



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 110741081 B

(45) 授权公告日 2024.07.23

(21) 申请号 201880021788.0

(22) 申请日 2018.01.30

(65) 同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 110741081 A

(43) 申请公布日 2020.01.31

(30) 优先权数据

62/452,075 2017.01.30 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2019.09.26

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2018/016025 2018.01.30

(87) PCT国际申请的公布数据

W02018/140970 EN 2018.08.02

(73) 专利权人 埃皮辛特瑞柯斯公司

地址 美国加利福尼亚州

(72) 发明人 托尼·R·雷德

布莱恩·T·奥兰斯基

法拉·海德兰 克里斯托弗·拉森

(74) 专利代理机构 北京市立方律师事务所

11330

专利代理人 杨剑

(51) Int.Cl.

C12N 7/01 (2006.01)

C12N 15/34 (2006.01)

A61K 35/761 (2015.01)

A61P 35/00 (2006.01)

A61P 35/02 (2006.01)

(56) 对比文件

CN 102325887 A, 2012.01.18

US 2011318311 A1, 2011.12.29

Shapiro, R., Gao, W., Tzeng, E., Robbins, P.D., Timoty, B.R. and Gamb. Adenoviral expression vector Ad-hiNOS.《Genbank》.2001, 1-8.

Shapiro, R. 等. Adenoviral expression vector Ad-hiNOS.《Genbank》.2001, 2.

Timothy F. Osborne 等. The TATA homology and the mRNA 5' untranslated sequence are not required for expression of essential adenovirus E1A functions. Cell. 1982, 第29卷第139-148页, 特别是摘要.

审查员 许文彦

权利要求书3页 说明书24页

序列表81页 附图16页

(54) 发明名称

肿瘤选择性TATA盒和CAAT盒突变体

(57) 摘要

本发明提供了一种重组病毒，其包含与基因可操作地连接的(i)修饰的基于TATA盒的启动子和/或(ii)修饰的基于CAAT盒的启动子，其中所述修饰的基于TATA盒的启动子和/或修饰的基于CAAT盒的启动子缺少具功能性TATA盒和/或CAAT盒，并允许所述基因在过度增殖性细胞中选择性表达。所述重组病毒可用于治疗细胞增殖性疾病和障碍，包括某些形式的癌症。

1. 一种重组腺病毒,其包含与基因可操作地连接的修饰的基于TATA盒和/或CAAT盒的启动子,其中所述修饰的基于TATA盒和/或CAAT盒的启动子缺少功能性TATA盒和/或CAAT盒并允许所述基因在癌细胞中选择性表达,其中所述修饰的基于TATA盒和/或CAAT盒的启动子是E1a启动子,其中包含在所述修饰的基于TATA盒和/或CAAT盒的启动子中的修饰不包含单独的功能性启动子序列的添加或替换,并且还包含编码治疗性转基因的核苷酸序列,其中所述重组腺病毒选择性地在癌细胞中复制,并且其中所述修饰如下任一所示:

(i) 对应于如SEQ ID NO:8所示的Ad5基因组的353至552位核苷酸的200个核苷酸的缺失;

(ii) 对应于如SEQ ID NO:8所示的Ad5基因组的468至475位核苷酸的8个核苷酸的缺失;

(iii) 对应于如SEQ ID NO:8所示的Ad5基因组的423至431位核苷酸的9个核苷酸的缺失;

(iv) 对应于如SEQ ID NO:8所示的Ad5基因组的423至431位核苷酸的9个核苷酸的缺失以及468至475位核苷酸的8个核苷酸的缺失;

(v) 对应于如SEQ ID NO:8所示的Ad5基因组的423至431位核苷酸的9个核苷酸的缺失以及472至475位核苷酸的4个核苷酸的缺失;以及

(vi) 对应于如SEQ ID NO:24所示的Ad35基因组的477至487位核苷酸的缺失。

2. 如权利要求1所述的重组腺病毒,其中所述重组腺病毒选自5型腺病毒和35型腺病毒。

3. 如权利要求1所述的重组腺病毒,其中所述腺病毒是5型腺病毒。

4. 如权利要求3所述的重组腺病毒,其中所述重组腺病毒选择性地在癌细胞中表达E1a和/或E1b。

5. 如权利要求1所述的重组腺病毒,其中所述修饰包含整个TATA盒的缺失。

6. 如权利要求1所述的重组腺病毒,其中所述修饰包含整个CAAT盒的缺失。

7. 如权利要求1-6中任一项所述的重组腺病毒,其中所述治疗性转基因编码治疗性多肽,所述治疗性多肽选自癌蛋白、肿瘤抑制多肽、酶、细胞因子、免疫调节多肽、抗体、裂解肽、疫苗抗原、补充体细胞中的遗传缺陷的多肽和催化导致细胞死亡的过程的多肽。

8. 如权利要求1-6中任一项所述的重组腺病毒,其中所述治疗性转基因编码治疗性多肽,所述治疗性多肽选自凋亡剂、抗体、CTL应答肽、细胞因子、细胞裂解剂、细胞毒性剂、酶、在肿瘤细胞表面表达以引发免疫应答的异源抗原、免疫刺激或免疫调节剂、裂解肽、癌蛋白、催化导致细胞死亡的过程的多肽、补充体细胞中的遗传缺陷的多肽、肿瘤抑制蛋白、疫苗抗原及其任何组合。

9. 如权利要求1-6中任一项所述的重组腺病毒,其中所述治疗性转基因编码治疗性多肽,所述治疗性多肽是干扰素。

10. 如权利要求1-6中任一项所述的重组腺病毒,其中所述治疗性转基因编码治疗性多肽,所述治疗性多肽选自抗PD-1抗体重链或轻链、抗PD-L1抗体重链或轻链、BORIS/CTCFL、CD19、CD20、CD80、CD86、CD137L、CD154、DKK1/Wnt、ICAM-1、IL-1、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、IL-8、IL-9、IL-17、IL-23、IL-23A/p19、干扰素- γ 、TGF- β 、TGF- β trap、FGF、IL-24、IL-27、IL-35、MAGE、NY-ESO-1、p53和胸苷激酶。

11. 如权利要求1-6中任一项所述的重组腺病毒,其中所述治疗性转基因编码TGF- β trap。

12. 如权利要求1-6中任一项所述的重组腺病毒,其中所述治疗性转基因编码选自反义RNA和核酶的治疗性核酸。

13. 如权利要求1-6中任一项所述的重组腺病毒,其中所述腺病毒包含E1b-19K和E1b-55K起始位点,并且其中编码所述治疗性转基因的核苷酸序列被插入到所述E1b-19K的起始位点与E1b-55K的起始位点之间。

14. 如权利要求1-6中任一项所述的重组腺病毒,其中所述重组腺病毒选择性地在癌细胞中具有细胞裂解活性。

15. 如权利要求1-6中任一项所述的重组腺病毒,其中所述重组腺病毒选择性地在癌细胞中表达所述治疗性转基因。

16. 如权利要求15所述的重组腺病毒,其中所述癌细胞选自膀胱癌、骨癌、脑癌、乳腺癌、胃肠癌、宫颈癌、子宫内膜癌、卵巢癌、头颈癌、血液癌症、肾癌、肺癌、间皮瘤、神经内分泌癌症、前列腺癌、肉瘤、皮肤癌和睾丸癌细胞。

17. 如权利要求15所述的重组腺病毒,其中所述癌细胞是甲状腺癌细胞。

18. 如权利要求15所述的重组腺病毒,其中所述癌细胞是人类儿童的癌细胞。

19. 如权利要求15所述的重组腺病毒,其中所述癌细胞是上皮癌细胞。

20. 如权利要求15所述的重组腺病毒,其中所述癌细胞选自胃癌细胞、肺癌细胞、结肠癌细胞和胰腺癌细胞。

21. 一种药物组合物,其包含权利要求1-20中任一项所述的重组腺病毒和至少一种可药用载体或稀释剂。

22. 一种非诊断治疗目的在靶细胞中表达治疗性转基因的方法,所述方法包括将所述细胞暴露于有效量的权利要求1-20中任一项所述的重组腺病毒,以表达所述治疗性转基因。

23. 一种非诊断治疗目的抑制肿瘤细胞的增殖的方法,所述方法包括将所述细胞暴露于有效量的权利要求1-20中任一项所述的重组腺病毒,以抑制所述肿瘤细胞的增殖。

24. 权利要求1-20中任一项所述的重组腺病毒在制备用于在需要的受试者中抑制肿瘤生长的药物中的用途,其中包括向所述受试者施用有效量的所述重组腺病毒,以抑制所述肿瘤的增殖。

25. 权利要求1-20中任一项所述的重组腺病毒在制备用于在需要的受试者中治疗癌症的药物中的用途,其中包括向所述受试者施用有效量的所述重组腺病毒,以在所述受试者中治疗所述癌症。

26. 如权利要求25所述的用途,其中所述癌症选自头颈癌、乳腺癌、间皮瘤、肾细胞癌、前列腺癌、睾丸癌、膀胱癌、脑癌、神经内分泌癌症和肉瘤。

27. 如权利要求25所述的用途,其中所述癌症选自膀胱癌、骨癌、脑癌、乳腺癌、胃肠癌、宫颈癌、子宫内膜癌、卵巢癌、头颈癌、血液癌症、肾癌、肺癌、间皮瘤、神经内分泌癌症、前列腺癌、肉瘤、皮肤癌和睾丸癌。

28. 如权利要求25所述的用途,其中所述癌症是甲状腺癌。

29. 如权利要求25所述的用途,其中所述受试者是人类儿童。

30. 如权利要求25所述的用途,其中所述癌症是上皮癌。
31. 如权利要求25所述的用途,其中所述重组腺病毒与选自手术、放射、化疗、免疫疗法、激素疗法和病毒疗法的一种或多种疗法联合施用。
32. 如权利要求25所述的用途,其中所述重组腺病毒的有效量是 10^2 - 10^{15} 噬斑形成单位(pfu)。
33. 如权利要求25所述的用途,其中所述受试者是人类。
34. 如权利要求25所述的用途,其中进一步还包括在所述受试者中测量对抗原的免疫应答。
35. 如权利要求34所述的用途,其中通过在受试者皮肤上的注射部位注射抗原并测量注射部位的硬结大小来测量对抗原的免疫应答。
36. 如权利要求25所述的用途,其中所述重组腺病毒的有效量通过在所述受试者中测量对抗原的免疫应答来鉴定。
37. 一种工程化改造溶瘤腺病毒的方法,所述方法包括修饰与基因可操作地连接的基于病毒TATA盒和/或CAAT盒的启动子,使得修饰的基于TATA盒和/或CAAT盒的启动子缺少功能性TATA盒和/或CAAT盒并允许所述基因在癌细胞中选择性表达,其中包含在所述修饰的基于TATA盒和/或CAAT盒的启动子中的修饰不包含单独的功能性启动子序列的添加或替换,其中所述修饰如下任一所示:
- (i) 对应于如SEQ ID NO:8所示的Ad5基因组的353至552位核苷酸的200个核苷酸的缺失;
 - (ii) 对应于如SEQ ID NO:8所示的Ad5基因组的468至475位核苷酸的8个核苷酸的缺失;
 - (iii) 对应于如SEQ ID NO:8所示的Ad5基因组的423至431位核苷酸的9个核苷酸的缺失;
 - (iv) 对应于如SEQ ID NO:8所示的Ad5基因组的423至431位核苷酸的9个核苷酸的缺失以及468至475位核苷酸的8个核苷酸的缺失;
 - (v) 对应于如SEQ ID NO:8所示的Ad5基因组的423至431位核苷酸的9个核苷酸的缺失以及472至475位核苷酸的4个核苷酸的缺失;以及
 - (vi) 对应于如SEQ ID NO:24所示的Ad35基因组的477至487位核苷酸的缺失。

肿瘤选择性TATA盒和CAAT盒突变体

[0001] 与相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求2017年1月30日提交的美国临时专利申请系列号62/452,075的利益和优先权,所述临时申请在此整体通过参考并入本文。

技术领域

[0003] 本发明的领域是分子生物学和病毒学,具体来说是偏好性感染过度增殖性和/或非生长停滞细胞的修饰的病毒。

背景技术

[0004] 尽管对引起癌症的潜在分子机制已有广泛了解,但大多数晚期癌症仍不能使用当前的化疗和放射方案治愈。溶瘤病毒已成为具有显著增强当前用于各种不同恶性肿瘤的标准治疗的潜力的平台技术(Kumar, S. 等, (2008), CURRENT OPINION IN MOLECULAR THERAPEUTICS 10 (4) :371-379; Kim, D., (2001), EXPERT OPINION ON BIOLOGICAL THERAPY 1 (3) :525-538; Kim D. (2000) ONCOGENE 19 (56) :6660-6669)。已显示,这些病毒有希望作为不仅通过感染-繁殖-裂解的链式反应直接破坏恶性细胞,而且间接地诱导抗肿瘤免疫力的溶瘤剂。这些免疫刺激性质,通过在每次病毒复制时复制并表达的治疗性转基因的插入而被增强。

[0005] 以前开发的溶瘤病毒包括被称为TAV-255的溶瘤性5血清型腺病毒(Ad5),其在正常细胞中被转录弱化但在癌细胞中有转录活性(参见PCT公布号W02010/101921)。据信TAV-255载体实现这种肿瘤选择性的机制是通过用于转录因子Pea3和E2F的三个转录因子(TF)结合位点的靶向缺失,所述转录因子是通过结合到特定DNA序列来调控病毒进入宿主细胞后将会转录的最早基因E1a的腺病毒表达的蛋白质。

[0006] 尽管到目前为止已作出尝试,但对具体来说表现出肿瘤选择性复制、病毒介导的裂解和/或治疗性转基因表达的用于在人类患者中治疗癌症或过度增殖性障碍的改进的溶瘤病毒,仍存在需求。

发明内容

[0007] 本发明部分是基于下述发现,即对于某些病毒启动子来说,TATA和/或CAAT盒尽管对于在正常的健康细胞中驱动转录来说是必需的,但对于癌性细胞中的活跃转录来说是可有可无的。

[0008] 因此,一方面,本发明提供了一种重组病毒,其包含:(i)与基因可操作地连接的修饰的基于TATA盒的启动子,其中所述修饰的基于TATA盒的启动子缺少功能性TATA盒并允许所述基因在过度增殖性和/或非生长停滞细胞中的选择性表达;和/或(ii)与基因可操作地连接的修饰的基于CAAT盒的启动子,其中所述修饰的基于CAAT盒的启动子缺少功能性CAAT盒并允许所述基因在过度增殖性和/或非生长停滞细胞中的选择性表达。

[0009] 另一方面,本发明提供了一种重组病毒,其包含与基因可操作地连接的修饰的基

于TATA盒的启动子,其中所述修饰的基于TATA盒的启动子缺少功能性TATA盒并允许所述基因在过度增殖性和/或非生长停滞细胞中的选择性表达。

[0010] 另一方面,本发明提供了一种重组病毒,其包含与基因可操作地连接的修饰的基于CAAT盒的启动子,其中所述修饰的基于CAAT盒的启动子缺少功能性CAAT盒并允许所述基因在过度增殖性和/或非生长停滞细胞中的选择性表达。

[0011] 在前述重组病毒任一者的某些实施方式中,所述重组病毒选自重组痘苗病毒、腺病毒、腺相关病毒(AAV)、单纯性疱疹病毒1(HSV1)、黏液瘤病毒、呼肠孤病毒、脊髓灰质炎病毒、水疱性口炎病毒(VSV)、麻疹病毒(MV)和新城疫病毒(NDV)。在某些实施方式中,所述重组病毒是腺病毒例如5型腺病毒(Ad5)或35型腺病毒(Ad35),例如5型腺病毒。在某些实施方式中,所述修饰的基于TATA盒的启动子和/或修饰的基于CAAT盒的启动子是早期基因启动子,例如E1a启动子、E1b启动子或E4启动子,例如E1a启动子。

[0012] 在前述重组病毒任一者的某些实施方式中,包含在所述修饰的基于TATA盒的启动子中的修饰包含整个TATA盒的缺失。在某些实施方式中,所述病毒包含对应于所述5型腺病毒E1a启动子的-27至-24、-31至-24、-44至+54或-146至+54位的核苷酸的缺失,所述核苷酸分别对应于SEQ ID NO:2的471至474、467至474、454至551和352至551位核苷酸和SEQ ID NO:8的472至475、468至475、455至552和353至552位核苷酸。

[0013] 在某些实施方式中,所述病毒包含对应于所述5型腺病毒E1a启动子的-29至-26、-33至-26、-44至+52或-148至+52位的核苷酸的缺失。在某些实施方式中,所述病毒包含对应于SEQ ID NO:2的471至475、467至475、446至551和352至551位核苷酸的核苷酸缺失。

[0014] 另一方面,本发明提供了一种重组病毒,其中所述病毒是5型腺病毒,并且所述病毒包含对应于所述5型腺病毒E1a启动子的-27至-24、-31至-24、-44至+54或-146至+54位的核苷酸的缺失,所述核苷酸分别对应于SEQ ID NO:2的471至474、467至474、454至551和352至551位核苷酸和SEQ ID NO:8的472至475、468至475、455至552和353至552位核苷酸。

[0015] 另一方面,本发明提供了一种重组病毒,其中所述病毒是5型腺病毒,并且所述病毒包含对应于所述5型腺病毒E1a启动子的-29至-26、-33至-26、-44至+52或-148至+52位的核苷酸的缺失,或对应于SEQ ID NO:2的471至475、467至475、446至551和352至551位核苷酸的核苷酸缺失。

[0016] 另一方面,本发明提供了一种重组病毒,其中所述病毒是5型腺病毒,并且所述病毒包含多核苷酸缺失,所述所核苷酸缺失导致包含序列CTAGGACTG(SEQ ID NO:7)、AGTGCCCCG(SEQ ID NO:12)或TATTCCCCG(SEQ ID NO:13)的重组5型腺病毒,其由联结原本在所述被缺失的多核苷酸序列两侧的两个多核苷酸序列产生。

[0017] 在前述重组病毒任一者的某些实施方式中,包含在所述修饰的基于CAAT盒的启动子中的修饰包含整个CAAT盒的缺失。在某些实施方式中,所述病毒包含对应于5型腺病毒E1a启动子的-76至-68位的核苷酸的缺失,所述核苷酸对应于SEQ ID NO:2的422至430位核苷酸和SEQ ID NO:8的423至431位核苷酸。

[0018] 另一方面,本发明提供了一种重组病毒,其中所述病毒是5型腺病毒,并且所述病毒包含对应于5型腺病毒E1a启动子的-76至-68位的核苷酸的缺失,所述核苷酸对应于SEQ ID NO:2的422至430位核苷酸和SEQ ID NO:8的423至431位核苷酸。

[0019] 在前述重组病毒任一者的某些实施方式中,所述病毒包含SEQ ID NO:3、SEQ ID

NO:15、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:22或SEQ ID NO:23的核苷酸序列,或与SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:22或SEQ ID NO:23具有80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的序列。

[0020] 另一方面,本发明提供了一种重组病毒,其中所述病毒是5型腺病毒,并且所述病毒包含多核苷酸缺失,所述多核苷酸缺失导致包含序列TTCCGTGGCG (SEQ ID NO:14) 的重组5型腺病毒,其由联结原本在所述被缺失的多核苷酸序列两侧的两个多核苷酸序列产生。

[0021] 在前述重组病毒任一者的某些实施方式中,所述病毒包含对应于所述Ad35基因组的477至484位的核苷酸的缺失。

[0022] 在某些实施方式中,任何前述重组病毒还可以包含编码治疗性转基因的核苷酸序列。所述治疗性转基因可以编码治疗性多肽,例如凋亡剂、抗体、CTL应答肽、细胞因子、细胞裂解剂、细胞毒性剂、酶、在肿瘤细胞表面表达以引发免疫应答的异源抗原、免疫刺激或免疫调节剂、干扰素、裂解肽、癌蛋白、催化导致细胞死亡的过程的多肽、补充体细胞中的遗传缺陷的多肽、肿瘤抑制蛋白、疫苗抗原及其任何组合。所述治疗性转基因可以编码治疗性核酸例如反义RNA或核酶。在某些实施方式中,所述治疗性转基因选自乙酰胆碱、抗PD-1抗体重链或轻链、抗PD-L1抗体重链或轻链、BORIS/CTCFL、CD19、CD20、CD80、CD86、CD137L、CD154、DKK1/Wnt、ICAM-1、IL-1、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、IL-8、IL-9、IL-17、IL-23、IL-23A/p19、干扰素- γ 、TGF- β 、TGF- β 阱、FGF、IL-24、IL-27、IL-35、MAGE、NY-ESO-1、p53和胸苷激酶。在某些实施方式中,所述治疗性转基因是TGF- β 阱。在某些实施方式中,所述重组病毒包含E1b-19K和E1b-55K起始位点,并且编码所述治疗性转基因的核苷酸序列被插入到所述E1b-19K的起始位点与E1b-55K的起始位点之间。

[0023] 在某些实施方式中,任何前述重组病毒可以包含至少一个Pea3结合位点或其功能性部分的缺失。

[0024] 在某些实施方式中,任何前述重组病毒可以选择性地在过度增殖性细胞和/或非生长停滞细胞中复制。在某些实施方式中,任何前述重组病毒可以选择性地在过度增殖性细胞和/或非生长停滞细胞中表达E1a、E1b和/或治疗性转基因。在某些实施方式中,任何前述重组病毒可以选择性地在过度增殖性细胞和/或非生长停滞细胞中具有细胞裂解活性。

[0025] 所述过度增殖性和/或非生长停滞细胞可以是癌细胞、内皮细胞、表皮细胞、成纤维细胞和/或免疫细胞。所述过度增殖性和/或非生长停滞细胞可以是癌细胞,例如肛门癌、基底细胞癌、膀胱癌、骨癌、脑癌、乳腺癌、上皮癌、胆管癌、宫颈癌、结肠癌、结肠直肠癌、子宫内膜癌、胃食管癌、胃肠(GI)癌、胃肠道间质瘤、肝细胞癌、妇科癌症、头颈癌、血液癌症、肾癌、白血病、肝癌、肺癌、淋巴瘤、黑素瘤、梅克尔细胞癌、间皮瘤、神经内分泌癌症、非小细胞肺癌、卵巢癌、胰腺癌、儿科癌症、前列腺癌、肾细胞癌、肉瘤、皮肤癌、小细胞肺癌、皮肤的鳞状细胞癌、胃癌、睾丸癌或甲状腺癌细胞。

[0026] 另一方面,本发明提供了一种重组病毒,其包含允许在过度增殖性和/或非生长停滞细胞中选择性表达所述病毒的任何修饰或缺失的病毒调控序列。

[0027] 另一方面,本发明提供了一种药物组合物,其包含前述重组病毒中的任一者或组合和至少一种可药用载体或稀释剂。

[0028] 另一方面,本发明提供了一种在受试者中治疗过度增殖性疾病的方法。所述方法

包括向所述受试者施用有效量的本文描述的重组病毒,以在所述受试者中治疗所述过度增殖性疾病。在某些实施方式中,所述过度增殖性疾病选自癌症、动脉粥样硬化、类风湿性关节炎、银屑病、狼疮、特发性肺纤维化、硬皮病肺动脉高压、哮喘、肾纤维化、COPD、囊性纤维化、DIP、UIP、黄斑变性、再狭窄、视网膜病、过度增殖性成纤维细胞障碍、硬皮病、肾小球肾炎、糖尿病性肾病、恶性肾硬化、血栓性微血管病综合征、移植排斥、肾小球病和硬化症。

[0029] 在某些实施方式中,所述过度增殖性疾病是癌症。在某些实施方式中,所述癌症选自肛门癌、基底细胞癌、膀胱癌、骨癌、脑癌、乳腺癌、上皮癌、胆管癌、宫颈癌、结肠癌、结肠直肠癌、子宫内膜癌、胃食管癌、胃肠(GI)癌、胃肠道间质瘤、肝细胞癌、妇科癌症、头颈癌、血液癌症、肾癌、白血病、肝癌、肺癌、淋巴瘤、黑素瘤、梅克尔细胞癌、间皮瘤、神经内分泌癌症、非小细胞肺癌、卵巢癌、胰腺癌、儿科癌症、前列腺癌、肾细胞癌、肉瘤、皮肤癌、小细胞肺癌、皮肤的鳞状细胞癌、胃癌、睾丸癌和甲状腺癌。

[0030] 另一方面,本发明提供了一种在受试者中抑制肿瘤生长的方法。所述方法包括向所述受试者施用有效量的本文描述的重组病毒,以抑制所述肿瘤细胞的增殖。

[0031] 另一方面,本发明提供了一种抑制肿瘤细胞增殖的方法。所述方法包括将所述细胞暴露于有效量的本文描述的重组病毒,以抑制所述肿瘤细胞的增殖。

[0032] 在每种上述方法中,所述重组病毒可以例如与选自手术、放射、化疗、免疫疗法、激素疗法和病毒疗法的一种或多种疗法联合施用。在每种上述方法中,所述重组病毒的有效量可以包含例如 10^2 - 10^{15} 噬斑形成单位(pfu)。在每种上述方法中,所述受试者可以是例如人类例如人类儿童或动物。

[0033] 在每种上述方法中,所述重组病毒的有效量可以例如通过测量所述受试者中对抗原的免疫应答来鉴定。在某些实施方式中,通过在受试者皮肤上的注射部位向受试者注射抗原并测量注射部位的硬结大小来测量对抗原的免疫应答。

[0034] 另一方面,本发明提供了一种在靶细胞中表达治疗性转基因的方法。所述方法包括将所述细胞暴露于有效量的本文描述的重组病毒,以表达所述靶转基因。

[0035] 另一方面,本发明提供了一种工程化改造溶瘤病毒的方法。所述方法包括修饰与基因可操作地连接的基于病毒TATA盒的启动子,使得修饰的基于TATA盒的启动子缺少功能性TATA盒,并允许在过度增殖性和/或非生长停滞细胞中选择性表达所述基因。

[0036] 另一方面,本发明提供了一种工程化改造溶瘤病毒的方法。所述方法包括修饰与基因可操作地连接的基于病毒CAAT盒的启动子,使得修饰的基于CAAT盒的启动子缺少功能性CAAT盒,并允许在过度增殖性和/或非生长停滞细胞中选择性表达所述基因。

[0037] 另一方面,本发明提供了一种工程化改造溶瘤病毒的方法。所述方法包括修饰与基因可操作地连接的基于病毒TATA盒的启动子,使得修饰的基于TATA盒的启动子缺少功能性TATA盒,并允许在过度增殖性和/或非生长停滞细胞中选择性表达所述基因,和/或修饰与基因可操作地连接的基于病毒CAAT盒的启动子,使得修饰的基于CAAT盒的启动子缺少功能性CAAT盒,并允许在过度增殖性和/或非生长停滞细胞中选择性表达所述基因。

[0038] 另一方面,本发明提供了一种分离的核酸,其包含SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:22或SEQ ID NO:23的核苷酸序列,或与SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:22或SEQ ID NO:23具有80%、85%、86%、87%、88%、

89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的序列。在某些实施方式中,所述分离的核酸包含SEQ ID N0:4的核苷酸序列。本发明提供了包含一种或多种上述核酸的宿主细胞。

[0039] 另一方面,本发明提供了一种生产重组病毒的方法。所述方法包括:(a)将一种或多种上述宿主细胞在使所述宿主细胞生产所述重组病毒的条件下生长;以及(b)纯化所述重组病毒。

[0040] 本发明的这些和其他方面和优点,通过下面的附图、详细描述和权利要求书来说明。

附图说明

[0041] 参考下面的附图,可以更完整地理解本发明。

[0042] 图1A描绘了Ad- Δ 350(其包括TATA盒和CAAT盒两者的缺失)的5'末端直至E1a基因的起始密码子之前的核苷酸序列。从野生型腺病毒序列缺失200个核苷酸的位点用连字符表示。图1B描绘了Ad-TATA的5'末端直至E1a基因的起始密码子之前的核苷酸序列。从野生型腺病毒序列缺失8个核苷酸的位点用连字符表示。图1C描绘了Ad-CAAT的5'末端直至E1a基因的起始密码子之前的核苷酸序列。从野生型腺病毒序列缺失9个核苷酸的位点用连字符表示。图1D描绘了Ad-CAAT-TATA的5'末端直至E1a基因的起始密码子之前的核苷酸序列。从野生型腺病毒序列缺失9个核苷酸和8个核苷酸的位点用连字符表示。图1E描绘了Ad-CAAT-mTATA的5'末端直至E1a基因的起始密码子之前的核苷酸序列。从野生型腺病毒序列缺失9个核苷酸和4个核苷酸的位点用连字符表示。图1F描绘了野生型Ad5的5'末端直至E1a基因的起始密码子之前的核苷酸序列。CAAT盒(GGTCAAAGT)和TATA盒(TATTTATA)用框指明。

[0043] 图2A描绘了Western印迹,示出了在用Ad- Δ 350或Ad-TAV-255感染后指定时间内癌性Panc-1细胞中的E1a表达水平。图2B描绘了Western印迹,示出了在用Ad- Δ 350或Ad-TAV-255感染后指定时间内非癌性WI-38细胞中的E1a表达水平。L表示分子量标准Ladder,CN表示未感染的对照。

[0044] 图3A描绘了Western印迹,示出了在用Ad- Δ 350或Ad-TAV-255以3或5的感染复数(MOI)感染后72小时癌性Panc-1细胞中的E1a表达水平。图3B描绘了Western印迹,示出了在用Ad- Δ 350或Ad-TAV-255以3或5的感染复数(MOI)感染后72小时癌性A549细胞中的E1a表达水平。L表示分子量标准Ladder,CN表示未感染的对照。

[0045] 图4A描绘了癌性HCT116细胞、Panc-1细胞和A549细胞在用Ad- Δ 350以指示的MOI感染后指示的时间点时的结晶紫染色。图4B描绘了非癌性MRC5细胞和WI38细胞在用Ad- Δ 350或Ad-TAV-255以指示的MOI感染后10天的结晶紫染色。结晶紫将活细胞染为蓝色。CN表示未感染的对照。

[0046] 图5描绘了癌性A549、Panc1、HCT116和Hep3b细胞作为未感染的对照和在用Ad-CAAT或Ad-CAAT-mTATA以5MOI感染后三天的结晶紫染色。结晶紫将活细胞染为蓝色。

[0047] 图6描绘了癌性ADS-12、ASPC1、HT-29和Hep3b细胞作为未感染的对照和用Ad-TATA、Ad-CAAT、Ad-CAAT-TATA、Ad- Δ 350和Ad-TAV- Δ 19k以5MOI感染后三天的结晶紫染色。结晶紫将活细胞染为蓝色。

[0048] 图7描绘了癌性ADS-12、ASPC1、HT-29和Hep3b细胞作为未感染的对照和用Ad-

TATA、Ad-CAAT、Ad-CAAT-TATA、Ad- Δ 350和Ad-TAV- Δ 19k以5MOI感染后四天的结晶紫染色。结晶紫将活细胞染为蓝色。

[0049] 图8描绘了瘤性Panc1、A549、MeWo和HCT-116细胞作为未感染的对照和用Ad-TATA、Ad-CAAT、Ad-CAAT-TATA、Ad- Δ 350和Ad-TAV- Δ 19k以5MOI感染后三天的结晶紫染色。结晶紫将活细胞染为蓝色。

[0050] 图9描绘了瘤性Panc1、A549、MeWo和HCT-116细胞作为未感染的对照和用Ad-TATA、Ad-CAAT、Ad-CAAT-TATA、Ad- Δ 350和Ad-TAV- Δ 19k以5MOI感染后四天的结晶紫染色。结晶紫将活细胞染为蓝色。

[0051] 图10描绘了瘤性A549、HCT116、Hep3b和Panc1细胞作为未感染的对照和用Ad-TATA、Ad-CAAT、Ad-CAAT-TATA、Ad- Δ 350和Ad-TAV- Δ 19k以5MOI感染后五天的结晶紫染色。结晶紫将活细胞染为蓝色。

[0052] 图11描绘了瘤性MeWo、HT29、ADS12和ASPC细胞作为未感染的对照和用Ad-TATA、Ad-CAAT、Ad-CAAT-TATA、Ad- Δ 350和Ad-TAV- Δ 19k以5MOI感染后五天的结晶紫染色。结晶紫将活细胞染为蓝色。

[0053] 图12描绘了非瘤性WI38细胞作为未感染的对照和用Ad-TATA、Ad-CAAT、Ad-CAAT-TATA、Ad- Δ 350和Ad-TAV- Δ 19k以指示的MOI感染后四天的结晶紫染色。结晶紫将活细胞染为蓝色。

[0054] 图13描绘了非瘤性WI38细胞作为未感染的对照和用Ad-TATA、Ad-CAAT、Ad-CAAT-TATA、Ad- Δ 350和Ad-TAV- Δ 19k以指示的MOI感染后六天的结晶紫染色。结晶紫将活细胞染为蓝色。

[0055] 图14描绘了瘤性Panc-1细胞、A549细胞和ADS12细胞用Ad- Δ 350- Δ 19k以指示的MOI感染后五天的结晶紫染色。结晶紫将活细胞染为蓝色。CN表示未感染的对照。

[0056] 图15描绘了瘤性Panc-1细胞、A549细胞和ADS12细胞用Ad- Δ 350-mGM-CSF以指示的MOI感染后五天的结晶紫染色。结晶紫将活细胞染为蓝色。CN表示未感染的对照。

[0057] 图16描绘了瘤性A549细胞用Ad- Δ 350- Δ 19k、Ad- Δ 350-mGM-CSF和Ad-TAV- Δ 19k以5MOI感染后三天的结晶紫染色。结晶紫将活细胞染为蓝色。CN表示未感染的对照。

[0058] 图17描绘了瘤性A549细胞用Ad- Δ 350- Δ 19k、Ad- Δ 350-mGM-CSF和Ad-TAV- Δ 19k以5MOI感染后五天的结晶紫染色。结晶紫将活细胞染为蓝色。CN表示未感染的对照。

[0059] 图18描绘了瘤性HCT116细胞用Ad- Δ 350- Δ 19k、Ad- Δ 350-mGM-CSF和Ad-TAV- Δ 19k以5MOI感染后三天的结晶紫染色。结晶紫将活细胞染为蓝色。CN表示未感染的对照。

[0060] 图19描绘了瘤性HCT116细胞用Ad- Δ 350- Δ 19k、Ad- Δ 350-mGM-CSF和Ad-TAV- Δ 19k以5MOI感染后五天的结晶紫染色。结晶紫将活细胞染为蓝色。CN表示未感染的对照。

[0061] 图20描绘了瘤性Hep3b细胞用Ad- Δ 350- Δ 19k、Ad- Δ 350-mGM-CSF和Ad-TAV- Δ 19k以5MOI感染后三天的结晶紫染色。结晶紫将活细胞染为蓝色。CN表示未感染的对照。

[0062] 图21描绘了瘤性MeWo细胞用Ad- Δ 350- Δ 19k、Ad- Δ 350-mGM-CSF和Ad-TAV- Δ 19k以5MOI感染后五天的结晶紫染色。结晶紫将活细胞染为蓝色。CN表示未感染的对照。

[0063] 图22描绘了柱状图,示出了在将A549细胞用Ad- Δ 350- Δ 19k或Ad- Δ 350-mGM-CSF以10MOI感染后通过ELISA测定的mGM-CSF表达。

[0064] 图23描绘了柱状图,示出了在将ADS12细胞用Ad- Δ 350- Δ 19k或Ad- Δ 350-mGM-

CSF以指示的MOI感染后通过ELISA测定的mGM-CSF表达。

[0065] 图24描绘了带有皮下ADS-12肿瘤,用缓冲液、Ad- Δ 350- Δ 19k (表示为350-19k) 或Ad-TAV- Δ 19k (表示为TAV-19k) 的三次肿瘤内注射进行治疗的小鼠的肿瘤体积。图中的每条线代表单个小鼠的肿瘤体积。

[0066] 图25是描绘了从在E1A启动子中包含TATA盒缺失的人类35型腺病毒基因组转染的HEK-293细胞产生的病毒细胞病理效应的图像。发明详述

[0067] 转录需要RNA聚合酶II (RNA pol II) 正确定位在被称为启动子的短DNA序列上。启动子序列通常包含高度保守的被称为TATA盒的富含A/T的序列,其通常在侧翼带有富含G/C的序列,位于转录起始位点上游大约30个碱基对处。缺少可识别的TATA盒的基因通常是管家基因,并且依赖转录因子Sp1来转录,而含有TATA盒的基因通常是对生物响应途径做出响应的高度受调控的基因。TATA盒被RNA polII的召集所需的转录因子IIB (TFIIB) 和TATA结合蛋白 (TBP) 识别。在TATA盒的突变或移除例如腺病毒E1a基因的启动子中的TATA盒的移除后转录受损或失活的实验观察,支持了TATA盒在转录中的核心作用 (Wu等, (1987) NATURE 326 (6112) :512-5)。

[0068] 许多启动子中存在的另一种序列是CAAT盒。CAAT盒通常位于基因的转录起始位点上游大约60-100碱基处,并具有共有序列GG (T/C) CAATCT。CAAT盒被核心结合因子(也被称为核因子Y或NF-Y) 和CCAAT/增强子结合蛋白 (C/EBP) 识别。

[0069] 本发明部分是基于下述发现,即对于某些病毒启动子例如5型腺病毒 (Ad5) E1a启动子来说,TATA和/或CAAT盒尽管在正常的健康细胞中对驱动转录来说是必需的,但对于癌性细胞中的活跃转录来说是可有可无的。因此,一方面,本发明提供了一种重组病毒,其包含:(i) 与基因可操作地连接的修饰的基于TATA盒的启动子,其中所述修饰的基于TATA盒的启动子缺少功能性TATA盒,并允许所述基因在过度增殖性和/或非生长停滞细胞中选择性表达;和/或(ii) 与基因可操作地连接的修饰的基于CAAT盒的启动子,其中所述修饰的基于CAAT盒的启动子缺少功能性CAAT盒,并允许所述基因在过度增殖性和/或非生长停滞细胞中选择性表达。所述基于TATA盒的启动子和基于CAAT盒的启动子可以是相同启动子(例如Ad5 E1a启动子),或者可以是不同启动子。

[0070] 另一方面,本发明提供了一种重组病毒,其包含与基因可操作地连接的修饰的基于TATA盒的启动子,其中所述修饰的基于TATA盒的启动子缺少功能性TATA盒,并允许所述基因在过度增殖性和/或非生长停滞细胞中选择性表达。

[0071] 另一方面,本发明提供了一种重组病毒,其包含与基因可操作地连接的修饰的基于CAAT盒的启动子,其中所述修饰的基于CAAT盒的启动子缺少功能性CAAT盒,并允许所述基因在过度增殖性和/或非生长停滞细胞中选择性表达。

[0072] 另一方面,本发明提供了一种重组病毒,其包含允许所述病毒在过度增殖性和/或非生长停滞细胞中选择性表达的任何修饰或缺失的病毒调控序列。示例性的病毒调控序列除了TATA和CAAT盒之外还包括TATA盒下游的Ad5 E1a引发序列和Ad5 E1a启动子元件。

[0073] 当在本文中使用时,“TATA盒”是指能够结合到TATA结合蛋白 (TBP) 的核苷酸序列。TATA盒通常包含富含A/T的8核苷酸的区段,其含有核心序列TATAAA (SEQ ID NO:1),其中所述8核苷酸区段在侧翼带有富含G/C的序列,然而,TATA盒可能与所述典型TATA序列具有很少相似之处。

[0074] 当在本文中使用时,“修饰的TATA盒”是指相对于野生型TATA盒序列具有一个或多个核苷酸的缺失、替换或添加的TATA盒。

[0075] 当在本文中使用时,“功能性TATA盒”是指能够结合到TBP的TATA盒,例如具有相应的野生型TATA盒序列的至少100%、至少90%、至少80%、至少70%、至少60%、至少50%或至少40%的TBP结合活性的TATA盒。当在本文中使用时,“无功能的TATA盒”是指例如具有相应的野生型TATA盒序列的低于30%、低于20%、低于10%或0%的TBP结合活性的TATA盒。用于确定TBP是否结合到TATA盒的测定法在本领域中是已知的。示例性的结合测定法包括电泳迁移率变动测定法、染色质免疫沉淀测定法和DNase足迹测定法。

[0076] 当在本文中使用时,“基于TATA盒的启动子”是指含有TATA盒的任何基因启动子。

[0077] 当在本文中使用时,“修饰的基于TATA盒的启动子”是指已通过一个或多个核苷酸的缺失、替换或添加进行修饰的基于TATA盒的启动子。在某些实施方式中,包含在所述修饰的基于TATA盒的启动子中的修饰包含野生型基于TATA盒的启动子序列的一个或多个核苷酸的缺失。在某些实施方式中,包含在所述修饰的基于TATA盒的启动子中的修饰由野生型基于TATA盒的启动子序列的一个或多个核苷酸的缺失构成。在某些实施方式中,包含在所述修饰的基于TATA盒的启动子中的修饰包含野生型基于TATA盒的启动子序列的整个TATA盒的缺失。在某些实施方式中,包含在所述修饰的基于TATA盒的启动子中的修饰由野生型基于TATA盒的启动子序列的整个TATA盒的缺失构成。在某些实施方式中,包含在所述修饰的基于TATA盒的启动子中的修饰包含所述整个基于TATA盒的启动子的缺失。在某些实施方式中,包含在所述修饰的基于TATA盒的启动子中的修饰由所述整个基于TATA盒的启动子的缺失构成。在某些实施方式中,包含在所述修饰的基于TATA盒的启动子中的修饰不包含分开的有功能的启动子序列的添加或替换。

[0078] 在某些实施方式中,包含在所述修饰的基于TATA盒的启动子中的修饰包含野生型基于TATA盒的启动子序列的1至300、1至200、1至100、1至75、1至50、1至25、1至10、1至8、1至4个核苷酸、4至300、4至200、4至150、4至100、4至75、4至50、4至25、4至10、4至8、8至300、8至200、8至150、8至100、8至75、8至50、8至25、8至10、10至300、10至200、10至150、10至100、10至75、10至50、10至25、25至300、25至200、25至150、25至100、25至75、25至50、50至300、50至200、50至150、50至100、50至75、75至300、75至200、75至150、75至100、100至300、100至200、100至150、150至300、150至200或200至300个核苷酸的缺失。在某些实施方式中,包含在所述修饰的基于TATA盒的启动子中的修饰包含野生型基于TATA盒的启动子序列的约10、约25、约50、约75、约100、约150、约200或约300个核苷酸的缺失。在某些实施方式中,包含在所述修饰的基于TATA盒的启动子中的修饰包含野生型基于TATA盒的启动子序列的约200个核苷酸的缺失。在某些实施方式中,包含在所述修饰的基于TATA盒的启动子中的修饰包含野生型基于TATA盒的启动子序列的1、2、3、4、5、6、7、8或10个核苷酸的缺失。在某些实施方式中,包含在所述修饰的基于TATA盒的启动子中的修饰包含野生型基于TATA盒的启动子序列的4或8个核苷酸的缺失。

[0079] 当在本文中使用时,“CAAT盒”是指能够结合到C/EBP或NF-Y蛋白的核苷酸序列。TATA盒通常包含共有序列GG(T/C)CAATCT。

[0080] 当在本文中使用时,“修饰的CAAT盒”是指相对于野生型CAAT盒序列具有一个或多个核苷酸的缺失、替换或添加的CAAT盒。

[0081] 当在本文中使用时,“功能性CAAT盒”是指能够结合到C/EBP或NF-Y蛋白的CAAT盒,例如具有相应的野生型CAAT盒序列的至少100%、至少90%、至少80%、至少70%、至少60%、至少50%或至少40%的C/EBP或NF-Y结合活性的CAAT盒。当在本文中使用时,“无功能的CAAT盒”是指例如具有相应的野生型CAAT盒序列的低于30%、低于20%、低于10%或0%的C/EBP或NF-Y结合活性的CAAT盒。用于确定C/EBP或NF-Y蛋白是否结合到CAAT盒的测定法在本领域中是已知的。示例性的结合测定法包括电泳迁移率变动测定法、染色质免疫沉淀测定法和DNase足迹测定法。

[0082] 当在本文中使用时,“基于CAAT盒的启动子”是指含有CAAT盒的任何基因启动子。

[0083] 当在本文中使用时,“修饰的基于CAAT盒的启动子”是指已通过一个或多个核苷酸的缺失、替换或添加进行修饰的基于CAAT盒的启动子。在某些实施方式中,包含在所述修饰的基于CAAT盒的启动子中的修饰包含野生型基于CAAT盒的启动子序列的一个或多个核苷酸的缺失。在某些实施方式中,包含在所述修饰的基于CAAT盒的启动子中的修饰由野生型基于CAAT盒的启动子序列的一个或多个核苷酸的缺失构成。在某些实施方式中,包含在所述修饰的基于CAAT盒的启动子中的修饰包含所述野生型基于CAAT盒的启动子序列的整个CAAT盒的缺失。在某些实施方式中,包含在所述修饰的基于CAAT盒的启动子中的修饰由所述野生型基于CAAT盒的启动子序列的整个CAAT盒的缺失构成。在某些实施方式中,包含在所述修饰的基于CAAT盒的启动子中的修饰包含所述整个基于CAAT盒的启动子的缺失。在某些实施方式中,包含在所述修饰的基于CAAT盒的启动子中的修饰由所述整个基于CAAT盒的启动子的缺失构成。在某些实施方式中,包含在所述修饰的基于CAAT盒的启动子中的修饰不包含分开的有功能的启动子序列的添加或替换。

[0084] 在某些实施方式中,包含在所述修饰的基于CAAT盒的启动子中的修饰包含野生型基于CAAT盒的启动子序列的1至300、1至200、1至100、1至75、1至50、1至25、1至10、1至8、1至4个核苷酸、4至300、4至200、4至150、4至100、4至75、4至50、4至25、4至10、4至8、8至300、8至200、8至150、8至100、8至75、8至50、8至25、8至10、10至300、10至200、10至150、10至100、10至75、10至50、10至25、25至300、25至200、25至150、25至100、25至75、25至50、50至300、50至200、50至150、50至100、50至75、75至300、75至200、75至150、75至100、100至300、100至200、100至150、150至300、150至200或200至300个核苷酸的缺失。在某些实施方式中,包含在所述修饰的基于CAAT盒的启动子中的修饰包含野生型基于CAAT盒的启动子序列的约10、约25、约50、约75、约100、约150、约200或约300个核苷酸的缺失。在某些实施方式中,包含在所述修饰的基于CAAT盒的启动子中的修饰包含野生型基于CAAT盒的启动子序列的约200个核苷酸的缺失。在某些实施方式中,包含在所述修饰的基于CAAT盒的启动子中的修饰包含野生型基于CAAT盒的启动子序列的1、2、3、4、5、6、7、8或10个核苷酸的缺失。在某些实施方式中,包含在所述修饰的基于CAAT盒的启动子中的修饰包含野生型基于CAAT盒的启动子序列的9个核苷酸的缺失。

[0085] 术语“可操作连接”是指多核苷酸元件以有功能的关系连接。核酸序列当与另一个核酸序列以有功能的关系放置时,被“可操作连接”。例如,如果启动子或增强子影响基因的转录,则它被可操作连接到所述基因。可操作连接的核苷酸序列通常是毗连的。然而,由于增强子通常在与启动子相隔几千碱基时起作用并且内含子序列可能具有可变的长度,因此某些多核苷酸元件可能是可操作连接的但不直接在两侧,并且甚至可能从不同的等位基因

或染色体反式起作用。在某些实施方式中,基因(编码区)被可操作连接到修饰的基于TATA盒和/或修饰的基于CAAT盒的启动子。

[0086] 术语“转基因”是指外源基因或多核苷酸序列。术语“治疗性转基因”是指当在病毒中或被病毒复制和/或表达时,在靶细胞、体液、组织、器官、生理系统或受试者中提供治疗效果的转基因。

[0087] 在某些实施方式中,所述重组病毒表现出可操作连接到修饰的基于TATA盒和/或修饰的基于CAAT盒的启动子的基因在过度增殖性和/或非生长停滞细胞例如癌细胞相对于非过度增殖性和/或生长停滞细胞中的选择性表达。在某些实施方式中,所述基因在所述非过度增殖性和/或生长停滞细胞中的表达为所述基因在所述过度增殖性细胞和/或非生长停滞细胞中的表达的约90%、约80%、约70%、约60%、约50%、约40%、约30%、约20%、约10%或约5%。在某些实施方式中,所述病毒在非过度增殖性和/或生长停滞细胞中不表现出所述基因的可检测的表达。在某些实施方式中,所述重组病毒在非过度增殖性和/或生长停滞细胞中对可操作连接到修饰的基于TATA盒和/或基于CAAT盒的启动子的基因的表达,为不含所述修饰的基于TATA盒和/或基于CAAT盒的启动子的相应病毒对所述基因的表达的约90%、约80%、约70%、约60%、约50%、约40%、约30%、约20%、约10%或约5%。在某些实施方式中,所述重组病毒表现出早期基因例如腺病毒E1a或E1b的选择性表达。基因表达可以通过本领域中已知的任何适合的方法来确定,例如在本文实施例2中所描述的Western印迹。

[0088] 在某些实施方式中,可操作连接到修饰的基于TATA盒和/或基于CAAT盒的启动子的基因例如早期基因被所述重组病毒在过度增殖性和/或非生长停滞细胞例如癌细胞中的选择性表达,引起所述病毒在所述过度增殖性和/或非生长停滞细胞中的选择性复制。在某些实施方式中,所述病毒在非过度增殖性和/或生长停滞细胞中的复制为所述病毒在过度增殖性和/或非生长停滞细胞中的复制的约90%、约80%、约70%、约60%、约50%、约40%、约30%、约20%、约10%或约5%。在某些实施方式中,所述病毒在非过度增殖性和/或生长停滞细胞中的复制为不含修饰的基于TATA盒和/或基于CAAT盒的启动子的相应病毒的复制的约90%、约80%、约70%、约60%、约50%、约40%、约30%、约20%、约10%或约5%。病毒复制可以通过本领域中已知的任何适合的方法来确定,例如通过例如本文实施例2中描述的Western印迹测定病毒蛋白质的表达,通过例如本文实施例3中描述的结晶紫染色测定病毒介导的裂解,或通过定量聚合酶链反应(qPCR)。

[0089] 在某些实施方式中,可操作连接到修饰的基于TATA盒和/或基于CAAT盒的启动子的基因例如早期基因被所述重组病毒在过度增殖性和/或非生长停滞细胞例如癌细胞中的选择性表达,引起所述过度增殖性和/或非生长停滞细胞的选择性的病毒介导的裂解(即细胞裂解活性)。在某些实施方式中,非过度增殖性和/或生长停滞细胞的所述病毒介导的裂解为过度增殖性和/或非生长停滞细胞的病毒介导的裂解的约90%、约80%、约70%、约60%、约50%、约40%、约30%、约20%、约10%,或约5%。在某些实施方式中,所述病毒不表现出非过度增殖性和/或生长停滞细胞的可检测的病毒介导的裂解。在某些实施方式中,非过度增殖性和/或生长停滞细胞的所述病毒介导的裂解为不含修饰的基于TATA盒和/或基于CAAT盒的启动子的相应病毒的病毒介导的裂解的约90%、约80%、约70%、约60%、约50%、约40%、约30%、约20%、约10%或约5%。病毒介导的裂解可以通过本领域中已知的

任何适合的方法来确定,例如本文实施例3中所描述的结晶紫染色。

[0090] 在某些实施方式中,可操作连接到修饰的基于TATA盒和/或基于CAAT盒的启动子的基因例如早期基因被所述重组病毒在过度增殖性和/或非生长停滞细胞例如癌细胞中的选择性表达,引起治疗性转基因被所述重组病毒的选择性表达。在某些实施方式中,治疗性转基因在非过度增殖性和/或生长停滞细胞中的表达为所述治疗性转基因在过度增殖性和/或非生长停滞细胞中的表达的约90%、约80%、约70%、约60%、约50%、约40%、约30%、约20%、约10%或约5%。在某些实施方式中,所述病毒在非过度增殖性和/或生长停滞细胞中不表现出所述治疗性转基因的可检测的表达。在某些实施方式中,治疗性转基因在非过度增殖性和/或生长停滞细胞中的表达为不含修饰的基于TATA盒和/或基于CAAT盒的启动子的相应病毒在所述细胞中的所述治疗性转基因的表达的约90%、约80%、约70%、约60%、约50%、约40%、约30%、约20%、约10%、或约5%。治疗性转基因的表达可以通过本领域中已知的任何适合的方法来确定,例如本文实施例4中所描述的ELISA。

[0091] 所述过度增殖性和/或非生长停滞细胞可以是癌细胞、内皮细胞、表皮细胞、成纤维细胞和/或免疫细胞。所述过度增殖性和/或非生长停滞细胞可以是癌细胞,例如肛门癌、基底细胞癌、膀胱癌、骨癌、脑癌、乳腺癌、上皮癌、胆管癌、宫颈癌、结肠癌、结肠直肠癌、子宫内膜癌、胃食管癌、胃肠(GI)癌、胃肠道间质瘤、肝细胞癌、妇科癌症、头颈癌、血液癌症、肾癌、白血病、肝癌、肺癌、淋巴瘤、黑素瘤、梅克尔细胞癌、间皮瘤、神经内分泌癌症、非小细胞肺癌、卵巢癌、胰腺癌、儿科癌症、前列腺癌、肾细胞癌、肉瘤、皮肤癌、小细胞肺癌、皮肤的鳞状细胞癌、胃癌、睾丸癌或甲状腺癌细胞。在其他实施方式中,所述过度增殖性细胞源自于过度增殖性障碍。示例性的过度增殖性障碍包括血管增殖性障碍(例如再狭窄、视网膜病和动脉粥样硬化)、纤维化障碍(例如硬化症例如肝硬化(其可能是病毒感染例如肝炎继发的)、肾小球膜障碍(例如人类肾病如肾小球肾炎、糖尿病性肾病、恶性肾硬化、血栓性微血管病综合征、移植排斥和肾小球病)、癌前障碍(例如增生或发育不良)、自体免疫障碍、类风湿性关节炎、银屑病、狼疮、特发性肺纤维化、硬皮病肺动脉高压、哮喘、肾纤维化、COPD、囊性纤维化、DIP、UIP、黄斑变性、过度增殖性成纤维细胞障碍和硬皮病。

[0092] 序列同一性可以以本领域技术之内的各种不同方式确定,例如使用公开可用的计算机软件例如BLAST、BLAST-2、ALIGN或Megalign(DNASTAR)软件。使用程序blastp、blastn、blastx、tblastn和tblastx所利用的算法的BLAST(局部序列比对检索基本工具)分析(Karlin等,(1990)PROC.NATL.ACAD.SCI.USA 87:2264-2268;Altschul,(1993)J.MOL.EVOL.36,290-300;Altschul等,(1997)NUCLEIC ACIDS RES.25:3389-3402,通过参考并入本文),被定制用于序列相似性检索。对于检索序列数据库中的基本问题的讨论,参见Altschul等,(1994)NATURE GENETICS 6:119-129,其整体通过参考并入本文。本领域技术人员可以为用于测量对齐、包括在待比较的序列的整个长度上获得最大对齐所需的任何算法,确定适合的参数。用于直方图、描述、比对、期望值(即报告对数据库序列的匹配的统计显著性阈值)、截止值、矩阵和筛选程序的搜索参数,采用缺省设置。被blastp、blastx、tblastn和tblastx使用的缺省评分矩阵是BLOSUM62矩阵(Henikoff等,(1992)PROC.NATL.ACAD.SCI.USA 89:10915-10919,其整体通过参考并入本文)。四种blastn参数可以如下调整:Q=10(间隙生成罚分);R=10(间隙扩展罚分);wink=1(在沿着查询的每个wink位置处产生词命中数);和gapw=16(设置在其中产生带间隙的比对的窗口宽度)。等效

的Blastp参数设置可以是Q=9,R=2,wink=1和gapw=32。检索也可以使用NCBI (National Center for Biotechnology Information) BLAST高级选项参数来进行(例如: -G, 间隙开放罚分 [Integer] : 缺省值 = 对于核苷酸来说5/对于蛋白质来说11; -E, 间隙扩展罚分 [Integer] : 缺省值 = 对于核苷酸来说2/对于蛋白质来说1; -q, 核苷酸错配罚分 [Integer] : 缺省值 = -3; -r, 核苷酸匹配奖励 [Integer] : 缺省值 = 1; -e, 期望值 [Real] : 缺省值 = 10; -W, 词大小 [Integer] : 缺省值 = 对于核苷酸来说11/对于megablast来说28/对于蛋白质来说3; -y, 以字节为单位的blast扩展的衰减 (X) : 缺省值 = 对于blastn来说20/对于其他来说7; -X, 带间隙的比对的X衰减值 (以字节为单位) : 缺省值 = 对于所有程序来说15, 不适用于blastn; 和 -Z, 带间隙的比对的最终X衰减值 (以字节为单位) : 对于blastn来说50, 对于其他来说25)。也可以将ClustalW用于成对蛋白质比对 (缺省参数可以包括例如Blosum62矩阵和间隙开放罚分 = 10和间隙扩展罚分 = 0.1)。在GCG软件包10.0版中可用的序列之间的Bestfit比较, 使用DNA参数GAP = 50 (间隙生成罚分) 和LEN = 3 (间隙扩展罚分), 在蛋白质比较中的等同设置是GAP = 8和LEN = 2。

[0093] I. 病毒

[0094] 术语“病毒”在本文中用于指称不具有蛋白质合成或能量产生机制的任何专性细胞内寄生物。病毒的基因组可以是RNA或DNA。在本发明的实践中有用的病毒包括重组修饰的有包膜或无包膜DNA和RNA病毒, 优选地选自杆状病毒、细小病毒、小核糖核酸病毒、疱疹病毒、痘病毒或腺病毒。重组修饰的病毒在本文中被称为“重组病毒”。重组病毒可以通过重组DNA技术修饰成复制缺陷型、条件复制型或复制型, 和/或通过重组DNA技术修饰成包含外源转基因的表达。利用每种母体载体性质的有利要素的嵌合病毒载体(参见例如Feng等, (1997) NATURE BIOTECHNOLOGY 15: 866-870) 也可用于本发明的实践。尽管使用来自于待治疗物种的病毒通常是有利的, 但在某些情况下, 使用源自于具有有利致病特点的不同物种的载体, 可能是有利的。例如, 在PCT公布号WO 98/27216中描述了将马疱疹病毒载体用于人类基因疗法。由于所述马病毒对人类不致病, 因此所述载体被描述为可用于人类的治疗。同样地, 绵羊腺病毒载体可用于人类基因疗法, 因为它们据称避免了对人类腺病毒载体的抗体。这些载体描述在PCT公布号WO 97/06826中。

[0095] 对本发明的实践有用的病毒含有基于TATA盒和/或基于CAAT盒的启动子。在某些实施方式中, 所述基于TATA盒和/或基于CAAT盒的启动子是早期基因例如编码在进入宿主细胞之后但在复制之前产生的蛋白质的基因的启动子, 所述蛋白质通常启动基因组的复制和晚期基因的表达。

[0096] 具有早期基因的基于TATA盒和/或基于CAAT盒的启动子的病毒的实例包括人类免疫缺陷病毒-1 (HIV-1)、1型单纯性疱疹病毒、腺相关病毒、流感病毒、呼肠孤病毒、水痘性口炎病毒 (VSV)、新城疫病毒、痘苗病毒、脊髓灰质炎病毒、麻疹病毒、腮腺炎病毒、辛德毕斯病毒 (SIN) 和仙台病毒 (SV)。

[0097] 优选地, 所述重组病毒是腺病毒。腺病毒是中等大小 (90-100nm)、无包膜 (裸露的)二十面体病毒, 由核衣壳和双链线性DNA基因组构成。腺病毒在哺乳动物细胞的核中使用宿主的复制机制复制。术语“腺病毒”是指腺病毒属包括但不限于人类、牛、绵羊、马、犬、猪、鼠和猴腺病毒亚属的任何病毒。具体来说, 人类腺病毒包括A-F亚属及其各个血清型, 所述各个血清型和A-F亚属包括但不限于人类1、2、3、4、4a、5、6、7、8、9、10、11 (Ad11a和Ad11p)、12、

13、14、15、16、17、18、19、19a、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、34a、35、35p、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48和91型腺病毒。优选的是源自于人类2、5和35型腺病毒的重组病毒。除非另有陈述,否则所有5型腺病毒的核苷酸编号是相对于本文中描绘在SEQ ID NO:8中的NCBI参比序列AC_000008.1,并且所有35型腺病毒的核苷酸编号是相对于本文中描绘在SEQ ID NO:24中的NCBI参比序列AC_000019.1。编码5型腺病毒基因组的5'末端的示例性载体质粒(pXC1)的序列在本文中描绘在SEQ ID NO:2中。

[0098] 腺病毒复制周期具有两个阶段:早期阶段,在此期间四个转录单元E1、E2、E3和E4被表达;和晚期阶段,其在病毒DNA合成开始之后发生,此时晚期转录本主要从主要晚期启动子(MLP)表达。晚期讯息编码病毒的大多数结构蛋白质。E1、E2和E4的基因产物负责转录激活、细胞转化、病毒DNA复制以及其他病毒功能,并且对于病毒生长来说是必需的。

[0099] 在某些实施方式中,所述修饰的基于TATA盒的启动子是腺病毒E1a、E1b或E4启动子。在某些实施方式中,所述修饰的基于TATA盒的启动子是腺病毒E1a启动子,例如Ad5 E1a启动子。包含在所述修饰的基于TATA盒的启动子中的修饰可以例如包含整个E1a启动子TATA盒的缺失,例如包含对应于Ad5 E1a启动子的-27至-24位核苷酸的缺失。在某些实施方式中,所述病毒包含对应于Ad5 E1a启动子的-27至-24、-31至-24、-44至+54或-146至+54位的核苷酸的缺失,所述核苷酸分别对应于SEQ ID NO:2的471至474、467至474、454至551和352至551位核苷酸和SEQ ID NO:8的472至475、468至475、455至552和353至552位核苷酸。在某些实施方式中,所述病毒包含对应于Ad5 E1a启动子的-29至-26、-33至-26、-44至+52或-148至+52位的核苷酸的缺失。

[0100] 在某些实施方式中,所述病毒包含对应于Ad5 E1a启动子的约-50至约-10、约-50至约-20、约-50至约-30、约-50至约-40、约-40至约-10、约-40至约-20、约-40至约-30、约-30至约-10、约-30至约-20或约-20至约-10位的核苷酸的缺失。

[0101] 在某些实施方式中,所述病毒包含产生包含序列CTAGGACTG (SEQ ID NO:7)、AGTGCCCC (SEQ ID NO:12)或TATTCCCC (SEQ ID NO:13)的病毒的多核苷酸缺失,其由联结原本在所述被缺失的多核苷酸序列两侧的两个多核苷酸序列产生。在某些实施方式中,所述病毒包含序列CTAGGACTG (SEQ ID NO:7)、AGTGCCCC (SEQ ID NO:12)或TATTCCCC (SEQ ID NO:13),或与CTAGGACTG (SEQ ID NO:7)、AGTGCCCC (SEQ ID NO:12)或TATTCCCC (SEQ ID NO:13)具有80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的序列。

[0102] 在某些实施方式中,所述修饰的基于CAAT盒的启动子是腺病毒E1a、E1b或E4启动子。在某些实施方式中,所述修饰的基于CAAT盒的启动子是腺病毒E1a启动子,例如Ad5 E1a启动子。包含在所述修饰的基于CAAT盒的启动子中的修饰可以例如包含整个E1a启动子CAAT盒的缺失,例如包含对应于5型腺病毒E1a启动子的-76至-68位核苷酸的缺失,所述核苷酸对应于SEQ ID NO:2的422至430位核苷酸和SEQ ID NO:8的423至431位核苷酸。

[0103] 在某些实施方式中,所述病毒包含对应于Ad5 E1a启动子的约-90至约-50、约-90至约-60、约-90至约-70、约-90至约-80、约-80至约-50、约-80至约-60、约-80至约-70、约-70至约-50、约-70至约-60或约-60至约-50位的核苷酸的缺失。

[0104] 在某些实施方式中,所述病毒包含产生包含序列TTCCGTGGCG (SEQ ID NO:14)的病毒的多核苷酸缺失,其由联结原本在所述被缺失的多核苷酸序列两侧的两个多核苷酸序列

产生。在某些实施方式中,所述病毒包含序列TTCCGTGGCG (SEQ ID NO:14) 或与TTCCGTGGCG (SEQ ID NO:14) 具有80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的序列。

[0105] 在某些实施方式中,所述病毒包含对应于Ad5 E1a启动子的约-200至约+50、约-175至约+50、约-150至约+50、约-125至约+50、约-100至约+50、约-75至约+50、约-50至约+50、约-25至约+50、约+1至约+50、约+25至约+50、约-200至约+25、约-175至约+25、约-150至约+25、约-125至约+25、约-100至约+25、约-75至约+25、约-50至约+25、约-25至约+25、约+1至约+25、约-200至约+1、约-175至约+1、约-150至约+1、约-125至约+1、约-100至约+1、约-75至约+1、约-50至约+1、约-25至约+1、约-200至约-25、约-175至约-25、约-150至约-25、约-125至约-25、约-100至约-25、约-75至约-25、约-50至约-25、约-200至约-50、约-175至约-50、约-150至约-50、约-125至约-50、约-100至约-50、约-75至约-50、约-200至约-75、约-175至约-75、约-150至约-75、约-125至约-75、约-100至约-75、约-200至约-100、约-175至约-100、约-150至约-100、约-125至约-100、约-200至约-125、约-175至约-125、约-150至约-125、约-200至约-150、约-175至约-150或约-200至约-175位的核苷酸的缺失。

[0106] 在某些实施方式中,除了修饰的基于TATA盒和/或基于CAAT盒的启动子之外,所述病毒还具有对调控序列或启动子的一个或多个其他修饰。对调控序列或启动子的其他修饰包括与所述调控序列或启动子的野生型序列相比一个或多个核苷酸的缺失、替换或添加。所述其他修饰可以邻近或远离所述修饰的基于TATA盒和/或基于CAAT盒的启动子。

[0107] 在某些实施方式中,所述调控序列或启动子的其他修饰包括转录因子结合位点序列的修饰,以例如通过缺失其一部分或通过在所述结合位点中插入单个点突变来降低对所述转录因子的亲和性。在某些实施方式中,所述其他的修饰的调控序列增强在癌细胞中的表达但减弱在正常细胞中的表达。

[0108] 在某些实施方式中,所述调控序列或启动子的其他修饰包括对E1a调控序列的其他修饰。E1a调控序列含有用于转录因子Pea3的5个结合位点,被称为Pea3 I、Pea3 II、Pea3 III、Pea3 IV和Pea3 V,其中Pea3 I是最靠近E1a起始位点的Pea3结合位点,Pea3 V是最远离的。E1a调控序列也含有用于转录因子E2F的结合位点,因此被称为E2F I和E2F II,其中E2F I是最靠近E1a起始位点的E2F结合位点,E2F II更远离一些。从E1a起始位点起,所述结合位点的排列为:Pea3 I, E2F I, Pea3 II, E2F II, Pea3 III, Pea3 IV和Pea3 V。

[0109] 在某些实施方式中,这七个结合位点中的至少一个或其功能性部分被缺失。“功能性部分”是所述结合位点的在被缺失时将所述结合位点的功能例如对其相应转录因子 (Pea3或E2F) 的结合亲和性与完整序列相比降低例如至少40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%或100%或甚至消除所述功能的部分。在某些实施方式中,一个或多个完整的结合位点被缺失。在某些实施方式中,一个或多个结合位点的功能性部分被缺失。“缺失的结合位点”涵盖了完整结合位点的缺失和功能性部分的缺失两者。当两个或更多个结合位点被缺失时,可以使用完整结合位点缺失和功能性部分缺失的任何组合。

[0110] 在某些实施方式中,至少一个Pea3结合位点或其功能性部分被缺失。所述缺失的Pea3结合位点可以是Pea3 I、Pea3 II、Pea3 III、Pea3 IV和/或Pea3 V。在某些实施方式中,所述缺失的Pea3结合位点是Pea3 II、Pea3 III、Pea3 IV和/或Pea3 V。在某些实施方式中,所述缺失的Pea3结合位点是Pea3 IV和/或Pea3 V。在某些实施方式中,所述缺失的Pea3

结合位点是Pea3 II和/或Pea3 III。在某些实施方式中,所述缺失的Pea3结合位点是Pea3 II和Pea3 III两者。在某些实施方式中,Pea3 I结合位点或其功能性部分被保留。

[0111] 在某些实施方式中,至少一个E2F结合位点或其功能性部分被缺失。在某些实施方式中,至少一个E2F结合位点或其功能性部分被保留。在某些实施方式中,所述保留的E2F结合位点是E2F I和/或E2F II。在某些实施方式中,所述保留的E2F结合位点是E2F II。在某些实施方式中,全部缺失基本上由Pea3 II、Pea3 III、Pea3 IV和/或Pea3 V或其功能性部分中的一者或者者构成。在某些实施方式中,所述病毒具有位于E1a起始位点上游-305至-255位的50个碱基对区域的缺失,其在后文中被称为TAV-255缺失。在某些实施方式中,所述病毒具有位于E1a起始位点上游-304至-255位、例如对应于Ad5基因组 (SEQ ID NO:8) 的195-244位的50个碱基对区域的缺失,其在后文中被称为TAV-255缺失。在某些实施方式中,所述TAV-255缺失产生包含序列GGTGTGG (SEQ ID NO:11) 的E1a启动子。

[0112] 公开的重组病毒可以包含编码治疗性转基因的核苷酸序列。所述治疗性转基因可以编码治疗性核酸例如反义RNA或核酶RNA。所述治疗性转基因可以编码治疗性肽或多肽,例如凋亡剂、抗体、CTL应答肽、细胞因子、细胞裂解剂、细胞毒性剂、酶、在肿瘤细胞表面表达以引发免疫应答的异源抗原、免疫刺激或免疫调节剂、干扰素、裂解肽、癌蛋白、催化导致细胞死亡的过程的多肽、补充体细胞中的遗传缺陷的多肽、肿瘤抑制蛋白、疫苗抗原或其任何组合。

[0113] 在某些实施方式中,所述治疗性转基因编码治疗性多肽,所述治疗性多肽选自乙酰胆碱、抗PD-1抗体重链或轻链、抗PD-L1抗体重链或轻链、BORIS/CTCFL、CD19、CD20、CD80、CD86、CD137L、CD154、DKK1/Wnt、ICAM-1、IL-1、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、IL-8、IL-9、IL-17、IL-23、IL-23A/p19、干扰素- γ 、TGF- β 、TGF- β 阱、FGF、IL-24、IL-27、IL-35、MAGE、NY-ESO-1、p53和胸苷激酶。在某些实施方式中,所述治疗性转基因是TGF- β 阱。适合用于本发明的TGF- β 阱蛋白描述在2017年9月27日提交的美国专利申请号15/717,199中。

[0114] 腺病毒E1b-19k基因主要起到抗凋亡基因的作用,并且是细胞抗凋亡基因BCL-2的同源物。由于在子代病毒粒子成熟之前的宿主细胞死亡将限制病毒复制,因此E1b-19k作为E1盒式元件的一部分表达以防止过早的细胞死亡,由此允许感染继续并产生成熟病毒粒子。因此,在某些实施方式中,提供了包含E1b-19K插入位点的重组病毒,例如所述腺病毒具有插入到E1b-19K插入位点中的编码治疗性转基因的核苷酸序列。

[0115] 在某些实施方式中,所述E1b-19K插入位点位于E1b-19K的起始位点(即编码E1b-19k的起始密码子的核苷酸序列,例如对应于SEQ ID NO:8的1714-1716位核苷酸)与E1b-55K的起始位点(即编码E1b-55k的起始密码子的核苷酸序列,例如对应于SEQ ID NO:8的2019-2021位核苷酸)之间。在整个本描述和权利要求书中,两个位点之间的插入,例如(i)第一基因(例如E1b-19k)的起始位点与第二基因(例如E1b-55K)的起始位点、(ii)第一基因的起始位点与第二基因的终止位点、(iii)第一基因的终止位点与第二基因的起始位点或(iv)第一基因的终止位点与第二基因的终止位点之间的插入,被理解为意味着在所述插入周围的构成给定起始位点或终止位点的全部或一部分核苷酸,可能存在或不存在于最终病毒中。同样地,两个核苷酸之间的插入被理解为意味着所述插入周围的核苷酸可能存在或不存在于最终病毒中。

[0116] 在某些实施方式中,所述E1b-19K插入位点位于E1b-19K的起始位点(即编码E1b-

19k的起始密码子的核苷酸序列,例如对应于SEQ ID NO:8的1714-1716位核苷酸)与E1b-19K的终止位点(即编码E1b-19k的终止密码子的核苷酸序列,例如对应于SEQ ID NO:8的2242-2244位核苷酸)之间。在某些实施方式中,所述E1b-19K插入位点包含邻近所述E1b-19K的起始位点的约100至约305、约100至约300、约100至约250、约100至约200、约100至约150、约150至约305、约150至约300、约150至约250或约150至约200个核苷酸的缺失。在某些实施方式中,所述E1b-19K插入位点包含邻近所述E1b-19K的起始位点的约200个核苷酸例如203个核苷酸的缺失。在某些实施方式中,所述E1b-19K插入位点包含对应于Ad5基因组(SEQ ID NO:8)的1714-1916位核苷酸的缺失,或者编码所述治疗性转基因的核苷酸序列被插入到对应于Ad5基因组(SEQ ID NO:8)的1714和1916位的核苷酸之间。在某些实施方式中,编码所述治疗性转基因的核苷酸序列被插入到CTGACCTC (SEQ ID NO:9)与TCACCAGG (SEQ ID NO:10)之间,例如所述重组腺病毒以5'至3'方向包含CTGACCTC (SEQ ID NO:9)、编码所述治疗性转基因的核苷酸序列和TCACCAGG (SEQ ID NO:10)。CTGACCTC (SEQ ID NO:9)和TCACCAGG (SEQ ID NO:10)为Ad5基因组(SEQ ID NO:8)内的E1b-19K插入位点定义了独特的边界序列。在整个本描述和权利要求书中,邻近位点的缺失,例如邻近基因的起始位点的缺失或邻近基因的终止位点的缺失,被理解为意味着所述缺失可以包括构成给定起始位点或终止位点的全部或一部分核苷酸的缺失或不包括所述核苷酸的缺失。

[0117] 在某些实施方式中,在任何前述病毒中,所述重组腺病毒还包含E4缺失。在某些实施方式中,所述E4缺失位于E4-ORF6/7的起始位点(即编码E4-ORF6/7的起始密码子的核苷酸序列,例如对应于SEQ ID NO:23的34075-34077位核苷酸)与右侧末端反向重复序列(ITS;例如对应于SEQ ID NO:23的35836-35938位核苷酸)之间。在某些实施方式中,所述E4缺失位于E4-ORF6/7的起始位点与E4-ORF1的起始位点(即编码E4-ORF1的起始密码子的核苷酸序列,例如对应于SEQ ID NO:23的35524-35526位核苷酸)之间。在某些实施方式中,所述E4缺失包含E4-ORF6/7的起始位点与E4-ORF1的起始位点之间的核苷酸序列的缺失。在某些实施方式中,所述E4缺失包含约500至约2500、约500至约2000、约500至约1500、约500至约1000、约1000至约2500、约1000至约2000、约1000至约1500、约1500至约2500、约1500至约2000或约2000至约2500个核苷酸的缺失。在某些实施方式中,所述E4缺失包含邻近E4-ORF6/7的起始位点的约250至约1500、约250至约1250、约250至约1000、约250至约750、约250至约500、500至约1500、约500至约1250、约500至约1000、约500至约750、750至约1500、约750至约1250、约750至约1000、约1000至约1500或约1000至约1250个核苷酸的缺失。在某些实施方式中,所述E4缺失包含邻近E4-ORF6/7的起始位点的约1450个核苷酸的缺失,例如所述E4缺失包含邻近E4-ORF6/7的起始位点的约1449个核苷酸的缺失。在某些实施方式中,所述E4缺失包含对应于Ad5基因组(SEQ ID NO:23)的34078-35526位核苷酸的缺失。

[0118] II. 病毒的生产方法

[0119] 用于生产本发明的重组病毒的方法在本领域中是已知的。通常,本公开的病毒在适合的宿主细胞系中,使用常规的技术来生产,所述技术包括将转染或感染的宿主细胞在适合条件下培养,以便允许生产感染性病毒粒子。可以将编码病毒基因的核酸并入到质粒中,并通过常规的转染或转化技术引入到宿主细胞中。适合于生产本公开的病毒的示例性宿主细胞包括人类细胞系例如HeLa、HeLa-S3、HEK293、911、A549、HER96或PER-C6细胞。具体的生产和纯化条件随着病毒和使用的生产系统而变。对于腺病毒来说,用于病毒粒子的产

生的传统方法是穿梭质粒(通常含有少部分腺病毒的基因组并任选地含有可能的转基因表达盒)和腺病毒辅助质粒(含有完整腺病毒基因组的大部分)的共转染和随后的体内重组。

[0120] 用于产生腺病毒的另一种技术包括使用细菌人工染色体(BAC)系统,利用含有互补腺病毒序列的两个质粒在recA⁺细菌菌株中的体内细菌重组,以及酵母人工染色体(YAC)系统。

[0121] 在生产后,将感染性病毒粒子从培养物回收并任选地纯化。典型的纯化步骤可以包括噬斑纯化、离心例如氯化铯梯度离心、澄清、酶处理例如全能核酸酶(benzonase)或蛋白酶处理、层析步骤例如离子交换层析或过滤步骤。

[0122] III.治疗性组合物和治疗方法

[0123] 为了治疗性使用,优选地将重组病毒与可药用载体合并。当在本文中使用时,“可药用载体”意味着适合与人类和动物的组织相接触使用而没有过度毒性、刺激性、过敏反应或其他问题或并发症,与合理的利益/风险比相称的缓冲剂、载体和赋形剂。所述载体应该在与配方的其他成分相容并对接受者无害的意义上是“可接受的”。可药用载体包括与药物施用相容的缓冲剂、溶剂、分散介质、包衣、等渗和吸收延迟剂等。这些介质和药剂用于药物活性物质的使用在本领域中是已知的。

[0124] 含有本文公开的重组病毒的药物组合物可以以剂量单位形式存在,并且可以通过任何适合的方法制备。药物组合物应该被配制成与其目标施用途径相容。施用途径的实例是静脉内(IV)、真皮内、吸入、透皮、局部、透黏膜和直肠施用。用于融合蛋白的优选的施用途径是IV输注。有用的配方可以通过制药技术领域中已知的方法来制备。例如参见《Remington制药学》(Remington's Pharmaceutical Sciences)第18版(Mack Publishing Company, 1990)。适合于肠胃外施用的配方组分包括无菌稀释剂例如注射用水、盐水溶液、非挥发油、聚乙二醇、甘油、丙二醇或其他合成溶剂,抗细菌剂例如苯甲醇或对羟基苯甲酸甲酯,抗氧化剂例如抗坏血酸或亚硫酸氢钠,螯合剂例如EDTA,缓冲剂例如乙酸盐、柠檬酸盐或磷酸盐,以及用于调节渗透浓度的药剂例如氯化钠或右旋糖。

[0125] 对于静脉内施用来说,适合的载体包括生理盐水、抑菌水、Cremophor ELTM(BASF, Parsippany, NJ)或磷酸盐缓冲盐水(PBS)。所述载体在制造和储存条件下应该是稳定的,并且应该对微生物进行防腐。所述载体可以是含有例如水、乙醇、多元醇(例如甘油、丙二醇和液体聚乙二醇)及其适合的混合物的溶剂或分散介质。

[0126] 药物配方优选为无菌的。除菌可以通过任何适合的方法例如通过除菌滤膜过滤来实现。当所述组合物被冷冻干燥时,过滤除菌可以在冷冻干燥和重构之前或之后进行。

[0127] 当在本文中使用时,术语“有效量”是指足以实现有益或所需结果的活性组分的量(例如本发明的重组病毒的量)。有效量可以在一次或多次施用、施用或剂量中施用,并且不打算限于特定配方或施用途径。

[0128] 在某些实施方式中,活性组分的治疗有效量在0.1mg/kg至100mg/kg例如1mg/kg至100mg/kg、1mg/kg至10mg/kg的范围内。在某些实施方式中,重组病毒的治疗有效量在10²至10¹⁵噬斑形成单位(pfu)例如10²至10¹⁰、10²至10⁵、10⁵至10¹⁵、10⁵至10¹⁰或10¹⁰至10¹⁵噬斑形成单位的范围内。施用的量取决于多种变量,例如待治疗的疾病或指征的类型和程度、患者的总体健康、抗体的体内效能、药物配方和施用途径。初始剂量可以提高到超过上限,以便快速获得所需的血液水平或组织水平。或者,初始剂量可以低于最适剂量,并且可以在治疗过

程中逐渐提高每日剂量。人类剂量可以例如在被设计从0.5mg/kg运行到20mg/kg的常规I期升剂量研究中进行优化。施用频率可以随着多种因素而变,例如施用途径、剂量、病毒的血清半衰期和待治疗的疾病。示例性的施用频率是每天一次、每周一次和每两周一次。优选的施用途径是肠胃外,例如静脉内输注。基于病毒的药物的配制在本领域的普通技术范围之内。在某些实施方式中,重组病毒被冷冻干燥,然后在施用时在缓冲盐水中重构。

[0129] 本文公开的重组病毒可用于治疗各种不同的医学指征。例如,本文公开的重组病毒可用于治疗各种不同的过度增殖性疾病例如癌症。将过度增殖性细胞例如癌细胞暴露于治疗有效量的所述重组病毒,以便抑制或减少所述癌细胞的增殖。本发明提供了一种在受试者中治疗癌症的方法。所述方法包括向所述受试者单独地或与另一种治疗剂联合施用有效量的本发明的重组病毒,以在所述受试者中治疗所述癌症。在某些实施方式中,向受试者施用有效量的重组病毒,将该受试者中的肿瘤负荷降低至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%或至少90%。

[0130] 当在本文中使用时,“治疗”意味着受试者中例如人类中疾病的治疗。这包括:(a)抑制所述疾病,即停止其发展;和(b)缓解所述疾病,即引起疾病状态的消退。当在本文中使用时,术语“受试者”和“患者”是指通过本文描述的方法和组合物治疗的生物体。这些生物体优选地包括但不限于哺乳动物(例如鼠科动物、猴科动物、马科动物、牛科动物、猪科动物、犬科动物、猫科动物等),更优选地包括人类。

[0131] 癌症的实例包括实体肿瘤、软组织肿瘤、造血系肿瘤和转移病灶。造血系肿瘤的实例包括白血病、急性白血病、急生性淋巴细胞性白血病(ALL)、B-细胞、T-细胞或FAB ALL、急生性髓性白血病(AML)、慢性髓细胞性白血病(CML)、慢性淋巴细胞性白血病(CLL)例如转化的CLL、弥漫性大B-细胞淋巴瘤(DLBCL)、滤泡性淋巴瘤、毛细胞白血病、骨髓增生异常综合征(MDS)、淋巴瘤、霍奇金病、恶性淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤、伯基特淋巴瘤、多发性骨髓瘤或Richter's综合征(Richter's转化)。实体肿瘤的实例包括各种不同器官系统的恶性肿瘤例如肉瘤、腺癌和癌,例如影响头颈部(包括咽)、甲状腺、肺(小细胞或非小细胞肺癌(NSCLC))、乳腺、淋巴系、胃肠道(例如口腔、食道、胃、肝、胰腺、小肠、结肠和直肠、肛管)、生殖器和生殖泌尿道(例如肾、尿道上皮、膀胱、卵巢、子宫、宫颈、子宫内膜、前列腺、睾丸)、CNS(例如神经或神经胶质细胞例如成神经细胞瘤或神经胶质瘤)或皮肤(例如黑素瘤)的恶性肿瘤。

[0132] 在某些实施方式中,所述癌症选自肛门癌、基底细胞癌、膀胱癌、骨癌、脑癌、乳腺癌、上皮癌、胆管癌、宫颈癌、结肠癌、结肠直肠癌、子宫内膜癌、胃食管癌、胃肠(GI)癌、胃肠道间质瘤、肝细胞癌、妇科癌症、头颈癌、血液癌症、肾癌、白血病、肝癌、肺癌、淋巴瘤、黑素瘤、梅克尔细胞癌、间皮瘤、神经内分泌癌症、非小细胞肺癌、卵巢癌、胰腺癌、儿科癌症、前列腺癌、肾细胞癌、肉瘤、皮肤癌、小细胞肺癌、皮肤的鳞状细胞癌、胃癌、睾丸癌和甲状腺癌。

[0133] 其他示例性过度增殖性疾病包括血管增殖性障碍(例如再狭窄、视网膜病和动脉粥样硬化)、纤维化障碍(例如硬化症例如肝硬化(其可以是病毒感染例如肝炎继发的))、肾小球膜障碍(例如人类肾病如肾小球肾炎、糖尿病性肾病、恶性肾硬化、血栓性微血管病综合征、移植排斥和肾小球病)、癌前障碍(例如增生或发育不良)、自体免疫障碍、类风湿性关节炎、银屑病、狼疮、特发性肺纤维化、硬皮病肺动脉高压、哮喘、肾纤维化、COPD、囊性纤维

化、DIP、UIP、黄斑变性、过度增殖性成纤维细胞障碍和硬皮病。

[0134] 在某些实施方式中,将重组病毒与一种或多种疗法例如手术、放射、化疗、免疫疗法、激素疗法或病毒疗法联合施用到所述受试者。

[0135] 在某些实施方式中,本发明的重组病毒与酪氨酸激酶抑制剂例如埃罗替尼联合施用。

[0136] 在某些实施方式中,本发明的重组病毒与检验点抑制剂例如抗CTLA-4抗体、抗PD-1抗体或抗PD-L1抗体联合施用。示例性的抗PD-1抗体包括例如纳武单抗 (**Opdivo®**, Bristol-Myers Squibb Co.)、派姆单抗 (**Keytruda®**, Merck Sharp&Dohme Corp.)、PDR001 (Novartis Pharmaceuticals) 和 pidilizumab (CT-011, Cure Tech)。示例性的抗PD-L1抗体包括例如阿特珠单抗 (**Tecentriq®**, Genentech)、duvalumab (AstraZeneca)、MEDI4736、avelumab 和 BMS 936559 (Bristol Myers Squibb Co.)。

[0137] 当在本文中使用时,术语“联合”施用被理解为意味着在受试者患有所述障碍的过程中将两种(或更多种)不同治疗递送到所述受试者,使得所述治疗对所述患者的效果在时间点上交叠。在某些实施方式中,在一种治疗的递送仍在进行时开始第二种治疗的递送,使得在施用方面存在交叠。这有时在本文中被称为“同时”或“共同递送”。在其他实施方式中,一种治疗的递送在另一种治疗的递送开始之前结束。在任一种情况的某些实施方式中,由于组合施用,所述治疗更加有效。例如,所述第二种治疗更加有效,例如使用更少的第二种治疗时观察到等同的效果,或与在不存在所述第一种治疗的情况下施用所述第二种治疗时观察到的相比,所述第二种治疗更大程度地减轻症状,或者对于所述第一种治疗来说观察到类似的情形。在某些实施方式中,递送使得症状或与所述障碍相关的其他参数的减轻,大于在递送一种治疗而不存在另一种治疗的情况下观察到的减轻。所述两种治疗的效果可以是部分累加、完全累加或大于累加的。所述递送可以使得在递送第二种治疗时,递送的第一种治疗的效果仍然可检测。

[0138] 在某些实施方式中,所述重组病毒的有效量通过在所述受试者中测量对抗原的免疫应答来鉴定,和/或治疗所述受试者的方法还包括在所述受试者中测量对抗原的免疫应答。过度增殖性疾病例如癌症可以通过免疫抑制来表征,并且在所述受试者中测量对抗原的免疫应答可以指示所述受试者中免疫抑制的水平。因此,在所述受试者中测量对抗原的免疫应答可以指示所述治疗的效能和/或所述重组病毒的有效量。所述受试者中对所述抗原的免疫应答可以通过本领域中已知的任何方法来测量。在某些实施方式中,对所述抗原的免疫应答通过在所述受试者皮肤上的注射部位处用所述抗原注射所述受试者,并在所述注射部位处测量硬结的大小或炎症的量来测量。在某些实施方式中,对所述抗原的免疫应答通过在暴露于所述抗原后从所述受试者的细胞释放的细胞因子(例如干扰素- γ 、IL-4 和/或 IL-5)来测量。

[0139] 在整个本描述中,当病毒、组合物或系统被描述为具有、包括或包含特定组分时,或者当过程和方法被描述为具有、包括或包含特定步骤时,设想了另外还存在基本上由所叙述的组分构成或由所叙述的组分构成的本发明的组合物、装置和系统,并且存在基本上由所叙述的过程步骤构成或由所叙述的过程步骤构成的符合本发明的过程和方法。

[0140] 在本申请中,当要素或组分被称为包含在叙述的要素或组分的名单中和/或选自所述名单时,应该理解所述要素或组分可以是所叙述的要素或组分中的任一者,或者所述

要素或组分可以选自两种或更多种所述叙述的要素或组分。

[0141] 此外,应该理解,本文描述的病毒、组合物、系统、方法或过程的要素和/或特点可以以本文中明示或暗示的各种不同的方式组合,而不背离本发明的精神和范围。例如,当对特定化合物做出指称时,该化合物可用于本发明的组合物的各种不同实施方式中和/或本发明的方法中,除非从上下文理解不是如此。换句话说,在本申请中,实施方式以能够写出或画出清晰简明的申请的方式进行描述和描绘,但是意图是并且应该认识到的是,实施方式可以进行各种不同的组合或分离,而不背离本发明的教授。例如,应该认识到,本文中描述和描绘的所有特点可以适用于本文中描述和描绘的本发明的所有方面。

[0142] 应该理解,表述“至少一个”包括在所述表述之后的单独的每个所叙述的物体以及两个或更多个所述叙述的物体的各种不同组合,除非从上下文和用法理解不是如此。与三个或更多个叙述的物体相结合的表述“和/或”应该被理解为具有相同的意义,除非从上下文理解不是如此。

[0143] 术语“包括”、“具有”或“含有”包括其语法等同语的使用,通常应该被理解为开放性和非限制性的,例如不排除其他未叙述的要素或步骤,除非上下文另有具体陈述或从上下文理解不是如此。

[0144] 在本说明书中的各个不同地方,病毒、组合物、系统、过程和方法或其特点成组或以范围公开。具体来说,所述描述包括这些组合和范围的成员的每一个单独的子组合。作为另一个实例,1至20范围内的整数打算单个地公开1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19和20。

[0145] 当在定量值之前使用术语“约”时,本发明还包括所述特定定量值本身,除非另有具体陈述。当在本文中使用时,术语“约”是指从所述标称值变动±10%,除非另有指明或推断。

[0146] 应该理解,步骤的顺序或用于执行某些行动的顺序并不重要,只要本发明仍然可操作即可。此外,两个或更多个步骤或行动可以同时进行。

[0147] 本文中任何和所有的实例或示例性语言如“例如”或“包括”的使用,仅仅是打算更好地说明本发明,并且除非要求,否则不对本发明的范围做出限制。本说明书中的所有语言都不应该被解释为指示任何未提出权利要求的要素对于本发明的实践来说是必不可少的。

实施例

[0148] 下面的实施例仅仅是说明性的,并且不打算以任何方式限制本发明的范围或内容。

[0149] 实施例1:质粒和腺病毒构建

[0150] 本实施例描述了在包括TATA和/或CAAT盒的E1a启动子区中具有缺失的重组5型(Ad5)腺病毒的生产。

[0151] 带有Ad5基因组的5'部分的腺病毒载体质粒pXC1从Microbix Biosystem(Toronto, Canada)获得。pXC1载体质粒的核苷酸序列在本文中描绘在SEQ ID NO:2中。Ad5基因组的NCBI参考序列AC_000008.1在本文中描绘在SEQ ID NO:8中。图1F描绘了野生型Ad5的5'末端直至E1a基因的起始密码子之前的核苷酸序列,说明了CAAT盒和TATA盒的位置。

[0152] 产生了修饰的pXC1载体质粒,其具有对应于SEQ ID NO:2的352-551位核苷酸(对应于SEQ ID NO:8的353-552位核苷酸)的200个核苷酸的缺失,包括E1a启动子中的CAAT盒和TATA盒。所述突变的载体质粒在后文中被称为pXC1-Δ 350,并且从其产生的任何得到的病毒粒子在后文中被称为Ad-Δ 350。pXC1-Δ 350的5'末端直至E1a基因的起始密码子之前的核苷酸序列被示出在SEQ ID NO:20中。pXC1-Δ 350的全长核苷酸序列示出在SEQ ID NO:4中。Ad-Δ 350的5'末端直至E1a基因的起始密码子之前的核苷酸序列示出在图1A和SEQ ID NO:3中。所述pXC1载体质粒(和任何修饰的pXC1载体质粒)的5'末端处的21个核苷酸不同于野生型腺病毒序列,然而,这些核苷酸在产生重组腺病毒的过程中被转变成所述野生型腺病毒序列。

[0153] 在指明时,pXC1-Δ 350被进一步修饰,以在E1b-19k区的起始位点处带有SalI位点并在所述SalI位点的3'方向200个碱基对处带有XhoI位点,以便于治疗性转基因的插入。所述修饰的E1b-19k区的核苷酸序列提供在SEQ ID NO:5中。得到的载体质粒在后文中被称为pXC1-Δ 350-Δ 19k,并且从其产生的任何得到的病毒粒子在后文中被称为Ad-Δ 350-Δ 19k。

[0154] 在指明时,将鼠类GM-CSF的基因克隆到pXC1-Δ 350-Δ 19k中,在SalI与XhoI位点之间的修饰的E1b-19k区中。小鼠GM-CSF的氨基酸序列提供在SEQ ID NO:6中。得到的载体质粒在后文中被称为pXC1-Δ 350-mGM-CSF,并且从其产生的任何得到的病毒粒子在后文中被称为Ad-Δ 350-mGM-CSF。

[0155] 产生了另一个修饰的pXC1载体质粒,其具有对应于SEQ ID NO:2的467-474位核苷酸(对应于SEQ ID NO:8的468-475位核苷酸)的8个核苷酸的缺失,包括E1a启动子中的TATA盒。所述突变的载体质粒在后文中被称为pXC1-TATA,并且从其产生的任何得到的病毒粒子在后文中被称为Ad-TATA。pXC1-TATA的5'末端直至E1a基因的起始密码子之前的核苷酸序列示出在SEQ ID NO:21中。Ad-TATA的5'末端直至E1a基因的起始密码子之前的核苷酸序列示出在图1B和SEQ ID NO:15中。

[0156] 产生了另一个修饰的pXC1载体质粒,其具有对应于SEQ ID NO:2的422-430位核苷酸(对应于SEQ ID NO:8的423-431位核苷酸)的9个核苷酸的缺失,包括E1a启动子中的CAAT盒。所述突变的载体质粒在后文中被称为pXC1-CAAT,并且从其产生的任何得到的病毒粒子在后文中被称为Ad-CAAT。pXC1-CAAT的5'末端直至E1a基因的起始密码子之前的核苷酸序列示出在SEQ ID NO:22中。Ad-CAAT的5'末端直至E1a基因的起始密码子之前的核苷酸序列示出在图1C和SEQ ID NO:16中。

[0157] 产生了另一个修饰的pXC1载体质粒,其具有对应于SEQ ID NO:2的422-430位核苷酸(对应于SEQ ID NO:8的423-431位核苷酸)的9个核苷酸的缺失,包括E1a启动子中的CAAT盒,以及对应于SEQ ID NO:2的467-474位核苷酸(对应于SEQ ID NO:8的468-475位核苷酸)的8个核苷酸的缺失,包括E1a启动子中的TATA盒。所述突变的载体质粒在后文中被称为pXC1-CAAT-TATA,并且从其产生的任何得到的病毒粒子在后文中被称为Ad-CAAT-TATA。pXC1-CAAT-TATA的5'末端直至E1a基因的起始密码子之前的核苷酸序列示出在SEQ ID NO:23中。Ad-CAAT-TATA的5'末端直至E1a基因的起始密码子之前的核苷酸序列示出在图1D和SEQ ID NO:17中。

[0158] 产生了另一个修饰的pXC1载体质粒,其具有对应于SEQ ID NO:2的422-430位核苷

酸(对应于SEQ ID NO:8的423-431位核苷酸)的9个核苷酸的缺失,包括E1a启动子中的CAAT盒,以及对应于SEQ ID NO:2的471-474位核苷酸(对应于SEQ ID NO:8的472-475位核苷酸)的4个核苷酸的缺失,包括E1a启动子中的TATA盒的4个核苷酸的TATA序列(在后文中被称为最小TATA或mTATA缺失)。所述突变的载体质粒在后文中被称为pXC1-CAAT-mTATA,并且从其产生的任何得到的病毒粒子在后文中被称为Ad-CAAT-mTATA。pXC1-CAAT-mTATA的5'末端直至E1a基因的起始密码子之前的核苷酸序列示出在SEQ ID NO:25中。Ad-CAAT-TATA的5'末端直至E1a基因的起始密码子之前的核苷酸序列示出在图1E和SEQ ID NO:26中。

[0159] 产生了另一个修饰的pXC1载体质粒,其具有对应于SEQ ID NO:2的194-243位核苷酸(对应于SEQ ID NO:8的195-244位核苷酸和E1a起始位点上游的-304至-255位核苷酸)的50个核苷酸的缺失,其使E1a具有癌症选择性表达(正如以前在美国专利号9,073,980中描述的)。所述突变的载体质粒在后文中被称为pXC1-TAV-255,并且从其产生的任何得到的病毒粒子在后文中被称为Ad-TAV-255。在指明时,pXC1-TAV-255被进一步修饰以在E1b-19k区的起始位点处带有SalI位点并在所述SalI位点的3'方向200个碱基对处带有XhoI位点,以如上所述便于治疗性转基因的插入。得到的载体质粒在后文中被称为pXC1-TAV-Δ 19k,并且从其产生的任何得到的病毒粒子在后文中被称为Ad-TAV-Δ 19k。

[0160] 将各个修饰的pXC1质粒与质粒pJM17共转染到HEK-293A细胞中,以允许通过同源重组来挽救重组病毒。收集病毒并经历两轮噬斑纯化,并在必要时测序以测试相应的缺失的存在。

[0161] 实施例2:在正常和癌性细胞中来自于Ad-Δ 350的E1a表达

[0162] 本实施例描述了在癌性和正常细胞中来自于修饰的腺病毒Ad-Δ 350的病毒蛋白表达之间的比较。

[0163] 将Panc1细胞(人类胰腺癌细胞)和WI-38细胞(非癌性人类肺成纤维细胞)用如实施例1中所述制备的Ad-Δ 350或Ad-TAV-255病毒感染。在感染后指示的小时通过Western印迹测定E1a表达。

[0164] 如图2A和2B中所示,在用Ad-Δ 350病毒感染后,WI-38细胞以比Panc1细胞更低的水平并在更晚的时间点表达腺病毒蛋白E1a。

[0165] 将Panc1细胞和A549细胞(人类肺癌细胞)用Ad-TAV-255或Ad-Δ 350以3或5的感染复数(MOI)感染,并在感染后72小时通过Western印迹测定E1a表达。如图3A(Panc1细胞)和图3B(A549细胞)中所示,两种癌细胞系都支持从Ad-Δ 350或Ad-TAV-255病毒的高水平E1a表达。

[0166] 合在一起,这些结果显示Ad5中包括E1a TATA盒的200个核苷酸的区域为非癌性细胞中的E1a表达所需,尽管该区域对于肿瘤细胞中的E1a表达来说是可有可无的。

[0167] 实施例3:在正常和癌性细胞中来自于Ad-Δ 350、Ad-CAAT、Ad-TATA、Ad-CAAT-TATA和Ad-CAAT-mTATA的细胞毒性

[0168] 本实施例描述了在癌性和正常细胞中从修饰的腺病毒Ad-Δ 350、Ad-CAAT、Ad-TATA、Ad-CAAT-TATA和Ad-CAAT-mTATA产生的细胞毒性之间的比较。

[0169] 将HCT116细胞(人类结肠癌细胞)、Panc1细胞和A549细胞用如实施例1中所述制备的Ad-Δ 350感染。细胞以指示的MOI感染或未保持作为感染的对照,并在感染后指示的时间用结晶紫染色,其将活细胞染为蓝色。如图4A中所示,每种癌性细胞系在感染后4至5天显示

出大范围的细胞死亡。

[0170] 将一组癌性细胞系用如实施例1中所述制备的Ad-CAAT、Ad-TATA、Ad-CAAT-TATA或Ad-CAAT-mTATA感染。所述一组细胞系包括A549、Panc1、HCT116、Hep3b、ADS-12m ASPC 1、HT-29和MeWo细胞。将细胞以5的MOI感染，并在感染后3-4用结晶紫染色。作为对照，将所述细胞系在不感染或用以前描述的溶瘤病毒Ad-TAV-Δ19k感染的情况下培养。结果示出在图5-11中。所有人类癌性细胞系在感染后，特别是到感染后5天为止显示出大范围的细胞死亡，而小鼠细胞系ADS-12在用每种病毒感染后显示出可变的细胞死亡。

[0171] 将非癌性MRC5细胞（人类肺成纤维细胞）和WI38细胞用如实施例1中所述制备的Ad-Δ350或Ad-TAV感染。将细胞以指示的MOI感染并在感染后10天用结晶紫染色。如图4B中所示，与在感染后4-5天被杀死的癌性细胞相反，所述非癌性细胞在晚到感染后10天仍然存活。

[0172] 将非癌性WI38细胞用如实施例1中所述制备的Ad-CAAT、Ad-TATA、Ad-CAAT-TATA、Ad-Δ350和Ad-TAV-Δ19k以3和5的MOI感染，并在感染后4天（图12）或6天（图13）用结晶紫染色。结果证实对于每种病毒来说在感染后存在极小的细胞毒性。

[0173] 合在一起，这些结果显示Ad5中包含E1a TATA盒的200个核苷酸的区域为非癌性细胞中Ad5介导的细胞毒性所需，尽管该区域对于肿瘤细胞中Ad5介导的细胞毒性来说是可有可无的。同样地，在E1a启动子中具有单独的TATA盒、单独的CAAT盒或TATA和CAAT盒两者的缺失的Ad5病毒，显示出癌症选择性细胞毒性。

[0174] 实施例4：在正常和癌性细胞中来自于Ad-Δ350的治疗性转基因表达

[0175] 进一步调查了带有Δ350缺失的腺病毒用治疗性转基因代替病毒的E1b-19k基因进行武装的潜力。如实施例1中所述产生下述病毒：病毒Ad-Δ350-Δ19k，其带有Δ350缺失并缺失了19k区域并且随后未插入任何转基因；病毒Ad-Δ350-mGM-CSF，其带有Δ350缺失并携带克隆到E1b-19k区域中SalI与XhoI之间的小鼠GM-CSF的基因；以及病毒Ad-TAV-Δ19k，其带有TAV-255缺失和缺失了19k区域并且随后未插入任何转基因。

[0176] 将癌性Panc1细胞、A549细胞和ADS12细胞（小鼠肺癌）用Ad-Δ350-Δ19k以指示的MOI感染并在感染后5天用结晶紫染色。如图14中所示，所述癌性细胞系以剂量依赖性方式被杀死。

[0177] 将癌性Panc1细胞、A549细胞和ADS12细胞用Ad-Δ350-mGM-CSF以指示的MOI感染并在感染后5天用结晶紫染色。如图15中所示，带有小鼠GM-CSF基因的病毒保留了溶瘤活性。

[0178] 将A549、HCT116、Hep3b和MeWo细胞用Ad-Δ350-mGM-CSF、Ad-Δ350-Δ19k和Ad-TAV-Δ19k以5的MOI感染，并在感染后3至5天用结晶紫染色。如图16-21中所示，Ad-Δ350-mGM-CSF维持与Ad-Δ350-Δ19k和Ad-TAV-Δ19k可比的细胞裂解活性。

[0179] 将A549细胞用Ad-Δ350-Δ19k或Ad-Δ350-mGM-CSF病毒以10MOI感染。将感染后4天的调制培养基用于mGM-CSF的ELISA。如图22中所示，Ad-Δ350-mGM-CSF诱导mGM-CSF的表达。

[0180] 将ADS12细胞用Ad-Δ350-Δ19k或Ad-Δ350-mGM-CSF以指示的MOI感染，并将感染后4天的调制培养基用于mGM-CSF的ELISA。如图23中所示，Ad-Δ350-mGM-CSF在该小鼠癌细胞系中诱导mGM-CSF的表达。

[0181] 合在一起,这些结果显示Ad5中包含E1a TATA盒和CAAT盒的200个核苷酸的区域为非癌性细胞中来自于E1b-19k表达位点的治疗性转基因表达所需,尽管该区域对于肿瘤细胞中来自于E1b-19k表达位点的治疗性转基因表达来说是可有可无的。

[0182] 实施例5:Ad- Δ 350的抗癌活性

[0183] 本实施例描述了如实施例1中所述生产的具有TATA盒和/或CAAT盒缺失的重组腺病毒的抗癌活性。

[0184] 将小鼠(129S4株)用ADS-12细胞(小鼠肺癌)皮下注射并允许形成肿瘤。在肿瘤达到大约50-100mm³的体积后,将所述小鼠随机分组,用Ad- Δ 350- Δ 19k、Ad-TAV- Δ 19k(作为有效的溶瘤病毒的阳性对照)或缓冲液(作为阳性对照)治疗。小鼠每4天通过所指示的治疗的肿瘤内注射进行施用,共三剂。如图24中所示,用缓冲液治疗的小鼠具有快速的肿瘤生长,而用Ad- Δ 350- Δ 19k或Ad-TAV- Δ 19k治疗的小鼠的肿瘤大小减小,并且在许多病例中没有可检测的剩余肿瘤。

[0185] 这个结果表明,带有移除了病毒E1a基因的启动子的CAAT盒和TATA盒两者的缺失的Ad- Δ 350- Δ 19k,是有效的癌症治疗。

[0186] 实施例6:Ad35中的TATA盒缺失

[0187] 本实施例描述了在E1a启动子区中具有包括TATA盒的缺失的重组35型(Ad35)腺病毒的生产。

[0188] 35型腺病毒(Ad35)的E1a启动子在对应于SEQ ID NO:24的477至484位核苷酸的核苷酸处含有TATA盒。产生了具有TATA盒缺失的重组Ad35腺病毒,所述缺失通过将天然序列

[0189] TTTTACGTAGGTGTCAGCTGATCGCTAGGGTATTTATACCAGGGTTGTGTCAAGAGGCCACTCTT
(SEQ ID NO:18; TATA盒被下划线)

[0190] 转变成下述序列来产生:

[0191] TTTTACGTAGGTGTCAGCTGATCGCTAGGGCCTCAGGGTTGTGTCAAGAGGCCACTCTT (SEQ ID NO:19)。

[0192] 将HEK-293细胞用TATA缺失的Ad35病毒的基因组转染,并且如图25中所示,发生了指示病毒生长的细胞病理效应。这些结果表明,产生了具有TATA盒缺失的重组Ad35腺病毒,其可以适合地用作溶瘤病毒。

[0193] 通过参考并入

[0194] 本文中提到的每个专利文献和科学论文的整个公开内容为所有目的通过参考并入本文。

[0195] 等同性

[0196] 本发明可以以其他特定形式体现而不背离其精神或本质特征。因此,前述实施方式应该在所有情况下被认为是说明性的而不是限制本文描述的发明。因此,本发明的范围由随附的权利要求书而不是上面的描述指明,并且打算将进入权利要求书的意义和等同性范围之内的所有变化涵盖在其中。

序列表

<110> 埃皮辛特瑞柯斯公司

<120> 肿瘤选择性 TATA 盒和 CAAT 盒突变体

<130> AJ4309PT1904

<150> US62/452, 075

<151> 2017-01-30

<160> 27

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 6

<212> DNA

<213> 人工序列 (Artificial sequence)

<220>

[0001] <223> 典型 TATA 盒

<400> 1

tataaa

6

<210> 2

<211> 9905

<212> DNA

<213> 人工序列 (人工序列 (Artificial sequence))

<220>

<223> pXC1 载体质粒

<400> 2

cccttccagc tctctgcccc ttttggattt aagccatat gataatgagg gggggagtt

60

tgtgacgtgg cgccggggcggt ggaaacgggg cgggtgacgt agtagtgtgg cgaaagtgtg

120

atgttgcaag tgtggcgaa cacatgttgg cgacggatgt ggcaaaagtgg acgtttttgg

180

tgtgcgcgg tgtacacagg aagtgacaat ttgcgcgg ttttggcggtt atgttgtgt

240

aaatttggc gtaaccgagt aagattggc catttcgca gaaaaactga ataagaggaa	300
gtgaaatctg aataatttg tgttactcat agcgcgtaat atttgtctag ggccgcggg	360
actttgaccg tttacgtgga gactcgccca ggtgttttc tcaggtgtt tccgcgttcc	420
gggtcaaaagt tggcgttta ttattatagt cagctgacgt gtatgtatt tataccgg	480
gagttcctca agaggccact cttgagtgcc agcgagtaga gttttctcct ccgagccgct	540
ccgacaccgg gactgaaaat gagacatatt atctgccacg gaggtgttat taccgaagaa	600
atggccgcca gtctttgga ccagctgatc gaagaggtac tggctgataa tcttcac	660
cctagccatt ttgaaccacc tacccttac acactgtatg atttagacgt gacggcccc	720
gaagatccca acgaggaggc ggtttgcag attttcccg actctgtaat gttggcggt	780
caggaaggga ttgacttact cactttccg ccggcgcccg gttctccgga gccgcctcac	840
cttcccgcc agcccgagca gccggagcag agagccctgg gtccggtttc tatgccaaac	900
[0002] ctgttaccgg aggtgatcga tcttacctgc cacgaggctg gcttccacc cagtgacgac	960
gaggatgaag agggtgagga gtttgttta gattatgtgg agcaccccg gcacggttgc	1020
aggtcttgc attatcaccg gaggaatacg ggggaccagg atattatgtt ttcgccttgc	1080
tatatgagga cctgtggcat gtttgttac agtaagtgaa aattatggc agtgggtgat	1140
agagtggtgg gtttgttgc gtaattttt tttaatttt tacagtttg tggttaaag	1200
aattttgtat tttgattttt taaaaggc ctgtgttgc acctgagcct gagcccgagc	1260
cagaaccgga gcctgcaaga cctaccggc gtcctaaaat ggccgcgttgc atcctgagac	1320
gcccgcacatc acctgtgtct agagaatgca atagtagtac ggatagctgt gactccggc	1380
cttctaacac acctcctgag atacaccgg tggccggct gtgcggcatt aaaccagg	1440
ccgtgagagt tggtggcggt cgccaggctg tggaaatgtat cgaggacttg cttaacgagc	1500
ctggcaacc ttggacttg agctgtaaac gccccaggcc ataagggtta aacctgtgat	1560

tgctgtgtg gttaacgcct ttgttgctg aatgagttg tgtaagttt ataaagggtg	1620	
agataatgtt taacttgcattgcgtttaa atggggcggtt gcttaaagggtt tatataatgc	1680	
gccgtggct aatcttggtt acatctgacc tcatggaggc ttggagttt ttggaaaggatt	1740	
tttctgctgt gcgttaacttg ctggaacaga gctctaacag tacctcttgg ttttggaggt	1800	
ttctgtgggg ctcatcccag gcaaagtttgc tctgcagaat taaggaggat tacaagtggg	1860	
aatttgaaga gcttttgaaaa tcctgtggtg agctgtttga ttctttgaat ctgggtcacc	1920	
aggcgctttt ccaagagaag gtcatcaaga ctggattttt ttccacacccg gggcgcgctg	1980	
cggctgctgt tgcttttttgc agtttataa aggataaatg gagcgaagaa acccatctga	2040	
gcggggggta cctgctggat tttctggcca tgcattgtg gagagcggtt gtgagacaca	2100	
agaatcgccct gctactgttg tcttcgtcc gcccggcgat aataccgacg gaggagcagc	2160	
agcagcagca ggaggaagcc aggcggcgcc ggcaggagca gagcccatgg aacccgagag	2220	
[0003]	ccggcctgga ccctcgaa tgaatgttgc acaggtggct gaactgtatc cagaactgag	2280
	acgcatttttgc acaatttacag aggtggca gggctaaag gggtaaaga gggagcggtt	2340
	ggcttgcggat gctacagagg aggctaggaa tctagctttt agcttaatga ccagacaccg	2400
	tcctgagtgtt attacttttgc aacagatcaa ggataattgc gctaatgagc ttgatctgt	2460
	ggcgcagaag tattccatag agcagctgac cacttactgg ctgcagccag gggatgattt	2520
	tgaggaggctt attagggat atgcaaggtt ggcacttagg ccagattgca agtacaagat	2580
	cagcaaactt gtaaatatca ggaattgttg ctacattttt gggAACGGGG ccgaggtgga	2640
	gatagatacg gaggataggg tggcccttagt atgtacatgt ataaatatgt ggccgggggt	2700
	gcttggcatg gacgggggtgg ttattatgaa tgtaaggttt actggccca attttagcggt	2760
	tacggttttc ctggccaata ccaaccttacat cctacacggt gtaagcttct atgggtttaa	2820
	caataacctgt gtggaaaggctt ggaccgatgtt aagggttcgg ggctgtgcctt tttactgt	2880

ctggaagggg gtggtgtgc gccccaaaag cagggctca attaagaaat gcctcttga	2940
aagggttacc ttgggtatcc tgtctgaggg taactccagg gtgcgccaca atgtggcctc	3000
cgactgtggt tgcttcatgc tagtggaaaag cgtggctgt attaaggcata acatggtatg	3060
tggcaactgc gaggacaggg cctctcagat gctgaccctgc tcggacggca actgtcacct	3120
gctgaagacc attcacgtag ccagccactc tcgcaaggcc tggccagttgt ttgagcataa	3180
catactgacc cgctgttcct tgcatgggg taacaggagg ggggtgttcc taccttacca	3240
atgcaatttgc agtcacacta agatattgct tgagccccag agcatgtcca aggtgaacct	3300
gaacgggggtg tttgacatga ccatgaagat ctggaaggtg ctgaggtacg atgagacccg	3360
caccaggtgc agaccctgctg agtgtggcgg taaacatatt aggaaccagc ctgtgtatgc	3420
ggatgtgacc gaggagctga ggcccgatca ctgggtgctg gcctgcaccc ggcgtgagtt	3480
tggctctagc gatgaagata cagattgagg tactgaaatg tgtggcggt gcttaagggt	3540
[0004] gggaaagaat atataaggtg ggggtttat gtatgtttgt atctgttttgc cagcagccgc	3600
cggccccatg agcaccaact cgtttgcattgg aagcattgtg agctcatatt tgacaacgc	3660
catgccccca tggggccgggg tgcgtcagaa tgtgtatggc tccagcatttgc atggcgccc	3720
cgtcctgccc gcaaactcta ctacccgtac ctacgagacc gtgtctggaa cgccgttgaa	3780
gactgcagcc tccggccggcg cttcagccgc tgccagccacc gcccgcggaa ttgtgactga	3840
ctttgcttgc ctgagccgc ttgcaagcag tgccagttcc cggtcatccg cccgcgtatga	3900
caagttgacg gctttttgg cacaatttggaa ttctttgacc cgggaactta atgtcgttc	3960
tcagcagctg ttggatctgc gccagcagggt ttctgcctg aaggcttcct cccctccaa	4020
tgcggttaa aacataaata aaaaaccaga ctctgtttgg atttggatca agcaagtgtc	4080
ttgctgtctt tatttagggg ttttgcgcgc gcggttaggcc cgggaccagc ggtctcggtc	4140
gttgagggtc ctgtgtatgtt tttccaggac gtggtaaagg tgactctggaa tggtcagata	4200

catgggcata agcccgatctc tggggtggag gtagcaccac tgcagagctt catgctgcgg	4260
ggtgtgttg tagatgatcc agtcgttagca ggagcgctgg gcgtggtgcc taaaaatgtc	4320
ttcagtagc aagctgattt ccagggcag gcccttgggtg taagtgttta caaagcggtt	4380
aagctggat gggtgcatac gtgggatata gagatgcattt ttggactgtt ttttaggtt	4440
ggctatgttc ccagccatat ccctccgggg attcatgttgc tgcagaacca ccagcacagt	4500
gtatccggtg cacttggaa atttgcattt tagcttagaa ggaaatgcgtt ggaagaactt	4560
ggagacgccc ttgtgaccc tcagattttc catgcatttc tccataatgtt tggcaatggg	4620
cccacggcgc gcggcctggg cgaagatattt tctggatca ctaacgtcat agttgtgtt	4680
caggatgaga tcgtcatagg ccatttttac aaagcgcggg cggagggtgc cagactgcgg	4740
tataatggtt ccatccggcc caggggcgta gttaccctca cagatttgc tttccacgc	4800
tttgagttca gatggggggaa tcatgtctac ctgcggggcg atgaagaaaa cggttccgg	4860
[0005] ggttaggggag atcagctggg aagaagcag gttcctgagc agctgcgact taccgcagcc	4920
ggtgtggcccg taaatcacac ctattaccgg gtgcaactgg tagttaaagag agctgcagct	4980
gccgtcatcc ctgagcagg gggccacttc gtaagcatg tccctgactc gcatgtttt	5040
cctgaccaaa tccgccagaa ggccgtcgcc gcccagcgat agcagttttt gcaaggaagc	5100
aaagtttttca aacggtttga gaccgtccgc cgtaggcatg cttttgagcg tttgaccaag	5160
cagttccagg cggtcccaca gctcggtcac ctgctctacg gcatctcgat ccagcatatc	5220
tcctcggttc gcggttggg gcccgtttcg ctgtacggca gtagtcggtg ctcgtccaga	5280
cggccagg tcatgtctt ccacggcgc agggcctcg tcagcgtagt ctgggtcacg	5340
gtgaaggggt gcgctccggg ctgcgcgtg gccagggtgc gcttggggctt ggtcctgctg	5400
gtgctgaagc gctgcccgtc ttgcgcctgc gctgcggcca ggttagcattt gaccatggtg	5460
tcatagtcca gcccctccgc ggcgtggccc ttggcgcgcga gcttgcctt ggaggaggcg	5520

ccgcacgagg ggcagtgcag acttttgggg gcgttagagct tgggcgcgag aaataccgat	5580
tccggggagt aggcatccgc gccgcaggcc ccgcagacgg tctcgattc cacgagccag	5640
gtgagctctg gccgttcggg gtcaaaaacc aggtttcccc catgctttt gatgcgttc	5700
ttacctctgg tttccatgag ccgggttcca cgctcggtga cgaaaaggct gtccgtgtcc	5760
ccgtatacag acttgagagg cctgtcctcg gcctgtcctc gaccgatgcc cttgagagcc	5820
ttcaacccag tcagtcctt ccgggtggcg cggggcatga ctatcgctc cgcacttatg	5880
actgtcttct ttatcatgca actcgtagga caggtgccgg cagcgctctg ggtcatttc	5940
ggcgaggacc gcttcgcgtg gagcgcgacg atgatcgcc tgcgttgc ggtattcgga	6000
atcttgcacg ccctcgctca agccttcgtc actggtcccg ccaccaaacg tttcgccgag	6060
aaggcaggcca ttatcgccgg catggccggcc gacgcgttgg gctacgttgc gctggcggtc	6120
gcgacgcgag gctggatggc cttcccccatt atgattttc tcgcttccgg cggcatcgaa	6180
[0006] atgcccgcgt tgcaggccat gctgtccagg caggttagatg acgaccatca gggacagctt	6240
caaggatcgc tcgcggctct taccagccta acttcgatca ctggaccgct gatcgacg	6300
gcgattttatg ccgcctcgcc gagcacatgg aacgggttgg catggattgt aggcggcc	6360
ctatacccttg tctgcctccc cgcgttgcgt cgcgttgcgt ggagccggc cacctcgacc	6420
tgaatgaaag ccggcggcac ctcgctaacg gattcaccac tccaagaatt ggagccaatc	6480
aattcttgcg gagaactgtg aatgcgcaaa ccaacccttg gcagaacata tccatcgct	6540
ccgccccatctc cagcagccgc acgcggcgca tctcgccggcag cgttgggtcc tggccacggg	6600
tgcgcatgtat cgtgttcgt tcgttggagg cccggctagg ctggcgggtt tgccttactg	6660
gttagcagaa tgaatcaccg atacgcgagc gaacgtgaag cgactgctgc tgcaaaacgt	6720
ctgcgacactg agcaacaaca tgaatggct tcgggttccg tggttgcgtaa agtctggaaa	6780
cgcggaaagtc agcgcctgc accattatgt tccggatctg catgcagga tgctgctggc	6840

taccctgtgg aacacctaca tctgtattaa cgaagcgctg gcattgaccc tgagtgattt	6900
ttctctggtc cgcgcgcac cataccgcca gttgttacc ctcacaacgt tccagtaacc	6960
ggcgcgttc atcatcagta acccgatcg ttagcatctt ctctcggttc atcggtatca	7020
ttaccccat gaacagaaat ccccttaca cggaggcatc agtgaccaaa caggaaaaaa	7080
ccgccttaa catggccgc tttatcgaa gccagacatt aacgcttctg gagaaactca	7140
acgagctgga cgcggatgaa caggcagaca tctgtgaatc gcttcacgac cacgctgatg	7200
agctttaccg cagctgcctc gcgcgttgc gtgatgacgg tggaaaccc tcacacatgc	7260
agctcccgga gacggtcaca gcttgcgtgt aagcggatgc cgggagcaga caagccgctc	7320
aggcgcgctc agcgggtgtt ggcgggtgtc gggcgccagc catgacccag tcacgtagcg	7380
atagcggagt gtatactggc ttaactatgc ggcacatcagag cagattgtac tgagagtgc	7440
ccatatgcgg tgtgaaatac cgcacagatg cgttaaggaga aaataccgca tcaggcgctc	7500
[0007] ttccgcttcc tcgctcaactg actcgctgcg ctcggcggtt cggctgcggc gagcgggtatc	7560
agctcactca aaggcggtaa tacggttatc cacagaatca gggataacg caggaaagaa	7620
catgtgagca aaaggccagc aaaaggccag gaaccgtaaa aaggccgcgt tgctggcggtt	7680
tttccatagg ctccgccccctgacgagca tcacaaaaat cgacgctcaa gtcagaggtg	7740
gcgaaacccg acaggactat aaagatacca ggcgttccc cctggaagct ccctcgctgc	7800
ctctcctgtt ccgaccctgc cgcttaccgg atacctgtcc gccttctcc cttcggaag	7860
cgtggcgctt tctcatagct cacgcgttagt gtatctcagt tcgggttagg tcgttcgctc	7920
caagctggc tgtgtgcacg aaccccccgt tcagccgac cgctgcgcct tatccggtaa	7980
ctatcgctt gagtccaacc cggtaagaca cgacttacg ccactggcag cagccactgg	8040
taacaggatt agcagagcga ggtatgttagg cgggtctaca gagttcttga agtggtgcc	8100
taactacggc tacactagaa ggacagtatt tggtatctgc gctctgctga agccagttac	8160

cttcggaaaa agagttggta gctcttgate cgccaaacaa accaccgctg gtagcggtgg	8220
ttttttgtt tgcaaggcgc agattacgctg cagaaaaaaa ggatctcaag aagatccctt	8280
gatcttttct acggggctcg acgctcagtg gaacgaaaac tcacgttaag ggattttgg	8340
catgagatta tcaaaaagga tcttaccta gatccttta aattaaaaat gaagttttaa	8400
atcaatctaa agtatataatg agtaaacttg gtctgacagt taccaatgtc taatcagtga	8460
ggcacctatc tcagcgatct gtctatttcg ttcatccata gttgcctgac tccccgtcgt	8520
gtagataact acgatacggg agggcttacc atctggcccc agtgctgcaa tgataccg	8580
agacccacgc tcaccggctc cagatttac agcaataaac cagccagccg gaagggccga	8640
gcgcagaagt ggtcctgcaa ctttatccgc ctccatccag tctattaatt gttgccggga	8700
agctagagta agtagttcgc cagttaatag tttgcgcaac gttgttgcac ttgctgcagg	8760
catcgtggtg tcacgctcgt cgtttggat ggcttcattc agctccgggtt cccaaacgatc	8820
[0008] aaggcgagtt acatgatccc ccatgttgtc caaaaaagcg gttagctcct tcggcctcc	8880
gatcggttgc agaagtaagt tggccgcagt gttatcactc atggttatgg cagcactgca	8940
taattctctt actgtcatgc catccgtaaat atgcttttct gtgactgggt agtactcaac	9000
caagtcattc tgagaatagt gtatgcggcg accgagttgc tcttgcggcg cgtcaacacg	9060
ggataatacc gcgccacata gcagaacttt aaaagtgtc atcattggaa aacgttcttc	9120
ggggcgaaaa ctctcaaggta tcttaccgct gttgagatcc agttcgatgt aacccactcg	9180
tgcacccaaac tgatcttcag catcttttac ttccaccaggc gtttctgggt gagaaaaaac	9240
aggaaggcaa aatgcgcacaa aaaaggaaat aaggcgaca cggaaatgtt gaataactcat	9300
actcttcattt tttcaatattt attgaagcat ttatcagggt tattgtctca tgagcgata	9360
catatttggaa tgtatattaa aaaaataaaaca aataggggtt ccgcgcacat ttccccggaaa	9420
agtgcacccct gacgtctaaag aaaccattat tatcatgaca ttaacctata aaaataggcg	9480

tatcacgagg cccttcgtc ttcaagaatt ctcatgttg acagcttatac atcgataa	9540
ttaaatgcgg tagtttatca cagttaaatt gctaacgcag tcaggcaccg tgtatgaaat	9600
ctaacaatgc gctcatcgtc atcctcgca ccgtcaccct ggatgctgta ggcataggct	9660
tggttatgcc ggtactgccg ggcctttgc gggatatcgt ccattccgac agcatcgcca	9720
gtcactatgg cgtgctgcta gcgtatatg cggtatgca atttctatgc gcacccgttc	9780
tcggagcaact gtccgaccgc tttggccgcc gcccagtct gctcgcttcg ctacttggag	9840
ccactatcga ctacgcgatc atggcgacca cacccgtct gtggatccgg gccccattt	9900
ccccct	9905

<210> 3
<211> 362
<212> DNA
<213> 人工序列 (Artificial sequence)

[0009]

〈220〉

〈223〉 Ad-del350 5' 末端

<400> 3

catcatcaat aatatacac tt atttggatt gaagccaa tgataatgag ggggtggagt

60

ttgtgacgtg gcgcggggcg tggAACggg gcgggtgacg tagtagtgtg gcggaaagtgt 120

gatgttgcaa gtgtggcgga acacatgtaa gcgacggatg tggcaaaagt gacgttttg

180

gtgtgcgccc gtgtacacag gaagtgacaa ttttcgcgcg gttttaggcg gatgttgtag

240

taaatttggg cgtaaccgag taagatttgg ccatttcgc gggaaaactg aataagagga

300

agtgaaatct gaataatttt gtgttactca tagcgcgtaa tatttgcgtt ggactgaaaa

360

362

<210> 4

<211> 9705

<212> DNA

<213> 人工序列 (Artificial sequence)

<220>

<223> pXC1-del350

<400> 4

cccttccagc tctctgcccc ttttggattt aagccaatat gataatgagg gggtgaggtt	60
tgtgacgtgg cgccggggcgtt gggAACGGGG cgggtgacgtt agtagtgtgg cggaagtgtg	120
atgttgcagat tggcgccggaa cacatgttgcgatgtt ggcaaaagtgc acgtttttgg	180
tgtgcgcgg tgcgttgcggaa aagtgcacat tttcgccgg ttttaggcgg atgtttgtgt	240
aaatttgggc gtaaccgagt aagatttggc cattttcgccg gggaaactgaa ataagaggaa	300
gtgaaaatctg aataatttttgcgttactcat agcgcgtat atttgcgttagt gactgaaaat	360
gagacatattt atctgccacg gaggtgttat taccgaagaa atggccgcca gtctttggaa	420
ccagctgatc gaagagggtac tggctgataa tcttccaccc cctagccatt ttgaaccacc	480
[0010] tacccttcac gaactgtatgcgttactcat gacggccccc gaagatccca acgaggaggc	540
ggtttgcag atttttcccg actctgtatgcgttactcat gttggcggtt caggaaggaa ttgacttact	600
cactttcccg ccggcgcccg gttctccggaa gcccgcctcacc ctttcccgcc agcccgagca	660
gccggaggcag agagcccttgg gtccgggttcc tatgcacccat cttgtaccgg aggtgatcga	720
tcttacctgc cacgaggctg gctttccacc cagtgcgttgc gaggatgaag agggtgaggaa	780
gtttgttta gattatgtgg agcaccggc gcacgggttgc aggtcttgc attatcaccg	840
gaggaatacg ggggacccag atattatgttgc tatatgagga cctgtggcat	900
gtttgtctac agtaagtgaa aattatggc agtgggtgttgc aggtgggttgc gtttgggttgc	960
gtaattttttttt tacagtttttgcgtttaaag aattttgtat ttttttttttgcgtttaaag	1020
ttaaaaaggcgttgc ctttttttttgcgtttaaag aattttgtat ttttttttttgcgtttaaag	1080
cctacccggcc gtcctaaaaat ggcgcctgctt atcctgagac gcccgcacatc acctgtgtct	1140

agagaatgca atagtagtac ggatacgctgt gactccggc cttctaaca acctccctgag	1200
atacacccgg tggtcccgt gtgcccatt aaaccagttt ccgtgagagt tggtggcgt	1260
cggcaggctg tggaaatgtat cgaggacttg cttAACGAGC ctggcaacc ttggacttg	1320
agctgtaaac gccccaggcc ataagggtta aacctgtat tgcgtgtgt gttaacgcct	1380
ttgtttgctg aatgagtttga tgtaagtttataaagggtt agataatgtt taacttgcatt	1440
ggcgtgttaa atggggcggg gcttaaagggtt tatataatgc ggcgtggcgt aatcttggtt	1500
acatctgacc tcatggaggc ttggagggtt ttggaaaggatt ttctgtctgt gcgttaacttg	1560
ctggaacaga gctctaacag taccttttgg ttttggaggt ttctgtgggg ctcatccag	1620
gcaaaggtag tctgcagaat taaggaggat tacaagtggg aatttgaaga gctttgaaa	1680
tcctgtggtg agctgtttga ttctttaat ctgggtcacc aggccgtttt ccaagagaag	1740
gtcatcaaga cttggattt ttccacaccg gggcgcgtg cggctgtgt tgcttttttg	1800
[0011] agtttataa aggataaatg gagcgaagaa acccatctga gcgggggta cctgctggat	1860
tttctggcca tgcatactgtt gagagcggtt gtgagacaca agaatgcct gctactgtt	1920
tttccgtcc gccccggat aataccgacg gaggagcagc agcagcagca ggaggaagcc	1980
aggcggcggc ggcaggagca gagccatgg aacccgagag ccggccttgg ccctcggaa	2040
tgaatgttgc acaggtggct gaactgtatc cagaactgag acgcattttt acaattacag	2100
aggatggca gggctaaag gggtaaaga gggagcgggg ggcttgcgt gctacagagg	2160
aggctaggaa tctagctttt agcttaatgtt ccagacaccg tcctgagttt attactttc	2220
aacagatcaa ggataattgc gctaatgagc ttgatctgtt ggccgagaag tattccatag	2280
agcagctgac cacttactgg ctgcagccag gggatgattt tgaggaggctt attagggtat	2340
atgcaaagggt ggcactttagg ccagattgca agtacaagat cagcaaactt gttaaatatca	2400
ggaattgttgc ctacatttttgc gggAACGGGG ccgaggttggc gatagatacg gaggatagg	2460

tggccttag atgttagcatg ataaatatgt ggccgggggt gcttggcatg gacggggtag	2520
ttattatgaa tgtaagggtt actggccca attttagcgg tacggtttc ctggccaata	2580
ccaacccat cctacacggt gtaagcttct atgggttaa caataacctgt gtggaagcct	2640
ggaccgatgt aagggttcgg ggctgtgcct ttactgctg ctggaagggg gtgggtgtc	2700
gccccaaaag cagggcttca attaagaaat gcctcttga aagggttacc ttgggtatcc	2760
tgtctgaggg taactccagg gtgcgccaca atgtggcctc cgactgtggt tgcttcatgc	2820
tagtgaaaag cgtggctgtg attaagcata acatggtagt tggcaactgc gaggacaggg	2880
cctctcagat gctgaccctgc tcggacggca actgtcacct gctgaagacc attcacgtag	2940
ccagccactc tcgcaaggcc tggccagtgt ttgagcataa catactgacc cgctgttcct	3000
tgcatttggg taacaggagg ggggtgttcc taccttacca atgcaatttgc agtcacacta	3060
agatatttgc tgagcccgag agcatgtcca aggtgaacct gaacggggtg tttgacatga	3120
[0012] ccatgaagat ctggaagggtg ctgaggtacg atgagacccg caccaggtgc agaccctgcg	3180
agtgtggcgg taaacatatt aggaaccagc ctgtgtatgc ggtatgtgacc gaggagctga	3240
ggcccgatca cttgggtctg gcctgcaccc gcgcgtgatgt tggctctagc gatgaagata	3300
cagattgagg tactgaaatg tgtggcgtg gcttaagggt gggaaagaat atataaggtg	3360
ggggctttagt gtagtttgc atctgttttgc cagcagccgc cgccgcctg agcaccaact	3420
cgtttgtgg aagcatttgc agctcatatt tgacaacgcg catgcggccca tggccgggg	3480
tgcgtcagaa tgtgtatggc tccagcatttgc atggcgcccc cgtcctgcggcc gcaaactcta	3540
ctaccttgcac ctacgagacc gtgtctggaa cgccgttgaa gactgcagcc tccgcggccg	3600
cttcagccgc tgcagccacc gcccgggaa ttgtgactga ctggcttgc ctgagccgc	3660
ttgcaaggcag tgcagcttcc cggtcatccg cccgcgttgc caagttgcacg gctctttgg	3720
cacaatttgc ttctttgacc cgggaactta atgtcggttc tcagcagctg ttggatctgc	3780

gccagcaggt ttctgcccgt aaggcttcct cccctcccaa tgcggttaa aacataaata	3840
aaaaaccaga ctctgttgg atttggatca agcaagtgtc ttgctgtctt tatttagggg	3900
tttgcgcgc gcggtaggcc cgggaccagc ggtctcggtc gttgagggtc ctgtgtattt	3960
tttccaggac gtggtaaagg tgactctgga tttcagata catgggcata agcccgctc	4020
tgggtggag gtagcaccac tgcagagctt catgctgcgg ggtggtgtt tagatgatcc	4080
agtcgttagca ggagcgctgg gcgtggtgcc taaaaatgtc tttcagtagc aagctgattt	4140
ccagggcag gcccttgggt taagtgtta caaagcggtt aagctggat gggcatac	4200
gtggggatat gagaatgcattt ttggactgta ttttaggtt ggctatgttc ccagccat	4260
ccctccgggg attcatgttgc tgcagaacca ccagcacagt gatccggc cacttggaa	4320
atttgcatttgc tagcttagaa ggaaatgcgt ggaagaactt ggagacgccc ttgtgaccc	4380
caagattttc catgcattcg tccataatga tggcaatggg cccacggcgc gcccctggg	4440
[0013] cgaagatatt tctggatca ctaacgtcat agttgtttc caggatgaga tcgtcatagg	4500
ccatttttac aaagcgccgg cggagggtgc cagactgcgg tataatggtt ccatccggcc	4560
cagggcgta gttaccctca cagatttgc tttccacgc tttagttca gatgggggaa	4620
tcatgtctac ctgcggggcg atgaagaaaa cggttccgg gtaggggag atcagctggg	4680
aagaaagcag gttccctgagc agctgcgact taccgcagcc ggtggcccg taaatcacac	4740
ctattaccgg gtgcaactgg tagttaagag agctgcagct gccgtcatcc ctgagcagg	4800
ggcccaacttc gttaagcatg tccctgactc gcatgtttt cctgaccaaa tccgcccagaa	4860
ggcgctcgcc gcccagcgat agcagttctt gcaaggaagc aaagttttc aacggttga	4920
gaccgtccgc ctagggcatg ctttgagcg ttgaccaag cagttccagg cggcccaca	4980
gctcggtcac ctgctctacg gcatctcgat ccagcatatc tcctcgttc ggggttggg	5040
gcccctttcg ctgtacggca gtagtcggtg ctcgtccaga cggccaggg tcatgtctt	5100

ccacgggcgc agggtcctcg tcagcgtagt ctgggtcacg gtgaagggtt ggcgtccggg	5160
ctgcgcgtg gccagggtgc gcttggggctt ggtcctgtcg gtgctgaagc gctgcccgtc	5220
ttcgccctgc gcgtcggcca ggttagcattt gaccatggtg tcatagtcca gcccctccgc	5280
ggcgtggccc ttggcgcgca gcttgcctt ggaggaggcg ccgcacgagg ggcagtgcag	5340
acttttgggg gcgttagagct tgggcgcgag aaataccgat tccggggagt aggcatccgc	5400
gcccgaggcc ccgcagacgg tctcgattt cacgagccag gtgagctctg gccgttcggg	5460
gtcaaaaacc aggtttcccc catgtttttt gatgcgtttc ttacctctgg ttccatgag	5520
ccggtgtcca cgctcggta cgaaaaggct gtccgtgtcc ccgtatacag acttgagagg	5580
cctgtcctcg gcctgtccctc gaccgatgcc cttagagagcc ttcaacccag tcagctcctt	5640
ccggtgtggcg cggggcatga ctatcgctc cgcaattatg actgtttctt ttatcatgca	5700
actcgtagga caggtgccgg cagcgctctg ggtcattttc ggcgaggacc gcttcgtcg	5760
[0014] gagcgcgacg atgatcgcc tgtcgttgc ggtattcgga atcttgcacg ccctcgctca	5820
agccttcgtc actggtcccg ccaccaaacg tttcgccgag aagcaggcca ttatcgccgg	5880
catggccggcc gacgcgttgg gctacgtttt gctggcggtc ggcacgcgag gctggatggc	5940
cttccccatt atgattcttc tcgcttccgg cggcatcggtt atgcccgcgt tgcaggccat	6000
gctgtccagg caggttagatg acgaccatca gggacagctt caaggatcgc tcgcggctct	6060
taccagccta acttcgatca ctggaccgct gatcgatcagc gcgtttatg ccgcctcgcc	6120
gagcacatgg aacgggttgg catggattgt aggcgcggcc ctataccttg tctgcctccc	6180
cgcgttgcgt cgccgtgcgtt ggagccggcc cacctcgacc tgaatggaaag ccggccgcac	6240
ctcgctaaacg gattcaccac tccaaagaattt ggagccaatc aattcttgcg gagaactgtg	6300
aatgcgcaaa ccaacccttg gcagaacata tccatcggtt ccgcgttc cagcagccgc	6360
acgcggcgca tctcgccag cgttgggtcc tggccacggg tgcgcgtat cgtgcgttgc	6420

tcgttggaga cccggctagg ctgggggggt tgccttactg gtttagcagaa tgaatcaccg	6480
atacgcgagc gaacgtgaag cgactgctgc tgcaaaacgt ctgcgacctg agcaacaaca	6540
tgaatggtct tcgggttccg tggttgcgtaa agtctggaaa cgccggaaatc agcgccctgc	6600
accattatgt tccggatctg catcgagga tgctgctggc taccctgtgg aacacctaca	6660
tctgttattaa cgaagcgctg gcattgaccc ttagtgattt ttctctggc ccggccgcattc	6720
cataccgcca gttgttacc ctcacaacgt tccagtaacc gggcatgttc atcatcagta	6780
accgtatcg tgagcatcct ctctcggttc atcggtatca ttaccccat gaacagaaat	6840
cccccttaca cggaggcatc agtgacccaa caggaaaaaa ccggccctaa catggcccgc	6900
tttattcagaa gccagacatt aacgcttctg gagaaactca acgagctgga cgccggatgaa	6960
caggcagaca tctgtgaatc gcttcacgac cacgctgatg agctttaccg cagctgcctc	7020
gcgcgttgcgtg gtgtatgacgg tgaaaaccc tcgacacatgc agctccggaa gacggtcaca	7080
[0015] gcttgcgtgt aagcggatgc cgggagcaga caagccgtc agggcgcgtc agcgggttt	7140
ggcgggtgtc ggggcgcagc catgacccag tcacgtacg atagcggagt gtatactggc	7200
ttaactatgc ggcacatcagag cagattgtac tgagagtgc ccatatgcgg tgtgaaatac	7260
cgcacagatg cgtaaggaga aaataccgca tcaggcgctc ttccgcttcc tcgctcactg	7320
actcgctgctg ctcggcggtt cggctgcggc gagcggatc agctcactca aaggcggtaa	7380
tacggttatc cacagaatca ggggataacg caggaaagaa catgtgagca aaaggccagc	7440
aaaaggccag gaaccgtaaa aaggccgcgt tgctggcggtt ttccatagg ctccgcccc	7500
ctgacgagca tcacaaaaat cgacgctaa gtcagaggtg gcgaaacccg acaggactat	7560
aaagatacca ggcgttcccc cctgaaagct ccctcgatgc ctctcctgtt ccgaccctgc	7620
cgttaccgg atacctgtcc gcctttctcc ctgcggaaag cgtggcgctt tctcatagct	7680
cacgctgttag gtatctcagt tcgggtttagg tcgatcgctc caagctggc tgcgtgcacg	7740

aaccccccgt tcagccgac cgctgcgcct tatccggtaa ctatcgctt gagtccaacc	7800
cggttaagaca cgacttatcg ccactggcag cagccactgg taacaggatt agcagagcga	7860
ggtatgtagg cggtgttaca gagttcttga agtggtgcc taactacggc tacactagaa	7920
ggacagtatt tggtatctgc gctctgctga agccagttac cttcgaaaaa agagttggta	7980
gctcttgate cggcaaacaa accaccgctg gtagcggtgg ttttttgg tgcaagcagc	8040
agattacgct cagaaaaaaa ggatctcaag aagatcctt gatctttct acggggctcg	8100
acgctcagt gaaacaaaaac tcacgttaag ggattttggt catgagatta taaaaagga	8160
tcttcaccta gatcctttt aattaaaaat gaagttttaa atcaatctaa agtataatatg	8220
agtaaaactt gtcgtacagt taccaatgct taatcagtga ggcacctatc tcagcgatct	8280
gtctatttcg ttcatccata gttgcctgac tccccgtcg gtatataact acgatacggg	8340
aggcattacc atctggcccc agtgctgcaa tgataccgct agacccacgc tcaccggctc	8400
[0016] cagatttatac agcaataaac cagccagccg gaaggccga gcgcagaagt gtcctgcaa	8460
ctttatccgc ctccatccag tctattaatt gttgccggga agctagagta agtagttcgc	8520
cagttaatag tttgcgcacac gttgttgcca ttgctgcagg catcggttg tcacgctcg	8580
cgtttggat ggcttcattc agctccggtt cccaaacgatc aaggcgagtt acatgatccc	8640
ccatgttgtg caaaaaagcg gttagtcct tcggcctcc gatcggttgc agaagtaagt	8700
tggccgcgt gttatcactc atggttatgg cagcactgca taattcttt actgtcatgc	8760
catccgtaag atgctttct gtgactggtg agtactcaac caagtcatc tgagaatagt	8820
gtatgcggcg accgagttgc tcttgcggc cgtcaacacg ggataatacc gcccacata	8880
gcagaacttt aaaagtgttc atcattggaa aacgttcttc gggcgaaaa ctctcaagga	8940
tcttaccgct gttgagatcc agttcgatgt aacccactcg tgcacccaa tgatttcag	9000
catctttac tttcaccagc gtttctgggt gagaaaaac aggaaggcaa aatgcccacaa	9060

aaaagggaat aaggcgaca cgaaatgtt gaatactcat actcttcctt tttcaatatt	9120
attgaagcat ttatcaggg tattgtctca tgagcgata catatttcaa tgtattttaga	9180
aaaataaaaca aataggggtt ccgcacat ttccccaaa agtgcaccc gacgtctaag	9240
aaaccattat tatcatgaca ttaacctata aaaataggcg tatcacgagg cccttcgtc	9300
ttcaagaatt ctcatgttg acagcttatac atcgataagc tttatgcgg tagtttatca	9360
cagttaaatt gctaacgcag tcaggcaccg tgtatgaaat ctaacaatgc gtcatcg	9420
atcctcgca ccgtcaccct ggatgtgta ggcataggct tggatgcc ggtactgc	9480
ggcctttgc gggatatcg ccattccgac agcatgcgc gtcactatgg cgtgctg	9540
gcgcstatatg cggtatgcg atttctatgc gcacccgttc tcggagcact gtccgaccgc	9600
tttggccgcc gcccagtct gtcgcttcg ctacttggag ccactatcga ctacgcgatc	9660
atggcgacca cacccgtcct gtggatccgg gccccattt cccct	9705

[0017]

<210> 5	
<211> 46	
<212> DNA	
<213> 人工序列 (Artificial sequence)	
<220>	
<223> 修饰的 Elb-19k 区域	
<400> 5	
atcttggta catctgacct cgtcgagtca ccaggcgctt ttccaa	46

<210> 6	
<211> 141	
<212> PRT	
<213> 小鼠源 (Mus musculus)	

<400> 6	
---------	--

Met Trp Leu Gln Asn Leu Leu Phe Leu Gly Ile Val Val Tyr Ser Leu			
1	5	10	15

Ser Ala Pro Thr Arg Ser Pro Ile Thr Val Thr Arg Pro Trp Lys His
 20 25 30

Val Glu Ala Ile Lys Glu Ala Leu Asn Leu Leu Asp Asp Met Pro Val
 35 40 45

Thr Leu Asn Glu Glu Val Glu Val Val Ser Asn Glu Phe Ser Phe Lys
 50 55 60

Lys Leu Thr Cys Val Gln Thr Arg Leu Lys Ile Phe Glu Gln Gly Leu
 65 70 75 80

Arg Gly Asn Phe Thr Lys Leu Lys Gly Ala Leu Asn Met Thr Ala Ser
 85 90 95

[0018] Tyr Tyr Gln Thr Tyr Cys Pro Pro Thr Pro Glu Thr Asp Cys Glu Thr
 100 105 110

Gln Val Thr Thr Tyr Ala Asp Phe Ile Asp Ser Leu Lys Thr Phe Leu
 115 120 125

Thr Asp Ile Pro Phe Glu Cys Lys Lys Pro Gly Gln Lys
 130 135 140

<210> 7

<211> 9

<212> DNA

<213> 人工序列 (Artificial sequence)

<220>

<223> 来源于 del350 缺失的序列

<400> 7

ctaggactg

9

<210>	8	
<211>	35938	
<212>	DNA	
<213>	5型腺病毒 (Adenovirus type 5)	
<400>	8	
	catcatcaat aataataccctt attttggatt gaagccaata tgataatgag ggggtggagt	60
	ttgtgacgtg gcgcggggcg tgggaacggg gcggtgtacg tagtagtgtg gcggaagtgt	120
	gatgttgc aa gtgtggcgga acacatgtaa gcgacggatg tggcaaaaagt gacgttttg	180
	gtgtgcgcg gtgtacacag gaagtgacaa tttcgcgcg gtttttaggcg gatgtttag	240
	taaatttggg cgtaaccgag taagatttgg ccattttcgc gggaaaactg aataagagga	300
	agtgaaatct gaataaattt gtgttactca tagcgcgtaa tatttgccta gggccgcggg	360
	gactttgacc gtttacgtgg agactcgccc aggtgtttt ctcaggtgtt ttccgcgttc	420
[0019]	cgggtcaaag ttggcgttt attattatag tcagctgacg tgttagtgtat ttataccgg	480
	ttagttccctc aagaggccac tcttgagtgc cagcgagtag agtttctcc tccgagccgc	540
	tccgacaccg ggactgaaaa tgagacatat tatctgccac ggaggtgtta ttaccgaaga	600
	aatggccgcc agtctttgg accagctgat cgaagaggta ctggctgata atcttccacc	660
	tcctagccat ttgaaccac ctacccttca cgaactgtat gatttagacg tgacggcccc	720
	cgaagatccc aacgaggagg cggttcgca gattttccc gactctgtaa tggggcggt	780
	gcaggaaggg attgacttac tcactttcc gccggcgccc ggttctccgg agccgcctca	840
	ccttcccg cagcccgagc agccggagca gagagccttg ggtccgggtt ctatgcaaa	900
	ccttgtaccg gaggtgatcg atcttacctg ccacgaggct ggcttccac ccagtgacga	960
	cgaggatgaa gaggtgagg agtttgttt agattatgtg gagcaccccg ggcacgggtt	1020
	caggtcttgt cattatcacc ggaggaatac gggggaccca gatattatgt gttcgctttg	1080

ctatatgagg acctgtggca tgggtgtcta cagtaagtga aaattatggg cagtggtga	1140
tagagtggtg ggtttgggtgt ggtaattttt ttttaattt ttacagttt gtggtttaaa	1200
gaattttgtta ttgtgatttt tttaaaaggt cctgtgtctg aacctgagcc tgagcccgag	1260
ccagaaccgg agcctgcaag acctacccgc cgtcctaaaa tggcgccctgc tatcctgaga	1320
cggccgacat caccctgtgtc tagagaatgc aatagtagta cgatagctg tgactccgg	1380
ccttcttaaca caccctctga gatacaccccg gtggtcccgc tgtgccccat taaaccagtt	1440
gccgtgagag ttgggtggcg tcgccaggct gtggaaatgtc tcgaggactt gcttaacgag	1500
cctggcaac ctggactt gagctgtaaa cgccccaggc cataagggtgt aaacctgtga	1560
ttgcgtgtgt ggtaacgccc ttgtttgtc gaatgagttt atgtaaatgtt aataaagggt	1620
gagataatgt ttaacttgca tggcgtgtta aatggggcgg ggcttaaagg gtatataatg	1680
cgccgtggc taatcttggc tacatctgac ctcatggagg cttggagtg ttggaaatgt	1740
[0020] tttctgctg tgcttaactt gctggaaacag agctctaaaca gtacctttt gttttggagg	1800
tttctgtggc gctcatccca ggcaaaggta gtctgcagaa ttaaggagga ttacaagtgg	1860
gaatttgaag agctttgaa atcctgtggc gagctgtttt attcttgcattt tctgggtcac	1920
caggcgctt tccaaagagaa ggtcatcaag actttggatt tttccacacc gggcgccgt	1980
cgccgtgtc ttgtttttt gagttttata aaggataaaat ggagcgaaga aacccatctg	2040
acgggggggt acctgctgga tttctggcc atgcatctgt ggagagcggt tgtgagacac	2100
aagaatcgcc tgctactgtt gtcttccgtc cgcccgccga taataccgac ggaggagcag	2160
cagcagcagc aggaggaagc caggcggcgg cggcaggagc agagcccatg gaacccgaga	2220
gccggccctgg accctcggtt atgaatgtt tacagggtggc tgaactgtat ccagaactgt	2280
gacgcatttt gacaattaca gaggatggc agggctaaa ggggttaaag agggagcggg	2340
gggtttgtga ggctacagag gaggcttagga atctagcttt tagcttaatg accagacacc	2400

gtcctgagt tattacttt caacagatca aggataattg cgctaatgag cttgatctgc	2460
tggcgagaa gtattccata gagcagctga ccacttactg gctgcagcca ggggatgatt	2520
ttgaggaggc tattaggta tatgcaaagg tggcacttag gccagattgc aagtacaaga	2580
tcagcaaact tgtaaatatc aggaattgtt gctacattc tggAACGGG gcccgggtgg	2640
agatagatac ggaggatagg gtggcTTTA gatgttagcat gataaatatg tggccggggg	2700
tgcttggcat ggacgggggt gttattatga atgtaagggt tactggcccc aattttagcg	2760
gtacggttt cctggccaaat accaacctta tcctacacgg tgtaagcttc tatggTTTaa	2820
acaataacctg tgtggaagcc tggaccgatg taagggtcg gggctgtgcc ttttactgct	2880
gctggaaggg ggtgggtgt cgcccaaaa gcaggccttc aattaagaaa tgccttttgc	2940
aaaggtgtac ctgggtatc ctgtctgagg gtaactccag ggtgcGCCAC aatgtggcct	3000
ccgactgtgg ttgcttcatg cttagtaaaaa gcgtggctgt gattaagcat aacatggtat	3060
[0021] gtggcaactg cgaggacagg gcctctcaga tgctgacctg ctggacggc aactgtcacc	3120
tgctgaagac cattcacgta gccagccact ctcgcaaggc ctggccagtg tttgagcata	3180
acatactgac ccgctgttcc ttgcatttg gtaacaggag ggggggtttc ctaccttacc	3240
aatgcaattt gagtcacact aagatattgc ttgagcccga gagcatgtcc aaggtgaacc	3300
tgaacggggt gtttgacatg accatgaaga tctggaaggt gctgaggta gatgagaccc	3360
gcaccaggtg cagaccctgc gagtggtggcg gtaaacatata taggaaccag cctgtgatgc	3420
tggatgtgac cgaggagctg aggcccgatc acttggtgct ggcctgcacc cgcgctgagt	3480
ttggctctag cgatgaagat acagattgag gtactgaaat gtgtggcgt ggcttaaggg	3540
tggaaagaa tatataaggt ggggtctta ttagtttg tatctgtttt gcagcagccg	3600
ccggcccat gaggaccaac tcgttgatg gaaggattgt gagctcatat ttgacaacgc	3660
gcatcccccc atggccggg gtgcgtcaga atgtgatggg ctccagcatt gatggtcgcc	3720

ccgtcctgcc	cgcaaactct	actacccctga	cctacgagac	cgtgtctgga	acgccgttgg	3780	
agactgcagc	ctccggcc	gcttcagccg	ctgcagccac	cggccgcggg	atttgtactg	3840	
actttgcctt	cctgagcccg	cttgcaagca	gtgcagcttc	ccgttcatcc	gcccgcgatg	3900	
acaagttgac	ggctctttg	gcacaattgg	attctttgac	ccgggaactt	aatgtcgtt	3960	
ctcagcagct	gttggatctg	cggcagcagg	tttctgcctt	gaaggcttcc	tccctccca	4020	
atgcggtttta	aaacataaaat	aaaaaaccag	actctgtttt	gatttggatc	aagcaagtgt	4080	
cttgctgtct	ttattttaggg	gttttgcgcg	cgcggtaggc	cogggaccag	cggctcggt	4140	
cgtttaggggt	cctgtgtatt	ttttccagga	cgtggtaaag	gtgactctgg	atgttcagat	4200	
acatggccat	aagcccgct	ctggggtgga	ggtagcacca	ctgcagagct	tcatgctg	4260	
gggtgggtt	gtagatgatc	cagtcgtgc	aggagcgctg	ggcgtggtgc	ctaaaaatgt	4320	
ctttcagtag	caagctgatt	gccagggca	ggcccttgg	gtaagtgtt	acaaagcggt	4380	
[0022]	taagctggga	tgggtgcata	cgtgggata	ttagatgcat	cttggactgt	attttaggt	4440
	tggctatgtt	cccagccata	tccctccggg	gattcatgtt	gtcagaacc	accagcacag	4500
	tgtatccgg	gcacttggga	aatttgcatt	gtagcttaga	aggaaatg	cg tggaaact	4560
	tggagacgcc	cttgcaccc	ccaagattt	ccatgcattc	gtccataatg	atggcaatgg	4620
	gcccacgggc	ggcggcctgg	gcgaagatat	ttctggatc	actaacgtca	tagtgtt	4680
	ccaggatgag	atcgtcatag	gccatttta	caaagcgccg	gcggagggtg	ccagactg	4740
	gtataatgg	tccatccggc	ccagggcgt	agttaccctc	acagattgc	atttcccacg	4800
	ctttagttc	agatgggggg	atcatgtcta	cctgcggggc	gatgaagaaa	acggtttccg	4860
	ggtagggga	gatcagctgg	gaagaaagca	ggttcctgag	cagctgcgac	ttaccgcagc	4920
	cggtggcc	gtaaatcaca	cctattaccg	ggtgcaactg	gttagttaaga	gagctgcagc	4980
	tgcgtcatc	cctgagcagg	ggggccactt	cgttaagcat	gtccctgact	cgcatgttt	5040

ccctgaccaa atccgccaga aggcgctgcg cgcggcgcg tagcagttct tgcaagggaa	5100
caaagttttt caacggtttg agaccgtccg ccgtaggcat gctttgagc gtttggacaa	5160
gcagttccag gcggtccac agctcggtca cctgctctac ggcacatctcgat tccagcatat	5220
ctccctcgttt cgcgggttgg ggccggcttc gctgtacggc agtagtcggt gctcgccag	5280
acggggccagg gtcatgtctt tccacggcgc cagggtcctc gtcagcgtag tctgggtcac	5340
ggtaaggggg tgcgctccgg gctgcgcgt ggcgcagggtg cgcttggggc tggccctgct	5400
ggtgctgaag cgctgcccgtt cttcgccctg cgctcggtcc aggttagcatt tgaccatgg	5460
gtcatagtc agccctccg cggcgtggcc ctggcgcgc agcttgcctt tggaggaggc	5520
gccgcacgag gggcagtgcgactttttag ggcgttagagc ttggcgcga gaaataccga	5580
ttccggggag taggcattccg cgccgcaggc cccgcagacg gtctcgattt ccacgagcc	5640
ggtgagctct ggccgttcgg ggtcaaaaac cagggttccc ccatgctttt tgatgcgtt	5700
[0023] cttaacctctg gttccatga gcccgtgtcc acgctcggtg acgaaaaggc tgtccgtgtc	5760
cccgatataca gacttgagag gcctgtcctc gagcgggttt ccgcggccctt cctcgatag	5820
aaactcggac cactctgaga caaaggctcg cgtccaggcc agcacgaagg aggctaagt	5880
ggaggggttag cggtcggtgtt ccactagggg gtccactcgc tccagggtgt gaagacacat	5940
gtcgccctct tcggcatcaa ggaagggtat tgggtttagt gtgtaggcca cgtgaccggg	6000
tgtccctgaa gggggctat aaaagggggtt gggggcgcgt tcgtcctcac tctctccgc	6060
atcgctgtct gcgaggccca gctgttgggg ttagtactcc ctctgaaaag cggccatgac	6120
ttctgcgcta agattgtcag ttccaaaaa cgaggaggat ttgatattca cctggccgc	6180
ggtgatgcct ttgaggggtgg ccgcattccat ctggtcagaa aagacaatct ttttgggtc	6240
aagcttggtg gcaaacgacc cgttagaggc gtggacagc aacttggcga tggagcgcag	6300
ggtttggttt ttgtcgcat cggcgcgcctc ctggccgcg atgttttagct gcacgtattc	6360

gcgcgcacg caccgcatt cggaaagac ggtggcgc tcgtggca ccaggtgcac	6420
gcgccaaccg cggttgtca gggtgacaag gtcaacgctg gtggctacct ctccgcgtag	6480
gcgctcggt gtcaggcaga ggcggccgc cttgcgcag cagaatggcg gtaggggtc	6540
tagctgcgtc tcgtccggg ggtctgcgtc cacggtaaag accccggca gcaggcgcgc	6600
gtcgaagtag tctatcttc atccttgc aa gtctagcgcc tgctgccatg cgccggcg	6660
aagcgcgcgc tcgtatgggt tgagtgggg accccatggc atgggtggg tgagcgcgga	6720
ggcgtacatg ccgcaaatgt cgtaaacgta gagggctct ctgagtattt caagatatgt	6780
aggtagcat ctccaccgc ggtatgcgtgc ggcacgtaa tcgtatagtt cgtcgaggg	6840
agcgaggagg tcgggaccga ggttgctacg ggcggctgc tctgctgga agactatctg	6900
cctgaagatg gcatgtgagt tggatgatat ggttggacgc tggaaagacgt tgaagctggc	6960
gtctgtgaga cctaccgcgt cacgcacgaa ggaggcgtag gagtcgcgcgca gcttggac	7020
[0024] cagctcgccg gtgacctgca cgtctagggc gcagtagtcc agggttccct tggatgttc	7080
atacttatcc tgtcccttt tttccacag ctcgcgggtt aggacaaact cttcgccgtc	7140
tttccagttac tcttggatcg gaaaccgc ggcctccgaa cggtaagagc ctagcatgta	7200
gaactggttt acggcctggt aggccgacca tccctttt acggtagcgc cgtatgcctg	7260
cgcggccccc cggagcgagg tgtgggttag cgacaaagggtg tccctgacca tgacttttag	7320
gtactggat ttgaagtcag tgcgtcgca tccgcctgc tccctgacca aaaagtccgt	7380
gcgcgtttt gaaacgcggat ttggcaggc gaagggtgaca tcgttgaaga gtatcttcc	7440
cgcgcgaggc ataaaggatgc gtgtgtgcg gaagggtccc ggcacccggc aacgggttt	7500
aattacctgg gcccggcggc cgtatcggtc aaagccgtt atgttgcgc ccacaatgtt	7560
aagttccaag aagcgcggg tgccttgc ggaaggcaat ttttaagtt cctcgtaggt	7620
gagctcttca ggggagctga gcccgtgc tggaaaggcc cagtcgtcaa gatgagggtt	7680

ggaagcgacg aatgagctcc acaggtcacg ggccattagc atttgcaggt ggtcgcaaa	7740
ggtcctaaac tggcgaccta tggccatttt ttctgggtg atgcagtaga aggttaagcgg	7800
gtcttgttcc cagcggtccc atccaagggtt cgccggctagg tctcgccgg cagtcaactag	7860
aggctcatct ccgccgaact tcatgaccag catgaagggc acgagctgct tcccaaaggc	7920
ccccatccaa gtataaggctct ctacatcgta ggtgacaaag agacgctcgg tgcgaggatg	7980
cgagccgatc gggagaagaact ggatctcccg ccaccaattt gaggagtgcc tattgtatgt	8040
gtgaaagtag aagtccctgc gacggccgaa acactcgatc tggctttgt aaaaacgtgc	8100
gcagtactgg cagcggtgca cgggctgtac atcctgcacg aggttgacct gacgaccg	8160
cacaaggaag cagagtggaa atttggccc ctcgcctggc gggtttggct ggtggcttc	8220
tacttcggct gcttgcctt gaccgtctgg ctgctcgagg ggagttacgg tggatcggac	8280
caccaccccg cgcgagccca aagtccagat gtccgcgcgc ggcggtcgga gcttgcgtac	8340
[0025] aacatcgccg agatgggagc tgtccatggt ctggagctcc cgcggcgta ggtcaggcgg	8400
gagctcctgc aggttacccct cgcatacgacg ggtcaggcgc cgggctagat ccaggtgata	8460
cctaatttcc aggggctgg tggggccggc gtcgatggct tgcaagaggc cgcatcccc	8520
cggcgcgact acggtaccgc gcggccggcgt gttggccgcg ggggtgtcct tggatgatgc	8580
atctaaaagc ggtgacgcgg gcgcggccccc ggaggttaggg gggctccgg accccgggg	8640
agagggggca ggggcacgac ggcgcgcgc gcgggcagga gctggcgctg cgccgttagg	8700
ttgctggcga acgcgacgac gcggcggtt atctcctgaa tctggcgctt ctgcgtgaag	8760
acgacggcc cggtgagctt gagcctgaaa gagatcgac cagaatcaat ttgggtgtcg	8820
ttgacggcgg cctggcgaa aatctcctgc acgtctcctg agttgtctt ataggcgatc	8880
tcggccatga actgcgtcgat ctcttcctcc tggagatctc cgcgtccggc tcgctccacg	8940
gtggccggcga ggtcggttggaa atgcgggcc atgagctgcg agaaggcggtt gaggcctccc	9000

tcgttccaga cgccggctgta gaccacgccc ccttcggcat cgccggcgcatgaccacc	9060
tgcgcgagat tgagctccac gtgccggcg aagacggcgt agtttcgcag ggcgtgaaag	9120
aggtagttga ggggtggtggc ggtgtgttct gccacgaaga agtacataac ccagcgtcgc	9180
aacgtggatt cgttgatatac ccccaaggcc tcaaggcgct ccatggcctc gttagaagtcc	9240
acggcgaagt tgaaaaactg ggagttgcgc gccgacacgg ttaactcctc ctccagaaga	9300
cggatgagct cggcgacagt gtcgcgcacc tcgcgcctaa aggctacagg ggcctttct	9360
tcttcttcaa ttcctcttc cataaggcc tccccttctt cttttctgg cggcggtggg	9420
ggagggggga cacggcgccg acgacggcgcc accgggaggc ggtcgacaaa ggcgtcgatc	9480
atctccccgc ggccgacggcg catggtctcg gtgacggcgcc ggccgttctc gccccggcg	9540
agttggaaga cgccgcccgt catgtcccggtt ttaggggttgc gccccgggct gccatgcggc	9600
aggataacgg cgctaacgat gcatctcaac aattgttgtg taggtactcc gccgcccgg	9660
[0026] gacctgagcg agtccgcattt gaccggatcg gaaaacctct cgagaaaggc gtcttaaccag	9720
tcacagtcgc aaggtaggtt gggccgtt gccccggca gccccggcg gtcgggggttgc	9780
tttctggcg aggtgtgtt gatgtatgtt ttaaaggtagg cggtcttgc acggggatgt	9840
gtcgacagaa gcaccatgtc cttgggtccg gcctgctgaa tgcgcaggcg gtcggccatg	9900
ccccaggctt cgtttgaca tcggcgagg tctttgtat agtcttgcattt gggcccttct	9960
accggcactt cttcttctcc ttcccttgcgtt cctgcatttc ttgcatttat cgctggcg	10020
gccccggagt ttggccgtt gttggccctt cttcccccata tgcgtgttgc cccggccccc	10080
ctcatcggtt gaagcaggcc taggtcgccg acaacgcgtt cggctaatat ggcctgtgc	10140
acctgcgtt gggtagactt gaaatgcattt atgtccacaa agcggtggta tgcggccgttgc	10200
tttgcgttgcgtt aagtgcgtt gggccataacg gaccaggtaa cggtctgggtt accccggctgc	10260
gagagctcggtt tgtacctgtt acgcgagttt gcccctcgatg caaatatgtt gtcgttgcattt	10320

gtccgcacca ggtactggta tcccacccaaa aagtgcggcg gcggctggcg gtagagggc	10380	
cagcgtaggg tggccggggc tccggggcg agatcttcca acataaggcg atgatatccg	10440	
tagatgtacc tggacatcca ggtgatgccc gcggcggtgg tggaggcgcg cgaaagtgc	10500	
cggacgcggt tccagatgtt gcgcagcggc aaaaagtgtctt ccatggtcgg gacgccttgg	10560	
ccggtcaggc gcgcgcaatc gttgacgctc tagaccgtgc aaaaggagag cctgtaaagcg	10620	
ggcactcttc cgtggtctgg tggataaatt cgcaagggtta tcatggcgga cgaccgggt	10680	
tcgagccccg tatccggcccg tccgcgtga tccatgcggt taccgccccgc gtgtcgaacc	10740	
caggtgtgcg acgtcagaca acgggggagt gctccttttgc gtttccttcc aggccggcg	10800	
gctgctgcgc tagtttttggccactggc cgccgcgcgc gtaagcggtt aggctggaaa	10860	
gcgaaagcat taagtggctc gctccctgtt gccggagggt tattttccaa gggttgagtc	10920	
gcgggacccc cggttcgagt ctggaccgg ccggactgcg gcgaacgggg gtttgcctcc	10980	
[0027]	ccgtcatgca agaccccgct tgcaaattcc tccggaaaca gggacgagcc cttttttgc	11040
	ttttcccaga tgcattccggt gctgcccggat atgcgcggcc ctcctcagca gcccggcgg	11100
	caagagcagc ggcagacatg cagggcaccc tcccctcctc ctaccgcgtc aggagggg	11160
	acatccgcgg ttgacgcggc agcagatggt gattacgaac ccccgccggc ccggggccgg	11220
	cactacctgg acttggagga gggcgaggc ctggcgccgc taggagcgcc ctctcctgag	11280
	cggtaaaaaa gggtcgagct gaagcgtgat acgcgtgagg cgtacgtgcc gcggcagaac	11340
	ctgtttcgcg accgcgaggg agaggagccc gaggagatgc gggatcgaaa gttccacgc	11400
	ggcgccgagc tgccgcattgg cctgaatcgc gagcggttgc tgccgcgggaa ggactttgag	11460
	cccgacgcgc gaaccggat tagtccgcgc cgccacacgc tggcgccgc cgaccgtgtt	11520
	accgcatacg agcagacggt gaaccaggag attaacttcc aaaaagctt taacaaccac	11580
	gtgcgtacgc ttgtggcgcccg cgaggagggtg gctataggac tgatgcattt gtggacttt	11640

gtaagcgcgc tggagcaaaa cccaaatagc aagccgctca tggcgagct gttccttata	11700
gtcagcaca gcagggacaa cgaggcattc agggatgcgc tgctaaacat agtagagccc	11760
gagggccgct ggctgctcga tttgataaac atcctgcaga gcatagtggt gcaggagcgc	11820
agttgagcc tggctgacaa ggtggccgcc atcaactatt ccatgcttag cctggcaag	11880
tttacgccc gcaagatata ccataccct tacgttcca tagacaagga ggtaaagatc	11940
gaggggttct acatgcgcat ggctgtaag gtgcttacct tgagcgacga cctggcggtt	12000
tatcgcaacg agcgcatcca caaggccgtg agcgtgagcc ggcggcgca gctcagcgac	12060
cgcgagctga tgcacagcct gcaaaggcc ctggctggca cggcagcgg cgatagagag	12120
gccgagtcct acttgacgc gggcgctgac ctgcgttggg cccaaagccg acgcgcctg	12180
gaggcagctg gggccggacc tggctggcg gtggcacccg cgccgctgg caacgtcgcc	12240
ggcgtggagg aatatgacga ggacgatgag tacgagccag aggacggcga gtactaagcg	12300
[0028] gtatgtttc tgcacatgc atgcaagacg caacggaccc ggccgtgcgg gcggcgctgc	12360
agagccagcc gtccggccctt aactccacgg acgactggcg ccaggtcatg gaccgcata	12420
tgcgtgac tgcgcgcaat cctgacgcgt tcggcagca gccgcaggcc aaccggctct	12480
ccgcaattct ggaagcggtg gtccggcgcg gcgcaaacc cacgcacgag aaggtgctgg	12540
cgatcgtaaa cgcgctggcc gaaaacaggg ccatccggcc cgacgaggcc ggcctggct	12600
acgacgcgt gcttcagcgc gtggctcggtt acaacagcgg caacgtgcag accaacctgg	12660
accggctgggt gggggatgtg cgcgaggccg tggcgagcg tgagcgccg cagcagcagg	12720
gcaacctggg ctccatggtt gcactaaacg cttccctgag tacacagccc gccaacgtgc	12780
cgcggggaca ggaggactac accaactttg tgagcgact gcggctaatt gtgactgaga	12840
caccgcaaaag tgaggtgtac cagtctggc cagactattt tttccagacc agtagacaag	12900
gcctgcagac cgtaaacctg agccaggctt tcaaaaactt gcagggctg tgggggtgc	12960

gggctcccac	aggcgaccgc	gcgaccgtgt	ctagcttgc	gacgcccac	tcgcgcctgt	13020
tgcgtgtct	aatagcgccc	ttcacggaca	gtggcagcgt	gtccggac	acatacctag	13080
gtcacttgc	gacactgtac	cgcgaggcca	taggtcaggc	gcatgtggac	gagcatactt	13140
tccaggagat	tacaagtgtc	agccgcgcgc	tggggcagga	ggacacgggc	agcctggagg	13200
caaccctaaa	ctacctgctg	accaaccggc	ggcagaagat	cccctcggt	cacagttaa	13260
acagcgagga	ggagcgcatt	ttgcgcgtacg	tgcaagcagag	cgtgagccctt	aacctgatgc	13320
gcgacggggt	aacgcccagc	gtggcgctgg	acatgaccgc	gwgcaacatg	gaaccggca	13380
tgtatgcctc	aaaccggccg	tttatcaacc	gcctaattgg	ctacttgc	cgcgcggccg	13440
ccgtgaaccc	cgagtatttc	accaatgcca	tcttgaaccc	gcactggcta	ccgccccctg	13500
gtttctacac	cgggggattc	gagggtcccc	agggttaacga	tggattcctc	tggacgaca	13560
tagacgacag	cgtgttttcc	ccgcaaccgc	agaccctgt	agagttgcaa	cagcgcgagc	13620
[0029]	aggcagaggc	ggcgctgcga	aaggaaagct	tccgcaggcc	aagcagcttg	tccgatctag
gcgcgtcgcc	cccgccgtca	gatgctagta	gcccatattcc	aagcttgcata	gggtctctta	13740
ccagcactcg	caccacccgc	ccgcgcctgc	tggcgagga	ggagttaccta	aacaactcgc	13800
tgctgcagcc	gcagcgcgaa	aaaaacctgc	ctccggcatt	tcccaacaac	gggatagaga	13860
gcctagtgg	caagatgagt	agatggaaga	cgtacgcgca	ggagcacagg	gacgtgccag	13920
gcccgcgccc	gcccacccgt	cgtcaaaggc	acgaccgtca	gcggggctcg	gtgtggagg	13980
acgatgactc	ggcagacgac	agcagcgtcc	tggatttgg	agggagtgcc	aaccctttg	14040
cgcacccctcg	ccccaggctg	gggagaatgt	tttaaaaaaa	aaaaagcatg	atgcaaaata	14100
aaaaactcac	caaggccatg	gcaccgagcg	ttggtttct	tgtattcccc	ttagtatgcg	14160
gcgcgcggcg	atgtatgagg	aaggctctcc	tccctcctac	gagagtgtgg	tgagcgcggc	14220
gccagtggcg	gcggcgctgg	gttctccctt	cgatgctccc	ctggacccgc	cgtttgcc	14280

tccgcgtac ctgcggccta cggggggag aaacagcatc cgtaactctg agttggcacc	14340
cctattcgac accacccgtg tgtacctggt ggacaacaag tcaacggatg tggcatccct	14400
gaactaccag aacgaccaca gcaactttct gaccacggc attcaaaaaca atgactacag	14460
cccgaaaaag gcaaggcacac agaccatcaa tcttgacgac cggtcgcaact gggcggcga	14520
cctgaaaaacc atcctgcata ccaacatgcc aaatgtgaac gagttcatgt ttaccaataa	14580
gtttaaggcg cgggtgatgg tgtcgcgctt gcctactaag gacaatcagg tggagctgaa	14640
atacgagtgg gtggagttca cgctgcccga gggcaactac tccgagacca tgaccataga	14700
ccttatgaac aacgcgatcg tggagcacta ctgaaagtg ggcagacaga acggggttct	14760
ggaaagcgcac atcggggtaa agttgacac ccgcaacttc agactgggt ttgaccgggt	14820
cactggtctt gtcatgcctg gggtatatac aaacgaagcc ttccatccag acatcatttt	14880
gctgccagga tgcgggtgg acttcaccca cagccgcctg agcaacttgt tggcatccg	14940
[0030] caagcggcaa cccttcagg agggcttag gatcacctac gatgatctgg agggtgtaa	15000
cattccgcac ctgttggatg tggacgccta ccaggcgcgc ttgaaagatg acaccgaaca	15060
ggcgccccgtt ggcgcaggcg gcagcaacag cagtggcagc ggccgcggaa agaactccaa	15120
cgcggcagcc gcggcaatgc agccggtgga ggacatgaac gatcatgccca ttgcggcga	15180
caccttgcac acacgggtg aggagaagcg cgctgaggcc gaagcagcgg ccgaagctgc	15240
cgcccccgct gcgcaccccg aggtcgagaa gcctcagaag aaaccggtaa tcaaaccct	15300
gacagaggac agcaagaaac gcagttacaa cctaataagc aatgacagca ctttcaccca	15360
gtaccgcagc tggtaccttg catacaacta cggcgaccct cagaccggaa tccgctcatg	15420
gaccctgctt tgcactcctg acgttaacctg cggctcgag caggtctact ggtcggttgc	15480
agacatgatg caagaccccg tgaccttcgg ctccacgcgc cagatcagca actttccgg	15540
ggtggcgcgc gagctgttgc ccgtgcactc caagagcttc tacaacgacc agggcgctta	15600

	ctcccaactc atccgccagt ttacctctc gaccacgtg ttcaatcgct ttcccgagaa	15660
	ccagatttg gcgcgcccgc cagcccccac catcaccacc gtcaagtaaaa acgttccctgc	15720
	tctcacagat cacgggacgc taccgctgcg caacagcatc ggaggagatcc agcgagtgac	15780
	cattactgac gccagacgcc gcacctgccc ctacgtttac aaggccctgg gcatagtctc	15840
	gccgcgcgtc ctatcgagcc gcacttttg agcaaggatc tccatcctta tatcgcccag	15900
	caataacaca ggctggggcc tgcgcttccc aagcaagatg tttggcgggg ccaagaagcg	15960
	ctccgaccaa caccaggatgc gcgtgcgcgg gcactaccgc gcccctggg ggcgcacaa	16020
	acgcggccgc actggcgca ccaccgtcga tgacgcattc gacgcgggtgg tggaggaggc	16080
	gcgcaactac acgccccacgc cgccaccagggt gtccacagtg gacgcggcca ttcagaccgt	16140
	ggtgcgccgaa gcccggcgct atgctaaaat gaagagacgg cggaggcgcg tagcacgtcg	16200
	ccaccggccgc cgaccggca ctgcccggca acgcgcggcg gcccctgc ttaaccgcgc	16260
[0031]	acgtcgccacc ggccgacggg cggccatgcg ggccgctcga aggctggccg cgggtattgt	16320
	cactgtgccc cccaggtcca ggacgcgacgc ggccgcgcga gcagccgcgg ccattagtgc	16380
	tatgactcag ggtcgccagg gcaacgtgta ttgggtgcgc gactcggtta gcccctgcg	16440
	cgtccccgtc cgccacccgc ccccgcgcaaa ctagattgca agaaaaaaact acttagactc	16500
	gtactgttgt atgtatccag cggccggcgcc ggcacacgaa gctatgtcca agcgcaaaat	16560
	caaagaagag atgctccagg tcatcgccgc ggagatctat ggccccccga agaaggaaga	16620
	gcaggattac aagccccgaa agctaaagcg ggtcaaaaag aaaaagaaaag atgatgtga	16680
	tgaacttgac gacgaggatgg aactgctgca cgctaccgcg cccaggcgac ggttacagtg	16740
	gaaaggatcgca cgctaaaaac gtgtttgcg accccggcacc accgtatgtct ttacgcccgg	16800
	tgagcgctcc acccgcacct acaagcgctgtatgtatgag gtgtacggcg acgaggacct	16860
	gcttgagcag gccaacgagc gcctcgggga gtttgctac ggaaagcgac ataaggacat	16920

gctggcggttgcgcgtggacaggcaacccaacacccatgtctaaagccctaaacactgca	16980
gcaggtgctgcgcgttgcaccgtccgaaagaaaagcgcggcctaaagcgcgagtcgtgg	17040
tgacttggcacccacccgtgcagctgtatggatcccaagcgcgcagactggaaagatgttt	17100
ggaaaaaaatgaccgtggAACctgggtggaaGCCGAGGTCcgcgtgcggcaatcaagca	17160
ggtggcgccggactggcggtgcagaccgtggacgttcagataccactaaccgtac	17220
cagtattgccaccgcacagaggcatggaaacacaaacgtcccggtgcctcagcggt	17280
ggcggatgccgcgggtgcaggcggtcgctgcggcgtccaaagacctatacgaggtgca	17340
aacggacccgtggatgtttcgcgttcagcccccggcgcgcggttgcgagaaatgt	17400
cggcgccgcccgcgtacggccaaatatgtccctacatcattccattgcgcctacccc	17460
cggctatcggtgttacacctaccgcggcaggaaagacgagcaactaccgcgcgaccac	17520
cactggaaaccgcgcggccgtcgccgggtgtccagccgtgtttccgtgcgttccgtgc	17580
[0032]cagggtggctcgcaaggaggcaggaccctgtgtgtgcacgcgcgttaccacccag	17640
catcgtttaaaagccggctttgtgtgttctgtcagatatggccctcacctgcgcctccg	17700
tttccgggtgcgggattccgagaaatgcaccgttagggggcatggccggcacgg	17760
cctgacgggcggcatgcgtcgtgcaccaccggcggcggcgcgcgtcgcaccgtcgcat	17820
gcgcggcggtatcctggcccctccttattccactgtatgcgcgcgttgcgcgtgc	17880
cggaaattgcatacggtggcttgcaggcgcaagacactgtataaaaacaaatgtgt	17940
aaaaaatcaaaataaaaaatgtggactctcgcgtcgctttgttgcgttgcgttgcgttgc	18000
aatggaaagaatcaactttgcgtctctggccccgcgacaaggctcgccgcgttgcgttgc	18060
gaaactggcaagatatcgaccaggcaataatggcggtggccgttcagctggcgtcgc	18120
tgtggagcggcattaaaaatttcggttccacgttaagaaatgtggcagcaaggcgtgg	18180
acagcagcacaggccagatgtgtggatgttgcgttgcgttgcgttgcgttgcgttgc	18240

tgtagatgg cctggcctct ggcattagcg gggtggtgga cctggccaac caggcagtgc	18300
aaaataagat taacagtaag cttgatcccc gccctccgt agaggagcct ccaccggccg	18360
tggagacagt gtctccagag gggcgtggcg aaaagcgcc gcgccccgac aggaaagaaa	18420
ctctggtgac gcaaataagac gagcctccct cgtacgagga ggcactaaag caaggcctgc	18480
ccaccacccg tcccatcgcg cccatggcta ccggagtgt gggccagcac acacccgtaa	18540
cgctggacct gcctcccccc gccgacaccc agcagaaacc tgtgctgcca ggcccgaccg	18600
ccgttgttgc aaccgtcct agccgcgt ccctgcgccc cgccgcccagc ggtccgcgtat	18660
cgttgcggcc ctagccagt ggcaactggc aaagcacact gaacagcatc gtgggtctgg	18720
gggtgcaatc cctgaagcgc cgacgatgt tctgaatagc taacgtgtcg tatgtgtgtc	18780
atgtatgcgt ccatgtcgcc gccagaggag ctgctgagcc gccgcgcgc cgctttccaa	18840
[0033] gatggctacc ctttcgtatga tgccgcagtgt gtcttacatg cacatctcg gccaggacgc	18900
ctcgaggatc ctgagccccc ggctggtgca gtttgcgcgc gcccacgaga cgtacttcag	18960
cctgaataac aagtttagaa accccacggt ggcgcctacg cacgacgtga ccacagaccg	19020
gtcccagcgt ttgacgctgc ggttcatccc tgtggaccgt gaggatactg cgtactcgta	19080
caaggcgcgg ttccacctat ctgtgggtga taaccgtgtg ctggacatgg cttccacgtat	19140
ctttgacatc cgcggcgtgc tggacagggg ccctacttt aagccctact ctggcactgc	19200
ctacaacgcc ctggctccca agggtgcccc aaatcctgc gaatggatg aagctgctac	19260
tgctcttgcata ataaacctat aagaagagga cgtacgtatc acgtacgtatc tagacgagca	19320
agctgagcag caaaaaactc acgtatgg gcaggcgct tattctggta taaatattac	19380
aaaggagggt attcaaataat gtgtcgaagg tcaaacaccc aaatatgccg ataaaacatt	19440
tcaacactgaa cctcaaataat gagaatctca gtggtagaa actgaaatata atcatgcagc	19500
tgggagatc cttaaaaaga ctacccaaat gaaaccatgt tacggatcat atgcaaaacc	19560

cacaaatgaa aatggagggc aaggcattct tgtaaagcaa caaaatggaa agctagaaaag	19620
tcaagtggaa atgcaatttt tctcaactac tgaggcgacc gcaggcaatg gtgataactt	19680
gactcctaaa gtggtattgt acagtgaaga tgttagatata gaaaccccag acactcatat	19740
ttcttacatg cccactattt aggaaggtaa ctcacgagaa ctaatggcc aacaatctat	19800
gcccaacagg cctaattaca ttgcttttag ggacaatttt attggtctaa tgtattacaa	19860
cagcacgggt aatatgggt ttctggcggt ccaagcatcg cagttgaatg ctgttgtaga	19920
tttgcagac agaaacacag agctttcata ccagctttt ctgttgcattt ttgggtatag	19980
aaccaggta ctttctatgt ggaatcaggc ttttgcacgc tatgtatccag atgttagaat	20040
tattgaaaat catggaactg aagatgaact tccaaattac tgcttccac tgggagggtgt	20100
gattaataca gagactctt ccaaggtaaa acctaaaaca ggtcaggaaa atggatggga	20160
aaaagatgct acagaatttt cagataaaaa tggaaataaga gttggaaata atttgccat	20220
[0034] gaaaatcaat ctaaatgcca acctgtggag aaatttcctg tactccaaca tagcgctgta	20280
tttgcggac aagctaaagt acagtccttc caacgtaaaa atttctgata acccaaacac	20340
ctacgactac atgaacaagc gagtgggtgc tccgggtta gtggactgct acattaacct	20400
tggagcacgc tggcccttg actatatgga caacgtcaac ccatttaacc accaccgcaa	20460
tgctggcctg cgctaccgct caatgttgc gggcaatggt cgctatgtgc cttccacat	20520
ccaggtgcct cagaagttct ttgcattaa aaacccctt ctcctggcg gtcatacacac	20580
ctacgagtgg aacttcagga aggatgttaa catggttctg cagagctccc taggaaatga	20640
cctaagggtt gacggagcca gcattaagtt tgatagcatt tgccttacg ccacccctt	20700
ccccatggcc cacaacacccg cctccacgct tgaggccatg cttagaaacg acaccaacga	20760
ccagtcctt aacgactatc tctccggcgc caacatgctc taccctatac ccgccaacgc	20820
taccaacgtg cccatatacca tccctcccg caactggcgc gctttccgcg gctggccctt	20880

cacgcgcctt aagactaagg aaaccccatc actgggctcg ggctacgacc cttattacac	20940
ctactctggc tctataccct acctagatgg aacctttac ctcaccaca ccttaagaa	21000
ggtggccatt accttgact cttctgtcag ctggcctggc aatgaccgcc tgcttacccc	21060
caacgagttt gaaattaagc gctcagttga cggggagggt tacaacgttg cccagtgtaa	21120
catgaccaaaaa gactggttcc tggtacaaat gctagctaac tacaacattg gctaccaggg	21180
cttctatatac ccagagagct acaaggaccg catgtactcc ttcttagaa acttccagcc	21240
catgagccgt caggtggtgg atgatactaa atacaaggac taccaacagg tggcattcct	21300
acaccaacac aacaactctg gatttggtgg ctaccttgcc cccaccatgc gcgaaggaca	21360
ggcctaccct gctaacttcc cctatccgct tataggcaag accgcagttg acagcattac	21420
ccagaaaaag ttctttgcg atgcaccct ttggcgcate ccattctcca gtaactttat	21480
gtccatggc gcactcacag acctggcca aaaccttctc tacgccaact cggccacgc	21540
[0035] gctagacatg acttttgagg tggatccat ggacgagccc accttcttt atgtttgtt	21600
tgaagtcttt gacgtggtcc gtgtgcaccg gccgcaccgc ggcgtcatcg aaaccgtgt	21660
cctgcccacg cccttcctgg cggcaacgc cacaacataa agaagcaagc aacatcaaca	21720
acagctgccc ccatgggctc cagtgaggcag gaactgaaag ccattgtcaa agatcttggt	21780
tgtggccat atttttggg cacctatgac aagcgcttc caggcttgc ttctccacac	21840
aagctcgctt gcgcatagt caatacgcc ggtcgcgaga ctggggcgat acactggatg	21900
gcctttgcct ggaacccgca ctcaaaaaca tgctacctct ttgagccctt tggctttct	21960
gaccagcgac tcaaggcagg ttaccaggaa gagtacgagt cactcctgct ccgtacgccc	22020
attgcttctt ccccgaccg ctgtataacg ctggaaaagt ccacccaaag cgtacagggg	22080
cccaactcgg ccgcctgtgg actattctgc tgcattgttc tccacgcctt tgccaaactgg	22140
ccccaaactc ccatggatca caacccacc atgaacctta ttaccggggt acccaactcc	22200

atgctcaaca gtccccaggt acagcccacc ctgcgtcgca accaggaaca gctctacagc	22260
ttcctggagc gccactcgcc ctacttccgc agccacagtgcgcagatttag gagcgccact	22320
tcttttgtc acttgaaaaa catgtaaaaa taatgtacta gagacacttt caataaaggc	22380
aaatgctttt atttgtacac tctcgggtga ttatccacc ccacccttgc cgtctgcgc	22440
gtttaaaaat caaaggggtt ctgcccgcga tcgctatgcg ccactggcag ggacacgtt	22500
cgatactggt gtttagtgct ccacttaaac tcaggcaca ccatccgcgg cagctcggt	22560
aagttttcac tccacaggct gcgcaccatc accaacgcgt ttagcaggc gggcccgat	22620
atcttgaagt cgcagttggg gcctccgccc tgcgcgcgcg agttgcgata cacagggtt	22680
cagcactgga acactatcag cgccgggtgg tgcacgctgg ccagcacgct cttgtcggag	22740
atcagatccg cgtccaggc ctccgcgttgc ttcaggcga acggagtcaa ctttggtagc	22800
tgccctccca aaaagggcgcgttgc tttgagttgc actcgcaccg tagtggcatc	22860
[0036] aaaaggtgac cgtccccgttgc ctggcgta ggatacagcg cctgcataaa agccttgatc	22920
tgcttaaaag ccacctgagc ctttgcgcct tcagagaaga acatgccgcga agacttgcgc	22980
gaaaactgat tggccggaca ggccgcgtcg tgcacgcagc accttgcgtc ggtgtggag	23040
atctgcacca catttcggcc ccaccggttc ttacgatct tggccttgc agactgctcc	23100
ttcagcgcgc gctgcccgtt ttgcgtcgac acatccattt caatcacgtc ctccttattt	23160
atcataatgc ttccgtgtac acacttaagc tcgccttcga tctcagcgca gcgggtgcagc	23220
cacaacgcgc agcccggtgg ctcgtatgc ttgttaggtca cctctgcaaa cgactgcagg	23280
tacgcctgca ggaatcgcccc catcatcgac acaaagggtct tggcgtggta gaaggtcagc	23340
tgcaaccgc ggtgctcctc gttcagccag gtctgcata cggccgcac agcttccact	23400
tggcaggca gtagttgaa gttcgccttt agatcgatcc acacgtggta cttgtccatc	23460
agcgcgcgcg cagccctccat gcccttcacc cacgcagaca cgatggcac actcagcggg	23520

ttcatcaccg taatttcaact ttccgcttcg ctgggctt cctttccctc ttgcgtccgc	23580
ataccacgctt ccactgggtc gtcttcattc agccggccca ctgtgcgcctt acctcccttg	23640
ccatgcttga ttagcacccgg tgggttgctg aaacccacca tttgtagcgc cacatcttct	23700
cttcttcctt cgctgtccac gattacctct ggtgtatggcg ggcgctcggg cttgggagaa	23760
ggcgcttctt ttttcttctt gggcgcaatg gccaaatccg ccggcgaggt cgatggccgc	23820
gggctgggtg tgccggcac cagcgcgtct tgtgtatgagt ctccctcgct ctcggactcg	23880
atacgccgcc tcatccgctt ttttggggc gcccggggag gccggcgccga cggggacggg	23940
gacgacacgt cctccatggt tggggacgt cgccggcac cgcgtcccgct ctcgggggtg	24000
gttcgcgct gtcctcttc ccgactggcc atttccttctt cctataggca gaaaaagatc	24060
atggagtcag tcgagaagaa ggacagccta accggccctt ctgagttcgc caccaccgc	24120
tccaccgatg ccgccaacgc gcctaccacc ttccccgtcg aggcacccccc gcttggaggag	24180
[0037] gaggaagtga ttatcgagca ggaccaggt tttgtaaagcg aagacgacga ggaccgctca	24240
gtaccaacag aggataaaaaa gcaagaccag gacaacgcag aggcaaacga ggaacaagtc	24300
ggcggggggg acgaaaggca tggcgactac cttagatgtgg gagacgacgt gctgtgaag	24360
catctgcagc gccagtgcgc cattatctgc gacgcgttgc aagagcgcag cgatgtgccc	24420
ctcgccatag cggatgtcag cttgcctac gaacgccacc tatttcacc gcgcgtaccc	24480
cccaaacgcc aagaaaacgg cacatgcgag cccaaacccgc gcctcaactt ctacccgta	24540
tttgcgtgc cagagggtgt tgccacctat cacatctttt tccaaaactg caagataccc	24600
ctatcctgcc gtgccaacccg cagccgagcg gacaaggcgc tggccttgcg gcagggcgct	24660
gtcataacctg atatgcctc gctcaacgaa gtgccaaaaaa tctttgaggg tcttggacgc	24720
gacgagaagc ggcggccaaa cgctctgcaa cagggaaaaca gcgaaaatga aagtcaactt	24780
ggagtgttgg tggaaactcga gggtgacaac ggcgccttag ccgtactaaa acgcagcatc	24840

gaggtcaccc actttgccta cccggcactt aacctacccc ccaaggtcat gagcacagtc	24900	
atgagtgagc ttagtgcgtcgcccgatggatggaaa ttggcaagaa	24960	
caaacagagg agggcctacc cgcaggttggc gacgagcagc tagcgcgtg gcttcaaacg	25020	
cgcgagcctg ccgacttgga ggagcgacgc aaactaatga tggccgcagt gtcgttacc	25080	
gtggagctt agtgcgttgc gcggttctt gctgacccgg agatgcagcg caagcttagag	25140	
gaaacattgc actacaccctt tcgacagggc tacgtacgcc aggcctgcaa gatctccaac	25200	
gtggagctct gcaaccctggt ctccctacctt ggaattttgc acgaaaacccg ctttggccaa	25260	
aacgtgcttc attccacgct caagggcgag ggcgcgcgcg actacgtccg cgactgcgtt	25320	
tacttatttc tatgctacac ctggcagacg gccatggcgtt tttggcagca gtgcttggag	25380	
gagtgcaacc tcaaggagct gcagaaaactg ctaaagcaaa acttgaagga cctatggacg	25440	
gccttcaacg agcgctccgt ggccgcgcac ctggcggaca tcattttccc cgaacgcctg	25500	
[0038]	ctaaaaaccc tgcaacagggtt tctgccagac ttaccaggatc aaagcatgtt gcagaacttt	25560
	aggaacttta tccttagagcg ctcaggaatc ttggccgcca cctgctgtgc acttcctagc	25620
	gactttgtgc ccattaagta cccgcaatgc cctccgcgc tttggggccca ctgctacctt	25680
	ctgcagctag ccaactaccc tgcctaccac tctgacataa tggaagacgt gagcggtgac	25740
	ggtctactgg agtgcactg tcgctgcaac ctatgcaccc cgccacgcgc cctggttgc	25800
	aatttcgcgc tgcttaacga aagtcaaatt atcggtacct ttgagctgca gggccctcg	25860
	cctgacgaaa agtccgcggc tccgggttg aaactcactc cggggctgtg gacgtcggct	25920
	taccccgca aatttgcgtt tgaggactac cacgcccacg agattagtt ctacgaagac	25980
	caatcccgcc cgccaaatgc ggagcttacc gcctgcgtca ttaccaggcc acatttttcc	26040
	ggccaaattgc aagccatcaa caaagcccgc caagagtttgc tgctacgaaa gggacgggggg	26100
	gtttacttgg acccccagtc cggcgaggag ctcaacccaa tccccccgc gccgcagccc	26160

tatcagcagc agccgcggc ccttgcttcc caggatggca cccaaaaaga agctgcagct	26220
gccggcgcca cccacggacg aggaggaata ctgggacagt caggcagagg aggttttgg	26280
cgaggaggag gaggacatga tggaagactg ggagagccta gacgaggaag cttccgaggt	26340
cgaagaggtg tcagacgaaa caccgtcacc ctcggtcga ttcccctcgc cggcgcccc	26400
gaaatcgca acccggttcca gcatggctac aacctccgct cctcaggcgc cgccggcact	26460
gcccggttcgc cgacccaacc gtagatggga caccactgga accagggccg gtaagtccaa	26520
gcagccgccc cggttagccc aagagcaaca acagcgccaa ggctaccgct catggcgccg	26580
gcacaagaac gccatagttg cttgcttgc aagactgtggg ggcaacatct cttcgcccc	26640
ccgctttctt ctctaccatc acggcgtggc cttcccccgt aacatcctgc attactaccg	26700
tcatctctac agccataact gcaccggcgg cagcggcagc ggcagcaaca gcagcgccca	26760
cacagaagca aaggcgaccg gatagaaga ctctgacaaa gcccaagaaaa tccacagcgg	26820
[0039]	
cggcagcagc aggaggagga ggcgtcgct tggcgccaa cgaacccgta tcgaccgcg	26880
agcttagaaaa caggattttt cccactctgt atgctatatt tcaacagagc aggggccaag	26940
aacaagagct gaaaataaaa aacaggtctc tgcgatccct cacccgcagc tgcctgtatc	27000
acaaaaagcga agatcagctt cggcgacgc tggaaagacgc ggaggctctc ttcatgaaat	27060
actgcgcgct gactcttaag gactagttc ggcgccttc tcaaattaa gcgcgaaaac	27120
tacgtcatct ccagcggcca cacccggcgc cagcacctgt cgtcagcgcc attatgagca	27180
aggaaaattcc cacggccctac atgtggagtt accagccaca aatgggactt gggctggag	27240
ctggccaaaga ctactcaacc cgaataaact acatgagcgc gggacccac atgatatccc	27300
gggtcaacgg aatccgcgcc caccgaaacc gaattctttt ggaacaggcg gctattacca	27360
ccacacctcg taataaacctt aatccccgtt gttggccgc tgccctgggt taccaggaaa	27420
gtccccgtcc caccactgtg gtacttccca gagacgccc ggcgaagtt cagatgacta	27480

actcagggc gcagcttgcg ggccgtttc gtcacagggt gcggtcgccc gggcaggta	27540
taactcacct gacaatcaga gggcgaggta ttcaagctaa cgacgagtcg gtgagctct	27600
cgcttggtct ccgtccggac gggacatttc agatcggcgg cgccggccgt cttcattca	27660
cgccctcgta ggcaatccta actctgcaga cctcgtcctc tgagccgcgc tctggaggca	27720
ttggaactct gcaatttatt gaggagttt tgccatcggt ctacttaac cccttcgg	27780
gacctcccg gcaactatccg gatcaattta ttccctaactt tgacgcggta aaggactcgg	27840
cggacggcta cgactgaatg ttaagtggag aggagagca actgcgcctg aaacacctgg	27900
tccactgtcg ccgccacaag tgcttgccc gcgactccgg tgagtttgc tacttgaat	27960
tgcccggagga tcatatcgag ggccggcgc acggcgtccg gcttaccgcc cagggagagc	28020
ttgcccgtag cctgattcgg gagtttaccc agcgccccc gctagtttag cgggacaggg	28080
[0040] gaccctgtgt tctcaactgtg atttgcaact gtcctaacct tggattacat caagatctt	28140
gttgccatct ctgtgcttag tataataaaat acagaaatta aaatatactg gggctctat	28200
cggccatcctg taaacgccac cgtcttcacc cgcccaagca aaccaaggcg aaccttacct	28260
ggtactttta acatctctcc ctctgtgatt tacaacagtt tcaacccaga cggagttagt	28320
ctacgagaga acctctccga gtcagctac tccatcagaa aaaacaccac cctccattacc	28380
tgccggaaac gtacgagtgc gtcaccggcc gctgcaccac acctaccgcc tgaccgtaaa	28440
ccagactttt tccggacaga cctcaataac tctgtttacc agaacaggag gtgagcttag	28500
aaaaccctta gggatttagg ccaaaggcg agctactgtg gggttatga acaattcaag	28560
caactctacg ggctattcta attcaggttt ctctagaatc ggggttgggg ttattctcg	28620
tcttggatt ctcttatttc ttatactaac gcttctctgc ctaaggctcg ccgcctgctg	28680
tgtgcacatt tgcattttt gtcagcttt taaacgctgg ggtcgccacc caagatgatt	28740
aggtacataa tccttaggttt actcaccctt gcgtcagccc acggtaccac caaaaaggta	28800

[0041]	gattttaagg agccagcctg taatgttaca ttcgcagctg aagctaata gtcgaccact	28860
	cttataaaat gcaccacaga acatgaaaag ctgcttattc gccacaaaaa caaaaattggc	28920
	aagtatgctg tttatgctat ttggcagcca ggtgacacta cagagtataa tgttacagtt	28980
	ttccagggtta aaagtctaaa aactttatg tatactttc cattttatga aatgtgcgac	29040
	attaccatgt acatgagcaa acagtataag ttgtggcccc cacaaaattg tgtggaaaac	29100
	actggcactt tctgctgcac tgctatgcta attacagtgc tcgccttggt ctgtacccta	29160
	ctctatatta aatacAAAAG cagacgcagc tttattgagg aaaagaaaat gccttaattt	29220
	actaagttac aaagctaata gtcaccactaa ctgcttact cgctgcttgc aaaacaaatt	29280
	caaaaagtta gcattataat tagaatagga tttaaacccc ccggtcattt cctgctcaat	29340
	accattcccc tgaacaattt actctatgtg ggatatgctc cagcgctaca accttgaagt	29400
	caggcttcct ggatgtcagc atctgacttt ggccagcacc tgtcccgccg atttgttcca	29460
	gtccaaactac agcgacccac cctaacagag atgaccaaca caaccaacgc ggccgcccgt	29520
	accggactta catctaccac aaatacacccc caagtttctg ctttgcataa taactgggat	29580
	aacttggca tgtgggggtt ctccatagcg cttatgttt tatgccttat tattatgtgg	29640
	ctcatctgct gcctaaagcg caaacgcgcc cgaccaccca tctatagtcc catcattgt	29700
	ctacacccaa acaatgtgg aatccataga ttggacggac taaaacacat gttctttct	29760
	cttacagtt gattaaatga gacatgattc ctgcgtttt tatattactg acccttgg	29820
	cgcttttttgcgtgtcc acattggctg cggtttctca catcgaaatg gactgcattc	29880
	cagccttcac agtctatgg cttaacggat ttgtcaccct cacgctcatc tgcagcctca	29940
	tcactgtggt catcgccctt atccagtgca ttgactgggt ctgtgtgcgc ttgcataatc	30000
	tcagacacca tccccagttac agggacagga ctatagctga gcttcttgcattttaat	30060
	tatggaaattt actgtgactt ttctgctgat tatttgcacc ctatctgcgt tttgttcccc	30120

gacctccaag cctcaaagac atatatcatg cagattcaact cgtatatgga atattccaag	30180
ttgctacaat gaaaaaaagcg atcttccga agcctggta tatgcaatca tctctgttat	30240
ggtgttctgc agtaccatct tagcccttagc tatatatccc taccttgaca ttggctggaa	30300
acgaatagat gccatgaacc acccaacttt ccccgcccc gctatgctc cactgcaaca	30360
agttgttgcc ggcggcttg tcccagccaa tcagcctcgc cccacttctc ccaccccac	30420
tgaaatcagc tacttaatc taacaggagg agatgactga caccctagat ctagaaatgg	30480
acggaattat tacagagcag cgcctgctag aaagacgcag ggcagcggcc gagcaacagc	30540
gcatgaatca agagctccaa gacatggta acttgcacca gtgcaaaagg ggtatcttt	30600
gtctggtaaa gcaggccaaa gtcacctacg acagtaatac caccggacac cgcccttagct	30660
acaagttgcc aaccaagcgt cagaaattgg tggcatggt gggagaaaag cccattacca	30720
taactcagca ctggtagaa accgaaggct gcattcaactc accttgtcaa ggacctgagg	30780
[0042] atctctgcac ctttattaag accctgtcg gtctcaaaga tcttattccc tttaactaat	30840
aaaaaaaaat aataaagcat cacttactta aaatcagttt gcaaatttct gtccagttt	30900
ttcagcagca ctccttgcc ctcccccag ctctggattt gcagcttctt cttggctgca	30960
aactttctcc acaatctaaa tggaatgtca gttcctctt gttcctgtcc atccgcaccc	31020
actatctca tgggttgca gatgaagcgc gcaagaccgt ctgaagatac cttcaacccc	31080
gtgtatccat atgacacgga aaccggctt ccaactgtgc ctttttttac tcctcccttt	31140
gtatccccca atgggtttca agagagtccc cctgggtac tctcttgcg cctatccgaa	31200
cctctagtttta ctcctaatgg catgcttgcg ctcaaaatgg gcaacggcct ctctctggac	31260
gaggccggca actttaccc ccaaaatgtt accactgtga gcccacctct caaaaaaacc	31320
aagtcaaaca taaacctgga aatatctgca cccctcacag ttacctcaga agccctaact	31380
gtggctgccc ccgcacccctt aatggtcgcg ggcaacacac tcaccatgca atcacaggcc	31440

ccgctaacgg	tgcacgactc	caaacttagc	attgccaccc	aaggaccct	cacagtgtca	31500	
gaaggaaagc	tagccctgca	aacatcaggc	cccctcacca	ccaccgatag	cagtaccctt	31560	
actatcactg	cctcaccccc	tctaactact	gccactggta	gcttggcat	tgacttgaaa	31620	
gagcccattt	atacacaaaa	tggaaaacta	ggactaaagt	acggggctcc	tttgcatgt	31680	
acagacgacc	taaacacttt	gaccgttagca	actggtccag	gtgtgactat	taataaact	31740	
tccttgcaaa	ctaaagttac	tggagccttg	ggttttgatt	cacaaggcaa	tatgcaactt	31800	
aatgttagcag	gaggactaag	gattgattct	caaaacagac	gccttatact	tgatgttagt	31860	
tatccgtttg	atgctcaaaa	ccaactaaat	ctaagactag	gacagggccc	tcttttata	31920	
aactcagccc	acaacttgga	tattaactac	aacaaaggcc	tttacttgtt	tacagcttca	31980	
aacaattcca	aaaagcttga	ggtaaaccta	agcactgcc	aggggttgat	gtttgacgct	32040	
acagccatag	ccattaatgc	aggagatggg	cttgaatttg	gttcaccta	tgcaccaaac	32100	
[0043]	acaaatcccc	tcaaaacaaa	aattggccat	ggcctagaat	ttgattcaaa	caaggctatg	32160
	gttcctaaac	taggaactgg	ccttagttt	gacagcacag	gtgccattac	agttaggaaac	32220
	aaaaataatg	ataagctaac	tttggggacc	acaccagctc	catctcctaa	ctgttagacta	32280
	aatgcagaga	aagatgctaa	actcactttg	gtcttaacaa	aatgtggcag	tcaaatactt	32340
	gctacagttt	cagtttggc	tgttaaggc	agtttggctc	caatatctgg	aacagttcaa	32400
	agtgcctatc	ttattataag	atttgacgaa	aatggagtgc	tactaaacaa	ttccttcctg	32460
	gacccagaat	attggaactt	tagaaatgga	gatcttactg	aaggcacagc	ctatacaaac	32520
	gctgttggat	ttatgcctaa	cctatcagct	tatccaaaat	ctcacgtaa	aactgccaaa	32580
	agtaacattg	tcagtcaagt	ttacttaaac	ggagacaaaa	ctaaacctgt	aacactaacc	32640
	attacactaa	acggtacaca	ggaaacagga	gacacaactc	caagtgcata	ctctatgtca	32700
	tttcatggg	actggtctgg	ccacaactac	attaatgaaa	tatttgcac	atcctttac	32760

	actttttcat acattgccca agaataaaga atcggttgtt ttatgtttca acgtgtttat	32820
	tttcaattt cagaaaattt caagtcattt ttcattcagt agtatacgcc caccaccaca	32880
	tagcttatac agatcaccgt accttaatca aactcacaga accctagtat tcaacctgcc	32940
	acctccctcc caacacacag agtacacagt cctttctccc cggctggcct taaaaagcat	33000
	catatcatgg gtaacagaca tattcttagg tgttatattc cacacggttt cctgtcgagc	33060
	caaacgctca tcagtgatataataaactc cccgggcagc tcacttaagt tcatgtcgct	33120
	gtccagctgc tgagccacag gctgctgtcc aacttgcgt tgcttaacgg gcggcgaagg	33180
	agaagtccac gcctacatgg gggtagagtc ataatgtgc atcaggatag ggccgtggtg	33240
	ctgcagcagc gcgcgaataa actgctgccc ccgcccgtcc gtcctgcagg aataacaacat	33300
	ggcagtggtc tcctcagcga tgattcgcac cgcccgccagc ataaggcgcc ttgtcctccg	33360
	ggcacagcag cgccaccctga tctcacttaa atcagcacag taactgcagc acagcaccac	33420
[0044]	aatattgttc aaaatccac agtgcaggc gctgtatcca aagctcatgg cggggaccac	33480
	agaacccacg tggccatcat accacaagcg caggtagatt aagtggcgac ccctcataaa	33540
	cacgctggac ataaacatta cctctttgg catgttgaa ttaccaccc cccgtacca	33600
	tataaacctc tgattaaaca tggcgccatc caccaccatc ctaaaccagc tggccaaaac	33660
	ctgcccggc gctatacact gcagggaaacc gggactggaa caatgacagt ggagagccca	33720
	ggactcgtaa ccatggatca tcatgctcgt catgatatca atgtggcac aacacaggca	33780
	cacgtgcata cacttcctca ggattacaag ctcctccgc gttagaacca tatcccaggg	33840
	aacaacccat tcctgaatca gcgtaaatcc cacactgcag ggaagaccc tcacgttaact	33900
	cacgttgtgc attgtcaaag tgttacattc gggcagcagc ggatgtaccc ccagtatgg	33960
	agcgccgggtt tctgtctcaa aaggaggtac acgatcccta ctgtacggag tgcggccgaga	34020
	caaccgagat cgtgtggtc gtagtgtcat gccaaatgga acgcccggacg tagtcatatt	34080

tcctgaagca aaaccagggtg cggcggtgac aaacagatct gcgtctccgg tctcgccgct	34140
tagatcgctc tgtgttagtag ttgttagtata tccactctct caaagcatcc aggcgcccc	34200
tggcttcggg ttctatgtaa actccttcat ggcgcgtgc cctgataaca tccaccaccg	34260
cagaataaagc cacacccagc caacctacac attcggtctg cgagtacac acgggaggag	34320
cgggaagagc tggaagaacc atgtttttt ttttattcca aaagattatc caaaacctca	34380
aaatgaagat ctattaagtg aacgcgcgtcc cctccgggtgg cgtggtaaaa ctctacagcc	34440
aaagaacaga taatggcatt tgtaagatgt tgcacaatgg cttccaaaaag gcaaacggcc	34500
ctcacgtcca agtggacgta aaggctaaac cttcagggt gaatctcctc tataaacatt	34560
ccagcacctt caaccatgcc caaataattc tcatctcgcc accttctcaa tataatctcta	34620
agcaaatccc gaatattaag tccggccatt gtaaaaatct gctccagagc gccctccacc	34680
ttcagccctca agcagcgaat catgattgca aaaattcagg ttcctcacag acctgtataa	34740
[0045] gattcaaaaag cggaacatta acaaaaatac cgcgatcccg tagtccctt cgcagggcca	34800
gctgaacata atcgtgcagg tctgcacgga ccagcgccgc cacttcccg ccaggaacca	34860
tgacaaaaga acccacactg attatgacac gcataactcgg agctatgcta accagcgtag	34920
ccccgatgta agcttggcgc atgggcggcg atataaaaatg caaggtgctg ctcaaaaaat	34980
caggcaaagc ctcgcgcaaa aaagaaaagca catcgtagtc atgctcatgc agataaaaggc	35040
aggtaagctc cggaaccacc acagaaaaag acaccatttt tctctaaac atgtctgcgg	35100
gtttctgcat aaacacaaaa taaaataaca aaaaaacatt taaacattag aagcctgtct	35160
tacaacagga aaaacaaccc ttataagcat aagacggact acggccatgc cggcgtgacc	35220
gtaaaaaaaaac tggtcaccgt gattaaaaag caccaccgac agctcctcgg tcatgtccgg	35280
agtataatg taagactcgg taaacacatc aggttgattc acatcggtca gtgtaaaaaa	35340
gcgaccgaaa tagccgggg gaatacatac ccgcaggcgt agagacaaca ttacagcccc	35400

cataggaggt ataacaaaat taataggaga gaaaaacaca taaacacctg aaaaaccctc	35460
ctgcctaggc aaaatagcac cctccgctc cagaacaaca tacagcgctt ccacagcggc	35520
agccataaca gtcagcctt ccagtaaaaa agaaaaccta ttaaaaaaac accactcgac	35580
acggcaccag ctcaatcagt cacagtgtaa aaaagggcc a gtgcagagc gagtatatat	35640
aggactaaaa aatgacgtaa cggttaagt ccacaaaaaa cacccagaaa accgcacg	35700
aacctacgcc cagaaacgaa agccaaaaaa cccacaactt cctcaaatcg tcacttccgt	35760
tttcccacgt tacgttaactt cccatTTAA gaaaactaca attcccaaca catacaagtt	35820
actccgcctt aaaacctacg tcaccgcctt cgttcccacg cccgcgcaca cgtcacaaac	35880
tccacccctt cattatcata ttggcttcaa tccaaataa ggtatattat tgatgtat	35938

[0046]	<210> 9	
	<211> 8	
	<212> DNA	
	<213> 5型腺病毒 (Adenovirus type 5)	
	<400> 9	
	ctgacctc	8
	<210> 10	
	<211> 8	
	<212> DNA	
	<213> 5型腺病毒 (Adenovirus type 5)	
	<400> 10	
	tcaccagg	8
	<210> 11	
	<211> 10	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列 (Artificial sequence)	
	<220>	
	<223> 来源于 TAV-255 缺失的序列	

<400> 11	
ggtgttttgg	10
<210> 12	
<211> 8	
<212> DNA	
<213> 人工序列 (Artificial sequence)	
<220>	
<223> 来源于 TATA 缺失的序列	
<400> 12	
agtggccg	8
<210> 13	
<211> 8	
<212> DNA	
<213> 人工序列 (Artificial sequence)	
[0047] <220>	
<223> 来源于 mTATA 缺失的序列	
<400> 13	
tattcccg	8
<210> 14	
<211> 10	
<212> DNA	
<213> 人工序列 (Artificial sequence)	
<220>	
<223> 来源于 CAAT 缺失的序列	
<400> 14	
ttccgtggcg	10
<210> 15	
<211> 554	
<212> DNA	

<213> 人工序列 (Artificial sequence)

<220>

<223> Ad-TATA 5' 末端

<400> 15

catcatcaat aatacacctt atttggatt gaagccaata tgataatgag ggggtggagt 60

ttgtgacgtg gcgcggggcg tggAACGGG gcgggtgacg tagtagtgtg gcggaaagtgt 120

gatgttgc aa gtgtggcgga acacatgtaa gcacggatg tggcaaaagt gacgttttg 180

gtgtgcgcg gtgtacacag gaagtgacaa tttcgcgcg gttttaggcg gatgtttag 240

taaatttggg cgtaaccgag taagatttgg ccatttcgc gggaaaactg aataagagga 300

agtgaaatct gaataatttt gtgttactca tagcgcgtaa tatttgccta gggccgcggg 360

gactttgacc gtttacgtgg agactcgccc aggtgtttt ctcaggtgtt ttccgcgttc 420

cgggtcaaaag ttggcggtttt attattatag tcagctgacg tgttagtgc ggtgagttcc 480

[0048]

tcaagaggcc actcttgagt gccagcgagt agagtttct cctccgagcc gctccgacac 540

cgggactgaa aatg 554

<210> 16

<211> 553

<212> DNA

<213> 人工序列 (Artificial sequence)

<220>

<223> Ad-CAAT 5' 末端

<400> 16

catcatcaat aatacacctt atttggatt gaagccaata tgataatgag ggggtggagt 60

ttgtgacgtg gcgcggggcg tggAACGGG gcgggtgacg tagtagtgtg gcggaaagtgt 120

gatgttgc aa gtgtggcgga acacatgtaa gcacggatg tggcaaaagt gacgttttg 180

gtgtgcgcg gtgtacacag gaagtgacaa tttcgcgcg gttttaggcg gatgtttag 240

taaatttggg cgtaaccgag taagatttgg ccattttcgc gggaaaactg aataagagga	300
agtgaaatct gaataatttt gtgttactca tagcgcgtaa tatttgcata gggccgcggg	360
gactttgacc gtttacgtgg agactcgccc aggtgtttt ctcaggtgtt ttccgcgttc	420
cgtggcggtt tattattata gtcagctgac gtgttagtcta tttatacccg gtgagttcct	480
caagaggcca ctcttgagtg ccagcgagta gagtttctc ctccgagccg ctccgacacc	540
gggactgaaa atg	553

<210> 17

<211> 545

<212> DNA

<213> 人工序列 (Artificial sequence)

<220>

<223> Ad-CAAT-TATA 5' 末端

[0049]	<400> 17	
	catcatcaat aatacattt atttggatt gaagccaata tgataatgag ggggtggagt	60
	ttgtgacgtg gcgcggggcg tggaaacggg gcgggtgacg tagtagtgtg gcggaaagtgt	120
	gatgttgcac gtgtggcgga acacatgtaa gcgacggatg tggcaaaagt gacgttttg	180
	gtgtgcgcgg gtgtacacag gaagtgacaa tttcgcgcg gttttaggcg gatgtttag	240
	taaatttggg cgtaaccgag taagatttgg ccattttcgc gggaaaactg aataagagga	300
	agtgaaatct gaataatttt gtgttactca tagcgcgtaa tatttgcata gggccgcggg	360
	gactttgacc gtttacgtgg agactcgccc aggtgtttt ctcaggtgtt ttccgcgttc	420
	cgtggcggtt tattattata gtcagctgac gtgttagtgcg cggtgagttc ctcaagaggc	480
	cactcttgag tgccagcgag tagagtttc tcctccgagc cgctccgaca ccgggactga	540
	aaatg	545

<210> 18

<211>	68		
<212>	DNA		
<213>	35型腺病毒 (Adenovirus type 35)		
<400>	18		
ttttacgtag gtgtcagctg atcgctaggg tatttatacc tcagggtttg tgtcaagagg		60	
ccactctt		68	
<210>	19		
<211>	60		
<212>	DNA		
<213>	人工序列 (Artificial sequence)		
<220>			
<223>	包含 TATA 盒缺失的 Ad35 E1a 启动子区域		
<400>	19		
ttttacgtag gtgtcagctg atcgctaggg cctcagggtt tgtgtcaaga ggccactctt		60	
[0050]			
<210>	20		
<211>	361		
<212>	DNA		
<213>	人工序列 (Artificial sequence)		
<220>			
<223>	pXCI-del350 5' 末端		
<400>	20		
cccttccagc tctctgcccc ttttggattt aagccatat gataatgagg gggggagtt		60	
tgtgacgtgg cgccgggcgt gggAACGGGG cgggtgacgt agtagtgtgg cgaaagtgt		120	
atgttgcaag tgtggcgaa cacatgtttt ggcggatgt ggcaaaagtg acgtttttgg		180	
tgtgcgcgg tgtacacagg aagtgacaat tttcgccgg ttttaggcgg atgtttagt		240	
aaatttgggc gtaaccgagt aagatttggc cattttcgcg ggaaaactga ataagaggaa		300	
gtgaaatctg aataattttg tgttactcat agcgcgtaat atttgtctag gactgaaaat		360	
g		361	

<210> 21
 <211> 553
 <212> DNA
 <213> 人工序列 (Artificial sequence)

<220>
 <223> pXC1-TATA 5' 末端

<400> 21

cccttccagc tctctgcccc ttttggattt aagccaatat gataatgagg gggggagtt	60
tgtgacgtgg cgcgccccgt gggaaacgggg cgggtgacgt agtagtgtgg cgaaagtgtg	120
atgttgcaag tgtggcgaa cacatgttgg cggatgttgg ggcaaaagtgg acgtttttgg	180
tgtgcgcgg tgcacacagg aagtgcataat tttcgccgg ttttaggggg atgttgtgt	240
aaatttggc gtaaccgagt aagatttggc cattttcgcg ggaaaactga ataagaggaa	300
gtgaaatctg aataatttttgc tggtactcat agcgcgtat atttgtctat ggccgcgggg	360
[0051] actttgaccg ttacgttggc gactcgccca ggtgttttc tcagggttttcc tccgcgttcc	420
gggtcaaaatgt tggcgtttta ttattatagt cagctgacgt gtatgtcccg gtgagttcct	480
caagaggcca ctcttgcgttgc ccagcgagta gagtttctc ctccgagccg ctccgacacc	540
gggactgaaa atg	553

<210> 22
 <211> 552
 <212> DNA
 <213> 人工序列 (Artificial sequence)

<220>
 <223> pXC1-CAAT 5' 末端

<400> 22

cccttccagc tctctgcccc ttttggattt aagccaatat gataatgagg gggggagtt	60
tgtgacgtgg cgcgccccgt gggaaacgggg cgggtgacgt agtagtgtgg cgaaagtgtg	120

atgttgcaag tgtggcgaa cacatgtaag cgacggatgt ggcaaaagtg acgttttgg	180
tgtgcgcgg tgtacacagg aagtgacaat tttcgcgcgg ttttaggcgg atgtttagt	240
aaatttggc gtaaccgagt aagatttgc catttcgcg ggaaaactga ataagaggaa	300
gtgaaatctg aataatttg tgttactcat agcgcgtaat atttgcgtat ggccgcgggg	360
actttgaccg tttacgtgga gactcgccca ggtgttttc tcaggtgttt tccgcgttcc	420
gtggcggtttt attattatag tcagctgacg tgttagtgcgtat ttataccgg tgagttcctc	480
aaggaggccac tctttagtgc cagcgcgtat agtttctcc tccgagccgc tccgacaccg	540
ggactgaaaa tg	552

<210> 23

<211> 544

<212> DNA

<213> 人工序列 (Artificial sequence)

[0052]

<220>

<223> pXC1-CAAT-TATA 5' 末端

<400> 23

cccttcaggc tctctgcggc ttttgattt aagccatat gataatgagg ggggtggagtt 60

tgtgacgtgg cgccggggcggtt gggaaacgggg cgggtgacgt agtagtgcgtt cggaaatgtt 120

atgttgcaag tgtggcgaa cacatgtaag cgacggatgt ggcaaaagtg acgttttgg 180

tgtgcgcgg tgtacacagg aagtgacaat tttcgcgcgg ttttaggcgg atgtttagt 240

aaatttggc gtaaccgagt aagatttgc catttcgcg ggaaaactga ataagaggaa 300

gtgaaatctg aataatttg tgttactcat agcgcgtaat atttgcgtat ggccgcgggg 360

actttgaccg tttacgtgga gactcgccca ggtgttttc tcaggtgttt tccgcgttcc 420

gtggcggtttt attattatag tcagctgacg tgttagtgcgtat ggtgagttcc tcaagaggcc 480

actctttagtgcgtat agatttctcc cttccgagcc gtcggacac cgggactgaa 540

aatg	544
<210> 24	
<211> 34794	
<212> DNA	
<213> 35型腺病毒 (Adenovirus type 35)	
<400> 24	
catcatcaat aataaacctt atagatggaa tggcgccaat atgtaaatga ggtgattta	60
aaaagtgtgg gccgtgtgg tattggctgt ggggttaacg gttaaaagg gcggcgcggc	120
cgtggaaaaa tgacgtttta tgggggtgga gttttttgc aagttgtcgc gggaaatgtt	180
acgcataaaaa aggcttcttt tctcacggaa ctacttagtt ttccacgggt atttaacagg	240
aaatgaggta gtttgaccg gatgcaagtg aaaattgctg atttcgcgc gaaaactgaa	300
tgaggaagtg ttttctgaa taatgtggta tttatggcag ggtggagttat ttgttcaggg	360
[0053] ccaggtagac ttgaccat tacgtggagg tttcgattac cgtgtttttt acctgaattt	420
ccgcgtaccg tgtcaaagtc ttctgtttt acgttaggtgt cagctgatcg ctagggattt	480
tatacctcag ggttgtgtc aagaggccac tcttgagtgc cagcgagaag agtttctcc	540
tctgcgccgg cagtttaata ataaaaaaat gagagatttgcgatttctgc ctcaggaaat	600
aatctctgct gagactggaa atgaaatatttggagcttgcgt gtgcacgccc tgatggaga	660
cgtccggag ccacctgtgc agcttttga gcctcctacg cttcaggaac tgtatgattt	720
agaggttagag ggatcggagg attctaatga ggaagctgtg aatggctttt ttaccgattc	780
tatgctttta gctgctaattt aaggatttgcattttgcgc ctttggaca ctttcaatac	840
tccaggggtt attgtggaaa gcggtacagg tggtaagaaaa ttacctgatt tgagttccgt	900
ggactgtgat ttgcactgct atgaagacgg gtttcctccg agtgtatgagg aggaccatga	960
aaaggagcag tccatgcaga ctgcagcggg tgaggagtg aaggctgcca atgttggtt	1020

tcagttggat tgcccgagc ttccctggaca tggctgttaag tcttgtgaat ttcacaggaa	1080
aaataactgga gtaaaaggaac tgttatgttc gctttgttat atgagaacgc actgccactt	1140
tatttacagt aagtgtgttt aagttaaaat ttaaaggaaat atgctgtttt tcacatgtat	1200
attgagtgtg agttttgtgc ttcttattat aggtcctgtg tctgatgctg atgaatcacc	1260
atctcctgat tctactacct cacccctgta tattcaagca cctgttcctg tggacgtgcg	1320
caagcccatt cctgtgaagc ttaaggctgg gaaacgtcca gcagtgaga aacttgagga	1380
ctgttacag ggtggggacg gaccttgga cttagtaca cggaaacgtc caagacaata	1440
agtgttccat atccgtgtt acttaaggta acgtcaatat ttgtgtgaga gtgcaatgta	1500
ataaaaaatat gttaactgtt cactggttt tattgctttt tggcgggaa ctcaggtata	1560
taagtagaag cagacctgtg tggtagctc ataggagctg gcttcatcc atggaggttt	1620
ggccattttt ggaagacctt aggaagacta ggcaactgtt agagagcgt tcggacggag	1680
[0054] tctccggttt ttggagattc tggttcgcta gtgaattagc taggtagttt tttaggataa	1740
aacaggacta taaacaagaa tttgaaaagt tgggtttaga ttgccagga cttttgaag	1800
ctcttaattt gggccatcag gttcaatttta aagaaaaagt tttatcagttt ttagactttt	1860
caaccccagg tagaactgct gctgctgtgg ctttcttac ttttatatta gataaatgga	1920
tcccgagac tcatttcagc agggatacg tttggattt catagccaca gcattgtgga	1980
gaacatggaa ggttcgcaag atgaggacaa tcttaggtt ctggccagtg cagcccttgg	2040
gtgtagcggg aatcctgagg catccaccgg tcatgccagc ggttctggag gaggaacagc	2100
aagaggacaa cccgagagcc ggcctggacc ctccagtggaa ggaggcggag tagctgactt	2160
gtctcctgaa ctgcaacggg tgcttactgg atctacgtcc actggacggg atagggcgt	2220
taagagggag agggcatcca gtggtaactga tgcttagatct gagttggctt taagttaat	2280
gagtcgcaga cgtcctgaaa ccattggtg gcatgagggtt cagaaagagg gaagggatga	2340

agtttctgta ttgcaggaga aatattcaact ggaacagggtg aaaacatgtt gggtggagcc	2400
agaggatgat tggcggtgg ccattaaaaa ttatgccaag atagcttga ggcctgataa	2460
acagtataag atcagtagac ggattaatat ccggaatgct tggatcatat ctggaaatgg	2520
ggctgagggtg gtaatagata ctcaagacaa gacagttatt agatgctgca tggatggat	2580
gtggcctgga gtagtcggta tggaaagcagt cactttgtt aatgttaagt ttagggaga	2640
tggttataat ggaatagtggtt ttatgccaat taccaaactt atattgcatg gttgttagctt	2700
tttggtttc aacaataacct gtgttagatgc ctggggacag gtttagtgtac ggggggtgttag	2760
tttctatgctg tggatggattt ccacagctgg cagaacccaag agtcaattgtt ctctgaagaa	2820
atgcatttttcc caaagatgtt acctggcat tctgaatgaa ggcgaagcaa gggtccgtca	2880
ctgcgtttctt acagatactg gatgtttttt tttttaattttt gggaaatgcca gcgtaaagca	2940
taacatgatt tgggtgtttt ccgtatgagag gccttatcaa atgctactt gtgtgggtgg	3000
[0055] gcattgtttt atgctggctt ctgtcatat tttttccat caacgcaaaa aatggctgtt	3060
ttttgttcatc aatgtgttga ccaagtgcac catgcatttca ggtggcgta gaggaatgtt	3120
tatgccttac cagtgtaaca tgaatcatgtt gaaagtgttg ttggaaaccag atgccttttcc	3180
cagaatgagc ctaacaggaa tctttgacat gaacacgcaa atcttggaaaga tcctgaggta	3240
tgtatgatacg agatcgaggg tgcgcgcattt cgaatgcggaa ggcaaggatgtt ccagggttcca	3300
gccgggtgtgtt gtagatgttga ccgaagatctt cagaccggat catttttttttta ttggccgcac	3360
tggagcagag ttcggatcca gtggagaaga aactgactaa ggtgagtattt gggaaaactt	3420
tgggtggga ttttcagatg gacagattgtt gtaaaaaattt gtttttctt tcttgcagctt	3480
gacatgagtg gaaatgcttc tttaagggg ggagtcttca gcccattatctt gacagggcgat	3540
ctcccatcctt gggcaggagt tcgtcagaat gttatggat ctactgttga ttggaaaccc	3600
gttcaaccccg ccaatttttcc aacgctgacc tatgctactt taagtttttcc acctttggac	3660

gcagctgcag ccgctgccgc cgccctgtc gccgctaaca ctgtgcttgg aatgggttac	3720
tatggaagca tcgtggctaa ttccacttcc tctaataacc cttctacact gactcaggac	3780
aagttacitg tccctttggc ccagctggag gctttgaccc aacgtctggg tgaactttct	3840
cagcaggtgg ccgagttgct agtacaaact gagtctgctg tcggcacggc aaagtctaaa	3900
taaaaaaaaaat tccagaatca atgaataat aaacgagctt gttgttggatt taaaatcaag	3960
tgtttttatt tcatttttcg cgcacggat gccctggacc accgatctcg atcattgaga	4020
actcggtgga tttttccag aatccatag aggtgggatt gaatgttagt atacatggc	4080
attaggccgt ctttgggtg gagatagctc cattgaaggg attcatgctc cggggtagtg	4140
ttgtaaatca cccagtcata acaaggtcgc agtgcattgt gttgcacaat atctttaga	4200
agtaggctga ttgccacaga taagcccttg gtgttaggtt ttacaaaccg gttgagctgg	4260
[0056] gaggggtgca ttcgaggtga aattatgtgc atttggatt ggattttaa gttggcaata	4320
ttgccgccaa gatcccgctt tgggttcatg ttatgaagga ctaccaagac ggtgtatccg	4380
gtacatttag gaaatttac gtgcagctt gatggaaaag cgtggaaaaa tttggagaca	4440
cccttggcgtc ctccgagatt ttccatgcac tcatccatga taatagcaat gggccgtgg	4500
gcagcggcgc gggcaaacac gttccgtggg tctgacacat catagttatg ttcctgagtt	4560
aaatcatcat aagccattt aatgaattt gggcggagcg taccagattt gggtagaat	4620
gttccttcgg gccccggagc atagttcccc tcacagattt gcatttccca agctttcagt	4680
tctgagggtg gaatcatgtc cacctgggg gctatgaaga acaccgttc gggggcgggg	4740
gtgatttagtt gggatgatag caagttctg agcaattttagt atttgcacca tccgggtggg	4800
ccataaataa ttccgattac aggttgcagg tggtagtttta gggAACGGCA actgcccgtct	4860
tctcgaagca agggggccac ctcgttcatc attccctta catgcatatt ttcccgacc	4920
aaatccattt ggaggcgctc tcctcctagt gatagaagtt cttgttagtga ggaaaagttt	4980

ttcagcggtt ttagaccgtc agccatggc atttggaaa gagttgctg caaaagttct	5040
agtctgttcc acagttcagt gatgtttct atggcatctc gatccagcag acctcctcgt	5100
ttcgcgggtt tggacggctc ctggagtagg gtagagacg atggcggtcc agcgctgcca	5160
gggttcggtc cttccagggt ctcagtgttc gagtcagggt tgtttccgtc acagtgaagg	5220
ggtgtgcgcc tgcttggcg cttgccagg tgcgcttcag actcattctg ctggggaga	5280
acttctgtcg ctggcgccc tgtatgtcgg ccaagtagca gtttaccatg agttcgtagt	5340
tgagcgccctc ggctcggtgg cctttggcgc ggagcttacc ttggaaagt ttcttgcata	5400
ccgggcagta taggcatttc agcgatacata gcttggcgc aaggaaaatg gattctgggg	5460
agtatgcattc cgccgcgcag gaggcgcaaa cagttcaca ttccaccagc caggtaat	5520
ccggttcatt ggggtcaaaa acaagtttc cgccatattt ttgtatgcgt ttcttacatt	5580
tgtctccat aagttcggtgt ctcgttgag tgacaaacag gctgtccgt a tccgtttaga	5640
[0057] ctgattttac aggccctttc tccagtggag tgccctggc ttcttcgtac aggaactctg	5700
accactctga tacaaaggcg cgccgtccagg ccagcacaaa ggaggctatg tgggggggt	5760
agcgatcggtt gtcaaccagg gggccaccc ttccaaagt atgcaaacac atgtcaccc	5820
cttcaacatc caggaatgtt attggcttgg aggtgtattt cacgtgacctt ggggtccccg	5880
ctgggggggt ataaaagggg gcggttctt gcttccctc actgtttcc ggatcgctgt	5940
ccaggaacgt cagctgttgg ggttaggtt ccctctcgaa ggcgggcatg acctctgcac	6000
tcaagggttgc agtttctaag aacgaggagg atttgatatt gacagtgcg gttgagatgc	6060
ctttcatgag gtttcttcc atttggttgc aaaaacacaat tttttattt tcaagggttgg	6120
tggcaaatga tccatacagg gcgttggata aaagttggc aatggatcgc atgggttgg	6180
tctttccctt gtccgcgcgc tctttggcgg cgttggatgg ttggacatac tcgcgtgcca	6240
ggcacttcca ttggggaaat atagttgttta attcatctgg cacgattctc acttggcacc	6300

ctcgattatg caaggtaatt aaatccacac tggtgccac ctcgcctcgaa	6360
tggtccaaca gaggctacct ccttcctag aacagaaagg gggaaagtggg tctagcataa	6420
gttcatcggtt agggtctgca tccatggtaa agattccgg aagtaaatcc ttatcaaaat	6480
agctgatggg agtggggtca tctaaggcca tttgccattc tcgagctgcc agtgcgcgt	6540
catatgggtt aaggggactg ccccagggca tggatgggt gagagcagag gcatacatgc	6600
cacagatgtc atagacgttag atgggatcct caaagatgcc tatgttaggtt ggatagcatc	6660
ccccccctct gatacttgct cgcacatagt catatagttc atgtgatggc gctagcagcc	6720
ccggacccaa gttggtgca ttgggtttt ctgttctgta gacgatctgg cgaaagatgg	6780
cgtgagaatt ggaagagatg gtgggtctt gaaaaatgtt gaaatggca tgaggtagac	6840
ctacagagtc tctgacaaag tggcataag attctgaag ctgggttacc agttcgccgg	6900
tgacaagtac gtcttagggcg cagtagtcaa gtgttcttg aatgatgtca taacctgggtt	6960
[0058] gtttttctt ttcccacagt tcgcgttga gaaggtattc ttgcgcattcc ttccagact	7020
cttctagcgg aaaccgtct ttgtctgcac ggtaagatcc tagcatgttag aactgattaa	7080
ctgccttgcg aggccagcag cccttctcta cggtagaga gtatgttgcg gcagctttc	7140
gtagcgaagc gtgagtaagg gcaaagggtgt ctctgaccat gactttgaga aattggatt	7200
tgaagtccat gtcgtcacag gtcctgtt cccagagttt gaagtctacc cgtttctgt	7260
aggcgggtt gggcaagcg aaagtaacat cattgaagag aatcttaccg gctctggca	7320
taaaattgcg agtgcgttgcg aaaggctgtg gtacttccgc tcgattgttgc atcacctgg	7380
cagctaggac gatttcgtcg aaaccgttgc tttgtgtcc tacgtatgtat aattctatga	7440
aacgcggcgt gcctctgacg tgaggtagct tactgagctc atcaaagggtt aggtctgtgg	7500
ggtcagataa ggcgtatgtg tcgagagccc attcgtgcag gtgaggattt gcatgttagga	7560
atgatgacca aagatctacc gccagtgctg tttgtactg gtcccgatac tgacgaaaat	7620

gcccccaat tgccatttt tctggagtga cacagtagaa gttctgggg tcttggcc	7680
atcgatccca cttgagttt atggcttagat cgtggccat gttgacgaga cgctttctc	7740
ctgagagttt catgaccagc atgaaaggaa ctagttgtt gccaaaggat cccatccagg	7800
tgtaagttt cacatcgtag gtcaggaaga gctttctgt gcgaggatga gagccatcg	7860
ggaagaactg gattcctgc caccagttgg aggattggct gttgatgtga tggaagtaga	7920
agtttctgcg gcgcgcgcgag cattcgtgtt tgtgcttgc cagacggccg cagtagtcgc	7980
agcgttgcac gggttgtatc tcgtaatgc gctgtacctg gttcccttg acgagaaatt	8040
tcagtggaa gccgaggcct ggcgattgtc tctcgtgctc ttctatatic gctgtatcgg	8100
cctgttcatc ttctgtttcg atgggtgtca tgctgacgag ccccccggg aggcaagtcc	8160
agacctcggc gcgggagggg cgagactgaa ggacgagagc gcgcaggctg gagctgtcca	8220
[0059] gagtcctgag acgctgcgga ctcaggttag taggtaggaa cagaagatta acttgcatt	8280
tctttccag ggcgtgcggg agttcagat ggtacttgc ttccacaggt tcgttgcgt	8340
agacgtcaat ggcttgcagg gttccgtgtc cttggcgc cactaccgtc cttttttt	8400
ttctttgtat cgggtgtggc tctcttgctt ctgcattgtc cagaagcggt gacggggacg	8460
cgcgcgggc ggcagcggtt gttccggacc cgggggcatt gctggtagtg gcacgtcggc	8520
gccgcgcacg ggcagggtt ggtattgcgc tctgagaaga cttgcgtgcg ccaccacgc	8580
tcgattgacg tcttgcgtatc gacgtctctg ggtgaaagct accggccccc tgagcttgaa	8640
cctgaaagag agttcaacag aatcaatttc ggtatcgta acggcagtt gtctcagtat	8700
ttcttgcgtacg tcaccagagt tgcctggta ggcgtatcttcc gccatgaact gctcgattt	8760
ttcctcctga agatctccgc gaccgcgtct ttgcacgggt gccgcgaggt cattggagat	8820
acggcccatg agttgggaga atgcattcat gccgcctcg ttccagacgc ggctgtaaac	8880
cacggccccc tcggagtc tgcgcgcatt caccacgtt gctccacgtt	8940

tctggtaag accgcatagt tgcataggcg ctgaaaaagg tagttgagtg tggtgcaat	9000
gtgttcggcg acgaagaaat acatgatcca tcgtctcagc ggcatttcgc taacatcgcc	9060
cagagcttcc aagcgctcca tggcctcgta gaagtccacg gcaaaattaa aaaactggga	9120
gtttcgcgcg gacacggtca attcctcctc gagaagacgg atgagttcgg ctatggtggc	9180
ccgtacttcg cggtcgaagg ctccggat ctcttctcc tcttctatct cttctccac	9240
taacatctct tcttcgtctt caggcggggg cgaggggggc acgcggcgac gtcgacggcg	9300
cacgggcaaa cggtcgatga atcgtaat gacctctccg cggcgccggc gcatggttc	9360
agtgacggcg cggccgttct cgcgccgtcg cagagtaaaa acaccgcccgc gcattcctt	9420
aaagtggta ctgggaggtt ctccgttgg gagggagagg ggcgtgatta tacatttat	9480
taattggccc gtagggactg cgccgcagaga tctgatcgtg tcaagatcca cgggatctga	9540
aaaccttcg acgaaagcgt ctaaccagtc acagtcacaa gtaggctga gtacggcttc	9600
[0060] ttgtggcgg gggtggttat gtgttcggc tgggtcttct gtttcttctt catctcgga	9660
aggtgagacg atgctgctgg ttagtggaaatt aaagttaggca gttctaagac ggcggatgg	9720
ggcgaggagc accaggctt tgggtccggc ttgctggata cgcaggcgat tggccattcc	9780
ccaagcatta tcctgacatc tagcaagatc ttgttagtag tcttgcata ggcgttctac	9840
ggcacttct tcctcacccg ttctgccatg catacggtg agtccaaatc cgccattgg	9900
ttgttaccagt gccaagtcag ctacgactct ttccggcagg atggcttgct gtacttgg	9960
aagggtggct tgaaagtcat caaaatccac aaagcggtgg taagccccgt tattaaatgg	10020
gtaagcacag ttggccatga ctgaccagtt aactgtctgg tgaccaggc gcacgagctc	10080
ggtgtattta aggcgcaat aggcgccgggt gtcaaagatg taatcggtgc aggtgcgcac	10140
cagatactgg taccctataa gaaaatgcgg cggtggttgg cggtagagag gccatcggtc	10200
tgttagctgga gcgccagggg cgaggcttc caacataagg cggtgatagc cgttagatgt	10260

cctggacate caggtgattc ctgcggcggt agtagaaagcc cgaggaaact cgctacgct	10320
gttccaaatg ttgcgttagcg gcatgaagta gttcattgtt ggcacggttt gaccagttag	10380
gcgcgcgcag tcattgatgc tctatagaca cggagaaaaat gaaagcggtc agcgactcga	10440
ctccgtagcc tggaggaacg tgaacgggtt gggtcgcgtt gtaccccggt tcgagacttg	10500
tactcgagcc ggccggagcc gcccgttaacg tggattggc actccgtct cgaccagcc	10560
tacaaaaatc caggatacgg aatcgagtcg ttttgcgtt ttccgaatgg caggaaagtg	10620
agtcctattt tttttttttt ttgcgcgtc agatgcattc cgtgcgtcgca cagatgcgc	10680
cccaacaaca gccccctcg cagcagcagc agcagcaacc acaaaaggct gtccctgcaa	10740
ctactgcaac tgccgcccgtg agcgggtgcgg gacagccccgc ctatgatctg gacttggaa	10800
agggcgaagg actggcacgt ctaggtgcgc ctgcgcgcgac gggcatccg cgagttcaac	10860
tgaaaaaaaga ttctcgcgag gcgtatgtgc cccaaacagaa cctatttaga gacagaagcg	10920
[0061]	
gcgaggagcc ggaggagatg cgagcttccc gcttaacgc gggcgtgag ctgcgtcacg	10980
gttggaccg aagacgagtg ttgcgagacg aggattcga agttgatgaa gtgacaggaa	11040
tcaagtccgtc cagggcacac gtggctgcag ccaaccttgc atcggcttac gagcagacag	11100
taaaggaaga gcgttaacttc caaaagtctt ttaataatca tgtgcgaacc ctgattgccc	11160
gcgaagaagt tacccttggt ttgatgcatt tgtggattt gatggaaatc atcattcaga	11220
accctactag caaacctctg accgcccagc tggcttgcgtt ggtcaacac agcagagaca	11280
atgaggctt cagagaggcg ctgctgaaca tcaccgaacc cgaggggaga tggttgtatg	11340
atcttatcaa cattctacag agtacatcatag tgcaggagcg gagcctggc ctggccgaga	11400
aggttagctgc catcaattac tcggtttga gcttggaaaa atattacgtt cgcaaatct	11460
acaagactcc atacgttccc atagacaagg aggtgaagat agatgggttc tacatgcga	11520
tgacgctcaa ggtcttgacc ctgagcgatg atcttgggtt gtatcgcaat gacagaatgc	11580

atcgcgccgt tagcgccagc aggaggcgcg agttaagcga cagggaaactg atgcacagtt	11640
tgcaaagagc tctgactgga gctggaaccg agggtgagaa ttacttcgac atggagactg	11700
acttgcagtgc cagcctagt cgcaggctc tgagcgccgc gacggcagga tgtgagctc	11760
cttacataga agaggcggat gaaggcgagg aggaagaggg cgagtacttg gaagactgat	11820
ggcacaaccc gtgttttttgc ctagatggaa cagcaagcac cggatccgc aatgcggcgc	11880
gcgcgtgcaga gccagccgtc cggcattaac tcctcgacg attggaccgc ggcgcattgca	11940
cgttatcatgg cgttgacgac tcgcaacccc gaagccttta gacagcaacc ccaggccaa	12000
cgtctatcggtt ccatcatgga agctgttagtg cttcccgat ctaatccac tcatgagaag	12060
gtcctggcca tcgtgaacgc gttggtagg aacaaagcta ttgcgtccaga tgaggccgg	12120
ctggtataca acgtctctt agaacgcgtg gctcgctaca acagtagcaa tgtgcaaacc	12180
aatttggacc gtatgataac agatgtacgc gaagccgtgt ctcagcgcga aaggttccag	12240
[0062] cgtgatgccca acctgggttc gctggggcg ttaaatgctt tcttgagtac tcagcctgct	12300
aatgtgccgc gtggtaaca ggattatact aactttttaa gtgcgtttag actgtatggta	12360
tcagaagtac ctcagagcga agtgtatcag tccggcctg attacttctt tcagactagc	12420
agacaggcgt tgcagacggt aaatctgagc caagctttta aaaaccttaa aggttgtgg	12480
ggagtgcattt ccccggtagg agaaagagca accgtgtcta gcttggtaac tccgaactcc	12540
cgcctgttat tactgttggt agctccttc accgacagcg gtagcatcga ccgttaattcc	12600
tatttgggtt acctactaaa cctgtatcgc gaagccatag ggcaaaatcga ggtggacgag	12660
cagacctatc aagaaattac ccaagtcgt cgcgtttgg gacaggaaga cactggcagt	12720
ttggaagcca ctctgaacctt cttgcttacc aatcggtctc aaaagatccc tcctcaatat	12780
gctcttactg cggaggagga gaggatcctt agatatgtgc agcagagcgt gggattgttt	12840
ctgatgcaag agggggcaac tccgactgca gcactggaca tgacagcgcg aaatatggag	12900

cccagcatgt atgccagtaa ccgacccttc attaacaac tgctggacta cttgcacaga	12960
gctgccgcta tgaactctga ttatttcacc aatgccatct taaacccgca ctggctgccc	13020
ccacctggtt tctacacggg cgaatatgac atgcccgacc ctaatgacgg atttctgtgg	13080
gacgacgtgg acagcgatgt ttttcacct ctttctgatc atgcacgtg gaaaaaggaa	13140
ggcggtgata gaatgcattc ttctgcatcg ctgtccgggg tcatgggtgc taccggcgt	13200
gagcccgagt ctgcaagtcc ttttcctagt ctacccttt ctctacacag tgtacgtac	13260
agcgaagtgg gtagaataag tcgcccgggt ttaatggcg aagaggagta cctaaacgat	13320
tccttgctca gaccggcaag agaaaaaaat ttcccaaaca atggaataga aagtttggtg	13380
gataaaatga gtagatggaa gacttatgct caggatcaca gagacgagcc tgggatcatg	13440
gggactacaa gtagagcgag ccgtagacgc cagcgccatg acagacagag gggcttgg	13500
tgggacgatg aggattcggc cgatgatagc agcgtgttgg acttgggtgg gagaggaagg	13560
[0063] ggcaaccgtt ttgctcattt gcgcctcgc ttgggtgta tttgtgaaa aaaaataaaa	13620
aagaaaaact caccaaggcc atggcgacga gcgtacgttc gttcttctt attatctgt	13680
tctagtataa tgaggcgagt cgtgcttaggc ggagcgggtgg tttatccgga gggcttcct	13740
ccttcgtacg agagcgtgat gcagcagcag caggcgacgg cggtgatgca atccccactg	13800
gaggctccct ttgtgcctcc gcgataacctg gcacctacgg agggcagaaa cagcattcgt	13860
tactcggaac tggcacctca gtacgatacc accaggtgt atctggtgaa caacaagtgc	13920
gcggacattt cttctctgaa ctatcagaat gaccacagca acttcttgcac caggggtgg	13980
cagaacaatg actttacccc tacggaagcc agcaccaga ccattaactt tggatgacga	14040
tcgcgggtgg gcggtcagct aaagaccatc atgcatacta acatgccaaa cgtgaacgag	14100
tatatgttta gtaacaagtt caaagcggtgt gtgatgggtt ccagaaaacc tcccgacggt	14160
gctgcagttt gggatactta tgatcacaag caggataattt tggatgatga gtggttcgag	14220

tttactttgc cagaaggcaa ctttcagtt actatgacta ttgatttcat gaacaatgcc	14280
atcatagata attacttcaa agtgggtaga cagaatggag tgcttgcgaa tgacattgt	14340
gttaagttcg acaccaggaa cttcaagctg ggtggatc ccggaaaccaa gttgatcatg	14400
cctggagtgt atacgtatga agccttccat cctgacattg tcttactgcc tggctgcgga	14460
gtggatttta ccgagagtcg tttgagcaac cttcttggta tcagaaaaaa acagccattt	14520
caagagggtt ttaagatttt gtatgaagat ttagaagggt gtaatattcc ggccctcttg	14580
gatgttagatg cctatgagaa cagtaagaaa gaacaaaaag ccaaaataga agctgctaca	14640
gctgctgcag aagctaaggc aaacatagtt gccagcgact ctacaagggt tgctaacgct	14700
ggagaggta gaggagacaa ttttgcgcca acacctgttc cgactgcaga atcattattg	14760
gccgatgtgt ctgaaggaac ggacgtgaaa ctcactattc aacctgtaga aaaagatagt	14820
aagaatagaa gctataatgt gttggaaagac aaaatcaaca cagcctatcg cagttggat	14880
[0064] ctttcgatca attatggcga tcccgaaaaa ggagtgcgtt cctggacatt gtcaccacc	14940
tcagatgtca cctgcggagc agagcagggt tactggtcgc ttccagacat gatgaaggat	15000
cctgtcactt tccgctccac tagacaagtc agtaactacc ctgtggtggg tgcagagctt	15060
atgcccgtct tctcaaagag cttctacaac gaacaagctg tgtactccca gcagctccgc	15120
cagtccaccc cgcttacgca cgtctcaac cgcttcctg agaaccagat ttaatccgt	15180
ccggccggcgc ccaccattac caccgtcagt gaaaacgttc ctgctctcac agatcacggg	15240
accctgcccgt tgcgcagcag tatccggga gtccaaacgtg tgaccgttac tgacgccaga	15300
cgcgcaccc gtccctacgt gtacaaggca ctggcatag tcgcaccgcg cgtcccttca	15360
agccgcaccc tctaaaaaaa aaaaatgtcc attcttatct cgcccagtaa taacaccggt	15420
tgggtctgc gcgctccaag caagatgtac ggaggcgcac gcaaacgttc taccaacat	15480
cccggtgcgtg ttgcggaca ttttcgcgtt ccatgggtg ccctcaaggg ccgcactcgc	15540

gttcgaacca ccgtcgatga tgtaatcgat caggtggttc cgacgccccg taattatact	15600
cctactgcgc ctacatctac tgtggatgca gttattgaca gtgttagtggc tgacgctcgc	15660
aactatgctc gacgtaagag ccggcgaagg cgcattgcca gacgccaccg agctaccact	15720
gccatgcgag ccgcaagagc tctgctacga agagctagac gcgtggggcg aagagccatg	15780
cttagggcgg ccagacgtgc agcttcgggc gccagcgccg gcaggtcccg caggcaagca	15840
gccgctgtcg cagcggcgac tattgccgac atggcccaat cgcgaagagg caatgtatac	15900
tgggtgcgtg acgctgcccac cggtaacgt gtacccgtgc gcacccgtcc ccctgcact	15960
tagaagatac tgagcagtct ccgatgttgt gtcccaagcgg cgaggatgtc caagcgcaaa	16020
tacaaggaag aaatgctgca gtttatcgca cctgaagtct acggccaacc gttgaaggat	16080
aaaaaaaaac cccgcaaaat caagcgggtt aaaaaggaca aaaaagaaga ggaagatggc	16140
[0065] gatgatggc tggcggagtt tgtgcgcgag ttgcggccac ggcgacgcgt gcaatggcgt	16200
ggcgcaaaag ttgcacatgt gttgagacct ggaacttcgg tggctttac acccggcgag	16260
cgttcaagcg ctactttaa gcgttctat gatgaggtgt acggggatga tgatattctt	16320
gagcaggcgg ctgaccgatt aggcgagttt gcttatggca agcgttagtag aataacttcc	16380
aaggatgaga cagtgtcaat acccttggat catggaaatc ccacccctag tcttaaaccg	16440
gtcactttgc agcaagtgtt acccgtaact ccgcgaacag gtgttaaaccg cgaagggtgaa	16500
gatttgtatc ccactatgca actgatggta cccaaacgcc agaagttgga ggacgttttg	16560
gagaaaagtaa aagtggatcc agatattcaa cctgagggtt aagtgagacc cattaagcag	16620
gtagcgcctg gtctgggggt acaaactgta gacattaaga ttcccactga aagtatggaa	16680
gtgcaaactg aaccgcggaa gcctactgcc acctccactg aagtgcacaaac ggatccatgg	16740
atgcccattgc ctattacaac tgacgccgcc ggtcccactc gaagatcccg acgaaagtac	16800
ggtccagcaa gtctgttgc gccaattat gttgtacacc catctattat tcctactcct	16860

ggttaccgag gcactcgcta ctatcgacg cgaacagta cctccgcgc tcgcccgaag	16920
acacctgcaa atcgagtcg tcgcccgtaga cgacacaagca aaccgactcc cggccgcctg	16980
gtgcggcaag tgtaccgcaa tggttagtgcg gaaccttga cactgccgcg tgccgttac	17040
catccgagta tcatcactta atcaatgttgcg cctgcgcctc cttgcagata tggccctcac	17100
ttgtcgccctt cgcgttccca tcactggta ccgaggaaga aactcgccgc gtagaagagg	17160
gatgttggga cgcggaatgc gacgctacag gcgcacggcgt gctatccgca agcaattgcg	17220
gggtggtttt ttaccaggct taattccaat tatcgctgct gcaattggcg cgataccagg	17280
catagcttcc gtggcggttc aggcctcgca acgacattga cattggaaaa aaaacgtata	17340
aataaaaaaaa aatacaatgg actctgacac tcctggcct gtgactatgt tttcttagag	17400
atggaagaca tcaatttttc atcctggct ccgcgcacacg gcacgaagcc gtacatggc	17460
acctggagcg acatcgacac gagccaactg aacggggcgc cttcaatttgc gagcagtatc	17520
[0066] tggagcgggc taaaaaattt tggctcaacc ataaaaacat acggaaacaa agcttggaaac	17580
agcagtacag gacaggcgct tagaaataaa cttaaagacc agaacttcca acaaaaagta	17640
gtcgatggga tagcttccgg catcaatggta gtggtagatt tggctaaacca ggctgtgcag	17700
aaaaagataa acagtcgtt ggaccgcgcg ccagcaaccc caggtgaaat gcaagtggag	17760
gaagaaattt ctccgcaga aaaacgaggc gacaagcgac cgcgtccgc tttggaaagag	17820
acgctggta cgccgtaga tgaaccgcct tcttatgagg aagcaacgaa gcttggaaatg	17880
cccaccaacta gaccgatagc cccaatggcc accggggtga tggaaaccttc tcagttgcatt	17940
cgaccgtca cttggattt gccccctccc cctgctgcta ctgctgtacc cgcttctaag	18000
cctgtcgctg ccccgaaacc agtcggcgtta gccaggtcac gtccggggg cgctccgt	18060
ccaaatgcgc actggaaaa tactctgaac agcatcggtgg gtctaggcgt gcaaagtgtaa	18120
aaacgcccgtc gctgctttta attaaatatg gagtagcgct taacttgcct atctgtgtat	18180

atgtgtcatt acacgccgtc acagcagcag agaaaaaaag gaagaggtcg tgcgtcgacg	18240
ctgagttact ttcaagatgg ccacccatc gatgctgcc caatggcat acatgcacat	18300
cgcggacag gatgctcg agtacctgag tccgggtctg gtgcagttcg cccgcgccac	18360
agacacctac ttcaatctgg gaaataagtt tagaaatccc accgtagcgc cgaccacga	18420
tgtgaccacc gaccgtagcc agcggctcat gttgcgcttc gtgcccgtt accgggagga	18480
caatacatac tcttacaaag tgcgg tacac cctggccgtg ggcgacaaca gagtgctgga	18540
tatggccagc acgttctttg acattagggg cgtgttggac agaggtccca gtttcaaacc	18600
ctattctggt acggcttaca actctctggc tcctaaaggc gctccaaatg catctcaatg	18660
gattgcaaaa ggcgtaccaa ctgcagcagc cgaggcaat ggtgaagaag aacatgaaac	18720
agaggagaaa actgctactt acactttgc caatgctcct gtaaaagccg aggctcaaat	18780
tacaaaagag ggcttaccaa taggtttgga gatttcagct gaaaacgaat ctaaaccat	18840
[0067] ctatgcagat aaactttatc agccagaacc tcaagtggg gatgaaactt ggactgacct	18900
agacggaaaa accgaagagt atggaggcag ggctctaaag cctactacta acatgaaacc	18960
ctgttacggg tcctatgca agcctactaa tttaaaagggt ggtcaggcaa aaccgaaaaaa	19020
ctcggAACCG tcgagtgaaa aaattgaata tgatattgac atgaaattt ttgataactc	19080
atcgaaaga acaaacitca gtcctaaaat tgtcatgtat gcagaaaatg tagtttggaa	19140
aacgccagac actcatgttag tgtacaacc tgaaacagaa gacacaagtt ccgaagctaa	19200
tttggacaa cagtctatgc ccaacagacc caactacatt ggcttcagag ataactttat	19260
tggactcatg tactataaca gtactggtaa catgggggtg ctggctggc aagcgtctca	19320
gttaaatgca gtggttgact tgcaggacag aaacacagaa ctttcttacc aactcttgct	19380
tgactctctg ggcgacagaa ccagatactt tagcatgtgg aatcaggctg tggacagtta	19440
tgatcctgat gtacgtgtta ttgaaaatca tgggtggaa gatgaacttc ccaactattg	19500

tttccactg gacggcatag gtgttccaac aaccagttac aaatcaatag ttccaaatgg	19560
agaagataat aataattgga aagaacctga agtaaatgga acaagtgaga tcggacaggg	19620
taatttgtt gccatggaaa ttaaccttca agccaatcta tggcgaagtt tcctttattc	19680
caatgtggct ctgttatctcc cagactcgta caaatacacc ccgtccaatg tcactttcc	19740
agaaaaacaaa aacacctacg actacatgaa cggcggggtg gtgccgcat ctctagtaga	19800
cacctatgtg aacattggtg ccaggtggtc tctggatgcc atggacaatg tcaaccatt	19860
caaccaccac cgtaacgctg gttgcgtt ccgatctatg cttctggta acggacgtt	19920
tgtgccttc cacatacaag tgcctcaaaa attttcgct gttaaaaacc tgctgcttct	19980
cccaggctcc tacacttatg agtggactt taggaaggat gtgaacatgg ttctacagag	20040
ttccctcggt aacgacactgc gggtagatgg cggcagcatc agttcacga gcatcaacct	20100
ctatgctact ttttccccca tggctcacaa caccgcttcc acccttgaag ccatgctgcg	20160
[0068] gaatgacacc aatgatcagt cattcaacga ctacctatct gcagctaaca tgctctaccc	20220
cattcctgcc aatgcaacca atattccat ttccattct tctcgcaact gggcggttt	20280
cagaggctgg tcatttacca gactgaaaac caaagaaaact ccctttgg ggtctggatt	20340
tgaccctac tttgtctatt ctggtctat tccctacctg gatggtacct tctacctgaa	20400
ccacactttt aagaaggttt ccatcatgtt tgactttca gtgagctggc ctggaaatga	20460
caggttacta tctcctaactg aatttgaat aaagcgcact gtggatggcg aaggctacaa	20520
cgtagcccaa tgcaacatga ccaaagactg gttttggta cagatgctcg ccaactacaa	20580
catcggttat cagggcttct acattccaga aggataaaaa gatcgcatgt attcatttt	20640
cagaaaacttc cagcccatga gcagggcagggt ggtttagatgag gtcaattaca aagacttcaa	20700
ggccgtcgcc ataccctacc aacacaacaa ctctggctt gtgggttaca tggctccgac	20760
catgcgccaa ggtcaaccct atcccgctaa ctatccctat ccactcattg gaacaactgc	20820

cgtaaatagt gttacgcaga aaaaggctt gtgtgacaga accatgtggc gcataccgtt	20880
ctcgagcaac ttcatgtcta tggggccct tacagacttg ggacagaata tgctctatgc	20940
caactcagct catgtctgg acatgacctt ttaggtggat cccatggatg agcccaccct	21000
gctttatctt ctcttcgaag ttttcgacgt ggtcagagtg catcagccac accgcggcat	21060
catcgaggca gtctaccctgc gtacaccgtt ctggccggt aacgctacca cgtaagaagc	21120
ttcttgcttc ttgcaaatacg cagctgcaac catggcctgc ggatccaaa acggctccag	21180
cgagcaagag cttagagcca ttgtccaaga cctgggttgc ggaccctatt ttttggAAC	21240
ctacgataag cgcttcccg ggttcatggc ccccgataag ctgcctgtg ccattgtaaa	21300
tacgccgga cgtgagacgg gggagagca ctgggtggct ttcggttggaa acccacgttc	21360
taacacctgc taccttttg atccttttgg attctcgat gatgtctca aacagattta	21420
ccagtttggaa tatgagggtc tcctgcgcgg cagcgcttt gctaccaagg accgcgttat	21480
[0069] tacgctggaa aaatctaccc agaccgtgca gggcccccgt tctgcccct gcggacttt	21540
ctgctgcatg ttcccttcacg cctttgtca cttgcctgac cgtcccatgg acggaaaccc	21600
caccatgaaa ttgctaactg gagtgccaaa caacatgctt catttcctta aagtccagcc	21660
caccctgtgt gacaatcaaa aagcactcta ccattttctt aataccatt cgccttattt	21720
tcgctctcat cgtacacaca tcgaaaggc cactgcgttc gaccgtatgg atgttcaata	21780
atgactcatg taaacaacgt gttcaataaa catcaactta ttttttaca tgtatcaagg	21840
ctctggatta cttatTTTtatacaagtcga atgggttctg acgagaatca gaatgaccgg	21900
caggcagtga tacgttgcgg aactgatact tgggttgcctt cttgaattcg ggaatcacca	21960
acttgggaac cggtatatcg ggcaggatgt cactccacag ctttctggc agctgcaaag	22020
ctccaaggcag gtcaggagcc gaaatcttga aatcacaatt aggaccagtg ctctgagcgc	22080
gagagttgcg gtacaccgga ttgcagcact gaaacaccat cagcgacgga tgtctcacgc	22140

ttgccagcac ggtgggatct gcaatcatgc ccacatccag atcttcagca ttggcaatgc	22200
tgaacgggtt catcttgcag gtctgcctac ccatggcggg cacccaaatggcgttgc	22260
tgcaatcgca gtgcaggggg atcagttatca tcttggcctg atccgtctg attccgttgc	22320
acacggctct catgaaagca tcataattgt taaaaggctg ctggcctta ctaccctcgg	22380
tataaaacat cccgcaggac ctgctcgaaa actgggttagc tgcacagccg gcatcattca	22440
cacagcagcg ggcgtcattt ttggcttattt gcaccacact tctgccccag cggttttggg	22500
tgattttgggt tcgctcgaaa ttctcctta aggctcggtt tccgttctcg ctggccacat	22560
ccatctcgat aatctgctcc ttctgaatca taatattgcc atgcaggcac ttcaagttgc	22620
cctcataatc attgcagcca tgaggccaca acgcacagcc tgcatttcc caattatgg	22680
ggcgatctg agaaaaagaa tgtatcattt cctgcagaaa tttccatc atcgatgtca	22740
gtgtcttgggtt actagtggaaa gtttaactgga tgcctcggtt ctttcggtt acgtactgg	22800
[0070] gacagatgcg ctgttattttt tcgtgttgc caggcattttt tttaaaacag gttctaaatgg	22860
cgttatccag cctgtacttc tccatcgca gacacatcac ttccatgcct ttctccaaag	22920
cagacaccag gggcaagctt atcggtttttaacagtgc ggcagcagct ctttagccaa	22980
gagggtcatc tttagcgatc ttctcaatgc ttcttttgc atccttctca acgtatgcgc	23040
cggcggttta gctgaaaccc actgcataaa gttgcgcctc ttcttttct tcttcgtgt	23100
cttgactgat gtcttgcattt gggatatgtt tggcttcctt tggcttctt ttgggggttta	23160
tccggaggagg aggactgtcg ctccgttccg gagacaggga ggattgtgac gtttcgtca	23220
ccattaccaa ctgactgtcg gtatagaacatgc ctgacccac acggcgcacag gtgttttct	23280
tccggggcag aggtggaggc gattgcgaag ggctgcggc cgacctggaa ggcggatgac	23340
tggcagaacc cttccgcgt tcgggggtt gctccgttgc ggggtcgctt aactgatttc	23400
cttcgcggct ggccattgtt ttctccatgg cagagaaaca acagacatgg aaactcagcc	23460

attgctgtca acatcgccac gagtgccatc acatctcgac ctcagcgac aggaaaagga	23520	
gcagagctta agcattccac cgcccagtcc tgccaccacc tctaccctag aagataagga	23580	
ggtcgacgca tctcatgaca tgcagaataa aaaagcgaaa gagtctgaga cagacatcga	23640	
gcaagacccg ggctatgtga caccggtgga acacgaggaa gagttgaaac gctttctaga	23700	
gagagaggat gaaaactgcc caaaacagcg agcagataac tatcaccaag atgctggaaa	23760	
tagggatcag aacaccgact acctcatagg gcttgacggg gaagacgcgc tccttaaaca	23820	
tctagcaaga cagtcgctca tagtcaagga tgcattattg gacagaactg aagtgcctat	23880	
cagtgtggaa gagctcagct gcgcctacga gcttaacctt tttcacctc gtactcccc	23940	
caaacgtcag ccaaacggca cctgcgagcc aaatcctcgc ttaaactttt atccagctt	24000	
tgctgtgcca gaagtactgg ctacctatca catctttttt aaaaatcaaa aaattccagt	24060	
ctcctgccgc gctaattcgca cccgcgccga tgcctactc aatctggac ctggttcacg	24120	
[0071]	cttacctgat atagcttcct tggaaagaggt tccaaagatc ttcgagggtc tggcaataa	24180
	tgagactcgg gccgcaaattg ctctgaaaaa gggagaaaaat ggcatggatg agcatcacag	24240
	cgttctggtg gaatttggaaag gcgataatgc cagactcgca gtactcaagc gaagcgtcga	24300
	ggtcacacac ttgcataatc ccgctgtcaa cctgccccct aaagtcatga cggcggtcat	24360
	ggaccagttt ctcattaaatc ggcataatcc ccttcagaa gacatgcattt acccagatgc	24420
	ctgtgatgag ggttaaccag tggcagtga tggcaggatc acccgatggc tggcaccga	24480
	ctctccccgg gatttggaaag agcgtcgaa gcttatgtatc ggcgtggcgt tggttaccgt	24540
	agaacttagag tgtctccgac gtttctttac cgattcagaa accttgcgc aactcgaaga	24600
	gaatctgcac tacacttttta gacacggctt tggcggcag gcatgcataa tatctaacgt	24660
	ggaactcacc aacctggttt cctacatggg tattctgcat gagaatgcgc taggacaaag	24720
	cgtgctgcac agcaccctta agggggaaagc ccggcgtat tacatccgcg attgtgtcta	24780

tctctacctg tgccacacgt ggcaaaccgg catgggtgta tggcagcaat gtttagaaga	24840
acagaacttg aaagagctt acaagcttt acagaaatct cttaaagggtc tgtggacagg	24900
gttcgacgag cgacccgtcg cttccgacct ggcagacctc atcttccag agcgtctcag	24960
ggttactttg cgaaacggat tgcctgactt tatgagccag agcatgctta acaatttcg	25020
ctcttcatc ctggaacgct ccggtatcct gcccgccacc tgctgcgcac tgccctccga	25080
ctttgtgcct ctcacctacc gcgagtgccc cccgccccta tggagtcact gctacctgtt	25140
ccgtctggcc aactatctt cctaccactc ggtatgtgatc gaggatgtga gcggagacgg	25200
cttgctggag tgccactgcc gctgcaatct gtgcacgccc caccggccc tagcttgcaa	25260
cccccagttt atgagcgaaa cccagataat aggcacctt gaattgcaag gccccagcag	25320
ccaaggcgat gggtcttctc ctgggcaaag tttaaaactg accccggac tgtggacctc	25380
cgccctacttg cgcaagttt ctccggaaga ttaccacccc tatgaaatca agttctatga	25440
[0072] ggaccaatca cagcctccaa aggccgaact ttccgttgc gtcatcaccc agggggcaat	25500
tctggcccaa ttgcaagcca tccaaaatc ccggcaagaa ttctactga aaaagggtaa	25560
gggggtctac ctgacccccc agaccggcga ggaactcaac acaaggttcc ctcaggatgt	25620
cccaacgacg agaaaacaag aagttgaagg tgcagccgcc gccccagaa gatatggagg	25680
aagattggga cagtcaggca gaggaggcgg aggaggacag tctggaggac agtctggagg	25740
aagacagttt ggaggaggaa aacgaggagg cagaggaggt ggaagaagta accgcccaca	25800
aacagttatc ctggctgctg gagacaagca acagcgctac catctccgtt ccgagtcgag	25860
gaacccggcg gcgtcccagc agtagatggg acgagaccgg acgttcccg aacccaacca	25920
gcgccttccaa gaccggtaag aaggatccgc agggatacaa gtccctggcgg gggcataaga	25980
atgccatcat ctccctgctt catgagtgcg gggcaacat atccctcagc cggcgctact	26040
tgctattcca ccatgggtg aacttccgc gcaatgttt gcattactac cgtcacctcc	26100

acagcccccta ctatagccag caaatccga cagtctcgac agataaagac agcggcggcg	26160
acctccaaca gaaaaccagc agcggcagtt agaaaataca caacaagtgc agcaacagga	26220
ggattaaaga ttacagccaa cgagccagcg caaaccgag agttaagaaa tcggatctt	26280
ccaaccctgt atgccatctt ccagcagagt cgggtcaag agcaggaact gaaaataaaa	26340
aaccgatctc tgcgttcgct caccagaagt tgggtatc acaagagcga agatcaactt	26400
cagcgcactc tcgaggacgc cgaggctctc ttcaacaagt actgcgcgt gactctaaa	26460
gagtaggcag cgaccgcgt tattaaaaa aggccccat tacatcatcc tcgacatgag	26520
taaagaaatt cccacgcctt acatgtggag ttatcaaccc caaatggat tggcagcagg	26580
cgccctccag gactactcca cccgcatgaa ttggctcagc gccggccctt ctatgattc	26640
tcgagttat gatatacgcg cctaccgaaa ccaaatactt ttggAACAGT cagctttac	26700
caccacgccc cgccaaacacc ttaatccag aaattggccc gccccctag tgtaccagga	26760
[0073] aagtcccgct cccaccactg tattacttcc tcgagacgcc caggccgaag tccaaatgac	26820
taatgcaggt gcgcagttag ctggccgctc caccctatgt cgtcacaggc ctggcataa	26880
tataaaacgc ctgatgatca gaggccgagg tatccagctc aacgacgagt cggtagctc	26940
tccgcttggt ctacgaccag acggaatctt tcagattgcc ggctgcccc gatcttcctt	27000
cacccctcggt caggctgttc tgactttgga aagttcgct tcgcaacccc gtcggccgg	27060
aatcgggacc gttcaaittg tagaggagtt tactccctct gtctacttca accccttctc	27120
cggatctcct gggcaactacc cggacgagtt cataccgaac ttgcacgcga ttagcggctc	27180
agtggacggc tacgattgtat gtctggtgac gcccgtgagc tatctcggt ggcacatcta	27240
gaccactgcc gcccgtttcg ctgcttgcg cggaaactta ttgagttcat ctacttcgaa	27300
ctcccccaagg atcaccctca aggtccggcc cacggagtgc ggattactat cgaaggcaaa	27360
atagactctc gcctgcaacg aattttctcc cagcggcccg tgctgatcga gcgagaccag	27420

ggaaacacca cggttccat ctactgcatt tgaatcacc ccggattgca tgaaagcctt	27480
tgtgtctta tgtgtactga gttataaaa aactgaatta agactctcct acggactgcc	27540
gcttctcaa cccggatttt acaaccagaa gaacaaaact ttcctgtcg tccaggactc	27600
tgttaacttc acctttccta ctcacaaact agaagctcaa cgactacacc gctttccag	27660
aagcattttc cctactaata ctacttcaa aaccggaggt gagctccacg gtctccctac	27720
agaaaaaccct tgggtggaag cgggcctgt agtacttagga attcttgccg gtgggcttgt	27780
gattattctt tgctacctat acacaccttgc ttcaacttgc ctatgtgggtgt tgtggtattg	27840
gttaaaaaaaaa tggggcccat actagtcttgc ttgttttac ttgcctttt ggaaccgggt	27900
tctgccaatt acgatccatg tctagacttt gacccagaaa actgcacact tactttgca	27960
cccgacacaa gccgcacatcg tggagttctt attaagtgcg gatggaaatg caggccgtt	28020
gaaattacac acaataacaa aacctggaac aataccttat ccaccacatg ggagccagga	28080
[0074]	
gttcccgagt ggtacactgt ctctgtccga ggtcctgacg gttccatccg cattagtaac	28140
aacactttca tttttctga aatgtgcgat ctggccatgt tcatgagcaa acagtattct	28200
ctatggcctc ctagcaagga caacatcgta acgttctcca ttgcttatttgc ttgtgcgt	28260
tgccttctta ctgcttact gtgcgtatgc atacacctgc ttgttaaccac tcgcatcaaa	28320
aacgccaata acaaagaaaa aatgccttaa cctcttctg tttacagaca tggcttctct	28380
tacatctctc atatttgca gcattgtcac tgccgctcac ggacaaacag tcgtctctat	28440
cccaacttagga cataattaca ctctcatagg acccccaatc acttcagagg tcatctggac	28500
caaactggga agcgttgatt actttgatataatctgtaaac aaaacaaaac caataatagt	28560
aacttgcaac atacaaaatc ttacattgat taatgttagc aaagtttaca gcggttacta	28620
ttatggttat gacagataca gtagtcaata tagaaattac ttggttcggtt ttaccagg	28680
gaaaaccacg aaaatgccaa atatggcaaa gattcgatcc gatgacaatt ctctagaaac	28740

ttttacatct cccaccacac ccgacgaaaa aaacatccca gattcaatga ttgcaattgt	28800
tgcccggtg gcagtggtga tggcactaat aataatatgc atgcctttat atgcctgtcg	28860
ctacaaaaag tttcatccta aaaaacaaga tctcctacta aggcttaaca tttaatttct	28920
ttttatacag ccatggtttc cactaccaca ttcccttatgc ttactagtcg ctgcactctg	28980
acttctgctc gtcacacact cactgtaact ataggctcaa actgcacact aaaaggacct	29040
caagggtggtc atgtctttt gtggagaata tatgacaatg gatggtttac aaaaccatgt	29100
gaccaacctg gtagattttt ctgcaacggc agagacctaa ccattatcaa cgtgacagca	29160
aatgacaaag gcttctattt tggaaccgac tataaaagta gtttagatta taacattatt	29220
gtactgccat ctaccactcc agcacccgc acaactactt tctctagcag cagtgtcgct	29280
aacaatacaa ttccaatcc aaccttgcc gcgctttaa aacgcactgt gaataattct	29340
acaacttcac atacaacaat ttccacttca acaatcagca tcatcgctgc agtgcacatt	29400
[0075] ggaatatcta ttcttgaaaa taccataacc tactacgcct gctgctatag aaaagacaaa	29460
cataaaaggta atccattact tagatttgat atttaatttg ttctttttt ttatttacag	29520
tatggtaaac accaatcatg gtacctagaa atttcttctt caccatactc atctgtgctt	29580
ttaatgtttt cgctactttc acagcagtag ccacagcaac cccagactgt ataggagcat	29640
ttgcttccta tgcactttt gctttgtta ctgcacatcg cgatgttagc atagtcgtcc	29700
tggttattaa tttttccaa cttctagact ggatcctgt gctatgttagc atagtcgtcc	29760
accatcccga ataccgcaac caaaatatcg cggcacttct tagactcatc taaaaccatg	29820
caggctatac taccaatatt ttgcattcta ttgcattctt acgctgtctc aacccagct	29880
gcctatagta ctccaccaga acacccatggaa aatgcaaat tccaaacaacc gtggcatttt	29940
cttgcttgct atcgagaaaa atcagaaatc cccccaattt taataatgtat tgctgaaata	30000
attaatataa tctgttgac cataattca tttttgatat accccctatt tgattttggc	30060

tggaatgctc ccaatgcaca tgatcatcca caagacccag aggaacacat tccccacaa	30120
aacatgcaac atccaatagc gctaatacgat tacgaaagtg aaccacaacc cccactactc	30180
cctgcttata gttacttcaa cctaaccggc ggagatgact gaaacactca ccaccccaa	30240
ttccggcgag gatctgctcg atatggacgg ccgcgtctca gaacaacgac ttgcccaact	30300
acgcattccgc cagcagcagg aacgcgtggc caaagagctc agagatgtca tccaaattca	30360
ccaatgcaaa aaaggcatat tctgttttgtt aaaacaagcc aagatattcct acgagatcac	30420
cgctactgac catgcctct cttacgaact tggccccc aa cgacaaaaat ttacctgcat	30480
ggtggaaatc aacccatag ttatcacccca acaaagtgg aataactaagg gttgcattca	30540
ctgctcctgc gattccatcg agtgcaccta caccctgt aagaccctat gcggcctaag	30600
agacctgcta ccaatgaatt aaaaaaaaaat gattaataaa aaatcactta cttgaaatca	30660
gcaataaggt ctctgttcaa attttctccc agcagcacct cacttccctc ttcccaactc	30720
[0076] tggatttcta aacccgttc agcggcatac tttctccata cttaaagg gatgtcaa	30780
tttagctcct ctcctgtacc cacaatcttca atgtcttct tccagatga ccaagagagt	30840
ccggctcagt gactccttca accctgtcta cccctatgaa gatgaaagca cttccaaaca	30900
cccctttata aacccagggt ttatccccca aatggcttc acacaaagcc cagacggagt	30960
tcttacttta aaatgtttaa cccactaacc aaccacaggc ggatctctac agctaaaagt	31020
gggaggggga cttacagtgg atgacactga tggtaaccata caagaaaaca tacgtgctac	31080
agcacccatt actaaaaata atcactctgt agaactatcc attggaaatg gattagaaac	31140
tcaaaacaat aaactatgtg ccaaattggg aaatgggtta aaatthaaca acggtgacat	31200
ttgtataaag gatagtatttta acacccatttgc gactggaata aaccctccac ctaactgtca	31260
aattgtggaa aacactaata caaatgatgg caaacttact ttagtattag taaaaatgg	31320
aggcttggtt aatggctacg tgtctctgt tgggtatca gacactgtga accaaatgtt	31380

cacacaaaag acagcaaaca tccaaattaag attatatttt gactttctg gaaatctatt	31440
aactgaggaa tcagacttaa aaattccact taaaaataaa tcttctacag cgaccagtga	31500
aactgttagcc agcagcaaag ccittatgcc aagtactaca gcttatccct tcaacaccac	31560
tactagggat agtggaaact acattcatgg aatatgttac tacatgacta gttatgatag	31620
aagtctattt cccttgaaca tttctataat gctaaacagc cgtatgattt cttccaatgt	31680
tgccatatgcc atacaattt aatggaatct aaatgcaagt gaatctccag aaagcaacat	31740
agctacgctg accacatccc ccttttctt ttcttacatt acagaagacg acaactaaaa	31800
taaagtttaa gtgttttat ttaaaatcac aaaattcgag tagttattt gcctccacct	31860
tcccatggc cagaatacac caatctctcc ccacgcacag cttaaacat ttggatacca	31920
ttagagatag acattgtttt agattccaca ttccaaacag tttcagagcg agccaatctg	31980
gggtcagtga tagataaaaaa tccatcgca tagtcttta aagcgcttc acagtccaac	32040
[0077] tgctcggtt ggcactccgg agtttggatc acggcatctt ggaagaagaa cgatggaaat	32100
cataatccga aaacggtatac ggacgattgt gtctcatcaa acccacaagc agccgctgtc	32160
tgcgtcgctc cgtgcgactg ctgtttatgg gatcagggtc cacagtttcc tgaagcatga	32220
tttaatagc ccttaacatc aacttctgg tgcgtatgcgc gcagcaacgc attctgattt	32280
cactcaaatac tttgcagtag gtacaacaca ttattacaat attgttaat aaaccataat	32340
taaaaggcgtt ccagccaaaaa ctcatatctg atataatcgc ccctgcatga ccatcataacc	32400
aaagtttaat ataaataaaaa tgacgttccc tcaaaaacac actacccaca tacatgatct	32460
ctttggcat gtgcataatc acaatctgtc tgtaccatgg acaacgttgg ttaatcatgc	32520
aacccaaat aacccatccgg aaccacactg ccaacaccgc tcccccagcc atgcattgaa	32580
gtgaaccctg ctgattacaa tgacaatgaa gaacccattt ctctcgacccg tgaatcactt	32640
gagaatgaaa aataatctata gtggcacaac atagacataa atgcataatc cttctcataa	32700

tttttaactc ctcaggattt agaaacatat cccagggaat aggaagctct tgcagaacag	32760
taaagctggc agaacaagga agaccacgaa cacaacttac actatgcata gtcatagtat	32820
cacaatctgg caacagcggg tggcttcag tcatagaagc tcgggttca tttcctcac	32880
aacgtggtaa ctgggctctg gtgtaagggt gatgtctggc gcatgatgtc gagcgtgcgc	32940
gcaaccttgt cataatggag ttgcttcctg acattctcgat atttgtata gcaaaacgcg	33000
gccctggcag aacacactct tcctgcctt ctatcctgcc gcttagcgtt ttccgtgtga	33060
tagttcaagt acagccacac tcttaagttt gtcaaaagaa tgctggcttc agttgtata	33120
aaaactccat cgcatctaat tgttctgagg aaatcatcca cggttagcata tgcaaattccc	33180
aaccaagcaa tgcaactgga ttgcgttca agcaggagag gagaggaaag agacggaaga	33240
accatgttaa tttttattcc aaacgatctc gcagtacttc aaattgtaga tcgcgcagat	33300
ggcatctctc gccccactg tgggtgaa aaagcacagc taaatcaaaa gaaatgcgat	33360
[0078] tttcaagggt ctcaacggtg gcttccaaca aagcctccac ggcacatcc aagaacaaaa	33420
gaataccaaa agaaggagca ttttctaact cctcaatcat catattacat tcctgcacca	33480
ttcccgata atttcagct ttccagcctt gaattattcg tgcagttt tggtaat	33540
ccaatccaca cattacaaac aggtcccgaa gggcgccctc caccaccatt cttaaacaca	33600
ccctcataat gacaaaatat ctgcgttgc tgcacgtt agcgaattga gaatggcaac	33660
atcaattgac atgcccggc ctctaagttc ttcttaagt tctagttgtaaaactct	33720
catattatca ccaaactgct tagccagaag ccccccggaa acaagagcag gggacgctac	33780
agtgcagtac aagcgcagac ctccccatt ggctccagca aaaacaagat tggaaataagc	33840
atattggaa ccaccagtaa tatcatgaa gttgctggaa atataatcag gcagagttc	33900
ttgttagaaat tgaataaaag aaaaatttgc caaaaaaaca ttcaaaacct ctggatgca	33960
aatgcaatag gttaccgcgc tgctccaa cattgttagt ttgttagt tctgcaaaaa	34020

taaaaaaaaaa acaagcgtca tatcatagta gcctgacgaa caggtggata aatcagtctt	34080
tccatcacaa gacaagccac agggctcca gctgaccct cgtaaaacct gtcatcgta	34140
ttaaacaaca gcaccgaaag ttccctcgaa tgaccagcat gaataagtct tgatgaagca	34200
tacaatccag acatgttagc atcagttaaag gagaaaaaac agccaacata gccttgggt	34260
ataattatgc ttaatcgtaa gtatagcaaa gccacccctc gcggatacaa agtaaaaggc	34320
acaggagaat aaaaaatata attatttctc tgctgctgtt taggcaacgt cgccccgggt	34380
ccctctaaat acacatacaa agcctcatca gccatggctt accagagaaa gtacagcggg	34440
cacacaaacc acaagctcta aagtcaactct ccaacctctc cacaatatat atacacaagc	34500
cctaaactga cgtaatggaa ctaaagtgtt aaaaatcccg ccaaacccaa cacacacccc	34560
gaaactgcgt caccaggaa aagtacagtt tcacttccgc aatcccaaca agcgtcactt	34620
cctctttctc acggtaagtc acatcccatt aacttacaac gtcattttcc cacggccgct	34680
[0079] ccgccccctt taaccgttaa ccccacagcc aatcaccaca cggcccacac ttttaaaat	34740
cacctcattt acatattggc accattccat ctataaggta tattattgtt gatg	34794
<210> 25	
<211> 548	
<212> DNA	
<213> 人工序列 (Artificial sequence)	
<220>	
<223> pXC1-CAAT-mTATA 5' 末端	
<400> 25	
cccttccagc tctctgcccc tttggattt aagccatat gataatgagg gggtggagtt	60
tgtgacgtgg cgccccgcgt gggAACGGGG cgggtgacgt agtagtgtgg cgaaagtgt	120
atgttgcagg tgtggcgaa cacatgttgcgatgt ggcaaaagtgg acgtttttgg	180
tgtgcgcgg tgtacacagg aagtgacaat ttgcgcgg ttttaggcgg atgtttagt	240

aaatttggc gtaaccgagt aagatttggc catttcgct ggaaaactga ataagaggaa	300
gtgaaatctg aataattttg tgttactcat agcgcgtaat atttgtctag ggccgcgggg	360
actttgaccg tttacgtgga gactcgccca ggtgttttc tcaggtgttt tccgcgttcc	420
gtggcggtttt attattatag tcagctgacg tgttagtgtat tcccggtgag ttcctcaaga	480
ggccactctt gagtgccagc gagtagagtt ttctcctccg agccgctccg acaccgggac	540
tgaaaatg	548
<210> 26	
<211> 549	
<212> DNA	
<213> 人工序列 (Artificial sequence)	
<220>	
<223> Ad-CAAT-mTATA 5' 末端	
[0080] <400> 26	
catcatcaat aatacacctt atttggatt gaagccaata tgataatgag ggggtggagt	60
tttgtacgtg gcgcggggcg tgggaacggg gcgggtgacg tagtagtgtg gcggaagtgt	120
gatgttgcaa gtgtggcgga acacatgtaa gcgacggatg tggcaaaagt gacgttttg	180
gtgtgcgcgcg gtgtacacag gaagtgacaa tttcgcgcg gttttaggcg gatgttgtag	240
taaatttggg cgtaaccgag taagatttgg ccatttcgc gggaaaactg aataagagga	300
agtgaaaatct gaataatttt gtgttactca tagcgcgtaa tatttgtcta gggccgcggg	360
gactttgacc gtttacgtgg agactcgccc aggtgtttt ctcaggtgtt ttccgcgttcc	420
cgtggcggttt tattattata gtcagctgac gtgttagtgta ttcccggtga gttcctcaag	480
aggccactct tgagtgccag cgagtagagt ttctcctcc gagccgctcc gacaccggga	540
ctgaaaatg	549

<210> 27

<211>	562	
<212>	DNA	
<213>	5型腺病毒 (Adenovirus type 5)	
<400>	27	
catcatcaat	aatataccctt atttggatt gaagccaata tgataatgag ggggtggagt	60
ttgtgacgtg	gcgcggggcg tgggaacggg gcgggtgacg tagtagtgtg gcggaagtgt	120
gatgttgc aa	gtgtggcgga acacatgtaa gcgacggatg tggcaaaagt gacgttttg	180
[0081]	gtgtgcgcg gtgtacacag gaagtgacaa tttcgcgcg gttttaggcg gatgtttag	240
taaatttggg	cgtaaccgag taagatttgg ccattttcgc gggaaaactg aataagagga	300
agtgaaatct	gaataaattt gtgttactca tagcgcgtaa tatttgtcta gggccgcggg	360
gactttgacc	gtttacgtgg agactcgccc aggtgtttt ctcaagggttt ttccgcgttc	420
cgggtcaaag	ttggcgttt attattatag tcagctgacg tgttagtgtat ttataccgg	480
tgagttcctc	aagaggccac tctttagtgc cagcgagtag agtttctcc tccgagccgc	540
tccgacaccg	ggactgaaaa tg	562

A

CATCATCAATAATACCTTATTTGGATTGAAGCCAATATGATAATGAGGGGGTGGAGTTGTGACGTGGCGCG
 GGGCGTGGGAACGGGGCGGGTGACGTAGTAGTGTGGCGGAAGTGTGATGTTGCAAGTGTGGCGGAACACATGTAA
 GCGACGGATGTGGAAAAGTACGTTTGGTGTGCGCCGGTGACACAGGAAGTACAATTTCGCGCGGTTT
 AGGC GGATGTGTAGTAAATTGGCGTAACCGAGTAAGATTGCCATTTCGCGGGAAAAGTGAATAAGAGGA
 AGTGAATCTGAATAATTGTGTACTCATAGCGCTAATATTGTCTAGGGCCGCGGGACTTGACCGTTA
 CGTGGAGACTCGCCCAGGTGTTTCTCAGGTGTTTCCCGTCCGGTCAAAGTTGGCGTTTATTATTAG
 TGAGTGCAGCGAGTAGAGTTCTCCGAGCCGCTCCGACACCGGGACTGAAAATG (SEQ ID NO: 3)

B

CATCATCAATAATACCTTATTTGGATTGAAGCCAATATGATAATGAGGGGGTGGAGTTGTGACGTGGCGCG
 GGGCGTGGGAACGGGGCGGGTGACGTAGTAGTGTGGCGGAAGTGTGATGTTGCAAGTGTGGCGGAACACATGTAA
 GCGACGGATGTGGAAAAGTACGTTTGGTGTGCGCCGGTGACACAGGAAGTACAATTTCGCGCGGTTT
 AGGC GGATGTGTAGTAAATTGGCGTAACCGAGTAAGATTGCCATTTCGCGGGAAAAGTGAATAAGAGGA
 AGTGAATCTGAATAATTGTGTACTCATAGCGCTAATATTGTCTAGGGCCGCGGGACTTGACCGTTA
 CGTGGAGACTCGCCCAGGTGTTTCTCAGGTGTTTCCCGTCCG-TGGCGTTTA
 TTATTATAGTCAGCTGACGTGTAGTGTATTACCCGGTAGTTCTCAAGAGGCCACTCT
 TGAGTGCAGCGAGTAGAGTTCTCCGAGCCGCTCCGACACCGGGACTGAAAATG (SEQ ID NO: 15)

C

CATCATCAATAATACCTTATTTGGATTGAAGCCAATATGATAATGAGGGGGTGGAGTTGTGACGTGGCGCG
 GGGCGTGGGAACGGGGCGGGTGACGTAGTAGTGTGGCGGAAGTGTGATGTTGCAAGTGTGGCGGAACACATGTAA
 GCGACGGATGTGGAAAAGTACGTTTGGTGTGCGCCGGTGACACAGGAAGTACAATTTCGCGCGGTTT
 AGGC GGATGTGTAGTAAATTGGCGTAACCGAGTAAGATTGCCATTTCGCGGGAAAAGTGAATAAGAGGA
 AGTGAATCTGAATAATTGTGTACTCATAGCGCTAATATTGTCTAGGGCCGCGGGACTTGACCGTTA
 CGTGGAGACTCGCCCAGGTGTTTCTCAGGTGTTTCCCGTCCG-TGGCGTTTA
 TTATTATAGTCAGCTGACGTGTAGTGTATTACCCGGTAGTTCTCAAGAGGCCACTCTGAGTGC
 TGAGTGCAGCGAGTAGAGTTCTCCGAGCCGCTCCGACACCGGGACTGAAAATG (SEQ ID NO: 16)

D

CATCATCAATAATACCTTATTTGGATTGAAGCCAATATGATAATGAGGGGGTGGAGTTGTGACGTGGCGCG
 GGGCGTGGGAACGGGGCGGGTGACGTAGTAGTGTGGCGGAAGTGTGATGTTGCAAGTGTGGCGGAACACATGTAA
 GCGACGGATGTGGAAAAGTACGTTTGGTGTGCGCCGGTGACACAGGAAGTACAATTTCGCGCGGTTT
 AGGC GGATGTGTAGTAAATTGGCGTAACCGAGTAAGATTGCCATTTCGCGGGAAAAGTGAATAAGAGGA
 AGTGAATCTGAATAATTGTGTACTCATAGCGCTAATATTGTCTAGGGCCGCGGGACTTGACCGTTA
 CGTGGAGACTCGCCCAGGTGTTTCTCAGGTGTTTCCCGTCCG-TGGCGTTTA
 TTATTATAGTCAGCTGACGTGTAGTGTATTACCCGGTAGTTCTCAAGAGGCCACTCTGAGTGC
 TGAGTGCAGCGAGTAGAGTTCTCCGAGCCGCTCCGACACCGGGACTGAAAATG (SEQ ID NO: 17)

E

CATCATCAATAATACCTTATTTGGATTGAAGCCAATATGATAATGAGGGGGTGGAGTTGTGACGTGGCGCG
 GGGCGTGGGAACGGGGCGGGTGACGTAGTAGTGTGGCGGAAGTGTGATGTTGCAAGTGTGGCGGAACACATGTAA
 GCGACGGATGTGGAAAAGTACGTTTGGTGTGCGCCGGTGACACAGGAAGTACAATTTCGCGCGGTTT
 AGGC GGATGTGTAGTAAATTGGCGTAACCGAGTAAGATTGCCATTTCGCGGGAAAAGTGAATAAGAGGA
 AGTGAATCTGAATAATTGTGTACTCATAGCGCTAATATTGTCTAGGGCCGCGGGACTTGACCGTTA
 CGTGGAGACTCGCCCAGGTGTTTCTCAGGTGTTTCCCGTCCG-TGGCGTTTA
 TTATTATAGTCAGCTGACGTGTAGTGTATTACCCGGTAGTTCTCAAGAGGCCACTCTGAGTGC
 TGAGTGCAGCGAGTAGAGTTCTCCGAGCCGCTCCGACACCGGGACTGAAAATG (SEQ ID NO: 26)

F

CATCATCAATAATACCTTATTTGGATTGAAGCCAATATGATAATGAGGGGGTGGAGTTGTGACGTGGCGCG
 GGGCGTGGGAACGGGGCGGGTGACGTAGTAGTGTGGCGGAAGTGTGATGTTGCAAGTGTGGCGGAACACATGTAA
 GCGACGGATGTGGAAAAGTACGTTTGGTGTGCGCCGGTGACACAGGAAGTACAATTTCGCGCGGTTT
 AGGC GGATGTGTAGTAAATTGGCGTAACCGAGTAAGATTGCCATTTCGCGGGAAAAGTGAATAAGAGGA
 AGTGAATCTGAATAATTGTGTACTCATAGCGCTAATATTGTCTAGGGCCGCGGGACTTGACCGTTA
 CGTGGAGACTCGCCCAGGTGTTTCTCAGGTGTTTCCCGTCCG-TGGCGTTTA
 TCAGCTGACGTGTAGTGTATTACCCGGTAGTTCTCAAGAGGCCACTCTGAGTGCAGCGAGTAGAGTT
 TGAGTGCAGCGAGTAGAGTTCTCCGAGCCGCTCCGACACCGGGACTGAAAATG (SEQ ID NO: 27)

图1

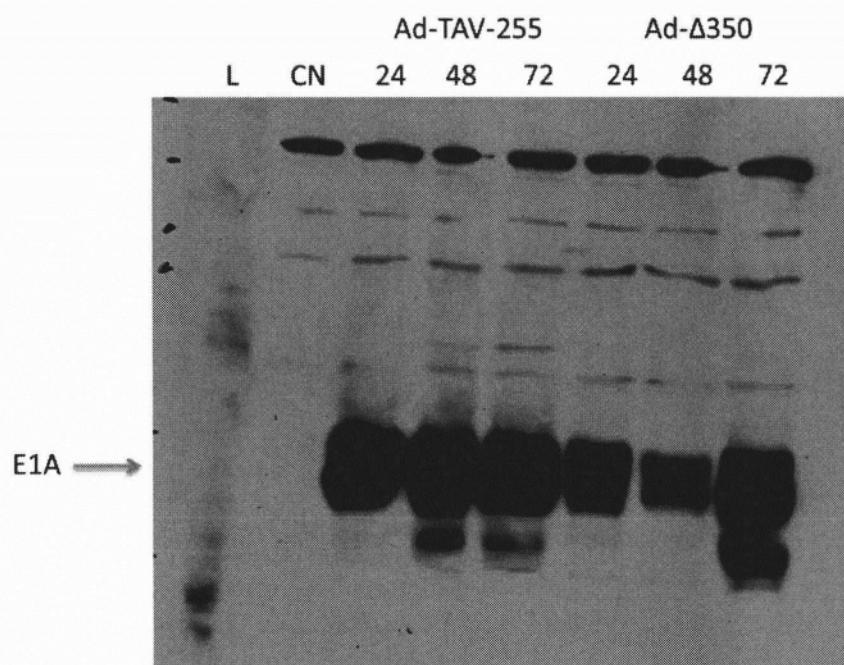
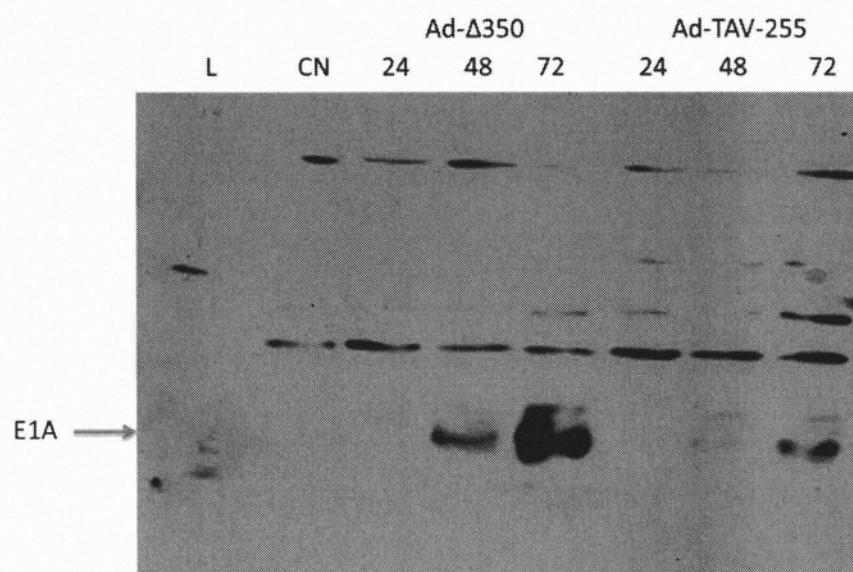
A**B**

图2

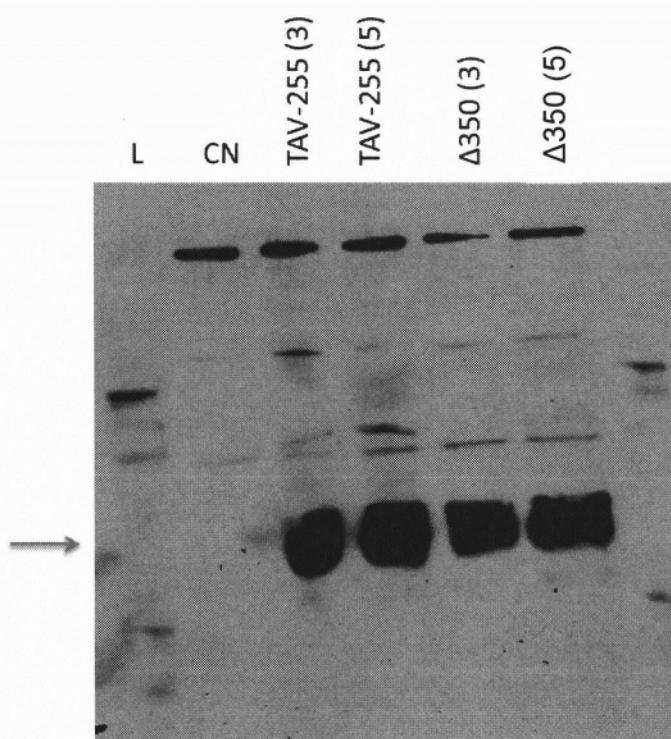
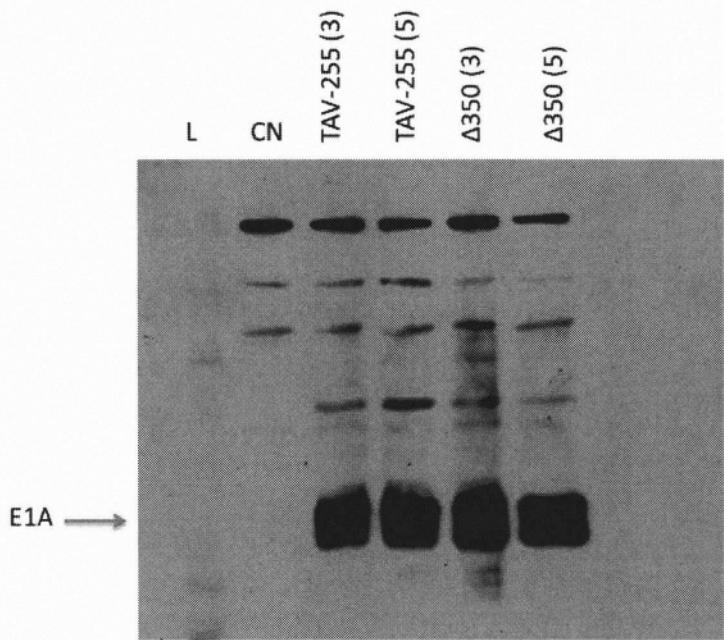
A**B**

图3

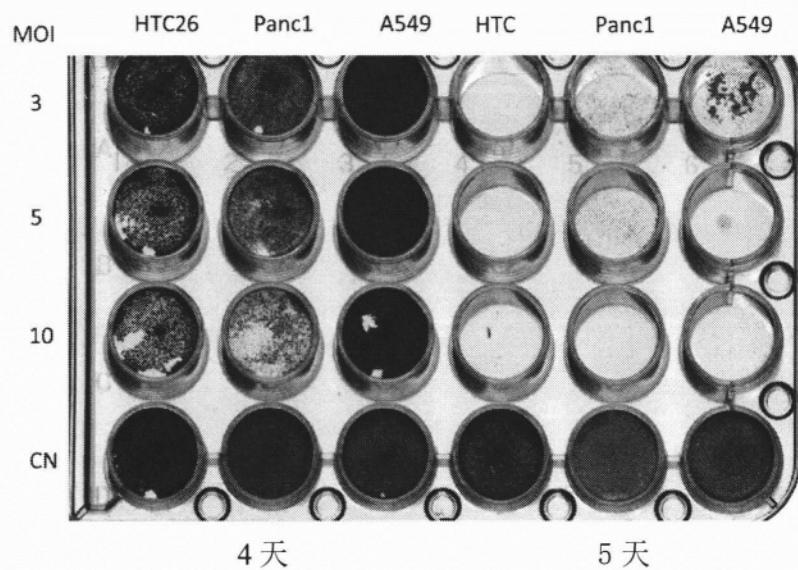
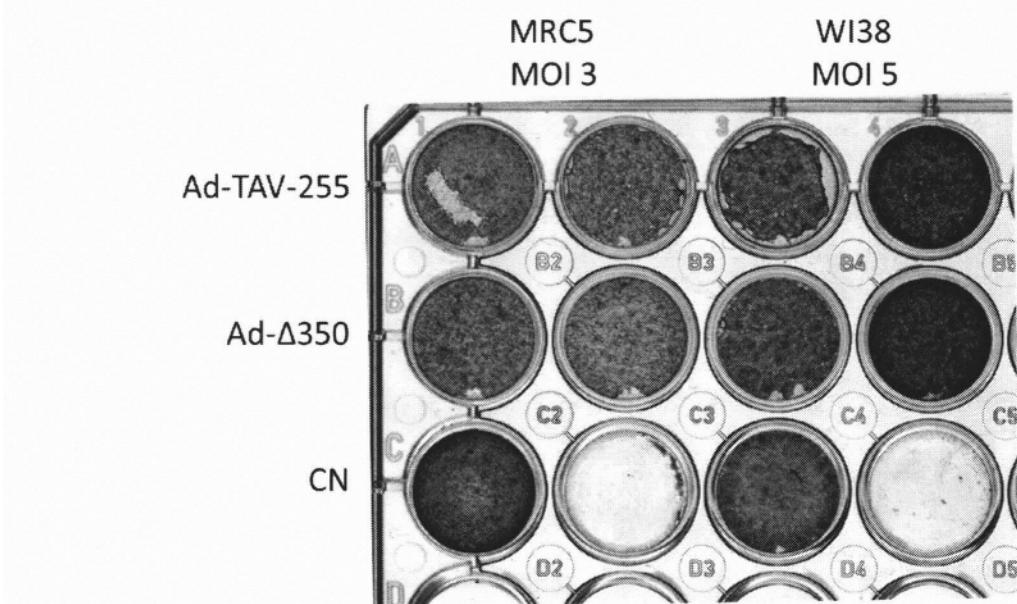
A**B**

图4

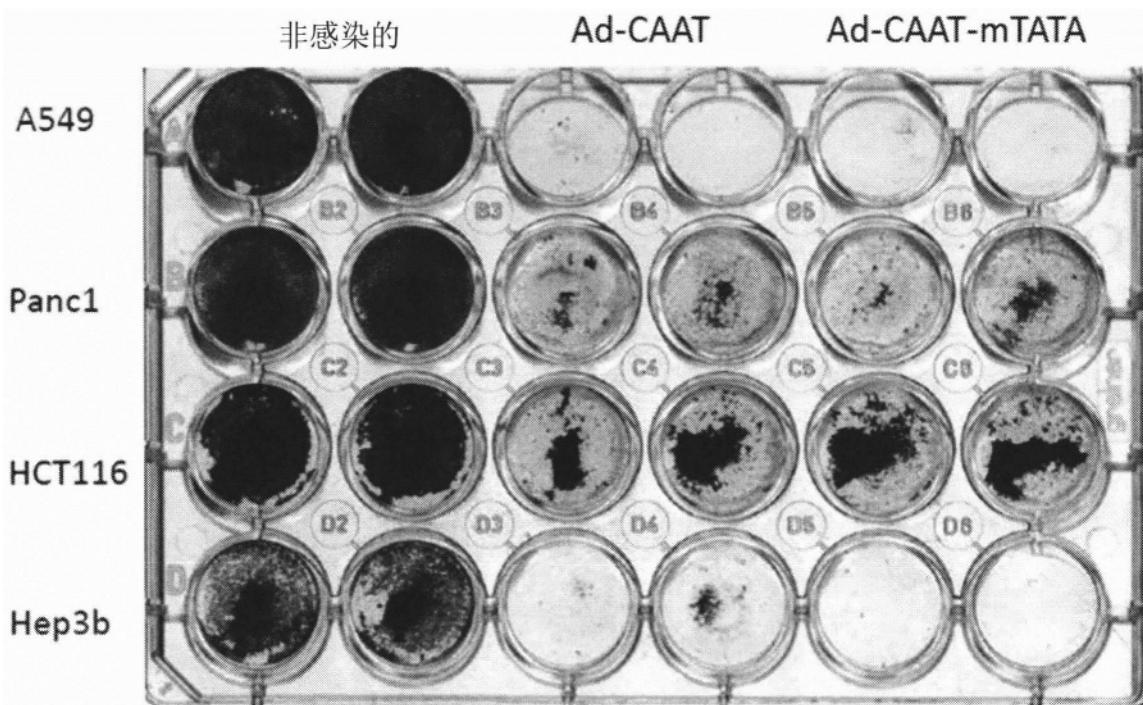


图5

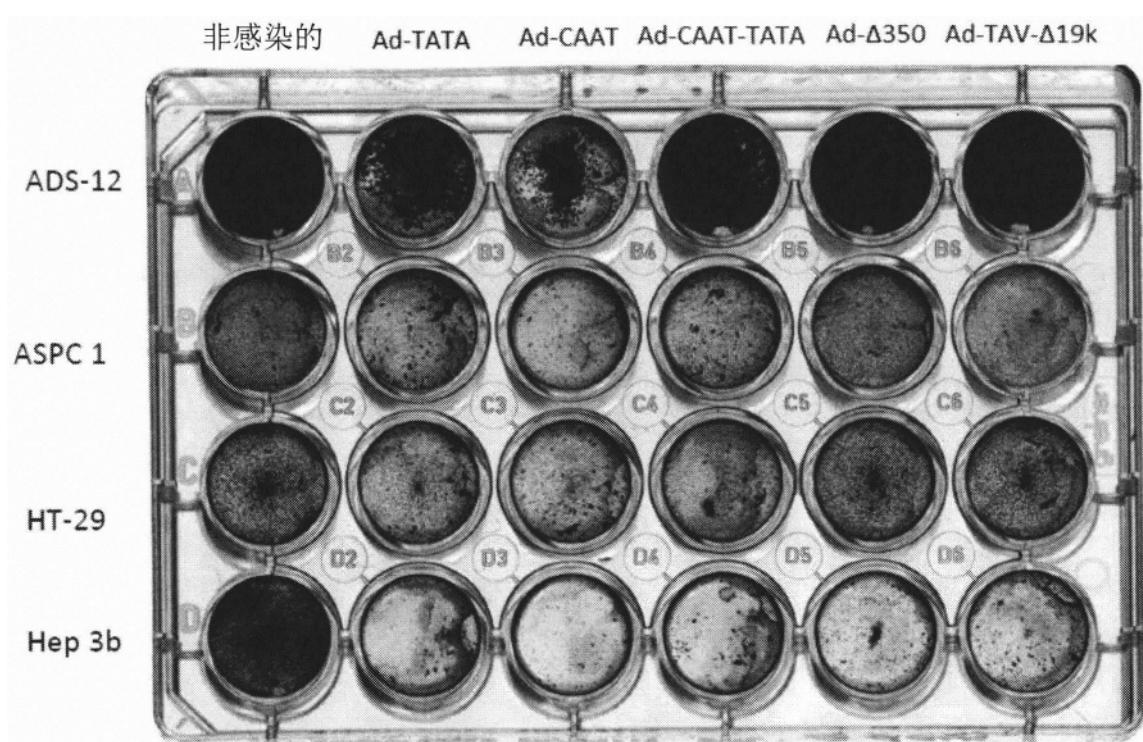


图6

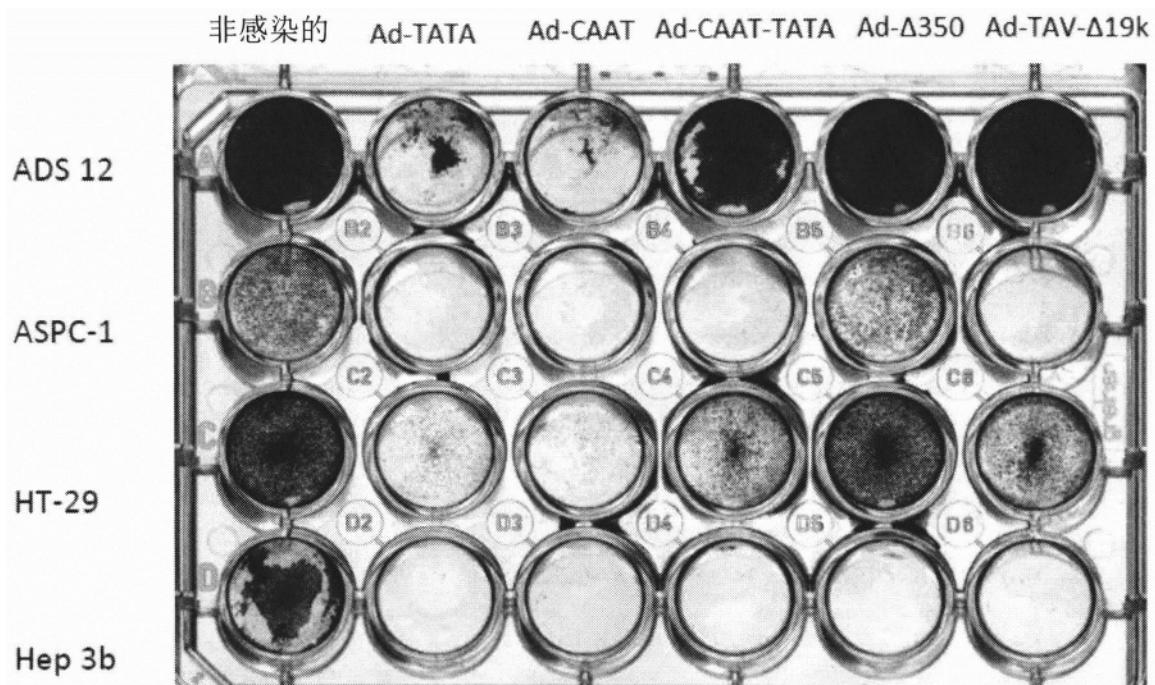


图7

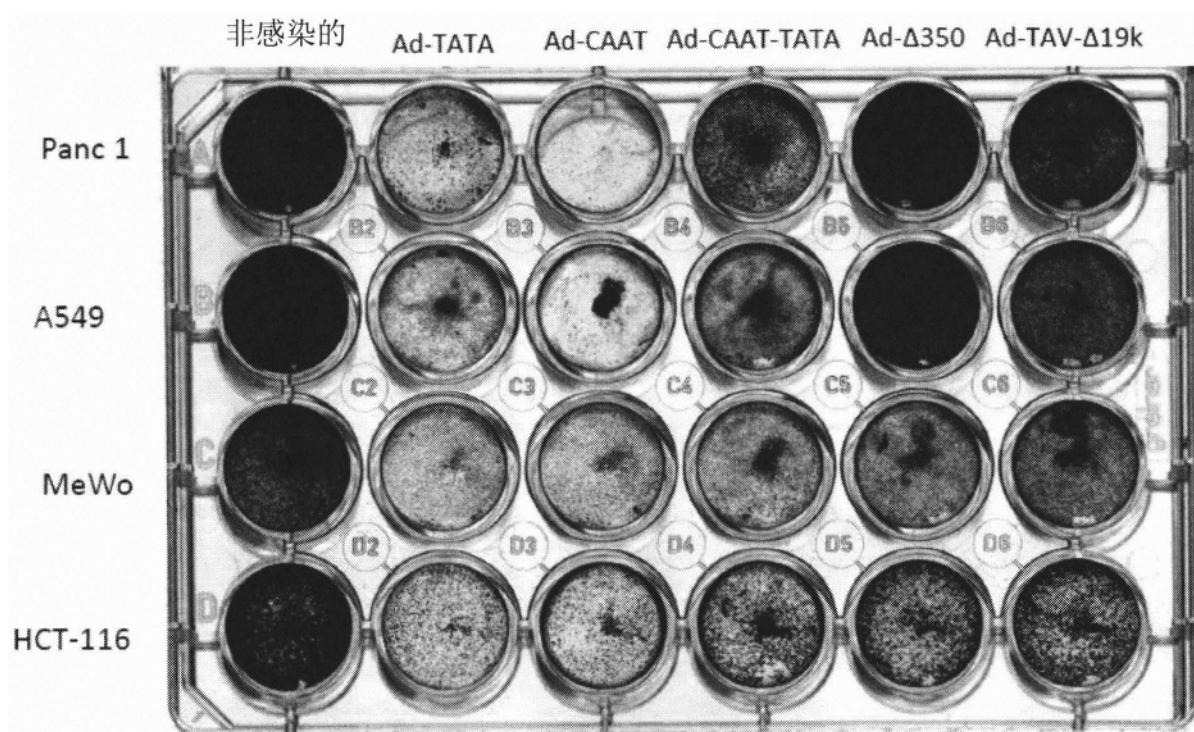


图8

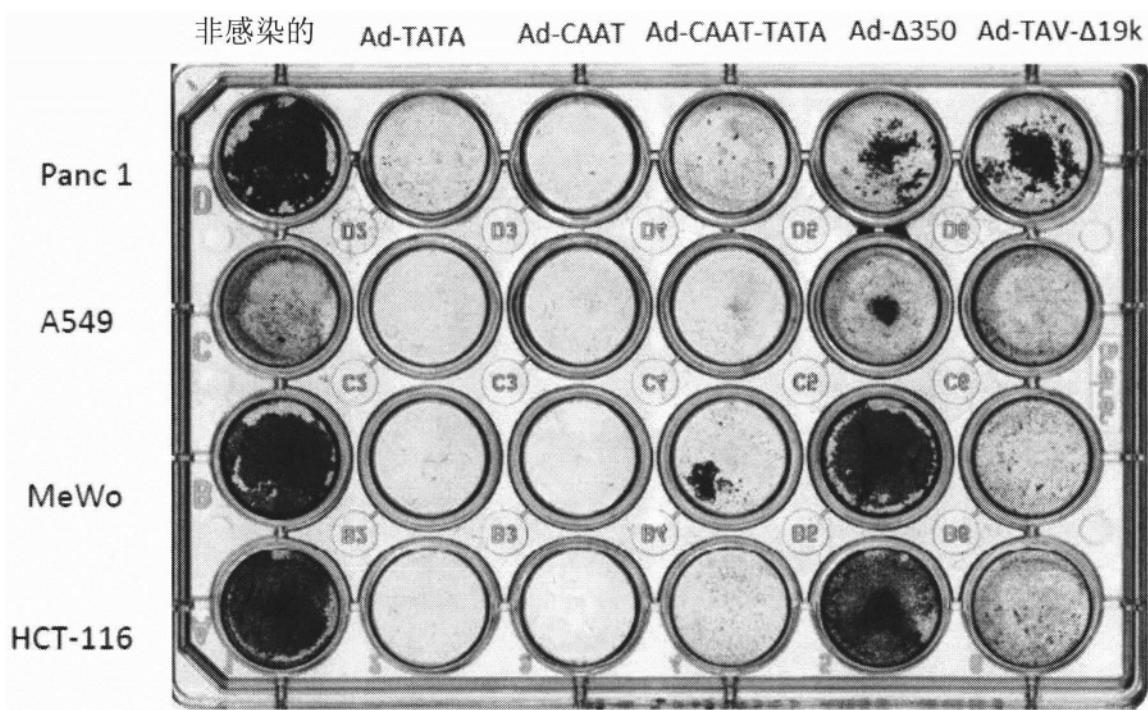


图9

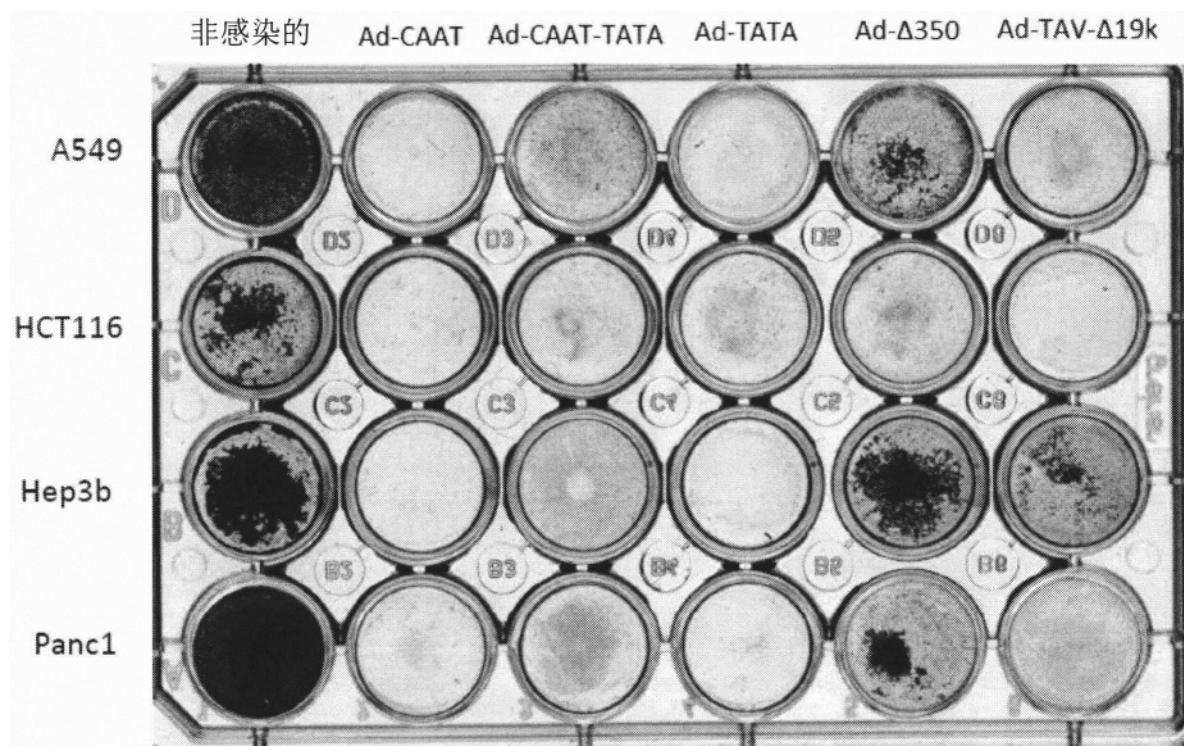


图10

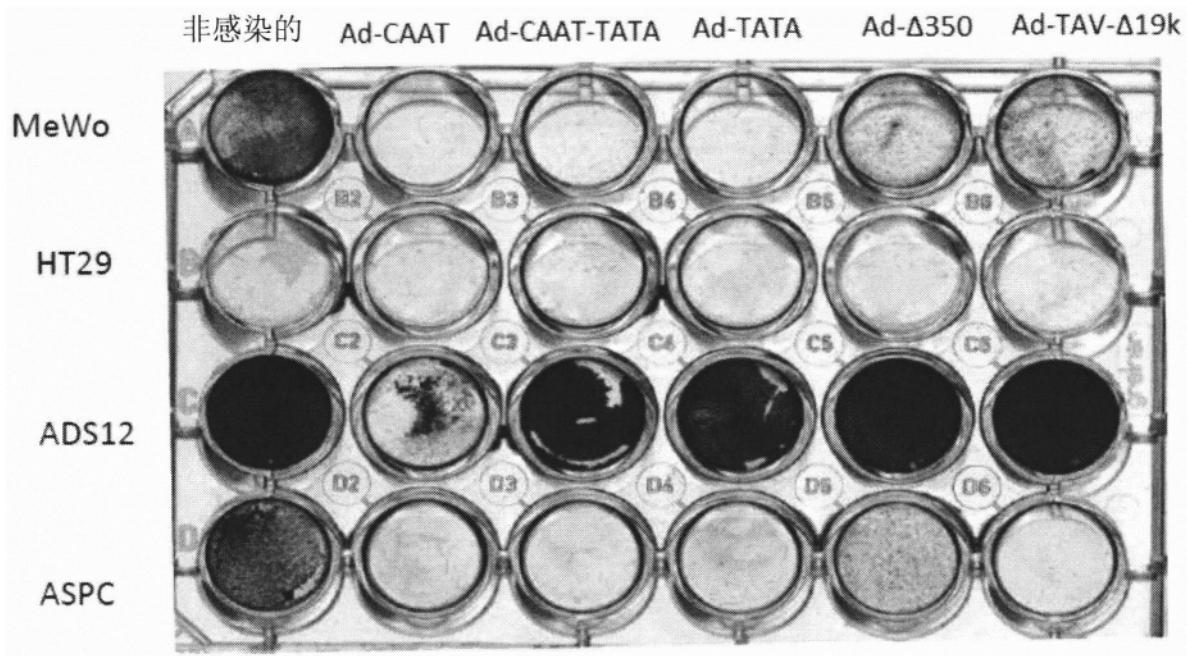


图11

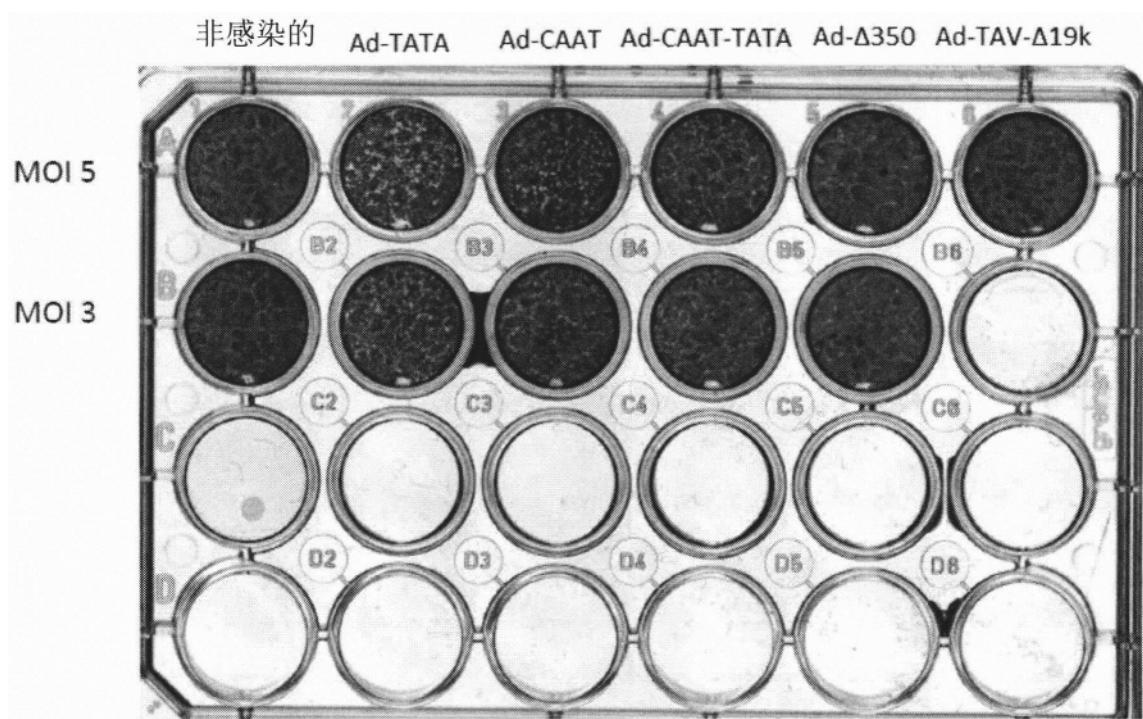


图12

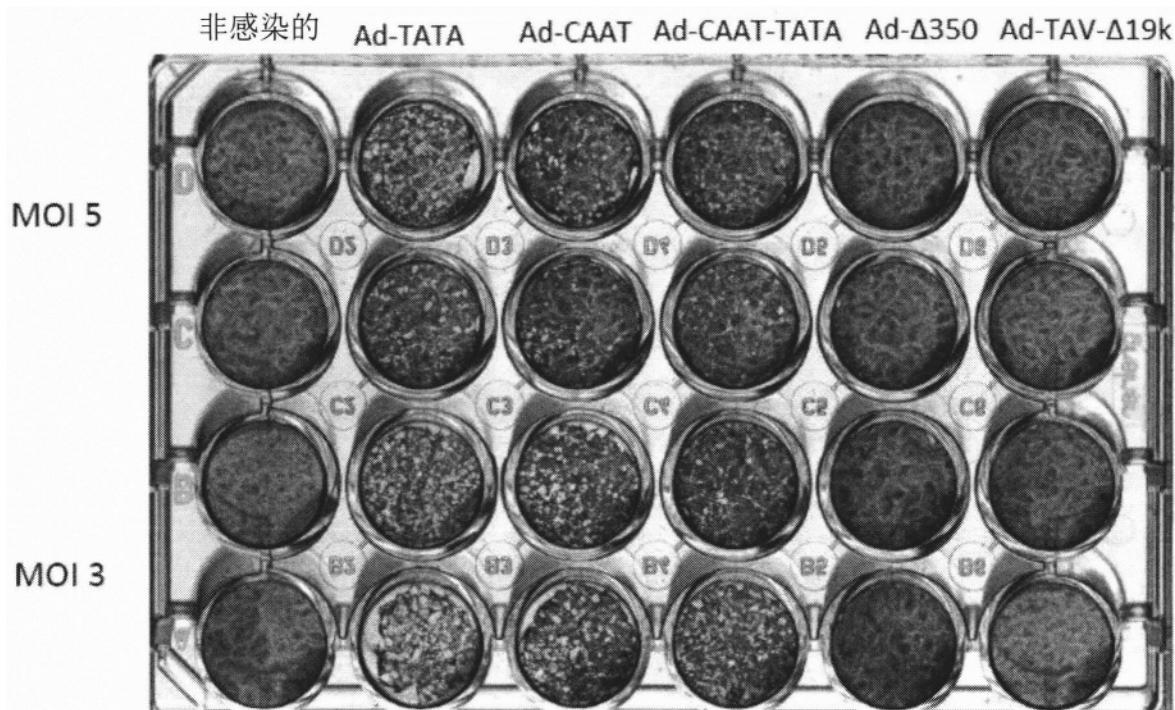


图13

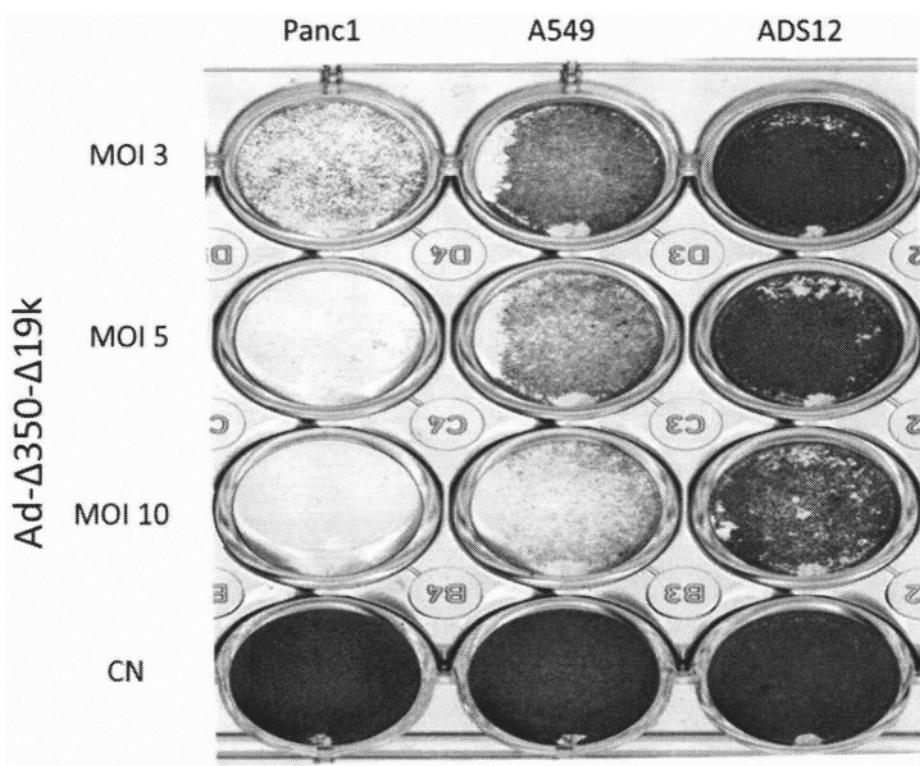


图14

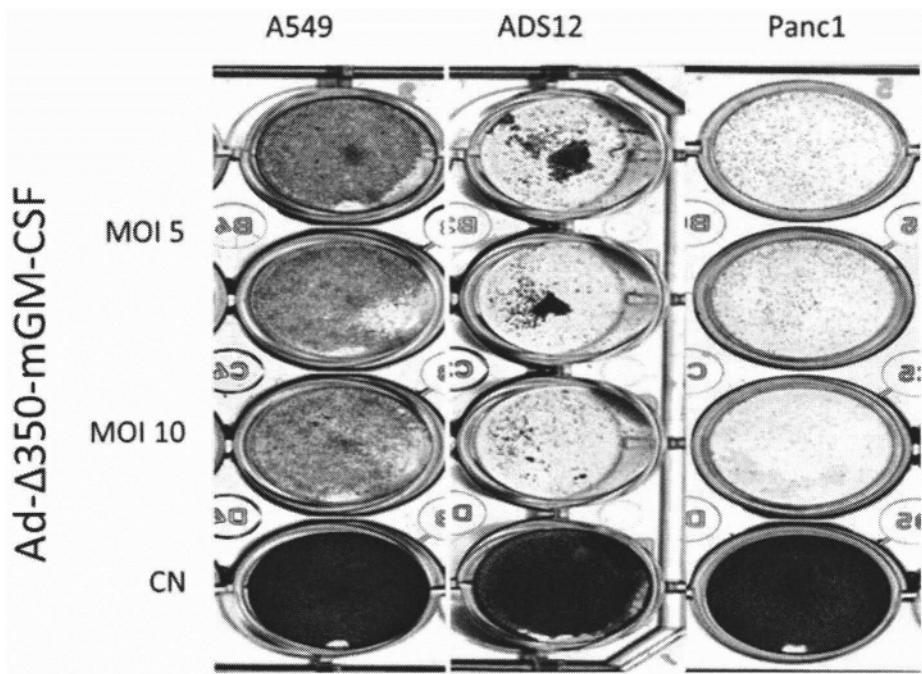


图15

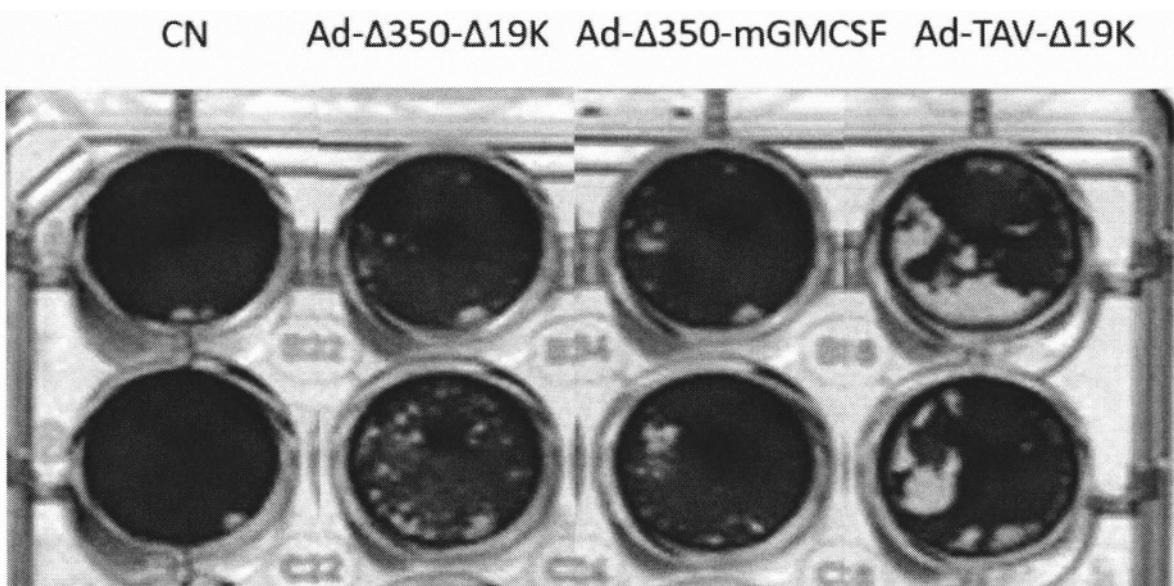


图16

CN Ad-Δ350-Δ19K Ad-Δ350-mGMCSF Ad-TAV-Δ19K

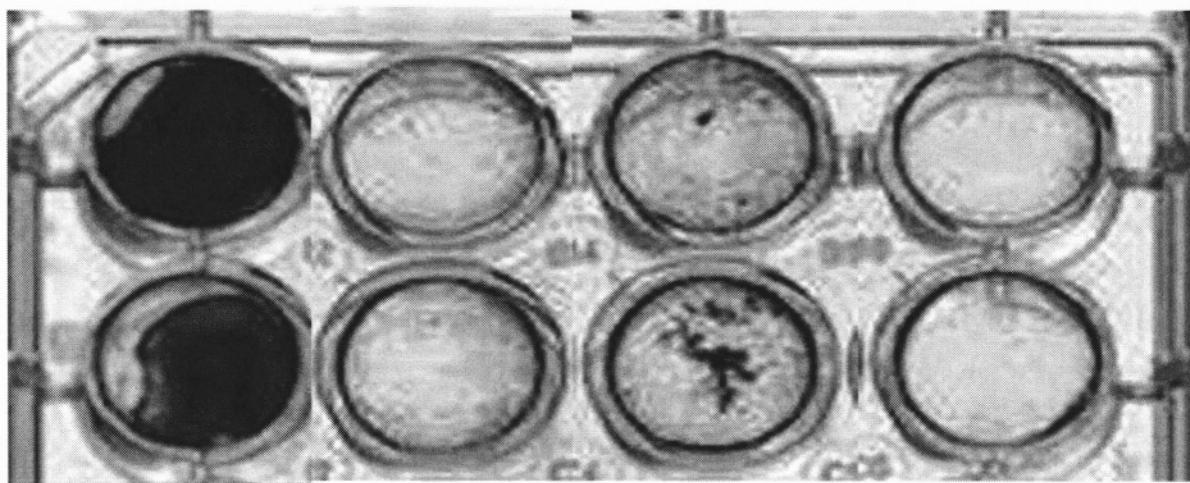


图17

CN Ad-Δ350-Δ19K Ad-Δ350-mGMCSF Ad-TAV-Δ19K

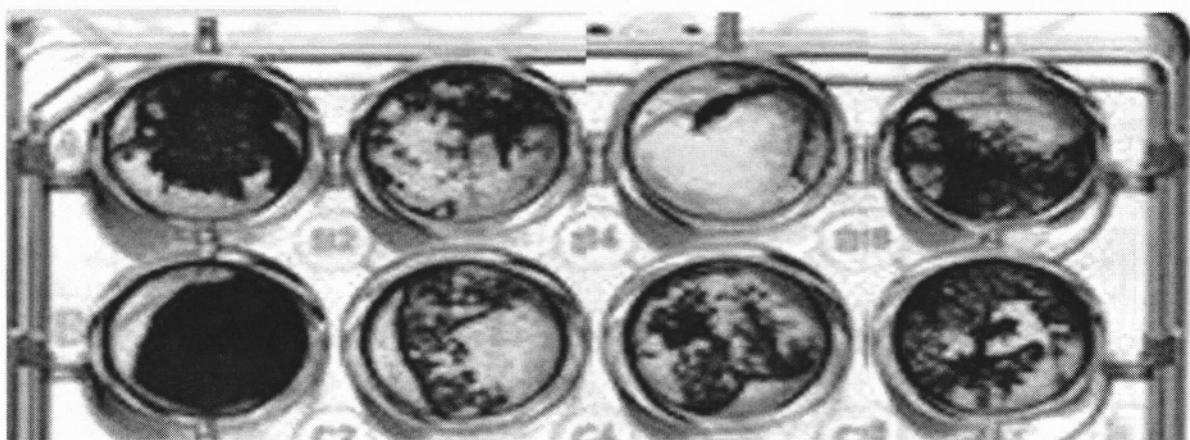


图18

CN Ad-Δ350-Δ19K Ad-Δ350-mGMCSF Ad-TAV-Δ19K

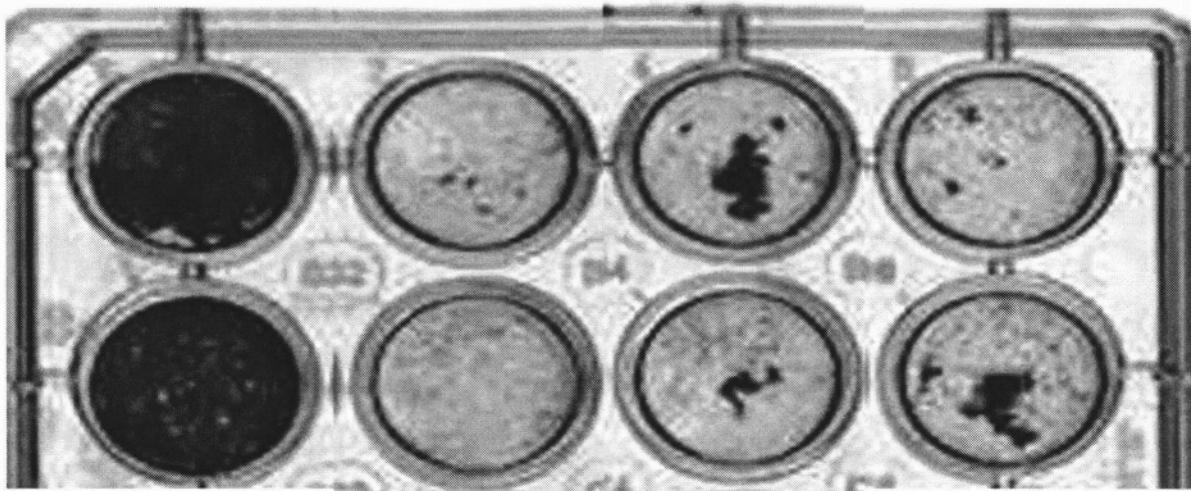


图19

CN Ad-Δ350-Δ19K Ad-Δ350-mGMCSF Ad-TAV-Δ19K

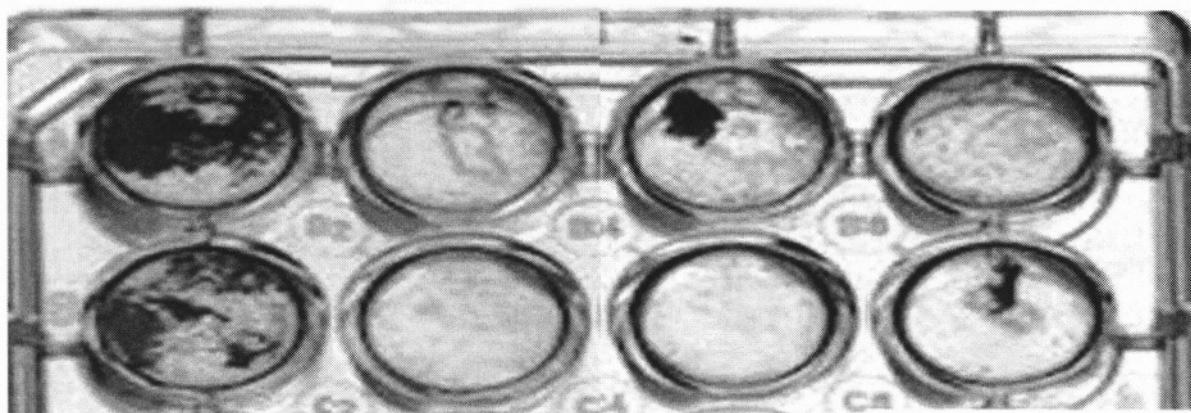


图20

CN Ad-Δ350-Δ19K Ad-Δ350-mGMCSF Ad-TAV-Δ19K

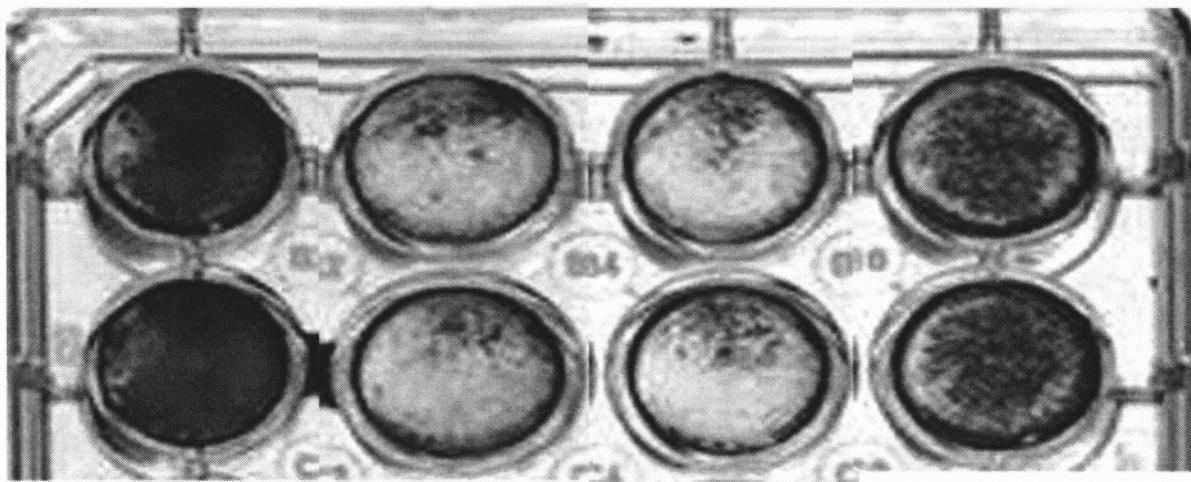


图21

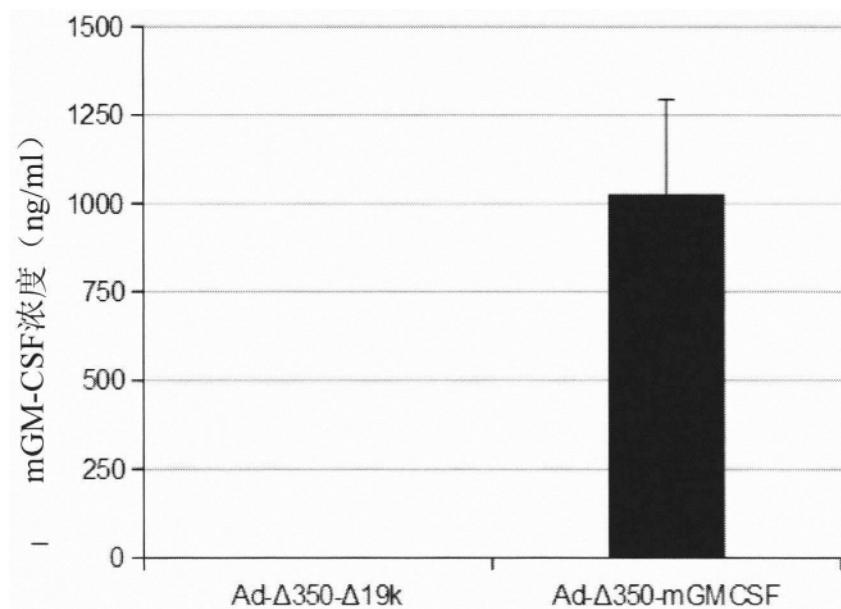


图22

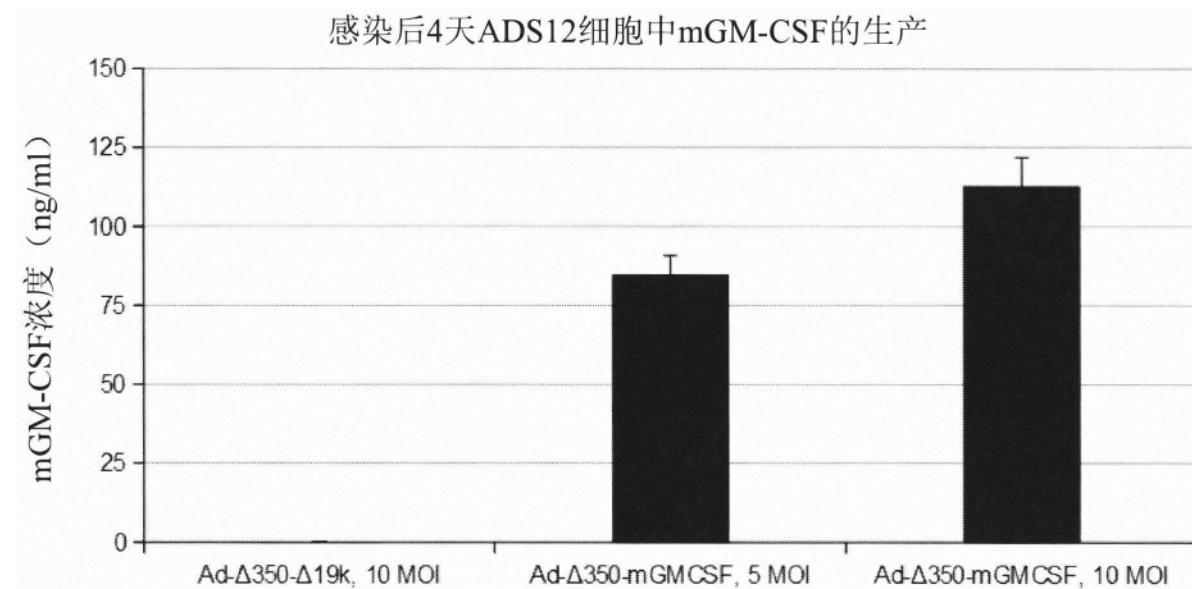


图23

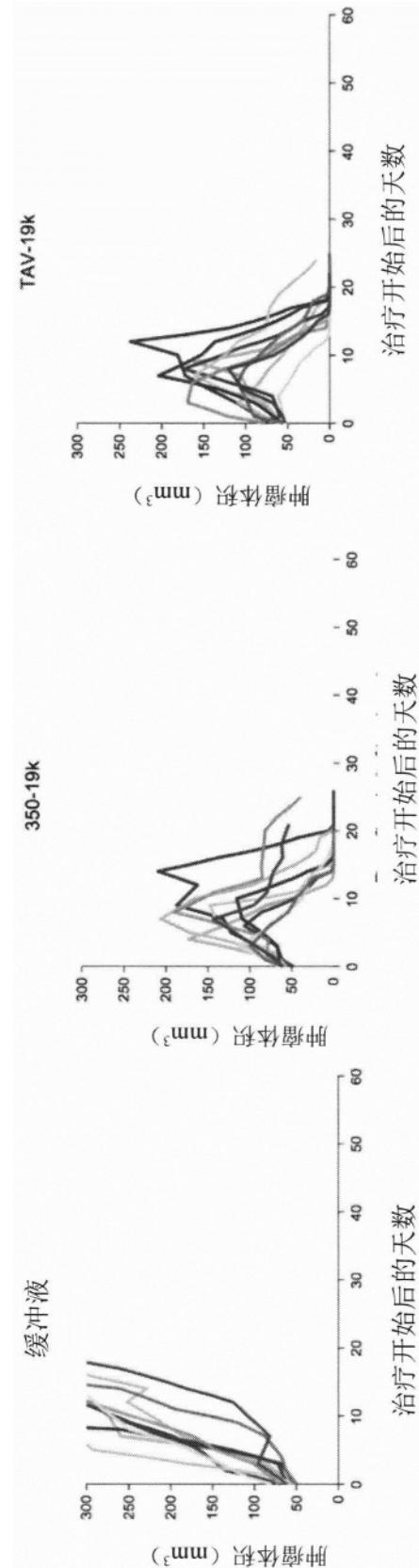


图24

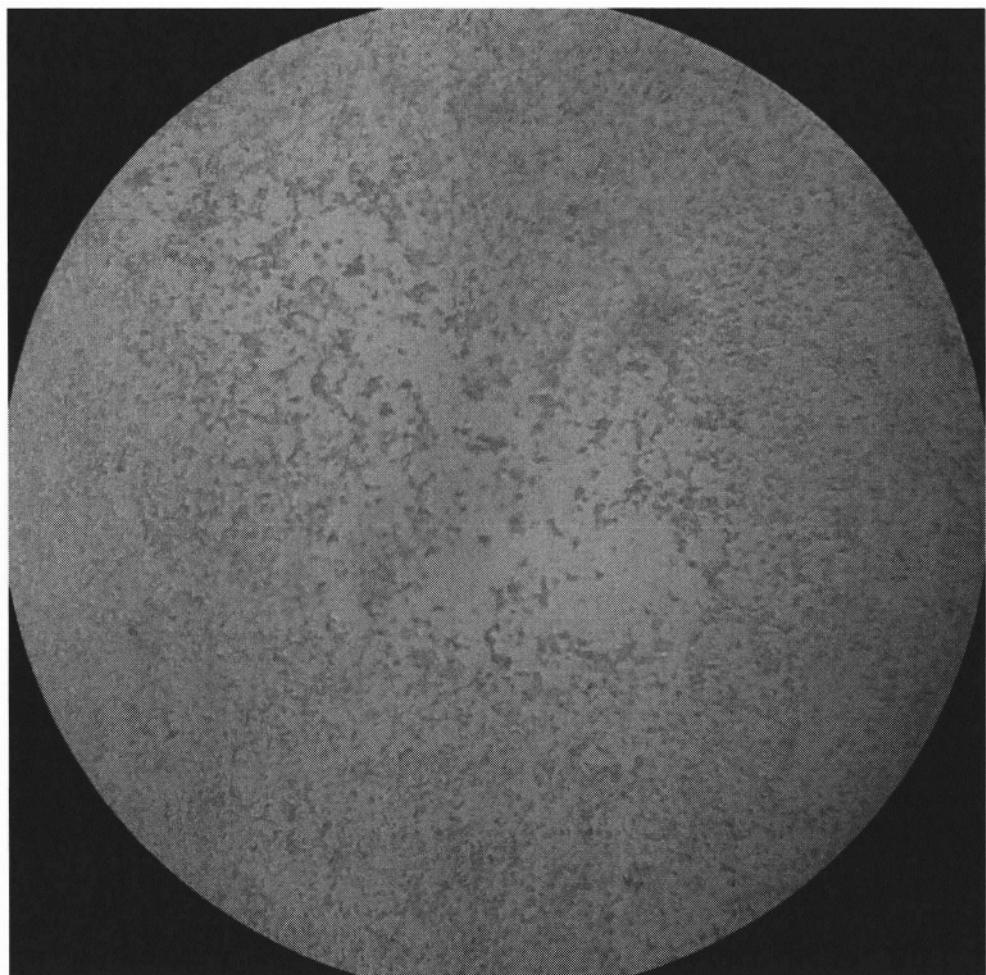


图25