

(19)日本国特許庁(J P)

(12) **公開特許公報** (A) (11)特許出願公開番号

特開2003 - 202345

(P2003 - 202345A)

(43)公開日 平成15年7月18日(2003.7.18)

(51) Int.Cl ⁷	識別記号	F I	テ-マ-コード* (参考)
G 0 1 N 33/576		G 0 1 N 33/576	Z 4 H 0 4 5
33/53		33/53	D
33/543	541	33/543	541 B
	545		545 Z
	575		575

審査請求 未請求 請求項の数 8 O L (全 19数) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2002 - 321299(P2002 - 321299)

(22)出願日 平成14年11月5日(2002.11.5)

(31)優先権主張番号 60/347943

(32)優先日 平成13年11月7日(2001.11.7)

(33)優先権主張国 米国(US)

(31)優先権主張番号 10/268562

(32)優先日 平成14年10月10日(2002.10.10)

(33)優先権主張国 米国(US)

(71)出願人 594199337

オルソ - クリニカル ダイアグノスティク
ス, インコーポレイティド
アメリカ合衆国, ニューヨーク 14650, ロチ
ェスター, インディゴ クリーク ドライブ
100

(72)発明者 チャンダー パール

アメリカ合衆国, ニュージャージー 08822
, フレミントン, ジェニー ジャンプ コー
ト 5

(74)代理人 100077517

弁理士 石田 敬 (外4名)

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 H C V コア抗原及び抗体の同時検出試薬

(57)【要約】

【課題】 H C V コア抗原及び抗体の同時検出試薬の提供

【解決手段】 本発明は、コア・タンパク質配列、並びに H C V 感染個体から回収された血清中のコア抗原及び抗コア抗体の検出に使用しうる抗コア抗体に向けられる。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 HCV タンパク質と修飾された HCV コア・タンパク質の混合物及び抗コア抗体を含む抗体 / 抗原組成物であり、ここで上記抗コア抗体が HCV コ配列の第 10 ~ 43 アミノ酸を認識しない上記組成物。

【請求項 2】 前記 HCV タンパク質が：c 200 - 3、NS5 から成る群から選ばれ、かつ、前記の修飾された HCV コア・タンパク質が：c 22KS 47、48 及び c 22KSR 47L から成る群から選ばれる、請求項 1 に記載の抗体組成物。

【請求項 3】 前記抗コア抗体がモノクローナル抗体を含む、請求項 1 に記載の抗体組成物。

【請求項 4】 前記抗コア抗体がポリクローナル抗体を含む、請求項 1 に記載の抗体組成物。

【請求項 5】 以下の：

- a) 請求項 1 に記載の抗体 / 抗原組成物を固相上に固定し、
- b) 上記抗体 / 抗原組成物を患者からの血液又は血清と接触させて、HCV 抗体 / 抗原複合体を形成させ、
- c) 標識を担持する抗ヒト IgG を添加し、そして
- d) 上記複合体を検出する、ステップを含む、HCV に関する免疫アッセイ法。

【請求項 6】 前記固相がマイクロウェル、マイクロタイター・プレート、膜又はビーズである、請求項 5 に記載の免疫アッセイ法。

【請求項 7】 前記標識が酵素、色素、着色した粒子、放射性核種又は蛍光物質である、請求項 5 に記載の免疫アッセイ法。

【請求項 8】 請求項 1 に記載の抗体 / 抗原組成物を含むキット。

【発明の詳細な説明】

【0001】本発明の背景

C 型肝炎ウイルス (HCV) は輸血による肝炎及び地域感染型肝炎の主な原因である。HCV 抗体及び抗原は、HCV の存在を検出するために輸血に使用される血液を試験するための免疫アッセイに使用される。この種の血液スクリーニングは輸血によるこのウイルスの拡散を顕著に抑制した。

【0002】ここ何年の間に、血液スクリーニング・アッセイの感度の向上においてかなりの進展が得られたが、しかし検出可能な抗体が存在しない感染時点から 60 ~ 80 日間の潜伏期間が存在する。この潜伏期間の間、ヒトは非常に感染しやすい。この期間を覆うために、核酸ベースの試験が HCV 感染検出のために開発されている。これらの核酸ベースの試験は非常に困難であり、そのためまだ日常の血液スクリーニング・アッセイに適用されていない。最近 HCV コア抗原を検出するための方法が開発された。HCV コア抗原は大部分の HCV 抗体陰性 HCV RNA 陽性個体中で検出されうる。公表された調査から、HCV コア抗原検出を HCV 感染

の初期兆候として使用しうるように思える。(S.R.Lee et al., Vox Sanguinis, Efficacy Of A Hepatitis C Virus Core Antigen Enzyme-Linked Immunosorbent Assay For The Identification Of The 'Window-Phase' Blood Donation. 2001 ; 80 : 19-23.)。コア抗原検出は潜伏期間中の HCV 感染を検出しうるが、コア抗原の検出は一度抗コア抗体が現れると困難になる。前記コア抗原は抗コア抗体と複合体を形成し、そしてそれは抗体からコア抗原を分離するために強力な解離試薬を必要とする。

【0003】故に、HCV 感染を検出するより効果的なアッセイについての要求が依然として存在する。我々は、単独のアッセイにおいて抗 HCV 抗体と HCV コア抗原を検出し、現行の HCV コア抗原又は抗 HCV 抗体アッセイよりも効果的に HCV 感染を検出しうる組み合わせアッセイを本明細書中に記載する。

【0004】本発明の概要

本発明は、HCV 感染個体からの血清中のコア抗原及び抗コア抗体の検出に使用しうるコア・タンパク質配列及び抗コア抗体に向けられる。

【0005】詳細な説明

抗コア抗体は抗 HCV 抗体アッセイの感度に関する主要な一因である。これらの抗体は産生される初期抗体の中に通常存在する。HCV 抗コア抗体は複数のエピトープに向けられている。大部分の HCV 抗コア活性は HCV コア・タンパク質のアミノ末端 1 / 3 によるとみなされうる。HCV 感染した個体は HCV コア・タンパク質中の複数のエピトープに対する抗体を有する。HCV コア配列の一部を使用することにより HCV 抗コア抗体の検出が可能である。重複ペンデカペプチドを用いた、HCV 感染個体からの血清の分析は、HCV コアに対する抗体が多くのペプチドの間に分布することを示した。アミノ末端に向けた 4 のペプチドは HCV c 22 - 3 タンパク質のカルボキシ末端に向けたペプチドよりもずっと高い応答性を有する。重複オクタペプチドを用いたペプチド分野の分析によりさらに分析した時、HCV コア・タンパク質のこの領域は、第 10 ~ 43 アミノ酸の間の配列の 6 ~ 8 のアミノ酸ストレッチが HCV コア配列中の複数のエピトープを提供することを示した。HCV コアに対する抗体を前記コア・タンパク質配列全体に渡って広げたが、抗コア抗体の検出のためのこれらの修飾抗原の能力にわずかな影響を伴う前記 10 ~ 43 の配列の外側のアミノ酸配列の欠失又は変更が可能であろう。血清学的な情報に基づき、コア抗原と抗コア抗体の同時検出のための高感度アッセイを以下のとおり設計することができる。

【0006】抗コア分子又はポリクローナル抗体を伴う組み換えタンパク質又は合成ペプチドとしての HCV コア・タンパク質の混合物をマイクロウェル上にコートする。このアッセイのために選ばれる抗コア抗体はコア配

列10～43を認識しない抗体群から選択される。次にこの固相を、標準的なELISA形態を用いた患者血清又は血漿試料からの抗HCVコア抗体及びコア抗原の捕捉に使用する。捕捉されたタンパク質、すなわち抗HCVコア抗体及びコア抗原を免疫化学的方法を用いて検出する。前記抗HCVコア・ヒト抗体をペルオキシダーゼ標識抗ヒトIgGを用いて検出する。前記コア抗原をペルオキシダーゼ標識抗コア分子抗体を用いて検出する。検出に使用される抗コア抗体を、aa10～43を認識せず、かつ、固相上でのコア抗原の捕捉に用いた抗体と異なる抗体の群から選ぶ。抗HCVコア抗体の検出に用いたコア抗原はさらにHCVコア配列を伴うかもしれない10～43の大部分の配列を含む。aa10～43の外側のコア配列を、コア抗原の捕捉又は検出に用いた抗コア抗体により認識される領域内のアミノ酸配列の欠失又は変更により修飾する。

【0007】故に、我々はHCV感染の検出のためのELISAベースのアッセイを開発した。この新規アッセイは現在使用されている抗HCV抗体検出アッセイよりも早期にHCV感染した血液を検出する。本明細書中に記載した方法はより初期にHCV感染を検出する。なぜなら抗HCV抗体の検出に加え、このアッセイはHCVコア抗原をも検出するからである。ポリオキシエチレン類からの特定の界面活性剤を前記HCVアッセイに使用する。使用される界面活性剤は、おそらくエンベロープ・タンパク質及び/又は脂質層を破壊することにより、ウイルスからHCVコア・タンパク質の放出を可能にする必要があるが、しかし、この界面活性剤は抗HCV抗体を捕捉するHCV組み換え抗原の能力に影響を及ぼすべきではない。HCVコア抗原の検出に使用したいくつかの一般的な界面活性剤、例えばN-ラウリル・サルコシンはHCV組み換えタンパク質、例えばc22、c200及びNS5の標準的なELISAにおいて抗HCV抗体を検出する能力を破壊する。

【0008】本発明の有効性及び利点を以下の実施例によりさらに説明する。この実施例は説明することを意図し、本発明の範囲及び本質を制限するものではない。

【0009】実施例1

当該アッセイにおいて、抗コア分子抗体(抗コア・マウス・モノクローナルPep10、12)と一緒にHCV

抗原c200-3、NS5及び修飾コア抗原、例えばc22KS47、48又はc22KS R47Lをバッファー溶液中、マイクロウェル上にコートした。一晚のインキュベーションの後、コート・タンパク質を含むバッファーを除去し、そして前記マイクロウェルを界面活性剤、Tween20を含むリン酸緩衝生理食塩水(PBS)を用いて洗浄した。次に、この抗原/抗体コート・マイクロウェルをウシ血清アルブミン(BSA)/シヨ糖溶液を用いて処理しマイクロウェル上の利用可能な残りのタンパク質結合部位をブロックした。2～24時間後、前記BSA/シヨ糖溶液を除去し、そしてこのマイクロウェルを風乾し、そして乾燥剤の下で保存した。

【0010】実施例2

試験のための試料の2のアリコートにBSA、スーパーオキシドジスムターゼ、酵母エキス及び1%BRIJ58若しくはBRIJ35又はそれらの混合物含有PBS溶液100μL中希釈した。次にこの2の希釈試料を2の前記HCV抗原/抗体コート・ウェル中にピペットを用いて移した。このマイクロウェルを37で90分間インキュベートした。次に、このマイクロウェルを0.5%Tween20界面活性剤含有PBSを用いて5回洗浄した。一方のマイクロウェルにHRPにより標識したマウス抗ヒトIgG200μLを添加し、そしてもう一方のウェルに同量の、HRPにより標識した抗HCVコア・モノクローナル抗体(AntiPep4)を添加した。各ウェルにORTHOフェニレンジアミン及び過酸化水素の溶液を添加した。暗所における30分間のインキュベーションの後、50μLの4N硫酸の添加により前記反応を停止させる。いずれかのウェルにおけるオレンジ色は試験した試料がHCVに感染していることを示す。抗ヒトIgGを用いて試験したマイクロウェルは抗HCV抗体について検証し、そして抗コア複合物を用いて試験したものはHCVコア抗原について検証する。

【0011】実施例3

HCVコア配列を以下に示したHCVコア配列に基づき合成する。これらの配列を組み換え技術又は標準的なペプチド合成法を用いて製造する。

【0012】

【化1】

配列番号 : 1

MSTNPKPQKKNKRNTNRRPQDVKFPGGGQIVGGVYLLPRRGPR
 LGVRATRKTSESRQPRGRRQPIPKARRPEGRTWAQPGYPWPLYG
 NEGCGWAGWLLSPRGSRPSWGPTDPRRRSRNLGKVIDTLTCGF
 ADLMGYIPLVGAPLGGAARALAHGVRVLEDGVNYATGNLPGCS
 FSIFLLALLSCLTVPAS (AA 1-190 HCV コア配列)

配列番号 : 2

MSTNPKPQKKNKRNTNRRPQDVKFPGGGQIVGGVYLLPRRGPR
 (AA1-43)

配列番号 : 3

KNKRNTNRRPQDVKFPGGGQIVGGVYLLPRRGPR (AA 10-43)

【0013】

配列番号 : 1

* * 【化2】

MSTNPKPQKKNKRNTNRRPQDVKFPGGGQIVGGVYLLPRRGPR
LGVRATRKTSESRQPRGRRQPIPKARRPEGRTWAQPGYPWPLYGNEG
CGWAGWLLSPRGSRPSWGPTDPRRRSRNLGKVIDTLTCGFADLMGY
IPLVGAPLGGAARALAHGVRVLEDGVNYATGNLPGCSFSIFLLALLS
CLTVPAS

【0014】修飾をイタリック体及び下線部のHCVコア・タンパク質のアミノ酸配列において行いうる。これらの修飾はアミノ酸の変更又はアミノ酸セットの欠失であり得、抗コア抗体の試薬部位を除去しうる。前記アッセイに使用される抗原はコア領域10～43の外側に結合部位を持つモノクローナル抗体と対を形成する。適当

な抗コア抗体と一緒に修飾コア抗原を、HCVに感染した試料中のHCVコア抗原と抗HCV抗体の同時検出に使用する。

【0015】

【配列表】

SEQUENCE LISTING

<110> Otho-Clinical Diagnostic
 s, Inc.
 <120> Reagents for the simultan
 eous detection of HCV core antigens an
 d
 antibodies
 <130> B027411
 <140> 2002-321299
 <141> 2002-11-05
 <150> 60/347,943
 <151> 2001-11-07
 <151> 2002-10-10
 <160> 3
 <170> PatentIn version 3.1
 <210> 1
 <211> 190
 <212> PRT

<213> Hepatitis C virus

<400> 1

Met Ser Thr Asn Pro Lys Pro Gln Lys Lys
 Asn Lys Arg Asn Thr Asn
 1 5 10 15
 Arg Arg Pro Gln Asp Val Lys Phe Pro Gly
 Gly Gly Gln Ile Val Gly
 20 25 30
 Gly Val Tyr Leu Leu Pro Arg Arg Gly Pro
 Arg Leu Gly Val Arg Ala
 35 40 45
 Thr Arg Lys Thr Ser Glu Arg Ser Gln Pro
 Arg Gly Arg Arg Gln Pro
 50 55 60
 Ile Pro Lys Ala Arg Arg Pro Glu Gly Arg
 Thr Trp Ala Gln Pro Gly
 65 70 75 80
 Tyr Pro Trp Pro Leu Tyr Gly Asn Glu Gly
 Cys Gly Trp Ala Gly Trp
 85 90 95
 Leu Leu Ser Pro Arg Gly Ser Arg Pro Ser
 Trp Gly Pro Thr Asp Pro
 100 105 110
 Arg Arg Arg Ser Arg Asn Leu Gly Lys Val
 Ile Asp Thr Leu Thr Cys
 115 120 125
 Gly Phe Ala Asp Leu Met Gly Tyr Ile Pro
 Leu Val Gly Ala Pro Leu
 130 135 140
 Gly Gly Ala Ala Arg Ala Leu Ala His Gly
 Val Arg Val Leu Glu Asp
 145 150 155 1
 60
 Gly Val Asn Tyr Ala Thr Gly Asn Leu Pro
 Gly Cys Ser Phe Ser Ile
 165 170 175
 Phe Leu Leu Ala Leu Leu Ser Cys Leu Thr
 Val Pro Ala Ser
 180 185 190

<210> 2

<211> 43

<212> PRT

<213> Hepatitis C virus

<400> 2

Met Ser Thr Asn Pro Lys Pro Gln Lys Lys
 Asn Lys Arg Asn Thr Asn
 1 5 10 15
 Arg Arg Pro Gln Asp Val Lys Phe Pro Gly
 Gly Gly Gln Ile Val Gly
 20 25 30

フロントページの続き

(51)Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	テ-マコード(参考)
G 0 1 N 33/577		G 0 1 N 33/577	B
// C 0 7 K 14/18	Z N A	C 0 7 K 14/18	Z N A
16/10		16/10	

F タ-ム(参考) 4H045 AA10 AA11 AA30 BA10 CA02
DA76 DA86 EA53 FA72 FA74

【外国語明細書】

1. Title of Invention

Reagents for the simultaneous Detection of HCV core antigens
and antibodies

2. Claims

~~We claim:~~

1. An antibody/antigen composition comprising a mixture of HCV protein and modified HCV core protein and anti-core antibodies wherein said anti-core antibodies do not recognize HCV core sequence amino acids 10-43.
2. The antibody composition as claimed in claim 1 wherein said HCV protein is selected from the group consisting of: c200-3 and NS5 and said modified HCV core protein is selected from the group consisting of: c22KSV 47,48 and c22KSR47L.
3. The antibody composition as claimed in claim 1 wherein said anti-core antibodies comprise a monoclonal antibody.
4. The antibody composition as claimed in claim 1 wherein said anti-core antibodies comprise a polyclonal antibody.
5. A method of immunoassay for HCV which comprises a) immobilizing onto a solid phase an antibody/antigen composition according to claim 1, b) contacting said antibody/antigen composition with blood or serum from a patient to form an HCV antibody/antigen complex, c) adding anti-human IgG carrying a label, and d) detecting said complex.
6. The immunoassay method as claimed in claim 5 wherein said solid phase is a microwell, microtitre plate, membrane or bead.
7. The immunoassay method as claimed in claim 5 wherein said label is an enzyme, a dye, colored particle, radionuclide or fluorescent substance.

8. A kit containing the antibody/antigen composition as claimed in claim 1.

3. Detailed Description of Invention

~~Reagents for the Simultaneous Detection of HCV Core Antigens and Antibodies~~

~~By~~

~~Chander Bahl~~

Background of the Invention

Hepatitis C Virus (HCV) is the leading cause of transfusion-associated and community-acquired hepatitis. HCV antibodies and antigens are used in immunoassays to test blood that might be used in transfusion in order to detect the presence of HCV. This type of blood screening has significantly reduced the spread of this virus due to blood transfusion.

During the last 10 years there has been considerable progress made in improving the sensitivity of blood screening assays but there is a window period of 60-80 days from the time of infection in which there are no detectable antibodies. During this window period the persons are highly infective. To close this window, nucleic acids based tests are being developed to detect HCV infection. These nucleic acids based test are very laborious and have not yet been adapted for routine blood screening assays. Recently methods have been developed for detecting HCV core antigen. HCV core antigen can be detected in most HCV antibody negative HCV RNA positive individuals. From the published research it appears that HCV core antigen detection can be used as an earlier indication of HCV infection. (S.R. Lee et al., Vox Sanguinis, Efficacy Of A Hepatitis C Virus Core Antigen Enzyme-Linked Immunosorbent Assay For The Identification Of The 'Window-Phase' Blood Donation. 2001; 80: 19-23.) Though core antigen detection can detect HCV

infection during the window period, the detection of core antigen becomes difficult once the anti-core antibodies appear. The core antigen gets complexed with the anti-core antibodies and it requires strong dissociating reagents to separate the core antigen from the antibodies.

Therefore, there remains a need for a more effective assay that detects HCV infection. We describe herein a combination assay that detects anti-HCV antibodies and HCV core antigen in a single assay will able to detect HCV infection much more effectively than the current HCV core antigen or anti-HCV antibody assays.

Summary of the Invention

The present invention is directed to core protein sequences and anti-core antibodies that can be used to detect core antigen and anti core antibodies in serum collected from HCV infected individuals.

Detailed Description

Anti-core antibodies are major contributors to the sensitivity of the anti-HCV antibodies assays. These antibodies are generally among the earlier antibodies to develop. HCV anti-core antibodies are directed against multiple epitopes. Most of the HCV anti-core activity can be accounted for by the amino terminal 1/3rd of the HCV core protein. HCV infected individuals have antibodies to multiple epitopes in HCV core protein sequence. It is possible to detect HCV anti-core antibodies by using part of the HCV core sequence. Analysis of serum from HCV infected individuals using overlapping pentadecapeptides showed that the antibodies to HCV

core are distributed over many of the peptides. Four peptides towards the amino terminus end have lot more reactivity than the peptides towards the carboxy terminus of the HCV c22-3 protein. This region of HCV core protein when further analyzed by a peptide walk analysis using overlapping octapeptides showed that 6-8 amino acids stretch of sequences between amino acids 10-43 represent multiple epitopes in HCV core sequence. Though the antibodies to HCV core were spread all across the core protein sequence, it should be possible to delete or alter amino acid sequences outside the 10-43 sequence with little impact on the ability of these modified antigens to detect anti-core antibodies. Based on the serological information a sensitive assay for the simultaneous detection of core antigen and anti-core antibodies can be designed as follows.

A mixture of HCV core protein as recombinant protein or synthetic peptides along with anti-core monoclonal or polyclonal antibodies is coated onto microwells. The anti-core antibodies selected for this assay are selected from a group of antibodies that do not recognize core sequence 10-43. This solid phase is then used to capture anti HCV core antibodies and core antigen from patient serum or plasma specimens using standard ELISA format. The captured proteins, human anti-HCV core antibodies and core protein, are detected using immunochemical methods. The anti-HCV core human antibodies are detected using peroxidase labeled anti-human IgG. The core antigen is detected using peroxidase labeled anti-core monoclonal antibodies. The anti-core antibodies used for detection are selected from a group of

antibodies that do not recognize aa 10-43 and are different from the antibodies used to capture the core antigen onto the solid phase. The core antigen used to detect anti-HCV core antibodies includes most of the sequence 10-43 with or without additional HCV core sequences. The core sequences outside of aa 10-43 are modified by deleting or altering amino sequence in the region recognized by the anti-core antibodies used to capture or detect core antigen.

Therefore, we have developed an ELISA based assay for the detection of HCV infection. This new assay can detect HCV infected blood earlier than the currently used anti-HCV antibodies detection assay. The method described herein can detect HCV infection earlier because in addition to the detection of anti-HCV antibodies, this assay method also detects HCV core antigen. A specific detergent from the polyoxyethylene class is used in the HCV assay. The detergent used should be able to release the HCV core antigen from the virus by possibly disrupting the envelope protein and/or the lipid layer but this detergent should not affect the ability of the HCV recombinant antigens to capture the anti-HCV antibodies. Some of the common detergents such as N-lauryl sarcosine used in the detection of HCV core antigen destroy the ability of HCV recombinant proteins such as c22, c200, and NS5 to detect anti-HCV antibodies in a standard ELISA.

The effectiveness and advantages of the invention are further illustrated by the following examples. The examples are meant to illustrate, but not to limit, the scope and spirit of the invention.

Example 1

In the present assay, HCV antigens c200-3, NS5 and a modified core antigen such as c22KSV 47,48 or c22KSR47L along with anti-core monoclonal antibodies (anti core murine monoclonals Pep 10, 12) were coated onto microwells in a buffer solution. After overnight incubation the buffer containing the coating proteins are removed and the microwells washed with phosphate buffered saline (PBS) containing a detergent, TWEEN 20. The antigen/antibody coated microwells were then treated with bovine serum albumin (BSA)/ sucrose solution to block the remaining protein binding sites that may be available on the microwells. After 2-24 hours, the BSA/sucrose solution is removed and the microwells air dried and stored under a desiccant.

Example 2

Two aliquotes of the specimen to be tested are diluted into 100 uL of PBS solution containing BSA, superoxide dismutase, yeast extract and 1% BRIJ 58 or BRIJ 35 or a mixture of both. The two diluted specimens were then pipetted into two HCV antigen/antibody coated wells described above. The microwells were incubated for 90 minutes at 37 degrees Celsius. The microwells were then washed five times with PBS containing 0.5% TWEEN 20 detergent. To one microwell 200uL of a murine anti-human IgG labeled with HRP was added and in the other well the same volume of anti-HCV core monoclonal antibodies (Anti Pep4) labeled with HRP was added. To each well a solution of ORTHO phenylenediamine and

hydrogen peroxide was added. After incubation in the dark for 30 minutes, the reaction is stopped by adding 50 microliters of 4N sulfuric acid. An orange color in either well indicates that the specimen being tested is infected with HCV. The microwell tested with anti-human IgG tests for anti-HCV antibodies and the one tested with anti-core conjugate tests for HCV core antigen.

Example 3

HCV core sequences are synthesized based on the HCV core sequence represented below. These sequences are prepared using recombinant techniques or standard peptide synthesis methods. SEQ ID NO.: 1

MSTNPKPQKKNKRNTNRRPQDVKFPGGGQIVGGVYLLPRRGPR
 LGVRATRKTSEERSQPRGRRQPIPKARRPEGRTWAQPGYPWPLYG
 NEGCGWAGWLLSPRGSRPSWGPTDPRRRSRNLGKVIDTLTCGF
 ADLMGYIPLVGAPLGGAARALAHGVRVLEDGVNYATGNLPGCS
 FSIFLLALLSCLTVPAS (AA 1-190 HCV Core Sequence)

SEQ ID NO.: 2

MSTNPKPQKKNKRNTNRRPQDVKFPGGGQIVGGVYLLPRRGPR
 (AA1-43)

SEQ ID NO.: 3

KNKRNTNRRPQDVKFPGGGQIVGGVYLLPRRGPR (AA 10-43)

SEQ ID NO.: 1

MSTNPKPOKKNKRNTNRRPQDVKFPGGGQIVGGVYLLPRRGPRL
GVRATRKTSEERSOPRGRROPIPKARRPEGRTWAOPGYPWPLYGNEG
CGWAGWLLSPRGSRPSWGPTDPRRRSRNLGKVIDTLTCGFADLMGY
IPLVGAPLGGAAARALAHGVRVLEDGVNYATGNLPGCSFSIFLLALLSC
LTVPAS.

Modifications can be made in the italicized and underlined amino acid sequence of HCV core protein. These modifications can be alterations of amino acids or deletion of sets of amino acids to remove sites of reagent anti-core antibodies. The antigen used for the assay is paired with the monoclonal antibodies that have their binding sites outside the core region 10-43. The modified core antigens along with the appropriate anti-core antibodies are used for the simultaneous detection of HCV core antigen and anti-HCV antibodies in specimens infected with HCV.

SEQUENCE LISTING

<110> Otho-Clinical Diagnostics, Inc.

<120> Reagents for the simultaneous detection of HCV core antigens and antibodies

<130> CDS0287

<150> US 60/347,943

<151> 2001-11-07

<160> 3

<170> PatentIn version 3.1

<210> 1

<211> 190

<212> PRT

<213> Hepatitis C virus

<400> 1

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Phe Leu Leu Ala Leu Leu Ser Cys Leu Thr Val Pro Ala Ser
 180 185 190

<210> 2

<211> 43

<212> PRT

<213> Hepatitis C virus

<400> 2

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

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

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

<210> 3
<211> 34
<212> PRT
<213> Hepatitis C virus

<400> 3

Lys Asn Lys Arg Asn Thr Asn Arg Arg Pro Gln Asp Val Lys Phe Pro
1 5 10 15

Gly Gly Gly Gln Ile Val Gly Gly Val Tyr Leu Leu Pro Arg Arg Gly
20 25 30

Pro Arg

1. Abstract

The present invention is directed to core protein sequences and anti-core antibodies that can be used to detect core antigen and anti core antibodies in serum collected from HCV infected individuals.

2. Representative Drawing

none

专利名称(译)	同时检测HCV核心抗原和抗体		
公开(公告)号	JP2003202345A	公开(公告)日	2003-07-18
申请号	JP2002321299	申请日	2002-11-05
[标]申请(专利权)人(译)	奥索临床诊断有限公司		
申请(专利权)人(译)	奥索 - 临床诊断, 雷法团去开球		
[标]发明人	チャンダーパール		
发明人	チャンダー パール		
IPC分类号	C07K14/18 C07K16/10 G01N33/53 G01N33/543 G01N33/576 G01N33/577		
CPC分类号	C07K14/005 C07K16/109 C12N2770/24222 G01N33/5767 G01N2333/18		
FI分类号	G01N33/576.Z G01N33/53.D G01N33/543.541.B G01N33/543.545.Z G01N33/543.575 G01N33/577.B C07K14/18.ZNA C07K16/10		
F-TERM分类号	4H045/AA10 4H045/AA11 4H045/AA30 4H045/BA10 4H045/CA02 4H045/DA76 4H045/DA86 4H045/EA53 4H045/FA72 4H045/FA74		
优先权	60/347943 2001-11-07 US 10/268562 2002-10-10 US		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

解决的问题：提供一种同时检测HCV核心抗原和抗体的试剂，本发明可用于检测从HCV感染者中回收的血清中的核心蛋白序列，核心抗原和抗核心抗体。定向于抗核心抗体。