

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2005-521628

(P2005-521628A)

(43) 公表日 平成17年7月21日(2005.7.21)

(51) Int.Cl. ⁷	F I	テーマコード (参考)
C07K 14/47	C O 7 K 14/47 Z N A	2 G O 4 5
A61K 31/7004	A 6 1 K 31/7004	4 B O 2 4
A61K 31/702	A 6 1 K 31/702	4 B O 6 4
A61K 31/715	A 6 1 K 31/715	4 B O 6 5
A61K 39/395	A 6 1 K 39/395 D	4 C O 8 4
	審査請求 未請求 予備審査請求 有	(全 80 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2003-506480 (P2003-506480)	(71) 出願人	501130383
(86) (22) 出願日	平成14年6月26日 (2002. 6. 26)		プロジェクト・ファーマスーティカルズ
(85) 翻訳文提出日	平成16年2月16日 (2004. 2. 16)		・インコーポレイテッド
(86) 国際出願番号	PCT/US2002/020875		アメリカ合衆国、ニューヨーク州 105
(87) 国際公開番号	W02003/000024		91 タリータウン、オールド・ソー・ミ
(87) 国際公開日	平成15年1月3日 (2003. 1. 3)		ル・リバー・ロード 777
(31) 優先権主張番号	09/891, 894	(74) 代理人	100058479
(32) 優先日	平成13年6月26日 (2001. 6. 26)		弁理士 鈴江 武彦
(33) 優先権主張国	米国 (US)	(74) 代理人	100091351
			弁理士 河野 哲
		(74) 代理人	100088683
			弁理士 中村 誠
		(74) 代理人	100108855
			弁理士 蔵田 昌俊
			最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 C型肝炎ウイルスの感染を阻害するための、DC-SIGNおよびDC-SIGNRの使用

(57) 【要約】

本発明は、HCV感染に感受性の細胞のHCV感染を阻害する方法であって、前記細胞の表面に存在するDC-SIGNタンパク質に対するHCVエンベロープ糖タンパク質の結合を阻害するために有効な化合物の量と前記細胞を接触させて、これによりHCV感染に感受性の前記細胞のHCV感染を阻害することを含む方法を提供する。本発明は、HCV感染に感受性の細胞のHCV感染を阻害する方法であって、前記細胞の表面に存在するDC-SIGNRタンパク質に対するHCVエンベロープ糖タンパク質の結合を阻害するために有効な化合物の量と前記細胞を接触させて、これによりHCV感染に感受性の前記細胞のHCV感染を阻害することを含む方法を提供する。本発明の化合物はHCV感染に感受性の細胞のHCV感染を阻害する。本発明の化合物は、好ましくは、HCVによる感染を防止または阻害するための特異性を有し、感染のためにDC-SIGNおよびDC-SIGNRを利用する、HIVなどのその他のウイルスによる感染を阻害しない。さらに、本発明の化合物は、好ましくは、免疫グロブリン・スーパーファミリーのメンバーを妨害または阻害せず、特に、ICAM-2もしくはICAM-3を、またはICAM-2様もしくはICAM-3様分子を妨害しない

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

HCV感染に感受性の細胞のHCV感染を阻害する方法であって、前記細胞の表面に存在するDC-SIGNタンパク質に対するHCVエンベロープ糖タンパク質の結合を阻害するために有効な化合物の量と前記細胞を接触させて、これによりHCV感染に感受性の前記細胞のHCV感染を阻害することを含む方法。

【請求項 2】

HCV感染に感受性の細胞のHCV感染を阻害する方法であって、前記細胞の表面に存在するDC-SIGNRタンパク質に対するHCVエンベロープ糖タンパク質の結合を阻害するために有効な化合物の量と前記細胞を接触させて、これによりHCV感染に感受性の前記細胞のHCV感染を阻害することを含む方法。

10

【請求項 3】

HCVがDC-SIGNタンパク質発現細胞に結合するときにHCV感染に対する感受性が増大される標的細胞のHCV感染を阻害する方法であって、該方法は、DC-SIGNタンパク質に対するHCVエンベロープ糖タンパク質の結合を阻害するために有効な化合物の量とDC-SIGNタンパク質発現細胞を接触させて、これにより前記標的細胞のHCV感染を阻害することを含む方法。

【請求項 4】

HCVがDC-SIGNRタンパク質発現細胞に結合するときにHCV感染に対する感受性が増大される標的細胞のHCV感染を阻害する方法であって、該方法は、DC-SIGNRタンパク質に対するHCVエンベロープ糖タンパク質の結合を阻害するために有効な化合物の量とDC-SIGNタンパク質発現細胞を接触させて、これにより前記標的細胞のHCV感染を阻害することを含む方法。

20

【請求項 5】

前記化合物が抗体または抗体の部分である、請求項1～4のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 6】

前記抗体がモノクローナル抗体である、請求項5方法。

【請求項 7】

前記抗体がポリクローナル抗体である、請求項5方法。

【請求項 8】

前記抗体がヒト化された抗体である、請求項5方法。

30

【請求項 9】

前記抗体がキメラ抗体である、請求項5方法。

【請求項 10】

前記抗体の部分抗体の軽鎖を含む、請求項5方法。

【請求項 11】

前記抗体の部分抗体の重鎖を含む、請求項5方法。

【請求項 12】

前記抗体の部分抗体のFab部分を含む、請求項5方法。

【請求項 13】

前記抗体の部分抗体のF(ab')₂部分を含む、請求項5方法。

40

【請求項 14】

前記抗体の部分抗体のFd部分を含む、請求項5方法。

【請求項 15】

前記抗体の部分抗体のFv部分を含む、請求項5方法。

【請求項 16】

前記抗体の部分抗体の可変ドメインを含む、請求項5方法。

【請求項 17】

前記抗体の部分抗体の1つまたは複数のCDRドメインを含む、請求項5方法。

【請求項 18】

50

前記化合物がポリペチドである、請求項1~4のいずれか一項に記載の方法。

【請求項19】

前記化合物が非ペプチド性薬剤である、請求項1~4のいずれか一項に記載の方法。

【請求項20】

前記化合物が500ダルトン未満の分子量を有する、請求項19方法。

【請求項21】

前記非ペプチド性剤が炭水化物である、請求項19方法。

【請求項22】

前記炭水化物がマンノース、マンナン、またはメチル- α -D-マンノピラノシドである、請求項21方法。

10

【請求項23】

前記HCVエンベロープ糖タンパク質がHCV E1エンベロープ糖タンパク質である、請求項1~4のいずれか一項に記載の方法。

【請求項24】

前記HCVエンベロープ糖タンパク質がHCV E2エンベロープ糖タンパク質である、請求項1~4のいずれか一項に記載の方法。

【請求項25】

請求項1~4のいずれか一項に記載の方法であって、前記細胞は被験者に存在し、および前記接触することは、前記被験者に前記化合物を投与することによって行われる方法。

【請求項26】

前記化合物が経口的に、静脈内に、皮下に、筋肉内に、局所的に、またはリポソームを媒介したデリバリーによって投与される、請求項25方法。

20

【請求項27】

前記被験者がヒト、霊長類、ウマ、オピン、トリ、ウシ、ブタ、、イヌ、ネコ、またはネズミの者患である、請求項25方法。

【請求項28】

前記化合物の有効な量が被験者のkg体重につき約1mg~約50mgの間である、請求項25方法。

【請求項29】

前記化合物の有効な量が被験者のkg体重につき約2mg~約40mgの間である、請求項28方法。

30

【請求項30】

前記化合物の有効な量が被験者のkg体重につき約3mg~約30mgの間である、請求項29方法。

【請求項31】

前記化合物の有効な量が被験者のkg体重につき約4mg~約20mgの間である、請求項30方法。

【請求項32】

前記化合物の有効な量が被験者のkg体重につき約5mg~約10mgの間である、請求項31方法。

40

【請求項33】

前記化合物が少なくとも1日に1回投与される、請求項25方法。

【請求項34】

前記化合物が毎日投与される、請求項25方法。

【請求項35】

前記化合物が一日おきに投与される、請求項25方法。

【請求項36】

前記化合物が6~8日毎に投与される、請求項25方法。

【請求項37】

前記化合物が毎週投与される、請求項25方法。

50

【請求項 38】

被験者におけるHCV感染を治療する方法であって、HCV感染に感受性の被験者の細胞のHCV感染を請求項1～4のいずれか一項に記載の方法によって阻害することを含み、前記接触させることは、前記化合物を被験者に投与することによって行われる方法。

【請求項 39】

化合物が細胞のHCV感染を阻害することができるかどうかを決定する方法であって：

- a) 固体担体にHCVエンベロープ糖タンパク質を固定することと；
- b) 十分に検出可能なDC-SIGNタンパク質と前記固定されたHCVエンベロープ糖タンパク質を、前記固定されたHCVエンベロープ糖タンパク質に対する前記DC-SIGNタンパク質の結合を可能にする条件下で接触させて、前記固定されたHCVエンベロープ糖タンパク質における前記DC-SIGNタンパク質のための全ての結合部位を飽和させて、複合体を形成させることと；
- c) 未結合のDC-SIGNタンパク質を除去することと；
- d) 前記化合物と前記複合体を接触させることと；および、
- e) いずれかのDC-SIGNタンパク質が前記複合体から置換されるかどうかを決定することを含み、ここで前記複合体からのDC-SIGNタンパク質の置換は、前記化合物が前記HCVエンベロープ糖タンパク質に結合することを示し、これにより前記化合物が前記細胞のHCV感染を阻害することができるものであることを決定する方法。

【請求項 40】

化合物が細胞のHCV感染を阻害することができるかどうかを決定する方法であって：

- a) 固体担体にHCVエンベロープ糖タンパク質を固定することと；
- b) 十分に検出可能なDC-SIGNRタンパク質と前記固定されたHCVエンベロープ糖タンパク質を、前記固定されたHCVエンベロープ糖タンパク質に対する前記DC-SIGNRタンパク質の結合を可能にする条件下で接触させて、前記固定されたHCVエンベロープ糖タンパク質における前記DC-SIGNRタンパク質のための全ての結合部位を飽和させて、複合体を形成させることと；
- c) 未結合のDC-SIGNRタンパク質を除去することと；
- d) 前記化合物と前記複合体を接触させることと；および、
- e) いずれかのDC-SIGNRタンパク質が前記複合体から置換されるかどうかを決定することを含み、ここで前記複合体からのDC-SIGNRタンパク質の置換は、前記化合物が前記HCVエンベロープ糖タンパク質に結合することを示し、これにより前記化合物が前記細胞のHCV感染を阻害することができるものであることを決定する方法。

【請求項 41】

化合物が細胞のHCV感染を阻害することができるかどうかを決定する方法であって：

- a) 固体担体にDC-SIGNタンパク質を固定することと；
- b) 十分に検出可能なHCVエンベロープ糖タンパク質と前記固定されたDC-SIGNタンパク質を、前記HCVエンベロープ糖タンパク質に対する前記固定されたDC-SIGNタンパク質の結合を可能にする条件下で接触させて、前記固定されたDC-SIGNタンパク質における前記HCVエンベロープ糖タンパク質のための全ての結合部位を飽和させて、複合体を形成させることと；
- c) 未結合のHCVエンベロープ糖タンパク質を除去することと；
- d) 前記化合物と前記複合体を接触させることと；
- e) いずれかのHCVエンベロープ糖タンパク質が前記複合体から置換されるかどうかを決定することを含み、ここで前記複合体からのHCVエンベロープ糖タンパク質の置換は、化合物がDC-SIGNタンパク質に結合することを示し、これにより前記化合物が細胞のHCV感染を阻害することができるものであることを決定する方法。

【請求項 42】

化合物が細胞のHCV感染を阻害することができるかどうかを決定する方法であって：

- a) 固体担体にDC-SIGNRタンパク質を固定することと；
- b) 十分に検出可能なHCVエンベロープ糖タンパク質と前記固定されたDC-SIGNRタンパク

質を、前記HCVエンベロープ糖タンパク質に対する前記固定されたDC-SIGNRタンパク質の結合を可能にする条件下で接触させて、前記固定されたDC-SIGNRタンパク質における前記HCVエンベロープ糖タンパク質のための全ての結合部位を飽和させて、複合体を形成させることと；

c) 未結合のHCVエンベロープ糖タンパク質を除去することと；

d) 前記化合物と前記複合体を接触させることと；

e) いずれかのHCVエンベロープ糖タンパク質が前記複合体から置換されるかどうかを決定することとを含み、ここで前記複合体からのHCVエンベロープ糖タンパク質の置換は、化合物がDC-SIGNRタンパク質に結合することを示し、これにより前記化合物が細胞のHCV感染を阻害することができるものであることを決定する方法。

10

【請求項 4 3】

化合物が細胞のHCV感染を阻害することができるかどうかを決定する方法であって：

(a) 十分に検出可能なDC-SIGNタンパク質とHCVエンベロープ糖タンパク質を、前記HCVエンベロープ糖タンパク質に対する前記DC-SIGNタンパク質の結合を可能にする条件下で接触させて、前記HCVエンベロープ糖タンパク質における前記DC-SIGNタンパク質のための全ての結合部位を飽和させて、複合体を形成させることと；

(b) 未結合のDC-SIGNタンパク質を除去することと；

(c) 前記複合体におけるHCVエンベロープ糖タンパク質に結合したDC-SIGNタンパク質の量を測定することと；

(d) 前記化合物と前記複合体を接触させて、前記複合体からDC-SIGNタンパク質を置換することと；

20

(e) 前記化合物の存在下において前記化合物に結合するDC-SIGNタンパク質の量を測定することと；および、

(f) 工程(c)で測定した量と工程(e)におけるHCVエンベロープ糖タンパク質に結合したDC-SIGNタンパク質の量を比較することとを含み、ここで工程(e)において測定した量の減少は、前記化合物がHCVエンベロープ糖タンパク質に結合することを示し、これにより前記化合物が細胞のHCV感染を阻害することができるものであると同定する方法。

【請求項 4 4】

化合物が細胞のHCV感染を阻害することができるかどうかを決定する方法であって：

(a) 十分に検出可能なDC-SIGNRタンパク質とHCVエンベロープ糖タンパク質を、前記HCVエンベロープ糖タンパク質に対する前記DC-SIGNRタンパク質の結合を可能にする条件下で接触させて、前記HCVエンベロープ糖タンパク質における前記DC-SIGNRタンパク質のための全ての結合部位を飽和させて、複合体を形成させることと；

30

(b) 未結合のDC-SIGNRタンパク質を除去することと；

(c) 前記複合体におけるHCVエンベロープ糖タンパク質に結合したDC-SIGNRタンパク質の量を測定することと；

(d) 前記化合物と前記複合体を接触させて、前記複合体からDC-SIGNRタンパク質を置換することと；

(e) 前記化合物の存在下において前記化合物に結合するDC-SIGNRタンパク質の量を測定することと；および、

40

(f) 工程(c)で測定した量と工程(e)におけるHCVエンベロープ糖タンパク質に結合したDC-SIGNRタンパク質の量を比較することとを含み、ここで工程(e)において測定した量の減少は、前記化合物がHCVエンベロープ糖タンパク質に結合することを示し、これにより前記化合物が細胞のHCV感染を阻害することができるものであると同定する方法。

【請求項 4 5】

化合物が細胞のHCV感染を阻害することができるかどうかを決定する方法であって：

(a) 固体担体にHCVエンベロープ糖タンパク質を固定することと；

(b) 前記化合物および検出可能なDC-SIGNタンパク質と固定されたHCVエンベロープ糖タンパク質を、前記化合物の非存在下で前記固定されたHCVエンベロープ糖タンパク質に対するDC-SIGNタンパク質の結合を可能にする条件下で接触させて、複合体を形成させる

50

ことと；

(c) 未結合のDC-SIGNタンパク質を除去することと；

(d) 前記化合物の非存在下における前記固定されたHCVエンベロープ糖タンパク質に結合する検出可能なDC-SIGNタンパク質の量と、前記化合物の存在下における前記複合体における固定されたHCVエンベロープ糖タンパク質に結合する検出可能なDC-SIGNタンパク質の量を比較することと；

(e) ここで、前記化合物の存在下において測定されるDC-SIGNタンパク質の量の減少は、前記化合物がHCVエンベロープ糖タンパク質またはDC-SIGNタンパク質に結合することを示し、これにより前記化合物が細胞のHCV感染を阻害することができるものであることを決定する方法。

10

【請求項 4 6】

前記検出可能なDC-SIGNの量がHCVエンベロープ糖タンパク質におけるDC-SIGNタンパク質のための全ての結合部位を飽和させるために十分である、請求項45に記載の方法。

【請求項 4 7】

化合物が細胞のHCV感染を阻害することができるかどうかを決定する方法であって：

(a) 固体担体にHCVエンベロープ糖タンパク質を固定することと；

(b) 前記化合物および検出可能なDC-SIGNRタンパク質と、固定されたHCVエンベロープ糖タンパク質を、前記化合物の非存在下で前記固定されたHCVエンベロープ糖タンパク質に対するDC-SIGNRタンパク質の結合を可能にする条件下で接触させて、複合体を形成させることと；

20

(c) 未結合のDC-SIGNRタンパク質を除去することと；

(d) 前記化合物の非存在下における前記固定されたHCVエンベロープ糖タンパク質に結合する検出可能なDC-SIGNRタンパク質の量と、前記化合物の存在下における前記複合体における固定されたHCVエンベロープ糖タンパク質に結合する検出可能なDC-SIGNRタンパク質の量を比較することと；

(e) ここで、前記化合物の存在下において測定されるDC-SIGNRタンパク質の量の減少は、前記化合物がHCVエンベロープ糖タンパク質またはDC-SIGNRタンパク質に結合することを示し、これにより前記化合物が細胞のHCV感染を阻害することができるものであることを決定する方法。

【請求項 4 8】

30

前記検出可能なDC-SIGNRの量がHCVエンベロープ糖タンパク質におけるDC-SIGNRタンパク質のための全ての結合部位を飽和させるために十分である、請求項47に記載の方法。

【請求項 4 9】

化合物が細胞のHCV感染を阻害することができるかどうかを決定する方法であって：

(a) 固体担体にDC-SIGNタンパク質を固定することと；

(b) 前記化合物および検出可能なHCVエンベロープ糖タンパク質と、固定されたDC-SIGNタンパク質を、前記化合物の非存在下において前記HCVエンベロープ糖タンパク質に対する前記固定されたDC-SIGNタンパク質の結合を可能にする条件下で接触させて、複合体を形成させることと；

(c) 未結合のHCVエンベロープ糖タンパク質を除去することと；

40

(d) 前記化合物の非存在下において固定されたDC-SIGNタンパク質に結合する検出可能なHCVエンベロープ糖タンパク質の量と、前記化合物の存在下において前記複合体における前記固定されたDC-SIGNタンパク質に結合する検出可能なHCVエンベロープ糖タンパク質の量を比較することと；

(e) ここで、前記化合物の存在下において測定されるHCVエンベロープ糖タンパク質の量の減少は、前記化合物がHCVエンベロープ糖タンパク質またはDC-SIGNタンパク質に結合することを示し、これにより前記化合物が細胞のHCV感染を阻害することができるものであることを決定する方法。

【請求項 5 0】

前記検出可能なHCVエンベロープ糖タンパク質の量が、DC-SIGNタンパク質におけるHCV

50

エンベロープ糖タンパク質のための全ての結合部位を飽和させるために十分である、請求項49に記載の方法。

【請求項51】

化合物が細胞のHCV感染を阻害することができるかどうかを決定する方法であって：

(a) 固体担体にDC-SIGNRタンパク質を固定することと；

(b) 前記化合物および検出可能なHCVエンベロープ糖タンパク質と、固定されたDC-SIGNRタンパク質を、前記化合物の非存在下において前記HCVエンベロープ糖タンパク質に対する前記固定されたDC-SIGNRタンパク質の結合を可能にする条件下で接触させて、複合体を形成させることと；

(c) 未結合のHCVエンベロープ糖タンパク質を除去することと；

10

(d) 前記化合物の非存在下において固定されたDC-SIGNRタンパク質に結合する検出可能なHCVエンベロープ糖タンパク質の量と、前記化合物の存在下において前記複合体における前記固定されたDC-SIGNRタンパク質に結合する検出可能なHCVエンベロープ糖タンパク質の量を比較することと；

(e) ここで、前記化合物の存在下において測定されるHCVエンベロープ糖タンパク質の量の減少は、前記化合物がHCVエンベロープ糖タンパク質またはDC-SIGNRタンパク質に結合することを示し、これにより前記化合物が細胞のHCV感染を阻害することができるものであることを決定する方法。

【請求項52】

前記検出可能なHCVエンベロープ糖タンパク質の量が、DC-SIGNRタンパク質におけるHCVエンベロープ糖タンパク質のための全ての結合部位を飽和させるために十分である、請求項51に記載の方法。

20

【請求項53】

化合物が細胞のHCV感染を阻害することができるかどうかを決定する方法であって：

(a) 前記化合物および検出可能なDC-SIGNタンパク質と、HCVエンベロープ糖タンパク質を、前記化合物の非存在下においてHCVエンベロープ糖タンパク質に対するDC-SIGNタンパク質の結合を可能にする条件下で接触させて、複合体を形成させることと；

(b) 未結合のDC-SIGNタンパク質を除去することと；

(c) 前記化合物の非存在下において前記化合物に結合する検出可能なDC-SIGNタンパク質の量と、前記化合物の存在下において複合体におけるHCVエンベロープ糖タンパク質に対して結合する検出可能なDC-SIGNタンパク質の量を比較することと；

30

を含み、

前記化合物の存在下において測定されるDC-SIGNタンパク質の量の減少は、前記化合物がHCVエンベロープ糖タンパク質またはDC-SIGNタンパク質に結合することを示し、これにより前記化合物が細胞のHCV感染を阻害することができるものであることを決定する方法。

【請求項54】

前記検出可能なDC-SIGNタンパク質の量が、HCVエンベロープ糖タンパク質におけるDC-SIGNタンパク質のための全ての結合部位を飽和させるために十分である、請求項53に記載の方法。

40

【請求項55】

化合物が細胞のHCV感染を阻害することができるかどうかを決定する方法であって：

(a) 前記化合物および検出可能なDC-SIGNRタンパク質とHCVエンベロープ糖タンパク質を、前記化合物の非存在下においてHCVエンベロープ糖タンパク質に対するDC-SIGNRタンパク質の結合を可能にする条件下で接触させて、複合体を形成させることと；

(b) 未結合のDC-SIGNRタンパク質を除去することと；

(c) 前記化合物の非存在下において前記化合物に結合する検出可能なDC-SIGNRタンパク質の量と、前記化合物の存在下において複合体におけるHCVエンベロープ糖タンパク質に対して結合する検出可能なDC-SIGNRタンパク質の量を比較することと；

を含み、

50

前記化合物の存在下において測定されるDC-SIGNRタンパク質の量の減少は、前記化合物がHCVエンベロープ糖タンパク質またはDC-SIGNRタンパク質に結合することを示し、これにより前記化合物が細胞のHCV感染を阻害することができるものであることを決定する方法。

【請求項56】

前記検出可能なDC-SIGNRタンパク質の量が、HCVエンベロープ糖タンパク質におけるDC-SIGNRタンパク質のための全ての結合部位を飽和させるために十分である、請求項55に記載の方法。

【請求項57】

前記検出可能なDC-SIGNタンパク質が検出可能マーカーでラベルされている、請求項39、43、45、および53のいずれか一項に記載の方法。 10

【請求項58】

前記検出可能なDC-SIGNRタンパク質が検出可能マーカーでラベルされている、請求項40、44、47、および55のいずれか一項に記載の方法。

【請求項59】

前記検出可能なHCVエンベロープ糖タンパク質が検出可能マーカーでラベルされている、請求項41、42、49、および51のいずれか一項に記載の方法。

【請求項60】

組成物を得る方法であって：

(a) 請求項39～59のいずれか一項に記載の方法に従って、細胞のHCV感染を阻害する化合物を同定することと； 20

(b) 前記化合物を回収することと；および、

(c) かかる同定された前記化合物またはその相同体もしくは誘導体をキャリアと混合して、これにより組成物を得ることと、を含む方法。

【請求項61】

被験者における肝疾患を治療または予防する方法であって、前記被験者の細胞の表面に存在するDC-SIGNタンパク質に対するHCVエンベロープ糖タンパク質の結合を阻害することができる化合物の有効な量を前記被験者に投与することを含み、これにより被験者の肝疾患を治療または予防する方法。 30

【請求項62】

被験者における肝疾患を治療または予防する方法であって、前記被験者の細胞の表面に存在するDC-SIGNRタンパク質に対するHCVエンベロープ糖タンパク質の結合を阻害することができる化合物の有効な量を前記被験者に投与することを含み、これにより被験者の肝疾患を治療または予防する方法。

【請求項63】

前記肝疾患が肝炎である、請求項61または62に記載の方法。

【請求項64】

前記肝疾患が肝硬変である、請求項61または62に記載の方法。

【請求項65】 40

被験者における肝細胞癌を治療または予防する方法であって、前記被験者の細胞の表面に存在するDC-SIGNタンパク質に対するHCVエンベロープ糖タンパク質の結合を阻害することでことができる化合物の有効な量を前記被験者に投与することを含み、これにより肝細胞癌を治療または予防する方法。

【請求項66】

被験者における肝細胞癌を治療または予防する方法であって、前記被験者の細胞の表面に存在するDC-SIGNRタンパク質に対するHCVエンベロープ糖タンパク質の結合を阻害することでことができる化合物の有効な量を前記被験者に投与することを含み、これにより肝細胞癌を治療または予防する方法。

【請求項67】 50

被験者のHCV感染を診断する方法であって：

- (a) 固体担体にDC-SIGNタンパク質を固定することと；
- (b) 十分なHCVエンベローブ糖タンパク質と前記固定されたDC-SIGNタンパク質を接触させて、前記固定されたDC-SIGNタンパク質におけるHCVエンベローブ糖タンパク質のための結合部位の全ての部分を飽和させ、複合体を形成させることと；
- (c) 未結合のHCVエンベローブ糖タンパク質を除去することと；
- (d) 前記被験者から得た適切な試料と前記複合体を接触させることと；
- (e) 未結合の試料を除去することと；および、
- (f) HCVエンベローブ糖タンパク質に結合した抗体があるかどうかを検出することとを含み、抗HCV抗体の存在によって被験者のHCV感染を診断する方法。

10

【請求項 6 8】

被験者のHCV感染を診断する方法であって：

- (a) 固体担体にDC-SIGNRタンパク質を固定することと；
- (b) 十分なHCVエンベローブ糖タンパク質と前記固定されたDC-SIGNRタンパク質を接触させて、前記固定されたDC-SIGNRタンパク質におけるHCVエンベローブ糖タンパク質のための結合部位の全ての部分を飽和させ、複合体を形成させることと；
- (c) 未結合のHCVエンベローブ糖タンパク質を除去することと；
- (d) 前記被験者から得た適切な試料と前記複合体を接触させることと；
- (e) 未結合の試料を除去することと；および、
- (f) HCVエンベローブ糖タンパク質に結合した抗体があるかどうかを検出することとを含み、抗HCV抗体の存在によって被験者のHCV感染を診断する方法。

20

【請求項 6 9】

被験者のHCV感染を診断する方法であって：

- (a) 十分なHCVエンベローブ糖タンパク質とDC-SIGNタンパク質を接触させて、前記DC-SIGNタンパク質における前記HCVエンベローブ糖タンパク質のための結合部位の全てまたは一部を飽和させて、複合体を形成させることと；
- (b) 未結合のHCVエンベローブ糖タンパク質を除去することと；
- (c) 前記被験者から得た適切な試料と前記複合体を接触させることと；
- (d) 未結合の試料を除去することと；および、
- (e) HCVエンベローブ糖タンパク質に結合した抗体があるかどうかを検出することとを含み、抗HCV抗体の存在によって被験者のHCV感染を診断する方法。

30

【請求項 7 0】

被験者のHCV感染を診断する方法であって：

- (a) 十分なHCVエンベローブ糖タンパク質とDC-SIGNRタンパク質を接触させて、前記DC-SIGNRタンパク質における前記HCVエンベローブ糖タンパク質のための結合部位の全てまたは一部を飽和させて、複合体を形成させることと；
- (b) 未結合のHCVエンベローブ糖タンパク質を除去することと；
- (c) 前記被験者から得た適切な試料と前記複合体を接触させることと；
- (d) 未結合の試料を除去することと；および、
- (e) HCVエンベローブ糖タンパク質に結合した抗体があるかどうかを検出することとを含み、抗HCV抗体の存在によって被験者のHCV感染を診断する方法。

40

【請求項 7 1】

前記適切な試料が血清試料である、請求項67～70のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 7 2】

HCVエンベローブ糖タンパク質に対するDC-SIGNタンパク質の結合を阻害することができる抗体またはその部分であって、この抗体は、前記DC-SIGNタンパク質の領域の内に位置するエピトープに結合し、前記DC-SIGNタンパク質のこの領域は、HCVエンベローブ糖タンパク質に結合する抗体またはその部分。

【請求項 7 3】

HCVエンベローブ糖タンパク質に対するDC-SIGNRタンパク質の結合を阻害することがで

50

きる抗体またはその部分であって、この抗体は、前記DC-SIGNRタンパク質の領域の内に位置するエピトープに結合し、前記DC-SIGNRタンパク質のこの領域は、HCVエンベロープ糖タンパク質に結合する抗体またはその部分。

【請求項 7 4】

HCVエンベロープ糖タンパク質に対するDC-SIGNRタンパク質の結合を阻害することができる抗体またはその部分であって、この抗体は、前記HCVエンベロープ糖タンパク質の領域の内に位置するエピトープに結合し、前記HCVエンベロープ糖タンパク質のこの領域は、DC-SIGNRタンパク質に結合する抗体またはその部分。

【請求項 7 5】

HCVエンベロープ糖タンパク質に対するDC-SIGNRタンパク質の結合を阻害することができる抗体またはその部分であって、この抗体は、前記HCVエンベロープ糖タンパク質の領域の内に位置するエピトープに結合し、前記HCVエンベロープ糖タンパク質のこの領域は、DC-SIGNRタンパク質に結合する抗体またはその部分。

10

【請求項 7 6】

前記抗体がモノクローナル抗体である、請求項72～75のいずれか一項に記載の抗体またはその部分。

【請求項 7 7】

前記抗体がポリクローナル抗体である、請求項72～75のいずれか一項に記載の抗体またはその部分。

【請求項 7 8】

前記抗体がヒト化された抗体である、請求項72～75のいずれか一項に記載の抗体またはその部分。

20

【請求項 7 9】

前記抗体がキメラ抗体である、請求項72～75のいずれか一項に記載の抗体またはその部分。

【請求項 8 0】

前記抗体の部分が抗体の軽鎖を含む、請求項72～75のいずれか一項に記載の抗体またはその部分。

【請求項 8 1】

前記抗体の部分が抗体の重鎖を含む、請求項72～75のいずれか一項に記載の抗体またはその部分。

30

【請求項 8 2】

前記抗体の部分が抗体のFab部分を含む、請求項72～75のいずれか一項に記載の抗体またはその部分。

【請求項 8 3】

前記抗体の部分が抗体のF(ab')₂部分を含む、請求項72～75のいずれか一項に記載の抗体またはその部分。

【請求項 8 4】

前記抗体の部分が抗体のFd部分を含む、請求項72～75のいずれか一項に記載の抗体またはその部分。

40

【請求項 8 5】

前記抗体の部分が抗体のFv部分を含む、請求項72～75のいずれか一項に記載の抗体またはその部分。

【請求項 8 6】

前記抗体の部分が抗体の可変ドメインを含む、請求項72～75のいずれか一項に記載の抗体またはその部分。

【請求項 8 7】

前記抗体の部分が抗体の1つまたは複数のCDRドメインを含む、請求項72～75のいずれか一項に記載のその部分。

【請求項 8 8】

50

前記HCVエンベロープ糖タンパク質がE1 HCVエンベロープ糖タンパク質である、請求項72～75のいずれか一項に記載の抗体。

【請求項89】

前記HCVエンベロープ糖タンパク質がE2 HCVエンベロープ糖タンパク質である、請求項72～75のいずれか一項に記載の抗体。

【請求項90】

HCVエンベロープ糖タンパク質に対するDC-SIGNタンパク質の結合を阻害することができるポリペチドであって、該ポリペチドは、少なくともDC-SIGNタンパク質の細胞外ドメインの部分の配列と一致する配列を有する連続したアミノ酸を含み、該部分は、HCVエンベロープ糖タンパク質に結合するポリペチド。

10

【請求項91】

前記ポリペチドがDC-SIGNの細胞外ドメインと一致する、請求項90ポリペチド。

【請求項92】

前記細胞外ドメインが、配列番号：1に記載したとおりの、位置62のリジンで始まり、かつカルボキシ末端のアミノ酸で終わる配列を有する連続したアミノ酸を含む、請求項91に記載のポリペチド。

【請求項93】

前記細胞外のドメインがC-型レクチン結合ドメインまたはその部分である、請求項91に記載のポリペチド。

【請求項94】

前記C-型レクチンドメインが、配列番号：1に記載したとおりの、位置229のロイシンで始まり、かつカルボキシ末端のアミノ酸で終わる配列を有する連続したアミノ酸を含む、請求項93に記載のポリペチド。

20

【請求項95】

HCVエンベロープ糖タンパク質に対するDC-SIGNRタンパク質の結合を阻害することができるポリペチドであって、該ポリペチドは、少なくともDC-SIGNRタンパク質の細胞外ドメインの部分の配列と一致する配列を有する連続したアミノ酸を含み、該部分は、HCVエンベロープ糖タンパク質に結合するポリペチド。

【請求項96】

前記細胞外ドメインが、配列番号：2号に記載したとおりの、位置74のリジンで始まり、かつカルボキシ末端のアミノ酸で終わる配列を有する連続したアミノ酸を含む、請求項95ポリペチド。

30

【請求項97】

前記C-型レクチンドメインが、配列番号：2号に記載したとおりの、位置241のロイシンで始まり、かつカルボキシ末端のアミノ酸で終わる配列を有する連続したアミノ酸を含む、請求項96に記載のポリペチド。

【請求項98】

HCVエンベロープ糖タンパク質に対するDC-SIGNタンパク質の結合を阻害することのできるポリペチドであって、該ポリペチドは、少なくともHCVエンベロープ糖タンパク質の細胞外ドメインの部分の配列と一致する配列を有する連続したアミノ酸を含み、該部分は、DC-SIGNタンパク質に結合するポリペチド。

40

【請求項99】

前記HCVエンベロープ糖タンパク質がE1 HCVエンベロープ糖タンパク質である、請求項98に記載のポリペチド。

【請求項100】

前記ポリペチドが、配列番号：3の位置192～位置346に記載された配列またはその部分を有する連続したアミノ酸を含む、請求項99に記載のポリペチド。

【請求項101】

前記HCVエンベロープ糖タンパク質がE2 HCVエンベロープ糖タンパク質である、請求項98に記載のポリペチド。

50

【請求項 1 0 2】

前記ポリペチドが配列番号：3の位置383～位置717に記載された配列またはその部分を有する連続したアミノ酸を含む、請求項101に記載のポリペチド。

【請求項 1 0 3】

HCVエンベロープ糖タンパク質に対するDC-SIGNRタンパク質の結合を阻害することのできるポリペチドであって、該ポリペチドは、少なくともHCVエンベロープ糖タンパク質の細胞外ドメインの部分の配列と一致する配列を有する連続したアミノ酸を含み、該部分は、DC-SIGNRタンパク質に結合するポリペチド。

【請求項 1 0 4】

前記HCVエンベロープ糖タンパク質がE1HCVエンベロープ糖タンパク質である、請求項103に記載のポリペチド。 10

【請求項 1 0 5】

前記ポリペチドが配列番号：3の位置192～位置346に記載された配列またはその部分を有する連続したアミノ酸を含む、請求項104に記載のポリペチド。

【請求項 1 0 6】

前記HCVエンベロープ糖タンパク質がE2 HCVエンベロープ糖タンパク質である、請求項103に記載のポリペチド。

【請求項 1 0 7】

前記ポリペチドが配列番号：3の位置383～位置717に記載された配列またはその部分を有する連続的アミノ酸を含む、請求項106に記載のポリペチド。 20

【請求項 1 0 8】

HCVエンベロープ糖タンパク質に対するDC-SIGNタンパク質の結合を阻害することができる非ペプチド性薬剤であって、該非ペプチドは、DC-SIGNタンパク質の領域内に位置するエピトープに結合し、該DC-SIGNタンパク質の領域は、HCVエンベロープ糖タンパク質に結合する非ペプチド性薬剤。

【請求項 1 0 9】

HCVエンベロープ糖タンパク質に対するDC-SIGNRタンパク質の結合を阻害することができる非ペプチド性薬剤であって、該非ペプチドは、DC-SIGNRタンパク質の領域内に位置するエピトープに結合し、該DC-SIGNRタンパク質の領域は、HCVエンベロープ糖タンパク質に結合する非ペプチド性薬剤。 30

【請求項 1 1 0】

HCVエンベロープ糖タンパク質に対するDC-SIGNタンパク質の結合を阻害することができる非ペプチド性薬剤であって、該非ペプチド性薬剤は、少なくともHCVエンベロープ糖タンパク質の細胞外ドメインの部分に結合し、該部分は、DC-SIGNタンパク質に結合する非ペプチド性薬剤。

【請求項 1 1 1】

HCVエンベロープ糖タンパク質に対するDC-SIGNRタンパク質の結合を阻害することができる非ペプチド性薬剤であって、該非ペプチド性薬剤は、少なくともHCVエンベロープ糖タンパク質の細胞外ドメインの部分に結合し、該DC-SIGNRタンパク質に結合する非ペプチド性薬剤。 40

【請求項 1 1 2】

前記HCVエンベロープ糖タンパク質がE1 HCVエンベロープ糖タンパク質である、請求項108～111いずれか一項に記載の非ペプチド性薬剤。

【請求項 1 1 3】

前記HCVエンベロープ糖タンパク質がE2 HCVエンベロープ糖タンパク質である、請求項108～111いずれか一項に記載の非ペプチド性薬剤。

【請求項 1 1 4】

前記非ペプチド性薬剤が500ダルトン未満の分子量を有する化合物である、請求項108～111いずれか一項に記載の非ペプチド性薬剤。

【請求項 1 1 5】

前記非ペプチド性薬剤が炭水化物である、請求項108～111非ペプチド性薬剤。

【請求項116】

前記炭水化物がマンノース、マンナンまたはメチル- α -D-マンノピラノシドである、請求項115に記載の非ペプチド性薬剤。

【請求項117】

請求項72～89のいずれか一項に記載の抗体またはその部分およびキャリアを含む組成物。

【請求項118】

請求項90～107のいずれか一項に記載のポリペチドおよびキャリアを含む組成物。

【請求項119】

請求項108～111のいずれか一項に記載の非ペプチド性薬剤を含む組成物。

【請求項120】

前記HCV感染に感受性の細胞が初代細胞(primary cell)である、請求項1に記載の方法。

【請求項121】

前記細胞が樹状細胞、胎盤細胞、または子宮内膜細胞である、請求項120に記載の方法。

【請求項122】

前記HCV感染に感受性の細胞が初代細胞(primary cell)である、請求項2に記載の方法。

【請求項123】

前記細胞が肝細胞、リンパ節細胞、肝臓内の子宮内膜細胞、または胎盤細胞である、請求項122に記載の方法。

【請求項124】

前記化合物がDC-SIGNRタンパク質に対するHCVの結合を阻害しない、請求項1または3に記載の方法。

【請求項125】

前記化合物がHIV感染に感受性の細胞のHIV感染を阻害しない、請求項1または3に記載の方法。

【請求項126】

前記化合物がICAMの接着を遮断しない、請求項1または3に記載の方法。

【請求項127】

前記化合物がDC-SIGNタンパク質に対するHCVの結合を阻害しない、請求項2または4に記載の方法。

【請求項128】

前記化合物がHIV感染に感受性の細胞のHIV感染を阻害しない、請求項2または4に記載の方法。

【請求項129】

前記化合物がICAMの接着を遮断しない、請求項2または4に記載の方法。

【請求項130】

前記抗体がDC-SIGNRタンパク質に対するHCVの結合を阻害しない、請求項72もしくは74に記載の抗体またはその部分。

【請求項131】

前記抗体がHIV感染に感受性の細胞のHIV感染を阻害しない、請求項72もしくは74に記載の抗体またはその部分。

【請求項132】

前記抗体がICAMの接着を遮断しない、請求項72もしくは74に記載の抗体またはその部分。

【請求項133】

前記抗体がDC-SIGNタンパク質に対するHCVの結合を阻害しない、請求項73もしくは75に

10

20

30

40

50

記載の抗体またはその部分。

【請求項 1 3 4】

前記抗体がHIV感染に感受性の細胞のHIV感染を阻害しない、請求項73もしくは75に記載の抗体またはその部分。

【請求項 1 3 5】

前記抗体がICAMの接着を遮断しない、請求項73もしくは75に記載の抗体またはその部分。

【請求項 1 3 6】

前記薬剤がDC-SIGNRタンパク質に対するHCVの結合を阻害しない、請求項108または110に記載の非ペプチド性薬剤。

【請求項 1 3 7】

前記薬剤がHIV感染に感受性の細胞のHIV感染を阻害しない、請求項108または110に記載の非ペプチド性薬剤。

【請求項 1 3 8】

前記薬剤がICAMの接着を遮断しない、請求項108または110に記載の非ペプチド性薬剤。

【請求項 1 3 9】

前記薬剤がDC-SIGNタンパク質に対するHCVの結合を阻害しない、請求項109または111に記載の非ペプチド性薬剤。

【請求項 1 4 0】

前記薬剤がHIV感染に感受性の細胞のHIV感染を阻害しない、請求項109または111に記載の非ペプチド性薬剤。

【請求項 1 4 1】

前記薬剤がICAMの接着を遮断しない、請求項109または111に記載の非ペプチド性薬剤。

【請求項 1 4 2】

前記ポリペプチドがエンベロープ糖タンパク質に対して結合しない、請求項90に記載のポリペプチド。

【請求項 1 4 3】

前記ポリペプチドがHIV感染に感受性の細胞のHIV感染を阻害しない、請求項90に記載のポリペプチド。

【請求項 1 4 4】

前記ポリペプチドがICAMの接着を遮断しない、請求項90に記載のポリペプチド。

【請求項 1 4 5】

前記ポリペプチドがHCVエンベロープ糖タンパク質に対して結合しない、請求項95に記載のポリペプチド。

【請求項 1 4 6】

前記ポリペプチドがHIV感染に感受性の細胞のHIV感染を阻害しない、請求項95に記載のポリペプチド。

【請求項 1 4 7】

前記ポリペプチドがICAMの接着を遮断しない、請求項95に記載のポリペプチド。

【請求項 1 4 8】

請求項117に記載の組成物であって、マンナン、カルシウムキレート剤、またはこれらの組合せをさらに含む方法。

【請求項 1 4 9】

請求項118に記載の組成物であって、マンナン、カルシウムキレート剤、またはこれらの組合せをさらに含む方法。

【請求項 1 5 0】

請求項119に記載の組成物であって、マンナン、カルシウムキレート剤、またはこれらの組合せをさらに含む方法。

【請求項 1 5 1】

前記被験者が胎児または新生児である、請求項25に記載の方法。

10

20

30

40

50

【請求項 1 5 2】

前記被験者が妊娠中である、請求項25に記載の方法。

【請求項 1 5 3】

前記化合物がデリバリーの前、デリバリーの際に、またはデリバリー後に投与される請求項152に記載の方法。

【請求項 1 5 4】

前記化合物が胎児へのHCVの胎盤透過を遮断する、請求項125に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【関連出願】

【0 0 0 1】

本出願は、一部継続であり、2001年6月26日に出願された米国出願番号09/891,894の優先権を主張し、この全体を参照により本明細書に援用する。

【技術分野】

【0 0 0 2】

本出願を通じて、種々の刊行物をアラビア数字によって示す。これらの刊行物の完全な引用文献は、明細書の最後に見出される。これらの刊行物の開示は、本発明が属する技術分野を完全に記載するために、参照により本明細書に援用される。

【背景技術】

【0 0 0 3】

発明の背景

C型肝炎ウイルスは、1989年に最初に認知され、非A、非B型肝炎の大多数の場合の原因である。[1]感染は、典型的には慢性であり、生涯にわたり；多くの感染個体は、何十年も健康であり、影響を受けないが、慢性肝炎または肝硬変を発症するものもあり、後者では、肝細胞癌を引き起こすことが多い。[16]血液供給のスクリーニングにより、新たなウイルス伝染は減少したが、来る10年間に於いて治療が必要であろう感染個体の大きなコホートが存在する。一部の報告では、世界の個体群（アメリカにおける約4,000,000人の人々を含む）のほぼ3%が、HCVに感染していると推定する。[2]米国における約4,000,000の人々を含む世界中の170,000,000の人々が、HCVに感染していると推定される。感染個体は、無症候性保有者状態から活発な肝炎および肝硬変の範囲の臨床的な結果を伴う肝疾患を有するか、または発症するであろう。慢性感染は、また、肝細胞癌の発生と強く関係する。HCV感染およびその臨床的な続発症は、米国における肝移植の主要な原因である。現在利用できるワクチンはない。インターフェロン α およびインターフェロン α -2bにリバビリンを加えたいくつかの標品は、慢性C型肝炎の治療のために現在使用されている。[32]最も長期間の応答率は、インターフェロン α -2bとリバビリンの組み合わせで得られる。しかし、この組み合わせで治療した被験者の少数だけが、治療を止めた6月後にも血清HCVのRNAが全く検出されないという所望の結果を達成する。[32]治療に応答するウイルス動態のデータが不足しているため、HIV-1と共感染したものを含む全ての感染個体に対するこれらの薬剤による最適な治療は、確立されていない。インターフェロン α およびリバビリンは、作用機構が完全に理解されていない非特異的な抗ウイルス因子である。これらは、好中球減少症、溶血性貧血、および重篤なうつ病を含む重篤かつ生命を脅かす毒性と関連している。

【0 0 0 4】

HCV感染と戦うための新たな治療的薬剤に対する差し迫った要求がある。抗ウイルス療法のための特に魅力的な標的は、標的細胞へのHCV侵入機構であり、このような阻害剤は、形質膜を横切り、または細胞内で修飾される必要がないためである。さらに、ウイルスの侵入は、一般にウイルスおよび細胞膜上の保存された構造によって媒介される律速段階である。その結果として、ウイルス侵入阻害剤は、ウイルス複製の強力かつ耐久性のある抑制を提供することができる。

【0 0 0 5】

HCVゲノムは、9.4キロベースのポジティブセンスの、3000アミノ酸の単一のポリタンパ

10

20

30

40

50

ク質をコードする一本鎖RNA分子である。[42]多くの単離株により、かなりの配列多様性を示すことが特徴づけられ、見出された。ウイルス配列は、主要な遺伝子型（＜70%の配列同一性を示す）に、およびさらにサブタイプ（80～90%の同一性を示す）に分けることができる。[53]遺伝子型1（サブタイプ1aおよび1b）は、北アメリカ、ヨーロッパ、および日本において優性である。[46]種々の遺伝子型に付随する病態に明らかな相違はない。

【0006】

単離株間の配列多様性にも関わらず、多くの特徴が共通して保持されている。ゲノムRNAは、約340ヌクレオチドの長い5'非翻訳領域（NTR）、続いて約3000アミノ酸のポリタンパク質をコードする単一の長い転写解読枠（ORF）を含む。[42]短い3'NTRは、ポリA配列および98の非常に保存されたヌクレオチド（「X」領域）に続く。RNAの翻訳は、5'NTRのIRESエレメントによって媒介される。ポリタンパク質前駆体は少なくとも10タンパク質を生じるように：アミノ末端からカルボキシ末端までプロセスされ、これらはC、E1、E2、p7、NS2、NS3、NS4A、NS4B、NS5A、およびNS5Bと名付ける。[19]Cタンパク質は、ヌクレオキャプシッドを構成し；E1およびE2は、膜貫通エンベロープ糖タンパク質であり；p7は、機能未知のものであり；種々のNSタンパク質は、複製機能を有する非構造タンパク質である。構造領域（C-p7）におけるポリタンパク質の切断は、小胞体（ER）において、細胞のシグナルペプチターゼによって触媒される。非構造領域（NS2-NS5B）におけるポリタンパク質の切断は、HCVをコードするプロテイナーゼによって媒介される。NS2およびNS3は、NS2-NS3結合を切断するプロテアーゼを構成する。NS3は、二機能タンパク質であり、そのアミノ末端に、前駆体の残りの部位の切断に係わるセリンプロテアーゼドメインを含み、およびそのカルボキシ末端に、RNAヘリカーゼ/NTPaseドメインを含む。NS4Aは、NS3のプロテアーゼ活性を増強するか、または導くが、NS4BおよびNS5Aの機能は不明であると考えられる。NS5Bは、RNA依存性RNAポリメラーゼ（RdRp）およびウイルスのレプリカーゼの触媒サブユニットである。この酵素は、RNAの3'末端を認識し、RNA合成を実行して、マイナス鎖RNAを作製する。次いで、3'末端のマイナス鎖が、RdRpによって同様に認識され、プラス鎖RNAの合成を開始する。これらの子孫ウィルスRNAが作製されると、これらはバックされてビリオンを構築する。HCV粒子は、小胞体に発芽して、ミクロソームベシクルによって細胞外へ輸送される。[42]

HCV感染のため動物モデルは、わずかしが存在しない。これらには、絶滅危険種であるチンパンジー[22][27][45]も含む。もう一つのモデルは、記載したような、HCVに感染させたヒト肝臓組織を移植された免疫不全マウスによる、SCID-BNXモデルである。[54]インビトロにおけるウイルス複製の研究は、主にHCVに感染した被験者の血清による細胞株または初代肝培養の感染に依存していた。[4][5][23][24][26][29][44][51]しかし、これらの感染した培養液中のウィルスRNAのレベルは、非常に低く、PCRによって検出することができるだけである。[4][5][23][24][26][29][44][51]重要な最近の進歩において、Lohmanら[30]は、完全なサブタイプ1bゲノムにおける構造遺伝子を、ネオマイシンホスホトランスフェラーゼ遺伝子、続く脳心筋炎ウイルスのIRESと置換した。生じた構築物において、ホスホトランスフェラーゼ遺伝子は、HCV 5'NTR（HCVのIRESを含む）の下流であったが、HCV非構造遺伝子は、脳心筋炎ウイルスIRESの下流であった。RNAをこの構築物から転写させて、ヒト肝癌細胞系、Huh-7にトランスフェクトした。ネオマイシン中で選択した後、トランスフェクトしたミニゲノムの強い複製を示す細胞株が得られ；ウィルスRNAをノーザン分析によって検出することができ、およびウィルスタンパク質を免疫沈降によって検出することができた。HCV感染のさらなる動物モデルに対する差し迫った要求がある。

【0007】

宿主細胞へのHCVの侵入機構は、細胞表面へのウィルス粒子の付着、続いて細胞膜とのウィルスエンベロープの融合を必要とする。このプロセスは、ウィルスエンベロープ糖タンパク質E1およびE2によって媒介される。E1およびE2（それぞれHCVポリタンパク質のアミノ酸192-383および384-750に対応する）と名付けられた2つのタンパク質は、標的細胞に対するウィルスの結合をつかさどるウィルスエンベロープの外部タンパク質であることが示唆されている。HCVのE1およびE2は、組み換えにより、多くの形態で、様々な発現系

を使用して発現されている。最近の2つの報告では、VSV Gエンベロープ糖タンパク質のTMドメインに融合させたE1およびE2外部ドメインによって媒介される融合および侵入の機構が記載されている。[28][49]

哺乳類細胞に基づいた発現系において、成熟した、全長E1の分子量は、35kDであり、E2のものは、72kDである。[19][31][48]成熟したE1およびE2アミノ末端残基は、実験的に決定した。[21]HCVポリタンパク質のエンドタンパク質分解性のプロセッシングは、E1およびE2をタイプI膜アンカータンパク質に変換する。[19][48]さらに、E1およびE2は、非共有結合性に結合したヘテロダイマーを形成し、ここからはE1/E2と称する。[8][19][37][41]完全にプロセスされたE1/E2ヘテロダイマーは、細胞表面に搬出されず、小胞体に保持されて、ここでHCV出芽が生じる。[9][10][11][12][43]

E1およびE2のN連結グリコシル化パターンの解析では、これらのタンパク質がゴルジを介したサイクリングを伴わずに小胞体に保持されることをさらに示す。[12][34]小胞体保持シグナルは、E1およびE2のTMドメインに位置する。[6][7][14]E1およびE2のTMドメインを形質膜結合タンパク質のTMドメインによって置換するか、またはE1およびE2のTMドメインの電荷をもつ残基を変異すると、エンベロープ糖タンパク質を細胞表面に発現した。[6][7][8][14]しかし、このようなTMドメインの修飾により、E1/E2ヘテロダイマー化も消失する。[7][36]したがって、E1およびE2の二量体化および小胞体保持のシグナルは、引き離すことできない。E1およびE2の全てのTMドメインの欠失により、可溶性の、エンベロープ糖タンパク質の単量体の外部ドメインの分泌を生じる。[12][13][35]

今日まで、2つのヒト細胞タンパク質、CD81および低密度リポタンパク質 (LDL) 受容体は、HCV侵入機構[25]を媒介する推定上の受容体として関係付けられており、また、グリコサミノグリカンは、細胞に対するHCVの非特異的な付着において役割を果たすことが示唆されていた。[52]HCV感染の治療および診断におけるCD81の使用は、国際特許出願W099/18198号においてAbrignaniらによって開示されている。研究では、組換え可溶性E2外部ドメインが、特異的に、かつ高い親和性でヒトおよびチンパンジーのCD81に結合するが、その他の生物種に由来するCD81には結合しないことが示された。[15][20][38][39]しかし、これらの結果は、HCV感染に屈性である生物種のタマリンのCD81にも、可溶性のE2を高い親和性で結合することを示すものを含む最近の研究に照らして、問題になっていた。[33]多くの研究により、ヒトCD81/E2の相互作用の構造決定が定義されているが、CD81を媒介したHCVの融合および侵入の機構の直接の機能的な証拠は、なおも乏しい。さらに、CD81は、肝臓外の多数の組織に発現されており、したがって、CD81の組織分布では、HCVによる細胞の屈性を説明することができない。同様に、研究では、現在までにLDL受容体とHCVエンベロープ糖タンパク質との間の直接の相互作用を示すことはできていない。[52]加えて、LDL受容体は、肝臓以外の組織に広く発現されており、したがってその発現によっては、HCVの屈性は説明されない。

【 0 0 0 8 】

DC-SIGN (樹上細胞特異的な細胞内接着分子のを3-グラビング非インテグリン (Grabbing Nonintegrin)、Genbankアクセッション番号AF209479) およびDC-SIGNR (関連DC-SIGN、Genbankアクセッション番号AF245219) は、近似した配列相同性 (アミノ酸において77%の同一性) を有するタイプII膜タンパク質である。DC-SIGNは、樹状細胞に高レベルで発現されており; DC-SIGNRは、肝臓およびリンパ節において高レベルで発現されているが、樹状細胞には発現されておらず; および両分子は、子宮内膜および胎盤において発現されている。[40][47][3][17]

該タンパク質は、マンノースの結合に必要であることが知られている全ての残基を備えているCタイプ (カルシウム依存性) のレクチンである。DC-SIGNおよびDC-SIGNRは、高次のマンノース糖を有するHIV-1表面エンベロープ糖タンパク質gp120を結合し、この結合は、マンナンによって阻害される。[47][3][17]DC-SIGNおよびDC-SIGNRの両者は、感染性のHIV-1粒子を結合して、感受性のT細胞の感染をトランスに促進する。[40][47][3]欧州特許出願番号EP1046651A1およびEP1086137A1号には、HIV-1感染を阻害するための組成物および方法におけるDC-SIGNの使用を記載する。これらの出願の全ての内容は、本明細書に

10

20

30

40

50

援用したものとする。

【0009】

DC-SIGNおよびDC-SIGNRの様に、スノードロップ鱗茎由来のレクチン・ギャランサス・ニバリス (*Galanthus nivalis*) (GNAレクチン) は、炭水化物および高次マンノース構造を有する糖タンパク質に強く結合する。特に、GNAレクチンは、HIV-1エンベロープ糖タンパク質に強く結合する。[18][50]加えて、GNAは、高次マンノース炭水化物を含むHCVエンベロープ糖タンパク質を捕らえる。[13]これらの所見に基づいて、我々は、そのDC-SIGNおよびDC-SIGNRは、HCVエンベロープ糖タンパク質を強く結合し、したがってウイルスのための受容体として役立つことが分かった。

【0010】

我々の知識には、DC-SIGN、DC-SIGNRとHCV感染との間の関連づけはなされていなかった。また、DC-SIGNおよびDC-SIGNRは、HCVによる細胞の侵入および感染の機構には必要であるが、HIV-1では必要でないインターナリゼーションを媒介することもできる。さらに、DC-SIGNRは、HCV感染の一次標的器官の肝臓において特に高レベルで発現される。HCVの受容体としての役割を果たすDC-SIGNおよび特にDC-SIGNRの機能は、以前に認識されていなかったもので、本発見は、HCVとこれらの受容体との間の特異的な相互作用を遮断する治療法またはワクチンを介して、HCV感染を治療または予防する機会を提供する。

【発明の開示】

【0011】

発明の概要

本発明は、HCV感染に感受性の細胞のHCV感染を阻害する方法であって、前記細胞表面に存在するDC-SIGNタンパク質に対するHCVエンベロープ糖タンパク質の結合を阻害するために有効な化合物の量と前記細胞を接触させて、これによりHCV感染に感受性の前記細胞のHCV感染を阻害することを含む方法を提供する。1つの態様において本組成物は、DC-SIGNRタンパク質に対するHCVの結合を阻害しない。もう1つの態様において、本組成物は、HIV感染に感受性の細胞のHIV感染を阻害しない。さらなる態様において、本組成物は、ICAM接着を遮断する。

【0012】

本発明は、HCV感染に感受性の細胞のHCV感染を阻害する方法であって、前記細胞表面に存在するDC-SIGNRタンパク質に対するHCVエンベロープ糖タンパク質の結合を阻害するために有効な化合物の量と前記細胞を接触させて、これによりHCV感染に感受性の前記細胞のHCV感染を阻害することを含む方法を提供する。1つの態様において本組成物は、DC-SIGNタンパク質に対するHCVの結合を阻害しない。もう1つの態様において、本組成物は、HIV感染に感受性の細胞のHIV感染を阻害しない。さらなる態様において、本組成物は、ICAM接着を遮断する。

【0013】

本発明は、HCVがDC-SIGNタンパク質発現細胞に結合するときにHCV感染に対する感受性が増大される標的細胞のHCV感染を阻害する方法であって、該方法は、DC-SIGNタンパク質に対するHCVエンベロープ糖タンパク質の結合を阻害するために有効な化合物の量とDC-SIGNタンパク質発現細胞を接触させて、これにより前記標的細胞のHCV感染を阻害することを含む方法を提供する。1つの態様において本組成物は、DC-SIGNRタンパク質に対するHCVの結合を阻害しない。もう1つの態様において、本組成物は、HIV感染に感受性の細胞のHIV感染を阻害しない。さらなる態様において、本組成物は、ICAM接着を遮断する。

【0014】

本発明は、HCVがDC-SIGNRタンパク質発現細胞に結合するときにHCV感染に対する感受性が増大される標的細胞のHCV感染を阻害する方法であって、該方法は、DC-SIGNRタンパク質に対するHCVエンベロープ糖タンパク質の結合を阻害するために有効な化合物の量とDC-SIGNタンパク質発現細胞を接触させて、これにより前記標的細胞のHCV感染を阻害することを含む方法を提供する。1つの態様において本組成物は、DC-SIGNタンパク質に対するHCVの結合を阻害しない。もう1つの態様において、本組成物は、HIV感染に感受性の細胞のH

10

20

30

40

50

IV感染を阻害しない。さらなる態様において、本組成物は、ICAM接着を遮断する。

【0015】

本発明の1つの態様には、上記方法の1つであって、細胞は被験者に存在し、かつ接触は被験者に化合物を投与することによって行われる方法の適用を含む。もう1つの態様において、被験者は妊娠中であってもよい。化合物は、デリバリーの前に、間に、後に、このような被験者に投与されてもよい。

【0016】

本発明は、本明細書に記載された方法により、HCV感染に感受性の被験者の細胞のHCV感染を阻害することを含む、被験者におけるHCV感染を治療する方法であって、接触させることは、被験者に化合物を投与することによって行われる方法を提供する。

10

【0017】

本発明は、化合物が細胞のHCV感染を阻害することができるかどうかを決定する方法であって：

a) 固体担体にHCVエンベロープ糖タンパク質を固定することと；
b) 十分に検出可能なDC-SIGNタンパク質と前記固定されたHCVエンベロープ糖タンパク質を、前記固定されたHCVエンベロープ糖タンパク質に対する前記DC-SIGNタンパク質の結合を可能にする条件下で接触させて、前記固定されたHCVエンベロープ糖タンパク質における前記DC-SIGNタンパク質のための全ての結合部位を飽和させて、複合体を形成させることと；

20

c) 未結合のDC-SIGNタンパク質を除去することと；
d) 前記化合物と前記複合体を接触させることと；および、
e) いずれかのDC-SIGNタンパク質が前記複合体から置換されるかどうかを決定することとを含み、ここで前記複合体からのDC-SIGNタンパク質の置換は、前記化合物が前記HCVエンベロープ糖タンパク質に結合することを示し、これにより前記化合物が前記細胞のHCV感染を阻害することができるものであることを決定する方法を提供する。

【0018】

本発明は、化合物が細胞のHCV感染を阻害することができるかどうかを決定する方法であって：

a) 固体担体にHCVエンベロープ糖タンパク質を固定することと；
b) 十分に検出可能なDC-SIGNRタンパク質と前記固定されたHCVエンベロープ糖タンパク質を、前記固定されたHCVエンベロープ糖タンパク質に対する前記DC-SIGNRタンパク質の結合を可能にする条件下で接触させて、前記固定されたHCVエンベロープ糖タンパク質における前記DC-SIGNRタンパク質のための全ての結合部位を飽和させて、複合体を形成させることと；

30

c) 未結合のDC-SIGNRタンパク質を除去することと；
d) 前記化合物と前記複合体を接触させることと；および、
e) いずれかのDC-SIGNRタンパク質が前記複合体から置換されるかどうかを決定することとを含み、ここで前記複合体からのDC-SIGNRタンパク質の置換は、前記化合物が前記HCVエンベロープ糖タンパク質に結合することを示し、これにより前記化合物が前記細胞のHCV感染を阻害することができるものであることを決定する方法を提供する。

40

【0019】

本発明は、化合物が細胞のHCV感染を阻害することができるかどうかを決定する方法であって：

a) 固体担体にDC-SIGNタンパク質を固定することと；
b) 十分に検出可能なHCVエンベロープ糖タンパク質と前記固定されたDC-SIGNタンパク質を、前記HCVエンベロープ糖タンパク質に対する前記固定されたDC-SIGNタンパク質の結合を可能にする条件下で接触させて、前記固定されたDC-SIGNタンパク質における前記HCVエンベロープ糖タンパク質のための全ての結合部位を飽和させて、複合体を形成させることと；

c) 未結合のHCVエンベロープ糖タンパク質を除去することと；

50

d) 前記化合物と前記複合体を接触させることと；

e) いずれかのHCVエンベロープ糖タンパク質が前記複合体から置換されるかどうかを決定することとを含み、ここで前記複合体からのHCVエンベロープ糖タンパク質の置換は、化合物がDC-SIGNタンパク質に結合することを示し、これにより前記化合物が細胞のHCV感染を阻害することができるものであることを決定する方法を提供する。

【0020】

本発明は、化合物が細胞のHCV感染を阻害することができるかどうかを決定する方法であって；

a) 固体担体にDC-SIGNRタンパク質を固定することと；

b) 十分に検出可能なHCVエンベロープ糖タンパク質と前記固定されたDC-SIGNRタンパク質を、前記HCVエンベロープ糖タンパク質に対する前記固定されたDC-SIGNRタンパク質の結合を可能にする条件下で接触させて、前記固定されたDC-SIGNRタンパク質における前記HCVエンベロープ糖タンパク質のための全ての結合部位を飽和させて、複合体を形成させることと；

c) 未結合のHCVエンベロープ糖タンパク質を除去することと；

d) 前記化合物と前記複合体を接触させることと；

e) いずれかのHCVエンベロープ糖タンパク質が前記複合体から置換されるかどうかを決定することとを含み、ここで前記複合体からのHCVエンベロープ糖タンパク質の置換は、化合物がDC-SIGNRタンパク質に結合することを示し、これにより前記化合物が細胞のHCV感染を阻害することができるものであることを決定する方法を提供する。

【0021】

本発明は、化合物が細胞のHCV感染を阻害することができるかどうかを決定する方法であって；

(a) 十分に検出可能なDC-SIGNタンパク質とHCVエンベロープ糖タンパク質を、前記HCVエンベロープ糖タンパク質に対する前記DC-SIGNタンパク質の結合を可能にする条件下で接触させて、前記HCVエンベロープ糖タンパク質における前記DC-SIGNタンパク質のための全ての結合部位を飽和させて、複合体を形成させることと；

(b) 未結合のDC-SIGNタンパク質を除去することと；

(c) 前記複合体におけるHCVエンベロープ糖タンパク質に結合したDC-SIGNタンパク質の量を測定することと；

(d) 前記化合物と前記複合体を接触させて、前記複合体からDC-SIGNタンパク質を置換することと；

(e) 前記化合物の存在下において前記化合物に結合するDC-SIGNタンパク質の量を測定することと；および、

(f) 工程(c)で測定した量と工程(e)におけるHCVエンベロープ糖タンパク質に結合したDC-SIGNタンパク質の量を比較することとを含み、ここで工程(e)において測定した量の減少は、前記化合物がHCVエンベロープ糖タンパク質に結合することを示し、これにより前記化合物が細胞のHCV感染を阻害することができるものであると同定する方法を提供する決定する。

【0022】

本発明は、化合物が細胞のHCV感染を阻害することができるかどうかを決定する方法であって；

(a) 十分に検出可能なDC-SIGNRタンパク質とHCVエンベロープ糖タンパク質を接触させて、前記HCVエンベロープ糖タンパク質に対する前記DC-SIGNRタンパク質の結合を可能にする条件下で、前記HCVエンベロープ糖タンパク質における前記DC-SIGNRタンパク質のための全ての結合部位を飽和させて、複合体を形成させることと；

(b) 未結合のDC-SIGNRタンパク質を除去することと；

(c) 前記複合体におけるHCVエンベロープ糖タンパク質に結合したDC-SIGNRタンパク質の量を測定することと；

(d) 前記化合物と前記複合体を接触させて、前記複合体からDC-SIGNRタンパク質を置

換することと；

(e) 前記化合物の存在下において前記化合物に結合するDC-SIGNRタンパク質の量を測定することと；および、

(f) 工程(c)で測定した量と工程(e)におけるHCVエンベロープ糖タンパク質に結合したDC-SIGNRタンパク質の量を比較することとを含み、ここで工程(e)において測定した量の減少は、前記化合物がHCVエンベロープ糖タンパク質に結合することを示し、これにより前記化合物が細胞のHCV感染を阻害することができるものであると同定する方法を提供する。

【0023】

本発明は、化合物が細胞のHCV感染を阻害することができるかどうかを決定する方法であって；

(a) 固体担体にHCVエンベロープ糖タンパク質を固定することと；

(b) 前記化合物および検出可能なDC-SIGNタンパク質と固定されたHCVエンベロープ糖タンパク質を、前記化合物の非存在下で前記固定されたHCVエンベロープ糖タンパク質に対するDC-SIGNタンパク質の結合を可能にする条件下で接触させて、複合体を形成させることと；

(c) 未結合のDC-SIGNタンパク質を除去することと；

(d) 前記化合物の非存在下における前記固定されたHCVエンベロープ糖タンパク質に結合する検出可能なDC-SIGNタンパク質の量と、前記化合物の存在下における前記複合体における固定されたHCVエンベロープ糖タンパク質に結合する検出可能なDC-SIGNタンパク質の量を比較することと；

(e) ここで、前記化合物の存在下において測定されるDC-SIGNタンパク質の量の減少は、前記化合物がHCVエンベロープ糖タンパク質またはDC-SIGNタンパク質に結合することを示し、これにより前記化合物が細胞のHCV感染を阻害することができるものであることを決定する方法を提供する。

【0024】

本発明は、化合物が細胞のHCV感染を阻害することができるかどうかを決定する方法であって；

(a) 固体担体にHCVエンベロープ糖タンパク質を固定することと；

(b) 前記化合物および検出可能なDC-SIGNRタンパク質と固定されたHCVエンベロープ糖タンパク質を、前記化合物の非存在下で前記固定されたHCVエンベロープ糖タンパク質に対するDC-SIGNRタンパク質の結合を可能にする条件下で接触させて、複合体を形成させることと；

(c) 未結合のDC-SIGNRタンパク質を除去することと；

(d) 前記化合物の非存在下における前記固定されたHCVエンベロープ糖タンパク質に結合する検出可能なDC-SIGNRタンパク質の量と、前記化合物の存在下における前記複合体における固定されたHCVエンベロープ糖タンパク質に結合する検出可能なDC-SIGNRタンパク質の量を比較することと；

(e) ここで、前記化合物の存在下において測定されるDC-SIGNRタンパク質の量の減少は、前記化合物がHCVエンベロープ糖タンパク質またはDC-SIGNRタンパク質に結合することを示し、これにより前記化合物が細胞のHCV感染を阻害することができるものであることを決定する方法を提供する。

【0025】

本発明は、化合物が細胞のHCV感染を阻害することができるかどうかを決定する方法であって；

(a) 固体担体にDC-SIGNタンパク質を固定することと；

(b) 前記化合物および検出可能なHCVエンベロープ糖タンパク質と固定されたDC-SIGNタンパク質を、前記化合物の非存在下において前記HCVエンベロープ糖タンパク質に対する前記固定されたDC-SIGNタンパク質の結合を可能にする条件下で接触させて、複合体を形成させることと；

10

20

30

40

50

(c) 未結合のHCVエンベロープ糖タンパク質を除去することと；

(d) 前記化合物の非存在下において固定されたDC-SIGNタンパク質に結合する検出可能なHCVエンベロープ糖タンパク質の量と、前記化合物の存在下において前記複合体における前記固定されたDC-SIGNタンパク質に結合する検出可能なHCVエンベロープ糖タンパク質の量を比較することと；

(e) ここで、前記化合物の存在下において測定されるHCVエンベロープ糖タンパク質の量の減少は、前記化合物がHCVエンベロープ糖タンパク質またはDC-SIGNタンパク質に結合することを示し、これにより前記化合物が細胞のHCV感染を阻害することができるものであることを決定する方法を提供する。

【0026】

10

本発明は、化合物が細胞のHCV感染を阻害することができるかどうかを決定する方法であって；

(a) 固体担体にDC-SIGNRタンパク質を固定することと；

(b) 前記化合物および検出可能なHCVエンベロープ糖タンパク質と固定されたDC-SIGNRタンパク質を、前記化合物の非存在下において前記HCVエンベロープ糖タンパク質に対する前記固定されたDC-SIGNRタンパク質の結合を可能にする条件下で接触させて、複合体を形成させることと；

(c) 未結合のHCVエンベロープ糖タンパク質を除去することと；

(d) 前記化合物の非存在下において固定されたDC-SIGNRタンパク質に結合する検出可能なHCVエンベロープ糖タンパク質の量と、前記化合物の存在下において前記複合体における前記固定されたDC-SIGNRタンパク質に結合する検出可能なHCVエンベロープ糖タンパク質の量を比較することと；

20

(e) ここで、前記化合物の存在下において測定されるHCVエンベロープ糖タンパク質の量の減少は、前記化合物がHCVエンベロープ糖タンパク質またはDC-SIGNRタンパク質に結合することを示し、これにより前記化合物が細胞のHCV感染を阻害することができるものであることを決定する方法を提供する。

【0027】

本発明は、化合物が細胞のHCV感染を阻害することができるかどうかを決定する方法であって；

(a) 前記化合物および検出可能なDC-SIGNタンパク質とHCVエンベロープ糖タンパク質を、前記化合物の非存在下においてHCVエンベロープ糖タンパク質に対するDC-SIGNタンパク質の結合を可能にする条件下で接触させて、複合体を形成させることと；

30

(b) 未結合のDC-SIGNタンパク質を除去することと；

(c) 前記化合物の非存在下において前記化合物に結合する検出可能なDC-SIGNタンパク質の量と、前記化合物の存在下において複合体におけるHCVエンベロープ糖タンパク質に対して結合する検出可能なDC-SIGNタンパク質の量を比較することと；

を含み、

前記化合物の存在下において測定されるDC-SIGNタンパク質の量の減少は、前記化合物がHCVエンベロープ糖タンパク質またはDC-SIGNタンパク質に結合することを示し、これにより前記化合物が細胞のHCV感染を阻害することができるものであることを決定する方法を提供する決定する。

40

【0028】

本発明は、化合物が細胞のHCV感染を阻害することができるかどうかを決定する方法であって；

(a) 前記化合物および検出可能なDC-SIGNRタンパク質とHCVエンベロープ糖タンパク質を、前記化合物の非存在下においてHCVエンベロープ糖タンパク質に対するDC-SIGNRタンパク質の結合を可能にする条件下で接触させて、複合体を形成させることと；

(b) 未結合のDC-SIGNRタンパク質を除去することと；

(c) 前記化合物の非存在下において前記化合物に結合する検出可能なDC-SIGNRタンパク質の量と、前記化合物の存在下において複合体におけるHCVエンベロープ糖タンパク質

50

に対して結合する検出可能なDC-SIGNRタンパク質の量を比較することと；

を含み、

前記化合物の存在下において測定されるDC-SIGNRタンパク質の量の減少は、前記化合物がHCVエンベロープ糖タンパク質またはDC-SIGNRタンパク質に結合することを示し、これにより前記化合物が細胞のHCV感染を阻害することができるものであることを決定する方法を提供する。

【0029】

本発明は、組成物を得る方法であって：

(a) 本明細書に記載された方法に従って、細胞のHCV感染を阻害する化合物を同定することと；

(b) 前記化合物を回収することと；および、

(c) かかる同定された前記化合物またはその相同体もしくは誘導体をキャリアと混合して、これにより組成物を得ることと、
を含む方法を提供する。

【0030】

本発明は、被験者における肝疾患を治療または予防する方法であって、前記被験者の細胞の表面に存在するDC-SIGNタンパク質に対するHCVエンベロープ糖タンパク質の結合を阻害することができる化合物の有効な量を前記被験者に投与することを含み、これにより被験者の肝疾患を治療または予防する方法を提供する。

【0031】

本発明は、被験者における肝疾患を治療または予防する方法であって、前記被験者の細胞の表面に存在するDC-SIGNRタンパク質に対するHCVエンベロープ糖タンパク質の結合を阻害することができる化合物の有効な量を前記被験者に投与することを含み、これにより被験者の肝疾患を治療または予防する方法を提供する。

【0032】

本発明は、被験者における肝細胞癌を治療または予防する方法であって、前記被験者の細胞の表面に存在するDC-SIGNタンパク質に対するHCVエンベロープ糖タンパク質の結合を阻害することでことができる化合物の有効な量を前記被験者に投与することを含み、これにより肝細胞癌を治療または予防する方法を提供する。

【0033】

本発明は、被験者における肝細胞癌を治療または予防する方法であって、前記被験者の細胞の表面に存在するDC-SIGNRタンパク質に対するHCVエンベロープ糖タンパク質の結合を阻害することでことができる化合物の有効な量を前記被験者に投与することを含み、これにより肝細胞癌を治療または予防する方法を提供する。

【0034】

本発明は、被験者のHCV感染を診断する方法であって：

(a) 固体担体にDC-SIGNタンパク質を固定することと；

(b) 十分なHCVエンベロープ糖タンパク質と前記固定されたDC-SIGNタンパク質を接触させて、前記固定されたDC-SIGNタンパク質におけるHCVエンベロープ糖タンパク質のための結合部位の全ての部分を飽和させ、複合体を形成させることと；

(c) 未結合のHCVエンベロープ糖タンパク質を除去することと；

(d) 前記被験者から得た適切な試料と前記複合体を接触させることと；

(e) 未結合の試料を除去することと；および、

(f) HCVエンベロープ糖タンパク質に結合した抗体があるかどうかを検出することとを含み、抗HCV抗体の存在によって被験者のHCV感染を診断する方法を提供する。

【0035】

本発明は、被験者のHCV感染を診断する方法であって：

(a) 固体担体にDC-SIGNRタンパク質を固定することと；

(b) 十分なHCVエンベロープ糖タンパク質と前記固定されたDC-SIGNRタンパク質を接触させて、前記固定されたDC-SIGNRタンパク質におけるHCVエンベロープ糖タンパク質のた

10

20

30

40

50

めの結合部位の全ての部分を飽和させ、複合体を形成させることと；

(c) 未結合のHCVエンベロープ糖タンパク質を除去することと；

(d) 前記被験者から得た適切な試料と前記複合体を接触させることと；

(e) 未結合の試料を除去することと；および、

(f) HCVエンベロープ糖タンパク質に結合した抗体があるかどうかを検出することとを含み、抗HCV抗体の存在によって被験者のHCV感染を診断する方法を提供する。

【0036】

本発明は、被験者のHCV感染を診断する方法であって：

(a) 十分なHCVエンベロープ糖タンパク質とDC-SIGNタンパク質を接触させて、前記DC-SIGNタンパク質における前記HCVエンベロープ糖タンパク質のための結合部位の全てまたは一部を飽和させて、複合体を形成させることと； 10

(b) 未結合のHCVエンベロープ糖タンパク質を除去することと；

(c) 前記被験者から得た適切な試料と前記複合体を接触させることと；

(d) 未結合の試料を除去することと；および、

(e) HCVエンベロープ糖タンパク質に結合した抗体があるかどうかを検出することとを含み、抗HCV抗体の存在によって被験者のHCV感染を診断する方法を提供する。

【0037】

本発明は、被験者のHCV感染を診断する方法であって：

(a) 十分なHCVエンベロープ糖タンパク質とDC-SIGNRタンパク質を接触させて、前記DC-SIGNRタンパク質における前記HCVエンベロープ糖タンパク質のための結合部位の全てまたは一部を飽和させて、複合体を形成させることと； 20

(b) 未結合のHCVエンベロープ糖タンパク質を除去することと；

(c) 前記被験者から得た適切な試料と前記複合体を接触させることと；

(d) 未結合の試料を除去することと；および、

(e) HCVエンベロープ糖タンパク質に結合した抗体があるかどうかを検出することとを含み、抗HCV抗体の存在によって被験者のHCV感染を診断する方法を提供する。

【0038】

本発明は、HCVエンベロープ糖タンパク質に対するDC-SIGNタンパク質の結合を阻害することができる抗体またはその部分であって、抗体は、前記DC-SIGNタンパク質の領域の内に位置するエピトープに結合し、前記DC-SIGNタンパク質のこの領域は、HCVエンベロープ糖タンパク質に結合する抗体またはその部分を提供する。1つの態様において本抗体は、DC-SIGNRタンパク質に対するHCVの結合を阻害しない。もう1つの態様において、本抗体は、HIV感染に感受性の細胞のHIV感染を阻害しない。さらなる態様において、本抗体は、ICAM接着を遮断する。 30

【0039】

本発明は、HCVエンベロープ糖タンパク質に対するDC-SIGNRタンパク質の結合を阻害することができる抗体またはその部分であって、抗体は、前記DC-SIGNRタンパク質の領域の内に位置するエピトープに結合し、前記DC-SIGNRタンパク質のこの領域は、HCVエンベロープ糖タンパク質に結合する抗体またはその部分を提供する。1つの態様において本抗体は、DC-SIGNタンパク質に対するHCVの結合を阻害しない。もう1つの態様において、本抗体は、HIV感染に感受性の細胞のHIV感染を阻害しない。さらなる態様において、本抗体は、ICAM接着を遮断する。 40

【0040】

本発明は、HCVエンベロープ糖タンパク質に対するDC-SIGNタンパク質の結合を阻害することができる抗体またはその部分であって、抗体は、前記HCVエンベロープ糖タンパク質の領域の内に位置するエピトープに結合し、前記HCVエンベロープ糖タンパク質のこの領域は、DC-SIGNタンパク質に結合する抗体またはその部分を提供する。1つの態様において本抗体は、DC-SIGNRタンパク質に対するHCVの結合を阻害しない。もう1つの態様において、本抗体は、HIV感染に感受性の細胞のHIV感染を阻害しない。さらなる態様において、本抗体は、ICAM接着を遮断する。 50

【 0 0 4 1 】

HCVエンベロープ糖タンパク質に対するDC-SIGNRタンパク質の結合を阻害することができる抗体またはその部分であって、抗体は、前記HCVエンベロープ糖タンパク質の領域の内に位置するエピトープに結合し、前記HCVエンベロープ糖タンパク質のこの領域は、DC-SIGNRタンパク質に結合する抗体またはその部分を提供する。1つの態様において本抗体は、DC-SIGNタンパク質に対するHCVの結合を阻害しない。もう1つの態様において、本抗体は、HIV感染に感受性の細胞のHIV感染を阻害しない。さらなる態様において、本抗体は、ICAM接着を遮断する。

【 0 0 4 2 】

本発明は、HCVエンベロープ糖タンパク質に対するDC-SIGNタンパク質の結合を阻害することができるポリペプチドであって、該ポリペプチドは、少なくともDC-SIGNタンパク質の細胞外ドメインの部分の配列と一致する配列を有する連続したアミノ酸を含み、該部分は、HCVエンベロープ糖タンパク質に結合するポリペプチドを提供する。1つの態様において本ポリペプチドは、HCVエンベロープ糖タンパク質に結合しない。もう1つの態様において、本ポリペプチドは、HIV感染に感受性の細胞のHIV感染を阻害しない。さらなる態様において、本ポリペプチドは、ICAM接着を遮断しない。

【 0 0 4 3 】

本発明は、HCVエンベロープ糖タンパク質に対するDC-SIGNRタンパク質の結合を阻害することができるポリペプチドであって、該ポリペプチドは、少なくともDC-SIGNRタンパク質の細胞外ドメインの部分の配列と一致する配列を有する連続したアミノ酸を含み、該部分は、HCVエンベロープ糖タンパク質に結合するポリペプチドを提供する。1つの態様において本ポリペプチドは、HCVエンベロープ糖タンパク質に結合しない。もう1つの態様において、本ポリペプチドは、HIV感染に感受性の細胞のHIV感染を阻害しない。さらなる態様において、本ポリペプチドは、ICAM接着を遮断しない。

【 0 0 4 4 】

本発明は、HCVエンベロープ糖タンパク質に対するDC-SIGNタンパク質の結合を阻害することができるポリペプチドであって、該ポリペプチドは、少なくともHCVエンベロープ糖タンパク質の細胞外ドメインの部分の配列と一致する配列を有する連続したアミノ酸を含み、該部分は、DC-SIGNタンパク質に結合するポリペプチドを提供する。1つの態様において本ポリペプチドは、HCVエンベロープ糖タンパク質に結合しない。もう1つの態様において、本ポリペプチドは、HIV感染に感受性の細胞のHIV感染を阻害しない。さらなる態様において、本ポリペプチドは、ICAM接着を遮断しない。

【 0 0 4 5 】

本発明は、HCVエンベロープ糖タンパク質に対するDC-SIGNRタンパク質の結合を阻害することができるポリペプチドであって、該ポリペプチドは、少なくともHCVエンベロープ糖タンパク質の細胞外ドメインの部分の配列と一致する配列を有する連続したアミノ酸を含み、該部分は、DC-SIGNRタンパク質に結合するポリペプチドを提供する。

【 0 0 4 6 】

本発明は、HCVエンベロープ糖タンパク質に対するDC-SIGNタンパク質の結合を阻害することができる非ペプチド性薬剤であって、該非ペプチド性は、DC-SIGNタンパク質の領域内に位置するエピトープに結合し、該DC-SIGNタンパク質の領域は、HCVエンベロープ糖タンパク質に結合する非ペプチド性薬剤を提供する。1つの態様において本非ペプチド性薬剤は、DC-SIGNRタンパク質に対するHCVの結合を阻害しない。もう1つの態様において、本非ペプチド性薬剤は、HIV感染に感受性の細胞のHIV感染を阻害しない。さらなる態様において、本ポリペプチドは、ICAM接着を遮断しない。

【 0 0 4 7 】

本発明は、HCVエンベロープ糖タンパク質に対するDC-SIGNRタンパク質の結合を阻害することができる非ペプチド性薬剤であって、該非ペプチド性は、DC-SIGNRタンパク質の領域内に位置するエピトープに結合し、該DC-SIGNRタンパク質の領域は、HCVエンベロープ糖タンパク質に結合する非ペプチド性薬剤を提供する。1つの態様において本非ペプチド

性薬剤は、DC-SIGNタンパク質に対するHCVの結合を阻害しない。もう1つの態様において、本非ペプチド性薬剤は、HIV感染に感受性の細胞のHIV感染を阻害しない。さらなる態様において、本ポリペプチドは、ICAM接着を遮断しない。

【0048】

本発明は、HCVエンベローブ糖タンパク質に対するDC-SIGNタンパク質の結合を阻害することができる非ペプチド性薬剤であって、該非ペプチド性薬剤は、少なくともHCVエンベローブ糖タンパク質の細胞外ドメインの部分に結合し、該部分は、DC-SIGNタンパク質に結合する非ペプチド性薬剤を提供する。1つの態様において本非ペプチド性薬剤は、DC-SIGNRタンパク質に対するHCVの結合を阻害しない。もう1つの態様において、本非ペプチド性薬剤は、HIV感染に感受性の細胞のHIV感染を阻害しない。さらなる態様において、本ポリペプチドは、ICAM接着を遮断しない。 10

【0049】

本発明は、HCVエンベローブ糖タンパク質に対するDC-SIGNRタンパク質の結合を阻害することができる非ペプチド性薬剤であって、該非ペプチド性薬剤は、少なくともHCVエンベローブ糖タンパク質の細胞外ドメインの部分に結合し、該DC-SIGNRタンパク質に結合する非ペプチド性薬剤を提供する。1つの態様において本非ペプチド性薬剤は、DC-SIGNタンパク質に対するHCVの結合を阻害しない。もう1つの態様において、本非ペプチド性薬剤は、HIV感染に感受性の細胞のHIV感染を阻害しない。さらなる態様において、本ポリペプチドは、ICAM接着を遮断しない。

【0050】

本発明は、本明細書に記載された、抗体またはその部分、ポリペプチドおよび/または非ペプチド薬剤、並びにキャリアを含む組成物を提供する。1つの態様において、本組成物は、マンナン、カルシウムキレート剤、またはこれらの組合せをさらに含む。

【発明を実施するための最良の形態】

【0051】

発明の詳細な記載

本発明は、HCV感染に感受性の細胞のHCV感染を阻害する方法であって、前記細胞の表面に存在するDC-SIGNタンパク質に対するHCVエンベローブ糖タンパク質の結合を阻害するために有効な量の化合物と前記細胞を接触させて、これによりHCV感染に感受性の前記細胞のHCV感染を阻害することを含む方法を提供する。本発明は、HCV感染に感受性の細胞のHCV感染を阻害する方法であって、前記細胞の表面に存在するDC-SIGNRタンパク質に対するHCVエンベローブ糖タンパク質の結合を阻害するために有効な量の化合物と前記細胞を接触させて、これによりHCV感染に感受性の前記細胞のHCV感染を阻害することを含む方法を提供する。 30

【0052】

HCV感染に感受性である細胞は、DC-SIGNおよび/またはDC-SIGNR分子を介してウイルスを結合してもよい。さらに、HCV感染に感受性でない細胞は、DC-SIGNおよび/またはDC-SIGNR分子を介してウイルスを結合してもよい。次いで、結合したウイルスは、トランスに第2の感受性の標的細胞に送られる。したがって、本発明は、DC-SIGNおよび/またはDC-SIGNRを発現する非感受性の細胞に対するウイルスの初期の付着を阻害し、次いでこれにより、感受性の標的細胞の次の感染を予防することとなる方法を提供する。本発明は、HCVがDC-SIGNタンパク質発現細胞に結合するときにHCV感染に対する感受性が増大される標的細胞のHCV感染を阻害する方法であって、該方法は、DC-SIGNタンパク質に対するHCVエンベローブ糖タンパク質の結合を阻害するために有効な化合物の量とDC-SIGNタンパク質発現細胞を接触させて、これにより前記標的細胞のHCV感染を阻害することを含む方法を提供する。本発明は、HCVがDC-SIGNRタンパク質発現細胞に結合するときにHCV感染に対する感受性が増大される標的細胞のHCV感染を阻害する方法であって、該方法は、DC-SIGNRタンパク質に対するHCVエンベローブ糖タンパク質の結合を阻害するために有効な化合物の量とDC-SIGNタンパク質発現細胞を接触させて、これにより前記標的細胞のHCV感染を阻害することを含む方法を提供する。 40 50

10

20

30

40

ての融合が生じた時を意味する。また、本明細書において使用されるものとして、「HCV感染に感受性の細胞」は、「標的細胞」と称してもよく、HCVもしくはHCV感染細胞に感染するか、またはこれらと融合することができる細胞を含む。本明細書において使用されるものとして、「細胞」の語は、たとえば生物学的細胞、たとえばHeLa細胞および非生物学的細胞、たとえば脂肪小胞（たとえばリン脂質液胞）またはビリオンを含む。

【0055】

本明細書に記載された方法の1つの態様において、化合物は、抗体または抗体の部分である。1つの態様において、抗体は、モノクローナル抗体である。1つの態様において、抗体は、ポリクローナル抗体である。1つの態様において、抗体は、ヒト化された抗体である。1つの態様において、抗体は、キメラ抗体である。1つの態様において、抗体の部分は、抗体の軽鎖を含む。1つの態様において、抗体の部分は、抗体の重鎖を含む。1つの態様において、抗体の部分は、抗体のFab部分を含む。1つの態様において、抗体の部分は、抗体のF(ab')₂部分を含む。1つの態様において、抗体の部分は、抗体のFd部分を含む。1つの態様において、抗体の部分は、抗体のFv部分を含む。1つの態様において、抗体の部分は、抗体の可変ドメインを含む。1つの態様において、抗体の部分は、抗体の1つまたは複数のCDRドメインを含む。

10

【0056】

本明細書に記載された方法の1つの態様において、化合物は、ポリペプチドである。1つの態様において、化合物は、ペプチドである。1つの態様において、化合物は、オリゴペプチドである。

20

【0057】

本明細書に記載された方法の1つの態様において、化合物は、非ペプチド性薬剤である。1つの態様において、非ペプチド性薬剤は、炭水化物である。このような炭水化物は、マンノース、マンナン、またはメチル- α -D-マンノピラノシドを含むがこれらに限定されず、当業者に既知のどのような炭水化物でもあってもよい。本明細書に記載された方法の1つの態様において、化合物は、小分子または小分子量の分子である。1つの態様において、化合物は、500ダルトン未満の分子量を有する。

【0058】

本明細書に記載された方法の1つの態様において、HCVエンベロープ糖タンパク質は、HCV1エンベロープ糖タンパク質である。本明細書に記載された方法の1つの態様において、HCVエンベロープ糖タンパク質は、HCV2エンベロープ糖タンパク質である。

30

【0059】

本明細書に記載された方法の1つの態様において、細胞は、被験者に存在し、接触させることは、薬剤を被験者に投与することによって行われる。したがって、本発明は、HCVに苦しんだ被験者を治療することなどのHCV治療を含む、種々の適用を有する。本明細書において使用されるものとして、「HCVに苦しんだ」とは、被験者がHCVに感染した少なくとも1つの細胞を有することを意味する。本明細書において使用されるものとして、「治療すること」は、HCV疾患の進行を遅くする、止める、または逆転させることのいずれかを意味する。好ましい態様において、「治療すること」は、疾患を除去する点まで、進行を逆転させることを意味する。また、本明細書において使用されるものとして、「治療すること」は、ウィルス感染数の減少、感染性のウィルス粒子数の減少、ウィルス感染細胞数の減少、またはHCVに関連した症状の改善を意味する。本発明のもう一つの適用は、HCVにかかることから被験者を予防することである。本明細書において使用されるものとして、「HCVにかかること」は、HCVに感染し、その遺伝情報が宿主細胞で複製され、および/または組み込まれることを意味する。本発明のもう一つの適用は、HCVに感染した被験者を治療することである。本明細書において使用されるものとして、「HCV感染」は、HCVまたはHCVエンベロープ糖タンパク質⁺細胞と標的細胞膜の融合などによって、標的細胞にHCV遺伝情報を導入することを意味する。標的細胞は、被験者の身体の細胞であってもよい。好ましい態様において、標的細胞は、ヒト被験者からの身体の細胞である。本発明のもう一つの適用は、HCV感染を阻害することである。本明細書において使用されるものとして

40

50

、「HCV感染を阻害すること」は、前記組成物の非存在下で導入されるであろう量と比べて、標的細胞個体群に導入されるHCV遺伝情報の量を減少することを意味する。

【0060】

被験者に対する投与するための化合物および/または薬剤の量については、当業者であれば、適切な量を決定する方法を知っているであろう。本明細書において使用されるものとして、用量または量は、HCV感染を阻害する、HCV感染を治療する、被験者を治療する、または被験者がHCVに感染することから予防することのいずれかのために十分な量のものであろう。この量は、有効な量であるとみなされてもよい。当業者であれば、被験者を治療するために必要な量を決定するために、簡単な滴定実験を行うことができる。本発明の組成物の用量は、被験者におよび使用される特定の投与の経路に依存して、変化するであ

10

【0061】

本明細書に記載された方法の1つの態様において、化合物の有効な量は、被験者の体重kgにつき約1mgおよび約50mgの間である。1つの態様において、化合物の有効な量は、被験者の体重kgにつき約2mgおよび約40mgの間である。1つの態様において、化合物の有効な量は、体重kgにつき被験者の約3mgおよび約30mgの間である。1つの態様において、化合物の有効な量は、被験者の体重kgにつき約4mgおよび約20mgの間である。1つの態様において、化合物の有効な量は、被験者の体重kgにつき約5mgおよび約10mgの間である。化合物の有効な量は、約0.000001mg/kg体重～約100mg/kg体重までを含んでいてもよい。1つの態様において、有効な量は、約0.001mg/kg体重～約50mg/kg体重までを含んでいてもよい。もう1つの態様において、有効な量は、約0.01mg/kg体重～約10mg/kg体重までの範囲であってもよい。有効な量は、とりわけ化合物の大きさ、化合物の生物分解性、化合物の生理活性、および化合物の生体有用性に基づいてもよい。化合物がすみやかに分解しない場合は、生物が利用可能で、かつ非常に活性であり、有効性のためにより小量が必要であると考えられる。有効な量は、当業者には既知であると考えられ；また、化合物の形態、化合物の大きさ、および化合物の生理活性に依存すると考えられる。当業者は、ルーチンで化合物につ

20

30

【0062】

化合物および/または薬剤が投与されることに関しては、当業者は、このような化合物および/または薬剤をいつ投与するべきかを決定することができる。投与は、一定期間常時または周期的に、および特定の間隔であってもよい。化合物は、1時間ごとに、毎日、毎週、毎月、毎年（たとえば、徐放性形態において）、または1回の送達として、送達されてもよい。デリバリーは、周期的に連続するデリバリー、たとえば経静脈デリバリーであってもよい。本明細書に記載された方法の1つの態様において、薬剤は、少なくとも1日に一回で投与される。本明細書に記載された方法の1つの態様において、薬剤は、毎日投与される。本明細書に記載された方法の1つの態様において、薬剤は、一日おきに投与される。本明細書に記載された方法の1つの態様において、薬剤は、6～8日毎に投与される。本明細書に記載された方法の1つの態様において、薬剤は、毎週投与される。

40

【0063】

本明細書において使用されるものとして、「被験者」は、任意の動物またはHCVに感染

50

させることができる人工的に改変された動物を意味する。被験者は、ヒト、霊長類、ウマ、オビン、トリ、ウシ、ブタ、イヌ、ネコ、またはマウス含む。人工的に改変された動物は、ヒト免疫系を有するSCIDマウスを含むが、これに限定されない。動物は、マウス、ラット、イヌ、モルモット、白イタチ、ウサギ、および霊長類を含むが、これらに限定されない。好ましい態様において、被験者は、ヒトである。被験者は、彼自身または彼女自身の細胞の少なくとも1つがHCVによって侵略された細胞を有する被験者である「HCV感染被験者」であってもよい。好ましい態様において、HCV感染被験者は、ヒトである。被験者は、彼自身のいずれかの細胞がHCVによって侵略されたものを有さない被験者である「HCV感染被験者」であってもよい。好ましい態様において、非HCV感染被験者は、ヒトである。

10

【0064】

本明細書において使用されるものとして、「投与すること」は、当業者に既知のいずれの方法を使用して成し遂げられ、または行われてもよい。化合物は、エアロゾル、経静脈、経口、または局所の経路を含む種々の経路によって投与されてもよいが、これらに限定されない。投与は、病巣内の、腹腔内の、皮下の、筋肉内の、または静脈内の注射；注入；リポソームを媒介したデリバリー；局所の、クモ膜下の、歯茎のポケットの、経直腸、気管支内の、鼻の、経壁の、腸管の、経口、眼の、または耳のデリバリーを含んでもよい。さらなる態様において、投与は、気管支内投与、肛門、髄こう内投与、または経皮的デリバリーを含む。本発明の化合物および/または薬剤は、長期間にわたる薬剤またはペプチドの持効性を可能にするカプセルによって局所的に送達されてもよい。徐放性または持効性の組成物は、親油性デポー製剤（たとえば脂肪酸、ろう、油）の製剤を含む。また、ポリマー（たとえば、ポロキサマー（poloxamers）またはポロキサミン（poloxamines））で被覆された粒状の組成物および組織特異的な受容体、リガンド、もしくは抗原に対する抗体に結合する薬剤、または組織特異的な受容体のリガンドに結合する薬剤が、本発明に包含される。本発明の組成物のその他の態様は、非経口的な、肺の、鼻の、および経口を含む種々の投与経路のための、粒状の形態の保護皮膜、プロテアーゼ阻害剤、または浸透賦活薬を組み入れる。

20

【0065】

キャリアは、希釈液、エアロゾル、局所的キャリア、水溶液、非水溶液、または固体キャリアであってもよい。

30

【0066】

本発明は、被験者におけるHCV感染を治療する方法であって、本明細書に記載した方法によってHCV感染に感受性の被験者の細胞のHCV感染を阻害することを含み、ここで、接触させることは、化合物を被験者に投与することによって行われる方法を提供する。本発明は、被験者のHCV感染を予防する方法であって、本明細書に記載した方法によってHCV感染に感受性の被験者の細胞のHCV感染を阻害することを含み、ここで、接触させることは、化合物を被験者に投与することによって行われる方法を提供する。

【0067】

本発明は、被験者の細胞または細胞がHCVに感染することを予防する方法であって、被験者の細胞表面のDC-SIGNおよび/またはDC-SIGNR受容体に対するHCVの結合を阻害するために有効な、本明細書に記載した化合物のうちの1つの量を被験者に投与することを含み、これにより被験者の細胞または細胞群がHCVに感染することからを予防する方法を提供する。

40

【0068】

本発明は、細胞がHCVに感染した被験者を治療する方法であって、被験者の細胞表面のDC-SIGNおよび/またはDC-SIGNR受容体に対するHCVの結合を阻害するために有効な、本明細書に記載した化合物のうちの1つの量を被験者に投与することを含み、これにより被験者を治療する方法を提供する。好ましい態様において、被験者はヒトである。もう1つの態様において、被験者は、SCID-BNXマウスである（Galunら、J. Inf. Dis. 172: 25, 1995）。

50

【0069】

上記の方法の1つの態様において、被験者は、被験者に化合物を投与する前にHCVに感染している。上記の方法の1つの態様において、被験者は、被験者に化合物を投与する前にHCVに感染していない。上記の方法の1つの態様において、被験者は、HCVに感染していないが、暴露されている。

【0070】

本明細書に記載された方法の1つの態様において、HCV感染に感受性の細胞は、初代細胞である。1つの態様において、細胞は、樹状細胞、胎盤細胞、または子宮内膜細胞である。1つの態様において、細胞は、肝細胞、リンパ節細胞、肝臓における子宮内膜細胞、または胎盤細胞である。本明細書に記載された方法の1つの態様において、HCV感染に感受性の細胞は、真核細胞である。本明細書に記載された方法の1つの態様において、HCV感染に感受性の細胞は、ヒト細胞である。本明細書に記載された方法の1つの態様において、HCV感染に感受性の細胞は、末梢血単核細胞である。本明細書に記載された方法の1つの態様において、HCV感染に感受性の細胞は、HeLa細胞である。本明細書に記載された方法の1つの態様において、HCV感染に感受性の細胞は、肝細胞である。肝細胞は、HepG2細胞、SK-H EP1細胞、C3A細胞、またはHuh-7細胞を含んでもよいが、これらに限定されない。1つの態様において、肝細胞は、初代肝細胞である。

10

【0071】

本発明は、HCVで苦しむ被験者を治療する方法であって、本明細書に記載した組成物の薬剤の有効な用量を被験者に投与することを含む方法を提供する。1つの態様において、薬剤または組成物は、被験者のウイルス負荷を減少させるのに十分であってもよい。本明細書において使用されるものとして、「治療すること」は、HCV疾患の進行を、遅くすること、止めること、または逆転させことのいずれかを意味する。好ましい態様において、「治療すること」は、疾患を除去する点に進行を逆転させることを意味する。本明細書において使用されるものとして、「治療すること」は、ウイルス感染数の減少、感染性のウイルス粒子数の減少、ウイルスに感染した細胞数の減少、またはHCVに関連した症状の改善を意味する。本明細書において使用されるものとして、「HCVに苦しんだ」とは、HCVに感染した少なくとも1つの細胞を被験者が有することを意味する。

20

【0072】

本発明は、HCVにかかることから被験者を予防する方法であって、本明細書に記載した薬剤または組成物の有効な用量を被験者に投与することを含む方法を提供する。

30

【0073】

本発明は、HCV感染に感受性の細胞のHCV感染を阻害するための医薬組成物を製造するための、抗体もしくはその部分、ペプチド、ポリペプチド、もしくはオリゴペプチド、または非ペプチド性薬剤などの、本明細書に記載された化合物および/または薬剤の使用を提供する。本発明は、被験者におけるHCV感染を治療するための医薬組成物の製造のための、抗体またはその部分、ペプチド、ポリペプチド、もしくはオリゴペプチド、非ペプチド性薬剤などの、本明細書に記載された化合物および/または薬剤の使用を提供する。本発明は、被験者におけるHCV感染を予防するための医薬組成物を製造するための、抗体もしくはその部分、ペプチド、ポリペプチド、もしくはオリゴペプチド、または非ペプチド性薬剤などの、本明細書に記載された化合物および/または薬剤の使用を提供する。

40

【0074】

本発明は、化合物が細胞のHCV感染を阻害することができるかどうかを決定する方法であって：

a) 固体担体にHCVエンベロープ糖タンパク質を固定することと；

b) 十分に検出可能なDC-SIGNタンパク質と前記固定されたHCVエンベロープ糖タンパク質を、前記固定されたHCVエンベロープ糖タンパク質に対する前記DC-SIGNタンパク質の結合を可能にする条件下で接触させて、前記固定されたHCVエンベロープ糖タンパク質における前記DC-SIGNタンパク質のための全ての結合部位を飽和させて、複合体を形成させることと；

50

c) 未結合のDC-SIGNタンパク質を除去することと；
d) 前記化合物と前記複合体を接触させることと；および、
e) いずれかのDC-SIGNタンパク質が前記複合体から置換されるかどうかを決定することとを含み、ここで前記複合体からのDC-SIGNタンパク質の置換は、前記化合物が前記HCVエンベロープ糖タンパク質に結合することを示し、これにより前記化合物が前記細胞のHCV感染を阻害することができるものであることを決定する方法を提供する。

【0075】

本発明は、化合物が細胞のHCV感染を阻害することができるかどうかを決定する方法であって：

a) 固体担体にHCVエンベロープ糖タンパク質を固定することと； 10
b) 十分に検出可能なDC-SIGNRタンパク質と前記固定されたHCVエンベロープ糖タンパク質を、前記固定されたHCVエンベロープ糖タンパク質に対する前記DC-SIGNRタンパク質の結合を可能にする条件下で接触させて、前記固定されたHCVエンベロープ糖タンパク質における前記DC-SIGNRタンパク質のための全ての結合部位を飽和させて、複合体を形成させることと；
c) 未結合のDC-SIGNRタンパク質を除去することと；
d) 前記化合物と前記複合体を接触させることと；および、
e) いずれかのDC-SIGNRタンパク質が前記複合体から置換されるかどうかを決定することとを含み、ここで前記複合体からのDC-SIGNRタンパク質の置換は、前記化合物が前記HCVエンベロープ糖タンパク質に結合することを示し、これにより前記化合物が前記細胞のHCV感染を阻害することができるものであることを決定する方法を提供する。 20

【0076】

本発明は、化合物が細胞のHCV感染を阻害することができるかどうかを決定する方法であって：

a) 固体担体にDC-SIGNタンパク質を固定することと；
b) 十分に検出可能なHCVエンベロープ糖タンパク質と前記固定されたDC-SIGNタンパク質を、前記HCVエンベロープ糖タンパク質に対する前記固定されたDC-SIGNタンパク質の結合を可能にする条件下で接触させて、前記固定されたDC-SIGNタンパク質における前記HCVエンベロープ糖タンパク質のための全ての結合部位を飽和させて、複合体を形成させることと； 30
c) 未結合のHCVエンベロープ糖タンパク質を除去することと；
d) 前記化合物と前記複合体を接触させることと；
e) いずれかのHCVエンベロープ糖タンパク質が前記複合体から置換されるかどうかを決定することとを含み、ここで前記複合体からのHCVエンベロープ糖タンパク質の置換は、化合物がDC-SIGNタンパク質に結合することを示し、これにより前記化合物が細胞のHCV感染を阻害することができるものであることを決定する方法を提供する。

【0077】

本発明は、化合物が細胞のHCV感染を阻害することができるかどうかを決定する方法であって：

a) 固体担体にDC-SIGNRタンパク質を固定することと； 40
b) 十分に検出可能なHCVエンベロープ糖タンパク質と前記固定されたDC-SIGNRタンパク質を、前記HCVエンベロープ糖タンパク質に対する前記固定されたDC-SIGNRタンパク質の結合を可能にする条件下で接触させて、前記固定されたDC-SIGNRタンパク質における前記HCVエンベロープ糖タンパク質のための全ての結合部位を飽和させて、複合体を形成させることと；
c) 未結合のHCVエンベロープ糖タンパク質を除去することと；
d) 前記化合物と前記複合体を接触させることと；
e) いずれかのHCVエンベロープ糖タンパク質が前記複合体から置換されるかどうかを決定することとを含み、ここで前記複合体からのHCVエンベロープ糖タンパク質の置換は、化合物がDC-SIGNRタンパク質に結合することを示し、これにより前記化合物が細胞のHCV 50

感染を阻害することができるものであることを決定する方法を提供する。

【0078】

本発明は、化合物が細胞のHCV感染を阻害することができるかどうかを決定する方法であって：

(a)十分に検出可能なDC-SIGNタンパク質とHCVエンベロープ糖タンパク質を、前記HCVエンベロープ糖タンパク質に対する前記DC-SIGNタンパク質の結合を可能にする条件下で接触させて、前記HCVエンベロープ糖タンパク質における前記DC-SIGNタンパク質のための全ての結合部位を飽和させて、複合体を形成させることと；

(b)未結合のDC-SIGNタンパク質を除去することと；

(c)前記複合体におけるHCVエンベロープ糖タンパク質に結合したDC-SIGNタンパク質の量を測定することと； 10

(d)前記化合物と前記複合体を接触させて、前記複合体からDC-SIGNタンパク質を置換することと；

(e)前記化合物の存在下において前記化合物に結合するDC-SIGNタンパク質の量を測定することと；および、

(f)工程(c)で測定した量と工程(e)におけるHCVエンベロープ糖タンパク質に結合したDC-SIGNタンパク質の量を比較することとを含み、ここで工程(e)において測定した量の減少は、前記化合物がHCVエンベロープ糖タンパク質に結合することを示し、これにより前記化合物が細胞のHCV感染を阻害することができるものであると同定する方法を提供する。 20

【0079】

本発明は、化合物が細胞のHCV感染を阻害することができるかどうかを決定する方法であって：

(a)十分に検出可能なDC-SIGNRタンパク質とHCVエンベロープ糖タンパク質を、前記HCVエンベロープ糖タンパク質に対する前記DC-SIGNRタンパク質の結合を可能にする条件下で接触させて、前記HCVエンベロープ糖タンパク質における前記DC-SIGNRタンパク質のための全ての結合部位を飽和させて、複合体を形成させることと；

(b)未結合のDC-SIGNRタンパク質を除去することと；

(c)前記複合体におけるHCVエンベロープ糖タンパク質に結合したDC-SIGNRタンパク質の量を測定することと； 30

(d)前記化合物と前記複合体を接触させて、前記複合体からDC-SIGNRタンパク質を置換することと；

(e)前記化合物の存在下において前記化合物に結合するDC-SIGNRタンパク質の量を測定することと；および、

(f)工程(c)で測定した量と工程(e)におけるHCVエンベロープ糖タンパク質に結合したDC-SIGNRタンパク質の量を比較することとを含み、ここで工程(e)において測定した量の減少は、前記化合物がHCVエンベロープ糖タンパク質に結合することを示し、これにより前記化合物が細胞のHCV感染を阻害することができるものであると同定する方法を提供する。 40

【0080】

本発明は、化合物が細胞のHCV感染を阻害することができるかどうかを決定する方法であって：

(a)固体担体にHCVエンベロープ糖タンパク質を固定することと；

(b)前記化合物および検出可能なDC-SIGNタンパク質と固定されたHCVエンベロープ糖タンパク質を、前記化合物の非存在下で前記固定されたHCVエンベロープ糖タンパク質に対するDC-SIGNタンパク質の結合を可能にする条件下で接触させて、複合体を形成させることと；

(c)未結合のDC-SIGNタンパク質を除去することと；

(d)前記化合物の非存在下における前記固定されたHCVエンベロープ糖タンパク質に結合する検出可能なDC-SIGNタンパク質の量と、前記化合物の存在下における前記複合体に 50

おける固定されたHCVエンベロープ糖タンパク質に結合する検出可能なDC-SIGNタンパク質の量を比較することと；

(e) ここで、前記化合物の存在下において測定されるDC-SIGNタンパク質の量の減少は、前記化合物がHCVエンベロープ糖タンパク質またはDC-SIGNタンパク質に結合することを示し、これにより前記化合物が細胞のHCV感染を阻害することができるものであることを決定する方法を提供する。

【0081】

本明細書に記載された方法の1つの態様において、検出可能DC-SIGNの量がHCVエンベロープ糖タンパク質におけるDC-SIGNタンパク質のための全ての結合部位を飽和させるために十分である。

10

【0082】

本発明は、化合物が細胞のHCV感染を阻害することができるかどうかを決定する方法であって：

(a) 固体担体にHCVエンベロープ糖タンパク質を固定することと；

(b) 前記化合物および検出可能なDC-SIGNRタンパク質と固定されたHCVエンベロープ糖タンパク質を、前記化合物の非存在下で前記固定されたHCVエンベロープ糖タンパク質に対するDC-SIGNRタンパク質の結合を可能にする条件下で接触させて、複合体を形成させることと；

(c) 未結合のDC-SIGNRタンパク質を除去することと；

(d) 前記化合物の非存在下における前記固定されたHCVエンベロープ糖タンパク質に結合する検出可能なDC-SIGNRタンパク質の量と、前記化合物の存在下における前記複合体における固定されたHCVエンベロープ糖タンパク質に結合する検出可能なDC-SIGNRタンパク質の量を比較することと；

20

(e) ここで、前記化合物の存在下において測定されるDC-SIGNRタンパク質の量の減少は、前記化合物がHCVエンベロープ糖タンパク質またはDC-SIGNRタンパク質に結合することを示し、これにより前記化合物が細胞のHCV感染を阻害することができるものであることを決定する方法を提供する。

【0083】

本明細書に記載された方法の1つの態様において、検出可能DC-SIGNRの量がHCVエンベロープ糖タンパク質におけるDC-SIGNRタンパク質のための全ての結合部位を飽和させるために十分である。

30

【0084】

本発明は、化合物が細胞のHCV感染を阻害することができるかどうかを決定する方法であって：

(a) 固体担体にDC-SIGNタンパク質を固定することと；

(b) 前記化合物および検出可能なHCVエンベロープ糖タンパク質と固定されたDC-SIGNタンパク質を、前記化合物の非存在下において前記HCVエンベロープ糖タンパク質に対する前記固定されたDC-SIGNタンパク質の結合を可能にする条件下で接触させて、複合体を形成させることと；

(c) 未結合のHCVエンベロープ糖タンパク質を除去することと；

40

(d) 前記化合物の非存在下において固定されたDC-SIGNタンパク質に結合する検出可能なHCVエンベロープ糖タンパク質の量と、前記化合物の存在下において前記複合体における前記固定されたDC-SIGNタンパク質に結合する検出可能なHCVエンベロープ糖タンパク質の量を比較することと；

(e) ここで、前記化合物の存在下において測定されるHCVエンベロープ糖タンパク質の量の減少は、前記化合物がHCVエンベロープ糖タンパク質またはDC-SIGNタンパク質に結合することを示し、これにより前記化合物が細胞のHCV感染を阻害することができるものであることを決定する方法を提供する。

【0085】

本明細書に記載された方法の1つの態様において、検出可能なHCVエンベロープ糖タンパ

50

ク質の量がDC-SIGNタンパク質におけるHCVエンベロープ糖タンパク質のための全ての結合部位を飽和させるために十分である。

【0086】

本発明は、化合物が細胞のHCV感染を阻害することができるかどうかを決定する方法であって：

(a) 固体担体にDC-SIGNRタンパク質を固定することと；

(b) 前記化合物および検出可能なHCVエンベロープ糖タンパク質と固定されたDC-SIGNRタンパク質を、前記化合物の非存在下において前記HCVエンベロープ糖タンパク質に対する前記固定されたDC-SIGNRタンパク質の結合を可能にする条件下で接触させて、複合体を形成させることと；

(c) 未結合のHCVエンベロープ糖タンパク質を除去することと；

(d) 前記化合物の非存在下において固定されたDC-SIGNRタンパク質に結合する検出可能なHCVエンベロープ糖タンパク質の量と、前記化合物の存在下において前記複合体における前記固定されたDC-SIGNRタンパク質に結合する検出可能なHCVエンベロープ糖タンパク質の量を比較することと；

(e) ここで、前記化合物の存在下において測定されるHCVエンベロープ糖タンパク質の量の減少は、前記化合物がHCVエンベロープ糖タンパク質またはDC-SIGNRタンパク質に結合することを示し、これにより前記化合物が細胞のHCV感染を阻害することができるものであることを決定する方法を提供する。

【0087】

本明細書に記載された方法の1つの態様において、検出可能なHCVエンベロープ糖タンパク質の量がDC-SIGNRタンパク質におけるHCVエンベロープ糖タンパク質のための全ての結合部位を飽和させるために十分である。

【0088】

本発明は、化合物が細胞のHCV感染を阻害することができるかどうかを決定する方法であって：

(a) 前記化合物および検出可能なDC-SIGNタンパク質とHCVエンベロープ糖タンパク質を、前記化合物の非存在下においてHCVエンベロープ糖タンパク質に対するDC-SIGNタンパク質の結合を可能にする条件下で接触させて、複合体を形成させることと；

(b) 未結合のDC-SIGNタンパク質を除去することと；

(c) 前記化合物の非存在下において前記化合物に結合する検出可能なDC-SIGNタンパク質の量と、前記化合物の存在下において複合体におけるHCVエンベロープ糖タンパク質に対して結合する検出可能なDC-SIGNタンパク質の量を比較することと；

を含み、

前記化合物の存在下において測定されるDC-SIGNタンパク質の量の減少は、前記化合物がHCVエンベロープ糖タンパク質またはDC-SIGNタンパク質に結合することを示し、これにより前記化合物が細胞のHCV感染を阻害することができるものであることを決定する方法を提供する。

【0089】

本明細書に記載された方法の1つの態様において、検出可能なDC-SIGNタンパク質の量がHCVエンベロープ糖タンパク質におけるDC-SIGNタンパク質のための全ての結合部位を飽和させるために十分である。

【0090】

本発明は、化合物が細胞のHCV感染を阻害することができるかどうかを決定する方法であって：

(a) 前記化合物および検出可能なDC-SIGNRタンパク質とHCVエンベロープ糖タンパク質を、前記化合物の非存在下においてHCVエンベロープ糖タンパク質に対するDC-SIGNRタンパク質の結合を可能にする条件下で接触させて、複合体を形成させることと；

(b) 未結合のDC-SIGNRタンパク質を除去することと；

(c) 前記化合物の非存在下において前記化合物に結合する検出可能なDC-SIGNRタンパ

10

20

30

40

50

ク質の量と、前記化合物の存在下において複合体におけるHCVエンベロープ糖タンパク質に対して結合する検出可能なDC-SIGNRタンパク質の量を比較することと；

を含み、

前記化合物の存在下において測定されるDC-SIGNRタンパク質の量の減少は、前記化合物がHCVエンベロープ糖タンパク質またはDC-SIGNRタンパク質に結合することを示し、これにより前記化合物が細胞のHCV感染を阻害することができるものであることを決定する方法を提供する。

【0091】

本明細書に記載された方法の1つの態様において、検出可能なDC-SIGNRタンパク質の量がHCVエンベロープ糖タンパク質におけるDC-SIGNRタンパク質のための全ての結合部位を飽和させるために十分である。

10

【0092】

本明細書に記載された方法において、実体は、これが検出可能なマーカーでラベルされていることによって検出可能となってもよい。たとえば、本明細書に記載された方法の1つの態様において、検出可能なDC-SIGNタンパク質は、検出可能なマーカーでラベルされている。本明細書に記載された方法の1つの態様において、検出可能なDC-SIGNRタンパク質は、検出可能なマーカーでラベルされている。本明細書に記載された方法の1つの態様において、検出可能なHCVエンベロープ糖タンパク質は、検出可能なマーカーでラベルされている。当業者であれば、様々な形態の検出可能なマーカーを知っているであろう。このような検出可能なマーカーは、放射性の、比色性の、発光性の、および蛍光性のマーカーを含むが、これらに限定されない。

20

【0093】

本発明は、DC-SIGNに対するHCVの結合を阻害する薬剤を同定する方法であって：

(a) HCVエンベロープ糖タンパク質の一方または両方を固体担体に固定することと；

(b) 工程(a)からの結果を薬剤と接触させることと；

(c) 工程(c)からの結果を、化合物の非存在下において検出可能なDC-SIGNタンパク質の結合を可能にする条件下で、検出可能な形態のDC-SIGNタンパク質と接触させることと；

(d) 結合された検出可能なDC-SIGNタンパク質の量を検出することと；

を含み、

30

検出可能なDC-SIGNタンパク質の結合される量の減少を薬剤の非存在下で結合される量と比較して、これによりDC-SIGNに対するHCVの結合を阻害するものとして薬剤を同定する方法を提供する。

【0094】

本発明は、DC-SIGNRに対するHCVの結合を阻害する薬剤を同定する方法であって：

(a) HCVエンベロープ糖タンパク質の一方または両方を固体担体に固定することと；

(b) 工程(a)からの結果を薬剤と接触させることと；

(c) 工程(c)からの結果を、化合物の非存在下において検出可能なDC-SIGNRタンパク質の結合を可能にする条件下で、検出可能な形態のDC-SIGNRタンパク質と接触させることと；

40

(d) 結合された検出可能なDC-SIGNRタンパク質の量を検出することと；

を含み、

検出可能なDC-SIGNRタンパク質の結合される量の減少を薬剤の非存在下で結合される量と比較して、これによりDC-SIGNRに対するHCVの結合を阻害するものとして薬剤を同定する方法を提供する。

【0095】

本発明は、DC-SIGNに対するHCVの結合を阻害する薬剤を同定する方法であって：

(a) DC-SIGNタンパク質を固体担体に固定することと；

(b) 工程(a)からの結果を薬剤と接触させることと；

(c) 工程(b)からの結果を、化合物の非存在下で検出可能なHCVエンベロープ糖タン

50

パク質の結合を可能にする条件下で、一つまたは複数のHCVエンベロープ糖タンパク質の検出可能な形態と接触させることと；

(d) 結合した検出可能なHCVエンベロープ糖タンパク質の量を検出することと；

を含み、結合した検出可能なHCVエンベロープ糖タンパク質の量の減少を、薬剤の非存在下において結合した量と比較し、これによりDC-SIGNに対するHCVの結合を阻害するものとして薬剤を同定する方法を提供する。

【0096】

本発明は、DC-SIGNRに対するHCVの結合を阻害する薬剤を同定する方法であって；

(a) DC-SIGNRタンパク質を固体担体に固定することと；

(b) 工程(a)からの結果を薬剤と接触させることと；

(c) 工程(b)からの結果を、化合物の非存在下で検出可能なHCVエンベロープ糖タンパク質の結合を可能にする条件下で、一つまたは複数のHCVエンベロープ糖タンパク質の検出可能な形態と接触させることと；

(d) 結合した検出可能なHCVエンベロープ糖タンパク質の量を検出することと；

を含み、結合した検出可能なHCVエンベロープ糖タンパク質の量の減少を、薬剤の非存在下において結合した量と比較し、これによりDC-SIGNRに対するHCVの結合を阻害するものとして薬剤を同定する方法を提供する。

【0097】

本明細書に記載された方法の1つの態様において、固体担体は、マイクロタイタープレートウェルである。もう1つの態様において、固体担体は、ビーズである。さらなる態様において、固体担体は、表面プラスモン共振センサーチップである。表面プラスモン共振センサーチップは、予め固定化されたストレプトアビジンを有することもできる。1つの態様において、表面プラスモン共振センサーチップは、BIAcore (TM) チップである。

【0098】

上記の方法の1つの態様において、検出可能な分子は、検出可能なマーカーでラベルされている。上記の方法のもう1つの態様において、検出可能分子は、これを、検出可能な分子を結合することができ、かつ検出可能であるもう一つの化合物と接触させることによって検出される。検出可能マーカーは、上記したものを含む。

【0099】

本明細書において使用されるものとして、「薬剤」および「化合物」の用語は、タンパク質および非タンパク部分を含む。1つの態様において、薬剤/化合物は、小分子である。もう1つの態様において、薬剤/化合物は、タンパク質である。タンパク質は、例として、HCVエンベロープ糖タンパク質の一部に向けられた抗体であってもよい。薬剤/化合物は、低分子量化合物ライブラリーまたは植物またはその他の生物からの抽出物ライブラリーに由来してもよい。ある態様において、薬剤は、既知である。別々の態様において、薬剤/化合物は、以前に既知でない。本発明の薬剤/化合物は、ペプチド、ポリペプチド、およびその他の有機もしくは無機の分子およびその組み合わせなどの化合物または分子の実体を含むが、これらに限定されない。

【0100】

本発明の化合物は、HCV感染に感受性の細胞のHCV感染を阻害する。本発明の好ましい化合物は、HCVによる感染を防止または阻害に対して特異性を有し、感染のためにDC-SIGNまたはDC-SIGNRを利用するHIVなどのその他のウイルスによる感染を阻害しない。さらに、本発明の好ましい化合物は、免疫グロブリンスーパーファミリーのメンバーを妨害または阻害せず、特に、本化合物は、ICAM-2もしくはICAM-3に対し、またはICAM-2様もしくはICAM-3様分子に対し妨害する。

【0101】

本明細書において使用されるものとして、「薬剤」および「化合物」の用語は、交換して使用されてもよい。本明細書に記載された方法の1つの態様において、薬剤は、抗体または抗体の一部である。抗体の1つの態様において、抗体は、モノクローナル抗体である。抗体の1つの態様において、抗体は、ポリクローナル抗体である。抗体の1つの態様にお

10

20

30

40

50

いて、抗体は、ヒト化された抗体である。抗体の1つの態様において、抗体は、キメラ抗体である。抗体の部分は、抗体の軽鎖を含んでいてもよい。抗体の部分は、抗体の重鎖を含んでいてもよい。抗体の部分は、抗体のFab部分を含んでいてもよい。抗体の部分は、抗体のF(ab')₂部分を含んでいてもよい。抗体の部分は、抗体のFd部分を含んでいてもよい。抗体の部分は、抗体のFv部分を含んでもよい。抗体の部分は、抗体の可変ドメインを含んでいてもよい。抗体の部分は、抗体の1つまたは複数のCDRドメインを含んでいてもよい。

【0102】

本明細書に記載された方法の1つの態様において、薬剤は、ポリペプチドである。本明細書に記載された方法の1つの態様において、薬剤は、オリゴペプチドである。本明細書に記載された方法の1つの態様において、薬剤は、非ペプチド性薬剤である。1つの態様において、非ペプチド性薬剤は、500ダルトン未満の分子量を有する化合物である。

10

【0103】

本発明は、組成物を得る方法であって：

(a) 本明細書に記載の方法に従って、細胞のHCV感染を阻害する化合物を同定することと；

(b) かかる同定された前記化合物またはその相同体もしくは誘導体をキャリアと混合して、これにより組成物を得ることと、
を含む方法を提供する。

【0104】

20

本発明は、組成物を得る方法であって：

(a) 本明細書に記載の方法に従って、DC-SIGNに対するHCVの結合を阻害する化合物を同定することと；および、

(b) かかる同定された前記化合物またはその相同体もしくは誘導体をキャリアと混合することと、
を含む方法を提供する。

【0105】

本発明は、組成物を得る方法であって：

(a) 本明細書に記載の方法に従って、DC-SIGNRに対するHCVの結合を阻害する化合物を同定することと；および、

(b) かかる同定された前記化合物またはその相同体もしくは誘導体をキャリアと混合することと、
を含む方法を提供する。

30

【0106】

これらの組成物を得る方法の1つの態様において、本方法は、同定された化合物を、これをキャリアと混合する前に回収することを更に含む。

【0107】

本発明は、被験者における肝疾患を治療または予防する方法であって、前記被験者の細胞に表面に存在するDC-SIGNタンパク質に対するHCVエンベロープ糖タンパク質の結合を阻害することができる化合物の有効な量を前記被験者に投与することを含み、これにより被験者の肝疾患を治療または予防する方法を提供する。本発明は、被験者における肝疾患を治療または予防する方法であって、前記被験者の細胞に表面に存在するDC-SIGNRタンパク質に対するHCVエンベロープ糖タンパク質の結合を阻害することができる化合物の有効な量を前記被験者に投与することを含み、これにより被験者の肝疾患を治療または予防する方法を提供する。本明細書に記載された方法の1つの態様において、肝疾患は、肝炎である。本明細書に記載された方法の1つの態様において、肝疾患は、肝硬変である。

40

【0108】

本発明は、被験者における肝細胞癌を治療または予防する方法であって、前記被験者の細胞の表面に存在するDC-SIGNタンパク質に対するHCVエンベロープ糖タンパク質の結合を阻害することでことができる化合物の有効な量を前記被験者に投与することを含み、これ

50

により肝細胞癌を治療または予防する方法を提供する。本発明は、被験者における肝細胞癌を治療または予防する方法であって、前記被験者の細胞の表面に存在するDC-SIGNRタンパク質に対するHCVエンベローブ糖タンパク質の結合を阻害することによってことができる化合物の有効な量を前記被験者に投与することを含み、これにより肝細胞癌を治療または予防する方法を提供する。

【0109】

本発明は、被験者のHCV感染を診断する方法であって：

- (a) 固体担体にDC-SIGNタンパク質を固定することと；
 - (b) 十分なHCVエンベローブ糖タンパク質と前記固定されたDC-SIGNタンパク質を接触させて、前記固定されたDC-SIGNタンパク質におけるHCVエンベローブ糖タンパク質のための結合部位の全ての部分を飽和させ、複合体を形成させることと； 10
 - (c) 未結合のHCVエンベローブ糖タンパク質を除去することと；
 - (d) 前記被験者から得た適切な試料と前記複合体を接触させることと；および、
 - (e) いずれかのHCVエンベローブ糖タンパク質が、複合体から置換されたかどうかを検出することと、
- を含み、複合体からのHCVエンベローブ糖タンパク質の置換は、試料における抗HCV抗体の存在を示し、これにより、被験者のHCV感染を診断する方法を提供する。

【0110】

本発明は、被験者のHCV感染を診断する方法であって：

- (a) 固体担体にDC-SIGNRタンパク質を固定することと； 20
 - (b) 十分なHCVエンベローブ糖タンパク質と前記固定されたDC-SIGNRタンパク質を接触させて、前記固定されたDC-SIGNRタンパク質におけるHCVエンベローブ糖タンパク質のための結合部位の全ての部分を飽和させ、複合体を形成させることと；
 - (c) 未結合のHCVエンベローブ糖タンパク質を除去することと；
 - (d) 前記被験者から得た適切な試料と前記複合体を接触させることと；および、
 - (e) いずれかのHCVエンベローブ糖タンパク質が、複合体から置換されたかどうかを検出することと、
- を含み、複合体からのHCVエンベローブ糖タンパク質の置換は、試料における抗HCV抗体の存在を示し、これにより、被験者のHCV感染を診断する方法を提供する。

【0111】

本発明は、被験者のHCV感染を診断する方法であって：

- (a) DC-SIGNタンパク質のHCVエンベローブ糖タンパク質のための全ての結合部位を飽和させるために十分な検出可能なHCVエンベローブ糖タンパク質とDC-SIGNタンパク質を、複合体を形成させるために接触させることと；
 - (b) 未結合のHCVエンベローブ糖タンパク質を除去することと；
 - (c) 前記被験者から得た適切な試料と前記複合体を接触させることと；および、
 - (d) いずれかのHCVエンベローブ糖タンパク質が、複合体から置換されたかどうかを検出することと、
- を含み、複合体からのHCVエンベローブ糖タンパク質の置換は、試料における抗HCV抗体の存在を示し、これにより、被験者のHCV感染を診断する方法を提供する。 40

【0112】

本発明は、被験者のHCV感染を診断する方法であって：

- (a) DC-SIGNRタンパク質のHCVエンベローブ糖タンパク質のための全ての結合部位を飽和させるために十分な検出可能なHCVエンベローブ糖タンパク質とDC-SIGNRタンパク質を、複合体を形成させるために接触させることと；
 - (b) 未結合のHCVエンベローブ糖タンパク質を除去することと；
 - (c) 前記被験者から得た適切な試料と前記複合体を接触させることと；および、
 - (d) いずれかのHCVエンベローブ糖タンパク質が、複合体から置換されたかどうかを検出することと、
- を含み、複合体からのHCVエンベローブ糖タンパク質の置換は、試料における抗HCV抗体の 50

存在を示し、これにより、被験者のHCV感染を診断する方法を提供する。

【0113】

DC-SIGNタンパク質、DC-SIGNRタンパク質、またはその機能的な均等物がHCVに結合するための能力により、たとえばELISA（酵素結合免疫吸着検定法）におけるHCV感染のための診断としてタンパク質を使用することができる。1つの態様において、DC-SIGNタンパク質および/またはDC-SIGNRタンパク質の可溶性の形態は、HCVに対する血清抗体を検出するために使用することができる。好ましい態様において、DC-SIGNタンパク質および/またはDC-SIGNRタンパク質、またはその機能的均等物は、固体担体に固定され、HCVエンベロープ糖タンパク質（これは、E1 HCVエンベロープ糖タンパク質、E2 HCVエンベロープ糖タンパク質、または両方であってもよい）と接触される。接触は、血清もしくは血清抗体の存在下または非存在下において起こってもよい。この形態のアッセイ法では、その固定されたタンパク質に対する結合における抗体とHCV糖タンパク質との間の競合的結合により、結合したHCVタンパク質が血清試料中の抗体を最も特異的に測定する。次いで、結合したHCV糖タンパク質の量を検出する。HCV糖タンパク質は、検出を容易にするために、放射性の、酵素の、ビオチンの、蛍光性の、またはその他の検出可能なマーカーでラベルされてもよい。

10

【0114】

本発明は、サンドイッチアッセイ法および競合アッセイ法を含む（しかし、これらに限定されない）当業者に既知の方法を使用する、被験者におけるHCV感染を診断する方法を提供する。たとえば、サンドイッチアッセイ法の1つの態様は、以下の通りである：

20

（1）DC-SIGNおよび/またはDC-SIGNRタンパク質の適切な試料を得る；

（2）複合体を形成させるために、HCVエンベロープ糖タンパク質とDC-SIGNおよび/またはDC-SIGNRタンパク質を接触させる；

（3）被験者から適切な試料を得て、HCVエンベロープ糖タンパク質と被験者の試料に存在するいずれかの抗HCVエンベロープ糖タンパク質抗体との間での複合体の形成を可能にする条件下で、試料とHCVエンベロープ糖タンパク質を接触させる；

（4）結合したいずれかの抗HCVエンベロープ糖タンパク質抗体に結合するであろう検出可能な抗ヒトIgG抗体と、結合した抗HCVエンベロープ糖タンパク質抗体を接触させること；

（5）抗ヒトIgG抗体を検出し、このような抗体の存在が、被験者がHCVに感染していることを示す。

30

【0115】

たとえば、競合アッセイ法の1つの態様は、以下の通りである：

（1）DC-SIGNおよび/またはDC-SIGNRタンパク質の適切な試料を得ること；

（2）複合体を形成させるために、HCVエンベロープ糖タンパク質とDC-SIGNおよび/またはDC-SIGNRタンパク質を接触させてること；

（3）被験者からの試料とHCVエンベロープ糖タンパク質を、試料に存在するいずれかの抗HCV抗体とHCVエンベロープ糖タンパク質との間の結合を可能にする条件下で接触させること；

（4）また、検出可能な抗HCVエンベロープ糖タンパク質抗体とHCVエンベロープ糖タンパク質を、検出可能な抗HCVエンベロープ糖タンパク質抗体とHCVエンベロープ糖タンパク質との間の結合を可能にする条件下で接触させること；

40

（5）結合した検出可能な抗HCVエンベロープ糖タンパク質抗体の量を決定し、被験者からのいずれの試料の非存在下において結合する量と比較し、試料の非存在下で測定した量の増大は、被験者がHCVに感染していることを示す。

【0116】

本明細書に記載された方法およびアッセイ法の1つの態様において、被験者からの試料は、血清試料である。1つの態様において、DC-SIGNおよび/またはDC-SIGNRタンパク質は、固定されている。上記の方法は、未結合のHCVエンベロープ糖タンパク質、未結合の被験者からの試料、未結合の抗HCVエンベロープ糖タンパク質抗体、未結合の検出可能な抗

50

ヒトIgG抗体を含む（しかし、これらに限定されない）未結合の化合物を洗浄するための洗浄液工程を含んでいてもよい。1つの態様において、検出可能な抗ヒトIgG抗体は、検出可能なマーカーでラベルされている。1つの態様において、検出可能な抗HCVエンベロープ抗体は、検出可能なマーカーでラベルされている。1つの態様において、検出される抗ヒトIgG抗体の量は、ベースライン測定を決定するための、HCVエンベロープ糖タンパク質の非存在下で測定される量と比較される。

【0117】

本発明は、固体担体であって、これに対して使用可能に付着されたHCVエンベロープ糖タンパク質に存在するドメインと特異的に複合体を形成することができる薬剤を有する固体担体を含む製品を提供する。

10

【0118】

固体担体は、薬剤を使用可能に付着することができる当業者に既知のどのような固体担体であってもよい。固体担体は、例として、天然または合成ポリマーを含む。合成ポリマーは、例として、ポリスチレン、ポリエチレン、およびポリプロピレンを含む。天然のポリマーは、例として、ラテックスを含む。固体担体は、たとえばビーズ、容器、およびフィルターからなる群より選択されてもよい。ビーズの形態の固体担体は、広く使用されており、当業者が容易に利用できる。ビーズは、たとえばラテックスおよびポリスチレンビーズを含む。

【0119】

容器は、その中に体液が貯蔵され、またはこのような液が接触するどのような容器であることもできる。たとえば、容器は、バッグまたは管の形態であってもよい。好ましい態様において、容器は、血液または血液成分の収集および/または貯蔵のために特に企図されたバッグである。

20

【0120】

フィルター形態の固体担体は、広く使用されており、当業者が容易に利用できる。フィルターは、たとえばポリエステルフィルタ（たとえば、ポリエステル白血球フィルター装置（polyester leukofiltration devices）および酢酸セルロースフィルターを含む。

【0121】

固体担体に付着される薬剤は、タンパク質または非タンパク質薬剤である。1つの態様において、薬剤は、DC-SIGNおよび/またはDC-SIGNRである。1つの態様において、薬剤は、抗体または部分である。このような抗体は、HCVエンベロープ糖タンパク質に結合ができるものであってもよい。

30

【0122】

本明細書において使用されるものとして、「使用可能に付着された」とは、ある意味で、付着された薬剤とHCVエンベロープ糖タンパク質に存在するドメインとの間の複合体の形成を可能にする付着を意味する。固体担体に薬剤を使用可能に付着させる方法は、当業者に周知である。

【0123】

本明細書において使用されるものとして、「HCVエンベロープ糖タンパク質に存在するドメインと特異的に複合体を形成することができる」の用語は、HCVエンベロープ糖タンパク質に存在するドメインと複合体を形成することができるが、その他のいずれのドメインとも複合体を形成することができないことを意味する。

40

【0124】

1つの態様において、HCVエンベロープ糖タンパク質に存在するドメインは、保存されたドメインである。本明細書において使用されるものとして、「保存されたドメイン」は、HCVの全ての株の少なくとも90%に存在し、かつその構造がこれらの間で不変であるエンベロープ糖タンパク質ドメインである。好ましい態様において、HCVエンベロープ糖タンパク質に存在する保存されたドメインは、HCVエンベロープ糖タンパク質のDC-SIGNおよび/またはDC-SIGNR結合ドメインである。もう1つの態様において、HCVエンベロープ糖タンパク質に存在するドメインは、保存されていないドメインである。

50

【0125】

本発明は、固体担体であって、これに対して使用可能に付着された、それぞれがHCVエンベロープ糖タンパク質に存在するドメインと特異的に複合体を形成することができる複数の薬剤を含む物品の製造をさらに提供する。

【0126】

本明細書において使用されるものとして、「複数の薬剤」は、少なくとも2つの薬剤を意味する。1つの態様において、複数の薬剤は、複数のDC-SIGNおよび/またはDC-SIGNRに基づいた分子からなる。もう1つの態様において、複数の薬剤は、複数の抗体からなる。さらなる態様において、複数の薬剤は、抗体並びにDC-SIGNおよび/またはDC-SIGNRに基づいた分子を含む。

10

【0127】

本発明は、さらに(a) HCVエンベロープ糖タンパク質に存在するドメインと特異的に複合体を形成することができ、および(b) 既知のリガンドと特異的に複合体を形成することができる部分であって、該部分は、固定された形態の既知のリガンドとの接触を経て、試料から薬剤を除去することができる部分を含む水溶性の薬剤を提供する。本明細書において使用されるものとして、「水溶性」は、少なくとも1pMの濃度で、4において水に可溶性の形態で存在することができることを意味する。

【0128】

既知のリガンドと特異的に複合体を形成できる部分の使用は、一般に、当該技術分野において「分子タギング」と呼ばれる。該部分は、たとえば小分子およびタンパク質からなる群より選択されてもよい。リガンドは、たとえば、金属イオン、小分子、ペプチド、またはタンパク質を含むが、これらに限定されない。部分/リガンド組み合わせの具体的な例としては、(a) オリゴヒスチジン/ニッケルイオン、(b) グルタチオンSトランスフェラーゼ/グルタチオン、(c) ビオチン/ストレプトアビジン、および(d) HAペプチド YPYDVPDYA / 抗-HAペプチド抗体があげられる。該部分は、たとえば化学的または遺伝的になど、当業者に既知のどのような手段によって付着されてもよい。

20

【0129】

本発明は、体液試料からHCVまたはHCVエンベロープ糖タンパク質を除去するために、体液試料を処理する方法であって、試料に存在するならば、固体担体に対して使用可能に付着された、HCVエンベロープ糖タンパク質に存在するドメインと特異的に複合体を形成することができる薬剤を有する固体担体を含む物品の製造に適した条件下で、試料を接触させることを含み、これにより試料に存在するならば、HCVまたはHCVエンベロープ糖タンパク質を除去する方法をさらに提供する。

30

【0130】

本明細書において使用されるものとして、「体液試料からHCVを除去するために、体液試料を処理する」とは、(a) DC-SIGNおよび/またはDC-SIGNRを発現するものなどの標的細胞に、体液試料が侵入することができないようにすること、(b) 体液試料から物理的にHCVを分離すること、または(c) (a) および(b) を組み合わせることを意味し、ただし、生じた試料に存在し、かつ標的細胞に侵入することができるHCVが、HCVを除去する前の試料中に存在するこのようなHCVの量の50%を上回らないことを条件とする。本明細書において使用されるものとして、標的細胞は、その表面にDC-SIGNおよび/またはDC-SIGNRを有する細胞であって、DC-SIGNおよび/またはDC-SIGNRを発現する細胞は、これと接触したHCVを特異的に結合し、融合することができるものを含む。

40

【0131】

製造対照物品と試料を接触させるための適切な条件は、薬剤とHCVとの間の複合体の形成を可能にするであろう条件である。このような条件は、当業者に既知である。

【0132】

本発明は、被験者がHCVに感染する可能性を実質的に減少させるために、体液試料を処理する方法であって、存在するのであれば、薬剤とHCVとの間の複合体を形成させるために、HCVエンベロープ糖タンパク質に存在するドメインと特異的に複合体を形成すること

50

ができると水溶性薬剤の適切な量と試料を接触させて、これにより、試料と接触した結果として、被験者がHCVに感染する可能性を減少させることを含む方法をさらに提供する。

【0133】

本発明は、体液試料におけるHCVエンベロープ糖タンパク質の量を実質的に減少させる方法であって、存在するのであれば、薬剤とHCVとの間の複合体を形成させるために、HCVエンベロープ糖タンパク質に存在するドメインと特異的に複合体を形成することができる水溶性薬剤の適切な量と試料を接触させて、これにより試料におけるHCVエンベロープ糖タンパク質の量を減少させることを含む方法を提供する。

【0134】

ある態様において、HCVに感染した個体の血液を、DC-SIGNおよび/またはDC-SIGNRに基づいたタンパク質または抗体が固定されたフィルタを通すことが考えられる。これにより、血液からHCVビリオンおよび/またはHCVエンベロープ糖タンパク質を除去することができると考えられる。血液中のHCVエンベロープ糖タンパク質の存在は、たとえばDC-SIGNおよび/またはDC-SIGNRを発現する細胞に結合させて免疫応答を阻害することにより、またはこれらの細胞のアポトーシスを惹起することによるために病原性であるのかもしれない。

【0135】

好ましい態様において、被験者は、ヒトである。本明細書において使用されるものとして、被験者がHCVに感染する可能性を実質的に減少させることは、被験者がHCVに感染する可能性を少なくとも2分の1まで減少させることを意味する。たとえば、被験者が1%のHCVに感染する機会を有する場合、被験者がHCVに感染する可能性の2分の1の減少は、被験者が0.5%のHCVに感染する機会を有することになる。1つの態様において、可能性を実質的に減少させることは、被験者がHCVに感染する可能性を少なくとも10分の1に減少させることを意味する。好ましい態様において、実質的に可能性を減少させることは、被験者がHCVに感染する可能性を少なくとも100分の1まで減少させることを意味する。

【0136】

本明細書において使用されるものとして、「被験者がHCVに感染すること」は、被験者の自身の細胞にHCVが侵入することを意味する。

【0137】

本明細書において使用されるものとして、体液試料との接触は、試料中のHCVが被験者の体に送られて、これによりHCVによる被験者の感染を引き起こすのに十分などのような接触でもある。

【0138】

被験者がHCVに感染する可能性を実質的に減少させるために適した水溶性薬剤の量は、周知の方法によって決定されてもよい。1つの態様において、水溶性薬剤の適切な量は、約1pM～約10mMの間の量である。好ましい態様において、水溶性薬剤の適切な量は、約1pM～約10μMの間の量である。

【0139】

1つの態様において、薬剤は、抗体である。もう1つの態様において、薬剤は、DC-SIGNおよび/またはDC-SIGNRに基づいた分子である。

【0140】

本発明は、試料との接触の結果として被験者がHIV-1に感染する可能性を実質的に減少させるために、体液試料を処理する方法であって、(a) HCVエンベロープ糖タンパク質に存在するドメインと特異的に複合体を形成することができる水溶性薬剤の適切な量と、試料を接触させて、これにより、試料に存在するならば、薬剤とHCVとの間の複合体を形成させる工程；および(b) 生じた試料から、このような形成されたあらゆる複合体を除去する工程を含み、これにより試料との接触の結果として被験者がHCVに感染する可能性を減少させる方法をさらに提供する。

【0141】

生じた試料からの複合体の除去は、当業者に周知の方法によって達成されてもよい。こ

のような方法は、たとえばアフィニティークロマトグラフィーを含む。対象の方法は、未結合の薬剤を、このような除去が望まれるべき試料から除去する工程をさらに含んでもよい（たとえば、薬剤により、これが投与された被験者において望ましくない効果を生じるであろうとき）。

【0142】

本発明は、試料との接触の結果として被験者がHIV-1に感染する可能性を実質的に減少させるために、体液試料を処理する方法であって、（a）（i）HCVエンベロープ糖タンパク質に存在するドメインと特異的に複合体を形成することができ、かつ（ii）既知のリガンドと特異的に複合体を形成することができる部分であって、固定された形態の既知のリガンドとの接触を介して試料から薬剤を除去することができる部分を含む水溶性薬剤の適切な量と試料を接触させ、これにより、試料に存在するならば、薬剤とHCVとの間の複合体を形成させる工程、および（b）固定された形態の既知のリガンドと生じた試料を接触させることにより、生じた試料から、このような形成されたあらゆる複合体を除去する工程を含み、これにより試料との接触の結果として被験者がHCVに感染する可能性を減少させる方法をさらに提供する。

10

【0143】

リガンドを固定する方法は、当業者に周知である。本明細書において使用されるものとして、リガンドの「固定された形態」は、遊離型のリガンドによって特異的に認識される部分と複合体を形成することができる。

【0144】

本発明は、試料との接触の結果として被験者がHIV-1に感染する可能性を実質的に減少させるために、体液試料を処理する方法であって、（a）固体担体であって、これに対して使用可能に付着されたHCVエンベロープ糖タンパク質に存在するドメインと特異的に複合体を形成することができる薬剤を有する固体担体を含む製品と試料を、適切な条件下で接触させる工程、および（b）HCVエンベロープ糖タンパク質に存在するドメインと特異的に複合体を形成することができる水溶性薬剤の適切な量と試料を接触させ、試料に存在するならば、薬剤とHCVとの間の複合体を形成させる工程を含み、工程（a）は工程（b）の前または後のいずれであってもよい方法をさらに提供する。

20

【0145】

本発明は、試料との接触の結果として被験者がHIV-1に感染する可能性を実質的に減少させるために、体液試料を処理する方法であって、（a）固体担体であって、これに対して使用可能に付着されたHCVエンベロープ糖タンパク質に存在するドメインと特異的に複合体を形成することができる薬剤を有する固体担体を含む製品と試料を、適切な条件下で接触させる工程、および（b）HCVエンベロープ糖タンパク質に存在するドメインと特異的に複合体を形成することができる水溶性薬剤の適切な量と試料を接触させ、これにより試料に存在するならば、薬剤とHCVとの間の複合体を形成させる工程、および（ii）生じた試料から、このように形成されたあらゆる複合体を除去する工程を含み、工程（a）は工程（b）の前または後のいずれであってもよい方法をさらに提供する。

30

【0146】

本発明は、試料との接触の結果として被験者がHIV-1に感染する可能性を実質的に減少させるために、体液試料を処理する方法であって、（a）固体担体であって、これに対して使用可能に付着されたHCVエンベロープ糖タンパク質に存在するドメインと特異的に複合体を形成することができる薬剤を有する固体担体を含む製品と試料を、適切な条件下で接触させる工程、および（b）（1）HCVエンベロープ糖タンパク質に存在するドメインと特異的に複合体を形成することができ、（2）既知のリガンドと特異的に複合体を形成することができる部分を含む水溶性薬剤の適切な量と試料を接触させ、これにより試料に存在するならば、薬剤とHCVとの間の複合体を形成させる工程、および固定された形態の既知のリガンドと生じた試料を接触させることにより、生じた試料から、このように形成されたあらゆる複合体を除去する工程を含み、工程（a）は工程（b）の前または後のいずれであってもよい方法をさらに提供する。

40

50

【0147】

本発明の方法は、体液試料から標的細胞を除去する工程をさらに含んでもよい。1つの態様において、標的細胞は、白血球である。体液試料から白血球を除去する方法は、当業者に周知であり、たとえば白血球濾過（leukofiltration）を含む。

【0148】

本明細書において使用されるものとして、体液は、被験者の体に存在する任意の液であり、HCVに感染した被験者のHCVを含み得る。体液は、全血またはその誘導体（たとえば、赤血球および血小板標品）、唾液、脳脊髄液、涙、腺分泌物、尿、歯槽液、滑液、精液、胸膜液、および骨髓液を含むが、これらに限定されない。好ましい態様において、体液は、被験者に投与される液である。また、好ましい態様において、体液試料は、全血、赤血球標品、血小板標品、および精液からなる群より選択される。

10

【0149】

全血などの体液試料は、臨床的なまたは貯蔵の目的のための、これに添加された外因性の物質をさらに含んでもよい。このような外因性の物質は、例として、血液凝固阻止剤（たとえばクエン酸塩）および防腐剤（たとえばデキストロース）を含む。

【0150】

1つの態様において、本発明の方法の接触させる工程は、約4で行われる。もう1つの態様において、本発明の方法の接触させる工程は、約20で行われる。さらにもう1つの態様において、本発明の方法の接触させる工程は、約37で行われる。

【0151】

また、本発明は、試料との接触の結果として、被験者がHCVに感染する可能性を実質的に減少させるための、体液試料を処理するためのキットであって、上記の製品を含むキットを提供する。

20

【0152】

本発明は、試料との接触の結果として、被験者がHCVに感染する可能性を実質的に減少させるための、体液試料を処理するためのキットであって、別々の区画に：（a）固体担体であって、これに対して使用可能に付着されたHCVエンベロープ糖タンパク質に存在するドメインと特異的に複合体を形成することができる薬剤を有する固体担体を含む製品、および（b）HCVエンベロープ糖タンパク質に存在するドメインと特異的に複合体を形成することができる水溶性薬剤を含むキットを提供する。

30

【0153】

本発明は、試料との接触の結果として、被験者がHCVに感染する可能性を実質的に減少させるための、体液試料を処理するためのキットであって、別々の区画に：（a）固体担体であって、これに対して使用可能に付着されたHCVエンベロープ糖タンパク質に存在するドメインと特異的に複合体を形成することができる薬剤を有する固体担体を含む製品、（b）（1）HCVエンベロープ糖タンパク質に存在するドメインと特異的に複合体を形成することができる、かつ（2）既知のリガンドと特異的に複合体を形成することができる部分であって、固定された形態の既知のリガンドとの接触を介して試料から薬剤を除去することができる部分を含む水溶性薬剤、および（c）固体担体であって、これに対して使用可能に付着された工程（b）の水溶性薬剤の部分と特異的に複合体を形成することができる既知のリガンドを有する固体担体を含む製品を含むキットをさらに提供する。

40

【0154】

本発明は、試料との接触の結果として、被験者がHCVに感染する可能性を実質的に減少させるための、体液試料を処理するためのキットであって、別々の区画に：（a）（i）HCVエンベロープ糖タンパク質に存在するドメインと特異的に複合体を形成することができる、かつ（2）既知のリガンドと特異的に複合体を形成することができる部分であって、固定された形態の既知のリガンドとの接触を介して試料から薬剤を除去することができる部分を含む水溶性薬剤、および（b）固体担体であって、これに対して使用可能に付着された前記水溶性薬剤の部分と特異的に複合体を形成することができる既知のリガンドを有する固体担体を含む製品を含むキットを提供する。

50

【0155】

また、本発明は、体液試料に存在するHCVまたはHCVのエンベロープ糖タンパク質の量を減少させるためのキットであって、上記の製品を含むキットを提供する。ある態様において、体液は、血液である。

【0156】

本発明のキットは、適切な緩衝液をさらに含んでもよい。

【0157】

以下の実施例の理解を容易にするために、確実な頻繁に行われる方法および／または用語が、Sambrookらに記載されている。

【0158】

HCVビリオンを捕獲するための本明細書に記載された方法は、当業者に既知のどのような目的のために使用してもよい。1つの態様において、本方法は、被験者の試料の感染性を減少させるために使用される。1つの態様において、本方法は、たとえばHCV RNAなどのHCV核酸のPCRアッセイ法などにおいて、HCV検出の機会をより大きくするために、HCVビリオンを濃縮するために使用される。

【0159】

HCVエンベロープ糖タンパク質⁺細胞の試料を得ることは、当業者に周知の方法によって行われてもよい。HCVエンベロープ糖タンパク質⁺細胞は、血液またはHCVに感染した被験者のHCVエンベロープ糖タンパク質⁺細胞を含むことが知られているその他のどのような体液から得られてもよい。

【0160】

本発明は、HCVエンベロープ糖タンパク質に対するDC-SIGNタンパク質の結合を阻害し、これにより細胞のHCV感染を阻害することができる化合物または薬剤を提供する。本発明は、HCVエンベロープ糖タンパク質に対するDC-SIGNRタンパク質の結合を阻害し、これにより細胞のHCV感染を阻害することができる化合物または薬剤を提供する。

【0161】

本発明は、HCVエンベロープ糖タンパク質に対するDC-SIGNタンパク質の結合を阻害することができる抗体またはその部分であって、該抗体はDC-SIGNタンパク質の領域内に位置するエピトープに結合し、DC-SIGNタンパク質のこの領域には、HCVエンベロープ糖タンパク質が結合する抗体またはその部分を提供する。本発明は、HCVエンベロープ糖タンパク質に対するDC-SIGNRタンパク質の結合を阻害することができる抗体またはその部分であって、該抗体はDC-SIGNRタンパク質の領域内に位置するエピトープに結合し、DC-SIGNRタンパク質のこの領域には、HCVエンベロープ糖タンパク質が結合する抗体またはその部分を提供する。

【0162】

本発明は、HCVエンベロープ糖タンパク質に対するDC-SIGNタンパク質の結合を阻害することができる抗体またはその部分であって、該抗体はHCVエンベロープ糖タンパク質の領域内に位置するエピトープに結合し、HCVエンベロープ糖タンパク質のこの領域には、DC-SIGNタンパク質が結合する抗体またはその部分を提供する。本発明は、HCVエンベロープ糖タンパク質に対するDC-SIGNタンパク質の結合を阻害することができる抗体またはその部分であって、該抗体はHCVエンベロープ糖タンパク質の領域内に位置するエピトープに結合し、HCVエンベロープ糖タンパク質のこの領域には、HDC-SIGNRタンパク質が結合する抗体またはその部分を提供する。

【0163】

本明細書に記載された抗体またはその部分の1つの態様において、抗体は、モノクローナル抗体である。本明細書に記載された抗体またはその部分の1つの態様において、抗体は、ポリクローナル抗体である。本明細書に記載された抗体またはその部分の1つの態様において、抗体はヒト化された抗体である。本明細書に記載された抗体またはその部分の1つの態様において、抗体はキメラ抗体である。本明細書に記載された抗体またはその部分の1つの態様において、抗体の部分、抗体の軽鎖を含む。本明細書に記載された抗体

10

20

30

40

50

またはその部分の1つの態様において、抗体の部分は、抗体の重鎖を含む。本明細書に記載された抗体またはその部分の1つの態様において、抗体の部分は、抗体のFab部分を含む。本明細書に記載された抗体またはその部分の1つの態様において、抗体の部分は、抗体のF(ab')₂部分を含む。本明細書に記載された抗体またはその部分の1つの態様において、抗体の部分は、抗体のFd部分を含む。本明細書に記載された抗体またはその部分の1つの態様において、抗体の部分は、抗体のFv部分を含む。本明細書に記載された抗体またはその部分の1つの態様において、抗体の部分は、抗体の可変ドメインを含む。本明細書に記載された抗体またはその部分の1つの態様において、抗体の部分は、抗体の1つまたは複数のCDRドメインを含む。

【0164】

10

本明細書に記載された抗体またはその部分の1つの態様において、抗体は、E1 HCVエンペロー糖タンパク質の領域内に位置するエピトープに結合する。本明細書に記載された抗体またはその部分の1つの態様において、抗体は、E2 HCVエンペロー糖タンパク質の領域内に位置するエピトープに結合する。

【0165】

本発明は、HCVとDC-SIGNとの間の相互作用を、および/またはHCVとDC-SIGNRとの間の相互作用を遮断する能力を有する抗体または抗体の断片を包含する。抗体は、HCV、DC-SIGN、またはDC-SIGNRに対する特異性を有していてもよい。本発明のさらなる側面によれば、全てのHCV感染の治療のために、およびHCV感染の治療のための薬物の製造において使用するための上記の特異性を有する抗体が提供される。抗体は、好ましくはモノクローナル抗体である。このような抗体は、DC-SIGNR受容体を一時的に遮断してHCVからの感染を予防するために、たとえばHCV感染血液に偶発的に感染した直後に使用することができる。

20

【0166】

本明細書において使用されるものとして、「抗体」は、天然に存在する抗体および天然に存在しない抗体を含む。特に、「抗体」は、ポリクローナル抗体およびモノクローナルの抗体、並びにその一価および二価の断片を含む。さらに、「抗体」は、キメラ抗体、完全な合成抗体、単鎖抗体、およびその断片を含む。抗体は、ヒトまたは非ヒト抗体であってもよい。非ヒト抗体は、人におけるその免疫原性を減少させるために、組換え法によってヒト化されてもよい。抗体は、従来の方法によって調製される。モノクローナル抗体は、KohlerおよびMilsteinの方法を使用して作製してもよい(Nature, 256: 495, 1975)。本発明に有用なモノクローナル抗体を調製するために、マウスまたはその他の適切な宿主動物には、適切な間隔(たとえば、毎週二回、毎週、毎月二回、または毎月)で、抗原性の形態のHCV、HCVエンペロー糖タンパク質、DC-SIGN、またはDC-SIGNRを免疫する。動物には、屠殺の1週以内に最終的な抗原の「ブースト」を投与してもよい。免疫化の間、免疫性アジュバントを使用することが望ましいことが多い。適切な免疫性アジュバントは、フロインド完全アジュバント、フロインド不完全アジュバント、ミョウバン、Ribiアジュバント、ハンターのタイターマックス(Hunter's Titermax)、QS21もしくはQuilAなどのサポニンアジュバント、またはCpG含有免疫刺激性オリゴヌクレオチドを含む。その他の適切なアジュバントは、当該分野において周知である。動物には、皮下の、腹腔内の、筋肉内の、静脈内の、鼻腔内の、またはその他の経路によって免疫してもよい。所与の動物には、多くの形態の抗原を多くの経路によって免疫してもよい。

30

40

【0167】

1つの態様において、HCVは、ショ糖濃度勾配遠心法の方法を使用してHCV感染個体の血漿から精製される。あるいは、組換えHCV E1および/またはE2エンペロー糖タンパク質が、商業上に様々な供与源、たとえばオーストラルBiologicals(San Roman, CA, Cat#HCA-090-2)、Immunodiagnosics(Woburn, MA, Cat#4001)およびAccurateChemical(Westbury, MA, Cat#YVS8921)から入手可能である。組換えHCVエンペロー糖タンパク質は、組換え細胞株の表面に発現することによって提供されてもよい。DC-SIGNは、ヒト樹状細胞の形態で提供されてもよく、他方DC-SIGNRは、肝臓シヌソイド細胞として提供されてもよい。DC-SIGNおよびDC-SIGNRの組換え形態は、先に述べた方法を使用して提供されても

50

よい { Pohlmann, Soilleuxら、2001ID: 1081 }。あるいは、抗原は、関心対照の抗原性領域に対応する合成ペプチドとして提供されてもよい。

【 0 1 6 8 】

免疫化法の後、動物の脾臓、リンパ節、またはその他の器官からリンパ球を単離して、ポリエチレングリコールなどの形態に薬剤を使用して、適切な骨髓腫細胞系と融合させてハイブリドーマを形成させる。融合の後、(Goding, Monoclonal Antibodies: Principles and Practice: Production and Application of Monoclonal Antibodies in Cell Biology, Biochemistry and Immunology, 3edition, Academic Press, New York, 1996) に記載されたとおり、標準的な分析法を使用して、細胞を融合パートナー以外のハイブリドーマの増殖が可能な培地においた。

10

【 0 1 6 9 】

ハイブリドーマの培養後、細胞上澄を所望の特異性の、すなわち非常に選択的に抗原を結合する抗体の存在について解析する。適切な解析手法は、ELISA法、フローサイトメトリ法、免疫沈降法、およびウエスタンブロッティング法を含む。その他のスクリーニングする技術も、当該分野において周知である。好ましい技術は、非変性のELISA法、フローサイトメトリ法、および免疫沈降法などの、高次構造的に無処理の、天然のままの折りたたまれた抗原に対する抗体の結合を確かめるものである。

【 0 1 7 0 】

有意には、当該技術分野において周知であるように、抗体分子の小さな部分 (パラトープ) のみが、そのエピトープに抗体を結合することに関与する (一般に Clark, W. R. (1986) The Experimental Foundations of Modern Immunology Wiley & Sons, Inc., New York; Roitt, I. (1991) Essential Immunology, 7th Ed., Blackwell Scientific Publications, Oxfordを参照されたい)。pFc'およびFc領域は、たとえば補体カスケードのエフェクターであるが、抗原の結合には関与しない。抗体からpFc'領域が酵素処理で切断されたか、またはpFc'領域を伴わずに産生された抗体 (F (ab')₂断片と称する) は、無処理の抗体の抗原結合部位の両方ともを保持する。同様に、Fc領域が酵素処理で切断されたか、またはFc領域を伴わずに産生された抗体 (Fab断片と称する) は、無処理の抗体分子の抗原結合部位のうちの1つを保持する。さらに進んで、Fab断片は、共有結合で結合した抗体軽鎖およびFdと表される抗体重鎖の一部からなる。Fd断片は、抗体特異性の主要な決定因子であり (単一のFd断片は、抗体特異性を変えることなく10個までの異なる軽鎖と結合するであろう)、Fd断片は、単離の際のエピトープ結合機能を保持する。

20

30

【 0 1 7 1 】

当該技術分野において周知であるように、抗体の抗原結合部分内には、相補性を決定する領域 (CDR) が存在し、これが抗原およびフレームワーク領域 (FRs) のエピトープと、直接相互作用して、パラトープの三次元構造を維持する (一般に、Clark, 1986; Roitt, 1991を参照されたい)。IgG免疫グロブリンの重鎖Fd断片および軽鎖には、それぞれ3つの相補性を決定する領域 (CDR1からCDR3) によって切り離された4つのフレームワーク領域 (FR1からFR4) が存在する。CDR、および特にCDR3領域、さらに特に重鎖CDR3は、主に抗体特異性の原因となる。

【 0 1 7 2 】

哺乳類抗体の非CDR領域は、同種または異種特異的な抗体と置換されてもよいが、もとの抗体のエピトープ特異性を保持することが、現在当該技術分野においてよく確立されている。これは、非ヒトCDRがヒトFRおよび / またはFc/pFc'領域に共有結合で結合されて機能的な抗体が産生される「ヒト化された」抗体の開発および使用において、最も明らかにされている。

40

【 0 1 7 3 】

本発明は、ある態様において、ヒト化された形態の抗体を含む組成物および方法を提供する。本明細書において使用されるものとして、「ヒト化された」は、CDR領域外のアミノ酸の一部、ほとんど、または全てがヒト免疫グロブリン分子に由来する対応するアミノ酸で置換された抗体を記載する。ヒト化の方法は、米国特許第4,816,567号、5,225,539号

50

、5,585,089号、5,693,761号、5,693,762号、および5,859,205号に記載されたものを含むが、これらに限定されるものではなく、これらは、参照により本願明細書に援用したものとする。当業者であれば、ヒト化抗体のためのその他の方法に精通しているであろう。

【0174】

ヒト化された形態の抗体の1つの態様において、CDR領域外のアミノ酸の一部、ほとんど、または全てが、ヒト免疫グロブリン分子由来のアミノ酸と置換されているが、1つまたは複数のCDR領域内の一部、ほとんど、または全てのアミノ酸は、不変である。抗体が所与の抗原に結合する機能を抑制しない限り、アミノ酸の少しの付加、欠失、挿入、置換、または改変は許容される。適切なヒト免疫グロブリン分子は、IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA、およびIgM分子を含むであろう。「ヒト化された」抗体は、もとの抗体と同様の抗原特異性を保持する。しかし、ヒト化のある方法を使用すると、Wuら J. Mol. Biol. 294: 151, 1999によって記載されたとおりに「定方向進化 (directed evolution)」法を使用して、抗体結合のアフィニティーおよび/または特異性が増大されるかも知れない(この内容は、参照により本明細書に援用されたものとする)。

10

【0175】

ヒト免疫グロブリン重鎖および軽鎖遺伝子座の大きい部分に対するマウストラנסジェニックを免疫にすることにより、完全なヒトモノクローナル抗体を調製することもできる。たとえば、米国特許第5,591,669号、5,598,369号、5,545,806号、5,545,807号、6,150,584号、およびその中で引例された参照文献を参照されたい(この内容は、参照により本明細書に援用されたものとする)。これらの動物は、内因性の(たとえば、マウス)抗体の産生に機能欠損があるように遺伝的に改変される。動物は、これらの動物の免疫化により、関心対象の抗原に対する部分的または完全なヒト抗体を産生するように、ヒト生殖細胞系イムノグロブリン遺伝子座の全てまたは一部を含むようにさらに修飾される。これらのマウス(たとえばXenoMouse (Abgenix)、HuMAbマウス (Medarex/GenPharm))の免疫化に続いて、標準的なハイブリドーマ技術によってモノクローナル抗体を調製することができる。これらのモノクローナル抗体は、ヒト免疫グロブリンアミノ酸配列を有すると考えられ、したがって、ヒトに投与されたときに、ヒト抗マウス抗体(HAMA)の反応を引き起こさないであろう。

20

【0176】

ヒト抗体を産生するためのインビトロにおける方法も存在する。これらは、ファージ・ディスプレイ技術(米国特許第5,565,332号および5,573,905号)およびヒトB細胞のインビトロにおける刺激(米国特許第5,229,275号および5,567,610号)を含む。これらの特許の内容は、参照により本明細書に援用されたものとする。

30

【0177】

従って、当業者には明らかであると考えられるように、本発明は、 $F(ab')_2$ 、Fab、Fv、およびFd断片; Fcおよび/またはFRおよび/またはCDR1および/またはCDR2および/または軽鎖CDR3領域が、相同的なヒトまたは非ヒト配列によって置換されたキメラ抗体; FRおよび/またはCDR1および/または、CDR2および/または軽鎖CDR3領域が、相同的なヒトまたは非ヒト配列によって置換されたキメラ $F(ab')_2$ 断片抗体; FRおよび/またはCDR1および/またはCDR2および/または軽鎖CDR3領域が、相同的なヒトまたは非ヒト配列によって置換されたキメラFab断片抗体; 並びにFRおよび/またはCDR1および/またはCDR2領域が、相同的なヒトまたは非ヒト配列によって置換されたキメラFd断片抗体を提供する。また、本発明は、いわゆる単鎖抗体を含む。

40

【0178】

種々の抗体分子および断片は、IgA、分泌型IgA、IgE、IgG、およびIgMを含む一般に既知の免疫グロブリンクラスに由来してもよいが、これらに限定されない。また、IgGサブクラスは、当業者に周知であり、ヒトIgG1、IgG2、IgG3、およびIgG4を含むが、これらに限定されない。

【0179】

モノクローナル抗体は、チャイニーズハムスター卵巣またはマウス骨髓腫細胞株などの

50

ハイブリドーマまたは組換え細胞株において、哺乳類細胞の培養によって産生されてもよい。このような方法は、当業者に周知である。また、モノクローナル抗体またはその断片を産生するために、細菌、酵母、および昆虫細胞株を使用することもできる。さらに、トランスジェニック動物または植物においてモノクローナル抗体を産生するための方法が存在する (Pollock et al., J. Immunol. Methods, 231: 147, 1999; Russell, Curr.Top. Microbiol. Immunol. 240: 119, 1999)。

【0180】

本明細書に記載された薬剤の1つの態様において、薬剤は、抗体または抗体の部分である。本明細書において使用されるものとして、「抗体」は、2つの重鎖および2つの軽鎖を含み、かつ抗原を認識する免疫グロブリン分子を意味する。免疫グロブリン分子は、IgA、分泌型IgA、IgG、およびIgMを含むがこれらに限定されず、任意の一般に既知のクラスに由来してもよい。また、IgGサブクラスは、当業者に周知であり、ヒトIgG1、IgG2、IgG3、およびIgG4を含むが、これらに限定されない。例として、天然に存在する抗体および天然に存在しない抗体を含む。特に、「抗体」は、ポリクローナル抗体およびモノクローナル抗体、並びにその一価および二価の断片を含む。さらに、「抗体」は、キメラ抗体、完全な合成抗体、単鎖抗体、およびその断片を含む。任意には、抗体は、検出可能なマーカーでラベルすることもできる。検出可能なマーカーは、たとえば放射性または蛍光性のマーカーを含む。抗体は、ヒト抗体または非ヒト抗体であってもよい。非ヒト抗体は、人におけるその免疫原性を減少させるために、組換え法によってヒト化されてもよい。抗体をヒト化するため方法は、当業者に既知である。本明細書において使用されるものとして、「モノクローナル抗体」(mAbとしても示される)は、一次配列が本質的に同一であり、かつ同じ抗原特異性を示す抗体分子を記載するために使用される。モノクローナル抗体は、ハイブリドーマ、組換え、トランスジェニック、または既知のその他の技術によって当業者に産生されてもよい。「抗体」の用語は、天然に存在する抗体または天然に存在しない抗体を含むが、これらに限定されない。特に、「抗体」の用語は、ポリクローナル抗体およびモノクローナルの抗体、並びにその抗原結合性断片を含む。さらに、「抗体」の用語は、キメラ抗体、完全な合成抗体、およびその抗原結合性断片を含む。したがって、1つの態様において、抗体は、モノクローナル抗体である。1つの態様において、抗体はポリクローナル抗体である。1つの態様において、抗体はヒト化された抗体である。1つの態様において、抗体は、キメラ抗体である。このようなキメラ抗体は、1つの供与源に由来する抗体の一部およびもう一つの供与源に由来する抗体の一部を含んでいてもよい。

【0181】

1つの態様において、抗体の部分は、抗体の軽鎖を含む。本明細書において使用されるものとして、「軽鎖」は、1つの可変ドメイン(VL)および1つの定常領域(CL)から成る抗体分子またはその断片のより小さなポリペチドを意味する。1つの態様において、抗体の部分は、抗体の重鎖を含む。本明細書において使用されるものとして、「重鎖」は、1可変ドメイン(VH)および3または4つの定常領域(CH1、CH2、CH3、およびCH4)から成る抗体分子またはその断片のより大きなポリペチドを意味する。1つの態様において、抗体の部分は、抗体のFab部分を含む。本明細書において使用されるものとして、「Fab」は、1つの軽鎖および重鎖の一部からなる免疫グロブリンの一価の抗原結合断片を意味する。これは、簡単なパパイニン消化によって、または組換え方法によって得ることができる。1つの態様において、抗体の部分は、抗体のF(ab')₂部分を含む。本明細書において使用されるものとして、「F(ab')₂断片」は、両方の軽鎖および両方の重鎖の一部からなる免疫グロブリンの二価の抗原結合断片を意味する。これは、簡単なペプシン消化または組換え方法によって得ることができる。1つの態様において、抗体の部分は、抗体のFd部分を含む。1つの態様において、抗体の部分は、抗体のFv部分を含む。1つの態様において、抗体の部分は、抗体の可変ドメインを含む。1つの態様において、抗体の部分は、抗体の定常領域を含む。1つの態様において、抗体の部分は、抗体の1つまたは複数のCDRドメインを含む。本明細書において使用されるものとして、「CDR」または「相補性決定領域」は、抗体の可変ドメインにおける非常に変化しやすいアミノ酸配列を意味する。

【0182】

本発明は、本明細書に記載された抗体のヒト化された形態を提供する。本明細書において使用されるものとして、「ヒト化された」は、CDR領域外のアミノ酸の一部、ほとんど、または全てがヒト免疫グロブリン分子に由来する対応するアミノ酸と置換された抗体を記載する。抗体のヒト化された形態の1つの態様において、CDR領域外のアミノ酸の一部の、ほとんど、または全てが、ヒト免疫グロブリン分子由来のアミノ酸と置換されているが、1つまたは複数のCDR領域内の一部、ほとんど、または全てのアミノ酸は、不変である。抗体が所与の抗原に結合する機能を抑制しない限り、アミノ酸の少しの付加、欠失、挿入、置換、または改変は許容される。適切なヒト免疫グロブリン分子は、IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA、およびIgM分子を含むであろう。「ヒト化された」抗体は、もとの抗体と同様の抗原特異性を保持する。 10

【0183】

当業者であれば、本発明のヒト化された抗体を作製する方法を知っているであろう。種々の刊行物（これらのうちのいくつかは、参照により本明細書に援用されたものとする）にも、ヒト化された抗体を作る方法が記載されている。たとえば、米国特許第4,816,567号に記載された方法は、1つの抗体の可変領域およびもう一つの抗体の定常領域を有するキメラ抗体の産生を含む。

【0184】

米国特許第5,225,539号は、ヒト化された抗体の産生のためのもう一つのアプローチを記載する。この特許は、ヒト化された抗体を産生するための組換えDNA技術の使用を記載する。1つの免疫グロブリンの可変領域のCDRが、異なる特異性を有する免疫グロブリンに由来するCDRで置換され、その結果該ヒト化された抗体は、所望の標的を認識するが、有意な方法でヒト被験者の免疫系によって認識されないであろう使用を記載する。特に、CDRをフレームワークに融合させるために、部位特異的変異誘発が使用される。 20

【0185】

その他のアプローチは、ヒト化された免疫グロブリンを産生するために、米国特許第5,585,089号および5,693,761号、およびW090/07861号に記載された、抗体をヒト化するための方法を記載する。これらは、1つまたは複数のCDRおよびドナー免疫グロブリン由来の適当なさらなるアミノ酸およびヒト免疫グロブリン受容体由来のフレームワーク領域を有する。これらの特許は、所望の抗原に対する抗体の親和性を増大する方法を記載する。フレームワークにおける一部のアミノ酸は、アクセプターよりもドナーのものの部位のアミノ酸と同じであるように選択される。特に、これらの特許は、ヒト免疫グロブリンフレームワークおよび定常領域とマウスモノクローナル抗体のCDRを結合することにより、受容体に結合するヒト化された抗体の標品を記載する。ヒトフレームワーク領域は、マウス配列との相同性を最大にするように選択することができる。CDRsまたは特定の抗原と相互作用する可能性があるフレームワーク領域におけるアミノ酸を同定するために、コンピュータモデルを使用することができ、次いで、マウスアミノ酸をこれらの部位で使用して、ヒト化された抗体を作製することができる。 30

【0186】

上記の特許第5,585,089号および5,693,761号、並びにW090/07861も、ヒト化された抗体のデザインに使用され得る4つの可能性のある判定基準を提供する。第一の提案は、アクセプタのためのものであり、通常ヒト化されるドナー免疫グロブリンに相同的ではない特定のヒト免疫グロブリンに由来するフレームワークを使用するか、または多くのヒト抗体に由来するコンセンサスフレームワークを使用する。第二の提案は、ヒト免疫グロブリンのフレームワークにおけるアミノ酸が普通でなく、およびその位置のドナーアミノ酸がヒト配列に対して典型的な場合、アクセプターよりもドナーのアミノ酸が選択されてもよいということであった。第三の提案は、ヒト化された免疫グロブリン鎖の3つのCDRとすぐ隣接する位置においては、アクセプターアミノ酸よりもドナーアミノ酸が選択されてもよいということであった。第四の提案は、アミノ酸が、抗体の3次元モデルにおいて、CDRの3以内に側鎖原子を有することが予測され、かつCDRと相互作用することが予測される部 40 50

位で、フレームワーク部位に存在するドナーアミノ酸を使用することであった。上記方法は、単に当業者がヒト化された抗体を作製するため使用することができるいくつかの方法を例示するだけである。

【0187】

本発明は、本明細書に記載された薬剤および/または化合物をコードする単離された核酸を提供する。1つの態様において、核酸は、本明細書に記載された抗体またはそれらのヒト化されたバージョンをコードする。核酸は、RNA、DNA、またはcDNAであることができる。1つの態様において、核酸は、軽鎖をコードする。1つの態様において、核酸は、重鎖をコードする。1つの態様において、核酸は、重鎖および軽鎖の両方をコードする。1つの態様において、1つまたは複数の核酸は、Fab部をコードする。1つの態様において、1つまたは複数の核酸は、CDR部をコードする。1つの態様において、核酸は、可変ドメインをコードする。

10

【0188】

本発明は、本明細書に記載された核酸であって、核酸は、1つまたは複数のヌクレオチドの挿入、欠失、および/または置換によって変化されてもよく、これにより、核酸配列の変化を生じさせることができる。1つの態様において、ヌクレオチドの変化は、アミノ酸レベルでの変異を生じない。1つの態様では、ヌクレオチドの変化は、アミノ酸に変化を生じてよい。このようなアミノ酸の変化は、タンパク質の機能に影響を与えないものであることができる。

【0189】

本発明は、本明細書に記載された核酸を含むベクターを提供する。1つの態様において、ベクターは、プラスミドである。本発明は、本明細書に記載されたベクターおよび適切な宿主細胞を含む宿主ベクター系を提供する。本発明は、本明細書に記載された宿主ベクター系を、ポリペチドを産生するための適切な条件下で培養することと、このように産生されたポリペチドを回収することを含むポリペチドを産生する方法を提供する。

20

【0190】

本明細書に記載された薬剤の1つの態様において、薬剤は、ポリペチドである。本明細書に記載された薬剤の1つの態様において、薬剤は、オリゴペプチドである。本明細書において使用されるものとして、「ポリペチド」は、ペプチド結合によって連結された2つ以上のアミノ酸を意味する。

30

【0191】

本発明は、HCVエンベロープ糖タンパク質に対するDC-SIGNタンパク質の結合を阻害することができるポリペチドであって、ポリペプチドは、DC-SIGNタンパク質の細胞外ドメインの少なくとも一部における配列に対応する配列を有する連続したアミノ酸を含むみ、この部分にはHCVエンベロープ糖タンパク質が結合するポリペチドを提供する。

【0192】

1つの態様において、ポリペチドは、DC-SIGNの細胞外ドメインと一致する。ポリペチドの1つの態様において、細胞外ドメインは、配列番号：1に記載したとおりの、位置62のリジンで開始し、カルボキシ末端アミノ酸で終結する配列を有する連続したアミノ酸を含む。

40

【0193】

ポリペチドの1つの態様において、細胞外ドメインは、Cタイプレクチン結合ドメインまたはその部分である。

【0194】

ポリペチドの1つの態様において、配列番号1に記載したとおり、Cタイプレクチンドメインは、位置229のロイシンで開始し、カルボキシ末端アミノ酸で終結する配列を有する連続したアミノ酸を含む。

【0195】

本発明は、HCVエンベロープ糖タンパク質に対するDC-SIGNRタンパク質の結合を阻害することができるポリペチドであって、ポリペチドは、DC-SIGNRタンパク質の細胞外ドメイ

50

ンの少なくとも一部の配列に対応する配列を有する連続したアミノ酸を含み、該部分はHC Vエンベローブ糖タンパク質に結合するポリペプチドを提供する。ポリペプチドの1つの態様において、細胞外ドメインは、配列番号：2に記載したとおり、位置74のリジンで開始し、カルボキシ末端アミノ酸で終結する配列を有する連続したアミノ酸を含む。

【0196】

ポリペプチドの1つの態様において、配列番号2に記載したとおり、Cタイプレクチンドメインは、位置241ロイシンで開始し、カルボキシ末端アミノ酸で終結する配列を有する連続したアミノ酸を含む。

【0197】

本発明は、HCVエンベローブ糖タンパク質に対するDC-SIGNタンパク質の結合を阻害することができるポリペプチドであって、ポリペプチドは、HCVエンベローブ糖タンパク質の細胞外ドメインの少なくとも一部における配列に対応する配列を有する連続したアミノ酸を含み、該部分はDC-SIGNタンパク質に結合するポリペプチドを提供する。

10

【0198】

1つの態様において、ポリペプチドは、E1 HCVエンベローブ糖タンパク質の細胞外ドメインの少なくとも一部の配列に対応する配列を有する連続したアミノ酸を含み、該部分は、DC-SIGNタンパク質に結合する。1つの態様において、ポリペプチドは、配列番号：3に記載したとおり、位置192から位置346、またはその部分の配列を有する連続したアミノ酸を含む。

【0199】

20

1つの態様において、ポリペプチドは、E2 HCVエンベローブ糖タンパク質の細胞外ドメインの少なくとも一部の配列に対応する配列を有する連続したアミノ酸を含み、該部分はDC-SIGNタンパク質に結合する。1つの態様において、ポリペプチドは、配列番号：3に記載したとおり、位置383から位置717、またはその部分の配列を有する連続したアミノ酸を含む。

【0200】

本発明は、HCVエンベローブ糖タンパク質に対するDC-SIGNRタンパク質の結合を阻害することができるポリペプチドであって、ポリペプチドは、HCVエンベローブ糖タンパク質の細胞外ドメインの少なくとも一部の配列に対応する配列を有する連続したアミノ酸を含み、該部分はDC-SIGNRタンパク質に結合するポリペプチドを提供する。

【0201】

30

1つの態様において、ポリペプチドは、少なくともE1 HCVエンベローブ糖タンパク質の細胞外ドメインの一部の配列に対応する配列を有する連続したアミノ酸を含み、該部分はDC-SIGNRタンパク質にそれを結合する。1つの態様において、ポリペプチドは、配列番号：3に記載したとおり、位置192から位置346、またはその部分の配列を有する連続したアミノ酸を含む。

【0202】

1つの態様において、ポリペプチドは、E2 HCVエンベローブ糖タンパク質の細胞外ドメインの少なくとも一部の配列に対応する配列を有する連続したアミノ酸を含み、該部分は、DC-SIGNRタンパク質に結合する。1つの態様において、ポリペプチドは、配列番号：3に記載したとおり、位置383から位置717またはその部分の配列を有する連続したアミノ酸を含む。

40

【0203】

本明細書に記載された化合物および/または薬剤は、当業者に既知のどのような手段によっても作製されてもよい。たとえば、タンパク質は、コード核酸を含むプラスミドまたはベクターなどの核酸からの組換え発現によって作製されてもよく、このプラスミドまたはベクターは宿主細胞に適しており、すなわち関心対象のポリペプチドの産生のための宿主ベクター系であってもよい。エンハンサーおよびプロモーターなどの適切な調節配列を含む適切なベクターにより、作製されてもよい。宿主細胞は、哺乳類、細菌、および酵母細胞を含むどのようなタイプであってもよいが、これらに限定されない。適切な細菌細胞は、大腸菌細胞を含む。適切な哺乳類細胞は、ヒト胚性腎臓（HEK）293T細胞、HeLa細胞

50

、NIH3T3細胞、チャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞、およびCos細胞を含むが、これらに限定されない。

【0204】

タンパク質が組換えで産生される場合、合成核酸インサートを含むプラスミドから発現されてもよい。プラスミドのこのような挿入部位には、ポリ-ヒスチジンタグなどのタグにタンパク質を連結することもできる。このようなタグは、後のタンパク質精製を容易にする。

【0205】

ポリペプチドタンパク質、またはその機能的均等物をコードする核酸は、誘導性のプロモータの制御下でクローン化されてもよく、これによりタンパク質発現の調節が可能になる。適切な誘導性の系は、当業者に既知である。

10

【0206】

本明細書に記載されたタンパク質または機能的均等物を発現するためのベクターは、市販の供与源から選択されてもよく、または特定の発現系のために構築されてもよい。このようなベクターは、適切な調節配列（たとえばプロモーター配列、ターミネーター配列、ポリアデニル化配列、エンハンサー配列、およびマーカー遺伝子）を含んでいてもよい。ベクターは、プラスミドまたはウイルスに基づいたものであってもよい。当業者であれば、分子クローニング：実験室マニュアル（Sambrookら、1989）を調べることができるであろう。核酸を操作するため、およびタンパク質の解析のための多くの既知の技術およびプロトコルは、"Short protocols in molecular biology", second addition, Ausubel et al. (John Wiley & Sons 1992) に詳細に記載されている。

20

【0207】

組換えタンパク質の単離および精製のための方法は、当業者に既知であり、Sambrookら（1989）などの種々の供与源に記載されている。大腸菌（E.Coli）などの細菌において、組換えタンパク質は、細菌細胞内で封入体を形成し、これによりその調整を容易にしてもよい。封入体に産生される場合、キャリアタンパク質は、天然のコンホメーションに再生することを必要としてもよい。

【0208】

加えて、タンパク質またはその機能的均等物の性質を適応させるために、当業者は、1つまたは複数のヌクレオチドを付加する、置換する、削除する、または挿入することによってなど、既知のタンパク質配列から核酸レベルで変化がなされてもよいであろうことを認識する。部位特異的突然変異は、変異タンパク質を作製するために使用してもよい好ましい方法である。当業者に既知の多くの部位特異的突然変異技術が、Sambrookに記載されたものなどのPCRを使用するオリゴヌクレオチド-定方向突然変異生成、または市販のキットを使用することを含むがこれらに限定されない。

30

【0209】

適切なベクターは、プロモーター配列、ポリアデニル化配列、エンハンサー配列、マーカー遺伝子、および適切なその他の配列を含む、適切な調節配列を含むように選択され、または構築されてもよい。ベクターは、ウイルス、たとえばファージまたはファージミドおよびSambrookに記載されたものなどのプラスミドを含むが、これらに限定されない。核酸構築物の調製、突然変異生成、シーケンシング、細胞への核酸の導入及び遺伝子発現、並びにタンパク質解析などの核酸を操作する技術およびプロトコルは、たとえばShort Protocols in Molecular Biology, Second Edition, Ausubel et al. Eds, John Wiley & Sons, 1992に詳細に記載されており、参照により援用される。

40

【0210】

また、本発明は、本明細書に記載されたポリペプチドの可溶性形態を提供する。したがって、たとえば細胞表面に発現されたポリペプチドの膜貫通領域は、ポリペプチドが可溶性になるように除去されてもよい。

【0211】

本発明は、HCVエンベロープ糖タンパク質に対するDC-SIGNタンパク質の結合を阻害する

50

ことができる非ペプチド性薬剤であって、非ペプチド性薬剤は、DC-SIGNタンパク質の領域内にも位置するエピトープに結合し、該DC-SIGNタンパク質の領域は、HCVエンベロープ糖タンパク質に結合する非ペプチド性薬剤を提供する。本発明は、HCVエンベロープ糖タンパク質に対するDC-SIGNRタンパク質の結合を阻害することができる非ペプチド性薬剤であって、非ペプチド性薬剤は、DC-SIGNRタンパク質の領域内にも位置するエピトープに結合し、該DC-SIGNRタンパク質の領域は、HCVエンベロープ糖タンパク質に結合する非ペプチド性薬剤を提供する。

【0212】

本発明は、HCVエンベロープ糖タンパク質に対するDC-SIGNタンパク質の結合を阻害することができる非ペプチド性薬剤であって、非ペプチド性薬剤は、HCVエンベロープ糖タンパク質の細胞外のドメイン少なくとも一部に結合し、該部分はDC-SIGNタンパク質に結合する非ペプチド性薬剤を提供する。本発明は、HCVエンベロープ糖タンパク質に対するDC-SIGNRタンパク質の結合を阻害することができる非ペプチド性薬剤であって、非ペプチド性薬剤は、HCVエンベロープ糖タンパク質の細胞外のドメイン少なくとも一部に結合し、該部分はDC-SIGNRタンパク質に結合する非ペプチド性薬剤を提供する。

【0213】

本明細書に記載した非ペプチド性薬剤の1つの態様において、非ペプチド性薬剤は、E1 HCVエンベロープ糖タンパク質の細胞外ドメインの少なくとも一部に結合する。本明細書に記載された非ペプチド性薬剤の1つの態様において、非ペプチド性薬剤は、E2 HCVエンベロープ糖タンパク質の細胞外ドメインの少なくとも一部に結合する。

【0214】

本明細書に記載された非ペプチド性薬剤の1つの態様において、非ペプチド性薬剤は、炭水化物である。炭水化物は、当業者に既知のものであってもよく、マンノース、マンナン、およびメチル- α -D-マンノピラノシドを含むが、これに限定されない。

【0215】

本明細書において使用されるものとして、「非ペプチド性薬剤」は、その全体が、ペプチド結合によって連結された直鎖状のアミノ酸配列からなるものではない薬剤を意味する。しかし、非ペプチド性分子は、1つまたは複数のペプチド結合を含んでいてもよい。1つの態様において、非ペプチド性薬剤は、500ダルトン未満の分子量を有する化合物である。本明細書において使用されるものとして、「小分子」または小分子量分子は、500ダルトン未満の分子量を有するものである。

【0216】

本発明は、キャリアおよび細胞表面のDC-SIGNおよび/またはDC-SIGNRに対するHCVの結合を阻害する化合物を含む組成物を提供する。1つの態様において、組成物は、細胞表面のDC-SIGNおよび/またはDC-SIGNRに対するHCVの結合を阻害するために有効な化合物の量を含む。

【0217】

本発明は、本明細書に記載された抗体またはその部分およびキャリアを含む組成物を提供する。本発明は、本明細書に記載されたポリペチドおよびキャリアを含む組成物を提供する。本発明は、本明細書に記載された非ペプチド性薬剤およびキャリアを含む組成物を提供する。キャリアは、エアロゾル、経静脈、経口、および局所的キャリアを含むが、これらに限定されない。したがって、本発明は、エアロゾル、経静脈、経口、もしくは局所的な適用、または当業者に既知のその他の適応された上記組成物を提供する。

【0218】

本発明は、本明細書に記載された薬剤、化合物、および/または組成物、並びにキャリアを提供する。このようなキャリアは、薬学的に許容されるキャリアであってもよい。薬学的に許容されるキャリアは、当業者に周知である。このような薬学的に許容されるキャリアは、水溶液または非水溶液、懸濁液、および乳剤を含んでもよいが、これらに限定されない。非水溶性の溶媒の例は、プロピレングリコール、ポリエチレングリコール、オリブ油などの植物油、およびオレイン酸エチルなどの注射可能な有機エステルである。水

性キャリアは、水、アルコール溶液/水溶液、乳剤または懸濁液、塩類溶液、および緩衝化培地を含む。非経口的な媒体は、塩化ナトリウム溶液、リンゲルのデキストロース、デキストロース、および塩化ナトリウム、泌乳されたリンゲルのもの、または不揮発性油を含む。経静脈媒体は、体液および栄養素補液、リンゲルのデキストロースに基づいたものなどの電解質補充薬、その他同種のものを含む。また、たとえば抗菌物質、抗酸化剤、キレート剤、不活性ガス、その他同種のものなどの、防腐剤およびその他の添加物が存在していてもよい。

本明細書において使用されるものとして、「組成物」は、混合液を意味する。組成物は、被験者に経口、直腸の、腔内の、局所の、鼻の、眼の、または非経口的な投与のために適したものを含むが、これらに限定されない。本明細書において使用されるものとして、「非経口的な」は、皮下の、静脈内の、筋肉内の、もしくは線条体内の注射または注入技術を含むが、これらに限定されない。本明細書において使用されるものとして、「投与すること」は、当業者に既知の方法のいずれかを使用して、成し遂げられまたは行われてもよい。被験者に対する投与の方法は、経口、直腸の、腔内の、局所の、鼻の、眼の、非経口的な、皮下の、静脈内の、筋肉内の、もしくは線条体内の注射または注入技術を含むが、これらに限定されない。

10

【0219】

本発明は、HCVの治療または診断のための、DC-SIGNおよびDC-SIGNRタンパク質またはその機能的均等物を提供する。本発明は、HCVの治療または診断に使用するための、DC-SIGNおよび/またはDC-SIGNRタンパク質に特異的に結合する化合物を提供する。

20

【0220】

本明細書において使用されるものとして、DC-SIGNまたはDC-SIGNRの機能的均等物は、HCVに結合でき、これによりDC-SIGNおよび/またはDC-SIGNRとその相互作用を妨げる化合物である。好ましくは、機能的均等物は、ペプチドまたはタンパク質である。「機能的均等物」の用語は、DC-SIGNおよびDC-SIGNRの断片、突然変異体、および突然変異蛋白質を含む。

【0221】

機能的均等物は、HCV、好ましくはHCVエンベロープ糖タンパク質に結合し、かつDC-SIGNまたはDC-SIGNRの細胞外ドメインの全てまたは一部を含む分子を含む。

【0222】

機能的均等物は、DC-SIGNまたはDC-SIGNRタンパク質の可溶性形態を含む。これらのタンパク質の適切な可溶性形態またはその機能的均等物は、たとえば膜貫通領域が、化学的、タンパク分解、または組換え方法によって除去されたタンパク質の切断型を含むであろう。DC-SIGNの膜貫通領域は、およそグリシン49で開始して、およそセリン61で終結し、一方DC-SIGNRの膜貫通領域は、およそグリシン49で開始して、およそセリン73で終結する。

30

【0223】

1つの態様において、機能的均等物は、DC-SIGNまたはDC-SIGNRの細胞外ドメインの全てまたは一部を含む。DC-SIGNの細胞外領域は、およそリジン62で開始して、カルボキシ末端アミノ酸を含み、一方DC-SIGNRの細胞外領域は、およそリジン74で開始して、カルボキシ末端アミノ酸を含む。好ましくは、機能的均等物は、対応するタンパク質に対して少なくとも80%相同的である。好ましい態様において、機能的均等物は、たとえばPileup配列解析ソフトウェア (Program Manual for the Wisconsin Package, 1996) などの従来の解析アルゴリズムのいずれかによって評価されるものとして、少なくとも90%相同的である。アミノ酸の番号付けは、DC-SIGNについてはGenBankタンパク質アクセッション番号AAK20997、およびDC-SIGNRについてはAAG13848において提供されたものである。

40

【0224】

また、本明細書において使用されるものとして、「機能的均等な断片」の用語は、HCVに結合する、好ましくは、HCVエンベロープ糖タンパク質に結合する、DC-SIGNおよび/またはDC-SIGNRの断片のどのような断片または構築物を意味してもよい。DC-SIGNのCタイプ

50

レクチン結合ドメインは、およそロイシン229で開始して、カルボキシ末端アミノ酸を含み、一方DC-SIGNRのCタイプレクチン結合ドメインをは、およそロイシン241で開始して、カルボキシ末端アミノ酸を含む。完全なタンパク質、細胞外ドメイン、またはCタイプレクチンドメインは、一方もしくは両方の末端で切断してもよく、または部分は、タンパク質が定義された機能を保持するならば、内部で除去されてもよい。

【0225】

タンパク質の機能的に均等な断片または類似体は、本明細書において同定されたヒトDC-SIGNおよびDC-SIGNRタンパク質と同じタンパク質ファミリーに帰属していてもよい。「タンパク質ファミリー」は、共通の機能を共有し、かつ共通の配列相同性を示すタンパク質の群を意味する。相同的なタンパク質は、非ヒト生物種に由来してもよい。好ましくは、機能的に均等なタンパク質の配列間の相同性は、完全なタンパク質の、または完全なEC2断片（アミノ酸11.3-201）のアミノ酸配列の全体にわたって少なくとも25%である。より好ましくは、相同性は、タンパク質またはタンパク質断片のアミノ酸配列の全体にわたって、少なくとも50%、なおより好ましくは75%である。より好ましくは、相同性は、配列の全体にわたって80%より大きい。より好ましくは、相同性は、配列の全体にわたって90%より大きい。より好ましくは、相同性は、配列の全体にわたって95%より大きい。

10

【0226】

「機能的に均等な類似体」の用語は、DC-SIGNおよびDC-SIGNRタンパク質の活性に類似する機能を有する化合物を記載するために使用され、たとえばペプチド、環状ペプチド、ポリペプチド、抗体、または抗体断片を含むであろう。これらの化合物は、タンパク質であつてもよく、または阻害剤タンパク質の一定の構造もしくはエピトープを模倣するようにデザインされた合成薬剤であつてもよい。好ましくは、化合物は、抗体または抗体断片である。

20

【0227】

また、「機能的に均等な類似体」の用語は、タンパク質類似体が、HCV、好ましくはHCVのエンベロープ糖タンパク質に結合する機能を保持するように、たとえば1つまたは複数のアミノ酸の欠失、置換、または付加によってアミノ酸配列を変更することによって得られたDC-SIGNまたはDC-SIGNRのどのような類似体も含む。アミノ酸の置換は、たとえばアミノ酸配列をコードするDNAの点変異によって行われてもよい。1つの態様において、類似体は、HCVを結合する能力を保持するが、ICAM-3を結合しない。

30

【0228】

DC-SIGNまたはDC-SIGNRの機能的均等物は、DC-SIGNまたはDC-SIGNRの断片の類似体であつてもよい。DC-SIGNまたはDC-SIGNRまたは機能的均等物は、これがHCV、好ましくはHCVのエンベロープ糖タンパク質に結合する機能を保持するのであれば、化学的に修飾されていてもよい。

【0229】

また、本発明は、このようなポリペプチドの機能的均等物およびその断片を提供する。このような機能的均等物は、天然の配列に対して少なくとも75%相同的であつてもよい。また、このような機能的均等物は、天然の配列に対して少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、または少なくとも100%相同的であつてもよい。機能的に均等な断片は、さらにその標的リガンドに結合するポリペプチドの断片であつてもよい。たとえば、E1外部ドメインの機能的に均等な断片は、そのアミノ末端に、そのカルボキシ末端に、内部に、またはこれらの組み合わせで、少なくとも1つのアミノ酸の欠失を有する断片であり、なおもHCV感染に感受性の細胞上のそのリガンドに結合すると考えられる。

40

【0230】

また、本発明は、このようなポリペプチドおよびポリペプチド断片の機能的に均等な類似体を提供する。このような類似体は、ポリペプチドまたは断片に類似した活性を有するであろう。このような類似体は、少なくとも1つのアミノ酸の挿入、欠失、または置換などによって、アミノ酸配列を変更することによって得られてもよい。このような類似体は、なおそのリガンドに結合するであろう。たとえば、E1類似体は、HCV感染に感受性の細胞上の

50

そのリガンドになおも結合するであろう。アミノ酸の置換は、保存的な置換であってもよい。このような保存的な置換は、以下の群の中のものであってもよい：(1) グリシンおよびアラニン；(2) バリン、イソロイシン、およびロイシン；(3) アスパラギン酸およびグルタミン酸；(4) アスパラギンおよびグルタミン；(5) セリンおよびスレオニン；(6) リジンおよびアルギニン；(7) フェニルアラニンおよびチロシン。また、このような置換は、以下の群の中のものなどの相同的な置換であってもよい：(a) グリシン、アラニン、バリン、ロイシン、およびイソロイシン；(b) フェニルアラニン、チロシン、およびトリプトファン；(c) リジン、アルギニン、およびヒスチジン；(d) アスパラギン酸およびグルタミン酸；(e) アスパラギンおよびグルタミン；(f) セリンおよびスレオニン；(g) システインおよびメチオニン。

10

【0231】

また、機能的均等物は、さらにそのそれぞれのリガンドに結合するように、化学修飾によるなどの修飾がなされてもよい。

【0232】

これらの分子は、ウイルスに特異的に結合すると考えられ、したがって細胞に対するウイルスの侵入機構を予防すると考えられるので、このような分子は、HCV感染の予防的な治療法において有用であることが認識される。本明細書において使用されるものとして、「特異的に結合」は、機能的に均等な類似体がHCVまたはHCVエンベロープ糖タンパク質に対して高親和性を有するが、対照タンパク質に対しては有さないことを意味する。特異的な結合は、多くの技術（たとえばELISA法、フローサイトメトリー法、ウエスタンブロッ

20

【0233】

また、本出願は、HCVの診断または治療法に使用するための、DC-SIGNおよび/またはDC-SIGNRに結合する化合物を提供する。好ましくは、化合物は、ナノモルまたはピコモル濃度で、DC-SIGNおよび/またはDC-SIGNRに特異的に結合する。このような化合物は、ウイルスの標的細胞への結合および感染を予防するために使用してもよい。化合物は、抗体、炭水化物、小分子、ペプチド、ポリペプチド、およびオリゴペプチドを含むが、これらに限定されない。

30

【0234】

DC-SIGNタンパク質、DC-SIGNRタンパク質、またはその機能的均等物は、当業者に明らかであろうどのような適切な手段によって産生されてもよい。

【0235】

本発明に従って使用するためのC-SIGNタンパク質、DC-SIGNRタンパク質、またはその機能的均等物の十分な量を産生するために、適切な条件下でDC-SIGNRタンパク質またはその機能的均等物を含む組換え宿主細胞を培養することによって便利に発現が達成されてもよい。好ましくは、DC-SIGNまたはDC-SIGNRタンパク質は、組換え手段によって、コード核酸分子からの発現によって産生される。様々な異なった宿主細胞においてポリペプチドをクローン化および発現するための系は、周知である。

40

【0236】

組換え形態で発現される場合、DC-SIGNタンパク質、DC-SIGNRタンパク質、またはその機能的均等物は、好ましくは宿主細胞においてコード核酸から発現することによって作製される。特定の系における個々の要求に依存して、どのような宿主細胞を使用してもよい。適切な宿主細胞は、細菌、哺乳類細胞、植物細胞、酵母、およびバキュロウイルスの系を含む。当該技術分野において異種ポリペプチドを発現するために利用できる哺乳類細胞株は、チャイニーズハムスター卵巣細胞、HeLa細胞、ベビーハムスター腎臓細胞、およびその他多くの細胞を含む。また、細菌は容易に操作および培養されるために、細菌は、組換えタンパク質の産生のために好ましい宿主である。一般に、好ましい細菌宿主は、大腸菌である。

50

【0237】

核酸、ポリペプチド、および抗体、または本明細書に記載されたいずれかのその他の薬剤もしくは化合物は、単離されおよび／または精製されてもよい。当業者であれば、これらを単離しておよび／または精製する方法を知っているであろう。Molecular Cloning" by Sambrook, Fritsch and Maniatis.などのいずれかの実験室マニュアルにおいて、方法が提供される。

【0238】

本明細書において使用されるものとして、特定のアミノ酸を示すために以下の標準的な略記号が明細書の全体にわたって使用される：A=ala=アラニン；R=arg=アルギニン；N=asn=アスパラギン；D=asp=アスパラギン酸；C=cys=システイン；Q=glu=グルタミン；E=glu=グルタミン酸；G=gly=グリシン；H=his=ヒスチジン；I=ile=イソロイシン；L=leu=ロイシン；K=lys=リジン；M=met=メチオニン；F=phe=フェニルアラニン；P=pro=プロリン；S=ser=セリン；T=thr=スレオニン；W=trp=トリプトファン；Y=tyr=チロシン；およびV=val=バリン。

10

【0239】

本発明は、関心対象のポリペプチドまたはその機能的均等物をコードする導入遺伝子を含むヒト以外のトランスジェニック動物を提供する。以下の米国特許は、本明細書に援用したものとする：米国特許第6,025,539号、IL-5トランスジェニックマウス；米国特許第6,023,010号、成熟リンパ性細胞タイプにおいて減少するトランスジェニックヒト以外の動物；米国特許第6,018,098号、皮膚の光老化のインビボ及びインビトロのモデル；米国特許第6,018,097号、ヒトインスリンを発現するトランスジェニックマウス；米国特許第6,008,434号、増殖分化因子-11のトランスジェニックマウス；米国特許第6,002,066号；H2-M修飾トランスジェニックマウス；米国特許第5,994,618号、増殖分化因子-8のトランスジェニックマウス；米国特許第5,986,171号、ポリオウイルスの神経毒性を検討するための方法；米国特許第5,981,830号、破壊したヘプシン遺伝子によるノックアウトマウスおよびそれらの子孫；米国特許第5,981,829号、.DELTA.Nur77トランスジェニックマウス；米国特許第5,936,138号；HIV感染を容易にする変異体L3T4タンパク質をコードする遺伝子およびこのようなタンパク質を発現するトランスジェニックマウス；米国特許第5,912,411号、テトラサイクリン誘導性の転写アクティベーターのマウストランスジェニック；米国特許第5,894,078号、C-100appを発現するトランスジェニックマウス）。

20

30

【0240】

トランスジェニックマウスを作製するために使用される方法は、当業者に周知である。たとえば、Brigid Hoganら（Ed. Cold Spring Harbor Laboratory）1986による、表題「Manipulating the Mouse Embryo」のマニュアルをし移用してもよい。たとえば、LederおよびStewartの、トランスジェニックマウスの産生のための方法についての米国特許第4,736,866号を参照されたい。

【0241】

受精卵の核へ外来遺伝物質を配置または挿入することによって、または最終的に受精卵の核の一部を形成すいずれかの核遺伝形質に対し、受精卵（およびそこから生じる胚および成熟した生物）の遺伝的形質転換を行うことができることは、以前に既知であった。受精卵の遺伝子型および受精卵から生じる生物は、外因性の遺伝形質の遺伝子型を含むであろう。その上、受精卵における外因性の遺伝的物質の含有により、外因性の遺伝形質の表現型発現を生じるであろう。

40

【0242】

外来遺伝物質の遺伝子型は、受精卵の細胞の分裂により発現される。しかし、表現型発現、たとえば外来遺伝物質のタンパク質産物もしくは産物類の産生、または受精卵のもしくは生物の天然の表現型の変化は、受精卵のまたは生物の発生の部位で生じ、この際に、特定の外来遺伝物質は、活性である。表現型の発現の変化は、表現型の発現の増進もしくは削減、または表現型の促進および／または制御の変化を含み、新規プロモーターおよび／またはコントローラーの添加、または既存の表現型のプロモーターおよび／またはコン

50

トローラーの補充を含む。

【0243】

様々なタイプの生物の遺伝的形質転換は、1989年10月10日に発行された米国特許第4,873,191号に詳細に開示及び記載されており、これはトランスジェニック生物を作製する方法を開示するために、参照により本明細書に援用されたものとする。生物の遺伝的形質転換は、遺伝子治療により、またはヒト疾患のモデル系としてトランスジェニック非ヒト哺乳類を使用することのいずれかにより、分化の間および遺伝子疾患の除去または減少の際の、遺伝子形質発現のインビボ解析として使用することができる。このモデル系は、ヒトにおける潜在的な治療的価値が推定される薬剤を試験するために使用することができる

外来遺伝物質は、成熟した卵子の核に配置させることができる。卵子は、受精したか、または活性化した（単為生殖によって）状態であることが好ましい。外来遺伝物質の添加後、受精卵の形成を可能にするためにクロモソーム（たとえば精子または極体）の相補的な一倍体のセットを添加する。受精卵を偽妊娠の雌にこれを移植することなどによって、生物を発生させることができる。生じた生物を、外来遺伝物質の組み込みについて分析する。組み込みが陽性であると決定された場合、その発現が特定の遺伝子疾患に関連があると考えられる遺伝子形質発現のインビボ解析に、該生物を使用することができる。

【0244】

本発明の「トランスジェニック非ヒト動物」は、非ヒト動物の生殖系列に、「導入遺伝子」を導入することによって作製する。種々の発生段階の胚標的細胞を使用して導入遺伝子を導入する。胚標的細胞の発生の段階に依存して、種々の方法が使用される。受精卵は、マイクロインジェクションの最高の標的である。マウスでは、雄性前核が、1~2pIのDNA溶液の注射を再現可能にする直径である約20マイクロメートルの大きさに達する。遺伝子導入のための標的として受精卵の使用により、ほとんどの場合、注射されたDNAが最初の切断前に宿主遺伝子に組み込まれると考えられる点で重要な利点を有する（Brinster, et al. (1985) Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 82, 4438-4442）。その結果、トランスジェニック非ヒト動物の全ての細胞は、組み込まれた導入遺伝子を有するであろう。また、生殖細胞の50%が導入遺伝子を有しているので、これは一般的に、初代の子孫に対する導入遺伝子の効率的な伝染に反映されるであろう。本発明の実施において、受精卵のマイクロインジェクションは、導入遺伝子を組み込むために好ましい方法である。

【0245】

また、非ヒト動物に導入遺伝子を導入するために、レトロウイルス感染を使用することができる。非ヒト胚の発生は、インビトロで未分化胚細胞の段階に培養することができる。この間に、割球をレトロウイルス感染の標的とすることができる（Jaenich, R. (1976) Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 73, 1260-1264）。割球の効率的な感染は、酵素処理して透明帯を除去することによって得られる（Hogan, et al. (1986) in Manipulating the Mouse Embryo, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y.）。導入遺伝子を導入するために使用されるウイルスベクター系は、典型的には導入遺伝子を有する複製欠損レトロウイルスである（Jahner, et al. (1985) Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 82, 6927-6931; Van der Putten, et al. (1985) Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 82, 6148-6152）。トランスフェクションは、ウイルス産生細胞の単層上で割球を培養することによって容易に、かつ能率的になされる（Van der Putten, supra; Stewart, et al. (1987) EMBO J. 6, 383-388）。あるいは、感染は、後期段階で行うことができる。ウイルスまたはウイルス産生細胞を胞胚腔に注射することもできる（Jahner, D., et al. (1982) Nature 298, 623-628）。組み込みは、トランスジェニック非ヒト動物を形成した細胞のサブセットにのみ生じるので、初代の大部分は、導入遺伝子についてモザイクであると考えられる。さらに、初代は、通常は子孫に分離されると考えられるゲノム中の種々の部位に、種々のレトロウイルスによる導入遺伝子の挿入を含んでもよい。さらに、低い効率ではあるが、子宮内における妊娠中の胚のレトロウイルス感染によって生殖系列に導入遺伝子を導入することもできる（Jahner, D. et al. (1982) supra）。

10

20

30

40

50

【0246】

導入遺伝子導入のための標的細胞の第三のタイプは、胚幹性細胞（ES）である。ES細胞は、インビトロで培養された未着床胚と、胚との融合によって得られる（Evans, M. J., et al. (1981) Nature 292, 154-156; Bradley, M. O., et al. (1984) Nature 309, 255-258; Gossler, et al. (1986) Proc. Natl. Acad. Sci U.S.A. 83, 9065-9069; およびRobertson, et al. (1986) Nature 322, 445-448）。導入遺伝子は、DNAトランスフェクションによって、または、レトロウィルスを媒介した導入によって、能率的にES細胞に導入することができる。その後、このような形質転換されたES細胞を、非ヒト動物に由来する未分化胚細胞と結合することができる。その後、ES細胞は、胚にコロニーを作り、結果として生じるキメラ動物の生殖細胞系に寄与する。総説については、Jaenisch, R. (1988) Science 240, 1468-1474を参照されたい。

10

【0247】

本明細書において使用されるものとして、「導入遺伝子」は、上記の方法などの、ヒトの介入によって、非ヒト動物の生殖系列に導入されたDNA配列である。

【0248】

本発明は、以下の実験の詳細の節において例証される。これらの実験の詳細は、本発明の理解を助けるために記載され、特許請求の範囲に記載された本発明をいずれの方法によっても限定しないことが企図され、かつ構成されないはずである。

【実施例】

【0249】

20

実験の詳細実験の第1のセット

ヒトC型レクチン、DC-SIGNおよびDC-SIGN-Rに対するC型肝炎ウイルス構造糖タンパク質E2の結合

概要

ヒトC型レクチンのDC-SIGNは、樹状細胞（DC）の表面に発現しており、および非常に相同的なタンパク質のDC-SIGN-Rは、肝臓およびリンパ節の類洞内皮細胞において高レベルで見出される。これらの分子は、HIVエンベロープ糖タンパク質（gp120）を結合して、DCに付着することによってトランスにウイルス伝染を容易にする。HCV E2は、HIVgp120の機能的均等物であり、多量の高マンノース型オリゴ糖を含み、レクチン分子、DC-SIGN、およびDC-SIGNRに結合するであろう。この仮定を試験するために、DC-SIGNまたはDC-SIGN-Rを発現するHeLa細胞株を構築し、E2タンパク質およびHCVビリオンに対する結合を評価した。蛍光定量的ビーズアッセイ法を使用して、精製したE2がDC-SIGNおよびDC-SIGN-Rに結合し、これらの相互作用が、マンナンおよびカルシウムキレート剤に加えて、DC-SIGN/DC-SIGN-Rに対するモノクローナル抗体によって阻害されることが初めて示された。これらの実験から、DC-SIGNおよびDC-SIGNRがHCVのための付着補助受容体として機能し、DCにおける、並びに肝臓および胎盤の内皮におけるこれらの発現は、HCV疾患における重要な意味を有する。

30

【0250】

材料および方法

40

プラスミドpcDNA3-DC-SIGNおよびpcDNA3-DC-SIGN-R（それぞれ、Item#5444および6749 AIDS Research and Rederence Reagent Program, Rockville, MD）を、製造者の示唆するプロトコルに従って脂質剤形（Effectene, Qiagen, Valencia, CA）を使用して、HeLa細胞にトランスフェクトした。トランスフェクションの2日後、細胞を標準的な増殖培地（10%ウシ胎児血清（FBS; Hyclone, Logan, UT）、ペニシリン/ストレプトマイシン（Life Technologies Carlsbad, CA）、およびL-グルタミン（Life Technologies）を含むダルベッコ修正イーグル培地（DMEM））で処理した。2週間後、生存しているコロニーの細胞を回収し、広げ、DC-SIGN（507D）、L-SIGN（612X）、または両DC-およびL-SIGN（604L）を認識するモノクローナル抗体を使用するフローサイトメトリーによってスクリーニングした。トランスフェクトしたHeLa細胞株を、ジェネティシン（600 μg/ml）10%ウシ

50

胎児血清、ペニシリン/ストレプトマイシン、およびL-グルタミンを含むDMEMにおいてルーチンで培養した。増殖細胞を細胞分離溶液 (Sigma, St. Louis, MO) を使用する維持培養のために分けた。

【 0 2 5 1 】

抗体

以下のmAbsを使用した：

Austral Biologicals (San Ramon, CA) からの抗E2 mnAb HCM-091-a-5 (Clone 4F6/2) は、E2の直鎖状のエピトープと、およびHCV陽性血清のドナーの血清と反応するマウスIgG1 mAbである。H31、H33、H44、H48、H53、H55、H60、H61は、全て抗HCV-E2マウスmAbs (from Dr. Jean Dubuisson, Institut Pasteur de Lille, Franceから) であり、コンホメーションエピトープと交差反応する (Deleersnyder et al, J. Virol, 71, 697 - 704 (1997), Flint et al, J. Virol, 73, 6782 - 6790 (1999))。 10

【 0 2 5 2 】

BD Pharmingen (San Diego, CA) からの120507 (507d) は、DC-SIGN特異的な、レクチン結合ドメインを標的とした、コンホメーションに依存した、マウスIgG2bである。507Dは、SIVまたはHIVDおよびICAM-3の接着を遮断する (Jameson et al, J. Virol, 76, 1866 - 1875 (2002), Wu et al, J. Virol, 76, 5905 - 5914 (2002))。

【 0 2 5 3 】

BD Pharmingen (San Diego, CA) からの120604 (604L) は、SIGN-R特異的なレクチン結合ドメインを標的とし、コンホメーションに依存するマウスIgG2bである。604Lは、SIVまたはHIVに対する結合を阻害せず、ICAM-3の接着遮断にのみ弱い遮断を示すか、または全く遮断を示さない (Jameson et al, J. Virol, 76, 1866 - 1875 (2002), Wu et al, J. Virol, 76, 5905 - 5914 (2002))。 20

【 0 2 5 4 】

BD Pharmingen (San Diego, CA) からの120612 (612X) は、DC-SIGNおよびDC-SIGN Rのレクチン結合ドメインを認識するマウスIgG2aである。612Xは、ICAM-3接着およびHIV感染を遮断する (Jameson et al, J. Virol, 76, 1866 - 1875 (2002), Wu et al, J. Virol, 76, 5905 - 5914 (2002))。

【 0 2 5 5 】

DC4 (Item# 5442, AIDS Research and Reference Reagent Program, Rockville, MD) は、レクチン結合ドメイン以外のネック領域または繰り返し領域を介してDC-SIGNおよびDC-SIGN-Rを認識するマウスIgG1である。DC4は、ICAM-3の結合またはSIVの伝染を遮断しない (Baribaud et al, J. Virol, 10281 - 10289 (2001))。 30

【 0 2 5 6 】

DC28 (Item# 5443, AIDS Research and Reference Reagent Program, Rockville, MD) は、レクチン結合ドメイン以外のネック領域または繰り返し領域を介してDC-SIGNおよびDC-SIGN-Rを認識するマウスIgG2aである。DC28は、ICAM-3の結合またはSIV伝染を遮断しない (Baribaud et al, J. Virol, 10281 - 10289 (2001))。

【 0 2 5 7 】

免疫蛍光

細胞を、一次mAbsで4 において30分間PBS/0.5%BSA溶液中において染色し、洗浄した後、4 において、さらに30分間アイソタイプ特異的なFITC結合二次mAbs (抗マウス-FITC BD Pharmingen (San Diego, CA)) を添加した。洗浄後に、細胞をFACScan (Becton Dickinson, Mountain View, CA) を使用してフローサイトメトリによって解析した。四分円部位を確立するために、アイソタイプ特異的な対照を含めた。 40

【 0 2 5 8 】

HCV-E2蛍光ビーズの調製

カルボキシレート修飾FluoSpheres (登録商標) NeutrAvidin (商標) ラベルした微粒子 (505/515 nm, 1.0 μ m; Molecular Probes, Eugene, OR) を、ICAM-1ビーズ (Geijtenbeek et al, Blood, 94, 754-764 (1999)) について記載したとおりに、HCV E2グリコブ 50

ロテインで被覆した。簡潔には、NeutrAvidin (商標) 被覆ビーズを超音波処理して、PBS/BSA (0.5%) で洗浄した。ビーズを、特異的なビオチン化Sp結合Affini Pure F(ab')₂ ヤギ抗マウスIgG F(ab')₂断片 (6 µg/mlのPBS/BSA (0.5%) 溶液) ; Jackson ImmunoResearch Laboratories, Inc., West Grove, PA) と37 °Cにおいて2時間インキュベートした。

【0259】

洗浄後に、マウス抗E2抗体 (6 µg/mlのPBS/BSA (0.5%) 溶液) とビーズを、4 °Cにおいて一晩インキュベートした。ビーズを洗浄して、CHO細胞において産生された、250ng/mlの精製したHCV E2タンパク質 (Accurate Chemicals, NY) と4 °Cにおいて一晩インキュベートした。E2タンパク質の同一性は、抗E2 mAbsでのウエスタンブロット解析によって確認した (データ示さず)。

10

【0260】

蛍光ビーズ粘着アッセイ法

これは、Geijtenbeekら (Blood, 94, 754 - 764 (1999)) に記載されたとおりのものに改変を加えて行った。37 °Cで5分間の細胞解離溶液 (Sigma) によって、培養液から細胞を除去し、接着緩衝液 (20mMのトリス-HCl [pH8.0]、150mMのNaCl、1mMのCaCl₂、2mMのMgCl₂、および0.5%のBSA) において3回洗浄した。細胞を接着緩衝液に終濃度 5×10^6 細胞/mlで、4 °Cにおいて30分間再懸濁し、Ca²⁺レベルを再充填した。細胞 (5×10^5) をマンナン (20 µg/ml ; Sigma)、抗体 (0.1 ~ 10 µg/ml)、EDTA (5mM) またはEGTA (5mM) と、室温で10分間ブレインジュベートした。HCV-E2被覆した蛍光性ビーズ (20ビーズ/細胞) を添加し、懸濁液を37 °Cにおいて30分間インキュベートした。接着は、FACSscan (Becton Dickinson, Oxnard, CA) を使用するフローサイトメトリーにより、蛍光性ビーズを結合した細胞の割合を測定することによって決定した。

20

【0261】

結果

DC-SIGNおよびDC-SIGNBがHCV E2の受容体であるかどうかを調査するために、DC-SIGNまたはDC-SIGN-RのいずれかをコードするcDNAのトランスフェクションによって安定HeLa細胞株を作製した。フローサイトメトリー解析は、ヒト組織と反応することが報告されている抗-DC-SIGNまたは抗-DC-SIGN-R特異抗体 (以下の図4および表1) のパネルを使用するこれらの細胞 (HeLa-DC-SIGNおよびHeLa-DC-SIGN-R) の選択されたクローンにおいて行った。それぞれの細胞株の細胞表面に高レベルのDC-SIGNおよびDC-SIGN-R分子を発現した。HeLa親細胞は、抗DC-SIGNまたは抗DC-SIGN-R抗体いずれによっても染色されなかった。

30

【表 1】

抗体クローン	特異性	%陽性細胞 (平均蛍光強度)		
		HeLa-DC-SIGN	HeLa-DC-SIGN-R	HeLa 親株
507 (D)	DC-SIGN	90.6 (81.1)	3.5 (17.1)	0.8 (7.8)
612 (X)	DC-SIGN, DC-SIGNR	67.3 (46.6)	94.8 (102.1)	0.3 (8.1)
604 (L)	DC-SIGNR	1.1 (14.2)	96.0 (128.9)	0.1 (8.6)
アイソタイプ 対照	なし	1.0 (16.9)	2.8 (13.7)	0.1 (7.9)

10

20

表1。HeLa-DC-SIGNおよびHeLa-DC-SIGN-R安定細胞株におけるDC-SIGNおよびDC-SIGN-Rの細胞表面発現。

【0262】

DC-SIGNおよびDC-SIGNB.がHCV-E2糖タンパク質に結合するかどうかを決定するために、フローサイト接着アッセイ法 (Geijtenbeek et al, Blood, 94, 754 - 764 (1999)) を適応した。CHO細胞において産生されるHCV-E2タンパク質を抗E2mAbsのパネルを使用する蛍光ビーズで捕らえ、これを細胞あたり20ビーズの割合で、DC-SIGN-およびDC-SIGN-R HeLa細胞とインキュベートした。HCV-E2被覆ビーズは、効率的に両方の細胞タイプに結合し、結合は、マンナン (図5) およびEDTAまたはEGTAによって効率的に阻害された (データ示さず)。DC-SIGNまたはDC-SIGN-Rを発現しない非トランスフェクションHeLa親細胞株では、低レベルの背景接着が観察された。結合レベルは、被覆のために使用した抗E2mAbに依存したが、DC-SIGNおよびDC-SIGN-R細胞に対しても同様の傾向であった。E2タンパク質を有さず、抗体のみを結合したビーズは、細胞に結合しなかった (データ示さず)。

30

【0263】

抗-DC-SIGNおよび抗-DC-SIGN-R mAbsのパネルを、E2: DC-SIGN/DC-SIGN-R接着に対するこれらの効果について蛍光ビーズ結合アッセイ法で試験した (図6) DC-SIGN-Rに対するE2の結合は、DC-SIGNおよびDC-SIGN-Rの両方を認識するmAbのDC4によって阻害されたが、DC-SIGNに対する結合は、パネルにおいて、mAbsのサブセットによって適度に阻害されただけであったことから、E2がこれらの分子の異なる部位で相互作用している可能性があることが示唆された。DC4は、DC-SIGNおよびDC-SIGN-Rに対するレンチウイルス付着またはICAM-3の結合を阻害せず、したがって、これは新規のHCV特異的な阻害剤を示すであろう。

40

【0264】

考察

したがって、HCV-E2糖タンパク質がDC-SIGNおよびDC-SIGN-Rと相互作用すること、並びにマンナン、カルシウムキレート剤、および抗-DC-SIGN/DC-SIGN-R mAbが、この相互作用を阻害することが示された。これらの所見は新規であり、これらのDCおよび内皮の潜在的なHCV受容体の発現は、ウイルスのライフサイクルに重要な関連性を有する。DCに発現したDC-SIGNは、HIVと同様の機能で、感受性の細胞にトランスで、HCVに伝染するであろう

50

し、肝臓および胎盤におけるDC-SIGN-Rの発現により、ウイルスの屈性およびその後の発病を命令するのであろう。

【0265】

肝臓の類洞内皮細胞は、通過する白血球と絶えず接触しており、血液からのウイルス、アポトーシス細胞、および抗原を捕らえて、標的細胞のトランス感染を促進するのであろう。したがって、DC-SIGN-Rは、これらの細胞の感染を促進することが可能であり、これにより、肝細胞上を通過する新規ウイルスの産生のための貯蔵所であることが確立される。同様の機構は、高レベルのDC-SIGN-Rを含む組織である臨月胎盤を経たHCVの垂直伝播に対しても作動するのであろう。これらの相互作用の阻害は、HCV疾患に対する治療的かつ予防的ストラテジーを表す。HCVの肝臓への輸送および局在化を調整する分子をつなぐDC-SIGN-RおよびDC-SIGNの役割は、解明されずに残ったままであるが、HCV-E2とこれらの相互作用は、治療的な処置のための新たな標的を表す。

【0266】

実験の第二のセット

概要

DC-SIGNおよび/またはDC-SIGNRに対するHCV付着の阻害剤は、後述するアッセイ法において、HCV陽性の血清または精製したビリオンの結合を抑制することが記載される。この阻害剤は、ウイルスもしくは受容体また、両方とも相互作用してもよい。

【0267】

細胞に対する血清の結合

HeLa細胞株 (HeLa-DC-SIGN、HeLa-DCSIGN-R) または親HeLa細胞を24ウェルプレートにおいて 1×10^5 細胞 / ウェルで、10%のFBSを含むDMEM中で一晚培養する。次の日に、細胞を接着緩衝液で一度洗浄し、次いで37℃で、熱不活化10%ヤギ血清を含む粘着緩衝液で20分間ブロックした。細胞を接着緩衝液で1回洗浄し、半分のウェルには、接着緩衝液中で阻害剤を1時間添加する。10 μ LのHCV RNA+ (ウイルス陽性) またはHCV RNA- (ウイルス陰性) のいずれかの血清を、前もって200 μ Lの最終的体積に希釈してウェルに添加する。また、ウイルスとの相互作用を可能にするために、阻害剤を血清の一定分量に1時間添加してもよい。ウイルスは、15分毎ゆっくりと攪拌して、37℃において1時間細胞に結合させる。最後に、血清を除去して、細胞を粘着緩衝液で5回洗浄する。

【0268】

ウイルスRNA抽出

ウイルスRNAは、改変QIAmp Viral RNA Mini Spinキット (Qiagen) を使用して細胞から抽出する。簡潔には、280 μ Lの細胞溶解緩衝液による2抽出を、ウェル毎に添加して1.7mLチューブに移す。空のプレートを、カルシウムおよびマグネシウムを含む140 μ Lのダルベッコのリン酸緩衝生理食塩水で洗浄して、同じチューブにプールする。RNA抽出およびスピнкаラムへの結合は、製造者のガイドを使用して行った。洗浄液緩衝液で洗浄した後、製造業者のガイドを使用して、RNaseフリーのDNase (Qiagen) でカラムのDNAを除去する。RNAを洗浄して30 μ Lおよび40 μ Lの溶出緩衝液を使用する2工程で溶出し、溶出液を合わせる。

【0269】

HCV特異的なRT-PCR

0.5nmolのプライマーRJD-5を、0.5 μ Lの抽出されたRNAと、6 μ Lの最終体積に混合する。試料を70℃において10分間加熱し、次いでGeneAmpPCR系 (Perkin Elmer) を使用して4℃に冷却する。10 μ Lの反応混合液中に、予熱したテンプレート $1 \times$ First Strand Buffer、10mMのDTT、5mMのデオキシリボヌクレオシド三リン酸 (dNTPs)、および7.5UのThermoScript (Invitrogen) と共に合わせて、58℃で50分間、次いで85℃で5分間インキュベーションの後、4℃に冷却に冷却する。このRT反応から5 μ Lを、 $1 \times$ 高フィデリティPCR緩衝液、2mmのMgSO₄、2mmのdNTPs、50 μ molのプライマーRJD-1およびRJD-5、並びに1.25UのPlatinum Taq高フィデリティDNAポリメラーゼ (Invitrogen) を含む50 μ L反応のPCRのためのテンプレートとして使用する。PCR増幅は、Youngらの方法 (Young KK, Resnick RM,

Myers TW. Detection of hepatitis C virus RNA by a combined reverse transcription-polymerase chain reaction assay. J Clin Microbiol. 1993 Apr; 31(4): 882-6) を使用して達成する。

【0270】

RT-PCR産物のプロットイング-

10 μ LのそれぞれのRT-PCR反応をビオチン化されたDNAラダー (NEB) を含む1%アガロースゲルで分離する。ゲルは、Protranニトロセルロース膜 (型BA-85、Schleicher and Schull) にキャピラリープロットした後、Sambrook、Fritsch、およびManiatis (Sambrook, J. Frisch, E.F., and Maniatis, T., in Molecular Cloning: A Laboratory Manual. Cold Spring Harbor Laboratory Press, NY, Vol 1, 2, 3 (1989) に記載されたサザンブロット方法を行う。翌日、StrataLinker (Stratagene) を使用する2400 J/m²でDNAを膜に架橋して、少なくとも1時間室温で乾燥させる。

10

【0271】

HCVを検出するためのハイブリダイゼーション

プロットを、4時間プレハイブリダイゼーション溶液中で63 $^{\circ}$ においてインキューベートする。プレハイブリダイゼーション溶液は、5 $\times$ デンハート[脂肪酸フリーの0.2%の(w/v) BSA (JRHBiosciences)、0.2% (w/v) ポリビニルピロリドンポリビニル (PVP、Sigma)、0.2% (w/v) Ficoll-400 (Sigma)]、6 $\times$ SSC (0.9MのNaCl、90mMのクエン酸ナトリウム、pH7.4)、0.5%の(w/v) ドデシル硫酸ナトリウム (SDS、Promega)、および0.1mg/mLのHering Sperm DNA (Invitrogen) を含む。インキュベーション後、1pmol/mLのプライマーRJD-6またはRJD-7をプレハイブリダイゼーション溶液に添加して、ハイブリダイゼーション溶液を作製し、63 $^{\circ}$ で一晩インキューベートした。次の朝、プロットを、室温で洗浄緩衝液 [2 $\times$ SSC (0.1% (w/v) SDS)] で5分間を2回、63 $^{\circ}$ の洗浄液緩衝液で15分間、室温で洗浄液緩衝液にでもう一度洗浄する。次いで、プロットを、PEST[カルシウムおよびマグネシウムを含まないダルベッコのリン酸緩衝生理食塩水、0.05% (v/v) Tween-20] において5分間、1回洗浄する。次いで、プロットを、1/1500のストレプトアビジン-HRP (Amersham) のPBST溶液中で、室温において45分間インキューベートする。次いで、プロットを、PESTですみやかに2回、15分間を3回で洗浄した。プロットをWestern Lightening (NEN/Perkin Elmer) およびコダックフィルムを使用して現像した。HCV RNA陽性のシグナルは、243の塩基対の特異的なバンドによって示される。243塩基対のバンドの強度を、阻害剤の存在下および非共存下において比較し、強度の減少は、HCV結合の阻害を示す。

20

30

【表2】

オリゴ名	配列
RJD-1 (KY80 ¹)	5'-GCA GAA AGC GTC TAG CCA TGG CGT-3'
RJD-5 (KY78 ¹)	5'-CTC GCA AGC ACC CTA TCA GGC AGT-3'
RJD-6	5' ビオチン-GGA GAG CCA TAG TGG TCT GCG GAA C-3'
RJD-7 (KY88 ¹)	5' ビオチン-GTT GGG TCG CGA AAG GCC TTG TGG T-3

40

実験の第三セット

概要

ヒト (血液、血清、血漿、組織、羊水、その他) に由来する試料におけるHCVを検出するための新規の、増強された方法が開示されており、この方法は、下記参照に記載されたアッセイ法を利用する。この方法では、DC-SIGNおよび/またはDC-SIGN-Rを発現すHeLa細胞に対する付着について、細胞結合実験 (SIGNアッセイ法) で試料を試験する。SIGNアッセイ法の検出限界および直線性を決定するために、試料の希釈を変化させた対照として、標準的な無細胞系アッセイ法を使用する。この試験は、試料に存在するウイルスの定性的な性質 (DC-SIGNまたはDC-SIGNBの結合) に加えて、HCVウイルスロードに対してさらに定

50

量的情報を提供する（たとえば、生物学的試料におけるHCVの存在を検出する感受性の増大）。このアッセイ法は、受容体利用能に関連する新たな情報、ウイルスの準種（たとえば病原性の表現型）の分布を提供し、したがって、臨床的な疾患の進行をモニターする際に有用性がある。

【0272】

細胞に対する試料の結合

HeLa細胞株（HeLa-DC-SIGN、HeLa-DCSIGN-R）または親HeLa細胞を、10%のFBSを含むDME M中で、 1×10^5 細胞/ウェルで24ウェルプレートにおいて一晩培養した。次の日、細胞を接着緩衝液で一回洗浄し、37℃で20分間熱不活性化したヤギ血清を10%含む粘着緩衝液でブロックする。細胞を接着緩衝液で一回洗浄する。HCV RNA+（ウイルス陽性）またはHCV RNA-血清（ウイルス陰性）またはその他の試料（血漿、組織抽出物など）のいずれかの一定体積（たとえば10～1000 μ L）を200 μ Lの最終体積に接着緩衝液中に希釈して、10倍の階段希釈の範囲に調製する。これらの懸濁液をウェルに添加して1時間し、ウイルスと相互作用させて、15分毎にゆっくりかき混ぜながら37℃でインキュベートする。最後に、試料を除去して、細胞を粘着緩衝液で5回洗浄する。アッセイ法の検出限界および直線性を決定するために、以下で議論したとおり、同じ試料の一定分量を細胞結合（無細胞試料）をせずに、次の工程に使用する。

【0273】

ウイルスRNA抽出

ウイルスRNAは、改変QIAmp Viral RNA Mini Spinキット（Qiagen）を使用して細胞から抽出する。簡潔には、280 μ Lの細胞溶解緩衝液による2抽出を、ウェル毎に添加して1.7mLチューブに移す。空のプレートを、カルシウムおよびマグネシウムを含む140 μ Lのダルベッコのリン酸緩衝生理食塩水で洗浄して、同じチューブにプールする。RNA抽出およびスピナラムへの結合は、製造者のガイドを使用して行った。洗浄液緩衝液で洗浄した後、製造業者のガイドを使用して、RNaseフリーのDNase（Qiagen）でカラムのDNAを除去する。RNAを洗浄して30 μ Lおよび40 μ Lの溶出緩衝液を使用する2工程で溶出し、溶出液を合わせる。

【0274】

HCV特異的なRT-PCR

0.5nmolのプライマーRJD-5を、0.5 μ Lの抽出されたRNAと、6 μ Lの最終体積に混合する。試料を70℃において10分間加熱し、次いでGeneAmpPCR系（Perkin Elmer）を使用して4℃に冷却する。10 μ Lの反応液に、予熱したテンプレートを結合されること1×First Strand Buffer、10mMのDTT、5mMのデオキシリボヌクレオシド三リン酸（dNTPs）、および7.5UのThermo Script（Invitrogen）と合わせて、58℃で50分間、次いで85℃で5分間インキュベートの後、4℃に冷却に冷却する。このRT反応から5 μ Lを、1×高フィデリティPCR緩衝液、2mMのMgSO₄、2mMのdNTPs、50 μ molのプライマーRJD-1およびRJD-5、並びに1.25UのPlatinum Taq高フィデリティDNAポリメラーゼ（Invitrogen）を含む50 μ L反応のPCRのためのテンプレートとして使用する。PCR増幅は、Youngらの方法（Young KK, Resnick RM, Myers TW. Detection of hepatitis C virus RNA by a combined reverse transcription-polymerase chain reaction assay. J Clin Microbiol. 1993 Apr; 31(4): 882-6）を使用して達成する。

【0275】

RT-PCR産物のプロットイング

10 μ LのそれぞれのRT-PCR反応をビオチン化されたDNAラダー（NEB）を含む1%アガロースゲルで分離する。ゲルは、Protranニトロセルロース膜（型BA-85、Schleicher and Schull）にキャピラリープロットした後、Sambrook、Fritsch、およびManiatis（Sambrook, J. Frisch, E.F., and Maniatis, T., in Molecular Cloning: A Laboratory Manual. Cold Spring Harbor Laboratory Press, NY, Vol 1, 2, 3 (1989)に記載されたサザンブロット方法を行う。翌日、StrataLinker（Stratagene）を使用する2400 J/m²でDNAを膜に架橋して、少なくとも1時間室温で乾燥させる。

【0276】

HCVを検出するためのハイブリダイゼーション

プロットを、4時間プレハイブリダイゼーション溶液中で63℃においてインキュベートする。プレハイブリダイゼーション溶液は、5×デンハート[脂肪酸フリーの0.2%の(w/v) BSA (JRHBiosciences)、0.2% (w/v) ポリビニルピロリドンポリビニル (PVP、Sigma)、0.2% (w/v) Ficoll-400 (Sigma)]、6×SSC (0.9MのNaCl、90mMのクエン酸ナトリウム、pH7.4)、0.5%の(w/v) ドデシル硫酸ナトリウム (SDS、Promega)、および0.1mg/mLのHering Sperm DNA (Invitrogen)を含む。インキュベーション後、1pmol/mLのプライマーRJD-6またはRJD-7をプレハイブリダイゼーション溶液に添加して、ハイブリダイゼーション溶液を作製し、63℃で一晩インキュベートした。次の朝、プロットを、室温で洗浄緩衝液[2×SSC (0.1% (w/v) SDS)]で5分間を2回、63℃の洗浄液緩衝液で15分間、室温で洗浄緩衝液にでもう一度洗浄する。次いで、プロットを、PEST[カルシウムおよびマグネシウムを含まないダルベッコのリン酸緩衝生理食塩水、0.05% (v/v) Tween-20]において5分間、1回洗浄する。次いで、プロットを、1/1500のストレプトアビジン-HRP (Amersham)のPBST溶液中で、室温において45分間インキュベートする。次いで、プロットを、PESTですみやかに2回、15分間を3回で洗浄した。プロットをWestern Lightening (NEN/Perkin Elmer) およびコダックフィルムを使用して現像した。HCV RNA陽性のシグナルは、243塩基対の特異的なバンドによって例証される。243塩基対のバンドの強度を、阻害剤の存在下および非共存下において比較し、強度の減少は、HCV結合の阻害を示す。

10

【表3】

20

オリゴ名	配列
RJD-1 (KY80 ¹)	5'-GCA GAA AGC GTC TAG CCA TGG CGT-3'
RJD-5 (KY78 ¹)	5'-CTC GCA AGC ACC CTA TCA GGC AGT-3'
RJD-6	5' ビオチン -GGA GAG CCA TAG TGG TCT GCG GAA C-3
RJD-7 (KY88 ¹)	5' ビオチン -GTT GGG TCG CGA AAG GCC TTG TGG T-3'

上記アッセイ法の多くのその他の態様を認識することができる。たとえば、HeLa-DC-SIGNおよび/またはHeLa-DC-SIGN-Rに捕獲されたHCVを、ウイルスタンパク質に対する抗体を使用するHCVタンパク質のウエスタンブロット解析になどによる、その他の従来の読み出しを使用して細胞を定量することができる。もう一つの態様において、精製したDC-SIGNおよび/またはDC-SIGN-Rタンパク質は、従来の技術を使用してプレートまたはビーズなどの表面に固定することができ、患者検査材料からHCVを捕獲および濃縮するために使用することができる。HCVの量は、記載されたとおり、RT-PCR法によってウイルスゲノム数を測定することを使用して、ウイルスタンパク質のウエスタンブロット解析によって、ELISAによって、または当業者に周知のその他の標準的な方法によって、定量することができる。

30

【0277】

40

本明細書に記載された特定の方法および結果は、請求の範囲をより完全に記載するものとして、単に発明を例示するだけであることは、当業者であれば容易に認めるであろう。

【0278】

参考文献

1. Alter, H. J. and L. B. Seef. 1993. Transfusion-associated hepatitis. In "Viral Hepatitis" (Z.a.Thomas, Ed.). Churchill Livingstone, Edinburgh
2. Anonymous. 1999. Global surveillance and control of hepatitis C. Report of a WHO Consultation organized in collaboration with the Viral Hepatitis Prevention Board, Antwerp, Belgium. J.Viral.Hepat. 6: 35-47.
3. Bashirova, A. A., T. B. Geijtenbeek, G. C. van Duynhoven, S. J. van Vliet,

50

- J. B. Eilering, M. P. Martin, L. Wu, T. D. Martin, N. Viebig, P. A. Knolle, V. N. KewalRamani, Y. van Kooyk, and M. Carrington. 2001. A dendritic cell-specific intercellular adhesion molecule 3-grabbing nonintegrin (dc-sign) -related protein is highly expressed on human liver sinusoidal endothelial cells and promotes hiv-1 infection. *J.Exp.Med.* 193 : 671-678.
4. Bertolini, L., S. Iacovacci, A. Ponzetto, G. Gorini, M. Battaglia, and G. Carloni. 1993. The human bone-marrow-derived B-cell line CE, susceptible to hepatitis C virus infection. *Res.Virol.* 144 : 281-285.
5. Carloni, G., S. Iacovacci, M. Sargiacomo, G. Ravagnan, A. Ponzetto, C. Pesc hle, and M. Battaglia. 1993. Susceptibility of human liver cell cultures to hepa titis C virus infection. *Arch.Virol.Suppl.* 8 : 31-39. 10
6. Cocquerel, L., S. Duvet, J. C. Meunier, A. Pillez, R. Cacan, C. Wychowski, and J. Dubuisson. 1999. The transmembrane domain of hepatitis C virus glycoprote in E1 is a signal for static retention in the endoplasmic reticulum. *J.Virol.* 73 : 2641-2649.
7. Cocquerel, L., J. C. Meunier, A. Pillez, C. Wychowski, and J. Dubuisson. 19 98. A retention signal necessary and sufficient for endoplasmic reticulum locali zation maps to the transmembrane domain of hepatitis C virus glycoprotein E2. *J. Virol.* 72 : 2183-2191.
8. Cocquerel, L., C. Wychowski, F. Minner, F. Penin, and J. Dubuisson. 2000. C 20 harged residues in the transmembrane domains of hepatitis C virus glycoproteins play a major role in the processing, subcellular localization, and assembly of t hese envelope proteins. *J.Virol.* 74 : 3623-3633.
9. Dubuisson, J. 2000. Folding, assembly and subcellular localization of hepat itis C virus glycoproteins. *Curr.Top.Microbiol.Immunol.* 242 : 135-148.
10. Dubuisson, J., H. H. Hsu, R. C. Cheung, H. B. Greenberg, D. G. Russell, an d C. M. Rice. 1994. Formation and intracellular localization of hepatitis C viru s envelope glycoprotein complexes expressed by recombinant vaccinia and Sindbis viruses. *J.Virol.* 68 : 6147-6160.
11. Dubuisson, J. and C. M. Rice. 1996. Hepatitis C virus glycoprotein folding 30 : disulfide bond formation and association with calnexin. *J.Virol.* 70 : 778-786.
12. Duvet, S., L. Cocquerel, A. Pillez, R. Cacan, A. Verbert, D. Moradpour, C. Wychowski, and J. Dubuisson. 1998. Hepatitis C virus glycoprotein complex local ization in the endoplasmic reticulum involves a determinant for retention and no t retrieval. *J.Biol.Chem.* 273 : 32088-32095.
13. Flint, M., J. Dubuisson, C. Maidens, R. Harrop, G. R. Guile, P. Borrow, an d J. A. McKeating. 2000. Functional characterization of intracellular and secret ed forms of a truncated hepatitis C virus E2 glycoprotein. *J.Virol.* 74 : 702-709. 40
14. Flint, M. and J. A. McKeating. 1999. The C-terminal region of the hepatiti s C virus E1 glycoprotein confers localization within the endoplasmic reticulum. *J.Gen.Virol.* 80 (Pt 8) : 1943-1947.
15. Flint, M., J. M. Thomas, C. M. Maidens, C. Shotton, S. Levy, W. S. Barclay , and J. A. McKeating. 1999. Functional analysis of cell surface-expressed hepat itis C virus E2 glycoprotein. *J.Virol.* 73 : 6782-6790.
16. Fry, D. E. and L. M. Flint. 1997. Hepatitis: an overview of important iss ues. *Bull.Am.Coll.Surg.* 82 : 8-13.
17. Geijtenbeek, T. B., D. S. Kwon, R. Torensma, S. J. van Vliet, G. C. van Du ijnhoven, J. Middel, I. L. Cornelissen, H. S. Nottet, V. N. KewalRamani, D. R. L 50

ittman, C. G. Figdor, and Y. van Kooyk. 2000. DC-SIGN, a dendritic cell-specific HIV-1-binding protein that enhances trans-infection of T cells. *Cell* 100: 587-597.

18. Gilljam, G. 1993. Envelope glycoproteins of HIV-1, HIV-2, and SIV purified with *Galanthus nivalis* agglutinin induce strong immune responses. *AIDS Res.Hum. Retroviruses* 9: 431-438.

19. Grakoui, A., C. Wychowski, C. Lin, S. M. Feinstone, and C. M. Rice. 1993. Expression and identification of hepatitis C virus polyprotein cleavage products. *J.Virol.* 67: 1385-1395.

20. Higginbottom, A., E. R. Quinn, C. C. Kuo, M. Flint, L. H. Wilson, E. Bianchi, A. Nicosia, P. N. Monk, J. A. McKeating, and S. Levy. 2000. Identification of amino acid residues in CD81 critical for interaction with hepatitis C virus envelope glycoprotein E2. *J.Virol.* 74: 3642-3649. 10

21. Hijikata, M., N. Kato, Y. Ootsuyama, M. Nakagawa, and K. Shimotohno. 1991. Gene mapping of the putative structural region of the hepatitis C virus genome by in vitro processing analysis. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.* 88: 5547-5551.

22. Hong, Z., M. Beaudet-Miller, R. E. Lanford, B. Guerra, J. Wright-Minogue, A. Skelton, B. M. Baroudy, G. R. Reyes, and J. Y. Lau. 1999. Generation of transmissible hepatitis C virions from a molecular clone in chimpanzees. *Virology* 256: 36-44. 20

23. Iacovacci, S., L. Bertolini, A. Manzin, M. B. Valli, M. Battaglia, A. Ponzetto, M. Clementi, and G. Carloni. 1997. Quantitation of hepatitis C virus RNA production in two human bone marrow-derived B-cell lines infected in vitro. *Res.Virol.* 148: 147-151.

24. Iacovacci, S., A. Manzin, S. Barca, M. Sargiacomo, A. Serafino, M. B. Valli, G. Macioce, H. J. Hassan, A. Ponzetto, M. Clementi, C. Peschle, and G. Carloni. 1997. Molecular characterization and dynamics of hepatitis C virus replication in human fetal hepatocytes infected in vitro. *Hepatology* 26: 1328-1337.

25. Jones, I. M., C. Chan-Fook, W. R. Jiang, and B. E. Clarke. 2000. Receptors for hepatitis C virus. *J.Virol.* 74: 10860-10861. 30

26. Kato, N., T. Nakazawa, T. Mizutani, and K. Shimotohno. 1995. Susceptibility of human T-lymphotropic virus type I infected cell line MT-2 to hepatitis C virus infection. *Biochem.Biophys.Res.Commun.* 206: 863-869.

27. Kolykhalov, A. A., E. V. Agapov, K. J. Blight, K. Mihalik, S. M. Feinstone, and C. M. Rice. 1997. Transmission of hepatitis C by intrahepatic inoculation with transcribed RNA. *Science* 277: 570-574.

28. Lagging, L. M., K. Meyer, R. J. Owens, and R. Ray. 1998. Functional role of hepatitis C virus chimeric glycoproteins in the infectivity of pseudotyped virus. *J.Virol.* 72: 3539-3546.

29. Lanford, R. E., C. Sureau, J. R. Jacob, R. White, and T. R. Fuerst. 1994. Demonstration of in vitro infection of chimpanzee hepatocytes with hepatitis C virus using strand-specific RT/PCR. *Virology* 202: 606-614. 40

30. Lohmann, V., F. Korner, J. Koch, U. Herian, L. Theilmann, and R. Bartenschlager. 1999. Replication of subgenomic hepatitis C virus RNAs in a hepatoma cell line. *Science* 285: 110-113.

31. Matsuura, Y., T. Suzuki, R. Suzuki, M. Sato, H. Aizaki, I. Saito, and T. Miyamura. 1994. Processing of E1 and E2 glycoproteins of hepatitis C virus expressed in mammalian and insect cells. *Virology* 205: 141-150.

32. McHutchison, J. G., S. C. Gordon, E. R. Schiff, M. L. Shiffman, W. M. Lee, V. K. Rustgi, Z. D. Goodman, M. H. Ling, S. Cort, and J. K. Albrecht. 1998. *Int* 50

erferon alfa-2b alone or in combination with ribavirin as initial treatment for chronic hepatitis C. Hepatitis Interventional Therapy Group. N.Engl.J.Med. 339 : 1485-1492.

33. Meola, A., A. Sbardellati, E. B. Bruni, M. Cerretani, M. Pezzanera, A. Cecacci, A. Vitelli, S. Levy, A. Nicosia, C. Traboni, J. McKeating, and E. Scarselli. 2000. Binding of hepatitis C virus E2 glycoprotein to CD81 does not correlate with species permissiveness to infection. J.Virol. 74 : 5933-5938.

34. Meunier, J. C., A. Fournillier, A. Choukhi, A. Cahour, L. Cocquerel, J. Dubuisson, and C. Wychowski. 1999. Analysis of the glycosylation sites of hepatitis C virus (HCV) glycoprotein E1 and the influence of E1 glycans on the formation of the HCV glycoprotein complex. J.Gen.Virol. 80 (Pt 4) : 887-896. 10

35. Michalak, J. P., C. Wychowski, A. Choukhi, J. C. Meunier, S. Ung, C. M. Rice, and J. Dubuisson. 1997. Characterization of truncated forms of hepatitis C virus glycoproteins. J.Gen.Virol. 78 (Pt 9) : 2299-2306.

36. Op De Beeck, A., R. Montserret, S. Duvet, L. Cocquerel, R. Cacan, B. Barberot, M. Le Maire, F. Penin, and J. Dubuisson. 2000. The transmembrane domains of hepatitis C virus envelope glycoproteins E1 and E2 play a major role in heterodimerization. J.Biol.Chem. 275 : 31428-31437.

37. Patel, J., A. H. Patel, and J. McLauchlan. 1999. Covalent interactions are not required to permit or stabilize the non-covalent association of hepatitis C virus glycoproteins E1 and E2. J.Gen.Virol. 80 (Pt 7) : 1681-1690. 20

38. Petracca, R., F. Falugi, G. Galli, N. Norais, D. Rosa, S. Campagnoli, V. Burgio, E. Di Stasio, B. Giardina, M. Houghton, S. Abrignani, and G. Grandi. 2000. Structure-function analysis of hepatitis C virus envelope-CD81 binding. J.Virol. 74 : 4824-4830.

39. Pileri, P., Y. Uematsu, S. Campagnoli, G. Galli, F. Falugi, R. Petracca, A. J. Weiner, M. Houghton, D. Rosa, G. Grandi, and S. Abrignani. 1998. Binding of hepatitis C virus to CD81. Science 282 : 938-941.

40. Pohlmann, S., E. J. Soilleux, F. Baribaud, G. J. Leslie, L. S. Morris, J. Trowsdale, B. Lee, N. Coleman, and R. W. Doms. 2001. DC-SIGNR, a DC-SIGN homolog expressed in endothelial cells, binds to human and simian immunodeficiency viruses and activates infection in trans. Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A. 98 : 2670-2675. 30

41. Ralston, R., K. Thudium, K. Berger, C. Kuo, B. Gervase, J. Hall, M. Selby, G. Kuo, M. Houghton, and Q. L. Choo. 1993. Characterization of hepatitis C virus envelope glycoprotein complexes expressed by recombinant vaccinia viruses. J.Virol. 67 : 6753-6761.

42. Rice, C. M. 1996. Flaviviridae: The viruses and their replication. 3rd ed. In "Fields Virology" (B. N. Fields, Ed.) pp. 931-1034. Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia 40

43. Selby, M. J., E. Glazer, F. Masiarz, and M. Houghton. 1994. Complex processing and protein:protein interactions in the E2: NS2 region of HCV. Virology 204 : 114-122.

44. Shimizu, Y. K., A. Iwamoto, M. Hijikata, R. H. Purcell, and H. Yoshikura. 1992. Evidence for in vitro replication of hepatitis C virus genome in a human T-cell line. Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A. 89 : 5477-5481.

45. Shimizu, Y. K., A. J. Weiner, J. Rosenblatt, D. C. Wong, M. Shapiro, T. Popkin, M. Houghton, H. J. Alter, and R. H. Purcell. 1990. Early events in hepatitis C virus infection of chimpanzees. Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A. 87 : 6441-6444.

46. Smith, D. B. and P. Simmonds. 1998. Hepatitis C virus: types, subtypes and 50

d beyond. In "Methods in molecular medicine" (Lau, Ed.), pp. 134-146. Humana Press, Totowa

47. Soilleux, E. J., R. Barten, and J. Trowsdale. 2000. DC-SIGN; a related gene, DC-SIGNR; and CD23 form a cluster on 19p13. J.Immunol. 165: 2937-2942.

48. Spaete, R. R., D. Alexander, M. E. Rugroden, Q. L. Choo, K. Berger, K. Crawford, C. Kuo, S. Leng, C. Lee, and R. Ralston. 1992. Characterization of the hepatitis C virus E2/NS1 gene product expressed in mammalian cells. Virology 188: 819-830.

49. Takikawa, S., K. Ishii, H. Aizaki, T. Suzuki, H. Asakura, Y. Matsuura, and T. Miyamura. 2000. Cell fusion activity of hepatitis C virus envelope proteins. J.Virol. 74: 5066-5074. 10

50. Trkola, A., T. Dragic, J. Arthos, J. M. Binley, W. C. Olson, G.P. Allaway, C. Cheng-Mayer, J. Robinson, P.J. Maddon, and J.P. Moore. 1996. CD4-dependent, antibody-sensitive interactions between HIV-1 and its co-receptor CCR-5. Nature 384: 184-187.

51. Valli, M. B., G. Carloni, A. Manzin, F. Nasorri, A. Ponzetto, and M. Clementi. 1997. Hepatitis C virus infection of a Vero cell clone displaying efficient virus-cell binding. Res.Virol. 148: 181-186.

52. Wunschmann, S., J. D. Medh, D. Klinzmann, W. N. Schmidt, and J. T. Stapleton. 2000. Characterization of hepatitis C virus (HCV) and HCV E2 interactions with CD81 and the low-density lipoprotein receptor. J.Virol. 74: 10055-10062. 20

53. Yanagi, M., R. H. Purcell, S. U. Emerson, and J. Bukh. 1999. Hepatitis C virus: an infectious molecular clone of a second major genotype (2a) and lack of viability of intertypic 1a and 2a chimeras. Virology 262: 250-263.

54. Galun et al (1995) J. Inf Dis 172: 25.

【図面の簡単な説明】

【 0 2 7 9 】

【図 1】 Genbank番号AAK20997に記載のモサピエンスDC-SIGNのアミノ酸配列（配列番号：1）。

【図 2】 Genbank番号AAG13848に記載のモサピエンスDC-SIGNRのアミノ酸配列（配列番号：2）。 30

【図 3】 Genbank番号AF009606に記載のC型肝炎ウイルスポリタンパク質遺伝子のアミノ酸配列（配列番号：3）。

【図 4】 DC-SIGN（507（D））、DC-SIGN-R（604（L））、または両分子（612（X））に特異的な抗体を使用する、HeLa-DC-SIGNおよびHeLa-DC-SIGNR細胞株の特徴づけ。

【図 5】 DC-SIGNおよびDC-SIGNR形質転換体は、HCV-E2に結合する。（A）HeLa-DC-SIGN、（B）HeLa-DC-SIGNR、および（C）親HeLa細胞を、抗E2mAbのパネルと結合することによって調製したHCV-E2-コートしたビーズに結合させた。接着は、FACS解析によって定量し、マンナンで遮断し、3回の実験の1つの代表を示してある。

【図 6】 DC-SIGNまたはDC-SIGNRに対するHCV-E2の接着に対するmAbの効果。DC-SIGNまたはDC-SIGNRを発現するHeLa細胞を、mAbまたはマンナンと記載したとおりインキュベートし、H53結合E2ビーズを、20：1のビーズ対細胞で添加した。結合は、FACSscan機械を使用して蛍光によって定量し、結果を標準（IgG2a）レベルに対して標準化した。 40

【図 1】

```
msdskeprlq qglileeeql rglgrftrg ykslagclgh gplvlqlsf tllagllvqv  
skvpssisqe qsrqdaivqn itqlkaavge lseksklgei ygelqlkaa vgelpekskl  
qeygeltrl kaavgelpek sklgeiygel twlkaavgel pekskmgeiy qeltrikaav  
gelpekskqg eiyegeitrik aavgelpeks kqgeiygel rikaavgel ekskqgeiyg  
eltqlkaave richpcpwew tiffgncymf sngsrnwhds itackevgaq lvviksaeeq  
nflqigssrs nrftwmglsd lngegtqvwv dgsplpsfk qymnrgpenn vgeedcaefs  
gngwmdkcn lakfwickks aascardeeg flsapapatpn pppa
```

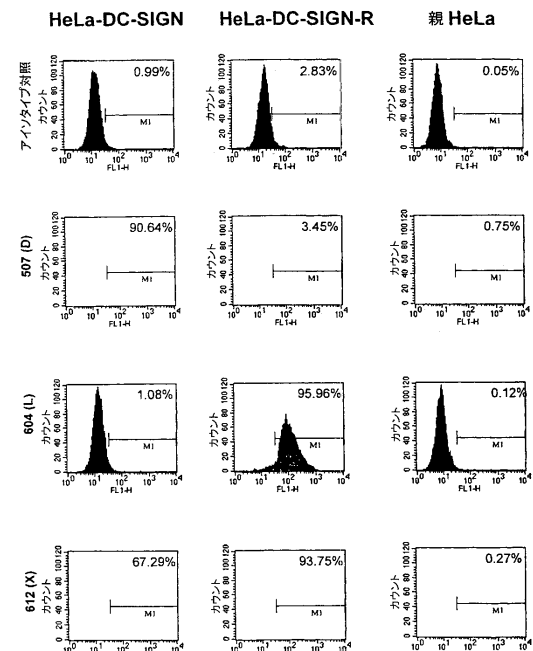
【図 2】

```
msdskeprvq qglileedpt tsgrlfrpd fqfqqihghk sstgclghga lylqlslfml  
lagvlvailv gvskvpssls qeegsedaiy qnlqlkaav gelseksklq eiyegeitqlk  
aavgelpeks klgeiygel rikaavgel eksklgeiyg eltrikaav eiyegeitqlk  
iygeltrika avgelpeks klgeiygel lkaavgelpe ksklgeiyge itqlkaavge  
lpdskqgqi ygeltdlktta ferlcrhpcp dwtffgncny fmsnsqrnhw dsvtacqevr  
aqlvviktat eqnflqlqts rsnrfsmmlg sdlngegtwq wvdgsplps fqrywnsgep  
nngnedxae fsegagwmdn cdvdywick kpaacfrde
```

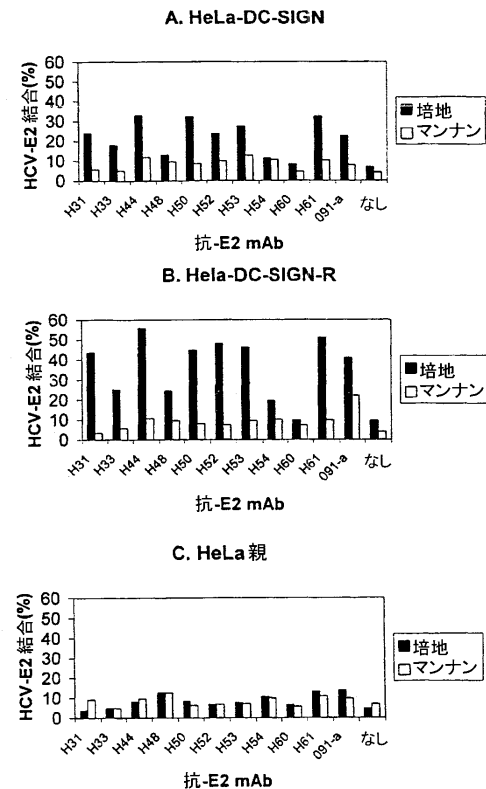
【図 3】

```
MSSTNPKPQRTKRNTRRRPQOVKFGGGQIVGVYLLPRHGPRL  
GVVATKTSERSQPRGRQPIPKARPEGRTHAQGPWPVLYNEGCGWAGWLLSPRG  
SRPWSGPTDPRRRSRNLGKVIDTLTCGFADLMGYPLVGAFLGGAARALAGVRLVED  
GVNYATGMLPGCSFSIFLLALLSCLTPASAYQVRNMSGVLYVNDPCNSIYVEAAD  
AILHTPGCVPCVREGNASRCWAVTPTVATRDGKLPTQLRRHLLDLVGSATLCSAIY  
VGLDGSFVLGVQLFTFSFRHHWTQDCNCSIPYGHITGHRMAMDMMMNSPTAALV  
AQLLRIPQAIMDMIMAGAHGVLGAIYFMSVGNWAKVLVLLFAQVDAETHVTGSSA  
GRTTAGLVGLTPGAKQNIQLINTNGSWHINSTALCNESLNTGMLAGLFYQHKFNSS  
GCPERLASCRRLTDFAGWGSPISYANGSGLDERPYCHYPPRPGCIVPAKSVCGPVYC  
FTSPVUVVGTDRSGAFTYSWGANDTVFVLRNTRPPLGNWFGCTWMNSGTFTKVCGA  
PPCVIGGVGNMILLCTDCFRKHPEATYSRCSGSPWITPRCWVDYPRYLHYPCTINY  
TIFKVRMYGVGHEHLEAACNMTRGERCDLEDRDSELSPLLLSTTQWQVLCSTFTLL  
PALSTGLIHLHONIVDVQVLYGVGSSIASWAKWEYVLLFLLADARVCSCLWMLLL  
ISQAEALLENLVLNAAASLAGTHGLVFLVFFCFWYLYKGRWVPGAVYAFYQWPLLL  
LLALLPORAYALDEVAASCGGVVLVGLMALTLSPYKRYISWCMWMLQYFLTRVEAQ  
LHVWVPLNVRGRDAVILLMCVVHPTLVFDITKLALLAFGLPMLQASLKVYFVR  
VQGLLRICALARKIAGGHYVQMAIILKGLTGTYYVNHLPTRDWAHNGRLDLAVAVE  
PVVFSRMTKLITWGAADTAACGDIINGLPVASRRGCEILLGADMGVSKGRLAPIT  
AYAQOTRGLIGCIITSLTRDQXQVEGEQIVSTATQTLATCTCMTVWGAGTR  
TIASPKGPVIMYTNVDQDLVGPAPQSRSLTPCTCGSSDLVLTVRHADVI PVRRRG  
DSRGSLLSPRI SYLKGSSGGLPCPAGHAGLVFRAAVCTRGAKAVDFI PVENLETT  
MRSPVFTDSSPPAVPQSFOVAHLHAPTSGSKTKVPAAYAAQKGLVLNPSVAATL  
GFGAYMSKAGVDNIRITGVRTITTSPTITSTYKGLADGGCSGGAYDIICDECHS  
TDATSLIGITVLDQAETAGARLVLTATPPGSVTVSHPNIEEVALSTTGEIPFYGK  
AIFLEVIKGGHLLIFCHSKKKDELAALKVALGINAVAYYRGLDVSIVPTSGDVVVVS  
TDALMTGTFGDFDSVICNTCTVQTVDFSLDPTFTIETTLPQDAVSRTOGRGRGRG  
KPGIYRFVAPGERPSGMFDSVLCEDYDAGCAWYELTPTAETTVRLRAYMTPGLPVQC  
DHLEFEGVFTGLTHIDAHFLSQTKQSGENFFVLYAQATVCAQAAPPSPNDQMMKC  
LIRLKPTLHGPTLLYRLGAVQNEVTLTHPTIKYIMTCHSADLEVSTWLVGGVLA  
ALAAVCLSTGCVIVGRIVLSGKPAIIPDREVLVQFDEMEECQHLPIIEQMMLA  
QFKKALGLLOASRAEVITPAVOTNMOKLEFVWAKHMMNFISIGIYLAGLSTLPGN  
PAIASLMAFTAAVTSPLTGTQTLFNI LGGWAAQAAPGAATFVAGLAGAGAAIGSV  
GLOKVLVDILAGYAGVAGALVAFKIMSGEVPSTEDLVNLLPAISFGLVGVVCA  
ILRRHVGGEGAVQMMNRILAFASRGHVSPTHYVESDAAARVTAISLSTVQLLR  
RLHQMISSECTTCSGSLRDIWDWICEVLSDFKTLWAKLMPQLPGIPFVSCQGRYR  
GVNRGDIMHTRCHGAEITGHVNGTMRIVGPKTCRNMWSTGTFINAYTIGPCTPLP  
APNYKFAWRVSSEAEYVEIRKGVDFHYVSGMTDNLKCPQIPSEPFTELDGRLHR  
FAPCKPLREEVSFVRLHVEYFVGSQQLCEPEPDAVLTSMILTDPHITAEAGRL  
ARGSPSPMASSASQLSAPLSKATCTANHDSDAELTEANLLNRQEMGNI TRVESEN  
KVVLDSFDFLVAEEDEREVSPEILRKRFRARALPVMAKPDYNNPLVETWKKPDY  
EPPVHGCPLPPPPSPVPPPPKRRKTVLTESTLSTALAEATKSGSSSTGTGDN  
TTTSEFAPGCPDPSVESYSSMPLGEPGDPDLSGDSSTVSAGDTEDEVCCSM  
SYSWTGALVTPCAAEQKLPINALSNSLRHNLVYSTTSRACQROKKVTFDRQLVL  
DSHYQVLEKEVKAASVKANLLSVEEACSLTPHSAKSKFGYAGKDVRCARKAVAH  
INSVMKDLLEDVSTPITDTIMANQEVFCVPEKGGKPARLIVFPDLGVRCERKALY  
DVSKLPLAVMSSYGFQYSPGQVFEVLQAWKSKTGMFVSYDTRCFDSTVETSDIR  
TEBAIYQCCDLPQARVAIKSLTERLYVGGPLTNSRGNCYGRKRASGVLTSCGNT  
LTCYIKARAACRAAGQDCTMLVCGDDLVI CESAGVQEDASLRAFTAMTRYSAPP  
GDPPOPEYDELITS CSSNVSAHDGAGKRVYLYTRDPTPLARAAWETARHTPVNSW  
LGINIIMFAPLHARMILMTHFFSVLTARDQLEALNCEIYGACYSIIEPLDPPITQRL  
HGLSAFSLHSYSGEINRVAACLKLGVPPLRAWRRHRSVRARLLSGGGAACGKY  
LFNNAVTRKLLTPIAAAGRLDLSGWFATAGYSGGDIYHVSHPARPNFWCLLLAAG  
VGTYLLFNR
```

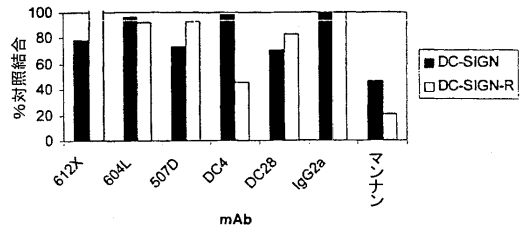
【図 4】



【図 5】



【 図 6 】



【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US02/20875

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER																										
IPC(7) : A61K 39/29; C12N 1/18; G01N 33/53 US CL : 424/225.1, 228.1; 435/5, 7.1, 7.24, 32																										
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC																										
B. FIELDS SEARCHED																										
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) U.S. : 424/225.1, 228.1; 435/5, 7.1, 7.24, 32																										
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched																										
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) Please See Continuation Sheet																										
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT																										
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.																								
A	GEIJTENBEEK et al. Identification of DC-SIGN, a Novel Dendritic Cell-Specific ICAM-3 Receptor that Supports Primary Immune Responses. Cell. 03 March 2000, Vol. 100, pages 575-585.	1, 3, 23-38, 120-126, 151-154																								
A	NGUYEN et al. Involvement of macrophage mannose receptor in the binding and transmission of HIV by macrophages. European Journal of Immunology. 2003, Vol. 33, pages 483-493.	1, 3, 23-38, 120-126, 151-154																								
A	POHLMANN et al. Hepatitis C virus glycoproteins interact with DC-SIGN and DC-SIGNR. Journal of Virology. April 2003, Vol. 77, No. 7, pages 4070-4080.	1, 3, 23-38, 120-126, 151-154																								
☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.																										
<table border="0"> <tr> <td colspan="2">* Special categories of cited documents:</td> <td>"T"</td> <td>Inter document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention</td> </tr> <tr> <td>"A"</td> <td>document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance</td> <td>"X"</td> <td>document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone</td> </tr> <tr> <td>"E"</td> <td>earlier application or patent published on or after the international filing date</td> <td>"Y"</td> <td>document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art</td> </tr> <tr> <td>"L"</td> <td>document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)</td> <td>"&"</td> <td>document member of the same patent family</td> </tr> <tr> <td>"O"</td> <td>document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>"P"</td> <td>document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</td> <td></td> <td></td> </tr> </table>			* Special categories of cited documents:		"T"	Inter document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention	"A"	document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"X"	document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone	"E"	earlier application or patent published on or after the international filing date	"Y"	document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art	"L"	document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"&"	document member of the same patent family	"O"	document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means			"P"	document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		
* Special categories of cited documents:		"T"	Inter document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention																							
"A"	document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"X"	document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone																							
"E"	earlier application or patent published on or after the international filing date	"Y"	document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art																							
"L"	document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"&"	document member of the same patent family																							
"O"	document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means																									
"P"	document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed																									
Date of the actual completion of the international search 29 March 2003 (29.03.2003)		Date of mailing of the international search report 16 APR 2003																								
Name and mailing address of the ISA/US Commissioner of Patents and Trademarks Box PCT Washington, D.C. 20231 Facsimile No. (703)305-3230		Authorized officer <i>Sharon Foley</i> Telephone No. (703) 308-0196																								

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 1998)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US02/20875

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of Item 1 of first sheet)

This international report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claim Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2. ☐ Claim Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claim Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of Item 2 of first sheet)This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:
Please See Continuation Sheet

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.: 1, 3, 23-38, 120-126, 151-154

Remark on Protest

☐
☐

The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.

No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

PCT/US02/20875

BOX II. OBSERVATIONS WHERE UNITY OF INVENTION IS LACKING

This application contains the following inventions or groups of inventions which are not so linked as to form a single general inventive concept under PCT Rule 13.1. In order for all inventions to be examined, the appropriate additional examination fees must be paid.

Group I, claim(s) 1, 3, 23-38, 120-126, 151-154, drawn to a method of inhibiting HCV infection with a compound that inhibits the binding of an HCV envelope protein to a DC-SIGN protein.

Group II, claim(s) 2, 4, 23-38, 127-129, 151-154, drawn to a method of inhibiting HCV infection with a compound that inhibits the binding of an HCV envelope protein to a DC-SIGNR protein.

Group III, claim(s) 5-17 and 23-38, drawn to a method of inhibiting HCV infection with an antibody that inhibits the binding of an HCV envelope protein to a DC-SIGN protein.

Group IV, claim(s) 5-17 and 23-38, drawn to a method of inhibiting HCV infection with an antibody that inhibits the binding of an HCV envelope protein to a DC-SIGNR protein.

Group V, claim(s) 18 and 23-38, drawn to a method of inhibiting HCV infection with a polypeptide that inhibits the binding of an HCV envelope protein to a DC-SIGN protein.

Group VI, claim(s) 18 and 23-38, drawn to a method of inhibiting HCV infection with a polypeptide that inhibits the binding of an HCV envelope protein to a DC-SIGNR protein.

Group VII, claim(s) 19-38, drawn to a method of inhibiting HCV infection with a nonpeptidyl agent that inhibits the binding of an HCV envelope protein to a DC-SIGN protein.

Group VIII, claim(s) 19-38, drawn to a method of inhibiting HCV infection with a nonpeptidyl agent that inhibits the binding of an HCV envelope protein to a DC-SIGNR protein.

Group IX, claim(s) 39, 41, 43, 45, 46, 49, 52, 53, 54, 57, 59, drawn to a method of determining whether a compound inhibits HCV infection by saturating an immobilized HCV envelope glycoprotein with DC-SIGN.

Group X, claim(s) 40, 42, 44, 47, 48, 50, 51, 55, 56, 58, 59, drawn to a method of determining whether a compound inhibits HCV infection by saturating an immobilized HCV envelope glycoprotein with DC-SIGNR.

Group XI, claim(s) 60, drawn to a method of obtaining a composition.

Group XII, claim(s) 61, 63, 64, drawn to a method of treating or preventing liver disease by inhibiting binding of an HCV envelope glycoprotein to a DC-SIGN protein.

Group XIII, claim(s) 62-64, drawn to a method of treating or preventing liver disease by inhibiting binding of an HCV envelope glycoprotein to a DC-SIGNR protein.

Group XIV, claim(s) 65, drawn to a method of treating or preventing hepatocellular carcinoma by inhibiting binding of an HCV envelope glycoprotein to a DC-SIGN protein.

Group XV, claim(s) 66, drawn to a method of treating or preventing hepatocellular carcinoma by inhibiting binding of an HCV envelope glycoprotein to a DC-SIGNR protein.

Group XVI, claim(s) 67, 69, and 71, drawn to a method of a method of diagnosing HCV infection by determining the presence of antibodies from a subject bound to a DC-SIGN protein or an HCV envelope glycoprotein.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

PCT/US02/20875

Group XVII, claim(s) 68, 70 and 71, drawn to a method of diagnosing HCV infection by determining the presence of antibodies from a subject bound to a DC-SIGNR protein or an HCV envelope glycoprotein.

Group XVIII, claim(s) 72, 74, 76-89, 117, 130-132 and 148, drawn to an antibody that inhibits binding of a DC-SIGN protein to an HCV envelope protein.

Group XIX, claim(s) 73, 75-89, 117, 133-135, 148, drawn to an antibody that inhibits binding of a DC-SIGNR protein to an HCV envelope protein.

Group XX, claim(s) 90-94, 118, 142-144, 149, drawn to a polypeptide that inhibits binding of a DC-SIGN protein to an HCV envelope protein.

Group XXI, claim(s) 95-107, 145-147, drawn to a polypeptide that inhibits binding of a DC-SIGNR protein to an HCV envelope protein.

Group XXII, claim(s) 108, 110, 112-116, 119, 136-138 and 150, drawn to a nonpeptidyl agent that inhibits binding of a DC-SIGN protein to an HCV envelope protein.

Group XXIII, claim(s) 109, 111-116, 119, 139-141, drawn to a nonpeptidyl agent that inhibits binding of a DC-SIGNR protein to an HCV envelope protein.

The inventions listed as Groups I-XXIII do not relate to a single general inventive concept under PCT Rule 13.1 because, under PCT Rule 13.2, they lack the same or corresponding special technical features for the following reasons:

The special technical feature of group I is drawn to a method of preventing infection with a compound that inhibits binding between an HCV envelope glycoprotein and a DC-SIGN protein. Any group that does not share the special technical feature with this group lacks unity of invention.

The special technical feature of group II is drawn to a method of inhibiting HCV infection with a compound that inhibits the binding of an HCV envelope protein to a DC-SIGNR protein. This group does not share the special technical feature with group I because the method is drawn to inhibiting the binding of different molecules.

The special technical feature of groups III, V, VII is drawn to methods of inhibiting HCV infection by inhibiting binding between an HCV envelope and a DC-SIGN protein with antibodies, polypeptides, or nonpeptidyl agents, which do not share a common core structure with the compound in group I or with each other.

The special technical feature of groups IV, VI, VIII is drawn to methods of inhibiting HCV infection by inhibiting binding between an HCV envelope and a DC-SIGNR protein with antibodies, polypeptides, or nonpeptidyl agents, which do not share a common core structure with the compound in group I or with each other. In addition, the methods of groups IV, VI, VIII do not inhibit binding between identical molecules featured in group I.

The special technical features of groups IX and X lack unity of invention with group I because the methods do not share the same steps or ingredients featured in group I. In addition, the methods of group X does not inhibit binding between identical molecules featured in group I.

The special technical feature of group XI is drawn to a method of obtaining a composition, which does not share the same method steps or object of the method featured in group I.

The special technical feature of groups XII and XIII is drawn to a method of treating or preventing liver disease by inhibiting binding of an HCV envelope glycoprotein to a DC-SIGN or DC-SIGNR proteins. These groups do not share inhibiting HCV infection featured in group I.

The special technical feature of groups XIV and XV is drawn to a method of treating or preventing hepatocellular carcinoma by inhibiting binding of an HCV envelope glycoprotein to a DC-SIGN or DC-SIGNR proteins. These groups do not share inhibiting HCV infection featured in group I.

The special technical feature of groups XVI and XVII is drawn to a method of diagnosing HCV infection by determining the presence of antibodies. The presence or determination of antibodies is not a shared technical feature of group I.

The special technical features of groups XVIII and XIX are drawn to first products, antibodies, which do not share the same core structure or functional characteristics with the compound featured in group I.

The special technical features of groups XX and XXI are drawn to second products, polypeptides, which do not share the same core structure or functional characteristics with the compound featured in group I.

The special technical features of groups XXII and XXIII are drawn to third products, nonpeptidyl agents, which do not share the same core structure or functional characteristics with the compound featured in group I.

If applicant does not elect to pay for additional groups, only claims 1, 3, 23-38, 120-126, 151-154 will be included in the preliminary examination report.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

PCT/US02/20875

Continuation of B. FIELDS SEARCHED Item 3:

USPat, USPGPub, EPO, JPO, Derwent, medline, embase biosis

search terms: DC-SIGN, dendritic cell, ICAM-3, receptor, intercellular adhesion 3-grabbing nonintegrin, hepatitis, HCV, envelope glycoprotein, mannan, calcium chelator, antibody, inhibit, bind, block, prevent, treat

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 K 45/00	A 6 1 K 39/395	N 4 C 0 8 5
A 6 1 P 1/16	A 6 1 K 45/00	4 C 0 8 6
A 6 1 P 31/14	A 6 1 P 1/16	4 H 0 4 5
A 6 1 P 35/00	A 6 1 P 31/14	
C 0 7 K 16/10	A 6 1 P 35/00	
C 0 7 K 19/00	C 0 7 K 16/10	
G 0 1 N 33/15	C 0 7 K 19/00	
G 0 1 N 33/50	G 0 1 N 33/15	Z
G 0 1 N 33/53	G 0 1 N 33/50	Z
G 0 1 N 33/566	G 0 1 N 33/53	D
// C 1 2 N 5/06	G 0 1 N 33/566	
C 1 2 N 15/09	C 1 2 N 5/00	E
C 1 2 P 21/08	C 1 2 N 15/00	A
	C 1 2 P 21/08	

(81)指定国 AP(GH,GM,KE,LS,MW,MZ,SD,SL,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,MD,RU,TJ,TM),EP(AT, BE,CH,CY,DE,DK,ES,FI,FR,GB,GR,IE,IT,LU,MC,NL,PT,SE,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,ML,MR,NE,SN, TD,TG),AE,AG,AL,AM,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BR,BY,BZ,CA,CH,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DK,DM,DZ,EC,EE,ES,FI,GB,GD,GE, GH,GM,HR,HU,ID,IL,IN,IS,JP,KE,KG,KP,KR,KZ,LC,LK,LR,LS,LT,LU,LV,MA,MD,MG,MK,MN,MW,MX,MZ,NO,NZ,OM,PH,P L,PT,RO,RU,SD,SE,SG,SI,SK,SL,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,UZ,VN,YU,ZA,ZM,ZW

(74)代理人 100075672

弁理士 峰 隆司

(74)代理人 100109830

弁理士 福原 淑弘

(74)代理人 100084618

弁理士 村松 貞男

(74)代理人 100092196

弁理士 橋本 良郎

(72)発明者 オルソン、ウィリアム・シー

アメリカ合衆国、ニューヨーク州 1 0 5 6 2、オッシング、ファウン・コート 2 1

(72)発明者 マッドン、ポール・ジェイ

アメリカ合衆国、ニューヨーク州 1 0 5 8 3、スカーズデール、フォックス・メドウ・ロード
1 9 1

F ターム(参考) 2G045 BB14 BB50 CB01 DA36 FB03 FB12 GC15
4B024 AA01 AA14 BA61 BA80 CA02 CA04 CA07 CA09 CA11 GA11
GA25 HA13 HA14
4B064 AG27 CA10 CA20 CC01 CC24 DA01 DA13
4B065 AA93X BA30 CA43 CA44
4C084 AA17 MA24 MA52 MA66 NA14 ZA75 ZB26 ZB33
4C085 AA13 AA14 AA16 BB41 BB43 BB44
4C086 AA01 AA02 EA01 EA20 MA01 MA04 MA24 MA52 MA66 NA14
ZA75 ZB26 ZB33
4H045 AA10 AA11 AA30 BA10 BA41 CA40 DA75 DA76 EA20 EA53
FA71 FA72 FA74

专利名称(译)	使用DC-SIGN和DC-SIGNR抑制丙型肝炎病毒感染		
公开(公告)号	JP2005521628A	公开(公告)日	2005-07-21
申请号	JP2003506480	申请日	2002-06-26
[标]申请(专利权)人(译)	项目尼克斯制药公司		
申请(专利权)人(译)	项目尼克斯-制药公司		
[标]发明人	オルソンウィリアムシー マッドンポールジェイ		
发明人	オルソン、ウィリアム・シー マッドン、ポール・ジェイ		
IPC分类号	G01N33/50 A61K31/7004 A61K31/702 A61K31/715 A61K39/395 A61K45/00 A61P1/16 A61P31/14 A61P35/00 C07K14/18 C07K14/47 C07K14/705 C07K16/10 C07K16/28 C07K19/00 C12N5/06 C12N15/09 C12P21/08 G01N33/15 G01N33/53 G01N33/566 G01N33/576		
CPC分类号	A61K2039/505 A61P1/16 C07K14/005 C07K14/70525 C07K16/1081 C07K16/2851 C12N2770/24222 G01N33/576 G01N33/5767		
FI分类号	C07K14/47.ZNA A61K31/7004 A61K31/702 A61K31/715 A61K39/395.D A61K39/395.N A61K45/00 A61P1/16 A61P31/14 A61P35/00 C07K16/10 C07K19/00 G01N33/15.Z G01N33/50.Z G01N33/53.D G01N33/566 C12N5/00.E C12N15/00.A C12P21/08		
F-TERM分类号	2G045/BB14 2G045/BB50 2G045/CB01 2G045/DA36 2G045/FB03 2G045/FB12 2G045/GC15 4B024/AA01 4B024/AA14 4B024/BA61 4B024/BA80 4B024/CA02 4B024/CA04 4B024/CA07 4B024/CA09 4B024/CA11 4B024/GA11 4B024/GA25 4B024/HA13 4B024/HA14 4B064/AG27 4B064/CA10 4B064/CA20 4B064/CC01 4B064/CC24 4B064/DA01 4B064/DA13 4B065/AA93X 4B065/BA30 4B065/CA43 4B065/CA44 4C084/AA17 4C084/MA24 4C084/MA52 4C084/MA66 4C084/NA14 4C084/ZA75 4C084/ZB26 4C084/ZB33 4C085/AA13 4C085/AA14 4C085/AA16 4C085/BB41 4C085/BB43 4C085/BB44 4C086/AA01 4C086/AA02 4C086/EA01 4C086/EA20 4C086/MA01 4C086/MA04 4C086/MA24 4C086/MA52 4C086/MA66 4C086/NA14 4C086/ZA75 4C086/ZB26 4C086/ZB33 4H045/AA10 4H045/AA11 4H045/AA30 4H045/BA10 4H045/BA41 4H045/CA40 4H045/DA75 4H045/DA76 4H045/EA20 4H045/EA53 4H045/FA71 4H045/FA72 4H045/FA74		
代理人(译)	河野 哲 中村 诚		
优先权	09/891894 2001-06-26 US		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

本发明提供了抑制对HCV感染敏感的细胞的HCV感染的方法，该方法包括使细胞与有效抑制HCV包膜糖蛋白与细胞表面上存在的DC-SIGN蛋白结合的化合物接触，从而抑制对HCV感染敏感的细胞的HCV感染。这种感染提供了一种抑制HCV感染细胞的HCV感染的方法，该方法包括使细胞与有效抑制HCV包膜糖蛋白与细胞表面DC-SIGNR蛋白结合的化合物接触，从而抑制对HCV感染敏感的细胞的HCV感染。本发明的化合物抑制对HCV感染敏感的细胞的HCV感染。本发明的化合物优选具有预防或抑制HCV感染的特异性，并且不抑制可利用DC-SIGN或DC-SIGNR感染的其他病毒如HIV的感染。此外，本发明的化合物优选不干扰或抑制免疫球蛋白超家族的成员，特别是，该化合物不干扰ICAM-2或ICAM-3或ICAM-2-ilke或ICAM-3样分子。。

抗体クローン	特異性	%陽性細胞 (平均蛍光強度)		
		HeLa-DC-SIGN	HeLa-DC-SIGN-R	HeLa 親株
507 (D)	DC-SIGN	90.6 (81.1)	3.5 (17.1)	0.8 (7.8)
612 (X)	DC-SIGN, DC-SIGNR	67.3 (46.6)	94.8 (102.1)	0.3 (8.1)
604 (L)	DC-SIGNR	1.1 (14.2)	96.0 (128.9)	0.1 (8.6)
アイソタイプ 対照	なし	1.0 (16.9)	2.8 (13.7)	0.1 (7.9)