

## 국내에서 분리된 G형 간염바이러스 NS-5 Region 염기서열의 계통학적 분석

국립보건원 바이러스질환부 소화기계바이러스과  
지영미 · 김기순 · 천두성 · 박정구 · 강영화  
이윤성 · 정윤석 · 김지은 · 윤재득\*

=Abstract=

### The Phylogenetic Analysis of the NS-5 Region Sequence of Hepatitis G Viruses Isolated in Korea

Youngmee Jee, Ki Soon Kim, Doo Sung Cheon, Jeong Koo Park,  
Young Hwa Kang, Yoon Sung Lee, Yoon Suk Chung,  
Ji Eun Kim and Jae Deuk Yoon\*

*Laboratory of Enteroviruses, Department of Virology, National Institute of  
Health, Seoul 122-701, Korea*

We examined the hepatitis G virus infections among 227 Koreans who were healthy or were suspected of hepatitis and determined the phylogenetic relationship based on a part of the NS-5 region of 5 positive samples.

Viral RNA was extracted from sera and cDNA was synthesized and subsequently amplified by RT-PCR (reverse transcription-polymerase chain reaction) or RT-nested PCR using random hexamer and NS-5 specific primers (470-20-1-77F, 470-20-1-211R, HGVNESTFO, HGVNESTRE). Five positives were found to belong to samples of patients showing symptoms of viral hepatitis. Primers used for PCR or nested PCR were derived from the NS-5 region. On the other hand, no amplification was detected using primers derived from the 5'-NCR (G-146F, G-401R). We performed TA cloning and sequencing of 5 amplified fragments, and their sequences were compared with those of foreign isolates of HGV. The phylogenetic analysis using MegAlign programme of DNASTar has shown that the Korean isolates are clustered on the phylogenetic tree.

In summary, we confirmed the hepatitis G virus infection in 5 cases out of 12 patients showing the symptoms of viral hepatitis. The phylogenetic analysis of sequences of 5 amplified fragments showed that their relations to each other were closer than those to the foreign HGV isolates reported.

**Key Words:** Hepatitis G virus, NS-5 region, Phylogenetic analysis

접수 : 1999년 3월 22일

\*책임저자: 서울시 은평구 녹번동 5번지 국립보건원 바이러스질환부 소화기계바이러스과, Tel: 02) 380-1492, Fax: 02) 382-6542, E-mail: jaedyoon@nih.go.kr

## 서 론

G형 간염바이러스 (hepatitis G virus, HGV)는 1996년 두 그룹에 의해 각각 hepatitis G virus 또는 GB virus C (GBV-C)로 보고된 새로운 바이러스이다 [6,8]. 염기서열 분석에 의해 다른 그룹에 의해 보고된 두 바이러스가 85%의 identity를 보이는 같은 바이러스의 다른 isolate이며 하나의 open reading frame에 2,873개 amino acids를 coding하는 *Flaviviridae* family에 속하는 바이러스라는 것이 밝혀졌다. HGV의 genetic organization은 HCV와 비슷하나 core protein을 coding하는 sequence가 없다. 비경구적 경로로 전파되기 때문에 IV drug users, hemophiliacs, multiple transfusion recipients와 같은 risk group에서 종종 발견된다. 그러나 건강한 blood donor에서 HGV RNA가 0.9~3% 정도 발견되는 것으로 보고되고 있어 [9, 14] 임상적 의의는 불확실하다. HGV는 급성 및 persistent infection을 일으켜 처음에는 급성 및 만성 간염의 원인으로 생각되었으나 아직 까지도 간질환과의 연관성이 증명되지 않고 있다 [3,7,17].

HGV의 진단을 위해서는 HGV RNA의 RT-PCR 또는 HGV의 putative envelope protein인 E2 단백질에 특이한 항체를 검색하기 위한 immunoassay를 이용하고 있다 [1,15]. Glycoprotein E2는 C-terminal transmembrane anchor domain, 3개의 potential glycosylation sites, disulfide bonds에 관여하는 18개의 cysteine residue를 가지며 다른 flavivirus와 같이 target cell에 binding 하는데 중요한 역할을 한다. 그러나 HCV와는 달리 HGV의 E2는 sequence 변이가 심하지 않고 E2에 대한 항체 형성은 HGV viremia로부터의 회복과 연관되어 있는 것으로 알려져 있다.

Silini 등 [13]의 연구에 의하면 간이식을 받은 환자, 만성 간경변 환자에서도 HGV가 간염을 일으키지 않는다고 알려졌다. 한편 수혈 후 발생하는 C형 간염의 경우 HGV와 중복 감염된 경우가 적지 않게 발견되고 있는데 이 경우 C형 간염의 진행 과정을 악화시키지 않는 것으로 알려져 있다. 그 외에도 다른 형의 간염바이러스와의 중복 감염시에도 환자의 임상증상에는 영향을 미치지 않는다. 대부분의 HGV는 간세포에 손상을 주지 않으며 단독으로 인체에 감염되어 급성 또는 만성 질환을 일으킨다는 직접적인 증거를 확보하지 못하고 있다. 따라서 HGV의 항원성 분석이나

진단체 개발에 대한 연구는 처음 바이러스가 발견되었을 때와는 달리 큰 의의를 갖지 못하고 있는 실정이다.

HGV의 병원성 논란에도 불구하고 HGV는 분리된 바이러스주들간에 genetic heterogeneity가 HCV 보다는 적은 것으로 보고되었으며 [16] HGV의 full length genomic sequence가 보고되었다 [2,8,10]. 또한 HGV E2의 DNA immunization에 의해 생성된 E2 특이항체를 이용하여 혈청에서 HGV virus particle을 확인하는 방법이 발표되었다 [12].

한편 국내의 한 연구에 의하면 HBV나 HCV 감염 환자의 14%가 HGV에 동시에 감염되어 있는 것으로 보고되었고 E1 region의 sequence homology는 nucleotide와 amino acid level에서 각각 84~99%, 88~99%로 알려졌다 [4]. 이 연구에 의하면 HGV의 E1 sequence는 HCV와 비교해 볼 때 moderately conserved 되어 있고 prototype HGV보다 frameshift mutation이 흔히 발견된다. 또한 basic amino acid로 구성된 capsid-like peptide가 E1의 upstream region에서 발견되지 않으며 core protein도 5'-NCR region 인접 부위에 존재하지 않는 것으로 알려졌다.

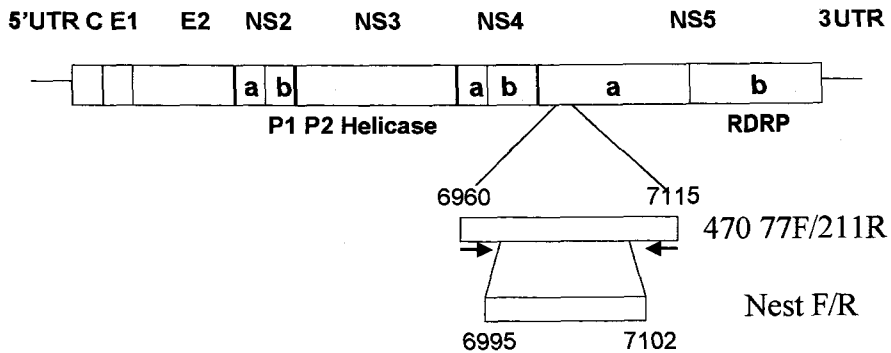
국내의 다른 연구에 의하면 건강한 및 간질환 환자의 0.6%, 3.3%에서 RT-PCR에 의해 HGV RNA를 검출할 수 있었으며 phylogenetic analysis에 의해서 적어도 3개의 다른 type이 존재하는 것으로 알려졌다 [11].

본 연구진도 국내의 한 병원에서 수집된 혈청 중 HCV에 감염되어 있지 않으며 바이러스성 간염 증세를 보이는 환자 50명의 혈청으로부터 RT-PCR에 의해 RNA를 증폭시키고 ECL (Electrochemiluminescence), LH (Liquid hybridization), SB (Southern blotting)로 5명의 환자에서 HGV 감염을 이미 확인한 바 있다 [18].

본 연구에서는 G형 간염 의심환자 12명과 건강한 215명의 혈청에서 분리한 바이러스 RNA를 NS-5 region의 primer를 사용하여 증폭한 결과 G형 간염 의심환자 중 5명에서 바이러스가 검출되었다. 증폭된 156 bp fragment의 sequence를 국외에서 발표된 HGV sequence와 비교하여 phylogenetic analysis를 실시하여 국내에서 분리된 sequence가 국외에서 발표된 sequence보다 phylogenetic tree상에서 밀접하게 연관되어 있음을 확인하였다.

**Table 1.** Sequences of primers used for this study

Primers	Sequences of primers used
470-20-1-77F	6904-5'-CTCTTTGTGGTAGCCGAGAGAT-3'-6928
470-20-1-211R	7059-5'-CGAATGAGTCAGAGGACGGGGTAT-3'-7036
HGVNESTFO	6941-5'-AGAAGACATCCCCCGTACTCC-3'-6961
HGVNESTRE	7045-5'-GACGGGGTATCCTCCTGCGA-3'-7026
G-146F	146-5'-AATCCCGGTCACCCTGGTAGCCAC-3'-170
G-401R	401-5'-CACGGTCCACAGGTGTTGGCCCTACCGG-3'-380



**Figure 1.** Genomic structure of the hepatitis G virus showing the target sites of HGV specific primer sets

## 재료 및 방법

### 1. 혈청 가검물 수집

부천시가병원, 중앙적십자 혈액원, 서울대학병원 등에서 215명의 건강인 및 12명의 G형 간염 의심환자의 혈청을 수집하였다.

### 2. 혈청에서 바이러스 RNA 추출

수집한 환자 혈청으로부터 Tri-reagent method에 의해 RNA를 추출하였다. 방법을 간략하게 기술하면 500 µl 혈청에 500 µl Tri-reagent (Molecular Research Center, Inc.)와 200 µl chloroform을 넣고 잘 흔들어 섞은 후 상온에서 5~10분간 둔 후 vortex하였다. 15분간 방치 후 7,500 rpm에서 15분간 centrifuge하여 상층액을 얻어 600 µl isopropanol을 넣고 2시간 동안 -20℃에 둔 후 14,000 rpm에서 30분간 pelleting하였다. 1000 µl 70% ethanol을 넣고 14,000 rpm로 4℃에서 10분간 centrifuge하여 세척한 후 상층액을 제거하고 10분간 vacuum dry하

였다. 침전물을 20 µl DEPC (Diethyl pyrocarbonate) water에 resuspension하여 RT-PCR에 사용하였다.

### 3. RT-PCR

추출한 RNA로부터 cDNA를 생성하기 위해 5 µl RNA template에 1 µl (0.4 µg) random hexamer를 넣고 70℃에서 10분간 둔 후 2.5 mM dNTP 4 µl, 100 U reverse transcriptase, 20 U RNase inhibitor, 4 µl 5x RT buffer (Promega)을 넣어 총 20 µl의 mixture를 다시 20℃에서 10분, 42℃에서 90분, 95℃에서 5분간 차례로 incubation하여 reverse transcription을 수행하였다.

한편 PCR 수행을 위해 HGV의 NS5a region으로부터 4개의 primer (470-20-1-77F, 470-20-1-211R, HGVNESTFO, HGVNESTRE)를 그리고 5' non-coding region에서 2개의 primer (G-146F, G-401R)를 제작하였다 (Table 1, Figure 1). 총 50 µl의 PCR reaction mixture는 5 µl cDNA template, 5 µl 10x PCR buffer, 25 pM/µl의 양 방향 primer set 각각 1 µl, 2.5 mM dNTP 4 µl, 25 mM MgCl<sub>2</sub> 1 µl, 1.25 U Taq po-

lymerase를 포함하였다. External PCR을 위해 470-20-1-77F와 470-20-1-211R primer를, nested PCR을 위해서는 HGVNESTFO와 HGVNESTRE primer를 사용하여 94℃ 1분, 56℃ 1분, 72℃ 1분의 cycle을 30회 수행하였다 (Perkin-Elmer 480). 또한 5'-NCR region의 primer를 사용하여 PCR을 수행하였다.

증폭된 PCR 산물은 agarose gel에서 전기영동한 후 ethidium bromide staining하여 확인하였다.

#### 4. TA cloning

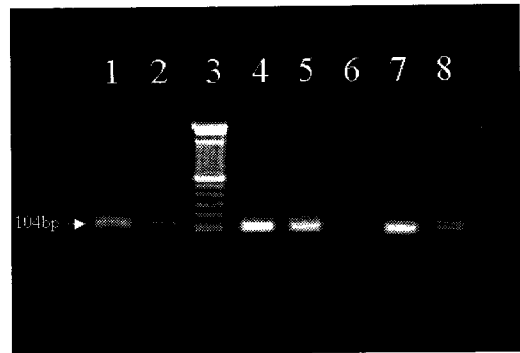
PCR product에 멸균한 증류수를 넣어 4 µl로 만든 후 pCR<sup>R</sup>-TOPO vector (Invitrogen, 3.9 kb) 1 µl를 넣어 총 volume을 5 µl로 하여 실온에서 5분간 방치 후 ice에 놓고 즉시 transformation 단계로 진행하였다. 0.5 M β-mercaptoethanol 2 µl를 competent *E. coli* cells에 넣고 pipette tip으로 저어 혼합한 후 2 µl의 TOPO cloning reaction을 넣어 잘 섞어 30분간 ice에 방치 후 42℃ 30초간 heat shock하여 다시 ice에서 2분간 방치하였다. 250 µl의 SOC medium (Invitrogen)을 넣어 37℃에서 30분간 horizontal shaking하여 ice에 놓고 각각의 transformation으로부터 50~100 µl를 plate에 도포한 후 37℃에서 overnight 배양하였다.

#### 5. Sequencing

Insert를 포함하는 positive colony를 확인하기 위해 white colony를 50 µg/ml ampicillin을 포함하는 LB medium에 overnight 배양한 후 Wizard plus SV

Minipreps DNA purification system (Promega)를 이용하여 plasmid DNA를 추출하고 *EcoRI*으로 37℃에서 2시간 동안 digestion하여 1.5% agarose gel에서 전기영동하여 확인하였다.

Sequencing reaction을 위해 ABI PRISM Dye Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kit (Perkin Elmer)를 사용하였다. DNA template에 Terminator Ready Reaction Mix, M13 forward 및 M13 reverse primer를 넣고 thermal cycler에서 96℃ 10초, 50℃에서 5초, 60℃에서 4분의 cycle을 25회 실시한 후 4℃로 유지하였다. Reaction 산물을 정



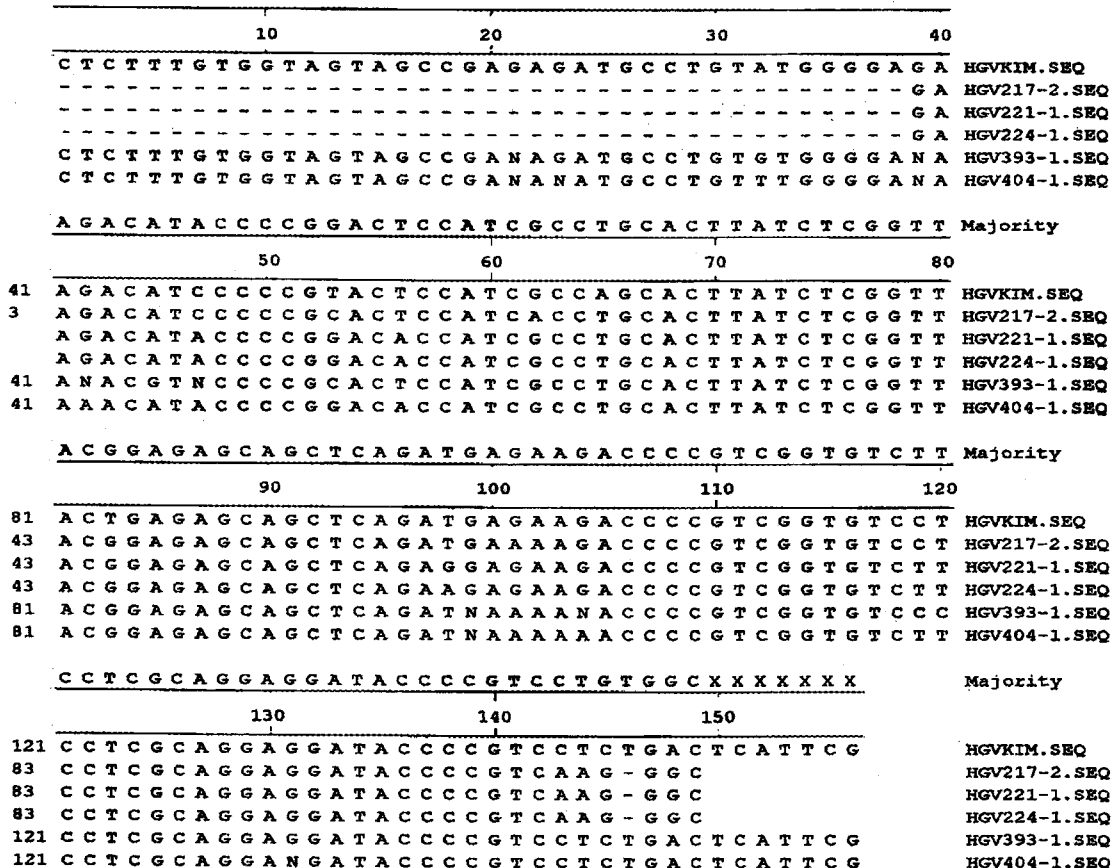
**Figure 2.** Agarose gel electrophoresis of PCR products amplified with primers derived from NS-5 region. lane 1: HGV393, lane 2: HGV404, lane 3: 100 bp ladder DNA molecular size marker (Gibco BRL), lane 4: HGV positive control, lane 5: HGV 217, lane 6: HGV 218 (negative), lane 7: HGV221, lane 8: HGV224

	10	20	30	40	50	
HGV217. AMI	1	SLCGSSREMP VWGEDIPRTP	SPALISVTES	SSDEKTPSVS	SSQEDTPSSD	50
HGV221. AMI	1	SLCGSSREMP VWGEDIPRTP	SPALISVTES	SSEKTPSVS	SSQEDTPSSD	50
HGV224. AMI	1	SLCGSSREMP VWGEDIPRTP	SPALISVTES	SSEKTPSVS	SSQEDTPSSD	50
HGV393. AMI	1	SLCGSSRXMP VWGXXVPRTP	SPALISVTES	SSDXTPSVS	PSQEDTPSSD	50
HGV404. AMI	1	SLCGSSRXMP VWGXNIPRTP	SPALISVTES	SSDXKTPSVS	SSQXDTPSSD	50
	60	70	80	90	100	
HGV217. AMI	51	SF.....				100
HGV221. AMI	51	SF.....				100
HGV224. AMI	51	SF.....				100
HGV393. AMI	51	SF.....				100
HGV404. AMI	51	SF.....				100

**Figure 3.** Comparison of amino acid sequences of PCR-amplified fragments

**Table 2.** Nucleotide sequence homology of five fragments and HGV reported by Kim et al. [5]

		1	2	3	4	5	6		
1	HGV217		95.5	95.5	92.3	91.7	89.1	1	% similarity
2	HGV221	4.7		99.4	91.0	89.1	91.0	2	
3	HGV224	4.7	0.6		91.0	89.1	91.0	3	
4	HGVKim	7.5	8.9	8.9		91.7	90.4	4	
5	HGV393	5.5	8.5	8.5	4.8		92.9	5	
6	HGV404	9.1	6.9	6.9	6.9	4.2		6	
		1	2	3	4	5	6	% dissimilarity	



**Figure 4.** Comparison of sequences of five PCR-amplified fragments and the HGV reported by Kim et al. [5]

제하기 위해 ethanol precipitation을 수행하였다. 2 µl의 3M sodium acetate (pH 4.6), 50 µl의 95% ethanol을 넣은 tube에 reaction을 넣고 vortex한 후

10분간 방치하였다. Microcentrifuge에서 15~30분간 centrifuge 한 후 ethanol을 완전히 제거하고 250 µl의 70% ethanol을 넣어 wash하였다. Ethanol을

**Table 3.** Liver enzyme values and serological markers of HBV and HCV in HGV-positive patients

환자번호	SGOT/SGPT	HBsAg	anti-HBs	anti-HBc	HBeAg/Ab	HCV	HGV
G216	15/15	-	+	ND	ND	ND	-
G217	37/24	-	-	+	-/	ND	+
G218	75/69	-	+	+	ND	ND	-
G219	69/121	-	-	+	-/	ND	-
G220	373/240	+	-	-	+/-	-	-
G221	39/38	+	-	ND	ND	-	+
G222	20/85	ND	ND	ND	ND	-	-
G223	39/38	+	-	ND	ND	-	-
G224	391/504	+	-	+	-/-	-	+
G225	46/82	+	-	+	-/-	-	-
G393	30/77	-	+	+	ND	ND	+
G404	46/75	-	+	+	ND	ND	+

(ND: not determined)

완전히 제거하고 vacuum dry한 후 gel loading dye를 넣어 6 M urea를 포함한 5.0% long Range gel에 loading하여 9시간 동안 ABI PRISM 377 Automatic sequencer (Perkin Elmer)에 running하였다.

### 6. Sequence analysis

5개의 PCR fragment의 sequence의 DNA sequence를 DNASTAR MegAlign programme을 이용하여 multiple sequence alignment하여 분석하였다. 5개의 sequence와 국외에서 발표된 HGV sequence간의 distance를 Clustal method를 사용하여 분석하고 phylogenetic tree를 그려 sequence간의 관계를 결정하였다.

## 결 과

### 1. RNA 추출 및 RT-PCR

환자 혈청으로부터 추출한 RNA를 RT-PCR에 의해 검색한 결과 건강인 215명에서는 바이러스 증폭이 일어나지 않았고 G형 간염 의심환자 12명 중 5명에서 바이러스 증폭을 확인할 수 있었다. 이중 HGV393과 HGV404 환자로부터 external primer (470-20-1-77F와 470-20-1-211R)를 사용하여 156

bp 156 bp fragment가 증폭되었고 HGV224, HGV221, HGV217 환자는 external primer를 사용한 PCR로는 증폭이 되지 않아 nested primer (HGVNESTFO와 HGVNESTRE)를 사용한 결과 104 bp fragment를 증폭하였다 (Figure 2). 한편 5'-NCR region의 primer를 사용한 PCR에서는 증폭이 일어나지 않았다.

### 2. Sequence analysis

증폭된 fragment의 TA cloning 및 sequencing에 의해 얻은 sequence를 서로 비교해 본 결과 다음의 그림과 표에서와 같은 homology를 확인할 수 있었다 (Figure 3, Figure 4, Table 2).

### 3. Phylogenetic analysis

Cloning 및 sequencing을 수행한 5개의 clone의 sequence를 DNASTAR의 MEGALIGN program을 사용하여 Kim 등에 의해 발표된 sequence와 함께 phylogenetic tree를 작성하였다. 국내에서 분리된 5개의 분리주 사이의 관계가 Kim 등 [5]에 의해 발표된 sequence보다 가까우며 따라서 Kim 등 [5]에 의해 발표된 sequence가 6개의 sequence 중 가장 상이한 sequence임을 알 수 있었다. 또한 국외

Table 4. Comparison of sensitivities of ECL, SB, LH

No. sample	ECL	LH	SB	RT-PCR
HGV17	+	+	+	+
HGV31	+	+	+	+
HGV35	+	+	+	+
HGV36	+/-	+	+	+/-
HGV39	+	+	+	+

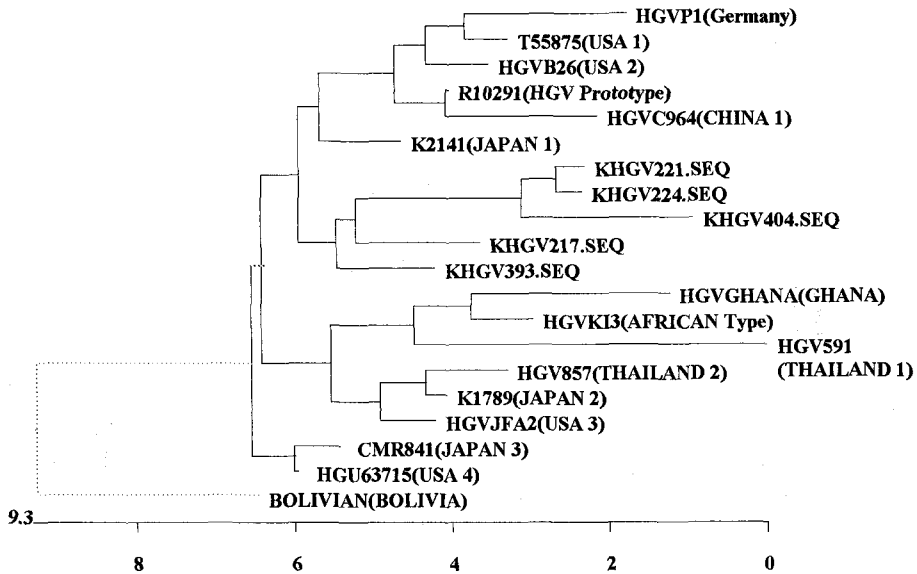


Figure 5. Phylogenetic analysis of five Korean and fifteen foreign isolates

에서 발표된 다른 sequence들과 비교해 보면 국내 분리주간의 관계가 국외 분리주들보다 근접하여 phylogenetic tree상에 clustering하는 양상을 보였다 (Figure 5).

4. HGV 감염 환자의 임상 소견 및 결과

HGV 의심환자 12명은 만성 간염 증세를 보이는 환자들이었으며 이들의 HBV, HCV 검색 결과, 간효소 수치 및 HGV 검사 결과는 다음과 같다 (Table 3).

HGV 의심환자 12명은 만성 간염 증세를 보이는 환자들이었으며 HGV에 양성으로 판정된 네 환자 중 두 환자는 HBsAg에도 양성이면서 중화 항체인 anti-HBs를 형성하지 않은 환자였고 나머지 두 환자는 HBsAg 음성이면서 anti-HBs와 anti-

HBc 양성으로 HBV 감염 후 항체가 형성된 경우였다. HBsAg 양성, HGV 양성인 두 환자는 HCV 음성이었고 그 중 한 환자에서만 간효소 수치가 높아 HGV가 과연 간 손상을 유발하는지 의문을 더욱 가중시켰다.

고찰

본 연구진은 앞서 ECL (electrochemiluminescence), LH (liquid hybridization), SB (Southern blotting) 등의 HGV 확인 방법의 민감도를 RT-PCR과 비교해 본 결과 RT-PCR 방법으로도 대부분의 HGV 감염을 검색할 수 있어 일반적으로 RT-PCR을 HGV 진단에 적용시킬 수 있음을 확인하였다 (Table 4).

본 실험에서는 RT-PCR이나 RT-nested PCR을 이

용하여 HGV 감염을 확인하였고 바이러스 증폭이 확인된 10개의 sample 중 cloning과 sequencing을 수행한 5개의 fragment와 Kim 등에 의해 발표된 HGV의 sequence를 비교한 결과 89.1~99.4%의 homology를 가지며 국내에서 발견된 sequence 사이의 관계가 Kim 등 [5]에 의해 발표된 sequence보다는 phylogenetic tree에서 근접해 있음을 확인할 수 있었다. 한편 5'-NCR region의 primer를 사용한 PCR에서는 증폭이 일어나지 않아 5'-NCR region이 NS-5 region보다 homology가 낮음을 알 수 있었다. 한편 215명의 건강인 중에서는 HGV가 한 건도 분리되지 않아 HGV가 과연 급성 또는 만성 간염의 직접적인 원인이 될 수 있는지에 대한 근거를 제공하지는 못했으나 건강인의 sample size가 크지 않아 결론을 내리기는 어려웠다.

HGV 분리환자 10명의 HBV 및 HCV 검색 결과를 보면 anti-HBs 양성인 경우가 6건, anti-HBs 음성이면서 HBsAg 양성인 경우가 2건, anti-HBc만 양성인 경우가 1건, HBsAg, anti-HBs 음성인 경우가 1건이었다. 채혈 당시 B형 간염에 걸려있는 경우가 2건으로 그 중 한 명은 anti-HBc도 양성으로 간효소 수치 상승을 보여 간질환이 HGV에 의한 것인지 분별할 수 없었다. 과거 본 연구진에 의해 검출된 5건의 양성 환자와 이번에 검출된 5건의 양성 환자 중 간효소 수치의 뚜렷한 상승을 보이는 환자가 3명으로 HGV가 간세포 손상을 통해 급성 또는 만성 간염을 일으키는 직접적인 근거를 제공하지 못했다.

## 결 론

본 연구에서는 1996년 두 그룹에 의해 각각 hepatitis G virus 또는 GB virus C (GBV-C)로 보고된 새로운 바이러스인 G형 간염바이러스 (hepatitis G virus, HGV)의 국내 감염 실태를 조사하고 국내에서 발견된 HGV sequence를 외국에서 발표된 sequence와 비교 분석하여 이들간의 분자 유전학적 동질성을 확인하고자 하였다.

본 연구진은 국내의 병원에서 수집된 혈청 중 HCV에 감염되어 있지 않으며 바이러스성 간염 증세를 보이는 환자 50명의 혈청으로부터 RT-PCR에 의해 RNA를 증폭시키고 ECL (Electrochemiluminescence), LH (Liquid hybridization), SB (Southern blotting)로 5명의 환자에서 HGV 감염을 이미 확인한 바 있다.

국내에서 수집한 G형 간염 의심환자 12명과 건강인 215명의 혈청에서 분리한 바이러스 RNA를 NS-5 region의 primer를 사용하여 증폭한 결과 G형 간염 의심환자 중 5명에서만 바이러스가 검출되었다. 증폭된 156 bp fragment를 TA cloning하고 sequencing하고 그 sequence를 국외에서 발표된 sequence와 비교하기 위해 DNASTAR MegAlign programme을 이용한 phylogenetic analysis를 실시하여 국내의 sequence간의 관계가 국외에서 발표된 sequence보다 phylogenetic tree상 근접해 있음을 확인하였다.

## 감사의 글

이 연구는 1998년도 국립보건원 조사연구사업으로 수행되었으며 본 연구를 위해 혈청가검출을 제공하여 주신 부천성가병원 이원배 교수, 적십자 혈액수혈연구원 황유성 부장, 서울대학병원 이효석 교수께 감사드립니다.

## 참 고 문 헌

- 1) Dille BJ, Surowy TK, Gutierrez RA, Coleman PF, Knigge MF, Carrick RJ, Aach RD, Hollinger FB, Stevens CE, Barbosa LH, Nemo GJ, Mosley JW, Dawson GJ, Mushahwar IK: An ELISA for the detection of antibodies to the E2 protein of GB virus C. *J Infect Dis* 175(2): 458-461, 1997.
- 2) Erker JC, Simons JN, Muerhoff S, Leary TP, Chalmers ML, Desai SM, Mushahwar IK: Molecular cloning and characterization of a GB virus C isolate from a patient with non A-E hepatitis. *J Gen Virol* 77: 2713-2720.
- 3) Hayashi J, Furusyo N, Sawayama Y, Kishihara Y, Kawakami Y, Ariyama I, Etoh Y, Kashiwagi S: Hepatitis G virus in the general population and in patients on hemodialysis. *Dig Dis Sci* 43(9): 2143-2148, 1998.
- 4) Kim CK, Park SW, Kim PK, Cho M, Lee TH, Jun HK, Jang KL: Analysis of the envelope region of hepatitis G virus isolated from Korean patients. *Mol Cells* 8(1): 117-123, 1998.
- 5) Kim JP, Fry, KE, and John Wages Jr. for the HGV Study Group: Molecular cloning and disease associations of hepatitis G virus. *Antiviral therapy* 1 (Suppl 3): 33-38, 1996.



- 6) **Leary TP, Muerhoff AS, Simons JN, Pilot-Matias TJ, Erker JC, Chalmers ML, Schlauder GG, Dawson GJ, Desai SM, Mushahwar IK:** Sequence and genomic organization of GBV-C: a novel member of the Flaviviridae associated with human non A-E hepatitis. *J Med Virol* **48**: 60-67, 1996.
- 7) **Lin R, Dutta U, Kaba S, Kench J, Crewe E, Coverdale S, Byth K, Liddle C, Farrell GC:** Effect of hepatitis G virus coinfection on severity of hepatitis C: relationship to risk factors and response to interferon treatment. *J Gastroenterol Hepatol* **13(8)**: 773-780, 1998.
- 8) **Linnen J, Wages J, Zhang-Keck ZY, Fry KE, Krawczynski KZ, Alter H, Koonin E, Gallagher M, Alter M, Hadziyannis S, Kim JP:** Molecular cloning and Disease Association of Hepatitis G Virus: A Transfusion-Transmissible Agent. *Science* **271**: 505-508, 1996.
- 9) **Masuko K, Mitsui T, Iwano K:** Infection with hepatitis GB virus C in patients on maintenance hemodialysis. *N Engl J Med* **334**: 1485-1490, 1996.
- 10) **Okamoto H, Nakao H, Inoue T, Fukuda M, Kishimoto J, Iizuka H, Tsuda F, Miyakawa Y, Mayumi M:** The entire nucleotide sequence of two GB virus C/hepatitis G virus isolates of distinct genotypes from Japan. *J Gen Virol* **78**: 737-745.
- 11) **Park YM, Mizokami M, Nakano T, Choi JY, Cao K, Byun BH, Cho CH, Jung YT, Paik SY, Yoon SK, Mukaide M, Kin BS:** GB virus C/hepatitis G virus infection among Korean patients with liver diseases and general population. *Virus Res* **48(2)**: 185-92, 1997.
- 12) **Schmolke S, Tacke M, Schmitt U, Engel AM, Ofenloch-Haehnle B:** Identification of hepatitis G virus particles in human serum by E2-specific monoclonal antibodies generated by DNA immunization. *J Virol* **72(5)**: 4541-4545, 1998.
- 13) **Silini E, Belli L, Alberti AB, Asti M, Cerino A, Bissolati M, Rondinara G, De Carlis L, Forti D, Mondelli MU, Ideo G:** HGV/GBV-C infection in liver transplant recipients: antibodies to the viral E2 envelope glycoprotein protect from de novo infection. *J Hepatol* **29(4)**: 533-40, 1998.
- 14) **Stark K, Bienzle U, Hess G, Enge AM, Hengscheid B, Schluter V:** Detection of the hepatitis G virus genome among injecting drug users, homosexual and bisexual men, and blood donors. *J Infect Dis* **174(6)**: 1320-1323, 1996.
- 15) **Tacke M, Schmolke S, Schlueter V, Sauleda S, Esteban JI, Tanaka E, Kiyosawa K, Alter HJ, Schmitt U, Hess G, Ofenloch-Haehnle B, Engel AM:** Humoral immune response to the E2 protein of hepatitis G virus is associated with long-term recovery from infection and reveals a high frequency of hepatitis G virus exposure among healthy blood donor. *Hepatology* **26(6)**: 1626-1633, 1997.
- 16) **Viazov S, Riffelmann M, Khoudyakov Y, Fields H, Varenholz C, Roggendorf M:** Genetic heterogeneity of hepatitis G virus isolates from different parts of the world. *J Gen Virol* **78 (Pt 3)**: 577-581, 1997.
- 17) **Wang HL, Hou YD, Jin DY:** Identification of a single genotype of hepatitis G virus by comparison of one complete genome from a healthy carrier with eight from patients with hepatitis. *J Gen Virol* **78 (Pt 12)**: 3247-3253, 1997.
- 18) **Yoon JD, Jee YM, Lee HR, Kim KS, Kim YS, Lee YS, Chung YS, Park JK, Kim JE, Chung SI, Lee WS, Lee WB:** The detection and the antigenic analysis of the hepatitis G virus in Korea. *J Korean Soc Virology* **28(2)**: 175-182, 1998.