

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2005-118044

(P2005-118044A)

(43) 公開日 平成17年5月12日(2005.5.12)

(51) Int.Cl. ⁷	F I	テーマコード (参考)
C 1 2 N 15/09	C 1 2 N 15/00	Z N A A 4 B O 2 4
A 6 1 K 38/00	A 6 1 K 39/00	H 4 B O 6 3
A 6 1 K 39/00	A 6 1 K 39/395	D 4 B O 6 4
A 6 1 K 39/395	A 6 1 K 39/395	N 4 B O 6 5
A 6 1 K 48/00	A 6 1 K 48/00	4 C O 8 4
審査請求 有 請求項の数 47 O L (全 74 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2004-305574 (P2004-305574)	(71) 出願人	399044160
(22) 出願日	平成16年10月20日 (2004.10.20)		イノジェネティックス・ナムローゼ・フェンノートシャップ
(62) 分割の表示	特願平8-514299の分割		I N N O G E N E T I C S N. V.
原出願日	平成7年10月23日 (1995.10.23)		ベルギー、ペー9052ヘント、テヒノロギーパーク6番
(31) 優先権主張番号	94870166.9	(74) 代理人	100062144
(32) 優先日	平成6年10月21日 (1994.10.21)		弁理士 青山 稔
(33) 優先権主張国	欧州特許庁 (EP)	(74) 代理人	100081422
(31) 優先権主張番号	95870076.7		弁理士 田中 光雄
(32) 優先日	平成7年6月28日 (1995.6.28)	(72) 発明者	ヘルト・メールテンス
(33) 優先権主張国	欧州特許庁 (EP)		ベルギー、ペー8310ブルッヘ、ジルベルスパルレンストラート64番
最終頁に続く			

(54) 【発明の名称】 C型肝炎ウイルス遺伝子型の新規配列、ならびにそれらの予防薬、治療薬および診断薬としての使用

(57) 【要約】 (修正有)

【課題】 本発明は、C型肝炎ウイルス(HCV)遺伝子型の新規配列、ならびにそれらの予防薬、治療薬および診断薬としての使用に関する。

【解決手段】 NS5遺伝子ヌクレオチド配列の一部の比較によって分類されるHCVサブタイプ1a、1b、1c、2a、2b、2c、2d、3a、3b、3c、3d、3e、3f、4a、4b、4c、4d、4e、4f、4g、4h、4i、4j、5aまたは6aとは異なるこれまでに未確認のHCVタイプまたはサブタイプに固有であるヌクレオチド配列を有すること、および該既知のHCVヌクレオチド配列と異なる少なくとも1つのヌクレオチドを含有することを特徴とするHCVポリ核酸、またはその相補体。

【選択図】 なし

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

位置 7 9 3 2 ~ 8 2 7 1 (アミノ酸ナンバリングは、第 1 表に示されている) にわたる NS 5 遺伝子ヌクレオチド配列の一部の比較によって第 3 表に示すとおり分類される H C V サブタイプ 1 a、1 b、1 c、2 a、2 b、2 c、2 d、3 a、3 b、3 c、3 d、3 e、3 f、4 a、4 b、4 c、4 d、4 e、4 f、4 g、4 h、4 i、4 j、5 a または 6 a とは異なるこれまでに未確認の H C V タイプまたはサブタイプに固有であるヌクレオチド配列を有すること、および該既知の H C V ヌクレオチド配列と異なる少なくとも 1 つのヌクレオチドを含有することを特徴とする H C V ポリ核酸、またはその相補体。

【請求項 2】

請求項 1 において定義されたと同様に分類される H C V タイプ 9 に固有であるヌクレオチド配列を有する請求項 1 記載のポリ核酸。

【請求項 3】

アミノ酸配列において以下のアミノ酸残基のうち少なくとも 1 つを含む H C V ポリタンパクをコードする請求項 1 または 2 記載のポリ核酸、または請求項 2 において定義した H C V タイプに固有であり、かつ、既知の H C V ヌクレオチド配列と異なる少なくとも 1 つのヌクレオチドを含有する該ポリ核酸の一部、またはその相補体：A 5 8、N 7 1、D 1 0 6、E 1 5 0、N 2 1 7、L 2 3 5、E 2 6 0、I 3 0 0、G 2 6 4 9、F 2 7 2 7、T 2 7 2 8、または I 2 7 5 2 (ここで、表記法は、アミノ酸残基をその一文字表記によって表す文字、および第 1 表に示すアミノ酸ナンバリングを表す番号からなる)。

【請求項 4】

アミノ酸配列において以下のリストから選択される少なくとも 1 つのアミノ酸配列を含む H C V ポリタンパクをコードする請求項 1 ~ 3 のいずれか 1 項記載のポリ核酸、または請求項 2 において定義した H C V タイプに固有であり、かつ、既知の H C V ヌクレオチド配列と異なる少なくとも 1 つのヌクレオチドを含有する該ポリ核酸の一部、またはその相補体：

VRQP TGRSWGQ (配列番号 1 1 4)
IQVKNASGIYHL (配列番号 1 3 5)
VF E A E T M I L H L (配列番号 1 5 2)
I K A G N E S R C W L P V (配列番号 1 7 1)
V P N S S V P I H G (配列番号 1 8 7)
R P K Y H Q V T Q D (配列番号 2 0 4)。

【請求項 5】

配列番号 4 1 または 9 5 のいずれかから選択される配列を有する請求項 1 ~ 4 のいずれか 1 項記載のポリ核酸、または請求項 2 において定義した H C V タイプに固有であり、かつ、既知の H C V ヌクレオチド配列と異なる少なくとも 1 つのヌクレオチドを含有する該ポリ核酸の一部、またはその相補体。

【請求項 6】

5'UR、コア/E 1 領域、NS 4 領域もしくは NS 5 B 領域またはその一部をコードする請求項 1 ~ 5 のいずれか 1 項記載のポリ核酸。

【請求項 7】

cDNA 配列である請求項 1 ~ 6 のいずれか 1 項記載のポリ核酸。

【請求項 8】

請求項 1 ~ 7 のいずれか 1 項記載のポリ核酸の一部を含むオリゴヌクレオチドプライマーであって、該プライマーが誘導される遺伝子型に属するある単離体の核酸を特異的に増幅させるためのプライマーとして作用することができるオリゴヌクレオチドプライマー。

【請求項 9】

請求項 1 ~ 7 のいずれか 1 項記載のポリ核酸の一部を含むオリゴヌクレオチドプローブであって、該ヌクレオチド配列を含有する H C V 核酸のタイプおよび/またはサブタイプの特異的検出および/または分類のためのハイブリダイゼーションプローブとして作用す

10

20

30

40

50

ることができ、所望により、標識化されているかまたは固体基質に結合されていてもよい、オリゴヌクレオチドプローブ。

【請求項 10】

請求項 8 記載のオリゴヌクレオチドプライマーおよび / または請求項 9 記載のオリゴヌクレオチドプローブを含む、HCV の遺伝子型の決定に用いるための診断用キット。

【請求項 11】

オリゴヌクレオチドプローブが固体基質に結合されている請求項 10 記載の診断用キット。

【請求項 12】

一群のオリゴヌクレオチドプローブが固体基質上の特異的な位置に結合されている請求項 11 記載の診断用キット。 10

【請求項 13】

固体基質が膜ストリップであり、オリゴヌクレオチドプローブが平行線の形で膜に結合されている請求項 12 記載の診断用キット。

【請求項 14】

(i) 所望により、試料核酸を抽出すること、
(ii) 請求項 8 記載の少なくとも 1 つのオリゴヌクレオチドプライマーを用いて該核酸を増幅させること、
(iii) 増幅した核酸を検出すること
を含む、生物学的試料中に存在する HCV 核酸の検出方法。 20

【請求項 15】

(i) 所望により、試料核酸を抽出すること、
(ii) 所望により、請求項 8 記載の少なくとも 1 つのオリゴヌクレオチドプライマーまたはユニバーサル HCV プライマーを用いて該核酸を増幅させること、
(iii) 適当な条件下にて生物学的試料の核酸を、所望により変性条件下で、請求項 9 記載の 1 つまたはそれ以上のオリゴヌクレオチドプローブとハイブリダイズさせること (ここで、該プローブは固体基質に結合されている)、
(iv) 所望により、適当な条件下で洗浄すること、
(v) 形成されたハイブリッドを検出すること
を含む、生物学的試料中に存在する HCV 核酸の検出方法。 30

【請求項 16】

(i) 所望により、試料核酸を抽出すること、
(ii) 請求項 8 記載の少なくとも 1 つのオリゴヌクレオチドプライマーを用いて該核酸を特異的に増幅させること、
(iii) 増幅した核酸を検出すること、
(iv) 増幅したフラグメントの観察されたパターンから存在する HCV の 1 種類またはそれ以上の遺伝子型の存在を推断すること
を含む、生物学的試料中に存在する 1 種類またはそれ以上の HCV 遺伝子型の存在の検出方法。

【請求項 17】 40

(i) 所望により、試料核酸を抽出すること、
(ii) 所望により、請求項 8 記載の少なくとも 1 つのオリゴヌクレオチドプライマーまたはユニバーサル HCV プライマーを用いて該核酸を増幅させること、
(iii) 適当な条件下にて生物学的試料の核酸を、所望により、変性条件下で、請求項 9 記載の 1 つまたはそれ以上のオリゴヌクレオチドプローブとハイブリダイズさせること (ここで、該プローブは固体基質に結合されている)、
(iv) 所望により、適当な条件下で洗浄すること、
(v) 形成されたハイブリッドを検出すること、
(vi) 観察されたハイブリダイゼーションパターンから存在する 1 種類またはそれ以上の HCV 遺伝子型の存在を推断すること 50

からなることを特徴とする、生物学的試料中に存在する１種類またはそれ以上のＨＣＶ遺伝子型の存在の検出方法。

【請求項１８】

オリゴヌクレオチドプローブがさらに請求項１１～１３のいずれか１項における定義により特徴付けられる、請求項１７記載の方法。

【請求項１９】

核酸が増幅の間または後に標識される請求項１４～１６のいずれか１項記載の方法。

【請求項２０】

請求項１～７のいずれか１項記載のポリ核酸によってコードされたアミノ酸配列を有するポリペプチド、または、請求項２において定義したＨＣＶタイプに固有であり、かつ、既知のＨＣＶタイプまたはサブタイプアミノ酸配列と異なる少なくとも１つのアミノ酸を含有する該ポリペプチドの一部、または、実質的に相同であり生物学的に等価であるそのアナログ。

10

【請求項２１】

アミノ酸配列において以下のアミノ酸残基のうち少なくとも１つを含む請求項２０記載のポリペプチド、または請求項２において定義したＨＣＶタイプに固有であり、かつ、既知のＨＣＶタイプまたはサブタイプアミノ酸配列と異なる少なくとも１つのアミノ酸を含有する該ポリペプチドの一部、または該ポリペプチドと実質的に相同であり生物学的に等価であるそのアナログ：Ａ５８、Ｎ７１、Ｄ１０６、Ｅ１５０、Ｎ２１７、Ｌ２３５、Ｅ２６０、Ｉ３００、Ｇ２６４９、Ｆ２７２７、Ｔ２７２８、またはＩ２７５２（ここで、表記は、アミノ酸残基を一文字表記によって表す文字および第１表に示すアミノ酸ナンバリングを表す数字からなる）。

20

【請求項２２】

アミノ酸配列において請求項４に挙げられた配列番号１１４、１３５、１５２、１７１、１８７または２０４によって表される配列のうち少なくとも１つを含む請求項２０記載のポリペプチド、または、請求項２において定義したＨＣＶタイプに固有であり、かつ、既知のＨＣＶタイプまたはサブタイプアミノ酸配列と異なる少なくとも１つのアミノ酸を含有する該ポリペプチドの一部、または、該ポリペプチドと実質的に相同であり生物学的に等価であるそのアナログ。

【請求項２３】

配列番号４２または９６のいずれかにおいて表されるアミノ酸配列を有するポリペプチド、または、請求項２におけるＨＣＶタイプに固有であり、かつ、既知のＨＣＶタイプまたはサブタイプアミノ酸配列と異なる少なくとも１つのアミノ酸を含有するその一部、または該ポリペプチドと実質的に相同であり生物学的に等価であるそのアナログ。

30

【請求項２４】

請求項１～７のいずれか１項記載のポリ核酸によってコードされる組換えポリペプチド、または、請求項２において定義したＨＣＶタイプに固有であり、かつ、既知のＨＣＶタイプまたはサブタイプアミノ酸配列と異なる少なくとも１つのアミノ酸を含有する該組換えポリペプチドの一部、または、該ポリペプチドと実質的に相同であり生物学的に等価であるそのアナログ。

40

【請求項２５】

適当な細胞宿主を、適当な調節要素の制御下にて請求項１～７のいずれか１項記載のポリ核酸またはその一部を挿入した組換えベクターで形質転換させること、

該挿入体の発現を可能にする条件下にて、該形質転換細胞宿主を培養すること、および該ポリペプチドを収集すること

を含む、請求項２４記載の組換えポリペプチドの生産方法。

【請求項２６】

原核生物性、真核生物性またはウイルス性転写および翻訳制御要素に操作可能に結合された請求項１～７のいずれか１項記載のポリ核酸またはその一部を含む組換え発現ベクター。

50

【請求項 27】

請求項 26 記載の組換えベクターで形質転換された宿主細胞。

【請求項 28】

(i) HCV の存在について分析しようとする生物学的試料を請求項 20 ~ 24 のいずれか 1 項記載のポリペプチドと接触させること、

(ii) 抗体と該ポリペプチドとの間で形成された免疫複合体を検出することを含む、生物学的試料中に存在する HCV に対する抗体の検出方法。

【請求項 29】

(i) HCV の存在について分析しようとする生物学的試料を請求項 20 ~ 24 のいずれか 1 項記載のポリペプチドと接触させ、

(ii) 抗体と該ポリペプチドとの間で形成された免疫複合体を検出することからなることを特徴とする HCV 分類方法。

【請求項 30】

所望により固体支持体に結合されていてもよい請求項 20 ~ 24 のいずれか 1 項記載の少なくとも 1 つのポリペプチドを含む、HCV の存在の検出に用いるための診断用キット。

【請求項 31】

所望により固体支持体に結合されていてもよい請求項 20 ~ 24 のいずれか 1 項記載の少なくとも 1 つのポリペプチドを含む、HCV 分類のための診断用キット。

【請求項 32】

固体基質上の特異的な位置に結合される一群のポリペプチドを含む、請求項 30 または 31 記載の診断用キット。

【請求項 33】

固体支持体が膜ストリップであり、ポリペプチドが平行線の形で膜に結合されている、請求項 30 ~ 32 のいずれか 1 項記載の診断用キット。

【請求項 34】

請求項 20 ~ 24 のいずれか 1 項記載の少なくとも 1 つのポリペプチドまたは請求項 1 ~ 7 のいずれか 1 項記載の少なくとも 1 つのポリ核酸および適当な賦形剤、希釈剤または担体を含む医薬組成物。

【請求項 35】

防御抗体または防御 T - 細胞応答の生産を刺激するのに有効な量の請求項 34 記載の医薬組成物を哺乳動物に投与することを含む、HCV 感染の予防方法。

【請求項 36】

請求項 35 において定義した HCV 感染の予防方法における請求項 34 記載の医薬組成物の使用。

【請求項 37】

医薬的に許容される担体中、請求項 20 ~ 24 のいずれか 1 項記載の少なくとも 1 つのポリペプチドを含む、HCV 感染に対して哺乳動物を免疫化するためのワクチン。

【請求項 38】

請求項 2 において定義した HCV タイプに固有である請求項 20 ~ 24 のいずれか 1 項記載の少なくとも 1 つのポリペプチドを含む、請求項 37 記載のワクチン。

【請求項 39】

請求項 20 ~ 24 のいずれか 1 項記載の少なくとも 1 つのポリペプチドによる免疫化により生じる抗体（ここで、該抗体は、該ポリペプチドと特異的に反応し、該抗体は、好ましくはモノクローナル抗体である）。

【請求項 40】

(i) 生物学的試料を請求項 39 記載の抗体と接触させること、

(ii) HCV 抗原と該抗体との間で形成された免疫複合体を検出することを含む、生物学的試料中に存在する HCV 抗原の検出方法。

【請求項 41】

10

20

30

40

50

(i) 生物学的試料を請求項 3 9 記載の抗体と接触させること、
(ii) H C V 抗原と該抗体との間で形成された免疫複合体を検出すること
を含む、H C V 分類方法。

【請求項 4 2】

所望により固体支持体に結合されていてもよい請求項 3 9 記載の少なくとも 1 つの抗体を含む、H C V の存在の検出に用いるための診断用キット。

【請求項 4 3】

所望により固体支持体に結合されていてもよい請求項 3 9 記載の少なくとも 1 つの抗体を含む、H C V 分類のための診断用キット。

【請求項 4 4】

固体基質上の特異的な位置に結合される一群の抗体を含む、請求項 4 2 または 4 3 記載の診断用キット。

【請求項 4 5】

請求項 3 9 記載の少なくとも 1 つの抗体および適当な賦形剤、希釈剤または担体を含む医薬組成物。

【請求項 4 6】

哺乳動物に有効量の請求項 4 5 記載の医薬組成物を投与することを含む、H C V 感染の予防または治療方法。

【請求項 4 7】

請求項 4 6 において定義した H C V 感染の予防または治療方法における請求項 4 5 記載の医薬組成物の使用。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、C 型肝炎ウイルス (H C V) 遺伝子型の新規配列、ならびにそれらの予防薬、治療薬および診断薬としての使用に関する。

本発明は、新規ゲノムヌクレオチド配列およびこれらのゲノムのコード領域に対応するアミノ酸配列に関する。本発明は、既知の H C V タイプおよびサブタイプ配列と異なる新規 H C V タイプおよびサブタイプ配列に関する。さらに詳しくは、本発明は、新規 H C V タイプ 7 配列、新規 H C V タイプ 9 配列、新規 H C V タイプ 1 0 および新規 H C V タイプ 1 1 配列に関する。さらに、本発明は、サブタイプ 1 d、1 e、1 f および 1 g の新規 H C V タイプ 1 配列；サブタイプ 2 e、2 f、2 g、2 h、2 i、2 k および 2 l の新規 H C V タイプ 2 配列；サブタイプ 3 g の新規 H C V タイプ 3 配列；サブタイプ 4 k、4 l および 4 m の新規 H C V タイプ 4 配列；それらの調製方法、ならびに診断、予防および治療のためのそれらの使用に関する。

本発明の根本的な技術的課題は、現在知られていない H C V タイプおよび / またはサブタイプからの新規 H C V 配列を提供することである。さらに詳しくは、本発明は、新規 H C V タイプ 7、9、1 0 および 1 1 の、ならびに H C V タイプ 1、2、3 および 4 の新規変異株 (サブタイプ) の、コア領域、E 1 領域および NS 5 領域の新規タイプ特異的配列を提供するものである。これらの新規 H C V 配列は、生物学的試料中の H C V タイプ 1、および / またはタイプ 2、および / またはタイプ 3、および / またはタイプ 4、および / またはタイプ 7、および / またはタイプ 9、および / またはタイプ 1 0、および / またはタイプ 1 1 遺伝子型または血清型の存在を診断するのに有用である。さらにまた、これらの新規タイプ特異的配列の利用能は、H C V 検出の全体的な感度を高めることができ、予防目的および治療目的のために有用であることも証明する。

【背景技術】

【0002】

C 型肝炎ウイルス (H C V) は、非 A ・非 B 型肝炎の主な原因であることが判明した。いくつかのプロトタイプ単離体の完全なゲノムを包含する c D N A クローンの配列が決定された (非特許文献 1、非特許文献 2、非特許文献 3、非特許文献 4)。これらの単離体

10

20

30

40

50

の比較により、ヌクレオチド配列における変異性を用いて、約 68% の平均ホモロジーを有する少なくとも 2 種類の遺伝子型、タイプ 1 (HCV - 1 および HCV - J) およびタイプ 2 (HCV - J6 および HCV - J8) を識別できることが判明する。各タイプ内には、約 79% の平均ホモロジーを有する少なくとも 2 つのサブタイプ (例えば、HCV - 1 および HCV - J によって表される) が存在する。同一サブタイプに属する HCV ゲノムは、90% を超える平均ホモロジーを示す (非特許文献 4)。しかしながら、HCV - T 単離体の NS5 領域の部分ヌクレオチド配列は、従前に公表されている配列と多くても 67% のホモロジーを示し、なおも別の HCV タイプの存在を示した (非特許文献 5)。このタイプ 3 の 5' 非翻訳領域 (UR)、コア領域、NS3 領域および NS5 領域の一部は、公表されており、さらに、3 つの主な遺伝子型とそれらのサブタイプとの間の類似した進化の距離を確立した (非特許文献 6)。続いて、タイプ 4 が発見された (非特許文献 7、非特許文献 8、非特許文献 9、非特許文献 10)。同様にタイプ 5 (非特許文献 7、非特許文献 11、非特許文献 9、非特許文献 12) およびタイプ 6 (非特許文献 9、非特許文献 11) HCV グループも発見された。HCV 遺伝子型に関する当該技術の現状の概観を第 3 表に示す。本発明者らによって提案された命名システムは、現在、世界中の科学者によって受け入れられている (非特許文献 13)。

【非特許文献 1】Kato N, Hijikata M, Ootsuyama Y, Nakagawa M, Ohkoshi S, Sugimura T, Shimotohno K (1990) Molecular cloning of the human hepatitis C virus genome from Japanese patients with non-A, non-B hepatitis. *Proc Natl Acad Sci USA* 87:9524-9528

【非特許文献 2】Choo Q, Richamn K, Han J, Berger K, Lee C, Dong C, Gallegos C, Coit D, Medina-Selby A, Barr P, Weiner A, Bradley D, Kuo G, Houghton M (1991) Genetic organization and diversity of the hepatitis C virus. *Proc Natl Acad Sci USA* 88:2451-2455

【非特許文献 3】Okamoto H, Okada S, Sugiyama Y, Kurai K, Iizuka H, Machida A, Miyakawa Y, Mayumi M (1991) Nucleotide sequence of the genomic RNA of hepatitis C virus isolated from a human carrier: comparison with reported isolates for conserved and divergent regions. *J Gen Virol* 72:2697-2704

【非特許文献 4】Okamoto H, Kurai K, Okada S, Yamamoto K, Iizuka H, Tanaka T, Fukuda S, Tsuda F, Mishihiro S (1992) Full-length sequences of a hepatitis C virus genome having poor homology to reported isolates: comparative study of four distinct genotypes. *Virology* 188:331-341

【非特許文献 5】Mori S, Kato N, Yagyu A, Tanaka T, Ikeda Y, Petchclai B, Chiewsilp P, Kurimura T, Shimotohno K (1992) A new type of hepatitis C virus in patients in Thailand. *Biochem Biophys Res Comm* 183:334-342

【非特許文献 6】Chan S-W, McOmish F, Holmes E, Dow B, Peuthere J, Follett E, Yap P, Simmonds P (1992) Analysis of a new hepatitis C virus type and its phylogenetic relationship to existing variant. *J Gen Virol* 73:1131-1141

【非特許文献 7】Stuyver L, Rossau R, Wyseur A, Duhamel M, Vanderborcht B, Van Heuverswyn H, Maertens G (1993b) Typing of hepatitis C virus (HCV) isolates and characterization of new (sub)types using a Line Probe Assay. *J Gen Virology*, 74: 1093-1102

【非特許文献 8】Simmonds P, McOmish F, Yap P, Chan S, Lin C, Dusheiko G, Saeed A, Holmes E (1993a), Sequence variability in the 5' non-coding region of hepatitis C virus: identification of a new virus type and restrictions on sequence diversity. *J Gen Virology*, 74:661-668

【非特許文献 9】Bukh J, Purcell R, Miller R (1993). At least 12 genotypes of hepatitis C virus predicted by sequence analysis of the putative E1 gene of isolates collected worldwide. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90, 8234-8238

【非特許文献 10】Stuyver, L., Wyseur, A., Van Arnhem, W., Rossau, R., Delaporte 50

, E., Dazza, M.-C., Van Doorn, L.-J., Kleter, B. & Maertens, G. (1994a) The use of a line probe assay as a tool to detect new types or subtypes of hepatitis C virus. In: Viral Hepatitis and Liver Disease, Proceedings of the International Symposium on Viral Hepatitis and Liver Disease (Eds. Nishioka, K., Suzuki, H., Mishiro, S., and Oda, T.), pp 317-319

【非特許文献 1 1】Simmonds, P., Holmes, E.C., Cha, T.-A., Chan, S.-W., McOmish, F., Irvine, B., Beall, E., Yap, P.L., Kolberg, J., & Urdea, M.S. (1993c) J. Gen. Virol. 74, 2391-2399

【非特許文献 1 2】Stuyver, L., Van Arnhem, W., Wyseur, A. & Maertens, G. (1994b) Cloning and Phylogenetic analysis of the Core, E2, and NS3/4 regions of the hepatitis C virus type 5a. Biochem. Biophys. Res. Comm. 202, 1308-1314 10

【非特許文献 1 3】Simmonds, P., Alberti, A., Alter, H., Bonino, F., Bradley, D.W., Brechot, C., Brouwer, J., Chan, S.-W., Chayama K., Chen, D.-S., Choo, Q.-L., Colombo, M., Cuypers, T., Date, T., Dusheiko, G., Esteban, J.I., Fay, O., Hadziyannis, S., Han, J., Hatzakis, A., Holmes, E.C., Hotta, H., Houghton, M., Irvine, B., Kohara, M., Kolberg, J.A., Kuo, G., Lau, J.Y.N., Lelie, P.N., Maertens, G., McOmish, F., Miyamua, T., Mizokami, M., Nomoto, A., Prince A.M., Reesink, H.W., Rice, C., Roggendorf, M., Schalm, S., Shikata, T., Shimotohno, K., Stuyver, L., Treppe, C., Weiner, A., Yap, P.L. & Urdea, M.S. (1994) A proposed system for the nomenclature of hepatitis C virus genotypes. Hepatology 19, 1321-1324 20

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0003】

本発明の目的は、H C V 感染の検出を可能にする新規 H C V ヌクレオチドおよびアミノ酸配列を提供することである。

本発明の別の目的は、感染した生物学的液体の種々の血清学上のグループへの分類を可能にする新規ヌクレオチドおよびアミノ酸 H C V 配列を提供することである。

本発明の別の目的は、全 H C V 検出速度を改良する新規ヌクレオチドおよびアミノ酸 H C V 配列を提供することである。

本発明の別の目的は、H C V 予防用または治療用ワクチン組成物の設計に有用な新規 H C V 配列を提供することである。 30

本発明の別の目的は、これらの新規 H C V 配列によってコードされるポリペプチドに対して生じる抗体からなる治療用または診断用医薬組成物を提供することである。

本発明の全ての目的は、本発明の以下の具体例により達成される。

【課題を解決するための手段】

【0004】

本発明は、さらに詳しくは、位置 7 9 3 2 ~ 8 2 7 1 (アミノ酸のナンバリングは、第 1 表に示されている) にわたる NS 5 遺伝子ヌクレオチド配列の一部の比較によって第 3 表に示すとおり分類される H C V サブタイプ 1 a、1 b、1 c、2 a、2 b、2 c、2 d、3 a、3 b、3 c、3 d、3 e、3 f、4 a、4 b、4 c、4 d、4 e、4 f、4 g、4 h、4 i、4 j、5 a または 6 a とは異なるこれまでに未確認の H C V タイプまたはサブタイプに固有であるヌクレオチド配列を有すること、および該既知の H C V ヌクレオチド配列と異なる少なくとも 1 つのヌクレオチドを含有することの特徴とする H C V ポリ核 40
酸、またはその相補体 (complement) に関する。公知の H C V 単離体の配列は、当該技術分野で知られているヌクレオチド配列データベース (例えば、E M B L データベースなど) において見いだすことができる。

【0005】

したがって、本発明は、前記において定義されたと同様に分類される H C V サブタイプ 1 d、1 e、1 f、1 g、2 e、2 f、2 g、2 h、2 i、2 k、2 l、3 g、4 k、4 l、4 m、7 a、7 c または 7 d のうち少なくとも 1 つに固有であるヌクレオチド配列を 50

有するポリ核酸に関する。

【0006】

したがって、本発明は、前記において定義されたと同様に分類されるHCVタイプ9、10または11のうち少なくとも1つに固有であるヌクレオチド配列を有するポリ核酸にも関する。

【0007】

本発明のポリ核酸におけるヌクレオチド差異は、該ポリ核酸によってコードされる対応するアミノ酸配列におけるアミノ酸差異を含むことに注意すべきである。本発明の組成物は、ポリ核酸配列のみ、または診断、予防もしくは治療の分野において知られている賦形剤と混合したポリ核酸配列を含有する。

10

【0008】

好ましい具体例によると、本発明は、アミノ酸配列において以下のアミノ酸残基のうち少なくとも1つを含有してなるHCVポリタンパクをコードするポリ核酸、または第5表に示されているHCVサブタイプまたはタイプのうち少なくとも1つに固有であり、かつ、既知のHCVヌクレオチド配列と異なる少なくとも1つのヌクレオチドを含有する該ポリ核酸の一部、またはその相補体に関する：I15、C38、V44、A49、Q43、P49、Q55、A58、S60またはD60、E68またはV68、H70、A71またはQ71またはN71、D72、H81、H101、D106、S110、L130、I134、E135、L140、S148、T150またはE150、Q153、F155、D157、G160、E165、I169、F181、L186、T190、T192またはI192またはH192、I193、A195、S196、R197またはN197またはK197、Q199またはD199またはH199またはN199、F200またはT200、A208、I213、M216またはS216、N217またはS217またはG217またはK217、T218、I219、A222、Y223、I230、W231またはL231、S232またはH232またはA232、Q233、E235またはL235、F236またはT236、F237、L240またはM240、A242、N244、N249、I250またはK250またはR250、A252またはC252、A254、I255またはV255、D256またはM256、E257、E260またはK260、R261、V268、S272またはR272、I285、G290またはF290、A291、A293またはL293またはW293、T294またはA294、S295またはH295、K296またはE296、Y297またはM297、I299またはY299、I300、S301、P316、S2646、A2648、G2649、A2650、V2652、Q2653、H2656またはL2656、D2657、F2659、K2663またはQ2663、A2667またはV2667、D2677、L2681、M2686またはQ2686またはE2686、A2692またはK2692、H2697、I2707、L2708またはY2708、A2709、A2719またはM2719、F2727、T2728またはD2728、E2729、F2730またはY2730、I2741、I2745、V2746またはE2746またはL2746またはK2746、A2748、S2749またはP2749、R2750、E2751、D2752またはN2752またはS2752またはT2752またはV2752またはI2752またはQ2752、S2753またはD2753またはG2753、D2754、A2755、L2756またはQ2756、R2757（ここで、表記法は、アミノ酸残基をその一文字表記によって表す文字、および第1表に示すKato et al., (1980)によるアミノ酸ナンバリングを表す番号からなる）。

20

30

40

【0009】

前記残基の各々は、コア/E1領域について、HCVの別のタイプまたはサブタイプの既知の配列と並べた本発明の新規アミノ酸配列を示す第2図、第4図または第6図において見ることができる。

【0010】

もう1つの好ましい具体例によると、本発明は、アミノ酸配列において以下のリストか

50

ら選択される少なくとも1つのアミノ酸配列を含有してなるHCVポリタンパクをコードするポリ核酸、または第5表に示されているHCVサブタイプまたはタイプのうち少なくとも1つに固有であり、かつ、既知のHCVヌクレオチド配列と異なる少なくとも1つのヌクレオチドを含有する該ポリ核酸の一部、またはその相補体に関する：

【0011】

サブタイプ1dに関してはARQSDGRSWAQまたはARRSEGRSWAQ（配列番号107および108）

サブタイプ1eに関してはERRPEGRSWAQ（配列番号109）

サブタイプ1fに関してはARRPEGRSWAQ（配列番号110）

サブタイプ2kに関してはDRRTTGKSWGR（配列番号111）

サブタイプ2eに関してはDRRATGRSWGR（配列番号112）

サブタイプ2fに関してはDRRATGKSWGR（配列番号113）

タイプ9に関してはVRQP TGRSWGQ（配列番号114）

サブタイプ7aおよび7cに関してはVRHQ TGR TWAQ（配列番号115）

サブタイプ7dに関してはVRQNQGR TWAQ（配列番号116）

タイプ10に関してはARRTEGRSWAQ（配列番号117）

タイプ11に関してはVRRTTGRXXXXXまたはVRRTTGR TWAQ（配列番号118および119）

【0012】

サブタイプ1dに関してはHEVRNASGVYHVまたはHEVRNASGVYHL（配列番号120および121）

サブタイプ1fに関してはYEVHSTTDGYHV（配列番号122）

サブタイプ2eに関してはVEVKNTSQAYMA（配列番号123）

サブタイプ2fに関してはIQVKNNSHFYMA（配列番号124）

サブタイプ2gに関してはVQVKNTSTMVMA（配列番号125）

サブタイプ2hに関してはVQVKNTSHSYMV（配列番号126）

サブタイプ2iに関してはVQVANRSGSYMV（配列番号127）

サブタイプ2kに関してはVEIKNTXNTYVLまたはVEIKNTSNTYVL（配列番号128および129）

サブタイプ4kに関してはINYRNVSGIYYVまたはINYRNTSGIYHVまたはINYHNTSGIYHIまたはTNYRNVSGIYHV（配列番号130、131、132または133）

サブタイプ4lに関してはQHRYRNVSGIYHV（配列番号134）

タイプ9に関してはIQVKNASGIYHL（配列番号135）

サブタイプ7cに関してはAHYT NKSGLYHL（配列番号136）

サブタイプ7dに関してはLNYANKSGLYHL（配列番号137）

タイプ10に関してはLEYRNASGLYMV（配列番号138）

サブタイプ1dに関してはIYEMDGMIMHYまたはIYEMS GMI LHA（配列番号139および140）

サブタイプ1fに関してはVYEAKDII LHT（配列番号141）

サブタイプ2eに関してはVWQLXDAVLHV（配列番号142）

サブタイプ2fに関してはVWQLRDAVLHV（配列番号143）

サブタイプ2gに関してはIWQM QGAVLHV（配列番号144）

サブタイプ2hに関してはVWQLKDAVLHV（配列番号145）

サブタイプ2iに関してはVWQLEEAVLHV（配列番号146）

サブタイプ2kに関してはTWQLXXAVLHV（配列番号147）

サブタイプ4kに関してはVYEADHHI LHLまたはVYEADHHI LALまたはVFEADHHI LHL（配列番号148、149および150）

サブタイプ4lに関してはVYESDHHI LHL（配列番号151）

タイプ9に関してはVFEAETMI LHL（配列番号152）

サブタイプ 7 c に関しては V Y E A E T L I L H L (配列番号 1 5 3)

【 0 0 1 3 】

サブタイプ 7 d に関しては V Y E A N G M I L H L (配列番号 1 5 4)

タイプ 1 0 に関しては V Y E A G D I I L H L (配列番号 1 5 5)

サブタイプ 1 d に関しては V R E D N H L R C W M A L または V R E N N S S R C W M A L (配列番号 1 5 6 および 1 5 7)

サブタイプ 1 f に関しては I R E G N I S R C W V P L (配列番号 1 5 8)

サブタイプ 2 e に関しては E N S S G R F H C W I P I (配列番号 1 5 9)

サブタイプ 2 f に関しては E R S G N R T F C W T A V (配列番号 1 6 0)

サブタイプ 2 g に関しては E L Q G N K S R C W I P V (配列番号 1 6 2)

10

サブタイプ 2 h に関しては E R H Q N Q S R C W I P V (配列番号 1 6 3)

サブタイプ 2 i に関しては E W K D N T S R C W I P V (配列番号 1 6 4)

サブタイプ 2 k に関しては E R E G N S S R C W I P V (配列番号 1 6 5)

サブタイプ 4 k に関しては V R E G N Q S R C W V A L または V R T G N Q S R C W V A L または V R V G N Q S S C W V A L または V R V G N Q S R C W V A L または V K E G N H S R C W V A L (配列番号 1 6 6 、 1 6 7 、 1 6 8 または 1 6 9)

サブタイプ 4 l に関しては V K T G N T S R C W V A L (配列番号 1 7 0)

タイプ 9 に関しては I K A G N E S R C W L P V (配列番号 1 7 1)

サブタイプ 7 c に関しては V K E G N Q S R C W V Q A (配列番号 1 7 2)

サブタイプ 7 d に関しては V K X X N L T K C W L S A (配列番号 1 7 3)

20

タイプ 1 0 に関しては V R S G N T S R C W I P V (配列番号 1 7 4)

サブタイプ 1 d に関しては V K N A S V P T A A または V K D A N V P T A A (配列番号 1 7 5 および 1 7 6)

サブタイプ 1 f に関しては A R I A N A P I D E (配列番号 1 7 7)

サブタイプ 2 e に関しては V S K P G A L T K G (配列番号 1 7 8)

サブタイプ 2 f に関しては V S R P G A L T R G (配列番号 1 7 9)

サブタイプ 2 g に関しては V N Q P G A L T R G (配列番号 1 8 0)

サブタイプ 2 h に関しては V S Q P G A L T R G (配列番号 1 8 1)

サブタイプ 2 i に関しては V S Q P G A L T K G (配列番号 1 8 2)

サブタイプ 2 k に関しては V S R P G A L T E G (配列番号 1 8 3)

30

サブタイプ 4 k に関しては A P Y I G A P L E S または A P Y T A A P L E S (配列番号 1 8 4 および 1 8 5)

サブタイプ 4 l に関しては A P I L S A P L M S (配列番号 1 8 6)

タイプ 9 に関しては V P N S S V P I H G (配列番号 1 8 7)

サブタイプ 7 c に関しては V P N A S T P V T G (配列番号 1 8 8)

【 0 0 1 4 】

サブタイプ 7 d に関しては V Q N A S V S I R G (配列番号 1 8 9)

タイプ 1 0 に関しては V K S P C A A T A S (配列番号 1 9 0)

サブタイプ 1 d に関しては S P R M H H T T Q E または S P R L Y H T T Q E (配列番号 1 9 1 および 1 9 2)

40

サブタイプ 1 f に関しては T S R R H W T V Q D (配列番号 1 9 3)

サブタイプ 2 e に関しては A P K R H Y F V Q E (配列番号 1 9 4)

サブタイプ 2 f に関しては S P Q Y H T F V Q E (配列番号 1 9 5)

サブタイプ 2 g に関しては S P Q H H N F S Q D (配列番号 1 9 6)

サブタイプ 2 h に関しては S P Q H H I F V Q D (配列番号 1 9 7)

サブタイプ 2 k に関しては S P E H H H F V Q D (配列番号 1 9 8)

サブタイプ 4 k に関しては R P R R H W T T Q D または R P R R H W T A Q D または Q P R R H W T T Q D または R P R R H W T T Q E (配列番号 1 9 9 、 2 0 0 、 2 0 1 または 2 0 2)

サブタイプ 4 l に関しては Q P R R H W T V Q D (配列番号 2 0 3)

50

タイプ 9 に関しては R P K Y H Q V T Q D (配列番号 2 0 4)

サブタイプ 7 c に関しては R P R M H Q V V Q E (配列番号 2 0 5)

サブタイプ 7 d に関しては R P R M Y E I A Q D (配列番号 2 0 6)

タイプ 1 0 に関しては R H R Q H W T V Q D (配列番号 2 0 7)。

【 0 0 1 5 】

5'非コード化 L i P A 系 (Stuyver et al., 1993) およびコア領域から誘導されたサブタイプ 1 a、1 b、1 c、2 a、2 b または 2 c に対する複数のプローブを含む新規コア L i P A 系 (Stuyver et al., 1995) を用いて、ペネルクス、カメルーン、フランスおよびベトナムからの試料を、それらの異常な反応性のために選択した (単離体 C A M 1 0 7 8、F R 2、F R 1、V N 4、V N 1 2、V N 1 3、N E 9 8)。いくつかの試料を、多くの他の試料と一緒に、分類するための対照体として配列決定した。しかしながら、配列決定の結果は、新規サブタイプ (単離体 B N L 1、B N L 2、B N L 3、F R 4、B N L 4、B N L 5、B N L 6、B N L 7、B N L 8、B N L 9、B N L 1 0、B N L 1 1 および B N L 1 2) の発見を示した。本発明のフレームにおいて、以前に報告されたことがないコアおよび E 1 領域におけるヌクレオチド配列を分析した。サブタイプ 1 d、1 e、1 f、1 g、2 e、2 f、2 g、2 h、2 i、2 k、2 l、3 g、4 k、4 l、4 m、7 a、7 c、7 d ならびにタイプ 9、1 0 および 1 1 単離体のゲノム配列は、本発明において初めて報告される。N S 5 B 領域も分析した。

10

【 0 0 1 6 】

「ポリ核酸」なる用語は、完全ヌクレオチド配列と共通の少なくとも 5 つの隣接するヌクレオチドを含有する一本鎖または二本鎖核酸配列を意味する (例えば、少なくとも 6、7、8、9、1 0、1 1、1 2、1 3、1 4、1 5、1 6、1 7、1 8、1 9、2 0、2 1、2 2、2 3、2 4、2 5、3 0、3 5、4 0、4 5、5 0、6 0、7 5 またはそれ以上の隣接するヌクレオチド)。約 1 0 0 ヌクレオチドまでの長さのポリ核酸は、しばしば、オリゴヌクレオチドとも称される。ポリ核酸は、デオキシリボヌクレオチドまたはリボヌクレオチド、ヌクレオチドアナログまたは修飾ヌクレオチドからなるか、あるいは、治療目的に適応させられる。ポリ核酸は、また、クローニングのために、または in vivo 治療もしくは予防のために用いることができる二本鎖 c D N A クローンからなってもよい。

20

【 0 0 1 7 】

プライマーまたはプローブとして用いられる本発明のオリゴヌクレオチドは、チオリン酸化物 (Matsukura et al., 1987)、アルキルリン酸化物 (Miller et al., 1979) またはペプチド核酸 (Nielsen et al., 1991; Nielsen et al., 1993) などのヌクレオチドアナログを含有するかまたは該ヌクレオチドアナログからなるか、あるいは、挿入剤 (Asse line et al., 1984) を含有してもよい。

30

【 0 0 1 8 】

本発明の最初の D N A 配列中に導入されたほとんどの他の変異または修飾の場合、これらの変異は、所望の特異性および感受性を得るために該オリゴヌクレオチドを用いる条件に関する適応を必要とするであろう。しかしながら、実際の結果は、実質的には、非修飾オリゴヌクレオチドを用いて得られたものと同一であろう。

【 0 0 1 9 】

これらの修飾の導入は、ハイブリダイゼーション速度、ハイブリッド - 形成の可逆性、オリゴヌクレオチド分子の生物学的安定性などの特徴に明確に影響を及ぼすために好都合である。

40

【 0 0 2 0 】

本発明のポリ核酸は、ある種の組成物に含まれる。該組成物は、診断用、治療用または予防用であってよい。

【 0 0 2 1 】

「H C V タイプまたはサブタイプに固有である配列」なる表現は、H C V の他のタイプまたはサブタイプによって共有されていない配列を意味し、したがって、これを用いて、H C V タイプまたはサブタイプを固有に検出することができる。本発明では、新しく見い

50

だされた H C V タイプおよびサブタイプ（第 5 表を参照）と既知の H C V タイプおよびサブタイプ（第 3 表を参照）との間で配列変異性が示され、したがって、特に、配列変異性を有するこれらの領域から、タイプ特異的またはサブタイプ特異的ポリ核酸、オリゴヌクレオチド、ポリペプチドおよびペプチドが得られる。「タイプ特異的またはサブタイプ特異的」なる用語は、配列が、含まれる H C V タイプまたはサブタイプに固有であるということの意味する。

【 0 0 2 2 】

「～に対応するヌクレオチド」なる表現は、特異的 H C V 配列内の所定のヌクレオチド配列または領域と相同または相補的であるヌクレオチドを意味する。

【 0 0 2 3 】

「コード領域」なる用語は、H C V ポリタンパクをコードする H C V ゲノムの領域に相当する。実際、5'非翻訳領域および3'非翻訳領域を除いては完全ゲノムからなる。

【 0 0 2 4 】

「H C V ポリタンパク」なる用語は、H C V - J 単離体（Kato et al., 1990）の H C V ポリタンパクを意味する。330 位のアデニン残基（Kato et al., 1990）は、H C V - J および他のタイプ 1 b 単離体における 3010 個のアミノ酸、および H C V - 1 および他のタイプ 1 a 単離体における 3011 個のアミノ酸、およびタイプ 2 単離体 H C - J 6 および H C - J 8（Okamoto et al., 1992）における 3033 個のアミノ酸からなる長い H C V ポリタンパクを開始する A T G コドンの第 1 残基である。

【 0 0 2 5 】

本発明では、このアデニンは、核酸レベルで 1 位と記され、このメチオニンは、アミノ酸レベルで 1 位と記される。タイプ 1 a 単離体は、N S 5 A 領域において 1 個の余分なアミノ酸を含有するので、タイプ 1 a および 1 b のコード配列は、コア領域、E 1 領域、N S 3 領域および N S 4 領域において同一のナンバリングを有するが、第 1 表に示すように N S 5 B においては異なるであろう。タイプ 2 単離体は、タイプ 1 単離体と比較して E 2 領域において 4 個の余分なアミノ酸を有し、N S 5 領域において 17 個または 18 個の余分なアミノ酸を有し、第 1 表に示すように N S 3 / 4 領域および N S 5 b 領域においてタイプ 1 単離体とはナンバリングが異なるであろう。タイプ 1 と比較して同様の挿入がタイプ 3 a 配列において観察されることができ、したがって、該挿入は、タイプ 3 a アミノ酸のナンバリングに影響を及ぼす。既知の H C V 配列と並べると、タイプ 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10 および 11 配列において、他の挿入または欠失を容易に観察することができる。

【 0 0 2 6 】

10

20

30

【表 1】

第 1 表

	領域	本発明に記載された位置*	HCV-J について開示された位置 (Kato et al., 1990)	HCV-1 について開示された位置 (Choo et al., 1991)	HC-J 6、HC-J 8 について開示された位置 (Okamoto et al., 1992)
ヌクレオチド	NS5B	8023/8235 7932/8271	8352/8564 8261/8600	8026/8238 7935/8274	8433/8645 8342/8681
		本発明のコード領域	330/9359	1/9033	342/9439
アミノ酸	NS5B	2675/2745 2645/2757	2675/2745 2645/2757	2676/2746 2646/2758	2698/2768 2668/2780

10

20

第 1 表： 本発明において用いられる HCV ヌクレオチドおよびアミノ酸ナンバリングシステム (*) と他のプロトタイプ単離体について用いられるナンバリングとの比較。例えば、8352/8564 は、Kato et al. (1990) によって開示されているヌクレオチド 8352 からヌクレオチド 8564 までのナンバリングによって示される領域を示す。本発明のナンバリングシステムは、ポリタンパク開始部位で始まるので、Kato et al. (1990) によって開示されている 5' 非翻訳領域の 329 ヌクレオチドが差し引かれるべきであり、対応する領域は、ヌクレオチド 8023 (「8352-329」) から 8235 (「8564-329」) まで番号が付される。

【0027】

「遺伝子型」なる用語は、本発明で用いる場合、タイプおよび/またはサブタイプの両方を示す。

30

【0028】

「HCV タイプ」なる用語は、グループの他の単離体のポリタンパクに対して、完全ゲノムが核酸レベルで 73 % を超える、好ましくは 74 % を超えるホモロジーを示すか、または、ヌクレオチド位置 7932 ~ 8271 間の NS5 領域が核酸レベルで 75.4 % を超えるホモロジーを示すか、または、完全 HCV ポリタンパクがアミノ酸レベルで 78 % を超えるホモロジーを示すか、または、アミノ酸位置 2645 ~ 2757 間の NS5 領域がアミノ酸レベルで 80 % を超えるホモロジーを示す HCV 単離体のグループに対応する (ここで、該ナンバリングは、HCV-J 単離体 (Kato et al., 1990) の長い HCV ポリタンパクの最初の ATG コドンまたは最初のメチオニンで始まる)。HCV の異なるタイプに属する単離体は、完全ゲノムに関して、核酸レベルで 74 % 未満、好ましくは 73 % 未満、アミノ酸レベルで 78 % 未満のホモロジーを示す。同一タイプに属する単離体は、通常、同一サブタイプに属する場合、核酸レベルで約 90 ~ 99 %、アミノ酸レベルで 95 ~ 96 % のホモロジーを示し、同一タイプに属するが異なるサブタイプに属する単離体は、好ましくは、核酸レベルで約 76 % ~ 82 % (さらに詳しくは、約 77 % ~ 80 %)、アミノ酸レベルで 85 ~ 86 % のホモロジーを示す。

40

【0029】

さらに好ましくは、HCV タイプの定義は、以下に詳述するように、算出されたヌクレオチド距離に従って HCV 単離体の分類により推断される：

【0030】

(1) ヌクレオチド 7935 ~ 8274 間 (Choo et al., 1991) または 8261 ~ 8

50

600間 (Kato et al., 1990) または 8342 ~ 8681 間 (Okamoto et al., 1991) の NS5B 領域における核酸配列の系統発生的分析に基づいて、同一 HCV タイプに属する単離体は、0.34 未満、一般的には 0.33 未満、さらに一般的には 0.32 未満のヌクレオチド距離を示し、同一サブタイプに属する単離体は、0.135 未満、一般的には 0.13 未満、さらに一般的には 0.125 未満、一般的には 0.0003 ~ 0.1151 の範囲のヌクレオチド距離を示し、その結果、同一タイプに属するが異なるサブタイプに属する単離体は、0.135 ~ 0.34 の範囲、一般的には 0.1384 ~ 0.2977 の範囲、さらに一般的には 0.15 ~ 0.32 の範囲のヌクレオチド距離を示し、異なる HCV タイプに属する単離体は、0.34 より大きい、一般的には 0.35 より大きい、さらに一般的には 0.358 より大きい、さらに一般的には 0.3581 ~ 0.6670 の範囲のヌクレオチド距離を示す。

10

【0031】

(2) ヌクレオチド 378 ~ 957 間のコア / E1 領域における核酸配列の系統発生的分析に基づいて、同一 HCV タイプに属する単離体は、0.38 未満、一般的には 0.37 未満、さらに一般的には 0.364 未満のヌクレオチド距離を示し、同一サブタイプに属する単離体は、0.17 未満、一般的には 0.16 未満、さらに一般的には 0.15 未満、さらに一般的には 0.135 未満、さらに一般的には 0.134 未満のヌクレオチド距離を示し、その結果、同一タイプに属するが異なるサブタイプに属する単離体は、0.15 ~ 0.38 の範囲、一般的には 0.16 ~ 0.37 の範囲、さらに 0.17 ~ 0.36 の範囲、さらに一般的には 0.133 ~ 0.379 の範囲のヌクレオチド距離を示し、異なる HCV タイプに属する単離体は、0.34、0.35、0.36 より大きい、一般的には 0.365 より大きい、さらに一般的には 0.37 より大きいヌクレオチド距離を示す。

20

【0032】

【表2】

第2表：分子進化距離

領域	コア / E1 579 b p	E1 384 b p	NS5B 340 b p	NS5B 222 b p
単離体*	0.0017-0.1347 (0.0750±0.0245)	0.0026-0.2031 (0.0969±0.0289)	0.0003-0.1151 (0.0637±0.0229)	0.000-0.1323 (0.0607±0.0205)
サブタイプ*	0.1330-0.3794 (0.2786±0.0363)	0.1645-0.4869 (0.3761±0.0433)	0.1384-0.2977 (0.2219±0.0341)	0.117-0.3538 (0.2391±0.0399)
タイプ*	0.3479-0.6306 (0.4703±0.0525)	0.4309-0.9561 (0.6308±0.0928)	0.3581-0.6670 (0.4994±0.0495)	0.3457-0.7471 (0.5295±0.0627)

30

40

第2表 * PHYLIP プログラム DNADIST によって得られた数字は、最小から最大まで (平均±標準偏差) として表される。同一サブタイプに属する単離体 (「単離体」)、同一タイプの異なるサブタイプに属する単離体 (「サブタイプ」)、および異なるタイプに属する単離体 (「タイプ」) についての系統発生的距離が示される。

【0033】

入手可能な配列の比較系統発生的分析において、ゲノムの種々の領域についての分子進化距離の範囲を、系統発生推論パッケージ PHYLIP バージョン 3.5c の DNADIST

50

S T プログラム (Felsenstein, 1993) による 19,781 ペアワイズ比較に基づいて算出した。結果は、第 2 表に示されており、各領域において得られた距離の大部分がある種の単離体の分類に適合しているが、340bp NS5B 領域において得られた範囲のみが重複せず、したがって決定的であることを示す。しかしながら、本発明で行われたように、所定の単離体の最終分類前に少なくとも 2 つの領域から配列情報を得るのが好ましい。

【0034】

H C V の種々のタイプへの番号の付与および H C V 命名は、種々のタイプの発見年代順に基づいている。本発明において用いられるナンバリングシステムは、国際的な協定またはガイドラインによって変動するかもしれない。例えば、「タイプ 4」が「タイプ 5」または「タイプ 6」に変わるかもしれない。タイプおよびサブタイプおよび単離体の間の任意に選択された境界距離もまた、国際的なガイドラインまたは協定によって変わる対象である。したがって、タイプ 7a、8a、8b、9a は、例えば、将来、6b、6c、6d および 6d と称されるかもしれない；遺伝子型 3 との関係を示すタイプ 10a は、10a の代わりに 3g と記されるかもしれない。

10

【0035】

「サブタイプ」なる用語は、同一グループの他の単離体のゲノムの対応する部分に対して、完全ポリタンパクが核酸およびアミノ酸レベルで共に 90% より大きなホモロジーを示すか、またはヌクレオチド位置 7932 ~ 8271 間の NS5 領域が核酸レベルで 90% より大きなホモロジーを示す H C V 単離体のグループに対応する（ここで、ナンバリングは、H C V ポリタンパクの開始コドンのアデニン残基で始まる）。H C V の同一タイプに属するが異なるサブタイプに属する単離体は、核酸レベルで 74% より大きく、アミノ酸レベルで 78% より大きなホモロジーを示す。

20

【0036】

E 1 領域、E 2 領域および NS 4 領域などの非常に変化し得る領域がポリタンパクの完全ゲノムの平均ホモロジーよりも低いホモロジーを示すことが分かる。

これらの基準を用いて、H C V 単離体を少なくとも 11 種類のタイプに分類することができる。タイプ 1、2、3、4 および 7 において、いくつかのサブタイプを明確に識別できる；5'UR およびコード領域のホモロジーに基づいて 1a、1b、1c、1d、1e、1f、1g、2a、2b、2c、2d、2e、2f、2g、2h、2i、2k、2l、3a、3b、3c、3d、3f、3g、4a、4b、4c、4d、4e、4f、4g、4h、4i、4j、4k、4l、4m、7a、7c および 7d。報告された単離体および本発明の分類システムによるそれらの提案された分類ならびに他の提案された分類のほとんどの概観を第 3 表に示す。

30

【0037】

【表 3】

第3表
HCV分類

	OKA- MOTO	MORI	CHA	NAKAO	プロトタイプ	
1 a	I	I	P t	G I	H C V - 1、H C V - H、H C - J 1	
1 b		II	K I	G II	H C V - J、H C V - B K、H C V - T 、 H C - J K 1、H C - J 4、H C V - C H I N A	10
1 c					H C - G 9	
2 a	III	III	K 2 a	G III	H C - J 6	
2 b	IV	IV	K 2 b	G III	H C - J 8	
2 c					S 8 3、A R G 6、A R G 8、I 1 0、 T 9 8 3	
2 d					N E 9 2	
3 a	V	V	K 3	G IV	B R 3 6、B R 5 6、H D 1 0、N 2 L 1、B R 3 3、T a、E - b 1	
3 b		VI	K 3	G IV	H C V - T R、T b、N E 1 3 7	
3 c					N E 4 8	20
3 d					N E 2 7 4	
3 e					N E 1 4 5	
3 f					N E 1 2 5	
4 a					Z 4、G B 8 0 9 - 4	
4 b					Z 1	
4 c					G B 1 1 6、G B 3 5 8、G B 2 1 5、 Z 6、Z 7	
4 d					D K 1 3	
4 e					G B 8 0 9 - 2、C A M 6 0 0、C A M 7 3 6	30
4 f					C A M 6 2 2、C A M 6 2 7	
4 g					G B 5 4 9	
4 h					G B 4 3 8	
4 i					C A R 4 / I 2 0 5	
4 j					C A R 1 / 9 0 5	
5 a					G V S A 3、S A 4、S A 1、S A 7、 S A 1 1、B E 9 5	
6 a					H K 1、H K 2、H K 3、H K 4、V N 1 1	
第3表 の概観	種々の著者によって分類された既知のHCVタイプおよびサブタイプ					40

【0038】

「相補体 (complement)」なる用語は、所定の配列と相補的であり、かつ、所定の配列にハイブリダイズすることができるヌクレオチド配列を表す。

【0039】

本発明の組成物は、多くの組合せからなり得る。例えば、本発明の組成物は、同一領域からの2つ（またはそれ以上）の核酸または、同一単離体についてまたは異なる単離体について、各々異なる領域からの2つ（または

それ以上)の核酸、

または同一領域および少なくとも2つの異なる領域からの核酸(同一単離体についてまたは異なる単離体について)からなり得る。

【0040】

本発明は、特に、配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21、23、25、27、29、31、33、35、37、39、41、43、45、47、49、51、53、55、57、59、61、63、65、67、69、71、73、75、77、79、81、83、85、87、89、91、93、95、97、99、101、103~105から選択された配列を有する前記定義のポリ核酸、または、第5表に示しているHCVサブタイプまたはタイプに固有であり、かつ、既知のHCVポリ核酸と異なる少なくとも1つのヌクレオチドを含有する該ポリ核酸の一部、またはその相補体に関する。

10

【0041】

さらに詳しくは、本発明は、5'UR、コア/E1領域、NS4領域またはNS5B領域をコードする前記定義のポリ核酸またはその一部に関する。

【0042】

さらに詳しくは、本発明は、cDNA配列である前記定義のポリ核酸に関する。

【0043】

主にオリゴヌクレオチドの末端(3'または5'のいずれか)での1以上のヌクレオチドの欠失および/または挿入、特に、1以上のコドンの挿入または欠失、またはいくつかの可欠ヌクレオチド(すなわち、HCVの異なる遺伝子型間で識別するのに不可欠ではないヌクレオチド)の他のヌクレオチド(修飾ヌクレオチドおよび/またはイノシンを含む)による置換(例えば、タイプ1または2配列は、例えば図1および2に示されるようにタイプ1または2配列のいくつかのヌクレオチドをタイプ7のタイプ特異的ヌクレオチドと置換することによってタイプ7配列に修飾される)を含有する、前記配列番号で与えられるヌクレオチド配列から選択されるポリ核酸の配列変異体も本発明の範囲内に含まれる。

20

【0044】

本発明の特に好ましい変異体ポリ核酸としては、ストリンジェントな条件下、本発明のポリ核酸配列とハイブリダイズする配列が挙げられる。特に、前記のような本発明のポリ核酸と高いホモロジー(類似性)を示す配列、特に、本発明のポリ核酸配列と少なくとも80%、85%、90%、95%またはそれ以上相同である配列が挙げられる。好ましくは、該配列は、ポリ核酸配列の初期ヌクレオチドの20%未満、15%未満、10%未満または5%未満の変異を有するであろう。

30

【0045】

配列番号によって示される配列と相同である本発明のポリ核酸配列は、配列特異的プライマーによる増幅、多少ストリンジェントな条件下での配列特異的プローブとのハイブリダイゼーション、血清スクリーニング方法またはLIPA分類システムを介してなどの当該技術分野で知られている技術に従って特徴付けられ、単離することができる。

【0046】

本発明の他の好ましい変異体ポリ核酸としては、本発明の前記ポリ核酸と比較して遺伝暗号の縮重の結果として余分である配列が挙げられる。したがって、これらの変異体ポリ核酸配列は、それらが誘導されるポリ核酸と同一のアミノ酸配列をコードするであろう。

40

【0047】

本明細書に記載のタイプ1サブタイプ1d、1e、1fまたは1g単離体;タイプ2サブタイプ2e、2f、2g、2h、2i、2kまたは2l単離体;タイプ3サブタイプ3g単離体;タイプ4サブタイプ4k、4lまたは4m単離体;タイプ7サブタイプ7a、7cまたは7d単離体;タイプ9、タイプ10またはタイプ11単離体から容易に得ることができる5'非コード領域配列も本発明の範囲内に含まれる。かかる配列は、Stuyver et al. (1993)によって開示されているようなタイプ特異的および/またはサブタイプ特

50

異的ハイブリダイゼーションアッセイのために用いることができるタイプ特異的またはサブタイプ特異的モチーフを含有してよい。

【0048】

本実施例、図面および配列リストに記載されていない領域からの前記ゲノムのポリ核酸配列は、本発明の図1に示されるこれらの新規ゲノムの配列から適切なプライマーを用いる増幅技術などの当該技術分野で知られている技術のいずれによっても得ることができる。

【0049】

本発明は、前記定義のポリ核酸の一部からなるオリゴヌクレオチドプライマーであって、該プライマーが誘導される遺伝子型に属するあるHCV単離体の核酸を特異的に増幅させるためのプライマーとして機能することができるオリゴヌクレオチドプライマーにも関する。

10

【0050】

「プライマー」なる用語は、コピーしようとする核酸鎖と相補的であるプライマー伸長産生物の合成のための開始点として作用する能力を有する一本鎖DNAオリゴヌクレオチド配列を意味する。該プライマーの長さおよび配列は、該伸長産生物の合成をプライムさせるようなものでなければならない。好ましくは、該プライマーは、約5～50ヌクレオチドである。特異的な長さおよび配列は、必要とされるDNAまたはRNA標的の複雑さならびに温度およびイオン強度などのプライマーの使用条件に依存するであろう。

【0051】

20

増幅プライマーが適正な増幅を保証するために対応する鋳型配列と正確に適合しなくてよいということは、文献(Kwok et al., 1990)に詳細に開示されている。

【0052】

用いられる増幅法は、ポリメラーゼ連鎖反応(PCR; Saiki et al., 1988)、リガーゼ連鎖反応(LCR; Landgren et al., 1988; Wu & Wallace, 1989; Barany, 1991)、核酸配列をベースとする増幅(NASBA; Guatelli et al., 1990; Compton, 1991)、転写をベースとする増幅システム(TAS; Kwok et al., 1989)、鎖置換増幅(SDA; Duck, 1990; Walker et al., 1992)またはQレプリカーゼによる増幅(Lizardi et al., 1988; Lomeli et al., 1989)またはプライマー伸長を用いて核酸分子を増幅させるための他の適切な方法であってもよい。増幅の間、増幅産生物は、好都合には、標識プライマーを用いるかまたは標識ヌクレオチドを取り込むことによって標識することができる。標識は、同位体(32P、35Sなど)であってもまたは非同位体(ビオチン、ジギシゲニンなど)であってもよい。増幅反応は、20～70回、好都合には、25～45回繰り返す。

30

【0053】

本発明は、前記ポリ核酸の一部からなるオリゴヌクレオチドプローブであって、該ヌクレオチド配列を含有するHCV核酸の特異的検出および/またはそのタイプおよび/またはサブタイプへの分類のためのハイブリダイゼーションプローブとして機能することができる、出来る限り標識化されているかまたは固体基質に結合することができるオリゴヌクレオチドプローブにも関する。

40

【0054】

「プローブ」なる用語は、検出しようとするHCV遺伝子型の標的配列と相補的である配列を有する一本鎖配列特異的オリゴヌクレオチドを意味する。

【0055】

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

【0056】

「固体支持体」なる用語は、オリゴヌクレオチドプローブを結合することができる基質を意味することができる。ただし、そのハイブリダイゼーション特徴を保持し、ハイブリダイゼーションのバックグラウンドレベルは低いままである。通常、固体基質は、マイク

50

ロタイタープレート、膜（例えば、ナイロンまたはニトロセルロース）またはマイクロスフェア（ビーズ）であろう。該膜への適用または固定前に、固定を容易にするかまたはハイブリダイゼーション効率を改良するために核酸プローブを修飾するのが好都合である。かかる修飾は、ホモポリマーテーリング、脂肪族基、NH₂基、SH基、カルボン酸基のような種々の反応性基とのカップリング、またはビオチンもしくはハプテンとのカップリングを包含する。

【0057】

本発明は、前記定義のプライマーを含有してなることを特徴とするHCVの遺伝子型の決定に用いるための診断用キットに関する。

【0058】

本発明は、前記定義のプローブを含有してなることを特徴とするHCVの遺伝子型の決定に用いるための診断用キットに関する。

【0059】

本発明は、プローブが固体基質に結合されている、前記定義の診断用キットにも関する。

【0060】

本発明は、一群のプローブが固体基質上で特異的な位置に結合される、前記定義の診断用キットにも関する。

【0061】

本発明は、固体支持体が膜ストリップであり、プローブが平行線の形で膜に結合されている前記定義の診断用キットにも関する。

【0062】

本発明は、また、

(i) 試料核酸を出来る限り抽出し、

(ii) 該核酸を、前記定義の少なくとも1つのプライマーを用いて増幅させ、

(iii) 増幅した核酸を検出すること

からなることを特徴とする、生物学的試料中に存在するHCV核酸の検出方法にも関する。

【0063】

本発明は、また、

(i) 試料核酸を出来る限り抽出し、

(ii) 該核酸を、前記定義の少なくとも1つのプライマーまたはユニバーサルHCVプライマーを用いて出来る限り増幅させ、

(iii) 該生物学的試料の核酸を、出来る限り変性条件下、前記定義の1つ以上のプローブを用いて適切な条件下でハイブリダイズさせ（ここで、該プローブは、好ましくは、固体基質に結合されている）、

(iv) 適切な条件下で出来る限り洗浄し、

(v) 形成されたハイブリッドを検出すること

からなることを特徴とする、生物学的試料中に存在するHCV核酸の検出方法にも関する。

【0064】

本発明は、また、

(i) 試料核酸を出来る限り抽出し、

(ii) 該核酸を、前記定義の少なくとも1つのプライマーを用いて特異的に増幅させ、

(iii) 増幅した核酸を検出すること

からなる、生物学的試料中に存在する1以上のHCV遺伝子型の存在の検出方法にも関する。

【0065】

本発明は、また、

(i) 試料核酸を出来る限り抽出し、

(ii) 該核酸を、前記定義の少なくとも 1 つのプライマーまたはユニバーサル H C V プライマーを用いて出来る限り増幅させ、

(iii) 該生物学的試料の核酸を、出来る限り変性条件下で、前記定義の 1 以上のプローブを用いて適切な条件下でハイブリダイズさせ（ここで、該プローブは、好ましくは、固体基質に結合されている）、

(iv) 適切な条件下で出来る限り洗浄し、

(v) 形成されたハイブリッドを検出し、

(vi) 観察されたハイブリダイゼーションパターンから存在する 1 以上の H C V 遺伝子型の存在を推断すること

からなることを特徴とする、生物学的試料中に存在する 1 以上の H C V 遺伝子型の存在の検出方法にも関する。 10

【0066】

本発明は、プローブが前記定義のようにさらに特徴付けられる、前記定義の方法にも関する。

【0067】

本発明は、核酸が増幅の間または後に標識される、前記定義の方法にも関する。

【0068】

好ましくは、この技術は、5'非コード領域、コア領域または NS 5 B 領域において行われる。

【0069】

「核酸」なる用語は、分析鎖と記されることもあり、一本鎖または二本鎖核酸分子に相当する。この分析鎖は、好ましくは、正または負のストランド RNA、cDNA または増幅 cDNA である。 20

【0070】

「生物学的試料」なる用語は、H C V 核酸配列を含有する生物学的試料（組織または液体）を意味し、特に、血清試料または血漿試料を意味する。

【0071】

「ユニバーサル H C V プライマー」なる用語は、H C V ゲノムの保存される領域に相補的なオリゴヌクレオチド配列を意味する。

【0072】

「適切な」ハイブリダイゼーションおよび洗浄条件は、ストリンジェントであると解され、当該技術分野で一般に知られている（例えば、Maniatis et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual, New York, Cold Spring Harbor Laboratory, 1982）。 30

【0073】

しかしながら、これらのプローブは、十分な特異性を得るために、ハイブリダイゼーション溶液（SSC、SSPE など）に従って、それらの適切な温度でハイブリダイズされるべきである。

【0074】

「標識された」なる用語は、標識核酸の使用を意味する。これは、Saiki et al. (1988) または Bej et al. (1990) によって開示されているような増幅のポリメラーゼ工程の間に取り込まれる標識ヌクレオチドの使用、標識プライマーの使用または当業者に知られている他の方法による使用を含む。 40

【0075】

本発明の方法は、前記定義のプローブを以下の要素：

核酸がハイブリダイゼーションのために利用され得る生物学的試料、

または生物学的試料に含有される精製した核酸、

または精製した核酸から誘導された単一コピー、

または精製した核酸から誘導された増幅コピー

のうちの 1 つと接触させる工程からなる（ここで、該要素または該プローブは、固体基質に結合されている）。 50

【0076】

「観察されたハイブリダイゼーションパターンから存在する1以上のHCV遺伝子型の存在を推断すること」なる表現は、オリゴヌクレオチドプローブの一団の結合パターンを分析することによる試料中のHCVゲノムの存在の同定を意味する。単一プローブは、試料中のHCVゲノムの存在または不在に関する有用な情報を提供する。他方、HCVゲノムの変異は、実際に分散されており、特異的HCVゲノムを固有に同定できるいずれか1つのプローブであるのは非常に稀である。むしろ、HCV遺伝子型の同一性は、異なるHCVゲノムの（異なる）セグメントに対して特異的であるオリゴヌクレオチドプローブの一団の結合パターンから推断される。これらのオリゴヌクレオチドプローブの選択に依存して、各既知のHCV遺伝子型は、プローブの特異的組合せの使用による特異的なハイブリダイゼーションパターンに対応するであろう。各HCV遺伝子型は、オリゴヌクレオチドプローブの選択に依存して、同一プライマーを用いて増幅された他のHCV遺伝子型と区別され得るであろう。1以上の未知のHCV配列を含有する試料についての有効にハイブリダイズするプローブの発生パターンの、予想されるハイブリダイゼーションパターンのスキームとの比較により、該試料中に存在するHCV遺伝子型が明らかに推断される。

10

【0077】

したがって、本発明は、1以上のハイブリダイゼーションプローブが配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21、23、25、27、29、31、33、35、37、39、41、43、45、47、49、51、53、55、57、59、61、63、65、67、69、71、73、75、77、79、81、83、85、87、89、91、93、95、97、99、101、103もしくは105または前記定義のその配列変異体から選択される前記定義の方法に関する。

20

【0078】

増幅HCVゲノムをお互いに区別するために、標的ポリ核酸を、HCVポリ核酸中に位置するHCV遺伝子型領域（固有の領域）を標的とする1組の配列特異的DNAプローブにハイブリダイズさせる。

【0079】

これらのプローブのほとんどは、HCV遺伝子型の最もタイプまたはサブタイプ特異的な領域を標的とするが、いくつかは、2以上のHCV遺伝子型とのハイブリダイゼーションを生じることができる。

30

【0080】

これらのプローブは、充分な特異性を得るためには、ハイブリダイゼーション溶液（SSC、SSPEなど）に従って、それらの適切な温度でストリンジェントにハイブリダイズされるべきである。しかしながら、DNAプローブをわずかに修飾することによって、それらの末端（3'または5'のいずれか）で1個または数個のヌクレオチドを付加または欠失するかまたはいくつかの可欠ヌクレオチド（すなわち、タイプ間で識別するのに不可欠ではないヌクレオチド）を他のヌクレオチド（すなわち、修飾ヌクレオチドまたはイノシンを含む）によって置換することによって、これらのプローブまたはその変異体は、同一ハイブリダイゼーション条件（すなわち、同一温度および同一ハイブリダイゼーション溶液）下で特異的なハイブリダイゼーションを生じることができる。プローブの使用量（濃度）を変化させることもまた、より特異的なハイブリダイゼーション結果を得るのに有益である。これに関連して、同一の長さのプローブは、それらのGC含量に関係なく、TMAIC溶液（Jacobs et al., 1988）中でほぼ同一温度で特異的にハイブリダイズするであろう。

40

【0081】

試料中、オリゴヌクレオチドプローブと核酸配列との間で形成されたハイブリッドを検出するという本発明の目的のための好適なアッセイ方法は、例えば、慣用のドット・プロット・フォーマット、サンドイッチハイブリダイゼーションまたはリバースハイブリダイゼーションなどの当該技術分野で知られているアッセイフォーマットからなる。例えば、該検出は、ドット・プロット・フォーマットを用い、非標識増幅試料を膜に結合させ、該

50

膜を好適なハイブリダイゼーション条件および洗浄条件下で少なくとも1つの標識プローブと一体化させ、結合したプローブの存在をモニターすることによって行うことができる。

【0082】

別の好ましい方法は、増幅配列が標識を含有する「リバーサ」ドット・プロット・フォーマットである。このフォーマットでは、非標識オリゴヌクレオチドプローブは、固体支持体に結合され、適当なストリンジェントハイブリダイゼーション条件および次なる洗浄条件下で標識試料に暴露される。試料の核酸と本発明のオリゴヌクレオチドプローブとの間のハイブリッドの形成を頼みにする他のアッセイも用いることができると解されるべきである。

10

【0083】

好都合な具体例によると、生物学的試料中に含有される1以上のHCV遺伝子型を検出するプロセスは、生物学的試料から誘導された増幅HCV核酸コピーを、固体支持体上に平行線の状態に固定したオリゴヌクレオチドプローブと接触させる工程からなる。

【0084】

この好都合な方法によると、該プローブは、ライン・プローブ・アッセイ(LiPA)フォーマットにおいて固定される。これは、好都合にはいくつかのオリゴヌクレオチドプローブ(負または正の対照オリゴヌクレオチドを含む)を平行線状に適用することができる膜ストリップを用いるリバーサハイブリダイゼーションフォーマット(Saiki et al., 1989)である。

20

【0085】

したがって、本発明は、平行線の形に支持体上に結合した1以上の前記プローブを表面上に担持する固体支持体、好ましくは膜ストリップに関する。

【0086】

LiPAは、非常に迅速かつ使用者にやさしいハイブリダイゼーション試験である。結果は、増幅開始から4時間後に測定することができる。通常非同位体標識を増幅産生物中に取り込む増幅、およびアルカリ変性の後、増幅産生物を膜上でプローブと接触させ、約1~1.5時間、ハイブリダイゼーションを行い、ハイブリダイズしたポリ核酸を検出する。生じたハイブリダイゼーションパターンから、視覚的に、しかし好ましくは専用のソフトウェアを用いて、HCVタイプを導き出すことができる。LiPAフォーマットは、市販のスキャニング装置と完全に適合しており、したがって、結果の自動解釈を非常に信頼できるものにする。これらの利点全ては、ルーチン設定においてLiPAフォーマットをHCV検出に使用し易いものになっている。該LiPAフォーマットは、異なるHCV遺伝子型の存在を検出するのに特に優れている。

30

【0087】

本発明は、また、以下の工程：

前記定義のプロセスにより生物学的試料中に存在するヌクレオチドがいずれのHCV遺伝子型に属するかを決定し、

第3表において定義されるものに適合したハイブリダイゼーションパターンを生じない試料が見られる場合、決定しようとする新規HCV遺伝子型の異常にハイブリダイズするプローブに対応するHCVゲノム配列の部分を配列決定することからなる、既知のHCVゲノムとは異なる新規HCV遺伝子型の検出および同定方法にも関する。

40

【0088】

本発明は、本発明のポリ核酸の製造方法にも関する。これらの方法としては、ポリ核酸を製造するための当該技術分野で知られている方法が挙げられる(例えば、Agarwal et al. 1972, Agnew. Chem. Int. Ed. Engl. 11:451によって開示されているオリゴヌクレオチド合成のためのホスホジエステル法、Hsiung et al. 1979, Nucleic Acid Res. 6:1371のホスホトリエステル法、またはBaecage et al. 1981, Tetrahedron Letters 22:1859-1862の自動ジエチルホスホロアミダイト法)。別法としては、本発明のポリ核酸は、天然

50

またはクローン化DNAまたはRNAの単離フラグメントである。さらに、本発明のオリゴヌクレオチドは、種々の製造会社によって販売されている市販の装置で自動的に合成してもよい。

【0089】

本発明は、特に、前記ポリ核酸によってコードされたアミノ酸配列を有するポリペプチド、または、第5表において定義されたHCVサブタイプもしくはタイプのうちの少なくとも1つに固有であり、かつ、既知のHCVタイプまたはサブタイプと異なる少なくとも1つのアミノ酸を含有するその一部、または、実質的に相同であり生物学的に等価であるそのアナログにも関する。

【0090】

「ポリペプチド」なる用語は、アミノ酸のポリマーを意味し、産生物の特定の長さを意味しない；したがって、ペプチド、オリゴペプチドおよびタンパクは、該ポリペプチドの定義の範囲内に含まれる。この用語は、ポリペプチドの発現後修飾、例えば、グリコシル化、アセチル化、リン酸化などを意味しないかまたは除外する。例えば、アミノ酸の1以上のアナログ（例えば、非天然アミノ酸、PNAなどを含む）を含有するポリペプチド、天然および非天然の置換された結合および当該技術分野で知られている他の修飾を有するポリペプチドは、この定義の範囲内に含まれる。

【0091】

「固有」なる用語は、前記されている。

【0092】

本明細書および請求の範囲の全体にわたって用いる場合、「生物学的に等価」とは、組成物が前記および以下に定義する本発明のタンパク（ポリペプチド）またはペプチドと免疫学的に等価であることを意味する。

【0093】

タンパクおよびペプチドの記載を確実にするために本明細書および請求の範囲の全体にわたって用いる場合、「実質的に相同」とは、アミノ酸配列における本発明のタンパクまたはペプチドに対するホモロジーの程度を意味する。好ましくは、ホモロジーの程度は、90を超え、好ましくは95を超え、タンパクの特に好ましいグループは、本発明のタンパクまたはペプチドと99を超えて相同である。

【0094】

本発明のタンパクまたはペプチドを記載するために本明細書または請求の範囲の全体にわたって用いる場合、「アナログ」としては、1以上の残基が生物学的に等価な残基で保存的に置換された本明細書に詳細に示される配列と実質的に同一のアミノ酸残基配列を有するタンパクまたはペプチドが挙げられる。保存的置換の例としては、イソロイシン、バリン、ロイシンまたはメチオニンなどの1つの極性（疎水性）残基の他の残基との置換、アルギニンとリシンとの間、グルタミンとアスパラギンとの間、グリシンとセリンとの間のような1つの極性（親水性）残基の他の残基との置換、リシン、アルギニンまたはヒスチジンなどの1つの塩基性残基の他の残基との置換、またはアスパラギン酸またはグルタミン酸などの1つの酸性残基の他の残基との置換が挙げられる。本発明の突然変異の例は、第4表に見ることができる。

【0095】

「保存的置換」なるフレーズは、得られたタンパクまたはペプチドが本発明のタンパクまたはペプチドと生物学的に等価であることを条件に、非誘導残基の代わりに化学的に誘導された残基の使用を含む。

【0096】

「化学的誘導体」とは、官能性側鎖基の反応によって化学的に誘導された1以上の残基を有するタンパクまたはペプチドを意味する。このように誘導された分子の例としては、限定されないが、遊離アミノ基が誘導されてアミン塩酸塩を形成する分子、p-トルエンスルホニル基、カルボベンゾオキシ基、t-ブチルオキシカルボニル基、クロルアセチル基またはホルミル基が挙げられる。遊離カルボキシル基は、誘導されて、塩、メチルおよ

10

20

30

40

50

びエチルエステルもしくは他のタイプのエステルまたはヒドラジドを形成する。遊離ヒドロキシル基は、誘導されて、O - アシルまたはO - アルキル誘導体を形成する。ヒスチジンのイミダゾール窒素は、誘導されて、N - イムベンジルヒスチジンを形成する。20の標準的なアミノ酸の1以上の天然アミノ酸誘導体を含むタンパクまたはペプチドも化学的誘導体として挙げられる。例えば：4 - ヒドロキシプロリンは、プロリンの代わりに用いられる；5 - ヒドロキシリシンは、リシンの代わりに用いられる；3 - メチルヒスチジンは、ヒスチジンの代わりに用いられる；ホモセリンは、セリンの代わりに用いられる；オルニチンは、リシンの代わりに用いられる。本発明のタンパクまたはペプチドとしては、配列が本明細書に示されているペプチドの配列と比較して残基の1以上の付加および/または欠失または残基を有するタンパクまたはペプチドも、該ペプチドが本発明のタンパクまたはペプチドと生物学的に等価である限り含まれる。

10

【0097】

アミノ酸配列のレベルで、少なくとも1つのアミノ酸差異（既知のHCVアミノ酸配列に関する）は、十分に本発明の一部であり、これが、本発明のポリペプチドが、コードされたポリタンパクにおけるアミノ酸差異を含む少なくとも1つのヌクレオチド差異（既知のHCVポリ核酸配列に関する）を有するポリ核酸に対応することを意味する。

【0098】

NS4領域およびコア領域は、例えば特許出願EP-A-0 489 968において特徴付けられているいくつかのエピトープを含むことが知られており、E1タンパクは、ウイルスエンベロープの一部として免疫攻撃されると予想され、かつ、エピトープを含むと予想され、本明細書に記載している新しいタイプおよびサブタイプのNS4エピトープ、コアエピトープおよびE1エピトープは、従前に知られている遺伝子型に存在するエピトープとは一貫して異なるであろう。これは、Simmonds et al. (1993c) およびStuyver et al. (1993b) およびPCT/EP94/01323に開示されているNS4合成ペプチドのタイプ特異性およびMaertens et al. (1994) に開示されている組換えE1タンパクのタイプ特異性によって例示される。

20

【0099】

本発明のペプチドは、好ましくは、少なくとも3個、好ましくは、4個、5個の隣接するHCVアミノ酸、6個、7個、好ましくは少なくとも8個の隣接するHCVアミノ酸、少なくとも10個または少なくとも15個（例えば、少なくとも9個、10個、11個、12個、13個、14個、15個、16個、17個、19個、20個、21個、22個、23個、24個、25個、30個、35個、40個、45個、50個またはそれ以上）の

30

【0100】

【表 4】

第 4 表	
アミノ酸	同義の基
Ser (S)	Ser、Thr、Gly、Asn
Arg (R)	Arg、His、Lys、Glu、Gln
Leu (L)	Leu、Ile、Met、Phe、Val、Tyr
Pro (P)	Pro、Ala、Thr、Gly
Thr (T)	Thr、Pro、Ser、Ala、Gly、His、Gln
Ala (A)	Ala、Pro、Gly、Thr
Val (V)	Val、Met、Ile、Tyr、Phe、Leu、Val
Gly (G)	Gly、Ala、Thr、Pro、Ser
Ile (I)	Ile、Met、Leu、Phe、Val、Ile、Tyr
Phe (F)	Phe、Met、Tyr、Ile、Leu、Trp、Val
Tyr (Y)	Tyr、Phe、Trp、Met、Ile、Val、Leu
Cys (C)	Cys、Ser、Thr、Met
His (H)	His、Gln、Arg、Lys、Glu、Thr
Gln (Q)	Gln、Glu、His、Lys、Asn、Thr、Arg
Asn (N)	Asn、Asp、Ser、Gln
Lys (K)	Lys、Arg、Glu、Gln、His
Asp (D)	Asp、Asn、Glu、Gln
Glu (E)	Glu、Gln、Asp、Lys、Asn、His、Arg
Met (M)	Met、Ile、Leu、Phe、Val
第 4 表 前記定義のアナログ（突然変異体）の基礎をなすアミノ酸置換の概観	

10

20

【0101】

本発明のポリペプチド、特に該フラグメントは、古典的な化学合成によって製造することができる。

30

【0102】

該合成は、均質溶液または固相において行うことができる。

【0103】

例えば、用いることができる均質溶液における合成技術は、E. Wunshによって編集された「Methode der organischen chemie」なる題名の本（vol.15-1 et II. THIEME, Stuttgart 1974）においてHoubenweylによって開示されているものである。

【0104】

本発明のポリペプチドは、「Solid phase peptide synthesis」なる題名の本（IRL Press, Oxford, 1989）においてAthertonおよびShepardによって開示されている方法に従って固相において製造することもできる。

40

【0105】

本発明のポリペプチドは、Maniatis et al.（Molecular Cloning: A Laboratory Manual, New York, Cold Spring Harbor Laboratory, 1982）によって開示されている組換えDNA技術によって製造することができる。

【0106】

本発明は、特に、アミノ酸配列において以下のアミノ酸残基のうち少なくとも1つを含有してなる前記定義のポリペプチド、または第5表において定義されるHCVサブタイプまたはタイプのうち少なくとも1つに固有であり、かつ、既知のHCVタイプまたはサブタイプと異なる少なくとも1つのアミノ酸を含有するその一部、または、該ポリペプチドもしくはその一部と実質的に相同であり生物学的に等価であるそのアナログに関する：I

50

15、C38、V44、A49、Q43、P49、Q55、A58、S60またはD60、E68またはV68、H70、A71またはQ71またはN71、D72、H81、H101、D106、S110、L130、I134、E135、L140、S148、T150またはE150、Q153、F155、D157、G160、E165、I169、F181、L186、T190、T192またはI192またはH192、I193、A195、S196、R197またはN197またはK197、Q199またはD199またはH199、N199、F200またはT200、A208、I213、M216またはS216、N217またはS217またはG217またはK217、T218、I219、A222、Y223、I230、W231またはL231、S232またはH232またはA232、Q233、E235またはL235、F236またはT236、F237、L240またはM240、A242、N244、N249、I250またはK250またはR250、A252またはC252、A254、I255またはV255、D256またはM256、E257、E260またはK260、R261、V268、S272またはR272、I285、G290またはF290、A291、A293またはL293またはW293、T294またはA294、S295、H295、K296またはE296、Y297またはM297、I299またはY299、I300、S301、P316、S2646、A2648、G2649、A2650、V2652、Q2653、H2656またはL2656、D2657、F2659、K2663またはQ2663、A2667またはV2667、D2677、L2681、M2686またはQ2686またはE2686、A2692またはK2692、H2697、I2707、L2708またはY2708、A2709、A2719またはM2719、F2727、T2728またはD2728、E2729、F2730またはY2730、I2741、I2745、V2746またはE2746またはL2746またはK2746、A2748、S2749またはP2749、R2750、E2751、D2752またはN2752またはS2752またはT2752またはV2752またはI2752またはQ2752、S2753またはD2753またはG2753、D2754、A2755、L2756またはQ2756、またはR2757（ここで、表記は、アミノ酸残基を一文字表記によって表す文字および第1表に示すKato et al., 1990によるアミノ酸ナンバリングを表す数字からなる（図2、図4および図6におけるナンバリングも参照））。

【0107】

これらの固有のアミノ酸残基は、図3に示されているように新規HCVアミノ酸配列を全ての既知のHCV配列と整列させることにより推断することができる。配列番号1～106で示される新規配列との整列は、例えば、図2、図4および図6において示される。これらの図面に示された整列が全ての既知のHCV配列と共に完成されて、前記固有の残基は、本発明の新規HCV配列のうち少なくとも1つについて実際に固有であるということを説明することは明らかである。

【0108】

本発明の固有の新規アミノ酸残基のグループの範囲内で、本発明において用いられるHCV分類システムによりHCVの以下の新規タイプ（サブタイプ）に対して特異的である固有の残基が見いだされる：タイプ1サブタイプ1d、1e、1fまたは1g単離体；タイプ2サブタイプ2e、2f、2g、2h、2i、2kまたは2l単離体；タイプ3サブタイプ3g単離体；タイプ4サブタイプ4k、4lまたは4m単離体；タイプ7サブタイプ7a、7cまたは7d単離体、タイプ9、タイプ10またはタイプ11単離体。これらの残基を得るために、図2、図4および図6に示される整列を用いて、前記の固有の残基のタイプ特異性および/またはサブタイプ特異性を推断することができる。

【0109】

例えば、T190（サブタイプ1dにおいて検出された）は、190位のトレオニンを表す（図2を参照）。別の配列においては、唯一セリン（S190）または例外的にアラニン（タイプ10aにおけるA190）を検出することができる。

【0110】

10

20

30

40

50

本発明のこの具体例によるポリペプチドは、出来る限り標識されているか、または固体基質に結合されているか、またはビオチンなどの担体分子に結合されているか、または当該技術分野において知られており所定の用途（診断、治療または予防）による全ての適正なアジュバントと混合される。

【0111】

本発明は、アミノ酸配列において、前記で挙げた配列番号107～207によって表される配列のうち少なくとも1つを含有してなる前記ポリペプチド、または第5表において定義されるHCVサブタイプもしくはタイプのうち少なくとも1つに固有であるその一部、または該ポリペプチドもしくはその一部に実質的に相同であり生物学的に等価であるそのアナログにも関する。

10

【0112】

本発明は、配列番号1～106によって表されるアミノ配列を有するポリペプチド、または第5表において定義されるHCVサブタイプもしくはタイプのうち少なくとも1つに固有であるその一部、または該ポリペプチドもしくはその一部に実質的に相同であり生物学的に等価であるそのアナログにも関する。

【0113】

コアタンパクにおける可変領域（図2におけるV-コア）は、血清型を分類するのに有用であることが示された（Machida et al., 1992）。本発明のタイプ1サブタイプ1d、1e、1fまたは1g配列；タイプ2サブタイプ2e、2f、2g、2h、2i、2kおよび2l配列；タイプ3サブタイプ3g；タイプ4サブタイプ4k、4lまたは4m配列；タイプ7（サブタイプ7a、7cおよび7d配列）、9、10または11配列は、この領域においてタイプ特異的な特徴を示す。アミノ酸68から78までのペプチド（V-コア領域）は、本発明の配列について以下の固有の配列を示す（図2を参照）：

20

サブタイプ1dに関してはARQSDGRSWAQまたはARRSEGRSWAQ（配列番号107および108）

サブタイプ1eに関してはERRPEGRSWAQ（配列番号109）

サブタイプ1fに関してはARRPEGRSWAQ（配列番号110）

サブタイプ2kに関してはDRRTTGKSWG R（配列番号111）

サブタイプ2eに関してはDRRATGRSWG R（配列番号112）

サブタイプ2fに関してはDRRATGKSWG R（配列番号113）

30

タイプ9に関してはVRQP TGRSWG Q（配列番号114）

サブタイプ7aおよび7cに関してはVRHQ TGR TWAQ（配列番号115）

サブタイプ7dに関してはVRQNQGR TWAQ（配列番号116）

タイプ10に関してはARRTEGRSWAQ（配列番号117）

タイプ11に関してはVRRTTG R XXXXまたはVRRTTG R TWAQ（配列番号118および119）。

【0114】

5つのタイプ特異的可変領域（V1～V5）は、図2に示すように本発明の遺伝子型のE1アミノ酸配列を既に知られている遺伝子型と整列させた後に同定することができる。

【0115】

40

領域V1は、アミノ酸192～203を包含し、これは、E1タンパクのアミノ末端の10アミノ酸である。図2に示す以下の固有の配列を推断することができる：

サブタイプ1dに関してはHEVRNASGVYHVまたはHEVRNASGVYHL（配列番号120および121）

サブタイプ1fに関してはYEVHSTTDGYHV（配列番号122）

サブタイプ2eに関してはVEVKNTSQAYMA（配列番号123）

サブタイプ2fに関してはIQVKNNSHFYMA（配列番号124）

サブタイプ2gに関してはVQVKNTSTMVMA（配列番号125）

サブタイプ2hに関してはVQVKNTSHSYMV（配列番号126）

サブタイプ2iに関してはVQVANRS GSYMV（配列番号127）

50

サブタイプ 2 k に関しては V E I K N T X N T Y V L または V E I K N T S N T Y V L (配列番号 1 2 8 および 1 2 9)

サブタイプ 4 k に関しては I N Y R N V S G I Y Y V または I N Y R N T S G I Y H V または I N Y H N T S G I Y H I または T N Y R N V S G I Y H V (配列番号 1 3 0 、 1 3 1 、 1 3 2 または 1 3 3)

サブタイプ 4 l に関しては Q H Y R N V S G I Y H V (配列番号 1 3 4)

タイプ 9 に関しては I Q V K N A S G I Y H L (配列番号 1 3 5)

サブタイプ 7 c に関しては A H Y T N K S G L Y H L (配列番号 1 3 6)

サブタイプ 7 d に関しては L N Y A N K S G L Y H L (配列番号 1 3 7)

タイプ 1 0 に関しては L E Y R N A S G L Y M V (配列番号 1 3 8)。

10

【 0 1 1 6 】

領域 V 2 は、アミノ酸 2 1 3 ~ 2 2 3 を包含する。図 2 に示す V 2 領域において、以下の固有の配列を見いだすことができる：

サブタイプ 1 d に関しては I Y E M D G M I M H Y または I Y E M S G M I L H A (配列番号 1 3 9 および 1 4 0)

サブタイプ 1 f に関しては V Y E A K D I I L H T (配列番号 1 4 1)

サブタイプ 2 e に関しては V W Q L X D A V L H V (配列番号 1 4 2)

サブタイプ 2 f に関しては V W Q L R D A V L H V (配列番号 1 4 3)

サブタイプ 2 g に関しては I W Q M Q G A V L H V (配列番号 1 4 4)

サブタイプ 2 h に関しては V W Q L K D A V L H V (配列番号 1 4 5)

20

サブタイプ 2 i に関しては V W Q L E E A V L H V (配列番号 1 4 6)

サブタイプ 2 k に関しては T W Q L X X A V L H V (配列番号 1 4 7)

サブタイプ 4 k に関しては V Y E A D H H I L H L または V Y E A D H H I L A L または V F E A D H H I L H L (配列番号 1 4 8 、 1 4 9 および 1 5 0)

サブタイプ 4 l に関しては V Y E S D H H I L H L (配列番号 1 5 1)

タイプ 9 に関しては V F E A E T M I L H L (配列番号 1 5 2)

サブタイプ 7 c に関しては V Y E A E T L I L H L (配列番号 1 5 3)

サブタイプ 7 d に関しては V Y E A N G M I L H L (配列番号 1 5 4)

タイプ 1 0 に関しては V Y E A G D I I L H L (配列番号 1 5 5)。

【 0 1 1 7 】

30

領域 V 3 は、アミノ酸 2 3 0 ~ 2 4 2 を包含する。図 2 から以下の固有の V 3 領域配列を推断することができる：

サブタイプ 1 d に関しては V R E D N H L R C W M A L または V R E N N S S R C W M A L (配列番号 1 5 6 および 1 5 7)

サブタイプ 1 f に関しては I R E G N I S R C W V L P (配列番号 1 5 8)

サブタイプ 2 e に関しては E N S S G R F H C W I P I (配列番号 1 5 9)

サブタイプ 2 f に関しては E R S G N R T F C W T A V (配列番号 1 6 0)

サブタイプ 2 g に関しては E L Q G N K S R C W I P V (配列番号 1 6 2)

サブタイプ 2 h に関しては E R H Q N Q S R C W I P V (配列番号 1 6 3)

サブタイプ 2 i に関しては E W K D N T S R C W I P V (配列番号 1 6 4)

40

サブタイプ 2 k に関しては E R E G N S S R C W I P V (配列番号 1 6 5)

サブタイプ 4 k に関しては V R E G N Q S R C W V A L または V R T G N Q S R C W V A L または V R V G N Q S S C W V A L または V R V G N Q S R C W V A L または V K E G N H S R C W V A L (配列番号 1 6 6 、 1 6 7 、 1 6 8 または 1 6 9)

サブタイプ 4 l に関しては V K T G N T S R C W V A L (配列番号 1 7 0)

タイプ 9 に関しては I K A G N E S R C W L P V (配列番号 1 7 1)

サブタイプ 7 c に関しては V K X X N Q S R C W V Q A (配列番号 1 7 2)

サブタイプ 7 d に関しては V K T G N L T K C W L S A (配列番号 1 7 3)

タイプ 1 0 に関しては V R S G N T S R C W I P V (配列番号 1 7 4)。

【 0 1 1 8 】

50

領域 V 4 は、アミノ酸 2 4 8 ~ 2 5 7 を包含する。図 2 から以下の固有の V 4 領域配列を推断することができる：

サブタイプ 1 d に関しては V K N A S V P T A A または V K D A N V P T A A (配列番号 1 7 5 および 1 7 6)

サブタイプ 1 f に関しては A R I A N A P I D E (配列番号 1 7 7)

サブタイプ 2 e に関しては V S K P G A L T K G (配列番号 1 7 8)

サブタイプ 2 f に関しては V S R P G A L T R G (配列番号 1 7 9)

サブタイプ 2 g に関しては V N Q P G A L T R G (配列番号 1 8 0)

サブタイプ 2 h に関しては V S Q P G A L T R G (配列番号 1 8 1)

サブタイプ 2 i に関しては V S Q P G A L T K G (配列番号 1 8 2)

サブタイプ 2 k に関しては V S R P G A L T E G (配列番号 1 8 3)

サブタイプ 4 k に関しては A P Y I G A P L E S または A P Y T A A P L E S (配列番号 1 8 4 および 1 8 5)

サブタイプ 4 l に関しては A P I L S A P L M S (配列番号 1 8 6)

タイプ 9 に関しては V P N S S V P I H G (配列番号 1 8 7)

サブタイプ 7 c に関しては V P N A S T P V T G (配列番号 1 8 8)

サブタイプ 7 d に関しては V Q N A S V S I R G (配列番号 1 8 9)

タイプ 1 0 に関しては V K S P C A A T A S (配列番号 1 9 0)。

10

【 0 1 1 9 】

領域 V 5 は、アミノ酸 2 9 4 ~ 3 0 3 を包含する。図 2 から以下の固有の V 5 領域配列を推断することができる：

サブタイプ 1 d に関しては S P R M H H T T Q E または S P R L Y H T T Q E (配列番号 1 9 1 および 1 9 2)

サブタイプ 1 f に関しては T S R R H W T V Q D (配列番号 1 9 3)

サブタイプ 2 e に関しては A P K R H Y F V Q E (配列番号 1 9 4)

サブタイプ 2 f に関しては S P Q Y H T F V Q E (配列番号 1 9 5)

サブタイプ 2 g に関しては S P Q H H N F S Q D (配列番号 1 9 6)

サブタイプ 2 h に関しては S P Q H H I F V Q D (配列番号 1 9 7)

サブタイプ 2 k に関しては S P E H H H F V Q D (配列番号 1 9 8)

サブタイプ 4 k に関しては R P R R H W T T Q D または R P R R H W T A Q D または Q P R R H W T T Q D または R P R R H W T T Q E (配列番号 1 9 9、2 0 0、2 0 1 または 2 0 2)

30

サブタイプ 4 l に関しては Q P R R H W T V Q D (配列番号 2 0 3)

タイプ 9 に関しては R P K Y H Q V T Q D (配列番号 2 0 4)

サブタイプ 7 c に関しては R P R M H Q V V Q E (配列番号 2 0 5)

サブタイプ 7 d に関しては R P R M Y E I A Q D (配列番号 2 0 6)

タイプ 1 0 に関しては R H R Q H W T V Q D (配列番号 2 0 7)。

【 0 1 2 0 】

ペプチドの前記リストは、治療およびワクチンおよび診断開発に特に有用である。

【 0 1 2 1 】

ペプチド鎖において少なくとも前記ペプチドから誘導されたエピトープを含有する合成ペプチド (以下を参照) またはポリペプチドも本発明を構成する。それらのペプチド鎖において前記ペプチドから誘導される少なくとも 6 個、7 個、8 個または 9 個の隣接するアミノ酸からなる合成ペプチドまたはポリペプチドも本発明を構成する。

40

【 0 1 2 2 】

本明細書で用いる場合、「エピトープ」または「抗原決定因子」とは、免疫反応性であるアミノ酸配列を意味する。一般的に、エピトープは、少なくとも 3 個 ~ 4 個のアミノ酸からなり、より一般的には、少なくとも 5 個または 6 個のアミノ酸からなり、しばしば、該エピトープは、約 7 個 ~ 8 個のアミノ酸からなり、または約 1 0 個のアミノ酸からなる。

50

【 0 1 2 3 】

本発明は、特に、配列番号 2、4、7、9、12、14、16、18、20、22、24、26、28、30、32、34、36、38、40、42、44、46、48、50、52、54、56、58、60、62、64、66、68、70、72、74、76、78、80、82、84、86、88、90、92、94、96、98、100、102、104 または 106 で表されるアミノ酸配列に含有されるペプチド（以下を参照）またはポリペプチドに関する（第 5 表および図 3、実施例を参照）。

【 0 1 2 4 】

本発明は、前記ポリ核酸によってコードされた組換えポリペプチド、第 5 表において定義される H C V サブタイプまたはタイプに固有であるその一部、または該ポリペプチドと実質的に相同であり生物学的に等価であるそのアナログにも関する。

10

【 0 1 2 5 】

本発明は、原核生物性、真核生物性またはウイルス性転写および翻訳制御要素に操作可能に結合した前記定義のポリ核酸またはその一部を含有することを特徴とする組換え発現ベクターにも関する。

【 0 1 2 6 】

一般に、組換えベクターは、ベクター配列、適切な原核生物性、真核生物性またはウイルス性プロモーター配列、次いで前記ヌクレオチド配列からなるであろう。ここで、該組換えベクターは、原核宿主もしくは真核宿主において、または裸の D N A として注入される場合は生きている哺乳動物において、前記ポリペプチドのうちいずれか 1 つを発現させ、さらに詳しくは、組換えベクターは、特に以下のアミノ酸位置にわたる本発明の新規 H C V 配列を発現させる：

20

【 0 1 2 7 】

1 ~ 10 位の間の領域で開始し、70 ~ 420 位の間の領域のいずれかの位置で終わるポリペプチド、さらに詳しくは、コアタンパクの発現については、1 ~ 70 位、1 ~ 85 位、1 ~ 120 位、1 ~ 150 位、1 ~ 191 位または 1 ~ 200 位にわたるポリペプチド、およびコアタンパクおよび E 1 タンパクの発現については、1 ~ 263 位、1 ~ 326 位、1 ~ 383 位、または 1 ~ 420 位にわたるポリペプチド；

【 0 1 2 8 】

E 1 の発現については、117 ~ 192 位の間の領域のいずれかの位置で開始し、263 ~ 420 位の間の領域のいずれかの位置で終わるポリペプチドまたは疎水性領域（264 ~ 293 位置プラスまたはマイナス 8 アミノ酸）を欠失した形態；

30

【 0 1 2 9 】

N S 4 の発現については、1556 ~ 1688 位の間の領域のいずれかの位置で開始し、1739 ~ 1764 位の間の領域のいずれかの位置で終わるポリペプチド；さらに詳しくは、N S 4 a 抗原の発現については、1658 位で開始し、1711 位で終わるポリペプチド、さらに詳しくは、N S 4 b 抗原の発現については、1712 位で開始し、1743 ~ 1972 位の間の領域で終わるポリペプチド（例えば、1712 ~ 1743、1712 ~ 1764、1712 ~ 1782、1712 ~ 1972、1712 ~ 1782、1712 ~ 1902）またはその一部。本発明の組換えポリペプチドのために、当該技術分野で知られている他の H C V ベクター構築を用いてもよい。

40

【 0 1 3 0 】

本発明の組換えポリペプチドの産生のために、組換えタンパクのための公知の精製方法、特に、Innogenetics N.V. の名義の PCT/EP95/03031 に開示されている H C V 組換えポリペプチド精製方法を用いてもよい。

【 0 1 3 1 】

「ベクター」なる用語は、プラスミド、コスミド、ファージまたはウイルスまたはトランスジェニック動物からなる。B C G またはアデノウイルスベクターならびにアピポックス組換えウイルスは、ワクチン開発に特に有用である。

【 0 1 3 2 】

50

本発明は、
適切な細胞宿主を、前記定義のポリ核酸またはその一部が適切な調節要素の制御下で挿入された組換えベクターと形質転換させ、
挿入体の発現を可能にする条件下、該形質転換した細胞宿主を培養し、
該ポリペプチドを収穫すること
からなることを特徴とする、前記組換えポリペプチドの製造方法にも関する。

【0133】

本発明の範囲内で用いられる「組換え的に発現される」なる用語は、本発明のタンパクが、以下に詳述する原核生物または下等もしくは高等真核生物における組換え発現方法によって産生されるということを意味する。

10

【0134】

「下等真核生物」なる用語は、酵母、真菌類などの宿主細胞を意味する。下等真核生物は、一般に（必ずではないが）、単細胞である。好ましい下等真核生物は、酵母、特に、サッカロミセス（*Saccharomyces*）、シゾサッカロミセス（*Schizosaccharomyces*）、クルベロミセス（*Kluveromyces*）、ピチア（*Pichia*）（例えば、ピチア・パストリス（*Pichia pastoris*））、ハンゼヌラ（*Hansenula*）（例えば、ハンゼヌラ・ポリモルファ（*Hansenula polymorpha*））、ヤロウィア（*Yarrowia*）、シュワニオミセス（*Schwaniomyces*）、シゾサッカロミセス（*Schizosaccharomyces*）、ザイゴサッカロミセス（*Zygosaccharomyces*）などの範囲内の種である。サッカロミセス・セレビスエ（*Saccharomyces cerevisiae*）、エス・カールスベルゲンシス（*S. carlsbergensis*）およびケイ・ラクティス（*K. lactis*）は、もっとも一般的に用いられる酵母宿主であり、好都合な真菌類宿主である。

20

【0135】

「原核生物」なる用語は、エシェリキア・コリ（*E. coli*）、ラクトバシラス（*Lactobacillus*）、ラクトコッカス（*Lactococcus*）、サルモネラ（*Salmonella*）、ストレプトコッカス（*Streptococcus*）、バシラス・サチリス（*Bacillus subtilis*）またはストレプトマイセス（*Streptomyces*）などの宿主を表す。また、これらの宿主は、本発明の範囲内である。

【0136】

「高等真核生物」なる用語は、哺乳動物、爬虫類、昆虫などの高等動物由来の宿主細胞を表す。現在、好ましい高等真核生物宿主細胞は、チャイニーズハムスター（例えば、CHO）、サル（例えば、COSおよびベロ細胞）、ベビーハムスター腎臓（BHK）、ブタ腎臓（PK15）、ウサギ腎臓13細胞（RK13）、ヒト骨肉腫細胞系143B、ヒト細胞系HeLaおよびヒトヘパトーム細胞系Hep G2、および昆虫細胞系（例えば、スポドプテラ・フルギペルダ（*Spodoptera frugiperda*））から誘導される。宿主細胞は、懸濁またはフラスコ培養、組織培養、臓器培養などにおいて提供される。別法としては、宿主細胞は、トランスジェニック動物であってもよい。

30

【0137】

「組換えポリヌクレオチドまたは核酸」なる用語は、起源または操作によっては（1）自然に会合されるポリヌクレオチドの全部または一部と会合されないか、または（2）自然に結合されるものの以外のポリヌクレオチドに結合されるか、または（3）自然には生じない、ゲノム、cDNA、半合成または合成起源のポリヌクレオチドまたは核酸を意味する。

40

【0138】

「組換え宿主細胞」、「宿主細胞」、「細胞」、「細胞系」、「細胞培養」なる用語、および単細胞体として培養される微生物または高等真核細胞系を示す他のかかる用語は、組換えベクターまたは他のトランスファーポリヌクレオチドについての受容体として用いることができるかまたは用いられた細胞を表し、トランスフェクトされた初期細胞の子孫を含む。単一の親細胞の子孫は、自然の突然変異、偶発的な突然変異または故意の突然変異のために、形態において、またはゲノムもしくは全DNA相補体において初期親と完全

50

に同一である必要はない。

【0139】

「レプリコン」なる用語は、細胞内で自律的ポリヌクレオチド複製の単位として機能する、すなわち、自体制御下で複製可能な、遺伝的要素、例えば、プラスミド、染色体、ウイルス、コスミドなどである。

【0140】

「ベクター」なる用語は、さらに、所望のオープンリーディングフレームの複製および/または発現を提供する配列からなるレプリコンである。

【0141】

「制御配列」なる用語は、それらがライゲートされるコード配列の発現に影響を及ぼすのに必要とされるポリヌクレオチド配列を表す。かかる制御配列の性質は、宿主微生物に依存して異なる；原核生物においては、かかる制御配列としては、一般に、プロモーター、リボソーム結合部位、スプライシング部位およびターミネーターが挙げられ；真核生物においては、一般的に、かかる制御配列としては、プロモーター、スプライシング部位、ターミネーター、および場合によってはエンハンサーが挙げられる。「制御配列」なる用語は、最小でも、発現のために存在が必要である全ての成分を含み、存在が好都合であるさらなる成分、例えば、分泌を制御するリーダー配列を含むことを意図する。

10

【0142】

「プロモーター」なる用語は、隣接する構造遺伝子に対して正常な転写開始部位で mRNA 産生が始まるような方法で、DNA 鋳型に RNA ポリメラーゼを結合させるコンセンサス配列からなるヌクレオチド配列である。

20

【0143】

「操作可能に結合される」なる表現は、このように記載された成分が所定の方法でそれらを機能させる関係にある並列を表す。コード配列に「操作可能に結合される」制御配列は、コード配列の発現が制御配列と適合可能な条件下で行われるような方法でライゲートされる。

【0144】

ベクター配列中に挿入される所望の配列をコードする HCV cDNA のセグメントは、シグナル配列に結合される。該シグナル配列は、非 HCV 供給源由来のものであり、例えば、哺乳動物細胞における発現のための IgG または組織プラスミノゲン活性化因子 (t p a) リーダー配列、または酵母細胞中への発現のための - 接合因子配列であるが、本発明の特に好ましい構築物は、タンパクの個々の開始点の前の HCV ゲノムにおいて出現するシグナル配列を含有する。

30

【0145】

種々のベクターを用いて、本発明の HCV 単一または特異的オリゴマーエンベロープタンパクの組換え発現を得ることができる。酵母およびグリコシル化突然変異株などの下等真核生物は、典型的には、プラスミドで形質転換されるか、または、組換えウイルスで形質転換される。該ベクターは、独立して、宿主内で複製されるか、または宿主細胞ゲノム中に取り込まれる。

【0146】

高等真核生物は、ベクターで形質転換されるか、または、組換えウイルス、例えば組換えワクシニアウイルスに感染する。外来 DNA のワクシニアウイルス中への挿入のための技術およびベクターは、当該技術分野においてよく知られており、例えば、相同的組換えを利用する。種々のウイルスプロモーター配列、できる限りターミネーター配列およびポリ (A) - 付加配列、エンハンサー配列ならびに増幅配列 (全て、哺乳動物発現のために必要とされる) は、当該技術分野で入手可能である。ワクシニアは、宿主細胞タンパクの発現を停止させるので、特に好ましい。ワクシニアは、例えば生きている組換えワクシニアウイルスで免疫される細胞または個体において HCV の E 1 および E 2 タンパクを発現させるので非常に好ましい。ヒトの予防接種については、アビボックスおよびアンカラ修飾ウイルス (Ankara Modified Virus) (AMV) は、特に有用なベクターである。

40

50

【 0 1 4 7 】

ヘルパー独立ウイルス発現ベクターであるバキュロウイルス、オートグラファ・カリフォルニカ・ニュークレア (Autographa californica nuclear) ポリヘドロシスウイルス (AcNPV) 由来の昆虫発現伝達ベクターも知られている。この系由来の発現ベクターは、通常、強いウイルスポリヘドリン遺伝子プロモーターを用いて、異種遺伝子の発現を駆動する。バキュロウイルスの所望の部位中に異種DNAを導入するための異なるベクターおよび方法は、バキュロウイルス発現についての当該技術分野における当業者に利用可能である。昆虫細胞によって認識される翻訳後修飾のための異なるシグナルも知られている。

【 0 1 4 8 】

本発明は、前記定義の組換えベクターで形質転換した宿主細胞にも関する。

10

【 0 1 4 9 】

本発明は、

(i) HCV の存在について分析しようとする生物学的試料を前記定義のポリペプチドと接触させ、

(ii) 抗体と該ポリペプチドとの間で形成された免疫複合体を検出することからなることを特徴とする、生物学的試料中に存在するHCVに対する抗体の検出方法にも関する。

【 0 1 5 0 】

本発明は、

20

(i) HCV の存在について分析しようとする生物学的試料を前記定義のポリペプチドと接触させ、

(ii) 抗体と該ポリペプチドとの間で形成された免疫複合体を検出することからなることを特徴とするHCV分類方法にも関する。

【 0 1 5 1 】

本発明は、好ましくは固体支持体に結合されている前記定義の少なくとも1つのポリペプチドを含有してなることを特徴とする、HCVの存在の検出に用いるための診断用キットにも関する。

【 0 1 5 2 】

本発明は、好ましくは固体支持体に結合されている前記定義の少なくとも1つのポリペプチドを含有してなることを特徴とする、HCV分類のための診断用キットにも関する。

30

【 0 1 5 3 】

本発明は、固体基質上の特異的な位置に結合される一群のポリペプチドを含有してなる、前記定義の診断用キットにも関する。

【 0 1 5 4 】

本発明は、固体支持体が膜ストリップであり、ポリペプチドが平行線の形で膜に結合されている、前記定義の診断用キットにも関する。

【 0 1 5 5 】

本発明のイムノアッセイ方法は、HCVに感染した個体由来の血清中で抗体によって認識される直線状エピトープ (ペプチドの場合) および高次構造エピトープ (ポリペプチドの場合) を維持する本発明の新規および固有のポリペプチド配列の種々のドメインからの抗原を利用する。例えば、単一または特異的オリゴマー抗原、二量体抗原、ならびに単一または特異的オリゴマー抗原の組換え体を使用することは、本発明の範囲内である。本発明のHCV抗原は、実質的には、抗体を検出するために既知の抗原を用いるアッセイフォーマットにおいて用いられる。もちろん、HCV高次構造エピトープを変性させるフォーマットは、回避されるかまたは適合させるべきである。これらのアッセイの全ての一般的な特徴は、抗原を、体成分中に存在する抗体に抗原を結合させる条件下でHCV抗体を含有すると推測される体成分と接触させることである。かかる条件は、典型的には、過剰の抗原を用いる生理学的温度、pHおよびイオン強度である。抗原の検体とのインキュベーションの後、抗原からなる免疫複合体を検出する。

40

50

【 0 1 5 6 】

イムノアッセイの設計は、かなり変形され、多くのフォーマットが当該技術分野において知られている。プロトコルは、例えば、固体支持体またはイムノプレシピテーションを用いてもよい。ほとんどのアッセイは、標識抗体またはポリペプチドの使用を含む；該標識は、例えば、酵素分子、蛍光分子、化学発光分子、放射性分子または色素分子であってよい。免疫複合体からのシグナルを増幅するアッセイもまた知られている；例えば、ビオチンおよびアビジンまたはストレプトアビジンを用いるアッセイ、ならびに E L I S A アッセイのような酵素標識および媒介イムノアッセイである。

【 0 1 5 7 】

イムノアッセイは、限定されないが、異種フォーマットまたは同種フォーマットであってもよく、標準的タイプまたは競合的タイプのものであってもよい。異種フォーマットでは、ポリペプチドは、典型的には、固体マトリックスまた支持体に結合されて、インキュベーション後、試料をポリペプチドから分離し易くする。用いることができる固体支持体の例としては、ニトロセルロース（例えば、膜またはマイクロタイターウエル形態で）、ポリビニルクロリド（例えば、シートまたはマイクロタイターウエルで）、ポリスチレンラテックス（例えば、ビーズまたはマイクロタイタープレートで）、ポリビニリジンフルオリド（イムノロン（ImmunolonTM）として知られている）、ジアゾ化紙、ナイロン膜、活性化ビーズおよびタンパク A ビーズが挙げられる。例えば、ダイナテック（Dynatech）・イムノロン（ImmunolonTM）1 またはイムノロン（ImmunolonTM）2 マイクロタイタープレートまたは 0.25 インチのポリスチレンビーズ（プリシジョン・プラスチック・ボール（Precision Plastic Ball））は、異種フォーマットで用いることができる。抗原ポリペプチドを含有する固体支持体は、典型的には、試験試料から分離した後、結合した抗体を検出する前に洗浄される。標準的なフォーマットおよび競合的フォーマットは、共に、当該技術分野で知られている。

【 0 1 5 8 】

同種フォーマットでは、溶液中、試験試料を抗原混合物と一緒にインキュベートする。例えば、これは、形成される抗原 - 抗体複合体を沈殿する条件下であってよい。これらのアッセイのための標準的なフォーマットおよび競合的なフォーマットは、共に、当該技術分野で知られている。

【 0 1 5 9 】

標準的なフォーマットでは、抗体 - 抗原複合体における H C V 抗体の量は、直接的にモニターされる。これは、抗 H C V 抗体上でエピトープを認識する標識抗異種（例えば、抗ヒト）抗体が複合体形成により結合するかを決定することによって行われる。競合的フォーマットでは、試料中の H C V 抗体の量は、複合体における既知の量の標識抗体（または他の競合するリガンド）の結合に対する競合的效果をモニターすることによって導き出される。

【 0 1 6 0 】

抗 H C V 抗体からなる形成された複合体（競合アッセイの場合、競合する抗体の量）は、フォーマットに依存して、多くの公知技術によって検出される。例えば、複合体における非標識 H C V 抗体は、複合化された抗異種 I g の標識とのコンジュゲートを用いて検出される。

【 0 1 6 1 】

イムノプレシピテーションまたは凝集アッセイフォーマットでは、H C V 抗原と抗体との間の反応は、溶液または懸濁液から沈降するネットワークを形成し、目視できる沈殿物の層またはフィルムを形成する。抗 H C V 抗体が試験検体中に存在しない場合、目視できる沈殿物は、形成されない。

【 0 1 6 2 】

現在、粒子凝集（P A）アッセイの 3 つの特異的なタイプが存在する。これらのアッセイは、支持体に被覆する場合、種々の抗原に対する抗体の検出のために用いられる。このアッセイの 1 つのタイプは、赤血球（R B C）に抗原（または抗体）を受身的に吸着させ

10

20

30

40

50

ることによって感作される R B C を用いる血球凝集アッセイである。体成分中に存在する特異的な抗原抗体の付加は、たとえあるとしても、精製した抗原で被覆した R B C を凝集させる。

【 0 1 6 3 】

血球凝集アッセイにおいて起こり得る非特異的反応を排除するために、P A における R B C の代わりに 2 つの人工担体を用いてもよい。これらのうち最も一般的なものは、ラテックス粒子である。しかしながら、ゼラチン粒子を用いてもよい。これらの担体のいずれかを用いるアッセイは、精製した抗原で被覆した粒子の受身凝集に基づいている。

【 0 1 6 4 】

高次構造エピトープからなる本発明の H C V 抗原は、これらのイムノアッセイにおいて用いるキットの形態で包装されるであろう。該キットは、通常、別々の容器中に、天然 H C V 抗原、対照抗体製剤（正および/または負）、アッセイフォーマットが必要とする場合には標識抗体、および、標識が直接シグナルを発生しない場合にはシグナル発生剤（例えば、酵素基質）を収容するであろう。天然 H C V 抗原は、既に固体マトリックスに結合されているか、または、該抗原を該マトリックスに結合させるための試薬と別々にする。該アッセイを行うための指示（例えば、書面、テープ、C D - R O M など）がキットに含まれるであろう。

10

【 0 1 6 5 】

天然 H C V 抗原を用いるイムノアッセイは、潜在的感染性 H C V を含まない供給物の調製のための血液スクリーニングに有用である。血液供給物の調製方法は、以下の工程からなる。個体供血由来の体成分、好ましくは、血液または血液成分を本発明の H C V ポリペプチドと反応させて、H C V 抗体と存在する場合の H C V 抗原との間で免疫学的反応させる。該反応の結果として抗 H C V 抗体 - H C V 抗原複合体が形成されるかを検出する。供血に寄与する血液は、天然 H C V 抗原に対する抗体を示さないドナーからである。

20

【 0 1 6 6 】

H C V 抗原に対して陽性反応性の場合、イムノアッセイを繰り返して、擬陽性の可能性を減少させるのが好ましい。例えば、血液製剤（例えば、輸血、血漿、第 VIII 因子、イムノグロブリンなど）の製造のための大規模な血液スクリーニングにおいて、「スクリーニング」試験は、典型的には、特異性を犠牲にして感度を高めるように（汚染血液が全く通過しないことを保証にするように）フォーマット化される；すなわち、擬陽性率が增大する。したがって、単に反復反応性の；すなわち、供血試料についてイムノアッセイの 2 回以上のランにおいて陽性のドナーをさらに試験するために譲歩することが典型的である。しかしながら、H C V 陽性の確認のために、「確認」試験は、典型的には、感度を犠牲にして特異性を高めるように（擬陽性試料が全く確認されないのを保証にするように）フォーマット化される。

30

【 0 1 6 7 】

選択された固相としては、重合体ビーズまたはガラスビーズ、ニトロセルロース、微粒子、反応トレイのマイクロウエル、試験管および磁気ビーズを挙げることができる。シグナル発生化合物としては、酵素、発光性化合物、色素原、放射性要素および化学発光性化合物を挙げることができる。酵素の例としては、アルカリホスファターゼ、ホースラディッシュペルオキシダーゼおよびベータ - ガラクトシダーゼが挙げられる。エンハンサー化合物の例としては、ピオチン、抗 - ピオチンおよびアビジンが挙げられる。エンハンサー化合物結合メンバーの例としては、ピオチン、抗 - ピオチンおよびアビジンが挙げられる。リウマチ因子様物質の影響を遮断するために、試験試料は、リウマチ因子様物質の影響を遮断するのに十分な条件に付される。これらの条件は、該試料を、多量の抗ヒト I g G と接触させて、混合物を形成し、リウマチ因子様物質を実質的に含まない反応混合生成物を形成するのに十分な条件下でしばらくの間、混合物をインキュベートすることからなる。

40

【 0 1 6 8 】

本発明は、特に、本発明のポリペプチド（またはペプチド）が平行線の形で膜に結合さ

50

れるイムノアッセイフォーマットに関する。このアッセイフォーマットは、特に、H C V 分類のために好都合である。

【0169】

本発明は、前記の少なくとも1つの（組換え）ポリペプチドおよび好適な賦形剤、希釈剤または担体からなる医薬組成物にも関する。

【0170】

本発明は、前記医薬組成物を、防御抗体の産生または防御T - 細胞応答を刺激するのに有効な量で哺乳動物に投与することからなる、H C V 感染の予防方法にも関する。

【0171】

本発明は、H C V 感染の予防方法における前記組成物の使用に関する。

10

【0172】

本発明は、さらに、医薬的に許容される担体における前記の少なくとも1つの（組換え）ポリペプチドからなるH C V 感染に対して哺乳動物を免疫するためのワクチンに関する。

【0173】

「免疫原性」なる用語は、アジュバントの存在下または不在下で、単独の場合または担体に結合した場合のいずれであっても、物質の体液性および/または細胞性応答を生じる能力を意味する。「中和」とは、病原菌の感染性を一部または完全に遮断する免疫応答を表す。「ワクチン」とは、H C V に対する保護を一部または完全に引き出す能力を有する免疫原性組成物である。ワクチンは、個体の治療にも有用であり、この場合、治療用ワクチンと称される。

20

【0174】

「治療用」なる用語は、H C V 感染を治療する能力を有する組成物を意味する。「有効量」なる用語は、投与される個体において免疫原性反応を誘発するのに充分であるか、または、所定の系（例えば、イムノアッセイ）において検出可能に免疫反応させるのに充分なエピトープ担持ポリペプチドの量を意味する。好ましくは、有効量は、前記治療に効果を与えるのに充分である。正確な必要量は、用途によって変化するであろう。ワクチン用またはポリクローナル抗血清/抗体の発生のためには、例えば、有効量は、個体の種、年齢および一般的な健康状態、治療される症状の重篤度、選択された特定のポリペプチド、ならびに投与形態などに依存して変化する。有効量は、比較的大きな非限界的な範囲内にあると思われる。適切な有効量は、慣用的な実験のみを用いて容易に決定することができる。H C V 疾患の予防のためのタンパクの好ましい範囲は、0.01 ~ 100 μg /用量、好ましくは0.1 ~ 50 μg /用量である。充分な免疫応答およびH C V 疾患に対する次なる保護を達成するために、個体当たり数回の投与を必要とする。

30

【0175】

本発明は、前記定義の少なくとも1つの（組換え）ポリペプチドからなり、該ポリペプチドが前記定義のサブタイプまたはタイプのうち少なくとも1つについて固有であるワクチンにも関する。

【0176】

該ワクチン組成物は、予防用および治療用ワクチン組成物を含む。

40

【0177】

医薬的に許容される担体としては、該組成物を投与される個体に対して有害な抗体の産生を自体誘発しない担体が挙げられる。好適な担体は、典型的には、タンパク、多糖類、ポリ乳酸、ポリグリコール酸、高分子アミノ酸、アミノ酸コポリマーなどのゆっくりと代謝される巨大分子；および不活性ウイルス粒子である。かかる担体は、当業者によく知られている。

【0178】

該組成物の有効性を増強するために好ましいアジュバントとしては、限定されないが、水酸化アルミニウム（alum）、U.S.特許第4,606,918号に開示されているN - アセチル - ムラミル - L - トレオニル - D - イソグルタミン（thr - MDP）、N - アセチル - ノル

50

ムラミル - L - アラニル - D - イソグルタミン (nor - MDP)、N - アセチルムラミル - L - アラニル - D - イソグルタミル - L - アラニン - 2 - (1' - 2' - ジパルミトイル - sn - グリセロ - 3 - ヒドロキシホスホリルオキシ) - エチルアミン (MTP - PE)、および、2%スクアレン/トウイーン (Tween) 80 エマルジョン中の細菌から抽出された3つの成分、すなわち、モノホスホリル脂質 A、トレハロース・ジミコール酸および細胞壁骨格 (MPL + TDM + CWS) を含有する RIBI が挙げられる。3つの成分 MPL、TDM または CWS のいずれも、単独で、または、2つずつ組み合わせて用いてもよい。さらに、スティムロン (Stimulon) (マサチューセッツ州ウスターのケンブリッジ・バイオサイエンス (Cambridge Bioscience)) などのアジュバントが挙げられる。

【0179】

ワクチンとして用いられる免疫原性組成物は、本発明のタンパクの「十分な量」または「免疫学的に有効な量」および所望により前記成分からなっている。「免疫学的に有効な量」とは、その量を、単投与において、または、シリーズの一部として、個体に投与することが前記治療に有効であることを意味する。この量は、治療しようとする個体の健康および身体的状態、治療しようとする個体の分類学的グループ (例えば、非ヒト霊長類、霊長類など)、個体の免疫系の抗体合成能、所望の保護の程度、ワクチンの製剤、治療する医者の医学的状況の評価、感染する HCV の菌株、および他の関連する因子に依存して変化する。この量は、慣用的な試験を介して決定することができる比較的広い範囲内にあると予想される。通常、この量は、0.01 から 1000 μg /用量まで、特に、0.1 から 100 μg /用量まで変化するであろう。

【0180】

本発明のタンパクは、B型肝炎表面抗原 (欧州特許出願174,444を参照) と同一の方法で、存在する同種 (例えば、コア領域、E1領域、E2領域、NS2領域、NS3領域、NS4領域またはNS5領域など由来のT細胞エピトープまたはB細胞エピトープ) または異種 (非HCV) ハプテンに対するワクチン担体としても供される。この用途では、エンベロープタンパクは、凝集体にコンジュゲートされるハプテンまたは抗原に対する免疫応答を刺激する能力を有する免疫原性担体を提供する。該抗原は、慣用の化学的方法によってコンジュゲートされるか、または、タンパクの親水性領域に対応する位置でE1および/またはE2をコードする遺伝子中にクローン化されてもよい。かかる親水性領域としては、V1領域 (アミノ酸位置191~202を包含する)、V2領域 (アミノ酸位置213~223を包含する)、V3領域 (アミノ酸位置230~242を包含する) V4領域 (アミノ酸位置230~242を包含する)、V5領域 (アミノ酸位置294~303を包含する) およびV6領域 (アミノ酸位置329~336を包含する) が挙げられる。ハプテンの挿入に有用なもう1つの位置は、疎水性領域 (おおよそのアミノ酸位置264~293を包含する) である。本発明において、この領域は、欠失したE1タンパクの抗血清との反応性に影響を及ぼさず欠失させることができることを示している。したがって、ハプテンは、欠失の部位で挿入される。

【0181】

免疫原性組成物は、好都合には非経口投与され、典型的には、例えば皮下または筋肉内などの注射によって投与される。他の投与方法に適しているさらなる製剤としては、経口製剤および坐剤が挙げられる。投与治療法は、単投与スケジュールであってもまたは多投与スケジュールであつてもよい。該ワクチンは、他の免疫調整剤と共に投与されてもよい。

【0182】

本発明の免疫原の投与は、予防目的であってもまたは治療目的であってもよい。予防的に投与される場合、免疫原は、HCVへの暴露に先立って、またはHCV感染により症状に先立って投与される。免疫原の予防的投与は、哺乳動物におけるHCVの次なる感染を予防または弱毒化するのに役立つ。治療的に投与する場合、該免疫原は、感染の発症時 (または直後) またはHCVを原因とする感染もしくは疾患の症状の発症時に投与される。免疫原の治療的投与は、感染または疾患を弱毒化するのに役立つ。

【0183】

ワクチンとしての使用に加えて、該組成物は、HCV(E1)タンパクに対する抗体を調製するために用いることができる。該抗体は、抗ウイルス剤として直接用いることができる。抗体を調製するために、宿主動物は、ワクチンについて前記した担体に結合したウイルス粒子に対する天然E1タンパクを用いて免疫化される。宿主血清または血漿は、適当な時間の後に回収されて、ウイルス粒子の該(E1)タンパクとの反応性を有する抗体からなる組成物を提供する。ガンマグロブリンフラクションまたはIgG抗体は、飽和硫酸アンモニウムまたはDEAEセファデックス(Sephadex)の使用によって、または当業者に知られている他の技術によって得ることができる。該抗体は、実質的には、薬物のような他の抗ウイルス剤に関連する副作用の多くを含まない。

10

【0184】

本発明は、特に、第5表において定義されるHCVサブタイプまたはタイプに対して固有であり、かつ、既知のHCVタイプまたはサブタイプとは異なる少なくとも1つのアミノ酸を含有する、前記HCVゲノム配列のうち少なくとも1つによってコードされるアミノ酸配列に対応するペプチド、または実質的に同種であり生物学的に等価であるそのアナログにも関する。

【0185】

本発明は、配列番号1～106で示される本発明の新規配列の少なくとも1つの固有のエピトープからなるペプチドに関する。

【0186】

20

本発明は、配列において前記本発明の固有のアミノ酸残基からなるペプチドにも関する。

【0187】

本発明は、特に、WO 93/18054に開示されているようなピオチニル化されるペプチドに関する。

【0188】

前記本発明のポリペプチドについて説明された具体例(イムノアッセイフォーマット、組成物、用途など)の全てもまた、本発明のペプチドに係する。

【0189】

30

本発明は、また、
(i) HCVの存在について分析しようとする生物学的試料を前記ペプチドと接触させ、
(ii) 抗体と該ペプチドとの間で形成された免疫複合体を検出することからなることを特徴とする、生物学的試料中に存在するHCVに対する抗体の検出方法にも関する。

【0190】

本発明は、また、
(i) HCVの存在について分析しようとする生物学的試料を前記定義のペプチドと接触させ、
(ii) 抗体と該ペプチドとの間で形成された免疫複合体を検出することからなることを特徴とする、HCV分類方法にも関する。

40

【0191】

本発明は、好ましくは固体支持体に結合した前記の少なくとも1つのペプチドを含有してなることを特徴とする、HCVの存在の検出に用いるための診断用キットにも関する。

【0192】

本発明は、好ましくは固体支持体に結合した前記の少なくとも1つのペプチドを含有してなることを特徴とする、HCV分類のための診断用キットにも関する。本発明は、ペプチドが

少なくとも1つのNS4ペプチド、

少なくとも1つのNS4ペプチドおよび少なくとも1つのコアペプチド、

50

少なくとも1つのNS4ペプチドおよび少なくとも1つのコアペプチドおよび少なくとも1つのE1ペプチド、

少なくとも1つのNS4ペプチドおよび少なくとも1つのE1ペプチドから選択される前記定義の診断用キットにも関する。

【0193】

本発明は、固体基質上の特異的な位置に結合される一群のペプチドを含有してなる前記診断用キットにも関する。

【0194】

本発明は、また、固体支持体が膜ストリップであり、ペプチドが平行線の形で膜に結合されている前記診断用キットにも関する。

10

【0195】

本発明は、また、前記の少なくとも1つペプチドおよび好適な賦形剤、希釈剤または担体からなる医薬組成物にも関する。

【0196】

本発明は、また、前記医薬組成物を、防御抗体の産生または防御T細胞応答を刺激するのに有効な量で哺乳動物に投与することからなる、HCV感染の予防方法にも関する。

本発明は、また、HCV感染の予防方法における前記組成物の使用にも関する。本発明は、また、医薬的に許容される担体において前記の少なくとも1つのペプチドを含有してなることを特徴とする、HCV感染に対して哺乳動物を免疫化するためのワクチンにも関する。

20

【0197】

本発明は、第5表において定義されるサブタイプまたはタイプのうち少なくとも1つについて固有である前記定義の少なくとも1つのペプチドを含有してなることを特徴とする、前記ワクチンにも関する。

【0198】

本発明は、前記定義の少なくとも1つのポリペプチドまたはペプチドによる免疫化後に生じる抗体に関する。ここで、該抗体は、該ポリペプチドまたはペプチドと特異的に反応し、該抗体は、好ましくはモノクローナル抗体である。

【0199】

本発明のモノクローナル抗体は、古典的な方法に従って一方では前記定義の本発明HCVポリペプチドに対して免疫化された動物（特にマウスまたはラット）の脾臓から、他方では骨髓腫細胞系の細胞から形成されやすく、ハイブリドーマの、動物の免疫化のために最初に用いられたポリペプチドを認識するモノクローナル抗体を産生する能力によって選択されやすいハイブリドーマによって産生され得る。

30

【0200】

本発明に係る抗体は、酵素タイプ、蛍光タイプまたは放射性タイプの適当な標識によって標識することができる。

【0201】

本発明の好ましい具体例によるモノクローナル抗体は、H鎖およびL鎖をコードするマウスおよび/またはヒトゲノムDNA配列の一部からまたはH鎖およびL鎖をコードするcDNAクローンから出発して、組換えDNA技術によって調製されたマウスモノクローナル抗体のヒト化バージョンである。

40

【0202】

別法としては、本発明の好ましい具体例によるモノクローナル抗体は、ヒトモノクローナル抗体である。本発明の具体例によるこれらの抗体は、HCVタイプ1サブタイプ1d、1e、1fまたは1g；HCVタイプ2サブタイプ2e、2f、2g、2h、2i、2kまたは2l；HCVタイプ3サブタイプ3g；HCVタイプ4サブタイプ4k、4lまたは4m；および/またはHCVタイプ7（サブタイプ7a、7cまたは7d）、9、10または11に感染したかまたはHCVに対してワクチン接種された患者のヒト末梢血液リンパ球から誘導することもできる。かかるヒトモノクローナル抗体は、例えば、重症複

50

合型免疫不全症（S C I D）マウスのヒト末梢血液リンパ球（P B L）再増殖によって（最近のリビューについて、Duchosal et al. 1992を参照）、または本発明の抗原によって反応性B細胞の存在について、感染したかまたはワクチン接種された個体のエプスタイン・バー・ウイルス・形質転換リンパ球をスクリーニングすることによって調製される。

【0203】

本発明は、また、レパートリークローニングのプロセスによる組換え抗体の選択のための、本発明のタンパク、そのムテイン（mutein）、またはそれから誘導されたペプチドの使用にも関する（Persson et al., 1991）。

【0204】

ある種の遺伝子型から誘導されたペプチドに指向される抗体は、かかるH C V遺伝子型の検出のための、または治療薬として用いられる。

10

【0205】

本発明は、

（i）生物学的試料を前記抗体と接触させ、

（ii）H C V抗原と該抗体との間で形成された免疫複合体を検出すること

からなることを特徴とする、生物学的試料中に存在するH C V抗原の検出方法にも関する。

【0206】

本発明は、

（i）生物学的試料を前記抗体と接触させ、

（ii）H C V抗原と該抗体との間で形成された免疫複合体を検出すること

からなることを特徴とするH C V分類方法にも関する。

20

【0207】

本発明は、好ましくは固体支持体に結合される前記定義の少なくとも1つの抗体を含有してなることを特徴とする、H C Vの存在の検出に用いるための診断用キットにも関する。

【0208】

本発明は、好ましくは固体支持体に結合される前記定義の少なくとも1つの抗体を含有してなることを特徴とする、H C V分類のための診断用キットにも関する。

【0209】

本発明は、固体支持体上の特異的な位置に結合される一群の抗体を含有してなる前記定義の診断用キットにも関する。

30

【0210】

本発明は、また、前記定義の少なくとも1つの抗体および好適な賦形剤、希釈剤または担体からなることを特徴とする医薬組成物に関する。

【0211】

本発明は、哺乳動物に前記医薬組成物を有効量で投与することからなる、H C V感染の予防または治療方法にも関する。

【0212】

本発明は、H C V感染の予防または治療方法における前記組成物の使用に関する。

40

【0213】

遺伝子型は、形成された免疫複合体を検出するために後にP C Rによって増幅することができるポリヌクレオチド配列に結合されてもよい前記タイプ特異的抗体によっても検出される（Immuno-PCR、Sano et al., 1992）。

【0214】

本明細書に引用している文献または特許出願は、出典明示により本明細書の一部とする。以下の実施例は、本発明の態様を説明するが、如何なる場合も本発明の範囲を限定するものではない。

【0215】

（図面の説明）

50

図 1

本発明の新しく同定されたタイプおよびサブタイプの単離体のいくつかのコア/E 1 領域のヌクレオチド配列と、サブタイプの他の既知のプロトタイプ単離体との整列。

図 2

本発明の新しく同定されたタイプおよびサブタイプの単離体のいくつかのコア/E 1 領域のアミノ酸配列と、サブタイプの他の既知のプロトタイプ単離体との整列。

図 3

本発明の新規 H C V 単離体から得られたヌクレオチドおよびアミノ酸配列（配列番号 1 ~ 106）。

図 4

本発明の新しく同定されたタイプおよびサブタイプの単離体のいくつかのコア/E 1 領域のアミノ酸配列と、他の既知のサブタイプのプロトタイプ単離体との整列。

図 5

本発明の新しく同定されたタイプおよびサブタイプの単離体のいくつかの NS 5 b 領域のヌクレオチド配列と、他の既知のサブタイプのプロトタイプ単離体との整列。

図 6

本発明の新しく同定されたタイプおよびサブタイプの単離体のいくつかの NS 5 b 領域のアミノ酸配列と、他の既知のサブタイプのプロトタイプ単離体との整列。

第 5 表

本発明の新規サブタイプおよびタイプならびに配列決定された領域の概観。括弧の間のサブタイプは、Tokita et al. (1994) の分類に従って括弧を付していないサブタイプと置き換えられた。

【実施例】

【0216】

血清試料

カメルーン人供血者（CAM）からの血清試料をイノテスト（Innotest）H C V A b I I I を用いて H C V 抗体についてスクリーニングし、I N N O - L I A H C V I I I（イノジェネティクス（Innogenetics）、ベルギー国アントワープ）によって確認した。慢性 C 型肝炎の患者からの血清試料をベネルクス 3 国（BNL）の種々のセンターから、フランス（FR）から、パキスタン（PAK）から、エジプト（EG）から、およびベトナム（VN）から得た。

【0217】

ベネルクス、カメルーン、フランスおよびベトナムからの試料をその異常型反応性のために選択した（単離体 CAM 1078、FR 2、FR 1、VN 4、VN 12、VN 13、NE 98 など（第 5 表を参照））。

【0218】

c P C R、L i P A、クローニングおよび配列決定

R N A 単離、c D N A 合成、P C R、クローニング、およびピオチニル化した 5' U R 増幅産生物を用いる L i P A 遺伝子型分類（genotyping）は、開示に従って行った（Stuyver et al., 1994c）。直接配列決定のために 5' U R、コア/E 1、および NS 5 B P C R 産生物を用いた。ユニバーサル 5' U R プライマー H C P r 9 5、H C P r 9 6、H C P r 9 8、および H C P r 2 9 の配列は、従前に開示されていた（Stuyver et al., 1993b）。以下のプライマーも開示されていた（Stuyver et al., 1994c）：H C P r 4 1、コア領域の増幅のためのセンスプライマー；コア/E 1 領域の増幅のための H C P r 5 2 および H C P r 5 4；ならびに 340 - b p NS 5 B 領域の増幅のための H C P r 2 0 6 および H C P r 2 0 7。

【0219】

直接配列決定によって、コア/E 1 領域において、血清試料 B N L 1、B N L 2、B N L 3、B N L 4、B N L 5、B N L 6、B N L 7、B N L 8、B N L 9、B N L 10、B N L 11、B N L 12、C A M 1078、FR 2、FR 16、FR 4、FR 13、VN 1

10

20

30

40

50

3、VN4、VN12、FR1、NE98、およびFR19を分析した。直接配列決定によって、NS5B領域において、血清試料BNL1、BNL2、FR17、CAM1078、FR2、FR16、BNL3、FR4、BNL5、FR13、FR18、PAK64、BNL8、BNL12、EG81、VN13、VN4、VN12、FR1、NE98、FR14、FR15およびFR19もまた分析した。部分的な5'UR、コア、E1およびNS5B配列を得た。得られた配列の長さは、得られた配列を、既知の配列に対する系統発生的距離に基づいて、新規タイプまたはサブタイプに分類するのに充分である。以下の配列を得ることができた（ヌクレオチド配列は、奇数番号の配列番号を有しており、アミノ酸配列は、偶数番号の配列番号を有している）：配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21、23、25、27、29、31、33、35、37、39、41、43、45、47、49、51、53、55、57、59、61、63、65、67、69、71、73、75、77、79、81、83、85、87、89、91、93、95、97、99、101、103および105。それらから推断されるアミノ酸配列は、配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、30、32、34、36、38、40、42、44、46、48、50、52、54、56、58、60、62、64、66、68、70、72、74、76、78、80、82、84、86、88、90、92、94、96、98、100、102、104および106で示される。第5表は、これらの配列の概観を示す。

10

【0220】

【表 5 - 1】

第5表

タイプ	単離体	ヌクレオチド配列位置			
1d	BNL1	1-310(配列番号1)	478-925(配列番号3)	7932-8271(配列番号53)	
1d	BNL2	1-310(配列番号5)	478-925(配列番号7)	7932-8271(配列番号55)	
1d	FR17			7932-8271(配列番号57)	
1e	CAM1078	1-223(配列番号9)	(-238)-414(配列番号59)	7932-8271(配列番号61)	
1f	FR2	1-950(配列番号11)		7932-8271(配列番号63)	10
1g	FR16	(-15)-816(配列番号65)		7932-8271(配列番号67)	
2e	BNL3	1-310(配列番号13)	478-957(配列番号15)	7932-8271(配列番号69)	
2f	FR4	1-957(配列番号17)		7932-8271(配列番号71)	
2g	BNL4		478-925(配列番号19)		
2h	BNL5	1-310(配列番号21)	478-925(配列番号23)	7932-8271(配列番号73)	
2i	BNL6		478-833(配列番号25)		
2k	FR13	(-238)-957(配列番号75)		7932-8271(配列番号77)	
2l	FR18			7932-8271(配列番号79)	20
3g	PAK64			7932-8271(配列番号81)	
4k	BNL7	1-310(配列番号27)	478-925(配列番号29)		
4k	BNL8		478-925(配列番号31)	7932-8271(配列番号83)	
4k	BNL9		478-925(配列番号33)		
4k	BNL10		478-925(配列番号35)		
4k	BNL11		478-925(配列番号37)		
4l	BNL12		478-925(配列番号39)	7932-8271(配列番号85)	30
4m	EG81			7932-8271(配列番号87)	
7a(8b)	VN13	1-413(配列番号45)		7932-8271(配列番号89)	
7c(8a)	VN4	1-957(配列番号43)		7932-8271(配列番号91)	
7d(9a)	VN12	1-957(配列番号47)		7932-8271(配列番号93)	
9a(7a)	FR1	1-957(配列番号41)		7932-8271(配列番号95)	
10a	NE98	1-310(配列番号49)	478-925(配列番号51)	7932-8271(配列番号97)	
11a	FR14			7932-8266(配列番号99)	
11a	FR15			7932-8271(配列番号101)	40
11a	FR19	(-238)-223(配列番号103)		7932-8271(配列番号105)	

【表 5 - 2】

第 5 表—続き

タイプ	単離体	アミノ酸配列位置			
1d	BNL1	1-103(配列番号2)	159-308(配列番号4)	2645-2757(配列番号54)	
1d	BNL2	1-103(配列番号6)	159-308(配列番号8)	2645-2757(配列番号56)	
1d	FR17			2645-2757(配列番号58)	
1e	CAM1078	1-74(配列番号10)	1-138(配列番号60)	2645-2757(配列番号62)	
1f	FR2	1-316(配列番号12)		2645-2757(配列番号64)	10
1g	FR16	1-158(配列番号66)		2645-2757(配列番号68)	
2e	BNL3	1-103(配列番号14)	159-317(配列番号16)	2645-2757(配列番号70)	
2f	FR4	1-317(配列番号18)		2645-2757(配列番号72)	
2g	BNL4		159-308(配列番号20)		
2h	BNL5	1-103(配列番号22)	159-308(配列番号24)	2645-2757(配列番号74)	
2i	BNL6		159-277(配列番号26)		
2k	FR13	1-316(配列番号76)		2645-2757(配列番号78)	20
2l	FR18			2645-2757(配列番号80)	
3g	PAK64			2645-2757(配列番号82)	
4k	BNL7	1-103(配列番号28)	159-308(配列番号30)		
4k	BNL8		159-308(配列番号32)	2645-2757(配列番号84)	
4k	BNL9		159-308(配列番号34)		
4k	BNL10		159-308(配列番号36)		
4k	BNL11		159-308(配列番号38)		
4l	BNL12		159-308(配列番号40)	2645-2757(配列番号86)	30
4m	EG81			2645-2757(配列番号88)	
7a(8b)	VN13	1-137(配列番号46)		2645-2757(配列番号90)	
7c(8a)	VN4	1-317(配列番号44)		2645-2757(配列番号92)	
7d(9a)	VN12	1-317(配列番号48)		2645-2757(配列番号94)	
9a(7a)	FR1	1-317(配列番号42)		2645-2757(配列番号96)	
10a	NE98	1-103(配列番号50)	159-308(配列番号52)	2645-2757(配列番号98)	
11a	FR14			2645-2757(配列番号100)	40
11a	FR15			2645-2757(配列番号102)	
11a	FR19	1-74(配列番号104)		2645-2757(配列番号106)	

【 0 2 2 1 】

系統発生的分析

E M B L / Genbankデータベースから従前に公表された配列を得た。プログラム H C V A L I G N (Stuyer et al. 1994c) を用いて整列させた。連続フォーマットにおいて、ファイロジェニー・インフェレンス・パッケージ (Phylogeny Inference Package) (P H Y L I P) バージョン 3.5 c (アメリカ合衆国シアトルのユニバーシティ・オブ・ワシントン (University of Washington) から自由に入手できる公共のドメインプログ

ラム)に配列を与えた。距離マトリックスを、Kimura 2 - パラメーター設定を用いて D N A D I S T によって得、さらに隣接設定 (neighbor-joining setting) を用いて N E I G H B O R において分析した。プログラム D R A W T R E E を用いて、図表的アウトプットを得た。

【0222】

新規サブタイプの同定

これらの分析により、BNL 1、BNL 2、CAM 1078、FR 2、FR 16 および FR 17 のタイプ 1 単離体とのクラスター形成が判明したが、これらの配列のいずれも既知のタイプ 1 サブタイプ 1 a、1 b または 1 c とはクラスター形成しなかった。BNL 1、BNL 2 および FR 17 は、明らかに一緒にクラスター形成し、新しいタイプ 1 サブタイプ 1 d と称され、CAM 1078 は、別の新しいサブタイプ 1 e に分類され、FR 2 は、別のタイプ 1 サブタイプ 1 f に分類され、FR 16 は、別のタイプ 1 サブタイプ 1 g に分類される。興味深いことに、3 つのタイプ 1 d 単離体 (BNL 1、BNL 2 および FR 17) および 1 g 単離体 FR 16 の全ては、ヨーロッパに住むモロッコ人種血統の患者から得た。

10

【0223】

単離体の別のグループは、他のタイプ 2 配列とホモロジーを示すが、単離体 BNL 3、FR 4、BNL 4、BNL 5、BNL 6、FR 13 または FR 18 は、既知のタイプ 2 サブタイプ 2 a、2 b、2 c (Bukh et al., 1993) または 2 d (Stuyver et al., 1994c) のうちの 1 つには全く分類されない。タイプ 2 単離体および該グループの他の単離体に対する系統発生的距離に基づいて、これらの単離体の各々は、新しいタイプ 2 サブタイプに分類される。BNL 3 は、サブタイプ 2 e と称され、FR 4 は、サブタイプ 2 f と称され、BNL 4 は、サブタイプ 2 g と称され、BNL 5 は、サブタイプ 2 h と称され、BNL 6 は、別のタイプ 2 サブタイプ 2 i に分類される。従前に公表された単離体 HN 4 を 2 j と分類すれば、FR 13 および FR 18 は、新しいタイプ 2 サブタイプ 2 k および 2 l に分類される。しかしながら、FR 13 および FR 18 がサブタイプ 2 g または 2 i に属する可能性は、除外されていなかった。明確な分類は、各々サブタイプ 2 g および 2 i に属する単離体 BNL 4 および BNL 6 の NS 5 B 配列を決定することによって得ることができる。

20

【0224】

単離体 PAK 64 は、タイプ 3 配列とホモロジーを示すが、既知のタイプ 3 サブタイプ 3 a ~ f のうちの 1 つに分類することができなかった。他のタイプ 3 単離体に対する系統発生的距離に基づいて、PAK 64 は、新しいタイプ 3 サブタイプに分類することができた。PAK 64 は、タイプ 3 g と称された。しかしながら、PAK 64 が既知のタイプ 3 サブタイプに属する可能性は、ゲノムの 1 つの領域が配列決定されただけなので、厳密に言えば除外することができない。明確な分類は、プライマー HcPr 5 2 および HcPr 5 4 による増幅の後、単離体 PAK 64 のコア / E 1 配列を決定することによって得ることができる。

30

【0225】

分析されたベネルクス人およびエジプト人の試料のうち、いくつかの配列は、従前に定義されたタイプ 4 サブタイプ 4 c および 4 d とクラスター形成した。しかしながら、BNL 7、BNL 8、BNL 9、BNL 10、BNL 11、BNL 12 および EG 8 1 は、タイプ 4 の新しいサブタイプにクラスター形成した。単離体 BNL 7、BNL 8、BNL 9、BNL 10 および BNL 11 は、BNL 12 および EG 8 1 と別に、新しいサブタイプ 4 k に再度クラスター形成した。このサブタイプは、ベネルクス 3 国において優勢なサブタイプであった。BNL 12 および EG 8 1 は、別々のサブタイプに分離した。BNL 12 は、別の新しいサブタイプ 4 l と称され、EG 8 1 は、別の新しいサブタイプ 4 m と称された。

40

【0226】

新しい HCV メジャータイプの同定

50

単離体 F R 1、V N 4、V N 1 2、V N 1 3、N E 9 8、F R 1 4、F R 1 5 および F R 1 9 は、H C V の既知の 6 つのメジャータイプのいずれともクラスター形成しなかった。V N 4、V N 1 2 および V N 1 3 は、遺伝子型 6 と非常に離れた関係にあったが、系統発生的分析により、これらの単離体が新しいメジャータイプを示すことが判明した。V N 1 3、V N 4 および V N 1 2 は、サブタイプレベルで関係しており、各々、7 a、7 c および 7 d と称された。F R 1 は、既知の単離体と関係しておらず、遺伝子型 9 a と称された。N E 9 8 は、タイプ 3 配列と遠い関係を示し、系統発生的分析は、新しいメジャータイプ 1 0 a への分類を示した。タイプおよびサブタイプレベルを割り当てるための国際ガイドラインに依存して、N E 9 8 は、別のタイプ 3 サブタイプに分類される。F R 1 4、F R 1 5 および F R 1 9 は、タイプ 2 配列と非常に遠い関係にあることを示し、系統発生的分析は、これらの単離体が新しいメジャータイプ 1 1 に分類されるべきであることを示した（全て、1 1 a と称される同一サブタイプに属する）。タイプおよびサブタイプレベルを割り当てるための国際ガイドラインに依存して、F R 1 4、F R 1 5 および F R 1 9 は、別のタイプ 2 サブタイプに分類される。

10

【 0 2 2 7 】

（引用文献）

- Barany F (1991). Genetic disease detection and DNA amplification using cloned thermostable ligase. *Proc Natl Acad Sci USA* 88: 189-193.
- Bej A, Mahbubani M, Miller R, Di Cesare J, Haff L, Atlas R (1990) Multiplex PCR amplification and immobilized capture probes for detection of bacterial pathogens and indicators in water. *Mol Cell Probes* 4:353-365. 20
- Bukh J, Purcell R, Miller R (1992). Sequence analysis of the 5' noncoding region of hepatitis C virus. *Proc Natl Acad Sci USA* 89:4942-4946.
- Bukh J, Purcell R, Miller R (1993). At least 12 genotypes of hepatitis C virus predicted by sequence analysis of the putative E1 gene of isolates collected worldwide. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90, 8234-8238.
- Cha T, Beal E, Irvine B, Kolberg J, Chien D, Kuo G, Urdea M (1992) At least five related, but distinct, hepatitis C viral genotypes exist. *Proc Natl Acad Sci USA* 89:7144-7148.
- Chan S-W, Simmonds P, McOmish F, Yap P, Mitchell R, Dow B, Follett E (1991) Serological responses to infection with three different types of hepatitis C virus. *Lancet* 338:1991. 30
- Chan S-W, McOmish F, Holmes E, Dow B, Peuthere J, Follett E, Yap P, Simmonds P (1992) Analysis of a new hepatitis C virus type and its phylogenetics relationship to existing variant. *J Gen Virol* 73:1131-1141.
- Chomczynski P, Sacchi N (1987) Single step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. *Anal Biochem* 162:156-159.
- Choo Q, Richman K, Han J, Berger K, Lee C, Dong C, Gallegos C, Coit D, Medina-Selby A, Barr P, Weiner A, Bradley D, Kuo G, Houghton M (1991) Genetic organization and diversity of the hepatitis C virus. *Proc Natl Acad Sci USA* 88:2451-2455. 40

【 0 2 2 8 】

- Compton J (1991). Nucleic acid sequence-based amplification. *Nature*, 350:91-92.
- Duchosal A, Eming S, Fisher P (1992) Immunization of hu-PBL-SCID mice and the rescue of human monoclonal Fab fragments through combinatorial libraries. *Nature* 355:258-262.
- Duck P (1990). Probe amplifier system based on chimeric cycling oligonucleotides. *Biotechniques* 9, 142-147.
- Guatelli J, Whitfield K, Kwok D, Barringer K, Richman D, Gengeras T (1990) Isothermal, in vitro amplification of nucleic acids by a multienzyme reaction model 50

ed after retroviral replication. *Proc Natl Acad Sci USA* 87: 1874-1878.

Hijikata M, Kato N, Ootsuyama Y, Nakagawa M, Shimotohmo K (1991) Gene mapping of the putative structural region of the hepatitis C virus genome by in vitro processing analysis. *Proc Natl Acad Sci USA* 88, 5547-5551.

Jacobs K, Rudersdorf R, Neill S, Dougherty J, Brown E, Fritsch E (1988) The thermal stability of oligonucleotide duplexes is sequence independent in tetraalkylammonium salt solutions: application to identifying recombinant DNA clones. *Nucleic Acids Res* 16:4637-4650.

Kato N, Hijikata M, Ootsuyama Y, Nakagawa M, Ohkoshi S, Sugimura T, Shimotohno K (1990) Molecular cloning of the human hepatitis C virus genome from Japanese patients with non-A, non-B hepatitis. *Proc Natl Acad Sci USA* 87:9524-9528. 10

Kwoh D, Davis G, Whitfield K, Chappelle H, Dimichele L, Gingeras T (1989). Transcription-based amplification system and detection of amplified human immunodeficiency virus type 1 with a bead-based sandwich hybridization format. *Proc Natl Acad Sci USA*, 86:1173-1177.

【 0 2 2 9 】

Kwok S, Kellogg D, McKinney N, Spasic D, Goda L, Levenson C, Sinisky J, (1990). Effects of primer-template mismatches on the polymerase chain reaction: Human immunodeficiency virus type 1 model studies. *Nucleic Acids Res.*, 18:999.

Landgren U, Kaiser R, Sanders J, Hood L (1988). A ligase-mediated gene detection technique. *Science* 241:1077-1080. 20

Lizardi P, Guerra C, Lomeli H, Tussie-Luna I, Kramer F (1988) Exponential amplification of recombinant RNA hybridization probes. *Bio/Technology* 6:1197-1202.

Lomeli H, Tyagi S, Printchard C, Lizardi P, Kramer F (1989) Quantitative assays based on the use of replicatable hybridization probes. *Clin Chem* 35: 1826-1831.

Machida A, Ohnuma H, Tsuda F, Muneoka E, Tanaka T, Akahane Y, Okamoto H, Mishiro S (1992) *Hepatology* 16, 886-891.

Maniatis T, Fritsch E, Sambrook J (1982) *Molecular cloning: a laboratory manual*. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY. 30

Mori S, Kato N, Yagyu A, Tanaka T, Ikeda Y, Petchclai B, Chiewsilp P, Kurimura T, Shimotohno K (1992) A new type of hepatitis C virus in patients in Thailand. *Biochem Biophys Res Comm* 183:334-342.

Okamoto H, Okada S, Sugiyama Y, Kurai K, Iizuka H, Machida A, Miyakawa Y, Mayumi M (1991) Nucleotide sequence of the genomic RNA of hepatitis C virus isolated from a human carrier: comparison with reported isolates for conserved and divergent regions. *J Gen Virol* 72:2697-2704.

Okamoto H, Kurai K, Okada S, Yamamoto K, Iizuka H, Tanaka T, Fukuda S, Tsuda F, Mishiro S (1992) Full-length sequences of a hepatitis C virus genome having poor homology to reported isolates: comparative study of four distinct genotypes. *Virology* 188:331-341. 40

【 0 2 3 0 】

Persson M, Caothien R, Burton D (1991). Generation of diverse high-affinity human monoclonal antibodies by repertoire cloning. *Proc Natl Acad Sci USA* 89:2432-2436.

Saiki R, Gelfand D, Stoffel S, Scharf S, Higuchi R, Horn G, Mullis K, Erlich H (1988). Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. *Science* 239:487-491.

Saiki R, Walsh P, Levenson C, Erlich H (1989) Genetic analysis of amplified DNA with immobilized sequence-specific oligonucleotide probes (1989) *Proc Natl Acad Sci USA* 86:1024-1028. 50

d Sci USA 86:6230-6234.

Sano T, Smith C, Cantor C (1992) Immuno-PCR: very sensitive antigen detection by means of specific antibody-DNA conjugates. *Science* 258:120-122.

Simmonds P, McOmsh F, Yap P, Chan S, Lin C, Dusheiko G, Saeed A, Holmes E (1993a), Sequence variability in the 5' non-coding region of hepatitis C virus: identification of a new virus type and restrictions on sequence diversity. *J Gen Virol*, 74:661-668.

Stuyver L, Rossau R, Wyseur A, Duhamel M, Vanderborght B, Van Heuverswyn H, Maertens G (1993b) Typing of hepatitis C virus (HCV) isolates and characterization of new (sub)types using a Line Probe Assay. *J Gen Virology*, 74: 1093-1102. 10

Tokita et al. (1994) Hepatitis C virus variants from Vietnam are classifiable into the seventh, eighth, and ninth major genetic groups. *Proc. Natl. Acad. Sci*, 91:11022-11026.

Walker G., Little M, Nadeau J, Shank D (1992). Isothermal in vitro amplification of DNA by a restriction enzyme/DNA polymerase system. *Proc Natl Acad Sci USA* 89:392-396.

Wu D, Wallace B (1989). The ligation amplification reaction (LAR) - amplification of specific DNA sequences using sequential rounds of template-dependent ligation. *Genomics* 4:560-569.

【 0 2 3 1 】

Miller P, Yano J, Yano E, Carroll C, Jayaram K, Ts'o P (1979) Nonionic nucleic acid analogues. Synthesis and characterization of dideoxyribonucleoside methylphosphonates. *Biochemistry* 18(23):5134-43.

Nielsen P, Egholm M, Berg R, Buchardt O (1991) Sequence-selective recognition of DNA by strand displacement with a thymine-substituted polyamide. *Science* 254 (5037):1497-500.

Nielsen P, Egholm M, Berg R, Buchardt O (1993) Sequence specific inhibition of DNA restriction enzyme cleavage by PNA. *Nucleic-Acids-Res.* 21(2):197-200.

Asseline U, Delarue M, Lancelot G, Toulme F, Thuong N (1984) Nucleic acid-binding molecules with high affinity and base sequence specificity: intercalating agents covalently linked to oligodeoxynucleotides. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 81(11):3297-301. 30

Matsukura M, Shinozuka K, Zon G, Mitsuya H, Reitz M, Cohen J, Broder S (1987) Phosphorothioate analogs of oligodeoxynucleotides: inhibitors of replication and cytopathic effects of human immunodeficiency virus. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 84(21):7706-10.

Maertens, G., Ducatteeuw, A., Stuyver, L., Vandepoosele, P., Venneman, A., Wyseur, A., Bosman, F., Heijtkink, R. & de Martynoff, G. (1994) Low prevalence of anti-E1 antibodies reactive to recombinant type 1b E1 envelope protein in type 2, 3, and 4 sera, but high prevalence in subtypes 1a and 1b. In: *Viral Hepatitis and Liver Disease, Proceedings of the International Symposium on Viral Hepatitis and Liver Disease* (Eds. Nishioka, K., Suzuki, H., Mishiro, S., and Oda, T.), pp 314-316, Springer-Verlag Tokyo. 40

Simmonds, P., Rose, K.A., Graham, S., Chan, S.-W., McOmish, F., Dow, B. C., Follett, E.A.C., Yap, P.L., & Marsden, H. (1993b) Mapping of serotype-specific, immunodominant epitopes in the NS4 region of hepatitis C virus (HCV): Use of type-specific peptides to serologically discriminate infections with HCV type 1, 2, and 3. *J. Clin. Microbiol.* 31, 1493-1503.

【 0 2 3 2 】

Simmonds, P., Holmes, E.C., Cha, T.-A., Chan, S.-W., McOmish, F., Irvine, B., 50

Beall, E., Yap, P.L., Kolberg, J., & Urdea, M.S. (1993c) J. Gen. Virol. 74, 2391-2399.

Stuyver, L., Van Arnhem, W., Wyseur, A. & Maertens, G. (1994) Cloning and phylogenetic analysis of the Core, E2, and NS3/4 regions of hepatitis C virus type 5a. Biochem. Biophys. Res. Comm. 202, 1308-1314.

Simmonds, P., Alberti, A., Alter, H., Bonino, F., Bradley, D.W., Brechot, C., Brouwer, J., Chan, S.-W., Chayama K., Chen, D.-S., Choo, Q.

-L., Colombo, M., Cuypers, T., Date, T., Dusheiko, G., Esteban, J.I., Fay, O., Hadziyannis, S., Han, J., Hatzakis, A., Holmes, E.C., Hotta, H., Houghton, M., Irvine, B., Kohara, M., Kolberg, J.A., Kuo, G., Lau, J.Y.

N., Lelie, P.N., Maertens, G., McOmish, F., Miyama, T., Mizokami, M., Nomoto, A., Prince A.M., Reesink, H.W., Rice, C., Roggendorf, M., Schalm, S., Shikata, T., Shimotohno, K., Stuyver, L., Treppe, C., Weiner, A.,

Yap, P.L. & Urdea, M.S. (1994) A proposed system for the nomenclature of hepatitis C virus genotypes. Hepatology 19, 1321-1324.

Stuyver, L., Van Arnhem, W., Wyseur, A., DeLeys, R. & Maertens, G. (1993a) Analysis of the putative E1 envelope and NS4a epitope regions of HCV type 3. Biochem. Biophys. Res. Comm. 192, 635-641.

Stuyver, L., Rossau, R., Wyseur, A., Duhamel, M., Vanderborght, B., Van Heuverswyn, H. & Maertens, G. (1993b) Typing of hepatitis C virus isolates and characterization of new subtypes using a line probe assay. J. Gen Virol. 74, 1093-1102.

Stuyver, L., Wyseur, A., Van Arnhem, W., Rossau, R., Delaporte, E., Dazza, M.-C., Van Doorn, L.-J., Kleter, B. & Maertens, G. (1994a) The use of a line probe assay as a tool to detect new types or subtypes of hepatitis C virus. In: Viral Hepatitis and Liver Disease, Proceedings of the International Symposium on Viral Hepatitis and Liver Disease (Eds. Nishioka, K., Suzuki, H., Mishiro, S., and Oda, T.), pp 317-319, Springer-Verlag Tokyo.

【 0 2 3 3 】

Stuyver, L., Van Arnhem, W., Wyseur, A. & Maertens, G. (1994b) Cloning and Phylogenetic analysis of the Core, E2, and NS3/4 regions of the hepatitis C virus type 5a. Biochem. Biophys. Res. Comm. 202, 1308-1314.

Stuyver, L., Van Arnhem, W., Wyseur, Hernandez, F., Delaporte, E., & Maertens, G. (1994c) Classification of hepatitis C viruses based on phylogenetics analysis of the E1 and NS5B regions and identification of 5 new subtypes. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 91.

Stuyver et al. (1995) Hepatitis C virus genotyping by means of 5'-UR/core line probe assays and molecular analysis of untypeable samples. Virus Research (in press).

【 図面の簡単な説明 】

【 0 2 3 4 】

【 図 1 - 1 】 本発明の新しく同定されたタイプおよびサブタイプの単離体のいくつかのコア/E1領域のヌクレオチド配列と、サブタイプの他の既知のプロトタイプ単離体との整列を示す図1の一部。

【 図 1 - 2 】 本発明の新しく同定されたタイプおよびサブタイプの単離体のいくつかのコア/E1領域のヌクレオチド配列と、サブタイプの他の既知のプロトタイプ単離体との整列を示す図1の一部。

【 図 1 - 3 】 本発明の新しく同定されたタイプおよびサブタイプの単離体のいくつかのコア/E1領域のヌクレオチド配列と、サブタイプの他の既知のプロトタイプ単離体との整列を示す図1の一部。

【図 1 - 20】本発明の新しく同定されたタイプおよびサブタイプの単離体のいくつかの
コア / E 1 領域のヌクレオチド配列と、サブタイプの他の既知のプロトタイプ単離体との

50

整列を示す図 1 の一部。

【図 2 - 1】本発明の新しく同定されたタイプおよびサブタイプの単離体のいくつかのコア / E 1 領域のアミノ酸配列と、サブタイプの他の既知のプロトタイプ単離体との整列を示す図 2 の一部。

【図 2 - 2】本発明の新しく同定されたタイプおよびサブタイプの単離体のいくつかのコア / E 1 領域のアミノ酸配列と、サブタイプの他の既知のプロトタイプ単離体との整列を示す図 2 の一部。

【図 2 - 3】本発明の新しく同定されたタイプおよびサブタイプの単離体のいくつかのコア / E 1 領域のアミノ酸配列と、サブタイプの他の既知のプロトタイプ単離体との整列を示す図 2 の一部。

10

【図 2 - 4】本発明の新しく同定されたタイプおよびサブタイプの単離体のいくつかのコア / E 1 領域のアミノ酸配列と、サブタイプの他の既知のプロトタイプ単離体との整列を示す図 2 の一部。

【図 2 - 5】本発明の新しく同定されたタイプおよびサブタイプの単離体のいくつかのコア / E 1 領域のアミノ酸配列と、サブタイプの他の既知のプロトタイプ単離体との整列を示す図 2 の一部。

【図 2 - 6】本発明の新しく同定されたタイプおよびサブタイプの単離体のいくつかのコア / E 1 領域のアミノ酸配列と、サブタイプの他の既知のプロトタイプ単離体との整列を示す図 2 の一部。

【図 2 - 7】本発明の新しく同定されたタイプおよびサブタイプの単離体のいくつかのコア / E 1 領域のアミノ酸配列と、サブタイプの他の既知のプロトタイプ単離体との整列を示す図 2 の一部。

20

【図 3 - 1】本発明の新規 H C V 単離体から得られたヌクレオチドおよびアミノ酸配列を示す図 3 の一部。

【図 3 - 2】本発明の新規 H C V 単離体から得られたヌクレオチドおよびアミノ酸配列を示す図 3 の一部。

【図 3 - 3】本発明の新規 H C V 単離体から得られたヌクレオチドおよびアミノ酸配列を示す図 3 の一部。

【図 3 - 4】本発明の新規 H C V 単離体から得られたヌクレオチドおよびアミノ酸配列を示す図 3 の一部。

30

【図 3 - 5】本発明の新規 H C V 単離体から得られたヌクレオチドおよびアミノ酸配列を示す図 3 の一部。

【図 3 - 6】本発明の新規 H C V 単離体から得られたヌクレオチドおよびアミノ酸配列を示す図 3 の一部。

【図 3 - 7】本発明の新規 H C V 単離体から得られたヌクレオチドおよびアミノ酸配列を示す図 3 の一部。

【図 3 - 8】本発明の新規 H C V 単離体から得られたヌクレオチドおよびアミノ酸配列を示す図 3 の一部。

【図 3 - 9】本発明の新規 H C V 単離体から得られたヌクレオチドおよびアミノ酸配列を示す図 3 の一部。

40

【図 3 - 10】本発明の新規 H C V 単離体から得られたヌクレオチドおよびアミノ酸配列を示す図 3 の一部。

【図 3 - 11】本発明の新規 H C V 単離体から得られたヌクレオチドおよびアミノ酸配列を示す図 3 の一部。

【図 3 - 12】本発明の新規 H C V 単離体から得られたヌクレオチドおよびアミノ酸配列を示す図 3 の一部。

【図 3 - 13】本発明の新規 H C V 単離体から得られたヌクレオチドおよびアミノ酸配列を示す図 3 の一部。

【図 3 - 14】本発明の新規 H C V 単離体から得られたヌクレオチドおよびアミノ酸配列を示す図 3 の一部。

50

【図 5 - 5】本発明の新しく同定されたタイプおよびサブタイプの単離体のいくつかの N

50

【図 6 - 6】本発明の新しく同定されたタイプおよびサブタイプの単離体のいくつかの N S 5 b 領域のアミノ酸配列と、他の既知のサブタイプのプロトタイプ単離体との整列を示す図 6 の一部。

【図 1 - 1】

図 1

1
HCV-1 1a ATGAGCAGCAATCCTAAACCTCAAAAAAACAACGTAACACCAACCG 50
HCV-J 1b -----A-----G-----C-----
HCG9 1c -----G-----C-----
BNL1 1d -----G-----C-----
BNL2 1d -----G-----C-----
CAM1078 1e -----G-----C-----A-----
FR2 1f -----G-----C-----C-----

HC-J6 2a -----A-----G-----C-----A-----
HC-J8 2b -----A-----G-----C-----A-----A-----
S83 2c -----A-----G-----C-----A-----T-----
NE92 2d -----A-----G-----C-----A-----T-----
FR4 2f -----A-----G-----C-----A-----T-----
BNL4 2e -----A-----G-----C-----A-----T-----
BNL5 2h -----A-----G-----C-----A-----T-----

NZL1 3a -----ACT-----G-----C-----A-----T-----
HCV-TR 3b -----ACT-----G-----C-----A-----ACT-----
NE48 3c -----ACT-----A-----C-----G-----A-----T-----
NE274 3d -----ACT-----A-----C-----G-----A-----T-----
NE145 3e -----ACT-----A-----C-----G-----A-----GT-----
NE125 3f -----ATT-----G-----C-----CC-----A-----ACC-----

Z4 4a -----G-----C-----
Z1 4b -----A-----G-----C-----
GB358 4c -----G-----C-----
DK13 4d -----G-----C-----
GB809 4e -----T-----G-----C-----
BNL7 4k -----G-----C-----

BE95 5a -----G-----C-----A-----
HK2 6a -----ACT-----A-----C-----G-----C-----A-----
FR1 7a -----ACT-----A-----C-----G-----C-----A-----T-----
VN4 8a -----ACT-----A-----C-----G-----C-----A-----T-----
VN13 8b -----ACT-----G-----C-----A-----
VN12 9a -----ACT-----A-----C-----G-----C-----A-----A-----
NE98 10a -----ACT-----A-----G-----C-----A-----N-----

【図 1 - 2】

図 1 - 続き

51
HCV-1 1a TCGCCACAGGACGTCAAGTTCCCGGGTGGCGGTGAGATCGTTGGTGAG 100
HCV-J 1b C-----T-----C-----T-----
HC-G9 1c C-----T-----C-----
BNL1 1d C-----T-----K-----GS-----NNNNNNN-----
BNL2 1d C-----T-----N-----T-----
CAM1078 1e C-----T-----C-----T-----
FR2 1f C-----T-----A-----G-----G-----

HC-J6 2a -----A-----T-----T-----C-----C-----
HC-J8 2b C-----T-----C-----C-----
S83 2c C-----T-----C-----C-----
NE92 2d C-----T-----C-----C-----
FR4 2f C-----T-----C-----C-----
BNL3 2e C-----T-----C-----C-----
BNL5 2h C-----T-----C-----C-----

NZL1 3a -----A-----T-----C-----A-----
HCV-TR 3b -----A-----T-----C-----A-----
NE48 3c -----T-----C-----C-----
NE274 3d -----T-----C-----C-----
NE145 3e -----G-----A-----T-----C-----
NE125 3f C-----G-----C-----T-----G-----

Z4 4a C-----CAT-----A-----T-----C-----C-----
Z1 4b C-----CAT-----T-----G-----A-----C-----C-----
GB358 4c C-----CAT-----C-----T-----C-----C-----
DK13 4d C-----AT-----T-----C-----C-----
GB809 4e C-----CAT-----T-----T-----C-----C-----
BNL7 4k C-----CAT-----T-----T-----C-----C-----

BE95 5a -----C-----T-----C-----
HK2 6a -----AC-----C-----
FR1 7a -----TAT-----C-----C-----
VN4 8a C-----C-----
VN13 8b -----
VN12 9a -----AT-----T-----C-----
NE98 10a C-----G-----T-----A-----C-----

【図 1 - 3】

図 1 - 続き

101
HCV-1 1a TTTACTTGTGCGCGCAGGGGCCCTAGATTGGGTGCGCGCGCAGAGA 150
HCV-J 1b -----C-----G-----C-----G-----T-----
HC-G9 1c -----C-----G-----
BNL1 1d -----C-----G-----GNN-----T-----
BNL2 1d -----C-----G-----C-----
CAM1078 1e -----C-----G-----C-----A-----AG-----C-----
FR2 1f -----C-----G-----

HC-J6 2a -----A-----C-----G-----A-----G-----
HC-J8 2b -----C-----C-----G-----A-----G-----
S83 2c -----A-----C-----G-----G-----
NE92 2d -----A-----C-----G-----G-----
FR4 2f -----C-----G-----C-----A-----G-----
BNL3 2e -----C-----G-----
BNL5 2h -----A-----C-----G-----

NZL1 3a -----A-----G-----AC-----C-----
HCV-TR 3b -----A-----TG-----C-----T-----AC-----
NE48 3c -----A-----G-----C-----T-----AC-----
NE274 3d -----C-----AC-----A-----AGTTC-----
NE145 3e -----A-----AC-----A-----TC-----
NE125 3f -----A-----G-----A-----AC-----AGT-----C-----

Z4 4a -----C-----G-----TC-----
Z1 4b -----C-----CC-----G-----AG-----TC-----
GB358 4c -----C-----C-----G-----TC-----
DK13 4d -----G-----T-----G-----
GB809 4e -----G-----TC-----
BNL7 4k -----C-----G-----TC-----

BE95 5a -----GA-----TC-----G-----
HK2 6a -----CC-----G-----
FR1 7a -----C-----T-----
VN4 8a -----C-----GC-----C-----
VN13 8b -----C-----T-----G-----
VN12 9a -----C-----A-----AC-----T-----G-----
NE98 10a -----G-----C-----A-----CCAG-----T-----AGT-----C-----

【図 1 - 4】

図 1 - 続き

151
HCV-1 1a AAGACTTCGAGCGGTGCGCAACCTCGAGGTAGACGTGAGCTATCCCA 200
HCV-J 1b -----T-----A-----G-----A-----
HC-G9 1c -----C-----G-----T-----
BNL1 1d -----A-----C-----G-----A-----
BNL2 1d -----G-----T-----AC-----G-----A-----T-----
CAM1078 1e -----G-----T-----G-----C-----A-----T-----
FR2 1f -----C-----A-----G-----

HC-J6 2a -----G-----C-----G-----A-----T-----A-----G-----C-----T-----
HC-J8 2b -----T-----A-----C-----G-----T-----AC-----C-----C-----
S83 2c -----A-----A-----C-----G-----A-----T-----G-----C-----C-----T-----
NE92 2d -----A-----C-----G-----A-----T-----G-----C-----C-----
FR4 2f -----T-----A-----C-----G-----A-----T-----A-----G-----C-----A-----
BNL3 2e -----T-----A-----C-----G-----A-----T-----G-----C-----C-----T-----
BNL5 2h -----A-----A-----C-----G-----A-----T-----G-----C-----C-----T-----

NZL1 3a -----A-----T-----A-----A-----G-----C-----AC-----A-----
HCV-TR 3b -----A-----TG-----C-----CAAACAG-----C-----T-----
NE48 3c -----A-----G-----C-----CGC-----G-----
NE274 3d -----A-----AG-----C-----CAACC-----G-----
NE145 3e -----A-----A-----C-----C-----AC-----G-----A-----T-----
NE125 3f -----AT-----A-----C-----AC-----G-----

Z4 4a -----G-----A-----T-----C-----G-----A-----
Z1 4b -----G-----A-----T-----C-----G-----
GB358 4c -----G-----T-----G-----
DK13 4d -----G-----T-----G-----G-----C-----
GB809 4e -----G-----T-----G-----G-----C-----A-----
BNL7 4k -----G-----T-----G-----C-----A-----

BE95 5a -----G-----A-----C-----T-----AC-----G-----T-----
HK2 6a -----A-----C-----G-----CA-----C-----G-----C-----A-----A-----
FR1 7a -----C-----A-----C-----G-----A-----C-----G-----C-----C-----A-----A-----
VN4 8a -----T-----A-----C-----G-----CA-----G-----C-----A-----A-----A-----
VN13 8b -----A-----T-----A-----C-----G-----CA-----G-----C-----A-----A-----G-----
VN12 9a -----G-----A-----C-----GG-----CA-----G-----C-----A-----A-----
NE98 10a -----G-----A-----CA-----G-----C-----A-----C-----G-----

【 図 1 - 5 】

図 1 - 続き

	201	250
HCV-1	1a	GGCTCGTCGGGCCCGAGGCCAGGACCTGGGCTCAGCCCGGGTACCCTTGGC
HCV-J	1b	-----C-----A-----T-----G-----
HC-G9	1c	---C-C-A---A---T---G---
BNL1	1d	---Y---Y---A---T---T---
BNL2	1d	---C-A-T---T---NN---A-C-T---C---
CAM1078	1e	---AG-C-A---T---
FR2	1f	---C-A---T-----T-----A---
HC-J6	2a	--A---G-CT-ACT---AAT-----GAA-A--A-A---C---
HC-J8	2b	A-A--G-CT-ACC-A-T---GAA--A-A--T---T---
S83	2c	A-A--G-CA-ACT-A-T---GAAG-A-A---
NE92	2d	A-A--G-C-ACT-A-T---GAA-A-A-A---
FR4	2f	A-A--G-CG-ACT-A-T---GA-GT-A-A---
BNL3	2e	A-A--GN-NG-ACT-T---GA-GT-A-A--T---C---
BNL5	2h	A-A--G-CT-CT---AAT---GA-GT-A-A---
NZL1	3a	--G-----AG--A-C-T-----
HCV-TR	3b	---CTC-G-----C-T-----
NE48	3c	---G-----TGG-----AC-T-----G-----
NE274	3d	---A-----AG-----C-T-----T-----
NE145	3e	---A-C-C-AG--GA-AC-T-----G-----T-----C---
NE125	3f	---A-C-A-AG-----C-T-----C-----T-----
Z4	4a	---G-C-A-A---A-----T-----G-----
Z1	4b	---G-C-T-----A-----T-----
GB358	4c	---A---AT-T---A-T-----T---A---
DK13	4d	---G-C-AA-T-----T-T-----T---T---A---
GB809	4e	---G-C-A-T-----AT-----G-----T---T---
BNL7	4k	---G---AT-----A---T-----A---A-A-T---A---
BE95	5a	---G-C-A---AC---C-T-----G---A---
HK2	6a	---G-C-A---C-----CA-----A---
FR1	7a	--TA-C-A---GAC-C-T-G-----G-A---C-----
VN4	8a	A-TG-C-A-C-AAAC---C-T-----C---C---
VN13	8b	--TG-----AC-AAAC---C-T-----A---C---
VN12	9a	--TG-C-A-AA-C-A---C-A-----T-----C---
NE99	10a	---G-C-A-----T-----

【 図 1 - 6 】

図 1 - 続き

	251	300
HCV-1	1a	CCCTCTATGGAATGAGGGCTCGGGTGCGGGATGGCTCCTGTCTCCC
HCV-J	1b	-----C-----TAIG-----A-----A-----
HC-G9	1c	-----C-----T-----A-----N-----C-----
BNL1	1d	-----C-----A-----A-----C-----
BNL2	1e	-----C-----A-----A-----C-----
FR2	1f	-----CT-C-----A-----C-----T-----
HC-J6	2a	---A-C-G---ACT---C---A-----C---
HC-J8	2b	---G-C-A-C---T---C---A-----C---
S83	2c	---G-C-G---CT---C---A-----C---
NE92	2d	---G-C-G---CT---C---A-----C---
FR4	2e	---G-C-G---CT---C---A-----C---
BNL3	2f	---G-C-G---CCT---C---A-----C---
BNL5	2h	---G---G-C---CIT---T---A-----T---C---T---
NZL1	3a	-----T-C-----A-G-----C---A-
HCV-TR	3b	---C-G---A---T---T---A-----T---C---
NE48	3c	-----C-T-----A-----A-----C---
NE274	3d	T-T---T-----T---A-----T---C---
NE145	3e	-----T-C-----A-G-----T---T---
NE125	3f	-----G-----T-----A-----T---
Z4	4a	-----A-G-----C---T
Z1	4b	---T-T-C-----T---A-G-----C---
GB358	4c	C-T---T-C---T-----T-----A---T
DK13	4d	---T-C-----A-----A---T
GB809	4e	---T-C-----T-----A-G-----A---T
BNL7	4k	T-T---C---T-----T-----ANN-----T---C---
BE95	5a	---T-T-C-C-----CT-----A-G-----G-C-C---T
HK2	6a	T-T-T---A-C-----T-----A-T-----C---
FR1	7a	-----C-----A-----C-----
VN4	8a	-T-T---A-----T-T---A-C-----C---
VN13	8b	-T-T---G-----T-T-C---A-G-----C---
VN12	9a	---T---G-C-----C-----G-----T---C---
NE98	10a	---A---G-----A-G-----C---G

【 図 1 - 7 】

図 1 - 続き

		301		350
HCV-1	1a	CGTGGCTCTCGGCCTAGCTGGGGCCCCACAGACCCCCGCGGTAGGTCGCG		
HCV-J	1b	-----T-----		
HC-G9	1c	-C-----T-----TT-T-----G-----A-		
BNL1	1d	-C-----		
BNL2	1d	-C-----		
FR2	1f	-C-----C-T-----AT-----A-----A-AA-		
HC-J6	2a	--A-T-C-T-CTCT-----AT-----A-----C-		
HC-J8	2b	-C-G-T-----T-CT-----C-----A--A-A-		
S93	2c	-C-T-----C-TCA-----C-----A-AA-----		
NE92	2d	-A-G-----C-GTCA-----A-T-----AC-----A-		
FR4	2f	-G-----C-CTCG-----A-AC-----AC-----A-		
BNL3	2e	-A-----		
BNL5	2h	--A-----		
N2L1	3a	-C-----C-T-ATC-----A-AT-----G-----C-		
HCV-TR	3b	-----T-----C-----T-----A-AT-----A-C-----		
NE48	3c	-C-T-----G-----A-AT-----A-A-C-----		
NE274	3d	-C-----A-ATCT-----AT-----A-----T-----		
NE145	3e	-C-----C-A-G-T-----AC-----A-----C-----		
NE125	3f	-----C-C-----T-----A-AT-----A-AA-----		
Z4	4a	-C-----ATCT-----A-AT-T-----G-A-----		
Z1	4b	-C-T-CA-GTCT-----AT-T-----C-----		
GB358	4c	-----A-GTCT-----A-AT-T-----A-C-----		
DK13	4d	-----GTCT-----G-AT-T-----G-C-----		
GB809	4e	-C-G-----GTCT-----T-AT-T-----G-----C-		
BNL7	4k	-C-T-----		
BE95	5a	--A-----AT-----AT-----A-AA-----		
HK2	6a	--C-----ACAT-----AT-----C-A-C-----		
FR1	7a	--C-G-----T-----AT-----AC-----A-----C-		
VN4	8a	--C-----C-A-AT-----A-AC-----G-----C-		
VN13	8b	--NC-----C-AT-----T-AT-----N-G-----C-		
VN12	9a	-----C-GGA-----N-----AT-----N-G-----C-		
NP98	10a	--C-----		

【 図 1 - 8 】

図 1 — 続き

GenBank	Accession	Length
HCV-1	351	400
HCV-J	1a	CAATTTTGGGTAAGGTCATCGATAACCCCTTACGTGCGGGTTCGCCGACCTCA
HC-G9	1b	T-----A-----
FR2	1c	-----C-----T-----
	1f	-----T-----T-----
HC-J6	2a	--CG-----A-----T-----
HC-J8	2b	-----C-GA-----A-----T-----T-----
S83	2c	-----C-----A-----T-----T-----
NE92	2d	-----C-----T-----T-----
FR4	2f	-----C-----T-----T-S-----
BNL3	2e	-----N-NT-----
N2L1	3a	-----A-----A-----
HCV-TR	3b	-----C-T-----A-----T-A-----
NE48	3c	-----A-----G-----
NE274	3d	-----CC-----A-----A-----T-----
NE145	3e	-----C-----T-C-A-----G-----
NE125	3f	-----C-----C-----T-A-----T-----
Z4	4a	-----C-----G-----
Z1	4b	T-----C-----A-----G-----T-----
GB358	4c	-----C-----A-C-----T-----
DK13	4d	-----C-----A-T-----
GB809	4e	-----CC-----A-A-----
BE95	5a	T-----A-----A-----T-----
HK2	6a	G-----A-----T-G-----T-----
FR1	7a	--C-----A-N-----NC-A-----
VN4	8a	-----C-----A-----C-----T-----S-----
VN13	8b	-----CC-----T-----T-N-----A-----
VN12	9a	--CC-----C-----C-T-----

【 図 1 - 1 0 】

図 1 ー 続き

	401		450
HCV-1	1a	TGGGGTACATACCGCTCGTCGGCGCCCTCTTGGAGGCGCTGCCAGGGCC	
HCV-J	1b	-----T-----T-----C-A-G-----	
HC-G9	1c	-----C-----T-----A-G-----A-T	
FR2	1f	-----T-----C-A-G-----T-AA--	
HC-J6	2a	-----C-TG-----A-----G-C-C-----TC-----A-	
HC-J8	2b	-----C-TG-----T-----GG-----TC-----A-T	
S83	2c	-----C-CG-----T-----T-CG-----C-T-----A-	
NE92	2d	-----C-TG-----AG-----T-T-TC-----A-T	
FR4	2f	-----T-G-----G-G-C-----T-----A-	
BNL3	2e	-----N-CG-T-----GG-G-C-G-TN-----	
NZL1	3a	-----C-----T-----G-A-----TC--A-A-	
HCV-TR	3b	-----T-----G-G-G-----TC--A-A-	
NE48	3c	-----T-----CG-G-G-----T-----A-	
NE274	3d	-----T-----T-----T-G-A-G-----TC--A-A-T	
NE145	3e	-----T-T-----T-----GG-A-----TC-G-----	
NE125	3f	-----T-----T-T-----CG-A-G-----TC--A-----	
Z4	4a	---A---C---A---G-----CG-G-G-----TC-----T	
Z1	4b	---A---T---T---A---G-G-T-----TC-----	
GB358	4c	---A---C---A---CG-G-T-----TC-----	
DK13	4d	---A---C---G---A---CG-G-T-----TC-----A-	
GB809	4e	---A---C-----T-A-----CG-G-T-----TC-----A-	
BE95	5a	-----T-C-----A---G---CA---G-----TC--A-----T	
HK2	6a	-----T-CG-----G-----G---T-G-C-----TC--GGCT--G	
FR1	7a	-----C-TG-C-A-A-GG-G-----C-----T---GGCT---	
VN4	8a	-----T-C-TG-----A-----T-GW-G-----TC--GGN-----	
VN13	9b	-A-A-----T-----	
VN12	9a	---A---C---T-G-----T-----C-----T---GGC-AA	

	451	500
HCV-1	1a CTGGCGCATGCCGCTCCGGTTCTGGAAGACGGCGTGAACATATGCACAACGG	
HCV-J	1b ----A-----T-----C-----G-----	
RN-G9	1c ----A-----T--TA-A-C-----T-C-----	
BNL1	1d -----	
BNL2	1e -----	
FR2	1f --N-A----T-----C---N-G-----TNNNNNNNNNNNNN	
HC-J76	2a -C-----GA-A-C-----G--G-T-T-T-	
HC-J78	2b ---A-C-T-TA-C-----G--GA-A-T-T-C---	
S83	2c -C-C---G-A-C-----G--GA-A-T-----G-	
NE92	2d -C-----GA-A-----GA-A-----	
BNL3	2e -C-N-----G-C-----G--GA-A-T--N----	
FR4	2f -C-----G---C-----G--GA-A-T-----	
BNL4	2g -----G-A-T-----	
BNL5	2h -----GA-A-C-----	
BNL6	2i -----GA-A-----	
NZLL1	3a -C-----GA-CC-T-----GA-A-T-TC-----	
HCV-TR	3b -C-T-----TA-CA-T-GG--A-----	
NE48	3c -C-----GA-C-T-G--GA-T--TC-----	
NE274	3d -C-A-----TA-GA-CC-T-G--AA-A-T-TC-----	
NE145	3e -C-A-C-G-AA-C-----G--AA-A-T-T-----	
NE125	3f -A-A-----T-GA-C-T-G--AA-A-T-----	
Z4	4a -----R-C-G-----GA-T-----	
Z1	4b -----C-CGG-----AA-T-----C-----	
GB358	4c -A-C-T-TA-C-G-----G-CA-C-T--G-----	
DK13	4d -----R-C-----G-C-T-----	
GB809	4e -A-C-T-TA-C-G-----GA-C-----C-----	
BNL7	4x -----GA-C-T-T-----	
BNL8	4k -----GA-C-T-----	
BNL9	4l -----GA-T-----	
BNL10	4k -----GA-C-T-----	
BNL11	4k -----GA-T-----	
BNL12	4l -----GA-C-T-----	
BE95	5a -C-R-A-C-T-GA---C-T-G-----G-A-----	
HK2	6a -C-A-----GA-CAA-C-G-----GA-C-T-----	
FR1	7a -----TA-CAA-C-G-----G-C-T-T-C-----	
VN4	8a T-----G-AN-NCA-C-G-----N-A-T-T-C-----N	
VN12	9a ---NA-----T-A-CCA-C-G-----GA-A-----	
NE98	10a -----AA-T-T-TC-----	

【 図 1 - 1 2 】

図 1 — 続き

	501	550
HCV-1	1a GAACCTTCTCGGTGCTCTTTCTCTATCTTCCCTTCTGCCCTGCTCTCTT	
HCV-J	1b ---T-G-C-----CT-A---TT-----G---	
HC-G9	1c ---T-C-C-----T-----T-G-C---T-T-A-C-	
BNL1	1d ---T-G-C-----CT---TT-----G-C-	
BNL2	1d ---TT-G-----CT-A---T-T-G-C-	
FR1	1f N-----N-----NN-----CT---NT-A---	
HC-J6	2a ---T-A-C-----C-T-----T-G-----G-C-	
HC-J8	2b ---TT-A-C-----T-----TT-G-T-T-T-T-G-A-	
S83	2c ---TT-G-C-----T-----T-CT-----CT-G---	
NE92	2d ---T-G-C---C-T---T-AT-----A---	
BNL3	2e ---T-C-----TNGT---T-T-G---	
FR4	2f ---T-G-C---C-T---T-G---T-CT-G---	
BNL4	2g ---T-G-----T-GT---T-T-G---	
BNL5	2h ---T-G-C---C-T---T-G---T-A-C-	
BNL6	2i ---G-----C-T---T-A---T---T---	
NZL1	3a ---T-G-C---C-T---T-T-T---	
HCV-TR	3b ---T-G-C---C-T---T---C-C-T-CT---C-	
NE48	3c ---TT-A---C-T---T-G-T-T-CT---A-	
NE274	3d ---TT-A-C---C-T---T-G-T-TT---	
NE145	3e ---T-----T---T-G-T-T-T---G-A-	
NE125	3f ---TT-G-C---C-T---T-T-CT---A---	
Z4	4a ---T---C-----T---A-T-T-G-	
Z1	4b -----T---T-A-T---T-G-	
GB358	4c ---T---C-----T-CT---A-T-T-G-	
DK13	4d ---T-C-----CT---A---T-G-	
GB809	4e ---T-C-C---C-T---CT---A-T-G-	
BNL7	4k ---C-C---C-T---CT---A-C-G-	
BNL8	4k ---T---C---T---CT---A-C-G-	
BNL9	4k ---T-C---C-T---CT---A-T-G-	
BNL10	4k ---TA---C---Y---Y---A-T-G-	
BNL11	4k ---Y-C-C---T---CT---A-T-G-	
BNL12	4l ---C-C-----A-C---A-T-G-	
BE95	5a ---TT-A-C-----TA---T-T-T-G-	
HK2	6a ---T-C-C-----T---A-A---G-	
FR1	7a ---T-----C-T-----CT-A-A---T-A-G-	
VN4	8a ---T-----C--NN---N-----N-CT---A-T---G-	
VN12	9a ---T-----WCT---A-T---G-	
NE98	10a ---TT-A-----TT-T-A---	

	551	600
HCV-1	1a	GCTTGA
HCV-J	1b	T-----C-A-C-----C-T-----G-G-----GTG-T-----C-A-T
HCV-G9	1c	-----C-----A-C-----T-----GT-GG-----T-----G-G
BNL1	1d	-----G-T-----AA-KA-C-----TC-----G-G-----G-AT-C-----G-G
BNL2	1d	-----T-T-----A-A-----C-TC-TG-G-----G-AT-C-----G-A
FR2	1f	-----C-C-----A-C-----A-C-----T-----TG-G-----A-G-A-----C-ATGGC
HC-J36	2a	-----A-C-----CACC-G-TC-C-----TGC-G-----AAG-----ATT-----GTACCGGG
HC-J8	2b	-----G-C-----A-----A-TG-T-----ATGGG-----CA-G-----ATT-----GTCTACGC
S83	2c	-----A-CT-----A-T-----C-----GTGG-----CAAGG-----A-----GGC-ATCC
NE92	2d	TA-C-----G-TC-C-G-----TG-G-----CAAG-----A-----GCA-CTC
BNL3	2e	TG-C-----C-----T-TC-T-N-GTTG-G-----CAAG-----TA-----GTCA-GCC
FR4	2f	TA-C-----C-----TG-T-----ATA-----A-----GCACT-C
BNL4	2g	TG-C-----C-----T-TC-T-----GTG-----TAAG-----A-----GTACAC-C
BNL5	2h	TC-C-----G-G-----C-TGTG-G-----CAAG-----A-----GCCACTC
BNL6	2i	-----A-C-----C-----G-TC-T-----GTG-----TGGC-----CG-----GT-----TTC-
NZL1	3a	-----A-T-CAT-----A-AG-CAGCTGTAG-GTG-----G-TA-GT-T-----C-C
HCV-TR	3b	-----TG-----G-T-G-----TAG-GTACAC-----A-GT-T-----C-C
NE48	3c	GTCTGT-T-----A-G-GGCT-G-GTAC-----G-TGAT-T-----C-C-C
NE274	3d	CTCTGT-T-----G-A-GAATTG-----TAC-----G-TGTGT-T-----C-C
NE145	3e	-----CT-TGC-T-----AGTC-GG-TGG-G-----T-----G-AT-C-----C-T-C
NE125	3f	-----GT-TCC-----AG-----GGCTAG-GTACA-G-----A-GT-C-----C-A
Z4	4a	-----C-----T-A-G-----GTG-G-----CTAC-G-----TG-TT-----C-A
Z1	4b	-----C-----AACA-A-A-----T-----GTG-CTAC-G-----TG-TT-----CG-C
GB358	4c	-----C-----T-A-C-----GT-A-CTAT-----TG-T-----C-A-C
DK13	4d	-----C-----T-A-----A-CTAT-----AG-T-----TG-C
GB809	4e	-----C-C-----T-----G-----G-GTAT-CTAT-----TG-TT-----CG-
BNL7	4k	-----C-----C-----AT-A-CTAT-----TGT-T-----CA-
BNL8	4k	-----C-----T-----ATTA-CTAC-----A-----T-----CA-C
BNL9	4k	-----C-----C-----ATTA-CTAC-----A-----T-----CA-C
BNL10	4k	-----TC-----C-----ACTA-CTAT-----GT-T-----CA-C
BNL11	4k	-----C-----C-----AC-A-CTAC-----TGT-T-----CA-
BNL12	4l	-----C-----C-G-C-----TC-G-----TTAT-G-----TGT-T-----CA-
BE95	5a	TC-----C-T-G-C-C-T-----AGTT-CCTAC-----A-TG-T-T-----A-
HK2	6a	-----C-C-----AAC-----A-----TCTTACCTACG-----GT-----A
FR1	7a	-----C-----ACA-A-A-C-----A-ATT-----CAAG-----G-T-T-----A-C
VN4	8a	-----C-T-----AACA-A-A-C-C-----GGCG-TTATAC-----AAGT-T-----C-G
VN12	9a	-----C-C-----CAC-----T-C-C-----ACTAA-CTATGCT-----AAGT-T-----G
NE98	10a	-----CT-ACA-----A-AG-C-GGCTGG-GTAC-----T-----TG-T-----C-A-C

【図 1 - 1 3】

図 1 - 続き

601 650

HCV-1 1a TACCACGTCACCAATGATTGCCCTAAGTATGTTGACGAGGGGGC
HCV-J 1b -----T-----G-----C-----T-----C-----A-----T-----A-----
HC-G9 1c -----T-----T-----C-----T-----TCCG-----C-----A-----A-----
BNL1 1d -----T-----T-----C-----TT-----C-----C-----CA-----C-----T-----AT-----A-----
BNL2 1e -----T-----TC-----C-----TT-----C-----C-----CA-----C-----T-----AT-----AG-----
FR2 1f -----T-----T-----C-----TT-----C-----GGC-----C-----C-----A-----T-----AAA-----

HC-J6 2a ---ATG-G-----C-----C-----A-----C-----TGAT-----C-----ACC-GGC-ACTCCA
HC-J8 2b ---T-----C-----T-----T-----A-----AAC-----C-----CACC-GGC-CTCA-
S83 2c ---ATGCCG-----C-----C-----T-----T-----C-----T-----GGC-CTT-A
NE92 2d ---ATG-A-----C-----AG-----AGT-----C-----C-----GGC-CTCAG
BNL3 2e ---TATG-CA-----C-----C-----T-----C-----AAC-----C-----A-----GGC-ATT-N
FR4 2f ---ATG-CG-----T-----C-----TGAC-----C-----C-----GGC-CTCAG
BNL4 2g ---ATG-CA-----C-----TT-----C-----AAC-----C-----CA-----C-----GGC-AAT-CA
BNL5 2h ---TATG-G-----T-----A-----AGC-----C-----C-----GGC-CTTAA
BNL6 2i ---ATG-G-----T-----T-----G-----AGC-----C-----C-----T-----GGC-CTC-A

NZL1 3a ---GT-C-T-----C-----C-----TT-----C-----TAGC-----T-----C-A
HCV-TR 3b ---TGTC-T-----C-----C-----T-----TGG-----C-----C-----A
NE48 3c ---ATAC-----C-----C-----TT-----G-----AGC-----C-----A-----T-----C-A
NE274 3d ---TGTC-----C-----C-----T-----A-----C-----A-----T-----CC-
NE145 3e ---ATGC-----C-----C-----T-----A-----AGC-----C-----A-----T-----A
NE125 3f ---ATAC-T-----C-----C-----T-----AGC-----C-----C-----T-----T-A

Z4 4a --T--A-----T--G--T--C-----A--C--T--A--T--A
Z1 4b --T--T-----T-----A--C--C--A-----A--A
GB358 4c --T--A-----C-----G-----C--A-----A--C--A
DK13 4d --T-----C-----G-----C--A--T--A--C--A
GB809 4e --T--A-----C-----C-----TG-----C--A-----A--C--A
BNL7 4k --T--T-----C-----G--T--A--C--A-----T-----C--A
BNL8 4k --T-----C-----G-----C--A--T--T-----C--A
BNL9 4k --T--TA-----C-----G--T--A--C--A-----T-----C--A
BNL10 4k --T-----C-----G--T--A--C--A-----T-----C--A
BNL11 4k --T-----C-----G--T--A--C--A-----T-----C--A
BNL12 4i -----C-----C-----G-----C--C--A-----T-----T--C--A

BE95 5a --T--T--T-----A-----TTCC--A--C--T-----A--A
HK2 6a -----TC-----A-----C-----C-----C-----CTG-----A
FR1 7a -----TC-T-----C-----T--G-----AAC--C--C--T--TT-----A
VN4 8a -----TC-----C-----C-----C-----AGC--C--C--T--T-----A
VN12 9a --T--TC-A-----C-----C-----TAGC--C-----T-----AA
NE98 10a ---ATG-A--A--T--C--C--AG-----GGT-----C-----T-----C--G

【図 1 - 1 4】

図 1 - 続き

651 700

HCV-1 1a CGATGCCATCCTGCACACTCCGGGGTGCCTCCCTTGGCTTCGTGAGGCGA
HCV-J 1b G--CATG--A-----C-----C-----G-----C-----A-----T-----
HC-G9 1c GA-CCTG--A-----TCTG--C-----T-----G--C--A-----A-----
BNL1 1d --G-ATG--A-----TAC--A-----G--C-----G-----AT-
BNL2 1e T-G-ATG--T-----G--A-----T-----G--C-----AA-
FR2 1f G--CAT-----T-----G--T-----N--G--C-----A--A--G--A-----

HC-J6 2a G-C---TG---C---GTC---C-----G---AGAAA-T---G-
HC-J8 2b T--C--AG-T--C--TCT--T--A-----A--T-AGAA--TAATG
S83 2c A-GA--AG-G--T--T-----T--A-----T-AG--ACC-C--
NE92 2d G-----TG-T--T--GTC--C-----T-----T-AGGAGA--G-
BNL3 2e G--C--GG-G--T--TGT--T--A--T-----C-----AGAA--AGTC-C-G
FR4 2f G--C--GG-G--C--TGT--T--A--T-----C--T-AGA-GTCA--T-
BNL4 2g G--GC--GG-G--T--TGT--T--A--T-----G--T-AGTGC--T-
BNL5 2h G-----TG-G--T--GTC--T--A--T--T--A--T-AGA-GC-CCAA-
BNL6 2i G--G---G---T---GTC--T--A--T--T--C--T-AGT-GA--A--

NZL1 3a T-----T-----A--C--C--T--A-----T--C-AG--C---
HCV-TR 3b A-----TG---T---TTA--C--A-----G--C-----CACAA--C---
NE48 3c --C--T-----T-----TTG--C--T-----A--C-----CAA--CAAT-
NE274 3d T--A--T-----T-----TTG--A--T--G--C-----AATCA--C---
NE145 3e A-----TG-----TG--T--T-----T--C-----AGA-C--
NE125 3f TA--T-----TG--C--C--T--G--C-----AC--C-----T--

Z4 4a --C--CA-----A-----TTG-----A--C--T--GATGACT--G-
Z1 4b GC-CCA-----A-----TTG-----T-----C--T--G--GAC--AG-
GB358 4c GC-CCA-----A-----CTC-----T--A--C-----GA-G--TT--G-
DK13 4d TT-CCA-----T--A-----CTC-----A-----T-----GA-G--A--G-
GB809 4e --A--CA-----T--A-----CTC-----A-----A--C--T--GAAGACC--G-
BNL7 4k --C--CA-----T-----CTC-----A-----G--C-----GA--A--T--G-
BNL8 4k --C--CA-----T-----CTC-----A-----G--C-----GA--A--T--G-
BNL9 4k --C--CA-----T-----TCTC-----A-----G--C-----GA--A--T--G-
BNL10 4k --C--CA-----T--AGCACT--A--T-----G--C-----GA--A--T--G-
BNL11 4k --C--CA-----T-----CTC-----A-----G--C-----GA--A--T--G-
BNL12 4i --C--CA-----T--A-----CTA-----A-----T--A--C--T--GAAGACT--G-

BE95 5a TA-CCTG-----A--G--A--T--T-----G-----T--CATGACA--T-
HK2 6a T-C-ATG-----T-----TTTG--T--A--T--T-----T--GA-G-TC-ATG
FR1 7a GACCATG--A-----TCT--A--T--T-----A--TA-CAAG-C---G-
VN4 8a GACACTG--TT-----TTG--T-----T--A-----T--GAAGRT-RA--
VN12 9a T-GCATG-----TCTC-----T-----C-----GAAGACC---
NE98 10a G---ATT-----C-----TTA--T--C--T-----C-----A--CTCT---

【図 1 - 1 5】

図 1 - 続き

701 750

HCV-1 1a AGCGCTCGAGGTGTTGGGIGGGATGACCCCTACGGTGGCCACCAGGAT
HCV-J 1b TTT---CC-T--C-----A--C--C--T--C--C--G--A--T--
HC-G9 1c -----T-----C-----C-----CT-CC-T-GT--C--C--A--G--A--
BNL1 1d --CATCTCC--C--C--A-----C--C--C--C--T--GGT--AAA-Y
BNL2 1e --T--T--TC-T--C--C--A--C--RC--C-----C--T--GGT--AA--C
FR2 1f --TAT---CC-T--C-----AC--C--C-----C--C--AG-GC--ATC

HC-J6 2a --TA-A--TC---C---A--AC--G-CT-A--G-AT-----GTGCA-C-G
HC-J8 2b G-A--T-CAT--C---A--ACAAG-A--A--C--AC-----TGTG-AAC-C
S83 2c ---T---TC-A-----C--G-TG-----C-ATC--C-----TA--TC-A
NE92 2d --ATA---CC-C-----A--AC--G-TT-G--C--ATA--A--TGTG--CC-A
NE93 2e GTCGG-TCCAC-----A--CC--CT-G--C--ACA--A--GTG--CA-A
FR4 2f --TAGGA-CTTC-----ACA--G--CT--G--C--AC-----TGTG--CCGA
BNL4 2g --TAAG--CC--C---A--AC--G--C--T--C--AC-----TGTG--ACC-G
BNL5 2h --TCAG--TC--C--C---A--AC--TG-----A--C--AT-----GTG--ACC-G
BNL6 2i --A-----CC-C--C---A--AC--G--C-----ACA--C--TGTG--CC-A

NZL1 3a --TA-A--T-C---C---ACCC-AG-----A-----AGT---T-C
HCV-TR 3b --CAA--ATCA--C---ACAA--G-CT-AA-G-----GTT---ACC
NE48 3c --A--A--C---C---A--AC--G-----T--G--A-----GTT---TC-C
NE274 3d --T-----CAA--C---A--TC--G--G--A--A--A-----GGTT-A-T-C
NE145 3e --A--A--GA---C---ACCC--GC---A--A-----AGT---AT-C
NE125 3f --CAG--A-----C---AC-C-AG-A--A--G--A-----TGT---AAC--

Z4 4a --A--A--C--T--C---AC-C--G-----G-----A-----TGT-GCAC-C
Z1 4b --TA-T--TC-C--C-----C--CT-----C--T-----G-GCCCT-C
GB358 4c --TCAG--AC-C--C-----CC-C--T--C-----G-GCCCT-C
DK13 4d --AAG--T-CA--C-----T-TC--C-----C--T-----G-GCAAC
GB809 4e --CAG--C-----CC-C--T--C--A-----GT-GCCCT-C
BNL7 4k --TCAG--AC-T--C-----A--CC--T-----C--C--AG-GCCAT-C
BNL8 4k --TCAG--AC-T--C-----CC--T--T-----C--C--AG-GCCAT-C
BNL9 4k --TCAG--AC-T--C-----CC--T-----CA--C--AG-GCCAT-C
BNL10 4k --CAG--AC-C--C-----CC--T-----C--C--AG-GCCAT-C
BNL11 4k --TCAT--AC-C--C-----CC--T-----C--C--AG-GCCAT-C
BNL12 4i --A--T--C--C--C-----CT-A--A-----C-----G-GCCATA

BE95 5a --T-TGAGT--A--C-----CCAA--T-----AC--T-AG--CC-AGC
HK2 6a --TCGG--C-CC-----CAT--TG-----C--CC-----TACCAG--
FR1 7a --T-AG--AC-A-----C-CC-TG-CT---C--CT-A-----GT-CCCA-C
VN4 8a --TCAA--CC-----C-----CA-GCCT---G--CC-----AGTGCC-A-C
VN12 9a --CTGA-C-A-----C--T--GCCT---G--AT-----GGTGCA-A--
NE98 10a --TA-A--A--A--C---A--CC-TG-----G--Y--C--C-----GTG-A-TCG

【図 1 - 1 6】

図 1 - 続き

751 800

HCV-1 1a GGCAAACTCCCGCGACGAGCTTCGACGTCACATCGATCTGCTTGTGCG
HCV-J 1b A---GCA-----A--C---ACAA-A-----C---G---T---C--T--
HC-G9 1c TCGCGCG-----TC-GTG--G-----G---GTG---CTC-A-----
BNL1 1d --CT-GTG-----A--TR--GCA--C-----G---CT-----T--
BNL2 1e --CT--TG-----TA-TG--GCA--C-----C--TG-----CT--G--T--
FR2 1f --CG--CGCT---ATCGATG--G--G-----G---C--C--C--G--

HC-J6 2a CC-GGCGC--T-A--CA-GGCT-A--GACG-----T--CA--G-----GAT
HC-J8 2b C--GGTGGC-T-A--TCGTAGC--G---ACA--G---CA--A--C--AAT
S83 2c CCTGGCGCT-T-A--T-A--GCG--G---GCA-----A--CA--C--GAT
NE92 2d CCTGGCGCT-TTA-C-A--GGC--G---GAGC--T--T--ACCA-CA-T-C
NE93 2e CCTGGCGCT-T-A--C-A--GGA--G---GCCA--G---T---GCCG-C--GAT
FR4 2f CCTGGTGGC-T-A--T--GAGGT--G---GGC-----T--ACCA-C--GAT
BNL4 2g CC-GGCGC--T-A--T--GGCT--G---GACG-----T--CA--C--GAT
BNL5 2h CCTGGCGCG-T-A--C--G--GTTT--G---GAGC-----T--CA--C--T-C
BNL6 2i CCTGGCGCG-TTA-C-A--GSC--G---GACA--T--T--CA--CA-----C

NZL1 3a --T--GG--GCAA--TA--TG--TTC-A--A--CA-----TG--G--C--AT--A--A--
HCV-TR 3b CTTGGCG--GA--A--CG--TC-A--C--ACC--TG--G--C-----G--A--
NE48 3c --T--GGTGGCA--A--G--ATC-A--C--CG--G---G--G-----G--G--
NE274 3d --CTGGCGCGA--A--TG--ATC-A--C--CA-----TG--G-----G--G--
NE145 3e --CTGGTGGCA--GA--G--TTCC--A--CG--A---G--G---T-----A--
NE125 3f CCTGGCGCAGT-A--CG--ATCAA-C--CA--G--TG--G---T--A--G--G--

Z4 4a CCGGGCGCT--GCTTGA--TC-T--C--G--A--TG--G--CT-AA-G--A--
Z1 4b CC---CGCA--GTTAGA--TCCA--G--CA--G--TG--A--C---A--G--G--
GB358 4c AT--GGCGCT--GCTTGAATCC--C--GA-----TG--G-----A--G--A--
DK13 4d CTG--TGCT--GCTTGA--TCTT--GA-----G--G-----A--G--G--
GB809 4e --T--GGTGT--GCTTGA--CCT--G--G--C--TG--G--C---A--G--A--
BNL7 4k AT--GGCGCG--ACTTGA--TCT--A--GA-----TG--G--CT--A--G--G--
BNL8 4k AT--GGCGCA--GCTTGA--TCT--G--GA-----TG--G-----A--G--G--
BNL9 4k AT--GGCGCA--GCTTGA--TCT--G--GA-----TG--G-----A--G--G--
BNL10 4k AC--GGCGCG--GCTTGA--TCC--G--GA-----TG--G-----A--G--G--
BNL11 4k AT--GGCGCG--ACTTGA--TCT--A--GA-----TG--G-----A--G--G--
BNL12 4i CTTTGGCT--ACTT--T--TCCG--A--G--G--TG--G-----A--G--G--

BE95 5a CT--GG--GCAGT--A--G--T--CT-----GA--AGC--G--T--CTAC--A--CG--
HK2 6a --CTTCCACG-----A---GGAT--C--CA--G--TG--G-----T---CG--
FR1 7a TCATC--G--G---AATCCACGG--T---C--A---G--A--C---C--C--T--
VN4 8a --CGTCTACG--A--TC--CGG--T--C--CAAA--TG--G--CA--CA--G--G--
VN12 9a --CGTGGG--GT--ATC--G--GGTG--C--CGAG---G--G--C---CT--G--G--
NE98 10a CC--TGCGC--G--A--CG--CTCT--C--CAGC---G--G--A--A--G--G--

【図 1 - 17】

図 1 - 続き

801 850

HCV-1 1a GAGGCGCCACCCCTCTGTTTCGGCCCTCTACGTGGGGGACCTATGCGGGTCTG
HCV-J 1b -GCG--TG-T-----C--TA-G--T-----T--C-----A--C--
HC-G9 1c -GC--TG-GT-----TA-G--T--A-----C--CA
BNL1 1d -G--NN--GT-----C--TA-G-----R-----T-----C--A--
BNL2 1e -CA--G-GT-TC--C--TA-G-----C-----A--C--
FR2 1f -GCA--GTGT-----C--A--A-G--A-T-----T--T--GGC-

HC-J6 2a -TC-----G-----C--C--T--T-----C-----TGGG-
HC-J8 2b -GCA--T--GGC--C-----T-G--T-----A--TG-G-----G--C--
S83 2c -TCT--T--GG-----T-----T--T-----C--G--T--CG-GC
NE92 2d ATC--T--GT-T--C--T-----G--A-A--A-----C--T--CG-G-
BNL3 2e -TC-----C--T-----G-----A--TG-G-----CG-A--
FR4 2f -TC-----C--T-----A--A--A-----C-----CG--
BNL4 2g -GT--T--G-----T--A-----A--C-----G--G--T--CG-G-
BNL5 2h -TCT--T--G-----C--A--TT-G--T-----C--T--C-----CG-A--
BNL6 2i -TC-----GT-----C--T--T--G--T-----

NZL1 3a CGCG-----GA-G--C--T--G-----T--TA-G--T--G--
HCV-TR 3b CGCACGACAA--G-----G--G-----C-----GCT-T--G--
NE48 3c T--CG--T--AT-G-----A--T-----C--T-----T-----G--A--
NE274 3d AGCT--T--GT-G--C--C--G--G--T--T--C--TA-G--T--AG-C-
NE145 3e C--T--T--G--G--C--C--G--T--C--T-----T-----G--C--
NE125 3f TGCA--T--G--G--A--A--A--T--T--A--TT-G-----G--C--

Z4 4a CGCG-----TT-G-----T-----T--T-----C-----AGG--
Z1 4b TGCG--T--TA-G-----C--T-----A--T--A--T--G--T--AGGC-
GB358 4c TGC--T--TGCG--C--C--T--T--A--C--A--G-----TGCG-
DK13 4d CG-----T-----C-----A--C--A--G--G--T--GG--
GB809 4e TGCT-----G--G--C--C-----C--C-----G-----TGCT-
BNL7 4k -GC-----TG-T-----A-----T--A--C-----TT-R--T--YGGCT
BNL8 4k -GCT-----TG-T--C--A-----T--A--C-----TT-G--T--CGGCT
BNL9 4k -GCC-----TG-----A-----T--A--C-----TT-G--T--CGG-
BNL10 4k AGCT--TG-T-----A-----T--A--C-----YT-G--T--CGGCT
BNL11 4k -GCT-----TG-T-----A-----T--A--C-----T--G-----TGCT
BNL12 4l TGCA--T-----A--CG--T-----T--A--C-----C-----GG--

BE95 5a AG-G--TG-----C--C--GT-A-----A--A--GCG--T--G--AC
HK2 6a CGC--AGTGG-T--C--AT-----G--A--C-----G--T--C--C-
FR1 7a -GCA--GG-AT-T-----A--G--A--C--A-----C--T--TAGCA
VN4 8a CGCT--G-GT-----A--TA-G--T-----G-----GGCC
VN12 9a TGCT--TG-GT-----C--T--A--G-----C--T-----TGGGC
NE98 10a RGCG-----A--C--A--T-----A--A--A--T--T--AG-GC

【図 1 - 18】

図 1 - 続き

851 900

HCV-1 1a TCTTTCTGTGCGGCACTGTTACCTTCTCTCCAGGCGCCACTGGACG
HCV-J 1b -T-----C--TC--G-----A--TC-C--GT-TGA--
HC-G9 1c -C-----T-----GA-C-----A--T-----
BNL1 1d -C--C--CT--G--A-----T--A--C--CATG--CAT--A
BNL2 1d -C-----G--A-----T--A--C--CTTGT--CAT--A
FR2 1f -C--C--T--G--T-----A--GT--C-----G--T-----

HC-J6 2a -GA-G--CA-C--GA-----TTG--G--ACA--A-----TTT
HC-J8 2b -GA-GA--C--ATCG--GGCT--TGG-A--A--ACAA-----AACTTC
S83 2c -GA-G--G--C--CT--GG--CG--GT-G--G--G--ACAA--TAC-TTT
NE92 2d -GA-GT-G--CTTCT--G--C--T--A--G--CA--AT--TAA-TTT
BNL3 2e -GA-GA-A--CT--CA--GGCT--T--G--GG--A--G--A--T--ACTTC
FR4 2f -GA-GA-A--CA--CG--G--TGC--GT--G--A--GCAATA--TACTTT
BNL4 2g -GA-GA-A--CT--CT--GG--TG--TTG--G--GCA--AT--AACTTT
BNL5 2h -GA-GT-G--TCT--T--T--TGA--C--TCA--A--ATCTTC

NZL1 3a -----C--G--A--GCC-----G--AGA--TC-A--TCAA--
HCV-TR 3b -G-----G--A--GC-----AGA--TC-C--AC--C
NE48 3c -T--C--C--A--A--GCA-----A--AGA--C--A--CA--A
NE274 3d -----CT--G--G--A--GGCT-----AGA--TC-T--AG--AAC--
NE145 3e -----C--G--G--GGCC--T--A--AGG--TC-T--TAC--T
NE125 3f -T--C-----G-----GC-----T--AGAG--TC--AA--T--AT--C

Z4 4a C--C--GA-G--G--GA--A--T--TCGG--GC-T-----C
Z1 4b -----C--A--G--G--GA--CGA--GC-C--G-----C
GB358 4c -A--T--G--T--T--GA-----T--T--CAG--GC-----C
DK13 4d -G--CT--G-----T-----CAA--TC--C-----C
GB809 4e -A--CT--G--A-----A-----CAA--GC--A-----
BNL7 4k -G--C--A--T--GA-----T--T--CGA--A-----T
BNL8 4k -G--CT--G--T--T--GA-----TT--T--CGA--AC--A-----T
BNL9 4k CG--CT--G--T--T--GA-----T--T--CGA--AC-----C
BNL10 4k -G--CT--G--T--T--GA-----T--T--YCGA--TC-----T
BNL11 4k -G--C--G--T--T--GA-----T--T--CGA--AC-----T
BNL12 4l C--C--A--G--G--GA-----CAG--GC--T-----T

BE95 5a -A--CT-G--A-----A-----ATAGG--TC-C--AG--GCT--
HK2 6a -----T-G--CG--A-----A-----TCAG--C--C--T--T-----T
FR1 7a -AA-CT-G--A--G--G--T--T--T--AGG--T--A--TA--TCA-GTT
VN4 8a -T--C--C--T--A--G--C-----GC--AGG--TC--ATG--TCA-GTT
VN12 9a -----C--T--G--GT-----G--AGA-----ATGT--TGA--TC
NE98 10a -A-----Y--G--GGG-----T--A--GGAGA--ATC--C--AG--T-----T

【図 1 - 19】

図 1 - 続き

901 950

HCV-1 1a ACGCAAGGTTGCAATGCTCTATCTATCCCGGCCATATAACGGGTACCCG
HCV-J 1b GTA-----A-----C-----G--T--A-----
HC-G9 1c -----AC-----C-----C--A-----G--G--A-----T--
BNL1 1d -----G--AG-----C-----A--
BNL2 1d --A--G--AG--C-----A--
FR2 1f GT--G--AC--T-----T--C--T--CT--T-----C-----C-----

HC-J6 2a GT-----AC-----C-----C--T--TACC--C--T--A-----
HC-J8 2b --C--AG-----C--T--C-----C--AA--T--C--C--C--C--T--
S83 2c GTC--G--AA-----C--T--C--A--C--G-----GC--T-----A-----
NE92 2d GTC--G--AC-----C--T--C--A--C--A-----C--C--T--A--T--
BNL3 2e GTC--G--AA-----C--A--C--A-----C--T--A-----T--
FR4 2f GTC--G--AA-----C-----C--A--C--A-----C--A--A--T--
BNL4 2g T--C--G--A-----T--C--
BNL5 2h GTC--G--A-----C-----G--A--

NZL1 3a GTC--GACC--T--C-----GC--G--C--A-----C--TT--A--A--T--
HCV-TR 3b GT--GACG-----C-----G--A--C--A-----G--TT--A--A--T--
NE48 3c GTT--GCA-----C-----AC--G--C--A--T-----G--TT--A-----T--
NE274 3d GT--GACC-----AC--G--C--T--T--C-----T--A--A--A--
NE145 3e GTC--GACC-----GT--G--C--A-----C--A--A--T--
NE125 3f GTC--GTTG-----AC--A--C--A--A--C--T--A--A--T--A--

Z4 4a -----G--AG-----T--C-----CA--T-----C--C--C--A--
Z1 4b --C--G--A-----C-----C-----T--T--CG--CT--C-----A--
GB358 4c -----G--AC-----T--C-----CG--G--G--CG--T-----C--A--
DK13 4d --C--G--AC-----T--C-----CA--A--C-----C--A--A--
GB809 4e --T--A-----T--C-----CG--A--G-----T-----C--T--
BNL7 4k --T--A-----T--C-----
BNL8 4k -G--C--G--A-----T-----
BNL9 4k --C--A-----C-----C-----
BNL10 4k --C--G--A-----T-----C-----
BNL11 4k --C--G--AA-----T--C-----
BNL12 4l GTC--AC-----C--T--C-----

BE95 5a GT--GAAC-----C--T--C--T--CAGT-----G--T--C--C-----
HK2 6a GT-----AC-----C-----C-----A--A-----CG--C--C--C--A--
FR1 7a --C--G--A--T--C-----NA--CN--T-----CG--C-----A--A--
VN4 8a GTC--G--AG--T--C--T--C-----CA--A--G-----C--T--A-----
VN12 9a G--C--G--AC-----C--T--C-----G--A-----C--C--T--G-----
NE98 10a GTC--G--AC-----C--T--C-----

【図 1 - 20】

図 1 - 続き

951 957

HCV-1 1a CATGGCA
HCV-J 1b -----T
HC-G9 1c A-----T
FR2 1f NNNNNNN

HC-J6 2a -----G
HC-J8 2b -----
S83 2c -----T
NE92 2d G-----G
BNL3 2e -----G
FR4 2f A-----NN

NZL1 3a A-----T
HCV-TR 3b T-----G
NE48 3c G-----T
NE274 3d G-----T
NE145 3e -----
NE125 3f T-----T

Z4 4a G-----G
Z1 4b G-----C
GB358 4c G-----
DK13 4d A-----T
GB809 4e G-----T

BE95 5a G-----
HK2 6a G-----T
FR1 7a G-----
VN4 8a A-----
VN12 9a G-----G

【図 2 - 1】

図 2

HCV1	1a	1	MSTNPKPKQKKNKRNTRRPQDVKPGGGQIVGGVYLLPRRGPRLGVRATR	50
HCV-J	1b		-----R-T-----	
BNL1	1d		-----R-T-----XXXXX-----	
BNL2	1d		-----R-T-----X-----	
CAM1078	1e		-----R-T-----V-----A-----	
FR2	1f		-----R-T-----	
HCJ6	2a		-----R-T-----	
HCJ8	2b		-----R-T-----	
CH610	2c		-----R-T-----	
NE92	2d		-----R-T-----	
BNL3	2e		-----R-T-----	
FR4	2f		-----R-T-----P-----	
HCVTR	3b		---L---RQT---L---N-----V-----V-----	
DK13	4d		-----R-T-----M-----	
CAM600	4e		-----R-T-----M-----	
GB809	4e		-----L-R-T-----M-----	
BNL7	4k		-----R-T-----M-----	
BE95	5a		-----R-T-----M-----	
HK2	6a		---L---R-T-----T-----	
FR1	7a		---L---R-T-----M-----	
VN4	8a		---L---R-T-----I-----	
VN13	8b		---L---R-T-----V-----	
VN12	9a		---L---R-T-----M-----	
NE98	10a		---L---R-T-----X-----V-----Q-----V-----	

【図 2 - 2】

図 2 - 続き

HCV1	1a	51	KTSESRQPRGRQPIPKARRPEGRWTFQGYFWPLYGNEGCGWAGWLLSP	100
HCV-J	1b		-----M-----	
BNL1	1d		-----X-X-S-----X-----	
BNL2	1d		-----D-----QSD-XX-----H-----	
CAM1078	1e		-----E-----	
FR2	1f		-----S-----A-----	
HCJ6	2a		-----D-ST-KS-GK-----L-----	
HCJ8	2b		-----D-ST-KS-GK-----L-----	
CH610	2c		-----D-TT-KS-GR-----L-----	
NE92	2d		-----D-T-KS-GK-----L-----	
BNL3	2e		-----D-XAT-S-GR-----L-----	
FR4	2f		-----D-AT-KS-GR-----L-----	
HCVTR	3b		-----KQ-HL-----SR-S-----K-L-----	
DK13	4d		-----QL-S-----	
CAM600	4e		-----T-S-----	
GB809	4e		-----S-S-----	
BNL7	4k		-----S-S-----X-----	
BE95	5a		-----Q-T-S-G-----A-L-----	
HK2	6a		-----Q-Q-H-----	
FR1	7a		-----V-Q-T-S-G-----	
VN4	8a		-----V-HQT-----	
VN13	8b		-----V-HQT-----	
VN12	9a		-----A-----V-QNQ-----	
NE98	10a		-----S-----R-T-S-----	

【図 2 - 3】

図 2 - 続き

HCV1	1a	101	RGSRPSWGPTDPRRARNLKGVIDTLTCGFADLMGYIPLVGAPLGGAARA	150
HCV-J	1b		-----N-----	
BNL1	1d		-----N-----	
BNL2	1d		-----N-----	
FR2	1f		-----N-----S-T-----	
HC-J6	2a		-----N-H-V-----V-----V-----	
HC-J8	2b		-----T-H-R-I-----V-V-V-----	
CH610	2c		-----H-----V-V-V-----	
NE92	2d		-----H-----V-V-V-----	
BNL3	2e		-----XX-X-V-X-V-----	
FR4	2f		-----N-H-----X-V-V-V-----	
HCV-TR	3b		-----N-----F-----V-V-----	
GB116	4c		-----N-----V-V-----	
DK13	4d		-----N-----V-V-----	
CAM600	4e		-X-X-N-X-----V-V-----	
GB809	4e		-----N-----V-V-----	
G22	4f		-----V-V-----	
GB549	4g		-----V-V-----	
GB438	4h		-----V-V-----	
BNL7	4k		-----N-----	
BE95	5a		-----N-N-K-----G-I-V-----	
HK2	6a		-----H-N-----V-V-R-----	
FR1	7a		-----N-N-----XXL-VL-G-V-R-----	
VN4	8a		-----N-N-----V-X-V-X-----	
VN13	8b		X-N-N-X-----XX-IE--	
VN12	9a		-----D-X-N-X-----E-V-V-AE-----	
NE98	10a		-----N-----	

【図 2 - 4】

図 2 - 続き

HCV1	1a	151	LARGVRVLEDGVNYATGNLPGCSFSIFLLALLSCLTVPASAYQVRNSTGL	200
HCV-J	1b		-----I-----E-VS-I-----	
BNL1	1d		-----XT-HE-AS-V-----	
BNL2	1d		-----F-----TT-HE-AS-V-----	
FR2	1f		-X-----XG-XXXXX-X-XX-----T-E-HST-DG-----	
HC-J6	2a		-----F-----I-T-V-AE-K-ISTG-----	
HC-J8	2b		-----I-----V-V-VE-ISSS-----	
CH610	2c		-----I-----S-V-VE-K-TSTS-----	
NE92	2d		-----I-----V-GL-K-TSSS-----	
BNL3	2e		-X-----I-X-----X-V-XVE-K-TSQA-----	
FR4	2f		-----I-----V-I-K-NSHF-----	
BNL4	2g		-----V-V-V-K-TSTM-----	
BNL5	2h		--I-----V-K-TSHS-----	
BNL6	2i		--I-----I-V-V-A-RS-S-----	
HCV-TR	3b		-----A-G-----F-C-GLEYT-TS-----	
GB116	4c		-E-AV-I-----S-T-VNY-AS-V-----	
DK13	4d		-----L-----NY-S-V-----	
CAM600	4e		-----AV-I-----T-VNY-AS-I-----	
GB809	4e		-----AV-I-----GVNY-AS-V-----	
G22	4f		-----AV-I-----VHYH-TS-I-----	
GB549	4g		-----AV-I-----QHY-AS-I-----	
GB438	4h		-----AV-I-----V-R-QHY-AS-I-----	
BNL7	4k		--I-F-----V-V-V-I-----	
BNL8	4k		--I-----V-V-V-I-----	
BNL9	4k		--I-----I-X-X-----VNYH-TS-I-----	
BNL10	4k		--I-----X-----TNY-VS-I-----	
BNL11	4l		--I-----I-----QHY-VS-I-----	
BE95	5a		-----I-----VPY-AS-I-----	
HK2	6a		-----AI-I-----T-LTYG-S-----	
FR1	7a		-----AI-I-----T-I-K-AS-I-----	
VN4	8a		-----XXI-X-X-XX-X-X-----T-AHYT-KS-----	
VN12	9a		-X-AI-I-----X-----TNYA-KS-----	
NE98	10a		--I-F-----F-LT-TAGLEY-AS-----	

ATGAGCAGCAATCTTAACCTCAAGAGAAAAACAAAAGAAACCCAAACCGCGCCACAGGACGTC
AAGTTCCTCCGGGGCGGTGGCCAGATCGTTGGTGGAGTCTACGTGTACCGCGGAGGGGCCCTAGATTG
GGTGTCCGCGCAGCCGCGGAAGACTCTCGGAGCGGTGCAACCTCGTGGGAGCGCCATATTCCC
AAGGAGTCACCCAGCCCGACGAGCT

配列番号 45 (VN13, 7a)
 TTGACGACACTTCTTCAATACCTCAAGAAAAACCAACGAAACACCAACCGTCGCCACAGGAGCTC
 ATGATGCGCTGGCGCTCGATGCTCTTCTGGGATTTACTTGTTCCCGCAGCGGGCCCTCGTTGT
 GGTGTCGCGCGACGAGAAAATCTTTGACCGCTCCGACCGCAGGGGTAGACCCAACTTATATCCG
 AAGTGGCTCATCAACCAAGCGGGCGTATCTGGGCTCATACCGGGAGTCCCTGGCCCTTATTTGGGAAT
 CAGGGTTCTGGCTGGGAGGGTGCTCTCTGTCCTCCCGCGGCTCTGCGCCTATTGGGGCGCTAAT
 GACCCCGCGGAGGAGGATCCCGCAACCTGGGTAGGCTATCGATACCTTACTTNGGSGTCGCCGAC
 CTCATAGATGACATTC

配列番号 4 1 (FRL, 9a)
ATGACGACCTTCCAAACCCCAAGAAAAACCAAAAGAAATCTAACCGTCGCCCTATGGAC
CTCAAGTTTCGGGGCGGGCGGCAGATCGTTGGTGGAGTTTACTTGTTCGCGCGCAGGGGC
CTCTGTTTGGGTGTGCGCGGCAGCAAGAAGACTCTCGAAGCGTTCCAGGCCTAGAGGCGCAG
CGCAGCCCATACCAAGAGTACGCCAGCGCAGCGCGCTAGCTGGGGTCAACCGGGCTAC
CTTTGGCCCCTTATGCAACGAGGGGTGCGGATGGGCGGAGTGCGCTCTTCCTCCCCCG
GGGTCTGCTCTAATTGGGGCGCCCAAGCAGCCCGCGAGGTCCCGCAATTTGGGTAA
GTCTCATCTACCTTACATNCGGNTAGCCGACCTCATGGGTGATCATCTCTCTTAGGAG
GCGCTTTGGCGGGTTTGCGGCTGCCCCCTCAGTGGGTTTAGGCAATCAGAGCAGGGCTCAATTA
CGCAACGGGGAATCTCTCTGGTGTCTCTTTTCTATCTCTCTCTACGTAGCTGTATCTGCGCCATC
TACACCGGCTCAGGAATTCAGTGCAAGAAGCGCTCTGGGATCTACCATCTTACCAATGACTGCTC
GAACACAGGATCTGTTTGGAGCGGGGAGCATGATATCTGCAATCTTCAGCGTTGTGTCGCATGTAT
CAGCGCGGGAATCGATTACAGATTGTGGTCACCTGCTCCGCCCATCTAGCCGTCGCCAATCATC
ATGTGCCAATCGCGGGTTTCGCCACAGCGTAGCACTCTCTCTGTGGGACAGGCGGCAATTTTTCGCG
CTGTACATCGGAGACTCTGTGGTAGCATATCTGTAGGACAGCTTTTACTCTTCAGGCTAA
GTACCATCAGGTTACCCAGGATTGTACTGCTCTATNAACTCGGCCACGTTCACGGGACACAGGAT
GCTC

【図 3 - 6】

図3 - 続き

配列番号 4 9 (NE98, 10a)
ATGAGCACTTCCCTAAACCAAGAAGAAACCAACCAAC?CCGGCCACAGSACGTT
AAGTCCAGCGCGCGGTAGAGTCTGGTGGAGTTTACGTGCTACACGACGAGGGGCCCACTTGG
GCTGTGCGTGCAGTGCAGAACTTCCGAGCGGTGCGCAACTCCGAGTAGGGCCCAACCACTCCCC
AGGGCCGCGCAACGAGGGCAGGTCTTGGGCTCAGCCCGGTATACCTTGGCCCCATATAGGGAAT
GAGGCTGCGGGTGGCGAGGTGGCTCTGTCCCCGCGCGGCTCTC

配列番号 5 1 (NE98, 10a)
GACGGATTAATTTTCGAACGAGGAATTTACCTGGTGTCTTTCTCTATCTTCCTTGTGSCCTTGG
TCTCATGTCTGCTTACACCCACAGCGCGGCTGGAGTACCGTAATGCTTCCGAGCTCTACATGGTA
ACTAACGACTGCAGTAACGGTAGTATCGTGTATGAGCCGGGATATTTACTTCCACTTACCTTGGC
TGTGTCCCTTGCCTACGCTCTGGCAATACATCAAGATGCTGGATCCCTGTGAGCCCTACCTGCGC
GTAAAGTCGCGCTGCGCCGCCACGCGCTCTCTCCGACGACGCTGGATATGATGGTGGGCGCGGCC
ACCCCTATGCTCAGCTCTCTACGTAGGAGACCTTTGTGGAGCGCTATTTCTTGTGCGGAGGGGTTTC
TCATGGAGACATCGCCAGCAATGGACTGTCCAGGACTGCAACTGTTCCATC

配列番号 5 3 (BNL1, 1d)
CTCGACAGTTACTGAGAATGACATCCGTGTGAGGAATCAATATACCAATGTTGTGACTTGGCCCC
CGAGGCTCGCAAGGCCATAAAGTCTGCTACCGAGCGGCTGTACATCGGGGGCCCTTAAACCAATTC
AAAAGGACAGAACTGCGGCTACCGTCTGGTGGCGGCCAGCGGCGTGTGACTACCAAGCTGCGGCAA
CACCTTGACATGCTACTTGAAGCCAGAGCGGCGCTGTGAGCTGCAAAAGCTTCGGGACTGCACCAT
GCTCGTGTGCGGGGATGACCTTGTCTTATCTGTGAGAGTGGGAGTGCAGGAAGACGCGGCGAA
CCTACAGACT

配列番号 5 5 (BNL2, 1d)
CTCGACAGTTACTGAGAATGACATCCGTACCGAGGRATCAATCTATCAATGTTGTGACTTGGCCCC
YAGGCCCGCAAGGCCATAAAGTCTGCTACCGAGCGGCTGTACGTGCGGGGCCCTTAAACCAATTC
AAAAGGACAGAACTGCGGCTATCGTGGTGTGCGGCTAGCGGCGTGTGACCAACAGCTCGCGCAA
CACCTTGACATGCTACTTGAAGCCAGAGCGGCGCTGTGAGCTGCAAAAGCTTCCAGGACTGCACGAT
GCTCGTGTGCGGAGACGACCTTGTCTTATCTGTGAGAGTGGGAGTGCAGGAGGACGCGGCGAA
CCTACAGACT

配列番号 5 7 (BNL2, 1d)
CTCGACAGTTACTGAGAATGACATCCGTGTGAGGAATCAATCTACCAAGTGTGTGACTTGGCCCC
CGAGGCCCGCAAGGCCATAAAGTCTGCTACCGAGCGGCTGTATATCGGGGGTCCCTTAAACCAATTC
AAAAGGACAGAACTGCGGCTACCGTCTGGTGGCGGCCAGCGGCGTGTGACTACCAAGCTCGGGTAA
TACCTTGACATGCTACTTGAAGCCAGAGCGGCGCTGTGAGCTGCAAAAGCTTCCAGGACTGCACGAT
GCTCGTGTGCGGAGACGACCTTGTCTTATCTGTGAGAGTGGGAGTGCAGGAGGATGCGGCGAA
CCTACAGACT

配列番号 5 9 (CAM1078, 1e)

CGTAGACCTCCAGGACCCCTCTCCGGGAGAGCCATAGTGGTCTCGGGAACCGGTGAG
TACACCGGAATTCGCAAGGACGACCGGGTCTTCTTGGATCAACCGGCTCAATGCTTGA
GATTTGGCGGTGCCCGCCAGAGACTGCTAGCGGAGTAGTGTGGGTGCGAAAGGCGCTTG
TGGTATGCTCTTAGAGGTGCTTGGAGTGGCCGGGAGGTCTCGTAGACGCTGCACCAT
GAGCAGCAATCCTTAACCTCAAAAGAAACCAAAAGAAACCAACCGCCGCCACAGCA
CTCAAGTTCCCGGGCGGTGGCCAGATGCTTGGTGGAGTCTACGTGCTACCGCGAGGGG
CCCTAGATTGGGTGTGGCGCGACCGCGGAAGACTTCGAGCGGTGCGCAACCTCGTGGAG
GCGCCACCAATATCCCAAGGAGCGCGACCGGAGGCGAGGTCTGGGCGGACCGCCGGTAA
CCCTTGGCCCTCTATGTTGAAGGAGGCGTGGGTGGGAGSTNGCTCTCTGTCGCCCTCG
CGGTCGCCGTCTAGTGGGTGCTTACTGACCCCGCGGTAGGTACAGCAATTTGGGTAA
GGTCATCGATACCTTACGTGTGNTTGGCGACCTCATGGGGTACATACCG

【図 3 - 8】

図3 - 続き

配列番号 7 1 (FR4, 2f)

CTCAACCGTCACAGAGAGGATATAAGAACTGAGGAGTCCATATACCTGGGCTGCTCCTTACC CGA
GAGGCGCCGAGTGCCTATACCTATTACTGAGAGACTTTACGTTGGGAGGGGCCATGATGAACAG
CAAAAGGACGCTCTCGGCTGACAGGCTTTCGCGGCTGAGGGAGTCTTACCAACGATTTGGGGAA
CACATCACGTGTTATGTGAAGGCGCTCGAGCTTCTAAAGCTTGGGGCATTTGTGCCCCACGAT
GCTGTGTGCGCGGATGACCTGGTTGTCTCTCAGAGAGTCAGGGGGCTGAGGAGGACGAGCGAAA
CCTGAGAGTC

配列番号 7 3 (BNL5, 2h)

CTCAACAGTTCGCGGAGAGACATCAGGACGAGGAGTCCATTTACCTTGGCTGCTCCTTACCCGA
GCAAGGCCAGACTGCCATACATTTAGTGTGAGAGACTTTACGTAGGAGGGGCCATGATGAACAG
CAAGGGACGATCTCGGCTTACAGACGTTGCGCGGCCAGCGGAGTGTCTACACCAACGATTCGGGAA
TACCATCATCTGCTATGTGAAGGCACTTAGCTGCGCTGCAAAAGCTGCAGGACATCGTGTCCACGAT
GCTGGTTGTGGCGACGATCTGGTCTATCTCTCAGAGAGTCAGGGAACCGAGGAGGATGAGCGGAA
CCTGAGAGTC

配列番号 7 5 (FR13, 2k)

CQNACANCTCCAGGCCCCCTCTCCGGGAGAGCCATAGTGGTCTGCGGAACCGGTGAG
TACACCGGAATTCGCGGGAAGACTGGGTCTTCTTGGATAAACCCCACTCTATGCGCGCG
CATTTGGGCGTGCCCCGCAAGACTGCTARCCGAGTAGCGTTGGGTTGCGAAAGGCGCTTG
TGGTACTGCTGTAGGGTGTCTGGAGTGGCCCGGGAGGTCTCTAGAACGCTGCATCAT
GAGCACAAATCTTAACCTCAAGCAAAACCAAAAGAAACATAACCGCGGCCACAGGA
CGTTAAGTTCCCGGGCGGTGGCCAGATCGTTGGCGGAGTATACTTGTGGCNTGGAGGG
NCCAGGTNGTNTATGCGCAACGAGNAGACTNCCGAACAGTCCGAGCCACGTGGGAG
CGCGCAGGCCATCCGAAAGATCGGNGACCACTTGGCAAGTCTTGGGAGCTCCAGGATA
TCCCTGGGCCCTGTATGGGAACGAGGGCTCTGGGTGGCGAGGTTGGCTCTGTCCCCCG
GGGCTCCCGCCCTCATGGGGGCCCGAGGACCCCGGCATAGGTGCGCAACTTGGGTAA
GGTCTATGATACCTCAGTNGCGCTTTCGACCTCATGGGGTACATTCGCGTGTGTTG
CGCCCCAGTAGGNGGGCTCGCCAGAGCTCTCGCGCATGGCGTGAAGTCTTGGAGGAGCG
GATAAACTATGAACAGGGAACTCTCCGCGTGTGGGAGTCTTACCAACGATTTGGGCTCT
TCTGTCTGAATTACCGGCTCAAGTCTTCTGCTGTGAAATCAAAAACACCAAGAACACATA
CATGGTGACTAACGACTGTCTCAAGTGTGAGTCACTTGGCAGCTTNNNGNCGCGGTGCT
TCAGTGTCTGGATGGTCCCTGCTGAACGAGGAGGCAACAGTTCGCGGTGCTGTGATTTC
AGTCAGCGCCACGATGACGCTGAGCGAGCTGGTGGCCCTAACCGAGGGTTTGGATCGCA
CATCGACCACTGCTAGCGTCCGCAACATTTTGTCTGCCCTTACATAGGGGATGTATG
TGGCGGATAATGATGCTGCCCCAAGTGGTATCTGCTCGCGGAGCATCATCACTTTGT
CCAGGACTGTAACTGTTCATCTACCCGGGCCATAACGAGGGCTCTGATGNG

配列番号 7 7 (FR13, 2k)

ATCCACAGTCACTGAAAGAGACATCAGAGTGAAGAGTCCGTTTATCTGCTGTTCACTTCCCGA
GAGGGCCGAGCTGCCATACACTACTAATCAGAGGCTGTACGTGGGAGGTGCCATGCAAGACAG
CAAGGGGCAATCCTCGGGATACAGGCGCTCGCGCGCAGCGGGGTCTCACCACTAGCATGGGAA
TACTCTCAGATGCTACTTGAAGGCCAGCGCGCTCGAGGGCCGCGGGCATTTGTGCAACCAAT
GCTGGTGTGGCGACGACACTGTTGCTCATCTCTCAGAGAGTCAGGGGACTGAGAGGAGCAGAACAA
CCTGAGACCT

【図 3 - 7】

図3 - 続き

配列番号 6 1 (CAM1078, 1e)

CTCAACCGTCACTGAAGCTGATATCCGAACAGAGGAGTCCATATACCAATGCTGTGACCTGCACCC
CAAGGACCGTGTAGCCATCAAGTCTTTGACTGAAAGGCTGTACGTCGGGGGGCCCTTGACAAATTC
AAAAGGGGAGAACTCGCGCTATCGAGATGCGCTGCCAGCGGCGTCTTACACCGAGCTCGGGCAA
CACCTCTACCTGCTATATCAAGGCCCTAGCAGCTGTAGAGCTGCAAGCTCCAGGACTGCACCAT
GCTGCTCTGTGGCGACGACCTTGTGCTATCTGCGAGAGTGTAGGAGACCAGGAGGATCGCGCGAG
CCTGCGAGCC

配列番号 6 3 (FR2, 1f)

NTCAACAGTCACTGAGAGTGATATCCGTACAGAGGAGTCCATCTACCAATGCTGTGATCTAGACCC
CGAGGCTCGCAAGGCCATAAGGTCCTTACAGAGAGGCTTTATATCGGGGGTCCCTTGACAAATTC
AAAAGGGGAGAACTCGGGCTACCGCGATGCGGTGCCAGCGGCGTCTTACAGCTAGCTGCGGGCAA
CACCTCTACCTGTTACATAAAGGCCAGGGCAGCGCTGTGAGCTGCGAAGCTCCAGGAGTGTGCAAT
GCTGCTCTGTGGCGACGACCTTGTGCTATCTGCGAGATGAGGAGTCCANGAGGATCCGTGCAAN
NNNNNNNNNN

配列番号 6 5 (FR16, 1g)

CGTAGACGCTGCACCATGAGCACGAATCCTAAACCTCAAGAAAAACCAACGCTAACATC
AACCCGCGCCACAGGACGCTCAAGTTCCCGGGCGGTGGCCAGATGCTGCGTGGAGTTTAC
CTGTTGGCGCGCAGGGGCCCTAGATTGGGTGTGCGCGGACATAGGAAGACTTCCGAGCGG
TGCACACCTCGTGGGAGCGGACAGCTATCCCAAGGCTCGCCGATCCGAGGGCAGGTCC
TGGGCTCAGCCCGGTACCTTGGCCCTCTATGGCAATGAGGECATGGGTTGGGACGGG
TGGCTCTGTCCCCCATGGCTCCCGGCTAGTTGGGGCCCTTCAGAGCCCCGGCGTAGG
TCGCTAATTTGGGTAAAGTCTACGATACCTCATCATCGGCTTCGCGACCTCATGGGG
TACATTCCGCTCGTGGCGGCCCTTAGGGGGGCTTGGCAGGGCCCTGGCGCAAGGCTTC
CGGATCTACACGCTACCAACGATTGTTCCAATGGAGCATTTGTGATGAGCGGGAAGG
CATGATCATGCAATCTCCCGGGTGGTGGCTGCGTTCGGGAAGGTAATATCTCTGTTG
CTGGGTACCGTTTTCGCCAGCTCGCAGCCAGGAATGCTAGGCTCCCATCTCAGGCAAT
TGCGCGACAGCTGACTTGTGTTGGGCGGCCACCATCTGTGTTGCTGATGTATGTGGG
GAGCTCTGTGGGTCCGTCTTCTGCTGGCCCAACTGTTCACCTTCGCAWCCCGCCAGNA
CTACACGTCGAGAGCTGCAATTGTTCATCTACCCCCGCCATATACGGG

配列番号 6 7 (FR16, 1g)

NNNNNNNGTCACTGAGAGTGATATCCGTGTGAGGAGTCAATTTACCAATGCTGTGACTTGGCCCC
CGAGGCTCGCGTAGCCATAAAGTGGCTCACTGAGCGGCTATATGTCGGGGGCCCTTCAACCACTC
AAAAGGACAGAACTGCGGCTATCGCCGGTGGCGGAGCGGCTGTGCTACTATGCTGCGGTAA
CACCTCTACATGCTTACTGAAGGCCCGCCGCGCTGTGAGCTGCAAGGCTCCGGGATGCACAAT
GCTCGTGTGGCGACGACCTCTGCTTATCTGTGAGAGTGGCGGGTCCAGGAGGATGCTGCAAG
CTCNNNNNNN

配列番号 6 9 (BNL3, 2e)

CTCGACAGTCACAGAGAGATATAAGNACTGAGGAGTCCATATACCAAGGCTTGTTCCTTACCCGA
CGAGGCGCAGAACTGCTCATACACTCATTTAGCTGAGAGCTCTACGTAGGAGGGGCCATGATGAACAG
CAAGGGCAATCTTGGGATACAGGCGTTTGGCGCCAGCGGGGTGTTACCACTAGCATGCGGAA
TACCATCAGTGCTATGTGAAGGCCCTAGCGGCTGTGAAGCAGCAGGAATAGTGGCCCCACCAT
GCTGTGTGGCGGATGACCTAGTTGTCTCATCTCAGAGAGTCAGGGGATGCGGTAGGAGGACGACCGAA
CCTGANNNNN

【図 3 - 9】

図3 - 続き

配列番号 7 9 (FR18, 2l)

CTCAACAGTCACGAGAGGAGACATCAGGAATGAGGAGTCCATATTCCTGGCTGCTGTTGCCCCGA
GAGGGCCCCGAGTGTCTATACATTCGCTCACTGAGAGACTTCTACATAGCGGGGCCATGATGAACAG
CAAGGGAGACCTTTGTGGGTATCGGAGTGGCGCGCAGCGGGGTGTTACCACTAGCATGCGGAA
TACCATCAGTGCTATGTGAAGGCCCTAGCGGCTTGTGAAGCAGCAGGAATAGTGGCCCCACCAT
TGTGGTATGTGGCGACGAACTGGTGGTCTCATCTCAGAGAGTCAGGGGATGCGGTAGGAGGACGACCGAA
TCTGAGAGTC

配列番号 8 1 (PAK64, 3g)

CTCTTGACTCTACTGTCACTGAACAGGATATCAGGGTAGAAGAAGAAATATACCAATGTTGTGACC
TGTAGCCCGGAGGCTAGAGCGGCAATCAAACTGCTCACGGAACGGCTTATGCTTGGAGGTGAGT
TCAACAGCAGGGGCTCAATGCGGATATCGCGCTTGGCGTGTAGCGGTGATTGGCCACTAGCT
AGCTGAATACAACTACCTGCTACATCAAGGCCAGGCGGCTGTACAGCAACGATTTGCGGAA
CATCATTCCTTGTCTGCGGAGATGATTGGTGGTAGTGGCTGAGAGTGGCGKCTGTATGAGGAGG
ATAGGCGACG

配列番号 8 3 (BNL8, 4k)

CTCCACTGTAAACGAAAAGGACATCAGGCGCGAGGAAGAGGTCTATCAGTGTGTGACCTGGAGCC
CGAAGTCTCGAAGGTTATTTACCGCCCTCACAGAGAGCTTACGTGGGCGGGCCCATGCAACACAG
CAAGGGAGACCTTTGTGGGTATCGGAGTGGCGCGCAGCGGGGTGTTACCACTAGCATGCGGAA
CACACTGAGCTGCTACTCTAAAGCCTCAGTGTCTATAGAGCGGCGAGGCTGAGAGACTGCACAT
GCTGGTTTGGGCTGACGACTTGGTGTCTATCGCTCAGAGAGTCAGGGGATGCGGTAGGAGGATAACCGAG
CCTCCNAGCC

配列番号 8 5 (BNL12, 4l)

CTCCACGCTGACTGAAAAGGACATCAGGCTCGAGGAAGAGATCTATCAATGTTGTGACCTGGARCC
CGAAGCGCGCAAGCAATATCCGCCCTCACAGAGAGCTCTACTTGGGCGGGCCCATGATGAACAG
CAAGGGAGAGCTCTGCGGATCGGAGGTGGCGCGCAGCGGGAGTGTACACCAAGATTTGCGGAA
CACAGTGAAGCTGCTATCTTAAAGCCACCGAGCTACCGAGGCTGAGGCTTAAAGACTGCAACAT
GCTGGTCTGCGGTGACGACTTGGTGTCTATCGCGAGAGCGAGGCGTGAAGAGGATTTCCCAAC
CCTCCGAGCC

配列番号 8 7 (EG81, 4m)

CTCCACCGTAAACGAAAAGGACATCAGGCTCGAGGAGGAGTCTATCAGTGTGTGATCTGGAGCC
AGAGCCCGGAGGCAATATCCGCCCTCACGAGAGAGCTTATGTGGGCGGCTCCCATGTTTAAAGC
CAAGGAGACCTATGTGCTACCGAGCTGCGCGCGAGCGGGCTTACACCAACGATTTGCGGAA
CACACTGACCTGCTACTCTAAAGCCACGCGGCTTACAGAGCGGCGGCTGAGAGATTTGCAAT
GCTGGTTTGGGCGGACGACTGGTGTCTATCGCAGAGAGCGGATGGCTGAGGAGGACACCGCGAGC
CCTCCAGCT

配列番号 8 9 (VN13, 7a)

CTCAACAGTCACAGAGCGGATGTCCAGACGGAGCATGACATCTACCAAGTGTGTAAGTTGAGGCC
CGAGCAGCGGACAGCATACCTGCTTACTGACGAGTGTGACTNCGGTTGGTCCATGNTAACTC
TAAAGCTCAGGATGTGGATACAGCTAGGTGAGGCGAGTGGCTCTGACACCATCTTGGCCAA
TACTCTGACTGTGCTACTTGAAGCTCAGCGGCATGCAAGCTGCGGGCTGAAGACTTTGACAT
GTTGGTCTGCGGAGACGACCTTGTGCTATTCTCGAGAGTTTGGGGTCTCGGAGGACACTAGTGC
ACTGCGAGCT

【図 3 - 10】

図3 - 続き

配列番号91 (VN4, 7c)

CTCGACAGTCACCGAGCGGCACATCCRCACCGAGCAGACATCTACCAATGCTGCCAACTTGACCC
GGTGGCAGCAGAGGCTATTACATCTCTGACTGAGCGGCTGACTGCGGNGGGCCATGATGAACCTC
CGTGGCTCAATCATGTGGATACCGTAGTCCGAGCCAGTGGCGTGCTCACCACAGGCTTGGGCAA
TACCTTAACATGCTATTGTAAGACACAAGCAGCGTGTAGGGCAGCAAAAGCTCAAAAACCTATGACAT
GTTAGTCTGCGGAGACGATCTAGTCTGTTATCGCGGAGAGTGGAGGAGTCTCTGAGGATGTTGACGC
CCTGCGAGCA

配列番号93 (VN12, 7d)

CTCCTCCGTCACGGAGCGTGACATCCGCACTGAACAGGACATCTATCAGTGCTGCCAATTAGATCC
GCTAGCACGGAAAGCCATTACATCTCTTACTGAGCGGCTGACTGCGGCGGCCCATGTACAACTC
TCGAGGTGAGTATGTGGGTACCGCAGGTGCCGGCTAGTGGTGCTCTCACCACAGGCTTGGGCAA
CACCATGACATGCTACCTGAAGGCTCAGGCGGCTTGAGGCGCAGCAAGCTCAAAAACCTTATGACAT
GTTGGTCTGCGGAGACGACCTAGTCTGTTATGCTGAGAGCGGAGGAGTCCCTGAGGATGCGCGGGC
CCTGCGAGTC

配列番号95 (FR1, 9a)

ATCCACAGTCACGGGGCGGCACATACGCAACAGCAAGCATTACCTGTCTGCCAGCTCGACCC
AGAGGCCCGGAAAGCCATAAAGTCTCTCACTGAGAGGCTCTATGTCGGGGGCCATGTACAACTC
AAGGGCCCACTCTGTGGTCAAGCCGATGCCGAGCAAGCGGAGTACTCCCAACAGCATGGGTAA
CACCATGACATGCTTCTCGAAGGCAACCGCGCTTGCCGAGCAGCGGCTTTACAGATTATGACAT
GTGTGTCTGCGGAGACGATTGTGTTGCTGTAAGTGTGCTGAGTCAACAGGATATCGCTAA
CCTGCGAGCC

配列番号97 (NE98, 10a)

CTCCACTGTCACTGAGCAGGACATCAGGGTAGAAGCTTCCATCTTTTCCAGGCGCTGTACCTCAAGGA
CGAGGCTAGGAGGGTGATAACTTCACTCAGGAGCGGCTTACTGTGGTGGTCTATGTTCAACAG
CAAGGGCAACACTGCGGCTTACCGCGCTGCCGCTGCTAGTGGGTGCTACCCACAGCTTGGGGAA
CACAATCACTGTTACATCAAGGCAAGGCGAGCTACCAAGCTGCCGAATTAAGATTCATCAT
CCTTGTCTGCGGAGATGACTTGTGCTGATTGCTGAGAGTGCAGGGATCGATGAGGACAAGAGCGC
CTTGAGAGCT

配列番号99 (FR14, 11a)

CTCTACCGTCACAGAGAGGGACATACGGACAGAAGATCCATCTATCTGTCTTGTCAATTGCGCTGA
AGAGGCCCGGAAAGCCATTAAATCGCTGACAGAGAGACTATACGTGGGCGGCCGATGGAAACAG
CAAGGGCCGAGCTTGGGATATAGGCGTTGCCGCGCAAGCGGGGTATTACACACAGCTTGGGGAA
CACCATGACTTGTGTACATCAAGGCTAAGCGGCTTTGAAAGCGCGCTGGCATTGTAGACCCGCTGAT
GCTCGTGTGCGGAGCAGCCTAGTGGTCTATCTCAGAAAGCAAGGGGGTGGAGGAGGACAGCGGGA
CTACGAGTC

配列番号101 (FR15, 11a)

CTCCACTGTCACTGAGAGAGACATACGGACAGAAGATCCATCTAATYTGCTTGTCAATTGCGCGA
AGAGGCCCGGAAAGCCATTAAATCACTGACAGAGAGACTATACGTGGGCGGCCGATGGAAACAG
CAAGGGCCGAGCTTGGGATATAGGCGTTGCCGCGCAAGCGGGGTATTACACACAGCTTGGGGAA
CACCATGACTTGTGTACATCAAGGCTAAGCGGCTTTGAAAGCGCGCTGGCATTGTAGACCCGCTGAT
GCTCGTGTGCGGAGCAGCCTAGTGGTCTATCTCAGAGAGCAGGGGGTAGAGAGGACAGCAGAGA
CTAC

【図 3 - 12】

図3 - 続き

配列番号18 (FR4, 2f)

MSTNPKPQRKTKRNTNRRPDQVKFPGGGQIVGGVYLLPRRGPRLGVRATRKTSERSQPRGRRPPI
KDRATGKSWGRPGYPWPLYGNEGLGWAGLLSPRGRSPSWGPNDRPRSRNLGKVIDTLTXCFAD
LMGYIPVVGAPVGGVAAALAHGVRLVEDGINATGNLPGCSFSIFLLALLSCLITVPVSAIQVKNS
HFYMATNDCAANDSIWQLDAVLHVPVPCERSGNRTFCWAVSPNVAVSRPGLATRLRAHINT
IYMSATLCSALYIGDLGAVMIAAQAVVSPQYHTFVQECNCSIYPGHTIGHRMX

配列番号20 (BNL4, 2g)

DGVNYATGNLPGCSFSIFLLALLSCLITVPVSAVQVKNTSMXMATNDCAANDSIWQMGAVLHVPG
CVPCELQGNKSRWIPVTNPNVAVQPGALTRGLRTHDITVMVATLCSALYIGDVGAVMIAAQV
IYSPQHNTTQDCNCSI

配列番号22 (BNL5, 2h)

MSTNPKPQRKTKRNTNRRPDQVKFPGGGSLEAYTCARRGLRRSSMG

配列番号24 (BNL5, 2h)

DGINVATGNLPGCSFSIFLLALLSCLITVPASAVQVKNTSHSYMVTNDCAANDSIWQLDAVLHVPG
CVPCEHQNQSRWIPVTNPNVAVSPQALTRGLRTHDIVASATVCSALYIGDVGAVMLVSGFF
MISPDHNTTQDCNCSI

配列番号26 (BNL6, 2i)

DGINVATGNLPGCSFSIFLLALLSCLITVPVSAVQVANRSGSYMVTNDCAANDSIWQLEAVLHVPG
CVPCEWKNDSRCWIPVTNPNVAVSPQAGTKGLRTHIDIVASATFCSALYV

配列番号28 (BNL7, 4k)

MSTNPKPQRKTKRNTNRRPMDVKFPGGGQIVGGVYLLPRRGPRLGVRATRKTSERSQPRGRRPPI
KARRSEGRSWAQPGYPWPLYGNECGWAGWLLSPRGRSPSWGPNDRPRSR

配列番号30 (BNL7, 4k)

DGINVATGNLPGCSFSIFLLALLSCLITVPASAINYRNVSIGIYVNTDCAANDSIYEAADHILHLPG
CVPCEHQNQSRWALPTVAAPYIGAPLESRLSHVDLMVGAATVCSALYIGDXCXGLFLVGQMF
SFRPRRHNTTQDCNCSI

配列番号32 (BNL8, 4k)

DGINVATGNLPGCSFSIFLLALLSCLITVPASAINYRNVSIGIYVNTDCAANDSIYEAADHILHLPG
CVPCEHQNQSRWALPTVAAPYIGAPLESRLSHVDLMVGAATVCSALYIGDLCCGLFLVGQMF
SFRPRRHNTTQDCNCSI

配列番号34 (BNL9, 4k)

DGINVATGNLPGCSFSIFLLALLSCLITVPASAINYHNTSGIYHNTDCAANDSIYEAADHILHLPG
CVPCEHQNQSRWALPTVAAPYIGAPLESRLSHVDLMVGAATVCSALYIGDLCCGLFLVGQMF
SFRPRRHNTTQDCNCSI

配列番号36 (BNL10, 4k)

DGINVATGNLPGCSFSIFLLALLSCLITVPASAINYRNVSIGIYVNTDCAANDSIYEAADHILHLPG
CVPCEHQNQSRWALPTVAAPYIGAPLESRLSHVDLMVGAATVCSALYIGDLCCGLFLVGQMF
SFRPRRHNTTQDCNCSI

配列番号38 (BNL11, 4k)

DGINVATGNLPGCSFSIFLLALLSCLITVPASAINYRNVSIGIYVNTDCAANDSIYEAADHILHLPG
CVPCEHQNQSRWALPTVAAPYIGAPLESRLSHVDLMVGAATVCSALYIGDLCCGLFLVGQMF
SFRPRRHNTTQDCNCSI

配列番号40 (BNL12, 4l)

DGINVATGNLPGCSFSIFLLALLSCLITVPASAINYRNVSIGIYVNTDCAANDSIYEAADHILHLPG
CVPCEHQNQSRWALPTVAAPYIGAPLESRLSHVDLMVGAATVCSALYIGDLCCGLFLVGQMF
SFRPRRHNTTQDCNCSI

【図 3 - 11】

図3 - 続き

配列番号103 (FR19, 11a)

CTACAGGCTCCAGGACCCCGCTCCCGGAGAGCCATAGTGGTCTGCGGAAACGGGTGAGTACACC
GGAAATGCGCGGGAAGACTGGGTCTCTTCTGGATTAACCACTCTATGCGCGGAGATTGGGGCTG
CCCCCGCAAGACTGCTAGCCGAGTAGCGTTGGTTCGGAAGGCCCTTGTGGTACTGCTGTATAGGG
TGCTTGCGGATGCGCCCGGGAGGTCTGCTAGACCGTGACACTGAGCAGCAATCTTAAACCTCAAAG
CAAAACCAAGAAACACCAACCGCGCCGCCAGGACCTTAAGTTCCCGGGCGGTGGCCAGATCGT
TGCGGGGTGTACTTGTGCCGCGAGGGGCCCCAGAGTGGGTGTGCGCGCGACGAGAAAGACCTC
GGAGCGGTCCAGCGCGCTGGGAGGCGCAACCTATCCCCAAGGTTAGCGGCACACCGCGCGTT

配列番号105 (FR19, 11a)

CTCTACTGTCAACAGAGAGGGATATACGAACAGAGGAATCCATYATCTGCGCTTGTCAATTGCGCGA
AGAGGCCCGGAAGGCCATCAAACTCACTGACAGAGAGACTATACGTGGGCGGCCGATGGAAACAG
CAAGGGCCAGGCGCTGCGGATACAGGCGTTCGCCGCGCAAGCGGGGTATTACCACAAGCTTGGGGAA
CACCATGACTTGTACATCAAGGCCAAGCGCGCTTGAAGCCCGCTGGCATTGTTGACCCAGTGTAT
GCTCGTGTGCGGCGACGACCTAGTGGTCTATCAGAAAGCAAGGGGGTGGAGGAGGACCAACGAGA
CCTACGANTC

配列番号2 (BNL1, 1d)

MSTNPKPQRKTKRNTNRRPXXXXPVGQIVGGVYLLPRRGPRXGVRATRKTSERSQPRGRRPPI
KARRSEGRSWAQPGYPWPLYGNECGWAGWLLSPRGRSPNWGP

配列番号4 (BNL1, 1d)

DGVNYATGNLPGCSFSIFLLALLSCLITVPXTAHEVRNAGSVYHVTNDCNSIIYEMDGMIMHVPG
CVPCEHQNQSRWALPTLAVKXASVPTXAIRRHVDLLVGXFTFCSAMYVXDLGCVSFLVAGLFL
TFSPRHMTTQECNCSI

配列番号6 (BNL2, 1d)

MSTNPKPQRKTKRNTNRRPDQVKFPGGGQIVGGVYLLPRRGPRLGVRATRKTSERSQPRDRRPPI
KARQSDGXWAGPGHFWPLYGNECGWAGWLLSPRGRSPSWG

配列番号8 (BNL2, 1d)

DGVNYATGNLPGCSFSIFLLALLSCLITVPTTAHEVRNAGSVYHVTNDCNSIIYEMDGMIMHVPG
CVPCEHQNQSRWALPTLAVKXASVPTXAIRRHVDLLVGXFTFCSAMYVXDLGCVSFLVAGLFL
TFSPRHMTTQECNCSI

配列番号10 (CAM1078, 1e)

MSTNPKPQRKTKRNTNRRPDQVKFPGGGQIVGGVYLLPRRGPRLGVRATRKTSERSQPRGRRPPI
KERRPEGR

配列番号12 (FR2, 1f)

MSTNPKPQRKTKRNTNRRPDQVKFPGGGQIVGGVYLLPRRGPRLGVRATRKTSERSQPRGRRPPI
KARRPEGRSWAQPGYPWPLYGNECGWAGWLLSPRGRSPSWGPNDRPRSRNLGKVIDTLTXCFAD
LMGYIPVVGAPLGGASRLTXHGVRLVXGVAAXXNLKGSXKIFLLXLLSCLITVPTSAIEVHSTT
DGVHVTNDCNSIIYEAADHILHLPGCVPCEHQNQSRWALPTLAVKXASVPTXAIRRHVDLLVGXFT
FCSAMYVXDLGCVSFLVAGLFLTFSPRHMTTQECNCSIYSGHITGHXX

配列番号14 (BNL3, 2e)

MSTNPKPQRKTKRNTNRRPDQVKFPGGGQIVGGVYLLPRRGPRLGVRATRKTSERSQPRGRRPPI
KDRATGKSWGRPGYPWPLYGNEGLGWAGWLLSPRGRSPSWG

配列番号16 (BNL3, 2e)

TCXADLGMGYXPVVGAAPVCGXARALAXGVRLVEDGINYXTNLPGCSFSIFXLLALLSCLITVPSXV
EVKNTSQAIFYMATNDCAANDSIWQLDAVLHVPGCVPCEHQNQSRWALPTLAVKXASVPTXAIRRH
VDLLVGXFTFCSAMYVXDLGCVSFLVAGLFLTFSPRHMTTQECNCSIYSGHITGHXX

【図 3 - 13】

図3 - 続き

配列番号46 (VN13, 7a)

MSTLKPQRKTKRNTNRRPDQVKFPGGGQIVGGVYLLPRRGPRLGVRATRKTSERSQPRGRRPPI
KVRHQGTGRTWAQPGYPWPLYGNECGWAGWLLSPXGRSPNWGPNDPRXSRNLGKVIDTLTXCFAD
LIEYI

配列番号44 (VN4, 7c)

MSTLKPQRKTKRNTNRRPDQVKFPGGGQIVGGVYLLPRRGPRLGVRATRKTSERSQPRGRRPPI
KVRHQGTGRTWAQPGYPWPLYGNECGWAGWLLSPXGRSPNWGPNDPRXSRNLGKVIDTLTXCFAD
LMGYIPVVGAPLGGVAAALAHGVRAIEDGINVATGNLPGCSFSIFLLALLSCLITVPASAAHYNKS
GLYHILNDCNSIIYEAADHILHLPGCVPCEHQNQSRWALPTLAVKXASVPTXAIRRHVDLLVGXFT
FCSAMYVXDLGCVSFLVAGLFLTFSPRHMTTQECNCSIYSGHITGHXX

配列番号48 (VN12, 7d)

MSTLKPQRKTKRNTNRRPMDVKFPGGGQIVGGVYLLPRRGPRLGVRATRKTSERSQPRGRRPPI
KVRHQGTGRTWAQPGYPWPLYGNECGWAGWLLSPXGRSPNWGPNDPRXSRNLGKVIDTLTXCFAD
LMGYIPVVGAPLGGVAAALAHGVRAIEDGINVATGNLPGCSFSIFLLALLSCLITVPASAAHYNKS
GLYHILNDCNSIIYEAADHILHLPGCVPCEHQNQSRWALPTLAVKXASVPTXAIRRHVDLLVGXFT
FCSAMYVXDLGCVSFLVAGLFLTFSPRHMTTQECNCSIYSGHITGHXX

配列番号42 (FR1, 9a)

MSTLKPQRKTKRNTNRRPMDVKFPGGGQIVGGVYLLPRRGPRLGVRATRKTSERSQPRGRRPPI
KVRHQGTGRTWAQPGYPWPLYGNECGWAGWLLSPXGRSPNWGPNDPRXSRNLGKVIDTLTXCFAD
LMGYIPVVGAPLGGVAAALAHGVRAIEDGINVATGNLPGCSFSIFLLALLSCLITVPASAAHYNKS
GLYHILNDCNSIIYEAADHILHLPGCVPCEHQNQSRWALPTLAVKXASVPTXAIRRHVDLLVGXFT
FCSAMYVXDLGCVSFLVAGLFLTFSPRHMTTQECNCSIYSGHITGHXX

配列番号50 (NE98, 10a)

MSTLKPQRKTKRNTNRRPDQVKFPGGGQIVGGVYLLPRRGPRLGVRATRKTSERSQPRGRRPPI
RARRTEGRSWAQPGYPWPLYGNECGWAGWLLSPXGRSPNWGPNDPRR

配列番号52 (NE98, 10a)

DGINVATGNLPGCSFSIFLLALLSCLITPTAGLEYRNASGLYMYVTNDCNSIIYEAADHILHLPG
CVPCEHQNQSRWALPTVAAPYIGAPLESRLSHVDLMVGAATVCSALYIGDLCCGLFLVGQMF
SFRPRRHNTTQDCNCSI

配列番号54 (BNL1, 1d)

STVTENDIRVEESIIYQCCDLAPEARKAIKSLTERLYIGGLTNSKGQNCGYRRCRASGLVLTSCGN
TLTCLVKARAACRAAKLQDCTMLVCGDDLIVICESAGVEEDAANLRA

配列番号56 (BNL2, 1d)

STVTENDIRVEESIIYQCCDLAPEARKAIKSLTERLYIGGLTNSKGQNCGYRRCRASGLVLTSCGN
TLTCLVKARAACRAAKLQDCTMLVCGDDLIVICESAGVEEDAANLRA

配列番号58 (FR17, 1d)

STVTENDIRVEESIIYQCCDLAPEARKAIKSLTERLYIGGLTNSKGQNCGYRRCRASGLVLTSCGN
TLTCLVKARAACRAAKLQDCTMLVCGDDLIVICESAGVEEDAANLRA

【図 3 - 1 4】

図3 - 続き

配列番号 6 0 (CAM1078, 1e)

MSTNPKPQRKTKRNTNRRPQDVKFPGGGQIVGGVYLLPRRGPRLVRAARKTSERSQPRGRRQPIPKERRPEGRSWAQPFGYPWPLYGNEGCGWAGXLLSPRGSRPSWGPTDPRRRSRNLGKVIDTLTCXFADLMGYIP

配列番号 6 2 (CAM1078, 1e)

STVTEADIRTEESIYQCCDLHPEARVAIKSLTERLYVGGPLTNSKGENCYRRCRASGVLTTSCGN TLTCTYKALAAACRAAKLQDCTMLVCGDDLVIICESVGTQEDAAASLRA

配列番号 6 4 (FR2, 1f)

STVTESDIRTEESIYQCCDLHPEARVAIKSLTERLYVGGPLTNSKGQNCYRRCRASGVLTTSCGN TLTCTYKARAACRAAKLQDCSMLVCGDDLVIICESAGVQEDASXXX

配列番号 6 6 (FR16, 1g)

MSTNPKPQRKTKRNTNRRPQDVKFPGGGQIVGGVYLLPRRGPRLVRAARKTSERSQPRGRRQPIPKARRSEGRSWAQPFGYPWPLYGNEGCGWAGWLLSPHGSRPSWGPTDPRRRSRNLGKVIDTLTCGFADLMGYIPLVGAPLGGVARALAQQFRDL

配列番号 6 8 (FR16, 1g)

XXVTESDIRVEXSIYQCCDLAPEARVAIKSLTERLYVGGPLTNSKGQNCYRRCRASGVLTTSCGN TLTCTYKALAAACRAAKLRECTMLVCGDDLVIICESAGVQEDAAASXXX

配列番号 7 0 (BNL3, 2e)

STVTERDIXTEESIYQACSLPEQARTAIHSLTERLYVGGPMNNSKGQSCGYRRCRASGVLTTSMGN TITCTYKALAAACRAAGIVAPTMLVCGDDLVIICESQGVIEDDRNLXX

配列番号 7 2 (FR4, 2f)

STVTERDIRTEESIYLACSLPEQARTAIHSLTERLYVGGPMNNSKGQSCGYRRCRASGVLTTSMGN TITCTYKALAAACRAAGIVAPTMLVCGDDLVIICESQGAEDERNLRV

配列番号 7 4 (BNL5, 2h)

STVAERDIRTEESIYLACSLPEQARTAIHSLTERLYVGGPMNNSKGQSCGYRRCRASGVLTTSMGN TITCTYKALAAACRAAGIVAPTMLVCGDDLVIICESQGVIEDERNLRV

配列番号 7 6 (FR13, 2k)

MSTNPKPQRKTKRNTNRRPQDVKFPGGGQIVGGVYLLXCRXPRXKXCATXKTXEQSQPRGRRQPIPKDRXTGCKSWGRFGYPWPLYGNEGLWAGWLLSPRGSRPSWGPTDPRHRSRNLGKVIDTLTXGFXDLMGYIPVVGAPVVGVARALAHGVVLEDCINYETGNLPGCSFSISLLALLSITXPFVSAVEIKNTXNTYMTVNDSCNXSITWQLXAVLHVPGCVPCEREGNSSRCWIPVTEFVXVSRPGALTEGLRSHIDTI VASATFCSALYIGDVGCAIMIAAQVIVISPEHHHFVQDCNCISYIPGHTGPRMX

配列番号 7 8 (FR13, 2k)

STVTERDIRVEESVYLSCLPEEARAAIHSLTERLYVGGPMQNSKGQSCGYRRCRASGVLTTSMGN TLTCTYKLAQAACRAAGIVAPTMLVCGDDLVIICESQGVTERDENNLRF

【図 3 - 1 6】

図3 - 続き

配列番号 1 0 2 (FR15, 11a)

STVTERDIRTEESIXXACQLPEEARKAIKSLTERLYVGGPMNSKGQACGYRRCRASGVFTTSLGN TMTCTYIKAKAACKAGIVDPVMLVCGDDLVIICESKGVIEDQDRDLXX

配列番号 1 0 4 (FR19, 11a)

MSTNPKPQRKTKRNTNRRPQDVKFPGGGQIVGGVYLLPRRGPRVGVRAARKTSERSQPRGRRQPIPKVRRTTGR

配列番号 1 0 6 (FR19, 11a)

STVTERDIRTEESXYLACQLPEEARKAIKSLTERLYVGGPMNSKGQACGYRRCRASGVFTTSLGN TMTCTYIKAKAACKAGIVDPVMLVCGDDLVIICESKGVIEDQDRDLXX

【図 3 - 1 5】

図3 - 続き

配列番号 8 0 (FR18, 21)

STVTERDIRNEESIFLACSLPEEARTVIHSLTERLYVGGPMNNSKGQSCGYRRCRASGVFTTSMGN TITCTYKARAARAAGLQDPSFLVCGDDLVIICESQGVTEEDERNLRV

配列番号 8 2 (PAK64, 3g)

STVTEQDIRVEEESIYQCCDLPEARRAIKSLTERLYVGGPMNNSKGKLCGYRRCRASGVLTPTSNGN TITCTYKARAARAAGLQDPSFLVCGDDLVIICESXCVDEEDRAALR

配列番号 8 4 (BNL8, 4k)

STVTEKDIRPEEEVYQCCDLPEARKVITALTERLYVGGPMNNSKGLDCGYRRCRASGVYTTSGFN TLTCTYLKASAAIRAAGLRDCTMLVCGDDLVIICESDGVIEDERNALXA

配列番号 8 6 (BNL12, 41)

STVTEKDIRVEEESIYQCCDLXPEARKAISALTEXLYLGGPMYNSKGLDCGYRRCRASGVYTTSGFN TLTCTYLKATAATRAAGLKDCTMLVCGDDLVIICESGVIEDSQPLRA

配列番号 8 8 (EG81, 4m)

STVTERDIRVEEVIYQCCDLPEARKAISALTERLYVGGPMNNSKGLDCGYRRCRASGVYTTSGFN TLTCTYLKATAATRAAGLKDCTMLVCGDDLVIICESDGVIEDRRALQA

配列番号 9 0 (VN13, 7a)

STVTERDVQTEHDIYQCCCKLEPAARTAITSLDRLYXGGPMXNSKGQACGYRRCRASGVLTTILAN TLTCTYLKAQAACRAAGLKDFDMLVCGDDLVIICESLGVSEDTLSALRA

配列番号 9 2 (VN4, 7c)

STVTERDIXTEHDIYQCCQLDPVARKAITSLTERLYXGGPMNNSRGQSCGYRRCRASGVLTTSLGN TLTCTYLKAQAACRAARKLKNYDMLVCGDDLVIICESGVIEDVDALRA

配列番号 9 4 (VN12, 7d)

SSVTERDIRTEHDIYQCCQLDPVARKAITSLTERLYXGGPMYNSRGQSCGYRRCRASGVFTTSLGN TMTCTYLKAQAACRAARKLKNFDMVLCGDDLVIICESGVIEDDAGALRV

配列番号 9 6 (FR1, 9a)

STVTGRDIRTEXDIYLSQCLDPPEARKAIKSLTERLYVGGPMYNSKGLCQRRRCRASGVLPTSMGN TITCTFLKATAACRAAGFTDYDMLVCGDDLVIICESAGVIEDIANLRA

配列番号 9 8 (NE98, 10a)

STVTEQDIRVELSIFQACDLKDEARRVITSLTERLYXGGPMNNSKGQHCYRRCRASGVLPTSFGN TMTCTYIKAKAATKAAGIKNPSFLVCGDDLVIICESAGIDEDKLSALRA

配列番号 1 0 0 (FR14, 11a)

STVTERDIRTEESIYLSQCLPEEARKAIKSLTERLYVGGPMNSKGQACGYRRCRASGVFTTSLGN TMTCTYIKAKAACKAGIVDPVMLVCGDDLVIICESKGVIEDQDRDLRV

【図 4 - 1】

図 4	コア/E17/ニ/酸基列	配列番号	タイプ
単離体			
HCV-1	1	1a	1a
HCV-J	1	1b	1b
BNL1	1	1c	1c
BNL2	1	1d	1d
CAM1078	1	1e	1e
FR2	1	1f	1f
FR16	1	1g	1g
HC-J6	1	1h	1h
HC-J8	1	1i	1i
CH610	1	1j	1j
NE92	1	1k	1k
BNL3	1	1l	1l
FR4	1	1m	1m
FR13	1	1n	1n
EB1	1	1o	1o
NZL1	1	1p	1p
HCV-TR	1	1q	1q
GH38	1	1r	1r
DK13	1	1s	1s
CH600	1	1t	1t
HPCCOEZA	1	1u	1u
HPCCOEZB	1	1v	1v
HPCCOEZC	1	1w	1w
GB724	1	1x	1x
BNL7	1	1y	1y
BE95	1	1z	1z
HK2	1	2a	2a
VN13	1	2b	2b
VN4	1	2c	2c
VN12	1	2d	2d
FR1	1	2e	2e
NE98	1	2f	2f
10a	1	2g	2g
11a	1	2h	2h

図5 NS5Bヌクレオチド整列

単離体	タイプ	配列番号	配列
HCV-1	1a	7932	CTCCACGCTCACTGAGAGCGACATCCGTTACGAGGAGGAGCAATCTACCAAT
HCV-J	1b	7981	---A-G---C---AT---AT---T---AT---T---
BNL1	1d		N-A-A---C---A---GTT---AT---T---
BNL2	1e		---G---T---AT---AT---GTC---AT---T---
BNL3	1f	53	---G---T---A---C---RAT---AT---T---
HC-J6	2a	55	---G---T---A---T---GTC---AT---T---G---
HC-J8	2b	57	---A---G---AGCT---T---A---A---T---C---A---
CH610	2c	61	N-A-A---T---T---A---A---T---C---A---
S83	2d	63	NNNNNN---T---T---A---GTC---RT---T---
NE92	2e	67	---A---C---G---A---A---A---A---T---C---A---T---GGG---
BNL3	2f	16	---A---C---A---T---AA-N---T---T---C---A---T---GG---
FR4	2g	18	---A---C---A---T---AA-N---T---T---C---A---T---GG---
BNL4	2h	20	---A---C---A---T---AA-N---T---T---C---A---T---GG---
BNL5	2i	24	---A---C---A---T---AA-N---T---T---C---A---T---GG---
FR13	2k	26	---A---G---G---A---A---A---A---T---C---A---T---TGG---
BR36	3a	28	---A---G---G---A---A---A---A---T---C---A---T---TGG---
HCVTR	3b	29	---A---G---G---A---A---A---A---T---C---A---T---TGG---
24	4a	77	---A---T---T---ACAG---A---G---A---A---A---A---A---
GB809-4	4b	21	---T---T---ACAG---A---G---A---A---A---A---A---
GB116	4c		---T---T---ACAG---A---G---A---A---A---A---A---
GB215	4c		---T---T---ACAG---A---G---A---A---A---A---A---
GB358	4c		---T---T---ACAG---A---G---A---A---A---A---A---
DK13	4d		---T---T---ACAG---A---G---A---A---A---A---A---
CH600	4e		---T---T---ACAG---A---G---A---A---A---A---A---
GB809	4e		---T---T---ACAG---A---G---A---A---A---A---A---
CH622	4f		---T---T---ACAG---A---G---A---A---A---A---A---
CH627	4f		---T---T---ACAG---A---G---A---A---A---A---A---
GB549	4g		---T---T---ACAG---A---G---A---A---A---A---A---
GB438	4g		---T---T---ACAG---A---G---A---A---A---A---A---
BNL7	4k	30	---T---T---ACAG---A---G---A---A---A---A---A---
BNL8	4k	32	---T---T---ACAG---A---G---A---A---A---A---A---
BNL9	4k	34	---T---T---ACAG---A---G---A---A---A---A---A---
BNL10	4k	36	---T---T---ACAG---A---G---A---A---A---A---A---
BNL11	4k	38	---T---T---ACAG---A---G---A---A---A---A---A---
BNL12	4l	40	---T---T---ACAG---A---G---A---A---A---A---A---

【図5 - 1】

単離体	タイプ	配列番号	配列
HCV-1	1a	301	TCGNCSTYPGHITGHRMA
HCV-J	1b	319	---D---D---VS---
BNL1	1d		---E---D---VS---
BNL2	1e		---E---D---VS---
FR2	1f	8	---E---D---VS---
HC-J6	2a	12	---E---D---VS---
HC-J8	2b		---E---D---VS---
CH610	2c		---E---D---VS---
S83	2d		---E---D---VS---
NE92	2e		---E---D---VS---
BNL3	2f	16	---E---D---VS---
FR4	2g	18	---E---D---VS---
BNL4	2h	20	---E---D---VS---
BNL5	2i	24	---E---D---VS---
FR13	2k	26	---E---D---VS---
BR36	3a	28	---E---D---VS---
HCVTR	3b	29	---E---D---VS---
24	4a		---E---D---VS---
GB809-4	4b		---E---D---VS---
GB116	4c		---E---D---VS---
GB215	4c		---E---D---VS---
GB358	4c		---E---D---VS---
DK13	4d		---E---D---VS---
CH600	4e		---E---D---VS---
GB809	4e		---E---D---VS---
CH622	4f		---E---D---VS---
CH627	4f		---E---D---VS---
GB549	4g		---E---D---VS---
GB438	4g		---E---D---VS---
BNL7	4k	30	---E---D---VS---
BNL8	4k	32	---E---D---VS---
BNL9	4k	34	---E---D---VS---
BNL10	4k	36	---E---D---VS---
BNL11	4k	38	---E---D---VS---
BNL12	4l	40	---E---D---VS---

【図4 - 10】

【図5 - 2】

単離体	タイプ	配列番号	配列
GB48	4c	7932	T---A---C---A---AG---A---GGTC---AGG---T---G---
GB116	4c	7981	T---A---C---A---AG---A---GGTC---AGG---T---G---
GB215	4c		T---A---C---A---AG---A---GGTC---AGG---T---G---
GB358	4c		T---A---C---A---AG---A---GGTC---AGG---T---G---
GB809	4e		T---A---C---A---AG---A---GGTC---AGG---T---G---
GB549	4g		T---A---C---A---AG---A---GGTC---AGG---T---G---
BNL8	4k	83	T---A---C---A---AG---A---GGTC---AGG---T---G---
BNL12	4l	85	T---A---C---A---AG---A---GGTC---AGG---T---G---
EG81	4m	87	T---A---C---A---AG---A---GGTC---AGG---T---G---
CHL18	5a		T---A---C---A---AG---A---GGTC---AGG---T---G---
VN4	7a	89	T---A---C---A---AG---A---GGTC---AGG---T---G---
VN12	7c	91	T---A---C---A---AG---A---GGTC---AGG---T---G---
FR1	9a	93	T---A---C---A---AG---A---GGTC---AGG---T---G---
NE98	10a	95	T---A---C---A---AG---A---GGTC---AGG---T---G---
FR14	11a	97	T---A---C---A---AG---A---GGTC---AGG---T---G---
FR15	11a	99	T---A---C---A---AG---A---GGTC---AGG---T---G---
FR15	11a	101	T---A---C---A---AG---A---GGTC---AGG---T---G---
FR19	11a	105	T---A---C---A---AG---A---GGTC---AGG---T---G---

単離体	タイプ	配列番号	配列
GB724	4k	44	---D---T---T---T---T---
BE95	5a	48	V-N---S---V---V---
BE100	5a	42	V-D---S---V---Q---
HK2	6a	52	V-D---T---V---V---
VN4	7c		V-E---T---T---T---
VN12	7d		A-D---A---A---A---
FR1	9a		---D---XNX---V---
NE98	10a		V-D---V---V---

【図4 - 11】

【 図 5 - 3 】

単離体	タイプ	配列番号	7982	8031
HCV-1	1a		GTGTGACCTCGACCCCGACCGCGGTGGCCATCAAGTCCCTCACCAGG	
HCV-J	1b		-----T-G-C-C---G---A-GCA-----A-G---G---A---	
BE90	1b		-----T-G-C-C---G-G-A-ACA-----A-G---G---A---	
BNL1	1d	53	-----T-G-C-C---G-G-T---AA-----A-G---G---A---	
BNL2	1d	55	-----T-G-C-C---YG-G---AA-----A-G---G---A---	
FR17	1d	57	-C-----T-G-C-C---G-G---AA-----A-G---G---A---	
CAM1078	1e	61	-C-----GC-----G-A-T-A-----TT-G-T-A	
FR2	1f	63	-C-----T-A-----G-G-T---AA-----A-G---G---A---	
FR16	1g	67	-C-----TC-T-GCC-GAGG-G---A-ACT-----A-G---G---A---	
HC-J6	2a		C-----TC-T-GCCT-ANG---A-ACT-T---AC-C-A-G-T---	
HC-J8	2b		C-----TC-T-ACC-GAG-G---A-ACT-T---AC-C-G---T---	
BNL3	2e	69	CC---CTC-T-ACC-GAG-G---A-ACT-----AC-T-AT-G-T---	
FR4	2f	71	CC---CTC-T-ACC-GAG-G---A-ACT-----AC-T-AT-G-T---	
BNL5	2h	73	CC---TCA-TCC-GAGG-G---A-CT-----AC-T-AT-G-T---	
FR13	2k	77	CC---CTCCT-GCC-GAGG-G---GACT-T---AC-T-G---T---	
FR18	2l	79	-C---A-----T-A-GG-G-A-GAGA-TG---TCC-----G---	
T1	3a		-C-----T-G-AG-G-T-GAA---G---GCG-T-----A---	
T9	3b		-----T-G-GG-G-TA-ACG---A-----A-G---G---A---	
PAK64	3g	81		

【 図 5 - 5 】

単離体	タイプ	配列番号	8032	8081
HCV-1	1a		AGGCTTTATGTGGGGGCCCTCTTACCAATTCAAGGGGAGACTGCGG	
HCV-J	1b		C-----C-----T-C-G-T---G-A---C-----T---	
BE90	1b		C-----A-C-----T-C-G-T---G-A---C-----T---	
BNL1	1d	53	C---G-CA-C-----Y-A-----A-AC-----T---	
BNL2	1d	55	C---G-C-C-----A-----A-A-C-----T---	
FR17	1d	57	C---G-A-C-----T-C-A-----C-AA-C-----T---	
CAM1078	1e	61	-G-C-C-----G-CT-G---AA-----A-C-----T---	
FR2	1f	63	-A-C-----T-C-G-A-C---AA-C-----A-C-----T---	
FR16	1g	67	-A-----C-G-A-G-CA-GTT---CAGC-A---CC-C-----T---	
HC-J6	2a		-A-----C-A-A-G-CA-G---CAGC-AA---CC-C-----T---	
HC-J8	2b		-A---C---A-A-G-CA-G-TG---CAGC-AA---C-ATC-----T---	
BNL3	2e	69	-A---C---A-A-G-CA-G-TG---CAGC-AA---C-ATC-----T---	
FR4	2f	71	-A---C---A-A-G-CA-G-TG---CAGC-AA---C-ATC-----T---	
BNL5	2h	73	-A---C---A-A-G-CA-G-TG---CAGC-AA---C-ATC-----T---	
FR13	2k	77	-A---C---A-A-G-CA-G-TG---CAGC-AA---C-ATC-----T---	
FR18	2l	79	-A---C---A-A-G-CA-G-TG---CAGC-AA---C-ATC-----T---	
T1	3a		C---CTGC-----A-GTT---CAGC-AA---CC-TC-----T---	
T9	3b		C---G-CA-C-A-T-CA-GTA---CAGT-A---CCCG-G-----T---	
PAK64	3g	81	C-----C-----A-T-CA-GTT---CAGC-A---CTC-A-----T---	

【 図 5 - 4 】

単離体	タイプ	配列番号	7982	8031
GB48	4c		-----G-G-G-G---G---AA---A-T-CGG---A-A---A---	
GB116	4c		-----G-G-G-G---G---AGA---A-T-CGG---A-A---A---	
GB215	4c		-----G-G-G-G---G---AA-TA-T-CGG---A-A---A---	
GB358	4c		-----T-G-G-G-G-G---AA---A-T-CTG---A-A---A---	
GB809	4e		-----T-G-G-G-G-G---AA-TA-AGCGG---A-G---A---	
GB549	4g	83	-C---G-G-G-G---G---AA-TG-ATCCG---A-G---A---	
BNL8	4k		-----G-G-G-G---G---AA-TT-T-CGG---A-A---A---	
BNL12	4l	85	-----G-R-G-G---G---AAA---A-ATCCG---A-G---	
EG81	4m	87	-----T-G-G-AG-G-TG-G-G-T---A-ATCCG---A-G---	
CHR18	5a		CA-TGT-T-GC-G-TG-G-G-T---A-AGG---A-G-T-T-C---	
VN13	7a	89	-C---A-GT-G-G---GCTG-A---GACA---CA-G-T-T-C---	
VN4	7c	91	-C---CC-AT-A-T---GGT---A---GAAA---T-CA-T-T-T---	
VN12	7d	93	CG---CC-G---AG-G---GAAA---A-T---T---	
FR1	9a	95	CG---CC-G---AG-G---GAAA---A-T---T---	
NE98	10a	97	CG---CC-G---AGG-A-G-TA-GAG-TG-A-CT-A-G-G---	
FR14	11a	99	C---C-AT-GCCTGAG-G---GAAA---T-A-G-G-A---	
FR15	11a	101	C---C-AT-GCCTGAG-G---GAA---T-A-G-G-A---	
FR19	11a	103	C---C-AT-GCCTGAG-G---GAA---T-A-G-G-A---	

【 図 5 - 6 】

単離体	タイプ	配列番号	8032	8081
GB48	4c		-A-C-C-G-C-T-CA-GCAT-CAGC-A-A-CCTG-----	
GB116	4c		-A-C-C-G-C-T-CA-GCAT-CAGC-A-A-CCTG-----	
GB215	4c		-A-C-C-G-C-T-CA-GCAT-AGC-AA-A-CCTG-----	
GB358	4c		-A-C-C-G-C-T-CA-GCAT-CAGC-A-A-CCTG-----	
GB809	4e		-A-C-C-G-C-T-CA-GCAT-CAGC-A-A-CCTG-----	
GB549	4g		-A-C-C-G-C-T-CA-GTA-C-C-A-CCTA-----	
BNL8	4k	83	-A-C-C-G-C-T-CA-GCA-CAGC-A-A-CCTA-----	
BNL12	4l	85	-R-C-CT-G-C---CA-GTAT-CAGC-AA---CCTA-----	
EG81	4m	87	-R-C-CT-G-C---CA-GTAT-CAGC-AA---CCTA-----	
CHR18	5a		C-C-G-CTG-A---CA-GTAT-CAGC-A-A-CCTA-----	
VN13	7a	89	C-AT-G-CTGC-T-T-CA-GTAT-C-T-AA-TG-GCA-T---	
VN4	7c	91	C---G-CTGC-W-G-CA-G-TG-C-CC-T-TC-ATCA-T---	
VN12	7d	93	C---G-CTGC-C---CA-GTA-C-TC-A-TC-TCA-T---	
FR1	9a	95	C---C---C---A-GTA-C---A---CC-AC-T---	
NE98	10a	97	C---CTG-T-T---A-GTT---CAGC-A-AC-AC-T---	
FR14	11a	99	-A-A-C-G-C---CA-GGA-CAGC-A-CC-GCT-----	
FR15	11a	101	-A-A-C-G-C---CA-GGA-CAGC-A-CC-GCT-----	
FR19	11a	105	-A-A-C-G-C---CA-GGA-CAGC-A-CC-GCT-----	

【 図 5 - 7 】

単離体	タイプ	配列 番号
HCV-1	1a	8082
HCV-J	1b	8131
BE90	1b	
BNL1	1d	
BNL2	1d	
FR17	1d	
CAM1078	1e	
FR2	1f	
FR16	1g	
HC-J6	2a	
HC-J8	2b	
BNL3	2e	
FR4	2f	
BNL5	2h	
FR13	2k	
FR18	2l	
T1	3a	
T9	3b	
PAK64	3g	

【 図 5 - 9 】

単離体	タイプ	配列 番号
HCV-1	1a	8132
HCV-J	1b	8181
BE90	1b	
BNL1	1d	
BNL2	1d	
FR17	1d	
CAM1078	1e	
FR2	1f	
FR16	1g	
HC-J6	2a	
HC-J8	2b	
BNL3	2e	
FR4	2f	
BNL5	2h	
FR13	2k	
FR18	2l	
T1	3a	
T9	3b	
PAK64	3g	

【 図 5 - 8 】

単離体	タイプ	配列 番号
GB48	4c	8082
GB116	4c	8131
GB215	4c	
GB358	4c	
GB809	4e	
GB549	4g	
BNL8	4k	
EG81	4l	
CHR18	4m	
VNI13	5a	
VNI4	7a	
VNI2	7c	
FR1	9a	
NE98	10a	
FR14	11a	
FR15	11a	
FR19	11a	

【 図 5 - 10 】

単離体	タイプ	配列 番号
GB48	4c	8132
GB116	4c	8181
GB215	4c	
GB358	4c	
GB809	4e	
GB549	4g	
BNL8	4k	
EG81	4l	
CHR18	4m	
VNI13	5a	
VNI4	7a	
VNI2	7c	
FR1	9a	
NE98	10a	
FR14	11a	
FR15	11a	
FR19	11a	

【図 6 - 1】

図6 NS5Bアミノ酸配列

単離体	タイプ	配列番号	
HCV-1	1a	2645	STVTSIDRTTEALYQCCDLDPQARVAIKSLTERLYVGGLPNTSRGCG
HCV-J	1b		-----S-----A-E-Q-R-----K-Q-----
2Y14	1c		-----H-D-A-N-----K-----
BNL1	1d	54	-----N-V-S-----A-E-K-----I-X-----K-Q-----
BNL2	1d	56	-----N-XS-----AXE-K-----K-Q-----
FR11	1d	58	-----N-V-S-----A-E-K-----I-----K-Q-----
CAM1078	1e	62	-----A-S-S-----H-E-----K-----K-Q-----
FR2	1f	64	XX-----V-XS-----A-E-K-R-----I-----K-Q-----
FR16	1g	68	-----R-S-S-RA-S-PDE-HT-H-----MF-K-Q-----
HC-J6	2a		-----S-S-RA-S-PDE-TV-H-----M-K-Q-----
HC-J8	2b		-----S-S-S-PDE-T-H-----M-K-QS-----
ARG8	2c		-----S-S-S-PDE-T-H-----ML-K-Q-----
BNL3	2e	70	-----R-X-S-A-S-PDE-T-H-----MM-K-QS-----
FR4	2f	72	-----R-S-S-LA-S-PDE-T-H-----MM-K-QS-----
BNL5	2h	74	-----A-R-S-LA-S-PDE-T-H-----MM-K-QS-----
FR18	2k	78	-----R-V-SV-LS-S-PDE-A-H-----MQ-K-QS-----
FR13	2k	80	-----R-N-S-FLA-S-PDE-TV-H-----I-MM-K-QS-----
BR34	3a		-----C-MF-K-AQ-----
BR36	3a		-----C-MF-K-AQ-----
T9	3b		-----H-----E-E-K-SA-----I-MY-K-LQ-----
PAK64	3g	82	-----Q-V-E-----E-E-R-----MF-K-LK-----

【図 6 - 2】

GB48	4c	84	-----K-V-EV-----E-E-K-TA-----NH-K-DL-----
GB116	4c		-----K-V-EV-----E-E-R-TA-----NH-K-DL-----
GB215	4c		-----K-V-EV-----E-E-KV-TA-----NH-K-DL-----
GB358	4c		-----K-V-EV-----E-E-K-TA-----NH-K-DL-----
GB809	4e		-----R-KV-EV-----E-E-KV-AA-----NH-K-DL-----
CAMG22	4f		-----R-V-EV-----E-ET-KV-SA-----NH-K-DL-----
GB549	4g		-----R-E-----E-E-KV-SA-----MY-K-DL-----
GB438	4h		-----R-V-E-----E-E-KV-SA-----K-MY-K-DL-----
CAR4/120541	4h		P-----R-X-V-EV-----N-EXD-KV-NA-----MH-K-DL-----
CAR1/501	4i		-----X-R-----GEV-----E-E-KV-TA-----MF-K-DL-----
EG13	4j		V-----N-E-E-K-TA-----MH-K-DL-----
BNL8	4k	84	-----K-P-EV-----E-E-KV-TA-----MH-K-DL-----
BNL12	4l	86	-----K-V-E-----E-E-K-SA-X-L-MY-K-L-----
EG81	4m	88	-----H-M-S-S-O-E-A-R-O-----C-MY-K-QO-----
BE95	5a		-----R-VQ-HD-----K-E-A-T-T-D-----X-MY-K-QA-----
CHR18	5a		-----R-X-HD-----O-V-K-T-----CX-MM-QS-----
VN13	7a	90	-----CR-YD-LS-O-E-K-----MY-K-QO-----
VN14	7c	92	-----O-V-LS-F-A-KDE-RV-T-----C-MY-K-QH-----
VN12	7d	94	-----R-----S-XA-Q-PEE-K-----ME-K-QA-----
FR1	9a	96	-----R-----SX-LA-Q-PEE-K-----ME-K-QA-----
NE98	10a	98	-----R-----SX-LA-Q-PEE-K-----ME-K-QA-----
FR14	11a	100	-----R-----SX-LA-Q-PEE-K-----ME-K-QA-----
FR15	11a	102	-----R-----SX-LA-Q-PEE-K-----ME-K-QA-----
FR19	11a	106	-----R-----SX-LA-Q-PEE-K-----ME-K-QA-----

【図 6 - 3】

図6 NS5Bアミノ酸配列

単離体	タイプ	配列番号	
HCV-1	1a	2744	YHRCRASGLTTCGNTLTCTYHKARACRAGLQDCTMLVCGDDLWVISE
HCV-J	1b		-----L-T-----K-----R-----
2Y14	1c		-----L-L-----K-K-R-----
BNL1	1d	54	-----L-L-----K-K-R-----
BNL2	1d	56	-----L-L-----K-K-R-----
FR11	1d	58	-----L-L-----K-K-R-----
CAM1078	1e	62	-----L-L-----K-K-R-----
FR2	1f	64	-----L-L-----K-K-R-----
FR16	1g	68	-----L-L-----K-K-R-----
HC-J6	2a		-----M-I-V-L-K-K-IAP-----S-----
HC-J8	2b		-----M-I-V-L-K-K-IAP-----S-----
ARG8	2c		-----M-I-V-L-K-K-IAP-----S-----
BNL3	2d	70	-----M-I-V-L-K-K-IAP-----S-----
FR4	2f	72	-----M-I-V-L-K-K-IAP-----S-----
BNL5	2h	74	-----M-I-V-L-K-K-IAP-----S-----
FR18	2k	78	-----M-I-V-L-K-K-IAP-----S-----
FR13	2k	80	-----M-I-V-L-K-K-IAP-----S-----
BR34	3a		-----P-F-I-----T-A-RNPDF-----VA-----
BR36	3a		-----P-F-I-----T-A-RNPDF-----VA-----
T9	3b		-----P-F-I-----T-A-RNPDF-----VA-----
PAK64	3g	82	-----P-F-I-----T-A-RNPDF-----VA-----

【図 6 - 4】

GB48	4c	84	-----Y-F-----L-S-IK-----R-----A-----
GB116	4c		-----Y-F-----L-S-I-----R-----A-----
GB215	4c		-----Y-F-----L-S-I-----R-----A-----
GB358	4c		-----Y-F-----L-S-I-----R-----A-----
GB809	4e		-----Y-F-----L-S-I-----R-----A-----
CAMG22	4f		-----Y-F-----L-S-I-----R-----A-----
GB549	4g		-----Y-F-----L-S-I-----R-----A-----
GB438	4h		-----Y-F-----L-S-I-----R-----A-----
CAR4/120541	4h		-----Y-F-----L-S-I-----R-----A-----
CAR1/501	4i		-----Y-F-----L-S-I-----R-----A-----
EG13	4j		-----Y-F-----L-S-I-----R-----A-----
BNL8	4k	84	-----Y-F-----L-S-I-----R-----A-----
BNL12	4l	86	-----Y-F-----L-S-I-----R-----A-----
EG81	4m	88	-----Y-F-----L-S-I-----R-----A-----
BE95	5a		-----Y-F-----L-S-I-----R-----A-----
CHR18	5a		-----Y-F-----L-S-I-----R-----A-----
VN13	7a	90	-----Y-F-----L-S-I-----R-----A-----
VN14	7c	92	-----Y-F-----L-S-I-----R-----A-----
VN12	7d	94	-----Y-F-----L-S-I-----R-----A-----
FR1	9a	96	-----Y-F-----L-S-I-----R-----A-----
NE98	10a	98	-----Y-F-----L-S-I-----R-----A-----
FR14	11a	100	-----Y-F-----L-S-I-----R-----A-----
FR15	11a	102	-----Y-F-----L-S-I-----R-----A-----
FR19	11a	106	-----Y-F-----L-S-I-----R-----A-----

【図 6 - 5】

単機体	タイプ	配列番号
HCV-1	1a	2745
HCV-J	1b	2757
BP90	1b	SAGVQEDAAIRA
BNL1	1d	---T---A---
BNL2	1d	---T---N---V
FR17	1d	---E---N---V
CAM1078	1d	-X-E-N-V
FR2	1e	-V-T---N-V
FR16	1f	IE-XX--PS
HC-J6	1g	---Q-TE-ERN---
HC-J8	2a	-Q-NE-ERN---
NS92	2d	-Q-TE-ERN---
BN13	2e	-Q-TE-ERN---
FR4	2f	-Q-AE-ERN-V
BN15	2h	-Q-TE-ERN-V
FR13	2k	-Q-TE-ERN--P
BR4	2l	-Q-TE-ERN--V
BR24	3a	---
BR26	3a	---
BR33	3a	---
T9	3a	-C-E-R-A---
PAK64	3b	-CX-D-EDRAAIR
	3g	
	82	

【図 6 - 6】

GB48	4c	-D-E-KRP-G-
GB116	4c	-D-E-KRA-G-
GE215	4c	-D-E-KRA-GV
GB358	4c	-D-E-KRA-G-
GB809	4e	-G-E-KRX-G-
CAMG22	4f	-D-E-KRA-G-
GB549	4g	-G-E-RA-
GB438	4h	-G-E-RA-
CAR4/120541		-I-ID-KOA-T
CAR1/501	4j	---E-PXTX-P
BNL8	4k	84
BNL12	4l	-D-E-NEA-X-
EG81	4m	-E-E-SOP---
BE95	5a	86
CHR18	5a	-D-D-RA-Q-
VN13	5a	-Q-TH-E---
VN14	7a	-Q-TH-K---
FR12	7c	90
FR1	7d	-I-S-TSA---
NE98	9a	92
FR14	10a	-G-P-VDA---
FR15	11a	94
FR19	11a	96
	102	---N-I-N---
	106	-K-E-QRD--V
		-K-E-QRD--
		-K-E-QRD--

【配列表】

2005118044000001.app

フロントページの続き

(51)Int.Cl. ⁷	F I	テーマコード(参考)
A 6 1 P 1/16	A 6 1 P 1/16	4 C 0 8 5
A 6 1 P 31/14	A 6 1 P 31/14	4 H 0 4 5
A 6 1 P 37/04	A 6 1 P 37/04	
C 0 7 K 4/02	C 0 7 K 4/02	
C 0 7 K 16/08	C 0 7 K 16/08	
C 1 2 N 1/15	C 1 2 N 1/15	
C 1 2 N 1/19	C 1 2 N 1/19	
C 1 2 N 1/21	C 1 2 N 1/21	
C 1 2 N 5/10	C 1 2 P 21/02	C
C 1 2 P 21/02	C 1 2 Q 1/68	A
C 1 2 Q 1/68	G 0 1 N 33/53	M
G 0 1 N 33/53	G 0 1 N 33/53	N
G 0 1 N 33/566	G 0 1 N 33/566	
G 0 1 N 33/569	G 0 1 N 33/569	L
G 0 1 N 33/577	G 0 1 N 33/577	B
	C 1 2 N 5/00	A
	A 6 1 K 37/02	

(72)発明者 リーフェン・スタイフェル

ベルギー、ベー - 2 4 0 0 モル、ホーレストラート 8 番

F ターム(参考)	4B024	AA01	AA14	BA33	BA41	BA51	BA61	CA04	CA09	CA11	DA01
		DA02	DA05	DA11	GA01	GA11	HA08	HA12			
	4B063	QA01	QA18	QA19	QQ02	QQ08	QQ10	QQ42	QQ52	QR08	QR32
		QR42	QR50	QR56	QR58	QR62	QR66	QR72	QR77	QR82	QS03
		QS25	QS28	QS34	QS36	QS39	QX01				
	4B064	AG33	CA02	CA05	CA10	CA11	CA19	CC24	DA01	DA15	
	4B065	AA01X	AA57X	AA87X	AA96Y	AB01	BA02	BA08	CA24	CA25	CA45
		CA46									
	4C084	AA02	AA03	AA06	AA07	AA13	BA01	BA02	BA22	CA53	NA14
		ZA752	ZB022	ZB332							
	4C085	AA03	AA13	AA14	CC23						
	4H045	AA10	AA11	AA20	AA30	BA09	CA02	CA40	DA75	DA76	DA86
		EA20	EA31	EA53	FA74						

专利名称(译)	丙型肝炎病毒基因型的新序列，以及它们作为预防，治疗和诊断剂的用途		
公开(公告)号	JP2005118044A	公开(公告)日	2005-05-12
申请号	JP2004305574	申请日	2004-10-20
[标]申请(专利权)人(译)	Innogenetics公司南玫瑰汾笔记本闭嘴 基因创新有限公司		
申请(专利权)人(译)	Innogenetics公司，Namuroze芬恩笔记本闭嘴		
[标]发明人	ヘルトメールテンス リーフェンスタイフェル		
发明人	ヘルト・メールテンス リーフェン・スタイフェル		
IPC分类号	G01N33/53 A61K38/00 A61K38/08 A61K38/10 A61K39/00 A61K39/29 A61K39/395 A61K48/00 A61P1/16 A61P31/12 A61P31/14 A61P37/04 C07H21/00 C07K4/02 C07K7/06 C07K7/08 C07K14/18 C07K16/08 C07K16/10 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/10 C12N15/09 C12N15/11 C12N15/40 C12N15/51 C12P21/02 C12Q1/68 C12Q1/70 G01N33/543 G01N33/566 G01N33/569 G01N33/576 G01N33/577		
CPC分类号	A61K38/00 A61K39/00 A61K2039/525 A61P1/16 A61P31/12 A61P31/14 A61P37/04 C07K14/005 C12N2770/24222		
FI分类号	C12N15/00.ZNA.A A61K39/00.H A61K39/395.D A61K39/395.N A61K48/00 A61P1/16 A61P31/14 A61P37/04 C07K4/02 C07K16/08 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12P21/02.C C12Q1/68.A G01N33/53.M G01N33/53.N G01N33/566 G01N33/569.L G01N33/577.B C12N5/00.A A61K37/02 A61K38/00 A61K38/02 A61K38/16 C12N15/00.A C12N15/00.AZN.A C12N5/00.101 C12N5/10		
F-TERM分类号	4B024/AA01 4B024/AA14 4B024/BA33 4B024/BA41 4B024/BA51 4B024/BA61 4B024/CA04 4B024/CA09 4B024/CA11 4B024/DA01 4B024/DA02 4B024/DA05 4B024/DA11 4B024/GA01 4B024/GA11 4B024/HA08 4B024/HA12 4B063/QA01 4B063/QA18 4B063/QA19 4B063/QQ02 4B063/QQ08 4B063/QQ10 4B063/QQ42 4B063/QQ52 4B063/QR08 4B063/QR32 4B063/QR42 4B063/QR50 4B063/QR56 4B063/QR58 4B063/QR62 4B063/QR66 4B063/QR72 4B063/QR77 4B063/QR82 4B063/QS03 4B063/QS25 4B063/QS28 4B063/QS34 4B063/QS36 4B063/QS39 4B063/QX01 4B064/AG33 4B064/CA02 4B064/CA05 4B064/CA10 4B064/CA11 4B064/CA19 4B064/CC24 4B064/DA01 4B064/DA15 4B065/AA01X 4B065/AA57X 4B065/AA87X 4B065/AA96Y 4B065/AB01 4B065/BA02 4B065/BA08 4B065/CA24 4B065/CA25 4B065/CA45 4B065/CA46 4C084/AA02 4C084/AA03 4C084/AA06 4C084/AA07 4C084/AA13 4C084/BA01 4C084/BA02 4C084/BA22 4C084/CA53 4C084/NA14 4C084/ZA752 4C084/ZB022 4C084/ZB332 4C085/AA03 4C085/AA13 4C085/AA14 4C085/CC23 4H045/AA10 4H045/AA11 4H045/AA20 4H045/AA30 4H045/BA09 4H045/CA02 4H045/CA40 4H045/DA75 4H045/DA76 4H045/DA86 4H045/EA20 4H045/EA31 4H045/EA53 4H045/FA74		
代理人(译)	田中，三夫		
优先权	1994870166 1994-10-21 EP 1995870076 1995-06-28 EP		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

本发明涉及丙型肝炎病毒 (HCV) 基因型的新序列及其作为预防，治疗和诊断试剂的用途。 解决方案：HCV亚型1a，1b，1c，2a，2b，2c，2d，3a，3b，3c，3d，3e，3f，4a，4b通过比较部分NS5基因核苷酸序列进行分类，图4c，4d，4e，4f，4g，4h，4i，4j，5a或6a具有对于先前未鉴定的HCV类型或亚型是独特的核苷酸序列，以及所述已知的HCV核苷酸序列。 HCV多核苷酸，其特征在于它包含至少一个不同的核苷酸或其补体。 [选择图]无

	領域	本発明に記載された位置*	HCV-Jについて開示された位置 (Kato et al., 1990)	HCV-1について開示された位置 (Cho et al., 1991)	HC-J 6、HC-J 8について開示された位置 (Okamoto et al., 1992)
ヌクレオチド	NS5B	8023/8235 7932/8271	8352/8564 8261/8600	8026/8238 7935/8274	8433/8645 8342/8681
		本発明のコード領域	330/9359	1/9033	342/9439
アミノ酸	NS5B	2675/2745 2645/2757	2675/2745 2645/2757	2676/2746 2646/2758	2698/2768 2668/2780

第1表： 本発明において用いられるHCVヌクレオチドおよびアミノ酸ナンバ