、領域１は配列番号１または７５のヌクレオチド１－１４０１であり、領域２は配列番号１または７５のヌクレオチド１４３１－４７７７であり、領域３は配列番号１または７５のヌクレオチド４８１８－８１３４であり、領域４は配列番号１または７５のヌクレオチド８１６７－９７７８である。ある特定の実施形態において、一部分は少なくとも１５ヌクレオチドの長さであるが、７５ヌクレオチド以下の長さである。他の実施形態において、合成核酸分子は、検出可能な標識を含む。付加的な実施形態において、組成物は、ハイブリダイゼーションおよび／または増幅バッファーをさらに含む。他の実施形態において、合成核酸分子は、異種性の核酸配列に連結している。ある特定の実施形態において、異種性の核酸配列は発現ベクターを含む。

【００１８】

一部の実施形態において、本明細書に、実質的に精製された組換えペプチドを含む組成物を提供し、組換えペプチドは、配列番号２－１１、７６－８５、３０４－３５３、４２０－４２９または４３１－４４０のいずれか１つの一部分に少なくとも７５％の同一性（例えば、少なくとも７５％・・・８５％・・・９５％または９９％の同一性）を有するアミノ酸配列を含み、前記一部分は少なくとも１０アミノ酸の長さ（例えば、少なくとも１０・・・１５・・・２５・・・または３５アミノ酸の長さ）である。特定の実施形態において、組換えペプチドは、標識（例えば、検出可能な標識またはハプテン）にコンジュゲートしている。他の実施形態において、ペプチドはグリコシル化されている（例えば、Ｅ２グリコシル化ペプチド）。さらなる実施形態において、組成物は、哺乳動物中に注射するのに適する、生理学的に耐容されるバッファーをさらに含む。

【００１９】

一部の実施形態において、本明細書に、ヒトペギウイルス２（ＨＰｇＶ－２）核酸を検出するための方法であって、ａ）ＨＰｇＶ－２核酸を含むことが疑われる試料を、ストリンジェントな条件（例えば、高度にストリンジェントな条件）下で、配列番号２９９－３０３またはヒトペギウイルス２（ＨＰｇＶ－２）のゲノム配列の領域１、領域２、領域３もしくは領域４にハイブリダイズする、少なくとも１２ヌクレオチドの長さ（例えば、少なくとも１２・・・１８・・・２５・・・３５ヌクレオチドもしくはそれを超える）のヌクレオチド配列またはその相補体を含む核酸分子と接触させるステップであって、ＨＰｇＶ－２のゲノム配列は配列番号１または７５に示されるものであり、領域１は、配列番号１または７５のヌクレオチド１－１４０１であり、領域２は配列番号１または７５のヌクレオチド１４３１－４７７７であり、領域３は配列番号１または７５のヌクレオチド４８１８－８１３４であり、領域４は配列番号１または７５のヌクレオチド８１６７－９７７８であるステップ、およびｂ）核酸分子のＨＰｇＶ－２核酸に対するハイブリダイゼーションの存在または非存在を検出するステップであって、前記ハイブリダイゼーションの存在の検出が、前記試料中のＨＰｇＶ－２核酸の存在を示すステップを含む方法を記載する

。

【００２０】

ある特定の実施形態において、ヌクレオチド配列は、少なくとも１５ヌクレオチドの長さであり、核酸分子は７５ヌクレオチド以下の長さ（例えば、１５・・・２５・・・３９・・・５４・・・６８・・・７５ヌクレオチド）である。他の実施形態において、核酸分子は検出可能な標識を含む。さらなる実施形態において、核酸分子は、５’ＵＴＲ、Ｓ遺伝子、Ｅ１遺伝子、Ｅ２遺伝子、Ｘ遺伝子およびＮＳ２遺伝子からなる群から選択されるＨＰｇＶ－２ゲノムの一部分にハイブリダイズする。

【００２１】

付加的な実施形態において、本明細書に、ａ）ＨＰｇＶ－２核酸を含むことが疑われる試料を、ＨＰｇＶ－２増幅生成物が生成されるように第１のプライマーと接触させるステップであって、第１のプライマーは、ストリンジェントな条件（例えば、高度にストリンジェントな条件）下で配列番号２９９－３０３、またはヒトペギウイルス２（ＨＰｇＶ－２）のゲノム配列の領域１、領域２、領域３、もしくは領域４にハイブリダイズする、少なくとも１２ヌクレオチドの長さのヌクレオチド配列またはその相補体を含み（または、第２のプライマーが使用される場合、第１のプライマーはストリンジェントな条件（例えば、高度にストリンジェントな条件）下で、配列番号１または７５のあらゆる一部分にハイブリダイズし）、ＨＰｇＶ－２の前記ゲノム配列は、例えば、配列番号１または７５に示されるものであり、領域１は、配列番号１または７５のヌクレオチド１－１４０１であり、領域２は配列番号１または７５のヌクレオチド１４３１－４７７７であり、領域３は配列番号１または７５のヌクレオチド４８１８－８１３４であり、領域４は配列番号１または７５のヌクレオチド８１６７－９７７８であるステップ、ならびにｂ）前記ＨＰｇＶ－２の増幅生成物を検出し、それによって前記試料中のＨＰｇＶ－２核酸の存在を検出するするステップ（例えば、ＵＣ０１２５．ＵＳ、ＡＢＴ００７０Ｐ．ＵＳ、ＡＢＴ００９６Ｐ．ＵＳ、ＡＢＴ００２９Ａ、ＡＢＴ０２３９ＡＮ、ＡＢＴ００３０Ｐ．ＵＳ、ＡＢＴ００４１Ｐ．ＵＳ、ＡＢＴ０１８８Ｐ．ＵＳ、および／またはＡＢＴ０１２８Ａ．ＵＳ型の検出）を含む、ヒトペギウイルス２（ＨＰｇＶ－２）核酸を検出するための方法を提供する。ある特定の実施形態において、方法は、試料を、配列番号１、７５、２９９－３０３、４１９、４３０にハイブリダイズする、少なくとも１２ヌクレオチドの長さのヌクレオチド配列またはその相補体を含む第２のプライマーと接触させるステップをさらに含む。一部の実施形態において、第１のプライマーおよび第２のプライマーは一緒に、長さ５０から４００塩基対の間である単位複製配列を産生する。ある特定の実施形態において、増幅した核酸を配列決定する（例えば、アダプターを、増幅した核酸上にライゲートし、これをシークエンシングプロトコールにかける。）。

【００２２】

他の実施形態において、検出は、ＨＰｇＶ－２の増幅生成物のシークエンシングを含む。付加的な実施形態において、第１および／または第２のプライマーは、少なくとも１５ヌクレオチドの長さであり、７５ヌクレオチド以下の長さである。ある特定の実施形態において、第１および／または第２のプライマーは検出可能な標識を含む。さらなる実施形態において、第１のプライマーは、５’ＵＴＲ、Ｓ遺伝子、Ｅ１遺伝子、Ｅ２遺伝子、Ｘ遺伝子およびＮＳ２遺伝子からなる群から選択される、ＨＰｇＶ－２ゲノムの一部分にハイブリダイズする。

【００２３】

ある特定の実施形態において、本明細書に、試料中のヒトペギウイルス２（ＨＰｇＶ－２）を検出するための方法であって、ａ）ヒトペギウイルス２（ＨＰｇＶ－２）を含むことが疑われる試料を、ＨＰｇＶ－２の一部分に特異的に結合してＨＰｇＶ－２／抗体複合体を形成する抗体（例えば、ビオチン標識化抗体）と接触させるステップであって、抗体が完全な抗体または完全な抗体の抗原結合性部分（Ｆａｂフラグメントまたは Ｆｃフラグメント）であるステップ、およびｂ）ＨＰｇＶ－２／抗体複合体の存在を検出し、それによってＨＰｇＶ－２の存在を検出するステップを含む方法を提供する。

【００２４】
ある特定の実施形態において、ＨＰｇＶ－２は、配列番号１、７５、２９９－３０３、４１９または４３０に示される核酸配列によってコードされるアミノ酸配列を含む。さらなる実施形態において、ＨＰｇＶ－２の一部分は、Ｓタンパク質、Ｅ１タンパク質、Ｅ２タンパク質、Ｘタンパク質、ＮＳ２タンパク質、ＮＳ３タンパク質、ＮＳ４Ａタンパク質、ＮＳ４Ｂタンパク質、ＮＳ５ＡタンパクおよびＮＳ５Ｂタンパク質からなる群から選択されるＨＰｇＶ－２タンパク質の一部である。一部の実施形態において、Ｓタンパク質のアミノ酸配列は、配列番号２、７６、３０４、３１４、３２４、３３４、３３４、４２０もしくは４３１に示される通りであり、または配列番号２、７６、３０４，３１４、３２４、３３４、３４４、４２０もしくは４３１と９０－９９％のアミノ酸配列同一性を有するバリアントである。付加的な実施形態において、Ｅ１タンパク質のアミノ酸配列は、配列番号３、７７、３０５、３１５、３２５、３３５、３４５、４２１もしくは４３２に示される通りであり、または配列番号３、７７、３０５、３１５、３２５、３３５、３４５、４２１もしくは４３２と９０－９９％のアミノ酸配列同一性を有するバリアントである。さらなる実施形態において、Ｅ２タンパク質のアミノ酸配列は、配列番号４、７８、３０６、３１６、３２６、３３６、３４６、４２２もしくは４３３に示される通りであり、または配列番号４、７８、３０６、３１６、３２６、３３６、３４６、４２２もしくは４３３と９０－９９％のアミノ酸配列同一性を有するバリアントである。他の実施形態において、Ｘタンパク質のアミノ酸配列は、配列番号５、７９、３０７、３１７、３２７、３３７、３４７、４２３、４３４に示される通りであり、または配列番号５、７９、３０７、３１７、３２７、３３７、３４７、４２３もしくは４３４と９０－９９％のアミノ酸配列同一性を有するバリアントである。付加的な実施形態において、ＮＳ２タンパク質のアミノ酸配列は、配列番号６、８０、３０８、３１８、３２８、３３８、３４８、４２４、４３５に示される通りであり、または配列番号６、８０、３０８、３１８、３２８、３３８、３４８、４２４もしくは４３５と９０－９９％のアミノ酸配列同一性を有するバリアントである。付加的な実施形態において、ＮＳ３タンパク質のアミノ酸配列は、配列番号７、８１、３０９、３１９、３２９、３３９、３４９、４２５、４３６に示される通りであり、または配列番号７、８１、３０９、３１９、３２９、３３９、３４９、４２５もしくは４３６と９０－９９％のアミノ酸配列同一性を有するバリアントである。付加的な実施形態において、ＮＳ４Ａタンパク質のアミノ酸配列は、配列番号８、８２、３１０、３２０、３３０、３４０、３５０、４２６、４３７に示される通りであり、または配列番号８、８２、３１０、３２０、３３０、３４０、３５０、４２６もしくは４３７と９０－９９％のアミノ酸配列同一性を有するバリアントである。一部の実施形態において、ＮＳ４Ｂタンパク質のアミノ酸配列は、配列番号９、８３、３１１、３２１、３３１、３４１、３５１、４２７、４３８に示される通りであり、または配列番号９、８３、３１１、３２１、３３１、３４１、３５１、４２７もしくは４３８と９０－９９％のアミノ酸配列同一性を有するバリアントである。さらなる実施形態において、ＮＳ５Ａタンパク質のアミノ酸配列は、配列番号１０、８４、３１２、３２２、３３２、３４２、３５２、４２８、４３９に示される通りであり、または配列番号１０、８４、３１２、３２２、３３２、３４２、３５２、４２８もしくは４３９と９０－９９％のアミノ酸配列同一性を有するバリアントである。付加的な実施形態において、ＮＳ５Ｂタンパク質のアミノ酸配列は、配列番号１１、８５、３１３、３２３、３３３、３４３、３５３、４２９、４４０に示される通りであり、または配列番号１１、８５、３１３、３２３、３３３、３４３、３５３、４２９もしくは４４０と９０－９９％のアミノ酸配列同一性を有するバリアントである。一部の実施形態において、抗体は標識されている。ある特定の実施形態において、完全な抗体の抗原結合性部分はＦａｂフラグメントを含む。

【００２５】
一部の実施形態において、本明細書に、対象におけるヒトペギウイルス２（ＨＰｇＶ－２）感染を検出する方法であって、ａ）ＨＰｇＶ－２に対する患者抗体を含むことが疑われる対象からの試料を、ペプチド（またはＨＰｇＶ－２抗体に特異的な抗体）と接触させ

るステップであって、ペプチド（またはＨＰｇＶ－２抗体に特異的な抗体）は患者抗体に特異的に結合して複合体を形成するステップ、およびｂ）複合体の存在を検出し、それによって対象における過去または現在のＨＰｇＶ－２感染の存在を検出するステップを含む方法を提供する。ある特定の実施形態において、ペプチドは、配列番号８６－９９または１００－２１８、４２０－４２９、４３１－４４０に示されるペプチド、または１もしくは２個の保存的アミノ酸変化を有し、または１もしくは２個の非保存的アミノ酸変化を有し、または４個もしくはそれを超えるアミノ酸変化を有するこれらのバリアントの少なくとも一部を含み、またはそれらからなる。ある特定の実施形態において、ペプチドはグリコシル化されている（例えば、Ｅ２グリコシル化ペプチド）。

【００２６】

他の実施形態において、ペプチドは、配列番号２－１１、７６－８５、８６－９９、１００－２１８、３０４－３５３、４２０－４２９または４３１－４４０のいずれか１つの一部分に、少なくとも７５％の同一性（例えば、少なくとも７５％・・・８５％・・・９５％・・・または９９％の同一性）を有し、一部分は、少なくとも１０アミノ酸の長さ（例えば、少なくとも１０・・・１５・・・２５・・・３０または３５アミノ酸の長さ）である。さらなる実施形態において、ペプチドは標識されている。ある特定の実施形態において、ペプチドは標識されており、溶液中で自由に対象抗体に結合して複合体を形成する。ある特定の実施形態において、この複合体は、次いで、ペプチド上の標識によって、標識に結合（例えば、ストレプトアビジン－ビオチン結合）している部分を有する固体支持体に結合する。特定の実施形態において、複合体中で患者抗体に結合することができる２次抗体が添加される。他の実施形態において、ペプチドは標識され、溶液中に含まれずに、１）固相上に提供される非標識ペプチドもしくは他の抗原に次いで結合することができる、抗体不含溶液、２）ビオチン結合性分子（例えば、ストレプトアビジン、ニュートラアビジン（ｎｅｕｔｒａｖｉｄｉｎ）、ビオチンに対する抗体など）を含む固相に対して次いで複合体形成することができる、ビオチン分子（もしくは他の部分）だけを含む固体溶液中にやはり含まれない非標識のペプチドに次いで結合し得る、溶液中に含まれない抗体、または３）固相上に存在する抗体／ペプチド複合体に結合する。

【００２７】

ある特定の実施形態において、本明細書に、対象におけるヒトペギウイルス２（ＨＰｇＶ－２）感染を検出するための方法であって、ａ）ＨＰｇＶ－２に対する患者抗体を含むことが疑われる対象からの試料を、ペプチドおよび固体支持体と接触させるステップであって、前記ペプチドは標識を含み、前記固体支持体は前記標識に結合している部分を含むステップ、ならびにｂ）前記試料を、以下のような条件下、すなわち、ｉ）前記ペプチドが前記患者抗体に特異的に結合して複合体を形成し、ｉｉ）前記複合体が、少なくとも１つの前記部分に結合している前記標識によって前記固体支持体に結合する、条件下でインキュベートするステップ、ｃ）前記固体支持体を洗浄するステップ、ｄ）前記複合体中の前記患者抗体に結合することができる、検出可能に標識されている２次抗体を添加するステップ、ｅ）前記固体支持体を洗浄するステップ、ならびにｆ）前記複合体の前記存在を検出し、それによって対象における過去または現在のＨＰｇＶ－２感染の存在を検出するステップを含む方法を提供する。ある特定の実施形態において、前記ペプチド上の標識はビオチンを含む。さらなる実施形態において、前記固体支持体上の部分はアビジン分子を含む。他の実施形態において、固体支持体はビーズを含む。

【００２８】

ある特定の実施形態において、ペプチドは、Ｓタンパク質、Ｅ１タンパク質、Ｅ２タンパク質、Ｘタンパク質、ＮＳ２タンパク質、ＮＳ３タンパク質、ＮＳ４Ａタンパク質、ＮＳ４Ｂタンパク質、ＮＳ５ＡタンパクおよびＮＳ５Ｂタンパク質からなる群から選択される、ＨＰｇＶ－２の少なくとも一部分を含む。一部の実施形態において、Ｓタンパク質のアミノ酸配列は、配列番号２、７６、３０４、３１４、３２４、３３４もしくは３３４に示される通りであり、または配列番号２、７６、３０４、３１４、３２４、３３４もしくは３４４と９０－９９％のアミノ酸配列同一性を有するバリアントである。付加的な実

施形態において、Ｅ１タンパク質のアミノ酸配列は、配列番号３、７７、３０５、３１５、３２５、３３５もしくは３４５に示される通りであり、または配列番号３、７７、３０５、３１５、３２５、３３５もしくは３４５と９０－９９％のアミノ酸配列同一性を有するバリアントである。さらなる実施形態において、Ｅ２タンパク質のアミノ酸配列は、配列番号４、７８、３０６、３１６、３２６、３３６もしくは３４６に示される通りであり、または配列番号４、７８、３０６、３１６、３２６、３３６もしくは３４６と９０－９９％のアミノ酸配列同一性を有するバリアントである。他の実施形態において、Ｘタンパク質のアミノ酸配列は、配列番号５、７９、３０７、３１７、３２７、３３７もしくは３４７に示される通りであり、または配列番号５、７９、３０７、３１７、３２７、３３７もしくは３４７と９０－９９％のアミノ酸配列同一性を有するバリアントである。付加的な実施形態において、ＮＳ２タンパク質のアミノ酸配列は、配列番号６、８０、３０８、３１８、３２８、３３８もしくは３４８に示される通りであり、または配列番号６、８０、３０８、３１８、３２８、３３８もしくは３４８と９０－９９％のアミノ酸配列同一性を有するバリアントである。付加的な実施形態において、ＮＳ３タンパク質のアミノ酸配列は、配列番号７、８１、３０９、３１９、３２９、３３９もしくは３４９に示される通りであり、または配列番号７、８１、３０９、３１９、３２９、３３９もしくは３４９と９０－９９％のアミノ酸配列同一性を有するバリアントである。付加的な実施形態において、ＮＳ４Ａタンパク質のアミノ酸配列は、配列番号８、８２、３１０、３２０、３３０、３４０もしくは３５０に示される通りであり、または配列番号８、８２、３１０、３２０、３３０、３４０もしくは３５０と９０－９９％のアミノ酸配列同一性を有するバリアントである。一部の実施形態において、ＮＳ４Ｂタンパク質のアミノ酸配列は、配列番号９、８３、３１１、３２１、３３１、３４１もしくは３５１に示される通りであり、または配列番号９、８３、３１１、３２１、３３１、３４１もしくは３５１と９０－９９％のアミノ酸配列同一性を有するバリアントである。さらなる実施形態において、ＮＳ５Ａタンパク質のアミノ酸配列は、配列番号１０、８４、３１２、３２２、３３２、３４２もしくは３５２に示される通りであり、または配列番号１０、８４、３１２、３２２、３３２、３４２もしくは３５２と９０－９９％のアミノ酸配列同一性を有するバリアントである。付加的な実施形態において、ＮＳ５Ｂタンパク質のアミノ酸配列は、配列番号１１、８５、３１３、３２３、３３３、３４３もしくは３５３に示される通りであり、または配列番号１１、８５、３１３、３２３、３３３、３４３もしくは３５３と９０－９９％のアミノ酸配列同一性を有するバリアントである。一部の実施形態において、抗体は標識されている。ある特定の実施形態において、完全な抗体の抗原結合性部分はＦａｂフラグメントを含む。

【００２９】

ある特定の実施形態において、本明細書に、ＨＰｇＶ－２核酸をシークエンシングする方法であって、ａ）試料を処理して単離されたＨＰｇＶ－２ＲＮＡを産生するステップ、ｂ）前記単離されたＨＰｇＶ－２ＲＮＡをランダムプライマーまたは前記ＨＰｇＶ－２ＲＮＡの領域に特異的なプライマーと接触させ、ｃＤＮＡライブラリーが産生されるように増幅するステップ、ｃ）前記ｃＤＮＡライブラリーを、アダプターがコンジュゲートしているライブラリーが産生されるような条件下、シークエンシングアダプターと接触させるステップ、およびｄ）前記アダプターがコンジュゲートしているｃＤＮＡライブラリーをシークエンシングして、前記単離されたＨＰｇＶ－２ＲＮＡの核酸配列を少なくとも部分的に決定するステップを含む方法を提供する。

【００３０】

一部の実施形態において、本明細書に、対象におけるヒトペギウイルス２（ＨＰｇＶ－２）感染を処置または防止するための方法であって、弱毒化もしくは不活化されたＨＰｇＶ－２粒子、および／またはＨＰｇＶ－２抗原の一部分を含む組成物を対象に投与し、それによって対象におけるＨＰｇＶ－２に対する免疫応答を産生するステップを含む方法を提供する。他の実施形態において、免疫応答は、ＨＰｇＶ－２による感染を防止または処置するのに十分である。一部の実施形態において、ＨＰｇＶ－２の抗原一部分はペプチド

を含み、ペプチドは、Ｓタンパク質、Ｅ１タンパク質、Ｅ２タンパク質、Ｘタンパク質、ＮＳ２タンパク質、ＮＳ３タンパク質、ＮＳ４Ａタンパク質、ＮＳ４Ｂタンパク質、ＮＳ５ＡタンパクおよびＮＳ５Ｂタンパク質からなる群から選択されるＨＰｇＶ－２の少なくとも一部分を含む。

【００３１】

他の実施形態において、本明細書に、弱毒化もしくは不活化されたＨＰｇＶ－２粒子、および／またはＨＰｇＶ－２抗原の一部分を含む組成物を含む、対象に投与するのに適する免疫原性組成物を提供する。さらなる実施形態において、ＨＰｇＶ－２抗原の一部分はペプチドを含み、ペプチドは、Ｓタンパク質、Ｅ１タンパク質、Ｅ２タンパク質、Ｘタンパク質、ＮＳ２タンパク質、ＮＳ３タンパク質、ＮＳ４Ａタンパク質、ＮＳ４Ｂタンパク質、ＮＳ５ＡタンパクおよびＮＳ５Ｂタンパク質からなる群から選択されるＨＰｇＶ－２タンパク質の少なくとも一部分を含む。

【００３２】

さらなる実施形態において、本明細書に、少なくとも１つの以下の構成成分を含む、ヒトペギウイルス２（ＨＰｇＶ－２）を検出するためのキットまたはシステムを提供する：ａ）ストリンジェントな条件下で配列番号２０９－３０３、４１９、４３０もしくはヒトペギウイルス２（ＨＰｇＶ－２）のゲノム配列の領域１、領域２、領域３もしくは領域４にハイブリダイズする、少なくとも１２ヌクレオチドの長さのヌクレオチド配列またはその相補体を含む、第１の合成核酸分子を含む第１の組成物であって、ＨＰｇＶ－２のゲノム配列は配列番号１または７５に示されるものであり、領域１は、配列番号１または７５のヌクレオチド１－１４０１であり、領域２は配列番号１または７５のヌクレオチド１４３１－４７７７であり、領域３は配列番号１または７５のヌクレオチド４８１８－８１３４であり、領域４は配列番号１または７５のヌクレオチド８１６７－９７７８である、第１の組成物、およびｂ）配列番号２０９－３０３、または配列番号１もしくは７５の領域１、領域２、領域３もしくは領域４の一部分に少なくとも７５％の同一性を有するヌクレオチド配列またはその相補体を含む、第２の合成核酸分子を含む第２の組成物であって、一部分は少なくとも１５ヌクレオチドの長さであり（例えば、少なくとも１５・・・２４・・・３７ヌクレオチドなど）、領域１は配列番号１または７５のヌクレオチド１－１４０１であり、領域２は配列番号１または７５のヌクレオチド１４３１－４７７７であり、領域３は配列番号１または７５のヌクレオチド４８１８－８１３４であり、領域４は配列番号１または７５のヌクレオチド８１６７－９７７８である、第２の組成物。一部の実施形態において、キットおよびシステムは、増幅バッファー、シークエンシング用の試薬、ＰＣＲ用の試薬、第１または第２の合成核酸分子を使用するための書面の指示書、第１および／または第２の組成物を保持するための液体容器、ならびに液体容器を保持するための輸送容器からなる群から選択される付加的な構成成分をさらに含む。

【００３３】

ある特定の実施形態において、本明細書に、実質的に精製された組換えペプチドを含む組成物を含む、ヒトペギウイルス２（ＨＰｇＶ－２）を検出するためのキットおよびシステムを提供し、組換えペプチドは、配列番号２－１１、７６－８５、８６－９９、１００－２１８、３０４－３５３、４２０－４２９および４３１－４４０のいずれか１つの一部分に少なくとも７５％の同一性（例えば、少なくとも７５％・・・８５％・・・９５％・・・９９％の同一性）を有するアミノ酸配列を含み、前記一部分は少なくとも１０アミノ酸の長さ（例えば、少なくとも１０・・・１５・・・２５または３５アミノ酸の長さ）である。他の実施形態において、キットは、患者のＨＰｇＶ－２抗体に特異的な抗体（例えば、ビオチン標識化抗体）を含む。一部の実施形態において、キットおよびシステムは、イムノアッセイバッファー；イムノアッセイビーズ、化学発光微粒子、組換えペプチドがそれに付着している、ビーズのような、固体支持体（例えば、ビオチンに結合することができる固体支持体、例えばアビジン標識化固体支持体）、サンドイッチアッセイのための試薬、患者抗体を検出するための組成物を使用するための書面の指示書；組成物を保持するための液体容器；ならびに液体容器を保持するための輸送容器からなる群から選択され

る付加的な構成成分をさらに含む。

【００３４】

一部の実施形態において、本明細書に、抗ＨＰｇＶ－２化合物に対してアッセイするための方法であって、ａ）ヒトペギウイルス２（ＨＰｇＶ－２）を含む試料を試験化合物と接触させるステップ、およびｂ）試験化合物がＨＰｇＶ－２複製を阻害するか否かを検出するステップであって、ＨＰｇＶ－２複製の阻害は、試験化合物が抗ＨＰｇＶ－２化合物であることを示すステップを含む方法を提供する。

【００３５】

ある特定の実施形態において、本明細書に、実質的に精製された組換えペプチドを含む組成物を提供し、前記組換えペプチドは、以下の少なくとも１つを含む：ａ）ＨＰｇＶ－２　ＮＳ３タンパク質からの少なくとも１７個（例えば、少なくとも１７・・・２４・・・３５個・・・またはそれ以上）の連続したアミノ酸を含む第１のアミノ酸配列、ｂ）ＨＰｇＶ－２　ＮＳ５Ｂタンパク質からの少なくとも１３個（例えば、少なくとも１３・・・１７・・・２５・・・３５個またはそれ以上）の連続したアミノ酸を含む第２のアミノ酸配列、ｃ）ＨＰｇＶ－２　ＮＳ２タンパク質からの少なくとも１１個（例えば、少なくとも１１・・・１５・・・１９・・・２５・・・３５個またはそれ以上）の連続したアミノ酸を含む第３のアミノ酸配列、ｄ）ＨＰｇＶ－２　ＮＳ４Ｂタンパク質からの少なくとも８個（例えば、少なくとも８・・・１１・・・１５・・・２３・・・３５個またはそれ以上）の連続したアミノ酸を含む第４のアミノ酸配列、ｅ）ＨＰｇＶ－２　ＮＳ４ａタンパク質からの少なくとも５個（例えば、少なくとも５・・・１０・・・１８・・・２５・・・３５個またはそれ以上）の連続したアミノ酸を含む第５のアミノ酸配列、ｆ）ＨＰｇＶ－２　Ｓタンパク質からの少なくとも６個（例えば、少なくとも６・・・１２・・・１８・・・２５・・・３５個またはそれ以上）の連続したアミノ酸を含む第６のアミノ酸配列、ｇ）ＨＰｇＶ－２　Ｅ１タンパク質からの少なくとも６個（例えば、少なくとも６・・・１２・・・１７・・・２５・・・３５個またはそれ以上）の連続したアミノ酸を含む第７のアミノ酸配列、およびｈ）ＨＰｇＶ－２　Ｘタンパク質からの少なくとも８個（例えば、少なくとも８・・・１４・・・２５・・・３５個またはそれ以上）の連続したアミノ酸を含む第８のアミノ酸配列。特定の実施形態において、ＨＰｇＶ－２　ＮＳ３タンパク質は、配列番号７、８１、３０９、３１９、３２９、３３９および３４９において示す通りである。他の実施形態において、ＨＰｇＶ－２　ＮＳ５Ｂタンパク質は、配列番号１１、８５、３１３、３２３、３３３、３４３または３５３において示す通りである。付加的な実施形態において、ＨＰｇＶ－２　ＮＳ２タンパク質は、６、８０、３０８、３１８、３２８、３３８または３４８において示す通りである。付加的な実施形態において、ＨＰｇＶ－２　ＮＳ４Ｂタンパク質は、配列番号９、８３、３１１、３２１、３３１、３４１または３５１において示す通りである。さらなる実施形態において、ＨＰｇＶ－２　ＮＳ４ａタンパク質は、配列番号８、８２、３１０、３２０、３３０、３４０または３５０において示す通りである。他の実施形態において、ＨＰｇＶ－２　Ｓタンパク質は、配列番号２、７６、３０４、３１４、３２４、３３４または３４４において示す通りである。さらなる実施形態において、ＨＰｇＶ－２　Ｅ１タンパク質は、配列番号３、７７、３０５、３１５、３２５、３３５または３４５において示す通りである。付加的な実施形態において、ＨＰｇＶ－２　Ｘタンパク質は、配列番号５、７９、３０７、３１７、３２７、３３７または３４７において示す通りである。

【００３６】

ある特定の実施形態において、本明細書に記載するペプチドおよびタンパク質は、原核細胞において組換え発現される。他の実施形態において、本明細書に記載するペプチドおよびタンパク質（例えば、Ｅ１およびＥ２）は、哺乳動物細胞において組換え発現される。

【００３７】

一部の実施形態において、本明細書に、ａ）以下の試薬：ｉ）ビオチンに結合することができる固相、ｉｉ）前記試験試料に存在するＨＰｇＶ－２抗原を捕捉するためのビオチ

ン化抗ＨＰｇＶ－２抗体、ｉｉｉ）前記試験試料中の抗ＨＰｇＶ－２抗体を捕捉するためのビオチン化ＨＰｇＶ－２抗原、およびｉｖ）（ｉｉｉ）のビオチン化ＨＰｇＶ－２抗原によって捕捉される抗ＨＰｇＶ－２抗体に対する結合のために、検出可能に標識されたＨＰｇＶ－２抗原を提供するステップ、ならびにｂ）ステップ（ａ）の試薬を、以下：（ｉ）（ａ）（ｉｉ）のビオチン化抗ＨＰｇＶ－２抗体が前記固相に、前記ビオチンを介して結合し、前記試験試料中に存在するＨＰｇＶ－２抗原に特異的に結合して、前記固相上に捕捉された抗ＨＰｇＶ－２抗体－ＨＰｇＶ－２抗原複合体を生成し、（ｉｉ）（ａ）（ｉｉｉ）のビオチン化抗原が前記固相に、前記ビオチンを介して結合し、前記試験試料中に存在する抗ＨＰｇＶ－２抗体に特異的に結合して、前記固相上に捕捉されたＨＰｇＶ－２抗原－抗ＨＰｇＶ－２抗体複合体を生成し、（ａ）（ｉｖ）の前記検出可能に標識されたＨＰｇＶ－２抗体が、前記固相上に捕捉された前記ＨＰｇＶ－２抗原－抗ＨＰｇＶ－２抗体複合体における抗ＨＰｇＶ－２抗体に特異的に結合する、反応混合物を生成するための条件下でインキュベートするステップ、ｃ）付着している捕捉された抗体、および未反応の試験試料および試薬からの捕捉されたＨＰｇＶ－２抗原を含む固相を単離するステップ、ｄ）単離された固相を、（ｂ）（ｉｉ）の抗ＨＰｇＶ－２抗体－ＨＰｇＶ－２抗原複合体において捕捉された前記ＨＰｇＶ－２抗原に結合する、検出可能に標識されたコンジュゲート抗体と接触させるステップ、ならびにｅ）前記シグナルのトリガリングの際、検出可能な標識部分から産生されたシグナルを検出するステップであって、前記シグナルの存在は、前記試験試料中のＨＰｇＶ－２の存在を示すステップを含む、試験試料中のＨＰｇＶ－２抗原およびＨＰｇＶ－２抗体を検出するための方法（および列挙する構成成分を有する対応するキット）を提供する。

【００３８】

ある特定の実施形態において、方法（および対応するキット）は、（ｖ）第２のＨＰｇＶ－２抗原がステップ（ａｉｉｉ）におけるＨＰｇＶ－２抗原と別個である、前記試験試料中の抗ＨＰｇＶ－２抗体を捕捉するための第２のビオチン化ＨＰｇＶ－２抗原、および（ｖｉ）（ｖ）のビオチン化ＨＰｇＶ－２抗原によって捕捉された抗ＨＰｇＶ－２抗体に対する結合のための検出可能に標識されたＨＰｇＶ－２抗原を提供するステップをさらに含み、（ｂ）（ｉｉｉ）　（ａ）（ｖ）のビオチン化抗原は、前記ビオチンを介して前記固相に結合し、前記試験試料中に存在する抗ＨＰｇＶ－２抗体に特異的に結合して、前記固相上に捕捉されたＨＰｇＶ－２抗原－抗ＨＰｇＶ－２抗体複合体を生成し、（ａ）（ｖｉ）の前記検出可能に標識されたＨＰｇＶ－２抗原は、前記固相上に捕捉された前記ＨＰｇＶ－２抗原－抗ＨＰｇＶ－２抗体における抗ＨＰｇＶ－２抗体に特異的に結合する。ある特定の実施形態において、方法は、（ａ）（ｖｉｉ）第３のＨＰｇＶ－２抗原が、ステップ１（ａ）（ｉｉｉ）またはステップ２（ａ）（ｖ）におけるＨＰｇＶ－２抗原と別個である、前記試験試料中の抗ＨＰｇＶ－２抗体を捕捉するための第３のビオチン化ＨＰｇＶ－２抗原、および（ｖｉｉｉ）（ｖｉｉ）のビオチン化ＨＰｇＶ－２抗原によって捕捉された抗ＨＰｇＶ－２抗原に対する結合のために検出可能に標識されたＨＰｇＶ－２抗原を提供するステップをさらに含み、（ｂ）（ｉｖ）（ａ）（ｖｉｉ）のビオチン化抗原は前記ビオチンを介して前記固相に結合し、前記試験試料中に存在する抗ＨＰｇＶ－２抗体に特異的に結合して、前記固相上に捕捉されたＨＰｇＶ－２抗原－抗ＨＰｇＶ－２抗体複合体を生成し、（ａ）（ｖｉｉ）の前記検出可能に標識されたＨＰｇＶ２抗原は、前記固相上に捕捉された前記ＨＰｇＶ－２抗原－抗ＨＰｇＶ２抗体複合体における抗ＨＰｇＶ－２抗体に特異的に結合する。

【００３９】

ある特定の実施形態において、本明細書に、試験試料中のＨＰｇＶ－２抗原およびＨＰｇＶ－２抗体の両方を同時に検出するための方法を提供し、前記組合せアッセイは、ａ）タンパク質；第１のＨＰｇＶ－２のペプチド配列を含む第１の捕捉抗原、ｂ）第１のＨＰｇＶ－２タンパク質のペプチド配列を含み、検出可能な標識をさらに含む、第１の検出抗原、ｃ）第２のＨＰｇＶ－２タンパク質からの抗原配列を含む、第２の捕捉抗原、ｄ）第２のＨＰｇＶ－２タンパク質からの抗原配列を含み、検出可能な標識をさらに含む、第２

の検出抗原、ｅ）第３のＨＰｇＶ－２タンパク質からの抗原配列を含む、第３の捕捉抗原、ｆ）第３のＨＰｇＶ－２タンパク質からの抗原配列を含み、検出可能な標識をさらに含む、第３の検出抗原、ｇ）第１の捕捉抗体、ｈ）検出可能な標識を含むコンジュゲート抗体を含み、前記捕捉抗体および前記コンジュゲート抗体は、前記試験試料からの第４のＨＰｇＶ－２タンパク質に特異的に結合し、前記組合せアッセイは、（ｉ）前記試験試料を前記捕捉抗原、前記検出抗原、前記捕捉抗体、および前記コンジュゲート抗体と、ａ）前記試験試料中に存在する、前記第１の捕捉抗原と前記検出抗原と第１の抗ＨＰｇＶ－２抗体との間のサンドイッチ複合体の形成、ｂ）前記試験試料中に存在する、前記第２の捕捉抗原と前記第２の検出抗原と前記第２のＨＰｇＶ－２タンパク質に対する抗ＨＰｇＶ－２抗体との間のサンドイッチ複合体の形成、ｃ）前記試験試料中に存在する、前記第３の捕捉抗原と前記第３の検出抗原と前記第３のＨＰｇＶ－２タンパク質に対する抗ＨＰｇＶ－２抗体との間のサンドイッチ複合体の形成、およびｄ）前記試験試料中に存在する、前記捕捉抗体と前記コンジュゲート抗体とＨＰｇＶ－２抗原との間の複合体の形成を可能にする条件下で、接触させるステップ；ならびに（ｉｉ）前記複合体が形成した結果、前記検出可能な標識から産生されたシグナルを測定し、それによって前記試料中に存在するＨＰｇＶ－２抗原およびＨＰｇＶ－２抗体を同時に検出するステップにより行われる。

【００４０】

ある特定の実施形態において、本明細書随所に記載する組成物およびキットは、微粒子（例えば、ペプチド上の標識に結合するよう構成される）、ピロリン酸Ｎａ（例えば、ｐＨ６．３）、ＮａＣｌ（例えば、約０．９Ｍ）、ＥＤＴＡ、ショ糖、Ｔｅｒｇｉｔｏｌ　１５－Ｓ－４０、ＢＭＥ、Ｔｅｒｇｉｔｏｌ　１５－Ｓ－９、Ａｚｉｄｅ（例えば、０．０８％）、Ｋｏｒａｓｉｌｏｎ　Ａｎｔｉｆｏａｍ（例えば、１ｐｐｍ）、Ｂｉｓ－Ｔｒｉｓバッファー（例えば、ｐＨ６．３）、ソルビトール、デキストラン、ＰＶＳＡ、ＢＳＡ、塩化ベンゼトニウム、ヘパリンナトリウム塩、フッ化ナトリウム、Ｔｒｉｔｏｎ　Ｘ－１００、ゲンタマイシン（Ｇｅｎｔａｍｙｃｉｎｅ）、Ａ５６６２０、グリシン、ラウリルスルホベタイン、パルミチルスルホベタイン、ステアリルスルホベタイン、Ｃ１６ＴＡＢ、Ｃ１８ＴＡＢ、ＣＨＡＰＳ、サポニン、メチルセルロース、亜硫酸ナトリウム、アジ化ナトリウム、尿素、ＨＣｌ、Ｃ１２ＴＡＢ、パルミチルスルホベタイン、ステアリルスルホベタイン、マルトース、クエン酸、２－ジエチルアミノエタンチオール、ＮａＨＣＯ３／Ｎａ２ＣＯ３、ラウリルスルホベタイン、ＣＨＡＰＳ、ＮａＯＨ、ＭＥＳバッファーｗ／Ｔｒｉｔｏｎ　Ｘ－４０５、ＮａＣｌ、ＢＳＡ、Ｎｉｐａｓｅｐｔ、キノロン、ＴＲＩＳバッファーｗ／ＣＫＳタンパク質、イーストＳＯＤ、Ｔｒｉｔｏｎ　Ｘ－４０５、ヤギ血清、ＥＤＴＡ、キノロン、消泡剤、デントラン（Ｄｅｎｔｒａｎ）硫酸塩、Ｐｒｏｃｌｉｎ、硫酸ゲンタマイシン、標識（例えば、アクリジニウム標識）抗ヒトＩｇＧまたはＩｇＭモノクローナル抗体、ストレプトアビジン標識化微粒子、ＮＦＤＭ、ＳＢ３－１４、ＰＶＳＡ（例えば、０．８％）、ＡＣＤ、ＣＰＤＡ－１、ＣＰＤ、ＣＰ２Ｄ、シュウ酸カリウム、ＥＤＴＡナトリウム、ＥＤＴＡカリウムクエン酸ナトリウム、ヘパリン、ヘパリンリチウム、ヘパリンナトリウムおよびクエン酸ナトリウムからなる群から選択される少なくとも１つの試薬をさらに含む。

【００４１】

一部の実施形態において、本明細書に、対象におけるヒトペギウイルス２（ＨＰｇＶ－２）およびヒトペギウイルス１（ＨＰｇＶ－１、別名ＧＶＣ－Ｃ）両方の感染を検出する方法であって、ａ）ＨＰｇＶ－２に対する対象抗体およびＨＰｇＶ－１に対する対象抗体を含むことが疑われる対象からの試料を、ＨＰｇＶ－２由来のペプチドおよびＨＰｇＶ－１由来のペプチドと接触させるステップであって、前記ペプチドは前記対象抗体に特異的に結合して複合体を形成するステップ、ならびにｂ）前記複合体の存在を検出し、それによって前記対象における過去および現在のＨＰｇＶ－２およびＨＰｇＶ－１感染の存在を検出するステップを含む方法を提供する。ある特定の実施形態において、本明細書に、ヒトペギウイルス２（ＨＰｇＶ－２）核酸およびヒトペギウイルス１（ＨＰｇＶ－１；別名ＧＢＶ－Ｃ）核酸を検出するための方法であって、ａ）ＨＰｇＶ－２およびＨＰｇＶ－１

の核酸を含むことが疑われる試料を、ｉ）ストリンジェントな条件下でＨＰｇＶ－２核酸配列にハイブリダイズする、少なくとも１２ヌクレオチドの長さの第１の核酸分子、およびｉｉ）ストリンジェントな条件下でＨＰｇＶ－１の核酸配列にハイブリダイズする、少なくとも１２ヌクレオチドの長さの第２の核酸分子と接触させるステップ、ならびにｂ）前記第１および第２の核酸分子の、前記ＨＰｇＶ－２およびＨＰｇＶ－１核酸に対するハイブリダイゼーションの存在または非存在を検出するステップであって、前記ハイブリダイゼーションの存在の検出は、前記試料中の前記ＨＰｇＶ－２およびＨＰｇＶ－１核酸の存在を示すステップを含む方法を提供する。ある特定の実施形態において、ＨＰｇＶ－１およびＨＰｇＶ－１対象抗体を検出するためのペプチドおよびアミノ酸配列は、米国特許第６，８７０，０４２号、およびＳｏｕｚａら、Ｊ．Ｃｌｉｎ．Ｍｉｃｒｏｂｉｏｌ．、２００６、４４（９）：３１０５－３１１３に見出される。

【００４２】

ある特定の実施形態において、本明細書に、抗ＨＰｇＶ－２抗体を含む組成物を提供する。このような抗体は、ＨＰｇＶ－２に対するポリクローナル抗体またはモノクローナル抗体が産生されるように、宿主動物（例えば、マウス、ウサギなど）における免疫原として本明細書に記載されるあらゆるペプチドを使用して産生され得る。

【図面の簡単な説明】

【００４３】

【図１Ａ】配列番号１で示される、ＵＣ０１２５．ＵＳと呼ばれるＨＰｇＶ－２単離物のゲノム核酸配列を提供する図である。ＨＰｇＶ－２ゲノムはプラス鎖ＲＮＡ配列であることが理解される。配列番号１は、ウラシルをチミンとして示している。

【図１Ｂ】配列番号１で示される、ＵＣ０１２５．ＵＳと呼ばれるＨＰｇＶ－２単離物のゲノム核酸配列を提供する図である。ＨＰｇＶ－２ゲノムはプラス鎖ＲＮＡ配列であることが理解される。配列番号１は、ウラシルをチミンとして示している。

【図１Ｃ】配列番号１で示される、ＵＣ０１２５．ＵＳと呼ばれるＨＰｇＶ－２単離物のゲノム核酸配列を提供する図である。ＨＰｇＶ－２ゲノムはプラス鎖ＲＮＡ配列であることが理解される。配列番号１は、ウラシルをチミンとして示している。

【図２Ａ】アミノ酸配列を示し、ＨＰｇＶ－２指標例であるＵＣ０１２５．ＵＳの核酸配列を記載する図である。１）ＨＰｇＶ－２のＳタンパク質のアミノ酸配列（配列番号２）を示し、ＨＰｇＶ－２のＳタンパク質の核酸配列（配列番号１のヌクレオチド１０４－４７５）を記載する；２）ＨＰｇＶ－２のＥ１タンパク質のアミノ酸配列（配列番号３）を示し、ＨＰｇＶ－２のＥ１タンパク質の核酸配列（配列番号１のヌクレオチド４７６－１０４８）を記載する；３）ＨＰｇＶ－２のＥ２タンパク質のアミノ酸配列（配列番号４）を示し、ＨＰｇＶ－２のＥ２タンパク質の核酸配列（配列番号１のヌクレオチド１０４９－２１１０）を記載する；４）ＨＰｇＶ－２のＸタンパク質のアミノ酸配列（配列番号５）を示し、ＨＰｇＶ－２のＸタンパク質の核酸配列（配列番号１のヌクレオチド２１１１－２８２１）を記載する。

【図２Ｂ】アミノ酸配列を示し、ＨＰｇＶ－２指標例であるＵＣ０１２５．ＵＳの核酸配列を記載する図である。１）ＨＰｇＶ－２のＮＳ２タンパク質のアミノ酸配列（配列番号６）を示し、ＨＰｇＶ－２のＮＳ２タンパク質の核酸配列（配列番号１のヌクレオチド２８２２－３５４１）を記載する；２）ＨＰｇＶ－２のＮＳ３タンパク質のアミノ酸配列（配列番号７）を示し、ＨＰｇＶ－２のＮＳ３タンパク質の核酸配列（配列番号１のヌクレオチド３５４２－５４２５）を記載する；３）ＨＰｇＶ－２のＮＳ４Ａタンパク質のアミノ酸配列（配列番号８）を示し、ＨＰｇＶ－２のＮＳ４Ａタンパク質の核酸配列（配列番号１のヌクレオチド５４２６－５５４８）を記載する；４）ＨＰｇＶ－２のＮＳ４Ｂタンパク質のアミノ酸配列（配列番号９）を示し、ＨＰｇＶ－２のＮＳ４Ｂタンパク質の核酸配列（配列番号１のヌクレオチド５５４９－６３３４）を記載する。

【図２Ｃ】アミノ酸配列を示し、ＨＰｇＶ－２指標例であるＵＣ０１２５．ＵＳの核酸配列を記載する図である。１）ＨＰｇＶ－２のＮＳ５Ａタンパク質のアミノ酸配列（配列番号１０）を示し、ＨＰｇＶ－２のＮＳ５Ａタンパク質の核酸配列（配列番号１のヌクレオ

チド６３３５－７７０８）を記載する；２）ＨＰｇＶ－２のＮＳ５Ｂタンパク質のアミノ酸配列（配列番号１１）を示し、ＨＰｇＶ－２のＮＳ５Ｂタンパク質の核酸配列（配列番号１のヌクレオチド７７０９－９４０９）を記載する；３）ＨＰｇＶ－２の５’ＵＴＲ核酸配列（配列番号１のヌクレオチド１－１０３）を示す；および４）ＨＰｇＶ－２の３’ＵＴＲの核酸配列（配列番号１のヌクレオチド９４１０－９７７８）を示す。

【図３Ａ】配列番号１の核酸配列の注釈付きバージョンを示し、対応するコードされたアミノ酸配列を下に示す図である。

【図３Ｂ】配列番号１の核酸配列の注釈付きバージョンを示し、対応するコードされたアミノ酸配列を下に示す図である。

【図３Ｃ】配列番号１の核酸配列の注釈付きバージョンを示し、対応するコードされたアミノ酸配列を下に示す図である。

【図３Ｄ】配列番号１の核酸配列の注釈付きバージョンを示し、対応するコードされたアミノ酸配列を下に示す図である。

【図３Ｅ】配列番号１の核酸配列の注釈付きバージョンを示し、対応するコードされたアミノ酸配列を下に示す図である。

【図３Ｆ】配列番号１の核酸配列の注釈付きバージョンを示し、対応するコードされたアミノ酸配列を下に示す図である。

【図３Ｇ】配列番号１の核酸配列の注釈付きバージョンを示し、対応するコードされたアミノ酸配列を下に示す図である。

【図３Ｈ】配列番号１の核酸配列の注釈付きバージョンを示し、対応するコードされたアミノ酸配列を下に示す図である。

【図３Ｉ】配列番号１の核酸配列の注釈付きバージョンを示し、対応するコードされたアミノ酸配列を下に示す図である。

【図３Ｊ】配列番号１の核酸配列の注釈付きバージョンを示し、対応するコードされたアミノ酸配列を下に示す図である。

【図３Ｋ】配列番号１の核酸配列の注釈付きバージョンを示し、対応するコードされたアミノ酸配列を下に示す図である。

【図３Ｌ】配列番号１の核酸配列の注釈付きバージョンを示し、対応するコードされたアミノ酸配列を下に示す図である。

【図３Ｍ】配列番号１の核酸配列の注釈付きバージョンを示し、対応するコードされたアミノ酸配列を下に示す図である。

【図３Ｎ】配列番号１の核酸配列の注釈付きバージョンを示し、対応するコードされたアミノ酸配列を下に示す図である。

【図４】実施例３のｑＰＣＲに使用される７組のプライマーおよびプローブ（下線）とともに、配列番号１のヌクレオチド３２５３－４５１２を表すＨＰｇＶ－２ゲノムのクローン化部分を示す図である。

【図５Ａ】以下の実施例３におけるｑＰＣＲ　ＴａｑＭａｎベースの検出アッセイの結果を示す図である。ＨＰｇＶ－２プライマー／ＴａｑＭａｎプローブセット（１－２－３－５－７；配列および位置については図４参照）を用いて、ＮＳ２３Ｅｘのインビトロ転写物の１０倍段階希釈物を検出し、ＨＰｇＶ－２指標例（ＵＣ０１２５．ＵＳ）のＲＮＡ（太字で強調）の１０倍希釈物を検出した。右下のパネルは、各プライマー／プローブセットについて１００ｎｇのＮＳ２３ＥｘおよびＨＰｇＶ－２ＲＮＡの検出を示す。

【図５Ｂ】以下の実施例３におけるｑＰＣＲ　ＴａｑＭａｎベースの検出アッセイの結果を示す図である。指標例に存在するＨＰｇＶ－２　ＲＮＡの量を推定するために、１＿１００ｎｇの結果を設定するために正規化し、ログスケールでプロットしたＣｔ値を示す。実験に含まれる陰性対照は、１）水、２）ｐＴＲＩ（無関係なインビトロ転写物）、３）ＣＨＵ２７２５（ＨＩＶ＋／ＧＢＶ－Ｃ＋試料）、および４）Ｎ－５０５（ＨＩＶ＋／ＧＢＶ－Ｃ－試料）であり、他の感染（ＨＩＶ、ＧＢＶ－Ｃ）との交差反応がないことを示す。

【図６】プローブおよびプライマーセット１、２、３、４、５、７および１５および４４

Ｆ（配列番号１２）ならびに３４２Ｒ（配列番号１３）を用いて行ったＳＹＢＲグリーンｑＰＣＲアッセイの結果を示す図である。上記プローブおよびプライマーセットは、ＮＳ２３Ｅｘインビトロ転写物（図６、曲線Ａ、Ｂ、Ｃ）およびＨＰｇＶ－２指標（ＵＣ０１２５．ＵＳ）ケースのＲＮＡ（図６、曲線Ｄ）から作製されたｃＤＮＡの１０倍段階希釈物を検出するために使用された。陰性対照（図６、曲線ＥおよびＦ）、Ｎ－５０５（ＨＩＶ（＋）／ＧＢＶ－Ｃ（－））および水は増幅されなかった。各々のグラフは、使用されたプライマーセットで標識される。

【図７Ａ】ＨＣＶ（＋）プラズマフェレーシスドナーの血漿試料中の単離物ＡＢＴ００７０Ｐ．ＵＳおよびＡＢＴ００９６Ｐ．ＵＳを検出したプライマー／プローブセット３（上段パネル）およびプライマー／プローブセット２（下段パネル）を用いたＴａｑＭａｎｑＰＣＲアッセイの結果を示す図である。

【図７Ｂ】Ａｍｅｒｉｃａｎ Ｒｅｄ Ｃｒｏｓｓ血液ドナー血漿（ＨＣＶ ＲＮＡ＋／抗体＋）試料から抽出されたＲＮＡをＴａｑＭａｎプライマー／プローブセット２および３を用いてスクリーニングしたアッセイの結果を示す図である。ＡＢＴ０１２８Ａ．ＵＳは検出されたが、セット２（太字）のみであった。

【図８】試料中のＨＰｇＶ－２に対する対象とする抗体を検出するために使用され得る例示的な溶液相捕捉アッセイの概略図を提供する図である。試料とビオチン化ペプチド（単数または複数）の両方を一緒にインキュベートし、続いて、ストレプトアビジンで被覆された固相支持体とともにインキュベートする。免疫複合体は、ペプチド上のビオチン結合によって固相支持体に捕捉される（ステップ１）。免疫複合体は、化学発光標識されたヒトＩｇＧを用いて間接的に検出される（ステップ２）。

【図９Ａ】配列番号７５で示される、ＡＢＴ００７０Ｐ．ＵＳと呼ばれるＨＰｇＶ－２単離物のゲノム核酸配列を提供する図である。ＨＰｇＶ－２ゲノムはプラス鎖ＲＮＡ配列であることが理解される。配列番号７５は、ウラシルをチミンとして示している。

【図９Ｂ】配列番号７５で示される、ＡＢＴ００７０Ｐ．ＵＳと呼ばれるＨＰｇＶ－２単離物のゲノム核酸配列を提供する図である。ＨＰｇＶ－２ゲノムはプラス鎖ＲＮＡ配列であることが理解される。配列番号７５は、ウラシルをチミンとして示している。

【図９Ｃ】配列番号７５で示される、ＡＢＴ００７０Ｐ．ＵＳと呼ばれるＨＰｇＶ－２単離物のゲノム核酸配列を提供する図である。ＨＰｇＶ－２ゲノムはプラス鎖ＲＮＡ配列であることが理解される。配列番号７５は、ウラシルをチミンとして示している。

【図１０Ａ】ＨＰｇＶ－２バリアントであるＡＢＴ００７０Ｐ．ＵＳに由来する種々のタンパク質のアミノ酸配列、ならびに対応する核酸コード配列を示す図である。１）ＨＰｇＶ－２のＳタンパク質のアミノ酸配列（配列番号７６）を示し、ＨＰｇＶ－２のＳタンパク質の核酸配列（配列番号７５のヌクレオチド１１１－４８２）を記載する；２）ＨＰｇＶ－２のＥ１タンパク質のアミノ酸配列（配列番号７７）を示し、ＨＰｇＶ－２のＥ１タンパク質の核酸配列（配列番号７５のヌクレオチド４８３－１０５５）を記載する；３）、ＨＰｇＶ－２のＥ２タンパク質のアミノ酸配列（配列番号７８）を示し、ＨＰｇＶ－２のＥ２タンパク質の核酸配列（配列番号７５のヌクレオチド１０５６－２１１７）を記載する；４）ＨＰｇＶ－２のＸタンパク質のアミノ酸配列（配列番号７９）を示し、ＨＰｇＶ－２のＸタンパク質の核酸配列（配列番号７５のヌクレオチド２１１８－２８２８）を記載する。

【図１０Ｂ】ＨＰｇＶ－２バリアントであるＡＢＴ００７０Ｐ．ＵＳに由来する種々のタンパク質のアミノ酸配列、ならびに対応する核酸コード配列を示す図である。１）ＨＰｇＶ－２のＮＳ２タンパク質のアミノ酸配列（配列番号８０）を示し、ＨＰｇＶ－２のＮＳ２タンパク質の核酸配列（配列番号７５のヌクレオチド２８２９－３５４８）を記載する；２）ＨＰｇＶ－２のＮＳ３タンパク質のアミノ酸配列（配列番号８１）を示し、ＨＰｇＶ－２のＮＳ３タンパク質の核酸配列（配列番号７５のヌクレオチド３５４９－５４３２）を記載する；３）ＨＰｇＶ－２のＮＳ４Ａタンパク質のアミノ酸配列（配列番号８２）を示し、ＨＰｇＶ－２のＮＳ４Ａタンパク質の核酸配列（配列番号７５のヌクレオチド５４３３－５５５５）を記載する；４）ＨＰｇＶ－２のＮＳ４Ｂタンパク質のアミノ酸配列

（配列番号８３）を示し、ＨＰｇＶ－２のＮＳ４Ｂタンパク質の核酸配列（配列番号７５のヌクレオチド５５５６－６３４１）を記載する。

【図１０Ｃ】ＨＰｇＶ－２バリアントであるＡＢＴ００７０Ｐ．ＵＳに由来する種々のタンパク質のアミノ酸配列、ならびに対応する核酸コード配列を示す図である。１）ＨＰｇＶ－２のＮＳ５Ａタンパク質のアミノ酸配列（配列番号８４）を示し、ＨＰｇＶ－２のＮＳ５Ａタンパク質の核酸配列（配列番号７５のヌクレオチド６３４２－７７１５）を記載する；２）ＨＰｇＶ－２のＮＳ５Ｂタンパク質のアミノ酸配列（配列番号８５）を示し、ＨＰｇＶ－２のＮＳ５Ｂタンパク質の核酸配列（配列番号７５のヌクレオチド７７１６－９４１６）を記載する；３）ＨＰｇＶ－２の５’ＵＴＲ核酸配列（配列番号７５のヌクレオチド１－１１０）を記載する；４）ＨＰｇＶ－２の３’ＵＴＲの一部分の核酸配列（配列番号７５のヌクレオチド９４１７－９４３１）を記載する。

【図１１Ａ】ＨＰｇＶ－２バリアントであるＵＣ０１２５．ＵＳ、ＡＢＴ００７０Ｐ．ＵＳ、ＡＢＴ００９６Ｐ．ＵＳ（配列番号３５４）およびＡＢＴ０１２８Ａ．ＵＳ（配列番号３５５）のゲノムまたは部分ゲノムと大部分のコンセンサス配列（配列番号３５６）とのアラインメントを示す図である。

【図１１Ｂ】ＨＰｇＶ－２バリアントであるＵＣ０１２５．ＵＳ、ＡＢＴ００７０Ｐ．ＵＳ、ＡＢＴ００９６Ｐ．ＵＳ（配列番号３５４）およびＡＢＴ０１２８Ａ．ＵＳ（配列番号３５５）のゲノムまたは部分ゲノムと大部分のコンセンサス配列（配列番号３５６）とのアラインメントを示す図である。

【図１１Ｃ】ＨＰｇＶ－２バリアントであるＵＣ０１２５．ＵＳ、ＡＢＴ００７０Ｐ．ＵＳ、ＡＢＴ００９６Ｐ．ＵＳ（配列番号３５４）およびＡＢＴ０１２８Ａ．ＵＳ（配列番号３５５）のゲノムまたは部分ゲノムと大部分のコンセンサス配列（配列番号３５６）とのアラインメントを示す図である。

【図１１Ｄ】ＨＰｇＶ－２バリアントであるＵＣ０１２５．ＵＳ、ＡＢＴ００７０Ｐ．ＵＳ、ＡＢＴ００９６Ｐ．ＵＳ（配列番号３５４）およびＡＢＴ０１２８Ａ．ＵＳ（配列番号３５５）のゲノムまたは部分ゲノムと大部分のコンセンサス配列（配列番号３５６）とのアラインメントを示す図である。

【図１１Ｅ】ＨＰｇＶ－２バリアントであるＵＣ０１２５．ＵＳ、ＡＢＴ００７０Ｐ．ＵＳ、ＡＢＴ００９６Ｐ．ＵＳ（配列番号３５４）およびＡＢＴ０１２８Ａ．ＵＳ（配列番号３５５）のゲノムまたは部分ゲノムと大部分のコンセンサス配列（配列番号３５６）とのアラインメントを示す図である。

【図１１Ｆ】ＨＰｇＶ－２バリアントであるＵＣ０１２５．ＵＳ、ＡＢＴ００７０Ｐ．ＵＳ、ＡＢＴ００９６Ｐ．ＵＳ（配列番号３５４）およびＡＢＴ０１２８Ａ．ＵＳ（配列番号３５５）のゲノムまたは部分ゲノムと大部分のコンセンサス配列（配列番号３５６）とのアラインメントを示す図である。

【図１１Ｇ】ＨＰｇＶ－２バリアントであるＵＣ０１２５．ＵＳ、ＡＢＴ００７０Ｐ．ＵＳ、ＡＢＴ００９６Ｐ．ＵＳ（配列番号３５４）およびＡＢＴ０１２８Ａ．ＵＳ（配列番号３５５）のゲノムまたは部分ゲノムと大部分のコンセンサス配列（配列番号３５６）とのアラインメントを示す図である。

【図１１Ｈ】ＨＰｇＶ－２バリアントであるＵＣ０１２５．ＵＳ、ＡＢＴ００７０Ｐ．ＵＳ、ＡＢＴ００９６Ｐ．ＵＳ（配列番号３５４）およびＡＢＴ０１２８Ａ．ＵＳ（配列番号３５５）のゲノムまたは部分ゲノムと大部分のコンセンサス配列（配列番号３５６）とのアラインメントを示す図である。

【図１１Ｉ】ＨＰｇＶ－２バリアントであるＵＣ０１２５．ＵＳ、ＡＢＴ００７０Ｐ．ＵＳ、ＡＢＴ００９６Ｐ．ＵＳ（配列番号３５４）およびＡＢＴ０１２８Ａ．ＵＳ（配列番号３５５）のゲノムまたは部分ゲノムと大部分のコンセンサス配列（配列番号３５６）とのアラインメントを示す図である。

【図１１Ｊ】ＨＰｇＶ－２バリアントであるＵＣ０１２５．ＵＳ、ＡＢＴ００７０Ｐ．ＵＳ、ＡＢＴ００９６Ｐ．ＵＳ（配列番号３５４）およびＡＢＴ０１２８Ａ．ＵＳ（配列番号３５５）のゲノムまたは部分ゲノムと大部分のコンセンサス配列（配列番号３５６）と

のアラインメントを示す図である。
【図１１Ｋ】ＨＰｇＶ－２バリアントであるＵＣ０１２５．ＵＳ、ＡＢＴ００７０Ｐ．ＵＳ、ＡＢＴ００９６Ｐ．ＵＳ（配列番号３５４）およびＡＢＴ０１２８Ａ．ＵＳ（配列番号３５５）のゲノムまたは部分ゲノムと大部分のコンセンサス配列（配列番号３５６）とのアラインメントを示す図である。
【図１１Ｌ】ＨＰｇＶ－２バリアントであるＵＣ０１２５．ＵＳ、ＡＢＴ００７０Ｐ．ＵＳ、ＡＢＴ００９６Ｐ．ＵＳ（配列番号３５４）およびＡＢＴ０１２８Ａ．ＵＳ（配列番号３５５）のゲノムまたは部分ゲノムと大部分のコンセンサス配列（配列番号３５６）とのアラインメントを示す図である。
【図１１Ｍ】ＨＰｇＶ－２バリアントであるＵＣ０１２５．ＵＳ、ＡＢＴ００７０Ｐ．ＵＳ、ＡＢＴ００９６Ｐ．ＵＳ（配列番号３５４）およびＡＢＴ０１２８Ａ．ＵＳ（配列番号３５５）のゲノムまたは部分ゲノムと大部分のコンセンサス配列（配列番号３５６）とのアラインメントを示す図である。
【図１１Ｎ】ＨＰｇＶ－２バリアントであるＵＣ０１２５．ＵＳ、ＡＢＴ００７０Ｐ．ＵＳ、ＡＢＴ００９６Ｐ．ＵＳ（配列番号３５４）およびＡＢＴ０１２８Ａ．ＵＳ（配列番号３５５）のゲノムまたは部分ゲノムと大部分のコンセンサス配列（配列番号３５６）とのアラインメントを示す図である。
【図１１Ｏ】ＨＰｇＶ－２バリアントであるＵＣ０１２５．ＵＳ、ＡＢＴ００７０Ｐ．ＵＳ、ＡＢＴ００９６Ｐ．ＵＳ（配列番号３５４）およびＡＢＴ０１２８Ａ．ＵＳ（配列番号３５５）のゲノムまたは部分ゲノムと大部分のコンセンサス配列（配列番号３５６）とのアラインメントを示す図である。
【図１１Ｐ】ＨＰｇＶ－２バリアントであるＵＣ０１２５．ＵＳ、ＡＢＴ００７０Ｐ．ＵＳ、ＡＢＴ００９６Ｐ．ＵＳ（配列番号３５４）およびＡＢＴ０１２８Ａ．ＵＳ（配列番号３５５）のゲノムまたは部分ゲノムと大部分のコンセンサス配列（配列番号３５６）とのアラインメントを示す図である。
【図１１Ｑ】ＨＰｇＶ－２バリアントであるＵＣ０１２５．ＵＳ、ＡＢＴ００７０Ｐ．ＵＳ、ＡＢＴ００９６Ｐ．ＵＳ（配列番号３５４）およびＡＢＴ０１２８Ａ．ＵＳ（配列番号３５５）のゲノムまたは部分ゲノムと大部分のコンセンサス配列（配列番号３５６）とのアラインメントを示す図である。
【図１１Ｒ】ＨＰｇＶ－２バリアントであるＵＣ０１２５．ＵＳ、ＡＢＴ００７０Ｐ．ＵＳ、ＡＢＴ００９６Ｐ．ＵＳ（配列番号３５４）およびＡＢＴ０１２８Ａ．ＵＳ（配列番号３５５）のゲノムまたは部分ゲノムと大部分のコンセンサス配列（配列番号３５６）とのアラインメントを示す図である。
【図１１Ｓ】ＨＰｇＶ－２バリアントであるＵＣ０１２５．ＵＳ、ＡＢＴ００７０Ｐ．ＵＳ、ＡＢＴ００９６Ｐ．ＵＳ（配列番号３５４）およびＡＢＴ０１２８Ａ．ＵＳ（配列番号３５５）のゲノムまたは部分ゲノムと大部分のコンセンサス配列（配列番号３５６）とのアラインメントを示す図である。
【図１１Ｔ】ＨＰｇＶ－２バリアントであるＵＣ０１２５．ＵＳ、ＡＢＴ００７０Ｐ．ＵＳ、ＡＢＴ００９６Ｐ．ＵＳ（配列番号３５４）およびＡＢＴ０１２８Ａ．ＵＳ（配列番号３５５）のゲノムまたは部分ゲノムと大部分のコンセンサス配列（配列番号３５６）とのアラインメントを示す図である。
【図１１Ｕ】ＨＰｇＶ－２バリアントであるＵＣ０１２５．ＵＳ、ＡＢＴ００７０Ｐ．ＵＳ、ＡＢＴ００９６Ｐ．ＵＳ（配列番号３５４）およびＡＢＴ０１２８Ａ．ＵＳ（配列番号３５５）のゲノムまたは部分ゲノムと大部分のコンセンサス配列（配列番号３５６）とのアラインメントを示す図である。
【図１１Ｖ】ＨＰｇＶ－２バリアントであるＵＣ０１２５．ＵＳ、ＡＢＴ００７０Ｐ．ＵＳ、ＡＢＴ００９６Ｐ．ＵＳ（配列番号３５４）およびＡＢＴ０１２８Ａ．ＵＳ（配列番号３５５）のゲノムまたは部分ゲノムと大部分のコンセンサス配列（配列番号３５６）とのアラインメントを示す図である。
【図１１Ｗ】ＨＰｇＶ－２バリアントであるＵＣ０１２５．ＵＳ、ＡＢＴ００７０Ｐ．Ｕ

Ｓ、ＡＢＴ００９６Ｐ．ＵＳ（配列番号３５４）およびＡＢＴ０１２８Ａ．ＵＳ（配列番号３５５）のゲノムまたは部分ゲノムと大部分のコンセンサス配列（配列番号３５６）とのアラインメントを示す図である。

【図１１Ｘ】ＨＰｇＶ－２バリアントであるＵＣ０１２５．ＵＳ、ＡＢＴ００７０Ｐ．ＵＳ、ＡＢＴ００９６Ｐ．ＵＳ（配列番号３５４）およびＡＢＴ０１２８Ａ．ＵＳ（配列番号３５５）のゲノムまたは部分ゲノムと大部分のコンセンサス配列（配列番号３５６）とのアラインメントを示す図である。

【図１１Ｙ】ＨＰｇＶ－２バリアントであるＵＣ０１２５．ＵＳ、ＡＢＴ００７０Ｐ．ＵＳ、ＡＢＴ００９６Ｐ．ＵＳ（配列番号３５４）およびＡＢＴ０１２８Ａ．ＵＳ（配列番号３５５）のゲノムまたは部分ゲノムと大部分のコンセンサス配列（配列番号３５６）とのアラインメントを示す図である。

【図１２Ａ】Ｊｕｋｅｓ－Ｃａｎｔｏｒモデルを用いてＧｅｎｅｉｏｕｓで構築された２９個の代表的なフラビウイルス（図に列挙されるＧｅｎＢａｎｋアクセッション番号）とともに、ＨＰｇＶ－２（ＵＣ０１２５．ＵＳ；配列番号１）およびＡＢＴ００７０Ｐ．ＵＳ（配列番号７５）の系統樹、およびブランチサポートを計算するために使用される１０，０００個のブートストラップ・レプリケートを使用した近隣結合アルゴリズムを示す図である。次に、これらのツリートポロジーは、ＭｒＢａｙｅｓ　Ｖ３．２ソフトウェア（１，０００，０００個の試料ツリー、バーンインとして廃棄された１０％のツリー、平均標準偏差＜０．０１で定義されたコンバージェンス）で最尤ベイズアプローチを使用して精緻化された。各ツリーは、アウトグループとして１型デング熱ウイルス（ＤＥＮＶ１）および黄熱病ウイルス（ＹＦＶ）に根ざしていた。ポリタンパク質配列全体に対して個別に行われた分析を示す図である。

【図１２Ｂ】Ｊｕｋｅｓ－Ｃａｎｔｏｒモデルを用いてＧｅｎｅｉｏｕｓで構築された２９個の代表的なフラビウイルス（図に列挙されるＧｅｎＢａｎｋアクセッション番号）とともに、ＨＰｇＶ－２（ＵＣ０１２５．ＵＳ；配列番号１）およびＡＢＴ００７０Ｐ．ＵＳ（配列番号７５）の系統樹、およびブランチサポートを計算するために使用される１０，０００個のブートストラップ・レプリケートを使用した近隣結合アルゴリズムを示す図である。次に、これらのツリートポロジーは、ＭｒＢａｙｅｓ　Ｖ３．２ソフトウェア（１，０００，０００個の試料ツリー、バーンインとして廃棄された１０％のツリー、平均標準偏差＜０．０１で定義されたコンバージェンス）で最尤ベイズアプローチを使用して精緻化された。各ツリーは、アウトグループとして１型デング熱ウイルス（ＤＥＮＶ１）および黄熱病ウイルス（ＹＦＶ）に根ざしていた。ＮＳ３に対して個別に行われた分析を示す図である。

【図１２Ｃ】Ｊｕｋｅｓ－Ｃａｎｔｏｒモデルを用いてＧｅｎｅｉｏｕｓで構築された２９個の代表的なフラビウイルス（図に列挙されるＧｅｎＢａｎｋアクセッション番号）とともに、ＨＰｇＶ－２（ＵＣ０１２５．ＵＳ；配列番号１）およびＡＢＴ００７０Ｐ．ＵＳ（配列番号７５）の系統樹、およびブランチサポートを計算するために使用される１０，０００個のブートストラップ・レプリケートを使用した近隣結合アルゴリズムを示す図である。次に、これらのツリートポロジーは、ＭｒＢａｙｅｓ　Ｖ３．２ソフトウェア（１，０００，０００個の試料ツリー、バーンインとして廃棄された１０％のツリー、平均標準偏差＜０．０１で定義されたコンバージェンス）で最尤ベイズアプローチを使用して精緻化された。各ツリーは、アウトグループとして１型デング熱ウイルス（ＤＥＮＶ１）および黄熱病ウイルス（ＹＦＶ）に根ざしていた。ＮＳ５Ｂタンパク質に対して個別に行われた分析を示す図である。

【図１３Ａ】配列番号２９９で示される、ＨＰｇＶ－２コンセンサス配列のゲノム核酸配列を提供する。ＨＰｇＶ－２ゲノムはプラス鎖ＲＮＡ配列であることが理解される。配列番号２９９は、ウラシルをチミンとして示している。

【図１３Ｂ】配列番号２９９で示される、ＨＰｇＶ－２コンセンサス配列のゲノム核酸配列を提供する。ＨＰｇＶ－２ゲノムはプラス鎖ＲＮＡ配列であることが理解される。配列番号２９９は、ウラシルをチミンとして示している。

【図１３Ｃ】配列番号２９９で示される、ＨＰｇＶ－２コンセンサス配列のゲノム核酸配列を提供する。ＨＰｇＶ－２ゲノムはプラス鎖ＲＮＡ配列であることが理解される。配列番号２９９は、ウラシルをチミンとして示している。

【図１４Ａ】ＨＰｇＶ－２コンセンサス配列に由来の種々のタンパク質のアミノ酸配列、ならびに対応する核酸コード配列を示す図である。１）５’ＵＴＲ配列（配列番号２９９のヌクレオチド１－３２７）を記載する；２）ＨＰｇＶ－２のＳタンパク質のアミノ酸配列（配列番号３０４）を示し、ＨＰｇＶ－２のＳタンパク質の核酸配列（配列番号２９９のヌクレオチド３２８－５６４）を記載する；３）ＨＰｇＶ－２のＥ１タンパク質のアミノ酸配列（配列番号３０５）を示し、ＨＰｇＶ－２のＥ１タンパク質の核酸配列（配列番号２９９のヌクレオチド５６５－１１３７）を記載する；４）ＨＰｇＶ－２のＥ２タンパク質のアミノ酸配列（配列番号３０６）を示し、ＨＰｇＶ－２のＥ２タンパク質の核酸配列（配列番号２９９のヌクレオチド１１３８－２１９９）を記載する；５）ＨＰｇＶ－２のＸタンパク質のアミノ酸配列（配列番号３０７）を示し、ＨＰｇＶ－２のＸタンパク質の核酸配列（配列番号２９９のヌクレオチド２２００－２９１０）を記載する。

【図１４Ｂ】ＨＰｇＶ－２コンセンサス配列に由来の種々のタンパク質のアミノ酸配列、ならびに対応する核酸コード配列を示す図である。１）ＨＰｇＶ－２のＮＳ２タンパク質のアミノ酸配列（配列番号３０８）を示し、ＨＰｇＶ－２のＮＳ２タンパク質の核酸配列（配列番号２９９のヌクレオチド２９１１－３６３０）を記載する；２）ＨＰｇＶ－２のＮＳ３タンパク質のアミノ酸配列（配列番号３０９）を示し、ＨＰｇＶ－２のＮＳ３タンパク質の核酸配列（配列番号２９９のヌクレオチド３６３１－５５１４）を記載する；３）ＨＰｇＶ－２のＮＳ４Ａタンパク質のアミノ酸配列（配列番号３１０）を示し、ＨＰｇＶ－２のＮＳ４Ａタンパク質の核酸配列（配列番号２９９のヌクレオチド５５１５－５６３７）を記載する；４）ＨＰｇＶ－２のＮＳ４Ｂタンパク質のアミノ酸配列（配列番号３１１）を示し、ＨＰｇＶ－２のＮＳ４Ｂタンパク質の核酸配列（配列番号２９９のヌクレオチド５６３８－６４２３）を記載する。

【図１４Ｃ】ＨＰｇＶ－２コンセンサス配列に由来の種々のタンパク質のアミノ酸配列、ならびに対応する核酸コード配列を示す図である。１）ＨＰｇＶ－２のＮＳ５Ａタンパク質のアミノ酸配列（配列番号３１２）を示し、ＨＰｇＶ－２のＮＳ５Ａタンパク質の核酸配列（配列番号２９９のヌクレオチド６４２４－７７９７）を記載する；２）ＨＰｇＶ－２のＮＳ５Ｂタンパク質のアミノ酸配列（配列番号３１３）を示し、ＨＰｇＶ－２のＮＳ５Ｂタンパク質の核酸配列（配列番号２９９のヌクレオチド７７９８－９４９８）を記載する；３）ＨＰｇＶ－２の３’ＵＴＲの少なくとも一部分の核酸配列（配列番号２９９のヌクレオチド９４９９－９８６７）を記載する。

【図１５Ａ】配列番号３００で示される、ＡＢＴ００７０Ｐと呼ばれるＨＰｇＶ－２単離物のゲノム核酸配列を提供する図である。ＨＰｇＶ－２ゲノムはプラス鎖ＲＮＡ配列であることが理解される。配列番号３００は、ウラシルをチミンとして示している。

【図１５Ｂ】配列番号３００で示される、ＡＢＴ００７０Ｐと呼ばれるＨＰｇＶ－２単離物のゲノム核酸配列を提供する図である。ＨＰｇＶ－２ゲノムはプラス鎖ＲＮＡ配列であることが理解される。配列番号３００は、ウラシルをチミンとして示している。

【図１５Ｃ】配列番号３００で示される、ＡＢＴ００７０Ｐと呼ばれるＨＰｇＶ－２単離物のゲノム核酸配列を提供する図である。ＨＰｇＶ－２ゲノムはプラス鎖ＲＮＡ配列であることが理解される。配列番号３００は、ウラシルをチミンとして示している。

【図１６Ａ】ＡＢＴ００７０Ｐと呼ばれるＨＰｇＶ－２単離物由来の種々のタンパク質のアミノ酸配列、ならびに対応する核酸コード配列を示す図である。１）５’ＵＴＲ配列（配列番号３００のヌクレオチド１－３２７）を記載する；２）ＨＰｇＶ－２のＳタンパク質のアミノ酸配列（配列番号３１４）を示し、ＨＰｇＶ－２のＳタンパク質の核酸配列（配列番号３００のヌクレオチド３２８－５６４）を記載する；３）ＨＰｇＶ－２のＥ１タンパク質のアミノ酸配列（配列番号３１５）を示し、ＨＰｇＶ－２のＥ１タンパク質の核酸配列（配列番号３００のヌクレオチド５６５－１１３７）を記載する；４）ＨＰｇＶ－２のＥ２タンパク質のアミノ酸配列（配列番号３１６）を示し、ＨＰｇＶ－２のＥ２タン

パク質の核酸配列（配列番号３００のヌクレオチド１１３８－２１９９）を記載する；５）ＨＰｇＶ－２のＸタンパク質のアミノ酸配列（配列番号３１７）を示し、ＨＰｇＶ－２のＸタンパク質の核酸配列（配列番号３００のヌクレオチド２２００－２９１０）を記載する。

【図１６Ｂ】ＡＢＴ００７０Ｐと呼ばれるＨＰｇＶ－２単離物由来の種々のタンパク質のアミノ酸配列、ならびに対応する核酸コード配列を示す図である。１）ＨＰｇＶ－２のＮＳ２タンパク質のアミノ酸配列（配列番号３１８）を示し、ＨＰｇＶ－２のＮＳ２タンパク質の核酸配列（配列番号３００のヌクレオチド２９１１－３６３０）を記載する；２）ＨＰｇＶ－２のＮＳ３タンパク質のアミノ酸配列（配列番号３１９）を示し、ＨＰｇＶ－２のＮＳ３タンパク質の核酸配列（配列番号３００のヌクレオチド３６３１－５５１４）を記載する；３）ＨＰｇＶ－２のＮＳ４Ａタンパク質のアミノ酸配列（配列番号３２０）を示し、ＨＰｇＶ－２のＮＳ４Ａタンパク質の核酸配列（配列番号３００のヌクレオチド５５１５－５６３７）を記載する；４）ＨＰｇＶ－２のＮＳ４Ｂタンパク質のアミノ酸配列（配列番号３２１）を示し、ＨＰｇＶ－２のＮＳ４Ｂタンパク質の核酸配列（配列番号３００のヌクレオチド５６３８－６４２３）を記載する。

【図１６Ｃ】ＡＢＴ００７０Ｐと呼ばれるＨＰｇＶ－２単離物由来の種々のタンパク質のアミノ酸配列、ならびに対応する核酸コード配列を示す図である。１）ＨＰｇＶ－２のＮＳ５Ａタンパク質のアミノ酸配列（配列番号３２２）を示し、ＨＰｇＶ－２のＮＳ５Ａタンパク質の核酸配列（配列番号３００のヌクレオチド６４２４－７７９７）を記載する；２）ＨＰｇＶ－２のＮＳ５Ｂタンパク質のアミノ酸配列（配列番号３２３）を示し、ＨＰｇＶ－２のＮＳ５Ｂタンパク質の核酸配列（配列番号３００のヌクレオチド７７９８－９４９８）を記載する；３）は、ＨＰｇＶ－２の３’ＵＴＲの少なくとも一部分の核酸配列（配列番号３００のヌクレオチド９４９９－９８６７）を記載する。

【図１７Ａ】配列番号３０１で示される、ＡＢＴ００２９Ａと呼ばれるＨＰｇＶ－２単離物のゲノム核酸配列を提供する図である。ＨＰｇＶ－２ゲノムはプラス鎖ＲＮＡ配列であることが理解される。配列番号３０１は、ウラシルをチミンとして示している。

【図１７Ｂ】配列番号３０１で示される、ＡＢＴ００２９Ａと呼ばれるＨＰｇＶ－２単離物のゲノム核酸配列を提供する図である。ＨＰｇＶ－２ゲノムはプラス鎖ＲＮＡ配列であることが理解される。配列番号３０１は、ウラシルをチミンとして示している。

【図１７Ｃ】配列番号３０１で示される、ＡＢＴ００２９Ａと呼ばれるＨＰｇＶ－２単離物のゲノム核酸配列を提供する図である。ＨＰｇＶ－２ゲノムはプラス鎖ＲＮＡ配列であることが理解される。配列番号３０１は、ウラシルをチミンとして示している。

【図１８Ａ】ＡＢＴ００２９Ａと呼ばれるＨＰｇＶ－２単離物由来の種々のタンパク質のアミノ酸配列、ならびに対応する核酸コード配列を示す図である。１）５’ＵＴＲ配列（配列番号３０１のヌクレオチド１－３２７）を記載する；２）ＨＰｇＶ－２のＳタンパク質のアミノ酸配列（配列番号３２４）を示し、ＨＰｇＶ－２のＳタンパク質の核酸配列（配列番号３０１のヌクレオチド３２８－５６４）を記載する；３）ＨＰｇＶ－２のＥ１タンパク質のアミノ酸配列（配列番号３２５）を示し、ＨＰｇＶ－２のＥ１タンパク質の核酸配列（配列番号３０１のヌクレオチド５６５－１１３７）を記載する；４）ＨＰｇＶ－２のＥ２タンパク質のアミノ酸配列（配列番号３２６）を示し、ＨＰｇＶ－２のＥ２タンパク質の核酸配列（配列番号３０１のヌクレオチド１１３８－２１９９）を記載する；５）ＨＰｇＶ－２のＸタンパク質のアミノ酸配列（配列番号３２７）を示し、ＨＰｇＶ－２のＸタンパク質の核酸配列（配列番号３０１のヌクレオチド２２００－２９１０）を記載する。

【図１８Ｂ】ＡＢＴ００２９Ａと呼ばれるＨＰｇＶ－２単離物由来の種々のタンパク質のアミノ酸配列、ならびに対応する核酸コード配列を示す図である。１）ＨＰｇＶ－２のＮＳ２タンパク質のアミノ酸配列（配列番号３２８）を示し、ＨＰｇＶ－２のＮＳ２タンパク質の核酸配列（配列番号３０１のヌクレオチド２９１１－３６３０）を記載する；２）ＨＰｇＶ－２のＮＳ３タンパク質のアミノ酸配列（配列番号３２９）を示し、ＨＰｇＶ－２のＮＳ３タンパク質の核酸配列（配列番号３０１のヌクレオチド３６３１－５５１４）

を記載する；３）ＨＰｇＶ－２のＮＳ４Ａタンパク質のアミノ酸配列（配列番号３３０）を示し、ＨＰｇＶ－２のＮＳ４Ａタンパク質の核酸配列（配列番号３０１のヌクレオチド５５１５－５６３７）を記載する；４）ＨＰｇＶ－２のＮＳ４Ｂタンパク質のアミノ酸配列（配列番号３３１）を示し、ＨＰｇＶ－２のＮＳ４Ｂタンパク質の核酸配列（配列番号３０１のヌクレオチド５６３８－６４２３）を記載する。

【図１８Ｃ】ＡＢＴ００２９Ａと呼ばれるＨＰｇＶ－２単離物由来の種々のタンパク質のアミノ酸配列、ならびに対応する核酸コード配列を示す図である。１）ＨＰｇＶ－２のＮＳ５Ａタンパク質のアミノ酸配列（配列番号３３２）を示し、ＨＰｇＶ－２のＮＳ５Ａタンパク質の核酸配列（配列番号３０１のヌクレオチド６４２４－７７９７）を記載する；２）ＨＰｇＶ－２のＮＳ５Ｂタンパク質のアミノ酸配列（配列番号３３３）を示し、ＨＰｇＶ－２のＮＳ５Ｂタンパク質の核酸配列（配列番号３０１のヌクレオチド７７９８－９４９８）を記載する；３）ＨＰｇＶ－２の３’ＵＴＲの少なくとも一部分の核酸配列（配列番号３０１のヌクレオチド９４９９－９８６７）を記載する。

【図１９Ａ】配列番号３０２で示される、ＡＢＴ０２３９ＡＮ．ＵＳと呼ばれるＨＰｇＶ－２単離物のゲノム核酸配列を提供する図である。ＨＰｇＶ－２ゲノムはプラス鎖ＲＮＡ配列であることが理解される。配列番号３０２は、ウラシルをチミンとして示している。

【図１９Ｂ】配列番号３０２で示される、ＡＢＴ０２３９ＡＮ．ＵＳと呼ばれるＨＰｇＶ－２単離物のゲノム核酸配列を提供する図である。ＨＰｇＶ－２ゲノムはプラス鎖ＲＮＡ配列であることが理解される。配列番号３０２は、ウラシルをチミンとして示している。

【図１９Ｃ】配列番号３０２で示される、ＡＢＴ０２３９ＡＮ．ＵＳと呼ばれるＨＰｇＶ－２単離物のゲノム核酸配列を提供する図である。ＨＰｇＶ－２ゲノムはプラス鎖ＲＮＡ配列であることが理解される。配列番号３０２は、ウラシルをチミンとして示している。

【図２０Ａ】ＡＢＴ０２３９ＡＮ．ＵＳと呼ばれるＨＰｇＶ－２単離物由来の種々のタンパク質のアミノ酸配列、ならびに対応する核酸コード配列を示す図である。１）５’ＵＴＲ配列（配列番号３０２のヌクレオチド１－３２７）を記載する；２）ＨＰｇＶ－２のＳタンパク質のアミノ酸配列（配列番号３３４）を示し、ＨＰｇＶ－２のＳタンパク質の核酸配列（配列番号３０２のヌクレオチド３２８－５６４）を記載する；３）ＨＰｇＶ－２のＥ１タンパク質のアミノ酸配列（配列番号３３５）を示し、ＨＰｇＶ－２のＥ１タンパク質の核酸配列（配列番号３０２のヌクレオチド５６５－１１３７）を記載する；４）ＨＰｇＶ－２のＥ２タンパク質のアミノ酸配列（配列番号３３６）を示し、ＨＰｇＶ－２のＥ２タンパク質の核酸配列（配列番号３０２のヌクレオチド１１３８－２１９９）を記載する；５）ＨＰｇＶ－２のＸタンパク質のアミノ酸配列（配列番号３３７）を示し、ＨＰｇＶ－２のＸタンパク質の核酸配列（配列番号３０２のヌクレオチド２２００－２９１０）を記載する。

【図２０Ｂ】ＡＢＴ０２３９ＡＮ．ＵＳと呼ばれるＨＰｇＶ－２単離物由来の種々のタンパク質のアミノ酸配列、ならびに対応する核酸コード配列を示す図である。１）ＨＰｇＶ－２のＮＳ２タンパク質のアミノ酸配列（配列番号３３８）を示し、ＨＰｇＶ－２のＮＳ２タンパク質の核酸配列（配列番号３０２のヌクレオチド２９１１－３６３０）を記載する；２）ＨＰｇＶ－２のＮＳ３タンパク質のアミノ酸配列（配列番号３３９）を示し、ＨＰｇＶ－２のＮＳ３タンパク質の核酸配列（配列番号３０２のヌクレオチド３６３１－５５１４）を記載する；３）ＨＰｇＶ－２のＮＳ４Ａタンパク質のアミノ酸配列（配列番号３４０）を示し、ＨＰｇＶ－２のＮＳ４Ａタンパク質の核酸配列（配列番号３０２のヌクレオチド５５１５－５６３７）を記載する；４）ＨＰｇＶ－２のＮＳ４Ｂタンパク質のアミノ酸配列（配列番号３４１）を示し、ＨＰｇＶ－２のＮＳ４Ｂタンパク質の核酸配列（配列番号３０２のヌクレオチド５６３８－６４２３）を記載する。

【図２０Ｃ】ＡＢＴ０２３９ＡＮ．ＵＳと呼ばれるＨＰｇＶ－２単離物由来の種々のタンパク質のアミノ酸配列、ならびに対応する核酸コード配列を示す図である。１）ＨＰｇＶ－２のＮＳ５Ａタンパク質のアミノ酸配列（配列番号３４２）を示し、ＨＰｇＶ－２のＮＳ５Ａタンパク質の核酸配列（配列番号３０２のヌクレオチド６４２４－７７９７）を記載する；２）ＨＰｇＶ－２のＮＳ５Ｂタンパク質のアミノ酸配列（配列番号３４３）を示

し、ＨＰｇＶ－２のＮＳ５Ｂタンパク質の核酸配列（配列番号３０２のヌクレオチド７７９８－９４９８）を記載する；３）ＨＰｇＶ－２の３’ＵＴＲの少なくとも一部分の核酸配列（配列番号３０２のヌクレオチド９４９９－９８６７）を記載する。

【図２１Ａ】配列番号３０３で示され、図１で提供されるＵＣ０１２５（配列番号１）の伸長バージョンである（例えば、５’ＵＴＲが伸長した）、ＵＣ０１２５．ＵＳと呼ばれるＨＰｇＶ－２単離物のゲノム核酸配列を提供する図である。ＨＰｇＶ－２ゲノムはプラス鎖ＲＮＡ配列であることが理解される。配列番号３０３は、ウラシルをチミンとして示している。

【図２１Ｂ】配列番号３０３で示され、実施例１で提供されるＵＣ０１２５（配列番号１）の伸長バージョンである（例えば、５’ＵＴＲが伸長した）、ＵＣ０１２５．ＵＳと呼ばれるＨＰｇＶ－２単離物のゲノム核酸配列を提供する図である。ＨＰｇＶ－２ゲノムはプラス鎖ＲＮＡ配列であることが理解される。配列番号３０３は、ウラシルをチミンとして示している。

【図２１Ｃ】配列番号３０３で示され、実施例１で提供されるＵＣ０１２５（配列番号１）の伸長バージョンである（例えば、５’ＵＴＲが伸長した）、ＵＣ０１２５．ＵＳと呼ばれるＨＰｇＶ－２単離物のゲノム核酸配列を提供する図である。ＨＰｇＶ－２ゲノムはプラス鎖ＲＮＡ配列であることが理解される。配列番号３０３は、ウラシルをチミンとして示している。

【図２２Ａ】ＵＣ０１２５．ＵＳと呼ばれるＨＰｇＶ－２単離物由来の種々のタンパク質のアミノ酸配列、ならびに対応する核酸コード配列を示す図である。１）５’ＵＴＲ配列（配列番号３０３のヌクレオチド１－３２７）を記載する；２）ＨＰｇＶ－２のＳタンパク質のアミノ酸配列（配列番号３４４）を示し、ＨＰｇＶ－２のＳタンパク質の核酸配列（配列番号３０３のヌクレオチド３２８－５６４）を記載する；３）ＨＰｇＶ－２のＥ１タンパク質のアミノ酸配列（配列番号３４５）を示し、ＨＰｇＶ－２のＥ１タンパク質の核酸配列（配列番号３０３のヌクレオチド５６５－１１３７）を記載する；４）ＨＰｇＶ－２のＥ２タンパク質のアミノ酸配列（配列番号３４６）を示し、ＨＰｇＶ－２のＥ２タンパク質の核酸配列（配列番号３０３のヌクレオチド１１３８－２１９９）を記載する；５）ＨＰｇＶ－２のＸタンパク質のアミノ酸配列（配列番号３４７）を示し、ＨＰｇＶ－２のＸタンパク質の核酸配列（配列番号３０３のヌクレオチド２２００－２９１０）を記載する。

【図２２Ｂ】ＵＣ０１２５．ＵＳと呼ばれるＨＰｇＶ－２単離物由来の種々のタンパク質のアミノ酸配列、ならびに対応する核酸コード配列を示す図である。１）ＨＰｇＶ－２のＮＳ２タンパク質のアミノ酸配列（配列番号３４８）を示し、ＨＰｇＶ－２のＮＳ２タンパク質の核酸配列（配列番号３０３のヌクレオチド２９１１－３６３０）を記載する；２）ＨＰｇＶ－２のＮＳ３タンパク質のアミノ酸配列（配列番号３４９）を示し、ＨＰｇＶ－２のＮＳ３タンパク質の核酸配列（配列番号３０３のヌクレオチド３６３１－５５１４）を記載する；３）ＨＰｇＶ－２のＮＳ４Ａタンパク質のアミノ酸配列（配列番号３５０）を示し、ＨＰｇＶ－２のＮＳ４Ａタンパク質の核酸配列（配列番号３０３のヌクレオチド５５１５－５６３７）を記載する；４）ＨＰｇＶ－２のＮＳ４Ｂタンパク質のアミノ酸配列（配列番号３５１）を示し、ＨＰｇＶ－２のＮＳ４Ｂタンパク質の核酸配列（配列番号３０３のヌクレオチド５６３８－６４２３）を記載する。

【図２２Ｃ】ＵＣ０１２５．ＵＳと呼ばれるＨＰｇＶ－２単離物由来の種々のタンパク質のアミノ酸配列、ならびに対応する核酸コード配列を示す図である。１）ＨＰｇＶ－２のＮＳ５Ａタンパク質のアミノ酸配列（配列番号３５２）を示し、ＨＰｇＶ－２のＮＳ５Ａタンパク質の核酸配列（配列番号３０３のヌクレオチド６４２４－７７９７）を記載する；２）ＨＰｇＶ－２のＮＳ５Ｂタンパク質のアミノ酸配列（配列番号３５３）を示し、ＨＰｇＶ－２のＮＳ５Ｂタンパク質の核酸配列（配列番号３０３のヌクレオチド７７９８－９４９８）を記載する。および３）ＨＰｇＶ－２の３’ＵＴＲの少なくとも一部分の核酸配列（配列番号３０３のヌクレオチド９４９９－９８６７）を記載する。

【図２３Ａ】ＨＰｇＶ－２バリアントであるＵＣ０１２５、ＡＢＴ００７０Ｐ、ＡＲＣ２

９ｖ３６（ＡＢＴ００２９Ａ）、ＡＲＣＮＡＴ２３９（ＡＢＴ０２３９ＡＮ）、ＡＲＣ１２８（ＡＢＴ０１２８Ａ）、ＰＭＤｘ９６（ＡＢＴ００９６Ｐ）およびＡＲＣ５５（ＡＢＴ００５５Ａ）のゲノムまたは部分的ゲノムと大部分のコンセンサス配列（配列番号２９９）とのアラインメントを示す図である。

【図２３Ｂ】ＨＰｇＶ－２バリアントであるＵＣ０１２５、ＡＢＴ００７０Ｐ、ＡＲＣ２９ｖ３６（ＡＢＴ００２９Ａ）、ＡＲＣＮＡＴ２３９（ＡＢＴ０２３９ＡＮ）、ＡＲＣ１２８（ＡＢＴ０１２８Ａ）、ＰＭＤｘ９６（ＡＢＴ００９６Ｐ）およびＡＲＣ５５（ＡＢＴ００５５Ａ）のゲノムまたは部分的ゲノムと大部分のコンセンサス配列（配列番号２９９）とのアラインメントを示す図である。

【図２３Ｃ】ＨＰｇＶ－２バリアントであるＵＣ０１２５、ＡＢＴ００７０Ｐ、ＡＲＣ２９ｖ３６（ＡＢＴ００２９Ａ）、ＡＲＣＮＡＴ２３９（ＡＢＴ０２３９ＡＮ）、ＡＲＣ１２８（ＡＢＴ０１２８Ａ）、ＰＭＤｘ９６（ＡＢＴ００９６Ｐ）およびＡＲＣ５５（ＡＢＴ００５５Ａ）のゲノムまたは部分的ゲノムと大部分のコンセンサス配列（配列番号２９９）とのアラインメントを示す図である。

【図２３Ｄ】ＨＰｇＶ－２バリアントであるＵＣ０１２５、ＡＢＴ００７０Ｐ、ＡＲＣ２９ｖ３６（ＡＢＴ００２９Ａ）、ＡＲＣＮＡＴ２３９（ＡＢＴ０２３９ＡＮ）、ＡＲＣ１２８（ＡＢＴ０１２８Ａ）、ＰＭＤｘ９６（ＡＢＴ００９６Ｐ）およびＡＲＣ５５（ＡＢＴ００５５Ａ）のゲノムまたは部分的ゲノムと大部分のコンセンサス配列（配列番号２９９）とのアラインメントを示す図である。

【図２３Ｅ】ＨＰｇＶ－２バリアントであるＵＣ０１２５、ＡＢＴ００７０Ｐ、ＡＲＣ２９ｖ３６（ＡＢＴ００２９Ａ）、ＡＲＣＮＡＴ２３９（ＡＢＴ０２３９ＡＮ）、ＡＲＣ１２８（ＡＢＴ０１２８Ａ）、ＰＭＤｘ９６（ＡＢＴ００９６Ｐ）およびＡＲＣ５５（ＡＢＴ００５５Ａ）のゲノムまたは部分的ゲノムと大部分のコンセンサス配列（配列番号２９９）とのアラインメントを示す図である。

【図２３Ｆ】ＨＰｇＶ－２バリアントであるＵＣ０１２５、ＡＢＴ００７０Ｐ、ＡＲＣ２９ｖ３６（ＡＢＴ００２９Ａ）、ＡＲＣＮＡＴ２３９（ＡＢＴ０２３９ＡＮ）、ＡＲＣ１２８（ＡＢＴ０１２８Ａ）、ＰＭＤｘ９６（ＡＢＴ００９６Ｐ）およびＡＲＣ５５（ＡＢＴ００５５Ａ）のゲノムまたは部分的ゲノムと大部分のコンセンサス配列（配列番号２９９）とのアラインメントを示す図である。

【図２３Ｇ】ＨＰｇＶ－２バリアントであるＵＣ０１２５、ＡＢＴ００７０Ｐ、ＡＲＣ２９ｖ３６（ＡＢＴ００２９Ａ）、ＡＲＣＮＡＴ２３９（ＡＢＴ０２３９ＡＮ）、ＡＲＣ１２８（ＡＢＴ０１２８Ａ）、ＰＭＤｘ９６（ＡＢＴ００９６Ｐ）およびＡＲＣ５５（ＡＢＴ００５５Ａ）のゲノムまたは部分的ゲノムと大部分のコンセンサス配列（配列番号２９９）とのアラインメントを示す図である。

【図２３Ｈ】ＨＰｇＶ－２バリアントであるＵＣ０１２５、ＡＢＴ００７０Ｐ、ＡＲＣ２９ｖ３６（ＡＢＴ００２９Ａ）、ＡＲＣＮＡＴ２３９（ＡＢＴ０２３９ＡＮ）、ＡＲＣ１２８（ＡＢＴ０１２８Ａ）、ＰＭＤｘ９６（ＡＢＴ００９６Ｐ）およびＡＲＣ５５（ＡＢＴ００５５Ａ）のゲノムまたは部分的ゲノムと大部分のコンセンサス配列（配列番号２９９）とのアラインメントを示す図である。

【図２３Ｉ】ＨＰｇＶ－２バリアントであるＵＣ０１２５、ＡＢＴ００７０Ｐ、ＡＲＣ２９ｖ３６（ＡＢＴ００２９Ａ）、ＡＲＣＮＡＴ２３９（ＡＢＴ０２３９ＡＮ）、ＡＲＣ１２８（ＡＢＴ０１２８Ａ）、ＰＭＤｘ９６（ＡＢＴ００９６Ｐ）およびＡＲＣ５５（ＡＢＴ００５５Ａ）のゲノムまたは部分的ゲノムと大部分のコンセンサス配列（配列番号２９９）とのアラインメントを示す図である。

【図２３Ｊ】ＨＰｇＶ－２バリアントであるＵＣ０１２５、ＡＢＴ００７０Ｐ、ＡＲＣ２９ｖ３６（ＡＢＴ００２９Ａ）、ＡＲＣＮＡＴ２３９（ＡＢＴ０２３９ＡＮ）、ＡＲＣ１２８（ＡＢＴ０１２８Ａ）、ＰＭＤｘ９６（ＡＢＴ００９６Ｐ）およびＡＲＣ５５（ＡＢＴ００５５Ａ）のゲノムまたは部分的ゲノムと大部分のコンセンサス配列（配列番号２９９）とのアラインメントを示す図である。

【図２３Ｋ】ＨＰｇＶ－２バリアントであるＵＣ０１２５、ＡＢＴ００７０Ｐ、ＡＲＣ２

９ｖ３６（ＡＢＴ００２９Ａ）、ＡＲＣＮＡＴ２３９（ＡＢＴ０２３９ＡＮ）、ＡＲＣ１２８（ＡＢＴ０１２８Ａ）、ＰＭＤｘ９６（ＡＢＴ００９６Ｐ）およびＡＲＣ５５（ＡＢＴ００５５Ａ）のゲノムまたは部分的ゲノムと大部分のコンセンサス配列（配列番号２９９）とのアラインメントを示す図である。

【図２３Ｌ】ＨＰｇＶ－２バリアントであるＵＣ０１２５、ＡＢＴ００７０Ｐ、ＡＲＣ２９ｖ３６（ＡＢＴ００２９Ａ）、ＡＲＣＮＡＴ２３９（ＡＢＴ０２３９ＡＮ）、ＡＲＣ１２８（ＡＢＴ０１２８Ａ）、ＰＭＤｘ９６（ＡＢＴ００９６Ｐ）およびＡＲＣ５５（ＡＢＴ００５５Ａ）のゲノムまたは部分的ゲノムと大部分のコンセンサス配列（配列番号２９９）とのアラインメントを示す図である。

【図２３Ｍ】ＨＰｇＶ－２バリアントであるＵＣ０１２５、ＡＢＴ００７０Ｐ、ＡＲＣ２９ｖ３６（ＡＢＴ００２９Ａ）、ＡＲＣＮＡＴ２３９（ＡＢＴ０２３９ＡＮ）、ＡＲＣ１２８（ＡＢＴ０１２８Ａ）、ＰＭＤｘ９６（ＡＢＴ００９６Ｐ）およびＡＲＣ５５（ＡＢＴ００５５Ａ）のゲノムまたは部分的ゲノムと大部分のコンセンサス配列（配列番号２９９）とのアラインメントを示す図である。

【図２３Ｎ】ＨＰｇＶ－２バリアントであるＵＣ０１２５、ＡＢＴ００７０Ｐ、ＡＲＣ２９ｖ３６（ＡＢＴ００２９Ａ）、ＡＲＣＮＡＴ２３９（ＡＢＴ０２３９ＡＮ）、ＡＲＣ１２８（ＡＢＴ０１２８Ａ）、ＰＭＤｘ９６（ＡＢＴ００９６Ｐ）およびＡＲＣ５５（ＡＢＴ００５５Ａ）のゲノムまたは部分的ゲノムと大部分のコンセンサス配列（配列番号２９９）とのアラインメントを示す図である。

【図２３Ｏ】ＨＰｇＶ－２バリアントであるＵＣ０１２５、ＡＢＴ００７０Ｐ、ＡＲＣ２９ｖ３６（ＡＢＴ００２９Ａ）、ＡＲＣＮＡＴ２３９（ＡＢＴ０２３９ＡＮ）、ＡＲＣ１２８（ＡＢＴ０１２８Ａ）、ＰＭＤｘ９６（ＡＢＴ００９６Ｐ）およびＡＲＣ５５（ＡＢＴ００５５Ａ）のゲノムまたは部分的ゲノムと大部分のコンセンサス配列（配列番号２９９）とのアラインメントを示す図である。

【図２３Ｐ】ＨＰｇＶ－２バリアントであるＵＣ０１２５、ＡＢＴ００７０Ｐ、ＡＲＣ２９ｖ３６（ＡＢＴ００２９Ａ）、ＡＲＣＮＡＴ２３９（ＡＢＴ０２３９ＡＮ）、ＡＲＣ１２８（ＡＢＴ０１２８Ａ）、ＰＭＤｘ９６（ＡＢＴ００９６Ｐ）およびＡＲＣ５５（ＡＢＴ００５５Ａ）のゲノムまたは部分的ゲノムと大部分のコンセンサス配列（配列番号２９９）とのアラインメントを示す図である。

【図２３Ｑ】ＨＰｇＶ－２バリアントであるＵＣ０１２５、ＡＢＴ００７０Ｐ、ＡＲＣ２９ｖ３６（ＡＢＴ００２９Ａ）、ＡＲＣＮＡＴ２３９（ＡＢＴ０２３９ＡＮ）、ＡＲＣ１２８（ＡＢＴ０１２８Ａ）、ＰＭＤｘ９６（ＡＢＴ００９６Ｐ）およびＡＲＣ５５（ＡＢＴ００５５Ａ）のゲノムまたは部分的ゲノムと大部分のコンセンサス配列（配列番号２９９）とのアラインメントを示す図である。

【図２３Ｒ】ＨＰｇＶ－２バリアントであるＵＣ０１２５、ＡＢＴ００７０Ｐ、ＡＲＣ２９ｖ３６（ＡＢＴ００２９Ａ）、ＡＲＣＮＡＴ２３９（ＡＢＴ０２３９ＡＮ）、ＡＲＣ１２８（ＡＢＴ０１２８Ａ）、ＰＭＤｘ９６（ＡＢＴ００９６Ｐ）およびＡＲＣ５５（ＡＢＴ００５５Ａ）のゲノムまたは部分的ゲノムと大部分のコンセンサス配列（配列番号２９９）とのアラインメントを示す図である。

【図２３Ｓ】ＨＰｇＶ－２バリアントであるＵＣ０１２５、ＡＢＴ００７０Ｐ、ＡＲＣ２９ｖ３６（ＡＢＴ００２９Ａ）、ＡＲＣＮＡＴ２３９（ＡＢＴ０２３９ＡＮ）、ＡＲＣ１２８（ＡＢＴ０１２８Ａ）、ＰＭＤｘ９６（ＡＢＴ００９６Ｐ）およびＡＲＣ５５（ＡＢＴ００５５Ａ）のゲノムまたは部分的ゲノムと大部分のコンセンサス配列（配列番号２９９）とのアラインメントを示す図である。

【図２３Ｔ】ＨＰｇＶ－２バリアントであるＵＣ０１２５、ＡＢＴ００７０Ｐ、ＡＲＣ２９ｖ３６（ＡＢＴ００２９Ａ）、ＡＲＣＮＡＴ２３９（ＡＢＴ０２３９ＡＮ）、ＡＲＣ１２８（ＡＢＴ０１２８Ａ）、ＰＭＤｘ９６（ＡＢＴ００９６Ｐ）およびＡＲＣ５５（ＡＢＴ００５５Ａ）のゲノムまたは部分的ゲノムと大部分のコンセンサス配列（配列番号２９９）とのアラインメントを示す図である。

【図２３Ｕ】ＨＰｇＶ－２バリアントであるＵＣ０１２５、ＡＢＴ００７０Ｐ、ＡＲＣ２

９ｖ３６（ＡＢＴ００２９Ａ）、ＡＲＣＮＡＴ２３９（ＡＢＴ０２３９ＡＮ）、ＡＲＣ１２８（ＡＢＴ０１２８Ａ）、ＰＭＤｘ９６（ＡＢＴ００９６Ｐ）およびＡＲＣ５５（ＡＢＴ００５５Ａ）のゲノムまたは部分的ゲノムと大部分のコンセンサス配列（配列番号２９９）とのアラインメントを示す図である。

【図２３Ｖ】ＨＰｇＶ－２バリアントであるＵＣ０１２５、ＡＢＴ００７０Ｐ、ＡＲＣ２９ｖ３６（ＡＢＴ００２９Ａ）、ＡＲＣＮＡＴ２３９（ＡＢＴ０２３９ＡＮ）、ＡＲＣ１２８（ＡＢＴ０１２８Ａ）、ＰＭＤｘ９６（ＡＢＴ００９６Ｐ）およびＡＲＣ５５（ＡＢＴ００５５Ａ）のゲノムまたは部分的ゲノムと大部分のコンセンサス配列（配列番号２９９）とのアラインメントを示す図である。

【図２３Ｗ】ＨＰｇＶ－２バリアントであるＵＣ０１２５、ＡＢＴ００７０Ｐ、ＡＲＣ２９ｖ３６（ＡＢＴ００２９Ａ）、ＡＲＣＮＡＴ２３９（ＡＢＴ０２３９ＡＮ）、ＡＲＣ１２８（ＡＢＴ０１２８Ａ）、ＰＭＤｘ９６（ＡＢＴ００９６Ｐ）およびＡＲＣ５５（ＡＢＴ００５５Ａ）のゲノムまたは部分的ゲノムと大部分のコンセンサス配列（配列番号２９９）とのアラインメントを示す図である。

【図２３Ｘ】ＨＰｇＶ－２バリアントであるＵＣ０１２５、ＡＢＴ００７０Ｐ、ＡＲＣ２９ｖ３６（ＡＢＴ００２９Ａ）、ＡＲＣＮＡＴ２３９（ＡＢＴ０２３９ＡＮ）、ＡＲＣ１２８（ＡＢＴ０１２８Ａ）、ＰＭＤｘ９６（ＡＢＴ００９６Ｐ）およびＡＲＣ５５（ＡＢＴ００５５Ａ）のゲノムまたは部分的ゲノムと大部分のコンセンサス配列（配列番号２９９）とのアラインメントを示す図である。

【図２３Ｙ】ＨＰｇＶ－２バリアントであるＵＣ０１２５、ＡＢＴ００７０Ｐ、ＡＲＣ２９ｖ３６（ＡＢＴ００２９Ａ）、ＡＲＣＮＡＴ２３９（ＡＢＴ０２３９ＡＮ）、ＡＲＣ１２８（ＡＢＴ０１２８Ａ）、ＰＭＤｘ９６（ＡＢＴ００９６Ｐ）およびＡＲＣ５５（ＡＢＴ００５５Ａ）のゲノムまたは部分的ゲノムと大部分のコンセンサス配列（配列番号２９９）とのアラインメントを示す図である。

【図２３Ｚ】ＨＰｇＶ－２バリアントであるＵＣ０１２５、ＡＢＴ００７０Ｐ、ＡＲＣ２９ｖ３６（ＡＢＴ００２９Ａ）、ＡＲＣＮＡＴ２３９（ＡＢＴ０２３９ＡＮ）、ＡＲＣ１２８（ＡＢＴ０１２８Ａ）、ＰＭＤｘ９６（ＡＢＴ００９６Ｐ）およびＡＲＣ５５（ＡＢＴ００５５Ａ）のゲノムまたは部分的ゲノムと大部分のコンセンサス配列（配列番号２９９）とのアラインメントを示す図である。

【図２３ＡＡ】ＨＰｇＶ－２バリアントであるＵＣ０１２５、ＡＢＴ００７０Ｐ、ＡＲＣ２９ｖ３６（ＡＢＴ００２９Ａ）、ＡＲＣＮＡＴ２３９（ＡＢＴ０２３９ＡＮ）、ＡＲＣ１２８（ＡＢＴ０１２８Ａ）、ＰＭＤｘ９６（ＡＢＴ００９６Ｐ）およびＡＲＣ５５（ＡＢＴ００５５Ａ）のゲノムまたは部分的ゲノムと大部分のコンセンサス配列（配列番号２９９）とのアラインメントを示す図である。

【図２３ＢＢ】ＨＰｇＶ－２バリアントであるＵＣ０１２５、ＡＢＴ００７０Ｐ、ＡＲＣ２９ｖ３６（ＡＢＴ００２９Ａ）、ＡＲＣＮＡＴ２３９（ＡＢＴ０２３９ＡＮ）、ＡＲＣ１２８（ＡＢＴ０１２８Ａ）、ＰＭＤｘ９６（ＡＢＴ００９６Ｐ）およびＡＲＣ５５（ＡＢＴ００５５Ａ）のゲノムまたは部分的ゲノムと大部分のコンセンサス配列（配列番号２９９）とのアラインメントを示す図である。

【図２３ＣＣ】ＨＰｇＶ－２バリアントであるＵＣ０１２５、ＡＢＴ００７０Ｐ、ＡＲＣ２９ｖ３６（ＡＢＴ００２９Ａ）、ＡＲＣＮＡＴ２３９（ＡＢＴ０２３９ＡＮ）、ＡＲＣ１２８（ＡＢＴ０１２８Ａ）、ＰＭＤｘ９６（ＡＢＴ００９６Ｐ）およびＡＲＣ５５（ＡＢＴ００５５Ａ）のゲノムまたは部分的ゲノムと大部分のコンセンサス配列（配列番号２９９）とのアラインメントを示す図である。

【図２３ＤＤ】ＨＰｇＶ－２バリアントであるＵＣ０１２５、ＡＢＴ００７０Ｐ、ＡＲＣ２９ｖ３６（ＡＢＴ００２９Ａ）、ＡＲＣＮＡＴ２３９（ＡＢＴ０２３９ＡＮ）、ＡＲＣ１２８（ＡＢＴ０１２８Ａ）、ＰＭＤｘ９６（ＡＢＴ００９６Ｐ）およびＡＲＣ５５（ＡＢＴ００５５Ａ）のゲノムまたは部分的ゲノムと大部分のコンセンサス配列（配列番号２９９）とのアラインメントを示す図である。

【図２３ＥＥ】ＨＰｇＶ－２バリアントであるＵＣ０１２５、ＡＢＴ００７０Ｐ、ＡＲＣ

２９ｖ３６（ＡＢＴ００２９Ａ）、ＡＲＣＮＡＴ２３９（ＡＢＴ０２３９ＡＮ）、ＡＲＣ１２８（ＡＢＴ０１２８Ａ）、ＰＭＤｘ９６（ＡＢＴ００９６Ｐ）およびＡＲＣ５５（ＡＢＴ００５５Ａ）のゲノムまたは部分的ゲノムと大部分のコンセンサス配列（配列番号２９９）とのアラインメントを示す図である。

【図２４Ａ】ＨＰｇＶ－２　Ｅ－Ｅ２発現プラスミドでトランスフェクトした２９３Ｆ細胞の抗Ｈｉｓウェスタンブロットを示す図である。上清を回収し、濃縮した。細胞を試料バッファー（２×Ｌａｅｍｍｌｉ試料バッファー＋２－メルカプトエタノール（ＢｉｏＲａｄ、Ｈｅｒｃｕｌｅｓ、ＣＡ、ＵＳＡ））中で溶解した。試料を４－１２％ＳＤＳ－ＰＡＧＥゲル上で泳動し、ＰＤＶＦ膜に転写した。Ｗｅｓｔｅｒｎ　Ｂｒｅｅｚｅキットおよび抗Ｈｉｓ（Ｃ－末端）／アルカリホスファターゼ一次抗体（Ｎｏｖｅｘ　ｂｙ　Ｌｉｆｅ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ、Ｃａｒｌｓｂａｄ、ＣＡ、ＵＳＡ）を用いてウェスタンブロットを実施した。

【図２４Ｂ】ＨＰｇＶ－２　Ｅ２の精製を示す図である。濃縮したＨＰｇＶ－２　Ｅ２上清をニッケルカラムに流し、２５０ｍＭイミダゾールで溶離した。β－メルカプトエタノールを含むＬａｅｍｅｌｌｉ試料バッファーでプレカラム濃縮物、フロースルー、洗浄および溶出したタンパク質の画分を１：２に希釈し、４－１２％ＳＤＳ－ＰＡＧＥゲル上で泳動させ、続いて、Ｏｒｉｏｌｅタンパク質染色（ＢｉｏＲａｄ　、Ｈｅｒｃｕｌｅｓ、ＣＡ、ＵＳＡ）を用いて視覚化した。矢印は、精製ＨＰｇＶ－２　Ｅ２を示す。

【図２４Ｃ】精製ＨＰｇＶ－２　Ｅ２のウェスタンブロットを示す図である。β－メルカプトエタノールを含むＬａｅｍｅｌｌｉ試料バッファーで１：２に希釈した画分を上記のように４－１２％ＳＤＳ－ＰＡＧＥゲル上で泳動させ、ＰＤＶＦ膜に転写した。Ｗｅｓｔｅｒｎ　Ｂｒｅｅｚｅキットおよび抗Ｈｉｓ（Ｃ末端）／アルカリホスファターゼ一次抗体（Ｌｉｆｅ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ、Ｃａｒｌｓｂａｄ、ＣＡ、米国のＮｏｖｅｘ）を用いてウェスタンブロットを実施した。矢印は、精製ＨＰｇＶ－２　Ｅ２を示す。

【図２４Ｄ】ＨＰｇＶ－２　Ｅ２グリコシル化のＰＮＧａｓｅ　Ｆ除去を示す図である。精製ＨＰｇＶ－２　Ｅ２を変性し、ＰＮＧａｓｅＦとともにインキュベートし、続いて、１０％ＳＤＳ－ＰＡＧＥゲル上での電気泳動によって分離した。

【図２５】糖タンパク質Ｅ２についてのＨＰｇＶ－２　ＰＣＲ＋試料の血清反応性を示す図である。精製ＨＰｇＶ－２　Ｅ２をニトロセルロース膜に結合させ、血清の１：１００希釈液（上記の試料）でプローブした。ストリップブロットを洗浄し、ヤギ抗ヒトアルカリホスファターゼ二次抗体およびＢＣＩＰ／ＮＢＴクロマゲン基質を用いて可視化した。すべての試料は、メンブレン上でヒトＩｇＧと反応性であったが、ＨＰｇＶ－２　ＰＣＲ＋試料だけが精製Ｅ２と反応性であった。試料ＡＢＴ００９６Ｐ、ＡＢＴ００７０Ｐ、ＡＢＴ０１８８ＰはＰｒｏＭｅｄＤｘからであり、ＡＢＴ００５５ＡはＡｍｅｒｉｃａｎ　Ｒｅｄ　Ｃｒｏｓｓ（ＡＲＣ）からであった。

【図２６】異種タンパク質ではなく、同種タンパク質とのスロットブロットにおける免疫反応性のブロックを示す図である。１５μｌの試料ＡＢＴ００５５Ａは、全量が１００μｌの試料希釈液（２０ｍＭ　ＴＲＩＳ－ＨＣｌ、０．５Ｍ　ＮａＣｌ、０．３％Ｔｗｅｅｎ－２０　ｐＨ８、５％脱脂粉乳、１０％熱不活性化新生ウシ血清）中のＰＢＳ、１０μｇのＨＰｇＶ－２　Ｅ２または１０μｇのＨＰｇＶ－１　Ｅ２とともに、回転させながら１時間、室温（２５℃）にてインキュベートさせた。試料を１．４ｍｌの試料希釈液で希釈し、次に、ヒトＩｇＧ、ＨＰｇＶ－２　Ｅ２（１０μｇおよび１００μｇ）、ならびにＨＰｇＶ－１　Ｅ２（１０μｇおよび１００μｇ）と結合させた、あらかじめ作製したスロットブロットとともにインキュベートした。結合した抗体を、アルカリホスファターゼにコンジュゲートした抗ヒトＩｇＧで検出した。

【図２７】試料ＡＢＴ００５５Ａ、ＡＢＴ００９６Ｐ、ＡＢＴ０１８８Ｐを、結合したＮＳ４ＡＢタンパク質を含むニトロセルロース膜とともにインキュベートしたことを示す図である。示されたタンパク質に対する抗体は、各々の試料について暗い線として示される。

【図２８】材料および方法に記載されたｑＰＣＲスクリーニングのために新たに設計され

たＴｒｉ－ｐｌｅｘマスターミックスの結果を示す図である。ＰｒｏＭｅｄＤｘから得られた１００個のＨＩＶ陽性検体のパネルをｍ２０００ｓｐで抽出し、ＲＮＡをｍ２０００ｒｔのサーモサイクリング用のＴｒｉ－ｐｌｅｘマスターミックスと組み合わせた。６つの検体は、ＶＩＣチャネルの５’ＵＴＲの検出により、ＨＰＧＶ－１（ＧＢＶ－Ｃ）ＲＮＡに対して陽性であった。４つの同一の検体は、ＨＰｇＶ－２　ＲＮＡに対して陽性であり、ＣＹ５（５’ＵＴＲ）およびＦＡＭ（ＮＳ２）チャネルで検出された。これら４つの検体（ＰＭＤｘ３０、３３、３５、４１）は、同じ患者からの２つの出血を表す（例えば、３０＝３３、３５＝４１）。サンガー配列決定により、ＨＰｇＶ－２　ＲＮＡの存在および同じ患者由来の配列の同一性が確認された。

【図２９Ａ】配列番号４１９で示される、ＡＢＴ００３０Ｐ．ＵＳと呼ばれるＨＰｇＶ－２単離物のゲノム核酸配列を提供する図である。ＨＰｇＶ－２ゲノムは、プラス鎖ＲＮＡ配列であることが理解される。配列番号４１９は、ウラシルをチミンとして示している。

【図２９Ｂ】配列番号４１９で示される、ＡＢＴ００３０Ｐ．ＵＳと呼ばれるＨＰｇＶ－２単離物のゲノム核酸配列を提供する図である。ＨＰｇＶ－２ゲノムは、プラス鎖ＲＮＡ配列であることが理解される。配列番号４１９は、ウラシルをチミンとして示している。

【図２９Ｃ】配列番号４１９で示される、ＡＢＴ００３０Ｐ．ＵＳと呼ばれるＨＰｇＶ－２単離物のゲノム核酸配列を提供する図である。ＨＰｇＶ－２ゲノムは、プラス鎖ＲＮＡ配列であることが理解される。配列番号４１９は、ウラシルをチミンとして示している。

【図３０Ａ】ＡＢＴ００３０Ｐ．ＵＳと呼ばれるＨＰｇＶ－２単離物由来の種々のタンパク質のアミノ酸配列、ならびに対応する核酸コード配列を示す図である。１）５’ＵＴＲ配列（配列番号４１９のヌクレオチド１－３２７）を記載する；２）ＨＰｇＶ－２のＳタンパク質のアミノ酸配列（配列番号４２０）を示し、ＨＰｇＶ－２のＳタンパク質の核酸配列（配列番号４１９のヌクレオチド３２８－５６４）を記載する；３）ＨＰｇＶ－２のＥ１タンパク質のアミノ酸配列（配列番号４２１）を示し、ＨＰｇＶ－２のＥ１タンパク質の核酸配列（配列番号４１９のヌクレオチド５６５－１１３７）を記載する；４）ＨＰｇＶ－２のＥ２タンパク質のアミノ酸配列（配列番号４２２）を示し、ＨＰｇＶ－２のＥ２タンパク質の核酸配列（配列番号４１９のヌクレオチド１１３８－２１９９）を記載する；５）ＨＰｇＶ－２のＸタンパク質のアミノ酸配列（配列番号４２３）を示し、ＨＰｇＶ－２のＸタンパク質の核酸配列（配列番号４１９のヌクレオチド２２００－２９１０）を記載する。

【図３０Ｂ】ＡＢＴ００３０Ｐ．ＵＳと呼ばれるＨＰｇＶ－２単離物由来の種々のタンパク質のアミノ酸配列、ならびに対応する核酸コード配列を示す図である。１）ＨＰｇＶ－２のＮＳ２タンパク質のアミノ酸配列（配列番号４２４）を示し、ＨＰｇＶ－２のＮＳ２タンパク質の核酸配列（配列番号４１９のヌクレオチド２９１１－３６３０）を記載する；２）ＨＰｇＶ－２のＮＳ３タンパク質のアミノ酸配列（配列番号４２５）を示し、ＨＰｇＶ－２のＮＳ３タンパク質の核酸配列（配列番号４１９のヌクレオチド３６３１－５５１４）を記載する；３）ＨＰｇＶ－２のＮＳ４Ａタンパク質のアミノ酸配列（配列番号４２６）を示し、ＨＰｇＶ－２のＮＳ４Ａタンパク質の核酸配列（配列番号４１９のヌクレオチド５５１５－５６３７）を記載する；４）ＨＰｇＶ－２のＮＳ４Ｂタンパク質のアミノ酸配列（配列番号４２７）を示し、ＨＰｇＶ－２のＮＳ４Ｂタンパク質の核酸配列（配列番号４１９のヌクレオチド５６３８－６４２３）を記載する。

【図３０Ｃ】ＡＢＴ００３０Ｐ．ＵＳと呼ばれるＨＰｇＶ－２単離物由来の種々のタンパク質のアミノ酸配列、ならびに対応する核酸コード配列を示す図である。１）ＨＰｇＶ－２のＮＳ５Ａタンパク質のアミノ酸配列（配列番号４２８）を示し、ＨＰｇＶ－２のＮＳ５Ａタンパク質の核酸配列（配列番号４１９のヌクレオチド６４２４－７７９４）を記載する；２）アミノ酸配列（配列番号４２９）を示し、ＨＰｇＶ－２のＮＳ５Ｂタンパク質の核酸配列（配列番号４１９のヌクレオチド７７９５－９４９５）を記載する；３）ＨＰｇＶ－２の３’ＵＴＲの少なくとも一部分の核酸配列（配列番号４１９のヌクレオチド９４９６－９８６４）を記載する。

【図３１Ａ】配列番号４３０で示される、ＡＢＴ００３０Ｐ．ＵＳと呼ばれるＨＰｇＶ－

２単離物のゲノム核酸配列を提供する図である。ＨＰｇＶ－２ゲノムはプラス鎖ＲＮＡ配列であることが理解される。配列番号４３０は、ウラシルをチミンとして示している。
【図３１Ｂ】配列番号４３０で示される、ＡＢＴ００３０Ｐ．ＵＳと呼ばれるＨＰｇＶ－２単離物のゲノム核酸配列を提供する図である。ＨＰｇＶ－２ゲノムはプラス鎖ＲＮＡ配列であることが理解される。配列番号４３０は、ウラシルをチミンとして示している。
【図３１Ｃ】配列番号４３０で示される、ＡＢＴ００３０Ｐ．ＵＳと呼ばれるＨＰｇＶ－２単離物のゲノム核酸配列を提供する図である。ＨＰｇＶ－２ゲノムはプラス鎖ＲＮＡ配列であることが理解される。配列番号４３０は、ウラシルをチミンとして示している。
【図３２Ａ】ＡＢＴ００４１Ｐ．ＵＳと呼ばれるＨＰｇＶ－２単離物由来の種々のタンパク質のアミノ酸配列、ならびに対応する核酸コード配列を示す図である。１）５’ＵＴＲ配列（配列番号４３０のヌクレオチド１－３２７）を記載する；２）ＨＰｇＶ－２のＳタンパク質のアミノ酸配列（配列番号４３１）を示し、ＨＰｇＶ－２のＳタンパク質の核酸配列（配列番号４３０のヌクレオチド３２８－５６４）を記載する；３）ＨＰｇＶ－２のＥ１タンパク質のアミノ酸配列（配列番号４３２）を示し、ＨＰｇＶ－２のＥ１タンパク質の核酸配列（配列番号４３０のヌクレオチド５６５－１１３７）を記載する；４）ＨＰｇＶ－２のＥ２タンパク質のアミノ酸配列（配列番号４３３）を示し、ＨＰｇＶ－２のＥ２タンパク質の核酸配列（配列番号４３０のヌクレオチド１１３８－２１９９）を記載する；５）ＨＰｇＶ－２のＸタンパク質のアミノ酸配列（配列番号４３４）を示し、ＨＰｇＶ－２のＸタンパク質の核酸配列（配列番号４３０のヌクレオチド２２００－２９１０）を記載する。
【図３２Ｂ】ＡＢＴ００４１Ｐ．ＵＳと呼ばれるＨＰｇＶ－２単離物由来の種々のタンパク質のアミノ酸配列、ならびに対応する核酸コード配列を示す図である。１）ＨＰｇＶ－２のＮＳ２タンパク質のアミノ酸配列（配列番号４３５）を示し、ＨＰｇＶ－２のＮＳ２タンパク質の核酸配列（配列番号４３０のヌクレオチド２９１１－３６３０）を記載する；２）ＨＰｇＶ－２のＮＳ３タンパク質のアミノ酸配列（配列番号４３６）を示し、ＨＰｇＶ－２のＮＳ３タンパク質の核酸配列（配列番号４３０のヌクレオチド３６３１－５５１４）を記載する；３）ＨＰｇＶ－２のＮＳ４Ａタンパク質のアミノ酸配列（配列番号４３７）を示し、ＨＰｇＶ－２のＮＳ４Ａタンパク質の核酸配列（配列番号４３０のヌクレオチド５５１５－５６３７）を記載する；４）ＨＰｇＶ－２のＮＳ４Ｂタンパク質のアミノ酸配列（配列番号４３８）を示し、ＨＰｇＶ－２のＮＳ４Ｂタンパク質の核酸配列（配列番号４３０のヌクレオチド５６３８－６４２３）を記載する。
【図３２Ｃ】ＡＢＴ００４１Ｐ．ＵＳと呼ばれるＨＰｇＶ－２単離物由来の種々のタンパク質のアミノ酸配列、ならびに対応する核酸コード配列を示す図である。１）ＨＰｇＶ－２のＮＳ５Ａタンパク質のアミノ酸配列（配列番号４３９）を示し、ＨＰｇＶ－２のＮＳ５Ａタンパク質の核酸配列（配列番号４３０のヌクレオチド６４２４－７７９７）を記載する；２）ＨＰＧＶ－２のＮＳ５Ｂタンパク質のアミノ酸配列（配列番号：４４０）を示し、ＨＰＧＶ－２のＮＳ５Ｂタンパク質の核酸配列（配列番号４３０のヌクレオチド７７９８－９４９８）を記載する；３）は、ＨＰｇＶ－２の３’ＵＴＲの少なくとも一部分の核酸配列（配列番号４３０のヌクレオチド９４９９－９８６７）を記載する。
【発明を実施するための形態】
【００４４】
定義
「試料」および「検体」の語は最も広範な意味において使用され、ヒト患者を含めたあらゆる供給源から得た試料または検体を包含する。本発明の一部の実施形態において、生物学的試料は、組織または細胞、脳脊髄液（ＣＳＦ）、漿液、尿、唾液、血液、ならびに血漿、血清などのような血液製剤を含む。しかし、これらの例は、本明細書に記載する方法および組成物との使用を見出す試料のタイプを限定するものと解釈してはならない。一部の実施形態において、試料は、ＨＣＶおよび／またはＨＩＶに感染していることが分かっている患者からの血液、血清または血漿試料である。
【００４５】

本明細書で使用される、「宿主」、「対象」および「患者」の語は、それだけには限定されないが、研究され、分析され、試験され、診断され、または処置される、ヒトおよび非ヒト動物（例えば、イヌ、ネコ、ウシ、ウマ、ヒツジ、家禽、サカナ、甲殻類など）を含めたあらゆる動物を意味する。本明細書で使用される、「宿主」、「対象」および「患者」の語は、別段の指摘がなければ交換可能に使用される。

【００４６】

本明細書で使用される、「投与」および「投与する」の語は、治療的処置（例えば、免疫原性組成物）を、対象（例えば、対象、またはインビボ、インビトロもしくはエクセビボの細胞、組織および器官）に対して与える行為を意味する。ヒトの身体に対する投与の例示的な経路は、脳または脊髄のくも膜下の空隙（くも膜下腔内）、眼（点眼）、口（経口）、皮膚（局所もしくは経皮）、鼻（経鼻）、肺（吸入）、口腔粘膜（頬側）、耳、直腸、膣を介して、注射などによる（例えば、静脈内、皮下、腫瘍内、腹腔内など）によるものであってよい。

【００４７】

本明細書で使用される、「核酸分子」の語は、それだけには限定されないが、ＤＮＡまたはＲＮＡを含めた、あらゆる核酸含有分子を意味する。この語は、それだけには限定されないが、４－アセチルシトシン、８－ヒドロキシ－Ｎ６－メチルアデノシン、アジリジニルシトシン、シュードイソシトシン、５－（カルボキシヒドロキシメチル）ウラシル、５－フルオロウラシル、５－ブロモウラシル、５－カルボキシメチルアミノメチル－２－チオウラシル、５－カルボキシメチルアミノメチルウラシル、ジヒドロウラシル、イノシン、Ｎ６－イソペンテニルアデニン、１－メチルアデニン、１－メチルシュードウラシル、１－メチルグアニン、１－メチルイノシン、２，２－ジメチルグアニン、２－メチルアデニン、２－メチルグアニン、３－メチルシトシン、５－メチルシトシン、Ｎ６－メチルアデニン、７－メチルグアニン、５－メチルアミノメチルウラシル、５－メトキシ－アミノメチル－２－チオウラシル、ベータ－Ｄ－マンノシルクエオシン、５’－メトキシカルボニルメチルウラシル、５－メトキシウラシル、２－メチルチオ－Ｎ６－イソペンテニルアデニン、ウラシル－５－オキシ酢酸メチルエステル、ウラシル－５－オキシ酢酸、オキシブトキソシン、シュードウラシル、クエオシン、２－チオシトシン、５－メチル－２－チオウラシル、２－チオウラシル、４－チオウラシル、５－メチルウラシル、Ｎ－ウラシル－５－オキシ酢酸メチルエステル、ウラシル－５－オキシ酢酸、シュードウラシル、クエオシン、２－チオシトシン、２，６－ジアミノプリン、２－アミノプリン、５－アミノ－アリルウラシル、５－ヒドロキシメチルシトシン、５－ヨードウラシル、５－ニトロインドール、５－プロピニルシトシン、５－プロピニルウラシル、ヒポキサンチン、Ｎ３－メチルウラシル、Ｎ６，Ｎ６－ジメチルアデニン、プリン、Ｃ－５－プロピニルシトシン、Ｃ－５－プロピニルウラシルおよびジフルオロトウイルを含めた、ＤＮＡおよびＲＮＡのあらゆる公知の塩基類似体を含む配列を包含する。

【００４８】

「遺伝子」の語は、ポリペプチド、前駆体またはＲＮＡ（例えば、ｒＲＮＡ、ｔＲＮＡ）の生成に必要なコード配列を含む、核酸（例えば、ＤＮＡ）配列を意味する。ポリペプチドは、全長もしくはフラグメントの、所望の活性もしくは機能的性質（例えば、酵素的活性、リガンド結合性、シグナル伝達、免疫原性など）が保持される限り、全長のコード配列によって、またはコード配列のあらゆる一部分によってコードされ得る。この語は、構造遺伝子および、遺伝子が全長のｍＲＮＡの長さに相当するように、いずれかの終端上に約１ｋｂまたはそれを超える距離に対する５’および３’終端上両方のコード領域に隣接して位置する配列の、コード領域も包含する。コード領域の５’に位置し、ｍＲＮＡ上に存在する配列は、５’非翻訳配列と呼ばれる。コード領域の３’または下流に位置し、ｍＲＮＡ上に存在する配列は、３’非翻訳配列と呼ばれる。「遺伝子」の語は、ｃＤＮＡ、および遺伝子のゲノム形態の両方を包含する。

【００４９】

本明細書で使用される、「遺伝子発現」および「発現」の語は、遺伝子においてコード

される遺伝情報を、遺伝子の「転写」を介して（すなわち、ＲＮＡポリメラーゼの酵素作用によって）ＲＮＡ（例えば、ｍＲＮＡ、ｒＲＮＡ、ｔＲＮＡまたはｓｎＲＮＡ）に変換するプロセス、ならびにタンパク質をコードする遺伝子では、ｍＲＮＡの「翻訳」を介してタンパク質に変換するプロセスを意味する。遺伝子発現は、この過程における多くの段階で制御され得る。「上方制御」または「活性化」は、遺伝子発現生成物（例えば、ＲＮＡまたはタンパク質）の生成を増大および／または増強する制御を意味し、「下方制御」または「抑制（ｒｅｐｒｅｓｓｉｏｎ）」は生成を低減する制御を意味する。上方制御または下方制御に関与する分子（例えば、転写因子）はしばしば、それぞれ「アクチベータ」および「リプレッサ」と呼ばれる。

【００５０】

「単離された」の語は、核酸に関連して使用される場合、「単離されたオリゴヌクレオチド」または「単離されたポリヌクレオチド」におけるように、その天然の供給源において通常関連している、少なくとも１つの構成成分または汚染物質から同定および分離される核酸配列を意味する。単離された核酸は、天然に見出されるのと異なる形態または設定において存在する。対照的に、非単離の核酸は、これらが天然に存在する状態において見出される、ＤＮＡおよびＲＮＡのような核酸である。例えば、所与のＤＮＡ配列（例えば、遺伝子）は、隣接する遺伝子に近接する宿主細胞の染色体上に見出され、特定のタンパク質をコードする特定のウイルスＲＮＡ配列のようなＲＮＡ配列は、多数のタンパク質をコードする、多数の他の宿主ｍＲＮＡとの混合物として、細胞中に一般的に見出される。単離された核酸、オリゴヌクレオチドまたはポリヌクレオチドは、一本鎖または二本鎖の形態において存在し得る。

【００５１】

「合成」の語は、核酸分子（例えば、ＨＰｇＶ－２のプライマーまたはプローブ）に関して使用される場合、人類によって直接的に（例えば、実験室において）、または間接的に（例えば、実験室で作製される構築物の細胞における発現から）作製される非天然の分子を意味する。

【００５２】

本明細書で使用される、「相補的な」または「相補性」の語は、塩基対合則によって関係づけられるポリヌクレオチド（すなわち、ヌクレオチドの配列）に関して使用される。例えば、「Ａ－Ｇ－Ｔ」という配列は、「Ｔ－Ｃ－Ａ」という配列に相補的である。相補性は「部分的」であってよく、核酸のいくつかの塩基だけが塩基対合則に従って適合される。または、核酸の間に「完全な」または「全体的な」相補性が存在してもよい。核酸の鎖間の相補性の度合いは、核酸鎖間のハイブリダイゼーションの効率および強度に対して重大な影響がある。これは、増幅反応において、および核酸間の結合に依存する検出方法において特に重要である。

【００５３】

「相同性」の語は、相補性の度合いを意味する。部分的な相同性または完全な相同性（すなわち、同一性）が存在し得る。部分的に相補的な配列は、完全に相補的な配列が、標的核酸にハイブリダイズするのを少なくとも部分的に阻害する配列であり、「実質的に相同」という機能的な語を使用して言及される。「結合の阻害」の語は、核酸の結合に関して使用される場合、標的配列に対する結合に相同の配列の競合によって引き起こされる、結合の阻害を意味する。完全に相補的な配列の、標的配列に対するハイブリダイゼーションの阻害は、ハイブリダイゼーションアッセイ（例えば、サザンもしくはノーザンブロット、溶液ハイブリダイゼーションなど）を使用して、低ストリンジェンシー条件下で調べられ得る。実質的に相同な配列またはプローブは、低ストリンジェンシー条件下で、標的に対する完全な相同性の結合（すなわち、ハイブリダイゼーション）に対して競合し、結合を阻害する。これは、低ストリンジェンシー条件は、非特異的結合が許されるような条件であることを言うのではなく、低ストリンジェンシー条件は２つの配列の相互に対する結合が、特異的な（すなわち、選択的な）相互作用であることを必要とする。非特異的結合の非存在は、部分的な度合いの相補性も欠く（例えば、約３０％の同一性より低い）第

２の標的を使用することによって試験されてもよく、非特異的結合の非存在下で、プローブは第２の非相補的な標的にハイブリダイズしない。

【００５４】

当業者は、低ストリンジェンシー条件を含むように、多数の同等の条件が使用され得ることを周知であり、プローブの長さおよび性質（ＤＮＡ、ＲＮＡ、塩基組成）のような因子、ならびに標的の性質（ＤＮＡ、ＲＮＡ、塩基組成、溶液中の存在、もしくは固定化など）、ならびに塩および他の構成成分（例えば、ホルムアミド、硫酸デキストラン、ポリエチレングリコールの存在または非存在）の濃度が考慮され、ハイブリダイゼーション溶液は、上記に列挙した条件と異なるが同等である、低ストリンジェンシーのハイブリダイゼーションの条件を産生するように変動され得る。加えて、当業者は、高ストリンジェンシー条件下でハイブリダイゼーションを促進する条件（例えば、ハイブリダイゼーションおよび／または洗浄ステップの温度の上昇、ハイブリダイゼーション溶液中のホルムアミドの使用など）を公知である。

【００５５】

本明細書で使用される、「ハイブリダイゼーション」の語は、相補的な核酸の対形成に関して使用される。ハイブリダイゼーションおよびハイブリダイゼーションの強度（すなわち、核酸間の会合の強度）は、核酸間の相補性の度合い、関与する条件のストリンジェンシー、形成したハイブリッドのＴｍ、および核酸内のＧ：Ｃ比のような因子によって影響を受ける。

【００５６】

本明細書で使用される、「Ｔｍ」の語は、「融解温度」に関して使用される。融解温度は、二本鎖核酸分子の集団が、半分解離されて一本鎖になる温度である。核酸のＴｍを算出するための等式は、当技術分野では周知である。標準的基準によって示される通り、Ｔｍ値の単純な推定値は等式：Ｔｍ＝８１．５＋０．４１（％Ｇ＋Ｃ）によって算出され得、この場合、核酸は１Ｍ　ＮａＣｌの水溶液中にある（例えば、ＡｎｄｅｒｓｏｎおよびＹｏｕｎｇ、Ｑｕａｎｔｉｔａｔｉｖｅ　Ｆｉｌｔｅｒ　Ｈｙｂｒｉｄｉｚａｔｉｏｎ、Ｎｕｃｌｅｉｃ　Ａｃｉｄ　Ｈｙｂｒｉｄｉｚａｔｉｏｎ［１９８５］を参照されたい。）。他の基準は、構造上および配列の特徴をＴｍの算出に考慮に入れる、より洗練された計算を含んでいる。

【００５７】

本明細書で使用される、「ストリンジェンシー」の語は、その下で核酸のハイブリダイゼーションが行われる、温度、イオン強度の条件、および有機溶剤のような他の化合物の存在に関して使用される。当業者であれば、「ストリンジェンシー」の条件は、個々にまたは協調していずれかによって記載されるパラメータの変動によって改変され得ることを認識されよう。「高ストリンジェンシー」条件では、核酸の塩基対形成が、高頻度の相補的な塩基配列を有する核酸フラグメント間にのみ生じる（例えば、「高ストリンジェンシー」条件下のハイブリダイゼーションは、約８５－１００％の同一性、好ましくは約７０－１００％の同一性を有する相同体間で生じ得る。）。中等度のストリンジェンシー条件では、核酸の塩基対形成が、中等度の頻度の相補的な塩基配列を有する核酸間にのみ生じる（例えば、「中等度のストリンジェンシー」条件下のハイブリダイゼーションは、約５０－７０％の同一性を有する相同体間で生じ得る。）。よって、相補的な配列の頻度は通常低いため、「弱」または「低」ストリンジェンシー条件が、遺伝的に多様である生物に由来する核酸に、しばしば必要とされる。

【００５８】

「高ストリンジェンシー条件」は、核酸ハイブリダイゼーションに関して使用される場合、約５００ヌクレオチドの長さのプローブが使用される場合、５×ＳＳＰＥ（ＮａＣｌ　４３．８ｇ／ｌ、ＮａＨ２ＰＯ４・Ｈ２Ｏ６．９ｇ／ｌ、およびＥＤＴＡ１．８５ｇ／ｌ、ｐＨをＮａＯＨで７．４に調節）、０．５％ＳＤＳ、５×デンハルト試薬、および１００μｇ／ｍｌ変性サケ精子ＤＮＡからなる溶液中セ氏４２度での結合またはハイブリダイゼーション、引き続きセ氏４２度の、０．１×ＳＳＰＥ、１．０％ＳＤＳを含む溶液中の

洗浄に等しい条件を含む。

【００５９】

「中等度のストリンジェンシー条件」は、核酸ハイブリダイゼーションに関して使用される場合、約５００ヌクレオチドの長さのプローブが使用される場合、５×ＳＳＰＥ（ＮａＣｌ４３．８ｇ／ｌ、ＮａＨ２ＰＯ４・Ｈ２Ｏ６．９ｇ／ｌ、およびＥＤＴＡ１．８５ｇ／ｌ、ｐＨをＮａＯＨで７．４に調節）、０．５％ＳＤＳ、５×デンハルト試薬、および１００μｇ／ｍｌ変性サケ精子ＤＮＡからなる溶液中セ氏４２度での結合またはハイブリダイゼーション、引き続きセ氏４２度の、１．０×ＳＳＰＥ、１．０％ＳＤＳを含む溶液中の洗浄に等しい条件を含む。

【００６０】

「低ストリンジェンシー条件」は、約５００ヌクレオチドの長さのプローブが使用される場合、５×ＳＳＰＥ（ＮａＣｌ４３．８ｇ／ｌ、ＮａＨ２ＰＯ４・Ｈ２Ｏ６．９ｇ／ｌ、およびＥＤＴＡ１．８５ｇ／ｌ、ｐＨをＮａＯＨで７．４に調節）、０．１％ＳＤＳ、５×デンハルト試薬［５０×デンハルトは、５００ｍｌあたり：Ｆｉｃｏｌｌ（タイプ４００、Ｐｈａｒａｍｃｉａ）５ｇ、ＢＳＡ（Ｆｒａｃｔｉｏｎ Ｖ；Ｓｉｇｍａ）５ｇを含む］、および１００μｇ／ｍｌ変性サケ精子ＤＮＡからなる溶液中セ氏４２度での結合またはハイブリダイゼーション、引き続きセ氏４２度の、５×ＳＳＰＥ、１．０％ＳＤＳを含む溶液中の洗浄に等しい条件を含む。

【００６１】

２つまたはそれを超えるポリヌクレオチド間の配列の関係を記載するのに、以下の語：「基準配列」、「配列同一性」、「配列同一性のパーセント値」および「実質的な同一性」が使用される。「基準配列」は、配列比較に対する基本として使用される、規定された配列であり、基準配列は、例えば、配列リスト（例えば、配列番号１もしくは７５）に示される全長のｃＤＮＡ配列のセグメントとしての、より大型の配列のサブセットであってもよく、または遺伝子配列を含むことができる。一般的に、基準配列は、少なくとも２０ヌクレオチドの長さ、頻繁に少なくとも２５ヌクレオチドの長さ、しばしば少なくとも５０ヌクレオチドの長さである。２つのポリヌクレオチドは各々（１）２つのポリヌクレオチド間で同様である配列（すなわち、完全なポリヌクレオチド配列の一部分）を含み、（２）２つのポリヌクレオチド間で相違する配列をさらに含むことができ、２つ（またはそれを超える）ポリヌクレオチド間の配列比較は典型的に、配列類似性のローカル領域を同定および比較するために、２つのポリヌクレオチドの配列を「比較ウインドウ」にわたって比較することにより行われる。本明細書で使用される、「比較ウインドウ」は、少なくとも２０個の近接するヌクレオチドの位置の概念的なセグメントを意味し、この場合、ポリヌクレオチド配列が、少なくとも２０個の近接するヌクレオチドの基準配列に対して比較され得、比較ウインドウにおけるポリヌクレオチド配列の一部分は、２つの配列の最適なアラインメントに対して、基準配列（付加もしくは欠失を含まない）に比べて２０パーセントまたはそれより低い付加または欠失（すなわち、ギャップ）を含むことができる。比較ウインドウをアラインするのに最適の配列のアラインメントは、ＳｍｉｔｈおよびＷａｔｅｒｍａｎのローカル相同性アルゴリズム（ＳｍｉｔｈおよびＷａｔｅｒｍａｎ、Ａｄｖ．Ａｐｐｌ．Ｍａｔｈ．２：４８２（１９８１））によって、ＮｅｅｄｌｅｍａｎおよびＷｕｎｓｃｈの相同性アラインメントアルゴリズムによって（ＮｅｅｄｌｅｍａｎおよびＷｕｎｓｃｈ、Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．４８：４４３（１９７０））、ＰｅａｒｓｏｎおよびＬｉｐｍａｎの類似性方法（ｓｉｍｉｌａｒｉｔｙ ｍｅｔｈｏｄ）に対する検索によって（ＰｅａｒｓｏｎおよびＬｉｐｍａｎ、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．（Ｕ．Ｓ．Ａ．）８５：２４４４（１９８８））、これらのアルゴリズムをコンピュータ処理して行うことにより（Ｗｉｓｃｏｎｓｉｎ Ｇｅｎｅｔｉｃｓ Ｓｏｆｔｗａｒｅ Ｐａｃｋａｇｅ Ｒｅｌｅａｓｅ ７．０、Ｇｅｎｅｔｉｃｓ Ｃｏｍｐｕｔｅｒ Ｇｒｏｕｐ、５７５ Ｓｃｉｅｎｃｅ Ｄｒ．，Ｍａｄｉｓｏｎ、Ｗｉｓ．におけるＧＡＰ、ＢＥＳＴＦＩＴ、ＦＡＳＴＡおよびＴＦＡＳＴＡ）、または精査（ｉｎｓｐｅｃｔｉｏｎ）により行われてもよく、様々な方法によって産生されたベストアラインメント（す

なわち、比較ウインドウにわたる相同性の最高のパーセント値をもたらす）が選択される。「配列同一性」の語は、２つのポリヌクレオチド配列が同一である（すなわち、ヌクレオチドごとのベースで）ことを意味する。「配列同一性のパーセント値」の語は、２つの最適にアラインされた配列を比較のウインドウにわたって比較し、両方の配列において同一の核酸塩基（例えば、Ａ、Ｔ、Ｃ、Ｇ、ＵまたはＩ）が生じる位置の数を決定してマッチする位置の数を得、マッチする位置の数を、比較のウインドウ（すなわち、ウインドウサイズ）における位置の合計数によって除し、結果に１００を乗じて配列同一性のパーセント値を得ることによって算出される。本明細書で使用される、「実質的な同一性」の語は、ポリヌクレオチド配列の特徴を意味し、この場合、ポリヌクレオチドは、少なくとも２０ヌクレオチド位置の比較ウインドウにわたって、頻繁に少なくとも２５－５０ヌクレオチドのウインドウにわたって、基準配列に比べて少なくとも８５パーセント配列同一性、好ましくは少なくとも９０から９５パーセントの配列同一性、より通常には少なくとも９９パーセントの配列同一性を有する配列を含み、この場合、配列同一性のパーセント値は、基準配列を、比較のウインドウにわたって基準配列の合計２０パーセントまたはそれ未満の欠失または付加を含み得るポリヌクレオチド配列に対して比較することによって算出される。

【００６２】

ポリペプチドに適用される、「実質的な同一性」の語は、２つのペプチド配列が、ＧＡＰまたはＢＥＳＴＦＩＴのプログラムなどによって、デフォルトギャップ重み付けを使用して、最適にアラインされる場合、少なくとも８０パーセントの配列同一性、好ましくは少なくとも９０パーセントの配列同一性、より好ましくは少なくとも９５パーセントまたはそれを超える配列同一性（例えば、９９パーセントの配列同一性）を共有することを意味する。同一ではない残基の位置が、保存的アミノ酸置換によって異なるのが好ましい。保存的アミノ酸置換は、同様の側鎖を有する残基の互換性を意味する。例えば、脂肪族側鎖を有するアミノ酸のグループは、グリシン、アラニン、バリン、ロイシンおよびイソロイシンであり、脂肪族－ヒドロキシ側鎖を有するアミノ酸のグループは、セリンおよびスレオニンであり、アミド含有側鎖を有するアミノ酸のグループは、アスパラギンおよびグルタミンであり、芳香族側鎖を有するアミノ酸のグループは、フェニルアラニン、チロシンおよびトリプトファンであり、塩基性側鎖を有するアミノ酸のグループは、リジン、アルギニンおよびヒスチジンであり、含硫側鎖を有するアミノ酸のグループは、システインおよびメチオニンである。好ましい保存的アミノ酸置換のグループは、バリン－ロイシン－イソロイシン、フェニルアラニン－チロシン、リジン－アルギニン、アラニン－バリンおよびアスパラギン－グルタミンである。ある特定の実施形態において、本明細書に、配列番号２－１１または３０４－３５３に示されるアミノ酸配列の少なくとも一部分に対して実質的な同一性を有するペプチドを提供する。

【００６３】

本明細書で使用される、「フラグメント」または「一部分」の語は、天然のタンパク質に比べてアミノ末端および／またはカルボキシ末端の欠失を有するが、残りのアミノ酸配列が、全長のｃＤＮＡ配列から推定されるアミノ酸配列における対応する位置に同一であるポリペプチドを意味する。フラグメントは典型的に、少なくとも４アミノ酸の長さ、好ましくは少なくとも２０アミノ酸の長さ、通常少なくとも５０アミノ酸の長さまたはそれより長い。

【００６４】

本明細書で使用される、「プライマー」の語は、精製された制限消化産物中など、天然に存在してもまたは合成的に生成されても、核酸鎖に相補的であるプライマー伸長生成物の合成が誘導される条件下（すなわち、ヌクレオチド、およびＤＮＡポリメラーゼのような誘発剤の存在下、適切な温度およびｐＨの）に置かれた場合、合成の開始点として作用することができるオリゴヌクレオチドを意味する。プライマーは、増幅における最大の効率のために一本鎖であるのが好ましいが、代替的に二本鎖でもよい。二本鎖の場合、プライマーは、最初にその鎖を分離するように処理され、その後、伸長生成物を調製するよう

に使用される。プライマーがオリゴデオキシリボヌクレオチドであるのが好ましい。プライマーは、誘発剤の存在下、伸長生成物の合成を開始させるのに十分長くなければならない。プライマーの正確な長さは、温度、プライマーの供給源、および方法の使用を含めた多くの因子に依存する。

【００６５】

本明細書で使用される、「プローブ」の語は、精製された制限消化産物中などに天然に存在しても、または合成的に、組換えで、もしくはＰＣＲ増幅によって生成されても、目的の別のオリゴヌクレオチドにハイブリダイズすることができる、オリゴヌクレオチド（すなわち、ヌクレオチドの配列）を意味する。プローブは一本鎖でも、または二本鎖でもよい。プローブは、特定の核酸配列の検出、同定および単離において有用である。ある特定の実施形態において、本発明の方法および組成物において使用されるプローブは、それだけには限定されないが、酵素（例えば、ＥＬＩＳＡ、および酵素ベースの組織化学的アッセイ）、蛍光、放射性ならびに発光系を含めたあらゆる検出系において検出可能であるように、あらゆる「レポーター分子」で標識されている。方法および組成物は、あらゆる特定の検出系または標識に限定されないものとされる。

【００６６】

本明細書で使用される、「組換え核酸分子」の語は、分子生物学的技術によって一緒に繋がれている核酸のセグメントから構成される核酸分子を意味する。

【００６７】

本明細書で使用される、「ペプチド」は、特定の配列においてペプチド結合によって繋がれているアミノ酸の、直鎖状ポリマーを意味する。本明細書で使用される、「ペプチド」は、ポリペプチド、オリゴペプチドおよびタンパク質も包含する。ペプチドは、例えば、ＨＰｇＶ－２ウイルスからの短いアミノ酸のストレッチ（例えば、アミノ酸２５個）であってもよいが、ＮＳ３タンパク質全体のアミノ酸配列のような長い配列でもよい（例えば、配列番号７）。

【００６８】

本明細書で使用される、「組換えタンパク質」または「組換えポリペプチド」の語は、組換え核酸分子から発現されるタンパク質分子を意味する。

【００６９】

本明細書で使用される、「抗原決定基」または「エピトープ」の語は、特定の抗体と接触する抗原の一部分を意味する。タンパク質またはタンパク質のフラグメントを使用して宿主動物を免疫化する場合、タンパク質の多数の領域が、タンパク質上の所与の領域または３次元構造に特異的に結合する抗体の生成を誘発し得、これらの領域または構造は抗原決定基と呼ばれる。抗原決定基は、抗体に対する結合に対して、インタクトな抗原（すなわち、免疫応答を誘発するのに使用される「免疫原」）と競合し得る。

【００７０】

本明細書で使用される、「固体支持体」は、それに対して、ＨＰｇＶ－２核酸、タンパク質または抗体のような生物学的分子が付着し得、生物学的アッセイにおいて使用され得る、あらゆる表面または材料である。本明細書に記載するアッセイにおいて利用され得る固体支持体の例は、当技術分野において周知であり、それだけには限定されないが、磁性粒子、ビーズ、微粒子、試験管、マイクロタイタープレート、キュベット、膜、骨格分子、フィルム、濾紙、ディスクおよびチップを含む。

【００７１】

詳細な説明

本明細書に、ヒトペギウイルス２（ＨＰｇＶ－２）を検出するための組成物、方法およびキットを提供する。ある特定の実施形態において、本明細書に、ＨＰｇＶ－２特異的核酸プローブおよびプライマー、ならびにＨＰｇＶ－２核酸を検出するための方法を提供する。他の実施形態において、本明細書に、ＨＰｇＶ－２免疫原性組成物、感染に対する耐性を発生させるために免疫原性ペプチドで対象を処置する方法、および試料中のＨＰｇＶ－２対象抗体を検出する方法を提供する。

【００７２】
Ｉ．ヒトペギウイルス２
ＧＢＶ－Ｅとも呼ばれる、ヒトペギウイルス２（ＨＰｇＶ－２）の完全なゲノムの核酸配列は、配列番号１および７５（図１および８）、ならびに配列番号２９９－３０３に示される。ＨＰｇＶ－２はポジティブの一本鎖ＲＮＡウイルスであり、以下のタンパク質をコードする：Ｓタンパク質（例えば、配列番号２、７６、３０４、３１４、３２４、３３４および３４４）、Ｅ１タンパク質（例えば、配列番号３、７７、３０５、３１５、３２５、３３５および３４５）、Ｅ２タンパク質（例えば、配列番号４、７８、３０６、３１６、３２６、３３６および３４６）、Ｘタンパク質（例えば、配列番号５、７９、３０７、３１７、３２７、３３７および３４７）、ＮＳ２タンパク質（例えば、配列番号６、８０、３０８、３１８、３２８、３３８および３４８）、ＮＳ３タンパク質（例えば、配列番号７、８１、３０９、３１９、３２９、３３９および３４９）、ＮＳ４Ａタンパク質（例えば、配列番号８、８２、３１０、３２０、３３０、３４０および３５０）、ＮＳ４Ｂタンパク質（例えば、配列番号９、８３、３１１、３２１、３３１、３４１および３５１）、ＮＳ５Ａタンパク質（例えば、配列番号１０、８４、３１２、３２２、３３２、３４２および３５２）、ならびにＮＳ５Ｂタンパク質（例えば、配列番号１１、８５、３１３、３２３、３３３、３４３および３５３）。５’ＵＴＲのある決定された一部分は、配列番号１のヌクレオチド１－１０３、配列番号７５のヌクレオチド１－１１０、配列番号２９９－３０１のヌクレオチド１－３２７、配列番号３０２のヌクレオチド１２－３２７および配列番号３０３のヌクレオチド２４－３２７を含み；３’ＵＴＲのある決定された例示的な一部分は、配列番号１のヌクレオチド９４１０－９７７８、配列番号７５のヌクレオチド９４１７－９４３１および配列番号２９９－３０３のヌクレオチド９４９９－９８６７を含む。配列関連性に基づいて、ＨＰｇＶ－２ゲノムの機構は、ペギウイルスおよびヘパシウイルスの両方に最も類似しており、両方とも最近、フラビウイルス（Ｆｌａｖｉｖｉｒｉｄａｅ）科のメンバーと分類された。最近、ＨＣＶおよびＧＢＶ－Ｂは、フラビウイルス科のヘパシウイルス属内に含まれるべきであり、ＧＢＶ－ＡおよびＧＢＶ－Ｃ（ＨＰｇＶ－１）はフラビウイルス科のペギウイルス属内に含まれるべきであると提唱されている（Ｓｔａｐｌｅｔｏｎら、Ｊ Ｇｅｎ Ｖｉｒｏｌ、２０１１：９２：２３３－２４６）。

【００７３】
フラビウイルス科のウイルスのメンバーは全て、ポジティブ鎖の、約１０ｋｂの一本鎖ＲＮＡゲノムを有し、これはアミノ酸約３０００個のポリタンパク質をコードする単一の長いオープンリーディングフレーム（ＯＲＦ）を含む（Ｌｉｎｄｅｎｂａｃｈら、Ｆｌａｖｉｖｉｒｉｄａｅ：Ｔｈｅ Ｖｉｒｕｓｅｓ ａｎｄ Ｔｈｅｉｒ Ｒｅｐｌｉｃａｔｉｏｎ．Ｃｈａｐｔｅｒ３３．、Ｆｉｅｌｄｓ Ｖｉｒｏｌｏｇｙ第５版（Ｋｎｉｐｅら編集）Ｗｏｌｔｅｒｓ Ｋｌｕｗｅｒ／Ｌｉｐｐｉｎｃｏｔｔ Ｗｉｌｌｉａｍｓおよび Ｗｉｌｌｉａｍｓ、Ｐｈｉｌａｄｅｌｐｈｉａ ＰＡ．、１１０１－１１５２）。フラビウイルス科では、ポリタンパク質は、宿主およびウイルスのプロテアーゼを組み合わせることによって、より小型の機能的な非構造上の構成成分、および構造上の構成成分に切断される。ウイルスの構造タンパク質は、ゲノムのアミノ末端部分に位置し、ＨＣＶおよびＧＢ両方のウイルスに対する２つのエンベロープ糖タンパク質であるＥ１およびＥ２を含む。ＨＣＶおよびＧＢＶ－Ｂはカプシドタンパク質を含むが、ＧＢＶ－ＡおよびＧＢＶ－Ｃ（ＨＰｇＶ－１）には、典型的なカプシド様タンパク質がない。全てのフラビウイルスで、非構造タンパク質は、構造タンパク質の下流に位置し、Ｎ末端のセリンプロテアーゼおよびＣ末端のＲＮＡヘリカーゼタンパク質を含むＮＳ３タンパク質、ならびにメチルトランスフェラーゼおよびＲＮＡ依存的ＲＮＡ複製活性を有する多機能的タンパク質であるＮＳ５タンパク質を含む。ＯＲＦは、高度に保存されており、ゲノムの翻訳および複製の両方において関与する非翻訳領域によって、５’終端および３’の両方で隣接している。

【００７４】
ある特定の実施形態において、ＨＣＶポジティブであることが分かっている患者試料が

、ＨＰｇＶ－２の存在に対して試験される（例えば、患者抗体に対して、またはＰＣＲにより）。特定の実施形態において、抗ＨＣＶネガティブであるがＨＣＶ　ＲＮＡポジティブである、ＨＣＶに感染している供血者が試験される。このような試料は、「プレセロコンバージョンウインドウ期間（ｐｒｅｓｅｒｏｃｏｎｖｅｒｓｉｏｎ　ｗｉｎｄｏｗ　ｐｅｒｉｏｄ）」の試料と呼ばれる。他の実施形態において、抗ＨＣＶポジティブでありＨＣＶ　ＲＮＡポジティブであるＨＣＶ感染患者からの試料が試験される。ある特定の実施形態において、ＨＩＶポジティブである試料が試験される。特定の実施形態において、高リスク群が、ＨＰｇＶ－２感染の存在に対して試験される。高リスク群は、多重輸血個体、プラズマフェレーシスドナー（そのうち何人かは、ＨＢＶ、ＨＩＶまたはＨＣＶにポジティブであり得る。）、静脈内薬物使用者、および性感染症を有する個体を含む。

【００７５】

図１０は、ＨＰｇＶ－２バリアントのゲノムまたは部分的なゲノムである、ＵＣ０１２５．ＵＳ、ＡＢＴ００７０Ｐ．ＵＳ、ＡＢＴ００９６Ｐ．ＵＳ、およびＡＢＴ０１２８Ａ．ＵＳのアラインメントを、大半のコンセンサス配列と一緒に示す。ＵＣ０１２５．ＵＳとＡＢＴ００７０Ｐ．ＵＳとの間のアミノ酸類似性は以下の表１６に示すものである。

【００７６】

【表１】

表１６

タンパク質 ポリタンパク質	アミノ酸 3102	ミスマッチ 157	同一性% 94.94
S	124	4	96.77
E1	191	6	96.86
E2	354	24	93.22
X	237	13	94.51
NS2	240	8	96.67
NS3	628	22	96.50
NS4A	41	3	92.68
NS4B	262	10	96.18
NS5A	458	43	90.61
NS5B	567	24	95.77
	3102	157	

【００７７】

ＩＩ．増幅

一部の実施形態において、本明細書に、ＨＰｇＶ－２核酸（例えば、ＤＮＡ、ＲＮＡなど）を増幅するための組成物および方法を提供する。一部の実施形態において、増幅は、核酸のバルク試料に対して行われる。一部の実施形態において、増幅は、単一の核酸標的分子に対して行われる。一部の実施形態において、本明細書に、核酸を増幅するための組成物（例えば、プライマー、バッファー、塩、核酸標的など）および方法（例えば、デジタル液滴増幅、ＰＣＲ増幅、これらの組合せなど）を提供する。一部の実施形態において、増幅反応は、核酸の複製が経時的に繰り返し生じて、鋳型または標的の核酸分子（例えば、ＨＰｇＶ－２核酸）の少なくとも１セグメントの複数のコピーを形成するあらゆる反応である。一部の実施形態において、増幅は、鋳型核酸のコピー数における、指数関数的または直線的な増大を産生する。増幅は、鋳型のコピー数および／または標的検出シグナルにおける１０００倍過剰の増大を生成し得る。例示的な増幅反応は、それだけには限定されないが、ポリメラーゼ連鎖反応（ＰＣＲ）またはリガーゼ連鎖反応（ＬＣＲ）を含み、これらは各々、熱サイクルによって駆動される。

【００７８】

増幅は、あらゆる適切な試薬（例えば、鋳型核酸（例えば、ＤＮＡまたはＲＮＡ）、プライマー、プローブ、バッファー、複製触媒酵素（例えば、ＤＮＡポリメラーゼ、ＲＮＡポリメラーゼ）、ヌクレオチド、塩（例えば、$MgCl_2$）など）で行われ得る。いくつかの実施形態において、増幅混合物は、少なくとも１つのプライマーまたはプライマー対

、少なくとも１つのプローブ、少なくとも１つの複製酵素（例えば、少なくとも１つのＤＮＡおよび／もしくはＲＮＡポリメラーゼのような少なくとも１つのポリメラーゼ）、ならびにデオキシヌクレオチド（および／もしくはヌクレオチド）三リン酸（ｄＮＴＰおよび／もしくはＮＴＰ）などのあらゆる組合せを含む。

【００７９】

一部の実施形態において、システム、装置および方法は、連続的なラウンドの複製（例えば、ＰＣＲ）を実現するために加熱および冷却の交代性のサイクル（すなわち、熱サイクル）に頼る、核酸増幅を利用する。一部の実施形態において、標的核酸（例えば、ＨＰｇＶ－２核酸）を増幅するのにＰＣＲが使用される。ＰＣＲは、より高い融解（変性）温度およびより低いアニーリング／伸長温度のような、２つもしくはそれを超える温度設定点の間の、または数ある中で、より高い融解温度、より低いアニーリング温度、および中間の伸長温度のような、３つもしくはそれを超える温度設定点の間の熱サイクルによって行われ得る。ＰＣＲは、数ある中で、ＴａｑＤＮＡポリメラーゼ（例えば、野生型酵素、Ｓｔｏｆｆｅｌフラグメント、ＦａｓｔＳｔａｒｔポリメラーゼなど）、ＰｆｕＤＮＡポリメラーゼ、Ｓ－Ｔｂｒポリメラーゼ、Ｔｔｈポリメラーゼ、Ｖｅｎｔポリメラーゼまたはこれらの組合せのような、耐熱性ポリメラーゼで行われ得る。典型的なＰＣＲ方法は、連続的なサイクルにわたって生成物の単位複製配列の量における指数関数的な増大を生成するが、直線的なＰＣＲ方法も使用を見出す。

【００８０】

対立遺伝子特異的ＰＣＲ、アセンブリーＰＣＲ、非対称ＰＣＲ、デジタルＰＣＲ、エンドポイントＰＣＲ、ホットスタートＰＣＲ、インサイチューＰＣＲ、配列間特異的ＰＣＲ、逆ＰＣＲ、指数関数後直線的ＰＣＲ、ライゲーション媒介性ＰＣＲ、メチル化特異的ＰＣＲ、ミニプライマーＰＣＲ、マルチプレックスライゲーション依存的プローブ増幅法、マルチプレックスＰＣＲ、ネステッドＰＣＲ、オーバーラップ伸長ＰＣＲ、ポリメラーゼサイクリングアセンブリ、定性的ＰＣＲ、定量的ＰＣＲ、リアルタイムＰＣＲ、ＲＴ－ＰＣＲ、単一細胞ＰＣＲ、固相ＰＣＲ、熱非対称インターレースＰＣＲ、タッチダウンＰＣＲまたはユニバーサルファストウォーキングＰＣＲなどのような、あらゆる適切なＰＣＲ方法、ＰＣＲ方法の組合せまたは増幅技術の組合せが利用されてもよい。

【００８１】

一部の実施形態において、システム、装置および方法は、ＲＴ－ＰＣＲ（逆転写ＰＣＲ）を使用する。一部の実施形態において、システム、装置および方法は、リアルタイムＰＣＲを使用する。一部の実施形態において、システム、装置および方法は、エンドポイントＰＣＲを使用する。

【００８２】

一部の実施形態において、システム、装置および方法は、等温核酸増幅法を利用する。転写媒介性増幅、核酸配列ベースの増幅、ＲＮＡ技術のシグナル媒介性の増幅、鎖置換増幅、ローリングサークル増幅、ＤＮＡのループ媒介性等温増幅、等温多重置換増幅、ヘリカーゼ依存的増幅、単一プライマー等温増幅、および環状ヘリカーゼ依存的増幅のような、あらゆる適切な等温増幅方法、または増幅技術の組合せが利用されてもよい。

【００８３】

ＩＩＩ．核酸検出

一部の実施形態において、本明細書に、ＨＰｇＶ－２核酸（例えば、単位複製配列、標識化核酸）の存在を同定するためのシステム、装置、方法および組成物を提供する。一部の実施形態において、検出は、増幅に相関する物理的、化学的、発光または電気的な側面（例えば、蛍光、ｐＨ変化、熱変化など）のような、非増幅の核酸、増幅された核酸、増幅された核酸を含む構成成分、または増幅プロセスの副生成物の特徴の測定または検出を伴う。

【００８４】

一部の実施形態において、増幅されたＨＰｇＶ－２核酸を検出するための、および／または増幅された核酸を同定するための、蛍光検出方法を提供する。すでに論じられている

試薬、ならびに核酸の増幅および検出の技術分野の技術者には公知である試薬に加えて、蛍光および非蛍光の色素およびプローブのような様々な検出試薬が提供される。例えば、プロトコールは、ＴａｑＭａｎプローブのような、ＴａｑＭａｎ反応において使用するのに適する試薬、ＳＹＢＲグリーン蛍光検出において使用するのに適する試薬、分子ビーコンプローブのような、分子ビーコン反応において使用するのに適する試薬、スコーピオンプローブのような、スコーピオン反応において使用するのに適する試薬、蛍光プローブのような、蛍光ＤＮＡ－結合色素タイプの反応において使用するのに適する試薬、および／またはライトアッププローブのような、ライトアッププロトコールにおいて使用するための試薬を使用することができる。一部の実施形態において、本明細書に、増幅された標的核酸から検出可能なシグナル（例えば、蛍光）を検出および／または定量するための方法および組成物を提供する。よって、例えば、増幅された核酸を検出可能な標識で標識する（例えば、増幅の間、増幅後）ステップ、検出可能な標識に蛍光を引き起こすよう選択された波長の光源に仕切りを暴露するステップ、ならびに得られた蛍光を検出および／または測定するステップを使用することができる。標識から放射される蛍光は、増幅反応の間、反応のモニタリングを可能にするように（例えば、ＳＹＢＲグリーンタイプの化合物を使用して）追跡してもよく、または蛍光は増幅後に測定してもよい。

【００８５】

一部の実施形態において、増幅された核酸の検出は、１つ以上の蛍光標識、蛍光インターカレーション色素、ＦＲＥＴベースの検出方法（両方ともその全体を参照により本明細書に組み込む、米国特許第５，９４５，２８３号；ＰＣＴ公開第ＷＯ９７／２２７１９号）、定量的ＰＣＲ、リアルタイム蛍光発生方法（各々その全体を参照により本明細書に組み込む、Ｇｅｌｆａｎｄへの米国特許第５，２１０，０１５号、Ｌｉｖａｋらへの第５，５３８，８４８号およびＨａａｌａｎｄへの第５，８６３，７３６号、ならびにＨｅｉｄ，Ｃ．Ａ．ら、Ｇｅｎｏｍｅ Ｒｅｓｅａｒｃｈ、６：９８６－９９４（１９９６）；Ｇｉｂｓｏｎ，Ｕ．Ｅ．Ｍら、Ｇｅｎｏｍｅ Ｒｅｓｅａｒｃｈ ６：９９５－１００１（１９９６）；Ｈｏｌｌａｎｄ，Ｐ．Ｍ．ら、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ、８８：７２７６－７２８０（１９９１）；およびＬｉｖａｋ，Ｋ．Ｊ．ら、ＰＣＲ Ｍｅｔｈｏｄｓ ａｎｄ Ａｐｐｌｉｃａｔｉｏｎｓ、３５７－３６２（１９９５）、分子ビーコン（その全体を参照により本明細書に組み込むＰｉａｔｅｋ，Ａ．Ｓ．ら、Ｎａｔ．Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．、１６：３５９－６３（１９９８）；Ｔｙａｇｉ，Ｓ．およびＫｒａｍｅｒ，Ｆ．Ｒ．、Ｎａｔｕｒｅ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ、１４：３０３－３０８（１９９６）；およびＴｙａｇｉ，Ｓ．ら、Ｎａｔ．Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．、１６：４９－５３（１９９８）、インベーダーアッセイ（Ｔｈｉｒｄ Ｗａｖｅ Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ、（Ｍａｄｉｓｏｎ、Ｗｉｓ．））（その全体を参照により本明細書に組み込む、Ｎｅｒｉ，Ｂ．Ｐ．ら、Ａｄｖａｎｃｅｓ ｉｎ Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄ ａｎｄ Ｐｒｏｔｅｉｎ Ａｎａｌｙｓｉｓ、３８２６：１１７－１２５、２０００）、核酸配列ベースの増幅（ＮＡＳＢＡ；（例えば、その全体を参照により本明細書に組み込む、Ｃｏｍｐｔｏｎ，Ｊ．Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄ Ｓｅｑｕｅｎｃｅ－ｂａｓｅｄ Ａｍｐｌｉｆｉｃａｔｉｏｎ、Ｎａｔｕｒｅ、３５０：９１－９１、１９９１を参照されたい。）、スコーピオンプローブ（Ｓｃｏｒｐｉｏｎ ｐｒｏｂｅｓ）（その全体を参照により本明細書に組み込む、Ｔｈｅｌｗｅｌｌら、Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓｅａｒｃｈ、２８：３７５２－３７６１、２０００）、部分的に二本鎖の直鎖状プローブ（その全体を参照により本明細書に組み込む、Ｌｕｋ，Ｋ．－Ｃ．ら、Ｊ．Ｖｉｒｏｌｏｇｉｃａｌ Ｍｅｔｈｏｄｓ、１４４：１－１１、２００７）、容量性ＤＮＡ検出（例えば、その全体を参照により本明細書に組み込む、Ｓｏｈｎら（２０００）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．Ｕ．Ｓ．Ａ．、９７：１０６８７－１０６９０を参照されたい。）などを使用する。

【００８６】

ＩＶ．核酸分析

核酸分子（例えば、増幅されたＨＰｇＶ－２核酸）は、分子の存在、量または同一性を

決定するために、あらゆる数々の技術によって分析され得る。非限定的な例は、シークエンシング、質量決定および塩基組成の決定を含む。分析は、増幅された核酸の全てもしくは一部の配列、または１つ以上のその性質もしくは特徴を同定して、所望の情報を明らかにし得る。例えば、一部の実施形態において、多型の存在、または特定のＨＰｇＶ－２の系統もしくは単離物の存在が決定される。一部の実施形態において、核酸のメチル化状態が決定される。

【００８７】

核酸シークエンシング技術の説明的な、非限定的な例は、それだけには限定されないが、鎖ターミネーター（Ｓａｎｇｅｒ）シークエンシングおよび色素ターミネーターシークエンシング、ならびに「次世代」のシークエンシング技術を含む。ＲＮＡは実験上、細胞中で安定性が低く、ヌクレアーゼの攻撃をより受けやすいため、ＲＮＡは必ずではないが、通常、シークエンシング前にＤＮＡに逆転写されることを、当業者であれば認識されよう。

【００８８】

蛍光ベースのシークエンシング方法を含めた、数々のＤＮＡシークエンシング技術が、当技術分野では知られている（例えば、その全体を参照により本明細書に組み込む、Ｂｉｒｒｅｎら、Ｇｅｎｏｍｅ Ａｎａｌｙｓｉｓ：Ａｎａｌｙｚｉｎｇ ＤＮＡ、１、Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ、Ｎ．Ｙ．を参照されたい。）。一部の実施形態において、当技術分野では理解されている、自動化シークエンシング技術が利用される。一部の実施形態において、システム、装置および方法は、分割された単位複製配列の平行シークエンシングを使用する（その全体を参照により本明細書に組み込む、Ｋｅｖｉｎ Ｍｃ ＫｅｒｎａｎらへのＰＣＴ公開第ＷＯ２００６０８４１３２号）。一部の実施形態において、ＤＮＡシークエンシングは、平行のオリゴヌクレオチド伸長によって実現される（例えば、両方ともその全体を参照により本明細書に組み込む、Ｍａｃｅｖｉｃｚらへの米国特許第５，７５０，３４１号、およびＭａｃｅｖｉｃｚらへの米国特許第６，３０６，５９７号を参照されたい。）。シークエンシング技術の付加的な例は、Ｃｈｕｒｃｈのポロニー技術（その全体を参照により本明細書に組み込む、Ｍｉｔｒａら、２００３、Ａｎａｌｙｔｉｃａｌ Ｂｉｏｃｈｅｍｉｓｔｒｙ ３２０、５５－６５；Ｓｈｅｎｄｕｒｅら、２００５ Ｓｃｉｅｎｃｅ、３０９、１７２８－１７３２；米国特許第６，４３２，３６０号、米国特許第６，４８５，９４４号、米国特許第６，５１１，８０３号）、４５４ピコタイターパイロシークエンシング技術（その全体を参照により本明細書に組み込む、Ｍａｒｇｕｌｉｅｓら、２００５、Ｎａｔｕｒｅ、４３７、３７６－３８０；ＵＳ２００５０１３０１７３）、Ｓｏｌｅｘａ単一塩基付加（ｓｉｎｇｌｅ ｂａｓｅ ａｄｄｉｔｉｏｎ）技術（その全体を参照により本明細書に組み込む、Ｂｅｎｎｅｔｔら、２００５、Ｐｈａｒｍａｃｏｇｅｎｏｍｉｃｓ、６、３７３－３８２；米国特許第６，７８７，３０８号、米国特許第６，８３３，２４６号）、Ｉｌｌｕｍｉｎａ単一塩基シークエンシング技術、Ｌｙｎｘ大規模平行シグネチャーシークエンシング技術（その全体を参照により本明細書に組み込む、Ｂｒｅｎｎｅｒら（２０００）、Ｎａｔ．Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．、１８：６３０－６３４；米国特許第５，６９５，９３４号、米国特許第５，７１４，３３０号）およびＡｄｅｓｓｉ ＰＣＲコロニー技術（その全体を参照により本明細書に組み込む、Ａｄｅｓｓｉら（２０００）Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄ Ｒｅｓ．、２８、Ｅ８７；ＷＯ ０００１８９５７）を含む。

【００８９】

一部の実施形態において、鎖ターミネーターシークエンシングが利用される。鎖ターミネーターシークエンシングは、修飾されたヌクレオチド基質を使用して、ＤＮＡ合成反応の配列特異的な終結を使用する。伸長は、鋳型ＤＮＡ上の特定部位で、短い放射性の、または他の標識された、その領域で鋳型に相補的なオリゴヌクレオチドプライマーを使用することによって開始される。オリゴヌクレオチドプライマーは、ＤＮＡポリメラーゼ、標準的な４つのデオキシヌクレオチド塩基、および低濃度の１つの鎖終結性ヌクレオチドを使用して伸長され、鎖終結性ヌクレオチドがジデオキシヌクレオチドであるのが最も一般

的である。この反応は、ジデオキシヌクレオチドとして各塩基を順番にして、４本の別々のチューブ中で繰り返される。ＤＮＡポリメラーゼによる、鎖終結性ヌクレオチドの限定組入れ（ｌｉｍｉｔｅｄ　ｉｎｃｏｒｐｏｒａｔｉｏｎ）は、特定のジデオキシヌクレオチドが使用される位置だけで終結される、一連の関連のＤＮＡフラグメントをもたらす。各反応チューブに対して、フラグメントは、ポリアクリルアミドのスラブゲル、または粘稠性のポリマーで充填されているキャピラリチューブ中の電気泳動によってサイズ分離される。配列は、ゲルの上部から底部までスキャンするに従って、標識されたプライマーから可視化された印をどのレーンが生成するかを読み取ることによって決定される。

【００９０】

色素ターミネーターシークエンシングは、ターミネーターを代替的に標識する。ジデオキシヌクレオチド鎖ターミネーターの各々を、様々な波長の蛍光を放つ別々の蛍光色素で標識することによって、完全なシークエンシングが単一の反応で行われ得る。

【００９１】

「次世代シークエンシング」技術と呼ばれる１セットの方法が、Ｓａｎｇｅｒおよび色素ターミネーターシークエンシング方法の代替として出現している（各々その全体を参照により本明細書に組み込む、Ｖｏｅｌｋｅｒｄｉｎｇら、Ｃｌｉｎｉｃａｌ　Ｃｈｅｍ．、５５：６４１－６５８、２００９；ＭａｃＬｅａｎら、Ｎａｔｕｒｅ　Ｒｅｖ．Ｍｉｃｒｏｂｉｏｌ．、７：２８７－２９６）。これらの技術は、ＨＰｇＶ－２核酸の一部分を配列決定するのに使用され得る。次世代シークエンシング（ＮＧＳ）方法は、大量平行のハイスループット戦略の一般的な特徴を共有し、古いシークエンシング方法に比べてより低いコストを目的とする。ＮＧＳ方法は、鋳型の増幅を必要とするものと、必要としないものとに大ざっぱに分けられ得る。増幅を必要とする方法は、Ｒｏｃｈｅにより４５４技術プラットホームとして商品化されたパイロシークエンシング（例えば、ＧＳ２０およびＧＳ　ＦＬＸ）、Ｉｌｌｕｍｉｎａによって商品化されたＳｏｌｅｘａプラットホーム、ならびにＡｐｐｌｉｅｄ　Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓによって商品化されたＳｕｐｐｏｒｔｅｄ　Ｏｌｉｇｏｎｕｃｌｅｏｔｉｄｅ　Ｌｉｇａｔｉｏｎ　ａｎｄ　Ｄｅｔｅｃｔｉｏｎ（ＳＯＬｉＤ）プラットホームを含む。単一分子シークエンシングとしても知られる、非増幅の取組みは、Ｈｅｌｉｃｏｓ　ＢｉｏＳｃｉｅｎｃｅｓによって商品化されたＨｅｌｉＳｃｏｐｅプラットホーム、ならびにそれぞれＶｉｓｉＧｅｎ、Ｏｘｆｏｒｄ　Ｎａｎｏｐｏｒｅ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ　Ｌｔｄ．およびＰａｃｉｆｉｃ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓにより商品化されたエマージングプラットホームにより例示される。

【００９２】

パイロシークエンシング（各々その全体を参照により本明細書に組み込む、Ｖｏｅｌｋｅｒｄｉｎｇら、Ｃｌｉｎｉｃａｌ　Ｃｈｅｍ．、５５：６４１－６５８、２００９；ＭａｃＬｅａｎら、Ｎａｔｕｒｅ　Ｒｅｖ．Ｍｉｃｒｏｂｉｏｌ．、７：２８７－２９６；米国特許第６，２１０，８９１号、米国特許第６，２５８，５６８号）では、鋳型ＤＮＡが、フラグメント化され、終端修復され、アダプターにライゲートされ、単一の鋳型分子を、アダプターに相補的なオリゴヌクレオチドを保有するビーズで捕捉することによってインサイチューでクローン的に増幅される。単一の鋳型タイプを保有する各ビーズは、油中水型の微小胞中に区画化され、鋳型は、エマルジョンＰＣＲと呼ばれる技術を使用してクローン的に増幅される。増幅後、エマルジョンは破壊され、ビーズは、シークエンシング反応の間フローセルとして機能するピコタイタープレートの個々のウェル中に沈着される。４つのｄＮＴＰ試薬各々の、秩序だった反復的な導入が、シークエンシング酵素、およびルシフェラーゼのような発光レポーターの存在下、フローセル中で生じる。好適なｄＮＴＰが、シークエンシングプライマーの３’終端に付加される場合、結果として生じるＡＴＰの生成がウェル内に発光のバーストを生じ、これがＣＣＤカメラを使用して記録される。４００塩基を超えまたは４００塩基に等しいリードの長さを実現するのが可能であり、1×10^{6}の配列リードが実現され得、最高５００００万塩基対（Ｍｂ）の配列を生じる。

【００９３】

Ｓｏｌｅｘａ／Ｉｌｌｕｍｉｎａプラットホームでは（各々その全体を参照により本明細書に組み込む、Ｖｏｅｌｋｅｒｄｉｎｇら、Ｃｌｉｎｉｃａｌ Ｃｈｅｍ．、５５：６４１－６５８、２００９；ＭａｃＬｅａｎら、Ｎａｔｕｒｅ Ｒｅｖ．Ｍｉｃｒｏｂｉｏｌ．、７：２８７－２９６；米国特許第６，８３３，２４６号；米国特許第７，１１５，４００号；米国特許第６，９６９，４８８号）、より短い長さのリードの形態のシークエンシングデータが生成される。この方法において、一本鎖のフラグメント化されたＤＮＡが末端修復されて５’－リン酸化された平滑末端を産生し、フラグメントの３’終端に対して単一のＡ塩基のＫｌｅｎｏｗ媒介性付加が続く。Ａ付加は、Ｔオーバーハングアダプターオリゴヌクレオチドの付加を促進し、これらのオリゴヌクレオチドは引き続き、オリゴヌクレオチドアンカーが散りばめられたフローセルの表面上で鋳型－アダプター分子を捕捉するのに使用される。アンカーはＰＣＲプライマーとして使用されるが、鋳型の長さのため、および他の近くのアンカーオリゴヌクレオチドに近接するため、ＰＣＲによる伸長は、隣接のアンカーオリゴヌクレオチドとハイブリダイズしてフローセルの表面上にブリッジ構造を形成するための、分子の「アーチ形成（ａｒｃｈｉｎｇ ｏｖｅｒ）」をもたらす。これらＤＮＡのループは、変性され、切断される。次いで、フォワード鎖が、可逆性の色素ターミネーターで配列決定される。組み入れられたヌクレオチドの配列は、組入れ後蛍光を検出することによって決定され、各蛍光およびブロックが除去された後、次のサイクルでｄＮＴＰが添加される。配列リードの長さは、３６ヌクレオチドから６００ヌクレオチドを超えるまでの範囲であり、全体の出力は、分析操作１回あたり１０億ヌクレオチド対を超える。

【００９４】

ＳＯＬｉＤ技術（各々その全体を参照により本明細書に組み込む、Ｖｏｅｌｋｅｒｄｉｎｇら、Ｃｌｉｎｉｃａｌ Ｃｈｅｍ．、５５：６４１－６５８、２００９；ＭａｃＬｅａｎら、Ｎａｔｕｒｅ Ｒｅｖ．Ｍｉｃｒｏｂｉｏｌ．、７：２８７－２９６；米国特許第５，９１２，１４８号；米国特許第６，１３０，０７３号）を使用した核酸分子のシークエンシングは、鋳型のフラグメント化、オリゴヌクレオチドアダプターに対するライゲーション、ビーズに対する付着、およびエマルジョンＰＣＲによるクローンの増幅をやはり伴う。これに続き、鋳型を保有するビーズが、ガラス製フローセルの誘導体化された表面上に固定化され、アダプターのオリゴヌクレオチドに相補的なプライマーがアニーリングされる。しかし、このプライマーを３’伸長に利用するよりむしろ、このプライマーはその代わり、２つのプローブ特異的塩基とそれに続く変性塩基６個および蛍光標識４個のうち１個を含む照合プローブに対するライゲーションに、５’ホスフェート基を提供するのに使用される。ＳＯＬｉＤシステムでは、照合プローブは、各プローブの３’終端の塩基２個、および５’終端の蛍光４個のうち１個の、１６の可能な組合せを有する。蛍光色、よって各プローブの同一性は、特定される色－空間をコードするスキームに相当する。複数ラウンド（通常７回）のプローブのアニーリング、ライゲーションおよび蛍光検出に変性が続き、次いで、最初のプライマーに対して１個の塩基によって相殺されるプライマーを使用した、第２ラウンドのシークエンシングが続く。この様式では、鋳型配列はコンピュータで再構築され得、鋳型塩基は２回照合され、正確さの増大がもたらされる。配列リードの長さは平均３５ヌクレオチドであり、全体の出力は、シークエンシング操作１回あたり４０億塩基を超える。

【００９５】

ある特定の実施形態において、ナノポアシークエンシングが使用される（例えば、参照により本明細書に組み込む、Ａｓｔｉｅｒら、Ｊ Ａｍ Ｃｈｅｍ Ｓｏｃ．、２００６年２月８日；１２８（５）：１７０５－１０を参照されたい。）。ナノポアシークエンシングを裏付ける理論は、ナノポアが導電性流体中に浸漬され、それをまたがって電位（電圧）が適用される場合に生じるものと関係があり、これらの条件下、ナノポアを介したイオンの伝導によるわずかな電流が観察され得、電流の量はナノポアのサイズに対して極めて敏感である。ナノポアを介してＤＮＡ分子が通過すると（またはＤＮＡ分子の一部が通過すると）、これがナノポアを介した電流の規模における変化を作り出すことができ、そ

れによってＤＮＡ分子の配列が決定され得る。

【００９６】

システム、装置および方法での使用に適用され得る、別の例示的な核酸シークエンシングの取組みは、Ｓｔｒａｔｏｓ Ｇｅｎｏｍｉｃｓ，Ｉｎｃ．によって開発され、エクスパンドマー（Ｘｐａｎｄｏｍｅｒｓ）の使用を伴う。このシークエンシングのプロセスは、典型的に、鋳型指向性の合成によって生成される娘鎖を提供することを含む。娘鎖は、一般的に、標的核酸の全部または一部の連続したヌクレオチド配列に対応する配列においてカップリングされている複数のサブユニットを含み、標的核酸では、個々のサブユニットが、つなぎ鎖、少なくとも１つのプローブまたは核酸塩基残基、および少なくとも１つの選択的に切断可能な結合を含む。選択的に切断可能な一又は複数の結合は切断されて、娘鎖の複数のサブユニットより長さが長いエクスパンドマーを生じる。エクスパンドマーは、典型的に、つなぎ鎖、および標的核酸の全てまたは一部分の連続したヌクレオチド配列に相当する配列において遺伝情報を解読するためのレポーターエレメントを含む。次いで、エクスパンドマーのレポーターエレメントが検出される。エクスパンドマーベースの取組みに関する付加的な詳細は、例えば、その全体を参照により本明細書に組み込む、２００８年６月１９日に出願された、「ＨＩＧＨ ＴＨＲＯＵＧＨＰＵＴ ＮＵＣＬＥＩＣ ＡＣＩＤ ＳＥＱＵＥＮＣＩＮＧ ＢＹ ＥＸＰＡＮＳＩＯＮ」という表題の米国特許公開第２００９００３５７７７号に記載されている。

【００９７】

他の新興の単一分子シークエンシング方法は、ＶｉｓｉＧｅｎプラットホームを使用した合成によるリアルタイムシークエンシングを含み（各々その全体を参照により本明細書に組み込む、Ｖｏｅｌｋｅｒｄｉｎｇら、Ｃｌｉｎｉｃａｌ Ｃｈｅｍ．、５５：６４１－６５８、２００９；米国特許第７，３２９，４９２号；米国特許出願第１１／６７１９５６号；米国特許出願第１１／７８１１６６号）、この方法では、固定化され、プライミングされたＤＮＡの鋳型を、蛍光的に修飾したポリメラーゼおよび蛍光アクセプタ分子を使用して鎖伸長にかけ、ヌクレオチドを添加すると、検出可能な蛍光共鳴エネルギー転移（ＦＲＥＴ）を生じる。

【００９８】

本発明で使用するのに適応され得る、このようなリアルタイムシークエンシングのためのプロセスおよびシステムは、全てその全体を参照により本明細書に組み込む、例えば、以下において記載されている：２００８年７月２９日発行のＸｕらへの「Ｆｌｕｏｒｅｓｃｅｎｔ ｎｕｃｌｅｏｔｉｄｅ ａｎａｌｏｇｓ ａｎｄ ｕｓｅｓ ｔｈｅｒｅｆｏｒ」という表題の米国特許第７，４０５，２８１号、２００８年１月１日にＴｕｒｎｅｒらへ発行された、「Ａｒｒａｙｓ ｏｆ ｏｐｔｉｃａｌ ｃｏｎｆｉｎｅｍｅｎｔｓ ａｎｄ ｕｓｅｓ ｔｈｅｒｅｏｆ」という表題の７，３１５，０１９号、２００７年１２月２５日にＴｕｒｎｅｒらへ発行された「Ｏｐｔｉｃａｌ ａｎａｌｙｓｉｓ ｏｆ ｍｏｌｅｃｕｌｅｓ」という表題の第７，３１３，３０８号、２００７年１１月２７日にＴｕｒｎｅｒらへ発行された「Ａｐｐａｒａｔｕｓ ａｎｄ ｍｅｔｈｏｄ ｆｏｒ ａｎａｌｙｓｉｓ ｏｆ ｍｏｌｅｃｕｌｅｓ」という表題の第７，３０２，１４６号、および第２００７年１月３０日にＴｕｒｎｅｒらへ発行された「Ａｐｐａｒａｔｕｓ ａｎｄ ｍｅｔｈｏｄｓ ｆｏｒ ｏｐｔｉｃａｌ ａｎａｌｙｓｉｓ ｏｆ ｍｏｌｅｃｕｌｅｓ」という表題の第７，１７０，０５０号、２００７年１０月２６日にＬｕｎｄｑｕｉｓｔらによって出願された「Ｍｅｔｈｏｄｓ ａｎｄ ｓｙｓｔｅｍｓ ｆｏｒ ｓｉｍｕｌｔａｎｅｏｕｓ ｒｅａｌ－ｔｉｍｅ ｍｏｎｉｔｏｒｉｎｇ ｏｆ ｏｐｔｉｃａｌ ｓｉｇｎａｌｓ ｆｒｏｍ ｍｕｌｔｉｐｌｅ ｓｏｕｒｃｅｓ」という表題の米国特許公開第２００８０２１２９６０号、２００７年１０月２６日にＷｉｌｌｉａｍｓらによって出願された「Ｆｌｏｗｃｅｌｌ ｓｙｓｔｅｍ ｆｏｒ ｓｉｎｇｌｅ ｍｏｌｅｃｕｌｅ ｄｅｔｅｃｔｉｏｎ」という表題の第２００８０２０６７６４号、２００７年１０月２６日にＨａｎｚｅｌらによって出願された「Ａｃｔｉｖｅ ｓｕｒｆａｃｅ ｃｏｕｐｌｅｄ ｐｏｌｙｍｅｒａｓｅｓ」という表題の第２００８０１９９９３２号、

２００８年２月１１日にＯｔｔｏらによって出願された「ＣＯＮＴＲＯＬＬＡＢＬＥ ＳＴＲＡＮＤ ＳＣＩＳＳＩＯＮ ＯＦ ＭＩＮＩ ＣＩＲＣＬＥ ＤＮＡ」という表題の第２００８０１９９８７４号、２００７年１０月２６日にＲａｎｋらによって出願された「Ａｒｔｉｃｌｅｓ ｈａｖｉｎｇ ｌｏｃａｌｉｚｅｄ ｍｏｌｅｃｕｌｅｓ ｄｉｓｐｏｓｅｄ ｔｈｅｒｅｏｎ ａｎｄ ｍｅｔｈｏｄｓ ｏｆ ｐｒｏｄｕｃｉｎｇ ｓａｍｅ」という表題の第２００８０１７６７６９号、２００７年１０月３１日にＥｉｄらによって出願された「Ｍｉｔｉｇａｔｉｏｎ ｏｆ ｐｈｏｔｏｄａｍａｇｅ ｉｎ ａｎａｌｙｔｉｃａｌ ｒｅａｃｔｉｏｎｓ」という表題の第２００８０１７６３１６号、２００７年１０月３１日にＥｉｄらによって出願された「Ｍｉｔｉｇａｔｉｏｎ ｏｆ ｐｈｏｔｏｄａｍａｇｅ ｉｎ ａｎａｌｙｔｉｃａｌ ｒｅａｃｔｉｏｎｓ」という表題の第２００８０１７６２４１号、２００７年１０月２６日にＬｕｎｄｑｕｉｓｔらによって出願された「Ｍｅｔｈｏｄｓ ａｎｄ ｓｙｓｔｅｍｓ ｆｏｒ ｓｉｍｕｌｔａｎｅｏｕｓ ｒｅａｌ－ｔｉｍｅ ｍｏｎｉｔｏｒｉｎｇ ｏｆ ｏｐｔｉｃａｌ ｓｉｇｎａｌｓ ｆｒｏｍ ｍｕｌｔｉｐｌｅ ｓｏｕｒｃｅｓ」という表題の第２００８０１６５３４６号、２００７年１０月３１日にＫｏｒｌａｃｈによって出願された「Ｕｎｉｆｏｒｍ ｓｕｒｆａｃｅｓ ｆｏｒ ｈｙｂｒｉｄ ｍａｔｅｒｉａｌ ｓｕｂｓｔｒａｔｅｓ ａｎｄ ｍｅｔｈｏｄｓ ｆｏｒ ｍａｋｉｎｇ ａｎｄ ｕｓｉｎｇ ｓａｍｅ」という表題の第２００８０１６０５３１号、２００７年１０月２６日にＬｕｎｄｑｕｉｓｔらによって出願された「Ｍｅｔｈｏｄｓ ａｎｄ ｓｙｓｔｅｍｓ ｆｏｒ ｓｉｍｕｌｔａｎｅｏｕｓ ｒｅａｌ－ｔｉｍｅ ｍｏｎｉｔｏｒｉｎｇ ｏｆ ｏｐｔｉｃａｌ ｓｉｇｎａｌｓ ｆｒｏｍ ｍｕｌｔｉｐｌｅ ｓｏｕｒｃｅｓ」という表題の第２００８０１５７００５号、２００７年１０月３１日にＲａｎｋらによって出願された「Ａｒｔｉｃｌｅｓ ｈａｖｉｎｇ ｌｏｃａｌｉｚｅｄ ｍｏｌｅｃｕｌｅｓ ｄｉｓｐｏｓｅｄ ｔｈｅｒｅｏｎ ａｎｄ ｍｅｔｈｏｄｓ ｏｆ ｐｒｏｄｕｃｉｎｇ ｓａｍｅ」という表題の第２００８０１５３１００号、２００７年１０月２６日にＷｉｌｌｉａｍｓらによって出願された「ＣＨＡＲＧＥ ＳＷＩＴＣＨ ＮＵＣＬＥＯＴＩＤＥＳ」という表題の第２００８０１５３０９５号、２００７年１０月３１日Ｌｕｎｄｑｕｉｓｔらによって出願された「Ｓｕｂｓｔｒａｔｅｓ，ｓｙｓｔｅｍｓ ａｎｄ ｍｅｔｈｏｄｓ ｆｏｒ ａｎａｌｙｚｉｎｇ ｍａｔｅｒｉａｌｓ」という表題の第２００８０１５２２８１号、２００７年１０月３１日にＬｕｎｄｑｕｉｓｔらによって出願された「Ｓｕｂｓｔｒａｔｅｓ，ｓｙｓｔｅｍｓ ａｎｄ ｍｅｔｈｏｄｓ ｆｏｒ ａｎａｌｙｚｉｎｇ ｍａｔｅｒｉａｌｓ」という表題の第２００８０１５２２８０号、２００７年１０月３１日Ｋｏｒｌａｃｈによって出願された「Ｕｎｉｆｏｒｍ ｓｕｒｆａｃｅｓ ｆｏｒ ｈｙｂｒｉｄ ｍａｔｅｒｉａｌ ｓｕｂｓｔｒａｔｅｓ ａｎｄ ｍｅｔｈｏｄｓ ｆｏｒ ｍａｋｉｎｇ ａｎｄ ｕｓｉｎｇ ｓａｍｅ」という表題の第２００８０１４５２７８号、２００７年８月３１日にＬｕｎｄｑｕｉｓｔらによって出願された「ＳＵＢＳＴＲＡＴＥＳ，ＳＹＳＴＥＭＳ ＡＮＤ ＭＥＴＨＯＤＳ ＦＯＲ ＡＮＡＬＹＺＩＮＧ ＭＡＴＥＲＩＡＬＳ」という表題の第２００８０１２８６２７号、２００７年１０月２２日にＲａｎｋらによって出願された「Ｐｏｌｙｍｅｒａｓｅ ｅｎｚｙｍｅｓ ａｎｄ ｒｅａｇｅｎｔｓ ｆｏｒ ｅｎｈａｎｃｅｄ ｎｕｃｌｅｉｃ ａｃｉｄ ｓｅｑｕｅｎｃｉｎｇ」という表題の第２００８０１０８０８２号、２００７年６月１１日にＦｏｑｕｅｔらによって出願された「ＳＵＢＳＴＲＡＴＥＳ ＦＯＲ ＰＥＲＦＯＲＭＩＮＧ ＡＮＡＬＹＴＩＣＡＬ ＲＥＡＣＴＩＯＮＳ」という表題の第２００８００９５４８８号、２００７年９月２７日にＤｉｘｏｎらによって出願された「ＭＯＤＵＬＡＲ ＯＰＴＩＣＡＬ ＣＯＭＰＯＮＥＮＴＳ ＡＮＤ ＳＹＳＴＥＭＳ ＩＮＣＯＲＰＯＲＡＴＩＮＧ ＳＡＭＥ」という表題の第２００８００８００５９号、２００７年８月１４日にＫｏｒｌａｃｈらによって出願された「Ａｒｔｉｃｌｅｓ ｈａｖｉｎｇ ｌｏｃａｌｉｚｅｄ ｍｏｌｅｃｕｌｅｓ ｄｉｓｐｏｓｅｄ ｔｈｅｒｅｏｎ ａｎｄ ｍｅｔｈｏｄｓ ｏｆ ｐｒｏｄｕｃｉｎｇ ａｎｄ ｕｓｉｎｇ ｓａｍｅ」という表題の第２００８００５０７４７号、２００７年３月２９日にＲａｎｋらによって出願された「Ａｒ

ticles having localized molecules disposed thereon and methods of producing same」という表題の第２００８００３２３０１号、２００７年2月9日にＬｕｎｄｑｕｉｓｔらによって出願された「Ｍｅｔｈｏｄｓ and systems for simultaneous real－time monitoring of optical signals from multiple sources」という表題の第２００８００３０６２８号、２００７年6月１５日にＬｙｌｅらによって出願された「ＣＯＮＴＲＯＬＬＥＤ ＩＮＩＴＩＡＴＩＯＮ ＯＦ ＰＲＩＭＥＲ ＥＸＴＥＮＳＩＯＮ」という表題の第２００８０００９００７号、２００６年3月３０日にＲａｎｋらによって出願された「Ａｒｔｉｃｌｅｓ ｈａｖｉｎｇ ｌｏｃａｌｉｚｅｄ ｍｏｌｅｃｕｌｅｓ ｄｉｓｐｏｓｅｄ ｔｈｅｒｅｏｎ ａｎｄ ｍｅｔｈｏｄｓ ｏｆ ｐｒｏｄｕｃｉｎｇ ｓａｍｅ」という表題の第２００７０２３８６７９号、２００６年3月３１日にＫｏｒｌａｃｈらによって出願された「Ｍｅｔｈｏｄｓ，ｓｙｓｔｅｍｓ ａｎｄ ｃｏｍｐｏｓｉｔｉｏｎｓ ｆｏｒ ｍｏｎｉｔｏｒｉｎｇ ｅｎｚｙｍｅ ａｃｔｉｖｉｔｙ ａｎｄ ａｐｐｌｉｃａｔｉｏｎｓ ｔｈｅｒｅｏｆ」という表題の第２００７０２３１８０４号、２００７年2月9日にＬｕｎｄｑｕｉｓｔらによって出願された「Ｍｅｔｈｏｄｓ ａｎｄ ｓｙｓｔｅｍｓ ｆｏｒ ｓｉｍｕｌｔａｎｅｏｕｓ ｒｅａｌ－ｔｉｍｅ ｍｏｎｉｔｏｒｉｎｇ ｏｆ ｏｐｔｉｃａｌ ｓｉｇｎａｌｓ ｆｒｏｍ ｍｕｌｔｉｐｌｅ ｓｏｕｒｃｅｓ」という表題の第２００７０２０６１８７号、２００６年１２月２１日にＨａｎｚｅｌらによって出願された「Ｐｏｌｙｍｅｒａｓｅｓ ｆｏｒ ｎｕｃｌｅｏｔｉｄｅ ａｎａｌｏｇｕｅ ｉｎｃｏｒｐｏｒａｔｉｏｎ」という表題の第２００７０１９６８４６号、２００６年7月7日にＬｕｎｄｑｕｉｓｔらによって出願された「Ｍｅｔｈｏｄｓ ａｎｄ ｓｙｓｔｅｍｓ ｆｏｒ ｓｉｍｕｌｔａｎｅｏｕｓ ｒｅａｌ－ｔｉｍｅ ｍｏｎｉｔｏｒｉｎｇ ｏｆ ｏｐｔｉｃａｌ ｓｉｇｎａｌｓ ｆｒｏｍ ｍｕｌｔｉｐｌｅ ｓｏｕｒｃｅｓ」という表題の第２００７０１８８７５０号、２００６年１２月1日にＥｉｄらによって出願された「ＭＩＴＩＧＡＴＩＯＮ ＯＦ ＰＨＯＴＯＤＡＭＡＧＥ ＩＮ ＡＮＡＬＹＴＩＣＡＬ ＲＥＡＣＴＩＯＮＳ」という表題の第２００７０１６１０１７号、２００６年１１月3日にＴｕｒｎｅｒらによって出願された「Ｎｕｃｌｅｏｔｉｄｅ Ｃｏｍｐｏｓｉｔｉｏｎｓ ａｎｄ Ｕｓｅｓ Ｔｈｅｒｅｏｆ」という表題の第２００７０１４１５９８号、２００６年１１月２７日にＫｏｒｌａｃｈによって出願された「Ｕｎｉｆｏｒｍ ｓｕｒｆａｃｅｓ ｆｏｒ ｈｙｂｒｉｄ ｍａｔｅｒｉａｌ ｓｕｂｓｔｒａｔｅ ａｎｄ ｍｅｔｈｏｄｓ ｆｏｒ ｍａｋｉｎｇ ａｎｄ ｕｓｉｎｇ ｓａｍｅ」という表題の第２００７０１３４１２８号、２００５年１２月2日にＥｉｄらによって出願された「Ｍｉｔｉｇａｔｉｏｎ ｏｆ ｐｈｏｔｏｄａｍａｇｅ ｉｎ ａｎａｌｙｔｉｃａｌ ｒｅａｃｔｉｏｎｓ」という表題の第２００７０１２８１３３号、２００５年9月３０日にＲｏｉｔｍａｎらによって出願された「Ｒｅａｃｔｉｖｅ ｓｕｒｆａｃｅｓ，ｓｕｂｓｔｒａｔｅｓ ａｎｄ ｍｅｔｈｏｄｓ ｏｆ ｐｒｏｄｕｃｉｎｇ ｓａｍｅ」という表題の第２００７００７７５６４号、２００５年9月２９日にＸｕらによって出願された「Ｆｌｕｏｒｅｓｃｅｎｔ ｎｕｃｌｅｏｔｉｄｅ ａｎａｌｏｇｓ ａｎｄ ｕｓｅｓ ｔｈｅｒｅｆｏｒｅ」という表題の第２００７００７２１９６号、および２００５年8月１１日にＬｕｎｄｑｕｉｓｔらによって出願された「Ｍｅｔｈｏｄｓ ａｎｄ ｓｙｓｔｅｍｓ ｆｏｒ ｍｏｎｉｔｏｒｉｎｇ ｍｕｌｔｉｐｌｅ ｏｐｔｉｃａｌ ｓｉｇｎａｌｓ ｆｒｏｍ ａ ｓｉｎｇｌｅ ｓｏｕｒｃｅ」という表題の第２００７００３６５１１号、ならびにＫｏｒｌａｃｈら（２００８）「Ｓｅｌｅｃｔｉｖｅ ａｌｕｍｉｎｕｍ ｐａｓｓｉｖａｔｉｏｎ ｆｏｒ ｔａｒｇｅｔｅｄ ｉｍｍｏｂｉｌｉｚａｔｉｏｎ ｏｆ ｓｉｎｇｌｅ ＤＮＡ ｐｏｌｙｍｅｒａｓｅ ｍｏｌｅｃｕｌｅｓ ｉｎ ｚｅｒｏ－ｍｏｄｅ ｗａｖｅｇｕｉｄｅ ｎａｎｏｓｔｒｕｃｔｕｒｅｓ」Ｐｒｏｃ．Ｎａｔ’ｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．Ｕ．Ｓ．Ａ．、１０５（４）：１１７６１１８１。

【００９９】

一部の実施形態において、核酸は、核酸の質量および／または塩基組成を決定することによって分析される。例えば、一部の実施形態において、核酸は、各々その全体を参照により本明細書に組み込む、米国特許第７，１０８，９７４号、第８，０１７，７４３号および第８，０１７，３２２号に記載される質量分析法（例えば、Ａｂｂｏｔｔ ＰＬＥＸ－ＩＤシステム、Ａｂｂｏｔ Ｉｂｉｓ Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ、Ａｂｂｏｔｔ Ｐａｒｋ、Ｉｌｌｉｎｏｉｓ）を使用して独特な塩基組成シグネチャー（ＢＣＳ）を同定することによって、検出され特徴付けられる。一部の実施形態において、配列を検出または分析するのにＭａｓｓＡＲＲＡＹシステム（Ｓｅｑｕｅｎｏｍ、Ｓａｎ Ｄｉｅｇｏ、Ｃａｌｉｆ．）が使用される（例えば、各々、参照により本明細書に組み込む、米国特許第号６，０４３，０３１号、第５，７７７，３２４号および第５，６０５，７９８号を参照されたい。）。

【０１００】

ある特定の実施形態において、ＨＰｇＶ－２核酸を配列決定するのに、Ｉｏｎ Ｔｏｒｒｅｎｔシークエンシング技術が使用される。Ｉｏｎ Ｔｏｒｒｅｎｔ技術は、ＤＮＡの重合の間に放出される水素イオンの検出に基づいたＤＮＡシークエンシングの方法である（例えば、全ての目的でその全体を参照により本明細書に組み込む、Ｓｃｉｅｎｃｅ、３２７（５９７０）：１１９０（２０１０）；米国特許出願公開第２００９００２６０８２号、第２００９０１２７５８９号、第２０１００３０１３９８号、第２０１００１９７５０７号、第２０１００１８８０７３号および第２０１００１３７１４３号を参照されたい。）。マイクロウェルは、配列決定しようとするＮＧＳフラグメントライブラリーのフラグメントを含んでいる。マイクロウェルの層の下に、高感受性ＩＳＦＥＴイオンセンサーがある。エレクトロニクス産業において使用されるもの同様、全ての層がＣＭＯＳ半導体チップ内に含まれる。成長する相補鎖中にｄＮＴＰが組み入れられると水素イオンが放出され、この水素イオンが高感受性のイオンセンサーの引き金を引く。ホモポリマーの反復が鋳型配列に存在する場合、複数のｄＮＰＴ分子が単一のサイクルに組み入れられる。これが、対応する数の放出される水素、および比例的に高い電気シグナルをもたらす。この技術は、修飾されたヌクレオチドまたは光学が使用されないという点で、他のシークエンシング技術と異なる。Ｉｏｎ Ｔｏｒｒｅｎｔシークエンサーの１塩基あたりの精度は、５０塩基のリードに対しておよそ９９．６％であり、１操作あたりおよそ１００Ｍｂが産生される。リードの長さは１００塩基対である。長さ５反復のホモポリマーリピートに対する精度はおよそ９８％である。イオン半導体シークエンシングの利点は、シークエンシング速度が速く、先行投資および操作の費用が安いことである。

【０１０１】

ある特定の実施形態において、特定のタイプ、系統または単離物を識別する多型または塩基を含むＨＰｇＶ－２核酸は、ハイブリダイゼーションアッセイにおいて検出される。ハイブリダイゼーションアッセイでは、所与の配列、ＳＮＰまたは変異の存在または非存在が、試料からの核酸が相補的な核酸分子（例えば、オリゴヌクレオチドプローブ）にハイブリダイズする能力に基づいて決定される。ハイブリダイゼーションおよび検出のための様々な技術を使用する様々なハイブリダイゼーションアッセイが、当技術分野では利用可能であり、公知である。

【０１０２】

Ｖ．ＨＰｇＶ－２ペプチド

他の実施形態において、本明細書に、ＨＰｇＶ－２ポリペプチド配列をコードするＨＰｇＶ－２ポリヌクレオチド配列を提供する。ＨＰｇＶ－２ポリペプチド（例えば、配列番号２－１１、７６－８５および３０４－３５３）は、図２、９、１４、１６、１８、２０および２２に記載されるものである。他の実施形態は、これらＨＰｇＶ－２タンパク質のフラグメント、融合タンパク質または機能的同等物を提供する。さらに他の実施形態において、好適な宿主細胞においてＨＰｇＶ－２相同体および変異体の発現を指示する組換えＤＮＡ分子を産生するのに、様々なＨＰｇＶ－２相同体および変異体に相当する核酸配列が使用され得る。一部の実施形態において、ポリペプチドは精製された生成物であってよ

く、他の実施形態において、ポリペプチドは化学合成手順の生成物であってよく、さらに他の実施形態において、ポリペプチドは、真核生物または原核生物の宿主（例えば、培地中の細菌、酵母菌、高等植物、昆虫および哺乳動物細胞）を使用して組換え技術によって生成されてもよい。

【０１０３】

ある特定の実施形態において、遺伝子コードの固有の縮重のため、ＨＰｇＶ－２ペプチドをクローニングし、発現するのに、実質的に同じまたは機能的に同等のアミノ酸配列をコードする配列番号１、７５または２９９－３０３のポリヌクレオチド配列以外のＤＮＡ配列が使用され得る。一般的に、このようなポリヌクレオチド配列は、上記に記載した高度から中等度のストリンジェンシー条件下、配列番号１、配列番号７５または配列番号２９９－３０３にハイブリダイズする。当業者によって理解される通り、天然に存在しないコドンを所有するヌクレオチド配列をコードするＨＰｇＶ－２を生成するのが有利であり得る。したがって、一部の好ましい実施形態において、例えば、ＨＰｇＶ－２発現の速度を増大するのに、または天然に存在する配列から生成される転写物よりも長い半減期のような、所望の性質を有する組換えＲＮＡ転写物を生成するのに、特定の原核生物または真核生物の宿主によって好まれるコドン（Ｍｕｒｒａｙら、Ｎｕｃｌ．Ａｃｉｄｓ　Ｒｅｓ．、１７［１９８９］）が選択される。

【０１０４】

ある特定の実施形態において、ペプチドは、下記の表１５におけるペプチド、またはアミノ酸１、２、３もしくは４個の変化を有するこれらのバリアントを含み、またはこれらからなる。このようなペプチドは、例えば、ペプチドおよび／または免疫原を捕捉して抗体を産生するのに使用され得る。

【０１０５】

【表２】

表１５

単離物/ﾍﾟﾌﾟﾁﾄﾞ	ﾀﾝﾊﾟｸ質	アミノ酸配列	配列番号
ﾍﾟﾌﾟﾁﾄﾞ1	S	GGSCRSPSRVQVARRVLQL**S**AFLALIGSGM**S**SIRSKTEGRIESGQ	100
ﾍﾟﾌﾟﾁﾄﾞ1	S	GGSCRSPSRVQVARRVLQLSAFL	101
ﾍﾟﾌﾟﾁﾄﾞ1	S	SAFLALIGSGMSSIRSKTEGRIESGQ	102
ﾍﾟﾌﾟﾁﾄﾞ1	S	ARRVLQLSAFLALIGSGMSS	103
UC0125.US	S	GGSCRSPSRVQVARRVLQL**C**AFLALIGSGM**C**SIRSKTEGRIESGQ	104
UC0125.US	S	GGSCRSPSRVQVARRVLQLCAFL	105
UC0125.US	S	CAFLALIGSGMCSIRSKTEGRIESGQ	106
UC0125.US	S	ARRVLQLCAFLALIGSGMCS	107
ABT0070P.US	S	GGSCRSPSRVQVAGRVLRLCAFLALIGSGMCSIRSKNEGRIESGQ	108
ABT0070P.US	S	GGSCRSPSRVQVAGRVLRLCAFL	109
ABT0070P.US	S	MCSIRSKNEGRIESGQ	110
ABT0070P.US	S	VAGRVLRLCAFLALIGSGMC	111
ﾍﾟﾌﾟﾁﾄﾞ 2	S	RDGSLHW**S**HARHHSVQPDRVAAGPPSVTSVERNMGSSTDQT	112
ﾍﾟﾌﾟﾁﾄﾞ 2	S	RDGSLHW**S**HARHHSVQPDRVAAG	113
UC0125.US	S	RDGSLHW**C**HARHHSVQPDRVAAGPPSVTSVERNMGSSTDQT	114
UC0125.US	S	RDGSLHW**C**HARHHSVQPDRVAAG	115
UC0125.US	S	VAAGPPSVTSVERNMGSSTDQT	116
UC0125.US	S	RHHSVQPDRVAAGPPSVTSVE	117
ﾍﾟﾌﾟﾁﾄﾞ 3	E2	SMN**S**D**S**PFGTFTRNTESRFSIPRF**S**PVKINS	118
ﾍﾟﾌﾟﾁﾄﾞ 3	E2	SMN**C**D**C**PFGTFTRNTESRFSIPRF**C**PVKINS	119
UC0125.US	E2	SMNSDSPFGTFTRNTESRF	120
UC0125.US	E2	SMNCDCPFGTFTRNTESRF	121
UC0125.US	E2	SRFSIPRFSPVKINS	122
UC0125.US	E2	FGTFTRNTESRFSIPR	123
ABT0070P.US	E2	AMNCDCPFGTFTRNTESGFTIPRFCPVKLNS	124
ABT0070P.US	E2	AMNCDCPFGTFTRNTESGF	125
ABT0070P.US	E2	SGFTIPRFCPVKLNS	126
ABT0070P.US	E2	FGTFTRNTESGFTIPR	127
ABT0096P.US		AMNCDCPFGTFTRNTESGFSISIDSVLLKSI	128
UC0125.US	NS3	QAPAVTPTYSEITYYAPTGSGKSTKYPVDLVKQGHKVLVL	129
UC0125.US	NS3	QAPAVTPTYSEITYYAPTGSGKST	130
UC0125.US	NS3	GKSTKYPVDLVKQGHKVLVL	131
UC0125.US	NS3	ITYYAPTGSGKSTKYPVDLVKQG	132
UC0125.US	NS3	VKSMAPYIKETYKIRPEIRAGTGPDGVTVITG	133
UC0125.US	NS3	VKSMAPYIKETYKIRPEI	134
UC0125.US	NS3	PEIRAGTGPDGVTVITG	135
UC0125.US	NS3	IKETYKIRPEIRAGTGPDG	136
ABT0070P.US	NS3	VKSMAPYIKEKYKIRPEIRAGTGPDGVTVITG	137
ABT0070P.US	NS3	VKSMAPYIKEKYKIRPEI	138
ABT0070P.US	NS3	IKEKYKIRPEIRAGTGPDG	139
UC0125.US	NS3	LVDPETNLRGYAVVICDECHDTSSTTLLGIGAVRMYAEKA	140
UC0125.US	NS3	LVDPETNLRGYAVVICDECHDTSS	141
UC0125.US	NS3	TNLRGYAVVICDECHDTSSTTLLGI	142
UC0125.US	NS3	DTSSTTLLGIGAVRMYAEKA	143
UC0125.US	NS3	PETNLRGYAVVISDESHDTSS	144
UC0125.US	NS3	PETNLRGYAVVISD	145
UC0125.US	NS3	VISDESHDTSS	146

ABT0070P.US	NS3	PETNLRGYAVVICDECHDTSS	147
ABT0070P.US	NS3	PETNLRGYAVVICD	148
ABT0096P.US	NS3	RRGFAVVICVECHEHIT	149
UC0125.US	NS3	PCTAALRMQRRGRTGRGRRGAYYTTSPGAAPCVS	150
UC0125.US	NS3	PCTAALRMQRRGRTGRGRRG	151
UC0125.US	NS3	GRRGAYYTTSPGAAPCVS	152
UC0125.US	NS3	RRGRTGRGRRGAYYTTSPG	153
ABT0070P.US	NS3	PCTAALRMQRRGRTGRGRRGAYYTTTPGAAPCV	154
ABT0070P.US	NS3	GRRGAYYTTTPGAAPCV	155
ABT0070P.US	NS3	RRGRTGRGRRGAYYTTTPG	156
UC0125.US	NS4B	LSERFGQQLSKLSLWRSVYHWAQAREGYTQCG	157
UC0125.US	NS4B	LSERFGQQLSKLSLWRSV	158
UC0125.US	NS4B	RSVYHWAQAREGYTQCG	159
UC0125.US	NS4B	LSKLSLWRSVYHWAQAREG	160
ABT0070P.US	NS4B	LTEKFGQQLSKLSLWRSVYHWAQAREGYTQCG	161
ABT0070P.US	NS4B	LTEKFGQQLSKLSLWRSV	162
UC0125.US	NS5A	NPTTTGTGTLRPDISDANKLGFRYGVADIVELERRGDKWH	163
UC0125.US	NS5A	FNPTTTGTGTLRPDISDANKLGFR	164
UC0125.US	NS5A	GFRYGVADIVELERRGDKWH	165
UC0125.US	NS5A	RPDISDANKLGFRYGVADI	166
ABT0070P.US	NS5A	NPTTTATGTLRPDISDATKLGFRYGVAEIVELERRGNKWH	167
ABT0070P.US	NS5A	NPTTTATGTLRPDISDATKLGFR	168
ABT0070P.US	NS5A	GFRYGVAEIVELERRGNKWH	169
ABT0070P.US	NS5A	RPDISDATKLGFRYGVAEI	170
UC0125.US	NS5A	QNLAARRRAEYDAWQVRQAVGDEYTRLADEDVD	171
UC0125.US	NS5A	QNLAARRRAEYDAWQVRQAV	172
UC0125.US	NS5A	RQAVGDEYTRLADEDVD	173
UC0125.US	NS5A	RAEYDAWQVRQAVGDEYTR	174
ABT0070P.US	NS5A	QNLEARRRAEFDAWQVREAIRDEYTRLADEDVD	175
ABT0070P.US	NS5A	QNLEARRRAEFDAWQVREAI	176
ABT0070P.US	NS5A	REAIRDEYTRLADEDVD	177
ABT0070P.US	NS5A	RAEFDAWQVREAIRDEYTR	178
ABT0096P.US	NS5A	FEAWQVREAIRDEYTRLADEDVD	179
UC0125.US	NS5A	RFVPPVPKPRTRVSGVLERVRMCMRTPPIKF	180
UC0125.US	NS5A	RFVPPVPKPRTRVSGV	181
UC0125.US	NS5A	SGVLERVRMCMRTPPIKF	182
UC0125.US	NS5A	KPRTRVSGVLERVRM	183
ABT0096P.US	NS5A	RTRVSGVLERVRMCMTT	184
UC0125.US	NS5B	NTTRDHNNGITYTDLVSGRAKP	185
UC0125.US	NS5B	NTTRDHNNGITYTD	186
UC0125.US	NS5B	YTDLVSGRAKP	187
ABT0070P.US	NS5B	NTTRDHNNGITYSDLVSGRAKP	188
ABT0070P.US	NS5B	NTTRDHNNGITYSD	189
ABT0070P.US	NS5B	YSDLVSGRAKP	190
UC0125.US	NS5B	DAPMRIIPKPEVFPRDKSTRKPPRFIVFPGCAARV	191
UC0125.US	NS5B	DAPMRIIPKPEVFPRDKSTRKPPR	192
UC0125.US	NS5B	DKSTRKPPRFIVFPGCAARV	193
UC0125.US	NS5B	IPKPEVFPRDKSTRKPPRFI	194
ABT0070P.US	NS5B	DAPMRIIPKPEVFPRDKTTRKPPRFIVFPGCAARV	195
ABT0070P.US	NS5B	DAPMRIIPKPEVFPRDKTTRKPPR	196
ABT0070P.US	NS5B	DKTTRKPPRFIVFPGCAARV	197

ABT0070P.US	NS5B	IPKPEVFPRDKTTRKPPRFI	198
UC0125.US	NS5B	MPLLCMLIRNEPSQTGTLVT	199
UC0125.US	NS5B	MPLLCMLIRNEPSQT	200
UC0125.US	NS5B	MLIRNEPSQTGTLVT	201
ABT0070P.US	NS5B	LPLLCMLIRNEPSQTGTLVT	202
ABT0070P.US	NS5B	LPLLCMLIRNEPSQT	203
ABT0096P.US	NS5B	LPLLCMLIRNEPSQTGTLVT	204
UC0125.US	S	AEAAPKSGELDSQCDHLAWSFMEGMPTGTLIVQRDGSLH	205
UC0125.US	S	AEAAPKSGELDSQCDHLAWSFME	206
UC0125.US	S	FMEGMPTGTLIVQRDGSLH	207
UC0125.US	S	QCDHLAWSFMEGMPTGT	208
UC0125.US	NS4A-B	SVEVRPAGVTRPDATDETAAYAQRLYQACADSGIFASLQGTASAALGKLA	209
UC0125.US	NS4A-B	SVEVRPAGVTRPDATDETAAYAQRLYQACAD	210
UC0125.US	NS4A-B	ACADSGIFASLQGTASAALGKLA	211
UC0125.US	NS4A-B	VTRPDATDETAAYAQRLYQACADSGIFASLQG	212
ABT0070P.US	NS4A-B	SVENGLAGVTRPDATDETAAYAQRLYQACADSGILASLQGTASAALSRLA	213
ABT0070P.US	NS4A-B	SVENGLAGVTRPDATDETAAYAQRLYQACAD	214
ABT0070P.US	NS4A-B	ACADSGILASLQGTASAALSRLA	215
ABT0070P.US	NS4A-B	VTRPDATDETAAYAQRLYQACADSGILASLQG	216

【０１０６】

本明細書に記載するポリヌクレオチドは、組換え技術によってＨＰｇＶ－２ポリペプチドを精製するのに使用され得る。よって、例えば、ポリペプチドは、ポリペプチドを発現させるための様々な発現ベクターのあらゆる１つに含まれていてもよい。一部の実施形態において、ベクターは、それだけには限定されないが、染色体、非染色体および合成のＤＮＡ配列（例えば、ＳＶ４０、細菌のプラスミド、ファージＤＮＡの誘導体；バキュロウイルス、酵母菌のプラスミド、プラスミドとファージＤＮＡとの組合せに由来するベクター、ならびにワクシニア、アデノウイルス、鶏痘ウイルスおよび仮性狂犬病のようなウイルスＤＮＡ）を含む。あらゆるベクターが、宿主において複製可能であり、生存可能である限り使用され得ることが企図される。

【０１０７】

とりわけ、本明細書に提供する一部の実施形態は、上記に広範に記載される１つ以上の配列を含む組換え構築物である（例えば、配列番号１、７５、２９９－３０３またはこれらのサブ部分）。一部の実施形態において、構築物は、フォワードまたはリバース配向の、その中に本発明の配列が挿入されている、プラスミドまたはウイルスのベクターのようなベクターを含む。さらに他の実施形態において、異種性の構造の配列が、好適な相において翻訳開始および終結の配列で組み立てられる。ある特定の実施形態において、あらゆる様々な手順を使用して、好適なＤＮＡ配列がベクター中に挿入される。一般的に、ＤＮＡ配列は、当技術分野では公知の手順によって、好適な一又は複数の制限エンドヌクレアーゼ部位中に挿入される。

【０１０８】

多数の適切なベクターが当業者には公知であり、市販されている。このようなベクターは、それだけには限定されないが、以下のベクターを含む：１）細菌－ｐＱＥ７０、ｐＱＥ６０、ｐＱＥ９（Ｑｉａｇｅｎ）、ｐＢＳ、ｐＤ１０、ファージスクリプト（ｐｈａｇｅｓｃｒｉｐｔ）、ｐｓｉＸ１７４、ｐブルースクリプト（ｐｂｌｕｅｓｃｒｉｐｔ）ＳＫ、ｐＢＳＫＳ、ｐＮＨ８Ａ、ｐＮＨ１６ａ、ｐＮＨ１８Ａ、ｐＮＨ４６Ａ（Ｓｔｒａｔａｇｅｎｅ）；ｐｔｒｃ９９ａ、ｐＫＫ２２３　３、ｐＫＫ２３３　３、ｐＤＲ５４０、

ｐＲＩＴ５（Ｐｈａｒｍａｃｉａ）；ｐＥＴベクター（Ｎｏｖａｇｅｎ）；および２）真核生物－ｐＷＬＮＥＯ、ｐＳＶ２ＣＡＴ、ｐＯＧ４４、ＰＸＴ１、ｐＳＧ（Ｓｔｒａｔａｇｅｎｅ）ｐＳＶＫ３、ｐＢＰＶ、ｐＭＳＧ、ｐＳＶＬ（Ｐｈａｒｍａｃｉａ）。あらゆる他のプラスミドまたはベクターが、宿主において複製可能であり、生存可能である限り、使用され得る。

【０１０９】

ある特定の実施形態において、発現ベクターにおけるＤＮＡ配列は、ｍＲＮＡ合成を指示するのに好適な一又は複数の発現制御配列（プロモーター）に作動可能に連結されている。有用なプロモーターは、それだけには限定されないが、ＬＴＲまたはＳＶ４０プロモーター、エシェリキア・コリ（Ｅ．ｃｏｌｉ）ｌａｃまたはｔｒｐ、ファージラムダＰＬおよびＰＲ、Ｔ３およびＴ７プロモーター、ならびにサイトメガロウイルス（ＣＭＶ）最初期、単純ヘルペスウイルス（ＨＳＶ）チミジンキナーゼ、およびマウスメタロチオネインＩプロモーター、ならびに原核細胞もしくは真核細胞またはこれらのウイルスにおける遺伝子の発現を制御することが知られている他のプロモーターを含む。他の実施形態において、組換え発現ベクターは、複製開始点、および宿主細胞の形質転換を可能にする選択マーカー（例えば、真核細胞培養物に対するジヒドロ葉酸レダクターゼもしくはネオマイシン耐性、またはエシェリキア・コリにおけるテトラサイクリンもしくはアンピシリン耐性）を含む。

【０１１０】

さらなる実施形態において、本明細書に、上記に記載した構築物を含む宿主細胞を提供する。一部の実施形態において、宿主細胞は、高等真核細胞（例えば、哺乳動物または昆虫の細胞）である。他の実施形態において、宿主細胞は、下等真核細胞（例えば、酵母細胞）である。さらに他の実施形態において、宿主細胞は原核細胞（例えば、細菌細胞）であってよい。宿主細胞の具体的な例は、それだけには限定されないが、エシェリキア・コリ、サルモネラ・ティフィムリウム（Ｓａｌｍｏｎｅｌｌａ ｔｙｐｈｉｍｕｒｉｕｍ）、バシラス・サブティリス（Ｂａｃｉｌｌｕｓ ｓｕｂｔｉｌｉｓ）、ならびにシュードモナス（Ｐｓｅｕｄｏｍｏｎａｓ）属、ストレプトミセス（Ｓｔｒｅｐｔｏｍｙｃｅｓ）属およびスタヒロコッカス（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ）属内の様々な種、ならびにサッカロミセス・セレビシアエ（Ｓａｃｃｈａｒｏｍｙｃｅｅｓ ｃｅｒｉｖｉｓｉａｅ）、シゾサッカロミセス・ポンベ（Ｓｃｈｉｚｏｓａｃｃｈａｒｏｍｙｃｅｅｓ ｐｏｍｂｅ）、ドロソフィラ（Ｄｒｏｓｏｐｈｉｌａ）Ｓ２細胞、スポドプテラ（Ｓｐｏｄｏｐｔｅｒａ）Ｓｆ９細胞、チャイニーズハムスター卵巣（ＣＨＯ）細胞、サル腎臓線維芽細胞のＣＯＳ ７系統（Ｇｌｕｚｍａｎ、Ｃｅｌｌ、２３：１７５［１９８１］）、Ｃ１２７、３Ｔ３、２９３、２９３Ｔ、ＨｅＬａおよびＢＨＫ細胞系を含む。

【０１１１】

ＨＰｇＶ－２タンパク質は、好適なプロモーターの制御下で、哺乳動物細胞、酵母菌、細菌または他の細胞において発現され得る。本明細書に記載するＤＮＡ構築物に由来するＲＮＡを使用してこのようなタンパク質を生成するために、細胞不含翻訳系も使用され得る。原核生物および真核生物の宿主と使用するのに好適なクローニングおよび発現ベクターは、Ｓａｍｂｒｏｏｋら、Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｃｌｏｎｉｎｇ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ、第２版、Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ、Ｎ．Ｙ．（１９８９）によって記載されている。

【０１１２】

本開示は、それだけには限定されないが、硫酸アンモニウムまたはエタノール沈殿、酸抽出、陰イオンまたは陽イオン交換クロマトグラフィー、ホスホセルロースクロマトグラフィー、疎水性相互作用クロマトグラフィー、アフィニティクロマトグラフィー、ヒドロキシルアパタイトクロマトグラフィーおよびレクチンクロマトグラフィーを含めた、組換え細胞培養物からＨＰｇＶ－２タンパク質を回収し、精製するための方法も提供する。他の実施形態において、成熟タンパク質の立体配置を完成させる上で、タンパク質再フォールディングのステップが適宜、使用され得る。さらに他の実施形態において、最終の精製

ステップに、高速液体クロマトグラフィー（ＨＰＬＣ）が使用され得る。

【０１１３】

本開示は、ポリペプチドの精製を可能にするマーカー配列に対してインフレームで融合しているコード配列を有するポリヌクレオチド（例えば、配列番号１、７５または２９９－３０３の一部分）をさらに提供する。マーカー配列の非限定的な例は、ベクター、好ましくはｐＱＥ９ベクターによって供給され得るヘキサヒスチジンタグであり、ヘキサヒスチジンタグは、細菌の宿主の場合はマーカーに融合しているポリペプチドの精製を提供し、または、例えば、哺乳動物の宿主（例えば、ＣＯＳ７細胞）が使用される場合、マーカー配列はヘマグルチニン（ＨＡ）タグでもよい。ＨＡタグは、インフルエンザヘマグルチニンタンパク質に由来するエピトープに相当する（Ｗｉｌｓｏｎら、Ｃｅｌｌ、３７：７６７［１９８４］）。

【０１１４】

ある特定の実施形態において、ＨＰｇＶ－２ペプチド（例えば、配列番号８６－２１８および３０４－３５３）は、保存的に修飾されている。保存的に修飾されているバリアントは、アミノ酸および核酸両方の配列に適用する。特定の核酸配列に関して、保存的に修飾されているバリアントは、同一の、もしくは本質的に同一のアミノ酸配列をコードする核酸を意味し、または核酸がアミノ酸配列をコードしない場合、本質的に同一の配列を意味する。遺伝コードの縮重のため、多数の機能的に同一の核酸が、あらゆる所与のタンパク質をコードする。例えば、ＧＣＡ、ＧＣＣ、ＧＣＧおよびＧＣＵのコドンは全て、アミノ酸のアラニンをコードする。よって、アラニンがコドンによって特定される全ての位置で、コードされるポリペプチドを改変せずに、コドンが、記載されるあらゆる対応するコドンに改変されてもよい。ポリペプチドをコードする本明細書のあらゆる核酸配列は、核酸のあらゆる可能なサイレント変動も記載するものである。当業者であれば、核酸における各コドン（普通はメチオニンに対する唯一のコドンであるＡＵＧ、および普通はトリプトファンに対する唯一のコドンであるＴＧＧを除いて）は、機能的に同一の分子を生じるように修飾され得ることを認識されよう。したがって、ポリペプチドをコードする核酸のサイレント変動は各々、発現生成物に関して、記載する各配列において暗黙（ｉｍｐｌｉｃｉｔ）であるが、実際のプローブ配列に関して暗黙ではない。アミノ酸配列に関して、当業者であれば、コードされる配列における単一のアミノ酸または低パーセント値のアミノ酸を改変、付加または欠失する、核酸、ペプチド、ポリペプチドまたはタンパク質配列に対する個々の置換、欠失または付加は、改変が化学的に同様のアミノ酸でのアミノ酸の置換をもたらす、保存的に修飾されているバリアントであることを認識されよう。機能的に同様のアミノ酸を提供する保存的な置換の表は、当技術分野では周知である。このような保存的に修飾されているバリアントは、本発明の、多型のバリアント、種間の相同体、および対立遺伝子に加えて存在するものであり、これらを排除するものではない。以下の８群は各々、相互に保存的な置換であるアミノ酸を含む：１）アラニン（Ａ）、グリシン（Ｇ）；２）アスパラギン酸（Ｄ）、グルタミン酸（Ｅ）；３）アスパラギン（Ｎ）、グルタミン（Ｑ）；４）アルギニン（Ｒ）、リジン（Ｋ）；５）イソロイシン（Ｉ）、ロイシン（Ｌ）、メチオニン（Ｍ）、バリン（Ｖ）；６）フェニルアラニン（Ｆ）、チロシン（Ｙ）、トリプトファン（Ｗ）；７）セリン（Ｓ）、スレオニン（Ｔ）；および８）システイン（Ｃ）、メチオニン（Ｍ）。

【０１１５】

ＶＩ．抗体産生およびイムノアッセイ

一部の実施形態において、ＨＰｇＶ－２タンパク質を検出するための抗体が使用される。抗体は、様々な免疫原を使用して調製され得る。一実施形態において、免疫原は、ＨＰｇＶ－２を認識する抗体を産生するための、ＨＰｇＶ－２ペプチド（例えば、配列番号２－１１、７６－２１８および３０４－３５３に示される通り）、またはこれらの一部分である。このような抗体は、それだけには限定されないが、ポリクローナル、モノクローナル、キメラ、単鎖、Ｆａｂフラグメント、およびＦａｂ発現ライブラリーを含む。

【０１１６】

ＨＰｇＶ－２に対するポリクローナル抗体を生成するのに、当技術分野では公知の様々な手順が使用され得る。抗体を生成するために、それだけには限定されないが、ウサギ、マウス、ラット、ヒツジ、ヤギなどを含む、様々な宿主動物が、ＨＰｇＶ－２エピトープに対応するペプチドで注射することによって免疫化され得る。ある特定の実施形態において、ペプチドは免疫原性の担体（例えば、ジフテリア毒素、ウシ血清アルブミン（ＢＳＡ）、またはキーホールリンペットヘモシアニン（ＫＬＨ））にコンジュゲートしている。それだけには限定されないが、フロイントの（完全および不完全）、ミネラルゲル（例えば、水酸化アルミニウム）、表面活性物質（例えば、リゾレシチン、プルロニックポリオール、ポリアニオン、ペプチド、油乳剤、キーホールリンペットヘモシアニン、ジニトロフェノール、ならびにＢＣＧ（カルメットゲラン桿菌）およびコリネバクテリウム・パルブム（Ｃｏｒｙｎｅｂａｃｔｅｒｉｕｍ ｐａｒｖｕｍ）のような潜在的に有用なヒトアジュバント）を含めた、様々なアジュバントが、免疫学的応答を増大するために、宿主の種に応じて使用され得る。

【０１１７】

ある特定の実施形態において、ＨＰｇＶ－２に対するモノクローナル抗体を調製するために、培養中の連続的な細胞系によって抗体分子の生成を提供するあらゆる技術が、本開示との使用を見出すことが企図される（例えば、ＨａｒｌｏｗおよびＬａｎｅ、Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ、Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｐｒｅｓｓ、Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ、ＮＹを参照されたい。）。これらは、それだけには限定されないが、ＫｏｈｌｅｒおよびＭｉｌｓｔｅｉｎによって最初に開発されたハイブリドーマ技術（ＫｏｈｌｅｒおよびＭｉｌｓｔｅｉｎ、Ｎａｔｕｒｅ、２５６：４９５ ４９７［１９７５］）、およびトリオーマ技術、ヒトＢ細胞ハイブリドーマ技術（例えば、Ｋｏｚｂｏｒら、Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｔｏｄ．、４：７２［１９８３］を参照されたい。）、ならびにヒトモノクローナル抗体を生成するためのＥＢＶハイブリドーマ技術（Ｃｏｌｅら、Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ ａｎｄ Ｃａｎｃｅｒ Ｔｈｅｒａｐｙ、Ａｌａｎ Ｒ．Ｌｉｓｓ，Ｉｎｃ．、ｐｐ．７７ ９６［１９８５］）を含む。

【０１１８】

ある特定の実施形態において、モノクローナル抗体は、無菌動物において、ＰＣＴ／ＵＳ９０／０２５４５に記載されている技術のような技術を利用して生成される。さらに、ヒト抗体は、ヒトハイブリドーマによって（Ｃｏｔｅら、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ、８０：２０２６ ２０３０［１９８３］）、またはインビトロでヒトＢ細胞をＥＢＶウイルスで形質転換することにより（Ｃｏｌｅら、Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ ａｎｄ Ｃａｎｃｅｒ Ｔｈｅｒａｐｙ、Ａｌａｎ Ｒ．Ｌｉｓｓ、ｐｐ．７７ ９６［１９８５］）産生され得る。

【０１１９】

加えて、単鎖抗体を生成するために記載される技術（参照により本明細書に組み込む、米国特許第４，９４６，７７８号）は、ＨＰｇＶ－２特異的単鎖抗体の生成において使用を見出すことが企図される。本発明の付加的な実施形態は、Ｆａｂ発現ライブラリーを構築するために記載された技術を利用して（Ｈｕｓｅら、Ｓｃｉｅｎｃｅ、２４６：１２７５ １２８１［１９８９］）、ＨＰｇＶ－２に対する所望の特異性を有するモノクローナルＦａｂフラグメントの速やかで容易な同定を可能にする。

【０１２０】

抗体フラグメントを生成するのに適するあらゆる技術が、抗体分子のイディオタイプ（抗原結合性領域）を含む抗体フラグメントの産生において使用を見出すことが企図される。例えば、このようなフラグメントは、それだけには限定されないが、抗体分子のペプシン消化によって生成され得るＦ（ａｂ’）２フラグメント、Ｆ（ａｂ’）２フラグメントのジスルフィド架橋を低減することによって産生され得るＦａｂ’フラグメント、ならびにパパインおよび還元剤で抗体分子を処理することによって産生され得るＦａｂフラグメントを含む。

【０１２１】
抗体の生成において、所望の抗体に対するスクリーニングは、当技術分野では公知の技術（例えば、ラジオイムノアッセイ、ＥＬＩＳＡ（酵素結合免疫吸着検定法）、「サンドイッチ」イムノアッセイ、免疫放射線測定法、ゲル拡散沈殿反応、免疫拡散アッセイ、インサイチューイムノアッセイ（例えば、コロイド金、酵素または放射性同位元素の標識などを使用して）、ウエスタンブロット、沈殿反応、凝集アッセイ（例えば、ゲル凝集アッセイ、赤血球凝集アッセイなど）、補体結合アッセイ、免疫蛍光アッセイ、プロテインＡアッセイおよび免疫電気泳動アッセイなど）により達成されることが企図される。

【０１２２】
一実施形態において、抗体の結合は、一次抗体上の標識を検出することによって検出される。別の実施形態において、一次抗体は、二次抗体または試薬の、一次抗体に対する結合を検出することによって検出される。さらなる実施形態において、二次抗体は標識されている。当技術分野では周知である通り、免疫原性ペプチドは、あらゆる免疫化プロトコールにおいて使用される、担体分子を含まずに提供されるのが一般的である。例えば、ペプチドがＫＬＨにコンジュゲートしていた場合、これはＢＳＡにコンジュゲートしていてもよく、または試料中のＨＰｇＶ－２を検出するためのスクリーニングアッセイにおいて直接使用されてもよい。前述の抗体は、個体（例えば、ＨＰｇＶ－２に感染していることが疑われる）からの生物学的試料中のＨＰｇＶ－２を検出するのに使用されてもよい。生物学的試料は、それだけには限定されないが、細胞を含む、血液、血清、血漿、間質液、尿、脳脊髄液などのような生体液であってよい。

【０１２３】
生物学的試料は、次いで、好適な戦略（例えば、ＥＬＩＳＡまたはラジオイムノアッセイ）およびフォーマット（例えば、マイクロウェル、ディップスティック（例えば、国際特許公開ＷＯ　９３／０３３６７に記載される通り））などを使用して、ＨＰｇＶ－２の存在に対して直接試験され得る。代替的に、試料中のタンパク質は、ドデシル硫酸ナトリウム（ＳＤＳ）の存在または非存在下で、および免疫ブロッティング（ウエスタンブロッティング）により検出されるＨＰｇＶ－２の存在下で、（例えばポリアクリルアミドゲル電気泳動（ＰＡＧＥ）によってサイズ分離され得る。イムノブロッティング技術は一般的に、タンパク質のエピトープの対応するペプチドに対して産生される抗体でより有効であり、よって本明細書に開示する方法および組成物に特に適する。

【０１２４】
一部の実施形態において、ＨＰｇＶ－２は、１）サンドイッチイムノアッセイ（例えば、モノクローナル、ポリクローナル、および／もしくはＤＶＤ－Ｉｇサンドイッチイムノアッセイ、または化学発光検出、放射性同位元素検出（例えば、ラジオイムノアッセイ（ＲＩＡ））、および酵素検出（例えば、エンザイムイムノアッセイ（ＥＩＡ）もしくは酵素結合免疫吸着検定法（ＥＬＩＳＡ）（例えば、Ｑｕａｎｔｉｋｉｎｅ　ＥＬＩＳＡアッセイ、Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓ、Ｍｉｎｎｅａｐｏｌｉｓ、Ｍｉｎｎ．））を含めた、これらのあらゆる変形（例えば、モノクローナル／ＤＶＤ－ＩｇもしくはＤＶＤ－Ｉｇ／ポリクローナル））、２）競合的阻害イムノアッセイ（例えば、フォワードおよびリバース）、３）蛍光偏光免疫測定法（ＦＰＩＡ）、４）酵素増幅免疫測定法（ＥＭＩＴ）、５）生物発光共鳴エネルギー移動（ＢＲＥＴ）、６）均質化学発光アッセイ、７）ＳＥＬＤＩベースのイムノアッセイ、８）化学発光微粒子イムノアッセイ（ＣＭＩＡ）および９）臨床化学比色アッセイ（例えば、ＩＭＡ、ｅＧＦＲ測定に対するクレアチニン、およびＬＣ－ＭＳ／ＭＳ）のようなイムノアッセイで検出される（例えば、Ｔｉｅｔｚ　Ｔｅｘｔｂｏｏｋ　ｏｆ　Ｃｌｉｎｉｃａｌ　Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ　ａｎｄ　Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｄｉａｇｎｏｓｔｉｃｓ．、第４版、Ｂｕｒｔｉｓ，Ｅ　Ｒ　Ａｓｈｗｏｏｄおよび Ｄ　Ｂｒｕｎｓ編集、Ｅｌｓｅｖｉｅｒ　Ｓａｕｎｄｅｒｓ、Ｓｔ．Ｌｏｕｉｓ、Ｍｏ．、２００６を参照されたい。）。

【０１２５】
さらに、イムノアッセイが利用される場合、当技術分野では公知である、あらゆる適切

な検出可能な標識が使用され得る。例えば、検出可能な標識は、放射性標識（３Ｈ、１２５Ｉ、３５Ｓ、１４Ｃ、３２Ｐおよび３３Ｐのような）、酵素標識（セイヨウワサビのペルオキシダーゼ、アルカリ性ペルオキシダーゼ、グルコース６リン酸デヒドロゲナーゼなどのような）、化学発光標識（アクリジニウムエステル、チオエステルまたはスルホンアミド；ルミノール、イソルミノール、フェナントリジニウムエステルなどのような）、蛍光標識（フルオレセイン（例えば、５－フルオレセイン、６－カルボキシフルオレセイン、３’６－カルボキシフルオレセイン、５（６）－カルボキシフルオレセイン、６－ヘキサクロロ－フルオレセイン、６－テトラクロロフルオレセイン、フルオレセインイソチオシアネートなど）のような）、ローダミン、フィコビリンタンパク質、Ｒ－フィコエリスリン、量子ドット（例えば、硫酸亜鉛でキャッピングしたセレン化カドミウム）、温度測定標識（ｔｈｅｒｍｏｍｅｔｒｉｃ ｌａｂｅｌ）またはイムノ－ポリメラーゼ連鎖反応標識であってよい。標識の導入、標識化手順、および標識の検出は、ＰｏｌａｋおよびＶａｎ Ｎｏｏｒｄｅｎ、Ｉｎｔｒｏｄｕｃｔｉｏｎ ｔｏ Ｉｍｍｕｎｏｃｙｔｏｃｈｅｍｉｓｔｒｙ、第２版、Ｓｐｒｉｎｇｅｒ Ｖｅｒｌａｇ、Ｎ．Ｙ．（１９９７）、およびＭｏｌｅｃｕｌａｒ Ｐｒｏｂｅｓ，Ｉｎｃ．、Ｅｕｇｅｎｅ、Ｏｒｅｇによって発行されたハンドブックおよびカタログが合わさったものであるＨａｕｇｌａｎｄ、Ｈａｎｄｂｏｏｋ ｏｆ Ｆｌｕｏｒｅｓｃｅｎｔ Ｐｒｏｂｅｓ ａｎｄ Ｒｅｓｅａｒｃｈ Ｃｈｅｍｉｃａｌｓ（１９９６）に見出される。蛍光標識は、ＦＰＩＡ（例えば、その全体を参照により本明細書に組み込む、米国特許第５，５９３，８９６号、第５，５７３，９０４号、第５，４９６，９２５号、第５，３５９，０９３号および第５，３５２，８０３号を参照されたい。）において使用され得る。アクリジニウム化合物は、均質または不均質な化学発光アッセイにおいて検出可能な標識として使用され得る（例えば、Ａｄａｍｃｚｙｋら、Ｂｉｏｏｒｇ．Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．Ｌｅｔｔ．、１６：１３２４－１３２８（２００６）；Ａｄａｍｃｚｙｋら、Ｂｉｏｏｒｇ．Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．Ｌｅｔｔ．、４：２３１３－２３１７（２００４）；Ａｄａｍｃｚｙｋら、Ｂｉｏｒｇ．Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．Ｌｅｔｔ．、１４：３９１７－３９２１（２００４）；およびＡｄａｍｃｚｙｋら、Ｏｒｇ．Ｌｅｔｔ．、５：３７７９－３７８２（２００３）を参照されたい。）。

【０１２６】

好ましいアクリジニウム化合物は、アクリジニウム－９－カルボキサミドである。アクリジニウム－９－カルボキサミドを調製するための方法は、Ｍａｔｔｉｎｇｌｙ、Ｊ．Ｂｉｏｌｕｍｉｎ．Ｃｈｅｍｉｌｕｍｉｎ．、６：１０７－１１４（１９９１）；Ａｄａｍｃｚｙｋら、Ｊ．Ｏｒｇ．Ｃｈｅｍ．、６３：５６３６－５６３９（１９９８）；Ａｄａｍｃｚｙｋら、Ｔｅｔｒａｈｅｄｒｏｎ、５５：１０８９９－１０９１４（１９９９）；Ａｄａｍｃｚｙｋら、Ｏｒｇ．Ｌｅｔｔ．１：７７９－７８１（１９９９）；Ａｄａｍｃｚｙｋら、Ｂｉｏｃｏｎｊｕｇａｔｅ Ｃｈｅｍ．、１１：７１４－７２４（２０００）；Ｍａｔｔｉｎｇｌｙら、Ｌｕｍｉｎｅｓｃｅｎｃｅ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ：Ｉｎｓｔｒｕｍｅｎｔｓ ａｎｄ Ａｐｐｌｉｃａｔｉｏｎｓ；Ｄｙｋｅ，Ｋ．Ｖ．編集；ＣＲＣ Ｐｒｅｓｓ：Ｂｏｃａ Ｒａｔｏｎ、ｐｐ．７７－１０５（２００２）；Ａｄａｍｃｚｙｋら、Ｏｒｇ．Ｌｅｔｔ．、５：３７７９－３７８２（２００３）；および米国特許第５，４６８，６４６号、第５，５４３，５２４号および第５，７８３，６９９号（各々その全体をこれらに関する教示に対して本明細書に組み込む）に記載されている。別の好ましいアクリジニウム化合物は、アクリジニウム－９－カルボキシレートアリールエステルである。アクリジニウム－９－カルボキシレートアリールエステルの一例は、１０－メチル－９－（フェノキシカルボニル）アクリジニウムフルオロスルホネート（Ｃａｙｍａｎ Ｃｈｅｍｉｃａｌ、Ａｎｎ Ａｒｂｏｒ、Ｍｉｃｈ．から入手できる）である。アクリジニウム－９－カルボキシレートアリールエステルを調製するための方法は、ＭｃＣａｐｒａら、Ｐｈｏｔｏｃｈｅｍ．Ｐｈｏｔｏｂｉｏｌ．、４：１１１１－２１（１９６５）；Ｒａｚａｖｉら、Ｌｕｍｉｎｅｓｃｅｎｃｅ、１５：２４５－２４９（２０００）；Ｒａｚａｖｉら、Ｌｕｍｉｎｅｓｃｅｎｃｅ、１５：２３９－２４４（２０００）；および米国特許第５，２４１，０７０号（各々その全体を参照によりこれらに対する教示

に対して本明細書に組み込む）に記載されている。アクリジニウム－９－カルボキシレートアリールエステルおよびその使用に関するさらなる詳細は、米国公開出願第２００８－０２４８４９３号に記載されている。化学発光アッセイ（例えば、上記に記載したアクリジニウムまたは他の化学発光剤を使用して）は、Ａｄａｍｃｚｙｋら、Ａｎａｌ．Ｃｈｉｍ．Ａｃｔａ、５７９（１）：６１－６７（２００６）に記載されている方法に従って行われ得る。あらゆる適切なアッセイフォーマットが使用され得るが、マイクロプレート化学発光計（Ｍｉｔｈｒａｓ　ＬＢ－９４０、Ｂｅｒｔｈｏｌｄ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ　Ｕ．Ｓ．Ａ．、ＬＬＣ、Ｏａｋ　Ｒｉｄｇｅ、Ｔｅｎｎ．）は、小体積の複数の試料の速やかなアッセイを可能にする。少なくとも１つの塩基性溶液を試料に対して、同時にまたは引き続き添加すると、分析物の存在を示す検出可能なシグナル、すなわち化学発光シグナルが産生される。塩基性溶液は、少なくとも１つの塩基を含み、ｐＨは１０またはそれを超え、好ましくは１２またはそれを超える。塩基性溶液の例は、それだけには限定されないが、水酸化ナトリウム、水酸化カリウム、水酸化カルシウム、水酸化アンモニウム、水酸化マグネシウム、炭酸ナトリウム、重炭酸ナトリウム、水酸化カルシウム、炭酸カルシウムおよび重炭酸カルシウムを含む。試料に添加される塩基性溶液の量は、塩基性溶液の濃度に依存する。使用される塩基性溶液の濃度に基づいて、当業者であれば、試料に添加する塩基性溶液の量を容易に決定することができる。

【０１２７】

産生される化学発光シグナルは、当業者には公知であるルーチンの技術を使用して検出され得る。産生されたシグナルの強度に基づいて、試料中の分析物の量が定量され得る。具体的に、試料中の分析物の量は、産生されたシグナルの強度に比例する。存在する分析物の量は、産生された光の量を、分析物に対する検量線に対して比較することによって、または参照基準に対して比較することによって、定量され得る。検量線は、既知濃度の分析物の段階希釈または溶液を使用して、質量分析法、重量法、および当技術分野では公知の他の技術によって産生され得る。上記は、化学発光剤としてアクリジニウム化合物の使用を強調して記載されるものであるが、当業者であれば、この記載を、他の化学発光剤の使用に容易に適用することができる。

【０１２８】

イムノアッセイは一般的に、それだけには限定されないが、サンドイッチフォーマットのような、当技術分野では公知のあらゆるフォーマットを使用して行われてもよい。具体的に、１つのイムノアッセイフォーマットにおいて、試料中のＨＰｇＶ－２またはそのフラグメントを分離および定量するために、少なくとも２つの抗体が使用される。より具体的に、少なくとも２つの抗体がＨＰｇＶ－２（またはそのフラグメント）上の異なるエピトープに結合し、免疫複合体を形成し、これが「サンドイッチ」と呼ばれる。一般的に、イムノアッセイでは、試験試料中のＨＰｇＶ－２（またはそのフラグメント）を捕捉するのに１つ以上の抗体が使用され得（すなわち、これらの抗体は、「捕捉」抗体（単数または複数）と頻繁に呼ばれる。）、検出可能な（すなわち、定量可能な）標識をサンドイッチに結合するのに１つ以上の抗体が使用され得る（すなわち、これらの抗体は、「検出抗体」、「検出抗体」（複数）、「コンジュゲート」または「コンジュゲート」（複数）と頻繁に呼ばれる。）。よって、サンドイッチイムノアッセイフォーマットの状況では、抗体（またはそのフラグメント、バリアント、もしくはバリアントのフラグメント）は捕捉抗体、検出抗体、またはその両方として使用され得る。例えば、ＨＰｇＶ－２（もしくはそのフラグメント）上の第１のエピトープに結合することができるドメインを有する１つのＤＶＤ－Ｉｇが、捕捉抗体として使用され得、および／またはＨＰｇＶ－２（もしくはそのフラグメント）上の第２のエピトープに結合することができるドメインを有する別のＤＶＤ－Ｉｇが、検出抗体として使用され得る。これに関して、分析物（またはそのフラグメント）上の第１のエピトープに結合することができる第１のドメイン、および分析物（またはそのフラグメント）上の第２のエピトープに結合することができる第２のドメインを有するＤＶＤ－Ｉｇが、捕捉抗体および／または検出抗体として使用され得る。代替的に、第１の分析物（またはそのフラグメント）上のエピトープに結合することができる

第１のドメイン、および第２の分析物（またはそのフラグメント）上のエピトープに結合することができる第２のドメインを有する１つのＤＶＤ－Ｉｇは、２つまたはそれを超える分析物を検出し、任意選択的に定量するための、捕捉抗体および／または検出抗体として使用され得る。

【０１２９】

一般的に言うと、イムノアッセイでは、ＨＰｇＶ－２（またはそのフラグメント）に対して試験される（例えば、含むことが疑われる）試料を、少なくとも１つの捕捉抗体（または抗体）および少なくとも１つの検出抗体（例えば、捕捉および／または検出抗体が複数の抗体を含む場合、第２の検出抗体または第３の検出抗体またはさらに連続的に番号を付けられた抗体であってよい）と、同時に、または逐次的にいずれかで、あらゆる順序で接触させてもよい。例えば、試験試料を、最初に少なくとも１つの捕捉抗体と接触させ、次いで（逐次的に）少なくとも１つの検出抗体と接触させてもよい。代替的に、試験試料を、最初に少なくとも１つの検出抗体と接触させ、次いで（逐次的に）少なくとも１つの捕捉抗体と接触させてもよい。さらに別の代替では、試験試料を、捕捉抗体および検出抗体と同時に接触させてもよい。

【０１３０】

上記に記載したサンドイッチアッセイのフォーマットにおいて、ＨＰｇＶ－２（またはそのフラグメント）を含むことが疑われる試料を、第１の抗体／ＨＰｇＶ－２複合体の形成が許される条件下で、少なくとも１つの第１の捕捉抗体と最初に接触させる。１つを超える捕捉抗体が使用される場合、２つまたはそれを超える捕捉抗体を含む第１の捕捉抗体／ＨＰｇＶ－２複合体が形成される。サンドイッチアッセイにおいて、抗体、すなわち、好ましくは少なくとも１つの捕捉抗体が、試験試料中に予想されるＨＰｇＶ－２（またはそのフラグメント）の最大量のモル過剰量において使用される。例えば、バッファー（例えば、微粒子コーティングバッファー）１ｍＬあたり約５μｇから約１ｍｇの抗体が使用され得る。

【０１３１】

対照的に、競合的阻害イムノアッセイは、たった１つの抗体による結合が必要とされるため、小型の分析物を測定するのにしばしば使用され、逐次的なフォーマットおよび古典的なフォーマットを含む。逐次的な競合的阻害イムノアッセイにおいて、目的の分析物（例えば、ＨＰｇＶ－２タンパク質）に対する捕捉抗体が、マイクロタイタープレートまたは他の固体支持体のウェル上にコーティングされる。目的の分析物を含む試料がウェルに添加されると、目的の分析物が捕捉抗体に結合する。洗浄後、既知量の標識された分析物（例えば、アクリジニウム、ビオチンまたはセイヨウワサビのペルオキシダーゼ（ＨＲＰ））がウェルに添加される。酵素標識のための基質が、シグナルを産生するのに必要とされる。ＨＲＰに適する基質の一例は、３，３’，５，５’－テトラメチルベンチジン（ＴＭＢ）である。洗浄後、標識された分析物によって産生されたシグナルが測定され、このシグナルは試料中の分析物の量に反比例する。古典的な競合的阻害イムノアッセイにおいて、目的の分析物に対する抗体が、固体支持体（例えば、マイクロタイタープレートのウェル）上にコーティングされる。しかし、逐次的な競合的阻害イムノアッセイと異なり、試料および標識された分析物は同時にウェルに添加される。試料中のあらゆる分析物が、捕捉抗体に対する結合に対して、標識された分析物と競合する。洗浄後、標識された分析物によって産生されたシグナルが測定され、試料中の分析物の領と反比例する。

【０１３２】

試験試料中のＨＰｇＶ－２またはそのフラグメントの濃度は、既知濃度の分析物またはそのフラグメントの段階希釈を使用して産生された検量線の使用によるような、好適な手段によって決定される。分析物またはそのフラグメントの段階希釈を使用する以外に、検量線は、重量法で、質量分析法により、および当技術分野では公知の他の技術により産生され得る。

【０１３３】

ＡＲＣＨＩＴＥＣＴ分析計を使用する化学発光微粒子アッセイにおいて、コンジュゲー

ト希釈液のｐＨは６．２±０．２であってよく、微粒子コーティングバッファーは、およそ室温（すなわち、約１７から約２７℃まで）で維持されてよく、微粒子コーティングバッファーのｐＨは約６．５±０．２であってよく、微粒子希釈液のｐＨは約７．８±０．２であってよい。固体は、約０．１５％未満、約０．１４％未満、約０．１３％未満、約０．１２％未満または約０．１１％未満のような、約０．１０％未満のような、約０．２％未満が好ましい。もちろん、これらの範囲または数は、例えば、バックグラウンド干渉の減少、感度の増大、特異性の増大などを含めた、アッセイのこのような性質を増強するために、改変されてもよい。

【０１３４】

ＦＰＩＡは、競合的結合イムノアッセイの原理に基づく。蛍光標識された化合物は、直線偏光によって励起されると、その回転率に反比例する偏光度を有する蛍光を放射する。フルオロフォアは、光が吸収される時間と光が放射される時間との間は回転することが妨げられるため、蛍光標識されたトレーサー－抗体複合体が直線偏光によって励起される場合、放射される光は高度に偏光されているままである。「遊離の」トレーサー化合物（すなわち、抗体に結合していない化合物）が直線偏光によって励起される場合、その回転は、競合的結合イムノアッセイにおいて生成される、対応するトレーサー－抗体コンジュゲートよりもずっと速い。ＦＰＩＡは特別な取扱いおよび処分を必要とする放射性物質が存在しない限り、ＲＩＡより有利である。加えて、ＦＰＩＡは、容易に、速やかに行われ得る、均質なアッセイである。

【０１３５】

本発明の記載は、試料中の患者抗体を検出するために使用されるイムノアッセイのタイプによって限定されない。数々の例示的なフォーマットは以下の通りである。間接的なアッセイにおいて、ＨＰｇＶ－２ペプチドまたはタンパク質は、固相（例えば、ビーズ）上にコーティングし、次いで、試料と接触させ（例えば、１８分）、洗浄ステップが続く。次いで、第２のステップにおいて、免疫複合体を、標識された「第２の」抗体と接触させて、固相に結合しているヒトＩｇＧ（またはＩｇＭ）を検出することによって、ＨＰｇＶ－２に対する患者抗体が検出される（例えば、４分間）。別のアッセイは２ステップの直接（サンドイッチ）アッセイである。このアッセイにおいて、ＨＰｇＶ－２ペプチドまたはタンパク質は、固相（例えば、ビーズ）上にコーティングし、試料と接触させ（例えば、約１８分間）、次いで洗浄する。第２のステップにおいて、ＨＰｇＶ－２に対する抗体が、ＨＰｇＶ－２タンパク質を含む固相に結合しているヒトＩｇＧ（またはＩｇＭ）に結合する、標識化ＨＰｇＶ－２ペプチド／タンパク質で検出される（例えば、４分間）。１ステップの直接（サンドイッチ）アッセイも使用され得る。このようなアッセイにおいて、ＨＰｇＶ－２ペプチドまたはタンパク質は、固相上にコーティングし、試料と（例えば、約１８分間）、および標識化ＨＰｇＶ－２ペプチド／タンパク質と、同じ時間またはおよそ同じ時間（例えば、１８分間）接触させる。別のタイプのアッセイは、溶液相捕捉である。このようなアッセイにおいて、試料は、タンパク質をタグ付けしたＨＰｇＶ－２ペプチドまたはタンパク質（例えば、ビオチンタグ、ＦＬＡＧタグ、ＨＡタグなど）、および標識化ＨＰｇＶ－２ペプチドまたはタンパク質の両方と、親和性分子（例えば、ストレプトアビジンまたはタンパク質タグ抗体）でコーティングした固相の存在下で接触させる。患者抗体が試料中に存在すれば、タグ付けしたペプチドまたはタンパク質、および標識化ＨＰｇＶ－２ペプチドまたはタンパク質は、複合体中の患者抗体に結合することができ、結合された患者抗体は固相支持体に関連するタンパク質タグによって捕捉され得る。これらのアッセイフォーマット全てにおいて、固相は、患者抗体および固相と関連する標識化ＨＰｇＶ－２からのシグナルを誘発するように、さらに処理加工される。

【０１３６】

特定の実施形態において、本明細書に記載する抗原および抗体は、ＨＰｇＶ－２に感染していたことが疑われる試験試料中に見出される複数のＨＰｇＶ－２の構成成分を検出するようにデザインされた組合せイムノアッセイにおける、免疫診断試薬としての使用が企図される。免疫診断試薬は、ペプチドおよび患者抗体の両方を検出する組合せアッセイに

おいて使用され得る。捕捉の目的で、免疫診断試薬が構成される抗原および／または抗体は、例えば、微粒子（例えば、磁性粒子）、ビーズ、試験管、マイクロタイタープレート、キュベット、膜、骨格分子、フィルム、濾紙、ディスクまたはチップのような固体支持体上にコーティングされてもよい。これに関して、免疫診断試薬が抗原の組合せ（例えば、異なるＨＰｇＶ－２タンパク質に対する、または同じＨＰｇＶ－２タンパク質の異なるフラグメントに対する）を含む場合、抗原は同じ固体支持体上に同時コーティングされていてもよく、または別々の固体支持体上に同時コーティングされていてもよい。同様に、免疫診断試薬が、試験試料から１つ以上の抗原を捕捉するのに使用される１つ以上の抗体を含む場合、このような抗体は、同じ固体支持体上に同時コーティングされていてもよく、または別々の固体支持体上に同時コーティングされていてもよい。

【０１３７】

とりわけ、免疫診断試薬は、検出可能な標識で標識されている、または捕捉もしくは検出を可能にする特定のパートナーで標識されている、抗原および抗体を含むことができる。例えば、標識は、フルオロフォア、放射性部分、酵素、ビオチン／アビジン標識、発色団、化学発光標識などのような検出可能な標識であってよい。なおさらに、本発明は、本明細書に記載する免疫診断試薬、およびこのような試料中の２つまたはそれを超えるＨＰｇＶ－２タンパク質および／または抗ＨＰｇＶ－２抗体の存在を検出することによって試験試料中のＨＰｇＶ－２の存在を決定するためのイムノアッセイにおける、免疫診断試薬を使用するための指示書を含む、ＨＰｇＶ－２診断キットの調製を企図するものである。例えば、キットは、イムノアッセイによって、試験試料を抗ＨＰｇＶ－２抗体（例えば、試験試料中の抗コア抗体）に対してアッセイするための指示書を含むことができる。ある特定の実施形態は、試験試料をアッセイするのに化学発光微粒子イムノアッセイを使用するが、本発明のイムノアッセイにおいて使用される抗原および抗体は、試験試料中のＨＰｇＶ－２の存在を決定するための当業者には公知のあらゆる他のイムノアッセイのフォーマットにおいて使用され得ることを理解されたい。指示書は、紙の形態でも、またはディスク、ＣＤ、ＤＶＤなどのようなコンピュータで読み取ることができる形態でもよい。代替的に、または付加的に、キットは、キャリブレーターもしくは対照、例えば、精製され、任意選択的に凍結乾燥された抗ＨＰｇＶ－２抗体もしくは抗原、ならびに／またはアッセイを行うための少なくとも１つの容器（例えば、イムノアッセイの１つ以上の捕捉構成成分（抗原および／もしくは抗体）ですでにコーティングされているチューブ、マイクロタイタープレートもしくはストリップ）、ならびに／またはアッセイバッファーもしくは洗浄バッファーのようなバッファーを含むことができ、このうちいずれか１つは、濃縮溶液、検出可能な標識（例えば、酵素標識）のための基質溶液、または停止溶液として提供され得る。ある特定の実施形態において、キットは、アッセイを行うのに必要である、全ての構成成分、すなわち、試薬、標準、バッファー、希釈液などを含む。具体的な実施形態において、イムノアッセイがキャプチャーオンザフライ（ｃａｐｔｕｒｅ－ｏｎ－ｔｈｅ－ｆｌｙ）タイプの組合せイムノアッセイとして行われ得るように、構成成分はキットにおいて個々に提示され、このタイプの組合せイムノアッセイでは、固体支持体が捕捉部分（例えば、３３－ビオチン化抗原またはビオチン化抗体）の結合を可能にする薬剤でコーティングされており、キットは１つの容器中に個々の捕捉抗原および検出抗原の対、ならびにビオチン化捕捉抗体を各々さらに含み、第２の容器が検出抗体のコンジュゲートを提供する。アッセイを行うための指示書は、抗ＨＰｇＶ－２抗体を定量する目的で、検量線または参照基準を産生するための指示書も含むことができる。

【０１３８】

抗ＩｇＧ抗体および抗ＩｇＭ抗体のような、キット中に提供されるあらゆる抗体は、フルオロフォア、放射性部分、酵素、ビオチン／アビジン標識、発色団、化学発光標識などのような検出可能な標識も組み入れることができ、またはキットは、抗体を標識するための試薬、もしくは抗体を検出するための試薬（例えば、検出抗体）、および／もしくは分析物を標識するための試薬、もしくは分析物を検出するための試薬を含むことができる。抗体、キャリブレーターおよび／または対照は、別々の容器中に提供されても、または好

適なアッセイフォーマット中に、例えばマイクロタイタープレート中に予め分配されてもよい。ある特定のイムノアッセイでは、２つの容器が提供される。第１の容器中に、少なくとも第１、第２および第３の対の抗原が提供され、各対における第１の抗原は、ビオチン化されている所与のＨＰｇＶ－２タンパク質からの捕捉抗原であり、各対における第２の抗原は、第１の抗原と同じタンパク質からの検出抗原であるが、検出可能な標識（例えば、アクリジン化されている）、ならびに試験試料から１つ以上のＨＰｇＶ－２抗原を検出するためにデザインされた１つ以上のビオチン化抗体で標識されており；第２の容器中に、第１の容器からのビオチン化抗体によって捕捉される抗原を検出するためのコンジュゲーションパートナーを形成する抗体が提供される。第１の容器中に複数のビオチン化抗体が存在する場合、コンジュゲーションパートナーを形成する複数の抗体が、単一の容器中、または各々の異なる抗原を検出するコンジュゲート抗体のための個々の容器中に存在してもよいことが企図される。

【０１３９】

任意選択的に、キットは、品質管理の構成成分（例えば、感受性パネル、キャリブレーターおよび陽性対照）を含む。品質管理の試薬の調製は、当技術分野では周知であり、様々な免疫診断生成物用の挿入シート上に記載されている。感受性パネルのメンバーは、アッセイ性能の特徴を確立するために任意選択的に使用され、さらに任意選択的にイムノアッセイキットの試薬の一体性、およびアッセイの標準化の有用な指標である。

【０１４０】

キットは、バッファー、塩、酵素、酵素の補助因子、基質、検出試薬などのような、診断アッセイを行い、または品質管理の評価を促進するのに必要とされる他の試薬も、任意選択的に含むことができる。試験試料を単離および／または処理するための、バッファーおよび溶液のような他の構成成分（例えば、前処理試薬）もキットに含まれていてよい。キットは、１つ以上の他の対照を付加的に含むことができる。キットの１つ以上の構成成分は凍結乾燥されていてよく、この場合、キットは凍結乾燥された構成成分を再構成するのに適する試薬をさらに含むことができる。

【０１４１】

キットの様々な構成成分は、適宜、適切な容器、例えばマイクロタイタープレートにおいて任意選択的に提供される。キットは、試料を保持または貯蔵するための容器（例えば、試料用の容器またはカートリッジ）をさらに含むことができる。必要に応じて、キットは、反応容器、混合容器、および試薬または試験試料の調製を促進する他の構成成分も任意選択的に含むことができる。キットは、シリンジ、ピペット、ピンセット、計測スプーンなどのような、試験試料を得るのを助けるための１つ以上の器具も含むことができる。

【０１４２】

好ましい実施形態において、検出可能な標識は少なくとも１つのアクリジニウム化合物である。このような実施形態において、キットは、少なくとも１つのアクリジニウム－９－カルボキシレート、少なくとも１つのアクリジニウム－９－カルボキシレートアリールエステル、またはこれらのあらゆる組合せを含むことができる。検出可能な標識が少なくとも１つのアクリジニウム化合物である場合、キットは、バッファー、溶液、および／または少なくとも１つの塩基溶液のような、過酸化水素の供給源も含むことができる。免疫診断試薬において、抗体を検出するための抗原は検出可能に標識されていてよく、このような試薬と一緒に使用するためのキットにおいて提供されるあらゆる抗体は、検出可能に標識されていてよいことを理解されたい。所望により、キットは、磁性粒子、ビーズ、試験管、マイクロタイタープレート、キュベット、膜、骨格分子、フィルム、濾紙、ディスクまたはチップのような固体支持体相を含むことができる。

【０１４３】

本開示は、試験試料中の抗ＨＰｇＶ－２抗体およびＨＰｇＶ－２抗原の存在、量または濃度を決定するための、イムノアッセイおよび組合せイムノアッセイ方法を提供する。当技術分野では公知のあらゆる適切なアッセイが、このような方法において使用され得る。このようなアッセイの例は、それだけには限定されないが、サンドイッチイムノアッセイ

のようなイムノアッセイ（例えば、放射性同位元素の検出（ラジオイムノアッセイ（ＲＩＡ））を含めた、モノクローナル－ポリクローナルサンドイッチイムノアッセイ、および酵素検出（エンザイムイムノアッセイ（ＥＩＡ）または酵素結合免疫吸着検定法（ＥＬＩＳＡ）（例えば、Ｑｕａｎｔｉｋｉｎｅ ＥＬＩＳＡアッセイ、Ｒ＆Ｄ Ｓｙｓｔｅｍｓ、Ｍｉｎｎｅａｐｏｌｉｓ、Ｍｉｎｎ．））、競合的阻害イムノアッセイ（例えば、フォワードおよびリバース）、蛍光偏光イムノアッセイ（ＦＰＩＡ）、酵素増幅免疫測定法（ｅｎｚｙｍｅ ｍｕｌｔｉｐｌｉｅｄ ｉｍｍｕｎｏａｓｓａｙ ｔｅｃｈｎｉｑｕｅ）（ＥＭＩＴ）、生物発光共鳴エネルギー移動（ＢＲＥＴ）、および均質な化学発光アッセイなど）を含む。

【０１４４】

イムノアッセイの具体的な実施形態において、組換え抗原（例えば、コアＮＳ３およびＮＳ４抗原）は、捕捉試薬として（例えば、抗原のアミノ末端もしくはカルボキシ末端がビオチンタグを含むこのような抗原を使用することにより）、または抗原がアクリジニウムで直接的もしくは間接的にいずれかで標識されている検出（コンジュゲート）試薬として使用され得る。間接的な標識化は、ＳＭＣＣタイプのリンカーによってタンパク質内の不対システイン残基の遊離のチオールに共有結合性にカップリングしているアクリジン化ＢＳＡの使用を用いてもよい。このような間接的な標識化を促進するために、本発明のイムノアッセイにおいて使用されるある種の抗原が、Ｃ末端に付加的なシステイン残基を含むように、容易にさらに修飾されてもよい。

【０１４５】

イムノアッセイは、１ステップまたは２ステップのフォーマットにおいて行われるのが典型的である。１ステップアッセイにおいて溶液中に形成される免疫複合体を捕捉するための固相試薬は、抗ビオチンモノクローナル抗体、ビオチン化部分（試験試料中の、ＨＰｇＶ－２抗体を捕捉するためのビオチン化抗体、またはＨＰｇＶ－２タンパク質／抗原を捕捉するためのビオチン化抗体である）を捕捉するためのストレプトアビジンまたはニュートラアビジンを含む。

【０１４６】

ＳＥＬＤＩベースのイムノアッセイにおいて、抗ＨＰｇＶ－２抗体またはＨＰｇＶ－２抗原に特異的に結合する捕捉試薬が、活性化前のタンパク質チップアレイのような質量分析プローブの表面に付着している。抗ＨＰｇＶ－２抗体または抗原が、次いで、バイオチップ上に特異的に捕捉され、捕捉された部分が質量分析法によって検出される。代替的に、抗ＨＰｇＶ－２抗体が、捕捉試薬から溶出され、伝統的なＭＡＬＤＩ（マトリックス支援レーザー脱離イオン化法）によって、またはＳＥＬＯＩによって検出されてもよい。化学発光微粒子イムノアッセイ、特にＡＲＣＨＩＴＥＣＴ（登録商標）自動化分析計（Ａｂｂｏｔｔ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ、Ａｂｂｏｔｔ Ｐａｒｋ）を使用するものは、複数の抗原の組合せ（例えば、２つまたはそれを超えるＨＰｇＶ－２タンパク質からの抗原）および複数の抗ＨＰｇＶ－２抗体が容易に使用され得るイムノアッセイの一例である。受身血球凝集反応アッセイのような血球凝集アッセイも使用され得る。血球凝集アッセイでは、血球凝集またはクランピングによって、抗原抗体反応が検出される。受身血球凝集反応アッセイでは、赤血球が抗原でコーティングされ、コーティングされた赤血球が血球凝集アッセイにおいて使用される。ＨＰｇＶ－２中和抗体の測定の第２の実施形態は、ＨＰｇＶ－２での感染が疑われる細胞系を使用し、１つ以上の方法（例えば、免疫蛍光、プラークアッセイ法など）によって阻害を測定する、伝統的なウイルス中和試験である（参照により本明細書に組み込む、Ｔｅｍｐｅｒｔｏｎら、Ｖｉｒｏｌ．Ｊ．、１０：２６６－２１３、２０１３を参照されたい。）。

【０１４７】

例えば、免疫診断試薬が複数の抗原を含む場合、および／または抗ＨＰｇＶ－２抗体イムノアッセイキットにおいて、尿、血液、血清および血漿、ならびに他の体液を採取し、取り扱い、処理加工するための当技術分野では周知の方法が、本開示の実践において使用される。試験試料は、抗体、抗原、ハプテン、ホルモン、薬物、酵素、受容体、タンパク

質、ペプチド、ポリペプチド、オリゴヌクレオチドまたはポリヌクレオチドのような目的のポリペプチドに加えて、さらなる部分を含むことができる。例えば、試料は、対象から得た全血試料であってよい。試験試料、特に全血が、本明細書に記載するイムノアッセイの前に、例えば前処理試薬で、処理されるのが必要であり、または望ましいことがある。前処理が必要でない場合でも（例えば、殆どの尿試料）、前処理は、単に便宜上（例えば、商業上のプラットホーム上のレジメンの一部として）任意選択的に行われ得る。

【０１４８】

前処理試薬は、本発明のイムノアッセイおよびキットで使用するのに好適なあらゆる試薬であってよい。前処理は：（ａ）１つ以上の溶媒（例えば、メタノールおよびエチレングリコール）ならびに塩、（ｂ）１つ以上の溶媒、塩および洗剤、（ｃ）洗剤、または（ｄ）洗剤および塩を任意選択的に含む。前処理試薬は当技術分野では公知であり、このような前処理は、例えば、文献に記載されている通り（例えば、Ｙａｔｓｃｏｆｆら、－３７－Ａｂｂｏｔｔ ＴＤｘ Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｙ Ａｓｓａｙ Ｅｖａｌｕａｔｅｄ ｆｏｒ Ｍｅａｓｕｒｉｎｇ Ｃｙｃｌｏｓｐｏｒｉｎｅ ｉｎ ＷｈｏｌｅＢｌｏｏｄ、Ｃｌｉｎ．Ｃｈｅｍ．、３６：１９６９－１９７３（１９９０）、およびＷａｌｌｅｍａｃｑら、Ｅｖａｌｕａｔｉｏｎ ｏｆ ｔｈｅ Ｎｅｗ ＡｘＳＹＭ Ｃｙｃｌｏｓｐｏｒｉｎｅ Ａｓｓａｙ：Ｃｏｍｐａｒｉｓｏｎ ｗｉｔｈ ＴＤｘ Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ｗｈｏｌｅ Ｂｌｏｏｄ ａｎｄ ＥＭＩＴＣｙｃｌｏｓｐｏｒｉｎｅ Ａｓｓａｙｓ、Ｃｌｉｎ．Ｃｈｅｍ．、４５：４３２－４３５（１９９９）を参照されたい。）、ならびに／または市販されている、Ａｂｂｏｔｔ ＴＯｘ、ＡｘＳＹＭ（登録商標）およびＡＲＣＨＩＴＥＣＴ（登録商標）分析計（Ａｂｂｏｔｔ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ、Ａｂｂｏｔｔ Ｐａｒｋ、ＩＬ）上のアッセイに使用するために使用され得る。加えて、前処理は、Ａｂｂｏｔｔの、米国特許第５，１３５，８７５号、欧州特許公開第０ ４７１ ２９３号、２００６年１２月２９日出願の米国仮特許出願第６０／８７８，０１７号、および米国特許出願公開第２００８／００２０４０１号（前処理に関する教示に対して、その全体を参照により本明細書に組み込む）に記載されている通りに行われてもよい。前処理試薬は、不均質な薬剤でも、または均質な薬剤でもよい。

【０１４９】

不均質な前処理試薬を使用すると、前処理試薬は、分析物の結合タンパク質（例えば、試料中に存在する、抗ＨＰｇＶ－２抗体に結合することができるタンパク質、または抗ＨＰｇＶ－２抗体形態に結合することができる抗原）を沈殿させる。このような前処理ステップは、沈殿した分析物の結合タンパク質から、前処理剤を試料に添加することによって形成された混合物の上清を分離することによって、あらゆる分析物の結合タンパク質を除去するステップを含む。このようなアッセイでは、あらゆる結合タンパク質が非存在である混合物の上清がアッセイにおいて使用され、抗体捕捉ステップに直接進行する。

【０１５０】

均質な前処理試薬を使用すると、このような分離ステップは存在しない。試験試料および前処理試薬の混合物全体を、抗ＨＰｇＶ－２抗体に特異的な標識された結合パートナー（すなわち、抗原）またはＨＰｇＶ－２抗原に特異的な標識された結合パートナー（すなわち、抗体）と接触させる。このようなアッセイに使用される前処理試薬は、第１の特異的な結合パートナーによる捕捉の前または間いずれかに、前処理した試験試料の混合物中で希釈されるのが典型的である。このような希釈に関わらず、ある量の前処理試薬（例えば、５Ｍメタノールおよび／または０．６メチレングリコール）が、捕捉の間に試験試料混合物中に依然として存在（または残存）する。

【０１５１】

不均質なフォーマットでは、試験試料が対象から得られた後、第１の混合物が調製される。混合物は、抗ＨＰｇＶ－２抗体および第１の特異的な捕捉結合パートナーに対して評価されている試験試料を含み、試験試料中に含まれる第１の特異的な捕捉結合パートナーおよびあらゆる抗ＨＰｇＶ－２抗体が、第１の特異的な捕捉結合パートナー－抗ＨＰｇＶ－２抗体複合体を形成する。第１の特異的な捕捉結合パートナーは、コア抗原、ＮＳ３抗

原もしくはＮＳ３、または他のＨＰｇＶ－２タンパク質のあらゆるものであってよい。同様に、ある特定の実施形態において、本発明の組合せアッセイにおいて、混合物は第２および第３の特異的な捕捉結合パートナーも含み、これら第２および第３の特異的な捕捉結合パートナーは、試験試料中に存在する抗ＨＰｇＶ－２抗体と、第２および第３の特異的な捕捉結合パートナー－抗ＨＰｇＶ－２抗体複合体を形成する。

【０１５２】

加えて、組合せイムノアッセイは、試験試料中に存在する第４の抗原と抗ＨＰｇＶ－２抗体－４の特異的な捕捉結合パートナー複合体を形成するために、試験試料中に見出される第４の特異的な捕捉結合パートナー（すなわち、試験試料中に見出される抗原またはＨＰｇＶ－２タンパク質）と特異的な複合体を形成する、少なくとも１つの抗ＨＰｇＶ－２捕捉抗体を含むことができる。

【０１５３】

組合せイムノアッセイでは、混合物を形成するために試験試料および様々な特異的な結合パートナーが添加される順序は決定的ではない。一部の実施形態において、第１、第２および第３の特異的な捕捉結合パートナー（すなわち、抗原）ならびに抗ＨＰｇＶ－２捕捉抗体が、固相上に固定化される。さらに他の実施形態において、これら４つの構成成分のどれも固定化されないが、代わりに固相上の捕捉をもたらすために、全て同時に試験試料に添加される。組合せイムノアッセイにおいて使用される固相は、それだけには限定されないが、磁性粒子、ビーズ、試験管、マイクロタイタープレート、キュベット、膜、骨格分子、フィルム、濾紙、ディスクおよびチップのような、当技術分野では公知のあらゆる固相であってよい。

【０１５４】

第１、第２および第３の特異的な捕捉結合パートナーと試験試料中に見出されるこれらそれぞれの抗ＨＰｇＶ－２抗体と、ならびに第１の抗ＨＰｇＶ－２捕捉抗体（例えば、抗コア）と試験試料中に見出されるこれらのそれぞれのＨＰｇＶ－２抗原またはＨＰｇＶ－２タンパク質との間に免疫複合体が形成された後、あらゆる非結合の抗ＨＰｇＶ－２抗体またはＨＰｇＶ－２抗原／タンパク質が、当技術分野では公知のあらゆる技術を使用して複合体から除去される。例えば、非結合の抗ＨＰｇＶ－２抗体または抗原が、洗浄によって除去されてもよい。しかし、試験試料中に存在する全ての抗ＨＰｇＶ－２抗体および抗原が、第１、第２および第３の特異的な結合パートナーおよび抗ＨＰｇＶ－２捕捉抗体によってそれぞれ結合されるように、第１、第２および第３の特異的な結合パートナーおよび抗ＨＰｇＶ－２抗体が、試験試料中にそれぞれ存在する過剰のあらゆる抗ＨＰｇＶ－２抗体および抗原中に存在するのが望ましい。

【０１５５】

あらゆる非結合の抗ＨＰｇＶ－２抗体および抗原が除去された後、第１の特異的な検出結合パートナーを混合物に添加して、第１の特異的な捕捉結合パートナー－抗ＨＰｇＶ－２抗体－第１の特異的な検出結合パートナー複合体を形成することによって、検出が実現される。第１の特異的な検出結合パートナーが、抗ＩｇＧ抗体および抗ＩｇＭ抗体の組合せであるのが好ましい。さらに、第１の特異的な検出結合パートナーが、検出可能な標識で標識され、または検出可能な標識を含むのも好ましい。具体的な実施形態において、第１の特異的な検出パートナーは、代わりに、または加えて、捕捉された抗体に結合する抗原であってもよい。同様に、本発明の組合せアッセイにおいて、混合物は、第２および第３の特異的な検出結合パートナーも含み、これら第２および第３の特異的な検出結合パートナーは、試験試料中に存在する捕捉された抗ＨＰｇＶ－２抗体と、第２または第３の特異的な捕捉結合パートナー－抗ＨＰｇＶ－２抗体－第２または第３の特異的な検出結合パートナー複合体を形成する。繰り返すと、第２および第３の特異的な検出結合パートナーは、抗ＩｇＧ抗体および抗ＩｇＭ抗体の組合せであってよい。具体的な実施形態において、第２および第３の特異的な検出結合パートナーは、代わりに、または加えて、捕捉された抗体に結合する抗原であってよい。さらに、第２および第３の特異的な検出結合パートナーは、抗ＩｇＭまたはＩｇＧ抗体または抗原であり、検出可能な標識で標識され、また

は検出可能な標識を含む。加えて、組合せイムノアッセイは、試験試料から捕捉された第４の抗原と、抗ＨＰｇＶ－２抗体－第４の特異的な結合パートナー－抗ＨＰｇＶ－２コンジュゲート抗体複合体を形成するために、試験試料中に見出される捕捉された抗原またはＨＰｇＶ－２タンパク質と特異的な複合体を形成する、少なくとも１つの抗ＨＰｇＶ－２コンジュゲート抗体を含むことができる。

【０１５６】

当技術分野では公知である通り、あらゆる適切な検出可能な標識が、あらゆる１つ以上の検出可能な標識として使用され得る。例えば、検出可能な標識は、放射性標識（３Ｈ、１２５Ｉ、３５Ｓ、１４Ｃ、３２ｐおよび３３ｐのような）、酵素標識（セイヨウワサビのペルオキシダーゼ、アルカリ性ペルオキシダーゼ、グルコース６リン酸デヒドロゲナーゼなどのような）、化学発光標識（アクリジニウムエステル、チオエステルまたはスルホンアミド；ルミノール、イソルミノール、フェナントリジニウムエステルなどのような）、蛍光標識（フルオレセイン（例えば、５－フルオレセイン、６－カルボキシフルオレセイン、３’６－カルボキシフルオレセイン、５（６）－カルボキシフルオレセイン、６－ヘキサクロロフルオレセイン、６－テトラクロロフルオレセイン、フルオレセインイソチオシアネートなど）のような）、ローダミン、フィコビリタンパク質、Ｒ－フィコエリスリン、量子ドット（例えば、硫酸亜鉛でキャッピングしたセレン化カドミウム）、温度測定標識、またはイムノ－ポリメラーゼ連鎖反応標識であってよい。標識の導入、標識手順、および標識の検出は、ＰｏｌａｋおよびＶａｎ Ｎｏｏｒｄｅｎ、Ｉｎｔｒｏｄｕｃｔｉｏｎ ｔｏ Ｉｍｍｕｎｏｃｙｔｏｃｈｅｍｉｓｔｒｙ、第２版、Ｓｐｒｉｎｇｅｒ Ｖｅｒｌａｇ、Ｎ．Ｙ．（１９９７）、およびＭｏｌｅｃｕｌａｒ Ｐｒｏｂｅｓ、Ｉｎｃ．、Ｅｕｇｅｎｅ、Ｏｒｅｇによって発行されたハンドブックおよびカタログが合わさったものである、Ｈａｕｇｌａｎｄ、Ｈａｎｄｂｏｏｋ ｏｆ Ｆｌｕｏｒｅｓｃｅｎｔ Ｐｒｏｂｅｓ ａｎｄ Ｒｅｓｅａｒｃｈ Ｃｈｅｍｉｃａｌｓ（１９９６）に見出される。蛍光標識は、ＦＰＩＡ（例えば、その全体を参照により本明細書に組み込む、米国特許第５，５９３，８９６号、第５，５７３，９０４号、第５，４９６，９２５号、第５，３５９，０９３号および第５，３５２，８０３号を参照されたい。）において使用され得る。アクリジニウム化合物は、均質な化学発光アッセイにおいて検出可能な標識として使用され得る（例えば、Ａｄａｍｃｚｙｋら、Ｂｉｏｏｒｇ．Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．Ｌｅｔｔ．、１６：１３２４－１３２８（２００６）；Ａｄａｍｃｚｙｋら、Ｂｉｏｏｒｇ．Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．Ｌｅｔｔ．、４：２３１３－２３１７（２００４）；Ａｄａｍｃｚｙｋら、Ｂｉｏｒｇ．Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．Ｌｅｔｔ．、１４：３９１７３９２１（２００４）；およびＡｄａｍｃｚｙｋら、Ｏｒｇ．Ｌｅｔｔ．、５：３７７９－３７８２（２００３）を参照されたい。）。

【０１５７】

例示的なアクリジニウム化合物は、アクリジニウム－９－カルボキサミドである。アクリジニウム－９－カルボキサミドを調製するための方法は、Ｍａｔｔｉｎｇｌｙ、Ｊ．Ｂｉｏｌｕｍｉｎ．Ｃｈｅｍｉｌｕｍｉｎ．６：１０７－１１４（１９９１）；Ａｄａｍｃｚｙｋら、Ｊ．Ｏｒｇ．Ｃｈｅｍ．、６３：５６３６５６３９（１９９８）；Ａｄａｍｃｚｙｋら、Ｔｅｔｒａｈｅｄｒｏｎ ５５：１０８９９－１０９１４（１９９９）；Ａｄａｍｃｚｙｋら、Ｏｒｇ．Ｌｅｔｔ．１：７７９－７８１（１９９９）；Ａｄａｍｃｚｙｋら、Ｂｉｏｃｏｎｊｕｇａｔｅ Ｃｈｅｍ．、１１：７１４－７２４（２０００）；Ｍａｔｔｉｎｇｌｙら、Ｌｕｍｉｎｅｓｃｅｎｃｅ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ：Ｉｎｓｔｒｕｍｅｎｔｓ ａｎｄ Ａｐｐｌｉｃａｔｉｏｎｓ；Ｄｙｋｅ，Ｋ．Ｖ．編集；ＣＲＣ Ｐｒｅｓｓ：Ｂｏｃａ Ｒａｔｏｎ、ｐｐ．７７－１０５（２００２）；Ａｄａｍｃｚｙｋら、Ｏｒｇ．Ｌｅｔｔ．、５：３７７９３７８２（２００３）；および米国特許第５，４６８，６４６号、第５，５４３，５２４号および第５，７８３，６９９号（各々その全体を参照により、これらに関するその教示に対して本明細書に組み込む）に記載されている。

【０１５８】

別の例示的なアクリジニウム化合物は、アクリジニウム－９－カルボキシレートアリールエステルである。式ＩＩのアクリジニウム－９－カルボキシレートアリールエステルの一例は、１０－メチル－９－（フェノキシカルボニル）アクリジニウムフルオロスルホネート（Ｃａｙｍａｎ Ｃｈｅｍｉｃａｌ、Ａｎｎ Ａｒｂｏｒ、Ｍｉｃｈ．から入手できる）である。アクリジニウム－９－カルボキシレートアリールエステルを調製するための方法は、ＭｃＣａｐｒａら、Ｐｈｏｔｏｃｈｅｍ．Ｐｈｏｔｏｂｉｏｌ．、４：１１１１－２１（１９６５）；Ｒａｚａｖｉら、Ｌｕｍｉｎｅｓｃｅｎｃｅ、１５：２４５－２４９（２０００）；Ｒａｚａｖｉら、Ｌｕｍｉｎｅｓｃｅｎｃｅ、１５：２３９－２４４（２０００）；および米国特許第５，２４１，０７０号（各々その全体を参照により、これらに関するその教示に対して本明細書に組み込む）に記載されている。このようなアクリジニウム－９－カルボキシレートアリールエステルは、シグナルの強度および／またはシグナルの迅速性の点から、少なくとも１つのオキシダーゼによって、分析物の酸化において生成される過酸化水素に対する効率的な化学発光指示薬である。アクリジニウム－９－カルボキシレートアリールエステルに対する化学発光放射の経過は速やかに、すなわち１秒未満に完了されるが、アクリジニウム－９－カルボキサミドの化学発光放射は２秒を超えて延長する。しかし、アクリジニウム－９－カルボキシレートアリールエステルは、タンパク質の存在下でその化学発光の性質を失う。したがって、その使用は、シグナル産生および検出の間にタンパク質が非存在であることを必要とする。試料中のタンパク質を分離または除去するための方法は、当業者には周知であり、それだけには限定されないが、限外濾過、抽出、沈殿、透析、クロマトグラフィーおよび／または消化を含む（例えば、Ｗｅｌｌｓ、Ｈｉｇｈ Ｔｈｒｏｕｇｈｐｕｔ Ｂｉｏａｎａｌｙｔｉｃａｌ Ｓａｍｐｌｅ Ｐｒｅｐａｒａｔｉｏｎ．Ｍｅｔｈｏｄｓ ａｎｄ ＡｕｔｏｍａｔｉｏｎＳｔｒａｔｅｇｉｅｓ、Ｅｌｓｅｖｉｅｒ（２００３）を参照されたい。）。試験試料から除去または分離されるタンパク質の量は、約４０％、約４５％、約５０％、約５５％、約６０％、約６５％、約７０％、約７５％、約８０％、約８５％、約９０％または約９５％であってよい。さらに、アクリジニウム－９－カルボキシレートアリールエステルおよびその使用に関する詳細は、２００７年４月９日出願の米国特許出願第１１／６９７，８３５号、および２００８年１０月９日公開の、米国特許出願公開第２００８／０２４８４９３号に記載されている。アクリジニウム－９－カルボキシレートアリールエステルは、脱気した無水Ｎ，Ｎジメチルホルムアミド（ＤＭＦ）または塩化ナトリウム水溶液のようなあらゆる適切な溶媒中に溶解され得る。

【０１５９】

化学発光アッセイは、例えば、Ａｄａｍｃｚｙｋら、Ａｎａｌ．Ｃｈｉｍ．Ａｃｔａ、５７９（１）：６１－６７（２００６）に記載されている方法に従って行われてもよい。あらゆる適切なアッセイフォーマットが使用され得るが、マイクロプレート化学発光計（Ｍｉｔｈｒａｓ ＬＢ９４０、Ｂｅｒｔｈｏｌｄ Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ Ｕ．Ｓ．Ａ．、ＬＬＣ、Ｏａｋ Ｒｉｄｇｅ、Ｔｅｎｎ．）は小体積の複数の試料の迅速なアッセイを可能にする。化学発光計は、９６ウェル黒色ポリスチレン製マイクロプレート（Ｃｏｓｔｅｒ＃３７９２）を使用して、複数の試薬注入器が装着され得る。各試料が別々のウェル中に添加され、引き続き、使用するアッセイのタイプによって決定される他の試薬が同時に／逐次に添加されてよい。酸性化などによって、アクリジニウムアリールエステルを使用した中性または塩基性溶液中の疑似塩基の形成が回避されるのが望ましい。次いで、化学発光応答が、ウェルごとに記録される。これに関して、化学発光応答を記録するための時間は、部分的に、試薬の添加の間の遅延、および使用される特定のアクリジニウムに依存する。

【０１６０】

上記に記載したアクリジニウム化合物の添加前、添加と同時に、または添加後、過酸化水素が、混合物中インサイチューで産生されても、または提供されても、または混合物に供給されてもよい。過酸化水素は、当業者であれば明らかであるような数々の方法において、インサイチューで産生され得る。代替的に、過酸化水素の供給源が、混合物に単に添

加されてもよい。例えば、過酸化水素の供給源は、過酸化水素を含むことが分かっている、１つ以上のバッファーまたは他の溶液であってよい。これに関して、過酸化水素の溶液が単に添加されてもよい。

【０１６１】

少なくとも１つの塩基性溶液を試料に同時に、または逐次的に添加すると、抗ＨＰｇＶ－２抗体（捕捉が抗原である場合）または抗原（捕捉が抗体である場合）の存在を示す、検出可能な標識、すなわち化学発光シグナルが産生される。ある特定の実施形態において、塩基性溶液は少なくとも１つの塩基を含み、ｐＨは１０に等しくまたはそれを超え、好ましくは１２に等しくまたはそれを超える。塩基性溶液の例は、それだけには限定されないが、水酸化ナトリウム、水酸化カリウム、水酸化カルシウム、水酸化アンモニウム、水酸化マグネシウム、炭酸ナトリウム、重炭酸ナトリウム、水酸化カルシウム、炭酸カルシウムおよび重炭酸カルシウムを含む。試料に添加する塩基性溶液の量は、塩基性溶液の濃度に依存する。使用される塩基性溶液の濃度に基づいて、当業者であれば、試料に添加する塩基性溶液の量を容易に決定することができる。

【０１６２】

産生される化学発光シグナルは、当業者には公知のルーチン技術を使用して検出され得る。産生されるシグナルの強度に基づいて、試料中の抗ＨＰｇＶ－２抗体および／または抗原の量が定量され得る。具体的に、試料中の抗ＨＰｇＶ－２抗体および／または抗原の量は、産生されるシグナルの強度に比例する。存在する抗ＨＰｇＶ－２抗体および／または抗原の量は、産生される光の量を、抗ＨＰｇＶ－２抗体および／または抗原に対する検量線に比べることにより、または参照基準に対して比べることにより、定量され得る。検量線は、既知濃度の抗ＨＰｇＶ－２抗体の段階希釈または溶液を使用して、質量分析法、重量法、および当技術分野では公知の他の技術によって産生され得る。

【０１６３】

抗ＨＰｇＶ－２抗体および／または抗原のイムノアッセイは、当技術分野では公知のあらゆる適切なフォーマットを使用して行われ得る。ある特定の実施形態において、抗ＨＰｇＶ－２抗体に対して試験される（例えば、含むことが疑われる）試料を、捕捉抗原、ならびに標識化抗ＩｇＧおよび抗ＩｇＭ抗体のような少なくとも１つの検出抗体（第２の検出抗体または第３の検出抗体であってよい）と、同時または逐次的のいずれかで、あらゆる順序で、接触させてもよい。同様に、抗原の存在に対する試験は、試験試料中の抗原に結合する捕捉された抗体と接触させてもよく、次いで、結合した抗原が検出抗体によって検出されてもよい。

【０１６４】

例えば、試験試料を、最初に少なくとも１つの捕捉抗原と接触させてもよく、次いで（逐次的に）少なくとも１つの検出抗体と接触させてもよい。代替的に、試験試料を、最初に少なくとも１つの検出抗原と接触させてもよく、次いで（逐次的に）少なくとも１つの捕捉抗体と接触させてもよい。さらに別の代替において、試験試料を、捕捉抗原および検出抗体と同時に接触させてもよい。

【０１６５】

サンドイッチアッセイのフォーマットにおいて、ある特定の実施形態において、抗ＨＰｇＶ－２抗体（またはそのフラグメント）を含むことが疑われる試料を、第１の捕捉抗原／抗ＨＰｇＶ－２抗体複合体の形成を許す条件下で、少なくとも１つの第１の捕捉抗原と、最初に接触させる。組合せアッセイでは、同じことが繰り返され、または第２、第３もしくはそれを超える捕捉抗原で同時に行われる。１つを超える捕捉抗原が使用される場合、複数の第１の捕捉抗原／抗ＨＰｇＶ－２抗体複合体が形成される。サンドイッチアッセイでは、一又は複数の抗原が、ある特定の実施形態において、少なくとも１つの捕捉抗原が、試験試料中に予想される抗ＨＰｇＶ－２抗体の最大量のモル過剰量において使用される。例えば、バッファー（例えば、微粒子コーティングバッファー）１ｍＬあたり約５ｕｇから約１ｍｇまでの抗原が使用され得る。

【０１６６】

競合的阻害イムノアッセイは、小型の分析物を測定するのにしばしば使用され、連続的なフォーマットおよび古典的なフォーマットを含む。連続的な競合的阻害イムノアッセイでは、目的の抗体（すなわち、抗ＨＰｇＶ－２抗体）に対する１つ以上の捕捉抗原（すなわち、本明細書に記載する、ポリペプチド、および１対のポリペプチド）が、マイクロタイタープレートのウェル上にコーティングされている。目的の抗体（単数または複数）を含む試料がウェルに添加されると、目的の抗体が一又は複数の捕捉抗原に結合する。洗浄後、既知量の標識化（例えば、ビオチンまたはセイヨウワサビのペルオキシダーゼ（ＨＲＰ））抗体がウェルに添加される。酵素標識に対する基質が、シグナルを産生するのに必要である。ＨＲＰに適する基質の一例は、３，３’，５，５’－テトラメチルベンチジン（ＴＭＢ）である。洗浄後、標識化抗体によって産生されたシグナルが測定され、試料中の抗体の量に反比例する。古典的な競合的阻害イムノアッセイでは、目的の抗体に対する抗原がマイクロタイタープレートのウェル上にコーティングされている。しかし、連続的な競合的阻害イムノアッセイと異なり、目的の抗体（すなわち、抗ＨＰｇＶ－２抗体）を含む試料および標識化抗体が、同時にウェルに添加される。試料中のあらゆる抗体が、捕捉抗原に対する結合に対して、標識化抗体と競合する。洗浄後、標識された分析物によって産生されたシグナルが測定され、試料中の分析物の量に反比例する。

【０１６７】

任意選択的に、試験試料を少なくとも１つの捕捉抗原（例えば、第１の捕捉抗原）と接触させる前、少なくとも１つの捕捉抗原が固体支持体に結合していてもよく、これが試験試料から第１の抗原／抗ＨＰｇＶ－２抗体複合体の分離を促進する。捕捉抗原が結合している基質は、あらゆる適する固体支持体であってもよく、または試料から捕捉抗原－抗ＨＰｇＶ－２抗体複合体の分離を促進する固相であってもよい。例として、マイクロタイタープレートのようなプレートのウェル、試験管、多孔性ゲル（例えば、シリカゲル、アガロース、デキストランまたはゼラチン）、重合体のフィルム（例えば、ポリアクリルアミド）、ビーズ（例えば、ポリスチレンビーズまたは磁性ビーズ）、一片のフィルター／膜（例えば、ニトロセルロースまたはナイロン）、微粒子（例えば、ラテックス粒子）、磁化できる微粒子（例えば、酸化鉄または酸化クロムのコアを有する微粒子、およびホモまたはヘテロ重合体コーティングおよび半径約１－１０ミクロン）を含む。基質は、抗原に結合するのに適する表面親和性、および検出抗体によるアクセスを許すのに十分な多孔性を有する適切な多孔性材料を含むことができる。微孔性の材料が一般的に好ましいが、水和状態のゼラチン状の材料が使用されてもよい。このような多孔性基質は、厚さ約０．０１から約０．５ｍｍ、または約０．１ｍｍを有するシートの形態であってよい。孔サイズは大幅に変動し得るが、孔サイズが約０．０２５から約１５ミクロンまで、または約０．１５から約１５ミクロンまでであるのが好ましい。このような基質の表面は、抗体の基質に対する共有結合性の連結を引き起こす化学的プロセスによって活性化され得る。一般的に、抗原の基質に対する疎水性力を介した吸着による不可逆的結合が生じ、代替的に、このような結合が、抗ＨＰｇＶ－２抗体に結合する抗原の能力を妨害しないのであれば、化学的カップリング剤または他の手段が、抗原の基質に対する共有結合に使用され得る。

【０１６８】

代替的に、試験試料からの抗ＨＰｇＶ－２抗体が、抗原で予めコーティングされている微粒子と結合していてもよい。所望により、その各々が抗ＨＰｇＶ－２抗体によって結合され得る、本明細書に記載される一対のポリペプチドのような１つ以上の捕捉試薬が、物理的な、またはアドレス指定することができる位置（例えば、バイオチップの立体配置におけるような）と無関係に固相に付着していてよい（－４６－例えば、米国特許第６，２２５，０４７号、国際特許出願公開第ＷＯ９９／５１７７３号；米国特許第６，３２９，２０９号；国際特許出願公開第ＷＯ００／５６９３４号および米国特許第５，２４２，８２８号を参照されたい。）。捕捉試薬が、固体支持体として質量分析法のプローブに付着している場合、プローブに結合している抗ＨＰｇＶ－２抗体の量は、レーザー脱離イオン化質量分析によって検出され得る。代替的に、単一のカラムが、様々なビーズで充填されていてもよく、このビーズは１つ以上の捕捉試薬で誘導体化されており、それによって単

一の場所において抗ＨＰｇＶ－２抗体を捕捉する（誘導体化した抗体、ビーズベースの技術、例えば、Ｌｕｍｉｎｅｘ（Ａｕｓｔｉｎ、Ｔｅｘ．）のｘＭＡＰ技術を参照されたい。）。

【０１６９】

抗ＨＰｇＶ－２抗体に対してアッセイされる試験試料を、少なくとも１つの捕捉抗原（例えば、第１の捕捉抗原）と接触させた後、第１の抗原（または複数の抗原）－抗ＨＰｇＶ－２抗体（またはそのフラグメント）複合体の形成を可能にするために、混合物がインキュベートされる。インキュベートは、ｐＨ約４．５から約１０．０まで、温度約２０℃から約４５℃まで、および少なくとも約１分から約１８時間まで、または約１分から約２４分まで、または約４分から約１８分までの期間行われ得る。本明細書に記載されるイムノアッセイは、１ステップ（試験試料、少なくとも１つの捕捉抗体および少なくとも１つの検出抗体が全て、逐次的もしくは同時に反応容器に添加されることを意味する）において、または２ステップ、３ステップなどのように１ステップを超えて行われる。

【０１７０】

（第１のまたは複数の）捕捉抗原／抗ＨＰｇＶ－２抗体複合体の形成後、または形成と同時に、複合体を、次いで、少なくとも１つの検出抗体と接触させる（（第１のまたは複数の）捕捉抗原／抗ＨＰｇＶ－２抗体／第１の抗体検出複合体の形成を可能にする条件下）。少なくとも１つの検出抗体は、イムノアッセイにおいて使用される第２、第３、第４などの抗体であってよい。捕捉抗原／抗ＨＰｇＶ－２抗体複合体を１つを超える検出抗体と接触させる場合、（第１または複数の）捕捉抗原／抗ＨＰｇＶ－２抗体／（複数の）検出抗体複合体が形成される。捕捉抗原（例えば、第１の捕捉抗体）同様、少なくとも第２の（および後続の）検出抗体を捕捉抗原／抗ＨＰｇＶ－２抗体複合体と接触させる場合、上記に記載したものと同様の条件下のインキュベーション時間が、（第１または複数の）捕捉抗原／抗ＨＰｇＶ－２抗体／（第２または複数の）検出抗体複合体の形成に必要とされる。少なくとも１つの検出抗体が検出可能な標識を含むのが好ましい。検出可能な標識は、（第１または複数の）捕捉抗原／抗ＨＰｇＶ－２抗体／（第２または複数の）検出抗体複合体の形成の前に、形成と同時に、または形成後に、少なくとも１つの検出抗体（例えば、第２の検出抗体）に結合され得る。当技術分野では公知のあらゆる検出可能な標識が使用され得る（ＰｏｌａｋおよびＶａｎ　Ｎｏｏｒｄｅｎ（１９９７）、ならびにＨａｕｇｌａｎｄ（１９９６））を含めた、上記の考察を参照されたい。）。

【０１７１】

検出可能な標識は、直接、またはカップリング剤を介してのいずれかで、抗体（または検出可能な標識を含み得る抗原）に結合していてよい。使用され得るカップリング剤の一例は、ＥＤＡＣ（１－エチル－３－（３－ジメチルアミノプロピル）カルボジイミド塩酸塩）であり、これはＳｉｇｍａ－Ａｌｄｒｉｃｈ、Ｓｔ．Ｌｏｕｉｓ、Ｍｏから市販されている。使用され得る他のカップリング剤は、当技術分野では公知である。検出可能な標識を抗体に結合するための方法は当技術分野では公知である。加えて、ＣＰＳＰ－アクリジニウムエステル（すなわち、９－［Ｎ－トシル－Ｎ－（３－カルボキシプロピル）］－１０－（３－スルホプロピル）アクリジニウムカルボキサミド）またはＳＰＳＰ－アクリジニウムエステル（すなわち、Ｎ１０－（３－スルホプロピル）－Ｎ－（３－スルホプロピル）－アクリジニウム－９カルボキサミド）のような、抗体に対する検出可能な標識のカップリングを促進する末端基をすでに含んでいる、多くの検出可能な標識が、購入されても、または合成されてもよい。

【０１７２】

（第１または複数の）捕捉抗原／抗ＨＰｇＶ－２抗体／（第２または複数の）検出抗体複合体は、標識の定量前に試験試料の残部から分離され得るが、必ず分離されなくてもよい。例えば、少なくとも１つの捕捉抗原（例えば、第１の捕捉抗原）が、ウェルまたはビーズのような固体支持体に結合している場合、分離は、（試験試料の）液体を固体支持体との接触から除去することによって達成され得る。代替的に、少なくとも第１の捕捉抗原が固体支持体に結合している場合、これは、抗ＨＰｇＶ－２抗体含有試料および少なくと

も１つの第２の検出抗体（または標識化検出抗原）と同時に接触させて、第１の（複数の）抗原／抗ＨＰｇＶ－２抗体／第２の（複数の）抗体（および／または標識化検出抗原）複合体を形成し得、引き続き液体（試験試料）を固体支持体との接触から除去する。少なくとも１つの第１の捕捉抗原が固体支持体に結合していなければ、（第１または複数の）捕捉抗原／抗ＨＰｇＶ－２抗体／（第２または複数の）検出抗体（および／または－４８－捕捉された抗体に対する検出抗原）複合体は、標識の量を定量するために試験試料から除去される必要がない。

【０１７３】

標識化捕捉抗原／抗ＨＰｇＶ－２抗体／検出抗原（および／または検出抗体）複合体（例えば、任意選択的にやはり第２の検出抗体と一緒の、第１の捕捉抗原／抗ＨＰｇＶ－２抗体／第１の検出抗原複合体）が形成された後、複合体中の標識の量が、当技術分野では公知の技術を使用して定量される。例えば、酵素標識が使用される場合、標識された複合体は、色の発色のような定量可能な反応をもたらす標識に対する基質と反応する。標識が放射性標識であれば、標識はシンチレーションカウンターを使用して定量される。標識が蛍光標識であれば、標識は、標識を１つの色（「励起波長」として知られる）の光で刺激し、刺激に応答して標識によって放射される別の色（「放射波長」として知られる）を検出することによって定量される。標識が化学発光標識であれば、標識は、視覚的に、またはルミノメーター、エックス線フィルム、高速度写真フィルム、ＣＣＯカメラなどを使用することによりのいずれかで、放射される光を検出することによって定量される。複合体中の標識の量が定量された後、試験試料中の抗ＨＰｇＶ－２抗体または抗原の濃度は、既知濃度の抗ＨＰｇＶ－２抗体または抗原の段階希釈を使用して産生された検量線の使用によって決定される。抗ＨＰｇＶ－２抗体またはＨＰｇＶ－２抗原の段階希釈を使用する以外に、検量線は、重量法により、質量分析法により、および当技術分野では公知の他の技術により産生されてよい。

【０１７４】

ＡＲＣＨＩＴＥＣＴ（登録商標）分析計を使用する化学発光微粒子アッセイでは、コンジュゲート希釈液のｐＨは約６．０±０．２であってよく、微粒子コーティングバッファーは室温（すなわち、約１７から約２７℃）に維持されなければならず、微粒子コーティングバッファーのｐＨは約６．５±０．２でなければならず、微粒子希釈液のｐＨは約６．５±０．２でなければならない。固体は、約０．１５％未満、約０．１４％未満、約０．１３％未満、約０．１２％未満または約０．１１未満％のような、約０．１０％のような、約０．２％未満が好ましい。

【０１７５】

ＦＰＩＡは、競合的結合イムノアッセイの原理に基づく。蛍光標識された化合物は、直線偏光によって励起されると、その回転率に反比例する偏光度を有する蛍光を放射する。フルオロフォアは、光が吸収される時間と光が放射される時間との間は回転することが妨げられるため、蛍光標識されたトレーサー－抗体複合体が直線偏光によって励起される場合、放射される光は高度に偏光されているままである。「遊離の」トレーサー化合物（すなわち、抗体に結合していない化合物）が直線偏光によって励起される場合、その回転は、競合的結合イムノアッセイにおいて生成される、対応するトレーサー－抗体コンジュゲートよりずっと速い。ＦＰＩＡは特別な取扱いおよび処分を必要とする放射性物質が存在しない限り、ＲＩＡより有利である。加えて、ＦＰＩＡは、容易に、速やかに行われ得る、均質なアッセイである。

【０１７６】

ある特定の実施形態において、本開示は、試験試料中の抗ＨＰｇＶ－２抗体または抗原の存在、量または濃度を決定する方法を提供する。一部の実施形態において、方法は、試験試料を抗ＨＰｇＶ－２抗体または抗原に対して、（ｉ）ＨＰｇＶ－２抗原および少なくとも１つの検出可能な標識を含む、少なくとも単離され、または精製されたポリペプチドを含む免疫診断試薬を使用するアッセイ、ならびに試験試料中の抗ＨＰｇＶ－２抗体の存在、量または濃度を直接的または間接的に示す検出可能な標識によって産生されたシグナ

ルを、対照またはキャリブレーター中の抗ＨＰｇＶ－２抗体の存在、量または濃度を直接的または間接的に示す産生されたシグナルに比較するアッセイによってアッセイするステップを含み、対照またはキャリブレーターは任意選択的に一連のキャリブレーターの一部であり、一連のキャリブレーターにおいて、各キャリブレーターは、一連の他のキャリブレーターと、抗ＨＰｇＶ－２抗体の濃度が異なる。方法は、以下のステップを含むことができる：（ｉ）試験試料中に存在し得るＨＰｇＶ－２抗体と、第１、第２および第３の特異的な捕捉結合パートナー／抗ＨＰｇＶ－２抗体複合体を形成させるために、試験試料を、１つ以上の組換えＨＰｇＶ－２抗原を含む免疫診断試薬と接触させるステップ、（ｉｉ）第１の特異的な結合パートナー／第１、第２および第３それぞれの抗ＨＰｇＶ－２抗体／第２の特異的な結合パートナー複合体を形成させるために、第１、第２および第３の特異的な捕捉結合パートナー／第１、第２および第３の抗ＨＰｇＶ－２抗体複合体を、少なくとも１つの検出可能に標識されている、抗ＨＰｇＶ－２抗体（例えば、本明細書に記載する抗ＩｇＧ抗体および抗ＩｇＭ抗体またはポリペプチド）に対する第２の特異的な結合パートナーと接触させるステップ、ならびに（ｉｉｉ）（ｉｉ）において形成された第１の特異的な結合パートナー／抗ＨＰｇＶ－２抗体／第２の特異的な結合パートナー複合体において、検出可能な標識によって産生されたシグナルを検出または測定することにより、試験試料中の抗ＨＰｇＶ－２抗体の存在、量または濃度を決定するステップ。

【０１７７】

ある特定の実施形態において、抗ＩｇＧ抗体および抗ＩｇＭ抗体の使用に加えて、または使用の代わりに、第２のステップは、第１の特異的な結合パートナー／抗ＨＰｇＶ－２抗体／第２の特異的な結合パートナー複合体を形成させるために、第１、第２および第３の捕捉抗原それぞれによって特異的に捕捉された、抗ＨＰｇＶ－２抗体に特異的に結合する第１、第２および第３の検出抗原の添加を含み、第３のステップは、（ｉｉｉ）（ｉｉ）において形成された、第１、第２および第３の特異的な捕捉結合パートナー／第１、第２および第３の抗ＨＰｇＶ－２抗体／第１、第２および第３の特異的な検出結合パートナー複合体において、検出可能な標識によって産生されたシグナルを検出または測定することによる、試験試料中の抗ＨＰｇＶ－２抗体の存在、量または濃度を決定するステップを含む。

【０１７８】

一部の実施形態において、方法は、以下のステップを含むことができる：（ｉ）試験試料を、１つ以上の組換え抗原を含む免疫診断試薬と接触させ、同時に、または逐次的に、いずれかの順序において、試験試料を、検出可能に標識されている少なくとも１つの第２の特異的な結合パートナーと接触させるステップであって、第２の特異的な結合パートナーは、少なくとも１対の第１の特異的な結合パートナーに対する結合に対して抗ＨＰｇＶ－２抗体と競合することができ、検出可能に標識されている抗ＨＰｇＶ－２抗体を含み、試験試料中に存在するあらゆる抗ＨＰｇＶ－２抗体、および検出可能に標識されている少なくとも１つの第２の特異的な結合パートナーは、相互に競合してそれぞれ、第１の特異的な結合パートナー／抗ＨＰｇＶ－２抗体複合体および第１の特異的な結合パートナー／第２の特異的な結合パートナー複合体を形成するステップ、ならびに（ｉｉ）（ｉｉ）において形成された第１の特異的な結合パートナー／第２の特異的な結合パートナー複合体において、検出可能な標識によって産生されたシグナルを検出または測定することにより、試験試料中の抗ＨＰｇＶ－２抗体の存在、量または濃度を決定するステップであって、第１の特異的な結合パートナー／第２の特異的な結合パートナー複合体における検出可能な標識によって産生されたシグナルは、試験試料中の抗ＨＰｇＶ－２抗体の量または濃度に反比例するステップ。免疫診断試薬が構成される組換え抗原が、微粒子上にコーティングされていてもよい。これに関して、免疫診断試薬が構成される抗原が、付加的なＨＰｇＶ－２抗原として同じ微粒子上に同時コーティングされていてもよい。免疫診断試薬が構成されるポリペプチドが同じ微粒子上に同時コーティングされている場合（例えば、固体４％を含む微粒子懸濁液（４重量／体積％微粒子または４ｇ微粒子／１００ｍＬ微粒子懸濁液））、ポリペプチドは約１：２から約１：６の比率において同じ微粒子上にコーティ

ングされているのが好ましく、この場合、ポリペプチドが、約１：２の比率において同じ微粒子上にコーティングされている場合、本発明の単離または精製された抗原の濃度は少なくとも約４０μｇ／ｍＬであり、他の単離または精製されたポリペプチドの濃度は少なくとも約８０μｇ／ｍＬである。試験試料が患者から得られた場合、方法は、患者の治療的／予防的処置の有効性を、診断し、予後判定し、または評価するステップをさらに含んでもよい。方法が、患者の治療的／予防的処置の有効性を評価するステップをさらに含む場合、方法は、任意選択的に、有効性を改善するのに必要とされる、患者の治療的／予防的処置を修飾するステップをさらに含むことができる。方法は、自動化システムまたは半自動化システムにおける使用に適用され得る。

【０１７９】

ある特定の実施形態において、本明細書に、試験試料中の抗ＨＰｇＶ－２抗体またはＨＰｇＶ－２抗原もしくはタンパク質の存在、量および／または濃度を決定する方法を提供する。一部の実施形態において、方法は、以下のアッセイによって試験試料をアッセイするステップを含む：（ｉ）少なくとも１つのＨＰｇＶ－２抗原（および好ましくは２、３またはそれを超える抗原）、少なくとも１つの検出可能な標識（各抗原が検出可能に標識されているのが好ましい）を含む免疫診断試薬を使用するステップ、ならびに（ｉｉ）試験試料中の抗ＨＰｇＶ－２抗体の存在、量または濃度の直接または間接的な指標として検出可能な標識によって産生されたシグナルを、対照またはキャリブレーター中の抗ＨＰｇＶ－２抗体の存在、量または濃度の直接的または間接的な指標として産生されたシグナルと比較するステップであって、対照またはキャリブレーターは任意選択的に一連のキャリブレーターの一部であり、一連のキャリブレーターでは、各キャリブレーターが、一連の他のキャリブレーターと、抗ＨＰｇＶ－２抗体の濃度が異なるステップ。方法は以下のステップを含むことができる：（ｉ）第１の特異的な捕捉結合パートナー／抗ＨＰｇＶ－２抗体複合体を形成させるために、試験試料を、少なくとも１つ、２つ、３つまたはそれを超える本発明の組換えＨＰｇＶ－２抗原を含む免疫診断試薬と接触させるステップ（ｉｉ）第１の特異的な結合パートナー／抗ＨＰｇＶ－２抗体／第２の特異的な結合パートナー複合体を形成させるために、第１の特異的な捕捉結合パートナー／抗ＨＰｇＶ－２抗体複合体を、抗ＨＰｇＶ－２抗体に対する検出可能に標識されている少なくとも１つの第２の特異的な結合パートナーと（例えば、抗ＩｇＧ抗体および抗ＩｇＭ抗体、または抗ＨＰｇＶ－２抗体に結合する標識されている抗原）接触させるステップ、ならびに（ｉｉｉ）（ｉｉ）において形成された、第１の特異的な結合パートナー／抗ＨＰｇＶ－２抗体／第２の特異的な結合パートナー複合体における、検出可能な標識によって産生されたシグナルを検出または測定することによって、試験試料中の抗ＨＰｇＶ－２抗体の存在、量または濃度を決定するステップ。代替的に、方法は、以下のステップを含むことができる：（ｉ）試験試料を、少なくとも１つ、２つ、３つまたはそれを超える異なるＨＰｇＶ－２抗原と、同時にまたは逐次的に、いずれかの順序で、少なくとも１つの検出可能に標識されている第２の特異的な結合パートナーと試験試料を接触させるステップであって、第２の特異的な結合パートナーは、少なくとも１対の第１の特異的な結合パートナーに対する結合に対して抗ＨＰｇＶ－２抗体と競合することができ、検出可能に標識されている抗ＨＰｇＶ－２抗体を含み、試験試料中に存在するあらゆる抗ＨＰｇＶ－２抗体、および少なくとも１つの第２の特異的な結合パートナーは相互に競合して、それぞれ第１の特異的な結合パートナー／抗ＨＰｇＶ－２抗体複合体および第１の特異的な結合パートナー／第２の特異的な結合パートナー複合体を形成するステップ、ならびに（ｉｉ）（ｉｉ）において形成された第１の特異的な結合パートナー／第２の特異的な結合パートナー複合体中の検出可能な標識によって産生されたシグナルを検出または測定することにより、試験試料中の抗ＨＰｇＶ－２抗体の存在、量または濃度を決定するステップであって、第１の特異的な結合パートナー／第２の特異的な結合パートナー複合体における検出可能な標識によって産生されたシグナルは、試験試料中の抗ＨＰｇＶ－２抗体の量または濃度に反比例するステップ。免疫診断試薬が構成されるポリペプチドが、微粒子上にコーティングされていてもよい。これに関して、免疫診断試薬が構成されるポリペプチドが、同じ微粒子上に同時

コーティングされていてもよい。免疫診断試薬が構成されるポリペプチドが同じ微粒子上に同時コーティングされている場合（例えば、固体４％を含む微粒子懸濁液（４重量／体積％の微粒子または４ｇ微粒子／１００ｍＬ微粒子懸濁液））、ポリペプチドは約１：２から約１：６の比率において同じ微粒子上にコーティングされているのが好ましく、ポリペプチドが約１：２の比率において同じ微粒子上にコーティングされている場合、組換えＨＰｇＶ－２抗原を含む単離または精製されたポリペプチドの濃度は、少なくとも約４０μｇ／ｍＬであり、他の単離または精製されたポリペプチドの濃度は少なくとも約８０μｇ／ｍＬである。試験試料が患者から得られた場合、方法は、患者の治療的／予防的処置の有効性を、診断し、予後判定し、または評価するステップをさらに含むことができる。方法が、患者の治療的／予防的処置の有効性を評価するステップをさらに含む場合、方法は、任意選択的に、有効性を改善するのに必要とされる、患者の治療的／予防的処置を修飾するステップをさらに含むことができる。方法は、自動化システムまたは半自動化システムにおける使用に適用され得る。

【０１８０】

ある特定の実施形態において、キット（またはその構成成分）、ならびに本明細書に記載するイムノアッセイによって試験試料中の抗ＨＰｇＶ－２抗体および／またはＨＰｇＶ－２抗原の濃度を決定する方法は、例えば、米国特許第５，０８９，４２４号および第５，００６，３０９号に記載され、ならびに、例えば、Ａｂｂｏｔｔ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ（Ａｂｂｏｔｔ　Ｐａｒｋ、ＩＬ．）によりＡＲＣＨＩＴＥＣＴ（登録商標）として市販されている、様々な自動化および半自動化システム（固相が微粒子を含むものを含む）における使用に適用され得る。

【０１８１】

特定の実施形態において、非自動化システム（例えば、ＥＬＩＳＡ）と比べた、自動化または半自動化システム間の違いのいくつかは、第１の特異的な結合パートナー（例えば、抗原）が、それに付着している（サンドイッチの形成および分析物の反応性に影響を及ぼし得る）基質、ならびに捕捉の長さおよびタイミング、検出、ならびに／またはあらゆる任意選択的な洗浄ステップを含む。ＥＬＩＳＡのような非自動化のフォーマットは、ある特定の実施形態において、試料および捕捉試薬との比較的長いインキュベート時間を必要とする（例えば、約２時間）が、自動化または半自動化のフォーマット（例えば、ＡＲＣＨＩＴＥＣＴ（登録商標）、Ａｂｂｏｔｔ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ）は比較的短いインキュベーションタイムを有し得る（例えば、ＡＲＣＨＩＴＥＣＴ（登録商標）ではおよそ１８分）。同様に、ＥＬＩＳＡのような非自動化のフォーマットは、比較的長いインキュベーション時間の間（例えば、約２時間）、コンジュゲート試薬のような検出抗体をインキュベートし得るが、自動化または半自動化のフォーマット（例えば、ＡＲＣＨＩＴＥＣＴ（登録商標））は比較的短いインキュベーション時間を有し得る（例えば、ＡＲＣＨＩＴＥＣＴ（登録商標）ではおよそ４分）。

【０１８２】

Ａｂｂｏｔｔ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓから入手できる他のプラットホームは、それだけには限定されないが、ＡｘＳＹＭ（登録商標）、ＩＭｘ（登録商標）（例えば、その全体を参照により本明細書に組み込む、米国特許第５，２９４，４０４号を参照されたい。）、ＰＲＩＳＭ（登録商標）、ＥＩＡ（ビーズ）およびＱｕａｎｔｕｍ（商標）、ならびに他のプラットホームを含む。加えて、アッセイ、キットおよびキットの構成成分は、例えば、電気化学的または他のハンドヘルドもしくはポイントオブケア（ｐｏｉｎｔ　ｏｆ－ｃａｒｅ）アッセイシステム上、他のフォーマットにおいて使用され得る。本開示は、例えば、サンドイッチイムノアッセイを行う、市販のＡｂｂｏｔｔ　Ｐｏｉｎｔ　ｏｆ　Ｃａｒｅ（ｉ－ＳＴＡＴ（登録商標）、Ａｂｂｏｔｔ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ）電気化学的イムノアッセイシステムに適用できる。免疫センサーおよびこれらの製造方法、ならびに単回使用試験装置の操作は、例えば、その全体を参照により、それらに関する教示に対して本明細書に組み込む、米国特許第５，０６３，０８１号、米国特許出願公開第２００３／０１７０８８１号、米国特許出願公開第２００４／００１８５７７号、米国特

許出願公開第２００５／００５４０７８号および米国特許出願公開第２００６／０１６０１６４号に記載されている。

【０１８３】

特に、アッセイのＩ－ＳＴＡＴ（登録商標）システムへの適用に関して、以下の立体配置が例示的である。微細加工されているシリコンチップを、１対の金電流測定作用電極および銀－塩化銀基準電極で製造する。作用電極の１つの上に、捕捉抗体を固定化したポリスチレンビーズ（直径０．２ｍｍ）が、電極にわたって形作られたポリビニルアルコールのポリマーコーティングに付着している。このチップを、イムノアッセイに適する流体工学のフォーマットでＩ－ＳＴＡＴ（登録商標）カートリッジに組み立てる。カートリッジの試料保持チャンバーの壁の一部分上に、アルカリホスファターゼ（または他の標識）で標識化検出抗体を含む層が存在する。カートリッジの液体パウチ内は、ｐ－アミノフェノールホスフェートを含む水性試薬である。

【０１８４】

ある特定の実施形態において、抗ＨＰｇＶ－２抗体および／またはＨＰｇＶ－２抗原を含むことが疑われる試料が、試験カートリッジの保持チャンバーに添加され、カートリッジがＩ－ＳＴＡＴ（登録商標）リーダー中に挿入される。検出抗体または検出可能に標識されている検出抗原が試料中に溶解された後、カートリッジ内のポンプエレメントが、試料を、チップを含む導管中に強制的に入れる。ここで、検出抗体または検出抗原が振動して、捕捉抗原（または捕捉抗体）、抗ＨＰｇＶ－２抗体（またはＨＰｇＶ－２抗原）、ならびに標識された検出抗体（および／または検出抗原）間のサンドイッチの形成を促進する。アッセイの最後から２番目のステップにおいて、液体がパウチから強制的に出され、導管に入れられて、試料をチップから洗浄し出し、廃棄チャンバー中に入れる。アッセイの最終ステップにおいて、アルカリホスファターゼ標識がｐ－アミノフェノールホスフェートと反応してホスフェート基を切断し、遊離したｐ－アミノフェノールは、作用電極で電気化学的に酸化される。測定された電流に基づいて、リーダーは、埋め込まれているアルゴリズムおよび製造所で決定された検量線によって、試料中の抗ＨＰｇＶ－２抗体またはＨＰｇＶ－２抗原の量を計算することができる。

【０１８５】

本明細書に記載する方法およびキットは、イムノアッセイを行うための他の試薬および方法を包含する。例えば、当技術分野では公知であり、および／または使用するのに容易に準備もしくは最適化され得るような様々なバッファーが、例えば、コンジュゲート希釈液として、および／または標準物質希釈液として洗浄のために包含される。例示的なコンジュゲート希釈液は、ある種のキット（Ａｂｂｏｔｔ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ、Ａｂｂｏｔｔ　Ｐａｒｋ、ＩＬ）において使用され、２－（Ｎモルホリノ）エタンスルホン酸（ＭＥＳ）、塩、タンパク質ブロッカー、抗微生物剤および洗剤を含む、ＡＲＣＨＩＴＥＣＴ（登録商標）コンジュゲート希釈液である。例示的なキャリブレーター希釈液は、ある種のキット（Ａｂｂｏｔｔ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ、Ａｂｂｏｔｔ　Ｐａｒｋ、ＩＬ）において使用される、ＡＲＣＨＩＴＥＣＴ（登録商標）ヒトキャリブレーター希釈液であり、これは、ＭＥＳ、他の塩、タンパク質ブロッカー、および抗微生物剤を含むバッファーを含む。加えて、２００８年１２月３１日出願の米国特許出願公開第６１／１４２，０４８号、および米国特許出願公開第１２／６５０，２４１号に記載される通り、例えば、Ｉ－ＳＴＡＴ（登録商標）カートリッジフォーマットにおいて、シグナル増幅物質としてシグナル抗体に連結されている核酸配列を使用して、改善されたシグナル産生が得られることがある。

【０１８６】

ＶＩＩ．ＨＰｇＶ－２免疫原性組成物

ある特定の実施形態において、本明細書に、ＨＰｇＶ－２感染症を処置または防止するための、免疫原性組成物を提供する。ある特定の実施形態において、本明細書に、１つ以上のこのような免疫原性組成物の化合物（例えば、配列番号２－１１、７６－２１８および３０４－３５３に示されるタンパク質の一部分）ならびに生理学的に許容される担体を

含む、医薬組成物が提供される。免疫原性組成物は、１つ以上のこのような化合物、および非特異的な免疫応答増強物質を含むことができる。非特異的な免疫応答増強物質は、外来性の抗原に対する免疫応答を増強するあらゆる物質であってよい。非特異的な免疫応答増強物質の例は、アジュバント、生分解性微粒子（例えば、ポリ乳酸ガラクチド）およびリポソーム（その中に化合物が組み入れられる；例えば、米国特許第４，２３５，８７７号を参照されたい。）を含む。殆どのアジュバントは、水酸化アルミニウムまたは鉱油のような、速やかな異化作用から抗原を保護するようにデザインされている物質、および脂質Ａ、ボルタデラ・パーツシス（Ｂｏｒｔａｄｅｌｌａ　ｐｅｒｔｕｓｓｉｓ）またはマイコバクテリウム・ツーバーキュロシス（Ｍｙｃｏｂａｃｔｅｒｉｕｍ　ｔｕｂｅｒｃｕｌｏｓｉｓ）由来のタンパク質のような、免疫応答の刺激物質を含む。適切なアジュバントは、例えば、フロイントの不完全アジュバントおよび完全アジュバント（Ｄｉｆｃｏ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ、Ｄｅｔｒｏｉｔ、ＭＩ）、Ｍｅｒｃｋアジュバント６５（Ｍｅｒｃｋ　ａｎｄ　Ｃｏｍｐａｎｙ，Ｉｎｃ．、Ｒａｈｗａｙ、ＮＴ）、ＡＳ－２（Ｓｍｉｔｈ　ｌｉｎｅ　Ｂｅｅｃｈａｍ）、水酸化アルミニウムゲル（ミョウバン）またはリン酸アルミニウムのようなアンモニウム塩、カルシウム、鉄または亜鉛の塩、アシル化チロシンの不溶性懸濁液、アシル化糖、陽イオン性または陰イオン性に誘導体化された多糖、ポリホスファゼン、生分解性微粒子、モノホスホリル脂質Ａおよびｑｕｉｌ　Ａとして市販されている。ＧＭ－ＣＳＦまたはインターロイキン－２、－７もしくは－１２のようなサイトカインも、アジュバントとして使用され得る。

【０１８７】

本開示の範囲内の医薬組成物および免疫原性組成物は、他の化合物も含むことができ、他の化合物は、生物学的に活性でも、または不活性でもよい。例えば、組成物または免疫原性組成物内の、融合ポリペプチド中に組み込まれ、または別々の化合物としていずれかの、他の抗原の１つ以上の免疫原性部分が存在してもよい。ポリペプチドは、例えば、米国特許第４，３７２，９４５号および第４，４７４，７５７号内に記載される他の巨大分子にコンジュゲートしていてもよいが、コンジュゲートしている必要はない。医薬組成物および免疫原性組成物は一般的に、予防および治療目的で使用され得る。

【０１８８】

ＨＰｇＶ－２のゲノム、構造タンパク質もしくは非構造タンパク質、またはこれらのフラグメントをコードする核酸の免疫原性組成物は、ＨＰｇＶ－２感染を処置または防止するための免疫応答を誘発するのにも使用され得る。Ｒｏｌｌａｎｄ（１９９８）Ｃｒｉｔ．Ｒｅｖ．Ｔｈｅｒａｐ．　Ｄｒｕｇ　Ｃａｒｒｉｅｒ　Ｓｙｓｔｅｍｓ、７５：１４３－１９８、および本明細書に列挙する参考文献によって記載されているもののような、多数の遺伝子送達技術が当技術分野では周知である。好適な核酸発現系は、患者における発現に必要なＤＮＡ配列（適切なプロモーターおよび終結シグナルのような）を含む。ある特定の実施形態において、ＤＮＡは、非病原性の（欠陥のある）、複製適格性のウイルスの使用を伴い得る、ウイルス発現系（例えば、ワクシニア、ポックスウイルス、レトロウイルスまたはアデノウイルス）を使用して導入され得る。適切な系は、例えば、Ｆｉｓｈｅｒ－Ｈｏｃｈら（１９８９）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ、５５：３１７－３２１；Ｆｌｅｘｎｅｒら（１９８９）Ａｎｎ．Ｎ．Ｙ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．、５６９：８６－１０３；Ｆｌｅｘｎｅｒら（１９９０）Ｉｍｍｕｎｏｇｅｎｉｃ　ｃｏｍｐｏｓｉｔｉｏｎ、５：１７－２１；米国特許第４，６０３，１１２号、第４，７６９，３３０号、第４，７７７，１２７号および第５，０１７，４８７；ＷＯ８９／０１９７３に開示されている。

【０１８９】

医薬として許容される担体は、一部には、投与される特定の組成物（例えば、核酸、タンパク質、調節性の化合物、または形質導入された細胞）によって、および組成物を投与するのに使用される特定の方法によって決定される。したがって、本開示の医薬組成物には広範囲の適切な製剤が存在する（例えば、Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ’ｓ　Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ　Ｓｃｉｅｎｃｅｓ、第１７版、１９８９を参照されたい。）。投与は、あ

らゆる都合のよい様式において、例えば、注射、経口投与、吸入、経皮適用または直腸投与によってもよい。経口投与に適する製剤は、（ａ）水、食塩水またはＰＥＧ４００のような希釈液中に懸濁されている、有効量のパッケージされた核酸のような、液体溶液剤、（ｂ）各々が、予め決定された量の有効成分を液体、固体、顆粒またはゼラチンとして含む、カプセル剤、サシェ剤または錠剤、（ｃ）好適な液体中の懸濁剤、および（ｄ）適切な乳剤から構成されてよい。錠剤形態は、１つ以上のラクトース、ショ糖、マンニトール、ソルビトール、リン酸カルシウム、トウモロコシデンプン、バレイショデンプン、微結晶性セルロース、ゼラチン、コロイド状二酸化ケイ素、タルク、ステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸、および他の賦形剤、着色剤、充填剤、結合剤、希釈剤、緩衝剤、湿潤剤、保存剤、香味剤、色素、崩壊剤、ならびに製薬上適合性の担体を含むことができる。トローチ剤形態は、ショ糖など、香味剤中に有効成分を含むことができ、パステル剤は、有効成分に加えて当技術分野では公知の担体を含む、ゼラチンおよびグリセリンまたはショ糖およびアラビアゴム乳液、ゲルなどのような、不活性な基剤中に有効成分を含む。

【０１９０】

ＶＩＩＩ．化合物のスクリーニング

ある特定の実施形態において、本開示のＨＰｇＶ－２ウイルス、核酸およびタンパク質は、（１）細胞表面のウイルスの相互作用、例えば、ウイルスの形質導入（例えば、ウイルス細胞受容体の結合もしくは内部移行を阻止する）、（２）ウイルスの複製および遺伝子発現、例えば、ウイルスの複製（例えば、非構造タンパク質の活性、開始点活性、またはプライマー結合を阻害することによる）、ウイルスの転写（プロモーターまたはスプライシングの阻害、非構造タンパク質の阻害）、ウイルスタンパク質の翻訳、タンパク質のプロセシング（例えば、切断またはリン酸化）、ならびに（３）ウイルスの組立ておよび放出、例えば、ウイルスのパッケージングおよびウイルスの放出を阻害する化合物を含めた、抗ウイルス化合物に対するアッセイに使用される。ＨＰｇＶ－２調節活性を有する化合物を同定するためのアッセイはインビトロで行われてもよい。このようなアッセイは、全長のＨＰｇＶ－２またはそのバリアント、またはその変異体、またはそれらのフラグメントを使用することができる。精製された組換えまたは天然に存在するタンパク質が、本発明のインビトロ方法において使用され得る。精製されたＨＰｇＶ－２に加えて、組換えまたは天然に存在するタンパク質は、細胞可溶化液または細胞膜の一部であり得る。ある特定の実施形態において、結合アッセイは、固体状態または可溶性のいずれかである。ある特定の実施形態において、タンパク質または膜が、共有結合性または非共有結合性のいずれかで、固体支持体に結合している。特定の実施形態において、本発明のインビトロアッセイは、非競合性または競合性いずれかの、基質もしくはリガンド結合性、または親和性アッセイである。他のインビトロアッセイは、タンパク質に対する分光学的な（例えば、蛍光、吸光度、屈折率）、流体力学的（例えば、形状）、クロマトグラフィーの、または可溶性の性質における変化を測定することを含む。

【０１９１】

ある特定の実施形態において、タンパク質またはそのフラグメントを、潜在的な調節物質と接触させ、適切な量の時間インキュベートする、ハイスループットの結合アッセイが行われる。一実施形態において、潜在的な調節物質が固体支持体に結合しており、タンパク質が添加される。別の実施形態において、タンパク質が固体支持体に結合している。以下に記載する通り、有機小分子、ペプチド、抗体などを含めた、広範囲の調節物質が使用され得る。ＨＰｇＶ－２－調節物質の結合を同定するのに、標識化タンパク質－タンパク質結合アッセイ、電気泳動移動度シフト、イムノアッセイ、酵素アッセイなどを含めた、広範囲のアッセイが使用され得る。いくつかの場合では、候補の調節物質の結合は、競合的結合アッセイの使用によって決定され、既知のリガンドまたは基質の結合の妨害が、潜在的な調節物質の存在下で測定される。調節物質または既知のリガンドまたは基質のいずれかが最初に結合し、次いで競合物質が添加される。タンパク質が洗浄された後、潜在的な調節物質または既知のリガンドまたは基質いずれかの結合の妨害が決定される。しばしば、潜在的な調節物質または既知のリガンドまたは基質のいずれかが標識される。

【０１９２】
多くの様々な化学化合物が、本発明のスクリーニングアッセイにおいて、潜在的な調節物質またはリガンドとして使用され得る。ある特定の実施形態において、アッセイは、アッセイのステップを自動化し、アッセイに対するあらゆる便利な供給源から化合物を提供することによって、大型の化学ライブラリーをスクリーニングするようにデザインされ、アッセイが平行して行われるのが典型的である（例えば、ロボット工学アッセイにおけるマイクロタイタープレート上のマイクロタイターフォーマットにおいて）。Ｓｉｇｍａ（Ｓｔ．Ｌｏｕｉｓ、ＭＯ）、Ａｌｄｒｉｃｈ（Ｓｔ．Ｌｏｕｉｓ、ＭＯ）、Ｓｉｇｍａ－Ａｌｄｒｉｃｈ（Ｓｔ．Ｌｏｕｉｓ、ＭＯ）、およびＦｌｕｋａ Ｃｈｅｍｉｋａ－Ｂｉｏｃｈｅｍｉｃａ Ａｎａｌｙｔｉｋａ（Ｂｕｃｈｓ Ｓｗｉｔｚｅｒｌａｎｄ）を含む、多く化学化合物の供給業者が存在することが理解されよう。ある特定の実施形態において、ハイスループットのスクリーニング方法は、多数の潜在的な治療用化合物（潜在的な調節物質もしくはリガンド化合物）を含む、有機小分子またはペプチドのコンビナトリアルライブラリーを提供することを伴う。このようなライブラリーは、次いで、所望の特徴的な活性を表すライブラリーのメンバー（特に化学種またはサブクラス）を同定するために、本明細書に記載する１つ以上のアッセイにおいてスクリーニングされる。このように同定された化合物は、リード化合物として働くことができ、またはそれ自体が、潜在的なもしくは実際的な治療薬として使用され得る。

【０１９３】
ＩＸ．キットおよびシステム
ある特定の実施形態において、本明細書に、例えば、ＥＬＩＳＡおよび「サンドイッチ」タイプのイムノアッセイのようなイムノアッセイ、および核酸アッセイ、例えばＰＣＲアッセイを含めた、様々な診断アッセイにおいて使用するための１つ以上の試薬を含むキットおよびシステムを提供する。このようなキットおよびシステムは、好ましくは、本発明の少なくとも第１のペプチド、または第１の抗体もしくは抗原結合フラグメント、これらの機能的なフラグメント、またはこれらのカクテル、または第１のオリゴヌクレオチドもしくはオリゴヌクレオチド対、およびシグナル産生のための手段を含むことができる。キットの構成成分が固体支持体に予め付着していてもよく、またはキットが使用されるときに固体支持体の表面に適用されてもよい。シグナル産生手段は、本発明の抗体もしくは核酸と予め会合させてもよく、または使用前に１つ以上の構成成分、例えば、バッファー、核酸、抗体－酵素コンジュゲート、酵素基質などとの組合せを必要とし得る。キットおよびシステムは、例えば、固相表面への非特異的結合を低減するためのブロック試薬、洗浄試薬、酵素基質、酵素など、付加的な試薬も含むことができる。固相表面は、マイクロタイタープレート、微粒子の形態、または核酸、タンパク質、ペプチドもしくはポリペプチドを固定化するのに適する他の材料であってよい。化学発光もしくは色素産生性生成物の形成、または化学発光もしくは色素産生性基質の低減を触媒する酵素が、シグナル産生手段の１つのこのような構成成分である。このような酵素は、当技術分野では周知である。放射標識、色素産生性、蛍光、または他のタイプの検出可能な標識または検出手段がキットまたはシステム内に含まれる場合、標識化剤は、診断もしくは治療用組成物自体と同じ容器中に提供されてもよく、または代替的に、その中にこの第２の組成物が配置され、適切にアリコートにされ得る第２の別々の容器手段中に配置されてもよい。代替的に、検出試薬および標識は、単一の容器手段中で調製されてもよく、殆どの場合、キットまたはシステムは、市販用に、ならびに／または簡便な包装用および送達用に厳重に密閉された中に一又は複数のバイアルを含むための手段をやはり含むのが典型的である（例えば、箱もしくは他の容器）。

【０１９４】
ある特定の実施形態において、本明細書に開示するキットは、ＨＰｇＶ－２（またはそのフラグメント）に対して試験試料をアッセイするための少なくとも１つの構成成分、およびＨＰｇＶ－２（またはそのフラグメント）に対して試験試料をアッセイするための指示書を含む。ＨＰｇＶ－２（またはそのフラグメント）に対して試験試料をアッセイする

ための少なくとも１つの構成成分は、例えば、任意選択的に固相上に固定化されている、ＨＰｇＶ－２に対する抗体または抗体（複数）（またはそのフラグメント、バリアント、またはバリアントのフラグメント）を含む組成物を含むことができる。一部の実施形態において、キットは、アッセイ、例えば、化学発光微粒子イムノアッセイによってＨＰｇＶ－２に対する試験試料をアッセイするための少なくとも１つの構成成分、およびイムノアッセイ、例えば、化学発光微粒子イムノアッセイによって分析物に対して試験試料をアッセイするための指示書を含むことができる。例えば、キットは、抗分析物、モノクローナル／ポリクローナル抗体（またはＨＰｇＶ－２に結合することができるそのフラグメント、ＨＰｇＶ－２に結合することができるそのバリアント、またはＨＰｇＶ－２に結合することができるバリアントのフラグメント）のような、ＨＰｇＶ－２に対する少なくとも１つの特異的な結合パートナーを含むことができ、これらのいずれかが検出可能に標識されていてよい。代替的に、または加えて、キットは、検出可能に標識されているＨＰｇＶ－２タンパク質（または抗ＨＰｇＶ－２に結合することができるそのフラグメント、モノクローナル／ポリクローナル抗体もしくは抗ＨＰｇＶ－２ＤＶＤ－Ｉｇ（もしくはそのフラグメント、バリアント、もしくはバリアントのフラグメント））を含むことができ、このタンパク質は、抗ＨＰｇＶ－２に対する結合に対する試験試料中のあらゆる抗ＨＰｇＶ－２抗体、モノクローナル／ポリクローナル抗体（もしくはＨＰｇＶ－２に結合することができるそのフラグメント、ＨＰｇＶ－２に結合することができるそのバリアント、もしくはＨＰｇＶ－２に結合することができるバリアントのフラグメント）、または抗ＨＰｇＶ－２－２ＤＶＤ－Ｉｇ（もしくはそのフラグメント、バリアント、もしくはバリアントのフラグメント）と競合することができ、これらのいずれかが固体支持体上に固定されていてよい。キットは、１つ以上のキャリブレーターまたは対照、例えば、単離または精製されたＨＰｇＶ－２を含むことができる。キットは、アッセイを行うための少なくとも１つの容器（例えば、チューブ、マイクロタイタープレートもしくはストリップ、例えば、これらは第１の特異的な結合パートナーですでにコーティングされていてもよい。）、および／またはアッセイバッファーもしくは洗浄バッファーのようなバッファー（これらのいずれか１つは濃縮溶液として提供されてよい。）、検出可能な標識（例えば、酵素標識）用の基質溶液、または停止溶液を含むことができる。キットが、アッセイを行うのに必要である構成成分を全て、すなわち、試薬、標準、バッファー、希釈液などを含むのが好ましい。指示書は、紙の形態または、ディスク、ＣＤ、ＤＶＤなどのようなコンピュータで読み取ることができる形態であってよい。

【０１９５】

抗バイオマーカー抗体もしくは抗ＨＰｇＶ－２ＤＶＤ－Ｉｇのようなあらゆる抗体、またはトレーサーは、フルオロフォア、放射性部分、酵素、ビオチン／アビジン標識、発色団、化学発光標識などのような本明細書に記載される検出可能な標識を組み入れることができ、またはキットは検出可能な標識化を行うための試薬を含むことができる。抗体、キャリブレーターおよび／または対照は、別々の容器中に提供されてもよく、または好適なアッセイフォーマット、例えばマイクロタイタープレート中に予め分配されてもよい。

【０１９６】

任意選択的に、キットは、品質管理の構成成分（例えば、感受性パネル、キャリブレーターおよび陽性対照）を含む。品質管理の試薬の調製は、当技術分野では周知であり、様々な免疫診断生成物用の挿入文書に記載されている。感受性パネルのメンバーは、任意選択的に、アッセイ性能の特徴を確立するのに使用され、さらに任意選択的に、アッセイキット試薬の一体性、およびアッセイの標準化の有用な指標である。

【０１９７】

キットは、バッファー、塩、酵素、酵素の補助因子、酵素基質、検出試薬などのような、診断アッセイを行い、または品質管理の評価を促進するのに必要とされる他の試薬も、任意選択的に含むことができる。試験試料を単離および／または処理するためのバッファーおよび溶液のような他の構成成分（例えば、前処理試薬）もキットに含まれてよい。キットは付加的に、１つ以上の他の対照を含むことができる。キットの１つ以上の構成成分

は凍結乾燥されてよく、その場合、キットは、凍結乾燥された構成成分を再構成するのに適する試薬をさらに含むことができる。

【０１９８】

キットの様々な構成成分は、任意選択的に、適切な容器、例えば、マイクロタイタープレート中に適宜提供される。キットは、試料を保持または貯蔵するための容器（例えば、尿試料用の容器またはカートリッジ）をさらに含むことができる。必要に応じて、キットは、任意選択的に、反応容器、混合容器、および試薬または試験試料の調製を促進する他の構成成分も含むことができる。キットは、シリンジ、ピペット、ピンセット、計量スプーンなどのような、試験試料を得る助けをするための器具も１つ以上含むことができる。

【０１９９】

検出可能な標識が少なくとも１つのアクリジニウム化合物である場合、キットは少なくとも１つのアクリジニウム－９－カルボキサミド、少なくとも１つのアクリジニウム－９－カルボキシレートアリールエステル、またはこれらのあらゆる組合せを含むことができる。さらに、検出可能な標識が少なくとも１つのアクリジニウム化合物である場合、キットは、バッファー、溶液、および／または少なくとも１つの塩基溶液のような、過酸化水素の供給源も含むことができる。所望により、キットは、磁性粒子、ビーズ、試験管、マイクロタイタープレート、キュベット、膜、骨格分子、フィルム、濾紙、ディスクまたはチップのような固相を含むことができる。

【０２００】

キット（またはその構成成分）、および試験試料中のＨＰｇＶ－２の存在、量または濃度を本明細書に記載するアッセイのようなアッセイによって決定する方法は、例えば、米国特許第５，０８９，４２４号および第５，００６，３０９号に記載される通り、ならびに例えば、Ａｂｂｏｔｔ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ（Ａｂｂｏｔｔ　Ｐａｒｋ、ＩＬ．）によりＡＲＣＨＩＴＥＣＴとして市販される、様々な自動化および半自動化システム（固相が微粒子を含むものを含めて）において使用するために適用され得る。自動化または半自動化システムを、非自動化システム（例えば、ＥＬＩＳＡ）と比べた間の違いのいくつかは、それに対して第１の特異的な結合パートナー（例えば、抗ＨＰｇＶ－２モノクローナル／ポリクローナル抗体（もしくはこれらのフラグメント、これらのバリアント、もしくはこれらのバリアントのフラグメント）、または抗ＨＰｇＶ－２ＤＶＤ－Ｉｇ（もしくはこれらのフラグメント、これらのバリアント、もしくはこれらのバリアントのフラグメント）が付着しており；いずれかの方法で、サンドイッチ形成およびＨＰｇＶ－２反応性が影響を受け得る）基質、ならびに捕捉、検出および／またはあらゆる任意選択の洗浄ステップの長さおよびタイミングを含む。ＥＬＩＳＡのような非自動化のフォーマットは、試料および捕捉試料との比較的長いインキュベーション時間を必要とし得る（例えば、約２時間）が、自動化または半自動化のフォーマット（例えば、ＡＲＣＨＩＴＥＣＴ、Ａｂｂｏｔｔ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ）は比較的短いインキュベーション時間を有し得る（例えば、ＡＲＣＨＩＴＥＣＴではおよそ１８分）。同様に、ＥＬＩＳＡのような非自動化のフォーマットは、コンジュゲート試薬のような検出抗体を、比較的長いインキュベーション時間（例えば、約２時間）インキュベートし得るが、自動化または半自動化のフォーマット（例えば、ＡＲＣＨＩＴＥＣＴ）は比較的短いインキュベーション時間を有し得る（例えば、ＡＲＣＨＩＴＥＣＴではおよそ４分）。

【０２０１】

Ａｂｂｏｔｔ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓから入手できる他のプラットホームは、それだけには限定されないが、ＡｘＳＹＭ、ＩＭｘ（例えば、その全体を参照により本明細書に組み込む、米国特許第５，２９４，４０４号を参照されたい。）、ＰＲＩＳＭ、ＥＩＡ（ビーズ）、およびＱｕａｎｔｕｍ．ＴＭ．ＩＩ、および他のプラットホームを含む。加えて、アッセイ、キット、およびキットの構成成分は、他のフォーマットにおいて、例えば、電気化学的または他のハンドヘルドまたはポイントオブケアのアッセイシステム上で使用され得る。本開示は、例えば、サンドイッチイムノアッセイを行う、市販のＡｂｂｏｔｔ　Ｐｏｉｎｔ　ｏｆ　Ｃａｒｅ（ｉ－ＳＴＡＴＥＤ、Ａｂｂｏｔｔ　Ｌａｂｏｒａｔ

ｏｒｉｅｓ）電気化学的イムノアッセイシステムに適用できる。イムノセンサー、および単回使用（ｓｉｎｇｌｅ－ｕｓｅ）の試験装置におけるこれらの製造方法および操作方法は、例えば、その全体を参照により、それに関するこれらの教示に対して組み込む、米国特許第５，０６３，０８１号、米国特許出願公開第２００３／０１７０８８１号、米国特許出願公開第２００４／００１８５７７号、米国特許出願公開第２００５／００５４０７８号および米国特許出願公開第２００６／０１６０１６４号に記載されている。

【０２０２】

特に、ＨＰｇＶ－２アッセイのＩ－ＳＴＡＴシステムへの適用に関して、以下の立体配置が使用され得る。微細加工されたシリコンチップが、１対の金電流測定作用電極および銀－塩化銀基準電極で製造される。一方の作用電極上で、抗ＨＰｇＶ－２、モノクローナル／ポリクローナル抗体（もしくはこれらのフラグメント、これらのバリアント、もしくはこれらのバリアントのフラグメント）または抗ＨＰｇＶ－２ＤＶＤ－Ｉｇ（もしくはこれらのフラグメント、これらのバリアント、もしくはこれらのバリアントのフラグメント）を固定化したポリスチレンビーズ（直径０．２ｍｍ）が、電極にわたって形作られたポリビニルアルコールのポリマーコーティングに付着している。このチップを、イムノアッセイに適する流体力学のフォーマットで、Ｉ－ＳＴＡＴカートリッジに組み立てる。カートリッジの試料保持チャンバーの壁の一部分上に、抗ＨＰｇＶ－２、モノクローナル／ポリクローナル抗体（もしくはＨＰｇＶ－２に結合することができるこれらのフラグメント、これらのバリアント、もしくはこれらのバリアントのフラグメント）、または抗ＨＰｇＶ－２ＤＶＤ－Ｉｇ（もしくはＨＰｇＶ－２に結合することができるこれらのフラグメント、これらのバリアント、もしくはこれらのバリアントのフラグメント）のような分析物に特異的な結合パートナーを含む層が存在し、これらのいずれかが検出可能に標識され得る。カートリッジの液体パウチ内に、ｐ－アミノフェノールホスフェートを含む水性試薬がある。

【０２０３】

操作において、ＨＰｇＶ－２を含むことが疑われる試料が、試験カートリッジの保持チャンバーに添加され、カートリッジがＩ－ＳＴＡＴリーダー中に挿入される。ＨＰｇＶ－２に特異的な結合パートナーが試料中に溶解された後、カートリッジ内のポンプエレメントが、試料を、チップを含む導管中に強制的に入れる。ここで、これが振動して、サンドイッチの形成を促進する。アッセイの最後から２番目のステップにおいて、液体がポーチから強制的に出され、導管に入れられて、チップから試料を洗浄し出し、廃棄チャンバー中に入れる。アッセイの最終ステップにおいて、アルカリホスファターゼ標識がｐ－アミノフェノールホスフェートと反応してホスフェート基を切断し、遊離したｐ－アミノフェノールが、作用電極で電気化学的に酸化される。測定された電流に基づいて、リーダーは、埋め込まれているアルゴリズムおよび製造所で決定された検量線によって、試料中の抗ＨＰｇＶ－２抗体またはＨＰｇＶ－２抗原の量を計算することができる。

【０２０４】

ある特定の実施形態において、本明細書に記載する方法およびキットは、アッセイを行うための他の試薬および方法を含むことができる。例えば、当技術分野では公知であり、ならびに／または例えば、コンジュゲート希釈液、微粒子希釈液、および／もしくはキャリブレーター希釈液として洗浄するために、使用されるために容易に調製または最適化され得る、様々なバッファーが包含される。例示的なコンジュゲート希釈液は、ある種のキット（Ａｂｂｏｔｔ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ、Ａｂｂｏｔｔ　Ｐａｒｋ、ＩＬ．）において使用され、２－（Ｎ－モルホリノ）エタンスルホン酸（ＭＥＳ）、塩、タンパク質ブロッカー、抗微生物剤および洗剤を含む、ＡＲＣＨＩＴＥＣＴコンジュゲート希釈液である。例示的なキャリブレーター希釈液は、ある種のキット（Ａｂｂｏｔｔ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ、Ａｂｂｏｔｔ　Ｐａｒｋ、ＩＬ．）において使用され、ＭＥＳ、他の塩、タンパク質ブロッカーおよび抗微生物剤を含むバッファーを含む、ＡＲＣＨＩＴＥＣＴヒトキャリブレーター希釈液である。加えて、２００８年１２月３１日出願の米国特許出願第６１／１４２，０４８号に記載される通り、改善されたシグナル産生が、例えば、シ

グナル増幅器としてシグナル抗体に連結している核酸配列を使用する、Ｉ－Ｓｔａｔカートリッジのフォーマットにおいて得られてもよい。

【実施例】

【０２０５】

［実施例１］

ＨＰｇＶ－２と仮称された新規ウイルスの発見

慢性肝炎を有する米国の患者から回収された１０５個の血清試料のコホートをそれぞれ６試料（５０μｌ×６＝３００μｌ血清／プール）のグループにプールし、ＤＮａｓｅの混合物（Ｔｕｒｂｏ ＤＮａｓｅ、Ａｍｂｉｏｎ、Ｆｏｓｔｅｒ Ｃｉｔｙ、ＣＡ、およびＢａｓｅｌｉｎｅ ＤＮａｓｅ、Ｅｐｉｃｅｎｔｒｅ、Ｓａｎ Ｄｉｅｇｏ、ＣＡ）を用いて室温で２．５時間処理した後、ＱｉａｇｅｎのＥＺ１ウイルス抽出キットを製造業者のプロトコールに従って使用してビーズに基づく抽出を行った。個々のプールから抽出された核酸を２つのプール（Ｎ＝１２試料）にグループ分けし、次に、以前に記載されたように（Ｇｒａｒｄら、２０１２；ＰＬｏＳ Ｐａｔｈｏｇｅｎｓ ８（９）：ｅ１００２９２４）、変更されたＴｒｕＳｅｑ（Ｉｌｌｕｍｉｎａ、Ｓａｎ Ｄｉｅｇｏ、ＣＡ）プロトコールを用いて次世代シークエンシングライブラリー構築およびインデックス付けのために調製した。ライブラリーは、ＩｌｌｕｍｉｎａのＨｉＳｅｑ２０００装置を用いて、２レーンでＥｌｉｍ Ｂｉｏｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌｓ（Ｅｌｉｍ Ｂｉｏｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌｓ、Ｈａｙｗａｒｄ、ＣＡ）によって配列決定された。合計で２億５，５００万個の生の対合末端のリードを生じさせた。これらのリードは、配列ベースの超急速病原体同定（ＳＵＲＰＩ）と命名された、カスタマイズされたバイオインフォマティクスパイプラインを用いて処理された（Ｎａｃｃａｃｈｅら、２０１４；Ｇｅｎｏｍｅ Ｒｅｓｅａｒｃｈ、印刷中）。タンパク質のアラインメントにより、３つの対合末端のリードが、３２７０万の生のリードからなる単一プール中で、サルペギウイルスであるＧＢウイルスＡと遠隔相同性で同定された。確認されたサンガー配列決定後の対合末端のリードの１つを標的とするプライマー（配列番号２１９および２２０）を用いたＰＣＲを用いて、ＨＰｇＶ－２を含む個々の試料を特定した。

【０２０６】

ウイルスゲノムからさらなる配列を回収するために、２つのライブラリー法：Ｉｌｌｕｍｉｎａ ＴｒｕＳｅｑおよびＲｕｂｉｃｏｎ Ｇｅｎｏｍｉｃｓ ＴｈｒｕＰＬＥＸ（Ａｎｎ Ａｒｂｏｒ、ＭＩ）を使用して、残りのプールされた核酸（Ｎ＝６試料）からライブラリーを調製した。これらのライブラリーは、Ｉｌｌｕｍｉｎａ ＭｉＳｅｑを用いてインデックス付けされ、配列決定され、合計１３４０万の生の対合末端のリードを生じさせた。次に、新規のペギウイルスのゲノムは、（１）1×10^{-8}のｅ値カットオフで既存のコンティグへのＢＬＡＳＴｎ（ヌクレオチド）アラインメントによる重複リードの同定、（２）基準としてのＧＢＶ－Ａ（現在、ペギウイルスＡ、ＮＣ＿００１８３７）の公開された配列に対する、1×10^{-2}のｅ値カットオフでのＢＬＡＳＴｘ（翻訳されたヌクレオチド）アラインメントによる追加のリードの同定、および（３）それぞれＰＲＩＣＥアライナー（Ｒｕｂｙら、２０１３；Ｇ３ ３：８６５－８８０）およびＧｅｎｅｉｏｕｓ（Ｂｉｏｍａｔｔｅｒｓ、Ａｕｃｋｌａｎｄ、Ｎｅｗ Ｚｅａｌａｎｄ）を用いた、既存のコンティグへの繰返しデノボアセンブリーおよび基準ベースのアセンブリーを用いて再構築された。これは、推定されるペギウイルスゲノムの約６０％に及ぶ６つの連続した配列（コンティグ）の生成をもたらした。これらのコンティグを確認し、ブリッジＰＣＲ（表１８に示されるプライマー）およびサンガー配列決定により得られたアンプリコンの確認を用いてギャップを閉じた。５’末端および３’末端を回収するために、製造業者の指示に従って、ｃＤＮＡ末端の迅速増幅（ＲＡＣＥ）手法を実施した（ＦｉｒｓｔＣｈｏｉｃｅ ＲＬＭ－ＲＡＣＥキット、Ａｍｂｉｏｎ、Ｆｏｓｔｅｒ Ｃｉｔｙ、ＣＡ）。３’ＲＡＣＥプロトコールは、ＲＡＣＥ前にｐｏｌｙ－Ａポリメラーゼ（Ｎｅｗ Ｅｎｇｌａｎｄ ＢｉｏＬａｂｓ、Ｉｐｓｗｉｃｈ、ＭＡ）を用いて３’末端にポリ（Ａ）テールを追加することを必要とした。最終的な９，７７８ｎｔのペギウイルスのドラフトゲ

ノムは、Ｉｌｌｕｍｉｎａ　ＨｉＳｅｑ実験から６０４個の配列リード、およびＩｌｌｕｍｉｎａ　ＭｉＳｅｑ実験から２，５７１個のリードを含み、組み立てられたゲノムの８７．８％がＰＣＲおよびサンガー配列決定によって確認された。

【０２０７】

すべての確認のサンガー配列決定は、２％アガロースゲル上でアンプリコンを精製し、ＴＯＰＯ　ＴＡ（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ、Ｃａｒｌｓｂａｄ、ＣＡ）を用いてプラスミドベクターにクローニングし、ベクタープライマーＭ１３ＦとＭ１３Ｒを用いた両方向におけるサンガー配列決定のために外部会社（Ｅｌｉｍ　Ｂｉｏｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌｓ、Ｈａｙｗａｒｄ、ＣＡ）にそれらを送付することにより行われた。

【０２０８】

【表３】

表１８

配列名	配列	Tm	配列番号
HPgV-2_set_1F	GAG TCA CGC GGG GTG CTT	60.9	219
HPgV-2_set_1R	CTT AAT ATA AGG GGC CAT ACT TTT GA	52.9	220
HPgV-2_set_2F	TGG AAC CAG TCG TGT TGG AG	60.5	221
HPgV-2_set_2R	GAA CAG CAG CAG GGG TCT AG	62.5	222
HPgV-2_set_3F	CTA GAC CCC TGC TGC TGT TC	62.5	223
HPgV-2_set_3R	TGA CTA CAG CCA CAC TTG GT	58.4	224
HPgV-2_set_4F	ATA TGG GAG CTA CCA CTG CGG T	64.2	225
HPgV-2_set_4R	TAA CAG GAC AGA ATC TAG GTA TGG AG	64.6	226
HPgV-2_set_5F	TGT CTA TTG CTC TAC CTC CAG GTG	65.2	227
HPgV-2_set_5R	TTC CAA AGC AAC GTA ACA CGG CG	64.6	228
HPgV-2_set_6F	CGC CGT GTT ACG TTG CTT TGG AA	64.6	229
HPgV-2_set_6R	TTA CCA GAA CCA GTA GGG GCA TAG	65.2	230
HPgV-2_set_7F	ACA GTC ACA TTC CAA CAT TGA TGA ATA C	64.4	231
HPgV-2_set_7R	TGC TCC CCT TCT ACC ACG ACC	65.3	232
HPgV-2_set_8F	TAG GCG TGT GGT TTT CCG GTC T	64.2	233

HPgV-2_set_8R	CCA ATC CCA CAC AGC GCG TAG A	65.8	234
HPgV-2_set_9F	TCT ACG CGC TGT GTG GGA TTG G	65.8	235
HPgV-2_set_9R	GGG TCT CAA ACT TGA TTG GAG GC	64.6	236
HPgV-2_set_10F	CTA TGC CCC TAC TGG TTC TGG TAA	65.2	237
HPgV-2_set_10R	GTA TTC ATC AAT GTT GGA ATG TGA CTG T	64.4	238
HPgV-2_set_11F	ACT TAT TGA CTG ACA CAG GCG ACG	65.2	239
HPgV-2_set_11R	TGC ATG CGC AAT GCA GCA GTA CAT	65.2	240
HPgV-2_set_12F	GTG CCC ATA AGT GGC TAT TAG CTA T	64.1	241
HPgV-2_set_12R	TGC TTA ATT GTT GGC CAA ATC TTT CAC	63.7	242
HPgV-2_set_13F	ACG ATT CCG TGT GCC TAT GAT TGG	65.2	243
HPgV-2_set_13R	CTG GGT TAC ATA AGT TAG TAG ACA TGC	65.3	244
HPgV-2_set_14F	TCT CCG CCT CCA GCA GTT CAA	63.2	245
HPgV-2_set_14R	AGC CGC AGT AGG ATA CAT GAC AAT A	64.1	246
HPgV-2_set_15F	TGT GAT ATC ACA GGA AAA GTT GTC GG	64.6	247
HPgV-2_set_15R	ACA GTC ACA GCC GCA GTA GGA TA	64.6	248
HPgV-2_set_16F	GAG AAA ATG ATC CTG GGC GAT CCT G	67.4	249
HPgV-2_set_16R	GCC GTG ATG GTG CTA TCA AAG CA	64.6	250
HPgV-2_set_17F	GGG ACA CCT CAA CCC TGA AG	62.5	251
HPgV-2_set_17R	TCA CTG CGG TAC CCA TTG AC	60.5	252
HPgV-2_set_18F	ATA TGG GAG CTA CCA CTG CGG T	64.2	253
HPgV-2_set_18R	GGT ACA GTA TTT GAG GTA GCT TTC AG	64.6	254
HPgV-2_set_19F	CTT TTT GGT GCG CAG TGT TTG CCT	65.2	255
HPgV-2_set_19R	TGT CAG GGA AGA CAA CAC CAC GAT	65.2	256
HPgV-2_set_20F	ACA CTC ACA GGG CGT GCT GAA A	64.2	257
HPgV-2_set_20R	ACG CCA AGT TCT CAC CAG TGA TG	64.6	258
HPgV-2_set_21F	GTG TGG CTG TAG TCA AAA GTA TGG C	65.8	259
HPgV-2_set_21R	CAG CAG TAC ATG GCA CCA CTC G	65.8	260
HPgV-2_set_22F	TTC GGT CAT CGA CTG CGG GTG T	65.8	261
HPgV-2_set_22R	CCA GCC AAG TTC CTG CAA TAG CTA A	65.8	262
HPgV-2_set_23F	TTC ACT GCG CTT GCT GGC TTG G	65.8	263
HPgV-2_set_23R	CCG TAA GGT GCC AGT GCC TGT	65.3	264
HPgV-2_set_24F	AAG CAT CAA TCT GAA AGC TAC CTC AAA	63.7	265
HPgV-2_set_24R	TGA ATC TTA TAG TGT CGT CCA AGT G	62.5	266
HPgV-2_set_25F	CTGTGACTGCCCCTTTGGAA	60.5	267
HPgV-2_set_25R	CATGCCAACGTCCGTGTATG	60.5	268
HPgV-2_set_26F	AAC CCT TGC AAT TCT GGC CGA TGA	65.2	269
HPgV-2_set_26R	AGA TCC CTG ACT GCT TGC GCC A	65.8	270
HPgV-2_set_27F	CCC ACG GTC CTG ATG ATA GCA T	64.2	271
HPgV-2_set_27R	GCT AAC CAG CCA AGT TCC TGC AA	64.6	272
HPgV-2_set_28F	AAG TGA AAG ATT TGG CCA ACA ATT AAG CAA	65.1	273
HPgV-2_set_28R	CCA CGC AGG TGA GCA GCC AA	64.6	274
HPgV-2_set_29F	ACA ATT ATT ACA AAA GAA GCC CCA T	59.2	275
HPgV-2_set_29R	AGT CAC AGC CGC AGT AGG A	59.5	276
HPgV-2_set_30F	TTG ACA TGA CAG CGT CGG TG	60.5	277
HPgV-2_set_30R	AGCGCGCATCTGATCTACAA	58.5	278

HPgV-2_set_31F	AAC AGC GGT TGA TGT CTC C	57.5	279
HPgV-2_set_31R	AAA GAT GCG CGC AAA CAC C	57.5	280
HPgV-2_set_32F	AGCGCGCATCTGATCTACAA	58.5	281
HPgV-2_set_32R	GCT AGT GCT ATA CTC GCT CTG CTT	65.2	282
HPgV-2_set_33F	ATG ATG CAT GGC AGG TTC GCC AA	64.6	283
HPgV-2_set_33R	GAT CAA TCG TGA CCT TAG CCT GC	64.6	284
HPgV-2_set_34F	AAC TCG GCG ACC AGT GCC AAA AT	64.6	285
HPgV-2_set_34R	TGT CTG CGC GCA AAA TGC CAG C	65.8	286
HPgV-2_set_35F	GGC AAA GAC CTT CAG ACA ATC TGG	65.2	287
HPgV-2_set_35R	CAC CCC GAC AAC TTT TCC TGT GA	64.5	288
HPgV-2_set_36F	TTG ATC GTG CAA AGG GAT GGG TC	64.6	289
HPgV-2_set_36R	CTA ACA GTC CAA GCC AAC CTG CA	64.5	290
HPgV-2_set_37F	GCC ATG AGG GAT CAT GAC ACT G	64.5	291
HPgV-2_set_37R	TTT GCA CGA TCA GCG TTC CCG T	65.2	292
HPgV-2_set_38F	CTG TCC TGT TAC TCC ATA CCT AGA TT	64.6	293
HPgV-2_set_38R	CG ACA CCT GGA GGT AGA GCA A	63.2	294
HPgV-2_set_39F	CCT CCA ATC AAG TTT GAG ACC C	62.1	295
HPgV-2_set_39R	GTA CAC TCC AGC GCG CAT CT	62.5	296
HPgV-2_set_40F	ACC AAG TGT GGC TGT AGT CA	58.4	297
HPgV-2_set_40R	CCC CTG TTG TAT GCC TAG CC	62.5	298

【０２０９】
［実施例２］
新規ウイルスＨｐｇＶ－２の確認
この実施例は、生物学的試料中のＨＰｇＶ－２ウイルスの存在を確認するために使用される方法を記載する。
【０２１０】
Ａ．試料の前処理およびＲＮＡ抽出
新規ウイルスを独立して検証および確認するために、指標患者（ＵＣ０１２５．ＵＳを有する。）から回収された血漿をＡｂｂｏｔｔラボラトリーで評価した。ＨＰｇＶ－２を含む血漿試料（１３０μｌ）を室温で解凍した。試料を室温で５分間、２６５０ｇで回転させ、上清を新しいチューブに移した。試料を３７℃で２時間、ベンゾナーゼで前処理し、遊離ＤＮＡおよびＲＮＡを分解させた。１０×ベンゾナーゼバッファーは以下の通りであった：２００ｍＭのＴｒｉｓ－Ｃｌ　ｐＨ７．５および１００ｍＭのＮａＣｌ、２０ｍＭの$MgCl_2$。ベンゾナーゼ反応は以下の通りであった：１４μｌの１０×ベンゾナーゼバッファー、１３０μｌの血漿および０．５μｌ（２５０Ｕ／μｌベンゾナーゼ：８９２Ｕ／ｍｌ最終）（Ｓｉｇｍａ、Ｅ８２６３－２５ＫＵ）。次に、試料を０．２２μＭスピンフィルター（Ｍｉｌｌｉｐｏｒｅ、ＵＦＣ３０６Ｖ００）を用いて、２６５０ｇで３分間回転させることにより濾過した。
【０２１１】
Ｑｉａｇｅｎ　Ｖｉｒａｌ　Ｍｉｎｉ抽出スピンプロトコールをウイルスＲＮＡ精製に使用した。あるいは、Ｔｏｔａｌ　Ｎｕｃｌｅｉｃ　Ａｃｉｄ　ｐｒｅｐを使用して、Ａｂｂｏｔｔ　ｍ２０００で製造元の指示書（ここには記載されない。）に従って試料を処理することができる。このプロトコールは、マイクロ遠心分離器を用いて、１４０μｌの血漿、血清、尿、細胞培養培地または細胞不含の体液からのウイルスＲＮＡの精製に適している。最大５６０μｌ（１４０μｌの倍数による。）のより大きな開始容量は、プロトコールで後述するように、最初の容量を比例的に増加させ、ＱＩＡａｍｐ　Ｍｉｎｉカラムを複数回充填することにより処理することができる。
【０２１２】
精製プロトコールを開始する前に、ｉ）試料を室温（１５－２５℃）に平衡化し；ｉｉ

）後に溶出するためにＡＶＥバッファーを室温に平衡化し；ｉｉｉ）ＡＷ１バッファーとＡＷ２バッファーが指示書に従って準備されていることを確認し；およびｉｖ）指示書に従ってＡＶＥバッファーで再構成された担体ＲＮＡをＡＶＬバッファーに添加する。

【０２１３】

精製手順は以下の通りである。ステップ１では、２μｌのｔＲＮＡ－ＭａｇＭａｘ担体ＲＮＡを含む５６０μｌの調製されたＡＶＬバッファーを１．５ｍｌのマイクロ遠心チューブに分注する。ステップ２では、１４０μｌの血漿、血清、尿、細胞培養上清または細胞不含の体液をマイクロ遠心チューブ内のＡＶＬバッファー－担体ＲＮＡに添加する。パルスボルテックスにより１５秒間混合する。ステップ３では、室温（１５－２５℃）で１０分間インキュベートする。ウイルス粒子の溶解は、室温で１０分間の溶解後に完了する。より長いインキュベーション時間は、精製されたＲＮＡの収量または品質に影響を及ぼさない。潜在的に感染性の薬剤およびＲＮａｓｅは、ＡＶＬバッファー中で不活性化される。

【０２１４】

ステップ４では、蓋の内側から液滴を除くために、チューブを簡単に遠心分離する。ステップ５では、５６０μｌのエタノール（９６－１００％）を試料に添加し、パルスボルテックスで１５秒間混合する。混合後、蓋の内側から液滴を除くために、チューブを簡単に遠心分離する。ステップ６では、リムを濡らさずに、ステップ５の溶液６３０μｌをＱＩＡａｍｐ　Ｍｉｎｉカラム（２ｍｌ回収チューブ中）に注意深く注ぐ。キャップを閉め、６０００×ｇ（８０００ｒｐｍ）で１分間遠心分離する。ＱＩＡａｍｐ　Ｍｉｎｉカラムを無菌の２ｍｌ回収チューブに入れ、濾液を含むチューブを廃棄する。遠心分離中のクロスコンタミネーションを避けるために各スピンカラムを閉じる。溶液が膜を完全に通過していない場合、溶液のすべてが通過するまで、より高速で再度遠心分離する。

【０２１５】

ステップ７では、ＱＩＡａｍｐ　Ｍｉｎｉカラムを慎重に開き、ステップ６を繰り返す。試料容量が１４０μｌより大きい場合、すべての溶解物がスピンカラムに充填されるまでこのステップを繰り返す。ステップ８では、ＱＩＡａｍｐ　Ｍｉｎｉカラムを慎重に開き、５００μｌのＡＷ１バッファーを添加する。キャップを閉め、６０００×ｇ（８０００ｒｐｍ）で１分間遠心分離する。ＱＩＡａｍｐ　Ｍｉｎｉカラムを無菌の２ｍｌ回収チューブ（付属）に入れ、濾液を含むチューブを廃棄する。元の試料容量が１４０μｌを超えたとしも、ＡＷ１バッファーの容量を増やす必要はない。

【０２１６】

ステップ９では、ＱＩＡａｍｐ　Ｍｉｎｉカラムを慎重に開き、５００μｌのＡＷ２バッファーを添加する。キャップを閉め、最高速度（２０，０００×ｇ；１４，０００ｒｐｍ）で３分間遠心分離する。ステップ１１を直接続行する、または可能性のあるＡＷ２バッファーのキャリーオーバーのいずれの機会も排除するためにステップ１０を行い、次にステップ１１に続ける。ステップ１０では、任意選択的にＱＩＡａｍｐ　Ｍｉｎｉカラムを新しい２ｍｌ回収チューブに入れ、古い回収チューブを濾液とともに廃棄する。最高速度で１分間遠心分離する。

【０２１７】

ステップ１１では、ＱＩＡａｍｐ　Ｍｉｎｉカラムを無菌の１．５　ｍｌ微量遠心チューブに入れる。濾液を含む古い回収チューブを廃棄する。ＱＩＡａｍｐ　Ｍｉｎｉカラムを慎重に開き、室温に平衡化された６０μｌのＡＶＥバッファーを添加する。キャップを閉め、室温で１分間インキュベートする。６０００×ｇ（８０００ｒｐｍ）で１分間遠心分離する。６０μｌのＡＶＥバッファーを用いた１回目の溶出を行い、８μｌまたは５μｌのアリコートを－２０℃または－７０℃で保存した。６０μｌの２回目の溶出を行い、１本のチューブで凍結した。

【０２１８】

ステップ１２では、各試料ＲＮＡに２倍容量のＲＮＡ結合バッファーを添加し、混合し、次に、等容量のエタノール（９５－１００％）を添加することにより、ＲＮＡストック

をＲＮＡ　Ｃｌｅａｎ＆Ｃｏｎｃｅｎｔｒａｔｏｒ－５カラム（Ｚｙｍｏ　Ｒｅｓｅａｒｃｈ）を用いて濃縮する。試料を２ｍｌ回収チューブ中のＺｙｍｏ－Ｓｐｉｎ（商標）ＩＣカラムに移し、３０秒間遠心分離し、フロースルーを廃棄する。４００μｌのＲＮＡ　Ｐｒｅｐバッファーをカラムに添加し、３０秒間遠心分離し、フロースルーを廃棄し、続いて７００μｌのＲＮＡ洗浄バッファーを添加し、３０秒間遠心分離し、フロースルーを廃棄する。最後の４００μｌ容量のＲＮＡ洗浄バッファーをカラムに添加し、２分間遠心分離し、洗浄バッファーの完全な除去を確認した後、カラムをＲＮａｓｅ不含チューブに注意深く移す。７μｌのＤＮａｓｅ／ＲＮａｓｅ不含水をカラムマトリックスに直接添加し、３０秒間遠心分離し、ＲＮＡを溶出する。

【０２１９】

Ｂ．逆転写

鋳型としてＨＰｇＶ－２試料ＲＮＡを用い、ＳＳ　ＲＴＩＩＩ（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ：１８０８０－０５１）を使用してランダムヘキサマープライミングによりｃＤＮＡを生成させた。これは、後述（セクションＣ）する表１に列挙されたプライマーを用いたＰＣＲによる検出を可能にするためであった。

【０２２０】

以下の容量を使用した：７．６μｌの試料ＲＮＡ、１μｌのランダムヘキサマー（５０ｎｇ／μｌ）、０．４μｌのオリゴｄＴ（５０μＭ）、１μｌのｄＮＴＰミックス（１０ｍＭ）。これを６５℃で５分間加熱し、氷に戻して、１０μｌのマスターミックスを添加した。マスターミックスは以下の通りであった：２μｌの１０ＲＴバッファー、４μｌの２５ｍＭ　$MgCl_2$、２μｌの０．１Ｍ　ＤＴＴ、１μｌのＲＮＡｓｅＯＵＴ（４０Ｕ／μｌ）、１μｌのＳｕｐｅｒｓｃｒｉｐｔ　ＩＩＩ　ＲＴ（２００Ｕ／μｌ）。２５℃で１０分間、次に５０℃で８０分間インキュベートする。８５℃で５分間、次に４℃で終了する。反応液に１μｌのＲＮＡｓｅＨ（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ、Ｙ０１２２０）を添加し、２０分間３７℃で、次に４℃でインキュベートする。ｃＤＮＡをアリコートにして２×１０μｌの試料にし、－８０℃で凍結させた。

【０２２１】

Ｃ．ＨＰｇＶ－２プライマーの設計と試験

表１中の以下のプライマーは、ＨＰｇＶ－２の示された領域の一部分を増幅するために働くことが示された。

【０２２２】

【表４】

表１

フォワード プライマー						
検出される領域	プライマーの名称	v35 座標		配列 (5'->3')		配列番号
S	35F	24		TATTGCTACTTCGGTACGCCTAAT		12
S	81F	76		AAGGGCCTAGTAGGACGTGTGACA		13
S	1F	119		CACTGGG GTGAGCGGAG GCAGCAC		14
S	15F	133		GAG GCAGCACCGA AGTCGGGTGA A		15
E1	307F	702		TGCCACCCATCCTATCTGCT		16
E1	487F	882		TATTGCTTGGTATGGCTGGGGTAT		17
E1	804F	893		ATGGCTGGGGTATACCTAARACA		18
E2	1147F	1133		TGGCGTACAAGCATCAATC		19
E2	1392F	1374		ACCGATTTCCGCTTTGTGCTAT		20
E2	1840F	1819		CCTGGGCTTGGGAAATGG		21
X	2283F	2372		CATG GGTGATTTCG CGGACTACT		22
X	2368F	2487		CCTCGGGGA CATCACGGGC ATCTA		23
X	2584F	2702		CTGTTAATGCTGCGCTCAATAGAA		24
NS2	2801F	2919		GCGGGTATTTGGTCTTGAGGTTTG		25
NS2	2978F	3372		TTTGGATCACGCGGCACATACATA		26
NS2	3028F	3423		ACGGGTGGCGCAAGCAGTCAGG		27
NS2	NS23_F5	3478		GAGGAGCCCACCTTTACTGA		28
NS3	プライマーセット 2	3601		GAAGATCTGCCACCTGGTTT		29
NS3	プライマーセット 7	3668		TCCTTCCTTAAGGCGACACT		30
NS3	3535F	3929		GAGCCGGGTTTGGGTGATGAATAA		31
NS3	プライマーセット 4	3940		TGGGTGATGAATAACAACGG		32
NS3	プライマーセット 3	4005		AATGACGACGTCTGTTTGGA		33
NS3	3681	4076		ACGCGTTGATGCTCGGTGGTTACT		34
NS3	プライマーセット 15	4189		CCAGCTGTGACACCAACATA		35
NS3	プライマーセット 1	4508		AGTCATTTGCGACGAGTGTC		36
NS3	5353F	5348		GGC CCA CGG TCC TGA TGA TA		37
NS3	5353Fv2	5348		GGCCCAYGGTCCAGACGATR		38
NS3	5353Fv128	5348		GGCCCATGGTCCGGATGATG		39
NS3	5605Fv2	5600		CCGTTTGGAGYGTTGAYAAC		40

NS4B	5605F	5600	CTGTTTGGAGCGTTGAGGTC	41
NS5A	6466F	6555	TACYGGCACCTTGTTGACCACCTG	42
NS5A	6383F	6778	CTAGAGCGGCGGGGCGACAAA	43
NS5A	6608F	7003	GAGGCGGTTGAGCTGCTGGAAGAG	44
NS5A	7284F	7279	TAG TTC AGG CGG CTT CAC GGT TTG	45
NS5A	7499F	7588	TGCGCCGT ACCAACAAAG	46
NS5A	7661F	7606	TGT CAC CCC TTG CAA ACT CCT ATT	47
NS5B	7783F	8178	AGTGTACGACGCTCCAATG	48
NS5B	8285F	8280	GCA CGA GTC GCG GAG AAA ATG A	49
NS5B	7886F	8283	ACG AGTCGCGGAG AAAATGA	50
NS5B	8385F	8380	CGC GCC TAC TGG AAC AAT	51
NS5B	8781F	8776	ACG CGC TTGATG ACT ATG GGT TTA	52
NS5B	9080F	9075	TTG ACG GTC CAC GGT AAC AG	53
NS5B/3'UTR	3raceo_9186F	9275	TGATCAAGTYGGGCGGGTGGAAT	357
NS5B/3'UTR	3raceo2_9249F	9338	GAACACCACARCCCGAACCAA	358
NS5B/3'UTR	9276F	9394	CGTCCGTACGAAAATTTGCACTTGAG	359
NS5B/3'UTR	9312F	9429	CGCAATCGTGGTGCTAGTCGCTTACG	360
NS5B/3'UTR	3racei_9380F	9469	GCTAGTGCTATACTCGCTCTGCTT	361
リバース プライマー				
検出される領域	プライマーの名称	v35 座標	逆平行の配列 (5'->3')	配列番号
S	208R	297	TGATAGGGTG GCGGCGGGC	362
S	E5RACEin311R	400	ATACCTCCTC GGGCTGCC	363
S	E313R	430	ATGGGAGCTA CCACTGCGGT G	364
S	345R	462	GCCGGTCACC AAGTCGTRTG CAG	365
S	E5RACEo448R	537	GGTATGTGTT CSATCCGGTC CAAA	366
E2	1042R	1131	ATCCTTCT GGCTAGTCCT ACGGTT	367
E2	1227R	1316	TT TATTTGTTCA TGGGGGTCGTG	368
E2	957R	1352	GAAAACATCA CGCGTCCATA CAC	369
E2	990R	1385	CACCAGCACC GATTTCCGC	370
E2	1558R	1539	TTGTATTCTT GACCGCCGG	371
E2	2009R	1993	GTAATCCGAC GCCTGGCCG	372
X	2331R	2302	TGTGTCTGCC GGTTGCGA	373
X	2628R	2717	TCTCACCCTGT TAATGCTGCG CT	374
NS2	3015R	3133	CTGTCGGTTG TGGTCCTCTC GGTC	375
NS2	3317R	3435	AAGTCTCGGA ACGGGTGGCG CAA	376
NS3	プライマーセット 5	3548	TGGACAATTGCTTGGAGGTA	377
NS3	3553R	3690	TCCTTCCTTA AGGCGACACT	378
NS3	3607R	3744	ATCGTGGTGT TGTCTTCCCT	379
NS3	3402R	3797	CACTGTATGC GACCGGCCA	380
NS3	3536R	3922	TAGACCCCTG CTGCTGTTCG CCGA	381
NS3	プライマーセット 4	4025	CTGTCCCACGCACATAGATC	382
NS3	プライマーセット 3	4073	TTTGTGTGATCACGGTCATG	383
NS3	プライマーセット 15	4372	CCAAGTGTGGCTGTAGTCAAA	384

NS3	4092R	4487	GACGAATCTG CGGGGCTATG CTGT	385
NS3	4151R	4446	GCTACTCGGC ATTGGCGCAG	386
NS3	ﾌﾟﾗｲﾏｰｾｯﾄ 1	4584	AAAGCTGGAGTGAAGACCGT	387
NS4	5325R	5414	AACAACAGTAACAA AACACCCCT	388
NS4B	6109R	6104	CTTCCTGTTTGGGTGCCTTAC	389
NS4B	6129R	6124	TTACAGGTTGGGAAGCCGTGGTCG	390
NS4B	6129Rv2	6124	TTACAGGTTG GGAGGCCGTG GTYG	391
NS4B	6129Rv128	6124	TTACGGGTTG GGAAGCCGTG GTCG	392
NS5A	6701R	6789	WTCGTGGAKY TAGAGCGSCG G	393
NS5A	6907R	7293	GTAGTTCAGG CGGCTTCACG GTTT	394
NS5A	7012R	7407	AGTTTGAGGC CACCGCAGTA CCA	395
NS5B	7850R	7939	TTGAYGTCYC CGAGCGGCAG G	396
NS5B	8211R	8606	GTTGTCGGGG TGCGTAGCTG TCG	397
NS5B	8278R	8666	CTCAAGGTTC GCGCAGCT	398
NS5B	8080R	8076	AGGATGCTGTGTCAAAGATGCGCG	399
NS5B	9012R	9007	TATCCTACTGCGGCTGTGACTGTC	400
NS5B	9227R	9222	CCTCAGCGTTGGCCTTCTTTG	401
3'UTR	9616R	9611	CCTATCCGAGTTGGGCAAG	402
NS5B	9363R	9358	GTAAGAACACCACAGCCCGAACCA	403
3'UTR	9690R	9808	ACCACTTAAT GGTCGTAACT CGACC	404
3'UTR	9749R	9867(末端)	GTCAACGGCC CCTTTCATT	405

【０２２３】

表１に列挙されているフォワードおよびリバースプライマーは、表に列挙された順序でプライマー対を形成する。例えば、以下は、配列番号に基づく以下のプライマー対が提供される：１２：３６２、１３：３６３、１４：３６４、１５：３６５、１６：３６６、１７：３６７、１８：３６８、１９：３６９、２０：３７０、２１：３７１、２２：３７２、２３：３７３、２４：３７４、２５：３７５、２６：３７６、２７：３７７、２８：３７８、２９：３７９、３０：３８０、３１：３８１、３２：３８２、３３：３８３、３４：３８４、３５：３８５、３６：３８６、３７：３８７、３８：３８８、３９：３８９、４０：３９０、４１：３９１、４２：３９２、４３：３９３、４４：３９４、４５：３９５、４６：３９６、４７：３９７、４８：３９８、４９：３９９、５０：４００、５１：４０１、５２：４０２、５３：４０３、３５７：４０４および３５８：４０５。これらのプライマーの他の組合せを用いて、他のプライマー対を作ることができる。

【０２２４】

結果

ＵＣ０１２５．ＵＳ試料中のＨＰｇＶ－２の存在は、下記に見出される以下のプライマー対を用いて最初に確認された：ＮＳ３：３８４１Ｆおよび４４６０Ｒ（配列番号３８および３９）、３９８７Ｆおよび４３９８Ｒ（配列番号４０および４１）；ＮＳ５Ａ：６６８９Ｆおよび７３１８Ｒ（配列番号４２および４３）、６９１４Ｆおよび７２１３Ｒ（配列番号４４および４５）；ＮＳ２－ＮＳ３：３３３４Ｆおよび３７０８Ｒ（配列番号３４および３５）；およびＥ１－Ｅ２：７９３Ｆおよび１２６３Ｒ（配列番号１４および１５）。期待されるサイズのバンドは、４０サイクルのＲＴ－ＰＣＲの１ラウンド後に検出され、サンガー法によって配列決定され、ＨＰｇＶ－２ウイルスの存在の決定的証拠を与えた。

【０２２５】

Ｄ．次世代シークエンシングライブラリーＰｒｅｐ

ランダムにプライムされたライブラリーは、製造業者の推奨に従って、Ｏｖａｔｉｏｎ（登録商標）ＲＮＡ－ＳｅｑＶ２キット（ＮｕＧｅｎ、部品番号７１０２）を用いて、次世代シークエンシング（ＮＧＳ）のために上記で検討した試料から調製された。各々５μ

ｌのＲＮＡ（上記の（Ａ）に記載されるように前処理され、抽出された。）を出発材料として用いた。サーマルサイクラープログラムは以下の通りであった。

【０２２６】

プログラム１：第１鎖プライマーアニーリング（ＲＮＡ入力が１ｎｇを超える場合）６５℃－５分、４℃で保持。

【０２２７】

プログラム２：第１鎖合成　４℃－１分、２５℃－１０分、４２℃－１０分、７０℃－１５分、４℃で保持。第２鎖ｃＤＮＡ合成。

【０２２８】

プログラム３：第２鎖合成　４℃－１分、２５℃－１０分、５０℃－３０分、８０℃－２０分、４℃で保持。

【０２２９】

プログラム４：ＳＰＩＡ（登録商標）増幅　４℃－１分、４７℃－６０分、８０℃－２０分、４℃で保持。

【０２３０】

第１鎖ｃＤＮＡ合成－第１鎖ｃＤＮＡ合成試薬（青色）およびヌクレアーゼ不含水（緑色）を解凍する。Ａ３　ｖｅｒ１を短時間スピンし、氷上に置く。Ａ１　ｖｅｒ４とＡ２　ｖｅｒ３をボルテックスし、回転させ、氷上に置く。室温でヌクレアーゼ不含水を放置する。氷上で、０．２μｌのＰＣＲチューブ中に２μｌのＡ１と５μｌの総ＲＮＡ試料（５００ｐｇから１００ｎｇ）を混合する。プログラム１（６５℃－２分間、４℃または６５℃－５分間保持、４℃で保持）を実行するサーマルサイクラーにチューブを入れる。サーマルサイクラーが４℃に達したら、チューブを取り外して氷上に置く。第１鎖マスターミックスを準備する。Ａ３酵素をゆっくりとピペッティングし、チップを少なくとも５回、バッファーで濯ぐ。

【０２３１】

試料あたり２．５μｌのバッファー混合物Ａ２＋０．５μｌの酵素混合物Ａ３を合わせる。３μｌの第１鎖マスターミックスを各チューブに添加し、ピペッティングにより混合し、回転させ、氷上に置く。プログラム２（４℃－１分間、２５℃－１０分間、４２℃－１０分間、７０℃－１５分間、４℃で保持）を実行するサーマルサイクラーにチューブを入れる。サーマルサイクラーが４℃に達したら、チューブを取り出し、回転させ、氷上に置く。第２鎖ｃＤＮＡ合成を直ちに続ける。

【０２３２】

第２鎖ｃＤＮＡ合成－Ｏｖａｔｉｏｎ　ＲＮＡ－ＳｅｑシステムＶ２に付属したＡｇｅｎｃｏｕｒｔ（登録商標）ＲＮＡＣｌｅａｎ（登録商標）ＸＰビーズを再懸濁させ、室温で放置して次のステップで使用する。第２鎖ｃＤＮＡ合成試薬（黄色）を解凍する。簡単にＢ２　ｖｅｒ２を回転させ、氷上に置く。Ｂ１　ｖｅｒ３をボルテックスし、回転させ、氷上に置く。第２鎖マスターミックスを調製する。必ずＢ２酵素をゆっくりとピペッティングする。

【０２３３】

試料あたり：９．７μｌのバッファー混合物Ｂ１＋０．３μｌの酵素混合物Ｂ２を合わせる。十分に混合する。１０μｌの第２鎖マスターミックスを各反応チューブに添加し、ピペッティングにより混合し、回転させ、氷上に置く。プログラム３（４℃－１分、２５℃－１０分、５０℃－３０分、８０℃－２０分、４℃で保持）を実行するサーマルサイクラーにチューブを入れる。サーマルサイクラーが４℃に達したら、チューブを取り出し、回転させ、ベンチ上部に置く。直ちにｃＤＮＡの精製を続ける。

【０２３４】

ｃＤＮＡの精製－ＲＮＡＣｌｅａｎ　ＸＰビーズが室温に達していることを確認する。数回転倒することによりビーズを混合する。室温で、３２μｌのＲＮＡＣｌｅａｎ　ＸＰビーズを各反応チューブに添加し、１０回ピペッティングにより混合する。室温で１０分間インキュベートする。チューブを磁石に移し、さらに５分間放置する。結合バッファー

のうち４５μｌのみを除く。新たに調製した７０％エタノールを２００μｌ添加し、３０秒間放置する。ピペットを用いてエタノールを除去する。エタノール洗浄をもう２回繰り返す。最終洗浄後にすべての余分なエタノールを除去し、ビーズを１５から２０分間、空気乾燥させる。チューブが完全に乾燥し、エタノールが残っていないことを確認する。乾燥したビーズに結合したｃＤＮＡを用いて、ＳＰＩＡ増幅を直ちに続ける。

【０２３５】

ＳＰＩＡ増幅－ＳＰＩＡは、ＤＮＡ／ＲＮＡキメラＳＰＩＡプライマー、ＤＮＡポリメラーゼおよびＲＮＡｓｅ　Ｈを用いてＤＮＡを増幅する等温鎖置換増幅プロセスである。ＳＰＩＡ増幅試薬（赤色）を解凍する。Ｃ３　ｖｅｒ７を反転させて混合し、回転させ、氷上に置く。Ｃ１　ｖｅｒ９とＣ２　ｖｅｒ１１をボルテックスし、回転させ、氷上に置く。ＳＰＩＡマスターミックスを調製する。試料あたり２０μｌのバッファーミックスＣ２＋１０μｌのプライマーミックスＣ１＋１０μｌの酵素ミックスＣ３を合わせる。４０μｌのＳＰＩＡマスターミックスを各反応チューブに添加し、ピペッティングにより完全にビーズを再懸濁させる。氷上に置く。プログラム４（４℃－１分間、４７℃－６０分間、８０℃－２０分間、４℃で保持）を実行するサーマルサイクラーにチューブを入れる。サーマルサイクラーが４℃に達したら、チューブを取り出し、回転させ、氷上に置く。ビーズを磁石で取り出し、新しいチューブに移す；－２０℃でＳＰＩＡ　ｃＤＮＡを保存する。

【０２３６】

次に、試料ＵＣ０１２５．ＵＳのＳＰＩＡ増幅ｃＤＮＡをＡＭＰ純粋磁気ビーズ（Ｂｅｃｋｍａｎ　Ｃｏｕｔｌｅｒ、Ａ６３８８０）（１．８×容量＝７２μｌのビーズ）を用いて精製し、３０μｌのＥＢバッファー中に溶出した。試料ＡＢＴ００７０Ｐ．ＵＳおよびＡＢＴ００９６Ｐ．ＵＳのＳＰＩＡ増幅ｃＤＮＡを以下のようにＱｉａｇｅｎ　ＭｉｎＥｌｕｔｅプロトコールを使用して精製した：（注記：これが精製の好ましい方法である。）：３００μｌのＥＲＣ（酵素反応浄化）バッファーを４０μｌの試料に添加する。次に、５秒間ボルテックスし、試料全部をカラムに充填する（４℃で保存）。１４Ｋ　ｒｐｍで１分間回転させる。フロースルーを廃棄し、７００μｌのＰＥバッファー（ＥｔＯＨを添加）をカラムに添加する。１４Ｋ　ｒｐｍで１分間回転させ、次に、フロースルーを廃棄する。同じ回収チューブでカラムを交換し、１４Ｋ　ｒｐｍで２分間、再度回転させる。回収チューブを廃棄し、ＰＥバッファーからいずれの残存ＥｔＯＨも除去するためにカラムチップをペーパータオルに吸い取らせる。最後に、新鮮なエッペンドルフ回収チューブに置かれたカラムフィルターの中央に２５μｌのＥＢバッファーを添加する。１分間放置し、次に、１１Ｋ　ｒｐｍで１分間回転させる。溶出したライブラリーを氷上または－２０℃で保存する。

【０２３７】

Ｅ．ｃＤＮＡ収量およびサイズ範囲の決定

ライブラリーのサイズを推定するために、アガロースゲル上で各ｃＤＮＡの１から２μｌを泳動する。Ｑｉａｇｅｎ　Ｖｉｒａｌ　Ｍｉｎｉ抽出では、それらは、概して、長さは１５０－２５０ｂｐである。ｄｓＤＮＡ＿ＢＲ（広範囲）試薬（Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｐｒｏｂｅｓ／Ｌｉｆｅ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ）を使用してＱｕｂｉｔ蛍光光度計で濃度を測定する。あるいは、ライブラリーは、ＢｉｏＡｎａｌｙｚｅｒ　２２００　ＴａｐｅＳｔａｔｉｏｎ上で評価することができる。

【０２３８】

Ｆ．確認ＰＣＲ

ライブラリーのウイルス特異的含量を評価するために確認ＰＣＲを行う。対象とする領域／遺伝子用のプライマーを選択する（セクションＣの表１を参照されたい。）。ＰＣＲ反応の鋳型として２μｌのＯｖａｔｉｏｎ　ｃＤＮＡを使用する。適切な対照を決定し、Ａｐｐｌｉｅｄ　Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ　Ｔａｑ試薬を使用する。２μｌのｃＤＮＡ鋳型に、１５ｍＭの$MgCl_2$、０．５μｌのｄＮＴＰミックス、０．５μｌの１０μＭ　ｆｗｄプライマー、０．５μｌの１０μＭ　ｒｅｖプライマー、０．２μｌのＴａｑ　ＤＮ

Ａポリメラーゼおよび１８．８μｌの水を含む２．５μｌの１０×ＰＣＲバッファーを添加する。予想に応じて３０－５０サイクル実行し、ライブラリーの品質／含量を決定するためにアガロースゲル上の産物を分離する。

【０２３９】

Ｇ．Ｎｅｘｔｅｒａタグメント化

Ｎｅｘｔｅｒａ　ＸＴを使用して、イルミナのアダプターとインデックスをライブラリーに組み込んだ。試料を多重化する場合、カラーバランスを達成するために互換性のあるバーコードを選択することが本質的である。下記のイルミナプロトコールを、Ｎｅｘｔｅｒａ　ＸＴ試料Ｐｒｅｐキット（イルミナ、＃１５０３２３５０）から適合させ、Ｎｅｘｔｅｒａインデックスキットと併用した：ｒｅｆ＃１５０３２３５３。反応液を９６穴プレートに集めることはできるが、しかしながら、試料を０．２ｍｌのＰＣＲチューブに入れた。

【０２４０】

ステップ１．調製－ＡＴＭ、ＴＤ、および入力ＤＮＡを－１５℃から－２５℃の保管場所から取り出し、氷上で解凍する。ＮＴが室温になっていることを確認する。視覚的にＮＴを検査して、沈殿物がないことを確認する。沈殿物がある場合、すべての粒子が再懸濁するまでボルテックスする。解凍後、チューブを静かに３－５回反転させてすべての試薬が適切に混合されていることを確認した後、微量遠心分離器で簡単に回転させる。記載されるように試薬容量をアリコートにし、反応液にＴＤバッファー：（試料＃＋１）＊１０μｌ、ＡＴＭ：（試料＃＋１）＊５μｌ、ＮＴ：（試料＃＋１）＊５μｌ、ＮＰＭ：（試料＃＋１）＊１５μｌ、インデックス２：（試料＃＋１）＊５μｌ、インデックス１：（試料＃＋１）＊５μｌを添加するまで氷上（ＮＴを除く。）に置く。

【０２４１】

ステップ２．入力ＤＮＡのタグメント化－キットの性能を最適化するために、記載された順番で反応が組み立てられていることを確認する。反応は氷上で組み立てる必要はない。新しい９６ウェルＴＣＹプレートＮＴＡ（Ｎｅｘｔｅｒａ　ＸＴタグメント増幅プレート）または０．２ｍｌチューブを標識する。ｃＤＮＡを水中で０．２ｎｇ／μｌに希釈する。これは、典型的には、出発ｃＤＮＡの約３０－３００倍希釈である。最適な結果を得るに、１ｎｇの入力（０．２ｎｇ／μｌの５μｌ）が必要である。０．２ｎｇ／μｌの最終濃度に最も正確に到達するには、適切な容量の水中の約２μｌのストックを使用する。このアッセイに使用される各ウェルに１０μｌのＴＤバッファーを添加する。試料間でチップを変更する。ＮＴＡプレート／チューブの各試料ウェルに０．２ｎｇ／μｌの入力ＤＮＡ　５μｌ（合計１ｎｇ）を添加する。入力ＤＮＡおよびＴＤバッファーを含むウェル／チューブに５μｌのＡＴＭを添加する。試料間でチップを変更する。ゆっくりと上下に５回ピペッティングし、混合する。試料間でチップを変更する。Ｍｉｃｒｏｓｅａｌ「Ｂ」でＮＴＡプレートを覆う。２８０×ｇで２０℃で１分間遠心分離する。ＮＴＡプレート／チューブをサーモサイクラーに入れ、以下のプログラムを実行する：５５℃で５分間；１０℃で保持する。試料が１０℃に達したら、すぐに中和ＮＴＡに進める。

【０２４２】

ステップ３．ＮＴＡを中和する－Ｍｉｃｒｏｓｅａｌ「Ｂ」シールを慎重に除去し、ＮＴＡプレートの各ウェル／チューブに５μｌのＮＴバッファーを添加する。試料間でチップを変更する。ゆっくりと上下に５回ピペッティングし、混合する。試料間でチップを変更する。Ｍｉｃｒｏｓｅａｌ「Ｂ」でＮＴＡプレートを覆う／密閉チューブ。２８０×ｇで２０℃で１分間遠心分離する。ＮＴＡプレート／チューブを室温で５分間置く。タグメント化ステップ後、下記のようにサイクリング条件を設定する。

【０２４３】

ステップ４．ライブラリー増幅とバーコードの追加－ＴｒｕＳｅｑインデックスプレート固定具／チューブ中のＮＴＡプレートを氷上で置く。１５μｌのＮＰＭ（Ｎｅｘｔｅｒａ　ＰＣＲミックス）をインデックスプライマーを含むＮＴＡプレート／チューブの各ウェルに添加する。ＮＴＡプレート／チューブの各カラムに５μｌのインデックス２プライ

マー（白色キャップ）を添加する。クロスコンタミネーションを避けるにカラム間のチップを変更することが重要である。ＮＴＡプレート／チューブの各列に５μｌのインデックス１プライマー（オレンジキャップ）を添加する。インデックスのクロスコンタミネーションを避けるために各列の後にチップを変更する必要がある。

【０２４４】

プレートをマイクロシール「Ａ」で覆い、ゴムローラー／密閉チューブで密封する。２０℃、１分間、２８０×ｇで遠心分離する。サーマルサイクラー上で以下のプログラムを使用してＰＣＲを行う：インキュベーション中に、サーモサイクラーの蓋が加熱されていることを確認する：７２℃で３分間；９５℃で３０秒間；９５℃で１０秒間、５５℃で３０秒間、７２℃で３０秒間、および７２℃で５分間の１６サイクルを設定する。１０℃で保持する。

【０２４５】

ライブラリー精製－次に、試料を１．８×ＡＭＰ－ＰＵＲＥ　ＸＰビーズ（Ｂｅｃｋｍａｎ　Ｃｏｕｌｔｅｒ、Ａ６３８８０）を用いて精製し、４０μｌのＲＳＢバッファー（Ｉｌｌｕｍｉｎａ提供）中に溶出した。

【０２４６】

Ｈ．ライブラリー定量化および可視化

Ａｇｉｌｅｎｔからの以下の試薬を使用して、ＢｉｏＡｎａｌｙｚｅｒ　２２００　ＴａｐｅＳｔａｔｉｏｎで試料（１μｌ）を視覚化する：Ｄ１Ｋスクリーンテープ：ｒｅｆ＃００－Ｓ０１９－１２０７０７－０２－０００８４Ｄ１Ｋラダー：ｒｅｆ＃５２７１５　９０－２４０試料バッファー：ｒｅｆ＃５２９０７　９８－２２１。１μｌのライブラリー試料に３μｌの泳動バッファーを添加する。チューブストリップをキャップし、次に、ボルテックスし、回転して、回収する。キャップを外し、ＴａｐｅＳｔａｔｉｏｎの適切なスロットに置く。試料情報を入力し、電気泳動を実行する。濃度を決定するためにピークの積分測定のウィンドウ限界を調整する。

【０２４７】

Ｉ．ＭｉＳｅｑ実行のために準備する

ＭｉＳｅｑ上でＨＰｇＶ－２含有ライブラリーを実行するために以下の手順に従った。ステップ１．－２０℃の試薬カートリッジ（例えば、３００または５００サイクルのＶ２試薬キット；イルミナ、１５０３３６２５）を指定されたラインに満たされた水容器中で解凍する。ＨＴバッファーをＲＴでベンチに置く。両方を１時間解凍させ、カートリッジを数回反転させた後、ベンチ上で軽く叩いて、底からいずれの気泡も除去する。試料を希釈／泳動させる準備が整うまで、カートリッジとＨＴ１バッファーを冷蔵庫に入れて置く。４℃の試薬ボックスを室温（バッファーとフローセル）に置く。バッファーを振とう／反転させて、泡を１時間を超えて消散させる。ｄｄＨ$_2$０でフローセルを完全に洗浄して塩を除去し、キムワイプで完全に乾燥する。

【０２４８】

ステップ２．イルミナ実験マネージャー（ＩＥＭ）で新しい試料シートを作製する。ＭｉＳｅｑ－＞小さいゲノム－＞再配列決定ワークフローを選択する。実験名、試薬ＩＤ、試料ＩＤおよびバーコード情報を記録する。

【０２４９】

ステップ３．シークエンシングライブラリーの多重化のためにライブラリーを等モル量（または必要に応じて）で組み合わせる。ＢｉｏＡｎａｌｙｚｅｒで測定した濃度（ｎＭ）を用いて、各ライブラリーを１８μｌ中で１．１ｎＭの最終濃度にするために水で行うべき希釈を計算する。２μｌの１Ｎ　ＮａＯＨを添加し、室温で５分間変性させる。

【０２５０】

ステップ４．最終ライブラリー濃度が２０ｐＭとなるように、１ｎＭライブラリー（２０μｌ）を９８０μｌのＨＴ１で希釈する。ボルテックスして氷上に置く。

【０２５１】

ステップ５．１０ｐＭライブラリーのために１：１にＨＴ１バッファーで２回目を希釈

し、１％ＰｈｉＸ対照を添加し、次にボルテックスして氷上に置く。ライブラリーは、５００μｌの２０ｐＭライブラリー、１０μｌのＰｈｉＸ（希釈および変性される）、および４９０μｌのＨＴ１バッファーを含む必要がある。

【０２５２】

ステップ６．９６℃で２分間加熱することにより１０ｐＭライブラリー（＋１％ＰｈｉＸ）を変性させ、次いで氷水浴上に５分間を超えて置く。

【０２５３】

ステップ７．ＭｉＳｅｑ制御ソフトウェアに行き、「配列」を押し、機器をセットアップする。付属の説明書に従って、実験試料シートをロードする。

【０２５４】

ステップ８．６００μｌの１０ｐＭライブラリーを試薬カートリッジに分注し、「開始」を押す。

【０２５５】

結果

ＭｉＳｅｑ実行を完了し、データを実施例１で生成したコンセンサスゲノム配列とアラインさせた。ＨＰｇ－Ｖ２試料バーコードに割り当てられた合計１６，３０６，７９６個のリードから、２４９，６９３（１．５３％）がＨＰｇＶ－２にマッピングされた。配列は、均一にアラインされ、ギャップはなく、ゲノムの９８．４％をカバーし、平均深度が３３１４Ｘ±４２６リード／ｎｔである。重複の領域では、この独立したＮＧＳデータセットは、すべてのミスマッチが保存されている（例えば、Ａ→Ｇ、Ｃ→Ｔ）または後者において曖昧な塩基（例えば、Ｒ→Ａ、Ｇ）を解明して、実施例１で作製されたドラフトゲノムと９９．７３％の同一性（９２９０／９３１５）を有した。３’ＲＡＣＥによって以前に決定された３’末端の１５６ｂｐは、このＮＧＳ実行には存在しなかったが、しかし、デノボアセンブリーによってデータを採取して、５’末端をさらに３０６ヌクレオチドに伸長させ、それにより、推定コアタンパク質（Ｓ）および／または５’ＵＴＲ配列に添加する。実施例１および２からの組み合わされたデータは、図１に見出される９７７８ｂｐのゲノム配列（配列番号１）を生じさせた。ＨＰｇＶ－２のさらなる株についてのその後のＮＧＳ実行は、ゲノムの全長が現在９８６７ｎｔとなるように５’ＵＴＲを伸長した。

【０２５６】

［実施例３］

インビトロＨＰｇＶ－２鋳型対照の生成およびｑＰＣＲアッセイ

この実施例は、ＨＰｇＶ－２鋳型陽性対照を生成するための方法およびこの鋳型を用いて実行されるｑＰＣＲアッセイを記載する。ＨＰｇＶ－２中のＮＳ２－ＮＳ３領域は、ｑＰＣＲによって検体をプローブするように選択された。本発明者らのＮＧＳデータに基づくと、この領域は、最も少ない配列異種性を示した。クローニングされた領域は約１２６０ｂｐ長であり、このＨＰｇＶ－２鋳型のインビトロ転写を可能にするためにｐＧＥＭ－１１Ｚｆ（＋）（Ｐｒｏｍｅｇａ、Ｍａｄｉｓｏｎ　ＷＩ）に挿入した。このクローニングされた配列は、配列番号１の塩基３２２４から４４８３を表し、図４に示される。以下にさらに記載するように、ＨＰｇＶ－２　ＲＮＡを検出するために５セットのプライマーおよびプローブを設計した。

【０２５７】

Ａ．インビトロ転写鋳型として使用するためにＮＳ２３ＥＸプラスミドを線状化する。

【０２５８】

ステップ１－４μｇの凍結乾燥プラスミドを２０μｌの溶出バッファー（ＥＢ）に再懸濁し、２００ｎｇ／μｌの濃度にする。

【０２５９】

ステップ２－１２６０ｂｐインサートの末端に見出される制限酵素（単数または複数）ＸｂａＩおよびＨｉｎｄＩＩＩを用いて消化する。ｐＧＥＭ（登録商標）－１１Ｚｆ（＋）ベクターは、標準的なクローニングベクターとして、およびインビトロ転写とｓｓＤＮ

Ａの産生のための鋳型として用いることができる。プラスミドは、β－ガラクトシダーゼのα－ペプチドコード領域内にあるマルチクローニング領域に隣接するＴ７およびＳＰ６　ＲＮＡポリメラーゼプロモーターを含む。以下の反応混合物を生成した：５μｌのＤＮＡ（１μｇ）、２μｌの１０×Ｍバッファー、２μｌの０．１％ＢＳＡ、１μｌのＸｂａＩ、１μｌのＨｉｎｄＩＩＩおよび９μｌの水。これを３７℃にて２．２５時間インキュベートした。

【０２６０】

ステップ３－２０μｌのＤＮＡ、２μｌのＮＨ４停止溶液（Ａｍｂｉｏｎ）および４０μｌのＥｔＯＨの反応混合物中で線状プラスミドＤＮＡを沈殿させる。－２０℃で１５分間インキュベートする；最高速度で１５分間回転させる；８０％ＥｔＯＨで洗浄し、５分間再回転する。５分間乾燥させ、１０μｌのＥＢ中に再懸濁し、１００ｎｇ／μｌの推定濃度にする。

【０２６１】

ステップ４－ＮａｎｏＤｒｏｐ上でＤＮＡ濃度を測定する。

【０２６２】

ステップ５－アガロースゲルでプラスミド消化を視覚化する。未切断ベクターと切断ベクターを並べて泳動し、比較する。

【０２６３】

Ｂ．インビトロで転写可能なＮＳ２３ＥＸインサート

推奨されるようにＡｍｂｉｏｎ　Ｍｅｇａｓｃｒｉｐｔ　Ｔ７キット（ＡＭ１３３４）プロトコールに従い、次にＲＮＡを精製する。ステップ１：２０μｌのインビトロ転写反応を組み立てる。鋳型ＤＮＡの入力容量は以下の通りであった：６．３μｌの線状ＮＳ２３Ｅｘ＿ｐＧＥＭ１１Ｚｆ（１μｇ）＋１．７μｌの水；２．０μｌの対照ｐＴＲＩ－Ｘｅｆベクター＋６μｌの水。プレートインキュベーター（乾燥）で４時間、３７℃でインキュベートする。１μｌのＤＮＡｓｅを添加し、１５分間、３７℃で消化する。

【０２６４】

ステップ２：トリゾール精製－２３０μｌの水に反応液を再懸濁し、次に７５０μｌのトリゾールを添加する。２５μｌの水中でｐＴＲＩペレットを、５０μｌの水中でＮＳ２３Ｅｘペレットを懸濁する。

【０２６５】

ステップ３：Ｒ６Ｋスクリーンテープを用いて上記のようにＮａｎｏｄｒｏｐおよびＢｉｏＡｎａｌｙｚｅｒでＲＮＡを定量する。

【０２６６】

Ｃ．逆転写

ランダムヘキサマープライミング用のＳＳ　ＲＴＩＩＩ（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ：１８０８０－０５１）を用いてｃＤＮＡを生成させた。ＮＳ２３ＥＸ／ｐＧＥＭ１１－Ｚｆ（＋）プラスミドからインビトロで転写されたＨＰｇＶ－２　ＲＮＡおよびＡｍｂｉｏｎからのｐＴＲＩ－Ｘｅｆ対照ＲＮＡを鋳型として用いた。反応を以下の通り組み立てた：２．０μｌのＲＮＡ（約４００ｎｇ）（ＮＳ２３ＥＸ　ＲＮＡの１／１０希釈を使用した；ｐＴＲＩについては希釈しないで使用した。）、５．６μｌの水、１μｌのランダムヘキサマー（５０ｎｇ／μｌ）、０．４μｌのオリゴｄＴ（５０μＭ）および１μｌのｄＮＴＰミックス（１０ｍＭ）。６５℃で５分間加熱し、氷に戻して、１０μｌのマスターミックスを添加する。マスターミックスを以下のとおりに調製する：２μｌの１０ＲＴバッファー、４μｌの２５ｍＭ　$MgCl_2$、２μｌの０．１Ｍ　ＤＴＴ、１μｌのＲＮＡｓｅＯＵＴ（４０Ｕ／μｌ）および１μｌのＳｕｐｅｒｓｃｒｉｐｔ　ＩＩＩ　ＲＴ（２００Ｕ／μｌ）。

【０２６７】

２５℃で１０分間、次に５０℃で２０分間インキュベートする。８５℃で５分間、次に４℃で終了する。反応液に１μｌのＲＮＡｓｅ　Ｈ（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ、Ｙ０１２２０）を添加し、３７℃で２０分間、次に４℃でインキュベートする。ｃＤＮＡをアリコー

トにして２×１０μｌの試料にし、－８０℃で凍結した。

【０２６８】

Ｅ．ＨＰｇＶ－２　ＰＣＲ

以下のプライマーを用いてＨＰｇＶ－２　ＲＮＡを確認した。これらのプライマーは、ＨＰｇＶ－２ゲノムの旧バージョンで命名された。それらの配列ＩＤ番号を参照されたい。

【０２６９】

【化１】

PCR 1_617 bp 産物

GAGCCGGGTTTGGGTGATGAATAA　3841F (配列番号 :38)

CTGCGCCAATGCCGAGTAGC　4460R (配列番号 :39)

PCR 2_412 bp 産物

ACGCGTTGATGCTCGGTGGTTACT　3987F (配列番号 :40)

ACAGCATAGCCCCGCAGATTCGTC　4398R (配列番号 :41)

【０２７０】

以下の容量の試薬をＰＣＲに使用した。鋳型として２μｌの希釈ｃＤＮＡ（ＮＳ２３ＥＸ、ｐＴＲＩ；１．５μｌのｃＤＮＡストック＋８μｌの水を添加）；１５ｍＭ　ＭｇＣｌ$_2$を含む２．５μｌの１０×ＰＣＲバッファー；０．５μｌのｄＮＴＰミックス；０．５μｌの１０μＭフォワードプライマー；０．５μｌの１０μＭリバースプライマー；０．２μｌのＴａｑ　ＤＮＡポリメラーゼ；および１８．８μｌの水。以下のＰＣＲ条件を使用する：９４℃で２分間、１サイクル；９４℃で２０秒間、５５℃で３０秒間、７２℃で４０秒間の３５サイクル；７２℃で７分間、１サイクル；４℃で保持、１サイクル。５μｌの各試料をエチジウムブロマイドゲルで分離し、ＵＶ光下で撮影した。

【０２７１】

Ｆ．７つのプライマーセットを用いたｑＰＣＲ

患者検体中のＨＰｇＶ－２　ＲＮＡの検出のためのＴａｑＭａｎベースのｑＰＣＲアッセイを確立するために、以下を実施した。インビトロで転写されたＲＮＡ（ＮＳ２３Ｅｘ＝２０００ｎｇ／μｌ）、最初の希釈を１／１００（２０ｎｇ／μｌ）で開始する→合計１００ｎｇについて５μｌをロードする。合計６回の希釈について１８μｌの水中の２μｌを用いて１０倍希釈を繰り返す。ｐＴＲＩ（２００ｎｇ／μｌ）について、１／１０で希釈する→合計１００ｎｇについて５μｌをロードする。総ＲＮＡについて、各ＲＮＡの３μｌをとり、２７μｌの水でそれを希釈する（１／１０）。この実験においては、全て同じ方法で抽出した、ＵＣ０１２５．ＵＳ、ＣＨＵ２７２５［ＨＩＶ（＋）／ＧＢＶ－Ｃ（＋）試料］およびＮ－５０５［ＨＩＶ（＋）／ＧＢＶ－Ｃ（－）試料］を含む。

【０２７２】

ＡＢＩライトサイクラー（Ａｂｂｏｔｔ　ｍ２０００ｒｔ）上でのｑＰＣＲについては以下の通り、列挙された濃度でプライマーおよびプローブを希釈し、反応液を組み合わせる：

１２．５μｌ　２×ＲＴ－ＰＣＲバッファー
１μｌ　フォワードプライマー、１０μＭ
１μｌ　リバースプライマー、１０μＭ
１μｌ　Ｔａｑｍａｎプローブ、３μＭ
１μｌ　２５×ＲＴ－ＰＣＲ酵素ミックス
５μｌ　ＲＮＡ試料
３．５μｌ　ヌクレアーゼ不含水
２５μｌ　ウェルあたり合計２０μｌのマスターミックス

【０２７３】

使用した７セットのプローブおよびプライマー対を以下の表２に示す。これらの配列の

結合位置を図４に示す。

【０２７４】

【表５】

表２

ﾌﾟﾗｲﾏｰｾｯﾄ **5:** ｱﾝﾌﾟﾘｺﾝｻｲｽﾞ ＝70

NS23Ex_F5 GAGGAGCCCACCTTTACTGA (配列番号 :54)

NS23Ex_R5 TACCTCCAAGCAATTGTCCA (配列番号 :55)

NS23Ex_Prb5 CACCAAACTCATTGTGTCATCCACGA (配列番号 :56)

ﾌﾟﾗｲﾏｰｾｯﾄ **2:** ｱﾝﾌﾟﾘｺﾝｻｲｽﾞ ＝89

NS23Ex_F2 GAAGATCTGCCACCTGGTTT (配列番号 :57)

NS23Ex_R2 AGTGTCGCCTTAAGGAAGGA (配列番号 :58)

NS23Ex_Prb2 CCACCGGAGCACTCAGCTGG (配列番号 :59)

ﾌﾟﾗｲﾏｰｾｯﾄ **7:** ｱﾝﾌﾟﾘｺﾝｻｲｽﾞ ＝74

NS23Ex_F7 TCCTTCCTTAAGGCGACACT (配列番号 :60)

NS23Ex_R7 AGGGAAGACAACACCACGAT (配列番号 :61)

NS23Ex_Prb7 AAACACCAGGGTCCGGCCAG (配列番号 :62)

ﾌﾟﾗｲﾏｰｾｯﾄ **4:** ｱﾝﾌﾟﾘｺﾝｻｲｽﾞ ＝85

NS23Ex_F4 TGGGTGATGAATAACAACGG (配列番号 :63)

NS23Ex_R4 GATCTATGTGCGTGGGACAG (配列番号 :64)

NS23Ex_Prb4 CCACTCTGCCACACACCAACCC (配列番号 :65)

ﾌﾟﾗｲﾏｰｾｯﾄ **3:** ｱﾝﾌﾟﾘｺﾝｻｲｽﾞ ＝88

NS23Ex_F3 AATGACGACGTCTGTTTGGA (配列番号 :66)

NS23Ex_R3 CATGACCGTGATCACACAAA (配列番号 :67)

NS23Ex_Prb3 CTGGTGAGCCCGAAGCACCC (配列番号 :68)

ﾌﾟﾗｲﾏｰｾｯﾄ **15:** ｱﾝﾌﾟﾘｺﾝｻｲｽﾞ ＝138

NS23Ex_F15 CCAGCTGTGACACCAACATA (配列番号 :69)

NS23Ex_R15 TTTGACTACAGCCACACTTGG (配列番号 :70)

NS23Ex_Prb15 CCAGTGGACCTAGTCAAACAGGGACA (配列番号 :71)

ﾌﾟﾗｲﾏｰｾｯﾄ **1:** ｱﾝﾌﾟﾘｺﾝｻｲｽﾞ ＝96

NS23Ex_F1 AGTCATTTGCGACGAGTGTC (配列番号 :72)

NS23Ex_R1 ACGGTCTTCACTCCAGCTTT (配列番号 :73)

NS23Ex_Prb1 TCGGCATACATGCGCACTGC (配列番号 :74)

【０２７５】
Ｇ．ｑＰＣＲアッセイＡ－ＨＰｇＶ２のＴａｑＭａｎベースの検出
　プローブおよびプライマー対１、２、３、５および７を用いたＴａｑＭａｎアッセイを実施して、ＮＳ２３Ｅｘインビトロ転写物の１０倍段階希釈およびＵＣ０１２５．ＵＳ　ＲＮＡの１０倍希釈を検出した。Ａｐｐｌｉｅｄ　Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓからプライマーを注文し、ＨＰＬＣ精製した。プローブは５’６ＦＡＭおよび３’ＴＡＭＲＡ修飾を有する。Ａｇ　Ｐａｔｈ－ＩＤ　Ｏｎｅ　ＳｔｅｐＲＴ－ＰＣＲキット（Ａｐｐｌｉｅｄ　Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ、４３８７２４）をバッファーおよび酵素混合物に使用した。推奨されるように、プライマー（１０μＭ）およびプローブ（３μＭ）濃度を使用した。
【０２７６】
　リアルタイムｑＰＣＲサイクル条件は以下に示した通りであった。
【０２７７】
【表６】

ｽﾃｯﾌﾟ	ｽﾃｰｼﾞ	反復数	温度	時間
逆転写	1	1	45°C	10 分
RT不活性化(inact)/初期変性	2	1	95°C	10 分
増幅	3	40 (45)	95°C	15 秒
			60°C	45 秒

【０２７８】
　５μｌの試料（ＮＳ２３Ｅｘ　ＲＮＡ希釈液、対照または試料ＲＮＡ）を各ウェルに分注する。任意選択的な検出増強剤は添加しなかった。２０μｌのマスターミックスを各ウェルに分注する。回転して、回収し、密閉する。
【０２７９】
　結果を図５に示す。図５Ａは、ＨＰｇＶ－２プライマー／ＴａｑＭａｎプローブセット（１－２－３－５－７；配列および位置については図４を参照）を使用して、ＮＳ２３Ｅｘインビトロ転写物の１０倍段階希釈物とＨＰｇＶ－２指標例（ＵＣ０１２５．ＵＳ）のＲＮＡ（太字で強調）の１０倍希釈物を検出した。右下のパネルは、各プライマー／プローブセットについて１００ｎｇのＮＳ２３ＥｘおよびＨＰｇＶ－２ＲＮＡの検出を示す。図５Ｂは、正規化して１＿１００ｎｇの結果を設定し、指標例に存在するＨＰｇＶ－２ＲＮＡの量を推定するためにログスケールでプロットしたＣｔ値を示す。実験に含まれる陰性対照は、１）水、２）ｐＴＲＩ（無関係なインビトロ転写物）、３）ＣＨＵ２７２５（ＨＩＶ＋／ＧＢＶ－Ｃ＋試料）、および４）Ｎ－５０５（ＨＩＶ＋／ＧＢＶ－Ｃ－試料）であり、他の感染（ＨＩＶ、ＧＢＶ－Ｃ）との交差反応がないことを示す。後にＨＣＶ精製ウイルス（１０００プラーク形成単位）を試験し、さらに、これらのプライマーと交差反応しないことも示された（データは示さず。）。ＮＳ２３Ｅｘ鋳型は、すべてのプライマー／プローブセットによって用量依存的に検出された。いずれの陰性対照ＲＮＡもこれらのプライマーによって増幅されず、交差反応性はないことが示唆された。これらの結果に基づいて、指標例（ＵＣ０１２５．ＵＳ）ウイルス量は１．５×１０^{6}コピー／ｍｌと推定される。
【０２８０】
Ｈ．ｑＰＣＲアッセイＢ－ＳＹＢＲグリーンｑＰＣＲ
　プローブおよびプライマーセット１、２、３、４、５、７および１５ならびに４４Ｆ（配列番号１２）および３４２Ｒ（配列番号１３）を用いて、ＳＹＢＲグリーンｑＰＣＲアッセイを行った。これらは、ＮＳ２３Ｅｘインビトロ転写物（図６、曲線Ａ、Ｂ、Ｃ）およびＨＰｇＶ－２指標例（ＵＣ０１２５．ＵＳ）ＲＮＡ（図６、曲線Ｄ）から作製されたｃＤＮＡの１０倍段階希釈を検出するために使用された。陰性対照（図６、曲線ＥおよびＦ）、Ｎ－５０５（ＨＩＶ（＋）／ＧＢＶ－Ｃ（－））および水は増幅されなかった。以下の試料が各列にあった：１）ＮＳ２３Ｅｘ　１：１０００　ｃＤＮＡ；２）ＮＳ２３Ｅ

ｘ　１：１０，０００　ｃＤＮＡ；３）ＮＳ２３Ｅｘ　１：１００，０００　ｃＤＮＡ；４）ＧＢＶ－Ｅ　ｃＤＮＡ；５）Ｎ５０５　ｃＤＮＡ；および６）水。ｑＰＣＲ反応を以下のように設定した：２μｌのｃＤＮＡ（２０μｌのＳＳＲＴＩＩＩ反応液から１：５に希釈）；７．２μｌの水；０．４μｌのＦｗｄプライマー（１０μＭ）；０．４μｌのＲｅｖプライマー（１０μＭ）；および１０μｌのＳＹＢＲグリーンミックス（Ａｐｐｌｉｅｄ　Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ）。

【０２８１】

結果を図６に示す。各プライマーセットはＮＳ２３Ｅｘ転写物の用量依存的検出を示し、すべては、本質的に同じＣｔでＵＣ０１２５．ＵＳ　ｃＤＮＡを検出した。いずれもＮ５０５または水のシグナルを生じなかった。

【０２８２】

Ｉ．ｑＰＣＲアッセイＣ

プライマー／プローブセット２および３をＴａｑＭａｎ　ｑＰＣＲアッセイに用い、ドナー血漿中に３症例のＨＰｇＶ－２感染を明らかにした。ＰｒｏＭｅｄＤｘ　ＨＣＶ（＋）プラズマフェレーシスドナー血漿試料４８－９６から抽出したＲＮＡを、図７Ａに記載されるように、ＴａｑＭａｎプライマー／プローブセット２（上段パネル）および３（下段パネル）を用いてスクリーニングした。試料＃７０および＃９６（ＡＢＴ００７０Ｐ．ＵＳおよびＡＢＴ００９６Ｐ．ＵＳ）は両方のセットによって検出された。１０ｎｇおよび１０ｆｇのＮＳ２３Ｅｘインビトロ転写産物陽性対照もまた示される。図７Ｂは、Ａｍｅｒｉｃａｎ　Ｒｅｄ　Ｃｒｏｓｓ血液ドナー血漿［ＨＣＶ　ＲＮＡ（＋）／抗体（＋）］試料から抽出されたＲＮＡを上記のＴａｑＭａｎプライマー／プローブセット２および３を用いてスクリーニングしたアッセイの結果を示す。試料＃１２８（ＡＢＴ０１２８Ａ．ＵＳ）は検出されたが、セット２（太字）のみであった。１０ｎｇおよび１０ｆｇのＮＳ２３Ｅｘインビトロ転写産物陽性対照を緑色（プローブ２）および紫色（プローブ３）で示す。

【０２８３】

Ｊ．三重マスターミックスｑＰＣＲアッセイ

ＨＰｇＶ－２およびＧＢＶ－Ｃ（ＨＰｇＶ－１）感染した検体について同時にスクリーニングするために、現在のＨＰｇＶ－２株配列アラインメント（図２３のアラインメントを参照）に基づいて新しいｑＰＣＲアッセイを開発した。ＲＮＡを自動化Ａｂｂｏｔｔｍ２０００ｓｐシステムを用いてドナー試料から抽出し、続いてｍ２０００ｒｔ機器でｑＰＣＲを行った。株ＡＢＴ００３０Ｐ．ＵＳおよびＡＢＴ００４１Ｐ．ＵＳの同定に導いた結果の例を図２８に示す。ＨＰｇＶ１の検出は、ＦＰ５’－ＴＧＴＴＧＧＣＣＣＴＡＣＣＧＧＴＧＴＴＡ－３’（配列番号４０８）およびＲＰ５’－ＣＣＧＴＡＣＧＴＧＧＧＣＧＴＣＧＴＴ－３’（配列番号４０９）、およびミスマッチ配列を説明するために３つの蛍光標識プローブ（５’－ＶＩＣ－ＣＴＣＧＴＣＧＴＴＡＡＡＣＣＧＡＧＣＣＣＧＴＣＡ－ＢＨＱ１－３’（配列番号４１０）、５’－ＶＩＣ－ＣＴＣＧＴＣＧＴＴＡＡＡＣＣＧＡＧＡＣＣＧＴＣＡ－ＢＨＱ１－３’（配列番号４１１）、５’－ＶＩＣ－ＣＡＣＧＣＣＧＴＴＡＡＡＣＣＧＡＧＡＣＣＧＴＴＡ－ＢＨＱ１－３’（配列番号４１２））を用いて５’ＵＴＲを標的化することによって達成された。ＨＰｇＶ－２プライマー／プローブ配列は、Ｋｅｙｓら（Ｋｅｙｓ，ＪＲら、２０１４、Ｊ　Ｍｅｄ　Ｖｉｒｏｌ、８６：４７３－４７７）から適合される。ＨＰｇＶ２の検出は、ＮＳ２－３領域（ＦＰ５’－ＧＴＧＧＧＡＣＡＣＣＴＣＡＡＣＣＣＴＧＡＡＧ－３’（配列番号４１３）、ＲＰ５’－ＧＧＧＡＡＧＡＣＡＡＣＡＣＣＡＣＧＡＴＣＴＧＧＣ－３’（配列番号４１４）、プローブ５’－ＦＡＭ－ＣＣＴＧＧＴＴＴＣＣＡＧＣＴＧＡＧＴＧＣＴＣＣ－ＢＨＱ１－３’（配列番号４１５））および５’ＵＴＲ（ＦＰ５’－ＣＧＣＴＧＡＴＣＧＴＧＣＡＡＡＧＧＧＡＴＧ－３’（配列番号４１６）、ＲＰ５’－ＧＣＴＣＣＡＣＧＧＡＣＧＴＣＡＣＡＣＴＧＧ－３’（配列番号４１７）、プローブ５’－Ｑｕａｓａｒ６７０－ＧＣＡＣＣＡＣＴＣＣＧＴＡＣＡＧＣＣＴＧＡＴ－ＢＨＱ２－３’（配列番号：４１８））の増幅に依存した。すべてのプライマーは、ＩＤＴ（Ｃｏｒａｌｖｉｌｌｅ、ＩＡ）によって合成され、プロ

ーブは、Ａｂｂｏｔｔ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ（Ｄｅｓ Ｐｌａｉｎｅｓ、ＩＬ）で合成された。サイクリング条件は以下の通りであった：５０℃、４分間（１×）；７５℃、５分間（１×）；６０℃、３０分間（１×）；９１℃、３０秒間；５８℃、４５秒間（６×）；９１℃、３０秒間；６０℃、４５秒間（＋２秒／サイクル）（４×）；９１℃、３０秒間；６０℃、４５秒間（＋２秒／サイクル）（４３×－リード）。逆転写およびＤＮＡポリメラーゼ活性は、酵素ｒＴｔｈ（Ｒｏｃｈｅ）を用いて実施した。図２８において、ＨＩＶ陽性セットのうち合計４つの検体がＨＰｇＶ－２ ＲＮＡ（ＣＹ５およびＦＡＭチャネル：それぞれ５’ＵＴＲおよびＮＳ２）に対して反応性であったが、しかしながら、それぞれのうち２つは同じドナーからのものであった。全部で６つの検体がＧＢＶ－Ｃ陽性であった（ＶＩＣチャネル：５’ＵＴＲ）。

【０２８４】

［実施例４］

ＨＰｇＶ－２ペプチド／タンパク質に対する抗体の検出

この実施例は、ＨＰｇＶ－２ゲノムからの潜在的な抗原ペプチドおよび組換えタンパク質の選択および評価を記載する。予測される表面曝露（親水性プロファイルおよび表面確率）および抗原性インデックススコアを考慮に入れて、２０アミノ酸残基から４５アミノ酸残基の長さの範囲である、表３に示される一連のペプチドを設計した。

【０２８５】

簡潔には、ＨＰｇＶ－２タンパク質（Ｓ、Ｅ１、Ｅ２、ＮＳ３、ＮＳ３、ＮＳ４Ａ、ＮＳ４Ｂ、ＮＳ５ＡおよびＮＳ５Ｂ）は、ＤＮＡＳＴＡＲ Ｌａｓｅｒｇｅｎｅ１１ バージョン１１．２．１（２９）Ｐｒｏｔｅａｎソフトウェア（ＤＮＡＳｔａｒ、３８０１ Ｒｅｇｅｎｔ Ｓｔｒｅｅｔ Ｍａｄｉｓｏｎ、ＷＩ ５３７０５、ＵＳＡ）を用いて、予測される抗原性領域について分析された。潜在的な抗原性領域は、各アミノ酸配列についてのハイドロパシープロット、抗原性インデックスおよび予測される表面確率の組合せによって決定された。各オープンリーディングフレームについてのハイドロパシープロファイルを作成し、水溶液（親水性）中にあるときに曝露される可能性のある領域について評価した。表面確率の決定とは、配列が分子の表面上に存在しなければならないバイアスを指す。水溶媒に暴露される所定のアミノ酸の予測される確率をアミノ酸配列について決定するＥｍｉｎｉ表面確率法を用いた（Ｅｍｉｎｉら、Ｊ Ｖｉｒｏｌ、１９８５ Ｓｅｐ：５５（３）：８３６－９）。予測される抗原性領域は表面曝露の性質を有する。残基の表面接近可能性が予測される骨格の可撓性および二次構造と組み合わされる抗原インデックスをＪａｍｅｓｏｎ－Ｗｏｌｆアルゴリズムを用いて決定した（Ｊａｍｅｓｏｎ Ｂ．ＡおよびＷｏｌｆ Ｈ． Ｃｏｍｐｕｔ Ａｐｐｌ Ｂｉｏｓｃｉ（１９８８）４（１）：１８１－１８６）。予想される表面曝露（親水性プロファイルおよび表面確率）および抗原性インデックススコアを考慮して、ＨＰｇＶ－２タンパク質（Ｓ、Ｅ１、Ｅ２、ＮＳ３、ＮＳ３、ＮＳ４Ａ、ＮＳ４Ｂ、ＮＳ５ＡおよびＮＳ５Ｂ）に見出される配列に対してペプチドを設計した（表３）。

【０２８６】

アミノ末端ビオチン化修飾（Ｇｅｎｓｃｒｉｐｔ ＵＳＡ Ｉｎｃ、Ｐｉｓｃａｔａｗａｙ、ＮＪ）を用いてペプチド（表３）を作製した。ペプチドをビオチン化して、固相ベースのイムノアッセイに使用される固体表面（例えば、微粒子）上にペプチドを固定化するために使用することができるアビジンおよびストレプトアビジン被覆微粒子との強力な共有結合相互作用を可能にした。

【０２８７】

【表７】

表３

ﾍﾟﾌﾟﾁﾄﾞ #	ﾀﾝﾊﾟｸ質	配列	配列番号
1	S	GGSCRSPSRVQVARRVLQLSAFLALIGSGMSSIRSKTEGRIESGQ	86
2		RDGSLHWSHARHHSVQPDRVAAGPPSVTSVERNMGSSTDQT	87
3	E2	SMNSDSPFGTFTRNTESRFSIPRFSPVKINS	88
4	NS3	QAPAVTPTYSEITYYAPTGSGKSTKYPVDLVKQGHKVLVL	89
5		VKSMAPYIKETYKIRPEIRAGTGPDGVTVITG	90
6		PETNLRGYAVVISDESHDTSS	91
7		PCTAALRMQRRGRTGRGRRGAYYTTSPGAAPCVS	92
8	NS4B	LSERFGQQLSKLSLWRSVYHWAQAREGYTQCG	93
9	NS5A	NPTTTGTGTLRPDISDANKLGFRYGVADIVELERRGDKWH	94
10		QNLAARRRAEYDAWQVRQAVGDEYTRLADEDVD	95
11		RFVPPVPKPRTRVSGVLERVRMCMRTPPIKF	96
12	NS5B	NTTRDHNNGITYTDLVSGRAKP	97
13		DAPMRIIPKPEVFPRDKSTRKPPRFIVFPGCAARV	98
14		MPLLCMLIRNEPSQTGTLVT	99
15	S	AEAAPKSGELDSQCDHLAWSFMEGMPTGTLIVQRDGSLH	217
16	NS4A-B	SVEVRPAGVTRPDATDETAAYAQRLYQACADSGIFASLQGTASAALGKLA	218

【０２８８】

試験される集団

以前の研究は、ＨＰｇＶ－２に最も密接に関連するヒトウイルスであるＧＢＶ－Ｃが、ＨＣＶ感染個体および市販の血液ドナー（例えば、有料プラズマフェレーシスドナー）において頻繁に検出されることを示している。ＨＰｇＶ－２は、同様に、一般の集団よりも商業的なドナーの高い罹患率で見出されることが想定された。従って、プラズマフェレーシスドナー由来の試料集団を研究のために選択した。さらに、指標例（ＵＣ０１２５．ＵＳ）はまたＨＣＶに感染しているため、ＨＣＶに対して抗体陽性である試料のうち追加のＨＰｇＶ－２症例が検出される可能性があると考えられた。したがって、研究のために選択された第１の集団の１つは、血漿がＨＣＶに対する抗体とＨＣＶ　ＲＮＡの両方に陽性なものとして以前に試験されたプラズマフェレーシスドナーであった。

【０２８９】

試験手法

ペプチドの３つのプールを作製した：プール１は以下のペプチドを含んだ：Ｐ１、２、４、５、７、８；プール２は以下のペプチドを含んだ：Ｐ９、１０、１１、１３、１４；プール３は以下のペプチドを含んだ：Ｐ３、６、１２。

【０２９０】

アッセイの第１のステップにおいて、試料（例えば、ヒト血清または血漿）は、ビオチン化ペプチドのプールの１つ（それぞれ８００ｎｇ／ｍｌ）を含む検体希釈バッファー（緩衝塩および界面活性剤を含む。）ならびにストレプトアビジン（Ｄｙｎａｂｅａｄｓ

Ｍ－２７０ストレプトアビジン、Ｌｉｆｅ Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ ３１７５ Ｓｔａｌｅｙ Ｒｏａｄ Ｇｒａｎｄ Ｉｓｌａｎｄ、ＮＹ １４０７２）で被覆された固相を伴う反応容器に添加される。この試料を１８分間インキュベートする。この間、固相は、ビオチン化ペプチドおよびペプチドと複合体化した抗体（免疫複合体）の両方を捕捉する。１８分間のインキュベーションステップの後、未反応試料を除去し、反応容器にシグナル発生コンジュゲートを添加することによってアッセイの第２のステップを開始する。コンジュゲート（この場合、化学発光酵素（アクリジニウム）にコンジュゲートしたマウス抗ヒトＩｇＧの１６ｎｇ／ｍＬ）は、ペプチドに結合したヒト免疫グロブリンを認識し、固相に固定される。未反応物質を除去するための洗浄ステップ後、微粒子を洗浄し、次に、化学発光を誘発することができる基質とともにインキュベートする。その後、ルミネッセンスの量を、生物発光イメージャーを用いて相対光単位（ＲＬＵ）で測定した。このアッセイのステップを図８に示す。

【０２９１】

上記される３つのペプチドプールを用いて各試料を試験する。所与の試料についてのシグナルが陰性対照試料で得られたシグナルよりも１０倍以上高い場合、試料は反応性である（またはカットオフ値を超える）と考えられる。陰性対照試料は、ウイルス感染のリスクが低く、ＨＩＶ、ＨＢＶおよびＨＣＶを含むいくつかの一般的なウイルスについて陰性であると試験された個体からの一連の試料をプールすることによって調製されることに留意されたい。希釈剤およびストレプトアビジンで被覆された微粒子を含むが、表３に列挙される１４個のペプチドのいずれも含まない容器中で試料を反応させる第２のタイプの対照が使用される。ペプチドが存在しない場合、試料の結果は陰性でなければならないことが期待される。試料がペプチドの不存在下で反応性である場合、試料はストレプトアビジンを含む固相と非特異的に反応性であると考えられ、以下の表に提供される抗体陽性試料の様々なリストには含めなかった。

【０２９２】

結果

ＨＣＶに対する抗体試験（Ａｂｂｏｔｔ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ、Ａｂｂｏｔｔ Ｐａｒｋ ＩＬ ６００６４）およびＨＣＶ ＲＮＡ試験（Ｂａｙｅｒ Ｖｅｒｓａｎｔ ＨＣＶ ＲＮＡ ３．０アッセイ（ｂＤＮＡ））の両方により陽性と判定された第１回目のプラズマフェレーシスドナーからの試料パネルを、ＰｒｏＭｅｄＤｘ（Ｎｏｒｔｏｎ、ＭＡ）から入手した。試料を上記のように３つのペプチドプールに対して試験した。２００個の試料のうち計１９個は、３つのペプチドプールのうちの１つ以上と反応性であった。１つの試料（Ｓ１８８）は、３つすべてのペプチドプールに対して反応性であり、一方、２つの試料（Ｓ８０およびＳ９６）は、２つのペプチドプールと反応性であった（表４）。

【０２９３】

【表８】

表4.HPgV-2ペプチドプールに対して抗体陽性であるProMedDx試料のリスト

ProMedDx試料(抗HCV陽性、HCV RNA陽性プラズマフェレーシスドナー)	ペプチドプール1	ペプチドプール2	ペプチドプール3
試料ID	S/CO*	S/CO*	S/CO*
S 188	3.01	2.75	1.52
S 80	2.05	12.16	NR**
S 96	NR	9.93	1.42
S 164	1.42	NR	5.25
S 66	1.20	NR	NR
S 147	1.04	NR	NR
S 182	2.07	NR	NR
S 70	NR	7.61	NR
S 27	NR	3.11	NR
S 89	NR	2.75	BR
S 192	NR	NR	5.74
S059	NR	NR	2.31
S115	NR	NR	3.21
S 5	NR	NR	4.70
S 3	NR	NR	2.22
S 33	NR	NR	1.70
S 109	NR	NR	1.48
S 148	NR	NR	1.45
S 45	NR	NR	1.37

*S/CO=試料対カットオフ値>1.0は、そのペプチドに対する抗体について反応性であると考えられる。

カットオフは、陰性対照値のシグナルの10倍であると決定された。

**非反応性

【０２９４】

プールされたペプチドと反応性である試料は、以下に示されるように、反応性ペプチドプール由来の個々のペプチドで再試験された。また、全２００個の試料は、個々のペプチド１５とペプチド１６を用いて試験された。以下のデータは、８つの試料が２つ以上の個々のペプチドと反応性であり、１６個の試料が単一ペプチドのみと反応性であることを示す（表５）。計２４個の試料は、評価された１つ以上の合成ペプチドと反応性であった：２００個の試料のうち１７６個が、アッセイで使用されたペプチドに対して非反応性であった。

【０２９５】

【表９】

表５．ペプチドプールと反応性であるＰｒｏＭｅｄＤｘ試料における

個々のペプチドの結果。

	Abbott ID	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	PCR結果
PreMedDxからの200個のHCV RNAとAb陽性試料	S188			1.7	5.2						1.9			4.8		1.3		陽性
	S182		4.2															陰性
	S080				4.3					9.6							16.5	陰性
	S164			1.5	1.2	1.9	3.9	2.6		1.1	3.2		5.5					陰性
	S066		4.9															陰性
	S147		2		1.5													陰性
	S096			1.6	3.5		1.1			1							20.7	陽性
	S070									5.3							1.1	陽性
	S027									4.3							4.6	陰性
	S089									5.4							2.5	陰性
	"S192"			4.6														陰性
	"S005"			4.3														陰性
	"S115"						1.5											陰性
	"S059"						2.5											陰性
	"S003"						1.3											陰性
	"S033"			1.2														陰性
	"S109"			1.3														陰性
	"S148"			2.1														陰性
	"S045"												4.7					陰性
	S093															16.6		陰性
	S133															1.4		陰性
	S020															1.1		陰性
	S123																7.8	陰性
	S044																2.4	陰性
	S065																	陰性
	S114																	陰性

＊Ｓ／ＣＯ＝試料対カットオフ値＞１．０は、そのペプチドに対する抗体について反応性である

と考えられる。カットオフは、陰性対照値のシグナルの１０倍であると決定された。

【０２９６】

任意のＨＰｇＶ－２ペプチドに対する抗体陽性結果は、ＨＰｇＶ－２による以前または現在の感染と一致している；この集団における有病率は、１２％（２００個の試料のうち２４個の反応性試料）程度の高さであり得る。

【０２９７】

どの結果がＨＰｇＶ－２による過去または現在の感染を示すのか不明確な場合がある。確認試験は、所与の血清学的結果が研究対象の薬剤による感染と相関するという支持的な証拠を提供するためにしばしば利用される。多くの場合、抗体陽性個体が所与の薬剤に能動的に感染しているかどうかを判定するために、ＲＴ－ＰＣＲ試験が利用される。陽性のＲＴ－ＰＣＲ結果は、血清学的試験が正しいという考えを支持する。しかしながら、陰性のＲＴ－ＰＣＲ結果は血清学的試験を支配するものではない。これは、いくらかの血清陽性の個体が感染を浄化し、したがって、陰性のＲＴ－ＰＣＲ結果を生じる可能性があるためである。

【０２９８】

ＲＴ－ＰＣＲ試験は、実施例３に記載されるプライマーおよびプローブセットを用いて、ＰｒｏＭｅｄＤｘからの全２００個の試料について実施された。３つの試料は、ＲＴ－ＰＣＲ（ＡＢＴ００７０Ｐ、ＡＢＴ００９６Ｐ、ＡＢＴ０１８８Ｐ）によって陽性であると判定され、続いて、次世代シークエンシングによって確認された（実施例５）。

【０２９９】

ＵＣ０１２５．ＵＳ症例を用いた血清学的試験

上記のように、これらのペプチドの両方がＨＰｇＶ－２　ＲＮＡ陽性のいくつかの陽性予測値を示したため、指標例（ＵＣ０１２５．ＵＳ）のアリコートをペプチド４および９

に対する抗体について試験した。この症例は、ペプチド４と９の両方に対する抗体について陽性であり、Ｓ／Ｎ値はそれぞれ１２．５および９４．７であることが見出された。したがって、選択されたペプチドに対する抗体の検出が、ＲＴ－ＰＣＲによって検出される能動的ＨＰｇＶ－２感染を予測し得るというさらなる支持を提供する。

【０３００】

抗体反応性とＲＴ－ＰＣＲ結果との相関

特定のペプチドに対する抗体反応性と陽性ＨＰｇＶ－２　ＲＴ－ＰＣＲ結果との間には相関があるようである（表６）。指標例を含む４つのＨＰｇＶ－２　ＲＮＡ陽性のうち少なくとも２つにおいて、ペプチド３、４、９および１６に対する反応性が生じた。一方、他のペプチドに対する反応性は存在せず、またはＨＰｇＶ－２　ＲＮＡ陽性試料のうちの１つにのみ生じた。

【０３０１】

【表１０】

表6.プラズマフェレーシスドナーのProMedDxパネルについての抗体試験結果とRT-PCR(qPCR)結果の相関

ProMedDXからの200個のHCV RNAおよびAb陽性試料	HPgV-2 PCR陽性	HPgV-2 PCR陰性	陽性の予測値*
いずれかのHPgV-2ペプチドに陽性な抗体(N=24)	3	21	12.5%
すべてのHPgV-2ペプチドに陰性な抗体(N=176)	0	176	0.0%
HPgV-2ペプチド3に陽性な抗体(N=8)	2	6	25.0%
HPgV-2ペプチド4に陽性な抗体(N=5)	2	3	40.0%
HPgV-2ペプチド9に陽性な抗体(N=6)	2	4	33.3%
HPgV-2ペプチド16に陽性な抗体(N=7)	2	5	28.6%

*陽性の予測値は、各ペプチドについて抗体陽性試料の総数で割った、HPgV-2 RNA陽性であり、HPgV-2ペプチドについて抗体陽性である試料の数として決定された。

【０３０２】

ＲＴ－ＰＣＲ陽性試料を同定するための戦略

上記の検討は、抗体反応性が、ＲＴ－ＰＣＲ陽性試料を同定するための陽性の予測値を有することを示す。したがって、試料のいくつかの集団は、以下に記載されるように、以下に記載する３つのペプチドプールを用いて試験され、続いて個々のペプチド試験を行う。個々のペプチドと反応性である試料をＲＴ－ＰＣＲ試験のために選択する。ＲＴ－ＰＣＲ陽性試料については、配列決定をゲノム全体で行う場合がある。

【０３０３】

継続的な試験のためのペプチドプール：

ペプチドプール組成物は、以下に示されるように改変された：

プール１は、以下のペプチドを含んだ：Ｐ１、５、７、８、１０

プール２は、以下のペプチドを含んだ：Ｐ２、３、４、６、９

プール３は、以下のペプチドを含んだ：Ｐ１１、１２、１３、１４

【０３０４】

ＨＣＶ　ＲＮＡ陽性／抗ＨＣＶ陰性の血液ドナー試料

ＮＡＴ収量試料（すなわち、ＨＣＶについて抗体陰性として試験されたが、ミニプールの核酸試験によってＲＴ－ＰＣＲ陽性であった試料）として同定されたＡｍｅｒｉｃａｎ　Ｒｅｄ　Ｃｒｏｓｓ（Ｇａｉｔｈｅｒｓｂｕｒｇ、ＭＤ）から２４０個の血液ドナー試料のパネルを得た。３つのペプチドプールで試験した場合、計１１個の試料が反応性として検出された（表７）。

【０３０５】
【表１１】
表7. HCV RNA陽性であるが、抗HCV抗体陰性であった240個の

ARC試料:陽性結果を示す試料ID番号のリスト。

HCV NAT収量試料 (ARC)	ﾍﾟﾌﾟﾁﾄﾞﾌﾟｰﾙ1	ﾍﾟﾌﾟﾁﾄﾞﾌﾟｰﾙ2	ﾍﾟﾌﾟﾁﾄﾞﾌﾟｰﾙ3
試料ID	S/CO*	S/CO*	S/CO*
S0217	3.6	NR**	NR
S0159	1.8	NR	NR
S049	1.5	NR	NR
S0078	1.5	NR	NR
S0226	1.4	NR	NR
S0111	NR	4.3	NR
S0079	NR	1.8	NR
S0061	NR	1.7	NR
S0177	NR	1.3	NR
S0108	NR	NR	1.3
S0145	NR	NR	1.0

*S/CO=試料対カットオフ値>1.0は、そのペプチドに対する抗体について

反応性であると考えられる。

カットオフは、陰性対照値のシグナルの10倍であると決定された。

**非反応性

プールしたペプチドと反応性である試料は、以下に示されるように、反応性

ペプチドプール由来の個々のペプチドで再試験された。

以下のデータは、1つの試料が2つ以上の個々のペプチドと反応性であり、

11個の試料が単一のペプチドのみと反応性であることを示している(表8)。

【０３０６】

【表１２】

表８.ﾍﾟﾌﾟﾁﾄﾞﾌﾟｰﾙと反応性であるHCV NAT収量試料における個々のﾍﾟﾌﾟﾁﾄﾞ結果。個々に試験した各ﾍﾟﾌﾟﾁﾄﾞの陰性対照と比較したｼｸﾞﾅﾙ対ﾉｲｽﾞ(S/N)値を示す。RT-PCRを実施し、結果を示した。

	Abbott ID	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	PCR 結果
ARCからの240個のHCV RNA陽性試料	S0111			28														陰性
	S0079				45													陰性
	S0061			21														陰性
	S0177		14		15		20											陰性
	S0217					38												陰性
	S0159					19												陰性
	S0049					21												陰性
	S0078					20												陰性
	S0226					18												陰性
	S0108													19				陰性
	S0162																55	陰性
	S0145													26				陰性

【０３０７】

ＨＣＶ　ＲＮＡ陽性／抗ＨＣＶ陽性血液ドナー試料

米国赤十字社（Ｇａｉｔｈｅｒｓｂｕｒｇ　ＭＤ）から入手した２４０個の血液ドナー試料のパネルは、ＨＣＶ感染（ミニプール核酸試験によってＨＣＶについて抗体陽性であり、およびＲＴ－ＰＣＲ陽性である。）として同定され、ペプチドプールを介して試験された。計１２個の試料が、表９に列挙された１つ以上のペプチドプールと反応性であった。

【０３０８】

【表１３】

表9.ARCからのHCV RNA陽性/抗HCV陽性血液ドナーからの

陽性結果を含む試料ID番号のリスト

HCV抗体陽性/HCV RT-PCR陽性試料(ARC)	ﾍﾟﾌﾟﾁﾄﾞﾌﾟｰﾙ1	ﾍﾟﾌﾟﾁﾄﾞﾌﾟｰﾙ2	ﾍﾟﾌﾟﾁﾄﾞﾌﾟｰﾙ3
試料ID	S/CO*	S/CO*	S/CO*
S0127	6.8	NR	NR
S0104	4.4	NR	NR
S0046	1.5	NR	NR
S0128	NR	3.6	NR
S0045	NR	2.6	NR
S0178	NR	2.3	NR
S0044	NR	2.2	NR
S0220	NR	1.9	NR
S0238	NR	1.2	NR
S0141	NR	1.1	NR
S0077	NR	NR	1.5
S0202	NR	NR	1.5

*S/CO=試料対カットオフ値>1.0は、そのペプチドに対する抗体について反応性であると考えられる。

カットオフは、陰性対照値のシグナルの10倍であると決定された。

**非反応性

【０３０９】

プールしたペプチドと反応性である試料は、以下に示されるように反応性ペプチドプール由来の個々のペプチドを用いて再試験された。以下のデータは、５つの試料が２つ以上の個々のペプチドと反応性であり、９つの試料が単一のペプチドと反応性であることを示している（表１０）。

【０３１０】

【表１４】

表１０．ﾍﾟﾌﾟﾁﾄﾞﾌﾟｰﾙと反応性であるARC血液ﾄﾞﾅｰ試料のHCV RNA陽性/抗HCV陽性における個々のﾍﾟﾌﾟﾁﾄﾞ結果。個々に試験された各ﾍﾟﾌﾟﾁﾄﾞの陰性対照と比較したｼｸﾞﾅﾙ対ﾉｲｽﾞ(S/N)値を示す。RT-PCRを実施し、結果を示した。

	Abbott ID	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	PCR 結果
ARCからの240個のHCV RNAおよびAb陽性試料	S0029	7	19	11	12	25	46	16	15	12	30		35		23		28	陽性
	S0055																15	陽性
	S0127					164												陰性
	S0104					152												陰性
	S0046										136							陰性
	S0128									69							24	陽性
	S0045			30														陰性
	S0178			21														陰性
	S0044				12					18							71	陰性
	S0220		59															陰性
	S0238				30					46								陰性
	S0141			30														陰性
	S0077													15				陰性
	S0202									14				21				陰性

【０３１１】

１４個の試料についてＲＴ－ＰＣＲ試験を実施した。３つの試料（Ｓ０２９、ＡＢＴ００２９Ａ．ＵＳ；Ｓ００５５、ＡＢＴ００５５Ａ．ＵＳ；およびＳ１２８、ＡＢＴ０１２８Ａ．ＵＳ）は、ＨＰｇＶ－２　ＲＮＡ陽性であることが判明した。３つのＨＰｇＶ－２　ＲＮＡ陽性試料は、ペプチド１６に対して反応性を示し、３つのうち２つはペプチド９に対して反応性であり、１つはペプチド４に対して反応性であり、１つはペプチド３に対して反応性であった。試料ＡＢＴ００２９Ａ．ＵＳは、ペプチドのうち１３個に対して反応性である一方で、試料ＡＢＴ００５５Ａ．ＵＳはペプチド１６のみに対して反応性であり、試料ＡＢＴ０１２８Ａ．ＵＳはペプチド９と１６の両方に反応性であった。ペプチド反応性データは、ＨＰｇＶ－２　ＲＮＡ陽性の検出におけるペプチド３、４、９および１６の有用性を支持する。これらの１４個のペプチドに抗体陰性である１７個の追加の試料はまた、ＲＴ－ＰＣＲによって試験された：全１７個の試料はＲＴ－ＰＣＲによって陰性であった。

【０３１２】

タイからの血液ドナー試料

計１４５個のＨＩＶ陽性血液ドナー試料（タイから得た。）を３つのペプチドプールを介して試験した。計６つの試料は、表１１に列挙される１つ以上のペプチドプールと反応性であるものとして検出された。

【０３１３】

【表１５】

表11.タイにおいて回収された145個の試料からの陽性結果を含む試料ID番号のリスト

タイ試料	ﾍﾟﾌﾟﾁﾄﾞﾌﾟｰﾙ1	ﾍﾟﾌﾟﾁﾄﾞﾌﾟｰﾙ2	ﾍﾟﾌﾟﾁﾄﾞﾌﾟｰﾙ3
試料ID	S/CO*	S/CO*	S/CO*
S0116	17.6	NR	NR
S0068	NR	18.4	NR
S0145	NR	17.0	NR
S0027	NR	NR	38.1
S0136	NR	NR	16.1
S0016	NR	NR	10.1

*S/CO=試料対カットオフ値>1.0は、そのペプチドに対する抗体について反応性

であると考えられる。

カットオフは、陰性対照値のシグナルの10倍であると決定された。

**非反応性

【０３１４】

プールしたペプチドと反応性である試料は、以下に示されるように、反応性ペプチドプール由来の個々のペプチドで再試験された。以下のデータは、すべての試料が単一のペプチドのみと反応性であることを示している（表１２）。

【０３１５】

【表１６】

表１２．ﾍﾟﾌﾟﾁﾄﾞﾌﾟｰﾙと反応性であるタイ試料におけるここのﾍﾟﾌﾟﾁﾄﾞ結果

145個のﾀｲ試料について：

		反応性 (S/CO)													
実施ID		P1	p2	p3	p4	p5	p6	p7	p8	p9	p10	p11	p12	p13	14
S0116			2.8												
S0068						1.0									
S0145						1.6									
S0027													9.4		
S0136														2.1	
S0016												1.1			

【０３１６】

南アフリカのＨＩＶ陽性血液ドナー試料

３つのペプチドプールで試験された計７３個のＨＩＶドナー試料（南アフリカから得た。）。ほとんどの試料はＨＩＶ感染血液ドナーからであった。計４つの試料は、表１３に列挙された１つ以上のペプチドプールと反応性であるものとして検出された。

【０３１７】

【表１７】

表13.南アフリカからのHIV陽性血液ドナーの陽性結果を含む試料ID番号のリスト

南アフリカ血液ドナー(抗HCV陽性)	ﾍﾟﾌﾟﾁﾄﾞﾌﾟｰﾙ1	ﾍﾟﾌﾟﾁﾄﾞﾌﾟｰﾙ2	ﾍﾟﾌﾟﾁﾄﾞﾌﾟｰﾙ3
試料ID	S/CO*	S/CO*	S/CO*
S0027	1.3	NR	NR
S0009	NR	2.2	NR
S0004	NR	1.6	NR
S0008	NR	NR	3.4

*S/CO=試料対カットオフ値>1.0は、そのペプチドに対する抗体について反応性であると考えられる。

カットオフは、陰性対照値のシグナルの10倍であると決定された。

**非反応性

【０３１８】

プールしたペプチドと反応性である試料は、以下に示されるように、反応性ペプチドプール由来の個々のペプチドを用いて再試験された。以下のデータは、全４つの試料が単一のペプチドのみと反応性であることを示している（表１４）。

【０３１９】

【表１８】

表１４．個々のﾍﾟﾌﾟﾁﾄﾞにおける陽性結果を含むID番号のﾘｽﾄ

73個の南ｱﾌﾘｶ試料について：

		反応性 (S/CO)													
実施 ID		P1	p2	p3	p4	p5	p6	p7	p8	p9	p10	p11	p12	p13	14
S0027					2.1										
S0009						17.0									
S0004						3.2									
S0008													14.9		

【０３２０】

拡大したＨＰｇＶ－２有病率研究

指標例に加えて、最初の７つの単離物（ＡＢＴ００９６Ｐ、ＡＢＴ００７０Ｐ、ＡＢＴ０１８８Ｐ、ＡＢＴ００２９Ａ、ＡＢＴ００５５ＡおよびＡＢＴ０１２８Ａ）は、ペプチド３、４、９または１６に対する抗体応答とＨＰｇＶ－２　ＲＮＡの存在との間に正の相関を示した。異なる集団におけるＨＰｇＶ－２の存在を調べるための継続的な研究は、ペプチド３、４、９、１６のプールによる抗体試験、および実施例３に記載のＲＴ－ＰＣＲアッセイの組合せを用いて実施された。

【０３２１】

ＨＣＶ　ＲＮＡとＨＣＶ抗体に対する抗体の両方に対して、計５４２個の試料（２００個のＰｒｏＭｅｄＤｘ試料、ＡＲＣ由来の２４０個のＨＣＶ試料およびＰｒｏＭｅｄＤｘからの１００個の試料の第２セットを含む。）が陽性であった。これらの５４０個の試料のうち８つ（１．５％）は、ＫＥＹＳ　ｑＰＣＲ多重アッセイを用いてスクリーニングした場合、ＨＰｇＶ－２　ＲＮＡに対して陽性であった。このグループからの８つのＨＰｇＶ－２　ＲＮＡ陽性試料のうち６つは、１つ以上のＨＰｇＶ－２ペプチドと反応性であった。（２つのＨＰｇＶ－２　ＲＮＡ陽性試料をＨＩＶおよびＨＣＶに同時感染させた個体から得、ＨＰＧＶ－２ペプチドに対する抗体について陰性として試験された。）。５４０個の試料のうちの全２４個（４．４％）は、１つ以上のＨＰｇＶ－２ペプチドと反応性であった：これら２４個のうちの６つ（２５．０％）は、ＨＰｇＶ－２　ＲＮＡ陽性であり、２５．０％の陽性予測値を示した。陰性予測は９９．６％と計算された。５４２個の試料のうちの計１３個（２．４％）は、２つ以上のペプチドと反応性であり、１３個の試料

のうちの５つ（３８．５％）は、ＨＰＧＶ－２　ＲＮＡ陽性について陽性予測値が３８．５％であり、陰性予測値が９９．６％であるものとして示した。

【０３２２】

米国赤十字社（Ｇａｉｔｈｅｒｓｂｕｒｇ，ＭＤ）から得られた第４セットの２４０個のＨＣＶ　ＲＮＡ試料は、抗ＨＣＶ陰性であり、したがって、プレ血清交換ウィンドウ期間内の最近の感染であった。ＨＰｇＶ－２　ＲＮＡ陽性であった２４０個の試料のうちの１つの試料（０．４％）があった。この試料は、ＨＰｇＶ－２ペプチドのいずれとも反応しなかった。全体として、２４０個の試料のうちの計５つ（２．１％）は、１つ以上のＨＰｇＶ－２ペプチドと反応性であったが、２つ以上のペプチドと反応性である試料はなかった。

【０３２３】

計１８８個の試料は、ＨＢｓＡｇとＨＢＶ　ＤＮＡの両方に対して陽性であった。これらの試料のいずれも、ＨＰｇＶ－２　ＲＮＡに対して陽性ではなく、１８８個の試料のうちの計３つ（１．６％）は、１つ以上のＨＰｇＶ－２ペプチドと反応性であった。１つの試料は、２つ以上のペプチドと反応性であった。

【０３２４】

計２９８個の試料は、ＨＩＶ　ＲＮＡとＨＩＶに対する抗体の両方に陽性であった。２９８個のうちの計４つ（１．３％）は、１つ以上のＨＰｇＶ－２ペプチドに対して反応性であり、１つの試料は、２つ以上のペプチドに対して反応性であった。１つの試料は、ＨＰｇＶ－２　ＲＮＡに陽性であり、ＨＰｇＶ－２ペプチドに反応性であった。２つの追加の試料は、ペプチドで検出されなかったＲＴ－ＰＣＲスクリーニングによって同定された。３つのＲＴ－ＰＣＲ陽性試料は、ＲＴ－ＰＣＲアッセイによって確認されたが、次世代シークエンシングによっては確認されなかった。さらに試験すると、ＨＰｇＶ－２ペプチドに陰性であった２つのＨＰｇＶ－２　ＲＮＡ試料は、抗ＨＣＶ（Ａｂｂｏｔｔ　ＡＲＣＨＩＴＥＣＴ　抗ＨＣＶ）およびＨＣＶ抗原（Ａｂｂｏｔｔ　ＡＲＣＨＩＴＥＣＴ　ＨＣＶ　Ａｇ）に陽性であったことに留意されたい。したがって、これらの試料は、ＨＣＶと同時感染させたものとして分類され、この試料グループから除去され、ＨＣＶ抗体陽性ＨＣＶ　ＲＮＡ陽性グループに含まれる（以下の表１５）。

【０３２５】

ＨＣＶのような非経口的に伝染するウイルスのリスクが低いと考えられる、計４６３個の試料は、健常人の血液ドナーから得られた。４６３個の試料のうちの計１３個（２．８％）は、１つ以上のＨＰｇＶ－２ペプチドと反応性であった。４６３個の試料のうちの２つ（０．４％）は、２つ以上のペプチドと反応性であった。いずれの試料もＨＰｇＶ－２　ＲＮＡ陽性ではなかった。（しかしながら、すべての試料が同じ方法を用いて試験されたわけではない。ＨＰｇＶ－２ペプチドを用いた抗体検出について陰性であった全４５０個の試料は、多重ＲＴ－ＰＣＲアッセイによって陰性として試験された。ペプチドに対して反応性であった１３個の試料のうち、２つだけが多重アッセイで試験され、両方とも陰性であった。残りの１１個の試料はすべて、ＮＳ２／３プライマーセットを使用してＨＰｇＶ－２　ＲＮＡについて試験され、１１個のうちの７つはまた、他のプライマーセット（Ｅ１、５’ＵＴＲ）を用いて試験された。：実施例３に記載されるように、すべての試料は、ＨＰｇＶ－２　ＲＮＡに対して陰性であった。）。

【０３２６】

種々の試料グループにおいて実施された試験の要約を以下に示す。ＨＰｇＶ－１　ＲＮＡ陽性の頻度は、試験したすべてのグループにおいてＨＰｇＶ－２　ＲＮＡ陽性より高かった。ＨＰｇＶ－２　ＲＮＡは、健常人の血液ドナー、ＨＢＶ陽性個体およびＨＣＶに同時感染していないＨＩＶ感染個体よりもＨＣＶ感染した個体において頻繁に見出された。ＨＰｇＶ－２感染の頻度（ＨＰｇＶ－２　ＲＮＡまたはＨＰｇＶ－２ペプチドに対する抗体検出によって示される。）は、血清陰性であるＨＣＶ感染個体よりも、ＨＣＶ血清陽性個体の中でより高かった。ペプチド４、９または１６の２つ以上に対する反応性は、ＨＰｇＶ－２　ＲＮＡを有する陽性の予測値を有した。ペプチドに対する反応性の陰性の予測

値は、試験したすべてのグループにおいて高かった。

【０３２７】

【表１９】

表15 指示された試料グループについてのペプチドプール(3、4、9、16)からの少なくとも1つのペプチドに反応性である試料の数

グループ	HPgV-1 RNA 陽性(%)	HPgV-2 RNA 陽性(%)	1つ以上のペプチドに反応である抗体(%)			2つ以上のペプチドに反応である抗体(%)			抗体反応性/PCR陰性-
			陽性(%)	陽性の予測値*	陰性の予測値**	陽性(%)	陽性の予測値*	陰性の予測値**	
HCV Ab+/PCR+ (n=542*)	40 (7.4%)	8 (1.5%)	24 (4.4%)	6/24 (25%)	518/520 (99.6%)	13 (2.4%)	5/13 (38.5%)	529/531(99.6%)	18/534 (3.4%)
HCV Ab-/PCR+ (n=240)	nt	1 (0.4%)	5 (2.1%)	0/5 (0%)	239/240 (99.6%)	0 (0%)	N/A	239/240 (99.6%)	5/239 (2.1%)
HIV (n=296)	29/275 (10.5%)	1 (0.3%)	4 (1.3%)	1/4 (25.0%)	288/292 (98.6%)	1 (0.3%)	0/1	294/295 (99.%)	1/295 (0.3%)
HBV (n=188)	6 (3.2%)	0/0 (0%)	3 (1.6%)	N/A	185/188 (98.4%)	0/0 (0.0%)	N/A	188/188 (100%)–	3/188 (1.6%)
血液ドナー (n=463)	19/452 (4.2%)	0/0 (0%)	13 (2.8%)	N/A	450/463 (97.2%)	2 (0.4%)	N/A	461/463 (99.4%)–	13/463 (2.8%)
総計(n=1729)	94/1457 (6.4%)	10 (0.6%)	40 (2.3%)			7/10 (70%)			40/1708 (2.3%)

*陽性の予測値は、抗体陽性試料の総数で割った、HPgV-2 RNA陽性であり、HPgV-2ペプチドについて抗体陽性である試料の数として決定された。

**陰性の予測値は、HPgV-2ペプチドに対する抗体陰性試料の総数で割った、HPgV-2ペプチドについての抗体陰性である試料の数からHPgV-2 RNA陽性試料の数を控除した数として決定された。

***同時感染させたHCV/HIV試料(n=2)を含むが、NGSによって確認されていない。

【０３２８】

試験した１７２９個の試料のうち、計１１個のＨＰｇＶ－２　ＲＮＡ陽性試料（指標例を含む。）が同定されている（表１６）。１７２９個の試料のうちの計７８２個（４５．２％）がＨＣＶ感染個体から得られた。１１個のＨＰｇＶ－２　ＲＮＡ陽性試料のうちの１０個がＨＣＶに感染した個体に見出され、これは、このウイルスがＨＣＶ（非経口曝露）と同様の伝達パターンを共有し得ることを示唆した。ＨＰｇＶ－１について、ＨＰｇＶ－１　ＲＮＡの有病率は、ＨＩＶ集団において最も高く（１０．５％）、ＨＣＶ感染したヒトにおいて相対的に高く（７．４％）、健常人の血液ドナーにおいて検出され（４．２％）、これは、ＨＰｇＶ－１による能動感染が、研究された集団について、ＨＰｇＶ－２よりも非常に一般的であることを示す。

【０３２９】

上記のように、ＨＰｇＶ－２ペプチドに対する抗体に反応性である、１７２９個の試料のうちに４０個の試料が存在した。これらの４０個の試料のうちの７つはＨＰｇＶ－２　ＲＮＡ陽性であった。１０個のＨＰｇＶ－２　ＲＮＡ陽性のうちの計７つ（７０％）は抗体反応性であった。残りの３３個の抗体反応性の結果は、１７１９個の試験された試料のうちに認められ、その結果、頻度は１．９％であった。以下に示されるように、ＨＰｇＶ－２　ＲＮＡ陽性試料のいくつかは、２つ以上のペプチドに反応性である。

【０３３０】

【表２０】

表22

HPgV-2単離物	HCV		GBV-C RNA	HIV RNA	ペプチド反応性(S/CO)				HPgV-2 ウイルス量
	Ab/ RNA	RNA のみ			3	4	9	16	Log RNA コピー/ml
UC0125.US	+	-	nt	-	nt	1.3	9.7	nt	6.2
ABT0096P.US	+	-	-	-	1.6	3.5	9.0	20.7	3.5
ABT0070P.US	+	-	-	-	-	-	5.3	1.1	5.2
ABT0188P.US	+	-	-	-	1.7	5.2	-	-	2.5
ABT0055A.US	+	-	-	-	1.0	-	-	1.5	3.8
ABT0029A.US	+	-	+	-	-	1.0	1.2	2.8	4.6
ABT0128A.US	+	-	-	-	-	-	6.9	2.4	4.5
ABT0239.AN.US	-	+	-	-	-	-	-	-	5.8
ABT0100P.US	-	-	-	+	-	-	16.3	-	nt
ABT0030P.US	+	-	-	+	-	-	-	-	nt
ABT0035P.US	+	-	+	+	-	-	-	-	nt

【０３３１】

［実施例５］

ＡＢＴ００７０Ｐ．ＵＳ、ＡＢＴ００９６Ｐ．ＵＳおよびＡＢＴ０１２８Ａ．ＵＳの次世代シークエンシング

実施例３．ＩのｑＰＣＲ陽性試料は、実施例２に記載されるように、従来のＲＴ－ＰＣＲによってプローブされた。ＡＢＴ００７０Ｐ．ＵＳのみがＮＳ５Ａ：６９１４Ｆと７２１３Ｒ（配列番号４４と４５）およびＮＳ２－ＮＳ３：３３３４Ｆと３７０８Ｒ（配列番号３４と３５）のプライマーと反応性であり、その後、生成物はサンガー配列決定により示され、ＵＣ０１２５．ＵＳとアラインされた。３つの試料すべてを抽出し、実施例２に記載されたようにＮＧＳについて調製した。複数のＭｉＳｅｑ実行からのリードマッピングを抽出し、合わせた。

【０３３２】

計９８，０１７個のＮＧＳは、ＨＰｇ－Ｖ２ゲノムの９３％をカバーする、配列番号１にマッピングされた試料ＡＢＴ００７０Ｐ．ＵＳから読み取る。カバレッジ深度は、１１３３Ｘ±１３６４リード／ヌクレオチドであり、５’末端に短いギャップ（＞２０ｎｔ）が存在し、配列番号１の２６００－３４００ｎｔの領域内の４つの内部ギャップは合計約３００個の欠損塩基を含み、３’末端に３５４ｎｔが欠失している。欠損した５’末端は、４４Ｆ－３４２Ｒ（配列番号１２と１３）反応からの生成物のＰＣＲおよびサンガー配列決定によって満たされた。内部ギャップは、表１に列記されたプライマー（配列番号１６－３５）を用いて、Ｘ－ＮＳ３領域に位置する１０個のオーバーラッピングアンプリコンによってカバーされた。ＮＧＳおよびサンガー法のデータを組み合わせて得られたコンセンサス配列（配列番号７５）を図９に示し、図１０に注釈をつけた。表１６は、ＵＣ０１２５．ＵＳと比較したアミノ酸ミスマッチ数および同一性パーセントを報告し、これはタンパク質に依存して９０－９７％の範囲であった。

【０３３３】

計５，０９９個のＮＧＳは、ＨＰＧ－Ｖ２ゲノムの５７％をカバーする配列番号１にマッピングされたＡＢＴ００９６Ｐ．ＵＳ試料から読み取る。カバレッジ深度は、３３Ｘ±１１２リード／ヌクレオチドであり、ゲノムの全長にわたってギャップが見られた。試料１２８だけは、主に２つの領域（７４０－９７５および２１３０－２２７０）に濃縮された１１６個のＮＧＳリードを有した。ＵＣ０１２５．ＵＳに対するこれらの３つのさらなる症例のヌクレオチドアラインメントを図１１に示す。

【０３３４】

ＨＣＶ同時感染患者におけるＨＰｇＶ－２の４つのさらなる株は、本発明者らのスクリーニング努力により明らかにされ、ＮＧＳによって配列決定された（下記参照）。伝統的

なＲＴ－ＰＣＲおよびサンガー配列決定と共同して、遺伝子特異的アプローチとランダムプライムされたＮＧＳアプローチの両方を用いて、各株の現在のゲノム配列カバレッジを報告する。ウイルスの５’末端は、ＳＭＡＲＴｅｒ　ＰＣＲ　ｃＤＮＡ合成によって得られた（図２３Ａ参照）。ＡＢＴ００７０Ｐ．ＵＳの３’末端は３’ＲＡＣＥによって決定され、ＡＢＴ００２９Ａ．ＵＳおよびＡＢＴ０２３９ＡＮ．ＵＳについてはＲＴ－ＰＣＲを用いて決定された。ここでは、反応を２％ＤＭＳＯで捕捉した（図２３ＤＤ－ＥＥ参照）。

【０３３５】

【表２１】

表17

HCV陽性検体	ゲノムカバレッジ%	長さ
UC0125.US	99.8	9847 nt
ABT0070P.US	100.0	9867 nt
ABT0029A.US	100.0	9867 nt
ABT0239AN.US	100.0	9867 nt
ABT0128A.US	92.3	9109 nt
ABT0055A.US	78.3	7724 nt
ABT0096P.US	58.0	5726 nt
ABT0188P.US	4.0	394 nt
ABT0030P.US	99.4	9812 nt
ABT0041P.US	97.7	9645 nt

【０３３６】

ＨＣＶに同時感染した患者においては、計８つのＨＰｇＶ－２単離物が同定されている（上記）。ＰｒｏＭｅｄＤｘからのＨＩＶ＋患者の米国人における最近のスクリーニングにより、ＲＴ－ＰＣＲおよびサンガー配列決定によって確認された６つのさらなる株が明らかにされた：ＡＢＴ００８４Ｈ．ＵＳ、ＡＢＴ００８６Ｈ．ＵＳ、ＡＢＴ０１００Ｈ．ＵＳ、ＡＢＴ０１９８Ｈ．ＵＳ、ＡＢＴ００３０Ｐ．ＵＳおよびＡＢＴ００４１Ｐ．ＵＳ（配列は示さない。）。

【０３３７】

計１０個のＨＰｇＶ－２単離物は、ＨＣＶに同時感染した患者において同定されている（上記）。ＰｒｏＭｅｄＤｘからのＨＩＶ＋患者の米国人における最近のスクリーニングにより、ＲＴ－ＰＣＲおよびサンガー配列決定によって確認された４つのさらなる株が明らかにされた：ＡＢＴ００８４Ｈ．ＵＳ、ＡＢＴ００８６Ｈ．ＵＳ、ＡＢＴ０１００Ｈ．ＵＳおよびＡＢＴ０１９８Ｈ．ＵＳ（配列は示さない）。

【０３３８】

【表２２】

表21

HIV陽性検体	ゲノムカバレッジ%	長さ
ABT0084H.US	3.3	325 nt
ABT0086H.US	1.6	163 nt
ABT0100H.US	4.3	421 nt
ABT0198H.US	1.7	168 nt

【０３３９】

これにより、ＨＰｇＶ－２の計１４個の単離物が得られ、このウイルスによる感染は、例えば、当初考えられていたＨＣＶに同時感染した個体に限定されないことが実証される。完全なゲノムとほぼ完全なゲノムのいくつかのアラインメントを図２３に示す。

【０３４０】
２９個の代表的なフラビウイルスとともにＨＰｇＶ－２（ＵＣ０１２５．ＵＳ）およびＡＢＴ００７０Ｐ．ＵＳの多重配列アラインメントは、Ｅ－ＩＮＳ－Ｉアルゴリズムを含むＭＡＦＦＴ　ｖ７．０を用いるＧｅｎｅｉｏｕｓ　ｖ６．１（Ｋｅａｒｓｅら、２０１２、Ｂｉｏｉｎｆｏｒｍａｔｉｃｓ）において、デフォルトパラメーター（Ｋａｔｏｈら、Ｍｏｌ　Ｂｉｏｌ　Ｅｖｏｌ、２０１３）で実施され、続いて、１０回の最大反復サイクル（Ｅｄｇａｒ，Ｎｕｃ　Ａｃｉｄｓ　Ｒｅｓ，２００４）を伴うＭＵＳＣＬＥ　ｖ３．８を用いて精密化を実施した。Ｊｕｋｅｓ－Ｃａｎｔｏｒモデルおよび隣り合う結合アルゴリズムを用いて、ブランチサポートを計算するために使用された１０，０００個のブートストラップ複製を用いて、Ｇｅｎｅｉｏｕｓにおいて系統樹を構築した。これらのツリートポロジーは、ＭｒＢａｙｅｓ　Ｖ３．２ソフトウェア（１，０００，０００個の試料ツリー、バーンインとして廃棄されたツリーの１０％、平均標準偏差＜０．０１で定義されるコンバージェンス）で最尤ベイズ的アプローチを使用して精密化された。各ツリーは、アウトグループとしてデングウイルス１型（ＤＥＮＶ１）および黄熱病ウイルス（ＹＦＶ）に根ざしていた。分析は、ポリタンパク質配列の全体ならびにＮＳ３およびＮＳ５Ｂタンパク質それぞれについて実施した（図１２）。２つの主要なブランチは、ペギウイルスをフラビウイルス科のヘパシウイルスと区別する。ペギウイルスブランチ内では、ＡＢＴ００７０Ｐ．ＵＳはＵＣ０１２５．ＵＳと緊密にクラスタリングし、ブランチは１００％のブートストラップ値によってサポートされる。両株とも、コウモリおよびげっ歯類のペギウイルスと遠く離れた祖先であるにもかかわらず、共通の祖先を共有し、ブートストラップ値は９９．９５％である。これは、ＨＰｇＶ－２が、以前に哺乳動物で同定されたペギウイルスとは異なるヒトペギウイルスであることを実証する。

【０３４１】
［実施例６］
ＨＰｇＶ－２　Ｅ２糖タンパク質の精製およびＨＰｇＶ－２　ＰＣＲ＋／Ａｂ＋試料を用いた血清学
哺乳動物細胞におけるＨＰｇＶ－２　Ｅ２の発現、精製、特徴付け
この実施例は、哺乳動物細胞からのＨＰｇＶ－２糖タンパク質Ｅ２の設計、発現および精製を記載する。予想される膜貫通領域（配列番号４０６）までのＥ２　ＯＲＦ配列をコードする発現プラスミドは、タンパク質分泌のためのマウスＩｇκ軽鎖リーダー配列を含むｐｃＤＮＡ３．１由来ベクターを用いて構築された。

【０３４２】
【化２】

配列番号406：E2カセットのコード配列

atgagagttcctgcacaattattaggattattattattatggtttcctggatctaggtgctacaagcaccagagcgagagctacctgaagtattgtacaattacaaatacatctacaagcatgaactgcgattgccctttggcaccttcaccaggaatacagagtctagattttctattcctagatttgtccagtgaagatcaatagcagcaccttcatctgctcttggggatcttggtggtggtttgctgaaaatattacaagaccttatacagatgtgggaatgcctccagctccaatttctgctctgtgttacatctacagcaataatgatcctcctccttggtatcataataccaccatcattcctcagaactgcagaaatagcaccgttgatcctacaacagctccttgtagagataaatggggaaatgctacagcttgtattcttgacagaagaagcagattttgcggcgattgttatggaggatgcttttacacaaatggaagccatgatagatcttgggatagatgtggaatcggctacagagatggactgattgaatttgttcagttaggccagattagacccaatatcagcaatacaaccatcgaactgcttgctggagcttctttagttattgcttctggattaagacctggatttggatgttctagagctcatggagttgtgcactgctatagatgtccttcttacagagatttagagcaatttggacctggacttggaaaatgggtgcctttacctggagaacctgttcctgaattatgtattaatcctcaatgggctagaagaggattcagaatgagcaataaccctctgtctctgctgcagacatttgttgaagatatctttcttgccccttttctgtaatcctacacctggaagagttagagtgtgcaacaatacagccttttatcctagaggaggaggatttgttcaacttattggcgatgttcaggttctgacccctaatacaggatctggatctggacatcatcatcatcatcatcatcactaa

【０３４３】
８×ヒスチジンタグを精製のためにＥ２　ＯＲＦのカルボキシ末端のフレームにクローニングした。ＨＰｇＶ－２　Ｅ２をコードするプラスミドは、リポフェクタミン２０００トランスフェクション試薬（Ｌｉｆｅ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ、Ｃａｒｌｓｂａｄ、

ＣＡ、ＵＳＡ）を用いて、ＨＥＫ２９３－６Ｅ（ヒト胎児腎臓－６Ｅ）浮遊細胞に一過的にトランスフェクトされた。６日後、細胞培養物を遠心分離（１２００ｒｐｍ、１０分間）し、上清を回収した。上清は、アミコンウルトラフィルター（ＥＭＤ Ｍｉｌｌｉｐｏｒｅ、Ｂｉｌｌｅｒｉｃａ、Ｍａｓｓａｃｈｕｓｅｔｔｓ、ＵＳＡ）を用いて濃縮された。細胞は、１％トリトンＸ－１００を含むリン酸緩衝食塩水（ＰＢＳ）を用いて氷上で３０分間溶解された。細胞破片を１５０００ｒｐｍで１０分間の遠心分離によって沈降させ、上清を回収した。細胞溶解物および濃縮した上清を４－２０％のＳＤＳ ＰＡＧＥ勾配ゲル（Ｌｉｆｅ Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ Ｃａｒｌｓｂａｄ、ＣＡ、ＵＳＡのＮｏｖｅｘ）上で泳動させ、ＷｅｓｔｅｒｎＢｒｅｅｚｅキット（Ｌｉｆｅ ＴｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓのＮｏｖｅｘ）を抗Ｈｉｓアルカリホスファターゼ（ＡＰ）結合した一次抗体（Ｌｉｆｅ Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ、Ｃａｒｌｓｂａｄ、ＣＡ、ＵＳＡのＮｏｖｅｘ）と併用してウェスタンブロットを行った。タンパク質は、ＢＣＩＰ／ＮＢＴクロマチン染色（Ｌｉｆｅ ＴｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓのＮｏｖｅｘ）およびＢｉｏ－Ｒａｄ Ｉｍａｇｅｒ（Ｉｍａｇｅ Ｌａｂ ｖ４．０ソフトウェアを使用するＢｉｏＲａｄ ＧｅｌＤｏｃ ＥＺ Ｉｍａｇｅｒ）を用いて視覚化された。発現されたＨＰｇＶ－２ Ｅ２構築物の予測される分子量は３９．６ｋＤａである。細胞溶解物からのＨＰｇＶ－２ Ｅ２は約５０ｋＤａに泳動され、上清からの濃縮されたＨＰｇＶ－２ Ｅ２は、５０－７５ｋＤａの範囲の分子量に泳動され、タンパク質の分泌された形態のグリコシル化が示唆された（図２４Ａ）。これらは、電気泳動中にタンパク質をよりゆっくりと移動させる場合がある。

【０３４４】

濃縮された上清からのＨＰｇＶ－２ Ｅ２は、ニッケル（Ｎｉ＋）アガロースを充填したアフィニティーカラム（Ｈｉｓ Ｂｉｎｄレジン、Ｎｏｖａｇｅｎ、ＥＭＤ Ｍｉｌｌｉｐｏｒｅ、Ｂｉｌｌｅｒｉｃａ、Ｍａｓｓａｃｈｕｓｅｔｔｓ、ＵＳＡ）を用いて未変性条件下で精製された。非結合物質（フロースルー）および溶出した結合物質を４－２０％のＳＤＳ－ＰＡＧＥゲル上で泳動し、その後、Ｏｒｉｏｌｅタンパク質染色（Ｂｉｏ－Ｒａｄ）を用いた染色または抗Ｈｉｓ－ＡＰ抗体を用いたウェスタンブロット（Ｌｉｆｅ Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ、Ｃａｒｌｓｂａｄ ＣＡ、ＵＳＡのＷｅｓｔｅｒｎＢｒｅｅｚｅ、Ｎｏｖｅｘ）を行った。タンパク質染色は、５０－７０ｋＤａで結合および溶出された物質の複数の分子量を示し（図２４Ｂ）、これは、ＨＰｇＶ－２ Ｅ２でトランスフェクトされた細胞上清の初期ウェスタンブロットによって検出されたサイズと一致した（図２４Ａ）。ウェスタンブロットは、６０－７０ｋＤａの間の複数の分子量バンドを示した（図２４Ｃ）。

【０３４５】

精製されたＨＰｇＶ－２ Ｅ２のＰＮＧａｓｅ Ｆ（ペプチド－Ｎ－グリコシダーゼＦ）処理を実施して、翻訳後グリコシル化により、精製されたタンパク質の推定分子量より大きいことを確認した。ＨＰｇＶ－２は、３９．６ｋＤａの予測される分子量の電気泳動移動度をシフトさせることができる１０個の潜在的なアスパラギン結合グリコシル化部位を有する。ＰＮＧａｓｅ Ｆは、Ｎ－結合糖タンパク質の最も内側のＧｌｃＮＡｃ残基とアスパラギン残基の間を特異的に切断する酵素である。精製されたＨＰｇＶ－２ Ｅ２を変性させ、３７℃で１時間、ＰＮＧａｓｅ Ｆ（Ｎｅｗ Ｅｎｇｌａｎｄ Ｂｉｏｌａｂｓ（ＮＥＢ）、Ｉｐｓｗｉｃｈ、ＭＡ、ＵＳＡ）とともにインキュベートし、続いて、処理および未処理のタンパク質をＳＤＳ－ＰＡＧＥ分析した（図２４Ｄ）。ＰＮＧａｓｅ Ｆで処理していない精製ＨＰｇＶ－２ Ｅ２は、分子量が６０－７０ｋＤａであり、ＰＮＧａｓｅ Ｆで処理したＨＰｇＶ－２ Ｅ２は、ＳＤＳ－ＰＡＧＥゲルにより３７ｋＤａマーカーに近い分子量を有した。ＰＮＧａｓｅ Ｆで処理したＥ２は予測分子量に近づいて泳動され、これは、タンパク質の大部分が脱グリコシル化されたことを示唆した。

【０３４６】

さらに、カルボキシ末端膜貫通ドメインを有さないＨＰｇＶ－１（ＧＢＶ－Ｃ）Ｅ２をコードするプラスミドはまた、上記のように哺乳動物発現ベクターにおいて発現された。

哺乳動物細胞で発現させると、タンパク質は、カルボキシ末端での８×ヒスチジンタグとの融合物として分泌される。

【０３４７】

ＰＣＲ＋／Ａｂ＋試料を用いた精製ＨｐＧＶ－２　Ｅ２の血清学的試験

ＰＣＲ＋／Ａｂ＋試料中の精製ＨＰｇＶ－２　Ｅ２に対する抗体は、ＨＰｇＶ－２精製されたＥ２タンパク質の希釈液を含むスロットブロットを行うことによって評価された。精製タンパク質は、０．１μｇ／ｍｌ、１μｇ／ｍｌ、１０μｇ／ｍｌおよび１００μｇ／ｍｌの滴定でニトロセルロース膜に結合された。未結合タンパク質を洗い流し、膜を風乾させた。ＰＣＲ＋／Ａｂ＋試料のＡＢＴ００９６Ｐ、ＡＢＴ００７０Ｐ、ＡＢＴ０１８８ＰおよびＡＢＴ００５５Ａの１：１００希釈物をスロットブロットとともにインキュベートした。これらの試料は、ＨＰｇＶ－２ペプチド（３、４、９および１６）のプールに反応性であった。陰性対照は正常なヒト血漿であり、ＨＰｇＶ－２　ＲＮＡについて陰性な試料であり、ＨＰｇＶ－２ペプチド３、４、９および１６のプールに対する抗体について陰性であった。アルカリホスファターゼに結合したヤギ抗ヒト二次抗体およびＢＣＩＰ／ＮＢＴ色素原基質を用いて抗体を視覚化した（図２５）。試験したＨＰｇＶ－２　ＰＣＲ＋／Ａｂ＋試料は、１００μｇのバンドに対する強力に検出可能な抗体を有し、１０μｇのＥ２バンドに対してわずかに反応性であった。このデータは、ＰＣＲ＋個体がＨＰｇＶ－２　Ｅ２の天然型に対する抗体を作製することを示す。ウイルス血症後にＥ２抗体が存在するかどうかを決定するために、さらなる研究が必要である。また、このデータは、ＨＰｇＶ－２が感染の血清学的マーカーであることを示している。さらに、ＨＣＶ用の抗体試験（Ａｂｂｏｔｔ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ、Ａｂｂｏｔｔ　Ｐａｒｋ　ＩＬ　６００６４）とＨＣＶ　ＲＮＡ試験（Ｂａｙｅｒ　Ｖｅｒｓａｎｔ　ＨＣＶ　ＲＮＡ　３．０アッセイ（ＰｒｏＭｅｄＤｘ、Ｎｏｒｔｏｎ、ＭＡより））の両方によって、試験が陽性である１回目のプラズマフェレーシスドナーからの試料のパネルを使用して、スロットブロットをプローブした（図２５－試料ＡＢＴ００４５Ｐ、ＡＢＴ０１４１Ｐ、ＡＢＴ０１７８Ｐ、ＡＢＴ００６５Ｐ）。

【０３４８】

ＨＰｇＶ－２ＲＮＡ陽性であり、ペプチドに対する抗体に陽性である試料を使用して、固相微粒子上にコーティングし、ＡＲＣＨＩＴＥＣＴアッセイで使用した場合の精製ＨＰｇＶ－２　Ｅ２の有用性を確認した（実施例４参照）。簡単に述べると、Ｎ－（３－ジメチルアミノプロピル）－Ｎ’－エチルカルボジイミド塩酸塩（ＥＤＡＣ、Ｓｉｇｍａ－Ａｌｄｒｉｃｈ、Ｓｔ．Ｌｏｕｉｓ、ＭＯ　６３１０３）を用いて、Ｓｐｈｅｒｏｔｅｃｈ磁性微粒子（Ｌａｋｅ　Ｆｏｒｅｓｔ、ＩＬ、ＵＳＡ）を１００μｇ／ｍｌの精製Ｅ２タンパク質でコーティングし、精製タンパク質を磁性微粒子に架橋させた。ＡＢＢＯＴＴ　ＡＲＣＨＩＴＥＣＴ装置（上記、実施例３）を用いて、間接イムノアッセイにおいて、選択されたＨＰｇＶ－２　ＲＮＡ陽性試料を用いてＥ２結合微粒子を泳動させた。この場合、試料からの結合抗体をマウス抗ヒトアクリジニウムコンジュゲート二次抗体で検出した（表１８）。さらに、ＨＰｇＶ－２　ＲＮＡに陰性である試料および抗体応答を、Ｅ２コーティングした微粒子を用いて試験した。スロットブロット上で反応性である試料はまた、ＨＰｇＶ－２　Ｅ２を微粒子上にコーティングし、ＡＲＣＨＩＴＥＣＴアッセイで使用した場合に反応性であった（表１８）。

【０３４９】

【表２３】

表18.HPgV-2でコーティングされた微粒子を用いたARCHITECTアッセイ。シグナル対カットオフ(S/CO)をNCの10倍に設定した。試料は、S/CO>1である場合、HPgV-2 E2に対する抗体について陽性(反応性)であると考えられた。試料ABT0029AおよびABT0128Aは、シグナルが上昇したが、カットオフを超えていなかった。

試料	HPgV-2 RNA +	HPgV-2ﾍﾟﾌﾟﾁﾄﾞﾌﾟｰﾙ3、4、9、16に対する抗体 S/CO	精製HPgV-2 E2に対する抗体 S/CO
NC	Neg	Neg	--
ABT0029A	Pos	Pos	0.6
ABT0055A	Pos	Pos	6.6
ABT0070P	Pos	Pos	4.1
ABT0096P	Pos	Pos	6.4
ABT0128A	Pos	Pos	0.9
ABT0188P	Pos	Pos	15.7
ABT0239A	Pos	Neg	.05
HPgV-2 RNA陰性/抗体陰性試料			
ABT0045P	Neg	Neg	.07
ABT0141P	Neg	Neg	.004
ABT0178P	Neg	Neg	.02
ABT0065P	Neg	Neg	.007

【０３５０】

ＨＰｇＶ－２　ＲＮＡ陽性試料内では、ペプチドに対する抗体とＥ２タンパク質に対する抗体間の相関が高かった。６つのＨＰｇＶ－２　ＲＮＡ陽性試料のうちの４つは、Ｅ２組換えタンパク質でコーティングされた微粒子に対する陰性対照シグナルの１０倍を超える検出可能な抗体応答を有した。残りの２つの試料は、バックグラウンドを超えてシグナルが上昇しており、これは、アッセイのさらなる最適化の際に検出され得る軽度の抗体応答があることが示唆した。

【０３５１】

正常なヒトのドナー血漿（ｎ＝１００）の集団はまた、ＨＰｇＶ－２　Ｅ２に対する反応性についてスクリーニングされ、現在または過去の感染を示した。１より大きいカットオフ（Ｓ／ＣＯ）に対するシグナルを有する試料は検出されず、これは、米国の集団において、ＨＰｇＶ－２が低頻度の風土病ウイルスであることを示唆した。

【０３５２】

また、ＨＰｇＶ－２　ＲＮＡ＋試料の多くは、ＨＰｇＶ－１　Ｅ２に対する抗体を有するため、ＨＰｇＶ－１またはＨＰｇＶ－２　Ｅ２のいずれかに対する交差反応性について評価した。精製されたＨＰｇＶ－１または－２　Ｅ２が、ＨＰｇＶ－１　Ｅ２　Ａｂ＋およびＨＰｇＶ－２　ＲＮＡ＋／Ｅ２Ａｂ＋であった試料に予め結合しているブロッキング実験を実施した。ＨＰｇＶ－１またはＨＰｇＶ－２のいずれかに予め結合した試料を使用

して、精製されたＨＰｇＶ－１とＨＰｇＶ－２　Ｅ２糖タンパク質の両方を含むスロットブロットをプローブした。ＨＰｇＶ－２　Ｅ２を用いたプレ結合は、スロットブロット上で精製ＨＰｇＶ－２　Ｅ２への結合を低下させ、ＨＰｇＶ－１　Ｅ２を用いたプレ結合は、ＨＰｇＶ－１　Ｅ２への試料の結合を低下させた（図２６）。プレ結合に使用されない異種タンパク質への結合の最小限の減少があり、これは、スロットブロット分析によって検出された免疫反応性が特異的であることを示唆した。

【０３５３】

［実施例７］

ＨＰｇＶ－２　ＮＳ４Ａ／４Ｂ融合タンパク質を用いた発現、精製および血清学

大腸菌（Ｅ．ｃｏｌｉ）におけるＮＳ４Ａ／４Ｂ融合物を含むプラスミドの設計、現および精製

この実施例は、ＨＰｇＶ－２タンパク質であるＮＳ４ＡおよびＮＳ４Ｂのドメインへのマルトース結合タンパク質融合物の設計、ならびにその後の大腸菌からの発現および精製について記載する。簡単に述べると、Ｐｒｏｔｅａｎ　３Ｄプログラム（ＤＮＡＳＴＡＲ、Ｍａｄｉｓｏｎ、ＷＩ、ＵＳＡ）を用いて、ＨＰｇＶ－２　ＮＳ４Ａ－４Ｂの８１個のアミノ酸セグメントは、細胞質局在化を有することが予測された（配列番号４０７）。

【０３５４】

【化３】

コードされた81個のアミノ酸のHPgV-2 NS4A-4Bペプチドの核酸配列（配列番号407）:

ATG GCC CTT GTT CCC AGC GCT GTG TGG AGT GTT GAA GTC CGC CCC GCA GGC GTG ACG
CGC CCT GAT GCC ACC GAT GAA ACC GCT GCG TAC GCT CAA CGC TTG TAT CAG GCC TGC
GCC GAT TCA GGT ATC TTT GCG TCA CTT CAA GGA ACC GCG AGT GCG GCG TTG GGC AAG
CTG GCG GAT GCC TCG CGT GGC GCG AGT CAA TAC CTG GCA GCC GCC CCA CCA TCA CCT
GCC CCA CTG GTG CAG GTA TTA

【０３５５】

この領域は、アミノ末端マルトース結合融合を可能にするｐＭＡＬ－Ｃ５Ｘベクターにおける発現のために選択され、６×ヒスチジンタグは、構築物のＣ末端に設計され、すべてはＩＰＴＧ誘導性プロモーター（Ｇｅｎｓｃｒｉｐｔ、Ｐｉｓｃａｔａｗａｙ、ＮＪ、ＵＳＡ）の下にあった。構築物をＢＬ２１大腸菌株において発現させ、３７℃で４時間、ＩＰＴＧ誘導後、細胞を溶解し、可溶性タンパク質をＰｒｏｂｏｎｄニッケル精製システム（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ、Ｇｒａｎｄ　Ｉｓｌａｎｄ、ＮＹ、ＵＳＡ）を用いて精製した。抗Ｈｉｓ抗体（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ、Ｇｒａｎｄ　Ｉｓｌａｎｄ、ＮＹ、ＵＳＡ）を用いてウェスタンブロットを実施し（ＷｅｓｔｅｒｎＢｒｅｅｚｅ、Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ、Ｇｒａｎｄ　Ｉｓｌａｎｄ、ＮＹ、ＵＳＡ）、溶出された物質中に５０ｋＤａの単一バンドが検出された（４２ｋＤａ　ＭＢＰ＋８ｋＤａ　ＮＳ４ＡＢ）（図２７Ａ）。

【０３５６】

精製された物質を確認するために、既知のＨＰｇＶ－２　ＲＮＡ陽性試料を用いて、スロットブロットと間接ＡＲＣＨＩＴＥＣＴイムノアッセイの両方を実施した。スロットブロットについては、１０μｇおよび１００μｇの精製物質をニトロセルロース膜（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ、Ｇｒａｎｄ　Ｉｓｌａｎｄ、ＮＹ、ＵＳＡ）に受動的に結合させ、その後、未結合タンパク質を洗い流し、膜をブロッキングした。試料ＡＢＴ００５５Ａ、ＡＢＴ００９６Ｐ、ＡＢＴ０１８８Ｐについて結合したＮＳ４ＡＢを含むスロットブロットを用いて、精製ＮＳ４ＡＢに対する抗体を検出し、陰性対照血漿については検出されなかった（図２７Ｂ）。結合した抗体は、アルカリホスファターゼにコンジュゲートしたヤギ抗ヒトアルカリホスファターゼコンジュゲート二次抗体（ＳｏｕｔｈｅｒｎＢｉｏｔｅｃｈ、Ｂｉｒｍｉｎｇｈａｍ、ＡＬ、ＵＳＡ）を用いて検出され、比色検出は、ＢＣＩＰ／ＮＢＴ基質（ＳｉｇｍａＦＡＳＴ、Ｓｉｇｍａ－Ａｌｄｒｉｃｈ、Ｓｔ．Ｌｏｕｉｓ、ＭＯ　６３１０３）によってもたらされた。

【０３５７】

自動化イムノアッセイにおいて精製ＮＳ４ＡＢタンパク質を試験するために、Ｓｐｈｅｒｏｔｅｃｈ磁性微粒子（Ｌａｋｅ　Ｆｏｒｅｓｔ、ＩＬ、ＵＳＡ）は、Ｎ－（３－ジメチルアミノプロピル）－Ｎ’－エチルカルボジイミド塩酸塩（ＥＤＡＣ、Ｓｉｇｍａ－Ａｌｄｒｉｃｈ、Ｓｔ．Ｌｏｕｉｓ、ＭＯ　６３１０３）を用いて、５０μｇ／ｍｌの精製ＮＳ４ＡＢタンパク質でコーティングされ、精製タンパク質を磁性微粒子に架橋させた。ＮＳ４ＡＢをカップリングさせた微粒子は、ＡＢＢＯＴＴ　ＡＲＣＨＩＴＥＣＴ装置（上記、実施例３）を用いて間接イムノアッセイにおいて、選択されたＨＰｇＶ－２　ＲＮＡ陽性試料とともに泳動された。この場合、試料からの結合抗体をマウス抗ヒトアクリジニウムコンジュゲート二次抗体で検出した（表１９）。

【０３５８】

【表２４】

表19.NPgV-2 RNA陽性試料における

NS4ABに対する抗体の間接アッセイ

試料	S/CO*
ABT0029A	1.4
ABT0055A	0.4
ABT0070P	14.8
ABT0096P	9.8
ABT0128A	0.8
ABT0188P	1.9

*S/CO=シグナル/カットオフ。S/CO>1は、NS4ABタンパク質に対する抗体について反応性であると考えられる。

カットオフは、陰性対照値のシグナルの10倍であると決定された。

正常なヒトのドナー血漿(n=100)の集団はまた、HPgV-2 NS4ABに対する反応性についてスクリーニングされ、現在または過去の感染を示した。1より大きいカットオフ(S/CO)に対するシグナルを有する試料は検出されず、これは、米国の集団において、HPgV-2が低頻度の風土病ウイルスであることを示唆した。

【０３５９】

［実施例８］

ウサギにおけるＨＰｇＶ－２抗原の検出と過免疫血清の生成

約１年齢のニュージーランドウサギをＨＰｇＶ－２ペプチドに対する抗体の生成のために選択した。

【０３６０】

１回目の免疫化に関して、０．５ｍｌのアジュバントと混合した０．９％生理食塩水に可溶化した１．０ｍｇのペプチド（表３のペプチド４、５および９、実施例４）を各ウサギに接種した。１回目の免疫化から約１０週間後、ウサギから血清を得、免疫原（ｉｍｍｕｇｅｎ）に対する抗体について試験した。ウサギを次の８カ月間にさらに５回免疫化した。

【０３６１】

ＡＲＣＨＩＴＥＣＴの間接的アッセイを用いて、各ウサギについて抗体産生を決定した。アッセイフォーマットは、緩衝溶液に希釈した８００ｎｇ／ｍｌのそれぞれのビオチン

化ペプチドとともに、１０μｌのウサギ血清、および各ペプチド上のビオチンタグを介してペプチド／抗体複合体を捕捉するためにストレプトアビジンで被覆した０．０５％の微粒子を利用した。１８分間のインキュベーション後、磁気微粒子を洗浄し、１０ｎｇ／ｍｌのアクリジニル化ヤギ抗ウサギＩｇＧを含むコンジュゲート希釈液と反応させ、免疫複合体を介して固相に結合したウサギ抗体を検出した。試験前に、試料をＡＲＣＨＩＴＥＣＴ洗浄緩衝溶液で１：１００に希釈した。陰性対照（ＮＣ）ウサギ（いずれのＨＰｇＶ－２ペプチドも接種しなかった。）の相対光単位（ｒｌｕ）で表したシグナル（Ｓ）は、１９７と２５１の間であった。Ｓ／Ｎ値が、ＨＰｇＶ－２ペプチドで免疫化した５匹のウサギについて得られ、表２０に示される。ウサギ１３２１２および１３２１３のＳ／Ｎ値は、ペプチド４に対する反応性について１１９５および１１３１．１であり、ウサギ１３２１４および１３２１５は、ペプチド５について１０５６および１１６０であり、ウサギ１３２１６は、ペプチド９について８４９であり、すべてのウサギは、免疫化されなかったペプチドについて陰性であった。ウサギは免疫原ペプチドに対する特異的抗体を示し（表２０）、抗体は他のＨＰｇＶ－２ペプチドに対して交差反応性ではなかった。したがって、これらの過免疫血清は、様々な組織（血液）または器官（肝臓など）におけるＨＰｇＶ－２抗原の存在を決定するために利用することができ、このウイルスの細胞指向性を決定するのに有用であり得る。

【０３６２】

【表２５】

表 20

HPgV-2 ペプチドで免疫化したウサギ由来の血清は、免疫原配列に対して特異的反応性を示す。

ウサギ番号	免疫原ペプチド (Genscript)	800ng/mlのBTペプチドを用いた試験		
		ペプチド4	ペプチド5	ペプチド9
1回目の採血				
13212	PV4A (ペプチド4)	1195.0	0.7	0.5
13213	PV4A (ペプチド4)	1131.1	1.5	1.0
13214	PV5A (ペプチド5)	1.2	1055.9	0.6
13215	PV5A (ペプチド5)	1.6	1160.0	0.8
13216	PV9A (ペプチド9)	1.1	1.4	849.4

【０３６３】

ＨＰｇＶ－２ペプチドで免疫化されたまたは免疫化されていないウサギ血清（ＮＣ）からの採血を、ＡＲＣＨＩＴＥＣＴ間接アッセイによってペプチド特異的抗体についてアッセイした。陰性対照（免疫化されていないウサギ血清）についての相対光単位（ｒｌｕｓ）と指定されたペプチドで免疫化された各ウサギについてのシグナル対ノイズ（Ｓ／Ｎ）を示す。

【０３６４】

本出願において言及される全ての出版物および特許は、参照により本明細書に組み込まれる。記載される本発明の方法および組成物の様々な修飾および変形は、当業者には、本発明の範囲および精神から逸脱することなく、明らかである。本発明を、特定の好ましい実施形態に関連して記載してきたが、本発明は請求される通り、このような特定の実施形態に過度に限定されてはならないことを理解されたい。実際、当業者には明らかである、本発明を行うための記載される様式の様々な修飾は、以下の特許請求の範囲の範囲内にあるものとされる。

【図１Ａ】

FIG. 1A

ヒトペギウイルス２（ＵＣ０１２５．ＵＳ）核酸配列－配列番号１

```
   1 GTGTTTGACA ATGCCATGAG GGATCATGAC ACTGGGGTGA GCGGAGGCAG CACCGAAGTC
  61 GGGTGAACTC GACTCCCAGT GCGACCACCT GGCTTGGTCG TTCATGGAGG GCATGCCCAC
 121 GGGAACGCTG ATCGTGCAAA GGGATGGGTC CCTGCACTGG TGCCATGCGC GGCACCACTC
 181 CGTACAGCCT GATAGGGTGG CGGCGGGCCC CCCCAGTGTG ACGTCCGTGG AGCGCAACAT
 241 GGGGTGTTCA ACTGATCAAA CCATTTGTTC TCCAGTCGTG GGGGCCGACT ATAATACCTC
 301 CTCGGGCTGC CGGGCCTTAA ATGGGAGCTA CCACTGCGGT GGTGGCTCTT GCCGGTCACC
 361 AAGTCGTGTG CAGGTTGCGA GACGAGTCTT GCAGCTGTGC GCATTCCTTG CGCTGATCGG
 421 ATCCGGTATG TGTTCGATCC GGTCCAAAAC TGAAGGGCGC ATTGAGTCAG GGCAAATATT
 481 GCAGTCTCAG CGCGCATGTT GGACTGGTGA GGGTTTTGCT TTCTTTTCTA ACTGTTGCAA
 541 TCAATCTGAT ATTATGTGGT GTTTGCACCG TTGGTGTGTG ACAAGACCTG GCTGTTTAGT
 601 GTGCACGGGC AATGCCACCC ATCCTATCTG CTGGGACTAT CTTGGATCCG GTGTAAGTCG
 661 GCGGCCTGCA CGTCGAATGG GTGAGGGAGC TGAAGCGCTT CTTCGCTTGA TCGGCATTGC
 721 AGGTTGGCTT GGACTGTTAG CTGAGTCCCT TGGTATGTCC GAAGTCTATG CAGCTATTCT
 781 TTGCTTTGGA TTTATTGCTT GGTATGGCTG GGGTATACCT AAAACACTGG TGTGCACCGT
 841 CTGCCCTGCA GTGAACATTT CTCCCTATAG CTTCTTATCT CCAGATACTA TCGCATTTGG
 901 TACGTGGATA CTACAACTAC CTGGTCTTTT GTGGCAAATG TTTGTTAGCT TCCCTATACT
 961 CTACAGCACT TGGATTCTTT GGTTGTTGCT CAGCGGCAAG ACTGTTGCTG TGATAGCAAT
1021 CCTTCTGGCT AGTCCTACGG TTATGGCGTA CAAGCATCAA TCTGAAAGCT ACCTCAAATA
1081 CTGTACCATA ACCAATACTT CAACTTCTAT GAACTGTGAC TGCCCCTTTG GAACCTTTAC
1141 TCGCAATACT GAGTCTCGTT TCTCCATACC TAGATTCTGT CCTGTTAAAA TCAATAGCTC
1201 TACATTTATT TGTTCATGGG GGTCGTGGTG GTGGTTTGCT GAAAACATCA CGCGTCCATA
1261 CACGGACGTT GGCATGCCAC CAGCACCGAT TTCCGCTTTG TGCTATATCT ATTCTAACAA
1321 TGACCCACCT CCTTGGTATC ATAACACAAC TATCATACCT CAGAACTCTC GCAACTCTAC
1381 GGTGGATCCT ACCACAGCTC CATGCCGTGA CAAGTGGGGC AACGCAACTG CTTGTATTCT
1441 TCACCGCCGG TCGCGGTTCT GCGGGGACTG CTATGGCGGT TGTTTCTATA CTAATGGTAG
1501 TCATGATCGA TCCTGGGATC GATGCGGGAT TGGTTACCGT GATGGACTCA TAGAGTTCGT
1561 GCAGCTCGGT CAGATTCGAC CTAACATCTC GAATACGACC ATTGAGCTCC TCGCTGGCGC
1621 CTCGCTTGTG ATCGCATCCG GTCTTCGGCC TGGGTTTGGT TGCAGCCGAG CGCATGGCGT
1681 GGTGCACTGC TATAGGTGTC CTTCATACCG TGACCTTGAA CAGTTTGGTC CTGGGCTTGG
1741 GAAATGGGTG CCATTGCCCG GCGAGCCTGT CCCGGAGTTG TGTATCAACC CTCAGTGGGC
1801 GAGGCGCGGC TTCCGGATGT CTAATAATCC TCTGAGCTTG CTACAGACCT TCGTTGAGGA
1861 CATTTTCCTA GCGCCTTTTT GTAATCCGAC GCCTGGCCGT GTACGTGTGT GTAACAATAC
1921 CGCTTTCTAT CCAAGAGGAG GCGGCTTTGT GCAGCTCATC GGGGACGTCC AGGTGCTAAC
1981 CCCTAACACT GCATCTTTAC AGTCTCTGCT GACTTTGATA TCTCTTATCT TGTTGGTGTG
2041 TGTTGTTTCT GGTGCGCGAT TCGTTCCACT AATAATCATA TTTTTCTGGA GCGCGCGCCA
2101 TGTATATGCT TCTTGTTACT TAAGCTGTGA TTGGGCTGTT TGCAACGATG CGTTCTGTTT
2161 CACATCTGGC ACTTGTGCCA CCTTCAATGA CGTCTTGTGT CTGCCGGTTG CGACGCGCAT
2221 ATCGTCCTGT GGTCATGCTG TGCCACCTCC CGACCGTGGT TGGGAGGTGC CTGCGGCGAT
2281 GTCATGGGTG ATTTCGCGGA CTACTGGCCT GACGTTCGAT GTCTTTTCCT TCATTCAGTA
2341 CCTTCCTACT GTGCCTGGCA ACAACACCAA TATCATTTAC TGTGGTGAAC CAACCTTCCT
2401 CGGGGACATC ACGGGCATCT ATTGGCCTTA CTTTTTGCCT GGCGCAATCC TCTTGTACTT
2461 GACTCCCCTC CTAGGTTTAA GGTTAATGCT TGCCGGCTTC AATATAGATG GCTTGTTTCC
2521 CATACGGCAT GCCACGGCTG CACTGAGGTT TTCGACTTCT CGTGTGACCT TGTGTGTCGT
2581 AGTTGCTTTC CTAATCTATA TATTATCTCA CCCTGTTAAT GCTGCGCTCA ATAGAATGTT
2641 CTTAGCATCT GCAAATTTAG AGATGATCTT ATCTTTTGAT ACCTATCATG AGACTGTTCT
2701 TTATATCCTT TGTCTATTGC TCTACCTCCA GGTGTCGCCC CGTGCGGGCT TGGCCGCTAT
2761 GGTGGCCATC AAGCTATCTC GAGGCCTGTT ATTCGCTGTG GTGTTGGCGC ACGGTGTGTG
2821 CCGACCTGGG CGGGTATTTG GTCTTGAGGT TTGCGCGGAC ATCTCTTGGT TGGTGGAGTT
2881 TACTGGCAAT TGCACTTGGT ACATGTCCTG TGTCTTCTCT TTTTGGTGCG CAGTGTTTGC
2941 CTTCACCAGT CCACTTGGAC GACACTATAA GATTCAGATC TATCGGTACT GGGCGCAGGT
3001 CTATGCCAGA CTCGTCCTCG CTGTCGGTTG TCGTCCTCTC GGTCGAGAGT TCCATTTCCG
3061 TGCAAGTGAG GGCGTGCTGT GGTGTGGAGC TTGCATGCTC TGGCCCCGTG AGTGCTCTGA
3121 AATCAGCCTG GTCTTCATTC TGTGTGCTCT GACAGTGGAC ACCATAGACA CATGGTTAGT
```

【図１Ｂ】

FIG. 1B

```
3181 AGCGTGCTTG TCCGCAGGGC CGAGTGCGCG AACCCTTGCA ATTCTGGCCG ATGACATGGC
3241 GCGCATTGGT GACCACCGGG CGTTGCGCGC CGTGTTACGT TGCTTTGGAT CACGCGGCAC
3301 ATACATATAC AACCACATGG GCCAAGTCTC GGAACGGGTG GCGCAAGCAG TCAGGGATCT
3361 CGGCGGTTGC TTGGAACCAG TCGTGTTGGA GGAGCCCACC TTTACTGAGA TCGTGGATGA
3421 CACAATGAGT TTGGTGTGTG GACAATTGCT TGGAGGTAAA CCTGTGGTGG CCCGCTGCGG
3481 CACGCGTGTC TTGGTGGGAC ACCTCAACCC TGAAGATCTG CCACCTGGTT TCCAGCTGAG
3541 TGCTCCGGTG GTTATTACCA GGCCAAGCAT TGGTACGTGG TCCTTCCTTA AGGCGACACT
3601 CACAGGGCGT GCTGAAACAC CAGGGTCCGG CCAGATCGTG GTGTTGTCTT CCCTGACAGG
3661 TCGGTCAATG GGTACCGCAG TGAATGGCAC ACTGTATGCG ACCGGCCATG GTGCCGGCGC
3721 CCGCCCCCTA GCCACCTGCC CTGGTTTGAC GACCCCACTT TACACCGCAT TATCTGATCA
3781 TGTCGTGGCC TATTCTTGCC TTCCGGGCAT GAGTTCCCTA GACCCCTGCT GCTGTTCGCC
3841 GAGCCGGGTT TGGGTGATGA ATAACAACGG AGGGTTGGTG TGTGGCAGAG TGGAGAATGA
3901 CGACGTCTGT TTGGACTGTC CCACGCACAT AGATCAACTG CGGGGTGCTT CGGGCTCACC
3961 AGTTTTGTGT GATCACGGTC ATGCATACGC GTTGATGCTC GGTGGTTACT CTACCAGTGG
4021 TATTTGTGCA CGCGTCCGGA CGGTCCGGCC ATGGCATAAC GCCTATTCCT CCTCGGGGGG
4081 GCAAGGCGGA ATGCAGGCGC CAGCTGTGAC ACCAACATAC TCTGAAATCA CCTACTATGC
4141 CCCTACTGGT TCTGGTAAGT CAACAAAATA TCCAGTGGAC CTAGTCAAAC AGGGACACAA
4201 AGTATTGGTC CTTTTACCAA GTGTGGCTGT AGTCAAAAGT ATGGCCCCTT ATATTAAGGA
4261 GACATATAAG ATCAGACCCG AAATTAGAGC TGGCACAGGT CCTGACGGTG TGACGGTCAT
4321 CACTGGTGAG AACTTGGCGT ACATGACCTA TGGCCGCTTC CTTGTGGATC CGGAGACGAA
4381 TCTGCGGGGC TATGCTGTAG TCATTTGCGA CGAGTGTCAC GACACATCAT CCACCACGCT
4441 ACTCGGCATT GGCGCAGTGC GCATGTATGC CGAGAAAGCT GGAGTGAAGA CCGTTGTATT
4501 CGCCACAGCC ACCCCTGCTG GCATTCAAGT ACAGTCACAT TCCAACATTG ATGAATACTT
4561 ATTGACTGAC ACAGGCGACG TGGAATTTTA CGGCGCCAAA ATCAAAATGG ACAACATCAG
4621 AACTGGTAGA CATGTTATCT TTTGCCACTC GAAGGCCAGG TGTGCGGAAC TAACGCAGCA
4681 GCTCTCCGGC CTTGGCATTC GTGCAGTGAG TTTTTGGCGC GGCTGTGACA TCAAAACCAT
4741 TCCCGCCTCA GACTCCATTG TTGTGGTGGC AACTGATGCA TTGTCCACGG GCTACACAGG
4801 AAACTTTGAT TCGGTCATCG ACTGCGGGTG TTGCGTGGAG CAAACTGTGA CAATTGACAT
4861 GGACCCTACG TTCTCCATCT CGGCCCGAGT GGTGCCATGT ACTGCTGCAT TGCGCATGCA
4921 GCGGCGCGGA CGTACCGGTC GTGGTAGAAG GGGAGCGTAC TACACAACTT CTCCAGGAGC
4981 AGCACCCTGC GTCAGCGTTC CCGATGCTAA CGTCTGGCAA GCAGTGGAGA GCGCCATGGT
5041 CTTTTATGAT TGGAGTGCTA CCAGGATACA ACAGTGCCTG GCGGCATACC ATGATTTGGG
5101 CTGCACACCA CGCATCAGCT GTGACCCACA CACTCCAGTG CGGGTGATGG ACCACCTGAG
5161 GGCGTACCTG CGCAGACCTG AGGTGACGAC TGCAGCTCTC GCAGGAGAGC AGTGGCCGCT
5221 GCTTTATGGT GCGCAGTTGT GCATCTGCAA AGAGACCGAG GCCCACGGTC CTGATGATAG
5281 CATCAAGTGG AAGTGCTTAC TAACAACAG TAACAAAACA CCCTCTGTTGT ATGCCTTAGA
5341 CAATCCTACA CTGGAATTCA CAACCCAACA TGACTTGACT CGCCGTATAG CCGGCGCTCT
5401 ATCGAGCACA GTGTTCGTGG AGACAGGCTA CGGCCCCATC CTCCTTGCTG GCGCCGCTTT
5461 GGCTGCCTCC TTCGCCTTTG CGGGCGCCAC TGGAGCTTTA GTGCCGTCGG CTGTTTGGAG
5521 CGTTGAGGTC AGGCCTGCTG GCGTGACCCG TCCCGACGCG ACAGACGAGA CCGCGGCCTA
5581 CGCACAGCGC TTGTACCAAG CCTGTGCAGA TTCAGGAATT TTCGCCAGCT TGCAGGGTAC
5641 GGCGAGTGCG GCGCTGGGCA AACTGGCCGA CGCCAGTAGG GGTGCTAGTC AATATCTGGC
5701 AGCCGCGCCT CCTTCACCCG CCCCCCTGGT ACAGGTGTTG CAGTTCCTCG AGACCAACTT
5761 TAGCTCCATT GCATCTTTCG GCCTGCTCTG TGCTGGCTGC CAGGCTGGCG AGTGCTTCAC
5821 TGCGCTTGCT GGCTTGGTGT CCGGTGCTAC AGCTGGCTTG GGGGGTGCCC ATAAGTGGCT
5881 ATTAGCTATT GCAGGAACTT GGCTGGTTAG CTTGCAGACC GGGTCCCGTG GCGGCATGGT
5941 TGCGGGCCTC TCGATTCTAG CGGGCTGTTG CATCGGTAGT GTCACCGGGC TTGACTTCCT
6001 GTTTGGGTGC CTTACAGGTT GGGAAGCCGT GGTCGGCGCT GCGGTTGCGA CACAGAAGAT
6061 CTTGTCTGGT TCAGCTGATA TGACCACTCT GGTAGATCTC TTACCTGCTC TTTTCTCCCC
6121 CGGTGCCGGC ATAGCTGGCA TCGTGCTTGT CTTCATCTTA AGCAATTCAA GTGTAACCAC
6181 ATGGGCTAAT CGGCTATTAT CCATGTGTGC CAAACAAACC ATTTGTGAAA ACTACTTCTT
6241 AAGTGAAAGA TTTGGCCAAC AATTAAGCAA ACTTTCCCTG TGGCGCTCTG TGTACCATTG
6301 GGCGCAGGCA CGTGAGGGAT ACACACAGTG CGGCGTGATC AGCGGGATCT GGAGCTTCGC
6361 CTTGTGCATT CTACGCGCTG TGTGGGATTG GGCGGCCAAG CATGTGCCAC GGTTCCGTGT
6421 GCCTATGATT GGCTGCTCAC CTGCGTGGTG CGGGCGCTGG CTTGGTACCG GCACCTTGTT
```

【図１Ｃ】

FIG. 1C

```
6481 GACCACCTGT GCGTGTGGAG AACGTGTGTC CCTTCAGTGC CTTTGCTCAA CATCTGACCC
6541 ACAACTCAGT GTGGGCCGTT GGTGTCGGTG TAGTTGGAGT GTCGGGTTCC CATTCAACCC
6601 GACTACGACA GGCACTGGCA CCTTACGGCC GGACATCAGT GACGCCAACA AATTGGGTTT
6661 CCGGTATGGC GTTGCCGACA TCGTGGAGCT AGAGCGGCGG GGCGACAAAT GGCACGTCTG
6721 TGCAGCATCA TGTTGCTTGG ACCGGGCCAG CGTTGCATCC GCTGTGAAGG CCCCACCGGT
6781 CACGGCTAAT GGTATACCTA TTAATAGCTT TTCTCCACCA CAAACTTATT GCCTATCTCT
6841 CTGTTCCTTT GATACAGTTT GCATGTCTAC TAACTTATGT AACCCAGCTA AGACCCTGAG
6901 TGTGTGCCAA GAGGAGGCGG TTGAGCTGCT GGAAGAGACA GTTGACACAG CACAAGTAGT
6961 GATGAGCCAA AATCTGGCAG CGCGTAGACG CGCTGAGTAT GATGCATGGC AGGTTCGCCA
7021 AGCAGTTGGC GACGAGTACA CGCGTTTGGC AGACGAGGAT GTTGACATGA CAGCGTCGGT
7081 GAAACCCCCA GTGGCCAGGG CTGCTGTGGG TAGCTCAACG TTGGATGATG TTAGCGTGCT
7141 GACTGTCTTA CGCGAACTCG GCGACCAGTG CCAAAATGCT ATCAAATTTG TAGTTCAGGC
7201 GGCTTCACGG TTTGTTCCAC CAGTGCCCAA GCCACGCACG CGTGTCTCGG GTGTCTTGGA
7261 GCGCGTGCGC ATGTGCATGC GCACGCCTCC AATCAAGTTT GAGGCCACCG CAGTACCAAT
7321 TCATAATATA ATCCCAGAAG AGTGTCATAT TGTGCTACGC TGTACCGGCT GTTGTGACCA
7381 GGCCTTGACC GTTCCGTACG GCACTTGCTC TCTGACTTTA ACCAAATATT TGACTAACAA
7441 ACACAGTCAC TATATTCCAA AAGAGAAGAT AGAAGAAGAC ACAGAAATAG CTGTCATTTG
7501 CGCCGTACCA ACAAAGCGCG CAAGTAAACT TATCACTTTC AGAGCAGGTG ACCGATCAGT
7561 CTCATGTTGT CACCCCTTGC AAACTCCTAT TAGGGCCCTG CTTCAAAAGT ATGGGTTACC
7621 TATTGGGAAG TGGTCCGACT GCAACGGGCC CCTTGGTGAC GACGCCCGAG TCTGTGACGT
7681 CAATGGAGTG ACAACTTATG AACCATGCAT GCAATCCTAC AATTGGTTCC GATCGATTGT
7741 GGCACCAACA ACCCCACCTT TACCTGCAAC CCGGACCCTG GCTGGCATTT TGCCCGCAGA
7801 CACATCGCGC GTCTACACCA CAACAGCGGT TGATGTCTCC GAGCGGCAGG CTAAGGTCAC
7861 GATTGATCAA AAGTCAGCCA AGGTGGACCA GTGTCTCCGA GACACATACA ATTGCTGCCT
7921 TGCCAAGGCA AAGACCTTCA GACAATCTGG CATGTCATAT GAGGATGCTG TGTCAAAGAT
7981 GCGCGCAAAC ACCACGCGTG ATCATAACAA CGGCACCACT TATACAGATT TGGTCTCTGG
8041 ACGCGCAAAA CCTGTCGTTC AGAAAATTGT AGATCAGATG CGCGCTGGAG TGTACGAGGC
8101 TCCAATGCGC ATTATTCCAA AACCTGAAGT GTTTCCACGA GACAAGTCAA CACGGAAGCC
8161 ACCACGGTTC ATCGTTTTCC CTGGGTGTGC CGCACGAGTC GCGGAGAAAA TGATCCTGGG
8221 CGATCCTGGC GCGATAACCA AGCACGTGCT AGGTGATGCC TACGGGTTTG CCACTCCGCC
8281 GCATGAGCGC GCGCGCCTAC TGGAACAATG GTGGAACCGC GCAACGGAGC CACAAGCTAT
8341 CGCGGTTGAT GCAGTCTGCT TTGATAGCAC CATCACGGCA GAGGACATGG ATCGTGAGGC
8401 CAACATCGTG GCTGCAGCGC ATACGGACCC GGAAGGTGTT CACGGCCTAT ACAATTATTA
8461 CAAAAGAAGC CCCATGTGTG ATATCACAGG AAAAGTTGTC GGGGTGCGTA GCTGTCGAGC
8521 CTCAGGTACG CTTACAACAA GCAGTGGCAA CACGCTTACT TGCTACCTCA AGGTTCGCGC
8581 AGCTTGCACG CGCGCCGGCA TTAAACCAAT TGGCTTACTA ATCCATGGAG ATGACACCCT
8641 CATTATCACA GAACGTTGCG CTCAGGAAAC TCTCGATGAG TTCAGCAACG CGCTTGATGA
8701 CTATGGGTTT ACTCACACCA TGCAGGTGTC TGGGGACCTC TCGTCTATCG AGTGCTGCAG
8761 CGCACGTGTG GACAGCGTTT GCCTCCGGGG ACGTATGCGT CGCATGCTCG TGCCACAAGC
8821 TCGACGTGCG ATTGCACGCG TTCTCGGGGA AAAGGGCGAT CCACTGGGTG TTATCAGCAG
8881 CTATATTGTC ATGTATCCTA CTGCGGCTGT GACTGTCTAC GTTCTGATGC CCCTGTTGTG
8941 CATGCTCATT CGAAATGAGC CATCGCAGAC GGGGACACTT GTAACGTTGA CGGTCCACGG
9001 TAACAGTGTG AGCGTGCCAG TGTGGCTGCT TCCAACCATT ATTGCAAATT TACATGGCCG
9061 TGACGCACTA CAGGTTGTCC GTCACAGTGC AGCTTCCATG GCGGAACTGT CCTCAGCGTT
9121 GGCCTTCTTT GGCATGAGAG GGTTGAACTG CTGGAGGCGG AGACGCCGTG CCATCAGGAC
9181 TGATATGATC AAGTTGGGCG GGTGGAATGC GAATTTCGCG CAGATGTTAC TGTGGTCACC
9241 GGAGGTAAGA ACACCACAGC CCGAACCAAA GGGCACGTGT CTCTTGCCAC CGGAACTATG
9301 GGAGCGTCCG TACGAAAATT TGCACTTGAG CACGACCGAC CGCAATCGTG GTGCTAGTCG
9361 CTTACGGTTT TGGTTGGTTG CTAGTGCTAT ACTCGCTCTG CTTTGCTTGT AAATCCTAAA
9421 TCAATGTAGT ACCAGGACTA CAAGGCAGGA GGTGAAGTCA GCTGTACCCA CGGCTGGCTG
9481 AAACCGGGGC TTGACGACCC CCCCTATCCG AGTTGGGCAA GGTAACATCA CGGGTGTGAC
9541 GACCCCGCCC CCCCATGTCG CGCGCAAGCG CACGGGCAAG GCAGCTAGGC TGAGAGTCTG
9601 GGCAACTCTC CCGTACCCCA CCCGAGGCTA CGCCTCGTCC TGGCGAGGAC CGTAAACATA
9661 CGTCGTCAGC GTGGTGACCT GACGTATCTT GTTAACCACT TAATGGTCGT AACTCGACCC
9721 CCGTGCCGGG GATCTAAGCG CGGCACCGCG AYGAGAGGGG TCAACGGCCC CTTTCATT
```

【図２Ａ】

FIG. 2A

ヒトペギウイルス２（ＵＣ０１２５．ＵＳ）遺伝子および非翻訳領域

Ｓタンパク質および遺伝子配列

Ｓタンパク質アミノ酸配列：（配列番号２）

```
MEGMPTGTLIVQRDGSLHWCHARHHSVQPDRVAAGPPSVTSVERNMGCSTDQTICSPVVGADYNTSSGCRALNGSYH
CGGGSCRSPSRVQVARRVLQLCAFLALIGSGMCSIRSKTEGRIESGQ
```

Ｓタンパク質遺伝子配列：配列番号１のヌクレオチド１０４－４７５

Ｅ１タンパク質および遺伝子配列

Ｅ１アミノ酸配列：（配列番号３）

```
ILQSQRACYTGEGFAFFSNCCNQSDIMWCLHRWCVTRPGCLVCTGNATHPICWDYLGSGVSRRPARRMGEGAEALLR
LIGIAGWLGLLAESLGMSEVYAAILCFGFIAWYGWGIPKTLVCTVCPA
VNISPYSFLSPDTIAFGTWILQLPGLLWQMFVSFPILYSTWILWLLLSGKTVAVIAILLASPTVMA
```

Ｅ１遺伝子配列：配列番号１のヌクレオチド４７６－１０４８

Ｅ２タンパク質および遺伝子配列

Ｅ２アミノ酸配列：（配列番号４）

```
YKHQSESYLKYCTITNTSTSMNCDCPFGTFTRNTESRFSIPRFCPVKINSSTFICSWGSWWWFAENITRPYTDVGMP
PAPISALCYIYSNNDPPPWYHNTTIIPQNCRNSTVDPTTAPCRDKWGNATACILDRRSRFCGDCYGGCFYTNGSHDR
SWDFCGIGYRDGLIEFVQLGQIRPNISNTTIELLAGASLVIASGLRPGFGCSRAHGVVHCYRCPSYRDLEQFGPGLG
KWVPLPGEPVPELCINPQWARRGFRMSNNPLSLLQTFVEDIFLAPFCNPTPGRVRVCNNTAFYPRGGGFVQLIGDVQ
VLTPNTASLHSLLTLISLILLVCVVSGARFVPLIIIFFWSARHVYA
```

Ｅ２遺伝子配列：配列番号１のヌクレオチド１０４９－２１１０

Ｘタンパク質および遺伝子配列

Ｘタンパク質アミノ酸配列：（配列番号５）

```
SCYLSCDWAVCNDAFCFTSGTCATFNDVLCLPVATRISSCGHAVPPPDRGWEVPAAMSWVISRTTGLTFDVFSFIQY
LPTVPGNNTNIIYCGEPTFLGDITGIYWPYFLPGAILLYLTPFLGLRLMLAGFNIDGLFFPIRHATAALRFSTSRVTL
CVVVAFLIYILSHPVNAALNRMFLASANLEMILSFDTYHETVLYILCLLLYLQVSPRAGLAAMVAIKLSRGLLFAVV
LAHGVC
```

Ｘタンパク質遺伝子配列：配列番号１のヌクレオチド２１１１－２８２１

【図２Ｂ】

FIG. 2B

ＮＳ２タンパク質および遺伝子配列

ＮＳ２アミノ酸配列：（配列番号６）
RPGRVFGLEVCADISWLVEFTGNCTWYMSCVFSFWCAVFAFTSPLGRHYKIQIYRYWAQVYARLVLAVGCGPLGREF
HFRASVGVLWCGACMLWPRECSEISLVFILCALTVDTIDTWLVACLSAGPSARTLAILADDMARIGDHRALRAVLRC
FGSRGTYIYNHMGQVSERVAQAVRDLGGCLEPVVLEEPTFTEIVDDTMSLVCGQLLGGKPVVARCGTRVLVGHLNPE
DLPPGFQLS

ＮＳ２遺伝子配列：配列番号１のヌクレオチド２８２２－３５４１

ＮＳ３タンパク質および遺伝子配列

ＮＳ３アミノ酸配列：（配列番号７）
APVVITRPSIGTWSFLKATLTGRAETPGSCQIVVLSSLTGRSMGTAVNGTLYATCHGAGARCLATCAGLRTPLYTAL
SDDVVAYSCLPGMSSLDPCCCSPSRVWVMNNNGGLVCGRVENDDVCLDCPTHIDQLRGASGSPVLCDHGHAYALMLG
GYSTSGICARVRTVRPWHNAYSSSGGQGGMQAPAVTPTYSEITYYAPTGSGKSTKYPVDLVKQGHKVLVLLPSVAVV
KSMAPYIKETYKIRPEIRAGTGPDGVTVITGENLAYMTYGRFLVDPETNLRGYAVVICDECHDTSSTTLLGIGAVRM
YAEKAGVKTVVFATATPAGIQVQSHSNIDEYLLTDTGDVEFYGAKIKMDNIRTGRHVIFCHSKARCAELTQQLSSLG
IRAVSFWRGCDIKTIPASDSIVVVATDALSTGYTGNFDSVIDCGCCVEQTVTIDMDPTFSISARVVPCTAALRMQRR
GRTGRGRRGAYYTTSPGAAPCVSVPDANVWQAVESAMVFYDWSATRIQQCLAAYHDLGCTPRISCDPHTPVRVMDTL
RAYLRRPEVTTAALAGEQWPLLYGAQLCICKETEAHGPDDSIKWKCLLNNSNKTPLLYALDNPTLEFTTQHDLTRRI
AGALSSTVFVET

ＮＳ３遺伝子配列：配列番号１のヌクレオチド３５４２－５４２５

ＮＳ４Ａタンパク質および遺伝子配列

ＮＳ４Ａアミノ酸配列：（配列番号８）
GYGPILLAGAALAASFAFAGATGALVPSAVWSVEVRPAGVT

ＮＳ４Ａ遺伝子配列：配列番号１のヌクレオチド５４２６－５５４８

ＮＳ４Ｂタンパク質および遺伝子配列

ＮＳ４Ｂアミノ酸配列：（配列番号９）
RPDATDETAAYAQRLYQACADSGIFASLQGTASAALGKLADASRGASQYLAAAPPSPAPLVQVLQFLETNFSSIASF
GLLCAGCQAGECFTALAGLVSGATAGLGGAHKWLLAIAGTWLVSLQTGSRGGMVAGLSILAGCCIGSVTGLDFLFGC
LTGWEAVVGAAVATQKILSGSADMTTLVDLLPALFSPGAGIAGIVLVFILSNSSVTTWANRLLSMCAKQTICENYFL
SERFGQQLSKLSLWRSVYHKAQAREGYTQCG

ＮＳ４Ｂ遺伝子配列：配列番号１のヌクレオチド５５４９－６３３４

【図２Ｃ】

FIG. 2C

ＮＳ５Ａタンパク質および遺伝子配列

ＮＳ５Ａアミノ酸配列：（配列番号１０）
VISGIWSFALCILRAVWDWAAKHVPRFFVPMIGCSPAWCGRWLGTGTLLTTCACGERVSLQCLCSTSDPQLSVGRWC
RCSWSVGFPFNPTTTGTGTLRPDISDANKLGFRYGVADIVELERRGDKWHVCAASCCLDRASVASAVKAPPVTANGI
PINSFSPPQTYCLSLCSFDTVCMSTNLCNPAKTLSVCQEEAVELLEETVDTAQVVMSQNLAARRRAEYDAWQVRQAV
GDEYTRLADEDVDMTASVKPPVARAAVGSSTLDDVSVLTVLRELGDQCQNAIKFVVQAASRFVPPVPKPRTRVSGVL
ERVRMCMRTPPIKPEATAVPIHNIIPEECHIVLRCTGCCDQALTVPYGTCSLTLTKYLTNKHSHYIPKEKIEEDTEI
AVICAVPTKRASKLITFRAGDRSVSCCHPLQTPIRALLQKYGLPIGKWSDCNGPLGDDARVCDVNGVTTYEPC

ＮＳ５Ａ遺伝子配列：配列番号１のヌクレオチド６３３５－７７０８

ＮＳ５Ｂタンパク質および遺伝子配列

ＮＳ５Ｂアミノ酸配列：（配列番号１１）
MQSYNWFRSIVAPTTPPLPATRSVAGILRADTSRVYTTTAVDVSERQAKVTIDQKSAKVDQCLRDTYNCCLAKAKTF
RQSGMSYEDAVSKMRANTTRDHNNGITYTDLVSGRAKPVVQKIVDQMRAGVYDAPMRIIPKPEVFPRDKSTRKPPRF
IVFPGCAARVAEKMILGDPGAITKHVLGDAYGFATPPHERARLLEQWWNRATEPQAIAVDAVCFDSTITAEDMDREA
NIVAAAHTDPEGVHGLYNYYKRSPMCDITGKVVGVRSCRASGTLTTSSGNTLTCYLKVRAACTRAGIKPIGLLIHGD
DTLIITERCAQETLDEFSNALDDYGFTHTMQVSGDLSSIECCSARVDSVCLRGGMRRMLVPQARRAIARVLGEKGDP
LGVISSYIVMYPTAAVTVYVLMPLLCMLIRNEPSQTGTLVTLTVHGNSVSVPVWLLPTIIANLHGRDALQVVRHSAA
SMAELSSALAFFGMRGLNCWRRRRRAIRTDMIKLGGWNANFAQMLLWSPEVRTPQPEPKGMCLLPPELWERPYENLH
LSTIDRNRGASRLRFWLVASAILALLCL

ＮＳ５Ｂ遺伝子配列：配列番号１のヌクレオチド７７０９－９４０９

５’ＵＴＲ配列

５’ＵＴＲ配列：配列番号１のヌクレオチド１－１０３

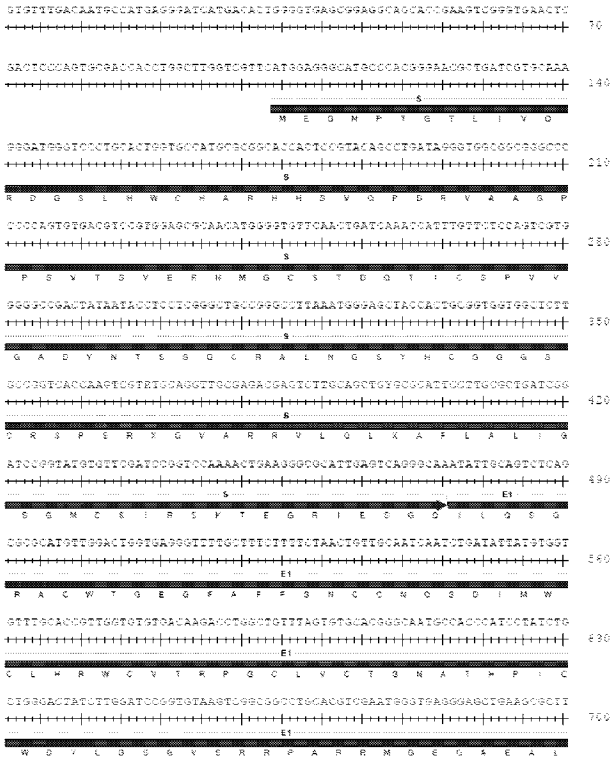
３’ＵＴＲ配列

３’ＵＴＲ配列：配列番号１のヌクレオチド９４１０－９７７８

【図３Ａ】

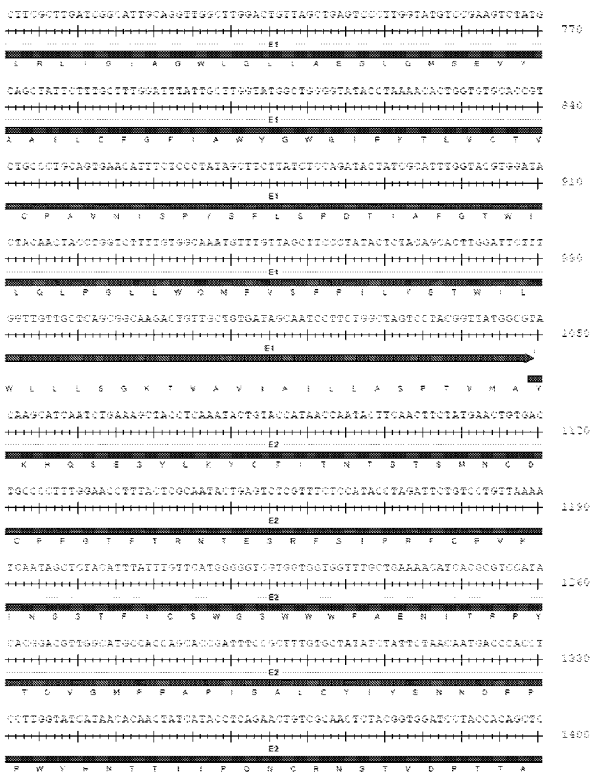
FIG. 3A

ヒトペギウイルス２（ＵＣ０１２５．ＵＳ）弱毒化ゲノム



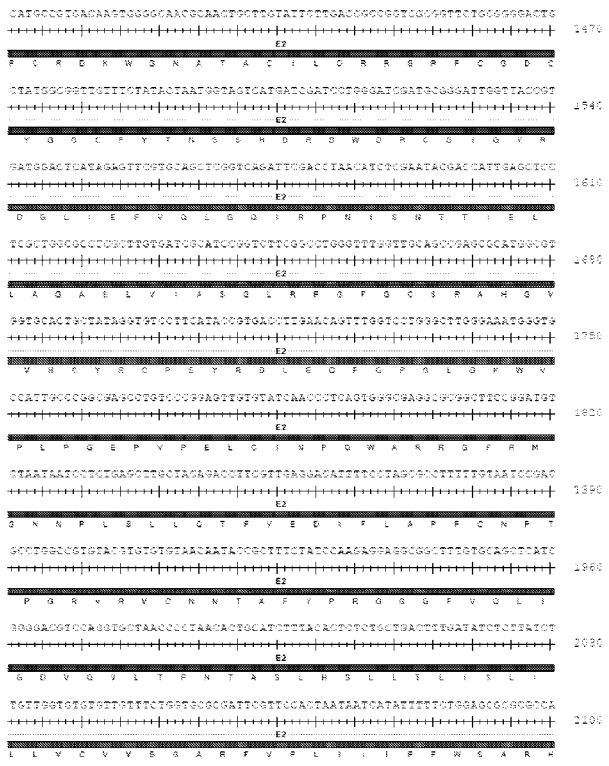
【図３Ｂ】

FIG. 3B



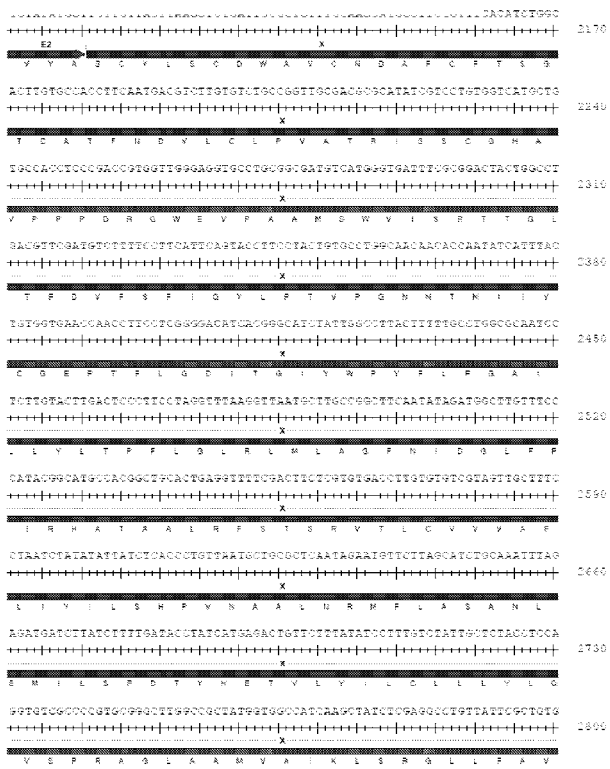
【図３Ｃ】

FIG. 3C



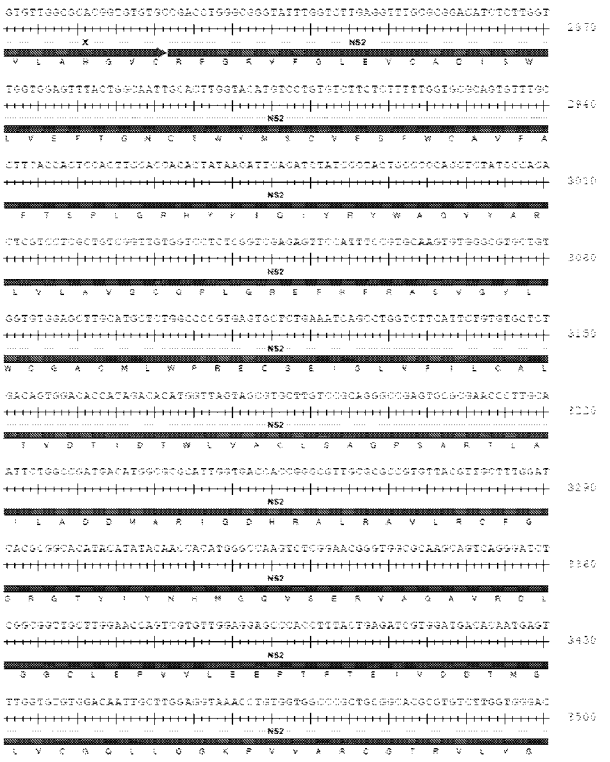
【図３Ｄ】

FIG. 3D



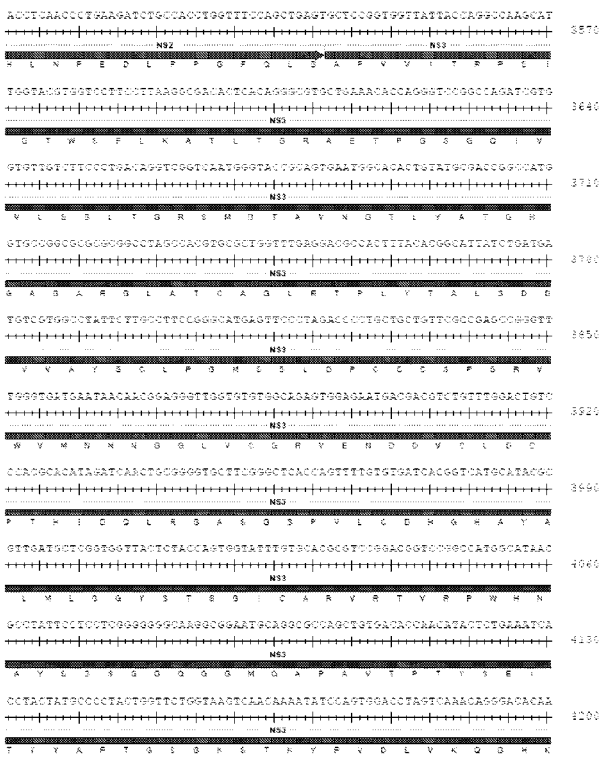
【図３Ｅ】

FIG. 3E



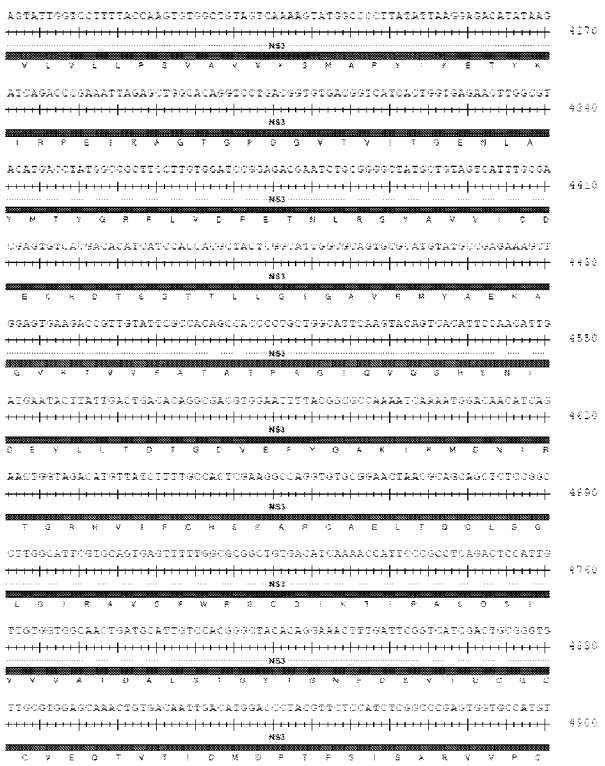
【図３Ｆ】

FIG. 3F



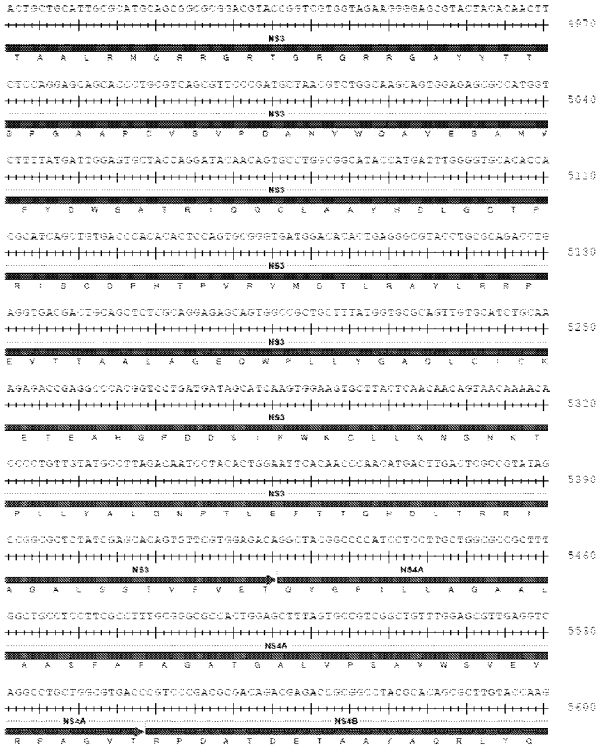
【図３Ｇ】

FIG. 3G



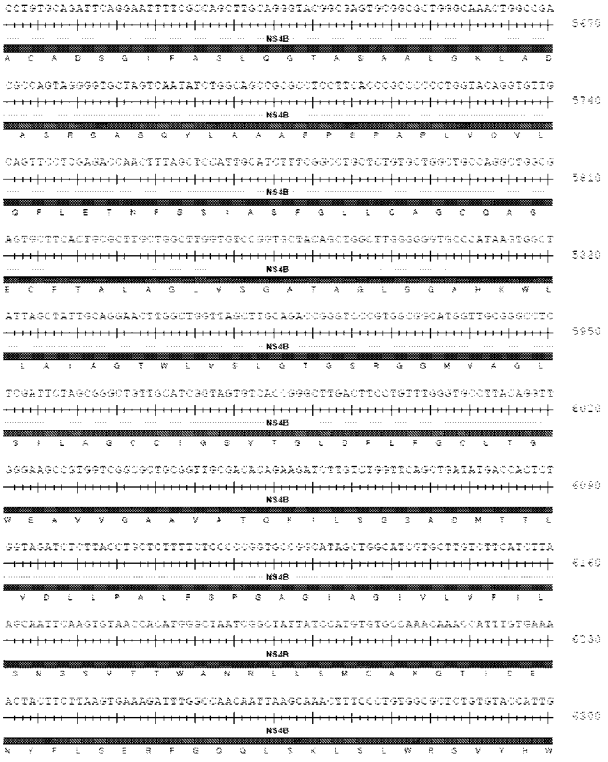
【図３Ｈ】

FIG. 3H



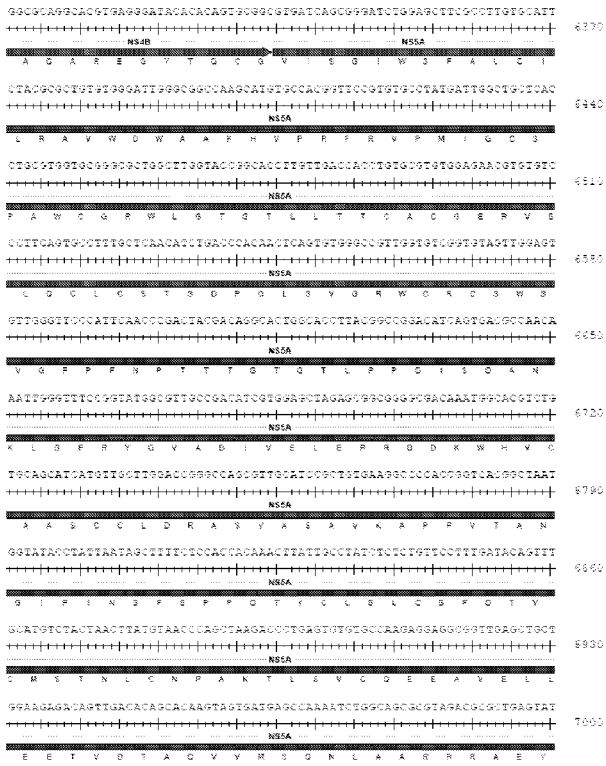
【図３Ｉ】

FIG. 3I



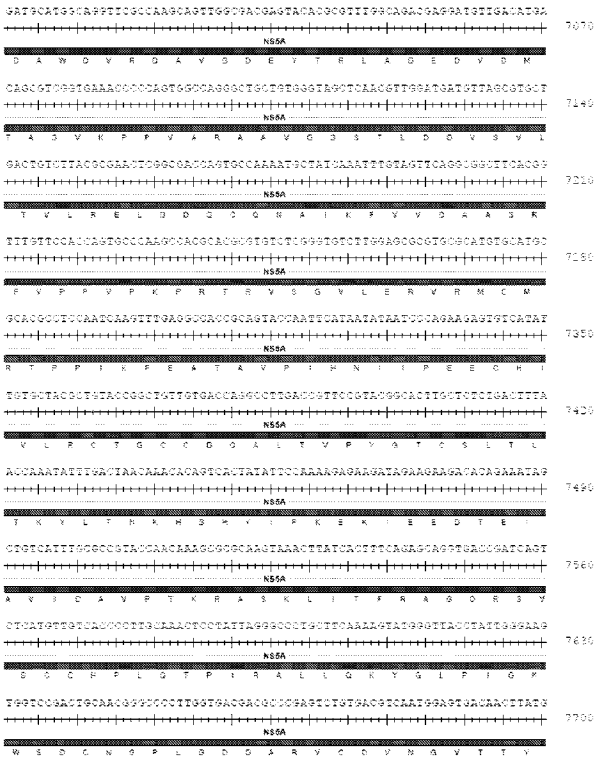
【図３Ｊ】

FIG. 3J



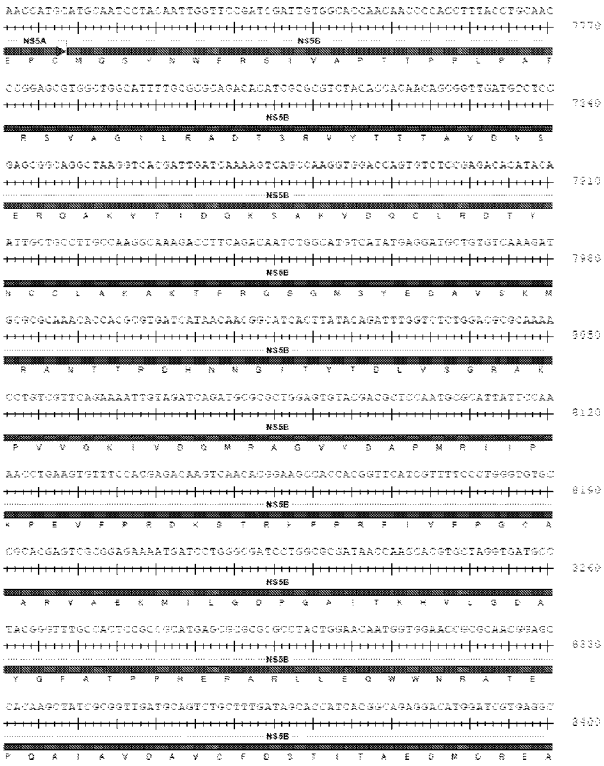
【図３Ｋ】

FIG. 3K



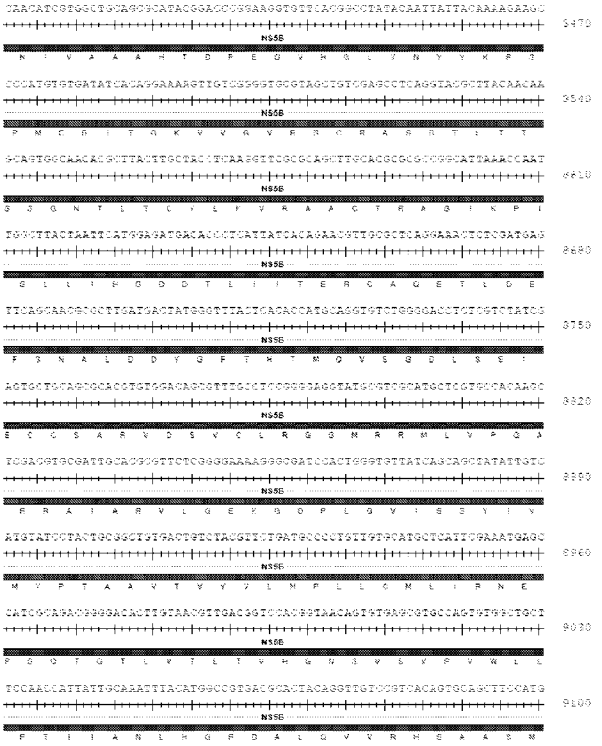
【図３Ｌ】

FIG. 3L



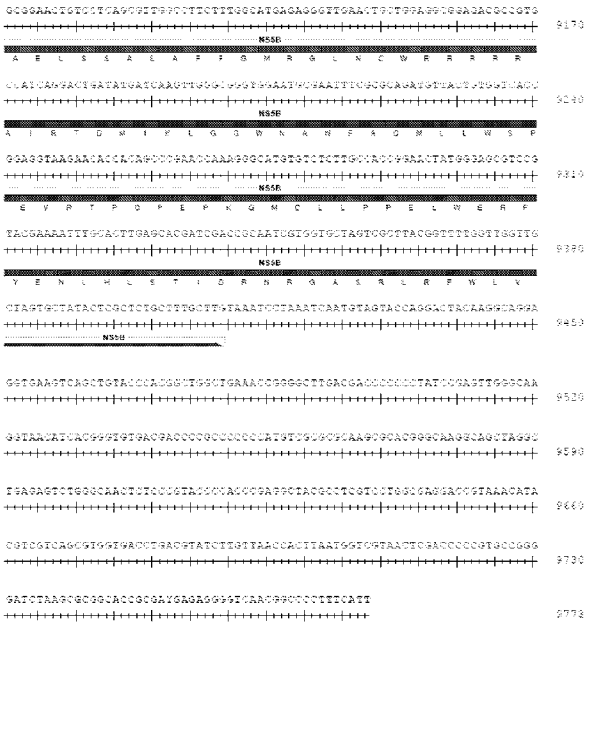
【図３Ｍ】

FIG. 3M



【図３Ｎ】

FIG. 3N



【図４】

FIG. 4

CCACCGGGCGTTGCGCGCCGTGTTACGTTGCTTTGGATCACGCGGCACATACATATACAACCACATGGGCCAAGTC

セット 5 Fwd →

TCGGAACGGGTGGCGCAAGCAGTCAGGGATCTCGGCGGTTGCTTGGAACCAGTCGTGTTGGAGGAGCCCACCTT

← プローブ 5R ← セット 5 Rev

TACTGAGATCGTGGATGACACAATGAGTTTGGTGTGTGGACAATTGCTTGGAGGTAAACCTGTGGTGGCCCGCTG

セット 2 Fwd → ← プローブ 2 R

CGGCACGCGTGTCTTGGTGGGACACCTCAACCCTGAAGATCTGCCACCTGGTTTCCAGCTGAGTGCTCCGGTGGTT

← セット 2 Rev + セット 7 Fwd → プローブ 7F →

ATTACCAGGCCAAGCATTGGTACGTGGTCCTTCCTTAAGGCGACACTCACAGGGCGTGCTG

← セット 7 Rev

ATCGTGGTGTTGTCTTCCCTGACAGGTCGGTCAATGGGTACCGCAGTGAATGGCACACTGTATGCGACC

GGCCATGGTGCCGGCGCGCGCGGCCTAGCCACGTGCGCTGGTTTGAGGACGCCACTTTACACGGCATTATCTGAT

GATGTCGTGGCCTATTCTTGCCTTCCGGGCATGAGTTCCCTAGACCCCTGCTGCTGTTCGCCGAGCCGGGTTTGGG

セット 4 Fwd → ← プローブ 4R セット 3 Fwd → ← セット 4 Rev

TGATGAATAACAACGGAGGGTTGGTGTGTGGCAGAGTGGAGAATGACGACGTCTGTTTGGACTGTCCCACGCAC

← プローブ 3R ← セット 3 Rev

ATAGATCAACTGCGGGGTGCTTCGGGCTCACCAGTTTTGTGTGATCACGGTCATGCATACGCGTTGATGCTCGGTG

GTTACTCTACCAGTGGTATTTGTGCACGCGTCCGGACGGTCCGGCCATGGCATAACGCCTATTCCTCCTCGGGGGG

セット 15 Fwd →

GCAAGGCGGAATGCAGGCGCCAGCTGTGACACCAACATACTCTGAAATCACCTACTATGCCCCTACTGGTTCTGGT

セット 15 プローブ → ← セット 15 Rev

AAGTCAACAAAATATCCAGTGGACCTAGTCAAACAGGGACACAAAGTATTGGTCCTTTTACCAAGTGTGGCTGTAG

TCAAAAGTATGGCCCCTTATATTAAGGAGACATATAAGATCAGACCCGAAATTAGAGCTGGCACAGGTCCTGACG

GTGTGACGGTCATCACTGGTGAGAACTTGGCGTACATGACCTATGGCCGCTTCCTTGTGGATCCGGAGACGAATCT

セット 1 Fwd →

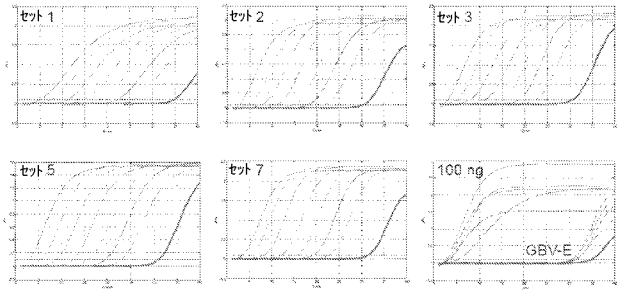
GCGGGGCTATGCTGTAGTCATTTGCGACGAGTGTCACGACACATCATCCACCACGCTACTCGGCATTGGCGCAGT

← プローブ 1 R ← セット 1 Rev

GCGCATGTATGCCGAGAAAGCTGGAGTGAAGACCGTTGTATTCGCCACAGCCAC

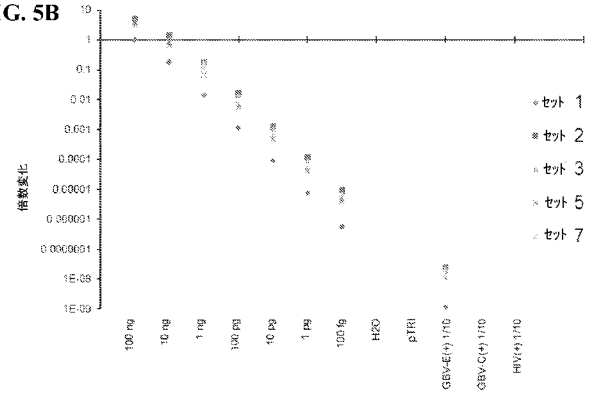
【図５Ａ】

FIG. 5A



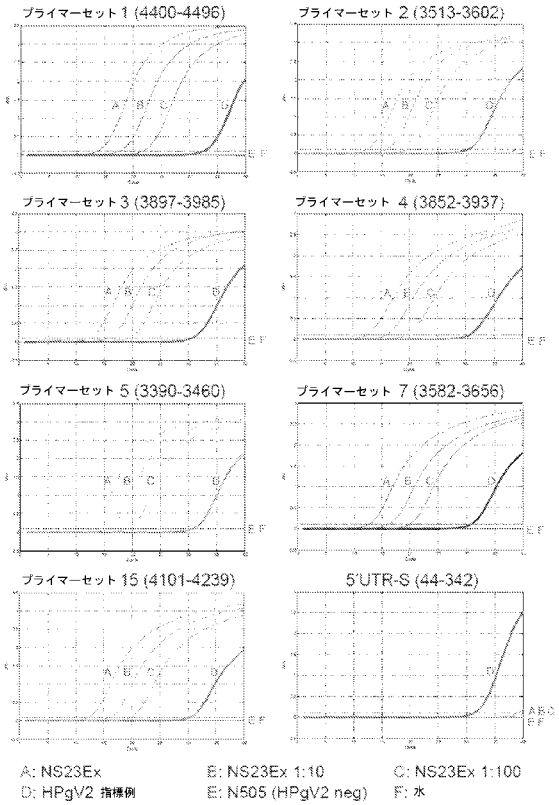
【図５Ｂ】

FIG. 5B



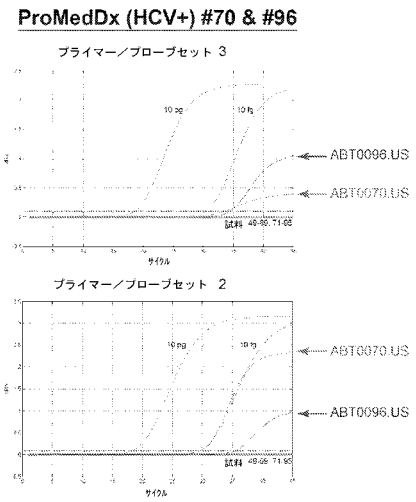
【図６】

FIG. 6



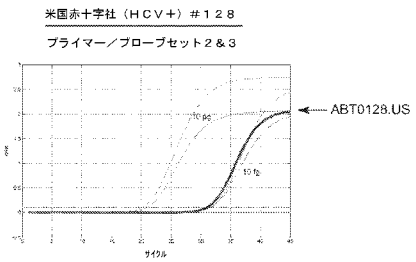
【図７Ａ】

FIG. 7A



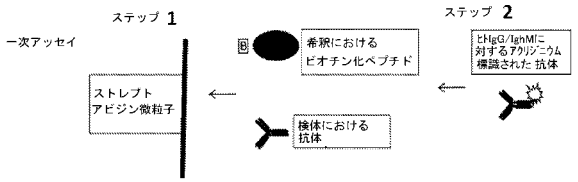
【図７Ｂ】

FIG. 7B



【図８】

FIG. 8



【図９Ａ】

FIG. 9A

ヒトペギウイルス２（ＡＢＴ００７０Ｐ．ＵＳ）核酸配列ー配列番号７５

```
   1 GTGTTTGACG TGTGACAATG CCATGAGGGA TCATGACACT GGGGTGAGCG GAGGCAGCAC
  61 CGAAGTCGGG TGAACTCGAC TCCCAGTGCG ACCACCTGGC TTGGTCGTTC ATGGAGGGCA
 121 TGCCCACGGG AACGCTGATC GTGCAAAGGG ATGGGTCCCT GCACTGGTGC CATGCGCGGC
 181 ACCACTCCGT ACAGCCTGAT AGGGTGGCGG CGGGCCCCCC CAGTGTGACG TCCGTGGAGC
 241 GCAACATGGG GTGTTCAACT GATCAAACCA TTTGTTCTCC AGTCGTGGAG GCCGACTATA
 301 ATACCTCCTC GGGCTGCCGG GCCTTAAACG GGAGCTACCA CTGCGGTGGT GGCTCTTGCC
 361 GGTCACCAAG TCGTGTGCAG GTTGCAGGAC GAGTCCTGCG GCTGTGCGCA TTCCTTGCGC
 421 TGATCGGATC CGGTATGTGT TCCATCCGGT CCAAAAATGA AGGGCGCATT GAGTCAGGGC
 481 AAATATTGCA GTCTCAGCGC GCATGTTGGA CTGGTGAGGG TTTCGCTTTC TTTTCTAACT
 541 GTTGCAATCA ATCTGACATT ATGTGGTGTT TGCACCGTTG GTGTGTGACA AGACCTGGCT
 601 GTTTGGTGTG CACGGGCAAT GCCACTCATC CTGTCTGCTG GGACTATCTT GGGTCCGGTG
 661 TGAGTCGGCG GCCTGCGCGT CGAATGGGCG AGGGAGCTGA AGTGCTTCTT CGCTTGATCG
 721 GCATTGCAGG TTGGCTCGGG CTCTTAGCTG AGGCTCTTGG TATGTCTGAG ATCTATGCAG
 781 CTTTCCTTTG CTTTGGATTT ATTGCTTGGT ATGGCTGGGG TATACCTAAG ACATTGGTGT
 841 GCACAGTCTG CCCTGCAGTG AACATTTCTC CCTATAGCTT CTTATCTCCA GATACTATCG
 901 CATTTGGTAC GTGGCTACTA CAACTGCCCG GTCTTTTGTG GCAAATGTTT GTCAGCTTCC
 961 CTATACTTTA CAGTACTTGG ATTCTTTGGT TGTTGCTCAG CGGCAAGACT GTTGCTGTGA
1021 TAGCGATCCT TTTGGCTAGT CCTACGGTCA TGGCATACAA GCATCAAGCT GATAGCTACC
1081 TCAAATACTG TACCATAACC AATGCTTCAA CTGCTATGAA CTGTGACTGC CCCTTTGGAA
1141 CTTTCACTCG CAATACTGAG TCTGGTTTCA CTATACCTAG ATTCTGTCCT GTTAAACTTA
1201 ATAGCTCTAC ATTTATCTGT TCATGGGGGT CGTGGTGGTG GTTTGCTGAG AACATCACAC
1261 GTCCATACTC GGACGTTGGC ATGCCGCCAG CACGGATTTC CGCTTTGTGC TATATCTATT
1321 CAAACAATGA CCCACCTTCT TGGTATCGTA ACACAACTAT CATACCTCAG AACTGTTACA
1381 ACTCTACGGC TGATCCTACC ACAGCTCCAT GCCGTGACAA GTGGGGCAAT GCAACTGCTT
1441 GTATTCTTGA CCGCCGGTCG CGGTTCTGCG GGGACTGCTA TGGCGGTTGC TTCTACACTA
1501 ATGGTAGTCA TGACCGATCC TGGGATCGAT GCGGAATTGG TTACCGTGAT GGACTCATAG
1561 AGTTCGTGCA GCTCGGTCAG ATTCGACCTA ACATCGCGAA TACGACCATT GAGCTCCTCG
1621 CTGGCCCCTC GCTTGTCATC GCATCCGGTC TTCGGGCTCG GTATGGTTGC AGCCCAGCGC
1681 ACGGCGTGGT GCACTGCTTT AAGTGTCCTT CATACCGTGA CCTTGAACGG TTCGGGCCCG
1741 GGCTTGGGAA ATGGGTGCCA TTGCCTGGCG AGCCTGTCCC GGAGTTGTGT ATTAACCCGC
1801 ACTGGGCGAG GCGCGGCTTC CGGGTGTCTA ATAATCCCTT AAGCGTGCTA CAGACCTTCG
1861 TTGAGGACAT TTTCTTAGCG CCTTTCTGCA ATCCGACGCC TGGCCGTGTA CGTGTGTGTA
1921 ACAATACTGC TTTCTACCCG AGAGGAGGCG GCTTTGTGCA GCTCATCGGA GACGTCCAGG
1981 TGTTAACCCC CAACTCTACA TCTTTGCACT CTCTGCTGAC TTTGATATCC CTTATCTTGT
2041 TAGTGTGTGT TGTTTCTGGC GCGCGATTCG TTCCATTGGG AATCATATTC TTCTGGAGCG
2101 TGCGCCACGT ATATGCTTCT TGTTACTTAA GCTGTGATTG GGCTGTTTGC AACGATGCGT
2161 TCTGTTTCAC ATCTGGCACT TGTGCTACCT TCAACGACGT CTTGTGTCTG CCGGTTGCGG
2221 CGCGCATATC GTCCTGTGGC CATGCTGTGC CACCGCCCGA CCGTGGTTGG GAGGTGCCCG
2281 CAGCGATGTC ATGGGCGATT TCGCGTACTA CCGGCTTGAC GTTCGATGTC TTTTCCTTCA
2341 TCCAGTACCT TCCTACTGTG CCTGGCAACA ATTCCGATAT CATTTACTGT GGTGAACCAA
2401 GCTTCTTCGG GGACATCACG GGTATCTACTT GGCCTTACTT TTTGCCTGGC ATGTTGCTCT
2461 TGTACTTGAC TCCCCTCCTG GGTTTAAGGT TAATGCTTGC CGGCTTTAAT ATAGATGGCT
2521 TGTTTCCCAT ACGGCATGCC ACGGCTGCAC TGAGGTTCTC GACTTCGCGT GTGACCTTGA
2581 GTGTCGTATT TGCTTTCCTA ATCTATATAT TATCTCATCC TGTTAATGCT GCGCTCAATA
2641 GAATGTTCCT AGCATCTGCA AATCTAGAGA TGATCTTATC CTTTGATACC TATCATGAGA
2701 CTGTTCTTTA CGTCGTTTGT CTATTGCTCT ACCTCCAGGT GTCGCCCCGT GCGGGCTTGG
2761 CTGCTATGGT GGCCATCAAG CTATCTCGAG GCCTGTTATT CGCTGTGGTG TTGGCGCACG
2821 GAGTGTGCCG ACCTGGGCGG GTATTTGGTC TTGAGGTTTG CGCGGACATC TCTTGGTTGG
2881 TGGAGTTTAC TGGCAACTGC ACTTGGTACA TGTCCTGTGT CTTCTCTTTT TGGTGCGCAG
2941 TGTTTGCCTT CACCAGTCCA CTTGGACGAC AGTATAAGCT TCAGATCTAT CGGTACTGGG
3001 CGCAGGCCTA TGCCAGACTC ATCCTCGCTG TCGGTTGTGG TCCTCTCGGG AGGGAGTTCC
3061 ATTTCCGTGC GAGCGTGGGC GTGCTCTGGT GTGGTGCTTG CATGCTCTGG CCCCGTGAGT
```

【図９Ｂ】

FIG. 9B

```
3121 GCTCTGAAAT CAGCTTGGTC TTTATTCTGT GTGCTCTGAC TGTGGACACC ATAGACACAT
3181 GGTTAGTAGC GTGCTTGTCC GCAGGGCCAA GCGCGCGAAC CCTTGCAACT CTGGCCGATG
3241 ACATGGCGCG CATTGGTGAC CACCGGGCGT TGCGCGCCGT GTTGCGTTGC TTTGGATCAC
3301 GTGGCACATA CATATACAAC CACATGGGCC AGGTCTCAGA ACGGGTGGCG CAAGCAGTCA
3361 GGGATTTCGG CGGTTGCTTG GAACCAGTCG TGTTGGAGGA GCCCACCTTT ACTGAGGTCG
3421 TGGATGATAC AATGAATTTG GTGTGTGGAC AATTGCTTGG AGGTAAACCC GTGGTGGCCC
3481 GCTGCGGCAC GCGTGTCTTA GTGGGACACC TCAACCCTGA AGACCTGCCA CCTGGTTTCC
3541 AGCTGAGTGC TCCGGTGGTT ATTACCAAAC CAAGCATTGG TACGTGGCCC TTTCTTAAGG
3601 CGACACTCAC AGGGCGTGCT GAAACACCGG GATCCGGCCA GATCGTGGTG TTGTCTTCCC
3661 TGACAGGTCG GTCAATGGGT ACTGCAGTGA ATGGCACACT GTATGCGACC GGCCACGGTG
3721 CTGGTGCGCG CGGCCTAGCC ACGTGCGCTG GTTTGAGGAC GCCACTTTAC ACGGCATTAT
3781 CTGAAGATGT CGTGGCCTAC TCTTGCCTTC CGGGCATGAG CTCCCTAGAG TCCTGCAACT
3841 GCTCGCCCAG CCGGGTTTGG GTGGTGAACA ACAACGGAGG GTTGGTGTGT GGCAGAGTGG
3901 AGAAAGACGA CGTCTGTTTG GACTGTCCCA CGCACATAGA TCAACTGCGG GGTGCTTCGG
3961 GGTCGCCGGT TTTGTGTGAT CACGGTCATG CATACGCGTT GATGCTCGGT GGCTACTCTA
4021 CCAGTGGTAT TTGTGCGCGT GTCCGGATAG TCCGGCCATG GCAGAACGCC TATTCCTCCT
4081 CAGGGGGGCA AGGCGGAATG CAGGCGCCAG CTGTGACACC AACATACTCT GAAATCACCT
4141 ACTATGCCCC TACTGGTTCT GGTAAATCAA CAAAATATCC AGTGGACCTA GTCAAGCAGG
4201 GACACAAAGT ATTAGTCCTT TTACCAAGTG TGGCTGTCGT CAAAAGTATG GCTCCTTACA
4261 TTAAGGAAAA ATATAAGATT AGACCTGAAA TTAGAGCTGG CACAGGGCCT GACGGTGTGA
4321 CGGTCATCAC TGGCGAGAAC TTGGCGTACA TGACCTATGG CCGTTTCCTT GTAGATCCGG
4381 AAACCAATCT GCGGGGTTAC GCTGTAGTCA TCTGCGACGA GTGCCATGAC ACATCATCCA
4441 CCACGCTACT CGGCATCGGC GCAGTGCGCA TGTATGCTGA GAAAGCTGGA GTGAAGACCG
4501 TTGTATTCGC CACAGCCACT CCTGCTGGCA TTCAAGTGCA GTCACATCCC AACATTGATG
4561 AATATCTATT GACTGATACA GGCGACGTGG AATTCTACGG CGCTAAAATT AAATTGGACA
4621 ACATCAGAAC TGGTAGACAT GTTATCTTTT GCCACTCGAA GGCCAGGTGT GCGGAACTAA
4681 CGCAGCAGCT CTCCGGCCTT GGTGTTCGTG CAGTGAGTTT TTGGCGCGGC TGTGACATCA
4741 AGAGCATTCC CGCCTCAGAC TCTATTGTTG TAGTGGCAAC TGATGCATTG TCCACAGGCT
4801 ACACAGGGAA CTTTGATTCG GTCATTGACT GCGGGTGTTG CGTAGAGCAA ACTGTAACAA
4861 TTGACATGGA CCCCACGTTC TCCATCTCGG CCCGAGTGGT GCCATGCACT GCTGCATTGC
4921 GTATGCAGCG GCGCGGACGC ACCGGTCGTG GCAGGAGGGG AGCGTACTAC ACAACCACTC
4981 CAGGAGCAGC ACCCTGCGTC AGCGTTCCCG ATGCTAACGT CTGGCAATCA GTGGAGTCAG
5041 CCATGGTCTT TTATGATTGG AGTGCTGCCA GGATAGAGCA ATGCCTGGCG GCATACCATG
5101 ATTTAGGGTG CACACCACGC ATCAGTTGTG ACCCACACAC TCCAGTGCGG GTGATGGACA
5161 CACTGAGGGC GTATCTGCGC AGACCTGAGG TGACGACCGC GGCTCTCGCA GGAGAGCAGT
5221 GGCCGCTGCT TTACGGCGTG CAGTTGTGCA TCTGCAAAGA GACCGAGGCC CACGGTCCAG
5281 ACGATGGCAT CAAGTGGAAA TGCTTACTCA ATAACAACAA CAAAACACCC CTGTTGTATG
5341 CCTTAGACAA TCCTACACTG GAATTCACTA CCCAACATGA CTTGACTCGC CGTATAGCTG
5401 CCGCTTTATC GACCACACTG TTCCTCGAGA CAGGCTACGG CCCCATCCTC CTCCCTGGCG
5461 CTGCTTTGGC TGCCTCCTTT GCCTTTGCGG GCGCCACTGG AGCTTTAGTG CCGTCGGCCG
5521 TTTGGAGCGT TGAAAACGGG CTTGCTGGCG TGACCCGTCC CGATGCGACA GACGAGACCG
5581 CGGCCTACGC GCAGCGCTTG TACCAAGCCT GCGCAGATTC AGGAATCTCC GCCAGCTTGC
5641 AGGGTACGGC GAGTGCGGCA CTGAGCAGAC TGGCCGATGC CAGTAAGGGT GCTAGTCAAT
5701 ATCTGGCAGC CGCGCCTCCT TCGCCCGCCC CCCTGGTACA GGTGCTGCAG TTCCTCGAGA
5761 CCAATTTTAG CTCCATTGCA TCTTTCGGTC TGCTCTGTGC CGGCTGTCAG GCCGGCGAGT
5821 GCTTCACTGC GCTTGCCGGG TTGGTGTCCG GTGCTACAGC TGGCTTGGGA GGTGCCCATA
5881 AGTGGTTGTT AGCTATTGCA GGAACTTGGC TAGTTAGCTT GCAGACTGGG CCCCGTGGCG
5941 GCATGGTTGC GGGTCTCTCA GTTCTAGCAG GCTGTTGCAT CGGTAGTGTC ACCGGGCTTG
6001 ACTTCCTGTT TGGGTGCCTT ACAGGTTGGG AGGCCGTGGT CGGTGCTGCG GTTGCAACGC
6061 AGAAAATCTT GTCTGGTTCG GCTGACATGA CCACTCTGGT AGATCTCCTA CCTGCTCTCT
6121 TCTCCCCTGG CGCCGGCATA GCTGGCGTCG TGCTTGTCTT TATTCTAAGC AACTCAAGTG
6181 TAACCATGTC GGCTAATCGG CTATTGTCCA TGTGTGCAAA ACAAACTATT TGTGAAAATT
6241 ACTTCTTAAC TGAGAAATTT GGCCAACAAT TAAGCAAACT TTCCCTGTGG CGCTCTGTGT
6301 ACCATTGGGC GCAGGCACGT GAAGGATACA CACAGTGCGG TGTGGTCAGC GGGATCTGGA
6361 GCTTTGTCTT GTGCATTCTA CGTGCTGTGT GGGATTGGGC GGCTAAACAT GTGCCACGGT
6421 TCCGTGTGCC TATGATTGGC TGCTCACCTG CGTGGTGCGG GCGCTGGCTT GGTACTGGCA
```

【図９Ｃ】

FIG. 9C

```
6481 CCTTGTTGAC CACCTGTGGG TGTGGAGAAC GTGTATCCCT TCAGTGCCTT TGCTCGACAT
6541 CTGACCCAAC ACTCAGTGTG GGCCGTTGGT GTTGGTGTAG TTGGCGTGTT GGGTTCCCAT
6601 TCAACCCGAC GACGACAGCC ACCGGCACTT TACGGCCGGA CATCAGTGAC GCCACCAAAT
6661 TGGGCTTCCG GTATGGTGTC GCCGAGATCG TGGAGCTAGA GCGGCGGGGC AACAAATGGC
6721 ATGTCTGTGC AGCATCATGT TGCTTGGACC GGGCCAGCGT TGCATCCGCC GTGAGGGCCC
6781 CACCGGTCAC GGCCGATGGC ATACCTATCA GTACCTTTTC TCCACCACAA ACTTACAAAC
6841 TCTCTCTTTG TTCTTTTGAT TCAGTTTGCA TGACTACTAA CTTATGTAAT CCAGCTAAGA
6901 CCCTGAGTGT GTGCTCGCAG GAGGCTGTTG AGCTACTGGA AGAAACAGTT GACAGAGCAC
6961 AAGTAGTGAT GTGTCAAAAT CTGGAGGCGC GAAGACGCGC TGAGTTTGAT GCATGGCAAG
7021 TTCGCGAAGC AATTCGCGAC GAGTACACGC GTTTGGCAGA CGAGGATGTT GACGCGACAA
7081 CCTCCGCTGAA ACCCCCCGTG GCCAAGGCTG CTCTGGGTAG CTCGACCTTG GATGATCTTA
7141 GCGTGCTGAC TGTCTTGCGC GAACTCGGTG ACCAGTGCCA AAATGCTATC AAATTTGTAG
7201 TTCAGGCGGC TTCACGGTTT GTTCCACCAG TGCCCAAGCC ACGCACGCGT GTCTCGGGTG
7261 TGTTGGAGCG TGTGCGCATG TGCATGCGCA CGCCACCAAT CAAGTTTGAG GCTGCCGCAG
7321 TACCAATTCA TGATATAATC CCAGAAGAGT GTCACATTGT GCTACGCTGT ACCGGCTGCA
7381 ACGACCAGGC CTTGACTGTT CCGTACGGCA CTTGCACTCA GTCTTTAATC AAGCATTTGA
7441 CTAGTAAACA CAGTCACTAC ATTCCAAAAC AGAAGATAGA AGAGGACACA GAAGTAACTG
7501 TCATTTGCGC CGTACCAACA ACGCGCGCAA GCAAACTCAT CACATTCAGA GCAGGTGATC
7561 GATCAGTCTC ATGTTGTCAC CCCTTGCAAA CCCCTATTAG GGCCCTGCTT CTAAAGTACG
7621 GGTTACCTAT CGGGAAGTGG TCTGACTGCA ACGGGCCCCT TGGTGACGAT GCTCGAGTCT
7681 GTGACGTCAA TGGAGTAACA ACTTATGAAC CATGCATGCA ATCCTACAGT TGGTTTCGAC
7741 CGATTGTGGC ACCAACAACC CCACCTTTGC CTGCAACCCG GACCGTGGCT GGCATTTTAC
7801 GCGCAGACAC ATCGCGCGTT TACACCACAA CGGCGGTTGA CGTCTCCGAG CGGCAGGCCA
7861 AGGTCACAAT TGATCAAACA TCAGCCAAGG TGGATCAGTG TTTCCGAGAC ACATACAATT
7921 GCTGCCTTGC TAAGGCAAAG ACCTTCAGAC AATCTGGCAT GTCATATGAG GATGCTGTGT
7981 CAAAGATGCG CGCAAACACC ACGCGTGACC ATAACAACGG CATCACTTAT TCAGATTTGG
8041 TCTCTGGACG CGCAAAACCT GTCGTTCAGA AAATTGTAAA TCAAATGCGC GCCGGAGTGT
8101 ACGACGCTCC GATGCGCATT ATCCCAAAAC CTGAAGTGTT CCCTCGAGAC AAAACAACAC
8161 GGAAGCCACC GAGGTTCATC GTTTTCCCTG GGTGCGCCGC GCGAGTCGCG GAGAAAATGA
8221 TCCTGGGTGA TCCTGGCGCG ATAACCAAGC ACGTGCTAGG TGATGCCTAC GGGTTTGCCA
8281 CTCCGCCGCA TGAGCGCGCG CGCCTGTTGG AACAATGGTG GAACCGCGCA ACGGAGCCAC
8341 AAGCTATCGC GGTTGATGCG ATCTGCTTTG ATAGCACCAT CACGGCAGAG GACATGGATC
8401 GTGAGGCTAA CATCGTGGCT GCAGCGCATA CGGACCCTGA AGGTGTTCAC GGCCTATATA
8461 ATTATTACAA AAGAAGCCCC ATGTGTGACA TCACGGGGAA GGTTGTCGGA GTGCGTTGCT
8521 GTCGAGCCTC GGGTACGCTT ACAACAAGCA GTGGCAACAC GCTTACTTGC TACCTTAAGG
8581 TTCGTGCAGC TTGCACGCGC TCCGGCATTA AACCAATTGG CTTACTAATT CATGGAGATG
8641 ACACCCTCAT CGTCACAGAA CGTTGCGCTC AAGAGACTCT CGATGAGTTC AGCAACGCAC
8701 TTGATGACTA TGGGTTCCCA CACACCATCC AGGCGTCTGG GGACCTCTCG TCTATCGAGT
8761 GCTGTAGCGC ACGTGTGGAC ACCGTTTGCC TCCGGGGAGG TATGCGTCCC ATGCTTGTGC
8821 CACAAGCTCG ACGTGCGATT GCACGCGTTC TCGGGGAAAA GGGCGATCCA CTGGGTACCA
8881 TCGGTAGCTA TGTTGTCATG TATCCCACTG CGGCCGTGAC TGTCTACGTG CTATTGCCCC
8941 TGTTGTGCAT GCTCATACGA AATGAGCCAT CACAGACGGG GACACTTGTG ACGCTGACGG
9001 TCCACGGTAA CAGTGTGAGT GTGCCAGCGT GGCTGCTTCC AACCATCATT GCAAATTTAC
9061 ATGGTCGTGA CGCACTACAG GTAGTCCGTC ACAGTGCAGC TTCCATGGCG GAATTGTCAT
9121 CAGCGTTGGC CTTCTTTGGC ATGAGAGGGT TGAATTGCTG GAGGCGGAGA CGCCGTGCCA
9181 TTAGGGCTGA TATGATCAAG TCGGGCGGGT GGAATGCGAA TTTCGCGCAG ATGTTACTGT
9241 GGTCACCGGA GGTAAGAACA CCACAACCCG AACCAAGGGG TCTGTGTCTT TTGCCGCCGG
9301 AACTGTGGGA GCGTCCGTAC GAAAATTTGC ACTTGAGCAC GATCGACCGC AATCGTGGTG
9361 CTAGTCGCTT ACGGTTTTGG TTGGTTGCTA GTGCTATACT CGCTCTGCTT TGCTTGTAAA
9421 TCTTAAATCA A
```

【図１０Ａ】

FIG. 10A

ヒトペギウイルス２（ＡＢＴ００７０Ｐ．ＵＳ）遺伝子および非翻訳領域

Ｓタンパク質および遺伝子配列

Ｓタンパク質アミノ酸配列：（配列番号７６）
MEGMPTGTLIVQRDGSLHWCHARHHSVQPDRVAAGPPSVTSVERNMGCSTDQTICSPVVEADYNTSSGCRALNGSYH
CGGGSCRSPSRVQVAGRVLRLCAFLALIGSGMCSIRSKNEGRIESGQ

Ｓタンパク質遺伝子配列：配列番号７５のヌクレオチド１１１－４８２

Ｅ１タンパク質および遺伝子配列

Ｅ１アミノ酸配列：（配列番号７７）
ILQSQRACWTGEGFAFFSNCCNQSDIMWCLHRWCVTRPGCLVCTGNATHPVCWDYLGSGVSRRPARRMGEGAEVLLR
LIGIAGWLGLLAEALGMSEIYAAFLCFGFIAWYGWGIPKTLVCTVCPAVNISPYSFLSPDTIAFGTWLLQLPGLLWQ
MFVSFPILYSTWILWLLLSGKTVAVIAILLASPTVMA

Ｅ１遺伝子配列：配列番号７５のヌクレオチド４８３－１０５５

Ｅ２タンパク質および遺伝子配列

Ｅ２アミノ酸配列：（配列番号７８）
YKHQADSYLKYCTITNASTAMNCDCPFGTFTRNTESGFTIPRFCPVKLNSSTFICSWGSWWWFAENITRPYSDVGMP
PAPISALCYIYSNNDPPSWYRNTTIIPQNCYNSTADPTTAPCRDKWGNATACILDRRSRFCGDCYGGCFYTNGSHDR
SWDRCGIGYRDGLIEFVQLGQIRPNIANTTIELLAGASLVIASGLRAGYGCSRAHGVVHCFKCPSYRDLERFGPGLG
KWVPLPGEPVPELCINPQWARRGFRVSNNPLSVLQTFVEDIFLAPFCNPTPGRVRVCNNTAFYPRGGGFVQLIGDVQ
VLTPNSTSLHSLLTLISLILLVCVVSGARFVPLGIIFFWSVRHVYA

Ｅ２遺伝子配列：配列番号７５のヌクレオチド１０５６－２１１７

Ｘタンパク質および遺伝子配列

Ｘタンパク質アミノ酸配列：（配列番号７９）
SCYLSCDWAVCKDAFCFTSGTCATFNDVLCLPVAARISSCGHAVPPPDRGWEVPAAMSWAISRTTGLTFDVFSFIQY
LPTVPGNNSDIIYCGEPSFFGDITGIYWPYFLPGMLLYLTPLLGLRLMLAGFNIDGLFPIRHATAALRFSTSRVTL
SVVFAFLIYILSHPVNAALNRMFLASANLEMILSFDTYHETVLYVVCLLLYLQVSPRAGLAAMVAIKLSRGLLFAVV
LAHGVC

Ｘタンパク質遺伝子配列：配列番号７５のヌクレオチド２１１８－２８２８

【図１０Ｂ】

FIG. 10B

ＮＳ２タンパク質および遺伝子配列

ＮＳ２アミノ酸配列：（配列番号８０）
RPGRVFGLEVCADISWLVEFTGNCTWYMSCVFSFWCAVFAFTSPLGRQYKLQIYRYWAQAYARLILAVGCGPLGREF
HFRASVGVLWCGACMLWPRECSEISLVFILCALTVDTIDTWLVACLSAGPSARTLATLADDMARIGDERALRAVLRC
FGSRGTYIYNHMGQVSERVAQAVRDFGGCLEPVVLEEPTFTEVVDDTNNLVCGQLLGGKPVVARCGIRVLVGHLNPE
DLPPGFQLS

ＮＳ２遺伝子配列：配列番号７５のヌクレオチド２８２９－３５４８

ＮＳ３タンパク質および遺伝子配列

ＮＳ３アミノ酸配列：（配列番号８１）
APVVITKPSICTWPFLKATLTGRAETPGSGQIVVLSSLTGRSMCTAVNGTLYATGHGAGARGLATCAGLRTPLYTAL
SEDVVAYSCLPGMSSLESCNCSFSRVWVVNNNGGLVCGRVEKDDVCLDCPTHIDQLRGASGSPVLCDHGHAYALMLG
GYSTSGICARVRIVRPWQNAYSSSGGQGGMQAPAVTPTYSEITYYAPTGSGKSTKYPVDLVKQGHKVLVLLPSVAVV
KSMAPYIKEKYKIRPEIRAGTGPDGVTVITGENLAYMTYGRFLVDPETNLRGYAVVICDECHDTSSTTLLGIGAVRM
YAEKAGVKTVVFATATPAGIQVQSHPNIDEYLLTDTGDVEFYGAKIKLDNIRTGRHVIFCHSKARCAELTQQLSGLG
VRAVSFWRGCDIKSIPASDSIVVVATDALSTGYTGNFDSVIDCGCCVEQTVTIDMDPTFSISARVVPCTAALRMQRR
GRTGRGRRGAYYTTTPGAAPCVSVPDANVWQSVESAMVFYDWSAARIEQCLAAYHDLGCTPRISCDPETPVRVMDTL
RAYLRRPEVTTAALAGEQWPLLYGVQLCICKETEAHGPDDGIKWKCLLNNNNKTPLLYALDNPTLEFTTQHDLTRRI
AGALSSTVFVET

ＮＳ３遺伝子配列：配列番号７５のヌクレオチド３５４９－５４３２

ＮＳ４Ａタンパク質および遺伝子配列

ＮＳ４Ａアミノ酸配列：（配列番号８２）
GYGPILLAGAALAASFAFAGATGALVPSAVWSVENGLAGVT

ＮＳ４Ａ遺伝子配列：配列番号７５のヌクレオチド５４３３－５５５５

ＮＳ４Ｂタンパク質および遺伝子配列

ＮＳ４Ｂアミノ酸配列：（配列番号８３）
RPDATDETAAYAQRLYQACADSGILASLQGTASAALSRLADASKGASQYLAAAPPSPAPLVQVLQFLETNFSSIASF
GLLCAGCQAGECFTALAGLVSGATAGLGGAHKWLLAIAGTWLVSLQTGPRGGMVAGLSVLAGCCIGSVTGLDFLFGC
LTGWEAVVGAAVATQKILSGSADMTTLVDLLPALFSPGAGIAGVVLVFILSNSSVTMWANRLLSMCAKQTICENYFL
TEKFGQQLSKLSLWRSVYHWAQAREGYTQCG

ＮＳ４Ｂ遺伝子配列：配列番号７５のヌクレオチド５５５６－６３４１

【図１０Ｃ】

FIG. 10C

ＮＳ５Ａタンパク質および遺伝子配列

ＮＳ５Ａアミノ酸配列：（配列番号８４）
VVSGIWSFVLCILRAVWDWAAKHVPRFFVPMIGCSPAWCGRWLGTGTLLTTCGCGERVSLQCLCSTSDPTLSVGRWC
WCSWRVGFPFNPTTTATGTLRPDISDATKLGFRYGVAEIVELERRGNKWHVCAASCCLDRASVASAVRAPPVTADGI
PISTFSPPQTYKLSLCSFDSVCMTTNLCNPAKTLSVCSQEAVELLEETVDRAQVVMCQNLEARRRAEFDAWQVREAI
RDEYTRLADEDVDATTSVXPPVAKAAVGSSTLDDVSVLTVLRELGDQCQNAIKFVVQAASRFVPPVPKPRTRVSGVL
ERVPMCMRTPPIKFEAAAVPIHDIIPEECHIVLRCTGCNDQALTVPYGTCTQSLIKHLTSKHSHYIPKQKIEEDTEV
TVICAVPTTRASKLITFRAGDRSVSCCHPLQTPIRALLLKYGLPIGKWSDCNGPLGDDARVCDVNGVTTYEPC

ＮＳ５Ａ遺伝子配列：配列番号７５のヌクレオチド６３４２－７７１５

ＮＳ５Ｂタンパク質および遺伝子配列

ＮＳ５Ｂアミノ酸配列：（配列番号８５）
MQSYSWFRPIVAPTTPPLPATRTVAGILRADTSRVYTTTAVDVSERQAKVTIDQTSAKVDQCFRDTYKCCLAKAKTF
RQSGMSYEDAVSKMRANTTRDHNNGITYSDLVSGRAKPVVQKIVNQMRAGVYDAPNRIIPKPEVFPRDKTTRKPPRF
IVFPGCAARVAFKMILGDPGAITKHVLGDAYGFATPPHFRARLLFQWNNRATFPQAIAVDAICFDSTITARDMDRFA
NIVAAAHTDPEGVHGLYNYYKRSPMCDITGKVVGVRCCRASGTLTTSSGNTLTCYLKVRAACTRSGIKPIGLLIHGD
DTLIVTERCAQETLDEFSNALDDYGFPHTIQASGDLSSIECCSARVDSVCLRGGMRRMLVPQARRAIARVLGEKGDP
LGTIGSYVVMYPTAAVTVYVLLPLLCMLIRNEPSQTGTLVTLTVHGNSVSVPAWLLPTIIANLHGRDALQVVRHSAA
SMAELSSALAFFGMRGLNCWRRRRRAIRADMIKSGGWNANFAQMLLWSPEVRTPQPEPRGLCLLPPELWERPYENLH
LSTIDRNRGASRLRFWLVASAILALLCL

ＮＳ５Ｂ遺伝子配列：配列番号７５のヌクレオチド７７１６－９４１６

５’ＵＴＲ配列

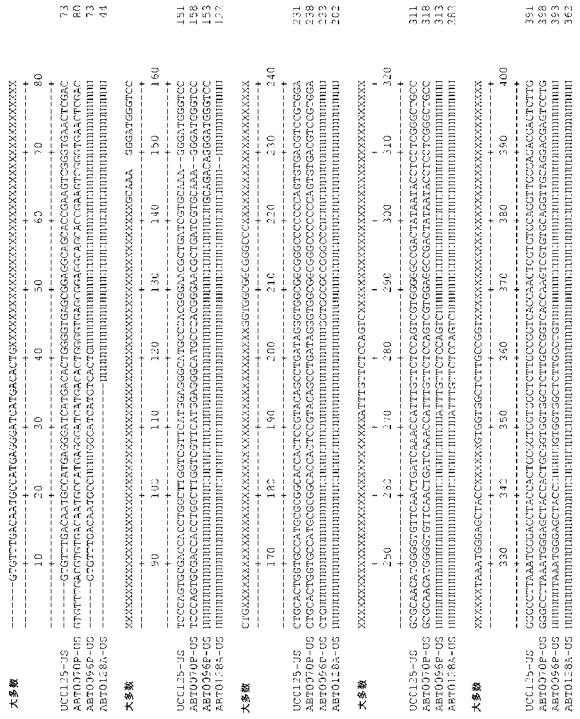
５’ＵＴＲ配列：配列番号７５のヌクレオチド１－１１０

３’ＵＴＲ配列

３’ＵＴＲ配列：配列番号７５のヌクレオチド９４１７－９４３１

【図１１Ａ】

FIG. 11A



【図１１Ｂ】

FIG. 11B

```
大多数      XXXX
```

【図11F】

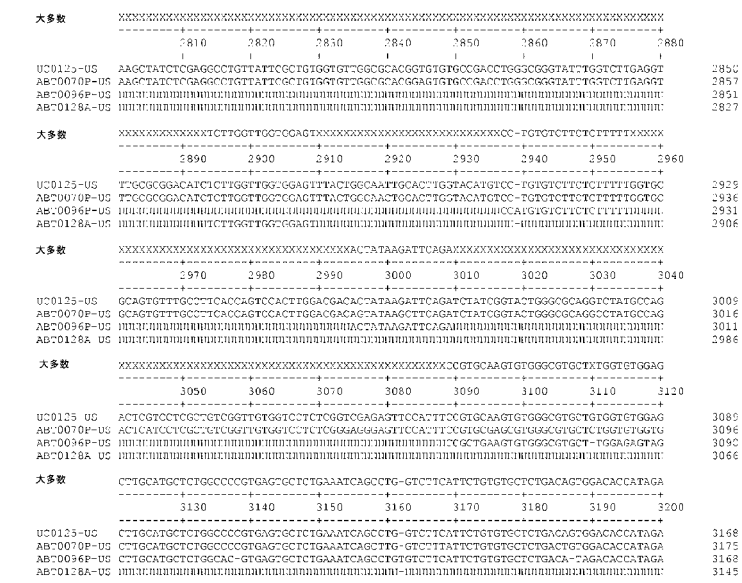
FIG. 11F

【図11G】

FIG. 11G

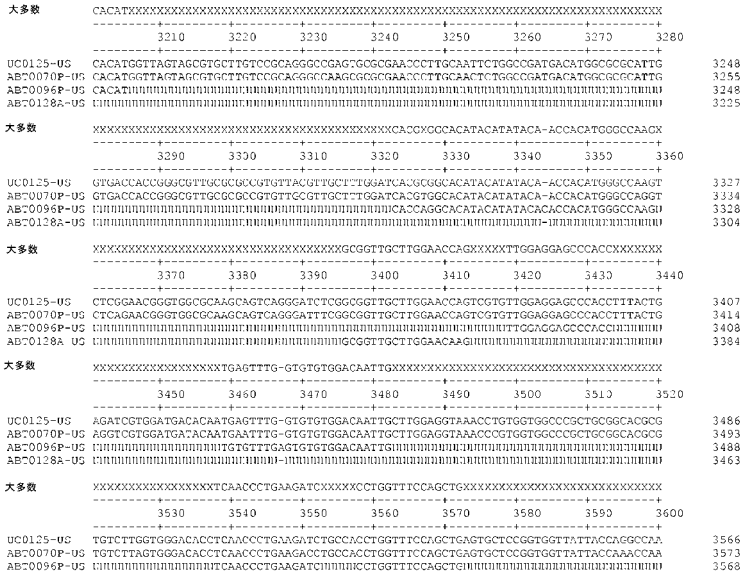
【図11H】

FIG. 11H



【図11I】

FIG. 11I



【図１１Ｊ】

FIG. 11J

```
大多数      XXXX
```

【図１１Ｎ】

FIG. 11N

```
大多数      CACTGAGGGCGTATCTGCGCAGACCTGAGGCGACGACTGCAGCTCTCGCAGGAGAGCAGCGGCCGCTGCTTACGGTGTG
            ---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+
                     5210      5220      5230      5240      5250      5260      5270      5280

UC0125-US   CACTGAGGGCGTACCTGCGCAGACCTGAGGCGACGACTGCAGCTCTCGCAGGAGAGCAGCGGCCGCTGCTTATGGTGCG   5233
ABT0070P-US CACTGAGGGCGTATCTGCGCAGACCTGAGGCGACGACCGCAGCTCTCGCAGGAGAGCAGCGGCCGCTGCTTACGGCGTG   5240
ABT0096P-US CACTGAGGGCGTATCTGCGCAGGCCCGAGGCGACGACTGCAGCTCTCGCAGGAGAGCAGCGGCCGCTGCTTACGGTGTG   5241
ABT0128A-US ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||   5208

大多数      CAGTTGTGCATCTGCAAAGAGACCGAGGCCCACGGTCCAGACGATGGCATCAAGTGGAAGTGCTTACTCAACAACAGTAA
            ---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+
                     5290      5300      5310      5320      5330      5340      5350      5360

UC0125-US   CAGTTGTGCATCTGCAAAGAGACCGAGGCCCACGGTCCTGATGATAGCATCAAGTGGAAGTGCTTACTCAACAACAGTAA   5313
ABT0070P-US CAGTTGTGCATCTGCAAAGAGACCGAGGCCCACGGTCCAGACGATGGCATCAAGTGGAAATGCTTACTCAATAACAACAA   5320
ABT0096P-US CAGCTGTGCATCTGCAAAGAGACCGAGGCCCACGGTCCAGACGATGGTATCAAGTGGAAGTGCTTACTCAACAACAGTAA   5321
ABT0128A-US ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||   5288

大多数      CAAAACACCCCTGTTGTATGCCTTAGACAATCCT-ACACTGGAATTCACAACCCAACATGACTTGACTCG-CCXXXXXXX
            ---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+
                     5370      5380      5390      5400      5410      5420      5430      5440

UC0125-US   CAAAACACCCCTGTTGTATGCCTTAGACAATCCT-ACACTGGAATTCACAACCCAACATGACTTGACTCG-CCGTATAGC   5391
ABT0070P-US CAAAACACCCCTGTTGTATGCCTTAGACAATCCT-ACACTGGAATTCACTACCCAACATGACTTGACTCG-CCGTATAGC   5398
ABT0096P-US TAAAACACCCCTGTTGTACGCCTTAGACAATCCTCACACTGGAATTCAC-ACTCAACATGACTTGACTCGACCCAAAAAAA   5400
ABT0128A-US ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||   5366

大多数      XXXXXXXXXXXXGAGCACAGTGTTCGTGGAGACAGGCTACGGCCCCATCCTCCTTGCTXXXXXXGCTTTGGCTGCCTCCT
            ---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+
                     5450      5460      5470      5480      5490      5500      5510      5520

UC0125-US   CGGCGCTCCATCGAGCACAGTGTTCGTGGAGACAGGCTACGGCCCCATCCTCCTTGCTGGCGCCGCTTTGGCTGCCTCCT   5471
ABT0070P-US TGGCGCTTCATCGAGCACAGTGTTCGTGGAGACAGGCTACGGCCCCATCCTCCTCGCTGGCGCTGCTTTGGCTGCCTCCT   5478
ABT0096P-US ||||||||||||GAGAGCAGTGTTCGTGGAGAGAGGCAACGGCCCCATCCTCCTTGCTNNNNNNNGCTTTGGCTGCCTCCA   5480
ABT0128A-US ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||   5446

大多数      TCGCCTTTGCXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
            ---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+
                     5530      5540      5550      5560      5570      5580      5590      5600

UC0125-US   TCGCCTTTGCGGGGCCCACCGAGCTTTAGTGCCGTCCGCTGTTTGGCAGCCTGCTGGCCTGACCCCT   5551
ABT0070P-US TTGCCTTTGCGGGCGCCACCGGAGCTTTAGTGCCGTCGGCCGTTTGGAGCGTTGAAAACGGGCTTGCTGGCGTGACCCGT   5558
ABT0096P-US TCGCCTTTGCNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN   5560
ABT0128A-US ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||   5526
```

【図１１Ｏ】

FIG. 11O

```
大多数      XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
            ---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+
                     5610      5620      5630      5640      5650      5660      5670      5680

UC0125-US   CCCGACGCGACAGACGAGACCGCGGCCTACGCACGCGCTTGTACCAAGCCTGTGCAGATTCAGGAATTTCGCCAGCTT   5531
ABT0070P-US CCCGATGCGACAGACGAGACCGCGGCCTACGCGCAGCGCTTGTACCAAGCCTGCGCAGATTCAGGAATTCTCGCCAGCTT   5538
ABT0096P-US ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||   5540
ABT0128A-US ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||   5606

大多数      XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXGCGCGTGGGCAAACTGGCXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
            ---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+
                     5690      5700      5710      5720      5730      5740      5750      5760

UC0125-US   GCAGGGTACGGCGAGCGCGGCGCTGGGCAAACTGGCCGACGCCAGTAGGGGCGCTAGTCAATATCTGCCAGCCGCGCCTC   5711
ABT0070P-US GCAGGGTACGGCGAGTGCGGCACTGAGCAGACTGGCCGATGCCAGTAAGGGTGCTAGTCAATATCTGCCAGCCGCGCCTC   5718
ABT0096P-US ||||||||||||||||||||GGTGCTGGGCAAACTGGCNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN   5720
ABT0128A-US ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||   5686

大多数      XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
            ---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+
                     5770      5780      5790      5800      5810      5820      5830      5840

UC0125-US   CTTCACCCGCCCCCCCTGGTACAGGTGTTGCAGTTCCTCGAGACCAACTTTAGCTCCATTGCATCTTTCGG-CCTGCTCTG   5790
ABT0070P-US CTTCGCCCGCCCCCCCTGGTACAGGTGCTGCAGTTCCTCGAGACCAATTTTAGCTCCATTGCATCTTTCGG-TCTGCTCTG   5797
ABT0096P-US ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||GGACCTGCTCTG   5800
ABT0128A-US ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||   5765

大多数      TG---CTGGCTGCCAGGCTGGCGAGTGCTTCACTGCGCTTGCXGGGTTGGTGXXXXGTG-CTACAGC--TGGCTTGGGGG
            ---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+
                     5850      5860      5870      5880      5890      5900      5910      5920

UC0125-US   TG---CTGGCTGCCAGGCTGGCGAGTGCTTCACTGCGCTTGCTGGCTTGGTGTCCGGTG-CTACAGC--TGGCTTGGGGG   5864
ABT0070P-US TG---CCGGCTGTCAGGCCGGCGAGTGCTTCACTGCGCTTGCCCGGGTTGGTGTCCGGTG-CTACAGC--TGGCTTGGGAG   5871
ABT0096P-US TCACCCTGGCTGCCAGGCTGGCGGGGGCATTCTGGCCTTTCTGTAGCTGGTGNNNNGTGACTCCAGCCCTGGCTTGGGGG   5880
ABT0128A-US NN---NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN   5839

大多数      GTGXXCATAAGTGGTTGTTAGCTATTGCAGGAACTTGGCTAGTTAGCTTGCAGACTGGGCCCCGTGGCGGCATGGTTGCG
            ---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+
                     5930      5940      5950      5960      5970      5980      5990      6000

UC0125-US   GTGCCCATAAGTGGTTGTTAGCTATTGCAGGAACTTGGCTGGTTACCTTGCAGACCCCCGTCCCGTCCGCCGCATGCTTCCC   5944
ABT0070P-US GTGCCCATAAGTGGTTGTTAGCTATTGCAGGAACTTGGCTAGTTAGCTTGCAGACTGGGCCCCGTGGCGGCATGGTTGCG   5951
ABT0096P-US GTGNNCATAAGTGGTTGTTAGCTATTGCAGGAACTTGGCTAGTTAGCTTGCAGACTGGGCCCCGTGGCGGCATGGTTGCG   5960
ABT0128A-US ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||   5919
```

【図１１Ｐ】

FIG. 11P

```
大多数      GGCCTCTCAGTTCTAGCAGGCTGTTGCATCGGTAGTGTCACCGGGCTTGACTTCCTGTTTGGGTGCCTTACAGGXXXXXX
            ---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+
                     6010      6020      6030      6040      6050      6060      6070      6080

UC0125-US   GGCCTCTCGATTCTAGCGGGCTGTTGCATCGGTAGTGTCACCGGGCTTGACTTCCTGTTTGGGTGCCTTACAGGTTGGGA   6024
ABT0070P-US GGTCTCTCAGTTCTAGCAGGCTGTTGCATCGGTAGTGTCACCGGGCTTGACTTCCTGTTTGGGTGCCTTACAGGTTGGGA   6031
ABT0096P-US GGCCTCTCAGTTCTAGCAGGCTGTTGCATCGGTAGTGTCACCGGGCTTGACTTCCTGTTTGGGTGCCTTACAGGNNNNNN   6040
ABT0128A-US ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||   5999

大多数      XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
            ---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+
                     6090      6100      6110      6120      6130      6140      6150      6160

UC0125-US   AGCCGTGGTCGGCGCTGCGGTTGCGACACAGAAGATCTTGTCTGGTTCAGCTGATAT--GACCACTCTGGTAGATCTCTT   6102
ABT0070P-US GGCCGTGGTCGGTGCTGCGGTTGCAACGCAGAAAATCTTGTCTGGTTCGGCTGACAT--GACCACTCTGGTAGATCTCCT   6109
ABT0096P-US ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||CAGTAGATATCTACTCACTCTGGTAGATCTC-T   6119
ABT0128A-US ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||--||||||||||||||||||||   6077

大多数      ACXTGCTCTTTTCTCCCCCXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXTGTCTTCATXTTAAGCAATTCAAGTGTAACCACXX
            ---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+
                     6170      6180      6190      6200      6210      6220      6230      6240

UC0125-US   ACCTGCTCTTTTCTCCCCCGGTGCCGGCATAGCTGGCATCGTGCTTGTCTTCATCTTAAGCAATTCAAGTGTAACCACAT   6182
ABT0070P-US ACCTGCTCTCTTTCTCCCCTGGCGCCGGCATAGCTGGCGTCGTGCTTGTCTTTATTCTAAGCAACTCAAGTGTAACCATGT   6189
ABT0096P-US ACCTGCTCTTTTCTCCCCNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN   6199
ABT0128A-US ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||   6154

大多数      XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
            ---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+
                     6250      6260      6270      6280      6290      6300      6310      6320

UC0125-US   GGGCTAATCGGCTATTATCCATGTGTGCCAAACAAACCATTTGTGAAAACTACTTCTTAAGTGAAAGATTTGGCCAACAA   6262
ABT0070P-US GGGCTAATCGGCTATTGTCCATGTGTGCAAAACAAACTATTTGTGAAAATTACTTCTTAACTGAGAAATTTGGCCAACAA   6269
ABT0096P-US ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||   6279
ABT0128A-US ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||   6234

大多数      XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
            ---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+
                     6330      6340      6350      6360      6370      6380      6390      6400

UC0125-US   TTAAGCAAACTTTCCCTGTGGCGCTCTGTGTACCATTGGGCGCAGGCACGTCAGGGATACACACAGTGCCGCGTCATCAG   6342
ABT0070P-US TTAAGCAAACTTTCCCTGTGGCGCTCTGTGTACCATTGGGCGCAGGCACGTGAAGGATACACACAGTGCGGTGTGGTCAG   6349
ABT0096P-US ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||   6359
ABT0128A-US ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||   6314
```

【図１１Ｑ】

FIG. 11Q

```
大多数      XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXCTACGTGCTGTGTGGGATCGGGCGGC-CAAACATGTGCCACGGTTCCGTGTG
            ---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+
                     6410      6420      6430      6440      6450      6460      6470      6480

UC0125-US   CGGGATCTGGAGCTTCGCCTTGTGCATTCTACGCGCTGTGTGGGATCGGGCGGC-CAAGCATGTGCCACGGTTCCGTGTG   6421
ABT0070P-US CGGGATCTGGAGCTTTGTCTTGTGCATTCTACGTGCTGTGTGGGATCGGGCGGC-TAAACATGTGCCACGGTTCCGTGTG   6428
ABT0096P-US ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||   6439
ABT0128A-US ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||   6393

大多数      CCTATGATTGGCTGCTCACCTGCG TGGTGCGGGCGCTG GCTTGGTACTGGCACCTTGTTGACCACCTGTGGGTGTGGA
            ---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+
                     6490      6500      6510      6520      6530      6540      6550      6560

UC0125-US   CCTATGATTGGCTGCTCACCTGCG-TGGTGCGGGCGCTG-GCTTGGTACTGGCACCTTGTTGACCACCTGTGGGTGTGGA   6499
ABT0070P-US CCTATGATTGGCTGCTCACCTGCG-TGGTGCGGGCGCTG-GCTTGGTACTGGCACCTTGTTGACCACCTGTGGGTGTGGA   6508
ABT0096P-US CCTATGATTGGCTGCTCACCTGCG-TGGTGCGGGCGCTG-GCTTGGCACTGGCACCTTGTTGACCACCTGTGGGTGTGGA   6517
ABT0128A-US ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||   6473

大多数      GAACGTGTATCCCTTCAGTGCCTTTGCTCAACATCTGACCCACXACCCAGTGTGGGCCGTTGGTGTTGGTGTAGTTGGAG
            ---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+
                     6570      6580      6590      6600      6610      6620      6630      6640

UC0125-US   GAACGTGTGTCCCTTCAGTGCCTTTGCTCAACATCTGACCCACAACCCAGTGTGGGCCGTTGGTGTCGGTGTAGTTGGAG   6579
ABT0070P-US GAACGTGTATCCCTTCAGTGCCTTTGCTCGACATCTGACCCAACACCCAGTGTGGGCCGTTGGTGTTGGTGTAGTTGGCG   6585
ABT0096P-US GAACGTGTATCCCTTCAGTGCCTTTGCTCAACATCTGACCCAG-ACCAGTCTCGGCCGTTGGTGTTGGTGTAGTTGGAG   6595
ABT0128A-US ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||   6553

大多数      TGTTGGGTTCCCATTCAACCCGACGACGACAGGCACCGGXXCCTTACGGCCGGACATCXGTGACGXXXXCAAATTGGGTT
            ---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+
                     6650      6660      6670      6680      6690      6700      6710      6720

UC0125-US   TGTTGGGTTCCCATTCAACCCGACTACGACAGGCACCGGCACCTTACGGCCGGACATCAGTGACGCCAACAAATTGGGTT   6659
ABT0070P-US TGTTGGGTTCCCATTCAACCCGACGACGACAGCCACCGGCACTTTACGGCCGGACATCAGTGACGCCACCAAATTGGGCT   6665
ABT0096P-US TGTTGGGTTCC-ATTCAACACGACGACGACAGNNNNNNNNNNNNNNTTACGGCCGGACATC-GTGACGNNNNCAAATTGGGTT   6674
ABT0128A-US ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||   6630

大多数      TCCGGTATGGTGTCGCCGAXATCGTGGAGCTAGAGCGGCGGGGCAACAAATGGCATGCCTGTGCAGCATCATGTTGCTTG
            ---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+
                     6730      6740      6750      6760      6770      6780      6790      6800

UC0125-US   TCCGGTATGGCGTTGCCGACATCGTGGACCTAGAGCGGCGGGCCACAAATGGCACGCCTGTGCAGCATCATGTTGCTTG   6739
ABT0070P-US TCCGGTATGGTGTCGCCGAGATCGTGGACCTAGAGCGGCGGGGCAACAAATGGCATGCCTGTGCAGCATCATGTTGCTTG   6745
ABT0096P-US TCCGGTTGGTTTCGCCGAATTCGTGGATTTAGAGCGCCGGGGAAACAAATGGCATGCCTGTGCAGCATCATGTTGCTTG   6754
ABT0128A-US ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||   6710
```

【図１１Ｔ】

FIG. 11T

```
大多数      TCAGAGCAGGTGACCGATCAGTCTCATGTTGTCACCCCTTGCAAACTCCTATTAGGGCCCTGCTTCAAAAGTATCGGGTTA
            ---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+
                     7610      7620      7630      7640      7650      7660      7670      7680

UC0125-US   TCAGAGCAGGTGACCGATCAGTCTCATGTTGTCACCCCTTGCAAACTCCTATTAGGGCCCTGCTTCAAAAGTATGGGTTA   7618
ABT0070P-US TCAGAGCAGGTGACCGATCAGTCTCATGTTGTCACCCCTTGCAAACCCTATTAGGGCCCTGCTTCTAAAGTACCGGTTA   7625
ABT0096P-US TCAGAGCAGGTGACCGATCAGTCTCATGTTGTCACCCCTTGCAAACTCCTGTTAGGGCCCTGCTTGAAAAGTACCGGTTA   7629
ABT0128A-US ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||   7588

大多数      CCTATCGGGAAGTGGTCCGACTGCAACGGGCCCCTTGGTGACGATGCCGAGTCTGTGACGTCAATGGAGTAACAACTTA
            ---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+
                     7690      7700      7710      7720      7730      7740      7750      7760

UC0125-US   CCTATTGGGAAGTGGTCCGACTGCAACGGGCCCCTTGGTGACGATGCCGAGTCTGTGACGTCAATGGAGTGACAACTTA   7698
ABT0070P-US CCTATCGGGAAGTCGTCTGACTGCAACGGGCCCCTTGGTGACGATGCTCGACTCTGTCACGTCAATGGAGTAACAACTTA   7705
ABT0096P-US CCTATCGGGAAGTGGTCCGACTGCAACGGCCCCTCTTGGTGACGATGCCGAGTCTGTGACGTCAATGGAGTAACAACTTA   7709
ABT0128A-US ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||   7668

大多数      TGAACCATGCATGCAATCCTACAGTTGGTTCCGACCGATTGTGGCACCAACCAACCCCACCTTTACCTGCAACCCCGGAGCG
            ---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+
                     7770      7780      7790      7800      7810      7820      7830      7840

UC0125-US   TGAACCATGCATGCAATCCTACAATTGGTTCCGACCGATTGTGGCACCAACCAACCCCACCTTTACCTGCAACCCCGGAGCG   7778
ABT0070P-US TGAACCATGCATGCAATCCTACAGTTGGTTCCGACCGATTGTGGCACCAACCAACCCCACCTTTGCCTGCAACCCCGGACCG   7785
ABT0096P-US TGAACCATGCATGGAGTCCTACAGTTGGTTCCGACCAATTGTGGCACCAACCAACCCCACCTTTACCTGCAACCCCGGAGTG   7789
ABT0128A-US ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||   7748

大多数      TGGCTGGCATTTCACGCGCAGACACATCGCGCGTTACACCCACAACCGCGGTTGACGTCTCCGAGCGGCAGGCTAAGGTC
            ---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+
                     7850      7860      7870      7880      7890      7900      7910      7920

UC0125-US   TGCCTGGCATTTCGCGCGCAGACACATCGCGCGTCTACACCACAACCAGCGGTTGATGTCTCCGAGCGGCAGGCTAAGGTC   7858
ABT0070P-US TGGCTGGCATTTCACGCGCAGACACATCGCGCGTTACACCACAACCGCGGTTGACGTCTCCGAGCGGCAGGCTAAGGTC   7865
ABT0096P-US TGGCTGGCATTTCACGCGCAGACACATCGCGCGTTACACCACAACCGCGGTTGACGTCCCCGAGCGGCAGGCTAAGGTC   7869
ABT0128A-US ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||   7828

大多数      ACAATTGATCAAACATCAGCCAAGGTGGATCAGTGTTCCGAXXXXXXXXXXXXTGCTGCTTGCCAAGGCAAAGACCXX
            ---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+
                     7930      7940      7950      7960      7970      7980      7990      8000

UC0125-US   ACCATTGATCAAAAGTCAGCCAAGCTGGACCAGTGTCTCCGAGACACATACAATTGCTGCTCCCAAGGCAAACACCTT   7938
ABT0070P-US ACAATTGATCAAACATCAGCCAAGGTGGATCAGTGTTCCGAGACACATACAATTGCTGCCTTGCTAAGGCAAAGACCTT   7945
ABT0096P-US ACAATCGATCAAACATCAGCCAAGGTGGATCAGTGTTCCGAGACACATACAATTGCTGCCTTGCTAAGGCAAAGACCTT   7949
ABT0128A-US ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||TTCTGCCTTGCCAAGGCAGAAGACCT   7908
```

【図１１Ｒ】

FIG. 11R

```
大多数      GACCGGGCCAGCGTTGCATCCGCTGTGAAGGCCCCACCGGTCACGGCCGATGGCATACCTATCAGTACCTTTTCTCCACC
            ---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+
                     6810      6820      6830      6840      6850      6860      6870      6880

UC0125-US   GACCGGGCCAGCGTTGCATCCGCCGTGAGGGCCCCACCGGTCACGGCTAATGGTATACCTATTAATAGCTTTTCTCCACC   6819
ABT0070P-US GACCGGGCCAGCGTTGCATCCGCCGTGAGGGCCCCACCGGTCACGGCCGATGGCATACCTATCAGTACCTTTTCTCCACC   6826
ABT0096P-US GACCGGGCCAGCGTTGCATCCGCCGTGAGGGCCCCACCGGTCACGGCCGATCGCATACCTATCAGTACCTTTTCTCCACC   6834
ABT0128A-US ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||   6790

大多数      ACAAACTTATTXCCTATCTCTCTGTTCCTTTGATACXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXAGACCCTGA
            ---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+
                     6890      6900      6910      6920      6930      6940      6950      6960

UC0125-US   ACAAACTTATTGCCTATCTCTCTGTTCCTTTGATACAGTTTGCATGTCTACCAACTTATGTAACCCAGCTAAGACCCTGA   6899
ABT0070P-US ACAAACTTACAAACTCTCTCTTTGTTCTTTTGATTCAGTTTGCATGACTACCAACTTATGTAACCCAGCTAAGACCCTGA   6906
ABT0096P-US ACAAACTTATTCCCAATCTCTCTGTTCCTTTGA-ACNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNAGACCCTGA   6913
ABT0128A-US ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||   6870

大多数      GTGTGTGCCAAGAGGAGGCGGTTGAGCXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
            ---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+
                     6970      6980      6990      7000      7010      7020      7030      7040

UC0125-US   GTGTGTGCCAAGAGGAGGCGGTTGAGCTGCTGGAAGAGACAGTTGACACAGCACAAGTAGTGACTGAGCCAAAATCTGGCA   6979
ABT0070P-US GTGTGTGCTCGCAGGAGGCTGTTGAGCTACTGGAAGAAACAGTTGACAGAGCACAAGTAGTGACTGTGCCAAAATCTGGAG   6986
ABT0096P-US GTGTGTGCCAAGAGATGCTGTCTGAGNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN   6993
ABT0128A US ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||   6950

大多数      XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
            ---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+
                     7050      7060      7070      7080      7090      7100      7110      7120

UC0125-US   GCGCGTAGACGCGCTGAGTATGATGCATCGCAGGTTCGCCCAAGCAGTTGGCCACGAGTACACGCGTTTGGCAGACGAGCA   7059
ABT0070P-US GCGCGAAGACGCGCTGAGTTTGATGCATCGCAAGTTCGCGAAGCAATTCGCGACGAGTACACGCGTTTGGCAGACGAGCA   7066
ABT0096P-US NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN   7073
ABT0128A-US ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||   7030

大多数      TGTTGACGCGACAACGTCGGTGAAACCCCCGGTGGCCAGGGCTGCTGTGGGCAGCTCGACGTTGGATGATGTTAGCGXXX
            ---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+
                     7130      7140      7150      7160      7170      7180      7190      7200

UC0125-US   TGTTGACATGACAGCGTCGGTGAAACCCCCGGTGGCCAGGGCTGCTGTGGGCAGCTCAACGTTGGATGATGTTAGCGTGC   7139
ABT0070P-US TGTTGACGCGACAACGTCGGTGAAACCCCCGGTGGCCAGGGCTGCTGTGGGCAGCTCGACGTTGGATGATGTTAGCGTGC   7146
ABT0096P-US TGTTGACGCGACAACGTCGGTGAAACCCCCGGTGGCCAGGGCTGCTGTGGGCAGCTCGACGTTGGATGATGTTAGCGNNN   7153
ABT0128A-US ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||   7110
```

【図１１Ｕ】

FIG. 11U

```
大多数      XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
            ---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+
                     8010      8020      8030      8040      8050      8060      8070      8080

UC0125-US   CAGACAATCTGGCATGTCATATGAGGATGCTGTGTGTCAAAAGATGCGCGCAAACACCACGCGTGATCATAACAACGGCATCA   8018
ABT0070P-US CAGACAATCTGGCATGTCATATGAGGATGCTGTGTCAAAGATGCGCGCAAACACCACGCGTGACCATAACAACGGCATCA   8025
ABT0096P-US NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNATG-GGATGCTGTGTCAAANNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN   8028
ABT0128A-US ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||   7988

大多数      XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
            ---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+
                     8090      8100      8110      8120      8130      8140      8150      8160

UC0125-US   CTTATACAGATTTGGTCTCTGGACGCGCAAAACCTGTCGTTCAGAAAATTGTAGATCAGATGCGCGCTGGAGTGTACGAC   8098
ABT0070P-US CTTATTCAGATTTGGTCTCTGGACGCGCAAAACCTGTCGTTCAGAAAATTGTAAATCAAATGCGCGCCGGAGTGTACGAC   8105
ABT0096P-US NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN   8108
ABT0128A-US ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||   8068

大多数      XXXXXXXTGCGCATTATTCCAAAACCTGAAGTGXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXTTCATCGTTTT
            ---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+
                     8170      8180      8190      8200      8210      8220      8230      8240

UC0125-US   GCTCCAATGCGCATTATTCCAAAACCTGAAGTGTTTCCACGAGACAAGTCAACACGGAAGCCACCACGGTTCATCGTTTT   8178
ABT0070P-US GCTCCGATGCCCATTATCCCAAAACCTGAAGTGTTCCCTCGAGACAAAACAACACGGAAGCCACCGAGGTTCATCGTTTT   8185
ABT0096P-US NNNNNNNNTGC-CACTACTCCAAAACCTGAAGTNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNTTC-TCGTTTT   8186
ABT0128A US ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||   8148

大多数      CCCTGGGTGTGCXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
            ---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+
                     8250      8260      8270      8280      8290      8300      8310      8320

UC0125-US   CCCTGGGTGTGCCGCACGAGTCGCGGAGAAAATGATCCTGGGCGATCCTGGCCCGATAACCAAGCACGTGCTAGGTGATG   8258
ABT0070P-US CCCTGGGTGCGCCGCGCGAGTCGCGGAGAAAATGATCCTGGGTGATCCTGGCCCGATAACCAAGCACGTGCTAGGTGATG   8265
ABT0096P-US CCCTGGGTGTGCNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN   8266
ABT0128A-US ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||   8228

大多数      XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXACTGG--AACAATGGTGGAACCXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
            ---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+
                     8330      8340      8350      8360      8370      8380      8390      8400

UC0125-US   CCTACCGGTTTGCCACTCCCCCCCATCACCCCCCCCCCCTACTGG--AACAATGGTGGAACCCCCCAACCGAGCCACAAG   8336
ABT0070P-US CCTACGGGTTTGCCACTCCGCCGCATGAGCGCGCGCGCCTGTTGG--AACAATGGTGGAACCGCGCAACGGAGCCACAAG   8343
ABT0096P-US NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN   8346
ABT0128A-US ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||   8308
```

【図１１Ｓ】

FIG. 11S

```
大多数      XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
            ---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+
                     7210      7220      7230      7240      7250      7260      7270      7280

UC0125-US   CGACTGTCTTACGCGAACTCGGTGACGCCAAATGCCAAATGTTCAGTTCAGCGCGGCTTCACGCTTTGCTCCA   7219
ABT0070P-US CGACTGTCTTTCGCGAACTCGGTGACCAGTGCCAAAATTGTAGTTCAGCGCGGCTTCACGCTTTGCTCCA   7226
ABT0096P-US NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN   7233
ABT0128A-US ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||   7190

大多数      XXXXXXXXXXXXXXXCCCACCCCGTGTCCCCGTGTGCTGCACCCCCTGCCCATGTCCATCCCCACCCCXCCAATCAACTT
            ---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+
                     7290      7300      7310      7320      7330      7340      7350      7360

UC0125-US   CCAGTGCCCAAGCCACGCACGCGTGTCCCGGGTGCCTGGAGCGCGTGCGCATGTGCATGCGCAGCCCCCAATCAAGTT   7299
ABT0070P-US CCAGTGCCCAAGCCACGCACGCGTGTCCCGGGTGCGTGGAGCGTGTGCGCATGTGCATGCGCACGCCCACCAATCAAGTT   7306
ABT0096P-US NNNNNNNNNNNNNNNNCACGCACGCGTGTCCCGGGTGCGTGGAGCGCGTGCGCATGTGCATGCGCA--CCCACACTCAAGTT   7311
ABT0128A-US ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||   7270

大多数      TGAGGCCACCGCAGTACCAATTCATAATATAATCCCAGAAGAGTGTCATATTGTGCTACGCTGTACCGGCTGTAACGACC
            ---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+
                     7370      7380      7390      7400      7410      7420      7430      7440

UC0125-US   TGAGGCCACCGCAGTACCAATTCATAATATAATCCCAGAAGAGTGTCATATTGTGCTACGCTGTACCGGCTGTTGCGACC   7379
ABT0070P-US TGAGGCTGCCGCAGTACCAATTCATGATATAATCCCAGAAGAGTGTCACATTGTGCTACGCTGTACCGGCTGCAACGACC   7386
ABT0096P-US TGAGGCCATCCCAGTACCAATTCATAGTATAATCCCAAAAGAGTGTCACATTGTGCTACGCTGTACCGGCTGTAACGACC   7391
ABT0128A US ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||   7350

大多数      AGGCCTTGACTGTTCCGTACGGCACTTGCACTCAGACTTTAACCAAACATTTGACTAACAAACACAGTCACTXXXXXXXX
            ---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+
                     7450      7460      7470      7480      7490      7500      7510      7520

UC0125-US   AGGCCTTGACCGTTCCGTACGGCACTTGCTCTCTGACTTTAACCAAATATTTGACTAACAAACACAGTCACTATACTCCA   7459
ABT0070P-US AGGCCTTGACTGTTCCGTACGGCACTTCGTCACTCAGTCTTTAATCAAGCATTTGACTAGTAAACACAGTCACTACACTCCA   7466
ABT0096P-US AGGCCTTGACTGTTCCGTACGGCACTTGCACTCAGACTTTAGCCAAACATCTGACTAACAAACACAA-CACTNNNNNNNNN   7470
ABT0128A-US ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||   7430

大多数      XAAXAGAAGATAGAAGAAGACA-CAGAAATAGCTGTCATTTGCGCCGTACCAACAAAGCGCGCAAGCAAACTCATCACTT
            ---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+
                     7530      7540      7550      7560      7570      7580      7590      7600

UC0125-US   AAAGAGAAGATAGAAGAAGACA-CAGAAATAGCTGTCATTTGCGCCGTACCAACAAAGCGCGCCAAGCAAACTTATCACTT   7538
ABT0070P-US AAACAGAAGATAGAAGAGGACA-CAGAAGTAACTGTCATTTGCGCCGTACCAACAACGCGCGCAAGCAAACTCATCACAT   7545
ABT0096P-US NAA-AGAAGATAGAAGAAGAAAACAAACAAGGCTGTCATTTGCGCTGTACCAACAAAGCGCGCAACCAAACTCATCACTT   7549
ABT0128A-US ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||   7508
```

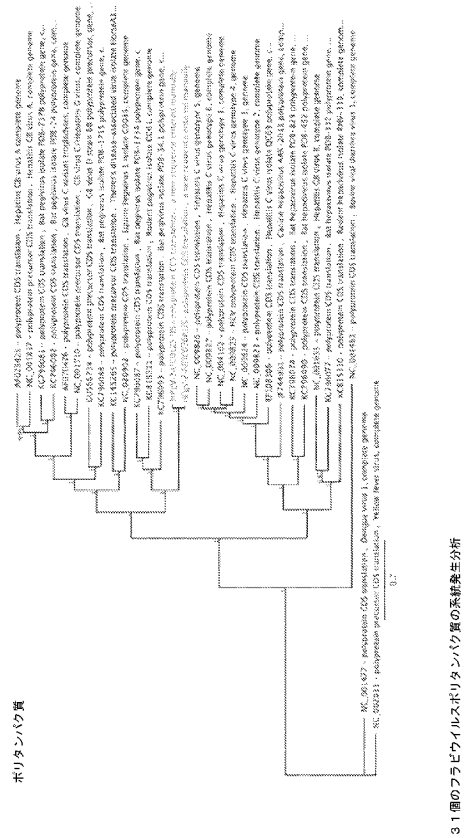
【図11X】

FIG. 11X

```
大多数      XXXX
```

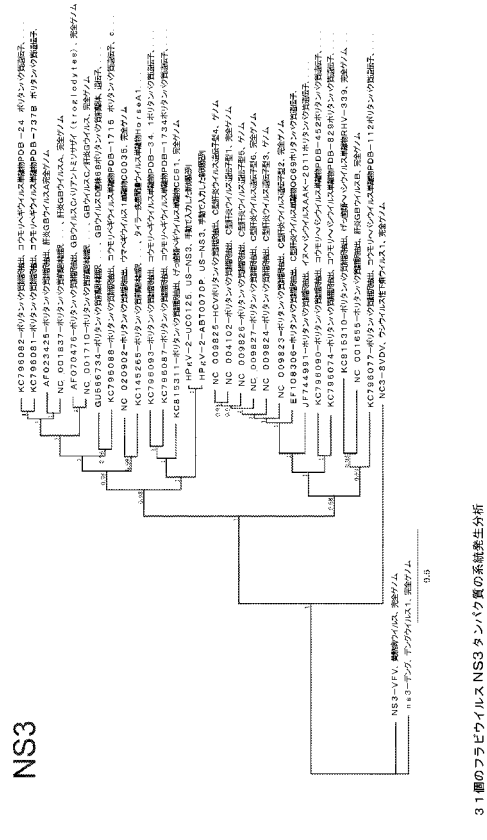
【図１２Ａ】

FIG. 12A



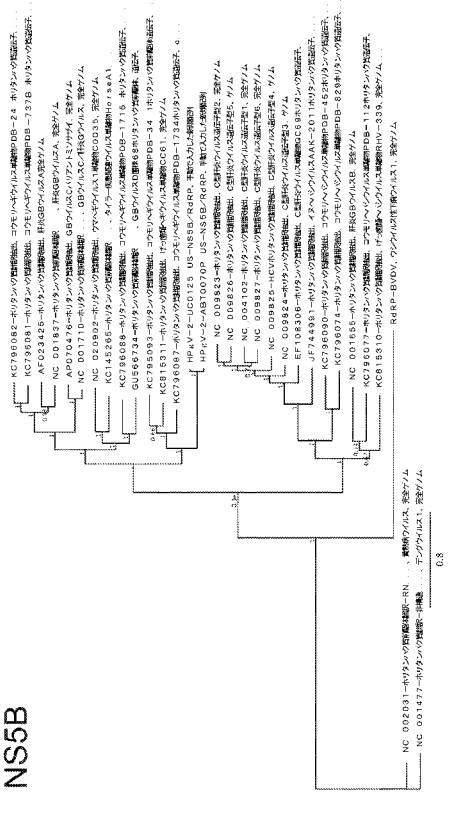
【図１２Ｂ】

FIG. 12B



【図１２Ｃ】

FIG. 12C



【図１３Ａ】

FIG. 13A

ヒトペギウイルス２（コンセンサス配列）核酸配列ー配列番号２９９

```
   1 AACTGTTGTT GTAGCAATGC GCATATTGCC ACTTCGGTAC GCCCAATTGG TAGGCGCCCG
  61 GCCGACCGGC CCCGCAAGGG CCTAGTAGGA CGTGTGACAA TGCCATGAGG GATCATGACA
 121 CTGGGGTGAG CGGAGGCAGC ACCGAAGTCG GGTGAACTCG ACTCCCAGTG CGACCACCTG
 181 GCTTGGTCGT TCATGGAGGG CATGCCCACG GGAACGCTGA TCGTGCAAAG GGATGGGTCC
 241 CTGCACTGGT GCCACGCGCG GCACCACTCC GTACAGCCTG ATAGGGTGGC GGCGGGCCCC
 301 CCCAGTGTGA CGTCCGTGGA GCGCAACATG GGGTGTTCAA CTGATCAAAC CATTTGTTCT
 361 CCAGTCGTGG GGGCCGACTA TAATACCTCC TCGGGCTGCC GGGCCTTAAA TGGGAGCTAC
 421 CACTGCGGTG GTGGCTCTTG CCGGTCACCA AGTCGTGTGC AGGTTGCGAG ACGAGTCTCG
 481 CAGCTGTGCG CATTCCTTGC GCTGATCGGA TCCGGTATGT GTTCGATCCG GTCCAAAACT
 541 GAAGGGCGCA TTGAGTCAGG GCAAATATTG CAGTCTCAGC GCGCATGTTG GACTGGTGAG
 601 GGTTTTGCTT TCTTTTCTAA CTGTTGCAAC CAATCTGATA TTACTGTGGTG TTTGCACCGT
 661 TGGTGTGTGA CAAGACCTGG CTGTTTAGTG TGCACGGGCA ATGCCACTCA TCCTGTCTGC
 721 TGGGACTATC TTGGGTCCGG TGTAAGTCGG CGGCCTGCGC GTCGAATGGG TGAGGGAGCT
 781 GAAGTGCTTC TTCGCTTGAT CGGCATTGCA GGTTGGCTCG GGCCGTTAGC TGAGGCTCCT
 841 GGTATGTCCG AAATCTATGC AGCTATTCTC TGCTTTGGAT TTACTGCTTG GTATGGCTGG
 901 GGTATACCTA AAACATTGGT GTGCACAGTC TGCCCTGCAG TGAACATTTC TCCCTATAGC
 961 TTCTTATCTC CAGACACTAT CGCATTTGGC ACGTGGATAC TACAACTACC TGGTCTTTCG
1021 TGGCAAATGT TTGTCAGCTT CCCTATACTC TACAGCACTT GGACTCTTTG GTTGTTGCCC
1081 AGCGGCAAGA CTGTCGCTGT GATAGCGATC CTTTCGGCTA GTCCTACGCT TATGGCGTAC
1141 AACCATATCA TTGAAAGCTA CCTCCAATAC TGTACCAACA GTCTGCTTCC AACTGCTACG
1201 AACTGTGACT GCCCCTTTGG AACCTTTACC CGCAATACTG AGTCTCGTTT CTCTATACCT
1261 AGATTCTGTC CTGTTAAAAT TAAXAGCTCT ACATTTATCT GTTCATGGGG GTCGTGGTGG
1321 TGGTTTGCTG AGAACATCAC ACGTCCATAC TCGGACGTTG GCACGCCACC AGCACCGATT
1381 TCCGCTTTGT GCTATATCTA TTCAAACAAC GACCCACCTC CTTGGTATCA TAACACAACT
1441 ATCATACCTC AGAACTGTCG CAACTCTACG GTTGATCCTA CCACAGCTCC ATGCCGTGAC
1501 AAGTGGGGCA ATGCAACTGC TTGTATTCTT GACCGCCGGT CGCGGTTCTG CGGGGACTGC
1561 TATGGCGGTT GXTTCTATAC TAATGGTAGC CATGATCGAT CCTGGGATCG ATGCGGGATT
1621 GGTTACCGTG ATGGACTCAT AGAGTTCGTG CAGCTCGGTC AGACTCGACC TAACATCTCG
1681 AATACGACCA TTGAGCTCCT CGCTGGCGCC TCGCTTGTGA TCGCATCCGG TCTTCGGCCT
1741 GGGTXTGGTT GCAGCCGAGC GCATGGCGTG GTGCACTGCT ATAGGTGTCC TTCATACCGT
1801 GACCTTGAAC AGTTWGGTCC TGGGCTTGGG AAATGGGTGC CATTGCCCGG CGAGCCTGCC
1861 CCGGAGTTGT GTATCAACCC TCAGTGGGCG AGGCGCGGCT TCCGGATGTC TAATAATCCT
1921 CTGAGCTTGC TACAGACCTT CGTTGAGGAC ATTTTCCTAG CGCCTTTTTG TAATCCGACG
1981 CCTGGCCGTG TACGTGTGTG TAACAATACC GCTTTCTATC CAAGAGGAGG CGGCTTTGCG
2041 CAGCTCATCG GXGACGTCCA GGTGCTAACC CCTAACACTG CATCTTTACA CTCTCTGCCG
2101 ACTTTGATAT CTCTTATCTT GTTGGTGTGC GTTGTTTCTG GTGCGCGATT CGTTCCACCA
2161 ATAATCATAT TTTTCTGGAG CGCGCGCCAC GTATATGCTT CTTGTTACTT AAGCTGTGAT
2221 TGGGCTGTTT GCAACGATGC GTTCTGTTTC ACATCTGGCA CTTGTGCTAC CTTCAATGAC
2281 GTCTTGTGTC TGCCGGTTGC GACGCGCATA TCGTCCTGTG GCCATGCTGT GCCACCGCCC
2341 GACCGTGGTT GGGAGGTGCC TGCGGCGATG TTCGCGGGAC TACTGGCTCG
2401 ACGTTCGATG TCTTTTCCTT CATXCAGTAC CTTCCTACTG TGCCTGGCAA CAACACCGAT
2461 ATCATTCCTT GTGGCTGACC AACCTTCTTC GGGGACATCA CGGGCATCTA TTGGCCTTAC
2521 TTTTTGCCTG GCGTGTTGCT CTTGTACTTG ACTCCCTTCC TXGGTTTAAG GTTAATGCCT
2581 GCCGGCTTTA ATATAGATGG CTTGTTTCCC ATACGGCATG CCACGGCTGC ACTGAGGTCC
2641 TCGACTTCGC GTGTGACCTT GAGTGTCGTA TCTGCTTTTC TAATCTATAT ATTATCTCAC
2701 CCTGTTAATG CTGCGCTCAA TAGAATGTTC TTAGCATCTG CAAATTTAGA GATGATCTTA
2761 TCCTTTGATA CCTATCATGA GACTGTTCTT TAXATCGTTT GTCCATTGCT CTACCTCCAG
2821 GTGTCGCCCC GTGCGGGCTT GGCCGCTATG GTGGCCATCA AGCCATCTCG AGGCCTGTCA
2881 TTCGCTGTGG TGTTGGCGCA CGGAGTGTGC CGACCTGGGC GGGCATTTGG TCTTGAGGTT
2941 TGCGCGGACA TCTCCTGGTT GGTGGAGTTC ACTGGCAACT GCACTTGGTA CATGTCCTGT
3001 GTCTTCTCTT TTTGGTGCGC AGTGTTTGCC TTCACCAGTC CACTTGGACG ACAGTATAAG
3061 CTTCAGATCT ATCGGTACTG GGCGCAGGTC TATGCCAGAC TCATCCTCGC TGTCGGTTGT
3121 GGTCCTCTCG GGCGAGAGTT CCATTTCCGC GCAAGCGTGG GCGCGCTTTG GTGTGGTGCT
3181 TGCATGCTCT GGCCCCGTGA GTGCTCTGAA ATCAGCTTGG TCTTCATTCT GTGTGCTCTG
3241 ACAGTGGACA CCATAGACAC ATGGTTAGTA GCGTGCTTGT CCGCAGGGCC XAGTGCGCGA
3301 ACCCTTGCAA CXCTGGCCGA TGACATGGCG CGCATXGGTG ACCACCGGGC GTTGCGCGCC
```

【図１３Ｂ】

FIG. 13B

```
3361 GTGTTGCGTT GCTTTGGATC ACGTGGCACA TACATATACA ACCACATGGG CCAGGTCTCA
3421 GAACGGGTGG CGCAAGCAGT CAGGGATCTC GGCGGTTGCT TGGAACCAGT CGTGTTGGAG
3481 GAGCCCACCT TTACTGAGXT CGTGGATGAT ACAATGAGTT TGGTGTGTGG ACAATTGCTT
3541 GGAGGTAAAC CCGTGGTGGC CCGCTGCGGC ACGCGTGTCT TGGTGGGACA CCTCAACCCT
3601 GAAGATCTGC CACCTGGTTT CCAGCTGAGC GCTCCGGTGG TTATTACCAA ACCAAGCATT
3661 GGTACGTGGT CCTTCCTTAA GGCGACACTC ACAGGGCGTG CTGAAACACC XGGATCCGGC
3721 CAGATCGTGG TGTTGTCTTC CCTGACAGGC CGGTCAATGG GTACTGCAGT GAATGGCACA
3781 CTGTATGCGA CCGGCCATGG TGCCGGTGCG CGCCGCCTAG CCACGTGCCC TGGTTTGAGG
3841 ACGCCACTTT ACACGGCATT ATCTGATGAC GTCGTGGCCT ACTCTTGCCT TCCGGGCACG
3901 AGTTCCCTAG AGCCCTGCXG CTGTTCGCCG AGCCGGGTTT GGGTGATGAA CAACAACGGA
3961 GGGTTGGTGT GTGGCAGAGT GGAGAAXGAC GACGTCTGTT TGGACTGTCC CACGCACATA
4021 GATCAACTGC GGGGTGCTTC GGGGTCACCG GTTTTGTGTG ATCACGGTCA TGCATACGCG
4081 TTGATGCTCG GTGGTTACTC TACCAGTGGT ATTTGTGCGC GTGTCCGGAT AGTCCGGCCA
4141 TGGCAGAACG CCTATTCCTC CTCAGGGGGG CAAGGCGGAA TGCAGGCGCC AGCTGTGACA
4201 CCAACATACT CTGAAATCAC CTACTATGCC CCTACTGGTT CTGGTAAGTC AACAAAATAT
4261 CCAGTGGACC TAGTCAAACA GGGACACAAA GTATTGGTCC TTACACCAAG TGTGGCTGCC
4321 GTCAAAAGTA TGGCCCCTTA CATTAAGGAG ACATATAAGA TTAGACCTGA AATTAGAGCT
4381 GGCACAGGXC CTGACGGTGT GACGGTCATC ACTGGTGAGA ACTCGGCGTA CATGACCTAT
4441 GGCCGCTTCC TTGTGGATCC GGAGACGAAC CTGCGGGGTT ATGCGTAGT CATTTGCGAC
4501 GAGTGCCACG ACACATCATC CACCACGCTA CTCGGCATTG GCGCAGTGCG CATGTATGCC
4561 GAGAAAGCTG GAGTGAAGAC CGTTGTATTC GCCACAGCCA CTCCTGCTGG CATTCAAGTA
4621 CAGCCACATC CCAACATTGA TGAATATTTA TTGACTGACA CAGGCGACGT GGAATTCTAC
4681 GGCGCCAAAA TCAAATTGGA CAACATCAGA ACTGGTAGAC ATGTTATCTT TTGCCACTCG
4741 AAGGCCAGGT GTGCGGAACT AACGCAGCAG CTCTCCGGCC TTGGTGTTCG TGCAGTGAGT
4801 TTTTGGCGCG GCTGTGACAT CAAAACCATT CCCGCCTCAG ACTCTATTGT TGTAGTGGCA
4861 ACTGATGCAT TGTCCACAGG CTACACAGGX AACTTTGATT CGGTCATCGA CTGCGGGTGT
4921 TGCGTAGAGC AAACTGTGAC AATTGACATG GACCCTACGT TCTCCATCTC GGCCCGAGTG
4981 GTGCCATGTA CTGCTGCATT GCGTATGCAG CGGCGCGGAC GTACCGGTCG TGGCAGAAGG
5041 GGAGCGTACT ACACAACCAC TCCAGGAGCA GCACCCTGCG TCAGCGTTCC CGATGCTAAC
5101 GTCTGGCAAG CAGTGGAGAG CGCCATGGTC TTTTATGATT GGAGTGCTGC CAGGATACAX
5161 CAGTGCCTGG CGGCATACCA TGATTTAGGG TGCACACCAC GCATCAGTTG TGACCCACAC
5221 ACTCCAGTGC GGGTGATGGA CACACTGAGG GCGTACCTGC GCAGACCTGA GGTGACGACT
5281 GCGGCTCTCG CAGGAGAGCA GTGGCCGCTG CTTTACGGTG TGCAGTTGTG CATCTGCAAA
5341 GAGACCGAGG CCCACGGTCC AGACGATXGC ATCAAGTGGA AGTGCTTACT CAACAACAGT
5401 AACAAAACAC CCCTGTTGTA TGCCTTAGAC AATCCTACAC TGGAATTCAC TACCCAACAT
5461 GACTTGACTC GCCGTATAGC CGGCGCTTTA TCGAGCACAG TGTTCGTGGA GACAGGCTAC
5521 GGCCCCATCC TCCTTGCTGG CGCCGCTTTG GCTGCCTCCT TCGCCTTTGC GGGCGCCACT
5581 GGAGCTTTAG TGCCGTCGGC CGTTTGGAGC GTTGACAACG GGCTTGCTGG CGTGACCCGT
5641 CCCGACGCGA CAGACGAGAC CGCGGCCTAC GCGCAGCGCT TGTACCAAGC CTGCGCAGAT
5701 TCAGGAATTX TCGCCAGCTT GCAGGGXACG GCGAGTGCGG CGCCGXGCAA ACTGGCCGAT
5761 GCCAGTAGGG GTGCTAGTCA ATATCTGGCA GCCCCGCCTC CTTCGCCCGC CCCCCTGGCA
5821 CAGGTGCTGC AGTTCCTXGA GACCAACTTT AGCTCCATTG CATCTTTCCG TCTGCTCTGT
5881 GCTGGCTGTC AGGCTGGCGA GTGCTTCACC GCGCTTGCCG GGTTGGTGTC CGGTGCTACA
5941 GCTGGCTTGG GAGGTGCCCA TAAGTGGTTG TTAGCTATTG CAGGAACTTG GCTAGTTAGC
6001 TTGCAGACTG GGCCCCGTGG CGGCATGGTT GCGGGXCTCT CGGTCTAGC AGGCTGTTGC
6061 ATCGGTAGTG TCACCGGGCT TGACTTCCTG TTTGGGTGCC TTACAGGTTG GGAGGCCGTG
6121 GTCGGTGCTG CGGTTGCGAC ACAGAAGATC TTGTCTGGTT CGGCTGATAT GACCACTCTG
6181 GTAGATCTCT TACCTGCTCT CTTCTCCCCT GGXGCCGGCA TAGCTGGCAT CGTGCTTGTC
6241 TTTATTCTAA GCAACTCAAG TGTAACCACG TGGGCTAATC GGCTATTGTC CATGTGTGCA
6301 AAACAAACXA TTTGTGAAAA CTACTTCTTA ACTGAGAAAT TTGGCCAACA ATTAAGCAAA
6361 CTTTCCCTGT GGCGCTCTGT GTACCATTGG GCGCAGGCAC GTGAGGGATA CACACAGTGC
6421 GGXGTGGTCA GCGGGATCTG GAGCTTTGTC TTGTGCATTC TACGCGCTGT GTGGGATTGG
6481 GCGGCXAAXC ATGTGCCACG GTTCCGTGTG CCTATGATTG GCTGCTCACC TGCGTGGTGC
6541 GGGCGCTGGC TTGGTACCGG CACCTTGTTG ACCACCTGTG GGTGTGGAGA ACGTGTGTCC
6601 CTTCAGTGCC TTTGCTCAAC ATCTGACCCA ACACTCAGTG TGGGCCGTTG GTGTCGGTGT
6661 AGTTGGAGTG TTGGGTTCCC ATTCAACCCG ACTACGACAG CCACCGGCAC TTTACGGCCG
6721 GACATCAGTG ACGCCACTAA ATTGGGTTTC CGGTATGGTG TTGCCGAGAT CGTGGAGCTA
6781 GAGCCGCCGG GCGACAAATG GCATGTCTGT GCAGCATCAT GTTGCTTGGA CCGAGCCAGC
```

【図１３Ｃ】

FIG. 13C

```
6841 GTTGCATCCG CCGTGAAGGC CCCACCGGTC ACGGCCAATG GTACACCTAT CAGTACCTTT
6901 TCTCCACCAC AAACTTACAG CCTCTCTCTC TGTTCTTTTG ATTCAGTTTG CATGTCTACT
6961 AACTTATGTA ACCCAGCTAA GACCCTGAGT GTGTGCTCXC AGGAGGCTGT TGAGCTACCG
7021 GAAGAAACAG TTGACACAGC ACAAGTAATG ATGTGTCAAA ATCCGGAGGC GCGAAGACGC
7081 GCXGAGTATG ATGCATGGCA AGTTCGCCAA GCACTTGGCG ACGAGTACAC GCGTTTGGCA
7141 GACGAGGATG TTGACACGAC AACGTCGGTG AAACCCCCGG TGGCCAGGGC TGCTGTGGGT
7201 AGCTCAACGT TGGATGATGT TAGCGTGCTG ACTGTCTTGC GCGAACTCGG CGACCAATGC
7261 CAAAATGCTA TCAAATTTGT AGTTCAGGCG GCTTCACGGT TTGCTCCACC AGTGCCCAAG
7321 CCACGCACGC GTGTCTCGGG TGTGTTGGAG CGTGTGCGCA TGTGCATGCG CACGCCACCA
7381 ATCAAGTTTG AGGCCACCGC AGTACCAATC CATAACATAA TCCCAGAAGA GTGTCACACT
7441 GTGCTACGCT GTACCGGCTG TAACGACCAG GCCTTGACTG TTCCGTACGG CACTTGCACT
7501 CAGACTTTAA TCAAACATTT GACTAACAAA CACAGCCACT ACACTCCAAA ACAGAAGACA
7561 GAAGAAGACA CAGAAGTAAC TGTCATTTGC GCCGTACCAA CAAAGCGCGC AAGTAAACCC
7621 ATCACTTTCA GACGAGGTGA TCGATCAGTC TCATGTTGTC ACCCCTTCCA AACTCCTACT
7681 AGGGCCCTGC TTCTAAAGTA CGGGTTACCT ATCCGGAAGT GGTCCGACTG CAACGGGCCC
7741 CTTGGTGACG ACGCCCGAGT CTGTGACGTC AATCGAGTAA CAACTTATGA ACCATGCACG
7801 CAATCCTACA GTTGGTTCCG ACCGATTGTG GCACCAACAA CCCCACCTTT ACCTGCAACC
7861 CGGAGCGTGG CTGGCATTTT ACGCGCAGAC ACATCGCGCG TTTACACCAC AACGGCGGTT
7921 GACGTCTCCG AGCGGCAGGC TAAGGTCACA ATTGATCAAA CATCAGCCAA GGTGGATCAG
7981 TGTTTCCGAG ACACATACAA TTGCTGCCTT GCTAAGGCAA AGACCTTCAG ACAATCTGGC
8041 ATGTCATATG AGGATGCTGT GTCAAAGATG CGCGCAAACA CCACGCGTGA CCATAACAAX
8101 GGCATCACTT ATTCAGATTT GGTCTCTGGA CGCGCAAAAC CTGTCGTTCA GAAAATTGTA
8161 GATCAAATGC GCGCTGGAGT GTACGACGCT CCAATGCGCA TTACCCCAAA ACCTGAAGCG
8221 TTCCCTCGAG ACAAGTCAAC ACGGAAGCCA CCXCGGTTCA TCGTTTTCCC TGGGTGCGCC
8281 GCGCGAGTCG CGGAGAAAAT GATCCTGGGC GATCCTGGCG CGACAACCAA GCACGTGCTA
8341 GGTGATGCCT ACGGGTTTGC CACTCCGCCG CATCAGCGCG CGCGCCTATT GGAACAATGG
8401 TGGAACCGCG CAACGGAGCC ACAAGCTATC GCGCTTGATG CGACCTGCTT TGATAGCACC
8461 ATCACGGCAG AGGACATGGA TCGTGAGGCC AACATCXTGG CTGCAGCGCA TXCGGACCCT
8521 GAAGGTGTTC ACGGCCTATA CAATTATTAC AAAAGAAGCC CCATGTGTGA CATCACAGGA
8581 AAAGTTGTCG GGGTGCGTTG CTGTCGAGCC TCAGGTACGC TTACAACAAG CAGTGGCAAC
8641 ACGCTTACTT GCTACCTCAA GGTTCGTGCA GCTTGCACGC GCGCCGGCAT TAAACCAACT
8701 GGCTTACTAA TTCATGGAGA TGACACCCTC ATTATCACAG ATGCGTTGCGC TCAAGAAACT
8761 CTCGATGAGT TCAGCAACGC ACTTGATGAC TATCGGTTCC CTCACACCAT CCAGGTGTCT
8821 GGGGACCTCT CGTCTGTCGA GTGCTGTAGC GCACGTGTGG ACAGCGTTTG CCTCCGGGGA
8881 GGTATGCGTC GCATGCTCGT GCCACAAGCT CGACGTGCGA TTGCACGCCT TCTCGGGGAA
8941 AAGGGCGATC CACTGGGTGT CATCAGCAGC TATATTGTCA TGTATCCTAC TGCGGCXGCG
9001 ACTGTCTACG TGCTATTGCC CCTGTTGTGC ATGCTCATTC GAAATGAGCC ATCGCAGACG
9061 GGGACACTTG TXACGCTGAC GGTCCACGGT AACAGTGTGA GCGTGCCAGT GTGGCTGCTT
9121 CCAACCATCA TTGXAAATTT ACATGGXCGT GACGCACTAC AGGTAGTCCG TCAAGTGCA
9181 GCTTCCATGG CGGAACTGTC ATCAGCGTTG GCCTTCTTTG GCACGAGAGG GTTGAACTGC
9241 TGGAGGCGGA GACGCCGTGC CATCAGGACT GATATGATCA AGTCGGGCGG GTGGAATGCG
9301 AATTTCGCGC AGATGTTACT GTGGTCACCG GAGGTXAGXA CACCACAXCC CGAACCAAXG
9361 GGXXTGTGTC TCTTXCCACC GGAACTATGG GAGCGTCCGT ACGAAATTT GCACTTGAGC
9421 ACGATCGACC GCAATCGTGG TGCTAGTCGC TTACGGTTTT GGTTGGTTGC TAGTGCTATA
9481 CTCGCTCTGC TTTGCTTGTA AATCCTAAAT CAATGTAGTA CCAGGACTAC AAGGCAGGAG
9541 GTGAAGTCAG CTGTACCCAC GGCTGGCTGA AACCGGGGCT TGACGACCCC CCCTATCCGA
9601 GTTGGGCAAG GTAACATCAC GGGTGTGACG ACCCCGCCCC CCCATGTCGC GCGTAAGCGC
9661 ACGGGCAAGG CAGCTAGGCT GAGAGTCTGG GCAACTCTCC CGTACCCCAC CCGAGGCTAC
9721 GCCTCGTCCT GGCGAGGACC GTAAACATAC GTCGTCAGCG TGGTGACCTG ACGTATCTTG
9781 TTAACCACTT AATGGTCGTA ACTCGACCCC CGTGCCGGGG ATCTAAGCGC GGCACCGCGA
9841 TGAGGGGGGT CAACGGCCCC TTTCATT
```

【図１４Ａ】

FIG. 14A

ヒトペギウイルス２（コンセンサス配列）遺伝子および非翻訳領域

５’ＵＴＲ配列

５’ＵＴＲ配列：配列番号２９９のヌクレオチド１－３２７

Ｓタンパク質および遺伝子配列

Ｓタンパク質アミノ酸配列：（配列番号３０４）

```
MGCSTDQTICSPVVGADYHTSGGCRALNGSVHCGGGSCRSPGRVQVARRVLQLCAPLALIGSGMCSIRSKTEGRIESSQ
```

Ｓタンパク質遺伝子配列：配列番号２９９のヌクレオチド３２８－５６４

Ｅ１タンパク質および遺伝子配列

Ｅ１タンパク質アミノ酸配列：（配列番号３０５）

```
ILQSQRACKTGESFAFFSHCCKQSDINKCLHRWCVCRPSCLVCTGNATHPVCXDYLGSGVSRRPARRWGEGAEVLLRLIGIAGKLGLLAEALG
NSEIYAAILCFGFIAKYGKGIPKTLVCTVCFAVHISFYSFLSPDTIAFGTKTILQLPGLLMQMFVCFPILYSTWILKLLLSGKTVAVIAILLAS
PTVMA
```

Ｅ１タンパク質遺伝子配列：配列番号２９９のヌクレオチド５６５－１１３７

Ｅ２タンパク質および遺伝子配列

Ｅ１タンパク質アミノ酸配列：（配列番号３０６）

```
YKHQSESYLKYCFITHASTANKCTCPPSTFRHTESSNSLIPFFCPVKIXSTPTCSNGSWWKAEHITRJYSDVGXPPAPISALCYYSHLDP
PPNYHTTILPQYCRHGTTCSPTTAPCRDKWGHATACILDRESRTCGDCYGGXFYTHGSHDRSXDRCSIGYRCGLIEFVQLAQGIRSHISCTIE
LLAGAGLVIASGLREGVGCCSRAHGVVHCYRCPSYSDLEQXGPGLGKWVPLPSEPVPELCIHPCWARRGFRMGHPLGLLQTFVEDIFLAPFCI
PTPGRVRVCHCTAFYPPGGGFMQICGDVQVLTPHTASLHSLCTLTGLILLVCVVSGARFVPLICIFFNSARKVYA
```

Ｅ２タンパク質遺伝子配列：配列番号２９９のヌクレオチド１１３８－２１９９

Ｘタンパク質および遺伝子配列

Ｘタンパク質アミノ酸配列：（配列番号３０７）

```
SCYLSCDWAVCNDAFCPTSGTCATFNDVLCLPVATRISSCSHAVPPPCRGWEVPAAMSWVISSTIGLTPDVFGFKQYLFTVPGHNTDIIYCGE
FTFFGDTTGIYWPYPLPNFVLLLYLCPPDGLRLNLAGHNLTGLPPIPHATAALPESTGRVTLSVVCAFLYILLSHFVHAALHRMFLAGAHLEMI
LSPDTYHETVLKIVCLLLYLQVSFHAGLAAMVAIKLSMGLLFAVVLAMGVC
```

Ｘタンパク質遺伝子配列：配列番号２９９のヌクレオチド２２００－２９１０

【図１４Ｂ】

FIG. 14B

ＮＳ２タンパク質および遺伝子配列

ＮＳ２タンパク質アミノ酸配列：（配列番号３０８）

```
RPGRVFGLEVCADIGWLVEFTGICTWVMSCVFSFWCAVFAFCSPLGRQYKLQIYRYYAQVYARLILAVGCGFLGREFHFRAGVGVLNCGACML
NDPEECEIGLVTLCALTVDTDCCKVACACLACRDSARTLATLACDMARKGDHRALRAVLRCFGDRGTYIYNHMGQVSERVAQAVRELGGCLEP
VVLEEPTTTEXVDTMSLVCGQLLGGKPVVAHCGTRVLVGHLHPEDLPPGFQLS
```

ＮＳ２タンパク質遺伝子配列：配列番号２９９のヌクレオチド２９１１－３６３０

ＮＳ３タンパク質および遺伝子配列

ＮＳ３タンパク質アミノ酸配列：（配列番号３０９）

```
APVVITKPSIGTWSFLKATLTGRAETPGSGCIVVLSSLTGRSMGTAVIGTLYATGHGAGARGLATCAGLRTFLYTALSDDYVAYSCLPGMSSL
EPCXCDPSRVKVMIINGGLVCGRVEXNDWCLDCPTHTDQLRGAGSSFVLCDHGHAYAIMLGGYSTSGICARVRIVXPAQTIAYSSSSGQGGMQA
PAVTPTYSEITYYAPTGSGKTCKYFVDLWKCGHKVLWLIPSVAVVKSMAPYIKETYERPEIRAGTGPDGVTVITGELLAYYTGRFLVDPET
HLRGYAVVICDECHDTSCTTLLCIGAVRVYAEEACVKTVVFATATPAGIQYQPHNIDEYLLTDTGDVEFYGAKIKLDHIRTGRHVIFCHSKKA
RCAELTQQLSGLGVRAVSFWRGCDIKTIPACDSIVVVATDALGTGYTGHFDSVIDCGCCVEQTVTIDMDPTFSISARVVPCTAALRMQRRGRT
GRGRRGAYYTTTPGNAPCVSVPCAHVAQAVESAMVFYDWSAARIXQCLAAYHDLGCTPRIGCDPHTPVRVMLTLRAYLRRRPEVITAALAGEQW
PLLYGVQLCLCKSTSAHGPDLXIFAFCLLHLSCKTPLLYALDUPTLEFTTQHDLTPRLAGALSSTVFVET
```

ＮＳ３タンパク質遺伝子配列：配列番号２９９のヌクレオチド３６３１－５５１４

ＮＳ４Ａタンパク質および遺伝子配列

ＮＳ４Ａタンパク質アミノ酸配列：（配列番号３１０）

```
GYGPILLAGAALAASFAFAGATGALVPSAVKSVDUGLAGVT
```

ＮＳ４Ａタンパク質遺伝子配列：配列番号２９９のヌクレオチド５５１５－５６３７

ＮＳ４Ｂタンパク質および遺伝子配列

ＮＳ４Ｂタンパク質アミノ酸配列：（配列番号３１１）

```
RPDATDETAAYAQRLYQACAISGGXXACLQGIASAALWKLADASRGAFQYLAAAPPSPAPLVQVLQFLETLFFGSIASFGLLCAGCQAGEGFFAL
AGLVSGATAGLGGAHGWLLAIACTWLVSLQIGPRCGWVAGLSVLAGCCIGSVTGLDPLFGCLTGWEEAVVGAAVATQKILSGSADMTIIVDLLP
ALPSPGAGIAGIVLVFILSUSSVTTWANPLLSXCAKYTICHIYFLTEKFGQQLSKLSLWRSVYHAQAESGYTQCG
```

Ｘタンパク質遺伝子配列：配列番号２９９のヌクレオチド５６３８－６４２３

【図１４Ｃ】

FIG. 14C

ＮＳ５Ａタンパク質および遺伝子配列

ＮＳ５Ａタンパク質アミノ酸配列：（配列番号３１２）

VVEGVKYLVLIGYDFVLCLILRLVKKVRDMYAKHYFRFRVFMIVGSFAWCGRWLSTGTLLCTVGCGERVSLQCLCSTSDFTLCYGRWCRCGWSVGFFPHFTTTA
TGTLRPDTSDATKLGFRYGYAEIVELHRRGDMKHVCAASCCLDRASVASAVKAPPVTAINGIRISTFSPPQTYSLSLCSPDSVCMSTLTCDPAK
TLCVCGQEAVELLEETVDTAQVHKCQILEARRRAEYDAWQVRQAVGDEYTRLADEDVDTTTCVKRPVARAAVGSSTLDEVGVLTVLRELSDQC
QIAIKFVVQAASRFVPEVRKRRTRVEGVLERVRMCMRTRPIKFEATAVPIHIIIPEECHTIVLRCTGCIHDQALTVFYGTCTQTLIKHLTHKHSH
YIPKQKIEEDTEVTVCCAVPTKRASKLITFRAGDRGVSDCHPLTPTIRALLKYGLPIGRKYDCNGPLGDDARVICDVHGVTTYEPM

ＮＳ５Ａタンパク質遺伝子配列：配列番号２９９のヌクレオチド６４２４－７７９７

ＮＳ５Ｂタンパク質および遺伝子配列

ＮＳ５Ｂタンパク質アミノ酸配列：（配列番号３１３）

MQCYGVFREVAPTFPFLPATFQVAGILRADTGRVYTTCAVDVGERQAKVTIDQTGAKVDQCFRDTYHCCLAKAKTFRQGGNSYEGPVGKMRA
UTTRDHIXGLTYSDLVGGKAKPVVQKIVDQMRAGVYLAPMRLIPKPEVFPRLKSTRKPPRIYFPGCAARVAEKMILGLPGAITKHVLGDAYG
FATFDHEFARLLEQKWMATSDQAIAVDAICFDSTIYAEDMDRAHIKGAAHMDPEGVHCLYYYKRGPMCDITGRVVCVRCCRADGTLDTTGG
GTLTLCYLKVRAACTRAGCRKFIGLLIHGDDTLIITSRCAQETLDEFGNRLRDDYGFFHTTGVQGDLGSVECCGARVDGVCLRGGHRKMLYPQAR
RAIARVLGERVGDPLGVISSYIVNYPTAAVTVVVLLPLICMLFHHEPGCFGTLVTLTVRGHSMSVPVSLLPTIIKHLHGRDALQVVPHSAAEMA
ELGSALAFFGMRGLLCKRRRRRAIRTDMIKLGGWNAIFAQMLLKSPEVXTPXPEPXGXCLXPPELKERPYEHLHLSTIEBURGASRLRFALVA
SAILALLCL

ＮＳ５Ｂタンパク質遺伝子配列：配列番号２９９のヌクレオチド７７９８－９４９８

３′ＵＴＲ配列

３′ＵＴＲコンセンサス配列：配列番号２９９のヌクレオチド９４９９－９８６７

【図１５Ａ】

FIG. 15A

ヒトペギウイルス２（ＡＢＴ００７０ｐ）核酸配列－配列番号３００

```
   1 AACTGTTGTT GTAGCAATGC GCATATTGCT ACTTCGGTAC GCCTAATTGG TAGGGGCCCG
  61 GCCGACCGGC CCCGCAAGGG CCTAGTAGGA CGTGTGACAA TGCCATGAGG GATCATGACA
 121 CTGGGGTGAG CGGAGGCAGC ACCGAAGTCG GGTCAACTCG ACTCCCAGTG CGACCACCTG
 181 GCTTGGTCGT TCATGGAGGG CATGCCCACG GGAAGCTGTA TCGTGCAAAG GGATGGGTCC
 241 CTGCACTGGT GCCACTGCGCG GCACCACTCC GTACAGCCTG ATAGGGTGGC GGCGGGCCCC
 301 CCCAGTGTGA CGTCCGTGGA GCGCAACATG GGGTGTTCAA CTGATCAAAC CATTTGTTCT
 361 CCAGTCGTGG AGGCCGACTA TAATACCTCC TCGGGCTGCC GGGCCTTAAA TGGGAGCTAC
 421 CACTGCGGTG GTGGCTCTTG CCGGTCACCA AGTCGTGTGC GCGGTGCAGG ACGAGTCCTG
 481 CGGCTGTGCG CATTCCTTGC GCTGATCGGA TCCGGTATGT GTTCCATCCG GTCCAAAAAT
 541 GAAGGGCGCA TTGAGTCAGG GCAAATATTG CAGTCTCAGC GCGCATGTTG GACTGGTGAG
 601 GGTTTCGCTT TCTTTTCTAA CTGTTGCAAT CAATCTGACA TTATGTGGTG TTTGCACCGT
 661 TGGTGTGTGA CAAGACCTGG CTGTTTGGTG TGCACGGGCA ATGCCACTCA TCCTGTCTGC
 721 TGGGACTATC TTGGGTCCGG TGTGAGTCGG CGGCCTGCGC GTCGAATGGG TGAGGGAGCT
 781 GAAGTGCTTC TTCGCTTGAT CGGCATTGCA GGTTGGCTCG GGCTCTTAGC TGAGGCTCTT
 841 GGTATGTCTG AGATCTATGC AGCTTTCCTT TGCTTTGGAT TTATTGCTTG GTATGGCTGG
 901 GGTATACCTA AGACATTGGT GTGCACAGTC TGCCCTGCAG TGAACATTTC TCCCTATAGC
 961 TTCTTATCTC CAGATACTAT CGCATTTGGT ACGTGGCTAC TACAACTGCC TGGTCTTTTG
1021 TGGCAAATGT TTGTCAGCTT CCCTATACTT TACAGTACTT GGATCTTTTG GTTGTTGCTC
1081 AGCGGCAAGA CTGTTGCTGT GATAGCGATC CTTTTTGCTA GTCCTACGGT TATGGCATAC
1141 AAGCATCAAG CTGATAGCTA CCTCAAATAC TGTACCATAA CCAATGCTTC AACTGCTATG
1201 AACTGTGACT GCCCCTTTGG AACTTTCACT CGCAATACTG AGTCTGGTTT CACTATACCT
1261 AGATTCTGTC CTGTTAAACT TAATAGCTCT ACATTTATCT GTTCATGGGG GTCGTGGTGG
1321 TGGTTTGCTG AGAACATCAC ACGTCCATAC TCGGACGTTG GCACTGCCGCC AGCACCGACT
1381 TCCGCTTTGT GCTATATCTA TTCAAACAAT GACCCACCTT CTTGGTATCG TAACACAACT
1441 ATCATACCTC AGAACTGTTA CAACTCTACG GCTGATCCTA CCACAGCTCC ATGCCGTGAC
1501 AAGTGGGGCA ATGCAACTGC TTGTATTCTT GACCGCCGGT CGCGGTTCTG CGGGGACTGC
1561 TATGGCGGTT GCTTCTACAC TAATGGTAGT CATGACCGAT CCTGGGATCG ATGCGGAACT
1621 GGTTACCGTG ATGGACTCAT AGAGTTCGTG CAGCTCGTTC AGACTCGACC TAACATCGCG
1681 AATACGACCA TTGAGCTCCT CGCTGGCGCC TCGCTTGTGA TCGCATCCGG TCTTCGGGCT
1741 GGGTATGGTT GCAGCCGAGC GCACGGCGTG GTGCACTGCT TTAAGTGTCC TTCATACCGT
1801 GACCTTGAAC GGTTCGGGCC CGGGCTTGGG AAATGGGTGC CATTGCCTGG CGAGCCTGTC
1861 CCGGAGTTGT GTATTAACCC GCAGTGGGCG AGGCGCGGCT TCCGGGTGTC TAATAATCCC
1921 TTAAGCGTGC TACAGACCTT CGTTGAGGAC ATTTTCTTAG CGCCTTTCTG CAATCCGACG
1981 CCTGGCCGTG TACGTGTGTG TAACAATACT GCTTTCTACC CGAGAGGAGG CGGCTTTGTG
2041 CAGCTCATCG GAGACGTCCA GGTGTTAACC CCCAACTCTA CATCTTTGCA CTCTCTGCTG
2101 ACTTTGATAT CCCTTATCTT GTTAGTGTGT GTTGTTTCTG GCGCGCGATT CGTTCCATTG
2161 GGAATCATAT TCTTCTGGAG CGTGCGCCAC GTATATGCTT CTTGTTACTT AAGCTGTGAT
2221 TGGGCTGTTT GCAACGATGC GTTCTGTTTC ACATCTGGCA CTTGTGCTAC CTTCAACGAC
2281 GTCTTGTGTC TGCCGGTTGC GGCGCGCATA TCGTCCTGTG GCCATGCTGT GCCACCGCCC
2341 GACCGTGGTT GGGAGGTGCC CGCAGCGATG TCATGGGCGA TTTCGCGTAC TACCGGCTTG
2401 ACGTTCGATG TCTTTTCCTT CATCCAGTAC CTTCCTACTG TGCCTGGCAA CAATTCCGAT
2461 ATCATTTACT GTGGTGAACC AAGCTTCTTC GGGGACATCA CGGGTATCTA TTGGCCTTAC
2521 TTTTTGCCCG GCATGTTGCT CTTGTACTTG ACTCCCCTCC TGGGTTTAAG GTTAATGCTT
2581 GCCGGCTTTA ATATAGATGG CTTGTTTCCC ATACGGCATG CCACGGCTGC ACTGAGGTTC
2641 TCGACTTCGC GTGTGACCTT GAGTGTCGTA TTTGCTTTCC TAATCTATAT ATTATCTCAT
2701 CCTGTTAATG CTGCGCTCAA TAGAATGTTC CTAGCATCTG CAAATCTAGA GATGATCTTA
2761 TCCTTTGATA CCTATCCATGA GACTGTTCTT TACGTCGTTT GTCCATTGCT CTACCTCCAG
2821 GTGTCGCCCC GTGCCGGGCTT GGCTGCTATG GTGGCCATCA AGCCATCTCG AGGCCTGTTA
2881 TTCGCTGTGG TGTTGGCGCA CGGAGTGTGC CGACCTGGGC GGGTATTTGG TCTTGAGGTT
2941 TGCGCGGACA TCTCTTGGTT GGTGGAGTTT ACTGGCAACT GCACTTGGTA CATGTCCTGT
3001 GTCTTCTCTT TTTGGTGCGC AGTGTTTGCC TTCACCAGTC CACCTGGACG ACAGTATAAG
3061 CTTCAGATCT ATCGGTACTG GGCGCAGGCC TATGCCAGAC TCACCCTCGC TGTCGGTTGT
3121 GGTCCTCTCG GGAGGGGAGTT CCATTTCCGT GCGAGCGTGG GCGTGCTCTG GTGTGGTGCT
3181 TGCATGCTCT GGCCCCGTGA GTGCTCTGAA ATCAGCTTGG TCTTTATTCT GTGTGCTCTG
3241 ACTGTGGACA CCATAGACAC ATGGTTAGTA GCGTGCTTGT CCGCAGGGCC AAGCGCGCGA
3301 ACCCTTGCAA CTCTGGCCGA TGACATGGCG CGCATTGGTG ACCACCGGGC GTTGCGCGCC
```

【図１５Ｂ】

FIG. 15B

```
3361 GTGTTGCGTT GCTTTGGATC ACGTGGCACA TACATATACA ACCACATGGG CCAGGTCTCA
3421 GAACGGGTGG CGCAAGCAGT CAGGGATTTC GGCCGTTGCT TGGAACCAGT CGTGTTGGAG
3481 GAGCCCACCT TTACTGAGGT CGTGGATGAC ACAATGAATT TGGCGTGTCG ACAATTGCTT
3541 GGAGGTAAAC CCGTGGTGGC CCGCTGCGGC ACGCGTGTCT TAGTGGGACA CCTCAACCCT
3601 GAAGACCTGC CACCTGGTTT CCAGCTGAGT GCTCCGGTGG TTATTACCAA ACCAAGCATT
3661 GGTACGTGGC CCTTTCTTAA GGCGACACTC ACAGGGCGTG CTGAAACACC GGGATCCGGC
3721 CAGATCGTGG TGTTGTCTTC CCTGACAGGC CGGTCAATGG GTACTGCAGT GAATGGCACA
3781 CTGTATGCGA CCGGCCACGG TGCTGGTGCG CGCGGCCTAG CCACGTGCGC TGGTTTGAGG
3841 ACGCCACTTT ACACGGCATT ATCTGAAGAC GTCGTGGCCT ACTCTTGCCT TCCGGGCATG
3901 AGCTCCCTAG AGTCCTGCAA CTGCTCGCCC AGCCGGGTTT GGGCGGTGAA CAACAACGGA
3961 GGGTTGGTGT GTGGCAGAGT GGAGAAAGAC GACGTCTGTT TGGACTGTCC CACGCACATA
4021 GATCAACTGC GGGGTGCTTC GGGGTCGCCG GTTTTGTGTG ATCACGGTCA TGCATACGCG
4081 TTGATGCTCG GTGGCTACTC TACCAGTGGT ATTTGTGCGC GTGTCCGGAT AGTCCGGCCA
4141 TGGCACAACG CCTATTCCTC CTCAGCGCGG CAACGCCGAA TGCAGGCGCC AGCTGTGACA
4201 CCAACATACT CTGAAATCAC CTACTATGCC CCTACTGGTT CTGGTAAATC AACAAAATAT
4261 CCAGTGGACC TAGTCAAGCA GGGACACAAA GTATTAGTCC TTTTACCAAG TGTGGCTGTC
4321 GTCAAAAGTA TGGCTCCTTA CATTAAGGAA AAATATAAGA TTAGACCTGA AATTAGAGCT
4381 GGCACAGGGC CTGACGGTGT GACGGTCATC ACTGGCGAGA ACTTGGCGTA CATGACCTAT
4441 GGCCGTTTCC TTGTAGATCC GGAAACGAAC CTGCGGGGTT ACGCTGTAGT CATCTGCGAC
4501 GAGTGCCATG ACACATCATC CACCACGCTA CTCGGCATCG GCGCAGTGCG CATGTATGCT
4561 GAGAAAGCTG GAGTGAAGAC CGTTGTATTC GCCACGAGCCA CTCCTGCTCG CATTCAAGTG
4621 CAGTCACATC CCAACATTGA TGAATATCTA TTGACTGATA CAGGCGACCT GGAATTCTAC
4681 GGCGCTAAAA TTAAATTGGA CAACATCAGA ACTGGTAGAC ATGTTATCTT TTGCCACTCG
4741 AAGGCCAGGT GTGCGGAACT AACGCAGCAG CTCTCCGGCC TTGGTGTTCG TGCAGTGAGT
4801 TTTTGGCGCG GCTGTGACAT CAAGAGCATT CCCGCCTCAG ACTCTATTGT TGTAGTGGCA
4861 ACTGATGCAT TGTCCACAGG CTACACAGGG AACTTTGATT CGGTCATTGA CTGCGGGTGT
4921 TGCGTAGAGC AAACTGTAAC AATTGACATG GACCCCACGT TCTCCATCTC GGCCCGAGTG
4981 GTGCCATGCA CTGCTGCATT GCGTATGCAG CGGCGCGGAC GCACCGGTCG TGGCAGGAGG
5041 GGAGCGTACT ACACAACCAC TCCAGGAGCA GCACCCTGCG TCAGCGTTCC CGATGCTAAC
5101 GTCTGGCAAT CAGTGGAGTC AGCCATGGTC TTTTATGATT GGAGTGCTGC CAGGATAGAG
5161 CAATGCCTGG CGGCATACCA TGATTTAGGG TGCACACCAC GCATCAGTTG TGACCCACAC
5221 ACTCCAGTGC GGGTGATGGA CACACTGAGG GCGTATCTGC GCAGACCTGA GGTGACGACC
5281 GCGGCTCTCG CAGGAGACGA GTGGCCGCTG CTTTACGGCG TGCAGTTGTG CATCTGCAAA
5341 GAGACCGAGG CCCACGGTCC AGACGATGGC ATCAAGTGGA AATGCTTACT CAATAACAAC
5401 AACAAAACAC CCCTGTTGTA TGCCTTAGAC AATCCTACAC TGGAATTCAC TACCCAACAT
5461 GACTTGACTC GCCGTATAGC TGGCGCTTTA TCGAGCACAG TGTTCGTGCA GACAGGCTAC
5521 GGCCCCATCC TCCTCGCTGG CGCTGCTTTG GCTGCCTCCT TTGCCTTTGC GGGCGCCACT
5581 GGAGCTTTAG TGCCGTCGGC CGTTTGGAGC GTTGAAAACG GGCTTGCTGG CGTGACCCGT
5641 CCCGATGCGA CAGACGAGAC CGCGGCCTAC GCGCAGCGCT TGTACCAAGC CTGCGCAGAT
5701 TCAGGAATTC TCGCCAGCTT GCAGGGTACG GCGAGTGCGG CACCGAGCAG ACTGGCCGAT
5761 GCCAGTAAGG GTGCTAGTCA ATATCTGGCA GCCGCGCCTC CTTCGCCCGC CCCCCTGGCA
5821 CAGGTGCTGC AGTTCCTCGA GACCAATTTT AGCTCCATTG CATCTTTCGG TCTGCTCTGT
5881 GCCGGCTGTC AGGCCGGCGA GTGCTTCACC GCGCTTGCCG GGTCGGTGTC CGGTGCTACA
5941 GCTGGCTTGG GAGGTGCCCA TAAGTGGTTG TTAGCTATTG CAGGAACTTG GCTAGTTAGC
6001 TTGCAGACTG GGCCCCGTGG CGGCATGGTC GCCGGTCTCT CAGTCTAGC AGGCTGTTGC
6061 ATCGGTAGTG TCACCGGGCT TGACTTCCTG TTTCGGTGCC TTACAGGTTG GGAGGCCGTG
6121 GTCGGTGCTG CGGTTGCAAC GCAGAAAATC TTGTCTGGTT CGGCTGACAT GACCACTCCG
6181 GTAGATCTCC TAGCTGCTCT CTTCTCCCCC GGCGCCGGCA TAGCTGGCGT CGTGCTTGTC
6241 TTTATTCTAA GCAACTCAAG TGTAACCATG TGGGCTAATC GGCTATTGTC CATGTGTGCA
6301 AAACAAACTA TTTGTGAAAA TTACTTCTTA ACTGAGAAAT TTGGCCAACA ATTAAGCAAA
6361 CTTTCCCTGT GGCGCTCTGT GTACCATTGG GCGCAGGCAC GTGAAGGATA CACACAGTGC
6421 GGTGTGGTCA GCGGGATCTG GAGCTTTGTC TTGTGCATTC TACGTGCTGT GTGGGATTGG
6481 GCGGCTAAAC ATGTGCCACG GTTCCGTGTG CCTATGATTG GCTGCTCACC TGCGTGGTGC
6541 GGGCGCTGGC TTGGTACTGG CACCTTGTTG ACCACCTGTG GGTGTGGAGA ACGTGTATCC
6601 CTTCAGTGCC TTTGCTCGAC ATCTGACCCA ACACTCAGTG TGGGCCGTTG GTGTTGGTGT
6661 AGTTGGCGTG TTGGGTTCCC ATTCAACCCG ACGACGACAG CCACCGGCAC TTTACGGCCG
6721 GACATCAGTG ACGCCACCAA ATTGGGCTTC CGGTATGGTG TCGCCGAGAT CGTGGAGCTA
6781 GAGCGGCGGG GCAACAAATG GCATGTCTGC GCAGCATCAT GTTGCTTGGA CCGGGCCAGC
6841 GTTGCATCCG CCGTGAGGGC CCCACCGGTC ACGCCCGATG GCATACCTAT CAGTACCTTT
```

【図１５Ｃ】

FIG. 15C

```
6901 TCTCCACCAC AAACTTACAA ACTCTCTCTC TGTTCTTTTG ATTCAGTTTG CATGACTACT
6961 AACTTATGTA ATCCAGCTAA GACCCTGAGC GTGTGCTCGC AGGAGGCTGT TGAGCTACTG
7021 GAAGAAACAG TTGACAGAGC ACAAGTAGTG ATGTGTCAAA ATCCGGAGGC GCGAAGACGC
7081 GCTGAGTTTG ATGCATGGCA AGTTCGCGAA GCAATTCGCG ACGAGTACAC GCGTTTGGCA
7141 GACGAGGATG TTGACGCGAC AACGTCGGTG AAACCCCCGG TGGCCAAGGC TGCTGTGGGT
7201 AGCTCGACGT TGGATGATGT TAGCGTGCTG ACTGTCTTGC GCGAACTCGG TGACCAGTGC
7261 CAAAATGCTA TCAAATTTGT AGTTCAGGCG GCTTCACGGT TTGTTCCACC AGTGCCCAAG
7321 CCACGCACGC GTGTCTCGGG TGTGTTGGAG CGTGTGCGCA TGTGCATGCG CACGCCCACA
7381 ATCAAGTTTG AGGCTGCCGC AGTACCAATT CATGATATAA TCCCAGAAGA GTGTCACACT
7441 GTGCTACGCT GTACCGGCTG CAACGACCAG GCCTTGACTG TTCCGTACGG CACTTGCACT
7501 CAGTCTTTAA TCAAGCATTT GACTAGTAAA CACAGTCACT ACACTCCAAA ACAGAAGACA
7561 GAAGAGGACA CAGAAGTAAC TGTCATTTGC GCCGTACCAA CAACGCGCGC AAGCAAACTC
7621 ATCACATTCA GAGCAGGTGA TCGATCAGTC TCATGTTGTC ACCCCTTGCA AACCCCTACT
7681 AGGGCCCTGC TTCTAAAGTA CGGGTTACCT ATCGGGAAGT GGTCTGACTG CAACGGGCCC
7741 CTTGGTGACG ATGCTCGAGT CTGTGACGTC AATGGAGTAA CAACTTATGA ACCATGACTG
7801 CAATCCTACA GTTGGTTTCG ACCGATTGTG GCACCAACAA CCCCACCTTT GCCTGCAACC
7861 CGGACCGTGG CTGGCATTTT ACGCGCAGAC ACATCGCGCG TTTACACCAC AACGGCGGTT
7921 GACGTCTCCG AGCGGCAGGC CAAGGTCACA ATTGATCAAA CATCAGCCAA GGTGGATCAG
7981 TGTTTCCGAG ACACATACAA TTGCTGCCTC GCTAAGGCAA AGACCTTCAG ACAATCTGGC
8041 ATGTCATATG AGGATGCTGT GTCAAAGATG CGCGCAAACA CCACGCGTGA CCATAACAAC
8101 GGCATCACTT ATTCAGATTT GGTCTCTGGA CGCGCAAAAC CTGTCGTTCA GAAAATTGCA
8161 AATCAAATGC GCGCCGGAGT GTACGACGCC CCGATGCGCA TTACCCCAAA ACCTGAAGCG
8221 TTCCCTCGAG ACAAACAAC ACGGAAGCCA CCGAGGTTCA TCGTTTTCCC TGGGTGCGCC
8281 GCGCGAGTCG CGGAGAAAAT GATCCTGGGT GATCCTGGCG CGATAACCAA GCACGTGCTA
8341 GGTGATGCCT ACGGGTTTGC CACTCCGCCG CATGAGCGCG CGCGCCTGTT GGAACAATGG
8401 TGGAACCGGG CAACGGAGCC ACAAGCTATC GCGGTTGATG CGATCTGCTT TGATAGCACC
8461 ATCACGGCAG AGGACATGGA TCGTGAGGCT AACATCGTGG CTGCAGCGCA TACGGACCCT
8521 GAAGGTGTTC ACGGCCTATA TAATTATTAC AAAAGAAGCC CCATGTGTGA CATCACGGGG
8581 AAGGTTGTCG GAGTGCGTTG CTGTCGAGCC TCGGGTACGC TTACAACAAG CAGTGGCAAC
8641 ACGCTTACTT GCTACCTTAA GGTTCGTGCA GCTTGCACGC GCTCCGGCAT TAAACCAACT
8701 GGCTTACTAA TTCATGGAGA TGACACCCTC ATCGTCACAG AACGTTGCGC TCAAGAGACT
8761 CTCGATGAGT TCAGCAACGC ACTTGATGAC TATGGGTTCC CACACACCAT CCAGGCGTCT
8821 GGGGACCTCT CGTCTATCGA GTGCTGTAGC GCACGTGTGG ACAGCGTTTG CCTCCGGGGA
8881 GGTATGCGTC GCATGCTTGT GCCACCAAGCT CGACGTGCGA TTGCACGCGT TCTCGGGGAA
8941 AAGGGCGATC CACTGGGTAC CATCGGTAGC TATGTTGTCA TGTATCCCAC TGCGGCCGTG
9001 ACTGTCTACG TGCTATTGCC CCTGTTGTGC ATGCTCATAC GAAATGAGCC ATCACAGACG
9061 GGGACACTTG TGACGCTGAC GGTCCACGGT AACAGTGTGA GTGTGCCAGC GTGGCTGCTT
9121 CCAACCATCA TTGCAAATTT ACATGGTCGT GACGCACTAC AGGTAGTCCG TCACAGTGCA
9181 GCTTCCATGG CGGAATTGTC ATCAGCGTTG GCCTTCTTTG GCATGAGAGG GTTGAATTGC
9241 TGGAGGCGGA GACGCCGTGC CATTAGGGCT GATATGATCA AGTCGGGCGG GTGGAATGCG
9301 AATTTCGCGC AGATGTTACT GTGGTCACCG GAGGTAAGAA CACCACAACC CGAACCAAGG
9361 GGTCTGTGTC TTTTGCCGCC GGAACTGTGG GAGCGTCCGT ACGAAAATTT GCACTTGAGC
9421 ACGATCGACC GCAATCGTGG TGCTAGTCGC TTACGGTTTT GGTTGGTTGC TAGTGCTATA
9481 CTCGCTCTGC TTTGCTTGTA AATCCTAAAT CAATGTAGTA CCAGGACTAC AAGGCAGGAG
9541 GTGAAGTCAG CTGTACCCAC GGCTGGCTGA AACCGGGGCT TGACGACCCC CCCTATCCGA
9601 GTTGGGCAAG GTAACATCAC GGGTGTGACG ACCCCGCCCC CCCATGTCGC GCGTAAGCGC
9661 ACGGGCAAGG CAGCTAGGCT GAGAGTCTGG GCAACTCTCC CGTACCCCAC CCGAGGCTAC
9721 GCCTCGTCCT GGCGAGGACC GTAAACATAC GTCGTCAGCG TGGCGACCTG ACGTATCTCG
9781 TTAACCACTT AATGGTCGTA ACTCGACCCC CGTGCCGGGG ATCTAAGCGC GGCACCGCGA
9841 TGAGGGGGGT CAACGGCCCC TTTCATT
```

【図１６Ａ】

FIG. 16A

ヒトペギウイルス２（ＡＢＴ００７０ｐ）遺伝子および非翻訳領域

５’ＵＴＲ配列

５’ ＵＴＲ配列：配列番号３００のヌクレオチド１－３２７

Ｓタンパク質および遺伝子配列

Ｓタンパク質アミノ酸配列：（配列番号３１４）

Ｓタンパク質遺伝子配列：配列番号３００のヌクレオチド３２８－５６４

Ｅ１タンパク質および遺伝子配列

Ｅ１タンパク質アミノ酸配列：（配列番号３１５）

Ｅ１タンパク質遺伝子配列：配列番号３００のヌクレオチド５６５－１１３７

Ｅ２タンパク質および遺伝子配列

Ｅ１タンパク質アミノ酸配列：（配列番号３１６）

Ｅ２タンパク質遺伝子配列：配列番号３００のヌクレオチド１１３８－２１９９

Ｘタンパク質および遺伝子配列

Ｘタンパク質アミノ酸配列：（配列番号３１７）

Ｘタンパク質遺伝子配列：配列番号３００のヌクレオチド２２００－２９１０

【図１６Ｂ】

FIG. 16B

ＮＳ２タンパク質および遺伝子配列

ＮＳ２タンパク質アミノ酸配列：（配列番号３１８）

ＮＳ２タンパク質遺伝子配列：配列番号３００のヌクレオチド２９１１－３６３０

ＮＳ３タンパク質および遺伝子配列

ＮＳ３タンパク質アミノ酸配列：（配列番号３１９）

ＮＳ３タンパク質遺伝子配列：配列番号３００のヌクレオチド３６３１－５５１４

ＮＳ４Ａタンパク質および遺伝子配列

ＮＳ４Ａタンパク質アミノ酸配列：（配列番号３２０）

ＮＳ４Ａタンパク質遺伝子配列：配列番号３００のヌクレオチド５５１５－５６３７

ＮＳ４Ｂタンパク質および遺伝子配列

ＮＳ４Ｂタンパク質アミノ酸配列：（配列番号３２１）

ＮＳ４Ｂタンパク質遺伝子配列：配列番号３００のヌクレオチド５６３８－６４２３

【図１６Ｃ】

FIG. 16C

ＮＳ５Ａタンパク質および遺伝子配列

ＮＳ５Ａタンパク質アミノ酸配列：（配列番号３２２）

ＮＳ５Ａタンパク質遺伝子配列：配列番号３００のヌクレオチド６４２４－７７９７

ＮＳ５Ｂタンパク質および遺伝子配列

ＮＳ５Ｂタンパク質アミノ酸配列：（配列番号３２３）

ＮＳ５Ｂタンパク質遺伝子配列：配列番号３００のヌクレオチド７７９８－９４９８

３’ＵＴＲ配列

３’ＵＴＲコンセンサス配列：配列番号３００のヌクレオチド９４９９－９８６７

【図１７Ａ】

FIG. 17A

ヒトペギウイルス２（ＡＢＴ００２９Ａ）核酸配列－配列番号３０１

```
   1 AACTGTTGTT GTAGCAATGC GCATATTGCT ACTTCGGTAC GCCTAATTGG TAGGCGCCCG
  61 GCCGACCGGC CCCGCAAGGG CCTAGTAGGA CGTCTGACAA TGCCATGAGG GATCATGACA
 121 CTGGGGTGAG CGGAGGCAGC ACCGAAGTCG GGTGAACTCG ACTCCCAGTG CGACCACCTG
 181 GCTTGGTCGT TCATGGAGGG CATGCCCACG GGAACGCTGA TCGTGCAAAG GGATGGGTCC
 241 CTGCACTGGT GCCATGCGCG GCACCACTCC GTACAGCCTG ATAGGGTGGC GGCGGGCCCC
 301 CCCAGTGTGA CGTCCGTGGA GCGCAACATG GGGTGTTCAA CTGATCAAAC CATTTGTTCT
 361 CCAGTCGTGG GGGCCGACTA TAATACCTCC TCGGGCTGCC GGGCCTTAAA TGGGAGTTAC
 421 CACTGCGGTG GTGGCTCTTG CCGGTCACCA AGCTGTGTGC AGGTTGCGAG ACGAGTCTTG
 481 CAGCTGTGCG CACTCCTTGC GCTGATCGGA TCCGGTATGT GTTCGATCCG GTCCAAAACT
 541 GAAGGGCGCA TTGAGTCAGG GCAAATATTG CAGTCTCAGC GCGCATGTTG GACTGGTGAG
 601 GGTTTCGCTT TCTTTTCTAA CTGTTGCAAT CAATCTGATA TCATGTGGTG TTTGCACCGT
 661 TGGTGTGTGA CAAGACCTGG CTGTTTGGTG TGCACGGGCA ATGCCACTCA TCCTGTCTGC
 721 TGGGACTATC TCGGGTCCGG CGTAAGTCGG CGGCCTGCTC GTCGAATGGG TGAGGGAGCT
 781 GAAGTGCTTC TTCGCTTGAT CGGCGCTGCA GGCTGGCTTG GGCTGTTAGC TGAGGCTCTT
 841 GGTATGTCCG AAATCTATGC AGCTATTCTT TGCTTTGGGT TTATTGCTTG GTATGGCTGG
 901 GGTATACCTA AGACATTGGT GTGCACAGTC TGCCCTGCAG TAAACATTTC TCCCTATAGC
 961 TTCTTATCTC CAGATACTAT CGCATTTGGC ACGTGGATAC TACAACTACC TGGTCTTTTG
1021 TGGCAGATGT TTGTCAACTT CCCTATACTT TACAGCACTT GGATTCTTTG GTTGTTGCCC
1081 AGCGGCAAGA CTGTTGCTGT GATAGCGATC CTTCTGGCTA GTCCTACGGT TATGGCTGAC
1141 AAGCATCAAT CTGACAGCTA CCTCAAATAC TGTACCATAA CCAATGCTTC AACTGCTATG
1201 AACTGTGACT GCCCCTTTGG AACCTTTACT CGCAATACTG AGTCTCGTTT CTCTATACCT
1261 AGATTCTGTC CTGTTAAAAT TAAAAGCTCT ACATTTATCT GCTCATGGGG GTCGTGGTGG
1321 TGGTTTGCGG AGAACATCAC GCGTCCATAC WCRGACGTTG GCRTGGCACC AGCACCGATT
1381 TCYGCTTTGT GCTATATCTA TTCWAACAAT GACCCACCTC CTTGGTATCA TAACACAACT
1441 ATCATACCTC AGAAYTGTCG CAACTCTACG GTKGATCCTA CCACARCTCC ATGCCGYGAC
1501 AAGTGGGGYA AYGCAACTGC TTGTATTCTT GACCGCCGKT CGCGGTTCTG CGGGGACTGC
1561 TATGGCGGTT GTTTCTATAC TAATGGTACT CATGATCGAT CCTGGGATCG ATGTGGGATT
1621 GGTTACCGTG ATGGACTCAT AGAGTTSGTG CAGCTCGGTC AGATTGGACC TAACATCTGS
1681 AATACGACCA TTGAGCTCCT CGCWGGCGCC TCGCTTGTGA TCGCATCCCG TCTTCGGCCT
1741 GGGTTTGGTT GCAGCCGAGC GCATGGCGTG GTGCACTGCT ATAGGTGTCC TTCATACCGT
1801 GACCTTGAAC AGTTTGGTCC TGGGCTTGGG AAATGGGTGC CATTGCCCGG CGAGCCTGTC
1861 CCGGAGCTGT GTATCAACCC TCAGTGGGCG AGGCGCGGCT TCCGGATGTC TAATAATCCT
1921 CTGAGCTTGC TACAGACCTT CGCTGAGGAC ATTTTCCTAG CGCCTTTTTG TAATCCGACG
1981 CCTGGCCGTG TACGTGTGTG TAACAATACC GCTTTCTATC CAAGAGGAGG CGGCTTTGTG
2041 CAGCTCATCG GGGACGTCCA GGTGCTAACC CCTAACACTG CATCTTTACA CTCTCTGCTG
2101 ACTTTGATAT CTCTTATCTT GTTGGTGTGC GTTGTTTCTG GTGCGCGATT CGGTCCACTA
2161 ATAATCATAT TTTTCTGGAG CGCGCGCCAY GTATATGCTT CTTGTTACTT AAGCTGRGAT
2221 TGGGCTGTTT GCAACGATGC GTTCTGTTTC ACATCTGGYA CTTGTGCTAC TTTCAATGAC
2281 GTCTTGTGTC TGCCGGTTGC AACGCCACTA TCGTCCTGTG GCCACCCTGT ACCGCCCCCC
2341 GACCGYGGTT GGGAGGTGCC TGCGGCGATG TCATGGGTGA TTTCGCGGAC TACTGGCTTG
2401 ACGTTCGATG TCTTCTCTTT CATCCAGTAC TTCCCTACTG TGCCTGGCAA TAACACTGAT
2461 ATTATCTACT GTGGTGAACC WACCTTCTTT GGGGACATCA CGGGCATTTA TTGGCCTTAC
2521 TTTTTGCCTG GCGTGTTGCT CTTGTACTTG ACTCCCTTCC TGGGTTTTAG GTTAATGCTT
2581 GCTGGCTTTA ATATAGATGG CTTGTTTCCC ATACGGGATG CCACGGCTGC ACTGAGGTTC
2641 TCGACTTCGC GTGCGACCTT GAGTGTCGTA TCTGCTTTTC TAACTATAT ATTATCTCAC
2701 CCTGTTAAYG CTGCGCTCAA TAGAATGTTC YTAGCATCTG CAAACTTAGA GATGATCTTA
2761 TCCTTTGATA CCTATCACGA GACTGTTCTT TACATCTTTT GTCTATTCCT CTACCTCCAG
2821 GTGTCGCCCC GTGCGGGCTT GGCCGCTATG GTGGCCATCA AGCTATCTCG GGGCCTGCTA
2881 TTCGCTCTGG TGTTGGCGCA AGGCGTGTGC CGACCTGGGC GGGTGTTCG TCTTGAGGTT
2941 TGCGCGGACG TCTCTTGGTT GGTGGAGTTT ACTGGCAACT GCACTTGGTA CATGTCCTGC
3001 ATCTTCTCCT TTTGGTGCGC AGTGTTTGCC TTCACCAGTC CACTTGGACG ACAGTATAAG
3061 CTTCAGATCT ACCGGTACTG GGCACAGGTC TATGCCAGAC TCATCCTCGC TGTCRGTTGT
3121 GGTCCTCTCG GACGAGAGTT CCATTTCCGC GCAAGCGTGG GCGTGCTTTG GTGGTGCT
3181 TGCATGCTCT GGCCCCGTGA GTGCTCTGAA ATCAGCTTGG CTCCCATTCT GTGTGCTCTG
3241 ACAGTGGACA CCATAGACAC ATGGCTAGTA GCGTGCTTGT CCGCAGGGCC GAGTGCGCGA
3301 GCCCTTGCAA CGCTGGCCGA CGACATGGTG CGCATGGGTG ACCACCGGGC GTTGCGCGCC
```

【図１７Ｂ】

FIG. 17B

```
3361 GTGTTGCGTT GCTTTGGATC ACGTGGCACA TACATATACA ACCACATGGG CCAGGTCTCA
3421 GAACGGGTGG CGCAAGCAGT CAGGGATCTC GGCGGTTGCT TGGAACCAGT CGTGTTGGAG
3481 GAGCCCACCT TTACTGAGGT CGTGGATGAC ACAATGAGTA AGATATGTGG ACAATTGCTT
3541 GGTGGTAAAC CCGTGGTGGC CCGCTGCGGC ACGCGTGTCT TGGTGGGACA CCTCAACCCT
3601 GAAGATCTGC CACCTGGTTT CCAGCTAAGC GCTCCGGTGG TTACTACCAA ACCAAGCACT
3661 GGTACGTGGT CCTTCCTTAA GGCGACACTC ACAGGGCGCG CTGAAACACC CGGATCCGGC
3721 CAGATCGTGG TGTTGTCTTC CCTGACAGGT CGGTCGATGG GTACTGCAGT GAATGGGCAC
3781 CTGTATGCGA CCGGCCATGG TGCTGGTGCA CGCGGCCTAG CCACGTGTGC TGGTTTGAGG
3841 ACGCCTCTCT ACACGGCATT ATCTGATGAC GTCGTGGCCT ACTCTTGCCT TCCGGGCATG
3901 AGTTCCCTAG AGCCCTGCCG CTGTTCGCCG AGCCGGGTTT GGGTGATGAA CAACAATGGA
3961 GGGTTGGTGT GTGGCAGAGT GGAGAATGAA GACGTCTGTT TGGACTGTCC CACGCACATA
4021 GATCAACTGC GGGGTGCTTC GGGTTCACCG GTTTTGTGTG ATCACGGTCA TGCATACGCG
4081 TTGATGCTCG GTGGTTACTC TACCAGTGGC ATTTGTGCGC GTGTCCGGAT AGTCCGGCCA
4141 TGGCACGAAC GCTATTCCTC CTCAGGGCGC CAGCGCGCGA TGCACGCGCC AGCTGTGACA
4201 CCAACATACT CTGAAATCAC CTACTACGCC CCTACYGGTT CTGGTAAGTC AACAAAATAT
4261 CCAGTGGACC TAGTCAAACA GGGACACAAG GTATTGGTCA TCATACCAAG TGTGTCTGCC
4321 GTCAAGAGTA TGGCCCCTTA CATTAAGGAG ACATATAAGA TTAGACCTGA AATTAGAGCT
4381 GGCACAGGGC CTGACGGTGT GACGGTTATC ACTGGTGAGA ACTCGGCGTA CATGACCTAC
4441 GGCCGCTTCC TCGTGGATCC GGAGACGAAT CTGCGGGGTT ATGCCGTTGT CATTTGCGAC
4501 GAGTGCCACG ACACATCATC TACCACGCTA CTCGGTATTG GCGCAGTGCG CATGTATGCC
4561 GAGAAAGCTG GAGTGAAGAC CGTTGTATTC GCCACAGCCA CTCCTGCTGG CATTCAAGTA
4621 CAGCCACACC CCAACATTGA TGAATATTTA TTGACTGACA CAGGCGACGT GGATTTCTAC
4681 GGCGCCAAAA TCAAATTGGA TAACATCAGA ACTGGTAGAC ATGTTATCTT TTGCCACTCG
4741 AAGGCCAGGT GTGCGGAACT AACGCAGCAG CTCTCCGGCC TTGGTGTTCG TGCAGTGAGT
4801 TTTTGGCGAG GCTGTGACAT CAAAACCATT CCCGCCTCAG ACTCTATTGT CGTAGTGGCA
4861 ACTGATGCAT TGTCCACAGG CTACACAGGG AACTTTGATT CGGTCATCGA CTGCGGGTGT
4921 TGCGTAGAGC AAACTGTGAC AATTGACATG GATCCCACGT TCTCCATCTC AGCCCGAGTG
4981 GTGCCATGTA CTGCTGCATT GCGTATGCAG CGGCGCGGAC GTACTGGTCG CGGCAGAAGG
5041 GGGGCGTACT ACACAACCAC TCCAGGAGCA GCACCCTGTG TCAGCGTTCC CGACGCTAAC
5101 GTCTGGCAAG CAGTGGAGAG CGCCATGGTC TTTTATGATT GGAACGCCGC CAGGATACAG
5161 CAGTGCCTGG CAGCATACCA TGATTTAGGG TGTACACCAC GCCTCAGTTG TGATCCATGC
5221 ACTCCAGTGC GGGTGATGGA CACACTGAGR GCGTACCTGC GCAGACCTGA GGTGACGACT
5281 GCGGCTCTCG CAGGAGAGCA GTGGCCGCTG CTTTACGGTG TGCAGTTGTG CATCTGCAAG
5341 GAGACTGAGG CCCACGGTCC AGACGATRGC ATCAAGTGGA AGTGCTTACT CAACAACAGT
5401 AAYAAAACAC CCCTGTTGTA TGCCTTAGAC AATCCTACAC TGGAATTCAC TACCCACACAT
5461 GACTTGACCC GCGTATAGCC CGGCGCTTTA TCGAGCACAG TGTCCGTGGA GACAGGCTAC
5521 GGCCCCATCC TCCTTGCTGG CGCTGCATTG GCTGCCTCCT TCGCCTTTGC GGGCGCCACT
5581 GGAGCCTTAG TGCCGTCGGC CGTTTGGAGC GTTGATAACG GGGTTGCTGG CGTGACCCGT
5641 CCCGACGCGA CAGACGAGAC CGCGGCCTAC GCGCAGCGCT TGTACCAAGC CTGCGCAGAT
5701 TCAGGACTTC TCGCCAGCTT GCAGGGCACG GCGAGTGCGG CGCTGAGCAA ACTGGCCGAT
5761 GCCAGTAGGG GTGCTAGTCA ATATCTGGCA AGCCGCCTC CCTCGCCCGC CCCCCTGGTA
5821 CAGGTGCTGC AGTTCCTTGA GACCAACTTT AGCTCCATCG CATCCTTCGG TCTGCTCTGC
5881 GCTGGTTGTC AGGCTGGCGA GTGCTTCACA GCGCTTGCCG GGTTGGTGTC CGGTGCTACG
5941 GCTGGCTTGG GAGGAGCCCA TAAGTGGTTG TTAGCCATTG CAGGAACTTG GCTAGTTAGT
6001 CTGCAGACAG GGGCCCGTGG CGGCATGGTT GCGGGCCTCT CGGTCCTGGC AGGCTGTTGC
6061 ATCGGTAGTG TCACTGGGCT TGACTTCCTG TTTGGGTGCC TTACAGGTTG GGAGGCCGTG
6121 GTTGGTGCTG CGGTTGCGAC ACAGAAAATC TTGTCTGGTT CGGCTGATAT GACCACTCTG
6181 TTAGATCTCT TAGCTGCTTT TTTCTCCCCT GGTGCCGGCG TAGCTGGCAT CGTGCTTGTC
6241 TTTATTCTAA GCAACTCAAG TGTAACCACG TGGGCTAATC GGCCATTGTC CATGTGTGCA
6301 AAACAAACCA TTTGTGACAA CTACTTCTTA TCTGACAAAT TTGGCCAACA ATTAAGTAAA
6361 CTTTCCTTGT GGCGCACTCT GTATCGTTGG GCGGAGGCAC GTGAGGGATA CACACAGTGT
6421 GGTGTGGTCG GCGGGATCTG GAGCTTTGTC TTGTGCATTC TACGCGCTGT GTGGGATTGG
6481 GCGGCTAAAC ATGTGCCACG GTTCCGTGTG CCCATGATTG GCTGCTCACC TGCGTGGTGC
6541 GGGCGCTGGC TTGGTACTGG CACCTTGTTG ACCACCTGCG GGTGTGGAGA ACGTGTGTCT
6601 CTTCAGTGCC TTTGCTCAAC GTCTGATCCA TTGCTCAGAG TGGGTCGTTG GTGTCGGTGT
6661 AGTTGGAGCG TTGGGTTCCC ATTCAACCCG ACTACGACAG CCACCGGCAC TTTACGGCCG
6721 GACATTAGCG ACGCCACTAG ATTGGGTTTC CGGTATGGCA TTGCCGAGAT CGTGGAGCTG
6781 GAGCTGCGGG AGCACAAATG GCACGTCTGT GCAGCATCAT GTTGCTTGGA CCGAGCTAGT
6841 GTTGCATCCG CTGTGAAGGC CCCACCGGTC ACAGCCAATG GTATACCTAT CAGTACCTTT
```

【図１７Ｃ】

FIG. 17C

```
6901 TCTCCACCAC AAACTTACAG CCTCTCTCTC TGTTCTTTTG ATTCAGTTTG CATGTCTACT
6961 AATCTATGTA ACCCAGCCAA GACCCTGAGT GTGTGCTCAC AGGAGGCCGT TGAGCTGCTG
7021 GAAGAAACAG TTGACACGGC ACAAGTGATG ATGTGTCAAA ATCTGGAGGC GCGAAGACGC
7081 GCCGAATATG ATGCATGGCA AGTTCGCCAC GCAGTTGGCG ACGAGTACAC GCGTTTGGCA
7141 GACGAGGATG TTGACACGAC AACGTCGGTG AAACCCCCGG CGGCCAGGGC TGCTGTGGAT
7201 AGCTCAACGT TGGAAGATGT TAGCGTGCTG ACTGTTTTGC GCGAGCTCGG CGACCAATGC
7261 CAAAATGCTA TCAAATTTGT AGTTCAGGCG GCTTCACGGT TTGTTCCACC TGTGCCCAGA
7321 CCGCGCACGC GCGTCTCGGG CGTGTTGGAG CGTGTGCGCA TGTGCATGCG CACGCCACCA
7381 ATCAAGTTTG AGGCCACCGC AGTACCAATC CATAACATAA TCCCAGAAGA GTGTCACATC
7441 GTGCTACGCT GTACTGGCTG TAACGACCAG GCCTTGACTG TTCCGTACGG CACTTGCACT
7501 CAGTCTTTAA TTAGACATTT GACCAACAAA CACAACCACT ATATTCCAAA ACAGAAGATA
7561 GAAGAAGACA CAGAAGTAAC TGTCATTTGC GCCGTACCAA CAAAGCGCGC AAGTAAACTC
7621 ATCACTTTCA GAGCAGGTGA TCGATCAGTC TCATGTTGCC ACCCCTTACA AACTCCTATT
7681 AGGGCCCTGC TTTTAAAGTA CCGGTTACCT ATCCGACGT GGTCCGACTG CAACGGACCC
7741 CTTGGTGACG ACGCCCGAGT CTGTGACGTC AATGGAGTGA CAACTTATGA ACCATGCATG
7801 CAATCCTACA GTTGGTTCCG ACCAATTTGG GCACCTACAA CCCCACCTTT ACCTGTAACC
7861 CGGAGCGTGG CTGGGATTTT ACGCGCAGAC ACATCGCGCG TTTACACCAC AACGGCGGTC
7921 GACGTCTCCG AGCGGCAGTC TAAGGTCACA ATTGATCAAA CATCAGCCAA GGTGGACCAG
7981 TGGTTCCGTG ACACATACAA CTGTTGCCTT GCTAAGGCAA AAACCTTCAG ACAATCTGGC
8041 ATGTCATATG AGGATGCTGT GTCAAAAATG CGCGCAAACA CCACGCGTGA CCATAACACT
8101 GGCATCACTT ATTCAGATTT GGTCTCTGGA CGCGCAAAAC CTGCCGTTCA AAAAATTGTA
8161 GATCAAATGC GTGCTGGAGT GTACGACGCT CCAATGCGCA TTACCCCAAA ACCTGAAGTG
8221 TTCCCCCGAG ACAAGTCAAC ACGGAAGCCA CCGCGGTTCA TCGTTTTTCC TGGGTGCGCC
8281 GCGCGAGTCG CGGAGAAAAT GATCCTGGGC GATCCTGGCG CGATAACCAA GCACGTGCTA
8341 GGTGATGCCT ACGGGTTTGC CACTCCGCCG CATGAACGCG CGCGCCTATT GGAGCAATGG
8401 TGGAACCGTG CAACGGAGCC ACAAGCTATC GCGGTTGATG CGATCTGCTT TGATAGCACC
8461 ATCACAGCAG AGGACATGGA TCGCGAGGCC AACATCCTGG CTGCGGCGCA TTCGGACCCT
8521 GAAGGTGTTC ACGGCCTATA CAATTATTAC AAAAGAAGCC CCATGTGTGA TATCACAGGA
8581 AATGTTGTCG GAGTGCGTTG CTGTAGAGCC TCAGGTACGC TTACAACAAG CAGTGGCAAC
8641 ACGCTTACTT GCTACCTCAA GGTTCGTGCA GCTTGCACGC GCGCCGGCAT TAAACCAACT
8701 GGCTTGCTAA TTCATGGGGA TGATACCCTC ATCATCACAG AACGTTGCGC TCAAGAGACT
8761 CTCGATGAGT TCAGCAATGC ACTTAATGAC TACGGGTTCC CTCACACCTT CCAGGCGTCT
8821 GGGGACCTCT CGTCAGTTGA GTGCTGTAGC GCACGTGTGG ACGACGTTTG CCTCCGGGGA
8881 GGTATGCGTC GCATGCTCGT GCCACAAGCT CGACGTGCGA TTGCACGCGT TCTCGGGGAA
8941 AAGGGCGATC CACTGGGTGT CATCAGCAGC TATATTGTCA TGTATCCTAC TGCGGCCGTG
9001 ACTGTCTACG TGCTATTGCC CCTGTTGTGC ATGCTCATTC GAAATGAGCC ATCGCAGACG
9061 GGGACACTTG TAACGCTGAC GGTCCACGGT AACAGTGTGA GCGTGCCAGT GTGGCTGCTT
9121 CCAACCATCA TTGTAAATTT ACATGGCCGT GACGCACTGC AGGTAGTTCG TCACACTGCA
9181 GCTTCCATGG CGGAGCTGTC ATCAGCGTTG GCCTTCTTTG GCATGAGAGG GTTGAACTGC
9241 TGGAGGCGGA GACGCCGTGC CATCAGGACT GACATGATCA AGTTGGGCGG GTGGAATGCG
9301 AATTTCGCGC AGATGTTACT GTGGTCACCG GAGGTGAGGA CACCACAACC CGAACCAAGG
9361 GGTGTGTGTC TCTTACCACC GGAACTATGG GAGCGTCCGT ACGAAAATTT GCACTTGAGC
9421 ACGATCGACC GCAACCGTGG TGCTAGTCGC CTACGGTTTT GGTCGGTTGC CAGTGCTACG
9481 CTCGCTCTGC TTTGCTTGTA AATCCTAAAC CAATGTAGTA CCAGGACTAC AAGGCAGGAG
9541 GTGAAGTCAG CTGTACCCAC GGCTGGCTGA AACCGGGGCT TGACGACCCC CCCTATCCGA
9601 GTTGGGCAAG GTAACATCAC GGGTGTGACG ACCCCGCCCC CCCATGTCGC GCGTAAGCGC
9661 ACGGGCAAGG CAGCTAGGCT GAGAGTCTGG GCAACTCTCC CGTACCCCAC CCGAGGCTAC
9721 GCCTCGTCCT GGCGAGGACC GTAAACATAC GTCGTCAGCG TGGTGACCTG ACGTATCTTG
9781 TTAACCACTT AATGGTCGTA ACTCGACCCC CGTGCCGGGG ATCTAAGCCC GGCACCCGCA
9841 TGAGGGGGGT CAACGGCCCC TTTCATT
```

【図１８Ａ】

FIG. 18A

ヒトペギウイルス２（ＡＢＴ００２９Ａ）遺伝子および非翻訳領域

５’ＵＴＲ配列

５’ＵＴＲ配列：配列番号３０１のヌクレオチド１－３２７

Ｓタンパク質および遺伝子配列

Ｓタンパク質アミノ酸配列：（配列番号３２４）

```
MGCSTDQIICSPVVGADVNTSSGCRALNGSYHCGGGSCRGPSCVQVARRVLQLCALLALLSGMCSIRSKTEGRIESGQ
```

Ｓタンパク質遺伝子配列：配列番号３０１のヌクレオチド３２８－５６４

Ｅ１タンパク質および遺伝子配列

Ｅ１タンパク質アミノ酸配列：（配列番号３２５）

```
ILQSQRACWTGEGFAFPSHCCNQSDIWCLERWCVTRPGCLVCTGNATHFVCWDYLGSGVSRRPARRMSEGAEVLLRLIGAAGWLGLLAEALG
MSEIYAAILCFGFIAWYGWGIPKTLVCTVCFAVHISPYSFLSFDTIAFGTWILQLPGLLWQMFVWFFILYSTWLWLLLSGKTVAVIAILLAS
PTVMA
```

Ｅ１タンパク質遺伝子配列：配列番号３０１のヌクレオチド５６５－１１３７

Ｅ２タンパク質および遺伝子配列

Ｅ１タンパク質アミノ酸配列：（配列番号３２６）

```
YKKQSDSYLKYCTITHASTAMKCDCPPGTFTRNTESRFSIPRFCPVKIKSSTFICSWGSWWFAEHTRPYKDWGKPPAPISALCYIYSHKDP
PNWYLHTISPQHCHGTVDPTCKPCPDKWSHATACILDPRSRFCGDCVGGCFYTHGTHDRSGWDCGIGYRDGLLKAVDLGQCKPHIKYTTIE
LLAGAGLVIASGLRFGFGCSRAHGYVHCYRCPGYRDLSQPGPLGKKVFLPGEPVFELCINPGWARSFPRHGHHPLSLLQTFVEDIPLAFFCH
PTPGRVRVCHHTAFYPDGGFVQLIGDVCVLTPHTASLHSLLTLISLIILLVCVVGGARFGPLIIIFFWSARHVYA
```

Ｅ２タンパク質遺伝子配列：配列番号３０１のヌクレオチド１１３８－２１９９

Ｘタンパク質および遺伝子配列

Ｘタンパク質アミノ酸配列：（配列番号３２７）

```
SCYLSKDKAVCHDAFCPTSGTCATFHDVLCLPVATHIISSCGHAVDPPDRGWEVTAAHSKVIGRTTGLFPDVFSPIQYFTTVPGHHTDIIVCQE
PTFPGDITGCYWPVFLPCVLLLYLTPFLCFFLMLACFHCDGLFPIRKATAALRFGTGRACLGVVCAFLCYILGHFVHAALHSMPLAGAHLEMI
LGFDTYHHCTVLYIFCLPLYLQVSPRAGLAAMVAIKISPGLLPALVLAQGVC
```

Ｘタンパク質遺伝子配列：配列番号３０１のヌクレオチド２２００－２９１０

【図１８Ｂ】

FIG. 18B

ＮＳ２タンパク質および遺伝子配列

ＮＳ２タンパク質アミノ酸配列：（配列番号３２８）

```
RPGRVPGLEVCADVSNLVEPTGHCTKYMGCIPSFWCAVFAFTSPLGRQYKLQIYRYKAQVYARLIIAVNCGFLGREFHFRASVGVLNCSACML
WPRECSEISLALILCALTVDTIDTRLVACLSAGPSARALATLAQDMVSNGDHRALRAVLRCFCSRGTYIYUHMGQVSERVAQAVRDLGGCLEP
VVLERPTFTRVVDDTMGKTCSQLLGGKPVVARCGTRVLVGHLHPEDLPPGFQLS
```

ＮＳ２タンパク質遺伝子配列：配列番号３０１のヌクレオチド２９１１－３６３０

ＮＳ３タンパク質および遺伝子配列

ＮＳ３タンパク質アミノ酸配列：（配列番号３２９）

```
APVVITKPSIGTWSFMATLTGRAETPGSCQIVVLSSLTGRSMCTAVKQTLYATCHCAGARCLATCAGLRTPLYTALSDDVVAYSCLPGMSSI
BPCRCSPSRVKVMILNGGLVDGRVEUEDVCLDCPTHIDQLRGASGSFVLCDHGHAYAVNLGGYSTSGICARVRIVRFAQHAYSSSGGQSGHQA
PAVTPTYSEITYYAFTGRGKCTKYPVDLVMKQGHKVLVIIPSVGVVKNKAPYIKETYKIFPEIRAGYGPDGVTVITGHNLAYMTYGRFLVDPET
HLRGYAVTIDECHCTGSTTLLGIGAVRMYAEKAGVKTVFYCATPNCLTPNCTQVQPHHIDEYLLTDTGDVDTRVGAKHKLSHIRTCRHVIFCHGYA
RCAELTQQLSGLGVRAVSFNGGCDIKTIPASDSIVVVATDALSTGYTGHFSVIDCGCCVEQTVTIDMDPTFSISARVVPCTAALRMQRRGRT
GRGRKGAYYTTPGAAPCVSVPDAIVKQAVEGSAMVFYDKHAARIQQCLAAYHDLGCTPHLSCIPCTPVRVMIDLRAYLRRPEVTTAALAGEQA
PLLYGVQLCICKETEAHGPDDXIKWKCLLNDCHKPLLYALDHPTLEFTTGHDLCPRINALGSTVFVET
```

ＮＳ３タンパク質遺伝子配列：配列番号３０１のヌクレオチド３６３１－５５１４

ＮＳ４Ａタンパク質および遺伝子配列

ＮＳ４Ａタンパク質アミノ酸配列：（配列番号３３０）

```
GYSPILLAGAALAASFAFAGATGALVPSAVWDVDNGVAGVT
```

ＮＳ４Ａタンパク質遺伝子配列：配列番号３０１のヌクレオチド５５１５－５６３７

ＮＳ４Ｂタンパク質および遺伝子配列

ＮＳ４Ｂタンパク質アミノ酸配列：（配列番号３３１）

```
RPDATDETRAYAQRLVQSCADQGILASLQGTASAALSKLADASRGADQYLASAFPSFAPLVQVIQFLFTHFSSTASRGLLCAGCQRGECFTAT
AGLVSGATAGLGGAHKVLAIAGTWLVGLQTGARGGHVAGLSVLAGCCIGSVTGLDFLFGCLTGKEAVIGRAVATQKILSGSAMITTLCLLP
AFFSPSAGVAGIVLVFILSHISVTTKAHRLLSMCAKQTICDIYFLSDKFGQQLCKLSLKRCLYRKAEARESYCQCG
```

ＮＳ４Ｂタンパク質遺伝子配列：配列番号３０１のヌクレオチド５６３８－６４２３

【図１８Ｃ】

FIG. 18C

ＮＳ５Ａタンパク質および遺伝子配列

ＮＳ５Ａタンパク質アミノ酸配列：（配列番号３３２）

VVGGIWSFVLIILRAVWDWAAKHVPRFRVPMIGCSPAWCGRXLGTGTLLTTCGCGERVSLQCLCSTSDPLLRVGAWCRCSKYCVGFPHPTTTA
TGTLRPDIGDATRLGFRYGIAEIVELELRPHKHVCAAGCCLDRAGVASAVKAFPVTAIHGIPISTFGPPQTYGLSLCSFGSVCMSTILCIPAK
TLSVCSQEAVELLEETVDTAQVKMCQHLEARRPAEYDAWQVRHAVGCEYTRLACEDVDTTTSVKPPAARAAVESSCLEDVSVLTVLRELGDQC
QAIKFVVQAAGREVPPVFPPRTRVSGVLERVRRCHSTPPIFPEATAVPIHHIIPESCHTVLECTGCCDQALTVPYGTCTQSLIRHLTCRHCH
YIPPQKIEEDTEVTVICAVPTKGRAKLIIFRARDPSWSCCHPLQTPIRALLLKYCLPIGTGKSDCIGPLDDARVCJNHGVTYEPC

ＮＳ５Ａタンパク質遺伝子配列：配列番号３０１のヌクレオチド６４２４－７７９７

ＮＳ５Ｂタンパク質および遺伝子配列

ＮＳ５Ｂタンパク質アミノ酸配列：（配列番号３３３）

MSDYDVEFEIVAPTTPPLPVTRDVAGILRADTSRVYFTTAVDVDERQCRVTIDQTGAKVDQWFRDTYNCCLLAKAKTFPQGDMSYEDAVSWNRA
HTTRDHMTGIIYKDLVSGRAKPAVQKIVDQMRAGVYDAPMRLIPKPEVFPRDKSTPKPPRFIVFPGCAARVAEKMILSDPGATKHVLSDAYG
FATPPHERARLLEQKWMDATEPQAIAVDAICFDSTIFTAEMMDRBAHILAAAHSPEGVHGLYLYYKRSPMCDITGHVVGVRVCRASGCLTTSS
GNTLTCYLKVRAACTRAGIKPSLGLLIHGDDTLIITERCAQEKLDEFGHALMDYGFPHTPQASSDLSSVECCSARVCDEVCLEKGMRRKLVPQAR
RAIARVLGERGSDPLGVLSSYIVXYPTAMVTVYYLLPLCHLLRHEPSQTGTLVTLTVRGHSVCVPVWLLPTIIVCLEGRZALQVVPHTAAMMA
ELSGMLAFFGMRGLHCWRRRRRAIRTDXIKLGGWMAFAQHLLWSPEVTPQPEPFGVCLLPPELWERPYEHLHLSTIDSHHGAMSRLEFWLVA
SAILALLCL

ＮＳ５Ｂタンパク質遺伝子配列：配列番号３０１のヌクレオチド７７９８－９４９８

３’ＵＴＲ配列

３’ＵＴＲコンセンサス配列：配列番号３０１のヌクレオチド９４９９－９８６７

【図１９Ａ】

FIG. 19A

ヒトペギウイルス２（ＡＢＴ０２３９ＡＮ）核酸配列ー配列番号３０２

```
   1 NNNNNNNNNNNN NTAGCAATGC GCATATTGCT ACTTCGGTAC GCCTGATTGG TAGSCGCCCG
  61 GCCGACCGGC CCCGCAAGGG CCTAGTAGGA CGTGTGACAA TGCCATGAGG GATCATGACA
 121 CTGGGGTGAG CGGAGGCAGC ACCGAAGTCG GGTGAACTCG ACTCCCAGTG CGACCACCTG
 181 GCTTGGTCGT TCATGGAGGG CATGCCCACG GGAACGCTGA TCGTGCAAAG GGATGGGTCC
 241 CTGCACTGGT GCCATGCGCG GCACCACTCC GTACAGCCTG ATAGGGTGGC GGCGGCCCCC
 301 CCCAGTGTGA CGTCCGTGGA GCGCAACATG GGGTGTTCAA CTGATCAAAC CATTTGTTCT
 361 CCAGTCGTGG GGGCCGACTA TAATACCTCC TCGGGCTGCC GGGCCTTAAA TGGGAGCGAC
 421 CACTGCGGTG GAAGCTCTTG CCGGTCACCA AGTCGTGTGC AGGCTGCTAG ACGAGTCTTG
 481 CAGCTGTGCG CATTCCTTGC GTTGATCGGA TCCGTATGT GTTCGATCCG GTCCAAAACT
 541 GAAGGGCGCA TTGAGTCGGG GCAAATATTG CAGTCTCAGC GCGCATGTTG GACTGGTGAG
 601 GGTTTTGCCT TCTTCTCTAA CTGTTGCAAT CAATCTGATA TTATGTGGTG TTTGCACCGT
 661 TGGTGTGTGA CAAGACCTGG CTGTTTAGTG TGCACGGGCA ATGCCACCCA TCCTGTCTGC
 721 TGGGACTACC TTGGGTCCGG TGTAAGTCGG CGGCCTGCGC GCCGATTGGG CGAGGGTGCT
 781 GAAATGCTTC TTCGCTTGAT CGGCATTGCA GGTTGGCTCG GCTTGTTAGC TGAGGCTCTT
 841 GGTATGTCCG AAATGTATGC AGCTATCCTT TGCTTTGGGT TTATTGCTTG GTATGGCTGG
 901 GGTATACCTA AAACATTGGT GTGCACAGTC TGCCCTGCGG TAAACATTTC TCCCTATAGC
 961 TTTTTATCCC CAGACACTAT CGCATTTGGC ACTTGGATAC TACAACTACC TGGTCTTTCG
1021 TGGCAAATGT TTGTCAACTT TCCTATCTT TACAGCACTT GGATCTCTTG GTTGTTGCTT
1081 AGTGGCAAGA CTGTCGCTGT GATAGCAATC CTTTTGGCTA GTCCTACGGT TATGGCGTAC
1141 AAGCATCCAT CTGAAAGCTA CCTCAAATAC TGTACCATAA CCAATGCTTC AGCTGCTACG
1201 AACTGTGACT GCCCCTTTGG AACCTTTACT CGCAATACTG AGTCTCGTTT CTCTATACCT
1261 AGATTCTGTC CTGTTAAAAT TGAGAGTTCT ACATTTATCT GCTCATGGGG GTCGTGGTGG
1321 TGGTTTGCTG AGAACATCAC ACGTCCATAC TCGGACGTCG GCATGCCGCC AGCACCGATT
1381 TCCGCTTTGT GCTATATCTA TTCAAACAAT GACCCACCTC CTTGGTATTA TAATACAACT
1441 ATTATACCTC AGAATYTGTCG CAACTCTWCG GTTGATCCYA CCACAGCTCC ATGCCGTGAC
1501 AAGTGGGGCA ATGCAACTGC TTGTATTCTT GACCGCCGGT CGCGGTTCTG CGGGGACTGC
1561 TATGGCGGCT GCTTCTATAC TAATGGTAGT CATGATCGAT CCTGGGATCG ATGCGGGATT
1621 GGTTACCGTG ATGGACTCAT AGAGTTTGTG CAGCTTGGTC AGATTCGACC TAACATCTCG
1681 AACACGACCA TTGAGCTCCT CGCTGGTGCC TCGCTTGTGA TTGCCCCGG TCTTCGGCCT
1741 GGGTACGGTT GCAGTCGAGC GCATGGCGTG GTGCACTGCT ATAGGTGTCC TTCATACCGT
1801 GACCTTGAAC AGTTCGGTCC TGGGCTCGGG AAATGGGTGC CGTTGCCTGG TGAGCCTGTC
1861 CCGGAGTTGT GTATCAACCC TCAATGGGCG AGGCGCGGCT TCCGGGTGTC TAACAATCCT
1921 TTAAGCTTGA TACAGACCTT TGTTGAGGAC ATCTTCCTAG CGCCTTTTTG YAMTCCGACG
1981 CCTGGTCGTG TACGTGTGTG TAACAATACT GCTTTCTATC CAAGAGGAGG CGGCTTTGTG
2041 CAGCTCATCG GAGACGTCCA GGTGCTGACC CCTAACACTG CATCTTTACA CTCTCTGCTG
2101 ACCTTGATAT CCCTCATCTT GCTAGTGTGC GTTGTCTCTG GCGCGCGATT CGTCCCATTA
2161 ATCATCATAT TTTTCTGGAG CGTGCGCCAC GTATATGCTT CCTGTTACTT GAGCTGTGAT
2221 TGGGCTGTTT GCAACGATGC ATTCTGTTTC ACTTCTGGTA CTTGTGCTAC CTTCAATGAC
2281 GTCTTGTGCC TGCCGGTTGC GACGCGTATA TCGTCCTGTG GGCATGCTCT GCCACCGCCC
2341 GACCGTGGCT GGGAGGTGCC TGCGGCGCTG TCAYGGGKGA TTTCGCGGAC TACYGGCTTG
2401 ACGTTCGATG TCTTTCTTTT CATTCAGTAT CTTCCTACTG TGCCTGGCAA CAATTCCGAT
2461 ATCATTTACT GTGGTGAACC GACCTTTTTC GGGGATCTCA CGGGCATCTA TTGGCCTTAC
2521 TTTTTGCCTG GTGTGTTGCT TTTGTACTTG ACTCCCTTCC TTGGTTTAAG GTTAATGCTT
2581 GCCGGCTTTA ATATAGATGG CTTATTTCCC ATACGGCATG CCACGGCTGC ACTGAGGTTC
2641 TCGACTTCGC GTGTGACCCT GAGTGTCGTG GCTGCCTTTC TAATCTATAT ATTATCCCAC
2701 CCTGTTAACG CTGCGCTCAA TAGAATGTTC TTAGCATCTG CAAATTTAGA GATGATTCCA
2761 TCCTTTGACA CTTATCATGA GACTATCCTT TATATCGTCT GCCTAATGCT CTACCTCCAG
2821 GTGTCACCCC GTGCGGGCTT GGCCGCCATG GTGGCCATCA AGCTATCTCG AGGTCTGTCA
2881 TTCGCTGTGG TGTTGGCGCA CGGAGTGTGC CGACCCGGGC GGGTATTTGG TCTTGAGGTT
2941 TGCGCGGACA TCTCCTGGTT GGTGGAGTTC ACTGGCAACT GCACTTGGTA TATGTCCTGT
3001 GTCTTCTCTT TTTGGTGCGC AGTGTTTGCC TTCACCAGTC CACTTGGACG ACAGTATAAG
3061 CTTCAGATCT ATCGGTACTG GGCGCAGGTC TATGCCAGAC TCATCCTCCC TGTCGGTTGT
3121 GGTCCTCTCG GCCGAGAGTT CCATTTCCGC GCAAGCGTGG GCGTACTTTG GTGTGGCGCT
3181 TGCATGCTCT GGCCCCGTGA GTGCTCTGAA ATCAGCTTGG TCTCATTCT GTGTGCTCTG
3241 ACAGTGGACA CCATAGACAC ATGGTTAGTA GCGTGCTTGT CCGCAGGGCC AAGTGCGCGA
3301 ACCCTTGCAA CGCTGGCCGA TGACATGGCG CGCATGGGTG ACAACCGGGC GTTGCGCGCC
```

【図１９Ｂ】

FIG. 19B

```
3361 GTGTTGTGTT GCTTTGGATC ACGTGGCACA TACATATACA ACCACATGGG CCAGGTCTCA
3421 GAACGGGTGG CGCGAGCAGT CAGGGATCTC GGCCGTTGCT TGGAACCAGT CGTGTTGGAG
3481 GAGCCCACCT TTACTGAGRT CGTGGATGAT ACAKTGARTT TAGTGTGTGG ACAATTGCTT
3541 GGAGGTAAAC CTGTGGTGGC CCGCTGCGGC ACGCGTGTCT TGGTGGGACA CCTCAACCCT
3601 GAAGATCTGC CACCTGGTTT CCAGCTGAGT GCTCCGGTGG TTATYACCAA ACCAAGCATT
3661 GGTACGTGGT CCTTCCTTAA GGCGACACTC ACAGGGCGTK STGARACACC GGGATCCGGC
3721 CAGATCGTGG TGCTGTCTTC CCTGACAGGC CGGTCAATGG GTACTGCAGT GAATGRCACA
3781 CTGTATGCGA CCGGCCATGG TGCCGGTGCG CGTGGCCTAG CCACGTGCGC TGGTTTGAGG
3841 ACGCCACTTT ACACGGCATT ATCTGATGAT GTCGTGGCCT ATTCTTGCCT TCCGGGCATG
3901 AGTTCCCTGG AGCCCTGCCG CTGTACGCCG AGCCGGGTTT GGGTGATGAA CAACAATGGA
3961 GGGTTGGTGT GTGGCAGAGT AGAGAAGGAC GACGTCTGTT TGGACTGTCC CACGCACATA
4021 GATCAACTGC GGGGTGCTTC GGGGTCACCG GTTTTGTGTG ATCACGGTCA TGCATACGCG
4081 TTGATGCTCG GTGGTTACTC TACCAGTGGT ATTTGTGCGC GTGTCCGGAT AGTTCAGCCA
4141 TGGCAGAACG CCTATTCCTC CTCCGCGGGG CAACGCCGGA TCCAGCCCCC AGCTGTGACA
4201 CCAACATACT CTGAAATCAC CTACTATGCC CCTACCGGTT CTGGTAAGTC AACAAAATAT
4261 CCAGTGGACC TGGTCAAACA GGGACACAAG GTATTGGTCA TCATACCAAG TGTGACTGTC
4321 GTTAAAAGTA TGGCCAATTA TATTAAGGAG ACATACAAGA TCAGACCTGA AATTAGAGCT
4381 GGCACTGGCC CTGACGGTGT GACGGTCATC ACTGGTGAAA GCTTGGCGTA CATGACCTAT
4441 GGCCGCTTCC TTGTGGATCC GGAGACGAAT CTGCGAGGCT ACGCCGTAGT CATTTGCGAC
4501 GAGTGCCACG ACACATCATC CACCACGCTA CTCCGCATAG GCGCGGTGCG CATGTTTGCT
4561 GAGAAAGCTG GAGTGAGGAC CGTTGTATTC GCCACAGCCA CCCCTGCTGG CATTCAAGTA
4621 CAGCCACATC CTAACATTGA TGAATATTTA TTGACTGACA CAGGCGACGT GGACTTCTAC
4681 GGCGCCAAAA TCAAATTGGA CAACATCAGA ACTGGTAGAC ATGTTATCTT TTGTCACTCG
4741 AAGGCCAGGT GTGCGGAACT AACGCAGCAG CTCTCCGGCC TTGGTGTTCG TGCAGTGAGT
4801 TTTTGGCGCG GCTGTGACAT CAAAACCATT CCCGCCTCAG ACTCTATTGT TGTAGTGGCA
4861 ACTGATGCAT TGTCCACAGG CTACACAGGA AATTTTGATT CGGTCATCGA CTGCGGGTGT
4921 TGCGTAGAAC AAACTGTGAC AATTGACATG GACCCTACGT TTTCCATCTC GGCGCGAGTG
4981 GTGCCATGCA CTGCTGCATT GCGTATGCAG CGGCGCGGAC GTACCGGTCG TGGCAGAAGG
5041 GGAGCGTATT ACACAACCAC TCCAGGAGCA GCACCTTGCG TCAGCGTTCC CGATGCTAAC
5101 GTCTGGCAAG CAGTGGAAAG CGCCATGGTT TTTTATGACT GGGGTGCTGC CAGGATACAA
5161 CAATGCCTGG CGGCATACCA TGATCTAGGG TGCACACCAC GCATCAGTTG YGATCCACAC
5221 ACTCCAGTGC GGGTGATGGA CACACTGCGG GCGTACCTGC GCAGACCTGA GGTGACGACT
5281 GCAGCTCTCK CAGGAGAGTG TGCGCCGCTG CTTTATGGTG CATCTGCAAA
5341 GAAACCGAGG CCCATGGTCC AGACGATAGC ATCAAGTGGA AGTGCTTACT CAACAACAGT
5401 AATAAAACAC CCCTGCTGTA TGCCTTAGAC AATCCTACAC TGGATTTCAC TACCCAACAT
5461 GACTTGACTC GCCGTATAGC CGGCGCTCTA TCGAGCACAG TGTTCGTGGA GACAGGCTAC
5521 GGCCCCATCC TCCTCGCTGG CGCCGCTTTG GCTGCCTCCT TCGCCTTTGC GGGTGCTACA
5581 GGAGCTTTAG TGCCGTCGGC CGTTTGGAGC GTTGACAACG GGTTAGCTGG CGTGACCCGT
5641 CCCGACGCGA CAGACGAAAC CGCGGCCTAC GCGCACGCGT TGTACCAAGG CTGCGCAGAT
5701 TCAGGACTTT TCGCCAGCTT GCAGGGCACA GCGAGTGCGG CGCTGGGCAA ACTGGCTGAT
5761 GCCAGTAGGG GTGCTAGTCA ATATCTGGCA GCCGCGGCTC CTTCGCCCGC CCCCCTGGCG
5821 CAGGTGCTGC ATTTCCTTGA GACCAACTTT AGTTCCATTG CATCTTTCGG TCTGCTCTGT
5881 GCTGGTTGTC AGGCTGGTGA GTGCTTCACC GCGCTTGCCG GGCTGGTGTC CGGTGCTACA
5941 GCTGGCTTGG GAGGTGCCCA TAAGTGGTTG TTAGCTATTG CAGGAACCTG GCTAGTTAGC
6001 TTGCAGACTG GGCCCCGTGG CGGCATGGTT GCGGGTCTCT CGGTTCTAGC AGGCTGTTGC
6061 ATCGGTAGTG TCACCGGGCT CGACTTCCTG TTTGGGTGCC TTACAGGTTG GGAGGCCGTG
6121 GTTGGCGCTG CGGTTGCGAC GCAGAAGATC TTGTCTGGTT CAGCTGATAT GACCACTCCG
6181 GTAGATCTCT TACCTGCTAT CTTCTCCCHH HHHHCCGGCA TAGCTGGCAT CGTGCTTGTC
6241 TTTATTCTAA GTAACTCAAG TGTAACCACG TGGGCTAATC GGCTACTGTC CATGTGTGCA
6301 AAACAAACTA TTTGTGATAA CTACTTCTTA ACTGAGAAAT TTGGCCATCA ATTAAGCAAA
6361 CTTTCCCTGT GGCGCGCTGT GTACCATTGG GCGCAGGCAC GTGAGGGATA CACACAGTGC
6421 GGCGTGGTCA GCGGGATCTG GAGCTTTGTC TTGTGCATCC TGCGGGCTGT GTGGGATTGG
6481 GCGGCCAAGC ATGTGCCACG GTTCCGTGTG CCTATGATCG GCTGCTCACC TGCATGGTGC
6541 GGGCGCTGGC TTGGTACCGG CACCCTGTTG ACCACCTGTG GGTGTGGAGA ACGTGTGTCC
6601 CTTCAGTGCC TCTGCTCAAC GTCTGACCCA ACACTCAGTG TGGGCCGTTG GTGTCGGTGT
6661 AGTTGGAGTG TCGGGTTCCC ATTCAACCCG ACTACGACAG CCACCGGCAA TTTACGGCCG
6721 GACATTAGTG ACGCCACTAA ATTGGGTTTC CGATATGGTA TAGCCGAGAT CGTGGAACCG
6781 GAGCGGCGGG GTGACAAATG GCATGTCTGC GCAGCATCAT GTTGCTTGGA CCGAGCCAGC
6841 GTTGCATCCG CCGTGAAGGC CCCACCGGTC ACGGCCAATG GTATACCTAT CGGTACTTTT
```

【図１９Ｃ】

FIG. 19C

```
6901 TCTCCACCAC AAACTTACAG CCCTCTCTTC TGTTCTTTTG ATTCAGTTTG CATGTCTAGT
6961 AACTTATGTA ACCCAGCTAA GACCCTGAGC GTGTGCTCCC AGGAGGCTGT CGAGCTACTG
7021 GAAGAAACAG TTGATAAAGC ACAAGTAATG ATGTGTCAAA ATCCGGAGGC GCGAAGACGC
7081 GCAGAGTATG ATGCATGGCA GGTTCGCCAA GCAGTTGGCG ACGAGTACAC GCGTTTGGCA
7141 GACGAGGATG TTGACGCGAC AACGTCGGTG AAACCCCCGG TGGCCAGGGC TGCTGTGGGT
7201 AGCTCAACGT TGGATGACGT TAGCGTGCTG ACTGTCTTGC GCGAACTCGG CGACCAATGC
7261 CAAAATGCTA TCAAATTTGT AGTTCAGGCG GCTTCACGGT TTGTTCCACC AGTGCCCAAG
7321 CCGCGCACGC GCGTCTCGGG TGTGCTGGAG CGTGTGCGCA TGTGCATGCG CACGCCACCA
7381 ATCAAATTTG AGGCCACCGC AGTACCAATT CATAACATAA TCCCAGAAGT GTGTCACATT
7441 GTGCTACGCT GTACCGGCTG TAACGACCAG GCCTTGACTG TTCCGTACGG CACTTGCACT
7501 CAGACTTTAA TCAAACATTT GACTAACAAA CACAGCCACT ACATTCCAAA ACAGAAGATA
7561 GAAGAAGACA CAGAAGTAAC TGTCATTTGC GCCGTACCAA CAACGCGCGC AAGTAAGCTC
7621 ATCACTTTCA GAGCAGGTGA TCGATCAGTC TCATGTTGTC ACCCCTTGCA AACTCCTGTT
7681 ACGACCCTGC TTCTAAAGTA TCGGTTGCCT ATCCGGAAGT GGTCCGACTG CAACGGCCCC
7741 CTTGGTGACG ATGCCCGAGT CTGTGACATC AATGGAGTAA CAACTTATGA ACCATGCATG
7801 CAATCCTATA GTTGGTTCCG ACCAATTGTA GCGCCAACAA CCCCACCTTT ACCTGCAACC
7861 CGGAGCGTGG CTGGCATTTT ACGCGCGGAC ACATCGCGCG TTTACACCAC AACGGCGGTT
7921 GACGTCTCCG AGCGGCAGGC TAAGGTCACA ATTGATCAAA CATCAGCCAA GGTGGATCAG
7981 TGTTTCCGAG ACACATACAA TTGCTGCCTT GCTAAGGCAA AGACCTTCAA ACAATCTGGC
8041 ATGTCATATG AGGATGCTGT GTYAAAGATG CGCGCAAACA CCACGCGTGA CCATAACAAT
8101 GGCACCACTT ATTCAGATTT GGCTCTGGA CGCGCAAAAC CTGTCGTTCA GAAAATTGTA
8161 GATCAAATGC GCGCTGGAGT GTACGACGCT CCAATGCGCA TTACCCCAAA ACCTGAAGTG
8221 TTCCCTCGGG ACAAGTCAAC ACGGAAGCCA CCACGGTTCA TCGCTTTCCC TGGGTGCGCC
8281 GCGCGAGTCG CGGAGAAAAT GACCCTGGGC GATCCTGGCG CGATAACCAA GCACGTGCTT
8341 GGTGATGCCT ATGGGTTTGC CACTCCGCCG CATGAGCGCG CGCGTCTATT GGAACAATGG
8401 TGGAACCGTG CAACGGAGCC ACAAGCTATC GCGGTTGATG CGATCTGCTT TGATAGCACT
8461 ATCACGGCAG AGGACATGGA TCGCGAGGCC AACATCATGG CTGCGGCGCA TTCGGACCCT
8521 GAAGGTGTTC ATGGCCTGTA CAAGTATTAC AAAAGAAGCC CCATGTGTGA CATCACGGGA
8581 AAAGTTGTCG GGGTGCGTTG CTGTCGAGCC TCAGGTACGC TTACAACAAG CAGTGGCAAC
8641 ACGCTTACTT GCTATCTCAA GGTTCGCGCA GCTTGCACGC GCGCCGGCAT TAAACCAATT
8701 GGCTTACTAA TTCATGGAGA TGATACCCTC ATTGTCACAG AACGTTGCGC TCAAGAAACT
8761 CTCGATGAGT TCAGCAGCGC ACTCGATGAC TATGGGTTCC CTCACACCTT GCAGGTGTCT
8821 GGGGACCTCT CGTCTGTTGA GTGCTGTAGC GCACGTGTGG ACAGCGTTTG CCTCCGGGGA
8881 GGTATGCGTC GCATGCTCGT GCCACAAGCT CGACGTGCGA TTGCACGCGT TCTCGGGGAG
8941 AAGGGTGATC CACTGGGTGT CATCAGTAGC TATATCGTCA TGTATCCYAC TGCGGCTGTG
9001 ACTGTCTACG TGCTATTGCC CCTGTTATGC ATGCTCATTC GGAATGAGCC ATCGCAGACG
9061 GGGACGATTG TGACGCTGAC GGTCCACGGY AACATGTGTGA GCGTGCCGGT GTGGCTGCTT
9121 CCAACCATCA TTGTAAATTT ACATGGTCGC GACGCACTAC AGGCAGTCCG TCACAGTGCA
9181 GCTTCCATGG CGGAACTGTC GTCAGCGTTG GCCTTCTTTG GCATGAGAGG GTTGAACTGC
9241 TGGAGGCGGA GACGCCGCGC CATCAGGACT GATATGATCA RGTTGGGCGG GTGGATTGCG
9301 AATTTCGCGC AGATGTTACT GTGGTCACCG GAGGTGAGGA CACCACAGCC CGAACCGAAG
9361 GGCTTGTGTC TCTTACCACC GGAACTATGG GAGCGTCCGT ACGAAAATTT GCAMTTGAGC
9421 ACGGTCGACC GTAATCGTGG TGCTAGTCGC TTACGGTTTT GGCTGGTTGC AAGTGCTATA
9481 CTCGCTCTGC TTTGCTTGTA AACCCTAAAC CAATGTAGTA CCAGGACTAC AAGGCAGGAG
9541 GTGAAGTCAG CTGTACCCAC GGCTGGCTGA AACCGGGGCT TGACGACCCC CCCTATCCGA
9601 GTTGGGCAAG GTAACATCAC GGGTGTGACG ACCCCGCCCC CCCATGTCGC GCGTAAGCGC
9661 ACGGGCAAGG CAGCTAGGCT GAGAGTCTGG GCAACTCTCC CGTACCCCAC CCGAGGCTAC
9721 GCCTCGTCCT GGCGAGGACC GTAAACATAC GTCGTCAGCG TGGTGACCTG ACGTATCTTG
9781 TTAACCACTT AATGGTCGTA ACTCGACCCC CGTGCCGGGG ATCTAAGCGC GGCACCGCGA
9841 TGAGGGGGGT CAACGGCCCC TTTCATT
```

【図２０Ａ】

FIG. 20A

ヒトペギウイルス２（ＡＢＴ０２３９ＡＮ）遺伝子および非翻訳領域

５’ＵＴＲ配列

５’ＵＴＲ配列：配列番号３０２のヌクレオチド１２－３２７

Ｓタンパク質および遺伝子配列

Ｓタンパク質アミノ酸配列：（配列番号３３４）

NGCSVLQLLCSPVVGADYHTSSGCKALNGSDMCGSSCKSPSRVQAAKKVLQLCAPLALLCSSMTSIMGKTESGKIESGQ

Ｓタンパク質遺伝子配列：配列番号３０２のヌクレオチド３２８－５６４

Ｅ１タンパク質および遺伝子配列

Ｅ１タンパク質アミノ酸配列：（配列番号３３５）

TLQSQRACWTGRGFAFFSHCCHQSDIMKCLHRWCVTRPGCLVCTGDATHFVCADYLGSRVSRHPARRLLGEGAEMLLRCIRLAGKLGLAFATG
MSEMYRAILCFGFIARYGKGIPKTLVCTVCFAVHISFYSFLSFDTIAFGTXILQLPGLLXQMFVLFFILYSTWLRLLLSGKTVAVIAILLAS
PTVMA

Ｅ１タンパク質遺伝子配列：配列番号３０２のヌクレオチド５６５－１１３７

Ｅ２タンパク質および遺伝子配列

Ｅ１タンパク質アミノ酸配列：（配列番号３３６）

YKHPSESYLKYCTITHASAAMKDCPFGTFTRHTESRFSIPRFCPVKIESSTFICSXGGKWWFAEHITPVSDVGMPPAPIGALQYIYSHHDP
PPKYYTCIIPQHCRHSXVDPTTAFCRDKKGHATACILDRRSRFCGSCYGGCFYTHGSHDRSXDRCSIGYRDSLIEFVQLQQIRPHISHTTIE
LLASASLVIASGLRESYGCSRAHGVVHCYRCPSYRDLEQFGPGLGKXVPLFGSFVPELCIIFQKARRGFRVSHPLSLIQTFVEDIFLAFCX
PIPGRVRVCHHTAFYPRGGFVQLIGDVQVLTPHTASLHSLLTLISLILLVCVVSGARFVPLIIFFKCVRHVYA

Ｅ２タンパク質遺伝子配列：配列番号３０２のヌクレオチド１１３８－２１９９

Ｘタンパク質および遺伝子配列

Ｘタンパク質アミノ酸配列：（配列番号３３７）

SCYLSCDWAVCIDAFCPTSGTCATFHDVLCLPVATRISGCGHAVTPFDRGXEVTAALSXXISRTTGLTFDVFSFIQYLPTVTGHHSDIIYCGE
FTFFGDLTGIYMPYFLPGYLLLYLTPFLGLRLHLAGFHIDSLFPIRHATALAFSTSRVCLSVVLAFLIYILCHPVHAALHMHTLASAHLEMI
LSFDTYHETILYIVCLHLYLQVSPPAGLAJHVAIKLSPGLLFAVVLAHGVC

Ｘタンパク質遺伝子配列：配列番号３０２のヌクレオチド２２００－２９１０

【図２０Ｂ】

FIG. 20B

ＮＳ２タンパク質および遺伝子配列

ＮＳ２タンパク質アミノ酸配列：（配列番号３３８）

RPGRVFGLEVCADISWLVEFTGNCTKYHSCVPSFWCAVEAFTSELGRQYELQIYRYKAQVYARLILAVGCSPLGRSFHFRASVGVLKCGACML
WPRECSEISLVFILCALTVDTIDTKLVACLSAGFSARTLATLADDMARKGDIRALRAVLCCFGSRGTYIYDEMGOVSERVARAVRDLGGCLEP
VVLEEPTFTEX/DDTXXLVCGCLLGGKPVVARCGTRVLVGHLHEEDLPFGPQLS

ＮＳ２タンパク質遺伝子配列：配列番号３０２のヌクレオチド２９１１－３６３０

ＮＳ３タンパク質および遺伝子配列

ＮＳ３タンパク質アミノ酸配列：（配列番号３３９）

APVVITKPSIGTWSFDXATLTGRXETPGSGCLVVLSSLTGRSMSTAVHXCLYATGHGAGARGLAFCAGLRTPLYTALSDDRVAYSCLPGMSSL
RPCRCTPSRVWMHHNGKLVCGRVRKCDVCLDCPTHIDQLRGAGGPVLCHGHAYAIMLGGYSTSGICARVRIVQPKQNAYSSSGGQGGMQA
PAVTETYSEITYYAFCGSGKGTKYPVELVKQGHKVLVIPSVTVVKSMAHYIKETYKIRPZIRACIGPDGVTVITGESLAYMTYGPFLVDPET
HLRGYAVVICDECHDTSTTLLIGIAVPMPAEEAGVRTVVFATATPACIQYQPHPNIDEYLLTDTGDVDFYGAKIFLDHIRTGRHVIFCHSKA
RCAELTQQLSGLGVRAVSYKRSCDTKTIPASDSTVVVATDALSTGYTGDFDSVIDCGCCVKQTVTIDMDPTFSISARVVPCTAALRMQRSGRT
GRGRRGAYYTTPGAAPCVSVFDAHVAQAVESAMVFYDXGAARIQQCLAAYHDLGCTPRIGCDPHIIPVRVMDTLRAYLDRRPEVTTAALXGEQW
PLLYSVQLCCKETEAANGFDDSIFKKCLLHHHSHKTPLDYALDHHTLDFTCQHDLTRHLAGALGSTYVFVET

ＮＳ３タンパク質遺伝子配列：配列番号３０２のヌクレオチド３６３１－５５１４

ＮＳ４Ａタンパク質および遺伝子配列

ＮＳ４Ａタンパク質アミノ酸配列：（配列番号３４０）

GYGPILLAGAALAASFAFAGATGALVFSAVKSVIHGLAGVT

ＮＳ４Ａタンパク質遺伝子配列：配列番号３０２のヌクレオチド５５１５－５６３７

ＮＳ４Ｂタンパク質および遺伝子配列

ＮＳ４Ｂタンパク質アミノ酸配列：（配列番号３４１）

RPDATDETAAYAQRLYQACADSGLFAGLQGTASAALGKLADASRGAQQYLAAAPPSDAPLVQVLHPLETHFSSIASFGLLCASCQAGECFTAL
AGLVSGATASLGGAFKALLAGTWLVSLQTGPRGRMVAGLSVLAGCCIGSVTGLDFLPGCLTGKEAVVGAAVATQKILSGSADMTTLVDLLP
AIFSXXXGIAGIVLVFILSHSSVTTWAHRLLSMCAKQTICDIYFLTEKFGHQLEKLSLARAVYHSAQARESYTQCG

ＮＳ４Ｂタンパク質遺伝子配列：配列番号３０２のヌクレオチド５６３８－６４２３

【図２０Ｃ】

FIG. 20C

ＮＳ５Ａタンパク質および遺伝子配列

ＮＳ５Ａタンパク質アミノ酸配列：（配列番号３４２）

VVSGIKSFVLCILRAVKDWAAKHVPRFRVPVCGCSPAACGRWLGTGTLLTTGCGSRVSLQCLCSTSDPTLGVGRWCRCSWSVGPFFHPTCTA
TGHLRPDISDATKLGFRYGIAEIVELERSGEKHVCAASCTLDRASVAEAVKAPFVTAHGIPIGTFSPPQTYGLSLCSFSSVCYSSHLCHPPK
TLSVCEQAAVELLEETVDKAQVMMCQILEARRKAEYDAAQVKQAVGLEYTKAAEWVDATTSVKPSVAKAAVGSSTLLDVSVLTVIRELSDQC
QHAIKEVVQAASREVPPVPKPRTKVSGYLEKVHMCHCTPIRFKATAVPIHIIIPEVCHIVLRCTGCHDQALTVPTGTCTQTLIKHLTIHKHSH
YTPKQKTRRDTRVTVICAVPTTRASKLITTRAGDRSVSCCHPLQTPVRTTLCKYGLPTGKWSDCHGPLGDDARVCCTTGVTTYSPC

ＮＳ５Ａタンパク質遺伝子配列：配列番号３０２のヌクレオチド６４２４－７７９７

ＮＳ５Ｂタンパク質および遺伝子配列

ＮＳ５Ｂタンパク質アミノ酸配列：（配列番号３４３）

MQSYGKFRPPVAPTTFSLPATRCVAGILRACTSRVYITAVDVSERQAKVTIDQTGAKVDQCFRDTYHCCLARARTFKQGGMSYDDAVXHMRA
NTTRDHHIGTTYGDLVSCRAXPVVQKIVDQYRAGVYDAPNRIIPKPEVFPRDKSTRPFPRRFIVFPGCAARVAEKMILGDPGATTKHVLGDAYG
FATPPHEPARLLEQQWHRATSPQAIAVDATCFDSTITAEDXDREAHIMAAAHSDPEGVHGLYKYYRKSPMCDITGKVVGVPCCRAGGTLTTSS
GHTLTCYLKVRAACTRAGIKPIGLLHGDDTLIVTERCAQETLQEFSSALDDYGFPRTLQVSGDLSSVECCSARVDSVCLRGGYRRMLVFQAR
RAIARVLGEKGDPLGVIGSYIVMYPCAAVCVYYLLPLLCHLIPHEPSQTGTIVTLTVHGHSVSVPVKLLPTIIVHLHGRCALQVVPHSAASKA
KLSSALAFYGHRGIHCKRRRRRAIRCCHMFXIGRWIAKFAQYMLWSPEVRTPQPERPKGCCLLPPELNKRPYEHHLKLSTVDRHRGASRLPPTLVA
SAILALLCL

ＮＳ５Ｂタンパク質遺伝子配列：配列番号３０２のヌクレオチド７７９８－９４９８

３’ＵＴＲ配列

３’ＵＴＲコンセンサス配列：配列番号３０２のヌクレオチド９４９９－９８６７

【図２１Ａ】

FIG. 21A

ヒトペギウイルス２（ＵＣ０１２５）核酸配列ー配列番号３０３

```
   1 NNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNN NNNNTATTGCT ACTTCGGTAC GCCTAATTGG TAGGCGCCCG
  61 GCCGACCGGC CCCGCAAGGG CCTAGTAGGA CGTCTGACAA TGCCATGAGG GATCATGACA
 121 CTGGGGTGAG CGGAGGCAGC ACCGAAGTCG GGTGAACTCG ACTCCCAGTG CGACCACCTG
 181 GCTTGGTCGT TCATGGAGGG CATGCCCACG GGAACGCTGA TCGTGCAAAG GGATGGGTCC
 241 CTGCACTGGT GCCATGCGCG GCACCACTCC GTACAGCCTG ATAGGGTGGC GGCGGGCCCC
 301 CCCAGTGTGA CGTCCGTGGA GCGCAACATG GGGTGTTCAA CTGATCAAAC CATTTGTTCT
 361 CCAGTCGTGG GGGCCGACTA TAATACCTCC TCGGGCTGCC GGGCCTTAAA TGGGAGCTAC
 421 CACTGCGGTG GTGGCTCTTG CCGGTCACCA AGTCGTGTGC AGGTTGCGAG ACGAGTCTTG
 481 CAGCTGTGCG CATTCCTTGC GCTGATCGGA TCCGGTATGT GTTCGATCCG GTTCCAAAACT
 541 GAAGGGCGCA TTGAGTCAGG GCAAATATTG CAGTCTCAGC GCGCATGTTG GACTGGTGAG
 601 GGTTTTGCTT TCTTTTCTAA CTGTTGCAAT CAATCTGATA TTATGTGGTG TTTGCACCGT
 661 TGGTGTGTGA CAAGACCTGG CTGTTTAGTG TGCACGGGCA ATGCCACCCA TCCTATCTGC
 721 TGGGACTATC TTGGATCCGG TGTAAGTCGG CGGCCTGCAC GTCGAATGGG TGAGGGAGCT
 781 GAAGCGCTTC TTCGCTTGAT CGGCATTGCA GGTTGGCTTG GACTGTTAGC TGAGTCCCTT
 841 GGTATGTCCG AAGTCTATGC AGCTATTCTT TGCTTTGGAT TTACTGCTTG GTATGGCTGG
 901 GGTATACCTA AAACACTGGT GTGCACCGTC TGCCCTGCAG TGAACATTTC TCCCTATAGC
 961 TTCTTATCTC CAGATACTAT CGCATTTGGT ACGTGGATAC TACAACTACC TGGTCTTTTG
1021 TGGCAAATGT TTGTTAGCTT CCCTATACTC TACAGCACTT GGACTCTTTG GTTGTTGCTC
1081 AGCGGCAAGA CTGTTGCTGT GACAGCAATC CTTCTGGCTA GTCCTACGGT TATGGCGTAC
1141 AAGCATCAAT CTGAAAGCTA CCTCAAATAC TGTACCATAA CCAATACTTC AACTTCTACG
1201 AACTGTGACT GCCCCTTTGG AACCTTTACT CGCAATACTG AGTCTCGTTT CTCCATACCT
1261 AGATTCTGTC CTGTTAAAAT CAATAGCTCT ACATTTATTT GTTCATGGGG GTCGTGGTGG
1321 TGGTTTGCTG AAAACATCAC GCGTCCATAC ACGGACGTTG GCACGCCACC AGCACCGATT
1381 TCCGCTTTGT GCTATATCTA TTCTAACAAC GACCCACCTC CTTGGTATCA TAACACAACT
1441 ATCATACCTC AGAACTGTCG CAACTCTACG GTGGATCCTA CCAAGCGTCC ATGCCCTGAC
1501 AAGTGGGGCA ACGCAACTGC TTGTATTCTT GACCGCCGGT CGCGGTTCTG CGGGGACTGC
1561 TATGGCGGTT GTTTCTATAC TAATGGTAGT CATGATCGAT CCTGGGATCG ATGCGGGACT
1621 GGTTACCGTG ATGGACTCAT AGAGTTCGTG CAGCTCGGTC AGACTCGACC TAACATCTCG
1681 AATACGACCA TTGAGCTCCT CGCTGGCGCC TCGCTTGTGA TCGCATCCGG TCTTCGGCCT
1741 GGGTTTGGTT GCAGCCGAGC GCATGGCGTG GTGCACTGCT ATAGGTGTCC TTCATACCGT
1801 GACCTTGAAC AGTTTGGTCC TGGGCTTGGG AAATGGGTGC CATTGCCCGG CGAGCCTGTC
1861 CCGGAGTTGT GTATCAACCC TCAGTGGGCG AGGCGCGGCT TCCGGATGTC TAATAATCCT
1921 CTGAGCTTGC TACAGACCTT CGTTGAGGAC ATTTTCCTAG CGCCTTTTTG TAATCCGACG
1981 CCTGGCCGTG TACGTGTGTG TAACAATACC GCTTTCTATC CAAGAGGAGG CGGCTTTGTG
2041 CAGCTCATCG GGGACGTCCA GGTGCTAACC CCTAACACTG CATCTTTACA CTCTCTGCCG
2101 ACTTTGATAT CTCTTATCTT GTTGGTGTGT GTTGTTTCTG GTGCGCGATT CGTTCCACTA
2161 ATAATCATAT TTTTCTGGAG CGCGCGCCAT GTATATGCTT CTTGTTACTT AAGCTGTGAT
2221 TGGGCTGTTT GCAACGATGC GTCCTGTTTC ACATCTGGCA CTTGTGCCAC CTTCAATGAC
2281 GTCTTGTGTC TGCCGGTTGC GACGCGCATA TCGTCCTGTG GTCATGCTGT GCCACCTCCC
2341 GACCGTGGTT GGGAGGTGCC TGCGGCGATG TCATGGGTGA TTTCGCGGAC TACTGGCCTG
2401 ACGTTCGATG TCTTTTCCTT CACTCAGTAC CTTCCTACTG TGCCTGGCAA CAACACCAAT
2461 ATCATTTACT GTGGTGAACC AACCTTCCTC GGGCACATCA CGGGCATCTA TTGGCCTTAC
2521 TTTTTGCCTG GCGCAATCCT CTGTACTTG ACTCCCTTCC TAGGTTTAAG GTTAATGCTT
2581 GCCGGCTTCA ATATAGATGG CTTGTTTCCC ATACGGCTGC CCACGGCTGC ACTGAGGTTT
2641 TCGACTTCTC GTGTGACCTT GTGTGTCGTA GTTGCTTTCC TAATCTATAT ATTATCTCAC
2701 CCTGTTAATG CTGCGCTCAA TAGAATGTTC TTAGCATCTG CAAATTTAGA GATGATCTCA
2761 TCTTTTGATA CCTATCATGA GACTGTTCTT TATATCCTTT GTCCATTGCT CTACCTCCAG
2821 GTGTCGCCCC GTGCGGGCTT GGCCGCTATG GTGGCCATCA AGCCATCTCG AGGCCTGTCA
2881 TTCGCTGTGG TGTTGGCGCA CGGTGTGTGC CGACCTGGGC GGGCATTTGG TCTTGAGGTT
2941 TGCGCGGACA TCTCTTGGTT GGCGGAGTTT ACTGGCAATT GCACTTGGTA CATGTCCTGT
3001 GTCTTCTCTT TTTGGTGCGC AGTGTTTGCC TTCACCAGTC CACTTGGACG ACACTATAAG
3061 ATTCAGATCT ATCGGTACTG GGCGCAGGTC TATCCCAGAC TCGTCCTCGC TGTCGGTTGT
3121 GGTCCTCTCG GTCGAGAGTT CCATTTCCGT GCAAGTGTGG GCGTGCTGTG GTGTGGAGCT
3181 TGCATGCTCT GGCCCCGTGA GTGCTCTGAA ATCAGCCTGG TCTTCATTCT GTGTGCTCTG
3241 ACAGTGGACA CCATAGACAC ATGGTTAGTA GCGTGCTTGT CCGCAGGGCC GAGTGCGCGA
```

【図２１Ｂ】

FIG. 21B

```
3301 ACCCTTGCAA TTCTGGCCGA TGACATGGCG CGCATTGGTG ACCACCGGGC GTTGCGCGCC
3361 GTGTTACGTT GCTTTGGATC ACGCGGCACA TACATATACA ACCACATGGG CCAAGTCTCG
3421 GAACGGGTGG CGCAAGCAGT CAGGGATCTC GGCGGTTGCT TGGAACCAGT CGTGTTGGAG
3481 GAGCCCACCT TTACTGAGAT CGTGGATGAC ACAATGAGTT TGGTGTGTGG ACAATTGCTT
3541 GGAGGTAAAC CTGTGGTGGC CCGCTGCGGC ACGCGTGTCT TGGTGGGACA CCTCAACCCT
3601 GAAGATCTGC CACCTGGTTT CCAGCTGAGT GCTCCGGTGG TTATTACCAG GCCAAGCATT
3661 GGTACGTGGT CCTTCCTTAA GGCGACACTC ACAGGGCGTG CTGAAACACC AGGGTCCGGC
3721 CAGATCGTGG TGTTGTCTTC CCTGACAGGC CGGTCAATGG GTACCGCAGT GAATGGCACA
3781 CTGTATGCGA CCGGCCATGG TGCCGGCGCG CGCGGCCTAG CCACGTGCGC TGGTTTGAGG
3841 ACGCCACTTT ACACGGCATT ATCTGATGAC GTCCTGGCCT ATTCTTGCCT TCCGGGCATG
3901 AGTTCCCTAG ACCCCTGCTG CTGTTGGCCG AGCCGGGTTT GGGTGATGAA TAACAACGGA
3961 GGGTTGGTGT GTGGCAGAGT GGAGAATGAC GACGTCTGTT TGGACTGTCC CACGCACATA
4021 GATCAACTGC GGGGTGCTTC GGGCTCACCA GTTTTGTGTG ATCACGGTCA TGCATACGCG
4081 TTGATCGTCG GTGGTTACTC TACCAGTGCT ATTTGTGCAC GCCTCCGCAC GGTCCGGCCA
4141 TGGCATTAACG CCTATTCCTC CTCGGGGGGG CAAGGCGGAA TGCAGGCGCC AGCTGTGACA
4201 CCAACATACT CTGAAATCAC CTACTATGCC CCTACTGGTT CTGGTAAGTC AACAAAATAT
4261 CCAGTGGACC TAGTCAAACA GGGACACAAA GTATTGGTCC TTTTACCAAG TGTGGCTGCA
4321 GTCAAAAGTA TGGCCCCTTA TATTAAGGAG ACATATAAGA TCAGACCCGA AATTAGAGCT
4381 GGCACAGGTC CTGACGGTGT GACGGTCATC ACTGGTGAGA ACTTGGCGTA CATGACCTAT
4441 GGCCGCTTCC TTGTGGATCC GGAGACGAAC CTGCGGGGCT ATGCTGTAGT CATTTGCGAC
4501 GAGTGTCACG ACACATCATC CACCACGCTA CTCGGCATTG GCGCAGTGCG CATGTATGCC
4561 GAGAAAGCTG GAGTGAAGAC CGTTGTATTC GCCACAGCCA CCCCTGCTGG CATTCAAGTA
4621 CAGTCACATT CCAACATTGA TGAATACTTA TTGACTGACA CAGGCGACGT GGAATTTTAC
4681 GGCGCCAAAA TCAAAATGGA CAACATCAGA ACTGGTAGAC ATGTTATCTT TTGCCACTCG
4741 AAGGCCAGGT GTGCGGAACT AACGCAGCAG CTCTCCGGCC TTGGCATTCG TGCAGTGAGT
4801 TTTTGGCGCG GCTGTGACAT CAAAACCATT CCCGCCTCAG ACTCCATTGT TGTGGTGGCA
4861 ACTGATGCAT TGTCCACGGC CTACACAGGA AACTTTGATT CGGTCATCGA CTGCGGGTGT
4921 TGCGTGGAGC AAACTGTGAC AATTGACATG GACCCTACGT TCTCCATCTC GGCCCGAGTG
4981 GTGCCATGTA CTGCTGCATT GCGCATGCAG CGGCGCGGAC GTACCGGTCG TGGTAGAAGG
5041 GGAGCGTACT ACACAACTTC TCCAGGAGCA GCACCCTGCG TCAGCGTTCC CGATGCTAAC
5101 GTCTGGCAAG CAGTGGAGAG CGCCATGGTC TTTTATGATT GGAGTGCTAC CAGGATACAA
5161 CAGTGCCTGG CGGCATACCA TGATTTGGGG TGCACACCAC GCATCAGCTG TGACCCACAC
5221 ACTCCAGTGC GGGTGATGGA CACACTGAGG GCGTACCTGC GCAGACCTGA GGTGACGACT
5281 GCAGCTCTCG CAGGAGAGCA GTGGCCGCTG CTTTATGGTG CGCAGTTGTG CATCTGCAAA
5341 GAGACCGAGG CCCACGGTCC TGATGATAGT ATCAAGTGGA AGTGCTTACT CAACAACAGT
5401 AACAAAACAC CCCTGTTGTA TGCCTTAGAC AATCCTACAC TGGAATTCAC AACCCAACAT
5461 GACTTGACTC GCCGTATAGC CGGCGCTCTA TCGAGCACAG TGTTCGTGGA GACAGGCTAC
5521 GGCCCCATCC TCCTTGCTGG CGCCGCTTTG GCTGCCTCCT TCGCCTTTGC GGGCGCCACT
5581 GGAGCTTTAG TGCCGTCGGC TGTTTGGAGG GTTGAGGTCA GGCCTGCTGG CGTGACCCGT
5641 CCCGACGCGA CAGACGAGAC CGCGGCCTAC GCACAGCGCT TGTACCAAGC CTGTGCAGAT
5701 TCAGGAATTT TCGCCAGCTT GCAGGGTACG GCGAGTGCGG CGCTGGGCAA ACTGGCCGAC
5761 GCCAGTAGGG GTGCTAGTCA ATATCTGGCA GCCGCGCCTC CTTCACCCGC CCCCCTGGTA
5821 CAGGTGTTGC AGTTCCTCGA GACCAACTTT AGCTCCATTG CATCTTTCGG CCTGCTCTGT
5881 GCTGGCTGCC AGGCTGGCGA GTGCTTCACT GCGCTTGCTG GCTTGGTGTC CGGTGCTACA
5941 GCTGGCTTGG GGGGTGCCCA TAAGTGGCTA TTAGCTATTG CAGGAACTTG GCTGGTTAGC
6001 TTGCAGACCG GGTCCCGTGG CGGCATGGTT GCGGCCTCT CGATTCTAGC GGGCTGTTGC
6061 ATCGGTAGTG TCACCGGGCT TGACTTCCTG TTTGGGTGCC TTACAGGTTG GGAAGCCGTG
6121 GTCGGCGCTG CGGTTGCGAC ACAGAAGATC TTGTCTGGTT CAGCTGATAT GACCACTCTG
6181 GTAGATCTCT TACCTGCTCT TTTCTCCCCC GGTGCCCGCA TAGCTGGCAT CGTGCTTGTC
6241 TTCATCTTAA GCAATTCAAG TGTAACCACA TGGGCTAATC GGCCATTATC CATGTGTGCC
6301 AAACAAACCA TTTGTGAAAA CTACTTCTTA AGTGAAAGAT TTGGCCAACA ATTAAGCAAA
6361 CTTTCCCTGT GGCGCTCTGT GTACCATTGG GCGCAGGCAC GTGAGGGATA CACACAGTGC
6421 GGCGTGATCA GCGGGATCTG GAGCTTCGCC TTGTGCATTC TACGCGCTGT GTGGGATTGG
6481 GCGGCCAAGC ATGTGCCACG GTTCCGTGTG CCTATGATTG GCTGCTCACC TGCGTGGTGC
6541 GGGCGCTGGC TTGGTACCGG CACCTTGTTG ACCACCTGTG CGTGTGGAGA ACGTGTGTCC
6601 CTTCAGTGCC TTTGCTCAAC ATCTGACCCA CAACTCAGTG TGGGCCGTTG GTGTCGGTGT
6661 AGTTGGAGTG TTGGGTTCCC ATTCAACCCG ACTACGACAG GCACTGGCAC CTTACGGCCG
6721 GACATCAGTG ACGCCAACAA ATTGGGTTTC CGGTATGGCG TTGCCGACAT CGTGGAGCTA
6781 GAGCGGCGGG GCGACAAATG GCACGTCTGT GCAGCATCAT GTTGCTTGGA CCGGGCCAGC
```

【図２１Ｃ】

FIG. 21C

```
6841 GTTGCATCCG CTGTGAAGGC CCCACCGGTC ACGGCTAATG GTATACCTAT TAATAGCTTT
6901 TCTCCACCAC AAACTTATTG CCTATCTCTC TGTTCCTTTG ATACAGTTTG CATGTCTACT
6961 AACTTATGTA ACCCAGCTAA GACCCTGAGT GTGTGCCAAG AGGAGGCGGT TGAGCTGCTG
7021 GAAGAGACAG TTGACACAGC ACAAGTAGTG ATGAGCCAAA ATCTGGCAGC GCGTAGACGC
7081 GCTGAGTATG ATGCATGGCA GGTTCGCCAA GCAGTTGGCG ACGAGTACAC GCGTTTGGCA
7141 GACGAGGATG TTGACATGAC AGCGTCGGTG AAACCCCCAG TGGCCAGGGC TGCTGTGGGT
7201 AGCTCAACGT TGGATGATGT TAGCGTGCTG ACTGTCTTAC GCGAACTCGG CGACCAGTGC
7261 CAAAATGCTA TCAAATTTGT AGTTCAGGCG GCTTCACGGT TTGTTCCACC AGTGCCCAAG
7321 CCACCCACGC GTGTCTCGGC TGTCTTGGAG CGCCTGCGCA TGTGCATGCG CACGCCTCCA
7381 ATCAAGTTTG AGGCCACCGC AGTACCAATC CATAATATAA TCCCAGAAGA GTGTCATATT
7441 GTGCTACGCT GTACCGGCTG TTGTGACCAG GCCTTGACCG TTCCGTACGG CACTTGCTCT
7501 CTGACTTTAA CCAAATATTT GACTAACAAA CACAGTCACT ATATTCCAAA AGAGAAGATA
7561 GAAGAAGACA CAGAAATAGC TGTCATTTGC GCCGTACCAA CAAAGCGCGC AAGTAAACTT
7621 ATCACTTTCA GAGCAGGTGA CCGATCAGTC TCATGTTGTC ACCCCTTGCA AACTCCTATT
7681 AGGGGCCTGC TTCAAAAGTA TGGGTTACCC ATTGGGAAGT GGTCCGACTG CAACGGGCCC
7741 CTTGGTGACG ACGCCCGAGT CTGTGACGTC AATGGAGTGA CAACTTATGA ACCATGCATG
7801 CAATCCTACA ATTGGTTCCG ATCGATTGTG GCACCAACAA CCCCACCTTT ACCTGCAACC
7861 CGGAGCGTGG CTGGCATTTT GCGCGGCAGAC ACATCGCGCG TCTACACCAC AACAGCGGTT
7921 GATGTCTCCG AGCGGCAGGC TAAGGTCACG ATTGATCAAA AGTCAGCCAA GGTGGACCAG
7981 TGTCTCCGAG ACACATACAA TTGCTGCCTT GCCAAGGCAA AGACCTTCAG ACAATCTGGC
8041 ATGTCATATG AGGATGCTGT GTCAAAGATG CGCGCAAACA CCACGGGTGA TCATAACAAC
8101 GGCATCACTT ATACAGATTT GGTCTCTGGA CGCGCAAAAC CTGTCGTTCA GAAAATTGCA
8161 GATCAGATGC GCGCTGGAGT GTACGACGCT CCAATGCGCA TTATTCCAAA ACCTGAAGCG
8221 TTTCCACGAG ACAAGTCAAC ACGGAAGCCA CCACGGTTCA TCGTTTTCCC TGGGTGTGCC
8281 GCACGAGTCG CGGAGAAAAT GATCCTGGGC GATCCTGGCG CGATAACCAA GCACGTGCTA
8341 GGTGATGCCT ACGGGTTTGC CACTCCGCCG CATGAGCGCG CGCGCCTACT GGAACAATGG
8401 TGGAACCGCG CAACGGAGCC ACAAGCTATC GCGGTTGATG CAGTCTGCTT TGATAGCACC
8461 ATCACGGCAG AGGACATGGA TCGTGAGGCC AACATCGTGG CTGCAGCGCA TACGGACCCG
8521 GAAGGTGTTC ACGGCCTATA CAATTATTAC AAAAGAAGCC CCATGTGTGA TATCACAGGA
8581 AAAGTTGTCG GGGTGCGTAG CTGTCGAGCC TCAGGTACGC TTACAACAAG CAGTGGCAAC
8641 ACGCTTACTT GCTACCTCAA GGTTCGCGCA GCTTGCACGC GCGCCGGCAT TAAACCAATT
8701 GGCTTACTAA TTCATGGAGA TGACACCCTC ATTATCACAG AACGTTGCGC TCAGGAAACT
8761 CTCGATGAGT TCAGCAACGC GCTTGATGAC TATGGGTTTA CTCACACCAT GCAGGTGTCT
8821 GGGGACCTCT CGTCTATCGA GTGCTGCAGC GCACGTGTGG ACAGCGTTTG CCTCCGGGGA
8881 GGTATGCGTC GCATGCTCGT GCCACAAGCT CGACGTGCGA TTGCACGCGT TCTCGGGGAA
8941 AAGGGCGATC CACTGGGTGT TATCAGCAGC TATATTGTCA TGTATCCTAC TGCGGCTGCG
9001 ACTGTCTACG TTCTGATGCC CCTGTTGTGC ATGCTCATTC GAAATGAGCC ATCGCAGACG
9061 GGGACACTTG TAACGTTGAC GGTCCACGGT AACAGTGTGA GCGCGCCAGT GTGGCTGCTT
9121 CCAACCATTA TTGCAAATTT ACATGGCCGC GACGCACTAC AGGTTGTCCG TCACAGTGCA
9181 GCTTCCATGG CGGAACTGTC CTCAGCGTTG GCCTTCTTTG GCATGAGAGG GTTGAACTGC
9241 TGGAGGCGGA GACGCCGTGC CATCAGGACC GATATGATCA AGTTGGGCGG GTGGAATGCG
9301 AATTTCGCGC AGATGTTACT GTGGTCACCG GAGGTAAGAA CACCACAGCC CGAACCAAAG
9361 GGCATGTGTC TCTTGCCACC GGAACTATGG GAGCGTCCGT ACGAAAATTT GCACTTGAGC
9421 ACGATCGACC GCAATCGTGG TGCTAGTCGG TTACGGTTTT GGTCGGTTGC TAGTGCTACA
9481 CTCGCTCTGC TTTGCTTGTA AATCCTAAAC CAATGTAGTA CCAGGACTAC AAGGCAGGAG
9541 GTGAAGTCAG CTGTACCCAC GGCTGGCTGA AACCGGGGCT TGACGACCCC CCCTATCCGA
9601 GTTGGGCAAG GTAACATCAC GGGTGTGACG ACCCCGCCCC CCCATGTCGC GCGCAAGCGC
9661 ACGGGCAAGG CAGCTAGGCT GAGAGTCTGG GCAACTCTCC CGTACCCCAC CCGAGGCTAC
9721 GCCTCGTCCT GGCGAGGACC GTAAACATAC GTCGTCAGCG TGGTGACCTG ACGTATCTTG
9781 TTAACCACTT AATGGTCGTA ACTCGACCCC CGTGCCGGGG ATCTAAGCGC GGCACCGCGA
9841 TGAGAGGGGT CAACGGCCCC TTTCATT
```

【図２２Ａ】

FIG. 22A

ヒトペギウイルス２（ＵＣ０１２５）遺伝子および非翻訳領域

５’ＵＴＲ配列

５’ＵＴＲ配列：配列番号３０３のヌクレオチド２４－３２７

Ｓタンパク質および遺伝子配列

Ｓタンパク質アミノ酸配列：（配列番号３４４）

```
MGCVTDQTICSFVVGADYHTTSGCRALHGSYHCGGSCRSPSRVQVARRVLQLCAFLALIGSGVCSIRSRTEGRIESGQ
```

Ｓタンパク質遺伝子配列：配列番号３０３のヌクレオチド３２８－５６４

Ｅ１タンパク質および遺伝子配列

Ｅ１タンパク質アミノ酸配列：（配列番号３４５）

```
ILQSQRACNTGEGFAFFSHCCHQSDIWCLHFWCVTRPGCLWCTGHATHFICWDYLGSGVSRRFARRMSEGAEALLRLIGIAGWLGLLAESLG
MSEVYAAILCFGPIAWYGWGIPKTLVCTVCFAVHISPYSFLSPDTIAFGTWILQLPGLLWQMFVSFFILYSTWILWLLLSGKTVAVIAILLAS
PTVMA
```

Ｅ１タンパク質遺伝子配列：配列番号３０３のヌクレオチド５６５－１１３７

Ｅ２タンパク質および遺伝子配列

Ｅ１タンパク質アミノ酸配列：（配列番号３４６）

```
YKHQSESYLRYCTITTCSTSMHCDCPFGTFTRTTSSRFSIFRFCPYKIHSSTFICSWGSWWWFAEHITRPYTDVGMPFAPISALCYYSDHDP
FRWYHDTYIIPQKCRTSTVDFTCAPCRDKWGWTCACTLDRRGRFCGLCYGGCFYTHGSHCRSKERCGIGYRCGLLEFVQLSQIRRHIGITTIE
LLAGSSLVIAGRLRFWCSSRAHGVVHCVRCPTYRDLSQFGRGLGRWVPLFGSPVPELTIHPQWARRGFRHRHPLSLLQTFVEDIFLAPFCD
PTFGRVRVCHHTAFYPRGGFVQLIGDVQVLTHTTACLEILTLIGLILLLVCVVGGARFVILIIIPFWCARHVYA
```

Ｅ２タンパク質遺伝子配列：配列番号３０３のヌクレオチド１１３８－２１９９

Ｘタンパク質および遺伝子配列

Ｘタンパク質アミノ酸配列：（配列番号３４７）

```
SCYLSCDKAVCNDASCFTSGTCATFHDVLCLPVATRISSCSGRAVPPFDRGWEVPAARMSWVIGRTTGLTFDVPSFIQYLPTVPGCHTHIIYCGE
FTFLGDITGIYWPYFLPGAILLYLTPFLGLRLMSLAGFHIDGLFFIRHATAALRFSTGRVTLCVVVAFLIYILSHPVHAALURRFLASAHLEMI
LSFDTYHETVLYILCLLLYLQVSFRAGLAAMVALKLSRGLLFAVVLAHGVC
```

Ｘタンパク質遺伝子配列：配列番号３０３のヌクレオチド２２００－２９１０

【図２２Ｂ】

FIG. 22B

ＮＳ２タンパク質および遺伝子配列

ＮＳ２タンパク質アミノ酸配列：（配列番号３４８）

```
RPGRVFGLEVCADISWLVEFTGNCTKYMSCVFSFXCAVEAFTSFLGREYKIQIYRYKAQVYARLVLAVGCGFLSREFHFRASVGVLXCGACML
KPRRCSFTSLWFLCALTVFCTDTWLVACLSAGPSARTLAIIAGDYARIGDHRAIRAVLRCFSSRGTYIYHHMSQVSERVAQAVRDLGGCLFP
VVLEEPTFTEIVDDTMGLVCGQLLGGKFVVARCGTRVLVGHLHFEDLPPGFQLS
```

ＮＳ２タンパク質遺伝子配列：配列番号３０３のヌクレオチド２９１１－３６３０

ＮＳ３タンパク質および遺伝子配列

ＮＳ３タンパク質アミノ酸配列：（配列番号３４９）

```
APVVITRPSIGTWSFIFATLTGRAETPGSGQIVVLSSLTGHSWHTAVLGTLYATGHGAGAHGLATCAGLWTPLYTALSDDVVAYSCLPHMSSL
DPCCCSFCRVYVMHHHGGLVCGKVEHDDVCLDCPTHIIDQLHGAGSSFVLCDHGHAYALMLSGYSTSGICARVRIVRPAHIAYSSSGGQGGMQA
PAVTPTYSEITYYAPTGSGKSTKYPVDLVKQGHKVLVLNPSVAVKSMAPYIKETYKIRPEIRAGTGPDGVTVICTGEILAYHTYGRFLVDPET
ILRGYAVVICDECHDTSGTTLLGIGAVRWYAEEAGVKTVVFATATPAGIQVQSHGHIIEDYLLIDTGDVEEYGAKCKMDDIRTGRHVIPCHSKA
RCAKLTCQLSGYGTRAVSFARSCDIETIPASDGTVVVATDAISTGYCGHPDSVTHCGCCVFQTVTIDMDPTFGISSARVVPCTAAIRKQRRSRT
GRGRRGAYYTSPGAAPCVSFPDAIKSQAVFSAAMSYKSATRTQQCTAAYHDLGCTPRTSCDPHTPRVRMDTIRAYLRRPEVTTAATLAGRQX
PLLYGAQLRICKETEAHGPDDSCPWKCLLDCRSHTPLTYALDIFTLEFTPQHDLTRRIAGALSGTVFVET
```

ＮＳ３タンパク質遺伝子配列：配列番号３０３のヌクレオチド３６３１－５５１４

ＮＳ４Ａタンパク質および遺伝子配列

ＮＳ４Ａタンパク質アミノ酸配列：（配列番号３５０）

```
GYGPILLAGAALAASFAFAGATGALVPGAVKSVEVRPAGVT
```

ＮＳ４Ａタンパク質遺伝子配列：配列番号３０３のヌクレオチド５５１５－５６３７

ＮＳ４Ｂタンパク質および遺伝子配列

ＮＳ４Ｂタンパク質アミノ酸配列：（配列番号３５１）

```
RPDATDETAAYAQRLYQACADSGIFASLQGTASAALSKLADASRGASQYLAAAPPSPAFLVQVLQFLETLIFSSIASFGLLCAGCQAGECFTAL
AGLVSGATAGLGGAHKWLLAIAGTWLVGLQTGSRSGMVAGLSTLAGCIISSVTGLDFLFGCLIGWEAVVGAVATQKILSGSADXCTLVDLLP
ALSSPGAGIAGLVSFTLSIISVTTWAIHLLSXCAKQTTCHHYFLSERFSQQLSKLSLWRSVYHWAQARSGYCQCG
```

ＮＳ４Ｂタンパク質遺伝子配列：配列番号３０３のヌクレオチド５６３８－６４２３

【図２２Ｃ】

FIG. 22C

ＮＳ５Ａタンパク質およびＮＳ５Ａタンパク質アミノ酸配列（配列番号３５２）

ＮＳ５Ａタンパク質遺伝子配列：配列番号３０３のヌクレオチド６４２４－７７９７

ＮＳ５Ｂタンパク質および遺伝子配列

ＮＳ５Ｂタンパク質アミノ酸配列：（配列番号３５３）

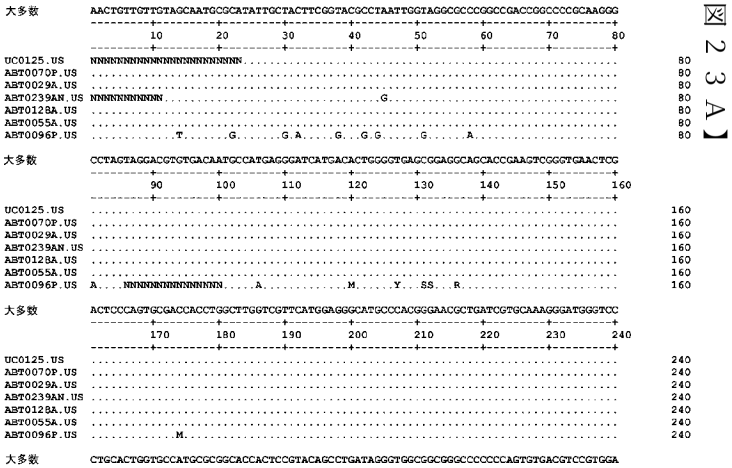
ＮＳ５Ｂタンパク質遺伝子配列：配列番号３０３のヌクレオチド７７９８－９４９８

３’ ＵＴＲ配列

３’ ＵＴＲコンセンサス配列：配列番号３０３のヌクレオチド９４９９－９８６７

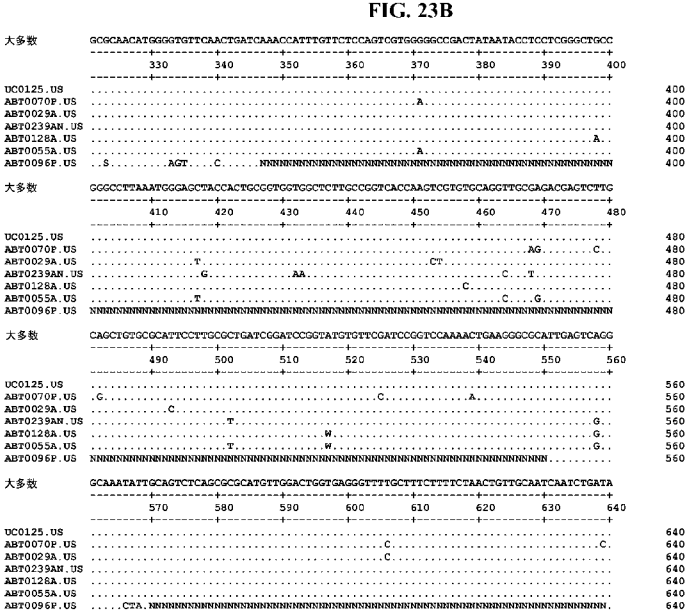
【図２３Ａ】

FIG. 23A



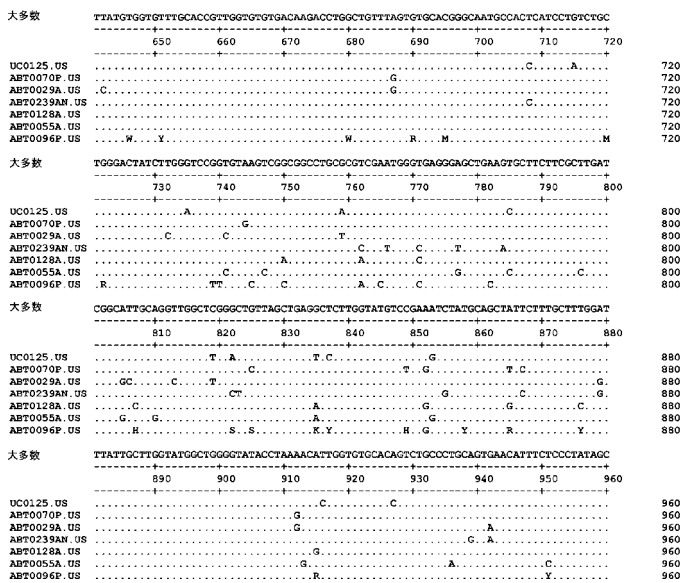
【図２３Ｂ】

FIG. 23B



【図２３Ｃ】

FIG. 23C



【図23D】

FIG. 23D

```
大多数      TTCTTATCTCCAGATACTATCGCATTTGGTACGTGGATACTACAACTACCTGGTCTTTTTGTGGCAAATGTTTGTCAGCTT
                     970       980       990      1000      1010      1020      1030      1040
UC0125.US   ..........................................................................T.....  1040
ABT0070P.US ...................................C.........G..........................  1040
ABT0029A.US ...............................................G..........A...  1040
ABT0239AN.US ..T..........C................R.....................................A...  1040
ABT0128A.US ..........................................................................  1040
ABT0055A.US ..........G...................................................T....  1040
ABT0096P.US ...................................A......A.......A.....A..  1040

大多数      CCCTATACTTTACAGCACTTGGATTCTTTGGTTGTTGCTCAGCGGCAAGACTGTTGCTGTGATAGCGATCCTTTTGGCTA
                    1050      1060      1070      1080      1090      1100      1110      1120
UC0125.US   .........C.................................................A......C.....  1120
ABT0070P.US ..............T...........................................................  1120
ABT0029A.US ..........................................................C.............  1120
ABT0239AN.US T.....................................T..T.....................A.......  1120
ABT0128A.US T.................................A....T.....A...........................  1120
ABT0055A.US T.....................................................C...........A.......  1120
ABT0096P.US ..............T...........................................................  1120

大多数      GTCCTACGGTTATGGCATACAAGCATCAATCTGAAAGCTACCTCAAATACTGTACCATAACCAATGCTTCAACTGCTATG
                    1130      1140      1150      1160      1170      1180      1190      1200
UC0125.US   ................G.........................................A........T.....  1200
ABT0070P.US ...........................G....T.......................................  1200
ABT0029A.US ................G.......................C...............................  1200
ABT0239AN.US ................G..........C.......................................G.......  1200
ABT0128A.US ..........R.....................................................T.....  1200
ABT0055A.US .......R...R.......T....Y.......W..........R..............Y..R........K.....  1200
ABT0096P.US ...........................G.....T.....................A.........A.......  1200

大多数      AACTGTGACTGCCCCTTTGGAACCTTTACTCGCAATACTGAGTCTCGTTTCTCTATACCTAGATTCTGTCCTGTTAAAAT
                    1210      1220      1230      1240      1250      1260      1270      1280
UC0125.US   ...................................................C..........................  1280
ABT0070P.US ......................T..C.................G.....A.........................C.  1280
ABT0029A.US ..........................................................................  1280
ABT0239AN.US ..........................................................................  1280
ABT0128A.US ...........................................K..............................  1280
ABT0055A.US ............................Y...................W.Y.............R............  1280
ABT0096P.US ......................T..C..................G.....NNNNNN......................C.  1280
```

【図23E】

FIG. 23E

```
大多数      TAATAGCTCTACATTTATCTGTTCATGGGGGTCGTGGTGGTGGTTTGCTGAGAACATCACGCGTCCATACTCGGACGTTG
                    1290      1300      1310      1320      1330      1340      1350      1360
UC0125.US   C..................T.................................A...................A.........  1360
ABT0070P.US ..........................................................A...............  1360
ABT0029A.US ...A...............C.........................G.......................W.R.......  1360
ABT0239AN.US .G.G..T.............C.......................................A.................C.  1360
ABT0128A.US ...W.....Y.........Y.......................................................  1360
ABT0055A.US Y.......Y.....Y..Y.........................A...................W.........  1360
ABT0096P.US ...........................C..G.....G..G...............CAC.G....AATC.........C.....C  1360

大多数      GCATGCCACCAGCACCGATTTCCGCTTTGTGCTATATCTATTCAAACAATGACCCACCTCCTTGGTATCATAACACAACT
                    1370      1380      1390      1400      1410      1420      1430      1440
UC0125.US   ..........................................T.................................  1440
ABT0070P.US .......G...................................................T.........G.......  1440
ABT0029A.US ..R...................Y....................W.......................................  1440
ABT0239AN.US .......G.....................................................T....T......  1440
ABT0128A.US ........................T.....................................A.................  1440
ABT0055A.US .Y.......................................W...................Y.................  1440
ABT0096P.US T..CC..G.....................................G.............T......NNNNNNNNNNNNNN  1440

大多数      ATCATACCTCAGAACTGTCGCAACTCTACGGTTGATCCTACCACAGCTCCATGCCGTGACAAGTGGGGCAATGCAACTGC
                    1450      1460      1470      1480      1490      1500      1510      1520
UC0125.US   ...................................G.......................................C........  1520
ABT0070P.US ..................TA...........C.........................................  1520
ABT0029A.US ...............Y...................K.........R.........Y............Y..Y........  1520
ABT0239AN.US ..T...........Y............W..........Y.....................................  1520
ABT0128A.US ........K.....................................................................  1520
ABT0055A.US ...........................G.....................................C.........  1520
ABT0096P.US NNNNNNNNNNNNN
```

【図２３Ｈ】

FIG. 23H

```
大多数      GTTCTGTTTCACATCTGGCACTTGTGCTACCTTCAATGACGTCTTGTGTCTGCCGGTTGCGACGCGCATATCGTCCTGTG
            ---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+
                     2250      2260      2270      2280      2290      2300      2310      2320
UC0125.US   ..........................C.......................................................  2320
ABT0070P.US ...........................C......................G..............................  2320
ABT0029A.US ...................Y..........T...............................A....A.............  2320
ABT0239AN.US A...........T....T.......................................T.......................  2320
ABT0128A.US ............G.......................................G..............................  2320
ABT0055A.US ..Y................T..........TG.....................T..G.....C...  2320
ABT0096P.US A..............................CA.....................T.......................  2320

大多数      GCCATGCTGTGCCACCXCCCGACCGTGGTTGGGAGGTGCCTGCGGCGATGTCATGGGTGATTTCGCGGACTACTGGCTTG
            ---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+
                     2330      2340      2350      2360      2370      2380      2390      2400
UC0125.US   .T...............T.......................................................C..  2400
ABT0070P.US ................G.......................C..A............C........T.....C......  2400
ABT0029A.US ...C.....A..G..C........Y.....................................................  2400
ABT0239AN.US .G.............G.............................C.....Y..K...........Y......  2400
ABT0128A.US ..........G..T.............A.....A.....G...............................  2400
ABT0055A.US .G..............G.............................C...............NNNNNNNNNNNNNNNN  2400
ABT0096P.US ................T.............................A..........C..................T...  2400

大多数      ACGTTCGATGTCTTTTCCTTCATCCAGTATCTTCCTACTGTGCCTGGCAACAAXACCGATATCATTTACTGTGGTGAACC
            ---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+
                     2410      2420      2430      2440      2450      2460      2470      2480
UC0125.US   ......................T.....C.......................C...A.......................  2480
ABT0070P.US ........................C.......................TT.........................  2480
ABT0029A.US ..............T.C.T.C.................T..C..T.....T..C.............  2480
ABT0239AN.US ................T.....T.....................TT.........................  2480
ABT0128A.US ...................................T.......T..C........T..............G..  2480
ABT0055A.US NNNNNNNNNNNNNNN
```

【図23L】

FIG. 23L

```
大多数      TGGTGTGTGGACAATTGCTTGGAGGTAAACCCGTGGTGGCCCGCTGCGGCACGCGTGTCTTGGTGGGACACCTCAACCCT
            ---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+
                     3530      3540      3550      3560      3570      3580      3590      3600
            ---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+
UC0125.US   ...........................T.......................................................  3600
ABT0070P.US ...........................................................A.......................  3600
ABT0029A.US A.A.A.......................T..............................................................  3600
ABT0239AN.US .A.........................T..............................................................  3600
ABT0128A.US ...........................................................................................  3600
ABT0055A.US .A.........................T..............................................................  3600
ABT0096P.US ...........................................................................................  3600

大多数      GAAGATCTGCCACCTGGTTTCCAGCTGAGTGCTCCGGTGGTTATTACCAAACCAAGCATTGGTACGTGGTCCTTCCTTAA
            ---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+
                     3610      3620      3630      3640      3650      3660      3670      3680
            ---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+
UC0125.US   ..........................................GG...........................................  3680
ABT0070P.US .....C.....................................................C....T.....................  3680
ABT0029A.US ........................A..................................................................  3680
ABT0239AN.US ..........................................Y..............................................  3680
ABT0128A.US ..........................................GG...........C..................................  3680
ABT0055A.US ..........................................C..............................................  3680
ABT0096P.US ..........................................GG...........C..................................  3680

大多数      GGCGACACTCACAGGGCGTGCTGAAACACCXGGATCCGGCCAGATCGTGGTGTTGTCTTCCCTGACAGGTCGGTCAATGG
            ---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+
                     3690      3700      3710      3720      3730      3740      3750      3760
            ---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+
UC0125.US   ...............................A..G.......................................................  3760
ABT0070P.US ...............................G...........................................................  3760
ABT0029A.US ................C..............C...........................................G...............  3760
ABT0239AN.US ..............KS...R.....G.....................C..........................................  3760
ABT0128A.US ...............................A..G.......................................................  3760
ABT0055A.US ................C..............G...........................................................  3760
ABT0096P.US ...............................A..G.......................................................  3760

大多数      GTACTGCAGTGAATGGCACACTGTATGCGACCGGCCATGGTGCXGGTGCGCGCGGCCTAGCCACGTGCGCTGGTTTGAGG
            ---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+
                     3770      3780      3790      3800      3810      3820      3830      3840
            ---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+
UC0125.US   ....C.....................................C..C...........................................  3840
ABT0070P.US ......................................C....T...........................................  3840
ABT0029A.US ............R.............................T....A................T..........................  3840
ABT0239AN.US ..............R..........................C.........T..................................  3840
ABT0128A.US ....C.........................................CT.C..NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN  3840
ABT0055A.US ............G.............................T..........................................  3840
ABT0096P.US ....C..........A.....................NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN  3840
```

【図23M】

FIG. 23M

```
大多数      ACGCCACTTTACACGGCATTATCTGATGATGTCGTGGCCTACTCTTGCCTTCCGGGCATGAGTTCCCTAGAGCCCTGCCG
            ---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+
                     3850      3860      3870      3880      3890      3900      3910      3920
            ---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+
UC0125.US   ........................................T..............................C......T.  3920
ABT0070P.US ...........................A...............................C.........T....AA  3920
ABT0029A.US ....T.C....................................................................  3920
ABT0239AN.US ..........................T.....................G.......................  3920
ABT0128A.US NNNNNN.....T...............A...............................T......AC  3920
ABT0055A.US .....T..C..................................C.....................G.........  3920
ABT0096P.US NNNNNNNNNNNNNNNNNNNN
```

【図23P】

FIG. 23P

```
大多数      TTTTGGCGCGGCTGTGACATCAAAACCATTCCCGCCTCAGACTCTATTGTTGTAGTGGCAACTGATGCATTGTCCACAGG
                     4810      4820      4830      4840      4850      4860      4870      4880

UC0125.US   ..........................................C........G.......................G..   4880
ABT0070P.US ...........................G.G.............................................   4880
ABT0029A.US ........A...........................................C.......................   4880
ABT0239AN.US ...........................................................................   4880
ABT0128A.US ...........................................C........G.......................   4880
ABT0055A.US ...........................................................................   4880
ABT0096P.US ...NNNN
```

【図23T】

FIG. 23T

```
大多数      TGACTTCCTGTTTGGGTGCCTTACAGGTTGGGAGGCCGTGGTCGGTGCTGCGGTTGCGACACAGAAGATCTTGTCTGGTT
            ---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+
                     6090      6100      6110      6120      6130      6140      6150      6160
            ---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+
UC0125.US   ..........................A.........C.................................... 6160
ABT0070P.US ...........................................A..G.....A.................... 6160
ABT0029A.US ...............................T.......................A.................... 6160
ABT0239AN.US C.............................T..C.................G.................... 6160
ABT0128A.US ......................G.......A..Y.......................................... 6160
ABT0055A.US NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN 6160
ABT0096P.US ........................NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN 6160

大多数      CGGCTGATATGACCACTCTGGTAGATCTCTTACCTGCTCTCTTCTCCCCMGGXGCCGGCATAGCTGGCATCGTGCTTGTC
            ---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+
                     6170      6180      6190      6200      6210      6220      6230      6240
            ---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+
UC0125.US   .A.......................................T........C..T.......................... 6240
ABT0070P.US .......C.....................C.....................T..C.................G..... 6240
ABT0029A.US ....................T.................T.T.......T..T.....G..................... 6240
ABT0239AN.US .A.................................A.........NNNNNN.......................... 6240
ABT0128A.US .....C.......................T.C.....................C...G..................... 6240
ABT0055A.US NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN 6240
ABT0096P.US NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN 6240

大多数      TTTATTCTAAGCAACTCAAGTGTAACCACXTGGGCTAATCGGCTAXTXTCCATGTGTGCXAAACAAACXATTTGTGAXAA
            ---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+
                     6250      6260      6270      6280      6290      6300      6310      6320
            ---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+
UC0125.US   ..C..CT.......T.............A.................T.A...........C........C........A.. 6320
ABT0070P.US ...........................TG.................T.G...........A........T........A.. 6320
ABT0029A.US ...........................G.................T.G...........A........C........C.. 6320
ABT0239AN.US ..........T.................G.................C.G...........A........T........T.. 6320
ABT0128A.US .....CT......T..............NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN 6320
ABT0055A.US NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN 6320
ABT0096P.US NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN 6320

大多数      XTACTTCTTAXTGAXAXATTTGGCCAXCAATTAAGXAAACTTTCCXTGTGGCGCXCTGTGTACCATTGGGCGCAGGCAC
            ---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+
                     6330      6340      6350      6360      6370      6380      6390      6400
            ---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+
UC0125.US   C........AG...A.G.........A........C........C........T.......................... 6400
ABT0070P.US T........AC...G.A.........A........C........C........T.......................... 6400
ABT0029A.US C........TC...C.A.........A........T........T........A..C...T.G.......G...... 6400
ABT0239AN.US C........AC...G.A.........T........C........C.....G.......................... 6400
ABT0128A.US NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN 6400
ABT0055A.US NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN 6400
ABT0096P.US NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN 6400
```

【図23U】

FIG. 23U

```
大多数      GTGAGGGATACACACAGTGCGGXGTGGTCAGCGGGATCTGGAGCTTTGTCTTGTGCATXCTACGCGCTGTGTGGGATTGG
            ---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+
                     6410      6420      6430      6440      6450      6460      6470      6480
            ---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+
UC0125.US   ...................C...A.................C.C.........T.......................... 6480
ABT0070P.US ....A..................T.....................................T.....T.............. 6480
ABT0029A.US ....................T..T.....G.................................T.................. 6480
ABT0239AN.US ...................C.....................................C..G..G.................. 6480
ABT0128A.US AA..................T..T.....................C.........C.......................... 6480
ABT0055A.US T...TT.................C...T...T.........T.....C..G..G.......................... 6480
ABT0096P.US NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN.....T.......... 6480

大多数      GCGGCCAAGCATGTGCCACGGTTCCGTGTGCCTATGATTGGCTGCTCACCTGCGTGGTGCGGGCGCTGGCTTGGTACCGG
            ---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+
                     6490      6500      6510      6520      6530      6540      6550      6560
            ---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+
UC0125.US   ..................................................................................... 6560
ABT0070P.US ....T..A.................................................................T.. 6560
ABT0029A.US ....T..A.....................C.....................................T.. 6560
ABT0239AN.US ...................C.....A.......................... 6560
ABT0128A.US ....................A.............G..................... 6560
ABT0055A.US ...M................R.............W...Y.......Y.Y...R..................... 6560
ABT0096P.US ....T..A.................................................................T.. 6560

大多数      CACCTTGTTGACCACCTGTGGGTGTGGAGAACGTGTGTCCCTTCAGTGCCTTTGCTCAACATCTGACCCAACXCTCAGTG
            ---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+
                     6570      6580      6590      6600      6610      6620      6630      6640
            ---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+
UC0125.US   ......................C.....................................CAA.......... 6640
ABT0070P.US ...................................A.....................G.............A....... 6640
ABT0029A.US ....................C.....................T.......T.............G....T..TTG.....A. 6640
ABT0239AN.US ...C.....................................C.......G.............A....... 6640
ABT0128A.US ...T.........................G.............A.........................G....... 6640
ABT0055A.US ...T.........................G.............A.........................G....... 6640
ABT0096P.US ...........................K.R.......R.K....K...R.Y.........WW.R........ 6640

大多数      TGGGCCGTTGGTGTCGGTGTAGTTGGAGTGTCGGGTTCCCATTCAACCCGACTACGACAGCCACCGGCACTTTACGGCCG
            ---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+
                     6650      6660      6670      6680      6690      6700      6710      6720
            ---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+
UC0125.US   ...............................T.............................G...T.....C.......... 6720
ABT0070P.US ...............T.............C....T.....................G.......................... 6720
ABT0029A.US ...T...........................T.............................A.......... 6720
ABT0239AN.US ..............................A.......... 6720
ABT0128A.US ..................................................................................... 6720
ABT0055A.US ..................................M.................................................... 6720
ABT0096P.US ...............Y.............................C.C..A.................M..... 6720
```

【図23V】

FIG. 23V

```
大多数      GACATCAGXGACGCCACTAAATTGGGTTTCCGGTATGGTGTTGCCGACATCGTGGAGCTAGAGCGGCGGGGCGACAAATG
            ---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+
                     6730      6740      6750      6760      6770      6780      6790      6800
            ---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+
UC0125.US   .......T......AC.....................C..................................... 6800
ABT0070P.US .......T.........C........C.....G.......................A.......... 6800
ABT0029A.US .....T..C..........G...................CA.......G...........G...T....AGC....... 6800
ABT0239AN.US .....T..T.......................A.....A.A.....G........A..G.........T........ 6800
ABT0128A.US ........C.......................................................T............... 6800
ABT0055A.US .......RCS.......................................................R..Y.......... 6800
ABT0096P.US ........Y...A.T..............T...T...................C......TA...C.......... 6800

大多数      GCATGTCTGTGCAGCATCATGTTGCTTGGACCGAGCXAGCGTTGCATCCGCCGTGAAGGCCCCACCGGTCACGGCCXATG
            ---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+
                     6810      6820      6830      6840      6850      6860      6870      6880
            ---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+
UC0125.US   ...C.............................G..C..............T.......................TA... 6880
ABT0070P.US ................................G..C.................G...................G... 6880
ABT0029A.US ...C.............................T..T...........T.....................A...A... 6880
ABT0239AN.US ...............................C.....................................A... 6880
ABT0128A.US ................................T........G.............................G... 6880
ABT0055A.US ................................T........G.............................G... 6880
ABT0096P.US ........K..................RR..M.R..Y...................R...Y................R... 6880

大多数      GCATACCTATCAGTACCTTTTCTCCACCACAAACTTACAACCTCTCTCTGTTCTTTTGATTCAGTTTGCATGTCTACT
            ---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+
                     6890      6900      6910      6920      6930      6940      6950      6960
            ---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+
UC0125.US   .T........T.A..G.....................TTG...A...........C......A..................... 6960
ABT0070P.US ...............................A........T.......................A..... 6960
ABT0029A.US .T.............................G..................................... 6960
ABT0239AN.US .T........G....T...............G.....................................G. 6960
ABT0128A.US ....................A.....................G..........C........C..... 6960
ABT0055A.US ....................A.....................G..........C........C..... 6960
ABT0096P.US ................Y.............S.........A........Y..... 6960

大多数      AACTTATGTAACCCAGCTAAGACCCTGAGTGTGTGCTCXCAGGAGGCTGTTGAGCTACTGGAAGAAACAGTTGACACAGC
            ---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+
                     6970      6980      6990      7000      7010      7020      7030      7040
            ---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+
UC0125.US   ....................................CAAG.......G........G........G.............. 7040
ABT0070P.US ...........T.......................G..................................G... 7040
ABT0029A.US ..TC.............C.................A........C........G.....................G.. 7040
ABT0239AN.US ...............................C..........C.....................T.A... 7040
ABT0128A.US .....G.....A....................G..................................... 7040
ABT0055A.US .....G.....A....................G..................................... 7040
ABT0096P.US ....NNNNNNNNNNNNNNNNNNN.........A.................G..................... 7040
```

【図23W】

FIG. 23W

```
大多数      ACAAGTAATGATGTGCCAAAATCTGGAGGCGCGAAGACGCGCCGAGTATGATGCATGGCAAGTTCGCCAAGCAGTTGGCG
            ---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+
                     7050      7060      7070      7080      7090      7100      7110      7120
            ---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+
UC0125.US   .......G.....A............CA.....T........T..................G..................... 7120
ABT0070P.US .......G.......T.........................T...T.....................G....A..C... 7120
ABT0029A.US ......G........T.............................A.....................C..... 7120
ABT0239AN.US ..............T.............................A.....................G..... 7120
ABT0128A.US T.G.....................................................C....G....A..... 7120
ABT0055A.US T.G.....................NNNNNNNNNNNNNNNNNNNN
```

【図23X】

FIG. 23X

```
大多数      TGTGCATGCGCACGCCACCAATCAAGTTTGAGGCCACCGCAGTACCAATTCATAATATAATCCCAGAAGAGTGTCACATT
            ---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+
                     7370      7380      7390      7400      7410      7420      7430      7440

UC0125.US   ................T.......................................................T...      7440
ABT0070P.US ...................................TG.................G.......................      7440
ABT0029A.US ..............................................C.........................C      7440
ABT0239AN.US ........................A.......................C.........T..........          7440
ABT0128A.US ..........................................C..C....T..A.............          7440
ABT0055A.US ........................G..........G.........G...........M.....          7440
ABT0096P.US ...................................T.C.............G..........A.............      7440

大多数      GTGCTACGCTGTACCGGCTGTAACGACCAGGCCTTGACTGTTCCGTACGGCACTTGCACTCAGACTTTAATCAAACATTT
            ---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+
                     7450      7460      7470      7480      7490      7500      7510      7520

UC0125.US   ......................TGT.............C..................T...T........C....T....      7520
ABT0070P.US ..................C.......................................T..........G.....      7520
ABT0029A.US ..............T.......................................T.......T.G......          7520
ABT0239AN.US ..........................................................................      7520
ABT0128A.US ..........................................C...............C.......C.          7520
ABT0055A.US ......................GY....A.............................G...............      7520
ABT0096P.US ......................T.............................C...............GC.......C.      7520

大多数      GACTAACAAACACAGCCACTACATTCCAAAACAGAAGATACAAGAAGACACAGAAGTAACTGTCATTTGCGCCGTACCAA
            ---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+
                     7530      7540      7550      7560      7570      7580      7590      7600

UC0125.US   ................T....T.........G.....................A..G.......................      7600
ABT0070P.US .....GT........T.....................G.........................................      7600
ABT0029A.US ...C..........A......T.............................................................      7600
ABT0239AN.US ..........................................................................      7600
ABT0128A.US .....G......T.A.....................................T.........................      7600
ABT0055A.US ....G.T............NNNN
```

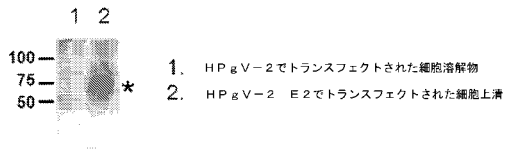
【図23BB】

FIG. 23BB

```
大多数      ACGCTTACTTGCTACCTCAAGGTTCGTGCAGCTTGCACGCGCGCCGGCATTAAACCAATTGGCTTACTAATTCATGGAGA
            ---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+
                     8650      8660      8670      8680      8690      8700      8710      8720
            ---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+---------+
UC0125.US   ..........................C.......................................................  8720
ABT0070P.US ...........T..........................T.......................................  8720
ABT0029A.US ...........................................................G...........G..  8720
ABT0239AN.US ..............T..........C.......................................................  8720
ABT0128A.US ........A........T..........G.....T..............C.......................................  8720
ABT0055A.US NNNN
```

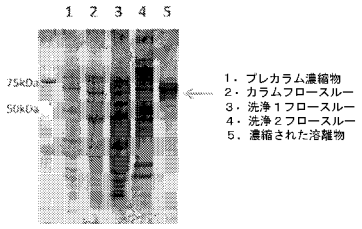
【図２４Ａ】

FIG. 24A



【図２４Ｂ】

FIG. 24B

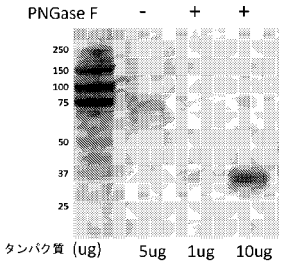


【図２４Ｃ】

FIG. 24C

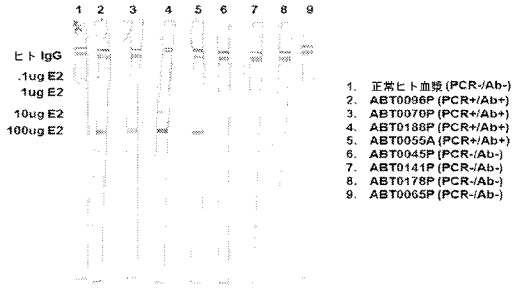
【図２４Ｄ】

FIG. 24D



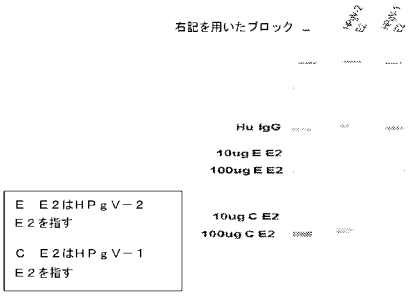
【図２５】

FIG. 25



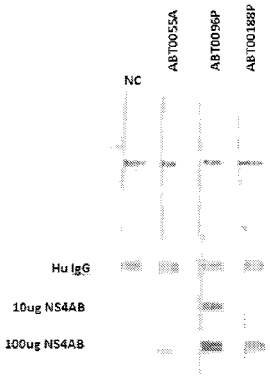
【図２６】

FIG. 26



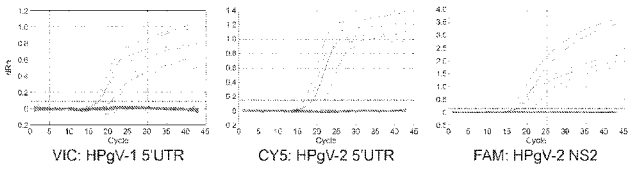
【図２７】

FIG. 27



【図２８】

Fig 28



【図２９Ａ】

FIG. 29A

ヒトペギウイルス２（ＡＢＴ００３０Ｐ．ＵＳ）核酸配列－配列番号４１９

```
   1 AACTGTTGTT GTAGCAATGC GCATATTGCT ACTTCGGTAC GCCTAATTGG TAGGCGCCCG
  61 GCCGACCGGC CCCGCAAGGG CCTAGTAGGA CGTGTGACAA TGCCATGAGG GATTATGACA
 121 CTGGGGTGAG CGGAGGCAGC ACCGAAGTCG GGTGAACTCG ACTCCCAGTG CGACCACCTG
 181 GCTTGGTCGT TCATGGAGGG CATGCCCACG GGAACGCTGA TCGTGCAAAG GGATGGGTCC
 241 CTGCACTGGT GCCATCCGCG GCACCACTCC GTACAGCCTG ATAGGGTGGC GGCGGGCCCC
 301 CCCAGTGTGA CGTCCGTGGA GCGCAACATG GGGTGTTCAA CTGATCAAAC CATTTGTTCT
 361 CCAGTCGTGG GGGCCGACTA TAATACCTCC TCGGGCTGCC GGGCCTTAAA TGGGAGCTAC
 421 CACTGCGGTG GTGGCTCTTG CCGGTCACCA AGTCGTGTGC AGGTTGCGAG ACGAGTCTTG
 481 CAGCTGAGCG CATTCCTTGC GTTGATCGGA TCCGGTATGT GTTCGATCCG GTCCAAAACT
 541 GAAGGGCGCA TTGAGTCGGG GCAAATATTG CAGTCTCAGC GCGCATGTTG GACTGGTGAG
 601 GGTTTGCTTT TCTTTTCTAA CTGTTGCAAT CAATCTGATA TCATGTGGTG TTTGCACCGT
 661 TGGTGTGTGA CAAGACCTGG CTGTTTAGTG TGCACGGGCA ATGCCACTCA TCCTGTCTGC
 721 TGGGACTATC TTGGGTCCGG TGTAAGCCGG CGGCCTGCGC GTCGAATGGG TGAGGGAGCT
 781 GAAGCGCTTC TTCGCTTGAT CGGCATTGCA GGTTGGCTCG GGCTGCTAGC TGAGGCTCTT
 841 GGTATGTCCG AACTCTACGC AGCTATTCTT TGCTTTGGAT TTATTGCTTG GTATGGTTGG
 901 GGTATACCTA AAACATTGGT GTGCACAGTG TGCCCTGCAG TAAACATTTC TCCCTATAGC
 961 TTCTTATCTC CAGACACTAT CGCATTTGGT ACGTGGATAC TACAACTACC TGGTCTTTTG
1021 TGGCAAATGT TTGTCAGCTT TCCTATACTT TACAGCACTT GGATTCTTTG GTTGTTGCTC
1081 AGCGGCAAAA CTGTTGCTGT GATAGCAATT CTTTTGGCGA GTCCTACGGT TATGGCATAC
1141 AAGCATCAAT CTGACAGCTA CCTCAAATAC TGTACCATAA CCAATGCTTC AACTGCTATG
1201 AACTGTGACT GCCCCTTTGG AACCTTTACT CGCAATACTG AGTCTCGTTT CTCTATACCT
1261 AGATTCTGTC CTGTTAAAAT TAATAGCTCT ACATTTATCT GCTCATGGGG GTCGTGGTGG
1321 TGGTTTGCTG AGAACATCAC GCGTCCATAC TCGGACGTTG GCATGCCACC GGCACCGATT
1381 TCTGCTTTGT GCTATATCTA TTCAAACAAT GACCCTCCTC CTTGGTACCA TAATACAACT
1441 ATCATACCTC AGAACTGTCG CAACTCCACG GCTGATCCCA CCACAGCCCC ATGCCGTGAC
1501 AAGTGGGGCA ACGCAACTGC TTGTATTCTT GACCGCCGGT CGCGGTTCTG CGGGGACTGC
1561 TATGGCGGCT GCTTCTATAC TAATGGTAGT CATGATCGAT CCTGGGATCG ATGCGGGATT
1621 GGTTACCGTG ATGGACTCAT AGAGTTCGTG CAGCTCGGTC AGATTCGACC CAACATCTCG
1681 AATACGACCA TTGAGCTCCT CGCTGGCGCC TCGCTAGTGA TTGCATCCGG TCTTCGGGCT
1741 GGGTACGGTT GCAGCCGAGC GCATGGCGTG GTGCACTGCT ATAAGTGTCC TTCATACCGT
1801 GACCTTGAAC AATTTGGTCC CGGGCTCGGG AAATGGGTGC CATTGCCTGG CGAGCCTGTC
1861 CCGGAGTTGT GTATTAACCC CCAGTGGGCG AGGCGCGGCT TCCGGGTGTC TAACAATCCT
1921 TTGCACTTGA TACAGACCTT TGTTGAGGAC ATCTTCCTAG CACCTTTTTG CAGTCCGACG
1981 CCTGGCCGTG TACGTGTGTG TAACAATACT GCTTTCTATC CGACAGGAGG TGGTTTTGTG
2041 CAGCTCATCG GAGACGTCCA GGTGCTAACC CCTAACACTG CATCTTTACA CTCTCTGCTG
2101 ACTTTAATAT CCCTTATCTT GCTAGTGTGT GTTGTTTCTG GCGCGCGGTT CATCCCATTA
2161 ATCATCATAT TTTTCTGGAG CGTGCGCCAC GTATATGCTT CTTGTTACTT AAGCTGTGAT
2221 TGGGCTGTTT GCAACGATGC GTTCTGTTTC ACATCTGGCA CTTGTGCTAC CTTCAATGAC
2281 GTCTTGTGTC TGCCGGTTGC GGCGCGCATA TCGTCCTGTG GCCACGCTGT GCCACCTCCC
2341 GACCGTGGTT GGGAGGTGCC TGCGGCGATG TCATGGGCGA TTTCGCGGAC TACTGGTTTG
2401 ACGTTCGATG TCTTCTCCTT TATTCAGTAT TTCCCTACAG TGCCTGGCAA CTGCCTAGCA
2461 ATCATTTACT GTGGTGAACC AACCTTCTTC GGGGACATCA CAGGCATCTA TTGGCCTTAC
2521 TTTTTGCCTG GCTTGTTGCT CTTGTACTTG ACTCCTCTAC TGGGTTTTAG GTTAATGCTT
2581 GCCGGCTTCA ATATAGATGG CTTGTTTCCC ATACGGCATG CCACGGCTGC GCTGAGGTTC
2641 TCGACCTCAC GTGCGACCAT GTGTGTCGTA TCTGCTTTCC TAATCTATAT ATTATCTCAT
2701 CCTGTTAATG CTGCGCTCAA TAGAATGTTC CTAGCATCTG CAAACTTAGA GATGATCTTA
2761 TCTTTTGATA CCTATCATGA GACTATCCTT TACATCGCTT GTCTATTGCT CTACCTCCAG
2821 GTGTCGCCCC GCGCGGGCTT GGCCGCTATG GTGGCCATCA AGCTGTCTCG AGGCCTGCTA
2881 TTCGCTGTGG TGTTGGCGCA CGGCGTGTGC CGACCTGGGC GGGTATTTGG TCTTGAGGTT
2941 TGCGCGGACA TCTCATGGTT GGTGGAGTTT ACTGGCAACT GCACTTGGTA CATGTCCTGT
3001 GTCTTCTCTT TTTGGTGCGC AGTGTTTGCC TTCACCAGTC CACTTGGACG ACACTATAAG
3061 CTTCAGATCT ACCGGTACTG GGCGCAGGTC TATGCCAGAC TCATCCTTGC TGTCGGTTGT
3121 GGTCCTCTCG GACGAGAGTT CCATTTCCGT GCAAGCGTGG GTGTGCTTTG GTGTGGTGCT
3181 TGCATGCTCT GGCCCCGTGA GTGCTCTGAA ATCAGCTTGG TCTTCATTCT GTGTGCTCTG
```

【図２９Ｂ】

FIG. 29B

```
3241 ACAGTGGACA CCATAGACAC ATGGTTAGTA GCGTGCTTGT CCGCAGGGCC GAGTGCGCGA
3301 ACCCTTGCAA CACTGGCCGA TGACATGGCG CGCTTTGGTG ACCACCGGGC GTTGCGCGCC
3361 GTGTTGCGTT GCTTTGGATC ACGTGGCACA TACATATACA ACCACATGGG CCAGGTCTCA
3421 GAACGGGTGG CGCAAGCAGT CAGGGATTTC GGCGGCTGCT TGGAACCAGT CGTGTTGGAG
3481 GAGCCCACCT TTACTGAGGT CGTGGATGAC ACAATGAATT TAGTGTGTGG ACAATTGCTT
3541 GGAGGTAAGC CTGTGGTGGC CCGCTGCGGC ACGCGTGTCT TGGTGGGACA CCTCAACCCT
3601 GAAGATCTGC CACCTGGTTT CCAGCTGAGT GCTCCGGTCA TTATCACCAA ACCAAGCATT
3661 GGTACGTGGT CCTTCCTTAA GGCGACACTC ACAGGGCGTG CTGAAACACC GGGATCCGGC
3721 CAGATCGTGG TGTTGTCTTC CCTGACAGGT CGGTCAATGG GTACTGCAGT GAGTGGCACA
3781 CTGTATGCGA CCGGCCATGG TGCTGGTGCG CGCGGCCTAG CCACGTGCGC CGGTTTGAGG
3841 ACGCCACTTT ACACGGCATT ATCTGATGAT GTCGTGGCCT TCCTCTGCCT CCCGGGCATG
3901 AGTTCCCTAG AGCCCTGCCG CTGTGCGCCG AGCCGGGTTT GGGTGATGAA CAACAATGGA
3961 GGGTTGGTGT GTGGCAGAGT GGAGATGTAG GACGTCTGTT TGGACTGTCC CACGCACATA
4021 GATCAACTGC GGGGTGCTTC GGGATCGCCG GTCTTGTGTG ATCACGGTCA TGCATACGCG
4081 CTGATGCTCG GTGGTTACTC TACCAGTGGT ATTTGTGCGC GTGTCCGGAT AGTCCGGCCA
4141 TGGCAGAACG CCTATTCCTC CTCAGGGGGG CAAGGCGGGA TGCAGGCGCC AGCTGTGACA
4201 CCAACATACT CTGAAATCAC CTACTATGCC CCTACTGGTT CTGGTAAGTC AACAAAATAT
4261 CCAGTGGACC TGGTCAAACA GGGACACAAA GTATTGGTCC TTATACCAAG TGTGGCTGTC
4321 GTCAAAAGCA TGGCCCCTTA CATTAAGGAG ACATACAAGA TTAGACCTGA AATTAGAGCT
4381 GGCACAGGCC CTGACGGTGT GACGGTCATC ACTGGTGAGA ACTTGGCGTA CATGACCTAT
4441 GGCCGCTTCC TTGTGGATCC GGAGACGAAT CTGCAGGGTT ATGCCGTAGT CATTTGCGAC
4501 GAGTGCCACG ACACATCATC CACCACCCTA CTCGGCATTG GCGCAGTGCG CATGTATGCC
4561 GAGAAAGCTG GAGTGAGGAC CGTTGTATTC GCCACAGCCA CTCCTGCTGG CATTCAAGTA
4621 CAGCCACACC CCAACATTGA TGAATATTTA TTGACTAATG AAGGCGACGT GGACTTCTAC
4681 GGCGCCAAAA TCAAATTGGA CAACATCAGA ACTGGTAGAC ATGTTATCTT TTGTCACTCG
4741 AAGGCCAGGT GCGCGGAACT AACGCAGCAG CTCTCCGGCC TTGGCGTTCA TGCAGTGAGT
4801 TTTTGGCGCG GCTGTGACAT CAAAACCATT CCCGCCTCAG GCTCTATTGT TGTAGTGGCA
4861 ACTGATGCAT TGTCCACAGG CTTCACAGGA AATTTTGATT CGGTCATCGA CTGCGGGTGT
4921 TGCGTAGAGC AAACTGTGAC AATTGACATG GACCCCACGT TCTCCATCTC GGCCCGAGTG
4981 GTGCCATGTA CTGCTGCATT GCGTATGCAG CGGCGCGGAC GCACCGGTCG TGGCAGAAGG
5041 GGAGCGTACT ACACAACCAC TCCAGGAGCA GCACCCTGCG TCAGCGTTCC CGATGCTAAC
5101 GTCTGGCAAG CAGCGGAGAG CGCCATGGTC TTTTATGATT GGAATGCTGC TAGGATACAG
5161 CAGTGCCTGG CGGCATACCA TGACTTAGGG TGCACACCAC GCATCGGTTG TGACCCACAC
5221 ACTCCAGTGC GGGTGATGGA CACACTGAGG GCGTACCTGC GCAGACCTGA GGTGACGACT
5281 GCAGCTCTCG CGGGAGAGCA GTGGCCGCTG CTTTATGGTG TGCAGTTGTG CATCTGCAAA
5341 GAGACCGAGG CCCACGGTCC AGATGATGGC ATCAAGTGGA AGTGCTTACT CAACAATACT
5401 AATAAAACAC CCCTGTTGTA TGCCTTAGAC AATCCTACAC TGGAATTCAC TACCCAACAT
5461 GACTTGACTC GCCGTATAGC CGGCGCTTTA TCGAGCACAG TGTTCGTGGA AGCAGGCTAC
5521 GGCCCCATCC TCCTTCCTGG CCCCGCTTTG GCACCCTCCT TCGCCTTTGC GGGCCCCACT
5581 GGAGCTTTAG TGCCGTCGGC CGTTTGGAGC GTTGACAACG GGCCTGCTGG CGTGACCCGT
5641 CCCGACGCGA CAGACGAGAC TGCGGCCTAC GCGGCAGGCT TGTACCAAGC CTGCGCAGAT
5701 TCAGGAATTC TCGCCAGCTT GCAGGGCACA GCGTGTGCGG CGCTGAGCAA ACTGGCCGAT
5761 GCCAGTAGGG GTGCTAGTCA ATATCTGGCA GCCGCGCCTC CTTCGCCCGC CCCCCTGGTG
5821 CAGGTGCTGC AGTTCCTCGA GACTAACTTT AGCTCCATTG CATCCTTCGG TTGCTCTGT
5881 GCTGGTTGTC AGGCTGGCGA GTGCTTCACC GCACTTGCCG GGTTGGTGTC CGGCGCTACA
5941 GCAGGCTTGG GAGGTGCCCA TAAGTGGTTG TTGGCTATTG CAGGAACTTG GCTGGTTAGC
6001 CTGCAGACCG GGCCCCGTGG CGGCATGGTT GCGGGCCTCT CGGTTCTAGC AGGCTGTTGC
6061 ATCGGCAGTG TCACCCGGGCT TGACTTCCTG TTTGGGTGCC TTACGGGTTG GGAGGCCGTG
6121 GTCGGTGCTG CGGTTGCGAC ACAGAAAATC TTGTCTGGTT CGGCTGACAT GACCACTCTG
6181 GTAGATCTCT TACCTGCTAT CTTCTCTCCT GGTGCGGCA TAGCCGGCGT CGTGCTCGTC
6241 TTTATTCTAA GCAACTCAAG TGTAACCACG TGGGCTAATC GGCTATTGTC CATGTGTGCA
6301 AAACAAACCA TTTGTGAAAA TTACTTCTTG ACTGAGAGAT TTGGCCAACA ATTAAGCAAA
6361 CTTTCCCTGT GGCGCGCTGT GTACCATTGG GCACAGGCGC GCGAGGGATA CACACAGTGC
6421 GGTGTGGTCG GCGGGATCTG GAGCTTTGCC TTGTGCGTCC TGCGAGCTGT GTGGGATTGG
6481 GCGGCTAGGC ATGTGCCACG GTTCCGTGTG CCCATGATTG GCTGCTCACC TGCATGGTGC
6541 GGGCGCTGGC TTGGTACCGG CACCTTGTTG ACCACCTGTG GGTGTGGAGA ACGTGTGTCC
```

【図２９Ｃ】

FIG. 29C

```
6601 CTTCAGTGCC TTTGCTCGAC GTCTGACCCA ACACTCAGTG TGGGCCGTTG GTGTCGGTGC
6661 AGTTGGAGTG TTGGGTTCCC ATTCAACCCG ACTACGACAG CCACCGGCAC TTTACGGCCG
6721 GACATTAGCG ACGCCACTAA ATTGGGTTTC CGGTATGGTG TTGCTGAGAT TGTGGAGCTA
6781 GAGTGGCGGG ACAACAAATG GCACGTCTGC GCAGCATCAT GTTGCGTGGA CCGAGCTAGT
6841 GTTGCATCTG CCGTGAAGGC CCCACCGGTC ACAGCCAATG GCATACCTAT CAGTACTTTT
6901 TCTCCACCAG AAACTTACAA ACTCTCTCTC TGTTCTTTTG ATTCAGTCTG CATGTCTAAC
6961 TCAAGTAACC CAGCTAAGAC CCTGAGTGTG TGCTCACAGG AGGCTGTTGA GCTGCTGGAA
7021 GAAACAGTTG ATACAGCACA AGCAGTGATG TGTAAGAATC TGGAGGCGCG AAGACGCGCT
7081 GAATATGATG CATGGCAGGT TCGTCAAGCA GTTGGCGACG AGTACACGCG CTTGGCTGAC
7141 GAGGATGTTG ACACAACAGC GTCGGTGAAA CCCCCGGTGG CCAGGGCTGC TGTGGGTAGC
7201 TCAACCTTGG ATGATCTTAA CGTGCTGACT GTCTTCCGCC AGCTCCGTCA CCAATGCCAA
7261 AATGCTATCA AATTTGTAGT CCAGGCGGCT TCACGGTTTG TTCCACCAGT GCCCAGGCCG
7321 CGCACGCGTG TCTCGGGTGT GTTGGAGCGC GTGCGCATGT GCATGCGCAC GCCACCAATC
7381 AAGTTTGAGG CCACCGCAGT ACCAATTCAT AACATAATCC CAGAAGAGTG TCACATTGTG
7441 CTACGCTGTA CCGGCTGTAG TGACCAGGCC TTGACTGTTC CGTACGGCAC TTGCACTCAG
7501 ACTTTAACCA AACATTTGAC TAACAAACAC AGCCATTACA TTCCAAAACA GAAGATAGAA
7561 GAAGACACAG AAGTAACTGT TATCTGCGCC GTACCAACAA CGCGCGCATC TAAACTCATC
7621 ACTTTCAGAG CAGGTGATCG ATCAGTCTCT TGTTGTCACC CCTTACAAAC TCCTATTAGG
7681 GCCCTGCTTC TAAAGTACGG GTTACCTATC GGGAAGTGGT CTGACTGCAA CGGCCCCCTT
7741 GGTGACGACG CCCGAGTCTG TGACGTCAAT GGAGTAACAA CTTATGAACC ATGCATGCAA
7801 TCCTACAGTT GGTTCCGACC GATTGTGGCA CCAACAACCC CACCTTTGCC TGCAACCCGG
7861 AGCGTGGCTG GCATTTTACG CGCAGACACA TCGCGCGTTT ACACCACAAC GGCGGTTGAC
7921 GTCTCCGAGA GGCAGGCTAA GGTCACAATC GATCAAACAT CAGCCAAGGT GGATCAGTGT
7981 TTCCGAGACA CCTACAATTG TTGCCTTGCT AAGGCAAAGA CCTTCAAACA ATCTGGCATG
8041 TCATATGAGG ATGCTGTGTC AAAGATGCGC GCAAACACCA CGCGTGATCA TAACCATGGC
8101 ACTACTTATT CAGATTTGGT CTCTGGACGC GCAAAACCTG TCGTTCAGAA AATTGTAAAT
8161 CAAATGCGCG CTGGAGTGTA CGACGCTCCA ATGCGCATTA TCCCAAAACC TGAGGTGTTC
8221 CCTCGAGACA AGGAAACACG GAAGCCACCA CGGTTCATTG TTTTTCCTGG GTGCGCCGCA
8281 CGAGTCGCGG AGAAAATGAT CCTGGGCGAT CCTGGTGCGA TAACCAAGCA CGTGCTAGGT
8341 GATGCCTACG GGTTTGCCAC TCCGCCCCAC GAGCGCGCGC GCCTGTTGGA ACAATGGTGG
8401 AACCGCGCAA CAGAGCCACA AGCTATCGCG GTTGATGCGA TCTGCTTTGA TAGCACTATC
8461 ACGGCAGAGG ACATGGATCG TGAAGCCAAC ATCGTGGCTG CAGCGCATGC GGACCCTGAA
8521 GGTGTTCACG GCCTATACAA TTATTACAAA AGAAGCCCCA TGTGTGACAT CACAGGAAAT
8581 ATTGTCGGGG TGCGTTGCTG CCGAGCCTCA GGTACGCTTA CAACAAGCAG TGGCAACACG
8641 CTTACTTGCT ACCTCAAGGT TCGCGCGGCT TGCACGCGGG CCGGCATTAA ACCAATTGGC
8701 TTACTAATTC ATGGAGATGA CACCCTCATT ATCACAGAAC GTTGCGCTCA AGAAACTCTC
8761 GATGAGTTCA GCAGGGCACT TGATGACTAT GGGTTCCCCC ACACCTTCCA GGCGTCTGGG
8821 GACCTCTCGT CTATCGAGTG CTGCAGCGCA CACGTGGACA GTGTTTGCCT CCGGGGAGGT
8881 ATGCGTCGCA TGCTCGTGCC ACAAGCTCGA CGTGCGATTG CACGCGTTCT CGGGGAAAAG
8941 GGCGATCCAC TGGGTGTCAT CAGCAGCTAT ATTGTCATGT ATCCTACTGC GGCCGTGACT
9001 GTCTATGTGC TATTGCCTCT GTTGTGCATG CTCATTCGAA ATGAGCCATC GCAGACGGGG
9061 ACATTTGTGA CGTTGACGGT CCACGGCAAC AGTGTGAGCG TGCCAGTGTG GCTGCTTCCA
9121 ACCATCATTG TAAATTTACA TGGTCGTGAC GCACTACAAG TAGTCCGTCA CACTGCAGCT
9181 TCCATGGCGG AGCTGTCCTC AGCGTTGGCC TTCTTTGGCA TGAGAGGGTT GAACTGCTGG
9241 AGGCGGAGAC GCCGTGCCAT CAGGGCTGAT ATGATCAAGT TGGGCGGGTG GAATGCGAAC
9301 TTCGCGCAGA TGTTACTGTG GTCACCGGAG GTGAGAACAC CACAGCCCGA ACCAAAGGGC
9361 ATGTGTCTCT TACCACCGGA ACTATGGGAG CGTCCGTACG AAAATTTGCA TTTGAGCACG
9421 ATCGACCGCA ATCGTGGTGC TAGTCGCTTA CGGTTTTGGT TGGTTGCTAG TGCTATACTC
9481 GCTCTGCTTT GCTTGTAAAT CCTAAATCAA TGTAGTACCA GGACTACAAG GCAGGAGGTG
9541 AAGTCAGCTG TACCCACGGC TGGCTGAAAC CGGGGCTTGA CGACCCCCCC TATCNNNNNN
9601 NNNNNNNNNN NNNNNNNNNN NNNNNNNNNN NNNNNCCCCC ATGTCGCGCG TAAGCGCACG
9661 GGCAAGGCAG CTAGGCTGAG AGTCTGGGCA ACTCTCCCGT ACCCCACCCG AGGCTACGCC
9721 TCGTCCTGGC GAGGACCGTA AACATACGTC GTCAGCGTGG TGACCTGACG TATCTTGTTA
9781 ACCACTTAAT GGTCGTAACT CGACCCCCGT GCTGGGGATC TAAGCGCGGC ACCGCGATGA
9841 GAAGGGTCAA NNNNNNNNNN NNNN
```

【図３０Ａ】

FIG. 30A

ヒトペギウイルス２（ＡＢＴ００３０Ｐ．ＵＳ）遺伝子および非翻訳領域

Ｓタンパク質および遺伝子配列

Ｓタンパク質アミノ酸配列：（配列番号４２０）

```
MGCSTDQTICSPVVGADYNTSSGCRALNGSYHCGGGSCRSPSRVQVARRVLQLSAFLALIGSGMCSIRSKTEGRIESGC
```

Ｓタンパク質遺伝子配列：配列番号４１９のヌクレオチド３２８－５６４

Ｅ１タンパク質および遺伝子配列

Ｅ１アミノ酸配列：（配列番号４２１）

```
ILQSQRACKTSEGFAFFSNCCNQSDIMKCLHRWCVTRPGCLVCTGNATIPVCWDYLGSGVSRRPARRMGEGAEALLRLIGLAG
WLGLLARALGKSFLYAAILCFGFIAWYGWGTPKTLVCTVCPAVNTSPYSFLSPDTIARGTWTLQLRGLLWQMFVSFFILYSTW
ILWLLLSGKTVAVCAILLASPTVMA
```

Ｅ１遺伝子配列：配列番号４１９のヌクレオチド５６５－１１３７

Ｅ２タンパク質および遺伝子配列

Ｅ２アミノ酸配列：（配列番号４２２）

```
YKHQSDSYLKYCITTNASTAMNCDCPFGCFCRNTESRFSIPRFCPVKINDSTFICSWGSWWWFAENITRPYSDVGMPPADIGA
LCYIYSNNDFPFWYHNTTIIPQNCRNSIADPTTAPCRDKWGNACACILDRRSRFCGDCYGGCFYTNGSHDRSWDRCGIGYRDS
LIRFVQLQQIRPNTSNTTIELLAGASLVTASGLRAGYGCSRAHGVVHCYKCPSYRDLEQFGPGIGKGVPTPGEPVPPLCINPQ
WARRGFRVSNNPLHLIQTFVEDIFLAPFCSPTPGRVRVCNNTAFYPTGGGFVQLIGDVQVLTPNTASLHSLLTLISLILLVCV
VSGARFIPLIIIFFWSVRHVYA
```

Ｅ２遺伝子配列：配列番号４１９のヌクレオチド１１３８－２１９９

Ｘタンパク質および遺伝子配列

Ｘタンパク質アミノ酸配列：（配列番号４２３）

```
SCYLSCDWAVCNDAECFTSGTCATFNDVLCLPVAARISSCGHAVPPPDRGWEVPAAHSWAISRTTGLTFDVFSFIQYFPTVPG
NNTDIIYCGEPTFFGDITGIYWPYFLPGLLLLYLTPLLGFRLXLAGFNIDGLFPIRHAPAALRFSTSPATMCVVSAFLIYILS
HPVNAALNHMFLASANLEMILSFDTYHETILYIACLLLYLQVSPRAGLAAAVAIKLSHGLLFAVVLAHGVC
```

【図３０Ｂ】

FIG. 30B

ＮＳ２タンパク質および遺伝子配列

ＮＳ２アミノ酸配列：（配列番号４２４）

RPGEVFGLEVCADLSWLVEFTGNCTWYMSCVFSFWCAVEFATSPLGRHYKLQIYRYWAQVYARLITAVGGGPLGREPHERASV
GVLWCGACMLMPRFCSRISLVFILGALTVDTIDTWLVACLSAGPSARTLATLADDMARFGDHRALRAVLRCFGSRGTYIYNHM
GQVSERVAQAVRDFGGCLEPVVLEEPDFTEVVDDCMNLVCGQLLGGKPVVARCGTRVLVCHLNPEDLPPGFQLS

ＮＳ２遺伝子配列：配列番号４１９のヌクレオチド２９１１－３６３０

ＮＳ３タンパク質および遺伝子配列

ＮＳ３アミノ酸配列：（配列番号４２５）

APVITKPGIGTWSPLKALTGRADTPGSGQIVVLSSLIGRGMGTAVSGTLYATGHGAGARGLATCAGLRTPLYTALGSDVVA
YSCLPGMSSLEPCRCAPSRVWVMNNNGSLVCGRVENEDVCLDCPTHIDQLRGASGSPVLCDHGHAYALMLGGYSTSGICARVR
IVRPWQNAYSSSGGQGKQAPAVTPTYSEITYYAPTGSGKSTKYPVDLVKQGHKVLVLIPSVAVVKSAYPYKETYKIRPEIR
AGTGPDGVTVITGENLAYMTYGRFLVDPETNLQGYAVVICDECHTDTSSTTLLGIGAVRMYAEKAGVRIVVFATATPPAGIQVQP
HPNIEEVALTNRGDVDFYGAKTKLDNTPTGRHVIFCHSKARCAETTQQLSGLGVHAVSFYRGCDLKTIPASGSIVVVATDALS
TGFTGNFDSVIDCGCCVEQTVTIDNDPTFSISARVVPCTAALRMQRGRTGRGRGAYYTTTPGAAPCVSVPDANVWQAAESA
MVFYZWNAARIQQCLAAYHDLGCTPRICGDPHTPVRVMDTLRAYLRRPEVTTAALAGEQAPLLYGVQLCICKETEAHGFDDGI
KWKCLLNNTNKTPLLYALDNPTLEFTTQHDLTRRIAGALSSTVFVEA

ＮＳ３遺伝子配列：配列番号４１９のヌクレオチド３６３１－５５１４

ＮＳ４Ａタンパク質および遺伝子配列

ＮＳ４Ａアミノ酸配列：（配列番号４２６）

GYGPILLAGAALAASFAFAGATGALVPSAVKSVINGPAGVT

ＮＳ４Ａ遺伝子配列：配列番号４１９のヌクレオチド５５１５－５６３７

ＮＳ４Ｂタンパク質および遺伝子配列

ＮＳ４Ｂアミノ酸配列：（配列番号４２７）

RPDATDETAAYAQRLYQACADSGILASLQGTACAALSKLADASFGASQYIAAAPPSPAPLVQVLQFLETNFSSIASFGLLCAG
CQAGECFTALAGLVSGATAGLGGAHKWLLAIAGTWLVSLQTGPRGGMVAGLSVLAGCCICSVTGLDFLPGCLTGWEAVVGAAV
ATQKILSGSADNTIVDLLPAIFSPGAGIAGVVLVFILSNSSVTTWANRLLSMCAKQTICENYFLTERFGQQLSKLSLWRAVY
HWAQAREGYTQCG

ＮＳ４Ｂ遺伝子配列：配列番号４１９のヌクレオチド５６３８－６４２３

【図３０Ｃ】

FIG. 30C

ＮＳ５Ａタンパク質および遺伝子配列

ＮＳ５Ａアミノ酸配列：（配列番号４２８）

VVGGIWSFALCVLRAVHDWAARHVPRFRVPMIGCSPAWCGRWLGTGTLLTTCGCGERVSLQCLCSTSDPTLSVGRWCRCSWSV
GFPPNPTTIATGTLRPDISDATKLGFRYGVAEIVELEWRDNKKIVCAASCCVDRAGVASAVKAPPVTANGIPIGTFSPPETYK
LSLCSFDSVCMSNSSNPAKCLSVCSQEAVELLEETVDTAQAVVCKNLEARRRAEYDAWQVRQAVGDEYTRLADEDVDTTASVK
PPVARAAVGSSTLDDVNVLTVLRELGDQCQXAIKFVVQAASRFVPTVPRDRTRVSGVLERVRMCYRTPIKFEAFAVPIHNII
PEECHIVLRCIGCSDQALTVPYGTCTQTLTKHLTNKHSHYIPKQKIEEDTEVTVICAVPITRASKLITFRAGDRSVSCCHPLQ
TPDRALLLKYGLPIGKWSDCKGPLGDDARVCDVWGVTYEPC

ＮＳ５Ａ遺伝子配列：配列番号４１９のヌクレオチド６４２４－７７９４

ＮＳ５Ｂタンパク質および遺伝子配列

ＮＳ５Ｂアミノ酸配列：（配列番号４２９）

MQSYSWFRPIVAPTTPLPATRSVAGILRADCSRVYCTTAVDVSERQAKVTIDQTSAKVDQCFRDTYNCCLAKAKCFKQSGYS
YEDAVSKMRANTTRDLNHGTTYSDLVSGRAKPVVQKIVNQMRAGVYDAPMRIIPKPEVFFRDKEIRKPPRFIVFPGCAARVAE
EMILGDPGAITKHVLSDAYGFATPPHEFARLLEQWNNRATEPQAIAVDAICFDSTITAEDMDREANIVAAAHADPEGVHGLYN
YYKRSPMCDITGNIVGVRCCRASGCLTTSSGNTLTCYLKVSAACTRAGIKPIGLLIHGDDTLIIIERCAGETLDEFSRALDDY
GFPETFQASGDLSSIECCSAKVDSVCLRGGMRRMLVPQARRAIARVLGEKGDFLGVISSYIVMYPTAAVTVYVLLPLLCMLIR
NEPSQTGTFVTLTVHGNSVSVPVWLLPTIIVNLIIGRDALQVVRETAASMAELSSALAFFSMRGIXCWRRRRAIRADMIKLGS
WNANFAQMLLWSPEVRTPQPEPKGNCLLPPELWERPYENLHLSTIDRNRGASRLRFWLVASAILALLCL

ＮＳ５Ｂ遺伝子配列：配列番号４１９のヌクレオチド７７９５－９４９５

５’ＵＴＲ配列

５’ＵＴＲ配列：配列番号４１９のヌクレオチド１－３２７

３’ＵＴＲ配列

３’ＵＴＲ配列：配列番号４１９のヌクレオチド９４９６－９８６４

【図３１Ａ】

FIG. 31A

ヒトペギウイルス２（ＡＢＴ００４１Ｐ．ＵＳ）核酸配列－配列番号４３０

```
   1 NNNNNNNNNK NNNNNAATGC GCATATTGCT ACTTCGGTAC GCCTAATTGG TAGGCGCCCG
  61 GCCGACCGGC CCCGCAAGGG CCTAGTAGGA CGTGTGACAA TGCCATGAGG GATCATGACA
 121 CTGGGGTGAG CGGAGGCAGC ACCGAAGTCG GGTGAACTCG ACTCCCAGTG CGACCACCTG
 181 GCTTGGTCGT TCATGGAGGG CATGCCCACG GGAACGCTGA TCGTGCAAAG GGATGGGTCC
 241 CTGCACTGGT GCCATGCGCG GCACCACTCC GTACAGCCTG ATAGGGTGGC GGCGGGCCCC
 301 CCCAGTGTGA CGTCCGTGGA GCGCAACATG GGGTGTTCAA CTGATCAAAC CATTTGTTCT
 361 CCAGTCGTGG GGGCCGACTA TAATACCTCC TCGGGCTGCC GGGCCTTAAA TGGGAGCTAC
 421 CACTGCGGTG GTGGCTCTTG CCGGTCACCA AGTCGTGTGC AGGTCGCGGG ACGAGTCTTG
 481 CGGCTGTGCG CATTCCTTGC GTTGATCGGA TCCGGTATGT GTTCGATCCG GTCCAAAACT
 541 GAAGGGCGCA TTGAGTCAGG GCAAATATTG CAGTCTCAGC GCGCATGTTG GACTGGTGAG
 601 GGTTTCGCTT TCTTTTCTAA CTGTTGCAAT CAATCTGATA TTATGTGGTG TTTGCACCGT
 661 TGGTGTGTGA CAAGACCTGG CTGTTTAGTG TGCACGGGCA ATGCCACTCA TCCTATCTGC
 721 TGGGACTATC TTGGGTCCGG TGTAAGTCGG CGGCCTGCAC GTCGAATGGG TGAGGGAGCT
 781 GAAGTGCTTC TTCGCTTGAT CGGCATTGCA GGTTGGCTCG GGCTGTTAGC TGAGACTCTT
 841 GGTATGTCCG AATTCTATGC AGCTATTCTA TGCTTTGGAT TTATTGCTTG GTATGGCTGG
 901 GCTATACCTA AAACATTGGT GTGCACGGTC TGCCCTGCAG TCAACATTTC TCCCTATAGC
 961 TTCTTATCTC CAGATACTAT CGCATTTGGT ACGTGGATAC TACAACTACC TGGTCTTTTG
1021 TGGCAAATGT TTGTCAACTT TCCTATACTT TACAGCACTT GGATTCTTTG GTTGTTGCTC
1081 AGCGGCAAGA CTGTTGCTGT GATAGCAATC CTTTTGGCTA GTCCTACGGT TATGGCATAC
1141 AAGCATCAAT CTGAAAGCTA CCTCAAATAC TGTACCATAA CCAATGCTTC AACTGCTATG
1201 AATTGTGACT GCCCCTTTGG AACCTTTACT CGTAATACTG AGTCTCGTTT CTCTATACCT
1261 AGATTCTGTC CTGTTAAAAT TGACAGCTCT ACATTTATCT GCTCGTGGGG GTCGTGGTGG
1321 TGGTTTGCTG AGAACATCAC GCGTCCATAC TCGGACGTTG GCATGCCGCC AGCACCGATC
1381 TCCGCTTTGT GCTATATCTA TGCAAACAAT GACCCACCTC CTTGGTATCA TAACACAACT
1441 ATCATACCTC AGAACTGTCG CAACTCCTCG GCTGATCCTA CCACTGCTCC ATGCCGTGAC
1501 AAGTGGGGCA ATGCAACTGC TTGTATTCTT GACCGCCGGT CGCGGTTCTG CGGGGACTGC
1561 TATGGCGGTT GTTTCTATAC TAATGGCACT CACGATCGAT CCTGGGATCG ATGCGGGATT
1621 GGTTACCGTG ATGGACTCAT AGAGTTTGTG CAGCTTGGTC AGATTCGACC CAACATCTCG
1681 AATACGACCA TTGAACTCCT CGCTGGCGCC TCGCTTGTGA TCGCATCCGG TCTTCGGCCT
1741 GGCTACGGTT GCAGCCGTGC GCATGGCGTG GTGCACTGCT ATAGGTGTCC TTCATATCGT
1801 GACCTTGAAC AGTTTGGTCC CGGGCTCGGG AAATGGGTGC CACTGCCTGG CGAGGCTGTC
1861 CCGGAGTTGT GTATAACCC TCAGTGGGCG AGACGCGGCT TCCGGGTATC TAACAACCT
1921 TTAAGCTTGC TGCAGACCTT CGTTGAGGAC ATTTTCCTAG CACCTTTTTG CAACCCGACG
1981 CCTGGCCGTG TACGTGTGTG TAACAATACT GCTTTCTATC CGAAGGGAGG CGGCTTTGTG
2041 CAGCTCATCG GAGACGTCCA GGTGTTAACC CCTAACACTG CATCTTTACA CTCTCTGCTG
2101 ACTTTAATAT CCCTTATTTT GTTAGTGTGT GTTGTTTCTG GCGCGCGATT CGTCCCATTG
2161 TTTATCATAT TTTTCTGGAG CGTGCGTCAC GTATATGCTT CTTGTTACTT AAGCTGTGAT
2221 TGGGCTGTTT GCAACGATGC GTTCTGTTTC ACATCTGGCA CTTGTGCTAC TTTCAATGAC
2281 GTCTTGTGTC TGCCGGTTGC GACGCGCGTA TCGTCCTGCG GGCATGCTGT ACCACCTCCC
2341 GACCGTGGTT GGGAGGTGCC TGCGGCGATG TCATGGGCGA TCTCACGAAC TACTGGCTTG
2401 ACGTTCGATG TCTTTTCCTT CATCCAGTAC TTTCCTACTG TGCCTGGCAA CAACACTGAT
2461 ATCATTTACT GTGGTGACCC AACTTTCTTC GGGGACATCA CGGGCATCTA TTGGCCTTAC
2521 TTTTTTGCCTG GCATGTTGCT CTTGTACTTG ACTCCTTTCC TGGGTTTAAG GTTAATGCTT
2581 GCTGGCTTCA ATATAGATGG CTTGTTTCCC ATACGGCACG CCACGGCTGC ACTGAGGTTC
2641 TCGACTTCGC GTGTGACCTT GAGTGTCGTA CTTGCTTTCT TAATCTATAT ACTATCTCAC
2701 CCTGTTAATG CTGCGCTCAA TAGAATGTTC CTAGCATCTG CAAATTTAGA GATGATCTTA
2761 TCCTTTGACA CCTATCATGA GACTATTCTT TACATTCTTT GCCTGTTGCT CTACCTCCAG
2821 GTGTCGCCCC GCGCTGGGCT GGCCGCTATG GTGGCCGTCA AGCTATCTCG AGGCCTGTTA
2881 TTCGCCGTGG TGTTGGCGCA CGGAGTGTGC CGACCCGGGC GGGTATTTGG TCTTGAGGTC
2941 TGCGCGGACA TCACTTGGTT GGTGGAGTTT ACTGGCAACT GCACTTGGTA CATGTCCTGT
3001 GTTTTCTCAT TTTGGTGCGC AGTGTTCGCC TTCACCAGTC CACTTGGACG ACGGTATAAG
3061 CTTCAGATCT ACCGGTACTG GGCGCAGGTC TATGCCAGAA TCATCCTCGC TGTCGGTTGT
3121 GGTCCTCTCG GACGGGAGTT CCATTTCCGT GCAGGCGTGG GTGCGTTTTG GTGTGGTGCT
3181 TGCATGCTCT GGCCCCGTGA GTGCTCTGAA ATCAGCTTGG TCTTCATTCT GTGTGCTCTG
```

【図３１Ｂ】

FIG. 31B

```
3241 ACGATGGACA CCATAGACAN NNNNNNNNNN NNNNNNNNNN NNNNNNNNNN NNNNNNNNNN
3301 NNNNNNNNNN NNNNNNNNNN NNNNNNNNNN NNNNNNNNNN NNNNNNNNNN NNNNNNNNNN
3361 GTGTTGCGTT GCTTTGGATC ACGTGGCACA TACATATACA ACCACATGGG CCAGGTCTCA
3421 GAACGGGTGG CGCAAGCAGT CAGGGATTTC GGCGGTTGCT TGGAACCAGT CGTGTTGGAG
3481 GAGCCCACCT TTACTGAGGT CGTGGATGAT ACAATGAGTC TAGTGTGTGG ACAATTGCTT
3541 GGAGGTAAAC CTGTGGTGGC CCGCTGCGGC ACGCGTGTCT TGGTGGGACA CCTCAACCCT
3601 GAAGACTTGC CACCTGGTTT CCAGCTGAGT GCTCCGGTGG TTATCACCAA ACCAAGCATT
3661 GGTACGTGGT CCTTCCTTAA GGCGACACTC ACAGGGCGTG CTGAGACACC GGGATCCGGC
3721 CAGATCGTGG TGTTGTCTTC CCTGACAGGT CGGTCAATGG GTACCGCAGT GAATGGCACA
3781 CTGTATGCGA CCGGCCATGG TGCTGGTGCG CGCGGCCTAG CCACGTGCGC TGGCTTGAGG
3841 ACCCCACTTT ACACGGCACT ATCAGATGAT GTCCTGCCCT ACTCTTGCCT TCCGGGCATG
3901 AGTTCCCTGG AGCCCTGCTG CTGTTCGCCG AGCCGGGTTT GGGTGATGAA CAACAATGGA
3961 GGGTTGGTGT GTGGCAGAGT GGAGAAGGAC GACGTCTGTT TGGACTGTCC CACGCACATA
4021 GATCAGCTGC GGGGTGCCTC GGGGTCACCG GTTTTGTGTG ATCACGGTCA CGCATACGCG
4081 TTGATGCTCG GTGGCTACTC TACCAGCGGT ATTTGTGCGC GTGTCCGGAT AGTCCGGCCA
4141 TGGCAGAACG CCTATTCCTC CTCAGGGGGG CAAGGCGGAA TGCAGGCGCC ASCTGTGACA
4201 CCAACATACT CTGAAATCAC CTACTATGCC CCTACTGGTT CTGGTAAGTC AACAAAATAT
4261 CCAGTGGACC TAGTCAAACA GGGACACAAG GTCTTGGTTC TTATACCAAG CGTGGCTGTC
4321 GTCAAAAGCA TGGCCCCTTA CATTAAGGAG ACATATAAGA TTAGACCTGA AATTAGAGCT
4381 GGCACAGGGC CTGACGGTGT GACGGTCATC ACTGGTGAGA ACTTGGCGTA CATGACCTAT
4441 GGCCGTTTCC TCGTGGATCC GGAGACGAAT CTGCGGGGTT ATGCCGTAGT CATTTGCGAC
4501 GAGTGTCACG ATACATCATC CACCACGCTA CTCGGCATTG GCGCAGTGCG CATGTATGCC
4561 GAGCAAGCTG GAGTGAAGAC CGTTGTATTC GCCACAGCCA CTCCTGCTGG TATCCAAGTA
4621 CAGCCACATC CAAACATTGA TGAATATTTA TTGACTGACA CAGGCGACGT GGATTTCTAC
4681 GGCGCCAAAA TCAAATTGGA CAACATTAGA ACTGGTAGAC ATGTTATCTT TTGTCACTCG
4741 AAAGCCAAGT GTGCGGAACT AACGCAGCAG CTCTCCGGCC TTGGTGTTCG TGCAGTGAGT
4801 TTTTGGCGCG GCTGTGACAT CAAAACCATT CCCGCCTCAG ACTCTATTGT TGTGGTGGCA
4861 ACTGATGCAT TGTCCACAGG CTACACAGGA AATTTTGATT CGGTCATTGA CTGCGGGTGT
4921 TGCGTAGAGC AAACTGTGAC AATTGACATG GACCCCACGT TCTCCATCTC GGCCCGAGTA
4981 GTGCCATGCA CTGCTGCATT GCGAATGCAG CGGCGCGGAC GCACCGGTCG TGGCAGAAGG
5041 GCAGCGTACT ACACAACCAC TCCAGGAGCA GCACCCTGCG TCAACGTTCC CGATGCTAAC
5101 GTCTGGCAAG CAGTGGAGTC AGCCATGGTC TTCTATGATT GGAATGCTGC CAGGATACAG
5161 CAGTGTCTGG CGGCATACCA TGATTTAGGG TGTACACCAC GCATCAGTTG TGACCCACAC
5221 ACTCCAGTGC GGGTGATGGA CACACTGAGG GCGTACCTGC GCAGACCTGA GGTGACGACT
5281 GCGGCTCTCG CAGGAGAGCA GTGGCCGCTG CTATACGGTG TGCAGTTGTG CATCTGCAAA
5341 GAGACCGAGG CCCACGGTCC AGATGATGGC ATCAAGTGGA AATGTTTACT CAATAACAAC
5401 AATAAAACAC CCCTGTTGTA TGCCTTAGAC AATCCTACAC TGGAATTCAC TACCCAACAT
5461 GACTTGACTC GCCGTATAGC CGGCGCTCTA TCGAGCACAG TGTTCGTGGA GACAGGCTAT
5521 GCCCCCATCC TCCTCCCTGG CGCCCCTTTG GCTGCCTCCT TCCCCTTTGC GGGCCCCACT
5581 GGAGCTTTAG TGCCGTCGGC CGTTTGGAGT GTTGACAACG GGCCTACTGG CGTGACCCGT
5641 CCCGACGCGA CAGACGAGAC CGTGGCCTAC GCGCAGCGCT TGTACCACGC CTGCGCAGAT
5701 TCAGGAATTC TCGCCAGCTT GCAGGGCACG GCGTGTGCGG CACTGAGTAA ACTGGCCGAT
5761 GCCAGTAGGG GTGCTAGTCA ATATCTGGCA ACCGCGCCTC CTTCGCCCGC CCCCCTGGTA
5821 CAGGTGCTGC AGTTCCTCGA GACCAACTTT AGCTCCATTG CATCTTTCGG TCTGCTCTGT
5881 GCTGGTTGTC AGGCTGGTGA GTGCTTCACT GCGCTTGCCG GGTTGGTGTC CGGTGCTACA
5941 GCTGGCTTGG GAGGTGCCCA TAAGTGGTTG TTAGCTATTG CAGGAACTTG GCTAGTTAGC
6001 CTGCAGACCG GGCCCCGTGG CGGCATGGTT GCGGGTCTCT CGGTTCTAGC GGGCTGTTGC
6061 ATCGGCGGTG TCACCGGGCT TGACTTCCTG TTTGGGTGCC TTACAGGTTG GSAGGCCGTG
6121 GTCGGTGCTG CCGTTGCGAC ACAGAAGATC TTGTCTGGTT CGGCTGATAT GACCACTCTG
6181 GTAGATCTCT TACCTGCTCT CTTTTCCCCT GGTGCTGGCA TAGCTGGCAT CGTGCTTGTC
6241 TTTATTCTAA GCAACACAAG TGTAACCGCA TGGGCCAATC GGCTATTGTC CATGTGTGCA
6301 AAACAAACCA TTTGTGAAAA CTACTTCTTA ACTGAGAAAT TTGGCCAACA ATTAAGCAAA
6361 CTTTCCTTGT GGCGTGCTGT GTACCATTGG GCGCAGGCAC ATGAGGGGTA CACACAGTGC
6421 GCTGTGGTTG GCGGGATCTG GAGCTTTGTC CTGTGCATTC TACGCGCTGC GTGGGATTGG
6481 GCGGCCAAGC ATGTGCCACG GTTCCGTGTG CCTATGATTG GCTGCTCACC TGCGTGGTGC
6541 GGGCGCTGGC TTGGTACTGG CACCTTGTTG ACCACCTGTG GGTGTGGAGA ACGTGTATCC
```

【図３１Ｃ】

FIG. 31C

```
6601 CTTCAATGCC TTTGTTCAAC ATCTGACCCA ATACTCAGTG TGGGCCGTTG GTGCCGGTGT
6661 AGTTGGAGTG TTGGGTTTCC ATTCAACCCG ACCACGACAG CCACCGGCAC TTTACGGCCG
6721 GACATCGGCG ACGCCACCAG ATTGGGTTTC CGGTATGGCA TCGCCGAGAT CGTGGAGCTA
6781 GAACGGCGGG GCGACAAATG GCATGTCTGT GCAGCATCTT GTTGCTTGGA CCGAGCTAGC
6841 GTTGCATCCG CTGTGAAGGC CCCTCCGGTC ACGGCTAATG GCATACCTAT CAGTCCTTTC
6901 TCTCCACCAC AAACTTACAA ACTCTCTCTC TGCTCTTTTG ATTCAGTTTG CATGTCTATC
6961 AACTCATGTA ATCCATCTAA GATCCTGAGT GTGTGCTCAC AGGAAGCCGT TGAGCTGCTG
7021 GAAGAAACAG TCGACACGGC ACAAACAATG ATGTGTAAAA ATCTGGAGGC GCGAAGACGC
7081 GCCGAATTTG ACGCATGGCA AGTCCGCCAA GCAGTTGCGG ACGAGTACAC ACGCTTGGCA
7141 GATGAGGATG TCGACACGAT AACGTCGGTG AAACCCCCGG TGGCCAGGGC TGCTGTGGGT
7201 ACCTCAACCT TCGATGATGT TGGCCTGCTC ACTGTCTTGC CCGAGCTCCG CGACCAATGC
7261 CAAAATGCTA TCAAATTTGT AGTTGAAGCG GCCTCACGGT TTGTTCCACC AGTGCCCAAG
7321 CCGCGCACGC GTGTCTCGGG TGTGCTGGAG CGTGTGCGCA TGTGCATGCG CACGCCACCA
7381 ATGAAGTTTG AGGCCGCCGC AGTACCAATC CACAACATAA TCCCAGAAAA ATGTCACATT
7441 GTGCTACGCT GTACCGGCTG TAGTGACCAG GCCTTGACTG TTCCGTACGG CACTTGCACT
7501 CAGACTTTAA GCAGCCATTT GACTAACAAA CACAGTCACT ACATTCCAAA ACAGAAGATA
7561 GAAGAAGACA CAGAAGTAAC TGTCATTTGC GCCGTACCAA CAAAGCGCGC AAGCAAACTC
7621 ATTACTTTCA GAGTAGGTGA TCGATCAGTC TCATGTTGTC ACCCCTTGCA AACTCCTGTT
7681 AGGGCCCTGC TTCTAAAGTA CGGGTTGCCT ATCGGGAAGT GGTCCGACTG CAACGGCCCA
7741 CTTGGTGACG ACGCTCGAGT CTGTGACGTC AATGGAGTGA CAACTTATGA ACCATGCATG
7801 CAATCCTACA GTTGGTTTCG ACCGATTGTG GCACCAACAA CCCCACCTTT GCCTGTAACC
7861 CGGAGCGTGG CTGGCATTTT ACGCGCAGAC ACATCGCGCG TTTACACCAC AACAGCGGTT
7921 GATGTCTCCG AGCGGCAGGC TAAGGTCACA ATTGATCAAA AGTCAGCCAA GGTGGATCAG
7981 TGTTTCCGAG ACACATACAA CTGTTGCCTT GCTAAGGCAA AGACCTTCAG ACAATCTGGC
8041 ATGTCATATG AGGATGCTGT GTCAAAGATG CGCGCAAACA CCACGCGTGA TCATAACACT
8101 GGCATCACTT ATACAGATTT GGTCTCTGGA CGCGCAAAAC CTGCTGTTCA GAAAATTGTA
8161 GATCAAATGC GCTCTGGAGT GTACGACGCT CCAATGCGCA TTATCCCAAA GCCTGAAGTG
8221 TTTCCTCGAG ACAAGTCAAC ACGGAAGCCA CCACGGTTCA TCGTTTTCCC TGGGTGCGCC
8281 GCACGAGTCG CGGAGAAAAT GATCCTGGGC GATCCTGGTG CGATAACCAA GCACGTGCTG
8341 GGTGATGCCT ACGGGTTTGC CACTCCGCCG CATGAGCGTG CGCGCCTATT GGAACAATGG
8401 TGGAACCGCG CGACGGAGCC ACAGGCTATC GCGGTTGATG CGATCTGCTT TGATAGCACC
8461 ATCACGGCGG AGGACATGGA TCGCGAGGCC CACATCGTGG CTGCAGCGCA CGCGGACCCA
8521 GAAGGTGTTC ATGGCCTATA CAATTATTAC AAAAGAAGCC CCATGTGTGA CATCACAGGA
8581 AAAGTTGTCG GGGTGCGTTG CTGTCGAGCC TCAGGTACGC TTACAACAAG CAGTGGCAAC
8641 ACGCTTACTT GCTACCTCAA GGTTCGCGCG GCTTGCACGC GCGCCGGCAT TAAACCAATT
8701 GGCTTACTAA TTCATGGAGA TGACACCCTC ATTATCACGG AACGTTGCAC TCAAGAAACT
8761 CTCGATGAGT TCAGCAACGC ACTTGATGAC TACGGGTTTC CTCACACCTT CCAGGTGTCT
8821 GGGGACCTCT CGTCTATCGA GTGCTGTAGT GCACGTGTGG ACAGCGTTTG CCTCCGAGGA
8881 GCTATGCCTC GCATGCTTGT GCCACAAGCT CGACGTCCGA TCGCACGCCT TCTCGGACAA
8941 AAGGGTGATC CACTGGGTGT TATCAGCAGC TATATTGTCA TGTACCCTAC TGCAGCCGTG
9001 ACTGTCTACG TACTACTGCC CCTGTTGTGC ATGCTCATTC GGAATGAGCC ATCGCAGACG
9061 GGGACATTGG TGACGCTGAC GGTCCACGGT AACAGTGTGA GCGTGCCAGT GTGGCTGCTT
9121 CCAACCATCA TTGCAAATTT ACATGGCCGT GACGCACTAC AGGTGGTCCG CCACAGTGCA
9181 GCTTCCATGG CGGAACTGTC GTCAGCGTTG GCCTTCTTTG GCATGAGAGG GTTGAACTGC
9241 TGGCGGCGGA GACGCCGTGC CATCAGGACT GACATGATCA AATTGGGCGG GTGGAATGCG
9301 AATTTCGCGC AGATGTTACT GTGGTCACCG GAGGTAAGAA CACCACAGCC CGAACCAAAG
9361 GGCATGTGTC TTTTGCCACC GGAACTATGG GAGCGTCCGT ACGAAAATTT GCACTTGAGC
9421 ACGATCGACC GCGACCGTGG TGCTAGTCGC TTACGGTTTT GGTTGGTTGC TAGTGCTGTA
9481 CTCGCTCTGC TTTGCTTGTA AATCCTAAAT CAATGTAGTA CCAGGACTAC AAGGCAGGAG
9541 GNNNNNNNNN NNNNNNNNNN NNNNNNNNNN NNNNNNNNNN NNNNNNNNNN NNNNNNNNNN
9601 NNNNNNNNNN NNNNNNNNNN NNNNNNNNNN NNNNNNCCCC CCCATGTCGC GCGTAAGCGC
9661 ACGGGCAAGG CAGCTAGGCT GAGAGTCTGG GCAACTCTCC CGTACCCCAC CCGAGGCTAC
9721 GCCTCGTCCT GGCGAGGACC GTAAACATAC GTCGTCAGCG TGGTGACCTG ACGTATCTTG
9781 TTAACCACTT AATGGTCGTA ACTCGACCCC CGTGCCGGGG ATCTAAGCGC GGCACCGCGA
9841 TGAGGGGGGT CAACGGNNNN NNNNNNN
```

【図３２Ａ】

FIG. 32A

ヒトペギウイルス２（ＡＢＴ００４１Ｐ．ＵＳ）遺伝子および非翻訳領域

Ｓタンパク質および遺伝子配列

Ｓタンパク質アミノ酸配列：（配列番号４３１）
MGCSTDQTICSPVVGADYNTSSGCRALNGSYHCGGGSCRSPSRVQVAGRVLRLCAFLALIGSGMCSIRSKTEGRIESGQ

Ｓタンパク質遺伝子配列：配列番号４３０のヌクレオチド３２８－５６４

Ｅ１タンパク質および遺伝子配列

Ｅ１アミノ酸配列：（配列番号４３２）
ILQSQRACWTGEGFAFTSNCCNQSDIMWCLHRWCVTRPGCLVCTGKATHFICWDYLGSGVSRRPARRMGEGAEVLLRLIGIAG
WLGLLAETLGMSEFYAAILCFGFIAWYGWGIPKTLVCTVCPAVNISPYSFLSPDTIAFGTNILQLPGLLWQMFVNFPILYSIW
ILWLLLSGKTVAVIAILLASPTVMA

Ｅ１遺伝子配列：配列番号４３０のヌクレオチド５６５－１１３７

Ｅ２タンパク質および遺伝子配列

Ｅ２アミノ酸配列：（配列番号４３３）
YKEQSESYLKYCTITKASTAMNCDCPGTFTRNCESRFSIPRPCDVKIDSSTFICSWGSWWWFAENCTRPYSDVGMPPADISA
LCYCYANNDPPFWYHKTTIIPQNCRKSSADPTTAPCRDKWGNATACILDRRSRFCGDCYGGCFYTNGTHDRSWDRCGIGYRDG
LIEFVQLGQIRPNISNTTIELLAGASLVIASGLRPGYGCSRAHGVVHCYRCPSYRDLEQFGFGLGKWVPLPGEPVPELCINFQ
WARRGFRVSNNPLSILQTFVFDIFLAFPCNPTPGRVRVCNHTAFYPKGGGFVQWIGDVQVLTPNTASLHSLITLISLILLVCV
VSGARFVPLFIIFFWSVRHVYA

Ｅ２遺伝子配列：配列番号４３０のヌクレオチド１１３８－２１９９

Ｘタンパク質および遺伝子配列

Ｘタンパク質アミノ酸配列：（配列番号４３４）
SCYLSCDWAVCNDAFCITSGTCATFKDVLCLPVATRVSSCCHAVPPPDRGWEVPAAMSWAISRTTGLTFDVFSFIQYPPTVPG
NNTDIIYCGDPTFFGDITSIYWPYFLPGMLLLYLTPFLGLRLWLAGFNIDGLFPIRHATAALRFSTSRVTLSVVLAFLIYILS
HPVRAALNHMFLASAMLEMITSPDTYHETILYILCLLLYLQVSPRAGLAAMVAVKLSRGLLFAVVLAHGVC

Ｘタンパク質遺伝子配列：配列番号４３０のヌクレオチド２２００－２９１０

【図３２Ｂ】

FIG. 32B

ＮＳ２タンパク質および遺伝子配列

ＮＳ２アミノ酸配列：（配列番号４３５）
RPGRVFGLEVCADITWLVEFTGNCTWYMSCVFSFKCAVFAFTSPLGRRYKLQIYRYWAQVYARILLAVGCGPLGREFHFRAGV
GAFWCGACHLWFRECSEISLVFILCALTMDTIDKXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXVLRCFGSRGTYIYNHY
GQVSERVAQAVRDFGGCLEPVVLEEPTFTEVVDDIMSLVCGQLLGGKPVVARCGTRVLVGHLNPEDLPPGFQLS

ＮＳ２遺伝子配列：配列番号４３０のヌクレオチド２９１１－３６３０

ＮＳ３タンパク質および遺伝子配列

ＮＳ３アミノ酸配列：（配列番号４３６）
APVVITKPSIGIWSFLKATLTGRAETPGSGQIVVLSSLIGRSMGTAVNGTLYATGKGAGARGLACCAGLRTPLYTALSDDVVA
YSCLPGMSSLREGCCSPSRVWVMNNNGLVCGRVEKDDVCIDCPTHIDQLRGASGSPVLCDHGHAYALMLGGYSTSGICARVR
IVKPWQNAYSSSGGQGGMQAPAVTFTYSEITYYAPTGSGKSTKYPVDLVKQGHKVLVLNPSVAVVKSMAPYIKETYKIRPEIR
ACTGPDGVTVIICENLAYMTYGRFLVDPETNLRGYAVVICDECHDTSSTTLLGIGAVRMYAEQACVKTVVFATATPAGIQVQP
HPNIDEYLLIDIGDVDFYGAKIKLDNIRTGRHVIFCHSKAKCAELTQQLSGLGVRAVSFWRGSDIKTIPASDSIVVVATDALS
TGYTGNFDSVIDCGCCVSQTVTIDNDPTFSISARVVPCTAALRMQRRGRTGRGRRGAYYTTTPGAAPCVNVPDANVWQAVESA
MVFYDWNAARIQQCLAAYHDLGCTPRISCDPHTPVRVMDTLRAYLRRPEVTTAALAGEQXPLLYGVQLCICKETEAHGPDDGI
KWKCLLNKNNKIPLLYALDNPTLEFTTQHDLTRRIAGALSSTVFVET

ＮＳ３遺伝子配列：配列番号４３０のヌクレオチド３６３１－５５１４

ＮＳ４Ａタンパク質および遺伝子配列

ＮＳ４Ａアミノ酸配列：（配列番号４３７）
GYGPILLAGAALAASFAFAGATGALVESAVWSVDNGPTGVT

ＮＳ４Ａ遺伝子配列：配列番号４３０のヌクレオチド５５１５－５６３７

ＮＳ４Ｂタンパク質および遺伝子配列

ＮＳ４Ｂアミノ酸配列：（配列番号４３８）
RPDATDETVAYAQRLYHACADSGILASLQGTACAALSKLADASRGASQYLATAPPSPAPLVQVLQFLETNFSSIASFGLLCAS
CQAGECFTAIAGLVSGATAGLGGAHKWLIATAGTALVSLQTGFRGGMVAGLSVLAGCCISGVTGLDPLFGCLTGWEAVVGAAV
ATQKILSGSADXTILVDLLPALFSPGAGIAGIVLVFILSNTSVTAWANRLLSMCAKQTICENYFLTEKFGQQLSKLSLWRAVY
HWAQAHEGYTQCG

ＮＳ４Ｂ遺伝子配列：配列番号４３０のヌクレオチド５６３８－６４２３

【図３２Ｃ】

FIG. 32C

ＮＳ５Ａタンパク質および遺伝子配列

ＮＳ５Ａアミノ酸配列：（配列番号４３９）
VVGGIWSFVLCILRAAWDNAAKHVPRFRVPMIGCSPAWCGRWLGTGTLLTTCGCGERVSLQCICSTSDPILSVGRWCRCSWSV
GFPFNPTTTATGTLRPEIGDATRLGFRYGIASIVSLERRGDKWHVCAASCCLDRASVASAVKAPPVTANGIPISPFSPPQTYK
LSLCSFDSVCXSINSCNPSKILSVCSQEAVELLEETVDTAQTMMCKNLEARRRAEFDANQVRQAVGDEYTRLADEDVDTTSV
KPPVARAAVGSSTLDDVGVLTVLRELGDCCQNAIKFVVEAASRFVPPVPKPRTRVSGVLERVRMCMRTPPMKFEAAAVPCHNI
IPEXCHIVLRCTGCSDQALTVPYGTCTQTLSSELTNKISHYIPKQKIEDDIEVTVICAVPTKRASKLITFRVGDRSVSCCHPL
QTPVRALLLKYGLPIGKWSDCNSPLSDDARVCDVNGVTTYEPC

ＮＳ５Ａ遺伝子配列：配列番号４３０のヌクレオチド６４２４－７７９７

ＮＳ５Ｂタンパク質および遺伝子配列

ＮＳ５Ｂアミノ酸配列：（配列番号４４０）
MQSYSWFRPIVAPTTPPLPVTRSVAGILRADTSRVYTTTAVDVSERQAKVTIDQKSAKVDQCFRDTYNCCLAKAKTFRQSGMS
YEDAVSKMRANTTRDHNTGITYYIDLVSGRAKDAVQKTVDQMRSGVYDAPHRIIDKDEVFPRDKSTRKPPRFIVFPGCAARVAE
XMILGDPGAIIKHVLGDAYGFAIPHERARLLEQWWNRACEPQAIAVDAICFDSTITAEEMDREAHIVAAAHADPEGVFGLYN
YYKRSPMCDIIGKVVGVRCCRASGTLTTSSGNTLTCYLKVRAACTRAGIKPIGLLIHGDDTLIITERCTQETLDEFSNALDDY
GFPHTFQVSGDLSSIECCSARVDSVCLRGGMRMLVPQARRAIARVLGEKGDPLGVISSYIVMYPTAAVTVYVLLPLLCMLIR
NEPSQTGTLVILTVHGNSVSVPVWLLPTIIANLHSRDALQVVRESAASMAELSSALAFFGMRGLNCWRRRRALRTDMIKLGG
WNANFAQMLLKSPEVRTPQPEPKGMCLLPPELWERPYENLHLSTIDRDRGASRLRFWLVASAVLALLCL

ＮＳ５Ｂ遺伝子配列：配列番号４３０のヌクレオチド７７９８－９４９８

５’ＵＴＲ配列

５’ＵＴＲ配列：配列番号４３０のヌクレオチド１－３２７

３’ＵＴＲ配列

３’ＵＴＲ配列：配列番号４３０のヌクレオチド９４９９－９８６７

【配列表】
2017521654000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US15/38067

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC(8) - G01N 33/576; G01N 33/53; C12Q 1/70; C12P 21/08; C07K 16/10 (2015.01)
CPC - A61K 38/08; A61K 38/162; G01N 33/576; C07K 14/005
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
IPC(8) Classification(s): G01N 33/576; G01N 33/53; C12Q 1/70; C12P 21/08; C07K 16/10 (2015.01)
CPC Classification(s): A61K 38/08; A61K 38/162; A61K 39/00 C07K 15/109; G01N 33/576; C07K 14/005; C12Q 1/707

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
PatSeer (US, EP, WO, JP, DE, GB, CN, FR, KR, ES, AU, IN, CA, RU, AT, CH, TH, BR, PH, Other Countries (INPADOC)); Google; Google Scholar; PubMed; EBSCO; The Lens PatSeq Finder; NCBI BLAST; HPgV-2, Pegivirus-2, SEQ ID NO:86, SEQ ID NOs: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 and 299, GB virus genotype

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X --- A	GOMARA MJ et al. 'Diagnostic Value of Anti-GBV-C Antibodies In HIV-Infected Patients'. Chem Biol Drug Des. 20 Jun 2011. Vol. 78, No. 2, pp 277-282. doi: 10.1111/j.1747-0285.2011.01143.x	1, 4, 9 — 2, 3, 5-8, 13-17, 21-27
Y	STAPLETON JT. The GB Viruses: A Review and Proposed Classification of GBV-A, GBV-C (HGV), and GBV-D in Genus Pegivirus Within The Family Flaviviridae. Journal of Gemeral Virology. 2011. Vol. 92, pp 233-246	1, 4, 9
Y	FRIDHOLM H et al. Human Pegivirus Genotype 2 Isolate H40048, Complete Genome, Genbank: KP259281.1. Direct Submission. Submitted (05-Dec-2014) Virus Research and Development, Statens Serum Institut, Artillerivej 5, Copenhagen 2300, Denmark	1, 4, 9
A	WO 1998/029747 A1 (ABBOTT LABORATORIES) July 9, 1998; Abstract	2, 3, 5-8, 13-17, 21-27
A	CHIVERO ET et al. Human Pegivirus RNA is Found In Multiple Blood Mononuclear Cells In Vivo And Serum-Derived Viral RNA-Containing Particles Are Infections In Vitro. J Gen Virol. 2014 Jun; Vol. 95, pp 1307-1319. doi: 10.1099/vir.0.063016-0. Epub 2014 Mar 25.	2, 3, 5-8, 13-17, 21-27

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed
"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
05 November 2015 (05.11.2015)	08 DEC 2015
Name and mailing address of the ISA/ Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. 571-273-8300	Authorized officer Shane Thomas PCT Helpdesk: 571-272-4300 PCT OSP: 571-272-7774

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (January 2015)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US15/38067

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

-***-Please See Supplemental Page-***-

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.

2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.

3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Group I: Claims 1-9, 13-17, 21-28

Remark on Protest

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.

☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/US15/38067

-***-Continuation of Box No. III - Observations where unity of invention is lacking:

This application contains the following inventions or groups of inventions which are not so linked as to form a single general inventive concept under PCT Rule 13.1. In order for all inventions to be examined, the appropriate additional examination fees must be paid.

Group I: Claims 1-9, 13-17 and 21-27 are directed toward human Pegivirus 2 (HPgV-2), and methods and compositions relating thereto.

Groups II+: Claims 10-12 are directed toward a composition comprising a substantially purified recombinant peptide, wherein said recombinant peptide comprises an amino acid sequence that has at least 75% identity to a portion of any one of SEQ ID NOs: 2-11, 76-85, or 304-353, wherein said portion is at least 10 amino acids in length.

The composition can be searched to the extent that the peptide comprises a portion of an amino acid sequence encompassing SEQ ID NO: 2 (Human Pegivirus 2 amino acid sequence). It is believed that Claims 10 (in-part), 11 (in-part) and 12 (in-part) encompass this first named invention and thus these claims can be searched without fee to the extent that they encompass SEQ ID NO: 2 (Human Pegivirus 2 amino acid sequence). Failure to clearly identify how any paid additional invention fees are to be applied to the "+" group(s) will result in only the first claimed invention to be searched/examined. An Exemplary Election would be: SEQ ID NO: 3 (Human Pegivirus 2 amino acid sequence).

Groups III+: Claims 18-20 are directed toward a composition comprising a synthetic nucleic acid molecule, wherein said synthetic nucleic acid molecule comprises a nucleotide sequence that has at least 75% identity to; i) a portion of SEQ ID NOs: 299-303, or ii) a portion of region 1, region 2, region 3, or region 4 of SEQ ID NO: 1 or 75 or complement thereof; wherein said portion is at least 15 nucleotides in length, and wherein region 1 is nucleotides 1-1401 of SEQ ID NO: 1 or 75, region 2 is nucleotides 1431-4777 of SEQ ID NO: 1 or 75, region 3 is nucleotides 4818-8134 of SEQ ID NO: 1 or 75, and region 4 is nucleotides 8167-9778 of SEQ ID NO: 1 or 75.

The composition can be searched to the extent that the synthetic nucleic acid encompasses SEQ ID NO: 299 (Human Pegivirus 2 DNA sequence). It is believed that Claims 18 (in-part), 19 (in-part) and 20 (in-part) encompass this first named invention and thus these claims will be searched without fee to the extent that they encompass SEQ ID NO: 299 (Human Pegivirus 2 DNA sequence). Failure to clearly identify how any paid additional invention fees are to be applied to the "+" group(s) will result in only the first claimed invention to be searched/examined. An Exemplary Election would be: SEQ ID NO: 300 (Human Pegivirus 2 DNA sequence).

The inventions listed as Groups I-III+ do not relate to a single general inventive concept under PCT Rule 13.1 because, under PCT Rule 13.2, they lack the same or corresponding special technical features for the following reasons: the special technical features of Group I include human Pegivirus 2, which is not present in any of Groups II+ and III+, the special technical features of Groups II+ include SEQ ID NOs: 76-85, which are not present in either of Groups I or III+, the special technical features of Groups III+ include SEQ ID NOs: 300-303, which are not present in either of Groups I or II+.

No technical features are shared between the amino acid sequences of Groups I and II+ and, accordingly, these groups lack unity a priori. No technical features are shared between the nucleic acid sequences of Groups I and III+ and, accordingly, these groups lack unity a priori.

Groups I-III+ share the technical features including a composition. Groups I and II+ share the technical features including a composition comprising a substantially purified recombinant peptide, wherein said recombinant peptide comprises an amino acid sequence that has at least 75% identity to a portion of any one of SEQ ID NOs: 2-11, wherein said portion is at least 10 amino acids in length. Groups I and III+ share the technical features including a composition comprising a synthetic nucleic acid molecule, wherein said synthetic nucleic acid molecule comprises a nucleotide sequence that has at least 75% identity to; i) a portion of SEQ ID NO: 299, or ii) a portion of region 1, region 2, region 3, or region 4 of SEQ ID NO: 1 or 75 or complement thereof; wherein said portion is at least 15 nucleotides in length, and wherein region 1 is nucleotides 1-1401 of SEQ ID NO: 1 or 75, region 2 is nucleotides 1431-4777 of SEQ ID NO: 1 or 75, region 3 is nucleotides 4818-8134 of SEQ ID NO: 1 or 75, and region 4 is nucleotides 8167-9778 of SEQ ID NO: 1 or 75. Groups II+ share the technical features including a composition comprising a substantially purified recombinant peptide, wherein said recombinant peptide comprises an amino acid sequence that has at least 75% identity to a portion of any one of SEQ ID NOs: 2-11, 76-85, or 304-353, wherein said portion is at least 10 amino acids in length. Groups III+ share the technical features including a composition comprising a synthetic nucleic acid molecule, wherein said synthetic nucleic acid molecule comprises a nucleotide sequence that has at least 75% identity to; i) a portion of SEQ ID NOs: 299-303, or ii) a portion of region 1, region 2, region 3, or region 4 of SEQ ID NO: 1 or 75 or complement thereof; wherein said portion is at least 15 nucleotides in length, and wherein region 1 is nucleotides 1-1401 of SEQ ID NO: 1 or 75, region 2 is nucleotides 1431-4777 of SEQ ID NO: 1 or 75, region 3 is nucleotides 4818-8134 of SEQ ID NO: 1 or 75, and region 4 is nucleotides 8167-9778 of SEQ ID NO: 1 or 75.

-***-Continued Within the Next Supplemental Box-***-

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US15/38067

-***-Continued from Previous Supplemental Page:

However, these shared technical features are previously disclosed by US 2003/0170870 A1 to Xiang, et al. (hereinafter 'Xiang').

Xiang discloses a composition (a vaccine composition; paragraph [0021]) comprising a substantially purified (comprising a purified; paragraph [0214]) recombinant peptide (fusion protein comprising an N-terminal insertional variant (recombinant peptide); paragraph [0214]), wherein said recombinant peptide (paragraphs [0201], [0214]) comprises an amino acid sequence that has at least 75% identity to a portion of SEQ ID NO: 9 of the instant PCT application, wherein said portion is at least 10 amino acids in length (comprises SEQ ID NO: 2 of the Xiang reference, or a portion thereof (comprises an amino acid sequence that has at least 75% identity to a portion of SEQ ID NO: 9 of the instant PCT application, wherein said portion is at least 10 amino acids in length); paragraph [0201]; SEQ ID NO: 2 of the Xiang reference, wherein amino acids 1851-1861 of SEQ ID NO: 2 of the Xiang reference are 80% identical to amino acids 198-208 of SEQ ID NO: 9 of the instant PCT application); and a composition (abstract) comprising a synthetic nucleic acid molecule (comprising a synthetic initiation codon and adjacent sequences (comprising a synthetic nucleic acid molecule); paragraph [0088]), and wherein said nucleic acid molecule comprises a nucleotide sequence that has at least 75% identity to a portion of SEQ ID NO: 299 of the instant PCT application or complement thereof; wherein said portion is at least 15 nucleotides in length (wherein SEQ ID NO: 1 of the Xiang reference comprises the GBV-C genome and includes an ATG codon at nucleotides 2309-2311 (wherein said nucleic acid molecule comprises a nucleotide sequence that has at least 75% identity to a portion of SEQ ID NO: 299 of the instant PCT application or complement thereof; wherein said portion is at least 15 nucleotides in length); paragraph [0020]; SEQ ID NO: 1 of the Xiang reference, wherein SEQ ID NO: 1 of the Xiang reference includes a region (nucleotides 2300-2314) which is 80% identical to nucleotides 3397-3411 of SEQ ID NO: 299 of the instant PCT application), further wherein the region includes an ATG codon); and a vector for transduction of host cells (paragraph [0216]), as well as PCR (PCR; paragraph [0319]). Since Xiang discloses a synthetic initiator codon and adjacent sequences, as well as N-terminal insertional variants, it would have been obvious to a person of ordinary skill in the art, at the time of the invention, to have produced a synthetic nucleic acid comprising a nucleotide sequence that has at least 75% identity to a portion of SEQ ID NO: 299 of the instant PCT application, or complement thereof, including nucleotides 2300-2314 of SEQ ID NO: 1 of the Xiang reference, wherein said portion is at least 15 nucleotides in length, wherein the sequence included the ATG codon of the Xiang reference, for enabling the production of an N-terminal insertional variant utilizing a common and well-known method of amplifying nucleic acids, such as PCR, as previously disclosed by Xiang, for enabling the production of the N-terminal insertional variant.

Since none of the special technical features of the Groups I-III+ inventions is found in more than one of the inventions, and since all of the shared technical features are previously disclosed by the Xiang reference, unity of invention is lacking.

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I			テーマコード（参考）
G01N 33/543	*(2006.01)*	G01N	33/543	501A	
		G01N	33/53	M	

(81)指定国 AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IR,IS,JP,KE,KG,KN,KP,KR,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,SM,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US

(72)発明者 フランケル，マシュウ
アメリカ合衆国、イリノイ・６００６４、アボット・パーク、アボット・パーク・ロード・１００、ディー・３２・エム・ピー、エイ・ピー・６・シー－１
(72)発明者 フォーベルグ，ケン
アメリカ合衆国、イリノイ・６００６４、アボット・パーク、アボット・パーク・ロード・１００、ディー・３２・エム・ピー、エイ・ピー・６・シー－１
(72)発明者 チーウ，チャールズ
アメリカ合衆国、カリフォルニア・９４６０７－５２００、オークランド、フランクリン・ストリート・１１１１、トゥェルブス・フロアー
(72)発明者 リー，ディアナ
アメリカ合衆国、カリフォルニア・９４６０７－５２００、オークランド、フランクリン・ストリート・１１１１、トゥェルブス・フロアー
(72)発明者 ベルグ，マイケル
アメリカ合衆国、イリノイ・６００６４、アボット・パーク、アボット・パーク・ロード・１００、ディー・３２・エム・ピー、エイ・ピー・６・シー－１
(72)発明者 ドーソン，ジョージ
アメリカ合衆国、イリノイ・６００６４、アボット・パーク、アボット・パーク・ロード・１００、ディー・３２・エム・ピー、エイ・ピー・６・シー－１
(72)発明者 コラー，ケリー
アメリカ合衆国、イリノイ・６００６４、アボット・パーク、アボット・パーク・ロード・１００、ディー・３２・エム・ピー、エイ・ピー・６・シー－１
(72)発明者 チュヨン，ケビン
アメリカ合衆国、イリノイ・６００６４、アボット・パーク、アボット・パーク・ロード・１００、ディー・３２・エム・ピー、エイ・ピー・６・シー－１
(72)発明者 ハケット，ジョン
アメリカ合衆国、イリノイ・６００６４、アボット・パーク、アボット・パーク・ロード・１００、ディー・３２・エム・ピー、エイ・ピー・６・シー－１

Ｆターム(参考) 4B063 QA01 QA18 QQ10 QR32 QR35 QR55 QR62 QS33 QS34 QX02
4H045 AA10 AA20 AA30 CA01 EA53 FA74

专利名称(译)	用于检测人pegylivirus 2（HPgV-2）的组合物和方法		
公开(公告)号	JP2017521654A	公开(公告)日	2017-08-03
申请号	JP2016575478	申请日	2015-06-26
[标]申请(专利权)人(译)	雅培公司 加利福尼亚大学董事会		
申请(专利权)人(译)	雅培制药 Rijientsu的最宇宙的DF过的，加州		
[标]发明人	フランケルマシュウ フォーベルグケン チーウチャールズ リーディアナ ベルグマイケル ドーソンジョージ コラーケリー チュヨンケビン ハケットジョン		
发明人	フランケル,マシュウ フォーベルグ,ケン チーウ,チャールズ リー,ディアナ ベルグ,マイケル ドーソン,ジョージ コラー,ケリー チュヨン,ケビン ハケット,ジョン		
IPC分类号	G01N33/569 C12N15/09 C12Q1/68 C07K14/18 G01N33/53 G01N33/543		
CPC分类号	A61K39/12 A61P31/14 C07K14/005 C12N2770/24021 C12N2770/24022 C12N2770/24034 C12Q1/701 G01N33/56983 G01N2333/183 A61K49/085 G01N2469/20		
FI分类号	G01N33/569.L C12N15/00.ZNA.A C12Q1/68.A C07K14/18 G01N33/53.N G01N33/543.501.A G01N33/53.M		
F-TERM分类号	4B063/QA01 4B063/QA18 4B063/QQ10 4B063/QR32 4B063/QR35 4B063/QR55 4B063/QR62 4B063/QS33 4B063/QS34 4B063/QX02 4H045/AA10 4H045/AA20 4H045/AA30 4H045/CA01 4H045/EA53 4H045/FA74		
优先权	62/018282 2014-06-27 US 62/107782 2015-01-26 US		
其他公开文献	JP2017521654A5		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

本文提供了用于检测人PEG病毒2（HPgV-2）的组合物，方法和试剂盒。 在某些实施方案中，本文提供了HPgV-2特异性核酸探针和引物，以及用于检测HPgV-2核酸的方法。 在其他实施方案中，本文提供了HPgV-2免疫原性组合物，用免疫原性HPgV-2肽治疗受试者的方法以及检测样品中HPgV-2受试者抗体的方法。 。

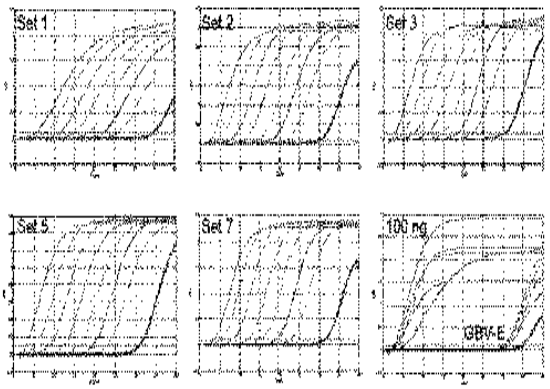



FIG. 5A