

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第4095303号
(P4095303)

(45) 発行日 平成20年6月4日(2008.6.4)

(24) 登録日 平成20年3月14日(2008.3.14)

(51) Int.Cl.

F I

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

C 1 2 N 15/00 Z N A A

C 1 2 N 5/10 (2006.01)

C 1 2 N 5/00 B

請求項の数 32 (全 266 頁)

(21) 出願番号	特願2001-585612 (P2001-585612)	(73) 特許権者	597025806
(86) (22) 出願日	平成13年5月23日 (2001.5.23)		ワシントン・ユニバーシティ
(65) 公表番号	特表2003-533232 (P2003-533232A)		Washington University School of Medicine
(43) 公表日	平成15年11月11日 (2003.11.11)		アメリカ合衆国63130ミズーリ州セント・ルイス、ワン・ブルッキングズ・ドライブ
(86) 国際出願番号	PCT/US2001/016822		
(87) 国際公開番号	W02001/089364	(74) 代理人	100062007
(87) 国際公開日	平成13年11月29日 (2001.11.29)		弁理士 川口 義雄
審査請求日	平成18年12月18日 (2006.12.18)	(74) 代理人	100114188
(31) 優先権主張番号	09/576,989		弁理士 小野 誠
(32) 優先日	平成12年5月23日 (2000.5.23)	(74) 代理人	100119253
(33) 優先権主張国	米国 (US)		弁理士 金山 賢教
早期審査対象出願			

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 HCV変異体

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

宿主細胞における増殖性複製が可能であるか、又は宿主細胞において増殖性複製が可能であるような非天然のHCV配列へ転写されることが可能であるような非天然のHCV配列からなるポリヌクレオチドであって、当該HCV配列は、ポジティブ・センス核酸上に5'から3'方向へ、機能性5'非翻訳領域(5' NTR); HCV RNAの複製が可能である少なくとも1個のポリタンパク質コード領域を含む1個又は複数のタンパク質コード領域; 並びに、機能性HCV 3'非翻訳領域(3' NTR)からなるポリヌクレオチドであり、さらにNS5A遺伝子におけるISDRの5'側の50個のヌクレオチド内の適応変異及び/又はNS5A遺伝子におけるISDR内の適応変異を含むポリヌクレオチドであって、該適応変異は培養においてHCV RNAの複製を確立する能力を改善する適応変異であるポリヌクレオチド。

【請求項 2】

0.01%より大きい哺乳類細胞へのトランスフェクション効率を有する、請求項1記載のポリヌクレオチド。

【請求項 3】

哺乳類細胞へのトランスフェクション効率が0.1%より大きい、請求項2記載のポリヌクレオチド。

【請求項 4】

哺乳類細胞へのトランスフェクション効率が1%より大きい、請求項2記載のポリヌク

レオチド。

【請求項 5】

哺乳類細胞へのトランスフェクション効率が 5 % より大きい、請求項 2 記載のポリヌクレオチド。

【請求項 6】

ポリヌクレオチドが、非 - 肝細胞において複製が可能である、請求項 1 記載のポリヌクレオチド。

【請求項 7】

非 - 肝細胞が H e L a 細胞である、請求項 6 記載のポリヌクレオチド。

【請求項 8】

H C V の、疾患を引き起し、慢性感染を確立し、自己免疫応答を誘発し、かつ細胞を形質転換する能力が損なわれている、請求項 1 記載のポリヌクレオチド。

【請求項 9】

変異が、I S D R の 5 ' 側の 2 0 個のヌクレオチド内の変異及び / 又は I S D R 内の変異である、請求項 1 記載のポリヌクレオチド。

【請求項 1 0】

変異が、配列番号 : 3 における 1 1 7 9 位の S e r から I l e への変異、1 1 6 4 位の A r g から G l y への変異、1 1 7 4 位の A l a から S e r への変異、1 1 7 2 位の S e r から C y s への変異、及び 1 1 7 2 位の S e r から P r o への変異からなる群より選択されたアミノ酸配列の変異をコードしている、請求項 9 記載のポリヌクレオチド。

【請求項 1 1】

変異が、I S D R の少なくとも一部の欠失を含む、請求項 1 記載のポリヌクレオチド。

【請求項 1 2】

変異が、I S D R 全体の欠失を含む、請求項 1 1 記載のポリヌクレオチド。

【請求項 1 3】

変異が、配列番号 : 6 のヌクレオチド 5 3 4 5 から 5 4 8 5 に相当するヌクレオチドの欠失を含む、請求項 1 2 記載のポリヌクレオチド。

【請求項 1 4】

ポリヌクレオチドが、ウイルスの I R E S 、細胞性 I R E S 、及び人工の I R E S からなる群より選択される少なくとも 1 種の I R E S を含む、請求項 1 記載のポリヌクレオチド。

【請求項 1 5】

H C V ポリタンパク質コード領域が、全ての H C V 構造及び非構造タンパク質をコードしている、請求項 1 4 記載のポリヌクレオチド。

【請求項 1 6】

更に、第一の I R E S に操作可能に連結された外来遺伝子及び第二の I R E S に操作可能に連結された H C V ポリタンパク質コード領域を含む、請求項 1 5 記載のポリヌクレオチド。

【請求項 1 7】

ポリタンパク質コード領域が、感染性 H C V 粒子の形成が不可能である、請求項 1 4 記載のポリヌクレオチド。

【請求項 1 8】

ポリタンパク質コード領域が、構造タンパク質コード領域の変異及び / 又は欠失を含む、請求項 1 7 記載のポリヌクレオチド。

【請求項 1 9】

更に、第一の I R E S に操作可能に連結された外来遺伝子及び第二の I R E S に操作可能に連結された H C V ポリタンパク質コード領域を含む、請求項 1 8 記載のポリヌクレオチド。

【請求項 2 0】

外来遺伝子が、選択マーカー又はレポーター遺伝子をコードしている遺伝子である、請

10

20

30

40

50

求項 19 記載のポリヌクレオチド。

【請求項 21】

哺乳類細胞へのトランスフェクション効率が約 6 % である、請求項 1 記載のポリヌクレオチド。

【請求項 22】

(a) 第一の IRES が HCV IRES であり；
(b) 外来遺伝子が neo 遺伝子であり；及び (c) 第二の IRES が EMCV IRES である、請求項 20 記載のポリヌクレオチド。

【請求項 23】

HCV 配列が、遺伝子型 1 の HCV 配列である、請求項 22 記載のポリヌクレオチド。

10

【請求項 24】

HCV 配列が、亜型 1b である、請求項 23 記載のポリヌクレオチド。

【請求項 25】

配列番号：5 又は配列番号：6 からなる、請求項 22 記載のポリヌクレオチド。

【請求項 26】

ポリヌクレオチドが、2 本鎖 DNA である、請求項 1 ~ 25 のいずれかに記載のポリヌクレオチド。

【請求項 27】

プロモーターと操作可能に結びつけられた請求項 26 記載のポリヌクレオチドを含むベクター。

20

【請求項 28】

請求項 26 記載のベクターを含む細胞。

【請求項 29】

宿主細胞が哺乳類細胞である、請求項 1 ~ 25 のいずれかに記載のポリヌクレオチドを含む宿主細胞。

【請求項 30】

宿主細胞がヒト細胞である、請求項 29 記載の宿主細胞。

【請求項 31】

宿主細胞が肝細胞、T 細胞、B 細胞および HeLa 細胞からなる群から選択される、請求項 30 記載の宿主細胞。

30

【請求項 32】

宿主細胞が HeLa 細胞である、請求項 30 記載の宿主細胞。

【発明の詳細な説明】

【0001】

(発明の背景)

(政府助成に関する陳述)

本発明は、公衆衛生総局基金(Public Health Service Grant)第CA 57973号及び第AI 40034号の下で政府の支持により行った。米政府は本発明に一定の権利を有するものである。

【0002】

【発明の属する技術分野】

40

(発明の背景)

(1)発明の技術分野

本発明は、C型肝炎ウイルス(HCV)変異体の作出及び使用に関する材料及び方法に関する。より詳細に述べると、診断、治療、ワクチン及び他の用途に有用なHCV変異体が提供される。

【0003】

【従来の技術】

(2)関連する技術分野の説明

C型肝炎ウイルスの簡単な概略

A型肝炎ウイルス及びB型肝炎ウイルスの診断試験が開発されて以降、チンパンジーに実験

50

的に伝播された別の物質[Alterらの論文、Lancet 1、459-463 (1978)] ; Hollingerらの論文、Intervirology、10:60-68 (1978) ; Taborらの論文、Lancet 1、463-466 (1978)]が輸血により獲得された肝炎の主因として認められ始めた。原因となる非-A非-B型(NANB)肝炎物質、いわゆるC型肝炎ウイルス(HCV)に相当するcDNAクローンが、1989年に報告された[C hooらの論文、Science、244:359-362 (1989)]。この大発見は、HCVの診断、及び疫学、病因及び分子ウイルス学に関する我々の理解の急激な進歩につながっている(総説については、Houghtonらの論文、Curr Stud Hematol Blood Transfus、61:1-11 (1994) ; Houghton、FIELDS VIROLOGY、(1996)1035-1058頁、編集Fieldsらの論文、Raven Press社、フィラデルフィア ; Majorらの論文、Hepatology、25:1527-1538 (1997) ; Reed及びRice、HEPATITIS C VIRUS、1-37頁、編集Reesink、Karger社、バーゼル ; Hagedorn及びRice、THE HEPATITIS C VIRUSES、(1999)、Springer、ベルリンを参照のこと)。HCV感染の証拠は、世界中で発見されており、HCV-特異抗体の罹患率はたいていの国では0.4~2%の範囲であり、エジプトにおいては14%を超えている[Hibbsらの論文、J. Inf. Dis.、168:789-790 (1993)]。血液又は血液製剤を介した伝播、もしくはより頻度は低いが性的及び先天性の経路に加え、公知のリスク因子とは無関係の散發的症例が発生しており、HCV症例の40%を超える割合を占めている[Alterらの論文、J. Am. Med. Assoc.、264:2231-2235 (1990) ; Mast及びAlter、Semin. Virol.、4:273-283 (1993)]。感染は通常慢性的であり[Alterらの論文、N. Eng. J. Med.、327:1899-1905 (1992)]、臨床の転帰は、不顕性キャリア状態から急性肝炎、慢性活動期肝炎、及び肝硬変に至り、これは肝細胞癌の発生と強く関連している。

【 0 0 0 4 】

少数の慢性HCV感染患者の治療にインターフェロン(IFN)- が有用であることが示されており[Davisらの論文、N. Engl. J. Med.、321:1501-1506 (1989) ; DiBisceglieらの論文、New Engl. J. Med.、321:1506-1510 (1989)]、及びサブユニットワクチンがチンパンジーモデルにおいて若干見込みがあるが[Chooらの論文、Proc. Natl. Acad. Sci. USA、91:1294-1298 (1994)]、より有効な療法及びワクチンの開発に今後の努力が必要とされている(例えば、Tsambirasらの、1999年、「Hepatitis C: Hope on the Horizon」、米国感染症学会の第37回年次総会C型肝炎シンポジウム(Hepatitis C Symposium of 37th Annual Meeting of the Infectious Diseases Society of America)、総説は、<http://www.medscape.com/medscape/cno/1999/IDSA/Story.cfm>

?story_id=913参照のこと)。異なるHCV単離体の間に認められるかなりの多様性[総説については、Bukhらの論文、Sem. Liver Dis.、15:41-63 (1995) ; Fanningらの論文、2000、Medscape Gastroenterology 2:mg16558.fann参照]、慢性的に感染した個体における遺伝的変異体の出現[Enomotoらの論文、J. Hepatol.、17:415-416 (1993) ; Hijikataらの論文、Biochem. Biophys. Res. Comm.、175:220-228 (1991) ; Katoらの論文、Biochem. Biophys. Res. Comm.、189:119-127 (1992) ; Katoらの論文、J. Virol.、67:3923-3930 (1993) ; Kurosakiらの論文、Hepatology、18:1293-1299 (1993) ; Lesniewskiらの論文、J. Med. Virol.、40:150-156 (1993) ; Ogataらの論文、Proc. Natl. Acad. Sci. USA、88:3392-3396 (1991) ; Weinerらの論文、Virology、180:842-848 (1991) ; Weinerらの論文、Proc. Natl. Acad. Sci. USA、89:3468-3472 (1992)を参照のこと]、及びHCV感染後に誘発された感染防御免疫の欠如[Farciらの論文、Science、258:135-140 (1992) ; Princeらの論文、J. Infect. Dis.、165:438-443 (1992)]が、これらの目的に向かっての大きな難関として存在している。

【 0 0 0 5 】

HCVの分子生物学

分類。 HCVは、そのゲノム構造及びビリオン特性を基に、下記の他の2種の属を含むフラビウイルス科の独立した属として分類されている：フラビウイルス(例えば、黄熱病(YF)ウイルス)及び動物のペスチウイルス(例えば、ウシウイルスの下痢症ウイルス(BVDV)及び古典的ブタ熱ウイルス(CSFV))[Franckiらの論文、Arch. Virol.、補遺、2:223 (1991)]。この科の構成員は全て、1個の長いオープンリーディングフレーム(ORF)の翻訳を介し、全

て公知のウイルス-特異的タンパク質をコードしているポジティブ-鎖RNAゲノムを含む、エンベロープを伴うビリオンを有する。

【0006】

ビリオンの構造及び物理特性。HCVビリオンの構造及び物理特性の研究には、効率的ウイルス複製を支持することができる細胞培養システムの欠如及び血清中に存在する感染性ウイルスの概して低い力価が足枷となっていた。濾過実験を基にした感染性ウイルスのサイズは、30～80nmである[Bradleyらの論文、Gastroenterology、88:773-779 (1985) ; Heらの論文、J. Infect. Dis.、156:636-640 (1987) ; Yuasaらの論文、J. Gen. Virol.、72:2021-2024 (1991)]。シヨ糖中の感染性物質の浮遊密度の初めての測定では、幅のある値が得られ、<1.1g/mlの低密度プール中に大半が存在していた[Bradleyらの論文、J. Med. Virol.、34:206-208 (1991)]。その後の研究では、慢性感染したヒト又は実験的に感染したチンパンジー由来の血清中に存在する可能性のある感染性ウイルスの間接測定として、RT/PCRを用い、HCV-特異的RNAを検出した。これらの研究から、かなりの不均一性が様々な臨床検体中に存在すること、及び多くの要因がHCV RNAを含む粒子の挙動に影響を与え得ることが一層明らかになりつつある[Hijikataらの論文、J. Virol.、67:1953-1958 (1993) ; Thomssenらの論文、Med. Microbiol. Immunol.、181:293-300 (1992)]。このような要因は、免疫グロブリンとの会合[Hijikataらの論文、(1993)前掲]又は低密度リボタンパク質との会合[Thomssenらの論文、(1992)前掲 ; Thomssenらの論文、Med. Microbiol. Immunol.、182:329-334 (1993)]を含む。高度に感染性である急性期のチンパンジー血清中において、HCV-特異的RNAは通常低浮遊密度(1.03～1.1g/ml)画分中に検出される[Carrickらの論文、J. Virol. Meth.、39:279-289 (1992) ; Hijikataらの論文、(1993)前掲]。別の試料において、HCV抗体の存在及び免疫複合体の形成は、高密度及び低感染力の粒子と相関している[Hijikataらの論文、(1993)前掲]。粒子の感染力を破壊するクロロホルムによる処理[Bradleyらの論文、J. Infect. Dis.、148:254-265 (1983) ; Feinstoneらの論文、Infect. Immun.、41:816-821 (1983)]、又は非イオン性界面活性剤による処理は、HCVヌクレオキャプシドを表していると考えられた高密度(1.17～1.25g/ml)のRNA含有粒子を生成した[Hijikataらの論文、(1993)前掲 ; Kantoらの論文、Hepatology、19:296-302 (1994) ; Miyamotoらの論文、J. Gen Virol.、73:715-718 (1992)]。

【0007】

血清及び血漿中にネガティブ-センスHCV-特異的RNAが報告されている[Fongらの論文、Journal of Clinical Investigation、88:1058-60 (1991)参照]。しかし、このようなRNAは、高い感染力を伴う血清の一部は低い又は検出不能レベルのネガティブ-鎖RNAを有するので、感染性粒子の必須の成分であるようには見えない[Shimizuらの論文、Proc. Natl. Acad. Sci. USA、90:6037-6041 (1993)]。ビリオンタンパク質組成は厳密には決定されていないが、HCV構造タンパク質は、塩基性Cタンパク質及び2種の膜糖タンパク質であるE1及びE2を含有する。

HCV複製。HCV複製の早期事象はあまりわかっていない。肝細胞受容体はCD81であり、これはE2エンベロープ糖タンパク質に結合する(Peleriらの論文、Science、282:938-41 (1998))。一部のHCV粒子のリボタンパク質及び免疫グロブリンとの会合は、これらの宿主の分子がウイルス取り込み及び組織指向性を変調することができる可能性を生じる。

【0008】

HCV複製を試験する研究は、ヒト患者又は実験的に接種されたチンパンジーに大きく制限されている。チンパンジーモデルにおいて、HCV RNAは、接種後3日と早期に血清中に検出され、かつ血清アラニンアミノトランスフェラーゼ(ALT)レベル(肝損傷の指標)のピークを通じて持続する[Shimizuらの論文、Proc. Natl. Acad. Sci. USA、87:6441-6444 (1990)]。ウイルス血症の開始後、肝HCV感染の間接的証明が出現する。これらは、細胞質抗原の出現[Shimizuらの論文、(1990)前掲]及びHCVが以前クロロホルム-感受性「細管形成剤」又は「TFA」と称された理由である微小細管凝集の形成のような肝細胞における超微細構造的変化を含む[Bradley、Prog. Med. Virol.、37:101-135 (1990)において検証]。ウイルス抗原の出現[Blightらの論文、Amer. J. Path.、143:1568-1573 (1993) ; Hiramatsu

らの論文、Hepatology、16:306-311 (1992) ; Krawczynskiらの論文、Gastroenterology、103:622-629 (1992) ; Yamadaらの論文、Digest. Dis. Sci.、38:882-887 (1993)]並びにポジティブ及びネガティブ-センスRNAの検出[Fongらの論文、(1991)前掲 ; Gunjiらの論文、Arch. Virol.、134:293-302 (1994) ; Harunaらの論文、J. Hepatol.、18:96-100 (1993) ; Lamasらの論文、J. Hepatol.、16:219-223 (1992) ; Nouri Ariaらの論文、J. Clin. Invest.、91:2226-34 (1993) ; Sherkerらの論文、J. Med. Virol.、39:91-96 (1993) ; Takeharaらの論文、Hepatology、15:387-390 (1992) ; Tanakaらの論文、Liver、13:203-208 (1993)]により示されるように、肝細胞は、特に急性感染期の、HCV複製の主要部位であるように見える[Negroらの論文、Proc. Natl. Acad. Sci. USA、89:2247-2251 (1992)]。HCV感染後期において、HCV-特異抗体の出現、ウイルス血症の持続又は寛解、及び肝疾患の重症度は、チンパンジーモデル及びヒト患者の両方において大きく変動する(Fanningらの論文、前掲)。肝損傷の一部は、HCV感染及び細胞変性の直接的結果として生じるが、宿主免疫応答、特にウイルス-特異的細胞傷害性Tリンパ球は、細胞の損傷の媒介においてより主要な役割を果たすという合意ができつつある。

【 0 0 0 9 】

HCVは、肝外貯蔵器(extra-hepatic reservoir)(複数)においても複製すると推測されている。一部の例では、RT/PCR又はin situハイブリダイゼーションが、HCV RNAのT細胞、B細胞、及び単球を含む末梢血単核細胞との会合を示している[総説はBlight及びGowans、Viral Hepatitis Rev.、1:143-155 (1995)]。このような組織指向性は、慢性感染の確立を明らかにし、並びにHCV感染とある種の免疫学的異常、例えば混合型クリオグロブリン血症[Ferriらの論文、Eur. J. Clin. Invest.、23:399-405 (1993)において検証]、糸球体腎炎、及び希な非ホジキンBリンパ腫[Ferriらの論文、(1993)前掲 ; Kagawaらの論文、Lancet、341:316-317 (1993)]の間の関係においても役割を果たすであろう。しかし、血清中の循環ネガティブ鎖RNAの検出、真の鎖-特異的RT/PCRを得ることの困難さ[Gunjiらの論文、(1994)前掲]、及び見かけ上感染した細胞数の少なさ、in vivoにおけるこれらの組織での複製の明白な証拠を得ることを困難にする。

【 0 0 1 0 】

ゲノム構造。HCV単離体の完全長又はほぼ完全長ゲノム配列が数多く報告されている[例えば、Linらの論文、J. Virol.、68:5063-5073 (1994a) ; Okamotoらの論文、J. Gen. Virol.、75:629-635 (1994) ; Sakamotoらの論文、J. Gen. Virol.、75:1761-1768 (1994) ; Trobridgeらの論文、Arch Virol.、143:501-511 (1998) ; Chamberlainらの論文、J. Gen. Virol.、78:1341-1347 (1997) ; 及び、Davis、Am. J. Med.、27:21S-26Sの引用を参照のこと]。HCVゲノムRNAは、長さ~9.6キロベース(kb)であり(図1)、かつ5'非翻訳領域(5' NTR)、単一の長いオープンリーディングフレーム(ORF)からなるポリタンパク質コード領域、及び3' NTRからなる。この5' NTRは、341-344塩基長でありかつ高度に保存されている。長いORFの長さは単離体間でわずかに変動し、約3010から約3033個のアミノ酸のポリタンパク質をコードしている。

【 0 0 1 1 】

3' NTRは、3個のドメインに分割することができる。第一(最も5'側)ドメインは、組成及び長さ(28-42塩基)の両方においてかなりの多様性を示す。Yanagiらの最近の研究[Proc. Natl. Acad. Sci. USA、96:2291-2295 (1999)]は、この領域はウイルス複製には不要であることを明らかにしている。第二のドメインは、ポリ(A)(少なくともHCV-1、1a型[Hanらの論文、Proc. Natl. Acad. Sci. USA、88:1711-1715 (1991)]又はポリ(U-UC) (Chenらの論文、Virology、188:102-113(1992) ; Okamotoらの論文、J. Gen. Virol.、72:2697-2704 (1991) ; Tokitaらの論文、J. Gen. Virol.、66:1476-83 (1994))の可変長ポリピリミジン領域からなる。ゲノムの最も3'末端の第三のドメインは、約98個のヌクレオチドの高度に保存された新規RNAエレメントであり、これはウイルスのRNA複製の効率的開始に必要である[米国特許第5,874,565号及び米国特許出願第08/811,566号(現在米国特許第____号) ; Kolykhalovらの論文、J. Virol.、70:3363-3371 (1996) ; Tanakaらの論文、Biochem. Biophys. Res. Comm.、215:744-749 (1996) ; Tanakaらの論文、J. Virol.、70:3307-12 (199

10

20

30

40

50

6) ; Yamadaらの論文、Virology、223:255-261 (1996) ; Chengらの論文、J. Virol.、73:7044-7049]。このドメイン及びポリピリミジン領域は、in vivoにおける感染力にとって重要であるように見える[Yanagiらの論文、Proc. Natl. Acad. Sci. USA、96:2291-2295 (1999)]。

【 0 0 1 2 】

翻訳及びタンパク質分解プロセッシング。高度に保存された5'NTR配列は、複数の短いAUG-で始まるORFを含み、ペスチウイルスの5'NTR領域と重要な相同性を示す[Bukhらの論文、Proc. Natl. Acad. Sci. USA、89:4942-4946 (1992) ; Hanらの論文、(1991)前掲]。宿主因子と相互作用する一連のステムループ構造が存在する。これらの構造は宿主因子と相互作用し、長いORFの最初のAUGで効果的翻訳を開始させる内部リボソーム侵入部位(IRES)を介してポリタンパク質合成を開始する[Hondaらの論文、J. Virol.、73:4941-4951 (1999) ; Tangらの論文、J. Virol.、73:2359-2364 (1999) ; Psaridiらの論文、FEBS Lett.、453:49-53 (1999)]。HCV及びペスチウイルスのIRESエレメントの予想される特徴の一部は、互いに類似している[Brownらの論文、(1992)前掲]。このエレメントのIRESとして機能する能力は、HCVゲノムRNAは5' キャップ構造を欠いていることを示唆している。

【 0 0 1 3 】

HCVポリタンパク質(図1)の組織化及びプロセッシングは、ペスチウイルスのそれと最も類似しているように見える。少なくとも10個のポリペプチドが同じであり、かつこのポリタンパク質におけるこれらの切断産物の順番は

NH2-C-E1-E2-p7-NS2-NS3-NS4A-NS4B-NS5A-NS5B-COOHである。図1に示したように、タンパク質分解性プロセッシングは、宿主のシグナルペプチダーゼ及び2種のHCVがコードしたプロテアーゼ、NS2-3オートプロテアーゼ及びNS3-4Aセリンプロテアーゼにより媒介される[総説はRice、"Fields Virology"(B. N. Fields、D. M. Knipe及びP. M. Howley編集)参照、931-960頁、Raven Press、ニューヨーク(1996) ; Shimotohnoらの論文、J. Hepatol.、22:87-92 (1995)]。Cは、ウイルスのコア又はキャプシドタンパク質として利用される塩基性タンパク質であり ; E1及びE2は、ビリオンエンベロープ糖タンパク質であり ; p7は、E2糖タンパク質から不十分に切断された機能が未解明の疎水性タンパク質である[Linらの論文、(1994a)前掲 ; Mizushimaらの論文、J. Virol.、68:6215-6222 (1994) ; Selbyらの論文、Virology、204:114-122 (1994)]。NS2-NS5Bは、ウイルスのRNA複製複合体において機能する非構造(NS)タンパク質である。それらの機能は、下記のように確定されている : NS2は、メタロプロテアーゼである ; NS3は、RNAヘリカーゼの特徴を持つモチーフを含み及びRNA-刺激されるNTPase活性を有することが示されているようなプロテアーゼ/ヘリカーゼであり[Suzichらの論文、J. Virol.、67:6152-6158 (1993)] ; NS4Aは、NS3の補因子であり ; NS4Bは、機能不明であり ; NS5Aは、細胞遺伝子を転写変調しかつ細胞増殖を促進するように、細胞因子と相互作用し[Ghoshらの論文、J. Biol. Chem.、275:7184-7188]、並びにIFN 耐性を提供し ; 及び、NS5Bは、他のポジティブ-鎖RNAウイルスのRNA-依存性RNAポリメラーゼを特徴とするGDDモチーフを含むレプリカーゼである。

【 0 0 1 4 】

ビリオン集成及び放出。この過程は、直接試験されてはいないが、複合グリカンの欠如、発現されたHCV糖タンパク質のER局在[Dubuissonらの論文、J. Virol.、68:6147-6160 (1994) ; Ralstonらの論文、J. Virol.、67:6753-6761 (1993)]及び細胞表面上のこれらのタンパク質の不在[Dubuissonらの論文、(1994)前掲 ; Spaeteらの論文、Virology、188:819-830 (1992)]は、最初のビリオンの形態形成が、細胞内ベシクルへの出芽により生じることを示唆している。今までのところ、効率的な粒子の形成及び放出は、一過性の発現アッセイにおいては認められておらず、このことは、必須のウイルス又は宿主因子が存在しないか又はブロックされていることを示唆している。ペスチウイルスにおいて認められるように、ウイルスの実質的画分は細胞に会合し続けるので、HCVビリオンの形成及び放出は効率的ではないであろう。ヒト血漿から部分的に精製された細胞外HCV粒子は、N-連結した複合グリカンを含むが、これらの糖部分がE1又はE2に特異的に会合されることは示されていない[Satoらの論文、Virology、196:354-357 (1993)]。放出されたビリオン上の糖

タンパク質に会合された複合グリカンは、トランスゴルジを介しての移行及び宿主分泌経路を介してのビリオンの移動を示唆している。これが正しいとするならば、HCV糖タンパク質の細胞内隔離(intracellular sequestration)及びビリオン形成は、免疫監視を最小化しかつ抗体及び相補体によるウイルス-感染した細胞の溶解を防止することにより、慢性感染の確立において重要な役割を果たすであろう。

【0015】

遺伝的可変性。全てのポジティブ-鎖RNAウイルスのように、HCVのRNA-依存型RNAポリメラーゼ(NS5B)は、誤って取り込まれた塩基の除去のための3-5エキソヌクレアーゼ校正機構活性を欠いていると考えられている。従って複製は、誤る傾向があり、非常に多数の変異体からなる「疑似種(quasi-species)」ウイルス集団をもたらす[Martelliらの論文、J. Virol., 66:3225-3229 (1992); Martelliらの論文、J. Virol., 68:3425-3436 (1994)]。この可変性は複数のレベルで明らかである。第一に、慢性感染した個人において、時間がたつとウイルス集団の変化が発生し[Ogataらの論文、(1991)前掲; Okamotoらの論文、Virology, 190:894-899 (1992)]; 及び、これらの変化は、疾患に重大な結果を持ち得る。特に興味深い例は、E2糖タンパク質のN-末端の30個の残基セグメントであり、これはこのポリタンパク質の残余部分よりも非常に高度の可変性を示す[例えば、Higashiらの論文、Virology, 197:659-668 (1993); Hijikataらの論文、(1991)前掲; Weinerらの論文、(1991)前掲参照]。超可変領域1(HVR1)と称さるこの超可変性の領域は、おそらくHIV-1 gp120のV3ドメインに類似しているが、これは循環血HCV-特異抗体による免疫選択下にあることを示す証拠が増えつつある[Katoらの論文、(1993)前掲; Taniguchiらの論文、Virology, 195:297-301 (1993); Weinerらの論文、(1992)前掲]。このモデルにおいて、E2のこの部分に対する抗体は、ウイルス中和に貢献し、その結果中和から逃れることができる置換を伴う変異体の選択を駆動する。この可塑性は、E2超可変領域の特異的アミノ酸配列が、ビリオンの吸着、侵入又は集成のような、このタンパク質の他の機能には必須ではないことを示唆している。感染の最初の4ヶ月のHVR1の遺伝的進化は、ウイルスの特定株が慢性感染を引き起す能力と相関されている[Farciらの論文、Science, 288:339-344 (2000)]。

【0016】

遺伝的可変性は更に、慢性感染した患者のIFN-治療後に観察された様々な反応のスペクトルにも寄与し得る。下落した血清ALTレベル及び改善した肝組織は、通常循環血HCV RNAのレベルの減少と相関しているが、これが治療した者の~40%において認められる[Greiser-Wilkeらの論文、J. Gen. Virol., 72:2015-2019 (1991)]。治療後、反応者のおよそ70%が再発する。場合によっては、一過性の循環血中ウイルスRNAの消失後、治療過程の途中又はその後、ウイルス血症再発が認められる。これはIFN-耐性HCV遺伝子型又は変異体の存在又は生成を示唆しているが、免疫応答におけるウイルス遺伝子型及び宿主-特異的差異の相対的貢献を決定するには、更なる研究が必要である。

【0017】

世界中の様々なHCV単離体の配列比較は、膨大な遺伝的多様性も明らかにしている[Bukhらの論文、(1995)前掲で検証]。交差-中和試験のような生物学的に関連性のある血清アッセイがないので、HCV型(番号により指定)、亜型(文字により指定)、及び単離体は、現在ヌクレオチド又はアミノ酸配列の類似性を基にグループ化されている。世界中でHCVは、6種の主要遺伝子型及び50種を超える亜型に分類されている[Purcell、Hepatology, 26:11S-14S (1997)]。米国において最も重要なものは、遺伝子型1亜型1a及び1bである(遺伝子型有病率及び分布の考察については下記及びBukhらの論文(1995)前掲を参照のこと)。最も異なる遺伝子型の間のアミノ酸配列類似性は、比較されるタンパク質によって決まるが、~50%と低い。この多様性は、特に診断、ワクチンデザイン及び治療において重要な生物学的意味を持つ。

【0018】

HCV RNA複製。他のフラビウイルスから類推して、ポジティブ-センスHCVビリオンRNAの複製は、マイナス-鎖中間体を介して生じると考えられる。この戦略は、以下のように簡単に説明することができる：(i)侵入した(incoming)ウイルス粒子の脱殻は、ゲノムプラス-

10

20

30

40

50

鎖を放出し、これが翻訳され、一本の長いポリタンパク質を生成し、これがおそらく翻訳時及び翻訳後にプロセッシングされ、個別の構造タンパク質及び非構造タンパク質を作出する；(ii)この非構造タンパク質は、ビリオンRNAをマイナス鎖合成の鋳型として使用する複製複合体を形成する；(iii)これらのマイナス鎖は次に、プラス鎖合成の鋳型として利用され、これが更なるウイルスタンパク質の翻訳、マイナス鎖合成、又は子孫ビリオンへのパッケージングに使用される。HCV複製プロセスに関しては、ウイルス増殖に関する良好な実験システムがないので、ごくわずかな詳細しか入手できない。真のHCV複製及び他のウイルス生活環の過程の詳細な分析は、細胞培養におけるHCV複製の効果的システムの開発により大きく促進されるであろう。

【 0 0 1 9 】

培養細胞を、HCV-感染した個人から収集された血清で感染する多くの試みが成され、この方法で感染された多くの細胞型において低レベルの複製が報告されており、これはB-細胞[Bertoliniらの論文、*Res. Virol.*、144:281-285 (1993)；Nakajimaらの論文、*J. Virol.*、70:9925-9 (1996)；Valliらの論文、*Res. Virol.*、146:285-288 (1995)]、T-細胞(Katoらの論文、*Biochem. Biophys. Res. Commun.*、206:863-9 (1996)；Mizutaniらの論文、*Biochem. Biophys. Res. Comm.*、227:822-826；Mizutaniらの論文、*J. Virol.*、70:7219-7223 (1996)；Nakajimaらの論文、(1996)前掲；Shimizu及びYoshikura、*J. Virol.*、68:8406-8408 (1994)；Shimizuらの論文、*Proc. Natl. Acad. Sci. USA*、89:5477-5481 (1992)；Shimizuらの論文、*Proc. Natl. Acad. Sci. USA*、90:6037-6041 (1993))、及び肝細胞[Katoらの論文、*Jpn. J. Cancer Res.*、87:787-92 (1996)；Tagawa、*J. Gastroenterol. and Hepatol.*、10:523-527 (1995)]の細胞株に加え、末梢血単核細胞(PBMC)[Cribierらの論文、*J. Gen. Virol.*、76:2485-2491 (1995)]、及びヒト胎児肝細胞の初代培養物[Carlioniらの論文、*Arch. Virol.* 補遺、8:31-39 (1993)；Cribierらの論文、(1995)前掲；Iacovacciらの論文、*Res. Virol.*、144:275-279 (1993)]又は成体チンパンジー由来の肝細胞[Lanfordらの論文、*Virology*、202:606-14 (1994)]を含む。HCV複製は、培養前に*in vivo*においてウイルスに感染したヒトHCV患者由来の初代肝細胞において[Itoらの論文、*J. Gen. Virol.*、77:1043-1054 (1996)]及びHCV-1 cDNAクローンから*in vitro*転写したRNAでトランスフェクションした後のヒト肝細胞癌細胞株Huh7において[Yooらの論文、*J. Virol.*、69:32-38 (1995)]も検出されている。報告されたHCV-1クローン由来のRNAによりトランスフェクションされた細胞における複製に関する知見は、このクローンは、ホモポリマトラクト(tract)(下記参照)の下流に必要な末端3NTR配列を欠いているということ、並びに多くの通常でない知見が報告されている(米国特許出願第08/811,566号(現在米国特許第___号)の「背景」の項を参照のこと)という理由で頭を悩ませている。

【 0 0 2 0 】

最も良く特徴付けられたHCV複製のための細胞-培養システムは、レトロウイルス(HPB-Ma又はMT-2)で持続感染されたB-細胞株(Daudi)又はT-細胞株を使用する[Katoらの論文、(1995)前掲；Mizutaniらの論文、*Biochem Biophys Res. Comm.*、227:822-826 (1996a)；Mizutaniらの論文、(1996)前掲；Nakajimaらの論文、(1996)前掲；Shimizu及びYoshikura、(1994)前掲；Shimizu、*Proc. Natl. Acad. Sci. USA*、90:6037-6041 (1993)]。HPB-Maはマウス肉腫ウイルスの両種指向性マウス白血病ウイルス偽型で感染されており、一方MT-2はヒトT-細胞白血病ウイルスI型(HTLV-I)で感染されている。HCV複製をクローン化されていない集団よりもより効率的に支持するクローン(HPB-Ma10-2及びMT-2C)が、2種のT-細胞株HPB-Ma及びMT-2について単離されている[Mizutaniらの論文、*J. Virol.*、(1996)前掲；Shimizuらの論文、(1993)前掲]。しかし投入RNAの分解後にこれらの株又はDaudi株において得られた最大レベルのRNA複製は、依然わずかに約 5×10^4 個RNA分子/ 10^6 個細胞[Mizutaniらの論文、(1996)前掲；Mizutaniらの論文、(1996)前掲]又は 10^4 個RNA分子/ml培養培地[Nakajimaらの論文、(1996)前掲]である。複製レベルは低いにもかかわらず、ひとつのシステムにおいて最大198日間の長期感染が[Mizutaniらの論文、*Biochem. Biophys. Res. Comm.*、227:822-826 (1996a)]及び別のシステムにおいて1年を超える長期感染[Nakajimaらの論文、(1996)前掲]が立証されており、かつ感染性ウイルス産生が、ナイーブ細胞へのウ

10

20

30

40

50

イルスの細胞とは無関係の又は細胞が媒介した一連の継代により立証されている。

【 0 0 2 1 】

しかし、本質的に保存された末端 3'NTR配列を含むHCVクローンの効率的複製は、同時係属米国特許出願第08/811,566号、現在米国特許第_____号に開示され、更にH菌株(1a型)の単離体の感染性クローンを説明しているKolykhalovらの論文(Science、277:570 (1997))に報告された研究が明らかになるまでは、認められていなかった。現在は他の亜型のHCVクローンもわかっている。例えば、Yanagiらの論文、Virology、262:250-263 (1999)及びYanagiらの論文、Virology、244:161-172 (1998)を参照のこと。これらのクローンのRNA転写産物は、チンパンジーを感染することができるが、これらのクローンによる細胞培養は、仮にそうであったとしても、ウイルスの貧弱な複製を支持するのみである。

10

【 0 0 2 2 】

米国特許出願第08/811,566号(現在米国特許第_____号)(例えば明細書の図2参照)に説明されたように、機能性クローンの多くの変種が可能である。これらは、外来遺伝子が挿入された完全長配列又は部分配列を含む。この外来遺伝子は、例えば - ガラクトシダーゼ又はルシフェラーゼのようなレポーター遺伝子、もしくはneo、DHFR又はtkのような選択マーカーをコードしている遺伝子を含むことができる。そこにおいて明らかにされた具体例においては、感染された細胞をネオマイシン又はG418耐性により選択するために、neo遺伝子が内部リボソーム侵入部位(IRES)に機能的に連結されている。この方法において、本質的に全ての生存細胞における複製HCV RNAの存在は確かである。加えてこれらのクローンのHCVポリタンパク質コード領域は、構造遺伝子C、E1及びE2の一部又は全てを欠損することができる。従ってレプリコンを、ピリオンを形成せずに作出することができる。構造遺伝子-欠損構築体のneoのような選択マーカーとの組合せにより、HCV複製の試験及び他の目的に使用することができる効率的に複製するレプリコンシステムを作出することができる。

20

【 0 0 2 3 】

米国特許出願第08/811,566号(現在米国特許第_____号)に開示されたようなレプリコンの例は、Lohmannらの論文(Science、285:110-113 (1999))に提示されている。この研究において、遺伝子型1亜型1bのHCVレプリコンのDNAクローンが構築された。野生型HCV特徴とは異なるこれらのレプリコンの特徴は、下記である：HCV構造タンパク質をコードしている遺伝子を欠いているポリタンパク質コード領域；このポリタンパク質領域のすぐ5'側のEMCV IRES；及び、5' NTR(及びHCV IRES)のすぐ3'側のneo遺伝子、ここでHCV Cタンパク質遺伝子の5'末端はneo遺伝子の5'末端に融合している。Huh-7細胞がこれらのクローンのRNA転写産物でトランスフェクションされた場合、1回の実験につき6~60個未満のG418-耐性コロニーが生じる。処理された細胞数は特定されないが、約 $10^6 \sim 10^7$ 個の細胞が通常この種の実験においては処理される。従ってこれらの試験において、G418-耐性コロニー/総処理として測定したトランスフェクション効率は0.01%未満であると考えられる。

30

【 0 0 2 4 】

Lohmannらの研究の対照は、NS5Bポリメラーゼの活性部位のインフレーム欠失を含んでいた。対照転写産物からの鋳型DNAの除去には注意を払ったが、いくつかのG418-耐性対照コロニーが生じた。更に、生じたG418-耐性対照コロニーの数は、野生型NS5Bを含むレプリコンによりトランスフェクションされた細胞から生じたコロニーよりも遙かに少なかった。

40

【 0 0 2 5 】

G418-耐性コロニーは継代(subpassage)された場合、ほとんど維持されなかった。非-対照レプリコン処理した303個を超えるG418-耐性コロニー中、9個(<3%)が継代され、安定した細胞株が樹立された。感染細胞株から樹立されたレプリコンを配列決定された。各レプリコンは多くのアミノ酸置換を有するが、これらの置換はポリタンパク質コード領域全体に散在していた。従ってこのポリタンパク質コード領域のひとつの領域内に一貫した変異はなく、かつ9個の細胞株の樹立は、これらのレプリコン内の適応変異に起因したものであると結論づけられた。この論点は、トランスフェクション/再構築実験により実験的

50

に調べられたが、適応変化の証拠は提供しなかった。

【0026】

前述の進展にもかかわらず、濃厚ウイルスストックの作成、ビリオン成分の構造解析、ワクチン及び抗ウイルス化合物を含む推定抗ウイルス療法の評価、並びにRNA複製を含む細胞内ウイルスプロセッシングの改善された分析のために、より効率的なHCV-感染細胞システムが必要とされている。従って、前述の目的のいずれかのために使用することができる様々な型のHCVクローンが必要である。更により効率的なin vitro又はin vivo複製及びビリオン産生に寄与するようなゲノム領域に関してHCVを特徴決定することが必要である。

【0027】

【発明が解決しようとする課題】

10

(発明の概要)

従って本発明の第一の目的は、複製することが可能である非天然のHCVをコードしているDNAを提供することである。

本発明の関連した目的は、前記DNAからゲノムRNAを提供することである。更に別の本発明の目的は、細胞を侵略しかつ複製するが、感染性ウイルスを増殖はできないような、ワクチン開発に適した弱毒化されたHCV DNA又はゲノムRNAを提供することである。

本発明の別の目的は、抗-HCV(又は抗ウイルス)薬を試験するため、薬物耐性を評価するため、及び弱毒化されたHCVウイルスのワクチンを試験するために、HCV感染及びRNA複製のin vitro及びin vivoモデルを提供することである。

【0028】

20

本発明の追加の目的は、複製するHCVレプリコンを提供することである。これらのレプリコンは、構造タンパク質はコードしていないが、レポーター遺伝子又は選択マーカーなどの外来タンパク質をコードすることはできる。

更に別の本発明の目的は、連続的継代細胞株又は初代細胞株において複製を確立する能力が増大した適応レプリコンを提供することである。

【0029】

【課題を解決するための手段】

従って簡単に述べると、本発明者らは、連続的継代細胞株を作成するために、それらの培養においてRNA複製を確立する能力を改善するHCV適応変異を伴う変異体を含む、複製HCV変異体を作成する方法を発見することに成功した。これらのHCV変異体及びそれらを収容している細胞株は、複製及び他のHCV特性の研究に有用である。更にこの細胞株は、ワクチンの開発及び抗ウイルス特性についての化合物の試験にも有用である。

30

【0030】

従って一部の態様において、本発明は、宿主細胞における増殖性複製が可能であるか、もしくは宿主細胞における増殖性複製が可能であるような非天然のHCV配列への転写が可能であるような非天然のHCV配列を含むポリヌクレオチドに関する。このHCV配列は、ポジティブ-センス核酸上に5'から3'方向へ、機能性5'非翻訳領域(5'NTR)；HCV RNAの複製が可能である少なくとも1個のポリタンパク質コード領域を含む、1個又は複数のタンパク質コード領域；及び、機能性HCV 3'非翻訳領域(3'NTR)を含む。これらのポリヌクレオチドの好ましい態様において、5' NTRはHCV 5' NTRであり、ポリヌクレオチドは、ウイルスIR

40

ES、細胞IRES、及び人工のIRESからなる群より選択される少なくとも1個のIRESを含み、かつポリタンパク質コード領域はHCVポリタンパク質コード領域である。

【0031】

【発明の実施の形態】

これらの態様のある種の局面において、前記ポリヌクレオチドは更に、適応変異を含む。適応変異は、ポリヌクレオチドの哺乳類細胞へのトランスフェクション効率が、0.01%を上回る；より好ましくは、0.1%よりも大きい；より更に好ましくは、1%よりも大きい；更により好ましくは5%よりも大きい、おそらく約6%であるようなものであることができる。適応変異は、ポリヌクレオチドが、非-肝細胞、例えばHeLa細胞において複製が可能であるようなものであることができる。適応変異は更に、ポリヌクレオチドに弱毒化され

50

たビルレンスを生じることができ、ここでHCVは、その疾患を引き起す能力、慢性感染を確立する能力、自己免疫応答を引き起す能力、及び細胞を形質転換する能力が損なわれている。

【0032】

先に説明された適応突然変異体の一部の態様において、ポリタンパク質領域は、野生型NS5A遺伝子ではないNS5A遺伝子を含む。好ましくは、このNS5A遺伝子は、変異を含む。この変異は好ましくは、ISDRの50個以内のヌクレオチドであるか、又はISDRを含み；より好ましくは、突然変異は、ISDRの20個以内のヌクレオチドであるか、又はISDRを含む。これらの適応変異の例は、配列番号：3のSer(1179)からIle、Arg(1164)からGly、Ala(1174)からSer、Ser(1172)からCys、及びSer(1172)からProからなる群より選択されるアミノ酸配列変化をコードしているものである。別の適応変異は、少なくともISDRの一部の欠失を含み、かつ全ISDRを含んでもよい。特定の態様において、適応変異は、配列番号：6のヌクレオチド5345～5485の欠失を含む。

【0033】

本発明のポリヌクレオチドのいくつかの態様において、HCVポリタンパク質コード領域は、全てのHCV構造タンパク質及び非構造タンパク質をコードしている。別の態様において、ポリタンパク質コード領域は、感染性HCV粒子の作出、HCV変異体レプリコンの作出が不可能である。HCV粒子の作出ができないことは、構造タンパク質コード領域の欠失に起因していることが好ましい。これらのレプリコンのいくつかの態様は更に、第一のIRESに機能的に連結された外来遺伝子及び第二のIRESに機能的に連結されたHCVポリタンパク質コード領域を含んでいる。好ましくはこのレプリコンは、遺伝子型1のHCV配列を、最も好ましくは亜型1bを含む。これらのレプリコンにおいて好ましい外来遺伝子は、選択マーカ―又はレポーター遺伝子である。別の好ましいレプリコンの態様において、第一のIRESはHCV IRESであり、外来遺伝子はneo遺伝子であり、及び第二のIRESはEMCV IRESである。前記レプリコンの例は、配列番号：5、配列番号：6、配列番号：22及び配列番号：25を含む。前記レプリコンは更に好ましくは、増大したトランスフェクション効率、HeLa細胞を含む非-肝細胞における複製、及び弱毒化されたビルレンスを含む先に説明した適応表現型のいずれかを有する適応変異を含み、及び更に先に説明した様々なNS5A変異及び欠失のような前記適応変異のいずれかを含む。

【0034】

本発明のポリヌクレオチドは、RNA又はDNAの形であることができる。ポリヌクレオチドの好ましい態様は、配列番号：5-13及び22-25、それらの相補体、並びにこれらの配列又はそれらの相補体のRNA等価物である。ある種の態様において、これらのポリヌクレオチドは、肝内注射時のチンパンジーにおける増殖性感染が可能である。

【0035】

本発明は、プロモーターと機能的に会合された前記ポリヌクレオチドのいずれかのDNA型を含む発現ベクターにも関する。加えて本発明は、前記発現ベクターを含む細胞に加え、前述のポリヌクレオチドを含む宿主細胞にも関する。宿主細胞は、好ましくは哺乳類細胞であり、より好ましくはヒト細胞である。宿主細胞は、好ましくは肝細胞、T-細胞、B-細胞、又は包皮繊維芽細胞であり；最も好ましくは肝細胞である。ある種の適応突然変異体は、HeLa細胞において複製することもできる。宿主細胞は、HCV RNAのトランスフェクション及び複製を、並びにHCV RNAがウイルス粒子をコードしている場合には感染を支持することが可能であるヒト以外の哺乳類内にあることができる。好ましいヒト以外の哺乳類はチンパンジーである。

【0036】

追加の態様において、本発明は、HCVによるRNA複製を許容する細胞株を同定する方法に関する。この方法は、組織培養液中の細胞を、感染量の前述のポリヌクレオチドと接触する工程、及びこの細胞株の細胞内HCV変異体の複製を検出する工程を含む。

本発明は、複製しているHCVを含む細胞株を作出する方法にも関する。この方法は、(a)前述の発現ベクターを転写し、HCV RNAを合成する工程；(b)細胞をHCV RNAでトランスフェ

10

20

30

40

50

クションする工程；及び、(c)この細胞を培養する工程を含む。

加えて、本発明はワクチンに関する。ワクチンは、前述のポリヌクレオチドを、医薬として許容できる担体中に含む。関連した態様において、本発明は、霊長類においてHCVに対する免疫防御を誘発する方法に関する。この方法は、前記ワクチンを霊長類に投与することを含む。

【0037】

更なる態様において、本発明は、HCV複製阻害について化合物を試験する方法に関する。この方法は、(a)前述の宿主細胞を化合物で処理する工程；及び、(b)処理した宿主細胞の複製の低下を評価する工程を含み、ここで低下したHCV複製は、その化合物の複製阻害能を示している。

10

更なる態様において、本発明は、HCV感染阻害について化合物を試験する方法に関する。この方法は、本発明のポリヌクレオチドのいずれかによる宿主細胞の感染前、感染時又は感染後に、宿主細胞を化合物で処理することを含む。

【0038】

更に別の態様において、本発明は、(a)複製-依存型ネオマイシン耐性により決定したトランスフェクション効率が0.01%より大きい、又は(b)野生型HCV遺伝子型1亜型1bよりも、この変異体でトランスフェクションされた細胞の初代コロニーの方が、生存継代能がより大きいようなHCV変異体に関する。このHCV変異体は更に、ポジティブ-センス核酸上に5'から3'方向に、最端の5'-末端保存配列を含む機能性 HCV 5' 非翻訳領域(5'NTR)；HCVポリタンパク質コード領域；並びに、可変領域、ポリピリミジン領域、及び最端の3'-末端保存配列を含む機能性HCV 3' 非翻訳領域(3'NTR)を有する。好ましい態様において、このトランスフェクション効率は、0.1%よりも大きく；より好ましい態様において、1%よりも大きく；更により好ましい態様において、5%よりも大きい。最も好ましい態様において、トランスフェクション効率は約6%である。

20

【0039】

この変異体は、前述のポリヌクレオチドの特徴のいずれかを有し得る。しかし好ましい変異体は、先のポリヌクレオチドについて説明されたNS5Aの変異又は欠失を含む。

いくつかの本発明により達成される利益の中には、非天然のHCV配列を含むポリヌクレオチドの提供；野生型ポリタンパク質コード領域を有するHCV型よりも大きいトランスフェクション効率及び生存継代能を有するHCV変異体の提供；前記ポリヌクレオチド及びHCV変異体を含む発現ベクターの提供；前記発現ベクターを含む細胞及び宿主細胞の提供；HCVによるRNA複製を許容する細胞株を同定する方法の提供；前記ポリヌクレオチドを医薬として許容できる担体中に含むワクチンの提供；霊長類においてHCVに対する免疫防御を誘発する方法の提供；及び、HCV複製の阻害について化合物を試験する方法の提供がある。

30

【0040】

(発明の詳細な説明)

定義

本願明細書において使用した様々な用語は、下記の定義を有する：

本願明細書において使用される「HCVポリタンパク質コード領域」は、ポリタンパク質オープンリーディングフレーム(ORF)をコードしているC型肝炎ウイルスの一部を意味する。このORFは、野生型HCVタンパク質と同じ又は異なるタンパク質をコードすることができる。更にORFは、野生型ポリタンパク質コード領域によりコードされた機能性タンパク質の一部のみをコードしている。ここにおいてコードされたタンパク質は、HCVの様々な単離体に由来することができ、かつ非-HCVタンパク質は、その中にコードされている。

40

【0041】

語句「医薬として許容できる」は、ヒトに投与した場合に、生理学的に忍容性がありかつ典型的にはアレルギー又は同様の不都合な反応、例えば胃の不調、めまいなどを生じないような分子実体及び組成物を意味する。好ましくは、本願明細書において使用される用語「医薬として許容できる」は、連邦又は州政府の規制機関により承認されたことを意味するか、もしくは米国薬局方又は他の一般的に認められた動物のための、更に特定するとヒ

50

トのための局方に収載されていることを意味する。用語「担体」は、化合物が共に投与される希釈剤、アジュバント、賦形剤、又はビヒクルを意味する。このような医薬としての担体は、水並びに、石油、動物、植物又は合成が起源の油類、例えばピーナッツ油、ダイズ油、鮭油、ゴマ油などを含む油のような無菌液体であることができる。水又は生理食塩水溶液並びに水性デキストロース及びグリセロール溶液が、特に注射液用担体としての使用にとって好ましい。適当な医薬としての担体は、E.W. Martin の「レミントン薬科学(Remington's Pharmaceutical Sciences)」に記載されている。

【 0 0 4 2 】

本願明細書において使用される語句「治療有効量」は、宿主の活性、機能及び反応の臨床的に有意な欠如を少なくとも約15%、好ましくは少なくとも50%、より好ましくは少なくとも90%減少する量、及び最も好ましくは防止するのに十分な量を意味する。あるいは治療有効量は、宿主において臨床的に重大な状態の改善を引き起すのに十分である。

10

【 0 0 4 3 】

用語「アジュバント」は、抗原に対する免疫応答を増強する化合物又は混合物を意味する。アジュバントは、抗原を緩徐に放出する組織デポ剤として及び免疫応答を非-特異的に増強するリンパ系アクチベーターとしても利用することができる(Hoodらの論文、Immunology、第2版、1984年、Benjamin/Cummings：メンローパーク、カリフォルニア、384頁)。アジュバントの非存在下での抗原単独による一次チャレンジは、体液性又は細胞性免疫応答を誘発することに失敗することが多い。アジュバントは、完全フロイントアジュバント、不完全フロイントアジュバント、サポニン、水酸化アルミニウムのような無機ゲル、リソレシチンのような界面活性剤、プルロニックポリオール、ポリアニオン、ペプチド、油状乳剤又は炭化水素乳剤、キーホールリムベットヘモシアニン、ジニトロフェノール、及び可能性のある有用なヒトアジュバント、例えばBCG(バシル・カルメット・ゲラン菌(bacille Calmette-Guerin))及びコリネバクテリウムパルブム(Corynebacterium parvum)を含むが、これらに限定されるものではない。アジュバントは医薬として許容できることが好ましい。

20

【 0 0 4 4 】

具体的態様において、用語「約」又は「およそ」は、所定の値又は範囲の20%以内、好ましくは10%以内、及びより好ましくは5%以内であることを意味する。

本願明細書において使用される用語「ウイルス感染」は、野生型ウイルス粒子が宿主細胞において樹立され始めるという通常の形を意味する。これは一般に、宿主細胞への結合、取り込み、細胞質又は核への送達、及び複製の開始を含む。

30

【 0 0 4 5 】

本願明細書において使用される用語「トランスフェクション」は、細胞のポリヌクレオチドによる感染を意味する。このポリヌクレオチドは、DNA又はRNAであることができる。好ましいHCVポリヌクレオチドによる細胞のトランスフェクション法は、複製コンピテントRNAによるものである。許容細胞への送達は、電気穿孔、帯電したリポソーム、高塩、DEデキストランなどにより促進することができる。複製コンピテントRNAは、転写開始シグナル及び終結シグナルを提供するように適宜操作されたプラスミド又はDNAウイルスのような、DNAのトランスフェクション後の細胞においても始めることができる。トランスフェクションされたRNAは、完全な複製サイクル(子孫ウイルスの作成を含む)を開始することが可能である完全長ゲノムRNAを表すことができ、もしくはこれらはビリオン産生には必須であるがRNA複製には必須ではないような1種又は複数のRNAエレメント又はタンパク質を欠いている欠損体であることができる。後者のRNAは、ビリオン産生能を欠いているが、これは一般に本願明細書において「複製コンピテントRNA」、「RNAレプリコン」又は「レプリコン」と称されるであろう。

40

【 0 0 4 6 】

本願明細書において使用される用語「継代」は、コロニーをひとつの培地容器から別の培地容器へ移すことを意味する。培地容器の例は、固形又は液体の増殖培地が入った皿、ボトル、又は試験管を含む。特に記さない限りは「継代」は、HCV-トランスフェクションし

50

た細胞のコロニーを、新たにトランスフェクションした細胞が播種された培地容器からの論文、コロニーが単離される培地容器への移し換えることを意味する。

【0047】

本願明細書においてHCVポリヌクレオチドに関して使用される用語「真正の」とは、機能性HCVタンパク質又はそれらの成分の複製及び産生を提供する、DNA又はRNAのいずれかの、HCVポリヌクレオチドを意味する。本発明の真正のHCVポリヌクレオチドは、複製が可能であり、かつ例えばチンパンジーモデル又は組織培養において感染性であり、ウイルス粒子(すなわち「ビリオン」)を形成することができる。本発明の真正のHCVポリヌクレオチドは、「レプリコン」であることもでき、その結果これは複製コンピテントな感染性ビリオンを作成するための構造タンパク質の完全な相補体の作出は不可能である。しかしこの
10
のようなレプリコンは、RNA複製は可能である。従って本願明細書において例証された真正のHCVポリヌクレオチドは、RNAエレメント又はコードされたタンパク質のいずれかにおいてHCV RNA複製サイクルの開始に必要なウイルスにコードされた情報を全て含む。本発明の真正のHCVポリヌクレオチドは、例えば位置指定突然変異誘発又は培養適応(culture adaptation)などによる、本願明細書に説明された修飾を含み、欠損体又は弱毒化された誘導体又は適応変異体を作成する。あるいは、他の遺伝子型又は単離体由来の配列は、本願明細書に説明した具体的態様の相同配列のために置換することができる。例えば本発明の真正のHCV核酸は、例えばレシピエントプラスミドにおいて、別の単離体又は遺伝子
20
型由来の機能性クローンのポリタンパク質コード領域へ操作された本願明細書に説明された適応変異を含み得る(コンセンサス領域又は高忠実性クローニングにより得られるもののいずれか)。加えて、本発明のHCVポリヌクレオチドは、選択マーカー又はレポータータンパク質をコードしている遺伝子のような外来遺伝子を含むことができる。

【0048】

一般的説明

本発明の実践は、特に記さない限りは、当該技術分野の技術の範囲であるような、細胞培養、分子生物学、微生物学、組換えDNA及び免疫学の通常の技術を使用するものである。このような技術は、文献に詳細に説明されている。例えば、Ausubelら(編集)、「分子生物学最新プロトコール(Current protocols in molecular biology)」(1993)、Green Publishing Associates社、ニューヨーク；Ausubelらの論文、「分子生物学簡略プロトコール(Short Protocols in Molecular Biology)」(1995)、John Wiley and Sons社；Joseph Sambrookらの論文、「分子クローニング：実験マニュアル(Molecular Cloning, A Laboratory Manual)」(1989)、第2版、Cold Spring Harbor Laboratory Press社；シリーズ「酵素学法(METHODS IN ENZYMOLOGY)」(Academic Press社)；「動物細胞培養(Animal Cell Culture)」[R.I. Freshney編集、(1986)]；Lau編集、「C型肝炎プロトコール(HEPATITIS C PROTOCOLS)」(1999)、Humana Press社、ニューヨーク；及び、「不死化細胞及び酵素(Immobilized Cells And Enzymes)」[IRL Press社、(1986)]があり；これらは全て本願明細書に参照として組入れられている。

【0049】

本発明は、C型肝炎ウイルス(HCV)の変異体及びその変異体の作出法に関する。本願明細書において使用されるHCV変異体は、宿主細胞における増殖性複製が可能であるような非天然のHCV配列である。これらの変異体の遺伝子配列は、野生型HCV配列からの挿入、欠失、塩基の変異を含み得る。更に後述するように、これらの変異体は、当業者に公知の方法による遺伝子操作により作出することができる(例えば、米国特許出願第08/811,566号(現在米国特許第____号参照)；Lohmannらの論文、Science、285:110-113(1999)参照)。あるいは更に後述するように、これらの変異体は、培養選択法、又は培養選択及び遺伝子操作の組合せによっても作出することができる。

【0050】

これらの変異体は、DNA又はRNAの形であることができ、かつ例えばE. coli又は酵母のような微生物において複製する染色体外DNAにおいて、これらの化合物のいずれか有用な形に組込むことができる。これには、プラスミド、ファージ、細菌人工染色体(BAC)、酵母
50

人工染色体(YAC)などが含まれる。この変異体を含むRNA及びビリオンも、本発明の範囲内であることが想定されている。本発明の変異体は更に、DNAクローニングベクターへの挿入のためのカセットの形であることもできる。HCV RNAは、本願明細書に説明されたHCV DNAのいずれかと相補性があることが想定されている。感染性HCV RNAは、本発明のHCV DNAクローンのネガティブ鎖鋳型から作成されたポジティブ鎖RNAである。

【0051】

本発明の変異体は、特定のウイルス亜型に狭義に制限されることはない。従って、変異体のいずれか特定の成分、又は変異体全体が、あらゆるHCV亜型に由来することができる。好ましい亜型は1a及び1bであり、その理由は、それらの広範な出現に加え、これらふたつの亜型に関する入手できる情報量が多いためである。しかし当該技術分野の技術の範囲内とみなされるような、いずれか他の遺伝子型又は亜型の使用も、本発明の範囲内とみなされている。これらの亜型は、遺伝子型HCV-1、HCV-2、HCV-3、HCV-4、HCV-5及びHCV-6のあらゆる亜型を含むが、これらに限定されるものではない。更にHCVは校正機能活性を欠いているので、このウイルス自身は容易に突然変異し、同じく本発明にとって有用であることが企図された突然変異体HCVの「疑似種」を形成する。このような変異は、本願明細書又は米国特許出願第08/811,566号(現在米国特許第____号)に開示されているような、対象からの単離体の配列決定により容易に同定される。本願明細書において明らかにされた方法及び組成物は、いずれか公知の亜型又は疑似種、もしくは現在は不明であるが今後発見されるあらゆる亜型又は疑似種に有用であることは予想されるであろう。

【0052】

本発明のHCV変異体は、5'-NTR保存配列を含み、これは一般に5'-末端配列GCCAGCCを含み、かつこれはHCV核酸の機能活性に影響を及ぼすことなくこの保存配列の上流に追加の塩基を有することができる。好ましい態様において、5'-GCCAGCCは、0～約10個の追加の上流塩基を含み；より好ましくは、0～約5個の上流塩基を含み；更により好ましくは0、1又は2個の上流塩基を含む。特定の態様において、最端の5'-末端配列はGCCAGCC；GGCCAGCC；UGCCAGCC；AGCCAGCC；AAGCCAGCC；GAGCCAGCC；GUGCCAGCC；又は、GCGCCAGCCであり、ここで配列GCCAGCCは、配列番号：1の5'-末端である。しかし、本発明のHCV変異体の範囲は、現在公知又は今後発見されるような、あらゆる機能性HCV 5'NTRを包含している。

【0053】

本発明のHCV変異体は更に野生型HCVにおいて公知であるようなポリピリミジン領域を含む3' NTRを含む。これらのポリピリミジン領域は、ポジティブ-鎖HCV RNA上に、ポリ(U)/ポリ(UC)トラクト又はポリ(A)トラクトを含むことがわかっている。しかし本発明のポリピリミジン領域は、更に感染性HCVにおいて機能性であることが現在は不明であるが今後発見されるようなその他のポリピリミジントラクトも含むことができる。当該技術分野において公知であるように、ポリピリミジントラクトは、長さが変動することができ：短(約75塩基)及び長(133塩基)の両方共有効であるが、長ポリ(U/UC)トラクトを含むHCVクローンが高い感染性があることがわかっている。比較的長いトラクトが、天然のHCV単離体において発見されている。従って本発明の真正のHCV核酸は、長さが変動するポリピリミジントラクトを有することができる。

【0054】

3' NTRは更にその最端の3'末端に、米国特許第5,874,565号、米国特許出願第08/811,566号(現在米国特許第____号)、及び米国特許第5,837,463号に開示されているような、当該技術分野において公知の約98個のヌクレオチドの高度に保存されたRNAエレメントを含んでいる。特定の局面において最端の3'-NTR末端は、5'-TGTTGGCTCCATCTTAGCCCTAGTCACGGCTAGCTGTGAAAGGTCCGTGAGCCGCATGACTGCAGAGAGTGCTGATACTGGCCTCTCTGCTGATCATGT-3'の配列(配列番号：2)

を有するDNAと相同なRNAである。しかし本発明の範囲は、その配列が現在公知であるか又は今後発見されるような、ウイルス複製を可能にするようなHCV 3' NTRを伴うHCV変異体を包含することを意味する。可変領域を含まない3' NTRも含まれる。

【0055】

本発明のHCV変異体は更に、HCV RNAの複製を可能にするのに十分なポリタンパク質コード領域も含む。従ってポリタンパク質コード領域は、HCV構造遺伝子C、E1及びE2の完全な相補体をコードしている機能性遺伝子において欠損し得る。加えてこのポリタンパク質コード領域は、野生型HCV株においては生じないような欠失、挿入、又は変異を含む。更にこのポリタンパク質コード領域は、キメラであることができ、その結果以下に考察するように、そこにコードされた遺伝子の一部は、別のウイルスの類似領域に由来する。

【0056】

本発明に包含されたHCV変異体は、ウイルス粒子を産生しない変異体を含む。「レプリコン」と称されるこれらの変異体は、構造タンパク質C、E1及びE2の完全に機能性の相補体を産生する能力を欠いている。HCVウイルスが機能性構造タンパク質成分を産生することができないことは、これらのタンパク質の1、2又は3種全てをコードしている遺伝子の欠失により与えられる。あるいは、これらの構造タンパク質のひとつのコード配列の小部分の欠失、又はそのコード配列の重要な領域の変異、又はそのコード配列への挿入は、ビリオンを産生することができないHCVにつながる。後者の場合、挿入は、ビリオンの一部となる構造タンパク質の能力を破壊する配列のいずれかであることができ、かつレポーター遺伝子をコードしているもの(例えば - ガラクトシダーゼ)又はレプリコンを収容している細胞に選択性を与えるもの(例えばneo)のような機能性配列を含むことができる。前記操作は、完全に当該技術分野の技術の範囲内である。例えばLohmannらの論文(前掲)及び実施例1を参照のこと。以下に考察するように、このような変異体は、とりわけHCVウイルスの複製を研究するために有用である。

【0057】

本発明の変異体は、機能性ビリオン又はレプリコンの産生に影響を及ぼさないようなポリタンパク質コード領域のコード配列における変更も含むことができる。これらの変更は、遺伝暗号の縮重のために、成熟タンパク質のアミノ酸配列は野生型配列と異ならないことがある。このような変更は、例えばこれらが制限部位を導入又は除去する場合に有用であることができ、その結果制限酵素による消化により産生されたHCV断片のサイズは変更される。これは、その変異体の識別特性を提供し、これは例えば多重感染動物モデルにおいて特定の感染性単離体を同定するため、又はその後の操作に都合の良い部位を提供するために使用することができる。In vitro位置指定突然変異誘発[Hutchinson, C.らの論文、J. Biol. Chem., 253:6551 (1978); Zoller及びSmith、DNA, 3:479-488 (1984); Oliphantらの論文、Gene, 44:177 (1986); Hutchinsonらの論文、Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 83:710 (1986)]、TAB(登録商標)リンカー(Pharmacia社)の使用などを含むが、これらに限定されるものではないような、当該技術分野において公知の突然変異誘発技術を使用することができる。PCR技術は、位置指定突然変異誘発にとって好ましい[Higuchi, 1989年、「DNA操作のためのPCR使用(Using PCR to Engineer DNA)」、PCR Technology: Principles and Applications for DNA Amplification、H. Erlich編集、Stockton Press社、第6章、61-70頁]。

【0058】

ポリタンパク質コード配列の変更は、HCV-コードされたタンパク質において同類アミノ酸置換を導入することもできる。同類アミノ酸置換は、同様の側鎖を持つ残基の交換を意味している。同類置換されたアミノ酸は、それらの側鎖の化学特性に従い分類することができる。例えば、アミノ酸のひとつのグループは、中性及び疎水性の側鎖を有するアミノ酸を含み(A、V、L、I、P、W、F、及びM);別のグループは、中性及び極性側鎖を有するアミノ酸であり(G、S、T、Y、C、N、及びQ);別のグループは、塩基性側鎖を有するアミノ酸であり(K、R、及びH);別のグループは、酸性側鎖を有するアミノ酸であり(D及びE);別のグループは、脂肪族側鎖を有するアミノ酸であり(G、A、V、L、及びI);別のグループは、脂肪族-ヒドロキシル側鎖を有するアミノ酸であり(S及びT);別のグループは、アミン-含有側鎖を有するアミノ酸であり(N、Q、K、R、及びH);別のグループは、芳香族側鎖を有するアミノ酸であり(F、Y、及びW);及び、別のグループは、イオウ-含有側鎖を有するアミノ酸である(C及びM)。好ましい同類アミノ酸置換は以下のものである:R-K;E-D、

Y-F、L-M；V-I、及びQ-H。同類アミノ酸置換が構造タンパク質上にもたらされる場合、これは抗原性エピトープを変更し、その結果ウイルスの免疫反応性を変更することができる。これらの置換は、非構造タンパク質の機能も変更することができ、その結果ウイルスは様々な速度で再生するか、もしくは細胞培養物内又は生物内で複製するその能力が変更される。例えば、実施例1を参照し、ここでレプリコンIVは、NS5Aタンパク質におけるSer->Cys同類アミノ酸置換のために、細胞培養条件に適応されている。

【0059】

ポリタンパク質コード領域の変更は、そこにコードされたタンパク質の1個又は複数において非同類アミノ酸置換も導入する。非同類置換は、同類置換よりも、より激しくタンパク質機能を変更すると予想され、かつその結果同類置換よりも大きく複製速度、細胞培養又はin vivo培養への適応、及び展示された抗原決定基のようなウイルスの表現型特性を変更する可能性がある。NS5Aコード領域におけるいくつかの適応変異の例を以下に示す。

【0060】

本発明の一部の態様において、ポリタンパク質コード領域は、ひとつより多いHCV単離体由来のコンセンサス配列を有する。例えば本発明の真正のHCV核酸は、ウイルスのいずれかひとつの亜型由来の5'及び3'配列並びにいずれか他の亜型由来のポリタンパク質領域を含むことができる。あるいはこのポリタンパク質においてコードされたタンパク質のただひとつが、別のウイルス亜型に由来することもある。このような方法で、特定の菌株の特性(例えば、低下したビルレンス、増大した複製速度など)を与える特定のタンパク質の作用を試験することができる。

【0061】

ウシウイルスの下痢症ウイルス、又は他のフラビウイルスなどのその他のウイルスとのキメラも想定されている。例えば、本願明細書に参照として組入れられているPCT出願第US99/08850号を参照のこと。これらの態様において、機能性クロンの成分は、HCV遺伝子機能のアッセイのためのキメラウイルス及びそれらのインヒビターの構築に使用することができる[Filocamoらの論文、J. Virol., 71: 1417-1427 (1997)；Hahmらの論文、Virology、226: 318-326 (1996)；Lu及びWimmer、Proc Natl Acad Sci USA、93:1412-7 (1996)]。本発明のこのような拡大のひとつは、5'-IRES、プロテアーゼ、RNAヘリカーゼ、ポリメラーゼ、又は3' NTRのような機能性HCVエレメントを用い、その増殖性複製がこれらの1個又は複数のHCVエレメントにより左右されるようなBVDVのキメラ誘導体を作成することができる。このようなBVDV/HCVキメラは、その後これらの機能性成分に対する抗ウイルス戦略をスクリーニング及び評価するために使用することができる。

【0062】

GBウイルスBのような密に関連したウイルス由来の構造又は非構造タンパク質をコードしている遺伝子が対応するHCV遺伝子に取って代わるキメラも、機能的であると予想される。例えば、Butkiewiczらの論文、J. Virol., 74:4291-4301 (2000)を参照のこと。本発明により企図されたポリタンパク質コード領域における別の変更は、配列における欠失又は挿入を含む。このような変更は更に、複製速度、様々な増殖条件への適応、又は抗原決定基を変更することもできる。有用な欠失の好ましい例は、Tyrとの、配列番号：3のSer 1182のAsp 1229への47個のアミノ酸欠失の置換を含み、これは、野生型NS5Aを伴うHCVよりも大きいトランスフェクション効率を提供するNS5Aにおける適応変異である。実施例1を参照のこと。

ポリタンパク質コード領域への挿入は、修飾されたHCVが依然複製することができるという条件で、この領域のあらゆる長さ及びあらゆる区域であることができる。好ましくはこの挿入は、その挿入の下流のポリタンパク質領域の翻訳を補正するために、ポリタンパク質コード領域の残余のフレームにおいて操作される。

【0063】

ポリタンパク質コード領域への挿入は、異種タンパク質コード遺伝子を導入することができる。異種タンパク質の選択は、狭義に制限されていないが、感染した宿主又は細胞に対し治療的であるタンパク質、もしくは別の目的のために収集及び精製されたタンパク質

10

20

30

40

50

を含むことができる。特に有用な異種遺伝子は、変異体の検出に有用なもの(すなわちレポーター遺伝子)、又は変異体を有する細胞の選択に有用なものを含む。本発明において有用なレポーター遺伝子の非限定的例は、
- ガラクトシダーゼ、
- グルクロニダーゼ、
ホタル又は細菌のルシフェラーゼ、グリーン蛍光タンパク質(GFP)及びそれらのヒト化された誘導体、細胞表面マーカー、並びに分泌されたマーカーを含む。このような産物は、直接アッセイされるか、もしくは追加レポーターの発現又は活性を活性化することができるかのいずれかである。哺乳類細胞のための選択マーカーの非限定的例は、ジヒドロ葉酸レダクターゼをコードしている遺伝子(DHFR; メトトレキサート耐性)、チミジンキナーゼ(tk; メトトレキサート耐性)、プロマイシンアセチルトランスフェラーゼ(pac; プロマイシン耐性)、ネオマイシン耐性(neo; ネオマイシン又はG418に対する耐性)、ミコフェノール酸耐性(gpt)、ヒグロマイシン耐性、プラスチジン耐性、及びゼオシンに対する耐性を含むが、これらに限定されるものではない。その他の選択マーカーは、酵母のような様々な宿主において使用することができる(ura3、his3、leu2、trp1)。

10

【0064】

本発明は、このウイルスの非コード領域における変更を有するHCV変異体も包含している。例えば先に考察した外来遺伝子も、挿入断片を伴う領域が複製を可能にするのに十分機能し続けるならば、ウイルスの非コード領域に挿入することができる。非コード領域に挿入された外来遺伝子の翻訳を提供するためには、この外来遺伝子は、翻訳開始シグナル、好ましくは細胞又はウイルスのmRNAに由来した内部リボソーム侵入部位(IRES)に操作可能に連結されなければならない[Jangらの論文、Enzyme、44:292-309 (1991); Macejak及びSarnow、Nature、353:90-94 (1991); Mollaらの論文、Nature、356:255-257 (1992)]。最も重要なこととして、この戦略は、変異体にポリタンパク質コード領域シストロンから離れた第二シストロンを作成する。好ましいIRESは、脳筋炎ウイルス(EMCV) IRESである。

20

【0065】

外来遺伝子は、3' NTR又は5' NTRへも挿入することができる。3' NTRにおいて、外来遺伝子/IRESカセットは、最も5'側の可変ドメインへ挿入されることが好ましい。しかし挿入は、3' NTRの他の領域、例えば可変領域とポリピリミジン領域の接合部、又はポリピリミジン領域内などについても想定されている。5' NTRにおいて、外来遺伝子は内部HCV IRESに直ぐ隣接した(3'側に)区域へ挿入されることが好ましい。これらの変異体において、外来遺伝子は、HCV IRESに機能的に連結されるように操作される。この場合、第二のIRES(例えばEMCV IRES)が、この領域に対し機能的に連結されるように、ポリタンパク質コード領域の直ぐ5'側で操作されることが好ましい。実施例及びLohmannらの論文(前掲)を参照のこと。

30

【0066】

前述の異種遺伝子の機能性発現に関する戦略の一部は、これまでに説明されている。総説についてはBredenbeek及びRiceの論文((1992)前掲)を参照し; 更に図2については、米国特許出願第08/811,566号(現在米国特許第____号)の図2を参照のこと。

【0067】

加えて外来タンパク質をコードしていないような変異、欠失又は挿入のような非コード領域の変更は、本発明の範囲内である。例えば、全可変領域の欠失を含む3' NTRの可変又はポリピリミジン領域、もしくは制限部位を作成又は破壊するかさもなければ同定可能な変種を作成するような5' NTR領域における挿入断片の、変異、欠失を、「タグ付け」られた変異体の作出に有利に使用することができる。例えば3' NTR可変領域の変異が容易に同定可能なAvalI制限部位を作成する実施例、及びポリピリミジン領域の欠失が別の同定可能な変異体を作成する実施例を参照のこと。

40

【0068】

ポリタンパク質コード配列は、適応又は弱毒化された変異体のような、望ましい機能適応を伴う突然変異体を含むことができる。これらの改良された変異体は、いずれか望ましい特性において優れている。本方法により改善され得る特性の非限定的な例は、in vivo又は培養物におけるより迅速又はより正確な複製、改善されたトランスフェクション効率、

50

改善された継代細胞株の樹立能、宿主又は宿主細胞株の感染能、ビルレンス、及び疾患性
状の緩和である。

このようなHCV変異体は、例えば動物又はin vitroにおける増殖のための選択により、適
応させることができる。例えば実施例を参照のこと。あるいは、これらの変異体は、機能
性適応を含むようデザインすることにより操作することができる。例えば持続性HCV複製
を支持する、安定した細胞株を作出するためにトランスフェクション効率及び継代能が増
大するような欠失がデザインされている実施例を参照のこと。

【0069】

非-機能性HCVクローン、例えば真の複製が不可能であるクローン、HCVタンパク質産生が
できないクローン、ノーザンブロット分析により検出されるようなHCV RNA産生ができな
いクローン、又は易罹患性動物又は細胞株へのin vitro感染ができないクローンは、本発
明の変異体成分を用いて補正することができる。本発明の真正のHCV核酸配列の変異体と
非-機能性HCVクローンの配列を比較することにより、非-機能性クローンの欠損を、同定
及び補正することができ、かつ補正された複製変異体は、適応変異などのような変異体様
特性を有する。非-機能性HCVゲノムの修飾を実行するために、当業者が利用可能である核
酸配列を修飾する方法は全て、位置指定突然変異誘発、非-機能性クローンにおける相同
配列のための真正のHCV変異体からの機能性配列の置換などを含むが、これらに限定され
るものではない。

【0070】

より改良された細胞培養特性のためのHCV適応。細胞培養における野生型ポリタンパク質
複製を有するビリオン及びレプリコンの複製及びトランスフェクションの効率及び安定性
は役に立たない。すなわち、例えばこれらの菌株のクローンのRNA転写産物によりラン
スフェクションされた細胞は培養においてゆっくり複製し、かつこれらのトランスフェク
ションされた細胞は維持することが困難である。加えてトランスフェクション効率は悪い
。すなわちRNAレプリコンでトランスフェクションされた細胞のごくわずかが、HCV複製を
支持することができる。例えば実施例1及びLohmannらの論文(前掲)を参照し、ここでは
、野生型(遺伝子型1亜型1b)非構造ポリタンパク質コード領域を有するレプリコンのRNA転
写産物でトランスフェクションされたHuh-7細胞の0.01%未満が、トランスフェクション
体が播種されたペトリ皿上でコロニーに増殖した。更に、当初の播種から生じたコロニー
の低い割合(<3%)が、別の培地の皿に継代し、HCV複製を支持している単離された安定し
た細胞株を形成することができる。

【0071】

「トランスフェクション効率」は、トランスフェクションされた核酸によりコードされた
タンパク質を翻訳し続けている複製HCV RNAを有する細胞の割合(%)を決定することによ
り定義される。最も簡便な測定法は、HCV RNAにより与えられた特性を示す細胞の割合(%)
を決定することである。例えば実施例1を参照し、ここではneo遺伝子を含むレプリコン
がトランスフェクションされた細胞にG418耐性を与え、ここでこの細胞は、トランスフェ
クションされた細胞が播種された皿上で分裂しかつコロニー形成した後もG418耐性である
。この例においてG418耐性を与えるためにneo遺伝子を複製及び翻訳をし続けるとしても
、G418耐性は、HCV RNAが複製しかつ分裂細胞に分配することができない限りは、コロニー
が形成されるのに十分には維持されない。従ってトランスフェクション効率は、ラン
スフェクションされたHCVは、測定特性(ここではG418耐性)を複製し、転写し、かつ翻訳
しなければならない点で、複製依存型である。neo選択マーカーに関連してトランスフェ
クション効率を決定する方法は、「複製-依存型ネオマイシン耐性」と称されている
。これは、複製しかつ分裂細胞に分配しコロニーを形成するためにそれ自身十分に確立さ
れたHCV由来の転写を測定するのみであるので、トランスフェクション効率を測定する好
ましい方法である。

【0072】

野生型非構造ポリタンパク質遺伝子を有するHCV核酸の別の不利な細胞培養特性は、ラン
スフェクション及び選択後に形成するコロニーの低い割合(%)のみが、複製しているRN

10

20

30

40

50

Aを收容している連続的細胞株として継代される際に維持され続けることである。これは先に考察したLohmannらの論文において、<3%である。

【 0 0 7 3 】

野生型非構造ポリタンパク質遺伝子を有するHCV の不利な特性は、NS5Aコード領域又は本願明細書において説明された他の場所でのある種の適応変異及び欠失を利用することにより低下することができる。好ましい変異は、「インターフェロン感受性決定領域」(ISDR)のコード領域の直ぐ5'側であるNS5A領域中のコードされたアミノ酸配列の変更を含む。詳細には、コードされたアミノ酸配列が変更されているような、ISDRの5'側の約50個以内のヌクレオチド、より好ましくはISDRの約20個以内のヌクレオチドの様々な変異が、より高いトランスフェクション効率及び持続性HCV複製を收容している細胞株を樹立するための継代に耐える増大した能力を有するようにHCVを適応させる作用を有する。この作用を有する特異的変異は、例えば配列番号：8(ヌクレオチド[nt])及び配列番号：16(アミノ酸[aa])において具体化されるような、配列番号：6の5336位でのgからtへの変異によりもたらされる、配列番号：3(亜型1b非構造ポリタンパク質領域)のアミノ酸1179位でのSer からIleへの変異；例えば配列番号：9(nt)及び配列番号：17(aa)において具体化されるような、配列番号：6の5289位でのaからgへの突然変異によりもたらされる、配列番号：3のアミノ酸1164位でのArgからGlyへの変異；例えば配列番号：10(nt)及び配列番号：19のNS5Aアミノ酸配列において具体化されるような、配列番号：6の5320位でのgからtへの変異によりもたらされる、配列番号：3のアミノ酸1174位でのAlaからSerへの変異；例えばNS5A遺伝子配列番号：11及び配列番号：20のNS5Aアミノ酸配列において具体化されるような、配列番号：6の5315位でのcからgへの変異によりもたらされる、配列番号：3のアミノ酸1172位での SerからCysへの変異；並びに、例えばNS5A遺伝子配列番号：12及びNS5Aアミノ酸配列番号：21において具体化されるような、配列番号：6の5314位でのtからcへの変異によりもたらされる、配列番号：3のアミノ酸1172位での SerからProの変異を含む。これらの変異の適応作用は、HCVのこの領域は通常HCV単離体の間で保存されているので驚きに値する。加えて、全ISDR及び様々なフランキング配列の欠失を含む、ISDR内の欠失は、この適応作用を生じる。これらの欠失の中には、例えば配列番号：7(nt)及びNS5Aアミノ酸配列番号：14において具体化されるような、配列番号：6のnt 5345-5485の欠失によりもたらされる、チロシンとの、配列番号：3のアミノ酸1182から1229を含むISDR及びフランキング配列の置換がある。

【 0 0 7 4 】

細胞培養に適応する変異を含むHCV変異体は、弱毒化することができ、これはそれらの疾患を引き起し、慢性感染を確立し、自己免疫応答を誘発し、かつ細胞を形質転換する能力を損なう。

本発明は更に、適応HCV変異体を選択する方法も明らかにしている。これらの方法は、HCVビリオン又は好ましくはレプリコンの使用を含み、これは更にneo遺伝子のようなドミナント選択マーカを含む。細胞はこれらの変異体によりトランスフェクションれる。これらのトランスフェクション体は、neo遺伝子が変異体において利用される場合には、G418のような選択培地に播種される。この選択マーカに対する耐性を示すようになるコロニーは、新鮮選択培地に継代される。HCVレプリコンを收容している細胞株を樹立するための継代に耐えるコロニー中のHCVは、単離され、かつ更なる細胞のトランスフェクションに使用される。増加したトランスフェクション効率又は継代に耐える能力などの他の望ましい特性を示すこれらのコロニーは適応変異体であり、ここでこの変異体の適応の性質は、少なくとも1個の変異又は欠失により与えられる。これらの適応変異体中のHCVの選択された区域の配列が決定される。好ましくは、少なくともNS5Aが配列決定される。より好ましくは、全ポリタンパク質コード領域が配列決定される。これらの変異体の中の変異を、その変異の適応性質を決定するために更に評価することができる。その評価は、別の野生型コード領域中の変異の再生、及び再生されたHCV突然変異体が当初の突然変異体の適応表現型を示すかどうかの決定に関与していることが好ましい。

【 0 0 7 5 】

適応変異は同じく、以下を明らかにするが、これに制限されるものではない：(i)HCV RNA複製の指向性の変更；(ii)宿主細胞に対する有害作用に寄与するウイルス産物の変更；(iii)HCV RNA複製効率の増加又は減少；(iv)HCV RNAパッケージング効率の増加又は減少及び／又はHCV粒子の集成及び放出；(v)受容体結合及び侵入(entry)のレベルでの細胞指向性の変更。従って、その発現が増殖性HCV RNA複製によって左右されるような操作したドミナント選択マーカーを用い、HCV複製機構又はトランスフェクションされた宿主細胞のいずれか、もしくは両方における適応変異について選択することができる。加えてドミナント選択マーカーを用い、より高いレベルのRNA複製又は粒子形成を可能にするようなHCV複製機構中の変異について選択することができる。ある例において、DHFRの突然変異体型を発現している操作したHCV誘導体を、メトトレキサート(MTX)耐性を与えるために使用することができる。ドミナント選択マーカーとして、突然変異体DHFRは、ほぼ化学量論的な量がMTX耐性に必要であるので、有効ではない。培地中のMTX濃度の漸増により、複製HCV RNAを収容している細胞の連続した生存のためにはDHFRの増加量が必要であろう。この選択方式、又はこの概念を基にした同様のものは、より高いレベルのHCV RNA複製及びRNA蓄積を可能にするHCV RNA複製機構における変異の選択をもたらすことができる。同様の選択は、細胞培養におけるHCV粒子のより高い収量の生成を可能にする変異、又は変更された細胞指向性を伴う突然変異体HCV粒子に適用することができる。このような選択方式は、培養上清からのまたは細胞破壊後のHCV粒子の収穫並びに未変性の細胞の再感染によるMTX-耐性導入粒子の選択に關与している。

10

【 0 0 7 6 】

20

前記と同様の方法を用いて、増強又は減弱した感染を引き起す能力、野生型菌株が感染できないような宿主、又はこのような宿主の細胞において感染を引き起す能力のような特性の変動を伴う適応変異体を確立することができる。

本発明は更に、前述のHCV DNA(又はHCV RNA)のいずれかでトランスフェクションされた宿主細胞株を提供する。宿主細胞の例は、細菌細胞、酵母細胞、昆虫細胞、及び哺乳類細胞からなる群を含むが、これらに限定されるものではない。好ましくは、この宿主細胞は、機能性HCV RNAレプリカーゼ、ビリオン又はウイルス粒子タンパク質の発現を提供することが可能である。

【 0 0 7 7 】

関連した局面において、先に簡単に説明したように、本発明は、遺伝子治療又は遺伝子ワクチン(本願明細書において遺伝ワクチンとも称す)のためのベクターを提供し、ここで異種タンパク質の発現を可能にする条件下で異種タンパク質がHCV核酸に挿入されている。これらのワクチンは、DNA又はRNAのいずれかであることができる。特に、本発明は、ポジティブ-センスDNA上に5'から3'方向へ、プロモーター；最端の5'-末端配列GCCAGCCを含むHCV 5'-非翻訳領域(NTR)；異種遺伝子のコード領域を含むHCVポリタンパク質コード領域；及び、3'非翻訳領域(NTR)を含む、感染性C型肝炎ウイルス(HCV)DNAベクターを提供する。好ましくは、このプロモーターは、バクテリオファージT3、T7、及びSP6からなる群より選択される。

30

【 0 0 7 8 】

機能性HCV核酸がDNAであるような本発明の態様において、これは更に5' NTRに操作可能に会合されたプロモーターを含んでもよい。例えばこのプロモーターは、バクテリオファージT7、T3、及びSP6からなる群より選択されるが、これらに限定されるものではない。しかし使用した具体的転写システムに応じて、HCV DNAに対応するHCVゲノムRNAの転写に適当なプロモーターを使用することができる。例えば核転写(例えばHCVについてトランスジェニックな動物において)について、内在性又はウイルス性プロモーター、例えばCMVを使用することができる。加えてこれらのプロモーターが駆動したHCV DNAは、プラスミド又はファージのような染色体外で複製しているDNAに組込むことができる。

40

【 0 0 7 9 】

様々な本発明の変異体の使用が本願明細書において構想されている。治療及びワクチン開発に關連する用途は以下を含む：(i)ウイルスの中和、吸着、侵入及び侵入に関する in vi

50

tro及びin vivoアッセイ開発のための定義されたHCVウイルスストックの形成；(ii)HCVタンパク質及びRNAエレメントに関する構造／機能試験並びに新規抗ウイルス標的の同定；(iii)野生型及び変異体HCV RNAの複製及び粒子放出を支持するようなものを同定するための、細胞培養システム及び条件の体系的調査；(iv)細胞培養においてより効率的な複製が可能である適応HCV変異体の作出；(v)変更された組織又は種指向性を伴うHCV変異体の作出；(vi)HCV変異体複製を支持するものを含むインヒビター評価のための代用動物モデルの樹立；(vii)細胞-非含有HCV複製アッセイの開発；(viii)ワクチン処置のための免疫原性HCV粒子の作成；(ix)可能性のあるワクチン候補としての弱毒化されたHCV誘導体の操作；(x)遺伝子治療及びワクチン適応に関する異種遺伝子産物の発現のための弱毒化されたまたは欠損したHCV誘導体の操作；(xi)適当な受容体を伴う肝又は他の細胞型に対する治療薬の標的化された送達のためのHCV糖タンパク質の利用。

10

【0080】

本発明は更に、HCV変異体を伴う動物を感染する方法を提供し、この方法は、感染性HCV変異体DNAの転写により調製されたHCV変異体RNAを感染量投与することを含む。本発明は、HCV変異体で感染されたかもしくはHCV変異体RNA又はDNAでトランスフェクションされたヒト以外の動物に及ぶ。同様に本発明は、感染性HCV DNAの転写により調製したHCV変異体RNAの感染量と接触した細胞株を培養することを含む、感染性HCV変異体をin vitroにおいて増殖する、更にはHCV変異体で感染したin vitro細胞株を増殖する方法を提供する。具体的態様において、この細胞株は、IRES-抗生物質耐性カセットが選択を提供するために操作されているような HCV変異体でトランスフェクション又は感染された肝細胞株である。この変異体は更に、前述の適応変異を含むこともできる。

20

【0081】

本発明の遺伝子治療(遺伝ワクチン)の態様に従い、異種遺伝子によるHCV RNA複製が可能である動物に導入する工程、HCV変異体DNAベクターの転写により調製されたHCV変異体RNAを一定量投与する工程を含む方法も提供される。

別の態様において本発明は、本発明のHCV変異体でトランスフェクションされた宿主発現細胞株をHCV粒子タンパク質の発現を可能にする条件下で培養する工程；及び、HCV粒子タンパク質を細胞培養物から単離する工程を含む、HCV粒子タンパク質を産生する方法を提供する。具体的態様において、このような発現細胞株は、細菌細胞、酵母細胞、昆虫細胞、及び哺乳類細胞からなる群より選択された細胞であることができる。

30

本発明は更に、HCV変異体RNAゲノムを含むHCVビリオンを提供する。このようなビリオンは、好ましくは例えば熱又は化学処理による弱毒化後、又は前述の方法による弱毒化した変異体の選択を通じて、HCVワクチンにおいて使用することができる。

【0082】

本発明のin vivo及びin vitro HCV変異体は、抗-HCV物質(すなわち、HCVの治療のための薬物)に加え、薬物耐性の評価に関する管理されたスクリーニングを可能にする。HCV複製を変調することが可能な物質のin vivoスクリーニング法は、候補物質をHCV変異体を有する動物へ投与すること、並びにHCV変異体感染、複製又は活性レベルを、候補物質を投与する以前の動物のHCV変異体感染、複製又は活性レベルと比較し、増加又は減少について試験することを含み；ここで、候補物質を投与する以前の動物のHCV変異体感染、複製又は活性レベルと比較した、HCV変異体感染、複製又は活性レベルの減少は、その物質のHCV変異体感染、複製又は活性を阻害する能力の指標である。HCV変異体感染又は複製レベルの試験は、動物の血清又は組織試料中のウイルスの力価(例えばRNAレベル)の測定が関与し；HCV変異体活性レベルの試験には、肝酵素の測定が関与している。あるいは、HCV複製を変調することが可能な物質のin vitroスクリーニング法は、HCV変異体複製を支持している細胞株を候補物質と接触すること；並びに、その後HCV変異体複製又は活性のレベルを、対照細胞株又は候補物質を投与する以前の細胞株におけるHCV変異体複製又は活性レベルと比べ、増加又は減少を試験することを含み、ここで、対照細胞株又は候補物質を投与する以前の細胞株におけるHCV変異体複製又は活性レベルと比べた場合のHCV変異体複製又は活性レベルの減少は、この物質がHCV変異体複製又は活性を阻害する能力の指標であ

40

50

る。特定の態様において、in vitroにおけるHCV変異体複製レベルの試験は、細胞培養物中のHCV力価(例えばRNAレベル)の測定が関与し；in vitroにおけるHCV活性レベルの試験は、HCV複製の測定が関与している。

【0083】

本発明は、特定のHCV変異体DNAクローン及び関連したHCV変異体RNAに加え、ポジティブ-センスDNA上で5'から3'方向へ、プロモーター；HCV 5'非翻訳領域(NTR)、HCVポリタンパク質コード領域；及び、3'非翻訳領域(NTR)が結合したものを含み、ここでこれらの領域の少なくとも1個は天然の領域ではないような、宿主又は宿主細胞株において複製することが可能であるようなHCV変異体DNAクローンの調製法に関する。好ましくは、このプロモーターはバクテリオファージT7、T3及びSP6からなる群より選択される。特定の態様において、最端の5'-末端配列は配列番号：1と相同であり、例えばこの5'-末端配列は、GCCAGCC；GGCCAGCC；UGCCAGCC；AGCCAGCC；AAGCCAGCC；GAGCCAGCC；GUGCCAGCC；及び、GCGCCAGCCからなる群より選択され、ここで配列GCCAGCCは配列番号：1の5'-末端である。

【0084】

HCV変異体DNAクローンの調製法において使用するための3'-NTRポリ-Uは、長いポリ-U領域を含むことができる。同様に最端の3'-NTR末端は、配列
5'-TGGTGGCTCCATCTTAGCCCTAGTCACGGCTAGCTGTGAAAGGTCCGTGAGCCGCATGACTGCAGAGAGTGCTGAT
ACTGGCCTCTCTGCTGATCATGT-3' (配列番号：2)
を有するDNAと相同なRNAであることができ；特定の態様において、最端の3'-NTR末端は、前記配列を有する。

【0085】

機能性HCV変異体DNAクローンの成分。本発明において説明された機能性HCV変異体DNAの成分は、以下に説明されるような公知又は新規に同定されたHCV抗ウイルス標的の細胞-非含有、細胞培養、及び動物-ベースのスクリーニングアッセイの開発のために使用することができる。各選択された標的について、使用されたHCV変異体は、標的の野生型であることが好ましい。公知の又は推定された標的及びアッセイの例[総説については、Houghton、「フィールドウイルス学(Fields Virology)」(B. N. Fields、D. M. Knipe及びP. M. Howley編集)、Vol.、1035-1058頁、Raven Press社、ニューヨーク(1996)；Rice、(1996)前掲；Riceらの論文、Antiviral Therapy 1、補遺.4:11-17 (1997)；Shimotohno、Hepatology、21:887-8 (1995)を参照のこと]は、以下を含むが、これらに限定されるものではない：

【0086】

侵入しているHCVゲノムRNAの翻訳に必須のエLEMENTを含む高度に保存された5' NTRは、ひとつの標的である。この配列、又はその相補体は、おそらくRNAの複製及び/又はパッケージングに重要であるRNAELEMENTを含むであろう。可能性のある治療的戦略は以下を含む：アンチセンスオリゴヌクレオチド(前掲)；トランス活性化リボザイム(前掲)；RNAデコイ；このELEMENTの機能を妨害する小分子化合物(これらは、RNAELEMENTそれ自身への、もしくは活性に必要なコグネイトウイルス又は細胞性因子への結合により作用する)。

【0087】

別の標的は、HCV C(キャプシド又はコア)タンパク質であり、これは高度に保存されかつ以下の機能に関連している：RNA結合及びHCVゲノムRNAの特異的包膜；細胞遺伝子[Rayらの論文、Virus Res.、37:209-220 (1995)]及び他のウイルス遺伝子[Shihらの論文、J. Virol.、69:1160-1171 (1995)；Shihらの論文、J. Virol.、67:5823-5832 (1993)]の転写の変調；細胞ヘリカーゼの結合[Youらの論文、J. Virol.、73:2841-2853 (1999)]；細胞の形質転換[Rayらの論文、J. Virol.、70: 4438-4443 (1996a)；Rayらの論文、J. Biol. Chem.、272:10983-10986 (1997)]；アポトーシスの防止[Rayらの論文、Virology、226:176-182 (1996b)]；TNF受容体スーパーファミリーの一員への結合を介した宿主免疫応答の変調[Matsumotoらの論文、J. Virol.、71:1301-1309 (1997)]。

【0088】

ビリオンエンベロープの成分を形成するE1、E2及びおそらくはE2-p7糖タンパク質は、可能性のある中和抗体の標的である。介入が標的化され得るような重要な工程は、以下を含む：ポリタンパク質のこれらの前駆体のシグナルペプチダーゼが媒介した切断[Linらの論文、(1994a)前掲]；E1E2糖タンパク質複合体のER集成及びこれらのタンパク質の細胞シャペロンとの会合並びにフォールディング機構[Dubuissonらの論文、(1994)前掲；Dubuisson及びRice、J. Virol.、70:778-786 (1996)]；ヌクレオキャプシドとビリオンエンベロープの間の相互作用を含む、ウイルス粒子の集成；ウイルス粒子の輸送及び放出；免疫監視の回避又はLDL受容体を発現している細胞の結合及び侵入において役割を果たし得るVLDLのような宿主成分とウイルス粒子の会合[Hijikataらの論文、(1993)前掲；Thomssenらの論文、(1992)前掲；Thomssenらの論文、Med. Microbiol. Immunol.、182:329-334 (1993)]；抗体による中和のために標的化する、もしくはコグネイトFc受容体との相互作用を介して抗体と結合しかつ細胞の免疫賦活感染を促進するような、ビリオン中の保存された決定基及び可変の決定基；受容体の結合及び侵入に重要な、ビリオン中の保存された決定基及び可変の決定基；細胞膜への侵入、融合に参画し、かつ侵入しているウイルスのヌクレオキャプシドを脱殻するビリオン決定基。

【0089】

更に2/3位置での切断に必要な NS2-3オートプロテアーゼも標的である。

複合体を形成しかつHCVポリタンパク質において4種の切断を媒介するNS3セリンプロテアーゼ及びNS4A補因子[総説については、Rice、(1997)前掲参照]は、更に別の適当な標的である。標的は、セリンプロテアーゼ活性それ自身；セリンプロテアーゼC-末端ドメイン中の四面体Zn²⁺配位部位；NS3-NS4A補因子相互作用；NS4Aの膜会合；NS4AによるNS3の安定化；NS3プロテアーゼ領域の形質転換能 [Sakamuroらの論文、J Virol、69:3893-6 (1995)]を含む。

NS3 RNA-刺激されたNTPase[Suzichらの論文、(1993)前掲]、RNAヘリカーゼ[Jin及びPeterson、Arch Biochem Biophys、323:47-53 (1995)；Kimらの論文、Biochem. Biophys. Res. Commun.、215:160-6 (1995)]、及びRNA結合[Kanaiらの論文、FEBS Lett、376:221-4 (1995)]活性；RNA複製複合体の成分としてのNS4Aタンパク質は、別の標的である。

【0090】

別の複製成分であるNS5Aタンパク質は、別の標的を表している。このタンパク質は、セリン残基上で優先的にリン酸化されている[Tanjiらの論文、J. Virol.、69:3980-3986 (1995)]。NS5Aの転写変調、細胞増殖促進、及びアポトーシス阻害の活性[Ghoshらの論文、J. Biol. Chem.、275:7184-7188 (2000)]も、標的化することができる。治療のために標的化することができるような他のNS5A特性は、NS5Aリン酸化に寄与するキナーゼ及びそのNS5Aとの相互作用、並びにNS5AとHCV複製複合体の他の成分との相互作用である。

【0091】

NS5B RNA-依存型RNAポリメラーゼは、HCVポジティブ及びネガティブ-鎖RNAの実際の合成に寄与する酵素であるが、これは別の標的である。その活性の特定の局面は、それ自身のポリメラーゼ活性[Behrensらの論文、EMBO J.、15:12-22 (1996)]；NS5BのHCV RNAを含む他のレプリカーゼ成分との相互作用；ネガティブ-及びポジティブ-鎖RNA合成の開始に関与した工程；NS5Bのリン酸化[Hwangらの論文、Virology、227:438 (1997)]を含む。

【0092】

別の標的は、HCV RNA複製及び/又は宿主細胞機能の変調に重要な構造又は非構造タンパク質の機能を含む。ウイルスの侵入、排出(egress)又は宿主細胞遺伝子発現の変調のための重要なチャネル形成が可能な可能性のある疎水性タンパク質成分も、標的化することができる。

特に高度に保存されたエレメント(ポリ(U/UC)トラクト；98-塩基末端配列)である3' NTRも、標的化することができる。治療的手法は、ゲノムのこの部分はおそらくネガティブ-鎖合成の開始において重要な役割を果たすこと以外は、5' NTRについて説明したことに対応する。翻訳、RNA安定性又はパッケージングを含む、その他のHCV RNA複製の局面も、これに関与し得る。

10

20

30

40

50

【0093】

本発明の機能的HCV変異体は、このウイルスのタンパク質の全て及びRNAパッケージングに必要なRNAエレメントをコードすることができる。これらのエレメントは、抗ウイルスの化合物開発のために標的化することができる。電気泳動移動度シフトアッセイ、UV架橋アッセイ、フィルター結合アッセイ、及びスリー-ハイブリッドアッセイ[SenGuptaらの論文、Proc. Natl. Acad. Sci. USA、93:8496-8501 (1996)]を使用し、HCV RNAパッケージングに重要なタンパク質及びRNAエレメントを定義し、かつこの過程のインヒビターをスクリーニングするアッセイを確立することができる。このようなインヒビターは、in vitroにおける選択により作出された小分子又はRNAデコイを含む[Goldらの論文、(1995)前掲]。

10

【0094】

本発明の変異体の複合体ライブラリーは、「ペプチド展示」ライブラリーにおいて作成されるように、PCRシャッフリングの使用、又はランダム化された配列の取込みにより作成することができる。「ファージ法」[Scott及びSmith、Science、249:386-390 (1990)；Cwirlaらの論文、Proc. Natl. Acad. Sci. USA、87:6378-6382 (1990)；Devlinらの論文、Science、249:404-406 (1990)]を用い、非常に巨大なライブラリーを構築することができる($10^6 \sim 10^8$ 化学実体)。このようなライブラリーのクローンをを用い、例えば様々なHCV亜型を使用し、他の変異体又はキメラを作成することができる。このような変異体は、当該技術分野において公知の方法により、過度な実験を行うことなく作成することができる。

【0095】

プライマー及びランオフ(run-off)配列を含むクローンは、機能的HCV変異体RNAの作成に直接使用することができる。当該技術分野において公知の非常に多数のベクター-宿主システムを使用することができる。ベクターの例は、E. coli、誘導体のようなバクテリオファージ、もしくはpBR322誘導体又はpUCプラスミド誘導体のようなプラスミド、例えばpGEXベクター、pmal-c、pFLAG、pTETなどを含むが、これらに限定されるものではない。周知のように、クローニングベクターへの挿入は、例えば、DNA断片の相補的突出末端を有するクローニングベクターへのライゲーションにより達成することができる。しかしDNAの断片化に使用された相補的制限部位が、クローニングベクターに存在しない場合は、このDNA分子の末端を酵素により修飾することができる。あるいは、望ましいいずれかの部位を、そのDNA末端へのヌクレオチド配列(リンカー)のライゲーションにより作成することができ；これらのライゲーションされたリンカーは、制限エンドヌクレアーゼ認識配列をコードしている特異的に化学合成されたオリゴヌクレオチドを含むことができる。組換え分子は、形質転換、トランスフェクション、感染、電気穿孔などにより、宿主細胞へ導入することができ、その結果遺伝子配列の多くのコピーを作成することができる。

20

30

【0096】

HCV RNA及びポリペプチドの発現

HCV変異体RNA及びHCVタンパク質、特にHCV RNAレプリカーゼ又はポリオンタンパク質をコードしているHCV変異体DNAは、適当な発現ベクター、すなわち挿入されたタンパク質-コード配列の転写及び翻訳に必要なエレメントを含むベクターへ挿入することができる。このようなエレメントは、本願明細書において「プロモーター」と称す。従って本発明のHCV変異体DNAは、本発明の発現ベクター内のプロモーターに操作できるように(又は機能的に)会合されている。発現ベクターは好ましくは、複製起点も含む。必要な転写シグナル及び翻訳シグナルは、組換え発現ベクター上に提供され得る。機能性RNAのin vitro合成のための好ましい態様において、T7、T3、又はSP6プロモーターが使用される。

40

【0097】

可能性のある宿主-ベクターシステムは、ウイルス組換え体(例えば、ワクシニアウイルス、アデノウイルス、シンドビスウイルス、セムリキ森林熱ウイルスなど)に感染された哺乳類細胞システム；組換えウイルス(例えば、バキュロウイルス)に感染された昆虫細胞システム；酵母ベクターを含む酵母のような微生物；植物細胞；もしくは、バクテリオファージ、DNA、プラスミドDNA、又はコスミドDNAで形質転換された細菌を含むが、これらに

50

限定されるものではない。ベクターの発現エレメントは、それらの強度及び特異性において変動することができる。使用した宿主-ベクターシステムに応じて、多くの適当な転写エレメント及び翻訳エレメントのいずれかを使用することができる。

【0098】

HCV変異体DNAクローンを含む組換えベクターが導入された細胞は、適当な細胞培養培地において、細胞によるHCV RNA又はそのようなHCVタンパク質の発現を提供するような条件下で培養される。DNA断片のクローニングベクターへの挿入に関する先に説明した方法のいずれかを用い、適当な転写/翻訳制御シグナル及びタンパク質コード配列からなる遺伝子を含む発現ベクターを構築することができる。これらの方法は、*in vitro*組換えDNA及び合成技術及び*in vivo*組換え(遺伝子組換え)を含むことができる。

【0099】

HCV変異体RNA又はタンパク質の発現は、当該技術分野において公知のプロモーター/エンハンサーエレメントのいずれかにより制御することができるが、これらの調節エレメントは、発現に選択された宿主において機能性でなければならない。発現を制御するために使用することができるプロモーターは、SV40初期プロモーター領域(Benoist及びChambon、*Nature*、290:304-310 (1981))、ラウス肉腫ウイルスの3'側の長い末端反復に含まれたプロモーター(Yamamotoらの論文、*Cell*、22:787-797 (1980))、ヘルペスチミジンキナーゼプロモーター(Wagnerらの論文、*Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*、78:1441-1445 (1981))、メタロチオネイン遺伝子の調節配列(Brinsterらの論文、*Nature*、296:39-42 (1982))；
 - ラクタマーゼプロモーター(Villa-Kamaroffらの論文、*Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*、75:3727-3731 (1978))又はtacプロモーター(DeBoerらの論文、*Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*、80:21-25 (1983))のような、原核発現ベクター；Gal 4プロモーター、ADC(アルコールデヒドロゲナーゼ)プロモーター、PGK(ホスホグリセロールキナーゼ)プロモーター、アルカリホスファターゼプロモーターのような、酵母又は他の真菌由来のプロモーターエレメント；並びに、組織特異性を発揮しかつトランスジェニック動物において利用されるような動物の転写制御領域：膵臓腺房細胞において活性があるエラスターゼI遺伝子制御領域(Swiftらの論文、*Cell*、38:639-646 (1984))；Ornitzらの論文、*Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.*、50:399-409 (1986)；MacDonald、*Hepatology*、7:425-515 (1987))；膵臓細胞において活性があるインスリン遺伝子制御領域(Hanahan、*Nature*、315:115-122 (1985))、リンパ系細胞において活性がある免疫グロブリン遺伝子制御領域(Grosschedlらの論文、*Cell*、38:647-658 (1984))；Adamesらの論文、*Nature*、318:533-538 (1985)；Alexanderらの論文、*Mol. Cell. Biol.*、7:1436-1444 (1987))、精巣、乳房、リンパ系及びマスト細胞において活性があるマウス乳癌ウイルス制御領域(Lederらの論文、*Cell*、45:485-495 (1986))、肝臓において活性があるアルブミン遺伝子制御領域(Pinkertらの論文、*Genes and Devel.*、1:268-276 (1987))、肝臓において活性がある - フェトプロテイン遺伝子制御領域(Krumlaufらの論文、*Mol. Cell. Biol.*、5:1639-1648 (1985))；Hammerらの論文、*Science*、235:53-58 (1987))、肝臓において活性がある 1-アンチトリプシン遺伝子制御領域(Kelseyらの論文、*Genes and Devel.*、1:161-171 (1987))、骨髄細胞において活性がある - グロブリン遺伝子制御領域(Mogramらの論文、*Nature*、315:338-340 (1985))；Kolliasらの論文、*Cell*、46:89-94 (1986))、脳の希突起膠細胞において活性がある ミエリン塩基性タンパク質遺伝子制御領域(Readheadらの論文、*Cell*、48:703-712 (1987))、骨格筋において活性があるミオシン軽鎖-2遺伝子制御領域(Sani、*Nature*、314:283-286 (1985))、及び、視床下部において活性がある性腺刺激ホルモン放出ホルモン遺伝子制御領域(Masonらの論文、*Science*、234:1372-1378 (1986))を含むが、これらに限定されるものではない。

【0100】

多種多様な宿主/発現ベクター組合せを、本発明のDNA配列の発現において使用することができる。例えば有用な発現ベクターは、染色体セグメント、非-染色体セグメント及び合成DNA配列からなる。適当なベクターは、SV40及び公知の細菌プラスミドの誘導體、例えば*E. coli*プラスミドcol EI、pCR1、pBR322、pMal-C2、pET、pGEX[Smithらの論文、*Gen*

10

20

30

40

50

e、67:31-40 (1988)]、pMB9及びそれらの誘導体、RP4などのプラスミド；ファージDNAs、例えば、多くのファージ誘導体、例えばNM989、及び他のファージDNA、例えばM13及び繊維状1本鎖ファージDNA；2 μ プラスミド又はそれらの誘導体のような、酵母プラスミド；真核細胞において有用なベクター、例えば昆虫又は哺乳類の細胞において有用なベクター；プラスミド及びファージDNAの組合せ由来のベクター、例えばファージDNA又は他の発現制御配列を使用するように修飾されているプラスミド；当該技術分野において公知のものなどを含む。

【0101】

本発明のHCV変異体DNAクローンを含む発現ベクターは、好ましい配列決定分析に加え、4(four)種の一般的な方法により同定することができる：(a)所望のプラスミドDNA又は特異的mRNAのPCR増幅、(b)核酸ハイブリダイゼーション、(c)選択マーカー遺伝子機能の存在又は非存在、(d)適当な制限エンドヌクレアーゼによる分析、及び(e)挿入された配列の発現。第一の手法において、核酸はPCRにより増幅し、増幅産物の検出のために提供することができる。第二の手法において、発現ベクター内の核酸の存在は、HCV変異体DNAと相同である配列を含むプローブを使用する核酸ハイブリダイゼーションにより検出することができる。第三の手法において、組換えベクター/宿主システムは、そのベクターへの外来遺伝子の挿入により引き起されるある種の「選択マーカー」遺伝子機能(例えば、ガラクトシダーゼ活性、チミジンキナーゼ活性、抗生物質耐性、形質転換の表現型、バキュロウイルスにおける封入体形成など)の存在又は非存在を基に同定及び選択することができる。第四の手法において、組換え発現ベクターは、適当な制限酵素による消化により同定される。第五の手法において、組換え発現ベクターは、例えばHCV RNA、HCVビリオン、又はHCVウイルスタンパク質などの組換え体により発現された、遺伝子産物の活性、生化学、又は免疫学的特性をアッセイすることにより同定することができる。

【0102】

例えば、バキュロウイルス発現システムにおいて、例えばpVL941(BamHIクローニング部位；Summers社)、pVL1393(BamHI、SmaI、XbaI、EcoRI、NotI、XmaII、BglII、及びPstIクローニング部位；Invitrogen社)、pVL1392(BglII、PstI、NotI、XmaII、EcoRI、XbaI、SmaI、及びBamHIクローニング部位；Summers社及びInvitrogen社)、並びにpBlueBacIII(BamHI、BglII、PstI、NcoI、及びHindIIIクローニング部位、青/白組換え体スクリーニングが可能である；Invitrogen社)などであるが、これらに限定されるものではない非-融合転移ベクター、並びに例えば、pAc700(BamHI及びKpnIクローニング部位、ここでBamHI認識部位は、開始コドンで始まる；Summers社)、pAc701及びpAc702(pAc700と同じ、異なるリーディングフレーム)、pAc360(ポリヘドリン開始コドンの36塩基対下流にBamHIクローニング部位；Invitrogen社(195))、及びpBlueBacHisA、B、C(3種の異なるリーディングフレーム、BamHI、BglII、PstI、NcoI、及びHindIIIクローニング部位、ProBond精製のためのN-末端ペプチド及びブランクの青/白組換え体スクリーニング；Invitrogen社)などであるが、これらに限定されるものではない融合転移ベクターの両方を使用することができる。

【0103】

本発明において使用することが企図された哺乳類発現ベクターの例は、誘導可能なプロモーターを伴うベクター、例えばジヒドロ葉酸レダクターゼ(DHFR)プロモーター、例えばDHFR発現ベクターを伴ういずれかの発現ベクター、又はDHFR/メトトレキサート同時-増幅ベクター、例えばpED(PstI、SalI、SbaI、SmaI、及びEcoRIクローニング部位、このベクターはクローニングされた遺伝子及びDHFRの両方を発現する)；[Kaufman, Current Protocols in Molecular Biology, 16:12 (1991)参照]である。あるいは、グルタミンシンターゼ/メチオニンスルホキシミン同時-増幅ベクター、例えばpEE14(HindIII、XbaI、SmaI、SbaI、EcoRI、及びBclIクローニング部位、このベクターは、グルタミンシンターゼ及びクローニングされた遺伝子を発現する；Celltech社)である。別の態様において、エプスタイン・バー・ウイルス(EBV)の制御下でエピソード発現を指示するベクターを使用することができ、これは例えばpREP4(BamHI、SfiI、XhoI、NotI、NheI、HindIII、NheI、Pv

ull、及びKpnIクローニング部位、構成的RSV-LTR プロモーター、ヒグロマイシン選択マーカー；Invitrogen社）、pCEP4(BamHI、SfiI、XhoI、NotI、NheI、HindIII、NheI、PvuII、及びKpnIクローニング部位、構成的hCMV前初期遺伝子、ヒグロマイシン選択マーカー；Invitrogen社）、pMEP4(KpnI、PvuI、NheI、HindIII、NotI、XhoI、SfiI、BamHIクローニング部位、誘導可能なメタロチオネインIIa遺伝子プロモーター、ヒグロマイシン選択マーカー；Invitrogen社）、pREP8(BamHI、XhoI、NotI、HindIII、NheI、及びKpnIクローニング部位、RSV-LTRプロモーター、ヒスチジノール選択マーカー；Invitrogen社）、pREP9(KpnI、NheI、HindIII、NotI、XhoI、SfiI、及びBamHIクローニング部位、RSV-LTRプロモーター、G418選択マーカー；Invitrogen社）、並びにpEBVHis(RSV-LTRプロモーター、ヒグロマイシン選択マーカー、ProBond樹脂により精製可能で及びエンテロキナーゼにより切断されたN-末端ペプチド；Invitrogen社)がある。Tet及びrTetのような、調節可能な哺乳類発現ベクターを使用することができる[Gossen及びBujard、Proc. Natl. Acad. Sci. US A、89:5547-51 (1992)；Gossenらの論文、Science、268:1766-1769 (1995)]。本発明において使用するための選択可能な哺乳類発現ベクターは、pRc/CMV(HindIII、BstXI、NotI、SbaI、及びApaIクローニング部位、G418選択；Invitrogen社）、pRc/RSV(HindIII、SpeI、BstXI、NotI、XbaIクローニング部位、G418選択；Invitrogen社)などである。本発明で使用するためのワクシニアウイルス哺乳類発現ベクター[Kaufman、(1991)前掲参照]は、pSC11(SmaIクローニング部位、TK-及び -gal選択)、pMJ601(SaII、SmaI、AflI、NarI、BspMII、BamHI、ApaI、NheI、SacII、KpnI、及びHindIIIクローニング部位；TK-及び -gal選択)、並びにpTKgptF1S(EcoRI、PstI、SaII、AccI、HindII、SbaI、BamHI、及びHpaクローニング部位、TK又はXPRT選択)を含むが、これらに限定されるものではない。

【0104】

酵母発現システムの例をわずかに2種のみ挙げると、非-融合pYES2ベクター(XbaI、SphI、ShoI、NotI、GstXI、EcoRI、BstXI、BamHI、SacI、KpnI、及びHindIIIクローニング部位；Invitrogen社)又は融合pYESHisA、B、C(XbaI、SphI、ShoI、NotI、BstXI、EcoRI、BamHI、SacI、KpnI、及びHindIIIクローニング部位、ProBond樹脂により精製され及びエンテロキナーゼにより切断されたN-末端ペプチド；Invitrogen社)であり、これらを本発明に従い使用することができる。

【0105】

加えて、挿入された配列の発現を変調、もしくは望ましい特異的様式で遺伝子産物を修飾及びプロセッシングする宿主細胞株を選択することができる。様々な宿主細胞は、タンパク質の翻訳及び翻訳後プロセッシング及び修飾(例えば、グリコシル化、切断[例えばシグナル配列の])の特徴的及び特異的機構を有する。酵母における発現は、グリコシル化された産物を生成することができる。真核細胞における発現は、HCVタンパク質の「未変性の」グリコシル化及びフォールディングの可能性を増大することができる。更に、哺乳類細胞における発現は、未変性のHCV ビリオン又はウイルス粒子タンパク質の再構成、又は構成の道具を提供することができる。

【0106】

他のRNAウイルス試験に有用な様々なトランスフェクション法も、過度の実験を行うことなく、ここにおいて利用することができる。例として、微量注入法、細胞融合法、リポフェクションのようなリン酸カルシウムカチオン性リポソーム法[Riceらの論文、New Biol.、1:285-296 (1989)；HCV-based Gene Expression Vectors、前掲参照]、DE-デキストラン法[Riceらの論文、J. Virol.、61:3809-3819 (1987)]、及び電気穿孔法[Bredenbeekらの論文、J. Virol.、67:6439-6446 (1993)；Liljestromらの論文、J. Virol.、65:4107-4113(1991)]を含む。切屑負荷(scrape loading)[Kumarらの論文、Biochem. Mol. Biol. Int.、32:1059-1066 (1994)]及び射出法[Burkholderらの論文、J. Immunol. Meth.、165:149-156 (1993)]も、これら以外の方法によるトランスフェクションに対し難点のある細胞種について考慮することができる。DNAベクター輸送体を考慮することができる[例えば、Wuらの論文、J. Biol. Chem.、267:963-967 (1992)；Wu及びWu、J. Biol. Chem.、263:14621-14624 (1988)；Hartmutらの論文、1990年5月15日に出版されたカナダ国特許出願第2、

10

20

30

40

50

012,311号を参照のこと]。

【0107】

HCV変異体によるin vitroトランスフェクション

HCV複製を支持する細胞株の同定。本発明の重要な局面は、真正の及び標準化されたin vitro HCV変異体複製システムを用い様々な治療的戦略の効力を評価する能力を与えることにより、新規及びより効果的な抗-HCV治療を開発する方法を提供することである。このようなアッセイは、希少及び有益な動物、例えばチンパンジー、又はHCV-感染したヒト患者を用いる臨床試験へと移る前に極めて有益である。本発明の適応変異体は、それらの培養における増殖及びそれらの継代に耐える能力が、野生型菌株よりも優れているので、この研究のために特に有用である。更に本願明細書において明らかにされたレプリコンは、複製は構造タンパク質を混乱する作用を伴わずに評価することができるので、有用である。

10

【0108】

HCV変異体感染性クローン技術も、HCVの複製及びパッケージングの分析のためのin vitro 及びin vivoシステムの確立に有用である。これらは、(i)許容細胞型の同定又は選択(RNA複製、ピリオン集成及び放出について)；(ii)細胞培養パラメータの研究(例えば、培養条件、細胞活性化などの変動)、又は細胞培養物中のHCV複製効率を増大する適応変異の選択；並びに、(iii)感染性HCV変異体粒子(培養上清に放出された又は細胞破壊後に得られたかのいずれか)の効率的産生のための条件の決定を含むが、これらに限定されるものではない。これら及び他の容易に明らかな本発明の拡大は、HCVの治療、ワクチン、及び診断の開発のための広範な利用性を有する。

20

【0109】

許容細胞型を確定する一般的手法を以下に概略する。RNAトランスフェクションの最適法(同じく前掲参照)は、細胞型により変動し、かつRNAレポーター構築体を使用し決定される。これらは例えば、構造5'-CAT-HCV IRES-LUC-3'を持つ、前掲論文及び実施例において明らかにされたバイシストロン性レプリコン、及びバイシストロン性ウイルス[Wangらの論文、J. Virol., 67: 3338-44 (1993)]を含む。これらのHCV変異体は、トランスフェクション条件を最適化し(例えば、トランスフェクション効率を決定するために、 β -ガラクトシダーゼ又はCAT[クロラムフェニコールアセチルトランスフェラーゼ]活性を測定することによる)及びその細胞型がHCV IRES-媒介型翻訳を許容するかどうかを決定する(例えば、LUC；ルシフェラーゼ活性を測定することによる)ための両方で使用される。実際のHCV RNAトランスフェクション実験については、5'キャップ付きのルシフェラーゼレポーターRNA[Wangらの論文、(1993)前掲]との同時トランスフェクションは、増殖性トランスフェクション及び翻訳の内部標準を提供する。HCV複製を許容する可能性のある細胞型の例は、初代ヒト細胞(例えば、肝細胞、T-細胞、B-細胞、包皮繊維芽細胞)に加え、継代ヒト細胞株(例えば、HepG2、Huh7、HUT78、HPB-Ma、MT-2、MT-2C、並びに他のHTLV-1及びHTLV-II感染したT-細胞株、Namalawa、Daudi、EBV-形質転換したLCL)を含むが、これらに限定されるものではない。加えて他の種の細胞株、特にRNAにより容易にトランスフェクションされ並びにフラビウイルス又はペスチウイルスの複製のために許容されるもの(例えばSW-13、Vero、BHK-21、COS、PK-15、MBCKなど)を試験することができる。細胞は、前掲の論文に記された方法を用いてトランスフェクションされる。

30

40

【0110】

複製アッセイのために、増殖性複製の非存在下でのHCV RNA及び抗原の持続性について、HCV変異体及び陰性対照として対応する非-機能性、例えば GDD(実施例参照)誘導体を用いて、RNA転写産物を調製する。鋳型DNA(後の分析のために複合体化する)は、DNaseI処理及び酸性フェノール抽出の反復サイクル、それに続くゲル電気泳動又はゲル濾過のいずれかによる精製により除去され、転写産物 RNA 10^9 分子当り1個未満の増幅可能なDNAが達成されることが好ましい。DNA-非含有RNA転写産物は、LUCレポーターRNAと混合され、かつ先に決定した最適条件を用い細胞培養物をトランスフェクションするために使用される。これらの細胞の回収後、RNaseAが培地へ添加され、過剰な投入RNAが消化され、かつこれらの培養物が様々な期間インキュベーションされる。初期の時点(トランスフェクション後

50

～1日)で収穫され、かつ細胞及び上清(ベースラインとして)中のLUC活性(増殖性トランスフェクションを証明するため)及びポジティブ-鎖RNAレベルについて分析される。試料は、2～3週間の間定期的に収集され、ポジティブ-鎖RNAレベルが、QC-RT/PCRによりアッセイされる[Kolykhalovらの論文、(1996)前掲参照]。無傷の感染性転写産物と非-機能性誘導体の間の明確かつ再現可能な差異、例えば GDD欠失、制御を示している細胞型に、真正の複製であることを証明するためにより徹底的な分析が施される。このようなアッセイは、QC-RT/PCR[Gunjiらの論文、(1994)前掲; Lanfordらの論文、Virology、202:606-14 (1994)]、ノーザンブロットハイブリダイゼーション、又は代謝標識[Yooらの論文、(1995)前掲]及び単独細胞法、例えばin situハイブリダイゼーション[ISH; Gowansらの論文、「核酸プローブ(Nucleic Acid Probes)」(R. H. Symons編集)、Vol.139-158頁、CRC Press社、ボカラトン、(1989)]、in situ PCR[HCV-特異的増幅産物のみを検出するためにISHに準ずる; Haaseらの論文、Proc. Natl. Acad. Sci. USA、87:4971-4975(1990)]、及び免疫組織学による、ネガティブ-センスHCV RNA蓄積の測定を含む。

10

【0111】

ウイルス-受容体相互作用を試験するためのHCV粒子。HCV複製について許容される細胞株の同定と組合せて、限定されたHCV変異体ストックを用い、HCVの細胞受容体との相互作用を評価することができる。ウイルスの易感受性細胞との結合又は増殖性感染を測定するようなアッセイを設定し、その後これらのプロセスのインヒビターをスクリーニングするために使用することができる。

【0112】

HCV受容体の特徴決定のための細胞株の同定。HCV RNA複製について許容性のある細胞株は、RNAトランスフェクションによりアッセイしたように、本発明のHCV変異体を用い、ウイルスにより感染されるそれらの能力についてスクリーニングすることができる。RNA複製について許容性があるが相同ウイルスにより感染できないような細胞株は、HCV結合及び侵入に必要な1種又は複数の宿主受容体を欠いていることがある。このような細胞は、(i) HCV受容体及び補-受容体(co-receptor)の機能性同定及び分子クローニング; (ii) ウイルス-受容体相互作用の特徴決定; 及び、(iii) これらの相互作用を阻害する化合物又は生物製剤(例えば、抗体、SELEX RNA [Bartel及びSzostak、「RNA-タンパク質相互作用(RNA-Protein interactions)」(K. Nagai及びI. W. Mattaj編集)、Vol.82-102頁、IRL Press社、オックスフォード(1995); Goldらの論文、Annu. Rev. Biochem., 64: 763-797 (1995)]など)のスクリーニングのためのアッセイの開発のための有益な道具を提供する。一旦これらの相互作用が定義されると、これらのHCV受容体は、単に治療的標的を利用するのみではなく、HCV感染に対して易感受性とされているトランスジェニック動物において発現することもできる[Koikeらの論文、Dev Biol Stand、78:101-7 (1993); Ren及びRacaniello、J Virol、66:296-304 (1992)]。このようなHCV複製を支持しかつ伝播されたトランスジェニック動物モデルは、抗-HCV薬物の評価のための重要な用途がある。

20

30

【0113】

更にHCV糖タンパク質構造を操作する能力は、変更された受容体特異性を持つHCV変異体を作成するためにも使用することができる。一例において、HCV糖タンパク質は、公知の細胞表面受容体のための異種結合ドメインを発現するために修飾することができる。この手法は、変更された指向性を伴うHCV誘導体の操作を可能にし、かつおそらく非-キメラの小動物モデルへの感染を延長する。

40

【0114】

許容細胞株同定の変法。先に考察しかつ実施例において例証したように、HCV複製のための選択マーカーを含む機能性HCV変異体を操作することができる。例えばドミナント選択マーカーをコードしている遺伝子は、HCVポリタンパク質の一部として、又はHCV RNAゲノムの許容領域に位置した個別のシストロンとして発現することができる。

【0115】

HCV感染及び複製の動物モデル

本発明は、チンパンジーに加え、HCV複製を試験しかつ新規治療を評価するための代用動

50

物モデルの開発を可能にしている。本発明において説明された真正のHCV変異体のクローンを発露物質として使用し、複数の手法を、HCV複製に関する代用動物モデルの確立のために構想することができる。ある明示において、これらの変異体は、HCV複製を支持することが可能であるヒト組織を収容している免疫不全マウスに接種するために使用することができる。この技術の例は、SCID:Huマウスであり、この重篤な合併型免疫不全症を伴うマウスには、様々なヒト(又はチンパンジー)組織が移植され、これは、胎児肝、成人肝、脾臓、又は末梢血単球細胞を含むが、これらに限定されるものではない。SCIDマウスに加え、正常な放射線照射したマウスを、ヒト又はチンパンジー組織移植のためのレシピエントとして使用することができる。その後これらのキメラ動物は、定義されたウイルス含有種菌によるex vivo又はin vivoのいずれかでの感染後に、HCV複製の基体(substrate)となる。

10

【0116】

別の明示において、代用種のHCV複製を可能にする適応変異は、これらの動物において複製を許容するような変異体を作出することができる。例えば連続する齧歯類細胞株又は初代組織(例えば肝細胞)のいずれかにおける複製及び伝播のためのHCVの適応は、このウイルスが小齧歯類モデルにおいて複製することを可能にする。あるいは、DNAシャッフリング[Stemmer、Proc. Natl. Acad. Sci. USA、91:10747 (1994)]又は他の当該技術分野において公知の他の方法により作成されたHCV変異体の複合体ライブラリーは、可能性のある易感受性動物の接種のために作出及び使用することができる。このような動物は、前述のように、免疫コンピテント又は免疫不全のいずれかであることができる。

20

【0117】

HCV変異体の機能活性は、トランスジェニック的に評価することができる。これに関して、トランスジェニックマウスモデルを使用することができる[例えば、Wilmutらの論文、Experientia、47:905(1991)参照]。HCV RNA又はDNAクローンをを用い、ウイルスベクター、プラスミド又はコスミドクローン(又はファージクローン)を含む、トランスジェニックベクターを調製することができる。コスミドは、トランスジェニックマウスへ、公開された手法を用いて導入することができる[Jaenisch、Science、240:1468-1474 (1988)]。トランスジェニックマウスの調製において、胚性幹細胞は、胚盤胞胚から得られ[Joyner、「遺伝子ターゲティング：実践的方法(In Gene Targeting: A Practical Approach)」；The Practical Approach Series、Rickwood、D.及びHames、B. D.編集、IRL Press社：オックスフォード(1993)]、かつHCV変異体DNA又はRNAによりトランスフェクションされる。トランスフェクションされた細胞は、説明されているように、マウス胚のような初期胚に注入される[Hammerらの論文、Nature、315:680 (1985)；Joyner、前掲]。トランスジェニック動物の調製についての様々な技術が開示されている[米国特許第5,530,177号、1996年6月25日発行；米国特許第5,898,604号、1996年12月31日発行]。特に興味深いのは、導入遺伝子の表現型又は病原型の作用について試験したようなトランスジェニック動物モデルである。例えばラットホスホエノールピルビン酸カルボキシキナーゼ-ウシ成長ホルモン融合体遺伝子の作用が、ブタにおいて研究されている[Wieghartらの論文、J. Reprod. Fert.、補遺、41:89-96 (1996)]。アルツハイマー症に関連したヒトアミロイド前駆体タンパク質をコードしている遺伝子を発現しているトランスジェニックマウスを用い、この疾患及び他の障害を研究することができる[国際公開公報第96/06927号、1996年3月7日公開；Quonらの論文、Nature、352:239 (1991)]。トランスジェニックマウスは更に、肝炎デルタ剤[Poloらの論文、J. Virol.、69:5203 (1995)]及びB型肝炎ウイルス[Chisari、Curr. Top. Microbiol. Immunol.、206:149 (1996)]に関して作出することができ、かつこれらの操作した動物において複製する。

30

40

【0118】

従ってここに記した機能性HCV変異体又はそれらの一部は、HCV複製及び病理発生に関連したトランスジェニックモデルを作出するために使用することができる。一例として、HCV変異体の全ゲノムを収容しているトランスジェニック動物を作出することができる。本発明のトランスジェニックマウスにおける全HCV変異体ゲノムのトランスジェニック発現の

50

ための適当な構築体は、適当な5'末端を伴う転写産物を産生するように操作された核プロモーター、完全長HCV変異体cDNA配列、シス-切断デルタリボザイムを含み[Ball, J. Virol., 66:2335-2345 (1992); Pattnaikらの論文、Cell, 69:1011-1020 (1992)]、真正の3'末端、それに続く可能性のある適当な核プロセッシングを促進し、細胞質(HCV RNA複製が生じる)へ輸送するシグナルを作成する。動物を、全HCV変異体ゲノムに加え、HCVタンパク質及びRNAエレメントを個別に又は様々な組合せで発現するように操作することができる。例えばHCV IRESの制御下で HCV遺伝子産物又はレポーター遺伝子を発現するように操作した動物を使用し、この特定のRNA標的に対して方向付けられた治療を評価することができる。類似の動物モデルが、大部分の公知のHCV標的について構想されている。

【0119】

10

このような代用の動物モデルは、(i)全動物システムにおける様々な抗ウイルス剤のレプリコンを含むHCV変異体の複製に対する作用の研究；(ii)HCV遺伝子産物の肝細胞及び他の細胞型に対する可能性のある直接細胞傷害性作用の試験、基礎となる関連した機構の定義、並びに治療的介入のための戦略の確定及び試験；及び、(iii)HCV病理発生に関連した細胞及び組織損傷に対する免疫が媒介した機構の試験、並びにこれらのプロセスを妨害する戦略の確定及び試験に有用である。

【0120】

薬剤耐性変異体の選択及び分析

HCV複製を支持する細胞株及び動物モデルを用い、現存する及び新規の治療に対する耐性を持つHCV変異体の出現を試験することができる。全てのRNAウイルス同様、HCVレプリカーゼは、校正機構活性を欠くと推定され、その結果RNA複製は誤る傾向があり、高レベルの変動を生じる[Bukhらの論文、(1995)前掲]。この可変性は、感染した患者の経時的及び異なる単離体間で認められるかなりの多様性を明らかにする。薬物-耐性変異体の出現は、HCV単剤療法又は併用療法のデザイン及び評価においてかなり重要であろう。本発明のHCV複製システムは、様々な治療的処方の下で変異体の出現を調べるために使用することができる。これらは、単剤療法又は様々な併用療法(例えば、IFN- α 、リバビリン、及び新規抗ウイルス化合物)を含むことができる。その後耐性突然変異体を用い、耐性の分子及び構造の基礎を定義し、有効な抗-HCV薬(前記)の新規治療的処方、又はスクリーニングアッセイを評価することができる。

20

【0121】

30

抗-HCV薬のスクリーニング

適応HCV変異体を含むHCV-許容細胞株又は動物モデル(好ましくは齧歯類モデル)を用い、新規インヒビターをスクリーニングするか、もしくは候補抗-HCV療法を評価することができる。このような療方は、(i)保存されたHCV RNA標的を標的としたアンチセンスオリゴヌクレオチド又はリボザイム；(ii)HCV複製の阻害が可能な注射可能な化合物；及び、(iii)HCV複製を阻害することが可能な経口的に生体利用可能な化合物を含むが、これらに限定されるものではない。このような処方の標的は、(i)RNA複製及びRNAパッケージングに重要な保存されたHCV RNAエレメント；(ii)HCV-コードされた酵素；(iii)HCV RNA複製、ウイルス集成、ウイルス放出、ウイルスの受容体結合、ウイルス侵入、及びウイルスRNA複製開始に重要な、タンパク質-タンパク質及びタンパク質-RNA相互作用；(iv)HCVの慢性感染を確立する能力を変調するウイルス-宿主相互作用；(v)アポトーシス及び肝毒性に影響を及ぼす因子を含む、肝損傷の重症度を変調するウイルス-宿主相互作用；(vi)肝硬変及び肝細胞癌を含むより重症の臨床転帰の発生につながるウイルス-宿主相互作用；及び、(vii)その他のより頻度が少ないHCV-関連ヒト疾患を生じるウイルス-宿主相互作用を含むが、これらに限定されるものではない。

40

【0122】

アンチセンス及びリボザイム療法の評価。本発明は、HCV複製を妨害する能力について試験することができるアンチセンスヌクレオチド及びリボザイムの調製に及ぶ。この手法は、アンチセンス核酸によりそのmRNAをマスキングするか又はリボザイムによりそれを切断するかのいずれかにより、特異的mRNAの翻訳をブロックするために、アンチセンス核酸及

50

リボザイムを利用する。

【0123】

アンチセンス核酸は、少なくとも一部は特異的mRNA分子に相補的であるDNA又はRNA分子である。アンチセンス技術に関する総説は以下を含む：Baertschi、Mol. Cell. Endocrinol.、101:R15-R24(1994)；Crookeらの論文、Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.、36:107-129 (1996)；Alamaらの論文、Pharmacol. Res.、36:171-178；及び、Boyerらの論文、J. Hepatol.、32(補遺1):98-112(2000)。最後の総説は、HCVに適用されるようなアンチセンス技術を考察している。

【0124】

これらの細胞において、これらはそのmRNAへハイブリダイズし、2本鎖DNA:RNA又はRNA:RNA分子を形成する。この細胞は、この2本鎖型においてはmRNAを翻訳しない。従ってアンチセンス核酸は、mRNAのタンパク質への発現を妨害する。約15個のヌクレオチドのオリゴマー及びAUG開始コドンへハイブリダイズする分子は特に効果的であり、その理由は、これらは合成が容易であり、かつそれらが器官細胞へ導入された場合にはおそらくより大きい分子よりも少ない問題点を生じるからである。アンチセンス法は、多くの遺伝子のin vitroにおける発現を阻害するために使用される。好ましい合成アンチセンスヌクレオチドは、天然のリン酸エステル結合よりもむしろ、ホスホロチオラートのようなリン酸エステル、又はチオエステルなどを含む。このようなリン酸エステル結合アナログは、アンチセンス核酸の分解に対してより抵抗性があり、安定性を増大し、その結果その効力を増大する。

【0125】

遺伝的アンチセンス法において、野生型対立遺伝子の発現は、アンチセンスRNAの発現のために抑制される。この技術は、組織培養においてTK合成を阻害するため、並びにショウジョウバエ(Drosophila)におけるKruppel変異及びマウスにおけるShiverer変異の表現型を作出するために使用されている[Izantらの論文、Cell、36:1007-1015 (1984)；Greenらの論文、Annu. Rev. Biochem.、55:569-597 (1986)；Katsukiらの論文、Science、241:593-595 (1988)]。この手法の重要な利点は、全コグネイトmRNA発現の効果的阻害のために、その遺伝子の必要とされる小さい部分のみが発現されることである。このアンチセンス導入遺伝子は、正確な細胞型において発現されたそれ自身のプロモーター又は他のプロモーターの制御下に配置され、かつSV40ポリA部位の上流に配置されるであろう。

【0126】

リボザイムは、DNA制限エンドヌクレアーゼと若干類似した方法で他の1本鎖RNA分子を特異的に切断する能力を有するRNA分子である。リボザイムは、ある種のmRNAはそれら自身のイントロンを切り出す能力を有するという知見から発見された。研究者らは、これらのRNAのヌクレオチド配列を修飾することにより、RNA分子において特異的ヌクレオチド配列を認識する分子を操作しかつそれを切断することができる。最近の総説は、Shippyらの論文、Mol. Biotechnol.、12:117-129 (1999)；Schmidt、Mol. Cells、9:459-463 (1999)；Phylactouらの論文、Meth. Enzymol.、313:485-506 (2000)；Oketaniらの論文、J. Hepatol.、31:628-634 (1999)；Macejakらの論文、Hepatology、31:769-776 (2000)がある。最後のふたつの参考文献は、HCVの阻害に関するリボザイムの使用を明らかにしている。これらは配列-特異的であるので、特定の配列を有するmRNAのみが不活性化される。

【0127】

本発明者らは、テトラヒメナ(Tetrahymena)-型及び「ハンマーヘッド」-型の2種のリボザイムを同定した。テトラヒメナ-型リボザイムは、4個の塩基配列を認識するのに対し、「ハンマーヘッド」-型は11~18個の塩基配列を認識する。より長い認識配列は、これが標的mRNA種に優先的に生じる可能性がより大きい。従って、「ハンマーヘッド」-型リボザイムは、特定のmRNA種の不活性化にはテトラヒメナ-型リボザイムよりも好ましく、かつ18個の塩基認識配列が、より短い認識配列よりも好ましい。

【0128】

抗-HCV活性のスクリーニング化合物ライブラリー。様々な天然の産物又は合成のライブラ

10

20

30

40

50

リーを、本発明により提供されたようなHCV変異体を含むin vitro又はin vivoモデルにおいて、抗-HCV活性についてスクリーニングすることができる。コンビナトリアルライブラリー作成のひとつの手法は、主に化学的方法を使用し、例としてGeysen法[Geysenらの論文、Molecular Immunology、23:709-715 (1986) ; Geysenらの論文、J. Immunologic Method、102:259-274 (1987)]及びFodorらの方法[Science、251:767-773 (1991)]がある。Furkaら[14th International Congress of Biochemistry, Volume 5, Abstract FR:013 (1988) ; Furka、Int. J. Peptide Protein Res.、37:487-493 (1991)]、Houghton[1986年12月に発行された米国特許第4,631,211号]及びRutterら[1991年4月23日に発行された米国特許第5,010,175号]は、抗-HCV活性を試験することができるペプチド混合物を生成する方法を開示している。

10

【0129】

別の局面において、合成ライブラリー[Needelsらの論文、Proc. Natl. Acad. Sci. USA、90:10700-4 (1993) ; Ohlmeyerらの論文、Proc. Natl. Acad. Sci. USA、90:10922-10926 (1993) ; Lamらの論文、国際公開公報第92/00252号 ; Kocisらの論文、国際公開公報第94/28028号]などを用い、本発明に従い抗-HCV化合物についてスクリーニングすることができる。これらの参考文献は、生物学的アッセイにおけるライブラリースクリーニング技術の適応について説明している。

【0130】

中和アッセイのために定義/操作されたHCV変異体ウイルス粒子。本願明細書において説明された変異体は、感染力及び中和アッセイのための限定されたHCV粒子ストックを作成するために使用することができる。均質なストックは、チンパンジーモデル、細胞培養システムにおいて、又は様々な異種発現システムを用いて(例えばバキュロウイルス、酵母、哺乳類細胞 ; 前掲参照)作成することができる。これらのストックは、HCV粒子生成又は感染力を中和することが可能である分子又は遺伝子治療法を限定するために、細胞培養又はin vivoアッセイにおいて使用することができる。このような分子の例は、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体、操作され/最適化された特異性を持つ人工抗体、1本鎖抗体(下記の抗体の項参照)、特異的結合及び中和のために選択された核酸又は誘導された核酸、小さい経口的に生体利用可能な化合物などを含むが、これらに限定されるものではない。保存されたウイルス又は細胞の標的に対し標的化されたこのような中和物質は、遺伝子型又は単離体に特異的であるかもしくは広く交差-反応性であるかのいずれかであることができる。これらはウイルスの負荷を低下しかつおそらくは他の抗ウイルス剤(例えば、IFN- α 、リバビリンなど)との併用においてより効果的な治療のチャンスを増大するために、予防的にもしくは受動免疫療法のいずれかで使用することができる。抗体中和、CTL認識、免疫回避及び免疫賦活の機構を研究するために、糖タンパク質の超可変領域又は他のエピトープに定義された変化を伴うHCVストックを作成するために、指定されたHCV感染性クローンの操作も使用することができる。これらの研究は、抗-ウイルス治療のためのその他のウイルス-特異的機能の同定につながるであろう。

20

30

【0131】

HCV複製の詳細分析

他のHCV複製アッセイ。本発明は、HCV複製の指定された分子の遺伝学的詳細分析を可能にする。このような分析は、(i)現在購入される抗ウイルス標的をバリデーションし ; 及び、(ii)治療的介入に従うHCV複製の予想外の新規局面を明らかにすることが期待される。突然変異誘発試験を通じての即時(immediate)バリデーションのための標的は以下を含む : 5' NTR、HCVポリタンパク質及び切断産物、並びに3' NTR。前述のように、HCV変異体及び許容細胞培養物を使用する分析を用い、細胞培養物の感染性RNAによるトランスフェクション後に、親及び突然変異体の複製表現型を比較することができる。例えばRT-PCRがウイルスRNA蓄積の高感度検出を可能にするとしても、RNA複製効率を低下する変異は、条件突然変異株が回収されない限りは分析は困難であろう。初回サイクル分析に対する相補体として、trans-相補性アッセイを用い、HCV突然変異体表現型の分析及びインヒビターのスクリーニングを促進することができる。異種システム(ワクシニア、シンドビス、又は非-

40

50

ウイルス)の一部を含むキメラ変異体を用い、HCV RNAレプリカーゼタンパク質の発現及び／又はパッケージング機構を駆動することができる[Lemm及びRice、J. Virol.、67:1905-1915 (1993a)；Lemm及びRice、J. Virol.、67:1916-1926 (1993b)；Lemmらの論文、EMBO J.、13:2925-2934 (1994)；Liらの論文、J. Virol.、65:6714-6723 (1991)参照]。これらのエレメントがtransで機能することが可能であるならば、その後のRNAの適当なcis-エレメントとの同時-発現は、RNA複製／パッケージングを生じるはずである。従ってこのようなシステムは、真正のRNA複製及びビリオン集成の工程を模倣するが、HCV複製のウイルス成分の作出とはつながっていない。HCV複製がある程度自己限定的であるならば、異種システムは、有意により高いレベルのRNA複製又は粒子作成を駆動し、突然変異体表現型の分析及び抗ウイルス性のスクリーニングを促進することができる。第三の手法は、HCV 10
 鑄型-依存型RNA複製のための細胞-非含有システムを考案することである。組合わせた翻訳／複製及び集成システムが、HeLa細胞におけるポリオウイルスについて説明されており[Barton及びFlanegan、J. Virol.、67:822-831 (1993)；Mollaらの論文、Science、254:1647-1651 (1991)]、並びにネガティブ-鎖合成の開始に関する鑄型-依存型in vitroアッセイがシンドビスウイルスについて確立されている。HCV変異体を使用する同様のin vitroシステムは、HCV複製の多くの局面の研究に加え、インヒビターのスクリーニング及び評価について貴重である。これらの戦略の各例を以下に示す。

【0132】

ウイルス又は非-ウイルス発現システムを使用するHCV RNA複製及び／又はパッケージングのtrans-相補性。異種システムを用いて、HCV複製を駆動する。例えば、ワクシニア／T7 20
 細胞質発現システムは、RNAウイルスレプリカーゼのtrans-相補性及びパッケージング機能について極めて有用である[Ball、(1992)前掲；Lemm及びRice、(1993a)前掲；Lemm及びRice、(1993b)前掲；Lemmらの論文、(1994)前掲；Pattnaikらの論文、(1992)前掲；Pattnaikらの論文、Virology、206:760-4 (1995)；Porterらの論文、J. Virol.、69:1548-1555 (1995)]。簡単に述べると、ワクシニア組換え体(vTF7-3)を用い、関心のある細胞型においてT7 RNAポリメラーゼ(T7RNApol)を発現する。T7プロモーターの下流に位置した標的cDNAは、ワクシニア組換え体として又はプラスミドトランスフェクションによるかのいずれかで送達される。このシステムは、高レベルRNA及びタンパク質発現につながる。ワクシニア(これはHCV RNAの複製又はビリオン形成を妨害する)の必要性を予め避けるこの手法の変法は、T7プロモーターがT7RNApolの発現を駆動するpT7T7システムである[Chenらの 30
 論文、Nucleic Acids Res.、22:2114-2120 (1994)]。pT7T7は、T7RNApol(タンパク質)と混合することができ、かつ関心のあるT7で駆動される標的プラスミドと同時にトランスフェクションすることができる。追加されたT7RNApolは、転写を開始し、自己標的遺伝子の生成及び高レベル発現につながる。いずれかの手法を用い、正確な5'及び3'末端を伴う変異体のRNA転写産物を、T7転写開始部位(5'側)及びcis-切断型HCVリボザイム(Rz)(3'側)を用いて作出することができる[Ball、(1992)前掲；Pattnaikらの論文、(1992)前掲]。

【0133】

これら又は類似の発現システムを用い、HCV変異体を使用するHCV RNA複製及び粒子形成のためのアッセイ、並びにこれらのプロセスを阻害することができる化合物を評価するためのアッセイを確立することができる。T7-駆動タンパク質発現構築体及び3' NTRの後ろにHCVリボザイムを組込んでいる完全長HCV変異体も使用することができる。pT7T7について説明されたアッセイをバリデーションする典型的実験計画は、本質的に類似したアッセイであるが、vTF7-3又はT7 RNAポリメラーゼを発現している細胞株を用いて想定することができる。HCV-許容細胞は、pT7T7+T7RNApol+p90/HCVFLlong pU Rz(又は GDDのような陰性対照)により同時-トランスフェクションされる。トランスフェクション後異なる時点で、pT7T7システムにより駆動されたHCVタンパク質及びRNAの蓄積は、各々ウェスタンブロット及びノーザンブロットにより追跡される。HCV-特異的レプリカーゼ機能をアッセイするために、アクチノマイシンDを添加し、DNA-依存型T7転写をブロックし[Lemm及びRice、(1993a)前掲]、かつアクチノマイシンD-耐性RNA合成を代謝標識によりモニタリングする。放 40
 50

射能は、p90/HCVFL long pU/Rzについては完全長HCV RNAへ組込まれるが、p90/HCVFL GD/Rzについては組込まれない。本発明のHCV変異体を用い、このアッセイシステム、又は入念に作成された誘導体を用い、インヒビターをスクリーニングしかつそれらのHCV RNA複製に対する作用を試験することができる。

【0134】

HCV複製及びそれらのインヒビターのアッセイのための細胞-非含有システム。HCV RNA複製を試験するための細胞-非含有アッセイ及びインヒビタースクリーニングも、本発明において説明した変異体を用いて確立することができる。ビリオン又は転写されたRNAのいずれかを、基体RNAとして使用する。HCVについて、in vitroで転写された完全長HCV変異体RNAを用い、このようなin vitroシステム及びポリオウイルスについて説明されたように本質的にアッセイされた複製をプログラムすることができる[Bartonらの論文、(1995)前掲参照]。肝細胞-特異的又は他の要因がHCV変異体RNA複製に必要な場合、このシステムに、肝細胞又は他の細胞抽出物を補充するか、あるいは同等のシステムを、HCV変異体の複製について許容されることが示されている細胞株を用いて確立することができる。

10

【0135】

この手法に関するひとつの懸念は、HCVポリタンパク質の適切な細胞-非含有合成及びプロセッシングを行わなければならないことである。十分量の適切にプロセッシングされたレプリカーゼ成分を作出することは困難である。この問題点を回避するために、T7発現システムを用い、適当な細胞において高レベルのHCVレプリカーゼ成分を発現することができる[Lemmらの論文、(1997)前掲参照]。これらの細胞由来のP15膜画分(緩衝液、 Mg^{2+} 、ATP再生系、及びNTPの添加を伴う)は、HCV-特異的鋳型RNAの添加時に、完全長ネガティブ-鎖RNAを開始し合成しなければならない。

20

【0136】

前記アッセイのいずれか又は両方の確立は、HCV RNA複製の様々な工程の複製及びインヒビターに関連したHCV変異、宿主因子の作用の迅速かつ正確な分析を可能にする。これらのシステムは、複製-欠損HCVベクターの調製に関するヘルパーシステムの要件も確立するであろう。

【0137】

ワクチン及び防御免疫

効果的HCVワクチンの開発に影響を及ぼす未知のパラメータが依然多く存在する。ヒト及びチンパンジーの両方において、一部の個体は感染をクリアできることが明らかである。更にIFNで処置したものの10~20%又はIFN及びリバビリンで処置したもののこの割合のほぼ2倍が、循環血中HCV RNAの欠如により明示される持続反応を示す。他の研究は、相同ウイルスに加えより離れた関係のHCV型による再感染の成功により明示されるような、感染防御免疫の欠如を示している[Farciらの論文、(1992)前掲; Princeらの論文、(1992)前掲]。しかしE1E2オリゴマー及びこれらのタンパク質を発現しているワクシニア組換え体からなるサブユニットワクチンにより免疫処置されたチンパンジーは、低用量チャレンジに対して部分的に保護される[Chooらの論文、Proc. Natl. Acad. Sci. USA、91:1294 (1994)]。本発明において説明されたHCV変異体の技術は、HCVに対する防御免疫応答の性質を理解することを目的とした基礎的研究のためのみではなく、新規ワクチン製法にも関する有用性を有する。

30

40

【0138】

HCVに対する能動免疫は、好ましくは免疫学的に有効なアジュバントを伴う、免疫原量の弱毒化した又は不活性化したHCV変異体ビリオン、又はHCVウイルス粒子タンパク質による免疫処置(ワクチン接種)により誘導することができる。「免疫学的に有効なアジュバント」とは、免疫応答を増強する物質である。

アジュバントの選択は、ワクチン接種される対象によって左右される。好ましくは、医薬として許容できるアジュバントが使用される。例えば、ヒト用ワクチンは、完全及び不完全フロイントアジュバントを含む、油状乳剤又は炭化水素乳剤アジュバントは避けなければならない。ヒト用のアジュバントの一例は、ミョウバン(アルミナゲル)である。しかし

50

動物用ワクチンは、ヒトにおける使用に適さないアジュバントを含むことができる。

【0139】

抗原及びアジュバントを含有する従来型のワクチンの代替品は、対象の組織の細胞による抗原発現のための、その抗原をコードしているDNA又はRNAの対象組織への直接in vivo導入に関連している。このようなワクチンは、本願明細書において遺伝ワクチン、DNAワクチン、遺伝子ワクチン接種、又は核酸-ベースのワクチンと称されている。DNAベクター又はベクター輸送体などの、前述のトランスフェクション法を、DNAワクチンに使用することができる。

【0140】

DNAワクチンは、例えば、その内容全体が本願明細書に参照として組入れられている、国際公開公報第95/20660号及び国際公開公報第93/19183号に開示されている。ウイルスのタンパク質又はゲノムをコードしている直接注射されたDNAの防御免疫応答を誘発する能力は、多くの実験システムにおいて明らかにされている[Conryらの論文、Cancer Res., 54:1164-1168 (1994); Coxらの論文、Virology, 199:132-140 (1994); Davisらの論文、Hum. Mole. Genet., 2:1847-1851 (1993); Sedegahらの論文、Proc. Natl. Acad. Sci., 91:9866-9870 (1994); Montgomeryらの論文、DNA Cell Bio., 12:777-783 (1993); Ulmerらの論文、Science, 259:1745-1749 (1993); Wangらの論文、Proc. Natl. Acad. Sci., 90:4156-4160 (1993); Xiangらの論文、Virology, 199:132-140 (1994)]。インフルエンザウイルスの中和におけるこの戦略を評価する研究は、抗体産生を誘導するために、エンベロープ及び内部ウイルスタンパク質の両方を使用しているが、特にウイルスの赤血球凝集素タンパク質(HA)に焦点を当てている[Fynanらの論文、DNA Cell Biol., 12:785-789 (1993A); Fynanらの論文、Proc. Natl. Acad. Sci., 90:11478-11482 (1993B); Robinsonらの論文、Vaccine, 11:957 (1993); Websterらの論文、Vaccine, 12:1495-1498 (1994)]。

【0141】

防御免疫応答を誘発するタンパク質をコードしているDNA又はRNAの直接注射によるワクチン接種は、細胞媒介反応及び体液性反応の両方を生じる。これは、生存ウイルスについて得られた結果と同様である[Razらの論文、Proc. Natl. Acad. Sci., 91:9519-9523 (1994); Ulmer, 1993, 前掲; Wang, 1993, 前掲; Xiang, 1994, 前掲]。フェレットを用いる研究は、表面の糖タンパク質と共に、インフルエンザの保存された内部ウイルスタンパク質に対するDNAワクチンは、不活化ワクチン又はサブピリオンワクチンのいずれよりも、インフルエンザウイルスの抗原性変異体に対してより効果があることを示している[Donnellyらの論文、Nat. Medicine, 6:583-587 (1995)]。実際、マウスにおいて動物の生存期間本質的に持続する核タンパク質をコードしているDNAに対する再現性のある免疫応答が報告されている[Yankauckasらの論文、DNA Cell Biol., 12:771-776 (1993)]。

【0142】

本発明のワクチンは、筋肉内、腹腔内、静脈内、動脈内(例えば、Ripatic動脈)などを含むが、これらに限定されるものではない非経口的経路により投与することができる。好ましくはワクチン接種の望ましい結果から、リンパ系組織、例えばリンパ節又は脾臓に対する、直接投与、又は間接的ウイルスベクターの標的化又は選択により、HCVに対する免疫応答を説明する。免疫細胞は連続して複製しているので、これらはレトロウイルスベクター-ベースの核酸ワクチンの理想的標的であり、その理由はレトロウイルスは複製している細胞を必要とするからである。

【0143】

受動免疫は、HCV感染に罹患している疑いのある動物対象に、HCVに対する抗血清、中和したポリクローナル抗体、又は中和したモノクローナル抗体の対象への投与により与えられる。受動免疫用量は長期にわたる防御はもたらさないが、これは、ワクチン接種していない対象の急性感染の治療に関して価値がある道具である。受動免疫療法のために投与された抗体は、自家抗体であることが好ましい。例えば対象がヒトである場合、この抗体に対する免疫応答の可能性を最小化するために、この抗体は、ヒト起源であるか、もしくは「ヒト化」されていることが好ましい。加えて、中和抗体をコードしている遺伝子は、例え

ば肝細胞におけるin vivo発現のためにベクターに導入することができる。

【0144】

受動免疫療法のための抗体。好ましくは、前述のように調製されたHCV変異体のビリオン又はウイルス粒子タンパク質を免疫原として使用し、HCVを認識する抗体を作出する。この利用される変異体は、野生型被膜を有さなければならない。このような抗体は、ポリクローナル、モノクローナル、キメラ、1本鎖、Fab断片及びFab発現ライブラリーを含むが、これらに限定されるものではない。当該技術分野において公知の様々な手法を用い、HCVに対するポリクローナル抗体を作出することができる。抗体産生に関して、ウサギ、マウス、ラット、ヒツジ、ヤギなどを含むが、これらに限定されるものではない様々な宿主動物を、例えば後述のようなHCVビリオン又はポリペプチドを注射することにより、免疫処置することができる。フロイント(完全及び不完全)、水酸化アルミニウムのような無機ゲル、界面活性剤、例えばリソレシチン、プルロニックポリオール、ポリアニオン、ペプチド、油状乳剤、キーホールリンペットヘモシアニン、ジニトロフェノール、並びに潜在的に有用なヒトアジュバント、例えばBCG(バシル・カルメット・ゲラン菌)及びコリオバクテリウムパルブムを含むが、これらに限定されるものではない様々なアジュバントを、宿主の種に応じて、免疫学的反応を増強するために使用することができる。

【0145】

先に説明されたようなHCVに対するモノクローナル抗体の調製について、培養中の連続的継代細胞株により抗体分子産生を提供するあらゆる技術を使用することができる。これらは、Kohler及びMilstein[Nature 256:495-497 (1975)]により当初開発されたハイブリドーマ技術に加え、トリオーマ技術、ヒトB-細胞ハイブリドーマ技術[Kozborらの論文、Immunology Today、4:72 (1983) ; Coteらの論文、Proc. Natl. Acad. Sci. USA、80:2026-2030 (1983)]、並びにヒトモノクローナル抗体を産生するための EBV-ハイブリドーマ技術[Coleらの論文、Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy、Alan R. Liss社、77-96頁 (1985)]を含むが、これらに限定されるものではない。本発明の追加の態様において、モノクローナル抗体は、無菌動物において作出することができる[1989年12月28日に公開された国際公開公報第89/12690号]。実際本発明に従い、HCVに特異的なマウス抗体分子に由来する遺伝子を、適当な生物学的活性のヒト抗体分子由来の遺伝子と共にスプライシングすることによる、「キメラ抗体」作出のために開発された技術[Morrisonらの論文、J. Bacteriol.、159:870 (1984) ; Neubergerらの論文、Nature、312:604-608 (1984) ; Takedaらの論文、Nature、314:452-454 (1985)]を使用することができ；このような抗体は本発明の範囲内である。このようなヒト又はヒト化されたキメラ抗体は、特に同種反応においてそれ自身免疫応答を誘導する可能性が、異種抗体よりもはるかに低いので、ヒト又はヒト化された抗体は、ヒト疾患又は障害の治療における使用に好ましい(後述)。

【0146】

本発明に従い、1本鎖抗体の作出について説明された技術[Hustonの米国特許第5,476,786号及び第5,132,405号；米国特許第4,946,778号]を、HCV-特異的1本鎖抗体の作出に適用することができる。追加の本発明の態様は、望ましい特異性を有するモノクローナルFab断片の迅速かつ容易な同定を可能にするためのFab発現ライブラリーの構築に関して説明された技術を利用する[Huseらの論文、Science、246:1275-1281 (1989)]。

【0147】

抗体分子のイディオタイプを含む抗体断片は、公知の技術により作成することができる。例えばこのような断片は以下を含むが、これらに限定されるものではない：抗体分子のペプシン消化により作出されるF(ab')₂断片；F(ab')₂断片のジスルフィド橋を還元することにより作成することができる、Fab'断片、並びに抗体分子をパバイン及び還元剤により処理することにより作成することができるFab断片。

【0148】

サブユニットワクチン接種のためのHCV粒子。本発明の機能性HCV変異体を用い、ワクチン接種のためのHCV-様粒子を作出することができる。HCV粒子の適当なグリコシル化、折畳み、及び集成は、適当な抗原性及び防御サブユニットワクチンの作出のために重要である

10

20

30

40

50

。粒子産生にいくつかの方法を用いることができる。これらは、HCV-様粒子(細菌、酵母又は哺乳類細胞の使用)の誘導性又は構成性発現のための安定した細胞株の操作、又は組換え体バキュロウイルス、ワクシニアウイルスなどの、より高いレベルの真核異種発現システムの使用 [Moss, Proc. Natl. Acad. Sci. USA., 93:11341-11348 (1996)]、又はアルファウイルスの使用[Frolovらの論文、(1996)前掲]を含む。免疫処置のためのHCV粒子は、それらの局在に応じて、培地又は破壊された細胞のいずれかから精製することができる。このような精製されたHCV粒子又はHCV遺伝子型のスペクトルを示す粒子混合物は、免疫原性を高めるために様々なアジュバントを使用する又は使用せずに注射することができる。

【0149】

感染性の複製しないHCV粒子。別の明示において、受容体結合、侵入、及びゲノムRNAの翻訳が可能なHCV変異体粒子を作出することができる。このような粒子作出の異種発現法は、適当なHCV RNA及びタンパク質を発現するように操作した、組換えバキュロウイルス、組換えワクシニアウイルス、組換えアルファウイルス又はRNAレプリコン、もしくは組換えアデノウイルスに感染した又はこれを収容しているE. coli、酵母、又は哺乳類細胞株、適当な宿主細胞を含むが、これらに限定されるものではない。一例として、ふたつの組換えバキュロウイルスが操作される。ひとつのバキュロウイルスは、HCV粒子の集成に必要なHCV構造タンパク質(例えば、C-E1-E2-p7)を発現する。第二の組換え体は、GDD又はGDD-> AAG(実施例1参照)のような欠失がHCV NS5B RDRPの不活性化のために含まれること以外は、正確な5' 及び3' 末端を伴う、全HCVゲノムRNAを発現する。増殖性HCV複製を停止している別の変異も、代わりに又は組合せて利用することができる。適当な宿主細胞(Sf9、Sf21など)の両方の組換え体による同時トランスフェクションは、HCV-様粒子へのパッケージングのための高レベルのHCV構造タンパク質及びゲノムRNAを作成するであろう。このような粒子は、高レベルで作成され、精製され、かつワクチン接種に使用することができる。一旦ワクチンに導入された場合、このような粒子は、HCV-易感受性細胞の正常な受容体結合及び感染を示す。更なるゲノムの複製が完全にブロックされ不活性化されたNS5Bポリメラーゼを生じない限りは、侵入が生じ、かつこのゲノムRNAは、翻訳され正常なHCV抗原の全てを産生するであろう。このような粒子は、構造及び非-構造HCVタンパク質抗原に対する有効なCTL反応を誘発すると予想される。このワクチン接種戦略は、単独でもしくは好ましくは先に説明したサブユニット戦略と組合せて使用し、ウイルスのクリアを補助するために高レベルの抗体中和及びCTL反応の両方を誘発することができる。様々な異なるHCVゲノムRNA配列を用い、広範な交差-反応性及び防御免疫応答を確実にすることができる。加えて、遺伝子操作を通じて、又はin vitro誘導によるかのいずれかによるHCV粒子の修飾を、防御の誘発及び長期持続性免疫応答時に細胞を最も効果的に感染標的化するために使用することができる。

【0150】

生存-弱毒化したHCV誘導体。HCVゲノムRNA配列を操作しそれにより変更された病原性を伴う突然変異体を作成する能力は、ワクチン接種に適した生存-弱毒化したHCV変異体を構築する手段を提供する。このようなワクチン候補は防御抗原を発現するが、疾患を引き起し、慢性感染を確立し、自己免疫応答を誘発し、かつ細胞を形質転換するそれらの能力は損なわれていないであろう。

加えて、細胞培養において繁殖されたウイルスは、in vivoにおいて弱毒化された表現型を展示するそれらのRNAゲノムにおける変異を獲得することが多いが、依然それらの免疫原性を保持している。弱毒化されたウイルス菌株は、疾患を引き起しかつ慢性感染を確立するそれらの能力が損なわれるであろう。組織培養に適したHCV変異体の産生は、弱毒化生ワクチンの可能性のある候補を表している。本願明細書にクローンIとして説明された(実施例1参照)NS5Aに欠失を含むHCV誘導体の産生は魅力的な可能性である。このような変異体は、宿主において野生型に戻る可能性がある。

【0151】

HCV変異体-ベースの遺伝子発現ベクター

更にヒトの慢性肝感染につながるこのHCVの特性の一部は、細胞培養システムにおける遺伝子発現、遺伝的ワクチン接種、及び遺伝子治療のためのベクターのデザインにおいて非常に有用である。本願明細書において説明されたHCV変異体は、異種遺伝子産物(RNA及びタンパク質)を発現するようにデザインされたキメラRNAを作出するように操作することができる。戦略は、先に又は別所にて説明しているが[Bredenbeek及びRice、(1992)前掲；Frolovらの論文、(1996)前掲]、これは(i)HCVポリタンパク質を伴う異種コード配列のインフレーム融合体；(ii)HCVゲノムRNAにおける追加のシストロンの作出；及び、(iii)1個又は複数の異種遺伝子を発現することが可能である多シストロン性(multicistronic)自己複製能のあるHCVベクター-RNAを作出するための、IRESエレメントの封入(図2)を含むが、これらに限定されるものではない。このようなベクターに利用される機能性HCV RNA骨格は、(i)複製及び伝播が可能である生存-弱毒化された誘導体；(ii)ウイルスの伝播に必要な1個又は複数のウイルス成分(例えば構造タンパク質)を欠いているRNA複製コンピテントな「死滅末端(dead end)」誘導体；(iii)高及び低レベルのHCV-特異的RNA合成及び蓄積が可能である突然変異誘導体；(iv)様々なヒト細胞型における複製のために適合された突然変異誘導体；(v)ヒト細胞における延長された非-細胞変性複製が可能な操作されるか又は選択された突然変異誘導体を含むが、これらに限定されるものではない。RNA複製にコンピテントであるが、パッケージング又は伝播にはそうではないベクターは、裸のRNA、DNAのいずれかとして導入されるか、もしくはウイルス-様粒子へパッケージングされ得る。このようなウイルス-様粒子は、前述のように作成することができ、かつ肝細胞又は他のヒト細胞型の標的化されたトランスフェクションのためにデザインされた未修飾の又は変更されたHCVビリオン成分のいずれかで構成されている。あるいは、HCV RNAベクターは、異種ウイルスのパッケージング機構を用いて、包膜及び送達することができ、もしくは効率的遺伝子送達のために修飾されたリボソームへ封入することができる。これらのパッケージング戦略、及びそれらの修飾は、HCVベクター-RNAを特異的細胞型へ効率的に標的化するために利用することができる。前述の方法の利用は、他の種における複製及び発現についてコンピテントである、同様のHCV-由来のベクターシステムも誘導することができる。

【0152】

例えば細胞のトランスフェクション及びDNAワクチンに関連して先に言及したような様々な方法を用い、本発明のHCVベクターを導入することができる。第一に関心があるのは、例えば肝における、機能性HCV RNA又はビリオンの直接注入である。標的化された遺伝子送達は、1995年10月に公開された国際公開公報第95/28494号に開示されている。あるいは、このベクターは、リポフェクションによりin vivoにおいて導入することができる。過去10年にわたって、in vitroにおける核酸の包膜及びトランスフェクションのためのリボソームの使用が増大してきている。リボソームで媒介されたトランスフェクションが遭遇した難点及び危険を制限するようにデザインされた合成カチオン性脂質を用いて、マーカをコードしている遺伝子のin vivoトランスフェクションのためのリボソームを調製することができる[Felgnerらの論文、Proc. Natl. Acad. Sci. USA.、84:7413-7417 (1987)；Mackeyらの論文、Proc. Natl. Acad. Sci. USA.、85:8027-8031 (1988)；Ulmerらの論文、Science、259:1745-1748 (1993)参照のこと]。カチオン性脂質の使用は、負帯電した核酸の包膜を促進し、更に負帯電した細胞膜との融合も促進する[Felgner及びRingold、Science、337:387-388 (1989)]。In vivoにおける外因性遺伝子の特定の器官への導入のためのリポフェクションの使用には、ある種の実践上の利点である。リボソームの特異的細胞に対する分子標的化は、ある分野の恩典を説明している。特定の細胞型へのトランスフェクションの指示は、細胞の不均一性を有する組織、例えば脾、肝、腎及び脳において特に有利であることは明らかである。脂質は、標的化のために他の分子に化学的に結合することができる[Mackeyらの論文、前掲参照]。標的化されたペプチド、例えばホルモン又は神経伝達物質、及び抗体のようなタンパク質、又は非-ペプチド分子は、リボソームへ化学的に結合することができる。受容体が媒介したDNA送達法も使用することができる[Curielらの論文、Hum. Gene Ther.、3:147-154 (1992)；Wu及びWu、J. Biol. Chem.、262:4429-4432 (1987)]。

10

20

30

40

50

【0153】

遺伝子治療のための適用の例は、(i) 遺伝した又は獲得した代謝欠損を補正するための酵素又は他の分子の発現；(ii) 創傷治癒を促進するための分子の発現；(iii) 免疫が媒介したヒト癌の抑制又は除去を促進する免疫変調分子の発現；(iv) 腫瘍における細胞傷害性薬物の活性化を可能にする毒性分子又は酵素の標的化された発現；(v) 病原体感染細胞における抗-ウイルス又は抗-微生物的物質の標的化された発現を含むが、これらに限定されるものではない。様々な治療用異種遺伝子を、本発明の遺伝子治療ベクターへ挿入することができ、これは例えば以下であるが、これらに限定されるものではない：重症複合免疫不全症(SCID)を治療するためのアデノシン脱アミノ酵素(ADA)；腫瘍浸潤(TIL) T細胞へのマーカー遺伝子又はリンホカイン遺伝子[Kasisらの論文、Proc. Natl. Acad. Sci. USA、87:473 (1990)；Culverらの論文、同書、88:3155 (1991)]；血友病を治療するためのVIII因子及びIX因子のような凝血因子の遺伝子[Dwarkiらの論文、Proc. Natl. Acad. Sci. USA、92:1023-1027 (1995)；Thompson、Thromb. and Haemostatis、66:119-122 (1991)]；及び、様々な他の周知の治療用遺伝子、例えば - グロブリン、ジストロフィン、インスリン、エリスロポイエチン、成長ホルモン、グルコセレブロシダーゼ、 - グルクロニダーゼ、 - アンチトリプシン、フェニルアラニンヒドロキシラーゼ、チロシンヒドロキシダーゼ、オルニチントランスカルバミラーゼ、アポリポタンパク質などであるが、これらに限定されるものではない。概してAndersonらの米国特許第5,399,346号を参照のこと。

【0154】

遺伝子ワクチン接種(HCV以外の病原体からの保護のため)用途の例は、細菌(例えば、尿路病原性(uropathogenic)E. coli、連鎖球菌、ブドウ球菌、ナイセリア)、寄生体(例えば、マラリア原虫、リーシュマニア、トキソプラズマ)、真菌(例えば、カンジダ、ヒストプラズマ)及びウイルス(例えば、HIV、HSV、CMV、インフルエンザ)のヒト病原体からの防御抗原の発現を含むが、これらに限定されるものではない。HCV-由来のRNA発現ベクターを用いて発現された防御抗原の免疫原性は、アジュバントを用いて増強することができる、望ましいTh1対Th2反応の顕在化を促進するサイトカイン(例えば、IL-2、GM-CSF)などの免疫変調分子の同時-発現を含む。このようなアジュバントは、HCVベクターそれら自身により組込まれ及び同時-発現されるか、もしくはこれらのベクターを他の方法を用いて投与するかのいずれかを行うことができる。

【0155】

感染性HCVの診断法診断用細胞株。本願明細書において説明された発明を用い、患者試料中の感染性HCVの感度診断のための細胞株を誘導することができる。概念的には、機能性HCV成分を用い、容易にアッセイされるレポーターシステムがHCV感染時に選択的に活性化されるような易感受性細胞株(先に定義した)を試験及び作出する。例は、(i) 導入遺伝子として組込まれかつその複製がHCV感染時にアップレギュレーション又は誘導されるレプリカーゼ成分を欠いている欠損HCV RNA；及び、(ii) HCV感染により活性化される感度の良い異種増幅可能なレポーターシステムを含むが、これらに限定されるものではない。第一の明示において、HCV RNA増幅に必要なRNAシグナルは、都合の良い又は選択可能なマーカー(前記参照)に隣接している。このようなキメラRNAの発現は、適当な核プロモーター並びに適切な核プロセッシング及び細胞質輸送に必要なエレメントにより駆動される。HCVで操作された細胞株の感染時に、導入遺伝子の細胞質複製及び増幅が誘導され、増殖性HCV感染の指標としてのより高レベルのレポーター発現の引き金が引かれる。

【0156】

第二の例において、細胞株は、よりしっかりと調節されるが、HCV感染時には誘導可能なレポーター遺伝子が増幅及び発現されるようにデザインされる。この増幅されたシステムは特定の成分に関して説明されているが、他の同等の成分を使用することができる。このようなシステムのひとつにおいて、アルファウイルスRNA増幅に絶対に必要でありかつ通常非構造ポリタンパク質から切断により生成される酵素であるアルファウイルスnsP4ポリメラーゼを欠いている、操作されたアルファウイルスレプリコン導入遺伝子が作出される。この欠損アルファウイルスレプリコンの別の特徴は、ルシフェラーゼ又はGFPレポータ

ー遺伝子の発現を駆動するサブゲノムRNAプロモーターを含むことである。このプロモーターエレメントは、増殖性細胞質アルファウイルス複製が存在しない場合は静止状態である。この細胞株は、HCV NS4Aタンパク質及びアルファウイルスnsP4 RDRPからなる遺伝子融合体の発現のための第二の導入遺伝子を含む。この融合された遺伝子は、発現され、かつ細胞質の膜コンパートメントへと標的化されるが、nsP4のこの形は、個別のnsP4タンパク質のために、アルファウイルス複製複合体の機能性成分として不活性であり、正確なN末端がnsP4活性に必要である[Lemmらの論文、EMBO J.、13:2925(1994)]。任意の第三の導入遺伝子は、複製のためのcisシグナル、ユビキチン-nsP4融合体をコードしているサブゲノムRNA転写物、及びアルファウイルスパッケージングシグナルを伴う欠損アルファウイルスRNAを発現している。このような細胞株のHCVによる感染時に、HCV NS3プロテアーゼが生成され、NS4A-nsP4融合体タンパク質のtrans切断を媒介し、nsP4ポリメラーゼを活性化する。この活性ポリメラーゼは、transで機能しかつ極少量で有効であるが、これは機能性アルファウイルス複製複合体を形成し、欠損アルファウイルスレプリコンに加え、ユビキチン-nsP4をコードしている欠損アルファウイルスRNAの増幅につながる。そのサブゲノムRNAから発現されたユビキチン-nsP4は、細胞ユビキチンカルボキシ末端加水分解酵素により効率的に切断され、追加のnsP4を生成し、場合によってはこの酵素は制限されている。一旦活性化されるとこのシステムは、極めて高レベルのレポータータンパク質を産生する。このようなHCV感染力アッセイのタイムスケールは、(十分なレポーター遺伝子発現のために)数時間であると予想される。

【0157】

抗体診断。本願明細書において説明された細胞株に加え、トランスフェクション又は感染された細胞株により作出された、もしくは感染動物から単離されたHCV変異体ウイルス粒子(ピリオン)又はそれらの成分は、患者血液又は血液製剤中の抗-HCV抗体を検出するための抗原として使用することができる。HCV変異体ウイルス粒子は真正のHCVゲノム由来であるので、被膜タンパク質のような特定の成分は、それらの成分が複製しているHCVの外部で産生された場合よりもより密接に類似しかつ天然のHCVウイルスと同じような免疫原性を有する可能性がある。このような免疫原性の例は、野生型HCV免疫原性エピトープの展示、及び細胞性免疫変調サイトカインをコードしている遺伝子の転写の変調を含む。これらの試薬を用い、セロコンバージョン、すなわちHCV-特異的抗体集団の形成を検出することにより、患者がHCVに感染していることを確立することができる。

【0158】

あるいは、本願明細書に説明されたように調製されたHCV変異体産物に対し作成された抗体を用いて、対象からの生物学的試料中のHCVの存在を検出することができる。好ましい本発明の態様は、下記例において説明される。本願明細書の「特許請求の範囲」内のその他の態様は、当業者には本願明細書の考察又は本願明細書において明らかにされた発明の実践を考慮し明らかであろう。本願明細書は実施例と共に、単なる例と見なされ、本発明の範囲及び精神は、下記実施例に従う「特許請求の範囲」によって示されることが意図されている。

【0159】

【実施例】

実施例 1

本実施例は、neo選択マーカ及び亜型1b非構造タンパク質をコードしているポリタンパク質コード領域を含むレプリコンの作出及び評価を説明している。

材料及び方法

細胞株。Huh7細胞株は、Robert Lanford氏(Southwest Foundation for Biomedical Research、サンアントニオ、米国)及びRalf Bartenschlager氏(Johannes Gutenberg University Mainz、マインツ、独国)のご厚意により提供されたものであり、10%ウシ胎仔血清(FCS)、及び非-必須アミノ酸を補充したダルベッコ変法最小必須培地(DMEM; Gibco-BRL社)において維持した。

【0160】

選択可能な亜型1bレプリコンの集成。Lohmannらの論文(Science、285:110-113 (1999))に記されたレプリコンに類似しているHCV亜型1bレプリコンを構築した。この構築のために、KlenTaqLA DNAポリメラーゼ(Wayne Barnes, Washington University)を用いる段階的PCR-ベースのアッセイを開発した。長さ600-750塩基のcDNAを、16個のヌクレオチドの独自の相補性重複を伴う10-12個のゲル-精製したオリゴヌクレオチド(長さ60-80個のヌクレオチド)から集成した。集成された領域の5'部分を表している4又は6個のオリゴヌクレオチドを、標準PCRにおいてアニーリング及び伸長した。意図されたcDNAの3'側半分の合成のための残存している6個のオリゴヌクレオチドを、平行PCR反応において混合した。PCRサイクル12回後、伸長された2本鎖DNA産物を一緒にし、更に12サイクル施した。この反応の産物を、アガロースゲル上の塗沫として分解し、これを切り取り、かつアガロースからDNAを単離した。精製した2本鎖DNA産物の1/5を、独自の制限酵素部位を含む外側プライマー対を用いるPCRにより増幅し、pGEM3Zf(+)プラスミドベクター(Promega社)への方向性のあるクローニングを促進した。PCR産物を精製し、適当な制限酵素で消化し、かつ同様に切断したpGEM3Zf(+)に連結した。複数の組換え体クローンを配列決定し、かつ正確なクローンを同定した。重複しているcDNA断片は、連続しているレプリコン配列へ集成した。平行して、NS5B活性部位に致死的変異を保持するレプリコン(Gly-Asp-Asp [GDD]からAla-Ala-Gly [AGG]; pol-)を構築した。

【0161】

RNA転写及びトランスフェクション。RNA転写産物を、40mM Tris-HCl (pH7.9)、10mM NaCl、12mM MgCl₂、2mM スペルミジン、各3mMのATP、CTP、GTP及びUTP、10mMジチオスレイトール、100U RNasin(Promega社)及び100U T7 RNAポリメラーゼ(Epicentre社)、並びに2µg Sca I-線状DNAを含有する100µl反応混合液中において合成した。このDNA鋳型は、30U DNase I(Boehringer社)による連続消化により厳密に取除いた。DNase-消化したRNA転写産物10µlを、6x10⁶個のHuh7細胞へモデルT820 squareporator (BTX社)を用い電気穿孔し、150mm皿上に播種した。レプリコン-含有細胞を選択するために、培地を、トランスフェクションの24時間後にゲネチシン(G418; 1mg/ml; Gibco-BRL社)を含有する完全培地と交換し、その後は培地を3~4日毎に交換した。

【0162】

RNA分析。およそ5x10⁵個の細胞を、5%透析したFCS、正常濃度の1/20のリン酸塩及びアクチノマイシンD(4µg/ml; Sigma社)を補充した、リン酸塩非含有DMEM中で1時間プレインキュベーションした。 [³²P]オルトリン酸塩(200µCi/ml; ICN社)を添加し、更に12時間インキュベーションを継続した。総細胞RNAを、TRIZOLにより抽出し、沈殿し、かつH₂O(Gibco-BRL社)中に再浮遊した。放射標識したRNAを、変性アガロースゲル電気泳動により分析し、オートラジオグラフィーにより可視化した。

【0163】

タンパク質分析。免疫沈降のために、細胞単層を、正常濃度の1/40のメチオニン、5%透析したFCS及びExpress ³⁵S³⁵Sタンパク質標識混合物(100µCi/ml; NEN社)を含有する、メチオニン-及びシステイン-欠損MEM中で、4、8又は12時間のいずれかインキュベーションした。細胞を、1%ドデシル硫酸ナトリウム(SDS)及びプロテアーゼインヒビターを含有する100mM NaPO₄ (pH7.0)中で溶解し、かつ細胞DNAを、27.5ゲージ針を繰り返し通過させ剪断した。ウイルスタンパク質を、本質的に先に説明されたように(Grakouiらの論文、1993)、患者血清、JHFを用い免疫沈降し、NS3、NS4B及びNS5A又はウサギ抗-NS5B及びPansorbin細胞(Calbiochem社)を認識した。免疫沈降物を、10%SDS-PAGE上で分離し、かつオートラジオグラフィーにより可視化した。

【0164】

免疫染色。8ウェルチャンバースライド(Falcon社)において培養した細胞を、アセトン中で10分間固定し、風乾した。再水和した単層を、37℃で、NS3に対する抗体と共にインキュベーションし、その後種-特異的フルオレセイン-結合した二次抗体(Pierce社)と共にインキュベーションし、50mM Tris-HCl (pH8.8)を含有する90%グリセロール生理食塩水上に載せた。

10

20

30

40

50

逆転写(RT)-PCR。RNAを、TRIZOL(Gibco-BRL社)を用い細胞から単離し、沈殿しかつH₂O中に再浮遊した。HCV RNAレベルを、HCVの5'及び3' NTR配列を増幅するようにデザインした競合RT-PCRアッセイを用いて定量した(Kolykhalovらの論文、1996)。長いcDNA断片を増幅するようにデザインしたRT-PCRのために、HCV RNA約1000分子を、HCV-特異的プライマーと混合し、かつプライマーをSuperscript II逆転写酵素(Gibco-BRL社)を用い43.5 で1時間伸長した。その後cDNAを、95 で30秒、55～60 で30秒、及び68 で4分間の35サイクルを用い、KlenTaqLA DNAポリメラーゼで増幅した。PCR産物を、フェノール抽出により分取低融点アガロース電気泳動から回収し、かつ精製したPCR産物～40ngを直接配列決定した。

【0165】

10

結果

G418-耐性コロニーの確立。Lohmannらの論文(前掲)に説明されたものに類似しているが、H77感染性クローンに由来したレプリコンは、5種の異なる肝細胞癌細胞株にG418耐性を与えることに失敗した。更に亜型1bの配列を用い、レプリコンI377/NS3-3' (EMBL寄託番号AJ242652)を集成した。レプリコンRNAは、ネオマイシンホスホトランスフェラーゼ遺伝子(Neo)発現を駆動するHCV内部リボソーム侵入部位(IRES)及び脳心筋炎ウイルス(EMCV)由来のIRES、HCVタンパク質NS3からNS5Bの指示された翻訳、それに続く3' NTRで構成された(図3)。ポリ(U/UC)トラクト中に2Uヌクレオチドを欠いている又は3' NTRの可変領域に Aval I制限酵素部位を保持したのいずれかであるふたつの誘導体を構築し、各々、HCVrep1bBartMan/ 2U's及びHCVrep1bBartMan/Aval Iと称した。トランスフェクション前に、翻訳及び正確なポリタンパク質プロセッシングを、ワクシニア-T7 RNAポリメラーゼ発現システムを用い、各cDNA配列について確認した(データは示さず)。

20

DNase-処理したレプリコンRNAを、Huh7細胞に電気穿孔し、2～3週間後培養物中にG418-耐性コロニーが明確に視認された。両方のレプリコン誘導体は、G418耐性を与えることが可能であり、平均で10⁶個細胞中のわずかに1個がG418耐性となった。対称的に、コロニーは、不活性NS5Bポリメラーゼを含有するレプリコンRNAにより平行して電気穿孔したHuh7細胞については決して認められなかった。

【0166】

自律複製の証明。22個の独立したコロニーを単離し、5個のコロニーは、HCVrep1bBartMan/ 2U'sから転写したRNAでトランスフェクションしたHuh7細胞に相当し、残りの17個のコロニーは、HCVrep1bBartMan/Aval I RNAに由来した。多くのアッセイを行い、G418耐性が、自律複製HCVにより媒介されることを証明した。定量的RT-PCRアッセイにおける5'及び3' NTR内の配列の増幅は、1個の細胞につき50～5000個の範囲のHCV RNA分子のコピー数を明らかにした(図4)。予想されたサイズの³²P-標識したアクチノマイシンD-耐性RNAは、分析した4個の独立したG418-耐性細胞クローンにおいて認められた(図5A)。HCVタンパク質NS3、NS4B、NS5A及びNS5Bを、放射標識した細胞溶解液から免疫沈降した(図5B)。加えて、細胞単層の免疫染色は、細胞質内のNS3の点状の染色パターンを明らかにし(図6)、これはHCV-感染患者の肝切片中の HCVタンパク質局在に類似している(Blight及びGowans、1996)。G418-耐性細胞クローンにおいて、蛍光シグナルは、細胞間で異なる傾向があり、おそらく細胞1個当りの複製レベルの差異を反映しているであろう。

30

40

【0167】

HCVレプリコン中の変異の同定。G418-耐性コロニーの頻度の低さは、HCV複製の確立に必要なレプリコン配列内の複製又は適応変化のための細胞因子(複数)必要要件のいずれかに起因しているであろう。後者の可能性に対処するために、全レプリコン配列を、5個の独立したG418-耐性細胞クローンから単離したRNAから逆転写したcDNAから増幅した。精製したPCR集団の直接の配列決定時に、複数の変異を同定した。衝撃的な知見は、各細胞クローンは、NS5A内に単独のヌクレオチド変化を有し、これがコード変化を生じることであった(図7)。一例として、インターフェロン感受性決定領域(ISDR)を包含している47個のアミノ酸の欠失(1; 図7)が認められた。別の8個のG418-耐性細胞クローンからのNS5Aの配列分析は、同様の点変異を明らかにしたが、低レベルのHCV複製及び遅い増殖速度を有す

50

る2個のクローン(例えば、図4のクローンE)は、野生型NS5Aを含むことがわかった。同定したNS5A変異に加え、NS3及びNS4Bにおいてもヌクレオチド置換が注目され；クローンII(配列番号：9)は、ヌクレオチド3550(NS3)及びヌクレオチド4573(NS4B)の置換を含むのに対し(配列番号：3のLys(584)のGluへ、及びSer(925)のGlyへ、配列番号：17に具体化)、クローンVIにおいてヌクレオチド2060(NS3)は突然変異された(図7、配列番号：3のGln(87)のArgへに相当、配列番号：15に具体化)。

【0168】

突然変異体レプリコンの再構築。ヌクレオチドが変化しかつNS5Aに同定された欠失が適応であるかどうかを決定するために、変異II以外の各変異を個別に操作し、HCVrep1bBartMan/AvaII骨格へ戻した。各々再構築されたレプリコンから転写されたRNAを、ナイーブHuh7細胞へ電気穿孔し、かつG418-耐性コロニーの数を、野生型NS5Aを含むHCVrep1bBartMan/AvaIIレプリコンについて得られた数と比較した。47個のアミノ酸欠失に加え、点変異は、G418-耐性コロニーの頻度を最初に電気穿孔した細胞集団の少なくとも1%に増加することが可能であり(図8)、これはこれらのNS5Aを標的とする変異が、Huh7細胞における効率的HCV複製を可能にするように適応であることを示している。加えて、G418-耐性コロニーは、クローンIのレプリコンRNAによるヒト上皮細胞株であるHeLa細胞のトランスフェクション後に観察された。従って、Huh7細胞に適応した少なくとも1個の変異が、非-肝細胞株におけるHCV複製の確立も可能にしている。

【0169】

実施例2

この例は、HCV複製を許容する細胞株；NS2コード領域を含むレプリコン；及び、配列番号：3の1179位のSerのIleへの置換を含む完全長HCVcDNAクローンの作成を説明している。

細胞株の作成。実施例1に示されているように、持続的に複製しているHCV RNAを収容しているG418-耐性細胞クローンを単離した。これらのG418-耐性細胞クローンの2種を、抗ウイルスのインターフェロン-で広範に処理し、HCV RNAの2種の細胞株無効(void)を得た。これらは、インターフェロン処理細胞株I及びIIと称した。

HCVrep1bBartMan/AvaII、HCV適応レプリコンI又はHCV適応レプリコンVIIを、インターフェロン-処理細胞株I及びIIへトランスフェクションした。これは、親Huh-7細胞について観察されたものよりも大きいG418形質導入効力を生じた(表1参照)。初期のトランスフェクション後HCV RNA増幅は、IFN-処理細胞株について最大であった。これらの結果は、細胞株、インターフェロン処理した細胞株I及びIIが、HCV複製に関して親Huh-7細胞株よりもより許容であることを示している。

【0170】

【表1】

表1. インターフェロン処理細胞クローンへのトランスフェクション後のHCVレプリコンの相対G418形質導入効率

細胞株	トランスフェクションされたレプリコン		
	Bart Man	I	VII
親 Huh-7	0.0005%	0.15%	9%
IFN-処理された I	0.005%	5%	30%
IFN-処理された II	0.001%	1.3%	11%

【0171】

このような細胞株は、単にHCVの遺伝的試験に価値があるのみではなく、HCV複製により許容である細胞環境の試験にも価値がある。例えばマイクロアレイ技術は、異なる細胞株間の遺伝子発現プロファイルにおける差異を全般的に示すことを可能にするであろう。

レプリコン構築。HCVの5'NTRが、NS3の上流のEMCVのIRESに融合されたレプリコンを構築し、その結果ネオマイシンホスホトランスフェラーゼ遺伝子を欠いているレプリコンを生じた。このレプリコン5'NTR-EMCV/HCVrepVII(配列番号：25)は、図10に示したように、Hu h7細胞において高レベルに複製した。非構造タンパク質NS2がNS3の上流である別のレプリコンHCVrep/NS2-5B(配列番号：22)を作成した。図10に示したように、このレプリコンも Huh7細胞において複製-コンピテントであった。この後者のレプリコンを、例えば化合物のHCV複製阻害に関する試験において、有利に使用することができる。追加のNS2コード領域は、このような抗ウイルス化合物のための追加の標的を提供することに加え、遺伝子試験のための追加のタンパク質を提供する。

【0172】

完全長HCV RNA。2種の完全長HCV cDNAクローンを集成した。第一のHCV FL(配列番号：24)は、配列番号：3(図9参照)の1179位に示されたようなNS5AにおけるSerのIleへの置換をコードしている変異を含んだ。第二のHCV FL-Neo(配列番号：23)も、SerのIleへの変異をコードしていることに加え、5' NTRのすぐ3'側にネオマイシンホスホトランスフェラーゼ遺伝子を及びHCVオープンリーディングフレームのすぐ5'側にEMCV IRESを含む(図9参照)。これらの完全長クローンは両方とも、図10に示したように、インターフェロン処理細胞株Iを複製する。この結果は、HCV FLの非構造タンパク質は、完全長クローンHCV FLの中のHCV IRESにより駆動されるので、HCV複製は、EMCV IRESが駆動するHCVの非構造タンパク質には左右されないことを示している。

加えて、HCV FL-Neoクローンを含むG418耐性細胞株は、前述のインターフェロン処理細胞株Iから作成される。この細胞株は、HCV FL-Neo RNAの高レベルの持続性の複製を支持する。

【0173】

本願明細書において言及した全ての参考文献は、本願明細書に参照として組入れられている。本願明細書の参考文献の考察は、単に執筆者の主張をまとめることが意図されており、参考文献が先行技術を構成することを承認するものではない。本出願人は、言及された参考文献の精度及び妥当性に異議を申し立てる権利を有する。

先に述べたことを鑑み、本発明のいくつかの進歩性が実現されかつその他の進歩性が達成されたことが認められるであろう。

前述の方法及び組成物において、本発明の精神から逸脱しない限りは様々な変更を行うことができるので、前記説明の中に含まれかつ添付図面及び補遺に示された全ての内容は、例証として理解され、限定の意味を持たないことが意図されている。

【0174】

補遺

配列番号

配列番号:1: HCV 5' NTRの5' 部位

GGCGACACTC CACCATAGAT C

【0175】

配列番号:2: 野生型HCV サブタイプ 1aから得た3' NTRの3' 部位

TGGTGGCTCCATCTTAGCCCTAGTCACGGCTAGCTGTGAAAGGTCCGTGAGCCGCATGACTGCAGAGAGTGCTGATACTG
GCCTCTCTGCTGATCATGT

【0176】

配列番号:3: HCVrep1bBartManのポリタンパク質領域のアミノ酸

MAPITAYSQQTRGLLGCIITSLTGRDRNQVEGEVQVVSTATQSFLATCVNGVCWTVYHGAGSKTLGPKGPITQMYTNVD
QDLVGWQAPPGARSLTPCTCGSSDLYLVTRHADVIPVRRRGDSRGSLLSPRPVSYLKGSSGGPLLCPSGHAVGIFRAAVC
TRGVAKAVDFVPVESMETMTRSPVFTDNSSPPAVPQTFQVAHLHAPTGSKGSTKVPAAAYAAQGYKVLVLNPSVAATLGFG
AYMSKAHGIDPNI RTGVRTITTGAPITYSTYGKFLADGGCSGGAYDIIICDECHSTDSTTILGIGTVLDQAETAGARLVV
LATATPPGSVTVPHPNIEEVALSSTGEIPFYGKAIPETIKGGRHLIFCHSKKKCELAALKSLGLNAVAYYRGLDVS
IPTSGDVI VVATDALMTGFTGDFDSVIDCNTCVTQTVDLSLDPTFTIETTTVPQDAVSRSQRRGRTGRGRMG IYRFVTPG
ERPSGMFDSSVLCECYDAGCAWYELTPAETSVRLRAYLNTPLPVCQDHLEFWESVFTGLTHIDAHFLSQTKQAGDNFPY

LVAYQATVCARAQAPPPSWDQMWKCLIRLKPTLHGPTPLLYRLGAVQNEVTTTHPI TKYIMACMSADLEVVTSTWVLVGG
VLAALAAAYCLTTGSSVIVGRIILSGKPAIPDREVLREFDEMEECASHLPYIEQGMQLAEQFKQKAIIGLLQTATKQAEA
AAPVVESKWRTLEAFWAKHMMWFIISG IQYLAGLSTLPGNPAIASLMAFTASITSPLTTQHTLLFNI LGGWVAAQLAPPSA
ASAFVGAGIAGAAGVSIIGLGKVLVDILAGYGAGVAGALVAFKVMSEMPSTEDLVNLLPAI LSPGALVVGVCVAAI LRRH
VGPGEVAVQWMNRI AFASRGNHVSPTHYVPESDAAARVTQI LSSLTITQLLKRHLHQWI NEDCSTPCSGSWLRDWDWI C
TVLTDFTKWLQSKLLPRLPGVPFFSCQRGYKGVWRGDGIMQTTCPGQAQITGHVKNGSMRIVGPRTCSNTWHGTFTPINAY
TTGPCTPSPAPNYSRALWRVAAEEYVEVTRVGDFHYVTGMTTDNVKPCQVPAPEFFTEVDGVRLLHRYAPACKPLLREEV
TFLVGLNQYLVGSQLPCEPEPDVAVLTSMLTDPISHI TAETAKRRLARGSPPSLASSASQLSAPSLKATCTTRHSDPAD
LIEANLLWRQEMGGNITRVESENKVVILDSFEPLQAEEDEREVSVP AEILRRSRKFPRAMP IWARPDYNPPLLESWKDPD
YVPPVHGCPLPPAKAPP IPPRRKRRTVV LSESTVSSALAEATKTFGSSESAVDSGTATASPDQPSDDGDAGSDVESY
SSMPLEGEPEGDPDLSDGSWSTVSEEASEDVVCCMSYWTGALITPCAAEETKLPINALSNSLLRHHNLVYATTSRSAS
LRQKKVTFDRLQVLDHRYDVLKEMKAKASTVKAKLLSVEEACKLTPPHSARSKFGYGAQDVRLNLSKAVNHIRSVWKDL
LEDTETPIDTTIMAKNEVFCVQPEKGGRKPARLIVFPDLGVRVCEKMALYDVVSTLPQAVMGSSYGFQYSPGQRVEFLVN
AWKAKKCPMGFAYDTRCFDSTVTENDIRVEESIYQCCDLAPPEARQAI RSLTERLYIGGPLTNSKGQNGCYRRCRASGVLT
TSCGNTLTCYLKAAAACRAAKLQDCTMLVCGDDLVI CESAGTQEDEASLRAFTEAMTRYAPPDPPKPEYDLELITSC
SSNVSAHDASGKRVYYLTRDPTTPLARAAWETARHTPVNSWLGNIIMYAPTLWARMILMTHFFSILLAQEQLKALDCQ
IYGACYSIEPLDLPQIIQRLHGLSAFSLHSYSPGEINRVASCLRKLGVPLRVWRHRARSVRARLLSQGGRAATCGKYLF
NWAVRTKLKLTPIPAASQLDLSSWFVAGYSGGDIYHLSRARPRWFMWCLLLLSVGVGIYLLPNR

【 0 1 7 7 】

配列番号:4: HCVrep1bBartManのNS5Aタンパク質領域のアミノ酸

SGSWLRDWDWICTVLTDFTKWLQSKLLPRLPGVPFFSCQRGYKGVWRGDGIMQTTCPGQAQITGHVKNGSMRIVGPRTC
SNTWHGTFTPINAYTTGPCTPSPAPNYSRALWRVAAEEYVEVTRVGDFHYVTGMTTDNVKPCQVPAPEFFTEVDGVRLLH
YAPACKPLLREEVTFLVGLNQYLVGSQLPCEPEPDVAVLTSMLTDPISHI TAETAKRRLARGSPPSLASSASQLSAPSLK
ATCTTRHSDPADLIEANLLWRQEMGGNITRVESENKVVILDSFEPLQAEEDEREVSVP AEILRRSRKFPRAMP IWARPD
YNPPLLESWKDPDYVPPVHGCPLPPAKAPP IPPRRKRRTVV LSESTVSSALAEATKTFGSSESAVDSGTATASPDQP
SDDGDAGSDVESYSSMPLEGEPEGDPDLSDGSWSTVSEEASEDVVCC

【 0 1 7 8 】

配列番号:5: HCVrep1bBartMan/ト2U'sのDNAクローンのヌクレオチド配列

GCCAGCCCCGATTGGGGGCGACACTCCACCATAGATCACTCCCTGTGAGGAAGTACTGTCTTCACGCAGAAAGCGTCT
AGCCATGGCGTTAGTATGAGTGTCTGTCAGCCTCCAGGACCCCCCTCCCGGAGAGCCATAGTGGTCTGCGGAACCGGT
GAGTACACCGGAATTGCCAGGACGACCGGGTCTTTCTTGATCAACCCGCTCAATGCCTGGAGATTTGGCGTGCCCC
GCGAGACTGCTAGCCGAGTAGTGTGGTGCAGAAAGGCCTTGTTGGTACTGCCTGATAGGGTGTTCGAGTGCCCCGGG
AGGTCTCGTAGACCGTGACCATGAGCAGCAATCCTAAACCTCAAAGAAAAACCAAAGGGCGCGCCATGATTGAACAAGA
TGGATTGCACGCAGGTTCTCCGGCGCTTGGGTGGAGAGGCTATTCGGCTATGACTGGGCACAACAGACAATCGGCTGCT
CTGATGCCGCCGTGTTCCGGCTGTCAGCGCAGGGGCGCCCGGTTCTTTTTGTCAAGACCGACCTGTCCGGTGCCCTGAAT
GAAGTGCAGGACGAGGACGCGCGCTATCGTGGCTGGCCACGACGGGCGTTCTTGCGCAGCTGTGCTCGACGTTGTAC
TGAAGCGGGAAGGACTGGCTGCTATTGGGCGAAGTGCCGGGCGAGGATCTCCTGTCTCATCTCACCTTGCTCCTGCCGAGA
AAGTATCCATCATGGCTGATGCAATGCGGCGGCTGCATACGCTTGATCCGGCTACCTGCCATTGACACCAAGCGAAA
CATCGCATCGAGCGAGCACGTACTCGGATGGAAGCGGCTTGTGCGATCAGGATGATCTGGACGAAGAGCATCAGGGGCT
CGCGCCAGCCGAAGTGTTCGCCAGGCTCAAGGCGCGCATGCCGACGGCGAGGATCTCGTCTGACCCATGGCGATGCCT
GCTTGCCGAATATCATGGTGGAAAATGGCGCTTTTCTGGATTTCATCGACTGTGGCCGGCTGGGTGTGGCGGACCGCTAT
CAGGACATAGCGTTGGCTACCCGTGATATTGCTGAAGAGCTTGGCGGCGAATGGGCTGACCGCTTCTCGTGCTTTACGG
TATCGCCGCTCCCGATTGCGAGCGCATCGCCTTCTATCGCCTTCTTGACGAGTTCTTCTGAGTTTAAACAGACCACAACG
GTTTCCCTCTAGCGGGATCAATTCCGCCCTCTCCCTCCCCCCCCCTAACGTTACTGGCCGAAGCGCTTGAATAAGG
CCGGTGTGCGTTTGTCTATATGTTATTTCCACCATATTGCCGTCTTTTGGCAATGTGAGGGCCCGGAAACCTGGCCCTG
TCTTCTTGACGAGCATTCCTAGGGTCTTTCCCTCTCGCCAAAGGAATGCAAGGTCTGTTGAATGTGCTGAAGGAAGCA
GTTCTCTGGAAGCTTCTTGAAGACAAACAACGTCTGTAGCGACCCCTTTCAGGCGAGCGGAACCCCCACCTGGCGACAG
GTGCTCTGCGGCCAAAAGCCACGTGTATAAGATACACCTGCAAAGGCGGCACAACCCAGTGCCACGTTGTGAGTTGGA
TAGTTGTGGAAGAGTCAAATGGCTCTCCTCAAGCGTATTCAACAAGGGCTGAAGGATGCCAGAAGGTACCCATTGT
ATGGGATCTGATCTGGGGCCTCGGTGCACATGCTTTACATGTGTTTAGTCGAGGTTAAAAACGTCTAGGCCCCCGAAC

CACGGGGACGTGGTTTTCTTTGAAAAACACGATAATACCATGGCGCCTATTACGGCCTACTCCCAACAGACGCGAGGCC
TACTTGGCTGCATCATCACTAGCCTCACAGGCCGGGACAGGAACAGGTGAGGGGAGGTCCAAGTGGTCTCCACCGCA
ACACAATCTTTCTGGCGACCTGCGTCAATGGCGTGTGTTGGACTGTCTATCATGGTGCCGGCTCAAAGACCCTTGCCGG
CCCAAAGGGCCCAATCACCCAAATGTACACCAATGTGGACCAGGACCTCGTCGGCTGGCAAGCGCCCCCGGGCGCGTT
CCTTGACACCATGCACCTGCGGCAGCTCGGACCTTTACTTGGTACGAGGCATGCCGATGTCATTCCGGTGCGCCGGCGG
GGCGACAGCAGGGGGAGCCTACTCTCCCCAGGCCCGTCTCCTACTTGAAGGGCTCTTCGGGCGGTCCACTGCTCTGCC
CTCGGGGCACGCTGTGGGCATCTTTCGGGCTGCCGTGTGCACCCGAGGGGTTGCGAAGCGGTGGACTTTGTACCCGTG
AGTCTATGGAAACCACTATGCGGTCCCCGGTCTTCACGGACAACTCGTCCCCTCCGGCCGTACCGCAGACATTCCAGGTG
GCCCCATCTACACGCCCCCTACTGGTAGCGGAAGAGCACTAAGGTGCCGGCTGCGTATGCAGCCCAAGGGTATAAGGTGCT
TGTCTGAACCCGTCCGTGCGGCCACCCTAGGTTTTCGGGCGTATATGTCTAAGGCACATGGTATCGACCCTAACATCA
GAACCGGGTAAGGACCATCACACGGGTGCCCCATCACGTACTCCACCTATGGCAAGTTTTCTTGCCACGGTGGTTGC
TCTGGGGCGCCTATGACATCATAATATGTGATGAGTGCCACTCAACTGACTCGACCACTATCCTGGGCATCGGCACAGT
CCTGGACCAAGCGGAGACGGCTGGAGCGGACTCGTCGTGCTCGCCACCGCTACGCCTCCGGGATCGGTACCCGTGCCAC
ATCCAAACATCGAGGAGGTGGCTCTGTCCAGCACTGGAGAAATCCCCTTTTATGGCAAAGCCATCCCCATCGAGACCATC
AAGGGGGGAGGCACCTCATTTTTCTGCCATTCCAAGAAGAAATGTGATGAGCTCGCCGGAAGCTGTCCGGCCTCGGACT
CAATGCTGTAGCATATTACCGGGCCTTGATGTATCCGTATACCAACTAGCGGAGACGTCATTGTCGTAGCAACGGACG
CTCTAATGACGGGCTTTACCGCGATTTGACTCAGTGATCGACTGCAATACATGTGTACCCAGACAGTCGACTTCAGC
CTGGACCCGACCTTACCATTGAGACGACGACCGTGCCACAAGACGCGGTGTCACGCTCGCAGCGGCGAGGCAGGACTGG
TAGGGGCAGGATGGGCATTTACAGGTTTGTGACTCCAGGAGAACGGCCCTCGGGCATGTTGATTCTCGGTTCTGTGCG
AGTGCTATGACGCGGGCTGTGCTTGGTACGAGCTCACGCCCCGAGACCTCAGTTAGGTTGCGGGCTTACCTAAACACA
CCAGGGTTGCCCGTCTGCCAGGACCATCTGGAGTTCTGGGAGAGCGTCTTTACAGGCCTCACCCACATAGACGCCCATTT
CTTGTCAGACTAAGCAGGCAGGAGACAATTTCCCTACCTGGTAGCATACCAGGCTACGGTGTGCGCCAGGGCTCAGG
CTCCACCTCCATCGTGGGACCAATGTGGAAGTGTCTCATACGGCTAAAGCCTACGCTGCACGGGCCAACGCCCTGCTG
TATAGGCTGGGAGCCGTTCAAACGAGGTTACTACCACACACCCCATAAACAAATACATCATGGCATGCATGTGCGCTGA
CCTGGAGGTGTCACGAGCACCTGGGTGCTGGTAGGCGGAGTCTAGCAGCTCTGGCCGCGTATTGCTGACAACAGGCA
GCGTGGTCATTGTGGGCAGGATCATCTTGTCCGGAAGCCGGCCATCATTCCCGACAGGGAAGTCCTTTACCGGGAGTTC
GATGAGATGGAAGAGTGCGCTCACACCTCCCTTACATCGAACAGGGAATGCAGCTCGCCGAACAATTCAAACAGAAGGC
AATCGGGTTGCTGCAAACAGCCACCAAGCAAGCGGAGGCTGCTGCTCCCGTGGTGAATCCAAGTGGCGGACCCTCGAAG
CCTTCTGGGCGAAGCATATGTGGAATTTATCAGCGGGATACAATATTTAGCAGGCTTGCTCACTCTGCTGGCAACCCC
GCGATAGCATCACTGATGGCATTACAGCCTCTATACCAGCCGCTCACACCCAACATACCCTCCTGTTTAACATCCT
GGGGGGATGGGTGGCCGCCAACTTGCTCCTCCAGCGCTGCTTCTGCTTTCTAGGCGCCGGCATCGCTGGAGCGGCTG
TTGGCAGCATAGGCCCTTGGGAAGGTGCTTGTGGATATTTTGGCAGGTTATGGAGCAGGGGTGGCAGGCGCGCTCGTGGCC
TTTAAGGTCATGAGCGGCGAGATGCCCTCCACCGAGGACCTGGTTAACCTACTCCCTGCTATCCTCTCCCCTGGCGCCCT
AGTCGTGCGGGTGTGTGCGCAGCGATACTGCGTCGGCACGTGGGCCAGGGGAGGGGCTGTGCAGTGGATGAACCGGC
TGATAGCGTTGCTTTCGCGGGGTAAACCAGTCTCCCCACGCACTATGTGCCTGAGAGCGACGCTGCAGCACGTGTCACT
CAGATCCTCTCTAGTCTTACCATCACTCAGCTGCTGAAGAGGCTTCACCACTGGATCAACGAGGACTGCTCCACGCCATG
CTCCGGCTCGTGGCTAAGAGATGTTTGGGATTGGATATGCACGGTGTGACTGATTTCAAGACCTGGCTCCAGTCCAAGC
TCCTGCCGCGATTGCCGGGAGTCCCTTCTTCTCATGTCAACGTGGGTACAAGGGAGTCTGGCGGGGCGACGGCATCATG
CAAACCACCTGCCCATGTGGAGCACAGATACCCGGACATGTGAAAAACGGTTCCATGAGGATCGTGGGGCCTAGGACCTG
TAGTAACACGTGGCATGGAACATTCCCCATTAACGCGTACACCACGGGCCCTGCACGCCCTCCCCGGCGCCAAATTATT
CTAGGGCGCTGTGGCGGGTGGCTGCTGAGGAGTACGTGGAGGTTACGCGGGTGGGGGATTTCCACTACGTGACGGGCATG
ACCACTGACAACGTAAAGTGCCCGTGTGAGGTTCCGGCCCCGAATTCCTTACAGAAGTGGATGGGGTGGCGTTGCACAG
GTACGCTCCAGCGTGCAAACCCCTCCTACGGGAGGAGGTACATTCTGCTGGGCTCAATCAATACCTGTTGGGTAC
AGCTCCCATGCGAGCCCGAACCAGGACGTAGCAGTGTCACTTCCATGCTCACCAGCCCTCCACATTACGGCGGAGACG
GCTAAGCGTAGGCTGGCCAGGGGATCTCCCCCTCCTTGGCCAGCTCATCAGCTAGCCAGCTGTCTGCGCCTTCTTGAA
GGCAACATGCACTACCCGTGATGACTCCCCGGACGCTGACCTCATCGAGGCCAACCTCCTGTGGCGGCAGGAGATGGGCG
GGAACATCACCCGCGTGGAGTCAGAAAATAAGGTAGTAATTTTGGACTCTTTCGAGCCGCTCCAAGCGGAGGAGGATGAG
AGGGAAGTATCCGTTCCGGCGGAGATCCTGCGGAGGTCCAGGAAATTCCTCGAGCGATGCCCATATGGGCACGCCCGGA
TTACAACCCCTCACTGTTAGAGTCTGGAAGGACCCGACTACGTCCCTCAGTGGTACACGGGTGTCCATTGCCGCTG
CCAAGGCCCTCCGATACCACCTCCACGGAGGAAGAGGACGGTTGTCTGTGAGAATCTACCGTGTCTTCTGCCTTGGCG

GAGCTCGCCACAAAGACCTTCGGCAGCTCCGAATCGTCGGCCGTCGACAGCGGCACGGCAACGGCCTCTCCTGACCAGCC
CTCCGACGACGGCGACGCGGGATCCGACGTTGAGTCGTA CTCTCCATGCCCCCCTTGAGGGGGAGCCGGGGGATCCCCG
ATCTCAGCGACGGGTCTTGGTCTACCGTAAGCGAGGAGGCTAGTGAGGACGTCGTCTGCTGCTCGATGTCCTACACATGG
ACAGGCGCCCTGATCACGCCATGCGCTGCGGAGGAAACCAAGCTGCCCATCAATGCACTGAGCAACTCTTTGCTCCGTCA
CCACAACCTTGGTCTATGCTACAACATCTCGCAGCGCAAGCCTGCGGCAGAAGAAGGTACCTTTGACAGACTGCAGGTCC
TGGACGACCACTACCGGGACGTGCTCAAGGAGATGAAGGCGAAGGCGTCCACAGTTAAGGCTAAACTTCTATCCGTGGAG
GAAGCCTGTAAGCTGACGCCCCACATTCGGCCAGATCTAAATTTGGCTATGGGGCAAAGGACGTCCGGAACCTATCCAG
CAAGGCCGTTAACCACATCCGCTCCGTGTGGAAGGACTTGTGGAAGACACTGAGACACCAATTGACACCACCATCATGG
CAAAAAATGAGGTTTTCTGCGTCCAACCAAGAGAAGGGGGGCCGAAGCCAGCTCGCCTTATCGTATTCCCAGATTTGGGG
GTTCTGTGTGCGAGAAAATGGCCCTTTACGATGTGGTCTCCACCCTCCCTCAGGCCGTGATGGGCTCTTCATACGGATT
CCAATACTCTCCTGGACAGCGGGTCGAGTTCTGGTGAATGCCTGGAAGCGAAGAAATGCCCTATGGGCTTCGCATATG
ACACCCGCTGTTTTGACTCAACGGTCACTGAGAATGACATCCGTGTTGAGGAGTCAATCTACCAATGTTGTGACTTGGCC
CCCGAAGCCAGACAGGCCATAAGGTGCTCACAGAGCGGCTTTACATCGGGGGCCCCCTGACTAATTCTAAAGGGCAGAA
CTGCGGCTATCGCCGGTGCCGCGCGAGCGGTGTACTGACGACCAGCTGCGGTAATACCCTCACATGTTACTTGAAGGCCG
CTGCGGCTGTGAGCTGCGAAGCTCCAGGACTGCAGATGCTCGTATGCGGAGACGACCTTGTGCTTATCTGTGAAAGC
GCGGGGACCCAAGAGGACGAGGCGAGCCTACGGGCCCTTACGGAGGCTATGACTAGATACTCTGCCCCCCTGGGGACCC
GCCAAACCAGAATACGACTTGGAGTTGATAACATCATGCTCCTCCAATGTGTGATCGCGCACGATGCATCTGGCAAAA
GGGTGTACTATCTCACCCGTGACCCACACCCCCCTTGCGCGGGCTGCGTGGGAGACAGCTAGACACACTCCAGTCAAT
TCCTGGCTAGGCAACATCATCATGTATGCGCCACCTTGTGGCAAGGATGATCCTGATGACTCATTTCTTCTCCATCCT
TCTAGCTCAGGAACAACCTTGAAAAAGCCCTAGATTGTGAGATCTACGGGGCCTGTTACTCCATTGAGCCACTTGACCTAC
CTCAGATCATTCAACGACTCCATGGCCTTAGCGCATTTTCACTCCATAGTTACTCTCCAGGTGAGATCAATAGGGTGGCT
TCATGCCTCAGGAACCTTGGGGTACCGCCCTTGCGAGTCTGGAGACATCGGGCCAGAAGTGTCGCGCTAGGCTACTGTC
CCAGGGGGGAGGGCTGCCACTTGTGGCAAGTACCTCTTCAACTGGGCAGTAAGGACCAAGCTCAAACCTCACTCCAATCC
CGGCTGCGTCCCAGTTGGATTTATCCAGCTGGTTCTGTTGCTGGTTACAGCGGGGAGACATATATCACAGCCTGTCTCGT
GCCGACCCCGCTGGTTCATGTGGTGCTACTCTACTTTCTGTAGGGGTAGGCATCTATCTACTCCCAACCGATGAAC
GGGGAGCTAAACACTCCAGGCCAATAGGCCATCCTGTTTTTTTCCCTTTTTTTTTTCTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTT
TTTTTTTTTCTCCTTTTTTTTCTCCTTTTTTCTTTTCTTTTCTTTTGGTGGCTCCATCTTAGCCCTAGTCACGGCTA
GCTGTGAAAGGTCCGTGAGCCGCTTGACTGCAGAGAGTGCTGATACTGGCCTCTCTGCAGATCAAGT

【 0 1 7 9 】

配列番号:6: HCVrep1bBartMan/AvaIIのDNAクローンのヌクレオチド配列: AvaII部位を作
り出すヌクレオチド変化が下記ケースであり、かつボールドで強調されている。

GCCAGCCCCGATTGGGGGCGACACTCCACCATAGATCACTCCCCTGTGAGGAAGTACTGTCTTCACGCAGAAAGCGTCT
AGCCATGGCGTTAGTATGAGTGTGCTGCAGCCTCCAGGACCCCCCTCCCGGAGAGCCATAGTGGTCTGCGGAACCGGT
GAGTACACCGGAATTGCCAGGACGACCGGGTCTTTCTTGGATCAACCCGCTCAATGCCTGGAGATTTGGGCGTGCCCC
GCGAGACTGCTAGCCGAGTAGTGTGGGTGCGAAAGGCCCTTGTGGTACTGCCTGATAGGGTGCTTGCGAGTGCCCCGGG
AGGTCTCGTAGACCGTGCACCATGAGCACGAATCCTAAACCTCAAAGAAAAACCAAGGGCGCGCCATGATTGAACAAGA
TGGATTGCACGCAGGTTCTCCGGCCGCTTGGGTGGAGAGGCTATTCGGCTATGACTGGGCACAACAGACAATCGGCTGCT
CTGATGCCGCCGTGTTCCGGCTGTGAGCGCAGGGGCGCCCGGTTCTTTTTGTCAAGACCGACCTGTCCGGTGCCCTGAAT
GAACTGCAGGACGAGGCGAGCGGCTATCGTGGCTGGCCACGACGGGCGTTCTTGCGCAGCTGTGCTCGACGTTGTCAC
TGAAGCGGGAAGGGACTGGCTGCTATTGGGCGAAGTGCCGGGGCAGGATCTCCTGTCTCTACCTTGCTCCTGCCGAGA
AAGTATCCATCATGGCTGATGCAATGCGGCGGCTGCATACGCTTGATCCGGCTACCTGCCATTGACACCAAGCGAAA
CATCGCATCGAGCGAGCACGTA CTGCGATGGAAGCCGGTCTTGTGATCAGGATGATCTGGACGAAGAGCATCAGGGGCT
CGCGCCAGCCGAAGTGTTCGCCAGGCTCAAGGCGCGCATGCCGACGGCGAGGATCTCGTCTGACCCATGGCGATGCCT
GCTTGCCGAATATCATGGTGGAAAATGGCCGCTTTTCTGGATTTCGACTGTGGCCGGCTGGGTGTGGCGGACCGCTAT
CAGGACATAGCGTTGGCTACCCGTGATATTGCTGAAGAGCTTGGCGGCGAATGGGCTGACCGCTTCTCTGTGCTTTACGG
TATCGCCGCTCCCGATTGCGAGCGCATCGCCTTCTATCGCCTTCTTGACGAGTTCTTCTGAGTTTAAACAGACCACAACG
GTTTCCCTCTAGCGGGATCAATTCGCCCCCTCTCCCTCCCCCCCCCTAACGTTACTGGCCGAAGCCGCTTGGAAATAAGG
CCGGTGTGCGTTTGTCTATATGTTATTTCCACCATATTGCCGTCTTTTGGCAATGTGAGGGCCCGGAAACCTGGCCCTG
TCTTCTTGACGAGCATTCCTAGGGGTCTTCCCTCTCGCCAAAGGAATGCAAGGTCTGTTGAATGTGCTGAAGGAAGCA
GTTCTCTGGAAGCTTCTTGAAGACAAACAACGTCTGTAGCGACCCCTTGCAGGCGAGCGGAACCCCCACCTGGCGACAG

GTGCCTCTGCGGCCAAAAGCCACGTGTATAAGATACACCTGCAAAGGCGGCACAACCCCAAGTGCCACGTTGTGAGTTGGA
TAGTTGTGGAAGAGTCAAATGGCTCTCCTCAAGCGTATTCAACAAGGGGCTGAAGGATGCCCAGAAGGTACCCCATTTGT
ATGGGATCTGATCTGGGGCCTCGGTGCACATGCTTTACATGTGTTTAGTCGAGGTTAAAAACGTCTAGGCCCCCGAAC
CACGGGGACGTGGTTTTCTTTGAAAAACAGATAATACCATGGCGCCTATTACGGCCTACTCCCAACAGACGCGAGGCC
TACTTGGCTGCATCATCACTAGCCTCACAGGCCGGGACAGGAACCAGGTCGAGGGGGAGGTCCAAGTGGTCTCCACCGCA
ACACAATCTTTCTGGCGACCTGCGTCAATGGCGTGTGTTGGACTGTCTATCATGGTGCCGGCTCAAAGACCCCTTGCCGG
CCCAAAGGGCCCAATCACCCAAATGTACACCAATGTGGACCAGGACCTCGTCGGCTGGCAAGCGCCCCCGGGGCGGTT
CCTTGACACCATGCACCTGCGGCAGCTCGGACCTTTACTTGGTCACGAGGCATGCCGATGTCATTCCGGTGCGCCGGCGG
GGCGACAGCAGGGGGAGCCTACTCTCCCCAGGCCCGTCTCCTACTTGAAGGGCTCTTCGGGCGGTCCACTGCTCTGCC
CTCGGGGACGCTGTGGGCATCTTCGGGCTGCCGTGTGCACCCGAGGGGTTGCGAAGCGGTGGACTTTGTACCCGTGCG
AGTCTATGGAACCCTATGCGGTCCCCGGTCTTCACGGACAACCTCGTCCCCTCGGGCGGTACCGCAGACATTCAGGTG
GCCCATCTACACGCCCCCTACTGGTAGCGGCAAGAGCACTAAGGTGCCGGCTGCGTATGCAGCCCAAGGGTATAAGGTGCT
TGTCCTGAACCCGTCCGTGCGCCGCCACCCTAGGTTTCGGGGCGTATATGTCTAAGGCACATGGTATCGACCCTAACATCA
GAACCGGGTAAGGACCATCACACGGGTGCCCCATCACGTACTCCACCTATGGCAAGTTTCTTGCCGACGGTGGTTGC
TCTGGGGGCGCCTATGACATCATAATATGTGATGAGTGCCACTCAACTGACTCGACCACTATCCTGGGCATCGGCACAGT
CCTGGACCAAGCGGAGACGGCTGGAGCGGACTCGTCTGCTCGCCACCGCTACGCTCCGGGATCGGTACCGTGCCAC
ATCCAAACATCGAGGAGGTGGCTCTGTCCAGCACTGGAGAAATCCCTTTTATGGCAAAGCCATCCCCATCGAGACCATC
AAGGGGGGAGGCACCTCATTTCTGCCATTCCAAGAAGAAATGTGATGAGCTCGCCGCGAAGCTGTCCGGCCTCGGACT
CAATGCTGTAGCATATTACCGGGGCTTGATGTATCCGTACATCACTAGCGGAGACGTATTGTCTGAGCAACGGACG
CTCTAATGACGGGCTTTACCGGCGATTTGACTCAGTGATCGACTGCAATACATGTGTACCCAGACAGTCGACTTCAGC
CTGGACCCGACCTTCACCATTTAGACGACGACCGTGCCACAAGACGCGGTGTACGCTCGCAGCGGGCAGGCAGGACTGG
TAGGGGACAGGATGGGCATTTACAGGTTTGTGACTCCAGGAGAACGGCCCTCGGGCATGTTGATTCTCGGTTCTGTGCG
AGTGCTATGACGCGGGCTGTGCTTGGTACGAGCTCACGCCCCCGAGACCTCAGTTAGGTTGCGGGCTTACCTAACACA
CCAGGGTTGCCGTCTGCCAGGACCATCTGGAGTTCTGGGAGAGCGTCTTTACAGGCCTACCCACATAGACGCCCATTT
CTTGTCAGACTAAGCAGGCAGGAGACAACCTCCCTACCTGGTAGCATACCAGGCTACGGTGTGCGCCAGGGCTCAGG
CTCCACCTCCATCGTGGGACCAAATGTGGAAGTGTCTCATACGGCTAAAGCCTACGCTGCACGGGCCAACGCCCTGCTG
TATAGGCTGGGAGCCGTTCAAACGAGGTTACTACCACACCCCCATAACCAAATACATCATGGCATGCATGTGCGGTGA
CCTGGAGGTGCTCACGAGCACCTGGGTGCTGGTAGGCGAGTCTAGCAGCTCTGGCCGCGTATTGCTGACAACAGGCA
GCGTGGTCATTGTGGGACAGGATCATCTTGTCGGGAAAGCCGGCCATATTCCCGACAGGGAAGTCTTTACCGGGAGTTC
GATGAGATGGAAGAGTGCGCCTCACACCTCCCTTACATCGAACAGGGAATGCAGCTCGCCGAACAATTCAAACAGAAGGC
AATCGGGTTGCTGCAAACAGCCACCAAGCAAGCGGAGGCTGCTGCTCCCGTGGTGAATCCAAGTGGCGGACCCTCGAAG
CCTTCTGGGCGAAGCATATGTGGAATTTATCAGCGGGATACAATATTTAGCAGGCTTGTCACCTCTGCCTGGCAACCCC
GCGATAGCATCACTGATGGCATTACAGCCTCTATACCCAGCCGCTCACACCCAACATACCCTCCTGTTTAACATCCT
GGGGGGATGGGTGGCCGCCCAACTTGCTCCTCCAGCGTCTCTGCTTTCTGAGGCGCCGGCATCGCTGGAGCGGCTG
TTGGCAGCATAGGCCCTTGGGAAGGTGCTTGTGGATATTTTGGCAGGTTATGGAGCAGGGGTGGCAGGCGCGCTCGTGGCC
TTTAAGGTCATGAGCGGCGAGATGCCCTCCACCGAGGACCTGGTTAACCTACTCCCTGCTATCCTCTCCCCTGGCGCCCT
AGTCGTGCGGGTGTGTGCGCAGCGATACTGCGTCGGCACGTGGGCCCAGGGGAGGGGCTGTGAGTGGATGAACCGGC
TGATAGCGTTGCTTCGCGGGGTAACACGTCTCCCCACGCACTATGTGCCTGAGAGCGACGCTGCAGCACGTGTCACT
CAGATCCTCTCTAGTCTTACCATCACTCAGCTGCTGAAGAGGCTTACCAGTGGATCAACGAGGACTGCTCCACGCCATG
CTCCGGCTCGTGGCTAAGAGATGTTTGGGATTGGATATGCACGGTGTGACTGATTTCAAGACCTGGCTCCAGTCCAAGC
TCCTGCCGCGATTGCCGGGAGTCCCTTCTTCTCATGTCAACGTGGGTACAAGGGAGTCTGGCGGGGCGACGGCATCATG
CAAACACCTGCCCATGTGGAGCACAGATCACCGGACATGTAAAAACGGTTCCATGAGGATCGTGGGGCCTAGGACCTG
TAGTAACACGTGGCATGGAACATTCCCATTAACGCGTACACCAGGGGCCCTGCACGCCCTCCCGGGCGCCAAATTATT
CTAGGGCGCTGTGGCGGGTGGCTGCTGAGGAGTACGTGGAGGTTACGCGGGTGGGGGATTTCCACTACGTGACGGGCATG
ACCACTGACAACGTAAAGTGCCCGTGTGAGGTTCCGGCCCCGAATTCTTACAGAAGTGGATGGGGTGGGTTGCACAG
GTACGCTCCAGCGTGCAAACCCCTCCTACGGGAGGAGGTACATTCTGTCGGGCTCAATCAATACCTGGTTGGGTGAC
AGTCCCATGCGAGCCCGAACCGGACGTAGCAGTGCTCACTTCCATGCTCACCGACCCCTCCACATTACGGCGGAGACG
GCTAAGCGTAGGCTGGCCAGGGGATCTCCCCCTCCTTGCCAGCTCATCAGCTAGCCAGCTGTCTGCGCTTCTTTGAA
GGCAACATGCACTACCGTCATGACTCCCCGACGCTGACCTCATCGAGGCCAACCTCCTGTGGCGGCAGGAGATGGGCG
GGAACATCACCCGCGTGGAGTCAGAAAATAAGGTAGTAATTTTGGACTCTTTCGAGCCGCTCCAAGCGGAGGAGGATGAG

AGGGAAGTATCCGTTCCGGCGGAGATCCTGCGGAGGTCCAGGAAATTCCTCGAGCGATGCCCATATGGGCACGCCCCGA
TTACAACCCCTCCACTGTTAGAGTCCTGGAAGGACCCGGACTACGTCCCTCCAGTGGTACACGGGTGTCCATTGCCGCCTG
CCAAGGCCCTCCGATACCACCTCCACGGAGGAAGAGGACGGTTGTCTGTGAGAATCTACCGTGTCTTCTGCCCTTGGCG
GAGCTCGCCACAAAGACCTTCGGCAGCTCCGAATCGTCGGCCGTGACAGCGGCACGGCAACGGCCTCTCCTGACCAGCC
CTCCGACGACGGCGACGCGGGATCCGACGTTGAGTCGTA CTCTCCATGCCCCCCTTGAGGGGGAGCCGGGGGATCCCG
ATCTCAGCGACGGGTCTTGGTCTACCGTAAGCGAGGAGGCTAGTGAGGACGTCTGTCTGCTGCTGATGTCTACACATGG
ACAGGCGCCCTGATCACGCCATGCGCTGCGGAGGAAACCAAGCTGCCCATCAATGCACTGAGCAACTCTTTGCTCCGTCA
CCACAACCTTGGTCTATGCTACAACATCTCGCAGCGCAAGCCTGCGGCAGAAGAAGGTCACCTTTGACAGACTGCAGGTCC
TGGACGACCACTACCGGGACGTGCTCAAGGAGATGAAGGCGAAGGCGTCCACAGTTAAGGCTAAACTTCTATCCGTGGAG
GAAGCCTGTAAGCTGACGCCCCACATTGCGCCAGATCTAAATTTGGCTATGGGGCAAAGGACGTCCGGAACCTATCCAG
CAAGGCCGTTAACCACATCCGCTCCGTGTGGAAGGACTTGTGGAAGACACTGAGACACCAATTGACACCACCATCATGG
CAAAAAATGAGGTTTTCTGCGTCCAACCAGAGAAGGGGGGCGCAAGCCAGCTCGCCTTATCGTATTCCCAGATTTGGGG
GTTCTGTGTGCGAGAAAATGGCCCTTTACGATGTGGTCTCCACCCTCCCTCAGGCCGTGATGGGCTCTTCATACGGATT
CCAATACTCTCCTGGACAGCGGGTCGAGTTCTGGTGAATGCCTGGAAAGCGAAGAAATGCCCTATGGGCTTCGCATATG
ACACCCGCTGTTTTGACTCAACGGTCACTGAGAATGACATCCGTGTTGAGGAGTCAATCTACCAATGTTGTGACTTGGCC
CCCGAAGCCAGACAGGCCATAAGGTGCTCACAGAGCGGCTTTACATCGGGGGCCCCCTGACTAATTCTAAAGGGCAGAA
CTGCGGCTATCGCCGGTGCCGCGGAGCGGTGTACTGACGACCAGCTGCGGTAATACCCTCACATGTTACTTGAAGCCCG
CTGCGGCCTGTGAGCTGCGAAGCTCCAGGACTGCACGATGCTCGTATGCGGAGACGACCTTGTCTGTTATCTGTGAAAGC
GCGGGGACCCAAGAGGACGAGGCGAGCCTACGGGCCCTTACGGAGGCTATGACTAGATACTCTGCCCCCCTGGGGACCC
GCCCCAAACCAGAATACGACTTGGAGTTGATAACATCATGCTCCTCCAATGTGTGAGTGTGCGGACGATGCATCTGGCAAAA
GGGTGTACTATCTCACCCGTGACCCACACCCCCCTTGGCGGGGCTGCGTGGGAGACAGCTAGACACACTCCAGTCAAT
TCCTGGCTAGGCAACATCATCATGTATGCGCCACCTTGTGGGCAAGGATGATCCTGATGACTCATTTCTTCTCCATCCT
TCTAGCTCAGGAACAACCTTGAAAAAGCCCTAGATTGTGAGATCTACGGGGCCTGTTACTCCATTGAGCCACTTGACCTAC
CTCAGATCATTCAACGACTCCATGGCCTTAGCGCATTTTCACTCCATAGTTACTCTCCAGGTGAGATCAATAGGGTGGCT
TCATGCCCTCAGGAAACTTGGGGTACCGCCCTTGCGAGTCTGGAGACATCGGGCCAGAAGTGTCCGCGCTAGGCTACTGTC
CCAGGGGGGAGGGCTGCCACTTGTGGCAAGTACCTCTTCAACTGGGCAGTAAGGACCAAGCTCAAACCTCACTCCAATCC
CGGCTGCGTCCCAGTTGGATTTATCCAGCTGGTTCTGTTGCTGGTTACAGCGGGGAGACATATATCACAGCCTGTCTCGT
GCCCCACCCGCTGGTTCTGTGGTGCCTACTCTACTTTCTGTAGGGGTAGGCATCTATCTACTCCCCAACCGATGAAC
GGGGA_cCTAAACACTCCAGGCCAATAGGCCATCCTGTTTTTTTCCCTTTTTTTTTTCTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTT
TTTTTTTTTTTTTCTCCTTTTTTTTTTCTCCTTTTTTCTTTTCTTTTCTTTTGGTGGCTCCATCTTAGCCCTAGTCACGGC
TAGCTGTGAAAGGTCCGTGAGCCGCTTGACTGCAGAGAGTGCTGATACTGGCCTCTCTGCAGATCAAGT

10

20

30

【 0 1 8 0 】

配列番号:7: HCV順応性レプリコンIのDNAクローンのヌクレオチド配列: 該欠失により作
り出されるアミノ酸が下記ケースで同定されており、かつボールドで強調されている。
GCCAGCCCCGATTGGGGGCGACACTCCACCATAGATCACTCCCTGTGAGGAACTACTGTCTTTCACGCAGAAAGCGTCT
AGCCATGGCGTTAGTATGAGTGTGTCGTCAGCCTCCAGGACCCCCCTCCCGGGAGGCCATAGTGGTCTGCGGAACCGGT
GAGTACACCGGAATTGCCAGGACGACCGGGTCTTTCTTGGATCAACCCGCTCAATGCCTGGAGATTGGGGCTGCCCCC
GCGAGACTGCTAGCCGAGTAGTGTGGGTGCGGAAAGGCCTTGTGGTACTGCCTGATAGGGTGTGCGAGTGCCCCGGG
AGGTCTCGTAGACCGTGCACCATGAGCACGAATCCTAAACCTCAAAGAAAAACCAAAGGGCGCGCCATGATTGAACAAGA
TGGATTGCACGCAGGTTCTCCGGCCGCTTGGGTGGAGAGGCTATTCGGCTATGACTGGGCACAACAGACAATCGGCTGCT
CTGATGCCGCCGTGTTCCGGCTGTGAGCGCAGGGGCGCCGGTTCTTTTTGTCAAGACCGACCTGTCCGGTGCCCTGAAT
GAACTGCAGGACGAGGCAGCGCGGTATCGTGGCTGGCCACGACGGGCGTTCTTGCGCAGCTGTGCTCGACGTTGTAC
TGAAGCGGGAAGGGACTGGCTGCTATTGGGCGAAGTGCCGGGCGAGGATCTCCTGTATCTCACCTTGCTCCTGCCGAGA
AAGTATCCATCATGGCTGATGCAATGCGGCGGCTGCATACGCTTGATCCGGCTACCTGCCATTGACACCAAGCGAAA
CATCGCATCGAGCGAGCACGTACTCGGATGGAAGCCGGTCTTGTGATCAGGATGATCTGGACGAAGAGCATCAGGGGCT
CGCGCCAGCCGAACCTGTTGCCAGGCTCAAGGCGCGCATGCCGACGGCGAGGATCTCGTCTGACCCATGGCGATGCCCT
GCTTGCCGAATATCATGGTGGAAAATGGCCGCTTTTCTGGATTCTGACTGTGGCCGGCTGGGTGTGGCGGACCGCTAT
CAGGACATAGCGTTGGCTACCCGTGATATTGCTGAAGAGCTTGGCGGCGAATGGGCTGACCGCTTCTCGTGCTTTACGG
TATCGCCGCTCCCGATTGCGAGCGCATCGCCTTCTATCGCCTTCTTGACGAGTTCTTCTGAGTTTAAACAGACCACAACG
GTTTCCCTCTAGCGGGATCAATTCCGCCCTCTCCCTCCCCCCCCCTAACGTTACTGGCCGAAGCCGCTTGAATAAGG

40

50

CCGGTGTGCGTTTGTCTATATGTTATTTTCCACCATATTGCCGCTTTTTGGCAATGTGAGGGCCCGGAAACCTGGCCCTG
TCTTCTTGACGAGCATTCTAGGGGTCTTTCCCTCTCGCCAAAGGAATGCAAGGTCTGTTGAATGTCGTGAAGGAAGCA
GTTCTCTGGAAGCTTCTTGAAGACAAACAACGTCTGTAGCGACCCCTTTCAGGCAGCGGAACCCCCACCTGGCGACAG
GTGCCTCTGCGGCCAAAAGCCACGTGTATAAGATACACCTGCAAAAGGCGGCACAACCCAGTGCCACGTTGTGAGTTGGA
TAGTTGTGGAAGAGTCAAATGGCTCTCCTCAAGCGTATTCAACAAGGGGCTGAAGGATGCCCAGAAGGTACCCATTGT
ATGGGATCTGATCTGGGGCCTCGGTGCACATGCTTTACATGTGTTAGTCGAGGTTAAAAACGTCTAGGCCCCCCGAAC
CACGGGACGTGGTTTTCTTTGAAAAACACGATAATACCATGGCGCCTATTACGGCCTACTCCCAACAGACGCGAGGCC
TACTTGGCTGCATCATCACTAGCCTCACAGGCCGGGACAGGAACAGGTGAGGGGGAGGTCCAAGTGGTCTCCACCGCA
ACACAATCTTTCTGGCGACCTGCGTCAATGGCGTGTGTTGGACTGTCTATCATGGTGCCGGCTCAAAGACCCCTGCCGG
CCCAAAGGGCCCAATCACCCAAATGTACACCAATGTGGACCAGGACCTCGTCGGCTGGCAAGCGCCCCCGGGGCGCGTT 10
CCTTGACACCATGCACCTGCGGCAGCTCGGACCTTTACTTGGTCACGAGGCATGCCGATGTCATTCCGGTGCGCCGGCGG
GGCGACAGCAGGGGGAGCCTACTCTCCCCAGGCCCGTCTCTACTTGAAGGGCTCTTCGGGCGGTCCACTGCTCTGCCC
CTCGGGGACGCTGTGGGCATCTTTGGGGTGGCGTGTGCACCCGAGGGGTTCGAAGGCGGTGGACTTTGTACCCGTGCG
AGTCTATGGAACCACTATGCGGTCCCCGGTCTTCACGGACAACCTCGTCCCCTCCGGCGTACCGCAGACATTCCAGGTG
GCCCATCTACAGCCCCCTACTGGTAGCGGCAAGAGCACTAAGGTGCCGGCTGCGTATGCAGCCCAAGGGTATAAGGTGCT
TGTCCTGAACCCGTCCGTGCGCGCACCCCTAGGTTTTCGGGCGTATATGTCTAAGGCACATGGTATCGACCCTAACATCA
GAACCGGGTAAGGACCATCACACGGGTGCCCCATCACGTAATCCACCTATGGCAAGTTTCTTGCCGACGGTGGTTGC
TCTGGGGGCGCCTATGACATCATAATATGTGATGAGTGCCACTCAACTGACTCGACCCTATCCTGGGCATCGGCACAGT
CCTGGACCAAGCGGAGACGGCTGGAGCGGACTCGTCGTGCTGCCACCGCTACGCCTCCGGGATCGGTACCCGTGCCAC
ATCCAAACATCGAGGAGGTGGCTGTGCCAGCACTGGAGAAATCCCTTTTATGGCAAAGCCATCCCCATCGAGACCATC 20
AAGGGGGGAGGCACCTCATTTTCTGCCATTCCAAGAAGAAATGTGATGAGCTCGCCGGAAGCTGTCCGGCCTCGGACT
CAATGCTGTAGCATATTACCGGGCCTTGATGTATCCGTATACCAACTAGCGGAGACGTCAATTGTCGTAGCAACGGACG
CTCTAATGACGGGCTTTACCGCGATTTGACTCAGTGATCGACTGCAATACATGTGTCAACCCAGACAGTCGACTTCAGC
CTGGACCCGACCTTACCATTGAGACGACGACCGTGCCACAAGACGCGGTGTCACGCTCGCAGCGGCGAGGCAGGACTGG
TAGGGGACAGGATGGGCATTTACAGGTTTGTGACTCCAGGAGAACGGCCCTCGGGCATGTTGATTCTCGGTTCTGTGCG
AGTGCTATGACGCGGGCTGTGCTTGGTACGAGCTCACGCCCCGAGACCTCAGTTAGGTTGCGGGCTTACCTAAACACA
CCAGGGTTGCCGCTGTGCCAGGACCATCTGGAGTTCTGGGAGAGCGTCTTTACAGGCCTACCCACATAGACGCCCATTT
CTTGTCAGACTAAGCAGGCAGGAGACAACCTCCCCTACCTGGTAGCATACCAGGCTACGGTGTGCGCCAGGGCTCAGG
CTCCACCTCCATCGTGGGACCAATGTGGAAGTGTCTATACGGCTAAAGCCTACGCTGCAGGGGCAACGCCCTGCTG
TATAGGCTGGGAGCCGTTCAAACGAGGTTACTACCACACACCCCATAAACCAATACATCATGGCATGCATGTGCGCTGA 30
CCTGGAGGTCGTACGAGCACCTGGGTGCTGGTAGGCGGAGTCTAGCAGCTCTGGCCGCGTATTGCCTGACAACAGGCA
GCGTGGTCATTGTGGGACAGGATCATCTTGTCGGGAAAGCCGGCCATCATTCCCGACAGGGAAGTCCTTTACCGGGAGTTC
GATGAGATGGAAGAGTGCGCCTCACACCTCCCTTACATCGAACAGGGAATGCAGCTCGCCGAACAATTCAAACAGAAGGC
AATCGGGTTGCTGCAAACAGCCACCAAGCAAGCGGAGGCTGCTGCTCCCGTGGTGAATCCAAGTGGCGGACCCTCGAAG
CCTTCTGGGCGAAGCATATGTGGAATTTATCAGCGGGATACAATATTTAGCAGGCTTGTCCACTCTGCCTGGCAACCCC
GCGATAGCATCACTGATGGCATTACAGCCTCTATCACCAGCCGCTCACCACCAACATACCCTCCTGTTTAAACATCCT
GGGGGGATGGGTGGCCGCCCAACTTGCTCCTCCAGCGCTGCTTCTGCTTTCGTAGGCGCCGGCATCGCTGGAGCGGCTG
TTGGCAGCATAGGCCCTTGGGAAGGTGCTTGTGGATATTTTGGCAGGTTATGGAGCAGGGGTGGCAGGCGCGCTCGTGCC
TTTAAGGTCATGAGCGGCGAGATGCCCTCCACCGAGGACCTGGTTAACTACTCCCTGCTATCCTCTCCCCTGGCGCCCT
AGTCGTGCGGGTGTGTGCGCAGCGATACTGCGTCGGCACGTGGGCCAGGGGAGGGGCTGTGCAGTGGATGAACCGGC 40
TGATAGCGTTGCTTCGCGGGGTAACCACGTCTCCCCACGCACTATGTGCTGAGAGCGACGCTGCAGCACGTGTCACT
CAGATCCTCTCTAGTCTTACCATCACTCAGCTGCTGAAGAGGCTTACCAGTGGATCAACGAGGACTGCTCCACGCCATG
CTCCGGCTCGTGGCTAAGAGATGTTTGGGATTGGATATGCAGGTGTTGACTGATTTCAAGACCTGGCTCCAGTCCAAGC
TCCTGCCGCGATTGCCGGGAGTCCCCCTTCTCTCATGTCAACGTGGGTACAAGGGAGTCTGGCGGGGCGACGGCATCATG
CAAACCACCTGCCCATGTGGAGCACAGATCACCGGACATGTGAAAAACGGTTCCATGAGGATCGTGGGGCCTAGGACCTG
TAGTAACACGTGGCATGGAACATTCCCCATTAAACGCTACACCAGGGGCCCTGCACGCCCTCCCCGGCGCCAAATTATT
CTAGGGCGCTGTGGCGGGTGGCTGCTGAGGAGTACGTGGAGGTTACGCGGGTGGGGGATTTCCACTACGTGACGGGCATG
ACCACTGACAACGTAAAGTGCCCGTGTGAGGTTCCGGCCCCGAATTCTTACAGAAGTGGATGGGGTGGGTTGCACAG
GTACGCTCCAGCGTGAAACCCCTCTACGGGAGGAGGTACATTCTGGTGGGCTCAATCAATACCTGGTTGGGTAC
AGCTCCCATGCGAGCCCGAACCAGGACGTAGCAGTGTCACTTCCATGCTCACCAGCCCTCCACATTACGGCGGAGACG 50

GCTAAGCGTAGGCTGGCCAGGGGATCTCCCCCTCCTTGGCCAGCTCATCAGCTAGCCAGCTGtacTCTTTCGAGCCGCT
CCAAGCGGAGGAGGATGAGAGGGAAGTATCCGTTCCGGCGGAGATCCTGCGGAGGTCCAGGAAATTCCTCGAGCGATGC
CCATATGGGCACGCCCCGATTACAACCTCCACTGTTAGAGTCCTGGAAGGACCCGGAAGTCCCTCCAGTGGTACAC
GGGTGTCCATTGCCGCTGCCAAGGCCCCCTCCGATACCACCTCCACGGAGGAAGAGGACGGTTGTCTGTGAGAATCTAC
CGTGTCTTCTGCCTTGGCGGAGCTCGCCACAAAGACCTTCGGCAGCTCCGAATCGTCGGCCGTGACAGCGGCACGGCAA
CGGCCTCTCCTGACCAGCCCTCCGACGACGGCGACGCGGGATCCGACGTTGAGTCGTAAGTCCATGCCCCCTTGTAG
GGGGAGCCGGGGGATCCCGATCTCAGCGACGGGTCTTGGTCTACCGTAAGCGAGGAGGCTAGTGAGGACGTCGTCTGCTG
CTCGATGTCTACACATGGACAGGCGCCCTGATCACGCCATGCGCTGCGGAGGAAACCAAGCTGCCCATCAATGCACTGA
GCAACTCTTTGCTCCGTACCCACAACCTTGGTCTATGCTACAACATCTCGCAGCGCAAGCTGCGGCAGAAGAAGTCAAC
TTTGACAGACTGCAGGTCTGACGACCACTACCGGGACGTGCTCAAGGAGATGAAGGCGAAGGCGTCCACAGTTAAGGC
TAAACTTCTATCCGTGGAGGAAGCCTGTAAGCTGACGCCCCACATTCGGCCAGATCTAAATTTGGCTATGGGGCAAAGG
ACGTCCGGAACCTATCCAGCAAGGCCGTTAACCACATCCGCTCCGTGTGGAAGGACTTGTGGAAGACACTGAGACACCA
ATTGACACCACCATCATGGCAAAAAATGAGGTTTTCTGCGTCCAACAGAGAAGGGGGGCCGAAGCCAGCTCGCCTTAT
CGTATTTCCAGATTTGGGGGTTCTGTGTGCGAGAAAATGGCCCTTTACGATGTGGTCTCCACCCTCCCTCAGGCCGTGA
TGGGCTCTTCATACGATTCCAATACTCTCCTGGACAGCGGTGAGTTCTGTTGAATGCCTGGAAAGCGAAGAAATGC
CCTATGGGCTTCGCATATGACACCCGCTGTTTTGACTCAACGGTCACTGAGAATGACATCCGTGTTGAGGAGTCAATCTA
CCAATGTTGTGACTTGGCCCCGAAGCCAGACAGGCCATAAGGTGCTCACAGAGCGGCTTTACATCGGGGGCCCCCTGA
CTAATTTCAAAGGGCAGAAGTGCAGCTATCGCCGGTGCCGCGCGAGCGGTGTAAGTACGAGACCAAGTACCCCTC
ACATGTTACTTGAAGGCCGCTGCGGCCTGTGAGCTGCGAAGCTCCAGGACTGCACGATGCTCGTATGCGGAGACGACCT
TGTCGTTATCTGTGAAAGCGCGGGGACCCAAGAGGACGAGGCGAGCCTACGGGCCCTTACGGAGGCTATGACTAGATACT
CTGCCCCCTGGGGACCCGCCAAACCAGAATACGACTTGGAGTTGATAACATCATGCTCCTCCAATGTGTGAGTCGCG
CACGATGCATCTGGCAAAAGGGTGTACTATCTCACCCGTGACCCACCAACCCCTTGCAGCGGGCTGCGTGGGAGACAGC
TAGACACACTCCAGTCAATTCCTGGCTAGGCAACATCATATGATGCGCCACCTTGTGGGCAAGGATGATCCTGATGA
CTCATTTCTTCTCCATCCTTCTAGCTCAGGAACAACCTGAAAAAGCCCTAGATTGTGAGATCTACGGGGCCTGTTACTCC
ATTGAGCCACTTGACCTACCTCAGATCATTCAACGACTCCATGGCCTTAGCGCATTTTCACTCCATAGTTACTCTCCAGG
TGAGATCAATAGGGTGGCTTCATGCCTCAGGAACTTGGGGTACCGCCCTTGCAGTCTGGAGACATCGGGCCAGAAGTG
TCCGCGCTAGGCTACTGTCCCAGGGGGGAGGGCTGCCACTTGTGGCAAGTACCTCTTCAACTGGGCAGTAAGGACCAAG
CTCAAACCTCACTCCAATCCCGGTGCGTCCCAGTTGGATTTATCCAGCTGGTTCGTTGCTGGTTACAGCGGGGAGACAT
ATATCACAGCCTGTCTCGTGGCGACCCGCTGGTTCATGTGGTGCTACTCTACTTTCTGTAGGGGTAGGCATCTATC
TACTCCCAACCGATGAACGGGGACCTAAACACTCCAGGCCAATAGGCCATCCTGTTTTTTTCCCTTTTTTTTTTTCTTT
TTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTCTCCTTTTTTTTCTCTTTTTTTCTTTTCTTTCTTTTGGTGGCTCCA
TCTTAGCCCTAGTCACGGCTAGCTGTGAAAGGTCCGTGAGCCGCTTACTGCAGAGAGTGCTGATACTGGCCTCTCTGCA
GATCAAGT

【 0 1 8 1 】

配列番号:8: HCV順応性レプリコンVIのDNAクローンのヌクレオチド配列: 該ヌクレオチド
の変化が下記ケースあり、かつボールドで強調されている。

GCCAGCCCCGATTGGGGGCGACACTCCACCATAGATCACTCCCTGTGAGGAACTACTGTCTTCACGCAGAAAGCGTCT
AGCCATGGCGTTAGTATGAGTGTCTGTCAGCCTCCAGGACCCCCCTCCCGGAGAGCCATAGTGGTCTGCGGAACCGGT
GAGTACACCGGAATTGCCAGGACGACCGGGTCTTTCTTGGATCAACCCGCTCAATGCCTGGAGATTTGGGCGTGCCCCC
GCGAGACTGCTAGCCGAGTAGTGTGGGTGCGGAAAGGCCTTGTGGTACTGCCTGATAGGGTGCTTGCAGTGCCCCGGG
AGGTCTCGTAGACCGTGACCATGAGCACGAATCCTAAACCTCAAAGAAAAACCAAGGGCGCGCCATGATTGAACAAGA
TGGATTGCACGCAGGTTCTCCGGCCGCTTGGGTGGAGAGGCTATTCGGCTATGACTGGGCACAACAGACAATCGGCTGCT
CTGATGCCGCGGTGTTCCGGCTGTGAGCGAGGGGCGCCGGTCTTTTTTGTCAAGACCGACCTGTCCGGTGCCCTGAAT
GAACTGCAGGACGAGGACGCGGCTATCGTGGCTGGCCACGACGGGCGTTCTTGCAGAGCTGTGCTCGACGTTGTAC
TGAAGCGGGAAGGACTGGCTGCTATTGGGCGAAGTGCCGGGGCAGGATCTCCTGTATCTCACCTTGCTCCTGCCGAGA
AAGTATCCATCATGGCTGATGCAATGCGGCGGCTGCATACGCTTGATCCGGCTACCTGCCATTGACCAACCAAGCGAAA
CATCGCATCGAGCGAGCACGTAAGTCCGGATGGAAGCCGGTCTTGTGATCAGGATGATCTGGACGAAGAGCATCAGGGCT
CGCGCCAGCCGAAGTGTTCGCCAGGCTCAAGGCGCGCATGCCCAGCGGAGGATCTCGTGTGACCCATGGCGATGCCT
GCTTGCCGAATATCATGGTGGAAAATGGCCGCTTTTCTGGATTTCATCGACTGTGGCCGGCTGGGTGTGGCGGACCGCTAT
CAGGACATAGCGTTGGCTACCCGTGATATTGCTGAAGAGCTTGGCGGCGAATGGGCTGACCGCTTCTCGTGCTTTACGG

10

20

30

40

50

TATCGCCGCTCCCGATTGCGAGCGCATCGCCTTCTATCGCCTTCTTGACGAGTTCTTCTGAGTTTAAACAGACCACAACG
GTTTCCCTCTAGCGGGATCAATTCGCCCCCTCTCCCTCCCCCCCCCTAACGTTACTGGCCGAAGCCGCTTGGAATAAGG
CCGGTGTGCGTTTGTCTATATGTTATTTTCCACCATAATTGCCGTCTTTTGGCAATGTGAGGGCCCGGAAACCTGGCCCTG
TCTTCTTGACGAGCATTCTAGGGGTCTTTCCCTCTCGCCAAAGGAATGCAAGGTCTGTTGAATGTCGTGAAGGAAGCA
GTTCTCTGGAAGCTTCTTGAAGACAAAACAGTCTGTAGCGACCCTTTGCAGGCAGCGGAACCCCCACCTGGCGACAG
GTGCCTCTGCGGCCAAAAGCCACGTGTATAAGATACACCTGCAAAGGCGGCACAACCCCACTGCCACGTTGTGAGTTGGA
TAGTTGTGGAAGAGTCAAATGGCTCTCCTCAAGCGTATTCAACAAGGGGCTGAAGGATGCCCAGAAGGTACCCCATTTGT
ATGGGATCTGATCTGGGGCCTCGGTGCACATGCTTTACATGTGTTTAGTCGAGGTTAAAAACGTCTAGGCCCCCGAAC
CACGGGGACGTGGTTTTCTTTGAAAAACAGATAATACCATGGCGCCTATTACGGCCTACTCCCAACAGACGCGAGGCC
TACTTGGCTGCATCATCACTAGCCTCACAGGCCGGGACAGGAACAGGTGAGGGGGAGGTCCAAGTGGTCTCCACCGCA
ACACAATCTTTCTGGCGACCTGCGTCAATGGCGTGTGTTGGACTGTCTATCATGGTGCCGGCTCAAAGACCTTGGCCG
CCCAAAGGGCCCAATCACCCAAATGTACACCAATGTGGACCAGGACCTCGTCCGCTGGCgAGCGCCCCCGGGGCGCGTT
CCTTGACACCATGCACCTGCGGCAGCTCGGACCTTTACTTGGTCACGAGGCATGCCGATGTCATTCCGGTGCGCCGGCGG
GGCGACAGCAGGGGGAGCCTACTCTCCCCCAGGCCCGTCTCCTACTTGAAGGGCTCTTCGGGCGGTCCACTGCTCTGCC
CTCGGGGCACGCTGTGGGCATCTTTCGGGCTGCCGTGTGCACCCGAGGGGTTGCGAAGGCGGTGGACTTTGTACCCGTG
AGTCTATGGAACCACTATGCGGTCCCCGGTCTTCACGGACAACTCGTCCCCTCCGGCGGTACCGCAGACATTCCAGGTG
GCCCATCTACAGCCCCCTACTGGTAGCGGCAAGAGCACTAAGGTGCCGGCTGCGTATGCAGCCCAAGGGTATAAGGTGCT
TGTCCTGAACCCGTCCGTGCGGCCACCCCTAGGTTTCGGGGCGTATATGTCTAAGGCACATGGTATCGACCCTAACATCA
GAACCGGGTAAGGACCATCACACGGGTGCCCCATCACGTACTCCACCTATGGCAAGTTTCTTGCCGACGGTGGTTGC
TCTGGGGGCGCCTATGACATCATAATATGTGATGAGTGCCACTCAACTGACTCGACCACTATCCTGGGCATCGGCACAGT
CCTGGACCAAGCGGAGACGGCTGGAGCGGCGACTCGTCTGCTCGCCACCGCTACGCCTCCGGGATCGGTACCCGTGCCAC
ATCCAAACATCGAGGAGGTGGCTCTGTCCAGCACTGGAGAAATCCCCTTTTATGGCAAAGCCATCCCCATCGAGACCATC
AAGGGGGGAGGCACCTCATTTTCTGCCATTCCAAGAAGAAATGTGATGAGCTCGCCGCGAAGCTGTCCGGCCTCGGACT
CAATGCTGTAGCATATTACCGGGGCTTGATGTATCCGTACATCACTAGCGGAGACGTCAATTGTGCTAGCAACGGACG
CTCTAATGACGGGCTTTACCGGCGATTTGACTCAGTGATCGACTGCAATACATGTGTACCCAGACAGTCGACTTCAGC
CTGGACCCGACCTTCACCATTTAGACGACGACCGTGCCACAAGACGCGGTGTACGCTCGCAGCGGCGAGGCAGGACTGG
TAGGGGACAGGATGGGCATTTACAGGTTTGTGACTCCAGGAGAACGGCCCTCGGGCATGTTTCGATTCTCGGTTCTGTGCG
AGTGCTATGACGCGGGCTGTGCTTGGTACGAGCTCACGCCCCGAGACCTCAGTTAGGTTGCGGGCTTACCTAAACACA
CCAGGGTTGCCGTCTGCCAGGACCATCTGGAGTTCTGGGAGAGCGTCTTTACAGGCCTACCCACATAGACGCCCATTT
CTTGTCAGACTAAGCAGGCAGGAGACAACCTCCCCTACCTGGTAGCATACCAGGCTACGGTGTGCGCCAGGGCTCAGG
CTCCACCTCCATCGTGGGACCAAATGTGGAAGTGTCTCATACGGCTAAAGCCTACGCTGCACGGGCCAACGCCCTGCTG
TATAGGCTGGGAGCCGTTCAAACGAGGTTACTACCACACACCCCATAAACAAATACATCATGGCATGCATGTCGGCTGA
CCTGGAGGTGCTCAGGACACCTGGGTGCTGGTAGGCGGAGTCTAGCAGCTCTGGCCGCGTATTGCTGACAACAGGCA
GCGTGGTCATTGTGGGACAGGATCATCTTGTCCGGAAGCCGGCCATCATTCCCGACAGGGAAGTCCTTTACCGGGAGTTC
GATGAGATGGAAGAGTGCGCCTCACACCTCCCTTACATCGAACAGGGAATGCAGCTCGCCGAACAATTCAAACAGAAGGC
AATCGGGTTGCTGCAAACAGCCACCAAGCAAGCGGAGGCTGCTGCTCCCGTGGTGAATCCAAGTGGCGGACCCTCGAAG
CCTTCTGGGCGAAGCATATGTGGAATTTATCAGCGGGATACAATATTTAGCAGGCTTGTCCACTCTGCCTGGCAACCCC
GCGATAGCATCACTGATGGCATTACAGCCTCTATACCAGCCGCTCACCAACCAACATACCTCCTGTTTAAACATCCT
GGGGGGATGGGTGGCCGCCCAACTTGCTCCTCCAGCGCTGCTTCTGCTTTCGTAGGCGCCGGCATCGCTGGAGCGGCTG
TTGGCAGCATAGGCCTTGGGAAGGTGCTTGTGGATATTTTGGCAGGTTATGGAGCAGGGGTGGCAGGCGCGCTCGTGGCC
TTTAAGGTCATGAGCGGCGAGATGCCCTCCACCGAGGACCTGGTTAACCTACTCCCTGCTATCCTCTCCCTGGCGCCCT
AGTGTGCGGGGTGCTGTGCGCAGCGATACTGCGTGGCAGCTGGGCCCAGGGGAGGGGCTGTGCAAGTGAACCGGC
TGATAGCGTTGCTTTCGCGGGGTAACACAGTCTCCCCACGCACTATGTGCTGAGAGCGACGCTGCAGCACGTGTCACT
CAGATCCTCTCTAGTCTTACCATCACTCAGCTGCTGAAGAGGCTTACCAGTGGATCAACGAGGACTGCTCCACGCCATG
CTCCGGCTCGTGGCTAAGAGATGTTTGGGATTGGATATGCACGGTGTGACTGATTTCAAGACCTGGCTCCAGTCCAAGC
TCCTGCCCGGATTGCCGGGAGTCCCCTTCTTCTCATGTCAACGTGGGTACAAGGGAGTCTGGCGGGGCGACGGCATCATG
CAAACACCTGCCCATGTGGAGCACAGATCACCGACATGTAAAAACGGTTCCATGAGGATCGTGGGGCCTAGGACCTG
TAGTAACACGTGGCATGGAACATTCCCATTAAACGCGTACACCAGGGGCCCTGCACGCCCTCCCGGGCGCCAAATTATT
CTAGGGCGCTGTGGCGGGTGGCTGCTGAGGAGTACGTGGAGGTTACGCGGGTGGGGGATTTCCTACTAGTGACGGGCATG
ACCACTGACAACGTAAAGTGCCCGTGTGAGGTTCCGGCCCCGAATTCTTCACAGAAGTGGATGGGGTGGGTTGCACAG

GTACGCTCCAGCGTGCAAACCCCTCCTACGGGAGGAGGTCACATTCTGGTCGGGCTCAATCAATACCTGGTTGGGTCAC
AGCTCCCATGCGAGCCCCGAACCGGACGTAGCAGTGCTCACTTCCATGCTCACCACCCCTCCACATTACGGCGGAGACG
GCTAAGCGTAGGCTGGCCAGGGGATCTCCCCCTCCTTGCCAGCTCATCAGCTA tCCAGCTGTCTGCGCCTTCTTGAA
GGCAACATGCACTACCCGTCTAGACTCCCCGGACGCTGACCTCATCGAGGCCAACCTCCTGTGGCGGCAGGAGATGGGCG
GGAACATCACCCGCGTGAGTCAAGAAATAAGGTAGTAATTTTGGACTCTTTTCGAGCCGCTCCAAGCGGAGGAGGATGAG
AGGGAAGTATCCGTTCCGGCGGAGATCCTGCGGAGGTCCAGGAAATTCCTCGAGCGATGCCCATATGGGCACGCCCCGA
TTACAACCCCTCCACTGTTAGAGTCTGGAAGGACCCGGACTACGTCCCTCCAGTGGTACACGGGTGTCCATTGCCGCCTG
CCAAGGCCCCCTCCGATACCCTCCACGGAGGAAGAGGACGGTTGTCTGTGAGAATCTACCGTGTCTTCTGCTTGGCG
GAGCTCGCCACAAAGACCTTCGGCAGCTCCGAATCGTCGGCGCTCGACAGCGGCACGGCAACGGCCTCTCCTGACCAGCC
CTCCGACGACGGCGACGCGGGATCCGACGTTGAGTCGTA CTCTCCATGCCCCCCCTTGAGGGGGAGCCGGGGGATCCCG
ATCTCAGCGACGGGTCTTGGTCTACCGTAAGCGAGGAGGCTAGTGAGGACGTCGTCTGCTGCTCGATGTCCTACACATGG
ACAGGCGCCCTGATCACGCCATGCGCTGCGGAGGAAACCAAGCTGCCCATCAATGCACTGAGCAACTCTTTGCTCCGTCA
CCACAAC TTGGTCTATGCTACAACATCTCGCAGCGCAAGCCTGCGGCAGAAGAAGGTCACCTTTGACAGACTGCAGGTCC
TGGACGACCACTACCGGGACGTGCTCAAGGAGATGAAGGCGAAGGCGTCCACAGTTAAGGCTAAACTTCTATCCGTGGAG
GAAGCCTGTAAGCTGACGCCCCCACATTGCGCCAGATCTAAATTTGGCTATGGGGCAAAGGACGTCCGGAACCTATCCAG
CAAGGCCGTTAACCACATCCGCTCCGTGTGGAAGGACTTGCTGGAAGACACTGAGACACCAATTGACACCACCATCATGG
CAAAAAATGAGGTTTTCTGCGTCCAACCAGAGAAGGGGGGCGCAAGCCAGCTCGCCTTATCGTATTCCAGATTTGGGG
GTTCTGTGTGCGAGAAAATGGCCCTTTACGATGTGGTCTCCACCCTCCCTCAGGCCGTGATGGGCTCTTCATACGGATT
CCAATACTCTCCTGGACAGCGGGTCGAGTTCTGGTGAATGCCTGGAAAGCGAAGAAATGCCCTATGGGCTTCGCATATG
ACACCCGCTGTTTTGACTCAACGGTCACTGAGAATGACATCCGTGTTGAGGAGTCAATCTACCAATGTTGTGACTTGGCC
CCCGAAGCCAGACAGGCCATAAGGTCGCTCACAGAGCGGCTTTACATCGGGGGCCCCCTGACTAATTCTAAAGGGCAGAA
CTGCGGCTATCGCCGGTGCCGCGGAGCGGTGTACTGACGACAGCTGCGGTAATACCCTCACATGTTACTTGAAGGCCG
CTGCGGCCTGTGAGCTGCGAAGCTCCAGGACTGCACGATGCTCGTATGCGGAGACGACCTTGTCGTTATCTGTGAAAGC
GCGGGGACCAAGAGGACGAGGCGAGCCTACGGGCCCTTCACGGAGGCTATGACTAGATACTCTGCCCCCCTGGGGACCC
GCCCCAACCAAGAAATACGACTTGGAGTTGATAACATCATGCTCCTCCAATGTGTGAGTCGCGCACGATGCATCTGGCAAAA
GGGTGTACTATCTCACCCGTGACCCACACCCCCCTTGCGCGGGCTGCGTGGGAGACAGCTAGACACACTCCAGTCAAT
TCCTGGCTAGGCAACATCATCATGTATGCGCCACCTTGTTGGGCAAGGATGATCCTGATGACTCATTCTTCTCCATCCT
TCTAGCTCAGGAACAACCTTGAAAAAGCCCTAGATTGTGAGATCTACGGGGCCTGTTACTCCATTGAGCCACTTGACCTAC
CTCAGATCATTCAACGACTCCATGGCCTTAGCGCATTTTCACTCCATAGTTACTCTCCAGGTGAGATCAATAGGGTGGCT
TCATGCCCTCAGGAAACTTGGGGTACCGCCCTTGCGAGTCTGGAGACATCGGGCCAGAAGTGTCGCGCTAGGCTACTGTC
CCAGGGGGGAGGGCTGCCACTTGTTGGCAAGTACCTCTTCAACTGGGCAGTAAGGACCAAGCTCAAACCTCACTCCAATCC
CGGCTGCGTCCCAGTTGGATTTATCCAGCTGGTTGTTGCTGGTTACAGCGGGGAGACATATATCACAGCCTGTCTCGT
GCCCCACCCGCTGGTTCTATGTGGTGCTACTCTACTTTCTGTAGGGGTAGGCATCTATCTACTCCCAACCGATGAAC
GGGGAGCTAAACACTCCAGGCCAATAGGCCATCCTGTTTTTTTCCCTTTTTTTTTTTCTTTTTTTTTTTTTTTTTTTT
TTTTTTTTTCTCCTTTTTTTTTTCTCCTTTTTTTCTTTTTCTTTTCTTTTGGTGGCTCCATCTTAGCCCTAGTCACGGCTA
GCTGTGAAAGGTCGTTGAGCCGCTTACTGCAGAGAGTGCTGATACTGGCCTCTCTGCAGATCAAGT

【 0 1 8 2 】

配列番号:9: HCV順応性レプリコンIIのDNAクローンのヌクレオチド配列:ヌクレオチド
の変化が下記ケースであり、かつボールドで強調されている。

GCCAGCCCCGATTGGGGGCGACACTCCACCATAGATCACTCCCTGTGAGGAACTACTGTCTTCACGCAGAAAGCGTCT
AGCCATGGCGTTAGTATGAGTGTGCTGACGCTCCAGGACCCCCCTCCCGGAGAGCCATAGTGGTCTGCGGAACCGGT
GAGTACACCGGAATTGCCAGGACGACCGGGTCTTTCTTGATCAACCCGCTCAATGCCTGGAGATTTGGGCGTGCCCC
GCGAGACTGCTAGCCGAGTAGTGTGGGTGCGGAAAGGCCCTTGTTGGTACTGCCTGATAGGGTGTGCGAGTGCCCCGGG
AGGTCTCGTAGACCGTGACCATGAGCACGAATCCTAAACCTCAAAGAAAAACCAAGGGCGCGCCATGATTGAACAAGA
TGGATTGCACGCAGGTTCTCCGGCCGCTTGGGTGGAGAGGCTATTCGGCTATGACTGGGCACAACAGACAATCGGCTGCT
CTGATGCCGCCGTGTTCCGGCTGTGAGCGCAGGGGCGCCGGTTCTTTTTGTCAAGACCGACCTGTCCGGTGCCCTGAAT
GAACTGCAGGACGAGGACGCGCGGCTATCGTGGCTGGCCACGACGGGCGTTCTTGCGCAGCTGTGCTCGACGTTGTAC
TGAAGCGGGAAGGGACTGGCTGCTATTGGGCGAAGTGCCGGGGCAGGATCTCCTGTATCTCACCTTGCTCCTGCCGAGA
AAGTATCCATCATGGCTGATGCAATGCGGCGGCTGCATACGCTTGATCCGGCTACCTGCCATTGACACCAAGCGAAA
CATCGCATCGAGCGAGCACGTACTCGGATGGAAGCCGGTCTTGTCGATCAGGATGATCTGGACGAAGAGCATCAGGGGCT

10

20

30

40

50

CGCGCCAGCCGAACCTGTTCCGCCAGGCTCAAGGCGCGCATGCCCCACGGCGAGGATCTCGTCGTGACCCATGGCGATGCCT
GCTTGCCGAATATCATGGTGGAAAATGGCCGCTTTTCTGGATTTCATCGACTGTGGCCGGCTGGGTGTGGCGGACCGCTAT
CAGGACATAGCGTTGGCTACCCGTGATATTGCTGAAGAGCTTGGCGGCGAATGGGCTGACCGCTTCTCTGTGCTTTACGG
TATCGCCGCTCCCGATTGCGAGCGCATCGCCTTCTATCGCCTTCTTGACGAGTTCTTCTGAGTTTAAACAGACCACAACG
GTTTCCCTCTAGCGGGATCAATTCCGCCCTCTCCCTCCCCCCCCCTAACGTTACTGGCCGAAGCCGCTTGAATAAAGG
CCGGTGTGCGTTTGTCTATATGTTATTTTCCACCATATTGCCGTCTTTTGGCAATGTGAGGGGCCGAAACCTGGCCCTG
TCTTCTTGACGAGCATTCTAGGGGTCTTTCCCTCTCGCCAAAGGAATGCAAGGTCTGTTGAATGTGCTGAAGGAAGCA
GTTCTCTGGAAGCTTCTTGAAGACAAACAACGTCTGTAGCGACCCCTTTCAGGCAGCGGAACCCCCACCTGGCGACAG
GTGCCTCTGCGGCCAAAAGCCACGTGTATAAGATACACCTGCAAAGGCGGCACAACCCAGTGCCACGTTGTGAGTTGGA
TAGTTGTGGAAGAGTCAAATGGCTCTCCTCAAGCGTATTCAACAAGGGGCTGAAGGATGCCAGAAGGTACCCATTGT
ATGGGATCTGATCTGGGGCCTCGGTGCACATGCTTTACATGTGTTAGTCGAGGTTAAAAACGTCTAGGCCCCCGAAC
CACGGGGACGTGGTTTTCTTTGAAAAACACGATAATACCATGGCGCCTATTACGGCCTACTCCCAACAGACGCGAGGCC
TACTTGGCTGCATCATCACTAGCCTCACAGGCCGGGACAGGAACAGGTGAGGGGGAGGTCCAAGTGGTCTCCACCGCA
ACACAATCTTTCTGGCGACCTGCGTCAATGGCGTGTGTTGGACTGTCTATCATGGTGCCGGCTCAAAGACCTTGCCGG
CCCAAAGGGCCAATCACCCAAATGTACACCAATGTGGACCAGGACCTCGTCGGCTGGCAAGCGCCCCCGGGCGCGTT
CCTTGACACCATGCACCTGCGGCAGCTCGGACCTTTACTTGGTCACGAGGCATGCCGATGTCATTCCGGTGCGCCGGCGG
GGCGACAGCAGGGGGAGCCTACTCTCCCCAGGCCCGTCTCCTACTTGAAGGGCTCTTCGGGCGGTCCACTGCTCTGCCC
CTCGGGGCACGCTGTGGGCATCTTTCCGGCTGCCGTGTGCACCCGAGGGGTGCGAAGGCGGTGGACTTTGTACCCGTGCG
AGTCTATGGAACCACTATGCGGTCCCCGGTCTTCACGGACAACCTCGTCCCCTCCGGCCGTACCGCAGACATTCCAGGTG
GCCCCATCTACACGCCCTACTGGTAGCGGCAAGAGCACTAAGGTGCCGGCTGCGTATGCAGCCCAAGGGTATAAGGTGCT
TGTCTGAACCCGTCCGTGCGCGCACCCCTAGGTTTTCGGGCGGTATATGTCTAAGGCACATGGTATCGACCCTAACATCA
GAACCGGGGTAAAGGACATCACACGGGTGCCCCATCACGTACTCCACCTATGGCAAGTTTCTTGCCGACGGTGGTTGC
TCTGGGGGCGCCTATGACATCATAATATGTGATGAGTGCCACTCAACTGACTCGACCACTATCCTGGGCATCGGCACAGT
CCTGGACCAAGCGGAGACGGCTGGAGCGGACTCGTCTGTCTGCCACCGCTACGCTCCGGGATCGGTACCGTGCCAC
ATCCAAACATCGAGGAGGTGGCTGTGTCAGCACTGGAGAAATCCCTTTTATGGCAAAGCCATCCCCATCGAGACCATC
AAGGGGGGAGGCACCTCATTTTCTGCCATTCCAAGAAGAAATGTGATGAGCTCGCCGGAAGCTGTCCGGCCTCGGACT
CAATGCTGTAGCATATTACCGGGCCTTGATGTATCCGTATACCAACTAGCGGAGACGTCATTGTGCTAGCAACGGACG
CTCTAATGACGGGCTTTACCGGCGATTTGACTCAGTGATCGACTGCAATACATGTGTACCCAGACAGTCGACTTCAGC
CTGGACCCGACCTTACCATTGAGACGACGACCGTGCCACAAGACGCGGTGTACGCTCGCAGCGGCGAGGCAGGACTGG
TAGGGGCAGGATGGGCATTTACAGGTTTGTGACTCCAGGAGAACGGCCCTCGGGCATGTTTCGATTCTCGGTTCTGTGCG
AGTGCTATGACGCGGGCTGTGCTTGGTACGAGCTCACGCCCCGAGACCTCAGTTAGGTTGCGGGCTTACCTAAACACA
CCAGGGTTGCCGTCTGCCAGGACCATCTGGAGTTCTGGGAGAGCGTCTTTACAGGCCACCCACATAGACGCCCATTT
CTTGTCAGACTAAGCAGGCAGGAGACAACCTCCCCTACCTGGTAGCATACCAGGCTACGGTGTGCGCCAGGGCTCAGG
CTCCACCTCCATCGTGGGACCAATGTGGAGTGTCTACAGGCTAAAGCCTACGCTGCACGGGCCAACGCCCTGCTG
TATAGGCTGGGAGCCGTTCAAAACGAGGTTACTACCACACACCCCATACCAAAATACATCATGGCATGCATGTGCGCTGA
CCTGGAGGTGCTCACGAGACCTGGGTGCTGGTAGGCGGAGTCTAGCAGCTCTGGCCGCGTATTGCTGACAACAGGCA
GCGTGGTCATTGTGGGACAGGATCATCTTGTCCGGAAGCCGGCCATCATTCCCGACAGGGAAGTCCTTTACCGGGAGTTC
GATGAGATGGAAGAGTGCGCCTCACACCTCCCTTACATCGAACAGGGAATGCAGCTCGCCGAACAATTCAAACAGAAGGC
AATCGGGTTGCTGCAAACAGCCACCAAGCAAGCGGAGGCTGCTGCTCCCGTGGTGGAAATCCAAGTGGCGGACCCCTCGAAG
CCTTCTGGGCGAAGCATATGTGGAATTTTCATCAGCGGGATACAATATTTAGCAGGCTTGTCCACTCTGCCTGGCAACCCC
GCGATAGCATCACTGATGGCATTACAGCCTCTATCACCAGCCCGCTCACCACCAACATACCCTCCTGTTTAAACATCCT
GGGGGATGGGTGGCCGCCCAACTTGCTCCTCCAGCGCTGCTTCTGCTTTCTGATGGCGCCGGCATCGCTGGAGCGGCTG
TTGGCAGCATAGGCCCTTGGGAAGGTGCTTGTGGATATTTTGGCAGGTTATGGAGCAGGGGTGGCAGGCGCGCTCGTGGCC
TTTAAGGTCATGAGCGGCGAGATGCCCTCCACCGAGGACCTGGTTAACTACTCCCTGCTATCCTCTCCCCTGGCGCCCT
AGTCGTGCGGGTGTGTGCGCAGCGATACTGCGTCGGCACGTGGGCCAGGGGAGGGGCTGTGCAGTGGATGAACCGGC
TGATAGCGTTGCTTTCGCGGGGTAAACCACGTCTCCCCACGCACTATGTGCTGAGAGCGACGCTGCAGCACGTGTCACT
CAGATCCTCTCTGTCTTACCATCACTCAGCTGCTGAAGAGGCTTACCAGTGATCAACGAGGACTGCTCCACGCCATG
CTCCGGCTCGTGGCTAAGAGATGTTTGGGATTGGATATGCACGGTGTGACTGATTTCAAGACCTGGCTCCAGTCCAAGC
TCCTGCCGCGATTGCCGGGAGTCCCTTCTTCTCATGTCAACGTGGGTACAAGGAGTCTGGCGGGGCGACGGCATCATG
CAAACCACCTGCCCATGTGGAGCACAGATCACCGGACATGTGAAAAACGGTTCCATGAGGATCGTGGGGCCTAGGACCTG

TAGTAACACGTGGCATGGAACATTCCCCATTAAACGCGTACACCACGGGCCCTGCACGCCCTCCCCGGCGCCAAATTATT
CTAGGGCGCTGTGGCGGGTGGCTGCTGAGGAGTACGTGGAGGTTACGCGGGTGGGGGATTTCCACTACGTACGGGCATG
ACCACTGACAACGTAAAGTGCCCGTGTACAGGTTCCGGCCCCGAATTCTTCACAGAAGTGATGGGGTGCGGTTGCACAG
GTACGCTCCAGCGTGAAACCCCTCTACGGGAGGAGGTACATTCTGTGCGGGCTCAATCAATACCTGGTTGGGTAC
AGTCCCATGCGAGCCCGAACCGGACGTAGCAGTGCTCACTTCCATGCTCACCGACCCCTCCACATTACGGCGGAGACG
GCTAAGCGTgGGCTGGCCAGGGGATCTCCCCCTCCTTGCCAGCTCATCAGCTAGCCAGCTGTCTGCGCTTCTCTTGAA
GGCAACATGCACTACCCGTCATGACTCCCCGGACGCTGACCTCATCGAGGCCAACCTCCTGTGGCGGCAGGAGATGGGCG
GGAACATCACCCGCGTGAGTCAGAAAATAAGGTAGTAATTTTGGACTCTTTCGAGCCGCTCCAAGCGGAGGAGGATGAG
AGGGAAGTATCCGTTCCGGCGGAGATCCTGCGGAGGTCCAGGAAATTCCTCGAGCGATGCCCATATGGGCACGCCCCGA
TTACAACCCCTCCACTGTTAGAGTCTGGAAGGACCCGGACTACGTCCCTCCAGTGGTACACGGGTGTCCATTGCCGCTG
CCAAGGCCCCCTCCGATACCCTCCACGGAGGAAGAGGACGGTTGTCTGTGAGAATCTACCGTGTCTTCTGCTTGGCG
GAGCTCGCCACAAAGACCTTCGGCAGCTCCGAATCGTCGGCCGTGACAGCGGCACGGCAACGGCCTCTCCTGACCAGCC
CTCCGACGACGGCGACGCGGGATCCGACGTTGAGTCGTACTCCTCCATGCCCCCCTTGAGGGGGAGCCGGGGGATCCCCG
ATCTCAGCGACGGGTCTTGGTCTACCGTAAGCGAGGAGGCTAGTGAGGACGTGCTGCTGCTCGATGTCTACACATGG
ACAGGCGCCCTGATCACGCCATGCGCTGCGGAGGAAACCAAGCTGCCCATCAATGCACTGAGCAACTCTTGTCCGTCA
CCACAACCTTGGTCTATGCTACAACATCTCGCAGCGCAAGCCTGCGGCAGAAGAAGTACCTTTGACAGACTGCAGGTCC
TGGACGACCACTACCGGGACGTGCTCAAGGAGATGAAGGCGAAGGCGTCCACAGTTAAGGCTAACTTCTATCCGTGGAG
GAAGCCTGTAAGCTGACGCCCCACATTCGGCCAGATCTAAATTTGGCTATGGGGCAAAGGACGTCCGGAACCTATCCAG
CAAGGCCGTTAACCACATCCGCTCCGTGTGGAAGGACTTGCTGGAAGACACTGAGACACCAATTGACACCACCATCATGG
CAAAAAATGAGGTTTTCTGCGTCCAACAGAGAAGGGGGCCGCAAGCCAGCTCGCCTTATCGTATTCCAGATTTGGGG
GTTCTGTGTGCGAGAAAATGGCCCTTTACGATGTGGTCTCCACCCTCCCTCAGGCCGTGATGGGCTCTTCATACGGATT
CCAATACTCTCCTGGACAGCGGGTCGAGTTCTGGTGAATGCCTGGAAAGCGAAGAAATGCCCTATGGGCTTCGCATATG
ACACCCGCTGTTTTGACTCAACGGTCACTGAGAATGACATCCGTGTTGAGGAGTCAATCTACCAATGTTGTGACTTGGCC
CCCGAAGCCAGACAGGCCAAAGGTCGCTCACAGAGCGGCTTACATCGGGGGCCCCCTGACTAATTCTAAAGGCGAGAAC
TGCGGCTATCGCCGTGCCGCGGAGCGGTGTAAGTACGACGACGCTGCGGTAATACCCCTACATGTTACTTGAAGCCGCG
TGCGGCTGTGAGCTGCGAAGCTCCAGGACTGCACGATGCTCGTATGCGGAGACGACCTTGTGTTATCTGTGAAAGCG
CGGGGACCAAGAGGACGAGGCGAGCCTACGGGCTTCACGGAGGCTATGACTAGATACTCTGCCCCCCTGGGGACCCG
CCCAAACCGAATACGACTTGGAGTTGATAACATCATGCTCCTCCAATGTGTGAGTCCGCGACGATGCATCTGGCAAAAG
GGTGTACTATCTACCCGTGACCCACCAACCCCTTGCAGGGGCTGCGTGGGAGACAGCTAGACACACTCCAGTCAATT
CCTGGCTAGGCAACATCATGTATGCGCCACCTTGTGGCAAGGATGATCCTGATGACTCATTTCTTCTCCATCCTT
CTAGCTCAGGAACAACCTGAAAAAGCCCTAGATTGTCAGATCTACGGGGCTGTTACTCCATTGAGCCACTTGACCTACC
TCAGATCATTCAACGACTCCATGGCCTTAGCGCATTTTCACTCCATAGTTACTCTCCAGGTGAGATCAATAGGGTGGCTT
CATGCCTCAGGAAACTTGGGGTACCGCCCTTGCAGTCTGGAGACATCGGGCCAGAAGTGTCCGCGCTAGGCTACTGTCC
CAGGGGGGAGGGCTGCCACTTGTGGCAAGTACCTCTTCAACTGGGCAGTAAGGACCAAGCTCAAACCTCACTCCAATCCC
GGCTGCGTCCCAGTTGGATTTATCCAGCTGGTTGCTTGGTGTACAGCGGGGAGACATATATCACAGCCTGTCTCGTG
CCCGACCCGCTGGTTTATGTGGTGCCTACTCCTACTTTCTGTAGGGGTAGGCATCTATCTACTCCCAACCGATGAACG
GGGACCTAAACACTCCAGGCCAATAGGCCATCCTGTTTTTTTCCCTTTTTTTTTTCTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTT
TTTTTTTTTTTTCTCCTTTTTTTTTTCTCCTTTTTTTTCTTTTCTTTTCTTTTGGTGGCTCCATCTTAGCCCTAGTCACGGCT
AGCTGTGAAAGGTCCGTGAGCCGCTTGAAGTGCAGAGAGTGTGATACTGGCCTCTCTGCAGATCAAGT

【 0 1 8 3 】

配列番号:10: HCV順応性レプリコンVIのDNAクローンのヌクレオチド配列:ヌクレオチド
の変化が下記ケースであり、かつボールドで強調されている。

GCCAGCCCCGATTGGGGGCGACACTCCACCATAGATCACTCCCTGTGAGGAACTACTGTCTTCACGCAGAAAGCGTCT
AGCCATGGCGTTAGTATGAGTGTGCTGCAGCCTCCAGGACCCCCCTCCCGGAGAGCCATAGTGGTCTGCGGAACCGGT
GAGTACACCGGAATTGCCAGGACGACCGGGTCCTTTCTTGGATCAACCCGCTCAATGCCTGGAGATTTGGGCGTGCCCC
GCGAGACTGCTAGCCGAGTAGTGTGGTGCAGAAAGGCCTTGTGGTACTGCCTGATAGGGTGTGCGAGTGCCCCGGG
AGGTCTCGTAGACCGTGACCATGAGCACGAATCCTAAACCTCAAAGAAAAACCAAGGGCGCGCCATGATTGAACAAGA
TGGATTGCACGCAGGTTCTCCGGCCGCTTGGGTGGAGAGGCTATTCGGCTATGACTGGGCACAACAGACAATCGGCTGCT
CTGATGCCGCCGTGTTCCGGCTGTGAGCGAGGGGCGCCGGTTCTTTTGTCAAGACCGACCTGTCCGGTGCCCTGAAT
GAACTGCAGGACGAGGCGAGCGGCTATCGTGGCTGGCCACGACGGGCGTTCTTGCAGCTGTGCTCGACGTTGTCAC

10

20

30

40

50

TGAAGCGGGAAGGGACTGGCTGCTATTGGGCGAAGTGCCGGGGCAGGATCTCCTGTCATCTCACCTTGCTCCTGCCGAGA
AAGTATCCATCATGGCTGATGCAATGCGGCGGCTGCATACGCTTGATCCGGCTACCTGCCCATTCGACCACCAAGCGAAA
CATCGCATCGAGCGAGCACGTA CTGCGATGGAAGCCGGTCTTTGTCGATCAGGATGATCTGGACGAAGAGCATCAGGGGCT
CGCGCCAGCCGAACTGTTCCGCCAGGCTCAAGGCGCGCATGCCCCAGCGCGAGGATCTCGTCGTGACCCATGGCGATGCCCT
GCTTGCCGAATATCATGGTGGAAAATGGCCGCTTTTTCTGGATTTCATCGACTGTGGCCGGCTGGGTGTGGCGGACCGCTAT
CAGGACATAGCGTTGGCTACCCGTGATATTGCTGAAGAGCTTGGCGGCGAATGGGCTGACCGCTTCTCGTGCTTTACGG
TATCGCCGCTCCCGATTTCGAGCGCATCGCCTTCTATCGCCTTCTTGACGAGTTCTTCTGAGTTTAAACAGACCACAACG
GTTTCCCTCTAGCGGGATCAATTCCGCCCTCTCCCTCCCCCCCCCTAACGTTACTGGCCGAAGCCGCTTGGAATAAGG
CCGGTGTGCGTTTTGTCTATATGTTATTTCCACCATATTGCCGTCTTTTGGCAATGTGAGGGCCCGGAAACCTGGCCCTG
TCTTCTTGACGAGCATTCTAGGGGTCTTTCCCTCTCGCCAAAGGAATGCAAGGTCTGTTGAATGTCGTGAAGGAAGCA 10
GTTCTCTGGAAGCTTCTTGAAGACAAAACAGTCTGTAGCGACCTTTGCAGGCAGCGGAACCCCCACCTGGCGACAG
GTGCCTCTGCGGCCAAAAGCCACGTGTATAAGATACACCTGCAAAGGCGGCACAACCCAGTGCCACGTTGTGAGTTGGA
TAGTTGTGGAAGAGTCAAATGGCTCTCCTCAAGCGTATTCAACAAGGGGCTGAAGGATGCCAGAAGGTACCCATTGT
ATGGGATCTGATCTGGGGCCTCGGTGCACATGCTTTACATGTGTTAGTCGAGGTTAAAAACGTCTAGGCCCCCGAAC
CACGGGGACGTGGTTTTCTTTGAAAAACACGATAATACCATGGCGCCTATTACGGCCTACTCCAACAGACGCGAGGCC
TACTTGGCTGCATCATCACTAGCCTCACAGGCCGGGACAGGAACAGGTGAGGGGGAGGTCCAAGTGGTCTCCACCGCA
ACACAATCTTTCTGGCGACCTGCGTCAATGGCGTGTGTTGGACTGTCTATCATGGTGCCGGCTCAAAGACCTTGCCGG
CCCAAAGGGCCCAATCACCCAAATGTACACCAATGTGGACCAAGGACCTCGTCGGCTGGCAAGCGCCCCCGGGCGCGTT
CCTTGACACCATGCACCTGCGGCAGCTCGGACCTTTACTTGGTCACGAGGCATGCCGATGTCATTCCGGTGCGCCGGCGG
GGCGACAGCAGGGGGAGCCTACTCTCCCCAGGCCCGTCTCCTACTTGAAGGGCTCTTCGGGCGGTCCACTGCTCTGCC 20
CTCGGGGACGCTGTGGGCATCTTTCCGGCTGCCGTGTGCACCCGAGGGGTTGCGAAGCGGTGGACTTTGTACCCGTG
AGTCTATGGAACCACTATGCGGTCCCGGTCTTCACGGACAACCTCGTCCCTCCGGCCGTACCGCAGACATTCCAGGTG
GCCCATCTACACGCCCTACTGGTAGCGGAAGAGCACTAAGGTGCCGGCTGCGTATGCAGCCCAAGGGTATAAGGTGCT
TGTCTGAACCCGTCCGTGCGGCCACCCTAGGTTTTCGGGCGTATATGTCTAAGGCACATGGTATCGACCCTAACATCA
GAACCGGGGTAAAGGACCATCACACGGGTGCCCCATCACGTACTCCACCTATGGCAAGTTTTCTTGCGACGGTGGTTGC
TCTGGGGGCGCCTATGACATCATAATATGTGATGAGTGCCACTCAACTGACTCGACCACTATCCTGGGCATCGGCACAGT
CCTGGACCAAGCGGAGACGGCTGGAGCGGACTCGTCGTGCTCGCCACCGCTACGCCTCCGGGATCGGTACCCGTGCCAC
ATCCAAACATCGAGGAGGTGGCTCTGTCCAGCACTGGAGAAATCCCTTTTTATGGCAAAGCCATCCCATCGAGACCATC
AAGGGGGGAGGCACCTCATTTTTCTGCCATTCCAAGAAGAAATGTGATGAGCTCGCCGGAAGCTGTCCGGCCTCGGACT
CAATGCTGTAGCATATTACCGGGCCTTGATGTATCCGTACATCACTAGCGGAGACGTATTGTGCTAGCAACGGACG 30
CTCTAATGACGGGCTTTACCGCGATTTGACTCAGTGATCGACTGCAATACATGTGTACCCAGACAGTCGACTTCAGC
CTGGACCCGACCTTACCATTTGAGACGACGACCGTGCCACAAGACGCGGTGTACGCTCGCAGCGGCGAGGCAGGACTGG
TAGGGGCAGGATGGGCATTTACAGGTTTGTGACTCCAGGAGAACGGCCCTCGGGCATGTTGCGATTCTCGGTTCTGTGCG
AGTGCTATGACGCGGGCTGTGCTTGGTACGAGCTCACGCCCCGCGAGACCTCAGTTAGGTTGCGGGCTTACCTAAACACA
CCAGGGTTGCCGTCTGCCAGGACCATCTGGAGTTCTGGGAGAGCGTCTTTACAGGCCTCACCCACATAGACGCCCATTT
CTTGTCAGACTAAGCAGGCAGGAGACAATTTCCCTACCTGGTAGCATACCAGGCTACGGTGTGCGCCAGGGCTCAGG
CTCCACCTCCATCGTGGGACCAATGTGGAAGTGTCTACACGGCTAAAGCCTACGCTGCACGGGCCAACGCCCTGCTG
TATAGGCTGGGAGCCGTTCAAACAGAGGTTACTACCACACACCCCATAAACAAATACATCATGGCATGCATGTGCGCTGA
CCTGGAGGTGTCACGAGCACCTGGGTGCTGGTAGGCGGAGTCTAGCAGCTCTGGCCGCGTATTGCTGACAACAGGCA
GCGTGGTCATTGTGGCAGGATCATCTTGTCCGGAAGCCGGCCATCATTCCGACAGGGAAGTCCTTTACCGGAGTTC 40
GATGAGATGGAAGAGTGCGCTCACACCTCCCTTACATCGAACAGGGAATGCAGCTCGCCGAACAATTCAAACAGAAGGC
AATCGGGTTGCTGCAAACAGCCACCAAGCAAGCGGAGGCTGCTGCTCCCGTGGTGGAAATCCAAGTGGCGGACCTCGAAG
CCTTCTGGGCGAAGCATATGTGGAATTTTCATCAGCGGGATACAATATTTAGCAGGCTTGTCCACTCTGCTGGCAACCCC
GCGATAGCATCACTGATGGCATTACAGCCTCTATCACCAGCCGCTCACCACCAACATACCTCCTGTTTAAACATCCT
GGGGGGATGGGTGGCCGCCAACTTGCTCCTCCAGCGCTGCTTCTGCTTTCTAGGCGCCGGCATCGCTGGAGCGGCTG
TTGGCAGCATAGGCCTTGGGAAGGTGCTTGTGGATATTTTGGCAGGTTATGGAGCAGGGGTGGCAGGCGCGCTCGTGGCC
TTTAAAGTCATGAGCGGCGAGATGCCCTCCACCGAGGACCTGGTTAACTACTCCCTGCTATCCTCTCCCTGGCGCCCT
AGTCGTGCGGGTGTGTGCGCAGCGATACTGCGTCGGCACGTGGGCCAGGGGAGGGGCTGTGCAGTGGATGAACCGGC
TGATAGCGTTGCTTTCGCGGGGTAAACACGTCTCCCCACGCACTATGTGCTGAGAGCGACGCTGCAGCACGTGTCACT
CAGATCCTCTCTAGTCTTACCATCACTCAGCTGCTGAAGAGGCTTCACCAAGTGGATCAACGAGGACTGCTCCACGCCATG 50

CTCCGGCTCGTGGCTAAGAGATGTTTGGGATTGGATATGCACGGTGTGACTGATTTCAAGACCTGGCTCCAGTCCAAGC
TCCTGCCGCGATTGCCGGGAGTCCCCTTCTTCTCATGTCAACGTGGGTACAAGGGAGTCTGGCGGGGCGACGGCATCATG
CAAACCACCTGCCCATGTGGAGCACAGATCACCGGACATGTGAAAAACGGTTCCATGAGGATCGTGGGGCCTAGGACCTG
TAGTAACACGTGGCATGGAACATTCCCCATTAACGCGTACACCACGGGCCCTGCACGCCCTCCCCGGCGCCAAATTATT
CTAGGGCGCTGTGGCGGGTGGCTGCTGAGGAGTACGTGGAGGTTACGCGGGTGGGGGATTTCACCTACGTGACGGGCATG
ACCACTGACAACGTAAAGTGCCCGTGTGAGGTTCCGGCCCCGAATTCTTACAGAAGTGGATGGGGTGGCGTTGCACAG
GTACGCTCCAGCGTGCAAACCCCTCCTACGGGAGGAGGTACATTCTGGTCGGGCTCAATCAATACCTGGTTGGGTCAC
AGTCCCATGCGAGCCCGAACCGGACGTAGCAGTGCTCACTTCCATGCTCACCGACCCCTCCACATTACGGCGGAGACG
GCTAAGCGTAGGCTGGCCAGGGGATCTCCCCCTCCTTGtCCAGCTCATCAGCTAGCCAGCTGTCTGCGCCTTCTTGAA
GGCAACATGCACTACCCGTGATGACTCCCCGACGCTGACCTCATCGAGGCCAACCTCCTGTGGCGGCAGGAGATGGGCG 10
GGAACATCACCCGCGTGGAGTCAGAAAAAAGGTAGTAATTTTGGACTCTTTCGAGCCGCTCCAAGCGGAGGAGGATGAG
AGGGAAGTATCCGTTCCGGCGGAGATCCTGCGGAGGTCCAGGAAATTCCTCGAGCGATGCCCATATGGGCACGCCCGGA
TTACAACCTCCACTGTTAGAGTCCTGGAAGGACCCGGACTACGTCCCTCCAGTGGTACACGGGTGTCCATTGCCGCCTG
CCAAGGCCCTCCGATACCACCTCCACGGAGGAAGAGGACGGTTGTCTGTGAGAATCTACCGTGTCTTCTGCCTTGGCG
GAGCTCGCCACAAAGACCTTCGGCAGCTCCGAATCGTCGGCGTGCACAGCGGCACGGCAACGGCCTCTCCTGACCAGCC
CTCCGACGACGGCGACGCGGGATCCGACGTTGAGTCGTA CTCTCCATGCCCCCTTGAGGGGGAGCCGGGGGATCCCCG
ATCTCAGCGACGGGTCTTGGTCTACCGTAAGCGAGGAGGCTAGTGAGGACGTCTGTCTGCTGCTCGATGTCTACACATGG
ACAGGCGCCCTGATCACGCCATGCGCTGCGGAGGAAACCAAGCTGCCCATCAATGCACTGAGCAACTCTTGTCCGTCA
CCACAACCTTGGTCTATGCTACAACATCTCGCAGCGCAAGCCTGCGGCAGAAGAAGTACCTTTGACAGACTGCAGGTCC 20
TGGACGACCACTACCGGGACGTGCTCAAGGAGATGAAGGCGAAGGCGTCCACAGTTAAGGCTAAACTTCTATCCGTGGAG
GAAGCCTGTAAGCTGACGCCCCACATTCGGCCAGATCTAAATTTGGCTATGGGGCAAAGGACGTCCGGAACCTATCCAG
CAAGGCCGTTAACCACATCCGCTCCGTGTGGAAGGACTTGTGGAAGACACTGAGACACCAATTGACACCACCATCATGG
CAAAAAATGAGGTTTTCTGCGTCCAACCAGAGAAGGGGGCCGCAAGCCAGCTCGCCTTATCGTATTCCAGATTTGGGG
GTTCTGTGTGCGAGAAAATGGCCCTTACGATGTGGTCTCCACCCTCCCTCAGGCCGTGATGGGCTCTTCATACGGATT
CCAATACTCTCCTGGACAGCGGGTCGAGTTCTGGTGAATGCCTGGAAGCGAAGAAATGCCCTATGGGCTTCGCATATG
ACACCCGCTGTTTTGACTCAACGGTCACTGAGAATGACATCCGTGTTGAGGAGTCAATCTACCAATGTTGTGACTTGGCC
CCCGAAGCCAGACAGGCCATAAGGTGCTCACAGAGCGGCTTACATCGGGGGCCCCCTGACTAATTCTAAAGGGCAGAA
CTGCGGCTATCGCCGGTGCCGCGGAGCGGTGTA CTGACGACCAGCTGCGGTAATACCCTCACATGTTACTTGAAGCCG
CTGCGGCTGTGAGCTGCGAAGCTCCAGGACTGCAGATGCTCGTATGCGGAGACGACCTTGTGTTATCTGTGAAAGC
GCGGGGACCCAAGAGGACGAGGCGAGCCTACGGGCCCTCACGGAGGCTATGACTAGATACTCTGCCCCCCTGGGGACCC 30
GCCCAAACCAGAATACGACTTGGAGTTGATAACATCATGCTCCTCCAATGTGTGAGTGCAGCGACGATGCATCTGGCAAAA
GGGTGTACTATCTCACCCGTGACCCACACCCCCCTTGCGCGGGCTGCGTGGGAGACAGCTAGACACACTCCAGTCAAT
TCCTGGCTAGGCAACATCATCATGTATGCGCCACCTTGTGGGCAAGGATGATCCTGATGACTCATTTCTTCTCCATCCT
TCTAGCTCAGGAACAACCTTGAAAAAGCCCTAGATTGTGAGATCTACGGGGCCTGTTACTCCATTGAGCCACTTGACCTAC
CTCAGATCATTCAACGACTCCATGGCCTTAGCGCATTTTCACTCCATAGTTACTCTCCAGGTGAGATCAATAGGGTGGCT
TCATGCCTCAGGAACTTGGGGTACCGCCCTTGCGAGTCTGGAGACATCGGGCCAGAAGTGTCCGCGCTAGGCTACTGTC
CCAGGGGGGAGGGCTGCCACTTGTGGCAAGTACCTCTTCAACTGGGCAGTAAGGACCAAGCTCAAACCTCACTCCAATCC
CGGCTGCGTCCCAGTTGGATTTATCCAGCTGGTTGTTGCTGGTTACAGCGGGGAGACATATATCACAGCCTGTCTCGT
GCCCCACCCGCTGGTTCTATGTGGTGCTACTCTACTTTCTGTAGGGGTAGGCATCTATCTACTCCCAACCGATGAAC
GGGGACCTAAACACTCCAGGCCAATAGGCCATCCTGTTTTTTTCCCTTTTTTTTTTTCTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTT 40
TTTTTTTTTTTTTCTCCTTTTTTTTTTCTCCTTTTTTCTTTTCTTTTCTTTTGGTGGCTCCATCTTAGCCCTAGTCACGGC
TAGCTGTGAAAGGTCCGTGAGCCGCTTACTGCAGAGAGTGCTGATACTGGCCTCTCTGCAGATCAAGT

【 0 1 8 4 】

配列番号:11: HCV順応性レプリコンIVのDNAクローンのNS5A遺伝子:ヌクレオチドの変化
が下記ケースであり、かつボールドで強調されている。

TCCGGCTCGTGGCTAAGAGATGTTTGGGATTGGATATGCACGGTGTGACTGATTTCAAGACCTGGCTCCAGTCCAAGCT
CCTGCCGCGATTGCCGGGAGTCCCCTTCTTCTCATGTCAACGTGGGTACAAGGGAGTCTGGCGGGGCGACGGCATCATGC
AAACCACCTGCCCATGTGGAGCACAGATCACCGGACATGTGAAAAACGGTTCCATGAGGATCGTGGGGCCTAGGACCTGT
AGTAACACGTGGCATGGAACATTCCCCATTAACGCGTACACCACGGGCCCTGCACGCCCTCCCCGGCGCCAAATTATTC
TAGGGCGCTGTGGCGGGTGGCTGCTGAGGAGTACGTGGAGGTTACGCGGGTGGGGGATTTCACCTACGTGACGGGCATGA 50

CCACTGACAACGTAAAGTGCCCGTGTGTCAGGTTCCGGCCCCCGAATTCTTCACAGAAGTGGATGGGGTGCAGTTGCACAGG
TACGCTCCAGCGTGCAAACCCCTCCTACGGGAGGAGGTACATTCTCGTGGGCTCAATCAATACCTGGTTGGGTGACA
GCTCCCATGCGAGCCCGAACCGGACGTAGCAGTGCTCACTTCCATGCTCACCAGCCCTCCCACATTACGGCGGAGACGG
CTAAGCGTAGGCTGGCCAGGGGATCTCCCCCTgCTTGCCAGCTCATCAGCTAGCCAGCTGTCTGCGCCTTCTTTGAAG
GCAACATGCACTACCCGTGTCGACTCCCCGGACGCTGACCTCATCGAGGCCAACCTCCTGTGGCGGCAGGAGATGGCGGG
GAACATCACCCGCGTGAGTCAGAAAATAAGGTAGTAATTTTGGACTCTTTGAGCCGCTCCAAGCGGAGGAGGATGAGA
GGGAAGTATCCGTTCCGGCGGAGATCCTGCGGAGGTCCAGGAAATTCCTCGAGCGATGCCCATATGGGCACGCCCGGAT
TACAACCTCCACTGTTAGAGTCTTGAAGGACCCGGACTACGTCCCTCCAGTGGTACACGGGTGTCCATTGCCGCTGC
CAAGGCCCTCCGATACCACCTCCACGGAGGAAGAGGACGGTTGTCTGTGAGAATCTACCGTGTCTTCTGCCTTGGCGG
AGCTCGCCACAAAGACCTTCGGCAGCTCCGAATCGTCGGCCGTGACAGCGGCACGGCAACGGCCTCTCCTGACCAGCCC
TCCGACGACGGCGACGCGGGATCCGACGTTGAGTCGTACTCCTCCATGCCCCCTTGAGGGGGAGCCGGGGGATCCCGA
TCTCAGCGACGGGTCTTGGTCTACCGTAAGCGAGGAGGCTAGTGAGGACGTCTGTCTGCTGC

10

【 0 1 8 5 】

配列番号:12: HCV順応性レプリコンIIIのNS5A遺伝子:ヌクレオチドの変化が下記ケース
であり、かつボールドで強調されている。

TCCGGCTCGTGCTAAGAGATGTTTGGGATTGGATATGCACGGTGTTGACTGATTTCAAGACCTGGCTCCAGTCCAAGCT
CCTGCCGCGATTGCCGGGAGTCCCCTTCTTCTCATGTCAACGTGGGTACAAGGAGTCTGGCGGGGCGACGGCATCATGC
AAACCACCTGCCCATGTGGAGCACAGATCACCGGACATGTGAAAAACGGTTCCATGAGGATCGTGGGGCCTAGGACCTGT
AGTAACACGTGGCATGGAACATTCCCCATTAACCGGTACACCACGGGCCCCCTGCACGCCCTCCCCGGCGCCAAATTATTC
TAGGGCGCTGTGGCGGGTGGCTGCTGAGGAGTACGTGGAGTTACGCGGGTGGGGGATTTCCACTACGTGACGGGCATGA
CCACTGACAACGTAAAGTGCCCGTGTGTCAGGTTCCGGCCCCCGAATTCTTCACAGAAGTGGATGGGGTGCAGTTGCACAGG
TACGCTCCAGCGTGCAAACCCCTCCTACGGGAGGAGGTACATTCTCGTGGGCTCAATCAATACCTGGTTGGGTGACA
GCTCCCATGCGAGCCCGAACCGGACGTAGCAGTGCTCACTTCCATGCTCACCAGCCCTCCCACATTACGGCGGAGACGG
CTAAGCGTAGGCTGGCCAGGGGATCTCCCCCCTTGGCCAGCTCATCAGCTAGCCAGCTGTCTGCGCCTTCTTTGAAG
GCAACATGCACTACCCGTGTCGACTCCCCGGACGCTGACCTCATCGAGGCCAACCTCCTGTGGCGGCAGGAGATGGCGGG
GAACATCACCCGCGTGAGTCAGAAAATAAGGTAGTAATTTTGGACTCTTTGAGCCGCTCCAAGCGGAGGAGGATGAGA
GGGAAGTATCCGTTCCGGCGGAGATCCTGCGGAGGTCCAGGAAATTCCTCGAGCGATGCCCATATGGGCACGCCCGGAT
TACAACCTCCACTGTTAGAGTCTTGAAGGACCCGGACTACGTCCCTCCAGTGGTACACGGGTGTCCATTGCCGCTGC
CAAGGCCCTCCGATACCACCTCCACGGAGGAAGAGGACGGTTGTCTGTGAGAATCTACCGTGTCTTCTGCCTTGGCGG
AGCTCGCCACAAAGACCTTCGGCAGCTCCGAATCGTCGGCCGTGACAGCGGCACGGCAACGGCCTCTCCTGACCAGCCC
TCCGACGACGGCGACGCGGGATCCGACGTTGAGTCGTACTCCTCCATGCCCCCTTGAGGGGGAGCCGGGGGATCCCGA
TCTCAGCGACGGGTCTTGGTCTACCGTAAGCGAGGAGGCTAGTGAGGACGTCTGTCTGCTGC

20

30

【 0 1 8 6 】

配列番号:13: HCV順応性レプリコンVIIのDNAクローンのヌクレオチド配列:ヌクレオチド
の変化が下記ケースであり、かつボールドで強調されている。

GCCAGCCCCGATTGGGGGCGACACTCCACCATAGATCACTCCCTGTGAGGAAGTACTGTCTTCACGCAGAAAGCGTCT
AGCCATGGCGTTAGTATGAGTGTGTCGTCAGCCTCCAGGACCCCCCTCCCGGAGAGCCATAGTGGTCTGCGGAACCGGT
GAGTACACCGGAATTGCCAGGACGACCGGGTCTTTCTTGATCAACCCGCTCAATGCCTGGAGATTTGGGCGTGCCCCC
GCGAGACTGCTAGCCGAGTAGTGTGGGTGCGAAAGGCCTTGTTGTTACTGCCTGATAGGGTGCTTGCGAGTGCCCCGGG
AGGTCTCGTAGACCGTGACCATGAGCACGAATCCTAAACCTCAAAGAAAAACCAAAGGGCGCGCCATGATTGAACAAGA
TGGATTGCACGCAGGTTCTCCGGCCGCTTGGGTGGAGAGGCTATTCGGCTATGACTGGGCACAACAGACAATCGGCTGCT
CTGATGCCGCCGTGTTCCGGCTGTGACGCGAGGGGCGCCGGTTCTTTTTGTCAAGACCGACCTGTCCGGTGCCCTGAAT
GAACTGCAGGACGAGGCAGCGCGCTATCGTGGCTGGCCACGACGGGCGTTCTTGCGCAGCTGTGCTCGACGTTGTAC
TGAAGCGGGAAGGACTGGCTGCTATTGGGCGAAGTGCCGGGGCAGGATCTCCTGTATCTCACCTTGCTCCTGCCGAGA
AAGTATCCATCATGGCTGATGCAATGCGGCGGCTGCATACGCTTGATCCGGCTACCTGCCATTGACCAACGAAGCGAAA
CATCGCATCGAGCGAGCACGTAATCGGATGGAAGCCGGTCTTGTGATCAGGATGATCTGGACGAAGAGCATCAGGGGCT
CGCGCCAGCCGAATGTTGCCAGGCTCAAGGCGCGCATGCCGACGGCGAGGATCTCGTGTGACCCATGGCGATGCCT
GCTTGCCGAATATCATGGTGGAAAATGGCCGCTTTTCTGGATTTCATCGACTGTGGCCGGCTGGGTGTGGCGGACCGCTAT
CAGGACATAGCGTTGGCTACCCGTGATATTGCTGAAGAGCTTGGCGGCGAATGGGCTGACCGCTTCTCGTGTCTTACGG
TATCGCCGCTCCCGATTGCGAGCGCATCGCCTTCTATCGCCTTCTTGACGAGTTCTTCTGAGTTTAAACAGACCACAACG

40

50

GTTCCTCTAGCGGGATCAATTCCGCCCTCTCCCTCCCCCCCCCTAACGTTACTGGCCGAAGCCGCTTGAATAAGG
CCGGTGTGCGTTTGTCTATATGTTATTTTCCACCATATTGCGCTCTTTTGGCAATGTGAGGGCCCGAAACCTGGCCCTG
TCTTCTTGACGAGCATTCTAGGGGTCTTTCCCTCTCGCCAAAGGAATGCAAGGTCTGTTGAATGTCGTGAAGGAAGCA
GTTCTCTGGAAGCTTCTTGAAGACAAACAACGTCTGTAGCGACCCCTTTCAGGCAGCGGAACCCCCACCTGGCGACAG
GTGCCTCTGCGGCCAAAAGCCACGTGTATAAGATACACCTGCAAAGGCGGCACAACCCAGTGCCACGTTGTGAGTTGGA
TAGTTGTGGAAGAGTCAAATGGCTCTCCTCAAGCGTATTCAACAAGGGGCTGAAGGATGCCAGAAGGTACCCATTGT
ATGGGATCTGATCTGGGGCCTCGGTGCACATGCTTTACATGTGTTTAGTCGAGGTTAAAAACGTCTAGGCCCCCGAAC
CACGGGACGTGGTTTTCTTTGAAAAACAGATAATACCATGGCGCCTATTACGGCCTACTCCAACAGACGCGAGGCC
TACTTGGCTGCATCATCACTAGCCTCACAGGCCGGGACAGGAACAGGTGAGGGGGAGGTCCAAGTGGTCTCCACCGCA
ACACAATCTTTCTGGCGACCTGCGTCAATGGCGTGTGTTGGACTGTCTATCATGGTGCCGGCTCAAAGACCTTGCCGG
CCCAAAGGGCCCAATCACCCAAATGTACACCAATGTGGACCAGGACCTCGTCGGCTGGCAAGCGCCCCCGGGCGCGTT
CCTTGACACCATGCACCTGCGGCAGCTCGGACCTTTACTTGGTCACGAGGCATGCCGATGTCATTCCGGTGCGCCGGCGG
GGCGACAGCAGGGGGAGCCTACTCTCCCCAGGCCCGTCTCCTACTTGAAGGGCTCTTCGGGCGGTCCACTGCTCTGCC
CTCGGGGACGCTGTGGGCATCTTTCGGGCTGCCGTGTGCACCCGAGGGGTTGCGAAGCGGTGGACTTTGTACCCGTG
AGTCTATGGAACCACTATGCGGTCCCGGTCTTCACGGACAACCTCGTCCCCTCCGGCCGTACCGCAGACATTCCAGGTG
GCCCCATCTACAGCCCCCTACTGGTAGCGGAAGAGCACTAAGGTGCCGGCTGCGTATGCAGCCCAAGGGTATAAGGTGCT
TGTCTGAACCCGTCCGTGCCGCCACCCTAGGTTTCGGGGCGTATATGTCTAAGGCACATGGTATCGACCCTAACATCA
GAACCGGGGTAAAGGACCATCACCAAGGTGCCCCATCACGTACTCCACCTATGGCAAGTTTCTTGCCGACGGTGGTTGC
TCTGGGGGCGCCTATGACATCATAATATGTGATGAGTGCCACTCAACTGACTCGACCACTATCCTGGGCATCGGCACAGT
CCTGGACCAAGCGGAGACGGCTGGAGCGGACTCGTCGTGCTCGCCACCGCTACGCTCCGGGATCGGTACCGTGCCAC
ATCCAAACATCGAGGAGGTGGCTCTGTCCAGCACTGGAGAAATCCCTTTTATGGCAAAGCCATCCCATCGAGACCATC
AAGGGGGGAGGCACCTCATTTTCTGCCATTCCAAGAAGAAATGTGATGAGCTCGCCGGAAGCTGTCCGGCTCGGACT
CAATGCTGTAGCATATTACCGGGCCTTGATGTATCCGTATACCAACTAGCGGAGACGTCAATTGTCGTAGCAACGGACG
CTCTAATGACGGGCTTTACCGGCGATTTGACTCAGTGATCGACTGCAATACATGTGTACCCAGACAGTCGACTTCAGC
CTGGACCCGACCTTACCATTTGAGACGACGACCGTGCCACAAGACGCGGTGTACGCTCGCAGCGGCGAGGCAGGACTGG
TAGGGGACAGGATGGGCATTTACAGGTTTGTGACTCCAGGAGAACGGCCCTCGGGCATGTTTCGATTCTCGGTTCTGTGCG
AGTGCTATGACGCGGGCTGTGCTTGGTACGAGCTCACGCCCCCGAGACCTCAGTTAGGTTGCGGGCTTACCTAAACACA
CCAGGGTTGCCGTCTGCCAGGACCATCTGGAGTTCTGGGAGAGCGTCTTTACAGGCTCACCCACATAGACGCCATTT
CTTGTCAGACTAAGCAGGCAGGAGACAATTCCCCTACCTGGTAGCATACCAGGCTACGGTGTGCGCCAGGGCTCAGG
CTCCACCTCCATCGTGGGACCAATGTGGAAGTGTCTATACGGCTAAAGCCTACGCTGCACGGGCCAACGCCCTGCTG
TATAGGCTGGGAGCCGTTCAAACGAGGTTACTACCACACACCCCATAAACAAATACATCATGGCATGCATGTGCGCTGA
CCTGGAGGTGTCACGAGACCTGGGTGCTGGTAGGCGGAGTCTAGCAGCTTGCCCGCGTATTGCCTGACAACAGGCA
GCGTGGTCAATTGTGGGACAGGATCATCTTGTCCGGAAGCCGGCCATCATTCCCGACAGGGAAGTCCTTTACCGGGAGTTC
GATGAGATGGAAGAGTGCCTTCACACCTCCCTTACATCGAACAGGGAATGCAGCTCGCCGAACAATTCAAACAGAAGGC
AATCGGGTTGCTGCAAACAGCCACCAAGCAAGCGGAGGCTGCTGCTCCCGTGGTGAATCCAAGTGGCGGACCCTCGAAG
CCTTCTGGGCGAAGCATATGTGGAATTTATCAGCGGGATACAATATTTAGCAGGCTTGCTCACTCTGCCTGGCAACCCC
GCGATAGCATCACTGATGGCATTACAGCCTCTATACCAAGCCGCTCACCACCAACATACCCTCCTGTTTAACATCCT
GGGGGATGGGTGGCCGCCCAACTTGCTCCTCCAGCGCTGCTTCTGCTTTCTAGGCGCCGGCATCGCTGGAGCGGCTG
TTGGCAGCATAGGCCCTTGGGAAGGTGCTTGTGGATATTTTGGCAGGTTATGGAGCAGGGGTGGCAGGCGCGCTCGTGGCC
TTTAAGGTCATGAGCGGCGAGATGCCCTCCACCGAGGACCTGGTTAACCTACTCCCTGCTATCCTCTCCCCTGGCGCCCT
AGTCGTCCGGGTGCTGTGCGCAGCGATACTGCGTCGGCACGTGGGCCAGGGGAGGGGCTGTGCAGTGGATGAACCGGC
TGATAGCGTTTCGCTTCGCGGGGTAAACCAGTCTCCCCACGCACTATGTGCTGAGAGCGACGCTGCAGCACGTGTCACT
CAGATCCTCTAGTCTTACCATCACTCAGCTGCTGAAGAGGCTTACCAGTGATCAACGAGGACTGCTCCACGCCATG
CTCCGGCTCGTGGCTAAGAGATGTTTGGGATTGGATATGCACGGTGTGACTGATTTCAAGACCTGGCTCCAGTCCAAGC
TCCTGCCGCGATTGCCGGGAGTCCCCTTCTTCTCATGTCAACGTGGGTACAAGGAGTCTGGCGGGGCGACGGCATCATG
CAAACCACCTGCCCATGTGGAGCACAGATACCCGACATGTGAAAAACGGTTCCATGAGGATCGTGGGGCCTAGGACCTG
TAGTAACAGTGGCATGGAACATTCCCCATTAACGCGTACACCAGGGGCCCTGCACGCCCTCCCCGGCGCCAAATTATT
CTAGGGCGCTGTGGCGGGTGGCTGCTGAGGAGTACGTGGAGGTTACGCGGGTGGGGGATTTCCACTACGTGACGGGCATG
ACCACTGACAACGTAAAGTGCCCGTGTGAGGTTCCGGCCCCGAATTCTTACAGAAGTGGATGGGGTGGGTTGCACAG
GTACGCTCCAGCGTGCAAACCCCTCCTACGGGAGGAGGTACATTCTGGTGGGCTCAATCAATACCTGGTTGGGTCAC

AGCTCCCATGCGAGCCCGAACCGGACGTAGCAGTGCTCACTTCCATGCTCACCAGCCCTCCACATTACGGCGGAGACG
 GCTAAGCGTAGGCTGGCCAGGGGATCTCCCCCTCCTTGCCAGCTCATCAGCTA¹CCAGCTGTCTGCGCCTTCTTGAA
 GGCAACATGCACTACCCGTCATGACTCCCCGGACGCTGACCTCATCGAGGCCAACCTCCTGTGGCGGCAGGAGATGGGCG
 GGAACATCACCCGCGTGAGTCAGAAAAAAGGTAGTAATTTTGGACTCTTTCGAGCCGCTCCAAGCGGAGGAGGATGAG
 AGGGAAGTATCCGTTCCGGCGGAGATCCTGCGGAGGTCCAGGAAATTCCTCGAGCGATGCCCATATGGGCACGCCCGGA
 TTACAACCTCCACTGTTAGAGTCTGGAAGGACCCGGACTACGTCCCTCCAGTGGTACACGGGTGTCCATTGCCGCTG
 CCAAGGCCCTCCGATACCACCTCCACGGAGGAAGAGGACGGTTGTCTGTGAGAATCTACCGTGTCTTCTGCCTTGGCG
 GAGCTCGCCACAAAGACCTTCGGCAGCTCCGAATCGTCGGCCGTGACAGCGGCACGGCAACGGCCTCTCCTGACCAGCC
 CTCCGACGACGGCGACGCGGGATCCGACGTTGAGTCGTA²CTCCTCCATGCCCCCTTGAGGGGGAGCCGGGGGATCCCG
 ATCTCAGCGACGGGTCTTGGTCTACCGTAAGCGAGGAGGCTAGTGAGGACGTCGTCTGCTGCTCGATGTCCTACACATGG
 ACAGGCGCCCTGATCACGCCATGCGCTGCGGAGGAAACCAAGCTGCCCATCAATGCACTGAGCAACTCTTGTCCGTCA
 CCACAACCTTGGTCTATGCTACAACATCTCGCAGCGCAAGCCTGCGGCAGAAGAAGGTACCTTTGACAGACTGCAGGTCC
 TGGACGACCACTACCGGGACGTGCTCAAGGAGATGAAGGCGAAGGCGTCCACAGTTAAGGCTAAACTTCTATCCGTGGAG
 GAAGCCTGTAAGCTGACGCCCCACATTCGGCCAGATCTAAATTTGGCTATGGGGCAAAGGACGTCCGGAACCTATCCAG
 CAAGGCCGTTAACCACATCCGCTCCGTGTGGAAGGACTTGTGGAAGACACTGAGACACCAATTGACACCACCATCATGG
 CAAAAATGAGTTTTCTGCGTCCAACCAGAGAAGGGGGGCGCAAGCCAGCTCGCCTTATCGTATTCCAGATTTGGGG
 GTTCGTGTGTGCGAGAAAATGGCCCTTACGATGTGGTCTCCACCCTCCCTCAGGCCGTGATGGGCTCTTCATACGGATT
 CCAATACTCTCCTGGACAGCGGTCGAGTTCCTGGTGAATGCCTGGAAAGCGAAGAAATGCCCTATGGGCTTCGCATATG
 ACACCCGCTGTTTTGACTCAACGGTCACTGAGAATGACATCCGTGTTGAGGAGTCAATCTACCAATGTTGTGACTTGGCC
 CCCGAAGCCAGACAGGCCATAAGGTGCTCACAGAGCGGCTTACATCGGGGGCCCCCTGACTAATTCTAAAGGGCAGAA
 CTGCGGCTATCGCCGGTGCCGCGGAGCGGTGTA³CTGACGACCAGCTGCGGTAATACCCTCACATGTTACTTGAAGCCG
 CTGCGGCTGTGAGCTGCGAAGTCCAGGACTGCACGATGCTCGTATGCGGAGACGACCTTGTGTTATCTGTGAAAGC
 GCGGGGACCCAAGAGGACGAGGCGAGCCTACGGGCCCTCACGGAGGCTATGACTAGATACTCTGCCCCCTGGGGACCC
 GCCAAACCAGAATACGACTTGGAGTTGATAACATCATGCTCCTCCAATGTGTGAGTGCAGCAGGATGCATCTGGCAAAA
 GGGTGTACTATCTACCCGTGACCCACACCCCCCTTGC⁴CGGGCTGCGTGGGAGACAGCTAGACACACTCCAGTCAAT
 TCCTGGCTAGGCAACATCATCATGTATGCGCCACCTTGTGGCAAGGATGATCCTGATGACTCATTTCTTCTCCATCCT
 TCTAGCTCAGGAACAACCTTGAAAAAGCCCTAGATTGTGAGATCTACGGGGCCTGTTACTCCATTGAGCCACTTGACCTAC
 CTCAGATCATTCAACGACTCCATGGCCTTAGCGCATTTTCACTCCATAGTTACTCTCCAGGTGAGATCAATAGGGTGGCT
 TCATGCCTCAGGAAACTTGGGGTACCGCCCTTGCAGTCTGGAGACATCGGGCCAGAAGTGTCGCGCTAGGCTACTGTC
 CCAGGGGGGAGGGCTGCCACTTGTGGCAAGTACCTCTTCAACTGGGCAGTAAGGACCAAGCTCAA⁵ACTCACTCCAATCC
 CGGCTGCGTCCCAGTTGGATTTATCCAGCTGGTTCGTTGCTGGTTACAGCGGGGAGACATATATCACAGCCTGTCTCGT
 GCCGACCCCGCTGGTTCATGTGGTGCTACTCCTACTTTCTGTAGGGGTAGGCATCTATCTACTCCCAACCGATGAAC
 GGGGAGCTAAACACTCCAGGCCAATAGGCCATCCTGTTTTTTTCCCTTTTTTTTTTCTTTTTTTTTTTTTTTTTTTT
 TTTTTTTTTTCTCCTTTTTTTTCTCCTTTTTTTCTTTTTCTTTCTTTGTTGGTCCATCTTAGCCCTAGTCACGGCTA
 GCTGTGAAAGGTCCGTGAGCCGCTTGACTGCAGAGAGTGCTGATACTGGCCTCTCTGCAGATCAAGT

【 0 1 8 7 】

配列番号:14: HCV順応性レプリコンIのNS5Aタンパク質のアミノ酸配列:作成されたアミノ酸配列がボールドで強調されている。

SGSWLRDVWDWICTVLTDFTWLQSKLLPRLPGVPFFSCQRGYKGVWRGDGIMQTTCPGQAI⁶TGHVKNGSMRIVGPRTC
 SNTWHGTFPINAYTTGPCTPSPAPNYSRALWRVAEEYVEVTRVGD⁷FHYVTGMTDNVKPCQVPAPEFFTEVDGVR⁸LHR
 YAPACKPLLREEVTFVLGNQYLVGSQLPCEPEPDVAVLTSMLTDP⁹SHITAETAKRRLARGSPPSLASSASQLYSFEPL
 QAEEDEREVS¹⁰PAELRRSRKFPRAMP¹¹IWARPDYNPPLLESWKDPDYVPPVHGCPLPPAKAPP¹²IPPRKR¹³TVVLS¹⁴EST
 VSSALAE¹⁵LATKTFGSSESAVDSGTATASPDQPSDDGDAGSDVESYSSMPPLEGEPD¹⁶PLSDGSWSTVSEEASEDVVCC

【 0 1 8 8 】

配列番号:15: HCV順応性レプリコンVIのポリタンパク質コード領域のアミノ酸配列:アミノ酸変化がボールドで強調されている。

MAPITAYSQQTRGLGCIITSLTGRDRNQVEGEVQVVSTATQSF¹⁷LATCVNGVCWTVYHGAGSKTLAGPKGPI¹⁸TQMYTNVD
 QDLVGWRAPPGARSLTPCTCGSSDLYLVTRHADVPVRRRGDSRGSLLSPRPVSYLKSSGGPLLCPSGHAVGIFRAAVC
 TRGVAKAVDFVPVESMETM¹⁹RSVPFTDNSSPPAVPQTFQVAHLHAPTGS²⁰GKSTKVPAAYAAQGYKVLVLNPSVAATLGFG
 AYMSKAHGIDPNI²¹RTGVRTITGAPITYSTYGKFLADGGCSGGAYDII²²ICDECHSTDSTTILGIGTVLDQAETAGARLVV

LATATPPGSVTVPHPNIEEVALSSTGEIPFYGKAIPETIKGGRHLIFCHSKKKCELAALKSLGLGLNAVAYYRGLDVS
 IPTSGDVIIVATDALMTGFTGDFDSVIDCNTCVTQTVDLSLPTFTIETTTVPQDAVSRQRRTGRGRMGIRYFVTPG
 ERPSGMFDSSVLCECYDAGCAWYELTPAETSVRLRAYLNTPLPVCQDHLEFWEVFTGLTHIDAHFLSQTQAGDNFPY
 LVAYQATVCARAQAPPSWDQMWKCLIRLKPTLHGPTPLLYRLGAVQNEVTTTHPI TKYIMACMSADLEVVTSTWVLVGG
 VLAALAAAYCLTTGSSVIVGRIILSGKPAIPDREVLREFDEMEECASHLPYIEQGMQLAEQFKQKAGILLQTATKQAEA
 AAPVVESKWRLEAFWAKHMMWFI SGIQYLAGLSTLPGNPAIASLMAFTASITSPLTTQHTLLFNLGGWVAAQLAPPSA
 ASAFVGAGIAGAAVGSIGLGKVLVDILAGYGAGVAGALVAFKVMSEMPSTEDLVNLLPAI LSPGALVGVVCAA I LRRH
 VGPGEAVQWMNRL IAFASRGNHVSPTHYVPESDAAARVTQILSSLTITQLLKRLHQWINEDCSTPCSGSWLRDWDWIC
 TVLTDFTKWLQSKLLPRLPGVPFFSCQRGYKGVWRGDGIMQTTCPGCAQITGHVKNGSMRIVGPRTCSNTWHGTFP INAY
 TTGPCTPSPAPNYSRALWRVAAEEYVEVTRVGDFHYVTGMTDNNKPCQVPAPEFFTEVDGVRLLHRYAPACKPLLREEV
 TFLVGLNQYLVGSQLPCEPEPDVAVLTSMLTDPISHI TAETAKRRLARGSPPSLASSA I QLSAPSLKATCTTRHDSPAD
 L I EANLLWRQEMGGN I TRVESENKVV I LDSFEPLQAEEDEREVSVP AE I LRRSRKFPRAMP I WARPDPNPPLLESWKDPD
 YVPPVHGCPLPPAKAPP I PPPRRKRTVVLSESTVSSALAEATKTFGSSESAVDSGTATASPDQPSDDGDAGSDVESY
 SSMPPLEGEPPDPLSDGSWSTVSEEASEDVCCSMSTWTGALITPCAAEETKLPINALSNSLLRHHNLVYATTSRSAS
 LRQKQVTFDRLQVLDHYRDLKEMKAKASTVKAKLLSVEEACKLTPPHSARSKFGYGAQDVRLSSKAVNHIRSVWKDL
 LEDTETPIDTTIMAKNEVFCVQPEKGGKPARLIVFPDLGVRVCEKMALYDVVSTLPQAVMGSSYGFQYSPGQVFEFLVN
 AWKAKKCPMGFAYDTRCFDSTVTENDIRVEESIYQCCDLAPEARQAIRSLTERLYIGGPLTNSKGQNCGYRRCRASGVL
 TSCGNTLTCYLKAAAACRAAKLQDCTMLVCGDDLVI CESAGTQEDEASLRAFTEAMTRYAPPDPPKPEYDLELITSC
 SSNVSVAHSDAGSKRVYLLTRDPTTPLARAAWETARHTPVNSWLGNIIMYAPTLWARMILMTHFFSILLAEQLEKALDCQ
 IYGACYSIEPLDLPQIIQRLHGLSAFSLHSYSPGGINRVASCLRKLGVPPLRVWRHRARSVRARLLSQGGRAATCGKYL
 F NWAVRTKLKLTPIPAASQLDLSSWFVAGYSGGDIYHSLSRARPRWFMWCLLLLSVGVGIYLLPNR

10

20

【0189】

配列番号:16: HCV順応性レプリコンVIIのNS5Aタンパク質のアミノ酸配列: アミノ酸変化がボールドで強調されている。

SGSWLRDWDWICTVLTDFTKWLQSKLLPRLPGVPFFSCQRGYKGVWRGDGIMQTTCPGCAQITGHVKNGSMRIVGPRTCS
 NTWHGTFP INAYTTGPCTPSPAPNYSRALWRVAAEEYVEVTRVGDFHYVTGMTDNNKPCQVPAPEFFTEVDGVRLLH
 RYAPACKPLLREEVTFLVGLNQYLVGSQLPCEPEPDVAVLTSMLTDPISHI TAETAKRRLARGSPPSLASSA I QLSAPSLK
 ATCTTRHDSPADL I EANLLWRQEMGGN I TRVESENKVV I LDSFEPLQAEEDEREVSVP AE I LRRSRKFPRAMP I WARP
 DPNPPLLESWKDPDYVPPVHGCPLPPAKAPP I PPPRRKRTVVLSESTVSSALAEATKTFGSSESAVDSGTATASPDQ
 PSDDGDAGSDVESYSSMPPLEGEPPDPLSDGSWSTVSEEASEDVCC

30

【0190】

配列番号:17: HCV順応性レプリコンIIのポリタンパク質のアミノ酸配列: アミノ酸変化がボールドで強調されている。

MAPITAYSQQTRGLLGCITSLTGRDRNQVEGEVQVSTATQSFLATCVNGVCWTVYHGAGSKTLGPKGPITQMYTNVD
 QDLVGWQAPPGARSLTPCTCGSSDLYLVTRHADVIPVRRRGDSRGSLLSPRPVSYLKGS SGGP L LCP SGHVG I FRAAVC
 TRGVAKAVDFVPVESMETMRSPVFTDNSSPPAVPQTFQVAHLHAPTGS GKSTKVPAA YAAQGYKVLV LNPSVAATLGFG
 AYMSKAHGIDPNI RTGVRTITTGAPITYSTYGKFLADGGCSGGAYDIICDECHSTDSTTILGIGTVLDQAETAGARLVV
 LATATPPGSVTVPHPNIEEVALSSTGEIPFYGKAIPETIKGGRHLIFCHSKKKCELAALKSLGLGLNAVAYYRGLDVS
 IPTSGDVIIVATDALMTGFTGDFDSVIDCNTCVTQTVDLSLPTFTIETTTVPQDAVSRQRRTGRGRMGIRYFVTPG
 ERPSGMFDSSVLCECYDAGCAWYELTPAETSVRLRAYLNTPLPVCQDHLEFWEVFTGLTHIDAHFLSQTQAGDNFPY
 LVAYQATVCARAQAPPSWDQMWKCLIRLKPTLHGPTPLLYRLGAVQNEVTTTHPI TKYIMACMSADLEVVTSTWVLVGG
 VLAALAAAYCLTTGSSVIVGRIILSGKPAIPDREVLREFDEMEECASHLPYIEQGMQLAEQFKQKAGILLQTATKQAEA
 AAPVVESKWRLEAFWAKHMMWFI SGIQYLAGLSTLPGNPAIASLMAFTASITSPLTTQHTLLFNLGGWVAAQLAPPSA
 ASAFVGAGIAGAAVGSIGLGKVLVDILAGYGAGVAGALVAFKVMSEMPSTEDLVNLLPAI LSPGALVGVVCAA I LRRH
 VGPGEAVQWMNRL IAFASRGNHVSPTHYVPESDAAARVTQILSGLTITQLLKRLHQWINEDCSTPCSGSWLRDWDWIC
 TVLTDFTKWLQSKLLPRLPGVPFFSCQRGYKGVWRGDGIMQTTCPGCAQITGHVKNGSMRIVGPRTCSNTWHGTFP INAY
 TTGPCTPSPAPNYSRALWRVAAEEYVEVTRVGDFHYVTGMTDNNKPCQVPAPEFFTEVDGVRLLHRYAPACKPLLREEV
 TFLVGLNQYLVGSQLPCEPEPDVAVLTSMLTDPISHI TAETAKRRLARGSPPSLASSA I QLSAPSLKATCTTRHDSPAD
 L I EANLLWRQEMGGN I TRVESENKVV I LDSFEPLQAEEDEREVSVP AE I LRRSRKFPRAMP I WARPDPNPPLLESWKDPD
 YVPPVHGCPLPPAKAPP I PPPRRKRTVVLSESTVSSALAEATKTFGSSESAVDSGTATASPDQPSDDGDAGSDVESY

40

50

SSMPLEGE PGDPDLSDGSWSTVSEEASEDVVCCSMSYWTGALITPCAAEETKLPINALSNSLLRHNLVYATTSRAS
LRQKKVTFDRLQVLDHYRDVLKEMKAKASTVKAKLLSVEEACKLTPPHSARSKFGYGAQVNRNLSKAVNHIRSVWKDL
LEDTETPIDTTIMAKNEVFCVQPEKGGKPARLIVFPDLGVRVCEKMALYDVVSTLPQAVMGSSYGFQYSPGQRVEFLVN
AWKAKKCPMGFAYDTRCFDSTVTENDIRVEESIYQCCDLAPEARQAIRSLTERLYIGGPLTNSKGQNCGYRRCRASGVL
TSCGNTLTCYLKAAAACRAAKLQDCTMLVCGDDLVI CESAGTQEDEASLRAFTEAMTRYSAAPPDPPKPEYDLELITSC
SSNVSAHDASGKRVYLLTRDPTTPLARAAWETARHTPVNSWLGNIIMYAPTLWARMILMTHFFSILLAEQLEKALDCQ
IYGACYSIEPLDLPQIIQRLHGLSAFSLHSYSPGEINRVASCLRKLGVPPLRVWRHRARSVRARLLSQGGRAATCGKYLF
NWAVRTKLKLTPIPAASQLDLSSWFVAGYSGGDIYHLSRARPRWFMWCLLLSVGVGIYLLPNR

【0191】

配列番号:18: HCV順応性レプリコンIIのNS5Aタンパク質のアミノ酸配列: アミノ酸変化が
ボールドで強調されている。

10

SGSWLRDVWDWICTVLTDFTKWLQSKLLPRLPGVPFFSCQRGYKGVWRGDGIMQTTCPGQAI TGHVKNGSMRIVGPRTC
SNTWHGTFPI NAYTTGPCTPSPAPNYSRALWRVAAEEYVEVTRVGDFHYVTGMTTDNVKPCQVPAPEFFTEVDGVRLLHR
YAPACKPLLREEVTFVLGNQYLVGSQLPCEPEPDVAVLTSMLTDPISHI TAETAKRGLARGSPPSLASSSASQLSAPSLK
ATCTTRHDSPDADLIEANLLWRQEMGGNITRVESENKVVILDSFEPLQAEEDEREVSVP AEILRRSRKFPRAMP IWARPD
YNPPLLESWKDPDYVPPVHGCPLPPAKAPP IPPRRKRRTVVLSESTVSSALAEATKTFGSSESAVDSGTATASPDQP
SDDGDAGSDVESYSSMPLEGE PGDPDLSDGSWSTVSEEASEDVVCC

【0192】

配列番号:19: HCV順応性レプリコンVのNS5Aタンパク質のアミノ酸配列: アミノ酸変化が
ボールドで強調されている。

20

SGSWLRDVWDWICTVLTDFTKWLQSKLLPRLPGVPFFSCQRGYKGVWRGDGIMQTTCPGQAI TGHVKNGSMRIVGPRTC
SNTWHGTFPI NAYTTGPCTPSPAPNYSRALWRVAAEEYVEVTRVGDFHYVTGMTTDNVKPCQVPAPEFFTEVDGVRLLHR
YAPACKPLLREEVTFVLGNQYLVGSQLPCEPEPDVAVLTSMLTDPISHI TAETAKRRLARGSPPSLSSSSASQLSAPSLK
ATCTTRHDSPDADLIEANLLWRQEMGGNITRVESENKVVILDSFEPLQAEEDEREVSVP AEILRRSRKFPRAMP IWARPD
YNPPLLESWKDPDYVPPVHGCPLPPAKAPP IPPRRKRRTVVLSESTVSSALAEATKTFGSSESAVDSGTATASPDQP
SDDGDAGSDVESYSSMPLEGE PGDPDLSDGSWSTVSEEASEDVVCC

【0193】

配列番号:20: HCV順応性レプリコンIVのNS5Aタンパク質のアミノ酸配列: アミノ酸変化が
ボールドで強調されている。

30

SGSWLRDVWDWICTVLTDFTKWLQSKLLPRLPGVPFFSCQRGYKGVWRGDGIMQTTCPGQAI TGHVKNGSMRIVGPRTC
SNTWHGTFPI NAYTTGPCTPSPAPNYSRALWRVAAEEYVEVTRVGDFHYVTGMTTDNVKPCQVPAPEFFTEVDGVRLLHR
YAPACKPLLREEVTFVLGNQYLVGSQLPCEPEPDVAVLTSMLTDPISHI TAETAKRRLARGSPPCCLASSSASQLSAPSLK
ATCTTRHDSPDADLIEANLLWRQEMGGNITRVESENKVVILDSFEPLQAEEDEREVSVP AEILRRSRKFPRAMP IWARPD
YNPPLLESWKDPDYVPPVHGCPLPPAKAPP IPPRRKRRTVVLSESTVSSALAEATKTFGSSESAVDSGTATASPDQP
SDDGDAGSDVESYSSMPLEGE PGDPDLSDGSWSTVSEEASEDVVCC

【0194】

配列番号:21: HCV順応性レプリコンIIIのNS5Aタンパク質のアミノ酸配列: アミノ酸変化
がボールドで強調されている。

40

SGSWLRDVWDWICTVLTDFTKWLQSKLLPRLPGVPFFSCQRGYKGVWRGDGIMQTTCPGQAI TGHVKNGSMRIVGPRTC
SNTWHGTFPI NAYTTGPCTPSPAPNYSRALWRVAAEEYVEVTRVGDFHYVTGMTTDNVKPCQVPAPEFFTEVDGVRLLHR
YAPACKPLLREEVTFVLGNQYLVGSQLPCEPEPDVAVLTSMLTDPISHI TAETAKRRLARGSPPLASSSASQLSAPSLK
ATCTTRHDSPDADLIEANLLWRQEMGGNITRVESENKVVILDSFEPLQAEEDEREVSVP AEILRRSRKFPRAMP IWARPD
YNPPLLESWKDPDYVPPVHGCPLPPAKAPP IPPRRKRRTVVLSESTVSSALAEATKTFGSSESAVDSGTATASPDQP
SDDGDAGSDVESYSSMPLEGE PGDPDLSDGSWSTVSEEASEDVVCC

【0195】

配列番号:22: HCV順応性レプリコンHCVrep/NS2-5B のDNAクローンのヌクレオチド配列(図
9 参照)

GCCAGCCCCGATTGGGGGCGACACTCCACCATAGATCACTCCCCTGTGAGGAAGTACTGTCTTCACGCAGAAAGCGTCT
AGCCATGGCGTTAGTATGAGTGTCTGTCAGCCTCCAGGACCCCCCTCCCGGAGAGCCATAGTGGTCTGCGGAACCGGT
GAGTACACCGGAATTGCCAGGACGACCGGGTCCTTTCTTGATCAACCCGCTCAATGCCTGGAGATTTGGGCGTGCCCCC

50

GCGAGACTGCTAGCCGAGTAGTGTGGGTCGCGAAAGGCCTTGTGGTACTGCCTGATAGGGTGCTTGCGAGTGCCCCGGG
AGGTCTCGTAGACCGTGACCAGACCACAACGGTTTTCCCTCTAGCGGGATCAATTCGCCCCCTCTCCCTCCCCCCCCCT
AACGTTACTGGCCGAAGCCGCTTGAATAAGGCCGGTGTGCGTTTGTCTATATGTTATTTTCCACCATATTGCCGTCTTT
TGGCAATGTGAGGGCCCCGAAACCTGGCCCTGTCTTCTTGACGAGCATTCTAGGGGTCTTTCCCTCTCGCCAAAGGAA
TGCAAGGTCTGTTGAATGTCGTGAAGGAAGCAGTTCCTCTGGAAGCTTCTTGAAGACAAACAACGTCTGTAGCGACCCTT
TGCAGGCAGCGGAACCCCCACCTGGCGACAGGTGCCTCTGCGGCCAAAAGCCACGTGTATAAGATACACCTGCAAAGGC
GGCACAACCCCACTGCCACGTTGTGAGTTGGATAGTTGTGGAAGAGTCAAATGGCTCTCCTCAAGCGTATTCAACAAGG
GGCTGAAGGATGCCAGAAGGTACCCATTGTATGGGATCTGATCTGGGGCCTCGGTGCACATGCTTTACATGTGTTAG
TCGAGGTTAAAAAACGTCTAGGCCCCCCGAACCACGGGGACGTGGTTTTCTTTGAAAAACAGATAATACCATGGACCG
GGAGATGGCAGCATCGTGGGAGGCGGGTTTTCTGAGGTCTGATACTCTTGACCTTGTACCGCACTATAAGCTGTTCC
TCGCTAGGCTCATATGGTGGTTACAATATTTTATCACCAGGGCCGAGGCACACTTGCAAGTGTGGATCCCCCCCCCTAAC
GTTTCGGGGGGCGCGATGCCGTATCCTCCTCACGTGCGCGATCCACCCAGAGCTAATCTTTACCATCACAAAAATCTT
GCTCGCCATACTCGGTCCACTCATGGTGCTCCAGGCTGGTATAACCAAAGTGCCGTACTTCGTGCGCGCACACGGGCTCA
TTCGTGCATGCATGCTGGTGCGGAAGGTTGCTGGGGGTCAATATGTCCAAATGGCTCTCATGAAGTTGGCCGCACTGACA
GGTACGTACGTTTATGACCATCTCACCCACTGCGGGACTGGGCCACGCGGGCTACGAGACCTTGCGGTGGCAGTTGA
GCCCCGTGCTTCTCTGATATGGAGACCAAGGTTATCACCTGGGGGCGAGACACCGCGCGTGTGGGGACATCATCTTGG
GCCTGCCGCTCTCGCCCGCAGGGGAGGGAGATACATCTGGGACCGGCAGACAGCCTTGAAGGGCAGGGGTGGCGACTC
CTCGCGCTATTACGGCCTACTCCCAACAGACGCGAGGCCCTACTTGGCTGCATCATCACTAGCCTCACAGGCCGGGACAG
GAACCAGGTCGAGGGGGAGGTCCAAGTGGTCTCCACCGCAACACAATCTTTCTGGCGACCTGCGTCAATGGCGTGTGTT
GGACTGTCTATCATGGTGCCGGCTCAAAGACCCTTGCCGGCCCAAAGGGCCCAATCACCCAAATGTACACCAATGTGGAC
CAGGACCTCGTCGGCTGGCAAGCGCCCCCGGGGCGGTTCTTGACACCATGCACCTGCGGCAGCTCGGACCTTTACTT
GGTCACGAGGCATGCCGATGTCATTCCGGTGCGCCGGCGGGGCGACAGCAGGGGGAGCCTACTCTCCCCAGGCCGCTCT
CCTACTTGAAGGGCTCTTCGGGCGGTCCACTGCTCTGCCCCCTGGGGCACGCTGTGGGCATCTTTCGGGTGCCGTGTGC
ACCCGAGGGGTTGCGAAGGCGGTGGACTTTGTACCCGTGAGTCTATGGAACCACTATGCGGTCCCCGGTCTTCACGGA
CAACTCGTCCCCTCGGGCGTACCGCAGACATTCCAGGTGGCCATCTACACGCCCTACTGGTAGCGGAAGAGCACTA
AGGTGCCGGCTGCGTATGCAGCCCAAGGGTATAAGGTGCTTGTCTGAACCCGTCCGTGCGCCGCCACCCTAGGTTTCGGG
GCGTATATGTCTAAGGCACATGGTATCGACCCTAACATCAGAACCAGGGGTAAGGACCATCACACGGGTGCCCCATCAC
GTACTCCACCTATGGCAAGTTTCTTGCCGACGGTGGTTGCTCTGGGGGCGCCTATGACATCATAATATGTGATGAGTGCC
ACTCAACTGACTCGACCACTATCCTGGGCATCGGCACAGTCTGGACCAAGCGGAGACGGCTGGAGCGGACTCGTCGTG
CTCGCCACCGCTACGCTCCGGGATCGGTACCGTGCCACATCCAAACATCGAGGAGGTGGCTCTGTCCAGCACTGGAGA
AATCCCCTTTTATGGCAAAGCCATCCCCATCGAGACCATCAAGGGGGGAGGCACCTCATTTTCTGCCATTCCAAGAAGA
AATGTGATGAGCTCGCCGCGAAGCTGTCCGGCCTCGGACTCAATGCTGTAGCATATTACCGGGGCTTGATGTATCCGTC
ATACCAACTAGCGGAGACGTCATTGTCGTAGCAACGGACGCTAATGACGGGCTTTACCGGCGATTTGACTCAGTGAT
CGACTGCAATACATGTGTACCCAGACAGTCGACTTCAGCTGGACCCGACCTTACCATTGAGACGACGACCGTGCCAC
AAGACGCGGTGTACGCTCGCAGCGCGAGGCAGGACTGGTAGGGCAGGATGGGCATTTACAGGTTTGTGACTCCAGGA
GAACGGCCCTCGGGCATGTTTCGATTCTCGGTTCTGTGCGAGTGCTATGACGCGGGCTGTGCTTGGTACGAGCTACGCC
CGCCGAGACCTCAGTTAGGTTGCGGGCTTACCTAAACACACCAGGGTTGCCGCTGTCAGGACCATCTGGAGTTCTGGG
AGAGCGTCTTTACAGGCCTCACCCACATAGACGCCATTTCTTGTCCAGACTAAGCAGGCAGGAGACAATTCCCCTAC
CTGGTAGCATACCAGGCTACGGTGTGCGCCAGGGCTCAGGCTCCACCTCCATCGTGGGACCAATGTGGAAGTGTCTCAT
ACGGCTAAAGCCTACGCTGCACGGGCCAACGCCCTGCTGTATAGGCTGGGAGCCGTTCAAACAGAGGTTACTACCACAC
ACCCATAACCAAATACATCATGGCATGCATGTGCGTACCTGGAGGTGTCACGAGCACCTGGGTGCTGGTAGGCGGA
GTCCTAGCAGCTCTGGCCGCGTATTGCCTGACAACAGGCAGCGTGGTCATTGTGGGCAGGATCATCTTGTCCGGAAGCC
GGCCATCATTTCCGACAGGGAAGTCTTTACCGGGAGTTGATGAGATGGAAGAGTGCCTCACACCTCCCTTACATCG
AACAGGGAATGCAGCTCGCCGAACAATTCAAACAGAAGGCAATCGGGTTGCTGCAAACAGCCACCAAGCAAGCGGAGGCT
GCTGCTCCCGTGGTGAATCCAAGTGCGGACCCCTCGAAGCCTTCTGGGCGAAGCATATGTGGAATTTATCAGCGGGAT
ACAATATTTAGCAGGCTTGTCCACTCTGCCTGGCAACCCCGCGATAGCATCACTGATGGCATTACAGCCTCTATCACCA
GCCCCGCTACCAACCAACATACCTCCTGTTTAAACATCCTGGGGGATGGGTGGCCGCCAACTTGCTCCTCCAGCGCT
GCTTCTGCTTTCTGAGGCGCCGGCATCGCTGGAGCGGCTGTTGGCAGCATAGGCCCTGGGAAGGTGCTTGTGGATATTTT
GGCAGGTTATGGAGCAGGGGTGGCAGGCGCGCTCGTGGCCTTAAAGTTCATGAGCGCGAGATGCCCTCACCGAGGACC
TGGTTAACCTACTCCCTGCTATCCTCTCCCCTGGCGCCCTAGTCGTGGGGTCTGTGCGCAGCGATACTGCGTCGGCAC

GTGGGCCAGGGGAGGGGGCTGTGCAGTGGATGAACCGGCTGATAGCGTTTCGCTTCGCGGGGTAACCACGTCTCCCCAC
GCACTATGTGCCTGAGAGCGACGCTGCAGCACGTGTCACTCAGATCCTCTCTAGTCTTACCATCACTCAGCTGCTGAAGA
GGCTTCACCACTGGATCAACGAGGACTGCTCCACGCCATGCTCCGGCTCGTGGCTAAGAGATGTTTGGGATTGGATATGC
ACGGTGTGACTGATTTCAAGACCTGGCTCCAGTCCAAGCTCCTGCCGCGATTGCCGGAGTCCCCTTCTTCTCATGTCA
ACGTGGGTACAAGGGAGTCTGGCGGGGCGACGGCATCATGCAAACCACTGCCATGTGGAGCACAGATACCCGGACATG
TGAAAAACGGTTCCATGAGGATCGTGGGGCCTAGGACCTGTAGTAACACGTGGCATGGAACATTCCCCATTAACGCGTAC
ACCACGGGCCCCTGCACGCCCTCCCCGGCGCCAAATTATTCTAGGGCGCTGTGGCGGGTGGCTGCTGAGGAGTACGTGGA
GGTTACGCGGGTGGGGGATTTCCACTACGTGACGGGCATGACCACTGACAACGTAAAGTGCCCGTGTGAGTTCCGGCCC
CCGAATTTCTTACAGAAGTGGATGGGGTGGCGTTGCACAGGTACGCTCCAGCGTGCAAACCCCTCCTACGGGAGGAGGTC
ACATTCCTGGTCGGGCTCAATCAATACCTGGTTGGGTACAGCTCCCATGCGAGCCCCGAACCGGACGTAGCAGTGCTCAC
TTCCATGCTCACGACCCCTCCACATTACGGCGGAGACGGCTAAGCGTAGGCTGGCCAGGGGATCTCCCCCTCCTTGG
CCAGCTCATCAGCTATCCAGCTGTCTGCGCCTTCTTGAAGGCAACATGCACTACCCGTCATGACTCCCCGGACGCTGAC
CTCATCGAGGCCAACCTCCTGTGGCGGCAGGAGATGGGCGGGAACATCACCCGCGTGGAGTCAGAAAATAAGGTAGTAAT
TTTGGACTCTTTGAGCCGCTCCAAGCGGAGGAGGATGAGAGGGAAGTATCCGTTCCGGCGGAGATCCTGCGGAGGTCCA
GGAAATTCCTCGAGCGATGCCCATATGGGCACGCCCGGATTACAACCTCCACTGTTAGAGTCTGGAAGGACCCGGAC
TACGTCCCTCCAGTGGTACACGGGTGCCATTGCCGCTGCCAAGGCCCTCCGATACCACCTCCACGGAGGAAGAGGAC
GGTTGTCTGTGAGAATCTACCGTGTCTTCTGCCTTGGCGGAGCTCGCCACAAAGACCTTCGGCAGCTCCGAATCGTCGG
CCGTCGACACGCGGCACGGCAACGGCCTCTCCTGACCAGCCCTCCGACGACGGCGACGCGGGATCCGACGTTGAGTCGTAC
TCCTCCATGCCCCCCTTGAGGGGAGCCGGGGGATCCCGATCTCAGCGACGGGTCTTGGTCTACCGTAAGCGAGGAGGC
TAGTGAGGACGTGCTGCTGCTCGATGTCTACACATGGACAGGCGCCCTGATCACGCCATGCGCTGCGGAGGAAACCA
AGCTGCCCATCAATGCACTGAGCAACTCTTTGCTCCGTACCCACAACCTTGGTCTATGCTACAACATCTCGCAGCGCAAGC
CTGCGGCAGAAGAAGGTCACCTTTGACAGACTGCAGTCCCTGGACGACCACTACCGGGACGTGCTCAAGGAGATGAAGGC
GAAGCGTCCACAGTTAAGGCTAACTTCTATCCGTGGAGGAAGCCTGTAAGCTGACGCCCCACATTCGGCCAGATCTA
AATTTGGCTATGGGGCAAAGGACGTCCGGAACCTATCCAGCAAGGCCGTTAACCACATCCGCTCCGTGTGGAAGGACTTG
CTGGAAGACACTGAGACACCAATTGACACCACCATCATGGCAAAAAATGAGGTTTTCTGCGTCCAACCAGAGAAGGGGGG
CCGCAAGCCAGCTCGCCTTATCGTATTCCCAGATTTGGGGTTCGTGTGTGCGAGAAAATGGCCCTTTACGATGTGGTCT
CCACCCTCCCTCAGGCCGTGATGGGCTCTTCATACGGATTCCAATACTCTCCTGGACAGCGGGTCGAGTTCTGGTGAAT
GCCTGGAAGCGAAGAAATGCCCTATGGGCTTCGCATATGACACCCGCTGTTTTGACTCAACGGTCACTGAGAATGACAT
CCGTGTTGAGGAGTCAATCTACCAATGTTGTGACTTGGCCCCGAAGCCAGACAGGCCATAAGGTGCTCACAGAGCGGC
TTTACATCGGGGGCCCCCTGACTAATTCTAAAGGGCAGAACTGCGGCTATCGCCGGTGCCGCGGAGCGGTGTACTGACG
ACCAGCTGCGGTAATACCCTCACATGTTACTTGAAGGCCGCTGCGGCCTGTGAGCTGCGAAGCTCCAGGACTGCACGAT
GCTCGTATGCGGAGACGACCTTGTGTTATCTGTGAAAGCGCGGGGACCCAAGAGGACGAGGCGAGCCTACGGGCCTTCA
CGGAGGCTATGACTAGATACTCTGCCCCCCTGGGGACCCGCCAAACCAGAATACGACTTGAGATTGATAACATCATGC
TCCTCCAATGTGTGATCGCGACGATGCATCTGGCAAAAGGGTGTACTATCTCACCCGTGACCCACACCCCCCTTGC
GCGGGCTGCGTGGGAGACAGCTAGACACACTCCAGTCAATTCTGGCTAGGCAACATCATCATGTATGCGCCACCTTGT
GGGCAAGGATGATCCTGATGACTCATTTCTTCTCCATCCTTCTAGCTCAGGAACAACCTGAAAAAGCCCTAGATTGTGAG
ATCTACGGGGCCTGTTACTCCATTGAGCCACTTGACCTACCTCAGATCATTCAACGACTCCATGGCCTTAGCGCATTTTC
ACTCCATAGTTACTCTCCAGGTGAGATCAATAGGGTGGCTTCATGCCTCAGGAACTTGGGGTACCGCCCTTGCGAGTCT
GGAGACATCGGGCCAGAAGTGTCCGCGTAGGCTACTGTCCCAGGGGGGAGGGCTGCCACTTGTGGCAAGTACCTCTTC
AACTGGGCAGTAAGGACCAAGCTCAAACCTCACTCCAATCCCGGCTGCGTCCCAGTTGATTTATCCAGCTGGTTCGTTGC
TGGTTACAGCGGGGAGACATATATCACAGCCTGTCTCGTGCCCGACCCGCTGGTTCATGTGGTGCCTACTCCTACTTT
CTGTAGGGGTAGGCATCTATCTACTCCCAACCGATGAACGGGACCTAAACACTCCAGGCCAATAGGCCATCCTGTTTT
TTTCCCTTTTTTTTTTCTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTCTCCTTTTTTTTTCTCTTTTTTCTCTT
TTCTTTCTTTTGGTGGCTCCATCTTAGCCCTAGTCACGGCTAGCTGTGAAAGGTCCGTGAGCCGCTTACTGCAGAGAGT
GCTGATACTGGCCTCTCTGCAGATCAAGT

【 0 1 9 6 】

配列番号:23: 配列番号:3の位置1179においてSerからIleへの変異を含む、全長HCV cDNA
クローンのヌクレオチド配列、ここにおいて、5' NTRはネオマイシンホストランスフ
ェラーゼ遺伝子に融合し、かつEMCV IRESはHCVオープンリーディングフレームの上流に挿
入されている(図9参照)。

10

20

30

40

50

gccagccccGATtggggcgacactccaccatAGatcactccccgtgaggaactactgtcttcacgcagaaagcgtct
agccatggcgttagtatgagtgtcgtgcagcctccaggacccccctcccgggagagccatagtggctcgcggaaccggt
gagtacaccggaattgccaggacgaccgggtcctttcttggatCaaccgcgtcaatgcctggagatttgggcgtgcccc
gcGagactgctagccgagtagtgttgggtcgcgaaaggccttgggtactgcctgtaggggtgcttgcgagtgccccggg
aggctcgttagaccgtgcaccATGAGCACGAATCCTAAACCTCAAAGAAAAACCAAGGgcgCgCCATGATtgaacaaga
tggattgcacgcagggttctccggccgcttgggtggagaggctattcggctatgactgggcacacagacaatcggctgct
ctgatgccgcccgtgttccggctgtcagcgcagggggcgcccgttcttttgtcaagaccgacctgtccggtgccctgaat
gaatgcaggacgaggcagcgcggctatcgtggctggccacgacgggcgttccctgcgcagctgtgctcgacgttgtcac
tgaagcgggaagggactggctgctattgggcgaagtgcggggcaggatctcctgtcatctcaccttgctcctgccgaga
aagtatccatcatggctgatgcaatgcggcggctgcatacgttgcctcgggtaccctgcccatcgaccaccaagcgaaa
catcgcatcgagcgagcagctactcggatggaagccggtcttgcgtcagatcaggatgacttgacgaagagcatcaggggct
cgcgccagccgaactgttcgccaggctcaaggcgcgcattgccgcagggcaggatctcgtcgtgacccatggcgaatgcct
gcttgccgaatatcatgggtggaaaatggccgcttttctggattcatcgactgtggccggctgggtgtggcggaccgctat
caggacatagcgttggctaccctgatatgtcgaagagcttggcggcgaatgggtgaccgcttccctcgtgctttacgg
tatcgccgctcccgtatcgagcgcatcgccctctatcgccctcttgacgagtcttctTGAgtttaaacAGACCACAACG
GTTTCCCTCTAGCGGGATCAATTCCGCCCTCTCCCTCCCCCCCCCTAACGTTACTGGCCGAAGCCGCTTGAATAAGG
CCGGTGTGCGTTTGTCTATATGTTATTTCCACCATATTGCCGTCTTTTGGCAATGTGAGGGCCCGGAAACCTGGCCCTG
TCTTCTTGACGAGCATTCTAGGGGTCTTTCCCTCTCGCCAAAGGAATGCAAGGTCTGTTGAATGTCGTGAAGGAAGCA
GTTCTCTGGAAGCTTCTTGAAGACAAACAACGTCTGTAGCGACCCCTTTCAGGCAGCGGAACCCCCACCTGGCGACAG
GTGCCTCTCGGCCAAAAGCCACGTGTATAAGATACACCTGCAAGGCGGCACAACCCCACTGCCACGTTGTGAGTTGGA
TAGTTGTGGAAGAGTCAAATGGCTCTCCTCAAGCGTATTCAACAAGGGGCTGAAGGATGCCAGAAGGTACCCATTGT
ATGGGATCTGATCTGGGGCTCGGTGCACATGCTTTACATGTGTTTAGTCGAGGTTAAAAACGTCTAGGCCCCCGAAC
CACGGGGACGTGGTTTTCTTTGAAAAACAGATAATAatgagcacgaatcctaaacctcaaagaaaaaccaaactaac
accaaccgcccacaggacgtcaagtcccggggcgtggctcagatcgtcgggtggagttaacctgttgccgcgcagggg
ccccagggttgggtgtgcgcgcgactaggaagacttccgagcgtgcgaacctcgtggaaggcgacaacctatcccaagg
ctcgccagcccagggtagggctgggctcagcccgggtaccctggccctctatggcaatgagggcttgggtgggca
ggaaggctcctgtcacccgtggctctcgccctagtggggccccacggacccccggcgtaggtcgcgcaatttgggtaa
ggatcatcgataacctcacgtgcggcttcgcccgtctcatgggtacattccgctcgtcggcgcccccttagggggcgtg
ccagggccctggcgcatggcgtccgggttctggaggacggcgtgaactatgcaacaggggaatctgcccgttgcctctt
tctatcttcttttggctttgctgtcctgtttgacctcccagcttccgcttatgaagtgcgcaacgtatccggagtgt
ccatgtcacgaacgactgctccaacgcaagcatgtgtatgaggcagcggacatgatcatgataccccgggtgcgtgc
cctgcgttcgggagaacaactcctcccgtgctgggttagcgtcactcccacgctcgcgccaggaacgctagcgtcccc
actacgacgatacgcagccatgtcgatttgcctcgttggggcggtgctctctgctccgctatgtacgtgggagatctctg
cggatctgttttctcgtcgcccagctgttcaccttctcgccctcgccggcacgagacagtacaggactgcaattgctcaa
tatacccggccacgtgacaggctaccgtatggcttgggatatgatgataactggctacctaagcagccctagtggta
tcgcagttactccggtcccacaagctgtcgtggatatggtggcggggggcccatggggagtcttagcgggcttgcccta
ctattccatgggtggggaactgggttaagggtctgatgtgtagctactctttgcccggcgttgacgggggaacctatgtga
caggggggacgatggccaaaaacacctcgggatctacgtccctcttttaccggggtcatcccagaaaaatccagctgtga
aacaccaacggcagctggcacatcaacaggactgccctgaactgcaatgactccctcaacactgggttcttgcgtgcgt
gttctacgtgcacaagttaactcatctggatgccagagcgcattggccagctgcagcccatcgacgcgttcgctcagg
ggtggggggcccatcacttacaatgagtacacagctcggaccagaggccttatgttggcactacgacccccggcggtgc
ggatatcgtaccgcggcgcagggtgttgggtccagtgtactgcttaccaccaagccctgtcgtgggtggggacgaccgaccg
gttcggcgtccctacgtacagtggggggagaaatgagacggacgtgctgcttcttaacaacacggcgccgcccgaaggca
actgggttggctgtacatggatgaatagcactgggttaccacaagcgtgcggggggcccccggtgaacatcggggggatc
ggcaataaaaccttgacctgccccacggactgcttccggaagcaccgaggccacttacaccaagtgtggttcggggcc
ttggttgacacccagatgcttgggtccactaccatacaggctttggcactacccctgcactgtcaactttaccatcttca
aggtaggatgtacgtggggggagtgaggcacaggctcgaagccgcattgcaatggactcgaggagagcgttgtaacctg
gaggacaggacagatcagagcttagcccgctgctgctgtctacaacggagtggcagggtatggccctgttcttaccac
cctaccggctctgtccactgggttgcattccatccatcagaacgtcgtggacgtacaatacctgtacgggtatagggtcgg
cgggtgtctcctttgcaatcaaatgggagtatgtcctgtgtcttcttcttggcggacgcgcgcgtctgtgcctgc

t t g t g g a t g a t g c t g c t g a t a g c t c a a g c t g a g g c c g c c c t a g a g a a c c t g g t g g t c c t c a a c g c g g c a t c c g t g g c c g g
g g c g c a t g g c a t t c t c t c c t t c c t c g t g t t c t t c t g t g c t g c c t g g t a c a t c a a g g c a g g c t g g t c c c t g g g g c g g c a t
a t g c c c t c t a c g g c g t a t g g c c g t a c t c c t g c t c c t g c t g g c g t t a c c a c c a c g a g c a t a c g c c a t g g a c c g g g a g a t g
g c a g c a t c g t g c g g a g g c g c g g t t t c g t a g g t c t g a t a c t c t t g a c c t t g t c a c c g c a c t a t a a g c t g t t c c t c g c t a g
g c t c a t a t g g t g g t t a c a a t a t t t a t c a c c a g g g c c g a g g c a c a c t t g c a a g t g t g g a t c c c c c c c t c a a c g t t c g g g
g g g g c c g c a t g c c g t c a t c c t c c t c a c g t g c g c a t c c a c c c a g a g c t a a t c t t t a c c a t c a c c a a a t c t t g c t c g c c
a t a c t c g g t c c a c t c a t g g t g c t c c a g g c t g g t a t a c c a a a g t g c c g t a c t t c g t g c g c g c a c a c g g g c t c a t t c g t g c
a t g c a t g c t g g t g c g g a a g g t t g c t g g g g g t c a t t a t g t c c a a a t g g c t c t c a t g a a g t t g g c c g c a c t g a c a g g t a c g t
a c g t t t a t g a c c a t c t c a c c c c a c t g c g g g a c t g g g c c c a c g c g g g c c t a c g a g a c c t t g c g g t g g c a g t t g a g c c c g t c
g t c t t c t c t g a t a t g g a g a c c a a g g t t a t c a c c t g g g g g c g a g a c c c g c g g c g t g t g g g a c a t c a t c t t g g g c c t g c c
c g t c t c c g c c c g c a g g g g g a g g g a g a t a c a t c t g g g a c c g g c a g a c a g c c t t g a a g g c a g g g g t g g c g a c t c c t c g c g c
c t a t t a c g g c c t a c t c c c a a c a g a c g c g a g g c c t a c t t g g c t g c a t c a t c a c t a g c c t c a c a g g c c g g g a c a g g a a c c a g
g t c g a g g g g a g g t c c a a g t g g t c t c c a c c g c a a c a c a a t c t t t c c t g g c g a c c t g c g t c a a t g g c g t g t g t t g g a c t g t
c t a t c a t g g t g c c g g c t c a a g a c c c t t g c c g g c c c a a a g g g c c c a a t c a c c c a a a t g t a c c a a t g t g g a c c a g g a c c
t c g t c g g c t g g c a a g c g c c c c c g g g c g c g t t c c t t g a c a c c a t g c a c c t g c g g c a g c t c g g a c c t t t a c t t g g t c a c g
a g g c a t g c c g a t g t c a t t c c g g t g c g c c g g c g g g g c a c a g c a g g g g a g c c t a c t c t c c c c a g g c c c g t c t c c t a c t t
g a a g g g c t c t t c g g g c g g t c c a c t g c t c t g c c c c t c g g g g c a c g c t g t g g g c a t c t t t c g g g c t g c c g t g t g c a c c c g a g
g g g t t g c g a a g g c g g t g g a c t t t g t a c c c g t c g a g t c t a t g g a a c c a c t a t g c g g t c c c c g g t c t t c a c g g a c a a c t c g
t c c c c t c c g g c c g t a c c g c a g a c a t t c c a g g t g g c c a t c t a c a c g c c c t a c t g g t a g c g g c a a g a g c a c t a a g g t g c c
g g c t g c g t a t g c a g c c c a a g g g t a t a a g g t g c t t g t c c t g a a c c c g t c c g t c g c g c c a c c c t a g g t t t c g g g g c g t a t a
t g t c t a a g g c a c a t g g t a t c g a c c c t a a c a t c a g a a c c g g g t a a g g a c c a t c a c c a c g g g t g c c c c a t c a c g t a c t c c
a c c t a t g g c a a g t t t c t t g c c g a c g g t g g t t g c t c t g g g g c g c c t a t g a c a t c a t a a t a t g t g a t g a g t g c c a c t c a a c
t g a c t c g a c c a c t a t c c t g g g c a t c g g c a c a g t c c t g g a c c a a g c g g a g a c g g c t g g a g c g c g a c t c g t c g t g c t c g c c a
c c g c t a c g c c t c c g g g a t c g g t c a c c g t g c c a c a t c c a a c a t c g a g g a g g t g g c t c t g t c c a g c a c t g g a g a a a t c c c c
t t t a t g g c a a g c c a t c c c c a t c g a g a c c a t c a a g g g g g g a g g c a c c t c a t t t t c t g c c a t t c c a a g a a g a a a t g t g a
t g a g c t c g c c g c g a a g c t g t c c g g c c t c g g a c t c a a t g c t g t a g c a t a t t a c c g g g c c t t g a t g t a t c c g t c a t a c c a a
c t a g c g g a g a c g t c a t t g t c g t a g c a a c g g a c g c t c t a a t g a c g g g c t t t a c c g g c g a t t t c g a c t c a g t g a t c g a c t g c
a a t a c a t g t g t c a c c c a g a c a g t c g a c t t c a g c c t g g a c c c g a c c t t c a c c a t t g a g a c g a c g a c c g t g c c a a g a c g c
g g t g t c a c g c t c g c a g c g g c g a g g c a g g a c t g g t a g g g g c a g g a t g g g c a t t t a c a g g t t t g t g a c t c c a g g a g a a c g g c
c c t c g g g c a t g t t c g a t t c c t c g g t t c t g t g c g a g t g c t a t g a c g c g g g c t g t g c t t g g t a c g a g c t c a c g c c c g c g a g
a c c t c a g t t a g g t t g c g g g c t t a c c t a a a c a c a c c a g g g t t g c c g c t c t g c c a g g a c c a t c t g g a g t t c t g g g a g a g c g t
c t t t a c a g g c c t c a c c c a c a t a g a c g c c c a t t t c t t g t c c c a g a c t a a g c a g g c a g g a g a c a a c t t c c c c t a c c t g g t a g
c a t a c c a g g c t a c g g t g t g c g c c a g g g c t c a g g c t c c a c c t c c a t c g t g g g a c c a a a t g t g g a a g t g t c t c a t a c g g c t a
a a g c c t a c g c t g c a c g g g c c a a c g c c c c t g c t g t a t a g g c t g g g a g c c g t t c a a a a c g a g g t t a c t a c c a c a c a c c c c a t
a a c c a a a t a c a t c a t g g c a t g c a t g t c g g c t g a c c t g g a g g t c g t c a c g a g c a c c t g g g t g c t g g t a g g c g g a g t c c t a g
c a g c t c t g g c c g c g t a t t g c c t g a c a a c a g g c a g c g t g g t c a t t g t g g g c a g g a t c a t c t t g t c c g g a a a g c c g g c c a t c
a t t c c c g a c a g g g a a g t c c t t t a c c g g g a g t t c g a t g a g a t g g a a g a g t g c g c c t c a c a c c t c c c t t a c a t c g a a c a g g g
a a t g c a g c t c g c c g a a c a a t t c a a c a g a a g g c a a t c g g g t t g c t g c a a a c a g c c a c c a a g c a a g c g g a g g c t g c t g c t c
c c g t g g t g g a a t c c a a g t g g c g g a c c c t c g a a g c c t t c t g g g c g a a g c a t a t g t g g a a t t t c a t c a g c g g g a t a c a a t a t
t t a g c a g g c t t g t c c a c t c t g c c t g g c a a c c c c g c g a t a g c a t c a c t g a t g g c a t t c a c a g c c t c t a t c a c c a g c c c g t
c a c c a c c c a a c a t a c c c t c c t g t t t a a c a t c c t g g g g g g a t g g g t g g c c g c c c a a c t t g c t c c t c c c a g c g c t g c t c t g
c t t t c g t a g g c g c c g g c a t c g c t g g a g c g g c t g t t g g c a g c a t a g g c c t t g g g a a g g t g c t t g t g g a t a t t t t g g c a g g t
t a t g g a g c a g g g g t g g c a g g c g c g c t c g t g g c c t t t a a g g t c a t g a g c g g c g a g a t g c c c t c c a c c g a g g a c c t g g t t a a
c c t a c t c c c t g c t a t c c t c t c c c c t g g c g c c c t a g t c g t c g g g g t c g t g t g c g c a g c g a t a c t g c g t c g g c a c g t g g g c c
c a g g g g a g g g g g c t g t g c a g t g g a t g a a c c g g c t g a t a g c g t t c g c t t c g c g g g t a a c c a c g t c t c c c c a c g c a c t a t
g t g c c t g a g a g c g a c g c t g c a g c a c g t g t c a c t c a g a t c c t c t c t a g t c t t a c c a t c a c t c a g c t g c t g a a g a g g c t t c a
c c a g t g g a t c a a c g a g g a c t g c t c c a c g c c a t g c t c c g g c t c g t g g c t a a g a g a t g t t t g g g a t t g g a t a t g c a c g g t g t
t g a c t g a t t t c a a g a c c t g g c t c c a g t c c a a g c t c c t g c c g c g a t t g c c g g g a g t c c c c t t c t c t c a t g t c a a c g t g g g
t a c a a g g g a g t c t g g c g g g g c g a c g g c a t c a t g c a a a c c a c c t g c c c a t g t g g a g c a c a g a t c a c c g g a c a t g t g a a a a
c g g t t c c a t g a g g a t c g t g g g g c c t a g g a c c t g t a g t a a c a c g t g g c a t g g a a c a t t c c c c a t t a a c g c g t a c a c c a c g g

gccccgcacgccccccccggcgccaaattattctagggcgctgtggcggtggctgctgaggagtacgtggaggttacg
cggttgggggatttccactacgtgacgggcatgaccactgacaacgtaaagtgccgtgtcaggttccggccccgaatt
cttcacagaagtggatgggtgcggttgacaggtacgtccagcgtgcaaaccctcctacgggaggaggtcacattcc
tggtcgggtcaatcaataacctgggttgggtcacagctcccatgcgagccgaaccggacgtagcagtgctcacttccatg
ctcaccgacccctcccatattacggcggagacggctaagcgtaggctggccaggggatctccccctccttggccagctc
atcagctaTccagctgtctgcgcttcttgaaggcaacatgcactaccctcatgactccccggacgtgacctcatcg
aggccaacctcctgtggcggcaggagatggcggggaacatcaccccggtggagtcaaaaaataaggtagtaattttggac
tcttctgagccgctccaagcggaggaggatgagagggaagtatccgttccggcggagatcctgaggaggtccaggaaatt
ccctcgagcgtatgcccatatgggcacgcccggattacaaccctccactgttagagtcttgaaggacccggactacgtcc
ctccagtggtacacgggtgtccattgccgcttccaaggccctccgataccaccctccacggaggaagaggacggtgtgc
ctgtcagaatctaccgtgtcttctgccttggcggagctcgccacaaagaccttcggcagctccgaatcgtcggccgtcga
cagcggcacggcaacggcctctcctgaccagccctccgacgacggcgacgcggaatccgacgttgagtctgtactcctcca
tgcccccttggaggggagccgggggatcccgatctcagcgacgggtcttggcttaccgtaagcaggagggttagtgag
gacgtcgtctgctgctcgatgtctacacatggacaggcgccctgatcacgcatgctgtcggaggaaaccaagctgcc
catcaatgcactgagcaactcttctgctccgtcaccacaacttggctctatgctacaacatctcgcagcgcaagcctgcggc
agaagaaggtcacctttagacagactgcaggtcctggacgaccactaccgggacgtgctcaaggagatgaaggcgaaggcg
tccacagttaaggctaaacttctatccgtggaggaagcctgtaagctgacgccccacattcggccagatctaaatttgg
ctatggggcaaaggacgtccggaacctatccagcaaggcgttaaccacatccgtccgtgtggaaggacttgctggaag
acactgagacaccaattgacaccaccatcatggcaaaaaatgaggttttctgctccaaccagagaagggggggccgcaag
ccagctcgcttctatcgatattcccagatttgggggttcgtgtgtgcgagaaaaatggccctttacgatgtggttccaccct
ccctcaggccgtgatgggtcttctacaggttccaatacttctcctggacagcgggtcgagttcctggatgaatgcctgga
aagcgaagaaatgccctatgggttgcgcatatgacaccgcgtgtttgactcaacggtcactgagaatgacatccgtgtt
gaggagtcaatctaccaatgttgtgacttggccccgaagccagacaggccataaggtcgctcacagagcggcttcatat
cggggggccccctgactaatctaaagggcagaactgcggctatcgccggtgccgcgcgagcgggtgtactgacgaccagct
gcggtaataccctcacatgttacttgaaggccgtgcggcctgtcgagctgcgaagctccaggactgcacgatgctcgta
tgccgagacgaccttgctgttatctgtgaaagcgcggggaccgaaggagcagggcgagcctacgggacctcaccggaggc
tatgactagatactctgcccccttgggacccgccccaaaccagaatacgacttggagtgtataacatcatgctcctcca
atgtgtcagtcgcgacgatgcatctggcaaaagggtgtactatctcaccctgacccaccaccccccttgccgaggct
gctgtgggagacagctagacacactccagtcaattcctggctaggcaacatcatcatgtatgcgccaccttgtgggcaag
gatgatcctgatgactcatcttcttctccatccttctagctcaggaacaacttgaaaaagccctagattgtcagatctacg
gggctgttactccattgagccacttgacctacctcagatcatccaacgactccatggccttagcgcattttctactccat
agttactctccaggtgagatcaatagggtggcttcatgcctcaggaaacttggggtaccgccccctgcgagcttgagaca
tcggggcagaaggtgtccgcgttaggtactgtcccagggggggagggctgccacttgtggcaagtacctcttcaactggg
cagtaaggaccaagctcaaactcactccaatcccggctgcgtcccagttggatttatccagctgggtcgtgtgctggttac
agcgggggagacatatatcacagcctgtctcgtgcccgaaccgctgggttcatgtggtgcctactcctactttctgtagg
ggtaggcatctatctactcccccaaccgatgaacggggaCctaaacactccaggccaataggccatcctgttttttccct
tttttttttcttttttttttttttttttttttttttttttttttctcttttttttctcttttttcttttcttct
ctttgggtggctccatcttagccctagtacggctagctgtgaaaggctccgtgagccgcttgactgcagagagtgtgata
ctggcctctctgcagatcaagt

【0197】

配列番号:24: 配列番号:3の位置1179においてSerからIleへの変異を含む、全長HCV cDNA
クローンのヌクレオチド配列(図9参照)

gccagccccGATtgggggcgacactccaccatAGatcactccccgtgaggaactactgtcttcacgcagaaagcgtct
agccatggcgttagtatgagtgtcgtgcagcctccaggacccccctcccgggagagccatagtggtctgcggaaccggt
gagtacaccggaattgccaggacgaccgggtcctttcttggatCaaccgcgtcaatgcctggagatttggcggtgcccc
gcGagactgctagccgagtagtgttgggtcgcgaaaggccttgtggtactgcctgatagggtgcttgcgagtgcggggg
aggtctcgtagaccgtgcacatgagcacgaatcctaaacctcaaagaaaaacaaacgtaacaccaaccgcccgcacac
ggacgtcaagtccccggcggtgggtcagatcgtcgggtggagtttacctgttgccgcgcagggggccagggttgggtgtgc
gcgcgactaggaagacttccgagcggtcgcaacctcgtggaaggcgacaacctatcccaaggctcgccagcccagggt
agggcctgggctcagcccgggtacccctggccccctctatggcaatgagggttggggtgggcaggatggctcctgtcacc

ccgtggctctcgccctagt tggggcccccacggacccccggcgtaggtcgcgcaatt tgggtaaggatcatcgataccctca
cgtgcggcttcgccgatctcatgggtacattccgctcgtcggcgccccctagggggcgctgccagggccctggcgcat
ggcgtccgggttctggaggacggcgtgaactatgcaacagggaaatctgcccggttgctccttttctatcttcttttggc
tttgctgtcctgtttgacctcccagcttccgcttatgaagtgcgcaacgtatccggagtgtacatgtcacgaacgact
gctccaacgcaagcatgtgtatgaggcagcggacatgatcatgatacccccggtgcgtgccctgcgttcgggagaac
aactcctcccgtgctgggtagcgtcactccacgctcgcgccaggaacgctagcgtccccactacgacgatagcagc
ccatgtcgatttgctcgttggggcggtgctctctgctccgctatgtacgtgggagatctctgcggatctgttttctctcg
tcgccagctgttcaccttctcgctcgccggcacgagacagtacaggactgcaattgctcaatataccccggccacgtg
acaggtcaccgtatggcttgggatatgatgatgaactggcacctacagcagccctagtgggtatcgagttactccggat
cccacaagctgtcgtggatatggtggcggggggcccat tggggagtcttagcgggacctgcctactattccatggtgggga
actgggctaagggttctgatgtgatgctactctttgccggcggtgacgggggaacctatgtgacaggggggacgatggcc
aaaaacacctcgggat tacgtccctcttttaccggggtcatcccagaaaatccagcttgtaaacaccaacggcagctg
gcacatacaaggactgcccgaactgcaatgactccctcaacactgggttccctgctgcgctgttctacgtgcacaagt
tcaactcatctggatgccagagcgcatggccagctgcagcccatcgacgcttcgctcaggggtggggggcccatcact
tacaatgagtcacacagctcggaccagaggccttatgttggcactacgcacccccggcggtgcgggtatcgtacccgcggc
gcaggtgtgtgggtccagtgtactgcttcaccccaagccctgtcgtgggtggggacgaccgaccgggttcggcgctccctacgt
acagttggggggagaatgagacggacgtgctgcttcttaacaacacgcggccgcccgaaggcaactgggtttggctgtaca
tggatgaatagcactgggttcaccaagacgtgcggggggcccccggtgtaacatcggggggatcggcaataaaaccttgac
ctgccccacggactgcttccggaagcaccgaggccacttacaccaagtgtgggttcggggcccttgggtgacaccagat
gcttgggtccactaccatacaggctttggcactaccctgcactgtcaactttaccatcttcaagggttaggatgtacgtg
gggggagtgaggcacaggctcgaagccgcatgcaattggactcgaggagagcgttgtaacctggaggacaggacagatc
agagcttagcccgctgctgctgtctacaacggagtggcaggatatgcccgtgttccctcaccacccctaccggctctgtcca
ctgggtttgatccatctccatcagaacgtcgtggacgtacaataacctgtacgggtatagggtcgggcggttgtctcctttgca
atcaaatgggagtatgtcctgttgctcttcttcttggcggacgcgcgctctgtgctgctgtgtggatgatgctgct
gatagctcaagctgaggccgcccagagaacctgggtgggtcccaacgcggcatccgtggccggggcgcatggcatctct
ccttctcgtgttcttctgtgctgcttgggtacatcaaggcaggctgggtccctggggcgccatagccctctacggcgta
tggccgctactcctgctcctgctggcgttaccaccacgagcatacgcatggaccgggagatggcagcatcgtgcggagg
cgcggttttctgtaggtctgatactcttgacctgtcaccgcactataagctgttctcgttaggctcatatgggtggttac
aataattttatcaccagggccgaggcacacttgcaagtgtggatccccccctcaacgttcgggggggcccgcgatgccgtc
atcctcctcacgtgcgcatccacccagagctaactttaccatcaccaaaatcttgctcgccatactcgggtccactcat
ggtgctccaggctgggtataaccaaagtgcgctacttctgtgcgcgcacacgggctcatctcgtgcatgcatgctggtgcgga
agggtgctgggggtcatfatgtccaaatggctctcatgaagt tggccgcactgacaggtagctacgtttatgacctctc
acccactgcgggactggggccacgcgggcttacgagaccttgccgtggcagttgagccgctcgtcttctctgatatgga
gaccaagggttatcaccctggggggcagacaccgcggcggtgtggggacatcatcttgggcttcccgtctccgcccgcagg
ggagggagatacatctgggaccggcagacagccttgaagggcaggggtggcgactcctcgcgccctat tacggcctactcc
caacagacgcgaggccctacttggctgcatcatcactagcctcacaggccgggacaggaaccaggctcgagggggagggtcca
agtggcttccaccgcaacacaaatcttccctggcgacctgcgtcaatggcggtgtgttggactgtctatcatggtgccggct
caaagaccttgcgggcccgaaggggccaatcacccaaatgtacaccaatgtggaccaggacctcgtcggctggcaagcg
ccccccggggcggttccctgacaccatgcacctgcggcagctcggaacctttacttgggtcacgaggcatgccgatgtcat
tccggtgcgccggcgggggcagacagggggagccctacttccccaggcccgcttccctacttgaagggtcttccggcg
gtccactgctctgccccctgggggcacgctgtgggcatcttccgggtgccgtgtgcacccgaggggttgcaaggcggtg
gactttgtaccgctcgagctctatggaaaccactatgcgggtccccgggtcttcacggacaactcgtccccctccggccgtacc
gcagacattccagggtggcccatctacacgccccctactggtagcggcaagagcactaagggtgccggctgcgtatgcagccc
aagggtataagggtgcttgtcctgaacccgtccgtcgccgccacccctagggtttcgggggcgatatgtctaaaggacatggt
atcgaccctaacatcagaacggggtaaggaccatcacacgggtgcccccatcacgtactccacctatggcaagtttct
tgccgacgggtggttgctctggggcgccctatgacatcataatatgtgatgagtgccactcaactgactcgaccactatcc
tgggcatcggcacagttcctggaccaagcggagacggctggagcgcgactcgtcgtgctcgccaccgctacgctccggga
tcgggtcaccgtgccacatccaaacatcgaggagggtggctctgtccagcactggagaaaatccccctttatggcaagccat
ccccatcgagaccatcaagggggggaggcacctcattttctgccattccaagaagaaatgtgatgagctcgccgcaagc
tgtccggcctcggactcaatgctgtagcatattaccggggccttgatgtatccgtcataccaactagcggagacgtcat

gtcgtagcaacggacgctctaatgacgggctttaccggcgatttcgactcagtgatcgactgcaatacatgtgtcaccca
gacagtcgacttcagcctggaccgaccttcacattgagacgacgacctgccacaagacgcggtgtcacgctcgcagc
ggcgaggcaggactggtaggggaggatgggcatttacaggtttgtgactccaggagaacggccctcgggcatgttcgat
tcctcgggttcgtgtgcgagtgtatgacgcgggctgtgcttggtagagctcacgcccgcgagacctcagttaggttgcg
ggcttacctaacaacacaccagggttggcgtctgccaggacctctggagttctgggagagcgtctttacaggcctcacc
acatagacgcccatttcttgtcccagactaagcaggcaggagacaacttcccctacctggtagcataccaggctacggtg
tgcgccagggtcaggctccacctccatcgtgggacaaaagtggaggtgtctcatagcgctaaagcctacgctgcacgg
gccaacgccccgtgtgtataggctgggagccgttcaaacgagggtactaccacacaccccataaaccaatacatcatgg
catgcatgtcggctgacctggaggtcgtcacgagcacctgggtgttggtaggcggagtcttagcagctctggccgctat
tgcttgacaacaggcagcgtgggtcatgtgggcaggatcatctgtccggaaagccggccatcatcccagacagggaagt
cctttaccgggagttcgatgagatggaagagtgcgcctcacacctcccttacctgaacagggaatgcagctcgccgaac
aatcaaacagaaggcaatcgggttgcgtgcaaacagccaccaagcaagcggaggctgctgctcccggtgggtggaatccaag
tggcgggacctcgaagcctcttgggcgaagcatatgtggaatttcatcagcgggatacaatattagcaggctgtccac
tctgcttggcaaccccgcatagcatcactgatggcattcacagcctctatcaccagccgctcaccaccaacataccc
tctgttttaacatcctggggggatgggtggccgcccacttgcctctccagcgtgcttctgcttctgtaggcgcccgc
atcgctggagcggctgttggcagcataggccttgggaaggtgcttgttgatatttggcagggtatggagcagggtggc
aggcgctcgtggcctttaaggctcatgagcggcgagatggcctccaccgaggacctgggttaacctactcctgtctatcc
tctccccggcgcccttagtctcggggtcgtgtgcgcagcgatactgctcggcacgtgggcccaggggagggggctgtg
cagtggtgaaccggctgtagcgttgcgttcgcggggtaaccacgtctccccacgcactatgtgcttgagagcgacgc
tgacgacgtgtcactcagatcctctctagcttaccatcactcagctgctgaagaggcttcaccagtggatcaacgagg
actgctccacgccatgctccggctcgtggctaagagatgtttgggattggatatgcacgggtgtgactgatttcaagacc
tggctccagttcaagctcctgccgcgatggcgggagtcaccttcttctcatgtcaacgtgggtacaagggtgtcggcg
ggcgacggcatcatgcaaaccacctgcccattgtggagcacagatcaccggacatgtgaaaaacggttccatgaggatcg
tggggcctaggacctgttagtaacacgtggcatggaacattccccattaacgcgtacaccagggcccttcacgcccctcc
ccggcgccaaatatttctagggcgctgtggcggtggctgctgaggagtacgtggagggttacgcgggtgggggatttcca
ctacgtgacgggcatgaccactgacaacgtaaagtgcctgtcagggttcgggccccgaattcttccagaagtggatg
gggtgcggttgacaggtacgtccagcgtgcaaaccctcctacgggaggaggtcacattcctgggtcgggctcaatcaa
tacctgggttgggtcacagctcccatgcgagcccgaaccggacgtagcagtgctcacttccatgctcaccgacccctccca
cattacggcgagacggctaaagctaggctggccaggggatctccccctccttggccagctcatcagctaTccagctgt
ctgcgccttcttgaaggcaacatgcactaccgtcatgactccccggacgctgacctcatcgaggccaacctcctgtgg
cggcaggagatgggcgggaacatcacccgctggagtcagaaaataaggtagtaattttggactcttctcgagccgctcca
agcggaggaggatgagagggaagtatccgttccggcgagatcctgaggagggtccaggaaattccctcgagcgaatgccca
tatgggcacgcccggatataaccctccactgttagagtccagggaagcggactacgtccctccagtgttacacggg
tgtccattgccgctgccaaggccccctcgataccacctccacggaggaagaggacgggtgtcctgtcagaatctaccgt
gtcttctgccttggcgagctcgccacaagaccttcggcagctccgaatcgtcggcgtcgacagcggcacggcaacgg
ccttctcctgaccagccctccgacgacggcgacgcggtatccgacgttgagtctgtactcctccatgcccccccttgagggg
gagccgggggatcccgatctcagcgacgggtcttggctacgttaagcaggaggcttagtgaggacgtcgtctgctgctc
gatgtctacacatggacaggcgccctgatcacgcatgctgtcggaggaaaccaagctgcccataatgcactgagca
actcttctgctccgtcaccacaacttgggtctatgttacaacatctcgcagcgcaagcctgcggcagaagaagggtcaccttt
gacagactgcaggctcctggacgacctaccgggacgtgtcaaggagatgaaggcgaaggcgtccacagttaaggctaa
acttctatccgtggaggaagcctgttaagctgacgccccacattcggccagatctaaatttgggtatggggcaaggacg
tccggaacctatccagcaaggcgttaaccacatccgctccgtgtggaaggacttgcgtggaagacactgagacaccaatt
gacaccacatcatggcaaaaaatgaggtttctgctccaaccagagaagggggccgcaagccagctcgcccttatcgt
attcccagatttgggggttcgtgtgtgcgagaaaaatggccctttacgatgtggtctccacctccctcaggccgtgatgg
gctcttcataggtattcaatactctcctggacagcgggtcgagtctcctgggtgaatgcctggaaagcgaagaaatgccct
atgggcttcgcatatgacaccgctgttttgactcaacggtcactgagaatgacatccgtgttgaggagtcaatctacca
atgttgtgacttggccccgaagccagacaggccataaggctcgtcacagagcggctttacatcgggggccccctgacta
attctaaagggcagaactgcggctatcgccggtgccgcgcgagcgggtgtactgacgaccagctgcggtaataacctcaca
tgttacttgaaggccgtgcggcctgtcgagctgcgaagctccaggactgcacgatgctcgatgcggagacgacctgt
cgttatctgtgaaagcgcggggacccaaggagcaggcgagcctacgggccttcacggaggctatgactagatactctg

ccccccctggggaccgccccaaaccagaatacgacttggagttgataacatcatgctcctccaatgtgtcagtcgcgcac
gatgcatctggcaaaaggggtgactatctcaccctgacccccaccaccccccttgcgcgggctgctgggagacagctag
acacactccagtcgaattcctggctaggcaacatcatcatgtatgcgccaccttgtgggcaaggatgatcctgatgactc
atttcttctccatccttctagctcaggaacaacttgaaaaagccctagattgtcagatctacggggcctgttactccatt
gagccacttgacctacctcagatcatcaacgactccatggccttagcgcatcttctactccatagttactctccagggtga
gatcaataggggtggcttcatgcctcaggaaacttggggtaccgccccttgcgagctggagacatcgggccagaagtgtcc
gcgctaggctactgtcccagggggggagggtgcccacttgtggcaagtacctctcaactgggcagtaaggaccaagctc
aaactcactccaatcccggctgcgtcccagttggatttatccagctgggttgcgtgctgggttacagcgggggagacata
tcacagcctgtctcggtcccgaccccgctgggttcatgtggtgcctactcctacttctgtaggggtaggcatctatctac
tccccaacccgatgaacgggggaCctaaacactccaggccaataggccatcctgtttttttcccttttttttttctttttt
tttttttttttttttttttttttttctccttttttttttcttcttttttcccttttcttcttcttgggtggctccatct
tagccctagtacggctagctgtgaaaggctccgtgagccgcttgactgcagagagtgtgatactggcctctctgcagat
caagt

【 0 1 9 8 】

配列番号:25: HCV順応性レプリコン5'NTR-EMCV/HCVrepVIIのDNAクローンのヌクレオチド配列

gccagccccGATtgggggacgacctccaccatAGatcactcccctgtgaggaactactgtcttcacgcagaaagcgtct
agccatggcgttagtatgagtgtcggtgcagcctccaggacccccctcccgggagagccatagtggtctgcggaaccggt
gagtacaccggaattgccaggacgaccgggtccttcttggatCaaccgcgtcaatgcctggagatttgggctgtccccc
gcGagactgctagccgagtagtgttgggtcgcgaaaggccttgtggtactgcctgtaggggtgcttgcgagtgtcccggtg
aggtctcgtagaccgtgcaccAGACCACAACGGTTTCCCTCTAGCGGGATCAATTCGCCCCCTCTCCCTCCCCCCCCCT
AACGTTACTGGCCGAAGCCGCTTGAATAAGGCCGGTGTGCGTTTGTCTATATGTTATTTCCACCATATTGCCGTCTTT
TGGCAATGTGAGGGCCCGGAAACCTGGCCCTGTCTTCTTGACGAGCATTCTAGGGGTCTTTCCCTCTCGCCAAAGGAA
TGCAAGGTCTGTTGAATGTCTGTGAAGGAAGCAGTTCTCTGGAAGCTTCTTGAAGACAAACAACGTCTGTAGCGACCCCT
TGCAGGCAGCGGAACCCCCACCTGGCGACAGGTGCCTCTGCGGCCAAAAGCCACGTGTATAAGATACACCTGCAAAAGGC
GGCACAACCCCAAGTGCCACGTTGTGAGTTGGATAGTTGTGGAAGAGTCAAATGGCTCTCCTCAAGCGTATTCAACAAGG
GGCTGAAGGATGCCGAGAAGGTACCCATTGTATGGGATCTGATCTGGGGCCTCGGTGCACATGCTTTACATGTGTTAG
TCGAGGTTAAAAAACGTCTAGGCCCCCCGAACCACGGGGACGTGGTTTTCTTTGAAAAACAGATAATAccatggcgcc
tattacggcctactcccaacagacgcgaggcctacttgggtgcatcatcactagcctcacaggccgggacaggaaccagg
tcgagggggagggtccaagtggcttccaccgcaacacaactcttcttggcgacctgcgtcaatggcggtgtgtggactgtc
tatcatgggtgccggctcaaagacccttgcgggcccaggggcccaatcacccaaatgtacaccaatgtggaccaggacct
cgtcggctggcaagcgccccccggggcggttcttgcaccatgcacctgcggcagctcggaccttacttgggtcacga
ggcatgccgatgtcatctccggtgcggcgggggcgacagcagggggagcctactctccccaggcccgctctcctacttg
aagggtcttctggggcgtccactgcttgcctcggggcagcgtgtgggcatcttctgggctgccgtgtgcacccgagg
gggtgcgaaggcgggtggacttctgacctcgagcttatggaaccactatgcgggtccccggcttctcacggacaactcgt
ccccctccggcgtaccgcagacattccagggtggcccatctacacgccccactggtagcggcaagagcactaagggtccg
gctgcgtatgcagcccaagggtataagggtgcttgcctgaaccggtccgtgcggccaccctagggttctggggcgctatat
gtctaaaggacatgggtatcgacctaacatcagaaccggggttaaggacctaccacgggtgcccccatcacgtactcca
cctatggcaagttcttgcggacggtgggtgtcttggggcgccctatgacatcataatatgtgatgagtgcacctcaact
gactcgaccactatcctgggcatcggcacagtcttgaccaagcggagacggctggagcgcgactcgtcgtgctcgccac
cgctacgctccgggatcgggtaccgtgccacatccaaacatcgaggagggtggctctgtccagcactggagaaatcccc
tttatggcaaagccatccccatcgagaccatcaagggggggaggcacctcatcttctgccattccaagaagaaatgtgat
gagctcgccgcgaagctgtccggcctcggactcaatgctgttagcatattaccggggccttgatgtatccgtcataccaac
tagcggagacgtcatgtcgtagcaacggacgctctaatacggggcttaccggcgatttgcactcagtgatcgactgca
atacatgtgtcacccagacagtcgacttcagcctggaccggaccttaccattgagacgacgacctgccacaagacgcg
gtgtcacgctcgcagcggcgaggcaggactggtaggggcaggatgggcatcttacagggttgtgactccaggagaacggcc
ctcgggcatgttcgatctctcgggtctgtgagagtgctatgacgcgggctgtgcttggtagagctcacgcccggcgaga
cctcagttagggtgcgggcttacctaaacacaccagggttgcctgtgccaggacctctggagttctgggagagcgtc
tttacaggcctcacccacatagacgccccattcttgtcccagactaagcaggcaggagacaacttccccctacctggtagc
ataccaggctacgggtgtgcggcagggtcaggctccacctccatcgtgggacccaaatgtggaagtgtctcatagcgctaa

10

20

30

40

50

agcctacgctgcacgggccaacgccccctgctgtataggctgggagccgttcaaaacgaggttactaccacacacccccata
accaaatacatcatggcatgcatgtcggtgacctggaggctcgtcacgagcacctgggtgctggtaggcggagtcctagc
agctctggccgcgtatfgcctgacaacaggcagcgtgggtcatfgtgggcaggatcatctgtccggaaagccggccatca
tccccgacaggggaagtccctttaccgggagttcgatgagatggaagagtgcgcctcacacctcccttacaatcgaacaggga
atgcagctcgccgaacaattcaaacagaaggcaatcgggtfgctgcaaacagccaccaagcaagcggaggctgctgctcc
cgtgggtggaatccaagtggcggaccctcgaagccttctgggcgaagcataatgtggaatttcatcagcgggatacaatat
tagcaggctgtccactctgcctggcaaccccgcatagcatcactgatggcatcacagcctctatcaccagcccgtc
accaccaacataacctccctgtttaacatccctggggggaagggtggccgccaactfgctccctccagcgtgcttctgc
ttctcgtaggcgcggcatcgctggagcggctgttggcagcataggccttgggaagggtgcttgtggatatfttggcagggt
atggagcaggggtggcaggcgcgtcgtggcctttaaggctcatgagcggcgagatgccctccaccgaggacctgggtaac
ctactccctgctatccctctccctggcgccctagtcgtcgggtcgtgtgcgcagcgatactgctcggcacgtgggccc
aggggaggggctgtgcagtggaatgaaccggctgatagcgttcgcttcgcggggtaccacgtctccccacgcactatg
tgcttgagagcgacgtgcagcacgtgtcactcagatccctcttagtcttaccatcactcagctgctgaagaggcttcac
cagtggaatcaacgaggactgctccacgcatgctccggctcgtggctaagagatgtttgggattggatatgcacggtgtt
gactgatttcaagacctggctccagttcaagctcctgcccgcgtatggcgggagttcccttcttctcatgtcaacgtgggt
acaaggaggtctggcggggcgacggcatcatgcaaacaccctgcccattgtggagcacagatcacccggacatgtgaaaaac
ggttccatgaggatcgtggggcctaggacctgtagttaacacgtggcatggaacattccccattaacgctacaccacggg
ccccgcacgccccccccggcgccaaattatcttagggcgtgtggcgggtggctgctgaggagtacgtggagggttacgc
gggtgggggatttccactacgtgacgggcatgaccactgacaacgtaaagtggcgtgtcagggttcgggccccgaattc
ttcacagaagtggaatggggtgcgggtgcacaggtagcgtccagcgtgcaaacccctctacgggaggagggtcacattcct
ggtcgggctcaatcaataacctgggttgggtcacagctcccatgagagcccgaaccggacgtagcagtgctcacttccatgc
tcaccgaccccccccacattacggcggagacggctaaagcgtaggctggccaggggattccccctccttggccagctca
tcagctaTccagctgtctgcgccttccctgaaggcaacatgcactaccgctcatgactccccggacgctgacctcatcga
ggcaacctcctgtggcggcaggagatggcggggaacatcaccccgctggagtcaaaaaaaggtagtaatttggact
cttctgagccgctccaagcggaggaggatgagagggaagtatccgttccggcggagatcctgaggagggtccaggaaattc
cctcgagcgtatgccataatgggcacgcccggattacaacctccactgttagagtccctggaaggacccggactacgtccc
tccagtggttacacgggtgtccattgcccgtgccaaggccccctccgataccacctccacggaggaagaggacgggtgtcc
tgtcagaatctaccgtgtcttctgccttggcggagctcgccacaaagaccttcggcagctccgaatcgtcggccgtcgac
agcggcacggcaacggccttctctgaccagcccccgacgacggcgacgcggaatccgacgttgagtcttacctccat
gcccccccttgagggggagccgggggatcccgatctcagcgacgggtcttgggtctaccgtaagcaggagggttagtgagg
acgtcgtctgctgctcgaatgcttacacatggacaggcgccctgatcacgcatgctcgtcggaggaaaccaagctgccc
atcaatgcactgagcaactcttctcgtccgtcaccacaacttgggtctatgctacaacatctcgcagcgcaagcctgcggca
gaagaaggctcacctttgacagactgcaggctcctggacgaccactaccgggacgtgctcaaggagatgaaggcgaaggcgt
ccacagtttaaggctaaacttctatccgtggaggaagcctgttaagctgacgccccacattcgccagatctaaatttggc
tatggggcaaaggacgtccggaacctatccagcaaggccgttaaccacatccgctccgtgtggaaggacttgctggaaga
cactgagacaccaattgacaccacatcatggcaaaaaatgagggtttctgctccaaccagagaaggggggcccgaagc
cagctcgccctatcgatctccagatttgggggttcgtgtgtgcgagaaaaatggccctttacgatgtggtctccaccctc
cctcaggccgtgatgggctcttcatagcgtatccaatacttctcctggacagcgggtcgagttcctgggtgaatgcttggaa
agcgaagaaatgcccctatgggcttcgcatatgacaccgctgttttgactcaacggtcactgagaatgacatccgtgttg
aggagtcaatctaccaatgttgtgacttggccccgaagccagacaggccataaggctcgtcacagagcggctttacatc
ggggggccccctgactaatcttaagggcagaactgcggctatcgccgggtgcccgcgcgagcgggtgactgacgaccagctg
cggtaataacctcacatgttacttgaaggccgctgcggcctgtcgagctgcgaagctccaggactgcacgatgctcgat
gaggagacgacctgtcgttatctgtgaaagcgggggacccaagaggacgaggcgagcctacgggcttcacggaggct
atgactagatactctgcccccttggggacccgccccaaaccagaatacagacttggagttgataacatcatgctctccaa
tgtgtcagtcgcgacgatgcatctggcaaaagggtgtactatctcaccctgacccaccaccccccttgcgagggtg
cgtgggagacagctagacacactccagttcaattcctggctaggcaacatcatcatgtatgcgcccaccttggggcaagg
atgatcctgatgactcatcttcttccatccttctagctcaggaacaacttgaaaaagccctagattgtcagatctacgg
ggcctgttactccattgagccacttgacctacctcagatcatctaacgactccaatggccttagcgcatcttctactccata
gttactctccaggtagagatcaatagggtggcttcatgctcaggaaacttggggtagcccttgcgagcttggagacat
cgggcccagaagtgtccgcgttaggctactgtcccagggggggagggtgccacttgtggcaagtacctcttcaactgggc

10

20

30

40

50

agtaaggaccaagctcaaactcactccaatcccggctgctgccagttggatttatccagctggttcgttgctggttaca
 gcgggggagacatatatcacagcctgtctcggtgcccgaacccgctggttcatgtgggtgcctactcctactttctgtaggg
 gtaggcattctatctactccccaaccgatgaacgggggaCctaaacactccaggccaataggccatcctgtttttttccctt
 ttttttttcttttttttttttttttttttttttttttttttctccttttttttccctctttttttccttttctttcc
 tttgggtggctccatcttagccctagtcacggctagctgtgaaaggccgtgagccgcttgactgcagagagtgctgatac
 tggcctctctgcagatcaagt

【 0 1 9 9 】

【 配列表 】

SEQUENCE LISTING

10

<110> Rice, Charles

Blight, Keril

<120> HCV Variants

<130> 6029-7868

<140> PCT/US01/16822

<141> 2001-05-23

20

<150> 09/576,989

<151> 2000-05-23

<150> 09/034,756

<151> 1998-03-04

<160> 24

<170> PatentIn version 3.1

<210> 1

<211> 21

<212> DNA

<213> Hepatitis C virus

30

<400> 1

ggcgacactc caccaatagat c

21

<210> 2
<211> 99
<212> DNA
<213> Hepatitis C virus

<400> 2
tggtagctcc atcttagccc tagtcacggc tagctgtgaa aggtccgtga gccgcatgac 60
tgcagagagt gctgatactg gcctctctgc tgatcatgt 99

10

<210> 3
<211> 1985
<212> PRT
<213> Hepatitis C virus

<400> 3
Met Ala Pro Ile Thr Ala Tyr Ser Gln Gln Thr Arg Gly Leu Leu Gly
1 5 10 15

20

Cys Ile Ile Thr Ser Leu Thr Gly Arg Asp Arg Asn Gln Val Glu Gly
20 25 30

Glu Val Gln Val Val Ser Thr Ala Thr Gln Ser Phe Leu Ala Thr Cys

35	40	45	
Val Asn Gly Val Cys Trp Thr Val Tyr His Gly Ala Gly Ser Lys Thr			
50	55	60	
Leu Ala Gly Pro Lys Gly Pro Ile Thr Gln Met Tyr Thr Asn Val Asp			
65	70	75	80
Gln Asp Leu Val Gly Trp Gln Ala Pro Pro Gly Ala Arg Ser Leu Thr			
85	90	95	
Pro Cys Thr Cys Gly Ser Ser Asp Leu Tyr Leu Val Thr Arg His Ala			
100	105	110	
Asp Val Ile Pro Val Arg Arg Arg Gly Asp Ser Arg Gly Ser Leu Leu			
115	120	125	
Ser Pro Arg Pro Val Ser Tyr Leu Lys Gly Ser Ser Gly Gly Pro Leu			
130	135	140	
Leu Cys Pro Ser Gly His Ala Val Gly Ile Phe Arg Ala Ala Val Cys			
145	150	155	160

10

20

Thr Arg Gly Val Ala Lys Ala Val Asp Phe Val Pro Val Glu Ser Met
165 170 175

Glu Thr Thr Met Arg Ser Pro Val Phe Thr Asp Asn Ser Ser Pro Pro
180 185 190

Ala Val Pro Gln Thr Phe Gln Val Ala His Leu His Ala Pro Thr Gly
195 200 205

Ser Gly Lys Ser Thr Lys Val Pro Ala Ala Tyr Ala Ala Gln Gly Tyr
210 215 220

Lys Val Leu Val Leu Asn Pro Ser Val Ala Ala Thr Leu Gly Phe Gly
225 230 235 240

Ala Tyr Met Ser Lys Ala His Gly Ile Asp Pro Asn Ile Arg Thr Gly
245 250 255

Val Arg Thr Ile Thr Thr Gly Ala Pro Ile Thr Tyr Ser Thr Tyr Gly
260 265 270

10

20

Lys Phe Leu Ala Asp Gly Gly Cys Ser Gly Gly Ala Tyr Asp Ile Ile
275 280 285

Ile Cys Asp Glu Cys His Ser Thr Asp Ser Thr Thr Ile Leu Gly Ile
290 295 300

Gly Thr Val Leu Asp Gln Ala Glu Thr Ala Gly Ala Arg Leu Val Val
305 310 315 320

10

Leu Ala Thr Ala Thr Pro Pro Gly Ser Val Thr Val Pro His Pro Asn
325 330 335

Ile Glu Glu Val Ala Leu Ser Ser Thr Gly Glu Ile Pro Phe Tyr Gly
340 345 350

20

Lys Ala Ile Pro Ile Glu Thr Ile Lys Gly Gly Arg His Leu Ile Phe
355 360 365

Cys His Ser Lys Lys Lys Cys Asp Glu Leu Ala Ala Lys Leu Ser Gly
370 375 380

Leu Gly Leu Asn Ala Val Ala Tyr Tyr Arg Gly Leu Asp Val Ser Val
385 390 395 400

Ile Pro Thr Ser Gly Asp Val Ile Val Val Ala Thr Asp Ala Leu Met
405 410 415

Thr Gly Phe Thr Gly Asp Phe Asp Ser Val Ile Asp Cys Asn Thr Cys
420 425 430

10

Val Thr Gln Thr Val Asp Phe Ser Leu Asp Pro Thr Phe Thr Ile Glu
435 440 445

Thr Thr Thr Val Pro Gln Asp Ala Val Ser Arg Ser Gln Arg Arg Gly
450 455 460

Arg Thr Gly Arg Gly Arg Met Gly Ile Tyr Arg Phe Val Thr Pro Gly
465 470 475 480

20

Glu Arg Pro Ser Gly Met Phe Asp Ser Ser Val Leu Cys Glu Cys Tyr
485 490 495

Asp Ala Gly Cys Ala Trp Tyr Glu Leu Thr Pro Ala Glu Thr Ser Val

500 505 510

Arg Leu Arg Ala Tyr Leu Asn Thr Pro Gly Leu Pro Val Cys Gln Asp
515 520 525

His Leu Glu Phe Trp Glu Ser Val Phe Thr Gly Leu Thr His Ile Asp
530 535 540

Ala His Phe Leu Ser Gln Thr Lys Gln Ala Gly Asp Asn Phe Pro Tyr
545 550 555 560

Leu Val Ala Tyr Gln Ala Thr Val Cys Ala Arg Ala Gln Ala Pro Pro
565 570 575

Pro Ser Trp Asp Gln Met Trp Lys Cys Leu Ile Arg Leu Lys Pro Thr
580 585 590

Leu His Gly Pro Thr Pro Leu Leu Tyr Arg Leu Gly Ala Val Gln Asn
595 600 605

Glu Val Thr Thr Thr His Pro Ile Thr Lys Tyr Ile Met Ala Cys Met
610 615 620

10

20

Ser Ala Asp Leu Glu Val Val Thr Ser Thr Trp Val Leu Val Gly Gly
625 630 635 640

Val Leu Ala Ala Leu Ala Ala Tyr Cys Leu Thr Thr Gly Ser Val Val
645 650 655

Ile Val Gly Arg Ile Ile Leu Ser Gly Lys Pro Ala Ile Ile Pro Asp
660 665 670

Arg Glu Val Leu Tyr Arg Glu Phe Asp Glu Met Glu Glu Cys Ala Ser
675 680 685

His Leu Pro Tyr Ile Glu Gln Gly Met Gln Leu Ala Glu Gln Phe Lys
690 695 700

Gln Lys Ala Ile Gly Leu Leu Gln Thr Ala Thr Lys Gln Ala Glu Ala
705 710 715 720

Ala Ala Pro Val Val Glu Ser Lys Trp Arg Thr Leu Glu Ala Phe Trp
725 730 735

10

20

Ala Lys His Met Trp Asn Phe Ile Ser Gly Ile Gln Tyr Leu Ala Gly
740 745 750

Leu Ser Thr Leu Pro Gly Asn Pro Ala Ile Ala Ser Leu Met Ala Phe
755 760 765

Thr Ala Ser Ile Thr Ser Pro Leu Thr Thr Gln His Thr Leu Leu Phe
770 775 780

10

Asn Ile Leu Gly Gly Trp Val Ala Ala Gln Leu Ala Pro Pro Ser Ala
785 790 795 800

Ala Ser Ala Phe Val Gly Ala Gly Ile Ala Gly Ala Ala Val Gly Ser
805 810 815

20

Ile Gly Leu Gly Lys Val Leu Val Asp Ile Leu Ala Gly Tyr Gly Ala
820 825 830

Gly Val Ala Gly Ala Leu Val Ala Phe Lys Val Met Ser Gly Glu Met
835 840 845

Pro Ser Thr Glu Asp Leu Val Asn Leu Leu Pro Ala Ile Leu Ser Pro
850 855 860

Gly Ala Leu Val Val Gly Val Val Cys Ala Ala Ile Leu Arg Arg His
865 870 875 880

Val Gly Pro Gly Glu Gly Ala Val Gln Trp Met Asn Arg Leu Ile Ala
885 890 895

10

Phe Ala Ser Arg Gly Asn His Val Ser Pro Thr His Tyr Val Pro Glu
900 905 910

Ser Asp Ala Ala Ala Arg Val Thr Gln Ile Leu Ser Ser Leu Thr Ile
915 920 925

Thr Gln Leu Leu Lys Arg Leu His Gln Trp Ile Asn Glu Asp Cys Ser
930 935 940

20

Thr Pro Cys Ser Gly Ser Trp Leu Arg Asp Val Trp Asp Trp Ile Cys
945 950 955 960

Thr Val Leu Thr Asp Phe Lys Thr Trp Leu Gln Ser Lys Leu Leu Pro

965

970

975

Arg Leu Pro Gly Val Pro Phe Phe Ser Cys Gln Arg Gly Tyr Lys Gly
 980 985 990

Val Trp Arg Gly Asp Gly Ile Met Gln Thr Thr Cys Pro Cys Gly Ala
 995 1000 1005

10

Gln Ile Thr Gly His Val Lys Asn Gly Ser Met Arg Ile Val Gly
 1010 1015 1020

Pro Arg Thr Cys Ser Asn Thr Trp His Gly Thr Phe Pro Ile Asn
 1025 1030 1035

Ala Tyr Thr Thr Gly Pro Cys Thr Pro Ser Pro Ala Pro Asn Tyr
 1040 1045 1050

20

Ser Arg Ala Leu Trp Arg Val Ala Ala Glu Glu Tyr Val Glu Val
 1055 1060 1065

Thr Arg Val Gly Asp Phe His Tyr Val Thr Gly Met Thr Thr Asp
 1070 1075 1080

Asn Val Lys Cys Pro Cys Gln Val Pro Ala Pro Glu Phe Phe Thr
1085 1090 1095

Glu Val Asp Gly Val Arg Leu His Arg Tyr Ala Pro Ala Cys Lys
1100 1105 1110

Pro Leu Leu Arg Glu Glu Val Thr Phe Leu Val Gly Leu Asn Gln
1115 1120 1125

Tyr Leu Val Gly Ser Gln Leu Pro Cys Glu Pro Glu Pro Asp Val
1130 1135 1140

Ala Val Leu Thr Ser Met Leu Thr Asp Pro Ser His Ile Thr Ala
1145 1150 1155

Glu Thr Ala Lys Arg Arg Leu Ala Arg Gly Ser Pro Pro Ser Leu
1160 1165 1170

Ala Ser Ser Ser Ala Ser Gln Leu Ser Ala Pro Ser Leu Lys Ala
1175 1180 1185

10

20

Thr Cys Thr Thr Arg His Asp Ser Pro Asp Ala Asp Leu Ile Glu
1190 1195 1200

Ala Asn Leu Leu Trp Arg Gln Glu Met Gly Gly Asn Ile Thr Arg
1205 1210 1215

Val Glu Ser Glu Asn Lys Val Val Ile Leu Asp Ser Phe Glu Pro
1220 1225 1230

10

Leu Gln Ala Glu Glu Asp Glu Arg Glu Val Ser Val Pro Ala Glu
1235 1240 1245

Ile Leu Arg Arg Ser Arg Lys Phe Pro Arg Ala Met Pro Ile Trp
1250 1255 1260

20

Ala Arg Pro Asp Tyr Asn Pro Pro Leu Leu Glu Ser Trp Lys Asp
1265 1270 1275

Pro Asp Tyr Val Pro Pro Val Val His Gly Cys Pro Leu Pro Pro
1280 1285 1290

Ala Lys Ala Pro Pro Ile Pro Pro Pro Arg Arg Lys Arg Thr Val
 1295 1300 1305

Val Leu Ser Glu Ser Thr Val Ser Ser Ala Leu Ala Glu Leu Ala
 1310 1315 1320

Thr Lys Thr Phe Gly Ser Ser Glu Ser Ser Ala Val Asp Ser Gly
 1325 1330 1335

10

Thr Ala Thr Ala Ser Pro Asp Gln Pro Ser Asp Asp Gly Asp Ala
 1340 1345 1350

Gly Ser Asp Val Glu Ser Tyr Ser Ser Met Pro Pro Leu Glu Gly
 1355 1360 1365

Glu Pro Gly Asp Pro Asp Leu Ser Asp Gly Ser Trp Ser Thr Val
 1370 1375 1380

20

Ser Glu Glu Ala Ser Glu Asp Val Val Cys Cys Ser Met Ser Tyr
 1385 1390 1395

Thr Trp Thr Gly Ala Leu Ile Thr Pro Cys Ala Ala Glu Glu Thr

1400	1405	1410
Lys Leu Pro Ile Asn Ala Leu Ser Asn Ser Leu Leu Arg His His		
1415	1420	1425
Asn Leu Val Tyr Ala Thr Thr Ser Arg Ser Ala Ser Leu Arg Gln		
1430	1435	1440
Lys Lys Val Thr Phe Asp Arg Leu Gln Val Leu Asp Asp His Tyr		
1445	1450	1455
Arg Asp Val Leu Lys Glu Met Lys Ala Lys Ala Ser Thr Val Lys		
1460	1465	1470
Ala Lys Leu Leu Ser Val Glu Glu Ala Cys Lys Leu Thr Pro Pro		
1475	1480	1485
His Ser Ala Arg Ser Lys Phe Gly Tyr Gly Ala Lys Asp Val Arg		
1490	1495	1500
Asn Leu Ser Ser Lys Ala Val Asn His Ile Arg Ser Val Trp Lys		
1505	1510	1515

10

20

Asp Leu Leu Glu Asp Thr Glu Thr Pro Ile Asp Thr Thr Ile Met
1520 1525 1530

Ala Lys Asn Glu Val Phe Cys Val Gln Pro Glu Lys Gly Gly Arg
1535 1540 1545

Lys Pro Ala Arg Leu Ile Val Phe Pro Asp Leu Gly Val Arg Val
1550 1555 1560

Cys Glu Lys Met Ala Leu Tyr Asp Val Val Ser Thr Leu Pro Gln
1565 1570 1575

Ala Val Met Gly Ser Ser Tyr Gly Phe Gln Tyr Ser Pro Gly Gln
1580 1585 1590

Arg Val Glu Phe Leu Val Asn Ala Trp Lys Ala Lys Lys Cys Pro
1595 1600 1605

Met Gly Phe Ala Tyr Asp Thr Arg Cys Phe Asp Ser Thr Val Thr
1610 1615 1620

10

20

Glu Asn Asp Ile Arg Val Glu Glu Ser Ile Tyr Gln Cys Cys Asp
1625 1630 1635

Leu Ala Pro Glu Ala Arg Gln Ala Ile Arg Ser Leu Thr Glu Arg
1640 1645 1650

Leu Tyr Ile Gly Gly Pro Leu Thr Asn Ser Lys Gly Gln Asn Cys
1655 1660 1665

10

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

Gly Asn Thr Leu Thr Cys Tyr Leu Lys Ala Ala Ala Ala Cys Arg
1685 1690 1695

20

Ala Ala Lys Leu Gln Asp Cys Thr Met Leu Val Cys Gly Asp Asp
1700 1705 1710

Leu Val Val Ile Cys Glu Ser Ala Gly Thr Gln Glu Asp Glu Ala
1715 1720 1725

Ser Leu Arg Ala Phe Thr Glu Ala Met Thr Arg Tyr Ser Ala Pro
1730 1735 1740

Pro Gly Asp Pro Pro Lys Pro Glu Tyr Asp Leu Glu Leu Ile Thr
1745 1750 1755

Ser Cys Ser Ser Asn Val Ser Val Ala His Asp Ala Ser Gly Lys
1760 1765 1770

10

Arg Val Tyr Tyr Leu Thr Arg Asp Pro Thr Thr Pro Leu Ala Arg
1775 1780 1785

Ala Ala Trp Glu Thr Ala Arg His Thr Pro Val Asn Ser Trp Leu
1790 1795 1800

Gly Asn Ile Ile Met Tyr Ala Pro Thr Leu Trp Ala Arg Met Ile
1805 1810 1815

20

Leu Met Thr His Phe Phe Ser Ile Leu Leu Ala Gln Glu Gln Leu
1820 1825 1830

Glu Lys Ala Leu Asp Cys Gln Ile Tyr Gly Ala Cys Tyr Ser Ile

1835 1840 1845

Glu Pro Leu Asp Leu Pro Gln Ile Ile Gln Arg Leu His Gly Leu
1850 1855 1860

Ser Ala Phe Ser Leu His Ser Tyr Ser Pro Gly Glu Ile Asn Arg
1865 1870 1875

10

Val Ala Ser Cys Leu Arg Lys Leu Gly Val Pro Pro Leu Arg Val
1880 1885 1890

Trp Arg His Arg Ala Arg Ser Val Arg Ala Arg Leu Leu Ser Gln
1895 1900 1905

Gly Gly Arg Ala Ala Thr Cys Gly Lys Tyr Leu Phe Asn Trp Ala
1910 1915 1920

20

Val Arg Thr Lys Leu Lys Leu Thr Pro Ile Pro Ala Ala Ser Gln
1925 1930 1935

Leu Asp Leu Ser Ser Trp Phe Val Ala Gly Tyr Ser Gly Gly Asp
1940 1945 1950

Ile Tyr His Ser Leu Ser Arg Ala Arg Pro Arg Trp Phe Met Trp
 1955 1960 1965

Cys Leu Leu Leu Leu Ser Val Gly Val Gly Ile Tyr Leu Leu Pro
 1970 1975 1980

Asn Arg
 1985

10

<210> 4
 <211> 447
 <212> PRT
 <213> Hepatitis C virus

<400> 4

20

Ser Gly Ser Trp Leu Arg Asp Val Trp Asp Trp Ile Cys Thr Val Leu
 1 5 10 15

Thr Asp Phe Lys Thr Trp Leu Gln Ser Lys Leu Leu Pro Arg Leu Pro
 20 25 30

Gly Val Pro Phe Phe Ser Cys Gln Arg Gly Tyr Lys Gly Val Trp Arg
35 40 45

Gly Asp Gly Ile Met Gln Thr Thr Cys Pro Cys Gly Ala Gln Ile Thr
50 55 60

Gly His Val Lys Asn Gly Ser Met Arg Ile Val Gly Pro Arg Thr Cys
65 70 75 80

10

Ser Asn Thr Trp His Gly Thr Phe Pro Ile Asn Ala Tyr Thr Thr Gly
85 90 95

Pro Cys Thr Pro Ser Pro Ala Pro Asn Tyr Ser Arg Ala Leu Trp Arg
100 105 110

Val Ala Ala Glu Glu Tyr Val Glu Val Thr Arg Val Gly Asp Phe His
115 120 125

20

Tyr Val Thr Gly Met Thr Thr Asp Asn Val Lys Cys Pro Cys Gln Val
130 135 140

Pro Ala Pro Glu Phe Phe Thr Glu Val Asp Gly Val Arg Leu His Arg

145 150 155 160

Tyr Ala Pro Ala Cys Lys Pro Leu Leu Arg Glu Glu Val Thr Phe Leu
 165 170 175

Val Gly Leu Asn Gln Tyr Leu Val Gly Ser Gln Leu Pro Cys Glu Pro
 180 185 190

10

Glu Pro Asp Val Ala Val Leu Thr Ser Met Leu Thr Asp Pro Ser His
 195 200 205

Ile Thr Ala Glu Thr Ala Lys Arg Arg Leu Ala Arg Gly Ser Pro Pro
 210 215 220

Ser Leu Ala Ser Ser Ser Ala Ser Gln Leu Ser Ala Pro Ser Leu Lys
225 230 235 240

20

Ala Thr Cys Thr Thr Arg His Asp Ser Pro Asp Ala Asp Leu Ile Glu
 245 250 255

Ala Asn Leu Leu Trp Arg Gln Glu Met Gly Gly Asn Ile Thr Arg Val
 260 265 270

Glu Ser Glu Asn Lys Val Val Ile Leu Asp Ser Phe Glu Pro Leu Gln
275 280 285

Ala Glu Glu Asp Glu Arg Glu Val Ser Val Pro Ala Glu Ile Leu Arg
290 295 300

Arg Ser Arg Lys Phe Pro Arg Ala Met Pro Ile Trp Ala Arg Pro Asp
305 310 315 320

Tyr Asn Pro Pro Leu Leu Glu Ser Trp Lys Asp Pro Asp Tyr Val Pro
325 330 335

Pro Val Val His Gly Cys Pro Leu Pro Pro Ala Lys Ala Pro Pro Ile
340 345 350

Pro Pro Pro Arg Arg Lys Arg Thr Val Val Leu Ser Glu Ser Thr Val
355 360 365

Ser Ser Ala Leu Ala Glu Leu Ala Thr Lys Thr Phe Gly Ser Ser Glu
370 375 380

10

20

Ser Ser Ala Val Asp Ser Gly Thr Ala Thr Ala Ser Pro Asp Gln Pro
 385 390 395 400

Ser Asp Asp Gly Asp Ala Gly Ser Asp Val Glu Ser Tyr Ser Ser Met
 405 410 415

Pro Pro Leu Glu Gly Glu Pro Gly Asp Pro Asp Leu Ser Asp Gly Ser
 420 425 430

10

Trp Ser Thr Val Ser Glu Glu Ala Ser Glu Asp Val Val Cys Cys
 435 440 445

<210> 5

<211> 7987

<212> DNA

<213> Hepatitis C virus

20

<400> 5

gccagccccc gattggggc gacactccac catagatcac tcccctgtga ggaactactg 60

ttttcagca gaaagcgtct agccaaggcg ttagtatgag tgtcgtgcag cctccaggac 120

ccccctccc gggagagcca tagtggctcg cggaaaccgt gactacaccg gaattgccag 180

gacgaccggg tcttttcttg gatcaaccg ctcaatgctt ggagatttgg gcgtgcccc 240
 gcgagactgc tagccgagta gtttgggtc gcgaaaggcc ttgtgttact gcctgatagg 300
 gtgtttgca gtgccccggg aggtctcgta gaccgtgcac catgagcacg aatcctaaac 360
 ctcaaagaaa aaccaaaggc cgcgcatga ttgaacaaga tggattgcac gcaggttctc 420
 cggccgcttg ggtggagagg ctattcggct atgactgggc acaacagaca atcggctgct 480
 ctgatccgc cgtgttccgg cgtcagcgc aggggcgccc ggttcttttt gtcaagaccg 540
 acctgtccgg tgccctgaat gaactgcagg acgaggcagc gcggctatcg tggctggcca 600
 cgacggcgti tctttgcga gctgtgctc acgtgtcac tgaagcggga agggactggc 660
 tgctattggg cgaagtgccg gggcaggatc tctgtcatc tcacctgct cctgccgaga 720
 aagtaiccat catggctgat gcaatgggc ggttcatac gcttgatccg gctacctgcc 780
 cattcgacca ccaagcgaat catgcatcg agcgagcacg tactcggatg gaagccggtc 840
 ttgtcgatca ggatgatcg gacgaagagc atcaggggtc cgcgccagcc gaactgttcg 900
 ccaggctcaa ggcgcgcatg cccgacggcg aggaatctct cgtgacccat ggcgatgctt 960
 gcttgccgaa tatcatggtg gaaaatggcc gcttttcttg attcatcgac ttggccggc 1020
 tgggtgtggc ggaccgctat caggacatag cgttggctac ccgtgatatt gctgaagagc 1080

10

20

ttggcggcga atgggctgac cgttcctcgc tgccttacgg tatcgccgct cccgattcgc 1140
 agcgcatcgc ctctatcgc ctcttgacg agttctctgc agtttaaaca gaccacaacg 1200
 gtctccctct agcgggatca attccgccc tctccctccc cccccctaa cgttactggc 1260
 cgaagccgct tggataaagg ccggctgctg ttgtctata tgtattttc caccatattg 1320
 ccgtcttttg gcaatgtgag ggccccgaaa cctggccctg tctcttgac gagcattcct 1380
 aggggtcttt cccctctgc caaaggaatg caaggctgtg tgaatgtcgt gaaggaagca 1440
 gtctctctgg aagctcttg aagacaaaca acgtctgtag cgacctttg caggcagcgg 1500
 aacccccac ctggcgacag gtgcctctgc ggccaaaagc cacgtgtata agatacacct 1560
 gcaaaggcgg cacaaccca gtgccacgtt gtgagtigga tagttigga aagagtcaaa 1620
 tggctctct caagctatt caacaagggg ctgaaggatg cccagaaggi accccattgt 1680
 atgggactcg atctggggcc tcggctcaca tgccttacat gtgittagtc gaggttaaaa 1740
 aacgtctagg cccccgaac cacggggacg tggttttcti ttgaaaaaca cgataatacc 1800
 atggcgcta ttacggcta ctccaacag acgcgaggcc tacttggctg catcatcact 1860
 agcctcacag gccgggacag gaaccaggic gagggggagg tccaagtgtt ctccaccgca 1920

10

20

acacaatctt tcttggcgac ctgcgtcaat ggcgtgtgtt ggactgtcta tcatggtgcc 1980
ggctcaaaga ccttggccgg cccaaagggc ccaatcacc aaatgtacac caatgtggac 2040
caggacctcg tcggciggca agcgccccc gggcgcggtt ccttgacacc atgcacctgc 2100
ggcagctcgg accittactt ggicacgagg catgccgatg tcattccgtt gcgccggcgg 2160
ggcgacagca gggggagcct acttccccc agggccgtct cctacttgaa gggctcttcg 2220
ggcgggccac tgctcigccc ctggggcac gctgtgggca tctttcgggc tgccgtgtgc 2280
acccgagggg ttgcgaaggc ggiggacttt gtaccgctcg agtctatgga aaccactatg 2340
cggtcgccgg tcttcacgga caactgtcc ctccggccg taccgcagac attccaggtg 2400
gcccattac acgcccctac tggtagcggc aagagcacta aggtgccggc tgcgtatgca 2460
gcccagggti ataagggtct gtccctgaac ccgtccgtcg ccgccacct aggtttcggg 2520
gcgtatatgt ctaaggcaca tggtaicgac cctaacatca gaaccgggti aaggaccatc 2580
accacgggtg ccccatcac gtactccacc tatggcaagi ttcttgccga cggtggttgc 2640
tctggggcgg cctatgacat cataatatgt gatgagtgcc actcaactga ctgcaccact 2700
atcctgggca tcggcacagt ctggaccaa gcggagacgg ctggagcgcg actcgtcgtg 2760
ctgccaccg ctacgcctcc gggatcggtc accgtgccac atccaaacat cgaggagggtg 2820

10

20

gctctgtcca gcactggaga aatccccitt tatggcaaag ccatcccat cgagaccatc 2880
 aaggggggga ggcaccicat ttcttgccat tccaagaaga aatgtgatga gctcgccgcg 2940
 aagctgtccg gccctggact caatgtctga gcatattacc ggggccttga tgtatccgtc 3000
 ataccaacta gcggagacgt cattgtctga gcaacggacg ctctaataac gggctttacc 3060
 ggcgatttcg actcagtgat cgactgcaat acatgtgtca cccagacagt cgatttcagc 3120
 ctggacccga ccttcacat tgagacgacg accgtgccac aagacgcggt gtcacgctcg 3180
 cagcggcgag gcaggactgg taggggcagg atgggcattt acaggtttgt gactccagga 3240
 gaacggccct cgggcatgtt cgattcctcg gtctgtgctg agtgctatga cgcgggctgt 3300
 gcttggtagc agctcagcc cgccgagacc tcagttaggi tgcgggccta cctaaacaca 3360
 ccagggttgc ccgtctgcca ggaccatctg gatttctggg agagcgtctt tacaggcctc 3420
 acccatatag acgcccattt ctgtctccag actaagcagg caggagacaa ctcccttac 3480
 ctggtagcat accaggctac ggtgtgcgcc agggctcagg ctccacctcc atcgtgggac 3540
 caaatgtgga agtgtctcat acggctaaag cctacgtctg acgggccaac gccccigtg 3600
 tataggctgg gagccgttca aaacagggtt actaccacac acccataac caaatacatc 3660

10

20

atggcatgca tgcggctga cctggaggtc gtcacagca cctgggtgct ggtaggcggg 3720
gtcctagcag ctctggccgc gtattgcctg acaacaggca gcgtggicat tgtgggcagg 3780
atcatcttgi ccggaagcc ggccatcatt cccgacaggg aagtccttia ccgggagtic 3840
gatgagatgg aagagtcgc ctacacctic cttacatcg aacagggaat gcagctcgcc 3900
gaacaattca aacagaaggc aatcgggttg ctgcaaacag ccaccaagca agcggaggct 3960
gtctctcccg tggtagaatc caatggcgg accctcgaag ctttcgggc gaagcataig 4020
tggaaattca tcagcgggat acaatattia gcaggcttgi ccactctgcc tggcaacccc 4080
gcgatagcat cactgatggc attacagcc tctatcacca gcccgctcac cacccaacat 4140
accctcctgi ttaacatcct ggggggatgg gggccgcc aacttgctcc tcccagcgt 4200
gtttctgctt tcgtaggcgc cggcatcgt ggagcggctg ttggcagcat aggccttggg 4260
aaggctcttg tggatatttt ggcaggttat ggagcagggg tggcaggcgc gctcgtggcc 4320
tttaaggcca tgagcggcga gatccctcc accgaggacc tggtaacct actccctgct 4380
atccctcccc ctggcgccct agtcgtcggg gtcgtgtgcg cagcgatact gcgtcggcac 4440
gtgggcccag gggagggggc tgtgcagtgg atgaaccggc tgatagcgtt cgcttcgcgg 4500
ggtaaccacg tcicccccac gcactatgtg cctgagagcg acgtgcagc acgtgtcact 4560

10

20

cagatcctct ctagtcttac catcactcag ctgctgaaga ggcttcacca gggatcaac 4620
 gaggactgct ccacccaatg ctccggctcg tggctaagag atgtttggga ttggatatgc 4680
 acgggtgtga ctgatttcaa gacctggctc cagtccaagc tcctgccgcg attgccggga 4740
 gtcccttctt tctcaigtca acgtgggtac aaggagctct ggccgggcga cggcatcatg 4800
 caaaccacct gcccaigtgg agcacagatc accggacaig tgaaaaacgg ttccaigagg 4860
 atcgtggggc ctaggacctg tagtaacacg tggcatggaa caticcccat taacgcgtac 4920
 accacgggcc ctgacagcc ctccccggcg ccaaattatt ctaggcgctt gggcgggtg 4980
 gctgctgagg agtacgtgga ggttacgcgg gtgggggatt tccactacgt gacgggcatg 5040
 accacigaca acgtaaagt cccgtgtcag gticcggccc ccgaattctt cacagaagt 5100
 gatggggtc ggttcacag gtacgtcca gcgtgcaaac ccttcctacg ggaggaggtc 5160
 acattcctgg tcgggtcaa tcaatacctg gtgggtcac agctcccatg cgagcccgaa 5220
 ccggacgtag cagtgtcac ttccaigtct accgacccci cccacattac ggccggagacg 5280
 gctaagcgtg ggctggccag gggatctccc ccttccttgg ccagctcatc agctagccag 5340
 ctgtctgcgc ctctctgaa ggcaacatgc actaccgctc atgactcccc ggacgtgac 5400

10

20

ctcatcgagg ccaaccttct gtggcggcag gagatgggcg ggaacatcac ccgcgtggag 5460
tcagaaaata aggtagtaat ttiggactct ttcgagccgc tccaagcgga ggaggatgag 5520
agggaaagta cgtttccggc ggagatcccg cggaggicca ggaaattccc tcgagcgaig 5580
cccataiggg cagccccgga ttacaacctt ccactgtag agtcctggaa ggacccggac 5640
tacgtccctc cagtggatca cgggtgtcca ttgccgctg ccaaggcccc tccgatacca 5700
cctccacgga ggaagaggac gggtgtctg tcagaatcta ccgtgtcttc tgccttggcg 5760
gagctcgcca caaagacctt cggcagctcc gaatcgtcgg ccgtcgacag cggcacggca 5820
acggcctctc ctgaccagcc ctccgacgac ggccgacggg gatccgacgt tgagtcgtac 5880
tcctccatgc ccccccttga gggggagccg ggggatcccg atctcagcga cgggtcttgg 5940
tctaccgtaa gcgaggaggc tagtgaggac gtctgtctgt gctcgaatgc ctacacatgg 6000
acaggcgccc tgatcacgcc atgcgtcgcg gaggaacca agctgcccatt caatgcactg 6060
agcaactctt tgcctcgta ccacaacttg gtctatgcta caacatctcg cagcgcaagc 6120
ctgcggcaga agaaggcac ctttgacaga ctgcaggctc tggacacca ctaccgggac 6180
gtgtcaagg agatgaaggc gaaggcgtcc acagttaagg ctaaacttct atccgtggag 6240
gaagccgtga agctgacgcc cccacattcg gccagatcta aatttggcta tggggcaaag 6300

10

20

gacgtccgga acctatccag caaggccgtt aaccacatcc gctccgtgtg gaaggacttg 6360
 ctggaagaca ctgagacacc aattgacacc accatcatgg caaaaaatga ggttttctgc 6420
 gtccaaccag agaagggggg ccgcaagcca gctcgcccta tcgtatcccc agatttgggg 6480
 gtctgtgtgt gcgagaaaat ggccctttac gatgtggtct ccacctccc tcaggccgtg 6540
 atgggccttt catacggatt ccaatactct cctggacagc gggtcgagtt cctggigaat 6600
 gcctggaag cgaagaaatg ccctaagggc ttgcataatg acaccgctg ttttgactca 6660
 acggtcacig agaatgacat ccgtgttag gagtcaatct accaagtgtg tgacttggcc 6720
 cccgaagcca gacaggccat aaggtcgtc acagagcggc ttatcatcgg gggcccccig 6780
 actaatcta aagggcagaa ctgcggctat cgccggtgcc gcgcgagcgg tgtactgacg 6840
 accagctgcg gtaataacct cacatgttac ttaaggccg ctgcggccig tcgagctgcg 6900
 aagctccagg actgcacgat gctcgtatgc ggagacgacc ttgtcgttat ctgtgaaagc 6960
 ggggggaccc aagaggacga ggcgagccta cgggccttca cggaggctat gactagatac 7020
 tctgcccccc cgggggaccc gcccaaacca gaatacgact tggagttagt aacatcatgc 7080
 tcttccaatg tgtcagtcgc gcacgatgca tctggcaaaa ggggtgacta tctcacccgt 7140

10

20

gacccaccca ccccccttgc gcgggctgcg tgggagacag ctgacacac tccagticaat 7200
 tcttggctag gcaacatcat catgtatgcg cccaccttgi gggcaaggat gatcctgatg 7260
 actcatttct tctccatcct tctagctcag gaacaactig aaaaagccct agattgtcag 7320
 atctacgggg cctgttactc catigagcca ctigacctac ctacagatcat tcaacgactc 7380
 catggcctta gcgcatttct actccatagi tactctccag gtgagatcaa taggggtggct 7440
 tcatgcctca ggaaacttgg ggtaccgcc ttcgagctct ggagacatcg ggccagaagi 7500
 gtccgcgcta ggctactgtc ccaggggggg agggctgccca ctigtggcaa gtacctcttc 7560
 aactgggcag taaggaccaa gcicaaactc actccaatcc cggctgcgtc ccagtiggat 7620
 ttatccagct ggttcgttgc tggttacagc gggggagaca tatatcacag cctgtctcgt 7680
 gcccgacccc gcctggttcat gtggcgccia ctctacttt ctgtaggggt aggcattctat 7740
 ctactcccca accgatgaac ggggagctaa acactccagg ccaataggcc atcctgtttt 7800
 ttccctttt ttttttctt ttttttttt ttttttttt ttttttttt ctctttttt 7860
 ttctctttt ttttctttt ctttctttt gtggctccat cttagcccia gtcacggcia 7920
 gcgtgaaaag gtccgtgagc cgttgactg cagagagtgc tgatactggc ctctctgcag 7980
 atcaagt 7987

10

20

(210) 6
 (211) 7989
 (212) DNA
 (213) Hepatitis C virus

(400) 6
 gccagcccc gattggggc gacacccac catagatcac tccccgtga ggaactactg 60
 tcttcacga gaaagcgtct agccaaggcg ttagtatgag tgcgtgcag cctccaggac 120
 cccccctccc gggagagcca tagtggctcg cggaaccggi gagtacaccg gaattgccag 180
 gacgaccggg tctttctctg gatcaaccg ctcaatgctt ggagatttgg gcgtgcccc 240
 gcgagactgc tagccgagta ggttgggtc gcgaaaggcc tigtggtact gcctgatagg 300
 gtgcttgcga gtgccccggg aggtctcgta gaccgtgcac catgagcacg aatcctaaac 360
 ctcaaagaaa aaccaaaggc cgcgccatga ttgaacaaga tggattgcac gcaggtcttc 420
 cggccgcttg ggtggagagg ctattcggct atgactgggc acaacagaca atcggctgct 480
 ctgatccgc cgtgttcggc ctgtcagcg agggcgccc ggttcttttt gicaagaccg 540
 acctgtccgg tggcctgaat gaactgcagg acgaggcagc gcggctatcg tggctggcca 600
 cgacgggcgi tccttgcga gctgtgctcg acgtgtgcac tgaagcggga agggactggc 660

10

20

tgctatggg cgaagtgccg gggcaggatc tctgtcatc tcaccttgct cctgccgaga 720
 aagtaiccat catggctgat gcaatcggc ggctgcatac gcttgatccg gctacctgcc 780
 cattcgacca ccaagcgaac catcgcatcg agcagacacg tactcggatg gaagccggtc 840
 ttgtgatca ggatgatcig gacgaagagc atcaggggct cgcgccagcc gaactgttcg 900
 ccaggcicaa ggcgcgcatg cccgacggcg aggaatcctg cgtgacccat ggcgatgcct 960
 gcttgccgaa tatcatggcg gaaaatggcc gctttcttg atcatcgac tgggccggc 1020
 tgggtgtggc ggaccgtat caggacatag cgttggtac cgtgatatt gctgaagagc 1080
 ttggcggcga atggcgac cgttcctcg tgccttacgg tatcgccgt cccgattcg 1140
 agcgcatcg cttctatcg cttctgacg agttctctg agtttaaca gaccacaacg 1200
 gttccctct agcgggatca attcgcgcc tctccctcc cccccctaa cgttactggc 1260
 cgaagccgt tggaaatagg ccggtgtcg ttgtctata tgtatttc caccatattg 1320
 ccgtctttg gcaatgtgag ggccccgaaa cctggccctg tctcttgac gagcattct 1380
 aggggtctt cccctctcg caaaggaatg caaggctgt tgaatgtgt gaaggaagca 1440
 gtccctctg aagctcttg aagacaaaca acgtctgtg cgacctttg caggcagcgg 1500

10

20

aacccccac ctggcgacag gtgcctctgc ggccaaaagc cagtggtata agatacacct 1560
gcaaaaggcgg cacaaccca gtgccacgtt gtgagtigga tagttigga aagagtcaa 1620
tggctctctt caagcgtatt caacaagggg cigaaggatg cccagaaggi accccattgt 1680
atgggatctg atctggggcc tcggcgcaca tgcittacat gtgtttagtc gaggttaaaa 1740
aacgtctagg cccccgaac cacggggacg tggttttctt ttgaaaaaca cgataatacc 1800
atggcgccctt ttacggccctt ctccaacag acgcgaggcc tacttggctg catcatcact 1860
agccctcacag gccgggacag gaaccaggct gagggggagg tccaagtgtt ctccaccgca 1920
acacaatctt tcttggcgac ctgcgtcaat ggcgtgtgtt ggactgtcta tcatgtgtcc 1980
ggctcaaaga ccttggccgg cccaaagggc ccaatcacc aaatgtacac caatgtggac 2040
caggacctcg tcggctggca agcgccccc gggcgcggtt ccttgacacc atgcacctgc 2100
ggcagctcgg acctttactt ggtcacgagg catgccgatg tcattccgtt gcgccggcgg 2160
ggcgacagca gggggagcct actctcccc aggcccgctt cctacttgaa gggctcttcg 2220
ggcggccac tgcctgccc ctggggcac gctgtgggca tctttcgggc tgcctgtgc 2280
acccgagggg ttgcgaaggc ggtggacttt gtaccgctg agtctatgga aaccactatg 2340
cggctccccg tcttcacgga caactcgtcc cctccggccg taccgcagac atccagggtg 2400

10

20

gcccaictac acgcccctac tggtagcggc aagagcacia aggtgccggc tgcgtatgca 2460
 gcccaagggt ataaggigct tgtcctgaac cgtccgctc cggccacct aggtttcggg 2520
 gcgtatatgi ctaaggcaca tggtatcgac cctaacaatc gaaccggggt aaggaccatc 2580
 accacgggig ccccatcac gtactccacc tatggcaagi ttcttgccga cgttggttgc 2640
 tcggggggcg cctatgacat cataatatgi gatgagtgcc actcaactga ctgcaccact 2700
 atcctgggca tcggcacagi cctggaccaa gcggagacgg ctggagcgcg actcgtcgtg 2760
 ctgccaccg ctacgcctcc gggatcggtc accgtgccac atccaacat cgaggaggig 2820
 gctctgtcca gcactggaga aatccccitt tatggcaaag ccatccccat cgagaccatc 2880
 aaggggggga ggcaccicat ttcttgccat tccaagaaga aatgtgatga gctcggcgcg 2940
 aagctgtccg gcctcggact caatgtctga gcataattacc ggggccttga tgiatccgtc 3000
 ataccaacia gcggagacgt cattgtctga gcaacggacg ctctaattac gggctttacc 3060
 ggcgatttcg actcagtai cgactgcaat acatgtgtca ccagacagi cgacttcagc 3120
 cggacccga ctttaccat tgagacgacg accgtgccac aagacgggti gtcacgtcgc 3180
 cagcggcgag gcaggactgg taggggcagg atgggcattt acaggittgt gactccagga 3240

10

20

gaacggccct cgggcaigt cgaattcctc gtctgtgcg agtgctatga cgcgggctgt 3300
gcttggtagc agctcagcc cggcgagacc tcagttaggt tgcgggccta cctaaacaca 3360
ccagggttgc cgtctgccca ggaccatctg gagttctggg agagcgtctt tacaggccctc 3420
accacatag acgccattt ctgtcccgag actaagcagg caggagacaa ctccctctac 3480
ctggtagcat accaggctac gggtgtgcc agggctcagg ctccacctcc atcgtgggac 3540
caaagtigga agtgtctcat acggctaaag cctacgtgc acgggccaac gccccgtctg 3600
tataggctgg gagccgttca aaacagggtt actaccacac accccataac caaatacatc 3660
atggcatgca tgtcggctga ctggaggctc gtcacgagca ctgggtgtct ggtaggcgga 3720
gtcctagcag ctctggccgc gtattgccig acaacaggca gcgtggctat tgtgggcagg 3780
atcatctgt cggaaaagcc ggccaicatt cccgacaggg aagtccttta ccgggagttc 3840
gatgagatgg aagagtgcgc ctacacctc cttacatcg aacaggaat gcagctcgcc 3900
gaacaattca aacagaaggc aatcgggttg ctgcaaacag ccaccaagca agcggaggct 3960
gtctctcccg tggtggaatc caagtggcgg accctcgaag cttctgggc gaagcatatg 4020
tggaaattca tcagcgggat acaatattta gcaggcttgt ccactctgcc tggcaacccc 4080
gcgatagcat cactgatggc attcacagcc tctatcacca gcccgtcac caccaacat 4140

10

20

accctcctgt ttaacatcct ggggggatgg gggccgccc aacttgctcc tcccagcgt 4200
 gcttcctgtt tctagggcg cggcaicgti ggagcggctg ttggcagcat aggccttggg 4260
 aaggctgttg tggatatttt ggcaggitat ggagcagggg tggcaggcgc gctcgtggcc 4320
 ttttaaggta tgagcggcga gatgccctcc accgaggacc tggttaacct actccctgtc 4380
 atccctcccc ctggcgccct agtcgtcggg gtcgtgtgcg cagcgatact gcgtcggcac 4440
 gggggcccag gggagggggc tgigcagtgg atgaaccggc tgatagcgti cgttcgcgg 4500
 ggtaaccacg tctccccac gcactatgig cctgagagcg acgttcgagc acgtgtcact 4560
 cagatcctct ctagtcttac catcaticag ctgctgaaga ggcttcacca gtggatcaac 4620
 gaggactgct ccacgccatg ctccggctcg tggctaagag atgtttggga ttggatatgc 4680
 acgggtgtga ctgatttcaa gacctggctc cagtccaagc tcttgccgcg attgccggga 4740
 gtccctttct tctcaigtca acgtgggtac aaggagcti ggcggggcga cggcaicatg 4800
 caaaccacci gcccaigtgg agcacagatc accggacatg tgaaaaacgg ttccatgagg 4860
 atcgtggggc ctaggacctg tagtaacacg tggcatggaa cattcccat taacgcgtac 4920
 accacgggcc cctgcacgcc ctccccggcg ccaaattatt ctaggcgcti gggcgggtg 4980

10

20

gctgctgagg agtacgtgga ggttacgcgg gtgggggatt tccactacgt gacgggcatg 5040
 accacigaca acgtaaagtg cccgtgtcag gticcggccc ccgaattctt cacagaagtg 5100
 gatgggggtc ggttgccacag gtacgtcca gcgtgcaaac ccttcctacg ggaggaggtc 5160
 acattcctgg tcgggcicaa tcaatacctg gtgggtcac agctcccatg cgagcccgaa 5220
 ccggacgtag cagtgtcac ttccatgtc accgacccct cccacattac ggccggagacg 5280
 gctaagcgta ggctggccag gggatctccc ccttccttgg ccagctcatc agctagccag 5340
 ctgtctgctc ctctctgaa ggcaaatgc actacccgtc atgactcccc ggacgtgac 5400
 ctcatcgagg ccaacctctt gtggcggcag gagatgggcg ggaacatcac ccgcgtggag 5460
 tcagaaaata aggtagtaat ttggactct ttgagccgc tccaagcgga ggaggatgag 5520
 agggaaagtat ccgtccggc ggagatcttg cggaggicca ggaaatccc tcgagcgtg 5580
 cccatatggg cagccccgga ttacaacctt ccactgttag agtccctggaa ggacccggac 5640
 tacgtccctc cagtgttaca cgggtgtcca ttgccgctg ccaaggcccc tccgatacca 5700
 ctccacgga ggaagaggac ggttgctctg tcagaatcta ccgtgtcttc tgccttggcg 5760
 gagctcgcca caaagacctt cggcagctcc gaatcgtcgg ccgtcgacag cggcacggca 5820
 acggcctctc ctgaccagcc ctccgacgac ggcgacgcgg gatccgacgt tgagtcgtac 5880

10

20

tcttccatgc ccccccttga gggggagccg ggggaicccg atctcagcga cgggtcttgg 5940
tctaccgtaa gcgaggaggc tagtgaggac gtcgtctgct gctcgaigtc ctacacatgg 6000
acaggcgccc tgatcacgcc atgcgctgcg gaggaacca agctgcccac caatgcactg 6060
agcaactctt tgcctcgtca ccacaacttg gcttaigcta caacatctcg cagcgcaagc 6120
ctcgggcaga agaaggcac ctttgacaga ctgcaggctc tggacgacca ctaccgggac 6180
gtgtcaagg agatgaaggc gaaggcgtcc acagttaagg ctaaacttci atccgtggag 6240
gaagcctgta agctgacgcc cccacattcg gccagatcta aatttggcta tggggcaaag 6300
gacgtccgga acctatccag caaggccgtt aaccacatcc gctccgtgtg gaaggacttg 6360
ctggaagaca ctgagacacc aattgacacc accatcatgg caaaaaatga ggttttctgc 6420
gtccaaccag agaagggggg ccgcaagcca gctcgcctta tcgtattccc agatttgggg 6480
gttcgtgtgt gcgagaaaat ggccctttac gatgtgggtc ccacctccc tcaggccgtg 6540
atgggtctct catacggatt ccaatactci cctggacagc gggtcgagtt cctggatgaat 6600
gcctggaaaag cgaagaaatg ccctaigggc ttgcataatg acaccgctg ttttgactca 6660
acggtcactg agaatgacat ccgtgttgag gagtcaatct accaatgttg tgacttggcc 6720

10

20

cccgaaagcca gacaggccat aaggctgctc acagagcggc ttatcatcgg gggcccccctg 6780
actaatctta aagggcagaa ctgcggctat cgccggigcc gcgcgagcgg tgiactgacg 6840
accagctgcg gtaataccct cacaigttaac tgaaggccg ctgcggccctg tcgagctgcg 6900
aagctccagg actgcacgat gctcgtatgc ggagacgacc ttgtcgttat ctgtgaaagc 6960
ggggggaccc aagaggacga ggcgagccta cgggccttca cggaggctat gactagatac 7020
ctgcccccc cgggggaccc gcccaaacca gaatacgact tggagttgat aacatcatgc 7080
tcctccaatg tgcagctgc gcacgatga tcctggcaaaa ggggtgtacta tctacccgt 7140
gacccacca ccccccttc gcgggctgcg tgggagacag ctgacacac tccagtcaat 7200
tcctggctag gcaacatcat catgtatgcg cccaccttgi gggcaaggat gatccgatg 7260
actcatttct tctccatct tctagctcag gaacaacttg aaaaagccct agattgtcag 7320
atctacgggg cctgttactc catlgagcca ctgacctac ctgagatcat tcaacgactc 7380
catggcctta gcgcattttc actccatagi tactctccag gtagatcaa tagggttggct 7440
tcatgcctca ggaaacttgg ggtaccgccc ttgcgagtct ggagacatcg ggccagaagt 7500
gtccgcgcta ggctactgtc ccaggggggg agggctgcca ctgttgga gttaccttctc 7560
aactgggcag taaggaccaa gctcaaactc actccaatcc cggctgcgtc ccagtiggat 7620

10

20

ttatccagct gggttcgttc tgggttacagc gggggagaca tatatcacag cctgtctcgt 7680
 gcccgacccc gcgtgggtcat gttgtgccta ctcttacttt ctgtaggggt aggcattctat 7740
 ctactcccca accgatgaac ggggacctaa acactccagg ccaataggcc atcctgtttt 7800
 ttcccttttt tttttttctt tttttttttt tttttttttt tttttttttt ttctcctttt 7860
 tttttcctct ttttttctt ttctttctt tgggtgctcc atcttagccc tagtcacggc 7920
 tagctgtgaa aggtccgtga gccgttgac tgcagagagt gctgatactg gcctctctgc 7980
 agatcaagt 7989

10

<210> 7
 <211> 7848
 <212> DNA
 <213> Hepatitis C virus

20

<400> 7
 gccagccccc gattgggggc gacactccac catagatcac tcccctgtga ggaactactg 60
 tcttcacgca gaaagcgtct agccaaggcg ttagtatgag tgtcgtgcag ctccaggac 120
 cccccctccc gggagagcca tagtggctcg cggaaccggt gagtacaccg gaattgccag 180
 gacgaccggg tcctttcttg gatcaaccg ctcaatgcct ggagatttgg gcgtgcccc 240

gcgagactgc tagccgagta ggttgggtc gcgaaaggcc ttgtgttact gctgatagg 300
 gtgcttgcga gtgccccggg aggttcgta gaccgtgcac catgagcacg aatcctaaac 360
 ctcaaagaaa aaccaaaggc cgcgccatga ttgaacaaga tggattgcac gcaggttctc 420
 cggccgcttg ggtagagagg ctattcggct atgactgggc acaacagaca atcggctgct 480
 ctgatccgc cggttccgg ctgtcagcg agggcgccc ggttctttt gtcaagaccg 540
 acctgtccg tgcctgaat gaactgcagg acgaggcagc gcggctatcg tggctggcca 600
 cgacggcgti tcttgcgca gctgtgctc acgtgtcac tgaagcggga agggactggc 660
 tgctattggg cgaagtgccg gggcaggatc tctgtcatc tcacctgct cctgccgaga 720
 aagtaecat catggtgat gcaatcggc ggttcatac gcttgatccg gctacctgcc 780
 cattcgacca ccaagcgaat catgcatcg agcgagcacg tactcggatg gaagccggtc 840
 ttgtgatca ggaatgatc gacgaagagc atcaggggtc cgcgccagcc gaactgttcg 900
 ccaggctcaa ggcgcgatg cccgacggcg aggatctctg ctgacccat ggcgatgctt 960
 gcttgccgaa tatcatggg gaaaatggc gcttttctgg attcatcac ttggccggc 1020
 tgggtgtggc ggaccgtat caggacatag cgttggctac ccgtgatatt gctgaagagc 1080

10

20

tggcggcga atgggcigac cgttcctcg tgcittacgg tatcgccgt cccgattcg 1140
agcgcatcg ctctatcgc ctcttigacg agttctctg agtttaaca gaccacaacg 1200
gtttccctct agcgggatca attcgcgcc tctccctccc cccccctaa cgttactggc 1260
cgaagccgt tggataaagg cgggtgicg ttgtctata tgtattttc caccatattg 1320
ccgtctttg gcaatgigag gggccgaaa cctggccctg tctcttgac gagcatcct 1380
aggggtcttt cccctctgc caaaggaag caaggctgt tgaatgtgt gaaggaagca 1440
gttctctgg aagctcttg aagacaaac acgtctgtg cgacctttg caggcagcgg 1500
aacccccac ctggcgacag gtgcctctg ggcacaaag cacgtgtata agataacct 1560
gcaaaggcgg cacaaccca gtgccagtt gtgagtigga tagttigga aagagtcac 1620
tggctctct caagctatt caacaaggg ctgaaggatg cccagaaggt acccattgt 1680
atgggatctg atctggggcc tcggtcaca tgcittacat gtgttagtc gaggttaaaa 1740
aacgtctagg cccccgaac cacggggacg tggttttct tgaacaaac cgataatacc 1800
atggcgccia ttacggccia ctccaacag acgcgaggcc tacttggctg catcatcact 1860
agcctcacag gccgggacag gaaccaggc gagggggagg tccaagtgt ctccaccgca 1920
acacaatct tcttggcgac ctgcgtcaat ggcgtgtgt ggactgtcta tcatgtgtcc 1980

10

20

ggctcaaaga ccttgcggg cccaaagggc ccaatcacc aaatgtacac caatgtggac 2040
 caggacctcg tgggtggca agcgccccc ggggcggtt ccttgacacc atgcacctgc 2100
 ggcagctcgg acctttactt ggtcacgagg catgccgatg tcattccgtt gcgccggcgg 2160
 ggcgacagca gggggagcct acttcccc agggccgtct cctacttgaa gggctcttcg 2220
 gggggccac tgcctgccc ctggggcac gctgtggca tcttcgggc tgcctgtgc 2280
 acccgagggg ttgcgaaggc ggtggacttt gtaccgctg agtctaigga aaccactatg 2340
 cgttccccgg tcttcacgga caactcgtcc cctccggccg taccgcagac attccaggig 2400
 gcccaictac acgcccctac tggtagcggc aagagcacia aggtgccggc tgcgtatgca 2460
 gcccaagggt ataagggtct tgtccigaac cgtccgtcg ccgccacctt aggtttcggg 2520
 gcgtatatgt ctaaggcaca tggatcgac cctaacatca gaaccgggtt aaggaccatc 2580
 accacgggtg ccccatcac gtactccacc tatggcaagt tcttgccga cggtggttgc 2640
 tctggggcgg cctatgacat cataatatgt gatgagtgcc actcaactga ctgaccact 2700
 atcctgggca tcggcacagt cctggaccaa gcggagacgg cggagcgcg actcgtcgtg 2760
 ctgccaccg ctacgcctcc gggatcggc accgtgccac atccaaacat cgaggaggig 2820

10

20

gctctgtcca gcactggaga aatccccctt tatggcaaag ccatcccat cgagaccatc 2880
 aaggggggga ggcaccicat ttcttgccat tccaagaaga aatgtgatga gctcgccgcg 2940
 aagctgtccg gcctcggact caatgtctga gcataatacc ggggccttga tgtatccgtc 3000
 ataccaacta gcggagacgt catgtctga gcaacggacg ctctaataac gggccttacc 3060
 ggcgatttcg actcagtgat cgactgcaat acatgtgtca cccagacagi cgacttcagc 3120
 cggacccga ccttcacat tgagacgacg accgtgccac aagacgcggt gtcacgctcg 3180
 cagcggcgag gcaggactgg taggggcagg atgggcattt acaggtttgi gactccagga 3240
 gaacggccct cgggcatgtt cgattcctcg gtctgtgctg agtgctatga cgcgggctgt 3300
 gcttggtagc agctcacgcc cgccgagacc tcagttaggt tgcgggctta cctaaacaca 3360
 ccagggttgc ccgtctgcca ggaccatctg gagttctggg agagcgtctt tacaggccctc 3420
 acccacatag acgcccattt ctgttcccag actaagcagg caggagacaa ctccccctac 3480
 ctggtagcat accaggctac gggtgtgccg agggctcagg ctccacctcc atcgtgggac 3540
 caaatgtgga agtgtctcat acggctaaag cctacgtctg acgggccaac gccccgtctg 3600
 tataggctgg gagccgttca aaacgaggtt actaccacac accccataac caaatacatc 3660
 atggcatgca tgtcggctga cctggaggtc gtcacgagca cctgggtgtc ggtaggcgga 3720

10

20

gtcctagcag ccttgccgc gttatgccig acaacaggca gcgtggcat tgtggcagg 3780
 atcatcttgi ccggaagcc ggccatcatt ccgacaggg aagtcctta cgggagttc 3840
 gatgagatgg aagagtcgc ctacacctc cttacatcg aacaggaat gcagctgcc 3900
 gaacaattca aacagaaggc aatcgggttg ctgcaaacag ccaccaagca agcggaggct 3960
 gcctcctccg tggtggaatc caatggcgg accctcgaag cttctgggc gaagcatag 4020
 tggaaattca tcagcgggat acaatatita gcaggcttgi ccactcigcc tggcaacccc 4080
 gcgatagcat cactgatggc attcacagcc tctatcacca gcccgctac cacccaacat 4140
 accctcctgi ttaacatcct ggggggatgg gtggcgccc aacttgctcc tcccagcgt 4200
 gcttcigcti tcgtaggcgc cggcatcgti ggagcggctg ttggcagcat aggccttggg 4260
 aaggctcttg tggatatit ggacagttat ggagcagggg tggcaggcgc gctcgtggcc 4320
 tttaaagtca tgagcggcga gatccctcc accgaggacc tggtaacct atccctgct 4380
 atcctcctcc ctggcgccci agtcgtcggg gtcgtgtgcg cagcgataci gcgtcggcac 4440
 gggggcccag gggagggggc tgtgcagtgg atgaaccggc tgatagcgtt cgcttcgcgg 4500
 ggtaaccacg tctccccac gcactatgtg cctgagagcg acgtgcagc acgtgtcact 4560

10

20

cagatcctct ctagtcttac catcaticag ctgctgaaga ggcttcacca gtggatcaac 4620
gaggactgct ccacgccatg ctccggctcg tggctaagag atgtttggga ttggatatgc 4680
acggigtiga cigatttcaa gacctggctc cagtccaagc tcctgccgcg attgccggga 4740
gtccccitct tctcaigtca acgtgggtac aaggagctct ggccgggcga cggcatcatg 4800
caaaccacct gcccatgttg agcacagatc accggacatg tgaaaaacgg ttccatgagg 4860
atcgiggggc ctaggacctg tagtaacacg tggcatggaa cattccccat taacgcgtac 4920
accacgggcc ctgacagcc ctccccggcg ccaaattatt ctaggcgcti gtggcgggtg 4980
gtgctgagg agtacgtgga ggttacgcgg gtgggggatt tccactacgt gacggcatg 5040
accacigaca acgtaaagtg cccgtgtcag gtccggccc ccgaattctt cacagaagtg 5100
gatggggtc ggttgcacag gtacgtcca gcgtgcaaac ccttcctacg ggaggaggic 5160
acattcctgg tcgggtctaa tcaatactg gtgggtcac agctcccatg cgagcccgaa 5220
ccggacgtag cagtgtcac ttccatgtc accgacccct cccacattac ggccggagacg 5280
gctaagcgta ggctggccag gggatctccc ccttccttgg ccagctatc agctagccag 5340
ctgtactctt tcgagccgti ccaagcggag gaggaigaga gggaaagtatc cgttccggcg 5400
gagatcctgc ggaggiccag gaaattccct cgagcgatgc ccataagggc acgcccggat 5460

10

20

tacaaccctc cactgltaga gtcciggaag gacccggact acgtccctcc agtgggtacac 5520
 ggggtgccat tgccgcctgc caaggccctt ccgataccac ctccacggag gaagaggacg 5580
 gtgtcctgti cagaatctac cgtgtcttct gccttggcgg agctcgccac aaagaccttc 5640
 ggcagctccg aatcgtcggc cgtcgacagc ggcacggcaa cggcctctcc tgaccagccc 5700
 tccgacgacg gcgacgcggg atccgacgtt gagtcttact cctccatgcc ccccttgag 5760
 ggggagccgg gggatccga tctcagcgac gggctcttgg ctaccgtiaag cgaggaggct 5820
 agtggaggacg tcgtcgtcg ctcgatgtcc tacacatgga caggcgccct gatcacgcca 5880
 tgcgtcgcgg aggaaaccaa gctgccatc aatgcactga gcaactcttt gctccgtcac 5940
 cacaacttgg tctatgttac aacatctcgc agcgcaagcc tgcggcagaa gaaggtcacc 6000
 tttagacagac tgcaggctct ggacgaccac taccgggacg tgctcaagga gatgaaggcg 6060
 aaggcgicca cagttaaggc taaacttcta tccgtggagg aagcctgtaa gctgacgccc 6120
 ccacatcgg ccagatctaa atttggctat ggggcaaagg acgtccggaa cctatccagc 6180
 aaggccgtta accacatccg ctccgtgtgg aaggacttgc tggaagacac tgagacacca 6240
 attgacacca ccatcatggc aaaaaatgag gttttctgcg tccaaccaga gaaggggggc 6300

10

20

cgcaagccag ctgccttat cgtattccca gatttggggg ttctgtgtg cgagaaaatg 6360
gccctttacg atgtggctc caccctccct caggccgtga tgggctctc atacggattc 6420
caatactctc cggacagcg ggtcgagtic cttgtgaatg cctggaaagc gaagaaatgc 6480
cctatgggct tcgcatatga caccgcgtgt ttgactcaa cggtcactga gaatgacatc 6540
cggtgtgagg agtcaatcta ccaatgtgt gacttggccc ccgaagccag acaggccata 6600
aggtcgtca cagagcggct ttacatcggg ggccccctga ctaattctaa agggcagaac 6660
tgcggctatc gccggtgccg cgcgagcgtt gtactgacga ccagctgcgg taataccctc 6720
acatgttaci tgaagccgc tgcggcctgt cgagctgcga agctccagga ctgcacgatg 6780
ctcgtatgcg gagacgacct tgcgttatc tctgaaagcg cggggaccca agaggacgag 6840
gcgagcctac gggccttac ggaggctatg actagatact ctgcccccc tggggaccgc 6900
cccaaaccag aatagcacti ggagtigata acatcatgct cctccaatgt gtcagtcgcg 6960
cacgatgcat cttgcaaaag ggtgtactat ctacccgtg accccaccac ccccttgcg 7020
cgggcctgct gggagacagc tagacacact ccagicaatt cttggctagg caacatcatc 7080
atgtatgcg ccaccttgtg ggcaaggatg atcctgatga ctcatctctt ctccatctt 7140
ctagctcagg aacaactga aaaagcccta gattgtcaga tctacggggc ctgttactcc 7200

10

20

attgagccac ttagcctacc tcagatcatt caacgactcc atggccttag cgcattttca 7260
 ctccatagtt acctccagg tgagatcaat agggtaggtt catgcctcag gaaacttggg 7320
 gtaccgacct tgcgagctg gagacatcg gccagaagtg tccgcgctag gctactgtcc 7380
 cagggggga ggcctgccac ttgtggcaag taccctttca actgggcagi aaggaccaag 7440
 ctcaaactca ctccaatccc ggcctcgctc cagttggatt tatccagctg gticgttgtc 7500
 ggttacagcg ggggagacat atatcacagc ctgtctctg cccgaccccg ctggttcatg 7560
 tggtgcttac tcttactttc tgiagggta ggcattatc tactcccaa ccgatgaacg 7620
 gggacctaaa cactccaggc caataggcca tctgttttt ttccctttt tttttcttt 7680
 ttttttttt ttttttttt ttttttttt tctcttttt ttctctctt ttttcttt 7740
 tctttcttt ggtagctcca tcttagccct agtcacggct agctgtgaaa ggtccgtgag 7800
 ccgcttgact gcagagagtg ctgatactgg cctctctgca gatcaagt 7848

10

20

- <210> 8
- <211> 7987
- <212> DNA
- <213> Hepatitis C virus

<400> 8

```

gccagcccc gattggggc gacatccac catagatcac tccccgtga ggaactactg    60
tcttcacgca gaaagcgtct agccaatggcg ttagtatgag tctcgtcag cctccaggac    120
ccccctccc gggagagcca tagtggctcg cggaaccggi gagtacaccg gaattgccag    180
gacgaccggg tcctttcttg gatcaacccg ctcaatgcct ggagatttgg gcgtgcccc    240
gcgagactgc tagccgagta ggttgggtc gcgaaaggcc ttgtgttact gccatgatagg    300
gtgcttgcga gtgccccggg aggtctcgtg gaccgtcac catgagcac aatcctaac    360
ctcaaagaaa aaccaaaggc cgcgccatga tgaacaaga tggattgcac gcaggttctc    420
cgcccgcttg ggtggagagg ctattcggct atgactgggc acaacagaca atcggtctgt    480
ctgatccgc cggttccgg cgtcagcgc aggggcgccc ggttctttt gtcaagaccg    540
acctgtccgg tgcctgaat gaactgcagg acgaggcagc gcggctatcg tggctggcca    600
cgacggcgt tccttgcga gctgtgctcg acgtgtcac tgaagcggga agggactggc    660
tgctattggg cgaagtgcg gggcaggatc tctgtcatc tcacctgtct ctgcccaga    720
aagtatccat catggctgat gcaatcggc ggctgcatac gcttgatccg gctacctgcc    780
cattgacca ccaagcgaac catgcatcg agcgagcac tactcggatg gaagccggtc    840

```

10

20

ttgtcgtatca ggaatgatctg gacgaagagc atcaggggct cgcgccagcc gaactgttctg 900
 ccaggctcaa ggcgcgcatg cccgacggcg aggatctctg cgtagccat ggcgatgcct 960
 gcttgcgaa tatcatggig gaaaatggcc gcttttctgg attcatcgac tgggccggc 1020
 tgggtgtggc ggaccgctat caggacatag cgttggctac ccgtgatatt gcigaagagc 1080
 ttggcggcga atgggtcgac cgcttctctg tgccttacgg tatcgccgt cccgattcgc 1140
 agcgcatcgc ctctatcgc ctcttgacg agttctctg agtttaaaca gaccacaacg 1200
 gtctccctct agcgggatca attccgccc tctccctccc cccccctaa cgttactggc 1260
 cgaagccgt tggataaagg ccggtgtcgc ttgtctata tgttatitc caccatattg 1320
 ccgtcttttg gcaatgtgag ggccccgaaa cctggccctg tcttctgac gagcatcct 1380
 aggggtcttt cccctctgc caaaggaatg caaggctgt tgaatgtcgt gaaggaagca 1440
 gtctctctgg aagcttctg aagacaaaca acgtctgtag cgacctttg caggcagcgg 1500
 aacccccac ctggcgacag gtgctctgc ggccaaaagc cacgtgtata agatacacct 1560
 gcaaaggcgg cacaaccca gtgccagtt gtgagtggga tagttgtgga aagagicaaa 1620
 tggctctct caagctatt caacaagggg ctgaaggatg cccagaaggt acccattgt 1680
 atgggatctg atctggggcc tcggtgcaca tgccttacat gtgttagtc gaggttaaaa 1740

10

20

aacgtctagg cccccgaac cacggggacg tggttttcct tggaaaaaca cgataatacc 1800
 atggcgcccta ttacggcccta ctccaacag acgcgaggcc tacttggctg catcatcact 1860
 agcctcacag gccgggacag gaaccaggtc gagggggagg tccaagtggt cttcaccgca 1920
 acacaatctt tcttggcgac ctgcgtcaat ggcgtgtgtt ggactgtcta tcatggtgcc 1980
 ggctcaaaga ccttggccgg cccaaggggc ccaatcaccc aaatgtacac caatgtggac 2040
 caggacctcg tggcgggcg agcgcacccc ggggcgcgtt ccttgacacc atgcacctgc 2100
 ggcagctcgg acctttactt ggtcacgagg catgccgaig tcattccgtt gcgccggcgg 2160
 ggcgacagca gggggagcct acttccccc agggccgtct cctacttgaa gggctcttcg 2220
 ggcggtcac tgctcigccc ctggggcac gcgtgggca tcttcgggc tgccgtgtgc 2280
 acccgagggg ttcgaaggc ggtggacttt gtaccgctcg agtctaigga aaccactaig 2340
 cggccccgg tcttcacgga caactcgtcc ctccggccg taccgcagac attccaggig 2400
 gcccaictac acgcccctac tggtagcggc aagagcacta aggtgccggc tgcgtatgca 2460
 gcccaagggt ataaggigt tgtccigaac ccgtccgtcg ccgccacctt aggtttcggg 2520
 gcgtatatgt ctaaggcaca tggtaicgac ctaacatca gaaccgggtt aaggaccatc 2580

10

20

accacgggtg ccccatcac gtactccacc tatggcaagt ttcttgccga cggtaggttc 2640
tcggggggcg cctatgacat cataatatgt gatgagtgcc actcaactga ctgaccacti 2700
atccigggca tcggcacagi cctggaccaa gcggagacgg cggagcgcg actcgtcgtg 2760
ctgccaccg ctacgcctcc gggatcggtc accgtgccac atccaaacat cgaggaggig 2820
gtctgtcca gcactggaga aatcccciti tatggcaaag ccatcccat cgagaccatc 2880
aaggggggga ggcacctcat ttctgcat tccaagaaga aatgigtga gtcgccgcg 2940
aagctgtccg gcctcggact caatgctga gcatattacc gggccttga tgtatccgtc 3000
ataccaacta gcggagacgt cattgtcga gcaacggacg ctctaatac gggcttiacc 3060
ggcgatttcg actcagtgat cgactgcaat acatgtgtca cccagacagi cgattcagc 3120
cggacccga ccttcacat tgagacgacg accgtgccac aagacgggi gtcacgtcg 3180
cagcggcgag gcaggactgg tagggcagg atgggcatti acaggittgt gattccagga 3240
gaacggccct cgggcatgtt cgattcctcg gtctgtgcg agtgctatga cggggctgt 3300
gcttggtacg agctacgcc cgccgagacc tcagttaggi tgcgggctta cctaaacaca 3360
ccagggttgc ccgtcgtcca ggaccatctg gagttctggg agagcgtcti tacaggctc 3420
accacatag acgcccatti ctgtcccag actaagcagg caggagacaa ctcccctac 3480

10

20

ctggtagcat accaggctac gggtgctgcc agggctcagg cccacctcc atcgtgggac 3540
 caaatgtgga agtgttcac acggctaaag cctacgtgc acgggccaac gcccctgtg 3600
 tataggctgg gagccgttca aaacgagggt actaccacac accccataac caaatacatc 3660
 atggcatgca tgtcggctga cctggaggtc gtcacagca cctgggtgtc ggtaggcgga 3720
 gtcctagcag ctctggccgc gtattgcctg acaacaggca gcgtggcatc tgtgggcagg 3780
 atcatctgti ccggaagcc ggccatcatt cccacaggg aagtcctta ccgggagttc 3840
 gatgagatgg aagagtcgc ctacacctc cttacatcg aacagggaat gcagctgcc 3900
 gaacaattca aacagaaggc aatcgggttg ctgcaaacag ccaccaagca agcggaggct 3960
 gtgtctccg tggtggaatc caagtggcgg accctgaag ccttcgggc gaagcatatg 4020
 tggaaattca tcagcgggat acaatattta gcaggcttgi ccactctgcc tggcaacccc 4080
 gcgatagcat cactgatggc attcacagcc tctatcacca gcccgtcac cacccaacat 4140
 accctcctgt ttaacatcci ggggggatgg gtggccgcc aacttgctcc tcccagcgt 4200
 gcttcgtctt tcgtaggcgc cggcatcgt ggagcggctg tiggcagcat aggccttggg 4260
 aaggctcttg tggatatttt ggcaggttat ggagcagggg tggcaggcgc gctcgtggcc 4320

10

20

tttaaggta tgagcggcga gatccctcc accgaggacc tggtaacct aciccttgc 4380
 atcctctccc cttgcgccc agtcgtcggg gtcgtgtgcg cagcgatact gcgtcggcac 4440
 gttggcccag gggagggggc tgtgcagtgg atgaaccggc tgatagcgtt cgcttcgcgg 4500
 ggtaaccacg tcicccccac gcactatgtg cctgagagcg acgttcgacg acgtgtcact 4560
 cagatcctct ctatctttac catcaticag ctgctgaaga ggcttcacca gtggatcaac 4620
 gaggactgct ccacccaig ctccggctcg tggctaagag atgtttggga tiggatatgc 4680
 acggtgttga ctgatttcaa gacctggctc cagtccaagc tcttcccgcg attgccggga 4740
 gtcccttcti tcicagtca acgtgggtac aaggagcti ggcggggcga cggcatcatg 4800
 caaaccacct gcccaigtgg agcacagatc accggacaig tgaaaaacgg ttccaigagg 4860
 atcgtggggc ctaggacctg tagtaacacg tggcatggaa cattcccat taacgcgtac 4920
 accacgggcc cctgcacgcc ctccccggcg ccaaattatt ctaggcgcti gtggcgggtg 4980
 gctgcigagg agtacgttga ggttacgcgg gttggggatt tccactacgt gacgggcatg 5040
 accacigaca acgtaaagt cccgtgtcag gtccggccc ccgaattctt cacagaagt 5100
 gatgggtgc ggttgcacag gtacgtcca gcgtgcaaac ccttcttac ggaggaggtc 5160
 acattcctgg tcgggtcaa tcaatactg gtgggtcac agctcccatg cgagcccgaa 5220

10

20

ccggacgtag cagtgctcac ttccaigctc accgacccct cccacattac ggccggagacg 5280
 gctaagcgta ggctggccag gggatcctcc ccttccttgg ccagctcatc agctatccag 5340
 ctgtctgcgc ctctcttgaa ggcaacatgc actaccgctc atgactcccc ggacgctgac 5400
 ctcatcgagg ccaacctctt gttggcggcag gagaigggcg ggaacatcac ccgcgtggag 5460
 tcagaaaata aggtagtaat ttggactctt ttcgagccgc tccaagcgga ggaggatgag 5520
 aggggaagtat ccgttcggc ggagatcctg ccgaggicca ggaaatctcc tcgagcgatg 5580
 cccatatggg cagccccgga ttacaacctt ccactgtag agtcciggaa ggacccggac 5640
 tacgtccctc cagtggtaca cgggtgtcca ttgccgctg ccaaggcccc tccgatacca 5700
 ctccacgga ggaagaggac ggttgtctg tcagaatcta ccgtgtctt tgccttggcg 5760
 gagctcgcca caaagacctt cggcagctcc gaatcgtcgg ccgtcgacag cggcacggca 5820
 acggcctctc ctgaccagcc ctccgacgac ggcgacgcgg gatccgacgt tgagtcgtac 5880
 tcttccatgc cccccctga gggggagccg ggggatcccg atctcagcga cgggtcttgg 5940
 tctaccgtaa gcgaggaggc tagtgaggac gtcgtctgtc gctcgatgtc ctacacatgg 6000
 acaggcgccc tgatcacgcc atgcgtcgcg gaggaacca agctgcccct caatgcactg 6060

10

20

agcaactctt tgcctcgta ccacaacttg gtctatgta caacatctcg cagcgcaagc 6120
ctgcggcaga agaaggcac ctttgacaga ctgcaggctc tggacgacca ctaccgggac 6180
gtgtcaagg agatgaaggc gaaggcgtcc acagttaagg ctaaacttct atccgtggag 6240
gaagccigta agctgacgcc cccacattcg gccagatcta aatttggcta tggggcaaag 6300
gacgtccgga acctatccag caaggccgtt aaccacatcc gtctcgtgtg gaaggacttg 6360
ctggaagaca ctgagacacc aattgacacc accatcatgg caaaaaatga ggttttctgc 6420
gtccaaccag agaagggggg ccgcaagcca gtctgccctta tcgtattccc agatttgggg 6480
gttcgtgtgt gcgagaaaat ggccctttac gatgtggtct ccacctccc tcaggccgtg 6540
atgggtctct catacggatt ccaatactct cctggacagc gggtcgagtt cctggigaat 6600
gccctggaaag cgaagaaatg cctatgggc ttgcataatg acaccgctg ttttgactca 6660
acggctactg agaatgacat ccgtgttag gagtcaatct accaatgttg tgacttggcc 6720
cccgaagcca gacaggccat aaggctgctc acagagcggc ttatcatcgg gggcccccctg 6780
actaatctta aagggcagaa ctgcggctat cgccgggtgcc gcgcgagcgg tgtactgacg 6840
accagctgcg gtaataccct cacatgttac ttgaaggccg ctgcggcctg tcgagctgcg 6900
aagctccagg actgcacgat gtctgtatgc ggagacgacc ttgtcgitat ctgtgaaagc 6960

10

20

gcggggaccc aagaggacga ggcgagccia cgggccttca cggaggctat gactagatac 7020
 tcigccccc ciggggaccc gcccaaacca gaatacgact tggagtigat aacatcatgc 7080
 tctccaatg tgcagtcgc gcacgatga tctggcaaaa ggggtgtacta tctcaccgt 7140
 gacccacca ccccccctgc gcgggctgcg tgggagacag ctgacacac tccagicaat 7200
 tcttggctag gcaacatcat catgtatgcg cccacctgtt gggcaaggat gatcctgatg 7260
 atcatittci tctccatcti tctagctcag gaacaacttg aaaaagccci agattgtcag 7320
 atctacgggg cctgttactc cattgagcca ctgacctac ctgagatcat tcaacgactc 7380
 catggccctt gcgcattttc atccatagt tactctccag gtgagatcaa tagggiggct 7440
 tcatgcctca ggaaacttgg ggtaccgcc ttcgagctci ggagacatcg ggcagaagt 7500
 gtccgcctia ggctactgtc ccaggggggg agggctgcca ctgttgcaa gtacctttc 7560
 aactgggcag taaggaccaa gctcaaacic atccaatcc cggctgcgtc ccagtiggat 7620
 ttatccagci ggttcgttc tggttacagc gggggagaca tatatcacag cctgtctcgt 7680
 gcccgacccc gctggttcat ggggtgcta ctctacttt cgtaggggt aggcatttat 7740
 ctactcccca accgaigaac ggggagctaa acatccagg ccaataggcc atcctgtttt 7800

10

20

ttccctttt ttttttctt ttttttttt ttttttttt ttttttttt ctccttttt 7860
 ttccctttt ttccctttt ctttctttg gttgctccat cttagcccta gtcacggcta 7920
 gctgtgaaag gtccgtgagc cgtttgactg cagagagtgc tgatactggc cttctgcag 7980
 atcaagt 7987

<210> 9

10

<211> 7989

<212> DNA

<213> Hepatitis C virus

<400> 9

gccagccccc gattgggggc gacacccac catagatcac tccccgtga ggaactactg 60
 tcttcacgca gaaagcgtci agccaaggcg ttagtatgag tgtcgtcag cctccaggac 120
 cccccctccc gggagagcca tagtggctcg cggaaccggi gactacaccg gaattgccag 180
 gacgaccggg tctttcttg gatcaaccg ctcagtccct ggagatttgg gcgtgcccc 240
 gcgagactgc tagccgagta gtgttgggtc gcgaaaggcc ttgtgttaci gccgtatagg 300
 gtgttgcga gtgccccggg aggtctcgta gaccgtgcac catgagcacg aatcctaaac 360
 ctcaaagaaa aaccaaaggc cgcgccatga ttgaacaaga tggattgcac gcaggttctc 420

20

cggccgcttg ggaggagagg ctattcggct atgactgggc acaacagaca atcggctgct 480
 ctgatccgc cggttccgg ctgtcagcg aggggcgcc gggtctttt gtcaagaccg 540
 acctgtccgg tggcctgaat gaactgcagg acgaggcagc gcggctatcg tggctggcca 600
 cgacggcggt tcttgcgca gctgtgctcg acgtgtcac tgaagcggga agggactggc 660
 tgcattggg cgaagtccg gggcaggatc tctgtcatc tcaccttgc cctgccgaga 720
 aagtatccat catggctgat gcaatcggc ggctgcatac gcttgatccg gctacctgcc 780
 cattcgacca ccaagcgaat catcgcatcg agcagcacg tactcggatg gaagccggtc 840
 ttgtgatca ggaatgatcg gacgaagagc atcagggcgt cgcgccagcc gaactgttcg 900
 ccaggctcaa ggccgcgaig cccgacggcg aggatctcgt cgigacccat ggcgaigcct 960
 gcttgcgaa tatcatggg gaaaatggc gcttttctgg attcatcgac tgtggccggc 1020
 tgggtgtggc ggaccgctat caggacatag cgttggctac ccgtgatatt gcigaagagc 1080
 ttggcggcga atgggtcgac cgcttcctcg tgccttacgg tatcgccgt cccgattcgc 1140
 agcgcatcgc ctctatcgc ctcttgacg agttcttcg agtttaaca gaccacaacg 1200
 gtttccctct agcgggatca attccgccc tcctccccc cccccctaa cgttactggc 1260
 cgaagccgt tggataaagg ccggtgtgcg ttgtctata tgttatctt caccatattg 1320

10

20

ccgtcttttg gcaatgtgag ggcccggaaa cctggccctg tcttcttgac gagcattcct 1380
 aggggtcttt cccctctcgc caaaggaatg caaggctctg tgaatgtcgt gaaggaagca 1440
 gtctctctgg aagcttcttg aagacaaaca acgtctgtag cgacctttg caggcagcgg 1500
 aacccccac ctggcgacag gtgctctgc ggccaaaagc cactgtata agataacct 1560
 gcaaaggcgg cacaaccca gtgccacgtt gtgagtigga tagttigga aagagtcata 1620
 tggctctctt caagctatt caacaagggg ctgaaggatg cccagaaggi acccattgt 1680
 atgggatctg atctggggcc tcggtcaca tgccttacct gtgtttagtc gaggttaaaa 1740
 aacgtctagg cccccgaac cagggggacg tggttttctt ttgaaaaaca cgataatacc 1800
 atggcgcta ttacggcta ctccaacag acgcgaggcc tacttggctg catcatcact 1860
 agcctcacag gccgggacag gaaccaggct gagggggagg tccaagtgtt ctccaccgca 1920
 acacaatctt tcttggcgac ctgcgtcaat ggcgtgtgtt ggactgtcta tcatgttgcc 1980
 ggctcaaaga ccttgcggg cccaaagggc ccaatcacc aaatgtacac caatgtggac 2040
 caggacctcg tcggciggca agcggcccc ggggcgctt ccttgacacc atgcacctgc 2100
 ggcagctcgg acctttactt ggtcacgagg catgccgatg tcattccgtt gcgccggcgg 2160

10

20

ggcgacagca gggggagcct acitcccccc agggccgctc cctacttgaa gggctcttcg 2220
 ggcgggccac tgcctgccc ctggggcac gcctgggca tcttcgggc tgcctgtgc 2280
 acccgagggg tgcgaaggc ggtagcttt gtaaccgtcg agtctatgga aaccactatg 2340
 cggccccgg tcttcacgga caactcgtcc ctccggccg taccgcagac attccaggcg 2400
 gcccatctac acgcccctac tggtagcggc aagagcacta aggtgccggc tgcgtatgca 2460
 gcccaagggt ataaggctgt tctccgaac cgtccgtcg ccgccacct aggtttcggg 2520
 gcgtatatgt ctaaggcaca tggatcgac ctaaatca gaaccgggt aaggaccatc 2580
 acccgggtg ccccatcac gtactccacc taiggcaagi tcttgccga cggtggttc 2640
 tctggggcg cctatgacat cataatatgt gatgagtcg actcaactga ctgcaccat 2700
 atcctgggca tcggcacagt ctggaccaa gcggagacgg ctggagcgcg actcgtcgtg 2760
 ctgccaccg ctacccctc gggatcggc accgtccac atccaaacat cgaggaggcg 2820
 gctctgtcca gcactggaga aatccccctt taiggcaaag ccatacccat cgagaccatc 2880
 aaggggggga ggcacctcat tttctgcat tccaagaaga aatgtgatga gctcggcgcg 2940
 aagctgtccg gccctggact caatctgta gcataatcc ggggccttga tctatccgtc 3000
 ataccaacta gcggagacgt cattgtcgt gcaacggacg ctctaatgac gggctttacc 3060

10

20

ggcgatttcg actcagtgat cgactgcaat acatgtgtca cccagacagi cgacttcagc 3120
ctggacccga ccttcaccai tgagacgacg accgtgccac aagacgcggt gtcacgctcg 3180
cagcggcgag gcaggactgg taggggcagg atgggcattt acaggtttgi gactccagga 3240
gaacggccct cgggcatggt cgattcctcg gtctgtgctg agtgctatga cgccggctgt 3300
gcttggtagc agctcacgcc cgccgagacc tcagttaggt tgcgggccta cctaacaca 3360
ccagggttgc ccgtcigcca ggaccatctg gatttcggg agagcgtctt tacaggctc 3420
accacatag acgcccattt ctgtcccag actaagcagg caggagacaa ctcccctac 3480
ctggtagcat accaggctac gggtgctgcc agggctcagg ctccacctcc atcgtgggac 3540
caaatgtggg agtgtctcat acggctaaag cctacgtgc acgggccaac gcccctgtg 3600
tataggctgg gagccgttca aaacagggtt actaccacac acccataac caaatacatc 3660
atggcatgca tgtcggctga cctggaggic gtcacgagca cctgggtgtc ggtaggcgga 3720
gtcctagcag ctctggccgc gtattgcctg acaacaggca gcgtggctat tgtgggcagg 3780
atcatcttgi ccggaagcc ggccatcatt cccgacaggg aagtccttta ccgggagttc 3840
gatgagatgg aagagtcgc ctcacacctc cttacatcg aacagggaat gcagctgcc 3900

10

20

gaacaattca aacagaaggc aatcgggttg ctgcaaacag ccaccaagca agcggaggct 3960
gtctctcccg tggtaggaatc caagtggcgg accctcgaag ccttcigggc gaagcataatg 4020
tggaaattca tcagcgggat acaatattia gcaggcttgi ccactctgcc tggcaacccc 4080
gcgatagcat cactgatggc attcacagcc tctatcacca gccgcctcac caccaacat 4140
accctcctgi ttaacatcct ggggggatgg gtggccgcc aacttgctcc tcccagcgt 4200
gcttcigctt tcttaggcgc cggcatcgt ggagcggcig tiggcagcat aggccttggg 4260
aaggctcttg tggatatttt ggcaggttat ggagcagggg tggcaggcgc gctcgtggcc 4320
tttaaggta tgagcggcga gatccctcc accgaggacc tggtaacct atccctctgt 4380
atcctctccc cggcgccct agtcgtcggg gtctgtgtcg cagcgatact gcgtcggcac 4440
gtggcccag gggagggggc tgtcagttgg atgaaccggc tgatagcgtt cgttcgcgg 4500
ggtaaccacg tciccccccac gcactatgtg ctgagagcg acgtgcagc acgtgtcaci 4560
cagatcctct cggctcttac catcctcag ctgtgaaga ggcttcacca gggatcaac 4620
gaggactgtc ccacccaatg ctccggctcg tggctaagag atgtttggga tggatatgc 4680
acgggtttga ctgatticaa gacctggctc cagccaagc tctgcccg attgccggga 4740
gtcccttcti tctcatgtca acgtgggtac aaggaggtci ggcggggcga cggcatcatg 4800

10

20

caaaccacct gcccaigtgg agcacagatc accggacaig tgaaaaacgg ticcaigagg 4860
atcgtggggc ctaggacctg tagtaacacg tggcaiggaa cattcccat taacgcgtac 4920
accacgggcc ctgcacgcc cccccggcg ccaaattatt ctaggcgct gggcgggtg 4980
gctgcigagg agtacgtgga ggttacgcgg ggggggatt tccactacgt gacgggcaig 5040
accactgaca acgtaaagt cccgtgtcag gticcggccc ccgaattctt cacagaagt 5100
gaigggtgc ggtgtcacag gtacgtcca gcgtgcaaac ccttcctacg ggaggagtc 5160
acattcctgg tcgggtcaa tcaatacctg gtgggtcac agtcaccaig cgagcccgaa 5220
ccggacgtag cagtgtcac ticcaigtc accgacccct cccacattac ggcgagacg 5280
gctaagcgtg ggttgccag gggatcccc ccttccttgg ccagtcac agctagccag 5340
cgtcgtgc cttcttgaa ggcaacatgc actaccgtc atgaccccc ggacgtgac 5400
ctcatcgagg ccaacctctt gttggggcag gagatggcg ggaacatcac ccgcgtggag 5460
tcagaaaata aggtagtaai ttggactct ttcgagccgc tccaagcga ggaggatgag 5520
agggaagtat ccgttcggc ggagatcctg cggaggicca ggaaatccc tcgagcgtg 5580
cccatatggg cagccccga tiacaacctt ccactgttag agtcctggaa ggacccggac 5640

10

20

tacgtccctc cagtggatca cgggtgtcca ttgccgcctg ccaaggcccc tccgatacca 5700
cciccacgga ggaagaggac gggtgtcttg tcagaatcta ccgtgtcttc tgccttggcg 5760
gagctcgcca caaagaccit cggcagctcc gaatcgtcgg ccgtcgacag cggcacggca 5820
acggcccttc ctgaccagcc ctccgacgac ggcgacgcgg gatccgacgt tgagtcgtac 5880
tcttccatgc ccccccttga gggggagccg ggggatcccg atctcagcga cgggtcttgg 5940
tctaccgtaa gcgaggaggc tagtgaggac gtcgtctgtc gctcgatgtc ctacacatgg 6000
acaggcgccc tgatcacgcc atgcgtcgcg gaggaaacca agctgccccat caatgcactg 6060
agcaactctt tgtccgtca ccacaacttg gtctatgcta caacatctcg cagcgcaagc 6120
ctgcggcaga agaaggcac ctttgacaga ctgcaggtcc tggacgacca ctaccgggac 6180
gtgcicaagg agatgaaggc gaaggcgtcc acagttaagg cttaaacttct atccgtggag 6240
gaagcctgta agctgacgcc cccacattcg gccagatcta aatttggcta tggggcaaag 6300
gacgtccgga acctatccag caaggccgtt aaccacatcc gctccgtgtg gaaggacttg 6360
ctggaagaca ctgagacacc aattgacacc acctcatgg caaaaaatga ggttttctgc 6420
gtccaaccag agaagggggg ccgcaagcca gctcgcccta tcgtattccc agatttgggg 6480
gttcgtgtgt gcgagaaaat gggccctttac gatgtggtct ccacctccc tcaggccgtg 6540

10

20

atgggtcttt cataggatt ccaatctct cctggacagc gggtcgagtt cctggigaat 6600
 gccitggaaag cgaagaaatg cctatgggc ttgcataatg acaccgctg ttttgactca 6660
 acggtcactg agaatgacat cctgttgag gagtcaatct accaatgttg tgacttggcc 6720
 cccgaagcca gacaggccat aaggctgctc acagagcggc ttatcatcgg gggcccccig 6780
 actaatctta aagggcagaa ctgcggctat cggcggigcc gcgcgagcgg tgtactgacg 6840
 accagctgcg gtaataccct cacatgttac ttgaaggccg ctgcggcctg tcgagctgcg 6900
 aagctccagg actgcacgat gctcgtatgc ggagacgacc tigtcttat ctgtgaaagc 6960
 gcggggaccc aagaggacga ggcgagccia cgggccttca cggaggctat gactagatac 7020
 tcigccccc ctggggaccc gcccaacca gaatacgact tggagtigat aacatcatgc 7080
 tcctccaatg tgcagtcgc gcacgatga tcctggcaaaa ggggtgtacta tctacccctg 7140
 gacccacca ccccccctgc gcgggctgcg tggagacag ctagacacac tccagicaat 7200
 tcctggctag gcaacatcat catgtatgcg cccacctgtg gggcaaggat gatcctgatg 7260
 actcatttct tctccatctt tctagctcag gaacaacttg aaaaagccct agattgtcag 7320
 atctacgggg cctgttactc cattagcca ctgacctac ctcatcat tcaacgactc 7380

10

20

catggcctta gcgcattttc aciccatagt tactctccag gtgagatcaa tagggtaggt 7440
 tcatgcctca ggaaacttgg ggtaccgccc ttgcgagctt ggagacatcg ggccagaagt 7500
 gtccgcgcta ggctactgtc ccaggggggg agggctgcca ctgtggcaa gtacctcttc 7560
 aactgggcag taaggaccaa gctcaaacct aciccaatcc cggctgcgtc ccagtggat 7620
 ttatccagct ggttcgttc tggttacagc gggggagaca tatatcacag cctgtctcgt 7680
 gcccgacccc gctggttcat gttgtgccta ctctacttt cgttaggggt aggcatttat 7740
 ctactcccca accgaigaac ggggacctaa acactccagg ccaataggcc atcctgtttt 7800
 ttctcccttt ttttttctt ttttttttt ttttttttt ttttttttt ttctcccttt 7860
 ttttctctt ttttttctt ttctttctt tggtagctcc atcttagccc tagtcacggc 7920
 tagctgtgaa aggtccgtga gccgctgac tgcagagagt gctgatactg gcctctctgc 7980
 agatcaagt 7989

10

20

<210> 10
 <211> 7989
 <212> DNA
 <213> Hepatitis C virus
 <400> 10

gccagcccc gattggggc gacacccac catagatcac tcccctgtga ggaactactg 60
 tcttcacgca gaaagcgtct agccaaggcg ttagtaigag tgcgtgcag cctccaggac 120
 ccccccctcc gggagagcca tagtggctcg cggaaaccgi gactacaccg gaattgccag 180
 gacgaccggg tctttcttg gatcaaccg ctcaatgctt ggagatttgg gcgtgcccc 240
 gcgagactgc tagccgagta gtgttgggtc gcgaaaggcc ttgtgttact gcctgatagg 300
 gtgtttgca gtgccccggg aggtctcgta gaccgtgcac catgagcac aatcctaac 360
 ctcaaagaaa aaccaaaggc cgcgccatga ttgaacaaga tggattgcac gcaggttctc 420
 cggccgcttg ggtggagagg ctattcggtc atgactgggc acaacagaca atcggtctct 480
 cigtgccgc cggttccgg cgtcagcgc aggggcgccc gggtctttt gtcaagaccg 540
 acctgtccgg tggcctgaat gaactgcagg acgaggcagc gcggctatcg tggctggcca 600
 cgacggcgtt tcttgcgca gcgtgctcg acgtgtcac tgaagcggga agggactggc 660
 tgctattggg cgaagtgccg gggcaggatc tctgtcatc tcaccttgc cctgccgaga 720
 aagtaiccat catggctgat gcaatcggc ggctgcatac gcttgatccg gctacctgcc 780
 caticgacca ccaagcgaat catgcctcg agcgagcac tactcggtg gaagccggtc 840
 ttgtcgatca ggaatgctg gacgaagagc atcaggggtc cgcgccagcc gaactgttcg 900

10

20

ccaggctcaa ggccgcgaig cccgacggcg aggatctctg cgtagccat ggcgatgcct 960
 gcttgccgaa tatcatggcg gaaaatggcc gcttttctgg attcatcgac tgggcccggc 1020
 tgggtgtggc ggaccgctat caggacatag cgttggctac ccgtgatatt gctgaagagc 1080
 ttggcggcga atgggctgac cgttctctcg tgccttacgg tatcgccgt cccgattcgc 1140
 agcgcatcgc ctctatcgc ctcttgacg agttctctg agtttaaaca gaccacaacg 1200
 gtctccctct agcgggatca attccgccc tctccctccc cccccctaa cgttactggc 1260
 cgaagccgt tggataaagg ccggtgtgcg ttgtctata tgtattttc caccatattg 1320
 ccgtcttttg gcaatgtgag ggcccggaaa cctggccctg tctcttgac gagcattcct 1380
 aggggtcttt cccctctcg caaaggaatg caaggtctgt tgaatgtcgt gaaggaagca 1440
 gtctctctgg aagcttcttg aagacaaaca acgtctgtag cgacctttg caggcagcgg 1500
 aacccccac ctggcgacag gtgctctgc ggccaaaagc cacgtgtata agatacacct 1560
 gcaaaggcgg cacaaccca gtgccacgtt gtgagtigga tagttigga aagagtaaaa 1620
 tggctctct caagcgtatt caacaagggg cigaaggatg cccagaaggi accccattgt 1680
 atgggatcgt atctggggcc tcggtgcaca tgccttacat gtgtttagtc gaggttaaaa 1740

10

20

aacgtctagg cccccgaac cacggggacg tggttttcct ttgaaaaaca cgataatacc 1800
 atggcgcccta ttacggcccta ctcccaacag acgcgaggcc tacttggctg catcatcact 1860
 agcctcacag gccgggacag gaaccaggic gagggggagg tccaagtggc cccaccgca 1920
 acacaatctt tcttggcgac ctgcgtaaat ggcgtgigtg ggactgtcta tcatggtgcc 1980
 ggctcaaaga ccttggccgg cccaaagggc ccaatcacc aaatgtacac caatgtggac 2040
 caggacctcg tcggciggca agcggcccc gggcgcggtt ccttgacacc atgcacctgc 2100
 ggcagctcgg acctttactt ggacacgagg catgccgatg tcatccggtt gcgccggcgg 2160
 ggcgacagca gggggagcct acctcctccc agggccgtct cctacttgaa gggctcttcg 2220
 ggcgggccac tgctcigccc ctggggcac gctgtgggca tctttcgggc tgccgtgtgc 2280
 acccgagggg ttgcgaaggc ggaggacttt gtaccgctcg agtctatgga aaccactatg 2340
 cggtcctcgg tcttcacgga caactcgtcc ctccggccg taccgcagac atccagggtg 2400
 gcccatctac acgcccctac tggtagcggc aagagcacta aggtgccggc tgcgtatgca 2460
 gccaagggtt ataagggtct gtgccgaac ccgtccgtcg ccgccacctt aggtttcggg 2520
 gcgtatatgt ctaaggcaca tggtaicgac cctaacaatca gaaccggggt aaggaccatc 2580
 accacgggtg ccccatcac gtactccacc taiggcaagi ttcttgccga cggtggttgc 2640

10

20

tctggggcg cctatgacat cataatatgt gatgagtgcc actcaactga ctcgaccact 2700
 atcctgggca tcggcacagt cctggaccaa gcggagacgg ctggagcgcg actcgtcgtg 2760
 ctgccaccg ctacgcctcc gggatcggtc accgtgccac atccaacat cgaggagggtg 2820
 gctcgtcca gcactggaga aatccctttt tatggcaaag ccatcccat cgagaccatc 2880
 aaggggggga ggcaccicat tttctgcat tccaagaaga aatgtgatga gtcgccgcg 2940
 aagctgtccg gcctcggact caatgtgta gcataatacc gggcccttga tgtatccgtc 3000
 ataccaacta gcggagacgt cattgtgta gcaacggacg ctctaataac gggctttacc 3060
 ggcgatttcg actcagtgat cgactgcaat acatgtgtca cccagacagt cgacttcagc 3120
 ctggacccga ccttcacat tgagacgacg accgtgccac aagacgcgtg gtcacgtcgtg 3180
 cagcggcgag gcaggactgg taggggcagg atgggcattt acaggittgt gactccagga 3240
 gaacggccct cgggcatgtt cgattcctcg gtctgtgctg agtgctatga gcgggctgt 3300
 gcttggtagc agctcacgcc cgccgagacc tcagttaggi tgcgggccta cctaaacaca 3360
 ccagggttgc ccgtcgtcca ggaccatctg gagttctggg agagcgtctt tacaggcctc 3420
 accacatag acgcccattt ctgtctccag actaagcagg caggagacaa ctcccctac 3480

10

20

ctggtagcat accaggctac gggtgtcgcc agggctcagg ctccacctcc atcgtgggac 3540
caaatgtgga agtgttcac acggctaaag cctacgtgc acgggccaac gcccctgtg 3600
tataggctgg gagccgttca aaacgagggt actaccacac accccataac caaatacatc 3660
atggcatgca tgtcggctga ctggagggtc gtcacgagca ctgggtgtct ggtaggcgga 3720
gtcctagcag ctctggccgc gtattgcctg acaacaggca gcgtggctat tgtgggcagg 3780
atcatcttgi ccggaagcc ggccatcatt cccgacaggg aagtccttta ccgggagttc 3840
gatgagatgg aagagtgcgc ctacacctc cttacatcg aacagggaat gcagctcgcc 3900
gaacaattca aacagaaggc aatcgggttg ctgcaaacag ccaccaagca agcggaggct 3960
gtctctcccg tggtagaatc caagtggcgg accctcgaag ccttcigggc gaagcataig 4020
tggaatttca tcagcgggat acaatattta gcaggcttgi ccactctgcc tggcaacccc 4080
gcgatagcat cactgatggc attacagcc tctatcacca gccgcctac caccacaatc 4140
accctcctgi ttaacatcct ggggggatgg gggccgccc aacttgctcc tcccagcgt 4200
gcttcgtctt tcgtaggcgc cggcatcgt ggagcggctg tggcagcat aggccttggg 4260
aaggctcttg tggatatttt ggcaggttat ggagcagggg tggcaggcgc gctcgtggcc 4320
tttaaggcca tgagcggcga gatccctcc accgaggacc tggtaacct actccctgtc 4380

10

20

atcctctccc ctggcgcctt agtcgtcggg gtcgtgtgcg cagcgatact gcgtcggcac 4440
gtgggcccag gggagggggc tgtgcagtgg atgaaccggc tgatagcgtt cgcttcgcgg 4500
ggtaaccacg tctccccac gcactaigtg cctgagagcg acgtgcagc acgtgtcact 4560
cagatcctct ctagtcttac catcactcag ctgtgaaga ggcttcacca gttgatcaac 4620
gaggacigtct ccacgccaig ctccggctcg tggctaagag atgtttggga ttggatatgc 4680
acgggtttga ctgatttcaa gacctggctc cagtccaagc tctgcccgcg atgccggga 4740
gtcccttctt tctcaigtca acgtgggtac aaggagctct ggcggggcga cggcatcag 4800
caaaccacct gcccaigtgg agcacagatc accggacaig tgaaaaacgg ttccaigagg 4860
atcgtggggc ctaggacctg tagtaacacg tggcatggaa cattcccat taacgcgtac 4920
accacgggcc ctgacagcc ctccccggcg ccaaattatt ctaggcgctt gttgggggtg 4980
gtcgtcaggg agtacgttga ggttacgcgg gtgggggatt tccactacgt gacgggcatg 5040
accactgaca acgtaaagtg cccgtgtcag gtccggccc ccgaattctt cacagaagtg 5100
gatgggggtc ggttgcacag gtacgtcca gcgtgcaaac ccttcttacg ggaggaggtc 5160
acattcctgg tcgggtctaa tcaatacctg gtgggtcac agctccaatg cgagcccgaa 5220

10

20

ccggacgtag cagtgtcac ttccatgtc accgacccci cccacattac ggcggagacg 5280
 gctaagcgta ggctggccag gggatctccc ccttccttgi ccagctcatc agctagccag 5340
 cigtctgcgc ctctcttgaa ggcaacatgc actacccgtc atgactcccc ggacgttgac 5400
 ctcatcgagg ccaaccicci gttggcggcag gagatgggcg ggaacatcac ccgcgtggag 5460
 tcagaaaata aggtagtaat ttiggactci ttcgagccgc tccaagcgga ggaggatgag 5520
 agggaagtat ccgttccggc ggagatccig cggaggicca ggaaatcccc tcgagcgaig 5580
 cccataiggg cagccccgga ttacaaccci ccactgttag agtccctggaa ggacccggac 5640
 tacgtccctc cagtgttaca cgggtgtcca ttgccgctg ccaaggcccc tcgatalacca 5700
 cctccacgga ggaagaggac gggtgtctg tcagaatcta ccgtgtcttc tgccttggcg 5760
 gagctcgcca caaagacctt cggcagctcc gaatcgtcgg ccgtcgacag cggcacggca 5820
 acggcccttc ctgaccagcc ctccgacgac ggcgacgcgg gatccgacgt tgagtcgtac 5880
 tcttccatgc ccccccttga gggggagccg ggggatcccg atctcagcga cgggtcttgg 5940
 tctaccgtaa gcgaggaggc tagtggaggac gtcgtctgtc gctcgatgtc ctacacatgg 6000
 acaggcgccc tgatcacgcc atgcgtcgcg gaggaacca agctgcccct caatgcactg 6060
 agcaactctt tgcctcgta ccacaacttg gctatgcta caacatctcg cagcgcaagc 6120

10

20

ctgcggcaga agaaggcac cttgacaga ctgcaggctc tggacgacca ctaccgggac 6180
 gtgctcaagg agatgaaggc gaaggcgtcc acagttaagg ctaaacttct atccgtggag 6240
 gaagccigta agctgacgcc cccacattcg gccagatcta aatttggcta tggggcaaag 6300
 gacgtccgga acctatccag caaggccgtt aaccacatcc gctccgtgtg gaaggacttg 6360
 ctggaagaca ctgagacacc aattgacacc accatcatgg caaaaaatga ggittttctgc 6420
 gtccaaccag agaagggggg ccgcaagcca gctcgcccta tcgtatcccc agatttgggg 6480
 gttcgtgtgt gcgagaaaat ggccctttac gatgtggtct ccacctccc tcaggccgtg 6540
 atgggccttt cctacggatt ccaatactct cctggacagc gggtcgagtt cctggigaat 6600
 gcctggaag cgaagaaatg cctaagggc ttgcataatg acaccgctg ttttgactca 6660
 acggtcacig agaatgacat ccgtgttag gagtcaatct accaatgttg tgacttggcc 6720
 cccgaagcca gacagcccat aaggctgctc acagagcggc ttacatcgg gggcccccig 6780
 actaatcta aagggcagaa ctgcggctat cgccggtgcc gcgcgagcgg tgtactgacg 6840
 accagctgcg gtaataccct cacatgttac tgaaggccg ctgcggcctg tcgagctgcg 6900
 aagctccagg actgcacgat gctcgtatgc ggagacgacc tigtcttat ctgtgaaagc 6960

10

20

gcggggaccc aagaggacga ggcgagccta cgggccttca cggaggctat gactagatac 7020
 tctgcccccc ctggggaccc gcccaaacca gaatacgact tggagtigat aacatcatgc 7080
 tcttccaatg tgcagtcgc gcacgatgca tctggcaaaa ggggtgtacta tctcaccctg 7140
 gacccaccca ccccccttgc gcgggcctgc tgggagacag ctgacacac tccagicaat 7200
 tcttggctag gcaacatcat catgtatgcg cccaccttgi gggcaaggat gatcctgatg 7260
 actcatttct tctccatcct tctagctcag gaacaacttg aaaaagccct agattgtcag 7320
 atctacgggg ctgttactc catgagcca ctgacctac ctgagatcat tcaacgactc 7380
 catggcctta gcgcatttc aciccatagi tactctccag gtgagatcaa taggggtggct 7440
 tcatgcctca ggaaacttgg ggtaccgcc ttcgagctc ggagacatcg ggccagaagi 7500
 gtccgcgcta ggctactgtc ccaggggggg agggctgcca ctgttgccaa gtacctcttc 7560
 aactgggcag taaggaccaa gcicaaactc aciccaatcc cggctgcgtc ccagtggat 7620
 ttatccagct ggttcgttgc tggttacagc gggggagaca tatatcacag cctgtctcgt 7680
 gcccgacccc gctgggtcat gtgttgccia ctctacttt ctgtaggggt aggcattctat 7740
 ctactcccca accgatgaac ggggacctaa acactccagg ccaataggcc atcctgtttt 7800
 ttccctttt tttttttctt tttttttttt tttttttttt tttttttttt ttctcctttt 7860

10

20

tttttcctct ttttttcctt ttcttttcctt tggtaggtcc atcttagccc tagtcacggc 7920
 tagctgtgaa aggtccgtga gccgcttgac tgcagagagt gctgatactg gcctctctgc 7980
 agatcaagt 7989

<210> 11
 <211> 1341
 <212> DNA
 <213> Hepatitis C virus

10

<400> 11
 tccggctcgt ggctaagaga tgittgggat tggataigca cgggtgtgac tgatttcaag 60
 acctggctcc agtccaagct cctgccgcga tiggcgggag tcccccttctt ctcatgtcaa 120
 cgtaggtaca agggagcttg gcggggcgac ggcatcatgc aaaccacctg cccatgtgga 180
 gcacagatca cgggacatgt gaaaaacggt tccatgagga tcgtggggcc taggacctgt 240
 agtaacacgt ggcatggaac attccccatt aacgcgtaca ccacgggccc ctgcacgccc 300
 tccccggcgc caaattattc tagggcgctg tggcgggtgg ctgctgagga gtacgtggag 360
 gtacgcggg tgggggattt ccactacgtg acgggcatga ccactgacaa cgtaaagtgc 420
 ccgtgtcagg ttccggcccc cgaattcttc acagaagtgg atgggggtcg gtgcacagg 480

20

tacgtccag cgtgcaaacc cctcctacgg gaggaggica cattcctggi cgggtcaat 540
 caatacctgg ttgggtcaca gtcccaatgc gagcccgaa cggacgtagc agtgctcact 600
 tccatgtca cggacccctc ccacattacg gcggagacgg ctaagcgtag gctggccagg 660
 ggatcicccc cctgcttggc cagctcatca gctagccagc tgtctgcgcc ttccttgaag 720
 gcaacaigca ctaccgtca tgactcccg gacgtgacc tcatcgaggc caacctcctg 780
 tggcggcagg agatgggcgg gaacatcacc cgcgtggagi cagaaaataa ggtagtaatt 840
 tiggactctt tcgagccgt ccaagcggag gaggatgaga gggaagtatc cgttccggcg 900
 gagatcctgc ggaggiccag gaaattccct cgagcgatgc ccataigggc acgcccgat 960
 tacaaccctc cactgttaga gtcttgaag gacccggact acgtccctcc agtggtagac 1020
 ggggticcat tgccgctgc caagccctt ccgataccac ctccacggag gaagaggacg 1080
 gtgtcctgt cagaatctac cgtgtcttct gccttggcgg agctcgccac aaagaccttc 1140
 ggcagctccg aatcgtggc cgtcgacagc ggcacggcaa cggcctctcc tgaccagccc 1200
 tccgacgacg gcgacgggg atccgacgtt gagtctgact cctccatgcc ccccttgag 1260
 ggggagccgg gggatccga tctcagcgac gggctctgtt ctaccgtaag cgaggaggct 1320

10

20

agtgaggacg tcgtctgctg c 1341

<210> 12

<211> 1341

<212> DNA

<213> Hepatitis C virus

<400> 12

tccggctcgt ggctaagaga tgtttgggat tggataigca cggigtigac tgatttcaag	60	10
acctggctcc agtccaagct ccgccgcga tggccggag tccccitcti ctcattgcaa	120	
cgigggtaca agggagtcig gggggcgac ggcatcatgc aaaccacctg cccattigga	180	
gcacagatca ccggacatgt gaaaaacggt tccatgagga tcgtggggcc taggacctgt	240	
agtaacacgt ggcatggaac attccccatt aacgcgtaca ccacgggccc ctgcacgccc	300	
tccccggcgc caaattattc tagggcgctg tggcgggtgg ctgctgagga gtacgtggag	360	20
gttacgcggg tggggattt ccactacgtg acgggcatga ccactgacaa cgtaaagtgc	420	
ccgtgtcagg ttccggcccc cgaattcttc acagaagtgg atgggtgctg gtgacacagg	480	
tacgtccag cgigcaaacc cctcttacgg gaggaggta cattcctggt cgggtcaat	540	
caatacctgg tigggtcaca gctcccatgc gagcccgaac cggacgtagc agtgcicact	600	

tccatgctca cggacccctc ccacattacg gcggagacgg ctaagcgtag gctggccagg 660
 ggatcicccc ccccttggc cagctcatca gctagccagc tgctgcgcc ttccttgaag 720
 gcaacatgca ciaccctga tgactccccg gacgcigacc tcacgaggc caacctccig 780
 tggcggcagg agatggcgg gaacatcacc cgcgtggagi cagaaaataa ggtagtaatt 840
 ttggactctt tcgagccgtc ccaagcggag gaggatgaga ggaagatc cgttcggcg 900
 gagatcctgc ggaggccag gaaattccct cgagcgatgc ccataigggc acgcccgat 960
 tacaaccctc cactgttaga gtcttgaag gacccggact acgtccctcc agtggtaac 1020
 ggggttccat tgccgctgc caagccctc ccgataccac ctccacggag gaagaggacg 1080
 gtgtcctgi cagaatctac cggtcttct gccttggcgg agctcgccac aaagacctc 1140
 ggcagctccg aatcgtcggc cgtcgacagc ggcacggcaa cggcctctcc tgaccagccc 1200
 tccgacgacg gcgacgccc atccgacgtt gagtcgtaci cctccatgcc ccccttgag 1260
 ggggagcccg gggatccga tctcagcgac gggctcttgg ctaccgiaag cgaggaggct 1320
 agtgaggacg tcgtctgtg c 1341

10

20

<210> 13

<211> 7987

<212> DNA

<213> Hepatitis C virus

<400> 13

```

gccagccccc gattgggggc gacacccac catagatcac tccccgtga ggaactacig    60
tcttcacgca gaaagcgtct agccaaggcg ttagtatgag tgcgtgcag cctccaggac    120
ccccctccc gggagagcca tagtggctcg cggaaccggt ggtacaccg gaattgccag    180
gacgaccggg tcctttcttg gatcaaccg cccaatgcct ggagatttgg gcgtgcccc    240
gcgagactgc tagccgagta ggttgggtc gcgaaaggcc ttgtggtact gcctgatagg    300
gigcttgcga gggcccgagg aggttcgta gaccgtcac catgagcac aatcctaac    360
ctcaaagaaa aaccaaaggc cgcgccatga tgaacaaga tggatgcac gcaggttctc    420
cgcccgcttg ggtagagagg ctatcggct atgactgggc acaacagaca atcggctgct    480
ctgatccgc cggttccgg cgtcagcgc agggcgccc ggttctttt gtcaagaccg    540
acctgtccgg tgccctgaat gaactgcagg acgaggcagc gcggctatcg tggctggcca    600
cgacggcgt tccttgcga gctgtgctc acgtgtcac tgaagcggga agggactggc    660
tgctattggg cgaagtgcg gggcaggatc tctgtcatc tcacctgtc ctgcccaga    720
aagtatccat catggctgat gcaatgcggc ggctgcatac gcttgatccg gctacctgcc    780

```

10

20

cattcgacca ccaagcgaaa catcgcatcg agcgagcacg tactcggatg gaagccggtc 840
 ttgtcgatca ggaigatctg gacgaagagc atcaggggct cgcgccagcc gaactgttcg 900
 ccaggctcaa ggcgcgcatg cccgacggcg aggatctctg cgtgacccat ggcgatgcct 960
 gcttgccgaa tatcatggig gaaaatggcc gcttttctgg attcatcgac tgtggccggc 1020
 tgggtgtggc ggaccgctat caggacatag cgttggctac cgtgatatt gctgaagagc 1080
 ttggcggcga atgggctgac cgttctctg tgccttacgg tatcgccgt cccgattcgc 1140
 agcgcatcgc ctctatcgc ctcttgacg agttctctg agtttaaca gaccacaacg 1200
 gtctccctct agcgggatca attccgccc tctccctccc cccccctaa cgttactggc 1260
 cgaagccgt tggaaatagg cgggtgtgct ttgtctata tgttatitc caccatattg 1320
 ccgtcttttg gcaatgtgag ggcccgaaa cctggccctg tcttcttgac gagcattcct 1380
 aggggcttt cccctctgc caaaggaatg caaggctgt tgaatgtct gaaggaagca 1440
 gtctctctgg aagcttctg aagacaaaca acgtctgtag cgacctttg caggcagcgg 1500
 aacccccac cggcgacag gtcctctgc ggccaaaagc cacgtgtata agataacct 1560
 gcaaaggcgg cacaaccca gtgccagtt gtgagtggga tagttgtgga aagagtc aaa 1620

10

20

tggctctctt caagcgtatt caacaagggg ctgaaggatg cccagaaggt accccattgt 1680
atgggatctg atctggggcc tcggtcacac tgcattacat gigttagtc gaggtaaaa 1740
aacgtctagg cccccgaac cacggggacg tggttttctt tggaaaaa cgataatacc 1800
atggcgccca ttacggccca ctccaacag acgggaggcc tacttggctg catcatcact 1860
agcctcacag gccgggacag gaaccaggtc ggggggagg tccaagtgtt ctccaccgca 1920
acacaatctt tcttggcgac ctgcgtcaat ggcgtgtgtt ggactgtcta tcatgtgtcc 1980
ggctcaaaga ccttggccgg cccaaagggc ccaatcaccc aaatgtacac caatgtggac 2040
caggacctcg tcggciggca agcggccccc ggggcgcgtt ccttgacacc atgcacctgc 2100
ggcagctcgg accttiactt ggtcacgagg catgccgatg tcattccgtt gcgccggcgg 2160
ggcgacagca gggggagcct acttcccc agggccgtct cctacttgaa gggctcttcg 2220
ggcgggccac tgcctgccc ctggggcac gcgtgggca tcttccggc tgccgtgtgc 2280
acccgagggg ttgcgaaggc ggtggacttt gtaccgctcg agtctatgga aaccactatg 2340
cgttccccgg tcttcacgga caactcgtcc ctccggccg taccgcagac attccaggig 2400
gcccaictac acgcccctac tggtagcggc aagagcacta aggtgccggc tgcgtatgca 2460
gcccaagggt ataaggigt tgtccigaac ccgtccgtcg ccgccacctt aggtttcggg 2520

10

20

gcgtatatgt ctaaggcaca tggatcgcac cctaacatca gaaccggggt aaggaccatc 2580
accacgggtg ccccatcac gtactccacc taiggcaagt ttcttgccga cggtaggttc 2640
tcgggggctg cctatgacat cataatatgt gatgagtgcc actcaactga ctgaccacti 2700
atccgggca tggcacagt cctggaccaa gctgagacgg ctggagcgcg actcgtcgtg 2760
ctgccaccg ctacgcttc gggatcggtc accgtgccac atccaaacat cgaggagggt 2820
gtctgtcca gcactggaga aatcccciti taiggcaaag ccatcccat cgagaccatc 2880
aaggggggga ggcacctcat ttctgcat tccaagaaga aatgtgatga gtcgccgcg 2940
aagctgtccg gcctcggact caatgcgtg catattacc gggccttga tgtatccgtc 3000
ataccaacta gctgagacgt cattgtcgt gcaacggacg ctctaatgac gggctttacc 3060
ggcgatttcg actcagtgat cgactgcaat acatgtgtca cccagacagt cgacttcagc 3120
ctggacccga cttcaccat tgagacgacg accgtgccac aagacgcgtg gtcacgctcg 3180
cagcggcgag gcaggactgg taggggcagg atgggcattt acaggtttgt gattccagga 3240
gaacggccct cgggcatgtt cgattcctcg gtctgtgctg agtgctatga cgcgggctgt 3300
gcttggtacg agctcacgcc gcctgagacc tcagttaggt tgcgggctta cctaaacaca 3360

10

20

ccagggttgc cgtctgccca ggaccatctg gagttctggg agagcgtctt tacaggcctc 3420
 acccacatag acgcccattt ctgtcccgag actaagcagg caggagacaa ctccccctac 3480
 ctggtagcat accaggctac gggtgcgcc agggctcagg cccacctcc atcgtgggac 3540
 caaatigga agtgttcatt acggctaaag cctacgtgc acgggccaac gcccctgtg 3600
 tataggctgg gagccgttca aaacgaggtt actaccacac acccataac caatacatc 3660
 atggcatgca tgtcggctga cctggaggtc gtcacgagca cctgggtgtt ggtaggcgga 3720
 gtcctagcag ctctggccgc gtattgcctg acaacaggca gcgtggctat tgtgggcagg 3780
 atcatctgti ccggaagcc ggccatcatt cccgacaggg aagtccttta cggggagttc 3840
 gatgagatgg aagagtcgc ctacacctc cttacatcg aacagggat gcagctgcc 3900
 gaacaattca aacagaaggc aatcgggttg ctgcaaacag ccaccaagca agcggaggct 3960
 gctgtcccg tggtggaatc caatggcgg accctcgaag ccttctgggc gaagcataatg 4020
 tggaaattca tcagcgggat acaatatita gcaggttgt cactctgcc tggcaacccc 4080
 gcgatagcat cactgatggc attcacagcc tctatacca gcccgctac caccaacat 4140
 accctcctgt ttaacatcti ggggggatgg gtggcgccc aacttgctcc tcccagcgt 4200
 gcttctgtt tcgtaggcgc cggcatcgt ggagcggctg tggcagcat aggccttggg 4260

10

20

aaggctcttg tggatatttt ggcaggttat ggagcagggg tggcagggcg gctcgtggcc 4320
ttaaaggta tgagcggcga gatccctcc accgaggacc tggtaaacti acicctctgt 4380
atcctctccc ctggcgccct agtcgtcggg gtcgtgtgcg cagcgatact gcgtcggcac 4440
gtgggcccag gggagggggc tgtgcagtgg atgaaccggc tgatagcggt cgcttcgcgg 4500
ggtaaccacg tcicccccac gcactatgtg ctgagagcg acgtgcagc acgtgtcact 4560
cagatcctci ctagtcttac catcactcag ctgctgaaga ggcttcacca gtggatcaac 4620
gaggactgtc ccacccaig ctccggctcg tggctaagag atgtttggga tiggatatgc 4680
acgggttga ctgatttcaa gacctggctc cagtccaagc tctgcccgcg atgcccggga 4740
gtcccttcti tcicagtca acgtgggtac aaggagctci ggcggggcga cggcatcatg 4800
caaaccacct gcccaigtgg agcacagatc accggacaig tgaaaaacgg ttccaigagg 4860
atcgtggggc ctaggacctg tagtaacacg tggcaiggaa cattccccat taacgcgtac 4920
accacgggcc ctgacagcc ctccccggcg ccaaattatt ctaggcgcti gtggcgggtg 4980
gctgcigagg agtacgtgga ggttacgcgg ggggggatt tccactacgt gacgggcatg 5040
accacigaca acgtaaagtg cccgtgtcag gtccggccc ccgaattctt cacagaagtg 5100

10

20

gaiggggtgc gggtgcacag gtacgtcca gcgtgcaaac ccttcctacg ggaggaggtc 5160
acattcctgg tcgggtctaa tcaatacctg gtgggtcac agctcccatg cgagcccgaa 5220
ccggacgtag cagtgtcac ttcaatgtc accgacccct cccacattac ggaggagacg 5280
gctaagcgta ggctggccag gggatctccc ccttccttgg ccagctcctc agctatccag 5340
ctgtctgcgc ctctctttaa ggcaaatgc actaccctc atgactcccc ggacgtgac 5400
ctcatcgagg ccaacctctt gtggggcag gagaiggcg ggaacatcac ccgcgtggag 5460
tcagaaaata aggtagtat ttggactct ttgagccgc tccaagcgga ggaggatgag 5520
agggaggtat ccgtccggc ggagatctg cggaggcca ggaatctcc tcgagcgatg 5580
cccataggg cagcccgga ttacaacct cactgttag agtccggaa ggacccggac 5640
tacgtccctc cagtgtaca cgggtgtcca ttgccctg ccaagcccc tccgatacca 5700
ctccacgga ggaagaggac ggtgtctg tcagaatcta ccgtgtctc tgccttggcg 5760
gagctgcca caaagacctt cggcagctc gaatcgtcg ccgtcgacag cggcacggca 5820
acggcctctc ctgaccagc ctccgacgac ggcgacggg gatccgacgt tgagtcgtac 5880
tcttccatgc cccccctga gggggagccg ggggatccc atctcagca cgggtcttgg 5940
tctaccgtaa gcgaggaggc tagtgaggac gtctctgtc gtctgaigt ctacacatgg 6000

10

20

acaggcgccc tgatcacgcc atgcgctgcg gaggaacca agctgccc ataatgcactg 6060
 agcaactctt tgcctcgta ccacaacttg gtctatgta caacatctcg cagcgcaagc 6120
 ctgcggcaga agaaggcac ctttgacaga ctgcaggctc tggacgacca ctaccgggac 6180
 gtgctcaagg agatgaaggc gaaggcgtcc acagttaagg ctacttct atccgtggag 6240
 gaagccgtg agctgacgcc cccacattcg gccagatcta aatttggcta tggggcaaag 6300
 gacgtccgga acctatccag caaggccgtt aaccacatcc gtccgtgtg gaaggacttg 6360
 ctggaagaca ctgagacacc aattgacacc acctatctgg caaaaaatga ggttttctgc 6420
 gtccaaccag agaagggggg ccgcaagcca gtctgcctta tctatctcc agatttgggg 6480
 gtctgtgtgt gcgagaaaat ggccctttac gatgtgtcti ccacctccc tcaggccgtg 6540
 atgggtctct catatggatt ccaatactct cctggacagc ggttcgagtt cctggigaat 6600
 gcctggaaaag cgaagaaatg ccctaaggc ttcgcataig acaccgctg ttttactca 6660
 acggtcactg agaatgacat ccgtgttgag gactcaatct accaatgttg tgacttggcc 6720
 cccgaagcca gacaggccat aaggctgctc acagagcggc ttatcatcgg gggcccccctg 6780
 actaatctta aagggcagaa ctgcggctat cggcgggtgc gcgcgagcgg tgtactgacg 6840

10

20

accagctgcg gtaataccct cacatgttac ttgaaggccg ctgcggcctg tcgagctgcg 6900
aagctccagg actgcacgat gctcgtatgc ggagacgacc tigtcttat ctgtgaaagc 6960
gcggggaccc aagaggacga ggcgagccia cgggccttca cggaggctat gactagatac 7020
tcigccccc ctggggaccc gcccaaacca gaatacgact tggagtigat aacatcatgc 7080
tcctccaatg tgtcagtcgc gcacgatga tcctggcaaaa ggtgttacta tctacccgt 7140
gacccacca ccccccttgc gcgggctgcg tgggagacag ctagacacac tccagtcaat 7200
tcctggctag gcaacatcat catgtatgcg cccaccttgi gggcaaggat gatcctgatg 7260
atcatttct tctccatctt tctagctcag gaacaacttg aaaaagccct agattgtcag 7320
atctacgggg cctgttactc cattgagcca ctgacctac ctacatcat tcaacgactc 7380
catggcctta gcgcatttc atccatagt tactctccag gtgagatcaa taggttggt 7440
tcatgctca ggaaacttgg ggtaccgcc ttgcgagcti ggagacatcg ggccagaagt 7500
gtccgcgcta ggctactgtc ccaggggggg agggctgcca ctgttgcaa gtacctcttc 7560
aactgggcag taaggaccaa gctcaaactc atccaatcc cggctgcgtc ccagtggat 7620
ttatccagct ggttcgttgc tggttacagc gggggagaca tatatcacag ccgtctctgt 7680
gcccgacccc gctggttcat gttgtgcta ctctacttt ctgtaggggt aggcatttat 7740

10

20

ctactcccca accgaigaac ggggagctaa acactccagg ccaataggcc atcctgtttt 7800
 ttcccttttt ttttttcttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt ctcctttttt 7860
 ttctcttttt ttttccctttt ctttccctttg gttgctccat cttagcccta gtcacggcta 7920
 gctgtgaaaag gtccgtgagc cgcttgactg cagagagtgc tgatactggc cttctcgcag 7980
 atcaagt 7987

10

<210> 14
 <211> 400
 <212> PRT
 <213> Hepatitis C virus

<400> 14

Ser Gly Ser Trp Leu Arg Asp Val Trp Asp Trp Ile Cys Thr Val Leu
 1 5 10 15

20

Thr Asp Phe Lys Thr Trp Leu Gln Ser Lys Leu Leu Pro Arg Leu Pro
 20 25 30

Gly Val Pro Phe Phe Ser Cys Gln Arg Gly Tyr Lys Gly Val Trp Arg
 35 40 45

Gly Asp Gly Ile Met Gln Thr Thr Cys Pro Cys Gly Ala Gln Ile Thr
50 55 60

Gly His Val Lys Asn Gly Ser Met Arg Ile Val Gly Pro Arg Thr Cys
65 70 75 80

Ser Asn Thr Trp His Gly Thr Phe Pro Ile Asn Ala Tyr Thr Thr Gly
85 90 95

Pro Cys Thr Pro Ser Pro Ala Pro Asn Tyr Ser Arg Ala Leu Trp Arg
100 105 110

Val Ala Ala Glu Glu Tyr Val Glu Val Thr Arg Val Gly Asp Phe His
115 120 125

Tyr Val Thr Gly Met Thr Thr Asp Asn Val Lys Cys Pro Cys Gln Val
130 135 140

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

10

20

Tyr Ala Pro Ala Cys Lys Pro Leu Leu Arg Glu Glu Val Thr Phe Leu
165 170 175

Val Gly Leu Asn Gln Tyr Leu Val Gly Ser Gln Leu Pro Cys Glu Pro
180 185 190

Glu Pro Asp Val Ala Val Leu Thr Ser Met Leu Thr Asp Pro Ser His
195 200 205

10

Ile Thr Ala Glu Thr Ala Lys Arg Arg Leu Ala Arg Gly Ser Pro Pro
210 215 220

Ser Leu Ala Ser Ser Ser Ala Ser Gln Leu Tyr Ser Phe Glu Pro Leu
225 230 235 240

20

Gln Ala Glu Glu Asp Glu Arg Glu Val Ser Val Pro Ala Glu Ile Leu
245 250 255

Arg Arg Ser Arg Lys Phe Pro Arg Ala Met Pro Ile Trp Ala Arg Pro
260 265 270

Asp Tyr Asn Pro Pro Leu Leu Glu Ser Trp Lys Asp Pro Asp Tyr Val
275 280 285

Pro Pro Val Val His Gly Cys Pro Leu Pro Pro Ala Lys Ala Pro Pro
290 295 300

Ile Pro Pro Pro Arg Arg Lys Arg Thr Val Val Leu Ser Glu Ser Thr
305 310 315 320

10

Val Ser Ser Ala Leu Ala Glu Leu Ala Thr Lys Thr Phe Gly Ser Ser
325 330 335

Glu Ser Ser Ala Val Asp Ser Gly Thr Ala Thr Ala Ser Pro Asp Gln
340 345 350

Pro Ser Asp Asp Gly Asp Ala Gly Ser Asp Val Glu Ser Tyr Ser Ser
355 360 365

20

Met Pro Pro Leu Glu Gly Glu Pro Gly Asp Pro Asp Leu Ser Asp Gly
370 375 380

Ser Trp Ser Thr Val Ser Glu Glu Ala Ser Glu Asp Val Val Cys Cys

385 390 395 400

<210> 15
 <211> 1985
 <212> PRT
 <213> Hepatitis C virus

<400> 15

10

Met Ala Pro Ile Thr Ala Tyr Ser Gln Gln Thr Arg Gly Leu Leu Gly
 1 5 10 15

Cys Ile Ile Thr Ser Leu Thr Gly Arg Asp Arg Asn Gln Val Glu Gly
 20 25 30

Glu Val Gln Val Val Ser Thr Ala Thr Gln Ser Phe Leu Ala Thr Cys
 35 40 45

20

Val Asn Gly Val Cys Trp Thr Val Tyr His Gly Ala Gly Ser Lys Thr
 50 55 60

Leu Ala Gly Pro Lys Gly Pro Ile Thr Gln Met Tyr Thr Asn Val Asp
 65 70 75 80

Gln Asp Leu Val Gly Trp Arg Ala Pro Pro Gly Ala Arg Ser Leu Thr
85 90 95

Pro Cys Thr Cys Gly Ser Ser Asp Leu Tyr Leu Val Thr Arg His Ala
100 105 110

Asp Val Ile Pro Val Arg Arg Arg Gly Asp Ser Arg Gly Ser Leu Leu
115 120 125

10

Ser Pro Arg Pro Val Ser Tyr Leu Lys Gly Ser Ser Gly Gly Pro Leu
130 135 140

Leu Cys Pro Ser Gly His Ala Val Gly Ile Phe Arg Ala Ala Val Cys
145 150 155 160

20

Thr Arg Gly Val Ala Lys Ala Val Asp Phe Val Pro Val Glu Ser Met
165 170 175

Glu Thr Thr Met Arg Ser Pro Val Phe Thr Asp Asn Ser Ser Pro Pro
180 185 190

Ala Val Pro Gln Thr Phe Gln Val Ala His Leu His Ala Pro Thr Gly
195 200 205

Ser Gly Lys Ser Thr Lys Val Pro Ala Ala Tyr Ala Ala Gln Gly Tyr
210 215 220

Lys Val Leu Val Leu Asn Pro Ser Val Ala Ala Thr Leu Gly Phe Gly
225 230 235 240

10

Ala Tyr Met Ser Lys Ala His Gly Ile Asp Pro Asn Ile Arg Thr Gly
245 250 255

Val Arg Thr Ile Thr Thr Gly Ala Pro Ile Thr Tyr Ser Thr Tyr Gly
260 265 270

Lys Phe Leu Ala Asp Gly Gly Cys Ser Gly Gly Ala Tyr Asp Ile Ile
275 280 285

20

Ile Cys Asp Glu Cys His Ser Thr Asp Ser Thr Thr Ile Leu Gly Ile
290 295 300

Gly Thr Val Leu Asp Gln Ala Glu Thr Ala Gly Ala Arg Leu Val Val

305 310 315 320

Leu Ala Thr Ala Thr Pro Pro Gly Ser Val Thr Val Pro His Pro Asn
 325 330 335

Ile Glu Glu Val Ala Leu Ser Ser Thr Gly Glu Ile Pro Phe Tyr Gly
 340 345 350

10

Lys Ala Ile Pro Ile Glu Thr Ile Lys Gly Gly Arg His Leu Ile Phe
 355 360 365

Cys His Ser Lys Lys Lys Cys Asp Glu Leu Ala Ala Lys Leu Ser Gly
 370 375 380

Leu Gly Leu Asn Ala Val Ala Tyr Tyr Arg Gly Leu Asp Val Ser Val
385 390 395 400

20

Ile Pro Thr Ser Gly Asp Val Ile Val Val Ala Thr Asp Ala Leu Met
 405 410 415

Thr Gly Phe Thr Gly Asp Phe Asp Ser Val Ile Asp Cys Asn Thr Cys
 420 425 430

Val Thr Gln Thr Val Asp Phe Ser Leu Asp Pro Thr Phe Thr Ile Glu
435 440 445

Thr Thr Thr Val Pro Gln Asp Ala Val Ser Arg Ser Gln Arg Arg Gly
450 455 460

Arg Thr Gly Arg Gly Arg Met Gly Ile Tyr Arg Phe Val Thr Pro Gly
465 470 475 480

Glu Arg Pro Ser Gly Met Phe Asp Ser Ser Val Leu Cys Glu Cys Tyr
485 490 495

Asp Ala Gly Cys Ala Trp Tyr Glu Leu Thr Pro Ala Glu Thr Ser Val
500 505 510

Arg Leu Arg Ala Tyr Leu Asn Thr Pro Gly Leu Pro Val Cys Gln Asp
515 520 525

His Leu Glu Phe Trp Glu Ser Val Phe Thr Gly Leu Thr His Ile Asp
530 535 540

10

20

Ala His Phe Leu Ser Gln Thr Lys Gln Ala Gly Asp Asn Phe Pro Tyr
545 550 555 560

Leu Val Ala Tyr Gln Ala Thr Val Cys Ala Arg Ala Gln Ala Pro Pro
565 570 575

Pro Ser Trp Asp Gln Met Trp Lys Cys Leu Ile Arg Leu Lys Pro Thr
580 585 590

10

Leu His Gly Pro Thr Pro Leu Leu Tyr Arg Leu Gly Ala Val Gln Asn
595 600 605

Glu Val Thr Thr Thr His Pro Ile Thr Lys Tyr Ile Met Ala Cys Met
610 615 620

20

Ser Ala Asp Leu Glu Val Val Thr Ser Thr Trp Val Leu Val Gly Gly
625 630 635 640

Val Leu Ala Ala Leu Ala Ala Tyr Cys Leu Thr Thr Gly Ser Val Val
645 650 655

Ile Val Gly Arg Ile Ile Leu Ser Gly Lys Pro Ala Ile Ile Pro Asp
660 665 670

Arg Glu Val Leu Tyr Arg Glu Phe Asp Glu Met Glu Glu Cys Ala Ser
675 680 685

His Leu Pro Tyr Ile Glu Gln Gly Met Gln Leu Ala Glu Gln Phe Lys
690 695 700

10

Gln Lys Ala Ile Gly Leu Leu Gln Thr Ala Thr Lys Gln Ala Glu Ala
705 710 715 720

Ala Ala Pro Val Val Glu Ser Lys Trp Arg Thr Leu Glu Ala Phe Trp
725 730 735

Ala Lys His Met Trp Asn Phe Ile Ser Gly Ile Gln Tyr Leu Ala Gly
740 745 750

20

Leu Ser Thr Leu Pro Gly Asn Pro Ala Ile Ala Ser Leu Met Ala Phe
755 760 765

Thr Ala Ser Ile Thr Ser Pro Leu Thr Thr Gln His Thr Leu Leu Phe

770

775

780

Asn Ile Leu Gly Gly Trp Val Ala Ala Gln Leu Ala Pro Pro Ser Ala
785 790 795 800

Ala Ser Ala Phe Val Gly Ala Gly Ile Ala Gly Ala Ala Val Gly Ser
805 810 815

10

Ile Gly Leu Gly Lys Val Leu Val Asp Ile Leu Ala Gly Tyr Gly Ala
820 825 830

Gly Val Ala Gly Ala Leu Val Ala Phe Lys Val Met Ser Gly Glu Met
835 840 845

Pro Ser Thr Glu Asp Leu Val Asn Leu Leu Pro Ala Ile Leu Ser Pro
850 855 860

20

Gly Ala Leu Val Val Gly Val Val Cys Ala Ala Ile Leu Arg Arg His
865 870 875 880

Val Gly Pro Gly Glu Gly Ala Val Gln Trp Met Asn Arg Leu Ile Ala
885 890 895

Phe Ala Ser Arg Gly Asn His Val Ser Pro Thr His Tyr Val Pro Glu
900 905 910

Ser Asp Ala Ala Ala Arg Val Thr Gln Ile Leu Ser Ser Leu Thr Ile
915 920 925

Thr Gln Leu Leu Lys Arg Leu His Gln Trp Ile Asn Glu Asp Cys Ser
930 935 940

Thr Pro Cys Ser Gly Ser Trp Leu Arg Asp Val Trp Asp Trp Ile Cys
945 950 955 960

Thr Val Leu Thr Asp Phe Lys Thr Trp Leu Gln Ser Lys Leu Leu Pro
965 970 975

Arg Leu Pro Gly Val Pro Phe Phe Ser Cys Gln Arg Gly Tyr Lys Gly
980 985 990

Val Trp Arg Gly Asp Gly Ile Met Gln Thr Thr Cys Pro Cys Gly Ala
995 1000 1005

10

20

Gln Ile Thr Gly His Val Lys Asn Gly Ser Met Arg Ile Val Gly
1010 1015 1020

Pro Arg Thr Cys Ser Asn Thr Trp His Gly Thr Phe Pro Ile Asn
1025 1030 1035

Ala Tyr Thr Thr Gly Pro Cys Thr Pro Ser Pro Ala Pro Asn Tyr
1040 1045 1050

10

Ser Arg Ala Leu Trp Arg Val Ala Ala Glu Glu Tyr Val Glu Val
1055 1060 1065

Thr Arg Val Gly Asp Phe His Tyr Val Thr Gly Met Thr Thr Asp
1070 1075 1080

20

Asn Val Lys Cys Pro Cys Gln Val Pro Ala Pro Glu Phe Phe Thr
1085 1090 1095

Glu Val Asp Gly Val Arg Leu His Arg Tyr Ala Pro Ala Cys Lys
1100 1105 1110

Pro Leu Leu Arg Glu Glu Val Thr Phe Leu Val Gly Leu Asn Gln
1115 1120 1125

Tyr Leu Val Gly Ser Gln Leu Pro Cys Glu Pro Glu Pro Asp Val
1130 1135 1140

Ala Val Leu Thr Ser Met Leu Thr Asp Pro Ser His Ile Thr Ala
1145 1150 1155

10

Glu Thr Ala Lys Arg Arg Leu Ala Arg Gly Ser Pro Pro Ser Leu
1160 1165 1170

Ala Ser Ser Ser Ala Ile Gln Leu Ser Ala Pro Ser Leu Lys Ala
1175 1180 1185

Thr Cys Thr Thr Arg His Asp Ser Pro Asp Ala Asp Leu Ile Glu
1190 1195 1200

20

Ala Asn Leu Leu Trp Arg Gln Glu Met Gly Gly Asn Ile Thr Arg
1205 1210 1215

Val Glu Ser Glu Asn Lys Val Val Ile Leu Asp Ser Phe Glu Pro

1220	1225	1230
Leu Gln Ala Glu Glu Asp Glu Arg Glu Val Ser Val Pro Ala Glu		
1235	1240	1245
Ile Leu Arg Arg Ser Arg Lys Phe Pro Arg Ala Met Pro Ile Trp		
1250	1255	1260
Ala Arg Pro Asp Tyr Asn Pro Pro Leu Leu Glu Ser Trp Lys Asp		
1265	1270	1275
Pro Asp Tyr Val Pro Pro Val Val His Gly Cys Pro Leu Pro Pro		
1280	1285	1290
Ala Lys Ala Pro Pro Ile Pro Pro Pro Arg Arg Lys Arg Thr Val		
1295	1300	1305
Val Leu Ser Glu Ser Thr Val Ser Ser Ala Leu Ala Glu Leu Ala		
1310	1315	1320
Thr Lys Thr Phe Gly Ser Ser Glu Ser Ser Ala Val Asp Ser Gly		
1325	1330	1335

10

20

Thr Ala Thr Ala Ser Pro Asp Gln Pro Ser Asp Asp Gly Asp Ala
1340 1345 1350

Gly Ser Asp Val Glu Ser Tyr Ser Ser Met Pro Pro Leu Glu Gly
1355 1360 1365

Glu Pro Gly Asp Pro Asp Leu Ser Asp Gly Ser Trp Ser Thr Val
1370 1375 1380

Ser Glu Glu Ala Ser Glu Asp Val Val Cys Cys Ser Met Ser Tyr
1385 1390 1395

Thr Trp Thr Gly Ala Leu Ile Thr Pro Cys Ala Ala Glu Glu Thr
1400 1405 1410

Lys Leu Pro Ile Asn Ala Leu Ser Asn Ser Leu Leu Arg His His
1415 1420 1425

Asn Leu Val Tyr Ala Thr Thr Ser Arg Ser Ala Ser Leu Arg Gln
1430 1435 1440

10

20

Lys Lys Val Thr Phe Asp Arg Leu Gln Val Leu Asp Asp His Tyr
1445 1450 1455

Arg Asp Val Leu Lys Glu Met Lys Ala Lys Ala Ser Thr Val Lys
1460 1465 1470

Ala Lys Leu Leu Ser Val Glu Glu Ala Cys Lys Leu Thr Pro Pro
1475 1480 1485

10

His Ser Ala Arg Ser Lys Phe Gly Tyr Gly Ala Lys Asp Val Arg
1490 1495 1500

Asn Leu Ser Ser Lys Ala Val Asn His Ile Arg Ser Val Trp Lys
1505 1510 1515

20

Asp Leu Leu Glu Asp Thr Glu Thr Pro Ile Asp Thr Thr Ile Met
1520 1525 1530

Ala Lys Asn Glu Val Phe Cys Val Gln Pro Glu Lys Gly Gly Arg
1535 1540 1545

Lys Pro Ala Arg Leu Ile Val Phe Pro Asp Leu Gly Val Arg Val
1550 1555 1560

Cys Glu Lys Met Ala Leu Tyr Asp Val Val Ser Thr Leu Pro Gln
1565 1570 1575

Ala Val Met Gly Ser Ser Tyr Gly Phe Gln Tyr Ser Pro Gly Gln
1580 1585 1590

10

Arg Val Glu Phe Leu Val Asn Ala Trp Lys Ala Lys Lys Cys Pro
1595 1600 1605

Met Gly Phe Ala Tyr Asp Thr Arg Cys Phe Asp Ser Thr Val Thr
1610 1615 1620

Glu Asn Asp Ile Arg Val Glu Glu Ser Ile Tyr Gln Cys Cys Asp
1625 1630 1635

20

Leu Ala Pro Glu Ala Arg Gln Ala Ile Arg Ser Leu Thr Glu Arg
1640 1645 1650

Leu Tyr Ile Gly Gly Pro Leu Thr Asn Ser Lys Gly Gln Asn Cys

1655 1660 1665

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

Gly Asn Thr Leu Thr Cys Tyr Leu Lys Ala Ala Ala Ala Cys Arg
1685 1690 1695

10

Ala Ala Lys Leu Gln Asp Cys Thr Met Leu Val Cys Gly Asp Asp
1700 1705 1710

Leu Val Val Ile Cys Glu Ser Ala Gly Thr Gln Glu Asp Glu Ala
1715 1720 1725

Ser Leu Arg Ala Phe Thr Glu Ala Met Thr Arg Tyr Ser Ala Pro
1730 1735 1740

20

Pro Gly Asp Pro Pro Lys Pro Glu Tyr Asp Leu Glu Leu Ile Thr
1745 1750 1755

Ser Cys Ser Ser Asn Val Ser Val Ala His Asp Ala Ser Gly Lys
1760 1765 1770

Arg Val Tyr Tyr Leu Thr Arg Asp Pro Thr Thr Pro Leu Ala Arg
1775 1780 1785

Ala Ala Trp Glu Thr Ala Arg His Thr Pro Val Asn Ser Trp Leu
1790 1795 1800

Gly Asn Ile Ile Met Tyr Ala Pro Thr Leu Trp Ala Arg Met Ile
1805 1810 1815

Leu Met Thr His Phe Phe Ser Ile Leu Leu Ala Gln Glu Gln Leu
1820 1825 1830

Glu Lys Ala Leu Asp Cys Gln Ile Tyr Gly Ala Cys Tyr Ser Ile
1835 1840 1845

Glu Pro Leu Asp Leu Pro Gln Ile Ile Gln Arg Leu His Gly Leu
1850 1855 1860

Ser Ala Phe Ser Leu His Ser Tyr Ser Pro Gly Glu Ile Asn Arg
1865 1870 1875

10

20

Val Ala Ser Cys Leu Arg Lys Leu Gly Val Pro Pro Leu Arg Val
1880 1885 1890

Trp Arg His Arg Ala Arg Ser Val Arg Ala Arg Leu Leu Ser Gln
1895 1900 1905

Gly Gly Arg Ala Ala Thr Cys Gly Lys Tyr Leu Phe Asn Trp Ala
1910 1915 1920

10

Val Arg Thr Lys Leu Lys Leu Thr Pro Ile Pro Ala Ala Ser Gln
1925 1930 1935

Leu Asp Leu Ser Ser Trp Phe Val Ala Gly Tyr Ser Gly Gly Asp
1940 1945 1950

20

Ile Tyr His Ser Leu Ser Arg Ala Arg Pro Arg Trp Phe Met Trp
1955 1960 1965

Cys Leu Leu Leu Leu Ser Val Gly Val Gly Ile Tyr Leu Leu Pro
1970 1975 1980

Asn Arg

1985

<210> 16

<211> 447

<212> PRT

<213> Hepatitis C virus

<400> 16

10

Ser Gly Ser Trp Leu Arg Asp Val Trp Asp Trp Ile Cys Thr Val Leu
 1 5 10 15

Thr Asp Phe Lys Thr Trp Leu Gln Ser Lys Leu Leu Pro Arg Leu Pro
 20 25 30

Gly Val Pro Phe Phe Ser Cys Gln Arg Gly Tyr Lys Gly Val Trp Arg
 35 40 45

20

Gly Asp Gly Ile Met Gln Thr Thr Cys Pro Cys Gly Ala Gln Ile Thr
 50 55 60

Gly His Val Lys Asn Gly Ser Met Arg Ile Val Gly Pro Arg Thr Cys
 65 70 75 80

Ser Asn Thr Trp His Gly Thr Phe Pro Ile Asn Ala Tyr Thr Thr Gly
85 90 95

Pro Cys Thr Pro Ser Pro Ala Pro Asn Tyr Ser Arg Ala Leu Trp Arg
100 105 110

Val Ala Ala Glu Glu Tyr Val Glu Val Thr Arg Val Gly Asp Phe His
115 120 125

Tyr Val Thr Gly Met Thr Thr Asp Asn Val Lys Cys Pro Cys Gln Val
130 135 140

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

Tyr Ala Pro Ala Cys Lys Pro Leu Leu Arg Glu Glu Val Thr Phe Leu
165 170 175

Val Gly Leu Asn Gln Tyr Leu Val Gly Ser Gln Leu Pro Cys Glu Pro
180 185 190

10

20

Glu Pro Asp Val Ala Val Leu Thr Ser Met Leu Thr Asp Pro Ser His
195 200 205

Ile Thr Ala Glu Thr Ala Lys Arg Arg Leu Ala Arg Gly Ser Pro Pro
210 215 220

Ser Leu Ala Ser Ser Ser Ala Ile Gln Leu Ser Ala Pro Ser Leu Lys
225 230 235 240

10

Ala Thr Cys Thr Thr Arg His Asp Ser Pro Asp Ala Asp Leu Ile Glu
245 250 255

Ala Asn Leu Leu Trp Arg Gln Glu Met Gly Gly Asn Ile Thr Arg Val
260 265 270

20

Glu Ser Glu Asn Lys Val Val Ile Leu Asp Ser Phe Glu Pro Leu Gln
275 280 285

Ala Glu Glu Asp Glu Arg Glu Val Ser Val Pro Ala Glu Ile Leu Arg
290 295 300

Arg Ser Arg Lys Phe Pro Arg Ala Met Pro Ile Trp Ala Arg Pro Asp
305 310 315 320

Tyr Asn Pro Pro Leu Leu Glu Ser Trp Lys Asp Pro Asp Tyr Val Pro
325 330 335

Pro Val Val His Gly Cys Pro Leu Pro Pro Ala Lys Ala Pro Pro Ile
340 345 350

10

Pro Pro Pro Arg Arg Lys Arg Thr Val Val Leu Ser Glu Ser Thr Val
355 360 365

Ser Ser Ala Leu Ala Glu Leu Ala Thr Lys Thr Phe Gly Ser Ser Glu
370 375 380

Ser Ser Ala Val Asp Ser Gly Thr Ala Thr Ala Ser Pro Asp Gln Pro
385 390 395 400

20

Ser Asp Asp Gly Asp Ala Gly Ser Asp Val Glu Ser Tyr Ser Ser Met
405 410 415

Pro Pro Leu Glu Gly Glu Pro Gly Asp Pro Asp Leu Ser Asp Gly Ser

420

425

430

Trp Ser Thr Val Ser Glu Glu Ala Ser Glu Asp Val Val Cys Cys
 435 440 445

<210> 17

<211> 1985

<212> PRT

<213> Hepatitis C virus

10

<400> 17

Met Ala Pro Ile Thr Ala Tyr Ser Gln Gln Thr Arg Gly Leu Leu Gly
 1 5 10 15

Cys Ile Ile Thr Ser Leu Thr Gly Arg Asp Arg Asn Gln Val Glu Gly
 20 25 30

20

Glu Val Gln Val Val Ser Thr Ala Thr Gln Ser Phe Leu Ala Thr Cys
 35 40 45

Val Asn Gly Val Cys Trp Thr Val Tyr His Gly Ala Gly Ser Lys Thr
 50 55 60

Leu Ala Gly Pro Lys Gly Pro Ile Thr Gln Met Tyr Thr Asn Val Asp
65 70 75 80

Gln Asp Leu Val Gly Trp Gln Ala Pro Pro Gly Ala Arg Ser Leu Thr
85 90 95

Pro Cys Thr Cys Gly Ser Ser Asp Leu Tyr Leu Val Thr Arg His Ala
100 105 110

10

Asp Val Ile Pro Val Arg Arg Arg Gly Asp Ser Arg Gly Ser Leu Leu
115 120 125

Ser Pro Arg Pro Val Ser Tyr Leu Lys Gly Ser Ser Gly Gly Pro Leu
130 135 140

20

Leu Cys Pro Ser Gly His Ala Val Gly Ile Phe Arg Ala Ala Val Cys
145 150 155 160

Thr Arg Gly Val Ala Lys Ala Val Asp Phe Val Pro Val Glu Ser Met
165 170 175

Glu Thr Thr Met Arg Ser Pro Val Phe Thr Asp Asn Ser Ser Pro Pro
180 185 190

Ala Val Pro Gln Thr Phe Gln Val Ala His Leu His Ala Pro Thr Gly
195 200 205

Ser Gly Lys Ser Thr Lys Val Pro Ala Ala Tyr Ala Ala Gln Gly Tyr
210 215 220

10

Lys Val Leu Val Leu Asn Pro Ser Val Ala Ala Thr Leu Gly Phe Gly
225 230 235 240

Ala Tyr Met Ser Lys Ala His Gly Ile Asp Pro Asn Ile Arg Thr Gly
245 250 255

Val Arg Thr Ile Thr Thr Gly Ala Pro Ile Thr Tyr Ser Thr Tyr Gly
260 265 270

20

Lys Phe Leu Ala Asp Gly Gly Cys Ser Gly Gly Ala Tyr Asp Ile Ile
275 280 285

Ile Cys Asp Glu Cys His Ser Thr Asp Ser Thr Thr Ile Leu Gly Ile

290

295

300

Gly Thr Val Leu Asp Gln Ala Glu Thr Ala Gly Ala Arg Leu Val Val
305 310 315 320

Leu Ala Thr Ala Thr Pro Pro Gly Ser Val Thr Val Pro His Pro Asn
325 330 335

10

Ile Glu Glu Val Ala Leu Ser Ser Thr Gly Glu Ile Pro Phe Tyr Gly
340 345 350

Lys Ala Ile Pro Ile Glu Thr Ile Lys Gly Gly Arg His Leu Ile Phe
355 360 365

Cys His Ser Lys Lys Lys Cys Asp Glu Leu Ala Ala Lys Leu Ser Gly
370 375 380

20

Leu Gly Leu Asn Ala Val Ala Tyr Tyr Arg Gly Leu Asp Val Ser Val
385 390 395 400

Ile Pro Thr Ser Gly Asp Val Ile Val Val Ala Thr Asp Ala Leu Met
405 410 415

Thr Gly Phe Thr Gly Asp Phe Asp Ser Val Ile Asp Cys Asn Thr Cys
420 425 430

Val Thr Gln Thr Val Asp Phe Ser Leu Asp Pro Thr Phe Thr Ile Glu
435 440 445

Thr Thr Thr Val Pro Gln Asp Ala Val Ser Arg Ser Gln Arg Arg Gly
450 455 460

Arg Thr Gly Arg Gly Arg Met Gly Ile Tyr Arg Phe Val Thr Pro Gly
465 470 475 480

Glu Arg Pro Ser Gly Met Phe Asp Ser Ser Val Leu Cys Glu Cys Tyr
485 490 495

Asp Ala Gly Cys Ala Trp Tyr Glu Leu Thr Pro Ala Glu Thr Ser Val
500 505 510

Arg Leu Arg Ala Tyr Leu Asn Thr Pro Gly Leu Pro Val Cys Gln Asp
515 520 525

10

20

His Leu Glu Phe Trp Glu Ser Val Phe Thr Gly Leu Thr His Ile Asp
530 535 540

Ala His Phe Leu Ser Gln Thr Lys Gln Ala Gly Asp Asn Phe Pro Tyr
545 550 555 560

Leu Val Ala Tyr Gln Ala Thr Val Cys Ala Arg Ala Gln Ala Pro Pro
565 570 575

10

Pro Ser Trp Asp Gln Met Trp Glu Cys Leu Ile Arg Leu Lys Pro Thr
580 585 590

Leu His Gly Pro Thr Pro Leu Leu Tyr Arg Leu Gly Ala Val Gln Asn
595 600 605

20

Glu Val Thr Thr Thr His Pro Ile Thr Lys Tyr Ile Met Ala Cys Met
610 615 620

Ser Ala Asp Leu Glu Val Val Thr Ser Thr Trp Val Leu Val Gly Gly
625 630 635 640

Val Leu Ala Ala Leu Ala Ala Tyr Cys Leu Thr Thr Gly Ser Val Val
645 650 655

Ile Val Gly Arg Ile Ile Leu Ser Gly Lys Pro Ala Ile Ile Pro Asp
660 665 670

Arg Glu Val Leu Tyr Arg Glu Phe Asp Glu Met Glu Glu Cys Ala Ser
675 680 685

10

His Leu Pro Tyr Ile Glu Gln Gly Met Gln Leu Ala Glu Gln Phe Lys
690 695 700

Gln Lys Ala Ile Gly Leu Leu Gln Thr Ala Thr Lys Gln Ala Glu Ala
705 710 715 720

Ala Ala Pro Val Val Glu Ser Lys Trp Arg Thr Leu Glu Ala Phe Trp
725 730 735

20

Ala Lys His Met Trp Asn Phe Ile Ser Gly Ile Gln Tyr Leu Ala Gly
740 745 750

Leu Ser Thr Leu Pro Gly Asn Pro Ala Ile Ala Ser Leu Met Ala Phe

755

760

765

Thr Ala Ser Ile Thr Ser Pro Leu Thr Thr Gln His Thr Leu Leu Phe
770 775 780

Asn Ile Leu Gly Gly Trp Val Ala Ala Gln Leu Ala Pro Pro Ser Ala
785 790 795 800

10

Ala Ser Ala Phe Val Gly Ala Gly Ile Ala Gly Ala Ala Val Gly Ser
805 810 815

Ile Gly Leu Gly Lys Val Leu Val Asp Ile Leu Ala Gly Tyr Gly Ala
820 825 830

Gly Val Ala Gly Ala Leu Val Ala Phe Lys Val Met Ser Gly Glu Met
835 840 845

20

Pro Ser Thr Glu Asp Leu Val Asn Leu Leu Pro Ala Ile Leu Ser Pro
850 855 860

Gly Ala Leu Val Val Gly Val Val Cys Ala Ala Ile Leu Arg Arg His
865 870 875 880

Val Gly Pro Gly Glu Gly Ala Val Gln Trp Met Asn Arg Leu Ile Ala
885 890 895

Phe Ala Ser Arg Gly Asn His Val Ser Pro Thr His Tyr Val Pro Glu
900 905 910

Ser Asp Ala Ala Ala Arg Val Thr Gln Ile Leu Ser Gly Leu Thr Ile
915 920 925

Thr Gln Leu Leu Lys Arg Leu His Gln Trp Ile Asn Glu Asp Cys Ser
930 935 940

Thr Pro Cys Ser Gly Ser Trp Leu Arg Asp Val Trp Asp Trp Ile Cys
945 950 955 960

Thr Val Leu Thr Asp Phe Lys Thr Trp Leu Gln Ser Lys Leu Leu Pro
965 970 975

Arg Leu Pro Gly Val Pro Phe Phe Ser Cys Gln Arg Gly Tyr Lys Gly
980 985 990

10

20

Val Trp Arg Gly Asp Gly Ile Met Gln Thr Thr Cys Pro Cys Gly Ala
995 1000 1005

Gln Ile Thr Gly His Val Lys Asn Gly Ser Met Arg Ile Val Gly
1010 1015 1020

Pro Arg Thr Cys Ser Asn Thr Trp His Gly Thr Phe Pro Ile Asn
1025 1030 1035

10

Ala Tyr Thr Thr Gly Pro Cys Thr Pro Ser Pro Ala Pro Asn Tyr
1040 1045 1050

Ser Arg Ala Leu Trp Arg Val Ala Ala Glu Glu Tyr Val Glu Val
1055 1060 1065

20

Thr Arg Val Gly Asp Phe His Tyr Val Thr Gly Met Thr Thr Asp
1070 1075 1080

Asn Val Lys Cys Pro Cys Gln Val Pro Ala Pro Glu Phe Phe Thr
1085 1090 1095

Glu Val Asp Gly Val Arg Leu His Arg Tyr Ala Pro Ala Cys Lys
1100 1105 1110

Pro Leu Leu Arg Glu Glu Val Thr Phe Leu Val Gly Leu Asn Gln
1115 1120 1125

Tyr Leu Val Gly Ser Gln Leu Pro Cys Glu Pro Glu Pro Asp Val
1130 1135 1140

10

Ala Val Leu Thr Ser Met Leu Thr Asp Pro Ser His Ile Thr Ala
1145 1150 1155

Glu Thr Ala Lys Arg Gly Leu Ala Arg Gly Ser Pro Pro Ser Leu
1160 1165 1170

Ala Ser Ser Ser Ala Ser Gln Leu Ser Ala Pro Ser Leu Lys Ala
1175 1180 1185

20

Thr Cys Thr Thr Arg His Asp Ser Pro Asp Ala Asp Leu Ile Glu
1190 1195 1200

Ala Asn Leu Leu Trp Arg Gln Glu Met Gly Gly Asn Ile Thr Arg

1205	1210	1215
Val Glu Ser Glu Asn Lys Val	Val Ile Leu Asp Ser	Phe Glu Pro
1220	1225	1230
Leu Gln Ala Glu Glu Asp Glu	Arg Glu Val Ser Val	Pro Ala Glu
1235	1240	1245
Ile Leu Arg Arg Ser Arg Lys	Phe Pro Arg Ala Met	Pro Ile Trp
1250	1255	1260
Ala Arg Pro Asp Tyr Asn Pro	Pro Leu Leu Glu Ser	Trp Lys Asp
1265	1270	1275
Pro Asp Tyr Val Pro Pro Val	Val His Gly Cys Pro	Leu Pro Pro
1280	1285	1290
Ala Lys Ala Pro Pro Ile Pro	Pro Pro Arg Arg Lys	Arg Thr Val
1295	1300	1305
Val Leu Ser Glu Ser Thr Val	Ser Ser Ala Leu Ala	Glu Leu Ala
1310	1315	1320

10

20

Thr Lys Thr Phe Gly Ser Ser Glu Ser Ser Ala Val Asp Ser Gly
1325 1330 1335

Thr Ala Thr Ala Ser Pro Asp Gln Pro Ser Asp Asp Gly Asp Ala
1340 1345 1350

Gly Ser Asp Val Glu Ser Tyr Ser Ser Met Pro Pro Leu Glu Gly
1355 1360 1365

Glu Pro Gly Asp Pro Asp Leu Ser Asp Gly Ser Trp Ser Thr Val
1370 1375 1380

Ser Glu Glu Ala Ser Glu Asp Val Val Cys Cys Ser Met Ser Tyr
1385 1390 1395

Thr Trp Thr Gly Ala Leu Ile Thr Pro Cys Ala Ala Glu Glu Thr
1400 1405 1410

Lys Leu Pro Ile Asn Ala Leu Ser Asn Ser Leu Leu Arg His His
1415 1420 1425

10

20

Asn Leu Val Tyr Ala Thr Thr Ser Arg Ser Ala Ser Leu Arg Gln
1430 1435 1440

Lys Lys Val Thr Phe Asp Arg Leu Gln Val Leu Asp Asp His Tyr
1445 1450 1455

Arg Asp Val Leu Lys Glu Met Lys Ala Lys Ala Ser Thr Val Lys
1460 1465 1470

10

Ala Lys Leu Leu Ser Val Glu Glu Ala Cys Lys Leu Thr Pro Pro
1475 1480 1485

His Ser Ala Arg Ser Lys Phe Gly Tyr Gly Ala Lys Asp Val Arg
1490 1495 1500

20

Asn Leu Ser Ser Lys Ala Val Asn His Ile Arg Ser Val Trp Lys
1505 1510 1515

Asp Leu Leu Glu Asp Thr Glu Thr Pro Ile Asp Thr Thr Ile Met
1520 1525 1530

Ala Lys Asn Glu Val Phe Cys Val Gln Pro Glu Lys Gly Gly Arg
1535 1540 1545

Lys Pro Ala Arg Leu Ile Val Phe Pro Asp Leu Gly Val Arg Val
1550 1555 1560

Cys Glu Lys Met Ala Leu Tyr Asp Val Val Ser Thr Leu Pro Gln
1565 1570 1575

10

Ala Val Met Gly Ser Ser Tyr Gly Phe Gln Tyr Ser Pro Gly Gln
1580 1585 1590

Arg Val Glu Phe Leu Val Asn Ala Trp Lys Ala Lys Lys Cys Pro
1595 1600 1605

Met Gly Phe Ala Tyr Asp Thr Arg Cys Phe Asp Ser Thr Val Thr
1610 1615 1620

20

Glu Asn Asp Ile Arg Val Glu Glu Ser Ile Tyr Gln Cys Cys Asp
1625 1630 1635

Leu Ala Pro Glu Ala Arg Gln Ala Ile Arg Ser Leu Thr Glu Arg

1640	1645	1650
Leu Tyr Ile Gly Gly Pro Leu Thr Asn Ser Lys Gly Gln Asn Cys		
1655	1660	1665
Gly Tyr Arg Arg Cys Arg Ala Ser Gly Val Leu Thr Thr Ser Cys		
1670	1675	1680
Gly Asn Thr Leu Thr Cys Tyr Leu Lys Ala Ala Ala Ala Cys Arg		
1685	1690	1695
Ala Ala Lys Leu Gln Asp Cys Thr Met Leu Val Cys Gly Asp Asp		
1700	1705	1710
Leu Val Val Ile Cys Glu Ser Ala Gly Thr Gln Glu Asp Glu Ala		
1715	1720	1725
Ser Leu Arg Ala Phe Thr Glu Ala Met Thr Arg Tyr Ser Ala Pro		
1730	1735	1740
Pro Gly Asp Pro Pro Lys Pro Glu Tyr Asp Leu Glu Leu Ile Thr		
1745	1750	1755

10

20

Ser Cys Ser Ser Asn Val Ser Val Ala His Asp Ala Ser Gly Lys
1760 1765 1770

Arg Val Tyr Tyr Leu Thr Arg Asp Pro Thr Thr Pro Leu Ala Arg
1775 1780 1785

Ala Ala Trp Glu Thr Ala Arg His Thr Pro Val Asn Ser Trp Leu
1790 1795 1800

Gly Asn Ile Ile Met Tyr Ala Pro Thr Leu Trp Ala Arg Met Ile
1805 1810 1815

Leu Met Thr His Phe Phe Ser Ile Leu Leu Ala Gln Glu Gln Leu
1820 1825 1830

Glu Lys Ala Leu Asp Cys Gln Ile Tyr Gly Ala Cys Tyr Ser Ile
1835 1840 1845

Glu Pro Leu Asp Leu Pro Gln Ile Ile Gln Arg Leu His Gly Leu
1850 1855 1860

10

20

Ser Ala Phe Ser Leu His Ser Tyr Ser Pro Gly Glu Ile Asn Arg
1865 1870 1875

Val Ala Ser Cys Leu Arg Lys Leu Gly Val Pro Pro Leu Arg Val
1880 1885 1890

Trp Arg His Arg Ala Arg Ser Val Arg Ala Arg Leu Leu Ser Gln
1895 1900 1905

10

Gly Gly Arg Ala Ala Thr Cys Gly Lys Tyr Leu Phe Asn Trp Ala
1910 1915 1920

Val Arg Thr Lys Leu Lys Leu Thr Pro Ile Pro Ala Ala Ser Gln
1925 1930 1935

20

Leu Asp Leu Ser Ser Trp Phe Val Ala Gly Tyr Ser Gly Gly Asp
1940 1945 1950

Ile Tyr His Ser Leu Ser Arg Ala Arg Pro Arg Trp Phe Met Trp
1955 1960 1965

Cys Leu Leu Leu Ser Val Gly Val Gly Ile Tyr Leu Leu Pro
 1970 1975 1980

Asn Arg
 1985

<210> 18

<211> 447

<212> PRT

<213> Hepatitis C virus

10

<400> 18

Ser Gly Ser Trp Leu Arg Asp Val Trp Asp Trp Ile Cys Thr Val Leu
 1 5 10 15

Thr Asp Phe Lys Thr Trp Leu Gln Ser Lys Leu Leu Pro Arg Leu Pro
 20 25 30

20

Gly Val Pro Phe Phe Ser Cys Gln Arg Gly Tyr Lys Gly Val Trp Arg
 35 40 45

Gly Asp Gly Ile Met Gln Thr Thr Cys Pro Cys Gly Ala Gln Ile Thr
 50 55 60

Gly His Val Lys Asn Gly Ser Met Arg Ile Val Gly Pro Arg Thr Cys
 65 70 75 80

Ser Asn Thr Trp His Gly Thr Phe Pro Ile Asn Ala Tyr Thr Thr Gly
 85 90 95

Pro Cys Thr Pro Ser Pro Ala Pro Asn Tyr Ser Arg Ala Leu Trp Arg
 100 105 110

Val Ala Ala Glu Glu Tyr Val Glu Val Thr Arg Val Gly Asp Phe His
 115 120 125

Tyr Val Thr Gly Met Thr Thr Asp Asn Val Lys Cys Pro Cys Gln Val
 130 135 140

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

Tyr Ala Pro Ala Cys Lys Pro Leu Leu Arg Glu Glu Val Thr Phe Leu
 165 170 175

10

20

Val Gly Leu Asn Gln Tyr Leu Val Gly Ser Gln Leu Pro Cys Glu Pro
180 185 190

Glu Pro Asp Val Ala Val Leu Thr Ser Met Leu Thr Asp Pro Ser His
195 200 205

Ile Thr Ala Glu Thr Ala Lys Arg Gly Leu Ala Arg Gly Ser Pro Pro
210 215 220

10

Ser Leu Ala Ser Ser Ser Ala Ser Gln Leu Ser Ala Pro Ser Leu Lys
225 230 235 240

Ala Thr Cys Thr Thr Arg His Asp Ser Pro Asp Ala Asp Leu Ile Glu
245 250 255

20

Ala Asn Leu Leu Trp Arg Gln Glu Met Gly Gly Asn Ile Thr Arg Val
260 265 270

Glu Ser Glu Asn Lys Val Val Ile Leu Asp Ser Phe Glu Pro Leu Gln
275 280 285

Ala Glu Glu Asp Glu Arg Glu Val Ser Val Pro Ala Glu Ile Leu Arg
290 295 300

Arg Ser Arg Lys Phe Pro Arg Ala Met Pro Ile Trp Ala Arg Pro Asp
305 310 315 320

Tyr Asn Pro Pro Leu Leu Glu Ser Trp Lys Asp Pro Asp Tyr Val Pro
325 330 335

10

Pro Val Val His Gly Cys Pro Leu Pro Pro Ala Lys Ala Pro Pro Ile
340 345 350

Pro Pro Pro Arg Arg Lys Arg Thr Val Val Leu Ser Glu Ser Thr Val
355 360 365

Ser Ser Ala Leu Ala Glu Leu Ala Thr Lys Thr Phe Gly Ser Ser Glu
370 375 380

20

Ser Ser Ala Val Asp Ser Gly Thr Ala Thr Ala Ser Pro Asp Gln Pro
385 390 395 400

Ser Asp Asp Gly Asp Ala Gly Ser Asp Val Glu Ser Tyr Ser Ser Met

405

410

415

Pro Pro Leu Glu Gly Glu Pro Gly Asp Pro Asp Leu Ser Asp Gly Ser
 420 425 430

Trp Ser Thr Val Ser Glu Glu Ala Ser Glu Asp Val Val Cys Cys
 435 440 445

10

<210> 19
 <211> 447
 <212> PRT
 <213> Hepatitis C virus

<400> 19

Ser Gly Ser Trp Leu Arg Asp Val Trp Asp Trp Ile Cys Thr Val Leu
 1 5 10 15

20

Thr Asp Phe Lys Thr Trp Leu Gln Ser Lys Leu Leu Pro Arg Leu Pro
 20 25 30

Gly Val Pro Phe Phe Ser Cys Gln Arg Gly Tyr Lys Gly Val Trp Arg
 35 40 45

Gly Asp Gly Ile Met Gln Thr Thr Cys Pro Cys Gly Ala Gln Ile Thr
50 55 60

Gly His Val Lys Asn Gly Ser Met Arg Ile Val Gly Pro Arg Thr Cys
65 70 75 80

Ser Asn Thr Trp His Gly Thr Phe Pro Ile Asn Ala Tyr Thr Thr Gly
85 90 95

10

Pro Cys Thr Pro Ser Pro Ala Pro Asn Tyr Ser Arg Ala Leu Trp Arg
100 105 110

Val Ala Ala Glu Glu Tyr Val Glu Val Thr Arg Val Gly Asp Phe His
115 120 125

20

Tyr Val Thr Gly Met Thr Thr Asp Asn Val Lys Cys Pro Cys Gln Val
130 135 140

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

Tyr Ala Pro Ala Cys Lys Pro Leu Leu Arg Glu Glu Val Thr Phe Leu
165 170 175

Val Gly Leu Asn Gln Tyr Leu Val Gly Ser Gln Leu Pro Cys Glu Pro
180 185 190

Glu Pro Asp Val Ala Val Leu Thr Ser Met Leu Thr Asp Pro Ser His
195 200 205

10

Ile Thr Ala Glu Thr Ala Lys Arg Arg Leu Ala Arg Gly Ser Pro Pro
210 215 220

Ser Leu Ser Ser Ser Ser Ala Ser Gln Leu Ser Ala Pro Ser Leu Lys
225 230 235 240

Ala Thr Cys Thr Thr Arg His Asp Ser Pro Asp Ala Asp Leu Ile Glu
245 250 255

20

Ala Asn Leu Leu Trp Arg Gln Glu Met Gly Gly Asn Ile Thr Arg Val
260 265 270

Glu Ser Glu Asn Lys Val Val Ile Leu Asp Ser Phe Glu Pro Leu Gln

275

280

285

Ala Glu Glu Asp Glu Arg Glu Val Ser Val Pro Ala Glu Ile Leu Arg
290 295 300

Arg Ser Arg Lys Phe Pro Arg Ala Met Pro Ile Trp Ala Arg Pro Asp
305 310 315 320

10

Tyr Asn Pro Pro Leu Leu Glu Ser Trp Lys Asp Pro Asp Tyr Val Pro
325 330 335

Pro Val Val His Gly Cys Pro Leu Pro Pro Ala Lys Ala Pro Pro Ile
340 345 350

Pro Pro Pro Arg Arg Lys Arg Thr Val Val Leu Ser Glu Ser Thr Val
355 360 365

20

Ser Ser Ala Leu Ala Glu Leu Ala Thr Lys Thr Phe Gly Ser Ser Glu
370 375 380

Ser Ser Ala Val Asp Ser Gly Thr Ala Thr Ala Ser Pro Asp Gln Pro
385 390 395 400

Ser Asp Asp Gly Asp Ala Gly Ser Asp Val Glu Ser Tyr Ser Ser Met
 405 410 415

Pro Pro Leu Glu Gly Glu Pro Gly Asp Pro Asp Leu Ser Asp Gly Ser
 420 425 430

Trp Ser Thr Val Ser Glu Glu Ala Ser Glu Asp Val Val Cys Cys
 435 440 445

10

<210> 20

<211> 447

<212> PRT

<213> Hepatitis C virus

<400> 20

20

Ser Gly Ser Trp Leu Arg Asp Val Trp Asp Trp Ile Cys Thr Val Leu
 1 5 10 15

Thr Asp Phe Lys Thr Trp Leu Gln Ser Lys Leu Leu Pro Arg Leu Pro
 20 25 30

Gly Val Pro Phe Phe Ser Cys Gln Arg Gly Tyr Lys Gly Val Trp Arg
35 40 45

Gly Asp Gly Ile Met Gln Thr Thr Cys Pro Cys Gly Ala Gln Ile Thr
50 55 60

Gly His Val Lys Asn Gly Ser Met Arg Ile Val Gly Pro Arg Thr Cys
65 70 75 80

10

Ser Asn Thr Trp His Gly Thr Phe Pro Ile Asn Ala Tyr Thr Thr Gly
85 90 95

Pro Cys Thr Pro Ser Pro Ala Pro Asn Tyr Ser Arg Ala Leu Trp Arg
100 105 110

Val Ala Ala Glu Glu Tyr Val Glu Val Thr Arg Val Gly Asp Phe His
115 120 125

20

Tyr Val Thr Gly Met Thr Thr Asp Asn Val Lys Cys Pro Cys Gln Val
130 135 140

Pro Ala Pro Glu Phe Phe Thr Glu Val Asp Gly Val Arg Leu His Arg

145 150 155 160

Tyr Ala Pro Ala Cys Lys Pro Leu Leu Arg Glu Glu Val Thr Phe Leu
 165 170 175

Val Gly Leu Asn Gln Tyr Leu Val Gly Ser Gln Leu Pro Cys Glu Pro
 180 185 190

10

Glu Pro Asp Val Ala Val Leu Thr Ser Met Leu Thr Asp Pro Ser His
 195 200 205

Ile Thr Ala Glu Thr Ala Lys Arg Arg Leu Ala Arg Gly Ser Pro Pro
 210 215 220

Cys Leu Ala Ser Ser Ser Ala Ser Gln Leu Ser Ala Pro Ser Leu Lys
225 230 235 240

20

Ala Thr Cys Thr Thr Arg His Asp Ser Pro Asp Ala Asp Leu Ile Glu
 245 250 255

Ala Asn Leu Leu Trp Arg Gln Glu Met Gly Gly Asn Ile Thr Arg Val
 260 265 270

Glu Ser Glu Asn Lys Val Val Ile Leu Asp Ser Phe Glu Pro Leu Gln
275 280 285

Ala Glu Glu Asp Glu Arg Glu Val Ser Val Pro Ala Glu Ile Leu Arg
290 295 300

Arg Ser Arg Lys Phe Pro Arg Ala Met Pro Ile Trp Ala Arg Pro Asp
305 310 315 320

Tyr Asn Pro Pro Leu Leu Glu Ser Trp Lys Asp Pro Asp Tyr Val Pro
325 330 335

Pro Val Val His Gly Cys Pro Leu Pro Pro Ala Lys Ala Pro Pro Ile
340 345 350

Pro Pro Pro Arg Arg Lys Arg Thr Val Val Leu Ser Glu Ser Thr Val
355 360 365

Ser Ser Ala Leu Ala Glu Leu Ala Thr Lys Thr Phe Gly Ser Ser Glu
370 375 380

10

20

Ser Ser Ala Val Asp Ser Gly Thr Ala Thr Ala Ser Pro Asp Gln Pro
 385 390 395 400

Ser Asp Asp Gly Asp Ala Gly Ser Asp Val Glu Ser Tyr Ser Ser Met
 405 410 415

Pro Pro Leu Glu Gly Glu Pro Gly Asp Pro Asp Leu Ser Asp Gly Ser
 420 425 430

10

Trp Ser Thr Val Ser Glu Glu Ala Ser Glu Asp Val Val Cys Cys
 435 440 445

<210> 21

<211> 447

<212> PRT

<213> Hepatitis C virus

20

<400> 21

Ser Gly Ser Trp Leu Arg Asp Val Trp Asp Trp Ile Cys Thr Val Leu
 1 5 10 15

Thr Asp Phe Lys Thr Trp Leu Gln Ser Lys Leu Leu Pro Arg Leu Pro

20 25 30

Gly Val Pro Phe Phe Ser Cys Gln Arg Gly Tyr Lys Gly Val Trp Arg
35 40 45

Gly Asp Gly Ile Met Gln Thr Thr Cys Pro Cys Gly Ala Gln Ile Thr
50 55 60

Gly His Val Lys Asn Gly Ser Met Arg Ile Val Gly Pro Arg Thr Cys
65 70 75 80

Ser Asn Thr Trp His Gly Thr Phe Pro Ile Asn Ala Tyr Thr Thr Gly
85 90 95

Pro Cys Thr Pro Ser Pro Ala Pro Asn Tyr Ser Arg Ala Leu Trp Arg
100 105 110

Val Ala Ala Glu Glu Tyr Val Glu Val Thr Arg Val Gly Asp Phe His
115 120 125

Tyr Val Thr Gly Met Thr Thr Asp Asn Val Lys Cys Pro Cys Gln Val
130 135 140

10

20

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

Tyr Ala Pro Ala Cys Lys Pro Leu Leu Arg Glu Glu Val Thr Phe Leu
165 170 175

Val Gly Leu Asn Gln Tyr Leu Val Gly Ser Gln Leu Pro Cys Glu Pro
180 185 190

Glu Pro Asp Val Ala Val Leu Thr Ser Met Leu Thr Asp Pro Ser His
195 200 205

Ile Thr Ala Glu Thr Ala Lys Arg Arg Leu Ala Arg Gly Ser Pro Pro
210 215 220

Pro Leu Ala Ser Ser Ser Ala Ser Gln Leu Ser Ala Pro Ser Leu Lys
225 230 235 240

Ala Thr Cys Thr Thr Arg His Asp Ser Pro Asp Ala Asp Leu Ile Glu
245 250 255

10

20

Ala Asn Leu Leu Trp Arg Gln Glu Met Gly Gly Asn Ile Thr Arg Val
260 265 270

Glu Ser Glu Asn Lys Val Val Ile Leu Asp Ser Phe Glu Pro Leu Gln
275 280 285

Ala Glu Glu Asp Glu Arg Glu Val Ser Val Pro Ala Glu Ile Leu Arg
290 295 300

10

Arg Ser Arg Lys Phe Pro Arg Ala Met Pro Ile Trp Ala Arg Pro Asp
305 310 315 320

Tyr Asn Pro Pro Leu Leu Glu Ser Trp Lys Asp Pro Asp Tyr Val Pro
325 330 335

20

Pro Val Val His Gly Cys Pro Leu Pro Pro Ala Lys Ala Pro Pro Ile
340 345 350

Pro Pro Pro Arg Arg Lys Arg Thr Val Val Leu Ser Glu Ser Thr Val
355 360 365

Ser Ser Ala Leu Ala Glu Leu Ala Thr Lys Thr Phe Gly Ser Ser Glu
 370 375 380

Ser Ser Ala Val Asp Ser Gly Thr Ala Thr Ala Ser Pro Asp Gln Pro
 385 390 395 400

Ser Asp Asp Gly Asp Ala Gly Ser Asp Val Glu Ser Tyr Ser Ser Met
 405 410 415

10

Pro Pro Leu Glu Gly Glu Pro Gly Asp Pro Asp Leu Ser Asp Gly Ser
 420 425 430

Trp Ser Thr Val Ser Glu Glu Ala Ser Glu Asp Val Val Cys Cys
 435 440 445

<210> 22

<211> 7789

<212> DNA

<213> Hepatitis C virus

20

<400> 22

gccagccccc gattgggggc gacactccac catagatcac tcccctgtga ggaactactg 60

tcctcagca gaaagcgtct agccaaggcg ttagtaagag tgcgtgcag cctccaggac 120

ccccccctccc gggagagcca tagtggctcg cggaaaccggt gactacaccg gaattgccag 180
 gacgaccggg tccittcttg gatcaaccg ctcaatgctt ggagatttgg gcgtgcccc 240
 gcgagactgc tagccgagta gtttgggtc gcgaaaggcc ttgtggtact gcctgatagg 300
 gtgcttgcga gtgccccggg aggtctcgta gaccgtgcac cagaccacaa cggtttccct 360
 ctacgggat caattccgcc cctctccctc cccccccct aacgttactg gccgaagccg 420
 ctiggaataa gggcgggtg cgittgtcta taigtattt tccaccatai tgcgtcttt 480
 tggcaatgig agggcccgga aacctggccc tgtctcttg acgagcattc ctagggtct 540
 ttccctctc gccaaaggaa tgcaaggctt gtigaatgic gtaaggaag cagttcctct 600
 ggaagcttct tgaagacaaa caacgtctgt agcgacctt tgcaggcagc ggaaccccc 660
 acctggcgac aggtgcctct gcggccaaaa gccacgtgta taagatacac ctgcaaaggc 720
 ggcacaaccc cagtgcacg ttgtgagttg gatagttgtg gaaagagtca aatggctctc 780
 ctcaagcgta ttcaacaagg ggcigaagga tgcccagaag gtacccatt gtatgggatc 840
 tgatcgggg cctcgggtgca catgtttac atgtgttag tcgaggtaa aaaacgtcta 900
 ggccccccga accacgggga cgtggtttc ctttgaataa cacgataata ccatggaccg 960

10

20

ggagaiggca gcatcgtgcg gaggcgcggt tticgtaggt ctgatactct tgacctgtc 1020
 accgcactat aagctgttcc tcgctaggct catatgggtg ttacaatat ttatcaccag 1080
 ggccgaggca cacttgcaag tgiggatccc cccctcaac gtccggggg gccgcgatgc 1140
 cgtcatcctc ctacagtcg cgaaccacc agagctaac ttaccatca ccaaaatctt 1200
 gctcgccata ctgggtccac tcatgggtct ccaggctggt ataaccaaag tgccgtactt 1260
 cgtgcgcgca cagggctca ttctgtcgt catcgtggt cggaaaggtt cgggggtca 1320
 ttatgtccaa atggctctca tgaagtggc cgcactgaca ggtacgtacg ttatgacca 1380
 tctacccca ctgcccgtc gggccacgc gggcctacga gacctgcgg tggcagtga 1440
 gcccgctgc ttctcigata tggagaccaa ggtatcacc tggggggcag acaccgcgc 1500
 gtgtggggac atcatcttgg gccgtccgt ctccgccgc agggggagg agatacatct 1560
 gggaccggca gacagccttg aaggcaggg gtggcgactc ctgcgccta ttacggccta 1620
 ctcccaacag acgcgaggcc tacttggctg catcatcact agcctcacag gccgggacag 1680
 gaaccaggic gagggggagg tccaagtgt ctccaccgca acacaatctt tcttggcgac 1740
 ctgcgtcaat ggcgtgtgt ggactgtcta tcatgggtcc ggtcacaaga ccttgcgg 1800
 cccaaaggc ccaatcacc aaatgtacac caatgggac caggacctcg tcggctggca 1860

10

20

agcgccccc gggcgcggtt ccttgacacc atgcacctgc ggcagctcgg acctttactt 1920
 ggtaacgagg catgccgatg tcattccggt gcgccggcgg ggcgacagca gggggagcct 1980
 acttccccc agggccgtct cctacttgaa gggctcttcg ggcggtcac tgctcigccc 2040
 ctggggcac gctgtgggca tctttcgggc tgccgtgtgc acccgagggg ttcgaaggc 2100
 ggtagacttt gtaccgtcg agtctatgga aaccactatg cggccccgg tcttcacgga 2160
 caactcgtcc ctccggccg taccgcagac attccaggtg gcccatctac acgcccctac 2220
 tggtagcggc aagagcacta aggtgccggc tgcgtatgca gcccaagggt ataagggtct 2280
 gtctcigaac cgtccgtcg cgcgccctt aggtttcggg gcgtatatgt ctaaggcaca 2340
 tggtaicgac ctaaacatca gaaccgggtt aaggaccatc accacgggtg ccccatcac 2400
 gtactccacc tatggcaagi tctttgccga cggtaggtgc tctggggcgg cctatgacat 2460
 cataatatgt gatgagtgcc actcaactga ctgcaccact atccgggca tcggcacagt 2520
 ctggaccaa ggcgagacgg ctggagcgcg actcgtcgtg ctgccaccg ctacgcctcc 2580
 gggatcggtc accgtgccac atccaaacat cgaggagggt gctctgtcca gcactggaga 2640
 aatccccitt tatggcaaag ccatcccat cgagaccatc aaggggggga ggcacctcat 2700

10

20

ttctgccat tccaagaaga aatgtgatga gctgccgag aagctgtccg gccctggact 2760
 caatgctga gcatattacc ggggccttga tgiatccgtc ataccaacta gcggagacgt 2820
 cattgctga gcaacggacg cictaatgac gggctttacc ggcgatttcg actcagtgat 2880
 cgactgcaat acaatgtgca cccagacagt cgacttcagc ctggacccga ccttcacat 2940
 tgagacgacg accgtgccac aagacgcgtg gtcacgctcg cagcggcgag gcaggactgg 3000
 tagggcgagg atgggcattt acaggtttgi gactccagga gaacggccct cgggcatgtt 3060
 cgattcctcg gtctgtgctg agtgctatga cgcggcgtgt gcttggtagc agctcacgcc 3120
 cgccgagacc tcagttaggi tgcgggccta cctaaacaca ccagggttgc ccgtctgcca 3180
 ggaccatctg gagttctggg agagcgtctt tacaggcctc acccacatag acgcccattt 3240
 ctgtcccgag actaagcagg caggagacaa ctcccttac ctggtagcat accaggctac 3300
 gggtgtcgcc agggctcagg ctccacctcc atcgtgggac caaatgtgga agtgtctcat 3360
 acggctaaaag cctacgtgc acgggccaac gcccctgtcg tataggctgg gagccgttca 3420
 aaacgagggt actaccacac accccataac caaatatac atggcatgca tgtcggctga 3480
 ctggaggctc gtcacgagca ctgggtgtct ggtaggcgga gtcctagcag ctctggccgc 3540
 gtattgccctg acaacaggca gcgtggctat tgiggcgagg atcatctgtt ccggaaagcc 3600

10

20

ggccatcatt cccgacagg aagtccttta ccgggagtic gatgagatgg aagagtgcc 3660
 ctacacctc cttacatcg aacagggaaat gcagctcgcc gaacaattca aacagaaggc 3720
 aatcgggttg ctgcaaacag ccaccaagca agcggaggct gctgctcccg tggtaggaatc 3780
 caagtgccgg accctcgaag ctttcgggc gaagcataig tggaaattca tcagcgggat 3840
 acaatattta gcaggcttgi ccactcigcc tggcaacccc gcgatagcat cactgatggc 3900
 atcacagcc tctatcacca gcccgctcac cacccaacat accctcctgi ttaacatcti 3960
 ggggggatgg gggccgccc aacttgctcc tccagcgct gcttcigctt tcgtaggcgc 4020
 cggcatcgct ggagcggctg ttggcagcat aggccttggg aagtgcttg tggatatit 4080
 ggcaggttat ggagcagggg tggcagggcg gctcgtggcc tttaaggta tgagcggcga 4140
 gatccctcc accgaggacc tggtaacct atccctgct atcctctccc ctggcgccct 4200
 agtcgtcggg gtcgtgtcg cagcgatact gcgtcggcac gttggcccag gggagggggc 4260
 tgtgcagtgg atgaaccggc tgatagcgtt cgttcgcgg ggttaaccacg tcicccccac 4320
 gcactatgig cctgagagcg acgtgcagc acgtgtcact cagatcctci ctagtcttac 4380
 catcactcag ctgctgaaga ggcttcacca gttgatcaac gaggactgct ccacgccaig 4440

10

20

ctccggctcg tggctaagag atgtttggga ttggatatgc acggtgttga ctgatttcaa 4500
 gacctggctc cagttcaagc tcttgccgcg attgccggga gtcccttcti tctcatgtca 4560
 acgtgggtac aaggagcti ggccgggcga cggcatcaig caaaccacct gcccaigtgg 4620
 agcacagatc accggacatg tgaaaaacgg ttccaigagg atcgtggggc ctaggacctg 4680
 tagtaacacg tggcatggaa cattcccat taacgcgtac accacgggcc cctgcacgcc 4740
 ctccccggcg ccaaattatt ctaggcgcti gttgggggtg gctgcigagg agtacgtgga 4800
 ggttacgcgg gtgggggatt tccactacgt gacgggcatt accactgaca acgtaaagt 4860
 cccgtgtcag gticcggccc ccgaattcti cacagaagt gtatgggtgc ggttgcacag 4920
 gtacgtcca gcgtgcaaac ccttcctacg ggaggaggtc acattcctgg tcgggctcaa 4980
 tcaatacctg gtgggtcac agctcccatg cgagcccgaa ccggacgtag cagtgtcac 5040
 ttccaigctc accgacccci cccacattac ggccggagac gctaaagcta ggctggccag 5100
 gggatctccc ccttccttgg ccagctcctc agctatccag cgtctgcgc ctctctttaa 5160
 ggcaacatgc actacccgtc atgactcccc ggacgtgac ctatcgagg ccaacctct 5220
 gtggcggcag gagatgggcg ggaacatcac ccgcgtggag tcagaaaata aggtagtaat 5280
 ttiggactct ttcgagccgc tccaagcgga ggaggaigag aggggaagtat ccgttcggc 5340

10

20

ggagatccig cggaggicca ggaaatccc tcgagcgaig cccatatggg cagccccga 5400
 ttacaaccti ccactgtag agtcctggaa ggaccggac tacgtccctc cagtggatca 5460
 cgggtgicca ttgccgctig ccaaggcccc tccgatacca cctccacgga ggaagaggac 5520
 ggittgicig tcagaatcta ccgtgicctc tgccttggcg gagctcgcca caaagaccti 5580
 cggcagctcc gaatgicgg ccgtcgacag cggcacggca acggccctc ctagcagcc 5640
 ctccgacgac ggcgacgcgg gatccgacgi tgagtcgtac tcttccatgc cccccctga 5700
 gggggagccg ggggatcccg atctcagca cgggtcttgg tctaccgtaa gcgaggaggc 5760
 tagtgaggac gtgcctgcti gctcgaigtc ctacacatgg acaggcgccc tgatcacgcc 5820
 atgcgtgctg gaggaaacca agctgcccct caatgcactg agcaactcti tgcctcgta 5880
 ccacaactig gictatgcta caacatctcg cagcgcaagc ctgcggcaga agaaggcac 5940
 ctttgacaga ctgcaggctc tggacgacca ctaccgggac gtgcitcaagg agatgaaggc 6000
 gaaggcgtcc acagttaagg ctaaaattci atccgtggag gaagcctgta agctgacgcc 6060
 cccacattcg gccagatcta aatttggcta tggggcaaag gacgtccgga acctatccag 6120
 caaggccggt aaccacatcc gctccgtgtg gaaggactig ctggaagaca ctgagacacc 6180

10

20

aattgacacc accatcatgg caaaaaatga ggttttctgc gtccaaccag agaagggggg 6240
ccgcaagcca gctcgcccta tcgtattccc agatttgggg gticgtgtgti gcgagaaaaat 6300
ggccctttac gatgtggctc ccacctccc tcaggccgig atgggctctt catacggatt 6360
ccaatactct cctggacagc gggctgagtt cctggigaat gcciggaaaag cgaagaaatg 6420
ccctatgggc ttgcataatg acaccgcctg ttttgactca acggtcactg agaatgacat 6480
ccgtgttgag gagtcaatct accaatgttg tgacttggcc cccgaagcca gacaggccat 6540
aaggtcgtc acagagcggc ttacatcgg gggcccccctg actaatctta aagggcagaa 6600
ctgcggctat cggcggtgcc gcgcgagcgg tgtactgacg accagctgcg gtaataccct 6660
cacatgttac tigaaggccg ctgcggccctg tcgagctgcg aagctccagg actgcacgat 6720
gtcgtatgc ggagacgacc ttgtcgttat ctgtgaaagc gcggggaccc aagaggacga 6780
ggcgagccta cgggccttca cggaggctat gactagatac tcigcccccc ctggggaccc 6840
gccccaaacca gaatacgact tggagttagt aacatcatgc tcttccaatg tgtcagtcgc 6900
gcacgatgca tciggcaaaa ggggtgacta tctcacccgt gacccacca ccccccttgc 6960
gcgggctgcg tgggagacag ctagacacac tccagtcatt tctggctag gcaacatcat 7020
catgtatgcg cccaccttgi gggcaaggat gatccgatg actcatitct tctccatctt 7080

10

20

tctagctcag gaacaactig aaaaagccct agatigtcag atctacgggg cctgttactc 7140
 catigagcca ctigacctac ctgagatcat tcaacgactc catggccctta gcgcattttc 7200
 actccatagi tactctccag gtgagatcaa tagggiggct tcatgcctca ggaaacttgg 7260
 ggtaccgccc ttgcgagctc ggagacatcg ggccagaagi gtccgcgcta ggctactgtc 7320
 ccaggggggg agggctgcca ctigtggcaa gtacctcttc aactgggcag taaggaccaa 7380
 gctcaaactc atccaatcc cggctgcgtc ccagtggat ttatccagct ggttcgttgc 7440
 tggttacagc gggggagaca tatatcacag cctgtctcgt gcccgacccc gctggttcat 7500
 gtgtgacctc ctctacttt ctgtaggggt aggcattctat ctactcccca accgatgaac 7560
 ggggacctaa acactccagg ccaataggcc atcctgtttt ttccctttt ttttttctt 7620
 ttttttttt ttttttttt ttttttttt ttctcctttt ttttctctt ttttttctt 7680
 ttctttctt ttgttgctcc atcttagccc tagtcacggc tagctgtgaa aggtccgtga 7740
 gccgcttgac tgcagagagi gctgatactg gccctctctc agatcaagt 7789

10

20

<210> 23
 <211> 11062
 <212> DNA

(213) Hepatitis C virus

(400) 23

gccagccccc gattgggggc gacactccac catagatcac tcccctgtga ggaactactg 60
 tcttcacgca gaaagcgtct agccaatggcg ttagtaigag tgtcgtgcag cctccaggac 120
 cccccctccc gggagagcca tagtggctcg cggaaaccgi gactacaccg gaattgccag 180
 gacgaccggg tcttttcttg gatcaaccgc ctcaatgcct ggagatttgg gcgtgcccc 240
 gcgagactgc tagccgagta gtttgggtc gcgaaaggcc ttgtgttact gcctgatagg 300
 gigtgtcgca gggcccgagg aggtctcgta gaccgtgcac catgagcacg aatcctaaac 360
 ctcaaagaaa aaccaaaggc cgcgccatga ttgaacaaga tggattgcac gcaggttctc 420
 cggccgcttg ggtggagagg ctattcggct atgactgggc acaacagaca atcggctgct 480
 cigtgccgc cggttccggc cgtcagcgc agggcgccc ggitttttt gtaagaccg 540
 acctgtccgg tggcctgaat gaactgcagg acgaggcagc gcggctatcg tggctggcca 600
 cgacggcgti tcttgcgca gcgtgctcg acgtgtcac tgaagcggga agggactggc 660
 tgctattggg cgaagtgccg gggcaggatc tctgtcatc tcaccttgc cctgccgaga 720
 aagtaiccat catggctgat gcaatgcggc ggctgcatac gcttgatccg gctacctgcc 780

10

20

cattcgacca ccaagcgaaa catcgcatcg agcgagcacg tactcggatg gaagccggtc 840
ttgtcgatca ggaatgaicg gacgaagagc atcaggggci cgcgccagcc gaactgttcg 900
ccaggctcaa ggcgcgcaig cccgacggcg aggatctcgt cgigacccat ggcgaigcct 960
gcttgccgaa tatcaiggtg gaaaatggcc gcttttctgg attcatcgac tgtggccggc 1020
tgggtgtggc ggaccgctat caggacatag cgttggctac cgttgatatt gctgaagagc 1080
ttggcggcga atgggctgac cgcttcctcg tgccttacgg tatcgccgt cccgattcgc 1140
agcgcatcgc ctctatcgc ctcttgacg agttctctg agtttaaaca gaccacaacg 1200
gtttccctci agcgggatca attccgccc tcctccctccc cccccctaa cgttactggc 1260
cgaagccgt tggataaagg ccggtgtgag ttgtctata tgtattttc caccatattg 1320
ccgtcttttg gcaatgtgag ggccccgaaa cctggccctg tctcttgac gagcattcct 1380
aggggtctti cccctctcgc caaaggaatg caaggctgt tgaatgtcgt gaaggaagca 1440
gttctcttgg aagcttcttg aagacaaaca acgtctgtag cgaccctttg caggcagcgg 1500
aacccccac ctggcgacag gtgcctctgc ggccaaaagc cacgtgtata agatacacct 1560
gcaaaggcgg cacaaccca gtgccacgti gtgagtggga tagttgtgga aagagtcaaa 1620
tggctctcct caagctatt caacaagggg cigaaggatg cccagaaggi accccattgt 1680

10

20

atgggacig atctggggcc tcggtagcaca tgcittacat gigttagic gaggttaaaa 1740
 aacgtciagg cccccgaac cacggggacg tggttttcct ttgaaaaaca cgataataat 1800
 gagcacgaat cctaaacctc aaagaaaaac caaacgtaac accaaccgcc gccacagga 1860
 cgicaagtic cggggcggig gtcagatcgt cggtaggagtt taccigtgc cgcgcagggg 1920
 cccaggttg ggtagcgcg cgactaggaa gattccgag cggtagcaac ctctgggaag 1980
 gcgacaacct atcccaagg ctgccagcc cgaggtagg gccgggctc agccgggta 2040
 cccctggccc ctctaiggca atgagggtt ggggtgggca ggatggctcc tgcaccccg 2100
 tggctctcgg cctagtggg gcccacgga ccccgccgt aggtcgcga atttgggtaa 2160
 ggtaicgat accctcacgt gggcttcgc gatacctat ggttacatt cgtcgtcgg 2220
 cgcccccta gggggcgcig ccaggccct ggccatggc gtcgggttc tggaggacgg 2280
 cgtaactat gcaacaggga atctcccgg ttgtccctt tctatcttc ttttggcttt 2340
 gctgtcctgt ttgaccatcc cagcttcgc ttatgaagt cgcaacgtat ccggagtga 2400
 ccatgicacg aacgactgt ccaacgaag catttgtat gaggcagcgg acatgatcat 2460
 gcatacccc gggtagctgc cctgcgttc ggagaacaac tctcccgct gctggtagc 2520

10

20

gtcacatccc acgctcgcgg ccaggaacgc tagcgicccc actacgacga tacgacgcca 2580
tgicgatttg ctcgctgggg cggctgctct ctgctccgct atgtacgtgg gagatctctg 2640
cggatctggt ttccctcgtc gccagctggt cactttctcg cctcgccggc acgagacagt 2700
acaggactgc aattgcicaa tataatcccg ccacgtgaca ggacaccgta tggcttggga 2760
tatgatgatg aactggcac ctacagcagc cctagtggta tcgcagttac tccggatccc 2820
acaagctgtc gggatattg tggcggggc ccatgggga gtcctagcgg gccttgccta 2880
ctattccatg gggggaact gggctaaggt tctgattgtg atgtactctt ttgccggcgt 2940
tgacggggga acctagtga caggggggac gatggccaaa aacacctcgg ggattacgtc 3000
cctcttttca cccgggtcat ccagaaaaat ccagcttgta aacaccaacg gcagctggca 3060
catcaacagg atgcccctga atgcaatga ctccctcaac atggggttcc ttgctgcgt 3120
gttctacgtg cacaagtca atcaatctgg atgccagag cgcattggcca gctgcagccc 3180
catcgacgcg ttgcctcagg ggiggggggc catcattac aatgagtcac acagctcgga 3240
ccagaggcct tattgttggc actacgcacc ccggccgtgc ggtatcgtac ccgcggcgca 3300
gggtgttggg ccagtgtact gcttaccacc aagccctgtc gtggggggga cgaccgaccg 3360
gttcggcgtc cctacgtaca gtggggggga gaatgagacg gacgtgctgc ttcttaacaa 3420

10

20

cacgcggcgc ccgcaaggca actggittgg cgtacatgg atgaatagca cggggttcac 3480
 caagacgtgc gggggccccc cgtgtaacat cggggggatc ggcaataaaa ccttgacctg 3540
 cccacaggac tgcctccgga agcaccgccg gccacattac accaagtgig gticggggcc 3600
 ttggtigaca ccagatgct tggtcacta ccatacagg ctttggcact acccctgcac 3660
 tgtaacitt accatctca aggttaggat gtacgtgggg ggagtgagc acaggctcga 3720
 agccgatgc aattggactc gaggagagcg ttgtaacctg gaggacaggg acagatcaga 3780
 gcttagcccg cgtctgtgt ctacaacgga gggcaggta tggccctgtt ccttcaccac 3840
 cctaccggct cgtccactg gttgatcca tctccatcag aacgtcgtgg acgtacaata 3900
 ccgtacggt atagggtcgg cggttgtct ctttgcaatc aaatgggagt atgtcctgtt 3960
 gctcttcctt cttctggcgg acgcgcgcgt cgtgcctgc ttgtggatga tgctgtgat 4020
 agctcaagct gaggcgccc tagagaacct ggtggicctc aacgcggcat ccgtggccgg 4080
 ggcgatggc attctctct tctctgtgt cttctgtgt gccigtgaca tcaagggcag 4140
 gctggicctt ggggcggcat atgccctcta cggcgtatgg ccgtactcc tgctcctgt 4200
 ggcgttacca ccacagcat acgcatgga ccgggagatg gcagcatcgt gcggaggcgc 4260

10

20

ggttttcgta ggctcgatac tcttgacctt gtcaccgcac tataagctgt tcttcgctag 4320
gtcctatggt tggttacaat attttatcac cagggccgag gcacacttgc aagtgtggat 4380
ccccccctc aacgttcggg ggggcccga tgccgcatc ctctcacgt gcgcgatcca 4440
cccagagcta atctttacca tcacaaaat ctgtctgcc atactcggc cactcatgtt 4500
gtccaggct ggtataacca aagtccgta ctctgtcgc gcacacgggc tcattcgtgc 4560
atgcatgtg gtcggaagg ttgtggggg tcattatgtc caaatggctc tcatgaagtt 4620
ggccgcactg acaggtaagt acgtttatga ccatctcacc ccactcggg actgggcca 4680
cgccggccta cgagacctg cgtggcagt tgagccgtc gtcttctctg atatggagac 4740
caaggtaat accctggggg cagacaccg gccgtgtggg gacatcatct tggccctgcc 4800
cgctccgcc cgcagggga gggagataca tctgggaccg gcagacagcc ttgaaggga 4860
gggtggcga ctctcgcgc ctattacggc ctactccaa cagacgcgag gcctacttgg 4920
ctgcatcat actagcctca caggccggga caggaaccag gtcgagggg aggtccaagt 4980
ggctccacc gcaacacaat ctctcttggc gacctcgtc aatggcgtgt gtggactgt 5040
ctatcatgtt gccgctcaa agaccttgc cggcccaaag ggcccaatca cccaaatgta 5100
caccaatgtg gaccaggacc tcgtcggctg gcaagcggc cccggggcgc gtctctgac 5160

10

20

accatgcacc tgcggcagct cggaccttia ctgggicacg aggcattgcc atgtattcc 5220
 ggigcggccg cggggcgaca gcagggggag cctactctcc cccaggcccg tcicctactt 5280
 gaagggtcti tggggcggtc cactgtcttg cccctcgggg cagcgtgtgg gcatctttcg 5340
 ggctgccgtg tgcacccgag gggttgcgaa ggcgggggac ttgtacccg tcgagictat 5400
 ggaaaccact atgcgggtccc cggctttcac ggacaactcg tccccctcgg cgtaccgca 5460
 gacattccag gggcccatc tacacgccc tactggtagc ggcaagagca ctaaggigcc 5520
 ggctgcgtat gcagcccaag ggtataaggi gcttgctcig aaccgtccg tcgccccac 5580
 cctaggtttc ggggcgtata tgtctaaggc acatggtaic gaccctaaca tcagaaccgg 5640
 ggtaaggacc atcaccacgg gtgccccat cagttactcc acctatggca agttttttgc 5700
 cgacgggtgt tgcctcgggg gcgcctatga catcataata tggatgagi gccactcaac 5760
 tgactcgacc actatcctgg gcatcggcac agtcctggac caagcggaga cggctggagc 5820
 gcgactcgtc gtgctcgcca ccgtacgcc tccgggatcg gtcaccgtgc cacatccaaa 5880
 catcgaggag gggctctgti ccagcactgg agaaatcccc ttttatggca aagccatccc 5940
 catcgagacc atcaaggggg ggaggcacct cattttctgc cattccaaga agaaatgtga 6000

10

20

tgagctcgcc gcgaagctgt cggccctcgg actcaatgct gtagcatatt accggggcct 6060
tgatgtatcc gtcataccaa ctacgggaga cgicattgtc gtagcaacgg acgctctaat 6120
gacgggccttt accggcgatt tcgactcagi gatcgactgc aatacatgtg tcacccagac 6180
agtcgacttc agcctggacc cgaccttcac cattgagacg acgaccgtgc cacaagacgc 6240
gggtgcacgc tcgcagcggc gaggcaggac tggtaggggc aggatgggca ttacagggtt 6300
tgigactcca ggagaacggc cctcgggcat gticgattcc tcggttctgt gcgagtgcct 6360
tgacgcgggc tggcttggc acgagctcac gcccgccgag acctcagttt gggtgcgggc 6420
ttacctaaac acaccagggt tggcctctg ccaggacctt ctggagtctt gggagagcgt 6480
ctttacaggc ctacccaca tagacccca ttcttgttc cagactaagc aggcaggaga 6540
caacttcccc tacttggtag cataccaggc tacgggtgtc gccagggctc aggcctccacc 6600
tccatcgtgg gaccaaattg ggaagtgtct catacggcta aagcctacgc tgcacgggcc 6660
aacgccccctg cgttataggc tgggagccgt tcaaacgag gtactacca cacaccccat 6720
aaccaaatac atcatggcat gcatgtcggc tgacctggag gtcgtcacga gcacctgggt 6780
gcgtgtaggc ggagtcctag cagctcggc cgcgtattgc ctgacaacag gcagcgtggt 6840
cattgtgggc aggatcatct gticcggaaa gccggccatc attcccgaca gggaagtcct 6900

10

20

ttaccgggag ttcgaigaga tggaaagagig cgccitcacac ciccctitaca tcgaacaggg 6960
 aatgcagctc gccgaacaat tcaaacagaa ggcaatcggg ttgctgcaa cagccaccaa 7020
 gcaagcggag gctgcigctc ccgtggigga atccaagtgg cggaccctcg aagccttctg 7080
 ggccaagcat atgtggaatt tcatcagcgg gatacaatai ttagcaggct tgtccactct 7140
 gccitggcaac cccgcgatag catcacigat ggcatcacca gcccttatca ccagcccgtc 7200
 caccacccaa cataccctcc tgittaacat ccigggggga tgggtggccg cccaacttgc 7260
 tctcccagc gctgcittct ctttctagg cgccggcacc gctggagcgg cgtttggcag 7320
 cataggcctt gggaaaggtgc ttgtggatai ttggcagggt tatggagcag ggttggcagg 7380
 cgcgctcgtg gccitttaagg tcatgagcgg cgagaigccc tccaccgagg acctgtttaa 7440
 cctatccctt gctatcctct cccctggcgc cctagtcgtc ggggtcgtgt gcgcagcgat 7500
 actgcgtcgg cacgtgggcc caggggaggg ggctgtgcag tggatgaacc ggctgatagc 7560
 gttcgttctg cggggtaacc acgtctcccc cagccactai gtgcctgaga gcgacgtctc 7620
 agcacgtgtc actcagatcc tctctagtct taccatcact cagctgtctga agaggttca 7680
 ccagtggatc aacgaggact gctccacgcc atgctccggc tcgtggctaa gagatgtttg 7740

10

20

ggattggata tgcacgggtg tgactgattt caagacctgg ctccagtcga agctccigcc 7800
 gcgattgccg ggagtcctct tcttctcatg tcaacgtggg tacaaggagag tctggcgggg 7860
 cgacggcatc atgcaaacca cctgcccatg tggagcacag atcaccggac atgtgaaaaa 7920
 cggttccatg aggaatcgtg ggcctaggac ctgtagtac acgtggcatg gaacattccc 7980
 cattaacgcg tacaccacgg gccccgcac gccctcccc gcgccaattt attctagggc 8040
 gctgtggcgg gggcgtcgtg aggagtacgt ggaggttacg cgggtggggg atttccacta 8100
 cgtgacgggc atgaccactg acaacgtaaa gtgcccggtg caggttccgg cccccgaatt 8160
 ctccacagaa gggatggggg tgcgttgca caggtacgtt ccagcgtgca aacccctctt 8220
 acgggaggag gtacatttcc tggtcgggtt caatcaatac cgtgtgggtt cacagctccc 8280
 atgcgagccc gaaccggacg tagcagtgtt cacttccatg ctaccggacc ctcccacat 8340
 tacggcggag acggctaagc gtaggctggc caggggatct cccccctctt tggccagctc 8400
 atcagctatc cagctgtctg cgccttcttt gaaggcaaca tgcactaccc gtcattgact 8460
 cccggacgtt gaccatctg agggcaacct cctgtggcgg caggagatgg gcgggaacat 8520
 caccgcgtg gattcagaaa ataaggtagt aattttggac tctttcgagc cgtccaagc 8580
 ggaggaggat gagagggaag tatccgttcc ggcggagatc ctgcggaggi ccaggaaatt 8640

10

20

ccctcgagcg atgcccatai gggcacgccc ggattacaac cctccactgi tagagtcctg 8700
gaaggacccg gactacgtcc ctccagtggt acacgggtgi ccattgccgc ctgccaaggc 8760
ccctccgata ccacciccac ggaggaagag gacggtigt cgtcagaat ctaccgtgtc 8820
ttctgccttg gcggagctcg ccacaaagac ctccggcagc tccgaatcgt cggccgtcga 8880
cagcggcacg gcaacggcct ctccgacca gccctccgac gacggcgacg cgggattcga 8940
cgttgagtcg tactcttcca tgccccctt tgagggggag ccgggggac cggatctcag 9000
cgacgggtct tggctiaccg taagcgagga ggctagttag gacgtcgtct gctgctcgat 9060
gtcctacaca tggacaggcg ccttgatcac gccatgcgt cgggaggaaa ccaagctgcc 9120
catcaatgca ctgagcaact ctctgtccg tcaccacaac ttggcttatg ctacaacatc 9180
tcgcagcgca agcctgcggc agaagaaggi cacctttgac agactgcagg tcctggacga 9240
ccactaccgg gacgtgtca aggagatgaa ggcgaggcg tccacagtta aggctaaact 9300
tctatccgtg gaggaagcct gtaagctgac gccccacat tcggccagat ctaaatttgg 9360
ctatggggca aaggacgtcc ggaacctatc cagcaaggcc gtaaccaca tccgtctcgt 9420
gtggaaggac ttgttgaag acactgagac accaatgac accaccatca tggcaaaaaa 9480

10

20

tgaggttttc tgcgtccaac cagagaaggg gggccgcaag ccagctcgcc ttatcgtatt 9540
cccagatttg ggggttcgtg tggcgagaa aatggccctt tacgatgtgg tctccacctt 9600
ccctcaggcc gigaigggct ctctatcagg attccaatac tctccaggac agcgggtcga 9660
gttccctggg aatgccigga aagcgaagaa atgccctatg ggcttcgcat atgacacccg 9720
ctgttttgac tcaacggtca ctgagaatga catccgtgtt gaggagtcga tctaccaatg 9780
ttgtgacttg gccccgaag ccagacaggc cataaggctg ctacacagagc ggctttacat 9840
cgggggcccc ctgactaatt cttaaaggca gaactgcggc tatcgccgtt gccgcgcgag 9900
cgggtgactg acgaccagct gcggtaatac cctcacatgt tacttgaagg ccgtgcggc 9960
cgtcgagct gcgaagctcc aggacgcac gatgcctgta tgcggagacg acctgtctgt 10020
tatctgtgaa agcgcgggga cccaagagga cgaggcgagc ctacgggctt tcacggaggc 10080
tatgactaga tactctgccc cccctgggga cccgccccaa ccagaatacg acctggagtt 10140
gataacatca tgcctctcca atgtgtcagt cgcgcacgat gcatctggca aaagggtgta 10200
ctatctcacc cgtgacccca ccacccccct tgcgcgggct gcgtgggaga cagctagaca 10260
cactccagtc aattcctggc taggcaacat catcatgtat gcgccacctt tgtgggcaag 10320
gatgatcctg atgactcatt tcttctccat ccttctagct caggaacaac tggaaaaagc 10380

10

20

cctagattgt cagatctacg gggccigtta ctccattgag ccacttgacc tacctcagat 10440
 cattcaacga ctccatggcc ttagcgatt ttcactccat agttactctc caggtagat 10500
 caatagggtg gcttcatgcc tcaggaaact tgggtaccg cccitgagag tctggagaca 10560
 tcggccaga aggtccgcg ctaggctact gtcccagggg gggagggcig ccacttgigg 10620
 caagtaccic ttcaactggg cagtaaggac caagctcaa ctcactccaa tcccggctgc 10680
 gtcccagtg gattatcca gtgggtcgt tgcgtgtac agcggggag acatatatca 10740
 cagccigtct cgtcccgac cccgcgggt catgtgtgc ctactcctac ttctgtagg 10800
 ggtaggcatc tatctactcc ccaaccgatg aacggggacc taaacactcc aggccaatag 10860
 gccatcctgt tttttccct ttttttttt ctttttttt ttttttttt ttttttttt 10920
 tttttctct tttttttcc tcttttttc cttttcttc ctttggggc tccatcttag 10980
 ccctagtcac ggctagctgt gaaaggccg tgagccgctt gactgcagag agtgcigata 11040
 ctggcctctc tgcagatcaa gt 11062

10

20

<210> 24
 <211> 9605
 <212> DNA

(213) Hepatitis C virus

(400) 24

gccagcccc gattggggc gacactccac catagatcac tccccgtga ggaactactg 60
 tcttcacgca gaaagcgtct agccaaggcg ttagtaigag tgcgtgcag cctccaggac 120
 cccccctccc gggagagcca tagtggctcg cggaaaccgi gactacaccg gaattgccag 180
 gacgaccggg tctttcttg gatcaaccg ctaaatgctt ggagatttgg gcgtgcccc 240
 gcgagactgc tagccgagta gtttgggtc gcgaaaggcc ttgtgttact gctgatagg 300
 ggtcttcga ggtcccgagg aggtctcgtg gaccgtgcac catgagcac aatcctaaac 360
 ctcaagaaa aaccaaactt aacaccaacc gccgcccaca ggacgtcaag ttcccggcg 420
 ggtgtcagat cgtcgttga gttacctgt tgcgcgcag gggcccagg ttgggtgtgc 480
 gcgcgactag gaagacttcc gagcgtcgc aacctcgtg aaggcgacaa cctatccca 540
 aggcctgcca gcccgagggt agggcctggg ctacgcccgg gtacccctgg cccctctatg 600
 gcaatgaggg ctgggggtgg gcaggatggc tctgtcacc ccgtggctct cggcctagtt 660
 gggcccccac ggacccccgg cgtaggctgc gcaatttggg taaggctatc gataccctca 720
 cgtcggctt cgccgctc atgggttaca ttccgctct cggcggccc ctaggggcg 780

10

20

ctgccagggc ctggcgcat ggcgtccggg tcttggagga cggcgtgaac tatgcaacag 840
 ggaatctgcc cggttgctcc ttttctatct tcttttggc ttgtcgtcc tgtttgacca 900
 tcccagcttc cgcttatgaa gtgcgcaacg tatccggagi giaccatgtc acgaacgact 960
 gtccaacgc aagcatgtg tatgaggcag cggacatgat catgcatacc cccgggtgcg 1020
 tgcccctgct tggggagaac aactcctccc gtgtctgggt agcgtcact cccacgctcg 1080
 cggccaggaa cgctagcgtc cccactacga cgatacgacg ccatgtcgat ttgtctgttg 1140
 gggcggctgc tctctgtcc gctatgtacg tgggagatct ctgcggatct gttttcctcg 1200
 tcgccagct gtacacctc tcgctcgcc ggcacgagac agtacaggac tgcaatgtct 1260
 caatatatcc cggccacgtg acaggcacc giatggcttg ggataatga agaacctgtg 1320
 cactacagc agccctagt gtatcgcat tactccgat cccacaagct gtctggata 1380
 tggtaggggg ggcccatagg ggagtcctag cgggccttgc ctactattcc atggtgggga 1440
 actgggctaa ggttcgtatt gtatgtctac tctttgccgg cgttgacggg ggaacctatg 1500
 tgacaggggg gacgatggcc aaaaacacc tcgggattac gtccctcttt tcaccgggt 1560
 catccagaa aatccagcti gtaaacacca acggcagctg gcacatcaac aggactgccc 1620
 tgaacigcaa tgactccctc aacaciggti tcttgcgtgc gctgttctac gtgcacaagi 1680

10

20

tcaactcaic tggatgccca gagcgcatgg ccagctgcag ccccatcgac gcgttcgctc 1740
 aggggtgggg gcccatcact tacaatgagt cacacagctc ggaccagagg ccttatgttt 1800
 ggcactacgc acccggccg tgcggtatcg taccgcggc gcagggtgtg ggtccagtgt 1860
 actgcttcac cccaagccct gtcgtggtag ggacgaccga ccggttcggc gtccttacgt 1920
 acagtgggg ggagaatgag acggacgtgc tgcctcctaa caacacggc ccgccgaag 1980
 gcaacigggt tggctgtaca tggatgaata gcactgggtt caccaagacg tggggggcc 2040
 ccccgigtaa catcgggggg atcggaata aaacctgac cggccacg gactgcttcc 2100
 ggaagcacc ccaggccact tacaccaagt gtggttcggg gccttgggtg acaccagat 2160
 gcttggcca ctaccatac aggccttggc actaccctg cactgtcaac ttaccatct 2220
 tcaaggtag gatgtacgt gggggagtgg agcacaggct cgaagccga tgcaattgga 2280
 ctgaggaga gcgttgtaac ctggaggaca gggacagatc agagcttagc ccgtgctgc 2340
 tgctacaac ggagtggcag gtattgccc gticcttcac caccctacc gcctgtcca 2400
 cgggttgat ccattccat cagaacgtc tggacgtaca ataccgtac ggtatagggt 2460
 cggcggtgt ctccttgca atcaaatgg agtatgtct gtgctcttc ctctctctgg 2520

10

20

cggacgcgcg cgctgtgcc tgcctgtgga tgatgtgct gatagctcaa gctgaggccg 2580
 ccctagagaa cctggiggic ctcaacgcgg catccgtggc cggggcgcat ggcattctct 2640
 ccttcctcgt gtctctctgt gctgcctggi acatcaaggc caggciggic cctggggcgg 2700
 catagccct ctacggcgta tggccgtac tctgtcctt gctggcgta ccaccagag 2760
 catagccat ggaccgggag atggcagcat cgtgcggagg cgcggtttc gtaggtctga 2820
 tactctgac ctgtcaccg cactataagc tgttcctcgc taggtcata tggtggttac 2880
 aatattttat caccagggcc gaggcacact tgcaagtgt gatcccccc ctcaacgttc 2940
 gggggggccg cgtgccgtc atctcctca cgtgcgcgt ccaccagag ctaatctta 3000
 ccatcacaa aatctgtc gccatactc gtccactcat gggtctccag gctggataa 3060
 ccaaagtgc gtacttcgt cgcgcacac ggctcattc tgcatcatg ctggtcgga 3120
 aggttgctgg ggttcattat gtccaatgg ctctcatgaa gtggccgca ctgacaggta 3180
 cgtacgtta tgaccatct accccactgc gggactgggc ccacgcgggc ctacgagacc 3240
 ttgcggtggc agttgagccc gtctcttct ctgatatga gaccaagggt atcacctggg 3300
 gggcagacac cgcggcgtgt ggggacatca tcttgggct gcccgctcc gccgcaggg 3360
 ggaggagat acatciggga ccggcagaca gccitgaagg gcagggttg cgactcctc 3420

10

20

cgccattac ggcctactcc caacagacgc gaggcctact tggctgcatc atcactagcc 3480
tcacaggccg ggacaggaac caggctgagg gggaggicca agtggctctc accgcaacac 3540
aatctttcct ggcgacctgc gtcaatggcg tgggtggac tgtctatcat ggtgccggct 3600
caaagacctt tgccggccca aaggcccaa tcaccaaai gtacaccaai gttgaccagg 3660
acctcgtcgg ctggcaagcg cccccgggg cgcgttcctt gacaccaatgc acctgcggca 3720
gtcggacctt ttacttggc acgaggcatg ccgatgtcat tccggtgcgc cggcggggcg 3780
acagcagggg gagcctactc tccccaggc ccgtctccta ctgaagggc tcttcgggcg 3840
gtccactgct ctgcccctcg gggcacgctg tggcatctt tcggcctgcc gtgtgcaccc 3900
gaggggttgc gaaggcgtg gactttgtac ccgtcgagtc taiggaaacc actatgcggt 3960
ccccggtctt cacggacaac tcgtccctc cggccgtacc gcagacattc caggtggccc 4020
atctacacgc ccctactggt agcggcaaga gcactaaggi gccggctgcg taigcagccc 4080
aagggtataa ggtgcttgc ctgaacccgt ccgtcgccgc caccctaggi ttcggggcgt 4140
atatgtctaa ggcacatggt atcgacccta acatcagaac cggggtaagg accatcacca 4200
cgggtgcccc catcacgtac tccacctatg gcaagtittt tgccgacggt ggttgctctg 4260

10

20

ggggcgcta tgacatcata atatgtgatg agtgccactc aactgactcg accactatcc 4320
tgggcatcgg cacagtcctg gaccaagcgg agacggctgg agcgcgactc gtcgtgctcg 4380
ccaccgtac gcctccggga tcggtcaccg tgccacatcc aaacatcgag gaggiggctc 4440
tgiccagcac tggagaaatc cccitttatg gcaaagccat ccccatcgag accatcaagg 4500
gggggaggca cctcatittc tgccattcca agaagaaatg tgatgagctc gccgcgaagc 4560
tgicccggct cggactcaat gctgtagcat attaccgggg ccttgatgta tccgtcatac 4620
caactagcgg agacgtcatt gtcgtagcaa cggacgctct aatgacgggc ttaccggcg 4680
atttcgactc agtgcacgac tgcaatcat ggttcacca gacagtcgac ttcagcctgg 4740
accgacctt caccatigag acgacgaccg tgccacaaga cgcggigtca cgctcgagc 4800
ggcgaggcag gactggtagg ggcaggatgg gcatttacag gtttgtgact ccaggagaac 4860
ggccctcggg caigttcgat tctcgggtc tgtcgagtg ctatgacgcg ggcgtgctt 4920
ggtacgagct cagcccgcc gagacctcag ttaggttgcg ggcttaccta aacacaccag 4980
ggttggccgt ctgccaggac catctggagt tcgggagag cgtctttaca ggctcacc 5040
acatagacgc ccatttcctg tccagacta agcaggcagg agacaacttc ccttacctgg 5100
tagcatacca ggctacggtg tgcgccaggc ctcaggctcc acctccatcg tgggaccaa 5160

10

20

tgtaggaagtg tctcatacgg cttaaagccia cgtgacacgg gccaacgccc ctgctgtata 5220
ggctgggagc cgttcaaac gaggttacta ccacacaccc cataaccaa tacatcatgg 5280
catgcatgtc ggctgacctg gaggtcgtca cgagcacctg ggctgctgta ggaggagtcc 5340
tagcagctct ggccgcgtat tgcctgacaa caggcagcgt ggctattgtg ggcaggatca 5400
tcttgccgg aaagcggcc atcatcccg acaggaagi ccttaccgg gagttcgtg 5460
agatgaaga gtgcgctca cactccctt acatgaaca ggaatgcag ctgccgaac 5520
aattcaaaca gaaggcaatc gggttgctgc aaacagccac caagcaagcg gaggtgctg 5580
ctcccggtgt ggaatccaag tggcgaccc tcgaagcctt ctggcggaag catagtgga 5640
atttcatcag cgggatacaa tatttagcag gcttgctcac tcgcttggc aaccccgga 5700
tagcatcact gatggcattc acagcctcta tcaccagccc gctcaccacc caacatacc 5760
tcctgtttaa catccgggg ggatgggtgg ccgcccaact tgcctctcc agcgtgctt 5820
ctgctttctg aggcgccggc atgcctggag cggctgttgg cagcataggc ctgggaagg 5880
tgcttgtaga tattttgca ggtatggag caggggtggc aggcgcgtc gggccctta 5940
aggatcatgag cggcgagatg ccttcaccg aggacctgt taacctact cctgctatcc 6000

10

20

tcicccctgg cgccctagtc gtcggggtcg tgtgcgcagc gatactgcgt cggcacgtgg 6060
gcccaaggga gggggctgtg cagtggatga accggctgat agcgttcgti tcgggggta 6120
accacgtctc cccacgcac tatgtgccig agagcgacgc tgcagcacgi gtcactcaga 6180
tcctctctag tcctaccatc atcagctgc tgaagaggci tcaccagtgg atcaacgagg 6240
actgtccac gccatgtctc ggctcgtggc taagagatgi ttgggattgg atatgcacgg 6300
tgttgactga ttcaagacc tggctccagi ccaagctcct gccgcgattg cggggagtcc 6360
ccttctctc atgtcaacgi gggtaacaagg gagtctggcg gggcgacggc atcatgcaa 6420
ccaccigccc atgtggagca cagatcacg gacatgtgaa aaacggitcc atgaggatcg 6480
tggggcctag gacctgtagi aacacgtggc atggaacatt cccattaac gcgtacacca 6540
ggggccccig cagccctcc cgggcgcaa attattctag ggcgctgtgg cgggtggctg 6600
ctgaggagta ctggagggti acgcggtgg gggatticca ctacgtgacg ggcatgacca 6660
ctgacaacgi aaagtgcctg tgcagggtc cggccccga attcttcaca gaagtggatg 6720
gggtgcggti gcacaggtag gctccagcti gcaaacccti cctacgggag gaggtcacat 6780
tcctggtcgg gtcaatcaa tacctgggtg ggtcacagci cccatgcgag cccgaaccgg 6840
acgtagcagi gtcacttcc atgtcacccg accctccca cattacggcg gagacggcta 6900

10

20

agcgtaggct ggccagggga tctcccccct ccttgccag ctcacagct atccagctgt 6960
 ctgcgccttc ctigaaggca acatgcacta cccgtcatga ctccccggac gctgacctca 7020
 tcgaggccaa ccttcigtgg cggcaggaga tgggcgggaa catcacccgc gttgagtcag 7080
 aaaataaggi agtaatttig gactctttcg agccgctcca agcggaggag gatgagaggg 7140
 aagtaicctt tccggcggag atcctgcgga ggtccaggaa atccctcga gcgatgccca 7200
 taigggcacg cccggattac aaccciccac tgtagagtc ctggaaggac ccgactiacg 7260
 tccctccagi ggtacacggg tgiccatitg cgcctgccaa ggccccctcg ataccacctc 7320
 cacggaggaa gaggacgggt gtcctgtcag aatctaccgt gctttctgcc ttggcggagc 7380
 tcgccacaaa gaccttcggc agctccgaat cgtcggccgt cgacagcggc acggcaacgg 7440
 cctctcctga ccagccctcc gacgacggcg acgcgggatc cgacgttagg tcgtactcct 7500
 ccatgcccc ccttgagggg gagccggggg atcccgatct cagcgacggg tcttggctca 7560
 ccgtaagcga ggaggctagt gaggacgtcg tcgtcgtctc gatgtcctac acatggacag 7620
 gcgcccigat cagccatgc gctgcggagg aaaccaagct gcccatcaat gcactgagca 7680
 actctttgct ccgtcaccac aacttggtct atgtacaac atctcgagc gcaagcctgc 7740

10

20

ggcagaagaa ggtcaccttt gacagactgc aggtccctgga cgaccactac cgggacgtgc 7800
tcaaggagat gaaggcgaag gcgtccacag ttaaggctaa acttctatcc gttgaggaag 7860
cctgtaagct gacgccccca cattcggcca gatctaaatt tggctatggg gcaaaggacg 7920
tccggaacct atccagcaag gccgttaacc acatccgctc cggttggaag gacttgctgg 7980
aagacactga gacaccaatt gacaccacca tcatggcaaa aaatgagggt ttttgcgtcc 8040
aaccagagaa ggggggcccgc aagccagctc gccttatcgt attccagat ttgggggttc 8100
gtgtgtcga gaaaatggcc ctttacgatg tggctccac cctccctcag gccgtgatgg 8160
gccttcata cggattccaa tactctctg gacagcgggt cgagttctg gtgaatgctt 8220
ggaaaagcga gaaatgccct atgggcttcg catatgacac ccgtgtttt gactcaacgg 8280
tcactgagaa tgacatccgt gttaggaggt caatctacca atgtgtgac ttggcccccg 8340
aagccagaca ggccataagg tcgtcacag agcggcttta catcgggggc cccctgacta 8400
attctaaagg gcagaactgc ggctatgcc gggtccgcgc gagcggigta ctgacgacca 8460
gctgcggtaa tacctcaca tgttacttga aggccgtgc gccctgtcga gctgcgaagc 8520
tccaggactg cacgatgctc gtatcggag acgacctgti cgttatctgt gaaagcgcgg 8580
ggaccaaga ggacgaggcg agcctacggg ccttcacgga ggctatgact agatactctg 8640

10

20

```

ccccccctgg ggaccgcccc aaaccagaat acgactigga gtgataaca tcatgtctct 8700
ccaatgtgtc agtcgcgcac gatgcattcg gcaaaagggt gtactatctc acccgtgacc 8760
ccaccacccc ccttgcgcgg gctgcgtggg agacagctag acacaticca gtcaaticct 8820
ggctaggcaa catcatcaig tatgcgcccc ccttgtgggc aaggatgac ctagtactc 8880
attttttctc catctttcta gtcaggaac aacttgaata agccctagat tgcagatct 8940
acggggcctg ttactccatt gagccacttg acctacctca gatcaticaa cgactccatg 9000
gccttagcgc attttcactc catagtact ctcagggtga gatcaatagg gttgcttcat 9060
gcctcaggaa acttggggta cgcctctgc gactctggag acatcgggcc agaagtgtcc 9120
ggcctaggct acgttcccag ggggggaggg ctgccacttg tggcaagtac ctcttcaact 9180
gggcagtaag gaccaagctc aaactcactc caatcccgcc tgcgtcccag tggatttat 9240
ccagctgggt cgttctgtgt tacagcgggg gagacataa tcacagcctg tctcgtgccc 9300
gaccccgctg gttaagtgtg tgcctactcc tactttctgt aggggtaggc atctatctac 9360
tcccaaccg aigaacgggg acctaaacac tccaggccaa taggcatcc tgttttttc 9420
cctttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt ttttttttct cctttttttt 9480
tctctttttt ttttttttct ttttttttgg ggctccatct tagccctagt cacggctagc 9540
tgtagaagggt ccgtgagccg ctgtactgca gagagtgtcg atactggcct cctgtcagat 9600
caagt 9605

```

10

20

30

40

【図面の簡単な説明】

【図 1】 HCVゲノム構造、ポリタンパク質プロセッシング、及びタンパク質の特徴。一番上には、構造及び非構造タンパク質のコード領域、並びに5'及び3' NTR、並びに推定3'二次構造を伴うウイルスのゲノムを示す。ゲノムの下側の四角は、タンパク質分解性プロセッシングカスケードにより生成されたタンパク質を示す。推定構造タンパク質は、影付き四角で示し、構造タンパク質は白抜き四角で示した。非荷電アミノ酸の連続伸長は黒色棒で示した。アスタリスクは、N-連結したグリカンを伴うタンパク質を意味するが、必ずしも利用された部位の位置又は数を示すものではない。示された切断部位は、宿主シグナラーゼ(黒菱形)、NS2-3プロテアーゼ(曲線矢印)、NS3-4Aセリンプロテアーゼ()である。

【図 2】 HCVベクターを用いる異種RNA及びタンパク質の発現の戦略。一番上は、ポジテ

50

ィブ-極性RNAウイルスHCVの略図であり、これは、一本の長いORFの翻訳及びタンパク質分解性プロセッシングにより成熟ウイルスタンパク質を発現している。構造タンパク質(STRUCTURAL)及び非構造タンパク質(REPLICASE)をコードしているポリタンパク質の領域は、各々、明影付き四角及び白抜き四角で示した。下側には、多くの提案された複製-コンピテントな「レプリコン」発現構築体を示している。最初の4個の構築体(A-D)は、構造遺伝子を欠いており、従って感染性ビリオンへのパッケージングを可能にするヘルパーシステムを必要としている。構築体E-Gは、複製又はパッケージングのためのヘルパー機能を必要としないであろう。暗影付き四角は、異種又は外来遺伝子配列(FG)を示している。翻訳開始部位(aug)及び転写シグナル(trm)は、各々、白三角及び黒菱形で示している。内部リボソーム侵入部位(IRES)は、垂直線を付けた四角で示した。構築体A及びHは、HCVポリタンパク質とインフレーム融合体としての異種産物の発現を説明している。このようなタンパク質融合体接合部は、宿主又はウイルスプロテアーゼのいずれかによりプロセッシングが媒介されるように操作することができる(矢印で示した)。

10

【図3】 HCVrep1bBartMan の構造。この感染性レプリコンの2種の変種は、実施例1において記したように構築した。第一のHCVrep1bBartMan/AvaIIは、3' NTRの可変ドメイン中にAvaII制限部位を有し、これは野生型HCV亜型1bの3' NTRには存在しない。第二の変異体HCVrep1bBartMan/2U'sは、3'NTRのポリピリミジンドメイン中の連続U'sの最長の伸長において、野生型の34よりもむしろ32のU'sを有した。「GDD AGG」の表示は、実施例1においてポリメラーゼ陰性対照として使用した非-複製レプリコンにおける不活性化変異を示している。

20

【図4】 G418-耐性細胞クローンの作出。一番上は、図3に示したHCVrep1bBartManレプリコンの略図である。中間の文には、実施例1において更に説明されている、適応突然変異体の単離に使用された工程をまとめている。下側チャートには、実施例において説明したいくつかの単離したレプリコンの特徴をまとめている。

【図5】 HCV-特異的RNA及びタンパク質の合成。図5Aは、実施例において更に説明されているような4種の適応レプリコンのアクチノマイシンD-耐性RNA複製を示している。図5Bは、実施例1において更に説明されている、3種の適応レプリコンの³⁵S-標識したHCV-特異タンパク質の免疫沈降を示している。

【図6】 G418-耐性細胞クローンにおけるNS3の検出。示した様々なレプリコンでトランスフェクションした細胞の単層を、抗-NS3抗体で免疫染色した。染色パターンは、感染肝由来の染色した細胞に類似していた。

30

【図7】 HCVのNS5Aコード領域におけるヌクレオチド及びアミノ酸の変化。7種の適応クローンのNS5Aコード領域の一部のヌクレオチド及びアミノ酸の変化を示している。

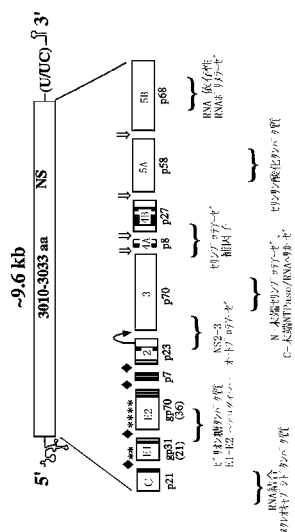
【図8】 レプリコンRNAのHuh7細胞への電気穿孔後に作出されたG418-耐性コロニー。適応レプリコン(レプリコンI)のHuh7細胞へのトランスフェクション後にコロニーを樹立する能力(中央)を、当初のレプリコンHCVrepBartMan/AvaII(左側)及び同じ適応レプリコンであるが、ポリメラーゼ遺伝子不活性変異を伴うもの(右側)と比較した。

【図9】 HCVレプリコン及び完全長HCV RNAの構造。適応レプリコン5'NTR-EMCVは、NS3の上流のEMCV IRESに直接融合した5'NTRを有した。別の適応レプリコンであるHCVrep/NS2-5Bは、非構造タンパク質NS2をNS3上流に有した。完全長HCV cDNAクローンであるHCV FLを集成した。更にバイシストロン性誘導体HCV FL-neoを集成し、これは5'NTRがネオマイシンホスホトランスフェラーゼ遺伝子に融合され、かつEMCV IRESがHCVオープンリーディングフレームの上流にある。両方の完全長クローンにおいて、オープンリーディングフレームは、キャプシドからNS5Bまでの構造及び非-構造領域を含む。加えて、レプリコン及び完全長HCV RNAは全て、NS5Aにおいて配列番号：3の1179位でのSerからIleへの置換を含む。

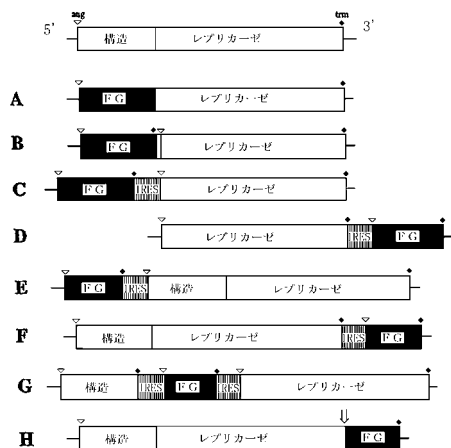
40

【図10】 レプリコン及び完全長HCV RNAのRNA複製。図9に示したHCVレプリコン及び完全長HCV RNAは、複製コンピテントである。

【圖 1】



【圖 2】



1

图 2

【 図 3 】

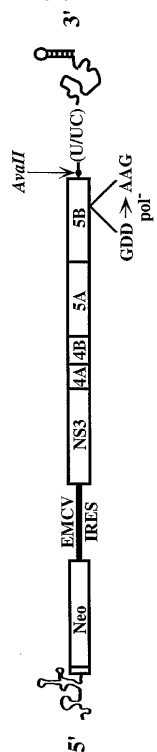
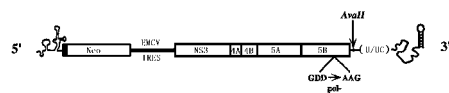


Figure 3

【 図 4 】



- ・ 1) Nase の RNA 転写産物の消化
- ・ Huh 7 細胞への RNA 電気穿孔
- ・ G418-耐性コロニーは、低効度で生成
- ・ 28 コロニーを採取し、その 90% が継代される
- ・ 不活性 RDRP を含むレプリコン RNA のコロニーは認められず

クローン	コピー数/細胞	細胞質 NS3	増殖速度
I	>1000	あり	迅速
II	~1000-5000	あり	迅速
IV	ND	あり	迅速
V	500	ND	中程度
VI	~1000	あり	迅速
VII	>800	あり	迅速
クローンE	<400	なし	非常に緩徐

图 4

【図 5】

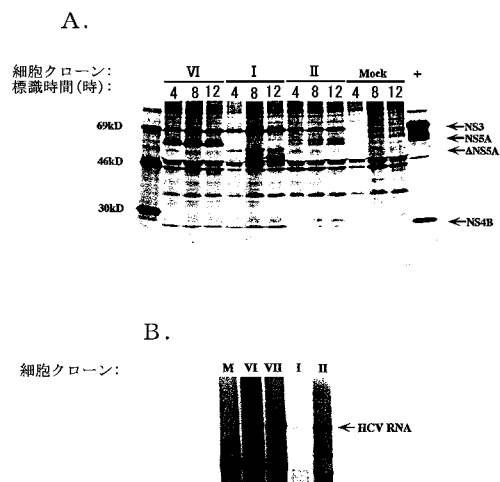


図 5

【図 6】

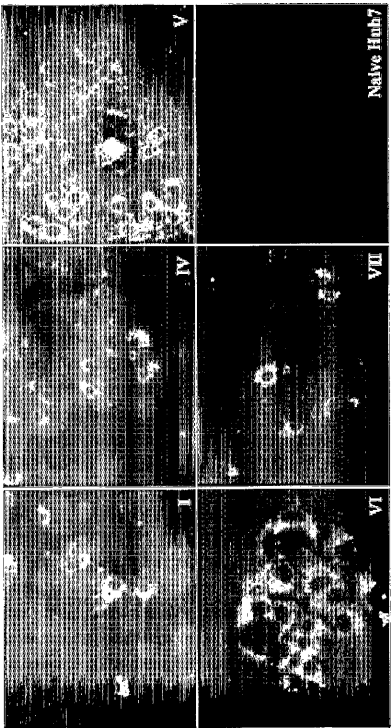


Figure 6

【図 7】

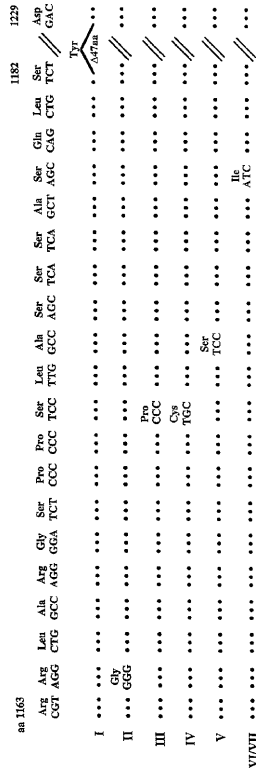


Figure 7

【図 8】

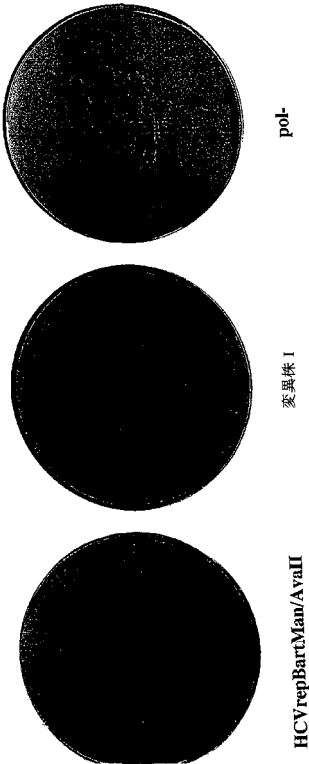


図 8

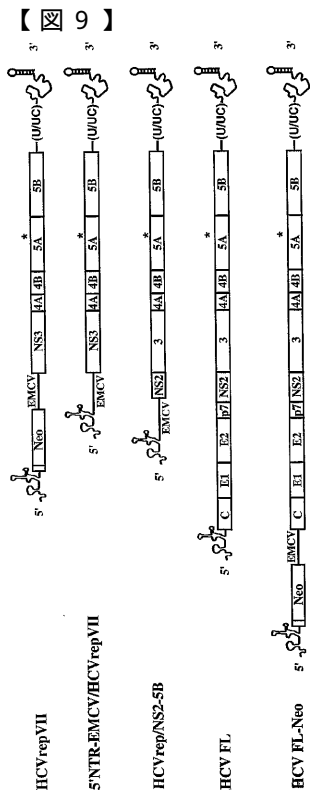


Figure 9

【 図 10 】

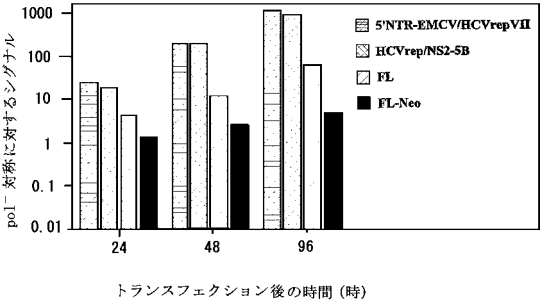


図 10

フロントページの続き

(74)代理人 100103920

弁理士 大崎 勝真

(74)代理人 100124855

弁理士 坪倉 道明

(72)発明者 チャールズ エム ライス サード

アメリカ合衆国 63130 ミズリー州 ユニバーシティ シティ コルゲート アベニュー
7316

(72)発明者 ケリル ジェイ ブライト

アメリカ合衆国 63108 ミズリー州 セントルイス メリーランド アベニュー 4355

審査官 森井 隆信

(56)参考文献 国際公開第98/039031(WO, A1)

J. Virol., 米国, 1999年, Vol.73, No.8, 6506-6516

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

C12N 15/00

C12N 5/00

BIOSIS/MEDLINE/WPIDS(STN)

PubMed