



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2011-0061624
(43) 공개일자 2011년06월09일

(51) Int. Cl.
C07K 16/10 (2006.01) C12N 15/82 (2006.01)
A61K 39/42 (2006.01) A61P 31/14 (2006.01)
(21) 출원번호 10-2011-7008883
(22) 출원일자(국제출원일자) 2008년10월05일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2011년04월19일
(86) 국제출원번호 PCT/US2008/078884
(87) 국제공개번호 WO 2010/039154
국제공개일자 2010년04월08일

(71) 출원인
더 보드 오브 트러스티즈 오프 더 리랜드 스탠포드
주니어 유니버시티
미국, 캘리포니아 94305, 스탠포드, 스탠포드 유
니버시티
(72) 발명자
풍, 스티븐
미국, 캘리포니아 94305, 스탠포드, 메이필드 애
비뉴 588
첵크, 첸-용
미국, 캘리포니아 94065, 레드우드 시티, 하버 카
운티 코트 617
(74) 대리인
강명구

전체 청구항 수 : 총 55 항

(54) C형 간염 항체 및 이의 용도

(57) 요약

본 발명은 C형 간염 바이러스 (HCV)의 외피 단백질 E2의 입체적 에피토프의 확인 및 특징을 제공한다. 본 발명은 E2의 입체적 에피토프를 인지하는 인간 단클론 항체 패널을 제공한다. 항체는 HCV로 감염된 환자로부터 유도된다. 본 발명은 HCV 항체를 치료요법적, 진단, 및/또는 예방적 물질로 이용하는 방법을 제공한다. 본 발명은 온전한 입체적 에피토프를 가진 미토프와 이를 이용하는 방법을 제공한다. 본 발명은 HCV에 대한 환자들의 반응에 근거하여 환자들을 분류하는 방법을 제공한다. 본 발명은 하나 이상의 HCV 항체를 포함하는 HCV 치료 및 예방을 위한 약학 조성물을 제공한다.

대표도

HMAbs	HCVpp							
	1a	1b	2A	2B	3A	4	5	6
HC-1	+	+	+	+	+	+	+	+
HC-3	+	+	+	+	+	+	+	+
HC-11	+	+	+	+	+	+	+	+
CBH-23	+	+	+	+	+	+	+	+
RO4	--	--	--	--	--	--	--	--

a. E1E2 형질감염된 293T 세포에 대한 간접 면역형광 분석

특허청구의 범위

청구항 1

C형 간염 바이러스 (HCV) 외피 당단백질 2 (E2)의 아미노산 523- 540 내에 입체적 에피토프에 대한 항체.

청구항 2

항체가 단클론 항체 HC-1가 되는, 항체.

청구항 3

항체가 단클론 항체 HC-3가 되는, 항체.

청구항 4

항체가 단클론 항체 HC-11이 되는, 항체.

청구항 5

항체가 단클론 항체 CBH-23이 되는, 항체.

청구항 6

HC-1에 의해 인지되는 에피토프에 대한 항체.

청구항 7

HC-3에 의해 인지되는 에피토프에 대한 항체..

청구항 8

HC-11에 의해 인지되는 에피토프에 대한 항체..

청구항 9

CBH-23에 의해 인지되는 에피토프에 대한 항체..

청구항 10

에피토프의 결합에 있어서 HC-1과 경쟁하는 항체.

청구항 11

에피토프의 결합에 있어서 HC-3과 경쟁하는 항체.

청구항 12

에피토프의 결합에 있어서 HC-11과 경쟁하는 항체.

청구항 13

에피토프의 결합에 있어서 CBH-23과 경쟁하는 항체.

청구항 14

청구항 1-13 항중 어느 한 항에 있어서, 항체는 단클론 항체가 되는, 항체.

청구항 15

청구항 1-13 항중 어느 한 항에 있어서, 항체는 인간화된 항체가 되는, 항체.

청구항 16

청구항 1-13 항중 어느 한 항에 있어서, 항체는 포유류 항체가 되는, 항체.

청구항 17

HC-1, HC-3, HC-11, 및 CBH-23으로 구성된 군으로부터 선택된 항체의 단편, 이때 단편은 전체 항체의 항원 결합 활성을 보유하는, 항체의 단편.

청구항 18

청구항 1-17 항중 어느 한 항에 따른 항체를 발현시키는, 세포계.

청구항 19

청구항 18 항에 있어서, 세포계는 B 세포계가 되는, 세포계.

청구항 20

청구항 18 항에 있어서, 세포계는 인간 세포계가 되는, 세포계.

청구항 21

청구항 18 항에 있어서, 세포계는 포유류 세포계가 되는, 세포계.

청구항 22

청구항 21 항에 있어서, 세포계는 진핵 세포계가 되는, 세포계.

청구항 23

청구항 18 항에 있어서, 세포계는 하이브리도마가 되는, 세포계.

청구항 24

HC-1, HC-3, HC-11, 및 CBH-23으로 구성된 군으로부터 선택된 항체; 그리고 약학적으로 허용가능한 부형제를 포함하는 약학 조성물.

청구항 25

HC-1, HC-3, HC-11, 및 CBH-23으로 구성된 군으로부터 선택된 항체에 의해 인지되는 에피토프를 인지하는 항체; 그리고

약학적으로 허용가능한 부형제를 포함하는 약학 조성물.

청구항 26

HC-1, HC-3, HC-11, 및 CBH-23으로 구성된 군으로부터 선택된 항체의 단편, 이때 단편은 전체 항체의 항원 결합 활성을 보유하는, 항체의 단편; 그리고

약학적으로 허용가능한 부형제를 포함하는 약학 조성물.

청구항 27

청구항 24-26항중 임의의 한 항에 있어서, 최소한 하나의 추가적인 항바이러스제를 더 포함하는, 약학 조성물.

청구항 28

청구항 27 항에 있어서, 최소한 하나의 추가적인 항바이러스제는 인터페론, 항-HCV 단클론 항체, 항-HCV 다클론 항체, RNA 폴리메라제 억제제, 리바비린, 프로테아제 억제제, IRES 억제제, 헬리카제 억제제, 안티센스화합물, 짧은 간섭 RNAs, 짧은 헤어핀 RNAs, 마이크로 RNAs, RNA 아파타머, 및 리보자임으로 구성된 군으로부터 선택되는, 약학 조성물.

청구항 29

청구항 27 항에 있어서, 최소한 하나의 추가 항바이러스제는 인터페론이 되는 약학 조성물.

청구항 30

청구항 27 항에 있어서, 최소한 하나의 추가 항바이러스제는 리바비린이 되는 약학 조성물.

청구항 31

청구항 27 항에 있어서, 최소한 하나의 추가 항바이러스제는 인터페론 및 리바비린 조합이 되는 약학 조성물.

청구항 32

청구항 27 항에 있어서, 최소한 하나의 추가 항바이러스제는 항-HCV 단클론 항체가 되는 약학 조성물.

청구항 33

청구항 32 항에 있어서, 항-HCV 단클론 항체는 외피 당단백질 2 (E2)를 인지하는 약학 조성물.

청구항 34

청구항 32 항에 있어서, 항체는 동일한 HCV 유전자형의 단백질을 향하는, 약학 조성물.

청구항 35

청구항 32 항에 있어서, 항체는 두 개 또는 그 이상의 HCV 유전자형의 단백질을 향하는, 약학 조성물.

청구항 36

HCV 감염된 환자를 치료하는 방법에 있어서

HCV에 감염된 또는 HCV 감염되기 쉬운 환자를 제공하고; 그리고 청구항 1-35 항중 임의의 한 항에 따른 항체 또는 약학 조성물을 환자에 투여하는 것을 포함하는 방법.

청구항 37

HCV에 노출된 환자를 치료하는 방법에 있어서

HCV에 감염된 또는 HCV 감염되기 쉬운 환자를 제공하고; 그리고 청구항 1-35 항중 임의의 한 항에 따른 항체 또는 약학 조성물을 환자에 투여하는 것을 포함하는 방법.

청구항 38

청구항 36 또는 37 항에 있어서, 치료요법적 유효량은 개체에서 HCV 감염을 치료하는데 충분한 양이 되는, 방법.

청구항 39

청구항 36 또는 37 항에 있어서, 치료요법적 유효량은 개체에서 HCV 감염의 재발을 감소시키는데 충분한 양이 되는, 방법.

청구항 40

청구항 36 또는 37 항에 있어서, 치료요법적 유효량은 개체에서 HCV 감염 개시를 지연시키는데 충분한 양이 되는, 방법.

청구항 41

청구항 36 또는 37 항에 있어서, 개체는 HCV 감염된 엄마에게서 태어난 아기가 되는, 방법.

청구항 42

청구항 36 또는 37 항에 있어서, 개체는 간 이식 수용체가 되는 방법.

청구항 43

청구항 36 또는 37 항에 있어서, 개체는 HCV 감염에 걸리기 쉬운 개체가 되는 방법.

청구항 44

청구항 36 또는 37 항에 있어서, 개체는 HCV 감염을 앓고 있는 개체가 되는 방법.

청구항 45

약학 조성물의 유효량을 요하는 환자에게 투여하는 방법에 있어서,

이때 약학 조성물은 약학적으로 허용가능한 부형제와 다음으로 구성된 군으로부터 선택된 인간 단클론 항체를 포함하는, 방법.

- (a) ATCC에서 기탁번호 PTA-9416로 기탁된 하이브리도마 세포계에 의해 분비되는 단클론 항체 HC-1;
- (b) ATCC에서 기탁번호 PTA-9417로 기탁된 하이브리도마 세포계에 의해 분비되는 단클론 항체 HC-3;
- (c) ATCC에서 기탁번호 PTA-9418로 기탁된 하이브리도마 세포계에 의해 분비되는 단클론 항체 HC-11;
- (d) ATCC에서 기탁번호 PTA-9419로 기탁된 하이브리도마 세포계에 의해 분비되는 단클론 항체 CBH-23; 그리고
- (e) 전체 항체의 항원 결합 특징을 보유하는 (a)-(d)의 항체 단편들.

청구항 46

HC-1, HC-3, HC-11, 및 CBH-23으로 구성된 군으로부터 선택된 최소한 하나의 HCV 항체; 최소한 하나의 HCV 항체를 개체에게 투여하기 위한 주사기, 바늘, 또는 어플리케이터; 그리고 사용 지침을 포함하는 키트.

청구항 47

HC-1, HC-3, HC-11, 및 CBH-23으로 구성된 군으로부터 선택된 최소한 하나의 HCV 항체를 포함하는 동결건조된 분말; 분말을 재구성하는데 이용되는 희석제를 포함하는 키트.

청구항 48

HC-1과 동일한 에피토프에 결합하는, 소분자.

청구항 49

HC-3과 동일한 에피토프에 결합하는, 소분자.

청구항 50

HC-11과 동일한 에피토프에 결합하는, 소분자.

청구항 51

CBH-23과 동일한 에피토프에 결합하는, 소분자.

청구항 52

에피토프에 결합에 있어서 HC-1과 경쟁하는 소분자.

청구항 53

에피토프에 결합에 있어서 HC-3과 경쟁하는 소분자.

청구항 54

에피토프에 결합에 있어서 HC-11과 경쟁하는 소분자.

청구항 55

에피토프에 결합에 있어서 CBH-23과 경쟁하는 소분자.

명세서

기술분야

정부 지원

본 발명은 미합중국 국립 보건 연구소에서 제공하는 증서 HL79381에 의해 정부 지원으로 이루어졌다. 정부는 본 발명에 대해 일정 권리를 가진다.

배경기술

전세계적으로 170만명이 C형 간염 바이러스 (HCV)에 감염되어있다. 급성감염은 항상 조용하지만, 감염된 개체들의 대부분은 지속적인 감염으로 발전한다(Major et al., 2001, "Hepatitis C viruses," *Fields Virology*, 1127-1162; 참고문헌에 통합된다). 급성 감염의 작은 부분은 비율은 질병 해결과 함께 바이러스 혈증이 사라진다. 강력하고, 지속적인 CD4⁺ T 세포 반응은 일시적인 바이러스 제거와 관련있으며, 이는 질병 해결로 이어지기 때문에 세포 면역성이 필수적이다. (Shoukry et al., 2004, *Annu. Rev. Microbiol.*, 58:391; 참고문헌에 통합된다).

항바이러스 약물(가령, 인터페론 또는 페길화된(PEGylated) 인터페론)을 단독으로 또는 리바비린(가령, 바이러스 게놈 복제를 간섭하는 뉴클레오시드 유사체)과 함께 복용하면 만성 C형 간염 환자 치료에 이용할 수 있지만 치료 비용이 매우 많이 든다. 환자의 약 10% 내지 20%에서 인터페론만으로 치료가 효과적이며, 리바비린과 인터페론을 복합하면, 환자의 약 30% 내지 50%에 효과가 있다.

본 발명은 HCV의 예방, 치료 및/또는 진단에 유용할 수 있는 항체를 개발할 수 있다는 인식을 포함한다. 항체-기반 백신 개발에서 상당한 도전은 보존된 보호성 에피토프를 밝히고, 이들 에피토프를 특이적으로 인지하는 항체를 만드는 것이다.

발명의 요약

본 발명은 인간 단클론 항체를 포함한, 단클론 항체를 제공하는데, 이 항체는 다중 C형 간염 바이러스 (HCV) 유전자형 및/또는 아류형(Subtypes)에 결합한다. 이와 같은 항체는 HCV의 예방, 치료, 진단, 및/또는 연구에 유용하다. 특히, 본 발명은 HCV 외피 당단백질 E2의 보존된 입체적 에피토프(confomational epitope)에 결합하는 단클론 항체를 제공한다. 일부 구체예에서, 본 발명에 따른 HCV 항체는 많은, 대부분의 또는 모든 경우의 HCV에 결합할 수 있다. 일부 구체예에서, 단클론 항체는 다양한 진단학적 분석에 용도를 가진다. 본 발명에 따른 HCV 항체는 감염된 개체에서 바이러스 부하(load)를 감소시키기 위한 수동 면역요법에 용도를 가진다. 본 발명에 따른 HCV 항체의 용도는 표적 세포의 감염을 간섭하는 것이 될 수 있다. 보존된 에피토프를 인지하는 항체를 이용하여 펩티드 및 형태학적으로 정의된 에피토프 모방체(가령, 유기 화합물, 유기금속 화합물, 무기 화합물, 소분자 등)의 기획을 위한 주형을 제공한다. 일부 구체예에서, HCV E2 단백질 및 이의 단편들의 보존된 부분은 치료요법, 예방, 진단, 및/또는 기타 목적에 이용된다.

일부 구체예에서, 본 발명에 따른 항체는 HCV의 E2 단백질의 입체적 에피토프에 대항한다. E2의 형태학적 그리고 선형 에피토프는 단클론 항체의 패널 및 E2의 일련의 결손 구조체를 이용하여 확인되었다. 기존 연구들은 (가령, U.S. 특허 6,692,908; 및 U.S. 특허 공개 2006/0104980 및 2006/0188571; 모두 참고문헌에 통합된다) HCV 1b의 E2 아미노산 사이의 입체적 에피토프에 결합하는 항체 종류를 보고하였다. 이 종류의 항체는 E2와 CD81의 상호작용을 방해하는 것으로 밝혀졌다. 또 다른 종류의 항체는 HCV 1b E2 아미노산 470 644 사이의 입체적 에피토프에 결합하는 것으로 밝혀졌다. 세 번째 종류의 항체는 HCV 1b E2 아미노산 470 644 사이의 입체적 에피토프에 결합하지만, E2가 CD81에 결합하는 것을 방해하지는 못한다. 네 번째 종류는 HCV 1b E2 아미노산 644 661 사이의 입체적 에피토프에 결합한다. 다섯 번째 종류는 HCV 1b E1 아미노산 230 313 사이의 입체적 에피토프에 결합한다. 여섯 번째 종류는 다중 유전자형으로부터 유래된 선형 HCV E1 에피토프에 결합한다.

일곱 번째 종류는 HCV 1a E2 아미노산 657 698 일부분을 포함하는 입체적 에피토프에 결합한다.

- [0009] 일부 구체예에서, HCV 항체가 향하는 입체적 에피토프는 HCV 유전자형 (가령, 유전자형 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 및/또는 이의 조합)에서 보존되어 있다. 일부 구체예에서, HCV 항체가 향하는 입체적 에피토프는 HCV 아류형 (가령, 아류형 1a, 1b, 1c, 2a, 2b, 2c, 3a, 3b, 4a, 4b, 4c, 4d, 4e, 5a, 6a, 7a, 7b, 8a, 8b, 9a, 10a, 11a, 및/또는 이의 조합)에서 보존되어 있다. 일부 구체예에서, HCV 항체가 향하는 입체적 에피토프는 HCV 균주들 사이에서 보존되어 있다. 유전자형 및 아류형 표시 다음에 제공되는 숫자 표시(가령, 1, 2, 3, 등)로 HCV는 100개이상의 균주가 존재하는 것으로 예측된다.
- [0010] 본 발명은 상기에서 설명된 임의의 에피토프보다 좀더 정확하게 특징화된 HCV E2 에피토프를 인지하는 단클론 항체를 제공한다. 본 발명의 항체는 이미 설명된 일부 항체와 교차-경쟁한다. 그러나, 본 발명에 따른 일부 항체는 기존의 설명된 항체보다 더 강력한 효과를 가진 모델 시스템에서 HCV를 중화한다. 따라서, 본 발명은 여기에서 설명된 새로 확인된 항체는 기존의 설명된 항체보다 더 큰 치료요법적 및/또는 예방학적 장점을 제공할 것이다.
- [0011] 일부 구체예에서, 항-HCV E2 항체는 American Type Culture Collection (ATCC)에 기탁번호 PTA-9416로 기탁된 하이브리도마 세포계에 의해 분비되는 인간의 단클론 항체 HC-1; ATCC 기탁번호 PTA-9417로 기탁된 하이브리도마 세포계에 의해 분비되는 인간의 단클론 항체 HC-3; ATCC 기탁번호 PTA-9418로 기탁된 하이브리도마 세포계에 의해 분비되는 인간의 단클론 항체 HC-11; 및 ATCC 기탁번호 PTA-9419로 기탁된 하이브리도마 세포계에 의해 분비되는 인간의 단클론 항체 CBH-23으로 구성된 군으로부터 선택된다.
- [0012] 본 발명에 따른 항체는 약리 제제를 제공하기 위하여 약리학적으로 허용가능한 부형제와 복합될 수 있다. 본 발명은 C형 간염의 치료, 예방, 및/또는 진단용 약학 조성물을 제공한다. 일부 구체예에서, 본 발명에 따른 약학 조성물은 HCV 외피 당단백질 E2에 결합할 수 있고, 시험관 및 생체에서 HCV 감염을 중화시킬 수 있는 인간 항체를 포함한다.
- [0013] 일부 구체예에서, 본 발명에 따른 약학 조성물은 전체 항체의 항원 결합 특징을 실질적으로 보유하는 HCV 항체 (가령, HC-1, HC-3, HC-11, 및/또는 CBH-23)의 단편들을 포함할 수 있다. 일부 구체예에서, 약학 조성물은 당 분야에 잘 알려진 재조합 방법에 의해 생산된 HCV 항체를 포함할 수 있다.
- [0014] 본 발명은 본 발명에 따른 HCV 항체의 다양한 치료요법적, 예방학적 및/또는 진단학적 용도를 제공한다. 일부 구체예에서, HC-1, HC-3, HC-11, 및 CBH-23 항체를 포함하는 약학 조성물은 HCV E2에 결합할 수 있는 항체 또는 이의 단편들의 치료요법적 효과량을 환자에게 투여함으로써, 만성 및/또는 급성 C형 간염의 치료에 이용될 수 있다. 치료요법적 유효량은 하나 이상의 특정 생물학적 효과를 얻는데 충분한 양이다. 치료요법적 유효량은 한 번에 단일 약량으로 투여되거나 또는 시간을 두고 다수의 개별 약량(동일하거나 상이한 크기의)으로 배포되거나, 또는 연속 운반(일정 속도로 또는 가변적 속도로)될 수 있다. 특정 구체예에서, 치료요법적 유효량은 (i) 하나 이상의 HCV 감염 증상을 경감시키고; (ii) 개체 및/또는 개체의 기관중 하나(가령, 간)에서 순환하는 바이러스 입자의 수를 감소시키고; (iii) 하나 이상의 HCV 감염 증상의 재출현을 예방하고, 재출현 가능성을 감소시키거나 및/또는 하나 이상의 HCV 감염 증상의 재출현을 지연시키고; 및/또는 (iv) HCV-감염된 개인 또는 개인의 기관(가령, 간)에서 순환하는 바이러스 입자들의 증가 가능성을 방지, 감소 및/또는 증가 개시를 지연시키는 것을 포함하나 이에 한정되지 않는 하나 이상의 원하는 생물학적 결과를 얻기 위한 효과적인 양이다. 본 발명에 따른 약학 조성물은 HCV 감염 방지, 재발 감소 및/또는 감염 개시의 지연에 이용될 수 있다. 조성물은 예를 들면, HCV에 최근에 노출된 또는 HCV에 노출될 위험에 있는 개체, HCV-양성 엄마에게서 태어난 신생아, 및/또는 간 이식 환자(가령, 이와 같은 환자에서 HCV 감염의 재발가능성을 방지하기 위하여)의 수동적 면역화에 이용될 수 있다.
- [0015] 본 발명은 또한 본 발명에 따른 항체의 치료요법적 유효량과 추가적인 활성 성분으로 최소한 한 가지 기타 항-바이러스제가 복합된 것을 포함하는 약학 조성물을 제공한다. 이와 같은 물질은 인터페론 (가령, 인터페론 α -2b, 인터페론 γ , 등), 항-HCV 단클론 항체, 항-HCV 다클론 항체, RNA 폴리메라제 억제제, 프로테아제 억제제, 리바비린, IRES 억제제, 헬리카제 억제제, 면역조절물질, 안티센스화합물, 짧은 간섭 RNAs, 짧은 헤어핀 RNAs, 마이크로 RNAs, RNA 아파타머, 리보자임, 및 이의 복합을 포함하나 이에 한정되지 않는다.
- [0016] 본 발명에 따른 항체는 HCV E2 단백질의 입체적 에피토프를 한정하며, 이와 같은 에피토프를 포함하는 조성물 및 화합물이 제공된다. 예를 들면, 본 발명은 HCV E2 단백질의 입체적 에피토프를 포함하는 단백질, 펩티드, 및 소분자를 제공한다. 펩티드는 본 발명에 따른 항체에 의해 인지되는 하나 이상의 에피토프를 포함할 수 있다.

특정 구체예에서, 단백질은 선택적인 연결 서열을 가진 사슬로 연결된(concatenated) 일련의 펩티드이며, 이중 최소한 하나는 HCV의 최소한 하나의 입체적 에피토프를 포함한다. 일련의 펩티드는 HCV E2 단백질의 상이한 입체적 에피토프를 포함할 수 있다. 대안으로, 일련의 펩티드는 모두 동일한 에피토프를 포함할 수 있다. 일반적으로, 일련의 펩티드는 자연 상태와 마찬가지로 입체적 에피토프를 나타내기 위하여 적절하게 폴딩된다. 이와 같은 단백질 및 펩티드는 백신을 조제하거나 진단 테스트에 이용될 수 있다.

[0017] 본 발명은 HCV에 대한 면역 반응에 근거하여 환자를 구별짓고, HCV 면역요법에 잘 반응할 것 같은 환자들을 확인하는 방법도 제공한다. 예를 들면, 환자의 혈청을 이용하여 HCV의 특정 에피토프에 대항하는 항체의 존재를 테스트할 수 있다. 환자가 이와 같은 에피토프, 특히 HCV E2 단백질의 입체적 에피토프에 특이적인 항체를 적절한 수준으로 가지고 있지 않는 경우, 이 에피토프에 대한 인간 단클론 항체를 환자에게 투여할 수 있다. 환자의 고유한 면역 반응은 본 발명의 항체 또는 이의 조성물로 보충될 수 있다. 특정 구체예에서, 면역요법은 HCV 바이러스의 제거 및/또는 HCV 감염의 해결에 도움이 된다. 특정 구체예에서, 본 발명에 따른 면역요법은 만성 HCV 감염을 치료 및/또는 예방한다.

[0018] 정의

[0019] 아미노산: 여기에서 사용된 것과 같이, “아미노산”은 넓은 의미에서 폴리펩티드 쇄에 결합될 수 있는 임의의 화합물 및/또는 물질을 지칭한다. 일부 구체예에서, 아미노산은 일반 구조 $H_2N(C(H)(R)COOH$ 를 가진다. 일부 구체예에서, 아미노산은 자연적으로 생성되는 아미노산이다. 일부 구체예에서, 아미노산은 합성 아미노산이며; 일부 구체예에서, 아미노산은 D-아미노산이며; 일부 구체예에서, 아미노산은 L-아미노산이다. “표준 아미노산” 자연적으로 생성되는 펩티드에서 흔히 볼 수 있는 20개의 표준 아미노산중 하나를 말한다. “비-표준 아미노산”은 합성되었던, 자연 소스로부터 얻은 것이건 상관없이 표준 아미노산 이외의 임의의 아미노산을 지칭한다. 여기에서 사용된 것과 같이, “합성 아미노산”은 염, 아미노산 유도체 (가령, 아미드), 및/또는 치환체를 포함하나 이에 한정되지 않는 화학적으로 변형된 아미노산을 포함한다. 펩티드에서 카복시- 및/또는 아미노-말단 아미노산을 포함하는 아미노산은 메틸화, 아미드첨가, 아세틸화, 보호기에 의해 변형되거나, 및/또는 아미노산의 활성에 역효과 없이 펩티드의 순환 반감기를 변화시킬 수 있는 다른 화학기에 의해 치환됨으로써 변형될 수 있다. 아미노산은 이황화 결합에 참여할 수 있다. 아미노산은 하나 이상의 화학적 엔티티(가령, 메틸 기, 아세테이트 기, 아세틸 기, 포스페이트 기, 포밀 모이어티, 이소프레노이드 기, 설페이트 기, 폴리에틸렌 글리콜 모이어티, 지질 모이어티, 탄수화물 모이어티, 바이오틴 모이어티, 등)과 연합된 것과 같은 하나 이상의 해독후 변형을 포함할 수 있다. “아미노산”은 “아미노산 잔기”와 호환되며, 펩티드의 자유 아미노산 및/또는 아미노산 잔기를 지칭한다. 이 용어가 자유 아미노산을 말하는지 또는 펩티드의 잔기를 말하는지는 내용으로부터 분명하게 알 수 있을 것이다.

[0020] 동물: 여기에서 사용된 것과 같이, “동물”은 동물계의 임의의 구성원을 지칭한다. 일부 구체예에서, “동물”은 성별에 무관하게 그리고 임의의 발달 단계에 있는 인간을 지칭한다. 일부 구체예에서, “동물”은 임의의 발달 단계에 있는 인간이 아닌 인간 동물을 지칭한다. 특정 구체예에서, 인간이 아닌 동물은 포유류(가령, 설치류, 마우스, 쥐, 토끼, 원숭이, 개, 고양이, 양, 소, 영장류 및/또는 돼지)다. 일부 구체예에서, 동물은 포유류, 새, 파충류, 물고기, 곤충 및/또는 벌레를 포함하나 이에 한정되지 않는다. 특정 구체예에서, 동물은 HCV에 감염되기 쉽다. 일부 구체예에서, 동물은 유전자전이 동물, 유전적으로 조작된 동물, 및/또는 클론이 될 수 있다.

[0021] 항체: 여기에서 사용된 것과 같이, “항체”는 자연 또는 전체적으로 또는 부분적으로 합성되어 만들어진 것에 무관하게 임의의 면역글로블린을 말한다. 특이적인 결합 능력을 유지하는 이의 모든 유도체 또한 이 용어에 포함된다. 면역글로블린-결합 도메인에 상동성인 또는 거의 상동성인 결합 도메인을 가지는 임의의 단백질도 포함한다. 이와 같은 단백질은 자연 소스, 또는 부분적으로 또는 완전하게 합성에 의해 생성된 것으로부터 유도될 수 있다. 항체는 단클론 또는 다클론 항체가 될 수 있다. 항체는 인간 부류의 IgG, IgM, IgA, IgD, 및 IgE를 포함하는 임의의 면역글로블린 부류의 멤버일 수 있다. 특정 구체예에서, 항체는 IgG 면역글로블린 부류의 한 멤버가 될 수 있다. 여기에서 사용된 것과 같이, “항체 단편” 또는 “항체의 특징적인 부분”은 호환되며, 전장보다 짧은 항체의 임의의 유도체를 지칭한다. 일반적으로, 항체 단편은 전장 항체의 특이적 결합 능력의 최소한 주요 부분을 보유한다. 항체 단편에는 Fab', F(ab')₂, scFv, Fv, dsFv 디아바디(diabody), 및 Fd 단편을 포함하나 이에 한정되지 않는다. 항체 단편은 임의의 수단에 의해 만들어질 수 있다. 예를 들면, 항체 단편은 효소적으로 또는 화학적으로 고유 항체의 단편화에 의해 만들어질 수 있거나 및/또는 부분적인 항체 서열을 인코딩하는 유전자로부터 재조합에 의해 만들어질 수 있다. 대안으로, 또는 추가적으로, 항체 단편은 전체

적 또는 부분적 합성에 의해 만들어질 수 있다. 항체 단편은 선택적으로 단일쇄 항체 단편을 포함할 수 있다. 대안으로, 또는 추가적으로, 항체 단편은 예를 들면, 이황화물 연결에 의해 서로 연결된 다중쇄를 포함할 수 있다. 항체 단편은 선택적으로 다중분자 복합체를 포함할 수 있다. 기능적 항체 단편은 일반적으로 최소한 약 50개 아미노산을 포함하고, 더 일반적으로 최소한 약 200개 아미노산을 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 인간 항체가 될 수 있다. 일부 구체예에서, 항체는 인간화 항체가 될 수 있다.

[0022] 대략적으로: 여기에서 사용된 것과 같이, 중요한 하나 이상의 값에 적용하였을 때, “대략적으로” 또는 “약”은 명시된 기준 값에 유사한 값을 지칭한다. 특정 구체예에서, “대략적으로” 또는 “약”은 다른 언급이 없거나 내용으로부터 명백하지 않으면, 명시된 기준 값의 임의의 방향(더 크거나 또는 더 적거나)으로 25%, 20%, 19%, 18%, 17%, 16%, 15%, 14%, 13%, 12%, 11%, 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1%, 또는 그 미만에 속하는 값의 범위를 말한다(단, 이와 같은 값의 범위가 가능한 값의 100%를 초과하는 경우는 제외될 수 있다).

[0023] 생물학적으로 활성인: 여기에서 사용된 것과 같이, “생물학적으로 활성인”이란 생물학적 시스템(가령, 세포 배양물, 유기체, 등)에서 활성을 가지는 임의의 물질의 특징을 말한다. 예를 들면, 유기체로 투여되었을 때 유기체에 생물학적 효과를 가지는 물질을 생물학적으로 활성이 있다고 간주한다. 특정 구체예에서, 단백질 또는 폴리펩티드가 생물학적으로 활성인 경우, 단백질 또는 폴리펩티드의 최소한 한 가지의 생물학적 활성을 공유하는 단백질 또는 폴리펩티드의 일부분은 일반적으로 “생물학적으로 활성인” 부분으로 간주된다.

[0024] 특징적인 부분: 여기에서 사용된 것과 같이, 물질의 “특징적인 부분”은 넓은 의미에서, 전체 물질에 대해 서열 또는 구조적 동일성을 어느 정도 공유하는 것을 말한다. 특정 구체예에서, 특징적 부분은 고유 물질과 최소한 한 가지 기능적 특징적을 공유한다. 예를 들면, 단백질 또는 폴리펩티드의 “특징적 부분”은 아미노산의 연속 스트레치(stretch) 또는 단백질 또는 폴리펩티드의 특징을 함께 가지는 아미노산의 연속 스트레치의 집합을 말한다. 일부 구체예에서, 이와 같은 각 연속 스트레치는 일반적으로 최소한 2개, 5개, 10개, 15개, 20개, 50개, 또는 그 이상의 아미노산을 포함한다. 일반적으로, 물질(가령, 단백질, 항체, 등)의 특징적 부분은 서열 및/또는 상기에 명시된 구조적 동일성에 추가하여, 관련 고유 물질과 최소한 한 가지 기능적 특징을 공유한다. 일부 구체예에서, 특징적 부분은 생물학적으로 활성인 것일 수 있다.

[0025] 발현(Expression): 여기에서 사용된 것과 같이, 핵산 서열의 “발현”은 다음중 하나를 말한다: (1) DNA 서열로부터 RNA 주형의 생산(가령, 전사에 의해); (2) RNA 전사체의 프로세싱(가령, 접목(splicing), 에디팅, 5' 캡 형성, 및/또는 3' 말단 형성); (3) RNA를 폴리펩티드 또는 단백질로 해독; 및/또는 (4) 폴리펩티드 또는 단백질의 해독후(post-translational) 변형.

[0026] 기능적(functional): 여기에서 사용된 것과 같이, 생물학적 “기능” 분자는 특징으로 부여된 성질 및/또는 활성을 나타내는 생물학적 분자를 말한다.

[0027] 유전자: 여기에서 사용된 것과 같이, “유전자”는 당분야에서 인지되는 의미를 가진다. 당업자는 “유전자” 용어에 유전자 조절(regulatory) 서열(가령, 프로모터, 인핸서, 등) 및/또는 인트론 서열이 포함될 수 있다는 것을 인지할 것이다. 유전자의 정의에는 단백질을 인코딩하지는 않지만, 기능적 RNA 분자, 가령, tRNAs, RNAi-유도화 물질 등을 인코딩하는 핵산을 지칭하는 것도 포함된다는 것을 추가 인지할 것이다. 분명하게 하기 위한 목적으로, 본 발명에서 이용된 것과 같이, “유전자” 용어는 일반적으로 단백질을 인코딩하는 핵산 부분을 말하지만; 이 용어는 조절 서열을 선택적으로 포함할 수 있으며, 이는 당업자가 내용으로부터 분명하게 인지할 수 있을 것이다. 이 용어는 “유전자” 용어의 적용을 단백질이 아닌 코딩 발현 단위를 배제하는 의도는 아니지만, 대부분의 경우, 본 내용에서 사용된 이 용어는 단백질-코딩 핵산을 지칭한다는 것을 밝혀둔다.

[0028] 유전자 산물 또는 발현 산물: 여기에서 사용된 것과 같이, “유전자 산물” 또는 “발현 산물”은 유전자로부터 전사된 RNA 유전자(사전-프로세싱-및/또는 사후-프로세싱) 또는 이 유전자로부터 전사된 RNA에 인코딩된 폴리펩티드(사전- 및/또는 사후-변형)를 지칭한다.

[0029] 상동성(Homology): 여기에서 사용된 것과 같이, “상동성”은 폴리머 분자들, 가령, 핵산 분자(가령, DNA 분자 및/또는 RNA 분자) 및/또는 폴리펩티드 분자들 사이에 전반적인 관련성을 말한다. 일부 구체예에서, 폴리머 분자는 이들 서열이 최소한 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 또는 99% 동일성을 가진다면 서로에 대해 “상동성”이라고 간주된다. 일부 구체예에서, 폴리머 분자는 이들 서열이 최소한 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 또는 99% 유사하다면 서로에 대해 “상동성”이라고 간주된다.

[0030] 동일성(Identity): 여기에서 사용된 것과 같이, “동일성”은 폴리머 분자들, 가령, 핵산 분자(가령, DNA 분

자 및/또는 RNA 분자) 및/또는 폴리펩티드 분자들 사이에 전반적인 관련성을 말한다. 두 핵산 서열의 동일성 비율의 계산은 최적의 비교 목적을 위하여 두 개 서열을 배열하여 실행될 수 있다(가령, 컴퓨터 계산 목적으로 제1 또는 제 2 또는 제1과 제2 핵산 서열에 갭을 도입시키고, 동일하지 않은 서열을 무시할 수 있다). 특정 구체예에서, 비교 목적으로 배열된 서열의 길이는 기준 서열 길이의 최소한 30%, 최소한 40%, 최소한 50%, 최소한 60%, 최소한 70%, 최소한 80%, 최소한 90%, 최소한 95%, 또는 실질적으로 100%가 된다. 상응하는 뉴클레오티드 위치에서 뉴클레오티드가 비교된다. 제 1 서열의 한 위치에 상응하는 제 2 서열에 있는 동일한 뉴클레오티드가 있다면, 분자는 그 위치에서 동일하다. 두 서열간에 동일성 비율은 두 서열의 최적 배열을 위하여 도입시킬 필요가 있는 갭의 수, 갭의 길이를 고려하여, 서열에 의해 공유되는 동일 위치의 수에 대한 함수가 된다. 서열의 비교 및 두 서열간에 동일성 비율의 결정은 수학적 알고리즘을 이용하여 실시될 수 있다. 예를 들면, 두 개 뉴클레오티드 서열 사이에 동일성 비율은 Meyers and Miller (CABIOS, 1989, 4: 11-17)을 이용하여 결정될 수 있는데, Meyers and Miller 은 PAM120 웨이트 잔기 테이블, 갭 길이 페널티 12 그리고 갭 페널티 4를 이용하여 ALIGN 프로그램 (version 2.0)에 통합된 것이다. 대안적으로, 두 개의 뉴클레오티드 서열 사이에 동일성 비율은 NWSgapdna.CMP matrix를 이용한 GCG 소프트웨어 패키지의 GAP 프로그램에 의해 결정될 수도 있다.

[0031] 분리된: 여기에서 사용된 것과 같이, “분리된” 은 (1) 처음 만들어졌을 때(자연계에서 및/또는 실험적 세팅에서 만들어지건 상관없이) 연합된 성분들중 최소한 일부분으로부터 분리된, 및/또는 (2) 사람의 손에 의해 만들어지거나, 준비되거나, 및/또는 제조된 물질 및/또는 엔터티를 말한다. 분리된 물질 및/또는 엔터티는 초기 연합되어 있는 다른 성분들의 약 10%, 약 20%, 약 30%, 약 40%, 약 50%, 약 60%, 약 70%, 약 80%, 약 90%, 약 91%, 약 92%, 약 93%, 약 94%, 약 95%, 약 96%, 약 97%, 약 98%, 약 99%, 또는 또는 약 99% 이상로부터 분리된 것일 수 있다. 일부 구체예에서, 분리된 물질은 약 80%, 약 85%, 약 90%, 약 91%, 약 92%, 약 93%, 약 94%, 약 95%, 약 96%, 약 97%, 약 98%, 약 99%, 또는 약 99% 이상의 순도를 가진다. 여기에서 사용된 것과 같이, 물질이 실질적으로 다른 성분들이 없다면, 이 물질은 “순수(pure)” 하다. 여기에서 사용된 것과 같이, 분리된 물질 및/또는 엔터티의 순도 비율 계산은 부형제 (가령, 완충액, 용매, 물, 등)를 포함하지 않아야 한다.

[0032] 미모토프(Mimotope): 여기에서 사용된 것과 같이, “미모토프” 는 에피토프의 구조를 닮은 마크로분자를 말한다. 일부 구체예에서, 미모토프는 이의 상응하는 에피토프에 의해 유도되는 것과 동일한 또는 유사한 항체 반응을 유도한다. 일부 구체예에서, 에피토프를 인지하는 항체는 해당 에피토프를 모방하는 미모토프 또한 인지한다. 일부 구체예에서, 미모토프는 펩티드다. 일부 구체예에서, 미모토프는 소분자, 탄수화물, 지질, 또는 핵산이다. 일부 구체예에서, 미모토프는 형태학적으로-보존된 HCV 에피토프의 펩티드성 또는 넌-펩티드성 미모토프다. 일부 구체예에서, 형태학적으로 한정된 바이러스의 에피토프의 구조를 모방함으로써, 미모토프는 이의 자연적 결합 파트너 (가령, HCV 표적 수용체, E1 단백질, 등) 자체에 결합함으로써 자연적 결합 파트너에 결합하는 능력을 간접한다.

[0033] 핵산: 여기에서 사용된 것과 같이, “핵산” 은 넓은 의미에서 올리고뉴클레오티드 쇠(chain)이거나 이에 결합될 수 있는 임의의 화합물 및/또는 물질을 말한다. 일부 구체예에서, 핵산은 포스포디에스테르 링키지를 통하여 올리고뉴클레오티드 쇠가 되거나 이에 통합될 수 있는 화합물 및/또는 물질이다. 일부 구체예에서, “핵산” 은 개별 핵산 잔기 (가령, 뉴클레오티드 및/또는 뉴클레오시드)를 말한다. 일부 구체예에서, “핵산” 은 개별 핵산 잔기를 포함하는 올리고뉴클레오티드 쇠를 말한다. 여기에서 사용된 것과 같이, “올리고뉴클레오티드” 및 “폴리뉴클레오티드” 는 호환될 수 있다. 일부 구체예에서, “핵산” 은 RNA 뿐만 아니라 단일 및/또는 이중-가닥의 DNA 및/또는 cDNA를 포함한다. 더욱이, “핵산” “DNA”, “RNA” 및/또는 유사한 용어들은 핵산 유사체, 가령, 포스포디에스테르를 제외한 기본골격을 가진 유사체를 포함한다. 예를 들면, 당분야에 공지된, 그리고 기본골격에 포스포디에스테르 결합 대신 펩티드 결합을 가지고 있는, 소위 “펩티드 핵산” 은 본 발명의 범위에 속하는 것으로 간주한다. “아미노산 서열을 인코딩하는 뉴클레오티드 서열” 은 서로 축퇴형(degenerate version)인 및/또는 동일한 아미노산 서열을 인코딩하는 모든 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 단백질 및/또는 RNA를 인코딩하는 뉴클레오티드 서열은 인트론들을 포함한다. 핵산은 자연적 소스로부터 정제되거나, 재조합 발현 시스템을 이용하여 만들어지고, 선택적으로 정제되고, 화학적으로 합성된 것이 될 수 있다. 적절한 경우, 가령, 화학적으로 합성된 분자의 경우, 핵산은 뉴클레오시드 유사체, 가령, 화학적으로 변형된 염기들 또는 슈가, 기본골격 변형, 등을 가지는 유사체를 포함한다. 핵산 서열은 다른 언급이 없는 한 5' 에서 3' 방향으로 제시된다. 여기에서 설명된 “핵산 단편” 은 더 긴 핵산 서열의 부분이 되는 핵산 서열을 말한다. 많은 구체예에서, 핵산 단편은 최소한 3개, 4개, 5개, 6개, 7개, 8개, 9개, 10개, 또는 그 이상의 잔기를 포함한다. 일부 구체예에서, 핵산은 자연적 뉴클레오시드 (가령, 아데노신, 티미딘, 구아노신, 시티딘, 우리딘, 테옥시아데노신, 테옥시티미딘, 테옥시구아노신, 및 테옥시시티딘); 뉴클레오시드 유사체 (가령, 2-아미노아데노신, 2-티오티미딘, 이노신, 피롤로-피리미딘, 3-메틸 아데노신, 5-메틸시티딘, C-5 프로피닐-시티딘, C-5 프로

피닐-우리딘, 2-아미노아데노신, C5-브로모우리딘, C5-플루오르우리딘, C5-요오드우리딘, C5-프로피닐-우리딘, C5-프로피닐-시티딘, C5-메틸시티딘, 2-아미노아데노신, 7-테아자아데노신, 7-테아자구아노신, 8-옥소아데노신, 8-옥소구아노신, O(6)-메틸구아닌, 및 2-티오시티딘); 화학적으로 변형된 염기들; 생물학적으로 변형된 염기들 (가령, 메틸화된 염기들); 삽입된(intercalated) 염기들; 변형된 슈가 (가령, 2' -플루오리보즈, 리보즈, 2' -데옥시리보즈, 아라비노즈, 및 핵소오즈); 및/또는 변형된 포스페이트 기 (가령, 포스포로티오에이트 및 5' -N-포스포로아미디트 연결)이 되거나 이를 포함한다. 일부 구체예에서, 본 발명은 명확하게 “변형안된 핵산” 에 관계하는데, 이는 운반하기 위하여 화학적으로 변형되지 않은 핵산 (가령, 뉴클레오타이드 및/또는 뉴클레오시드) 를 포함하는 폴리뉴클레오타이드 및 잔기)을 의미한다.

[0034] 단백질: 여기에서 사용된 것과 같이, “단백질” 은 폴리펩티드 (가령, 펩티드 결합에 의해 최소한 두 개의 아미노산이 서로 연결된 줄)를 지칭한다. 단백질은 아미노산을 제외한 모이어티(가령, 당단백질, 프로테오글리칸, 등)를 포함하거나 및/또는 다른 방법으로 프로세스되거나 변형된 것일 수 있다. 당업자는 세포에 의해 만들어진 완전한 폴리펩티드 쇠(시그날 서열 존부와 함께)이거나, 또는 이의 특징적 부분이 될 수 있다는 것을 인지할 것이다. 단백질은 하나 이상의 폴리펩티드 쇠를 포함하는 경우도 있는데, 예를 들면 하나 이상의 이황화물 결합에 의해 연결되거나 또는 다른 수단에 의해 연합된 하나 이상의 폴리펩티드 쇠를 포함할 수 있다는 것을 당업자는 인지할 것이다. 폴리펩티드는 L-아미노산, D-아미노산, 또는 당분야에 공지된 임의의 다양한 아미노산 변형 또는 유사체를 포함할 수 있다. 유용한 변형은 가령, 말단 아세틸화, 아미드첨가, 메틸화, 등을 포함한다. 일부 구체예에서, 단백질은 자연적 아미노산, 비-자연적 아미노산, 합성 아미노산, 및 이의 복합을 포함한다. “펩티드” 는 약 100개 미만의 길이를 가진 아미노산, 약 50개 미만의 길이를 가진 아미노산, 20개 미만의 길이를 가진 아미노산, 또는 10개 미만의 길이를 가진 아미노산을 일반적으로 지칭한다. 일부 구체예에서, 단백질은 항체, 항체 단편, 생물학적으로 활성인 이의 부분들, 및/또는 이의 특징적 부분들이다.

[0035] 재발성(Recurrent) HCV 감염: 여기에서 사용된 것과 같이, “재발성 HCV 감염” 은 가령, 개체의 간에 하나 이상의 감염 증상들, 순환하는 HCV 입자들 및/또는 HCV 입자들이 존재하는 것과 같은 임상적 및/또는 실험실적 감염 증거나 다시 출현하는 것을 말한다. 일부 구체예에서, 재발성 HCV 감염은 이전에 이미 HCV에 감염되어, 간 이식을 받은 환자와 같은 조건을 말한다.

[0036] 소 분자(small molecule): 일반적으로, “소 분자” 는 약 2000 g/mol 미만의, 약 1500 g/mol 미만의, 약 1000 g/mol 미만의, 약 800 g/mol 미만의, 또는 약 500 g/mol 미만의 유기 분자다. 일부 구체예에서, 소 분자는 비-폴리머다. 일부 구체예에서, 소 분자는 단백질, 펩티드, 또는 아미노산이 아니다. 일부 구체예에서, 소 분자는 핵산 또는 뉴클레오타이드가 아니다. 일부 구체예에서, 소 분자는 사카라이드 또는 폴리사카라이드가 아니다.

[0037] 개체: 여기에서 사용된 것과 같이, “개체” 또는 “환자” 는 실험, 진단, 예방 및/또는 치료 목적으로 본 발명의 조성물을 투여하는 임의의 유기체를 말한다. 전형적인 개체는 동물 (가령, 마우스, 쥐, 토끼, 인간이 아닌 영장류, 및 인간과 같은 포유류; 곤충; 벌레; 등)을 포함한다. 일부 구체예에서, 개체는 HCV에 감염되거나, 이를 앓고 있거나 및/또는 감염될 가능성이 있다.

[0038] 실질적으로(substantially): 여기에서 사용된 것과 같이, “실질적으로” 는 관심 대상의 특징적 또는 성질의 전부 또는 거의 전부인 수준 또는 어느 정도를 나타내는 정량적인 상태를 말한다. 생물학 분야의 당업자는 생물학적 그리고 화학적 현상이 절대적 결과를 완성하거나 또는 이루거나 또는 회피하는 경우는 거의 없다는 것을 인지할 것이다. 따라서 “실질적으로” 라는 용어는 많은 생물학적 그리고 화학적 현상에서 고유한 완벽함의 부족을 포착하는데 이용된다.

[0039] ~을 앓고 있는(Suffering from): 질환, 장애, 및/또는 상태(가령, HCV 감염)를 앓고 있는 개체는 질환, 장애, 및/또는 상태의 하나 이상의 증상을 가진 것으로 진단된 또는 이를 나타낸다.

[0040] ~에 걸리기 쉬운(Susceptible to): 질환, 장애, 및/또는 상태(가령, HCV 감염)에 “걸리기 쉬운” 개체는 질환, 장애, 및/또는 상태로 진단을 받지 않았다. 일부 구체예에서, 질환, 장애, 및/또는 상태에 걸리기 쉬운 개체는 질환, 장애, 및/또는 상태의 증상을 나타낼 수 있다. 일부 구체예에서, 질환, 장애, 및/또는 상태에 걸리기 쉬운 개체는 질환, 장애, 및/또는 상태의 증상을 나타내지 않을 수 있다. 일부 구체예에서, 질환, 장애, 및/또는 상태에 걸리기 쉬운 개체는 질환, 장애, 및/또는 상태를 발달시킬 수 있다. 일부 구체예에서, 질환, 장애, 및/또는 상태에 걸리기 쉬운 개체는 질환, 장애, 및/또는 상태를 발달시키지 않을 것이다.

[0041] 치료요법적 유효량: 여기에서 사용된 것과 같이, “치료요법적 유효량” 은 질환, 장애, 및/또는 상태를 치료,

진단, 예방 및/또는 개시의 지연을 위하여, 질환, 장애, 및/또는 상태(가령, HCV 감염)를 앓고 있거나 또는 이에 걸리기 쉬운 개체에게 투여하였을 때 본 발명의 조성물의 충분한 양을 말한다.

[0042] 치료요법제: 여기에서 사용된 것과 같이, “치료요법제”는 개체에게 투여되었을 때, 치료요법적 효과를 가지거나 및/또는 원하는 생물학적 및/또는 약리학적 효과를 유도하는 임의의 물질을 말한다. 일부 구체예에서, 치료요법제는 HCV 감염의 하나 이상의 증상 또는 특징을 경감, 완화, 감소, 억제, 예방, 개시의 지연, 중증도 감소 및/또는 발명의 감소에 이용되는 임의의 물질이다.

[0043] 치료하는: 여기에서 사용된 것과 같이, “치료하다” “치료,” 또는 “치료하는”은 질환, 장애, 및/또는 상태(가령, HCV 감염)의 하나 이상의 증상 또는 특징을 부분적으로 또는 완전하게 경감, 완화, 감소, 억제, 예방, 개시의 지연, 중증도 감소 및/또는 발명의 감소시키는데 이용되는 임의의 방법을 말한다. 치료는 질환, 장애, 및/또는 상태의 징후를 나타내지 않는 개체를 다루는 것일 수 있다. 일부 구체예에서, 치료는 질환, 장애, 및/또는 상태와 관련된 병인의 발달 위험을 감소시키기 위한 목적으로 질환, 장애, 및/또는 상태의 초기 징후만을 나타내는 개체를 다룰 수도 있다.

[0044] 벡터: 여기에서 사용된 것과 같이, “벡터”는 벡터에 연합된 또 다른 핵산을 운반할 수 있는 핵산 분자를 말한다. 일부 구체예에서, 벡터는 진핵 및/또는 원핵 세포와 같은 숙주 세포에 연결된 핵산의 염색체의 복제 및/또는 발현을 시킬 수 있다. 작용가능하도록 연결된 유전자의 발현을 지시할 수 있는 벡터를 여기에서 “발현 벡터”라고 한다.

[0045] **HCV 명명법(Nomenclature)**

[0046] HCV 명명법은 일반적으로 HCV 유전자형을 나타내는 아라비아 숫자(가령, “1”, “2”, “3”, “4” 등)와 HCV 아류형을 나타내는 소문자(가령, “a”, “b” 등)를 사용하는 것으로 알려져있다. 명명법 규정은 당분야에 일반적으로 수용되는 것이지만, 당업자는 명명법의 규정이 공개, 프레젠테이션, 대화 등에서 항상 엄격하게 지켜지는 것이 아님을 인지할 것이다. 따라서, 예를 들면, “HCV 1a,” “HCV 유전자형 1a,” 및 “HCV 아류형 1a”가 서로 호환될 수 있으며, 이들 세 가지 용어는 모두 HCV 유전자형 1, 아류형 a를 의미한다는 것을 인지할 것이다.

[0047] 여기에서 사용된 것과 같이, 아라비아 숫자(가령, “1”, “2”, “3”, “4” 등)는 HCV 유전자형을 나타낼 때 사용되며, 소문자(가령, “a”, “b” 등)는 HCV 아류형을 나타낼 때 사용된다. 특정 유전자형의 HCV를 언급할 때, 명시된 유전자형의 모든 아류형이 포함된다는 것을 인지할 것이다. 예를 든다면, “유전자형 1”은 유전자형 1의 모든 아류형(가령, 유전자형 1, 아류형 a; 유전자형 1, 아류형 b; 등)을 지칭한다.

[0048] 여기에서 사용된 것과 같이, 유전자형 및 아류형 지정 다음의 아라비아 숫자(가령, “1”, “2”, “3”, “4” 등)는 HCV 균주를 나타낸다는 것을 인지할 것이다.

도면의 간단한 설명

[0049] 도 1: 간접적 면역형광 분석에 의한 상이한 HCV 유전자형의 결합. 293T 세포는 유전자형 1 내지 6의 E1E2 서열을 가지는 구조체로 형질감염되었다. 24시간의 형질감염-후, 세포를 슬라이드에 고정시켰고, 고정된 세포에 결합된 항체는 형광 현미경에 의해 탐지되었다. HC-1, HC-3, HC-11, 및 CBH-23은 유전자형 1a, 1b, 2a, 2b, 3a, 4, 5, 및 6에 결합한다.

도 2: cDNA 서열로부터 획득된 인간 단클론 항체 V_L 및 V_H 도메인 CDR 서열. 분석에서 각 항체는 별개의 V_L 및 V_H CDR 서열을 포함한다는 것이 나타났다.

도 3: IgG 하위부류 분류. HC-1는 IgG2이며, 반면에 HC-3, HC-11, 및 CBH-23는 IgG1이다.

도 4: 상이한 HCV 유전자형으로 중화반응. 각 항체는 상이한 HCV 유전자형을 중화시키는 능력에 대해 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 에서 테스트하였다. 숫자는 항체가 없는 기준과 비교하여 중화 비율을 나타낸다. R04는 HCMV에 대한 이소타입-일치된 인간 단클론 항체이며, 네가티브 기준으로 사용된다.

도 5: 항체 경쟁 분석. 대표적인 바이오틴-라벨된 도메인 A (CBH-4D), B (CBH-5), 및 C (CBH-7) HCV 항체로 실시된 경쟁 분석이다. HC-1 및 HC-11는 도메인 A 및 C 항체와 최소한의 경쟁을 보여주었고, 및 CBH-5와는 60% 80% 경쟁을 보여주었는데, 이는 이들 새로운 항체에 의해 인지되는 에피토프가 도메인 B 내부에 위치한다

는 것을 말한다. CBH-23는 도메인 A 및 B 항체와는 최소한의 또는 경쟁을 보여주지 않았고, 그리고 CBH-7과는 >90% 경쟁의 경쟁을 나타내는데, 이것은 이 에피토프가 도메인 C 내부에 위치한다는 것을 말한다. HC-3는 도메인 A, B, 및 C 항체와는 최소한의 또는 경쟁을 보여주지 않았으며, 이는 이 항체가 새로운 별개의 도메인을 인지한다는 것을 말한다. 각각 기준 항체 (가령, CBH-4D, CBH-5 및 CBH-7)는 자체를 억제하고, 그리고 다른 두 개 항체를 최소한으로 억제한다.

도 6: 인간 단클론 항체에 의해 E2가 CD81에 결합되는 것을 억제. 1 µg/ml E2를 포함하는 293T에서 발현된 유전자형 1b E1E2를 각각 테스트 항체 10 µg/ml와 항온처리하였고, 항체-항원 복합체를 CD81 사전-피복된 웰에 첨가하였다. CD81에 결합된 E2의 탐지는 바이오티닐화된 CBH-4D로 측정하였다. CBH-5는 포지티브 기준으로 이용되었고, 그리고 R04는 네가티브 기준으로 이용되었다. E2 당단백질을 HC-1, HC-11, CBH-23, 또는 CBH-5으로 사전-항온처리하면, R04 네가티브 기준과 비교하였을 때, E2가 CD81에 결합되는 것이 90% 이상 감소되었다. 다른 도메인 B 또는 C HCV 항체와 유사하게, 이들 HCV 항체는 E2가 CD81에 결합되는 것을 차단시켜, HCV를 중화시킨다. 대조적으로, HC-3 존재하에 E2 당단백질의 사전 항온처리는 E2가 CD81에 결합되는 것을 감소시키지 못하였다. 실험은 삼중으로 2회 실행되었다. 여러 막대는 평균으로부터의 하나의 표준 편차를 나타낸다.

도 7: 알려진 치환에 의한 HC-1 및 HC-11의 에피토프 매핑(mapping). 유전자형 1a H77c 균주의 E2로 (GenBank accession no. AF009606) 부위-직접적인 돌연변이생성에 의해 돌연변이가 도입되었다(Stratagene, CA). 돌연변이된 E2 단백질은 293T 세포에서 발현되었고, ELISA에 의해 분석되었다. 돌연변이된 아미노산을 y-축에 나타낸다. 각각 펩티드의 시작 부위에 숫자는 기준 균주 H의 폴리단백질에 있는 위치에 대응한다. 각 돌연변이에 대한 (A) HC-1 및 (B) HC-11 HCV 항체 결합은 CBH-17의 결합에 의해 표준화되고, 야생형에 대한 HC 항체 결합으로 나눈 결합 값의 비율로 x-축상에 나타내었다.

도 8: 알려진 치환에 의한 HC-3의 에피토프 매핑. 알려진 치환은 도 7과 같이 실행되었다.

도 9: HCVpp 감염의 항체-매개된 중화의 시간에 따른 과정. 유입 과정 동안 HC-3가 억제하는 단계에 근접하기 위하여, CD81에 대한 도메인 B와 항체를 비교하여 시간 과정에 따른 연구가 실행되었다. 항-CD81 및 도메인 B HCV 항체, HC-11로 바이러스 유입 차단시에 유사한 패턴의 진행성 상실이 있다. 이것은 CD81에 E2 결합을 차단 시킴으로써 도메인 B HCV 항체가 바이러스 유입을 억제하기 때문인 것으로 예상된다. HC-3의 패턴은 이들 두 가지 항체와 유사한데, 이것은 HC-3가 CD81과의 바이러스 상호작용에 근접한 일시적인 단계에서 바이러스 유입을 억제하는 것으로 보인다. 상이한 HCV 공동-수용체, 가령 SR-B1와 E2의 상호작용 억제 또는 CD81 연관이후 바로 다음 단계의 억제를 포함한다.

도 10: HC-3 에피토프는 E1-E2 이량체화와 관련된다. H77와 비교하여, HCVpp 돌연변이체 R657A 및 D658A (그리고 더 적은 경우지만, F679A)는 쿠션 펠렛 HCVpp에서 E1의 상당한 감소를 보였다. 이것은 이들 잔기가 E1 및 E2 사이에 이중이량체 형성에 관여한다는 것을 말한다. 이들 잔기는 E1E2 이량체화에 관여하는 것으로 기존에 확인된 것이 아니었다. 세포 용해물질로부터 E1E2에서 유사한 관찰이 있었다. E431A 돌연변이체는 이중이량체 형성에 영향을 주지 않는 돌연변이 기준으로 작용한다.

도 11: HCVpp의 감염성에 HC-3 에피토프 돌연변이생성의 효과. R657A, D658A 그리고 F679A, L692A, I696A, 또는 D698A 돌연변이를 가진 바이러스의 감염성이 측정되었다. 각각 돌연변이는 바이러스에 치명적이다. E431A에서 기준 돌연변이는 변화가 없었다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0050] 본 발명은 C형 간염 바이러스 (HCV) 외피 당단백질 2 (E2)을 인지하는 항체를 제공한다. 일부 구체예에서, HCV E2 항체는 인간 단클론 항체와 같은 단클론 항체다. 일부 구체예에서, HCV E2 항체는 하나 이상의 C형 간염 바이러스 (HCV) 유전자형 및/또는 아류형과 연합된 E2에 결합한다. 일부 구체예에서, HCV E2 항체는 치료요법적, 진단, 및/또는 예방적 용도에 유용하다. 본 발명은 HCV E2 항체를 포함하는 약학 조성물 및 HCV E2 항체를 이용하여 환자를 치료하는 방법을 제공한다.

[0051] 일부 구체예에서, HCV E2 항체는 감염된 환자의 혈청에서 확인되고, 분리된다. 실시예에서 설명된 것과 같이, 높은 결합 역가를 가지는 세명의 HCV-감염된 개체의 말초 B 세포로부터 일군의 인간 단클론 항체를 만들었고, 특징화하였다. HCV E2에 대한 4가지 인간 단클론 항체가 만들어졌고, 분리되었다: HC-1, HC-3, HC-11, 및 CBH-23. 이들 4가지 항체는 모두 HCV의 유전자형 1a, 1b, 2a, 2b, 3a, 4, 5, 및 6에 결합한다(도 1). 이들 항체는 바이러스 유형 및 유전자형간에 보존된 입체적 에피토프에 결합한다. HC-1, HC-11 및 CBH-23는 E2 단백질이 인간 CD81 와 상호작용하는 것을 방해한다(도 6). HC-3는 E2가 CD81에 결합하는 것을 방해하지 않는다

(도 6).

[0052] 일부 구체예에서, 본 발명에 따른 HCV E2 항체는 광역의 HCV 유전자형 및/또는 아류형 스펙트럼을 중화를 제공한다. 다중 HCV 유전자형 및/또는 아류형에 대한 반응성 범위 및 민감한 세포에 HCV 비리온의 결합을 간섭하는 능력 모두 치료요법적으로 유용한 중화 항체에 바람직하다. 본 발명은 HCV 외피 단백질의 펩티드 및 넌-펩티드 구조적 모방체의 기획을 위하여 제공된다.

[0053] **C형 간염 바이러스 (HCV)**

[0054] C형 간염 바이러스 (HCV)는 유전적 정보가 9.5 kb 포지티브 가닥 RNA 게놈에 인코딩된 외피 바이러스다. 341bp의 매우 보존된 넌코딩 구역은 이 바이러스 게놈의 5' -말단에 위치하며, 그 다음 대략적으로 3,010개 아미노산의 폴리단백질을 코딩하는 긴 오픈-리딩 프레임이 있다. 두 개의 가상 외피 당단백질 E1 (gp35) 및 E2 (gp72)은 5개 또는 6개 그리고 11개의 N-링크된 당화 부위(glycosylation sites)를 각각 가지는 것으로 확인되었다. 높은 수준의 유전적 가변성이 외피 유전자에 연합되어 있다. 이와 같은 가변성은 E2 유전자의 5' -말단에 매우 집중되어 있으며, 여기서 두 개의 초가변(hypervariabl) 구역, HVR1 및 HVR2가 표시되어 있다. HVR1에 대한 항체는 세포 배양물 및 침팬지 보호 연구에서 바이러스 중화를 중재하는 것으로 보인다(Farci et al., 1996, Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 93:15394-15399; and Shimizu et al., 1994, J. Virol., 68:1494-1500; 이들은 참고문헌에 통합된다). HVR1 관련된 서열에 대한 더 넓은 면역 반응을 유도할 때 진전이 있었지만(Puntoriero et al., 1998, EMBO J., 17:3521-3533; 참고문헌에 통합된다), 불행하게도, HVR1에 대한 항체는 분리체-특이적이며, 그리고 시간을 두고 기존 면역 반응을 인지하지 않는 새로운 바이러스의 변이체의 복제를 유도한다(Farci et al., 1994, Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 91:7792-7796; Weiner et al., 1992, Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 89:3468-3472; and Kato et al., 1993, J. Virol., 67:3923-3930; 모두 참고문헌에 통합된다). HCV 외피 항원은 당화된 형태로 발견되었을 때 매우 높은 면역원성을 나타내는 것으로 보인다(da Silva Cardoso et al., 1997, Ann. Hematol., 74:135-7; 참고문헌에 통합된다). 예비 데이터에서 E2 단백질내에 보존된 에피토프가 존재한다고 제안된다(Lesniowski et al., 1995, J. Med. Virol., 45:415-22; 참고문헌에 통합된다). 감염된 환자들의 혈청에서 중화 항체가 존재한다고 제안되었다.

[0055] 포유류 세포에서 발견된 HCV E1-E2 단백질을 이용한 연구에서, 감염된 개체는 자연상태에서 형태적 그리고 선형적인 에피토프에 부분적으로 구성된 HCV E2에 대한 항체 반응을 가진다(Harada et al., 1994, J. Gen. Virol., 76:1223-1231; 참고문헌에 통합된다). HCV E2 단백질에 대한 인간 단클론 또는 재조합 항체의 분리와 연관된 연구에서, 이들 항체의 실질적인 분취물은 입체적 에피토프를 인지한다는 것을 보여주었다 (da Silva Cardoso et al., 1998, J. Med. Virol., 55:28-34; 참고문헌에 통합된다). 이들 도메인에 대한 생물학적 기능에 대해, 조사자들은 바이러스 중화에 대해 통찰력을 제공하기 위하여 대리분석(surrogate analysis)을 이용하였는데, 그 이유는 바이러스를 시험관에서 성장시킬 수 없기 때문이다(Houghton, Hepatitis C viruses In Fields, Knipe, Howley (eds.) Virology, Lippincott-Raven, Philadelphia, 1035-1058; 참고문헌에 통합된다). 한 가지 대리 분석법이 되는 결합 (NOB) 분석의 중화는 HCV E2 단백질이 인간 T-세포계와의 연합을 억제하는 능력을 평가하였다 (Rosa et al., 1996 Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 93:1759-1763; 참고문헌에 통합된다). 백신접종에 의해 보호된 침팬지로부터 수득된 혈청 항체가 NOB 분석에서 강력한 포지티브라는 발현은 바이러스 중화 활성의 측도로써 분석의 관련성에 대한 서포트를 제공한다(Rosa et al., supra; and Ishii et al., 1998, Hepatology, 28:1117-1120; 이들 모두 참고문헌에 통합된다).

[0056] 인간 테트라스파닌(tetraspanin) 세포 표면 단백질 CD81 (TAPA-1으로도 공지됨; Levy et al., 1998, Ann. Rev. Immunol., 16:89-109 참고; 참고문헌에 통합된다) 은 NOB 분석에서 HCV E2에 의해 결합된 표적 단백질이다 (Pileri et al., 1998, Science, 282:938-941; 참고문헌에 통합된다). 더욱이, 인간 CD81은 자유 비리온에 결합하여, 그 결과로써 HCV의 가능한 수용체가 된다(Pileri et al., supra). 그러나, 상이한 유전자형 및/또는 아류형의 HCV E2 단백질에서 이미 확인된 NOB 포지티브 항체에 의해 인지되는 에피토프의 보존에 대해서는 거의 알려진 것이 없다.

[0057] HCV에 대한 탐지 및 보호에 대한 다른 방법에는 펩티드 모방체(mimetics)의 개발이 포함된다. 예를 들면, A형 및 C형 간염 바이러스의 단백질의 펩티드 모방체는 탐지 분석 및 백신 요법 용도의 무작위로 생성된 합성 및 파아지-디스플레이 펩티드 라이브러리의 생산을 통하여 만들어졌다(Mattioli et al., 1995, J. Virol., 69:5294-5299; and Prezzi et al., 1996, J. Immunol., 156:4504-4513; 이들 모두 참고문헌에 통합된다). 그러나, 이들 미모토프의 효과적인 항체 결합은 오로지 1차원적으로 한정된 바이러스의 에피토프와 비교되었다. 몇 가지

1차원적으로 한정된 면역우성 HCV 에피토프의 연속적인 재조합 융합은 진단 분석에 이용되었다 (*Chein et al., 1999, J. Clin. Microbiol., 37:1393-1397*; 참고문헌에 통합된다). 그러나, 선형 에피토프로부터 기획된 이와 같은 다중-에피토프 융합 항원은 입체적 모방체와 동일한 능력으로 기능을 못하였다. 표적 수용체에 결합을 방해하도록 기획되지 않았다.

[0058] HCV 에 관한 기초 정보를 제공하는 참고문헌은 *Abrignani, 1997, Springer Semin. Immunopathology, 19:47-55*; *Simmonds, 1995, Hepatology, 21:570:583*; and *Mahaney et al., 1994, Hepatology, 20:1405-1411*이 포함되며; 모두 참고문헌에 통합된다. HCV 게놈의 부분을 보유하는 백시니아 바이러스 또는 베칼로바이러스 구조는 *Ralston et al., (1993, J. Virology, 67:6733-6761*; 참고문헌에 통합된다) 및 *Lanford et al. (1993, Virology, 197:225-235*; 참고문헌에 통합된다)에서 설명된다.

[0059] **HCV 항체**

[0060] HCV 외피 당단백질 유전자는 유전자형 및 아류형을 걸쳐 최대 수준의 유전적 이형유전성(heterogeneity)를 나타내며, E2은 E1보다 더 큰 가변성을 나타낸다. E2의 N-말단에서 볼 수 있는 초가변 구역 (HVR1)은 매우 면역성이 크고, 그리고 분리체-특이적 중화 항체 반응에 대한 주요 결정자가 된다(*Farci et al., 1996, Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 93:15394*; and *Shimizu et al., 1994, J. Virol., 68:1494*; 이들 모두 참고문헌에 통합된다). 특이적 환자로부터 26년간에 걸쳐 수거한 혈청 시료로부터 수득된 연속적인 HCV 분리체의 연구에서 혈청 항체는 동시점에서 존재하는 동시발생 E1E2 중을 중화시키지 못한다는 것이 확인되었다(*von Hahn et al., 2007, Gastroenterology, 132:667*; 참고문헌에 통합된다). 탈출(Escape)은 HVR1에서 돌연변이와 연관되며, 이는 이 환자로부터 수거한 최초 분리체에 대해 생성된 HVR1에 대한 단클론 항체에 의한 감소된 결합 및 중화로 이어진다. 좀더 광범위한 중화 항체는 E2 내의 입체적 에피토프에 대항한다(*Allander et al., 2000, J. Gen. Virol., 81:2451*; *Bugli et al., 2001, J. Virol., 75:9986*; *Habersetzer et al., 1998, Virology, 249:32*; *Hadlock et al., 2000, J. Virol., 74:10407*; and *Ishii et al., 1998, Hepatology, 28:1117*; 이들 모두 참고문헌에 통합된다).

[0061] 본 발명자들은 유전자형 1b HCV으로 감염된 개체의 말초 B 세포로부터 유도된 HCV E2의 입체적 에피토프에 대한 중화 및 비-중화 인간 단클론 항체의 패널을 설명하였다. 교차-경쟁 분석에 의해, 별개의 기능 및 성질을 가지는 오버래핑 에피토프의 세 가지 면역성 클러스터가 확인되었다(*Keck et al., 2005, J. Virol., 79:13199*; and *Keck et al., 2004, J. Virol., 78:9224*; 이들 모두 참고문헌에 통합된다). 비-중화 항체 모두 도메인 A로 지정된 하나의 클러스터에 속하였다(*Keck et al., 2005, J. Virol., 79:13199*; 참고문헌에 통합된다). 중화 항체는 도메인 B와 C로 지정된 두 개 클러스터로 분리되었는데, 도메인 B 항체는 유전자형 2a 감염성 세포 배양물 바이러스 (HCVcc) 감염의 차단에서 도메인 C 항체보다 더 큰 능력을 보유한다(*Keck et al., 2007, J. Virol., 81:1043*; 참고문헌에 통합된다). 도메인 B 항체 뿐만 아니라 도메인 C 항체 모두다 숙주 세포로 HCVpp 및 HCVcc 유입에 필수적인 것으로 보이는 HCV의 수용체인, CD83에 E2의 결합을 억제하는 것으로 나타났다(*Hsu et al., 2003, Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 100:7271*; and *Tscherne et al., 2006, J. Virol., 80:1734*; 이들 모두 참고문헌에 통합된다).

[0062] 도메인 B내에 오버래핑 에피토프에 대한 4가지 항체가 하나의 HCV 감염된 개체로부터 이미 분리되었지만, E2상에 도메인 B 에피토프가 면역 반응의 우성 표적인지에 대해서는 아직 분명하지 않다. 실시예 1은 초기 패널의 도메인 B 항체와 교차-경쟁하여, 이 도메인내 다수의 오버래핑 에피토프로 확장되는, 유전자형 1a HCV 감염된 개체로부터 두 가지 새로운 인간 단클론 항체, HC-1 및 HC-11의 분리를 설명한다. 이들 항체는 모든 유전자형 및/또는 아류형들에서 보존된 입체적 에피토프에 대한 것이며; HCVpp 및 HCVcc를 중화하고, 이 도메인에 대한 다른 항체에서 이미 설명된 것 이상의 효능을 가진 것도 있다. 이들 항체에 의한 중화 기전은 CD81에 E2의 결합을 억제하는 것이다. 추가적으로, CD82가 관여하는 것으로 특징된 구역(*Owsianka et al., 2006, J. Virol., 80:8695*; 참고문헌에 통합된다)에서 알려진 치환 연구에서 이들 HCV 항체 에피토프안에서 일부 접촉 잔기는 E2가 CD81에 결합하는데 요구되는 동일한 접촉 잔기라는 것을 보여주었다. 세 번째 인간 단클론 항체, CBH-23는 유전자형 1b HCV 감염된 개체로부터 분리되었다. CBH-23은 도메인 C에 대한 대표적인 항체와 교차-경쟁하고, 그리고 CD81에 E2 결합을 억제함으로써 중화를 중재한다. 네 번째 인간 단클론 항체, HC-3는 유전자형 1b HCV 감염된 개체로부터 분리되었다. HC-3는 초기 패널의 대표적인 도메인 A, B, 및 C 항체와 교차-경쟁하지 않았고, 따라서 D로 지정된 새로운 도메인을 나타낸다. HC-3은 E2가 CD81에 결합하는 것을 방해하지 않는다 (도 6). 본 발명은 HC-3가 바이러스 중화를 중재하는 기전이 바이러스가 CD81과 상호작용하는 바이러스 유입되

는 대략적으로 동일한 시간에 일어난다는 인식을 포함한다. 임의의 하나의 특정 이론에 결부되지 않고, HC-3은 CD81에 E2가 결합하기 전에 일어나는 바이러스 부착을 차단하고; CD81에 E2가 결합하기 바로 전 또는 후에 상이한 공동-수용체와 바이러스의 상호작용을 방해하고; 및/또는 성공적인 바이러스 유입과 연관된 하나 이상의 바이러스의 외피 당단백질에 형태학적 변화를 차단시켜, 바이러스 중화를 중재할 것이다.

[0063] 항체의 다양한 결합 프로파일 덕분에, 광범위한 항-HCV 항체(pan-anti-HCV antibody)를 제공하기 위하여 다수의 유형 및 유전자형 및/또는 아류형을 탐지하게 되는 진단 분석이 이용될 수 있다. 일부 구체예에서, 항체는 HCV의 감염 위험에 놓인 개체에 예방 요법으로 또는 HCV에 대해 혈청-양성인 사람에 대한 치료법으로, 수동 면역화 요법에 이용될 수 있다.

[0064] HCV에 대한 항체의 이용과 관련된 참고문헌은 *Akatsuka et al., 1993, Hepatology, 18:503-510; DeLalla et al., 1993, J. Hepatol., 18:163-167; Mondelli et al., 1994, J. Virol., 68:4829-4836; Siemoneit et al., 1994, Hybridoma, 13:9-13; and Moradpour et al., 1996, J. Med. Virol., 48:234-241*을 포함하며, 이들 모두 참고문헌에 통합된다.

[0065] 본 발명에 따른 HCV 항체는 HCV에 대한 기존 항체보다 몇 가지 장점을 제공한다. 비-상동성 주요 아미노산 서열이 면역학적으로 동일한 3차원적 단백질 구조를 한정할 수 있기 때문에, 구조적으로 보존된 에피토프에 대한 항체 결합은 고유한 형태의 다수의, 연속적으로 분기되는 HCV 유전자형 및/또는 아류형을 인지할 수 있지만, 선형 또는 변성된 에피토프만을 인지하는 항체는 그럴 수가 없다. 특히, E2의 형태학적으로 의존적인 에피토프를 인지하는 항체는 HCV 바이러스가 이의 세포성 표적 수용체와 상호작용하는 것을 효과적으로 간섭할 수 있다. 고유 HCV 바이러스가 이의 표적 세포 수용체(가령, CD81)에 결합하는 능력을 역동적으로 간섭하기 위하여 형태학적으로 의존적인 에피토프를 인지하는 항체를 이용하는 것은 감염된 개체에 바이러스 로드를 감소시키거나, 및/또는 감염된 개체(예를 들면, (i) 상이한 HCV 유전자형 및/또는 아류형에 의해 인코딩된 HCV E2 단백질을 인지하고; (ii) HCV 입자들에 결합; 및/또는 (iii) HCV 바이러스의 입자들이 이들 표적 세포에 부착되어 유입하는 것을 방지함으로써) 특히 최근에 기관 이식 수용자, 신장 투석을 하는 개체, HCV-감염된 엄마에게서 태어난 아기 및/또는 혈우병 치료를 받는 개체 또는 다른 혈액 응고 장애가 있는 개체에서 기관의 감염 또는 재감염을 예방하는 특이적 치료요법적 용도를 가진다. 일부 구체예에서, 다른 수용자들은 최근 HCV에 노출된 개체(가령, HCV-가 포함된 체액에 노출되어)를 포함한다. 일부 구체예에서, HCV 항체는 항체가 만들어진 HCV의 균주와 동일한 HCV 균주를 가진 환자의 치료에도 유용할 것이다. 일부 구체예에서, HCV 항체는 항체가 만들어진 HCV의 균주와 상이한 HCV 균주를 가진 환자의 치료에도 유용할 것이다. 개체 HCV 항체 및 몇 가지 에피토프를 인지하는 몇 가지 HCV 항체 콕테일 모두 이용할 수 있다.

[0066] 일부 구체예에서, HCV 항체는 CD81와의 직접적인 상호작용 방해 이외의 기전에 의해 E2-연합된 바이러스의 감염을 간섭할 수 있다. 일부 구체예에서, HCV 항체는 여러 기전에 의해 바이러스 감염성을 간섭할 수 있는데, 기전으로는 공동-수용체 단백질에 E2가 결합하는 것을 막고, 표적 세포 결합에 필수적인 E2 단백질의 형태학적 변화를 파괴시키고, 표적 세포에 E2-매개된 바이러스의 용합을 방해하고, 및/또는 HCV 비리온의 탈복(uncoating)을 방해하는 등을 포함한다. 일부 구체예에서, CD81에 E2 결합을 직접적으로 간섭하는 HCV 항체는 다른 기전에 의해 감염성을 간섭하는 HCV 항체를 효과적으로 보완할 수 있다.

[0067] 바이러스의 에피토프를 인지하고, 바이러스/표적 수용체와 이와 같은 항체가 결합하는 바이러스의 에피토프와 상호작용을 간섭하는 본 발명에 따른 HCV 항체는 바이러스의 에피토프의 펩티드 및 기타 구조적 모방체를 기획하는데 주형으로 작용할 수 있을 것이다. 이들 HCV 항체에 의해 한정되는 구조적 분자 모방체는 표적 수용체 자체에 결합함으로써 고유 바이러스가 이들 표적 수용체에 결합하는 것을 차단하는 능력에 용도를 발견한다.

[0068] 인간 또는 인간화된 단클론 항체를 만듦으로써, HCV에 대한 인간 면역 반응을 직접적으로 분석하는 것이 가능하다. 일부 경우에, 인간 또는 인간화된 단클론 항체를 이용하는 것이 바람직하다. 인간 단클론 항체를 이용함으로써, 외부 항원으로 항체 자체에 대한 면역 반응을 최소화시킬 수 있으며, 인간이 아닌 소스로부터 만들어진 단클론 항체에 대해 일반적으로 활발한 면역 반응이 생성되는데, 그 이유는 외부 항원으로 인지되기 때문이다. 보존된 바이러스의 입체적 에피토프를 인지하는 HCV 항체의 선택은 선형 또는 변성된 에피토프만을 인지하는 항체보다 HCV 감염을 경감 또는 방지하는 더 광범위한 그리고 더 효과적인 치료요법적 용도를 제공한다. 여기에서 설명된 항체는 입체적 에피토프를 인지하는데, 이는 다중 상이한 유전자형 및/또는 아류형의 매우 보존된 HCV E2 단백질이다. 따라서, 여기에서 설명된 항체는 많은 기존의 중화 항체보다 광범위한 HCV 분리체에 대항하여 더 강력한 장점을 가진다. 추가적인 장점은 여기에서 설명된 항체에 의해 인지되는 에피토프의 상당한 보존이 이들 항체가 HCV E2 단백질내에 기능적 및/또는 구조적으로 중요한 서열을 인지한다는 것을 나타낸다. 따

라서 이들 항체로부터 분리된 펩티드 또는 소분자는 HCV E2내의 기능적 구역일 가능성이 높다.

[0069] **HCV 항체의 생산 및 특징 조사**

[0070] 실시예 1에서는 개체 HCV 항체의 개발에 이용되는 전반적인 전략이 설명된다. 간략하게 설명하면, (1) HCV에 노출된 증거가 있는 개체를 확인하고; (2) 이들의 말초 혈액으로부터 항원 특이적 B-세포를 확장시키고, 시험관에서 활성화시키며; (3) 이들 세포를 적절한 마우스-인간 이종골수종으로 전기융합에 의해 불사화시키고; (4) 관련된 인간 항체를 배출하는 하이브리도마를 확인하고; 그리고 (5) 관련 하이브리도마를 클로닝으로 안정화시켰다. 이와 같은 전략으로 HCV E2 단백질에 특이적이고, HCV 유전자형 1a, 1b, 2a, 2b, 3a, 4, 5, 및 6 (도 1)의 E2의 입체적 에피토프에 결합하는 HCV 항체를 확인하였다.

[0071] 실시예 1에서 설명된 것과 같이, HCV 1a 또는 1b 감염된 개체의 말초 B 세포와 높은 혈청 항체 중화 활성을 이용하여 인간 단클론 항체의 패널을 만들고, 특징화하였다. 초기 스크리닝은 1a 감염된 제공자로부터 유도된 항체의 스크리닝하기 위하여 유전자형 1b E2 단백질을 이용하거나, 1b 감염된 제공자로부터 유도된 항체를 스크리닝하기 위하여 유전자형 1a E2 단백질을 이용하였다. 이 단계는 유전자형 1a 와 1b 사이에 보존된 에피토프에 대한 항체 선별에 이용된 스크리닝 방법을 기초한 것으로, 제공자는 유전자형 1a 또는 1b 분리체에 감염되었기 때문이다. 이와 같은 스크리닝에 의해 확인된 항체(가령, HC-1, HC-3, HC-11, 및 CBH-23)는 웨스턴 블랏에 의해 E2 단백질을 인지하지는 못하였지만, 면역침강에 의해서 E2 단백질을 인지하였다. 이 결과로 이들 HCV 항체는 입체적 에피토프를 인지한다는 것을 알 수 있다.

[0072] HCV 항체 HC-1, HC-3, HC-11, 및 CBH-23는 모두 HCV 유전자형 1a, 1b, 2a, 2b, 3a, 4, 5, 및 6의 E1E2에 결합할 수 있었다 (도 1). HC-1 및 HC-11는 HCV 유전자형 1a, 1b, 2a, 2b, 3a, 4, 5, 및 6 HCVpp 1a (도 4) 및 1b 감염의 대부분을 중화하고, 뿐만 아니라 HCVcc 1a 및 2a 감염도 중화한다(도 4). HC-3는 HCVpp 1a 및 HCVcc 2a을 중화하였다. HC-3는 1a HCVpp 및 2a HCVcc (도 4)을 중화하고, 그리고 CBH-23는 유전자형 1a, 1b, 2a HCVpp, 및 2a HCVcc (도 4)을 중화한다. 이들 데이터에서 네가지 HCV 항체 모두 다중 HCV 유전자형을 인지하고, 중화할 수 있다는 것을 나타낸다. CD81 캡처 분석에서 이들 4개 항체중 세 개(가령, HC-1, HC-11, 및 CBH-23)는 E2와 CD81의 상호작용을 차단시킬 수 있다(도 6). 본 발명은 HCV E2안에 CD81 결합 부위를 부분적으로 또는 완전하게 겹치는 에피토프는 자연상태에서 입체적이며, 매우 보존되어 있다는 것을 보여준다. CD81 결합 부위내에 높은 수준의 서열 보존은 HCV E2와 CD81 사이에 상호작용이 생물학적으로 관련된 것이라는 제안과 일치한다. 본 발명은 HC-3이 HCV 1a 및 2a을 중화시키지만 E2가 CD81에 결합되는 것을 막지 못하기 때문에, HC-3는 대안적인 바이러스 중화 기전을 이용할 것이라는 인식을 포함한다.

[0073] HCV E2 안에 유사한 결합 부위를 가진 항체를 특징화하기 위하여 경쟁 분석이 이용되었다. HCV E2 도메인 A, B, 또는 C중 하나를 인지하는 기준에 확인된 HCV 항체를 바이오티닐화시키고, 경쟁하는 HCV 항체 (가령, HC-1, HC-3, HC-11, 및 CBH-23)의 수를 증가시키면서 HCV E2에 바이오티닐화된 항체의 결합을 측정하였다. HCV 항체 HC-1와 HC-11은 도메인 B를 인지하는 항체와는 효과적으로 경쟁하였지만, 도메인 A 또는 C를 인지하는 항체와는 경쟁하지 않는다. HC-3는 임의의 도메인 A, B, 또는 C 항체와 경쟁하지 않았다.

[0074] 이와 같은 결과들은 HCV E2 당단백질내에 입체적 에피토프는 HCV의 분지되는 유전자형 및/또는 아류형에서 매우 보존된 것이라는 것을 말한다. 이들 에피토프를 인지하는 항체는 HCV E2의 구조를 더 잘 특징화시키는 물질로 유용하다. 더욱이, HCV 비리온이 인간 CD81에 결합되는 것을 막는 항체는 당분야에 수용되는 HCV 모델인 HCVpp 및 HCVcc 모델의 바이러스 중화를 매개한다. 또한, HCVpp 및/또는 HCVcc의 성공적인 중화는 생체내 치료요법적 활성을 나타낸다는 것을 당업자는 인식한다(가령, *Lavie et al., 2007, Curr. Issues Mol. Biol., 9:71-86; Bartosch et al., 2003, J. Exp. Med., 197:633-642; and Law et al., 2008, Nat. Med., 14:25-27; 이들 모두 참고문헌에 통합된다*).

[0075] 따라서, 본 발명은 HCV E2 항체 HC-1, HC-3, HC-11, 및/또는 CBH-23를 제공한다. 본 발명은 HC-1, HC-3, HC-11, 및/또는 CBH-23와 동일한 또는 유사한 에피토프를 인지하는 항체를 제공한다. 일부 구체예에서, 본 발명은 E2 단백질에 대한 결합에 있어서 HC-1, HC-3, HC-11, 및/또는 CBH-23와 경쟁하는 항체를 제공한다. 일부 구체예에서, 본 발명은 E2 단백질에 대한 HC-1, HC-3, HC-11, 및/또는 CBH-23 결합을 약 30%, 약 40%, 약 50%, 약 60%, 약 70%, 약 80%, 약 90%, 약 95%, 또는 95% 이상으로 감소시키는 항체를 제공한다.

[0076] 일부 구체예에서, 본 발명은 E2 단백질에 대한 결합에 있어서 HC-1, HC-3, HC-11, 및/또는 CBH-23와 경쟁하는 물질(가령, 소 분자, 펩티드, 핵산, 지질, 나노입자들, 등)을 제공한다. 일부 구체예에서, 본 발명은 E2 단백

질에 대한 HC-1, HC-3, HC-11, 및/또는 CBH-23 결합을 약 30%, 약 40%, 약 50%, 약 60%, 약 70%, 약 80%, 약 90%, 약 95%, 또는 95% 이상으로 감소시키는 물질(가령, 소 분자, 펩티드, 핵산, 지질s, 나노입자들, 등)을 제공한다. .

- [0077] HCVpp (HCV 허위유형의 입자) 모델은 변형안된 HCV E1 및 E2 단백질으로 허위유형화(pseudotype)된 감염성 레트로 바이러스 입자들을 포함한다(가령, *Bartosch et al., 2003, J. Exp. Med., 197:633-642; Drummer et al., 2003, FEBS Lett., 546:385-390; Op De Beeck et al., 2004, J. Virol., 78:2994-3002; and Hsu et al., 2003, Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 100:7271-7276*; 이들 모두 참고문헌에 통합된다). HCVpp는 인간 간 세포를 선호적으로 감염시키는데, 항-E2 항체에 의해 중화되며, HCV-감염된 환자 혈청에 의해 중화되며, 그리고 바이러스의 유입을 포함하여 HCV 감염의 초기 단계를 모방한다(*Bartosch et al., 2003, supra; and Lavie et al., 2007, Curr. Issues Mol. Biol., 9:71-86*; 이들 모두 참고문헌에 통합된다). HCVpp-근거한 분석은 바이러스 유입 및 생체내 생리학적 상태와의 관련성을 관찰하는데 유용하며, 새로운 항바이러스의 치료법의 개발에도 적합하다(*Bartosch et al., 2003, supra*).
- [0078] HCVcc (세포 배양된 HCV 비리온) 모델은 감염성의, 완전한 복제성 HCV 비리온의 생산을 허용하는 세포-배양 시스템을 제공한다(*Lindenbach et al., 2005, Science, 309:623-626; Wakita et al., 2005, Nat. Med., 11:791-796; and Zhong et al., 2005, Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 102:9294-9299*; 이들 모두 참고문헌에 통합된다). HCVcc 시스템은 인간 간종양 세포계 Huh-7를 전격성 감염이 있는 개체로부터 클론된 유전자형 2a JFH1 균주의 계놈 HCV RNA로 형질감염시킨 것에 기초한다. 상이한 HCV 균주 사이에 비교 연구를 위하여, JFH1 분리체의 상이한 유전자형의 구조적 단백질과 비-구조적 단백질을 인코딩하는 키메라 계놈을 만들었다(*Pietschmann et al., 2006*). HCVcc 모델은 시험관으로 세포 배양물에서 그리고 침팬지 생체내에서 복제할 수 있다(*Wakita et al., 2005, supra*). HCVcc 시스템으로 완벽한 바이러스 주기 라이프의 연구가 허용되며 그리고 HCVpp 시스템으로 생성된 데이터의 확인이 허용된다.
- [0079] HCVcc 비리온을 이용하여 실행된 실질적으로 모든 실험 결과는 HCVpp 비리온을 이용하여 실행된 유사한 실험들의 결과와 일치된다. *Lindenbach et al., 2005, Science, 309:623-626; Lavie et al., 2007, Curr. Issues Mol. Biol., 9:71-86; Chapel et al., 2007, J. Gen. Virol., 88:1133-1143; Ret et al., 2007, FEBS J., 274:4705-4718; Pietschmann et al., 2006, Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 103:7408-7413; Wakita et al., 2005, Nature Medicine, 11:791-796; Yi et al., 2006, Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 103:2310-2315; Zhong et al., 2005, Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 102:9294-9299* 참고; 이들 모두 참고문헌에 통합된다.
- [0080] HCV를 연구하기 위하여 또 다른 확립된 모델은 “HCV-Trimera” 마우스 모델 (*Ilan et al., 2002, J. Infect. Dis., 185:153-61*; 참고문헌에 통합된다)이다. HCV-Trimera 마우스 모델은 방사선 치사량으로 조사된 마우스를 이용하여 개발되었는데, Severe Combined Immunodeficiency (SCID) 마우스 골수 세포로 재구성되었으며, 이때 HCV로 생체의 감염된 인간의 간 단편이 이식되었다. HCV Trimera 마우스는 잠재적인 HCV 치료요법적 및/또는 진단 물질의 생체내 치료요법적 효과를 평가하는데 유용할 수 있다(*Ilan et al., 2002, J. Infect. Dis., 185:153-61; Eren et al., 2006, J. Virol., 80:2654-2664*; 이들 모두 참고문헌에 통합된다).
- [0081] 배양 시스템에서 HCVcc 또는 HCVpp 비리온을 이용하여 실행된 실험 결과는 인간 간-마우스 키메라 모델을 이용하여 실행한 동물 실험의 결과와 일치한다 (*Eren et al., 2006, J. Virol., 80:2654-2664; and Law et al., 2008, Nat. Med., 14:25-27*; 이들 모두 참고문헌에 통합된다). 더욱이, 시험관에서 분석과, 확대하여, 생체내 소 동물 인간 마우스 키메라 모델, 가령, Trimera 마우스 모델에서 HCV 복제의 역제는 인간이 아닌 영장류 생체내 HCV 억제와 관련있다. 예를 들면, 침팬지에서 감염의 예방에 선택된 다클론 인간 IgG 준비물의 능력에 일부 초점을 둔 연구에서, HCVpp 분석에 의해 특징화된 높은 중화 역가를 가진 준비물은 보호성이 있었지만, 낮은 중화 역가를 가진 준비물은 없었다. *Yu et al., 2004, Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 101:7705-7710* 참고; 참고문헌에 통합된다.
- [0082] 이들 모델 시스템의 예측 값이 제공된다면, HC-1, HC-3, HC-11, 및/또는 CBH-23 (또는 HC-1, HC-3, HC-11, 및/또는 CBH-23와 동일한 항체를 인지하는 항체)는 생체내 HCV의 중화에 성공적으로 이용될 수 있다는 것을 당업자는 인지할 것이다. 간 이식에서 B형 간염 면역글로블린으로 유사한 성공을 얻을 수 있으며(*Dickson, 1998, Gan Transpl. Surg., 4(5 Suppl 1):S73-S78; and Markowitz et al., 1998, Hepatology 28:585-589*; 이들 모두 참고문헌에 통합된다), 한 가지 가능한 용도는 간 이식 수용체에서 HCV 감염은 광범위하게 활성적인 중화 인간 단클론 항체를 이용하여 억제하는 것이다.
- [0083] 인간 단클론 항체가 제공되지만, 다른 소스로부터의 다른 항체도 여기에서 설명된 인간 항체에 의해 인지되는

동일한 에피토프를 인지할 수 있으며, 이들 또한 유용할 것이다. 일반적으로, 무린 소스(가령, 마우스, 쥐, 토끼목(lagomorpha)등) 및 가축(가령, 토끼, 기니아 피그, 염소, 양, 돼지, 닭, 말, 햄스터, 등)이 용도를 가진다. 유전자 기술을 이용하고, 여기에서 설명된 HCV 항체의 불변 구역을 치환하여 포유류의 보존된 구역을 가지는 항체를 만들거나 또는 하기에 설명하는 단백질을 이용하여 동물을 면역화시키고, 생성된 B 세포를 불사화시키고, 하기에 설명된 것과 같이 유사한 광범위한 결합 특이성을 가지는 단클론 항체를 생산하는 불사화된 세포를 스크리닝할 수 있다. 개체 HCV 항체와 경쟁적 분석에서 스크리닝하여, 인간이 아닌 항체가 동일한 에피토프에 결합하는 지를 결정할 수 있다.

[0084] 항체 소스로 하이브리도마를 이용하는 대신, HCV 항체 또는 이의 부분을 인코딩하는 유전자를 분리시키고, 적절한 포유류 숙주 세포 가령, CHO, CHO-K1, 293T, Huh7, Huh7.5, HeLa, CV1, 또는 이와 유사한 것으로 도입시킬 수 있다. 적합한 발현 플라스미드는 pcDNA3.1 Zeo, pIND(SP1), pREP8 (모두 Invitrogen, Carlsbad, CA의 것임) (실시예 1 참고), 및 이와 유사한 것을 포함한다. 항체 유전자는 바이러스 또는 레트로바이러스 벡터를 통하여 발현될 수 있는데, 이들 벡터는 MLV 기초한 벡터, 백시니아 바이러스 기초한 벡터, 등이 될 수 있다. 유사하게, 항체 유전자는 M13 파아지의 표면에 pCOMB 씨리즈 벡터를 이용하여 두 개의 독립적인쇄로 발현될 수 있는데, 이들은 다시 재생되어 고유 항체를 형성할 수도 있다. 대안으로, 항체는 최소한 가변 구역을 포함하는 단일쇄로 발현될 수 있다. 유전자는 세포, 가령, 임파세포, 근육 세포, 섬유아세포 및 이와 유사한 것과 같은 적절한 세포로 유전자를 도입시키고, 여기서 항체가 구조적으로 또는 유도적으로 발현 및 분리되어 숙주 세포의 수명에 근거하여 예정된 시간에 걸쳐 항체의 소스를 연속적으로 또는 간헐적으로 제공할 수 있다. 표식 유전자(가령, 항생제 저항성, 형광 라벨; 영양소 선별 등)와 함께 유전자는 개체로부터 취한 세포의 세포 배양물로 도입될 수 있으며, 표식 수단에 의해 변형된 세포가 선택되며, 표시된 세포를 다시 숙주로 되돌려 보낸다. 다양한 플라스미드 DNA, 나이클드 DNA, DNA 바이러스 구조체 (가령, 아데노바이러스, 아데노-연합된 바이러스, 또는 백시니아 바이러스), 및/또는 RNA 바이러스(가령, 소낭성 구내염 바이러스, 신드비스 바이러스, 및 세미리키 포레스트 바이러스)를 이용하여 세포내로 DNA를 도입시킬 수 있다. 일부 구체예에서, DNA 구조체는 개체 세포에 존재하는 또는 유도되거나 도입될 수 있는 전사 인자에 대한 프로모터, 그리고 이와 같은 프로모터의 전사 제어하에 있는 유전자를 가진다. 다른 조절 서열 또한 존재할 수 있는데, 예를 들면, 분비를 위한 리더, 인핸서, RNA 안정화 서열, 및 이와 유사한 것이 존재할 수 있다.

[0085] 일부 구체예에서, 항체는 IgG 종류가 된다. 일부 구체예에서, 항체는 IgG1 또는 IgG2 종류다. (도 3). 일부 구체예에서, 항체는 IgG₁ 종류다. 특정 구체예에서, 항체는 IgG_{1k} 종류다. 일부 구체예에서, 항체는 IgG_{1γ}, IgG_{1δ}, 또는 IgG_{1λ} 종류다. 일부 구체예에서, 항체는 IgG₂, IgG₃, 또는 IgG₄ 종류다. 일부 구체예에서, 항체는 IgA, IgD, IgE, 또는 IgM 종류다. 일부 구체예에서, 항체는 IgA₁ 또는 IgA₂ 종류다.

[0086] 항체는 고유한 형태로 이용되거나, 또는 절단되어 Fab 또는 F(ab')₂ 단편을 제공할 수 있다. 중쇄 및 경쇄를 인코딩하는 유전자는 여러 가지 다른 방법으로 분리되고 변형될 수 있다. 통상적으로, RT-PCR을 이용하여 추가 조작을 위한 편리한 구조내에 유전자에 대한 cDNA를 얻을 수 있다. 경쇄 및 중쇄의 가변 구역의 뉴클레오티드 서열은 분리되고, 직간접적으로 또는 3n 뉴클레오티드의 쇠를 통하여 결합되어(이때 n은 최소한 1개 내지 약 60 개를 넘지 않는, 통상 약 40개를 넘지 않으며) 두 개의 가변 구역사이 아미노산 링커를 제공한다. 쇠의 길이는 최적의 친화력 및 기타 성질, 가령, 멸감도, 카르복시 또는 아미노기를 통한 링키지, 킬레이트, 표면 또는 다른 분자에 결합을 제공하기 위하여 실험적으로 결정될 수 있다.

[0087] 라벨 또는 태그는 항체를 인코딩하는 유전자에 부착되어, 발현된 항체를 특이적 친화력 분리 방법, 표면에 부착, 확인용 라벨 또는 태그를 제공한다. 라벨 또는 태그는 분리된 항체 유전자의 유용성을 개선시킬 수 있다. 일부 구체예에서, 라벨 또는 태그는 절단가능한 팔, 프로테아제 부위 등과 같은 링커를 경유하여 항체에 연합된다. 일부 구체예에서, 라벨 또는 태그는 항체를 인코딩하는 유전자, 또는 이의 단편들에 직접적으로(가령, 공유 또는 비-공유적으로) 연합된다.

[0088] 라벨은 효소, 킬레이트 기, 리간드 결합 단백질에 결합하기 위한 리간드, 가령, 바이오틴/스트렙타아비딘, 디고옥시게닌/항디고옥시게닌, 등, 그린 형광 단백질, 및 이와 유사한 것을 포함할 수 있다. 대장균의 바이오틴 카르복실라제 캐리어 단백질 (BCCP)의 바이오티닐화된 서열은 대장균에서 발현된 또는 대장균의 용해물질로 도입된 단백질의 생체내 바이오티닐화에 유용할 수 있다. 고정된 이가 양이온을 포함하는 컬럼에 항체의 결합을 허용하는데 적합한 6개의 히스틴 서열 또는 히스틴과 아스파르트산이 교대로 있는 서열이 이용될 수 있다. 고친화력 에피토프를 인코딩하는 서열이 이용될 수 있는데, 가령, FLAG 에피토프 DYKDDDDK (서열 번호: 1), T7 tag 서열 MASMTGGQM (서열 번호: 2), S-tag 서열 KETAAKFERQHMDS (서열 번호: 3), 또는 이의 상관 결합 멤버

또는 단백질 시약에 높은 친화력 결합을 부여하는 임의의 다른 서열이 될 수 있다. 상기에 나타낸 것들 이외에 융합 단백질은 글루타티온-S-전이효소, 루시퍼라제, 간세포에서 발견되는 세포 표면 수용체에 대한 리간드, T-세포 또는 기타 바람직한 세포 표적, 및 이와 유사한 것을 포함한다. 이와 같은 융합은 단백질의 이중 기능성을 촉진시키는 3-50개 아미노산의 링커 서열을 통하여 통상 결합된다.

[0089] 일부 구체예에서, 라벨은 형광, 방사능활성, 발광 및/또는 효소적으로 탐지가능한 모이어티를 포함한다. 대안으로, 항체는 킬레이트화된 독성 중금속 또는 방사능활성 동위원소(가령, 테크네튬, 방사능활성 요오드, 등)에 링크될 수 있다. 항체는 형광단 또는 화학적 발광 분자에 화학적으로 링크될 수 있다. 화학적 결합은 활성화된 카르복실산 기 또는 바이오틴-C11-하이드록시숙시니미드 에스테르를 이용하여 바이오티닐화되는 것을 포함하는데, 이는 시스테인과도 반응할 수 있으며; 다양한 비드(세파로즈, 아가로즈, 자석, 폴리스티렌 등)의 CNBr 활성화를 이용한 커플링 또는 항체에 링크되는 표면 및 이와 유사한 것; 유용한 화학적 모이어티에 항체를 연결시키는 다른 방법들, 보통 리신 또는 다른 염기성 잔기의 변형을 통하여 또는 자유 SH기에 특이적인 물질의 이용하여 실시된다.

[0090] 일부 구체예에서, 라벨은 말레이미드 기와 티오 에테르를 형성하기 위한 시스테인을 제공하고, 금속 킬레이트를 위한 폴리히스티딘/시스테인 또는 폴리히스티딘/아스파르트산을 제공하고, 환원성 아민화 반응에서 알데히드와 반응을 위한 폴리리신을 제공할 수 있다.

[0091] 일부 구체예에서, 라벨은 디프테리아 독소와 같은 독소, 리진, 아브린, 리보솜 비활성화 단백질, 아팍토시스 신호 단백질, 포어 형성 단백질 (가령, 퍼포린), 등이 될 수 있다.

[0092] 항체 중쇄 및 경쇄 가변 구역(특히, 가변 구역의 초가변 구역)에 대한 유전자는 항체 결합 친화력을 강화시키거나 또는 반응성을 넓히기 위하여 공지된 방식에 따라 돌연변이될 수 있다. 파아지 디스플레이 방법, 서열의 직접적인 돌연변이 생성 또는 다른 유사한 방법을 이용하여 최적의 결합 항체를 확인하는 시험관 선별을 이용할 수 있다. 대안으로, 필수 아미노산을 확인하기 위하여 초가변 구역의 알라닌 또는 글리신 워크(walk)를 이용하고, 그 다음 이들 또는 다른 위치에서 아미노산을 변화시켜, 에피토프의 개선된 결합을 확인할 수 있다. 당분야에 공지된 가들 기술을 이용하여 돌연변이된 항체를 제공할 수 있다. 가령, *Gram et al., 1992, Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 89:3576-80; Griffiths et al., 1993, EMBO J., 12:725-34; de Kruif et al., 1995, J. Mol. Biol., 248:97-105; Low et al., 1996, J. Mol. Biol., 260:359-368; Hanes et al., 2000, Nat. Biotechnol., 18:1287-1292; Boder et al., 2000, Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 97:10701-10705; Graff et al., 2004, Protein Eng. Des. Sel., 17:293-304; Cumbers et al., 2002, Nat. Biotechnol., 20:1129-1134; Chowdhury and Pastan, 1999, Nat. Biotechnol., 17:568-572; Neuberger and Milstein, 1995, Curr. Opin. Immunol., 7:248-254; Jolly et al., 1996, Semin. Immunol., 8:159-168; Neuberger et al., 1998, Immunol. Rev., 162:107-116; Neuberger, 2002, Biochem. Soc. Trans., 30:341-350; Beers et al., 2000, Clin. Cancer Res., 6:2835-2843; and Salvatore et al., 2002, Clin. Cancer Res., 8:995-1002; 이들 모두 참고문헌에 통합된다.*

[0093] 인간 항체를 생산하는 것과 관련된 참고문헌은 *Foung et al., 1990, J. Immunol. Methods, 70:83-90; and Zimmermann et al., 1990, J. Immunol. Methods, 134:43-50;*을 포함하며, 이들 모두 참고문헌에 통합된다. 복합 라이브러리를 이용하여 변형된 항체를 생산하는 것과 관련된 참고문헌은 *Burton and Barbas, Dixon, FJ (Ed.) Advances in Immunology, Vol. 57, Vi+391 p. Academic Press, Inc., San Diego, CA, 191-280, 1994; Plaisant et al., 1997, Res. Virol., 148-169; and Barbas and Burton, Monoclonal antibodies from Combinatorial Libraries. Cold Spring Harbor Laboratory Course Manual, Cold Spring Harbor, NY, 1994*을 포함한다; 이들 모두 참고문헌에 통합된다. 돌연변이 생성후, 원하는 성질, 가령, 표적 항원에 대한 증가된 친화력 또는 더 넓은 또는 더 좁은 특이성과 같은 성질에 대해 시험관에서 선별하여 변형된 항체가 만들어질 수 있다. 항체는 독소 또는 다른 생물학적 활성 분자에 의해 변형될 수 있다. HCV E2에 대한 항체 결합 분석은 *Rosa et al. (1996, Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 93:1759-1763; 참고문헌에 통합된다)*에서 설명된다.

[0094] **입체적 에피토프(Conformational Epitopes)**

[0095] **에피토프의 특징**

[0096] 항체는 이들이 결합하는 E2 단백질상에 구조적 에피토프를 확인하는데 이용될 수 있다. 입체적 에피토프를 확인하기 위하여 단클론 항체를 이용하는 두 가지 기본적인 방법이 있다. 첫째로, HCV 분리체의 자연적 변이체

또는 돌연변이 분석을 이용하여 단클론 항체에 의해 인지되는 에피토프에 관련된 구역을 확인하고, 궁극적으로 개체 아미노산을 확인할 수 있다(Schwartz et al., 1999, *J. Mol. Biol.*, 287:983-999; 참고문헌에 통합된다). 다수의 상이한 HCV E2 분리체에 대해 항체를 스크리닝하여, 개체 항체와 선택적으로 비-반응성인 분리체를 확인한다. “키메라” E2 외피 단백질을 만들고, 이때 키메라의 한 부분은 하나의 HCV 유전자형의 E2 단백질에서 유도되고, 다른 부분은 또 다른 HCV 유전자형의 E2 단백질로부터 유도된다. 키메라 E2 단백질은 오버래핑 단편을 증폭시키는 PCR, 및/또는 이들 E2 단백질에 공통적인 제한효소 부위를 이용하여 구성된다. 대안적인 방법은 생물 공학 회사인 MaxyGen에 의해 개척된 DNA 서플링이다(Cohen, 2001, *Science*, 293:237; Locher et al., 2005, *DNA Cell Biol.*, 24: 256-263; Locher et al., 2004, *Expert Opin. Biol. Ther.*, 4:589-597; Locher et al., 2004, *Curr. Opin. Mol. Ther.*, 6:34-39; Kurtzman et al., 2001, *Curr. Opin. Biotech.*, 12:361-370; and Minshull and Stemmer, 1999, *Curr. Opin. Chem. Biol.*, 3: 284-290; 이들 모두 참고문헌에 통합된다). 상이한 단클론 항체를 이용하여 상이한 키메라 E2 단백질의 관찰된 결합 반응성을 조사하여, 입체적 에피토프를 형성하는데 관여하는 E2 단백질의 아미노산 구역을 확인한다. 일단 관련 구역이 확인되면, 상이한 유전자형 사이에 상이한 개체 아미노산이 돌연변이되어 반응성 E2 서열을 구성한다. 완전한 반응성을 복원시키는 돌연변이체로 에피토프를 형성시키는데 관계하는 아미노산을 확인한다.

[0097] 입체적 에피토프를 확인하는 두 번째 기본적인 방법은 HCV E2의 원하는 서열을 인코딩하는 10-15개 잔기 길이의 일련의 오버래핑 펩티드를 합성하는 것이다(가령, Petit et al., 2003, *J. Biol. Chem.*, 278:44385-44392; Moskalenko et al., 2000, *J. Virol.*, 74:1761-1766; Pettersson, 1992, *Mol. Biol. Rep.*, 16:149-53; Gerlofs-Nijland et al., 2003, *Nephron Exp. Nephrol.*, 94:e25-34; 이들 모두 참고문헌에 통합된다). 그 다음 고농도 항체 (100 µg/ml 또는 그 이상)를 이용하여 항체에 대해 펩티드를 스크리닝한다. 완전한 입체적 해당 구역 에피토프를 포함하는 개체 구역은 탐지되는 항체와 잔여 결합 활성을 흔히 보유한다. 일단 이들 구역이 확인되면, 10-15개 잔기의 펩티드가 관련된 돌연변이 연구를 이용하여, 또는 형태학적으로 고유한 HCV E2 단백질로 대체시켜 확인할 수 있다. 이와 같은 방법의 변이는 Reineke et al. (1999, *Nat. Biotech.*, 17:271-275; 참고문헌에 통합된다)에서 설명된다.

[0098] 일부 구체예에서, 본 발명은 HCV E2 단백질내에 입체적 에피토프의 확인과 이와 같은 에피토프를 포함하는 조성물 및 화합물을 추가 제공한다. 예를 들면, 본 발명은 HCV E2 단백질의 입체적 에피토프를 포함하는 모방 물질(가령, 단백질, 펩티드, 소 분자, 탄수화물, 지질, 나노입자들, 핵산, 미모토프, 유기 화합물, 유기금속 화합물, 무기 화합물, 등)을 제공한다. 펩티드 물질은 본 발명의 항체에 의해 인지되는 하나 이상의 에피토프를 포함할 수 있다. 특정 구체예에서, 단백질은 사슬로 연결된 펩티드 띠를 제공하는데, 이중 최소한 하나의 펩티드는 HCV E2의 입체적 에피토프를 포함한다. 띠의 펩티드는 HCV의 최소한 하나의 상이한 입체적 에피토프를 포함하거나 또는 동일한 에피토프를 포함할 수 있다. 띠의 펩티드는 자연 상태에서와 같은 입체적 에피토프를 나타내기 위하여 바람직하게 폴딩되어야 한다. 이와 같은 단백질 및 펩티드는 백신 제조에 이용되거나 또는 진단 테스트에 이용될 수 있다.

[0099] 본 발명은 HCV에 대한 환자의 면역학적 반응에 근거하여 환자를 구별하고, HCV 면역요법에 잘 반응하는 환자를 확인하는 방법을 제공한다. 예를 들면, 환자의 혈청을 이용하여 HCV E2의 특정 에피토프에 대항하는 항체가 존재하는지에 대해 테스트한다. 환자가 이와 같은 에피토프에 대한 항체를 적정한 수준으로 보유하지 않는다면, 에피토프에 대항하는 인간 단클론 항체를 환자에게 투여할 수 있다.

[0100] HCV에 대한 백신 제조에 있어서, HCV E2 단백질의 최소한 하나의 입체적 에피토프를 모방하는 임의의 물질이 이용될 수 있다. 일부 구체예에서, 백신에 있는 에피토프는 바이러스의 상이한 유전자형간에 보존된 또는 바이러스의 상이한 균주간에 보존된 것을 포함한다. 일부 구체예에서, HCV E2의 형태학적으로-한정된 에피토프를 포함하는 펩티드 또는 단백질을 이용하여 HCV에 의한 감염을 예방하거나 또는 HCV 감염을 치료하기 위한 백신을 조제한다. 일부 구체예에서, 펩티드 또는 단백질 모방체는 길이가 500개 미만, 200개 미만, 100개 미만, 50개 미만, 40개 미만, 30개 미만, 또는 20개 미만의 아미노산이 될 수 있다. 일부 구체예에서, 백신 제조에 이용되는 펩티드는 HCV E2 단백질의 펩티드 단편이다. 일부 구체예에서, 펩티드는 고유 E2 단백질의 폴딩과 유사한 방법으로 폴딩되고, 따라서 입체적 에피토프의 3차원적 구조를 보존한다.

[0101] 백신은 또한 항체가 원하는 입체적 에피토프를 가지는 사슬로 연결된 펩티드를 제시하는 단백질을 포함할 수 있다. 각각 펩티드가 상이한 에피토프를 포함하도록 몇 가지 상이한 펩티드를 이용하여 멀티머를 만들 수 있거나, 또는 멀티머에 동일한 펩티드가 한번 이용 이용될 수 있다.

[0102] 펩티드는 Merrifield 고품상 화학을 포함하는 당분야에 공지된 임의의 방법을 이용하여 합성될 수 있다. 펩티

드는 또한 E1 또는 E2 단백질의 절단 및 정제에 의해 수득될 수 있다. 펩티드는 재조합적으로 만들어지고, 그리고 대장균, 효모(가령, *S. cerevisiae*), 곤충 세포(가령, Sf9 세포), 또는 포유류 세포(가령, CHO 세포)에서 당분야에 공지된 임의의 기술(*Sambrook et al.; Miller & Calos, eds., Gene Transfer Vector for Mammalian Cells, 1987; Ausubel et al., eds., Current Protocols in Molecular Biology, 1987*; 각각은 참고문헌에 통합된다)을 이용하여 생산할 수 있다. 펩티드의 면역원성, 용액에서 용해도를 증가시키기 위하여 또는 정확하게 폴딩되는 성향을 증가시키기 위하여 펩티드가 변형될 수 있다. 예를 들면, 펩티드는 당화되거나, 파르네실화(farnesylated), 하이드록실화, 환원 또는 산화 등이 될 수 있다.

[0103] 일부 구체예에서, 펩티드는 HCV의 E2 단백질의 아미노산 657-698을 포함한다. 일부 구체예에서, 펩티드는 HCV E2 단백질의 하나 이상의 아미노산 D658, F679, L692, I696, 또는 D698을 포함한다. 당업자가 인지하는 바와 같이, HCV의 임의의 유전자형으로부터 E2 단백질의 유사한 아미노산 서열이 이용될 수 있다. 유사한 서열은 상이한 균주 또는 HCV의 유전자형으로부터 E2 단백질의 다수 서열을 배열하여 결정될 수 있다. 원하는 에피토프를 보존하는 상동성 서열을 백신 제조에 이용할 수 있다. 일부 구체예에서, 서열은 HCV E2 단백질의 고유 서열에 최소한 50%, 최소한 60%, 최소한 70%, 최소한 75%, 최소한 80%, 최소한 85%, 최소한 90%, 최소한 95%, 최소한 98%, 또는 그 이상의 상동성을 가진다.

[0104] 일부 구체예에서, 여기에서 설명된 전장 HCV E2 단백질은 야생형 HCV 폴리단백질로부터 유도된 서열을 가질 수 있다. 일부 구체예에서, 여기에서 설명된 전장 HCV E2 단백질은 비-야생형 HCV 폴리단백질에서 유도된 서열을 가질 수 있다. 상이한 HCV 폴리단백질의 다양한 아미노산 서열(가령, 상이한 유전자형, 아류형, 분리체 등)은 당분야에 공지되어 있으며, GenBank와 같은 공개 데이터베이스에서도 이용가능하다. 하기 표 1에서는 다중 HCV 유전자형, 아류형, 및/또는 분리체의 예시적인 HCV 폴리단백질 서열을 제공한다.

표 1

예시적인 HCV 폴리단백질 서열

GenBank Accession	Genotype & Subtype	HCV Polyprotein Sequence
AAB67038	1a (H77)	MSTNPKPQRK TKRNTNRRPQ DVKFPGGGQI VGGVYLLPRR GPRLGVRATR KTSERSQPRG RRQPIPKARR PEGRTWAQPG YPWPLYGNEG CGWAGWLLSP RGSRPSWGPT DPRRRSRNLG KVIDTLTCGF ADLMGYIPLV GAPLGGAARA LAHGVRVLED GVNATGNLP GCSFSIFLLA LLSCLTVPAS AYQVRNSSGL YHVTNDCPNS SIVYEAADAI LHTPGCVPCV REGNASRCWV AVTPTVATRD GKLPPTQLRR HIDLLVGSAT LCSALYVVDL CGSVFLVQGL FTFSPRRHWT TQDCNCSIYP GHITGHRMAW DMMMNWSPTA ALVVAQLLRI PQAIMDMIAG AHWGVLAGIA YFSMVGWAK VLVVLLLFAG VDAETHVTGG NAGRRTAGLV GLLTPGAKQN IQLINTNGSW HINSTALNCN ESLNTGWLAV LFYQHKFNSS GCPERLTSCR RLTDFAQGWG PISYANGSGL DERPYCWHYP PRPCGIVPAK SVCGPVYCFY PSPVVVGTDT RSGAPYISWG ANDTDVFVLN NTRPPLGNWF GCTWMNSTGF TKVCGAPPCV IGGVGNNTLL CPTDCFRKHP EATYSRCGSG PWITPRCMTD YPYRLWHYPC TINYTIFKVR MYVGGVEHRL EAACNWTGRG RCDLEDRDRS ELSPLLLSTT QWQVLPFSFT TLPALSTGLI HLHQNIQVAVQ YLYGVGSSIA SWAIKWEYVV LFLLLADAR VCSCWMLL ISQAEAALEN LVILNAASLA GTHGLVSLV FFCFAWYKLG RWPVGAAYAF YGMWPLLLLL LALPQRAYAL DTEVAASCGG VVLVGLMALT LSPYYKRYIS WCMWMLQYFL TRVEAQLHVW VPPLNVRGGR DAVILLMCVV HPTLVFDITK LLLAIFGPLW ILQASLLKVP YFVRVQGLLR ICALARKIAG GHYVQMAIIK LGALTGTIVY NHLTPLRDWA HNGLRDLAVA VEPVVFSTRME TKLITWGADT AACGDI INGL

[0105]

		PVSARRQGEI LLGPADGMVS KGWRLQAPIT AYTQQTRGLL GCIIITSLTGR DKNQVEGEVQ IVSTATQTFL ATCINGVCWT VYHGAGTRTI ASPKGPVIQM YTNVDQDLVG WPAPQGSRSI APCTCGSSDL YLVTRHADVI PVRRRGDSRG SLLSPRPISY LKSSSGGPLL CPAGHAVGLF RAAVCTRGVA KAVDFIPVEN LGTTMRSPVF TDNSSPPAVP QSFQVAHLHA PTGSGKSTKV PAAYAAQGYK VLVLNPSVAA TLGFGAYMSK AHGVDPNIRT GVRTITTTGSP ITYSTYKGF ADGGCSGGAY DIIICDECHS TDATSILGIG TVLDQAETAG ARLVVLATAT PPGSVTVSHP NIEEVALSTT GEIPFFYGKAI PLEVIKGRH LIFCHSKKCC DELAAKLVAL GINAVAYYRG LDVSVIPTSG DVVVVSTDAL MTGFTGDFDS VIDCNTCVTQ TVDFSLDPTF TIETTTLPQD AVSRTQRRGR TGRGKPGIYR FVAPGERPSG MFDSSVLCEC YDAGCAWYEL TPAETTVRLR AYMNTPLPV CQDHLEFWEG VFTGLTHIDA HFLSQTKQSG ENFPYLVAYQ ATVCARAQAP PPSWDMWKC LIRLKLPTLHG PTPLLYRLGA VQNEVTLTHP ITKYIMTCS ADLEVVTSTW VLVGGVLAAL AAYCLSTGCV VIVGRIVLSG KPAIIPDREV LYQEFDEMEE CSQHLPYIEQ GMLLAEQFKQ KALGLLQAS RHAEVITPAV QTNWQKLEVF WAKHMWNFIS GIQYLAGLST LPGNPAIASL MAFTAAVTSP LTTGQTLLEFN ILGGVWAAQL AAPGAATAFV GAGLAGAAIG SVGLGKVLVD ILAGYGAGVA GALVAFKIMS GEVPSTEDLV NLLPAILSPG ALVVGVCVAA LLRRHVGPGE GAVQWMNRLI AFASRGNHVS PTHYVPESDA AARVTAILSS LTVTQLLRL HQWISSECTT PCSGSWLRDI WDVICEVLS DFKTWLAKLM PQLPGIPFVS CQRGYRGVWR GDGIMHTRCH CGAEITGHVK NGTMRIVGPR TCRNMWSGTF PINAYTTGPC TPLPAPNYKF ALWRVSAEY VEIRRVGDFH YVSGMTTDLN KCPCQIPSPF FTELDGVR LHRFAPPCKPL LREEVSFRVG LHEYVPGSQL PCEPEPDVAV LTSMLTDPH ITAEAGRRL ARGSPSPMAS SSASQLSAPS LKATCTANHD SPDAELIEAN LLWRQEMGGN ITRVESENKV VILDSFDPLV AEEDEREVSU PAELLRKSRR FARALPVWAR PDYNPLVET WKKPDYEPVP VHGCPLPPR SPPVPPRKK RTVVLTSTL STALAEATK SFGSSSTSGI TGDNTTSSSE PAPSQCPPDS DVEYSMPP LELEGDPDL SDGWSSTVSS GADTEDVCC SMSYSWTGAL VTPCAAEEQK LPINALSNL LRHHNLVYST TSTRACQRQK KVTFDRLQVL DSHYQDVLKE VKAAASKVKA NLLSVEEACS LTPPHSAKSK FGYGAKDVRC HARKAVAHIN SVWKDLLEDS VTPIDTTIMA KNEVFCVQPE KGRKPARLI VFPDLGVRVC EKMALYDVVS KLPLAVMGSS YGFQYSPGQR VEFVLQAWKS KKTPMGFSYD TRCFDSTVTE SDIRTEEAIY QCCDLDPQAR VAIKSLTERL YVGGPLTNSR GENCGYRRCR ASGVLTTSCG NTLTCYIKAR AACRAAGLQD CTMLVCGDDL VVICESAGVQ EDAANLRAFT EAMTRYSAPP GPPQPEYDL ELITSCSNV SVAHDGAGKR VYYLTRDPTT PLARAAWETA RHTPVNSWLG NIIMFAPTLW ARMILMTHFF SVLIARDQLE QALNCEIYGA CYSIEPLDLP PIIQLHGLS AFSLHSYSPG EINRVAACLR KLGVPPLRAW RHRARSVRAR LLSRGGRAAI CGKYLFWAV RTKLLTLPIT AAGRLDLSGW FTAGYSGGDI YHSVSHARPR WFWFCLLLLA AGVGIYLLPN R (SEQ ID NO: 4)
AAK08509	1b	MSTNPKPQRK TKRNTNRRPQ DVKFPGGGQI VGGVYLLPRR GPRLGVRATR KTSERSQPRG RRQPIPKARR PEGRTWAQPG YPWPLYGNEG MGWAGWLLSP RGSRPSWGPT DPRRRSRNLG KVIDTLTCGF ADLMGYIPLV GAPLGGARA LAHGVRVLED GVNATGNLP GCSFSIFLLA LLSCLTIPAS AYEVRNVSIG YHVTNDCSNS SIVYEADMI MHTPGCVPCV RESNFSRCWV ALPTLAARN SSIPTTTIRR HVDLLVAAA LCSAMYVGD LCGSVFLVSQL FTFSPRRYET VQDCNCSIYP GHVSGHRMAW DMMNWSPTT ALVVSQLLRI PQAVVDMVAG AHWGVLAGLA YSMVGNWAK VLIVMLLAFG VDGHTHTVGG RVASSTQSLV SWLSQGPSQK IQLVNTNGSW HINRTALNCN DSLQTGFIAA LFYAHRFNAS GCPERMASCR PIDKFAQGWG PITHVVPNIS DQRPYCWYHA PQPCGIVPAS QVCGPVYCFT PSPVVVGTDD RSGVPTYSWG ENETDVLLLN NTRPPQGNWF GCTWMNSTGF TKTCGGPPCN IGGVGNNTLI CPTDCFRKHP EATYTKCGSG PWLTPRCLVD YPYRLWHYPC TINFTIFKVR MYVGGVEHRL NAACNWRTRGE RCDLEDRDRS ELSPLLLSTT EWQVLPSCFT TLPALSTGLI HLHQNIQVQ YLYGVGSVVV SVVIKWEYVL LFLLLADAR VCACLWMLL IAQAATLEN LVVLNAASVA GAHGLLSFLV FFCAAWYIKG RLVPGAAYAL YGVWPLLLLL

[0106]

		LALPPRAYAM DREMAASCGG AVFVGLVLLT LSPYYKVFLA RLIWWLQYFI TRAEHLQVW VPPLNVRGGR DAIILLTCAV HPELIFDITK LLLAILGFLM VLQAGITRVP YFVRAQGLIH ACMLVRKVAG GHYVQMAFMK LGALTGTYYI NHLTPLRDWA HAGLRDLAVA VEPVVFSDME TKIITWGADT AACGDIILGL PVSARRGKEI LLGPADSLEG RGWRLAPIT AYSQQTRGLL GCIITSLTGR DKNQVEGEVQ VVSTATQSFL ATCVNGVCWT VYHGAGSKTL AGPKGPITQM YTNVDQDLVG WQAPPGARSL TPCTCGSSDL YLVTRHADVI PVRRRGDSRG SLLSPRPVSY LKGSSGGPLL CPSGHAVGIF RAAVCTRGA KAVDFVPVES METTMRSPVF TDNSSPPAVP QSFQVAHLHA PTGSGKSTKV PAAYAAQGYK VLVLNPSVAA TLGFAYMSK AHGIDPNIRT GVRTITGTAP VTYSTYKFL ADGGCSCGAY DIIICDECHS TDSTTILGIG TVLDQAETAG ARLVVLATAT PPGSVTVPH NIEEVALSNT GEIPFYGKAI PIEAIRGGRH LIFCHSKKCC DELAAKLSGL GINAVAYYRG LDVSVIPTIG DVVVVATDAL MTGYTGFDFS VIDCNTCVTQ TVDFSLDPTF TIETTTVPQD AVSRQRGRGR TGRGRRIYR FVTPGERPSG MFDSSVLCEC YDAGCAWYEL TPAETSVRLR AYLNTPLPLV CQDHLEFVES VFTGLTHIDA HFLSQTQAG DNFPYLVAYQ ATVCARAQAP PPSWDQMWK LIRLKPTLHG PTPLLYRGA VQNEVTLTHP ITKYIMACMS ADLEVVSTW VLVGGVLAAL AAYCLTGSV VIVGRIILSG RPAIVPDREL LYQEFDEMEE CATHLPYIEQ GMQLAEQFKQ KALGLLQAT KQAEAAAPVV ESKWRALET WAKHMWNFIS GIQYLAGLST LPGAIAIASL MAFASITSP LTTQSTLLFN ILGGWVAQQL APPSAASAFV GAGIAGAAGV SIGLKVLDV ILAGYGAGVA GALVAFKVM GEMPSTEDLV NLLPAILSPG ALVVGVCVAA ILRRHVGPGE GAVQWMNRLI AFASRGNHVS PTHYVPESDA AARVTQILSS LTITQLLKR LQWINECST PCSGSLRDV WDWICTVLT DFKTWLQSKLL PQLPGVPFFS CQRGYKGVWR GDGIMQTTCP CGAQITGHVK NGSMRIVGPK TCSNTHWGT PINAYTTGPC TSPAPNYSR ALWRVAEEY VEVTRVGFH YVTGMTDNV KCPCQVPAPE FFSEVDGVR HRYAPACRPL LREEVTFQVG LMQYLVGSQ PCEPEPDVAV LTSMLTDP SH ITAETAKRRL ARGSPPSLAS SSASQLSAPS LKATCTTHV SPDADLIEAN LLWRQEMGGN ITRVESNKV VVLDSFDPLR AEEDEREVS PAEILRKS K FPAAMPIWAR PDYNPPLLES WKDPDYVPPV VHGCPLPIK APIPPPRK RTVVLTSSV SSALAEATK TFGSSSSAV DSGTATALPD QASDDGDKGS DVESYSSMPP LEGERPGDDL SDGSWSTVSE EASEDVVCCS MSYWTGALI TPCAAEESKL PINALSNSLL RHHNMVYATT SRSAGLRQKK VTFDRLOVLD DHYRDVLKEM KAKASTVKAK LLSVEEACKL TPHSAKSKF GYAKDVRNL SSKAVNHIHS VWKDLLEDTV TPIDTTIMAK NEVFCVQPEK GGRKPARLIV FPDLGVRVCE KMALYDVVST LPQVVMGSSY GFQYSPGQV EFLVNTWKS KNPMPGFSYDT RCFDSTVTEN DIRVEESIYQ CCDLAPEARQ AIKSLTERLY IGGPLTNSKG QNCGYRRCRA SGVLTTCGN TLTCYLKASA ACRAAKLQDC TMLVNGDDL V VICESAGTQE DAASLRVFTE AMTRYSAPPG DPPQPEYDLE LITSCSSNVS VAHDASGKRV YLTRDPTTP LARAAWETAR HTPVNSWLG N IIMYAPTLWA RMILMTHFFS ILLAQEQLEK ALDCQIYGAC YSIEPLDLPO IIERLHGLSA FSLHSYSPGE INRVASCLRK LGVPLRVWR HRARSVRARL LSQGGRAATC GKYLFWNAVK TKLKLTPIPA ASQLDLSGWF VAGYSGGDIY HSLSRARPRW FMLCLLLSV GVGIYLLPNR (SEQ ID NO: 5)
BAB32872	2a (JFH-1)	MSTNPKPQRK TKRNTNRRPE DVKFPGGQI VGGVYLLPRR GPRLGVRTTR KTSERSQPRG RRQPIPKDRR STGKAWGKPG RPWPLYGNEG LGWAGWLLSP RGSRPSWGPT DPRHRSRNVG KVIDTLTCGF ADLMGYIPV GAPLSGAARA VAHGVRVLED GVNATGNLP GFPPSIFLLA LLSCITVPVS AAQVKNTSSS YMVTNDCSND SITWQLEAAV LHVPGCVPC RVGNTSRCWV PVSFNMAVRQ PGALTQGLRT HIDMVMSAT FCSALYVGD L CGGVMLAAQV FIVSPQYHWF VQECNCSIYP GTITGHRMAW DMMMNWSPTA TMILAYVMRV PEVIIDIVSG AHWGVMFGLA YFSMQGAWAK VIVILLAAAG VDAGTTTVGG AVARSTNVIA GVFSHGPPQN IQLINTNGSW HINRTALNCN DSLNTGFLAA LFYTNRFNNS GCPGRLSACR NIEAFRIGWG TLQYEDNVN PEDMRPYCWH YPPKPCGVVP ARSVCGEVYC FTSPVTVGT TDRRGVPTYT WGENETDVFL LNSTRPPQGS WFGCTWMNST GFTKTCGAPP CRTRADFNAS TDLLCPTDCF RKHPDATYIK

[0107]

		CGSGPWLTPK CLVHYPYRLW HYPCTVNFTE FKIRMYVGGV EHRLTAACNF TRGDRCDLED RDRSQLSPLL HSTTEWAILP CTYSDLPALS TGLLHLHQNI VDVQYMYGLS PAITKYVVRW EWVLLFLLL ADARVCACLW MLILLQOAEA ALEKLVVLAH ASAANCHGLL YFAIFFVAAW HIRGRVVPPLT TYCLTGLWPF CLLLMALPRQ AYAYDAPVHG QIGVGLLLI TLFTLTPGYK TLLGQCLWWL CYLLTLGEAM IQEWVPPMQV RGGRDGIAWA VTIFCPGVVF DITKWLALL GPAYLLRAAL THVPYFVRAH ALIRVCALVK QLAGGRYVQV ALLALGRWTF TYIYDHLTPM SDWAASGLRD LAVAVEPIIF SPMEKKVIVW GAETAACGDI LHGLPVSARL GQEILLGPA DGYTSKGWKL APITAYAQQT RGLLGAIVVS MTGRDRTEQA GEVQILSTVS QSFLETTISG VLWTVYHGAG NKTLAALRGP VTQMYSSAEG DLVWGPSPPG TKSLEPCCKG AVDLYLVTNRN ADVIPARRRG DKRGALLSPR PISTLKGSSG GPVLCPRGHV VGLFRAAVCS RGVAKSIDFI EVETLDVVTR SPTFSDNSTP PAVPQTYQVG YLHAPTGSBK STKVPVAYAA QGYKVLVLPN SVAATLGFGA YLSKAHGINP NIRTGVRTVM TGEAITYSTY GKFLADGGCA SGAYDIIICD ECHAVDATSI LGIGTVLDQA ETAGVRLTVL ATATPPGSVT TPHPDIEEVG LGREGEIPFY GRAIPLSCIK GGRHLIFCHS KKKCDLAAA LRMGLNAVA YRGLDVSII PAQGDVVVA TDALMTGYTG DFDSVIDCNV AVTQAVDFSL DPTFTITTQT VPQDAVRSQ RRGRTGRGQ GTYRYVSTGE RASGMFDSVV LCECYDAGAA WYDLTPAETT VRLRAYFNTP GLPVCQDHL EWEAVFTGLT HIDAHLFSQT KOAGENFAYL VAYQATVFCAR AKAPPPSWDA MWKCLARLKP TLGPTPLLY RLGPIITNEVT LTHPGTKYIA TCMQADLEVM TSTWVLAGGVA LAAVAAYCLA TGCVSIIIGRL HVNQRVVVAP DKEVLYEAFD EMEECASRAA LIEEGQRIAE MLKSKIQGLL QOASKQAQDI QPAMQASWPK VEQFWARHMW NFISGIQYLA GLSTLPGNPA VASMMAFSAA LITSPSTSTT ILLNIMGGWL ASQIAPPAGA TGFVVSGLVG AAVGSIIGLK VLVDILAGYG AGISGALVAF KIMSGEKPSM EDVINLLPGI LSPGALVVGV ICAAILRRHV GPEGAVQWM NRLIAFASRG NHVAPTHYVT ESDASQRTQ LLGSLTITSL LRRLHNWITE DCPIPCPSGW LRDVWDVWCT ILTDFKNWLT SKLFPKLPGL PFISCKQGYK GVVAGTGIMT TRCPCGANIS GNVRLGSMRI TGPKTCMNTW QGTFPINCYT EGQCAPKPPPT NYKTAIWRVA ASEYAEVTOH GSYSYVTGLT TDNLKIPCQL PSPEFFSWVD GVQIHRFAPT PKPFFRDEVS FCVGLNSYAV GSQLPCEPEP DADVLRSLMT DPPHITAETA ARRLARGSP SEASSVSQ L SAPSLRATCT THSNTYDVM V DANLLMEGG VAQTEPESRV PVLDLFEPMA EESDLEPSI PSECMLPRSG FPRALPAWAR PDYNPLIVES WRRPDYQPPT VAGCALPPP KAPTTPRRR RTVGLSESTI SEALQQLAIK TFGQPPSSGD AGSSTGAGAA ESGGPTSPGE PASETGSAS SMPPLEGEPG DPDLESQVE LQPPPQGGV APGSGSGSWS TCSEEDTTV CCSMSYSWTG ALITPCSP EEKLPINPLSN SLLRYHNKVY CTTSKSASQR AKKVTFRDRTQ VLDHAYDSVL KDIKLAASKV SARLLTLEEA QLTTPHSAR SKYGFKAKEV RSLSGRAVNH IKSVMKDLLE DPQTPIPTTI MAKNEVFCVD PAKGGKPAR LIVYDGLVR VCEKMALYDI TQKLPQAVMG ASYGFQYSPA QRVEYLLKAW AEKKDPMGFS YDTRCFDSTV TERDIRTEES IYQACSLPEE ARTAIHSLTE RLYVGGPMFN SKGQTCGYRR CRASGVLTS MGNTITCYVK ALAACKAAGI VAPTMLVCGD DLVVISSESG TEEDERNLRA FTEAMTRYSA PPGDPPRPEY DLELITSCSS NVSVALGPRG RRRYYLTRDP TTPLARAWE TVRHSPINSW LGNIIQYAPT IWVRMVLMT HFFSILMVQDT LDQNLNFEMY GSVYSVNPLD LPAIERLHG LDAFSMHTYS HHELTRVASA LRKLGAPPLR VWKSRARAVR ASLISRGGA AVCGRYLFNW AVKTKLKLTP LPEARLLDLS SWFTVAGGGG DIFHSVSRAR PRSLLFGLL LFGVGLFLL PAR (SEQ ID NO: 6)
BAB08107	2b (JPUT971017)	MSTNPKPQRK TKRNTNRRPQ DVKFPGGGQI VGGVYLLPRR GPRLGVRATR KTSERSQPRG RRQPIPKDRR STGKSWGKPG YPWPLYGNEG CGWAGWLLSP RGSRPTWGPS DPRHRSRNLG RVIDTITCGF ADLMGYIPVV GAPVGGVARA LAHGVRVLED GINYATRNL P GCSFSIFLLA LLSCVTPVPS SVEIRNISTS YYATNDCSNN SITWQLTNAV LHLPGCVPE NDNGTLRCWI QVTPNVAVKH RGALTHNLRA HVDVIVMAAT VCSALYVGDV CGAVMIVSQA LIVSPERHNF TQECNC SIYQ GHITGQRMW DMMLNWSPTL TMILAYAARV PELVLEIVFG GHGWVVFGLA YFSMQGAWAK VIAILLVAG VDATTYSTGA TVGRTVGSFA

[0108]

		GLFKLGAQQN VQLINTNGSW HINRTALNCN DSLHTGFMAA LFYANKFNSS GCPERLSSCR GLDDFRIGWG TLEYETNVTN VEDMRPYCWH YPPKPCGIVP AQSVCQPVYC FTPSPVVVGT TDRQGVPTYN WGDNETDVFL LNSTRPPRGA WFGCTWMNGT GFTKTCGAPP CRIRKDFNST LDLLCPTDCF RKHPDATYVK CGAGPWLTPR CLIDYPYRLW HYPCTVNFTI FKVRMYVGGV EHRFSAACNF TRGDRCRLED RDRGQQSPLL HSTTEWAVLP CSFSDLPLALS TGLLHLHQNI VDVOYLYGLS PAVTKYIVKW EWWVLLFLLL ADARICACLW MLIIILGQAEA ALEKLIILHS ASAASANGPL WFFIFFTAAW YLKGRVVPAA TYSVLGLWSF LLLVLALPQQ AYALDAAEQG ELGLVILMII SIFTLTPAYK ILLSRVSWWL SYMLVLAEAQ VQQWVPPLEA RGGRDGIIWV AVILHPLHVF EVTKWLLAIL GSAYLLKASL LRVFYFVRAH ALLRVCTLVR HLAGARYIQM LLITMGRWTFG TYIIDHLSPL STWAAQGLRD LAVAVEFVVF SPMEKKVIVW GAETVACGDI LHGLPVSARL GREVLLGPPAD GYTSKGWKLK APITAYTQQT RGLLGAIVVS LTGRDKNEQA GQVQVLSSVT QSFLGTSISG VLWTVYHGAG NKTLASPRGP VTQMYTSAEG DLVGWPSPPG TKSLDPCTCG AVDLYLVTRN ADVIPVRRKD DRRGALLSPR PLSTLKGSSG GPVLCPRGHA VGLFRAAVCA RGVAKSIDFI PVESLDIARR TSPFSNDSTP PAVPQTYQVG YLHAPTGS GK STKVPAAAYS QGYKVLVLNP SVAATLGFGA YMSKAHGINP NIRTGVRTVT TGDSITYSTY GKFLADGGCS AGAYDIIICD ECHSVDATTI LGIGTVLDQA ETAGVRLVVL ATATPPGTVT TPHANIEEVA LGHEGEIPFY GKAIPLASIK GGRHLIFCHS KKKCELAALAA LRMGMVNAVA YYRGLDVSVI PTQGDVVVVA TDALMTGYTG DFDSVIDCNV AVTQIVDFSL DPTFTITTQT VPQDAVSRSQ RRGRTGRGRL GTYRYVSSGE RPSGMFDSVV LCECYDAGAA WYELTPAETT VRLRAYFNTP GLPVCQDHLE FWEAVFTGLT HIDAHFLSQT KQGGDNFAYL TAYQATVCAR AKAPPPSNDV MWKCLTRLKP TLTGTPELLY RLGAVTNEIT LTHPVTKYIA TCMQADLEVM TSTWVLAGGV LAAVAAYCLA TGCISIIIGRI HLNDQVVVAP DKEILYEAFD EMEECASKAA LIEEGORMAE MLKSKILGLL QOATKQAOQDI QPAMQSSWPK IEQFWARHMW NFISGIQYLA GLSTLPGNPA VASMMAFSAA LTSPLPTSTT ILLNIMGGWL ASQIAPPAGA TGFVVSGLVG AAVGSIGL GK ILVDVLAGYG AGISGALVAF KIMSGEKPSV EDVVNLLPAI LSPGALVVG V ICAAILRRHV GQEGAVQWM NRIAFASRG NHVAPTHYVA ESDASLRVTQ VLSSLTITSL LRRHLHAWITE DCFVPCSGSW LRDIWEWVCS ILTDFKNWLS AKLLPKMPGL PFISCKQGYR GVVAGTGVMT TRCSCGANIS GHVRLGTMKI TGPKTCLNMW QGTFFPINCYT EGPCVPKPPP NYKTAIWRVA ASEYVEVTQH GSFYSYVTLGT SDNLKVPCCQV PABEFFSWVD GVQIHRFAPT PGPFRDEVT FTVGLNSLVV GSQLPDPEP DTEVLASMLT DPHITAETA ARRLARGSPP SQASSASQSL SAPSLKATCT THKTAYDCDM V DANLFMGGD VTRESDSKV IVLDSLDSMT EVEDDREPSV PSEYLTRRRK FPPALPPWAR PDYNPPIET WKRPDYEPT VLGCALPPTP QAPVPPRRR RARVLTQDNV EGVLEMA DK VLSPLQDTND SGHSTGADTG GDSVQQPSGE TAASDAGSLS SMPLEGEPEG DPDLFEFEPAR SAPPSEGECE VIDSDSKSWS TVSDQEDSVI CCSMSYSWTG ALITPCGPEE EKLPI SPLSN SLMRFHNKVY STTSRSASLR AKKVTFDRVQ VLD AHYDSVL QDVKRAASKV SARLLSVEEA CALTPPHSAK SRYGFGAKEV RLSLRGAVNH IRSVWEDLLE DQHTPIDTTA MAKNEVFCID PAKGGKPAR LIVYPDLGVR VCEKMALYDI AQKLPKAIMG PSYGFQYSPA ERVDFLLKAW GSKKDPMGFS YDTRCFDSTV TERDIRTEES IYQACSLPQE ARTVIHSITE RLYVGGPMTN SKGQSCGYRR CRASGVFTTS MGNMTMTCYIK ALAACKAAGI VDPTMLVCGD DLVVISSESQ NEEDERNLRA FTEAMTRISA PPGDLPRPEY DLELITSCSS NVSVALDSRG RRRYFLTRDP TTPITRAAWE TVRHSPVNSW LGNIIQYAPT IWVRMIMTH FFSILLAQDT LNQNLFEMY GAVYSVNPLD LPAI IERLHG LDAFSLHTYS PHELRSVAAT LRKLGAPPLR AWKSRARAVR ASLIIQGGRA ATCGRYLFNW AVKTKLKLTP LPEASRLDLS GWFTVGGGG DIFHSVSHAR PRLLLCLLLL LSVGVGIFLL PAR (SEQ ID NO: 7)
CAA72338	4 (ED43)	MSTNPKPQRK TKRNTNRRPM DVKFPGGGQI VGGVYLLPRR GPRLGVRATR KTSERSQPRG RRQPIPKARR PEGRSWAQPG YPWPLYGNEG CGWAGWLLSP RGSRPSWGFN DPRGRSRNLG KVIDTLTCGF ADLMGYIPLV GAPVGSVARA LAHVRALED GINYATGNLP GCSFSIFLLA LLSCLTVPAS AVNYRNVSGI

[0109]

		YHVNTDCPNS SIVYEADHHI MHLPGCVPCV REGNQSRCWV ALTPPTVAAPY
		IGAPLESLSRS HVDLMVGAAT VCSGLYIGDL CGGLFLVGQM FSFRPRRHWT
		TQDCNCSIYT GHITGHRMAW DMMNWSPTT TLVLAQVMRI PTTLVDLLSG
		GHWGVLVGVA YFSMQANWAK VILVLFVLFAG VDAETHVSGA AVGRSTAGLA
		NLFSSGSKQN LQLINSNGSW HINRTALNCN DSLNTGFLAS LFYTHKFNSS
		GCSERLACCK SLDSYGQGWG PLGVANISGS SDDRPHYCWHY APRPCGIVPA
		SSVCGPVYCF TSPVTVVGTG DHVGVPTVYTW GENETDVFLL NSTRPPHGAW
		FGCVWMNSTG FTKTCGAPPC EVNTNNGTWH CPTDCFRKHP ETTYAKCGSG
		PWITPRCLID YPYRLWHFPC TANFSVFNIR TFVGGIEHRM QAACNWTGRG
		VCGLEHRDRV ELSPLLLTTT AWQILPCSFT TLPALSTGLI HLHQNIIVDVQ
		YLYGVGSAVV SWALKWEYVW LAFLLLDAR VSAYLWMMFM VSQVEAALS
		LININAASAA GAQGFYAYL FICIVWHVKG RFPAAAAAYAA CGLWPCFLL
		LMLPERAYAY DQEVAGSLGG AIVVMLTILT LSPHYKLWLA RGLWVIQYFI
		ARTEAVLHVY IPSFNVRGPR DSVIVLAVLV CPDLVFDITK YLLAILGPHL
		ILQASLLRIP YFVRAQALVK ICSSLRGVYV GKVFQMVVVK SRGLTGTIYI
		DHLTPMSDWP PYGLRDLAVA LEPVVFPTME KKVIVWGADT AACGDIIRGL
		PVSARLGNIE LLGPADTETS KGWRLLEPIT AYAQOTRGLF STIVTSLTGR
		DTNENCGEVQ VLSTATQSF L GTAVNGVMWT VYHGAGAKTI SGPKGPNVQM
		YTNVDQDLVG WPAPPGVRS L APCTCGSADL YLVTRHADVI PVRRRGDTRG
		ALLSPRPISI LKGSSTGPLL CPMGHRAGIF RAAVCTRGVA KAVDFVPVES
		LETTMRSPVF TDNSTPPAVP QTYQVAHLHA PTGSGKSTKV PAAHAAQGYK
		VLVLNPSVAA TLGFGVYMSK AYGIDPNIRS GVRTITTGAP ITYSTYKFL
		ADGGCSGGAY DIIICDECYS TDSTIILGIG TVLDQAETAG VRLTVLATAT
		PPGSVTTPHS NIEEVALPTT GEIPFYGKAI PLELIKGGRH LIFCHSKKKK
		DELARQLTSL GLNAVAYYRG LDVSVIPTSG DVVVCATDAL MTGFTGDFDS
		VIDCNTSVIQ TVDFS LDPTF SIEITTVPOD AVSRSQRRGR TGRGRGLTYR
		YVTPGERPSG MFDTAELCEC YDAGCAWYEL TPAETTTTRK AYFDTPLGPV
		QDHLFEWES VFTGLTHIDG HFLSQTKQSG ENFPYLVAYQ ATVSAKVWLA
		PPSWDTMWKC LIRLKP TLHG PTPLLYRLGS VQNEVVLTHP ITKYIMACMS
		ADLEVVTSTW VLVGGVLAAL AAYCLSVGSV VIVGRVVLGS QPAVDPREV
		LYQQDFEMEE CSKHLP LVEH GLQLAEQFKQ KALGLLNFGA KQAQAEATPVI
		QSNFAKLEQF WANDMWNFIS GIQYLAGLST LPGNPAIASL MSFTAAVTSP
		LTTQQTLLFN ILGGWVASQI RSDASTAFV VSGLAGA AVG SVGLGKILVD
		ILPGYGAGVR GAVVTFKIMS GEMPSTEDLV NLLPAILSPG ALVVEVVC
		ILRRHVGPGE GAVQWMNRLI AFASRGNHVS PTHYVPESDA ARRVTILSS
		LTVTSLLRRL HKWINE DCST PCAESWLWEV WDWLVHVLSD FKTCLKAKFV
		PLMPGIPLLS WPRGYKGEWR GDGVMHTTCP CGADLAGHIK NGSMRITGPK
		TCSNTWHGTF PINAYTTGPG VPIPAPNYKF ALWRVSAEDY VEVRRVGDFFH
		YVTGVTQDNI KFPCQVPAPPE LFTEVDGIRI HRHAPKCKPL LRDEVFSVSG
		LNSFVVGSQL PCEPEPDVAV LTSMLTDP SH ITAESARRRL ARGSRPSLAS
		SSASQLSPRL LQATCTAPHD SPGTDLLEAN LLWGSTATRV ETDEKVIILD
		SFESCVAEQN DDREVSVAAE ILRPTKKFPP ALPIWARDPY NPPLTETWKQ
		QDYQAPT VH G CALPPAKQPP VPSPRKRRTV QLTVSVVSTA LAELAAKTFG
		QSEPSDDRDT DLTTPTETTD SGPIVVDDAS DDGSYSSMPP LEGEPGDPDL
		TSDSWSTVSG SEDVCCSMS YSWGALVTP CAEESKLPI SPLSNLLRH
		HNMVYATTR SAVTRQKKVT FDRLOVVDST YNEVLKEIKA RASRVKPRLL
		TTEEACDLTP PHSARSKFGY GKKDVRSHSR KAINHISSVW KDLLDNNTP
		IPTTIMAKNE VFAVNPAGG RKPARIIVYP DLGSRVCEKR ALHDVIKKA
		LAVMGAAYGF QYSPAQRVEF LLTAWKSKND PMGFSYDTRC FDSVTVEKDI
		RVEEEVYQCC DLEPEARKVI TALTDRLYVG GPMHNSKGD L CGYRRCRATG
		VYTTSFNGTL TCYLKATAAI RAAALRDCTM LVCGDDLVI AESDGV EEDN
		RALRAFTEAM TRYSAPPGDA PQPAYDLELI TSCSSNVSV A HDVTGKKVYY
		LTRDPETPLA RAVWETVRHT PVNSWLGNI I VYAPTIVVRM ILMTHFFSIL
		QSQEALEKAL DFDMYGVTYS ITPLDPAII QRLHGLSAFT LHGYS PHELN
		RVAGALRKL G VPPLRAWHR ARAVRAKLIA QGGRAKICGI YLFNWA VKTK
		LKLTPLPAAA KLDLSGWFTV GAGGGDIYHS MSHARPRYLL LCLLLITVGV
		GIFLLPAR (SEQ ID NO: 8)

[0110]

ABE98159	6a	MSTLKPQPK TKRNTNRRPM DVKFPGGQI VGGVYLLPRR GPRLGVRATR KTSERSQPRG RRQPIPKARQ PQGRHWAQFG YWPPLYGNEG CGWAGWLLSP RGRSRPHWGN DPRRRSRNLG KVIDTLTCGF ADLMGYIPVV GAPLGGVAAA LAHGVRAIED GINYATGNLP GCSFSIFLLA LLSCLTTPAS ALTYGNSSGL YHLTNDPCNS SIVLEADAMI LHLPGCLPCV RVDNQSTCWH AVSPTLAI PN ASTSATGFRR HVDLLAGAAV VCSSELYIGDL CGSLFLAGQL FTFQPRRHWT VQDCNCSIYT GHVTGHRMAW DMMMNWSPTT TLVLSLILRV PEICASVIFG GHWGILIAVA YFGMAGNWLK VLAVLFLFAG VEATTITIGRE MGSTTAGLVR FLAPGPKQNL QLINTNGSWH INRTALNCND SLQTFIASL FYAHTFNSSG CPERMAACRP LADFRQGWGQ ITYKDNISGP SDDRPHYCWHY APRPCSVPVA STVCGPVYCF TPSPVVVGT DRRGNPTYTW GENETDVFML GSLRPPPTGGW FGCTWMNSTG FTKTCGAPPC QIVPGDYNSS ANELLCPDTC FRKHPEATYQ RCGSGFWLTP RCLVHYPYRL WHYPTINFT VHKVRMFVGG IEHRFDACN WTRGERCELH DRDRIEMSPL LFSSTQLSIL PCSFSTMPAL STGLIHLHQ IVDVQYLYGV SSSVTSWVVK WEYIVLMFLV LADARICTCL WMLLLISNVE AAVERLVVLN AASAAGTAGW WWAVLFLCCV WYVKGRLVPA CTYALGMWP LLLLTLALPR RAYAMDNEQA ASLGAVGLLV ITIFTITPMY KLLTLCFIWW NQYFLARAEA MIHEWVPDLR VRGGRDSIIL LTCLLHPQLG FEVTKILLAI LAPLYILQYS LLKVPYFVRA HILLRACLLV RRLAGGKYVQ ACLLRLGAWT GTYYVDHLAP LSDWASDGLR DLAVAVEPVI FSPMEKKIIT WGADTAACGD ILSGLPV SAR LGNLVLLGPA DDMQRGGWKL LAPITAYAQQ TRGLVGTIVT SLTGRDKNEV EGEVQVSTA TQSFLATSIN GVMWTVYHGA GSKTLGPKG PVCQMYTNVD QDLVGVPSPP GARSLTPCTC GSNDLYLVTR EADVIPARR GDSRAALLSP RPISLTKGSS GGPIMCPSGH VVGLFRAAVC TRGVAKSLDF IPVENMETM RSPSFTDNST PPAVPQTYQV GYLHAPTGGG KSTRVPAAYA SQGYKVLVLN PSVAATLSFG SYMRQAYGVE PNVRTGVRTI TTGGAITYST YGKFLADGGC SGGAYDIIIC DECHSTDPTT VLGIGTVLDQ AETAGVRLTV SKKKCDELGA KLKSLGLNAV AFYRGVDVSV IPTSGDVVVC ATDALMTGYT GDFDSVIDCN VAVTQVDFD LDPTFSIETT TVPQDAVRSR QRRGRTGRGK PGVYRFVSQG ERPSGMFDTV VLCEAYDTGC AWYELTPSET TVRLRAYLNT PGLPVCQDHL EFWEGVFTGL THIDAHFLSQ TKQGGENFAY LVAYQATVCA RAKAPPPSWD TMWKCLIRLK PTLTGPTPLL YRLGAVQNEI ITTHPITKYI MTCMSADLEV ITSTWVIVGG VLAALAAAYCL SVGCVVICGR ITLTGKPVVV PDREVLYQQF DEMEECSRHI PYLEEGQOIA EQFRQKVLGL LQASAKQAE LKPAVHSAWP RVEEFWRKHM WNFVSGIQYL AGLSIWPGNP AVASLMSFTA SLTSPRLTSQ TLLLNILGGW IATQVAPPPA STAFVVVGLA GATVGSIGLG RVLVDVLAGY GAGVSGALVA FKIMSGECPD TEDMVNLLPA LLSPGALVVG VVCAAILRRH VPGAEGANQW MNRLIAFASR GNHVSPTHYV PETDASKNVT QILTSLTITS LLRRLHQWVT EDTATPCATS WLRDVWDWVC TVLSDFKVVW KAKLLPRLPG IPLFSCQTYG RGWVAGDVC HTTCTCGAVI AGHVKNKSMK ITGPKTCSNT WHGTFPINAT TTGPSTRPBA PNYQRALWRV SAEDYVEVRR LGDCHYVVGTA TAEGKPCPCQ VPAPPEFFTEV DGVRIHRYAP PCKPLLRDEV TFSVGLSTYA IGSQLPCEPE PDVTVVTSML TDPTHITAE AARRLKRKSP PSLASSASQ LSAPSLKATC TTSKDHDPME LIEANLLWRQ EMGGNITRVE SENKVVILDS FEPLTADYDE REISVSAECH RPPRHKFPFA LPIWARPDYN PPLIQAWQMP GYEPVVSVC AVAPPKPAPI PPPRRKRLVH LDESTVSHAL AQLADKVFVE SSDGPGPSSD SGLSITSPVP PTPTTPDDAC SEAESYSSMP PLEGEPGDDP LSSGSWSTVS DQDDVCCSM SYSWTGALIT PCAAEEELKLP INPLSNLIR HHNMVYSTS RSASLRQKKV TFDRVQVFDQ HYQEVLEIK LRASTVQAKL LSIEEACDLT PSHSARSYK YGAKDVRSHA SKAVDHRSV WEDLLEDSDT PIPTTIMAKN EVFCVDPKSG GRKPARLIVF PDLGVRCEK MALYDVTRKL PQAVMGPAYG FQYSPNQRVE YLLKMWRSKK VPMGFSYDTR CFDSTVTERD IRTENEIYQS CQLDPMARKA VSSLTERLYV GGPVNSKGGQ SCGYRRCRAS GVLPTSMGNT LTCYLKAAQA CRAANIKDYD MLVCGDDLIV ICESAGVQED TASLRAFTDA MTRYSAPPD APQPTYDLEL ITSCSSNVSV AHDGNGKRY YLTRDCTPL ARAAWETARH TPNVNSWLGNI IMFAPTIVWR
----------	----	---

[0111]

		MVLMTFFSI LQSQEQLKA LDFDIYGVY SVSPLDPAI IQRHLGMAAF SLHGYSPVEL NRVGACLRKL GAPPLRAWR RARAVRAKLI AOGGKAAICG KYLFWAVKT KLKLTPLASA SKLDLSDWFV AGYDGGDIYH SVSLARPLL LLGLLLTVG VGIFLLPAR (SEQ ID NO: 9)
--	--	---

[0112]

[0113]

예시적인 HCV 폴리단백질의 서열이 제공되며, E2 단백질의 에피토프 특징을 가지는 임의의 서열이 이용될 수 있음을 인지할 것이다. 일부 구체예에서, 본 발명에 따라 이용될 수 있는 HCV 폴리단백질은 서열 번호: 4-9로 구성된 군으로부터 선택된 서열에 약 60% 동일한, 약 70% 동일한, 약 80% 동일한, 약 85% 동일한, 약 90% 동일한, 약 91% 동일한, 약 92% 동일한, 약 93% 동일한, 약 94% 동일한, 약 95% 동일한, 약 96% 동일한, 약 97% 동일한, 약 98% 동일한, 약 99% 동일한, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 가진다. 일부 구체예에서, 이와 같은 HCV 폴리단백질은 하나 이상의 HCV E2 항체에 결합하는 능력을 유지하는 서열을 포함한다.

[0114]

일부 구체예에서, HCV 폴리단백질의 부분은 서열 번호: 4-9로 구성된 군으로부터 선택된 서열의 약 50개 연속 아미노산을 포함하는 아미노산 서열을 가진다. 일부 구체예에서, HCV 폴리단백질의 부분은 서열 번호: 4-9로 구성된 군으로부터 선택된 서열의 약 50개 연속 아미노산 스트레취에 약 60% 동일한, 약 70% 동일한, 약 80% 동일한, 약 85% 동일한, 약 90% 동일한, 약 91% 동일한, 약 92% 동일한, 약 93% 동일한, 약 94% 동일한, 약 95% 동일한, 약 96% 동일한, 약 97% 동일한, 약 98% 동일한, 약 99% 동일한, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 가

진다.

- [0115] 일부 구체예에서, HCV 폴리단백질의 부분은 서열 번호: 4-9로 구성된 군으로부터 선택된 서열의 약 42개 연속 아미노산을 포함하는 아미노산 서열을 가진다. 일부 구체예에서, HCV 폴리단백질의 부분은 서열 번호: 4-9로 구성된 군으로부터 선택된 서열의 약 42개 연속 아미노산 스트레취에 약 60% 동일한, 약 70% 동일한, 약 80% 동일한, 약 85% 동일한, 약 90% 동일한, 약 91% 동일한, 약 92% 동일한, 약 93% 동일한, 약 94% 동일한, 약 95% 동일한, 약 96% 동일한, 약 97% 동일한, 약 98% 동일한, 약 99% 동일한, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 가진다.
- [0116] 일부 구체예에서, HCV 폴리단백질의 부분은 서열 번호: 4-9로 구성된 군으로부터 선택된 서열의 약 45개, 약 40개, 약 35개, 약 30개, 약 25개, 약 20개, 약 15개, 약 10개, 또는 약 5개 연속 아미노산을 포함하는 아미노산 서열을 가진다. 일부 구체예에서, HCV 폴리단백질의 부분은 서열 번호: 4-9로 구성된 군으로부터 선택된 서열의 약 45개, 약 40개, 약 35개, 약 30개, 약 25개, 약 20개, 약 15개, 약 10개, 또는 약 5개 연속 아미노산 스트레취에 약 60% 동일한, 약 70% 동일한, 약 80% 동일한, 약 85% 동일한, 약 90% 동일한, 약 91% 동일한, 약 92% 동일한, 약 93% 동일한, 약 94% 동일한, 약 95% 동일한, 약 96% 동일한, 약 97% 동일한, 약 98% 동일한, 약 99% 동일한, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 가진다.
- [0117] 당업자는 표 1에 나열된 HCV 폴리단백질은 단지 HCV 폴리단백질의 대표적인 예라는 것을 인지할 것이다. HCV의 다양한 유전자형, 아류형, 및/또는 분리체가 존재하며, 지속적으로 확인된다. 당업자는 여기에서 설명된 조성물 및 방법을 적용하여 추가적인 유전자형, 아류형, 및/또는 분리체의 서열을 이용할 수 있다는 것을 인지할 것이다. 이와 같은 변이 또한 고려되며, 그리고 여기에서 설명된 방법 및 조성물 범위에 속한다.
- [0118] **미모토프(Mimotopes)**
- [0119] 광역의 의미에서 미모토프는 에피토프의 구조를 모방하는 마크로분자를 지칭한다. 일부 구체예에서, 미모토프는 이의 상응하는 에피토프에 의해 유도되는 것에 동일한 또는 유사한 항체 반응을 유도한다. 일부 구체예에서, 에피토프를 인지하는 항체는 이 에피토프를 모방하는 미모토프 역시 인지한다. 일부 구체예에서, 미모토프는 펩티드다. 일부 구체예에서, 미모토프는 소분자, 탄수화물, 지질, 또는 핵산이다.
- [0120] 본 발명에 따른 항체는 미모토프를 스크리닝하는데 이용될 수 있다. 미모토프는 파이지 디스플레이를 이용하여 준비될 수 있고, 펩티드는 해당 항체로 스크리닝된다(Livnah et al., 1996, *Science*, 273:464; and Prezzi et al., 1996, *J. Immunol.*, 156:4504; 이들 모두 참고문헌에 통합된다). 일부 구체예에서, 미모토프는 형태학적으로-보존된 HCV 에피토프의 펩티드 또는 년-펩티드 미모토프다. 형태학적으로 보존된 HCV 에피토프를 인지하는 항체는 입체적 에피토프 또는 미모토프의 펩티드 또는 년-펩티드 구조적 모방체를 기획하는데 있어서 주형으로 이용될 수 있다.
- [0121] 일부 구체예에서, 형태학적으로 특정화된 바이러스의 에피토프의 구조를 모방함으로써, 미모토프는 자연적 결합 파트너 자체에 결합함으로써, HCV 바이러스 입자들이 이의 자연적 결합 파트너 (가령, HCV 표적 수용체)에 결합하는 능력을 간접한다. 예를 들면, 단클론 항체와 중앙 괴사 인자 (TNF) 사이의 인터페이스를 한정짓는 해결된 결정 구조의 분석으로 TNF 수용체에 결합함으로써 TNF의 생물학적 기능을 길항하는 년-펩티드 모방체의 기획이 가능하였다(Takasaki et al., 1997, *Nat. Biotech.*, 15:1266-1270; 참고문헌에 통합된다). 펩티드 구조적 모방체를 기획하는데 이용하기 위하여 1차 아미노산 서열로부터 이론적으로 단백질 폴딩을 유추하기 위하여 이용된 컴퓨터 기술은 Teichmann et al. (1999, *Curr. Opin. Struct. Biol.*, 9:390-399; 참고문헌에 통합된다)에서 설명된다. 형태학적으로 보존된 에피토프의 구조적 모델링에 이용되는 컴퓨터 프로그램의 실제 용도는 Schwartz et al. (1999, *J. Mol. Biol.* 287:983; 참고문헌에 통합된다)에서 설명된다. 항체 에피토프의 펩티드 구조적 모방체를 만드는 대안법은 불연속 항체-결합 부위의 선형 표현이 되도록 고안된 합성 펩티드의 시스템적 교환(permutation)을 포함한다(Reineke et al., 1999, *Nat. Biotech.*, 17:271; 참고문헌에 통합된다).
- [0122] 펩티드 또는 다른 소 분자는 단클론 항체에 특이적 친화력을 가질 수 있으며, 형태학적으로 고유한 E2 단백질의 에피토프와 경쟁할 수 있다. 대안으로, 또는 추가적으로, 펩티드 또는 다른 소 분자는 단클론 항체에 특이적 친화력을 가질 수 있으며, E1과 복합된 E2의 에피토프와 경쟁할 수 있다. 이와 같은 펩티드는 백신, 진단 분석, 특이적 HCV 에피토프에 대한 항체의 생산을 위한 면역화, 유전자형 및/또는 아류형을 특징짓기 위한 경쟁적 분석, 그리고 이와 유사한 것에 이용될 수 있다. 예를 들면, Puntoriero et al. (1998, *EMBO J.*, 17:3521-3533; 참고문헌에 통합된다), Meola et al. (1995, *J. Immunol.*, 154:3162-3172; 참고문헌에 통합된다), and

Tafi et al., (1997, Biol. Chem., 378:495-502; 참고문헌에 통합된다) 참고.

[0123] 형태학적으로 보존된 HCV 에피토프의 구조적 모방체를 효과적으로 만들기 위한 또 다른 방법은 형태학적으로 의존적인 HCV 항체에 대한 항-이디오타입 항체를 만드는 것이다. 항-이디오타입은 고유 바이러스와 이의 표적 수용체의 결합을 효과적으로 차단할 것이다(*Chanh et al., 1987, Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 84:3891-3895; Kopecky et al., 1999, Intervirology, 42:9-16; and Xue et al., 1993, J. Gen. Virol., 74:73-79; 이들 모두 참고문헌에 통합된다*). HCV 항체 HC-1, HC-3, HC-11, 및 CBH-23 중 임의의 하나의 입체적 결합 부위를 인지하는 항-이디오타입 항체는 표적 세포 단백질에 E2 결합을 간섭하거나, 또는 표적 세포에 비리온 부착을 간섭함으로써 바이러스 감염성을 예방할 수 있다.

[0124] 일부 구체예에서, 에피토프 모방체 (가령, 미모토프)는 약물 개발을 위한 도구로 이용될 수 있다. 예를 들면, E2 단백질이 HCV 항체에 결합하는 것을 모방하는 에피토프 모방체(가령, 펩티드, 소 분자, 등)를 이용하여 에피토프에 결합하는 다른 물질(가령, 펩티드, 단백질, 항체, 소 분자, 등)을 스크리닝할 수 있다. 일부 구체예에서, 이와 같이 확인된 물질은 HCV E2 항체 보다 E2 에피토프에 대해 유사한 결합 특이성 및/또는 친화력을 나타낼 수 있다. 일부 구체예에서, 이와 같이 확인된 물질은 HCV E2 항체 보다 E2 에피토프에 대해 증가된 결합 특이성 및/또는 친화력을 나타낼 수 있다.

[0125] **용도**

[0126] 일부 구체예에서, 본 발명에 따른 HCV 항체는 예방적, 치료요법적, 및/또는 진단 목적으로 이용될 수 있다. 일부 구체예에서, 본 발명에 따른 HCV 항체는 HCV 감염, HCV-매개된 간 질환 및/또는 임의의 기타 HCV-연합된 상태(의 하나 이상의 증상 또는 특징)를 치료(가령, 완화, 개선, 경감, 개시의 지연, 진행의 억제, 이의 중증도 감소 및/또는 발병의 감소)하는데 이용될 수 있다. 일부 구체예에서, HCV 항체는 다양한 치료요법적 목적, 가령, 면역요법에 이용될 수 있다. 일부 구체예에서, HCV 항체는 다양한 예방적 목적 및/또는 수동 면역화 가령, HCV에 대한 백신 개발에 이용될 수 있다. 일부 구체예에서, HCV 항체는 다양한 진단 목적, 가령, HCV 비리온 및/또는 E2 단백질의 캡처 및/또는 확인에 이용될 수 있다. 이와 같은 HCV 항체의 용도 및 기타 용도는 하기에 더욱 상세하게 설명된다. 일부 구체예에서, 치료요법적, 진단, 및/또는 예방적 용도는 여기에서 설명된 것과 같이 HCV 항체 및/또는 이의 약학 조성물을 이용한다. 항체는 여기에서 설명된 것과 같이, 입체적 에피토프를 향할 수 있다는 것을 인지할 것이다.

[0127] 일부 구체예에서, HCV E2 항체는 한 개의 HCV 유전자형, 두개의 HCV 유전자형, 세 개 HCV 유전자형, 네 개 HCV 유전자형, 다섯 개 HCV 유전자형, 여섯 개 HCV 유전자형, 일곱 개 HCV 유전자형, 여덟 개 HCV 유전자형, 아홉 개 HCV 유전자형, 열 개 HCV 유전자형, 열한 개 HCV 유전자형, 또는 열한개 이상의 HCV 유전자형 그리고 미래에 발견될 새로운 HCV 유전자형의 E2 에피토프를 향할 것이다.

[0128] 일부 구체예에서, HCV E2 항체는 한 개의 HCV 아류형, 두 개의 HCV 아류형, 세 개의 HCV 아류형, 네 개의 HCV 아류형, 다섯 개의 HCV 아류형, 여섯 개의 HCV 아류형, 일곱 개의 HCV 아류형, 여덟 개의 HCV 아류형, 아홉 개의 HCV 아류형, 열 개의 HCV 아류형, 열한 개의 HCV 아류형, 12개의 HCV 아류형, 13개의 HCV 아류형, 14개의 HCV 아류형, 15개의 HCV 아류형, 16개의 HCV 아류형, 17개의 HCV 아류형, 18개의 HCV 아류형, 19개의 HCV 아류형, 20개의 HCV 아류형, 21개의 HCV 아류형, 또는 21개 이상의 HCV 아류형, 그리고 미래에 발견될 새로운 HCV 유전자형의 E2 에피토프를 향할 것이다.

[0129] 일부 구체예에서, HCV E2 항체는 1개의 HCV 균주, 2개의 HCV 균주, 3개의 HCV 균주, 4개의 HCV 균주, 5개의 HCV 균주, 6개의 HCV 균주, 7개의 HCV 균주, 8개의 HCV 균주, 9개의 HCV 균주, 10개의 HCV 균주, 20개의 HCV 균주, 30개의 HCV 균주, 40개의 HCV 균주, 50개의 HCV 균주, 75개의 HCV 균주, 100개의 HCV 균주, 또는 100개 이상의 HCV 균주, 그리고 미래에 발견될 새로운 HCV 유전자형의 E2 에피토프를 향할 것이다.

[0130] **치료요법적 용도**

[0131] 본 발명은 HCV 감염을 앓고 있는, 감염에 걸리기 쉬운 및/또는 이 증상을 나타내는 환자를 치료하는 시스템 및 방법을 제공한다. 일부 구체예에서, 본 발명은 HCV 감염을 앓고 있는, 감염에 걸리기 쉬운 및/또는 이 증상을 나타내는 환자를 계층화하는데 유용한 시스템 및 방법을 제공한다.

[0132] 일부 구체예에서, 치료요법적 용도는 본 발명에 따른 최소한 하나의 HCV 항체의 치료요법적 유효량을 이를 필요

로 하는 개체에게 투여하는 것을 포함한다. 일부 구체예에서, HCV 항체를 개체에 투여하면, HCV 감염의 하나 이상의 신호, 증상 및/또는 특징을 완화, 개선, 경감, 개시의 지연, 진행의 억제, 중증도를 감소 및/또는 발병을 감소시킬 수 있다.

- [0133] 일부 구체예에서, HCV 항체를 투여하면, 개체에서 순환되는 HCV 비리온(가령, 새로운 세포를 감염시킬 수 있는 HCV 비리온)의 수준이 감소된다. 일부 구체예에서, HCV 항체를 투여하면, 개체에서 순환되는 HCV 비리온 수준이 치료되지 않은 기준과 비교하여, 약 10%, 약 20%, 약 30%, 약 40%, 약 50%, 약 60%, 약 70%, 약 80%, 약 90%, 약 95%, 약 99%, 또는 약 100% 감소된다.
- [0134] 일부 구체예에서, HCV 항체는 개체에서 바이러스 로드를 시험관에서 감소시키는데 이용될 수 있다. 신체 구성요소, 특히 HCV로 감염된 환자의 신체 구성요소에서 바이러스 로드를 감소시키기 위하여, 환자의 혈액을 HCV 비리온을 캡처하기 위한 표면 또는 고형 서포트에 결합된 항체를 포함하는 장치를 통과시킨다(예를 들면, U.S. 특허 5,698,390 및 4,692,411; 이들 모두 참고문헌에 통합된다). 문헌에서 볼 수 있는 다양한 다른 장치는 해당 항체와 함께 이용하여 유사한 결과를 얻을 수 있다. 신체 구성 요소는 생물학적 유체(가령, 혈액, 혈청, 등), 조직, 간과 같은 기관 및 이와 유사한 것이 될 수 있다.
- [0135] 일부 구체예에서, “개체에서 순환하는 HCV 비리온 수준”은 개체에서 순환되는 비리온의 절대적인 수를 말한다. 일부 구체예에서, “개체에서 순환하는 HCV 비리온 수준”은 개체의 혈액의 단위 용적(가령, ml, l 등)당 비리온의 수를 말한다. 일부 구체예에서, “개체에서 순환하는 HCV 비리온 수준”은 바이러스의 로드 및/또는 HCV RNA 수준을 말한다.
- [0136] 일부 구체예에서, HCV 항체를 투여하면, 감염된 세포의 감염을 차단시켜, 개체에서 HCV 비리온의 복제를 억제시킨다. 일부 구체예에서, HCV 항체를 투여하면, 치료안된 기준과 비교하였을 때, 개체에서 HCV 비리온의 복제를 약 2배, 약 3배, 약 4배, 약 5배, 약 10배, 약 50배, 약 100배, 약 500배, 약 1000배, 약 10,000배, 또는 약 10,000배 이상으로 억제시킨다.
- [0137] 일부 구체예에서, HCV 항체를 투여하면 개체에서 HCV 비리온을 죽이거나 및/또는 비활성화시킨다. 일부 구체예에서, HCV 항체를 투여하면 치료안된 기준과 비교하여, 개체에서 HCV 비리온을 약 10%, 약 20%, 약 30%, 약 40%, 약 50%, 약 60%, 약 70%, 약 80%, 약 90%, 약 95%, 약 99%, 또는 약 100% 죽이거나 및/또는 비활성화시킨다.
- [0138] 일부 구체예에서, HCV 항체를 투여하면 세포 표적 단백질에 바이러스가 결합되는 것을 방해한다. 일부 구체예에서, HCV 항체를 투여하면 치료안된 기준과 비교하여, 최소한 하나의 세포 표적 단백질에 바이러스가 결합되는 것을 약 2배, 약 3배, 약 4배, 약 5배, 약 10배, 약 50배, 약 100배, 약 500배, 약 1000배, 약 10,000배, 또는 약 10,000배 이상 방해한다. 예를 든다면, HCV 항체를 투여하면, HCV 바이러스가 CD81에 결합하는 것을 방해할 수 있다. 일부 구체예에서, HCV 항체를 투여하면 치료안된 기준과 비교하였을 때, HCV가 CD81에 결합하는 것을 약 2배, 약 3배, 약 4배, 약 5배, 약 10배, 약 50배, 약 100배, 약 500배, 약 1000배, 약 10,000배, 또는 약 10,000배 이상 방해한다.
- [0139] 일부 구체예에서, HCV 항체의 투여는 표적 세포와 바이러스-매개된 융합을 방해한다. 일부 구체예에서, HCV 항체의 투여는 치료안된 기준과 비교하였을 때, 표적 세포와 바이러스-매개된 융합을 약 2배, 약 3배, 약 4배, 약 5배, 약 10배, 약 50배, 약 100배, 약 500배, 약 1000배, 약 10,000배, 또는 약 10,000배 이상 방해한다.
- [0140] 일부 구체예에서, HCV 항체의 투여는 바이러스 유입과 관련된 하나 이상의 단백질의 입체적 변화를 방해한다. 일부 구체예에서, HCV 항체의 투여는 치료안된 기준과 비교하였을 때, 바이러스 유입과 관련된 하나 이상의 단백질의 입체적 변화를 약 2배, 약 3배, 약 4배, 약 5배, 약 10배, 약 50배, 약 100배, 약 500배, 약 1000배, 약 10,000배, 또는 약 10,000배 이상으로 방해한다.
- [0141] 일부 구체예에서, HCV 항체의 투여는 항체-매개된 보체 활성화를 촉진시킨다. 일부 구체예에서, HCV 항체의 투여는 치료안된 기준과 비교하였을 때, 항체-매개된 보체 활성화를 약 2배, 약 3배, 약 4배, 약 5배, 약 10배, 약 50배, 약 100배, 약 500배, 약 1000배, 약 10,000배, 또는 약 10,000배 이상 촉진시킨다.
- [0142] 일부 구체예에서, HCV 항체의 투여는 비리온의 항체-매개된 응집을 촉진시켜, 식작용 세포에 의한 제거로 이어진다. 일부 구체예에서, HCV 항체의 투여는 치료안된 기준과 비교하였을 때, 비리온의 항체-매개된 응집을 약 2배, 약 3배, 약 4배, 약 5배, 약 10배, 약 50배, 약 100배, 약 500배, 약 1000배, 약 10,000배, 또는 약 10,000배 이상으로 촉진시킨다.

[0143] 침팬지는 HCV 백신의 스크리닝 및 치료요법을 위한 용인된 동물 모델이다(예를 들면, *Farci et al., 1996, Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 93:15394-15399; Farci et al., 1994, Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 91:7792-7796; Farci et al., 1992, Science, 258:135-140; Krawczynski et al., 1996, J. Infect. Dis., 173:822-828; and Bassett et al., 1998, J. Virol., 72:2589-2599; 이들 모두 참고문헌에 통합된다). 정량적인 PCR 방법을 이용하여 HCV RNA의 존재 및 역가를 모니터링함으로써 항체 효과를 결정할 수 있다. 테스트 동물 또는 개체에서 바이러스 로드의 성공적인 감소 또는 감염 예방은 혈청에서 HCV RNA의 감소 또는 제거를 반영한다. 알려진 아미노전이효소 또는 다른 간 효소의 측정과 같은 효소 테스트 및/또는 연속적인 펀치 바늘 간 생검을 이용하여 효과를 테스트하며, 이때 어느 쪽이든 등급의 개선은 바이러스에 의해 유도된 간 손상이 감소되었음을 나타낸다.*

[0144] 일부 구체예에서, HCV 항체의 투여로 세포 감염성에 필수적인 바이러스 외피 단백질에서 입체적 변화를 간섭하게 된다. 예를 들면, 투여된 HCV 항체는 바이러스의 외피 단백질에 결합하여, 외피 단백질이 세포 표면을 인지하고 및/또는 여기에서(가령, 세포 표면에 있는 단백질, 가령, CD81; 지질; 탄수화물; 수용체; 등과) 상호작용하는 능력을 공간적으로 차단할 수 있다. 일부 구체예에서, 투여된 HCV 항체는 이와 같은 바이러스의 외피 단백질에 결합하여, 외피 단백질의 3차원적 형태를 변화시켜, 외피 단백질이 세포 표면을 인지하거나 및/또는 여기에서(가령, 세포 표면에 있는 단백질, 가령, CD81; 지질; 탄수화물; 수용체; 등과) 상호작용하지 못하게 할 수 있다.

[0145] 일부 구체예에서, 치료 섭생은 치료되는 개체에 특징적으로 맞추어진다. 간략하게 설명하면, 치료될 환자가 제시되면, 환자로부터 혈청 시료를 취한다. 그 다음 혈청 시료를 분석하여 특정 항체, 예를 들면, HCV 단백질의 특정 구역 또는 에피토프에 결합하는 중화 항체의 존재를 분석한다. 여기에서 설명된 방법을 포함하나 이에 한정되지 않는 당분야에 공지된 임의의 방법을 이용하여 탐지될 항체의 존재를 결정한다(가령, ELISA, 경쟁 분석, 바이러스 중화-결합 분석, 등). 환자 혈청에 있는 항체 수준에 근거하여, 환자에 맞는 치료를 기획할 수 있다. 예를 들면, 비리온이 이들의 자연적 수용체에 결합하는 것을 간섭하는 것으로 알려진 항체를 보유하지 않는 환자들은 이 타입의 단클론 항체로 치료될 수 있다. 일부 구체예에서, 환자의 혈청 1/100 또는 그 이상의 희석에서, 1/200 또는 그 이상의 희석에서, 1/300 또는 그 이상의 희석에서, 1/400 또는 그 이상의 희석에서, 1/500 또는 그 이상의 희석에서, 1/600 또는 그 이상의 희석에서, 1/700 또는 그 이상의 희석에서, 1/800 또는 그 이상의 희석에서, 1/900 또는 그 이상의 희석에서, 또는 1/1000 또는 그 이상의 희석에서 E2 결합이 50% 또는 그 이상으로 저해되면, 환자의 혈청(가령, HCV 감염, HCV-매개된 간 질환, 및/또는 임의의 다른 HCV-연관된 상태를 앓고 있는, 이에 걸리기 쉬운 또는 이것에 의해 감염된 및/또는 이의 증상을 나타내는 환자)은 경쟁 항체 존재에 대해 포지티브로 간주된다.

[0146] 일부 구체예에서, 상기에서 설명된 방법들은 치료될 특정 개체에 맞게 기획되기 때문에, 예를 들면, 필요하지만 환자에 의해 자연적으로 생산되지 않는 항체만을 투여하기 때문에 유익할 수 있다. 이와 같은 방법은 필요하지 않는 치료요법을 제공함으로써 인한 부작용 위험을 회피하거나 감소시킨다. 이와 같은 방법들은 이와 같은 치료로부터 이익을 얻지 못하는 환자의 치료 비용을 줄인다. 예를 들면, E2의 특정 에피토프에 대한 항체를 치료요법적 수준으로 이미 만들어내는 환자의 경우, 외생적으로 에피토프에 대항하는 인간 단클론 항체를 투여할 필요는 없을 것이다.

[0147] HCV 항체를 이용한 개체의 치료는 단독으로 제공될 수 있고, 또 다른 치료 과정 동안에 제공되거나 및/또는 다른 항바이러스 화합물의 치료를 중단한 후에 제공될 수 있다. 대안으로, 또는 추가적으로, HCV 항체는 아팍토시스 또는 다른 세포 사멸 프로세스를 유도할 수 있는 공지된 독소 또는 단백질에 물리적으로 쿨주게이트(가령, 공유적 또는 비-공유적)될 수 있다. 변형된 HCV 항체는 HCV 감염, HCV 매개된 간 질환 및/또는 임의의 다른 HCV-연관된 상태를 앓고 있는, 이에 걸리기 쉬운, 또는 이에 감염된 및/또는 이의 증상을 나타내는 개체에 HCV 감염된 세포를 죽이는 수단으로써 투여될 수 있다.

[0148] **예방적 용도**

[0149] 일부 구체예에서, 본 발명에 따른 HCV 항체는 예방적 용도에 이용될 수 있다. 일부 구체예에서, 예방적 용도는 HCV 감염, HCV 매개된 간 질환 및/또는 임의의 다른 HCV-연관된 상태를 앓고 있는, 이에 걸리기 쉬운, 또는 이에 감염된 및/또는 이의 증상을 나타내는 개체에서 HCV 감염, HCV-매개된 간 질환 및/또는 임의의 다른 HCV-연관된 상태를 예방, 진행의 억제 및/또는 개시를 지연시키는 시스템 및 방법을 포함한다. 일부 구체예에서, 예방적 용도는 만성 간 질환의 예방, 진행의 억제 및/또는 개시를 지연시키는 시스템 및 방법을 포함한다. 일부 구

체에에서, 예방적 용도는 간 질환의 예방, 진행의 억제 및/또는 개시를 지연시키는 시스템 및 방법을 포함한다. 일부 구체예에서, 예방적 용도는 간 기능부전의 예방, 진행의 억제 및/또는 개시를 지연시키는 시스템 및 방법을 포함한다.

- [0150] 일부 구체예에서, HCV에 대한 백신을 수동 면역화(가령, 개체에 항체를 투여하는 면역화)에 이용될 수 있다. 일부 구체예에서, 수동 면역화를 위한 HCV에 대한 백신은 여기에서 설명되는 임의의 조성물과 같은 HCV 항체를 포함할 수 있다. 일부 구체예에서, 수동 면역화는 임신동안 엄마로부터 태아에게 항체가 전달될 때 발생된다. 일부 구체예에서, 항체는 개체에게 직접 투여된다(가령, 주사, 경구를 통하여, 등).
- [0151] 일부 구체예에서, 예방적 용도는 백신을 투여하는 것을 포함할 수 있다. 일부 구체예에서, 백신주사(vaccination)는 해당 환자에 맞게 만들어진다. 예를 들면, 상기에서 설명된 것과 같이, 환자로부터 혈청을 수거하여, HCV 항체의 존재에 대해 테스트할 수 있다. 일부 구체예에서, 환자에서 부족한 것으로 밝혀진 항체 생산을 유도하도록 백신을 기획할 수 있다. 일부 구체예에서, 백신 조성물은 고유 형태를 가지는 항원을 포함하며, 보호성 반응을 증개하고(가령, 보체 활성화, 바이러스 중화, 등), 및/또는 강력한 항체 반응을 유도할 수 있는 것이 바람직하다. 일부 구체예에서, 백신은 개체에서 자연적으로 생성되지 않은 항체에 대한 에피토프 또는 이의 미모토프를 포함한다. 예를 들면, HCV 항체(가령, 다중 유전자형 및/또는 아류형을 인지하는 HCV 항체)로부터 분리된 합성 펩티드 미모토프는 미모토프의 원래 분리에 이용된 항체와 유사한 강력한 면역 반응을 유도할 수 있는 능력을 가진다. 이와 같은 백신의 투여에 의해 환자의 면역 시스템은 투여된 에피토프를 향하는 항체 세트의 생산 개시를 유도받는다. 본 발명에 따른 미모토프(또는 에피토프)는 단독으로 이용되거나 재조합 단백질, 비활성화된 HCV 바이러스, 죽은 HCV 바이러스와 복합하여 이용되거나, 및/또는 몇 가지 상이한 미모토프의 콕테일로 이용될 수 있다는 것을 인지할 것이다.
- [0152] 일부 구체예에서, HCV에 대한 백신은 활성 면역화(가령, 미생물, 단백질, 펩티드, 에피토프, 미모토프, 등을 개체에 투여하는 면역화)에 이용될 수 있다. 일부 구체예에서, HCV에 대한 백신은 HCV E2 단백질의 적어도 하나의 입체적 에피토프가 이용될 수 있는 임의의 물질을 포함할 수 있다. 예를 들면, 이 물질은 펩티드, 단백질, 당펩티드, 당단백질, 소 분자, 미모토프, 유기 화합물, 지질, 사카라이드, 유기금속 화합물, 무기 화합물, 등이 될 수 있다. 일부 구체예에서, 백신에 제시되는 에피토프는 감염을 예방하는 것으로 알려진 항체가 대항하는 물질을 포함한다. 일부 구체예에서, 본 발명에 따른 백신에 제공되는 에피토프는 바이러스의 상이한 유전자형 및/또는 아류형 또는 바이러스의 상이한 균주간에 보존된 것을 포함한다. 일부 구체예에서, HCV의 E2의 형태학적으로 한정된 에피토프를 포함하는 펩티드 또는 단백질을 백신 제조에 이용하여 HCV에 의한 감염의 예방, 감염 개시의 지연, 감염의 치료, 증상의 경감 및/또는 중증도를 감소시킨다. 일부 구체예에서, HCV E2 에피토프는 선형 에피토프가 될 수 있다. 일부 구체예에서, E2 에피토프는 선형 및 입체적 에피토프의 혼합물이 될 수 있다. 일부 구체예에서, E2 에피토프는 입체적 에피토프가 될 수 있다. 일부 구체예에서, 펩티드 에피토프는 길이가 100개 미만의 아미노산이다. 특정 구체예에서, 펩티드 에피토프는 길이가 50개 미만의, 40개 미만의, 30개 미만의, 20개 미만의, 또는 10개 미만의 아미노산이다. 일부 구체예에서, 백신 조제에 이용되는 펩티드는 HCV의 E2 단백질의 펩티드 단편이다. 일반적으로, 고유 E2 단백질의 3차원적 폴드와 유사한 방식으로 폴드되어, 입체적 에피토프의 3차원적 구조를 보존하는 펩티드를 이용한다.
- [0153] 일부 구체예에서, 백신은 항체가 원하는 하나 이상의 입체적 에피토프를 가지는 쇠로 연결된 펩티드를 제공하는 단백질을 포함할 수 있다. 각각 펩티드가 상이한 에피토프를 포함하는 멀티머를 구성하는 몇 가지 상이한 펩티드가 이용되거나, 또는 동일한 펩티드가 멀티머에서 1회 이상 이용될 수 있다.
- [0154] 본 발명에 따른 펩티드는 Merrifield 고품 상 화학을 포함하는 당분야에 공지된 임의의 방법을 이용하여 합성될 수 있다(가령, *Atherton and Sheppard, 1989, Solid Phase Peptide Synthesis: A Practical Approach, ILL Press, Oxford, England; Stewart and Young, 1984, Solid Phase Peptide Synthesis, 2nd ed., Pierce Chemical Company, Rockford; Merrifield, 1963, J. Am. Chem. Soc., 85:2149-2154*; 이들 모두 참고문헌에 통합된다). 대안으로, 또는 추가적으로, 펩티드는 E2 단백질의 절단 및 절단된 산물의 선택적인 정제에 의해 수득될 수 있다. 일부 구체예에서, 펩티드는 재조합적으로 만들어지고, 그리고 대장균, 효모(가령, *S. cerevisiae*), 곤충 세포(가령, Sf9 세포), 또는 포유류 세포(가령, CHO 세포)에서 당분야에 공지된 임의의 기술(*Sambrook et al.; Miller & Calos, eds., Gene Transfer Vector for Mammalian Cells, 1987; Ausubel et al., eds., Current Protocols in Molecular Biology, 1987*; 각각은 참고문헌에 통합된다)을 이용하여 생산할 수 있다. 일부 구체예에서, 펩티드의 면역원성, 용액에서 용해도를 증가시키기 위하여 또는 정확하게 폴드되는 성향을 증가시키기 위하여 펩티드가 변형될 수 있다. 예를 들면, 펩티드는 당화되거나, 파르네실화

(farnesylated), 하이드록실화, 환원 또는 산화 등이 될 수 있다.

[0155] 특정 구체예에서, 펩티드는 HCV의 E2 단백질 아류형 1a, 1b, 2a, 2b, 3a, 4, 5, 및/또는 6의 아미노산 523 내지 540의 아미노산이거나 이를 포함한다. HCV의 다른 아류형의 E2 단백질의 유사한, 동질의, 비슷한 및/또는 동일한 아미노산이 이용될 수 있다는 것을 당업자는 인지할 것이다. HCV의 상이한 균주 또는 아류형으로부터 E2 단백질의 다수 서열을 배열하여 유사 서열을 결정할 수 있다. 원하는 에피토프를 보존하는 상동, 유사 및/또는 동일한 서열이 백신 제조에 또한 이용될 수 있다.

[0156] 일부 구체예에서, 서열은 HCV 1a, 1b, 2a, 2b, 3a, 4, 5, 및/또는 6 E2 단백질의 고유 서열의 약 50% 상동성, 약 60% 상동성, 약 70% 상동성, 약 80% 상동성, 약 90% 상동성, 약 95% 상동성, 약 99% 상동성, 또는 약 99% 이상의 상동성을 가진다. 일부 구체예에서, 서열은 HCV 1a, 1b, 2a, 2b, 3a, 4, 5, 및/또는 6 E2 단백질의 고유 서열에 약 50% 유사성, 약 60% 유사성, 약 70% 유사성, 약 80% 유사성, 약 90% 유사성, 약 95% 유사성, 약 99% 유사성, 또는 약 99% 이상의 유사성을 가진다. 일부 구체예에서, 서열은 HCV 1a, 1b, 2a, 2b, 3a, 4, 5, 및/또는 6 E2 단백질의 고유 서열에 약 50% 동일한, 약 60% 동일한, 약 70% 동일한, 약 80% 동일한, 약 90% 동일한, 약 95% 동일한, 약 99% 동일한, 또는 약 99% 이상 동일하다.

[0157] 일부 구체예에서, 서열은 HCV 1a, 1b, 2a, 2b, 3a, 4, 5, 및/또는 6 E2 단백질의 고유 서열에 최소한 50% 상동성, 최소한 60% 상동성, 최소한 70% 상동성, 최소한 80% 상동성, 최소한 90% 상동성, 최소한 95% 상동성, 최소한 99% 상동성, 또는 실질적으로 100% 상동성이다. 일부 구체예에서, 서열은 HCV 1a, 1b, 2a, 2b, 3a, 4, 5, 및/또는 6 E2 단백질의 고유 서열에 최소한 50% 유사, 최소한 60% 유사, 최소한 70% 유사, 최소한 80% 유사, 최소한 90% 유사, 최소한 95% 유사, 최소한 99% 유사, 또는 실질적으로 100% 유사하다. 일부 구체예에서, 서열은 HCV 1a, 1b, 2a, 2b, 3a, 4, 5, 및/또는 6 E2 단백질의 고유 서열에 최소한 50% 동일한, 최소한 60% 동일한, 최소한 70% 동일한, 최소한 80% 동일한, 최소한 90% 동일한, 최소한 95% 동일한, 최소한 99% 동일한, 또는 실질적으로 100% 동일하다.

[0158] 일부 구체예에서, 백신 조성물은 최소한 하나의 어쥬번트를 포함한다. 임의의 어쥬번트는 본 발명에 따라 이용될 수 있다. 다수의 어쥬번트가 공지되어 있다; 많은 이와 같은 화합물의 유용한 내용은 National Institutes of Health에 의해 제공되며, 인터넷 상에서 찾아볼 수 있다 (www.niaid.nih.gov/daids/vaccine/pdf/compendium.pdf). Allison (1998, *Dev. Biol. Stand.*, 92:3-11; 참고문헌에 통합된다), Unkeless et al. (1998, *Annu. Rev. Immunol.*, 6:251-281; 참고문헌에 통합된다), and Phillips et al. (1992, *백신*, 10:151-158; 참고문헌에 통합된다) 참고. 수 백가지의 상이한 어쥬번트들이 당 분야에 공지되어 있고, 본 발명의 실시예에 이용될 수 있다. 본 발명에 따라 이용될 수 있는 예시적인 어쥬번트는 다음을 포함하나 이에 한정되지 않는다: 사이토킨, 젤 타입 어쥬번트(가령, 수산화알루미늄, 인산 알루미늄, 인산 칼슘, 등); 미생물 어쥬번트(가령, CpG 모이어티를 포함하는 면역조절 DNA 서열; 모노포스포릴 지질 A와 같은 엔도톡신; 콜레라 독소, *E. coli* 열 민감성 독소, 및 백일해 독소와 같은 엑소톡신; 뮤라밀 디펩티드, 등); 오일-에멀전 및 유화제-기반 어쥬번트(가령, Freund 어쥬번트, MF59 [Novartis], SAF, 등); 과립화된 어쥬번트(가령, 리포솜, 생분해가능한 마이크로스페어, 사포닌, 등); 합성 어쥬번트(가령, 비이온성 블록 공중합체, 뮤라밀 펩티드 유사체, 폴리포스파젠, 합성 폴리뉴클레오티드, 등); 및/또는 이의 복합. 그밖에 다른 예시적인 어쥬번트는 일부 폴리머(가령, U.S. 특허 5,500,161에서 설명된 것과 같은 폴리포스파젠, 이는 참고문헌에 통합된다), Q57, QS21, 스쿠알렌, 테스타클로로데카옥시드, 등.

[0159] 약리학적으로 허용가능한 부형제는 “약학 조성물”에서 더 자세하게 설명된다.

[0160] **진단 용도**

[0161] 일부 구체예에서, 본 발명에 따른 HCV 항체는 진단 용도에 이용된다. 예를 들면, HCV 항체의 다양한 결합 프로파일에 의해, 광범위한(pan)-HCV 항체를 제공하고 동시에 마이너스 분석에 의해 개별 유전자형 및/또는 아류형을 구별하기 위하여 다수의 HCV 유전자형 및/또는 아류형을 탐지하기 위하여 진단 분석이 이용될 수 있다.

[0162] 진단 목적으로, E2 단백질을 탐지, HCV 유전자형 및/또는 아류형을 식별, 비리온 및 항체의 탐지를 위하여 다양한 포맷의 항체를 이용할 수 있다(가령, U.S. 특허 5,695,390; 참고문헌에 통합된다). 항체를 개별적으로 이용하거나 해당 균의 다른 항체와 복합하여 이용하거나 또는 HCV 외피 단백질(가령, E1 또는 E2)상에 존재하는 글리코실 기에 결합하는 다른 항체 또는 렉틴을 가진 항체 및/또는 HCV E2와 복합체를 형성하는 다른 단백질(가령, HCV E1:HCV E2 복합체)과 복합하여 이용될 수 있다. 진단 목적을 위하여, 다양한 라벨이 이용될 수

있는데, 대부분은 이미 언급된 것이다. 여기에는 다음을 포함하나 이에 한정되지 않는다; 형광단, 화학적 발광 모이어티, 방사능동위원소, 효소, 고친화력 수용체가 되는 입자 (가령, 콜로이드성 탄소 입자들, 금 입자들, 라텍스 입자들, 등) 리간드, 그리고 활성화되어 탐지가능한 신호를 제공할 수 있는 프로(pro)라벨.

[0163] 일부 구체예에서, 표면은 자유 단백질(가령, 순환하는 단백질)로써 또는 고유 또는 부분적으로 고유한 비리온의 일부로써 HCV 항원에 결합할 수 있는 단백질로 피복된다. 다중 HCV 유전자형 및/또는 아류형 또는 렉틴 (가령, *Galanthus nivalis* 렉틴; “GNA”)에 결합하는 본 발명의 항체를 이용할 수 있다. 또한, HCV 아류형 1, 2, 3, 4, 5, 및 6에 결합하는 본 발명에 따른 항체를 이용할 수 있다. 일부 구체예에서, 본 발명에 따른 항체는 최소한 하나의, 두 개, 세 개, 네 개, 다섯 개, 또는 다섯 개 이상의 상이한 유전자형 및/또는 아류형에 결합한다.

[0164] 일부 구체예에서, 분석은 표면을 자유 또는 HCV-연합된 단백질을 포함하는 매질과 접촉시키는 것을 포함하며, 이때 매질은 하나 이상의 유전자형 및/또는 아류형의 공지의 E2의 시료 또는 용액이 될 수 있다. 항온처리후, 비-특이적으로 결합된 단백질을 제거하기 위하여 세척한 후, 분석되는 시료에 따라 다양한 방법으로 분석이 진행될 수 있다. 혈청 양성으로 의심가는 혈액 시료를 분석하는 경우, 시료를 E2 단백질 층에 제공하고, 항온처리하고, 세척하고, 그리고 단백질에 결합된 인간 항체가 존재하는 지를 결정한다. 라벨된 α-인간 항체 (해당 항체의 이소타입을 제외하고, 해당 항체는 처음에 이용되었다)를 이용할 수 있다. 혈청 포지티브 개체에서 항체 분석시, 해당 항체는 그 개체의 혈청에서 임의의 인간 항-HCV 항체를 탐지하는데 이용된 것과 동일한 시약과 함께 기준으로 이용될 수 있다. 시료에서 항체 특이성은 항-인간 항체와는 상이하게 라벨된 해당 항체를 이용하여 확인할 수 있으며, 시료에서 항체에 의한 차단이 있는지를 확인한다.

[0165] 시료를 HCV E2 단백질에 대해 분석하는 경우, 탐지는 라벨된 해당 항체를 이용하며, 유전자분류 또는 E2 단백질의 탐지중 어느 것에 관심이 있는 지에 따라 선택은 달라진다. 비-특이적으로 결합된 항체를 씻어낸 후, 공지의 기술에 따라 라벨의 존재를 탐지함으로써 라벨된 항체의 존재가 결정된다. 대안으로, 또는 추가적으로, 해당 항체가 표면에 결합된 경우, E2에 대한 라벨된 렉틴을 이용하여 E2 단백질의 존재를 탐지할 수 있다.

[0166] 본 발명에 따른 항체를 이용하여 혈청내 항체, 단클론 항체, 유전 공학으로 인하여 발현된 항체 등을 포함하는 다른 항체의 활성을 측정할 수 있다. 일부 구체예에서, 고유 비리온이 이용된다. 일부 구체예에서, 형태학적으로 보존된 외피 단백질이 이용된다. 비리온 캡처에 대해서는 예를 들면, *Kimura et al., 1998, J. Med. Virology, 56:25-32; Morita et al., 1996, Hepato-Gastroenterology, 43:582-585; Sata et al., 1993, Virology, 196:354-357; and Hijikata et al., 1993, J. Virol., 67:1953-1958*을 참고한다; 이들 모두 참고문헌에 통합된다. 한 가지 프로토콜은 고형 서포트를 렉틴(가령, GNA)으로 피복시키고, 표면을 고유 HCV 비리온을 포함하는 매체(가령, 혈청 포지티브 환자의 혈청)와 접촉시키는 단계를 포함한다. 비리온을 파괴시키는 첨가제(가령, 계면활성제)는 피해야 한다. 매체를 항온처리하고, 매체의 비특이적으로 결합된 성분들을 제거하기 위하여 세척한 후, 비리온은 본 발명에 따른 항체 및 시료 항체와 접촉될 수 있다. 이는 동시에 또는 연속적으로 실행될 수 있으며, 시료는 처음에 첨가된다. 해당 항체의 양은 또 다른 항체에 의한 대체에 민감한 양으로 이용된다. 이와 같은 양은 실험적으로 결정될 수 있으며, 일련의 테스트에서 상이한 양의 해당 항체를 이용할 수 있다. 시료의 존재시에 수득되는 시그널을 알면, 시료에서 항체의 반응성 또는 결합 친화력을 결정할 수 있다. 다양한 기술을 이용하여 비리온에 결합된 해당 항체의 양을 결정할 수 있다. 해당 항체가 가령, 바이오틴 또는 디고옥시게닌, 스트렙타아비딘으로 라벨된 경우 또는 형광단 또는 기질이 탐지가능한 시그널을 만드는 효소로 라벨된 항-디고옥시게닌인 경우, 해당 항체의 양을 결정할 수 있다. .

[0167] 라벨된 해당 항체를 생검 물질에서 HCV의 존재를 분석하는데 이용할 수 있다. 라벨된 항체를 간 슬라이스와 같은 고정화된 생검 물질과, 그리고 라벨된 하나 이상의 항체 용액과 함께 항온처리할 수 있다. 비-특이적으로 결합된 항체를 씻어낸 후, 생검 조직의 세포에 결합된 항체의 존재는 라벨 특징에 따라 탐지될 수 있다.

[0168] 일부 구체예에서, 본 발명에 따른 HCV 항체는 HCV 수용체를 확인하는데 이용될 수 있다. 당업자는 이를 실현하는 다단계 방식을 인지할 것이다(*Sambrook J., Fritsch E. and Maniatis T. Molecular Cloning: A Laboratory Manual. Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harbor, NY, 1989; and Ausubel et al., eds., Current Protocols in Molecular Biology, 1987; 이들 모두 참고문헌에 통합된다*). 일반적으로, HCV 감염에 민감한 세포에 HCV 비리온의 부착을 E2에 대한 항체가 저해할 수 있는지를 결정함으로써, 단백질 및 펩티드 수용체를 확인할 수 있다. 따라서, HCV E2 단백질 및 펩티드에 대한 수용체는 이와 같은 방법에서 확인될 수 있다. HCV 및 항-HCV E2 항체 존재하에 감염에 민감한 세포를 항온처리할 수 있으며, 그리고 세포-결합 분석을 이용하여 항체 존재하에 부착이 감소되었는지를 결정할 수 있다.

- [0169] HCV의 가상 수용체를 발현시키는 및/또는 HCV에 대한 가상 수용체의 라이브러리를 발현시킬 수 있는 세포는 HCV에 결합하는 능력에 대해 스크리닝될 수 있다. 예를 들면, 가상 HCV 수용체 (가령, HCV E2에 대한 수용체)를 발현시키는 세포는 세포 표면에 있는 가상 수용체에 HCV 단백질 또는 펩티드가 결합되도록 충분한 시간 및 조건하에 항체 존재하에 HCV 단백질 또는 펩티드와 접촉될 수 있다. 대안으로, 또는 추가적으로, 세포 표면에 가상 수용체와 접촉시키기 전에 HCV 단백질, 펩티드, 또는 비리온을 항체와 사전-항온처리시킬 수 있다. 당분야에 공지된 임의의 수단, 가령, 유세포분석기(*Ausubel et al.*, 또는 *Sambrook et al.*, *supra*)에 의해 탐지될 수 있다. 항체 없는 세포가 없는 경우 결합과 비교하여, 항체 존재하에 세포의 표면에 결합의 감소는 HCV 수용체의 확인을 나타낸다.
- [0170] 일부 구체예에서, HCV 수용체 (가령, E2 수용체)를 확인하는 방법은 비드, 컬럼 및 이와 유사한 것과 같은 고�형 서포트를 이용하는 것을 포함한다. 예를 들면, HCV 단백질 및 펩티드 (가령, E2 단백질 및/또는 이의 단편들)에 대한 수용체 및/또는 HCV 비리온은 고�형 서포트에 HCV 항체를 부착시키고, 그 다음 항체가 HCV 단백질 또는 펩티드에 결합되도록 충분한 시간 동안 항체를 HCV 단백질 또는 펩티드와 접촉시켜 확인할 수 있다. 이것은 HCV 단백질 또는 펩티드에 수용체가 결합될 수 있는 충분한 조건 및 기간 동안 고�형 서포트상에 항체:리간드 복합체와 접촉하게 되는 가상 HCV 수용체에 대한 HCV 단백질 리간드를 제공한다. 단백질은 라이브러리로부터 발현되거나 자연적 또는 재조합 세포로부터 정제된 단백질 물질 또는 세포 추출물로 제공될 수 있다. HCV 단백질 펩티드 사이에 특이적 결합 복합체가 형성된 후, 결합안된 HCV 단백질 또는 펩티드, 가령, HCV 단백질 또는 펩티드에 특이적으로 결합하지 않는 라이브러리 단백질 또는 펩티드는 표준 세척 단계에 의해 제거된다. 그 다음 결합된 단백질은 용리되어, 가령, 겔 전기영동에 의해 확인된다.
- [0171] **투여**
- [0172] 본 발명에 따른 HCV 항체와 본 발명에 따른 이의 약학 조성물은 치료에 효과적인 투여 양 및 임의의 투여 경로를 이용하여 투여될 수 있다.
- [0173] 요구되는 정확한 양은 종, 나이, 개체의 전반적인 상태, 감염의 중증도, 특정 조성물, 투여 방식, 활성 방식 및 이와 유사한 것에 따라 개체마다 다양할 것이다. HCV 항체는 일반적으로 용이한 투여 및 약형의 균일화를 위하여 단위 약형으로 조제된다. 그러나, 본 발명의 조성물의 전체 일일 이용량은 정상적인 의학적 판단 범위내에서 주치의가 결정할 수 있을 것이다. 임의의 특정 개체 또는 유기체의 특정 치료요법적 효과적인 약량 수준은 치료될 장애, 장애의 중증도; 이용되는 특이적 HCV 항체의 활성; 투여되는 특이적 약학 조성물; 투여후 조성물의 반감기; 개체의 나이, 체중, 전반적인 건강, 성별, 식사; 투여 시간, 투여 경로, 이용되는 특정 화합물의 배출율; 치료 기간; 이용되는 특정 화합물과 복합 또는 동시에 사용되는 약물; 그리고 당분야에 공지된 다른 인자들을 포함하는 다양한 요인에 의해 달라질 수 있다.
- [0174] 본 발명의 약학 조성물은 임의의 경로로 투여될 수 있다. 일부 구체예에서, 본 발명의 약학 조성물은 경구(PO), 정맥(IV), 근육(IM), 동맥내, 수내(intramedullary), 기관내(intrathecal), 피하(SQ), 뇌실내, 경피, 피내(interdermal), 진피내(intradermal), 직장(PR), 질, 복막(IP), 위장관내(IG), 국소(가령, 분말, 연고, 크림, 겔, 로션 및/또는 드롭에 의해), 점막, 비강, 볼, 장, 유리체강, 설하; 경기관지 투여(intratracheal instillation), 기관지 주입(bronchial instillation), 및/또는 흡입; 구강 스프레이, 비강 스프레이, 및/또는 에어로졸 및/또는 문맥 카테테르를 통한, 다양한 경로에 의해 투여될 수 있다.
- [0175] 일반적으로, 가장 적합한 투여 경로는 투여되는 물질의 성질(가령, 위장관에서 안정성), 개체의 상태(가령, 개체가 특정 투여 방법을 용인할 수 있는지), 등을 포함하는 다양한 요인에 따라 달라질 것이다. 특이적 구체예에서, 본 발명에 따른 HCV 항체 및/또는 이의 약학 조성물은 정맥 주입과 같이 정맥으로 투여될 수 있다. 특이적 구체예에서, 본 발명에 따른 HCV 항체 및/또는 이의 약학 조성물은 근육 주사에 의해 투여될 수 있다. 특이적 구체예에서, 본 발명에 따른 HCV 항체 및/또는 이의 약학 조성물은 피하 주사에 의해 투여될 수 있다. 특이적 구체예에서, 본 발명에 따른 HCV 항체 및/또는 이의 약학 조성물은 문맥 카테테르에 의해 투여될 수 있다. 그러나, 본 발명은 본 발명에 따른 HCV 항체 및/또는 이의 약학 조성물이 약물 운반에서 고려되는 임의의 적절한 경로에 의해 투여되는 것을 포함한다.
- [0176] 특정 구체예에서, 본 발명에 따른 HCV 항체 및/또는 이의 약학 조성물은 원하는 치료요법적 효과를 획득하기 위하여 일일 개체 체중당 약 0.001 mg/kg 내지 약 100 mg/kg, 약 0.01 mg/kg 내지 약 50 mg/kg, 약 0.1 mg/kg 내지 약 40 mg/kg, 약 0.5 mg/kg 내지 약 30 mg/kg, 약 0.01 mg/kg 내지 약 10 mg/kg, 약 0.1 mg/kg 내지 약 10 mg/kg, 또는 약 1 mg/kg 내지 약 25 mg/kg을 운반하는데 충분한 약량 수준으로 투여될 수 있다. 원하는 약량은 일일 3회이상, 일일 3회, 일일 2회, 일일 1회, 2일에 1회, 3일에 1회, 매주 1회, 2주에 1회, 3주에 1회, 4주

에 1회, 2개월에 1회, 6개월에 1회, 또는 1년에 1회로 제공될 수 있다. 특정 구체예에서, 원하는 약량은 다중 투여(가령, 2회, 3회, 4회, 5회, 6회, 7회, 8회, 9회, 10회, 11회, 12회, 13회, 14회, 또는 그 이상 투여)으로 운반될 수 있다.

- [0177] 본 발명에 따른 HCV 항체 및/또는 이의 약학 조성물은 복합 요법으로 이용될 수 있다는 것을 인지할 것이다. 복합 섭생을 이용하기 위한 특정 복합 요법(가령, 치료요법 또는 과정)은 원하는 치료요법 및/또는 과정의 양립성 및 얻고자 하는 원하는 치료요법적 효과를 고려해야 할 것이다. 이용되는 요법은 동일한 목적을 위하여 원하는 효과를 수득하거나(예를 들면, HCV 감염 치료, 예방 및/또는 개시의 지연에 유용한 HCV 항체는 HCV 감염의 치료, 예방 및/또는 개시의 지연에 유용한 또 다른 물질과 동시에 투여될 수 있다), 또는 상이한 효과(가령, 임의의 역 효과 조절)를 얻을 수 있다. 본 발명은 생체이용성을 개선시키고, 이들의 대사를 감소시키거나 및/또는 변형시키고, 배출을 억제하고 및/또는 신체내 분포를 변형시키는 물질과 복합하여 약학 조성물을 운반하는 것을 포함한다.
- [0178] 본 발명에 따른 약학 조성물은 단독으로 투여되거나 또는 하나 이상의 다른 치료요법적 물질과 복합하여 투여될 수 있다. “복합하여(~in combination with)”는 물질들이 동시에 투여되거나 또는 함께 운반되도록 제조되어야 한다는 것은 아니지만, 이들 운반 방법은 본 발명의 범위내에 있다. 조성물은 하나 이상의 다른 원하는 치료요법 또는 의학적 과정과 동시에, 또는 이보다 미리 또는 순차적으로 투여될 수 있다. 복합에 이용되는 치료요법적 활성인 물질은 단일 조성물로 함께 투여되거나 또는 상이한 조성물로 별도 투여될 수 있다는 것을 인지할 것이다. 일반적으로, 각각 물질은 그 물질에 대해 결정된 약량 및/또는 투여 일정에 따라 투여될 것이다.
- [0179] 일반적으로, 복합에 이용되는 물질의 수준은 이 물질이 개별적으로 이용되었을 때 수준을 초과하지 않은 수준으로 이용된다. 일부 구체예에서, 복합에 이용되는 수준은 개별적으로 이용되는 수준보다는 더 낮을 것이다.
- [0180] 일부 구체예에서, 본 발명에 따른 HCV E2 항체(가령, HC-1, HC-3, HC-11, 및 CBH-23)는 인터페론과 함께, 리바비린과 함께, 또는 인터페론 및 리바비린 모두와 함께 투여될 수 있다.
- [0181] 일부 구체예에서, 복합 요법용 조성물은 단일 입체적 에피토프에 대항하는 다수의 항체를 포함할 수 있다. 일부 구체예에서, 복합 요법용 조성물은 별개의 입체적 에피토프에 대항하는 다수의 항체(가령, 동일한 바이러스의 외피 단백질 또는 상이한 바이러스의 외피 단백질상에 있는 에피토프)를 포함하여 감염 과정에서 다중 기전을 동시에 간섭할 수 있다.
- [0182] 특정 구체예에서, 본 발명에 따른 조성물은 E2에 대한 정확하게 하나의 항체(가령, HC-1, HC-3, HC-11, 및 CBH-23)를 포함한다. 특정 구체예에서, 조성물은 정확하게 두 개, 정확하게 세 개, 정확하게 네 개, 정확하게 다섯 개, 정확하게 여섯 개 또는 여섯 개 이상의 HCV E2 항체를 포함한다. 일부 구체예에서, 조성물은 HC-1, HC-3, HC-11, 및 CBH-23의 모든 가능한 치환(permutations) 및 복합을 포함한다. HC-1, HC-3, HC-11, 및 CBH-23으로 구성된 군으로부터 선택된 1개, 2개, 3개 또는 4개 항체를 포함하는 예시적인 조성물을 표 2에 나타낸다.

표 2

[0183] HCV 항체를 포함하는 예시적인 조성물

1개항체	2개 항체	3개 항체	4개 항체
HC-1	HC-1 및 HC-3	HC-1, HC-3, 및 HC-11	HC-1, HC-3, HC-11, 및 CBH-23
HC-2	HC-1 및 HC-11	HC-1, HC-3, 및 CBH-23	
HC-11	HC-1 및 CBH-23	HC-1, HC-11, 및 CBH-23	
CBH-23	HC-3 및 HC-11	HC-3, HC-11, 및 CBH-23	
	HC-3 및 CBH-23		
	HC-11 및 CBH-23		

- [0184]
- [0185] 일부 구체예에서, 항-HCV E2 항체를 분리하는 하이브리도마 세포계는 American Type Culture Collection (ATCC)에 기탁되었다. 예를 들면, 인간 단클론 항체 HC-1를 분리하는 하이브리도마 세포계는 기탁번호 PTA-9416으로 기탁되었다; 인간 단클론 항체 HC-3을 분리하는 하이브리도마 세포계는 기탁번호 PTA-9417로 기탁되었다; 인간 단클론 항체 HC-11를 분리하는 하이브리도마 세포계는 기탁번호 PTA-9418로 기탁되었다; 그리고 인간

단클론 항체 CBH-23을 분비하는 하이브리도마 세포계는 기탁번호 PTA-9419로 기탁되었다.

[0186] HC-1, HC-3, HC-11, 및 CBH-23의 임의의 모든 가능한 치환(permutations) 및 복합은 임의의 다른 항체 (가령, E1, E2, 및/또는 다른 외피 단백질을 인지하는 항체)와 복합하여 다수의 상이한 항체를 포함하는 조성물을 조제할 수 있다는 것을 당업자는 인지할 것이다. 특정 구체예에서, HC-1, HC-3, HC-11, 및/또는 CBH-23는 E2에 대항하는 것으로 이미 설명된 다음의 항체중 하나와 복합될 수 있다: CBH-2, CBH-4G, CBH-5, CBH-7, CBH-8C, CBH-8E, CBH-9, CBH-11, 이의 단편들, 및/또는 이의 복합 (U.S. 특허 6, 692,908; U.S. 특허 공개 2006/0104980 및 2006/0188511; 이들 모두 참고문헌에 통합된다). 특정 구체예에서, HC-1, HC-3, HC-11, 및/또는 CBH-23는 H-111, H-114 (이들 모두 E1에 대항하는 설명된 항체), 이의 단편들, 및/또는 이의 복합 (U.S. 특허 공개 2003/180284; 참고문헌에 통합된다)와 복합될 수 있다. 특정 구체예에서, HC-1, HC-3, HC-11, 및/또는 CBH-23은 인간화된 AP33 (*Owsianka et al., 2005, J. Virol., 79:11095-104*; 참고문헌에 통합된다); Fab e137 (*Perotti et al., 2008, J. Virol., 82:1047-52*; 참고문헌에 통합된다, 2008); mAbs 1:7 및 A8 (*Johansson et al., 2007, Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 104:16269-74*; 참고문헌에 통합된다); AR3 인간 MAb (*Law et al., 2008, Nat. Med., 14:25-27*; 참고문헌에 통합된다); 이의 단편들; 및/또는 이의 조합과 복합될 수 있다.

[0187] **약학 조성물**

[0188] 본 발명은 최소한 하나의 HCV 항체와 최소한 하나의 약학적으로 허용가능한 부형제를 포함하는 약학 조성물을 제공한다. 이와 같은 약학 조성물은 하나 이상의 추가적인 치료요법적 활성인 물질을 선택적으로 포함한다. 일부 구체예에서 HCV 항체를 포함하는 약학 조성물을 개체에게 투여하는 방법이 제공된다. 일부 구체예에서, 약학 조성물은 인간에게 투여된다. 본 내용을 위하여, “활성 성분”은 본 발명에 따른 HCV 항체를 일반적으로 말한다. 특정 구체예에서, HCV 항체는 E2 외피 단백질을 인지하는 항체다. 특정 구체예에서, HCV 항체는 E2 외피 단백질의 입체적 에피토프를 인지하는 항체다.

[0189] HCV E2 항체를 투여하기 위한 약학 조성물은 멸균 주사 형으로 제공되는데(가령, 피하 또는 정맥 주입에 적합한 형태). 예를 들면, 일부 구체예에서, 항체는 주사에 적합한 액상 약형으로 제공된다. 일부 구체예에서, 항체는 선택적으로 진공하에서 동결건조된 멸균 분말로 제공되며, 이는 주사전에 수용성 희석제(가령, 물, 완충액, 염 용액 등)으로 재구성된다. 일부 구체예에서, 항체는 물, 염화나트륨 용액, 아세테이트 나트륨 용액, 벤질 알코올 용액, 인산염 완충용액, 등으로 희석 및/또는 재구성된다. 일부 구체예에서, 분말은 수용성 희석액으로 부드럽게 혼합되어야 한다(가령, 흔들지 않아야 한다).

[0190] 일부 구체예에서, 항체 제제는 하나 이상의 약학적으로 허용가능한 부형제 (가령, 보존제, 비활성 희석제, 분산제, 표면 활성제 및/또는 유효제, 완충제, 등)을 포함한다. 일부 구체예에서, 항체 제제는 하나 이상의 보존제를 포함한다. 일부 구체예에서, 항체 제제는 보존제를 포함하지 않는다.

[0191] 일부 구체예에서, 항체는 냉장 및/또는 냉동된 형태로 제공된다. 일부 구체예에서, 항체는 냉장 및/또는 냉동되지 않은 형태로 제공된다. 일부 구체예에서, 재구성된 항체 용액 및/또는 항체 액체 약형 형태는 재구성후 일정 기간동안 보관될 수 있다(가령, 2 시간, 12 시간, 24 시간, 2 일, 5 일, 7 일, 10 일, 2 주, 한달, 두달, 또는 그 이상). 일부 구체예에서, 명시된 시간보다 더 오래 항체 제제를 보관하면 항체가 분해된다.

[0192] 액상 약형 형태 및/또는 재구성된 항체 용액은 투여전 과립 물질 또는 변색을 포함한다. 일반적으로, 용액이 변색되거나 흐려지거나 및/또는 입자가 여과후에 남아있다면 용액을 사용해서는 안된다.

[0193] 여기에서 설명된 약학 조성물의 제제는 약학 분야에 공지된 임의의 방법 또는 앞으로 개발될 방법에 의해 준비될 수 있다. 일반적으로, 이와 같은 준비 방법은 활성 성분을 부형제 및/또는 하나 이상의 다른 보조 성분과 연합되도록 하고, 그 다음 필요에 따라 및/또는 원하는 경우, 산물을 원하는 단일 또는 다중 단위로 형태를 만들거나 및/또는 포장하는 단계를 포함한다.

[0194] 본 발명에 따른 약학 조성물은 단일 단위 약형 또는 단일 단위 약형의 다수 형태로, 제조되고, 포장되고, 및/또는 벌크(bulk)로 판매된다. 여기에서 사용된 것과 같이, “단위 약형(unit dose)”은 활성 성분의 예정된 양을 포함하는 약학 조성물의 개별 양이다. 활성 성분의 이 양은 일반적으로 개체에 투여되었을 때 활성 성분의 약량과 동일하거나, 및/또는 이와 같은 약량의 1/2 또는 1/3과 같은 약량의 통상적인 분취량에 동일하다.

[0195] 본 발명에 따른 약학 조성물에서 활성 성분, 약학적으로 허용가능한 부형제, 및/또는 임의의 추가 성분들의 상

대적인 양은 치료될 개체, 신체 및/또는 상태에 따라 달라지며, 그리고 조성물이 투여되는 경우에 따라 달라질 수 있다. 예를 들면, 조성물은 0.1% 내지 100% (w/w) 활성 성분을 포함할 수 있다.

[0196] 본 발명의 약학 제제는 약학적으로 허용가능한 부형제를 추가적으로 포함할 수 있는데, 여기에서 사용된 것과 같이, 임의의 그리고 모든 용매, 분산제, 매질, 희석제 또는 다른 액체 비이클, 분산 또는 현탁 보조제, 표면 활성인 물질, 등장성 물질, 농후 또는 유화 물질, 보존제, 고체 결합제, 윤활제 및 원하는 특정 약형에 적합한 이와 유사한 것을 포함할 수 있다. *Remington's The Science 및 Practice of Pharmacy, 21st Edition, A. R. Gennaro, (Lippincott, Williams & Wilkins, Baltimore, MD, 2006)*에서는 약학 조성물의 조제에 이용되는 다양한 부형제와, 이를 준비하는 공지의 과정을 설명한다. 임의의 통상적인 부형제 매질이 임의의 바람직하지 못한 생물학적 효과를 만들거나 약학 조성물의 임의의 다른 성분과 유해한 방식으로 상호작용함으로써 물질 또는 이의 유도체와 필적하는 경우를 배제하고, 이들의 이용은 본 발명의 범위내에 있는 것으로 간주된다.

[0197] 일부 구체예에서, 약학적으로 허용가능한 부형제는 최소한 95%, 최소한 96%, 최소한 97%, 최소한 98%, 최소한 99%, 또는 100% 순수하다. 일부 구체예에서, 부형제는 인간 및 수의학적 용도로 승인된 것이다. 일부 구체예에서, 부형제는 United States Food 및 Drug Administration에서 승인된 것이다. 일부 구체예에서, 부형제는 약학적 등급이다. 일부 구체예에서, 부형제는 United States Pharmacopoeia (USP), European Pharmacopoeia (EP), British Pharmacopoeia, 및/또는 International Pharmacopoeia의 표준에 부합한다.

[0198] 약학 조성물의 조제에 이용되는 약학적으로 허용가능한 부형제는 비활성 희석제, 분산 및/또는 과립화 물질, 표면 활성인 물질 및/또는 유화제, 붕해 물질, 결합 물질, 보존제, 완충 물질, 윤활 물질, 및/또는 오일을 포함하나 이에 한정되지 않는다. 이와 같은 부형제는 제제에 선택적으로 포함될 수 있다. 제조자의 판단에 따라 조성물에 코코아 기름 및 좌약 왁스, 발색 물질, 피복 물질, 감미제, 풍미 물질, 및/또는 향료 물질과 같은 부형제가 존재할 수 있다.

[0199] 예시적인 희석제는 탄산 칼륨, 탄산 나트륨, 인산 칼륨, 인산 이칼륨, 황화칼슘, 인산수소칼슘, 인산 나트륨 락토즈, 슈크로즈, 셀룰로오즈, 미소결정 셀룰로오즈, 카올린, 만니톨, 솔비톨, 이노시톨, 염화나트륨, 건 전분, 옥수수 전분, 분말 슈가, 등, 및/또는 이의 복합을 포함하나 이에 한정되지 않는다.

[0200] 예시적인 과립화 및/또는 분산 물질은 감자 전분, 옥수수 전분, 타피오카 전분, 전분 나트륨 글리콜레이트, 점토, 알긴산, 구아르검, 감귤 펄프, 한천, 벤토나이트, 셀룰로오즈 및 나무 산물, 자연 스폰지, 양이온-교환 수지, 탄산 칼륨, 실리케이이트, 탄산나트륨, 교차-링크된 폴리(비닐-피롤리돈) (크로스포비돈), 카르복시메틸 나트륨 전분 (전분 나트륨 글리콜레이트), 카르복시메틸 셀룰로오즈, 교차-링크된 카르복시메틸 나트륨 셀룰로오즈 (크로스카라멜로스), 메틸셀룰로오즈, 사전겔라틴화된 전분 (전분 1500), 미소결정 전분, 물 불용성 전분, 카르복시메틸 칼슘 셀룰로오즈, 규산 알루미늄 마그네슘(VEEGUM®), 라우릴 설페이트 나트륨, 4차 암모늄 화합물, 등, 및/또는 이의 복합을 포함하나 이에 한정되지 않는다.

[0201] 예시적인 표면 활성인 물질 및/또는 유화제는 자연적 유화제(가령, 아카시아, 한천, 알긴산, 알긴산 나트륨, 트라카단, 콘드루스, 콜레스테롤, 산탄, 펙틴, 젤라틴, 난황, 카제인, 라놀린, 콜레스테롤, 밀랍 및 레시틴), 콜로이드성 점토(가령, 벤토나이트[규산 알루미늄] 및 VEEGUM®

[규산 알루미늄 마그네슘]), 장쇄 아미노산 유도체, 고분자량 알코올(가령, 스테아릴 알코올, 세틸 알코올, 올레일 알코올, 트리아세틴 모노스테아레이트, 에틸렌 글리콜 디스테아레이트, 글리세릴 모노스테아레이트, 그리고 프로필렌 글리콜 모노스테아레이트, 폴리비닐 알코올), 카르보머(가령, 카르복시 폴리메틸렌, 폴리아크릴산, 아크릴산, 아크릴산 폴리머, 및 카르복시비닐 폴리머), 카라기난, 셀룰로오즈 유도체 (가령, 카르복시메틸셀룰로오즈 나트륨, 분말화된 셀룰로오즈, 하이드록시메틸 셀룰로오즈, 하이드록시프로필셀룰로오즈, 하이드록시프로필 메틸셀룰로오즈, 메틸셀룰로오즈), 소르비탄 지방산 에스테르(가령, 폴리옥시에틸렌 소르비탄 모노라우레이트[TWEEN®

20], 폴리옥시에틸렌 소르비탄 [TWEEN®

60], 폴리옥시에틸렌 소르비탄 모노올레이트[TWEEN®

80], 소르비탄 모노팔미테이트[SPAN®

40], 소르비탄 모노스테아레이트[SPAN®

60], 소르비탄 트리스테아레이트[SPAN®

65], 글리세릴 모노올레이트, 소르비탄 모노올레이트[SPAN®

80]), 폴리옥시에틸렌 에스테르(가령, 폴리옥시에틸렌 모노스테아레이트[MYRJ®

45], 폴리옥시에틸렌 수소첨가된 카스터유, 폴리옥시화된 카스터유, 폴리옥시메틸렌 스테아레이트, 및 SOLUTOL®

), 슈크로스 지방산 에스테르, 폴리에틸렌 글리콜 지방산 에스테르 (가령, CREMOPHOR®

), 폴리옥시에틸렌 에테르, (가령, 폴리옥시에틸렌 라우릴 에테르 [BRIJ®

30]), 폴리(비닐-피롤리돈), 디에틸렌 글리콜 모노라우레이트, 트레탄올아민 올레이트, 올레이트 나트륨, 올레이트 칼륨, 에틸 올레이트, 올레산, 에틸 라우레이트, 라우릴 설페이트 나트륨, PLURONIC®

F68, POLOXAMER®

188, 브롬화 세트리모늄, 염화 세틸피리디늄, 염화 벤잘코니움, 도쿠세이트 나트륨, 등 및/또는 이의 복합을 포함하나 이에 한정되지 않는다.

[0202]

예시적인 결합 물질은 다음을 포함하나 이에 한정되지 않는다: 전분 (가령, 옥수수전분, 전분 페이스트, 등); 젤라틴; 슈가 (가령, 슈크로스, 글루코즈, 텍스트로즈, 텍스트린, 당밀, 락토즈, 락티톨, 만니톨, 등); 자연 및 합성 검(가령, 아카시아, 알기네이트 나트륨, 식용 바닷말(Irish moss) 추출물, 판워검(panwar gum), 가티검(ghatti gum), 이사폴 허스크(isapol husks) 점액, 카르복시메틸셀룰로오스, 메틸셀룰로오스, 에틸셀룰로오스, 하이드록시에틸셀룰로오스, 하이드록시프로필 셀룰로오스, 하이드록시프로필 메틸셀룰로오스, 미소결정 셀룰로오스, 셀룰로오스 아세테이트, 폴리(비닐-피롤리돈), 규산 알루미늄 마그네슘 [VEEGUM®

], 낙엽송 아라보갈락탄(larch arabogalactan), 등); 알긴산; 폴리에틸렌 산화물; 폴리에틸렌 글리콜; 무기 칼슘 염; 규산; 폴리메타아크릴레이트; 밀랍; 물; 알코올; 등; 및 이의 복합.

[0203]

예시적인 보존제는 다음을 포함하나 이에 한정되지 않는다: 항산화제, 킬레이팅 물질, 항균 보존제, 항곰팡이 보존제, 알코올 보존제, 산성 보존제, 및/또는 다른 보존제. 예시적인 항산화제는 다음을 포함하나 이에 한정되지 않는다: 알파 토크페롤, 아스코르브산, 아스코빌 팔미테이트, 부틸화된 하이드록시아니솔, 부틸화된 하이드록시톨루엔, 모노티오글리세롤, 메타중아황산염 칼륨, 프로피오닌산, 프로필 갈레이트, 아스코르베이트 나트륨, 중아황산염 나트륨, 메타중아황산염 나트륨, 및/또는 아황산염 나트륨. 예시적인 킬레이팅 물질은 에틸렌 디아민테트라아세트산(EDTA), 구연산 일함수화합물, 에테데이트 이나트륨, 에테데이트 이칼륨, 에데트산, 푸마르산, 말산, 인산, 에테데이트 나트륨, 타르타르산, 및/또는 에테데이트 삼나트륨을 포함한다. 예시적인 항균 보존제는 다음을 포함하나 이에 한정되지 않는다: 벤잘코니움 클로라이드, 벤제토니움 클로라이드, 벤질 알코올, 브로노폴, 세트리미드, 세틸피리디늄 클로라이드, 클로헥시딘, 클로로부탄올, 클로로크레졸, 클로로실레놀, 크레졸, 에틸 알코올, 글리세린, 헥세티딘, 이미드우레아, 페놀, 페녹시에탄올, 페닐에틸 알코올, 페닐 머큐리 질산염, 프로필렌 글리콜, 및/또는 티메로잘. 예시적인 항곰팡이 보존제는 다음을 포함하나 이에 한정되지 않는다: 부틸 파라벤, 메틸 파라벤, 에틸 파라벤, 프로필 파라벤, 벤조산, 하이드록시벤조산, 벤조산 칼륨 염, 소르베이트 칼륨, 벤조산 나트륨, 프로피오네이트 나트륨, 및/또는 소르브산. 예시적인 알코올 보존제는 다음을 포함하나 이에 한정되지 않는다; 에탄올, 폴리에틸렌 글리콜, 페놀, 페놀성 화합물, 비스페놀, 클로로부탄올, 하이드록시벤조산, 및/또는 페닐에틸 알코올. 예시적인 산성 보존제는 다음을 포함하나 이에 한정되지 않는다; 비타민 A, 비타민 C, 비타민 E, 베타-카로틴, 구연산, 아세트산, 데하이드로아세트산, 아스코르브산, 소르브산, 및/또는 피트산(phytic acid). 다른 보존제는 다음을 포함하나 이에 한정되지 않는다; 토크페롤, 토크페롤 아세테이트, 데테록심 메실레이트, 세트리미드, 부틸화된 하이드록시아니솔 (BHA), 부틸화된 하이드록시톨루엔(d (BHT), 에틸렌디아민, 라우릴 설페이트 나트륨(SLS), 라우릴 에테르 설페이트 나트륨 (SLES), 중아황산염 나트륨, 메타중아황산염 나트륨, 아황산염 칼륨, 메타중아황산염 칼륨, GLYDANT PLUS®

, PHENONIP®

, 메틸파라벤, GERMALL®

115, GERMABEN®

II, NEOLONE™, KATHON™, 및/또는 EUXYL®

[0204] 예시적인 완충액 물질은 다음을 포함하나 이에 한정되지 않는다; 구연산염 완충액 용액, 아세테이트 완충액 용액, 포스페이트 완충액 용액, 암모니움 클로라이드, 탄산염 칼슘, 염화 칼슘, 구연산염 칼슘, 글루비오네이트 칼슘, 글루세프테이트 칼슘, 글루코네이트 칼슘, d-글루콘산, 글리세로포스페이트 칼슘, 락테이트 칼슘, 프로파논산, 레블리네이트 칼슘, 펜타논산, 2염기 인산 칼슘염, 인산, 3염기 인산 칼슘, 수산화 인산 칼슘, 아세테이트 칼륨, 염화 칼륨, 글루코네이트 칼륨, 칼륨 혼합물, 2염기 인산칼륨, 1염기 인산칼륨, 인산 칼륨 혼합물, 아세테이트 나트륨, 중탄산염 나트륨, 염화 나트륨, 구연산 나트륨염, 락테이트 나트륨, 2염기 인산 나트륨, 1염기 인산 나트륨, 인산 나트륨 혼합물, 트로메타아민, 수산화 마그네슘, 수산화 알루미늄, 알긴산, 비-발열성 (pyrogen-free) 물, 등장성 염, Ringer 용액, 에틸 알코올, 등, 및/또는 이의 복합.

[0205] 예시적인 윤활 물질은 다음을 포함하나 이에 한정되지 않는다: 스테아레이트 마그네슘, 스테아레이트 칼슘, 스테아르산, 규산, 활석, 엿기름, 글리세틸베하네이트, 수소첨가된 식물성 오일, 폴리에틸렌 글리콜, 벤조산 나트륨, 아세테이트 나트륨, 염화 나트륨, 루이신, 라우릴 설페이트 마그네슘, 라우릴 설페이트 나트륨, 등, 및 이의 복합.

[0206] 예시적인 오일은 다음을 포함하나 이에 한정되지 않는다: 아몬드, 살구씨, 아보카도, 바바수야자, 베르가모트, 흑조씨, 지치, 케이드(cade), 카밀레, 카놀라, 캐러웨이, 브라질납야자, 카스터, 계피, 카카오기름, 코코넛, 대구 간, 커피, 옥수수, 목화씨, 예뮬, 유칼립투스, 달맞이꽃, 물고기, 아마씨, 게라니올, 호리병박, 포도씨, 개암나무 넛트, 우슬초, 이소프로필 미리스테이트, 호호바, 쿠쿠이 넛트, 라반딘, 라벤더, 레몬, 릿세아 쿠베바 (litsea cubeba), 마카데미아 넛트(macademia nut), 당아옥속(mallow), 망고씨, 메도우폼 씨, 밍크, 육두구 (nutmeg), 올리브, 오렌지, 오렌지 리퍼, 팜(palm), 팜 열매, 복숭아 씨, 땅콩, 양귀비 씨, 호박씨, 핑지씨, 쌀겨, 로즈마리, 잇꽃, 백단, 사스쿠아나(sasquana), 층층이꽃(savoury), 바다 갈매나무(sea buckthorn), 참깨, 시버터(shea butter), 실리콘, 대두, 해바라기차나무, 엉겅퀴, 츠바키(tsubaki), 베티버(vetiver), 호두, 및 맥아오일. 예시적인 오일은 다음을 포함하나 이에 한정되지 않는다; 부틸 스테아레이트, 카프릴 트리글리세리드, 카프리 트리글리세리드, 사이클로메티콘, 디에틸 세바케이트, 디메티콘 360, 이소프로필 미리스테이트, 미네랄 오일, 옥틸도데카놀, 올레일 알코올, 실리콘 오일, 및/또는 이의 복합.

[0207] 경구 및 장관외 투여용 액상 투약 형태는 약학적으로 허용가능한 유상액, 마이크로유상액, 용액, 현탁액, 시럽, 및/또는 엘릭시르를 포함하나 이에 한정되지 않는다. 활성 성분에 추가하여, 액체 투약 형태는 당분야에 흔히 이용되는 비활성 희석제, 예를 들면, 물 또는 다른 용매, 안정화 물질 그리고 유화제, 가령, 에틸 알코올, 이소프로필 알코올, 에틸 탄산염, 에틸 아세테이트, 벤질 알코올, 벤질 벤조산, 프로필렌 글리콜, 1,3-부틸렌 글리콜, 디메틸포름아미드, 오일 (특히, 목화씨, 땅콩, 옥수수, 싹, 올리브, 카스터 및 참깨 오일), 글리세롤, 테트라하이드로푸르푸릴 알코올, 폴리에틸렌 글리콜 및 소르비탄의 지방산 에스테르, 및 이들의 혼합물을 포함하나 이에 한정되지 않는다. 비활성 희석제이외에, 경구 조성물은 가습 물질, 유화제 및 현탁 물질, 감미제, 풍미제 및/또는 방향 물질과 같은 어주번트를 포함할 수 있다. 특정 구체예에서, 비경구 투여용으로, 조성물은 CREMOPHOR®

, 알코올, 오일, 변형된 오일, 글리콜, 폴리소르베이트, 사이클로덱스트린, 폴리머, 및/또는 이의 복합물과 같은 가용화(solubilizing) 물질과 혼합된다.

[0208] 주사용 제제, 예를 들면, 멸균 주사용 수용액 또는 유질성(oleaginous) 현탁액은 적합한 분산 물질, 가습 물질, 및/또는 현탁 물질을 이용하여 당분야에 공지된 것에 따라 조제될 수 있다. 멸균 주사용 제제는 장관외적으로 허용가능한 비독성 희석제 및/또는 용매내에 멸균 주사용 용액, 현탁액, 및/또는 유상액이 될 수 있는데, 예를 들면, 1,3-부탄디올안에 용액이 될 수 있다. 이용될 수 있는 허용가능한 비이클 및 용매는 물, Ringer 용액, U.S.P., 및 등장성 염화 나트륨 용액이다. 멸균, 고정된 오일은 통상적으로 용매 또는 현탁 매질로 이용된다. 이와 같은 목적을 위하여, 합성 모노-글리세리드 또는 디-글리세리드를 포함하는 임의의 블랜드(bland) 고정된

오일이 이용될 수 있다. 올레산과 같은 지방산이 주사용 제제에 이용될 수 있다.

- [0209] 주사용 제제는 세균을 유지시키는 필터를 통하여 여과에 의해, 및/또는 멸균물질을 고체 멸균 조성물에 결합시키고, 사용전 멸균수 또는 다른 멸균 주사용 매질에 용해 또는 분산시킴으로써 멸균될 수 있다.
- [0210] 활성 성분의 효과를 지속시키기 위하여, 피하 또는 근육 주사로부터 활성 성분의 흡수를 지연시키는 것이 바람직한 경우도 있다. 이것은 수용성이 낮은 결정 또는 무정형 물질의 액체 현탁액을 이용하여 이루어질 수 있다. 그 다음 약물의 흡수율은 용해 속도에 따라 달라지며, 이는 다시 결정 크기 및 결정형에 따라 달라질 수 있다. 대안으로, 장관의 투여되는 약형의 지연된 흡수는 오일 비이클에 약물을 용해 또는 현탁시켜 이루어진다. 폴리락티드-폴리글리콜리드와 같은 생분해가능한 폴리머에 약물의 미소포집된 매트릭스를 형성시켜 주사용 데포우 형태가 만들어진다. 폴리머에 대한 약물의 비율 및 이용되는 특정 폴리머의 성질에 따라 약물 방출 속도가 조절될 수 있다. 다른 생분해가능한 폴리머의 실시예는 폴리(오르소에스테르) 및 폴리(안하이드리드)를 포함한다. 신체 조직과 양립가능한 리포솜 또는 마이크로유상액에 약물을 포집시켜 데포우 주사용 제제가 만들어진다.
- [0211] 직장 및 질 투여용 조성물은 코코아 기름, 폴리에틸렌 글리콜 또는 실온에서는 고체이지만, 체온에서는 액체가 되어 직장 또는 질 강에서 용해되어, 활성 성분을 방출시키는 좌약 밀랍과 같은 비-자극성 적합한 부형제와 혼합하여 일반적으로 좌약이 만들어진다.
- [0212] 경구 투여용 고체 투약 형태는 캡슐, 테블릿, 알약, 분말 및 과립을 포함한다. 이와 같은 고체 투약 형태에서, 활성 성분은 최소한 하나의 비활성, 약학적으로 허용가능한 부형제 가령, 구연산 나트륨염 또는 인산 이칼슘 및/또는 충전제 또는 확장제(가령, 전분, 락토즈, 슈크로스, 글루코즈, 만니톨, 및 규산), 결합제(가령, 카르복시메틸셀룰로오스, 알긴산, 젤라틴, 폴리비닐피롤리돈, 슈크로스, 및 아카시아), 습윤제(가령, 글리세롤), 붕해물질 (가령, 한천, 칼슘 탄산염, 감자 전분, 타피오카 전분, 알긴산, 특정 규산염, 및 탄산나트륨염), 용액 지체 물질 (가령, 파라핀), 흡수 가속화제(가령, 4차 암모늄 화합물), 가습 물질 (가령, 세틸 알코올 및 글리세롤 모노스테아레이트), 흡수제(가령, 카올린 및 벤토나이트 점토), 및 윤활제(가령, 활석, 스테아레이트 칼슘, 스테아레이트 마그네슘, 고체 폴리에틸렌 글리콜, 라우릴 설페이트 나트륨), 및 이들의 혼합물과 혼합된다. 캡슐, 테블릿, 알약의 경우, 투약 형은 완충 물질을 포함할 수 있다.
- [0213] 유사한 유형의 고체 조성물은 락토즈 또는 유당과 같은 부형제 뿐만 아니라 고분자량 폴리에틸렌 글리콜 및 이와 유사한 것을 이용하여 연질 및 경질 충전된 젤라틴 캡슐에 충전제로 이용될 수 있다. 테블릿, 당과, 캡슐, 알약 및 과립의 고체 투약 형태는 장용피 및 약학 분야에 공지된 다른 코팅과 같은 코팅 및 껍질로 만들어질 수 있다. 선택적으로 불투명 물질을 포함하며, 장관의 특정 부위에서만 또는 이 부위에서 선호적으로 서서히 활성 성분을 방출하는 조성물이 될 수 있다. 이용될 수 있는 임베딩(embedding) 조성물은 폴리머 물질 및 밀랍을 포함한다. 유사한 타입의 고체 조성물은 락토즈 또는 유당과 같은 부형제 뿐만 아니라 고분자량 폴리에틸렌 글리콜 및 이와 유사한 것을 이용하여 연질 및 경질 충전된 젤라틴 캡슐에 충전제로 이용될 수 있다.
- [0214] 본 발명에 따른 화합물의 국소 및/또는 경피 투여를 위한 투약 형태는 연고, 페스트, 크림, 로션, 겔, 분말, 용액, 스프레이, 흡입제 및/또는 패취를 포함할 수 있다. 일반적으로, 활성 성분은 약학적으로 허용가능한 부형제 및/또는 임의의 필요한 보존제 및/또는 완충액(필요한 경우)와 멸균 조건하에서 혼합된다. 추가적으로, 본 발명은 경피 패취를 사용하는 것을 고려하는데, 이는 신체로 화합물의 제어된 운반을 제공하는 추가 장점을 가진다. 이와 같은 투약 형태는 예를 들면, 화합물을 적절한 매질에 용해 및/또는 분산시켜 만들 수 있다. 대안으로, 또는 추가적으로, 속도는 속도 조절 막을 제공하거나 및/또는 폴리머 매트릭스 및/또는 겔에 화합물을 분산시켜 조절될 수 있다.
- [0215] 경피로 약학 조성물을 운반하는데 이용되는 적합한 장치는 U.S. 특허 4,886,499; 5,190,521; 5,328,483; 5,527,288; 4,270,537; 5,015,235; 5,141,496; 및 5,417,662에서 설명된 것과 같은 짧은 바늘 장치를 포함한다. 경피 조성물은 PCT 공개 WO 99/34850에서 설명된 것과 같이, 피부로 바늘의 효과적인 침투 깊이를 조절하는 장치 또는 이의 기능적 등가물에 의해 투여될 수 있다. 액체 제트 분사장치를 통하여 및/또는 각질층을 뚫어 진피에 도달하는 바늘을 통하여 진피로 액체 백신을 운반하는 제트 분사 장치가 적합하다. 제트 분사 장치는 예를 들면, U.S. 특허 5,480,381; 5,599,302; 5,334,144; 5,993,412; 5,649,912; 5,569,189; 5,704,911; 5,383,851; 5,893,397; 5,466,220; 5,339,163; 5,312,335; 5,503,627; 5,064,413; 5,520,639; 4,596,556; 4,790,824; 4,941,880; 4,940,460; 및 PCT 공개 WO 97/37705 그리고 WO 97/13537에서 설명되고 있다. 피부의 외층을 통하여 진피로 분말 형의 백신을 촉진시키는 압착 가스를 이용하는 탄도성(Ballistic) 분말/입자 운반 장치가 적합하다. 대안으로, 또는 추가적으로, 통상적인 주사기를 진피 투여의 고전적인 방법

(mantoux) 방법에 이용할 수 있다.

- [0216] 국소 투여용으로 적합한 제제는 액체 및/또는 반-액체 제제 예를 들면, 바르는 약(liniments), 로션, 수중유 및/또는 유중수, 가령 크림, 연고 및/또는 페이스트, 및/또는 용액 및/또는 현탁액을 포함하나 이에 한정되지 않는다. 국소적으로 투여가능한 제제는 약 1% 내지 약 10% (w/w) 활성 성분을 포함할 수 있지만, 활성 성분의 농도는 용매에서 활성 성분의 용해 한계점과 같이 높은 농도가 될 수 있다. 국소 투여용 제제는 여기에서 설명된 것과 같이 하나 이상의 추가적 성분을 더 포함할 수 있다.
- [0217] 본 발명에 따른 약학 조성물은 구강(buccal cavity)을 통하여 폐 투여에 적합한 제제로 준비되고, 포장되고 및/또는 판매될 수 있다. 이와 같은 제제는 약 0.5 nm 내지 약 7 nm 또는 약 1 nm 내지 약 6 nm의 직경 범위를 가진 활성 성분을 포함하는 건입자를 포함할 수 있다. 이와 같은 조성물은 추진제 기류가 분말을 분산시키도록 되어 있는 건조 분말 저장기를 포함하는 장치를 이용하거나 및/또는 밀봉된 용기에 낮은 끓는 점의 추진제에 용해된 및/또는 현탁된 활성 성분을 포함하는 장치와 같은 자가-추진 용매/분말 분선 용기를 이용하여 투여용 건조 분말의 형태를 통상적으로 가진다. 이와 같은 분말들은 입자들을 포함하는데, 이때 입자의 최소한 98%wt는 0.5 nm 이상의 직경을 가지며, 입자 숫자의 최소한 95%는 7 nm미만의 직경을 가진다. 대안으로, 입자의 최소한 95%wt는 1nm 이상의 직경을 가지고 그리고 입자 숫자의 최소한 90%wt는 6 nm 미만의 직경을 가진다. 건조 분말 조성물은 슈가와 같은 고품 미세 분말 희석제를 포함할 수 있으며, 단위 투약형으로 제공된다.
- [0218] 낮은 끓는점의 추진제는 일반적으로 대기압에서 65°F의 끓는 점을 가지는 액체 추진제를 포함한다. 일반적으로 추진제는 조성물의 50% 내지 99.9% (w/w)를 구성하며, 활성 성분은 조성물의 0.1% 내지 20% (w/w)를 구성한다. 추진제는 액체 비-이온성 및/또는 고체 음이온성 계면활성제와 같은 추가 성분 및/또는 고체 희석제(활성 성분을 포함하는 입자와 동일한 입자 크기를 가질 수 있다)를 더 포함할 수 있다.
- [0219] 폐 운반을 위하여 제조된 본 발명에 따른 약학 조성물은 용액 및/또는 현탁액의 방울 형태로 활성 성분을 제공할 수 있다. 이와 같은 제제는 활성인 성분을 포함하는 수용성 및/또는 희석된 알코올 용액 및/또는 현탁액(선택적으로 멸균된)과 같이 제조되고, 포장되고 및/또는 판매될 수 있으며, 그리고 임의의 분무(nebulization) 및/또는 분무(atomization) 장치를 이용하여 투여될 수 있다. 이와 같은 제제는 사카린 나트륨, 휘발성 오일, 완충제, 표면-활성제와 같은 풍미제, 및/또는 메틸하이드록시벤조산과 같은 보존제 포함하나 이에 한정되지 않는 추가 성분을 더 포함할 수 있다. 투여 경로에 의해 제공되는 방울은 약 0.1 nm 내지 약 200 nm 범위의 평균 직경을 가질 수 있다.
- [0220] 폐 운반으로 유용한 여기에서 설명된 제제는 약학 조성물의 코 안 운반에 유용하다. 코안 투여에 적합한 또 다른 제제는 활성 성분을 포함하고, 그리고 약 0.2 μm 내지 500 μm의 평균 입자 크기를 가지는 거친 분말이다. 이와 같은 제제는 코에 가까이 분말 용기를 두고 비강을 통하여 신속하게 흡입함으로써 숨을 코로 들이마시는 것과 같은 방식으로 투여된다.
- [0221] 비강 투여에 적합한 제제는 예를 들면, 활성 성분이 0.1% (w/w)로 적게, 그리고 100% (w/w)와 같이 많이 포함되며, 여기에서 설명된 하나 이상의 추가 성분을 포함한다. 본 발명에 따른 약학 조성물은 볼 투여에 적합한 제제로 준비되고, 포장되고, 및/또는 판매될 수 있다. 이와 같은 제제는 예를 들면, 통상적인 방법을 이용하여 만들어진 테블릿 및/또는 마름모꼴 알약(lozenge)의 형태가 되며, 그리고 예를 들면, 0.1% 내지 20% (w/w) 활성 성분을 포함하고, 나머지는 구강으로 용해가능한 및/또는 분해가능한 조성물과, 선택적으로 여기에서 설명된 하나 이상의 추가 성분을 포함한다. 대안으로, 볼 투여에 적합한 제제는 활성 성분을 포함하는 분말 및/또는 에어로졸화된 및/또는 분무된(atomized) 용액 및/또는 현탁액을 포함할 수 있다. 이와 같은 분말화된, 에어로졸화된, 및/또는 에어로졸화된 제제는 분산되었을 때, 약 0.1 nm 내지 약 200 nm 범위의 평균 입자 및/또는 방울 크기를 가질 수 있으며, 그리고 여기에서 설명된 하나 이상의 추가 성분을 포함할 수 있다.
- [0222] 본 발명에 따른 약학 조성물은 눈으로 투여하기에 적합한 제제로 준비되고, 포장되고, 및/또는 판매될 수 있다. 이와 같은 제제는 예를 들면, 수용성 또는 오일성 액체 부형제에 활성 성분 0.1/1.0% (w/w) 용액 및/또는 현탁액을 포함하는 안약 형태가 될 수 있다. 이와 같은 안약은 완충 물질, 염, 및/또는 여기에서 설명된 하나 이상의 다른 추가 성분을 더 포함할 수 있다. 유용하게 다른 눈으로 투여가능한 제제는 미소결정 형 및/또는 리포솜 제제에 활성 성분을 포함하는 것들이다. 점이약(Ear drops) 및/또는 안약 또한 본 발명의 범위내에 있는 것으로 간주된다.
- [0223] 약학 물질의 제제 및/또는 제조에서 전반적인 고려 사항들은 예를 들면, *Remington: The Science and Practice of Pharmacy 21st ed., Lippincott Williams & Wilkins, 2005*에서 볼 수 있다.

- [0224] **키트(kits)**
- [0225] 본 발명은 본 발명에 따른 방법을 편리하게 및/또는 효과적으로 실행하기 위한 다양한 키트를 제공한다. 키트는 본 발명에 따른 하나 이상의 HCV 항체(가령, HC-1, HC-3, HC-11, 및 CBH-23)를 일반적으로 포함한다. 일부 구체예에서, 키트는 상이한 목적(가령, 진단, 치료, 및/또는 예방)에 이용될 수 있는 상이한 HCV 항체 집합을 포함한다. 일반적으로 키트는 충분한 양의 HCV 항체를 포함하여, 사용자가 개체에게 다수의 투여 및/또는 다수의 실험을 할 수 있다. 일부 구체예에서, 키트는 구입자가 명시한 하나 이상의 HCV 항체로 공급되거나 이를 포함한다.
- [0226] 특정 구체예에서, 본 발명에 따라 이용되는 키트는 하나 이상의 기준 시료; 지시사항(가령, 시료 프로세싱용, 테스트 실시용, 결과 해석용, HCV 항체 용해용, HCV 항체의 보관용, 등); 완충액; 및/또는 테스트를 실행하는데 필요한 다른 시약을 포함할 수 있다. 특정 구체예에서, 키트는 항체 패널을 포함할 수 있다. 키트의 다른 성분들은 세포, 세포 배양물 배지, 조직, 및/또는 조직 배양물 배지를 포함할 수 있다.
- [0227] 키트는 사용을 위한 지침을 포함할 수 있다. 예를 들면, 지침은 사용자에게 HCV 항체를 포함하는 약학 조성물을 만드는 적절한 과정 및/또는 개체에게 약학 조성물을 투여하는 적절한 과정을 알려줄 수 있다.
- [0228] 일부 구체예에서, 키트는 HCV 항체를 포함하는 약학 조성물의 다수의 단위 투약형을 포함한다. 기억 보조물이 제공될 수 있는데, 예를 들면 투약되는 치료 일정에서 일자/시간을 표시하는 숫자, 문자, 및/또는 다른 표시형태 및/또는 달력 삽입물 형태가 된다. 약학 조성물의 투약형과 유사한 형태 또는 별개의 형태로 플라시보 투약, 및/또는 갈습 식이 보충제가 포함되어, 매일 투약되는 키트를 제공할 수 있다.
- [0229] 키트는 특정 해당 성분 또는 물질이 별도로 보관될 수 있도록 하나 이상의 용기 또는 그릇을 포함할 수 있다. 키트는 시판용으로 상대적으로 닫힌 틀에서 해당 용기를 에워싸는 수단을 포함할 수 있는데, 예를 들면, 플라스틱 박스를 포함하는데, 이때 지시사항, 스타이로폼과 같은 포장 물질이 포함될 수 있다.
- [0230] 일부 구체예에서, 키트는 HCV를 앓고 있는, 이에 걸리기 쉬운 개체의 치료, 진단, 및/또는 예방에 이용된다. 일부 구체예에서, 이와 같은 키트는 (i) 최소한 하나의 HCV 항체; (ii) 최소한 하나의 HCV 항체를 개체에게 투여하기 위한 주사기, 바늘, 어플레케이터, 등; 그리고 (iii) 사용 지침을 포함한다.
- [0231] 일부 구체예에서, 키트는 HCV를 앓고 있는, 이에 걸리기 쉬운 개체의 치료, 진단, 및/또는 예방에 이용된다. 일부 구체예에서, 이와 같은 키트는 (i) 동결건조된 분말로 제공되는 최소한 하나의 HCV 항체; 그리고 (ii) 동결건조된 분말을 재구성하기 위한 희석제를 포함한다. 이와 같은 키트는 선택적으로 최소한 하나의 HCV 항체를 개체에게 투여하기 위한 주사기, 바늘, 어플레케이터, 등과 및/또는 사용 지침을 포함할 수 있다.
- [0232] 본 발명은 최소한 하나의 HCV 항체를 포함하는 백신 생산을 위한 물질을 포함하는 키트를 제공한다. 일부 구체예에서, 이와 같은 키트는 (i) HCV 항체, 이의 특징적 부분, 및/또는 이의 생물학적으로 활성인 부분을 발현시키는 세포; (ii) 세포를 성장시키기 위한 배지; 및 (iii) 항체 정제에 유용한 컬럼, 수지, 완충액, 튜브 및 기타 도구를 포함할 수 있다. 일부 구체예에서, 이와 같은 키트는 (i) HCV 항체, 이의 특징적 부분, 및/또는 이의 생물학적으로 활성인 부분을 인코딩하는 뉴클레오티드를 포함하는 플라스미드; (ii) Vero 및 MDCK 세포계를 포함하는 포유류 세포계와 같은 플라스미드로 형질변환될 수 있는 세포; (iii) 세포를 성장시키기 위한 배지; (iv) 네가티브 기준으로써 HCV 항체를 인코딩하는 뉴클레오티드가 없는 발현 플라스미드; (v) 항체 정제에 유용한 컬럼, 수지, 완충액, 튜브 및 기타 도구; 그리고 (vi) 사용 지침을 포함할 수 있다.
- [0233] 일부 구체예에서, 키트는 하나 이상의 시료에 HCV의 존재를 탐지하는데 이용된다. 이와 같은 시료는 혈액, 혈청/혈장, 말초 혈액 단핵세포/말초 혈액 임파세포 (PBMC/PBL), 객담, 뇨, 대변, 인두점막 도찰물, 피부 병소 스왑(swabs), 뇌척수액, 자궁경부 세포 도말, 고름 시료, 푸드 매트릭스, 및 뇌, 비장, 간과 같은 신체의 다양한 부분의 조직을 포함하나 이에 한정되지 않는 병리학적 시료가 될 수 있다. 이와 같은 시료는 토양, 물, 및 식물상(flora)을 포함하나 이에 한정되지 않는 환경 시료가 될 수 있다. 열거하지 않은 다른 시료들 또한 이용될 수 있다. 일부 구체예에서, 이와 같은 키트는 (i) 최소한 하나의 HCV 항체; (ii) 포지티브 기준으로 HCV를 포함하는 것으로 알려진 시료; (iii) 네가티브 기준으로 HCV를 포함하지 않는 것으로 알려진 시료; 그리고 (iv) 사용 지침을 포함한다.
- [0234] 일부 구체예에서, 키트는 하나 이상의 시료에서 HCV를 중화시키는데 이용된다. 이와 같은 키트는 HCV를 포함하는 시료를 최소한 하나의 HCV 항체로 치료하고, 그리고 처리된 시료의 배양된 세포를 감염시키는 능력을 처리안

된 시료와 비교하여 테스트하는데 필요한 물질을 제공할 수 있다. 이와 같은 키트는 may include (i) 최소한 하나의 HCV 항체; (ii) 배양될 수 있고, 그리고 HCV로 감염될 수 있는 세포; (iii) 네가티브 기준으로 HCV에 결합하여 이를 중화시킬 수 없는 항체; (iv) 포지티브 기준으로 HCV에 결합하여 이를 중화시킬 수 있는 항체; (v) 네가티브 기준으로 HCV를 포함하지 않는 것으로 알려진 시료; (vi) 포지티브 기준으로 HCV를 포함하는 것으로 알려진 시료; 그리고 (vii) 사용 지침을 포함한다.

[0235] 본 발명의 이와같은 측면 및 다른 측면들은 다음의 실시예를 고려하면 더 이해될 것이며, 실시예는 본 발명의 특정 구체예를 설명하지 위한 의도이며, 청구범위에 의해 한정되는 본 발명의 범위를 이에 한정하려는 의도는 없다.

[0236] **실시예**

[0237] **실시예 1: 중화 인간 단클론 항체에 의해 HCV E2 당단백질상에 보존된 면역 우성 도메인의 정의**

[0238] 재료 및 방법

[0239] 세포 및 배양 조건

[0240] 293T 및 CHO-K1 세포는 ATCC로부터 구하였다. Huh7 세포는 Dr. Michael Lai (*University of Southern California*)으로부터, 그리고 Huh7.5 세포는 Dr. Charles Rice (*Rockefeller University*)으로부터 구하였다. 세포를 10% 태아 송아지 혈청(FCS, Sigma-Aldrich Co. St. Louis, MO) 및 2mM 글루타민이 보충된 Dulbeccos 변형된 최소 필수 배지(DMEM, Invitrogen, Carlsbad, CA)에서 성장시켰다. CHO-K1 세포는 L-글루타민이 포함된, 그리고 10% FCS가 보충된 F-12 Kaighn 배지(Invitrogen 21127-022)에서 성장시켰다.

[0241] 바이러스 및 바이러스 모델

[0242] HCVpp (유전자형 1a)의 생산 및 정제는 이미 설명되어 있다(*Bartosch et al., 2003, J. Exp. Med., 197:633-42; and Keck et al., 2005, J. Virol., 79:13199-208*; 이들 모두 참고문헌에 통합된다). 간략하게 설명하면, 칼슘-포스페이트 방법을 이용하여 HCVpp 플라스미드로 293T 세포를 형질감염시켰다. 48 시간 성장 후, 0.45 μm 포어-크기 필터를 이용하여 여과시킴으로써 무세포 상층액을 수거하였다.

[0243] 감염성 유전자형 2a JFH-1 바이러스, HCVcc (*Wakita et al., 2005, Nat. Med., 11:791-96*; 참고문헌에 통합된다)를 생산하기 위하여, XbaI 선형화된 pJFH-1 플라스미드를 시험관에서 전사시키고(MEGAScript; Ambion, Austin, TX) 그리고 Huh7.5 세포로 전기천공시켰다. 간략하게 설명하면, 10μg의 시험관에서 전사된 JFH-1 RNA를 4mm 큐벳안에서 10 μg 송아지 간 tRNA를 포함하는 칼슘 없는 PBS에서 0.4×10^6 Huh7.5 세포와 혼합하였고, Bio-Rad Gene Pulser System을 이용하여 0.27 kV 및 960 μF에서 펄스하였다. 전기천공된(Electroporated) 세포를 10cm 세포 배양 접시의 10 % FCS를 포함하는 10ml 완전 DMEM에 접종하였다. HCV E2의 발현은 세포의 각 계대에서 간접적 면역형광 분석 (IFA)으로 확인하였다. JFH-1 바이러스 생산을 위하여, 형질감염된 세포를 4-내지 5-일 간격으로, 1:4 내지 1:5으로 나누어 새로운 배양 플라스크로 계대하였다. 작은 방울에 둔 바이러스 수거물은 -80 °C에 보관하였다. 1a HJ3-5 HCVcc의 생산은 이미 설명된 바 있다(*Yi et al., 2006, Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 103:2310-15; and Yi et al., 2007, J. Virol., 81:629-38*; 이들 모두 참고문헌에 통합된다).

[0244] 항체 및 시약

[0245] HCV E2에 대한 항체, CBH-4G는 이미 설명되었다(*Hadlock et al., 2000, J. Virol., 74:10407; and Keck et al., 2005, J. Virol., 79:13199*; 이들 모두 참고문헌에 통합된다). c-myc에 대한 뮤린 MAb은 Santa Cruz Biotechnology (*Santa Cruz, CA*)에서 구입하였다. CD81 LEL는 Dr. Shoshana Levy (*Stanford University*)으로부터 구하였다. FITC-콘쥬게이트된 염소 항-인간 IgG, Fc γ 단편 특이적 및 R-피코에리틴-콘쥬게이트된 F(ab')₂ 단편 염소 항-마우스 IgG (H+L)는 Jackson Immuno Research (*West Grove, PA*)으로부터 구하였다. 알칼리 포스파타제 콘쥬게이트된 염소 항-인간 IgG (H+L) 및 알칼리 포스파타제 콘쥬게이트된 염소 항-마우스 IgG (H+L)는 Promega (Madison, WI)으로부터 구하였다. *Galanthus nivalis* 렉틴(GNA) 및 p-니트로페닐 포스페이트

이나트륨 핵사-하이드레이트(포스파타제 기질)는 Sigma (*St. Louis, MO*)로부터 구입하였다.

[0246] 단클론 항체 생산 및 정제

[0247] 말초 혈액 B 세포로부터 새로운 HCV 항체의 생산은 Hadlock et al. (2000, *J. Virol.*, 74:10407; 참고문헌에 통합된다)에서 설명된 것과 같이 기본적으로 실시되었다. 아류형 1a 또는 1b HCVpp 감염된 세포 용해물을 표적 항원 (GenBank accession no AF348705)으로 이용하여 간접적 면역형광 분석 (IFA)으로 특이적 HCV 항체를 선택하였다. 단클론성(monoclonality)은 제한된 희석 클로닝에 의해 이루어지며, IgG 유전자의 DNA 서열화에 의해 확인하였다(Sequetech, Mountain View, CA) IgG 유전자의 V_L 및 V_H 도메인의 클로닝 및 분석은 이미 설명된 것과 같이 실시되었다(Keck et al., 2004, *J. Virol.*, 78:7257; 참고문헌에 통합된다). HCV 항체 생산 및 정제는 Hadlock et al. (2000, *J. Virol.*, 74:10407; 참고문헌에 통합된다)에서 설명된 것과 같이 기본적으로 실시되었고, 그리고 항체의 바이오티닐화는 제조업자의 지시에 따라 실시하였다(Pierce Biotechnology, Inc, Rockford, IL).

[0248] IgG 하위부류 분류

[0249] IgG 하위부류 분류는 제조업자의 프로토콜에 따라 인간 IgG 하위부류 SD Combi BINDARDID Kit (The Binding Site Inc., San Diego, CA)를 이용하여 실시하였다.

[0250] 간접 면역형광 분석

[0251] 유전자형 1 내지 6의 E1E2 서열을 보유하는 구조체로 293T 세포를 형질감염시키고, 48시간 후, 형질감염된 세포를 HTC Super Cured 24-spot 슬라이드(Cel-Line Associates, Newfield, N.J.)상에 실온에서 10분간 100% 아세트론으로 고정시켰다. 고정된 세포를 37°C에서 30분간 항체와 항온처리하였고, 그리고 PBS, pH 7.4로 5분간 세척하였다. 그 다음 슬라이드를 Evan 블루 카운트착색 및 플로로에신 이소티오시아네이트(FITC)-콘주게이트된 염소 항-인간 IgG(Jackson ImmunoResearch Laboratories, West Grove, PA) 0.001% 용액과 함께 37°C에서, 30분간 항온처리하였다. 고정된 세포에 결합된 항체는 Hadlock et al., 1997, *J. Virol.*, 71:5828-40;(참고문헌에 통합된다)에서 설명된 것과 같이 형광 현미경으로 나타났다.

[0252] 항체 서열화

[0253] 인간 단클론 항체 V_L 및 V_H 도메인 CDR 서열화는 Keck et al., 2004, *J. Virol.*, 78:7257-63(참고문헌에 통합된다)에서 설명된 것과 같이 실행되었다. 기본적으로 H-111의 중쇄 및 경쇄의 전체적인 가변 구역을 서열화하여, FRs 및 CDRs, 생식계열 V 유전자 대응부(counterparts)를 확인하였고, 그리고 V 도메인의 성숙한 상태를 결정하였다. 이미 설명된 것과 같이(Campbell et al., 1992, *Mol. Immunol.*, 29:193-203; and Chan et al., 2001, *Blood*, 97:1023-26 이들 모두 참고문헌에 통합된다), HC-1, HC-3, HC-11 및 CBH-23의 V_L 및 V_H 도메인은 5' 패 밀리-특이적 V 리더 프라이머 및 3' J 구역 프라이머를 이용하여 상응하는 하이브리도마 세포(RNeasy mini kit, Qiagen, Valencia, CA)로부터 분리된 전체 세포 RNA로부터 RT-PCR에 의해 증폭되었다. 벡터 NTI (Invitrogen, San Diego, CA)를 이용하여 서열을 분석하였고, 그리고 V-QUEST 및 VBASE 데이터베이스(Cook and Tomlinson, 1995, *Immuno. Today*, 16:237-42; 참고문헌에 통합된다)를 이용하여 생색계열 서열과 함께 배열하였다.

[0254] 경쟁 분석

[0255] 항체 교차-경쟁 연구는 이미 설명된 것과 같이 실행하였다(Keck et al., 2004, *J. Virol.*, 78:9224; 참고문헌에 통합된다). 간략하게 설명하면, 1b HCVpp 세포 용해물을 37°C에서 1시간 동안 GNA/PBS로 피복된 96웰 플레이트상에서 캡처하였다. 세척 및 차단 후, 20 µg/ml에서 경쟁 항체를 각각의 웰에 첨가하였고, 실온에서 30분간 항온처리한 후, 바이오티닐화된 테스트 항체를 2 µg/ml 첨가하였다. 실온에서 1.5시간 항온처리후, 알칼리 포스파타제-콘주게이트된 스트렙타아비딘 (R & D System, Minneapolis, MN)을 이용하고, 색 발생을 위하여 p-니

트로페닐 포스페이트로 항온처리하여 테스트 항체를 탐지하였다. 450nm에서 멀티웰 판독기(*Molecular Decive, Sunnyvale, CA*)로 흡수도를 측정하였고, 570nm에서 배경 판독을 감하였다. 경쟁 항체 존재하에 E2에 대한 바이오티닐화된 테스트 HCV 항체로 측정하였을 때 평균 OD 값을 경쟁 항체 없이 E2에 대한 바이오티닐화된 테스트 HCV 항체로부터 측정된 시그널로 나누고, 100을 곱하면, E2에 결합된 테스트 항체 비율을 수득하였다. 다른 항체에 대한 새로운 HCV 항체의 관련성은 *Keck et al., 2004, J. Virol., 78:9224*(참고문헌에 통합된다)에서 이미 설명된 것과 같이, 수학적 평균을 이용하여 비가중평균결합방법(unweighted pair-group method)의 변형 방식으로 결정되었다. 이 방법은 경쟁 항체에 의한 에피토프 오버랩 정도로 양방향성 저해(bidirectional inhibition) 정도를 추정한다. 단방향성 저해(Unidirectional inhibition) 또는 강화는 오버래핑이 아닌 인접(proximal) 에피토프로 해석된다.

[0256] 면역침강(Immunoprecipitation)

[0257] 1b HCVpp를 생산하는 293T 세포는 10 mM Tris-HCl, pH 7.5, 150 mM NaCl, 1% NP-40, 20 mM α-요오드아세트아미드, 및 프로테아제 억제제를 포함하는 완충액으로 용해시켰다. 이것을 항원 소스로 이용하였고, 대략적으로 225 ng/ml의 E2가 한번의 면역침강에 이용되었다. 2 μg/ml HCV 항체를 4°C에서 1.5시간 동안 항원과 항온처리하고, 고정된 단백질 A (*Pierce, Rockford, IL*)와 4°C에서 추가 1.5시간 동안 항온처리하였다. 각 단계 사이에, 비드를 IP 용해 완충액으로 한 번씩 세척하였다. 마지막 단계 후, IP 용해 완충액으로 3회 세척하고, 증류수로 1회 세척하였다. SDS-PAGE 시료 완충액에서 70°C, 5분간 침전물을 가열하고, 10% SDS-폴리아크릴아미드 겔상에 엮고, 그리고 니트로셀룰로오즈 막으로 옮겼다. 막은 뮤린 MAb AP33으로 면역블랏팅시키고 (*Owsianka et al., 2005, J. Virol., 79:11095*; 참고문헌에 통합된다), HRP-콘주게이트된 2차 항체 (*Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA*)와 함께 항온처리하고, ECL Plus Western 블랏팅 탐지 시스템(*GE Healthcare*)을 이용하여 탐지하였다.

[0258] 항체 친화력 측정

[0259] 항체 친화력 측정은 1 μg/ml의 E2 당단백질을 포함하는 1a HCVpp 세포 용해물로 실행하였다. 각각 웰을 500 ng의 GNA으로 피복시키고, TBST (20 mM Tris-HCl, pH 7.5, 150 mM NaCl, 0.1% Tween-20)에 2.5% 탈지 분유 및 2.5% 표준 염소 혈청을 포함하는 BLOTTO으로 웰을 차단시켜 미량적정 플레이트를 준비하였다. 차단 후, 세포 용해물에 E2는 플레이트 상에 GNA로 캡처되었고, 나중에 0.01 μg/ml 200 μg/ml 범위의 HCV 항체에 의해 결합되었다. 결합된 HCV 항체는 알칼리 포스파타제-콘주게이트된 염소 항-인간 IgG (*Promega, Madison, WI*)으로 항온처리하고, 색 발생을 위하여 p-니트로페닐 포스페이트로 항온처리하였다. 흡수도는 405 nm 및 570 nm에서 측정되었다. Prism 소프트웨어(GraphPad)를 이용하여 항체 해리 상수, K_d, 그리고 최대 결합, B_{max} (OD)를 측정하기 위하여 비-선형 회귀 분석에 의해 데이터를 분석하였다.

[0260] HCV RNA 형질감염 및 바이러스 생산

[0261] XbaI 선형화된 pJFH-1 플라스미드를 시험관에서 전사시키고(MEGAscript; Ambion, Austin, TX) 그리고 Huh7.5 세포로 전기천공시켰다. 간략하게 설명하면, 10μg의 시험관에서 전사된 JFH-1 RNA를 4mm 큐벳안에서 10 μg 송아지 간 tRNA를 포함하는 칼슘 없는 PBS에서 0.4 × 10⁶ Huh7.5 세포와 혼합하였고, Bio-Rad Gene Pulser System을 이용하여 0.27 kV 및 960 μF에서 펄스하였다. 전기천공된 세포를 10cm 세포 배양 접시의 10% FCS를 포함하는 10ml 완전 DMEM에 접종하였다. HCV E2의 발현은 세포의 각 계대에서 간접적 면역형광 분석(IFA)으로 확인하였다. JFH-1 바이러스 생산을 위하여, 형질감염된 세포를 4- 내지 5-일 간격으로, 1:4 내지 1:5으로 나누어 새로운 배양 플라스크로 계대하였다. 모자진 배지 바이러스 역가는 하기에서 설명하는 것과 같이, 포커스 형성 단위(focus forming unit)로 측정되었고, 작은 방울에 두고, -80 °C에 보관하였다.

[0262] 제 2 감염성 HCV 바이러스는 JFH-1 바이러스 계놈의 코어-NS2 단편을 아류형 1a H77 바이러스의 필적하는 단편으로 대체하여 만들어진 인터-유전자형(inter-genotypic) 키메라 바이러스다(*Yi et al., 2007, J. Virol., 81:629*; 참고문헌에 통합된다). 키메라 바이러스, H-[NS2/NS3]-J/Y361H/Q1251L (이하 “HJ3-5”으로 칭함)는 세포 배양물에서 성장을 촉진시키는 두 개의 보상적인 돌연변이를 포함하며, 이중 하나는 *Yi et al., 2007, J. Virol., 81:629*에서 나타난 것과 같이(참고문헌에 통합된다), E1 서열(폴리단백질 잔기 361)내에 있다. FT3-

7 세포에서 바이러스 스톱을 만들었다(*Blight et al., 2002, J. Virol., 76:13001; 참고문헌에 통합된다.*)

[0263] *HCVpp 중화 분석*

[0264] HCVpp 중화는 이미 설명된 것과 같이 실시되었다(*Keck et al., 2007, J. Virol., 81:1043-47; and Keck et al., 2005, J. Virol., 79:13199-208; 이 둘 모두 참고문헌에 통합된다.*). 간략하게 설명하면, Huh-7 세포를 흰색의 불투명한 96 웰 플레이트에서 웰당 8×10^3 개의 세포로 감염전에 접종시켰다. 항체 없는 기준으로 PBS를 이용하여 Huh-7 세포를 첨가하기 전에 37°C에서 60분간 다양한 농도의 항체와 함께 감염 배지를 항온처리하였다. 15분간 항온처리 후, HCVpp 배지를 새로운 완전 배지로 대체하고, 추가 72시간 동안 항온처리하였다. 항체 중화 활성은 PBS를 포함하는 감염 배지와 비교하여 루시퍼라제 활성의 감소 비율로 결정되었다.

[0265] *HCVcc 감염성 분석*

[0266] HCVcc의 중화는 면역블랏팅으로 모니터하였을 때 감염된 세포에서 NS3 발현 감소로 평가되었다. 350 μ l 방울의 2a JFH-1 바이러스 (105 FFU/ml) 또는 1a HJ3-5 HCVcc 감염된 세포 배양물 상층액은 20 μ g/ml의 항체와 1시간 동안 37°C에서 항온처리하고, 웰당 32,000 세포의 밀도로 24웰 플레이트에서 이미 24시간 전에 접종된 순수 (naive) Huh 7.5 세포에 접종하였다. 감염 후 3 시간 시점(hpi)에서, HCV/항체를 포함하는 배지를 제거하였고, 세포를 PBS로 세척하였고, 새로운 완전 DMEM으로 대체하였다. 72 hpi에서 웨스턴 블랏팅 분석을 위하여 세포를 수거하였다. SDS-PAGE 시료 완충액에서 70°C에서 5분간 시료를 가열하였고, 10% SDS-폴리아크릴아미드 겔상에서 이동시켰고, 니트로셀룰로오즈 막으로 이동시켰다. 막은 항-NS3 항체로 면역블랏팅시키고, HRP-콘주게이트된 2차 항체 (Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA)로 항온처리하고, ECL Plus Western 블랏팅 탐지 시스템 (GE Healthcare)을 이용하여 탐지하였다. Bio-Rad gel doc 시스템으로 영상을 캡처하였다. 중화 비율을 항체 없는 기준과 비교하였다. R04는 HCMV에 대해 이소타입-일치된 단클론 항체이며, 네가티브 기준으로 이용되었다.

[0267] *초점 형성 단위(FFU) 환원 분석(Focus-forming unit(FFU) reduction Assay)*

[0268] 60 μ l 방울의 스톱 HJ3-5 또는 JFH-1 바이러스 (대략적으로 100 FFU)를 동량의 희석된 항체와 혼합하였고, 37°C에서 1시간 동안 항온처리하였고, 그 다음 8-웰 챔버 슬라이드에 24시간 전에 접종된 Huh 7.5 세포상에서 바이러스/항체 혼합물 100 μ l와 항온처리되었다(*Nalge Nunc Rochester, NY*). 배양물을 24시간 동안 5% CO₂ 환경, 37°C에 두고, 추가 200 μ l의 배지를 공급하였고, 그 다음 추가 47시간 동안 다시 배양하였다. 상층액 유체를 제거하였고, 세포는 PBS로 한번 세척하였고, 그리고 세포는 1:1 메탄올-아세톤으로 고정시키고, 코어 단백질에 특이적인 MAb C7-50으로 1:300으로 라벨링시켰다(*Affinity BioReagent, Golden, CO*)(*Yi et al., 2007, J. Virol., 81:629; 참고문헌에 통합된다.*). 강력한 세척 후, FITC-콘주게이트 염소 항-마우스 IgG (1010-02, Southern Biotech, Birmingham, AL)와 1:100 희석으로 2차 라벨링시키고, 핵은 Bisbenzimidazole H (Hoechst, Frankfurt am Main, Germany)으로 대비-착색시키고, 슬라이드는 Zeiss UV 형광 현미경에 얹고 검사하였다. 각 슬라이드에서 항원-포지티브 세포의 초점을 카운트하였고, 코어 항원에 대해 포지티브 착색된 각 클러스터는 하나의 감염성 초점-형성 단위(FFU)를 구성하는 것으로 간주되었다(*Yi et al., 2007, J. Virol., 81:629; and Yi et al., 2006, Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 103:2310; 이 둘 모두 참고문헌에 통합된다.*). 중화 비율은 무관한 기준 항체, R04로 항온처리되었을 때 바이러스와 비교하여 FFU의 감소로 계산되었다.

[0269] *CD81에 E2 결합의 차단*

[0270] 1 μ g/ml E2를 포함하는 293T에서 발현되는 유전자형 1b E1E2은 10 μ g/ml로 실온에서 1시간 동안 항온처리되었고, 항체-항원 복합체를 CD81 사전-피복된 웰에 첨가하였다. 웰을 세척하고, 1시간 동안 5 μ g/ml 바이오티닐화된 CBH-4D으로 항온처리하였다. 결합된 CBH-4D를 알카리 포스파타제-콘주게이트된 스트렙타비딘 (*R&D System; Minneapolis, MN*)으로 탐지하고, 색 발생을 위하여 p-니트로페닐 포스페이트로 항온처리하였다. 플레이트 판독기 Spectra Max 190(Molecular Device (Sunnyvale, CA))를 이용하여 405nm에서 흡수도를 측정하였다. CBH-5는 포지티브 기준으로, 그리고 R04는 네가티브 기준으로 이용되었다.

[0271]

[0272] 부위-직접적인 돌연변이 생성에 의한 에피토프 매핑

[0273] 알라닌 스캐닝 돌연변이생성은 QuickChange II 부위-직접적인 돌연변이생성 키트 (*Stratagen, La Jolla, CA*)를 이용하여 제공된 프로토콜에 따라 실행되었다. 돌연변이를 유전자형 1a H77c 균주의 E2로 도입시켰다(GenBank 기탁번호 AF009606). 모든 돌연변이체를 서열화하여(*Sequetech, Mountain View, CA*) 클론이 예측한 돌연변이만을 보유하는지를 확인하였다. 돌연변이된 E2 단백질을 293T 세포에서 발현시키고, ELISA로 분석하였다. 간략하게 설명하면, 미량적정 플레이트는 웰당 *Galanthus nivalis* 렉틴(GNA) 500ng으로 피복시키고, TBST (20mM Tris-HCl, pH 7.5, 150 mM NaCl, 0.1% Tween-20)에서 2.5% 탈지 분유 및 2.5% 표준 염소 혈청을 포함하는 BLOTTO로 차단시켰다. 차단후, 형질감염된 BLOTTO에 희석된 형질감염된 세포 용해물을 플레이트에 첨가하였다. 그 다음 결합된 돌연변이체 E2 단백질을 HC-1 또는 HC-11와 함께 항온처리하였고, 알칼리 포스파타제-콘주게이트된 염소 항-인간 IgG으로 항온처리하였다. 그 다음 p-니트로페닐 포스페이트 이나트륨 핵사-하이드레이트를 첨가하여 시각화시키고, 405nm에서 흡수도를 판독하였다. 결과는 도 7에 나타낸다. 돌연변이체 E2 단백질의 유도된 값은 wt H77c E2에서 관찰된 것의 비율로써 나타내었다. 돌연변이된 아미노산은 y축에 나타내었다. 두 개의 치환된 아미노산 사이의 숫자는 기준 균주 H (GenBank 기탁번호 AF009606)의 폴리단백질에 위치에 해당된다. 각각 돌연변이에 HC-1 및 HC-11 HCV 항체의 결합은 E2 상의 선형 에피토프에 대한 항체 CBH-17의 결합에 의해 표준화되고, x-축상에 야생형에 대한 HC 항체의 결합으로 나눈, 결합 값 비율로 나타낸다.

[0274] ELISA에 의한 E2 돌연변이체에 HCV 항체의 결합

[0275] 돌연변이체 E2 당단백질에 항체 결합을 측정하기 위하여 ELISA를 실행하였다. 미량적정 플레이트는 웰당 500 ng GNA으로 피복시키고, TBST (20mM Tris-HCl, pH 7.5, 150 mM NaCl, 0.1% Tween-20)에서 2.5% 탈지 분유 및 2.5% 표준 염소 혈청을 포함하는 BLOTTO로 차단시켰다. 293T 세포 용해물에서 발현된 야생형 및 돌연변이된 E2 당단백질은 GNA 피복된 플레이트 상에서 캡쳐되었다. 항-c-myc 마우스 MAb를 이용하여 표준화시킨 E2 양으로 각 웰에서 각 항체에 의해 결합된 E2가 탐지되었다. 결합된 항체는 알칼리 포스파타제-콘주게이트된 염소 항-인간 IgG와 항온처리되었으며, 이어서 색 발생을 위한 p-니트로페닐 포스페이트와 항온처리되었다. 405 nm 및 570 nm에서 흡수도를 측정하였다. 돌연변이체 E2 단백질에 대한 유도된 값은 야생형 E2에서 관찰된 것에 대한 비율로 나타내었다.

[0276] HCVpp 중화 시간 과정

[0277] 부착후 상이한 시간 간격에서 HCVpp 감염의 항체-중재된 중화는 *Evans et al., 2007, Nature, 446:801-5*(참고 문헌에 통합된다)에서 설명된 것을 기본하여 변형 실행되었다. HCVpp를 포함하는 293T 세포로부터 수거한 세포 상청액은 0.45 μm 필터를 이용하여 여과시켰고, 4°C로 냉각시켰다. Huh 7.5 세포를 감염 24시간 전 폴리-L-리신 피복된 24개 웰 조직 배양 플레이트에서 웰당 3.2×10^4 개의 세포 농도로 접종하였다. 4°C 그리고 t=-120 분에서 Huh 7.5 세포를 사전-냉각시키고, 배지를 4 μg/ml 폴리브렌 및 50 mM Hepes를 포함하며, 표시된 바와 같이 항체를 포함하거나 또는 없는 200 μl의 HCVpp로 대체하였다. 2100 rpm, 120 분, 4°C에서 플레이트를 원심 분리시켰다. t = 0 분 시점에서, 플레이트를 1 ml 냉각 PBS로 2회 세척하였고, 그 다음 4 μg/ml 폴리브렌 및, 항체 포함 또는 항체 없는 새로운 37°C 배지를 첨가하였고, 플레이트를 37°C, CO₂ 인큐베이터에 두었다. 상이한 시간 간격에서, 지정된 농도로 항체를 배지에 첨가하였다. 감염후 18시간 시점에서, 배양 배지는 항체가 없는 새로운 배지로 교환하였다. 감염 3일 후 100 μl 세포 배양물 용해 완충액에 세포를 수거하였고, 100 μl Bright Glo 시약(Promega (Madison, WI))을 첨가하여 루시퍼라제 리포터의 발현을 측정하였다.

[0278] 쿠션 펠렛(Cushion pellet) 바이러스 분석

[0279] HCV 가짜입자들 (HCVpp)은 *Bartosch et al., 2003, J. Exp. Med., 197:633-42; and Keck et al., 2005, J. Virol., 79:13199-208*(이들 모두 참고문헌에 통합된다)에서 설명된 것과 같이, env-결핍성 프로바이러스의 게놈을 포함하는 플라스미드, 그리고 HCV 당단백질 (gps)을 인코딩하는 발현 플라스미드로 동시-형질감염시켜 만들었다. 여기에서, HCVpp는 HC-3 에피토프 결합에 관여하는 6개의 돌연변이 잔기(R657A, D658a, F679A, L692A, I696A, D698A)를 각각 가진다. 야생형 H77c 및 또는 E431A (HC-3 에피토프의 바깥에 위치한 잔기)는 포지티브 기준이다. HCV E1E2를 발현시키는 세포와, 세포의 매질을 포함하는 바이러스를 형질감염후 48시간에 독립적으

로 수거하였다. 용해 완충액 (150 mM NaCl, 20 mM Tris [pH 7.5], 0.5% 테옥시콜레이트, 1.0% Nonidet-P40, 1 mM EDTA, 0.5 mg/ml Pefabloc, 2 µg/ml 아프로티닌, 2 µg/ml 루펩틴, 1 µg/ml 펙스타틴)을 이용하여 HCV E1E2를 발현시키는 세포를 재현탁하여 세포 용해물을 준비하였다. 18,000×g, 4°C, 10분간 원심분리에 의해 핵을 펠렛화시키고, 생성된 세포질 추출물은 웨스턴 블랏 분석을 위하여 수거하였다. 세포 찌꺼기를 0.45 µm 필터를 통과시켜, 우선 바이러스를 포함하는 세포외 매질을 분리시켰고, 그리고 Beckman Coulter SW 28 로터(25,000 rpm, 2 시간, 4°C)를 이용하여 한외여과된 20% 슈크로즈 쿠션을 통하여 30ml의 여과된 상청액을 프로세싱시켜 추가 농축시켰다. 쿠션 펠렛화된 바이러스는 150 µl의 NTE 완충액 (150 mM NaCl, 1 mM EDTA, 10 mM Tris-HCl, pH 7.4)에 재현탁시켰다. 웨스턴 블랏팅을 위하여, 동량의 20% 슈크로즈 쿠션 펠렛 현탁액 또는 293T 세포 용해물을 동량의 2x SDS 시료 완충액과 혼합시키고, 95°C에서 5분간 가열시켜 변성시켰다. 모든 시료를 Tris-HCl Criterion 겔(Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA)을 이용하여 10% SDS-PAGE로 해리시켰다. 겔상에 단백질을 니트로셀룰로오즈 필터로 옮겼다. 필터는 5% 분유/0.1% T-TBS (20 mM Tris-HCl, pH 7.5, 150 mM NaCl 및 0.1% Tween-20을 함유)로 차단시켰다.

[0280] 다음의 1차 및 2차 항체를 이용하여 시료에서 단백질의 양을 탐지하였다: E1 탐지용, 2 µg/ml의 H111 (*Keck et al., 2004, J. Virol., 78:7257-63*; 참고문헌에 통합된다) 및 항-인간 IgG HRP (1:5000, *GE Healthcare*); E2 탐지용, 2 µg/ml의 AP33 (*Owsianka et al., 2005, J. Virol., 79:11095-104*; 참고문헌에 통합된다) 2 µg 및 염소 항-마우스 IgG (1:2000, *Santa Cruz Biotechnologies*); 염소 항-HIV p24 (1:2500, *ViroStat, Portland, OR*) 그리고 소 항-염소 IgG HRP (1:5000, *Santa Cruz Biotechnologies*). GAPDH 및 P24 단백질은 각각 세포 단백질 및 HCV 입자 생산을 위한 내부 기준으로 이용되었고, 그리고 마우스 항-GAPDH 및 염소 항-마우스 IgG HRP (*Santa Cruz Biotechnologies*)에 의해 탐지되었다. 필터는 ECL plus로 항온처리되었고, 화학적발광 영상은 chemi-doc 이미지 시스템(Bio-Rad)을 이용하여 캡처되었다.

[0281] *HCVpp* 감염성 분석

[0282] 바이러스를 포함하는 배지에서 바이러스의 양은 제조업자의 지시에 따라 QuickTiter 렌티바이러스 역가 키트 (*Cell Biolabs Lab, San Diego, CA*)를 이용하여 p24 발현에 의해 우선 표준화시켰다. 그 결과로써, 동량의 바이러스를 백색 불투명 96-웰 플레이트에서 사전-접종된 Huh-7.5 세포 (8×10^3 세포/웰)에 첨가하였고, 감염물은 730×g, 실온에서 2시간 동안 원심분리시키고, 5% CO₂를 포함하는, 37°C 가습된 세포 배양 챔버에 두었다. 결합안된 바이러스는 새로 준비된 완전 배지로 대체되어 총 72시간 동안 배양되었다. 각 웰에 100 µl의 재구성된 Bright-Glo (Promega)을 첨가하고, 실온에서 2분간 혼합한 후, 루시퍼라제 활성을 Veritas 마이크로플레이트 발광분석기(Turner Biosystem)으로 측정하였다. 바이러스 감염성은 루시퍼라제 활성 (RLU)으로 나타났다.

[0283] **결과**

[0284] *HCV E2* 단백질에 대한 새로운 도메인 B HCV 항체의 분리

[0285] HCV E2는 별개의 성질과 생물학적 기능을 가진 최소한 세 개의 면역성 입체적 도메인을 포함한다(*Keck et al., 2007, J. Virol., 81:1043*; *Keck et al., 2005, J. Virol., 79:13199*; and *Keck et al., 2004, J. Virol., 78:9224*; 이들 모두 참고문헌에 통합된다). 각각 도메인은 유사 성질 및 기능을 가지는 다중 오버래핑 에피토프를 포함한다. 중화 항체의 패널을 확장시키기 위하여, 높은 혈청 중화 역가를 가지는 HCV 감염된 세 명의 개체의 말초 B 세포로부터 일군의 인간 단클론 항체를 만들었고, 특징화시켰다. HCV 1a 또는 1b 감염을 가진, 그리고 높은 혈청 항체 중화 활성을 가진 개체로부터의 말초 B 세포를 이용하여 인간 단클론 항체의 패널을 만들고, 특징화시켰다.

[0286] 1a 감염된 제공자에 대해 유전자형 1b E2 단백질을 이용하고, 또는 1b 감염된 제공자에 대해 유전자형 1a E2 단백질을 이용하여 첫 스크리닝을 하였다. B 세포는 Epstein-Barr 바이러스에 의해 활성화되었고, 그리고 *Hadlock et al., 2000, J. Virol., 74:10407*(참고문헌에 통합된다)에서 설명된 것과 같이 인간 하이브리도마를 만드는데 이용되었다. 간접 면역형광 분석(IFA; 도 1)에 의해 아류형 1a HCVpp 및 1b E2에 결합하지만, 1b E1 당단백질에는 결합하지 않는 항체를 분리하는 HC-1, HC-3, HC-11, 및 CBH-23으로 라벨된 네 개의 하이브리도마를 선택하였다. 이 스크리닝은 이미 보여진 바와 같이 보존된 에피토프에 대한 HCV 항체의 선택을 강조하고, 이들 항체는 E2에 대한 항체라는 것을 보여주었다(*Keck et al., 2004, J. Virol., 78:9224*; 참고문헌에

통합된다).

- [0287] 2라운드의 단일 세포 클로닝으로 *Keck et al., 2004, J. Virol., 78:7257*(참고문헌에 통합된다)에서 설명된 바와 같이 IgG 유전자의 서열화에 의해 확인된 하이브리도마의 단클론성이 증명되었다. 또한, 네 개 항체를 서열화시키고, 각 항체의 중쇄 및 경쇄의 상보성 결정 구역(CDR)이 결정되었다(도 2). 또한, 네 가지 항체 모두의 IgG 하위부류도 결정되었다(도 3).
- [0288] 상이한 HCV 유전자형 및/또는 아류형에서 에피토프 보존 정도를 확인하기 위하여, 아류형 1a, 1b, 2a, 2b, 3a, 4, 5 및 6 HCVpp에 감염된 Huh7.5 세포에 대한 IFA로 HC-1, HC-3, HC-11, 및 CBH-23를 테스트하였다(*Owsianka et al., 2008, J. Gen. Virol., 89:653-9*; 참고문헌에 통합된다; 도 4).
- [0289] 도 4에 요약된 바와 같이, HCV 항체 HC-1 및 HC-11는 HC-1에 대한 유전자형 4와 HC-11에 대한 유전자형 5를 제외하고 모든 HCVpp 유전자형을 중화시킬 수 있었다. HC-1 및 HC-11 모두 HCVcc 1a 및 2a을 중화시켰다. CBH-23는 HCVpp 1a 및 1b 감염을 중화시킬 뿐만 아니라 HCVcc 2a 감염도 중화시킬 수 있었다. HC-3는 HCVpp 1a 및 HCVcc 2a을 중화시킬 수 있었다. 대조적으로, CMV 특이적 단백질에 항체인 이소타입-일치되는 기준 RO4는 임의의 HCVpp 유전자형에도 결합하지 못하였다. 네 개 항체 모두 E2를 면역침강시킬 수 있었지만(도 1), ELISA 또는 Western 블랏 분석에 의한 환원 조건하에 E2를 탐지하지 못하였고, 이는 HCV 항체가 HCV E2 당단백질상의 입체적 에피토프로 향한다는 것을 말한다. HC-3, HC-11 및 CBH-23 인간 하이브리도마는 IgG1 항체를 분비하고, 그리고 HC-1는 IgG2를 분비한다(도 3). 항체 생산은 사용된 상청액에서 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 60 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 이다. 이들의 Ig 유전자(V_L 및 V_H)의 서열 분석에서 HC-1, HC-3, HC-11, 및 CBH-23는 중쇄 및 경쇄 CDR1, 2 및 3 구역의 독특한 조합을 발현시키는 독립적인 B 세포로부터 유도되었다는 것을 보여준다(도 2).
- [0290] 초기 패널에 대해 이와 같은 새로운 항체의 상관관계를 밝히기 위하여, 대표적인 바이오틴-라벨된 도메인 A (CBH-4D), B (CBH-5), 및 C (CBH-7) HCV 항체로 경쟁 분석을 실시하였다(도 5). HC-1 및 HC-11은 도메인 A 및 C 항체와는 최소한의 경쟁 또는 경쟁이 없었고, 그리고 CBH-5와는 60%-80% 경쟁을 보여주었는데(도 5), 이것은 이들 새로운 항체에 의해 인지되는 에피토프가 도메인 B에 위치한다는 것을 암시한다. CBH-23는 도메인 A 및 B 항체와는 최소한의 경쟁 또는 경쟁이 없었고, CBH-7와는 >90% 경쟁을 보여주었는데, 이 에피토프가 도메인 C에 위치한다는 것을 암시한다. HC-3는 도메인 A, B, 및 C 항체와는 최소한의 경쟁 또는 경쟁이 없음을 보여주는 데, 이 항체는 새로운 별개의 도메인을 인지한다는 것을 말한다.
- [0291] 도메인 B 에피토프는 중화 항체를 유도한다
- [0292] 도메인내에 오버래핑 에피토프의 모델이 유사 성질 및 기능을 가진다면(*Keck et al., 2004, J. Virol., 78:9224*; 참고문헌에 통합된다), HC-1, HC-11, 및 CBH-23 은 앞서 도메인 B 및 C HCV 항체에서 관찰된 것과 같이 HCV를 또한 중화해야 한다. 두 가지 분리체를 모두 중화시키는 각각 HCV 항체로 1a 및 1b HCVpp 감염을 이용하여 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 항체에서 중화 활성을 우선 측정하였다. 1b HCVpp에 대한 HCV 항체의 평균 중화는 64%에서 CBH-5와 필적하였다. 대조적으로, CBH-5의 60%와 비교하였을 때, 1a HCVpp 감염에서 모든 HCV 항체에 대한 80% 평균 중화가 관찰되었다. 또한, HC-11으로 더 세밀한 중화 분석에서, 이 항체는 0.9 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 IC_{50} 을 가진다. 이 값은 1a HCVpp 중화 능력에서 CBH-5의 4.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 보다 대충 5배 더 높다. 이는 아류형간에 이들 에피토프의 차이를 반영하는데, CBH-5는 1b-감염된 환자로부터 분리되었고, 새로운 HCV 항체는 1a-감염된 환자로부터 분리되었기 때문이다. 감염성 아류형 1a 및 2a HCVcc으로 중화 테스트를 추가 실시하였다(도 4). 2a HCVcc의 경우, 중화 활성은 Huh7.5 감염된 세포에서 웨스턴 블랏 분석에 의하여 NS3 단백질 발현의 억제와 FFU 환원, 두 가지 분석에 의해 측정되었다. 1a HCVcc 감염성에서 각 항체의 효과는 FFU 환원에 의해 결정되었다. 도 4에서 볼 수 있는 바와 같이, 2a HCVcc에 대한 중화는 HCV NS3 발현에 의해 측정되었을 때 각 HCV 항체 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 으로 HC-1, HC-3, 및 HC-11로 완성되었다. 대조적으로, 2a HCVcc의 감염성은 네가티브 기준(가령, RO4 항체 또는 무(no)항체 (PBS) 기준)에 의해 영향을 받지 않았다. 내부 기준으로 이용된 β -악틴 단백질 수준은 상이한 시료 사이에서 비슷하였다. 이와 같은 결과들은 유사 기능을 가진 E2 당단백질상에 별개의 면역성 도메인내에 오버래핑 입체적 에피토프의 모델과 일관성이 있다. 도메인 B에 대한 HC-1 및 HC-11의 성공적인 분리로 도메인 B 에피토프는 매우 면역원성이 크며, 강력한 중화 항체를 유도한다는 확신을 제공한다.
- [0293] 도메인 B 항체는 CD81에 E2 결합을 방해한다

- [0294] 앞서 도메인 B 및 C HCV 항체의 중화 기전은 CD81에 E2 결합을 방해하는 것이다. 이것은 CD81 캡처 분석에서 HC-1, HC-3, HC-11, 및 CBH-23으로 연구되었다. 도 6에서 볼 수 있는 것과 같이, 15 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 HCV 항체 HC-1, HC-11, CBH-23, 또는 CBH-5 존재하에 E2 단백질의 사전향온처리로 R04 네가티브 기준과 비교하였을 때 CD81에 E2의 결합이 90% 이상 감소되었다. 다른 도메인 B 또는 C HCV 항체와 유사하게, 이들 HCV 항체는 CD81에 E2 결합을 차단시켜 HCV를 중화시킨다. 대조적으로, HC-3 존재하에 E2 당단백질의 사전 향온처리는 CD81에 대한 E2 결합을 감소시키지 못하였다.
- [0295] 부위-직접적인 돌연변이생성에 의한 HC-1 및 HC-12의 에피토프 매핑
- [0296] 알라닌 스캐닝 돌연변이생성을 실시하여 E2-CD81 상호작용에 관여하는 HCV 항체 에피토프안의 잔기를 특정시켰다. 부위-직접적인 돌연변이생성을 이용하여 아미노산 부위 523 내지 540 사이에서 일련의 돌연변이 단백질을 획득하였다. 이구역은 Cd81에 E2 결합을 위한 접촉점인 Tyr527, Trp529, Gly530, 및 Asp535를 포함한다 (*Owsianka et al., 2006, J. Virol., 80:8695*; 참고문헌에 통합된다). 더욱이, 잔기 Gly523, Pro525, Gly530, Asp535 및 Asn540는 CBH-5 에피토프에 관련된다(*Owsianka et al., 2008, J. Gen. Virol., 89:653-9*; 참고문헌에 통합된다). 이들 돌연변이체의 경우, HC-1 결합에 효과는 E2-c-myc 융합 단백질을 인코딩하는 돌연변이체 플라스미드로 형질감염된 세포를 이용하여 분석되었다. ELISA 에 의해 HC-1에 대한 이들의 반응성에 대해 돌연변이체 E2 단백질을 평가하였다(도 7). 이 평가는 유동 분석으로 확인되었다. c-myc가 C-말단 태그이기 때문에, PE-항-c-myc에 의해 탐지되는 c-myc의 양이 내부 기준으로 이용되어 E2 발현 수준을 표준화시켰다. 돌연변이체 E2 단백질에 대한 HC-1 결합 비율을 평가하기 위하여, 각각 돌연변이체에 대해 E2/c-myc 비율을 계산하였고, 야생형 단백질에서 획득된 비율과 비교하였다. CBH-4G, 비-중화 항체는 HC-1에 특이적인 잔기를 확인하기 위한 기준으로 이용되었다. CBH-4G 및 a HCV 항체 모두에 치환 부위에서 결합이 없다는 것은 E2 형태에서 전반적인 변화 또는 중화 및 비-중화 에피토프 사이에 오버랩의 일정 수준의 변화를 암시하였다. 우리는 이미 E2에 대한 중화 및 비-중화 HCV 항체 사이에 어느 정도의 교차-경쟁을 주목하였는데, 이는 E2상에 이들의 면역원성 도메인의 공간적 접근성을 제시한다(*Keck et al., 2004, J. Virol., 78:9224*; 참고문헌에 통합된다).
- [0297] Trp529 (row 3), Gly530 (row 4), 및 Asn540 (row 12)이 알라닌으로 대체되었을 때, 도 7a에서 볼 수 있는 것과 같이, 야생형과 비교하였을 때 HC-1 결합이 10% 또는 그 미만으로 상당히 감소되었음을 확인하였다. Asn540 돌연변이체 또한 CBH-4G 결합에 영향을 주었기 때문에, 이 잔기가 HC-1 에피토프에 참여하는지는 불명확하다. 위치 Asp535 (row 9)에서 돌연변이는 HC-1 결합을 >80% 감소시켰다. HC-11의 경우, Gly530 및 Asp535가 알라닌으로 대체되었을 때, 도 7b에서 볼 수 있는 것과 같이 상당한 결합 감소가 관찰되었다.
- [0298] 돌연변이 Gly530 (row 4)는 HC-1 결합을 >80% 감소시킨다. HC-1에 대조적으로, Trp529 (row 3)에서 돌연변이는 야생형과 비교하였을 때, HC-11 결합을 겨우 44% 감소시킨다. 두 항체 (도 7a 및 7b)의 경우, Gly523 (row 1)에서 치환은 60% 감소시킨다. Pro525 (row 2), Ala531 (row 5), Asn532 (row 6), Asp533 (row 7), Thr534 (row 8)에서 치환은 HC-1 및 HC-12 결합에서 효과가 없거나 +/- 20% 로 약간의 효과를 가진다. Val536 (row 10), Phe537 (row 11) 및 Asn540 (row 12)에서 치환은 HC-1 및 HC-11 결합을 75-95% 감소시키지만, CBH-4G 결합 또한 70-95% 감소시킨다. 집합적으로, 이들 결과에서, Trp529, Gly530 및 Asp535는 HC-1에 대하여 접촉 잔기이며, 그리고 Gly530 및 Asp535는 HC-11에 대하여 접촉 잔기이다. 따라서, 본 발명은 CD81에 E2 결합에 대한 접촉점이 되는 잔기를 직접적으로 차단시킴으로써, HCV 항체 HC-1와 HC-11가 HCVpp 및 HCVcc 감염을 중화시킨다는 인식을 포함한다. 100%로 결합을 타격하는 단일 치환이 없다는 사실은 CD81에 E2 결합에 직접적으로 관여하는 또는 관여하지 않을 수 있는 것으로 밝혀진 다른 접촉점을 가지는 불연속 에피토프에 HCV 항체 HC-1 및 -11의 결합과 일치한다.
- [0299] HC-3의 에피토프 매핑에서 530-535 사이의 잔기 연관성이 없다는 것을 보여주었지만, 잔기 R657, D658, F679, L692, I696, 및 D698에서 결합을 90% 이상 감소시킨다는 것을 보여주었다(도 8).
- [0300] 유입 단계동안 HC-3가 억제하는 단계에 근접하기 위하여, 도메인3에 비교하여 CD81에 대한 항체에 대한 시간 일정 연구를 실시하였다. 감염성 HCVcc를 4°C 사전 냉각시킨 Huh-7.5 세포와 향온처리하여, 바이러스 부착은 허용되나 유입은 허용되지 않도록 한다. 그 다음 37°C 배양기에서 바이러스-세포 복합체를 위치시킨 후 15분 간격에서 테스트 항체를 첨가하였다. 도 9에서 볼 수 있는 것과 같이, 항-CD81 및 도메인 B HCV 항체, HC-11로 바이러스 유입을 차단시킴에 있어서 유사한 점진적인 로스트(progressive lost) 패턴이 있다. 이것은 도메인 B HCV 항체가 CD81에 E2 결합을 차단시켜 바이러스 유입을 억제하는 것으로 예상된다. 이들 두 항체와 HC-3의 패

턴에서 유사성은 CD81와 바이러스 상호작용에 근접한 일시적 단계에서 바이러스 진입을 억제한다는 것을 말한다. 이것은 상이한 HCV 공동-수용체, 가령 SR-B1와의 E2 상호작용을 억제할 가능성 또는 CD81 연계 바로 다음 단계의 억제 가능성을 포함한다. R657, D658, F679, L692, I696, 및 D698에서 HC-3에 대한 접촉 잔기의 확인 및 530-535 사이에 접촉 잔기가 없다는 것은 CD81에 E2 결합을 차단시키는 것이 아닌 다른 단계에 의해 바이러스 진입을 차단한다는 발견과 일치한다.

[0301] E2에 HC-3의 결합에 관여하는 아미노산들은 E1E2 이량체화를 매개하는데 또한 관여하는지를 보기 위하여 쿠션 펠렛 분석에서 테스트되었다. 이 분석에서, HCVpp는 HC-3 E2 에피토프의 일부가 되는 각 6개 돌연변이된 잔기 (R657A, D658A 및 F679A, L692A, I696A, 또는 D698A)를 운반한다. 대안으로, HCVpp는 포지티브 기준으로 야생형 H77c 또는 E431A 돌연변이 (HC-3 에피토프의 바깥에 위치한 잔기)를 운반한다. HCV E1E2를 발현시키는 세포들은 세포의 매질(바이러스를 포함하는)로부터 분리하였다. 세포 용해물 및 쿠션화된 바이러스 펠렛을 준비하였고, 웨스턴 블랏용 겔에 로딩하였다.

[0302] H77c와 비교하여, HCVpp 돌연변이체 R657A 및 D658A (그리고 이보다는 적은 강도의 F679A)는 E2에서 상당히 축소되었다(도 10). 이것은 이들 잔기가 E1과E2 사이에 이형이량체 형성에 관여한다는 것을 암시한다. 이들 잔기가 E1E2 이량체화에 관여한다고 아직 확인되지는 않았다. 유사한 관찰이 세포 용해물의 E1E2에서 관찰되었다(도 10). E431A 돌연변이체는 이형이량체 형성에 영향을 주지 않는 돌연변이 기준으로 작용한다.

[0303] HC-3 의 접촉점에 돌연변이를 가진 바이러스(가령, R657A, D658A 및 F679A, L692A, I696A, 또는 D698A에서 돌연변이를 가진 바이러스의 감염성)의 감염이 결정되었다. 이들 실험 결과(도 11)는 각각 돌연변이가 바이러스에 치명적이라는 것을 나타낸다. E431A에서 기준 돌연변이는 변화를 보이지 않았다. 도 10의 발견과 함께, 이들 데이터는 HC-3는 E1E2 이형이량체로부터 내화 및 바이러스를 시톰로 후속 방출에 필수적인 단계로의 전이에 영향을 줌으로써 중화를 매개한다는 것을 암시한다. 본 발명은 하나 이상의 이와 같은 아미노산 잔기가 이와 같은 전이 단계에 영향을 주는 HC-3의 효과를 모방하는 소분자에 대한 표적이 될 수 있다는 인식을 포함한다.

[0304] **논의**

[0305] HCV는 유사종(quasispecies)을 생성시켜 병원성인 바이러스의 돌연변이체를 나오게 하는 독특한 능력을 가진다. 면역 억제(containment)를 회피하는 이의 능력에도 불구하고, 감염된 개체에서 광범위한 중화 항체가 발현된 사실과 수동적 면역 요법을 이용한 동물 보호 설명은 이와 같은 항체를 유도하는 능력을 포함하는 백신 접근법을 지원한다. 성공적인 백신 개발은 상이한 유전자형, 아류형, 및/또는 균주 간에 광범위하게 보존된 바이러스 중화를 증대하는 면역우성 에피토프의 특징화를 요구할 것이다. 이 실시예에서, HCV 항체 (가령, HC-1, HC-3, HC-11, 및 CBH-23)는 아류형 1a 또는 1b으로 감염된 B 세포 제공자로부터 유도된다. 보존된 에피토프에 대한 HCV 항체 선택을 강조하기 위하여 293T 세포에서 발현된 아류형 1a 또는 1b E2을 이용한 IFA에 의해 이 항체들이 스크리닝되었다. 네 가지 HCV 항체중 세 개가 IgG1이며, 이는 HCV 감염에 대한 기존의 항체 반응 발견이 주로 IgG1 하위부류라는 것과 일치한다(*Chen et al., 1999, Gastroenterology, 116:135; and Hadlock et al., 2000, J. Virol., 74:10407*; 이들 모두 참고문헌에 통합된다). 네 가지 HCV 항체는 IFA에서 탐지된 바와 같이 아류형 1-6을 통하여 보존된 에피토프에 결합하고, HCVpp를 면역침강시키지만 웨스턴 블랏 분석에서 E2를 탐지하지 못하는 이들의 능력으로 볼 수 있는 것과 같이 입체적 에피토프로 향한다. 변성된 항원에 대한 결합 제거는 항체가 입체적 에피토프로 향한다는 것을 추가 증명하였다. 교차-경쟁 연구에서 이들 항체는 관련된 HCV 항체의 초기 군에 두었는데, 조밀하게 오버래핑된 에피토프 클러스트를 포함하는 도메인 B로 라벨된다. 도메인 B HCV 항체의 초반 세트내에, CBH-5로 제시되는 일부는 모든 아류형 및 아류형 HCVpp에 결합하여 중화시키지만, CBH-8C로 제시되는 다른 것들은 일부 아류형/아류형에 결합하거나 중화시키지 않아 더 제한적이다(*Keck et al., 2004, J. Virol., 78:9224; and Owsianka et al., 2008, J. Gen. Virol., 89:653-9*; 이들 모두 참고문헌에 통합된다). CBH-5에 유사하게, HC-1 및 HC-11는 1a 및 1b HCVpp, 그리고 1a 및 2a HCVcc으로 테스트된 것과 같이 광범위하게 중화된다. 수득된 중화 정도는 1b HCVpp와 CH-5의 것과 유사하지만, 1a에 대하여 일부 HCV 항체의 중화 능력은 CBH-5의 것보다 훨씬 능가하였다. 이는 접촉 잔기에 약간의 차이가 있음을 암시하고, 이는 B 세포의 제공자가 1a HCV 분리체로 감염되었다는 사실과 일치한다. 도메인 B HCV 항체의 확장된 패널 중에서, 중화 능력은 항체 결합 친화력과 관련있었다. 아류형 1a와 함께, CBH-5는 HCV 항체의 친화력과 비교하였을 때 ($2.4-6.6 \times 10^{-9}$ M K_d), 더 낮은 항체 결합 친화력을 가진다(2.2×10^{-7} M K_d) (*Keck et al., 2004, J. Virol.,*

78:9224; 참고문헌에 통합된다).

[0306] 일반적으로, 항체-매개된 바이러스 중화의 1차 기전은 바이러스 유입의 초기 단계를 억제시키고, 그리고 E2 당단백질에 주로 대항하는 것으로 보인다. 흥미로운 증거에서 글리코사미노글리칸, 리포단백질 수용체 소거 수용체 종류 B 타입 1, SR-B1, 및 CD81과 E2 상호작용은 HCVpp 및 HCVcc 유입과 연관된다는 것을 보여준다 [Moradpour et al., 2007, *Nat. Rev. Microbiol.*, 5:453; 참고문헌에 통합된다]. E2가 세포내 흡착 분자의 큰 패밀리에 한 구성 요소인 클라우딘-1(claudin-1)과의 상호작용과 같은 나중 단계에서 역시 중추적인지 결정되어야 하며, 최근에 CD81에 E2 결합 후 진입에 필수 단계가 된다는 것을 보여주었다 (Evans et al., 2007, *Nature*, 446:801; 참고문헌에 통합된다). HCV 항체 중에서, 각각은 다른 도메인 B HCV 항체에서 볼 수 있는 것과 같이 CD81에 E2 결합을 억제한다(Hadlock et al., 2000, *J. Virol.*, 74:10407; 참고문헌에 통합된다). 당업자는 여기에서 설명된 것과 같은 실험은 도메인 B HCV 항체가 다른 HCV 수용체 분자와의 상호작용을 억제하는지를 확인하기 위하여 실행될 수 있다는 것을 바로 인지할 수 있다.

[0307] CD81 결합에 중요한 특이적 잔기는 E2의 주로 두 개의 불연속 서열에 위치한다(Drummer et al., 2006, *J. Virol.*, 80:7844; and Owsianka et al., 2006, *J. Virol.*, 80:8695; 이들 모두 참고문헌에 통합된다). 여기에는 HVR1와 HVR2 (아미노산 436-443) 사이에 위치한 보존된 모티프와(Drummer et al., 2006, *J. Virol.*, 80:7844; 참고문헌에 통합된다) 그리고 모든 아류형/아류형, Trp420, Tyr527, Trp529, Gly530 및 Asp535 (Owsianka et al., 2006, *J. Virol.*, 80:8695; 참고문헌에 통합된다)에서 보존된 특이적 잔기를 포함한다. 523-540의 이들 두 구역에 있는 알라닌 치환 연구에서 전체 그룹을 제시하는 두 가지 HCV 항체는 공유된 중요한 접촉 잔기를 나타내었다는 것을 보여주었다. HC-1는 Trp529, Gly530 및 Asp535를 요구하며, 그리고 HC-12는 Gly530 및 Asp535를 요구한다. 이들 두 패턴은 HC-12를 CBH-5 에피토프에 더 유사하게 두었고, Gly530 및 Asp535가 관여하지만 Gly523에서 최소한 하나의 상이한 접촉점을 가지는 (Owsianka et al., 2008, *J. Gen. Virol.*, 89:653-9; 참고문헌에 통합된다). 또한, 경쟁 연구에서 HC-11 에피토프는 HC-1보다는 공간적으로 더 근접하다는 것을 보여주었다. HC-1 및 HC-11 모두는 Gly523에서 알라닌 치환에 결합하지만, CBH-5는 결합을 보이지 않았다. 최근 연구에서, 아류형 2b으로 감염된 개체로부터 분리된 복합 라이브러리로부터 얻은 광범위한 중화 인간 항체 또한 Gly523, Trp529, Gly530, 및 Asp535를 포함하는 에피토프를 인지한다는 것을 보여주었다 (Johansson et al., 2007, *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 104:16269; 참고문헌에 통합된다). 아류형 1a에 대한 CHB-5보다 HC-1와 HC-12가 왜 더 큰 중화 능력을 보유하는지는 아류형 1a에 HC-1, HC-12 및 CBH-5의 상이한 항체 친화력이 K_d 에 거의 2로그 감소에 이유가 있을 수 있다. K_d 값과 중화 활성의 차이를 설명할 수 있는, 523-540 바깥의 접촉 잔기에서 에피토프의 차이를 반영할 수 있다. 또한 HCV E2의 Gly530 및 Asp535에서 모든 도메인 B HCV 항체의 주요한 접촉 잔기는 HCV에 대한 중화 항체 반응을 중재하는데 있어서 E2의 특이적 당화 부위의 추가 증거를 제공한다. 두 개의 독립적인 경우에서, Asn532에서 글리칸은 HCV 다클론 혈장의 중화 활성 뿐만 아니라 HCV-특이적 중화 단클론 항체의 중화 활성을 감소시키는 것으로 나타났다(Falkowska et al., 2007, *J. Virol.*, 81:8072; and Helle et al., 2007, *J. Virol.*, 81:8101; 이들 모두 참고문헌에 통합된다). 이 잔기가 알라닌으로 대체되면, 돌연변이체 HCVpp는 이들 항체에 의해 중화되는 더 큰 감응성을 보였다. Asn532에서 글리칸의 위치는 모든 도메인 B HCV 항체가 Gly530 및 Asp535에서 두 개의 공유 접촉 잔기에 접근을 감소시킬 수 있다. Asn417 및 Asn645으로 두 가지 다른 글리칸은 도메인 B HCV 항체, CBH-5의 중화 활성을 감소시킨다는 것을 보여주었다(Helle et al., 2007, *J. Virol.*, 81:8101; 참고문헌에 통합된다). 추가적인 연구는 이들 두 글리칸에 근접한 도메인 B HCV 항체의 다른 접촉점의 증거도 제공할 수 있다.

[0308] 요약하면, 세 세트의 상이한 실험실에서 관련된 중화 단클론 항체를 HCV 아류형 1a, 1b 또는 2b 분리체에 감염된 개체로부터 분리하였다(Hadlock et al., 2000, *J. Virol.*, 74:10407; Johansson et al., 2007, *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 104:16269-74; and Keck et al., 2007, *J. Virol.*, 81:1043; 이들 모두 참고문헌에 통합된다). CD81에 E2 결합이 연루된 HCV E2의 구역에 대한 교차-경쟁 연구 및 에피토프 매핑은 이들 항체가 상이한 HCV 아류형 및 아류형 분리체들 사이에 다양한 정보의 보존을 가지는 오버래핑 에피토프에 대한 것이다. 분명하게, 도메인 B는 다중 오버래핑 에피토프를 포함하는 HCV E2의 면역우세 구역이다. Asn532에서 HCVpp 알라닌 치환 돌연변이체는 아류형 1a, 1b, 2b, 3, 4 및 5으로 감염된 개체에서 수득된 혈청 패널에 의해 중화되는 더 큰 감응성을 가진다는 사실은 이들 혈청이 이 구역에 대한 항체를 포함한다는 것을 보여주었으며, 도메인 B의 에피토프가 면역 반응의 선호적인 표적이라는 것을 확인시킨다(Falkowska et al., 2007, *J. Virol.*, 81:8072; 참고문헌에 통합된다). 대부분의 도메인 B HCV 항체는 보존된 에피토프에 대한 것이지만, CBH-8C 및 CBH-11와 같은 일부 항체는 아류형 1a 분리체에 결합하지 않고, 이는 일부 도메인 B 에피토프에 대한 항체는 바이러스 돌연변이체의 탈출을 유도할 수 있다는 것을 말한다. 효과적인 백신 접근법은 HCV 항체에 의해 제시되

는 것과 같이 이들 에피토프에 대한 항체 반응을 유도하는 것을 포함할 수 있지만 에피토프의 제거는 탈출 돌연변이체와 연관있다. 초가변 구역에 대해 최근 보여진 것과 같이, E2 당단백질의 고유 구조의 변화 없이 점 돌연변이 또는 결손을 통하여 이루어질 수 있다(McCaffrey et al., 2007, J. Virol., 81:9584; 참고문헌에 통합된다). 마지막으로, HCV 항체의 생화학적 그리고 기능적 특징, 도메인 B HCV 항체의 초기 그룹 및 설명된 재조합 인간 항체는 유사한 생체물리적 기능적 성질을 가지는 도메인내에 관련된 에피토프에 대한 항체의 제안된 모델과 일치한다.

[0309] **실시예 3: 항체 생산**

[0310] 다음의 실시예는 HCV 단클론 항체를 생산하는데 이용될 수 있는 방법을 제공한다.

[0311] 플라스미드 벡터로부터 항체의 발현 및 정제

[0312] 전체 항체 분자를 인코딩하는 유전자를 이의 부모 하이브리도마로부터 RT-PCT를 통하여 증폭시킬 수 있고, 그리고 진핵 세포계에서 구성적 또는 유도적 방법으로 항체의 발현을 구동시킬 수 있는 이질성 발현 카세트내로 클론시킬 수 있다. 예를 들면, 항체 유전자는 pcDNA3.1 Zeo, pIND(SP1), pREP8와 같은 발현 플라스미드(모두 Invitrogen, Carlsbad, California), 및/또는 다른 발현 벡터에서 발현될 수 있다. 대안으로, 또는 추가적으로, 항체 유전자는 바이러스 또는 레트로바이러스의 벡터, 가령, MLV 기반 벡터, 백시니아 바이러스-기반 벡터, 및/또는 아데노바이러스-기반 벡터를 통하여 발현될 수 있다. 유사하게, 항체 유전자는 베칼로바이러스 벡터와 같은 곤충 바이러스 벡터에서 발현될 수 있다. 다른 벡터, 가령 pCOMB 시리즈 벡터는 M13 파아지 또는 박테리아의 표면에서 항체 경쇄 및 중쇄 쌍 또는 단일 쇠 항체의 발현을 허용한다.

[0313] 일단 발현되면, 가령, 단백질-A 또는 단백질-G 세파로즈를 이용하여 항체를 정제시킬 수 있고, 그리고 정제된 항체는 다음중 하나의 방식으로 화학적으로 또는 효소적으로 변형될 수 있다: 바이오티닐화(가령, 바이오틴-C11-하이드록시숙시니미드 에스테르, 등); 다양한 형태의 비드에 결합(가령, 세파로즈, 아가로즈, 자석, 폴리스트렌, 시아노겐 브롬화물의 이용을 통하여, 등); 및/또는 유용한 화학적 모이어티에 항체의 연결(가령, 리신 잔기의 변형에 의해, 염기성 잔기의 변형에 의해, 및/또는 자유 설퍼히드릴 기에 특이적인 물질의 이용을 통하여, 등).

[0314] **균등성 및 범위**

[0315] 당업자는 일상적인 실험을 통하여 여기에서 설명된 본 발명의 특정 구체예에 많은 균등한 것들을 인지 또는 확인할 수 있을 것이다. 본 발명의 범위는 상기 설명에 제한하려는 의도는 없으며, 첨부된 청구범위로 제한된다.

[0316] 당업자는 일상적인 실험을 통하여 여기에서 설명된 본 발명의 특정 구체예에 많은 균등한 것들을 인지 또는 확인할 수 있을 것이다. 본 발명의 범위는 상기 설명에 제한하려는 의도는 없으며, 첨부된 청구범위로 제한된다.

[0317] 청구범위에서, 관사(“a,” “an,” 및 “the”)는 다른 언급이 없거나 내용으로부터 명백하지 않다면 하나 이상을 의미할 수 있다. 따라서, 예를 들면, “항체”는 이와 같은 항체의 다수를 포함하며, “세포”의 경우 당 분야에 공지된 하나 이상의 세포를 말한다. 청구범위 또는 명세서에서, 한 그룹의 하나 이상의 구성부 사이에 “또는”은 다른 언급이 없거나 명백한 내용이 없으면, 그룹의 하나, 하나 이상 또는 모든 것이 이용되거나 존재하는 것으로 간주된다. 본 발명은 주어진 산물 또는 공정에 대해 정확한 그룹중 정확하게 한 구성부를 이용하거나, 존재하는 구체예를 포함한다. 본 발명은 또한 주어진 산물 또는 공정에 대해 정확한 그룹중 하나 이상의 또는 모든 구성부를 이용하거나, 존재하는 구체예를 포함한다. 더욱이, 열거된 청구항중 하나 이상의에서 하나 이상의 제한, 요소, 절, 설명적 용어는 다른 청구항으로 도입되는 모든 변이, 조합, 치환을 포함한다는 것을 인지할 것이다. 예를 들면, 다른 항에 종속항인 임의의 한 항은 동일한 기본 항에 종속항인 다른 항에서 발견되는 하나 이상의 제한을 포함하도록 변형될 수 있다. 더욱이, 청구항이 조성을 언급하면, 여기에서 설명된 임의의 목적에 조성을 이용하는 방법도 포함되며, 여기에서 설명된 명시된 임의의 방법에 따라, 또는 당분야에 공지된 다른 방법에 따라 이 조성을 만드는 방법도 포함된다는 것을 인지할 것이다(모순 또는 불일치가 일어나거나 다른 언급이 없는 한).

[0318] 요소들은 가령, Markush 포맷으로 목적으로 제시되지만, 효소의 각 하위 군도 개시되며, 임의의 효소가 군에서

제거될 수도 있음을 인지할 것이다. 일반적으로 본 발명 또는 본 발명의 측면들은 특정 요소, 특징 등을 포함하는 것으로, 본 발명의 특정 구체예 또는 측면들은 이와 같은 요소들, 특징을 포함하는 또는 기본적으로 포함한다. 간단하게 하기 위하여, 이와 같은 구체예는 여기에서 구체적으로 제시되지 않는다. “포함하는 (comprising)” 은 추가 요소 또는 단계를 포함할 수 있는 포괄적인 개방적 의미를 말한다.

[0319] 범위가 제공되면, 양단이 포함된다. 더욱이, 다른 언급이 없거나 내용으로부터 명시적이지 않는다면, 당업자는 범위로 표시된 수치들은 임의의 특정 값을 취하거나 또는 본 발명의 상이한 구체예에서 언급된 범위내에 명시된 범위의 하한의 1/10까지 하위 범위를 취할 수 있다.

[0320] 또한, 선행기술에 속하는 본 발명의 특정 구체예는 하나 이상의 청구범위로부터 명시적으로 배제될 수 있음을 인지할 것이다. 이와 같은 구체예는 당분야의 업자들에게 공지된 것으로 간주되기 때문에 명시적으로 배제된 것으로 제시되지 않더라도 배제될 수 있다. 본 발명의 조성물의 임의의 특정 구체예(가령, 임의의 HCV 유전자형/아류형, 임의의 HCV 항체, 임의의 에피토프, 임의의 약학 조성물, 임의의 투여 방법, 임의의 치료요법적 용도 등)은 선행 기술의 관련성과 관계없이 임의의 이유로 임의의 하나 이상의 청구항으로부터 배제될 수 있다.

[0321] 상기 논의된 그리고 내용에서 명시된 참고문헌은 본 발명의 출원일 이전의 개시만을 제공한다. 발명자는 기존 공개에 의해 본 내용보다 앞선다고 인정할 수 있는 자격이 없다는 승인으로 간주되는 것은 없다.

[0322] **다른 구체예들**

[0323] 당업자는 진술한 내용이 본 발명의 특정 구체예들을 제시한다는 것을 용이하게 인지할 것이다. 다음의 청구범위에서 제시된 것 본 발명의 범위 및 사상을 벗어나지 않고 상기 설명된 과정 및 조성물에 다양한 변화 및 변형이 가능하다.

수탁번호

[0324]

기탁기관명 : ATCC
 수탁번호 : PTA-9416
 수탁일자 : 20080814

기탁기관명 : ATCC
 수탁번호 : PTA-9417
 수탁일자 : 20080814

기탁기관명 : ATCC
 수탁번호 : PTA-9418
 수탁일자 : 20080814

기탁기관명 : ATCC
 수탁번호 : PTA-9419
 수탁일자 : 20080814

도면

도면1

		HCVpp									
HMAbs	1a	1b	2A	2B	3A	4	5	6			
HC-1	+	+	+	+	+	+	+	+			
HC-3	+	+	+	+	+	+	+	+			
HC-11	+	+	+	+	+	+	+	+			
CBH-23	+	+	+	+	+	+	+	+			
RO4	--	--	--	--	--	--	--	--			

a. E1E2 항질감염된 293T 세포에 대한 간접 면역형광 분석

도면2

Heavy Chain

	<u>CDR1</u>	<u>CDR2</u>	<u>CDR3</u>
HC-1	GGTYNSEV	FIPMFGTA	AKVLQVGGNLLVVRPL
HC-3	GFSLSTTGVG	IYWDDDK	ALNSYRSGTILYRELELRGLFYI
HC-11	GATFSSFI	IIPMFGTA	AMEVPGFCRGGSCSGYMDV
CBH-23	GGTFSSYA	IIPMFGTE	ARHENIYGTPFFDY

Light Chain

	<u>CDR1</u>	<u>CDR2</u>	<u>CDR3</u>
HC-1	QTISSIH	GVS	HQYGNSPQT
HC-3	QSISSW	ESS	QQYESSSWT
HC-11	HSVSSSN	GAS	QQYGSSPIT
CBH-23	HSITRY	AAS	QQSYSTLLT

도면3

	IgG1	IgG2	IgG3	IgG4
HC-1	--	+++	--	--
HC-3	+++	--	--	--
HC-11	+++	--	--	--
CBH-23	+++	--	--	--

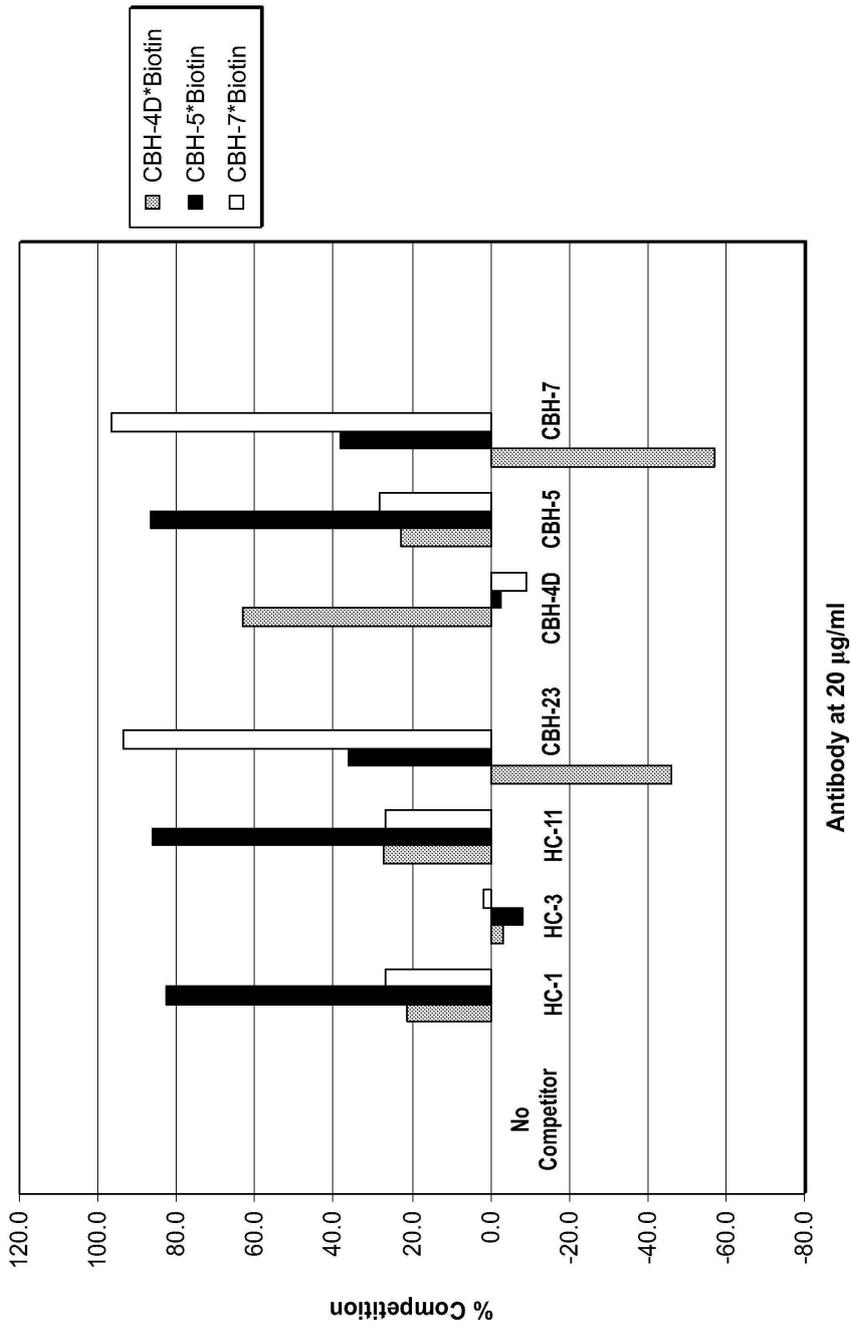
도면4

HMAb	HCV/pp ^a								HCV/cc ^b	
	1a	1b	2a	2b	3a	4	5	6	1a	2a
HC-1	86 ^c	78	38	41	39	29	58	48	95	100
HC-3	70	18	NA ^d	NA	NA	NA	NA	NA	NA	100
HC-11	90	87	58	52	37	52	11	45	90	100
CBH-23	82	40	42	25	21	20	7	-10	NA	85
RO4	5	5	0	4	2	0	0	0	0	0

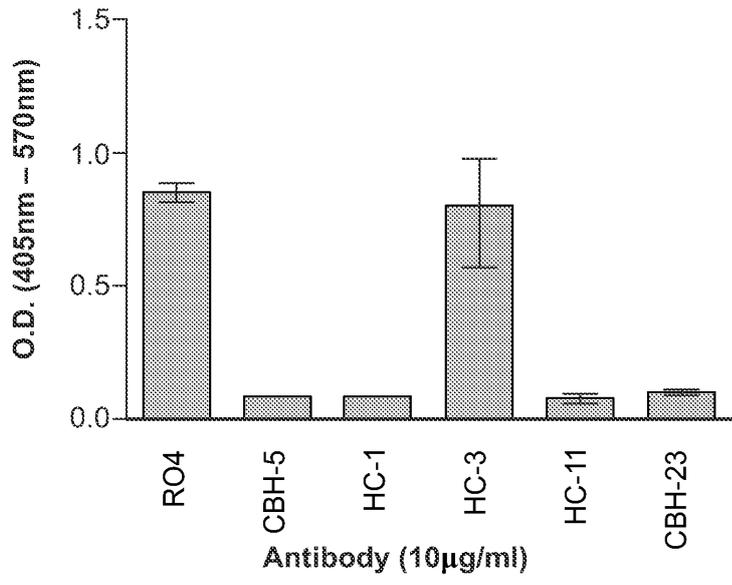
a: HCVpp는 HCV의 가짜임자다.
 b: HCVcc는 세포 배양된 감염성 HCV 비리온이다.
 c: 수는 중화 비율을 나타낸다.
 d: 이용할 수 없음.

— · — ·

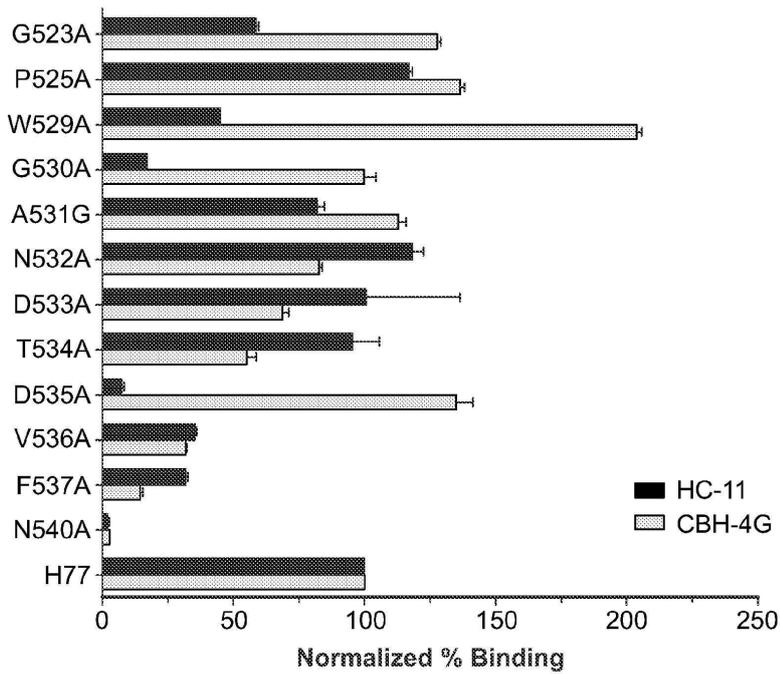
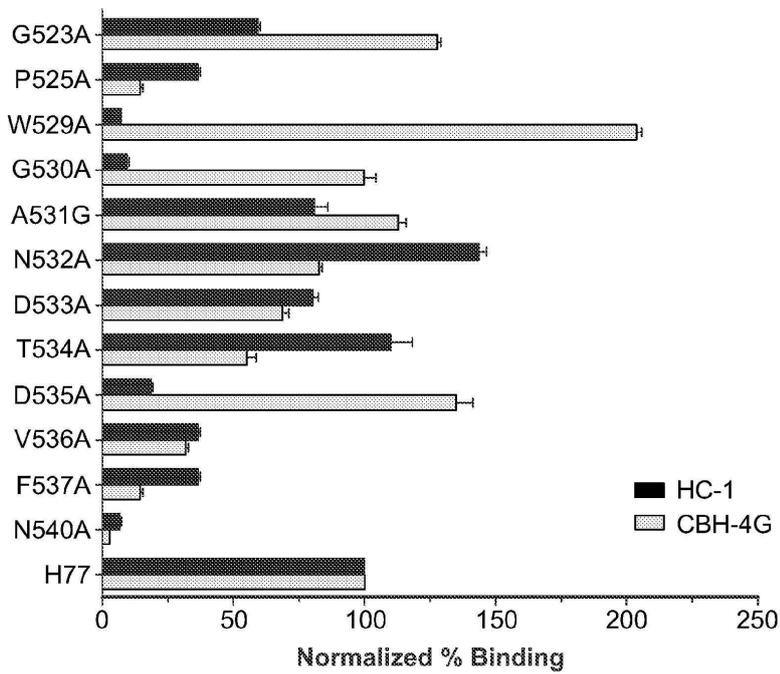
도면5



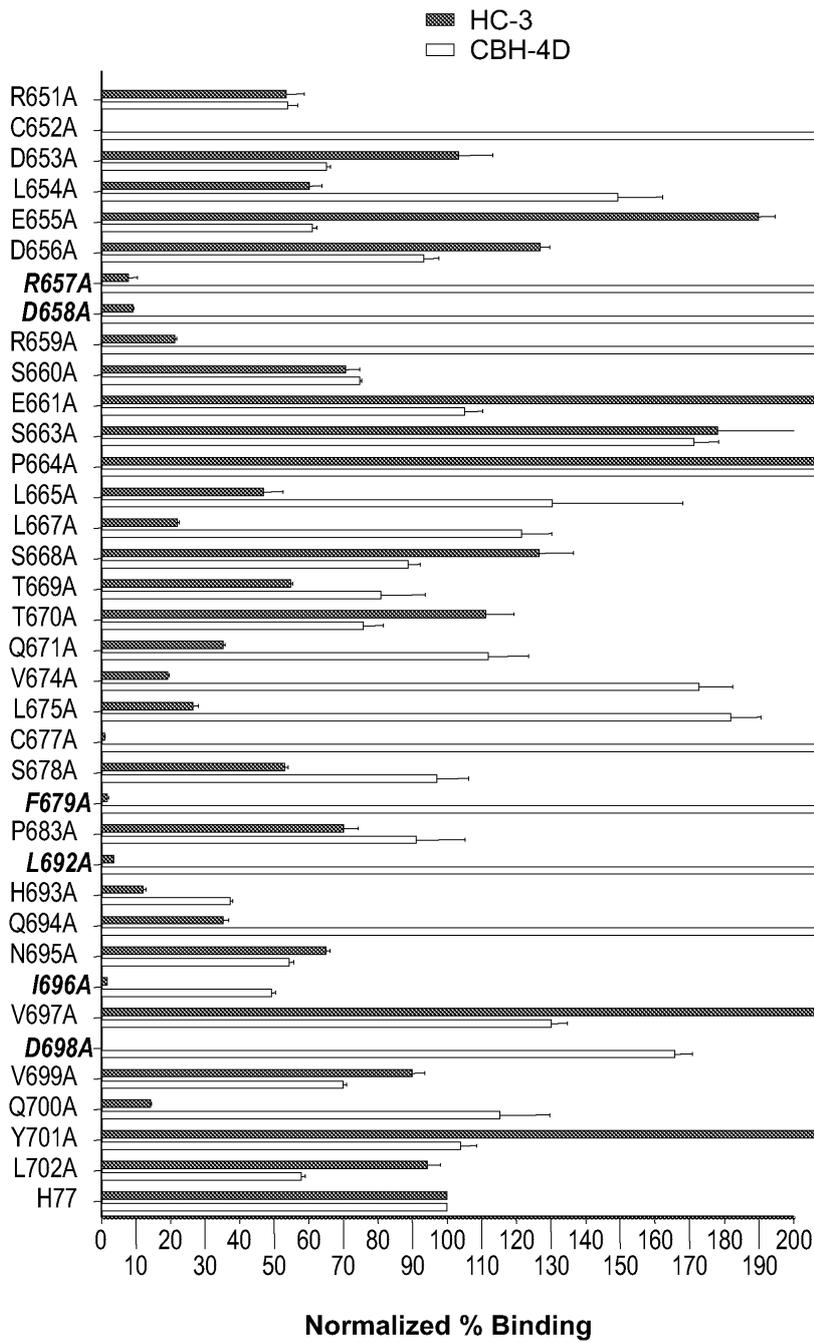
도면6



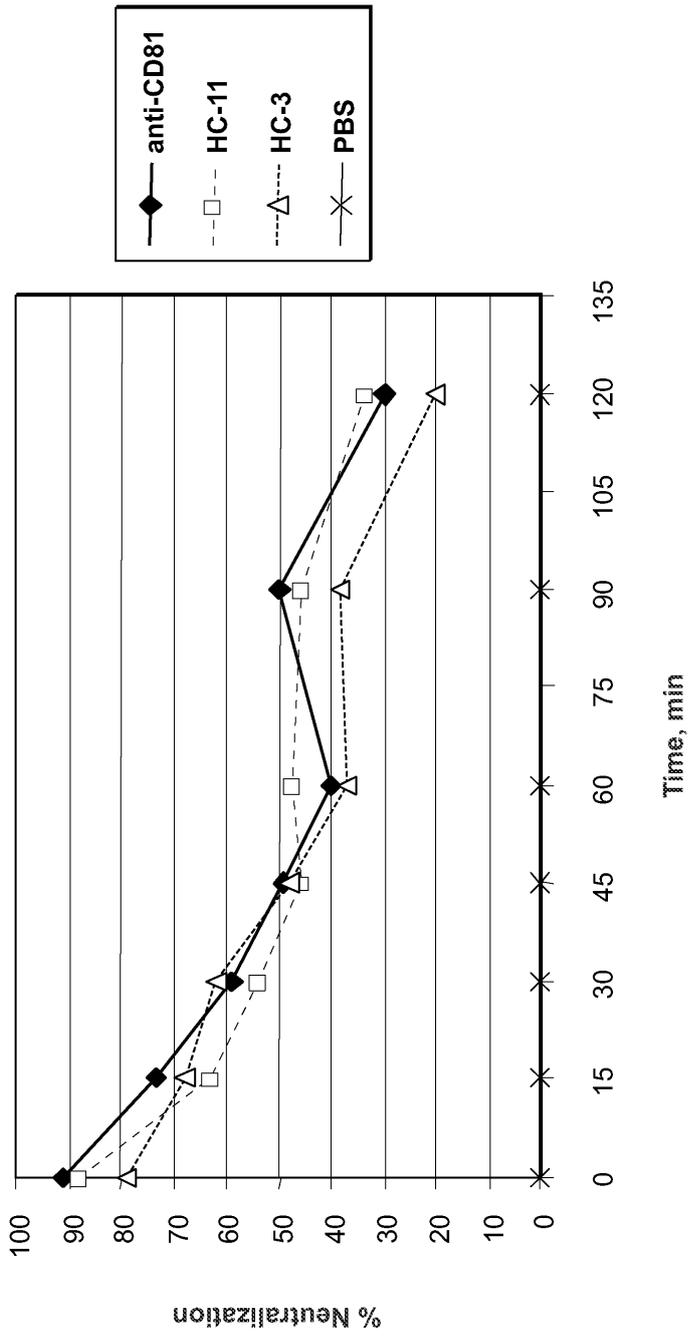
도면7



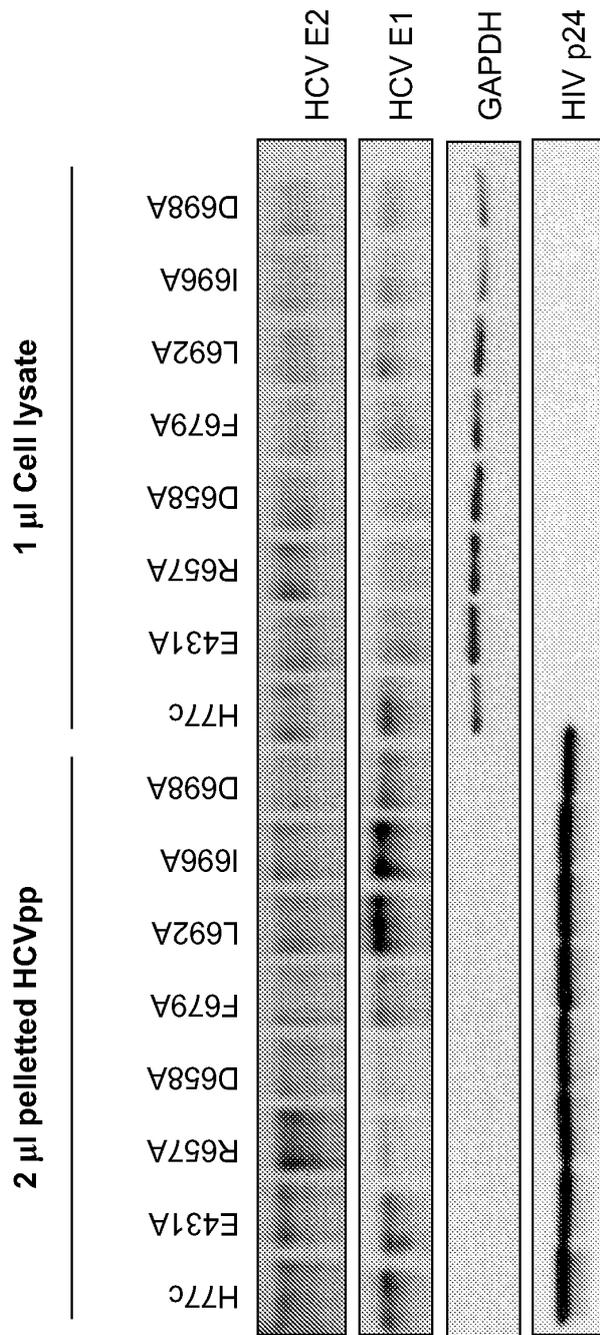
도면8



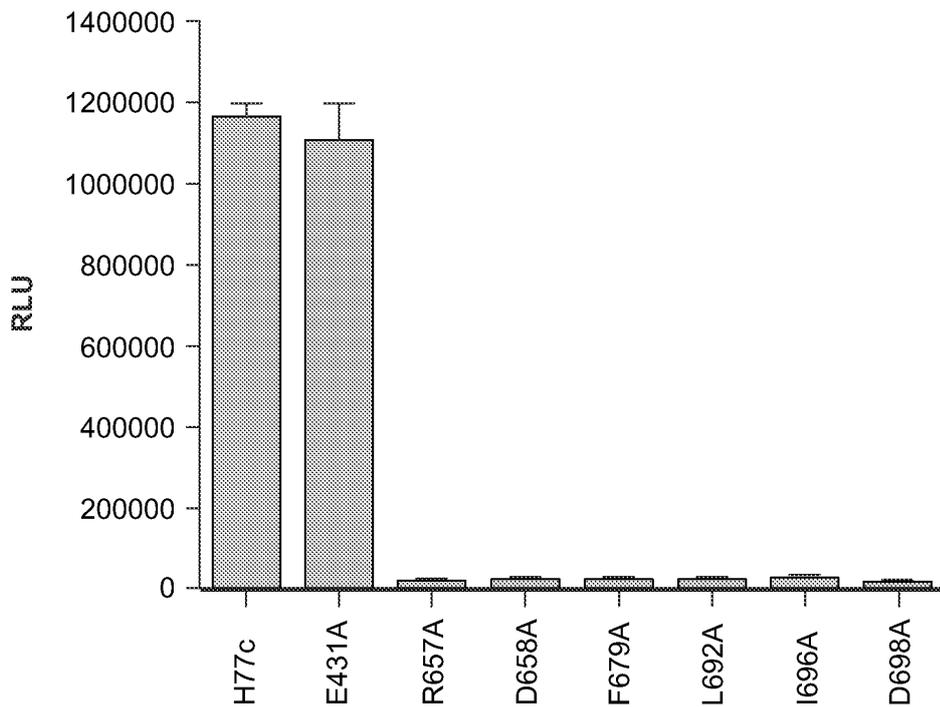
도면9



도면10



도면11



서열목록

SEQUENCE LISTING

<110> Foug, Steven K.H.

<120> Hepatitis C Antibodies and Uses Thereof

<130> 2002850-0058 (S07-168)

<140> PCT/US 08/078884

<141> 2008-10-05

<160> 29

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> FLAG epitope

<400> 1

Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys

1 5

<210> 2

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> T7 tag sequence

<400> 2

Met Ala Ser Met Thr Gly Gly Gln Met Gly

1 5 10

<210> 3

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> S-tag sequence

<400> 3

Lys Glu Thr Ala Ala Ala Lys Phe Glu Arg Gln His Met Asp Ser

1 5 10 15

<210> 4

<211> 3011

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> GenBank AAB67038 HCV 1a (H77)

<400> 4

Met Ser Thr Asn Pro Lys Pro Gln Arg Lys Thr Lys Arg Asn Thr Asn

1 5 10 15

Arg Arg Pro Gln Asp Val Lys Phe Pro Gly Gly Gly Gln Ile Val Gly

20 25 30

Gly Val Tyr Leu Leu Pro Arg Arg Gly Pro Arg Leu Gly Val Arg Ala

35 40 45

Thr Arg Lys Thr Ser Glu Arg Ser Gln Pro Arg Gly Arg Arg Gln Pro

50 55 60

Ile Pro Lys Ala Arg Arg Pro Glu Gly Arg Thr Trp Ala Gln Pro Gly

65 70 75 80

Tyr Pro Trp Pro Leu Tyr Gly Asn Glu Gly Cys Gly Trp Ala Gly Trp

85 90 95

Leu Leu Ser Pro Arg Gly Ser Arg Pro Ser Trp Gly Pro Thr Asp Pro
 100 105 110
 Arg Arg Arg Ser Arg Asn Leu Gly Lys Val Ile Asp Thr Leu Thr Cys
 115 120 125
 Gly Phe Ala Asp Leu Met Gly Tyr Ile Pro Leu Val Gly Ala Pro Leu
 130 135 140
 Gly Gly Ala Ala Arg Ala Leu Ala His Gly Val Arg Val Leu Glu Asp
 145 150 155 160
 Gly Val Asn Tyr Ala Thr Gly Asn Leu Pro Gly Cys Ser Phe Ser Ile
 165 170 175
 Phe Leu Leu Ala Leu Leu Ser Cys Leu Thr Val Pro Ala Ser Ala Tyr
 180 185 190
 Gln Val Arg Asn Ser Ser Gly Leu Tyr His Val Thr Asn Asp Cys Pro
 195 200 205
 Asn Ser Ser Ile Val Tyr Glu Ala Ala Asp Ala Ile Leu His Thr Pro
 210 215 220
 Gly Cys Val Pro Cys Val Arg Glu Gly Asn Ala Ser Arg Cys Trp Val
 225 230 235 240
 Ala Val Thr Pro Thr Val Ala Thr Arg Asp Gly Lys Leu Pro Thr Thr
 245 250 255
 Gln Leu Arg Arg His Ile Asp Leu Leu Val Gly Ser Ala Thr Leu Cys
 260 265 270
 Ser Ala Leu Tyr Val Gly Asp Leu Cys Gly Ser Val Phe Leu Val Gly
 275 280 285
 Gln Leu Phe Thr Phe Ser Pro Arg Arg His Trp Thr Thr Gln Asp Cys
 290 295 300
 Asn Cys Ser Ile Tyr Pro Gly His Ile Thr Gly His Arg Met Ala Trp
 305 310 315 320
 Asp Met Met Met Asn Trp Ser Pro Thr Ala Ala Leu Val Val Ala Gln
 325 330 335
 Leu Leu Arg Ile Pro Gln Ala Ile Met Asp Met Ile Ala Gly Ala His

Thr Tyr Ser Arg Cys Gly Ser Gly Pro Trp Ile Thr Pro Arg Cys Met
 595 600 605
 Val Asp Tyr Pro Tyr Arg Leu Trp His Tyr Pro Cys Thr Ile Asn Tyr
 610 615 620
 Thr Ile Phe Lys Val Arg Met Tyr Val Gly Gly Val Glu His Arg Leu
 625 630 635 640
 Glu Ala Ala Cys Asn Trp Thr Arg Gly Glu Arg Cys Asp Leu Glu Asp
 645 650 655
 Arg Asp Arg Ser Glu Leu Ser Pro Leu Leu Leu Ser Thr Thr Gln Trp
 660 665 670
 Gln Val Leu Pro Cys Ser Phe Thr Thr Leu Pro Ala Leu Ser Thr Gly
 675 680 685
 Leu Ile His Leu His Gln Asn Ile Val Asp Val Gln Tyr Leu Tyr Gly
 690 695 700
 Val Gly Ser Ser Ile Ala Ser Trp Ala Ile Lys Trp Glu Tyr Val Val
 705 710 715 720
 Leu Leu Phe Leu Leu Leu Ala Asp Ala Arg Val Cys Ser Cys Leu Trp
 725 730 735
 Met Met Leu Leu Ile Ser Gln Ala Glu Ala Ala Leu Glu Asn Leu Val
 740 745 750
 Ile Leu Asn Ala Ala Ser Leu Ala Gly Thr His Gly Leu Val Ser Phe
 755 760 765
 Leu Val Phe Phe Cys Phe Ala Trp Tyr Leu Lys Gly Arg Trp Val Pro
 770 775 780
 Gly Ala Ala Tyr Ala Phe Tyr Gly Met Trp Pro Leu Leu Leu Leu Leu
 785 790 795 800
 Leu Ala Leu Pro Gln Arg Ala Tyr Ala Leu Asp Thr Glu Val Ala Ala
 805 810 815
 Ser Cys Gly Gly Val Val Leu Val Gly Leu Met Ala Leu Thr Leu Ser
 820 825 830
 Pro Tyr Tyr Lys Arg Tyr Ile Ser Trp Cys Met Trp Trp Leu Gln Tyr

835 840 845
 Phe Leu Thr Arg Val Glu Ala Gln Leu His Val Trp Val Pro Pro Leu
 850 855 860
 Asn Val Arg Gly Gly Arg Asp Ala Val Ile Leu Leu Met Cys Val Val
 865 870 875 880
 His Pro Thr Leu Val Phe Asp Ile Thr Lys Leu Leu Leu Ala Ile Phe
 885 890 895
 Gly Pro Leu Trp Ile Leu Gln Ala Ser Leu Leu Lys Val Pro Tyr Phe

 900 905 910
 Val Arg Val Gln Gly Leu Leu Arg Ile Cys Ala Leu Ala Arg Lys Ile
 915 920 925
 Ala Gly Gly His Tyr Val Gln Met Ala Ile Ile Lys Leu Gly Ala Leu
 930 935 940
 Thr Gly Thr Tyr Val Tyr Asn His Leu Thr Pro Leu Arg Asp Trp Ala
 945 950 955 960
 His Asn Gly Leu Arg Asp Leu Ala Val Ala Val Glu Pro Val Val Phe

 965 970 975
 Ser Arg Met Glu Thr Lys Leu Ile Thr Trp Gly Ala Asp Thr Ala Ala
 980 985 990
 Cys Gly Asp Ile Ile Asn Gly Leu Pro Val Ser Ala Arg Arg Gly Gln
 995 1000 1005
 Glu Ile Leu Leu Gly Pro Ala Asp Gly Met Val Ser Lys Gly Trp
 1010 1015 1020
 Arg Leu Gln Ala Pro Ile Thr Ala Tyr Thr Gln Gln Thr Arg Gly

 1025 1030 1035
 Leu Leu Gly Cys Ile Ile Thr Ser Leu Thr Gly Arg Asp Lys Asn
 1040 1045 1050
 Gln Val Glu Gly Glu Val Gln Ile Val Ser Thr Ala Thr Gln Thr
 1055 1060 1065
 Phe Leu Ala Thr Cys Ile Asn Gly Val Cys Trp Thr Val Tyr His
 1070 1075 1080

Gly Ala Gly Thr Arg Thr Ile Ala Ser Pro Lys Gly Pro Val Ile
 1085 1090 1095
 Gln Met Tyr Thr Asn Val Asp Gln Asp Leu Val Gly Trp Pro Ala
 1100 1105 1110
 Pro Gln Gly Ser Arg Ser Leu Ala Pro Cys Thr Cys Gly Ser Ser
 1115 1120 1125
 Asp Leu Tyr Leu Val Thr Arg His Ala Asp Val Ile Pro Val Arg
 1130 1135 1140
 Arg Arg Gly Asp Ser Arg Gly Ser Leu Leu Ser Pro Arg Pro Ile
 1145 1150 1155
 Ser Tyr Leu Lys Gly Ser Ser Gly Gly Pro Leu Leu Cys Pro Ala
 1160 1165 1170
 Gly His Ala Val Gly Leu Phe Arg Ala Ala Val Cys Thr Arg Gly
 1175 1180 1185
 Val Ala Lys Ala Val Asp Phe Ile Pro Val Glu Asn Leu Gly Thr
 1190 1195 1200
 Thr Met Arg Ser Pro Val Phe Thr Asp Asn Ser Ser Pro Pro Ala
 1205 1210 1215
 Val Pro Gln Ser Phe Gln Val Ala His Leu His Ala Pro Thr Gly
 1220 1225 1230
 Ser Gly Lys Ser Thr Lys Val Pro Ala Ala Tyr Ala Ala Gln Gly
 1235 1240 1245
 Tyr Lys Val Leu Val Leu Asn Pro Ser Val Ala Ala Thr Leu Gly
 1250 1255 1260
 Phe Gly Ala Tyr Met Ser Lys Ala His Gly Val Asp Pro Asn Ile
 1265 1270 1275
 Arg Thr Gly Val Arg Thr Ile Thr Thr Gly Ser Pro Ile Thr Tyr
 1280 1285 1290
 Ser Thr Tyr Gly Lys Phe Leu Ala Asp Gly Gly Cys Ser Gly Gly
 1295 1300 1305
 Ala Tyr Asp Ile Ile Ile Cys Asp Glu Cys His Ser Thr Asp Ala

1310 1315 1320
 Thr Ser Ile Leu Gly Ile Gly Thr Val Leu Asp Gln Ala Glu Thr

1325 1330 1335
 Ala Gly Ala Arg Leu Val Val Leu Ala Thr Ala Thr Pro Pro Gly

1340 1345 1350
 Ser Val Thr Val Ser His Pro Asn Ile Glu Glu Val Ala Leu Ser

1355 1360 1365
 Thr Thr Gly Glu Ile Pro Phe Tyr Gly Lys Ala Ile Pro Leu Glu

1370 1375 1380
 Val Ile Lys Gly Gly Arg His Leu Ile Phe Cys His Ser Lys Lys

1385 1390 1395
 Lys Cys Asp Glu Leu Ala Ala Lys Leu Val Ala Leu Gly Ile Asn

1400 1405 1410
 Ala Val Ala Tyr Tyr Arg Gly Leu Asp Val Ser Val Ile Pro Thr

1415 1420 1425
 Ser Gly Asp Val Val Val Val Ser Thr Asp Ala Leu Met Thr Gly

1430 1435 1440
 Phe Thr Gly Asp Phe Asp Ser Val Ile Asp Cys Asn Thr Cys Val

1445 1450 1455
 Thr Gln Thr Val Asp Phe Ser Leu Asp Pro Thr Phe Thr Ile Glu

1460 1465 1470
 Thr Thr Thr Leu Pro Gln Asp Ala Val Ser Arg Thr Gln Arg Arg

1475 1480 1485
 Gly Arg Thr Gly Arg Gly Lys Pro Gly Ile Tyr Arg Phe Val Ala

1490 1495 1500
 Pro Gly Glu Arg Pro Ser Gly Met Phe Asp Ser Ser Val Leu Cys

1505 1510 1515
 Glu Cys Tyr Asp Ala Gly Cys Ala Trp Tyr Glu Leu Thr Pro Ala

1520 1525 1530
 Glu Thr Thr Val Arg Leu Arg Ala Tyr Met Asn Thr Pro Gly Leu

1535 1540 1545

Pro Val Cys Gln Asp His Leu Glu Phe Trp Glu Gly Val Phe Thr
 1550 1555 1560

Gly Leu Thr His Ile Asp Ala His Phe Leu Ser Gln Thr Lys Gln
 1565 1570 1575

Ser Gly Glu Asn Phe Pro Tyr Leu Val Ala Tyr Gln Ala Thr Val
 1580 1585 1590

Cys Ala Arg Ala Gln Ala Pro Pro Pro Ser Trp Asp Gln Met Trp
 1595 1600 1605

Lys Cys Leu Ile Arg Leu Lys Pro Thr Leu His Gly Pro Thr Pro
 1610 1615 1620

Leu Leu Tyr Arg Leu Gly Ala Val Gln Asn Glu Val Thr Leu Thr
 1625 1630 1635

His Pro Ile Thr Lys Tyr Ile Met Thr Cys Met Ser Ala Asp Leu
 1640 1645 1650

Glu Val Val Thr Ser Thr Trp Val Leu Val Gly Gly Val Leu Ala
 1655 1660 1665

Ala Leu Ala Ala Tyr Cys Leu Ser Thr Gly Cys Val Val Ile Val
 1670 1675 1680

Gly Arg Ile Val Leu Ser Gly Lys Pro Ala Ile Ile Pro Asp Arg
 1685 1690 1695

Glu Val Leu Tyr Gln Glu Phe Asp Glu Met Glu Glu Cys Ser Gln
 1700 1705 1710

His Leu Pro Tyr Ile Glu Gln Gly Met Met Leu Ala Glu Gln Phe
 1715 1720 1725

Lys Gln Lys Ala Leu Gly Leu Leu Gln Thr Ala Ser Arg His Ala
 1730 1735 1740

Glu Val Ile Thr Pro Ala Val Gln Thr Asn Trp Gln Lys Leu Glu
 1745 1750 1755

Val Phe Trp Ala Lys His Met Trp Asn Phe Ile Ser Gly Ile Gln
 1760 1765 1770

Tyr Leu Ala Gly Leu Ser Thr Leu Pro Gly Asn Pro Ala Ile Ala

1775 1780 1785
 Ser Leu Met Ala Phe Thr Ala Ala Val Thr Ser Pro Leu Thr Thr
 1790 1795 1800
 Gly Gln Thr Leu Leu Phe Asn Ile Leu Gly Gly Trp Val Ala Ala

 1805 1810 1815
 Gln Leu Ala Ala Pro Gly Ala Ala Thr Ala Phe Val Gly Ala Gly
 1820 1825 1830
 Leu Ala Gly Ala Ala Ile Gly Ser Val Gly Leu Gly Lys Val Leu
 1835 1840 1845
 Val Asp Ile Leu Ala Gly Tyr Gly Ala Gly Val Ala Gly Ala Leu
 1850 1855 1860
 Val Ala Phe Lys Ile Met Ser Gly Glu Val Pro Ser Thr Glu Asp

 1865 1870 1875
 Leu Val Asn Leu Leu Pro Ala Ile Leu Ser Pro Gly Ala Leu Val
 1880 1885 1890
 Val Gly Val Val Cys Ala Ala Ile Leu Arg Arg His Val Gly Pro
 1895 1900 1905
 Gly Glu Gly Ala Val Gln Trp Met Asn Arg Leu Ile Ala Phe Ala
 1910 1915 1920
 Ser Arg Gly Asn His Val Ser Pro Thr His Tyr Val Pro Glu Ser

 1925 1930 1935
 Asp Ala Ala Ala Arg Val Thr Ala Ile Leu Ser Ser Leu Thr Val
 1940 1945 1950
 Thr Gln Leu Leu Arg Arg Leu His Gln Trp Ile Ser Ser Glu Cys
 1955 1960 1965
 Thr Thr Pro Cys Ser Gly Ser Trp Leu Arg Asp Ile Trp Asp Trp
 1970 1975 1980
 Ile Cys Glu Val Leu Ser Asp Phe Lys Thr Trp Leu Lys Ala Lys

 1985 1990 1995
 Leu Met Pro Gln Leu Pro Gly Ile Pro Phe Val Ser Cys Gln Arg
 2000 2005 2010

Gly Tyr Arg Gly Val Trp Arg Gly Asp Gly Ile Met His Thr Arg
 2015 2020 2025

Cys His Cys Gly Ala Glu Ile Thr Gly His Val Lys Asn Gly Thr
 2030 2035 2040

Met Arg Ile Val Gly Pro Arg Thr Cys Arg Asn Met Trp Ser Gly
 2045 2050 2055

Thr Phe Pro Ile Asn Ala Tyr Thr Thr Gly Pro Cys Thr Pro Leu
 2060 2065 2070

Pro Ala Pro Asn Tyr Lys Phe Ala Leu Trp Arg Val Ser Ala Glu
 2075 2080 2085

Glu Tyr Val Glu Ile Arg Arg Val Gly Asp Phe His Tyr Val Ser
 2090 2095 2100

Gly Met Thr Thr Asp Asn Leu Lys Cys Pro Cys Gln Ile Pro Ser
 2105 2110 2115

Pro Glu Phe Phe Thr Glu Leu Asp Gly Val Arg Leu His Arg Phe
 2120 2125 2130

Ala Pro Pro Cys Lys Pro Leu Leu Arg Glu Glu Val Ser Phe Arg
 2135 2140 2145

Val Gly Leu His Glu Tyr Pro Val Gly Ser Gln Leu Pro Cys Glu
 2150 2155 2160

Pro Glu Pro Asp Val Ala Val Leu Thr Ser Met Leu Thr Asp Pro
 2165 2170 2175

Ser His Ile Thr Ala Glu Ala Ala Gly Arg Arg Leu Ala Arg Gly
 2180 2185 2190

Ser Pro Pro Ser Met Ala Ser Ser Ser Ala Ser Gln Leu Ser Ala
 2195 2200 2205

Pro Ser Leu Lys Ala Thr Cys Thr Ala Asn His Asp Ser Pro Asp
 2210 2215 2220

Ala Glu Leu Ile Glu Ala Asn Leu Leu Trp Arg Gln Glu Met Gly
 2225 2230 2235

Gly Asn Ile Thr Arg Val Glu Ser Glu Asn Lys Val Val Ile Leu

2240 2245 2250
 Asp Ser Phe Asp Pro Leu Val Ala Glu Glu Asp Glu Arg Glu Val
 2255 2260 2265
 Ser Val Pro Ala Glu Ile Leu Arg Lys Ser Arg Arg Phe Ala Arg
 2270 2275 2280
 Ala Leu Pro Val Trp Ala Arg Pro Asp Tyr Asn Pro Pro Leu Val

 2285 2290 2295
 Glu Thr Trp Lys Lys Pro Asp Tyr Glu Pro Pro Val Val His Gly
 2300 2305 2310
 Cys Pro Leu Pro Pro Pro Arg Ser Pro Pro Val Pro Pro Pro Arg
 2315 2320 2325
 Lys Lys Arg Thr Val Val Leu Thr Glu Ser Thr Leu Ser Thr Ala
 2330 2335 2340
 Leu Ala Glu Leu Ala Thr Lys Ser Phe Gly Ser Ser Ser Thr Ser

 2345 2350 2355
 Gly Ile Thr Gly Asp Asn Thr Thr Thr Ser Ser Glu Pro Ala Pro
 2360 2365 2370
 Ser Gly Cys Pro Pro Asp Ser Asp Val Glu Ser Tyr Ser Ser Met
 2375 2380 2385
 Pro Pro Leu Glu Gly Glu Pro Gly Asp Pro Asp Leu Ser Asp Gly
 2390 2395 2400
 Ser Trp Ser Thr Val Ser Ser Gly Ala Asp Thr Glu Asp Val Val

 2405 2410 2415
 Cys Cys Ser Met Ser Tyr Ser Trp Thr Gly Ala Leu Val Thr Pro
 2420 2425 2430
 Cys Ala Ala Glu Glu Gln Lys Leu Pro Ile Asn Ala Leu Ser Asn
 2435 2440 2445
 Ser Leu Leu Arg His His Asn Leu Val Tyr Ser Thr Thr Ser Arg
 2450 2455 2460
 Ser Ala Cys Gln Arg Gln Lys Lys Val Thr Phe Asp Arg Leu Gln

 2465 2470 2475

Val Leu Asp Ser His Tyr Gln Asp Val Leu Lys Glu Val Lys Ala
 2480 2485 2490

Ala Ala Ser Lys Val Lys Ala Asn Leu Leu Ser Val Glu Glu Ala
 2495 2500 2505

Cys Ser Leu Thr Pro Pro His Ser Ala Lys Ser Lys Phe Gly Tyr
 2510 2515 2520

Gly Ala Lys Asp Val Arg Cys His Ala Arg Lys Ala Val Ala His
 2525 2530 2535

Ile Asn Ser Val Trp Lys Asp Leu Leu Glu Asp Ser Val Thr Pro
 2540 2545 2550

Ile Asp Thr Thr Ile Met Ala Lys Asn Glu Val Phe Cys Val Gln
 2555 2560 2565

Pro Glu Lys Gly Gly Arg Lys Pro Ala Arg Leu Ile Val Phe Pro
 2570 2575 2580

Asp Leu Gly Val Arg Val Cys Glu Lys Met Ala Leu Tyr Asp Val
 2585 2590 2595

Val Ser Lys Leu Pro Leu Ala Val Met Gly Ser Ser Tyr Gly Phe
 2600 2605 2610

Gln Tyr Ser Pro Gly Gln Arg Val Glu Phe Leu Val Gln Ala Trp
 2615 2620 2625

Lys Ser Lys Lys Thr Pro Met Gly Phe Ser Tyr Asp Thr Arg Cys
 2630 2635 2640

Phe Asp Ser Thr Val Thr Glu Ser Asp Ile Arg Thr Glu Glu Ala
 2645 2650 2655

Ile Tyr Gln Cys Cys Asp Leu Asp Pro Gln Ala Arg Val Ala Ile
 2660 2665 2670

Lys Ser Leu Thr Glu Arg Leu Tyr Val Gly Gly Pro Leu Thr Asn
 2675 2680 2685

Ser Arg Gly Glu Asn Cys Gly Tyr Arg Arg Cys Arg Ala Ser Gly
 2690 2695 2700

Val Leu Thr Thr Ser Cys Gly Asn Thr Leu Thr Cys Tyr Ile Lys

2705	2710	2715
Ala Arg Ala Ala Cys Arg Ala	Ala Gly Leu Gln Asp	Cys Thr Met
2720	2725	2730
Leu Val Cys Gly Asp Asp Leu	Val Val Ile Cys Glu	Ser Ala Gly
2735	2740	2745
Val Gln Glu Asp Ala Ala Asn	Leu Arg Ala Phe Thr	Glu Ala Met
2750	2755	2760
Thr Arg Tyr Ser Ala Pro Pro	Gly Asp Pro Pro Gln	Pro Glu Tyr
2765	2770	2775
Asp Leu Glu Leu Ile Thr Ser	Cys Ser Ser Asn Val	Ser Val Ala
2780	2785	2790
His Asp Gly Ala Gly Lys Arg	Val Tyr Tyr Leu Thr	Arg Asp Pro
2795	2800	2805
Thr Thr Pro Leu Ala Arg Ala	Ala Trp Glu Thr Ala	Arg His Thr
2810	2815	2820
Pro Val Asn Ser Trp Leu Gly	Asn Ile Ile Met Phe	Ala Pro Thr
2825	2830	2835
Leu Trp Ala Arg Met Ile Leu	Met Thr His Phe Phe	Ser Val Leu
2840	2845	2850
Ile Ala Arg Asp Gln Leu Glu	Gln Ala Leu Asn Cys	Glu Ile Tyr
2855	2860	2865
Gly Ala Cys Tyr Ser Ile Glu	Pro Leu Asp Leu Pro	Pro Ile Ile
2870	2875	2880
Gln Arg Leu His Gly Leu Ser	Ala Phe Ser Leu His	Ser Tyr Ser
2885	2890	2895
Pro Gly Glu Ile Asn Arg Val	Ala Ala Cys Leu Arg	Lys Leu Gly
2900	2905	2910
Val Pro Pro Leu Arg Ala Trp	Arg His Arg Ala Arg	Ser Val Arg
2915	2920	2925
Ala Arg Leu Leu Ser Arg Gly	Gly Arg Ala Ala Ile	Cys Gly Lys
2930	2935	2940

Tyr Leu Phe Asn Trp Ala Val Arg Thr Lys Leu Lys Leu Thr Pro

2945 2950 2955

Ile Thr Ala Ala Gly Arg Leu Asp Leu Ser Gly Trp Phe Thr Ala

2960 2965 2970

Gly Tyr Ser Gly Gly Asp Ile Tyr His Ser Val Ser His Ala Arg

2975 2980 2985

Pro Arg Trp Phe Trp Phe Cys Leu Leu Leu Leu Ala Ala Gly Val

2990 2995 3000

Gly Ile Tyr Leu Leu Pro Asn Arg

3005 3010

<210> 5

<211> 3010

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> GenBank AAK08509 HCV 1b

<400> 5

Met Ser Thr Asn Pro Lys Pro Gln Arg Lys Thr Lys Arg Asn Thr Asn

1 5 10 15

Arg Arg Pro Gln Asp Val Lys Phe Pro Gly Gly Gly Gln Ile Val Gly

20 25 30

Gly Val Tyr Leu Leu Pro Arg Arg Gly Pro Arg Leu Gly Val Arg Ala

35 40 45

Thr Arg Lys Thr Ser Glu Arg Ser Gln Pro Arg Gly Arg Arg Gln Pro

50 55 60

Ile Pro Lys Ala Arg Arg Pro Glu Gly Arg Thr Trp Ala Gln Pro Gly

65 70 75 80

Tyr Pro Trp Pro Leu Tyr Gly Asn Glu Gly Met Gly Trp Ala Gly Trp

85 90 95

Leu Leu Ser Pro Arg Gly Ser Arg Pro Ser Trp Gly Pro Thr Asp Pro

100 105 110

Arg Arg Arg Ser Arg Asn Leu Gly Lys Val Ile Asp Thr Leu Thr Cys

Ala Lys Val Leu Ile Val Met Leu Leu Phe Ala Gly Val Asp Gly His
 370 375 380

Thr His Val Thr Gly Gly Arg Val Ala Ser Ser Thr Gln Ser Leu Val
 385 390 395 400

Ser Trp Leu Ser Gln Gly Pro Ser Gln Lys Ile Gln Leu Val Asn Thr
 405 410 415

Asn Gly Ser Trp His Ile Asn Arg Thr Ala Leu Asn Cys Asn Asp Ser
 420 425 430

Leu Gln Thr Gly Phe Ile Ala Ala Leu Phe Tyr Ala His Arg Phe Asn
 435 440 445

Ala Ser Gly Cys Pro Glu Arg Met Ala Ser Cys Arg Pro Ile Asp Lys
 450 455 460

Phe Ala Gln Gly Trp Gly Pro Ile Thr His Val Val Pro Asn Ile Ser
 465 470 475 480

Asp Gln Arg Pro Tyr Cys Trp His Tyr Ala Pro Gln Pro Cys Gly Ile
 485 490 495

Val Pro Ala Ser Gln Val Cys Gly Pro Val Tyr Cys Phe Thr Pro Ser
 500 505 510

Pro Val Val Val Gly Thr Thr Asp Arg Ser Gly Val Pro Thr Tyr Ser
 515 520 525

Trp Gly Glu Asn Glu Thr Asp Val Leu Leu Leu Asn Asn Thr Arg Pro
 530 535 540

Pro Gln Gly Asn Trp Phe Gly Cys Thr Trp Met Asn Ser Thr Gly Phe
 545 550 555 560

Thr Lys Thr Cys Gly Gly Pro Pro Cys Asn Ile Gly Gly Val Gly Asn
 565 570 575

Asn Thr Leu Ile Cys Pro Thr Asp Cys Phe Arg Lys His Pro Glu Ala
 580 585 590

Thr Tyr Thr Lys Cys Gly Ser Gly Pro Trp Leu Thr Pro Arg Cys Leu
 595 600 605

Val Asp Tyr Pro Tyr Arg Leu Trp His Tyr Pro Cys Thr Ile Asn Phe

Asn Val Arg Gly Gly Arg Asp Ala Ile Ile Leu Leu Thr Cys Ala Val
 865 870 875 880

His Pro Glu Leu Ile Phe Asp Ile Thr Lys Leu Leu Leu Ala Ile Leu
 885 890 895

Gly Pro Leu Met Val Leu Gln Ala Gly Ile Thr Arg Val Pro Tyr Phe
 900 905 910

Val Arg Ala Gln Gly Leu Ile His Ala Cys Met Leu Val Arg Lys Val
 915 920 925

Ala Gly Gly His Tyr Val Gln Met Ala Phe Met Lys Leu Gly Ala Leu
 930 935 940

Thr Gly Thr Tyr Ile Tyr Asn His Leu Thr Pro Leu Arg Asp Trp Ala
 945 950 955 960

His Ala Gly Leu Arg Asp Leu Ala Val Ala Val Glu Pro Val Val Phe
 965 970 975

Ser Asp Met Glu Thr Lys Ile Ile Thr Trp Gly Ala Asp Thr Ala Ala
 980 985 990

Cys Gly Asp Ile Ile Leu Gly Leu Pro Val Ser Ala Arg Arg Gly Lys
 995 1000 1005

Glu Ile Leu Leu Gly Pro Ala Asp Ser Leu Glu Gly Arg Gly Trp
 1010 1015 1020

Arg Leu Leu Ala Pro Ile Thr Ala Tyr Ser Gln Gln Thr Arg Gly
 1025 1030 1035

Leu Leu Gly Cys Ile Ile Thr Ser Leu Thr Gly Arg Asp Lys Asn
 1040 1045 1050

Gln Val Glu Gly Glu Val Gln Val Val Ser Thr Ala Thr Gln Ser
 1055 1060 1065

Phe Leu Ala Thr Cys Val Asn Gly Val Cys Trp Thr Val Tyr His
 1070 1075 1080

Gly Ala Gly Ser Lys Thr Leu Ala Gly Pro Lys Gly Pro Ile Thr
 1085 1090 1095

Gln Met Tyr Thr Asn Val Asp Gln Asp Leu Val Gly Trp Gln Ala

1100	1105	1110
Pro Pro Gly Ala Arg Ser Leu Thr Pro Cys Thr Cys Gly Ser Ser		
1115	1120	1125
Asp Leu Tyr Leu Val Thr Arg His Ala Asp Val Ile Pro Val Arg		
1130	1135	1140
Arg Arg Gly Asp Ser Arg Gly Ser Leu Leu Ser Pro Arg Pro Val		
1145	1150	1155
Ser Tyr Leu Lys Gly Ser Ser Gly Gly Pro Leu Leu Cys Pro Ser		
1160	1165	1170
Gly His Ala Val Gly Ile Phe Arg Ala Ala Val Cys Thr Arg Gly		
1175	1180	1185
Val Ala Lys Ala Val Asp Phe Val Pro Val Glu Ser Met Glu Thr		
1190	1195	1200
Thr Met Arg Ser Pro Val Phe Thr Asp Asn Ser Ser Pro Pro Ala		
1205	1210	1215
Val Pro Gln Ser Phe Gln Val Ala His Leu His Ala Pro Thr Gly		
1220	1225	1230
Ser Gly Lys Ser Thr Lys Val Pro Ala Ala Tyr Ala Ala Gln Gly		
1235	1240	1245
Tyr Lys Val Leu Val Leu Asn Pro Ser Val Ala Ala Thr Leu Gly		
1250	1255	1260
Phe Gly Ala Tyr Met Ser Lys Ala His Gly Ile Asp Pro Asn Ile		
1265	1270	1275
Arg Thr Gly Val Arg Thr Ile Thr Thr Gly Ala Pro Val Thr Tyr		
1280	1285	1290
Ser Thr Tyr Gly Lys Phe Leu Ala Asp Gly Gly Cys Ser Gly Gly		
1295	1300	1305
Ala Tyr Asp Ile Ile Ile Cys Asp Glu Cys His Ser Thr Asp Ser		
1310	1315	1320
Thr Thr Ile Leu Gly Ile Gly Thr Val Leu Asp Gln Ala Glu Thr		
1325	1330	1335

Ala Gly Ala Arg Leu Val Val Leu Ala Thr Ala Thr Pro Pro Gly
 1340 1345 1350

Ser Val Thr Val Pro His Pro Asn Ile Glu Glu Val Ala Leu Ser
 1355 1360 1365

Asn Thr Gly Glu Ile Pro Phe Tyr Gly Lys Ala Ile Pro Ile Glu
 1370 1375 1380

Ala Ile Arg Gly Gly Arg His Leu Ile Phe Cys His Ser Lys Lys
 1385 1390 1395

Lys Cys Asp Glu Leu Ala Ala Lys Leu Ser Gly Leu Gly Ile Asn
 1400 1405 1410

Ala Val Ala Tyr Tyr Arg Gly Leu Asp Val Ser Val Ile Pro Thr
 1415 1420 1425

Ile Gly Asp Val Val Val Val Ala Thr Asp Ala Leu Met Thr Gly
 1430 1435 1440

Tyr Thr Gly Asp Phe Asp Ser Val Ile Asp Cys Asn Thr Cys Val
 1445 1450 1455

Thr Gln Thr Val Asp Phe Ser Leu Asp Pro Thr Phe Thr Ile Glu
 1460 1465 1470

Thr Thr Thr Val Pro Gln Asp Ala Val Ser Arg Ser Gln Arg Arg
 1475 1480 1485

Gly Arg Thr Gly Arg Gly Arg Arg Gly Ile Tyr Arg Phe Val Thr
 1490 1495 1500

Pro Gly Glu Arg Pro Ser Gly Met Phe Asp Ser Ser Val Leu Cys
 1505 1510 1515

Glu Cys Tyr Asp Ala Gly Cys Ala Trp Tyr Glu Leu Thr Pro Ala
 1520 1525 1530

Glu Thr Ser Val Arg Leu Arg Ala Tyr Leu Asn Thr Pro Gly Leu
 1535 1540 1545

Pro Val Cys Gln Asp His Leu Glu Phe Trp Glu Ser Val Phe Thr
 1550 1555 1560

Gly Leu Thr His Ile Asp Ala His Phe Leu Ser Gln Thr Lys Gln

1565	1570	1575
Ala Gly Asp Asn Phe Pro Tyr	Leu Val Ala Tyr Gln	Ala Thr Val
1580	1585	1590
Cys Ala Arg Ala Gln Ala Pro	Pro Pro Ser Trp Asp	Gln Met Trp
1595	1600	1605
Lys Cys Leu Ile Arg Leu Lys	Pro Thr Leu His Gly	Pro Thr Pro
1610	1615	1620
Leu Leu Tyr Arg Leu Gly Ala	Val Gln Asn Glu Val	Thr Leu Thr
1625	1630	1635
His Pro Ile Thr Lys Tyr Ile	Met Ala Cys Met Ser	Ala Asp Leu
1640	1645	1650
Glu Val Val Thr Ser Thr Trp	Val Leu Val Gly Gly	Val Leu Ala
1655	1660	1665
Ala Leu Ala Ala Tyr Cys Leu	Thr Thr Gly Ser Val	Val Ile Val
1670	1675	1680
Gly Arg Ile Ile Leu Ser Gly	Arg Pro Ala Ile Val	Pro Asp Arg
1685	1690	1695
Glu Leu Leu Tyr Gln Glu Phe	Asp Glu Met Glu Glu	Cys Ala Thr
1700	1705	1710
His Leu Pro Tyr Ile Glu Gln	Gly Met Gln Leu Ala	Glu Gln Phe
1715	1720	1725
Lys Gln Lys Ala Leu Gly Leu	Leu Gln Thr Ala Thr	Lys Gln Ala
1730	1735	1740
Glu Ala Ala Ala Pro Val Val	Glu Ser Lys Trp Arg	Ala Leu Glu
1745	1750	1755
Thr Phe Trp Ala Lys His Met	Trp Asn Phe Ile Ser	Gly Ile Gln
1760	1765	1770
Tyr Leu Ala Gly Leu Ser Thr	Leu Pro Gly Asn Pro	Ala Ile Ala
1775	1780	1785
Ser Leu Met Ala Phe Thr Ala	Ser Ile Thr Ser Pro	Leu Thr Thr
1790	1795	1800

Gln Ser Thr Leu Leu Phe Asn Ile Leu Gly Gly Trp Val Ala Ala
 1805 1810 1815

Gln Leu Ala Pro Pro Ser Ala Ala Ser Ala Phe Val Gly Ala Gly
 1820 1825 1830

Ile Ala Gly Ala Ala Val Gly Ser Ile Gly Leu Gly Lys Val Leu
 1835 1840 1845

Val Asp Ile Leu Ala Gly Tyr Gly Ala Gly Val Ala Gly Ala Leu
 1850 1855 1860

Val Ala Phe Lys Val Met Ser Gly Glu Met Pro Ser Thr Glu Asp
 1865 1870 1875

Leu Val Asn Leu Leu Pro Ala Ile Leu Ser Pro Gly Ala Leu Val
 1880 1885 1890

Val Gly Val Val Cys Ala Ala Ile Leu Arg Arg His Val Gly Pro
 1895 1900 1905

Gly Glu Gly Ala Val Gln Trp Met Asn Arg Leu Ile Ala Phe Ala
 1910 1915 1920

Ser Arg Gly Asn His Val Ser Pro Thr His Tyr Val Pro Glu Ser
 1925 1930 1935

Asp Ala Ala Ala Arg Val Thr Gln Ile Leu Ser Ser Leu Thr Ile
 1940 1945 1950

Thr Gln Leu Leu Lys Arg Leu His Gln Trp Ile Asn Glu Asp Cys
 1955 1960 1965

Ser Thr Pro Cys Ser Gly Ser Trp Leu Arg Asp Val Trp Asp Trp
 1970 1975 1980

Ile Cys Thr Val Leu Thr Asp Phe Lys Thr Trp Leu Gln Ser Lys
 1985 1990 1995

Leu Leu Pro Gln Leu Pro Gly Val Pro Phe Phe Ser Cys Gln Arg
 2000 2005 2010

Gly Tyr Lys Gly Val Trp Arg Gly Asp Gly Ile Met Gln Thr Thr
 2015 2020 2025

Cys Pro Cys Gly Ala Gln Ile Thr Gly His Val Lys Asn Gly Ser

2030	2035	2040
Met Arg Ile Val Gly Pro Lys Thr Cys Ser Asn Thr Trp His Gly		
2045	2050	2055
Thr Phe Pro Ile Asn Ala Tyr Thr Thr Gly Pro Cys Thr Pro Ser		
2060	2065	2070
Pro Ala Pro Asn Tyr Ser Arg Ala Leu Trp Arg Val Ala Ala Glu		
2075	2080	2085
Glu Tyr Val Glu Val Thr Arg Val Gly Asp Phe His Tyr Val Thr		
2090	2095	2100
Gly Met Thr Thr Asp Asn Val Lys Cys Pro Cys Gln Val Pro Ala		
2105	2110	2115
Pro Glu Phe Phe Ser Glu Val Asp Gly Val Arg Leu His Arg Tyr		
2120	2125	2130
Ala Pro Ala Cys Arg Pro Leu Leu Arg Glu Glu Val Thr Phe Gln		
2135	2140	2145
Val Gly Leu Asn Gln Tyr Leu Val Gly Ser Gln Leu Pro Cys Glu		
2150	2155	2160
Pro Glu Pro Asp Val Ala Val Leu Thr Ser Met Leu Thr Asp Pro		
2165	2170	2175
Ser His Ile Thr Ala Glu Thr Ala Lys Arg Arg Leu Ala Arg Gly		
2180	2185	2190
Ser Pro Pro Ser Leu Ala Ser Ser Ser Ala Ser Gln Leu Ser Ala		
2195	2200	2205
Pro Ser Leu Lys Ala Thr Cys Thr Thr His His Val Ser Pro Asp		
2210	2215	2220
Ala Asp Leu Ile Glu Ala Asn Leu Leu Trp Arg Gln Glu Met Gly		
2225	2230	2235
Gly Asn Ile Thr Arg Val Glu Ser Glu Asn Lys Val Val Val Leu		
2240	2245	2250
Asp Ser Phe Asp Pro Leu Arg Ala Glu Glu Asp Glu Arg Glu Val		
2255	2260	2265

Ser Val Pro Ala Glu Ile Leu Arg Lys Ser Lys Lys Phe Pro Ala
 2270 2275 2280

Ala Met Pro Ile Trp Ala Arg Pro Asp Tyr Asn Pro Pro Leu Leu
 2285 2290 2295

Glu Ser Trp Lys Asp Pro Asp Tyr Val Pro Pro Val Val His Gly
 2300 2305 2310

Cys Pro Leu Pro Pro Ile Lys Ala Pro Pro Ile Pro Pro Pro Arg
 2315 2320 2325

Arg Lys Arg Thr Val Val Leu Thr Glu Ser Ser Val Ser Ser Ala
 2330 2335 2340

Leu Ala Glu Leu Ala Thr Lys Thr Phe Gly Ser Ser Glu Ser Ser
 2345 2350 2355

Ala Val Asp Ser Gly Thr Ala Thr Ala Leu Pro Asp Gln Ala Ser
 2360 2365 2370

Asp Asp Gly Asp Lys Gly Ser Asp Val Glu Ser Tyr Ser Ser Met
 2375 2380 2385

Pro Pro Leu Glu Gly Glu Pro Gly Asp Pro Asp Leu Ser Asp Gly
 2390 2395 2400

Ser Trp Ser Thr Val Ser Glu Glu Ala Ser Glu Asp Val Val Cys
 2405 2410 2415

Cys Ser Met Ser Tyr Thr Trp Thr Gly Ala Leu Ile Thr Pro Cys
 2420 2425 2430

Ala Ala Glu Glu Ser Lys Leu Pro Ile Asn Ala Leu Ser Asn Ser
 2435 2440 2445

Leu Leu Arg His His Asn Met Val Tyr Ala Thr Thr Ser Arg Ser
 2450 2455 2460

Ala Gly Leu Arg Gln Lys Lys Val Thr Phe Asp Arg Leu Gln Val
 2465 2470 2475

Leu Asp Asp His Tyr Arg Asp Val Leu Lys Glu Met Lys Ala Lys
 2480 2485 2490

Ala Ser Thr Val Lys Ala Lys Leu Leu Ser Val Glu Glu Ala Cys

2495	2500	2505
Lys Leu Thr Pro Pro His Ser Ala Lys Ser Lys Phe Gly Tyr Gly		
2510	2515	2520
Ala Lys Asp Val Arg Asn Leu Ser Ser Lys Ala Val Asn His Ile		
2525	2530	2535
His Ser Val Trp Lys Asp Leu Leu Glu Asp Thr Val Thr Pro Ile		
2540	2545	2550
Asp Thr Thr Ile Met Ala Lys Asn Glu Val Phe Cys Val Gln Pro		
2555	2560	2565
Glu Lys Gly Gly Arg Lys Pro Ala Arg Leu Ile Val Phe Pro Asp		
2570	2575	2580
Leu Gly Val Arg Val Cys Glu Lys Met Ala Leu Tyr Asp Val Val		
2585	2590	2595
Ser Thr Leu Pro Gln Val Val Met Gly Ser Ser Tyr Gly Phe Gln		
2600	2605	2610
Tyr Ser Pro Gly Gln Arg Val Glu Phe Leu Val Asn Thr Trp Lys		
2615	2620	2625
Ser Lys Lys Asn Pro Met Gly Phe Ser Tyr Asp Thr Arg Cys Phe		
2630	2635	2640
Asp Ser Thr Val Thr Glu Asn Asp Ile Arg Val Glu Glu Ser Ile		
2645	2650	2655
Tyr Gln Cys Cys Asp Leu Ala Pro Glu Ala Arg Gln Ala Ile Lys		
2660	2665	2670
Ser Leu Thr Glu Arg Leu Tyr Ile Gly Gly Pro Leu Thr Asn Ser		
2675	2680	2685
Lys Gly Gln Asn Cys Gly Tyr Arg Arg Cys Arg Ala Ser Gly Val		
2690	2695	2700
Leu Thr Thr Ser Cys Gly Asn Thr Leu Thr Cys Tyr Leu Lys Ala		
2705	2710	2715
Ser Ala Ala Cys Arg Ala Ala Lys Leu Gln Asp Cys Thr Met Leu		
2720	2725	2730

Val Asn Gly Asp Asp Leu Val Val Ile Cys Glu Ser Ala Gly Thr
 2735 2740 2745

Gln Glu Asp Ala Ala Ser Leu Arg Val Phe Thr Glu Ala Met Thr
 2750 2755 2760

Arg Tyr Ser Ala Pro Pro Gly Asp Pro Pro Gln Pro Glu Tyr Asp
 2765 2770 2775

Leu Glu Leu Ile Thr Ser Cys Ser Ser Asn Val Ser Val Ala His
 2780 2785 2790

Asp Ala Ser Gly Lys Arg Val Tyr Tyr Leu Thr Arg Asp Pro Thr
 2795 2800 2805

Thr Pro Leu Ala Arg Ala Ala Trp Glu Thr Ala Arg His Thr Pro
 2810 2815 2820

Val Asn Ser Trp Leu Gly Asn Ile Ile Met Tyr Ala Pro Thr Leu
 2825 2830 2835

Trp Ala Arg Met Ile Leu Met Thr His Phe Phe Ser Ile Leu Leu
 2840 2845 2850

Ala Gln Glu Gln Leu Glu Lys Ala Leu Asp Cys Gln Ile Tyr Gly
 2855 2860 2865

Ala Cys Tyr Ser Ile Glu Pro Leu Asp Leu Pro Gln Ile Ile Glu
 2870 2875 2880

Arg Leu His Gly Leu Ser Ala Phe Ser Leu His Ser Tyr Ser Pro
 2885 2890 2895

Gly Glu Ile Asn Arg Val Ala Ser Cys Leu Arg Lys Leu Gly Val
 2900 2905 2910

Pro Pro Leu Arg Val Trp Arg His Arg Ala Arg Ser Val Arg Ala
 2915 2920 2925

Arg Leu Leu Ser Gln Gly Gly Arg Ala Ala Thr Cys Gly Lys Tyr
 2930 2935 2940

Leu Phe Asn Trp Ala Val Lys Thr Lys Leu Lys Leu Thr Pro Ile
 2945 2950 2955

Pro Ala Ala Ser Gln Leu Asp Leu Ser Gly Trp Phe Val Ala Gly

2960 2965 2970
 Tyr Ser Gly Gly Asp Ile Tyr His Ser Leu Ser Arg Ala Arg Pro
 2975 2980 2985

 Arg Trp Phe Met Leu Cys Leu Leu Leu Leu Ser Val Gly Val Gly
 2990 2995 3000
 Ile Tyr Leu Leu Pro Asn Arg
 3005 3010
 <210> 6
 <211> 3033
 <212> PRT
 <213> Artificial sequence
 <220><223> GenBank BAB32872 HCV 2a (JFH-1)
 <400> 6
 Met Ser Thr Asn Pro Lys Pro Gln Arg Lys Thr Lys Arg Asn Thr Asn
 1 5 10 15
 Arg Arg Pro Glu Asp Val Lys Phe Pro Gly Gly Gly Gln Ile Val Gly

 20 25 30
 Gly Val Tyr Leu Leu Pro Arg Arg Gly Pro Arg Leu Gly Val Arg Thr
 35 40 45
 Thr Arg Lys Thr Ser Glu Arg Ser Gln Pro Arg Gly Arg Arg Gln Pro
 50 55 60
 Ile Pro Lys Asp Arg Arg Ser Thr Gly Lys Ala Trp Gly Lys Pro Gly
 65 70 75 80
 Arg Pro Trp Pro Leu Tyr Gly Asn Glu Gly Leu Gly Trp Ala Gly Trp

 85 90 95
 Leu Leu Ser Pro Arg Gly Ser Arg Pro Ser Trp Gly Pro Thr Asp Pro
 100 105 110
 Arg His Arg Ser Arg Asn Val Gly Lys Val Ile Asp Thr Leu Thr Cys
 115 120 125
 Gly Phe Ala Asp Leu Met Gly Tyr Ile Pro Val Val Gly Ala Pro Leu
 130 135 140

Ser Gly Ala Ala Arg Ala Val Ala His Gly Val Arg Val Leu Glu Asp

145 150 155 160

Gly Val Asn Tyr Ala Thr Gly Asn Leu Pro Gly Phe Pro Phe Ser Ile

 165 170 175

Phe Leu Leu Ala Leu Leu Ser Cys Ile Thr Val Pro Val Ser Ala Ala

 180 185 190

Gln Val Lys Asn Thr Ser Ser Ser Tyr Met Val Thr Asn Asp Cys Ser

 195 200 205

Asn Asp Ser Ile Thr Trp Gln Leu Glu Ala Ala Val Leu His Val Pro

 210 215 220

Gly Cys Val Pro Cys Glu Arg Val Gly Asn Thr Ser Arg Cys Trp Val

225 230 235 240

Pro Val Ser Pro Asn Met Ala Val Arg Gln Pro Gly Ala Leu Thr Gln

 245 250 255

Gly Leu Arg Thr His Ile Asp Met Val Val Met Ser Ala Thr Phe Cys

 260 265 270

Ser Ala Leu Tyr Val Gly Asp Leu Cys Gly Gly Val Met Leu Ala Ala

 275 280 285

Gln Val Phe Ile Val Ser Pro Gln Tyr His Trp Phe Val Gln Glu Cys

 290 295 300

Asn Cys Ser Ile Tyr Pro Gly Thr Ile Thr Gly His Arg Met Ala Trp

305 310 315 320

Asp Met Met Met Asn Trp Ser Pro Thr Ala Thr Met Ile Leu Ala Tyr

 325 330 335

Val Met Arg Val Pro Glu Val Ile Ile Asp Ile Val Ser Gly Ala His

 340 345 350

Trp Gly Val Met Phe Gly Leu Ala Tyr Phe Ser Met Gln Gly Ala Trp

 355 360 365

Ala Lys Val Ile Val Ile Leu Leu Leu Ala Ala Gly Val Asp Ala Gly

 370 375 380

Thr Thr Thr Val Gly Gly Ala Val Ala Arg Ser Thr Asn Val Ile Ala

385 390 395 400
 Gly Val Phe Ser His Gly Pro Gln Gln Asn Ile Gln Leu Ile Asn Thr

 405 410 415
 Asn Gly Ser Trp His Ile Asn Arg Thr Ala Leu Asn Cys Asn Asp Ser
 420 425 430
 Leu Asn Thr Gly Phe Leu Ala Ala Leu Phe Tyr Thr Asn Arg Phe Asn
 435 440 445
 Ser Ser Gly Cys Pro Gly Arg Leu Ser Ala Cys Arg Asn Ile Glu Ala
 450 455 460
 Phe Arg Ile Gly Trp Gly Thr Leu Gln Tyr Glu Asp Asn Val Thr Asn

 465 470 475 480
 Pro Glu Asp Met Arg Pro Tyr Cys Trp His Tyr Pro Pro Lys Pro Cys
 485 490 495
 Gly Val Val Pro Ala Arg Ser Val Cys Gly Pro Val Tyr Cys Phe Thr
 500 505 510
 Pro Ser Pro Val Val Val Gly Thr Thr Asp Arg Arg Gly Val Pro Thr
 515 520 525
 Tyr Thr Trp Gly Glu Asn Glu Thr Asp Val Phe Leu Leu Asn Ser Thr

 530 535 540
 Arg Pro Pro Gln Gly Ser Trp Phe Gly Cys Thr Trp Met Asn Ser Thr
 545 550 555 560
 Gly Phe Thr Lys Thr Cys Gly Ala Pro Pro Cys Arg Thr Arg Ala Asp
 565 570 575
 Phe Asn Ala Ser Thr Asp Leu Leu Cys Pro Thr Asp Cys Phe Arg Lys
 580 585 590
 His Pro Asp Ala Thr Tyr Ile Lys Cys Gly Ser Gly Pro Trp Leu Thr

 595 600 605
 Pro Lys Cys Leu Val His Tyr Pro Tyr Arg Leu Trp His Tyr Pro Cys
 610 615 620
 Thr Val Asn Phe Thr Ile Phe Lys Ile Arg Met Tyr Val Gly Gly Val
 625 630 635 640

Glu His Arg Leu Thr Ala Ala Cys Asn Phe Thr Arg Gly Asp Arg Cys
 645 650 655
 Asp Leu Glu Asp Arg Asp Arg Ser Gln Leu Ser Pro Leu Leu His Ser
 660 665 670
 Thr Thr Glu Trp Ala Ile Leu Pro Cys Thr Tyr Ser Asp Leu Pro Ala
 675 680 685
 Leu Ser Thr Gly Leu Leu His Leu His Gln Asn Ile Val Asp Val Gln
 690 695 700
 Tyr Met Tyr Gly Leu Ser Pro Ala Ile Thr Lys Tyr Val Val Arg Trp
 705 710 715 720
 Glu Trp Val Val Leu Leu Phe Leu Leu Leu Ala Asp Ala Arg Val Cys
 725 730 735
 Ala Cys Leu Trp Met Leu Ile Leu Leu Gly Gln Ala Glu Ala Ala Leu
 740 745 750
 Glu Lys Leu Val Val Leu His Ala Ala Ser Ala Ala Asn Cys His Gly
 755 760 765
 Leu Leu Tyr Phe Ala Ile Phe Phe Val Ala Ala Trp His Ile Arg Gly
 770 775 780
 Arg Val Val Pro Leu Thr Thr Tyr Cys Leu Thr Gly Leu Trp Pro Phe
 785 790 795 800
 Cys Leu Leu Leu Met Ala Leu Pro Arg Gln Ala Tyr Ala Tyr Asp Ala
 805 810 815
 Pro Val His Gly Gln Ile Gly Val Gly Leu Leu Ile Leu Ile Thr Leu
 820 825 830
 Phe Thr Leu Thr Pro Gly Tyr Lys Thr Leu Leu Gly Gln Cys Leu Trp
 835 840 845
 Trp Leu Cys Tyr Leu Leu Thr Leu Gly Glu Ala Met Ile Gln Glu Trp
 850 855 860
 Val Pro Pro Met Gln Val Arg Gly Gly Arg Asp Gly Ile Ala Trp Ala
 865 870 875 880
 Val Thr Ile Phe Cys Pro Gly Val Val Phe Asp Ile Thr Lys Trp Leu

Cys Gly Ala Val Asp Leu Tyr Leu Val Thr Arg Asn Ala Asp Val
 1130 1135 1140
 Ile Pro Ala Arg Arg Arg Gly Asp Lys Arg Gly Ala Leu Leu Ser
 1145 1150 1155
 Pro Arg Pro Ile Ser Thr Leu Lys Gly Ser Ser Gly Gly Pro Val
 1160 1165 1170
 Leu Cys Pro Arg Gly His Val Val Gly Leu Phe Arg Ala Ala Val
 1175 1180 1185
 Cys Ser Arg Gly Val Ala Lys Ser Ile Asp Phe Ile Pro Val Glu
 1190 1195 1200
 Thr Leu Asp Val Val Thr Arg Ser Pro Thr Phe Ser Asp Asn Ser
 1205 1210 1215
 Thr Pro Pro Ala Val Pro Gln Thr Tyr Gln Val Gly Tyr Leu His
 1220 1225 1230
 Ala Pro Thr Gly Ser Gly Lys Ser Thr Lys Val Pro Val Ala Tyr
 1235 1240 1245
 Ala Ala Gln Gly Tyr Lys Val Leu Val Leu Asn Pro Ser Val Ala
 1250 1255 1260
 Ala Thr Leu Gly Phe Gly Ala Tyr Leu Ser Lys Ala His Gly Ile
 1265 1270 1275
 Asn Pro Asn Ile Arg Thr Gly Val Arg Thr Val Met Thr Gly Glu
 1280 1285 1290
 Ala Ile Thr Tyr Ser Thr Tyr Gly Lys Phe Leu Ala Asp Gly Gly
 1295 1300 1305
 Cys Ala Ser Gly Ala Tyr Asp Ile Ile Ile Cys Asp Glu Cys His
 1310 1315 1320
 Ala Val Asp Ala Thr Ser Ile Leu Gly Ile Gly Thr Val Leu Asp
 1325 1330 1335
 Gln Ala Glu Thr Ala Gly Val Arg Leu Thr Val Leu Ala Thr Ala
 1340 1345 1350
 Thr Pro Pro Gly Ser Val Thr Thr Pro His Pro Asp Ile Glu Glu

1355	1360	1365
Val Gly Leu Gly Arg Glu Gly	Glu Ile Pro Phe Tyr	Gly Arg Ala
1370	1375	1380
Ile Pro Leu Ser Cys Ile Lys	Gly Gly Arg His Leu	Ile Phe Cys
1385	1390	1395
His Ser Lys Lys Lys Cys Asp	Glu Leu Ala Ala Ala	Leu Arg Gly
1400	1405	1410
Met Gly Leu Asn Ala Val Ala	Tyr Tyr Arg Gly Leu	Asp Val Ser
1415	1420	1425
Ile Ile Pro Ala Gln Gly Asp	Val Val Val Val Ala	Thr Asp Ala
1430	1435	1440
Leu Met Thr Gly Tyr Thr Gly	Asp Phe Asp Ser Val	Ile Asp Cys
1445	1450	1455
Asn Val Ala Val Thr Gln Ala	Val Asp Phe Ser Leu	Asp Pro Thr
1460	1465	1470
Phe Thr Ile Thr Thr Gln Thr	Val Pro Gln Asp Ala	Val Ser Arg
1475	1480	1485
Ser Gln Arg Arg Gly Arg Thr	Gly Arg Gly Arg Gln	Gly Thr Tyr
1490	1495	1500
Arg Tyr Val Ser Thr Gly Glu	Arg Ala Ser Gly Met	Phe Asp Ser
1505	1510	1515
Val Val Leu Cys Glu Cys Tyr	Asp Ala Gly Ala Ala	Trp Tyr Asp
1520	1525	1530
Leu Thr Pro Ala Glu Thr Thr	Val Arg Leu Arg Ala	Tyr Phe Asn
1535	1540	1545
Thr Pro Gly Leu Pro Val Cys	Gln Asp His Leu Glu	Phe Trp Glu
1550	1555	1560
Ala Val Phe Thr Gly Leu Thr	His Ile Asp Ala His	Phe Leu Ser
1565	1570	1575
Gln Thr Lys Gln Ala Gly Glu	Asn Phe Ala Tyr Leu	Val Ala Tyr
1580	1585	1590

Gln Ala Thr Val Cys Ala Arg Ala Lys Ala Pro Pro Pro Ser Trp
 1595 1600 1605

Asp Ala Met Trp Lys Cys Leu Ala Arg Leu Lys Pro Thr Leu Ala
 1610 1615 1620

Gly Pro Thr Pro Leu Leu Tyr Arg Leu Gly Pro Ile Thr Asn Glu
 1625 1630 1635

Val Thr Leu Thr His Pro Gly Thr Lys Tyr Ile Ala Thr Cys Met
 1640 1645 1650

Gln Ala Asp Leu Glu Val Met Thr Ser Thr Trp Val Leu Ala Gly
 1655 1660 1665

Gly Val Leu Ala Ala Val Ala Ala Tyr Cys Leu Ala Thr Gly Cys
 1670 1675 1680

Val Ser Ile Ile Gly Arg Leu His Val Asn Gln Arg Val Val Val
 1685 1690 1695

Ala Pro Asp Lys Glu Val Leu Tyr Glu Ala Phe Asp Glu Met Glu
 1700 1705 1710

Glu Cys Ala Ser Arg Ala Ala Leu Ile Glu Glu Gly Gln Arg Ile
 1715 1720 1725

Ala Glu Met Leu Lys Ser Lys Ile Gln Gly Leu Leu Gln Gln Ala
 1730 1735 1740

Ser Lys Gln Ala Gln Asp Ile Gln Pro Ala Met Gln Ala Ser Trp
 1745 1750 1755

Pro Lys Val Glu Gln Phe Trp Ala Arg His Met Trp Asn Phe Ile
 1760 1765 1770

Ser Gly Ile Gln Tyr Leu Ala Gly Leu Ser Thr Leu Pro Gly Asn
 1775 1780 1785

Pro Ala Val Ala Ser Met Met Ala Phe Ser Ala Ala Leu Thr Ser
 1790 1795 1800

Pro Leu Ser Thr Ser Thr Thr Ile Leu Leu Asn Ile Met Gly Gly
 1805 1810 1815

Trp Leu Ala Ser Gln Ile Ala Pro Pro Ala Gly Ala Thr Gly Phe

1820 1825 1830
 Val Val Ser Gly Leu Val Gly Ala Ala Val Gly Ser Ile Gly Leu
 1835 1840 1845
 Gly Lys Val Leu Val Asp Ile Leu Ala Gly Tyr Gly Ala Gly Ile
 1850 1855 1860
 Ser Gly Ala Leu Val Ala Phe Lys Ile Met Ser Gly Glu Lys Pro
 1865 1870 1875
 Ser Met Glu Asp Val Ile Asn Leu Leu Pro Gly Ile Leu Ser Pro

1880 1885 1890
 Gly Ala Leu Val Val Gly Val Ile Cys Ala Ala Ile Leu Arg Arg
 1895 1900 1905
 His Val Gly Pro Gly Glu Gly Ala Val Gln Trp Met Asn Arg Leu
 1910 1915 1920
 Ile Ala Phe Ala Ser Arg Gly Asn His Val Ala Pro Thr His Tyr
 1925 1930 1935
 Val Thr Glu Ser Asp Ala Ser Gln Arg Val Thr Gln Leu Leu Gly

1940 1945 1950
 Ser Leu Thr Ile Thr Ser Leu Leu Arg Arg Leu His Asn Trp Ile
 1955 1960 1965
 Thr Glu Asp Cys Pro Ile Pro Cys Ser Gly Ser Trp Leu Arg Asp
 1970 1975 1980
 Val Trp Asp Trp Val Cys Thr Ile Leu Thr Asp Phe Lys Asn Trp
 1985 1990 1995
 Leu Thr Ser Lys Leu Phe Pro Lys Leu Pro Gly Leu Pro Phe Ile

2000 2005 2010
 Ser Cys Gln Lys Gly Tyr Lys Gly Val Trp Ala Gly Thr Gly Ile
 2015 2020 2025
 Met Thr Thr Arg Cys Pro Cys Gly Ala Asn Ile Ser Gly Asn Val
 2030 2035 2040
 Arg Leu Gly Ser Met Arg Ile Thr Gly Pro Lys Thr Cys Met Asn
 2045 2050 2055

Thr Trp Gln Gly Thr Phe Pro Ile Asn Cys Tyr Thr Glu Gly Gln
 2060 2065 2070
 Cys Ala Pro Lys Pro Pro Thr Asn Tyr Lys Thr Ala Ile Trp Arg
 2075 2080 2085
 Val Ala Ala Ser Glu Tyr Ala Glu Val Thr Gln His Gly Ser Tyr
 2090 2095 2100
 Ser Tyr Val Thr Gly Leu Thr Thr Asp Asn Leu Lys Ile Pro Cys
 2105 2110 2115
 Gln Leu Pro Ser Pro Glu Phe Phe Ser Trp Val Asp Gly Val Gln
 2120 2125 2130
 Ile His Arg Phe Ala Pro Thr Pro Lys Pro Phe Phe Arg Asp Glu
 2135 2140 2145
 Val Ser Phe Cys Val Gly Leu Asn Ser Tyr Ala Val Gly Ser Gln
 2150 2155 2160
 Leu Pro Cys Glu Pro Glu Pro Asp Ala Asp Val Leu Arg Ser Met
 2165 2170 2175
 Leu Thr Asp Pro Pro His Ile Thr Ala Glu Thr Ala Ala Arg Arg
 2180 2185 2190
 Leu Ala Arg Gly Ser Pro Pro Ser Glu Ala Ser Ser Ser Val Ser
 2195 2200 2205
 Gln Leu Ser Ala Pro Ser Leu Arg Ala Thr Cys Thr Thr His Ser
 2210 2215 2220
 Asn Thr Tyr Asp Val Asp Met Val Asp Ala Asn Leu Leu Met Glu
 2225 2230 2235
 Gly Gly Val Ala Gln Thr Glu Pro Glu Ser Arg Val Pro Val Leu
 2240 2245 2250
 Asp Phe Leu Glu Pro Met Ala Glu Glu Glu Ser Asp Leu Glu Pro
 2255 2260 2265
 Ser Ile Pro Ser Glu Cys Met Leu Pro Arg Ser Gly Phe Pro Arg
 2270 2275 2280
 Ala Leu Pro Ala Trp Ala Arg Pro Asp Tyr Asn Pro Pro Leu Val

2285 2290 2295
 Glu Ser Trp Arg Arg Pro Asp Tyr Gln Pro Pro Thr Val Ala Gly

 2300 2305 2310
 Cys Ala Leu Pro Pro Pro Lys Lys Ala Pro Thr Pro Pro Pro Arg
 2315 2320 2325
 Arg Arg Arg Thr Val Gly Leu Ser Glu Ser Thr Ile Ser Glu Ala
 2330 2335 2340
 Leu Gln Gln Leu Ala Ile Lys Thr Phe Gly Gln Pro Pro Ser Ser
 2345 2350 2355
 Gly Asp Ala Gly Ser Ser Thr Gly Ala Gly Ala Ala Glu Ser Gly

 2360 2365 2370
 Gly Pro Thr Ser Pro Gly Glu Pro Ala Pro Ser Glu Thr Gly Ser
 2375 2380 2385
 Ala Ser Ser Met Pro Pro Leu Glu Gly Glu Pro Gly Asp Pro Asp
 2390 2395 2400
 Leu Glu Ser Asp Gln Val Glu Leu Gln Pro Pro Pro Gln Gly Gly
 2405 2410 2415
 Gly Val Ala Pro Gly Ser Gly Ser Gly Ser Trp Ser Thr Cys Ser

 2420 2425 2430
 Glu Glu Asp Asp Thr Thr Val Cys Cys Ser Met Ser Tyr Ser Trp
 2435 2440 2445
 Thr Gly Ala Leu Ile Thr Pro Cys Ser Pro Glu Glu Glu Lys Leu
 2450 2455 2460
 Pro Ile Asn Pro Leu Ser Asn Ser Leu Leu Arg Tyr His Asn Lys
 2465 2470 2475
 Val Tyr Cys Thr Thr Ser Lys Ser Ala Ser Gln Arg Ala Lys Lys

 2480 2485 2490
 Val Thr Phe Asp Arg Thr Gln Val Leu Asp Ala His Tyr Asp Ser
 2495 2500 2505
 Val Leu Lys Asp Ile Lys Leu Ala Ala Ser Lys Val Ser Ala Arg
 2510 2515 2520

Leu Leu Thr Leu Glu Glu Ala Cys Gln Leu Thr Pro Pro His Ser
 2525 2530 2535
 Ala Arg Ser Lys Tyr Gly Phe Gly Ala Lys Glu Val Arg Ser Leu
 2540 2545 2550
 Ser Gly Arg Ala Val Asn His Ile Lys Ser Val Trp Lys Asp Leu
 2555 2560 2565
 Leu Glu Asp Pro Gln Thr Pro Ile Pro Thr Thr Ile Met Ala Lys
 2570 2575 2580
 Asn Glu Val Phe Cys Val Asp Pro Ala Lys Gly Gly Lys Lys Pro
 2585 2590 2595
 Ala Arg Leu Ile Val Tyr Pro Asp Leu Gly Val Arg Val Cys Glu
 2600 2605 2610
 Lys Met Ala Leu Tyr Asp Ile Thr Gln Lys Leu Pro Gln Ala Val
 2615 2620 2625
 Met Gly Ala Ser Tyr Gly Phe Gln Tyr Ser Pro Ala Gln Arg Val
 2630 2635 2640
 Glu Tyr Leu Leu Lys Ala Trp Ala Glu Lys Lys Asp Pro Met Gly
 2645 2650 2655
 Phe Ser Tyr Asp Thr Arg Cys Phe Asp Ser Thr Val Thr Glu Arg
 2660 2665 2670
 Asp Ile Arg Thr Glu Glu Ser Ile Tyr Gln Ala Cys Ser Leu Pro
 2675 2680 2685
 Glu Glu Ala Arg Thr Ala Ile His Ser Leu Thr Glu Arg Leu Tyr
 2690 2695 2700
 Val Gly Gly Pro Met Phe Asn Ser Lys Gly Gln Thr Cys Gly Tyr
 2705 2710 2715
 Arg Arg Cys Arg Ala Ser Gly Val Leu Thr Thr Ser Met Gly Asn
 2720 2725 2730
 Thr Ile Thr Cys Tyr Val Lys Ala Leu Ala Ala Cys Lys Ala Ala
 2735 2740 2745
 Gly Ile Val Ala Pro Thr Met Leu Val Cys Gly Asp Asp Leu Val

2750	2755	2760
Val Ile Ser Glu Ser Gln Gly Thr Glu Glu Asp Glu Arg Asn Leu		
2765	2770	2775
Arg Ala Phe Thr Glu Ala Met Thr Arg Tyr Ser Ala Pro Pro Gly		
2780	2785	2790
Asp Pro Pro Arg Pro Glu Tyr Asp Leu Glu Leu Ile Thr Ser Cys		
2795	2800	2805
Ser Ser Asn Val Ser Val Ala Leu Gly Pro Arg Gly Arg Arg Arg		
2810	2815	2820
Tyr Tyr Leu Thr Arg Asp Pro Thr Thr Pro Leu Ala Arg Ala Ala		
2825	2830	2835
Trp Glu Thr Val Arg His Ser Pro Ile Asn Ser Trp Leu Gly Asn		
2840	2845	2850
Ile Ile Gln Tyr Ala Pro Thr Ile Trp Val Arg Met Val Leu Met		
2855	2860	2865
Thr His Phe Phe Ser Ile Leu Met Val Gln Asp Thr Leu Asp Gln		
2870	2875	2880
Asn Leu Asn Phe Glu Met Tyr Gly Ser Val Tyr Ser Val Asn Pro		
2885	2890	2895
Leu Asp Leu Pro Ala Ile Ile Glu Arg Leu His Gly Leu Asp Ala		
2900	2905	2910
Phe Ser Met His Thr Tyr Ser His His Glu Leu Thr Arg Val Ala		
2915	2920	2925
Ser Ala Leu Arg Lys Leu Gly Ala Pro Pro Leu Arg Val Trp Lys		
2930	2935	2940
Ser Arg Ala Arg Ala Val Arg Ala Ser Leu Ile Ser Arg Gly Gly		
2945	2950	2955
Lys Ala Ala Val Cys Gly Arg Tyr Leu Phe Asn Trp Ala Val Lys		
2960	2965	2970
Thr Lys Leu Lys Leu Thr Pro Leu Pro Glu Ala Arg Leu Leu Asp		
2975	2980	2985

Leu Ser Ser Trp Phe Thr Val Gly Ala Gly Gly Gly Asp Ile Phe
 2990 2995 3000

His Ser Val Ser Arg Ala Arg Pro Arg Ser Leu Leu Phe Gly Leu
 3005 3010 3015

Leu Leu Leu Phe Val Gly Val Gly Leu Phe Leu Leu Pro Ala Arg
 3020 3025 3030

<210> 7

<211> 3033

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> GenBank BAB08107 HCV 2b (JPUT971017)

<400> 7

Met Ser Thr Asn Pro Lys Pro Gln Arg Lys Thr Lys Arg Asn Thr Asn
 1 5 10 15

Arg Arg Pro Gln Asp Val Lys Phe Pro Gly Gly Gly Gln Ile Val Gly
 20 25 30

Gly Val Tyr Leu Leu Pro Arg Arg Gly Pro Arg Leu Gly Val Arg Ala
 35 40 45

Thr Arg Lys Thr Ser Glu Arg Ser Gln Pro Arg Gly Arg Arg Gln Pro
 50 55 60

Ile Pro Lys Asp Arg Arg Ser Thr Gly Lys Ser Trp Gly Lys Pro Gly
 65 70 75 80

Tyr Pro Trp Pro Leu Tyr Gly Asn Glu Gly Cys Gly Trp Ala Gly Trp
 85 90 95

Leu Leu Ser Pro Arg Gly Ser Arg Pro Thr Trp Gly Pro Ser Asp Pro
 100 105 110

Arg His Arg Ser Arg Asn Leu Gly Arg Val Ile Asp Thr Ile Thr Cys
 115 120 125

Gly Phe Ala Asp Leu Met Gly Tyr Ile Pro Val Val Gly Ala Pro Val
 130 135 140

Gly Gly Val Ala Arg Ala Leu Ala His Gly Val Arg Val Leu Glu Asp
 145 150 155 160

Gly Ile Asn Tyr Ala Thr Arg Asn Leu Pro Gly Cys Ser Phe Ser Ile
 165 170 175
 Phe Leu Leu Ala Leu Leu Ser Cys Val Thr Val Pro Val Ser Ser Val
 180 185 190
 Glu Ile Arg Asn Ile Ser Thr Ser Tyr Tyr Ala Thr Asn Asp Cys Ser
 195 200 205
 Asn Asn Ser Ile Thr Trp Gln Leu Thr Asn Ala Val Leu His Leu Pro
 210 215 220
 Gly Cys Val Pro Cys Glu Asn Asp Asn Gly Thr Leu Arg Cys Trp Ile
 225 230 235 240
 Gln Val Thr Pro Asn Val Ala Val Lys His Arg Gly Ala Leu Thr His
 245 250 255
 Asn Leu Arg Ala His Val Asp Val Ile Val Met Ala Ala Thr Val Cys
 260 265 270
 Ser Ala Leu Tyr Val Gly Asp Val Cys Gly Ala Val Met Ile Val Ser
 275 280 285
 Gln Ala Leu Ile Val Ser Pro Glu Arg His Asn Phe Thr Gln Glu Cys
 290 295 300
 Asn Cys Ser Ile Tyr Gln Gly His Ile Thr Gly Gln Arg Met Ala Trp
 305 310 315 320
 Asp Met Met Leu Asn Trp Ser Pro Thr Leu Thr Met Ile Leu Ala Tyr
 325 330 335
 Ala Ala Arg Val Pro Glu Leu Val Leu Glu Ile Val Phe Gly Gly His
 340 345 350
 Trp Gly Val Val Phe Gly Leu Ala Tyr Phe Ser Met Gln Gly Ala Trp
 355 360 365
 Ala Lys Val Ile Ala Ile Leu Leu Leu Val Ala Gly Val Asp Ala Thr
 370 375 380
 Thr Tyr Ser Thr Gly Ala Thr Val Gly Arg Thr Val Gly Ser Phe Ala
 385 390 395 400
 Gly Leu Phe Lys Leu Gly Ala Gln Gln Asn Val Gln Leu Ile Asn Thr

Arg Leu Glu Asp Arg Asp Arg Gly Gln Gln Ser Pro Leu Leu His Ser
 660 665 670
 Thr Thr Glu Trp Ala Val Leu Pro Cys Ser Phe Ser Asp Leu Pro Ala
 675 680 685
 Leu Ser Thr Gly Leu Leu His Leu His Gln Asn Ile Val Asp Val Gln
 690 695 700
 Tyr Leu Tyr Gly Leu Ser Pro Ala Val Thr Lys Tyr Ile Val Lys Trp
 705 710 715 720
 Glu Trp Val Val Leu Leu Phe Leu Leu Leu Ala Asp Ala Arg Ile Cys
 725 730 735
 Ala Cys Leu Trp Met Leu Ile Ile Leu Gly Gln Ala Glu Ala Ala Leu
 740 745 750
 Glu Lys Leu Ile Ile Leu His Ser Ala Ser Ala Ala Ser Ala Asn Gly
 755 760 765
 Pro Leu Trp Phe Phe Ile Phe Phe Thr Ala Ala Trp Tyr Leu Lys Gly
 770 775 780
 Arg Val Val Pro Ala Ala Thr Tyr Ser Val Leu Gly Leu Trp Ser Phe
 785 790 795 800
 Leu Leu Leu Val Leu Ala Leu Pro Gln Gln Ala Tyr Ala Leu Asp Ala
 805 810 815
 Ala Glu Gln Gly Glu Leu Gly Leu Val Ile Leu Met Ile Ile Ser Ile
 820 825 830
 Phe Thr Leu Thr Pro Ala Tyr Lys Ile Leu Leu Ser Arg Ser Val Trp
 835 840 845
 Trp Leu Ser Tyr Met Leu Val Leu Ala Glu Ala Gln Val Gln Gln Trp
 850 855 860
 Val Pro Pro Leu Glu Ala Arg Gly Gly Arg Asp Gly Ile Ile Trp Val
 865 870 875 880
 Ala Val Ile Leu His Pro His Leu Val Phe Glu Val Thr Lys Trp Leu
 885 890 895
 Leu Ala Ile Leu Gly Ser Ala Tyr Leu Leu Lys Ala Ser Leu Leu Arg

Ile Pro Val Arg Arg Lys Asp Asp Arg Arg Gly Ala Leu Leu Ser
 1145 1150 1155

Pro Arg Pro Leu Ser Thr Leu Lys Gly Ser Ser Gly Gly Pro Val
 1160 1165 1170

Leu Cys Pro Arg Gly His Ala Val Gly Leu Phe Arg Ala Ala Val
 1175 1180 1185

Cys Ala Arg Gly Val Ala Lys Ser Ile Asp Phe Ile Pro Val Glu
 1190 1195 1200

Ser Leu Asp Ile Ala Arg Arg Thr Pro Ser Phe Ser Asp Asn Ser
 1205 1210 1215

Thr Pro Pro Ala Val Pro Gln Thr Tyr Gln Val Gly Tyr Leu His
 1220 1225 1230

Ala Pro Thr Gly Ser Gly Lys Ser Thr Lys Val Pro Ala Ala Tyr
 1235 1240 1245

Thr Ser Gln Gly Tyr Lys Val Leu Val Leu Asn Pro Ser Val Ala
 1250 1255 1260

Ala Thr Leu Gly Phe Gly Ala Tyr Met Ser Lys Ala His Gly Ile
 1265 1270 1275

Asn Pro Asn Ile Arg Thr Gly Val Arg Thr Val Thr Thr Gly Asp
 1280 1285 1290

Ser Ile Thr Tyr Ser Thr Tyr Gly Lys Phe Leu Ala Asp Gly Gly
 1295 1300 1305

Cys Ser Ala Gly Ala Tyr Asp Ile Ile Ile Cys Asp Glu Cys His
 1310 1315 1320

Ser Val Asp Ala Thr Thr Ile Leu Gly Ile Gly Thr Val Leu Asp
 1325 1330 1335

Gln Ala Glu Thr Ala Gly Val Arg Leu Val Val Leu Ala Thr Ala
 1340 1345 1350

Thr Pro Pro Gly Thr Val Thr Thr Pro His Ala Asn Ile Glu Glu
 1355 1360 1365

Val Ala Leu Gly His Glu Gly Glu Ile Pro Phe Tyr Gly Lys Ala

1370	1375	1380
Ile Pro Leu Ala Ser Ile Lys Gly Gly Arg His Leu Ile Phe Cys		
1385	1390	1395
His Ser Lys Lys Lys Cys Asp Glu Leu Ala Ala Ala Leu Arg Gly		
1400	1405	1410
Met Gly Val Asn Ala Val Ala Tyr Tyr Arg Gly Leu Asp Val Ser		
1415	1420	1425
Val Ile Pro Thr Gln Gly Asp Val Val Val Val Ala Thr Asp Ala		
1430	1435	1440
Leu Met Thr Gly Tyr Thr Gly Asp Phe Asp Ser Val Ile Asp Cys		
1445	1450	1455
Asn Val Ala Val Thr Gln Ile Val Asp Phe Ser Leu Asp Pro Thr		
1460	1465	1470
Phe Thr Ile Thr Thr Gln Thr Val Pro Gln Asp Ala Val Ser Arg		
1475	1480	1485
Ser Gln Arg Arg Gly Arg Thr Gly Arg Gly Arg Leu Gly Thr Tyr		
1490	1495	1500
Arg Tyr Val Ser Ser Gly Glu Arg Pro Ser Gly Met Phe Asp Ser		
1505	1510	1515
Val Val Leu Cys Glu Cys Tyr Asp Ala Gly Ala Ala Trp Tyr Glu		
1520	1525	1530
Leu Thr Pro Ala Glu Thr Thr Val Arg Leu Arg Ala Tyr Phe Asn		
1535	1540	1545
Thr Pro Gly Leu Pro Val Cys Gln Asp His Leu Glu Phe Trp Glu		
1550	1555	1560
Ala Val Phe Thr Gly Leu Thr His Ile Asp Ala His Phe Leu Ser		
1565	1570	1575
Gln Thr Lys Gln Gly Gly Asp Asn Phe Ala Tyr Leu Thr Ala Tyr		
1580	1585	1590
Gln Ala Thr Val Cys Ala Arg Ala Lys Ala Pro Pro Pro Ser Trp		
1595	1600	1605

Asp Val Met Trp Lys Cys Leu Thr Arg Leu Lys Pro Thr Leu Thr
 1610 1615 1620

Gly Pro Thr Pro Leu Leu Tyr Arg Leu Gly Ala Val Thr Asn Glu
 1625 1630 1635

Ile Thr Leu Thr His Pro Val Thr Lys Tyr Ile Ala Thr Cys Met
 1640 1645 1650

Gln Ala Asp Leu Glu Val Met Thr Ser Thr Trp Val Leu Ala Gly
 1655 1660 1665

Gly Val Leu Ala Ala Val Ala Ala Tyr Cys Leu Ala Thr Gly Cys
 1670 1675 1680

Ile Ser Ile Ile Gly Arg Ile His Leu Asn Asp Gln Val Val Val
 1685 1690 1695

Ala Pro Asp Lys Glu Ile Leu Tyr Glu Ala Phe Asp Glu Met Glu
 1700 1705 1710

Glu Cys Ala Ser Lys Ala Ala Leu Ile Glu Glu Gly Gln Arg Met
 1715 1720 1725

Ala Glu Met Leu Lys Ser Lys Ile Leu Gly Leu Leu Gln Gln Ala
 1730 1735 1740

Thr Lys Gln Ala Gln Asp Ile Gln Pro Ala Met Gln Ser Ser Trp
 1745 1750 1755

Pro Lys Ile Glu Gln Phe Trp Ala Arg His Met Trp Asn Phe Ile
 1760 1765 1770

Ser Gly Ile Gln Tyr Leu Ala Gly Leu Ser Thr Leu Pro Gly Asn
 1775 1780 1785

Pro Ala Val Ala Ser Met Met Ala Phe Ser Ala Ala Leu Thr Ser
 1790 1795 1800

Pro Leu Pro Thr Ser Thr Thr Ile Leu Leu Asn Ile Met Gly Gly
 1805 1810 1815

Trp Leu Ala Ser Gln Ile Ala Pro Pro Ala Gly Ala Thr Gly Phe
 1820 1825 1830

Val Val Ser Gly Leu Val Gly Ala Ala Val Gly Ser Ile Gly Leu

1835	1840	1845
Gly Lys Ile Leu Val Asp Val	Leu Ala Gly Tyr Gly	Ala Gly Ile
1850	1855	1860
Ser Gly Ala Leu Val Ala Phe	Lys Ile Met Ser Gly	Glu Lys Pro
1865	1870	1875
Ser Val Glu Asp Val Val Asn	Leu Leu Pro Ala Ile	Leu Ser Pro
1880	1885	1890
Gly Ala Leu Val Val Gly Val	Ile Cys Ala Ala Ile	Leu Arg Arg
1895	1900	1905
His Val Gly Gln Gly Glu Gly	Ala Val Gln Trp Met	Asn Arg Leu
1910	1915	1920
Ile Ala Phe Ala Ser Arg Gly	Asn His Val Ala Pro	Thr His Tyr
1925	1930	1935
Val Ala Glu Ser Asp Ala Ser	Leu Arg Val Thr Gln	Val Leu Ser
1940	1945	1950
Ser Leu Thr Ile Thr Ser Leu	Leu Arg Arg Leu His	Ala Trp Ile
1955	1960	1965
Thr Glu Asp Cys Pro Val Pro	Cys Ser Gly Ser Trp	Leu Arg Asp
1970	1975	1980
Ile Trp Glu Trp Val Cys Ser	Ile Leu Thr Asp Phe	Lys Asn Trp
1985	1990	1995
Leu Ser Ala Lys Leu Leu Pro	Lys Met Pro Gly Leu	Pro Phe Ile
2000	2005	2010
Ser Cys Gln Lys Gly Tyr Arg	Gly Val Trp Ala Gly	Thr Gly Val
2015	2020	2025
Met Thr Thr Arg Cys Ser Cys	Gly Ala Asn Ile Ser	Gly His Val
2030	2035	2040
Arg Leu Gly Thr Met Lys Ile	Thr Gly Pro Lys Thr	Cys Leu Asn
2045	2050	2055
Met Trp Gln Gly Thr Phe Pro	Ile Asn Cys Tyr Thr	Glu Gly Pro
2060	2065	2070

Cys Val Pro Lys Pro Pro Pro Asn Tyr Lys Thr Ala Ile Trp Arg
 2075 2080 2085
 Val Ala Ala Ser Glu Tyr Val Glu Val Thr Gln His Gly Ser Phe
 2090 2095 2100
 Ser Tyr Val Thr Gly Leu Thr Ser Asp Asn Leu Lys Val Pro Cys
 2105 2110 2115
 Gln Val Pro Ala Pro Glu Phe Phe Ser Trp Val Asp Gly Val Gln
 2120 2125 2130
 Ile His Arg Phe Ala Pro Thr Pro Gly Pro Phe Phe Arg Asp Glu
 2135 2140 2145
 Val Thr Phe Thr Val Gly Leu Asn Ser Leu Val Val Gly Ser Gln
 2150 2155 2160
 Leu Pro Cys Asp Pro Glu Pro Asp Thr Glu Val Leu Ala Ser Met
 2165 2170 2175
 Leu Thr Asp Pro Ser His Ile Thr Ala Glu Thr Ala Ala Arg Arg
 2180 2185 2190
 Leu Ala Arg Gly Ser Pro Pro Ser Gln Ala Ser Ser Ser Ala Ser
 2195 2200 2205
 Gln Leu Ser Ala Pro Ser Leu Lys Ala Thr Cys Thr Thr His Lys
 2210 2215 2220
 Thr Ala Tyr Asp Cys Asp Met Val Asp Ala Asn Leu Phe Met Gly
 2225 2230 2235
 Gly Asp Val Thr Arg Ile Glu Ser Asp Ser Lys Val Ile Val Leu
 2240 2245 2250
 Asp Ser Leu Asp Ser Met Thr Glu Val Glu Asp Asp Arg Glu Pro
 2255 2260 2265
 Ser Val Pro Ser Glu Tyr Leu Thr Arg Arg Arg Lys Phe Pro Pro
 2270 2275 2280
 Ala Leu Pro Pro Trp Ala Arg Pro Asp Tyr Asn Pro Pro Val Ile
 2285 2290 2295
 Glu Thr Trp Lys Arg Pro Asp Tyr Glu Pro Pro Thr Val Leu Gly

2300	2305	2310
Cys Ala Leu Pro Pro Thr Pro Gln Ala Pro Val Pro Pro Pro Arg		
2315	2320	2325
Arg Arg Arg Ala Arg Val Leu Thr Gln Asp Asn Val Glu Gly Val		
2330	2335	2340
Leu Arg Glu Met Ala Asp Lys Val Leu Ser Pro Leu Gln Asp Thr		
2345	2350	2355
Asn Asp Ser Gly His Ser Thr Gly Ala Asp Thr Gly Gly Asp Ser		
2360	2365	2370
Val Gln Gln Pro Ser Gly Glu Thr Ala Ala Ser Asp Ala Gly Ser		
2375	2380	2385
Leu Ser Ser Met Pro Pro Leu Glu Gly Glu Pro Gly Asp Pro Asp		
2390	2395	2400
Leu Glu Phe Glu Pro Ala Arg Ser Ala Pro Pro Ser Glu Gly Glu		
2405	2410	2415
Cys Glu Val Ile Asp Ser Asp Ser Lys Ser Trp Ser Thr Val Ser		
2420	2425	2430
Asp Gln Glu Asp Ser Val Ile Cys Cys Ser Met Ser Tyr Ser Trp		
2435	2440	2445
Thr Gly Ala Leu Ile Thr Pro Cys Gly Pro Glu Glu Glu Lys Leu		
2450	2455	2460
Pro Ile Ser Pro Leu Ser Asn Ser Leu Met Arg Phe His Asn Lys		
2465	2470	2475
Val Tyr Ser Thr Thr Ser Arg Ser Ala Ser Leu Arg Ala Lys Lys		
2480	2485	2490
Val Thr Phe Asp Arg Val Gln Val Leu Asp Ala His Tyr Asp Ser		
2495	2500	2505
Val Leu Gln Asp Val Lys Arg Ala Ala Ser Lys Val Ser Ala Arg		
2510	2515	2520
Leu Leu Ser Val Glu Glu Ala Cys Ala Leu Thr Pro Pro His Ser		
2525	2530	2535

Ala Lys Ser Arg Tyr Gly Phe Gly Ala Lys Glu Val Arg Ser Leu
 2540 2545 2550

Ser Arg Gly Ala Val Asn His Ile Arg Ser Val Trp Glu Asp Leu
 2555 2560 2565

Leu Glu Asp Gln His Thr Pro Ile Asp Thr Thr Ala Met Ala Lys
 2570 2575 2580

Asn Glu Val Phe Cys Ile Asp Pro Ala Lys Gly Gly Lys Lys Pro
 2585 2590 2595

Ala Arg Leu Ile Val Tyr Pro Asp Leu Gly Val Arg Val Cys Glu
 2600 2605 2610

Lys Met Ala Leu Tyr Asp Ile Ala Gln Lys Leu Pro Lys Ala Ile
 2615 2620 2625

Met Gly Pro Ser Tyr Gly Phe Gln Tyr Ser Pro Ala Glu Arg Val
 2630 2635 2640

Asp Phe Leu Leu Lys Ala Trp Gly Ser Lys Lys Asp Pro Met Gly
 2645 2650 2655

Phe Ser Tyr Asp Thr Arg Cys Phe Asp Ser Thr Val Thr Glu Arg
 2660 2665 2670

Asp Ile Arg Thr Glu Glu Ser Ile Tyr Gln Ala Cys Ser Leu Pro
 2675 2680 2685

Gln Glu Ala Arg Thr Val Ile His Ser Ile Thr Glu Arg Leu Tyr
 2690 2695 2700

Val Gly Gly Pro Met Thr Asn Ser Lys Gly Gln Ser Cys Gly Tyr
 2705 2710 2715

Arg Arg Cys Arg Ala Ser Gly Val Phe Thr Thr Ser Met Gly Asn
 2720 2725 2730

Thr Met Thr Cys Tyr Ile Lys Ala Leu Ala Ala Cys Lys Ala Ala
 2735 2740 2745

Gly Ile Val Asp Pro Thr Met Leu Val Cys Gly Asp Asp Leu Val
 2750 2755 2760

Val Ile Ser Glu Ser Gln Gly Asn Glu Glu Asp Glu Arg Asn Leu

2765 2770 2775
 Arg Ala Phe Thr Glu Ala Met Thr Arg Tyr Ser Ala Pro Pro Gly
 2780 2785 2790
 Asp Leu Pro Arg Pro Glu Tyr Asp Leu Glu Leu Ile Thr Ser Cys

 2795 2800 2805
 Ser Ser Asn Val Ser Val Ala Leu Asp Ser Arg Gly Arg Arg Arg
 2810 2815 2820
 Tyr Phe Leu Thr Arg Asp Pro Thr Thr Pro Ile Thr Arg Ala Ala
 2825 2830 2835
 Trp Glu Thr Val Arg His Ser Pro Val Asn Ser Trp Leu Gly Asn
 2840 2845 2850
 Ile Ile Gln Tyr Ala Pro Thr Ile Trp Val Arg Met Val Ile Met

 2855 2860 2865
 Thr His Phe Phe Ser Ile Leu Leu Ala Gln Asp Thr Leu Asn Gln
 2870 2875 2880
 Asn Leu Asn Phe Glu Met Tyr Gly Ala Val Tyr Ser Val Asn Pro
 2885 2890 2895
 Leu Asp Leu Pro Ala Ile Ile Glu Arg Leu His Gly Leu Asp Ala
 2900 2905 2910
 Phe Ser Leu His Thr Tyr Ser Pro His Glu Leu Ser Arg Val Ala

 2915 2920 2925
 Ala Thr Leu Arg Lys Leu Gly Ala Pro Pro Leu Arg Ala Trp Lys
 2930 2935 2940
 Ser Arg Ala Arg Ala Val Arg Ala Ser Leu Ile Ile Gln Gly Gly
 2945 2950 2955
 Arg Ala Ala Thr Cys Gly Arg Tyr Leu Phe Asn Trp Ala Val Lys
 2960 2965 2970
 Thr Lys Leu Lys Leu Thr Pro Leu Pro Glu Ala Ser Arg Leu Asp

 2975 2980 2985
 Leu Ser Gly Trp Phe Thr Val Gly Ala Gly Gly Gly Asp Ile Phe
 2990 2995 3000

His Ser Val Ser His Ala Arg Pro Arg Leu Leu Leu Leu Cys Leu
 3005 3010 3015

Leu Leu Leu Ser Val Gly Val Gly Ile Phe Leu Leu Pro Ala Arg
 3020 3025 3030

<210> 8

<211> 3008

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> GenBank CAA72338 HCV 4 (ED43)

<400> 8

Met Ser Thr Asn Pro Lys Pro Gln Arg Lys Thr Lys Arg Asn Thr Asn
 1 5 10 15

Arg Arg Pro Met Asp Val Lys Phe Pro Gly Gly Gly Gln Ile Val Gly
 20 25 30

Gly Val Tyr Leu Leu Pro Arg Arg Gly Pro Arg Leu Gly Val Arg Ala
 35 40 45

Thr Arg Lys Thr Ser Glu Arg Ser Gln Pro Arg Gly Arg Arg Gln Pro

50 55 60

Ile Pro Lys Ala Arg Arg Pro Glu Gly Arg Ser Trp Ala Gln Pro Gly
 65 70 75 80

Tyr Pro Trp Pro Leu Tyr Gly Asn Glu Gly Cys Gly Trp Ala Gly Trp
 85 90 95

Leu Leu Ser Pro Arg Gly Ser Arg Pro Ser Trp Gly Pro Asn Asp Pro
 100 105 110

Arg Gly Arg Ser Arg Asn Leu Gly Lys Val Ile Asp Thr Leu Thr Cys

115 120 125

Gly Phe Ala Asp Leu Met Gly Tyr Ile Pro Leu Val Gly Ala Pro Val
 130 135 140

Gly Ser Val Ala Arg Ala Leu Ala His Gly Val Arg Ala Leu Glu Asp
 145 150 155 160

Gly Ile Asn Tyr Ala Thr Gly Asn Leu Pro Gly Cys Ser Phe Ser Ile
 165 170 175

Phe Leu Leu Ala Leu Leu Ser Cys Leu Thr Val Pro Ala Ser Ala Val
 180 185 190
 Asn Tyr Arg Asn Val Ser Gly Ile Tyr His Val Thr Asn Asp Cys Pro
 195 200 205
 Asn Ser Ser Ile Val Tyr Glu Ala Asp His His Ile Met His Leu Pro
 210 215 220
 Gly Cys Val Pro Cys Val Arg Glu Gly Asn Gln Ser Arg Cys Trp Val
 225 230 235 240
 Ala Leu Thr Pro Thr Val Ala Ala Pro Tyr Ile Gly Ala Pro Leu Glu
 245 250 255
 Ser Leu Arg Ser His Val Asp Leu Met Val Gly Ala Ala Thr Val Cys
 260 265 270
 Ser Gly Leu Tyr Ile Gly Asp Leu Cys Gly Gly Leu Phe Leu Val Gly
 275 280 285
 Gln Met Phe Ser Phe Arg Pro Arg Arg His Trp Thr Thr Gln Asp Cys
 290 295 300
 Asn Cys Ser Ile Tyr Thr Gly His Ile Thr Gly His Arg Met Ala Trp
 305 310 315 320
 Asp Met Met Met Asn Trp Ser Pro Thr Thr Thr Leu Val Leu Ala Gln
 325 330 335
 Val Met Arg Ile Pro Thr Thr Leu Val Asp Leu Leu Ser Gly Gly His
 340 345 350
 Trp Gly Val Leu Val Gly Val Ala Tyr Phe Ser Met Gln Ala Asn Trp
 355 360 365
 Ala Lys Val Ile Leu Val Leu Phe Leu Phe Ala Gly Val Asp Ala Glu
 370 375 380
 Thr His Val Ser Gly Ala Ala Val Gly Arg Ser Thr Ala Gly Leu Ala
 385 390 395 400
 Asn Leu Phe Ser Ser Gly Ser Lys Gln Asn Leu Gln Leu Ile Asn Ser
 405 410 415
 Asn Gly Ser Trp His Ile Asn Arg Thr Ala Leu Asn Cys Asn Asp Ser

Gln Ile Leu Pro Cys Ser Phe Thr Thr Leu Pro Ala Leu Ser Thr Gly
 675 680 685

Leu Ile His Leu His Gln Asn Ile Val Asp Val Gln Tyr Leu Tyr Gly
 690 695 700

Val Gly Ser Ala Val Val Ser Trp Ala Leu Lys Trp Glu Tyr Val Val
 705 710 715 720

Leu Ala Phe Leu Leu Leu Ala Asp Ala Arg Val Ser Ala Tyr Leu Trp
 725 730 735

Met Met Phe Met Val Ser Gln Val Glu Ala Ala Leu Ser Asn Leu Ile
 740 745 750

Asn Ile Asn Ala Ala Ser Ala Ala Gly Ala Gln Gly Phe Trp Tyr Ala
 755 760 765

Ile Leu Phe Ile Cys Ile Val Trp His Val Lys Gly Arg Phe Pro Ala
 770 775 780

Ala Ala Ala Tyr Ala Ala Cys Gly Leu Trp Pro Cys Phe Leu Leu Leu
 785 790 795 800

Leu Met Leu Pro Glu Arg Ala Tyr Ala Tyr Asp Gln Glu Val Ala Gly
 805 810 815

Ser Leu Gly Gly Ala Ile Val Val Met Leu Thr Ile Leu Thr Leu Ser
 820 825 830

Pro His Tyr Lys Leu Trp Leu Ala Arg Gly Leu Trp Trp Ile Gln Tyr
 835 840 845

Phe Ile Ala Arg Thr Glu Ala Val Leu His Val Tyr Ile Pro Ser Phe
 850 855 860

Asn Val Arg Gly Pro Arg Asp Ser Val Ile Val Leu Ala Val Leu Val
 865 870 875 880

Cys Pro Asp Leu Val Phe Asp Ile Thr Lys Tyr Leu Leu Ala Ile Leu
 885 890 895

Gly Pro Leu His Ile Leu Gln Ala Ser Leu Leu Arg Ile Pro Tyr Phe
 900 905 910

Val Arg Ala Gln Ala Leu Val Lys Ile Cys Ser Leu Leu Arg Gly Val

Ser Ile Leu Lys Gly Ser Ser Gly Gly Pro Leu Leu Cys Pro Met
 1160 1165 1170

Gly His Arg Ala Gly Ile Phe Arg Ala Ala Val Cys Thr Arg Gly
 1175 1180 1185

Val Ala Lys Ala Val Asp Phe Val Pro Val Glu Ser Leu Glu Thr
 1190 1195 1200

Thr Met Arg Ser Pro Val Phe Thr Asp Asn Ser Thr Pro Pro Ala
 1205 1210 1215

Val Pro Gln Thr Tyr Gln Val Ala His Leu His Ala Pro Thr Gly
 1220 1225 1230

Ser Gly Lys Ser Thr Lys Val Pro Ala Ala His Ala Ala Gln Gly
 1235 1240 1245

Tyr Lys Val Leu Val Leu Asn Pro Ser Val Ala Ala Thr Leu Gly
 1250 1255 1260

Phe Gly Val Tyr Met Ser Lys Ala Tyr Gly Ile Asp Pro Asn Ile
 1265 1270 1275

Arg Ser Gly Val Arg Thr Ile Thr Thr Gly Ala Pro Ile Thr Tyr
 1280 1285 1290

Ser Thr Tyr Gly Lys Phe Leu Ala Asp Gly Gly Cys Ser Gly Gly
 1295 1300 1305

Ala Tyr Asp Ile Ile Ile Cys Asp Glu Cys Tyr Ser Thr Asp Ser
 1310 1315 1320

Thr Thr Ile Leu Gly Ile Gly Thr Val Leu Asp Gln Ala Glu Thr
 1325 1330 1335

Ala Gly Val Arg Leu Thr Val Leu Ala Thr Ala Thr Pro Pro Gly
 1340 1345 1350

Ser Val Thr Thr Pro His Ser Asn Ile Glu Glu Val Ala Leu Pro
 1355 1360 1365

Thr Thr Gly Glu Ile Pro Phe Tyr Gly Lys Ala Ile Pro Leu Glu
 1370 1375 1380

Leu Ile Lys Gly Gly Arg His Leu Ile Phe Cys His Ser Lys Lys

1385	1390	1395
Lys Cys Asp Glu Leu Ala Arg Gln Leu Thr Ser Leu Gly Leu Asn		
1400	1405	1410
Ala Val Ala Tyr Tyr Arg Gly Leu Asp Val Ser Val Ile Pro Thr		
1415	1420	1425
Ser Gly Asp Val Val Val Cys Ala Thr Asp Ala Leu Met Thr Gly		
1430	1435	1440
Phe Thr Gly Asp Phe Asp Ser Val Ile Asp Cys Asn Thr Ser Val		
1445	1450	1455
Ile Gln Thr Val Asp Phe Ser Leu Asp Pro Thr Phe Ser Ile Glu		
1460	1465	1470
Ile Thr Thr Val Pro Gln Asp Ala Val Ser Arg Ser Gln Arg Arg		
1475	1480	1485
Gly Arg Thr Gly Arg Gly Arg Leu Gly Thr Tyr Arg Tyr Val Thr		
1490	1495	1500
Pro Gly Glu Arg Pro Ser Gly Met Phe Asp Thr Ala Glu Leu Cys		
1505	1510	1515
Glu Cys Tyr Asp Ala Gly Cys Ala Trp Tyr Glu Leu Thr Pro Ala		
1520	1525	1530
Glu Thr Thr Thr Arg Leu Lys Ala Tyr Phe Asp Thr Pro Gly Leu		
1535	1540	1545
Pro Val Cys Gln Asp His Leu Glu Phe Trp Glu Ser Val Phe Thr		
1550	1555	1560
Gly Leu Thr His Ile Asp Gly His Phe Leu Ser Gln Thr Lys Gln		
1565	1570	1575
Ser Gly Glu Asn Phe Pro Tyr Leu Val Ala Tyr Gln Ala Thr Val		
1580	1585	1590
Ser Ala Lys Val Trp Leu Ala Pro Pro Ser Trp Asp Thr Met Trp		
1595	1600	1605
Lys Cys Leu Ile Arg Leu Lys Pro Thr Leu His Gly Pro Thr Pro		
1610	1615	1620

Leu Leu Tyr Arg Leu Gly Ser Val Gln Asn Glu Val Val Leu Thr
 1625 1630 1635
 His Pro Ile Thr Lys Tyr Ile Met Ala Cys Met Ser Ala Asp Leu
 1640 1645 1650
 Glu Val Val Thr Ser Thr Trp Val Leu Val Gly Gly Val Leu Ala
 1655 1660 1665
 Ala Leu Ala Ala Tyr Cys Leu Ser Val Gly Ser Val Val Ile Val
 1670 1675 1680
 Gly Arg Val Val Leu Ser Gly Gln Pro Ala Val Ile Pro Asp Arg
 1685 1690 1695
 Glu Val Leu Tyr Gln Gln Phe Asp Glu Met Glu Glu Cys Ser Lys
 1700 1705 1710
 His Leu Pro Leu Val Glu His Gly Leu Gln Leu Ala Glu Gln Phe
 1715 1720 1725
 Lys Gln Lys Ala Leu Gly Leu Leu Asn Phe Ala Gly Lys Gln Ala
 1730 1735 1740
 Gln Glu Ala Thr Pro Val Ile Gln Ser Asn Phe Ala Lys Leu Glu
 1745 1750 1755
 Gln Phe Trp Ala Asn Asp Met Trp Asn Phe Ile Ser Gly Ile Gln
 1760 1765 1770
 Tyr Leu Ala Gly Leu Ser Thr Leu Pro Gly Asn Pro Ala Ile Ala
 1775 1780 1785
 Ser Leu Met Ser Phe Thr Ala Ala Val Thr Ser Pro Leu Thr Thr
 1790 1795 1800
 Gln Gln Thr Leu Leu Phe Asn Ile Leu Gly Gly Trp Val Ala Ser
 1805 1810 1815
 Gln Ile Arg Asp Ser Asp Ala Ser Thr Ala Phe Val Val Ser Gly
 1820 1825 1830
 Leu Ala Gly Ala Ala Val Gly Ser Val Gly Leu Gly Lys Ile Leu
 1835 1840 1845
 Val Asp Ile Leu Pro Gly Tyr Gly Ala Gly Val Arg Gly Ala Val

1850 1855 1860
 Val Thr Phe Lys Ile Met Ser Gly Glu Met Pro Ser Thr Glu Asp
 1865 1870 1875
 Leu Val Asn Leu Leu Pro Ala Ile Leu Ser Pro Gly Ala Leu Val
 1880 1885 1890
 Val Glu Val Val Cys Pro Ala Ile Leu Arg Arg His Val Gly Pro
 1895 1900 1905
 Gly Glu Gly Ala Val Gln Trp Met Asn Arg Leu Ile Ala Phe Ala

 1910 1915 1920
 Ser Arg Gly Asn His Val Ser Pro Thr His Tyr Val Pro Glu Ser
 1925 1930 1935
 Asp Ala Ala Arg Arg Val Thr Thr Ile Leu Ser Ser Leu Thr Val
 1940 1945 1950
 Thr Ser Leu Leu Arg Arg Leu His Lys Trp Ile Asn Glu Asp Cys
 1955 1960 1965
 Ser Thr Pro Cys Ala Glu Ser Trp Leu Trp Glu Val Trp Asp Trp

 1970 1975 1980
 Val Leu His Val Leu Ser Asp Phe Lys Thr Cys Leu Lys Ala Lys
 1985 1990 1995
 Phe Val Pro Leu Met Pro Gly Ile Pro Leu Leu Ser Trp Pro Arg
 2000 2005 2010
 Gly Tyr Lys Gly Glu Trp Arg Gly Asp Gly Val Met His Thr Thr
 2015 2020 2025
 Cys Pro Cys Gly Ala Asp Leu Ala Gly His Ile Lys Asn Gly Ser

 2030 2035 2040
 Met Arg Ile Thr Gly Pro Lys Thr Cys Ser Asn Thr Trp His Gly
 2045 2050 2055
 Thr Phe Pro Ile Asn Ala Tyr Thr Thr Gly Pro Gly Val Pro Ile
 2060 2065 2070
 Pro Ala Pro Asn Tyr Lys Phe Ala Leu Trp Arg Val Ser Ala Glu
 2075 2080 2085

Asp Tyr Val Glu Val Arg Arg Val Gly Asp Phe His Tyr Val Thr
 2090 2095 2100
 Gly Val Thr Gln Asp Asn Ile Lys Phe Pro Cys Gln Val Pro Ala
 2105 2110 2115
 Pro Glu Leu Phe Thr Glu Val Asp Gly Ile Arg Ile His Arg His
 2120 2125 2130
 Ala Pro Lys Cys Lys Pro Leu Leu Arg Asp Glu Val Ser Phe Ser
 2135 2140 2145
 Val Gly Leu Asn Ser Phe Val Val Gly Ser Gln Leu Pro Cys Glu
 2150 2155 2160
 Pro Glu Pro Asp Val Ala Val Leu Thr Ser Met Leu Thr Asp Pro
 2165 2170 2175
 Ser His Ile Thr Ala Glu Ser Ala Arg Arg Arg Leu Ala Arg Gly
 2180 2185 2190
 Ser Arg Pro Ser Leu Ala Ser Ser Ser Ala Ser Gln Leu Ser Pro
 2195 2200 2205
 Arg Leu Leu Gln Ala Thr Cys Thr Ala Pro His Asp Ser Pro Gly
 2210 2215 2220
 Thr Asp Leu Leu Glu Ala Asn Leu Leu Trp Gly Ser Thr Ala Thr
 2225 2230 2235
 Arg Val Glu Thr Asp Glu Lys Val Ile Ile Leu Asp Ser Phe Glu
 2240 2245 2250
 Ser Cys Val Ala Glu Gln Asn Asp Asp Arg Glu Val Ser Val Ala
 2255 2260 2265
 Ala Glu Ile Leu Arg Pro Thr Lys Lys Phe Pro Pro Ala Leu Pro
 2270 2275 2280
 Ile Trp Ala Arg Pro Asp Tyr Asn Pro Pro Leu Thr Glu Thr Trp
 2285 2290 2295
 Lys Gln Gln Asp Tyr Gln Ala Pro Thr Val His Gly Cys Ala Leu
 2300 2305 2310
 Pro Pro Ala Lys Gln Pro Pro Val Pro Ser Pro Arg Arg Lys Arg

2315	2320	2325
Thr Val Gln Leu Thr Glu Ser	Val Val Ser Thr	Ala Leu Ala Glu
2330	2335	2340
Leu Ala Ala Lys Thr Phe Gly	Gln Ser Glu Pro Ser	Ser Asp Arg
2345	2350	2355
Asp Thr Asp Leu Thr Thr Pro	Thr Glu Thr Thr Asp	Ser Gly Pro
2360	2365	2370
Ile Val Val Asp Asp Ala Ser	Asp Asp Gly Ser Tyr	Ser Ser Met
2375	2380	2385
Pro Pro Leu Glu Gly Glu Pro	Gly Asp Pro Asp Leu	Thr Ser Asp
2390	2395	2400
Ser Trp Ser Thr Val Ser Gly	Ser Glu Asp Val Val	Cys Cys Ser
2405	2410	2415
Met Ser Tyr Ser Trp Thr Gly	Ala Leu Val Thr Pro	Cys Ala Ala
2420	2425	2430
Glu Glu Ser Lys Leu Pro Ile	Ser Pro Leu Ser Asn	Ser Leu Leu
2435	2440	2445
Arg His His Asn Met Val Tyr	Ala Thr Thr Thr Arg	Ser Ala Val
2450	2455	2460
Thr Arg Gln Lys Lys Val Thr	Phe Asp Arg Leu Gln	Val Val Asp
2465	2470	2475
Ser Thr Tyr Asn Glu Val Leu	Lys Glu Ile Lys Ala	Arg Ala Ser
2480	2485	2490
Arg Val Lys Pro Arg Leu Leu	Thr Thr Glu Glu Ala	Cys Asp Leu
2495	2500	2505
Thr Pro Pro His Ser Ala Arg	Ser Lys Phe Gly Tyr	Gly Lys Lys
2510	2515	2520
Asp Val Arg Ser His Ser Arg	Lys Ala Ile Asn His	Ile Ser Ser
2525	2530	2535
Val Trp Lys Asp Leu Leu Asp	Asp Asn Asn Thr Pro	Ile Pro Thr
2540	2545	2550

Thr Ile Met Ala Lys Asn Glu Val Phe Ala Val Asn Pro Ala Lys
 2555 2560 2565
 Gly Gly Arg Lys Pro Ala Arg Leu Ile Val Tyr Pro Asp Leu Gly
 2570 2575 2580
 Ser Arg Val Cys Glu Lys Arg Ala Leu His Asp Val Ile Lys Lys
 2585 2590 2595
 Thr Ala Leu Ala Val Met Gly Ala Ala Tyr Gly Phe Gln Tyr Ser
 2600 2605 2610
 Pro Ala Gln Arg Val Glu Phe Leu Leu Thr Ala Trp Lys Ser Lys
 2615 2620 2625
 Asn Asp Pro Met Gly Phe Ser Tyr Asp Thr Arg Cys Phe Asp Ser
 2630 2635 2640
 Thr Val Thr Glu Lys Asp Ile Arg Val Glu Glu Glu Val Tyr Gln
 2645 2650 2655
 Cys Cys Asp Leu Glu Pro Glu Ala Arg Lys Val Ile Thr Ala Leu
 2660 2665 2670
 Thr Asp Arg Leu Tyr Val Gly Gly Pro Met His Asn Ser Lys Gly
 2675 2680 2685
 Asp Leu Cys Gly Tyr Arg Arg Cys Arg Ala Thr Gly Val Tyr Thr
 2690 2695 2700
 Thr Ser Phe Gly Asn Thr Leu Thr Cys Tyr Leu Lys Ala Thr Ala
 2705 2710 2715
 Ala Ile Arg Ala Ala Ala Leu Arg Asp Cys Thr Met Leu Val Cys
 2720 2725 2730
 Gly Asp Asp Leu Val Val Ile Ala Glu Ser Asp Gly Val Glu Glu
 2735 2740 2745
 Asp Asn Arg Ala Leu Arg Ala Phe Thr Glu Ala Met Thr Arg Tyr
 2750 2755 2760
 Ser Ala Pro Pro Gly Asp Ala Pro Gln Pro Ala Tyr Asp Leu Glu
 2765 2770 2775
 Leu Ile Thr Ser Cys Ser Ser Asn Val Ser Val Ala His Asp Val

2780 2785 2790
 Thr Gly Lys Lys Val Tyr Tyr Leu Thr Arg Asp Pro Glu Thr Pro
 2795 2800 2805
 Leu Ala Arg Ala Val Trp Glu Thr Val Arg His Thr Pro Val Asn

 2810 2815 2820
 Ser Trp Leu Gly Asn Ile Ile Val Tyr Ala Pro Thr Ile Trp Val
 2825 2830 2835
 Arg Met Ile Leu Met Thr His Phe Phe Ser Ile Leu Gln Ser Gln
 2840 2845 2850
 Glu Ala Leu Glu Lys Ala Leu Asp Phe Asp Met Tyr Gly Val Thr
 2855 2860 2865
 Tyr Ser Ile Thr Pro Leu Asp Leu Pro Ala Ile Ile Gln Arg Leu

 2870 2875 2880
 His Gly Leu Ser Ala Phe Thr Leu His Gly Tyr Ser Pro His Glu
 2885 2890 2895
 Leu Asn Arg Val Ala Gly Ala Leu Arg Lys Leu Gly Val Pro Pro
 2900 2905 2910
 Leu Arg Ala Trp Arg His Arg Ala Arg Ala Val Arg Ala Lys Leu
 2915 2920 2925
 Ile Ala Gln Gly Gly Arg Ala Lys Ile Cys Gly Ile Tyr Leu Phe

 2930 2935 2940
 Asn Trp Ala Val Lys Thr Lys Leu Lys Leu Thr Pro Leu Pro Ala
 2945 2950 2955
 Ala Ala Lys Leu Asp Leu Ser Gly Trp Phe Thr Val Gly Ala Gly
 2960 2965 2970
 Gly Gly Asp Ile Tyr His Ser Met Ser His Ala Arg Pro Arg Tyr
 2975 2980 2985
 Leu Leu Leu Cys Leu Leu Ile Leu Thr Val Gly Val Gly Ile Phe

 2990 2995 3000
 Leu Leu Pro Ala Arg
 3005

<210> 9

<211> 3019

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> GenBank ABE98159 HCV 6a

<400> 9

Met Ser Thr Leu Pro Lys Pro Gln Arg Lys Thr Lys Arg Asn Thr Asn

1 5 10 15

Arg Arg Pro Met Asp Val Lys Phe Pro Gly Gly Gly Gln Ile Val Gly

 20 25 30

Gly Val Tyr Leu Leu Pro Arg Arg Gly Pro Arg Leu Gly Val Arg Ala

 35 40 45

Thr Arg Lys Thr Ser Glu Arg Ser Gln Pro Arg Gly Arg Arg Gln Pro

50 55 60

Ile Pro Lys Ala Arg Gln Pro Gln Gly Arg His Trp Ala Gln Pro Gly

65 70 75 80

Tyr Pro Trp Pro Leu Tyr Gly Asn Glu Gly Cys Gly Trp Ala Gly Trp

 85 90 95

Leu Leu Ser Pro Arg Gly Ser Arg Pro His Trp Gly Pro Asn Asp Pro

 100 105 110

Arg Arg Arg Ser Arg Asn Leu Gly Lys Val Ile Asp Thr Leu Thr Cys

115 120 125

Gly Phe Ala Asp Leu Met Gly Tyr Ile Pro Val Val Gly Ala Pro Leu

130 135 140

Gly Gly Val Ala Ala Ala Leu Ala His Gly Val Arg Ala Ile Glu Asp

145 150 155 160

Gly Ile Asn Tyr Ala Thr Gly Asn Leu Pro Gly Cys Ser Phe Ser Ile

 165 170 175

Phe Leu Leu Ala Leu Leu Ser Cys Leu Thr Thr Pro Ala Ser Ala Leu

180 185 190

Thr Tyr Gly Asn Ser Ser Gly Leu Tyr His Leu Thr Asn Asp Cys Pro

195 200 205

Asn Ser Ser Ile Val Leu Glu Ala Asp Ala Met Ile Leu His Leu Pro
 210 215 220
 Gly Cys Leu Pro Cys Val Arg Val Asp Asn Gln Ser Thr Cys Trp His

 225 230 235 240
 Ala Val Ser Pro Thr Leu Ala Ile Pro Asn Ala Ser Thr Ser Ala Thr
 245 250 255
 Gly Phe Arg Arg His Val Asp Leu Leu Ala Gly Ala Ala Val Val Cys
 260 265 270
 Ser Ser Leu Tyr Ile Gly Asp Leu Cys Gly Ser Leu Phe Leu Ala Gly
 275 280 285
 Gln Leu Phe Thr Phe Gln Pro Arg Arg His Trp Thr Val Gln Asp Cys

 290 295 300
 Asn Cys Ser Ile Tyr Thr Gly His Val Thr Gly His Arg Met Ala Trp
 305 310 315 320
 Asp Met Met Met Asn Trp Ser Pro Thr Thr Thr Leu Val Leu Ser Ser
 325 330 335
 Ile Leu Arg Val Pro Glu Ile Cys Ala Ser Val Ile Phe Gly Gly His
 340 345 350
 Trp Gly Ile Leu Ile Ala Val Ala Tyr Phe Gly Met Ala Gly Asn Trp

 355 360 365
 Leu Lys Val Leu Ala Val Leu Phe Leu Phe Ala Gly Val Glu Ala Thr
 370 375 380
 Thr Thr Ile Gly Arg Glu Met Gly Ser Thr Thr Ala Gly Leu Val Arg
 385 390 395 400
 Phe Leu Ala Pro Gly Pro Lys Gln Asn Leu Gln Leu Ile Asn Thr Asn
 405 410 415
 Gly Ser Trp His Ile Asn Arg Thr Ala Leu Asn Cys Asn Asp Ser Leu

 420 425 430
 Gln Thr Gly Phe Ile Ala Ser Leu Phe Tyr Ala His Thr Phe Asn Ser
 435 440 445
 Ser Gly Cys Pro Glu Arg Met Ala Ala Cys Arg Pro Leu Ala Asp Phe

450 455 460
 Arg Gln Gly Trp Gly Gln Ile Thr Tyr Lys Asp Asn Ile Ser Gly Pro
 465 470 475 480
 Ser Asp Asp Arg Pro Tyr Cys Trp His Tyr Ala Pro Arg Pro Cys Ser

 485 490 495
 Val Val Pro Ala Ser Thr Val Cys Gly Pro Val Tyr Cys Phe Thr Pro
 500 505 510
 Ser Pro Val Val Val Gly Thr Thr Asp Arg Arg Gly Asn Pro Thr Tyr
 515 520 525
 Thr Trp Gly Glu Asn Glu Thr Asp Val Phe Met Leu Gly Ser Leu Arg
 530 535 540
 Pro Pro Thr Gly Gly Trp Phe Gly Cys Thr Trp Met Asn Ser Thr Gly

 545 550 555 560
 Phe Thr Lys Thr Cys Gly Ala Pro Pro Cys Gln Ile Val Pro Gly Asp
 565 570 575
 Tyr Asn Ser Ser Ala Asn Glu Leu Leu Cys Pro Thr Asp Cys Phe Arg
 580 585 590
 Lys His Pro Glu Ala Thr Tyr Gln Arg Cys Gly Ser Gly Pro Trp Leu
 595 600 605
 Thr Pro Arg Cys Leu Val His Tyr Pro Tyr Arg Leu Trp His Tyr Pro

 610 615 620
 Cys Thr Ile Asn Phe Thr Val His Lys Val Arg Met Phe Val Gly Gly
 625 630 635 640
 Ile Glu His Arg Phe Asp Ala Ala Cys Asn Trp Thr Arg Gly Glu Arg
 645 650 655
 Cys Glu Leu His Asp Arg Asp Arg Ile Glu Met Ser Pro Leu Leu Phe
 660 665 670
 Ser Thr Thr Gln Leu Ser Ile Leu Pro Cys Ser Phe Ser Thr Met Pro

 675 680 685
 Ala Leu Ser Thr Gly Leu Ile His Leu His Gln Asn Ile Val Asp Val
 690 695 700

Gln Tyr Leu Tyr Gly Val Ser Ser Ser Val Thr Ser Trp Val Val Lys
 705 710 715 720
 Trp Glu Tyr Ile Val Leu Met Phe Leu Val Leu Ala Asp Ala Arg Ile
 725 730 735
 Cys Thr Cys Leu Trp Leu Met Leu Leu Ile Ser Asn Val Glu Ala Ala
 740 745 750
 Val Glu Arg Leu Val Val Leu Asn Ala Ala Ser Ala Ala Gly Thr Ala
 755 760 765
 Gly Trp Trp Trp Ala Val Leu Phe Leu Cys Cys Val Trp Tyr Val Lys
 770 775 780
 Gly Arg Leu Val Pro Ala Cys Thr Tyr Thr Ala Leu Gly Met Trp Pro
 785 790 795 800
 Leu Leu Leu Thr Ile Leu Ala Leu Pro Arg Arg Ala Tyr Ala Met Asp
 805 810 815
 Asn Glu Gln Ala Ala Ser Leu Gly Ala Val Gly Leu Leu Val Ile Thr
 820 825 830
 Ile Phe Thr Ile Thr Pro Met Tyr Lys Lys Leu Leu Thr Cys Phe Ile
 835 840 845
 Trp Trp Asn Gln Tyr Phe Leu Ala Arg Ala Glu Ala Met Ile His Glu
 850 855 860
 Trp Val Pro Asp Leu Arg Val Arg Gly Gly Arg Asp Ser Ile Ile Leu
 865 870 875 880
 Leu Thr Cys Leu Leu His Pro Gln Leu Gly Phe Glu Val Thr Lys Ile
 885 890 895
 Leu Leu Ala Ile Leu Ala Pro Leu Tyr Ile Leu Gln Tyr Ser Leu Leu
 900 905 910
 Lys Val Pro Tyr Phe Val Arg Ala His Ile Leu Leu Arg Ala Cys Leu
 915 920 925
 Leu Val Arg Arg Leu Ala Gly Gly Lys Tyr Val Gln Ala Cys Leu Leu
 930 935 940
 Arg Leu Gly Ala Trp Thr Gly Thr Tyr Val Tyr Asp His Leu Ala Pro

945 950 955 960
 Leu Ser Asp Trp Ala Ser Asp Gly Leu Arg Asp Leu Ala Val Ala Val
 965 970 975
 Glu Pro Val Ile Phe Ser Pro Met Glu Lys Lys Ile Ile Thr Trp Gly
 980 985 990
 Ala Asp Thr Ala Ala Cys Gly Asp Ile Leu Ser Gly Leu Pro Val Ser

 995 1000 1005
 Ala Arg Leu Gly Asn Leu Val Leu Leu Gly Pro Ala Asp Asp Met
 1010 1015 1020
 Gln Arg Gly Gly Trp Lys Leu Leu Ala Pro Ile Thr Ala Tyr Ala
 1025 1030 1035
 Gln Gln Thr Arg Gly Leu Val Gly Thr Ile Val Thr Ser Leu Thr
 1040 1045 1050
 Gly Arg Asp Lys Asn Glu Val Glu Gly Glu Val Gln Val Val Ser

 1055 1060 1065
 Thr Ala Thr Gln Ser Phe Leu Ala Thr Ser Ile Asn Gly Val Met
 1070 1075 1080
 Trp Thr Val Tyr His Gly Ala Gly Ser Lys Thr Leu Ala Gly Pro
 1085 1090 1095
 Lys Gly Pro Val Cys Gln Met Tyr Thr Asn Val Asp Gln Asp Leu
 1100 1105 1110
 Val Gly Trp Pro Ser Pro Pro Gly Ala Arg Ser Leu Thr Pro Cys

 1115 1120 1125
 Thr Cys Gly Ser Asn Asp Leu Tyr Leu Val Thr Arg Glu Ala Asp
 1130 1135 1140
 Val Ile Pro Ala Arg Arg Arg Gly Asp Ser Arg Ala Ala Leu Leu
 1145 1150 1155
 Ser Pro Arg Pro Ile Ser Thr Leu Lys Gly Ser Ser Gly Gly Pro
 1160 1165 1170
 Ile Met Cys Pro Ser Gly His Val Val Gly Leu Phe Arg Ala Ala

 1175 1180 1185

Val Cys Thr Arg Gly Val Ala Lys Ser Leu Asp Phe Ile Pro Val
 1190 1195 1200

Glu Asn Met Glu Thr Thr Met Arg Ser Pro Ser Phe Thr Asp Asn
 1205 1210 1215

Ser Thr Pro Pro Ala Val Pro Gln Thr Tyr Gln Val Gly Tyr Leu
 1220 1225 1230

His Ala Pro Thr Gly Ser Gly Lys Ser Thr Arg Val Pro Ala Ala
 1235 1240 1245

Tyr Ala Ser Gln Gly Tyr Lys Val Leu Val Leu Asn Pro Ser Val
 1250 1255 1260

Ala Ala Thr Leu Ser Phe Gly Ser Tyr Met Arg Gln Ala Tyr Gly
 1265 1270 1275

Val Glu Pro Asn Val Arg Thr Gly Val Arg Thr Ile Thr Thr Gly
 1280 1285 1290

Gly Ala Ile Thr Tyr Ser Thr Tyr Gly Lys Phe Leu Ala Asp Gly
 1295 1300 1305

Gly Cys Ser Gly Gly Ala Tyr Asp Ile Ile Ile Cys Asp Glu Cys
 1310 1315 1320

His Ser Thr Asp Pro Thr Thr Val Leu Gly Ile Gly Thr Val Leu
 1325 1330 1335

Asp Gln Ala Glu Thr Ala Gly Val Arg Leu Thr Val Leu Ala Thr
 1340 1345 1350

Ala Thr Pro Pro Gly Ser Val Thr Val Pro His Pro Asn Ile Thr
 1355 1360 1365

Glu Thr Ala Leu Pro Thr Thr Gly Glu Ile Pro Phe Tyr Gly Lys
 1370 1375 1380

Ala Ile Pro Leu Glu Tyr Ile Lys Gly Gly Arg His Leu Ile Phe
 1385 1390 1395

Cys His Ser Lys Lys Lys Cys Asp Glu Leu Ala Gly Lys Leu Lys
 1400 1405 1410

Ser Leu Gly Leu Asn Ala Val Ala Phe Tyr Arg Gly Val Asp Val

1415	1420	1425
Ser Val Ile Pro Thr Ser Gly Asp Val Val Val Cys Ala Thr Asp		
1430	1435	1440
Ala Leu Met Thr Gly Tyr Thr Gly Asp Phe Asp Ser Val Ile Asp		
1445	1450	1455
Cys Asn Val Ala Val Thr Gln Val Val Asp Phe Ser Leu Asp Pro		
1460	1465	1470
Thr Phe Ser Ile Glu Thr Thr Thr Val Pro Gln Asp Ala Val Ser		
1475	1480	1485
Arg Ser Gln Arg Arg Gly Arg Thr Gly Arg Gly Lys Pro Gly Val		
1490	1495	1500
Tyr Arg Phe Val Ser Gln Gly Glu Arg Pro Ser Gly Met Phe Asp		
1505	1510	1515
Thr Val Val Leu Cys Glu Ala Tyr Asp Thr Gly Cys Ala Trp Tyr		
1520	1525	1530
Glu Leu Thr Pro Ser Glu Thr Thr Val Arg Leu Arg Ala Tyr Leu		
1535	1540	1545
Asn Thr Pro Gly Leu Pro Val Cys Gln Asp His Leu Glu Phe Trp		
1550	1555	1560
Glu Gly Val Phe Thr Gly Leu Thr His Ile Asp Ala His Phe Leu		
1565	1570	1575
Ser Gln Thr Lys Gln Gly Gly Glu Asn Phe Ala Tyr Leu Val Ala		
1580	1585	1590
Tyr Gln Ala Thr Val Cys Ala Arg Ala Lys Ala Pro Pro Pro Ser		
1595	1600	1605
Trp Asp Thr Met Trp Lys Cys Leu Ile Arg Leu Lys Pro Thr Leu		
1610	1615	1620
Thr Gly Pro Thr Pro Leu Leu Tyr Arg Leu Gly Ala Val Gln Asn		
1625	1630	1635
Glu Ile Ile Thr Thr His Pro Ile Thr Lys Tyr Ile Met Thr Cys		
1640	1645	1650

Met Ser Ala Asp Leu Glu Val Ile Thr Ser Thr Trp Val Ile Val
 1655 1660 1665
 Gly Gly Val Leu Ala Ala Leu Ala Ala Tyr Cys Leu Ser Val Gly
 1670 1675 1680
 Cys Val Val Ile Cys Gly Arg Ile Thr Leu Thr Gly Lys Pro Val
 1685 1690 1695
 Val Val Pro Asp Arg Glu Val Leu Tyr Gln Gln Phe Asp Glu Met
 1700 1705 1710
 Glu Glu Cys Ser Arg His Ile Pro Tyr Leu Ala Glu Gly Gln Gln
 1715 1720 1725
 Ile Ala Glu Gln Phe Arg Gln Lys Val Leu Gly Leu Leu Gln Ala
 1730 1735 1740
 Ser Ala Lys Gln Ala Glu Glu Leu Lys Pro Ala Val His Ser Ala
 1745 1750 1755
 Trp Pro Arg Val Glu Glu Phe Trp Arg Lys His Met Trp Asn Phe
 1760 1765 1770
 Val Ser Gly Ile Gln Tyr Leu Ala Gly Leu Ser Ile Trp Pro Gly
 1775 1780 1785
 Asn Pro Ala Val Ala Ser Leu Met Ser Phe Thr Ala Ser Leu Thr
 1790 1795 1800
 Ser Pro Leu Arg Thr Ser Gln Thr Leu Leu Leu Asn Ile Leu Gly
 1805 1810 1815
 Gly Trp Ile Ala Thr Gln Val Ala Pro Pro Pro Ala Ser Thr Ala
 1820 1825 1830
 Phe Val Val Ser Gly Leu Ala Gly Ala Thr Val Gly Ser Ile Gly
 1835 1840 1845
 Leu Gly Arg Val Leu Val Asp Val Leu Ala Gly Tyr Gly Ala Gly
 1850 1855 1860
 Val Ser Gly Ala Leu Val Ala Phe Lys Ile Met Ser Gly Glu Cys
 1865 1870 1875
 Pro Ser Thr Glu Asp Met Val Asn Leu Leu Pro Ala Leu Leu Ser

1880 1885 1890
 Pro Gly Ala Leu Val Val Gly Val Val Cys Ala Ala Ile Leu Arg

1895 1900 1905
 Arg His Val Gly Pro Ala Glu Gly Ala Asn Gln Trp Met Asn Arg

1910 1915 1920
 Leu Ile Ala Phe Ala Ser Arg Gly Asn His Val Ser Pro Thr His

1925 1930 1935
 Tyr Val Pro Glu Thr Asp Ala Ser Lys Asn Val Thr Gln Ile Leu

1940 1945 1950
 Thr Ser Leu Thr Ile Thr Ser Leu Leu Arg Arg Leu His Gln Trp

1955 1960 1965
 Val Thr Glu Asp Thr Ala Thr Pro Cys Ala Thr Ser Trp Leu Arg

1970 1975 1980
 Asp Val Trp Asp Trp Val Cys Thr Val Leu Ser Asp Phe Lys Val

1985 1990 1995
 Trp Leu Lys Ala Lys Leu Leu Pro Arg Leu Pro Gly Ile Pro Phe

2000 2005 2010
 Leu Ser Cys Gln Thr Gly Tyr Arg Gly Val Trp Ala Gly Asp Gly

2015 2020 2025
 Val Cys His Thr Thr Cys Thr Cys Gly Ala Val Ile Ala Gly His

2030 2035 2040
 Val Lys Asn Gly Ser Met Lys Ile Thr Gly Pro Lys Thr Cys Ser

2045 2050 2055
 Asn Thr Trp His Gly Thr Phe Pro Ile Asn Ala Thr Thr Thr Gly

2060 2065 2070
 Pro Ser Thr Pro Arg Pro Ala Pro Asn Tyr Gln Arg Ala Leu Trp

2075 2080 2085
 Arg Val Ser Ala Glu Asp Tyr Val Glu Val Arg Arg Leu Gly Asp

2090 2095 2100
 Cys His Tyr Val Val Gly Ala Thr Ala Glu Gly Leu Lys Cys Pro

2105 2110 2115

Cys Gln Val Pro Ala Pro Glu Phe Phe Thr Glu Val Asp Gly Val
 2120 2125 2130
 Arg Ile His Arg Tyr Ala Pro Pro Cys Lys Pro Leu Leu Arg Asp
 2135 2140 2145
 Glu Val Thr Phe Ser Val Gly Leu Ser Thr Tyr Ala Ile Gly Ser
 2150 2155 2160
 Gln Leu Pro Cys Glu Pro Glu Pro Asp Val Thr Val Val Thr Ser
 2165 2170 2175
 Met Leu Thr Asp Pro Thr His Ile Thr Ala Glu Thr Ala Ala Arg
 2180 2185 2190
 Arg Leu Lys Arg Gly Ser Pro Pro Ser Leu Ala Ser Ser Ser Ala
 2195 2200 2205
 Ser Gln Leu Ser Ala Pro Ser Leu Lys Ala Thr Cys Thr Thr Ser
 2210 2215 2220
 Lys Asp His Pro Asp Met Glu Leu Ile Glu Ala Asn Leu Leu Trp
 2225 2230 2235
 Arg Gln Glu Met Gly Gly Asn Ile Thr Arg Val Glu Ser Glu Asn
 2240 2245 2250
 Lys Val Val Ile Leu Asp Ser Phe Glu Pro Leu Thr Ala Asp Tyr
 2255 2260 2265
 Asp Glu Arg Glu Ile Ser Val Ser Ala Glu Cys His Arg Pro Pro
 2270 2275 2280
 Arg His Lys Phe Pro Pro Ala Leu Pro Ile Trp Ala Arg Pro Asp
 2285 2290 2295
 Tyr Asn Pro Pro Leu Ile Gln Ala Trp Gln Met Pro Gly Tyr Glu
 2300 2305 2310
 Pro Pro Val Val Ser Gly Cys Ala Val Ala Pro Pro Lys Pro Ala
 2315 2320 2325
 Pro Ile Pro Pro Pro Arg Arg Lys Arg Leu Val His Leu Asp Glu
 2330 2335 2340
 Ser Thr Val Ser His Ala Leu Ala Gln Leu Ala Asp Lys Val Phe

2345 2350 2355
 Val Glu Ser Ser Asp Gly Pro Gly Pro Ser Ser Asp Ser Gly Leu
 2360 2365 2370
 Ser Ile Thr Ser Pro Val Pro Pro Thr Pro Thr Thr Pro Asp Asp

 2375 2380 2385
 Ala Cys Ser Glu Ala Glu Ser Tyr Ser Ser Met Pro Pro Leu Glu
 2390 2395 2400
 Gly Glu Pro Gly Asp Pro Asp Leu Ser Ser Gly Ser Trp Ser Thr
 2405 2410 2415
 Val Ser Asp Gln Asp Asp Val Val Cys Cys Ser Met Ser Tyr Ser
 2420 2425 2430
 Trp Thr Gly Ala Leu Ile Thr Pro Cys Ala Ala Glu Glu Glu Lys

 2435 2440 2445
 Leu Pro Ile Asn Pro Leu Ser Asn Ser Leu Ile Arg His His Asn
 2450 2455 2460
 Met Val Tyr Ser Thr Thr Ser Arg Ser Ala Ser Leu Arg Gln Lys
 2465 2470 2475
 Lys Val Thr Phe Asp Arg Val Gln Val Phe Asp Gln His Tyr Gln
 2480 2485 2490
 Glu Val Leu Lys Glu Ile Lys Leu Arg Ala Ser Thr Val Gln Ala

 2495 2500 2505
 Lys Leu Leu Ser Ile Glu Glu Ala Cys Asp Leu Thr Pro Ser His
 2510 2515 2520
 Ser Ala Arg Ser Lys Tyr Gly Tyr Gly Ala Lys Asp Val Arg Ser
 2525 2530 2535
 His Ala Ser Lys Ala Val Asp His Ile Arg Ser Val Trp Glu Asp
 2540 2545 2550
 Leu Leu Glu Asp Ser Asp Thr Pro Ile Pro Thr Thr Ile Met Ala

 2555 2560 2565
 Lys Asn Glu Val Phe Cys Val Asp Pro Ser Lys Gly Gly Arg Lys
 2570 2575 2580

Pro Ala Arg Leu Ile Val Phe Pro Asp Leu Gly Val Arg Val Cys
 2585 2590 2595

Glu Lys Met Ala Leu Tyr Asp Val Thr Arg Lys Leu Pro Gln Ala
 2600 2605 2610

Val Met Gly Pro Ala Tyr Gly Phe Gln Tyr Ser Pro Asn Gln Arg
 2615 2620 2625

Val Glu Tyr Leu Leu Lys Met Trp Arg Ser Lys Lys Val Pro Met
 2630 2635 2640

Gly Phe Ser Tyr Asp Thr Arg Cys Phe Asp Ser Thr Val Thr Glu
 2645 2650 2655

Arg Asp Ile Arg Thr Glu Asn Glu Ile Tyr Gln Ser Cys Gln Leu
 2660 2665 2670

Asp Pro Met Ala Arg Lys Ala Val Ser Ser Leu Thr Glu Arg Leu
 2675 2680 2685

Tyr Val Gly Gly Pro Met Val Asn Ser Lys Gly Gln Ser Cys Gly
 2690 2695 2700

Tyr Arg Arg Cys Arg Ala Ser Gly Val Leu Pro Thr Ser Met Gly
 2705 2710 2715

Asn Thr Leu Thr Cys Tyr Leu Lys Ala Gln Ala Ala Cys Arg Ala
 2720 2725 2730

Ala Asn Ile Lys Asp Tyr Asp Met Leu Val Cys Gly Asp Asp Leu
 2735 2740 2745

Val Val Ile Cys Glu Ser Ala Gly Val Gln Glu Asp Thr Ala Ser
 2750 2755 2760

Leu Arg Ala Phe Thr Asp Ala Met Thr Arg Tyr Ser Ala Pro Pro
 2765 2770 2775

Gly Asp Ala Pro Gln Pro Thr Tyr Asp Leu Glu Leu Ile Thr Ser
 2780 2785 2790

Cys Ser Ser Asn Val Ser Val Ala His Asp Gly Asn Gly Lys Arg
 2795 2800 2805

Tyr Tyr Tyr Leu Thr Arg Asp Cys Thr Thr Pro Leu Ala Arg Ala

2810 2815 2820
 Ala Trp Glu Thr Ala Arg His Thr Pro Val Asn Ser Trp Leu Gly
 2825 2830 2835
 Asn Ile Ile Met Phe Ala Pro Thr Ile Trp Val Arg Met Val Leu
 2840 2845 2850
 Met Thr His Phe Phe Ser Ile Leu Gln Ser Gln Glu Gln Leu Glu

 2855 2860 2865
 Lys Ala Leu Asp Phe Asp Ile Tyr Gly Val Thr Tyr Ser Val Ser
 2870 2875 2880
 Pro Leu Asp Leu Pro Ala Ile Ile Gln Arg Leu His Gly Met Ala
 2885 2890 2895
 Ala Phe Ser Leu His Gly Tyr Ser Pro Val Glu Leu Asn Arg Val
 2900 2905 2910
 Gly Ala Cys Leu Arg Lys Leu Gly Ala Pro Pro Leu Arg Ala Trp

 2915 2920 2925
 Arg His Arg Ala Arg Ala Val Arg Ala Lys Leu Ile Ala Gln Gly
 2930 2935 2940
 Gly Lys Ala Ala Ile Cys Gly Lys Tyr Leu Phe Asn Trp Ala Val
 2945 2950 2955
 Lys Thr Lys Leu Lys Leu Thr Pro Leu Ala Ser Ala Ser Lys Leu
 2960 2965 2970
 Asp Leu Ser Asp Trp Phe Val Ala Gly Tyr Asp Gly Gly Asp Ile

 2975 2980 2985
 Tyr His Ser Val Ser Leu Ala Arg Pro Arg Leu Leu Leu Leu Gly
 2990 2995 3000
 Leu Leu Leu Leu Thr Val Gly Val Gly Ile Phe Leu Leu Pro Ala
 3005 3010 3015
 Arg

<210> 10

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> HC-1 Heavy Chain CDR1

<400> 10

Gly Gly Thr Tyr Asn Ser Glu Val

1 5

<210> 11

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> HC-1 Heavy Chain CDR2

<400> 11

Phe Ile Pro Met Phe Gly Thr Ala

1 5

<210> 12

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> HC-1 Heavy Chain CDR3

<400> 12

Ala Lys Val Leu Gln Val Gly Gly Asn Leu Val Val Arg Pro Leu

1 5 10 15

<210> 13

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> HC-3 Heavy Chain CDR1

<400> 13

Gly Phe Ser Leu Ser Thr Thr Gly Val Gly

1 5 10

<210> 14

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> HC-3 Heavy Chain CDR2

<400> 14

Ile Tyr Trp Asp Asp Asp Lys

1 5

<210> 15

<211> 23

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> HC-3 Heavy Chain CDR3

<400> 15

Ala Leu Asn Ser Tyr Arg Ser Gly Thr Ile Leu Tyr Arg Glu Leu Glu

1 5 10 15

Leu Arg Gly Leu Phe Tyr Ile

20

<210> 16

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> HC-11 Heavy Chain CDR1

<400> 16

Gly Ala Thr Phe Ser Ser Phe Ile

1 5

<210> 17

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> HC-11 Heavy Chain CDR2

<400> 17

Ile Ile Pro Met Phe Gly Thr Ala

1 5

<210> 18

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> HC-11 Heavy Chain CDR3

<400> 18

Ala Met Glu Val Pro Phe Gly Cys Arg Gly Gly Ser Cys Ser Gly Tyr

1 5 10 15

Met Asp Val

<210> 19

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> CBH-23 Heavy Chain CDR1

<400> 19

Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr Ala

1 5

<210> 20

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> CBH-23 Heavy Chain CDR2

<400> 20

Ile Val Pro Met Phe Gly Thr Glu

1 5

<210> 21

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> CBH-23 Heavy Chain CDR3

<400> 21

Ala Arg His Glu Asn Ile Tyr Gly Thr Pro Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 22

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> HC-1 Light Chain CDR1

<400> 22

Gln Thr Ile Ser Ser Thr His

1 5

<210> 23

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> HC-1 Light Chain CDR3

<400> 23

His Gln Tyr Gly Asn Ser Pro Gln Thr

1 5

<210> 24

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> HC-3 Light Chain CDR1

<400> 24

Gln Ser Ile Ser Ser Trp

1 5

<210> 25

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> HC-3 Light Chain CDR3

<400> 25

Gln Gln Tyr Glu Ser Ser Ser Trp Thr

1 5

<210> 26

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> HC-11 Light Chain CDR1

<400> 26

His Ser Val Ser Ser Ser Asn

1 5

<210> 27

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> HC-11 Light Chain CDR3

<400> 27

Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro Ile Thr

1 5

<210> 28

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> CBH-23 Light Chain CDR1

<400> 28

His Ser Ile Thr Arg Tyr

1 5

<210> 29

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> CBH-23 Light Chain CDR3

<400> 29

Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Leu Leu Thr

1 5