



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2023-0134524
(43) 공개일자 2023년09월21일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C12N 15/86 (2006.01) A61K 48/00 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01) C07K 14/005 (2006.01)
C07K 14/55 (2006.01) C12N 7/00 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C12N 15/86 (2013.01)
A61K 48/005 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2023-7027681
(22) 출원일자(국제) 2022년01월19일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2023년08월16일
(86) 국제출원번호 PCT/US2022/013001
(87) 국제공개번호 WO 2022/159508
국제공개일자 2022년07월28일
(30) 우선권주장
63/138,999 2021년01월19일 미국(US)

(71) 출원인
세네카 세라퓨틱스, 인크.
미국 19422 펜실베이니아주 블루 벨 세인트 앤드류스 코트 202
(72) 발명자
할렌백, 폴, 엘.
미국 19422 펜실베이니아 블루 벨 세인트 앤드류스 코트 202
차다, 수닐
미국 19422 펜실베이니아 블루 벨 세인트 앤드류스 코트 202
(74) 대리인
양영준, 이상남

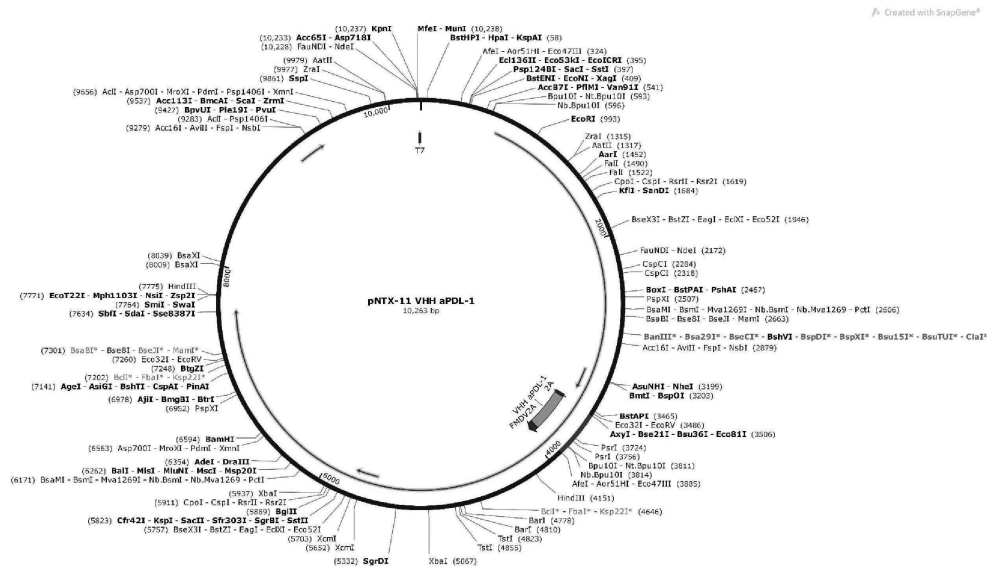
전체 청구항 수 : 총 52 항

(54) 발명의 명칭 무장된 세네카 벨리 바이러스 종양용해 요법 조성물 및 그의 방법

(57) 요약

치료 페이로드를 보유하도록, 즉 암을 치료하기 위한 작용제를 코딩하도록 변경된 무장된 세네카 벨리 바이러스가 본원에 제공된다. 이들 무장된 세네카 벨리 바이러스는 종양용해성이고, 암 치료제를 발현한다. 또한, 대상체에서 암을 치료하기 위해 무장된 세네카 벨리 바이러스를 사용하는 조성물 및 방법이 본원에 제공된다.

대표도



(52) CPC특허분류

A61P 35/00 (2018.01)

C07K 14/005 (2013.01)

C07K 14/55 (2013.01)

C12N 7/00 (2013.01)

C12N 2770/20022 (2013.01)

C12N 2770/32043 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

세네카 벨리 바이러스 또는 그의 종양용해 단편, 및 관심 치료 단백질을 코딩하는 핵산을 포함하는 무장된 세네카 벨리 바이러스.

청구항 2

제1항에 있어서, 관심 단백질이 인터류킨, 케모카인, 또는 체크포인트 억제제로서 작용하는 나노바디를 포함하는 것인 무장된 세네카 벨리 바이러스.

청구항 3

제2항에 있어서, 관심 치료 단백질이 항-PD-L1 나노바디, IL-2 또는 그의 돌연변이체, CXCL9, IL-15, IL-2/IL-15 (네오류킨 2-15), TGF- β 디코이 또는 그의 돌연변이체, NfsA 또는 그의 돌연변이체, 항-CTLA4 나노바디, 항-CD3 나노바디, 항-CTLA-4 + 항-PDL1-1 나노바디, 항-CTLA4 + 항-PLD-1 나노바디, 또는 시토신 데아미나제를 포함하는 것인 무장된 세네카 벨리 바이러스.

청구항 4

제3항에 있어서, 관심 치료 단백질이 IL-2, CXCL-9, 또는 IL-2/IL-15를 포함하는 것인 무장된 세네카 벨리 바이러스.

청구항 5

제1항에 있어서, 관심 치료 단백질을 코딩하는 핵산이 삽입된 세네카 벨리 바이러스 또는 그의 종양용해 단편을 포함하는 무장된 세네카 벨리 바이러스.

청구항 6

제5항에 있어서, 서열식별번호: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49 또는 51의 핵산 서열이 삽입된 세네카 벨리 바이러스 또는 그의 종양용해 단편의 서열을 포함하는 무장된 세네카 벨리 바이러스.

청구항 7

제5항에 있어서, 서열식별번호: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 또는 52의 아미노산 서열을 코딩하는 핵산이 삽입된 세네카 벨리 바이러스 또는 그의 종양용해 단편의 서열을 포함하는 무장된 세네카 벨리 바이러스.

청구항 8

제5항에 있어서, 서열식별번호: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 또는 52의 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 또는 적어도 99% 동일한 단백질을 코딩하는 핵산이 삽입된 세네카 벨리 바이러스 또는 그의 종양용해 단편의 서열을 포함하는 무장된 세네카 벨리 바이러스.

청구항 9

제5항에 있어서, 서열식별번호: 13의 뉴클레오타이드 3508-3885, 서열식별번호: 14의 뉴클레오타이드 3505-3906, 서열식별번호: 15의 뉴클레오타이드 3508-3882, 서열식별번호: 15의 뉴클레오타이드 3508-4107, 서열식별번호: 16의 뉴클레오타이드 3508-4107, 서열식별번호: 17의 뉴클레오타이드 3508-4263, 또는 서열식별번호: 18의 뉴클레오타이드 3508-3861이 삽입된 세네카 벨리 바이러스 또는 그의 종양용해 단편의 서열을 포함하는 무장된 세네카 벨리 바이러스.

청구항 10

제5항에 있어서, 서열식별번호: 13의 뉴클레오티드 3508-3885, 서열식별번호: 14의 뉴클레오티드 3505-3906, 서열식별번호: 15의 뉴클레오티드 3508-3882, 서열식별번호: 15의 뉴클레오티드 3508-4107, 서열식별번호: 16의 뉴클레오티드 3508-4107, 서열식별번호: 17의 뉴클레오티드 3508-4263, 또는 서열식별번호: 18의 뉴클레오티드 3508-3861이 삽입된 세네카 밸리 바이러스 또는 그의 중앙용해 단편의 서열을 포함하는 무장된 세네카 밸리 바이러스.

청구항 11

제5항에 있어서, 하기를 포함하는 무장된 세네카 밸리 바이러스:

- (a) 서열식별번호: 13의 뉴클레오티드 1-7762에 대해 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 또는 적어도 99% 동일한 뉴클레오티드 서열;
- (b) 서열식별번호: 14의 뉴클레오티드 1-7783에 대해 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 또는 적어도 99% 동일한 뉴클레오티드 서열;
- (c) 서열식별번호: 15의 뉴클레오티드 1-7759에 대해 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 또는 적어도 99% 동일한 뉴클레오티드 서열;
- (d) 서열식별번호: 16의 뉴클레오티드 1-7984에 대해 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 또는 적어도 99% 동일한 뉴클레오티드 서열;
- (e) 서열식별번호: 17의 뉴클레오티드 1-8140에 대해 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 또는 적어도 99% 동일한 뉴클레오티드 서열; 또는
- (f) 서열식별번호: 18의 뉴클레오티드 1-7738에 대해 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 또는 적어도 99% 동일한 뉴클레오티드 서열.

청구항 12

제5항에 있어서, 무장된 세네카 밸리 바이러스가 치료 단백질을 코딩하는 핵산 서열을 세네카 밸리 바이러스의 게놈 내로 단백질 2A 및 2B에 대한 코딩 서열들의 사이에 삽입함으로써 생성되고, 여기서 치료 단백질을 코딩하는 핵산은 하기를 포함하는 것인 무장된 세네카 밸리 바이러스:

- (a) 서열식별번호: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49 또는 51의 핵산;
- (b) 서열식별번호: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49 또는 51의 핵산 서열에 대해 적어도 85%, 95% 또는 99% 동일한 핵산;
- (c) 서열식별번호: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 또는 52의 아미노산 서열을 코딩하는 핵산; 또는
- (d) 서열식별번호: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 또는 52의 아미노산 서열에 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 또는 적어도 99% 동일한 단백질을 코딩하는 핵산.

청구항 13

제1항에 있어서, 세네카 밸리 바이러스가 SVV-001인 무장된 세네카 밸리 바이러스.

청구항 14

제13항에 있어서, 하기를 포함하는 무장된 세네카 밸리 바이러스:

- (a) 서열식별번호: 13의 뉴클레오티드 1-7762;
- (b) 서열식별번호: 14의 뉴클레오티드 1-7783;
- (c) 서열식별번호: 15의 뉴클레오티드 1-7759;
- (d) 서열식별번호: 16의 뉴클레오티드 1-7984;

(e) 서열식별번호: 17의 뉴클레오티드 1-8140; 또는

(f) 서열식별번호: 18의 뉴클레오티드 1-7738.

청구항 15

서열식별번호: 19의 뉴클레오티드 1-7891에 대해 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 99%, 또는 100% 동일한 핵산이 삽입된 세네카 벨리 바이러스 또는 그의 종양용해 단편의 서열을 포함하는 무장된 세네카 벨리 바이러스.

청구항 16

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, 종양용해성이고, 암을 치료할 수 있는 치료제 또는 그의 기능적 단편을 발현하는 무장된 세네카 벨리 바이러스.

청구항 17

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항의 무장된 세네카 벨리 바이러스를 포함하는 벡터.

청구항 18

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항의 무장된 세네카 벨리 바이러스를 포함하는 플라스미드.

청구항 19

제18항에 있어서, 서열식별번호: 13-18 또는 53-64의 핵산 서열을 포함하는 플라스미드.

청구항 20

제18항에 있어서, 서열식별번호: 13-18 또는 53-64의 핵산 서열에 대해 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95% 또는 적어도 99% 동일한 핵산을 포함하는 플라스미드.

청구항 21

제18항에 있어서, 서열식별번호: 13-18 또는 53-64의 핵산 서열 중 어느 하나에서의 뉴클레오티드 677-8050에 대해 적어도 85% 또는 적어도 90% 동일한 핵산을 포함하는 플라스미드.

청구항 22

관심 치료 단백질을 코딩하는 핵산을 세네카 벨리 바이러스 또는 그의 종양용해 단편 내로 삽입하는 것을 포함하는, 무장된 세네카 벨리 바이러스를 생성하는 방법.

청구항 23

제22항에 있어서, 관심 단백질이 인터류킨, 케모카인, 또는 체크포인트 억제제로서 작용하는 나노바디를 포함하는 것인 방법.

청구항 24

제23항에 있어서, 관심 치료 단백질이 항-PD-L1 나노바디, IL-2, CXCL9, IL-15, IL-2/IL-15, TGF- β 디코이, NfsA를 포함하는 것인 방법.

청구항 25

제24항에 있어서, 관심 치료 단백질이 IL-2, CXCL-9, 또는 IL-2/IL-15를 포함하는 것인 방법.

청구항 26

제22항에 있어서, 하기를 포함하는 방법:

세네카 벨리 바이러스 또는 그의 종양용해 단편, 및 관심 치료 단백질을 코딩하는 핵산을 포함하는 플라스미드를 구축하는 단계;

플라스미드를 선형화하여 3' 말단을 규정하는 단계;

T7 폴리머라제를 사용한 시험관내 전사 반응으로 진정한 5' 및 3' 말단을 갖는 RNA 전사체를 생성하는 단계;

RNA 전사체를 표적 세포 내로 형질감염시키는 단계; 및

무장된 SVV 바이러스를 단리하는 단계.

청구항 27

제22항에 있어서, 하기를 포함하는 방법:

T7 폴리머라제 최적화된 포유동물 발현 플라스미드를 표적 세포 내로 클로닝하는 단계;

세네카 밸리 바이러스 또는 그의 종양용해 단편, 및 관심 치료 단백질을 코딩하는 핵산을 포함하는 선형화된 무장된 SVV 플라스미드를 제공하는 단계;

무장된 SVV 플라스미드를 T7-pol 표적 세포 내로 형질감염시키는 단계; 및

무장된 세네카 밸리 바이러스를 단리하는 단계.

청구항 28

제27항에 있어서, 세네카 밸리 바이러스 또는 그의 종양용해 단편, 및 관심 치료 단백질을 코딩하는 핵산을 포함하는 플라스미드를 구축하는 것을 추가로 포함하는 방법.

청구항 29

제28항에 있어서, 선형화된 무장된 SVV 플라스미드를 생성하는 것을 추가로 포함하는 방법.

청구항 30

제22항에 있어서, 핵산이 세네카 밸리 바이러스의 게놈 내로 단백질 2A 및 2B에 대한 코딩 서열들의 사이에 삽입되는 것인 방법.

청구항 31

제22항에 있어서, 세네카 밸리 바이러스가 SVV-001인 방법.

청구항 32

제22항에 있어서, 무장된 세네카 밸리 바이러스가 종양용해성이고, 무장된 세네카 밸리 바이러스가 암을 치료할 수 있는 치료제 또는 그의 기능적 단편을 발현하는 것인 방법.

청구항 33

제22항 내지 제32항 중 어느 한 항에 있어서, 서열식별번호: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49 또는 51의 핵산, 또는 서열식별번호: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50 또는 52의 아미노산 서열을 코딩하는 핵산을 세네카 밸리 바이러스 또는 그의 종양용해 단편 내로 삽입하는 것을 포함하는 방법.

청구항 34

제22항 내지 제32항 중 어느 한 항에 있어서, 방법이 핵산을 세네카 밸리 바이러스 또는 그의 종양용해 단편 내로 삽입하는 것을 포함하며, 여기서 핵산은 서열식별번호: 13의 뉴클레오타이드 1-7762; 서열식별번호: 14의 뉴클레오타이드 1-7783; 서열식별번호: 15의 뉴클레오타이드 1-7759; 서열식별번호: 16의 뉴클레오타이드 1-7984; 서열식별번호: 17의 뉴클레오타이드 1-8140; 또는 서열식별번호: 18의 뉴클레오타이드 1-7738에 대해 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 99%, 또는 100% 동일한 것인 방법.

청구항 35

암의 치료를 필요로 하는 대상체에게 유효량의 제1항 내지 제10항 중 어느 한 항의 무장된 세네카 밸리 바이러스

스를 투여하는 것을 포함하는, 상기 대상체에서 암을 치료하는 방법.

청구항 36

제35항에 있어서, 대상체에게 체크포인트 억제제, PD-1 억제제, PD-L1 억제제, CTLA-4 억제제, 시토카인, 성장 인자, 광감작제, 독소, siRNA 분자, 신호전달 조정제, 항암 항생제, 항암 항체, 혈관신생 억제제, 화학요법 화합물, 항전이성 화합물, 면역요법 화합물, CAR 요법, 수지상 세포-기반 요법, 암 백신, 종양용해 바이러스, IFN-I 억제제, 조작된 항암 바이러스 또는 바이러스 유도체, 및 그의 임의의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 하나의 항암 치료제를 투여하는 것인 방법.

청구항 37

제35항에 있어서, 적어도 하나의 항암 치료제가 무장된 세네카 벨리 바이러스의 투여 이전에, 그와 동시에, 또는 후속적으로 투여되는 것인 방법.

청구항 38

제35항에 있어서, 대상체에게 HDAC 억제제, JAK/STAT 억제제, IFN 억제제, IFN 항체, IFN- α 수용체 1 항체, IFN- α 수용체 2 항체 및 바이러스 펩티드, 및 그의 임의의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 하나의 추가의 IFN-I 억제제를 추가로 투여하는 것인 방법.

청구항 39

제35항에 있어서, HDAC 억제제가 트리코스타틴 A인 방법.

청구항 40

제35항에 있어서, JAK/STAT 억제제가 스타우로스포린인 방법.

청구항 41

제35항에 있어서, 암이 삼중 음성 유방암, 소세포 폐암, 비소세포 폐암, 비소세포 편평세포 암종, 선암종, 교모 세포종, 피부암, 간세포성 암종, 결장암, 자궁경부암, 난소암, 자궁내막암, 신경내분비암, 췌장암, 갑상선암, 신장암, 골암, 식도암 또는 연부조직암을 포함하는 것인 방법.

청구항 42

제35항에 있어서, 암 치료의 성공이 무장되지 않은 세네카 벨리 바이러스를 사용한 치료에 비해 개선되는 것인 방법.

청구항 43

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항의 무장된 세네카 벨리 바이러스 및 제약상 허용되는 담체를 포함하는, 암의 치료를 필요로 하는 대상체에서 암을 치료하기 위한 제약 조성물.

청구항 44

제43항에 있어서, 체크포인트 억제제, PD-1 억제제, PD-L1 억제제, CTLA-4 억제제, 시토카인, 성장 인자, 광감작제, 독소, siRNA 분자, 신호전달 조정제, 항암 항생제, 항암 항체, 혈관신생 억제제, 화학요법 화합물, 항전이 화합물, 면역요법 화합물, CAR 요법, 수지상 세포-기반 요법, 암 백신, 종양용해 바이러스, IFN-I 억제제, 조작된 항암 바이러스 또는 바이러스 유도체, 및 그의 임의의 조합을 추가로 포함하는 제약 조성물.

청구항 45

제43항에 있어서, 암이 삼중 음성 유방암, 소세포 폐암, 비소세포 폐암, 비소세포 편평세포 암종, 선암종, 교모 세포종, 피부암, 간세포성 암종, 결장암, 자궁경부암, 난소암, 자궁내막암, 신경내분비암, 췌장암, 갑상선암, 신장암, 골암, 식도암 또는 연부조직암을 포함하는 것인 제약 조성물.

청구항 46

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, 암을 치료하기 위한 의약의 제조에 사용하기 위한 무장된 세네카 벨리 바이러스.

청구항 47

제46항에 있어서, 암이 삼중 음성 유방암, 소세포 폐암, 비소세포 폐암, 비소세포 편평세포 암종, 선암종, 교모 세포종, 피부암, 간세포성 암종, 결장암, 자궁경부암, 난소암, 자궁내막암, 신경내분비암, 췌장암, 갑상선암, 신장암, 골암, 식도암 또는 연부조직암을 포함하는 것인 용도.

청구항 48

암을 치료하기 위한, 제1항 내지 제10항 중 어느 한 항의 무장된 세네카 벨리 바이러스의 용도.

청구항 49

제48항에 있어서, 암이 삼중 음성 유방암, 소세포 폐암, 비소세포 폐암, 비소세포 편평세포 암종, 선암종, 교모 세포종, 피부암, 간세포성 암종, 결장암, 자궁경부암, 난소암, 자궁내막암, 신경내분비암, 췌장암, 갑상선암, 신장암, 골암, 식도암 또는 연부조직암을 포함하는 것인 용도.

청구항 50

서열식별번호: 19의 뉴클레오티드 1-7891을 포함하는 무장된 세네카 벨리 바이러스.

청구항 51

핵산 서열을 세네카 벨리 바이러스의 게놈 내로 단백질 2A 및 2B에 대한 코딩 서열들의 사이에 삽입함으로써 생성되며, 여기서 핵산 서열은 서열식별번호: 19의 뉴클레오티드 3508-4014; 또는 서열식별번호: 19의 뉴클레오티드 3508-4014에 대해 적어도 85%, 적어도 95%, 또는 적어도 99% 동일한 핵산 서열을 포함하는 것인 무장된 세네카 벨리 바이러스.

청구항 52

서열식별번호: 19의 뉴클레오티드 1-7891을 포함하는 벡터 또는 플라스미드.

발명의 설명

기술 분야

[0001] <관련 출원에 대한 상호 참조>

[0002] 본 출원은 2021년 1월 19일에 출원된 미국 가출원 번호 63/138,999를 우선권 주장하며, 그의 개시내용은 그 전문이 참조로 포함된다.

[0003] <서열 목록>

[0004] 본 출원은 ASCII 포맷으로 전자 제출된 서열 목록을 함유하며, 이는 그 전문이 본원에 참조로 포함된다. 2022년 1월 19일에 생성된 상기 ASCII 카피는 115029_000049_SL.txt로 명명되고, 크기가 142,398 바이트이다.

[0005] <기술분야>

[0006] 개시된 발명은 암을 치료하기 위한 조성물 및 방법에 관한 것이다. 보다 특히, 개시된 발명은 암의 치료를 돕는 치료제를 코딩하도록 조작된 종양용해 바이러스, 특히 세네카 벨리 바이러스를 사용하여 대상체에서 암을 치료하는 분야에 관한 것이다.

배경 기술

[0007] 암은 미국에서 두 번째로 가장 흔한 사망 원인이다. 매 4명의 개체 중 1명이 그로부터 사망하고, 매년 1백만명 초과와 새로운 암 진단이 이루어진다. 질환은 비정상적인 형질전환된 세포의 비제어된 증식 및 성장으로 시작된다. 그러나, 상기 정의는 하나의 질환에 대한 설명으로 끝나는 것이 아니라 수백 가지 상이한 질환에 대한 설명으로 끝난다. 2개의 암은 동일하지도 않고 클론성도 아니다. 세포 형질전환 동안 유도되고 획득된 돌연변이는 유사할 수 있지만, 결코 동일하지 않다. 이 난제는 환자에서 발생하는 병리상태의 복잡성 및 이질성을 더

한다. 화학요법제 및 방사선을 비롯한 현행 암 요법은 항종양 미세환경을 생성하고 증진시키기 위해 면역조정제와 조합되는 경우에 가장 효과적이다. 많은 악성종양은 이들 전통적인 방법을 통한 치료에 저항성일 수 있다.

[0008] 종양용해 바이러스는 항암제로서 막대한 잠재력을 나타낸다. 피코르나바이러스 세네카 밸리 바이러스 (SVV)는 종양용해 요법으로서 조사된 단일 가닥 (+) RNA 바이러스이다. SVV는 소세포 및 비소세포 폐암 및 소아 고형 종양을 포함한 많은 난치성 악성종양을 표적화하고 그의 퇴행을 용이하게 할 수 있는 것으로 밝혀졌다. 종종, 이들 종양용해 바이러스는 암을 치료하는 데 유용한 또 다른 화합물과 함께 사용된다. 이러한 조합 요법은 상이한 경로를 통한 상이한 화합물의 투여를 필요로 할 수 있다.

[0009] 따라서, 암을 치료하는 데 유용한 또 다른 작용제와 조합하여 종양용해 바이러스, 특히 SVV를 사용하기 위한 개선된 치료 접근법이 요구된다.

발명의 내용

[0010] 암을 치료하는 데 유용한 작용제를 발현하도록 유전자 조작된 무장된 세네카 밸리 바이러스가 본원에 제공된다. 특정 실시양태에서, 작용제는 항-PD-1 항체의 결합 단편, CXCL9, TGF β 수용체 디코이, IL-2 돌연변이체, 또는 니트로리덕타제이다. 특정 실시양태에서, 본 개시내용은 세네카 밸리 바이러스 또는 그의 종양용해 단편, 및 관심 치료 단백질, 예컨대 인터류킨, 케모카인, 또는 체크포인트 억제제로서 작용하는 나노마디를 코딩하는 핵산을 포함하는 무장된 세네카 밸리 바이러스를 제공한다. 특정 실시양태에서, 무장된 세네카 밸리 바이러스는 관심 치료 단백질을 코딩하는 핵산이 삽입된 세네카 밸리 바이러스 또는 그의 종양용해 단편을 포함한다.

[0011] 무장된 세네카 밸리 바이러스는 서열식별번호: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 또는 51의 핵산에 대해 적어도 85%, 95%, 99%, 또는 100% 동일한 핵산이 삽입된 세네카 밸리 바이러스 또는 그의 종양용해 단편의 서열을 포함할 수 있다. 대안적으로, 무장된 세네카 밸리 바이러스는 서열식별번호: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 또는 52의 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 99%, 또는 100% 동일한 단백질을 코딩하는 핵산이 삽입된 세네카 밸리 바이러스 또는 그의 종양용해 단편의 서열을 포함한다.

[0012] 대안적으로, 무장된 세네카 밸리 바이러스는 서열식별번호: 13의 뉴클레오타이드 1-7762; 서열식별번호: 14의 뉴클레오타이드 1-7783; 서열식별번호: 15의 뉴클레오타이드 1-7759; 서열식별번호: 16의 뉴클레오타이드 1-7984; 서열식별번호: 17의 뉴클레오타이드 1-8140; 또는 서열식별번호: 18의 뉴클레오타이드 1-7738에 대해 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 99%, 또는 100% 동일한 뉴클레오타이드 서열을 포함한다.

[0013] 본 개시내용은 또한 무장된 세네카 밸리 바이러스를 함유하는 플라스미드와 같은 벡터를 제공한다. 특정 실시양태에서, 플라스미드는 서열식별번호: 13-18 또는 53-64 또는 그의 단편을 포함한다.

[0014] 암을 치료하는 데 유용한 작용제를 발현하도록 유전자 조작된 무장된 세네카 밸리 바이러스를 사용하는, 암을 치료하기 위한 개선된 방법, 조성물, 키트 및 제약 조성물이 또한 본원에 제공된다.

[0015] 특히, 암은 삼중 음성 유방암, 소세포 폐암, 비소세포 폐암, 비소세포 편평세포 암종, 선암종, 교모세포종, 피부암, 간세포성 암종, 결장암, 자궁경부암, 난소암, 자궁내막암, 신경내분비암, 췌장암, 갑상선암, 신장암, 골암, 식도암 또는 연부조직암을 포함한다. 암은 또한 신경모세포종, 흑색종, 신경내분비암 또는 소세포 폐암 (SCLC) 종양일 수 있다.

[0016] 본 발명의 한 실시양태는 암 치료를 필요로 하는 대상체에게 유효량의 무장된 세네카 밸리 바이러스를 투여하는 것을 포함하고, 여기서 바이러스는 암을 치료하는 데 유용한 작용제를 발현하도록 유전자 조작된 것인, 암 치료를 필요로 하는 대상체에서 암을 치료하는 방법이다.

[0017] 본 발명의 또 다른 실시양태는 유효량의 무장된 세네카 밸리 바이러스를 투여하는 것을 포함하고, 여기서 바이러스는 암을 치료하는 데 유용한 작용제를 발현하도록 유전자 조작된 것인, 종양용해 암 바이러스 치료의 성공을 개선하는 방법이다.

[0018] 또한, 무장된 SVV 및 제약상 허용되는 담체를 포함하고, 여기서 무장된 SVV는 암을 치료하는 데 유용한 작용제를 발현하도록 유전자 조작된 것인, 대상체에서 암을 치료하기 위한 제약 조성물이 본원에 제공된다.

[0019] 추가로, 무장된 세네카 밸리 바이러스를 포함하며, 여기서 무장된 SVV는 암을 치료하는 데 유용한 작용제를 발현하도록 변경된 것인, 대상체에서 암을 치료하기 위한 키트가 본원에 제공된다.

- [0020] 추가적으로, 암의 치료를 위한 의약의 제조에 사용하기 위한 무장된 세네카 벨리 바이러스 (SVV)가 본원에 제공되며, 여기서 무장된 SVV는 암을 치료하는 데 유용한 작용제를 코딩한다.
- [0021] 본 발명의 또 다른 실시양태는 무장된 SVV이다. 또 다른 실시양태는 무장된 SVV를 생성하는 방법이다. 무장된 SVV는 암을 치료하는 데 유용한 작용제를 코딩하는 핵산을 운반하도록 변경되었다.
- [0022] 본 발명의 다른 특징 및 이점은 하기 상세한 설명 및 실시예로부터 명백할 것이다.

도면의 간단한 설명

- [0023] 요약 뿐만 아니라 하기 상세한 설명은 첨부된 도면과 함께 읽을 때 추가로 이해된다. 본 발명을 예시할 목적으로, 본 발명의 예시적 실시양태를 도면에 나타낸다. 그러나, 본 발명은 개시된 구체적 방법 및 조성물로 제한되지 않고, 본 발명은 도면에 도시된 실시양태의 정확한 배열 및 수단으로 제한되지 않는다. 또한, 도면은 반드시 일정한 비례로 그려진 것은 아니다. 도면에서:
- 도 1은 플라스미드 pNTX-11 VHH aPDL-1 (서열식별번호: 13)의 지도를 나타낸다.
- 도 2는 플라스미드 pNTX-11 VHH aPDL-1 (서열식별번호: 13)을 생성하는 방법의 개략도를 나타낸다.
- 도 3은 플라스미드 pNTX-11 IL2 quad 돌연변이체 (서열식별번호: 14)의 지도를 나타낸다.
- 도 4는 플라스미드 pNTX-11 IL2 quad 돌연변이체 (서열식별번호: 14)를 생성하는 방법의 개략도를 나타낸다.
- 도 5는 플라스미드 pNTX-11 CXCL9 (서열식별번호: 15)의 지도를 나타낸다.
- 도 6은 플라스미드 pNTX-11 CXCL9 (서열식별번호: 15)를 생성하는 방법의 개략도를 나타낸다.
- 도 7은 플라스미드 pNTX-11 + TGFbDNRII (서열식별번호: 16)의 지도를 나타낸다.
- 도 8은 플라스미드 pNTX-11 + TGFbDNRII (서열식별번호: 16)를 생성하는 방법의 개략도를 나타낸다.
- 도 9는 플라스미드 pNTX-11 nfsa mut 22 (서열식별번호: 17)의 지도를 나타낸다.
- 도 10은 플라스미드 pNTX-11 nfsa mut 22 (서열식별번호: 17)를 생성하는 방법의 개략도를 나타낸다.
- 도 11은 플라스미드 pNTX-11 네오류킨 2-15 (서열식별번호: 18)의 지도를 나타낸다.
- 도 12는 플라스미드 pNTX-11 네오류킨 2-15 (서열식별번호: 18)를 생성하는 방법의 개략도를 나타낸다.
- 도 13은 플라스미드 pNTX-11 ova+covid 에피토프 (서열식별번호: 19)의 지도를 나타낸다.
- 도 14는 플라스미드 pNTX-11 ova+covid 에피토프 (서열식별번호: 19)를 생성하는 방법의 개략도를 나타낸다.
- 도 15a는 세네카 벨리 바이러스 (SVV-001) 게놈의 개략도를 나타낸다. 구체적으로, 도 15a는 SVV 단백질 2A 및 SVV 단백질 2B를 코딩하는 뉴클레오타이드 서열들의 사이의 본 발명의 무장된 구축물에 대한 삽입 부위를 나타낸다.
- 도 15b는 제한 효소 결합 부위를 포함하는 삽입 부위의 클로즈업 개략도를 나타낸다.
- 도 15c는 외인성 GFP-코딩 서열을 SVV-001 게놈 내로 삽입하는 전략을 나타낸다. SVV-001 폴리단백질의 부분은 점선으로 표시된 접합부들 사이의 긴 서열의 겹으로 재현된다. 단백질분해 사건은 화살촉으로 표시되고, 리보솜 스킵은 다이아몬드 헤드로 표시된다.
- 도 16a 및 도 16b는 세포주에서의 무장된 SVV 바이러스의 신속한 생성을 나타낸다. 도 16a는 SVV-GFP (GFP를 발현하도록 조작된 SVV)에 대한 결과를 나타내고, 도 16b는 SVV-mCherry (mCherry를 발현하도록 조작된 SVV)에 대한 결과를 나타낸다.
- 도 17은 IL-2, CXCL9, 및 IL-2/15를 발현하도록 생성된 무장된 SVV에 대한 RT-PCR 데이터를 나타낸다. RT-PCR 데이터는 무장된 SVV가 치료 트랜스진을 발현한다는 것을 입증한다.
- 도 18은 PerC-T7 pol 세포에서의 선형화된 DNA의 형질감염을 나타낸다.
- 도 19a 및 도 19b는 IL-2 및 IL2-15 생물검정을 나타낸다.
- 도 20a 및 도 20b는 SVV-IL2 및 SVV-IL2/15 (네오류킨 2-15)의 기능적 활성을 나타낸다. 도 20a는 SVV-IL2 및

SVV-IL2/15 (네오류킨 2-15)에 대한 활성을 나타낸다. 도 20b는 IL-2 표준 양성 대조군에 대한 활성을 나타낸다.

도 21a 및 도 21b는 SVV-CXCL9 Elisa에 대한 데이터를 나타낸다. 도 21a는 인간 CXCL 표준 곡선을 나타낸다. 도 21b는 증폭된 SVV-CXCL9 상청액에서 인간 CXCL9 수준 검출을 나타낸다.

도 22a는 서열식별번호: 30의 항-CLA 나노바디를 코딩하는 무장된 SVV를 함유하는 플라스미드 pSVV-aCTLA4 VHH의 핵산 서열 (서열식별번호: 53)을 나타낸다.

도 22b는 플라스미드 pSVV-aCTLA4 VHH의 지도를 나타낸다.

도 23a는 서열식별번호: 32의 항-CD3 나노바디를 코딩하는 무장된 SVV를 함유하는 플라스미드 pSVV-CD3 VHH의 핵산 서열 (서열식별번호: 54)을 나타낸다.

도 23b는 플라스미드 pSVV-CD3 VHH의 지도를 나타낸다.

도 24a는 서열식별번호: 34의 항-PDL1 나노바디를 코딩하는 무장된 SVV를 함유하는 플라스미드 pSVV-신규 aPDL1 VHH v. 2의 핵산 서열 (서열식별번호: 55)을 나타낸다.

도 24b는 플라스미드 pSVV-신규 aPDL1 VHH v. 2의 지도를 나타낸다.

도 25a는 서열식별번호: 36의 항-PDL1 및 항-CTLA4 나노바디를 코딩하는 무장된 SVV를 함유하는 플라스미드 pSVV-신규 aPDL1-GSS-aCTLA4의 핵산 서열 (서열식별번호: 56)을 나타낸다.

도 25b는 플라스미드 pSVV-신규 aPDL1-GSS-aCTLA4의 지도를 나타낸다.

도 26a는 서열식별번호: 38의 항-CD3 및 항-CTLA4 나노바디를 코딩하는 무장된 SVV를 함유하는 플라스미드 pSVV-aCD3-GSS-aCTLA4의 핵산 서열 (서열식별번호: 57)을 나타낸다.

도 26b는 플라스미드 pSVV-aCD3-GSS-aCTLA4의 지도를 나타낸다.

도 27a는 서열식별번호: 40의 항-CD3 및 항-PDL1 나노바디를 코딩하는 무장된 SVV를 함유하는 플라스미드 pSVV-신규 aPDL1-GSS-aCD3의 핵산 서열 (서열식별번호: 58)을 나타낸다.

도 27b는 플라스미드 pSVV-신규 aPDL1-GSS-aCD3의 지도를 나타낸다.

도 28a는 서열식별번호: 42의 IL-2를 코딩하는 무장된 SVV를 함유하는 플라스미드 pSVV-hIL-2 v.3 신호 서열 없음의 핵산 서열 (서열식별번호: 59)을 나타낸다.

도 28b는 플라스미드 pSVV-hIL-2 v.3 신호 서열 없음의 지도를 나타낸다.

도 29a는 서열식별번호: 44의 IL-2를 코딩하는 무장된 SVV를 함유하는 플라스미드 pSVV-hIL-2 v.2의 핵산 서열 (서열식별번호: 60)을 나타낸다.

도 29b는 플라스미드 pSVV-hIL-2 v.2의 지도를 나타낸다.

도 30a는 서열식별번호: 46의 TGF-베타 RII 디코이를 코딩하는 무장된 SVV를 함유하는 플라스미드 pSVV-TGFbR DN v.2 신호 서열 없음 + met + pro의 핵산 서열 (서열식별번호: 61)을 나타낸다.

도 30b는 pSVV-TGFbR DN v.2 신호 서열 없음 + met + pro의 지도를 나타낸다.

도 31a는 서열식별번호: 48의 TGF-베타 RII 디코이를 코딩하는 무장된 SVV를 함유하는 플라스미드 pSVV-TGFbR DN 델타 v.3 ser+met의 핵산 서열 (서열식별번호: 62)을 나타낸다.

도 31b는 플라스미드 pSVV-TGFbR DN 델타 v.3 ser+met의 지도를 나타낸다.

도 32a는 서열식별번호: 50의 시토신 데아미나제를 코딩하는 플라스미드 pSVV-FCY2+3 돌연변이의 핵산 서열 (서열식별번호: 63)을 나타낸다.

도 32b는 플라스미드 pSVV-FCY2+3 돌연변이의 지도를 나타낸다.

도 33a는 서열식별번호: 52의 Nfsa 돌연변이체를 코딩하는 플라스미드 pSVV-nfsa mut 22-78의 핵산 서열을 나타낸다.

도 33b는 플라스미드 pSVV-nfsa mut 22-78의 지도를 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0024] 일반적 설명 및 하기 상세한 설명은 단지 예시적이고 설명적이며, 첨부된 청구범위에 정의된 바와 같이 본 발명을 제한하지 않는다. 본 발명의 다른 측면은 본원에 제공된 바와 같은 본 발명의 상세한 설명을 고려하여 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 명백할 것이다.
- [0025] 본 발명은 암을 치료하는 데 유용한 작용제를 코딩하는 무장된 세네카 벨리 바이러스 (SVV)에 관한 것이다. 본 발명은 또한 이러한 무장된 SVV를 생성하는 방법에 관한 것이다.
- [0026] 정의
- [0027] 달리 정의되지 않는 한, 본원에 사용된 모든 기술 과학 용어는 본 발명이 속하는 관련 기술분야의 통상의 기술자에 의해 일반적으로 이해되는 바와 동일한 의미를 갖는다. 본원에 기재된 것들과 유사하거나 동등한 임의의 방법 및 물질이 본 발명의 시험을 위한 실시예에 사용될 수 있지만, 바람직한 물질 및 방법이 본원에 기재된다. 본 발명을 기재하고 청구하는 데 있어서, 하기 용어가 사용될 것이다.
- [0028] 또한, 본원에 사용된 용어는 단지 특정한 실시양태를 기재할 목적을 위한 것이며, 제한하려는 의도가 아님을 이해해야 한다.
- [0029] 본원에 사용된 단수 형태는 하나 또는 하나 초과 (즉, 적어도 하나)의 그 문법적 대상을 지칭하기 위해 사용된다. 예로서, "요소"는 하나의 요소 또는 하나 초과의 요소를 의미한다.
- [0030] 측정가능한 값, 예컨대 양, 시간적 지속기간 등을 지칭하는 경우에 본원에 사용된 용어 "약"은 명시된 값으로부터 $\pm 20\%$ 또는 $\pm 10\%$, 보다 바람직하게는 $\pm 5\%$, 보다 더 바람직하게는 $\pm 1\%$, 보다 더 바람직하게는 $\pm 0.1\%$ 의 변동을 포괄하는 것으로 의도되며, 이는 이러한 변동이 개시된 방법을 수행하는 데 적절하기 때문이다.
- [0031] 용어 "생물학적" 또는 "생물학적 샘플"은 유기체로부터 또는 유기체의 성분 (예를 들어, 세포)으로부터 수득된 샘플을 지칭한다. 샘플은 임의의 생물학적 조직 또는 유체의 것일 수 있다. 빈번하게, 샘플은 환자로부터 유래된 샘플인 "임상 샘플"일 것이다. 이러한 샘플은 골수, 심장 조직, 객담, 혈액, 림프액, 혈액 세포 (예를 들어, 백혈구), 조직 또는 미세 바늘 생검 샘플, 소변, 복막액 및 흉막액, 또는 그로부터의 세포를 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 생물학적 샘플은 또한 조직학적 목적을 위해 취한 조직의 절편, 예컨대 동결 절편을 포함할 수 있다.
- [0032] 본원에 사용된 용어 "포함하는", "비롯한", "함유하는" 및 "특징으로 하는"은 교환가능하고, 포괄적이고, 개방형이며, 추가의 언급되지 않은 요소 또는 방법 단계를 배제하지 않는다. 본원에서, 특히 조성물의 성분의 기재에서 또는 장치의 요소의 기재에서 용어 "포함하는"의 임의의 언급은 언급된 성분 또는 요소로 본질적으로 이루어진 및 그로 이루어진 조성물 및 방법을 포괄하는 것으로 이해된다.
- [0033] 본원에 사용된 용어 "이루어진"은 청구범위 요소에 명시되지 않은 임의의 요소, 단계 또는 성분을 배제한다.
- [0034] 본원에 사용된 용어 "세네카 벨리 바이러스" 또는 "SVV"는 야생형 SVV 또는 SVV 유도체를 포괄한다. 예시적인 적합한 SSV 균주는 SVV-001, NTX-010, 및 ATCC 특허 기탁 번호 PTA-5343을 갖는 SVV 균주를 포함한다. 본원에 사용된 용어 "유도체"는 바이러스의 유도체가 주형 바이러스 핵산 또는 아미노산 서열과 관련하여 핵산 또는 아미노산 서열 차이를 가질 수 있음을 명시한다. 본원에 사용된 용어 SVV는 또한 SVV의 종양용해 활성을 유지하는 SVV의 단편을 포괄한다. 예를 들어, SVV 유도체는 ATCC 특허 기탁 번호 PTA-5343의 야생형 SVV 핵산 또는 아미노산 서열과 상이한 핵산 또는 아미노산 서열을 갖는 SVV를 지칭할 수 있다. 다른 실시양태에서, SVV 유도체는 ONCR-788일 수 있다. 일부 실시양태에서, SVV 유도체는 SVV 돌연변이체, SVV 변이체 또는 변형된 SVV (예를 들어, 유전자 조작된 SVV)를 포함한다. 일부 실시양태에서, 변형된 SVV 유도체는 상이한 세포 수용체를 인식할 수 있도록 또는 여전히 관심 세포 (즉, 암 세포)를 침습, 복제 및 사멸시킬 수 있으면서 면역계를 회피할 수 있도록 변형된다. 일반적으로, SVV 또는 SVV 유도체는 더 많은 바이러스를 생산하기 위해 계대배양되는 기존 바이러스 스톡으로부터 유래될 수 있다. SVV 또는 SVV 유도체는 또한 플라스미드로부터 유래될 수 있다.
- [0035] 본원에 사용된 어구 "무장된 세네카 벨리 바이러스" 또는 "무장된 SVV"는 암을 치료하는 데 유용한 작용제를 발현하도록 변형된, 상기 정의된 바와 같은 "세네카 벨리 바이러스" 또는 "SVV"를 포괄한다. 무장된 SVV는 암을 치료하는 데 유용한 작용제를 코딩한다. 무장된 SVV는 치료 유전자를 발현하도록 조작되었다.
- [0036] 본원에 사용된 "더 높은"은 대조군 참조물보다 적어도 10% 또는 그 초과, 예를 들어 20%, 30%, 40%, 또는 50%, 60%, 70%, 80%, 90% 또는 그 초과로 더 높은, 및/또는 1.1배, 1.2배, 1.4배, 1.6배, 1.8배, 2.0배 또는 그 초

과로 더 높은, 및 이들 사이의 임의의 및 모든 전체 또는 부분 증분인 발현 수준을 지칭한다. 본원에 개시된 참조 값보다 더 높은 발현 수준은 건강한 대상체에서 측정되거나 또는 관련 기술분야에서 정의 또는 사용된 발현 (mRNA 또는 단백질)으로부터의 정상 또는 대조군 수준보다 더 높은 발현 수준 (mRNA 또는 단백질)을 지칭한다.

[0037] 본원에 사용된 "더 낮은"은 대조군 참조물보다 적어도 10% 또는 그 초과로 더 낮은, 예를 들어 20%, 30%, 40%, 또는 50%, 60%, 70%, 80%, 90% 또는 그 초과로 더 낮은, 및/또는 1.1배, 1.2배, 1.4배, 1.6배, 1.8배, 2.0배 또는 그 초과로 더 낮은, 및 그 사이의 임의의 및 모든 전체 또는 부분 증분인 발현 수준을 지칭한다. 본원에 개시된 참조 값보다 더 낮은 발현 수준은 건강한 대상체에서 측정되거나 또는 관련 기술분야에서 정의 또는 사용된 발현 (mRNA 또는 단백질)으로부터의 정상 또는 대조군 수준보다 더 낮은 발현 수준 (mRNA 또는 단백질)을 지칭한다.

[0038] 본원에 사용된 용어 "대조군" 또는 "참조물"은 상호교환가능하게 사용될 수 있고, 비교 표준으로서 사용되는 값을 지칭한다.

[0039] 본원에 사용된 "조합 요법"은 제1 작용제가 또 다른 작용제와 함께 투여되는 것을 의미한다. "와 조합하여" 또는 "와 함께"는 또 다른 치료 양식에 추가하여 하나의 치료 양식의 투여를 지칭한다. 따라서, "와 조합하여"는 개체에게 다른 치료 양식을 전달하기 전에, 전달하는 동안 또는 전달한 후에 하나의 치료 양식을 투여하는 것을 지칭한다. 이러한 조합은 단일 치료 요법 또는 요법들의 일부인 것으로 간주된다. 본원의 목적을 위해, 조합 요법은 각각 동일한 과다증식성 질환 또는 상태, 예컨대 동일한 종양 또는 암을 치료하기 위한 종양용해 바이러스 및 또 다른 항암제의 투여를 포함하는 치료 요법을 포함할 수 있다. 조합 요법은 또한 무장된 SVV를 무장되지 않은 SVV와 조합하여 사용하는 것을 포함할 수 있다.

[0040] 본원에 사용된 용어 "펩티드", "폴리펩티드" 및 "단백질"은 상호교환가능하게 사용되고, 펩티드 결합에 의해 공유 연결된 아미노산 잔기로 구성된 화합물을 지칭한다. 단백질 또는 펩티드는 적어도 2개의 아미노산을 함유해야 하고, 단백질 또는 펩티드의 서열을 구성할 수 있는 아미노산의 최대 수에 대한 제한은 없다. 폴리펩티드는 펩티드 결합에 의해 서로 연결된 2개 이상의 아미노산을 포함하는 임의의 펩티드 또는 단백질을 포함한다. 본원에 사용된 상기 용어는, 예를 들어 관련 기술분야에서 통상적으로 펩티드, 올리고펩티드 및 올리고머로도 지칭되는 단쇄, 및 관련 기술분야에서 일반적으로 많은 유형이 존재하는 단백질로 지칭되는 장쇄 둘 다를 지칭한다. "폴리펩티드"는 특히, 예를 들어 생물학적 활성 단편, 실질적으로 상동인 폴리펩티드, 올리고펩티드, 동종 이량체, 이종이량체, 폴리펩티드의 변이체, 변형된 폴리펩티드, 유도체, 유사체, 융합 단백질을 포함한다. 폴리펩티드는 천연 펩티드, 재조합 펩티드, 합성 펩티드 또는 그의 조합을 포함한다.

[0041] 본원에 사용된 용어 "RNA"는 리보핵산으로서 정의된다.

[0042] 본 발명의 문맥 내에서 사용된 용어 "치료"는 질환 또는 장애에 대한 치유적 치료, 뿐만 아니라 예방적 또는 억제적 조치를 포함하도록 의도된다. 본원에 사용된 용어 "치료" 및 연관된 용어, 예컨대 "치료하다" 및 "치료하는"은 질환 상태 또는 그의 적어도 1종의 증상의 진행, 중증도 및/또는 지속기간의 감소를 의미한다. 따라서, 용어 "치료"는 대상체에게 유익할 수 있는 임의의 요법을 지칭한다. 치료는 기존 상태에 대한 것일 수 있거나 또는 예방적 (예방적 치료)일 수 있다. 치료는 치유, 완화 또는 예방적 효과를 포함할 수 있다. 본원에서 "치유적" 및 "예방적" 치료에 대한 언급은 그의 가장 넓은 맥락에서 고려되어야 한다. 용어 "치료적"은 대상체가 완전히 회복될 때까지 치료된다는 것을 반드시 의미하지는 않는다. 유사하게, "예방적"은 대상체가 결국 질환 상태에 걸리지 않을 것이라는 것을 반드시 의미하지는 않는다. 따라서, 예를 들어 용어 치료는 질환 또는 장애의 발병 전 또는 후에 작용제를 투여하여 질환 또는 장애의 모든 징후를 예방 또는 제거하는 것을 포함한다. 또 다른 예로서, 질환의 증상을 방지하기 위한 질환의 임상 징후 후의 작용제의 투여는 질환의 "치료"를 포함한다.

[0043] 본원에 사용된 용어 "핵산"은 폴리뉴클레오타이드, 예컨대 데옥시리보핵산 (DNA), 및 적절한 경우에 리보핵산 (RNA)을 지칭한다. 상기 용어는 또한 등가물로서 뉴클레오타이드 유사체로부터 제조된 RNA 또는 DNA의 유사체, 및 기재된 실시양태에 적용가능한 바와 같이 단일 (센스 또는 안티센스) 및 이중-가닥 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 것으로 이해되어야 한다. EST, 염색체, cDNA, mRNA 및 rRNA는 핵산으로 지칭될 수 있는 분자의 대표적인 예이다. 본원에 사용된 바와 같이, 서열분석된 핵산이 DNA 서열로서 제공되는 경우, RNA 서열이 또한 사용될 수 있음을 이해해야 한다.

[0044] 핵산은 단일 가닥 또는 이중-가닥일 수 있거나, 또는 이중-가닥 및 단일-가닥 서열 둘 다의 부분을 함유할 수

있다. 핵산은 DNA, 게놈 및 cDNA 둘 다, RNA, 또는 하이브리드일 수 있으며, 여기서 핵산은 테옥시리보 및 리보-뉴클레오타이드의 조합, 및 우라실, 아데닌, 티민, 시토신, 구아닌, 이노신, 크산틴 하이포크산틴, 이소시토신 및 이소구아닌을 포함한 염기의 조합을 함유할 수 있다. 핵산은 화학적 합성 방법 또는 재조합 방법에 의해 수득될 수 있다. 본원에 사용된 "작동가능하게 연결된"은 유전자의 발현이 공간적으로 연결된 프로모터의 제어 하에 있음을 의미한다. 프로모터는 그의 제어 하에 유전자의 5' (상류) 또는 3' (하류)에 위치할 수 있다. 프로모터와 유전자 사이의 거리는 그 프로모터와 프로모터가 유래된 유전자에서 그것이 제어하는 유전자 사이의 거리와 거의 동일할 수 있다. 관련 기술분야에 공지된 바와 같이, 이러한 거리의 변동은 프로모터 기능의 손실 없이 수용될 수 있다.

[0045] 본원에 사용된 "실질적으로 동일한"은 제1 및 제2 아미노산 서열이 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 1100개 또는 그 초과인 아미노산의 영역에 걸쳐 적어도 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%인 것을 의미할 수 있다. 실질적으로 동일한은 또한 제1 핵산 서열과 제2 핵산 서열이 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 1100개 또는 그 초과인 뉴클레오타이드의 영역에 걸쳐 적어도 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%인 것을 의미할 수 있다.

[0046] 본원에 사용된 "코딩 서열" 또는 "코딩 핵산"은 단백질을 코딩하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 핵산 (RNA 또는 DNA 분자)을 의미한다. 코딩 서열은 핵산이 투여되는 개체 또는 포유동물의 세포에서 발현을 지시할 수 있는 프로모터 및 폴리아데닐화 신호를 비롯한 조절 요소에 작동가능하게 연결된 개시 및 종결 신호를 추가로 포함할 수 있다.

[0047] 본원에 사용된 "상보체" 또는 "상보적"은 핵산 분자의 뉴클레오타이드 또는 뉴클레오타이드 유사체 사이의 왓슨-크릭 (예를 들어, A-T/U 및 CG) 또는 후그스틴 염기 쌍형성을 의미한다.

[0048] 본원에 사용된 "컨센서스" 또는 "컨센서스 서열"은 특정한 항원의 다중 하위유형의 정렬의 분석에 기초하여 구축된 합성 핵산 서열 또는 상응하는 폴리펩티드 서열을 의미할 수 있다. 서열은 특정한 항원의 다중 하위유형, 혈청형 또는 군주에 대한 광범위한 면역을 유도하는 데 사용될 수 있다. 합성 항원, 예컨대 융합 단백질은 컨센서스 서열 (또는 컨센서스 항원)을 생성하도록 조작될 수 있다.

[0049] 본원에 사용된 "단편"은, 종양용해성일 수 있고 암을 치료할 수 있는 단백질을 코딩하는 무장된 SVV를 코딩하는 핵산 서열 또는 그의 부분을 의미한다.

[0050] 2개 이상의 핵산 또는 폴리펩티드 서열과 관련하여 본원에 사용된 "동일한" 또는 "동일성"은 서열이 명시된 영역에 걸쳐 명시된 백분율의 동일한 잔기를 갖는다는 것을 의미한다. 백분율은 2개의 서열을 최적으로 정렬하고, 명시된 영역에 걸쳐 2개의 서열을 비교하고, 두 서열에서 동일한 잔기가 발생하는 위치의 수를 결정하여 매칭된 위치의 수를 산출하고, 매칭된 위치의 수를 명시된 영역 내의 위치의 총수로 나누고, 결과에 100을 곱하여 서열 동일성의 백분율을 산출함으로써 계산될 수 있다. 2개의 서열이 상이한 길이를 갖거나 또는 정렬이 1개 이상의 엇갈림 말단을 생성하고, 명시된 비교 영역이 단지 단일 서열만을 포함하는 경우, 단일 서열의 잔기는 계산의 분모에는 포함되지만 분자에는 포함되지 않는다. 동일성은 수동으로 또는 컴퓨터 서열 알고리즘, 예컨대 BLAST 또는 BLAST 2.0을 사용하여 수행될 수 있다.

[0051] 핵산과 관련하여 본원에 사용된 "변이체"는 (i) 언급된 뉴클레오타이드 서열의 부분 또는 단편; (ii) 언급된 뉴클레오타이드 서열 또는 그의 부분의 상보체; (iii) 언급된 핵산 또는 그의 상보체와 실질적으로 동일한 핵산; 또는 (iv) 엄격한 조건 하에 언급된 핵산, 그의 상보체, 또는 그와 실질적으로 동일한 서열에 혼성화하는 핵산을 의미한다.

[0052] 변이체는 아미노산의 삽입, 결실 또는 보존적 치환에 의해 아미노산 서열이 상이하지만 적어도 하나의 생물학적 활성을 보유하는 펩티드 또는 폴리펩티드로서 추가로 정의될 수 있다. "생물학적 활성"의 대표적인 예는 특이적 항체에 의해 결합되거나 면역 반응을 촉진하는 능력을 포함한다. 변이체는 또한 적어도 하나의 생물학적 활성을 보유하는 아미노산 서열을 갖는 언급된 단백질과 실질적으로 동일한 아미노산 서열을 갖는 단백질을 의미할 수 있다. 아미노산의 보존적 치환, 즉 아미노산을 유사한 특성 (예를 들어, 친수성, 하전된 영역의 정도 및 분포)의 상이한 아미노산으로 대체하는 것은 관련 기술분야에서 전형적으로 부차적 변화를 수반하는 것으로 인

식된다. 이들 부차적 변화는 부분적으로는 관련 기술분야에서 이해되는 바와 같이 아미노산의 소수친수성 지수를 고려함으로써 확인될 수 있다. 문헌 [Kyte et al., J. Mol. Biol. 157:105-132 (1982)]. 아미노산의 소수친수성 지수는 그의 소수성 및 전하의 고찰에 기초한다. 유사한 소수친수성 지수의 아미노산이 치환될 수 있고, 여전히 단백질 기능을 보유할 수 있다는 것이 관련 기술분야에 공지되어 있다. 한 측면에서, ± 2 의 소수친수성 지수를 갖는 아미노산이 치환된다. 아미노산의 친수성은 또한 생물학적 기능을 보유하는 단백질을 생성할 치환을 밝히는 데 사용될 수 있다. 펩티드와 관련하여 아미노산의 친수성을 고려하는 것은 해당 펩티드의 최대 국소 평균 친수성의 계산을 허용하고, 이는 항원성 및 면역원성과 잘 상호관련되는 것으로 보고된 유용한 척도이다. 유사한 친수성 값을 갖는 아미노산의 치환은 관련 기술분야에서 이해되는 바와 같이 생물학적 활성, 예를 들어 면역원성을 보유하는 펩티드를 생성할 수 있다. 치환은 서로 친수성 값이 ± 2 내에 있는 아미노산으로 수행될 수 있다. 아미노산의 소수성 지수 및 친수성 값 둘 다는 그 아미노산의 특정한 측쇄에 의해 영향을 받는다. 이러한 관찰과 일치하게, 생물학적 기능과 상용성인 아미노산 치환은, 소수성, 친수성, 전하, 크기, 및 다른 특성에 의해 나타나는 바와 같이, 아미노산의 상대적 유사성, 및 특히 이들 아미노산의 측쇄에 좌우되는 것으로 이해된다.

[0053] 변이체는 전장의 전체 유전자 서열 또는 그의 단편에 걸쳐 실질적으로 동일한 핵산 서열일 수 있다. 핵산 서열은 전장의 유전자 서열 또는 그의 단편에 걸쳐 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일할 수 있다. 변이체는 전장의 아미노산 서열 또는 그의 단편에 걸쳐 실질적으로 동일한 아미노산 서열일 수 있다. 아미노산 서열은 전장의 아미노산 서열 또는 그의 단편에 걸쳐 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일할 수 있다.

[0054] 본원에 사용된 "백터"는 복제 기점을 함유하는 핵산 서열을 의미한다. 백터는 바이러스 백터, 박테리오파지, 박테리아 인공 염색체, 또는 효모 인공 염색체일 수 있다. 백터는 DNA 또는 RNA 백터일 수 있다. 백터는 자기-복제 염색체와 백터일 수 있고, 바람직하게는 DNA 플라스미드이다.

[0055] 본원에 사용된 용어 "제약 조성물"은 본 발명 내에서 유용한 적어도 하나의 화합물과 다른 화학적 성분, 예컨대 담체, 안정화제, 희석제, 아주반트, 분산제, 현탁화제, 증점제 및/또는 부형제의 혼합물을 지칭한다. 제약 조성물은 유기체에 대한 화합물의 투여를 용이하게 한다. 종양내, 정맥내, 흉막내, 경구, 에어로졸, 비경구, 안과적, 폐 및 국소 투여를 포함하나 이에 제한되지는 않는, 화합물을 투여하는 다수의 기술이 관련 기술분야에 존재한다.

[0056] 용어 "제약상 허용되는 담체"는 본 발명의 화합물(들) (예를 들어, 무장된 SVV)을 그의 의도된 기능을 수행할 수 있도록 대상체 내에 또는 대상체에게 운반 또는 수송하는 데 수반되는 제약상 허용되는 염, 제약상 허용되는 물질, 조성물 또는 담체, 예컨대 액체 또는 고체 충전제, 희석제, 부형제, 용매 또는 캡슐화 물질을 포함한다. 전형적으로, 이러한 화합물은 신체의 한 기관 또는 부분으로부터 신체의 또 다른 기관 또는 부분으로 운반 또는 수송된다. 각각의 염 또는 담체는 제제의 다른 성분과 상용성이고 대상체에게 유해하지 않다는 의미에서 "허용되는" 것이어야 한다. 제약상 허용되는 담체로서의 역할을 할 수 있는 물질의 일부 예는 당, 예컨대 락토스, 글루코스 및 수크로스; 전분, 예컨대 옥수수 전분 및 감자 전분; 셀룰로스 및 그의 유도체, 예컨대 소듐 카르복시메틸 셀룰로스, 에틸 셀룰로스 및 셀룰로스 아세테이트; 분말화 트라가칸트; 맥아; 젤라틴; 활석; 부형제, 예컨대 코코아 버터 및 좌제 왁스; 오일, 예컨대 땅콩 오일, 목화씨 오일, 홍화 오일, 참깨 오일, 올리브 오일, 옥수수 오일 및 대두 오일; 글리콜, 예컨대 프로필렌 글리콜; 폴리올, 예컨대 글리세린, 소르비톨, 만니톨 및 폴리에틸렌 글리콜; 에스테르, 예컨대 에틸 올레이트 및 에틸 라우레이트; 한천; 완충제, 예컨대 수산화마그네슘 및 수산화알루미늄; 알긴산; 발열원-무함유 물; 등장성 염수; 링거액; 에틸 알콜; 포스페이트 완충제 용액; 희석제; 과립화제; 윤활제; 결합제; 붕해제; 습윤제; 유화제; 착색제; 이형제; 코팅제; 감미제; 향미제; 퍼폼제; 보존제; 항산화제; 가소제; 겔화제; 증점제; 경화제; 세팅제; 현탁화제; 계면활성제; 함습제; 담체; 안정화제; 및 제약 제제에 사용되는 다른 비-독성 상용성 물질, 또는 그의 임의의 조합을 포함한다. 본원에 사용된 "제약상 허용되는 담체"는 또한 화합물의 활성과 상용성이고 대상체에게 생리학상 허용되는 임의의 및 모든 코팅, 항박테리아제 및 항진균제, 및 흡수 지연제 등을 포함한다. 보충 활성 화합물이 또한 조성물에 혼입될 수 있다.

[0057] 본원에 사용된 용어 "유효량" 또는 "치료 유효량"은, 특정한 질환 상태를 예방하는 데 요구되거나, 또는 질환 상태 또는 그의 적어도 1종의 증상 또는 그와 연관된 상태의 중증도를 감소시키고/거나 그를 호전시키는, 본 발명의 백터로부터 생성된 바이러스 입자 또는 감염 단위의 양을 의미한다.

- [0058] 본원에 사용된 어구 체크포인트 억제제를 사용한 "단독요법에 불응성인 암"은 체크포인트 억제제를 사용한 단독요법에 대한 치료 시작 시에 저항성일 수 있거나, 또는 치료 동안 체크포인트 억제제를 사용한 단독요법에 대해 저항성이 될 수 있는 임의의 암을 지칭한다. 상기 어구는 체크포인트 억제제로 치료되었지만 반응하지 않은 (즉, 암 치료에 저항성인) 암을 포함한다. 상기 어구는 또한 체크포인트 억제제로 치료되고 처음에 치료에 반응하였으나, 후속적으로 종양이 재성장하는 (재발성/저항성) 암을 포함한다. 이러한 정의의 목적을 위해, 용어 체크포인트 억제제를 사용한 단독요법은 유일한 항암제로서 체크포인트 억제제로 치료된 암을 지칭한다. 이러한 암의 예는 면역계에 의해 인식되지 않았거나 또는 강한 반응을 유발하지 않은 암인 콜드 종양을 포함한다. 콜드 종양은 체크포인트 억제제 및/또는 체크포인트 차단에 대해 저항성이다.
- [0059] 본원에 사용된 "대상체" 또는 "환자"는 인간 또는 비-인간 포유동물일 수 있다. 비-인간 포유동물은, 예를 들어 가축 및 애완동물, 예컨대 양, 소, 돼지, 개, 고양이 및 무린 포유동물을 포함한다. 바람직하게는, 대상체는 인간이다.
- [0060] 범위: 본 개시내용 전반에 걸쳐, 본 발명의 다양한 측면은 범위 형식으로 제시될 수 있다. 범위 형식의 기재는 단지 편의성 및 간결성을 위한 것이며, 본 발명의 범주에 대한 융통성 없는 제한으로 해석되어서는 안된다는 것을 이해해야 한다. 따라서, 범위의 기재는 구체적으로 개시된 모든 가능한 하위범위 뿐만 아니라 그 범위 내의 개별 수치 값을 갖는 것으로 간주되어야 한다. 예를 들어, 범위, 예컨대 1 내지 6의 기재는 구체적으로 개시된 하위범위, 예컨대 1 내지 3, 1 내지 4, 1 내지 5, 2 내지 4, 2 내지 6, 3 내지 6 등, 뿐만 아니라 그 범위 내의 개별 숫자, 예를 들어 1, 2, 2.7, 3, 4, 5, 5.3 및 6을 갖는 것으로 간주되어야 한다. 이는 범위의 폭과 상관없이 적용된다.
- [0061] 무장된 SVV
- [0062] 본 개시내용은 치료 페이로드를 보유하도록, 즉 암을 치료하기 위한 작용제를 코딩하도록 변경된 무장된 세네카 벨리 바이러스를 제공한다. 이론에 얽매이지는 않지만, 이러한 무장된 SVV가 암을 치료하는 데 사용되는 경우에 암 치료의 성공은 무장되지 않은 세네카 벨리 바이러스 (즉, 치료 페이로드를 보유하지 않은 SVV)를 사용한 치료와 비교하여 개선되는 것으로 고려된다.
- [0063] 특정 실시양태에서, 본 개시내용은 항-PD-1 항체, CXCL9, TGF β 수용체 디코이, IL-2 돌연변이체, 또는 니트로리덕타제의 결합 단편을 코딩하도록 변경된 세네카 벨리 바이러스를 제공한다.
- [0064] 본 개시내용의 추가의 실시양태는 항-CTLA4 나노바디를 코딩하는 무장된 SVV; 항-CD3 나노바디를 코딩하는 무장된 SVV; 항-PDL1 나노바디를 코딩하는 무장된 SVV; 항-CTLA4+항-PDL1 나노바디 둘 다를 코딩하는 무장된 SVV; 항-CTLA4+항-CD3 나노바디 둘 다를 코딩하는 무장된 SVV; 항-CD3+항-PDL1 나노바디 둘 다를 코딩하는 무장된 SVV; IL-2를 코딩하는 무장된 SVV (버전 2 및 3); TGF-베타 우성 음성 RII 디코이-SS 없음 v.2를 코딩하는 무장된 SVV; TGF-베타 우성 음성 RII 디코이를 코딩하는 무장된 SVV; 시토신 데아미나제를 코딩하는 무장된 SVV; 및 Nfsa mut 22-78을 코딩하는 무장된 SVV를 포함한다.
- [0065] 한 실시양태에서, 본 개시내용은 IL-2 사중 돌연변이체, 예컨대 IL-2 사중 돌연변이체 T3A /F42A /Y45A /L72G (C125A)를 코딩하는 핵산을 함유하는 무장된 세네카 벨리 바이러스를 제공한다. 또 다른 실시양태에서, 본 개시내용은 네오류킨 2-15를 함유하는 무장된 SVV를 제공한다.
- [0066] 특정 실시양태에서, 본 개시내용은 무장된 세네카 벨리 바이러스에 관한 것이고, 여기서 무장된 세네카 벨리 바이러스는 세네카 벨리 바이러스 또는 그의 종양용해 단편, 및 관심 치료 단백질을 코딩하는 핵산을 포함한다. 특정 실시양태에서, 관심 단백질은 인터류킨, 케모카인, 또는 체크포인트 억제제로서 작용하는 나노바디이다. 예를 들어, 관심 단백질은 항-PD-L1 나노바디, IL-2, CXCL9, IL-15, IL-2/IL-15, TGF- β 디코이, Nfsa일 수 있다. 다른 실시양태에서, 관심 단백질은 인터류킨, 케모카인, 또는 체크포인트 억제제로서 작용하는 나노바디를 포함한다. 일부 실시양태에서, 관심 치료 단백질은 항-PD-L1 나노바디, IL-2 또는 그의 돌연변이체, CXCL9, IL-15, IL-2/IL-15 (네오류킨 2-15), TGF- β 디코이 또는 그의 돌연변이체, Nfsa 또는 그의 돌연변이체, 항-CTLA4 나노바디, 항-CD3 나노바디, 항-CTLA-4 + 항-PDLI-1 나노바디, 항-CLTA4 + 항-PLD-1 나노바디, 또는 시토신 데아미나제를 포함한다.
- [0067] 특정 실시양태에서, 무장된 세네카 벨리 바이러스는 관심 치료 단백질을 코딩하는 핵산이 삽입된 세네카 벨리 바이러스 또는 그의 단편을 포함한다.
- [0068] 특정 실시양태에서, 무장된 세네카 벨리 바이러스는 치료 단백질을 코딩하는 핵산 서열을 세네카 벨리 바이러스

또는 그의 종양용해 단편의 게놈 내로 단백질 2A 및 2B에 대한 코딩 서열들의 사이에 삽입함으로써 생성된다.

- [0069] TGF- β 디코이 수용체는 TGF- β (예를 들어, TGF- β 1, TGF- β 2 및/또는 TGF- β 3)에 결합하고, 막횡단 도메인을 코딩하는 아미노산 서열이 결합된 TGF-베타 수용체로부터 유래된다. TGF- β 디코이의 발현은 종양 미세환경에서 면역억제 환경을 감소시키고, T 세포 반응을 증대시킬 것이다.
- [0070] 네오류킨 2-15는 IL-2R α (CD25로도 불림) 또는 IL-15R α (CD215로도 공지됨)에 대한 결합 부위가 결합된 개선된 IL-2 돌연변이체이다. 분자는 과안정하고, 천연 시토카인보다 더 높은 친화도로 인간 및 마우스 IL-2R β γ c에 결합한다. 분자는 과안정하고, 천연 시토카인보다 더 높은 친화도로 인간 및 마우스 IL-2R β γ c에 결합한다.
- [0071] 특정 실시양태에서, SVV는 IL-2 수용체의 CD122 및 CD132 (베타 및 감마 체)에만 결합할 수 있고 CD25 결합 도메인이 결합된 IL-2 뮤테인으로 무장된다.
- [0072] 본 발명의 특정 실시양태는 서열식별번호: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 또는 51의 핵산을 세네카 벨리 바이러스 내로 삽입함으로써 생성된 무장된 세네카 벨리 바이러스에 관한 것이고, 여기서 생성된 무장된 세네카 벨리 바이러스는 종양용해성이고, 여기서 서열식별번호: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 또는 51에 의해 코딩되는 치료 단백질은 세네카 벨리 바이러스가 암 세포에 투여될 때 발현된다.
- [0073] 본 발명의 특정 실시양태는 서열식별번호: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 또는 51에 대해 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 핵산을 세네카 벨리 바이러스 내로 삽입함으로써 생성된 무장된 세네카 벨리 바이러스에 관한 것이고, 여기서 생성된 무장된 세네카 벨리 바이러스는 종양용해성이고, 여기서 서열식별번호: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 또는 51에 의해 코딩된 치료 단백질은 세네카 벨리 바이러스가 암 세포에 투여될 때 발현된다.
- [0074] 본 발명의 또 다른 실시양태는 서열식별번호: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 또는 52의 단백질을 발현하도록 변경된 세네카 벨리 바이러스 또는 그의 종양용해 단편의 서열을 함유하는 무장된 세네카 벨리 바이러스이며, 여기서 무장된 세네카 벨리 바이러스는 종양용해성이고, 여기서 치료 단백질은 세네카 벨리 바이러스가 암 세포에 투여될 때 발현된다.
- [0075] 본 발명의 또 다른 실시양태는 서열식별번호: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 또는 52의 단백질 서열에 대해 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 단백질을 발현하도록 변경된 세네카 벨리 바이러스 또는 그의 종양용해 단편의 서열을 함유하는 무장된 세네카 벨리 바이러스이며, 여기서 무장된 세네카 벨리 바이러스는 종양용해성이고, 여기서 치료 단백질은 세네카 벨리 바이러스가 암 세포에 투여되는 경우에 발현된다.
- [0076] 본 발명의 대안적 실시양태는 서열식별번호: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 또는 52의 단백질을 코딩하는 핵산 서열을 포함하도록 변경된 세네카 벨리 바이러스 또는 그의 종양용해 단편의 서열을 함유하는 무장된 세네카 벨리 바이러스이며, 여기서 무장된 세네카 벨리 바이러스는 종양용해성이고, 여기서 치료 단백질은 세네카 벨리 바이러스가 암 세포에 투여될 때 발현된다.
- [0077] 본 발명의 또 다른 실시양태는 서열식별번호: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 또는 52의 단백질 서열에 대해 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 단백질을 코딩하는 핵산 서열을 포함하도록 변경된 세네카 벨리 바이러스 또는 그의 종양용해 단편의 서열을 함유하는 무장된 세네카 벨리 바이러스이며, 여기서 무장된 세네카 벨리 바이러스는 종양용해성이고, 여기서 치료 단백질은 세네카 벨리 바이러스가 암 세포에 투여될 때 발현된다.
- [0078] 한 실시양태에서, 무장된 세네카 벨리 바이러스는 서열식별번호: 13의 뉴클레오타이드 1-7762를 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 무장된 세네카 벨리 바이러스는 서열식별번호: 13의 뉴클레오타이드 1-7762에 대해 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 뉴클레오타이드 서열을

포함한다.

- [0079] 또 다른 실시양태에서, 무장된 세네카 벨리 바이러스는 서열식별번호: 14의 뉴클레오타이드 1-7783을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 무장된 세네카 벨리 바이러스는 서열식별번호: 14의 뉴클레오타이드 1-7783에 대해 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 뉴클레오타이드 서열을 포함한다.
- [0080] 대안적 실시양태에서, 무장된 세네카 벨리 바이러스는 서열식별번호: 15의 뉴클레오타이드 1-7759를 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 무장된 세네카 벨리 바이러스는 서열식별번호: 15의 뉴클레오타이드 1-7759에 대해 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 뉴클레오타이드 서열을 포함한다.
- [0081] 또 다른 대안적 실시양태에서, 무장된 세네카 벨리 바이러스는 서열식별번호: 16의 뉴클레오타이드 1-7984를 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 무장된 세네카 벨리 바이러스는 서열식별번호: 16의 뉴클레오타이드 1-7984에 대해 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 뉴클레오타이드 서열을 포함한다.
- [0082] 또 다른 대안적 실시양태에서, 무장된 세네카 벨리 바이러스는 서열식별번호: 17의 뉴클레오타이드 1-8140을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 무장된 세네카 벨리 바이러스는 서열식별번호: 17의 뉴클레오타이드 1-8140에 대해 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 뉴클레오타이드 서열을 포함한다.
- [0083] 추가의 실시양태에서, 무장된 세네카 벨리 바이러스는 서열식별번호: 18의 뉴클레오타이드 1-7738을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 무장된 세네카 벨리 바이러스는 서열식별번호: 18의 뉴클레오타이드 1-7738에 대해 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 뉴클레오타이드 서열을 포함한다.
- [0084] 본 발명의 또 다른 실시양태는 치료 단백질을 코딩하는 핵산 서열을 세네카 벨리 바이러스의 게놈 내로 단백질 2A 및 2B에 대한 코딩 서열들의 사이에 삽입함으로써 생성된 무장된 세네카 벨리 바이러스이다. 치료 단백질을 코딩하는 핵산은 서열식별번호: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49 또는 51의 핵산; 서열식별번호: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49 또는 51의 핵산에 대해 적어도 85%, 95% 또는 99% 동일한 핵산; 서열식별번호: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50 또는 52의 아미노산 서열을 코딩하는 핵산; 또는 서열식별번호: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50 또는 52의 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 또는 적어도 99% 동일한 단백질을 코딩하는 핵산을 포함할 수 있다. 특정 실시양태에서, 무장된 세네카 벨리 바이러스는 SVV-001을 무장시킴으로써 생성된다.
- [0085] 또 다른 실시양태에서, 무장된 세네카 벨리 바이러스는 서열식별번호: 13의 뉴클레오타이드 3508-3885, 서열식별번호: 14의 뉴클레오타이드 3505-3906, 서열식별번호: 15의 뉴클레오타이드 3508-3882, 서열식별번호: 15의 뉴클레오타이드 3508-4107, 서열식별번호: 16의 뉴클레오타이드 3508-4107, 서열식별번호: 17의 뉴클레오타이드 3508-4263, 또는 서열식별번호: 18의 뉴클레오타이드 3508-3861이 삽입된 세네카 벨리 바이러스 또는 그의 종양용해 단편의 서열을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 무장된 세네카 벨리 바이러스는 서열식별번호: 13의 뉴클레오타이드 3508-3885, 서열식별번호: 14의 뉴클레오타이드 3505-3906, 서열식별번호: 15의 뉴클레오타이드 3508-3882, 서열식별번호: 15의 뉴클레오타이드 3508-4107, 서열식별번호: 16의 뉴클레오타이드 3508-4107, 서열식별번호: 17의 뉴클레오타이드 3508-4263, 또는 서열식별번호: 18의 뉴클레오타이드 3508-3861에 대해 적어도 85%, 95%, 또는 99% 동일한 핵산이 삽입된 세네카 벨리 바이러스 또는 그의 종양용해 단편의 서열을 포함한다. 핵산은 SVV 또는 SVV 유도체에서 단백질 2A 및 2B에 대한 코딩 서열들의 사이에 삽입될 수 있다.
- [0086] 무장된 SSV를 보유하는 벡터
- [0087] 본 개시내용은 또한 본 개시내용의 무장된 SVV 구축물을 함유하는 벡터를 제공한다. 벡터는 복제 기점을 함유

하는 핵산 서열을 가질 수 있다. 벡터는 플라스미드, 박테리오파지, 박테리아 인공 염색체, 또는 효모 인공 염색체일 수 있다. 벡터는 자기-복제 염색체의 벡터 또는 숙주 게놈 내로 통합되는 벡터일 수 있다.

- [0088] 한 실시양태에서, 벡터는 서열식별번호: 13-18 또는 53-64의 핵산 서열에 대해 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 핵산 서열을 포함한다.
- [0089] 특정 실시양태에서, 벡터는 서열식별번호: 13-18 또는 53-64 중 어느 하나의 핵산 서열 또는 서열식별번호: 13-18 또는 53-64의 핵산 서열과 실질적으로 동일한 핵산을 형성하는 플라스미드이다.
- [0090] 한 실시양태에서, 플라스미드는 서열식별번호: 13의 뉴클레오타이드 1-7762를 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 플라스미드는 서열식별번호: 13의 뉴클레오타이드 1-7762에 대해 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 뉴클레오타이드 서열을 포함한다.
- [0091] 또 다른 실시양태에서, 플라스미드는 서열식별번호: 14의 뉴클레오타이드 1-7783을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 플라스미드는 서열식별번호: 14의 뉴클레오타이드 1-7783에 대해 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 뉴클레오타이드 서열을 포함한다.
- [0092] 대안적 실시양태에서, 플라스미드는 서열식별번호: 15의 뉴클레오타이드 1-7759를 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 플라스미드는 서열식별번호: 15의 뉴클레오타이드 1-7759에 대해 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 뉴클레오타이드 서열을 포함한다.
- [0093] 또 다른 대안적 실시양태에서, 플라스미드는 서열식별번호: 16의 뉴클레오타이드 1-7984를 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 플라스미드는 서열식별번호: 16의 뉴클레오타이드 1-7984에 대해 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 뉴클레오타이드 서열을 포함한다.
- [0094] 또 다른 대안적 실시양태에서, 플라스미드는 서열식별번호: 17의 뉴클레오타이드 1-8140을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 플라스미드는 서열식별번호: 17의 뉴클레오타이드 1-8140에 대해 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 뉴클레오타이드 서열을 포함한다.
- [0095] 추가의 실시양태에서, 플라스미드는 서열식별번호: 18의 뉴클레오타이드 1-7738을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 플라스미드는 서열식별번호: 18의 뉴클레오타이드 1-7738에 대해 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 뉴클레오타이드 서열을 포함한다.
- [0096] 하나 이상의 벡터는 일반적으로 특이적 유전자를 표적 세포 내로 도입하기 위해 사용되는 플라스미드인 발현 구축물일 수 있다. 발현 벡터가 세포 내부에 있으면, 유전자에 의해 코딩되는 단백질이 세포-전사 및 번역 기구 리보솜 복합체에 의해 생산된다. 플라스미드는, 인핸서 및 프로모터 영역으로서 작용하고 발현 벡터 상에 보유된 유전자의 효율적인 전사를 유도하는 조절 서열을 함유하도록 빈번하게 조작된다. 본 발명의 벡터는 다량의 안정한 메신저 RNA, 및 이에 따라 단백질을 발현한다. 벡터는 발현 신호, 예컨대 강한 프로모터, 강한 종결 코돈, 프로모터와 클로닝된 유전자 사이의 거리의 조정, 및 전사 종결 서열 및 PTIS (휴대용 번역 개시 서열)의 삽입을 가질 수 있다.
- [0097] SVV를 무장시키는 방법
- [0098] 본 개시내용은 치료 단백질을 발현하도록 세네카 벨리 바이러스를 무장시키는 방법을 또한 제공한다. 상기 방법은 세네카 벨리 바이러스 핵산 서열, 예컨대 SVV-001, NTX-010의 핵산 서열, 및 ATCC 특허 기탁 번호 PTA-5343을 갖는 SVV 균주를 제공한 후, 치료 단백질을 적절한 위치에 삽입하여, 이로써 생성된 무장된 SSV 바이러스가 종양용해성이고 치료 단백질을 발현하는 것을 포함한다. 특정 실시양태에서, 치료 단백질은 세네카 벨리 바이러스 내로 SVV의 2A 펩티드를 코딩하는 핵산 서열과 2B 펩티드를 코딩하는 핵산 서열 사이에 삽입된다. 이러한 삽입 부위의 개략도를 도 15a-c에 나타낸다.
- [0099] 특정 실시양태에서, 본 발명의 방법은 800개 이하의 염기 쌍 길이인 치료 단백질을 코딩하는 핵산을 함유하도록

SVV를 무장시키는 데 사용될 수 있다. 방법의 한 실시양태에서, 세네카 벨리 바이러스는 NTX-010 또는 SVV-001이다.

[0100] 한 실시양태에서, 본 개시내용은 다음 단계를 포함하는 무장된 SVV 구축물을 생성하는 방법을 제공한다: (1) 무장된 SVV 플라스미드를 구축하는 단계; (2) 무장된 SVV 플라스미드를 선형화하여 3' 말단을 규정하는 단계; (3) T7 폴리머라제를 사용한 시험관내 전사 반응으로 진정한 5' 및 3' 말단을 갖는 RNA 전사체를 생성하는 단계; (4) RNA를 표적 세포 내로 형질감염시키는 단계; 및 (5) 무장된 SVV 바이러스를 단리하는 단계.

[0101] 또 다른 실시양태에서, 본 개시내용은 다음 단계를 포함하는 무장된 SVV 구축물을 생성하는 방법을 제공한다: (1) T7 폴리머라제 최적화된 포유동물 발현 플라스미드를 표적 세포주 내로 클로닝하는 단계; (2) 무장된 SVV 플라스미드를 선형화하는 단계; (3) 플라스미드를 T7-pol 세포 내로 형질감염시키는 단계; 및 (4) 무장된 SVV 바이러스를 단리하는 단계.

[0102] 대안적 실시양태에서, 이러한 방법은 세네카 벨리 바이러스 또는 그의 종양용해 단편, 및 관심 치료 단백질을 코딩하는 핵산을 포함하는 플라스미드를 구축하는 단계; 플라스미드를 선형화하여 3' 말단을 규정하는 단계; T7 폴리머라제를 사용한 시험관내 전사 반응으로 진정한 5' 및 3' 말단을 갖는 RNA 전사체를 생성하는 단계; RNA 전사체를 표적 세포 내로 형질감염시키는 단계; 및 무장된 SVV 바이러스를 단리하는 단계를 포함한다.

[0103] 또 다른 실시양태에서, 방법은 T7 폴리머라제 최적화된 포유동물 발현 플라스미드를 표적 세포 내로 클로닝하는 단계; 세네카 벨리 바이러스 또는 그의 종양용해 단편, 및 관심 치료 단백질을 코딩하는 핵산을 포함하는 선형화된 무장된 SVV 플라스미드를 제공하는 단계; 무장된 SVV 플라스미드를 T7-pol 표적 세포 내로 형질감염시키는 단계; 및 무장된 세네카 벨리 바이러스를 단리하는 단계를 포함한다.

[0104] 특정 실시양태에서, 무장된 SVV 구축물은 하기 실시예에 나타난 방법을 사용하여 생성될 수 있다.

[0105] 본 발명의 특정 실시양태에서, 방법은 서열식별번호: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 또는 51의 핵산을 세네카 벨리 바이러스 내로 삽입하는 것을 포함한다. 다른 실시양태에서, 방법은 서열식별번호: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 또는 51에 대해 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 핵산을 세네카 벨리 바이러스 또는 그의 종양용해 단편 내로 삽입하는 것을 포함한다. 대안적으로, 방법은 서열식별번호: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 또는 52의 단백질을 코딩하는 핵산을 세네카 벨리 바이러스 내로 삽입하는 것을 포함한다. 방법은 또한 서열식별번호: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 또는 52의 단백질 서열에 대해 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 단백질을 코딩하는 핵산을 삽입하는 것을 포함할 수 있다. 이러한 방법은, 종양용해성이고, 기능적 치료 단백질 또는 그의 기능적 단편을 생산하는, 즉 치료 단백질 또는 그의 단편이 그의 치료 기능을 유지하는 것인 무장된 SSV를 생산시킨다.

[0106] 면역원성 SVV 구축물

[0107] 본 개시내용은 또한 스크리닝을 위한 단백질, 예컨대 예를 들어 오브알부민 및 COVID 에피토프를 함유하도록 변형된 세네카 벨리 바이러스를 제공한다. 따라서, 한 실시양태는 서열식별번호: 19의 핵산 1-7891을 포함하는 세네카 벨리 바이러스이다. 본 발명의 또 다른 실시양태는 서열식별번호: 19의 뉴클레오타이드 1-7891에 대해 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 핵산 서열을 포함하는 세네카 벨리 바이러스이다.

[0108] 또 다른 실시양태는 핵산 서열을 세네카 벨리 바이러스의 게놈 내로 단백질 2A 및 2B에 대한 코딩 서열들의 사이에 삽입함으로써 생성된 SVV 구축물이고, 여기서 핵산 서열은 서열식별번호: 19의 뉴클레오타이드 3508-4014를 포함하거나 또는 핵산 서열은 서열식별번호: 19의 뉴클레오타이드 3508-4014에 대해 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 핵산 서열을 포함한다.

[0109] 특정 실시양태에서, SVV 구축물은 세네카 벨리 바이러스 및/또는 무장된 세네카 벨리 바이러스의 생체내 면역원성을 평가하는 데 사용될 수 있다. 구체적으로, SVV 구축물은 SVV의 면역 활성화 특성을 시험하는 데 사용될

수 있다.

[0110] 무장된 SVV로 암을 치료하는 방법

[0111] 본 개시내용은 암을 치료하는 데 유용한 작용제를 코딩하는 무장된 세네카 벨리 바이러스를 이용하는, 암을 치료하기 위한 방법, 조성물, 키트 및 제약 조성물을 제공한다. 특히, 본 개시내용은 본원에 기재된 바와 같은 무장된 세네카 벨리 바이러스를 이용하는, 암을 치료하기 위한 방법, 조성물, 키트, 및 제약 조성물을 제공한다.

[0112] 본원에 제공된 암의 치료는 고형 종양의 치료 또는 전이의 치료를 포함할 수 있다. 전이는 형질전환된 또는 악성 세포가 이동하여 암을 한 부위에서 또 다른 부위로 확산시키는 암의 형태이다. 이러한 암은 피부, 유방, 뇌, 자궁경부, 고환 등의 암을 포함한다. 보다 특히, 암은 다음 기관 또는 계를 포함할 수 있으나 이에 제한되지는 않는다: 심장, 폐, 위장, 비뇨생식관, 간, 골, 신경계, 부인과, 혈액, 피부 및 부신. 보다 특히, 본원의 방법은 신경교종 (슈반세포종, 교모세포종, 성상세포종), 신경모세포종, 크롬친화세포종, 부신경절종, 수막종, 부신피질 암종, 신장암, 다양한 유형의 혈관암, 골모세포성 골암종, 전립선암, 난소암, 자궁 평활근종, 타액선암, 맥락종 암종, 유방암, 췌장암, 결장암 및 거핵모구성 백혈병을 치료하는 데 사용될 수 있다. 피부암은 악성 흑색종, 기저 세포 암종, 편평 세포 암종, 카포시 육종, 이형성 모반, 지방종, 혈관종, 피부섬유종, 켈로이드, 횡문근육종, 수모세포종 및 건선을 포함한다.

[0113] 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 방법에 의해 치료되는 암은 삼중 음성 유방암, 소세포 폐암, 비소세포 폐암, 비소세포 편평세포 암종, 선암종, 교모세포종, 피부암, 간세포성 암종, 결장암, 자궁경부암, 난소암, 자궁내막암, 신경내분비암, 췌장암, 갑상선암, 신장암, 골암, 식도암 또는 연부조직암을 포함한다.

[0114] 다른 실시양태에서, 암은 신경모세포종 또는 흑색종이다. 또 다른 실시양태에서, 암은 신경내분비암 또는 소세포 폐암 (SCLC) 종양이다.

[0115] 조합 요법

[0116] 본원에 기재된 무장된 SVV를 사용하여 대상체에서 암을 치료하기 위한 조성물 및 방법은 암을 치료하는 데 유용한 적어도 하나의 추가의 화합물과 조합할 수 있다. 추가의 화합물은 암 및/또는 전이의 증상을 치료, 예방 또는 감소시키는 것으로 공지된 상업적으로 입수가능한 화합물을 포함할 수 있다.

[0117] 한 측면에서, 본원에 개시된 제약 조성물은 무장된 SVV 및 제약상 허용되는 담체를 포함한다. 조성물은 또한 추가의 SVV를 포함할 수 있다. 제약 조성물은 치료제, 예컨대 화학요법제, 항세포 증식제 또는 그의 임의의 조합을 포함하나 이에 제한되지는 않는 항종양제와 조합하여 사용될 수 있다. 예를 들어, 다음의 비제한적인 예시적인 부류의 임의의 통상적인 화학요법제가 본 발명에 포함된다: 알킬화제; 니트로소우레아; 항대사물; 항종양 항생제; 식물 알킬로이드; 탁산; 호르몬제; 및 기타 작용제. 또 다른 측면에서, 본원에 개시된 제약 조성물은 방사선 요법과 조합하여 사용될 수 있다.

[0118] 대부분의 알킬화제는 세포 주기 비-특이적이다. 구체적 측면에서, 이들은 DNA 이중-나선 가닥에서 구아닌 염기를 가교시킴으로써 종양 성장을 중지시킨다. 비제한적 예는 부술판, 카르보플라틴, 클로람부실, 시스플라틴, 시클로포스파미드, 다카르바진, 이포스파미드, 메클로레타민 히드록로라이드, 멜팔란, 프로카르바진, 티오테파 및 우라실 머스타드를 포함한다.

[0119] 항대사물은 세포 주기의 합성 (S) 단계 동안 염기의 DNA로의 혼입을 방지하여, 정상 발생 및 분열을 방해한다. 항대사물의 비제한적 예는 5-플루오로우라실, 6-메르캅토프린, 카페시타빈, 시토신 아라비노시드, 플록수리딘, 플루다라빈, 겐시타빈, 메토티렉세이트 및 티오구아닌과 같은 약물을 포함한다.

[0120] 항종양 항생제는 일반적으로 세포 분열에 필요한 효소를 방해함으로써 또는 세포를 둘러싸는 막을 변경함으로써 세포 분열을 방지한다. 이러한 부류에는 안트라시클린, 예컨대 독소루비신이 포함되며, 이는 DNA의 구조를 파괴함으로써 세포 분열을 방지하고 그의 기능을 종결시키는 작용을 한다. 이들 작용제는 세포 주기 비-특이적이다. 항종양 항생제의 비제한적 예는 아클라시노마이신, 악티노마이신, 안트라마이신, 아자세린, 블레오마이신, 캅티노마이신, 칼리케아미신, 카루비신, 카미노마이신, 카르지노필린, 크로모마이신, 닥티노마이신, 다우노루비신, 데토루비신, 6-디아조-5-옥소-L-노르류신, 독소루비신, 에피루비신, 예소루비신, 이다루비신, 마르셀로마이신, 미토마이신, 미톡산트론, 미코페놀산, 노갈라마이신, 올리보마이신, 페플로마이신, 포르피로마이신, 퓨로마이신, 쿠엘라마이신, 로도루비신, 스트렙토니그린, 스트렙토조신, 투베르시딘, 우베니멕스, 지노스타틴 및 조루비신을 포함한다.

- [0121] 식물 알칼로이드는 유사분열을 억제 또는 중지시키거나, 또는 세포가 세포 성장에 필요한 단백질을 제조하는 것을 방지하는 효소를 억제한다. 빈번하게 사용되는 식물 알칼로이드는 빈블라스틴, 빈크리스틴, 빈데신 및 비노렐빈을 포함한다. 그러나, 본 발명은 이들 식물 알칼로이드에만 제한되는 것으로 해석되어서는 안된다.
- [0122] 탁산은 세포 기능에 중요한 미세관으로 불리는 세포 구조에 영향을 미친다. 정상 세포 성장에서, 미세관은 세포가 분열하기 시작할 때 형성되지만, 세포가 분열을 중지하면 미세관은 분해되거나 파괴된다. 탁산은 미세관이 파괴되는 것을 저해하여 암 세포가 미세관으로 막혀 성장 및 분열할 수 없게 한다. 비제한적인 예시적인 탁산은 파클리탁셀 및 도세탁셀을 포함한다.
- [0123] 호르몬제 및 호르몬-유사 약물은, 예를 들어 백혈병, 림프종 및 다발성 골수종을 비롯한 특정 유형의 암에 사용된다. 이들은 종종 그의 유효성을 증진시키기 위해 다른 유형의 화학요법 약물과 함께 사용된다. 성 호르몬은 여성 또는 남성 호르몬의 작용 또는 생산을 변경하기는 데 사용되고, 유방암, 전립선암 및 자궁내막암의 성장을 늦추는 데 사용된다. 이들 호르몬의 생산 (아로마타제 억제제) 또는 작용 (타목시펜)을 억제하는 것은 종종 요법에 대한 보조로 사용될 수 있다. 일부 다른 종양도 호르몬 의존성이다. 타목시펜은 유방암 세포의 성장을 촉진하는 에스트로겐의 활성을 방해하는 호르몬제의 비제한적인 예이다.
- [0124] 다양한 작용제는 화학요법제, 예컨대 블레오마이신, 히드록시우레아, L-아스파라기나제 및 프로카르바진을 포함한다.
- [0125] 화학요법제의 다른 예는 하기 및 그의 제약상 허용되는 염, 산 및 유도체를 포함하나 이에 제한되지는 않는다: MEK 억제제, 예컨대 비제한적으로, 레파메티닙, 셀루메티닙, 트라메티닙 또는 코비메티닙; 질소 머스타드, 예컨대 클로람부실, 클로파파진, 클로로포스파미드, 에스트라무스틴, 이포스파미드, 메클로레타민, 메클로레타민 옥시드 히드로클로라이드, 멜팔란, 노벤비킨, 페네스테린, 프레드니무스틴, 트로포스파미드, 우라실 머스타드; 니트로소우레아, 예컨대 카르무스틴, 클로로조토신, 포테무스틴, 로무스틴, 니무스틴, 라니무스틴; 퓨린 유사체, 예컨대 플루다라빈, 6-메르캅토피리딘, 티아미프린, 티오구아닌; 피리미딘 유사체, 예컨대 안시타빈, 아자시티딘, 6-아자우리딘, 카르포푸르, 시타라빈, 디데옥시우리딘, 독시플루리딘, 에노시타빈, 플록수리딘, 5-FU; 안드로겐, 예컨대 칼루스테론, 드로모스타놀론 프로피오네이트, 에피티오스타놀, 메피티오스탄, 테스토락톤; 항부신제, 예컨대 아미노글루테티미드, 미토탄, 트릴로스탄; 폴산 보충제, 예컨대 프롤린산; 아세글라톤; 알도포스파미드 글리코시드; 아미노레볼린산; 암사크린; 베스트라부실; 비산트렌; 에다트렉세이트; 데포파민; 데메콜신; 디아지쿠온; 에플로르니틴; 엘립티늄 아세테이트; 에토글루시드; 질산갈륨; 히드록시우레아; 렌티난; 로니다민; 미토구아존; 미톡산트론; 모피다몰; 니트라크린; 펜토스타틴; 페나메트; 피라루비신; 포도필린산; 2-에틸 히드라지드; 프로카르바진; 폴리사카라이드-K (PSK); 라축산; 시조푸란; 스피로게르마늄; 테누아존산; 트리아지쿠온; 2,2',2"-트리클로로트리에틸아민; 우레탄; 빈데신; 다카르바진; 만노무스틴; 미토브로니톨; 미토락톨; 피포브로만; 가시토신; 아라비노시드 ("Ara-C"); 시클로포스파미드; 티오테파; 탁소이드, 예를 들어 파클리탁셀 (탁솔(TAXOL)), 브리스톨-마이어스 스킵 온콜로지(Bristol-Myers Squibb Oncology), 뉴저지주 프린스턴) 및 도세탁셀 (탁소테레(TAXOTERE)), 롱-프랑 로리(Rhone-Poulenc Rorer), 프랑스 안토니), 클로람부실, 겐시타빈, 6-티오구아닌, 메르캅토피리딘, 메토트렉세이트; 백금 유사체, 예컨대 시스플라틴 및 카르보플라틴; 빈블라스틴; 백금; 에토포시드 (VP-16); 이포스파미드; 미토마이신 C; 미톡산트론; 빈크리스틴; 비노렐빈; 나벨빈; 노반트론; 테니포시드; 다우노마이신; 아미노프테린; 젤로다; 이반드로네이트; CPT-11; 토포이소머라제 억제제 RFS 2000; 디플루오로메틸오르니틴 (DMFO); 레티노산; 에스페라미신; 및 카페시타빈.
- [0126] 항세포 증식제는 아폽토시스-유도제 또는 세포독성제로서 추가로 정의될 수 있다. 아폽토시스-유도제는 그랜자임, Bcl-2 패밀리를 구성원, 시토크롬 C, 카스파제 또는 그의 조합일 수 있다. 예시적인 그랜자임은 그랜자임 A, 그랜자임 B, 그랜자임 C, 그랜자임 D, 그랜자임 E, 그랜자임 F, 그랜자임 G, 그랜자임 H, 그랜자임 I, 그랜자임 J, 그랜자임 K, 그랜자임 L, 그랜자임 M, 그랜자임 N 또는 그의 조합을 포함한다. 다른 구체적 측면에서, Bcl-2 패밀리를 구성원은, 예를 들어 Bax, Bak, Bcl-Xs, Bad, Bid, Bik, Hrk, Bok 또는 그의 조합이다.
- [0127] 추가의 측면에서, 카스파제는 카스파제-1, 카스파제-2, 카스파제-3, 카스파제-4, 카스파제-5, 카스파제-6, 카스파제-7, 카스파제-8, 카스파제-9, 카스파제-10, 카스파제-11, 카스파제-12, 카스파제-13, 카스파제-14 또는 그의 조합이다. 구체적 측면에서, 세포독성제는 TNF- α , 젤로닌, 프로디지오신, 리보솜-억제 단백질 (RIP), 슈도모나스 외독소, 클로스트리디움 디피실레 독소 B, 헬리코박터 필로리 VacA, 예르시니아 엔테로콜리티카 YopT, 비올라세인, 디에틸렌트리아민펜타아세트산, 이로폴벤, 디프테리아 독소, 미토길린, 리신, 보툴리눔 독소, 콜레라 독소, 사포린 6 또는 그의 조합이다.
- [0128] 면역요법제는 인터류킨-2 또는 다른 시토카인, 프로그램화된 세포 사멸 단백질 1 (PD-1) 신호전달의 억제제, 예

컨대 PD-1에 결합하는 모노클로날 항체, 이필리무맙일 수 있으나 이에 제한되지는 않는다. 면역요법제는 또한 세포독성 T 림프구 연관 항원 A-4 (CTLA-4) 신호전달을 차단할 수 있고, 이는 또한 암 백신 및 수지상 세포-기반 요법에 관한 것일 수 있다.

[0129] 한 실시양태에서, 암을 앓고 있는 대상체는 체크포인트 억제제, PD-1 억제제, PD-L1 억제제, CTLA-4 억제제, 시토카인, 성장 인자, 광감작제, 독소, siRNA 분자, 신호전달 조절제, 항암 항생제, 항암 항체, 혈관신생 억제제, 화학요법 화합물, 항전이성 화합물, 면역요법 화합물, CAR 요법, 수지상 세포-기반 요법, 암 백신, 종양용해 바이러스, 조작된 항암 바이러스 또는 바이러스 유도체, 및 그의 임의의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 하나의 항암 치료제를 투여받는다.

[0130] 특정 실시양태에서, 대상체는 체크포인트 억제제를 투여받는다. 체크포인트 억제제는 PD-1 억제제, PD-L1 억제제, CTLA-4 억제제 또는 그의 조합일 수 있다. 특정 실시양태에서, 체크포인트 억제제는 항-PD1-항체, 항-PD-L1 항체, 또는 항-CTLA-4 항체이다. 특정 실시양태에서, 체크포인트 억제제는 암 세포 상의 다음 체크포인트 단백질 중 하나 이상을 차단한다: PD-1, PD-L1, CTLA-4, B7-1, B7-2. 다른 실시양태에서, 체크포인트 억제제는 다음 체크포인트 단백질 중 1종 이상을 차단한다: LAG-3; TIM-3; TIGIT; VISTA, B7-H3, BTLA 및 Siglec-15. 문헌 [Qin, S. et al. Mol Cancer 18, 155 (2019); Gaynor et al. Semin Cancer Biol. 2020 Jul 2; S1044-579X(20)30152-8]을 참조한다. 체크포인트 억제제는 항체, 예컨대 예를 들어 모노클로날 항체일 수 있다.

[0131] 추가의 예시적인 적합한 체크포인트 억제제는 이필리무맙 (예르보이(Yervoy)®), 펌브롤리주맙 (키트루다(Keytruda)®), 니볼루맙 (옵디보(Opdivo)®) 및 아테졸리주맙 (테센트릭(Tecentriq)®)을 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 한 실시양태에서, 체크포인트 억제제는 항-PD-1 항체이다.

[0132] 한 실시양태에서, 적어도 하나의 항암 치료제는 무장된 SVV의 투여 이전에, 그와 동시에, 또는 후속적으로 투여된다.

[0133] 한 실시양태에서, 대상체는 IFN-I 억제제를 투여받는다. 본원에 사용된 IFN-I 억제제는 부분적으로 또는 완전히 및 일시적으로 또는 영구적으로 IFN 유형 I 경로를 억제, 억압 또는 감소시키기 위한 관련 기술분야에 공지된 임의의 작용제를 포괄한다. 일부 실시양태에서, IFN-I 억제제의 억제 효과는 가역적일 수 있다. 다른 실시양태에서, IFN-I의 억제는 역전된다.

[0134] 억제제는 siRNA, 리보자임, 안티센스 분자, 압타머, 펩티드모방체, 소분자, mTOR 억제제, 히스톤 데아세틸라제 (HDAC) 억제제, 야누스 키나제 (JAK) 억제제, IFN 억제제, IFN 항체, IFN- α 수용체 1 항체, IFN- α 수용체 2 항체 및 바이러스 펩티드, 및 그의 임의의 조합을 포함한다. 바이러스 펩티드는 인플루엔자 바이러스로부터의 NS1 단백질 또는 탱기 바이러스로부터의 NS2B3 프로테아제 복합체일 수 있으나 이에 제한되지는 않는다.

[0135] mTOR 경로 및 그의 억제는 다양한 질환, 예컨대 암에 연루된 것으로 공지되어 있다. 라파마이신은 그의 세포내 수용체 FK-506 결합 단백질 12 (FKBP12)와의 회합을 통해 mTOR을 억제할 수 있는 박테리아 스트렙토미세스 히그로스코피쿠스(*Streptomyces hygroscopicus*)에 의해 생산된 천연 생성물이다. FKBP12-라파마이신 복합체는 mTOR의 FKBP12-라파마이신 결합 도메인에 직접 결합한다. mTOR은 2개의 별개의 분자 복합체, 즉 mTOR 복합체 1 (mTORC1) 및 mTOR 복합체 2 (mTORC2)에 대한 촉매 서브유닛으로서 기능한다. mTORC1은 mTOR의 조절 연관 단백질 (Raptor) 및 포유동물 LST8/G-단백질 β -서브유닛 유사 단백질 (mLST8/G β L)로 구성된다. 이러한 복합체는 영양소/에너지/산화환원 센서로서 기능하고, 단백질 합성을 조절하는 역할을 한다. mTORC1의 활성화는 인슐린, 성장 인자, 혈청, 포스포티드산, 아미노산 (특히 류신) 및 산화성 스트레스에 의해 자극된다 (문헌 [Hay and Sonenberg, Genes Dev. 18(16):1926-1945, 2004; Wullschlegel et al., Cell 124(3):471-484]). 대조적으로, mTORC1은 낮은 영양소 수준, 성장 인자 박탈, 환원성 스트레스, 카페인, 라파마이신, 파르네실티오살리실산 및 쿠티쿠민에 의해 억제되는 것으로 공지되어 있다 (문헌 [Beevers et al., Int. J. Cancer 119(4):757-764, 2006; McMahon et al., Mol. Endocrinol. 19(1):175-183]). mTORC2의 성분은 mTOR의 라파마이신-비감수성 동반자 (Rictor), G β L, 포유동물 스트레스-활성화 단백질 키나제 상호작용 단백질 1 및 mTOR이다. mTORC2는 F-액틴 스트레스 섬유, 팽실린, RhoA, Rac1, Cdc42 및 단백질 키나제 C 알파의 자극을 통해 세포골격의 중요한 조절체로서 기능하는 것으로 밝혀졌다 (문헌 [Sarbasov et al., Curr. Biol. 14(14): 1296-302, 2004; Sarbasov et al., Science 307(5712): 1098-101, 2005]). mTORC1과 달리, mTORC2는 라파마이신에 민감하지 않다.

[0136] 다수의 mTOR 억제제가 관련 기술분야에 공지되어 있고, 강력한 면역억제 및 항종양 활성을 갖는다. mTOR의 억제제, 예컨대 라파마이신 또는 라파마이신 유사체 또는 유도체는 면역억제 및 항종양 특성을 나타내는 것으로

공지되어 있다. 다른 mTOR 억제제는 에베롤리무스, 타크롤리무스, 조타롤리무스 (ABT-578), 피메크롤리무스, 비올리무스, FK-506, PP242 (2-(4-아미노-1-이소프로필-1H-피라졸로[3,4-d]피리미딘-3-일)-1H-인돌-5-올), Ku-0063794 (rel-5-[2-[(2R,6S)-2,6-디메틸-4-모르폴리닐]-4-(4-모르폴리닐)피리도[2,3-d]피리미딘-7-일]-2-메톡시벤젠메탄올), PI-103 (3-(4-(4-모르폴리닐)피리도[3',2':4,5]푸로[3,2-d]피리미딘-2-일)페놀), PKI-179 (N-[4-[4-(4-모르폴리닐)-6-(3-옥사-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-8-일)-1,3,5-트리아진-2-일]페닐]-N'-4-피리디닐 우레아 히드로클로라이드), AZD8055 (5-[2,4-비스[(3S)-3-메틸-4-모르폴리닐]피리도[2,3-d]피리미딘-7-일]-2-메톡시벤젠메탄올), WYE-132/WYE-125132 (1-{4-[1-(1,4-디옥사-스피로[4.5]데스-8-일)-4-(8-옥사-3-아자-비시클로[3.2.1]옥트-3-일)-1H-피라졸로[3,4-d]피리미딘-6-일]-페닐}-3-메틸-우레아), WYE-23 (4-{6-[4-(3-시클로프로필-우레이도)-페닐]-4-모르폴린-4-일-피라졸로[3,4-d]피리미딘-1-일}-피페리딘-1-카르복실산 메틸 에스테르), WYE-28 (4-(6-{4-[3-(4-히드록시메틸)-페닐]-우레이도)-페닐]-4-모르폴린-4-일-피라졸로[3,4-d]피리미딘-1-일)-피페리딘-1-카르복실산 메틸 에스테르), WYE-354 (4-[6-[4-[(메톡시카르보닐)아미노]페닐]-4-(4-모르폴리닐)-1H-피라졸로[3,4-d]피리미딘-1-일]-1-피페리딘카르복실산 메틸 에스테르), C20-메트알릴라파마이신 및 C16-(S)-부틸술폰아미도라파마이신, C16-(S)-3-메틸인돌라파마이신 (C16-iRap), C16-(S)-7-메틸인돌라파마이신 (AP21967/C16-AiRap), CCI-779 (탐시롤리무스), RAD001 (40-O-(2-히드록시에틸)-라파마이신), AP-23575, AP-23675, AP-23573, 20-티아라파마이신, 15-데옥소-19-술폰실라파마이신, WYE-592, ILS-920, 7-에피-라파마이신, 7-티오메틸-라파마이신, (3S,6R,7E,9R,10R,12R,14S,15E,17E,19E,21S,23S,26R,27R,34aS)-9,10,12,13,14,2-1,22,23,24,25,26,27,32,33,34,34a-헥사데카히드로-9,27-디히드록시-3-[(1R)-2-[(1S,3R,4R)-3-메톡시-4-테트라졸-1-일]시클로헥실]-1-메틸에틸]-10,21-디메톡시-6,8,12,14,20,26-헥사메틸-23,27-에폭시-3H-피리도[2,1-c][1,4]옥사아자시클로헥트리아콘틴-1,5,11,28,29(4H,6H,31H)-펜톤 23,27-에폭시-3H-피리도[2,1-c][1,4]옥사아자시클로헥트리아콘틴-1,5,11,28,29(4H,6H,31H)-펜톤 (미국 특허 번호 6,015,815), A-94507, 데포롤리무스, AP-23675, AP-23841, 조타롤리무스, CCI779/탐시롤리무스, RAD-001/에베롤리무스, 7-에피-트리메톡시-라파마이신, 2-데스메틸-라파마이신, 및 42-O-(2-히드록시)에틸-라파마이신, AP-23841, 7-에피-라파마이신, 7-티오메틸-라파마이신, 7-에피-트리메톡시페닐-라파마이신, 7-에피-티오메틸-라파마이신, 7-데메톡시-라파마이신, 32-데메톡시-라파마이신, 2-데스메틸-라파마이신, 42-O-(2-히드록시)에틸 라파마이신, 리다포롤리무스, ABI-009, MK8669, TOP216, Tafa93, 토리셀(TORISEL)TM (전구약물), 세르티칸(CERTICAN)TM, Ku-0063794, PP30, 토린1, 토린2, ECO371, AP23102, AP23573, AP23464, AP23841; 40-(2-히드록시에틸)라파마이신, 40-[3-히드록시(히드록시메틸)메틸프로파노에이트]-라파마이신 (CC1779로도 불림), 32-데옥소라파마이신, 및 16-펜틸옥시-32(S)-디히드로라파마이신을 들 수 있다. 비-라파마이신 유사체 mTOR 억제 화합물은 LY294002, 워트만닌, 퀘르세틴, 미리센틴, 스타우로스포린 및 ATP 경쟁적 억제제를 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 적합한 mTOR 억제제의 다른 예는 미국 특허 번호 6,329,386, 미국 공개 2003/129215 및 미국 공개 2002/123505에서 찾아볼 수 있다.

[0137] 일부 실시양태에서, 개시된 mTOR 억제제는 mTORC1 및 mTORC2 중 적어도 하나를 억제한다. 다른 실시양태에서, 개시된 mTOR 억제제는 토린 1 또는 토린 2이다.

[0138] 많은 HDAC 억제제가 관련 기술분야에 공지되어 있고 사용된다. 가장 흔한 HDAC 억제제는 HDAC의 아연-함유 촉매 도메인에 결합한다. 이들 HDAC 억제제는 그의 화학 구조 및 아연 이온에 결합하는 화학적 모이어티에 따라 명명된 여러 군으로 분류될 수 있다. 일부 예는 히드록삼산 또는 히드록사메이트 (예컨대, 트리코스타틴 A (TSA) 또는 보리노스타트/SAHA (FDA 승인됨)), 아미노벤즈아미드 엔티노스타트 (MS-275), 타세디날린 (CI994) 및 모세티노스타트 (MGCD0103), 시클릭 펩티드 (아피시딘, 로미렙신 (FDA 승인됨)), 시클릭 테트라펩티드 또는 에폭시케톤 (예컨대, 트라포신 B), 펩시펩티드, 벤즈아미드, 친전자성 케톤 및 지방족 카르복실산 화합물 (예컨대, 부티레이트, 페닐부티레이트, 발프로에이트 및 발프로산)을 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 다른 HDAC 억제제는 벨리노스타트 (PXD101), LAQ824, 및 파노비노스타트 (LBH589)를 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 임상 시험에서 HDCA 억제제의 예는 파노비노스타트 (LBH-589), 벨리노스타트 (PXD101), 엔티노스타트 (MS275), 모세티노스타트 (MGCD01030), 기비노스타트 (ITF2357), 프락티노스타트 (SB939), 키다미드 (CS055/HBI-8000), 퀴시노스타트 (JNJ-26481585), 아백시노스타트 (PCI-24781), CHR-3996 및 AR-Z2를 포함한다. 한 실시양태에서, HDAC 억제제는 트리코스타틴 A이다.

[0139] JAK 억제제 (JAK/SAT 억제제로도 지칭됨)는 야누스 키나제 패밀리의 효소 (예를 들어, JAK1, JAK2, JAK3 및/또는 TYK2) 중 1종 이상의 활성을 억제함으로써, JAK-STAT 신호전달 경로를 방해한다. 다양한 JAK 억제제가 관련 기술분야에 공지되어 있고, 염증성 질환 또는 암의 치료를 위해 사용된다. JAK 억제제의 비제한적 예는 록솔리티닙 (자카피/자카비), 토파시티닙 (자크비누스, 이전에 타소시티닙 및 CP-690550으로 공지됨), 오클라시티닙 (아포쿠엘), 바리시티닙 (올루미안트, LY3009104), 데세르노티닙 (VX-509)을 포함한 FDA 승인된 화합물이다. 다른 JAK 억제제는 임상 시험 중이고/거나 실험 약물로서 사용된다. 이들은 예를 들어 필고티닙 (G-146034,

GLPG-0634), 세르둘라티닙 (PRT062070), 간도티닙 (LY-2784544), 레스타우르티닙 (CEP-701), 모델로티닙 (GS-0387, CYT-387), 파크리티닙 (SB1518), PF-04965842, 우파다시티닙 (ABT-494), 페피시티닙 (ASP015K, JNJ-54781532), 페드라티닙 (SAR302503), 쿠쿠르비타신 I, CHZ868, ABT-494, 디메틸 푸마레이트 (DMF, 텍피데라), GLPG0634 및 CEP-33779를 포함한다. 한 실시양태에서, JAK/STAT 억제제는 단백질 키나제 C (PKC)의 억제제인 스타우로스포린 (STS; 항생제 AM-2282)이다.

[0140] 한 실시양태에서, 대상체는 HDAC 억제제, JAK/STAT 억제제, IFN 억제제, IFN 항체, IFN- α 수용체 1 항체, IFN- α 수용체 2 항체 및 바이러스 펩티드, 및 그의 임의의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 하나의 IFN-I 억제제를 추가로 투여받는다. 또 다른 실시양태에서, 적어도 하나의 IFN-I 억제제는 무장된 SVV의 투여 이전에, 그와 동시에, 또는 후속적으로 투여된다. 일부 실시양태에서, 적어도 하나의 IFN-I 억제제는 무장된 SVV가 종양 세포에서 복제되면 항암 치료제 (예를 들어, 체크포인트 억제제)의 첨가 전에 후속적으로 제거된다.

[0141] 한 실시양태에서, 항암 치료제는 적어도 하나의 IFN-I 억제제의 투여 이전에, 그와 동시에, 또는 후속적으로 투여된다. 한 실시양태에서, 항암 치료제는 적어도 하나의 IFN-I 억제제의 투여에 후속적으로 투여된다. 또 다른 실시양태에서, 항암 치료제는 적어도 하나의 IFN-I 억제제 및 무장된 SVV의 투여에 후속적으로 투여된다.

[0142] 한 실시양태에서, 무장된 SVV를 사용한 치료는 IFN-I 억제제의 투여에 선행한다. 한 실시양태에서, 무장된 SVV 복제 및 암 세포 사멸이 확인되면, IFN-I 억제제의 투여는 종결된다. 예를 들어, 암 세포를 무장된 SVV 치료 24시간 전에 IFN-I 억제제 (예를 들어, (5-(테트라테실옥시)-2-푸로산), 아세틸-CoA 카르복실라제 억제제: TOFA)로 치료할 수 있고, 이어서 두 치료 모두 강건한 무장된 SVV 복제가 관찰되고 세포 사멸의 마커가 검출될 때까지 수주 동안 계속될 수 있다. 이어서, IFN-I 억제제를 사용한 치료를 종결할 수 있고, 항암 치료제를 개시할 수 있다. 무장된 SVV 복제 시, 면역 세포 (예를 들어, T-세포, NK, 세포, APC 등) 유입의 활성화를 촉발하여 암 세포의 억제, 감소 및/또는 제거/사멸을 진행할 수 있는 다양한 핵산 및 세포 파편이 생성된다. 이러한 면역 반응 과정은 IFN-I 억제의 종결에 의해 추가로 증진된다.

[0143] 제약 조성물

[0144] 특정 실시양태에서, 본 발명은 무장된 SVV를 포함하는 제약 조성물에 관한 것이며, 여기서 무장된 SVV는 암 치료제를 코딩한다. 특정 실시양태에서, 제약 조성물은 상기 개시된 1종 이상의 작용제로 보충될 수 있다.

[0145] 암의 치료를 필요로 하는 대상체에서 암을 치료하기 위한 제약 조성물이 본원에 제공된다. 제약 조성물은 무장된 SVV, 및 제약상 허용되는 담체를 포함하며; 여기서 무장된 SVV는 암을 치료하기 위한 작용제를 코딩한다.

[0146] 또한, 암의 치료를 필요로 하는 대상체에서 암을 치료하기 위한 제약 조성물이 본원에 제공된다. 제약 조성물은 무장된 SVV, 및 제약상 허용되는 담체를 포함하며; 여기서 무장된 SVV는 암을 치료하기 위한 작용제를 코딩한다.

[0147] 이러한 제약 조성물은 대상체에게 투여하기에 적합한 형태이거나, 또는 제약 조성물은 1종 이상의 제약상 허용되는 담체, 1종 이상의 추가의 성분, 또는 이들의 일부 조합을 추가로 포함할 수 있다. 제약 조성물의 다양한 성분은 관련 기술분야에 널리 공지된 바와 같이 생리학상 허용되는 염의 형태로, 예컨대 생리학상 허용되는 양이온 또는 음이온과 조합하여 존재할 수 있다.

[0148] 본원에 제공된 한 실시양태에서, 본 발명의 방법을 실시하는 데 유용한 제약 조성물은 1 ng/kg/일 내지 100 mg/kg/일의 용량을 전달하도록 투여될 수 있다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명을 실시하는 데 유용한 제약 조성물은 1 ng/kg/일 내지 500 mg/kg/일의 용량을 전달하도록 투여될 수 있다. 본 발명의 제약 조성물 내의 활성 성분, 제약상 허용되는 담체 및 임의의 추가의 성분의 상대량은 치료되는 대상체의 정제, 크기 및 상태에 따라, 및 추가로 조성물이 투여되는 경로에 따라 달라질 것이다. 예로서, 조성물은 0.1% 내지 100% (w/w) 활성 성분을 포함할 수 있다.

[0149] 본 발명의 방법에 유용한 제약 조성물은 흡입, 경구, 직장, 질, 비경구, 국소, 경피, 폐, 비강내, 협측, 안과적, 척수강내, 정맥내 또는 또 다른 투여 경로를 위해 적합하게 개발될 수 있다. 다른 고려되는 제제는 투여된 나노입자, 리포솜 제제, 활성 성분을 함유하는 제밀봉된 적혈구, 및 면역학적 기반 제제를 포함한다. 투여 경로(들)는 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 용이하게 명백하며, 치료될 질환의 유형 및 중증도, 치료될 수의학적 또는 인간 환자의 유형 및 연령 등을 포함한 임의의 수의 인자에 따라 달라진다.

[0150] 본원에 기재된 제약 조성물의 제제는 약리학 분야에서 공지되거나 이후에 개발된 임의의 방법에 의해 제조될 수

있다. 일반적으로, 이러한 제조 방법은 활성 성분을 담체 또는 1종 이상의 다른 보조 성분과 회합시키는 단계, 및 이어서, 필요하거나 바람직한 경우, 생성물을 목적하는 단일- 또는 다중-용량 단위로 성형 또는 포장하는 단계를 포함한다. 일부 실시양태에서, SVV는 네이키드 RNA로서 천연 캡시드, 변형된 캡시드 내에 제제화되거나, 또는 보호 코트 내에 캡슐화될 수 있다.

[0151] 활성 성분의 양은 일반적으로 대상체에게 투여될 활성 성분의 투여량 또는 이러한 투여량의 편리한 분획, 예컨대 예를 들어 이러한 투여량의 1/2 또는 1/3과 동일하다. 단위 투여 형태는 단일 1일 용량 또는 다중 1일 용량 (예를 들어, 1일에 약 1 내지 4회 이상) 중 하나에 대한 것일 수 있다. 다중 1일 용량이 사용되는 경우, 단위 투여 형태는 각각의 용량에 대해 동일하거나 상이할 수 있다.

[0152] 본원에 제공된 제약 조성물의 기재는 주로 인간에게 윤리적 투여하기에 적합한 제약 조성물에 관한 것이지만, 관련 기술분야의 통상의 기술자는 이러한 조성물이 일반적으로 모든 종류의 동물에게 투여하기에 적합하다는 것을 이해한다. 인간에게 투여하기에 적합한 제약 조성물을 변형시켜 조성물을 다양한 동물에게 투여하기에 적합하게 하는 것은 널리 이해되어 있고, 통상의 숙련된 수의약리학자는 존재하는 경우 단지 통상의 실험으로 이러한 변형을 설계하고 수행할 수 있다. 본 발명의 제약 조성물의 투여가 고려되는 대상체는 인간 및 다른 영장류, 상업적으로 관련된 포유동물, 예컨대 소, 돼지, 말, 양, 고양이 및 개를 비롯한 포유동물을 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 한 실시양태에서, 대상체는 인간 또는 비-인간 포유동물, 예컨대 비제한적으로 말, 양, 소, 돼지, 개, 고양이 및 무린이다. 한 실시양태에서, 대상체는 인간이다.

[0153] 한 실시양태에서, 조성물은 1종 이상의 제약상 허용되는 부형제 또는 담체를 사용하여 제제화된다. 한 측면에서, 대상체에서 암을 치료하기 위한 제약 조성물이 개시된다. 제약 조성물은 무장된 SVV 및 제약상 허용되는 담체를 포함한다. 유용한 제약상 허용되는 담체는 글리세롤, 물, 염수, 에탄올, 및 다른 제약상 허용되는 염용액, 예컨대 유기 산의 포스페이트 및 염을 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 담체는, 예를 들어 물, 에탄올, 폴리올 (예를 들어, 글리세롤, 프로필렌 글리콜, 및 액체 폴리에틸렌 글리콜 등), 그의 적합한 혼합물, 및 식물성 오일을 함유하는 용매 또는 분산 매질일 수 있다. 적절한 유동성은, 예를 들어 코팅, 예컨대 레시틴의 사용에 의해, 분산액의 경우에 요구되는 입자 크기의 유지에 의해 및 계면활성제의 사용에 의해 유지될 수 있다. 미생물 작용의 방지는 다양한 항박테리아제 및 항진균제, 예를 들어 파라벤, 클로로부탄올, 페놀, 아스코르브산, 티메로살 등에 의해 달성될 수 있다. 많은 경우에 등장화제, 예를 들어 당, 염화나트륨, 또는 폴리알콜, 예컨대 만니톨 및 소르비톨을 조성물에 포함시키는 것이 바람직하다. 주사가 가능한 조성물의 지속 흡수는 흡수를 지연시키는 작용제, 예를 들어 알루미늄 모노스테아레이트 또는 젤라틴을 조성물에 포함시킴으로써 달성될 수 있다.

[0154] 제제는 통상적인 부형제, 즉 경구, 비경구, 비강, 정맥내, 피하, 경장, 또는 관련 기술분야에 공지된 임의의 다른 적합한 투여 방식에 적합한 제약상 허용되는 유기 또는 무기 담체 물질과 혼합하여 사용될 수 있다. 제약 제제는 멸균될 수 있고, 원하는 경우에 보조제, 예를 들어 윤활제, 보존제, 안정화제, 습윤제, 유화제, 삼투압 완충제에 영향을 미치는 염, 착색제, 향미제 및/또는 방향족 물질 등과 혼합될 수 있다. 이들은 또한 원하는 경우에 다른 활성제, 예를 들어 다른 진통제와 조합할 수 있다.

[0155] 조성물은 조성물의 총 중량을 기준으로 약 0.005% 내지 2.0%의 보존제를 포함할 수 있다. 보존제는 환경 내 오염물에 노출되는 경우에 부패를 방지하는 데 사용된다. 본 발명에 따라 유용한 보존제의 예는 벤질 알콜, 소르브산, 파라벤, 이미드우레아 및 그의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 것들을 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 특히 바람직한 보존제는 약 0.5% 내지 2.0% 벤질 알콜 및 0.05% 내지 0.5% 소르브산의 조합물이다.

[0156] 조성물은 화합물의 분해를 억제하는 항산화제 및 킬레이트화제를 포함할 수 있다. 일부 화합물에 바람직한 항산화제는 조성물의 총 중량을 기준으로 약 0.01% 내지 0.3%의 바람직한 범위의 BHT, BHA, 알파-토코페롤 및 아스코르브산, 보다 바람직하게는 0.03% 내지 0.1%의 범위의 BHT이다. 바람직하게는, 킬레이트화제는 조성물의 총 중량을 기준으로 0.01% 내지 0.5%의 양으로 존재한다. 특히 바람직한 킬레이트화제는 에데테이트 염 (예를 들어, 에데트산이나트륨) 및 시트르산을 조성물의 총 중량을 기준으로 약 0.01% 내지 0.20%, 보다 바람직하게는 0.02% 내지 0.10%의 범위로 포함한다. 킬레이트화제는 제제의 보관 수명에 유해할 수 있는 조성물 중의 금속 이온을 킬레이트화하는 데 유용하다. BHT 및 에데트산이나트륨이 일부 화합물에 대해 각각 특히 바람직한 항산화제 및 킬레이트화제이지만, 다른 적합하고 동등한 항산화제 및 킬레이트화제가 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 공지된 바와 같이 그에 따라 치환될 수 있다.

[0157] 본원에 개시된 제약 조성물은 추가의 치료제, 예컨대 화학요법제, 항세포 증식제 또는 그의 임의의 조합을 포함하나 이에 제한되지는 않는 항종양제와 조합하여 사용될 수 있다. 예를 들어, 다음의 비제한적인 예시적인 부

류의 임의의 통상적인 화학요법제가 본 발명에 포함된다: 알킬화제; 니트로소우레아; 항대사물; 항종양 항생제; 식물 알킬로이드; 타산; 호르몬제; 및 기타 작용제. 또 다른 측면에서, 본원에 개시된 제약 조성물은 방사선 요법과 조합하여 사용될 수 있다.

[0158] 투여/투약

[0159] 무장된 SVV는 관련 기술분야에 공지된 적합한 투여 경로를 사용하여 투여될 수 있다. 특정 실시양태에서, 무장된 SVV는 암을 치료하는 데 유용한 추가의 화합물과 조합하여 사용된다. 다른 실시양태에서, 무장된 SVV는 (무장되지 않은) SVV와 함께 사용된다.

[0160] 본 발명의 특정 실시양태에서, 무장된 SVV 및 암을 치료하는 데 유용한 추가의 화합물은 동시에 투여된다. 다른 실시양태에서, 추가의 화합물은 무장된 SVV가 투여되기 전에 투여된다. 또 다른 실시양태에서, 추가의 억제제는 무장된 SVV 투여 후에 투여된다.

[0161] 투여 요법은 유효량을 구성하는 것에 영향을 미칠 수 있다. 예를 들어, 치료 제제는 암과 관련된 외과적 개입 전 또는 후에, 또는 환자가 암으로 진단된 직후에 환자 대상체에게 투여될 수 있다. 추가로, 여러 분할 투여량, 뿐만 아니라 교차 투여량이 매일 또는 순차적으로 투여될 수 있거나, 또는 용량이 연속적으로 주입될 수 있거나 또는 볼루스 주사될 수 있다. 추가로, 치료 제제의 투여량은 치료적 또는 예방적 상황의 위급성에 의해 지시되는 바와 같이 비례적으로 증가 또는 감소될 수 있다.

[0162] 일반적으로, SVV 또는 무장된 SVV는 10^7 내지 1×10^{11} vp/kg의 양으로 투여된다. 투여될 정확한 투여량은 환자의 연령, 체중 및 성별, 및 치료될 종양의 크기 및 중증도를 포함한 다양한 인자에 따라 달라진다.

[0163] SVV 또는 무장된 SVV는 전형적으로 치료 유효 용량으로 투여된다. 치료 유효 용량은 환자에서 증상의 개선 또는 생존의 연장을 일으키는 바이러스의 양을 지칭한다. 바이러스의 독성 및 치료 효능은 예를 들어 LD₅₀ (동물 또는 세포의 집단의 50%에서 치사적인 용량; 바이러스의 경우, 용량은 vp/kg의 단위임) 및 ED₅₀ (동물 또는 세포의 집단의 50%에서 치료상 유효한 용량, vp/kg), 또는 TC₁₀ (종양 세포의 50%의 억제를 허용하는 치료 농도 또는 용량이며, PFU와 관련될 수 있음) 또는 EC₅₀ (동물 또는 세포의 집단의 50%에서의 유효 농도, vp/세포)을 결정하기 위한 세포 배양물 또는 실험 동물에서의 표준 절차에 의해 결정될 수 있다. 독성 및 치료 효과 사이의 용량 비가 치료 지수이고, 이는 LD₅₀ 및 ED₅₀ 또는 EC₅₀ 사이의 비로 표현될 수 있다. 바이러스의 투여량은 바람직하게는 독성이 거의 없거나 전혀 없는 ED₅₀ 또는 EC₅₀을 포함하는 순환 농도의 범위 내에 있다. 투여량은 사용되는 투여 형태 및 이용되는 투여 경로에 따라 상기 범위 내에서 달라질 수 있다.

[0164] SVV 또는 무장된 SVV는 약 1×10^5 내지 1×10^{12} pfu, 1×10^6 내지 1×10^{10} pfu, 또는 1×10^7 내지 1×10^{10} pfu (각각 포함), 예컨대 적어도 또는 약 적어도 1×10^5 , 1×10^6 , 1×10^7 , 1×10^8 , 1×10^9 , 2×10^9 , 3×10^9 , 4×10^9 , 5×10^9 , 6×10^9 , 7×10^9 , 8×10^9 , 9×10^9 , 1×10^{10} , 1×10^{11} , 또는 1×10^{12} pfu를 포함하나 이에 제한되지는 않는 다중용량 및 단일 투여량의 양으로 조성물에 존재할 수 있다.

[0165] 조성물의 부피는 임의의 부피일 수 있고, 단일 또는 다중 투여량 투여를 위한 것일 수 있으며, 약 0.01 mL 내지 100 mL, 0.1 mL 내지 100 mL, 1 mL 내지 100 mL, 10 mL 내지 100 mL, 0.01 mL 내지 10 mL, 0.1 mL 내지 10 mL, 1 mL 내지 10 mL, 0.02 mL 내지 20 mL, 0.05 mL 내지 5 mL, 0.5 mL 내지 50 mL, 또는 0.5 mL 내지 5 mL (각각 포함)를 포함하나 이에 제한되지는 않는다.

[0166] SVV 및/또는 무장된 SVV의 감염성은, 예컨대 체액, 예컨대 혈액 또는 혈청에 노출된 경우에 종양용해 바이러스의 증가된 역가 또는 반감기에 의해 나타날 수 있다. 감염성은 적어도 1.1배, 1.2배, 1.3배, 1.4배, 1.5배, 1.6배, 1.7배, 1.8배, 1.9배, 2.0배, 2.5배, 3배, 4배, 5배, 6배, 7배, 8배, 9배 또는 10배를 포함하나 이에 제한되지는 않는 임의의 양만큼 증가될 수 있다.

[0167] 환자 대상체, 바람직하게는 포유동물, 보다 바람직하게는 인간에 대한 본 발명의 조성물의 투여는 대상체에서 암을 치료하는 데 효과적인 투여량으로 및 시간 기간 동안 공지된 절차를 사용하여 수행될 수 있다. 치료 효과를 달성하는 데 필요한 치료 화합물의 유효량은 인자, 예컨대 사용되는 특정한 화합물의 활성; 투여 시간; 화합물의 배출 속도; 치료 지속기간; 화합물과 조합하여 사용되는 다른 약물, 화합물 또는 물질; 질환 또는 장애의 상태, 치료될 환자의 연령, 성별, 체중, 상태, 전반적 건강 및 과거 병력, 및 의학 기술분야에 널리 공지된 기타 인자에 따라 달라질 수 있다. 투여 요법은 최적의 치료 반응을 제공하도록 조정될 수 있다. 예를 들어, 여

러 분할 용량이 매일 투여될 수 있거나, 또는 치료 상황의 위급성에 따라 지시되는 바와 같이 용량이 비례적으로 감소될 수 있다. 치료 화합물에 대한 유효 용량 범위의 비제한적 예는 약 0.01 내지 약 50 mg/kg 체중/일이다.

[0168] 무장된 SVV는 대상체에게 1일 수회만큼 빈번하게 투여될 수 있거나, 또는 보다 덜 빈번하게, 예컨대 1일 1회, 1주 1회, 2주마다 1회, 1개월 1회, 또는 훨씬 덜 빈번하게, 예컨대 수개월마다 1회 또는 심지어 1년 1회 또는 그 미만으로 투여될 수 있다. 1일에 투여되는 화합물의 양은 비제한적 예에서 매일, 격일로, 2일마다, 3일마다, 4일마다, 또는 5일마다 투여될 수 있는 것으로 이해된다. 예를 들어, 격일 투여의 경우, 5 mg/일 용량이 월요일에 개시되고, 제1 후속 5 mg/일 용량이 수요일에 투여되고, 제2 후속 5 mg/일 용량이 금요일에 투여되는 등일 수 있다. 용량의 빈도는 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 용이하게 명백하며, 임의의 수의 인자, 예컨대 비제한적으로 치료될 질환의 유형 및 중증도, 및 동물의 유형 및 연령에 따라 달라진다. 본 발명의 제약 조성물 중 활성 성분의 실제 투여량 수준은 환자에게 독성이 아니면서 특정한 환자, 조성물 및 투여 방식에 대해 목적하는 치료 반응을 달성하는 데 효과적인 활성 성분의 양이 되도록 달라질 수 있다. 관련 기술분야의 통상의 기술을 갖는 의사, 예를 들어 내과 의사 또는 수의사는 요구되는 제약 조성물의 유효량을 용이하게 결정하고 처방할 수 있다. 예를 들어, 내과 의사 또는 수의사는 제약 조성물에 사용되는 본 발명의 화합물의 용량을 목적하는 치료 효과를 달성하기 위해 요구되는 것보다 더 낮은 수준에서 시작하고, 목적하는 효과가 달성될 때까지 투여량을 점진적으로 증가시킬 수 있다.

[0169] 특정한 실시양태에서, 투여의 용이성 및 투여량의 균일성을 위해 화합물을 투여 단위 형태로 제제화하는 것이 특히 유리하다. 본원에 사용된 투여 단위 형태는 치료될 환자에 대한 단일 투여량으로서 적합한 물리적 이산 단위를 지칭하며; 각각의 단위는 요구되는 제약 비히클과 관련하여 목적하는 치료 효과를 생성하도록 계산된 치료 화합물의 미리 결정된 양을 함유한다. 본 발명의 투여 단위 형태는 (a) 치료 화합물의 독특한 특징 및 달성될 특정한 치료 효과, 및 (b) 환자에서 암을 치료하기 위한 이러한 치료 화합물의 배합/제제화 분야에 내재된 제한사항에 의해 지시되고, 이에 직접적으로 의존한다.

[0170] 투여 경로

[0171] 관련 기술분야의 통상의 기술자는 하나 초과로 경로가 투여에 사용될 수 있지만, 특정한 경로가 또 다른 경로보다 더 즉각적이고 더 효과적인 반응을 제공할 수 있음을 인식할 것이다. 한 실시양태에서, 무장된 SVV는 종양 내로 투여된다.

[0172] 개시된 조성물 (무장된 SVV를 함유함)의 투여 경로는 흡입, 경구, 비강, 직장, 비경구, 설하, 경피, 경점막 (예를 들어, 설하, 설측, (경)협측, (경)요도, 질 (예를 들어, 질경유 및 질주위), 비강(내) 및 (경)직장), 방광내, 폐내, 십이지장내, 위내, 척수강내, 피하, 근육내, 피내, 동맥내, 정맥내, 기관지내, 흡입 및 국소 투여를 포함한다. 적합한 조성물 및 투여 형태는, 예를 들어 정제, 캡슐, 캐플릿, 환제, 젤 캡, 트로키, 분산액, 현탁액, 용액, 시럽, 과립, 비드, 경피 패치, 젤, 분말, 펠릿, 마그마, 로젠지, 크림, 페이스트, 플라스틱, 로션, 디스크, 좌제, 비강 또는 경구 투여용 액체 스프레이, 흡입용 건조 분말 또는 에어로졸화 제제, 방광내 투여용 조성물 및 제제 등을 포함한다. 본 발명에 유용할 제제 및 조성물은 본원에 기재된 특정한 제제 및 조성물로 제한되지 않는 것으로 이해되어야 한다. 한 실시양태에서, 무장된 SVV 치료는 흡입, 경구, 직장, 질, 비경구, 국소, 경피, 폐, 비강내, 협측, 안과적, 간내 동맥, 흉막내, 척수강내, 종양내, 정맥내, 및 그의 임의의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 투여 경로를 포함한다.

[0173] 키트

[0174] 본 발명은 또한 무장된 SVV를 함유하는 키트를 포함하고, 여기서 키트는 암 치료에 사용된다.

[0175] 추가 실시양태에서, 본원 다른 곳에 기재된 바와 같은 암을 치료 또는 호전시키기 위한 키트가 제공되며, 여기서 키트는 a) 무장된 SVV, 또는 무장된 SVV를 포함하는 조성물; 및 임의로 b) 본원에 기재된 바와 같은 추가의 작용제 또는 요법을 포함한다. 키트는 암을 치료 또는 호전시키기 위한 키트의 사용에 대한 지침서 또는 라벨을 추가로 포함할 수 있다. 키트는 또한 암이 실제로 체크포인트 억제제에 불응성인지 확인하기 위한 검정을 포함할 수 있다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 본원에 기재된 바와 같이 주어진 암 (예컨대, 비제한적으로 소세포 폐암 또는 삼중 음성 유방암)에 대한 키트 검정으로 확장된다. 이러한 키트는, 예를 들어 PCR 또는 다른 핵산 혼성화 기술 (마이크로어레이)로부터의 시약 또는 면역학적 기반 검출 기술 (예를 들어, ELISpot, ELISA)을 위한 시약을 함유할 수 있다.

[0176] 실시예

- [0177] 본 발명은 이제 하기 실시예를 참조하여 기재된다. 이들 실시예는 단지 예시의 목적으로 제공되며, 본 발명은 어떠한 방식으로든 이들 실시예로 제한되는 것으로 해석되어서는 안되며, 오히려 본원에 제공된 교시의 결과로서 명백해지는 임의의 및 모든 변형을 포괄하는 것으로 해석되어야 한다.
- [0178] 추가의 설명 없이, 관련 기술분야의 통상의 기술자는 상기 기재 및 하기 예시적인 실시예를 이용하여 본 발명의 화합물을 제조 및 이용하고 청구된 방법을 실시할 수 있는 것으로 여겨진다. 따라서, 하기 실시예는 본 발명의 바람직한 실시양태를 구체적으로 나타내고, 어떠한 방식으로든 본 개시내용의 나머지를 제한하는 것으로 해석되어서는 안된다.
- [0179] 실시예 1: 무장된 세네카 벨리 바이러스의 구축
- [0180] 문헌 [Hales et al., 2008]은 SVV-001의 게놈 서열을 기재하였다. SVV-001의 RNA 게놈은 39 폴리(A) 테일을 제외한 7280 nt로 이루어지고, 666 nt 5' UTR 및 더 짧은 3' UTR (71 nt)을 갖는다. 오픈 리딩 프레임 (ORF)의 추정 아미노산 서열은 2181 aa의 폴리단백질 전구체를 코딩하는 잠재력을 갖는 6543 bp의 큰 단일 ORF를 밝혀냈다.
- [0181] 문헌 [Poirer et al., 2012]은 GFP를 코딩하는 SVV 플라스미드인 pNTX-11의 구축을 기재하며, 여기서 GFP cDNA는 하기 나타낸 바와 같이 SVV 2A 및 2B 코딩 서열들의 사이에 삽입된다. 포이어(Poirer) 등에 의해 사용된 방법은 실시예 2에 나타낸다.
- [0182] 치료 cDNA를 SVV-001 클론 pNTX-11 결실된 GFP 내로 삽입하는데, 여기서 GFP cDNA를 절제하고, nt. 3508에서 치료 유전자로 대체하였다. 따라서, 모든 치료 유전자 삽입은 나타낸 바와 같이 pNTX-11 결실된 GFP의 뉴클레오타이드 3508에서 발생한다. 클로닝을 용이하게 하기 위해, Nhe I (nt 3199)에서 Hind III (nt 4484)까지 SVV 서열을 혼입시킨 신규 트랜스진을 합성하고, 이는 pNTX-11 결실된 GFP 백본 내로의 용이한 클로닝을 가능하게 한다. SVV 게놈은 pNTX-11 결실된 GFP 플라스미드의 nt. 1에서 시작하고, SVV ORF는 7281에서 끝난다. pGEM 4Z 플라스미드 서열은 SVV 3' UTR 및 (A)_n 서열 다음에 nt. 7383-9885로부터 발견된다.
- [0183] 상기 절차를 사용하여 무장된 SVV를 생성할 때, 암을 치료하는 데 유용한 작용제를 코딩하는 핵산 서열을 GFP의 핵산 서열 대신에 사용한다. 구체적으로, 치료 cDNA를 SVV-001 클론 pNTX-11 GFP 내로 삽입하는데, 여기서 GFP cDNA를 절제하고, nt. 3508에서 치료 유전자로 대체한다. SVV-치료 폴리단백질의 번역 동안, 리보솜은 초기에 SVV 2A 단백질의 "TNPG↓P" 모티프에서 "스킵핑"되고, 이어서 다시 한번 T2A 단백질 내의 또 다른 "TNPG↓P" 모티프에서 "스킵핑"될 것이다. 2번의 리보솜 스킵핑 사건은 하나의 여분의 N-말단 프롤린 및 C-말단 T2A 절단 생성물에 의해 플랭킹된 치료 페이로드 단백질의 방출을 유발한다.
- [0184] 본 실시예에 기재된 모든 무장된 SVV 바이러스에 대한 모 플라스미드는 pNTX-11 결실된 GFP인데, 이는 GFP를 코딩하는 10,596 bp 플라스미드인 pNTX-11로부터 유래되고 GFP cDNA가 nt. 3508-4218로부터 결실된 9,885 bp 플라스미드이다. pNTX-11 내 SVV 게놈은 pGEM-4Z 플라스미드 백본 (프로메가)에 함유된다. 다른 모 플라스미드가 또한 사용될 수 있다.
- [0185] 무장된 SVV 및 치료 단백질을 보유하는 플라스미드를 구축하였다 (서열식별번호: 15-18 참조). 이들 플라스미드는 다음과 같다: pNTX-11 CXCL9 (서열식별번호: 15); pNTX-11 + TGFβDNRII (서열식별번호: 16); pNTX-11 nfsa mut 22 (서열식별번호: 17); 및 pNTX-11 네오류킨 2-15 (서열식별번호: 18). 또한, 닭 오브알부민 및 Sars-Cov-2 (Covid 바이러스) 둘 다에 대한 에피토프를 보유하는 플라스미드를 설계하였다 (pNTX-11 ova+covid 에피토프 (서열식별번호: 19)).
- [0186] 표 1은 플라스미드 내의 무장된 SVV 및 단백질의 위치를 나타낸다. 이들 플라스미드 각각의 상세한 설명은 하기와 같다.

표 1: 플라스미드 상의 SVV 구축물의 위치			
서열식별번호:	설명	SVV 구축물의 위치	단백질의 위치
13	pNTX-11 VHH aPDL-1	1-7762	3508-3885
14	pNTX-11 IL2 quad 돌연변이체	1-7783	3505-3906
15	pNTX-11 CXCL9	1-7759	3508-3882
16	pNTX-11 + TGFbDNR11	1-7984	3508-4107
17	pNTX-11 nfsa mut 22	1-8140	3508-4263
18	pNTX-11 네오류킨 2-15	1-7738	3508-3861
19	pNTX-11 ova+covid 에피토프	1-7891	3508-4014 (ova+covid 에피토프)

[0187]

[0188]

항 PDL-1을 코딩하는 무장된 SVV의 구축

[0189]

항-PDL-1을 코딩하는 무장된 SVV를 구축하기 위해, 항-PDL-1을 코딩하는 VHH 나노바디의 뉴클레오티드 서열 (서열식별번호: 1)을 본원에 기재된 절차를 사용하여 pNTX-11 결실된 GFP 내로 삽입하였다. 생성된 플라스미드 pNTX-11 VHH aPDL-1의 플라스미드 지도를 도 1에 나타낸다. 상기 플라스미드 (pNTX-11 VHH aPDL-1)를 생성하는 개략도를 도 2에 나타낸다. 생성된 변형된 SVV는 항-PDL1 단백질 (서열식별번호: 2)을 발현한다.

[0190]

서열식별번호: 1 VHH 항-PD-L1 서열의 뉴클레오티드 서열 (378 pb)

CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCTGGAGGAGGCTCGGTGCAGACCGAGGGTCTCTGAGACTCTCCTGTACAGCCTCT
ACATCAATATACAGTAACAACACTACATGGCTGGTTCAGCCAGTCTCCAGGAAAGGGGCGCGAGGGGGTCGCGAGCT
GTTTATATGGATGATGGTTCGCCATCTATGCGGATTCCTGAGGGCCGATTCACCATCTCCCTAGACAGCGCC
AAGAACACGATGTATTTGCAAATGAACAGCCTGAAACCTGAGGACACTGCCATGTACTACTGTGCGGCAGCTCCA
GGCCCTTAAGTCGTAACACTACTGGTACACGTCCGCCAACTATGACTACTGGGGCCAGGGGACCCAGGTCACCGTC
TCCTCA

[0191]

[0192]

서열식별번호: 2 VHH 항-PD-L1 서열의 아미노산 서열.

QVQLQESGGGSVQVGGSLRLSCTASTSIYSNNYMAWFSQSPGKRGREGVAAYVMDGREFYYADSVKGRFTISLDSA
KNTMYLQMNLSLKPEDTAMYCAAAPGPLSRNYWYTSANYDYWGQGTQVTVSS

[0193]

[0194]

무장된 SVV 구축물을 보유하는 생성된 플라스미드 (서열식별번호: 13)와 관련하여, SVV-항-PD-L1 바이러스는 1-7762이다. 항-PD-L1 cDNA는 nt. 3508 - 3885로부터의 것이다. SVV 무장된 바이러스를 생성하는 데 사용된 서열은 WO 2017/157334 A의 서열식별번호: 1로부터 유래되었다.

[0195]

IL-2 사중 돌연변이체를 코딩하는 무장된 SVV의 구축

[0196]

사중 돌연변이체 IL-2는 CD25 (알파 수용체)에 결합하지 않고, IL-2 수용체의 CD122 및 CD132 (베타 및 감마쇄)에만 결합한다. CD25 결합 도메인을 제거하는 것은 T-억제인자 생성 및 혈관 누출 증후군에 의해 매개되는 IL-2 독성에 대한 잠재력을 감소시킨다.

[0197]

IL-2 사중 돌연변이체를 코딩하는 무장된 SVV를 구축하기 위해, IL-2 quad 돌연변이체 (T3A / F42A / Y45A / L72G)의 뉴클레오티드 서열 (서열식별번호: 3)을 본원에 기재된 절차를 사용하여 pNTX-11 결실된 GFP 내로 삽입하였다. 생성된 플라스미드 pNTX-11 IL2 quad 돌연변이체의 플라스미드 지도를 도 3에 나타낸다. 상기 플라스미드 (pNTX-11 IL2 quad 돌연변이체)를 생성하는 개략도를 도 4에 나타낸다. 생성된 변형된 SVV는 IL-2 사중 돌연변이체 단백질 (서열식별번호: 4)을 발현한다.

[0198] 서열식별번호: 3 IL-2 사중 돌연변이체의 DNA 서열

```
gctcctgcct cctccagcac caagaaaacc cagctccagc tggaacatct cctgctggat 60
ctgcagatga tcctgaacgg catcaacaac tacaagaacc ccaagctgac ccggatgctg 120
accgccaaagt tcgccatgcc caagaaggcc accgagctga aacatctgca gtgcctggaa 180
gaggaactga agcctctgga agaggtgctg aacggcgccc agtccaagaa cttccacctg 240
aggcctcggg acctgatctc caacatcaac gtgatcgtgc tggaactgaa gggctccgag 300
acaaccttca tgtgcgagta cgccgacgag acagctacca tcgtggaatt tctgaaccgg 360
tggatcacct tcgccagtc catcatctcc accctgacc 399
```

[0199]

[0200] 서열식별번호: 4 IL-2 사중 돌연변이체 T3A / F42A / Y45A / L72G (C125A) 아미노산 서열 (133개 아미노산)

```
Ala Pro Ala Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu
Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn Pro
Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe Ala Met Pro Lys Lys Ala Thr
Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu
Val Leu Asn Gly Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp Leu
Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu Thr Thr
Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn
Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr
```

[0201]

[0202] 무장된 SVV 구축물을 보유하는 생성된 플라스미드 (서열식별번호: 14)와 관련하여, SVV IL-2 quad 뮤테인 바이러스 서열은 1-7783이다. IL-2 quad 뮤테인 cDNA 서열은 SVV 바이러스에서 3508-3906이다. 무장된 SVV를 생성하기 위해 사용된 IL-2 quad 뮤테인은 문헌 [Ast et al., 2010], EP3075745B1, 및 US9266938B2로부터 유래되었다.

[0203] CXCL9 (417 bp)를 코딩하는 무장된 SVV의 구축

[0204] CXCL9는 T 세포 트래픽킹에 관여하는 것으로 생각되는 케모카인이다. 코딩된 단백질은 C-X-C 모티프 케모카인 3에 결합하고, 림프구에 대해서는 화학유인물질이지만 호중구에 대해서는 그렇지 않다. CXCL9는 MIG-1 (인터페론-감마에 의해 유도된 모노카인)로도 공지되어 있다. CXCL9는 125개의 아미노산을 갖고, 분자량이 14,019 Da이다.

[0205] CXCL9를 코딩하는 무장된 SVV를 구축하기 위해, CXCL9의 뉴클레오타이드 서열 (서열식별번호: 5)을 본원에 기재된 절차를 사용하여 pNTX-11 결실된 GFP 내로 삽입하였다. GFP 유전자를 pNTX-11로부터 절제하고, CXCL9 cDNA를 SVV-001 클론 내로 nt. 3508에서 삽입하였다. SVV-CXCL9 폴리단백질의 번역 동안, 리보솜은 초기에 SVV 2A 단백질의 "TNPG↓P" 모티프에서 스킵되었고, 이어서 다시 한번 T2A 단백질 내의 또 다른 "TNPG↓P" 모티프에서 스킵되었다. 2번의 리보솜 스킵 사건은 하나의 여분의 N-말단 프롤린 및 C-말단 T2A 절단 생성물에 의해 플랭킹된 CXCL9 단백질의 방출을 유발한다.

[0206] 생성된 플라스미드 pNTX-11 CXCL9의 플라스미드 지도를 도 5에 나타낸다. 상기 플라스미드 (pNTX-11 IL2 quad 돌연변이체)를 생성하는 개략도를 도 6에 나타낸다. 생성된 변형된 SVV는 CXCL9 단백질 (서열식별번호: 6)을 발현한다.

[0207] 서열식별번호: 5 CXCL9 뉴클레오타이드 서열 (길이: 378 bp)

```
ATGAAGAAAA GTGGTGTCT TTTCTCTTG GGCATCATCT TGCTGGTTCT GATTGGAGTG
61 CAAGGAACCC CAGTAGTGAG AAAGGGTCGC TGTTCTTGCA TCAGCACCAA CCAAGGGACT
121 ATCCACCTAC AATCCTTGAA AGACCTTAAA CAATTTGCCC CAAGCCCTTC CTGCGAGAAA
181 ATTGAAATCA TTGCTACACT GAAGAATGGA GTTCAAACAT GTCTAAACCC AGATTGAGCA
241 GATGTGAAGG AACTGATTAA AAAGTGGGAG AAACAGGTCA GCCAAAAGAA AAAGCAAAAG
301 AATGGGAAAA AACATCAAAA AAAGAAAGTT CTGAAAGTTC GAAAATCTCA ACGTTCTCGT
361 CAAAAGAAGA CTACATAA
```

[0208]

[0209] 서열식별번호: 6 CXCL9 단백질 서열

```
MKKSGLVFLGLIILLVLIGVQGTVPVVRKGRCSISTNQGTHLQSLKDLKQFAPSPSPCEKIEIIATLKNG
VQTCLNPDSDAVKELIKKWEKQVSQKKKQKNGKKHKQKKVLRKRSQRSRQKKTT
```

[0210]

[0211] 무장된 SVV 구축물을 보유하는 생성된 플라스미드 (서열식별번호: 15)와 관련하여, SVV CXCL9 바이러스 서열은 1-7759이다. CXCL9 cDNA 서열은 SVV 바이러스에서 3508-3882이다.

[0212] TGF-베타 디코이를 코딩하는 무장된 SVV의 구축

[0213] 이러한 무장된 SVV의 구축을 위해, 인간 TGFβRI ECD1-128 (384 bp) 및 TGFβRII ECD1-184 (486 bp)의 세포외 도메인을 코딩하는 핵산을 사용하였다. TGF-β 디코이 수용체는 TGF-β (예를 들어, TGF-β1, TGF-β2 및/또는

TGF-β3)에 결합하고, 막형단 도메인을 코딩하는 아미노산 서열이 결합된 TGF-베타 수용체로부터 유래된다. TGF-b 디코이의 발현은 중앙 미세환경에서 면역억제 환경을 감소시키고, T 세포 반응을 증대시킬 것이다.

[0214] TGF-베타 디코이를 코딩하는 무장된 SVV를 구축하기 위해, TGF-베타 디코이의 뉴클레오타이드 서열 (서열식별번호: 7)을 본원에 기재된 절차를 사용하여 pNTX-11 결실된 GFP 내로 삽입하였다. 생성된 플라스미드 pNTX-11 + TGFbDNRII의 플라스미드 지도를 도 7에 나타낸다. 상기 플라스미드 (pNTX-11 + TGFbDNRII)를 생성하는 개략도를 도 8에 나타낸다. 생성된 변형된 SVV는 TGF-베타 디코이 단백질 (서열식별번호: 8)을 발현한다. 이 구축물은 단백질의 COOH-테일에 첨부된 myc 태그를 갖는다. 서열을 애드진-플라스미드-130888로부터 수득하였다. myc 태그는 제거될 수 있다.

[0215] 서열식별번호: 7: TGF-베타 디코이 뉴클레오타이드 서열

```
ATGGGTCGGGGGCTGCTCAGGGGCTGTGGCCGCTGCACATCGTCCTGTGGACGCGTATCGCCAGCACG
ATCCCACCGCACGTTTCAAGTTCGGTTAATAACGACATGATAGTCACTGACAACAACGGTGCAGTCAAG
TTTCCACAACCTGTGTAAATTTTGTGATGTGAGATTTTCCACCTGTGACAACCAGAAATCCTGCATGAGC
AACTGCAGCATCACCTCCATCTGTGAGAAGCCACAGGAAGTCTGTGTGGCTGTATGGAGAAAGAATGAC
GAGAACATAAACAAGTAGAGACAGTTTGGCATGACCCCAAGCTCCCTACCATGACTTTATTCTGGAAGAT
GCTGCTTCTCCAAAGTGCAATTAAGAAGAAAAAAGCCTGGTGAGACTTTCTTCATGTGTTCTCTGT
AGCTCTGATGAGTGAATGACAACATCATCTTCTCAGAAGAATATAACACCAGCAATCCTGACTTGTTG
CTAGTCATATTTCAAGTGACAGGCATCAGCCTCCTGCCACCACTGGGAGTTGCCATATCTGTATCATC
ATCTTCTACTGCTACCGCGTTTACCCATACGATGTTCCAGATTACGCT
```

[0216]

[0217] 서열식별번호: 8: TGF-베타 디코이 단백질 서열

```
MGRGLRLGLWPLHIVLWTRIASTIPPHVQKSVNNDMIVTDNNGAVKFPQLCKFCDFVRFSTCDNQKSCMSNCSITS
ICEKPEQEVCAVVRKNDENITLETVCHDPKLPYHDFILEDAAAPKCIKMEKKKPGETFFMCSGSSDECNDNIIFS
EEYNTSNPDLLLVIFQVTGISLLPLGLVAISVIIIFYCYRVYPYDVPDYA
```

[0218]

[0219] 무장된 SVV 구축물을 보유하는 생성된 플라스미드 (서열식별번호: 16)와 관련하여, SVV TGF-베타 디코이 바이러스 서열은 1-7984이다. TGF-베타 디코이 cDNA 서열은 SVV 바이러스에서 3508 내지 4107이다.

[0220] NfsA를 발현하는 무장된 SVV의 구축

[0221] 유전자-지정 효소 전구약물 요법 (GDEPT)은 비-독성 전구약물을 세포독성 생성물로 전환시킬 수 있는 효소를 코딩하는 외인성 유전자의 종양 세포로의 전달을 수반하는, 암 치료를 위한 개발 전략이다. 원칙적으로, 암 세포 내부의 고도로 반응성인 세포독소의 국소 생성은 최적의 치료 효과를 허용하는 한편, 전신 독성은 통상적인 화학요법에 의한 것보다 더 낮게 유지된다. 에스케리키아 콜라이로부터의 니트로리덕타제 NfsB는 전구약물 CB1954를 강력한 이관능성 알킬화제로 활성화시킬 수 있다. NfsA는 CB1954의 2-NO₂ 기를 우선적으로 환원시켜, Nfsb와 비교하여 방관자 세포 사멸을 개선시킨다. 전반적으로, 결과는 NfsA가 CB1954 또는 여러 다른 니트로방향족 전구약물을 사용하는 GDEPT에 사용하기에 NfsB에 비해 이점을 가질 수 있음을 시사한다.

[0222] NfsA를 코딩하는 무장된 SVV를 구축하기 위해, NfsA의 뉴클레오타이드 서열 (서열식별번호: 9)을 본원에 기재된 절차를 사용하여 pNTX-11 결실된 GFP 내로 삽입하였다. 생성된 플라스미드 pNTX-11 nfsa mut 22의 플라스미드 지도를 도 9에 나타낸다. 상기 플라스미드 (pNTX-11 nfsa mut 22)를 생성하는 개략도를 도 10에서 나타낸다. 생성된 변형된 SVV는 Nfsa 단백질 (서열식별번호: 10)을 발현한다.

[0223] 서열식별번호: 9 NfsA의 뉴클레오타이드 서열

```
AGCGCGATGCCGCTGGAAGCGAAGCAAGGAACTGCGAAATGACCCCGACCATTTGAAGTATTTGCGGCCATCGC
AGCATTCGCCATTTTACCGATGAACCGATTAGCGAAGCGCAGCGCGAAGCGATTATTAACAGCGCGCGCGGACG
AGCAGCAGCTATTTCTGCGAGTGCGAGCATTTATTCGATTACCGATAAAGCGCTGCGCGAAGAAGTGGTGACC
CTGACCGCGCGGCCAGAAACATGTGGCGCAGGCGGCGGAATTTTGGGTGTTTTGCGCGGATTTTAACCGCCATCTG
CAGATTTGCCCGGATGCGCAGCTGGCCCTGGCGGAACAGCTGCTGATGGGCTGGGATACCGCGATGATGGCGCAG
AACGCGCTGATTGCGGCGGAAAGCCTGGGCTGGGCGGCGTGATATTGGCGGCTGCGCAACAACATTGAAGCG
GTGACCAAACCTGCTGAAACTGCCGCGAGCATGTGCTGCCGCTGTTTGGCCTGTGCCTGGGCTGGCCGCGCGATAAC
CCGATCTGAAACCGCGCCTGCCGCGAGCATTTCTGGTGATGAAACAGCTATCAGCCGCTGGATAAAGGCGCG
CTGGCGCAGTATGATGAACAGCTGGCGGAATATTATCTGACCCGCGCGCAGCAACAACCGCCGCGATACCTGGAGC
GATCATATTCGCCGCGACCATTTATTAAGAAAGCCGCCGCGAGCATTTCTGGATTATCTGCATAAACAGGGCTGGGCG
ACCCGC
```

[0224]

- [0225] 서열식별번호: 10 NfsA의 아미노산 서열
- MTPTIELICGHR SIRHFTDEPISEAQREAIINSARATSSSYFLQCSSIIRITDKALREELV
TLTGGQKHVAQAAEFVFCADFNRLHLCIPDAQLGLAEQLLMGWDTAMMAQNAL
IAAESLGLGGVYIGGLRNIEAVTKLLKLPQHVLPLFGLCLGWFPADNPDLKPRLPAST
LVHENSYPQLDKGALAQYDEQLAEYYLTRGSNNRRDTSWDHIRRTI IKESRPSILDY
LHKQGWATR
- [0226]
- [0227] 생성된 플라스미드 (서열식별번호: 17)와 관련하여, SVV Nfsa 바이러스 서열은 1-8140이다. Nfsa cDNA 서열은 SVV 바이러스에서 3508-4263이다.
- [0228] 이러한 무장된 SVV를 구축하는 데 사용된 NsFA 서열은 W02012008860으로부터의 서열식별번호: 32로부터 유래되었다. 또한, 문헌 [Vass, S., Jarrom, D., Wilson, W. et al. E. coli NfsA: an alternative nitroreductase for prodrug activation gene therapy in combination with CB1954. Br J Cancer 100, 1903-1911 (2009)]을 참조한다. <https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6605094>
- [0229] 네오류킨 2-15를 발현하는 무장된 SVV의 구축
- [0230] 네오류킨 2-15는 IL-2R α (CD25로도 불림) 또는 IL-15R α (CD215로도 공지됨)에 대한 결합 부위가 결여된 개선된 IL-2 돌연변이체이다. 분자는 과안정하고, 천연 시토키인보다 더 높은 친화도로 인간 및 마우스 IL-2R β γ c에 결합하고, 더 강력하다.
- [0231] 네오류킨 2-15를 코딩하는 무장된 SVV를 구축하기 위해, 네오류킨 2-15의 뉴클레오타이드 서열 (서열식별번호: 11)을 본원에 기재된 절차를 사용하여 pNTX-11 결실된 GFP 내로 삽입하였다. 생성된 플라스미드 pNTX-11 sig seq 네오류킨의 플라스미드 지도를 도 11에 나타낸다. 상기 플라스미드 (pNTX-11 sig seq 네오류킨)를 생성하는 개략도를 도 12에 나타낸다. 생성된 변형된 SVV는 네오류킨 2-15 (서열식별번호: 12)를 발현한다.
- [0232] 서열식별번호: 11 네오류킨 2-15의 DNA 서열
- ATGAAGTGGGTGACCTTCATCAGCCTGCTGTTCTCTGTTCTCAGCAGCGCTACAGCCCCAAGAAGAAGATCCAGCTG
CACGCCGAGCAGCCCTGTACGACGCCCTGATGATCCTGAACATCGTGAAGACCAACAGCCCCCGCCGAGGAG
AAGCTGGAGGACTACGCCCTCAACTTCGAGCTGATCCTGGAGGAGATCGCCAGACTGTTTCGAGAGCGGCGACAG
AAGGACGAGGCCGAGAAGGCCAAGAGAATGAAGGAGTGGATGAAGAGAATCAAGACCACCGCCAGCGAGGACGAG
CAGGAGGAGATGGCCAACGCCATCATCACCATCCTGCAGAGTGGATCTTCAGC
- [0233]
- [0234] 서열식별번호: 12 네오류킨 2-15의 아미노산 서열
- MKWVTFISLLFLFSSAYSPPKKIKLHAEHALYDALMLINIVKTNSPPAEEKLEDYAFNFEILILEEIIARLFESGDQ
KDEAEKAKRMKEWMKRIKTTASEDEQEEMANAIITILQSWIFS
- [0235]
- [0236] 생성된 플라스미드 (서열식별번호: 18)와 관련하여, SVV 네오류킨 2-15 바이러스 서열은 1 - 7738이다. 네오류킨 2-15 cDNA 서열은 SVV 바이러스에서 3508-3861이다.
- [0237] 이러한 구축물을 생성하는 데 사용된 서열은 문헌 [Silva DA, Yu S, Ulge UY, et al. De novo design of potent and selective mimics of IL-2 and IL-15. Nature. 2019;565(7738):186-191]으로부터 유래되었다.
- [0238] SVV 면역원성 구축물의 구축
- [0239] SIINFEEKYL 및 면역원성 COVID 펩티드: gly-pro-lys-lys-ser-thr-asn-leu를 비롯한, 닭 오브알부민으로부터의 다중 면역원성 에피토프를 코딩하는 신규 무장된 바이러스를 설계하였다. SARS-CoV-2 스파이크 (S) 단백질로부터의 면역원성 Covid 뮤린 H2-D^d-제한된 CD8⁺ CTL 에피토프 GPKKSTNL (aa 526-533)은 문헌 [Muraoka et al., 2020]에 기재되어 있다.
- [0240] 상기 SVV 구축물 (NTX-11 ova+covid 에피토프)을 보유하는 플라스미드의 지도를 도 13에 나타낸다. 도 14는 상기 플라스미드를 생성하는 개략도를 나타낸다. 생성된 플라스미드 (서열식별번호: 19)와 관련하여, SVV ova+covid 에피토프 바이러스 서열은 1-7891이다. ova+covid 에피토프 cDNA 서열은 SVV 바이러스에서 3508-4014이다.
- [0241] 실시예 2: 전장 SVV cDNA의 클로닝, SVV-GFP의 삽입 및 구축
- [0242] 박테리아 플라스미드 내로의 전장 SVV-001 게놈의 합성 및 클로닝은 이전에 기재되었다 (문헌 [Poirier et al., 2012. Generation of a GFP-expressing derivative of SVV-001] <http://vir.sgmjournals.org> 2611 (그의 개시

내용은 본원에 포함됨)).

[0243] 간략하게, 전장 SVV001 게놈을 나타내는 3개의 cDNA 단편을 6 세트의 SVV001-특이적 프라이머를 사용하는 3개의 PCR 반응에 의해 증폭시켰다 (표 2 참조).

표 2: SVV-001 감염성 cDNA 클론의 구축에 사용된 올리고뉴클레오타이드 프라이머.		
프라이머 ID	프라이머 서열 (5' → 3')	서열식별번호
5'SVV-001-	TTTGAAATGGGGGGCTGGGC	20
SVV-0011029RT-RI	GAGGAGACCCGCTAATCCG	21
Nde-ApaT7SVV-001	TATGGGTACCTGTAATACGACTCACTATAGG GCTTTGAAATGGGGGGCTGGGCC	22
SVV-0016056	CCGTCAAAGAAGCAATTCTGGGCA	23
SVV-0017309NsiB	GCATGCATTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTT TTTTTCCCTTTTCTGTTCCGACTGAGTT	24
SVV-001911L	GGTAACATGACCTTCAATTACTACGCAAAC	25
SVV-0016157R	GATCAGTACGTCGAAGCCGTTG	26
SVV-0013SwaRev	GCTTGCATGCATTTAAATTTTTTTTTTTTTT TTTTTTTTTTTTTTTTTCCCTTTTCTGTTCC GACTGAGTTCTCCC	27
Kpn-Mun-ApaT7SVV-001	CAATTGTGTAATACGACTCACTATAGTTTGA AATGGGGGGCTGGGCC	28

[0244]

[0245] 터보 Pfu 폴리머라제 (스트라타진)를 PCR에 사용하였다. 먼저, SVV-001 게놈의 5' 말단을 나타내는 단편을 프라이머 59SVV-001-A 및 SVV0011029RT-RI로 증폭시키고, 생성된 단편을 ApaI 및 EcoRI로 절단하고, 겔 정제하였다. 겔-정제된 단편을 5' 말단에 조작된 NdeI 부위, 중간에 T7 코어 프로모터 서열 및 39 말단에 ApaI 부위를 갖는 SVV-001의 처음 17 nt를 함유하는 어닐링된 올리고뉴클레오타이드 듀플렉스인 NdeApa T7SVV-001에 라이게이션하고, 3원 라이게이션에 의해 pGEM-3Z (프로메가)의 NdeI 및 EcoRI 부위 내로 클로닝하여 pNTX-03을 생성하였다.

[0246] 다음으로, 바이러스 게놈의 3' 말단을 나타내는 단편을 프라이머 SVV-0016056 및 SVV-0017309NsiB로 PCR에 의해 증폭시켰다. 역방향 프라이머, SVV0017309NsiB를 사용하여 30 nt 길이의 폴리(A) 테일 및 3' 말단의 NsiI 인식 서열을 도입하여 pGEM-3Z 플라스미드의 PstI 부위 내로 클로닝하였다. 생성된 PCR 생성물을 BamHI로 소화시키고, 겔 정제하였다.

[0247] 바이러스 게놈의 내부 부분을 커버하는 단편을 프라이머 SVV-001911L 및 SVV0016157R로 증폭시켰다. 생성된 PCR 생성물을 EcoRI 및 BamHI로 소화시키고, 겔 정제하였다. SVV 게놈의 중간 및 3' 말단을 나타내는 2개의 겔-정제된 단편을 3원 라이게이션에 의해 pGEM-4Z의 EcoRI 및 SmaI 부위 내로 클로닝하여 pNTX-02를 생성하였다.

[0248] 전장 SVV-001 cDNA를 생성하기 위해, pNTX-02를 EcoRI 및 NsiI로 소화시키고, 생성된 7.3 kb 단편을 겔 정제하고, pNTX-03의 EcoRI 및 PstI 부위 내로 클로닝하였다. 생성된 전장 플라스미드를 pNTX-04로 칭하였다. pNTX-04를 5' 및 3' 말단 둘 다에서 추가로 변형시켜 PER.C6 세포 내로의 RNA 형질감염 후 바이러스의 시험관내 전사 및 구출을 용이하게 하였다.

[0249] 먼저, SwaI 제한 효소 부위를 폴리(A) 테일의 바로 하류에 삽입하여, 시험관내 전사 전에 플라스미드 백본으로부터 SVV-001 cDNA의 3' 말단을 유리시키고, 종결을 위한 평활 말단을 제공하였다. PCR 접근법을 사용하여 주형으로서 프라이머 쌍 SVV-0016056 및 SVV0013SwaRev 및 pNTX-04를 이용하여 부위를 삽입하였다. 역방향 프라이머 SVV0013SwaRev는 SVV-001 게놈의 3' 말단 및 SwaI 및 SphI 제한 효소 부위에 대한 인식 서열을 나타내는 58 nt를 함유하였다. 생성된 PCR 단편을 BamHI 및 SphI로 소화시키고, 이를 사용하여 pNTX04로부터의 상응하는 단편을 대체하여 pNTX-06을 생성하였다. 다음으로, pNTX-06에서 SVV-001 cDNA의 T7 프로모터 전사 개시 부위와 59 말단 사이에 존재하는 4개의 여분의 뉴클레오타이드를 어닐링된 올리고뉴클레오타이드 듀플렉스 접근법을 사용하여 제거하였다. 듀플렉스 올리고뉴클레오타이드를 KpnI 인식 부위, T7 코어 프로모터 서열, 및 3' 말단에 ApaI 부위를 갖는 SVV-001의 처음 17 nt를 함유하도록 조작하였다. 어닐링된 올리고뉴클레오타이드를 사용하여 KpnI 및 ApaI 부위를 이용해 pNTX-06의 상응하는 부분을 대체하여 pNTX-07을 생성하였다. 최종적으로, BamHI 및

SphI 단편을 PCR에 의해 SVV-001 cDNA로부터 증폭된 상응하는 단편으로 대체함으로써 pNTX-07의 3D 폴리머라제-코딩 영역에서 관찰된 2 bp 결실을 회복시켜 pNTX-09를 생성하였다.

[0250]

전장 SVV001 플라스미드 내의 GFP-코딩 서열의 삽입.

[0251]

SVV-001 2A- 및 2B-코딩 영역들의 사이에 F2A 단백질에 융합된 GFP-코딩 서열을 삽입하기 위해, 중첩 연장 PCR을 사용하였다. 3개의 개별 PCR 단편을 증폭시키기 위해 각각 중복 서열을 갖는 6개의 프라이머를 설계하였다. 제1 PCR 단편 (PCR a-b)을 2A 서열의 상류에 결합하는 정방향 프라이머 NI-03, 및 18 bp의 2A 서열, 3 bp의 2B 서열 및 15 bp의 5' GFP 서열을 갖는 역방향 프라이머 NI-04를 사용하여 증폭시켰다. GFP-코딩 서열을 갖는 제2 PCR 단편 (PCR c-d)을 9 bp의 2A 서열, 3 bp의 2B 서열 및 29 bp의 GFP 5' 서열을 갖는 정방향 프라이머 NI-05, 및 21 bp의 GFP 3' 서열 및 48 bp의 F2A 서열을 갖는 역방향 프라이머 (NI-06)로 증폭시켰다. 제3 PCR 단편 (PCR e-f)을 46 bp의 F2A 서열 및 24 bp의 2B 서열을 함유하는 정방향 프라이머 NI-07, 및 SVV-001 2A 서열의 615 bp 하류에 결합하는 역방향 프라이머 NI-08로 증폭시켰다. PCR 단편 a-b 및 c-d를 프라이머 NI-03 및 NI-06을 사용한 증폭에 의해 융합시켜 PCR a-d 단편을 생성하였다. 마지막으로, PCR a-d 및 e-f 단편을 프라이머 NI-03 및 NI-08을 사용한 증폭에 의해 융합시켜 PCR a-f 단편을 생성하였다. PCR a-f 단편을 NheI 및 HindIII로 소화시키고, pNTX-09 내의 상응하는 부위 내로 삽입하여, F2A에 융합된 GFP-코딩 서열을 함유하는 SVV 전장 플라스미드인 pNTX-11을 생성하였다.

[0252]

RNA의 시험관내 전사 및 감염성.

[0253]

먼저 pNTX-09를 SmaI로 소화시켜 플라스미드 백본으로부터 SVV-001 서열의 3' 말단을 유리시킴으로써 시험관내 전사된 RNA의 감염성을 시험하였다. 선형화된 플라스미드를 T7 RNA 폴리머라제 (프로메가)를 사용하여 시험관내 전사에 적용하였다. SVV-허용 세포에서 시험관내 전사된 RNA의 형질감염을 평가하기 위해, PER.C6 세포를 6-웰 조직 배양 디쉬에 플레이팅하였다. 다음날, 리포펙타민 시약 (인비트로젠)을 사용하여 공급업체의 권고에 따라 시험관내 전사된 RNA (1.5 mg)를 세포 내로 형질감염시켰다. 바이러스 생산으로 인한 CPE는 형질감염 36 시간 후에 관찰되었다. 형질감염된 세포를 3회의 동결-해동 사이클에 적용하고, PER.C6 세포를 감염시켜 용해물 중 바이러스의 존재를 추가로 확인하였다.

[0254]

결과

[0255]

전장 야생형 SVV-001 게놈을 코딩하는 cDNA를 상기 기재된 바와 같이 pGEM-4Z 발현 벡터 내로 클로닝하였다. GFP를 발현하는 재조합 리포터 바이러스를 생성하기 위해, GFP 및 F2A 단백질의 융합 단백질을 pNTX-09에서 SVV-001 2A (S2A) 단백질 다음에 클로닝하여 도 15a-c에 도시된 바와 같은 pNTX-11을 획득하였다.

[0256]

F2A 서열을 S2A 서열의 반복에 걸쳐 선택하여 중복 서열 사이의 원치 않는 재조합 사건에 대해 보호하였다. SVV-GFP 폴리펩티드의 번역 동안, 리보솜은 S2A 서열의 TNPGQP에서 스킵핑되고, SVV-001 2B (S2B)로부터의 하나의 추가의 N-말단 프롤린을 갖는 GFP-F2A 융합 단백질을 계속 인 프레임 생산하고, F2A SNPGQP 서열에서 재차 스킵핑되고, SVV-001 폴리단백질의 나머지를 재차 계속 인 프레임 번역한다. 이 전략의 하나의 명백한 이점은 생산된 모든 SVV 단백질이 그의 천연 서열을 보유한다는 것이다. pNTX-11을 SmaI로 소화시키고, 시험관내 전사를 위한 주형으로서 사용하였다. RNA 전사체를 PER.C6 세포의 10개의 15 cm 디쉬 내로 형질감염시켰다. GFP 발현 플라크를 관찰하고 정제하였다. 플라크-정제 및 증폭된 SVV-GFP를 사용하여 SCLC H446 세포를 감염시켰다. 야생형 SVV-001 감염에 전형적인 세포병변 효과 (CPE) 뿐만 아니라 밝은 녹색 형광이 관찰되었다. 개별 감염된 세포는 유동 세포측정법에 의해 4 로그에 걸쳐 또는 형광 스캐닝에 의해 다양한 크기의 플라크로서 용이하게 검출되기에 충분히 밝았다. SVV001 또는 SVV-GFP로 감염된 H446 세포로부터 단백질을 추출하고, GFP, F2A 에피토프 및 글리세르알데히드 3-포스페이트 데히드로게나제에 대해 웨스턴 블롯팅하였다. GFP 및 F2A 둘다에 대한 강한 신호가 30 kDa에서 검출되었고, 이는 GFP-F2A 융합 단백질에 상응한다.

[0257]

상기 기재된 접근법은 치료 트랜스진의 혼입에 적합화될 수 있다. SVV-GFP의 성공적인 생성은 800 bp 이하의 트랜스진이 수용될 수 있음을 나타낸다.

[0258]

실시예 3: 포유동물 T7 폴리머라제 세포주 (PerC.6-T7#2)의 개발

[0259]

무장된 SVV 구축물을 생성하기 위한 현재의 시스템은 다음 단계를 필요로 한다: (1) 무장된 SVV 플라스미드를 구축하는 단계; (2) 무장된 SVV 플라스미드를 선형화하여 3' 말단을 규정하는 단계; (3) T7 폴리머라제를 사용한 시험관내 전사 반응으로 진정한 5' 및 3' 말단을 갖는 RNA 전사체를 생성하는 단계; (4) RNA를 표적 세포 내로 형질감염시키는 단계; 및 (5) 무장된 SVV 바이러스를 단리하는 단계.

- [0260] 무장된 SVV 구축물을 신속하게 생성하기 위해 신규 시스템을 설계하였다. 신규 시스템은 포유동물 T7 폴리머라제 세포주 (PerC.6-T7#2)에 의존한다. 신규 시스템은 다음 단계를 필요로 한다: (1) 포유동물 세포에서의 발현에 대해 최적화된 T7 폴리머라제 플라스미드를 개발하는 단계; (2) T7 폴리머라제 최적화된 포유동물 발현 플라스미드를 표적 세포주 내로 클로닝하고, 최상의 클론 (PerC.6-T7#2)을 선택하는 단계; (2) 무장된 SVV 플라스미드를 선형화하는 단계; (3) 플라스미드를 T7-pol 세포 내로 형질감염시키는 단계; 및 (4) 무장된 SVV 바이러스를 단리하는 단계.
- [0261] 현재 및 신규 시스템 둘 다를 사용하여, 무장된 SVV 구축물을 설계하고, 무장된 SVV 바이러스를 생산하였다. 양쪽 시스템으로부터의 무장된 SVV 바이러스는 동등하게 기능하였다.
- [0262] 도 16a 및 도 16b는 신규 시스템 (PerC.6-T7#2)을 사용한 세포주에서의 무장된 SVV 바이러스의 신속한 생성을 나타낸다. 도 16a는 SVV-GFP (GFP를 발현하도록 조작된 SVV)에 대한 결과를 나타내고, 도 16b는 SVV-mCherry (mCherry를 발현하도록 조작된 SVV)에 대한 결과를 나타낸다. 이 데이터는 현재 시스템을 사용하여 다양한 SVV 구축물을 생성하는 것이 가능함을 입증한다.
- [0263] 현재 시스템을 사용하여, IL-2, CXCL9, 및 IL-2/15를 발현하는 무장된 SVV 구축물을 생성하였다. 도 17은 IL-2, CXCL9, 및 IL-2/15를 발현하도록 생성된 무장된 SVV에 대한 RT-PCR 데이터를 나타낸다. RT-PCR 데이터는 무장된 SVV가 치료 트랜스진을 발현한다는 것을 입증한다.
- [0264] 게다가, 신규 시스템을 사용하여, GFP를 보유하는 무장된 SVV 구축물을 설계하였다. 도 18은 PerC-T7 pol 세포에서 선형화된 DNA의 형질감염을 나타낸다. 도 18로부터 명백한 바와 같이, PerC6-T7 pol 세포를 사용하여 무장된 SVV 구축물을 생성하는 것이 가능하다.
- [0265] 실시예 4: IL-2 및 IL-2/-15로 무장된 SVV의 시험
- [0266] 1976년에 원래 "T-세포 성장 인자"로서 기재된 인터류킨-2 (IL-2)는 CD4+ 및 CD8+ T 세포, 자연 킬러 (NK) 세포 및 활성화된 수지상 세포를 포함한 다양한 세포 유형에 의해 분비되는 작은 15.5kDa 단백질이다. IL-2는 면역계에 대해 다면발현 효과를 갖는다. 이는 CD4+ 조절 T 세포의 생성, 유지 및 확장에서 중요한 역할을 하고, NK 및 CD8+ 세포의 세포독성 활성을 촉진하고, 활성화-유도된 세포 사멸을 통한 유해한 자가반응성 T 세포의 제거를 통해 항상성을 통제한다. IL-2는 중간-친화도 이량체 CD122/CD132 IL-2R 또는 삼량체 CD25/CD122/CD132로 구성된 고-친화도 IL-2 수용체를 통해 신호전달할 수 있다.
- [0267] 인터류킨-15 (IL-15)는 인터류킨-2 (IL-2)와 구조적 유사성을 갖는 시토카인이다. IL-2와 같이, IL-15는 IL-2/IL-15 수용체 베타 체 (CD122) 및 공통 감마 체 (CD132)로 구성된 복합체에 결합하고 이를 통해 신호를 전달한다. IL-15는 다수의 세포 유형 및 조직에 의해 구성적으로 발현된다. 이 시토카인은 자연 킬러 세포, 즉 바이러스 감염된 세포를 사멸시키는 주요 역할을 하는 선천성 면역계의 세포의 증식을 유도한다. IL-15는 다면발현 시토카인이고, 선천성 및 적응성 면역에서 중요한 역할을 한다. IL-15는 CD8+ T 세포의 항종양 면역을 증진시키는 것으로 나타났다.
- [0268] IL-2 및 IL-2/-15를 발현하도록 조작된 무장된 SVV 구축물을 생성하고, 활성화에 대해 시험하였다. 구축물을 상기 실시예 1에 기재된 일반적 절차를 사용하여 생성하였다.
- [0269] IL-2 생물검정 세포는 IL-2 신호전달에 반응하여 luc2를 발현하도록 조작되었다. IL-2가 IL-2 생물검정 세포에 결합할 때, 수용체는 세포내 신호를 전달하여 발광을 일으킨다. 생물발광 신호를 검출하고 정량화한다. IL-2의 부재 하에, IL-2R의 하류에서 신호전달이 발생하지 않고, 발광 신호가 생성되지 않는다. IL-2 수용체 (IL-2R)는 3개의 서브유닛: IL-2R α (CD25), IL-2R β (CD122) 및 IL-2R γ (CD132)로 구성된다. IL-15는 IL-2R β (CD122) 및 IL-2R γ (CD132)를 통해 신호전달한다. 따라서, IL-2 생물검정 세포는 IL-2 또는 IL-15 수용체를 통해 시토카인 결합 및 신호전달을 검출할 수 있다. 이들 생물검정을 도 19a 및 도 19b에 나타낸다.
- [0270] 이들 생물검정을 사용하여, 무장된 SVV 구축물의 활성을 평가하였다. 이 시험의 결과를 도 20a 및 도 20b에 나타낸다. 도 20a는 SVV-IL2 및 SVV-IL2/15 (네오류킨 2-15)에 대한 활성을 나타낸다. 도 20b는 IL-2 표준 양성 대조군에 대한 활성을 나타낸다. SVV-IL2/15 (네오류킨 2-15) 단백질 활성은 상청액 및 펠릿에 존재한다. SVV-IL-2 단백질 활성은 펠릿에서만 존재한다. 이 시험은 SVV가 형질감염되어 IL-2 및 IL-2/15 (뉴류킨 2-15)를 발현할 수 있으며, 이는 SVV를 사용한 형질감염 시 세포에서 발현된다는 것을 입증하였다.
- [0271] 실시예 5: CXCL9로 무장된 SVV의 시험
- [0272] 케모카인 (C-X-C 모티프) 리간드 9 (CXCL9)는 감마 인터페론 (MIG)에 의해 유도된 모노카인으로도 공지된 CXC

케모카인 패밀리에 속하는 소형 시토카인이다. CXCL9는 화학주성을 유도하고, 백혈구의 분화 및 증식을 촉진하고, 조직 혈관외유출을 유발하는 역할을 하는 케모카인 중 하나이다.

- [0273] CXCL9/CXCR3 수용체는 면역 세포 이동, 분화 및 활성화를 조절한다. 항종양 면역 반응성은 면역 세포, 예컨대 세포독성 림프구 (CTL), 자연 킬러 (NK) 세포, NKT 세포 및 대식세포의 동원을 통해 발생한다. CXCL9는 종양 부위로의 림프구성 침윤을 우세하게 매개하고, 종양 성장을 억제한다.
- [0274] PerC.6-T7#2 세포를 플라스미드 pSVV-CXCL9로 형질감염시키고, 상청액 (S) 및 펠릿 용해물 (PS)을 사용하여 신선한 PerC.6 세포를 감염시켰다. 상청액 샘플을 제1일, 제2일, 제3일 (D1-3)에 수집하고, CXCL9 ELISA를 사용하여 시험하였다.
- [0275] 상기 시험의 결과를 도 21a 및 도 21b에 나타낸다. 도 21a 및 도 21b는 SVV-CXCL9 Elisa에 대한 데이터를 나타낸다. 도 21a는 인간 CXCL 표준 곡선을 나타낸다. 도 21b는 증폭된 SVV-CXCL9 상청액 내의 인간 CXCL9 수준 검출을 나타낸다. 상기 실시예 3과 같이, 본 실시예는 SVV가 형질감염 후 세포에서 기능적으로 발현되는 치료 단백질을 보유하도록 무장되었음을 확증한다.
- [0276] 실시예 6: 추가의 무장된 SVV 구축물의 구축
- [0277] 실시예 1에 나타난 일반적 절차를 사용하여, 추가의 SVV 구축물을 생성하였다. 구체적으로, 다음의 SVV 무장된 구축물을 설계하였다: 항-CTLA4 나노바디를 코딩하는 무장된 SVV; 항-CD3 나노바디를 코딩하는 무장된 SVV; 항-PDL1 나노바디를 코딩하는 무장된 SVV; 항-CTLA4+항-PDL1 나노바디 둘 다를 코딩하는 무장된 SVV; 항-CTLA4+항-CD3 나노바디 둘 다를 코딩하는 무장된 SVV; 항-CD3+항-PDL1 나노바디 둘 다를 코딩하는 무장된 SVV; IL-2를 코딩하는 무장된 SVV (버전 2 및 3); TGF-베타 우성 음성 RII 디코이-SS 없음 v.2를 코딩하는 무장된 SVV; TGF-베타 우성 음성 RII 디코이-델타 SerMet v.3을 코딩하는 무장된 SVV; 시토신 데아미나제를 코딩하는 무장된 SVV (FCY2+3); 및 Nfsa mut 22-78을 코딩하는 무장된 SVV.

[0278] 이들 삽입물의 단백질 및 핵산 서열은 하기 표 2에 제시된다.

표 2: 실시예 6의 무장된 SVV에 의해 코딩된 치료 단백질		
SEQ	설명	서열
29	항-CTL-A를 코딩하는 나노바디 뉴클레오티드 서열	gctgctcacggtcacctgggtgcctggccccagtagtcgcccacgaactccatgc cgtactggctgctgcagaagcccacgggtggcgagtagtagtcggcggtgtcctcg ggcttcaggctgttcactctgcaggaaggcggtgttcttggcggtgtccccgctgat ggtgaaccggcccttcacgaagtgcgctagtagtaccgcccgcctcgtgcgctgc tgatgcagctcacgcccctcccgtccttgcgggggctgcccgaaccagccgatg gcgtagtgttccaggctgaagccgctggcgcgagctcagccgaggtgcccgc ggggtgcaccaggccgcccgcgtctcctgcagctgcacctgaaattcggcgctgc ccgcccgcgtgcccgcgtgcccaggtgcagctgcaggagagcgggcgggcagcg tgcaggccggcgagcctgcggctgagctgcaccgcccagcggttcggcggtggac ggcaccgacatgggctggtacggcagggccccggcaacgagtgcgagctggtgag cagcatcagcagcatcgcatcggtactacagcgagagcgtgaaggccggttca ccatcagccgggacaacgccaagaacaccgtgtacctgcagatgaacagcctgcgg cccagcagaccgcccgtgtactactgcggccggcggtggtacggctaccggtgcgg caactggggccggggcaccaggtgacctgagcagc
30	항-CTL-A를 코딩하는 나노바디 단백질 서열	QVQLQESGGGLVHPGGSRLSCAASGFSLDNYAIGWFRQAPGKEREGVSCISSGSE GRRYYADFVKGRFTISRDNAKNTAFQMNSLKPEDTADYYCATVGFCSQYGMFV GDYWGQGTQVTVSSGSAGSAGSGEFQVQLQESGGGSVQAGGSLRLSCTASGFGVD GTDMGWYRQAPGNECELVSSISSIGIGYSESVKGRFTISRDNAKNTVYLMNSLR PDDTAVYYCGRRWIGYRCGNWGRGTQVTVSS
31	항-CD3을 코딩하는 나노바디 뉴클레오티드 서열	GGAGGAGACGGTGACCTGGGTCCCTGGCCCCAGTAGTCATTTGCACCCCATCCCC CTTCACCCATTTTGCACAGTAATACACGGCCGTGTCGTGAGGTTTCAGGCTGTC ATTTGCAGATACAGCGTGTCTCGGCGTTGTCTCTGAGAGTGGTGAACCGGCCCTT CACGGAGTCTCGATAGTATGTGTACACCATTCAGCTAATATCTGAGACCCACT CCAGCCACTTCCCTGGAGCCTGTGCGGCCAGCTCATGCCATAATCATCAAAAGTG AATCCAGAGGCTGCACAGGAGTCTCAGAGACCCCCAGGCTGCACCAAGCCTCC CCCAGACTCCACCAGCTGCACCTCCTCGAGCAGCTGCACCTC
32	항-CD3을 코딩하는 나노바디 단백질 서열	EVQLLEEVQLVESGGGLVQPGGSRLSCAASGFTFDDYGMWVRQAPGWLEWVSD ISWNGGSTYYRDSVKGRFTISRDNANTLYLMNSLKPDDTAVYYCAKMGEGGWGA NDYWGQGTQVTVSS
33	항-PDL1을 코딩하는 나노바디 뉴클레오티드 서열	gctgctcacggtcacctgggtgcctggccccagtagtcgcccacgaactccatgc cgtactggctgctgcagaagcccacgggtggcgagtagtagtcggcggtgtcctcg ggcttcaggctgttcactctgcaggaaggcggtgttcttggcggtgtccccgctgat ggtgaaccggcccttcacgaagtgcgctagtagtaccgcccgcctcgtgcgctgc tgatgcagctcacgcccctcccgtccttgcgggggctgcccgaaccagccgatg gcgtagtgttccaggctgaagccgctggcgcgagctcagccgaggtgcccgc ggggtgcaccaggccgcccgcgtctcctgcagctgcacctg
34	항-PDL1을 코딩하는	QVQLQESGGGLVHPGGSRLSCAASGFSLDNYAIGWFRQAPGKEREGVSCISSGSE GRRYYADFVKGRFTISRDNAKNTAFQMNSLKPEDTADYYCATVGFCSQYGMFV GDYWGQGTQVTVSS

[0279]

표 2: 실시예 6의 무장된 SVV에 의해 코딩된 치료 단백질		
SEQ	설명	서열
	나노바디 단백질 서열	
35	항-CTLA4+항-PDL1을 코딩하는 나노바디 뉴클레오티드 서열	caggtgcagctgcaggagagcggcgccgctggtgaccccgccggcagcctgcg gctgagctgcgcgcgcaagcggcttcagcctggacaactacgccatcggtggtcc ggcagggccccggcaaggagcgggagggcgtgagctgcatcagcagcggcagcag ggccggcggtactacgcccgaacttcgtgaaggccggttcacatcagccgggaca cgccaagaacaccgccttcctgcagatgaacagcctgaagcccgaggacaccgcg actactactgcccacgtgggtcttcgcagcagccagtcagccatggagttcgtg ggcgactactggggccaggccaccaggtgaccgtgagcagcggcagcggcgag cgccggcgccagcggcgcaatttcaggtgcagctgcaggagagcggcgccgagcg tgcagggccggcgagcctgcggctgagctgcaccgccagcggcttcggcgtggac ggcaccgacatgggctggtaccggcagggccccggcaacgagtgcgagctggtgag cagcatcagcagcatcgccatcggtactacagcagagcgtgaagggccggttca ccatcagccgggacaacgccaagaacaccgtgtacctgcagatgaacagcctgcgg ccgacgacaccgcggtgtactactgcggccggcggtggatcggtaccggtgcgg caactggggccggggcaccaggtgaccgtgagcagc
36	항-CTLA4+항-PDL1을 코딩하는 나노바디 단백질 서열	QVQLQESGGGLVHPGGSRLSCAASGFSLDNYAIGWFRQAPGKEREGVSCISSGSE GRRYAD FVKGRFTISRDNAKNTAFLQMNSLKPEDTADYYCATVGFCSQYGMFV GDYWGQTQVTVSSGSAGSAAGSGEFQVQLQESGGGSVQAGGSLRLSCTASGFGVD GTDMGWYRQAPGNECELVSSISSIGIYYSESVKGRFTISRDNAKNTVYLMNSLR PDDTAVYYCGRRWIGYRCGNWGRGTQVTVSS
37	항-CTLA4+항-CD3을 코딩하는 나노바디 뉴클레오티드 서열	caggtgcagctgcaggagagcggcgccgagcgtgcaggccggcgccagcctgcg gctgagctgcaccgccagcggcttcggcggtggacggcaccgacatgggctggtacc ggcagggccccggcaacgagtgcgagctggtgagcagcatcagcagcatcgccatc ggctactacagcagagcgtgaagggccggttcacatcagccgggacaacgccaa gaacaccgtgtacctgcagatgaacagcctgcggcccgacgacaccgccgtgtact actgcggccggcggtggatcggtaccggtgcggcaactggggccggggcaccag gtgaccgtgagcagcggcagcgcggcgagcggcgccgagcggcggaatttcaggt gcagctgcaggagagcggcgccgagcgtgcagccggcgagcctgcggctga gctgcaccgccagcggcttcggcggtggacggcaccgacatgggctggtaccggcag gccccggcaacgagtgcgagctggtgagcagcatcagcagcatcgccatcggtta ctacagcagagcgtgaagggccggttcacatcagccgggacaacgccaagaaca ccgtgtacctgcagatgaacagcctgcggcccgacgacaccgccgtgtactactgc ggccggcggtggatcggtaccggtgcggcaactggggccggggcaccaggtgac cgtgagcagc
38	항-CTLA4+항-CD3을 코딩하는 나노바디 단백질 서열	EVQLLEEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFDDYGMWVRQAPGKLEWVSD ISWNGGSTYYRDSVKGRFTISRDNANTLYLMNSLKPDDTAVYYCAKMGEGGWGA NDYWGQTQVTVSSGSAGSAAGSGEFQVQLQESGGGSVQAGGSLRLSCTASGFGVD GTDMGWYRQAPGNECELVSSISSIGIYYSESVKGRFTISRDNAKNTVYLMNSLR PDDTAVYYCGRRWIGYRCGNWGRGTQVTVSS

[0280]

표 2: 실시예 6의 무장된 SVV에 의해 코딩된 치료 단백질		
SEQ	설명	서열
39	항-CD3 + 항-PLD1을 코딩하는 나노바디 뉴클레오티드 서열	caggtgcagctgcaggagagcggcgccgctggtgcaccccgccgagcctgcg gctgagctgcgcgcagcagcgttcagcctggacaactacgccatcggtggttcc ggcagggcccccggaagagcgggagggcgtgagctgcatcagcagcggcagcgag ggccggcggtactacgcgcgacttcgtgaaggcggttcacccatcagccgggacaa cgccaagaacaccgccttcctgcagatgaacagcctgaagcccgaggaaccgccc actactactgcgccaccgtgggcttctgcagcagccagtagcgcagtgagttcgtg ggcgactactggggccagggcaccaggtgacgtgagcagcggcagcgcggcgag cgcgccggcgagcggcgaatttgAGGTGCAGCTGCTCGAGGAGGTGCAGCTGGTGG AGTCTGGGGGAGGCTTGGTGCAGCCTGGGGGCTCTCTGAGACTCTCCTGTGCAGCC TCTGGATTCACTTTTGATGATTATGGCATGAGCTGGGTCCGACAGGCTCCAGGGAA GTGGCTGGAGTGGGTCTCAGATATTAGCTGGAATGGTGGTAGCACATATATCGAG ACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCAGAGACAACGCCGAGAACACGCTGTAT CTGCAATGAACAGCCTGAAACCTGACGACACGCCCGTGTATTACTGTGCAAAAT GGGTGAAGGGGATGGGGTGCAATGACTACTGGGGCCAGGGGACCCAGGTACCCG TCTCCTCC
40	항-CD3 + 항-PLD1을 코딩하는 나노바디 단백질 서열	QVQLQESGGGLVHPGGSRLSCAASGFSLDNYAIGWFRQAPGKEREGVSCISSGSE GRRYYADFVKGRFTISRDNKNTAF LQMNSLKPEDTADY YCATVGFCSSTYGMFV GDYWGQGTQVTVSSGSAGSAGSGEFVQLLEEVQLVSGGGGLVQPGGSLRLSCAA SGFTFDYGMWVRQAPGKLEWVSDISWNGSTYYRDSVKGRFTISRDNKNTAF LQMNSLKPDPTAVYYCAKMGEGGWGANDYWGQGTQVTVSS
41	IL-2 버전 3 뉴클레오티드 서열	gcgcgcaccagcagcagcagcaccacccccagctgcagctggaacatctgctgct ggatctgcagatgattctgaacggcattacaaactataaaacccgaaactgaccc gcagctgcagcttttaattttatagccgaaaaagcgacccaactgaaacatctg cagtgcttgaagaagaactgaaacccgctggaagaagtgcagacctggcgagag caaaaactttcatctgcgcgcgcgagctgattagcaacattacgtgattgtgc tggaactgaaaggcagcgaaaccacctttatgtgcgaatatgcggatgaaaccg accattgtggaatttctgaaccgctggattaccttttgccagagcattatagcac cctgacc
42	IL-2 버전 3 단백질 서열	APTSSTKKTQLQLEHLLDLQMLNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHL QCLEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETA TIVEFLNRWITFCQSIISTLT
43	IL-2 버전 2 뉴클레오티드 서열	atgtatcgcagctgcagctgctgagctgcattgcgctgagcctggcgctggtgaccaa cagcgcgccgaccagcagcagcagcaccacccccagctgcagctggaacatctgc tgctggatctgcagatgattctgaacggcattacaaactataaaacccgaaactg accgcagctgcagcttttaattttatagccgaaaaagcgacccaactgaaaca tctgcagtgccctggaagaagaactgaaaccgctggaagaagtgcagacctggcgc agagcaaaaactttcatctgcgcgcgcgagctgattagcaacattacgtgatt gtgctggaactgaaaggcagcgaaaccacctttatgtgcgaatatgcggatgaaac cgcgaccattgtggaatttctgaaccgctggattaccttttgccagagcattatta gcaccctgacc
44	IL-2 버전 2 단백질 서열	MYRMQLLSIALSLALVTNSAPTSSTKKTQLQLEHLLDLQMLNGINNYKNPKL TRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVI VLELKGSETTFMCEYADETATITVEFLNRWITFCQSIISTLT
45	TGF-베타 디코이 버전	acgatccccccgcagcttcagaagtcggttaataacgacatgatgtcactgacaa caacggctgcagtcagtttccacaactgtgtaattttgtgatgtgagattttcca cctgtgacaaccagaaatcctgcagtagcaactgcagcatcacctccatctgtgag

[0281]

표 2: 실시예 6의 무장된 SVV에 의해 코딩된 치료 단백질		
SEQ	설명	서열
	2 뉴클레오티드 서열	aagccacaggaagtctgtgtggctgtatggagaagaatgacgagaaacataaact agagacagtttgccatgaccccaagctccctaccatgactttattctggaagatg ctgcttctccaaagtgcattatgaaggaagaaagcctggtgagactttcttc atgtgttctctgtagctctgatgagtgcaatgacaacatcattctcagaagaata taacaccagcaatcctgacttgttgcagtcattttcaagtgcagggcatcagcc tcctgccaccactgggagttgccatatctgcatcatcatcttctactgctaccgc gtttaccatacagatgttccagattacgt
46	TGF 베타 디코이 버전 2 단백질 서열	TIPPHVQKSVNNDMIVTDNNGAVKFPQLCKFCDVRFSTCDNQKSCMSNCSITSICE KPQEVCAVWRKNDENITLTVCHDPKLPYHDFILEDAAAPKICIMKEKKKPGETFF MCSSSDECDNIIIFSEYNTSNPDLLLVIQVGTGISLLPPLGVAISVIIIFYCYR VYPYDVPDYA
47	TGF-베타 디코이 버전 3 뉴클레오티드 서열	ggctgggggctgctcaggggctgtggccgctgcacatcgtcctgtggagcgcgtat cgccagcacgatccaccgcagcttcagaagtgcgttaataacgacatgatagtc ctgacaacaacggtgcagtcagtttccacaactgtgtaaatgttgatgtgaga ttttccacctgtgacaaccagaaatcctgcatgagcaactgcagcatcacctccat ctgtgagaagccacaggaagtctgtgtggctgtatggagaagaatgacgagaaca taacactagagacagtttgccatgacccaagctccctaccatgactttattctg gaagtgtgcttctccaaagtgcattatgaaggaagaaagcctggtgagac ttttctcatgtgtcctgtagctctgatgagtgcaatgacaacatcatcttctcag aagaatataacaccagcaatcctgacttgttgcagtcattttcaagtgcagggc atcagcctcctgccaccactgggagttgccatatctgcatcatcatcttctactg ctaccgcgtttaccatacagatgttccagattacgt
48	TGF 베타 디코이 버전 3 단백질 서열	GRGLLRGLWPLHIVLWTRIASTIPPHVQKSVNNDMIVTDNNGAVKFPQLCKFCDVR FSTCDNQKSCMSNCSITSICEKPQEVCAVWRKNDENITLTVCHDPKLPYHDFIL EDAAPKICIMKEKKKPGETFFMCSSSDECDNIIIFSEYNTSNPDLLLVIQVGT ISLLPPLGVAISVIIIFYCYRVYPYDVPDYA
49	시토신 테아미나제 뉴클레오티드 서열	ATGGTGACCGGCGCATGGCCAGCAAGTGGGACCAGAAGGGCATGGACATCGCCTA CGAGGAGGCCCTGCTGGGCTACAAGGAGGGCGGCGTGGCCATCGGCGGCTGCCTGA TCAACAACAGGACGGCAGCGTGTGGGACAGGCCACAACATGAGATTCAGAAAG GGCAGCGCCACCCTGCACGGCGAGATCAGCACCTTGAGAACTGCGGCAGACTGGA GGGCAAGGTGTACAAGGACACCACCTGTACACACCTGAGCCCTGCGACATGT GCACCGCGCCATCATCATGTACGGCATCCCAGATGCGTGATCGGCGAGAACGTG AACTTCAAGAGCAAGGGCGAGAACTACCTGCAGACCAGAGGCCACGAGGTGGTGGT GGTGGACGACGAGATGCAAGAAGCTGATGAAGCAGTTCATCAGCAGAGACCCC AGGACTGGTTCGAGGACATCGGCGAG
50	시토신 테아미나제 단백질 서열	MVTGGMASKWDQKGMIDIAEEALLGYKEGGVPIGGCLINNKDGSVLGRHNMRFQK GSATLHGEISTLENCGRLEGKVKDTTLTYTLSPCDMCTGAIIMYGIPTCVIGENV NFKSKGEKYLQTRGHEVVVDERCKLMKQFIDERPDWFEDIGE
51	Nfsa mut22- 78 테아미나제 뉴클레오티드 서열	atgaccccgaccattgaactgatttgcggccatcgagcatttcgccattttaccga tgaaccgattagcgaagcgcagcgcgaagcgattattaacagcgcgcgcgcgacca gcagcagctattttctgcagtcagcagcattattcgattaccgataaagcgctg cgcggaagactggtagccctgacccggcgccgaacatgtggcgcgagcgcgga attttgggtgttttgcgggattttaaccgcatctgcagatttgcggcgatgcgc agctgggctggcggaacagctgctgatgggctgggataccgcgcatgatggcgag aacgcgctgattgcggcggaagcctgggctggcgcgctgtatattggcgccct gcgcaacaacattgaagcggtagccaaactgctgaaactgcgcgagcatgtgctgc

[0282]

표 2: 실시예 6의 무장된 SVV에 의해 코딩된 치료 단백질		
SEQ	설명	서열
		cgtgttttgccctgtgcctgggctggccggcgataaccggatctgaaaccgcgc ctgccggcgagcattctggtgcatgaaaacagctatcagccctggtgataaaggcgc gctggcgcatgatgatgaacagctggcggaatattatctgacccggcgagcaaca accgcgcgatacctggagcgcgatcatttcggcgaccattattGaagaaagcGCG ccgTTTattctggattatctgcataaacagggtggcgacccgc
52	Nfsa mut22- 78 테아미나제 단백질 서열	MTPTIELICGHRISIRHFTDEPISEAQREAIINSARATSSSYFLQCSSIIRITDKAL REELVTLTGQKHVAQAAEFWVFCADFNRHLQICPDQLGLAEQLLMGWDAMMAQ NALIAAESLGLGGVYIGGLRNNIEAVTKLLLPQHVLPLFGLCLGWPADNPDLPKPR LPASILVHENSYPPLDKGALAQYDEQLAEYYLTRGSNNRRDTSWDHIRTIIIESA PFILDYLLHQGWATR

[0283]

[0284]

이들 구축물을 보유하는 플라스미드의 서열 (서열식별번호: 53-64) 뿐만 아니라 이들 플라스미드의 지도를 도 22a-33b에 나타낸다.

[0285]

예시적 실시양태

[0286]

개시된 기술의 예시적 실시양태가 본원에 제공된다. 이들 실시양태는 단지 예시적이며, 본 개시내용 또는 첨부된 청구범위의 범주를 제한하지 않는다.

[0287]

추가 실시양태 1. 서열식별번호: 19의 뉴클레오티드 1-7891에 대해 85% 이상, 90% 이상, 95% 이상, 99% 이상,

또는 100% 이상 동일한 핵산이 삽입된 세네카 밸리 바이러스 또는 그의 종양용해 단편의 서열을 포함하는 변경된 세네카 밸리 바이러스.

- [0288] 추가 실시양태 2. 서열식별번호: 1, 3, 5, 7, 9, 또는 11의 핵산 서열이 삽입된 세네카 밸리 바이러스 또는 그의 종양용해 단편의 서열을 포함하는 무장된 세네카 밸리 바이러스.
- [0289] 추가 실시양태 3. 서열식별번호: 2, 4, 6, 8, 10, 또는 12의 아미노산 서열을 코딩하는 핵산이 삽입된 세네카 밸리 바이러스 또는 그의 종양용해 단편의 서열을 포함하는 무장된 세네카 밸리 바이러스.
- [0290] 추가 실시양태 4. 서열식별번호: 2, 4, 6, 8, 10, 또는 12의 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 또는 적어도 99% 동일한 단백질을 코딩하는 핵산이 삽입된 세네카 밸리 바이러스 또는 그의 종양용해 단편의 서열을 포함하는 무장된 세네카 밸리 바이러스.
- [0291] 추가 실시양태 5. 서열식별번호: 13의 뉴클레오타이드 3508-3885, 서열식별번호: 14의 뉴클레오타이드 3505-3906, 서열식별번호: 15의 뉴클레오타이드 3508-3882, 서열식별번호: 15의 뉴클레오타이드 3508-4107, 서열식별번호: 16의 뉴클레오타이드 3508-4107, 서열식별번호: 17의 뉴클레오타이드 3508-4263, 또는 서열식별번호: 18의 뉴클레오타이드 3508-3861이 삽입된 세네카 밸리 바이러스 또는 그의 종양용해 단편의 서열을 포함하는 무장된 세네카 밸리 바이러스.
- [0292] 추가 실시양태 6. 서열식별번호: 13의 뉴클레오타이드 3508-3885, 서열식별번호: 14의 뉴클레오타이드 3505-3906, 서열식별번호: 15의 뉴클레오타이드 3508-3882, 서열식별번호: 15의 뉴클레오타이드 3508-4107, 서열식별번호: 16의 뉴클레오타이드 3508-4107, 서열식별번호: 17의 뉴클레오타이드 3508-4263, 또는 서열식별번호: 18의 뉴클레오타이드 3508-3861이 삽입된 세네카 밸리 바이러스 또는 그의 종양용해 단편의 서열을 포함하는 무장된 세네카 밸리 바이러스.
- [0293] 추가 실시양태 7. 서열식별번호: 13의 뉴클레오타이드 1-7762에 대해 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 또는 적어도 99% 동일한 뉴클레오타이드 서열; 서열식별번호: 14의 뉴클레오타이드 1-7783에 대해 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 또는 적어도 99% 동일한 뉴클레오타이드 서열; 서열식별번호: 15의 뉴클레오타이드 1-7759에 대해 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 또는 적어도 99% 동일한 뉴클레오타이드 서열; 서열식별번호: 16의 뉴클레오타이드 1-7984에 대해 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 또는 적어도 99% 동일한 뉴클레오타이드 서열; 서열식별번호: 17의 뉴클레오타이드 1-8140에 대해 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 또는 적어도 99% 동일한 뉴클레오타이드 서열; 또는 서열식별번호: 18의 뉴클레오타이드 1-7738에 대해 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 또는 적어도 99% 동일한 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 무장된 세네카 밸리 바이러스.
- [0294] 추가 실시양태 8. 치료 단백질을 코딩하는 핵산 서열을 세네카 밸리 바이러스의 게놈 내로 단백질 2A 및 2B에 대한 코딩 서열들의 사이에 삽입함으로써 생성되며, 여기서 치료 단백질을 코딩하는 핵산은 서열식별번호: 1, 3, 5, 7, 9, 또는 11의 핵산; 서열식별번호: 1, 3, 5, 7, 9, 또는 11의 핵산 서열에 대해 적어도 85%, 95%, 또는 99% 동일한 핵산; 서열식별번호: 2, 4, 6, 8, 10, 또는 12의 아미노산 서열을 코딩하는 핵산; 또는 서열식별번호: 2, 4, 6, 8, 10, 또는 12의 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 또는 적어도 99% 동일한 단백질을 코딩하는 핵산을 포함하는 것인 무장된 세네카 밸리 바이러스.
- [0295] 추가 실시양태 9. 추가 실시양태 8에 있어서, 세네카 밸리 바이러스가 SVV-001인 무장된 세네카 밸리 바이러스.
- [0296] 추가 실시양태 10. 추가 실시양태 7-9에 있어서, 서열식별번호: 13의 뉴클레오타이드 1-7762; 서열식별번호: 14의 뉴클레오타이드 1-7783; 서열식별번호: 15의 뉴클레오타이드 1-7759; 서열식별번호: 16의 뉴클레오타이드 1-7984; 서열식별번호: 17의 뉴클레오타이드 1-8140; 또는 서열식별번호: 18의 뉴클레오타이드 1-7738을 포함하는 무장된 세네카 밸리 바이러스.
- [0297] 추가 실시양태 11. 추가 실시양태 1-10 중 어느 하나에 있어서, 무장된 세네카 밸리 바이러스가 종양용해성이고, 무장된 세네카 밸리 바이러스가 암을 치료할 수 있는 치료제 또는 그의 기능적 단편을 발현하는 것인 무장된 세네카 밸리 바이러스.
- [0298] 추가 실시양태 12. 추가 실시양태 1-11 중 어느 하나의 무장된 세네카 밸리 바이러스를 포함하는 벡터.
- [0299] 추가 실시양태 13. 서열식별번호: 13-18 또는 53-64의 핵산 서열을 포함하는 플라스미드.
- [0300] 추가 실시양태 14. 서열식별번호: 13-18 또는 53-64의 핵산 서열에 대해 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95% 또는 적어도 99% 동일한 핵산을 포함하는 플라스미드.

- [0301] 추가 실시양태 15. 서열식별번호: 13-18 또는 53-64의 핵산 서열 중 어느 하나에서의 뉴클레오티드 677-8050에 대해 적어도 85% 또는 적어도 90% 동일한 핵산을 포함하는 플라스미드.
- [0302] 추가 실시양태 16. 서열식별번호: 1, 3, 5, 7, 9, 또는 11의 핵산, 또는 서열식별번호: 2, 4, 6, 8, 10, 또는 12의 아미노산 서열을 코딩하는 핵산을 세네카 벨리 바이러스 내로 삽입하는 것을 포함하는, 무장된 세네카 벨리 바이러스를 생성하는 방법.
- [0303] 추가 실시양태 17. 핵산을 세네카 벨리 바이러스 내로 삽입하는 것을 포함하며, 여기서 핵산은 서열식별번호: 13의 뉴클레오티드 1-7762; 서열식별번호: 14의 뉴클레오티드 1-7783; 서열식별번호: 15의 뉴클레오티드 1-7759; 서열식별번호: 16의 뉴클레오티드 1-7984; 서열식별번호: 17의 뉴클레오티드 1-8140; 또는 서열식별번호: 18의 뉴클레오티드 1-7738에 대해 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 99%, 또는 100% 동일한 것인 무장된 세네카 벨리 바이러스를 생성하는 방법.
- [0304] 추가 실시양태 18. 추가 실시양태 16 또는 17에 있어서, 핵산이 세네카 벨리 바이러스의 게놈 내로 단백질 2A 및 2B에 대한 코딩 서열들의 사이에 삽입되는 것인 방법.
- [0305] 추가 실시양태 19. 추가 실시양태 16-18 중 어느 하나에 있어서, 세네카 벨리 바이러스가 SVV-001인 방법.
- [0306] 추가 실시양태 20. 추가 실시양태 16-19 중 어느 하나에 있어서, 무장된 세네카 벨리 바이러스가 종양용해성이 고, 무장된 세네카 벨리 바이러스가 암을 치료할 수 있는 치료제 또는 그의 기능적 단편을 발현하는 것인 방법.
- [0307] 추가 실시양태 21. 암의 치료를 필요로 하는 대상체에게 유효량의 추가 실시양태 1-11 중 어느 하나의 무장된 세네카 벨리 바이러스를 투여하는 것을 포함하는, 상기 대상체에서 암을 치료하는 방법.
- [0308] 추가 실시양태 22. 추가 실시양태 21에 있어서, 대상체에게 체크포인트 억제제, PD-1 억제제, PD-L1 억제제, CTLA-4 억제제, 시토카인, 성장 인자, 광감작제, 독소, siRNA 분자, 신호전달 조정제, 항암 항생제, 항암 항체, 혈관신생 억제제, 화학요법 화합물, 항전이성 화합물, 면역요법 화합물, CAR 요법, 수지상 세포-기반 요법, 암 백신, 종양용해 바이러스, IFN-I 억제제, 조작된 항암 바이러스 또는 바이러스 유도체, 및 그의 임의의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 하나의 항암 치료제를 투여하는 것인 방법.
- [0309] 추가 실시양태 23. 추가 실시양태 21 또는 22에 있어서, 적어도 하나의 항암 치료제가 무장된 세네카 벨리 바이러스의 투여 이전에, 그와 동시에, 또는 후속적으로 투여되는 것인 방법.
- [0310] 추가 실시양태 24. 추가 실시양태 21-23 중 어느 하나에 있어서, 대상체에게 HDAC 억제제, JAK/STAT 억제제, IFN 억제제, IFN 항체, IFN- α 수용체 1 항체, IFN- α 수용체 2 항체 및 바이러스 펩티드, 및 그의 임의의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 하나의 추가의 IFN-I 억제제를 추가로 투여하는 것인 방법.
- [0311] 추가 실시양태 25. 추가 실시양태 24에 있어서, HDAC 억제제가 트리코스타틴 A인 방법.
- [0312] 추가 실시양태 26. 추가 실시양태 24에 있어서, JAK/STAT 억제제가 스타우로스포린인 방법.
- [0313] 추가 실시양태 27. 추가 실시양태 21-26 중 어느 하나에 있어서, 암이 삼중 음성 유방암, 소세포 폐암, 비소세포 폐암, 비소세포 편평세포 암종, 선암종, 교모세포종, 피부암, 간세포성 암종, 결장암, 자궁경부암, 난소암, 자궁내막암, 신경내분비암, 췌장암, 갑상선암, 신장암, 골암, 식도암 또는 연부조직암을 포함하는 것인 방법.
- [0314] 추가 실시양태 28. 추가 실시양태 21-227 중 어느 하나에 있어서, 암 치료의 성공이 무장되지 않은 세네카 벨리 바이러스를 사용하는 치료와 비교하여 개선되는 것인 방법.
- [0315] 추가 실시양태 29. 추가 실시양태 1-9 중 어느 하나의 무장된 세네카 벨리 바이러스 및 제약상 허용되는 담체를 포함하는, 암의 치료를 필요로 하는 대상체에서 암을 치료하기 위한 제약 조성물.
- [0316] 추가 실시양태 30. 추가 실시양태 29에 있어서, 체크포인트 억제제, PD-1 억제제, PD-L1 억제제, CTLA-4 억제제, 시토카인, 성장 인자, 광감작제, 독소, siRNA 분자, 신호전달 조정제, 항암 항생제, 항암 항체, 혈관신생 억제제, 화학요법 화합물, 항전이 화합물, 면역요법 화합물, CAR 요법, 수지상 세포-기반 요법, 암 백신, 종양용해 바이러스, IFN-I 억제제, 조작된 항암 바이러스 또는 바이러스 유도체, 및 그의 임의의 조합을 추가로 포함하는 제약 조성물.
- [0317] 추가 실시양태 31. 추가 실시양태 29 또는 30에 있어서, 암이 삼중 음성 유방암, 소세포 폐암, 비소세포 폐암, 비소세포 편평세포 암종, 선암종, 교모세포종, 피부암, 간세포성 암종, 결장암, 자궁경부암, 난소암, 자궁내막암, 신경내분비암, 췌장암, 갑상선암, 신장암, 골암, 식도암 또는 연부조직암을 포함하는 것인 제약 조성물.

- [0318] 추가 실시양태 32. 추가 실시양태 1-11 중 어느 하나에 있어서, 암을 치료하기 위한 의약의 제조에 사용하기 위한 무장된 세네카 벨리 바이러스.
- [0319] 추가 실시양태 33. 암을 치료하기 위한, 추가 실시양태 1-11 중 어느 하나의 무장된 세네카 벨리 바이러스의 용도.
- [0320] 추가 실시양태 34. 암이 삼중 음성 유방암, 소세포 폐암, 비소세포 폐암, 비소세포 편평세포 암종, 선암종, 교모세포종, 피부암, 간세포성 암종, 결장암, 자궁경부암, 난소암, 자궁내막암, 신경내분비암, 췌장암, 갑상선암, 신장암, 골암, 식도암 또는 연부조직암을 포함하는 것인 추가 실시양태 32 또는 33의 용도.
- [0321] 추가 실시양태 35. 핵산이 RNA인, 추가 실시양태 1-1 중 어느 하나의 무장된 세네카 벨리 바이러스, 추가 실시양태 10 또는 11의 벡터, 또는 추가 실시양태 11-13 중 어느 하나의 플라스미드.
- [0322] 추가 실시양태 36. 서열식별번호: 19의 뉴클레오타이드 1-7891을 포함하는 변경된 세네카 벨리 바이러스.
- [0323] 추가 실시양태 37. 핵산 서열을 세네카 벨리 바이러스의 게놈 내로 단백질 2A 및 2B에 대한 코딩 서열들의 사이에 삽입함으로써 생성되며, 여기서 핵산 서열은 서열식별번호: 19의 뉴클레오타이드 3508-4014; 또는 서열식별번호: 19의 뉴클레오타이드 3508-4014에 대해 적어도 85%, 적어도 95%, 또는 적어도 99% 동일한 핵산 서열을 포함하는 것인 변경된 세네카 벨리 바이러스.
- [0324] 추가 실시양태 38. 서열식별번호: 19의 뉴클레오타이드 1-7891을 포함하는 벡터 또는 플라스미드.
- [0325] 대안적 실시양태 1. 서열식별번호: 19의 뉴클레오타이드 1-7891에 대해 85% 이상, 90% 이상, 95% 이상, 99% 이상, 또는 100% 이상 동일한 핵산이 삽입된 세네카 벨리 바이러스 또는 그의 종양용해 단편의 서열을 포함하는 변경된 세네카 벨리 바이러스.
- [0326] 대안적 실시양태 2. 실시양태 1의 변경된 세네카 벨리 바이러스를 코딩하는 벡터 또는 플라스미드.
- [0327] 대안적 실시양태 3. 서열식별번호: 19, 또는 서열식별번호: 19의 뉴클레오타이드 1-7891에 대해 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 99% 또는 100% 동일한 뉴클레오타이드를 포함하는 플라스미드.
- [0328] 대안적 실시양태 4: 종양용해성이고, ova 및 Covid 에피토프를 발현하는 변경된 세네카 벨리 바이러스.
- [0329] 대안적 실시양태 4. 핵산을 세네카 벨리 바이러스 내로 삽입하는 것을 포함하며, 여기서 핵산은 서열식별번호: 19의 뉴클레오타이드 1-7891에 대해 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 99% 또는 100% 동일한 것인 변경된 세네카 벨리 바이러스를 생성하는 방법.
- [0330] 추가의 실시양태 1. 세네카 벨리 바이러스 또는 그의 종양용해 단편, 및 관심 치료 단백질을 코딩하는 핵산을 포함하는 무장된 세네카 벨리 바이러스.
- [0331] 추가의 실시양태 2. 추가의 실시양태 1에 있어서, 관심 단백질이 인터류킨, 케모카인, 또는 체크포인트 억제제로서 작용하는 나노바디를 포함하는 것인 무장된 세네카 벨리 바이러스.
- [0332] 추가의 실시양태 3. 추가의 실시양태 2에 있어서, 관심 치료 단백질이 항-PD-L1 나노바디, IL-2 또는 그의 돌연변이체, CXCL9, IL-15, IL-2/IL-15 (네오류킨 2-15), TGF- β 디코이 또는 그의 돌연변이체, NfsA 또는 그의 돌연변이체, 항-CTLA4 나노바디, 항-CD3 나노바디, 항-CTLA-4 + 항-PDLI-1 나노바디, 항-CLTA4 + 항-PLD-1 나노바디, 또는 시토신 데아미나제를 포함하는 것인 무장된 세네카 벨리 바이러스.
- [0333] 추가의 실시양태 4. 추가의 실시양태 1-3 중 어느 하나에 있어서, 관심 치료 단백질이 IL-2, CXCL-9, 또는 IL-2/IL-15를 포함하는 것인 무장된 세네카 벨리 바이러스.
- [0334] 추가의 실시양태 5. 추가의 실시양태 1-4 중 어느 하나에 있어서, 관심 치료 단백질을 코딩하는 핵산이 삽입된 세네카 벨리 바이러스 또는 그의 종양용해 단편을 포함하는 무장된 세네카 벨리 바이러스.
- [0335] 추가의 실시양태 6. 추가의 실시양태 5에 있어서, 서열식별번호: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 또는 51의 핵산 서열이 삽입된 세네카 벨리 바이러스 또는 그의 종양용해 단편의 서열을 포함하는 무장된 세네카 벨리 바이러스.
- [0336] 추가의 실시양태 7. 추가의 실시양태 5에 있어서, 서열식별번호: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 또는 52의 아미노산 서열을 코딩하는 핵산이 삽입된 세네카 벨리 바이러스 또는 그의 종양용해 단편의 서열을 포함하는 무장된 세네카 벨리 바이러스.

- [0337] 추가의 실시양태 8. 추가의 실시양태 5에 있어서, 서열식별번호: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 또는 52의 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 또는 적어도 99% 동일한 단백질을 코딩하는 핵산이 삽입된 세네카 밸리 바이러스 또는 그의 종양용해 단편의 서열을 포함하는 무장된 세네카 밸리 바이러스.
- [0338] 추가의 실시양태 9. 추가의 실시양태 5에 있어서, 서열식별번호: 13의 뉴클레오타이드 3508-3885, 서열식별번호: 14의 뉴클레오타이드 3505-3906, 서열식별번호: 15의 뉴클레오타이드 3508-3882, 서열식별번호: 15의 뉴클레오타이드 3508-4107, 서열식별번호: 16의 뉴클레오타이드 3508-4107, 서열식별번호: 17의 뉴클레오타이드 3508-4263, 또는 서열식별번호: 18의 뉴클레오타이드 3508-3861이 삽입된 세네카 밸리 바이러스 또는 그의 종양용해 단편의 서열을 포함하는 무장된 세네카 밸리 바이러스.
- [0339] 추가의 실시양태 10. 추가의 실시양태 5에 있어서, 서열식별번호: 13의 뉴클레오타이드 3508-3885, 서열식별번호: 14의 뉴클레오타이드 3505-3906, 서열식별번호: 15의 뉴클레오타이드 3508-3882, 서열식별번호: 15의 뉴클레오타이드 3508-4107, 서열식별번호: 16의 뉴클레오타이드 3508-4107, 서열식별번호: 17의 뉴클레오타이드 3508-4263, 또는 서열식별번호: 18의 뉴클레오타이드 3508-3861이 삽입된 세네카 밸리 바이러스 또는 그의 종양용해 단편의 서열을 포함하는 무장된 세네카 밸리 바이러스.
- [0340] 추가의 실시양태 11. 추가의 실시양태 5에 있어서, (a) 서열식별번호: 13의 뉴클레오타이드 1-7762에 대해 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 또는 적어도 99% 동일한 뉴클레오타이드 서열; (b) 서열식별번호: 14의 뉴클레오타이드 1-7783에 대해 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 또는 적어도 99% 동일한 뉴클레오타이드 서열; (c) 서열식별번호: 15의 뉴클레오타이드 1-7759에 대해 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 또는 적어도 99% 동일한 뉴클레오타이드 서열; (d) 서열식별번호: 16의 뉴클레오타이드 1-7984에 대해 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 또는 적어도 99% 동일한 뉴클레오타이드 서열; (e) 서열식별번호: 17의 뉴클레오타이드 1-8140에 대해 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 또는 적어도 99% 동일한 뉴클레오타이드 서열; 또는 (f) 서열식별번호: 18의 뉴클레오타이드 1-7738에 대해 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 또는 적어도 99% 동일한 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 무장된 세네카 밸리 바이러스.
- [0341] 추가의 실시양태 12. 추가의 실시양태 5에 있어서, 무장된 세네카 밸리 바이러스가 치료 단백질을 코딩하는 핵산 서열을 세네카 밸리 바이러스의 게놈 내로 단백질 2A 및 2B에 대한 코딩 서열들의 사이에 삽입함으로써 생성되고, 여기서 치료 단백질을 코딩하는 핵산은 (a) 서열식별번호: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 또는 51의 핵산; (b) 서열식별번호: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 또는 51의 핵산 서열에 대해 적어도 85%, 95%, 또는 99% 동일한 핵산; (c) 서열식별번호: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 또는 52의 아미노산 서열을 코딩하는 핵산; 또는 (d) 서열식별번호: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 또는 52의 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 또는 적어도 99% 동일한 단백질을 코딩하는 핵산을 포함하는 것인 무장된 세네카 밸리 바이러스.
- [0342] 추가의 실시양태 13. 추가의 실시양태 1-12 중 어느 하나에 있어서, 세네카 밸리 바이러스가 SVV-001인 무장된 세네카 밸리 바이러스.
- [0343] 추가의 실시양태 14. 추가의 실시양태 13에 있어서, (a) 서열식별번호: 13의 뉴클레오타이드 1-7762; (b) 서열식별번호: 14의 뉴클레오타이드 1-7783; (c) 서열식별번호: 15의 뉴클레오타이드 1-7759; (d) 서열식별번호: 16의 뉴클레오타이드 1-7984; (e) 서열식별번호: 17의 뉴클레오타이드 1-8140; 또는 (f) 서열식별번호: 18의 뉴클레오타이드 1-7738을 포함하는 무장된 세네카 밸리 바이러스.
- [0344] 추가의 실시양태 15. 서열식별번호: 19의 뉴클레오타이드 1-7891에 대해 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 99%, 또는 100% 동일한 핵산이 삽입된 세네카 밸리 바이러스 또는 그의 종양용해 단편의 서열을 포함하는 무장된 세네카 밸리 바이러스.
- [0345] 추가의 실시양태 16. 추가 실시양태 1-15 중 어느 하나에 있어서, 무장된 세네카 밸리 바이러스가 종양용해성이고, 무장된 세네카 밸리 바이러스가 암을 치료할 수 있는 치료제 또는 그의 기능적 단편을 발현하는 것인 무장된 세네카 밸리 바이러스.
- [0346] 추가의 실시양태 17. 추가의 실시양태 1-16 중 어느 하나의 무장된 세네카 밸리 바이러스를 포함하는 벡터.
- [0347] 추가의 실시양태 18. 추가의 실시양태 1-16 중 어느 하나의 무장된 세네카 밸리 바이러스를 포함하는 플라스미드

드.

- [0348] 추가의 실시양태 19. 추가의 실시양태 18에 있어서, 서열식별번호: 13-18 또는 53-64의 핵산 서열을 포함하는 플라스미드.
- [0349] 추가의 실시양태 20. 추가의 실시양태 18에 있어서, 서열식별번호: 13-18 또는 53-64의 핵산 서열에 대해 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95% 또는 적어도 99% 동일한 핵산을 포함하는 플라스미드.
- [0350] 추가의 실시양태 21. 추가의 실시양태 18에 있어서, 서열식별번호: 13-18 또는 53-64의 핵산 서열 중 어느 하나에서의 뉴클레오티드 677-8050에 대해 적어도 85% 또는 적어도 90% 동일한 핵산을 포함하는 플라스미드.
- [0351] 추가의 실시양태 22. 관심 치료 단백질을 코딩하는 핵산을 세네카 벨리 바이러스 또는 그의 종양용해 단편 내로 삽입하는 것을 포함하는, 무장된 세네카 벨리 바이러스를 생성하는 방법.
- [0352] 추가의 실시양태 23. 추가의 실시양태 22에 있어서, 관심 단백질이 인터류킨, 케모카인, 또는 체크포인트 억제제로서 작용하는 나노바디를 포함하는 것인 방법.
- [0353] 추가의 실시양태 24. 추가의 실시양태 23에 있어서, 관심 치료 단백질이 항-PD-L1 나노바디, IL-2, CXCL9, IL-15, IL-2/IL-15, TGF- β 디코이, NfsA를 포함하는 것인 방법.
- [0354] 추가의 실시양태 25. 추가의 실시양태 22-24 중 어느 하나에 있어서, 관심 치료 단백질이 IL-2, CXCL-9, 또는 IL-2/IL-15를 포함하는 것인 방법.
- [0355] 추가의 실시양태 26. 추가의 실시양태 22-26 중 어느 하나에 있어서, 세네카 벨리 바이러스 또는 그의 종양용해 단편, 및 관심 치료 단백질을 코딩하는 핵산을 포함하는 플라스미드를 구축하는 단계; 플라스미드를 선형화하여 3' 말단을 규정하는 단계; T7 폴리머라제를 사용한 시험관내 전사 반응으로 진정한 5' 및 3' 말단을 갖는 RNA 전사체를 생성하는 단계; RNA 전사체를 표적 세포 내로 형질감염시키는 단계; 및 무장된 SVV 바이러스를 단리하는 단계를 포함하는 방법.
- [0356] 추가의 실시양태 27. 추가의 실시양태 22-27 중 어느 하나에 있어서, T7 폴리머라제 최적화된 포유동물 발현 플라스미드를 표적 세포 내로 클로닝하는 단계; 세네카 벨리 바이러스 또는 그의 종양용해 단편, 및 관심 치료 단백질을 코딩하는 핵산을 포함하는 선형화된 무장된 SVV 플라스미드를 제공하는 단계; 무장된 SVV 플라스미드를 T7-pol 표적 세포 내로 형질감염시키는 단계; 및 무장된 세네카 벨리 바이러스를 단리하는 단계를 포함하는 방법.
- [0357] 추가의 실시양태 28. 추가의 실시양태 27에 있어서, 세네카 벨리 바이러스 또는 그의 종양용해 단편, 및 관심 치료 단백질을 코딩하는 핵산을 포함하는 플라스미드를 구축하는 것을 추가로 포함하는 방법.
- [0358] 추가의 실시양태 29. 추가의 실시양태 28에 있어서, 선형화된 무장된 SVV 플라스미드를 생성하는 것을 추가로 포함하는 방법.
- [0359] 추가의 실시양태 30. 추가의 실시양태 22-29 중 어느 하나에 있어서, 핵산이 세네카 벨리 바이러스의 게놈 내로 단백질 2A 및 2B에 대한 코딩 서열들의 사이에 삽입되는 것인 방법.
- [0360] 추가의 실시양태 31. 추가의 실시양태 22-30 중 어느 하나에 있어서, 세네카 벨리 바이러스가 SVV-001인 방법.
- [0361] 추가의 실시양태 32. 추가의 실시양태 22-31 중 어느 하나에 있어서, 무장된 세네카 벨리 바이러스가 종양용해성이고, 무장된 세네카 벨리 바이러스가 암을 치료할 수 있는 치료제 또는 그의 기능적 단편을 발현하는 것인 방법.
- [0362] 추가의 실시양태 33. 추가의 실시양태 22-32 중 어느 하나에 있어서, 서열식별번호: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49 또는 51의 핵산, 또는 서열식별번호: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50 또는 52의 아미노산 서열을 코딩하는 핵산을 세네카 벨리 바이러스 또는 그의 종양용해 단편 내로 삽입하는 것을 포함하는 방법.
- [0363] 추가의 실시양태 34. 추가의 실시양태 22-32 중 어느 하나에 있어서, 방법이 핵산을 세네카 벨리 바이러스 또는 그의 종양용해 단편 내로 삽입하는 것을 포함하며, 여기서 핵산은 서열식별번호: 13의 뉴클레오티드 1-7762; 서열식별번호: 14의 뉴클레오티드 1-7783; 서열식별번호: 15의 뉴클레오티드 1-7759; 서열식별번호: 16의 뉴클레오티드 1-7984; 서열식별번호: 17의 뉴클레오티드 1-8140; 또는 서열식별번호: 18의 뉴클레오티드 1-7738에 대해 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 99%, 또는 100% 동일한 것인 방법.

- [0364] 추가의 실시양태 35. 암의 치료를 필요로 하는 대상체에게 유효량의 추가의 실시양태 1-16 중 어느 하나의 무장된 세네카 벨리 바이러스를 투여하는 것을 포함하는, 상기 대상체에서 암을 치료하는 방법.
- [0365] 추가의 실시양태 36. 추가의 실시양태 35에 있어서, 대상체에게 체크포인트 억제제, PD-1 억제제, PD-L1 억제제, CTLA-4 억제제, 시토카인, 성장 인자, 광감작제, 독소, siRNA 분자, 신호전달 조정제, 항암 항생제, 항암 항체, 혈관신생 억제제, 화학요법 화합물, 항전이성 화합물, 면역요법 화합물, CAR 요법, 수지상 세포-기반 요법, 암 백신, 종양용해 바이러스, IFN-I 억제제, 조작된 항암 바이러스 또는 바이러스 유도체, 및 그의 임의의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 하나의 항암 치료제를 투여하는 것인 방법.
- [0366] 추가의 실시양태 37. 추가의 실시양태 35 또는 36에 있어서, 적어도 하나의 항암 치료제가 무장된 세네카 벨리 바이러스의 투여 이전에, 그와 동시에, 또는 후속적으로 투여되는 것인 방법.
- [0367] 추가의 실시양태 38. 추가의 실시양태 35-37 중 어느 하나에 있어서, 대상체에게 HDAC 억제제, JAK/STAT 억제제, IFN 억제제, IFN 항체, IFN- α 수용체 1 항체, IFN- α 수용체 2 항체 및 바이러스 펩티드, 및 그의 임의의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 하나의 추가의 IFN-I 억제제를 추가로 투여하는 것인 방법.
- [0368] 추가의 실시양태 39. 추가의 실시양태 35-38 중 어느 하나에 있어서, HDAC 억제제가 트리코스타틴 A인 방법.
- [0369] 추가의 실시양태 40. 추가의 실시양태 35-38 중 어느 하나에 있어서, JAK/STAT 억제제가 스타우로스포린인 방법.
- [0370] 추가의 실시양태 41. 추가의 실시양태 35-40 중 어느 하나에 있어서, 암이 삼중 음성 유방암, 소세포 폐암, 비소세포 폐암, 비소세포 편평세포 암종, 선암종, 교모세포종, 피부암, 간세포성 암종, 결장암, 자궁경부암, 난소암, 자궁내막암, 신경내분비암, 췌장암, 갑상선암, 신장암, 골암, 식도암 또는 연부조직암을 포함하는 것인 방법.
- [0371] 추가의 실시양태 42. 추가의 실시양태 35-41 중 어느 하나에 있어서, 암 치료의 성공이 무장되지 않은 세네카 벨리 바이러스를 사용한 치료에 비해 개선되는 것인 방법.
- [0372] 추가의 실시양태 43. 추가의 실시양태 1-10 중 어느 하나의 무장된 세네카 벨리 바이러스 및 제약상 허용되는 담체를 포함하는, 암의 치료를 필요로 하는 대상체에서 암을 치료하기 위한 제약 조성물.
- [0373] 추가의 실시양태 44. 추가의 실시양태 43에 있어서, 체크포인트 억제제, PD-1 억제제, PD-L1 억제제, CTLA-4 억제제, 시토카인, 성장 인자, 광감작제, 독소, siRNA 분자, 신호전달 조정제, 항암 항생제, 항암 항체, 혈관신생 억제제, 화학요법 화합물, 항전이 화합물, 면역요법 화합물, CAR 요법, 수지상 세포-기반 요법, 암 백신, 종양용해 바이러스, IFN-I 억제제, 조작된 항암 바이러스 또는 바이러스 유도체, 및 그의 임의의 조합을 추가로 포함하는 제약 조성물.
- [0374] 추가의 실시양태 45. 추가의 실시양태 43에 있어서, 암이 삼중 음성 유방암, 소세포 폐암, 비소세포 폐암, 비소세포 편평세포 암종, 선암종, 교모세포종, 피부암, 간세포성 암종, 결장암, 자궁경부암, 난소암, 자궁내막암, 신경내분비암, 췌장암, 갑상선암, 신장암, 골암, 식도암 또는 연부조직암을 포함하는 것인 제약 조성물.
- [0375] 추가의 실시양태 46. 추가의 실시양태 1-16 중 어느 하나에 있어서 암을 치료하기 위한 의약의 제조에 사용하기 위한 무장된 세네카 벨리 바이러스.
- [0376] 추가의 실시양태 47. 추가의 실시양태 46에 있어서, 암이 삼중 음성 유방암, 소세포 폐암, 비소세포 폐암, 비소세포 편평세포 암종, 선암종, 교모세포종, 피부암, 간세포성 암종, 결장암, 자궁경부암, 난소암, 자궁내막암, 신경내분비암, 췌장암, 갑상선암, 신장암, 골암, 식도암 또는 연부조직암을 포함하는 것인 용도.
- [0377] 추가의 실시양태 48. 암을 치료하기 위한, 추가 실시양태 1-10 중 어느 하나의 무장된 세네카 벨리 바이러스의 용도.
- [0378] 추가의 실시양태 49. 추가의 실시양태 48에 있어서, 암이 삼중 음성 유방암, 소세포 폐암, 비소세포 폐암, 비소세포 편평세포 암종, 선암종, 교모세포종, 피부암, 간세포성 암종, 결장암, 자궁경부암, 난소암, 자궁내막암, 신경내분비암, 췌장암, 갑상선암, 신장암, 골암, 식도암 또는 연부조직암을 포함하는 것인 용도.
- [0379] 추가의 실시양태 50. 서열식별번호: 19의 뉴클레오타이드 1-7891을 포함하는 무장된 세네카 벨리 바이러스.
- [0380] 추가의 실시양태 51. 핵산 서열을 세네카 벨리 바이러스의 게놈 내로 단백질 2A 및 2B에 대한 코딩 서열들의 사이에 삽입함으로써 생성되며, 여기서 핵산 서열은 서열식별번호: 19의 뉴클레오타이드 3508-4014; 또는 서열식별

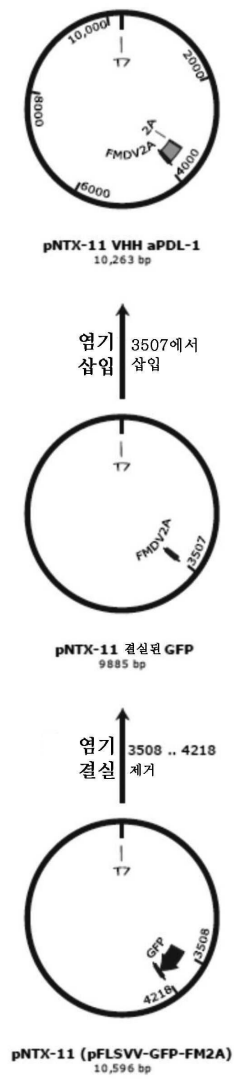
번호: 19의 뉴클레오타이드 3508-4014에 대해 적어도 85%, 적어도 95%, 또는 적어도 99% 동일한 핵산 서열을 포함하는 것인 무장된 세네카 밸리 바이러스.

[0381] 추가의 실시양태 52. 서열식별번호: 19의 뉴클레오타이드 1-7891을 포함하는 벡터 또는 플라스미드.

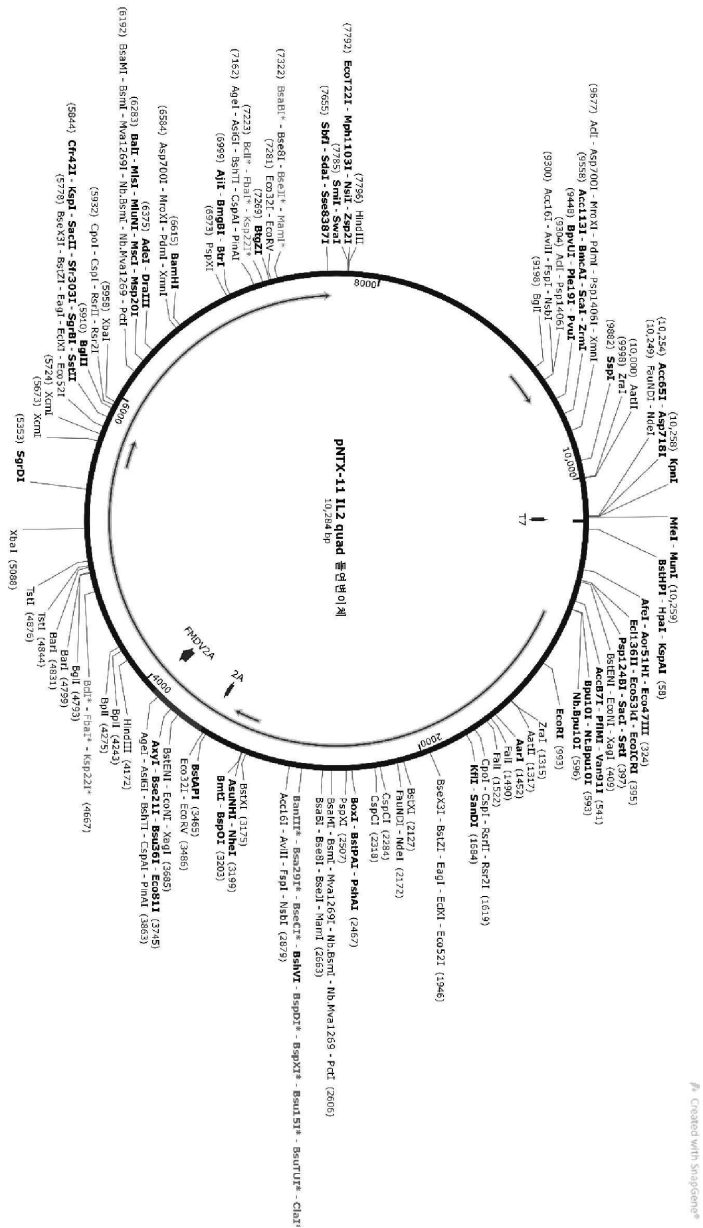
[0382] 본 개시내용이 그의 바람직한 구체적 실시양태와 함께 기재되었지만, 상기 기재 및 뒤이은 실시예는 본 개시내용을 예시하는 것으로 의도되며, 본 개시내용의 범주를 제한하지 않는 것으로 이해되어야 한다. 본 개시내용의 범주를 벗어나지 않으면서 다양한 변화가 이루어질 수 있고 등가물이 대체될 수 있으며, 추가로 다른 측면, 이점 및 변형이 본 개시내용이 속하는 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 명백할 것이 관련 기술분야의 통상의 기술자에 의해 이해될 것이다. 본원에 기재된 실시양태에 추가로, 본 개시내용은 본원에 인용된 개시내용의 특색과 본 개시내용의 특색을 보완하는 인용된 선행 기술 참고문헌의 특색의 조합으로부터 생성된 본 발명을 고려하고 청구한다. 유사하게, 임의의 기재된 물질, 특색 또는 물품은 임의의 기타 물질, 특색 또는 물품과 조합하여 사용될 수 있고, 이러한 조합은 본 개시내용의 범주 내에 있는 것으로 간주된다는 것이 인지될 것이다.

[0383] 본원에 인용되거나 기재된 각각의 특허, 특허 출원 및 공보의 개시내용은 모든 목적을 위해 각각 그 전문이 본원에 참조로 포함된다.

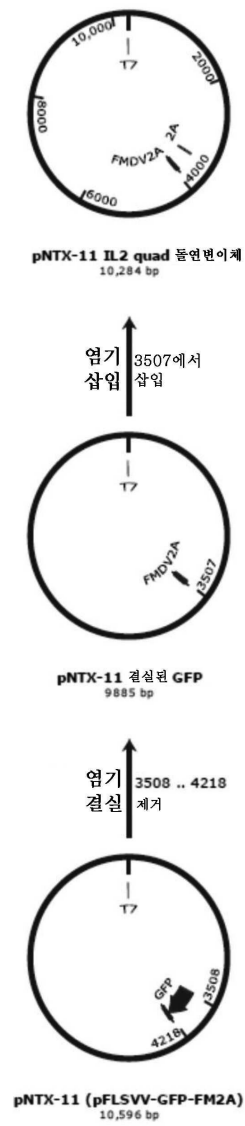
도면2



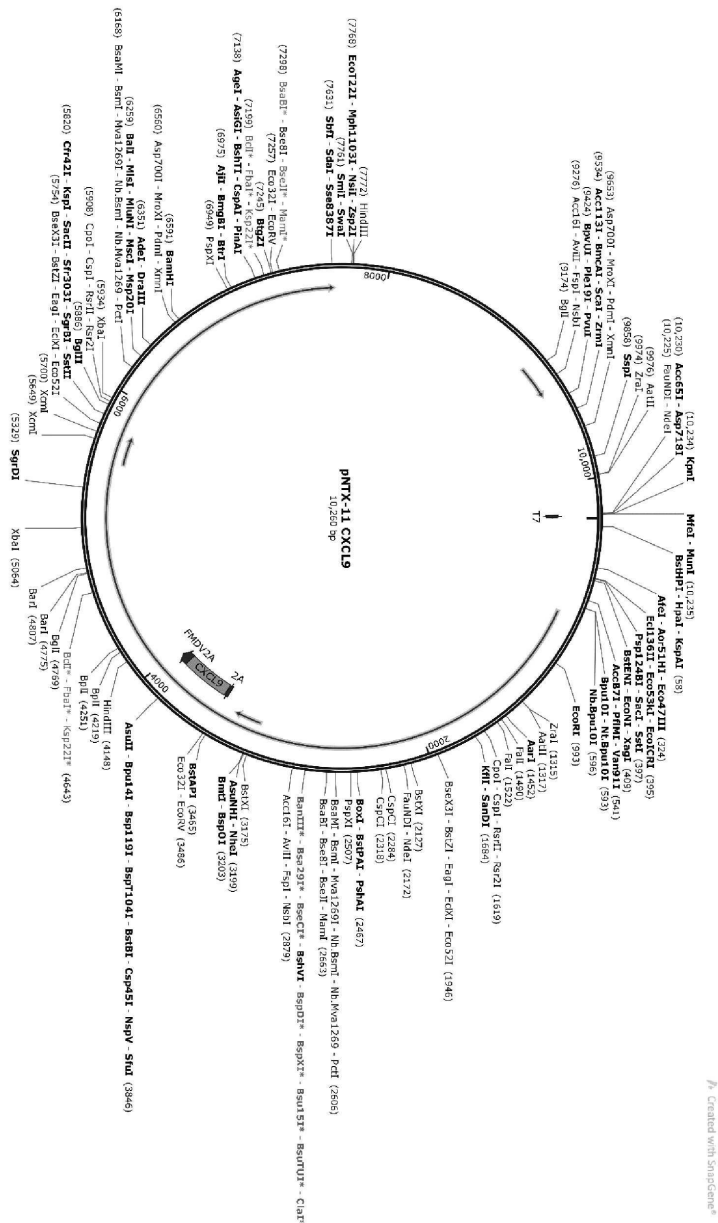
도면3



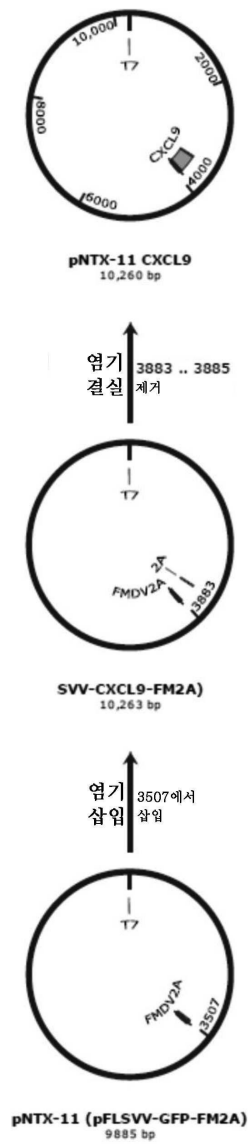
도면4



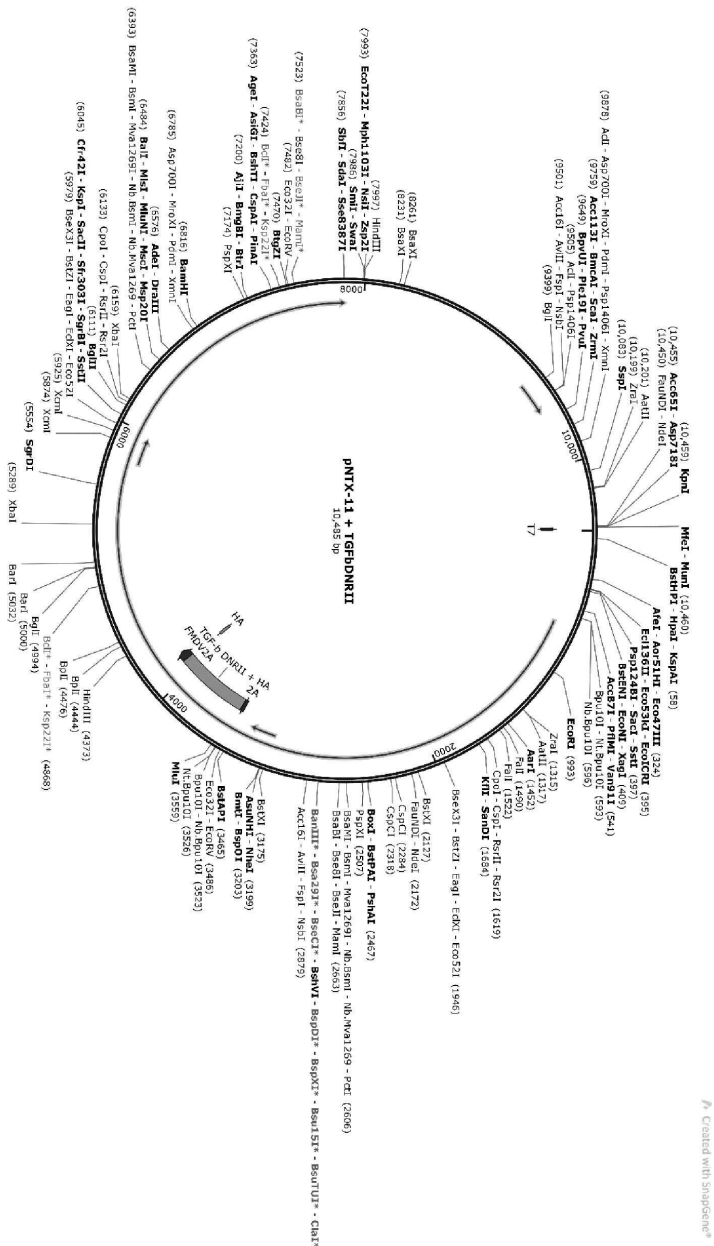
도면5



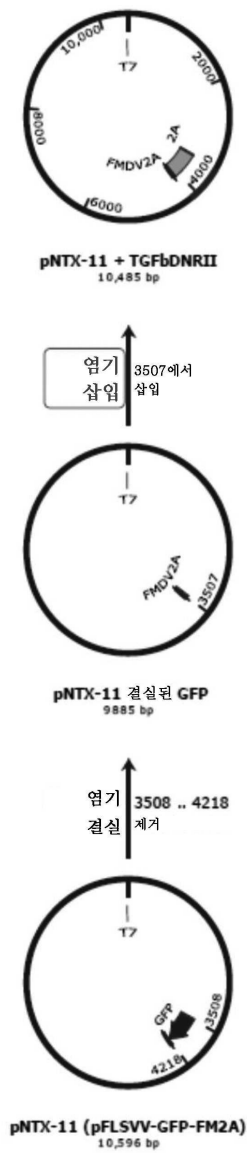
도면6



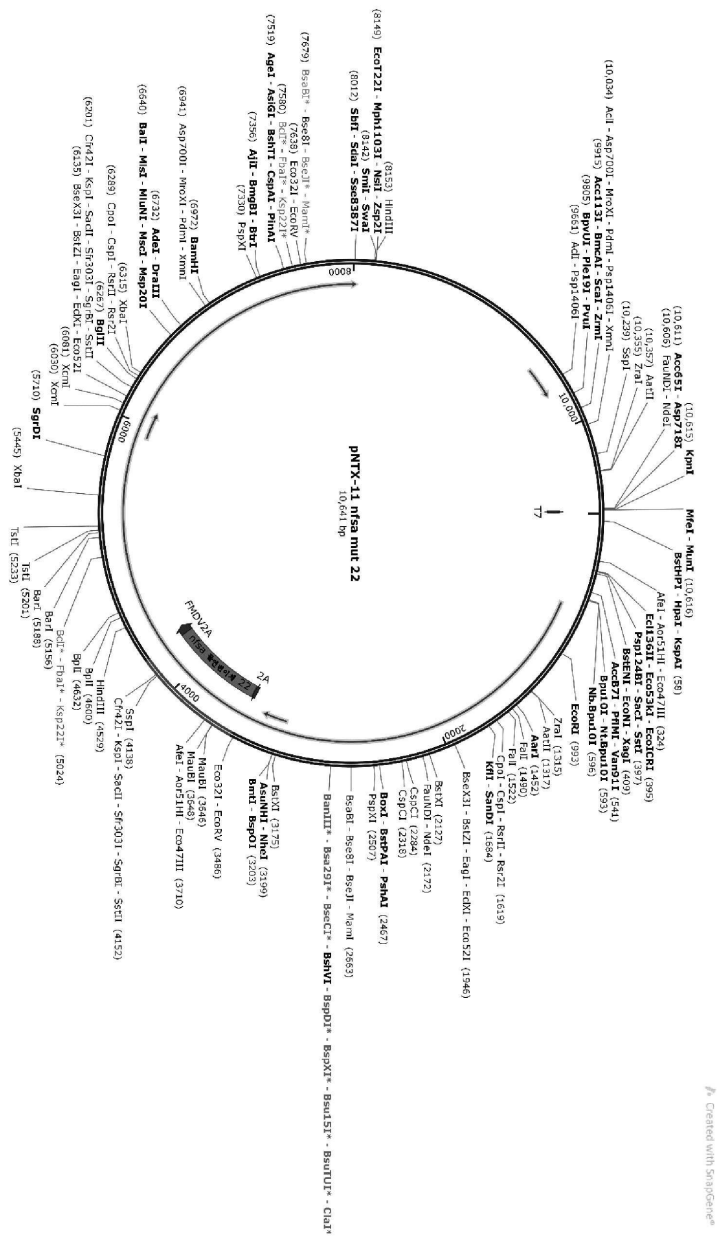
도면7



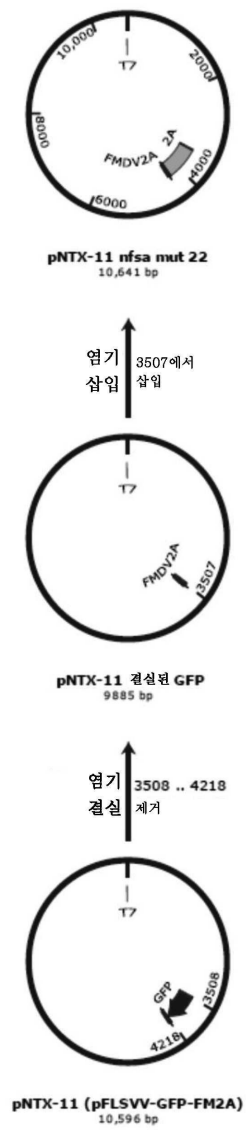
도면8



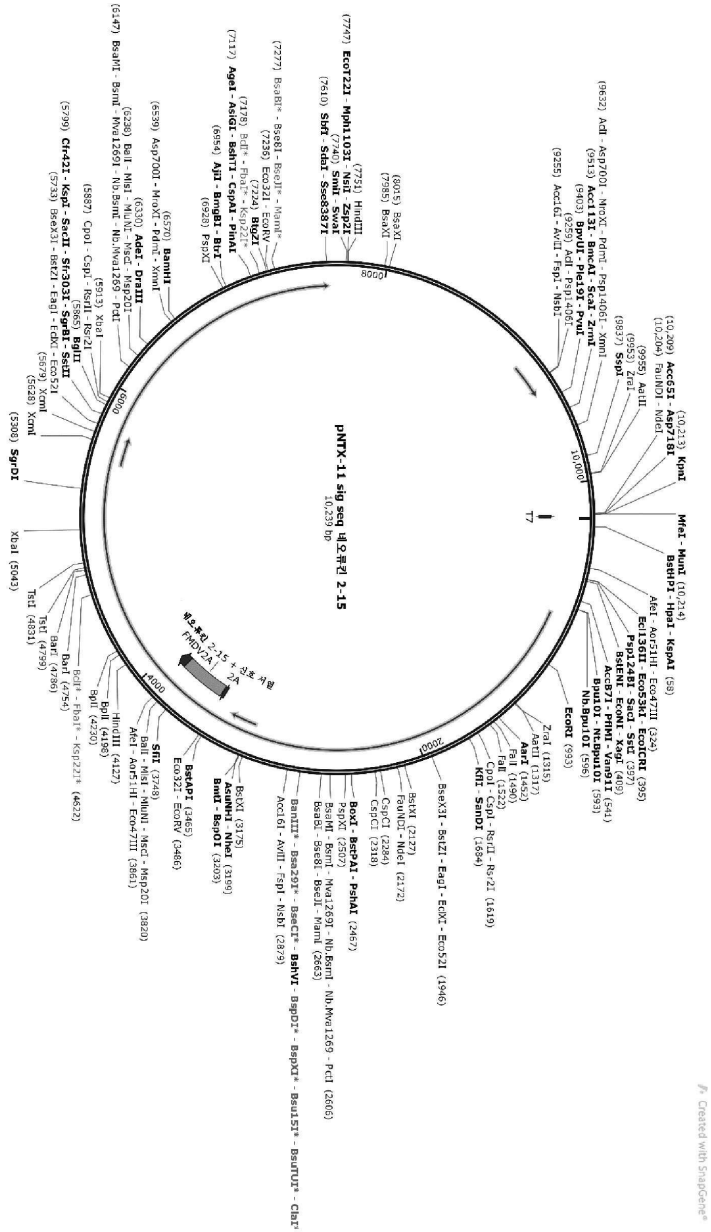
도면9



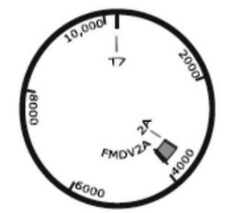
도면10



도면11



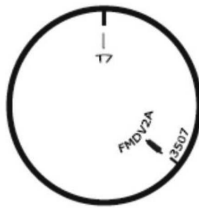
도면12



pNTX-11 sig seq 네오류진 2-15
10,239 bp

염기
삽입

3507에서
삽입



pNTX-11 결실된 GFP
9885 bp

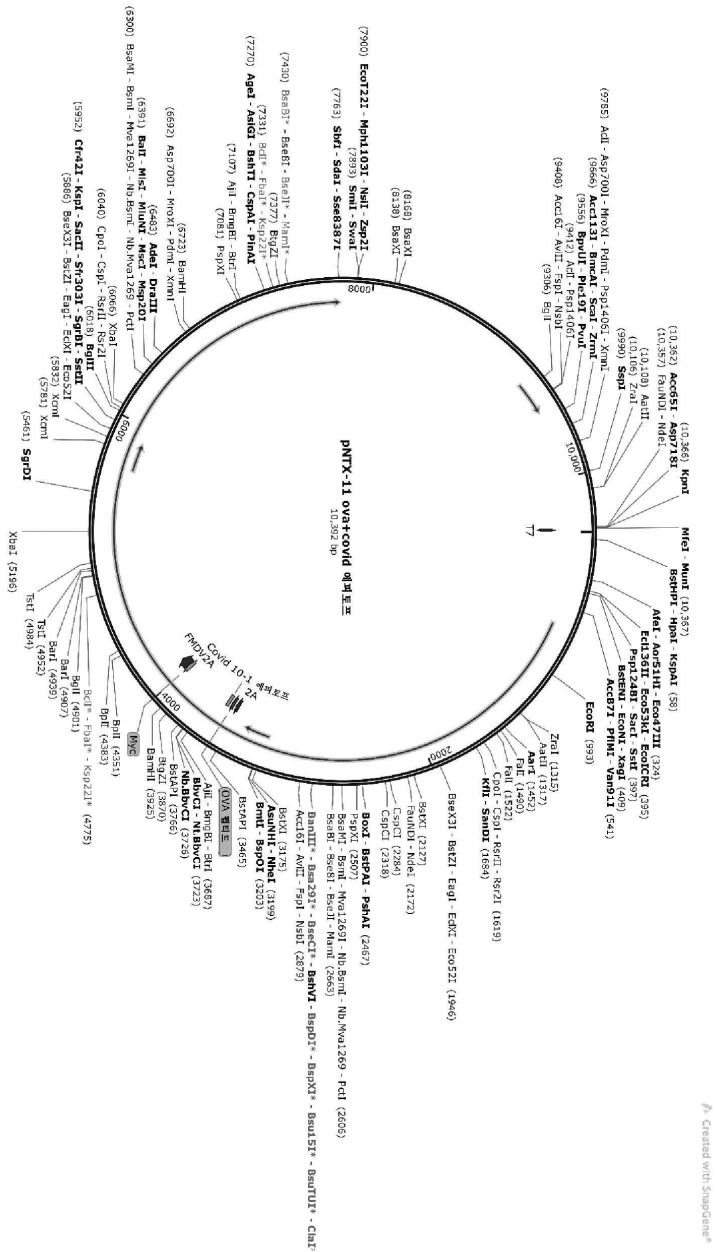
염기
결실

3508 .. 4218
제거

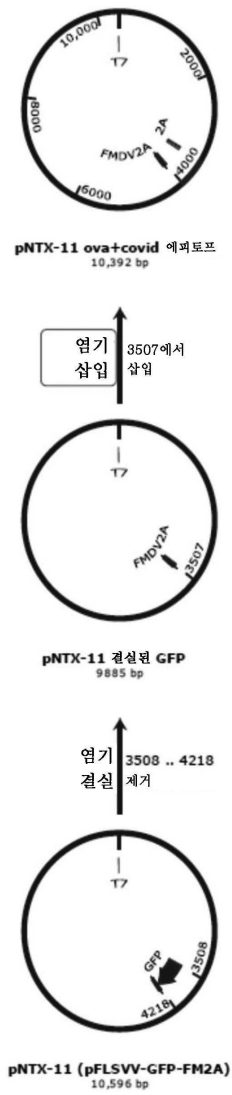


pNTX-11 (pFLSVV-GFP-FM2A)
10,596 bp

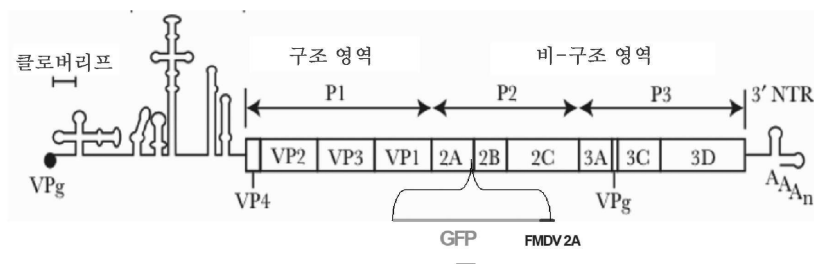
도면 13



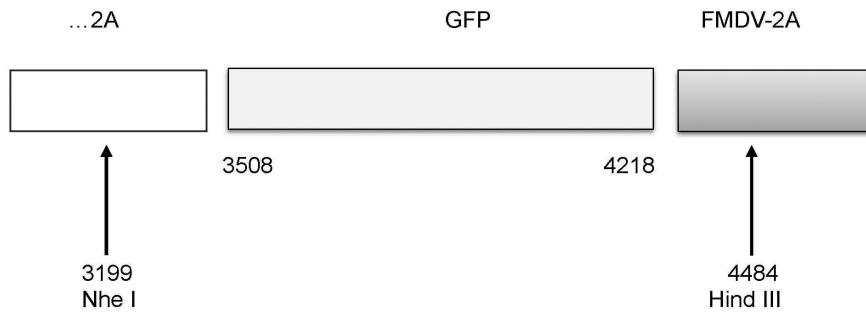
도면14



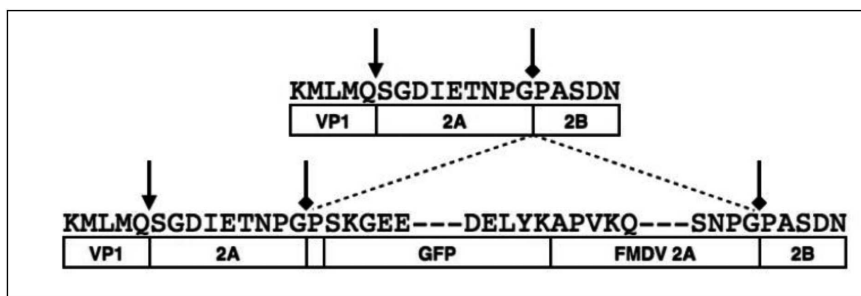
도면15a



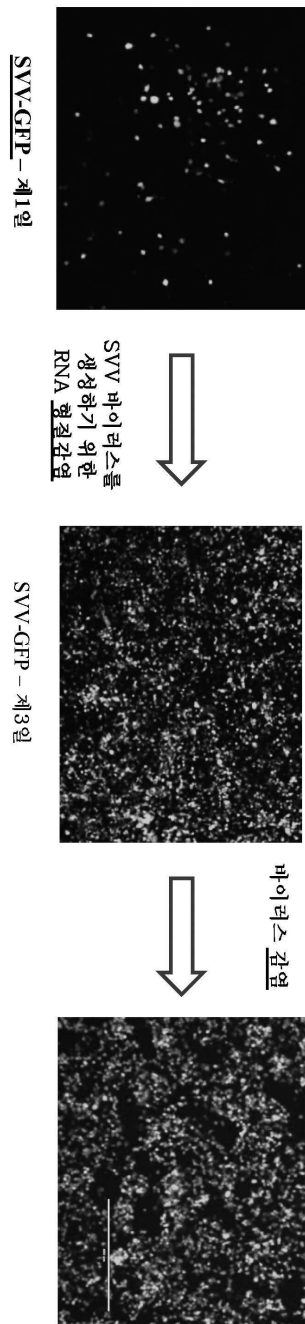
도면15b



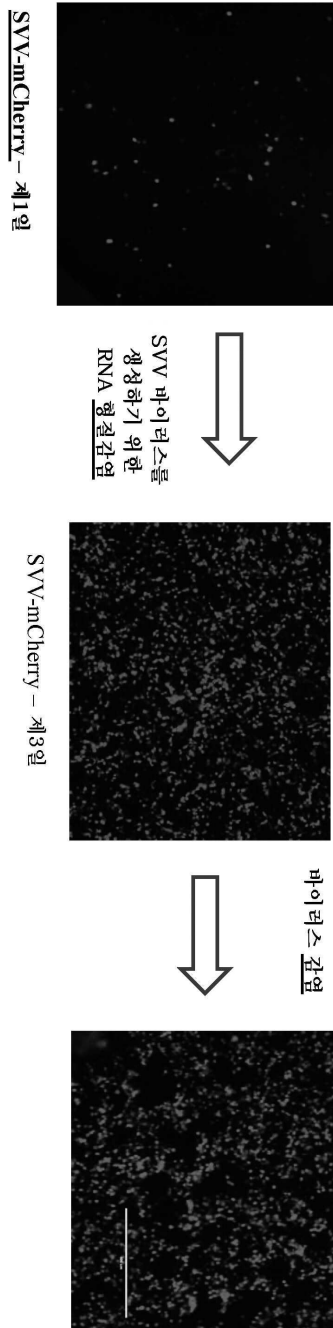
도면15c



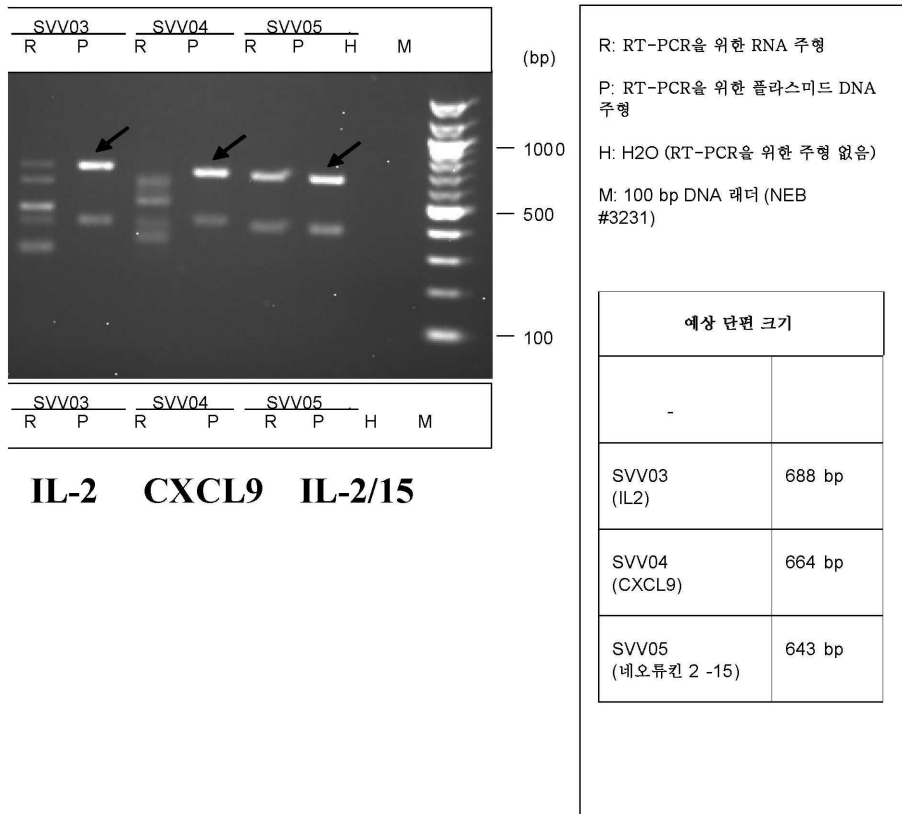
도면16a



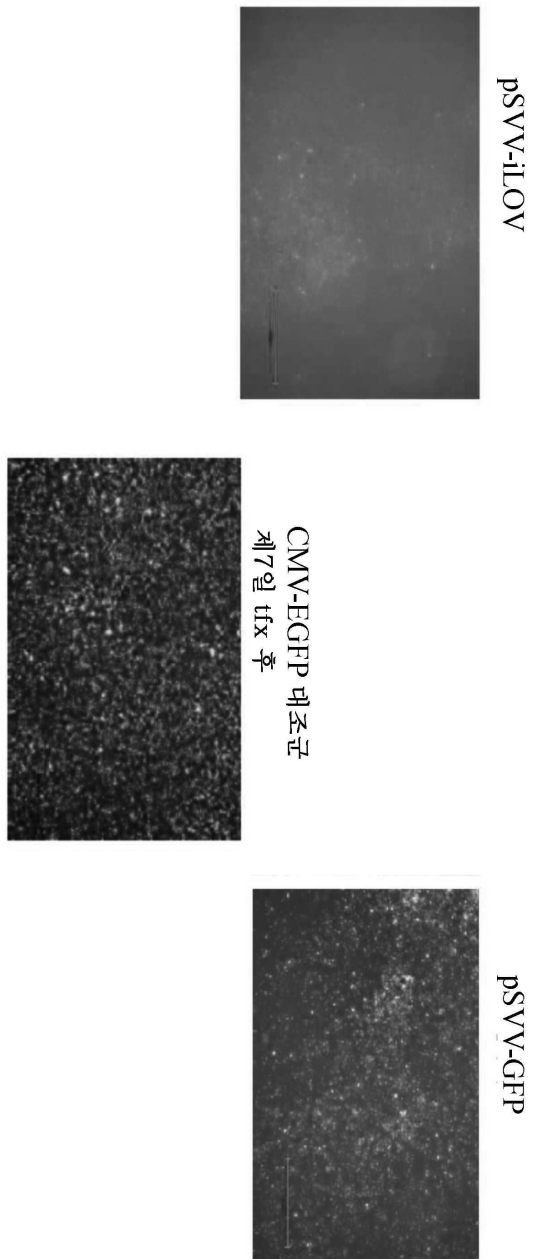
도면16b



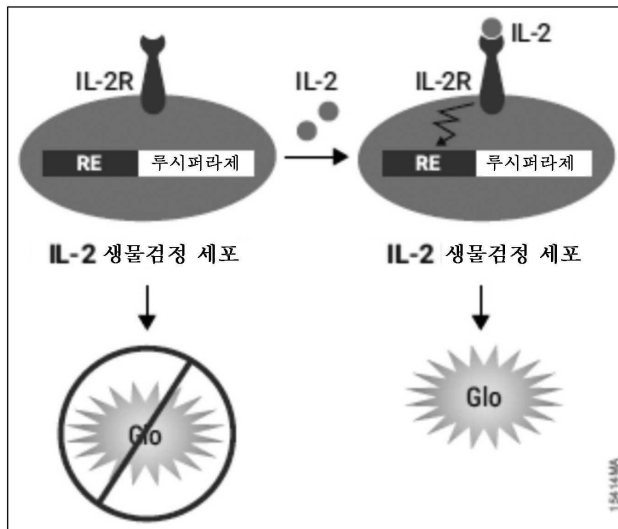
도면17



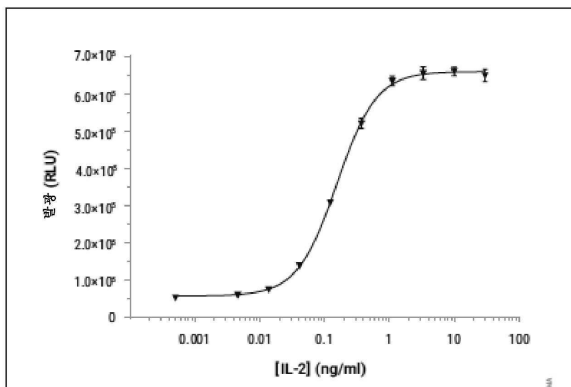
도면18



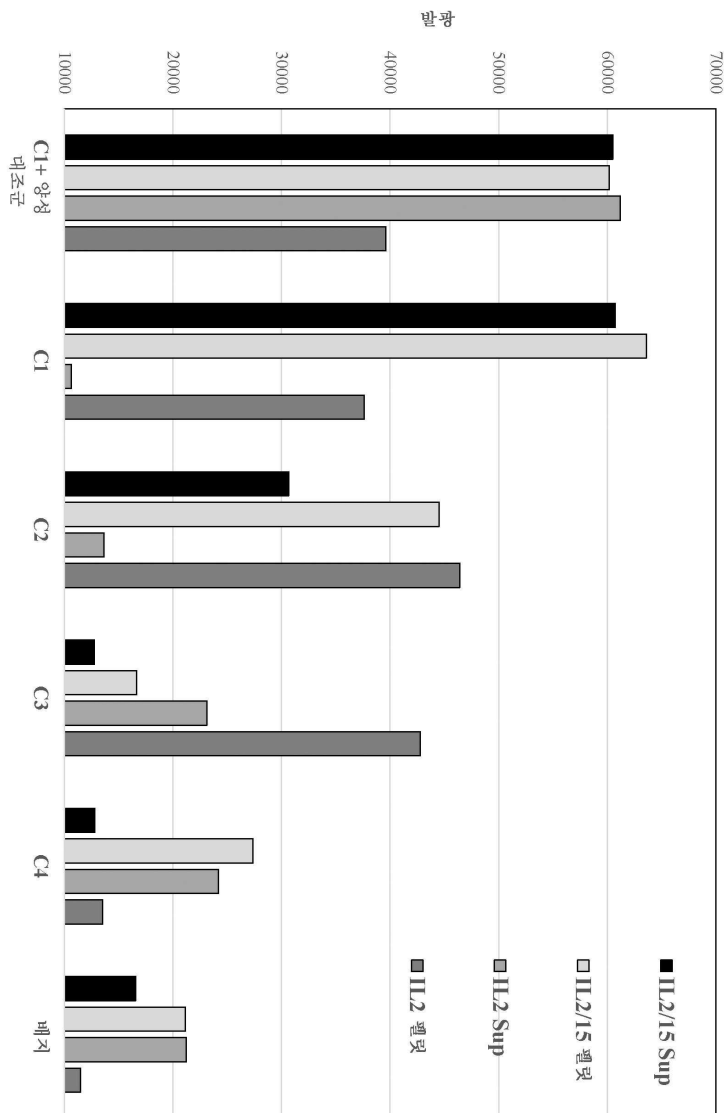
도면19a



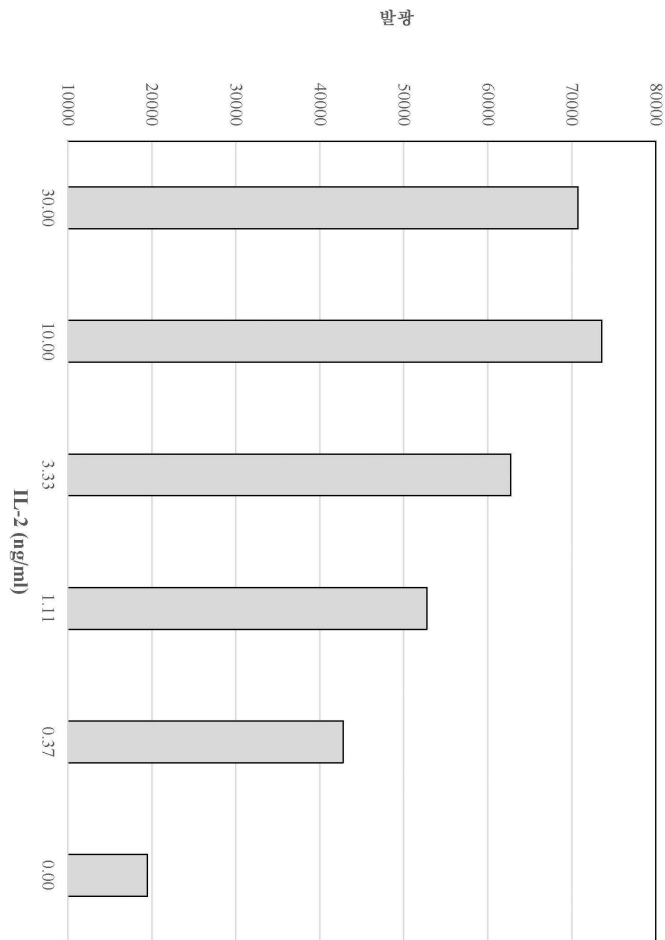
도면19b



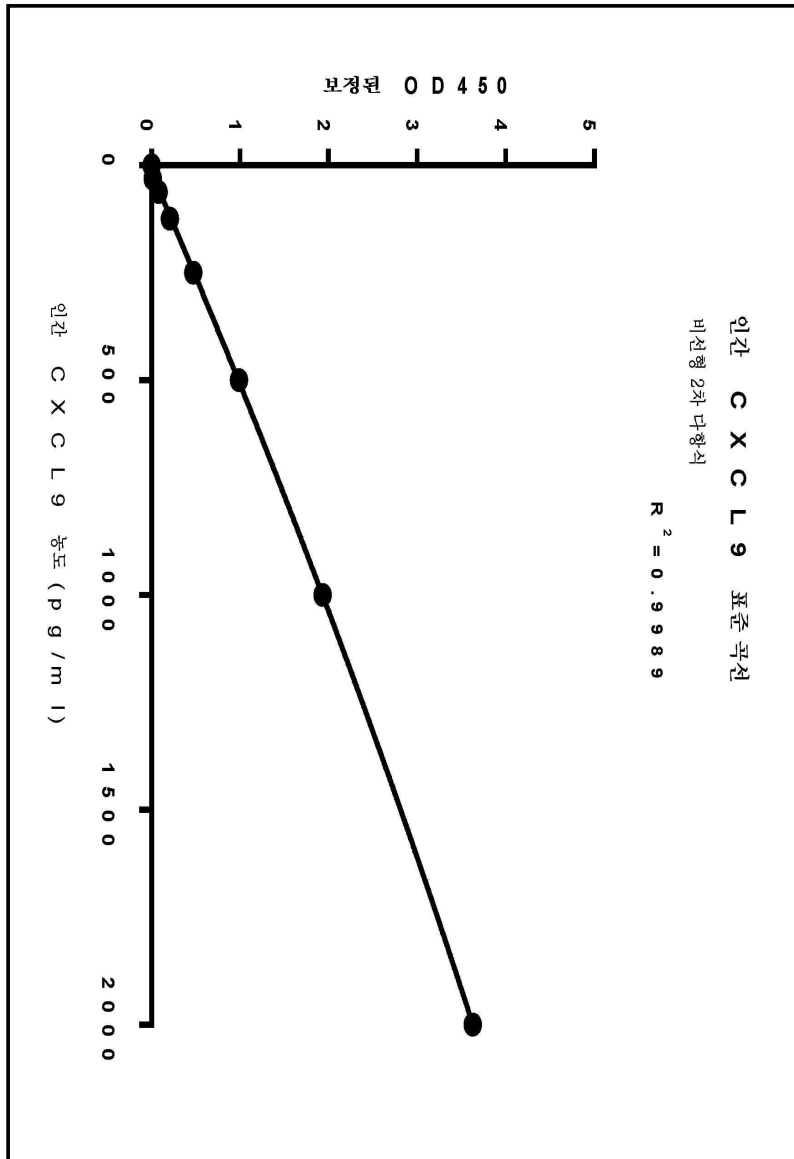
도면20a



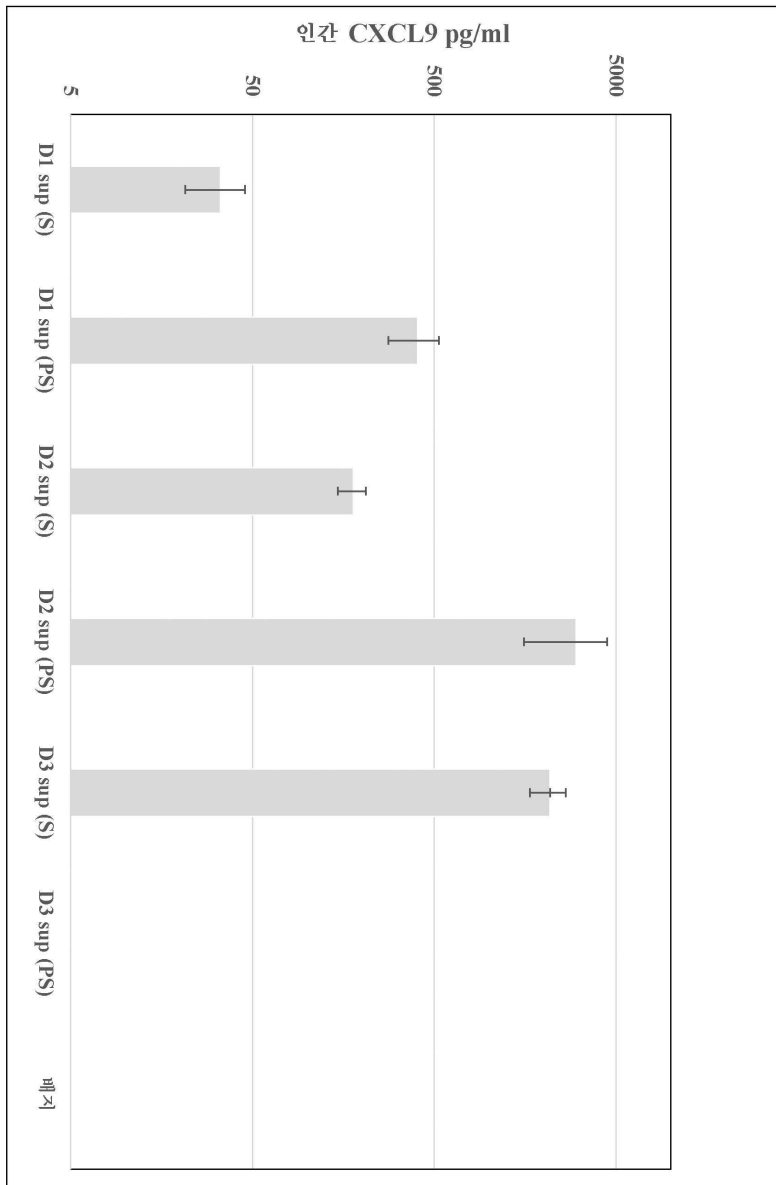
도면20b



도면21a



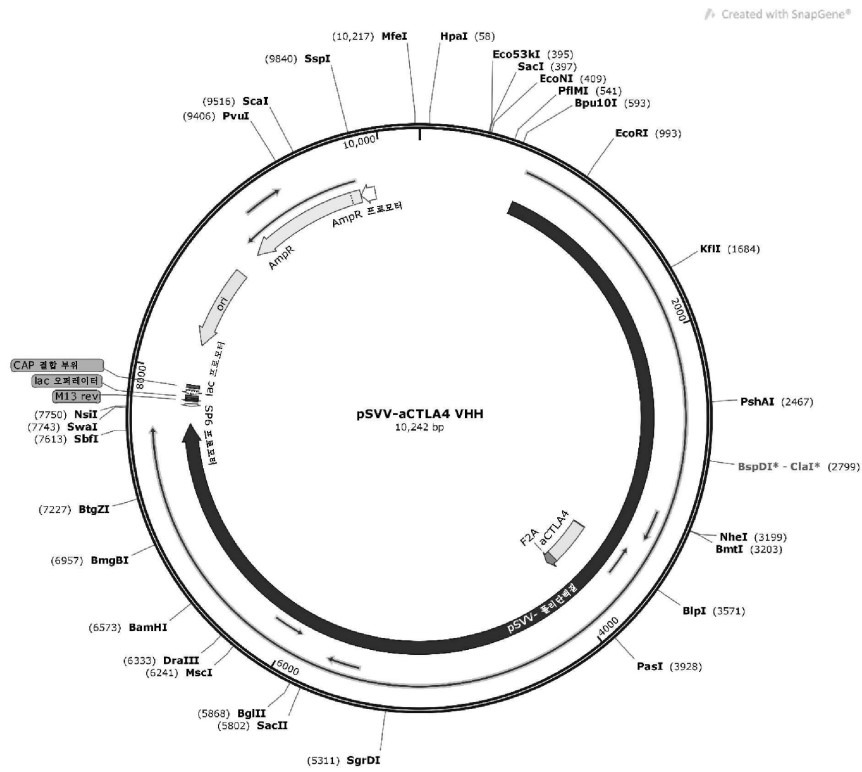
도면21b



도면 22ab

[illegible]

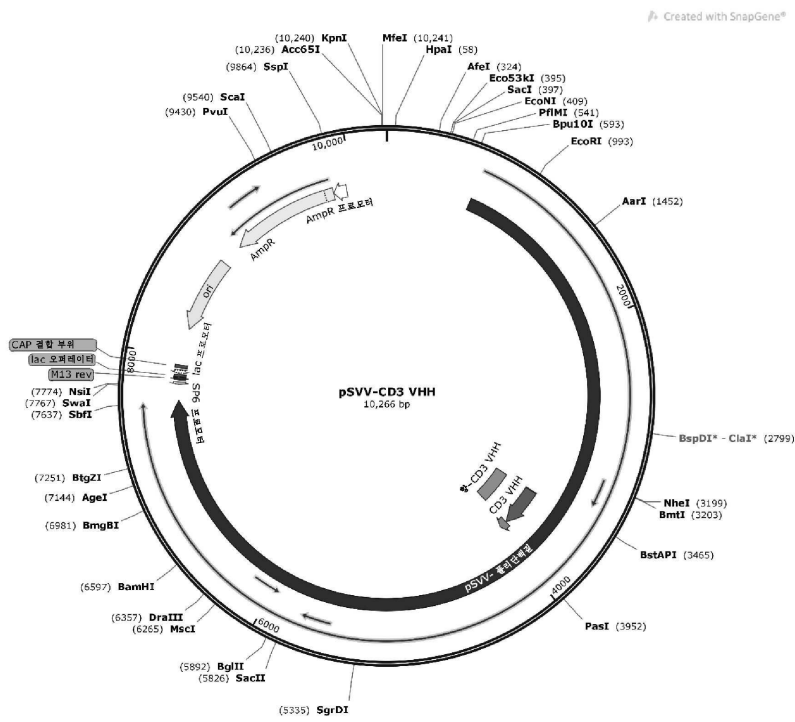
도면22b



[illegible]

[illegible]

도면23b



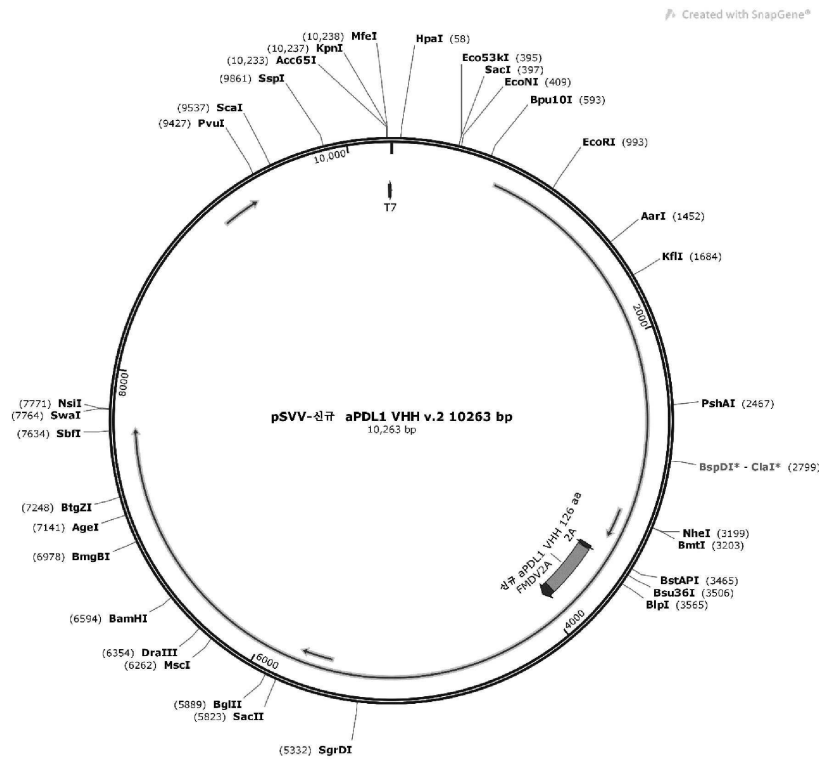
도면24ab

[illegible]

도면24ac

GCTCACTGACTCGCTGCGCTCGGTCGTTCCGGCTCGGGGAGCGGTTATCAGCTCACTCAAAAGCGGTATATACGGTTATCCACAGATCAGGGGATTAACGCAGGAAG
AACATGTGACAAAAGGCCAAGAAAAGCCAGAACCGTAAAGCCGCGCTTGTGCGGTTTTTCATATAGGCTCCGCCCTGACGAGCATCAAAAATCGAC
GCTCAAGTCAGAGTGGCGAACCAGAGACTATAAATACGAGCGCTTCCCTCGAAGCTCCCTCGGCGCTCTCCTGCTCCGACCTGCCCTTACCGG
ATACCTGTCGGCTTCTCCCTTCGGGAAGCTGGCGCTTCTCATAGCTCAGCTGTAGGTATCTCAGTTCGGTGTAGTCTGTCGTCAGAGCTGGGCTGTGTG
CAGAACCCCGCTTCAGCCGACCGCTGGCGCTTATCCGGTAACCTATCGTTGATGTCGAACCCGGTAAGACACGACTTATCGCACTGGAGCGACACTGTGTA
ACAGATTAGCAGAGCGAGGTATGAGCGGTGCGCTACAGAGTTCTTGAAGTGGCCTAACACGCTACACTAGAAACAGATATTTGGTATCTGGCTCTGCT
GAAGCATTTACCTTCGAAAAAGATTGGTAGCTTTGATCCGGCAACAAACACACCGCTGGTAGCGGTGTTTTTTTGTTCAGACAGACATTAACGCGCAGA
AAAAAGGATCTCAAGAGATCCTTGTGATCTTTCTACGGGATCTGACGCTCAGTGAACGAAACTCAGCTTAAGGATTTGGTCATGAGATTATCAAAAAGGA
TCTTCACCTAGATCCTTTTAATTAATAATGAAGTTTAATCAATCAATGAATATATAGATTAATGAGTAACTTGGTCTGACAGTTAACCATGCTTAATCAGGAGCAC
TATTCAGCGATCTGTCTATTTGCTTCATCCATATGTTGCTGACTCCCGTGTGTGATTAATACGATACGGGAAGGCTTACCATCTGGCCCACTGCTGCATG
ATACCGCAGACCCAGCTCACCGGCTCAGATTATACGAATAAACAGCAGCCGAGCGCAGAGGCGCAAGTGGTCTGCAACTTTATCCGCTCCATCC
AGTCTATTTATTTGTCGGGGAAGCTAGATAGTAGTTCCGCAAGTTTGGCGAAGTTGTGCCATTTGCTACAGGCATCGTGGTCTACGCTCGTCTG
TGTATGCGCTCATTCAGCTCCGCTCCAACGATCAAGGAGTTAGATGATCCCCATGTTGTGCAAAAAAGCGTTAGCTCTTGCGTCTCCGATCGTTGTG
AGAAGTAAAGTTGGCCGACGTATCTCATGTTATGCGAGACTGATGATATCTCTTACTGTGTCGATCGCATCCGTAAGATGCTTTTCTGTGACTGGTAGTACT
CAACGAGTCACTTCTGAGATAGTGTATGGGCGCACCGAGTTGCTCTGCGCGGCTCAATACGGGATATACCGGCCCATAGCAAACTTTAAAGTGTCTCAT
CATTTGAAAAACGTTCTTCGGGGGAAAACTCTCAAGATCTTACCGCTGTTGAGATCCAGTTGATGTAAACCCACTGTGCAACCACTGATCTTCAGACATCTTTT
ACTTTCACCAAGCGTTCTGGGTGAGCAAAAACAGAGGCAAAATGCCGCAAAAAGGAATTAAGGCGACACGGAATGTTGAATACTCATACTCTTCTTTTC
AATATTTATTGAAGCATTTATCAGGGTTATGTCTCATGAGCGGATACATATTTGATGTATTTAGAAAAATTAACAATATAGGGGTTCGCGCACATTTCCCGAAA
AGTGCACCTGACGTCAAGAAAACCATTTATTTATGATGACATTAACCTTAATAAATAGCGGTATCACAGGCCCTTGTGCTCGCGCTTTCGGTATGACGGTGA
AACCTCTGACACATGACGCTCCGGAGACGATCAGAGTCTGTGTTAGAGTGTACTGAGAGTGCACCATATGGGTACCAATTTGTATAATACGACTCACTATAG
GGGCTGGCTTAACCTATGCGGCATCAGAGCAGATTGTACTGAGAGTGCACCATATGGGTACCAATTTGTATAATACGACTCACTATAG

도면24b



도면25aa

[illegible]

도면25ab

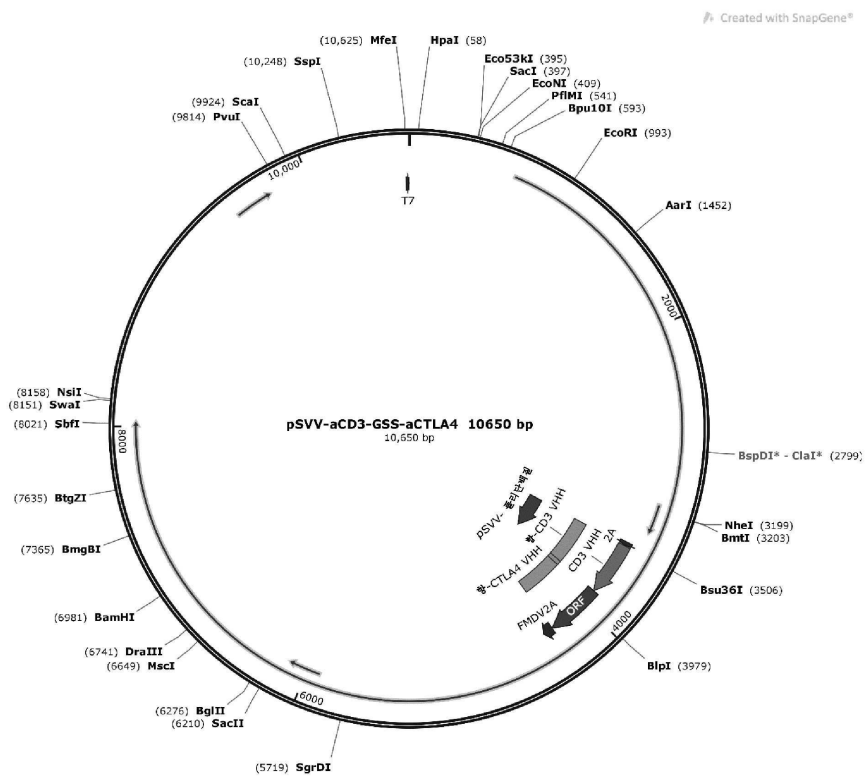
[illegible]

도면25b



[illegible]

도면26b



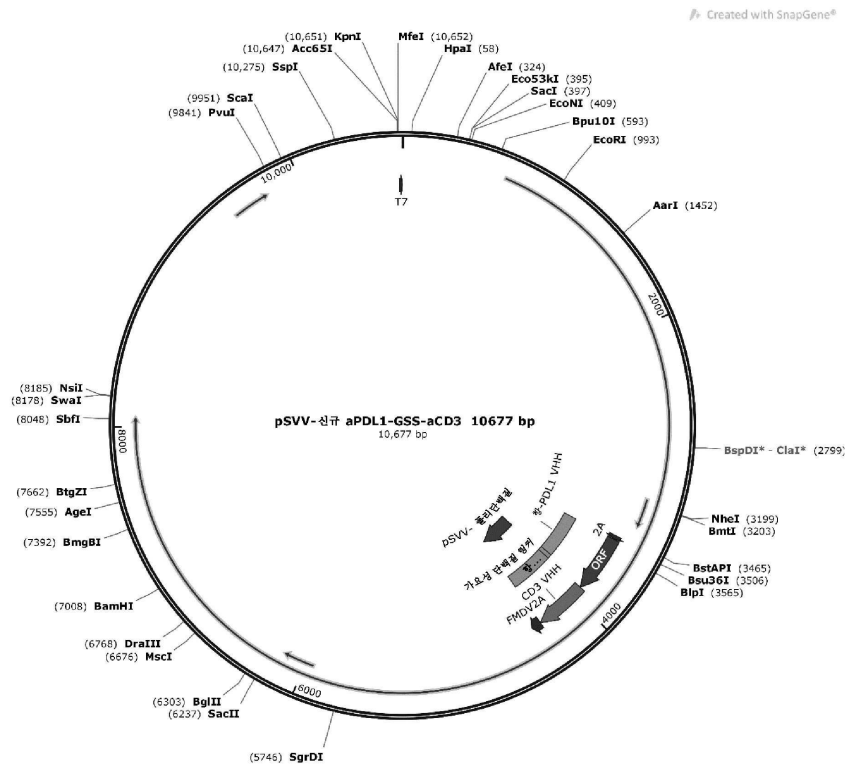
도면27aa

[illegible]

도면27ab

[illegible]

도면27b



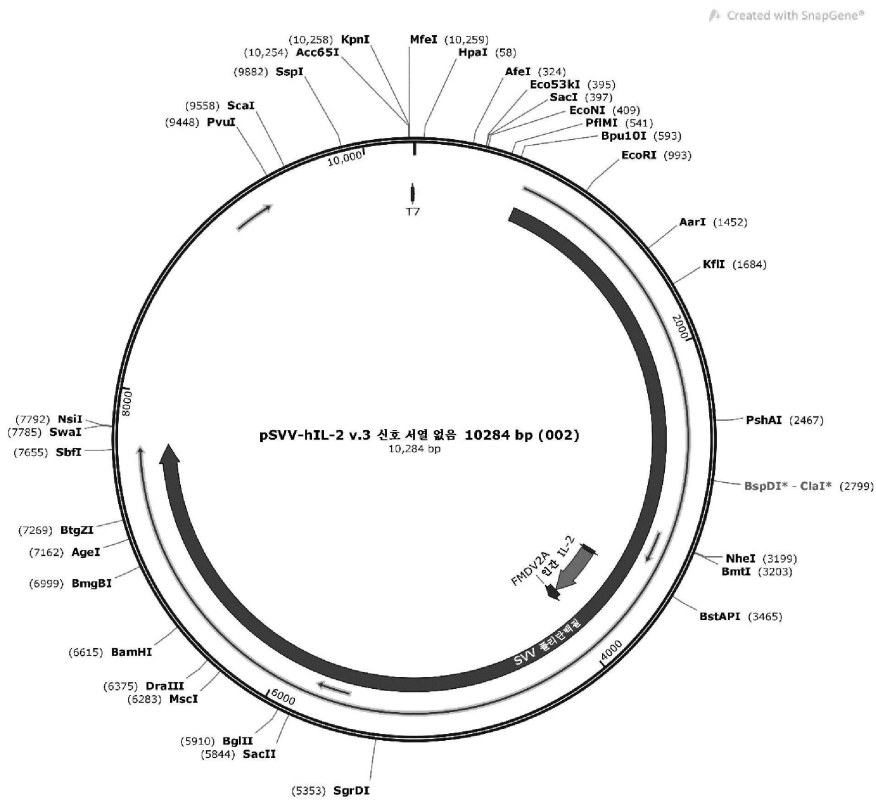
도면28aa

[illegible]

도면28ab

[illegible]

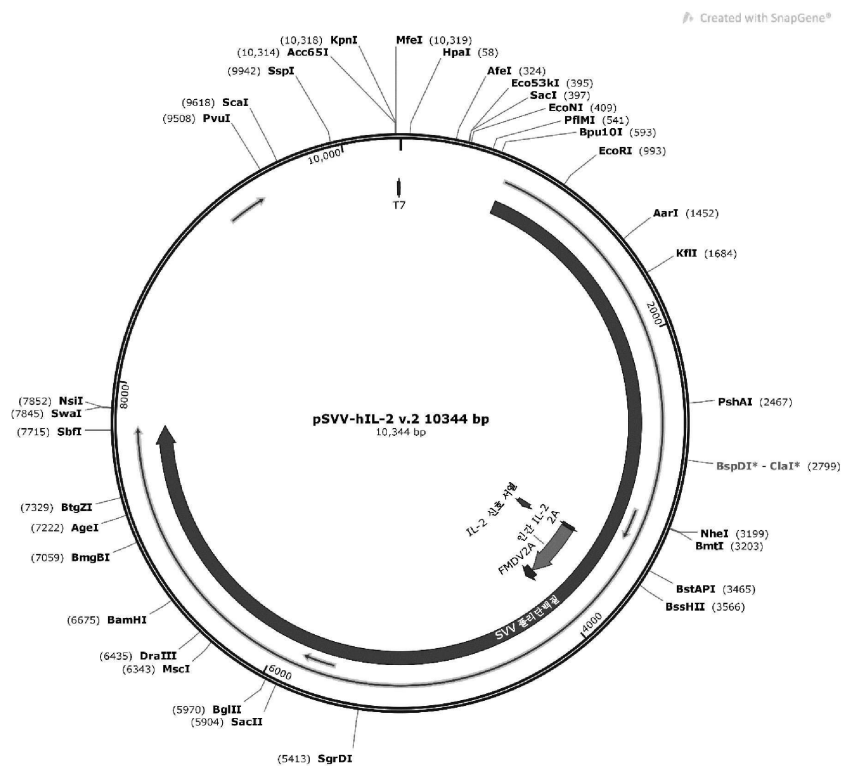
도면28b



도면 29aa

[illegible]

도면29b



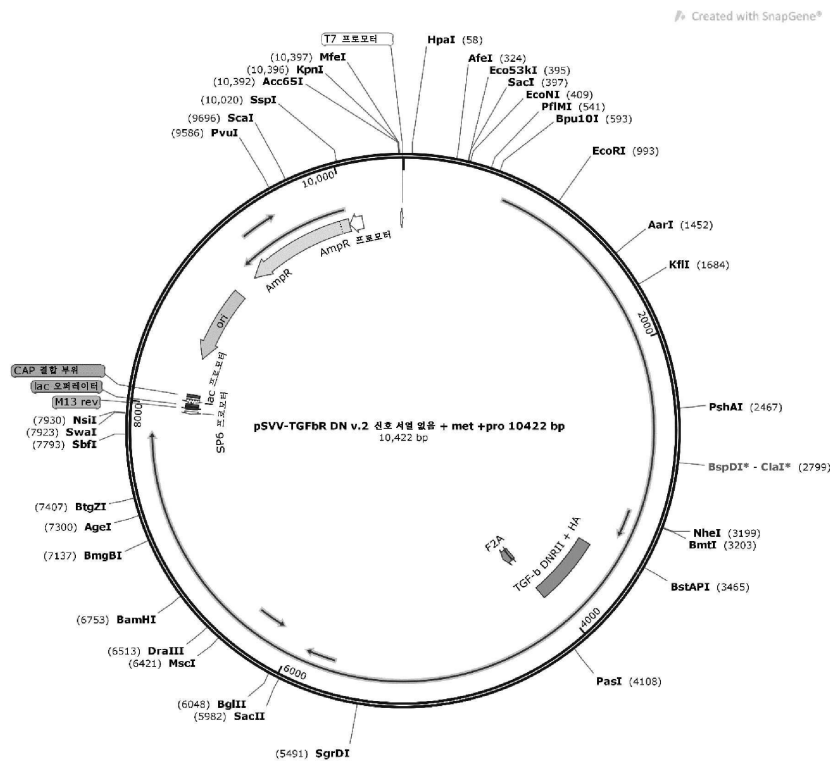
도면30aa

[illegible]

도면30ab

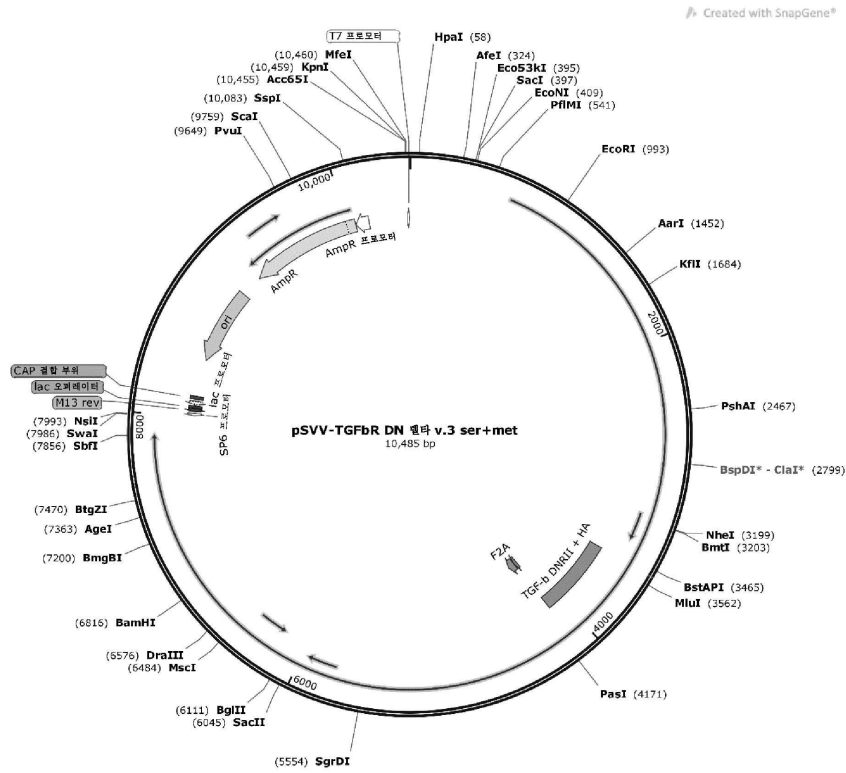
[illegible]

도면 30b

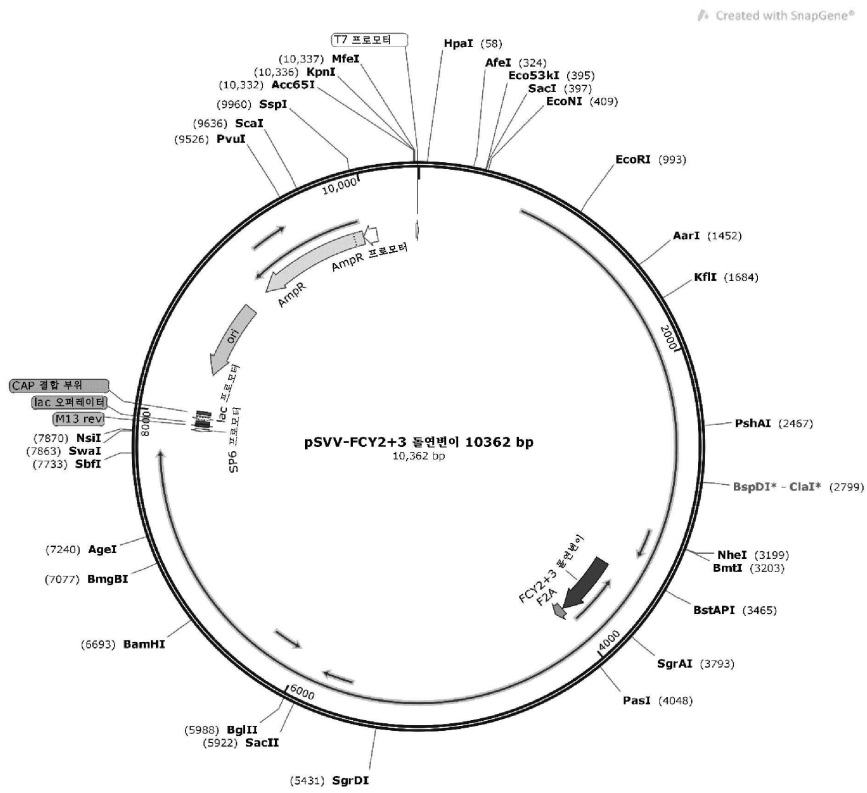


[illegible]

도면31b



도면32b



도면 33aa

[illegible]

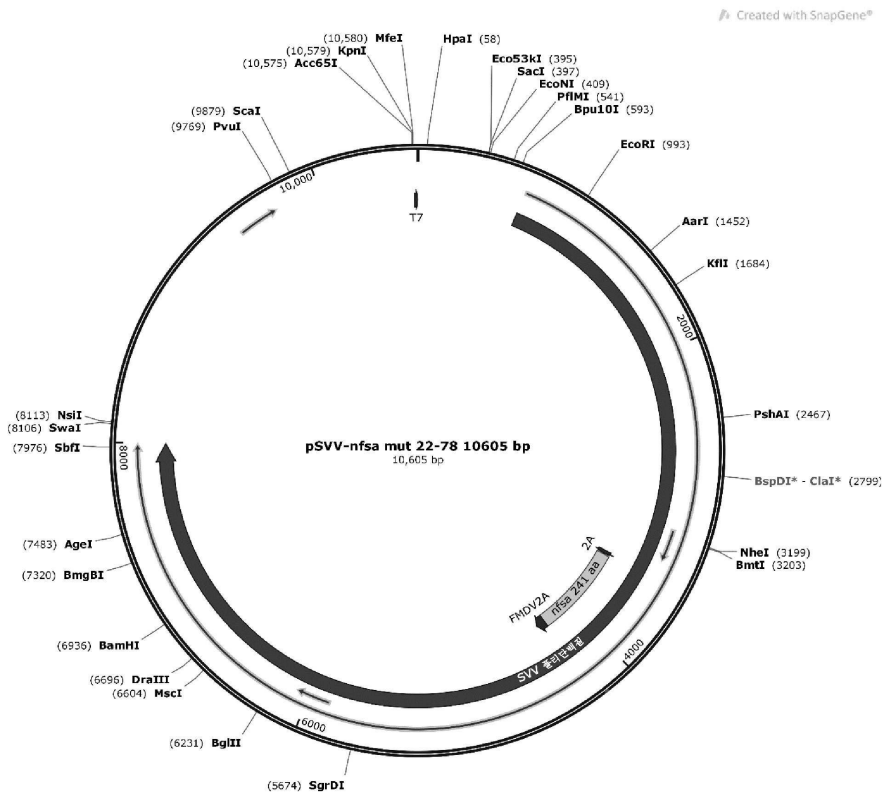
도면33ab

gataacctgagagataataatcgccgcacacattatgaagaagccgcgttttatcttgatatactgcaataacagagctggcgacccgcgtccagatgaac
agactcttaaaccttcgactcttctcaaggctcgctgagatgttgagacacccagagctcagcttgcacacccaatttttggagtttcttgaaacgaataatgatct
agtcactctggccctctctctggagagatgtgtgcacatgtgtcaacagacotggagaaagatgtgaaacagatgatatttgagcccaattttgacctgacgagatgag
ggggaaaggctctgtccgcttggccgccacgcctatccaacagacttcagttaaaggctcttttgggacctgcacatttctctcgggggctcaattacactgactttt
actctttactgtatagagaaatgctctgtattcttcttaccgttgaaacacactctctccacacagctgaataaaccttgacaaagccctcagatgaacgaataatccgaaa
actgttttaagtacgaagaccacatggacaaagatgcagaaactggaaacaaattagctggccggcttgaaagaaattttcaattgtgtgactgaacctgaacaaagggtgtc
gattggctcagaggctgagatcaacaaagaaagccagccctgtgtctccagttacagattggagatgaagaaagctcgggcctgtggctcattgaagctttca
tggctgggttcggggccccccttttagcagcagcagattgataacctcaaatctcttacccttaacatgggaaagactaatattggcccaaatggctcac
cactatgatcaatggccaaacaaagttagccccaacagttgaacccgttgtgtgtgtcccttgaaaggcaagccgggaatggcgcaaaagcttggccctttagcttgcac
gcccaggctgtgtccaaagccgcttagctgtcccaagttatattcttcttcccgatccacagattttcttgatggatcaaaagaaagacttgcagaaaggctg
atgattttggagacaaacccggatggacagagatttctccacttctcagatggctgtcagccgccaatttcttccccaatgagacagttcgtgaccttgatgg
tccctttaccctccaattctcatcttgcaactaacaaattcccccacttcagctgtgtcaccattgtgattcttcttgacagtctctcgccgtatcactacgacttg
acttaagaagtatctgagggctcaacagaaacacacagggctgaattttgacttggctttcagggcagacagacgcccccaatttatcttttgcctgcacattgac
cctttgtgacgttagctgtgtgcttcaaaaatggatcacaaatttttaactcttagattgggtcattccattttgacagacattcgagccaaagcaaaaggtgc
ccgaaaacatgacagactgtggttttcaagagccccaacagaaatgataacacccccctgcacagaggctgttgtagattcttcccccgcttgcggtcagatgagcgc
ctgttgacacctcactccagagggccgaacccgggtggcggttggcttattcttgcacagcttaggtcttgccttagctggtcaccctgtgtgaataatcttgccag
tgggactcttagagttacttctgtgggtctgattgacaccaaagaaacaaagaaatggaggaattctgtcaaggcaaccaagagcgaataatgcttattgaagcccgaa
gaaaaacttaagcccccctggagactctctctatggaaatgcaacagcccaacgtggacattgggctttagagctggcggttgaagaaatggctgtcccat
acctcatgtgttcccaacagacttctgggcttaccagatccgctcttctgtgtgacccggccggaacttccctaatcaatgaacatacatgtgtccaatccctctgga
ccaggttcaaatcccgggatgagttacacactgtgtatgagcccttccaaaggtttcatttcaacacagggatgtccacagatcgtatgattgattgagttgagttcgtg
accggccaatttcttcccttaacattgacaaatttgacttgcacagatgcggcagcaactccgtgtgtgtggcgtttgcacagttacggaaacttcttc
tctctggaaatttctcggattgtgtgattcattcacactcttgaaacaaagaaacttgcacagcaactttagagttgacagactttagaagaaatgttgatgaaatgttggt
cgccctgtgtgtgagggccgggtggcgtccgacgcatattggcctgtcatgttggcgcccggtatcgggcccggaacttatctcaaaatttagacttaatt
caaaagccctgaaacactcggtgaaacttttgcccaatgcaagagactgatactgaatttagacccttgatcacagcttaccatgacccggaaatccaaattgaga
aagagaccgacacaggggtgtcaaacggagtttgagccgttgatgttgcataaatttgatnccagactgaacaaagaaatgttgacttgagaaatgttgatgaaatgttggt
cttaaacacactgccaattgtccctttaccacactcttggcttgcacatgatgtcagaatgacgtcattgacgttctcttcttgggaaagacatgacattct
gaccctcaaaagaaacttctgggacaccccgacatgaccccatgattcccaatgacacagctgacacacagcttaccacagcgttgcactgaactgtctc
gtgcgaattttgtgaaacgggtacagttatgacggcgctgtgtgtatgacaaatccagaaattttcttagacgtgtgacaaacttttctgaaagatg
aatcagagccctcagaaagctccgacgggaaaccccgattgtgtatgtgaccttcccgcatgttcattgtatgttgagcaaatgtgtgtggcgcttggctgc
caggtttcaatcccatctgtgtgttctccctgtatgcagttccgggtgtgacccgtatgagccgttcaactgcataagggctcaactgcagagaaagaaacag
tatgactgtgactacagtgctgttgaactttcacaacggcaattgggtccttgcagagctctcattctcaacttttcaacgttgacaatgtttttagccctgtgcctgg
gaccgtatctcagatccctggctgtctgggacagctttagcagggatgcagctgacaaatttgaatgacatgtgtgatatcattcattggtcctcagacgactgtgaa
cacaggtgtcaacatgtgtatcacaagactgtgtgacttgaacttcaaaagaaatttgaatgacatgtgtgatatcattcattggtcctcagacgactgtgaa
ggcagcgaattttagatctggaacttccatgatgaggtggcagcagcgctggccaagtgggggtttaaagatgactctctgcacaaagggttctgtcttccctccgacttccct
ctctttccgattgtgtttttcttaaaagccttaaacacacacagcgttatacaaaactgattatgaaatttggaaagccatgctctccactacatt
caaacagagaaacactactgaaagctgacactgtgtttctatgttggtgtcaacattctgaaagaaagaaatattgattgattgaccccttgctgactacacggt
ggcgtacccgagtcacagattactgacagcgaatgtgagggccttgtgtgactgaccccaatgaccccaagggcgttgggtgctgcgggagattcttgagaaactcag
tgggaaacagaaagggaaaaaaatggaaaaaaatggaaaaaaatggaaaaaaatggaaaaaaatggaaaaaaatggaaaaaaatggaaaaaaatggaaaaaaatgg
tgggtcaatgactgttctgtgtgaaattgtttatccgctcacaatttccagacacatccagaccggaaagcaataaagttaaaagccctgggggtccttaataagtgact

도면33ac

AACCTCACAATTAAATTGCTGGGCTGCTAGCTGGCTTCCAGTTCGGGGAAACCTTGCTGGCAAGCTGGATCTAATATGATACCTCAACAGCGGGGAAAGAGCGGTTGGCG
TAATTCAGGGGATTAACGCGAGGAAAGAACTGTATGCGAATAAAGCGCAGCGAAAGGCGACAGAACCGCTGAAAAGGCGCGGTTGCTGGCGATTTTCCATATAGCGTCGCGCCCC
CTGACGAGGACACAAATAAGCAGCTCCATAGTCAGAGTGGGGGAAACCCGACAGGACTTTAAAGATACAGCGGGGTTTCCCGCTGGGAAGCTCTCTGTCGGGCTTC
TGTTCCGACCCCTGCGCCCTTACCGGATACCTGTGCGGCTTTCTCCCTTCCGGGAAAGCGGTGGCGGCTTTCTCATAGTCCAGCTGTAGAGTATCTCATGTTGGGTGAGGTC
GTTCGTCGCAACCTGGGCGGTGTGTATGCGACAAACCCCGGTTCACCCGACCGGCGCTTATCATATGATGATCTGTGATGCGCAACCCGGTATGACAGCACTTAAT
CGCCACATGCGACGACCACTGTGTACAGATTTAGCAGAGACGAGAGTATGTAAGGCGGTGTCTACAAAGTTCTTGAATGGGTGGGCTTACATACGGCTACACITAGAAAGAC
AGATATTTTGTGATCTGCGCTGTGTAAAGCAGCTTTCCTTCGAGAAAAGAGGTGTGATGTTCTTATCCGCGAACAACACGCGCTGTGAAGCGGGTGTATTTTGTGTT
TGCAAGATGCGAGATTAATCCGCGAGAAAATAAGGATCTACAGAAAGATCTTTTGATCTTTTTCACAGGGGTCTAACGCTGTACAGGAAAGAAACACAGTTAAAGGAATTT
TGCTCATATGATATTTACAAAAGGATCTTCACTAGATCTCTTTTAAATTTAAAAATGAATTTTAAATCATATCTAATGAATATATGATAGTAACCTTGGTCTGCACATTTA
CCAAATGGCTTCAATGAGGAGCACTCATCTGTACGAGTATGCGCTCACTACCGGCTGATGATGATGCGCTGCTGATGAGATATATCATACATACGGGAGGGGCTGAT
CCATCTGGCTTCAACGTGTGACATGATACCGGAAACCCAGCTCCAGGCTTCCAGATTTATATACAGACATTAACACGACCGACGGCGCAAGGGGCAAGATGTGTCT
CTGCAACTTTTATCCGCTTCATATGACTCTATATTTATTTGTTCGCGGGAAAGGTGATGATGTTAGTATGTTGGCGAACAAGTTGTGGCATTTGTCTACAGAG
CATCTGGGTGTGCAAGCTCGTGTGTGTGATATGCTCTACAGCTCCGTTTCCCAACAGATATATGCGAGATACATGATCCCCAGATGTTGTGCGAACAACAGGTATAGC
TCTTCTGGTCTCTCGATGTGTGTATGAAAGATATTTATCATCATCATGTTTATGCGGACATGTGATATTTCTCTTATGTCTATATGCCATCCGTAATGAT
GCTTTCTGTATCTGTGTATCTACAAACATGATCTTGTGAAATATTTGCGGCAACGAGATGTCTTTCGCGCGGTGATATAGGGATTAATATCCGCGCTCA
TAGCAGAAACTTTAAAGATGCTATGCAATCTTGTGAAAGAGGTTCTTGGGGGCAAAACTCTCAAGAGATCTTACGCTGTGTGAGTACAGTTGATGATCCCATCTGTGCA
CCCAACTATATTTAGCACTCTTTTATCTTTTACACAGAGGTCTTGGGGAGCAAAAACAGGAAAGGCAAAATATCCCGGAAAGAAAGGATATGCGGACACAGGAATATGTT
GAATCAATATCTCTCTCTTTTCAATTTATATATGAGCACTTATACAGGGGTATATGTCTATATGCGGGAATACATATTTGATATTTAGAAATATTTAGAAATCAATATGTT
GGTTCCGCGGACATTTCCCGGAAAAGTGCCACCTGACGTCTAGAAACCATTTATTTATCATGACATTTACCTATATAAATATAGCGTATACGAGAGGCCCTTTGTGTCTC
CGTCAATTTGGGTATGAGAGGTGAAACCTGTACAACTCCGAGCTCCCGGAGCGGTCAACAGCTTGTCTGTATAGGAGATGCCGGAAGACAGCAACCGCTTCAAGGGG
CGTCAAGGCGGTGATGAGCGGGGTGTGGGGGCTGGCTTAACTATAGCGGACATCAGAGCAATATGAGTATCTGAAAGTGCACATATATGGGTATCAATTTGTGTATATCGACTCAC
AATATG

도면33b



서열목록

SEQUENCE LISTING

<110> SENECA THERAPEUTICS, INC.

<120> ARMED SENECA VALLEY VIRUS ONCOLYTIC THERAPY COMPOSITIONS AND METHODS THEREOF

<130> 115029.000049

<140><141><150> 63/138,999

<151> 2021-01-19

<160> 52

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 381

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 1

caggtgcagc tgcaggagtc tggaggaggc tcggtgcaga ccggagggtc tctgagactc 60

tcctgtacag cctctacatc aatatacagt aacaactaca tggcctggtt cagccagtct 120

ccaggaaagg ggcgcgaggg ggtcgcagct gtttatatgg atgatggtcg ccatactat 180

gccgattccg tgaagggccg attcaccatc tccctagaca gcgccaagaa cacgatgtat 240

ttgcaaatga acagcctgaa acctgaggac actgccatgt actactgtgc ggcagctcca 300

ggccccctaa gtcgtaacta ctggtacacg tccgccaact atgactactg gggccagggg 360

acccaggtea ccgtctcctc a 381

<210> 2

<211> 127

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 2

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Ser Val Gln Thr Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Ala Ser Thr Ser Ile Tyr Ser Asn Asn

20 25 30

Tyr Met Ala Trp Phe Ser Gln Ser Pro Gly Lys Gly Arg Glu Gly Val

35 40 45

Ala Ala Val Tyr Met Asp Asp Gly Arg Pro Tyr Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Leu Asp Ser Ala Lys Asn Thr Met Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Ala Ala Pro Gly Pro Leu Ser Arg Asn Tyr Trp Tyr Thr Ser Ala

100 105 110

Asn Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser

115 120 125

<210> 3

<211> 399

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 3

gctctgcct cctccagcac caagaaaacc cagctccagc tggaacatct cctgctggat 60

ctgcagatga tcctgaacgg catcaacaac tacaagaacc ccaagctgac ccgcatgctg 120

accgccaagt tcgcatgcc caagaaggcc accgagctga aacatctgca gtgcctggaa 180

gaggaactga agcctctgga agaggtgctg aacggcgccc agtccaagaa cttccacctg 240

aggcctcggg acctgatctc caacatcaac gtgatcgtgc tggaactgaa gggctccgag 300

acaaccttca tgtgcgagta cgccgacgag acagctacca tcgtggaatt tctgaaccgg 360

tggatcacct tcgcccagtc catcatctcc accctgacc 399

<210> 4

<211> 133

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 4

Ala Pro Ala Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His

1 5 10 15

Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys

20 25 30

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe Ala Met Pro Lys

35 40 45

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys

50 55 60

Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Gly Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu

65 70 75 80

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu

85 90 95

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala

100 105 110

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile

115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr

130

<210

> 5

<211> 378

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 5

atgaagaaaa gtgggtgttct tttcctcttg ggcatcatct tgctgggttct gattggagtg	60
caaggaaccc cagtagtgag aaagggtcgc tgttctgca tcagcaccaa ccaagggact	120
atccacctac aatccttgaa agaccttaaa caatttgccc caagcccttc ctgcgagaaa	180
attgaaatca ttgctacact gaagaatgga gttcaaacat gtctaaaccc agattcagca	240
gatgtgaagg aactgattaa aaagtgggag aaacaggtca gccaaaagaa aaagcaaaag	300
aatgggaaaa aacatcaaaa aaagaaagtt ctgaaagtgc gaaaatctca acgtttctgt	360

caaaagaaga ctacataa	378
---------------------	-----

<210> 6

<211> 124

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 6

Met Lys Lys Ser Gly Val Leu Phe Leu Leu Gly Ile Ile Leu Leu Val

1	5	10	15
---	---	----	----

Leu Ile Gly Val Gln Gly Thr Pro Val Val Arg Lys Gly Arg Cys Ser

20	25	30
----	----	----

Cys Ile Ser Thr Asn Gln Gly Thr His Leu Gln Ser Leu Lys Asp Leu

35	40	45
----	----	----

Lys Gln Phe Ala Pro Ser Pro Ser Cys Glu Lys Ile Glu Ile Ile Ala

50	55	60
----	----	----

Thr Leu Lys Asn Gly Val Gln Thr Cys Leu Asn Pro Asp Ser Ala Asp

65	70	75	80
----	----	----	----

Val Lys Glu Leu Ile Lys Lys Trp Glu Lys Gln Val Ser Gln Lys Lys

85	90	95
----	----	----

Lys Gln Lys Asn Gly Lys Lys His Gln Lys Lys Lys Val Leu Lys Val

100	105	110
-----	-----	-----

Arg Lys Ser Gln Arg Ser Arg Gln Lys Lys Thr Thr

115	120
-----	-----

<210> 7

<211> 600

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 7

atgggtcggg ggctgctcag gggcctgtgg ccgctgcaca tcgtcctgtg gacgcgtatc	60
gccagcacga tcccaccgca cggtcagaag tcggttaata acgacatgat agtcactgac	120
aacaacgggtg cagtcaagtt tccacaactg tgtaaatttt gtgatgtgag attttccacc	180
tgtgacaacc agaaatcctg catgagcaac tgcagcatca cctccatctg tgagaagcca	240
caggaagtct gtgtggctgt atggagaaaag aatgacgaga acataaact agagacagtt	300
tgccatgacc ccaagctccc ctacatgac ttattcttg aagatgctgc ttctccaaag	360
tgcatatga aggaataaaa aaagcctggt gagactttct tcatgtgttc ctgtagctct	420
gatgagtgca atgacaacat catcttctca gaagaatata acaccagcaa tcctgacttg	480
ttgctagtca tatttcaagt gacaggcatc agcctcctgc caccactggg agttgccata	540
tctgtcatca tcatcttcta ctgctaccgc gtttaccat acgatgttcc agattacgct	600

<210> 8

<211> 200

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 8

Met Gly Arg Gly Leu Leu Arg Gly Leu Trp Pro Leu His Ile Val Leu

1	5	10	15
Trp Thr Arg Ile Ala Ser Thr Ile Pro Pro His Val Gln Lys Ser Val			
20	25	30	
Asn Asn Asp Met Ile Val Thr Asp Asn Asn Gly Ala Val Lys Phe Pro			
35	40	45	
Gln Leu Cys Lys Phe Cys Asp Val Arg Phe Ser Thr Cys Asp Asn Gln			
50	55	60	
Lys Ser Cys Met Ser Asn Cys Ser Ile Thr Ser Ile Cys Glu Lys Pro			
65	70	75	80
Gln Glu Val Cys Val Ala Val Trp Arg Lys Asn Asp Glu Asn Ile Thr			
85	90	95	
Leu Glu Thr Val Cys His Asp Pro Lys Leu Pro Tyr His Asp Phe Ile			

100 105 110
 Leu Glu Asp Ala Ala Ser Pro Lys Cys Ile Met Lys Glu Lys Lys Lys
 115 120 125
 Pro Gly Glu Thr Phe Phe Met Cys Ser Cys Ser Ser Asp Glu Cys Asn
 130 135 140
 Asp Asn Ile Ile Phe Ser Glu Glu Tyr Asn Thr Ser Asn Pro Asp Leu
 145 150 155 160
 Leu Leu Val Ile Phe Gln Val Thr Gly Ile Ser Leu Leu Pro Pro Leu
 165 170 175
 Gly Val Ala Ile Ser Val Ile Ile Ile Phe Tyr Cys Tyr Arg Val Tyr
 180 185 190
 Pro Tyr Asp Val Pro Asp Tyr Ala
 195 200

<210> 9

<211> 756

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 9

agcgcgatgc cgctggaaag cgaacaggaa aactgcgaaa tgaccccgac cattgaactg 60
 atttgcggcc atcgcagcat tcgccatttt accgatgaac cgattagcga agcgcagcgc 120
 gaagcgatta ttaacagcgc gcgcgcgacc agcagcagct attttctgca gtgcagcagc 180
 attattcgca ttaccgataa agcgcctgcgc gaagaactgg tgaccctgac cggcggccag 240
 aaacatgtgg cgcaggcggc ggaattttgg gtgttttgcg cggattttta cgcctatctg 300
 cagatttgcc cggatgcgca gctgggcctg gcggaacagc tgctgatggg ctgggatacc 360
 gcgatgatgg cgcagaacgc gctgattgcg gcggaagcc tgggcctggg cggcgtgtat 420
 attggcggcc tgcgcaacaa cattgaagcg gtgaccaaac tgctgaaact gccgcagcat 480
 gtgctgccgc tgtttggcct gtgcctgggc tggccggcgg ataaccgga tctgaaaccg 540
 cgctgccgg cgagcattct ggtgcatgaa aacagctatc agccgctgga taaaggcgcg 600
 ctggcgagcgt atgatgaaca gctggcggaa tattatctga cccgcggcag caacaaccgc 660
 cgcgatacct ggagcgatca tattcgccgc accattatta aagaaagccg cccgagcatt 720
 ctggattatc tgcataaaca gggctgggcg acccgc 756

<210> 10

<211> 252

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 10

Ser Ala Met Pro Leu Glu Ser Glu Gln Glu Asn Cys Glu Met Thr Pro

1 5 10 15

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

20 25 30

Glu Pro Ile Ser Glu Ala Gln Arg Glu Ala Ile Ile Asn Ser Ala Arg

35 40 45

Ala Thr Ser Ser Ser Tyr Phe Leu Gln Cys Ser Ser Ile Ile Arg Ile

50 55 60

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

65 70 75 80

Lys His Val Ala Gln Ala Ala Glu Phe Trp Val Phe Cys Ala Asp Phe

85 90 95

Asn Arg His Leu Gln Ile Cys Pro Asp Ala Gln Leu Gly Leu Ala Glu

100 105 110

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

115 120 125

Ile Ala Ala Glu Ser Leu Gly Leu Gly Gly Val Tyr Ile Gly Gly Leu

130 135 140

Arg Asn Asn Ile Glu Ala Val Thr Lys Leu Leu Lys Leu Pro Gln His

145 150 155 160

Val Leu Pro Leu Phe Gly Leu Cys Leu Gly Trp Pro Ala Asp Asn Pro

165 170 175

Asp Leu Lys Pro Arg Leu Pro Ala Ser Ile Leu Val His Glu Asn Ser

180 185 190

Tyr Gln Pro Leu Asp Lys Gly Ala Leu Ala Gln Tyr Asp Glu Gln Leu

195 200 205

Ala Glu Tyr Tyr Leu Thr Arg Gly Ser Asn Asn Arg Arg Asp Thr Trp

210 215 220
 Ser Asp His Ile Arg Arg Thr Ile Ile Lys Glu Ser Arg Pro Ser Ile
 225 230 235 240
 Leu Asp Tyr Leu His Lys Gln Gly Trp Ala Thr Arg

245 250
 <210> 11
 <211> 354
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 11
 atgaagtggg tgaccttcat cagcctgctg ttctgttca gcagcgccta cagccccaag 60
 aagaagatcc agctgcacgc cgagcacgcc ctgtacgacg ccctgatgat cctgaacatc 120
 gtgaagacca acagccccc cgccgaggag aagctggagg actacgcctt caacttcgag 180
 ctgatcctgg aggagatcgc cagactgttc gagagcggcg accagaagga cgaggccgag 240
 aaggccaaga gaatgaagga gtggatgaag agaatcaaga ccaccgccag cgaggacgag 300
 caggaggaga tggccaacgc catcatcacc atcctgcaga gctggatctt cagc 354

<210> 12
 <211> 118
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 12
 Met Lys Trp Val Thr Phe Ile Ser Leu Leu Phe Leu Phe Ser Ser Ala
 1 5 10 15
 Tyr Ser Pro Lys Lys Lys Ile Gln Leu His Ala Glu His Ala Leu Tyr
 20 25 30
 Asp Ala Leu Met Ile Leu Asn Ile Val Lys Thr Asn Ser Pro Pro Ala
 35 40 45
 Glu Glu Lys Leu Glu Asp Tyr Ala Phe Asn Phe Glu Leu Ile Leu Glu

50 55 60
 Glu Ile Ala Arg Leu Phe Glu Ser Gly Asp Gln Lys Asp Glu Ala Glu
 65 70 75 80
 Lys Ala Lys Arg Met Lys Glu Trp Met Lys Arg Ile Lys Thr Thr Ala

85 90 95
 Ser Glu Asp Glu Gln Glu Glu Met Ala Asn Ala Ile Ile Thr Ile Leu
 100 105 110
 Gln Ser Trp Ile Phe Ser
 115

<210> 13

<211> 10263

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide

<400> 13

tttgaaatgg ggggctgggc cctgatgcc agtccttctt ttcccttcc ggggggttaa	60
ccggctgtgt ttgctagagg cacagagggg caacatccaa cctgcttttg cggggaacgg	120
tcggctccg attcctgcgt cgccaaaggt gttagcgac ccaaacggcg cacctacaa	180
tgttattggt gtggtctcg agttctagcc tactcgtttc tccccgacc attcactcac	240
ccacgaaaag tgtgttgtaa ccataagatt taacccccgc acgggatgtg cgataaccgt	300
aagactggct caagcgcgga aagcgtgta accacatgct gttagtcct ttatggctgc	360
aagatggcta cccacctcg atcactgaac tggagctcga ccctccttag taagggaacc	420
gagaggcctt cgtgcaaca gctccgacac agagtccacg tgactgtac caccatgagt	480
acatggttct cccctctcga cccaggactt ctttttgaat atccacggct cgatccagag	540
ggtggggcat gaccctagc atagcgagct acagcgggaa ctgtagctag gccttagcgt	600
gccttgata ctgcctgata gggcgacggc ctagtctgt cggttctata ggtagcacat	660
acaaatatgc agaactctca tttttcttc gatacgcct ctggcacct tgaagatgta	720
accggaacaa aagtcaagat cgttgaatac cccagatcgg tgaacaatgg tgtttacgat	780
tcgtctactc atttggagat actgaacct cagggtgaaa ttgaaatttt aaggtctttc	840
aatgaatacc aaattcgcg cgccaaacaa caactcggac tggacatcgt gtacgaacta	900
cagggtaatg ttcagacaac gtcaaagaat gattttgatt cccgtggcaa taatggtaac	960
atgaccttca attactacgc aaacacttat cagaattcag tagacttctc gacctcctcg	1020
tcggcgtcag gcgccggacc cgggaactcc cggggcggat tagcgggtct cctcacaat	1080
ttcagtggaa tcttgaacct tcttggttac ctcaaagatc acaacaccga agaaatggaa	1140

aactctgctg atcgagtcac aacgcaaacg gcgggcaaca ctgccataaa cacgcaatca	1200
tcattgggtg tgttgtgtgc ctacgttgaa gacccgacca aatctgatcc tccgtccagc	1260
agcacagatc aaccaccac cactttcact gccatcgaca ggtggtacac tggacgtctc	1320
aattcttggg caaaagctgt aaaaaccttc tcttttcagg ccgtcccgtc tcccggggcc	1380
tttctgtcta ggcagggagg cctcaacgga ggggccttca cagctaccct acatagacac	1440
tttttgatga agtgcgggtg gcaggtgcag gtccaatgta atttgacaca attccaccaa	1500
ggcgctcttc ttgttgccat ggttcttgaa accacccttg atgtcaagcc cgacggttaag	1560
gcaaagagct tacaggagct gaatgaagaa cagtgggtgg aatgtctga cgattaccgg	1620
accgggaaaa acatgccttt tcagctcttt ggcacatact atcgccccc taactggact	1680
tggggtccca atttcatcaa cccctatcaa gtaacggttt tcccacacca aattctgaac	1740
gcgagaacct ctacctcggt agacataaac gtcccataca tcggggagac ccccacgcaa	1800
tcctcagaga cacagaactc ctggaccctc ctcgttatgg tgctcgttcc cctagactat	1860
aaggaaggag ccacaactga cccagaaatt acattttctg taaggcctac aagtcctac	1920
ttcaatgggc ttcgcaaccg ctacacggcc gggacggacg aagaacaggg gccatttct	1980
acggcaccca gagaaaattc gcttatgttt ctctcaacc tccctgacga cactgtccct	2040
gcttacggga atgtgcgtac cctcctgtc aattacctcc ctggtgaaat aaccgacctt	2100
ttgcaactgg cccgcatacc cactctcatg gcatttgagc ggggtccctga acccgtgcct	2160
gcctcagaca catatgtgcc ctacgttgcc gtcccccac agttcgatga caggcctctc	2220
atctccttcc cgatcacctt ttcagatccc gtctatcaga acacctggt tggcgccatc	2280
agttcaaatt tcgccaatta ccgtgggtgt atccaaatca ctctgacatt ttgtggaccc	2340
atgatggcga gagggaaatt cctgctctcg tattctcccc caaatggaac gcaaccacag	2400
actctttccg aagctatgca gtgcacatac tctatttggg acataggctt gaactctagt	2460
tggaccttcg tcgtcccta catctcgccc agtgactacc gtgaaactcg agccattacc	2520
aactcggttt actccgtga tggttggttt agcctgcaca agttgaccaa aattactcta	2580
ccacctgact gtccgcaaag tccctgcatt ctctttttcg cttctgctgg tgaggattac	2640
actctccgtc tccccgtga ttgtaacct tcctatgtgt tccactccac cgacaacgcc	2700
gagaccgggg ttattgagc gggtaacact gacaccgatt tctctggtga actggcggt	2760
cctggctcta accacactaa tgtcaagttc ctgtttgatc gatctcgatt attgaatgta	2820
atcaaggtagc tggagaagga cgccgttttc ccccgccctt tccctacaca agaaggtagc	2880
cagcaggatg atggttactt ttgtcttctg acccccgcc caacagtcgc ttcccgacct	2940
gccactcggt tcggcctgta cgccaatccg tccggcagtg gtgttcttgc taacatttca	3000

ctggacttca atttttatag cttggcctgt ttcacttact ttagatcgga ccttgaggtt	3060
acggtggtct cactagagcc ggatctggaa tttgctgtag ggtggtttcc tcttggcagt	3120
gaataccagg cttccagctt tgtctacgac cagctgcatg tgcctttcca ctttactggg	3180
cgcactcccc gcgcttttcgc tagcaagggt gggaaggat ctttcgtgct cccttggaac	3240
tctgtctcgt ctgtgctccc cgtgcgctgg gggggggctt ccaagctctc tctgctacg	3300
cggggtctac cggcgcagtc tgattggggg actatttacg cctttgtccc ccgtcctaat	3360
gagaagaaaa gcaccgctgt aaaacacgtg gccgtgtaca ttcggtacaa gaacgcacgt	3420
gcctggtgcc ccagcatgct tccctttcgc agctacaagc agaagatgct gatgcaatct	3480
ggcgatatcg agaccaatcc tggctctcag gtgcagctgc aggagagcgg cggcggcagc	3540
gtgcagaccg gcggcagcct gagactgagc tgcaccgcca gcaccagcat ctacagcaac	3600
aactacatgg cctgggttcag ccagcccggc aagggcagag agggcgtggc cgccgtgtac	3660
atggacgacg gcagacccta ctacccgac agcgtgaagg gcagattcac catcagcctg	3720
gacagcgcca agaacaccat gtacctgcag atgaacagcc tgaagcccga ggacaccgcc	3780
atgtactact gcgccgcgc ccccgccccc ctgagcagaa actactggta caccagcgcc	3840
aactacgact acitggggcca gggcacccag gtgaccgtga gcagcgctcc agtaaagcag	3900
actctaaact tcgatcttct caagctcgtt ggagatgttg agagcaaccc aggtccagct	3960
tctgacaacc caattttga gtttttgaa gcagaaaatg atctagtcac tctggcctct	4020
ctctggaaga tgggtgcactc tgttcaacag acctggagaa agtatgtgaa gaacgatgat	4080
ttttggccca atttactcag cgagctagtg ggggaaggct ctgtcgctt ggccgccacg	4140
ctatccaacc aagcttcagt aaaggctctt ttgggcctgc actttctctc tcgggggctc	4200
aattacactg actttttactc tttactgata gagaaatgct ctagtcttct taccgtagaa	4260
ccacctctc caccagctga aaacctgatg accaagccct cagtgaagtc gaaattccga	4320
aaactgttta agatgcaagg acccatggac aaagtcaaag actggaacca aatagctgcc	4380
ggcttgaaga attttcaatt tgttcgtgac ctagtcaaag aggtggtcga ttggctgcag	4440
gcctggatca acaaagagaa agccagccct gtcctccagt accagttaga gatgaagaag	4500
ctcgggcctg tggccttggc tcatgacgct ttcattgctg gttccgggcc ccctcttagc	4560
gacgaccaga ttgaatacct ccagaacctc aaatctcttg ccctaacact ggggaagact	4620
aatttggccc aaagtctcac cactatgatc aatgccaaac aaagttcagc ccaacgagtt	4680
gaaccgcttg tgggtgtcct tagaggcaag ccgggatgcg gcaagagctt ggctctacg	4740
ttgattgccc aggtgtgtc caagcgctc tatggctccc aaagtgtata ttctcttccc	4800
ccagatccag atttcttcga tggatacaaa ggacagttcg tgacctgat ggatgatttg	4860

ggacaaaacc cggatggaca agatttctcc accttttgtc agatgggtgc gaccgcccaa 4920

tttctcccca acatggcgga ctttcagag aaagggcgtc ctttacctc caatctcatc 4980

attgcaacta caaatctccc ccacttcagt cctgtcacca ttgtgatcc ttctgcagtc 5040

tctcgccgta tcaactacga tctgactcta gaagtatctg aggcctacaa gaaacacaca 5100

cggctgaatt ttgacttggc ttccagggcg acagacgccc ccccatTTA tccttttgcT 5160

gccccatgtc cttttgtgga cgtagctgtg cgcttcaaaa atggtcacca gaattttaat 5220

ctcctagagt tggtcgattc catttgtaca gacattcgag ccaagcaaca aggtgcccga 5280

aacatgcaga ctctggttct acagagcccc aacgagaatg atgacacccc cgtcgacgag 5340

gcgttgggta gatttctctc ccccgctgcg gtcgatgagg cgcttgctga cctcactcca 5400

gaggccgacc cggttggccg tttgctatt cttgccaagc taggtcttgc cctagctgcg 5460

gtcacccctg gtctgataat cttggcagtg ggactctaca ggtacttctc tggctctgat 5520

gcagaccaag aagaacaga aagtgaggga tctgtcaagg caccaggag cgaaaatgct 5580

tatgacggcc cgaagaaaaa ctctaagccc cctggagcac tctctctcat ggaaatgcaa 5640

cagcccaacg tggacatggg ctttgaggct gcggtcgcta agaaagtggT cgtccccatt 5700

accttcatgg ttcccaacag accttctggg cttacacagt ccgctcttct ggtgaccggc 5760

cggaccttcc taatcaatga acatacatgg tccaatccct cctggaccag cttcacaatc 5820

cgcggtgagg tacacactcg tgatgagccc ttccaaacgg ttcatttcac tcaccacggt 5880

attcccacag atctgatgat ggtacgtctc ggaccgggca attctttccc taacaatcta 5940

gacaagtttg gacttgacca gatgccggca cgcaactccc gtgtggttgg cgtttcgtec 6000

agttacggaa acttcttctt ctctggaaat ttctctggat ttgttgattc catcacctct 6060

gaacaaggaa cttacgcaag actctttagg tacagggtga cgacctacaa aggatggtgc 6120

ggctcggccc tggctctgta ggccggtggc gtccgacgca tcattggcct gcattctgct 6180

ggcgccgcgg gtatcggcgc cgggacctat atctcaaaat taggactaat caaagccctg 6240

aaacacctcg gtgaaccttt ggccacaatg caaggactga tgactgaatt agagcctgga 6300

atcaccgtag atgtaccccg gaaatccaaa ttgagaaaga cgaccgcaca cgcggtgtac 6360

aaaccggagt ttgagcctgc tgtgttgtca aaatttgatc ccagactgaa caaggatgtt 6420

gacttggatg aagtaatttg gtctaaacac actgccaatg tcccttacca acctcctttg 6480

ttctacacat acatgtcaga gtacgtcat cgagtcttct ccttcttggg gaaagacaat 6540

gacattctga ccgtcaaaaga agcaattctg ggcatccccg gactagacct catggatccc 6600

cacacagctc cgggtctgcc ttacgccatc aacggccttc gacgtactga tctcgtcgat	6660
tttgtgaacg gtacagtaga tgcggcgtg gctgtacaaa tccagaaatt cttagacggt	6720
gactactctg accatgtctt ccaaactttt ctgaaagatg agatcagacc ctcagagaaa	6780
gtccgagcgg gaaaaacccg cattgttgat gtgccctccc tggcgcatgt cattgtgggc	6840
agaatgttgc ttgggcgctt tgctgccaaag ttccaatccc atcctggctt tctcctcggc	6900
tctgctatcg ggtctgacct tgatgttttc tggaccgtca taggggtca actcaggggg	6960
agaaagaaca cgtatgacgt ggactacagt gcctttgact cttcacacgg cactggctcc	7020
ttcgaggtc tcattctca ctttttcacc gtggacaatg gttttagccc tgcgtggga	7080
ccgtatctca gatccctggc tgtctcgtg cacgcttacg gcgagcgtc catcaagatt	7140
accggtggcc tccctccgg ttgtgccgcg accagcctgc tgaacacagt gctcaacaat	7200
gtgatcatca ggactgctt ggcatgtact tacaaggaat ttgaatatga catggttgat	7260
atcatcgctt accgtgacga ctttctggtt ggcacggatt acgatctgga cttcaatgag	7320
gtggcacgac gcgtgccaa gttggggtat aagatgactc ctgccaacaa gggttctgtc	7380
ttccctccga cttcctctct ttcgatgct gtttttctaa agcgcaaatt cgtccaaaac	7440
aacgacggct tatacaaacc agttatggat ttaaagaatt tggaagccat gctctctac	7500
ttcaaaccag gaacactact cgagaagctg caatctgttt ctatgttgge tcaacattct	7560
ggaaaagaag aatatgatag attgatgcac cccttcgtg actacggtgc cgtaccgagt	7620
cacgagtacc tgcaggcaag atggagggcc ttgttcgact gaccagata gccaaggcg	7680
cttcggtgct gccggcgatt ctgggagaac tcagtcggaa cagaaaagg aaaaaaaaa	7740
aaaaaaaaa aaaaaaaaaa atttaaatgc atgcaagctt gattattcta tagtgtcacc	7800
taaatagctt ggcgtaatca tggatcatagc tgtttcctgt gtgaaattgt tatccgctca	7860
caattccaca caacatacga gccggaagca taaagtgtaa agcctggggt gcctaagag	7920
tgagctaact cacattaatt gcgttcgct cactgcccgc tttccagtcg ggaaacctgt	7980
cgtgccagct gcattaatga atcgccaac gcgcggggag aggcggtttg cgtattgggc	8040
gctcttccgc ttctcgtc actgactgc tgcgtcgggt cgttcggctg cggcgagcgg	8100
tatcagctca ctcaaaggcg gtaatacgtt tatccacaga atcaggggat aacgcaggaa	8160
agaacatgtg agcaaaaggc cagcaaaagg ccaggaaccg taaaaaggcc gcgttgctgg	8220
cgtttttcca taggctccgc cccctgacg agcatcaca aaatcgacgc tcaagtcaga	8280
ggtggcgaaa cccgacagga ctataaagat accaggcgtt tccccctgga agctccctcg	8340
tgcgtctcc tgttcgacc ctgccgtta ccggatacct gtccgccttt ctcccttcgg	8400
gaagcgtggc gctttctcat agctcacgt gtaggtatct cagttcgtg taggtcgttc	8460

gctccaagct gggctgtgtg cacgaacccc ccgttcagcc cgaccgctgc gccttatccg 8520
 glaactatcg tcttgagtc aacccggtaa gacacgactt atcgccactg gcagcagcca 8580
 ctggtaacag gattagcaga gcgaggtatg taggcggtgc tacagagtgc ttgaagtgg 8640
 ggccctaacta cggctacact agaagaacag tatttggtat ctgcgctctg ctgaagccag 8700

 ttaccttcgg aaaaagagtt ggtagctctt gatccggcaa acaaaccacc gctggtagcg 8760
 gtggtttttt tgtttgcaag cagcagatta cgcgcagaaa aaaaggatct caagaagatc 8820
 ctttgatctt ttctacgggg tctgacgctc agtggaaacga aaactcacgt taagggattt 8880
 tggatcatgag attatcaaaa aggatcttca cctagatcct tttaaattaa aaatgaagtt 8940
 ttaaataaat ctaaagtata tatgagtaaa cttggctctga cagttaccaa tgcttaata 9000
 gtgaggcacc tatctcagcg atctgtctat ttctgttcac catagtgtgc tgactccccg 9060
 tcgtgtagat aactacgata cgggagggct taccatctgg cccagtgct gcaatgatac 9120

 cgcgagaccc acgtcacccg gctccagatt tatcagcaat aaaccagcca gccggaaggg 9180
 ccgagcgcag aagtggctct gcaactttat ccgcctccat ccagtcattt aattgttgcc 9240
 gggaagctag agtaagtagt tcgccagtta atagttttgcg caacgtttgtt gccattgcta 9300
 caggcatcgt ggtgtcacgc tcgtcgtttg gtatggcttc attcagctcc ggttcccaac 9360
 gatcaaggcg agttacatga tccccatgt tgtgcaaaaa agcggtttagc tccttcggtc 9420
 ctccgatcgt tgcagaagt aagttggccg cagtgttata actcatggtt atggcagcac 9480
 tgcataattc tcttactgtc atgccatccg taagatgctt ttctgtgact ggtgagtact 9540

 caaccaagtc attctgagaa tagtgtatgc ggcgaccgag ttgtctttgc cggcgctcaa 9600
 tacgggataa taccgcgcca catagcagaa ctttaaaagt gctcatcatt ggaaaacgtt 9660
 cttcggggcg aaaactctca aggatcttac cgtgtttgag atccagttcg atgtaacca 9720
 ctctgtcacc caactgatct tcagcatctt ttactttcac cagcgtttct gggtagcaaa 9780
 aaacaggaag gcaaaatgcc gcaaaaaagg gaataagggc gacacggaaa tgttgaatac 9840
 tcatactctt ctttttcaa tattattgaa gcatttatca gggttattgt ctcatgagcg 9900
 gatacatatt tgaatgtatt tagaaaaata aacaaatagg ggttccgcgc acatttcccc 9960

 gaaaagtgcc acctgacgtc taagaaacca ttattatcat gacattaacc tataaaaata 10020
 ggcgatcac gagggccctt cgtctcgcgc gtttcggtga tgacggtgaa aacctctgac 10080
 acatgcagct cccggagacg gtcacagctt gtctgtaagc ggatgccggg agcagacaag 10140
 cccgtcaggc cgctcagcg ggtgttggcg ggtgtcgggg ctggcttaac tatgcggcat 10200
 cagagcagat tgtactgaga gtgcaccata tgggtaccaa ttgtgtaata cgactcacta 10260
 tag 10263

<210> 14

<211> 10284

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<400> 14

tttgaatgg ggggctgggc cctgatgccc agtccttctt tcccccttcc ggggggttaa	60
ccggctgtgt ttgctagagg cacagagggg caacatccaa cctgcttttg cggggaacgg	120
tgcggctccg attcctgcgt cgccaaaggt gttagcgcac ccaaaccggc cacctacaa	180
tgttatgtgt gtggtctgcg agttctagcc tactcgtttc tccccgacc attcactcac	240
ccacgaaaag tigtgtgtaa ccataagatt taacccccgc acgggatgtg cgataaccgt	300
aagactggct caagcgcgga aagcgtgtga accacatgct gttagtcctt ttatggctgc	360
aagatggcta cccacctcgg atcactgaac tggagctcga ccttccttag taagggaacc	420
gagaggcctt cgtgcaacaa gctccgacac agagtccacg tgactgttac caccatgagt	480
acatggttct cccctctcga cccaggactt ctttttgaat atccacggct cgatccagag	540
ggtggggcat gacccttagc atagcgagct acagcgggaa ctgtagctag gccttagcgt	600
gccttgata ctgcctgata gggcgacggc ctagtctgtt cggttctata ggtagcacat	660
acaaatatgc agaactctca tttttcttcc gatacagcct ctggcacctt tgaagatgta	720
accggaacaa aagtcaagat cgttgaatac cccagatcgg tgaacaatgg tgtttacgat	780
tcgtctactc atttgagat actgaaccta cagggtgaaa ttgaaatttt aaggtctttc	840
aatgaatacc aaattcgcgc cgccaaacaa caactcggac tggacatcgt gtacgaacta	900
cagggtaatg ttcagacaac gtcaaagaat gattttgatt cccgtggcaa taatggtaac	960
atgaccttca attactacgc aaacacttat cagaattcag tagacttctc gacctcctcg	1020
tcggcgtcag gcgccggacc cgggaaactcc cggggcggat tagcgggtct cctcacaat	1080
ttcagtggaa tcttgaacct tcttggctac ctcaaagatc acaacaccga agaaatggaa	1140
aactctgctg atcgagtcac aacgcaaacg gcgggcaaca ctgccataaa cacgcaatca	1200
tcattgggtg tgttgtgtgc ctacgttgaa gacccgacca aatctgatcc tccgtccagc	1260
agcacagatc aaccaccac cactttcact gccatcgaca ggtggtacac tggacgtctc	1320
aattcttggc caaaagctgt aaaaaccttc tcttttcagg ccgtcccgtt tcccggggcc	1380
tttctgtcta ggcaggagg cctcaacgga ggggccttca cagctaccct acatagacac	1440

tttttgatga agtgcgggtg gcaggtgcag gtccaatgta atttgacaca attccaccaa	1500
ggcgctcttc ttgttgccat ggttcttgaa accacccttg atgtcaagcc cgacggtaag	1560
gcaaagagct tacaggagct gaatgaagaa cagtgggtgg aaatgtctga cgattaccgg	1620
accgggaaaa acatgccttt tcagtccttt ggacataact atcgccccc taactggact	1680
tgggggccca atttcatcaa cccctatcaa gtaacggttt tcccacacca aattctgaac	1740
gcgagaacct ctacctcggg agacataaac gtcccatata tcggggagac ccccacgcaa	1800
tcctcagaga cacagaactc ctggaccctc ctctgttatgg tgctcgttcc cctagactat	1860
aaggaaggag ccacaactga ccagaaaatt acattttctg taaggcctac aagtccttac	1920
ttcaatgggc ttgcgaaccg ctacacggcc gggacggacg aagaacaggg gccattcct	1980
acggcaccca gagaaaattc gcttatgttt ctctcaacc tccctgacga cactgtccct	2040
gcttacggga atgtgcgtac cctcctgtc aattacctcc ctggtgaaat aaccgacctt	2100
ttgcaactgg cccgcatacc cactctcatg gcatttgagc gggtcctga acccgtcct	2160
gcctcagaca catatgtgcc ctacgttgcc gttccacccc agttcgatga caggcctctc	2220
atctccttcc cgatcacctt ttcagatccc gtctatcaga acacctggg tggcgccatc	2280
agttcaaatt tcgccaatta ccgtgggtgt atccaaatca ctctgacatt ttgtggaccc	2340
atgatggcga gagggaaatt cctgtctctg tattctcccc caaatggaac gcaaccacag	2400
actctttccg aagctatgca gtgcacatac tctatttggg acataggctt gaactctagt	2460
tggaccttcg tcgtcccta catctgccc agtgactacc gtgaaactcg agccattacc	2520
aactcggttt actccgtga tggttggttt agcctgcaca agttgaccaa aattactcta	2580
ccacctgact gtccgcaaag tccctgcatt ctcttttctg cttctgctgg tgaggattac	2640
actctccgtc tccccgtga ttgtaacct tctatgtgt tccactccac cgacaacgcc	2700
gagaccgggg ttattgagc gggtaacact gacaccgatt tctctggtga actggcggt	2760
cctggctcta accacactaa tgtcaagttc ctgtttgatc gatctcgatt attgaatgta	2820
atcaaggtag tggagaagga cgccgttttc ccccgccctt tccctacaca agaaggtagc	2880
cagcaggatg atggttactt ttgtctctg accccccgcc caacagtcgc tccccgacc	2940
gccactcgtt tcggcctgta cgccaatccg tccggcagtg gtgttcttgc taacacttca	3000
ctggacttca atttttatag cttggcctgt ttcacttact ttagatcgga ctttaggtt	3060
acggtggctc cactagagcc ggatctggaa ttgtctgtag ggtggtttcc ttctggcagt	3120
gaataaccagg cttccagctt tgtctacgac cagctgcatg tgcccttcca ctttactggg	3180
cgcaatcccc gcgttttcgc tagcaagggt gggaaggtag ctttctgtct cctttggaac	3240

tctgtctcgt ctgtgtctccc cgtgcgctgg gggggggcctt ccaagctctc ttctgtctacg	3300
cgggggtctac cggcgcctgc tgattggggg actattttacg cctttgtccc ccgtcctaata	3360
gagaagaaaa gcaccgctgt aaaacacgtg gccgtgtaca ttccgtacaa gaacgcacgt	3420
gcctgggtgcc ccagcatgct tccctttcgc agctacaagc agaagatgct gatgcaatct	3480
ggcgatatcg agaccaatcc tggctctgct cctgcctcct ccagcaccaa gaaaaccag	3540
ctccagctgg aacatctcct gctggatctg cagatgatcc tgaacggcat caacaactac	3600
aagaacccca agctgaccgc gatgtgtacc gccaaattcg ccatgcccc gaaggccacc	3660
gagctgaaac atctgcagt cctggaagag gaactgaagc ctctggaaga ggtgtgtaac	3720
ggcgccccagt ccaagaactt ccacctgagg cctcgggacc tgatctccaa catcaacgtg	3780
atcgtgtctg aactgaaggc ctccgagaca accttcatgt gcgagtacgc cgacgagaca	3840
gtaccatcg tggaaattct gaaccggtgg atcaccttcg cccagtcct catctccacc	3900
ctgaccgctc cagtaaaagc gactctaaac ttcgatcttc tcaagctcgc tggagatgtt	3960
gagagcaacc caggtccagc ttctgacaac ccaattttgg agtttcttga agcagaaaat	4020
gatctagtca ctctggcctc ttctgtgaag atgggtgact ctgttcaaca gacctggaga	4080
aagtatgtga agaacgatga tttttggccc aattttactca gcgagctagt gggggaaggc	4140
tctgtgcct tggccgccac gctatccaac caagcttcag taaaggctct tttgggcctg	4200
cactttctct ctcgggggct caattacact gacttttact ctttactgat agagaaatgc	4260
tctagtttct ttaccgtaga accacctcct ccaccagctg aaaacctgat gaccaagccc	4320
tcagtgaagt cgaattccg aaaactgttt aagatgcaag gacctatgga caaagtcaaa	4380
gactggaacc aaatagctgc cggcttgaag aattttcaat ttgttcgtga cctagtcaaa	4440
gaggtggctg attggctgca ggcctggatc aacaaagaga aagccagccc tgtcctccag	4500
taccagtgg agatgaagaa gctcgggcct gtggccttgg ctcattgacgc tttcatggt	4560
ggttccgggc cccctcttag cgacgaccag attgaatacc tccagaacct caaatctctt	4620
gccctaacac tggggaagac taatttggcc caaagtctca ccactatgat caatgccaaa	4680
caaagtctag cccaacgagt tgaacccgtt gtgggtgtcc ttagaggcaa gccgggatgc	4740
ggcaagagct tggcctctac gttgattgcc caggctgtgt ccaagcgct ctatggctcc	4800
caaagtgtat attctcttcc ccagatcca gatttcttcg atggatacaa aggacagttc	4860
gtgaccttga tggatgattt gggacaaaac ccgcatggac aagatttctc cacctttgt	4920
cagatggtgt cgaccgcccc atttctcccc aacatggcgg accttgcaga gaaaggcgt	4980

ccctttacct ccaatctcat cattgcaact acaaattctcc cccacttcag tctgtcacc 5040
attgtctgac ctctgcagc ctctgcgcgt atcaactacg atctgactct agaagtatct 5100
gaggcctaca agaaacacac acggctgaat ttgacttgg ctttcaggcg cacagacgcc 5160
ccccccattt atccttttgc tgcccatgtg cccctttgtgg acgtagctgt gcgcttcaaa 5220
aatggtcacc agaattttaa tctcctagag ttggctgatt ccatttgtac agacattcga 5280
gccaaagcaac aagggtgccc aaacatgcag actctggttc tacagagccc caacgagaat 5340
gatgacaccc ccgtcgacga ggctgtgggt agagttctct ccccgctgc ggtcgatgag 5400

gcgcttgtcg acctcactcc agaggccgac ccggttggcc gtttggctat tcttgccaag 5460
ctaggtcttg cctagctgc ggtcaccctt ggtctgataa tcttggcagt gggactctac 5520
aggtacttct ctggctctga tgcagaccaa gaagaaacag aaagtgaggg atctgtcaag 5580
gcaccaggga gcgaaaatgc ttatgacggc ccgaagaaaa actctaagcc ccctggagca 5640
ctctctctca tggaaatgca acagcccaac gtggacatgg gctttgaggc tgcggtcgct 5700
aagaaagtgg tcttcccat taccttcatg gttcccaaca gaccttctgg gcttacacag 5760
tccgctcttc tggtagaccg ccggaccttc ctaatcaatg aacatacatg gtccaatccc 5820

tcttgacca gcttcacaat ccgcggtgag gtacacactc gtgatgagcc cttccaaacg 5880
gttcatttca ctaccacgg tattcccaca gatctgatga tggtagctct cggaccgggc 5940
aattctttcc ctaacaatct agacaagttt ggacttgacc agatgccggc acgcaactcc 6000
cgtgtggttg gcgtttctgc cagttacgga aacttcttct tctctggaaa tttcctcgga 6060
tttgttgatt ccatcacctc tgaacaagga acttacgcaa gactctttag gtacaggggtg 6120
acgacctaca aaggatggtg cggctcggcc ctggtctgtg aggcgggtgg ggtccgacgc 6180
atcattggcc tgcattctgc tggcgccgcc ggtatcggcg ccgggacctt tatctcaaaa 6240

ttaggactaa tcaaagccct gaaacacctc ggtgaacctt tggccacaat gcaaggactg 6300
atgactgaat tagagcctgg aatcacctga catgtacccc ggaaatcaa attgagaaag 6360
acgaccgcac acgcggtgta caaacggag tttagacctg ctgtgttctc aaaatttgat 6420
cccagactga acaaggatgt tgacttggat gaagtaattt ggtctaaaca cactgccaat 6480
gtcccttacc aacctcttt gttctacaca tacatgtcag agtacgtca tcgagtcttc 6540
tccttcttgg ggaaagacaa tgacattctg accgtcaaag aagcaattct gggcatcccc 6600
ggactagacc ccatggatcc ccacacagct ccgggtctgc cttacgcat caacgcctt 6660

cgacgtactg atctctcga ttttgtgaac ggtacagtag atgcggcgct ggctgtacaa 6720
atccagaaat tcttagacgg tgactactct gacctgtct tccaaacttt tctgaaagat 6780
gagatcagac cctcagagaa agtccgagcg ggaaaaaccc gcattgttga tgtgcctcc 6840

ctggcgcat t gcatgtggg cagaatgttg cttgggcgct ttgctgcaa gtttcaatcc	6900
catcctggct ttctcctcgg ctctgctatc gggctctgacc ctgatgtttt ctggaccgtc	6960
ataggggctc aactcgaggg gagaaagaac acgtatgacg tggactacag tgcctttgac	7020
tcttcacacg gcactggctc cttcgaggct ctcactcttc actttttcac cgtggacaat	7080
ggtttttagc ctgcgtggg accgtatctc agatccctgg ctgtctcggt gcacgcttac	7140
ggcgagcgtc gcatcaagat taccggtggc ctccctccg gttgtgccgc gaccagcctg	7200
ctgaacacag tgctcaacaa tgtgatcatc aggactgtc tggcattgac ttacaaggaa	7260
tttgaatatg acatggttga tatcatcgcc tacggtgacg accttctggt tggcacggat	7320
tacgatctgg acttcaatga ggtggcacga cgcgctgcca agttggggta taagatgact	7380
cctgccaaca agggttctgt cttccctccg acttctctc tttccgatgc tgtttttcta	7440
aagcgcaaat tcgtccaaa caacgacggc ttatacaaac cagttatgga tttaaagaat	7500
ttggaagcca tgctctccta cttcaaacca ggaacactac tcgagaagct gcaatctgtt	7560
tctatgttgg ctcaacattc tggaaaagaa gaatatgata gattgatgca ccccttcgt	7620
gactacgggt ccgtaccgag tcacgagtac ctgcaggcaa gatggagggc cttgttcgac	7680
tgaccagat agcccaaggc gcttcgggtc tgccggcgat tctgggagaa ctcagtcgga	7740
acagaaaagg gaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aatttaaag catgcaagct	7800
tgagtattct atagtgtcac ctaaatagct tggcgtaac atggcatag ctgtttcctg	7860
tgtgaaattg ttatccgctc acaattccac acaacatag agccggaagc ataaagtga	7920
aagcctgggg tgcctaata gtagactaac tcacattaat tgcgttgccg tcaactgccg	7980
ctttccagtc gggaaacctg tcgtgccagc tgcattaatg aatcggccaa cgcgcgggga	8040
gaggcggttt gcgtattggg cgctcttcg cttctcgtc cactgactcg ctgcgtcgg	8100
tcgttcggct gggcgagcg gtatcagctc actcaaaggc ggtaatacgg ttatccacag	8160
aatcagggga taacgcagga aagaacatgt gagcaaaagg ccagcaaaag gccaggaacc	8220
gtaaaaaggc cgcgttgctg gcgtttttcc ataggctccg cccccctgac gagcatcaca	8280
aaaatcgacg ctcaagtcag aggtggcgaa acccgacagg actataaaga taccaggcgt	8340
ttccccctgg aagctccctc gtgcgtctc ctgttccgac cctgccgctt accggatacc	8400
tgtegcctt tctccctcg ggaagcgtgg cgttttctca tagctcacgc ttaggtatc	8460
tcagttcgggt gtaggtcgtt cgctccaagc tgggctgtgt gcacgaaccc cccgttcagc	8520
ccgaccgtg cgccttatcc ggtaactatc gtcttgagtc caaccggtg agacacgact	8580
tatcgccact ggcagcagcc actggttaaca ggattagcag agcgaggat gtaggcggtg	8640
ctacagagtt ctgaagtgg tggcctaact acggctacac tagaagaaca gtatttggtg	8700

tctgcgctct gctgaagcca gttaccttcg gaaaaagagt tggtagctct tgatccggca 8760

aacaaaccac cgctggtagc ggtgggtttt ttgtttgcaa gcagcagatt acgcgcagaa 8820

aaaaaggatc tcaagaagat cctttgatct tttctacggg gtctgacgct cagtggaaacg 8880

aaaactcacg ttaagggatt ttggcatga gattatcaaa aaggatcttc acctagatcc 8940

ttttaaatta aaaaatgaagt tttaaatcaa tctaaagtat atatgagtaa acttggtctg 9000

acagttacca atgcttaatc agtgaggcac ctatctcagc gatctgtcta tttcgttcat 9060

ccatagttag ctgactcccc gtcgtgtaga taactacgat acgggagggc ttaccatctg 9120

gccccagtgc tgcaatgata ccgcgagacc cacgctcacc ggctccagat ttatcagcaa 9180

taaaccagcc agccggaagg gccgagcgca gaagtgggcc tgcaacttta tccgcctcca 9240

tccagtctat taattgttgc cgggaagcta gagtaagtag ttcgccagtt aatagtttgc 9300

gcaacgttgt tgccattgct acaggcatcg tgggtgcacg ctctgctgtt ggtatggctt 9360

cattcagctc cggttcccaa cgatcaaggc gagttacatg atccccatg ttgtgcaaaa 9420

aagcggttag ctcttctggc cctccgatcg ttgtcagaag taagttggcc gcagtgttat 9480

cactcatggt tatggcagca ctgcataatt ctcttactgt catgccatcc gtaagatgct 9540

tttctgtgac tggtagtagt tcaaccaagt cattctgaga atagtgtatg cggcgaccga 9600

gttgctcttg cccggcgta atacgggata ataccgcgcc acatagcaga actttaaaag 9660

tgctcatcat tggaaaacgt tcttcggggc gaaaactctc aaggatctta ccgctgttga 9720

gatccagttc gatgtaacct actcgtgcac ccaactgatc ttcagcatct tttactttca 9780

ccagcgtttc tgggtgagca aaaacaggaa ggcaaaatgc cgcaaaaaag ggaataaggg 9840

cgacacggaa atgttgaata ctcatactct tcctttttca atattattga agcatttatc 9900

agggttattg tctcatgagc ggatacatat ttgaatgtat ttagaaaaat aaacaaatag 9960

gggttccgcg cacatttccc cgaaaagtgc cacctgacgt ctaagaaacc attattatca 10020

tgacattaac ctataaaaat aggcgatatc cgaggccctt tcgtctcgcg cgtttcgggtg 10080

atgacggtga aaacctctga cacatgcagc tcccggagac ggtcacagct tgtctgtaag 10140

cggatgccgg gagcagacaa gcccgtcagg gcgcgtcagc ggggtttggc ggggtgtcggg 10200

gctggcttaa ctatgcggca tcagagcaga ttgtactgag agtgcacat atgggtacca 10260

attgtgtaat acgactcact atag 10284

<210> 15

<211> 10260

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polynucleotide

<400> 15

```
tttgaatgg ggggctgggc cctgatgcc agtccttctc tcccccttc ggggggttaa      60
cgggtgtgt ttgctagagg cacagagggg caacatccaa cctgcttttg cggggaacgg      120
tgcggctccg attcctgcgt cgccaaaggt gttagcgac ccaaacggcg cacctaccaa      180
tgttattggt gtggtctgcg agttctagcc tactcgtttc tccccgacc attcactcac      240
ccacgaaaag tgtgtttaa ccataagatt taacccccgc acgggatgtg cgataaccgt      300
aagactggct caagcgcgga aagcgtgta accacatgct gttagtcct ttatggctgc      360
aagatggcta cccacctcgg atcactgaac tggagctcga cctccttag taagggaacc      420
```

```
gagagccctt cgtgcaacaa gtcgcgacac agagtcacg tgactgctac caccatgagt      480
acatggttct cccctctcga cccaggactt ctttttgaat atccacggct cgatccagag      540
ggtggggcat gacccctagc atagcgagct acagcgggaa ctgtagctag gccttagcgt      600
gccttggata ctgcctgata gggcgacggc ctagtctgtt cggttctata ggtagcacat      660
acaaatatgc agaactctca tttttcttc gatacgcct ctggcacctt tgaagatgta      720
accggaacaa aagtcaagat cgttgaatac cccagatcgg tgaacaatgg tgtttacgat      780
tcgtctactc atttggagat actgaacctc cagggtgaaa ttgaaatttt aaggtctttc      840
```

```
aatgaatacc aaattcgcgc cgccaaacaa caactcggac tggacatcgt gtacgaacta      900
cagggtaatg ttcagacaac gtcaaagaat gatattgatt cccgtggcaa taatggtaac      960
atgaccttca attactacgc aaacacttat cagaattcag tagacttctc gacctcctcg      1020
tcggcgctcag gcgccggacc cgggaactcc cggggcggat tagcgggtct cctcacaat      1080
ttcagtggaa tcttgaacce tcttggctac ctcaaagatc acaacaccga agaaatggaa      1140
aactctgctg atcgagtcac aacgcaaacg gcgggcaaca ctgccataaa cacgcaatca      1200
tcattgggtg tgttgtgtgc ctacgttgaa gacccgacca aatctgatcc tccgtccagc      1260
```

```
agcacagatc aaccaccac cactttcact gccatcgaca ggtggtacac tggacgtctc      1320
aattcttggc caaaagctgt aaaaaccttc tcttttcagg ccgtcccgtc tcccggggcc      1380
tttctgtcta ggcaggagg cctcaacgga ggggccttca cagctaccct acatagacac      1440
tttttgatga agtgcgggtg gcaggtgcag gtccaatgta atttgacaca attccaccaa      1500
ggcgctcttc ttgttgccat ggttcctgaa accacccttg atgtcaagcc cgacggtgaa      1560
gcaaagagct tacaggagct gaatgaagaa cagtgggtgg aaatgtctga cgattaccgg      1620
```

accgggaaaa acatgccttt tcagtccttt ggcacatact atcgcccc taactggact	1680
tggggtccca atttcatcaa cccctatcaa gtaacggttt tcccacacca aattctgaac	1740
gcgagaacct ctacctcggg agacataaac gtcccataca tcggggagac ccccacgcaa	1800
tcctcagaga cacagaactc ctggaccctc ctcgttatgg tgctcgttcc cctagactat	1860
aaggaaggag ccacaactga ccagaaaatt acattttctg taaggcctac aagtcctac	1920
ttcaatgggc ttcgcaaccg ctacacggcc gggacggacg aagaacaggg gccattcct	1980
acggcaccca gagaaaattc gcttatgttt ctctcaacc tccctgacga cactgtcct	2040
gcttacggga atgtgcgtac cctcctgtc aattacctcc ctggtgaaat aaccgacctt	2100
ttgcaactgg ccgcataacc cactctcatg gcatttgagc gggtcctga acccgtgcct	2160
gcctcagaca catatgtgcc ctacgttgcc gtcccaacc agttcgatga caggcctctc	2220
atctccttcc cgatcacctt ttcagatccc gtctatcaga acacctggg tggcgccatc	2280
agttcaaatt tcgccaatta ccgtgggtgt atccaaatca ctctgacatt ttgtggacce	2340
atgatggcga gagggaatt cctgtctctg tattctcccc caaatggaac gcaaccacag	2400
actctttccg aagctatgca gtgcacatac tctatttggg acataggctt gaactctagt	2460
tggaccttcg tcgtccccta catctcgccc agtgactacc gtgaaactcg agccattacc	2520
aactcggttt actccgtga tggttggttt agcctgcaca agttgaccaa aattactcta	2580
ccacctgact gtccgcaaag tccctgcatt ctcttttctg cttctgctgg tgaggattac	2640
actctccgtc tccccgtga ttgtaacct tcctatgtgt tccactccac cgacaacgcc	2700
gagaccgggg ttattgagc gggtaacact gacaccgatt tctctggtga actggcggt	2760
cctggctcta accacactaa tgtcaagtgc ctgtttgatc gatctcgatt attgaatgta	2820
atcaaggtag tggagaagga cgccgttttc ccccgccctt tccctacaca agaaggtagc	2880
cagcaggatg atggttactt ttgtcttctg acccccgcgc caacagtcgc tccccgacct	2940
gccactcgtt tcggcctgta cgccaatccg tccggcagtg gtgttcttgc taacacttca	3000
ctggacttca atttttatag cttggcctgt ttcacttact ttagatcgga cttgaggtt	3060
acggtggctc cactagagcc ggatctggaa tttgtgttag ggtggtttcc tctggcagt	3120
gaataaccagg cttccagctt tgtctacgac cagctgcatg tgccttcca ctttactggg	3180
cgcactcccc gcgttttgc tagcaagggt gggaaggtat ctttctgtct ccttggaa	3240
tctgtctcgt ctgtgtcccc cgtgcgctgg gggggggctt ccaagctctc tctgtctacg	3300
cggggtctac cgcgcatgc tgattggggg actatttacg cctttgtccc ccgtccta	3360

gagaagaaaa gcaccgctgt aaaacacgtg gccgtgtaca ttcggtacaa gaacgcacgt 3420

gcctggtgcc ccagcatgct tccctttcgc agctacaagc agaagatgct gatgcaatct 3480

ggcgatatcg agaccaatcc tggtcctatg aaaaaaagtg gtgttctttt cctcttgggc 3540

atcatcttgc tggttctgat tggagtgc aaacccagc tagtgagaaa gggtcgctgt 3600

tcctgcatca gcaccaacca agggactatc cacctacaat ccttgaaaga ccttaacaa 3660

tttgcccaa gcccttcctg cgagaaaatt gaaatcattg ctacactgaa gaatggagtt 3720

caaacatgtc taaccacaga ttcagcagat gtgaaggaac tgattaaaaa gtgggagaaa 3780

caggtcagcc aaaagaaaaa gcaaaagaat gggaaaaaac atcaaaaaa gaaagtcttg 3840

aaagttcgaa aatctcaacg ttctcgtcaa aagaagacta cagctccagt aaagcagact 3900

ctaaacttcg atcttctcaa gctcgtgga gatgttgaga gcaaccagg tccagcttct 3960

gacaacccaa ttttggagtt tcttgaagca gaaaatgac tagtcactct ggcctctctc 4020

tggaagatgg tgcactctgt tcaacagacc tggagaaagt atgtgaagaa cgatgatttt 4080

tggccaatt tactcagcga gctagtgggg gaaggctctg tcgccttggc cgccacgcta 4140

tccaaccaag cttcagtaaa ggctcttttg ggcctgcact ttctctctcg ggggctcaat 4200

tacactgact ttactcttt actgatagag aaatgctcta gtttctttac cgtagaacca 4260

cctctccac cagctgaaaa cctgatgacc aagccctcag tgaagtcgaa attccgaaaa 4320

ctgtttaaga tgcaaggacc catggacaaa gtcaaagact ggaaccaa atagctgccggc 4380

ttgaagaatt ttcaatttgt tcgtgacctt gtcaaagagg tggtcgattg gctgcaggcc 4440

tggatcaaca aagagaaagc cagccctgtc ctccagtacc agttggagat gaagaagctc 4500

gggcctgtgg ccttggctca tgacgctttc atggctggtt ccgggcccc tcttagcgac 4560

gaccagattg aatacctcca gaacctcaaa tctcttgccc taacactggg gaagactaat 4620

ttggcccaa gtctcaccac tatgatcaat gccaaacaaa gttcagccca acgagttgaa 4680

cccgttgtgg tggtccttag aggcaagccg ggatgcggca agagcttggc ctctacgttg 4740

attgcccagg ctgtgtccaa gcgcctctat ggctcccaaa gtgtatatc tcttcccca 4800

gatccagatt tcttcgatgg atacaagga cagttcgtga ccttgatgga tgatttggga 4860

caaaacccgg atggacaaga tttctccacc tttgtcaga tgggtcgac cgccaattt 4920

ctcccaaca tggcgacac tgcagagaaa gggcgctcct ttacctcaa tctcatcatt 4980

gcaactacaa atctcccca cttcagtcct gtcaccattg ctgaccttc tgcagtctct 5040

cgccgtatca actacgatct gactctagaa gtatctgagg cctacaagaa acacacacgg 5100

ctgaattttg acttggcttt caggcgacac gacgcccc ccatttatcc ttttgcggc 5160

catgtgccct ttgtggacgt agctgtgcgc ttcaaaaatg gtcaccagaa ttttaatctc 5220

ctagagttag tcgattccat ttgtacagac attcgagcca agcaacaagg tgcccgaac 5280

atgcagactc tggttctaca gagccccaac gagaatgatg acacccccgt cgacgagcg 5340

ttgggtagag ttctctcccc cgctcgggtc gatgaggcgc ttgtcgacct cactccagag 5400

gccgacccgg ttggccgttt ggctattctt gccaaagctag gtcttgcctt agctcgggtc 5460

acccctgggtc tgataatctt ggcagtggga ctctacaggt acttctctgg ctctgatgca 5520

gaccaagaag aaacagaaag tgagggatct gtcaaggcac ccaggagcga aaatgcttat 5580

gacggccccga agaaaaactc taagccccct ggagcactct ctctcatgga aatgcaacag 5640

cccaactggt acatgggctt tgaggtcgcg gtcgctaaga aagtggctgt cccattacc 5700

ttcatggttc ccaacagacc ttctgggctt acacagtccg ctcttctggt gaccggccgg 5760

accttctaa tcaatgaaca tacatggtcc aatccctct ggaccagctt cacaatccgc 5820

ggtgaggtac acactcgtga tgagcccttc caaacggttc atttactca ccacgtatt 5880

cccacagatc tgatgatggt acgtctcgga ccgggcaatt ctttccctaa caatctagac 5940

aagtttgac ttgaccagat gccggcacgc aactcccgtg tggttggcgt ttcgtccagt 6000

tacggaaact tcttctctc tggaatttc ctcgatttg ttgattccat cacctctgaa 6060

caaggaaact acgcaagact ctttaggtac aggggtgacga cctacaaagg atggtgcggc 6120

tcggccctgg tctgtgagc cggtggcgtc cgacgcatca ttggcctgca ttctgtggc 6180

gccgccggtc tcggcgccgg gacctatc tcaaaattag gactaatcaa agccctgaaa 6240

cacctcgggtg aacctttggc cacaatgca ggactgatga ctgaattaga gcctggaatc 6300

accgtacatg taccceggaa atccaaattg agaaagacga ccgcacacgc ggtgtacaaa 6360

ccggagtttg agcctgctgt gttgtcaaaa ttgatccca gactgaacaa ggatgttgac 6420

ttggatgaag taatttggtc taaacacact gccaatgtcc cttaccaacc tcctttgttc 6480

tacacataca tgtcagagta cgctcatcga gtcttctct tcttggggaa agacaatgac 6540

attctgaccg tcaaagaagc aattctgggc atccccggac tagaccccat ggatccccac 6600

acagtcctgg gtctgcctta cgccatcaac ggccttcgac gtactgatct cgtcgatctt 6660

gtgaacggtc cagtagatgc ggcgtggct gtacaaatcc agaaattctt agacggtgac 6720

tactctgacc atgtcttcca aacttttctg aaagatgaga tcagaccctc agagaaagt 6780

cgagcgggaa aaacccgcat tgttgatgtg cctccctgg cgattgcat tgtgggcaga 6840

atgttgcttg ggcgctttgc tgccaagttt caatcccatc ctggctttct cctcggctct 6900

gctatcgggt ctgacctga tgttttctgg accgtcatag gggctcaact cgaggggaga 6960

aagaacacgt atgacgtgga ctacagtgcc ttgactctt cacacggcac tggctccttc 7020

gaggctctca tctctactt ttaccctg gacaatggtt ttagccctgc gctgggaccg 7080

tatctcagat ccctggctgt ctccgtgcac gcttacggcg agcgtcgcat caagattacc	7140
ggtggcctcc cctccggttg tgccgcgacc agcctgctga acacagtgct caacaatgtg	7200
atcatcagga ctgctctggc attgacttac aaggaatttg aatatgacat ggttgatatac	7260
atcgctacg gtgacgacct tctggttggc acggattacg atctggactt caatgaggtg	7320
gcacgacgcg ctgccaagtt ggggtataag atgactcctg ccaacaaggg ttctgtcttc	7380
cctccgactt cctctctttc cgatgctgtt ttcttaaagc gcaaattcgt ccaaaacaac	7440
gacggcttat acaaaccagt tatggattta aagaatttgg aagccatgct ctctacttc	7500
aaaccaggaa cactactcga gaagctgcaa tctgtttcta tgttggtca acattctgga	7560
aaagaagaat atgatatagatt gatgcacccc ttcgctgact acggtgccgt accgagtcac	7620
gagtacctgc aggcaagatg gagggccttg ttcgactgac ccagatagcc caaggcgctt	7680
cgggtgctgcc ggcgattctg ggagaactca gtcggaacag aaaagggaaa aaaaaaaaaa	7740
aaaaaaaaa aaaaaaaatt taaatgcatg caagcttgag tattctatag tgtcacctaa	7800
atagcttggc gtaatcatgg tcatagctgt ttctgtgtg aaattgttat ccgctcacia	7860
ttccacacia catacgagcc ggaagcataa agtgtaaagc ctgggggtgcc taatgagtga	7920
gctaactcac attaatcgcg ttgcgctcac tgcccgcctt ccagtcggga aacctgtcgt	7980
gccagctgca ttaatgaatc ggccaacgcg cggggagagg cggtttgcgt attgggcgct	8040
cttcgccttc ctgcctcact gactcgctgc gctcggctgt tcggctgcgg cgagcggtat	8100
cagctcactc aaaggcggtg atacggttat ccacagaatc aggggataac gcaggaaaga	8160
acatgtgagc aaaaggccag caaaaggcca ggaaccgtaa aaaggccgcg ttgctggcgt	8220
ttttccatag gctccgcccc cctgacgagc atcacaaaaa tcgacgtca agtcagaggt	8280
ggcgaaaccc gacaggacta taaagatacc aggcgtttcc ccctggaagc tccctcgtgc	8340
gctctcctgt tccgacctg ccgcttaccg gatactgtc cgctttctc ccttcgggaa	8400
gcgtggcgct ttctcatagc tcacgtgta ggtatctcag ttcggtgtag gtcgttcgt	8460
ccaagctggg ctgtgtgac gaacccccg ttcagcccg cgcctgcgcc ttatccggtg	8520
actatcgtct tgagtccaac ccggtgaagc acgacttata gccactggca gcagccactg	8580
gtaacaggat tagcagagcg aggtatgtag gcggtgctac agagtcttg aagtgtggc	8640
ctaactcgg ctacactaga agaacagtat ttggtatctg cgctctgctg aagccagtta	8700
ccttcggaaa aagagttggt agctcttgat ccggcaaaaa aaccaccgt ggtagcgggtg	8760
gtttttttgt ttgcaagcag cagattacgc gcagaaaaaa aggatctcaa gaagatcctt	8820

tgatcttttc tacgggtct gacgtcagt ggaacgaaaa ctcacgttaa gggattttgg 8880
 tcatgagatt atcaaaaagg atcttcacct agatcctttt aaattaaaaa tgaagtttta 8940
 aatcaatcta aagtatatat gagtaaacctt ggtctgacag ttaccaatgc ttaatcagtg 9000
 aggcacctat ctcagcgatc tgtctatttc gttcatccat agttgcctga ctccccgtcg 9060
 tgtagataac tacgatacgg gagggcttac catctggccc cagtgtctga atgataccgc 9120
 gagaccacg ctcaccggct ccagatttat cagcaataaa ccagccagcc ggaagggccg 9180
 agcgcagaag tggctctgca actttatccg cctccatcca gtctattaat tgttgccggg 9240

 aagctagagt aagtagttcg ccagttaata gtttgcgcaa cgttggtgcc attgctacag 9300
 gcatcgtggt gtcacgctcg tcgtttggta tggcttcatt cagctccggt tcccaacgat 9360
 caaggcgagt tacatgatcc cccatgttgt gcaaaaaagc ggtagctcc ttcggtcctc 9420
 cgatcgttgt cagaagtaag ttggccgcag tgtatcact catggttatg gcagcactgc 9480
 ataattctct tactgtcatg ccatccgtaa gatgcttttc tgtgactggt gagtactcaa 9540
 ccaagtcatt ctgagaatag tgtatgcggc gaccgagttg ctcttgcccg gcgtcaatac 9600
 gggataatac cgcgccacat agcagaactt taaaagtgt catcattgga aaacgttctt 9660

 cggggcgaaa actctcaagg atcttaccgc tgttgagatc cagttcgatg taaccactc 9720
 gtgcacccaa ctgattctca gcatctttta ctttaccag cgtttctggg tgagcaaaaa 9780
 caggaaggca aaatgccga aaaaaggga taaggcgac acggaatgt tgaatactca 9840
 tactcttct ttttcaatat tattgaagca tttatcaggg ttattgtctc atgagcggat 9900
 acatatttga atgtatttag aaaaataaac aaataggggt tccgcgcaca tttccccgaa 9960
 aagtgcacc tgacgtctaa gaaaccatta ttatcatgac attaacctat aaaaataggc 10020
 glatcacgag gccctttcgt ctgcgcgtt tcggtgatga cggtgaaaac ctctgacaca 10080

 tgcagctccc ggagacggtc acagcttgtc tgtaagcgga tgccgggagc agacaagccc 10140
 gtcaggcgcg gtcagcgggt gttggcgggt gtcggggctg gcttaactat gcggcatcag 10200
 agcagattgt actgagagtg caccatatgg gtaccaattg tgtaatacga ctactatag 10260

 <210> 16
 <211> 10485
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide
 <400> 16
 tttgaaatgg ggggctgggc cctgatgcc agtccttctt tccccctcc ggggggttaa 60

ccggctgtgt ttgctagagg cacagagggg caacatccaa cctgcttttg cggggaacgg 120

tgcggtccg attcctgctg cgccaaaggt gttagcgac ccaaacggcg cacctaccaa 180

tgttatgtgt gtggtctgcg agttctagcc tactcgtttc tccccgacc attcactcac 240

ccacgaaaag tigtittgtaa ccataagatt taacccccgc acgggatgtg cgataaccgt 300

aagactggct caagcgcgga aagcgtgta accacatgct gttagtcctt ttatggctgc 360

aagatggcta cccacctcgg atcactgaac tggagctcga ccttccttag taagggaacc 420

gagaggcctt cgtgcaacaa gctccgacac agagtccacg tgactgtac caccatgagt 480

acatggttct cccctctcga cccaggactt ctttttgaat atccacggct cgatccagag 540

ggtggggcat gacccctagc atagcgagct acagcgggaa ctgtagctag gccttagcgt 600

gccttgata ctgcctgata gggcgacggc ctagtctgtt cggttctata ggtagcacat 660

acaaatatgc agaactctca tttttctttc gatacagcct ctggcacctt tgaagatgta 720

accggaacaa aagtcaagat cgttgaatac cccagatcgg tgaacaatgg tgtttacgat 780

tcgtctactc atttggagat actgaaccta cagggtgaaa ttgaaatttt aaggcttttc 840

aatgaatacc aaattcgcgc cgccaaacaa caactcggac tggacatcgt gtacgaacta 900

cagggtaatg ttcagacaac gtcaaagaat gattttgatt cccgtggcaa taatggtaac 960

atgaccttca attactacgc aaacacttat cagaattcag tagacttctc gacctcctcg 1020

tcggcgctcag gcgccggacc cgggaactcc cggggcggat tagcgggtct cctcacaat 1080

ttcagtggaa tcttgaacct tcttggctac ctcaaagatc acaacaccga agaaatggaa 1140

aactctgctg atcgagtcac aacgcaaacg gcgggcaaca ctgccataaa cacgcaatca 1200

tcattgggtg tgttgtgtgc ctacgttgaa gacccgacca aatctgatcc tccgtccagc 1260

agcacagatc aaccaccac cactttcact gccatcgaca ggtggtacac tggacgtctc 1320

aattcttga caaaagctgt aaaaaccttc tcttttcagg ccgtcccgt tccccgggccc 1380

tttctgtcta ggcaggagg cctcaacgga ggggccttca cagctaccct acatagacac 1440

tttttgatga agtgcgggtg gcaggtgcag gtccaatgta atttgacaca attccaccaa 1500

ggcgctcttc ttgttgccat ggttcctgaa accacccttg atgtcaagcc cgacggttaag 1560

gcaaagagct tacaggagct gaatgaagaa cagtgggtgg aaatgtctga cgattaccgg 1620

accgggaaaa acatgccttt tcagtctctt ggcacatact atcgcccccc taactggact 1680

tgggttccca atttcatcaa cccctatcaa gtaacggttt tcccacacca aattctgaac 1740

gcgagaacct ctacctcggg agacataaac gtcccataca tcggggagac ccccacgcaa 1800

tcctcagaga cacagaactc ctggaccctc ctcgttatgg tgctcgttcc cctagactat	1860
aaggaaggag ccacaactga ccagaaaatt acattttctg taaggcctac aagtcctac	1920
ttcaatgggc ttgcgaaccg ctacacggcc gggacggacg aagaacaggg gcccattcct	1980
acggcaccca gagaaaattc gcttatgttt ctctcaaccc tccctgacga cactgtccct	2040
gcttacggga atgtgcgtac ccctcctgtc aattacctcc ctggtgaaat aaccgacctt	2100
ttgcaactgg cccgcatacc cactctcatg gcatttgagc ggggtgcctga acccgtgcct	2160
gcctcagaca catatgtgcc ctacgttgcc gtcccccacc agttcgatga caggcctctc	2220
atctccttcc cgatcacctt ttcagatccc gtctatcaga acacctggt tggcgccatc	2280
agttcaaatt tcgccaatta ccgtgggtgt atccaaatca ctctgacatt ttgtggacct	2340
atgatggcga gagggaaatt cctgctctcg tattctcccc caaatggaac gcaaccacag	2400
actctttccg aagctatgca gtgcacatac tctatttggg acataggctt gaactctagt	2460
tggaccttcg tcgtccccta catctcgccc agtgactacc gtgaaactcg agccattacc	2520
aactcggttt actccgtga tggttggttt agcctgcaca agttgaccaa aattactcta	2580
ccacctgact gtccgcaaag tccttgcatt ctcttttctg cttctgctgg tgaggattac	2640
actctccgtc tccccgtga ttgtaatcct tcctatgtgt tccactccac cgacaacgcc	2700
gagaccgggg ttattgagc gggtaacact gacaccgatt tctctggtga actggcggt	2760
cctggctcta accacactaa tgtcaagttc ctgtttgate gatctcgatt attgaatgta	2820
atcaaggtag tggagaagga cgccgttttc ccccgccctt tccctacaca agaaggtgcg	2880
cagcaggatg atggttactt ttgtcttctg accccccgcc caacagtcgc ttcccgaacc	2940
gccactcgtt tcggcctgta cgccaatccg tccggcagtg gtgttcttgc taacacttca	3000
ctggacttca atttttatag cttggcctgt ttcacttact ttagatcgga cttgaggtt	3060
acggtgggtc cactagagcc ggatctggaa tttgctgtag ggtggtttcc ttctggcagt	3120
gaataaccagg ctccagctt tgtctacgac cagctgcatg tgcccttcca ctttactggg	3180
cgcactcccc gcgctttcgc tagcaagggt gggaaggtat ctttctgct cccttggaac	3240
tctgtctcgt ctgtgtccc cgtgcgctgg gggggggctt ccaagctctc ttctgtacg	3300
cgggggtctac cggcgcacgc tgattggggg actatttacg cctttgtccc ccgtcctaat	3360
gagaagaaaa gcaccgtgt aaaacacgtg gccgtgtaca ttcggtacaa gaacgcacgt	3420
gcctggtgcc ccagcatgct tccctttcgc agctacaagc agaagatgct gatgcaatct	3480
ggcgatatcg agaccaatcc tggtcctatg ggtcgggggc tgctcagggg cctgtggccg	3540
ctgcacatcg tctgtggag gcgtatgcc agcacgatcc caccgcacgt tcagaagtcg	3600
gttaataacg acatgatagt cactgacaac aacggtgcag tcaagtttcc acaactgtgt	3660

aaattttgtg atgtgagatt ttccacctgt gacaaccaga aatcctgcat gagcaactgc 3720
 agcatcacct ccatctgtga gaagccacag gaagtctgtg tggctgtatg gagaaagaat 3780
 gacgagaaca taacactaga gacagtttgc catgacccca agctccccta ccatgacttt 3840
 attctggaag atgctgcttc tccaaagtgc attatgaagg aaaaaaaaaa gcctgggtgag 3900

 actttcttca tgtgttctctg tagctctgat gaggcaatg acaacatcat cttctcagaa 3960
 gaataataca ccagcaatcc tgacttggtg ctagtcatat ttcaagtgc aggcacacagc 4020
 ctctgccac cactgggagt tgccatatct gtcacatca tcttctactg ctaccgcgtt 4080
 taccatacag atgttcaga ttacgtgct ccagtaaagc agactctaaa cttcgatctt 4140
 ctcaagctcg ctggagatgt tgagagcaac ccaggtccag cttctgacaa cccaattttg 4200
 gagtttcttg aagcagaaaa tgatctagtc actctggcct ctctctggaa gatgggtcac 4260
 tctgttcaac agacctggag aaagtatgtg aagaacgatg atttttggcc caatttactc 4320

 agcgagctag tgggggaagg ctctgtcgcc ttggccgcca cgctatcaa ccaagcttca 4380
 glaaaggctc ttttgggcct gcactttctc tctcgggggc tcaattacac tgacttttac 4440
 tctttactga tagagaaatg ctctagtttc ttaccgtag aaccacctcc tccaccagct 4500
 gaaaacctga tgaccaagcc ctacgtgaag tcgaaattcc gaaaactgtt taagatgcaa 4560
 ggacctatgg acaaagtcaa agactggaac caaatagctg ccggcttgaa gaattttcaa 4620
 tttgttcgtg acctagtcaa agaggtggtc gattggctgc aggcctggat caacaaagag 4680
 aaagccagcc ctgtcctcca gtaccagtgt gagatgaaga agctcgggcc tgtggccttg 4740

 gctcatgacg ctttcatggc tggttccggg cccctcttta gcgacgacca gattgaatac 4800
 ctccagaacc tcaaatctct tgccctaaca ctggggaaga ctaatttgcc ccaaagtctc 4860
 accactatga tcaatgccaa acaaagttca gcccaacgag ttgaaccctg tgtgggtgtc 4920
 cttagaggca agccgggatg cggcaagagc ttggcctcta cgttgattgc ccaggtctgtg 4980
 tccaagcgcc tctatggctc ccaaagtgtt tattctcttc cccagatcc agatttcttc 5040
 gatggataca aaggacagtt cgtgaccttg atggatgatt tgggacaaaa cccggatgga 5100
 caagatttct ccaccttttg tcagatggtg tcgaccgccc aatttctccc caacatggcg 5160

 gaccttgacg agaaaggcg tccctttacc tccaatctca tcattgcaac tacaaatctc 5220
 cccacttca gtctgtcac cattctgat cttctgcag tctctgcg tatcaactac 5280
 gatctgactc tagaagtatc tgaggcctac aagaaacaca cacggctgaa ttttgacttg 5340
 gctttcaggc gcacagacgc cccccatt tacccttttg ctgccatgt gccctttgtg 5400
 gacgtagctg tgcgcttcaa aaatggtcac cagaatttta atctcctaga gttggctgat 5460
 tccatttgta cagacattcg agccaagcaa caaggtgccc gaaacatgca gactctggtt 5520

ctacagagcc ccaacgagaa tgatgacacc cccgtcgacg aggcgttggg tagagtctc 5580

tccccgctg cggtcgaiga ggcgttgtc gacctactc cagaggccga cccggttggc 5640

cgtttggcta ttcttgccaa gctaggtctt gccctagctg cggtcacccc tggcttgata 5700

atcttggcag tgggactcta caggctactt tctggctctg atgcagacca agaagaaaca 5760

gaaagtgagg gatctgtcaa ggcacccagg agcgaaaatg cttatgacgg cccgaagaaa 5820

aactctaagc cccctggagc actctctctc atggaaatgc aacagcccaa cgtggacatg 5880

ggctttgagg ctgcggtcgc taagaaagtg gtcgtcccca ttacctcat ggttcccaac 5940

agaccttctg ggcttacaca gtccgtctt ctggtgaccg gccggacctt cctaataat 6000

gaacatacat ggiccaatcc ctcttgacc agcttcacaa tccgcgtga ggtacacact 6060

cgtgatgagc ctttccaaac ggttcatttc actcaccag gtattccac agatctgatg 6120

atggtacgct tcggaccggg caattctttc ctaacaatc tagacaagt tggacttgac 6180

cagatgccgg cagcaactc ccgtgtggtt ggcgtttcgt ccagttacgg aaacttctc 6240

ttctctggaa atttctcgg atttgtgat tccatcacct ctgaacaagg aacttacgca 6300

agactcttta ggtacagggt gacgacctac aaaggatggt gcggtcggc cctggtctgt 6360

gaggccggtg gcgtccgacg catcattggc ctgcattctg ctggcgccgc cggtatcggc 6420

gccgggacct atatctcaaa attaggacta atcaaagccc tgaaacacct cggtgaacct 6480

ttggccacaa tgcaaggact gatgactgaa ttagagcctg gaatcacctg acatgtaccc 6540

cggaaatcca aattgagaaa gacgaccgca cagcggtgt acaaaccgga gtttgacct 6600

gctgtgtgt caaaattga tcccagactg aacaaggatg ttgacttgga tgaagtaatt 6660

tggcttaaac aactgccaa tgtcccttac caacctctt tgttctacac atacatgtca 6720

gagtacgctc atcgagtctt ctcttcttg gggaaagaca atgacattct gaccgtcaaa 6780

gaagcaattc tgggcatccc cggactagac cccatggatc cccacacagc tccgggtctg 6840

ccttacgcca tcaacggcct tcgacgtact gatctcgtc atttgtgaa cggtacagta 6900

gatgcggcgc tggtgtgata aatccagaaa ttcttagacg gtgactactc tgacctgtc 6960

ttccaaactt ttctgaaaga tgagatcaga cctcagaga aagtccgagc gggaaaaacc 7020

cgcattgttg atgtgccctc cctggcgcat tgcatgtgg gcagaatgtt gcttgggcgc 7080

tttgtgcca agtttcaate ccatctggc ttctctctg gctctgtat cgggtctgac 7140

cctgatgttt tciggaccgt cataggggct caactcgagg ggagaaagaa cacgtatgac 7200

giggactaca gtgcctttga ctcttcacac ggcactggct ccttcgagc tctcatctc 7260

cactttttca ccgtggacaa tggtttttagc cctgcgctgg gaccgtatct cagatccctg	7320
gctgtctcgg tgcacgctta cggcgagcgt cgcatacaaga ttaccggtgg cctccccctcc	7380
ggttgtgccg cgaccagcct gctgaacaca gtgctcaaca atgtgatcat caggactgct	7440
ctggcattga cttacaagga atttgaatat gacatggttg atatcatcgc ctacggtgac	7500
gaccttctgg ttggcacgga ttacgatctg gacttcaatg aggtggcacg acgcgctgcc	7560
aagtgggggt ataagatgac tctgccaaac aagggttctg tcttcccccc gacttcctct	7620
ctttccgatg ctgtttttct aaagcgcaaa ttctgccaaa acaacgacgg cttatacaaa	7680
ccagttatgg atttaaagaa tttggaagcc atgctctcct acttcaaacc aggaacacta	7740
ctcgagaagc tgcaatctgt ttctatgttg gctcaacatt ctggaaaaga agaatatgat	7800
agattgatgc accccttcgc tgactacggt gccgtaccga gtcacgagta cctgcaggca	7860
agatggaggg ccttgttcga ctgaccaga tagcccaagg cgcttcggtg ctgccggcga	7920
ttctgggaga actcagtcgg aacagaaaaag ggaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa	7980
aaatttaaat gcatgcaagc ttgagtattc tatagtgtca cctaaatagc ttggcgtaat	8040
catggtcata gctgtttcct gtgtgaaatt gttatccgct cacaattcca cacaacatac	8100
gagccggaag cataaagtgt aaagcctggg gtgcctaata agtgagctaa ctcacattaa	8160
ttgcgttgcg ctactgccc gctttccagt cgggaaacct gtcgtgccag ctgcattaat	8220
gaatcgccca acgcgcgggg agaggcgggt tgcgtattgg gcgctcttcc gcttctctgc	8280
tcactgactc gctgcgctcg gtcgttcggc tgcggcgagc ggtatcagct cactcaaagg	8340
cggtaatacg gttatccaca gaatcagggg ataacgcagg aaagaacatg tgagcaaaag	8400
gccagcaaaa ggccaggaac cgtaaaaagg ccgcgttgct ggcgtttttc cataggtctc	8460
gccccctga cgagcatcac aaaaatcgac gctcaagtca gaggtggcga aaccgcagac	8520
gactataaag ataccaggcg tttccccctg gaagctccct cgtgcgctct cctgttccga	8580
ccctgccgct taccggatac ctgtccgcct tttcccttc gggaagcgtg gcgctttctc	8640
atagctcacg ctgtaggtat ctcagttcgg ttaggtcgt tcgctccaag ctgggctgtg	8700
tgcacgaacc cccggttcag cccgaccgt gcgccttate cggtaactat cgtcttgagt	8760
ccaaccgggt aagacacgac ttatgccac tggcagcagc cactggtaac aggattagca	8820
gagcgaggta ttaggcgggt gctacagagt tcttgaagtg gtggcctaac tacggctaca	8880
ctagaagaac agtatttgggt atctgcgctc tgcgaagcc agttaccttc ggaaaaagag	8940
ttggtagctc ttgatccggc aaacaaacca ccgctggtag cggtggtttt tttgtttgca	9000
agcagcagat tacgcgcaga aaaaaaggat ctcaagaaga tcctttgatc ttttctacgg	9060
ggtctgacgc tcagtggaac gaaaactcac gtttaagggt tttggtcatg agattatcaa	9120

aaaggatctt cacctagatc cttttaaat aaaaatgaag ttttaaatca atctaaagta 9180
 tatatgagta aacttggtct gacagttacc aatgcttaat cagtgaggca cctatctcag 9240
 cgatctgtct atttcgttca tccatagttg cctgactccc cgtcgtgtag ataactacga 9300
 tacgggaggg ctiaccatct ggccccagtg ctgcaatgat accgcgagac ccacgtcac 9360

 cggtccaga tttatcagca ataaaccagc cagccggaag ggccgagcgc agaagtggc 9420
 ctgcaacttt atccgctcc atccagtcta ttaattgttg ccgggaagct agagtaagta 9480
 gtccgagcgt taatagtttg cgcaacgttg ttgccattgc tacaggcatc gtgggtgcac 9540
 gctcgtcgtt tggataggtc tcattcagct ccggttccca acgatcaagg cgagttacat 9600
 gatcccccgt gtgtgcaaa aaagcgggtta gtccttcgg tcctccgac gtgtgcagaa 9660
 gtaagttggc cgagtggtta tcactcatgg ttatggcagc actgcataat tctcttactg 9720
 tcatgccatc cgtaagatgc ttttctgtga ctggtgagta ctcaaccaag tcattctgag 9780

 aatagtgtat gcggcgaccg agttgctctt gcccggcgtc aatacgggat aataccgcgc 9840
 cacatagcag aactttaaaa gtgctcatca ttggaaaacg ttcttcgggg cgaaaactct 9900
 caaggatctt accgctgttg agatccagtt cgatgtaacc cactcgtgca cccaactgat 9960
 ctccagcatc tttactttc accagcgttt ctgggtgagc aaaaacagga aggcaaatg 10020
 ccgcaaaaaa gggaataagg gcgacacgga aatgttgaat actcactc ttcctttttc 10080
 aatattattg aagcatttat cagggttatt gtctcatgag cggatacata ttgaaatga 10140
 tttagaaaaa taaacaaata ggggttcgc gcacatttc ccgaaaagt ccacctgacg 10200

 tctaagaaac cattattatc atgacattaa cctataaaaa taggcgtatc acgaggccct 10260
 ttcgtctcgc gcgtttcgtt gatgacggtg aaaacctctg acacatgcag ctcccggaga 10320
 cggtcacagc ttgtctgtaa gcggatgccg ggagcagaca agcccgtcag ggcgcgtcag 10380
 cgggtgttgg cgggtgtcgg ggctggctta actatgcggc atcagagcag attgtactga 10440
 gagtgcacca tatgggtacc aattgtgtaa tacgactcac tatag 10485

 <210> 17
 <211> 10641
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide

 <400> 17
 ttgaaatgg ggggctgggc cctgatgcc agtccttct ttccttcc ggggggttaa 60

ccggctgtgt ttgctagagg cacagagggg caacatccaa cctgcttttg cggggaacgg 120
 tgcggctccg attcctgcgt cgccaaaggt gttagcgac ccaaacggcg cacctaccaa 180
 tgttatgtgt gtggtctcg agttctagcc tactcgtttc tccccgacc attcactcac 240
 ccacgaaaag tigtittgaa ccataagatt taacccccgc acgggatgtg cgataaccgt 300
 aagactggct caagcgcgga aagcgtgta accacatgct gttagtcct ttatggctgc 360
 aagatggcta cccacctcg atcactgaac tggagctga cctccttag taagggaacc 420

 gagaggcctt cgtgcaacaa gctccgacac agagtccacg tgactgtac caccatgagt 480
 acatggttct cccctctga cccaggactt ctttttgaat atccacggct cgatccagag 540
 ggtggggcat gacccttagc atagcgagct acagcgggaa ctgtagctag gccttagcgt 600
 gccttgata ctgcctgata gggcgacggc ctagtctgt cggttctata ggtagcacat 660
 acaaatagc agaactctca tttttcttc gatacgcct ctggcacct tgaagatgta 720
 accggaacaa aagtcaagat cgttgaatac cccagatcgg tgaacaatgg tgtttacgat 780
 tcgtctactc atttggagat actgaaccta cagggtgaaa ttgaaatttt aaggcttttc 840

 aatgaatacc aaattcgcgc cgccaaacaa caactcggac tggacatcgt gtacgaacta 900
 cagggtaatg ttcagacaac gtcaaagaat gattttgatt cccgtggcaa taatggtaac 960
 atgaccttca attactacgc aaacacttat cagaattcag tagacttctc gacctcctcg 1020
 tcggcgctag gcgcgggacc cgggaactcc cggggcggat tagcgggtct cctcacaat 1080
 ttcagtggaa tcttgaacce tcttggtac ctcaaagatc acaacaccga agaaatggaa 1140
 aactctgtg atcgagtcac aacgcaaacg gcgggcaaca ctgccataaa cagcaatca 1200
 tcattgggtg tgttgtgtgc ctacgttgaa gacccgacca aatctgatcc tccgtccagc 1260

 agcacagatc aaccaccac cactttcact gccatcgaca ggtggtacac tggacgtctc 1320
 aattcttga caaaagctgt aaaaaccttc tcttttcagg ccgtcccgt tccccgggccc 1380
 tttctgtcta ggcaggagg cctcaacgga ggggccttca cagctaccct acatagacac 1440
 tttttgatga agtgcgggtg gcaggtgcag gtccaatgta atttgacaca attccaccaa 1500
 ggcgctcttc ttgttgccat ggttctgaa accaccttg atgtcaagcc cgacgtaag 1560
 gcaaagagct tacaggagct gaatgaagaa cagtgggtgg aaatgtctga cgattaccgg 1620
 accgggaaaa acatgccttt tcagtctctt ggcacatact atcgccccc taactggact 1680

 tgggttccca atttcatcaa cccctatcaa gtaacggttt tcccacacca aattctgaac 1740
 gcgagaacct ctacctcgg agacataaac gtcccataca tcggggagac ccccacgcaa 1800
 tcctcagaga cacagaactc ctggacctc ctggttatgg tgctcgttcc cctagactat 1860
 aaggaaggag ccacaactga ccagaaatt acattttctg taaggcctac aagtcctac 1920

ttcaatgggc ttgcgaaccg ctacacggcc gggacggacg aagaacaggg gccatttcct	1980
acggcaccca gagaaaatc gcttatgttt ctctcaacc tccctgacga cactgtccct	2040
gcttacggga atgtgcgtac ccttcctgtc aattacctcc ctggtgaaat aaccgacctt	2100
ttgcaactgg cccgcatacc cactctcatg gcattttgagc gggcgcctga acccgtgcct	2160
gcctcagaca catatgtgcc ctacgttgcc gtcccccac agttcgatga caggcctctc	2220
atctccttcc cgatcacctt ttcagatccc gtctatcaga acaccctggt tggcgccatc	2280
agttcaaatt tcgccaatta ccgtgggtgt atccaaatca ctctgacatt ttgtggaccc	2340
atgatggcga gagggaaatt cctgtctctg tattctcccc caaatggaac gcaaccacag	2400
actctttccg aagctatgca gtgcacatac tctatttggg acataggctt gaactctagt	2460
tggaccttcg tcgtccccta catctcgccc agtgactacc gtgaaactcg agccattacc	2520
aactcggttt actccgtga tggttggttt agcctgcaca agttgaccaa aattactcta	2580
ccacctgact gtcgcgaaag tccctgcatt ctctttttcg cttctgctgg tgaggattac	2640
actctccgtc tccccgtga ttgtaatcct tcctatgtgt tccactccac cgacaacgcc	2700
gagaccgggg ttattgagcg gggtaacact gacaccgatt tctctggtga actggcggt	2760
cctggctcta accacactaa tgtcaagttc ctgtttgatc gatctcgatt attgaatgta	2820
atcaaggtag tggagaagga cgccgttttc ccccgccctt tccctacaca agaaggtagc	2880
cagcaggatg atggttactt ttgtcttctg acccccgcgc caacagtcgc ttcccgaccc	2940
gccactcgtt tcggcctgta cgccaatccg tccggcagtg gtgttcttgc taacacttca	3000
ctggacttca atttttatag cttggcctgt ttcacttact ttagatcgga ccttgaggtt	3060
acggtggtct cactagagcc ggatctggaa ttgtctgtag ggtggtttcc ttctggcagt	3120
gaataaccagg ctccagctt tgtctacgac cagctgcatg tgcccttcca ctttactggg	3180
cgcactcccc gccttttcgc tagcaagggt gggaaggtat ctttcgtgct cctttggaac	3240
tctgtctcgt ctgtgtcccc cgtgcgctgg gggggggctt ccaagctctc ttctgtacg	3300
cgggggtctac cggcgcatgc tgattggggg actatttacg cctttgtccc ccgtccta	3360
gagaagaaaa gcaccgctgt aaaacacgtg gccgtgtaca ttcggtacaa gaacgcacgt	3420
gcctggtgcc ccagcatgct tccctttcgc agctacaagc agaagatgct gatgcaatct	3480
ggcgaatcgc agaccaatcc tggctctagc gcgatgccgc tggaaagcga acaggaaaac	3540
tgcgaaatga ccccgacct tgaactgatt tgcggccatc gcagcattcg ccattttacc	3600
gatgaaccga ttagcgaagc gcagcgcgaa gcgattatta acagcgcgcg cgcgaccagc	3660
agcagctatt ttctgcagtg cagcagcatt attcgcatia ccgataaagc gctgcgcgaa	3720

gaactggtga ccctgaccgg cggccagaaa catgtggcgc aggcggcgga attttgggtg	3780
ttttgcgcgg attttaaccg ccattctgcag atttgcgccg atgcgcagct gggcctggcg	3840
gaacagctgc tgatgggctg ggataccgcg atgatggcgc agaacgcgt gattgcggcg	3900
gaaagcctgg gcctgggcgg cgtgtatatt ggccgcctgc gcaacaacat tgaagcgggtg	3960
accaaactgc tgaactgcc gcagcatgtg ctgccgtgt ttggcctgtg cctgggctgg	4020
ccggcggata acccggaict gaaaccgcgc ctgccggcga gcattctgtt gcatgaaaac	4080
agctatcagc cgctggataa aggcgcgcgtg gcgcagtatg atgaacagct ggcggaatat	4140
tatctgacc gcggcagcaa caaccgccgc gatacctgga gcgatcatat tcgccgcacc	4200
attattaaag aaagccgccc gagcattctg gattatctgc ataacaggg ctgggcgacc	4260
cgcgctccag taaagcagac tctaaacttc gatcttctca agctcgctgg agatgttgag	4320
agcaaccag gtccagcttc tgacaacca attttgaggt ttcttgaagc agaaaatgat	4380
ctagtcactc tggcctctct ctggaagatg gtgcactctg ttcaacagac ctggagaaag	4440
tatgtgaaga acgatgattt ttggcccaat ttactcagcg agctagtggg ggaaggctct	4500
gtgccttgg ccgccagct atccaaccaa gcttcagtaa aggtctttt gggcctgcac	4560
tttctctctc gggggctcaa ttacttgac ttttactctt tactgataga gaaatgctct	4620
agtttcttta ccgtagaacc acctcctcca ccagctgaaa acctgatgac caagccctca	4680
gtgaagtcca aattccgaaa actgtttaag atgcaaggac ccatggacaa agtcaaagac	4740
tggaacaaaa tagctgccgg cttgaagaat ttcaatttg ttcgtgacct agtcaaagag	4800
gtggtcgatt ggcctgcagg ctggatcaac aaagagaaag ccagccctgt cctccagtac	4860
cagttggaga tgaagaagct cgggcctgtg gccttggctc atgacgcttt catggctggt	4920
tccgggcccc ctcttagcga cgaccagatt gaatacctcc agaacctcaa atctcttgcc	4980
ctaactctgg ggaagactaa ttggcccaa agtctcacca ctatgatcaa tgccaaacaa	5040
agttcagccc aacgagttga acccgttgtg gtggtcctta gaggcaagcc gggatgcggc	5100
aagagcttgg cctctacgtt gattgcccg gctgtgtcca agcgctctta tggtcccaa	5160
agtgtatatt ctcttcccc agatccagat ttcttcgatg gatacaaagg acagtctgtg	5220
accttgatgg atgatttggg acaaaaccg gatggacaag atttctccac cttttgtcag	5280
atggtgtcga ccgccaatt tctcccaac atggcgacc ttgcagagaa agggcgctcc	5340
tttacctcca atctcatcat tgcaactaca aatctcccc acttcagtcc tgtcaccatt	5400
gctgatcctt ctgcagctc tcgccgtatc aactacgac tgactctaga agtatctgag	5460

gcctacaaga aacacacacg gctgaatttt gacttggctt tcaggcgac agacgcccc 5520

cccatattatc cttttgctgc ccatgtgccc ttgttgacg tagctgtgcg cttcaaaaat 5580

ggtcaccaga attttaatct cctagagttg gtcgattcca ttgttacaga cattcgagcc 5640

aagcaacaag gtgcccgaag catgcagact ctggttctac agagcccaa cgagaatgat 5700

gacacccccg tcgacgagcg gttgggtaga gttctctccc ccgctgcggt cgatgagcg 5760

cttgtcgacc tcactccaga ggccgaccg gttggccgtt tggtattct tgccaagcta 5820

ggtcttgccc tagctgcggt caccctggt ctgataatct tggcagtggg actctacagg 5880

tacttctctg gctctgatgc agaccaagaa gaaacagaaa gtgagggatc tgtcaaggca 5940

cccaggagcg aaaatgctta tgacggcccg aagaaaaact ctaagcccc tggagcactc 6000

tctctcatgg aaatgaaca gcccaacgtg gacatgggtt ttgaggctgc ggtcgctaag 6060

aaagtggctg tccccattac cttcatggtt cccaacagac cttctgggtt tacacagtcc 6120

gctcttctgg tgaccggccg gaccttccia atcaatgaac atacatggtc caatccctcc 6180

tggaccagct tcacaatccg cggtaggta cacactcgtg atgagccctt ccaaacggtt 6240

catttcactc accacggtat tcccacagat ctgatgatgg tacgtctcgg accgggcaat 6300

tctttcccta acaatctaga caagtttga cttgaccaga tgccggcacg caactccgt 6360

gtggttggcg tttcgtccag ttacggaaac ttcttctct ctggaaattt cctcggattt 6420

gttgattcca tcaccttga acaaggaact tacgcaagac tctttaggta cagggtgacg 6480

acctacaag gatggctcgg ctcggccctg gtcctgtagg ccggtggcgt ccgacgcac 6540

attggcctgc attctgtgg cgcgcccgt atcggcgccg ggacctatat ctcaaaatta 6600

ggactaatca aagccctgaa acacctcgt gaacctttgg ccacaatgca aggactgatg 6660

actgaattag agcctggaat caccgtacat gtaccccgga aatccaaatt gagaaagacg 6720

accgcacacg cgggtgtaca accggagttt gagcctgctg tgttgtcaaa atttgatccc 6780

agactgaaca aggatgttga cttggatgaa gtaatttgg ctaaacacac tgccaatgtc 6840

ccttaccac ctcctttgtt ctacacatac atgtcagagt acgtcatcg agtcttctcc 6900

ttcttgggga aagacaatga cattctgacc gtcaaagaag caattctggg catccccgga 6960

ctagacccca tggatccca cacagctccg ggtctgcctt acgcatcaa cggccttcga 7020

cgtactgac tcgtcgattt tgtgaacggt acagtagatg cggcgtggc tgtacaaatc 7080

cagaaattct tagacggtga ctactctgac catgtcttcc aaacttttct gaaagatgag 7140

atcagaccct cagagaaagt ccgagcggga aaaaccgca ttgttgatgt gccctccctg 7200

gcgcattgca ttgtgggcag aatgttgctt gggcgctttg ctgccaagtt tcaatcccat 7260

cctggcttct tctcggctc tgctatcggg tctgacctg atgtttctg gaccgtcata 7320

ggggctcaac tcgaggggag aaagaacacg tatgacgtgg actacagtgc ctttgactct	7380
tcacacggca ctggctcctt cgaggtcttc atctctcact ttttcaccgt ggacaatggt	7440
tttagccctg cgtctgggacc gtatctcaga tccctggctg tctcggtgca cgcttacggc	7500
gagcgtcgca tcaagattac cggtggcctc ccctccggtt gtgccgcgac cagcctgctg	7560
aacacagtgc tcaacaatgt gatcatcagg actgctctgg cattgactta caaggaattt	7620
gaatatgaca tggttgatat catgccttac ggtgacgacc ttctggttgg cacggattac	7680
gatctggact tcaatgaggt ggcacgacgc gctgccaagt tggggtataa gatgactcct	7740
gccaacaagg gttctgtctt ccctccgact tcctctcttt ccgatgctgt ttttctaag	7800
cgcaaatctg tccaaaacaa cgacggctta tacaaccag ttatggattt aaagaatttg	7860
gaagccatgc tctctactt caaaccagga aactactcg agaagctgca atctgtttct	7920
atgttggctc aacattctgg aaaagaagaa tatgatagat tgatgcaccc ctctcgtgac	7980
tacggtgccg taccgagtca cgagtiacctg caggcaagat ggagggcctt gttcgactga	8040
cccagatagc ccaaggcgct tcggtgctgc cggcgattct gggagaactc agtcggaaca	8100
gaaaagggaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa ttaaatgcat gcaagcttga	8160
gtattctata gtgtcaccta aatagcttgg cgtaatcatg gtcatagctg tttcctgtgt	8220
gaaattgtta tccgctcaca attccacaca acatacgagc cggaagcata aagtgtaaag	8280
cctgggggtg ctaatgagtg agctaactca cattaattgc gttgcgtca ctgcccgctt	8340
tccagtcggg aaacctgtcg tgccagctgc attaatgaat cggccaacgc gcggggagag	8400
gcggtttgcg tattgggcgc ttttccgctt cctcgtcac tgactcgtg cgctcggctg	8460
ttcggtcgcg gcgagcggtt tcagctcact caaaggcggg aatacggtta tccacagaat	8520
caggggataa cgcaggaag aacatgtgag caaaaggcca gcaaaaggcc aggaaccgta	8580
aaaaggccgc gttgctggcg tttttccata ggtccgccc ccctgacgag catcacaaaa	8640
atcgacgctc aagtcagagg tggcgaaacc cgacaggact ataaagatac caggcgtttc	8700
ccctggaag ctccctcgtg cgctctcctg ttccgacct gccgcttacc ggatactgt	8760
ccgcctttct cccttcggga agcgtggcgc tttctcatag ctacgctgt aggtatctca	8820
gttcggtgta ggtcgttcgc tccaagctgg gctgtgtgca cgaaccccc gttcagcccc	8880
accgtcgcg cttatccggt aactatcgtc ttgagtccaa cccgtaaga cagacttat	8940
cgccactggc agcagccact ggtaacagga ttagcagagc gaggtatgta ggcggtgcta	9000
cagagtcttt gaagtggigg cctaactacg gctacactag aagaacagta tttggtatct	9060
gcgctctgct gaagccagtt accttcggaa aaagagttgg tagctcttga tccggcaaac	9120
aaaccaccgc tggtagcggg ggtttttttg ttgcaagca gcagattacg cgcagaaaaa	9180

aaggatctca agaagatcct ttgatctttt ctacggggtc tgacgctcag tggaacgaaa 9240

actcacgtta agggattttg gtcatgagat tatcaaaaag gatcttcacc tagatccttt 9300

taaattaaaa atgaagtttt aaatcaatct aaagtatata tgagtaaact tggctcgaca 9360

gttaccaatg cttaatcagt gaggcaccia tctcagcgat ctgtctatit cgttcatcca 9420

tagttgcctg actccccgtc gtgtagataa ctacgatacg ggagggtta ccatctggcc 9480

ccagtgtgc aatgataccg cgagaccac gctcacggc tccagattta tcagcaataa 9540

accagccagc cggaagggcc gagcgagaa gtggtcctgc aactttatcc gcctccatcc 9600

agtctattaa ttgttgccgg gaagctagag taagtagtic gccagttaat agtttgcgca 9660

acgtttgtgc cattgtcaca ggcatcgtgg tgcacgctc gtcgttttgt atggcttcat 9720

tcagctccgg ttcccaacga tcaaggcgag ttacatgac cccatgttg tgcaaaaaag 9780

cggtagctc ctccggtcct ccgacgttg tcagaagtaa gttggccgca gtgttatcac 9840

tcatggttat ggagcactg cataattctc ttactgtcat gccatccgta agatgctttt 9900

ctgtgactgg tgagtactca accaagtcac tctgagaata gtgtatgcgg cgaccgagtt 9960

gtctttgccc ggcgtaata cgggataata ccgcgccaca tagcagaact ttaaaagtgc 10020

tcatcattgg aaaacgttct tcggggcgaa aactctcaag gatcttaccg ctgttgagat 10080

ccagttcgat gtaaccact cgtgcacca actgatcttc agcatctttt actttacca 10140

gcgtttcttg gtgagcaaaa acaggaaggc aaaatgccgc aaaaaaggga ataaggcgca 10200

cacggaatg ttgaatactc atactcttc ttttcaata ttattgaagc atttatcagg 10260

gttattgtct catgagcgga tacatatttg aatgtattta gaaaaataaa caaatagggg 10320

ttccgcgcac atttccccga aaagtgccac ctgacgtcta agaaccatt attatcatga 10380

cattaaccta taaaaatagg cgtatcacga ggccctttcg tctcgcgcgt ttcggtgatg 10440

acggtgaaaa cctctgacac atgcagctcc cggagacggt cacagcttgt ctgtaagcgg 10500

atgccgggag cagacaagcc cgtcagggcg cgtcagcggg tgttggcggg tgcggggct 10560

ggcttaacta tcggcatca gagcagattg tactgagagt gcaccatag ggtaccaatt 10620

gtgtaatacg actcactata g 10641

<210> 18

<211> 10239

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide

<400> 18

tttgaatgg ggggctgggc cctgatgcc agtccttctt tcccccttcc ggggggttaa	60
ccggctgtgt ttgctagagg cacagagggg caacatccaa cctgcttttg cggggaacgg	120
tgcggtccg attcctgcgt cgccaaaggt gttagcgac ccaaacggcg cacctaccaa	180
tgttattggt gtggtctgcg agttctagcc tactcgtttc tccccgacc attcactcac	240
ccacgaaaag tgtgttgtaa ccataagatt taacccccgc acgggatgtg cgataaccgt	300
aagactggct caagcgcgga aagcgtgta accacatgct gttagtcctt ttatggctgc	360
aagatggcta cccacctcg atcactgaac tggagctcga ccttccttag taagggaacc	420
gagaggcctt cgtgcaacaa gctccgacac agagtccacg tgactgtac caccatgagt	480
acatggttct cccctctcga cccaggactt ctttttgaat atccacggct cgatccagag	540
ggtagggcat gacccttagc atagcgagct acagcgggaa ctgtagctag gccttagcgt	600
gccttggata ctgcctgata gggcgacggc ctagtctgtt cggttctata ggtagcacat	660
acaaatatgc agaactctca tttttctttc gatacagcct ctggcacctt tgaagatgta	720
accggaacaa aagtcaagat cgttgaatac cccagatcgg tgaacaatgg tgtttacgat	780
tcgtctactc atttggagat actgaacctt caggggtgaaa ttgaaatttt aaggtctttc	840
aatgaatacc aaattcgcg cgccaaacaa caactcggac tggacatcgt gtacgaacta	900
cagggtaatg ttcagacaac gtcaaagaat gattttgatt cccgtggcaa taatggtaac	960
atgaccttca attactacgc aaacacttat cagaattcag tagacttctc gacctcctcg	1020
tcggcgtcag gcgccggacc cgggaactcc cggggcggat tagcgggtct cctcacaaat	1080
ttcagtggaa tcttgaaccc tcttggctac ctcaaagatc acaacaccga agaaatggaa	1140
aactctgctg atcagctcac aacgcaaacg gcgggcaaca ctgccataaa cagcgaatca	1200
tcattgggtg tgttgtgtgc ctacgttgaa gaccgacca aatctgatcc tccgtccagc	1260
agcacagatc aaccaccac cactttcact gccatcgaca ggtggtacac tggacgtctc	1320
aattcttga caaaagctgt aaaaaccttc tcttttcagg ccgtcccgt tcccggggcc	1380
tttctgtcta ggcagggagg cctcaacgga ggggccttca cagctaccct acatagacac	1440
tttttgatga agtgcgggtg gcaggtgcag gtccaatgta atttgacaca attccaccaa	1500
ggcgctcttc ttgttgccat ggttcttgaa accaccttg atgtcaagcc cgacgtaag	1560
gcaaagagct tacaggagct gaatgaagaa cagtgggtgg aaatgtctga cgattaccgg	1620
accgggaaaa acatgccttt tcagtctctt ggcacatact atcggtcccc taactggact	1680
tgggttccca atttcatcaa cccctatcaa gtaacggttt tcccacacca aattctgaac	1740

gcgagaacct ctacctcggg agacataaac gtcccataca tcggggagac cccacgcaa 1800

tcctcagaga cacagaactc ctggaccctc ctctgtatgg tgctcgttcc cctagactat 1860

aaggaaggag ccacaactga cccagaaatt acatcttctg taaggcctac aagtcctac 1920

ttcaatgggc ttgcaaccg ctacacggcc gggacggacg aagaacaggg gccattcct 1980

acggcaccca gagaaaattc gcttatgttt ctctcaacc tccctgacga cactgtccct 2040

gcttacggga atgtgcgtac ccctcctgtc aattacctcc ctggtgaaat aaccgacctt 2100

ttgcaactgg cccgcatacc cactctcatg gcatttgagc gggcgcctga acccgtgcct 2160

gcctcagaca catatgtgcc ctacgttgcc gtcccccacc agttcgatga caggcctctc 2220

atctccttcc cgatcacctt ttcagatccc gtctatcaga acacctggg tggcgccatc 2280

agttcaaatt tcgccaatta ccgtgggtgt atccaaatca ctctgacatt ttgtggaccc 2340

atgatggcga gagggaaatt cctgtctctg tattctcccc caaatggaac gcaaccacag 2400

actctttccg aagctatgca gtgcacatac tctatttggg acataggctt gaactctagt 2460

tggaccttcg tcgtcccta catctgccc agtgactacc gtgaaactcg agccattacc 2520

aactcggttt actccgtga tggttggttt agcctgcaca agttgacaa aattactcta 2580

ccactgact gtccgcaaag tccctgcatt ctcttttctg cttctgctgg tgaggattac 2640

actctccgtc tccccgttga ttgtaatcct tcctatgtgt tccactccac cgacaacgcc 2700

gagaccgggg ttattgagge gggtaacact gacaccgatt tctctggtga actggcggct 2760

cctggctcta accacactaa tgtcaagttc ctgtttgatc gatctcgatt attgaatgta 2820

atcaaggtag tggagaagga cgccgttttc ccccgccctt tccctacaca agaaggtgcg 2880

cagcaggatg atggttactt ttgtcttctg acccccgcc caacagtcgc tccccgacct 2940

gccactcgtt tcggcctgta cgccaatccg tccggcagtg gtgttcttgc taacacttca 3000

ctggacttca atttttatag cttggcctgt ttcacttact ttagatcgga ccttgaggtt 3060

acggtggtct cactagagcc ggatctggaa ttgtctgtag ggtggtttcc ttctggcagt 3120

gaataccagg cttccagctt tgtctacgac cagctgcatg tgcccttcca ctttactggg 3180

cgcactcccc gcgttttcgc tagcaagggt gggaaggtag ctttcgtgct cccttggaac 3240

tctgtctcgt ctgtgtcccc cgtgcgctgg gggggggctt ccaagctctc ttctgtacg 3300

cggggtctac cggcgcatgc tgattggggg actatttacg cctttgtccc ccgtccta 3360

gagaagaaaa gcaccgctgt aaaacacgtg gccgtgtaca ttcggtacaa gaacgcacgt 3420

gcctggtgcc ccagcatgct tccctttcgc agctacaagc agaagatgct gatgcaatct 3480

ggcgatatcg agaccaatcc tggtcctatg aagtgggtga ctttcatcag cctgctgttc 3540
 ctgtttacga ggccttacg cccaagaag aagatccagc tgcacgccga gcacgcctg 3600
 tacgagcccc tgatgatcct gaacatcgtg aagaccaaca gccccccgc cgaggagaag 3660
 ctggaggact acgccttcaa cttcgagctg atcctggagg agatcgccag actgttcgag 3720
 agcggcgacc agaaggacga ggccgagaag gccaagagaa tgaaggagt gatgaagaga 3780
 atcaagacca ccgccagcga ggacgagcag gaggagatgg ccaacgcat catcaccatc 3840
 ctgcagagct ggatcttcag cgctccagta aagcagactc taaacttcga tcttctcaag 3900

 ctgctggag atgttgagag caaccaggt ccagcttctg acaaccaat tttggagttt 3960
 ctgaagcag aaaatgatct agtcactctg gcctctctct ggaagatggt gcactctgtt 4020
 caacagacct ggagaaagta tgtgaagaac gatgattttt ggccaattt actcagcgag 4080
 ctagtggggg aaggctctgt cgccttggcc gccacgtat ccaaccaagc ttcagtaag 4140
 gctcttttgg gcctgcactt tctctctcgg gggctcaatt aactgactt ttactcttta 4200
 ctgatagaga aatgctctag tttctttacc gtagaaccac ctctccacc agctgaaaac 4260
 ctgatgacca agccctcagt gaagtcgaaa ttccgaaaac tgtttaagat gcaaggaccc 4320

 atggacaaag tcaaagactg gaaccaaata gctgccggct tgaagaattt tcaatttgtt 4380
 cgtgacctag tcaaagaggt ggtcgattgg ctgcaggcct ggatcaaca agagaaagcc 4440
 agccctgtcc tccagtacca gttggagatg aagaagctcg ggctgtggc cttggctcat 4500
 gacgctttca tggttggttc cgggccccct cttagcgacg accagattga atacctcag 4560
 aacctcaaat ctcttgccct aacactgggg aagactaatt tggcccaaag tctcaccact 4620
 atgatcaatg ccaacaagag ttacgcccc cagattgaac ccgttgttgt ggtccttaga 4680
 ggcaagccgg gatgcggcaa gagcttggcc tctacgttga ttgccaggc tgtgtccaag 4740

 cgctctatg gctcccaaag tgtatattct ctccccccag atccagattt cttcgatgga 4800
 tacaaggac agttcgtgac cttgatggat gatttgggac aaaaccgga tggacaagat 4860
 ttctccacct ttgtcagat ggtgtcgacc gccaatttc tcccaacat ggcggacctt 4920
 gcagagaaag ggcgtccctt tacctccaat ctcatcattg caactacaaa tctccccac 4980
 ttcagtctg tcaccattgc tgatccttct gcagtctctc gccgatcaa ctacgatctg 5040
 actctagaag tatctgagge ctacaagaaa cacacaggc tgaattttga cttggctttc 5100
 aggcgcacag acgcccccc catttatcct tttgtgccc atgtgccctt tgtggacgta 5160

 gctgtgcgt tcaaaaatgg tcaccagaat tttaatctcc tagagtgggt cgattccatt 5220
 tgtacagaca ttcgagccaa gcaacaaggt gccgaaaca tgcagactct ggttctacag 5280
 agccccaacg agaatgatga caccgccgtc gacgaggcgt tgggtagagt tctctcccc 5340

gctgcggtcg atgaggcgct tgtcgacctc actccagagg ccgacccggt tggccgtttg	5400
gctattcttg ccaagctagg tcttgcccta gctgcggtca cccctggtct gataatcttg	5460
gcagtgggac tctacaggtc cttctctggc tctgatgcag accaagaaga aacagaaagt	5520
gagggatctg tcaaggcacc caggagcgaa aatgcttatg acggcccga gaaaaactct	5580
aagccccctg gagcactctc tctcatggaa atgcaacagc ccaacgtgga catgggcttt	5640
gaggctgcgg tcgctaagaa agtggctcgc cccattacct tcatggttcc caacagacct	5700
tctgggctta cacagtccgc tcttctggtg accggccgga ccttcctaata caatgaacat	5760
acatggtcca atccctcctg gaccagcttc acaatccgcg gtgaggtaca cactcgtgat	5820
gagcccttcc aaacggttca ttctactcac cacggtattc ccacagatct gatgatggta	5880
cgctcggac cgggcaattc ttccctaac aatctagaca agtttgact tgaccagatg	5940
ccggcacgca actcccgtgt ggttggcgtt tcgtccagtt acggaaactt cttcttctct	6000
ggaaatttcc tcggatttgt tgattccatc acctctgaac aaggaactta cgcaagactc	6060
tttaggtaca ggtgacgac ctacaaagga tggcggct cggccctggt ctgtgaggcc	6120
ggtggcgtcc gacgcatcat tggcctgcat tctgctggcg ccgccggtat cggcgccggg	6180
acctatatct caaaattagg actaatcaaa gccctgaaac acctcgggtga acctttggcc	6240
acaatgcaag gactgatgac tgaattagag cctggaatca ccgtacatgt accccggaaa	6300
tccaaattga gaaagacgac cgcacacgcg gtgtacaaac cggagtttga gcctgctgtg	6360
ttgtcaaat ttgatcccag actgaacaag gatgttgact tggatgaagt aatttggtct	6420
aaacacactg ccaatgtccc ttaccaacct cttttgttct acacatacat gtcagagtac	6480
gtcatcgag tcttctcctt cttgggaaa gacaatgaca ttctgaccgt caaagaagca	6540
attctgggca tccccgact agaccccatg gatccccaca cagctccggg tctgccttac	6600
gccatcaacg gccttcgacg tactgatctc gtcgattttg tgaacggtac agtagatgcg	6660
gcgctggctg taaaaatcca gaaattctta gacggtgact actctgacca tgtcttccaa	6720
acttttctga aagatgagat cagaccctca gagaaagtcc gagcgggaaa aaccgcatt	6780
gttgatgtgc cctccctggc gcattgcatt gtgggcagaa tgttgcttgg gcgctttgct	6840
gccaaagttt aatcccaccc tggctttctc ctcggtcttg ctatcgggtc tgacctgat	6900
gttttctgga ccgtcatagg ggctcaactc gaggggagaa agaacacgta tgacgtggac	6960
tacagtgcct ttgactcttc acacggcact ggctccttcg aggtctctcat ctctcacttt	7020
ttcaccgtgg acaatggttt tagccctgcg ctgggaccgt atctcagatc cctggctgtc	7080
tcggtgcacg cttacggcga gcgtcgcac aagattaccg gtggcctccc ctccggttgt	7140
gccgcgacca gcctgctgaa cacagtgtc aacaatgtga tcatcaggac tgctctggca	7200

ttgacttaca aggaatttga atatgacatg gttgatatca tgcctacgg tgacgacctt	7260
ctggttggca cggattacga tctggacttc aatgaggtgg cagcagcgc tgccaagttg	7320
gggtataaga tgactcctgc caacaagggt tctgtcttcc ctccgacttc ctctctttcc	7380
gatgctgttt ttctaaagcg caaatctgtc caaaacaacg acggcttata caaaccagtt	7440
atggatttaa agaatttggga agccatgtc tcctacttca aaccaggaac actactcgag	7500
aagctgcaat ctgtttctat gttggctcaa cattctggaa aagaagaata tgatagattg	7560
atgcacccct tcgctgacta cgggtccgta ccgagtcacg agtacctgca ggcaagatgg	7620
agggccttgt tcgactgacc cagatagccc aaggcgcttc ggtgctgccg gcgattctgg	7680
gagaactcag tcggaacaga aaagggaata aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaattt	7740
aaatgcagtc aagcttgagt attctatagi gtcacctaaa tagcttggcg taatcatggt	7800
catagctgtt tctgtgtga aattgttatt cgtcaccaat tccacacaac atacgagccg	7860
gaagcataaa gtgtaaagcc tgggtgcct aatgagtgag ctaactcaca ttaattgcgt	7920
tgcgtcact gcccgcttc cagtcgggaa acctgtctg ccagctgcat taatgaatcg	7980
gccaacgcgc ggggagagcg ggtttgcgta ttggcgctc ttccgcttcc tcgctcactg	8040
actcgtcgcg ctcggtcgtt cggctgcggc gagcggatc agtcactca aaggcggtaa	8100
tacggttatt cacagaatca ggggataacg caggaaagaa catgtgagca aaaggccagc	8160
aaaaggccag gaaccgtaaa aaggccgcgt tgcgtggcgtt tttccatagg ctccgcccc	8220
ctgacgagca tcacaaaaat cgacgtcaa gtcagaggtg gcgaaaccg acaggactat	8280
aaagatacca ggcgtttccc cctggaagct cctcgtgcg ctctcctgtt ccgaccctgc	8340
cgcttaccgg atacctgtcc gcctttctcc ctccgggaag cgtggcgctt tctcatagct	8400
cacgtgtag gtatctcagt tcggtgtagg tcgttcgctc caagctgggc tgtgtgcacg	8460
aacccccgt tcagcccgac cgctgcgctt tatccgtaaa ctatcgtctt gagtccaacc	8520
cggtaagaca cgacttatcg ccaactggcag cagccactgg taacaggatt agcagagcga	8580
ggtatgtagg cgggtctaca gatttcttga agtggtggcc taactacgcg tacactagaa	8640
gaacagtatt tggatatctg gctctgctga agccagttac cttcggaata agagtggta	8700
gctcttgatc cggcaaacaa accaccgtg gtagcggtgg ttttttgtt tgcaagcagc	8760
agattacgcg cagaaaaaaa ggatctcaag aagatcttt gatctttct acggggtctg	8820
acgctcagtg gaacgaaac tcacgttaag ggatttttgt catgagatta tcaaaaagga	8880
tcttcaccta gatcctttta aattaaaaat gaagttttaa atcaatctaa agtatatatg	8940

agtaaacttg gtctgacagt taccaatgct taatcagtga ggcacctatc tcagcgatct 9000
 gtctatttcg ttcatccata gttgcctgac tccccgtcgt gtagataact acgatacggg 9060
 agggcttacc atctggcccc agtgcctgcaa tgataccgcg agaccacgc tcaccggctc 9120
 cagatttate agcaataaac cagccagccg gaagggccga gcgcagaagt ggtcctgcaa 9180
 ctttatccgc ctccatccag tctattaatt gttgccggga agctagagta agtagttcgc 9240
 cagttaatag ttgcgcaac gttgttgcca ttgctacagg catcgtggtg tcacgctcgt 9300
 cgtttggat ggcttcattc agctccggtt cccaacgac aaggcgagtt acatgatccc 9360

 ccatgttgtg caaaaaagcg gttagctcct tcggtcctcc gatcgttgtc agaagtaagt 9420
 tggccgcagt gttatcactc atggttatgg cagcactgca taattctctt actgtcatgc 9480
 catccgtaag atgcttttct gtgactggtg agtactcaac caagtcattc tgagaatagt 9540
 gtatgcggcg accgagttgc tcttgcccgg cgtcaatacg ggataatacc gcgccacata 9600
 gcagaacttt aaaagtgtc atcattggaa aacgtttctt ggggcgaaaa ctctcaagga 9660
 tcttaccgct gttgagatcc agttcgatgt aaccactcg tgcacccaac tgatcttcag 9720
 catcttttac tttcaccagc gtttctgggt gagcaaaaac aggaaggcaa aatgccgcaa 9780

 aaaagggaat aaggcgaca cggaaatgtt gaatactcat actcttcctt tttcaatatt 9840
 attgaagcat ttatcagggt tattgtctca tgagcggata catatttgaa tgtatttaga 9900
 aaaataaaca aataggggtt ccgcgacat tccccgaaa agtgccacct gacgtctaag 9960
 aaaccattat tatcatgaca ttaacctata aaaataggcg tatcacgagg ccttttcgtc 10020
 tcgcgcttt cggatgatgac ggtgaaaacc tctgacacat gcagctccc gagacggtea 10080
 cagcttgtct gtaagcggat gccgggagca gacaagccc tcagggcgcg tcagcgggtg 10140
 ttggcgggtg tcggggctgg cttaactatg cggcatcaga gcagattgta ctgagagtgc 10200

 accatatggg taccaattgt gtaatacgac tcactatag 10239
 <210> 19
 <211> 10392
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide
 <400> 19
 ttgaaatgg ggggctgggc cctgatgcc agtcttctt tcccccttc ggggggttaa 60
 ccggctgtgt ttgctagagg cacagagggg caacatccaa cctgcttttg cggggaacgg 120
 tgcggctccg attcctgcgt cgccaaaggt gttagcgac ccaaacggcg cacctaccaa 180

tgttattggt gtggctctgcg agttcttagcc tactcgtttc tcccccgacc attcactcac	240
ccacgaaaag tgtgttgtaa ccataagatt taacccccgc acgggatgtg cgataaccgt	300
aagactggct caagcgcgga aagcgtgta accacatgct gttagtcctt ttatggctgc	360
aagatggcta cccacctcgg atcactgaac tggagctcga ccttccttag taagggaacc	420
gagaggcctt cgtgcaacaa gctccgacac agagtccacg tgactgctac caccatgagt	480
acatggttct cccctctcga cccaggactt ctttttgaat atccacggct cgateccagag	540
ggtggggcat gacccctagc atagcgagct acagcgggaa ctgtagctag gccttagcgt	600
gccttggata ctgcctgata gggcgacggc ctagtctgtt cggttctata ggtagcacat	660
acaaatatgc agaactctca tttttctttc gatacagcct ctggcacctt tgaagatgta	720
accggaacaa aagtcaagat cgttgaatac cccagatcgg tgaacaatgg tgtttacgat	780
tcgtctactc atttggagat actgaaccta cagggtgaaa ttgaaatttt aaggctcttc	840
aatgaatacc aaattcgcgc cgccaaacaa caactcggac tggacatcgt gtacgaacta	900
cagggtaatg ttcagacaac gtcaaagaat gattttgatt cccgtggcaa taatggtaac	960
atgaccttca attactacgc aaacacttat cagaattcag tagacttctc gacctcctcg	1020
tcggcgtcag gcgccggacc cgggaactcc cggggcggat tagcgggtct cctcacaat	1080
ttcagtggaa tcttgaacct tcttggctac ctcaaagatc acaacaccga agaaatggaa	1140
aactctgctg atcgagtcac aacgcaaacg gcgggcaaca ctgccataaa cacgcaatca	1200
tcattgggtg tgttgtgtgc ctacgttgaa gacccgacca aatctgatcc tccgtccagc	1260
agcacagatc aaccaccac cactttcact gccatcgaca ggtggtacac tggacgtctc	1320
aattcttggc caaaagctgt aaaaaccttc tcttttcagg ccgtcccgtt tcccggggcc	1380
tttctgtcta ggcagggagg cctcaacgga ggggccttca cagctaccct acatagacac	1440
tttttgatga agtgcgggtg gcaggtgcag gtccaatgta atttgacaca attccaccaa	1500
ggcgtctctc ttgttgccat ggttcttgaa accacccttg atgtcaagcc cgacgtaag	1560
gcaaagagct tacaggagct gaatgaagaa cagtgggtgg aaatgtctga cgattaccgg	1620
accgggaaaa acatgccttt tcagtccttt ggcacatact atcggccccc taactggact	1680
tgggttccca atttcatcaa cccctatcaa gtaacggttt tcccacacca aattctgaac	1740
gcgagaacct ctacctcgtt agacataaac gtcccataca tcggggagac ccccacgcaa	1800
tcctcagaga cacagaactc ctggaccttc ctcttatgg tgctcgttcc cctagactat	1860
aaggaaggag ccacaactga cccagaaatt acattttctg taaggcctac aagtcctac	1920

ttcaatgggc ttgcaaccg ctacacggcc gggacggacg aagaacaggg gcccattcct	1980
acggcaccca gagaaaattc gcttatgttt ctctcaacc tccctgacga cactgtccct	2040
gcttacggga atgtgcgtac cctctctgtc aattacctcc ctggtgaaat aaccgacctt	2100
ttgcaactgg cccgcatacc cactctcatg gcatttgagc gggcgcctga acccgtgcct	2160
gcctcagaca catatgtgcc ctacgttgcc gtccccaccc agttcgtatga caggcctctc	2220
atctccttcc cgatcacctt ttcagatccc gtctatcaga acacctggt tggcgccatc	2280
agttcaaatt tcgccaatta ccgtgggtgt atccaaatca ctctgacatt ttgtggaccc	2340
atgatggcga gagggaaatt cctgctctcg tattctcccc caaatggaac gcaaccacag	2400
actctttccg aagctatgca gtgcacatac tctatttggg acataggctt gaactctagt	2460
tggaccttcg tcgtccccta catctcgccc agtgactacc gtgaaactcg agccattacc	2520
aactcggttt actccgtga tggttggttt agcctgcaca agttgaccaa aattactcta	2580
ccacctgact gtccgcaaag tccctgcatt ctcttttctg cttctgctgg tgaggattac	2640
actctccgtc tccccgtga ttgtaacct tcctatgtgt tccactccac cgacaacgcc	2700
gagaccgggg ttattgagge gggtaacact gacaccgatt tctctggtga actggcggct	2760
cttggtctta accacactaa tgtcaagttc ctgtttgatc gatctcgatt attgaatgta	2820
atcaaggtag tggagaagga cgccgttttc ccccgccctt tccctacaca agaaggtagc	2880
cagcaggatg atggttactt ttgtcttctg acccccgcgc caacagtcgc tccccgacct	2940
gccactcgtt tcggcctgta cgccaatccg tccggcagtg gtgttcttgc taacacttca	3000
ctggacttca atttttatag cttggcctgt ttcacttact ttagatcgga ccttgagggt	3060
acggtggtct cactagagcc ggatctggaa ttgtctgtag ggtggtttcc ttctggcagt	3120
gaataccagg ctccagctt tgtctacgac cagctgcatg tgccttcca ctttactggg	3180
cgcactcccc gcgttttcgc tagcaagggt gggaaggtat ctttcgtgct cctttggaac	3240
tctgtctcgt ctgtgtcccc cgtgcgctgg gggggggctt ccaagctctc ttctgctacg	3300
cggggtctac cggcgcatgc tgattggggg actattttacg cctttgtccc ccgtccta	3360
gagaagaaaa gcaccgctgt aaaacacgtg gccgtgtaca ttcggtacaa gaacgcacgt	3420
gcctgggtgcc ccagcatgct tccctttcgc agctacaagc agaagatgct gatgcaatct	3480
ggcgatatcg agaccaatcc tggctctgag cagctcgaga gtataatcaa ctttgaaaaa	3540
ctgactgaat ggaccagtgg cccgaaaaag tcgacgaatc tatctaattg tatggaagag	3600
aggaagatca aagtgtactt acctcgcgtg aagatggagg aaaaatacaa cctcacatct	3660
gtcttaattg ctatgggcat tactgacgtg tttagctctt cagccaatct gtctggcatc	3720
tcctcagcag agagccgtga gatactcaa gctgtccatg cagcacatgc agaaatcaat	3780

gaagcaggca gagaggtggg agggctcagca gaggctggag tggatgctgc aagcgtctct	3840
gaagaattta gggctgacca tccattcttc ttctgtatca aacacatcgc aaccaacgcc	3900
gttctcttct ttggcagatg tgttggatcc gagcagctgg agtccatcta caggctactac	3960
ggcctgctgc tgaaggaaag atccgaacaa aagcttattt ctgaagagga ctgggtcca	4020
gtaaagcaga ctctaaactt cgatcttctc aagctcgtg gagatgttga gagcaaccca	4080
gggccagctt ctgacaaccc aattttggag ttctttgaag cagaaaatga tctagtcact	4140
ctggcctctc tctggaagat ggtgcactct gttcaacaga cctggagaaa gtatgtgaag	4200
aacgatgatt tttggcccaa ttactcagc gagctagtgg gggaaggctc tgcgccttg	4260
gccgccacgc tatccaacca agcttcagta aaggctcttt tgggcctgca ctttctctct	4320
cgggggctca attacactga cttttactct ttactgatag agaaatgctc tagtttcttt	4380
accgtagaac cacctctcc accagctgaa aacctgatga ccaagccctc agtgaagtcg	4440
aaattccgaa aactgtttaa gatgcaagga cccatggaca aagtcaaaga ctggaaccaa	4500
atagctgccg gcttgaagaa ttttcaattt gttcgtgacc tagtcaaaga ggtggctgat	4560
tggctgcagg cctggatcaa caaagagaaa gccagccctg tctccagta ccagttggag	4620
atgaagaagc tggggcctgt ggccttggct catgacgctt tcatggctgg ttcggggccc	4680
cctcttagcg acgaccagat tgaatactc cagaacctca aatctcttgc cctaacctg	4740
gggaagacta atttggccca aagtctcacc actatgatca atgccaaaca aagttcagcc	4800
caacgagttg aacccttgt ggtggtcctt agaggcaagc cgggatgcgg caagagcttg	4860
gcctctacgt tgattgccca ggctgtgtcc aagcgctct atggtccca aagtgtatat	4920
tctcttcccc cagatccaga ttctctcgat ggatacaaag gacagtctgt gacctgatg	4980
gatgatttgg gacaaaaccc ggatggacaa gatttctcca cttttgtca gatgggtcgc	5040
accgccaat ttctcccaa catggcggac cttgcagaga aaggcgctcc ctttacctec	5100
aatctcatca ttgcaactac aaatctcccc cacttcagtc ctgtcacat tgctgatcct	5160
tctgcagtct ctgccgtat caactacgat ctgactctag aagtatctga ggctacaag	5220
aaacacacac ggtgaattt tgacttggct ttcaggcgca cagacgcccc cccatttat	5280
ccttttgctg cccatgtgcc ctttgtggac gtagctgtgc gttcaaaaa tggtcaccag	5340
aattttaatc tcttagagtt ggtcgattcc atttgtacag acattcgagc caagcaacaa	5400
ggtgccccga acatgcagac tctggttcta cagagcccca acgagaatga tgacaccccc	5460
gtcgacgagg cgttgggtag agttctctcc ccgctgcgg tcgatgaggc gcttgtcgac	5520
ctcactccag aggccgaccc ggttggccgt ttggctattc ttgccaagct aggtcttggc	5580
ctagctgcgg tcacccctgg tctgataatc ttggcagtgg gactctacag gtacttctct	5640

ggctctgatg cagaccaaga agaaacagaa agtgagggat ctgtcaaggc acccaggagc 5700

gaaaatgctt atgacggccc gaagaaaaac tctaagcccc ctggagcact ctctctcatg 5760

gaaatgcaac agcccaacgt ggacatgggc tttgaggctg cggtcgctaa gaaagtggtc 5820

gtccccatta ccttcatggt tcccaacaga ccttctgggc ttacacagtc cgctcttctg 5880

gtgaccggcc ggaccttcct aatcaatgaa catacatggt ccaatccctc ctggaccagc 5940

ttcacaatcc gcggtgaggt acacactcgt gatgagccct tccaaacggt tcatttcact 6000

caccacggta ttcccacaga tctgatgatg gtacgtctcg gaccgggcaa ttctttccct 6060

aacaatctag acaagtttgg acttgaccag atgccggcac gcaactcccg tgtggttggc 6120

gtttctgcca gtiacggaaa cttcttcttc tctggaaatt tccctcgatt tgttgattcc 6180

atcacctctg aacaaggaac ttacgcaaga ctcttttaggt acagggtgac gacctacaaa 6240

ggatggtgcg gctcggccct ggtctgtgag gccggtggcg tccgacgcat cattggcctg 6300

cattctgctg gcgccgccgg tatcgccgcc gggacctata tctcaaaatt aggactaatc 6360

aaagccctga aacacctcgg tgaacctttg gccacaatgc aaggactgat gactgaatta 6420

gagcctggaa tcaccgtaca tgtaccccg aaatccaaat tgagaaagac gaccgcacac 6480

gcggtgtaca aaccggagtt tgagcctgct gtgttgtcaa aatttgatcc cagactgaac 6540

aaggatgttg acttgatga agtaatttgg tctaaacaca ctgccaatgt cccttaccaa 6600

cctcctttgt tctacacata catgtcagag tacgctcatc gagtcttctc cttcttgggg 6660

aaagacaatg acattctgac cgtcaaagaa gcaattctgg gcatccccgg actagacccc 6720

atggatcccc acacagctcc gggctcgcct tacgccaatc acggccttcg acgtactgat 6780

ctcgtcgatt ttgtgaacgg tacagtagat gcggcgctgg ctgtacaaat ccagaaattc 6840

ttagacgggt actactcga ccatgtcttc caaacttttc tgaaagatga gatcagaccc 6900

tcagagaaag tccgagcggg aaaaaccgcg attgttgatg tgcctccct ggcgcattgc 6960

attgtgggca gaatgttct tgggcgcttt gctgccaagt ttcaatcca tcttgcttt 7020

ctcctcggt ctgctatcgg gtctgacct gatgtttct ggaccgtcat aggggctcaa 7080

ctcgagggga gaaagaacac gtatgacgtg gactacagt cctttgactc ttcacacggc 7140

actggctcct tcgaggctct catctctcac tttttaccg tggacaatgg ttttagccct 7200

gcgctgggac cgtatctcag atccctggct gtctcggtgc acgcttacgg cgagcgtcgc 7260

atcaagatta ccggtggcct cccctccggt tgtgccgca ccagcctgct gaacacagtg 7320

ctcaacaatg tgatcatcag gactgctctg gcattgactt acaaggaatt tgaatatgac 7380

atggttgata tcatcgcta cggtagcgac cttctggttg gcacggatta cgatctggac	7440
ttcaatgagg tggcacgacg cgctgccaag ttgggtgata agatgactcc tgccaacaag	7500
ggttctgtct tccctccgac ttcctctctt tccgatgctg tttttctaaa gcgcaaattc	7560
gtccaaaaca acgacggctt atacaaacca gttatggatt taaagaattt ggaagccatg	7620
ctctctact tcaaaccagg aacactactc gagaagctgc aatctgttcc tatgttggct	7680
caacattctg gaaaagaaga atatgataga ttgatgcacc ccttcgctga ctacggtgcc	7740
gtaccgagtc acgagtacct gcaggcaaga tggagggcct tgcticgactg acccagatag	7800
cccaaggcgc ttcggtgctg ccggcgattc tgggagaact cagtcggaac agaaaaggga	7860
aaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa tttaatgca tgcaagcttg agtatctat	7920
agtgtcacct aaatagcttg gcgtaatcat ggcatagct gtttcctgtg tgaaattgtt	7980
atccgctcac aattccacac aacatacgag ccggaagcat aaagtgtaaa gcctgggggtg	8040
cctaattgagt gagctaactc acattaattg cgttgcgctc actgcccgtt ttccagtcgg	8100
gaaacctgtc gtgccagctg cattaatgaa tcggccaacg gcgggggaga ggcggtttgc	8160
gtattgggcg ctcttccgct tctcgtctca ctgactcgtc gcgctcggtc gttcggtgc	8220
ggcgcgaggc atcagctcac tcaaaggcgg taatacggtt atccacagaa tcaggggata	8280
acgcaggaaa gaacatgtga gcaaaaggcc agcaaaaggc caggaaaccgt aaaaaggccg	8340
cgttgctggc gtttttccat aggtccgccc cccctgacga gcatcacaaa aatcgacgt	8400
caagtgcagag gtggcgaaac ccgacaggac tataaagata ccaggcggtt cccctggaa	8460
gtccctcgtc gcgctctcct gttccgacct tgccgcttac cggataacctg tccgccttc	8520
tcccttcggg aagcgtggcg cttttcata gtcacgctg taggtatctc agttcgggtg	8580
aggtcgttcg ctccaagctg ggctgtgtgc acgaaccccc cgttcagccc gaccgctgcg	8640
ccttatccgg taactatcgt cttgagteca acccgtaag acacgactta tcgccactgg	8700
cagcagccac tggtaacagg attagcagag cgaggtatgt aggcggtgct acagagtct	8760
tgaagtgggt gcctaactac ggctacacta gaagaacagt atttggatc tgcgctctgc	8820
tgaagccagt taccttcgga aaaagagttg gtagctcttg atccggcaaa caaaccaccg	8880
ctggtagcgg tggttttttt gtttgcaagc agcagattac gcgcagaaaa aaaggatctc	8940
aagaagatcc tttgatcttt tctacggggt ctgacgtca gtggaacgaa aactcacgtt	9000
aagggatctt ggicagtga ttatcaaaaa ggatcttcac ctagatcctt ttaaattaaa	9060
aatgaagttt taaatcaatc taaagtatat atgagtaaac ttggtctgac agttaccaat	9120
gcttaatcag tgaggcacct atctcagcga tctgtctatt tcgttcatcc atagttgcct	9180
gactccccgt cgtgtagata actacgatac gggagggcct accatctggc cccagtgtg	9240

caatgatacc gcgagaccca cgctcaccgg ctccagattt atcagcaata aaccagccag 9300

ccggaagggc cgagcgaga agtggctctg caactttatc cgcctccatc cagtctatta 9360

attgttgccg ggaagctaga gtaagtagtt cgccagttaa tagtttgcgc aacgttggtg 9420

ccattgctac aggcacgtg gtgtcacgct cgtcgtttgg tatggcttca ttcagctccg 9480

gttcccaacg atcaaggcga gttacatgat ccccatgtt gtgcaaaaaa gcggttagct 9540

ccttcggtec tccgatcgtt gtcagaagta agttggccgc agtgttatca ctcatggtta 9600

tggcagcact gcataattct cttactgtca tgccatccgt aagatgcttt tctgtgactg 9660

gtgagtactc aaccaagta tcttgagaat agtgtatgcg gcgaccgagt tgctcttgcc 9720

cggcgtaat acgggataat accgcgccac atagcagaac tttaaaagtg ctcatcattg 9780

gaaaacgttc ttcggggcga aaactctcaa ggatcttacc gctgttgaga tccagttcga 9840

tgtaacccac tcgtgcacc aactgatctt cagcatcttt tactttcacc agcgtttctg 9900

ggtgagcaaa aacaggaagg caaaatgccg caaaaaaggg aataagggcg acacggaaat 9960

gttgaatact catactcttc ctttttcaat attattgaag catttatcag ggttattgtc 10020

tcatgagcgg atacatatit gaatgtattt agaaaaataa acaaataggg gttccgcgca 10080

catttccccg aaaagtgcc cctgacgtct aagaaacat tattatcatg acattaacct 10140

ataaaaatag gcgtatcacg aggccttttc gtctcgcgcg tttcgggtgat gacggtgaaa 10200

acctctgaca catgcagctc ccggagacgg tcacagcttg tctgtaagcg gatgccggga 10260

gcagacaagc ccgtcagggc gcgtcagcgg gtgttggcgg gtgtcggggc tggcttaact 10320

atgcggcatc agagcagatt gtactgagag tgcacatat gggtaccaat tgtgtaatac 10380

gactcactat ag 10392

<210> 20

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

primer

<400> 20

tttgaaatgg ggggctgggc 20

<210> 21

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
primer

<400> 21

gaggagaccc gctaaccg

19

<210> 22

<211> 54

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
primer

<400> 22

tatgggtacc tgtaatacga ctactatag ggctttgaaa tggggggctg ggcc

54

<210> 23

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
primer

<400> 23

ccgtcaaaga agcaattctg ggca

24

<210> 24

<211> 60

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
primer

<400> 24

gcatgcattt tttttttttt tttttttttt ttttttccc ttttctgttc cgactgagtt

60

<210> 25

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

primer		
<400> 25		
ggtaacatga ccttcaatta ctacgcaaac		30
<210> 26		
<211> 23		
<212> DNA		
<213> Artificial Sequence		
<220		
><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic		
primer		
<400> 26		
gatcagtagc tcgaaggccg ttg		23
<210> 27		
<211> 76		
<212> DNA		
<213> Artificial Sequence		
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic		
primer		
<400> 27		
gcttgcatgc atttaaattt tttttttttt tttttttttt ttttttttcc cttttctgtt		60
ccgactgagt tctccc		76
<210> 28		
<211> 47		
<212> DNA		
<213> Artificial Sequence		
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic		
primer		
<400> 28		
caattgtgta atacgactca ctatagtttg aaatgggggg ctgggcc		47
<210> 29		
<211> 765		
<212> DNA		
<213> Homo sapiens		
<400> 29		

gtctgtcacg gtcacctggg tgccctggcc ccagtagtcg cccacgaact ccatgccgta 60
ctggctgctg cagaagccca cgggtggcgca gtagtagtcg gcggtgtcct cgggttcag 120
gtctgttcac tgcaggaagg cgggtgttctt ggctgtgtcc cggctgatgg tgaaccggcc 180
cttcacgaag tcggcgtagt accgccggcc ctgcgtgccg ctgctgatgc agctcacgcc 240

ctcccgtcc ttgccggggg cctgccggaa ccagccgatg gcgtagtgtt ccaggtgaa 300
gccgtggcg gcgcagctca gccgcaggt gccgccggg tgcaccaggc cgccgccgt 360
ctcctgcagc tgcacctgaa attcgccgt gccgccggc ctgcccgcg tgcaccaggtg 420
cagctgcagg agagcggcg cggcagcgtg caggccggcg gcagcctgcg gctgagctgc 480
accgccagcg gcttcggcgt ggacggcacc gacatgggct ggtaccggca ggccccggc 540
aacgagtgcg agctggtgag cagcatcagc agcatcggca tcggctacta cagcgagagc 600
gtgaagggcc gggtcccat cagccgggac aacccaaga acaccgtgta cctgcagatg 660

aacagcctgc ggcccgacga caccgccgtg tactactgcg gccggcggtg gatcggctac 720
cgggtgcgca actggggccg gggcacccag gtgacctga gcagc 765

<210> 30

<211> 255

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 30

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val His Pro Gly Gly

1 5 10 15

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

20 25 30

Ala Ile Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Gly Val

35 40 45

Ser Cys Ile Ser Ser Gly Ser Glu Gly Arg Arg Tyr Tyr Ala Asp Phe

50 55 60

Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Ala

65 70 75 80

Phe Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Asp Tyr Tyr

85 90 95

Cys Ala Thr Val Gly Phe Cys Ser Ser Gln Tyr Gly Met Glu Phe Val

100 105 110
 Gly Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Ser
 115 120 125
 Ala Gly Ser Ala Ala Gly Ser Gly Glu Phe Gln Val Gln Leu Gln Glu
 130 135 140
 Ser Gly Gly Gly Ser Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys
 145 150 155 160
 Thr Ala Ser Gly Phe Gly Val Asp Gly Thr Asp Met Gly Trp Tyr Arg

165 170 175
 Gln Ala Pro Gly Asn Glu Cys Glu Leu Val Ser Ser Ile Ser Ser Ile
 180 185 190
 Gly Ile Gly Tyr Tyr Ser Glu Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser
 195 200 205
 Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg
 210 215 220
 Pro Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Gly Arg Arg Trp Ile Gly Tyr

225 230 235 240
 Arg Cys Gly Asn Trp Gly Arg Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
 245 250 255

<210> 31

<211> 378

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 31

ggaggagacg gtgacctggg tcccttgcc ccagtagtca tttgcacccc atcccccttc 60
 acccatTTTT gcacagtaat acacggccgt gtcgtcaggt ttcaggctgt tcatttgcag 120
 atacagcgtg ttctcggcgt tgtctctgga gatggtgaac cggcccttca cggagtctcg 180
 atagtatgtg ctaccacat tccagctaat atctgagacc cactccagcc acttccttgg 240

agcctgtcgg acccagctca tgccataatc atcaaaagtg aatccagagg ctgcacagga 300
 gagtctcaga gacccccag gctgcaccaa gcctcccca gactccacca gctgcacctc 360
 ctcgagcagc tgcacctc 378

<210> 32

<211> 126

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 32

Glu Val Gln Leu Leu Glu Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly
1 5 10 15
Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
20 25 30

Phe Thr Phe Asp Asp Tyr Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly
35 40 45
Lys Trp Leu Glu Trp Val Ser Asp Ile Ser Trp Asn Gly Gly Ser Thr
50 55 60
Tyr Tyr Arg Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn
65 70 75 80
Ala Glu Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Asp Asp
85 90 95

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Lys Met Gly Glu Gly Gly Trp Gly Ala
100 105 110
Asn Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 33

<211> 378

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 33

gtgtgtcagc gtcacctggg tgccctggcc ccagtagtcg cccacgaact ccatgccgta 60
ctggctgtct cagaagccca cgggtggcgca gtagtagtcg gcggtgtcct cgggcttcag 120
gtgtttcatc tgcaggaagg cgggtgttctt ggctgtgtcc cggtgatgg tgaaccggcc 180

cttcacgaag tcggcgtagt accgccggcc ctgctgccg ctgctgatgc agctcacgcc 240
ctcccgtcc ttgccggggg cctgccggaa ccagccgatg gcgtagttgt ccaggtgaa 300
gccgtggcg gcgcagctca gccgcaggct gccgccgggg tgcaccaggc cgccgccgct 360
ctcctgcagc tgcacctg 378

<210> 34

<211> 126

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 34

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val His Pro Gly Gly

1 5 10 15

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

20 25 30

Ala Ile Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Gly Val

35 40 45

Ser Cys Ile Ser Ser Gly Ser Glu Gly Arg Arg Tyr Tyr Ala Asp Phe

50 55 60

Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Ala

65 70 75 80

Phe Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Asp Tyr Tyr

85 90 95

Cys Ala Thr Val Gly Phe Cys Ser Ser Gln Tyr Gly Met Glu Phe Val

100 105 110

Gly Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser

115 120 125

<210> 35

<211> 765

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<400> 35

caggtgcagc tgcaggagag cggcggcggc ctggtgcacc ccggcggcag cctgcggctg 60

agctgcgccg ccagcggctt cagcctggac aactacgcca tcggctggtt ccggcaggcc 120

cccggcaagg agcgggaggg cgtgagctgc atcagcagcg gcagcgaggg ccggcgggtac 180

tacgccgact tcgtgaaggg ccggttcacc atcagccggg acaacgcaa gaacaccgcc 240

ttcctgcaga tgaacagcct gaagcccag gagaccgccg actactactg cgccaccgtg 300
ggcttctgca gcagccagta cggcatggag ttcgtgggcg actactgggg ccagggcacc 360
caggtgaccg ttagcagcgg cagcgccggc agcgccggcg gcagcggcga atttcaggtg 420
cagctgcagg agagcggcgg cggcagcgtg caggccggcg gcagcctgcg gctgagctgc 480

accgccagcg gcttcggcgt ggacggcacc gacatgggct ggtaccggca ggccccggc 540
aacgagtgcg agctggtgag cagcatcagc agcatcggca tcggtacta cagcgagagc 600
gtgaagggcc gggtcacat cagccgggac aacccaaga acaccgtgta cctgcagatg 660
aacagcctgc ggcccgacga caccgccgtg tactactgcg gccggcggtg gatcggtac 720
cggtgcggca actggggcgg gggcaccag gtgaccgtga gcagc 765

<210> 36

<211> 255

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide

<400> 36

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val His Pro Gly Gly

1 5 10 15

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

20 25 30

Ala Ile Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Gly Val

35 40 45

Ser Cys Ile Ser Ser Gly Ser Glu Gly Arg Arg Tyr Tyr Ala Asp Phe

50 55 60

Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Ala

65 70 75 80

Phe Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Asp Tyr Tyr

85 90 95

Cys Ala Thr Val Gly Phe Cys Ser Ser Gln Tyr Gly Met Glu Phe Val

100 105 110

Gly Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Ser

115 120 125

Ala Gly Ser Ala Ala Gly Ser Gly Glu Phe Gln Val Gln Leu Gln Glu

130 135 140

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

145 150 155 160

Thr Ala Ser Gly Phe Gly Val Asp Gly Thr Asp Met Gly Trp Tyr Arg

165 170 175

Gln Ala Pro Gly Asn Glu Cys Glu Leu Val Ser Ser Ile Ser Ser Ile

180 185 190

Gly Ile Gly Tyr Tyr Ser Glu Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser

195 200 205

Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg

210 215 220

Pro Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Gly Arg Arg Trp Ile Gly Tyr

225 230 235 240

Arg Cys Gly Asn Trp Gly Arg Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser

245 250 255

<210> 37

<211> 738

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<400> 37

caggtgcagc tgcaggagag cggcggcggc agcgtgcagg ccggcggcag cctgcggctg	60
agctgcaccg ccagcggctt cggcgtggac ggcaccgaca tgggctggta ccggcaggcc	120
cccggcaacg agtgcgagct ggtgagcagc atcagcagca tcggcatcgg ctactacagc	180
gagagcgtga agggccggtt caccatcagc cgggacaacg ccaagaacac cgtgtacctg	240
cagatgaaca gcctgcggcc cgacgacacc gccgtgtact actgcggccg gcggtggatc	300
ggctaccggt gcggaactg gggccggggc acccaggtga ccgtgagcag cggcagcgcg	360
ggcagcgcgg cgggcagcgg cgaatttcag gtgcagctgc aggagagcgg cggcggcagc	420

gtgcaggccg gcggcagcct gcggctgagc tgcaccgcca gcggcttcgg cgtggacggc 480
accgacatgg gctggtaccg gcaggccccc ggcaacgagt gcgagctggt gagcagcatc 540
agcagcatcg gcatcggtta ctacagcgag agcgtgaagg gccggttcac catcagccgg 600
gacaacgcca agaacaccgt gtacctgcag atgaacagcc tgcggcccga cgacaccgcc 660
gtgtactact gcggccggcg gtggatcggc taccgtgctg gcaactgggg ccggggcacc 720

caggtgaccg tgagcagc 738

<210> 38

<211> 255

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 38

Glu Val Gln Leu Leu Glu Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly

1 5 10 15

Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly

20 25 30

Phe Thr Phe Asp Asp Tyr Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly

35 40 45

Lys Trp Leu Glu Trp Val Ser Asp Ile Ser Trp Asn Gly Gly Ser Thr

50 55 60

Tyr Tyr Arg Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn

65 70 75 80

Ala Glu Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Asp Asp

85 90 95

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Lys Met Gly Glu Gly Gly Trp Gly Ala

100 105 110

Asn Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Ser

115 120 125

Ala Gly Ser Ala Ala Gly Ser Gly Glu Phe Gln Val Gln Leu Gln Glu

130 135 140

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

145 150 155 160
Thr Ala Ser Gly Phe Gly Val Asp Gly Thr Asp Met Gly Trp Tyr Arg

 165 170 175
Gln Ala Pro Gly Asn Glu Cys Glu Leu Val Ser Ser Ile Ser Ser Ile

 180 185 190
Gly Ile Gly Tyr Tyr Ser Glu Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser

 195 200 205
Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg

 210 215 220
Pro Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Gly Arg Arg Trp Ile Gly Tyr

225 230 235 240
Arg Cys Gly Asn Trp Gly Arg Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser

 245 250 255

<210> 39

<211> 792

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<400> 39

caggtgcagc tgcaggagag cggcggcggc ctggtgcacc ccggcggcag cctgcggctg 60
agctgcgccg ccagcggctt cagcctggac aactaccca tcggttggtt ccggcaggcc 120
cccggcaagg agcgggaggg cgtgagctgc atcagcagcg gcagcgaggg ccggcgggtac 180

tacgccgact tcgtgaaggg ccggttcacc atcagccggg acaacgcaa gaacaccgcc 240
ttcctgcaga tgaacagcct gaagcccagag gacaccgccg actactactg cgccaccgtg 300
ggcttctgca gcagccagta cggcatggag ttcgtgggcg actactgggg ccagggcacc 360
caggtgaccg tgagcagcgg cagcgcgggc agcgcggcgg gcagcggcga atttgaggtg 420
cagctgctcg aggaggtgca gctggtggag tctgggggag gcttggtgca gcctgggggg 480
tctctgagac tctcctgtgc agcctctgga ttacttttg atgattatgg catgagctgg 540
gtccgacagg ctccaggga gtggctggag tgggtctcag atattagctg gaatgttggt 600

agcacatact atcgagactc cgtgaagggc cggttcacca tctccagaga caacgccgag 660

aacacgctgt atctgcaaat gaacagcctg aaacctgacg acacggccgt gtattactgt 720
gcaaaaatgg gtgaaggggg atggggtgca aatgactact ggggccaggg gaccaggtc 780
accgtctcct cc 792

<210> 40

<211> 264

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 40

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val His Pro Gly Gly

1	5	10	15
Ser	Leu	Arg	Leu
Ser	Cys	Ala	Ala
Ser	Gly	Phe	Ser
Leu	Asp	Asn	Tyr
20	25	30	
Ala	Ile	Gly	Trp
Phe	Arg	Gln	Ala
Pro	Gly	Lys	Glu
Arg	Glu	Gly	Val
35	40	45	
Ser	Cys	Ile	Ser
Ser	Gly	Ser	Glu
Gly	Arg	Arg	Tyr
Tyr	Ala	Asp	Phe
50	55	60	
Val	Lys	Gly	Arg
Phe	Thr	Ile	Ser
Arg	Asp	Asn	Ala
Lys	Asn	Thr	Ala

65	70	75	80
Phe	Leu	Gln	Met
Asn	Ser	Leu	Lys
Pro	Glu	Asp	Thr
Ala	Asp	Tyr	Tyr
85	90	95	
Cys	Ala	Thr	Val
Gly	Phe	Cys	Ser
Ser	Gln	Tyr	Gly
Met	Glu	Phe	Val
100	105	110	
Gly	Asp	Tyr	Trp
Gln	Gly	Thr	Gln
Val	Thr	Val	Ser
Ser	Gly	Ser	
115	120	125	
Ala	Gly	Ser	Ala
Ala	Gly	Ser	Gly
Glu	Phe	Glu	Val
Gln	Leu	Leu	Glu

130	135	140
Glu	Val	Gln
Leu	Val	Glu
Ser	Gly	Gly
Gly	Leu	Val
Gln	Pro	Gly
Gly		
145	150	155
Ser	Leu	Arg
Leu	Ser	Cys
Ala	Ala	Ser
Gly	Phe	Thr
Phe	Asp	Asp
Tyr		
165	170	175

Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Trp Leu Glu Trp Val
180 185 190
Ser Asp Ile Ser Trp Asn Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Arg Asp Ser Val
195 200 205
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Glu Asn Thr Leu Tyr
210 215 220
Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
225 230 235 240
Ala Lys Met Gly Glu Gly Gly Trp Gly Ala Asn Asp Tyr Trp Gly Gln
245 250 255
Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
260

<210> 41

<211> 399

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 41

gcgccgacca gcagcagcac caaaaaaacc cagctgcagc tggaacatct gctgctggat 60
ctgcagatga ttctgaacgg cattaacaac tataaaaaacc cgaaactgac ccgcattgctg 120
acctttaaat ttatatgcc gaaaaaagcg accgaactga aacatctgca gtgcctggaa 180
gaagaactga aaccgctgga agaagtgtg aacctggcgc agagcaaaaa ctttcatctg 240
cgcccgcgcg atctgattag caacattaac gtgattgtgc tggaactgaa aggcagcgaa 300
accaccttta tgtgcgaata tgcggatgaa accgcgacca ttgtggaatt tctgaaccgc 360

tggattacct ttgcccagag cattattagc accctgacc 399

<210> 42

<211> 133

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 42

Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
1 5 10 15
Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys

20 25 30
Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
35 40 45

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
50 55 60
Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
65 70 75 80
Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
85 90 95
Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
100 105 110

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile
115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr
130

<210> 43

<211> 459

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 43

atgtatcgca tgcagctgct gagctgcatt gcgctgagcc tggcgctggt gaccaacagc 60
gcgccgacca gcagcagcac caaaaaaacc cagctgcagc tggaacatct gctgctggat 120
ctgcagatga ttctgaacgg cattaacaac tataaaaacc cgaaactgac ccgcatgctg 180
acctttaaat ttatatatgcc gaaaaaagcg accgaactga aacatctgca gtgcctggaa 240

gaagaactga aaccgctgga agaagtgtg aacctggcgc agagcaaaaa ctttcatctg 300
cgcccgcgcg atctgattag caacattaac gtgattgtgc tggaactgaa aggcagcgaa 360
accaccttta tgtgcaata tgcggatgaa accgcgacca ttgtggaatt tctgaaccgc 420
tggattacct ttgcccagag cattattagc accctgacc 459

<210> 44

<211> 153

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 44

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

<210> 45

<211> 534

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 45

acgatccac cgcacgttca gaagtcggtt aataacgaca tgatagtcac tgacaacaac 60
 ggtgcagtca agtttcaca actgtgtaaa ttttgtgatg tgagattttc cacctgtgac 120
 aaccagaaat cctgcatgag caactgcagc atcacctcca tctgtgagaa gccacaggaa 180
 gtctgtgtgg ctgtatggag aaagaatgac gagaacataa cactagagac agtttgccat 240
 gacccaagc tcccctacca tgactttatt ctggaagatg ctgcttctcc aaagtgcatt 300

atgaaggaaa aaaaaaagcc tggtagagact ttcttcatgt gttcctgtag ctctgatgag 360

tgcaatgaca acatcatctt ctcagaagaa tataacacca gcaatcctga cttgttgcta 420

gtcatatttc aagtgcagg catcagctc ctgccaccac tgggagttgc catatctgtc 480

atcatcatct tctactgcta ccgcgtttac ccatacgatg ticcagatta cgct 534

<210> 46

<211> 178

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 46

Thr Ile Pro Pro His Val Gln Lys Ser Val Asn Asn Asp Met Ile Val

1 5 10 15

Thr Asp Asn Asn Gly Ala Val Lys Phe Pro Gln Leu Cys Lys Phe Cys

20 25 30

Asp Val Arg Phe Ser Thr Cys Asp Asn Gln Lys Ser Cys Met Ser Asn

35 40 45

Cys Ser Ile Thr Ser Ile Cys Glu Lys Pro Gln Glu Val Cys Val Ala

50 55 60

Val Trp Arg Lys Asn Asp Glu Asn Ile Thr Leu Glu Thr Val Cys His

65 70 75 80

Asp Pro Lys Leu Pro Tyr His Asp Phe Ile Leu Glu Asp Ala Ala Ser

85 90 95

Pro Lys Cys Ile Met Lys Glu Lys Lys Lys Pro Gly Glu Thr Phe Phe

100 105 110

Met Cys Ser Cys Ser Ser Asp Glu Cys Asn Asp Asn Ile Ile Phe Ser

115 120 125

Glu Glu Tyr Asn Thr Ser Asn Pro Asp Leu Leu Leu Val Ile Phe Gln

130 135 140

Val Thr Gly Ile Ser Leu Leu Pro Pro Leu Gly Val Ala Ile Ser Val

145 150 155 160

Ile Ile Ile Phe Tyr Cys Tyr Arg Val Tyr Pro Tyr Asp Val Pro Asp

165 170 175

Tyr Ala

<210> 47

<211> 597

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 47

```
ggtcgggggc tgctcagggg cctgtggccg ctgcacatcg tcctgtggac gcgtatcgcc      60
agcacgatcc caccgcacgt tcagaagtcg gttaataacg acatgatagt cactgacaac      120
aacgggtgcag tcaagtttcc acaactgtgt aaattttgtg atgtgagatt ttccacctgt      180
gacaaccaga aatcctgcat gagcaactgc agcatcacct ccatctgtga gaagccacag      240
```

```
gaagtctgtg tggctgtatg gagaaagaat gacgagaaca taactactaga gacagtttgc      300
catgacccca agctccccta ccatgacttt attctggaag atgtgcttc tccaaagtgc      360
attatgaagg aaaaaaaaaa gcctggtgag actttcttca tgtgttctg tagctctgat      420
gagtgcaatg acaacatcat cttctcagaa gaatataaca ccagcaatcc tgacttgttg      480
ctagtcatat ttcaagtac aggcacacgc ctctgccac cactgggagt tgccatatct      540
gtcatcatca tttctactg ctaccgcgtt taccatacag atgttccaga ttacgct      597
```

<210> 48

<211> 199

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 48

```
Gly Arg Gly Leu Leu Arg Gly Leu Trp Pro Leu His Ile Val Leu Trp
1           5           10           15
Thr Arg Ile Ala Ser Thr Ile Pro Pro His Val Gln Lys Ser Val Asn
          20           25           30
Asn Asp Met Ile Val Thr Asp Asn Asn Gly Ala Val Lys Phe Pro Gln
          35           40           45
Leu Cys Lys Phe Cys Asp Val Arg Phe Ser Thr Cys Asp Asn Gln Lys
          50           55           60

Ser Cys Met Ser Asn Cys Ser Ile Thr Ser Ile Cys Glu Lys Pro Gln
65           70           75           80
```

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

Gly Glu Thr Phe Phe Met Cys Ser Cys Ser Ser Asp Glu Cys Asn Asp
130 135 140
Asn Ile Ile Phe Ser Glu Glu Tyr Asn Thr Ser Asn Pro Asp Leu Leu
145 150 155 160
Leu Val Ile Phe Gln Val Thr Gly Ile Ser Leu Leu Pro Pro Leu Gly
165 170 175
Val Ala Ile Ser Val Ile Ile Ile Phe Tyr Cys Tyr Arg Val Tyr Pro
180 185 190

Tyr Asp Val Pro Asp Tyr Ala
195

<210> 49

<211> 474

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 49

atggtgaccg gcggcatggc cagcaagtgg gaccagaagg gcatggacat cgcctacgag 60
gaggccctgc tgggctacaa ggaggcggc gtgcccatcg gcggtgcct gatcaacaac 120
aaggacggca gcgtgctggg cagaggccac aacatgagat tccagaaggg cagcgccacc 180
ctgcacggcg agatcagcac cctggagaac tgcggcagac tggagggcaa ggtgtacaag 240
gacaccacc tgiacaccac cctgagcccc tgcgacatgt gcaccggcgc catcatcatg 300

tacggcatcc ccagatgcgt gatcggcgag aacgtgaact tcaagagcaa gggcgagaag 360
tacctgcaga ccagaggcca cgagtggtg gtggtggacg acgagagatg caagaagctg 420
atgaagcagt tcatcgacga gagacccag gactggttcg aggacatcgg cgag 474

<210> 50

<211> 158

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 50

Met Val Thr Gly Gly Met Ala Ser Lys Trp Asp Gln Lys Gly Met Asp

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly His Asn Met Arg Phe Gln Lys Gly Ser Ala Thr Leu His Gly Glu

50 55 60

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

65 70 75 80

Asp Thr Thr Leu Tyr Thr Thr Leu Ser Pro Cys Asp Met Cys Thr Gly

85 90 95

Ala Ile Ile Met Tyr Gly Ile Pro Arg Cys Val Ile Gly Glu Asn Val

100 105 110

Asn Phe Lys Ser Lys Gly Glu Lys Tyr Leu Gln Thr Arg Gly His Glu

115 120 125

Val Val Val Val Asp Asp Glu Arg Cys Lys Lys Leu Met Lys Gln Phe

130 135 140

Ile Asp Glu Arg Pro Gln Asp Trp Phe Glu Asp Ile Gly Glu

145 150 155

<210> 51

<211> 717

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 51

atgaccccga ccattgaact gatttgcggc catcgagca ttgcgcatTT taccgatgaa 60

ccgattagcg aagcgagcg cgaagcgatt attaacagcg cgcgcgcgac cagcagcagc 120

tattttctgc agtcgagcag cattattcgc attaccgata aagcgctgcg cgaagaactg 180

gtgaccctga ccggcggcca gaaacatgtg gcgagggcgg cggaattttg ggtgttttgc 240

gcggatttta accgccatct gcagatttgc ccggatgcgc agctgggcct ggcggaacag 300

ctgctgatgg gctgggatac cgcgatgatg ggcgagaacg cgctgattgc ggcggaaagc 360

ctgggcctgg gcggcgtgta tattggcggc ctgcgcaaca acattgaagc ggtgacaaaa 420

ctgctgaaac tgccgcagca tgtgctgccg ctgtttggcc tgtgcctggg ctggccggcg 480

gataaccggg atctgaaacc ggcctgccg gcgagcattc tggatcatga aaacagctat 540

cagccgctgg ataaaggcgc gctggcgcag tatgatgaac agctggcgga atattatctg 600

accgcgggca gcaacaaccg ccgcgatacc tggagcgatc atattcgccg caccattatt 660

gaagaaagcg cgccgtttat tctggattat ctgcataaac agggctgggc gacccgc 717

<210> 52

<211> 239

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 52

Met Thr Pro Thr Ile Glu Leu Ile Cys Gly His Arg Ser Ile Arg His

1 5 10 15

Phe Thr Asp Glu Pro Ile Ser Glu Ala Gln Arg Glu Ala Ile Ile Asn

20 25 30

Ser Ala Arg Ala Thr Ser Ser Ser Tyr Phe Leu Gln Cys Ser Ser Ile

35 40 45

Ile Arg Ile Thr Asp Lys Ala Leu Arg Glu Glu Leu Val Thr Leu Thr

50 55 60

Gly Gly Gln Lys His Val Ala Gln Ala Ala Glu Phe Trp Val Phe Cys

65 70 75 80

Ala Asp Phe Asn Arg His Leu Gln Ile Cys Pro Asp Ala Gln Leu Gly

85 90 95

Leu Ala Glu Gln Leu Leu Met Gly Trp Asp Thr Ala Met Met Ala Gln

100 105 110

Asn Ala Leu Ile Ala Ala Glu Ser Leu Gly Leu Gly Gly Val Tyr Ile

115 120 125

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

130 135 140

Pro Gln His Val Leu Pro Leu Phe Gly Leu Cys Leu Gly Trp Pro Ala

145	150	155	160
Asp Asn Pro Asp Leu Lys Pro Arg Leu Pro Ala Ser Ile Leu Val His			
	165	170	175
Glu Asn Ser Tyr Gln Pro Leu Asp Lys Gly Ala Leu Ala Gln Tyr Asp			
180	185	190	
Glu Gln Leu Ala Glu Tyr Tyr Leu Thr Arg Gly Ser Asn Asn Arg Arg			
195	200	205	
Asp Thr Trp Ser Asp His Ile Arg Arg Thr Ile Ile Glu Glu Ser Ala			
210	215	220	
Pro Phe Ile Leu Asp Tyr Leu His Lys Gln Gly Trp Ala Thr Arg			
225	230	235	