(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2023-0051529
(43) 공개일자 2023년04월18일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 48/00 (2006.01) *A61K 31/436* (2006.01)
A61K 31/573 (2021.01) *A61P 25/00* (2006.01)
A61P 25/16 (2006.01) *A61P 25/28* (2006.01)
C12N 15/86 (2006.01) *C12N 9/24* (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 48/005 (2013.01)
A61K 31/436 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2023-7008509
(22) 출원일자(국제) 2021년08월10일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2023년03월10일
(86) 국제출원번호 PCT/US2021/045447
(87) 국제공개번호 WO 2022/035903
국제공개일자 2022년02월17일
(30) 우선권주장
63/063,851 2020년08월10일 미국(US)

(71) 출원인
프리베일 테라퓨틱스, 인크.
미국 10016 뉴욕주 뉴욕 이스트 29티에이치 스트리트 430 스위트 940
(72) 발명자
아벨리오비치, 아사
미국 10016 뉴욕 뉴욕 아파트먼트 15이 이스트 써티피프쓰 스트리트 20
세비니, 제프리
스위스 오베르빌 4014 호에스트라쎄 169
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
양영준, 이상남

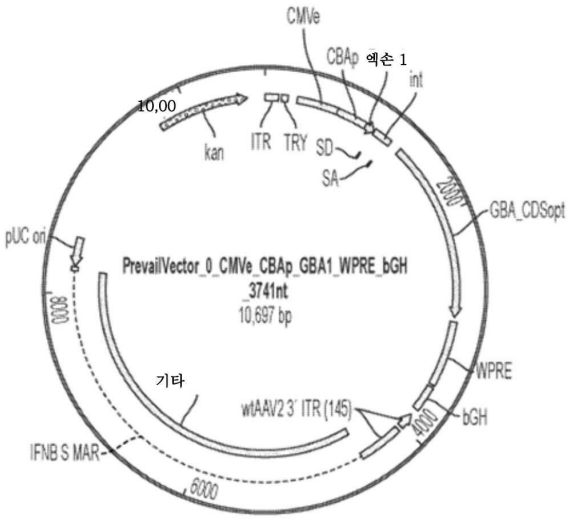
전체 청구항 수 : 총 59 항

(54) 발명의 명칭 **리소좀 장애에 대한 유전자 요법**

(57) 요 약

본 개시는 파키슨병 및 고세병과 같은 비정상적인 리소좀 기능과 관련된 질환의 치료를 위한 조성물 및 방법에 관한 것이다. 본 개시는 베타-글루코세레브로시다아제를 암호화하는 이식유전자, 알파-시뉴클레인을 표적화하는 억제 RNA, 또는 전술한 것들의 조합을 포함하는 발현 작제물을 이를 필요로 하는 대상체에게 투여함으로써 고세병, 파키슨병 또는 다른 시뉴클레인병증을 치료하는 방법을 제공한다.

대 표 도 - 도1



(52) CPC특허분류
A61K 31/573 (2013.01)
A61P 25/00 (2018.01)
A61P 25/16 (2018.01)
A61P 25/28 (2018.01)
C12N 15/86 (2013.01)
C12N 9/2402 (2013.01)
C12Y 302/01045 (2013.01)
A61K 2300/00 (2013.01)
C12N 2750/14143 (2013.01)
(72) 발명자
루이스, 트레비스
미국 10021 뉴욕 뉴욕 아파트먼트 30비 이스트 세븐티세컨드 스트리트 515
우스펜스카야, 올가
프랑스 92130 이시-레-몰리노 92130 케민 데 브리타니 22

명 세 서

청구범위

청구항 1

글루코세레브로시다아제-1(*GBA1*) 돌연변이로 파키슨병을 앓고 있거나 앓고 있는 것으로 의심되는 대상체를 치료하기 위한 방법으로서, 상기 방법은:

재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)로서:

(i) 글루코세레브로시다아제(Gcase) 단백질을 암호화하는 이식유전자 삽입체에 작동가능하게 연결된 프로모터를 포함하는 발현 작제물을 포함하는 핵산을 포함하되, 상기 이식유전자 삽입체는 서열번호 15의 뉴클레오티드 서열을 포함하는, rAAV 벡터; 및

(ii) 아데노-연관 바이러스(AAV) 9 캡시드 단백질; 및

(A) 시롤리무스;

(B) 메틸프레드니솔론;

(C) 리툭시맙; 및

(D) 프레드니손 중 하나 이상을 포함하는, 재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)를 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 2

글루코세레브로시다아제-1(*GBA1*) 돌연변이로 파키슨병을 앓고 있거나 앓고 있는 것으로 의심되는 대상체의 면역반응을 억제하기 위한 방법으로서, 상기 방법은:

재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)로서:

(i) 글루코세레브로시다아제(Gcase) 단백질을 암호화하는 이식유전자 삽입체에 작동가능하게 연결된 프로모터를 포함하는 발현 작제물을 포함하는 핵산을 포함하되, 상기 이식유전자 삽입체는 서열번호 15의 뉴클레오티드 서열을 포함하는, rAAV 벡터; 및

(ii) 아데노-연관 바이러스(AAV) 9 캡시드 단백질; 및

(A) 시롤리무스;

(B) 메틸프레드니솔론;

(C) 리툭시맙; 및

(D) 프레드니손 중 하나 이상을 포함하는, 재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)를 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, rAAV는 약 5 X 10^{13} 벡터 게놈(vg) 내지 약 5 X 10^{14} vg 범위의 투여량으로 대상체에게 투여되는, 방법.

청구항 4

제1항 또는 제2항에 있어서, rAAV는 약 1.4 X 10^{14} vg 또는 약 2.8 x 10^{14} vg의 투여량으로 대상체에게 투여되는, 방법.

청구항 5

2형 고세병 또는 3형 고세병을 앓고 있거나 앓고 있는 것으로 의심되는 대상체를 치료하기 위한 방법으로서, 상

기 방법은:

재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)로서:

(i) 글루코세레브로시다아제(Gcase) 단백질을 암호화하는 이식유전자 삽입체에 작동가능하게 연결된 프로모터를 포함하는 발현 작제물을 포함하는 핵산을 포함하되, 상기 이식유전자 삽입체는 서열번호 15의 뉴클레오티드 서열을 포함하는, rAAV 벡터; 및

(ii) 아데노-연관 바이러스(AAV) 9 캡시드 단백질; 및

(A) 시롤리무스;

(B) 메틸프레드니솔론;

(C) 리툭시맙; 및

(D) 프레드니손 중 하나 이상을 포함하는, 재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)를 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 6

2형 고셰병 또는 3형 고셰병을 앓고 있거나 앓고 있는 것으로 의심되는 대상체의 면역 반응을 억제하기 위한 방법으로서, 상기 방법은:

재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)로서:

(i) 글루코세레브로시다아제(Gcase) 단백질을 암호화하는 이식유전자 삽입체에 작동가능하게 연결된 프로모터를 포함하는 발현 작제물을 포함하는 핵산을 포함하되, 상기 이식유전자 삽입체는 서열번호 15의 뉴클레오티드 서열을 포함하는, rAAV 벡터; 및

(ii) 아데노-연관 바이러스(AAV) 9 캡시드 단백질; 및

(A) 시롤리무스;

(B) 메틸프레드니솔론;

(C) 리툭시맙; 및

(D) 프레드니손 중 하나 이상을 포함하는, 재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)를 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 7

제5항 또는 제6항에 있어서, rAAV는 약 5×10^{10} vg/g 뇌 내지 약 5×10^{11} vg/g 뇌 범위의 투여량으로 대상체에게 투여되는, 방법.

청구항 8

제5항 또는 제6항에 있어서, rAAV는 약 1.3×10^{11} vg/g 뇌의 투여량으로 대상체에게 투여되는, 방법.

청구항 9

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, rAAV는 시스테나 마그나 내로의 주사를 통해 투여되는, 방법.

청구항 10

1형 고셰병을 앓고 있거나 앓고 있는 것으로 의심되는 대상체를 치료하기 위한 방법으로서, 상기 방법은:

재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)로서:

(i) 글루코세레브로시다아제(Gcase) 단백질을 암호화하는 이식유전자 삽입체에 작동가능하게 연결된 프로모터를 포함하는 발현 작제물을 포함하는 핵산을 포함하되, 상기 이식유전자 삽입체는 서열번호 15의 뉴클레오티드 서열을 포함하는, rAAV 벡터; 및

(ii) 아데노-연관 바이러스(AAV) 9 캡시드 단백질; 및

(A) 시롤리무스;

(B) 메틸프레드니솔론;

(C) 리툭시맙; 및

(D) 프레드니손 중 하나 이상을 포함하는, 재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)를 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 11

1형 고셰병을 앓고 있거나 앓고 있는 것으로 의심되는 대상체의 면역 반응을 억제하기 위한 방법으로서, 상기 방법은:

재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)로서:

(i) 글루코세레브로시다아제(Gcase) 단백질을 암호화하는 이식유전자 삽입체에 작동가능하게 연결된 프로모터를 포함하는 발현 작제물을 포함하는 핵산을 포함하되, 상기 이식유전자 삽입체는 서열번호 15의 뉴클레오티드 서열을 포함하는, rAAV 벡터; 및

(ii) 아데노-연관 바이러스(AAV) 9 캡시드 단백질; 및

(A) 시롤리무스;

(B) 메틸프레드니솔론;

(C) 리툭시맙; 및

(D) 프레드니손 중 하나 이상을 포함하는, 재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)를 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 12

제10항 또는 제11항에 있어서, rAAV는 약 5 X 10^{13} vg 내지 약 5 X 10^{14} vg 범위의 투여량으로 대상체에게 투여되는, 방법.

청구항 13

제10항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서, rAAV는 정맥내 투여되는, 방법.

청구항 14

시뉴클레인 병증 또는 파킨슨증을 앓고 있거나 앓고 있는 것으로 의심되는 대상체를 치료하기 위한 방법으로서, 상기 방법은:

재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)로서:

(i) 이식유전자를 포함하는 발현 작제물을 포함하는 핵산을 포함하는 rAAV 벡터로서, 상기 이식유전자는,

(a) 서열번호 15의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 Gcase 단백질 코딩 서열; 및

(b) 서열번호 20의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 억제 핵산 코딩 서열을 포함하는, rAAV 벡터; 및

(ii) 아데노-연관 바이러스(AAV) 9 캡시드 단백질; 및

(A) 시롤리무스;

(B) 메틸프레드니솔론;

(C) 리툭시맙; 및

(D) 프레드니손 중 하나 이상을 포함하는, 재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)를 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 15

시뉴클레인 병증 또는 파킨슨증을 앓고 있거나 앓고 있는 것으로 의심되는 대상체의 면역 반응을 억제하기 방법으로서, 상기 방법은:

재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)로서:

(i) 이식유전자를 포함하는 발현 작제물을 포함하는 핵산을 포함하는 rAAV 벡터로서, 상기 이식유전자는,

(a) 서열번호 15의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 Gcase 단백질 코딩 서열; 및

(b) 서열번호 20의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 억제 핵산 코딩 서열을 포함하는, rAAV 벡터; 및

(ii) 아데노-연관 바이러스(AAV) 9 캡시드 단백질; 및

(A) 시롤리무스;

(B) 메틸프레드니솔론;

(C) 리툭시맙; 및

(D) 프레드니손 중 하나 이상을 포함하는, 재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)를 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 16

시뉴클레인 병증 또는 파킨슨증을 앓고 있거나 앓고 있는 것으로 의심되는 대상체를 치료하기 위한 방법으로서, 상기 방법은:

재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)로서:

(i) 서열번호 20의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 억제 핵산 코딩 서열을 포함하는 이식유전자를 포함하는 발현 작제물을 포함하는 핵산을 포함하는 rAAV 벡터; 및

(ii) 아데노-연관 바이러스(AAV) 9 캡시드 단백질; 및

(A) 시롤리무스;

(B) 메틸프레드니솔론;

(C) 리툭시맙; 및

(D) 프레드니손 중 하나 이상을 포함하는, 재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)를 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 17

시뉴클레인 병증 또는 파킨슨증을 앓고 있거나 앓고 있는 것으로 의심되는 대상체의 면역 반응을 억제하기 방법으로서, 상기 방법은:

재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)로서:

(i) 서열번호 20의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 억제 핵산 코딩 서열을 포함하는 이식유전자를 포함하는 발현 작제물을 포함하는 핵산을 포함하는 rAAV 벡터; 및

(ii) 아데노-연관 바이러스(AAV) 9 캡시드 단백질; 및

(A) 시롤리무스;

(B) 메틸프레드니솔론;

(C) 리툭시맙; 및

(D) 프레드니손 중 하나 이상을 포함하는, 재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)를 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 18

제14항 내지 제17항 중 어느 한 항에 있어서, 시뉴클레인병증 또는 파킨슨증은, 다중 전신 위축증, 파킨슨병, *GBA1* 돌연변이를 갖는 파킨슨병, 루이 소체 질환, 루이 소체를 갖는 치매, *GBA1* 돌연변이를 갖는 루이 소체를 갖는 치매, 진행성 핵상 마비, 또는 피질기저 증후군인, 방법.

청구항 19

제1항 내지 제18항 중 어느 한 항에 있어서, 프로모터는 닭 베타 액틴(CBA) 프로모터인, 방법.

청구항 20

제1항 내지 제19항 중 어느 한 항에 있어서, rAAV 벡터는 거대세포바이러스(CMV) 인핸서를 추가로 포함하는, 방법.

청구항 21

제1항 내지 제20항 중 어느 한 항에 있어서, rAAV 벡터는 우드척(Woodchuck) 간염 바이러스 전사후 조절 요소(WPRE)를 추가로 포함하는, 방법.

청구항 22

제1항 내지 제21항 중 어느 한 항에 있어서, rAAV 벡터는 소 성장 호르몬 polyA 신호 꼬리를 추가로 포함하는, 방법.

청구항 23

제1항 내지 제22항 중 어느 한 항에 있어서, 핵산은 발현 작제물의 측면에 위치하는 2개의 아데노-연관 바이러스 역위 말단 반복(ITR) 서열을 포함하는, 방법.

청구항 24

제23항에 있어서, 각각의 ITR 서열은 AAV2 ITR 서열인, 방법.

청구항 25

제23항 또는 제24항에 있어서, rAAV 벡터는 5' ITR과 발현 작제물 사이에 TRY 영역을 추가로 포함하되, TRY 영역은 서열번호 28을 포함하는, 방법.

청구항 26

GBA1 돌연변이로 파키슨병을 앓고 있거나 앓고 있는 것으로 의심되는 대상체를 치료하기 위한 방법으로서, 상기 방법은:

재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)로서:

(i) 핵산을 포함하는 rAAV 벡터로서, 5'에서 3'으로의 순서로:

(a) 아데노-연관 바이러스(AAV) 2 ITR;

(b) 거대세포바이러스(CMV) 인핸서;

(c) 닭 베타 액틴(CBA) 프로모터;

(d) Gcase 단백질을 암호화하는 이식유전자 삽입체로서, 상기 이식유전자 삽입체는 서열번호 15의 뉴클레오티드 서열을 포함하는, 이식유전자 삽입체;

(e)우드척 간염 바이러스 전사후 조절 요소(WPRE);

(f) 소 성장 호르몬 polyA 신호 꼬리; 및

(g) AAV2 역위 말단 반복(ITR)을 포함하는, rAAV 벡터; 및

(ii) AAV9 캡시드 단백질; 및

(A) 시롤리무스;

(B) 메틸프레드니솔론;

(C) 리툭시맙; 및

(D) 프레드니손 중 하나 이상을 포함하는, 재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)를 대상체에게 투여하는 단계를 포함하되,

상기 rAAV는 약 5 X 10^{13} vg 내지 약 5 X 10^{14} vg 범위의 투여량으로 대상체에게 투여되는, 방법.

청구항 27

GBA1 돌연변이로 파키슨병을 앓고 있거나 앓고 있는 것으로 의심되는 대상체의 면역 반응을 억제하기 위한 방법으로서, 상기 방법은:

재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)로서:

(i) 핵산을 포함하는 rAAV 벡터로서, 5'에서 3'으로의 순서로:

(a) 아데노-연관 바이러스(AAV) 2 ITR;

(b) 거대세포바이러스(CMV) 인핸서;

(c) 닭 베타 액틴(CBA) 프로모터;

(d) Gcase 단백질을 암호화하는 이식유전자 삽입체로서, 상기 이식유전자 삽입체는 서열번호 15의 뉴클레오티드 서열을 포함하는, 이식유전자 삽입체;

(e)우드척 간염 바이러스 전사후 조절 요소(WPRE);

(f) 소 성장 호르몬 polyA 신호 꼬리; 및

(g) AAV2 역위 말단 반복(ITR)을 포함하는, rAAV 벡터; 및

(ii) AAV9 캡시드 단백질; 및

(A) 시롤리무스;

(B) 메틸프레드니솔론;

(C) 리툭시맙; 및

(D) 프레드니손 중 하나 이상을 포함하는, 재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)를 대상체에게 투여하는 단계를 포함하되,

상기 rAAV는 약 5 X 10^{13} vg 내지 약 5 X 10^{14} vg 범위의 투여량으로 대상체에게 투여되는, 방법.

청구항 28

2형 고셰병 또는 3형 고셰병을 앓고 있거나 앓고 있는 것으로 의심되는 대상체를 치료하기 위한 방법으로서, 상기 방법은:

재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)로서:

(i) 핵산을 포함하는 rAAV 벡터로서, 5'에서 3'으로의 순서로:

(a) 아데노-연관 바이러스(AAV) 2 ITR;

(b) 거대세포바이러스(CMV) 인핸서;

(c) 닭 베타 액틴(CBA) 프로모터;

(d) Gcase 단백질을 암호화하는 이식유전자 삽입체로서, 상기 이식유전자 삽입체는 서열번호 15의 뉴클레오티드

서열을 포함하는, 이식유전자 삽입체;

(e)우드척 간염 바이러스 전사후 조절 요소(WPRE);

(f) 소 성장 호르몬 polyA 신호 꼬리; 및

(g) AAV2 역위 말단 반복(ITR)을 포함하는, rAAV 벡터; 및

(ii) AAV9 캡시드 단백질; 및

(A) 시롤리무스;

(B) 메틸프레드니솔론;

(C) 리툭시맙; 및

(D) 프레드니손 중 하나 이상을 포함하는, 재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)를 대상체에게 투여하는 단계를 포함하되,

상기 rAAV는 약 5 X 10^{10} vg/g 뇌 내지 약 5 X 10^{11} vg/g 뇌 범위의 투여량으로 대상체에게 투여되는, 방법.

청구항 29

2형 고셰병 또는 3형 고셰병을 앓고 있거나 앓고 있는 것으로 의심되는 대상체의 면역 반응을 억제하기 위한 방법으로서, 상기 방법은:

재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)로서:

(i) 핵산을 포함하는 rAAV 벡터로서, 5'에서 3'으로의 순서로:

(a) 아데노-연관 바이러스(AAV) 2 ITR;

(b) 거대세포바이러스(CMV) 인핸서;

(c) 닭 베타 액틴(CBA) 프로모터;

(d) Gcase 단백질을 암호화하는 이식유전자 삽입체로서, 상기 이식유전자 삽입체는 서열번호 15의 뉴클레오티드 서열을 포함하는, 이식유전자 삽입체;

(e)우드척 간염 바이러스 전사후 조절 요소(WPRE);

(f) 소 성장 호르몬 polyA 신호 꼬리; 및

(g) AAV2 역위 말단 반복(ITR)을 포함하는, rAAV 벡터; 및

(ii) AAV9 캡시드 단백질; 및

(A) 시롤리무스;

(B) 메틸프레드니솔론;

(C) 리툭시맙; 및

(D) 프레드니손 중 하나 이상을 포함하는, 재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)를 대상체에게 투여하는 단계를 포함하되,

상기 rAAV는 약 5 X 10^{10} vg/g 뇌 내지 약 5 X 10^{11} vg/g 뇌 범위의 투여량으로 대상체에게 투여되는, 방법.

청구항 30

제26항 내지 제29항 중 어느 한 항에 있어서, rAAV는 시스테나 마그나 내로의 주사를 통해 투여되는, 방법.

청구항 31

제1항 내지 제30항 중 어느 한 항에 있어서, rAAV는 약 20 mM 트리스, pH 8.0, 약 1 mM $MgCl_2$, 약 200 mM NaCl, 및 약 0.001% w/v 폴록사머 188을 포함하는 제형으로 투여되는, 방법.

청구항 32

제1항 내지 제31항 중 어느 한 항에 있어서, 메틸프레드니솔론은 rAAV 투여의 1일 전 또는 동일한 날에 약 1000 mg의 투여량으로 정맥내 투여되는, 방법.

청구항 33

제1항 내지 제32항 중 어느 한 항에 있어서, 프레드니손은,

(A) 1000 mg의 메틸프레드니솔론 투여 다음 날에 시작하여 14일 동안, 일당 약 30 mg의 투여량으로 경구 투여되고;

(B) (A)의 14일 기간이 끝난 후 이에 이어서 7일 동안 점감하여 경구 투여되는, 방법.

청구항 34

제1항 내지 제33항 중 어느 한 항에 있어서, 리툭시맙은 rAAV의 투여 전 14일 내지 1일 사이의 어느 하루에 약 1000 mg의 투여량으로 정맥내 투여되는, 방법.

청구항 35

제34항에 있어서, 메틸프레드니솔론은 리툭시맙이 투여되기 전에 투여되는, 방법.

청구항 36

제35항에 있어서, 메틸프레드니솔론은 리툭시맙이 투여되기 적어도 약 30분 전에 투여되는, 방법.

청구항 37

제34항에 있어서, 메틸프레드니솔론 및 리툭시맙은 rAAV의 투여 전날에 투여되고; 여기에서 메틸프레드니솔론은 리툭시맙이 투여되기 적어도 약 30분 전에 투여되는, 방법.

청구항 38

제34항에 있어서, 리툭시맙은 rAAV의 투여 14일 전 내지 2일 사이의 어느 하루에 투여되고; 여기에서 메틸프레드니솔론은 리툭시맙이 투여되는 당일에 리툭시맙이 투여되기 적어도 약 30분 전에 약 100 mg의 투여량으로 정맥내 투여되는, 방법.

청구항 39

제1항 내지 제38항 중 어느 한 항에 있어서, 시롤리무스는,

(a) rAAV의 투여 전 3일, 2일 또는 1일에 약 6 mg의 1회 투여량으로 경구 투여되고;

(b) rAAV의 투여 후 약 90일 동안 약 4 ng/ml 내지 약 9 ng/mL의 혈청 저점 수준을 유지하도록 1일 약 2 mg의 투여량으로 경구 투여되되;

시롤리무스의 1일 약 2 mg의 제1 투여량은 약 6 mg의 시롤리무스의 단일 투여량 다음 날 투여되는, 방법.

청구항 40

제5항 내지 제13항, 제28항 및 제29항 중 어느 한 항에 있어서, 시롤리무스는,

(a) 각각 약 1.0 mg/m^2의 2회 투여량으로 경구 투여되며, 여기에서 상기 2회 투여량은 rAAV의 투여 1일 또는 2일 전에 투여되되, 제1 투여량은 아침에 투여되고, 제2 투여량은 상기 2회 투여량이 투여되는 날의 저녁에 경구 투여되고;

(b) rAAV의 투여 후 약 3개월 동안 약 2 ng/mL 내지 약 8 ng/mL의 혈청 저점 수준을 유지하도록 약 0.6 mg/m^2/일 내지 약 1.0 mg/m^2/일의 투여량으로 경구 투여되는, 방법.

청구항 41

제39항 또는 제40항에 있어서, 시롤리무스 투여는 rAAV의 투여 후 90일 기간의 종료 후 15일 내지 30일 동안 점감 투여되는, 방법.

청구항 42

제1항 내지 제39항 및 제41항 중 어느 한 항에 있어서, 방법은:

(i) 메틸프레드니솔론을 약 1000 mg의 투여량으로 정맥내 투여하는 단계;

(ii) 단계 (i)의 메틸프레드니솔론 투여 후 약 30분에 약 1000 mg의 투여량으로 리툭시맙을 정맥내 투여하는 단계;

(iii) 단계 (i)의 메틸프레드니솔론 투여 다음 날, rAAV를 시스테나 마그나 내로 주사로 투여하는 단계;

(iv) 단계 (i)의 메틸프레드니솔론 투여 다음 날에 시작하여 14일 동안, 일당 약 30 mg의 투여량으로 프레드니손을 경구 투여하는 단계 및

(v) 단계 (iv)의 14일 기간 종료 후 7일 동안 프레드니손을 점감 투여하는 단계;

(vi) 단계 (iii)의 rAAV 투여 전 3일, 2일 또는 일당 약 6 mg의 단일 투여량으로 시롤리무스를 경구 투여하는 단계;

(vii) 단계 (iii)의 rAAV 투여 후 약 90일 동안 약 4 ng/ml 내지 약 9 ng/mL의 혈청 저점 수준을 유지하기 위해 일당 약 2 mg의 투여량으로 시롤리무스를 경구 투여하는 단계로서,

상기 시롤리무스의 일당 약 2 mg의 제1 투여량은 상기 시롤리무스의 약 6 mg의 단일 투여의 다음날 투여되는, 단계; 및

(viii) 단계(vii)의 90일 기간 종료 후 15일 내지 30일 동안 시롤리무스를 점감 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 43

제1항 내지 제39항 및 제41항 중 어느 한 항에 있어서, 방법은:

(i) 단계 (iv)의 rAAV 투여 전 14일 내지 2일 사이의 어느 하루에 약 100 mg의 투여량으로 메틸프레드니솔론을 정맥내 투여하는 단계;

(ii) 단계 (i)의 메틸프레드니솔론 투여 후 약 30분에 약 1000 mg의 투여량으로 리툭시맙을 정맥내 투여하는 단계;

(iii) 단계 (iv)의 rAAV 투여 1일 전 또는 동일한 날에 약 1000 mg의 투여량으로 메틸프레드니솔론을 정맥내 투여하는 단계;

(iv) rAAV를 시스테나 마그나 내로 주사하는 단계;

(v) 단계 (iii)의 메틸프레드니솔론 투여 다음 날에 시작하여 14일 동안, 일당 약 30 mg의 투여량으로 프레드니손을 경구 투여하는 단계 및

(vi) 단계 (v)의 14일 기간 종료 후 7일 동안 프레드니손을 점감 투여하는 단계;

(vii) 단계 (iv)의 rAAV 투여 전 3일, 2일 또는 일당 약 6 mg의 단일 투여량으로 시롤리무스를 경구 투여하는 단계;

(vii) 단계 (iv)의 rAAV 투여 후 약 90일 동안 약 4 ng/ml 내지 약 9 ng/mL의 혈청 저점 수준을 유지하기 위해 일당 약 2 mg의 투여량으로 시롤리무스를 경구 투여하는 단계로서,

상기 시롤리무스의 일당 약 2 mg의 제1 투여량은 상기 시롤리무스의 약 6 mg의 단일 투여의 다음날 투여되는, 단계; 및

(ix) 단계(viii)의 90일 기간 종료 후 15일 내지 30일 동안 시롤리무스를 점감 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 44

제2항, 제6항, 제11항, 제15항, 제17항, 제27항 및 제29항 중 어느 하나에 있어서, 면역 반응은 rAAV에 대한 면역 반응인, 방법.

청구항 45

제2항, 제6항, 제11항, 제15항, 제17항, 제27항, 제29항 및 제44항 중 어느 하나에 있어서, 면역 반응은 T 세포 반응인, 방법.

청구항 46

제2항, 제6항, 제11항, 제15항, 제17항, 제27항, 제29항 및 제44항 중 어느 하나에 있어서, 면역 반응은 B 세포 반응인, 방법.

청구항 47

제2항, 제6항, 제11항, 제15항, 제17항, 제27항, 제29항 및 제44항 중 어느 하나에 있어서, 면역 반응은 항체 반응인, 방법.

청구항 48

제2항, 제6항, 제11항, 제15항, 제17항, 제27항, 제29항 및 제44항 중 어느 하나에 있어서, 면역 반응은 백혈구 증가증인, 방법.

청구항 49

제48항에 있어서, 백혈구증가증은 뇌척수액(CSF) 백혈구증가증인, 방법.

청구항 50

제2항, 제6항, 제11항, 제15항, 제17항, 제27항, 제29항 및 제44항 중 어느 하나에 있어서, 면역 반응은 CSF 단백질의 비정상적인 수준인, 방법.

청구항 51

제1항 내지 제50항 중 어느 한 항에 있어서, 시롤리무스, 메틸프레드니솔론, 리툭시맙 또는 프레드니손이 아닌 추가의 면역억제제가 대상체에게 추가로 투여되는, 방법.

청구항 52

치료적 조합이되,

재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)로서:

(i) Gcase 단백질을 암호화하는 이식유전자 삽입체에 작동가능하게 연결된 프로모터를 포함하는 발현 작제물을 포함하는 핵산을 포함하되, 상기 이식유전자 삽입체는 서열번호 15의 뉴클레오티드 서열을 포함하는, rAAV 벡터; 및

(ii) 아데노-연관 바이러스(AAV) 9 캡시드 단백질; 및

(A) 시롤리무스;

(B) 메틸프레드니솔론;

(C) 리툭시맙; 및

(D) 프레드니손 중 하나 이상을 포함하는, 재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)를 포함하며,

이는 대상체에서 *GBA1* 돌연변이를 갖는 1형 고셰병, 2형 고셰병, 3형 고셰병 또는 파키슨병을 치료하는 방법에 사용하기 위한 것인, 치료적 조합.

청구항 53

치료적 조합이되,

재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)로서:

(i) Gcase 단백질을 암호화하는 이식유전자 삽입체에 작동가능하게 연결된 프로모터를 포함하는 발현 작제물을 포함하는 핵산을 포함하되, 상기 이식유전자 삽입체는 서열번호 15의 뉴클레오티드 서열을 포함하는, rAAV 벡터; 및

(ii) 아데노-연관 바이러스(AAV) 9 캡시드 단백질; 및

(A) 시롤리무스;

(B) 메틸프레드니솔론;

(C) 리툭시맙; 및

(D) 프레드니손 중 하나 이상을 포함하는, 재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)를 포함하며,

이는 *GBA1* 돌연변이를 갖는 1형 고셰병, 2형 고셰병, 3형 고셰병 또는 파키슨병을 잃고 있거나 앓고 있는 것으로 의심되는 대상체에서의 면역 반응을 억제하는 방법에 사용하기 위한 것인, 치료적 조합.

청구항 54

제52항 또는 제53항에 있어서, 조합은 약 5 X 10^{13} vg 내지 약 5 X 10^{14} vg의 rAAV를 포함하는, 치료적 조합.

청구항 55

제52항 또는 제53항에 있어서, 조합은 약 1.4 X 10^{14} vg 또는 약 2.8 X 10^{14} vg의 rAAV를 포함하는, 치료적 조합.

청구항 56

치료적 조합이되,

재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)로서:

(i) 이식유전자 삽입체에 작동가능하게 연결된 프로모터를 포함하는 발현 작제물을 포함하는 핵산을 포함하는 rAAV 벡터로서, 상기 이식유전자 삽입체는,

(a) 서열번호 15의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 Gcase 단백질 코딩 서열; 및

(b) 서열번호 20의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 억제 핵산 코딩 서열을 포함하는, rAAV 벡터; 및

(ii) 아데노-연관 바이러스(AAV) 9 캡시드 단백질; 및

(A) 시롤리무스;

(B) 메틸프레드니솔론;

(C) 리툭시맙; 및

(D) 프레드니손 중 하나 이상을 포함하는, 재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)를 포함하며,

이는 대상체에서 시뉴클레인병증 또는 파킨슨증을 치료하는 방법에 사용하기 위한 것인, 치료적 조합.

청구항 57

치료적 조합이되,

재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)로서:

(i) 이식유전자 삽입체에 작동가능하게 연결된 프로모터를 포함하는 발현 작제물을 포함하는 핵산을 포함하는 rAAV 벡터로서, 상기 이식유전자 삽입체는,

(a) 서열번호 15의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 Gcase 단백질 코딩 서열; 및

(b) 서열번호 20의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 억제 핵산 코딩 서열을 포함하는, rAAV 벡터; 및

(ii) 아데노-연관 바이러스(AAV) 9 캡시드 단백질; 및

(A) 시롤리무스;

(B) 메틸프레드니솔론;

(C) 리툭시맙; 및

(D) 프레드니손 중 하나 이상을 포함하는, 재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)를 포함하며,

이는 시뉴클레인병증 또는 파킨슨증을 잃고 있거나 앓고 있는 것으로 의심되는 대상체에서의 면역 반응을 억제하는 방법에 사용하기 위한 것인, 치료적 조합.

청구항 58

치료적 조합이되,

재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)로서:

(i) 서열번호 20의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 억제 핵산 코딩 서열을 포함하는 이식유전자 삽입체에 작동가능하게 연결된 프로모터를 포함하는 발현 작제물을 포함하는 핵산을 포함하는 rAAV 벡터; 및

(ii) 아데노-연관 바이러스(AAV) 9 캡시드 단백질; 및

(A) 시롤리무스;

(B) 메틸프레드니솔론;

(C) 리툭시맙; 및

(D) 프레드니손 중 하나 이상을 포함하는, 재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)를 포함하며,

이는 대상체에서 시뉴클레인병증 또는 파킨슨증을 치료하는 방법에 사용하기 위한 것인, 치료적 조합.

청구항 59

치료적 조합이되,

재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)로서:

(i) 서열번호 20의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 억제 핵산 코딩 서열을 포함하는 이식유전자 삽입체에 작동가능하게 연결된 프로모터를 포함하는 발현 작제물을 포함하는 핵산을 포함하는 rAAV 벡터; 및

(ii) 아데노-연관 바이러스(AAV) 9 캡시드 단백질; 및

(A) 시롤리무스;

(B) 메틸프레드니솔론;

(C) 리툭시맙; 및

(D) 프레드니손 중 하나 이상을 포함하며,

이는 시뉴클레인병증 또는 파킨슨증을 잃고 있거나 앓고 있는 것으로 의심되는 대상체에서의 면역 반응을 억제하는 방법에 사용하기 위한 것인, 치료적 조합.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] **관련 출원에 대한 상호 참조**

[0002] 본 출원은 2020년 8월 10일 출원된 미국 특허 가출원 제63/063,851호의 이익을 주장하며, 이의 개시는 그 전체

가 본원에 참조로서 통합된다.

[0003] **전자적으로 제출된 텍스트 파일의 설명**

[0004] 본원과 함께 전자적으로 제출된 텍스트 파일의 내용은 그 전체가 참조로서 본원에 통합된다: 서열 목록의 컴퓨터 판독 가능 포맷 사본(파일명: PRVL_014_01WO_SeqList.txt, 저장일: 2021년 8월 10일, 파일 크기 약 361,207 바이트).

[0005] **기술 분야**

[0006] 본 개시는 유전자 요법 분야 및 이를 사용하는 방법에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0007] 리소좀산 β-글루코세레브로시다아제(Gcase) 및 α-시뉴클레인과 같은 단백질의 비정상적인 발현은 많은 중추 신경계 장애에 관여한다. 고세(Gaucher)병은 Gcase 결핍으로 인한 글리코스핑고지질 대사의 희귀한 선천성 오류이다. 환자는 비-CNS 증상 및 간비장비대, 범혈구감소증으로 이어지는 골수 기능부전, 폐 장애 및 섬유증, 및 골 결함을 포함하는 소견을 겪는다. 또한, 상당한 수의 환자가 결함성 단속적 안구 운동 및 시선, 및 발작, 인지 장애, 발달 지연, 파킨슨병을 포함하는 운동 장애를 포함하는 신경학적 징후로 고통받고 있다.

[0008] 효소 대체 요법, 결함이 있는 Gcase에 결합하여 안정성을 향상시키는 샤페론 유사 소분자 약물, 및 증상 및 병리로 이어지는 고세병에서 축적되는 기질의 생성을 차단하는 기질 감소 요법을 포함하는 조혈 골수 및 내장의 말초 질환 및 주요 임상 증상을 다루는 여러 치료법이 존재한다. 그러나, 고세병의 다른 양태는 치료에 불응성인 것으로 보인다.

[0009] 고세병 환자(*GBA1* 유전자의 염색체 대립유전자 모두에서 돌연변이를 가짐)에 더하여, *GBA1*의 단 하나의 대립유전자에서만 돌연변이를 갖는 환자는 파키슨병(PD)의 위험이 매우 높다. α-시뉴클레인 수준 상승은 또한 PD와 같은 시뉴클레인 병증의 기초가 된다. PD 증상의 중증도- 걸음걸이 곤란, 휴식 시 떨림, 경직, 및 종종 우울증, 수면 곤란, 및 인지 저하를 포함함 - 는 효소 활성 감소의 정도와 상관된다. 따라서, 고세병 환자는 가장 중증인 과정을 겪는 반면, *GBA1*에서 1개의 경미한 돌연변이를 가진 환자는 일반적으로 보디 양성적인 과정을 겪는다. 돌연변이 담체는 또한, 특징적인 운동 및 인지 장애를 동반하는, 실행 기능 장애, 정신병, 및 PD 유사 운동 장애, 및 다기관 위축을 특징으로 하는, 레비 소체병(Lewy Body Dementia)을 포함하는, 다른 PD 관련 장애을 일으킬 위험이 높다. 이러한 장애 및 다른 합성 호르몬 병증의 회복 불가능한 과정을 변경시키는 치료법은 존재하지 않는다.

발명의 내용

[0010] 글루코세레브로시다아제-1(*GBA1*) 돌연변이로 파키슨병을 앓고 있거나 앓고 있는 것으로 의심되는 대상체를 치료하기 위한 방법이 본원에 제공되며, 방법은:

[0011] 재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)로서:

[0012] (i) 글루코세레브로시다아제(Gcase) 단백질을 암호화하는 이식유전자 삽입체에 작동가능하게 연결된 프로모터를 포함하는 발현 작제물을 포함하는 핵산을 포함하되, 이식유전자 삽입체는 서열번호 15의 뉴클레오티드 서열을 포함하는, rAAV 벡터; 및

[0013] (ii) 아데노-연관 바이러스(AAV) 9 캡시드 단백질; 및

[0014] (A) 시롤리무스;

[0015] (B) 메틸프레드니솔론;

[0016] (C) 리툭시맙; 및

[0017] (D) 프레드니손 중 하나 이상을 포함하는, 재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)를 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다.

[0018] 또한, 글루코세레브로시다아제-1(*GBA1*) 돌연변이로 파키슨병을 앓고 있거나 앓고 있는 것으로 의심되는 대상체의 면역 반응을 억제하기 위한 방법이 본원에 제공되며, 방법은:

[0019] 재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)로서:

[0020] (i) 글루코세레브로시다아제(Gcase) 단백질을 암호화하는 이식유전자 삽입체에 작동가능하게 연결된 프로모터를 포함하는 발현 작제물을 포함하는 핵산을 포함하되, 이식유전자 삽입체는 서열번호 15의 뉴클레오티드 서열을 포함하는, rAAV 벡터; 및

[0021] (ii) 아데노-연관 바이러스(AAV) 9 캡시드 단백질; 및

[0022] (A) 시롤리무스;

[0023] (B) 메틸프레드니솔론;

[0024] (C) 리툭시맙; 및

[0025] (D) 프레드니손 중 하나 이상을 포함하는, 재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)를 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다.

[0026] 본원에 제공된 방법의 일부 구현예에서, rAAV는 약 5 X 10^{13} 벡터 게놈(vg) 내지 약 5 X 10^{14} vg 범위의 투여량으로 대상체에게 투여된다. 본원에 제공된 방법의 일부 구현예에서, rAAV는 약 1.4 X 10^{14} vg 또는 약 2.8 x 10^{14} vg의 투여량으로 대상체에게 투여된다.

[0027] 2형 고셰병 또는 3형 고셰병을 앓고 있거나 앓고 있는 것으로 의심되는 대상체를 치료하기 위한 방법이 본원에 제공되며, 방법은:

[0028] 재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)로서:

[0029] (i) 글루코세레브로시다아제(Gcase) 단백질을 암호화하는 이식유전자 삽입체에 작동가능하게 연결된 프로모터를 포함하는 발현 작제물을 포함하는 핵산을 포함하되, 이식유전자 삽입체는 서열번호 15의 뉴클레오티드 서열을 포함하는, rAAV 벡터; 및

[0030] (ii) 아데노-연관 바이러스(AAV) 9 캡시드 단백질; 및

[0031] (A) 시롤리무스;

[0032] (B) 메틸프레드니솔론;

[0033] (C) 리툭시맙; 및

[0034] (D) 프레드니손 중 하나 이상을 포함하는, 재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)를 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다.

[0035] 또한, 2형 고셰병 또는 3형 고셰병을 앓고 있거나 앓고 있는 것으로 의심되는 대상체의 면역 반응을 억제하기 위한 방법이 본원에 제공되며, 방법은:

[0036] 재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)로서:

[0037] (i) 글루코세레브로시다아제(Gcase) 단백질을 암호화하는 이식유전자 삽입체에 작동가능하게 연결된 프로모터를 포함하는 발현 작제물을 포함하는 핵산을 포함하되, 이식유전자 삽입체는 서열번호 15의 뉴클레오티드 서열을 포함하는, rAAV 벡터; 및

[0038] (ii) 아데노-연관 바이러스(AAV) 9 캡시드 단백질; 및

[0039] (A) 시롤리무스;

[0040] (B) 메틸프레드니솔론;

[0041] (C) 리툭시맙; 및

[0042] (D) 프레드니손 중 하나 이상을 포함하는, 재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)를 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다.

[0043] 본원에 제공된 방법의 일부 구현예에서, rAAV는 약 5 X 10^{10} vg/g 뇌 내지 약 5 X 10^{11} vg/g 뇌 범위의 투여량으로 대상체에게 투여된다. 본원에 제공된 방법의 일부 구현예에서, rAAV는 약 1.3 X 10^{11} vg/g 뇌의 투여량으로 대상체에게 투여된다.

[0044] 본원에 제공된 방법의 일부 구현예에서, rAAV는 시스테나 마그나(cisterna magna) 내로의 주사를 통해 투여된다.

[0045] 1형 고셰병을 앓고 있거나 앓고 있는 것으로 의심되는 대상체를 치료하기 위한 방법이 본원에 제공되며, 방법은:

[0046] 재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)로서:

[0047] (i) 글루코세레브로시다아제(Gcase) 단백질을 암호화하는 이식유전자 삽입체에 작동가능하게 연결된 프로모터를 포함하는 발현 작제물을 포함하는 핵산을 포함하되, 이식유전자 삽입체는 서열번호 15의 뉴클레오티드 서열을 포함하는, rAAV 벡터; 및

[0048] (ii) 아데노-연관 바이러스(AAV) 9 캡시드 단백질; 및

[0049] (A) 시롤리무스;

[0050] (B) 메틸프레드니솔론;

[0051] (C) 리툭시맙; 및

[0052] (D) 프레드니손 중 하나 이상을 포함하는, 재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)를 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다.

[0053] 또한, 1형 고셰병을 앓고 있거나 앓고 있는 것으로 의심되는 대상체의 면역 반응을 억제하기 위한 방법이 본원에 제공되며, 방법은:

[0054] 재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)로서:

[0055] (i) 글루코세레브로시다아제(Gcase) 단백질을 암호화하는 이식유전자 삽입체에 작동가능하게 연결된 프로모터를 포함하는 발현 작제물을 포함하는 핵산을 포함하되, 이식유전자 삽입체는 서열번호 15의 뉴클레오티드 서열을 포함하는, rAAV 벡터; 및

[0056] (ii) 아데노-연관 바이러스(AAV) 9 캡시드 단백질; 및

[0057] (A) 시롤리무스;

[0058] (B) 메틸프레드니솔론;

[0059] (C) 리툭시맙; 및

[0060] (D) 프레드니손 중 하나 이상을 포함하는, 재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)를 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다.

[0061] 본원에 제공된 방법의 일부 구현예에서, rAAV는 약 5 X 10^{13} vg 내지 약 5 X 10^{14} vg 범위의 투여량으로 대상체에게 투여된다. 본원에 제공된 방법의 일부 구현예에서, rAAV는 정맥내 투여된다.

[0062] 또한, 시뉴클레인 병증 또는 파킨슨증을 앓고 있거나 앓고 있는 것으로 의심되는 대상체를 치료하기 위한 방법이 본원에 제공되며, 방법은:

[0063] 재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)로서:

[0064] (i) 이식유전자를 포함하는 발현 작제물을 포함하는 핵산을 포함하는 rAAV 벡터로서, 이식유전자는,

[0065] (a) 서열번호 15의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 Gcase 단백질 코딩 서열; 및

[0066] (b) 서열번호 20의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 억제 핵산 코딩 서열을 포함하는, rAAV 벡터; 및

[0067] (ii) 아데노-연관 바이러스(AAV) 9 캡시드 단백질; 및

[0068] (A) 시롤리무스;

[0069] (B) 메틸프레드니솔론;

[0070] (C) 리툭시맙; 및

[0071] (D) 프레드니손 중 하나 이상을 포함하는, 재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)를 대상체에게 투여하는 단계를

포함한다.

[0072] 시뉴클레인 병증 또는 파킨슨증을 앓고 있거나 앓고 있는 것으로 의심되는 대상체의 면역 반응을 억제하기 방법이 본원에 제공되며, 방법은:

[0073] 재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)로서:

[0074] (i) 이식유전자를 포함하는 발현 작제물을 포함하는 핵산을 포함하는 rAAV 벡터로서, 이식유전자는,

[0075] (a) 서열번호 15의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 Gcase 단백질 코딩 서열; 및

[0076] (b) 서열번호 20의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 억제 핵산 코딩 서열을 포함하는, rAAV 벡터; 및

[0077] (ii) 아데노-연관 바이러스(AAV) 9 캡시드 단백질; 및

[0078] (A) 시롤리무스;

[0079] (B) 메틸프레드니솔론;

[0080] (C) 리툭시맙; 및

[0081] (D) 프레드니손 중 하나 이상을 포함하는, 재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)를 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다.

[0082] 시뉴클레인 병증 또는 파킨슨증을 앓고 있거나 앓고 있는 것으로 의심되는 대상체를 치료하기 위한 방법이 본원에 제공되며, 방법은:

[0083] 재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)로서:

[0084] (i) 서열번호 20의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 억제 핵산 코딩 서열을 포함하는 이식유전자를 포함하는 발현 작제물을 포함하는 핵산을 포함하는 rAAV 벡터; 및

[0085] (ii) 아데노-연관 바이러스(AAV) 9 캡시드 단백질; 및

[0086] (A) 시롤리무스;

[0087] (B) 메틸프레드니솔론;

[0088] (C) 리툭시맙; 및

[0089] (D) 프레드니손 중 하나 이상을 포함하는, 재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)를 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다.

[0090] 또한, 시뉴클레인 병증 또는 파킨슨증을 앓고 있거나 앓고 있는 것으로 의심되는 대상체의 면역 반응을 억제하기 방법이 본원에 제공되며, 방법은:

[0091] 재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)로서:

[0092] (i) 서열번호 20의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 억제 핵산 코딩 서열을 포함하는 이식유전자를 포함하는 발현 작제물을 포함하는 핵산을 포함하는 rAAV 벡터; 및

[0093] (ii) 아데노-연관 바이러스(AAV) 9 캡시드 단백질; 및

[0094] (A) 시롤리무스;

[0095] (B) 메틸프레드니솔론;

[0096] (C) 리툭시맙; 및

[0097] (D) 프레드니손 중 하나 이상을 포함하는, 재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)를 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다.

[0098] 본원에 제공된 방법의 일부 구현예에서, 프로모터는 닭 베타 액틴(CBA) 프로모터이다. 본원에 제공된 방법의 일부 구현예에서, rAAV 벡터는 거대세포바이러스(CMV) 인핸서를 추가로 포함한다. 본원에 제공된 방법의 일부 구현예에서, rAAV 벡터는 우드척(Woodchuck) 간염 바이러스 전사후 조절 요소(WPRE)를 추가로 포함한다. 본원에 제공된 방법의 일부 구현예에서, rAAV 벡터는 소 성장 호르몬 polyA 신호 꼬리를 추가로 포함한다.

[0099] 본원에 제공된 방법의 일부 구현예에서, 핵산은 발현 작제물의 측면에 위치하는 2개의 아데노-연관 바이러스 역위 말단 반복(ITR) 서열을 포함한다. 본원에 제공된 방법의 일부 구현예에서, 각각의 ITR 서열은 AAV2 ITR 서열이다. 본원에 제공된 방법의 일부 구현예에서, rAAV 벡터는 5' ITR과 발현 작제물 사이에 TRY 영역을 추가로 포함하되, TRY 영역은 서열번호 28을 포함한다.

[0100] *GBA1* 돌연변이로 파키슨병을 앓고 있거나 앓고 있는 것으로 의심되는 대상체를 치료하기 위한 방법이 본원에 제공되며, 방법은:

[0101] 재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)로서:

[0102] (i) 핵산을 포함하는 rAAV 벡터로서, 5'에서 3'으로의 순서로:

[0103] (a) 아데노-연관 바이러스(AAV) 2 ITR;

[0104] (b) 거대세포바이러스(CMV) 인핸서;

[0105] (c) 닭 베타 액틴(CBA) 프로모터;

[0106] (d) Gcase 단백질을 암호화하는 이식유전자 삽입체로서, 이식유전자 삽입체는 서열번호 15의 뉴클레오티드 서열을 포함하는, 이식유전자 삽입체;

[0107] (e)우드척 간염 바이러스 전사후 조절 요소(WPRE);

[0108] (f) 소 성장 호르몬 polyA 신호 꼬리; 및

[0109] (g) AAV2 역위 말단 반복(ITR)을 포함하는, rAAV 벡터; 및

[0110] (ii) AAV9 캡시드 단백질; 및

[0111] (A) 시롤리무스;

[0112] (B) 메틸프레드니솔론;

[0113] (C) 리툭시맙; 및

[0114] (D) 프레드니손 중 하나 이상을 포함하는, 재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)를 대상체에게 투여하는 단계를 포함하되,

[0115] rAAV는 약 5 X 10^{13} vg 내지 약 5 X 10^{14} vg 범위의 투여량으로 대상체에게 투여된다.

[0116] 또한, *GBA1* 돌연변이로 파키슨병을 앓고 있거나 앓고 있는 것으로 의심되는 대상체의 면역 반응을 억제하기 위한 방법이 본원에 제공되며, 방법은:

[0117] 재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)로서:

[0118] (i) 핵산을 포함하는 rAAV 벡터로서, 5'에서 3'으로의 순서로:

[0119] (a) 아데노-연관 바이러스(AAV) 2 ITR;

[0120] (b) 거대세포바이러스(CMV) 인핸서;

[0121] (c) 닭 베타 액틴(CBA) 프로모터;

[0122] (d) Gcase 단백질을 암호화하는 이식유전자 삽입체로서, 이식유전자 삽입체는 서열번호 15의 뉴클레오티드 서열을 포함하는, 이식유전자 삽입체;

[0123] (e)우드척 간염 바이러스 전사후 조절 요소(WPRE);

[0124] (f) 소 성장 호르몬 polyA 신호 꼬리; 및

[0125] (g) AAV2 역위 말단 반복(ITR)을 포함하는, rAAV 벡터; 및

[0126] (ii) AAV9 캡시드 단백질; 및

[0127] (A) 시롤리무스;

[0128] (B) 메틸프레드니솔론;

[0129] (C) 리툭시맙; 및

[0130] (D) 프레드니손 중 하나 이상을 포함하는, 재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)를 대상체에게 투여하는 단계를 포함하되,

[0131] rAAV는 약 5 X 10^{13} vg 내지 약 5 X 10^{14} vg 범위의 투여량으로 대상체에게 투여된다.

[0132] 2형 고셰병 또는 3형 고셰병을 앓고 있거나 앓고 있는 것으로 의심되는 대상체를 치료하기 위한 방법이 본원에 제공되며, 방법은:

[0133] 재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)로서:

[0134] (i) 핵산을 포함하는 rAAV 벡터로서, 5'에서 3'으로의 순서로:

[0135] (a) 아데노-연관 바이러스(AAV) 2 ITR;

[0136] (b) 거대세포바이러스(CMV) 인핸서;

[0137] (c) 닭 베타 액틴(CBA) 프로모터;

[0138] (d) Gcase 단백질을 암호화하는 이식유전자 삽입체로서, 이식유전자 삽입체는 서열번호 15의 뉴클레오티드 서열을 포함하는, 이식유전자 삽입체;

[0139] (e)우드척 간염 바이러스 전사후 조절 요소(WPRE);

[0140] (f) 소 성장 호르몬 polyA 신호 꼬리; 및

[0141] (g) AAV2 역위 말단 반복(ITR)을 포함하는, rAAV 벡터; 및

[0142] (ii) AAV9 캡시드 단백질; 및

[0143] (A) 시롤리무스;

[0144] (B) 메틸프레드니솔론;

[0145] (C) 리툭시맙; 및

[0146] (D) 프레드니손 중 하나 이상을 포함하는, 재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)를 대상체에게 투여하는 단계를 포함하되,

[0147] rAAV는 약 5 X 10^{10} vg/g 뇌 내지 약 5 X 10^{11} vg/g 뇌 범위의 투여량으로 대상체에게 투여된다.

[0148] 2형 고셰병 또는 3형 고셰병을 앓고 있거나 앓고 있는 것으로 의심되는 대상체의 면역 반응을 억제하기 위한 방법이 본원에 제공되며, 방법은:

[0149] 재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)로서:

[0150] (i) 핵산을 포함하는 rAAV 벡터로서, 5'에서 3'으로의 순서로:

[0151] (a) 아데노-연관 바이러스(AAV) 2 ITR;

[0152] (b) 거대세포바이러스(CMV) 인핸서;

[0153] (c) 닭 베타 액틴(CBA) 프로모터;

[0154] (d) Gcase 단백질을 암호화하는 이식유전자 삽입체로서, 이식유전자 삽입체는 서열번호 15의 뉴클레오티드 서열을 포함하는, 이식유전자 삽입체;

[0155] (e)우드척 간염 바이러스 전사후 조절 요소(WPRE);

[0156] (f) 소 성장 호르몬 polyA 신호 꼬리; 및

[0157] (g) AAV2 역위 말단 반복(ITR)을 포함하는, rAAV 벡터; 및

[0158] (ii) AAV9 캡시드 단백질; 및

[0159] (A) 시롤리무스;

[0160] (B) 메틸프레드니솔론;

[0161] (C) 리툭시맙; 및

[0162] (D) 프레드니손 중 하나 이상을 포함하는, 재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)를 대상체에게 투여하는 단계를 포함하되,

[0163] rAAV는 약 5 X 10^{10} vg/g 뇌 내지 약 5 X 10^{11} vg/g 뇌 범위의 투여량으로 대상체에게 투여된다.

[0164] 본원에 제공된 방법의 일부 구현예에서, rAAV는 시스테나 마그나(cisterna magna) 내로의 주사를 통해 투여된다.

[0165] 본원에 제공된 방법의 일부 구현예에서, rAAV는 약 20 mM 트리스, pH 8.0, 약 1 mM $MgCl_2$, 약 200 mM NaCl, 및 약 0.001% w/v 폴록사머 188을 포함하는 제형으로 투여된다.

[0166] 본원에 제공된 방법의 일부 구현예에서, 메틸프레드니솔론은 rAAV 투여의 1일 전 또는 동일한 날에 약 1000 mg의 투여량으로 정맥내 투여된다.

[0167] 본원에 제공된 방법의 일부 구현예에서, 프레드니손은, (A) 약 1000 mg의 메틸프레드니솔론의 투여 다음 날에 시작하여 14일 동안 1일 약 30 mg의 투여량으로 경구 투여되고; (B) (A)의 14일 기간이 끝난 후 7일 동안 줄인다.

[0168] 본원에 제공된 방법의 일부 구현예에서, 리툭시맙은 rAAV의 투여 전 14일 내지 1일 사이의 어느 하루에 약 1000 mg의 투여량으로 정맥내 투여된다. 본원에 제공된 방법의 일부 구현예에서, 메틸프레드니솔론은 리툭시맙이 투여되기 전에 투여된다. 본원에 제공된 방법의 일부 구현예에서, 메틸프레드니솔론은 리툭시맙이 투여되기 적어도 약 30분 전에 투여된다.

[0169] 본원에 제공된 방법의 일부 구현예에서, 메틸프레드니솔론 및 리툭시맙은 rAAV의 투여 전날에 투여되고; 여기에서 메틸프레드니솔론은 리툭시맙이 투여되기 적어도 약 30분 전에 투여된다.

[0170] 본원에 제공된 방법의 일부 구현예에서, 리툭시맙은 rAAV의 투여 14일 전 내지 2일 사이의 어느 하루에 투여되고; 여기에서 메틸프레드니솔론은 리툭시맙이 투여되는 당일에 리툭시맙이 투여되기 적어도 약 30분 전에 약 100 mg의 투여량으로 정맥내 투여된다.

[0171] 본원에 제공된 방법의 일부 구현예에서, 시롤리무스는 (A) rAAV의 투여 3일, 2일 또는 1일 전 약 6 mg의 단일 투여량으로 경구 투여되고; (B) rAAV의 투여 후 약 90일 동안 약 4 ng/ml 내지 약 9 ng/mL의 혈청 저점 수준을 유지하기 위해 일당 약 2 mg의 투여량으로 경구 투여되며; 여기에서 시롤리무스의 일당 약 2 mg의 제1 투여량은 약 시롤로무스의 약 6 mg의 단일 투여량이 투여된 다음 날 투여된다.

[0172] 본원에 제공된 방법의 일부 구현예에서, 시롤리무스는 (A) 각각 약 1.0 mg/m^2의 투여량으로 2회 경구 투여되고, 여기에서 2회의 투여량은 rAAV의 투여 1일 또는 2일 전에 투여되며, 2회의 투여량이 투여되는 날, 제1 투여는 아침에, 그리고 제2 투여는 저녁에 투여되고; (B) rAAV의 투여 후 약 3개월 동안 약 2 ng/ml 내지 약 8 ng/mL의 혈청 저점 수준을 유지하기 위해 약 0.6 mg/m^2/일 내지 약 1.0 mg/m^2/일의 투여량으로 경구 투여된다.

[0173] 본원에 제공된 방법의 일부 구현예에서, 시롤리무스 투여는 rAAV의 투여 후 90일 기간의 종료 후 15일 내지 30일 동안 점감 투여된다.

[0174] 본원에 제공된 방법의 일부 구현예에서, 방법은:

[0175] (i) 메틸프레드니솔론을 약 1000 mg의 투여량으로 정맥내 투여하는 단계;

[0176] (ii) 단계 (i)의 메틸프레드니솔론 투여 후 약 30분에 약 1000 mg의 투여량으로 리툭시맙을 정맥내 투여하는 단계;

[0177] (iii) 단계 (i)의 메틸프레드니솔론 투여 다음 날, rAAV를 시스테나 마그나 내로 주사로 투여하는 단계;

[0178] (iv) 단계 (i)의 메틸프레드니솔론 투여 다음 날에 시작하여 14일 동안, 일당 약 30 mg의 투여량으로 프레드니손을 경구 투여하는 단계 및

[0179] (v) 단계 (iv)의 14일 기간 종료 후 7일 동안 프레드니손을 점감 투여하는 단계;

[0180] (vi) 단계 (iii)의 rAAV 투여 전 3일, 2일 또는 일당 약 6 mg의 단일 투여량으로 시롤리무스를 경구 투여하는 단계;

[0181] (vii) 단계 (iii)의 rAAV 투여 후 약 90일 동안 약 4 ng/ml 내지 약 9 ng/mL의 혈청 저점 수준을 유지하기 위해 일당 약 2 mg의 투여량으로 시롤리무스를 경구 투여하는 단계로서, 시롤리무스의 일당 약 2 mg의 제1 투여량은 시롤리무스의 약 6 mg의 단일 투여의 다음날 투여되는, 단계; 및

[0182] (viii) 단계(vii)의 90일 기간 종료 후 15일 내지 30일 동안 시롤리무스를 점감 투여하는 단계를 포함한다.

[0183] 본원에 제공된 방법의 일부 구현예에서, 방법은:

[0184] (i) 단계 (iv)의 rAAV 투여 전 14일 내지 2일 사이의 어느 하루에 약 100 mg의 투여량으로 메틸프레드니솔론을 정맥내 투여하는 단계;

[0185] (ii) 단계 (i)의 메틸프레드니솔론 투여 후 약 30분에 약 1000 mg의 투여량으로 리툭시맙을 정맥내 투여하는 단계;

[0186] (iii) 단계 (iv)의 rAAV 투여 1일 전 또는 동일한 날에 약 1000 mg의 투여량으로 메틸프레드니솔론을 정맥내 투여하는 단계;

[0187] (iv) rAAV를 시스테나 마그나 내로 주사하는 단계;

[0188] (v) 단계 (iii)의 메틸프레드니솔론 투여 다음 날에 시작하여 14일 동안, 일당 약 30 mg의 투여량으로 프레드니손을 경구 투여하는 단계 및

[0189] (vi) 단계 (v)의 14일 기간 종료 후 7일 동안 프레드니손을 점감 투여하는 단계;

[0190] (vii) 단계 (iv)의 rAAV 투여 전 3일, 2일 또는 일당 약 6 mg의 단일 투여량으로 시롤리무스를 경구 투여하는 단계;

[0191] (vii) 단계 (iv)의 rAAV 투여 후 약 90일 동안 약 4 ng/ml 내지 약 9 ng/mL의 혈청 저점 수준을 유지하기 위해 일당 약 2 mg의 투여량으로 시롤리무스를 경구 투여하는 단계로서, 시롤리무스의 일당 약 2 mg의 제1 투여량은 시롤리무스의 약 6 mg의 단일 투여의 다음날 투여되는, 단계; 및

[0192] (ix) 단계(viii)의 90일 기간 종료 후 15일 내지 30일 동안 시롤리무스를 점감 투여하는 단계를 포함한다.

[0193] 본원에 제공된 방법의 일부 구현예에서, 면역 반응은 rAAV에 대한 면역 반응이다. 본원에 제공된 방법의 일부 구현예에서, 면역 반응은 T 세포 반응이다. 본원에 제공된 방법의 일부 구현예에서, 면역 반응은 B 세포 반응이다. 본원에 제공된 방법의 일부 구현예에서, 면역 반응은 항체 반응이다. 본원에 제공된 방법의 일부 구현예에서, 면역 반응은 백혈구 증가증이다. 본원에 제공된 방법의 일부 구현예에서, 백혈구증가증은 뇌척수액(CSF) 백혈구증가증이다. 본원에 제공된 방법의 일부 구현예에서, 면역 반응은 비정상적인 수준의 CSF 단백질이다.

[0194] 본원에 제공된 방법의 일부 구현예에서, 시롤리무스, 메틸프레드니솔론, 리툭시맙 또는 프레드니손이 아닌 추가의 면역억제제가 대상체에게 추가로 투여된다.

[0195] 본원에 제공된 방법의 일부 구현예에서, 시뉴클레인병증 또는 파킨슨증은, 다중 전신 위축증, 파킨슨병, *GBA1* 돌연변이를 갖는 파킨슨병, 루이 소체 질환, 루이 소체를 갖는 치매, *GBA1* 돌연변이를 갖는 루이 소체를 갖는 치매, 진행성 핵상 마비, 또는 피질기저 증후군이다.

[0196] 치료적 조합이 본원에 제공되며, 조합은:

[0197] 재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)로서:

[0198] (i) Gcase 단백질을 암호화하는 이식유전자 삽입체에 작동가능하게 연결된 프로모터를 포함하는 발현 작제물을 포함하는 핵산을 포함하되, 이식유전자 삽입체는 서열번호 15의 뉴클레오티드 서열을 포함하는, rAAV 벡터; 및

[0199] (ii) 아데노-연관 바이러스(AAV) 9 캡시드 단백질; 및

[0200] (A) 시롤리무스;

[0201] (B) 메틸프레드니솔론;

[0202] (C) 리툭시맙; 및

[0203] (D) 프레드니손 중 하나 이상을 포함하는, 재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)의 조합이며,

[0204] 이는 대상체에서 *GBA1* 돌연변이를 갖는 1형 고셰병, 2형 고셰병, 3형 고셰병 또는 파키슨병을 치료하는 방법에 사용하기 위한 것이다.

[0205] 또한, 치료적 조합이 본원에 제공되며, 조합은:

[0206] 재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)로서:

[0207] (i) Gcase 단백질을 암호화하는 이식유전자 삽입체에 작동가능하게 연결된 프로모터를 포함하는 발현 작제물을 포함하는 핵산을 포함하되, 이식유전자 삽입체는 서열번호 15의 뉴클레오티드 서열을 포함하는, rAAV 벡터; 및

[0208] (ii) 아데노-연관 바이러스(AAV) 9 캡시드 단백질; 및

[0209] (A) 시롤리무스;

[0210] (B) 메틸프레드니솔론;

[0211] (C) 리툭시맙; 및

[0212] (D) 프레드니손 중 하나 이상을 포함하는, 재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)의 조합이며,

[0213] 이는 *GBA1* 돌연변이를 갖는 1형 고셰병, 2형 고셰병, 3형 고셰병 또는 파키슨병을 잃고 있거나 앓고 있는 것으로 의심되는 대상체에서의 면역 반응을 억제하는 방법에 사용하기 위한 것이다.

[0214] 일부 구현예에서, 치료적 조합은 약 5 X 10^{13} vg 내지 약 5 X 10^{14} vg의 rAAV를 포함한다. 일부 구현예에서, 치료적 조합은 약 1.4 X 10^{14} vg 또는 약 2.8 x 10^{14} vg의 rAAV를 포함한다.

[0215] 치료적 조합이 본원에 제공되며, 조합은:

[0216] 재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)로서:

[0217] (i) 이식유전자 삽입체에 작동가능하게 연결된 프로모터를 포함하는 발현 작제물을 포함하는 핵산을 포함하는 rAAV 벡터로서, 이식유전자 삽입체는,

[0218] (a) 서열번호 15의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 Gcase 단백질 코딩 서열; 및

[0219] (b) 서열번호 20의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 억제 핵산 코딩 서열을 포함하는, rAAV 벡터; 및

[0220] (ii) 아데노-연관 바이러스(AAV) 9 캡시드 단백질; 및

[0221] (A) 시롤리무스;

[0222] (B) 메틸프레드니솔론;

[0223] (C) 리툭시맙; 및

[0224] (D) 프레드니손 중 하나 이상을 포함하며,

[0225] 이는 대상체에서 시뉴클레인병증 또는 파킨슨증을 치료하는 방법에 사용하기 위한 것이다.

[0226] 치료적 조합이 본원에 추가로 제공되며, 조합은:

[0227] 재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)로서:

[0228] (i) 이식유전자 삽입체에 작동가능하게 연결된 프로모터를 포함하는 발현 작제물을 포함하는 핵산을 포함하는 rAAV 벡터로서, 이식유전자 삽입체는,

[0229] (a) 서열번호 15의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 Gcase 단백질 코딩 서열; 및

[0230] (b) 서열번호 20의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 억제 핵산 코딩 서열을 포함하는, rAAV 벡터; 및

[0231] (ii) 아데노-연관 바이러스(AAV) 9 캡시드 단백질; 및

[0232] (A) 시롤리무스;

[0233] (B) 메틸프레드니솔론;

[0234] (C) 리툭시맙; 및

[0235] (D) 프레드니손 중 하나 이상을 포함하며,

[0236] 이는 시뉴클레인병증 또는 파킨슨증을 잃고 있거나 앓고 있는 것으로 의심되는 대상체에서의 면역 반응을 억제하는 방법에 사용하기 위한 것이다.

[0237] 치료적 조합이 본원에 추가로 제공되며, 조합은:

[0238] 재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)로서:

[0239] (i) 서열번호 20의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 억제 핵산 코딩 서열을 포함하는 이식유전자 삽입체에 작동가능하게 연결된 프로모터를 포함하는 발현 작제물을 포함하는 핵산을 포함하는 rAAV 벡터; 및

[0240] (ii) 아데노-연관 바이러스(AAV) 9 캡시드 단백질; 및

[0241] (A) 시롤리무스;

[0242] (B) 메틸프레드니솔론;

[0243] (C) 리툭시맙; 및

[0244] (D) 프레드니손 중 하나 이상을 포함하며,

[0245] 이는 대상체에서 시뉴클레인병증 또는 파킨슨증을 치료하는 방법에 사용하기 위한 것이다.

[0246] 치료적 조합이 본원에 제공되며, 조합은:

[0247] 재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)로서:

[0248] (i) 서열번호 20의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 억제 핵산 코딩 서열을 포함하는 이식유전자 삽입체에 작동가능하게 연결된 프로모터를 포함하는 발현 작제물을 포함하는 핵산을 포함하는 rAAV 벡터; 및

[0249] (ii) 아데노-연관 바이러스(AAV) 9 캡시드 단백질; 및

[0250] (A) 시롤리무스;

[0251] (B) 메틸프레드니솔론;

[0252] (C) 리툭시맙; 및

[0253] (D) 프레드니손 중 하나 이상을 포함하며,

[0254] 이는 시뉴클레인병증 또는 파킨슨증을 잃고 있거나 앓고 있는 것으로 의심되는 대상체에서의 면역 반응을 억제하는 방법에 사용하기 위한 것이다.

도면의 간단한 설명

[0255] 도 1은 Gcase(예를 들어, *GBA1* 또는 이의 일부)를 암호화하는 발현 작제물을 포함하는 rAAV 벡터를 포함하는 플라스미드의 일 구현예를 도시하는 개략도이다.

도 2는 Gcase(예를 들어, *GBA1* 또는 이의 일부) 및 LIMP2(SCARB2) 또는 이의 일부를 암호화하는 발현 작제물을 포함하는 rAAV 벡터를 포함하는 플라스미드의 일 구현예를 도시하는 개략도이다. Gcase 및 LIMP2의 코딩 서열은 내부 리보좀 진입 부위(IRES)에 의해 분리된다.

도 3은 Gcase(예를 들어, *GBA1* 또는 이의 일부) 및 LIMP2(SCARB2) 또는 이의 일부를 암호화하는 발현 작제물을 포함하는 rAAV 벡터를 포함하는 플라스미드의 일 구현예를 도시하는 개략도이다. Gcase 및 LIMP2의 코딩 서열의 발현은 각각 별도의 프로모터에 의해 유도된다.

도 4는 Gcase(예를 들어, *GBA1* 또는 이의 일부), LIMP2(SCARB2) 또는 이의 일부, 및 α-Syn에 대한 간섭 RNA를 암호화하는 발현 작제물을 포함하는 rAAV 벡터를 포함하는 플라스미드의 일 구현예를 도시하는 개략도이다.

도 5는 Gcase(예를 들어, *GBA1* 또는 이의 일부), 프로사포신(예를 들어, *PSAP* 또는 이의 일부), 및 α-Syn에 대한 간섭 RNA를 암호화하는 발현 작제물을 포함하는 rAAV 벡터를 포함하는 플라스미드의 일 구현예를 도시하는 개략도이다.

도 6은 Gcase(예를 들어, *GBA1* 또는 이의 일부), 및 프로사포신(예를 들어, *PSAP* 또는 이의 일부)을 암호화하는 발현 작제물을 포함하는 rAAV 벡터를 포함하는 플라스미드의 일 구현예를 도시하는 개략도이다. Gcase 및 프로사포신의 코딩 서열은 내부 리보좀 진입 부위(IRES)에 의해 분리된다.

도 7은 Gcase(예를 들어, *GBA1* 또는 이의 일부)를 암호화하는 발현 작제물을 포함하는 rAAV 벡터의 일 구현예를 도시하는 개략도이다. 이 구현예에서, 벡터는 인간 GBA1의 코돈 최적화된 코딩 서열을 구성적으로 발현시키도록, CMV 인핸서(CMVe), CBA 프로모터(CBAp), 엑손 1, 및 인트론(int)의 4개 부분으로 이루어진 CBA 프로모터 요소(CBA)를 포함한다. 3' 영역은 또한 bGH polyA 꼬리가 이어지는 WPRE 조절 요소를 함유한다. 3개의 전사 조절 활성화 부위가 프로모터 영역의 5' 말단에 포함된다: TATA, RBS 및 YY1. 측부 ITR은 개재 서열의 정확한 패키징을 가능하게 한다. 5' ITR 서열의 2개의 변이체(인셋 박스)를 평가하였다; 이들은 야생형 AAV2 ITR의 20-뉴클레오티드 "D" 영역 내에서 몇 가지 뉴클레오티드 차이를 갖는다. 일부 구현예에서, rAAV 벡터는 상단 선에 도시된 "D" 도메인 뉴클레오티드 서열을 함유한다. 일부 구현예에서, rAAV 벡터는 돌연변이체 "D" 도메인(예를 들어, "S" 도메인, 뉴클레오티드 변화는 밑줄로 도시됨)을 포함한다.

도 8은 도 7에 기술된 rAAV를 암호화하는 플라스미드의 일 구현예를 개략적으로 도시한다.

도 9a 내지 도 9f는 CBE 마우스 모델 검증을 위한 대표적인 데이터를 나타낸다. 생존을 1일 2회 확인하고(도 9a) 체중을 매일 기록하고(도 9b), P27에소 분석하였다(도 9c). 모든 군은 n = 8로 시작하였다. P24에서의 로타로드에서의 추락 지연 시간(도 9d) 및 개방 필드에서 이동한 총 거리(도 9f)로 행동을 평가하였다. 초기 치사율로 인해, 각 군의 동물 수는 상이하다: PBS 및 25 mg/kg CBE의 경우 n = 8, 37.5 mg/kg CBE의 경우 n = 4. 50 mg/kg CBE 치료군은 P24에서의 의한 완전한 치사로 인해 로타로드에서 평가되지 않았다. PBS 군에 대한 비교를 위한 통계적 결과를 ANOVA에 이어서 Tukey의 HSD 검정을 사용하여 제시한다. GCase 기질의 수준을 PBS 및 25 mg/kg CBE 치료군의 마우스의 대뇌 피질에서 분석하였다. GluSph 및 GalSph 수준은 조직의 습윤 중량 mg 당 pmol로서 집계하여 도시되어 있다(도 9e). 통계 결과는 스튜던트 t-검정을 사용하여 제시된다. 평균이 제시된다. 오차 막대는 평균의 표준 오차(SEM)이다. *P < 0.05; **P < 0.01; ***P < 0.001.

도 10은 CBE 마우스 모델에서 GCase를 암호화하는 rAAV의 최대 투여량에 대한 연구 설계의 일 구현예를 도시하는 개략도이다. 4 μL PR001B 또는 dPBS는 P3에서 ICV 주사에 의해 전달되었고, 25 mg/kg의 매일 CBE 치료는 P8에서 개시되었다. P24에서 로타로드 검정으로 행동을 평가하였다. 동물의 절반은, P35에서의 그들의 최종 CBE 투여 후 1일차인 P36에 희생되었고, 나머지 절반은 P35에서의 그들의 최종 CBE 투여 후 3일차인 P38에 희생되었다. "vg"는 벡터 게놈을 지칭한다.

도 11a 내지 도 11d는 CBE 마우스 모델에서 최대 PR001B rAAV 투여량의 생전 평가에 대한 대표적인 데이터를 나타낸다. P3에서, ICV 전달을 통해 부형제 또는 8.8e9 vg rAAV로 마우스를 치료하였다. PBS 또는 25 mg/kg CBE의 매일 IP 전달을 P8에서 개시하였다. 연구 종료 시, 마우스의 절반은 마지막 CBE 투여 1일 후 P36(1일차)에 희생되었고, 나머지 절반은 P38(3일차)에 희생되기 전에 3일 동안 CBE 중단을 거쳤다. 모든 치료군(부형제 + PBS n = 8, rAAV + PBS n = 7, 부형제 + CBE n = 8, 및 rAAV + CBE n = 9)을 매일 칭량하였고(도 11a), P33에서의 체중을 분석하였다(도 11b). P23에서 개방 필드에서 이동한 총 거리(도 11d), 및 P24에서 로타로드에 추락하는 지연 시간(도 11c)로 행동을 평가하였으며, 3개의 임상시험에 걸쳐 중앙값으로서 각 동물에 대해 평가하였다. 치사율로 인해, 행동 분석에 대해, 부형제 + CBE 군의 경우 n = 7인 반면, 다른 모든 군의 경우 n=8이었다. 동물 전체에 걸친 평균이 제시된다. 오차 막대는 SEM이다. *p < 0.05; ***p < 0.001, CBE로 치료한 동물에서 선형 회귀에 의한 치료군에 대한 명목 p-값.

도 12a 및 도 12b는 CBE 마우스 모델에서 최대 PR001B rAAV 투여량의 생화학적 평가에 대한 대표적인 데이터를 나타낸다. 모든 치료군의 대뇌 피질을 사용해 벡터 게놈(도 12a) 및 GCase 활성(도 12b)을 측정하였다. 생체분포는 게놈 DNA(gDNA) 1 μg당 벡터 게놈으로 도시되어 있다. (100 벡터 게놈/μg gDNA에서의) 파선은 양성 벡터 존재에 대한 검출 임계값을 나타낸다. Amplex Red(Invitrogen; #A22189)를 사용하여 GCase에 의한 포도당 생성 속도를 측정함으로써 효소 활성을 평가한 다음, 재조합 GCase 참조 표준 곡선을 사용하여 유효 GCase 활성 수준으로 변환하였다. 총 단백질 mg으로 정규화된 1 ng/mL의 재조합 정제 GCase의 활성으로서 하나의 유닛를 정의하였다. n = 군 당 6 내지 9. 평균이 제시된다. 오차 막대는 SEM이다. *P < 0.05; CBE로 치료한 동물에서의 치료군의 명목 P 값, 수집일 및 성별을 공변량으로 보정함.

도 12c 및 도 12d는 CBE 마우스 모델에서 최대 PR001B rAAV 투여량의 당지질 분석에 대한 대표적인 데이터를 나타낸다. 모든 치료군의 대뇌 피질(PBS + dPBS [각 그래프의 좌측 막대] n = 4, CBE + dPBS [각 그래프의 중앙 막대] n = 6, 및 CBE + PR001B [각 그래프의 우측 막대] n = 9)을 사용하여 CBE 철회 전(1일차) 또는

후(3일차)의 GluSph 수준(도 12c) 및 GluCer 수준(도 12d)을 측정하였다. GluSph 및 GluCer 수준은 인산염의 nmol 당 pmol로서 도시되어 있다. 평균이 제시된다. 오차 막대는 SEM이다. *P < 0.1; **P < 0.01; ***P < 0.001, CBE로 치료한 동물의 치료군에 대한 다중 선형 회귀으로부터의 명목 P 값, 수집일 및 성별을 공변량으로 보정함.

도 13은 부형제 + PBS, 부형제 + CBE, 및 PR001B rAAV + CBE 치료군의 투여 후 CBE 마우스 모델에서의 행동 및 생화학적 상관관계에 대한 대표적인 데이터를 나타낸다. 치료군 전반에 걸쳐, 로타로드에 대한 성능은 GluCer 축적과 음의 상관관계가 있었고(A, 선형 회귀에 의해 p = 0.0012), GluSph 축적은 GCase 활성 증가와 음의 상관관계가 있었다(B, 선형 회귀에 의해 p = 0.0086).

도 14는 CBE 마우스 모델에서의 PR001B rAAV의 생체분포에 대한 대표적인 데이터를 나타낸다. 벡터 게놈 존재를 벡터 참조 표준 곡선을 사용하여 정량적 PCR로 정량화하였고; A260 광학 밀도 측정으로 게놈 DNA 농도를 평가하였다. (100 벡터 게놈/μg gDNA에서의) 파선은 양성 벡터 존재에 대한 검출 임계값을 나타낸다. 평균이 제시된다. 오차 막대는 SEM이다. n = 7 내자 9, 군 당.

도 15a는 CBE 마우스 모델에서 GCase를 암호화하는 rAAV의 투여량 범위에 대한 연구 설계의 일 구현예를 도시하는 개략도이다. PR001A는 P3에서 ICV 주사에 의해 전달되었고, P8에서 매일 25 mg/kg의 CBE 치료를 개시하였다. PP21-P22에서의 개방 필드 및 로타로드 검정, 및 P28에서의 테이퍼 빔으로 행동을 평가하였다. 최종 CBE 투여 1일 후, P38-P40에서 동물을 희생시켰다. GluSph 및 GluCer 기질 수준 및 GCase 활성에 대해 피질을 분석하였다. 각 치료군에는 10마리의 마우스(수컷 5마리, 암컷 5마리)가 있었다.

도 15b 내지 도 15e는 CBE 마우스 모델에서 PR001 rAAV의 투여량 범위의 생전 평가를 위한 대표적인 데이터를 나타내다. P3에서 마우스에게 부형제 또는 3가지 상이한 투여량의 PR001A 중 1가지를 4 μL의 ICV 전달로 투여하였다: 저 투여량(중간 막대), 중간 투여량(우측으로부터 두 번째 막대) 또는 고 투여량(최우측 막대). P8에서, 매일 25 mg/kg CBE의 IP 치료를 개시하였다. 부형제 및 CBE(좌측으로부터 두 번째 막대) 또는 부형제 및 PBS(최좌측 막대)를 투여받은 마우스는 대조군 역할을 하였다. 모든 치료군은 군 당 n = 10(5M/5F)으로 시작하였다. 최종 CBE 투여 1일 후(P38-P40), 모든 마우스를 희생시켰다. 모든 치료군을 매일 칭량하고(도 15b), 이들의 체중을 P37에서 분석하였다(도 15c). 운동 성능은 P24에서 로타로드에 대한 추락 지연 시간(도 15d) 및 P30에서 테이퍼 빔을 횡단하는 지연 시간(도 15e)으로 평가하였다. 초기 치사율로 인해, 행동 분석에 참여한 마우스의 수는 다음과 같았다: 부형제 + PBS(최좌측 막대) n = 10; 부형제 + CBE(좌측으로부터 두 번째 막대) n = 9; 저 투여량 PR001A + CBE(중간 막대) n = 6; 중간 투여량 PR001A + CBE(우측으로부터 두 번째 막대) n = 10; 고 투여량 PR001A + CBE(최우측 막대) n = 7. 평균이 제시된다. 오차 막대는 SEM이다. *P < 0.05; ** P < 0.01, CBE 치료군의 명목 P 값의 경우, 성별은 공변량으로 보정됨,

도 16a는 PR001A의 투여량 범위 CBE 모델 연구에서의 생체분포에 대한 대표적인 데이터를 나타낸다. P3에서 마우스에게 부형제 또는 3가지 상이한 투여량의 PR001A 중 1가지를 ICV 전달로 투여하였다: 저 투여량(중간 막대), 중간 투여량(우측으로부터 두 번째 막대) 또는 고 투여량(최우측 막대). P8에서, 매일 25 mg/kg CBE의 IP 치료를 개시하였다. 부형제 및 CBE(좌측으로부터 두 번째 막대) 또는 부형제 및 PBS(최좌측 막대)를 투여받은 마우스는 대조군 역할을 하였다. 최종 CBE 투여 1일 후, P38-P40에 모든 마우스를 희생시켰다. 각각의 조직 및 모든 치료 군에서 벡터 게놈의 존재를 평가하였으며, 이는 1 μg의 게놈 DNA당 벡터 카피의 수로서 도시되어 있다. 벡터 기준 표준 곡선을 사용하여 벡터 게놈 존재를 qPCR로 정량화하였다; N = 군 당 각각 10, 9, 6, 10, 7. 파선은 양성 벡터 존재에 대한 검출 임계값을 나타낸다. 평균이 제시된다. 오차 막대는 SEM이다.

도 16b는 PR001A의 투여량 범위 CBE 모델 연구에서의 GCase 효소 활성에 대한 대표적인 데이터를 나타낸다. 효과적인 효소 GCase 활성이 각 조직 및 모든 치료군에 대해 도시되어 있다. 활성은 총 단백질 mg 당 유닛으로서 도시되며, 하나의 유닛은 1 ng/mL의 재조합 정제 GCase의 활성으로 정의된다. 평균이 제시된다. 오차 막대는 SEM이다. 부형제 + CBE 군(좌측으로부터 두 번째 막대)과의 비교를 위한 통계적 결과가 제시된다. 군 당 각각 N = 10, 9, 6, 10, 7. * P < 0.05; ** P < 0.01; *** P < 0.001, ANOVA 후 Tukey의 HSD 다중 검정 보정.

도 16c 및 도 16d는 PR001A의 투여량 범위 CBE 마우스 모델에서의 당지질 분석에 대한 대표적인 데이터를 나타낸다. GluSph(도 16c) 및 GluCer(도 16d) 수준은 인산염의 nmol 당 pmol로서 도시되어 있다. 평균이 제시된다. 오차 막대는 SEM이다. **P < 0.01; ***P < 0.001, ANOVA 후 Tukey의 HSD 다중 검정 보정.

도 16e는 PR001A의 투여량 범위 CBE 모델 연구에서 헤마톡실린 및 에오신 염색 분석에 대한 대표적인 데이터를 나타낸다. 헤마톡실린 및 에오신(H&E)으로 염색하기 위해 뇌 조직을 처리하고, 병리학적 변화에 대해 조직 절편

을 평가하였다. 뇌피질 신경교 흉터에 대해 양성인 동물의 백분율, 신경염증의 징후가 도시되어 있다. CBE 치료는 부형제로 치료한 대조군에 비해 신경교 흉터의 상당한 증가를 초래하였다. PR001A는 CBE-유도된 신경교 흉터를 투여량 의존적 방식으로 상당히 감소시켰다. CBE + 부형제 군(좌측 막대)과의 비교를 위한 통계적 결과가 제시된다. 군 당 각각 N = 10, 9, 6, 10, 7. *: P < 0.05; **: P < 0.01; ***: P < 0.001, 피셔의 정밀 검정의 경우.

도 16f는 PR001A의 투여량 범위 CBE 모델 연구에서의 뇌피질 면역조직화학 분석에 대한 대표적인 데이터를 나타낸다. 그래프는 대뇌 피질 내에서 측정된 면역 반응성 영역의 평균을 나타낸다(n = 그룹 당 5 내지 10). Iba1(이온화 칼슘 결합 어댑터 분자 1) 면역 반응성 영역은 조사된 다른 모든 군의 마우스에서보다 CBE + 부형제 치료 동물(좌측에서 두 번째 막대)에서 유의하게 더 높았다. 평균이 제시되고, 오차 막대는 SEM이다. 데이터는 다중 비교를 위한 일방향 ANOVA 및 Sidak 사후 검정으로 분석하였다. **: $P < 0.01$; ***: $P < 0.001$.

도 17은 유전자 마우스 모델에서의 최대 투여량 GBA1 rAAV에서 테이퍼 빔 분석에 대한 대표적인 데이터를 나타낸다. 치료군(WT + 부형제, n = 5), 4L/PS-NA + 부형제(n = 6), 및 4L/PS-NA + rAAV(n = 5))의 운동 성능을 rAAV 투여 후 4주차에 빔 위크(Beam Walk)로 분석하였다. 총 슬립 및 활동 시간은 상이한 빔 상에서의 5개의 시험에 대한 총합으로 표시된다. 속도 및 속도당 슬립은 상이한 빔 상에서 평균 5회를 초과하는 시도로 도시되어 있다. 평균이 제시된다. 오차 막대는 SEM이다.

도 18은 프로사포신(*PSAP*), *SCARB2*, 및/또는 하나 이상의 억제 핵산과 조합하여 *GBA1*을 암호화하는 rAAV 작제물의 시험관 내 발현에 대한 대표적인 데이터를 나타낸다. 데이터는 각각의 작제물을 사용한 HEK293 세포의 형질감염이 GFP 형질감염된 세포에 비해 관심 이식유전자의 과발현을 초래했음을 나타낸다.

도 19는 ITR의 "외부"에 위치한 (예를 들어, 이식유전자 삽입체 또는 발현 작제물에 대해 ITR의 말단에 근접한) "D" 영역(상단), 및 벡터의 "내부"에(예를 들어, 벡터의 이식유전자 삽입체에 근접하여) ITR을 갖는 야생형 rAAV 벡터를 포함하는 rAAV 벡터를 도시하는 개략도이다.

도 20은 "D" 서열의 야생형(원) 또는 대안적인(예를 들어, "외부"; 사각형) 배치를 갖는 ITR을 갖는 rAAV를 사용한 HEK293 세포의 형질도입 데이터를 나타낸다. "외부"에 배치된 ITR을 갖는 rAAV는 야생형 ITR을 갖는 rAAV만큼 효율적으로 세포를 형질도입할 수 있었다.

도 21은 Gcase(예를 들어, *GBA1* 또는 이의 일부)를 암호화하는 발현 작제물을 포함하는 rAAV 벡터를 포함하는 플라스미드의 일 구현예를 도시하는 개략도이다.

도 22는 Gcase(예를 들어, *GBA1* 또는 이의 일부)를 암호화하는 발현 작제물을 포함하는 rAAV 벡터를 포함하는 플라스미드의 일 구현예를 도시하는 개략도이다.

도 23은 Gcase(예를 들어, *GBA1* 또는 이의 일부) 및 α-Syn에 대한 간섭 RNA를 암호화하는 발현 작제물을 포함하는 rAAV 벡터를 포함하는 플라스미드의 일 구현예를 도시하는 개략도이다.

도 24는 Gcase(예를 들어, *GBA1* 또는 이의 일부) 및 α-Syn에 대한 간섭 RNA를 암호화하는 발현 작제물을 포함하는 rAAV 벡터를 포함하는 플라스미드의 일 구현예를 도시하는 개략도이다.

도 25는 프로사포신(예를 들어, *PSAP* 또는 이의 일부)를 암호화하는 발현 작제물을 포함하는 rAAV 벡터를 포함하는 플라스미드의 일 구현예를 도시하는 개략도이다.

도 26은 Gcase(예를 들어, *GBA1* 또는 이의 일부)를 암호화하는 발현 작제물을 포함하는 rAAV 벡터를 포함하는 플라스미드의 일 구현예를 도시하는 개략도이다.

도 27은 Gcase(예를 들어, *GBA1* 또는 이의 일부), 프로사포신(예를 들어, *PSAP* 또는 이의 일부), 및 α-Syn에 대한 간섭 RNA를 암호화하는 발현 작제물을 포함하는 rAAV 벡터를 포함하는 플라스미드의 일 구현예를 도시하는 개략도이다.

도 28은 Gcase를 암호화하는 rAAV 벡터의 투여가 생체 내 신경교교 흉터를 감소시킨다는 것을 나타내는 대표적인 데이터르 도시한다. 헤마톡실린 및 에오신(H&E)으로 염색하기 위해 조직을 처리하고, 병리학적 변화에 대해 절편을 평가하였다. 각 군에서의, 반응성 별아교세포증을 반영하는 신경교 흉터에 대해, 양성인 동물의 백분율을 밝은 음영으로 나타냈고, 신경교 흉터에 대해 음성인 동물은 흑색으로 나타냈다. CBE 치료는 부형제로 치료한 대조군에 비해 신경교 흉터의 유의한 증가를 초래하였다. rAAV-GBA1은 CBE로 유도된 신경교 흉터를 투여량 의존적 방식으로 상당히 감소시켰다. 부형제 + CBE 군(적색)과의 비교를 위한 통계적 결과가 제시된다. 군 당

각각 N = 10, 9, 6, 10, 7. *: p<0.05; **: p<0.01; ***: p<0.001, Fischer 정밀 검정의 경우.

도 29a 및 도 29b는 rAAV-GBA1 또는 부형제가 투여된 마우스의 피질(군 당 n = 6 내지 10) 내에서 측정된 면역형광 신호의 평균에 대한 대표적인 데이터를 나타낸다. GCase(도 19a)의 정량화 면역표지는 고 투여량 rAAV-GBA1 치료 동물에서 가장 강한 면역 형광 표지를 나타냈으며 이는 중간 투여량, 그리고 저 투여량 rAAV-GBA1 치료 동물로 이어졌다. Iba1(도 29b) 면역반응성 영역은 조사된 다른 모든 군의 마우스에서보다 CBE/부형제로 치료한 동물에서 유의하게 더 높았다. 데이터는 다중 비교를 위한 일방향 ANOVA 및 Sidak 사후 검정을 사용하여 분석하였다. 막대 그래프는 군 평균 + SEM을 나타낸다.

도 30은 연구 PRV-2018-016에서의 183일차에서 PR001A 이식유전자의 생체분포에 대한 대표적인 데이터를 나타내는 막대 그래프이다. 해당 연구는 실시예 12에 기술되어 있다. NHP(비인간 영장류)에서, 부형제, PR001A의 저 투여량(6.2 X 10^{10} vg/g 뇌), 또는 PR001A의 고 투여량(2.3 X 10^{11} vg/g 뇌) 중 하나의 인트라-시스테나 마그나(ICM) 주입 후 183일차에 qPCR 방법론을 사용하여 이식유전자 수준을 분석하였다. 각각의 막대는 군 당 3마리 동물의 평균 ± SEM을 나타낸다; 정량 한계 미만인 값은 0으로 도표화하였다. 부형제로 치료한 동물에 대한 qPCR 값은 각 영역에 대해 0이었으므로, 부형제 막대는 이 척도로 그래프에 표시되지 않는다.

도 31a 및 도 31b는 연구 PRV-2018-016에서의 183일차에 인간 GCase 발현에 대한 대표적인 데이터를 나타내는 그래프이다. 해당 연구는 실시예 12에 기술되어 있다. 183일차에 Simple Western™(Jess) 분석에 의해 수집된 NHP(비인간 영장류) 피질, 해마 및 중뇌 샘플에서 GCase 발현 수준을 결정하였다. 부형제(각 패널의 좌측), PR001A의 저 투여량(6.2 X 10^{10} vg/g 뇌 중량; 각 패널의 중심), 또는 PR001A의 고 투여량(2.3 X 10^{11} vg/g 뇌 중량; 각 패널의 우측)으로 치료한 NHP로부터의 Gase 발현 수준이 도시되어 있다. 도 31a는 개별 피질, 해마 및 중뇌 영역으로부터의 데이터를 제시한다. 도 31b는 부형제 치료군(좌측), 저 투여량군(중앙), 및 고 투여량군(우측)으로부터의 변화율을 도시한다. 이 플롯에 대한 데이터는 조직 내에서 평균 정규화되었고, 피질, 해마 및 중뇌에 대해 조합되었다. 각 막대는 평균 정규화된 데이터의 각 투여량에 대한 부형제군 중앙값의 백분율을 나타낸다. 유의성을 계산하기 위해, 부형제군에 저 투여량 및 고 투여량 치료 동물을 모두 포함하는 통합 치료군에 대한 유의성을 고려하도록 일 방향 ANOVA를 수행하였다. P 값 = 0.014 (* < 0.05).

도 32는 연구 PRV-2019-005에서 qPCR에 의해 정량화된 PR001A 이식유전자의 생체분포에 대한 대표적인 데이터를 나타내는 일련의 도표이다. 해당 연구는 실시예 12에 기술되어 있다. NHP(비인간 영장류)에서, 부형제, PR001A(7.0 X 10^{11} vg/g 뇌) 중 하나의 인트라-시스테나 마그나(ICM) 주입 후 30 및 90일차에 qPCR 방법론을 사용하여 이식유전자 수준을 분석하였다. 각각의 플롯은 각각의 개별 동물(n = 3/군)을 평균 ± SEM으로 나타낸다.

도 33은 PR001A로 HEK293T 세포를 시험관 내 형질도입한 후 GCase 활성에 대한 대표적인 데이터를 나타내는 선 그래프이다. 상이한 감염 다중도(MOI)에서 PR001A로 형질도입된 HEK293T 세포를 GCase 활성에 대해 분석하였다. 프로-형광 기질 레소루핀 β-D-글루코피라노시드의 가수분해로 활성을 측정하였다. 절단된 기질의 형광은 573 nm의 여기 및 610 nm의 방출로 플레이트 판독기를 사용하여 결정하였다. 값은 평균 ± SEM을 의미하고, n = 2이다; 단위는 1 ng/mL의 재조합 정제 GCase의 활성과 동등하다.

도 34a 및 도 34b는, HeLa 세포를 PR001A로 세포외 형질도입한 후에서의 GCase 활성에 대한 대표적인 데이터(도 34a) 및 α-시뉴클레인 수준(도 34b)를 나타내는 막대 그래프이다. 부형제(좌측 막대)로 치료하거나 2 X 10^{5} vg/세포 PR001A(중앙 막대) 또는 2 X 10^{6} vg/세포 PR001A(우측 막대)로 형질도입된 HeLa 세포를 치료 후 72시간차에 수집하고 형광측정 효소 검정으로 GCase 활성 수준(도 34a)에 대해 분석하고, ELISA로 α-시뉴클레인 수준(도 34b)에 대해 분석하였다. 효과적인 효소 GCase 활성은 총 단백질 mg 당 유닛으로 도시되어 있고, 여기에서 일 유닛은 재조합 정제 GCase 1 ng/mL의 활성으로 정의된다. α-시뉴클레인 농도는 총 단백질 mg 당 ng/mL로서 제시된다. 연구는 생물학적 3회 반복으로 수행하였다. 평균이 제시된다. 오차 막대는 SEM이다. 일방향 ANOVA를 사용한 다음 Dunnett의 다중 비교 검정을 사용하였다.

도 35a 및 도 35b는, 마우스 해마 뉴런을 PR001A로 세포외 형질도입한 후에서의 GCase 활성에 대한 대표적인 데이터(도 35a) 및 α-시뉴클레인 수준(도 35b)를 나타내는 막대 그래프이다. 마우스 해마 뉴런의 일차 배양물을 부형제(좌측 막대)로 치료하거나, 시험관 내(DIV) 2일차에 1.3 X 10^{5} vg/세포 PR001A(중앙 막대) 또는 1.3 X 10^{6} vg/세포 PR001A(우측 막대)로 형질도입하였다. DIV9에서, 세포를 수집하고, 형광측정 효소 검정으로

GCase 활성 수준(도 35a)에 대해 분석하고, ELISA로 α-시뉴클레인 수준(도 35b)에 대해 분석하였다. GCase 활성은 총 단백질 mg당 시간 당 상대적 형광 유닛(RFU)으로서 도시된다. α-시뉴클레인 농도는 총 단백질 mg당 ng/mL로서 제시된다. 연구는 생물학적 2회 반복으로 수행하였다. 평균이 제시된다. 오차 막대는 SEM이다. 일방향 ANOVA를 사용한 다음 Dunnett의 다중 비교 검정을 사용하였다.

도 36은 CBE 마우스 모델에서 GCase를 암호화하는 rAAV를 사용한 장기 치료에 대한 연구 설계의 일 구현예를 도시하는 개략도이다. PR001A는 P3에서 ICV 주사에 의해 전달되었고, P8에서 매일 CBE 치료를 개시하였다. 3, 6 및 15주차에서의 로타로드 검정 및 4, 7, 13주차에서의 테이퍼 빔 검정으로 행동을 평가하였다. 최종 CBE 투여 1일 후, 대략 26주차에 동물을 희생시켰다. GluSph 및 GluCer 기질 수준 및 GCase 활성에 대해 대뇌 피질을 분석하였다. 치료군 당 10 또는 11 마리의 동물이 있었으며, 각각은 수컷 및 암컷 마우스를 포함하였다.

도 37a 내지 도 37d는 CBE 모델에서 장기 PR001A 치료의 평가에 대한 대표적인 데이터를 나타낸다. 모든 치료군(PBS + 부형제: 좌측 막대, CBE + 부형제: 중앙 막대, CBE + 2.0 X 10^{10} vg PR001A: 우측 막대)의 피질을 사용하여 벡터 게놈(도 37a), GCase 활성(도 37b), GluSph 수준(도 37c), 및 GluCer 수준(도 37d)을 측정하였다. 각각의 조직 및 모든 치료 군에서 벡터 게놈의 존재를 평가하였으며, 이는 1 μg의 게놈 DNA당 벡터 카피의 수로서 도시되어 있다. 벡터 기준 표준 곡선을 사용하여 벡터 게놈 존재를 qPCR로 정량화하였다. 효과적인 효소 GCase 활성은 총 단백질 mg 당 유닛으로서 도시되며, 하나의 유닛은 1 ng/mL의 재조합 정제 GCase의 활성으로 정의된다. GluSph, 및 GluCer 수준은 인산염의 nmol 당 pmol로서 도시되어 있다. 평균이 제시된다. 오차 막대는 SEM이다. 군 당 각각 N = 10, 11, 10. (*) P < 0.1, *P < 0.05; **P < 0.01; ***P < 0.001, ANOVA 후 Tukey의 HSD 다중 검정 보정.

도 38a 내지 도 38e는 CBE 모델에서 추가 투여량 범위 PR001A의 생전 평가를 위한 대표적인 데이터를 나타내다. 모든 치료군을 매일 칭량하고(도 38a), 이들의 체중을 P45에서 분석하였다(도 38b). 3주차(도 38c) 및 5주차(도 38d)에서의 로타로드 추락 지연 시간 및 4주차에서의 테이퍼 빔 횡단 대기 시간(도 38e)으로 운동 성능을 평가하였다. n = 군 당 8 내지 11. 평균이 제시된다. 오차 막대는 SEM이다. CBE + 부형제 군(좌측으로부터 두 번째 막대)과의 비교를 위한 통계적 결과가 제시된다. ***P < 0.001, ANOVA에 이어 Tukey의 HSD 시험.

도 39는 추가 투여량 범위 CBE 모델 연구에서의 생체분포에 대한 대표적인 데이터를 나타낸다. 각각의 조직 및 모든 치료 군에서 벡터 게놈의 존재를 평가하였으며, 이는 1 μg의 gDNA당 벡터 카피의 수로서 도시되어 있다. 벡터 기준 표준 곡선을 사용하여 벡터 게놈 존재를 qPCR로 정량화하였다: n = 군 당 9 내지 11. (100 벡터 게놈/μg gDNA에서의) 흑색 파선은 양성 벡터 존재에 대한 검출 임계값을 나타낸다. 평균이 제시된다. 오차 막대는 SEM이다.

도 40은 추가 투여량 범위 CBE 모델 연구에서의 GCase 효소 활성에 대한 대표적인 데이터를 나타낸다. 효과적인 효소 GCase 활성을 측정하였으며, 이는 모든 치료군의 대뇌 피질에 대해 도시되어 있다. 활성은 총 단백질 mg 당 유닛으로서 도시되며, 하나의 유닛은 1 ng/mL의 재조합 정제 GCase의 활성으로 정의된다. 평균이 제시된다. 오차 막대는 SEM이다. CBE + 부형제 군(좌측으로부터 두 번째 막대)과의 비교를 위한 통계적 결과가 제시된다. n = 군 당 9 내지 11. (*)P < 0.1, ANOVA에 이어 Tukey의 HSD 시험.

도 41a 및 도 41b는 추가 투여량 범위 CBE 마우스 모델에서의 당지질 분석에 대한 대표적인 데이터를 나타낸다. GluSph(도 41a) 및 GluCer(도 41b) 수준은 인산염의 nmol 당 pmol로서 도시되어 있다. 평균이 제시된다. 오차 막대는 SEM이다. CBE + 부형제 군(좌측으로부터 두 번째 막대)과의 비교를 위한 통계적 결과가 제시된다. n = 군 당 9 내지 11. **P < 0.01; ***P < 0.001, ANOVA에 이어 Tukey의 HSD 시험.

도 42a 내지 도 42d는 CBE 모델 연구에서 추가의 투여량 범위 PR001A의 생전 평가를 위한 대표적인 데이터를 나타내다. 모든 치료군을 매일 칭량하고(도 42a), 이들의 체중을 P37에서 분석하였다(도 42b). 3주차에서의 로타로드 추락 지연 시간(도 42c) 및 4주차에서의 테이퍼 빔 횡단 대기 시간(도 42d)으로 운동 성능을 평가하였다. n = 군 당 9 또는 11. 평균이 제시된다. 오차 막대는 SEM이다. CBE + 부형제 군(좌측으로부터 두 번째 막대)과의 비교를 위한 통계적 결과가 제시된다. ***P < 0.001, ANOVA에 이어 Tukey의 HSD 시험.

도 43a 및 도 43b는 CBE 모델 연구에서 추가의 투여량 범위 PR001A에서의 생체분포 및 GCase 효소 활성에 대한 대표적인 데이터를 나타낸다. 모든 치료군의 대뇌 피질 중 벡터 게놈(도 43a)을 측정하으며, 이는 1 μg의 게놈 DNA(gDNA) 당 벡터 카피의 수로서 도시되어 있다. 벡터 기준 표준 곡선을 사용하여 벡터 게놈 존재를 qPCR로 정량화하였다. 흑색 파선은 (100 벡터 게놈/μg gDNA에서의) 양성 벡터 존재에 대한 검출 임계값을 나타낸다. 대뇌 피질에서의 효과적인 효소 GCase 활성(도 43b)이 측정되었으며, 이는 총 단백질 mg 당 유닛으로서 도시되며,

하나의 유닛은 1 ng/mL의 재조합 정제 GCase의 활성으로 정의된다. 평균이 제시된다. 오차 막대는 SEM이다. N = 군 당 9 또는 10. ***P < 0.001; ANOVA에 이어 Tukey의 HSD 시험.

도 44a 및 도 44b는 CBE 모델 연구에서 추가의 투여량 범위 PR001A에서의 당지질 분석에 대한 대표적인 데이터를 나타낸다. GluSph(도 44a) 및 GluCer(도 44b) 수준은 인산염의 nmol 당 pmol로서 도시되어 있다. 평균이 제시된다. 오차 막대는 SEM이다. CBE + 부형제 군(좌측으로부터 두 번째 막대)과의 비교를 위한 통계적 결과가 제시된다. n = 군 당 9 또는 10. ***P < 0.001, ANOVA에 이어 Tukey의 HSD 시험.

도 45는 4L/PS-NA 유전자 마우스 모델에서 GCase를 암호화하는 rAAV를 사용한 치료에 대한 연구 설계의 일 구현예를 도시하는 개략도이다. PR001A를 3 내지 4주령의 4L/PS-NA 마우스에 ICV 주사로 전달하였다. 빔 워크를 생후 8, 12, 및 18주차(ICV 치료 후 5, 9, 및 15주차)에 시험하였고, 로타로드를 12주차 및 18주차(ICV 치료 후 9 및 15주차)에 시험하였다. 18주차에 마우스를 희생시켰다. GCase 효소 활성에 대해 대뇌 피질을 분석하였고, GluSph 및 GluCer 기질 수준에 대해 소뇌를 분석하였다. 각 치료군에는 수컷 3마리 및 암컷 3마리가 있었다.

도 46은 4L/PS-NA 유전자 마우스 모델에서 PR001A의 최대 투여량에서의 생체분포에 대한 대표적인 데이터를 나타낸다. 각각의 조직 및 모든 치료 군에서 벡터 게놈의 존재를 평가하였으며, 이는 1 μg의 게놈 DNA(gDNA)당 벡터 카피의 수로서 도시되어 있다. 벡터 기준 표준 곡선을 사용하여 벡터 게놈 존재를 qPCR로 정량화하였다. 평균이 제시된다. 오차 막대는 SEM이다. n = 군 당 4 또는 5. 파선은 (100 벡터 게놈/μg gDNA에서의) 양성 벡터 존재에 대한 검출 임계값을 나타낸다.

도 47은 4L/PS-NA 유전자 마우스 모델에서 PR001A의 최대 투여량에서의 GCase 효소 활성에 대한 대표적인 데이터를 나타낸다. 효과적인 효소 GCase 활성을 측정하였고, 이는 각 조직 및 모든 치료군에 대해 도시되어 있다. 활성은 총 단백질 mg 당 유닛으로서 도시되며, 하나의 유닛은 1 ng/mL의 재조합 정제 GCase의 활성으로 정의된다. 평균이 제시된다. 오차 막대는 SEM이다. N = 군 당 4 또는 5. *: P < 0.05; **: P < 0.01; ***: P < 0.001, ANOVA 후 Tukey의 HSD 다중 검정 보정.

도 48a 및 도 48b는 4L/PS-NA 유전자 마우스 모델에서 PR001A의 당지질 분석에 대한 대표적인 데이터를 나타낸다. 출생 후 P23일차에 4L/PS-NA 마우스에게 부형제(중앙 막대) 또는 1.5 X 10^{10} vg PR001A(우측 막대)를 투여하고, 대조군 마우스에게 ICV 전달로 부형제(좌측 막대)를 투여하였다. 소뇌를 사용하여 GluSph 수준(도 48a) 및 GluCer(도 48b) 수준을 측정하였다. 수준은 인산염의 nmol 당 pmol로서 도시되어 있다. 평균이 제시된다. 오차 막대는 SEM이다. n = 군 당, 4, 5, 5. *: P < 0.05; **: P < 0.01; ***: P < 0.001, ANOVA 후 Tukey의 HSD 다중 검정 보정.

도 49a 및 도 49b는 4L/PS-NA 유전자 마우스 모델에서 대뇌 피질 α-시뉴클레인 축적의 생화학적 평가에 대한 대표적인 데이터를 나타낸다. 출생 후 P23일차에 4L/PS-NA 마우스에게 ICV 부형제(중앙 막대) 또는 1.5 X 10^{10} vg PR001A(우측 막대)를 투여하고, 대조군 마우스에게 ICV 부형제(좌측 막대)를 투여하였다. 맞춤형 면역흡착 검정을 사용하여, α-시뉴클레인 단백질 수준에 대해 대뇌 피질로부터의 뇌 용해물의 Triton X-가용성 및 Triton X-불용성 분획을 분석하였다. 불용성 α-시뉴클레인(도 49a) 및 불용성 대 가용성 α-시뉴클레인의 비율(도 49b)가 도시되어 있다. 평균이 제시된다. 오차 막대는 SEM이다. N = 군 당 3 내지 5. (*): P < 0.20, ANOVA 후 Tukey의 HSD 다중 검정 보정.

도 50은 4L/PS-NA 유전자 마우스 모델에서 투여량 범위 PR001A rAAV에 대한 연구 설계의 일 구현예를 도시하는 개략도이다. PR001A를 3 또는 4주령의 4L/PS-NA 마우스에 ICV 주사로 전달하였다. 빔 워크를 생후 8, 12, 및 18주차(ICV 치료 후 5, 9, 및 15주차)에 평가하였고, 로타로드를 12주차 및 18주차(ICV 치료 후 9 및 15주차)에 평가하였다. 18주차에 마우스를 희생시켰다. GCase 효소 활성에 대해 대뇌 피질을 분석하였고, GluSph 및 GluCer 기질 수준에 대해 소뇌를 분석하였다. 치료군 당 10 또는 11마리의 마우스가 있었다.

도 51은 4L/PS-NA 유전자 마우스 모델에서의 투여량 범위 PR001A에서의 18주차 행동 분석에 대한 대표적인 데이터를 나타낸다. 빔 워크에서의 운동 성능을 평가하였고, 속도당 평균 총 슬립은 상이한 빔 상에서 2회의 시도에 걸쳐 도시되어 있다. N = 각 군 당 10, 6, 5, 7, 4, 8. 평균이 제시된다. 오차 막대는 SEM이고; *: P < 0.05; ***: P < 0.001, ANOVA 후 Tukey의 HSD 다중 검정 보정.

도 52a 및 도 52b는 4L/PS-NA 유전자 마우스 모델에서 투여량 범위 PR001A에서의 생체분포 및 GCase 효소 활성에 대한 대표적인 데이터를 나타낸다. 모든 치료군의 대뇌 피질 중 벡터 게놈(도 52a)을 측정하으며, 이는 1 μg의 게놈 DNA(gDNA) 당 벡터 카피의 수로서 도시되어 있다. 벡터 기준 표준 곡선을 사용하여 벡터 게놈 존재를

qPCR로 정량화하였다. 파선은 (100 벡터 게놈/μg gDNA에서의) 양성 벡터 게놈 존재에 대한 검출 임계값을 나타낸다. 대뇌 피질에서의 효과적인 효소 GCase 활성(도 52b)이 측정되었으며, 이는 총 단백질 mg 당 유닛으로서 도시되며, 하나의 유닛은 1 ng/mL의 재조합 정제 GCase의 활성으로 정의된다. 평균이 제시된다. 오차 막대는 SEM이다. n = 군 당 각각 10, 10, 10, 10, 7, 8. ***P < 0.001, ANOVA 후 Tukey의 HSD 다중 검정 보정.

도 53a 및 도 53b는 4L/PS-NA 유전자 마우스 모델에서 투여량 범위 PR001A의 당지질 분석에 대한 대표적인 데이터를 나타낸다. 소뇌를 사용하여 GluSph 수준(도 53a) 및 GluCer(도 53b) 수준을 측정하였다. 수준은 인산염의 nmol 당 pmol로서 도시되어 있다. 평균이 제시된다. 오차 막대는 SEM이다. n = 군 당 각각 10, 10, 10, 10, 7, 8. ***: P < 0.001, ANOVA 후 Tukey의 HSD 다중 검정 보정. (#): P < 0.1; #: P < 0.05, 모든 동물에서 걸친 유전자형 및 투여량에 대한 다중 선형 회귀.

도 54a 및 도 54b는 CBE으로 치료한 α-시뉴클레인 이식유전자 마우스에서의 단백질 수준의 생화학적 평가에 대한 대표적인 데이터를 나타낸다. 해마 뇌 용해물을 Simple Western™(Jess) 자동화 모세관 웨스턴 블롯 시스템 및 MJFR-14-6-4-2 α-시뉴클레인 항체를 사용하여 α-시뉴클레인 농도에 대해 분석하였다. 다수의 밴드가 48 kDa 내지 230 kDa에서 관찰되었고, 이들은 "고 분자량"(HMW)으로 군화되었다. α-시뉴클레인 단량체의 예측 분자량과 일치하는 18 kDa에서 단일 밴드가 존재하였다. A53T + 부형제 군의 정규화된 평균에 대한 평균 배수 변화가 제시된다. 오차 막대는 SEM이다. N = 군 당 3 내지 5. *: P < 0.05, ANOVA 후 Tukey의 HSD 다중 검정 보정.

도 55는 인간 Gcase를 암호화하는 발현 작제물을 포함하는 재조합 아데노-연관 바이러스 벡터(PR001A)를 암호화하는 플라스미드의 일 구현예를 도시하는 개략도이다. "bp"는 "염기 쌍"을 지칭한다. "kan"은 카나마이신에 대한 내성을 부여하는 유전자를 지칭한다. "ORF1"은 Gcase에 대한 개방형 해독 프레임을 지칭한다. "ITR"은 아데노-관련 바이러스 역위 말단 반복 서열을 지칭한다. "TRY"는 3개의 전사 조절 활성화 부위를 포함하는 서열을 지칭한다: TATA, RBS 및 YY1. "CBAp"는 닭 β-액틴 프로모터를 지칭한다. "CMVe"는 거대세포바이러스 인핸서를 지칭한다. "WPRE"는 우드척 간염 바이러스 전사후 조절 요소를 지칭한다. "bGH"는 소 성장 호르몬 polyA 신호 꼬리를 지칭한다. "int"는 인트론(intron)을 지칭한다. PR001A의 2개의 가닥의 뉴클레오티드 서열은 서열번호 39 및 40에 제공된다.

도 56은 인간 Gcase 및 α-시뉴클레인을 표적화하는 shRNA를 암호화하는 발현 작제물을 포함하는 재조합 아데노-연관 바이러스 벡터(PR004X)를 암호화하는 플라스미드의 일 구현예를 도시하는 개략도이다. "bp"는 "염기 쌍"을 지칭한다. "kan"은 카나마이신에 대한 내성을 부여하는 유전자를 지칭한다. "aSyn_MshRNA"는 α-시뉴클레인을 억제하는 shRNA를 암호화하는 영역을 지칭한다. "GBA_CDSopt" 은 Gcase에 대한 개방형 해독 프레임을 지칭한다. "ITR"은 아데노-관련 바이러스 역위 말단 반복 서열을 지칭한다. "TRY"는 3개의 전사 조절 활성화 부위를 포함하는 서열을 지칭한다: TATA, RBS 및 YY1. "CBAp"는 닭 β-액틴 프로모터를 지칭한다. "CMVe"는 거대세포바이러스 인핸서를 지칭한다. "WPRE"는 우드척 간염 바이러스 전사후 조절 요소를 지칭한다. "bGH"는 소 성장 호르몬 polyA 신호 꼬리를 지칭한다. "int"는 인트론을 지칭한다. PR004X의 2개의 가닥의 뉴클레오티드 서열(검증된 서열)은 서열번호 41 및 42에 제공된다.

도 57은 인간 Gcase 및 α-시뉴클레인을 표적화하는 shRNA를 암호화하는 발현 작제물을 포함하는 재조합 아데노-연관 바이러스 벡터(PR004Y)를 암호화하는 플라스미드의 일 구현예를 도시하는 개략도이다. "bp"는 "염기 쌍"을 지칭한다. "kan"은 카나마이신에 대한 내성을 부여하는 유전자를 지칭한다. "shSNCA"는 α-시뉴클레인을 억제하는 shRNA를 암호화하는 영역을 지칭한다. "GBA_CDSopt" 은 Gcase에 대한 개방형 해독 프레임을 지칭한다. "ITR"은 아데노-관련 바이러스 역위 말단 반복 서열을 지칭한다. "TRY"는 3개의 전사 조절 활성화 부위를 포함하는 서열을 지칭한다: TATA, RBS 및 YY1. "CBAp"는 닭 β-액틴 프로모터를 지칭한다. "CMVe"는 거대세포바이러스 인핸서를 지칭한다. "WPRE"는 우드척 간염 바이러스 전사후 조절 요소를 지칭한다. "bGH"는 소 성장 호르몬 polyA 신호 꼬리를 지칭한다. "int"는 인트론을 지칭한다. PR004Y의 2개의 가닥의 뉴클레오티드 서열(이론적)은 서열번호 43 및 44에 제공된다.

도 58은 α-시뉴클레인을 표적화하는 shRNA를 암호화하는 발현 작제물을 포함하는 재조합 아데노-연관 바이러스 벡터(PR014X)를 암호화하는 플라스미드의 일 구현예를 도시하는 개략도이다. "bp"는 "염기 쌍"을 지칭한다. "kan"은 카나마이신에 대한 내성을 부여하는 유전자를 지칭한다. "aSyn_MshRNA"는 α-시뉴클레인을 억제하는 shRNA를 암호화하는 영역을 지칭한다. "ITR"은 아데노-관련 바이러스 역위 말단 반복 서열을 지칭한다. "TRY"는 3개의 전사 조절 활성화 부위를 포함하는 서열을 지칭한다: TATA, RBS 및 YY1. "CBAp"는 닭 β-액틴 프로모터를 지칭한다. "CMVe"는 거대세포바이러스 인핸서를 지칭한다. "WPRE"는 우드척 간염 바이러스 전사후 조절 요소를

지칭한다. "bGH"는 소 성장 호르몬 polyA 신호 꼬리를 지칭한다. "int"는 인트론을 지칭한다. PR014X의 2개의 가닥의 뉴클레오티드 서열(이론적)은 서열번호 45 및 46에 제공된다. shRNA를 암호화하는 영역의 2개의 가닥의 뉴클레오티드 서열(이론적)은 서열번호 47 및 48에 제공된다.

도 59는 D409V Hom 유전자 마우스 모델에서 투여량 범위 PR001 rAAV에 대한 연구 설계의 일 구현예를 도시하는 개략도이다. PR001을 정맥내(IV) 주사로 D409V Hom 마우스에 투여하였다. 5주 후에 도면에 열거된 파라미터를 평가하였다.

도 60a 내지 도 60c는 D409V Hom 유전자 마우스 모델에서 PR001 정맥내(IV) 투여의 간 생화학에 대한 대표적인 데이터를 나타낸다. IV 주사 후 5주차에 마우스를 희생시켰다. 사이토카인 수준(도 60a) 및 당지질 수준(도 60b; 도 60c)를 정량화하였다. 통계는 D409V Hom + 부형제 군과 비교하여, ANOVA 후 Dunnett 검정을 사용하여 결정하였다. 평균은 +/- SEM(n = 8 내지 10/군)으로 제시된다. ****: p < 0.0001; ***: p < 0.001; **: p < 0.01; *: p < 0.05; (*): p = 0.10. GluCer = 글루코실세라미드. GluSph = 글루코실스핑고신. WT = 야생형.

도 61a 및 도 61b는 D409V Hom 유전자 마우스 모델에서 PR001 정맥내(IV) 투여의 뇌 생화학에 대한 대표적인 데이터를 나타낸다. IV 주사 후 5주차에 마우스를 희생시켰다. 당지질 수준을 정량화하였다. 통계는 D409V Hom + 부형제 군과 비교하여, ANOVA 후 Dunnett 검정을 사용하여 결정하였다. 평균은 +/- SEM(n = 8 내지 10/군)으로 제시된다. ****: p < 0.0001; *: p < 0.05. GluCer = 글루코실세라미드. GluSph = 글루코실스핑고신. WT = 야생형.

도 62는 D409V Hom 유전자 마우스 모델에서 PR001 정맥내(IV) 투여의 폐 생화학에 대한 대표적인 데이터를 나타낸다. IV 주사 후 5주차에 마우스를 희생시켰다. 사이토카인 수준을 정량화하였다. 통계는 D409V Hom + 부형제 군과 비교하여, ANOVA 후 Dunnett 검정을 사용하여 결정하였다. 평균은 +/- SEM(n = 8 내지 10/군)으로 제시된다. *: p < 0.05. WT = 야생형.

도 63은 4L/PS-NA 유전자 마우스 모델에서 투여량 범위 PR001 rAAV에 대한 연구 설계의 일 구현예를 도시하는 개략도이다. PR001을 정맥내(IV) 주사로 4L/PS-NA 마우스에 투여하였다. 도면에 열거된 파라미터를 도시된 시점에 평가하였다.

도 64a 및 도 64b는 4L/PS-NA 유전자 마우스 모델에서 PR001 정맥내(IV) 투여의 간 생화학에 대한 대표적인 데이터를 나타낸다. IV 주사 후 15주차에 마우스를 희생시켰다. 당지질 수준을 정량화하였다. 통계는 4L/PS-NA + 부형제 군과 비교하여, ANOVA 후 Dunnett 검정을 사용하여 결정하였다. 평균은 +/- SEM(n = 10/군)으로 제시된다. ****: p < 0.0001; ***: p < 0.001; *: p < 0.05. GluCer = 글루코실세라미드. GluSph = 글루코실스핑고신.

도 65a 및 도 65b는 4L/PS-NA 유전자 마우스 모델에서 PR001 정맥내(IV) 투여의 뇌 생화학에 대한 대표적인 데이터를 나타낸다. IV 주사 후 15주차에 마우스를 희생시켰다. 당지질 수준을 정량화하였다. 통계는 4L/PS-NA + 부형제 군과 비교하여, ANOVA 후 Dunnett 검정을 사용하여 결정하였다. 평균은 +/- SEM(n = 10/군)으로 제시된다. ****: p < 0.0001; **: p < 0.01; *: p < 0.05. GluCer = 글루코실세라미드. GluSph = 글루코실스핑고신.

도 66a 및 도 66b는 PR004 또는 PR014로 형질도입한 후 HeLa 세포에서의 -시뉴클레인 단백질 수준 및 Gcase 활성에 대한 대표적인 데이터를 나타낸다. HeLa 세포를 PR004, PR014 또는 부형제로 치료하고, 72시간 후 세포 용해물 중 -시뉴클레인 수준(도 66a) 및 GCase 활성(도 66b)를 측정하였다. 데이터는 평균 ± SEM으로 제시된다(n = 3/조건).

도 67a 내지 도 67c는 파킨슨병 환자-유래된 유도 만능 줄기 세포(iPSC)로부터의 신경 배양물에서의 PR004 효능에 대한 대표적인 데이터를 나타낸다. *SNCA* 삼중화를 갖는 파킨슨병 환자로부터 유래된 유도 만능 줄기 세포를 뉴런으로 분화시켰다(도 67a). iPSC 유래 뉴런을 PR004 또는 부형제로 치료하고, 2주 후 세포 용해물 중 GCase 활성(도 67b) 및 -시뉴클레인 수준(도 67c)을 측정하였다. 비쌍 t 검정에 의해 결정된 통계; * = p < 0.05, ** = p < 0.01. 데이터는 평균 ± SEM으로 제시된다(n = 2 또는 3/군).

도 68a 및 도 68b는 qRT-PCR를 사용하여 HEK293 세포 중 PR004 벡터로부터 *SNCA*를 표적화하는 shRNA를 평가하는 연구에 위한 대표적인 데이터를 나타낸다. HEK293 세포를 PR004 또는 대조군으로 형질감염시키고, RNA를 72시간 후에 추출하였다. 다양한 유전자에 대한 qRT-PCR을 수행하여 *GAPDH* 발현에 대해 정규화하였다. 데이터는 대조군 조건으로 정규화되고 평균 ± SEM(n = 3/군)으로 제시된다.

도 69는 PR004의 투여 후 *SNCA*-A53T PAC 마우스 모델에서 위장, 운동 거동, 및 생화학적 종점을 조사하는 연구

설계의 일 구현예를 도시하는 개략도이다. ICV = 뇌실내.

도 70은 PR004의 투여 후 AAV2-*SNCA*-A53T IPa 주사 마우스 모델에서 운동 거동 및 생화학적 분석을 조사하는 연구 설계의 일 구현예를 도시하는 개략도이다. IPa = 실질내. SN = 흑색질. ICV = 뇌실내.

도 71a 및 도 71b는 AAV2-*SNCA*-A53T 마우스 모델에서 PR004 투여 후 운동 표현형을 평가하는 연구에 대한 대표적인 데이터를 나타낸다. 10주령 마우스에게 (1) AAV-Null 또는 AAV-SNCA-A53T를 SN에 대한 IPa 주사, 및 (2) 부형제 또는 PR004를 ICV 주사를 통해 투여하였다. 미세 운동 운동학적 보행 분석(MotoRater)을 치료후 4주차(도 71a) 및 9주(도 71b)에 에 수행하였다. ANOVA 후 Dunnett 다중 검정 보정으로 결정된 통계; * = $p < 0.05$, ** = $p < 0.01$. 데이터는 평균 ± SEM으로 제시된다(n = 10/조건). IPa = 실질내. SN = 흑색질. ICV = 뇌실내.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0256] 본 개시는 파킨슨병(PD), 고셰병(GD) 및 시뉴클레인병증과 같은 비정상적인 리소좀 기능과 관련된 질환을 위한 유전자 요법에 관한 것이다. 특히, 본 개시는 재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)와 조합하여 투여되는 면역억제 요법에 관한 것이다. rAAV는 단백질 Gcase를 암호화하는 *GBA1* 유전자의 기능적 카피를 전달할 수 있다. 추가적으로 또는 대안적으로, rAAV는 α-시뉴클레인의 발현을 억제하는 간섭 핵산을 암호화하는 핵산을 전달할 수 있다. 면역억제 요법은 유전자 요법으로 치료받는 대상체에서 면역 관련 이상반응의 위험을 감소시키기 위해 필요하다.

[0257] 본 개시는, 부분적으로, 대상체에서 특정 유전자 산물(예를 들어, 중추 신경계(CNS) 질환과 연관된 유전자 산물)의 조합을 발현하기 위한 조성물 및 방법에 기초한다. 유전자 산물은 단백질, 단백질의 단편(예를 들어, 부분), CNS 질환-연련 유전자를 억제하는 간섭 핵산 등일 수 있다. 일부 구현예에서, 유전자 산물은 CNS 질환-연관 유전자에 의해 암호화된 단백질 또는 단백질 단편이다. 일부 구현예에서, 유전자 산물은 CNS 질환-연관 유전자를 억제하는 간섭 핵산(예를 들어, shRNA, siRNA, miRNA, amiRNA 등)이다.

[0258] CNS 질환 관련 유전자는 파킨슨병(PD), 고셰병(GD) 또는 시뉴클레인병증과 같은 중추 신경계(CNS) 질환과 유전적으로, 생화학적으로 또는 기능적으로 연관된 유전자 산물을 암호화하는 유전자를 지칭한다. 예를 들어, (단백질 Gcase를 암호화하는) *GBA1* 유전자에 돌연변이를 갖는 개체는 *GBA1*에 돌연변이를 갖지 않는 개체와 비교하여 PD 발생 위험이 증가되는 것으로 관찰되었다. 또 다른 예에서, PD는 α-시뉴클레인(α-Syn) 단백질을 포함하는 단백질 응집체의 축적과 관련이 있다; 따라서, (α-Syn을 암호화하는) *SNCA*는 CNS 질환-연관 유전자이다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 발현 카세트는 CNS 질환-연관 유전자(또는 이의 코딩 서열)의 야생형 또는 비돌연변이체 형태를 암호화한다. CNS 질환-연관 유전자의 예는 표 1에 열거되어 있다.

[표 1]

CNS 질환 연관 유전자의 예

명칭	유전자	기능	NCBI 수탁 번호
리소좀 막 단백질 2	*SCARB2/LIMP2*	글루코실세라미다아제에 대한 리소좀 수용체(GBA 표적화)	NP_005497.1 (이소형 1), NP_001191184.1 (이소형 2)
프로사포신	*PSAP*	사포신 A, B, C, 및 D에 대한 전구체로서, 리소좀 구획에 국소화하고 짧은 올리고당 기를 갖는 글리코스핑고지질의 이화작용을 용이하게 함	AAH01503.1, AAH07612.1, AAH04275.1, AAA60303.1
베타-글루코세레브로시다아제	*GBA1*	글루코세레브로시드의 베타-글루코시드 결합을 절단함	NP_001005742.1 (이소형 1), NP_001165282.1 (이소형 2), NP_001165283.1 (이소형 3)
알파-시뉴클레인	*SNCA*	시냅스 소포를 클러스터링함으로써 시냅스 전 말단에서 시냅스 소포의 공급을 유지하는 역할을 하며, 도파민의 방출을 조절하는 데 도움을 줄 수 있음	NP_001139527.1

[0259]

[0260] 리소좀산 β-글루코세레브로시다제(예를 들어, *GBA1* 유전자의 유전자 산물; GCase라고도 지칭된), 및 리소좀 기능 또는 리소좀으로의 거대분자의 트래피킹에 연루된 다수의 유전자의 공통 변이체(예를 들어, 리소좀 막 단백질 1(LIMP), SCARB2로도 지칭됨)과 같은 효소 결핍은 PD 위험 증가 및/또는 고셰병(예를 들어, 2형 고셰병 또는 3형 고셰병과 같은 신경병성 고셰병) 위험 증가와 연관된다. 본 개시는, 부분적으로, Gcase(또는 이의 일부), 프로사포신(또는 이의 일부), LIMP2(또는 이의 일부), 또는 중추 신경계(CNS) 질환, 예를 들어, PD, 고셰병과 연관된 유전자(예를 들어, LIMP2, 프로사포신 및/또는 α-시뉴클레인(α-Syn))로부터의 하나 이상의 추가 유전자 산물과 Gcase(또는 이의 일부)의 조합을 기반으로 한다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 유전자 산물의 조합은 대상체에서 발현될 때 CNS 질환의 하나 이상의 징후 및 증상을 감소시키기 위해 함께(예를 들어, 상승적으로) 작용한다.

[0261] 따라서, 일부 양태에서, 본 개시는 Gcase(예를 들어, *GBA1* 유전자의 유전자 산물)를 암호화하는 발현 작제물을 포함하는 단리된 핵산을 제공한다. 일부 구현예에서, 단리된 핵산은 코돈 최적화된(예를 들어, 포유류 세포, 예를 들어 인간 세포에서의 발현에 최적화된 코돈) Gcase 암호화 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, Gcase를 암호화하는 핵산 서열은 서열번호 14에 제시된 바와 같은(예를 들어, NCBI 참조 서열 NP_000148.2에 제시된 바와 같은) 아미노산 서열을 포함하는 단백질을 암호화한다. 일부 구현예에서, 단리된 핵산은 서열번호 15에 제시된 서열을 포함한다. 서열번호 15에 제시된 코돈 최적화된 서열은 야생형 *GBA1* 뉴클레오티드 서열의 뉴클레오티드 49에서 시작하는 예측된 공여자 스플라이스 부위를 제거한다. 일부 구현예에서, 발현 작제물은, 아데노 연관 바이러스(AAV) 역위 말단 반복(ITR), 예를 들어 Gcase를 암호화하는 핵산 서열의 측면에 위치하는 AAA ITR을 포함한다.

[0262] 일부 양태에서, 본 개시는 프로사포신(예를 들어, *PSAP* 유전자의 유전자 산물)를 암호화하는 발현 작제물을 포함하는 단리된 핵산을 제공한다. 일부 구현예에서, 단리된 핵산은 코돈 최적화된(예를 들어, 포유류 세포, 예를 들어 인간 세포에서의 발현에 최적화된 프로사포신 암호화 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 프로사포신를 암호화하는 핵산 서열은 서열번호 16에 제시된 바와 같은(예를 들어, NCBI 참조 서열 NP_002769.1에 제시된 바와 같은) 아미노산 서열을 포함하는 단백질을 암호화한다. 일부 구현예에서, 단리된 핵산은 서열번호 17에 제시된 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 발현 작제물은, 아데노 연관 바이러스(AAV) 역위 말단 반복(ITR), 예를 들어 프로사포신을 암호화하는 핵산 서열의 측면에 위치하는 AAA ITR을 포함한다.

[0263] 일부 양태에서, 본 개시는 LIMP2/SCARB2(예를 들어, *SCARB2* 유전자의 유전자 산물)를 암호화하는 발현 작제물을

포함하는 단리된 핵산을 제공한다. 일부 구현예에서, 단리된 핵산은 코돈 최적화된(예를 들어, 포유류 세포, 예를 들어 인간 세포에서의 발현에 최적화된 SCARB2 암호화 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, LIMP2/SCARB2를 암호화하는 핵산 서열은 서열번호 18에 제시된 바와 같은(예를 들어, NCBI 참조 서열 NP_005497.1에 제시된 바와 같은) 아미노산 서열을 포함하는 단백질을 암호화한다. 일부 구현예에서, 단리된 핵산은 서열번호 29에 제시된 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 발현 작제물은, 아데노 연관 바이러스(AAV) 역위 말단 반복(ITR), 예를 들어 SCARB2을 암호화하는 핵산 서열의 측면에 위치하는 AAA ITR을 포함한다.

[0264] 일부 양태에서, 본 개시는 제1 유전자 산물 및 제2 유전자 산물을 암호화하는 발현 작제물을 포함하는 단리된 핵산을 제공하며, 여기에서 각각의 유전자 산물은 표 1에 제시된 유전자 산물 또는 이의 일부로부터 독립적으로 선택된다.

[0265] 일부 구현예에서, 제1 유전자 산물 또는 제2 유전자 산물은 Gcase 단백질 또는 이의 일부이다. 일부 구현예에서, 제1 유전자 산물 또는 제2 유전자 산물은 LIMP2 또는 이의 일부, 또는 프로사포신 또는 이의 일부이다. 일부 구현예에서, 제1 유전자 산물은 Gcase 단백질이고, 제2 유전자 산물은 LIMP2 또는 이의 일부, 또는 프로사포신 또는 이의 일부이다.

[0266] 일부 구현예에서, 발현 작제물은 (예를 들어, 단독으로 또는 다른 유전자 산물과 함께) 간섭 핵산(예를 들어, shRNA, miRNA, dsRNA 등)을 암호화한다. 일부 구현예에서, 간섭 핵산은 α-시뉴클레인(α-Syn)의 발현을 억제한다. 일부 구현예에서, α-시뉴클레인을 표적화하는 간섭 핵산은 서열번호 20 내지 25 중 어느 하나에 제시된 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, α-시뉴클레인을 표적화하는 간섭 핵산은 서열번호 20에 제시된 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, α-시뉴클레인을 표적화하는 간섭 핵산은 서열번호 20 내지 25 중 어느 하나에 제시된 서열에 결합(예를 들어, 혼성화)한다. 일부 구현예에서, α-시뉴클레인을 표적화하는 간섭 핵산은 서열번호 20에 제시된 서열에 결합(예를 들어, 혼성화)한다.

[0267] 일부 구현예에서, 발현 작제물은 하나 이상의 프로모터를 추가로 포함한다. 일부 구현예에서, 프로모터는 닭-베타 액틴(CBA) 프로모터, CAG 프로모터, CD68 프로모터, 또는 JeT 프로모터이다. 일부 구현예에서, 프로모터는 RNA pol II 프로모터(예를 들어, 또는 RNA pol III 프로모터(예를 들어, U6 등))이다.

[0268] 일부 구현예에서, 발현 작제물은 내부 리보좀 진입 부위(IRES)를 추가로 포함한다. 일부 구현예에서, IRES는 제1 유전자 산물과 제2 유전자 산물 사이에 위치한다.

[0269] 일부 구현예에서, 발현 작제물은 자가 절단 펩티드 코딩 서열을 추가로 포함한다. 일부 구현예에서, 자가 절단 펩티드는 T2A 펩티드이다.

[0270] 일부 구현예에서, 발현 작제물은 2개의 아데노-연관 바이러스(AAV) 역위 말단 반복(ITR) 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, ITR 서열은 제1 유전자 산물 및 제2 유전자 산물의 측면에 위치한다(예를 들어, 5' 말단에서 3' 말단까지, ITR-제1 유전자 산물-제2 유전자 산물-ITR로 배열됨). 일부 구현예에서, 단리된 핵산의 ITR 서열 중 하나는 기능적 말단 분해 부위(trs)가 결여되어 있다. 예를 들어, 일부 구현예에서, ITR 중 하나는 ΔITR이다.

[0271] 본 개시는, 일부 양태에서, 변형된 "D" 영역(예를 들어, 야생형 AAV2 ITR, 서열번호 29에 비해 상대적으로 변형된 D 서열)을 갖는 ITR을 포함하는 rAAV 벡터에 관한 것이다. 일부 구현예에서, 변형된 D 영역을 갖는 ITR은 rAAV 벡터의 5' ITR이다. 일부 구현예에서, 변형된 "D" 영역은, 예를 들어 서열번호 26에 제시된 바와 같은 "S" 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 변형된 "D" 영역을 갖는 ITR은 rAAV 벡터의 3' ITR이다. 일부 구현예에서, 변형된 "D" 영역은 해당 "D" 영역이 ITR의 3' 말단(예를 들어, 벡터의 이식유전자 삽입체에 대해 ITR의 외부 또는 말단부)에 위치되는 3'ITR을 포함한다. 일부 구현예에서, 변형된 "D" 영역은, 서열번호 26 또는 27에 제시된 바과 같은 서열을 포함한다.

[0272] 일부 구현예에서, 단리된 핵산(예를 들어, rAAV 벡터)은 TRY 영역을 포함한다. 일부 구현예에서, TRY 영역은, 서열번호 28에 제시된 서열을 포함한다.

[0273] 일부 구현예에서, 본 개시에서 기술된 단리된 핵산은 서열번호 1 내지 13, 15, 17, 19, 및 32 내지 48 중 어느 하나에 제시된 서열을 포함하거나 이로 이루어진다. 일부 구현예에서, 본 개시에서 기술된 단리된 핵산은 서열번호 14, 16, 및 18 중 어느 하나에 제시된 서열을 포함하거나 이로 이루어지는 펩티드를 암호화한다.

[0274] 일부 양태에서, 본 개시는 본 개시에서 기술된 바와 같은 단리된 핵산을 포함하는 벡터를 제공한다. 일부 구현예에서, 벡터는 플라스미드, 또는 바이러스 벡터이다. 일부 구현예에서, 바이러스 벡터는 재조합 AAV(rAAV) 벡터이다. 일부 구현예에서, rAAV 벡터는 단일 가닥(예를 들어, 단일 가닥 DNA)이다.

[0275] 일부 양태에서, 본 개시는 본 개시에서 기술된 바와 같은 단리된 핵산 또는 본 개시에서 기술된 바와 같은 벡터를 포함하는 숙주 세포를 제공한다.

[0276] 일부 양태에서, 본 개시는 캡시드 단백질 및 본 개시에서 기술된 바와 같은 단리된 핵산 또는 벡터를 포함하는 재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)를 제공한다.

[0277] 일부 구현예에서, 캡시드 단백질은 혈액-뇌 장벽, 예를 들어 AAV9 캡시드 단백질 또는 AAVrh.10 캡시드 단백질을 통과할 수 있다. 일부 구현예에서, rAAV는 중추신경계(CNS)의 신경 세포 및 비신경 세포를 형질도입한다.

[0278] 일부 양태에서, 본 개시는 중추 신경계(CNS) 질환이 있거나 있는 것으로 의심되는 대상체를 치료하기 위한 방법을 제공하며, 방법은 본 개시에서 기술된 바와 같은 조성물(예를 들어, 단리된 핵산 또는 벡터 또는 rAAV를 포함하는 조성물)을 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다. 일부 구현예에서, CNS 질환은 표 4에 열거된 신경퇴행성 질환과 같은 신경퇴행성 질환이다. 일부 구현예에서, CNS 질환은 표 5에 열거된 시뉴클레인병증과 같은 시뉴클레인병증이다. 일부 구현예에서, CNS 질환은 표 6에 열거된 타우병증과 같은 타우병증이다. 일부 구현예에서, CNS 질환은 표 7에 열거된 리소좀 축적 질환과 같은 리소좀 축적 질환이다. 일부 구현예에서, 리소좀 축적 질환은 신경병성 고셰병, 예컨대 1형 고셰병, 2형 고셰병 또는 3형 고셰병이다.

[0279] 일부 양태에서, 본 개시는 파킨슨병을 앓고 있거나 앓고 있는 것으로 의심되는 대상체를 치료하기 위한 방법을 제공하며, 방법은 본 개시에서 기술된 바와 같은 조성물(예를 들어, 단리된 핵산 또는 벡터 또는 rAAV를 포함하는 조성물)을 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다.

[0280] 일부 구현예에서, 본 개시는 2형 고셰병 또는 3형 고셰병을 앓고 있는 대상체를 치료하기 위한 방법을 제공하며, 방법은 Gcase 단백질을 암호화하는 서열에 작동가능하게 연결된 프로모터를 포함하는 발현 작제물을 포함하는 핵산을 포함하는 rAAV를 대상체에게 투여하는 단계를 포함하되, Gcase 단백질을 암호화하는 서열은 서열번호 15를 포함하고; rAAV는 AAV9 혈청형을 갖는 캡시드 단백질을 포함한다. 일부 구현예에서, rAAV는 약 1.3 x 10^{11} 벡터 게놈(vg)/g 뇌의 투여량으로 2형 고셰병 또는 3형 고셰병을 앓고 있는 대상체에게 투여된다.

[0281] 일부 구현예에서, 본 개시는 글루코세레브로시다아제-1(*GBA1*) 돌연변이를 갖는 파킨슨병을 앓고 있는 대상체를 치료하기 위한 방법을 제공하며, 방법은 Gcase 단백질을 암호화하는 서열에 작동가능하게 연결된 프로모터를 포함하는 발현 작제물을 포함하는 핵산을 포함하는 rAAV를 대상체에게 투여하는 단계를 포함하되, Gcase 단백질을 암호화하는 서열은 서열번호 15를 포함하고; rAAV는 AAV9 혈청형을 갖는 캡시드 단백질을 포함한다. 일부 구현예에서, rAAV는 약 1 X 10^{14} 벡터 게놈(vg) 또는 약 2 x 10^{14} vg의 투여량으로 파킨슨병을 앓고 있는 대상체에게 투여된다.

[0282] 일부 구현예에서, rAAV는 시스테나 마그나 내로의 후두하 주사를 통해 투여된다.

[0283] 일부 구현예에서, 조성물은 2개 이상의 유전자 산물(예를 들어, CNS 질환 연관 유전자 산물), 예를 들어 본 출원에서 기술된 2, 3, 4, 5개 이상의 유전자 산물을 암호화하는 핵산(예를 들어, AAV 캡시드 단백질에 의해 캡슐화된 rAAV 게놈)을 포함한다. 일부 구현예에서, 조성물은 각각 하나 이상의 상이한 유전자 산물을 암호화하는 2개 이상의(예를 들어, 2, 3, 4, 5개 이상) 서로 상이한 핵산(예를 들어, AAV 캡시드 단백질에 의해 별도로 캡슐화된 2개 이상의 rAAV 게놈)을 포함한다. 일부 구현예에서, 2개 이상의 상이한 조성물이 대상체에게 투여되며, 각각의 조성물은 상이한 유전자 산물을 암호화하는 하나 이상의 핵산을 포함한다. 일부 구현예에서, 상이한 유전자 산물은 동일한 프로모터 유형(예를 들어, 동일한 프로모터)에 작동가능하게 연결된다. 일부 구현예에서, 상이한 유전자 산물은 상이한 프로모터에 작동가능하게 연결된다.

[0284] *단리된 핵산 및 벡터*

[0285] 단리된 핵산은 DNA 또는 RNA일 수 있다. 일부 양태에서, 본 개시는 Gcase(예를 들어, *GBA1* 유전자의 유전자 산물) 또는 이의 일부를 암호화하는 발현 작제물을 포함하는 단리된 핵산을 제공한다. β-글루코세레브로시다아제 또는 GBA로도 지칭되는 Gcase는 당지질 대사의 중간체인, 화학적 글루코세레브로시드의 베타-당지질 결합을 절단하는 리소좀 단백질을 지칭한다. 당지질의 정상적인 대사에 필요한 주요 리소좀 효소인 Gcase의 결핍은 Gcase 당지질 기질인 글루코실세라미드(GluCer) 및 글루코실스핑고신(GluSph)의 축적을 야기한다. 인간에서, Gcase는 염색체 1 상에 위치한 *GBA1* 유전자에 의해 암호화된다. 일부 구현예에서, *GBA1*은 NCBI 참조 서열 NP_000148.2(서열번호 14)로 표시되는 펩티드를 암호화한다. 일부 구현예에서, 단리된 핵산은, 서열번호 15에 제시된 서열과 같은, 코돈 최적화된(예를 들어, 포유류 세포, 예를 들어 인간 세포에서의 발현에 최적화된 코돈) Gcase 암

호화 서열을 포함한다.

[0286] 일부 양태에서, 본 개시는 프로사포신(예를 들어, *PSAP* 유전자의 유전자 산물)를 암호화하는 발현 작제물을 포함하는 단리된 핵산을 제공한다. 프로사포신은 스핑고지질 활성화 단백질(사포신) A, B, C 및 D에 대한 전구체 당단백질로서, 짧은 올리고당 기를 갖는 글리코스핑고지질의 이화작용을 용이하게 한다. 인간에서, *PSAP* 유전자는 염색체 10 상에 위치한다. 일부 구현예에서, *PSAP*는 NCBI 참조 서열 NP_002769.1(서열번호 16)로 표시되는 펩티드를 암호화한다. 일부 구현예에서, 단리된 핵산은, 서열번호 17에 제시된 서열과 같은, 코돈 최적화된(예를 들어, 포유류 세포, 예를 들어 인간 세포에서의 발현에 최적화된 코돈) 프로사포신 암호화 서열을 포함한다.

[0287] 본 개시의 양태는 LIMP2/SCARB2(예를 들어, *SCARB2* 유전자의 유전자 산물)를 암호화하는 발현 작제물을 포함하는 단리된 핵산에 관한 것이다. SCARB2는 세포 내에서 리소좀 및 엔도솜 수송을 조절하는 막 단백질을 지칭한다. 인간에서, *SCARB2* 유전자는 염색체 4 상에 위치한다. 일부 구현예에서, *SCARB2* 유전자는 NCBI 참조 서열 NP_005497.1(서열번호 18)로 표시되는 펩티드를 암호화한다. 일부 구현예에서, 단리된 핵산은 서열번호 19에 제시된 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 단리된 핵산은 코돈 최적화된 SCARB2 암호화 서열을 포함한다.

[0288] 일부 양태에서, 본 개시는 제1 유전자 산물 및 제2 유전자 산물을 암호화하는 발현 작제물을 포함하는 단리된 핵산을 제공하며, 여기에서 각각의 유전자 산물은 표 1에 제시된 유전자 산물 또는 이의 일부로부터 독립적으로 선택된다.

[0289] 일부 구현예에서, 본 개시에서 기술된 단리된 핵산 또는 벡터(예를 들어, rAAV 벡터)는 서열번호 1 내지 48 중 어느 하나에 제시된 서열을 포함하거나 이로 이루어진다. 일부 구현예에서, 본 개시에서 기술된 단리된 핵산 또는 벡터(예를 들어, rAAV 벡터)는 서열번호 1 내지 48 중 어느 하나에 제시된 서열에 상보적인(즉, 상보성인) 서열을 포함하거나 이로 이루어진다. 일부 구현예에서, 본 개시에서 기술된 단리된 핵산 또는 벡터(예를 들어, rAAV 벡터)는 서열번호 1 내지 48 중 어느 하나에 제시된 서열에 역 상보적인 서열을 포함하거나 이로 이루어진다. 일부 구현예에서, 본 개시에서 기술된 단리된 핵산 또는 벡터(예를 들어, rAAV 벡터)는 서열번호 1 내지 48 중 어느 하나에 제시된 서열의 일부를 포함하거나 이로 이루어진다. 이러한 일부는 서열번호 1 내지 48 중 어느 하나에 제시된 서열의 적어도 25%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 또는 99%를 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 본 개시에서 기술된 핵산 서열은 핵산 센스 가닥(예를 들어, 5'에서 3' 가닥)이거나, 바이러스 서열의 맥락에서 더하기(+) 가닥이다. 일부 구현예에서, 본 개시에서 기술된 핵산 서열은 핵산 안티센스 가닥(예를 들어, 3'에서 5' 가닥)이거나, 바이러스 서열의 맥락에서 빼기(-) 가닥이다.

[0290] 일부 구현예에서, 유전자 산물은 자연 발생 유전자의 코딩 부분(예를 들어, cDNA)에 의해 암호화된다. 일부 구현예에서, 제1 유전자 산물은 *GBA1* 유전자에 의해 암호화된 단백질(또는 이의 단편)이다. 일부 구현예에서, 유전자 산물은 *SCARB2*/*LIMP2* 유전자 및/또는 *PSAP* 유전자에 의해 암호화된 단백질(또는 이의 단편)이다. 그러나, 당업자는 제1 유전자 산물(예를 들어, Gcase) 및 제2 유전자 산물(예를 들어, LIMP2)의 발현 순서가 일반적으로 역전될 수 있음을 인식할 것이다(예를 들어, LIMP2가 제1 유전자 산물이고 Gcase가 제2 유전자 산물임). 일부 구현예에서, 유전자 산물은 표 1에 열거된 유전자의 단편(예를 들어, 일부)이다. 단백질 단편은 표 1에 열거된 유전자에 의해 암호화된 단백질의 약 50%, 약 60%, 약 70%, 약 80%, 약 90% 또는 약 99%를 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 단백질 단편은 표 1에 열거된 유전자에 의해 암호화된 단백질의 50% 내지 99.9%(예를 들어, 50%에서 99.9% 사이의 임의의 값)를 포함한다.

[0291] 일부 구현예에서, 발현 작제물은 모노시스트론이다(예를 들어, 발현 작제물은 제1 유전자 산물 및 제2 유전자 산물을 포함하는 단일 융합 단백질을 암호화함). 일부 구현예에서, 발현 작제물은 폴리시스트론이다(예를 들어, 발현 작제물은 2개의 구별되는 유전자 산물, 예를 들어 2개의 상이한 단백질 또는 단백질 단편을 암호화함).

[0292] 폴리시스트론 발현 벡터는 하나 이상의 (예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5개 또는 그 이상의) 프로모터를 포함할 수 있다. 임의의 적절한 프로모터, 예를 들어, 구성 프로모터, 유도성 프로모터, 내인성 프로모터, 조직-특이적 프로모터(예를 들어, CNS-특이적 프로모터) 등이 사용될 수 있다. 일부 구현예에서, 프로모터는 닭 베타-액틴 프로모터(CBA 프로모터), CAG 프로모터(예를 들어, Alexopoulou 등, (2008) *BMC Cell Biol.* 9:2; doi: 10.1186/1471-2121-9-2), CD68 프로모터, 또는 Jet 프로모터(예를 들어, Tornøe 등, (2002) Gene 297(1-2):21-32에 기술된 것과 같음)이다. 일부 구현예에서, 프로모터는 제1 유전자 산물, 제2 유전자 산물, 또는 제1 유전자 산물 및 제2 유전자 산물을 암호화하는 핵산 서열에 작동가능하게 연결된다. 일부 구현예에서, 발현 카세트는 전사 인자 결합 서열, 인트론 스플라이스 부위, 폴리(A) 첨가 부위, 인핸서 서열, 억제자 결합 부위, 또는 전술한 것들의 임의의 조합을 포함하나 이에 한정되지 않는 하나 이상의 추가 조절 서열을 포함한다.

[0293] 일부 구현예에서, 제1 유전자 산물을 암호화하는 핵산 서열 및 제2 유전자 산물을 암호화하는 핵산 서열은 내부 리보솜 진입 부위(IRES)를 암호화하는 핵산 서열에 의해 분리된다. IRES 부위의 예는, 예를 들어, Mokrejs 등, (2006) *Nucleic Acids Res.* 34(Database issue):D125-30에 기술되어 있다. 일부 구현예에서, 제1 유전자 산물을 암호화하는 핵산 서열 및 제2 유전자 산물을 암호화하는 핵산 서열은 자가 절단 펩티드를 암호화하는 핵산 서열에 의해 분리된다. 자가 절단 펩티드의 예는 T2A, P2A, E2A, F2A, BmCPV 2A, 및 BmIFV 2A, 그리고 및 Liu 등. (2017) *Sci Rep.* 7: 2193에 기술된 것들을 포함하나 이에 한정되지 않는다. 일부 구현예에서, 자가 절단 펩티드는 T2A 펩티드이다.

[0294] 병리학적으로, PD 및 고세병과 같은 장애는 주로 α-시뉴클레인(α-Syn) 단백질로 이루어진 단백질 응집체의 축적과 연관이 있다. 따라서, 일부 구현예에서, 본원에 기술된 단리된 핵산은 α-Syn 단백질의 발현을 감소시키거나 예방하는 억제 핵산을 포함한다. 억제 핵산을 암호화하는 서열은 발현 벡터의 미번역 영역(예를 들어, 인트론, 5'UTR, 3'UTR 등)에 배치될 수 있다.

[0295] 일부 구현예에서, 억제 핵산은 발현 작제물의 인트론에, 예를 들어 제1 유전자 산물을 암호화하는 서열의 인트론 상류에 위치한다. 억제 핵산은 이중 가닥 RNA(dsRNA), siRNA, shRNA, 마이크로 RNA(miRNA), 인공 miRNA(amiRNA), 또는 RNA 앱타머일 수 있다. 일반적으로, 억제 핵산은 표적 RNA(예를 들어, mRNA)의 약 6 내지 약 30(예를 들어, 6에서 30 사이의 임의의 정수)개의 연속 뉴클레오티드에 결합(예를 들어, 혼성화)한다. 일부 구현예에서, 억제 핵산 분자는 miRNA 또는 amiRNA, 예를 들어 *SNCA*(α-Syn 단백질을 암호화하는 유전자)를 표적화하는 miRNA이다. 일부 구현예에서, miRNA는 miRNA가 혼성화되는 *SNCA* mRNA의 영역과의 어떠한 불일치도 포함하지 않는다(즉, miRNA는 "완벽하다"). 일부 구현예에서, 억제 핵산은 shRNA(예를 들어, *SNCA*를 표적화하는 shRNA)이다. 일부 구현예에서, *SNCA*를 표적화하는 shRNA는 서열번호 47에 의해 암호화된다. 일부 구현예에서, *SNCA*를 표적화하는 shRNA는 서열번호 20을 포함하는 서열에 의해 암호화된다.

[0296] 당업자는, 억제 핵산(예를 들어, dsRNA, siRNA, shRNA, miRNA, amiRNA 등)을 포함하거나 암호화하는 핵산 서열을 지칭할 경우, 본원에 제공된 서열 중 임의의 하나 이상의 티미딘(T) 뉴클레오티드 또는 우리딘(U) 뉴클레오티드가 아데노신 뉴클레오티드와 (예를 들어, Watson-Crick 염기 쌍을 통해) 염기 쌍을 이루기에 적합한 임의의 다른 뉴클레오티드로 대체될 수 있다는 것을 인식할 것이다. 예를 들어, T는 U로 대체될 수 있고, U는 T로 대체될 수 있다.

[0297] 본원에 기술된 바와 같은 단리된 핵산은 그 자체로서, 또는 벡터의 일부로서 존재할 수 있다. 일반적으로, 벡터는 플라스미드, 코스미드, 파지미드, 박테리아 인공 염색체(BAC), 또는 바이러스 벡터(예를 들어, 아데노바이러스 벡터, 아데노-연관 바이러스(AAV) 벡터, 레트로바이러스 벡터, 바큘로바이러스 벡터 등)일 수 있다. 일부 구현예에서, 벡터는 플라스미드(예를 들어, 본원에 기술된 바와 같은 단리된 핵산을 포함하는 플라스미드)이다. 일부 구현예에서, 벡터는 재조합 AAV(rAAV) 벡터이다. 일부 구현예에서, rAAV 벡터는 단일 가닥(예를 들어, 단일 가닥 DNA)이다. 일부 구현예에서, 벡터는 바큘로바이러스 벡터(예를 들어, 오토그라파 칼리포르니카 핵 폴리헤드로시스(*Autographa californica* nuclear polyhedrosis, AcNPV) 벡터)이다.

[0298] 일반적으로, rAAV 벡터(예를 들어, rAAV 게놈)는 2개의 AAV 역위 말단 반복(ITR) 서열이 측면에 위치하는 이식유전자(예를 들어, 프로모터, 인트론, 인핸서 서열, 단백질 코딩 서열, 억제성 RNA 코딩 서열, polyA 꼬리 서열 등 중 각각 하나 이상을 포함하는 발현 작제물)를 포함한다. 일부 구현예에서, rAAV 벡터의 이식유전자는 본 개시에 의해 기술된 바와 같은 단리된 핵산을 포함한다. 일부 구현예에서, rAAV 벡터의 2개의 ITR 서열 각각은 전장 ITR(예를 들어, 길이가 약 145 bp이고, 기능적 Rep 결합 부위(RBS) 및 말단 분해 부위(trs)를 함유함)이다. 일부 구현예에서, rAAV 벡터의 ITR 중 하나는 절단된다(예를 들어, 단축되거나 전장이 아님). 일부 구현예에서, 절단된 ITR은 기능적 말단 분해 부위(trs)가 결여되어 있고, 자가-상보성 AAV 벡터(scAAV 벡터)의 생산에 사용된다. 일부 구현예에서, 절단된 ITR은, 예를 들어 McCarty 등 (2003) *Gene Ther.* 10(26):2112-8에 기술된 바와 같은, ΔITR이다. 일부 구현예에서, 2개의 ITR 서열 각각은 AAV2 ITR 서열이다.

[0299] 본 개시의 양태는, 야생형 AAV ITR에 대해, 예를 들어 야생형 AAV2 ITR(예를 들어, 서열번호 29)에 대해, 상대적으로 하나 이상의 변형(예를 들어, 핵산 첨가, 결실, 치환 등)을 갖는 ITR을 포함하는 단리된 핵산(예를 들어, rAAV 벡터)에 관한 것이다. 야생형 AAV2 ITR의 구조는 도 19에 도시되어 있다. 일반적으로, 야생형 ITR은, (각각 B/B' 및 C/C'로 지칭되는 서열에 의해 형성된) 2개의 교차 아암으로 이루어진 만능 이중-가닥 T-형상, 헤어핀 구조를 형성하도록 자가-어닐링하는 125개의 뉴클레오티드 영역, (서열 A/A'에 의해 형성된) 보다 긴 줄기 영역, 및 "D" 영역으로 지칭되는 단일-가닥 말단 영역을 포함한다. (도 19). 일반적으로, ITR의 "D" 영역은 A/A' 서열에 의해 형성된 줄기 영역과 rAAV 벡터의 이식유전자를 함유하는 삽입체 사이에 위치한다(예를

들어, ITR의 말단에 대해 ITR의 "내부" 상에 위치하거나, rAAV 벡터의 이식유전자 삽입체 또는 발현 작제물에 근접한다). 일부 구현예에서, "D" 영역은, 서열번호 27에 제시된 서열을 포함한다. "D" 영역은, 예를 들어, Ling 등 (2015) *J Mol Genet Med* 9(3)에 기술된 바와 같은, 캡시드 단백질에 의한 rAAV 벡터의 캡슐화에서 중요한 역할을 하는 것으로 관찰되었다.

[0300] 본 개시는, 부분적으로, ITR의 "외부"(예를 들어, 이식유전자 삽입체 또는 발현 작제물에 대한 ITR의 말단에 근위임)에 위치한 "D" 영역을 포함하는 rAAV 벡터가 변형되지 않은(예를 들어, 야생형) ITR을 갖는 rAAV 벡터보다 AAV 캡시드 단백질에 의해 효율적으로 캡슐화된다는 놀라운 발견에 부분적으로 기초한다. 일부 구현예에서, 변형된 "D" 서열(예를 들어, "외부" 위치의 "D" 서열)을 갖는 rAAV 벡터는 야생형 ITR 서열을 갖는 rAAV 벡터에 비해 독성이 감소된다.

[0301] 일부 구현예에서, 변형된 "D" 서열은 야생형 "D" 서열(예를 들어, 서열번호 27)에 비해 적어도 하나의 뉴클레오티드 치환을 포함한다. 변형된 "D" 서열은 야생형 "D" 서열(예를 들어, 서열번호 27)에 비해 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개 또는 10개 초과의 뉴클레오티드 치환을 가질 수 있다. 일부 구현예에서, 변형된 "D" 서열은 야생형 "D" 서열(예를 들어, 서열번호 27)에 비해 적어도 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18 또는 19개의 핵산 치환을 포함한다. 일부 구현예에서, 변형된 "D" 서열은 야생형 "D" 서열(예를 들어,서열번호 27)에 대해 약 10% 내지 약 99%(예를 들어, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 또는 99%) 동일하다. 일부 구현예에서, 변형된 "D" 서열은, Wang 등 (1995) *J Mol Biol* 250(5):573-80에 기술된 바와 같은 "S" 서열로도 지칭되는 서열번호 26에 제시된 서열을 포함한다.

[0302] 본 개시에서 기술된 바와 같은 단리된 핵산 또는 rAAV 벡터는, 예를 들어 서열번호 28에 제시되거나, Francois 등 (2005) *J. Virol.* 79(17):11082-11094에 기술된 바와 같은 "TRY" 서열을 추가로 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, TRY 서열은 단리된 핵산 또는 rAAV 벡터의 ITR(예를 들어, 5' ITR)과 발현 작제물(예를 들어, 이식유전자 암호화 삽입체) 사이에 위치한다.

[0303] 일부 양태에서, 본 개시는 본 개시에서 기술된 바와 같은 단리된 핵산 또는 rAAV 벡터를 포함하는 바큘로바이러스 벡터에 관한 것이다. 일부 구현예에서, 바큘로바이러스 벡터는, 예를 들어, Urabe 등 (2002) *Hum Gene Ther* 13(16):1935-43 및 Smith 등 (2009) *Mol Ther* 17(11):1888-1896에 기술된 바와 같은, 오토그라파 칼리포르니카 핵 폴리헤드로시스(AcNPV) 벡터)이다.

[0304] 일부 양태에서, 본 개시는 본 개시에서 기술된 바와 같은 단리된 핵산 또는 벡터를 포함하는 숙주 세포를 제공한다. 숙주 세포는 원핵 세포 또는 진핵 세포일 수 있다. 예를 들어, 숙주 세포는 포유류 세포, 박테리아 세포, 효모 세포, 곤충 세포 등일 수 있다. 일부 구현예에서, 숙주 세포는 포유류 세포, 예를 들어 HEK293T 세포이다. 일부 구현예에서, 숙주 세포는 박테리아 세포, 예를 들어, 대장균 세포이다.

[0305] *rAAV*

[0306] 일부 양태에서, 본 개시는 본원에 기술된 바와 같은 핵산(예를 들어, 본원에 기술된 바와 같은 rAAV 벡터)을 암호화하는 이식유전자를 포함하는 재조합 AAV(rAAV)에 관한 것이다. 용어 "rAAV"는 대체적으로 하나 이상의 AAV 캡시드 단백질에 의해 캡슐화된 rAAV 벡터를 포함하는 바이러스 입자를 지칭한다. 본 개시에서 기술된 rAAV는 AAV1, AAV2, AAV3, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAV9, 및 AAV10으로부터 선택되는 혈청형을 갖는 캡시드 단백질을 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, rAAV는 비인간 숙주 유래의 캡시드 단백질, 예를 들어 AAVrh.10, AAVrh.39 등과 같은 레서스 AAV 캡시드 단백질을 포함한다. 일부 구현예에서, 본 개시에서 기술된 rAAV는 야생형 캡시드 단백질의 변이체인 캡시드 단백질, 예컨대 이것이 유래된 야생형 AAV 캡시드 단백질에 비해 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개 또는 10개 초과(예를 들어, 15, 20, 25, 50, 100개 등)의 아미노산 치환(예를 들어, 돌연변이)을 포함하는 캡시드 단백질 변이체를 포함한다. 일부 구현예에서, AAV 캡시드 단백질 변이체는, 예를 들어 Albright 등, *Mol Ther*. 2018 Feb 7;26(2):510-523에 기술된 바와 같은 AAV1RX이다. 일부 구현예에서, 캡시드 단백질 변이체는, 예를 들어 Rosario 등, *Mol Ther Methods Clin Dev.* 2016; 3: 16026에 기술된 바와 같은 AAV TM6이다.

[0307] 일부 구현예에서, 본 개시에서 기술된 rAAV는 특히 CSF 공간 내로 도입되거나 뇌 실질내로 직접 도입될 때, CNS를 통해 쉽게 확산된다. 따라서, 일부 구현예에서, 본 개시에서 기술된 rAAV는 혈액-뇌 장벽(BBB)을 통과할 수 있는 캡시드 단백질을 포함한다. 예를 들어, 일부 구현예에서, rAAV는 AAV9 또는 AAVrh.10 혈청형을 갖는 캡시드 단백질을 포함한다. rAAV의 생산은, 예를 들어 Samulski 등 (1989) *J Virol.* 63(9):3822-8 및 Wright (2009) *Hum Gene Ther.* 20(7): 698-706에 기술되어 있다. 일부 구현예에서, rAAV는 골수 세포, 예를 들어 미세

아교세포를 특이적으로 또는 우선적으로 표적화하는 캡시드 단백질을 포함한다.

[0308] 일부 구현예에서, 본 개시는 "PR001"로 지칭되는 rAAV를 제공한다. 이러한 rAAV는 인간 *GBA1*의 코돈 최적화된 코딩 서열(서열번호 15)을 발현한다. 일부 구현예에서, 본 개시는 "PR001A"로 지칭되는 rAAV를 제공한다. PR001A(AAV9.CBA.GBA1.A)는 기능적 인간 *GBA1* 유전자를 전달하는 rAAV로서, 기능적 인간 Gcase의 발현을 증가시킨다. PR001A 벡터 삽입체는 닭 β-액틴(CBA) 프로모터 요소를 포함하며, 이는 다음의 4개의 부분: 사이토메갈로바이러스(CMV) 인핸서, CBA 프로모터, 엑손 1, 및 인트론(int)을 포함하여, 인간 *GBA1*의 코돈 최적화된 코딩 서열(서열 번호 15)을 구성적으로 발현한다. 3' 영역은 또한 우드척 간염 바이러스 전사후 조절 요소(WPRE)에 이어서 소 성장 호르몬 폴리아데닐화 신호 꼬리를 함유한다. 상세히 기술된 3개의 전사 조절 활성화 부위가 프로모터 영역의 5' 말단에 포함된다: TATA, RBS, 및 YY1(예를 들어, Francois 등 (2005) *J. Virol.* 79(17):11082-11094 참조). 측부 역위 말단 반복(ITR)은 개재 서열의 정확한 패키징을 가능하게 한다. 5' ITR 서열의 2개의 변이체(도 7, 삽입 박스, 하단 서열)가 제공되며; 이들 변이체는 패키징 및 발현의 효율에 영향을 미치는 것으로 여겨지는, ITR의 20-뉴클레오티드 "D" 영역 내에서 몇 가지 뉴클레오티드 차이를 갖는다. PR001A는 도 7에 도시된 "D" 도메인 뉴클레오티드 서열을 함유한다(삽입 박스, 상단 서열; 서열번호 30). 일부 구현예에서, 본 개시는, 돌연변이체 "D" 도메인(본원에서 "S" 도메인으로 지칭되며, 도 7에서 서열번호 31에서 음영으로 표시된 뉴클레오트드 변경을 가짐)을 보유하는 "PR001B"로 지칭되는 변이체 벡터를 제공한다. 위의 상이한 5'ITR 서열을 제외하고, PR001B는 PR001A와 동일하다. 골격은 카나마이신에 대한 내성을 부여하는 유전자뿐만 아니라 역 패키징을 방지하는 스터퍼 서열을 함유한다. rAAV 벡터를 암호화하는 플라스미드를 도시하는 개략도가 도 55에 도시되어 있다. 서열번호 39는 도 55에 도시된 PR001A 벡터를 암호화하는 플라스미드의 제1 가닥의 뉴클레오티드 서열을 (5'에서 3' 순서로) 제공한다. 서열번호 40은 도 55에 도시된 PR001A 벡터를 암호화하는 플라스미드의 제2 가닥의 뉴클레오티드 서열을 (5'에서 3' 순서로) 제공한다. PR001A는 AAV9 캡시드 단백질을 포함한다.

[0309] 일부 구현예에서, 본 개시는 "PR004"로 지칭되는 rAAV를 제공한다. 이러한 rAAV는 인간 GBA1의 코돈 최적화된 코딩 서열(서열번호 15) 및 감소된 α-시뉴클레인을 표적화하는 억제 핵산 코딩 서열을 발현하고, 서열번호 20의 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 본 개시는 "PR004X"로 지칭되는 rAAV를 제공한다. 일부 구현예에서, 본 개시는 "PR004Y"로 지칭되는 rAAV를 제공한다. 각각의 PR004X 및 PR004Y는 rAAV이며, 이는 (i) 기능적 인간 *GBA1* 유전자를 전달하여 기능적 인간 Gcase의 발현의 증가를 야기하고, (ii) RNA 간섭을 통해 α-시뉴클레인 수준을 감소시키는 shRNA를 암호화한다. PR004 벡터 삽입체는 닭 β-액틴(CBA) 프로모터 요소를 포함하며, 이는 다음의 4개의 부분: 사이토메갈로바이러스(CMV) 인핸서, CBA 프로모터, 엑손 1, 및 인트론(int)을 포함하여, 인간 *GBA1*의 코돈 최적화된 코딩 서열(서열번호 15) 및 서열번호 20의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 억제 핵산 코팅 서열을 구성적으로 발현한다. 3' 영역은 또한 우드척 간염 바이러스 전사후 조절 요소(WPRE)에 이어서 소 성장 호르몬 폴리아데닐화 신호 꼬리를 함유한다. 상세히 기술된 3개의 전사 조절 활성화 부위가 프로모터 영역의 5' 말단에 포함된다: TATA, RBS, 및 YY1(예를 들어, Francois 등 (2005) *J. Virol.* 79(17):11082-11094 참조). 측부 역위 말단 반복(ITR)은 개재 서열의 정확한 패키징을 가능하게 한다. 골격은 카나마이신에 대한 내성을 부여하는 유전자뿐만 아니라 역 패키징을 방지하는 스터퍼 서열을 함유한다. rAAV PR004X 벡터를 암호화하는 플라스미드를 도시하는 개략도가 도 56에 도시되어 있다. 서열번호 41은 도 56에 도시된 PR004X 벡터를 암호화하는 플라스미드의 제1 가닥의 뉴클레오티드 서열을 (5'에서 3' 순서로) 제공한다. 서열번호 42는 도 56에 도시된 PR004X 벡터를 암호화하는 플라스미드의 제2 가닥의 뉴클레오티드 서열을 (5'에서 3' 순서로) 제공한다. rAAV PR004Y 벡터를 암호화하는 플라스미드를 도시하는 개략도가 도 57에 도시되어 있다. 서열번호 43은 도 57에 도시된 PR004Y 벡터를 암호화하는 플라스미드의 제1 가닥의 뉴클레오티드 서열을 (5'에서 3' 순서로) 제공한다. 서열번호 44는 도 57에 도시된 PR004Y 벡터를 암호화하는 플라스미드의 제2 가닥의 뉴클레오티드 서열을 (5'에서 3' 순서로) 제공한다. PR004X 및 PR004Y는 각각 AAV9 캡시드 단백질을 포함한다. PR004X 및 PR004Y 벡터는 응집된 형태 및 세포외 형태를 포함하여 α-시뉴클레인의 모든 형태의 축적을 감소시키도록 설계된다.

[0310] 일부 구현예에서, 본 개시는 "PR014"로 지칭되는 rAAV를 제공한다. 이러한 rAAV는 감소된 α-시뉴클레인을 표적화하는 억제 핵산 코딩 서열을 발현하고, 서열번호 20의 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 본 개시는 "PR014X"로 지칭되는 rAAV를 제공한다. PR014X는 RNA 간섭을 통해 α-시뉴클레인 수준을 감소시키는 shRNA를 암호화하는 rAAV이다. PR014X 벡터 삽입체는 닭 β-액틴(CBA) 프로모터 요소를 포함하며, 이는 다음의 4개의 부분: 사이토메갈로바이러스(CMV) 인핸서, CBA 프로모터, 엑손 1, 및 인트론(int)을 포함하여, 서열번호 20의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 억제 핵산 코팅 서열을 구성적으로 발현한다. 3' 영역은 또한 우드척 간염 바이러스 전사후 조절 요소(WPRE)에 이어서 소 성장 호르몬 폴리아데닐화 신호 꼬리를 함유한다. 상세히 기술된

3개의 전사 조절 활성화 부위가 프로모터 영역의 5' 말단에 포함된다: TATA, RBS, 및 YY1(예를 들어, Francois 등 (2005) *J. Virol.* 79(17):11082-11094 참조). 측부 역위 말단 반복(ITR)은 개재 서열의 정확한 패키징을 가능하게 한다. 골격은 카나마이신에 대한 내성을 부여하는 유전자뿐만 아니라 역 패키징을 방지하는 스터퍼 서열을 함유한다. rAAV 벡터를 암호화하는 플라스미드를 도시하는 개략도가 도 58에 도시되어 있다. 서열번호 45는 도 60에 도시된 PR014X 벡터를 암호화하는 플라스미드의 제1 가닥의 뉴클레오티드 서열을 (5'에서 3' 순서로) 제공한다. 서열번호 46은 도 60에 도시된 PR014X 벡터를 암호화하는 플라스미드의 제2 가닥의 뉴클레오티드 서열을 (5'에서 3' 순서로) 제공한다. 서열번호 47은 도 58에 도시된 PR014X 벡터를 암호화하는 플라스미드 중 shRNA의 제1 가닥의 뉴클레오티드 서열을 (5'에서 3' 순서로) 제공한다. 서열번호 48은 도 58에 도시된 PR014X 벡터를 암호화하는 플라스미드 중 shRNA의 제2 가닥의 뉴클레오티드 서열을 (5'에서 3' 순서로) 제공한다. PR014A는 AAV9 캡시드 단백질을 포함한다. PR014X 벡터는 응집된 형태 및 세포외 형태를 포함하여 α-시뉴클레인의 모든 형태의 축적을 감소시키도록 설계된다.

[0311] 일부 구현예에서, 본 개시에서 기술된 바와 같은 rAAV(예를 들어, rAAV 캡시드 입자를 형성하도록 AAV 캡시드 단백질에 의해 캡슐화된 재조합 rAAV 게놈을 포함함)는 바큘로바이러스 벡터 발현 시스템(BEVS)에서 생산된다. BEVS를 사용하는 rAAV의 생산은, 예를 들어 Urabe 등 (2002) *Hum Gene Ther* 13(16):1935-43, Smith 등 (2009) *Mol Ther* 17(11):1888-1896, 미국 특허 제8,945,918호, 미국 특허 제9,879,282호, 및 국제 PCT 공개 WO 2017/184879호에 기술되어 있다. 그러나, rAAV는 임의의 적절한 방법을 사용하여(예를 들어, 재조합 rep 및cap 유전자를 사용하여) 생산될 수 있다. 일부 구현예에서, 본원에 개시된 바와 같은 rAAV는 HEK293(인간 배아 신장) 세포에서 생산된다.

[0312] *약학적 조성물*

[0313] 일부 양태에서, 본 개시는 본원에 기술된 바와 같은 단리된 핵산 또는 rAAV 및 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는 약학적 조성물을 제공한다. 본원에서 사용되는 용어 "약학적으로 허용 가능한"은, 화합물의 생물학적 활성 또는 특성을 제거하지 않고, 비교적 비독성인, 예를 들어, 이 물질은 바람직하지 않은 생물학적 효과를 야기하지 않거나 함유된 조성물의 임의의 성분과 유해한 방식으로 상호작용하지 않으면서 개체에게 투여될 수 있는, 담체 또는 희석제와 같은 물질을 지칭한다.

[0314] 본원에서 사용되는 용어 "약학적으로 허용 가능한 담체"는, 액체 또는 고체 충전제, 안정제, 분산제, 현탁화제, 희석제, 부형제, 증점제, 용매 또는 캡슐화 물질과 같은 약학적으로 허용 가능한 물질, 조성물 또는 담체를 의미하며, 이는 의도된 기능을 수행할 수 있도록 환자 내에서 또는 환자에게 본 발명에 유용한 화합물을 운반하거나 전달하는 것과 관련된다. 본 발명의 실행에 사용되는 약학적 조성물에 포함될 수 있는 추가 성분은 당업계에 공지되어 있으며, 예를 들어 본원에 참조로서 통합되는 Remington's Pharmaceutical Sciences(Genaro 편집, Mack Publishing Co., 1985, Easton, PA)에 기술되어 있다.

[0315] 본원에서 제공되는 조성물(예를 들어, 약학적 조성물)은, 경장(예를 들어, 경구), 비경구, 정맥내, 근육내, 동맥내, 골수내, 경막내, 피하, 뇌실내, 경피, 간피, 직장내, 질내, 복강내, 국소(분말, 연고, 크림 및/또는 액적), 점막내, 비강내, 협측, 설하; 기관내 점적 주입에 의한, 기관지 점적 주입, 및/또는 흡입; 및/또는 구강 스프레이, 비강 스프레이, 및/또는 에어로졸을 포함하는 임의의 경로에 의해 투여될 수 있다. 구체적으로 고려되는 경로는, 경구 투여, 정맥내 투여(예를 들어, 전신 정맥내 주사), 혈액 및/또는 림프 공급을 통한 국소 투여, 및/또는 영향을 받은 부위에 대한 직접 투여이다. 대체적으로, 가장 적절한 투여 경로는 제제의 성질(예를 들어, 위장관의 환경에서의 안정성), 및/또는 대상체의 상태(예를 들어, 대상체가 경구 투여를 견딜 수 있는지의 여부)를 포함하는 다양한 인자에 따라 달라질 것이다. 소정의 구현예에서, 본원에 기술된 화합물 또는 약학적 조성물은 대상체의 안구에 대한 국소 투여에 적합하다.

[0316] 일부 구현예에서, 본 개시는 수용액으로 제시된 전술한 PR001 rAAV를 포함하는 PR001(예를 들어, PR001A) 최종 약물 생성물을 제공한다. 일부 구현예에서, 최종 제형화 완충액은 약 20 mM 트리스[pH 8.0], 약 1 mM $MgCl_2$, 약 200 mM NaCl, 및 약 0.001%[w/v] 폴록사머 188을 포함한다. 일부 구현예에서, 최종 약물 생성물 및 최종 제형화 완충액은 시스테나 마그나(ICM) 주사 또는 정맥내 투여에 적합하다.

[0317] 본 개시는, (A) rAAV로서: (a) Gcase 단백질을 암호화하는 이식유전자 삽입체에 작동가능하게 연결된 프로모터를 포함하는 발현 작제물을 포함하는 핵산을 포함하되, 이식유전자 삽입체는 서열번호 15의 뉴클레오티드 서열을 포함하는, rAAV 벡터; 및 (b) AAV9 캡시드 단백질을 포함하는 재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV); 및 (B) 시롤리무스의 조합을 포함하며, 이는 대상체에서 *GBA1* 돌연변이를 갖는 1형 고셰병, 2형 고셰병, 3형 고셰병 또

는 파키슨병을 치료하기 위한 방법에 사용하기 위한 것이다.

[0318] 본 개시는, (A) rAAV로서: (i) 이식유전자 삽입체에 작동가능하게 연결된 프로모터를 포함하는 발현 작제물을 포함하는 핵산을 포함하는 rAAV 벡터로서, 이식유전자 삽입체는,(a) 서열번호 15의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 Gcase 단백질 코딩 서열; 및 (b) 서열번호 20의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 억제 핵산 코딩 서열을 포함하는, rAAV 벡터; 및 (ii) AAV9 캡시드 단백질을 포함하는, rAAV; 및 (B) 시롤리무스의 치료적 조합을 포함하며, 이는 대상체에서 시뉴클레인병증 또는 파킨슨증을 치료하기 위한 방법에 사용하기 위한 것이다.

[0319] 본 개시는, (A) rAAV로서: (i) 이식유전자 삽입체에 작동가능하게 연결된 프로모터를 포함하는 발현 작제물을 포함하는 핵산을 포함하는 rAAV 벡터로서, 이식유전자 삽입체는 서열번호 20의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 억제 핵산 코딩 서열을 포함하는, rAAV 벡터; 및 (ii) AAV9 캡시드 단백질을 포함하는, rAAV; 및 (B) 시롤리무스의 치료적 조합을 포함하며, 이는 대상체에서 시뉴클레인병증 또는 파킨슨증을 치료하기 위한 방법에 사용하기 위한 것이다.

[0320] 재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)의 치료적 조합이 본원에 제공되며, 이는, (i) Gcase 단백질을 암호화하는 이식유전자 삽입체에 작동가능하게 연결된 프로모터를 포함하는 발현 작제물을 포함하는 핵산을 포함하되, 이식유전자 삽입체는 서열번호 15의 뉴클레오티드 서열을 포함하는, rAAV 벡터; 및 (ii) 아데노-연관 바이러사(AAV) 9 캡시드 단백질을 포함하는 재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV); 및 하나 이상의 면역억제제를 포함하며, 이는 대상체에서 *GBA1* 돌연변이를 갖는 1형 고셰병, 2형 고셰병, 3형 고셰병 또는 파키슨병을 치료하기 위한 방법에 사용하기 위한 것이다. 재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)의 치료적 조합이 본원에 제공되며, 이는, (i) Gcase 단백질을 암호화하는 이식유전자 삽입체에 작동가능하게 연결된 프로모터를 포함하는 발현 작제물을 포함하는 핵산을 포함하되, 이식유전자 삽입체는 서열번호 15의 뉴클레오티드 서열을 포함하는, rAAV 벡터; 및 (ii) 아데노-연관 바이러사(AAV) 9 캡시드 단백질을 포함하는 재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV); 및 (A) 시롤리무스; (B) 메틸프레드니솔론; (C) 리툭시맙; 및 (D) 프레드니손 중 하나 이상을 포함하며, 이는 대상체에서 *GBA1* 돌연변이를 갖는 1형 고셰병, 2형 고셰병, 3형 고셰병 또는 파키슨병을 치료하는 방법에 사용하기 위한 것이다.

[0321] 재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)의 치료적 조합이 본원에 제공되며, 이는, (i) Gcase 단백질을 암호화하는 이식유전자 삽입체에 작동가능하게 연결된 프로모터를 포함하는 발현 작제물을 포함하는 핵산을 포함하되, 이식유전자 삽입체는 서열번호 15의 뉴클레오티드 서열을 포함하는, rAAV 벡터; 및 (ii) 아데노-연관 바이러사(AAV) 9 캡시드 단백질을 포함하는 재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV); 및 (A) 시롤리무스; (B) 메틸프레드니솔론; (C) 리툭시맙; 및 (D) 프레드니손 중 하나 이상을 포함하며, 이는 *GBA1* 돌연변이를 갖는 1형 고셰병, 2형 고셰병, 3형 고셰병 또는 파키슨병을 잃고 있거나 앓고 있는 것으로 의심되는 대상체에서의 면역 반응을 억제하는 방법에 사용하기 위한 것이다.

[0322] 재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)의 치료적 조합이 본원에 제공되며, 이는, (i) 이식유전자 삽입체에 작동가능하게 연결된 프로모터를 포함하는 발현 작제물을 포함하는 핵산을 포함하는 rAAV 벡터로서, 이식유전자 삽입체는,(a) 서열번호 15의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 Gcase 단백질 코딩 서열; 및 (b) 서열번호 20의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 억제 핵산 코딩 서열을 포함하는, rAAV 벡터; 및 (ii) 아데노 연관 바이러스(AAV) 9 캡시드 단백질을 포함하는, rAAV; 및 하나 이상의 면역억제제의 치료적 조합을 포함하며, 이는 대상체에서 시뉴클레인병증 또는 파킨슨증을 치료하기 위한 방법에 사용하기 위한 것이다. 재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)의 치료적 조합이 본원에 제공되며, 이는, (i) 이식유전자 삽입체에 작동가능하게 연결된 프로모터를 포함하는 발현 작제물을 포함하는 핵산을 포함하는 rAAV 벡터로서, 이식유전자 삽입체는,(a) 서열번호 15의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 Gcase 단백질 코딩 서열; 및 (b) 서열번호 20의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 억제 핵산 코딩 서열을 포함하는, rAAV 벡터; 및 (ii) 아데노 연관 바이러스(AAV) 9 캡시드 단백질을 포함하는, rAAV; 및 (A) 시롤리무스; (B) 메틸프레드니솔론; (C) 리툭시맙; 및 (D) 프레드니손 중 하나 이상을 포함하며, 이는 대상체에서 시뉴클레인병증 또는 파킨슨증을 치료하는 방법에 사용하기 위한 것이다.

[0323] 재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)의 치료적 조합이 본원에 제공되며, 이는, (i) 이식유전자 삽입체에 작동가능하게 연결된 프로모터를 포함하는 발현 작제물을 포함하는 핵산을 포함하는 rAAV 벡터로서, 이식유전자 삽입체는,(a) 서열번호 15의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 Gcase 단백질 코딩 서열; 및 (b) 서열번호 20의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 억제 핵산 코딩 서열을 포함하는, rAAV 벡터; 및 (ii) 아데노 연관 바이러스(AAV) 9 캡시드 단백질을 포함하는, rAAV; 및 (A) 시롤리무스; (B) 메틸프레드니솔론; (C) 리툭시맙; 및 (D) 프레드니손 중 하나 이상을 포함하며, 이는 시뉴클레인병증 또는 파킨슨증을 잃고 있거나 앓고 있는 것으로 의심되는 대상체에서의 면역 반응을 억제하는 방법에 사용하기 위한 것이다.

[0324] 재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)의 치료적 조합이 본원에 제공되며, 이는, (i) 이식유전자 삽입체에 작동가능하게 연결된 프로모터를 포함하는 발현 작제물을 포함하는 핵산을 포함하는 rAAV 벡터로서, 이식유전자 삽입체는 서열번호 20의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 억제 핵산 코딩 서열을 포함하는, rAAV 벡터; 및 (ii) 아데노 연관 바이러스(AAV) 9 캡시드 단백질을 포함하는, rAAV; 및 하나 이상의 면역억제제의 치료적 조합을 포함하며, 이는 대상체에서 시뉴클레인병증 또는 파킨슨증을 치료하기 위한 방법에 사용하기 위한 것이다. 재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)의 치료적 조합이 본원에 제공되며, 이는, (i) 이식유전자 삽입체에 작동가능하게 연결된 프로모터를 포함하는 발현 작제물을 포함하는 핵산을 포함하는 rAAV 벡터로서, 이식유전자 삽입체는 서열번호 20의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 억제 핵산 코딩 서열을 포함하는, rAAV 벡터; 및 (ii) 아데노 연관 바이러스(AAV) 9 캡시드 단백질을 포함하는, rAAV; 및 (A) 시롤리무스; (B) 메틸프레드니솔론; (C) 리툭시맙; 및 (D) 프레드니손 중 하나 이상을 포함하며, 이는 대상체에서 시뉴클레인병증 또는 파킨슨증을 치료하는 방법에 사용하기 위한 것이다.

[0325] 재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)의 치료적 조합이 본원에 제공되며, 이는, (i) 이식유전자 삽입체에 작동가능하게 연결된 프로모터를 포함하는 발현 작제물을 포함하는 핵산을 포함하는 rAAV 벡터로서, 이식유전자 삽입체는 서열번호 20의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 억제 핵산 코딩 서열을 포함하는, rAAV 벡터; 및 (ii) 아데노 연관 바이러스(AAV) 9 캡시드 단백질을 포함하는, rAAV; 및 (A) 시롤리무스; (B) 메틸프레드니솔론; (C) 리툭시맙; 및 (D) 프레드니손 중 하나 이상을 포함하며, 이는 시뉴클레인병증 또는 파킨슨증을 앓고 있거나 앓고 있는 것으로 의심되는 대상체에서의 면역 반응을 억제하는 방법에 사용하기 위한 것이다.

[0326] 일부 구현예에서, 치료적 조합은 약 5 X 10^{13} vg 내지 약 5 X 10^{14} vg의 rAAV를 포함한다. 일부 구현예에서, 치료적 조합은 약 1.4 X 10^{14} vg 또는 약 2.8 x 10^{14} vg 의 rAAV를 포함한다.

[0327] 일부 구현예에서, 치료적 조합은 시롤리무스, 메틸프레드니솔론, 리툭시맙 또는 프레드니손이 아닌 추가의 면역억제제를 포함한다.

[0328] *방법*

[0329] 본 개시의 양태는 CNS 질환 연관 유전자 산물을 발현하도록 조작된 조성물(예를 들어, 단리된 핵산, rAAV 등)을 세포 또는 세포들(예를 들어, 대상체의 세포 또는 세포들)에 전달하는 것에 관한 것이다.

[0330] 실시예 섹션에서 추가로 기술되는 바와 같이, 본 개시의 양태는 신경교 흉터(예를 들어, 신경교증)를 억제하거나 예방하는 유전자 산물을 발현하는 조성물에 관한 것이다. 따라서, 일부 양태에서, 본 개시는 대상체에서 신경교 흉터를 억제하기 위한 방법을 제공하며, 방법은 본원에 기술된 조성물(예를 들어, 단리된 핵산 또는 rAAV)을 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다.

[0331] 일부 구현예에서, 대상체는 중추 신경계(CNS) 질환을 앓고 있거나 앓고 있는 것으로 의심된다. 일부 구현예에서, 대상체는 고세병(GD)을 앓고 있다. 일부 구현예에서, 대상체는 신경병성 GD(nGD)(예를 들어, 2형 GD 또는 3형 GD)를 앓고 있다. 일부 구현예에서, 대상체는 1형 GD를 앓고 있다. 일부 구현예에서, GD를 앓고 있는 대상체는 PD를 앓고 있지 않거나 PD 증상을 갖지 않는다. 일부 구현예에서, 대상체는 파킨승증을 앓고 있다. 일부 구현예에서, 대상체는 파킨슨병(PD)을 앓고 있다. 일부 구현예에서, 대상체는 비정형 파킨슨 장애를 앓고 있다. 일부 구현예에서, 비정형 파킨슨 장애는 레비 소체를 동반하는 치며, 진행성 핵상 마비, 다계통 위축 또는 피질기저 증후군이다.

[0332] 본 개시는, CNS 연관 질환을 치료하기 위한, 대상체에서 하나 이상의 CNS 질환 연관 유전자 산물의 발현을 위한 조성물에 부분적으로 기초한다. 하나 이상의 CNS 질환 연돤 유전자 산물은 하나 이상의 단리된 핵산 또는 rAAV 벡터에 의해 암호화될 수 있다. 일부 구현예에서, 대상체에게 하나 이상(1, 2, 3, 4, 5개 또는 그 이상)의 유전자 산물을 암호화하는 단일 벡터(예를 들어, 단리된 핵산, rAAV 등)가 투여된다. 일부 구현예에서, 대상체에게 복수(예를 들어, 2, 3, 4, 5개 또는 그 이상)의 벡터(예를 들어, 단리된 핵산, rAAV 등)가 투여되며, 여기에서 각각의 벡터는 상이한 CNS 질환 연관 유전자 산물을 암호화한다. 일부 구현예에서, 조성물은 GBA 또는 이의 일부를 발현한다. 일부 구현예에서, 조성물은 알파-시뉴클레인을 표적화하는 간섭 RNA를 발현한다. 일부 구현예에서, 조성물은 GBA 또는 이의 일부 및 알파-시뉴클레인을 표적화하는 간섭 RNA를 발현한다.

[0333] CNS 연관 질환은 신경퇴행성 질환, 시뉴클레인병증, 타우병증, 또는 리소좀 축적 질환일 수 있다. 신경퇴행성 질환 및 그의 연관된 유전자의 예는 표 4에 열거되어 있다.

[0334] "시뉴클레인병증"은 (예를 들어, 건강한 대상체, 예를 들어, 시뉴클레인병증을 갖지 않는 대상체에 비해) 대상

체에서 알파-시뉴클레인(*SNCA*의 유전자 산물)의 축적을 특징으로 하는 질환 또는 장애를 지칭한다. 시뉴클레인병증 및 이의 관련 유전자의 예는 표 5에 열거되어 있다.

[0335] "타우병증"은 (예를 들어, 타우병증이 없는 건강한 대상체에 비해) 대상체에서 비정상적인 타우 단백질의 축적을 특징으로 하는 질환 또는 장애를 지칭한다. 타우병증 및 이의 연관 유전자의 예는 표 6에 열거되어 있다.

[0336] "리소좀 축적 질환"은 대상체의 리소좀에서의 독성 세포 산물의 비정상적인 축적을 특징으로 하는 질환을 지칭한다. 리소좀 축적 질환 및 이의 연관 유전자의 예는 표 7에 열거되어 있다.

[0337] 본원에서 사용되는 "치료하는" 또는 "치료"는 (a) CNS 질환의 발병을 예방하거나 지연시키는 단계; (b) CNS 질환의 중증도를 감소시키는 단계; (c) CNS 질환의 특징적인 증상의 발생을 감소시키거나 예방하는 단계; (d) 및/또는 CNS 질환의 특징적인 증상의 악화를 예방하는 단계를 지칭한다. CNS 질환의 증상은, 예를 들어, 운동 기능장애(예를 들어, 떨림, 경직, 움직임의 둔화, 보행의 어려움, 마비), 인지 기능장애(예를 들어, 치매, 우울증, 불안, 정신병), 기억력 장애, 및 정서적 및 행동적 기능장애를 포함할 수 있다.

[0338] 본 개시는, 파킨슨병을 치료하기 위해 함께(예를 들어, 상승적으로) 작용하는, 대상체에서의 하나 이상의 PD-관련 유전자 산물의 발현을 위한 조성물에 부분적으로 기초한다.

[0339] 따라서, 일부 양태에서, 본 개시는 파킨슨병을 앓고 있거나 앓고 있는 것으로 의심되는 대상체를 치료하기 위한 방법을 제공하며, 방법은 본 개시에서 기술된 바와 같은 조성물(예를 들어, 단리된 핵산 또는 벡터 또는 rAAV를 포함하는 조성물)을 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다.

[0340] 본 개시는, 고셰병(GC) 질환을 치료하기 위한, 대상체에서 하나 이상의 CNS 질환 연관 유전자 산물의 발현을 위한 조성물에 부분적으로 기초한다. GD의 진단은 *GBA1* 중 이중대립유전자 병원성 돌연변이의 존재 또는 말초 혈액 백혈구에서의 정상 GCase 활성의 15% 미만의 소견에 의해 결정된다. 보다 심각한 효소 결핍을 유발하는 *GBA1* 돌연변이는 질환의 조기 발병, 증상의 더 빠른 진행, 및 신경학적 증상이 발생할 보다 높은 가능성과 관련이 있다(Svennerholm 등, *Clin Genet.* 1986;30(2):131-5; Cox, *Biologics.* 2010;4:299-313 참조). GD는 일반적으로 신경학적 발현(신경병성[2형 GD 및 3형 GD; nGD] 또는 비신경병성[1형 GD])의 존재로 구별되는 3개의 더 넓은 표현형으로 세분화되었다.

[0341] nGD 내에서, 2형 GD와 3형 GD 간의 구별은 CNS 및 내장 증상의 급성 내지 만성 발현의 표현형 연속체를 나타낼 수 있다. 급성 신경병성 형태로 알려진 2형 GD를 가진 영아는 전통적으로 초기 안구 징후(예를 들어, 사시 및/또는 삼키기 어려움), 안와 또는 경직, 핵상 주시 마비, 및 운동, 행동 및 인지 이정표 달성 실패를 나타낸다. 대부분의 소아는 2세까지 사망하게 된다. (Goker-Alpan 등, *J Pediatr.* 2003;143(2):273-6; Roshan 및 Sidransky, *Diseases.* 2017;5(1):pii:E10). 3형 GD에서, 특징적인 임상 징후는 인지 장애에서 운동 실조, 발작, 어린 시절 또는 초기 청소년기의 사망에 이르는 다른 신경학적 징후를 동반하는 느린 수평 핵상 주시 마비이다(Goker-Alpan 등, *J Pediatr.* 2003;143(2):273-6; Tylki-Szymanska 등, *J Inither Metab Dis.* 2010;33(4):339-46).

[0342] 따라서, 일부 양태에서, 본 개시는 신경병증 고셰병을 앓고 있거나 앓고 있는 것으로 의심되는 대상체를 치료하기 위한 방법을 제공하며, 방법은 본 개시에서 기술된 바와 같은 조성물(예를 들어, 단리된 핵산 또는 벡터 또는 rAAV를 포함하는 조성물)을 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다.

[0343] 일부 양태에서, 본 개시는 2형 고셰병 또는 3형 고셰병을 앓고 있는 대상체를 치료하기 위한 방법을 제공하며, 방법은 Gcase 단백질을 암호화하는 서열에 작동가능하게 연결된 프로모터를 포함하는 발현 작제물을 포함하는 핵산을 포함하는 rAAV를 대상체에게 투여하는 단계를 포함하되, Gcase 단백질을 암호화하는 서열은 서열번호 15를 포함하고; rAAV는 AAV9 혈청형을 갖는 캡시드 단백질을 포함한다. 일부 구현예에서, 본 개시는 2형 고셰병 또는 3형 고셰병을 앓고 있는 대상체의 신경학적 증상을 치료하기 위한 방법을 제공하며, 방법은 Gcase 단백질을 암호화하는 서열에 작동가능하게 연결된 프로모터를 포함하는 발현 작제물을 포함하는 핵산을 포함하는 rAAV를 대상체에게 투여하는 단계를 포함하되, Gcase 단백질을 암호화하는 서열은 서열번호 15를 포함하고; rAAV는 AAV9 혈청형을 갖는 캡시드 단백질을 포함한다. 일부 구현예에서, 2형 고셰병 또는 3형 고셰병의 신경학적 증상은 핵상 시선 마비, 근긴장 저하, 발작, 경직, 운동 이상, 운동 또는 행동 발달 지연 또는 장애, 인지 지연 또는 장애, 운동 장애, 의도 떨림, 또는 경직이다.

[0344] 일부 구현예에서, 특정 형태의 고셰병을 가진 환자는, 예를 들어, Biegstraaten 등 (2010) *Brain* 133(10):2909-2919에 기술된 바와 같은 말초 신경병증의 증상을 나타낸다. 일부 구현예에서, 본 개시는 고셰병(예를 들어, 1형 고셰병)을 앓고 있는 대상체에서 말초 신경병증을 치료하기 위한 방법을 제공하며,방법은: (A)

Gcase 단백질을 암호화하는 서열에 작동가능하게 연결된 프로모터를 포함하는 발현 작제물을 포함하는 핵산을 포함하는 rAAV로서, Gcase 단백질을 암호화하는 서열은 서열번호 15를 포함하고; rAAV는 AAV9 혈청형을 갖는 캡시드 단백질을 포함하는, rAAV; 및 (B) 시롤리무스를 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다. 일부 구현예에서, 본 개시는 대상체에서 1형 고셰병 치료하기 위한 방법을 제공하며, 방법은: (A) Gcase 단백질을 암호화하는 서열에 작동가능하게 연결된 프로모터를 포함하는 발현 작제물을 포함하는 핵산을 포함하는 rAAV로서, Gcase 단백질을 암호화하는 서열은 서열번호 15를 포함하고; rAAV는 AAV9 혈청형을 갖는 캡시드 단백질을 포함하는, rAAV; 및 (B) 시롤리무스를 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다. 일부 구현예에서, rAAV는 1형 고셰병을 치료하기 위해 대상체에게 정맥내 투여된다.

[0345] 일부 구현예에서, 본 개시는 글루코세레브로시다아제-1(*GBA1*) 돌연변이(예를 들어, 병원성 *GBA1* 돌연변이)를 갖는 파킨슨병(PD)을 앓고 있는 대상체를 치료하기 위한 방법을 제공하며, 방법은 Gcase 단백질을 암호화하는 서열에 작동가능하게 연결된 프로모터를 포함하는 발현 작제물을 포함하는 핵산을 포함하는 rAAV를 대상체에게 투여하는 단계를 포함하되, Gcase 단백질을 암호화하는 서열은 서열번호 15를 포함하고; rAAV는 AAV9 혈청형을 갖는 캡시드 단백질을 포함한다. 일부 구현예에서, 본 개시는 *GBA1* 돌연변이를 갖는 PD를 앓고 있는 대상체를 치료하기 위한 방법을 제공하며, 방법은 Gcase 단백질을 암호화하는 서열에 작동가능하게 연결된 프로모터를 포함하는 발현 작제물을 포함하는 핵산을 포함하는 rAAV를 대상체에게 투여하는 단계를 포함하되, Gcase 단백질을 암호화하는 서열은 서열번호 15를 포함하고; rAAV는 AAV9 혈청형을 갖는 캡시드 단백질을 포함한다. 일부 구현예에서, PD의 운동 증상은 안정 시 떨림, 운동 완만증, 강직, 또는 보행 곤란이다. 일부 구현예에서, PD의 비운동 증상은 인지 장애/치매, 우울증, 망상/환각, 정신병, 수면 장애, 변비, 비뇨기 증상, 통증, 후각소실증, 삼키기 어려움, 또는 저혈압이다. 일부 구현예에서, PD를 가진 대상체는 1개의 *GBA1* 돌연변이를 갖는다. 일부 구현예에서, PD를 가진 대상체는 2개의 *GBA1* 돌연변이를 갖는다.

[0346] 일부 구현예에서, *GBA1* 돌연변이를 갖는 1형 고셰병, 2형 고셰병 또는 3형 고셰병 또는 파킨슨병을 치료하기 위한 Gcase 단백질을 암호화하는 rAAV는, 약 1 X 10^{12} 벡터 게놈(vg) 내지 약 1 X 10^{15} vg, 또는 약 1 X 10^{13} vg 내지 약 5 X 10^{14} vg, 또는 약 5 X 10^{13} vg 내지 약 5 X 10^{14} vg, 또는 약 3.4 X 10^{13} vg 내지 약 1 X 10^{14} vg, 또는 약 1 X 10^{14} vg 내지 약 5 X 10^{14} vg, 또는 약 1 X 10^{14} vg 내지 약 3 X 10^{14} vg, 또는 약 1 X 10^{14} vg 내지 2 X 10^{14} vg 범위의 투여량으로 대상체에게 투여된다. 총 투여량은 1.3 kg의 성인 뇌 중량을 가정한다(Hakim 및 Mathieson, *Neurology*, 1979;29(9 Pt 1):1209-14). 소아 대상체의 경우, 투여량은 그에 따라 조정될 수 있다. 일부 구현예에서, 소아 대상체에 대한 투여량은, 예를 들어, 21개의 부검 및 뇌영상 발표물(Vannucci 및 Vannucci, *Am J Phys Anthropol.* 2019;168(2):247-61).로부터의 추정 뇌 중량을 포함하는 복합 데이터세트에 기초하여, 연령별 뇌 중량의 추정치를 사용하여 조정될 수 있다.

[0347] 일부 구현예에서, *GBA1* 돌연변이를 갖는 파킨슨병을 치료하기 위한 Gcase 단백질을 암호화하는 rAAV는, 약 1 X 10^{14} vg, 약 2 X 10^{14} vg, 약 3 X 10^{14} vg, 약 4 X 10^{14} vg, 또는 약 5 X 10^{14} vg의 투여량으로 대상체(예를 들어, 인간 성인 대상체)에게 투여된다. 일부 구현예에서, *GBA1* 돌연변이를 갖는 파킨슨병을 치료하기 위한 rAAV는, 약 1 X 10^{14} vg(약 7.7 x 10^{10} vg/g 뇌), 약 2 X 10^{14} vg(약 1.5 x 10^{11} vg/g 뇌), 또는 약 3 X 10^{14} vg(약 1.9 x 10^{11} vg/g 뇌)의 투여량으로 대상체(예를 들어, 인간 성인 대상체)에게 투여된다. 일부 구현예에서, *GBA1* 돌연변이를 갖는 파킨슨병을 치료하기 위한 rAAV는, 약 1.4 X 10^{14} vg, 또는 약 2.8 X 10^{14} vg의 투여량으로 대상체(예를 들어, 인간 성인 대상체)에게 투여된다.

[0348] 일부 구현예에서, 2형 또는 3형 고셰병을 치료하기 위한 Gcase 단백질을 암호화하는 rAAV는, 약 5 X 10^{10} vg/g 뇌 내지 약 5 X 10^{11} vg/g 뇌 범위의 투여량으로 대상체(예를 들어, 인간 소아 대상체)에게 투여된다. 일부 구현예에서, 2형 고셰병 또는 3형 고셰병을 치료하기 위한 rAAV는, 약 1.3 X 10^{11} vg/g 뇌(약 5.9 X 10^{13} vg/g 뇌 내지 약 1,7 X 10^{14} vg/g 뇌)의 투여량으로 대상체(예를 들어, 인간 소아 대상체)에게 투여된다. 일부 구현예에서, 2형 고셰병 또는 3형 고셰병을 치료하기 위한 rAAV는, 약 1.9 X 10^{11} vg/g 뇌(약 8.6 X 10^{13} vg/g 뇌 내지 약 2.5 X 10^{14} vg/g 뇌)의 투여량으로 대상체(예를 들어, 인간 소아 대상체)에게 투여된다. 일부 구현예에서, 2형 고셰병 또는 3형 고셰병을 치료하기 위한 rAAV는, 약 7.7 X 10^{10} vg/g 뇌(약 3.4 X 10^{13} vg/g 뇌 내지

약 1 X 10^{14} vg/g 뇌)의 투여량 또는 약 2.3 X 10^{11} vg/g 뇌(약 1 X 10^{14} vg/g 뇌 내지 약 3 X 10^{14} vg/g 뇌)의 투여량으로 대상체(예를 들어, 인간 소아 대상체)에게 투여된다.

[0349] 일부 구현예에서, *GBA1* 돌연변이를 갖는 1형, 2형 또는 3형 고셰병 또는 파킨슨병을 치료하기 위한 Gcase 단백질을 암호화하는 rAAV는 단일 투여량으로 대상체에게 투여되고, rAAV는 후속하여 대상체에게 투여되지 않는다.

[0350] 일부 구현예에서, Gcase 단백질을 암호화하는 rAAV는 시스테나 마그나 내로의 단일 후두하 주사를 통해 투여된다. 일부 구현예에서, 시스테나 마그나 내로의 주사는 방사선 가이드 하에서 수행된다.

[0351] 일부 구현예에서, 본 개시는 시뉴클레인 병증 또는 파킨슨증을 앓고 있는 대상체를 치료하기 위한 방법을 제공하며, 방법은: (A) (a) 서열번호 15의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 Gcase 단백질 코딩 서열; 및 (b) 서열번호 20 또는 서열번호 47의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 억제 핵산 코딩 서열을 포함하는 이식유전자를 포함하는 발현 작제물을 포함하는 핵산을 포함하는 rAAV 벡터로서, rAAV는 AAV9 혈청형을 갖는 캡시드 단백질을 포함하는 rAAV; 및 (B) 시롤리무스를 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다.

[0352] 일부 구현예에서, 본 개시는, 다중 전신 위축증, 파킨슨병, *GBA1* 돌연변이를 갖는 파킨슨병, 루이 소체 질환, 루이 소체를 갖는 치매, *GBA1* 돌연변이를 갖는 루이 소체를 갖는 치매, 진행성 핵상 마비, 또는 피질기저 증후군을 앓고 있는 대상체를 치료하기 위한 방법을 제공하며, 방법은: (A) (a) 서열번호 15의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 Gcase 단백질 코딩 서열; 및 (b) 서열번호 20 또는 서열번호 47의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 억제 핵산 코딩 서열을 포함하는 이식유전자를 포함하는 발현 작제물을 포함하는 핵산을 포함하는 rAAV 벡터로서, rAAV는 AAV9 혈청형을 갖는 캡시드 단백질을 포함하는 rAAV; 및 (B) 시롤리무스를 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다.

[0353] 일부 구현예에서, 본 개시는 시뉴클레인 병증 또는 파킨슨증을 앓고 있는 대상체를 치료하기 위한 방법을 제공하며, 방법은: (A) 서열번호 20 또는 서열번호 47의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 억제 핵산 코딩 서열을 포함하는 이식유전자를 포함하는 발현 작제물을 포함하는 핵산을 포함하는 rAAV 벡터로서, rAAV는 AAV9 혈청형을 갖는 캡시드 단백질을 포함하는 rAAV; 및 (B) 시롤리무스를 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다.

[0354] 일부 구현예에서, 본 개시는, 다중 전신 위축증, 파킨슨병, *GBA1* 돌연변이를 갖는 파킨슨병, 루이 소체 질환, 루이 소체를 갖는 치매, *GBA1* 돌연변이를 갖는 루이 소체를 갖는 치매, 진행성 핵상 마비, 또는 피질기저 증후군을 앓고 있는 대상체를 치료하기 위한 방법을 제공하며, 방법은: (A) 서열번호 20 또는 서열번호 47의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 억제 핵산 코딩 서열을 포함하는 이식유전자를 포함하는 발현 작제물을 포함하는 핵산을 포함하는 rAAV 벡터로서, rAAV는 AAV9 혈청형을 갖는 캡시드 단백질을 포함하는 rAAV; 및 (B) 시롤리무스를 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다.

[0355] 대상체는 일반적으로 포유동물, 바람직하게는 인간이다. 일부 구현예에서, 대상체는 1개월 내지 10세(예를 들어, 1개월, 2개월, 3개월, 4개월, 5개월, 6개월, 7개월, 8개월, 9개월, 10개월, 11개월, 12개월, 13개월, 14개월, 15개월, 16개월, 17개월, 18개월, 19개월, 20개월, 21개월, 22개월, 23개월, 24개월, 3세, 4세, 5세, 6세, 7세, 8세, 9세, 10세, 또는 이들 사이의 임의의 연령)이다. 일부 구현예에서, 대상체는 2세 내지 20세이다. 일부 구현예에서, 대상체는 30세 내지 100세이다. 일부 구현예에서, 대상체는 55세 초과이다.

[0356] 일부 구현예에서, 조성물은, 예를 들어, 대상체의 뇌 및/또는 척수 내로의 직접 주사에 의해 대상체의 CNS에 직접 투여된다. CNS-직접 투여 방식의 예는 뇌내 주사, 뇌실내 주사, 수조내 주사, 실질내 주사, 척수강내 주사, 및 전술한 것의 임의의 조합을 포함하지나, 이에 한정되지는 않는다. 일부 구현예에서, 조성물은 시스테나 마그나(ICM) 주사에 의해 대상체에게 투여된다. 일부 구현예에서, 대상체의 CNS 내로의 직접 주사는 대상체의 중뇌, 선조체 및/또는 대뇌 피질에서의 이식유전자 발현(예를 들어, 제1 유전자 산물, 제2 유전자 산물, 및 해당하는 경우 제3 유전자 산물의 발현)을 초래한다. 일부 구현예에서, CNS 내로의 직접 주사는 대상체의 척수 및/또는 CSF에서의 이식유전자 발현(예를 들어, 제1 유전자 산물, 제2 유전자 산물, 및 해당하는 경우 제3 유전자 산물의 발현)을 초래한다.

[0357] 일부 구현예에서, 대상체의 CNS에 대한 직접 주사는 대류 전달 강화(CED)를 포함한다. 대류 강화 전달은 뇌의 수술적 노출 및 뇌의 표적 영역에 직접 작은 직경의 카테터를 배치한 다음, 대상체의 뇌에 직접 치료제(예를 들어, 본원에 기술된 조성물 또는 rAAV)를 주입하는 단계를 포함하는 치료 전략이다. CED는, 예를 들어, Debinski 등 (2009) *Expert Rev Neurother.* 9(10):1519-27에 기술되어 있다.

[0358] 일부 구현예에서, 조성물은 대상체에게, 예를 들어 말초 주사에 의해 말초로 투여된다. 말초 주사의 예는 피하

주사, 정맥내 주사, 동맥내 주사, 복강내 주사, 또는 전술한 것들의 임의의 조합을 포함한다. 일부 구현예에서, 말초 주사는 동맥내 주사, 예를 들어 대상체의 경동맥 내로의 주사이다.

[0359] 일부 구현예에서, 본 개시에 의해 기술된 바와 같은 조성물(예를 들어, 단리된 핵산 또는 벡터 또는 rAAV를 포함하는 조성물)은 대상체의 CNS에 말초로 그리고 직접적으로 투여된다. 예를 들어, 일부 구현예에서, 동맥내 주사(예를 들어, 경동맥 내 주사) 및 실질내 주사(예를 들어, CED에 의한 실질내 주사)에 의해 대상체에게 조성물이 투여된다. 일부 구현예에서, CNS에 대한 직접 주사 및 말초 주사는 동시에 이루어진다(예를 들어, 동시에 발생함). 일부 구현예에서, 직접 주사는 말초 주사 전에(예를 들어, 1분 내지 1주일, 또는 그 이전에) 수행된다. 일부 구현예에서, 직접 주사는 말초 주사 후에(예를 들어, 1분 내지 1주일, 또는 그 이후에) 수행된다.

[0360] 일부 구현예에서, 대상체에게는 면역억제제가 본원에 기술된 바와 같은 조성물 이전에(예를 들어, 1개월 내지 1분 전에) 또는 동시에 투여된다. 일부 구현예에서, 면역억제제는 코르티코스테로이드(예를 들어, 프레드니손, 부데소니드 등), mTOR 억제제(예를 들어, 시롤리무스, 에베롤리무스 등), 항체(예를 들어, 아달리무맙, 에타너셉트, 나탈리주맙 등), 또는 메토트렉세이트이다.

[0361] 일부 구현예에서, 대상체에게는 1일차(윈도우 -3일차 내지 -1일차)에 약 6 mg의 시롤리무스 경구 부하 투여량이 투여된다(0일차는 rAAV의 투여임). 예를 들어, 시롤리무스 투여량은 -3일차, -2일차, 또는 -1일차에 투여될 수 있다. 일부 구현예에서, 소아 대상체(예를 들어, 0개월 내지 24개월의 인간 대상체)에게 약 1.0 mg/m^2의 시롤리무스 경구 부하 투여량이 -1일차(윈도우 -2일차 내지 -1일차)에 투여된다(여기서 0일차는 rAAV의 투여임). 예를 들어, 각각 약 1.0 mg/m^2의 2가지 시롤리무스 투여량이 -2일차 또는 -1일차에 소아 대상체에게 투여될 수 있다. 일부 구현예에서, 약 2 mg의 후속 시롤리무스 유지 투여량이 투여되고, 3개월차까지 약 4 ng/mL(약 2 ng/mL 내지 약 8 ng/mL 범위)의 혈청 저점 수준을 유지하도록 필요에 따라 조정된다. 일부 구현예에서, 소아 대상체의 경우, 약 0.6 mg/m^2/일 내지 약 1.0 mg/m^2/일의 후속 시롤리무스 유지 투여량이 투여되고, 3개월차까지 약 4 ng/mL(약 2 ng/mL 내지 약 8 ng/mL 범위)의 혈청 저점 수준을 유지하도록 필요에 따라 조정된다. 일부 구현예에서, 2 mg의 후속 시롤리무스 유지 투여량이 투여되고, 3개월차까지 약 4 ng/mL 내지 약 9 ng/mL의 혈청 저점 수준을 유지하도록 필요에 따라 조정된다. 일부 구현예에서, 시롤리무스는 (3개월차의 종료 후) 후속 15일 내지 30일 동안 점감된다. 일부 구현예에서, 저점 수준은 시롤리무스 투여량의 투여 전에 수집된다.

[0362] 일부 구현예에서, 대상체에게는 0일차(윈도우 -1일차 내지 0일차)에 약 1 g의 메틸프레드니솔론 정맥내 부하 투여량이 투여된 후, rAAV 투여 다음 날부터 14일 동안 약 30 mg의 프레드니손이 경구 투여된다. 일부 구현예에서, 소아 대상체(예를 들어, 0개월 내지 24개월의 인간 대상체)에게는 rAAV의 투여 전 0일차에 약 10 mg/kg의 메틸프레드니솔론 정맥내 부하 투여량이 투여되고, 이어서 rAAV의 투여일부터 14일 동안 약 0.5 mg/kg의 프레드니손 또는 프레드니솔론이 경구 투여된다. 일부 구현예에서, 프레드니손 또는 프레드니솔론은 후속 7일 내지 8일 동안 점감된다. 일부 구현예에서, 프레드니손 또는 프레드니솔론은 14일 동안 1일 0.5 mg/kg의 투여량으로 병용 약물로서 경구 투여된 후, 4일 동안 매일 0.25 mg/kg으로 투여된 다음, 4일 동안 매일 0.1 mg/kg에서 0 mg/kg으로 서서히 점검된다. 일부 구현예에서, 메틸프레드니솔론 및 프레드니손 또는 프레드니솔론 투여는 전술한 시롤리무스 투여와 조합된다. 일부 구현예에서, 프레드니손 또는 프레드니솔론의 보다 높은 투여량 또는 보다 긴 점감이 사용될 수 있다(예를 들어, 상승된 AST/ALT의 경우).

[0363] *GBA1* 돌연변이로 파키슨병을 앓고 있는 대상체를 치료하기 위한 방법이 본원에 추가로 제공되며, 방법은: (A) rAAV로서: (i) 핵산을 포함하는 rAAV 벡터로서, 5'에서 3'으로의 순서로: (a) AAV2 ITR; (b) CMV 인핸서;(c) CBA 프로모터; (d) Gcase 단백질을 암호화하는 이식유전자 삽입체로서, 이식유전자 삽입체는 서열번호 15의 뉴클레오티드 서열을 포함하는, 이식유전자 삽입체; (e) WPRE; (f) 소 성장 호르몬 polyA 신호 꼬리; 및(g) AAV2 ITR을 포함하는, rAAV 벡터; 및 (ii) AAV9 캡시드 단백질; 및 (B) 시롤리무스를 대상체에게 투여하는 단계를 포함하되; 시롤리무스는 (A) rAAV 투여 전 1일 내지 3일 범위에서 약 6 mg의 투여량으로 경구 투여되고; (B) rAAV 투여 후 약 3개월 동안 약 2 ng/mL 내지 약 8 ng/mL의 혈청 저점 수준을 유지하도록 약 2 mg의 투여량으로 경구 투여되며; 여기에서 시롤리무스 투여는 rAAV 투여 후 3개월 기간 종료 후 15일 내지 30일 동안 점감된다.

[0364] 2형 고셰병 또는 3형 고셰병을 앓고 있는 대상체(예를 들어, 소아 대상체)를 치료하기 위한 방법이 본원에 추가로 제공되며, 방법은: (A) rAAV로서: (i) 핵산을 포함하는 rAAV 벡터로서, 5'에서 3'으로의 순서로: (a) AAV2 ITR; (b) CMV 인핸서;(c) CBA 프로모터; (d) Gcase 단백질을 암호화하는 이식유전자 삽입체로서, 이식유전자 삽입체는 서열번호 15의 뉴클레오티드 서열을 포함하는, 이식유전자 삽입체; (e) WPRE; (f) 소 성장 호르몬 polyA 신호 꼬리; 및(g) AAV2 ITR을 포함하는, rAAV 벡터; 및 (ii) AAV9 캡시드 단백질; 및 (B) 시롤리무스를 대상체

에게 투여하는 단계를 포함하되; 시롤리무스는 (A) 각각 약 1.0 mg/m^2의 2회의 투여량으로 경구 투여되되 2회의 투여량은 rAAV 투여 전 1일차 또는 3일차에 투여되고; 여기에서 제1 투여량은 아침에 투여되고 제2 투여량은 2회의 투여량이 투여되는 날의 저녁에 투여되며; (B) rAAV 투여 후 약 3개월 동안 약 2 ng/mL 내지 약 8 ng/mL의 혈청 저점 수준을 유지하도록 약 0.6 mg/m^2/일 내지 약 1.0 mg/m^2/일의 투여량으로 경구 투여되며; 여기에서 시롤리무스 투여는 rAAV 투여 후 3개월 기간 종료 후 15일 내지 30일 동안 점감된다.

[0365] 본 개시는 *GBA1* 돌연변이, 1형 고셰병, 2형 고셰병 또는 3형 고셰병을 앓고 있거나 앓고 있는 것으로 의심되는 대상체를 치료하기 위한 방법을 제공하며, 이는 (1) 야생형 Gcase를 암호화하는 *GBA1* 유전자의 기능적 카피를 전달하는 rAAV의 투여 및 (2) 면역억제제 요법의 투여를 조합한다.

[0366] 본 개시는 또한 시뉴클레인병증 또는 파킨슨증을 앓고 있거나 앓고 있는 것으로 의심되는 대상체를 치료하기 위한 방법을 제공하며, 이는 (1) 야생형 Gcase를 암호화하는 *GBA1* 유전자의 기능적 카피 및 α-시뉴클레인을 표적화하는 억제 핵산 코딩 서열을 전달하는 rAAV의 투여 및 (2) 면역억제 요법의 투여를 조합한다.

[0367] 본 개시는 또한 시뉴클레인병증 또는 파킨슨증을 앓고 있거나 앓고 있는 것으로 의심되는 대상체를 치료하기 위한 방법을 제공하며, 이는 (1) α-시뉴클레인을 표적화하는 억제 핵산 코딩 서열을 전달하는 rAAV의 투여 및 (2) 면역억제 요법의 투여를 조합한다.

[0368] 일부 구현예에서, 면역억제 요법은 시롤리무스; 메틸프레드니솔론; 항-CD20 항체; 및 프레드니손 중 하나 이상의 투여를 포함한다. 일부 구현예에서, 면역억제 요법은 시롤리무스; 메틸프레드니솔론; 항-CD20 항체; 및 프레드니손 모두의 투여를 포함한다. 일부 구현예에서, 면역억제 요법은 시롤리무스; 메틸프레드니솔론; 항-CD20 항체; 및 프레드니손 모두의 투여로 이루어진다.. 일부 구현예에서, 항-CD20 항체는 리툭시맙이다.

[0369] 일부 구현예에서, 면역억제 요법은 대상체에서 AAV 관련 및/또는 이식유전자 단백질 발현 관련 면역 반응을 억제한다. 일부 구현예에서, 면역억제 요법은 대상체에서 AAV9 캡시드 면역 반응을 감소시킨다. 일부 구현예에서, 면역억제 요법은 대상체에서 CSF 염증 반응을 감소시킨다.

[0370] 글루코세레브로시다아제-1(*GBA1*) 돌연변이로 파키슨병을 앓고 있거나 앓고 있는 것으로 의심되는 대상체를 치료하기 위한 방법이 본원에 제공되며, 방법은:

[0371] 재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)로서:

[0372] (i) 글루코세레브로시다아제(Gcase) 단백질을 암호화하는 이식유전자 삽입체에 작동가능하게 연결된 프로모터를 포함하는 발현 작제물을 포함하는 핵산을 포함하되, 이식유전자 삽입체는 서열번호 15의 뉴클레오티드 서열을 포함하는, rAAV 벡터; 및

[0373] (ii) 아데노-연관 바이러스(AAV) 9 캡시드 단백질; 및

[0374] (A) 시롤리무스;

[0375] (B) 메틸프레드니솔론;

[0376] (C) 리툭시맙; 및

[0377] (D) 프레드니손 중 하나 이상을 포함하는, 재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)를 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다.

[0378] 또한, *GBA1* 돌연변이로 파키슨병을 앓고 있거나 앓고 있는 것으로 의심되는 대상체를 치료하기 위한 방법이 본원에 제공되며, 방법은:

[0379] 재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)로서:

[0380] (i) 핵산을 포함하는 rAAV 벡터로서, 5'에서 3'으로의 순서로:

[0381] (a) 아데노-연관 바이러스(AAV) 2 ITR;

[0382] (b) 거대세포바이러스(CMV) 인핸서;

[0383] (c) 닭 베타 액틴(CBA) 프로모터;

[0384] (d) Gcase 단백질을 암호화하는 이식유전자 삽입체로서, 이식유전자 삽입체는 서열번호 15의 뉴클레오티드 서열

을 포함하는, 이식유전자 삽입체;

[0385] (e)우드척 간염 바이러스 전사후 조절 요소(WPRE);

[0386] (f) 소 성장 호르몬 polyA 신호 꼬리; 및

[0387] (g) AAV2 역위 말단 반복(ITR)을 포함하는, rAAV 벡터; 및

[0388] (ii) AAV9 캡시드 단백질; 및

[0389] (A) 시롤리무스;

[0390] (B) 메틸프레드니솔론;

[0391] (C) 리툭시맙; 및

[0392] (D) 프레드니손 중 하나 이상을 포함하는, 재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)를 대상체에게 투여하는 단계를 포함하되,

[0393] rAAV는 약 5 X 10^{13} vg 내지 약 5 X 10^{14} vg 범위의 투여량으로 대상체에게 투여된다.

[0394] 2형 고셰병 또는 3형 고셰병을 앓고 있거나 앓고 있는 것으로 의심되는 대상체를 치료하기 위한 방법이 본원에 제공되며, 방법은:

[0395] 재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)로서:

[0396] (i) 글루코세레브로시다아제(Gcase) 단백질을 암호화하는 이식유전자 삽입체에 작동가능하게 연결된 프로모터를 포함하는 발현 작제물을 포함하는 핵산을 포함하되, 이식유전자 삽입체는 서열번호 15의 뉴클레오티드 서열을 포함하는, rAAV 벡터; 및

[0397] (ii) 아데노-연관 바이러스(AAV) 9 캡시드 단백질; 및

[0398] (A) 시롤리무스;

[0399] (B) 메틸프레드니솔론;

[0400] (C) 리툭시맙; 및

[0401] (D) 프레드니손 중 하나 이상을 포함하는, 재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)를 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다.

[0402] 또한, 2형 고셰병 또는 3형 고셰병을 앓고 있거나 앓고 있는 것으로 의심되는 대상체를 치료하기 위한 방법이 본원에 제공되며, 방법은:

[0403] 재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)로서:

[0404] (i) 핵산을 포함하는 rAAV 벡터로서, 5'에서 3'으로의 순서로:

[0405] (a) 아데노-연관 바이러스(AAV) 2 ITR;

[0406] (b) 거대세포바이러스(CMV) 인핸서;

[0407] (c) 닭 베타 액틴(CBA) 프로모터;

[0408] (d) Gcase 단백질을 암호화하는 이식유전자 삽입체로서, 이식유전자 삽입체는 서열번호 15의 뉴클레오티드 서열을 포함하는, 이식유전자 삽입체;

[0409] (e)우드척 간염 바이러스 전사후 조절 요소(WPRE);

[0410] (f) 소 성장 호르몬 polyA 신호 꼬리; 및

[0411] (g) AAV2 역위 말단 반복(ITR)을 포함하는, rAAV 벡터; 및

[0412] (ii) AAV9 캡시드 단백질; 및

[0413] (A) 시롤리무스;

[0414] (B) 메틸프레드니솔론;

[0415] (C) 리툭시맙; 및

[0416] (D) 프레드니손 중 하나 이상을 포함하는, 재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)를 대상체에게 투여하는 단계를 포함하되,

[0417] rAAV는 약 5 X 10^{10} vg/g 뇌 내지 약 5 X 10^{11} vg/g 뇌 범위의 투여량으로 대상체에게 투여된다.

[0418] 또한, 1형 고셰병을 앓고 있거나 앓고 있는 것으로 의심되는 대상체를 치료하기 위한 방법이 본원에 제공되며, 방법은:

[0419] 재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)로서:

[0420] (i) 글루코세레브로시다아제(Gcase) 단백질을 암호화하는 이식유전자 삽입체에 작동가능하게 연결된 프로모터를 포함하는 발현 작제물을 포함하는 핵산을 포함하되, 이식유전자 삽입체는 서열번호 15의 뉴클레오티드 서열을 포함하는, rAAV 벡터; 및

[0421] (ii) 아데노-연관 바이러스(AAV) 9 캡시드 단백질; 및

[0422] (A) 시롤리무스;

[0423] (B) 메틸프레드니솔론;

[0424] (C) 리툭시맙; 및

[0425] (D) 프레드니손 중 하나 이상을 포함하는, 재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)를 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다.

[0426] 시뉴클레인 병증 또는 파킨슨증을 앓고 있거나 앓고 있는 것으로 의심되는 대상체를 치료하기 위한 방법이 본원에 제공되며, 방법은:

[0427] 재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)로서:

[0428] (i) 이식유전자를 포함하는 발현 작제물을 포함하는 핵산을 포함하는 rAAV 벡터로서, 이식유전자는,

[0429] (a) 서열번호 15의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 Gcase 단백질 코딩 서열; 및

[0430] (b) 서열번호 20의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 억제 핵산 코딩 서열을 포함하는, rAAV 벡터; 및

[0431] (ii) 아데노-연관 바이러스(AAV) 9 캡시드 단백질; 및

[0432] (A) 시롤리무스;

[0433] (B) 메틸프레드니솔론;

[0434] (C) 리툭시맙; 및

[0435] (D) 프레드니손 중 하나 이상을 포함하는, 재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)를 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다.

[0436] 시뉴클레인 병증 또는 파킨슨증을 앓고 있거나 앓고 있는 것으로 의심되는 대상체를 치료하기 위한 방법이 본원에 제공되며, 방법은:

[0437] 재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)로서:

[0438] (i) 서열번호 20의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 억제 핵산 코딩 서열을 포함하는 이식유전자를 포함하는 발현 작제물을 포함하는 핵산을 포함하는 rAAV 벡터; 및

[0439] (ii) 아데노-연관 바이러스(AAV) 9 캡시드 단백질; 및

[0440] (A) 시롤리무스;

[0441] (B) 메틸프레드니솔론;

[0442] (C) 리툭시맙; 및

[0443] (D) 프레드니손 중 하나 이상을 포함하는, 재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)를 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다.

[0444] 대상체에서 면역 반응을 억제하기 위한 본원에 개시된 방법에서, 면역억제는 면역억제제(예를 들어, 시롤리무스, 메틸프레드니솔론, 항-CD20 항체 및 프레드니손)에 의해 생성되며, 유전자 요법(예를 들어, rAAV)에 의해서는 생성되지 않는다.

[0445] 일부 구현예에서, 메틸프레드니솔론은 rAAV의 투여 1일 전에 약 1000 mg의 투여량으로 정맥내 투여된다. 일부 구현예에서, 메틸프레드니솔론은 rAAV의 투여와 동일한 날에 약 1000 mg의 투여량으로 정맥내 투여된다.

[0446] 일부 구현예에서, 프레드니손은, (A) 약 1000 mg의 메틸프레드니솔론의 투여 다음 날에 시작하여 14일 동안 1일 약 30 mg의 투여량으로 경구 투여되고; (B) (A)의 14일 기간이 끝난 후 7일 동안 줄인다. 일부 구현예에서, 보다 긴 프레드니손 점감은 초기 14일 점감의 종료 시 ALT 및/또는 AST >3 X 정상 상한치(ULN)를 나타내는 대상체에서 추가로 4주에 걸쳐 사용된다.

[0447] 일부 구현예에서, 항-CD20 항체(예를 들어, 리툭시맙)는 rAAV의 투여 14일 전 내지 1일 전 사이의 어느 하루에 약 1000 mg의 투여량으로 정맥내 투여된다.

[0448] 일부 구현예에서, 메틸프레드니솔론은 항-CD20 항체(예를 들어, 리툭시맙)가 투여되기 전에 투여된다. 일부 구현예에서, 메틸프레드니솔론은 항-CD20 항체(예를 들어, 리툭시맙)가 투여되기 약 30분 전에 투여된다. 일부 구현예에서, 메틸프레드니솔론 및 항-CD20 항체(예를 들어, 리툭시맙)는 rAAV의 투여 전날에 모두 투여되고; 메틸프레드니솔론은 항-CD20 항체(예를 들어, 리툭시맙)가 투여되기 적어도 약 30분 전에 투여된다. 일부 구현예에서, 항-CD20 항체(예를 들어, 리툭시맙)는 rAAV의 투여 14일 전 내지 2일 전의 어느 하루에 투여되고; 메틸프레드니솔론은 항-CD20 항체(예를 들어, 리툭시맙)이 투여되는 동일한 날에, 항-CD20 항체(예를 들어, 리툭시맙)가 투여되기 적어도 약 30분 전 약 100 mg의 투여량으로 정맥내 투여된다.

[0449] 일부 구현예에서, 시롤리무스는 (A) rAAV의 투여 3일, 2일 또는 1일 전 약 6 mg의 단일 투여량으로 경구 투여되고; (B) rAAV의 투여 후 약 90일 동안 약 4 ng/ml 내지 약 9 ng/mL의 혈청 저점 수준을 유지하기 위해 일당 약 2 mg의 투여량으로 경구 투여되며; 여기에서 시롤리무스의 일당 약 2 mg의 제1 투여량은 약 시롤로무스의 약 6 mg의 단일 투여량이 투여된 다음 날 투여된다. 일부 구현예에서, 시롤리무스 투여는 rAAV의 투여 후 90일 기간의 종료 후 15일 내지 30일 동안 점감 투여된다.

[0450] 본 개시는 *GBA1* 돌연변이를 갖는 파킨슨병, 1형 고셰병, 2형 고셰병 또는 3형 고셰병, 시뉴클레인병증 또는 파킨슨병증을 앓고 있거나 앓고 있는 것으로 의심되는 대상체를 치료하기 위한 방법이 본원에 제공되며, 방법은:

[0451] (i) 메틸프레드니솔론을 약 1000 mg의 투여량으로 정맥내 투여하는 단계;

[0452] (ii) 단계 (i)의 메틸프레드니솔론 투여 후 약 30분에 약 1000 mg의 투여량으로 리툭시맙을 정맥내 투여하는 단계;

[0453] (iii) 단계 (i)의 메틸프레드니솔론 투여 다음 날, 본원에 기술된 바와 같은 rAAV를 시스테나 마그나 내로 주사로 투여하는 단계;

[0454] (iv) 단계 (i)의 메틸프레드니솔론 투여 다음 날에 시작하여 14일 동안, 일당 약 30 mg의 투여량으로 프레드니손을 경구 투여하는 단계 및

[0455] (v) 단계 (iv)의 14일 기간 종료 후 7일 동안 프레드니손을 점감 투여하는 단계;

[0456] (vi) 단계 (iii)의 rAAV 투여 전 3일, 2일 또는 일당 약 6 mg의 단일 투여량으로 시롤리무스를 경구 투여하는 단계;

[0457] (vii) 단계 (iii)의 rAAV 투여 후 약 90일 동안 약 4 ng/ml 내지 약 9 ng/mL의 혈청 저점 수준을 유지하기 위해 일당 약 2 mg의 투여량으로 시롤리무스를 경구 투여하는 단계로서, 시롤리무스의 일당 약 2 mg의 제1 투여량은 시롤리무스의 약 6 mg의 단일 투여의 다음날 투여되는, 단계; 및

[0458] (viii) 단계(vii)의 90일 기간 종료 후 15일 내지 30일 동안 시롤리무스를 점감 투여하는 단계를 포함한다.

[0459] 본 개시는 *GBA1* 돌연변이를 갖는 파킨슨병, 1형 고셰병, 2형 고셰병 또는 3형 고셰병, 시뉴클레인병증 또는 파킨슨병증을 앓고 있거나 앓고 있는 것으로 의심되는 대상체를 치료하기 위한 방법이 본원에 제공되며, 방법은:

[0460] (i) 단계 (iv)의 rAAV 투여 전 14일 내지 2일 사이의 어느 하루에 약 100 mg의 투여량으로 메틸프레드니솔론을 정맥내 투여하는 단계;

[0461] (ii) 단계 (i)의 메틸프레드니솔론 투여 후 약 30분에 약 1000 mg의 투여량으로 리툭시맙을 정맥내 투여하는 단계;

[0462] (iii) 단계 (iv)의 rAAV 투여 1일 전 또는 동일한 날에 약 1000 mg의 투여량으로 메틸프레드니솔론을 정맥내 투여하는 단계;

[0463] (iv) 본원에 개시된 바와 같은 rAAV를 시스테나 마그나 내로 주사하는 단계;

[0464] (v) 단계 (iii)의 메틸프레드니솔론 투여 다음 날에 시작하여 14일 동안, 일당 약 30 mg의 투여량으로 프레드니손을 경구 투여하는 단계 및

[0465] (vi) 단계 (v)의 14일 기간 종료 후 7일 동안 프레드니손을 점감 투여하는 단계;

[0466] (vii) 단계 (iv)의 rAAV 투여 전 3일, 2일 또는 일당 약 6 mg의 단일 투여량으로 시롤리무스를 경구 투여하는 단계;

[0467] (vii) 단계 (iv)의 rAAV 투여 후 약 90일 동안 약 4 ng/ml 내지 약 9 ng/mL의 혈청 저점 수준을 유지하기 위해 일당 약 2 mg의 투여량으로 시롤리무스를 경구 투여하는 단계로서, 시롤리무스의 일당 약 2 mg의 제1 투여량은 시롤리무스의 약 6 mg의 단일 투여의 다음날 투여되는, 단계; 및

[0468] (ix) 단계(viii)의 90일 기간 종료 후 15일 내지 30일 동안 시롤리무스를 점감 투여하는 단계를 포함한다.

[0469] 본 개시는 *GBA1* 돌연변이를 갖는 파킨슨병, 1형 고셰병, 2형 고셰병 또는 3형 고셰병, 시뉴클레인병증 또는 파킨슨병증을 앓고 있거나 앓고 있는 것으로 의심되는 대상체에서 면역 반응을 억제하기 위한 방법이 본원에 제공되며, 방법은:

[0470] (i) 메틸프레드니솔론을 약 1000 mg의 투여량으로 정맥내 투여하는 단계;

[0471] (ii) 단계 (i)의 메틸프레드니솔론 투여 후 약 30분에 약 1000 mg의 투여량으로 리툭시맙을 정맥내 투여하는 단계;

[0472] (iii) 단계 (i)의 메틸프레드니솔론 투여 다음 날, 본원에 기술된 바와 같은 rAAV를 시스테나 마그나 내로 주사로 투여하는 단계;

[0473] (iv) 단계 (i)의 메틸프레드니솔론 투여 다음 날에 시작하여 14일 동안, 일당 약 30 mg의 투여량으로 프레드니손을 경구 투여하는 단계 및

[0474] (v) 단계 (iv)의 14일 기간 종료 후 7일 동안 프레드니손을 점감 투여하는 단계;

[0475] (vi) 단계 (iii)의 rAAV 투여 전 3일, 2일 또는 일당 약 6 mg의 단일 투여량으로 시롤리무스를 경구 투여하는 단계;

[0476] (vii) 단계 (iii)의 rAAV 투여 후 약 90일 동안 약 4 ng/ml 내지 약 9 ng/mL의 혈청 저점 수준을 유지하기 위해 일당 약 2 mg의 투여량으로 시롤리무스를 경구 투여하는 단계로서, 시롤리무스의 일당 약 2 mg의 제1 투여량은 시롤리무스의 약 6 mg의 단일 투여의 다음날 투여되는, 단계; 및

[0477] (viii) 단계(vii)의 90일 기간 종료 후 15일 내지 30일 동안 시롤리무스를 점감 투여하는 단계를 포함한다.

[0478] 본 개시는 *GBA1* 돌연변이를 갖는 파킨슨병, 1형 고셰병, 2형 고셰병 또는 3형 고셰병, 시뉴클레인병증 또는 파킨슨병증을 앓고 있거나 앓고 있는 것으로 의심되는 대상체에서 면역 반응을 억제하기 위한 방법이 본원에 제공되며, 방법은:

[0479] (i) 단계 (iv)의 rAAV 투여 전 14일 내지 2일 사이의 어느 하루에 약 100 mg의 투여량으로 메틸프레드니솔론을 정맥내 투여하는 단계;

[0480] (ii) 단계 (i)의 메틸프레드니솔론 투여 후 약 30분에 약 1000 mg의 투여량으로 리툭시맙을 정맥내 투여하는 단계;

[0481] (iii) 단계 (iv)의 rAAV 투여 1일 전 또는 동일한 날에 약 1000 mg의 투여량으로 메틸프레드니솔론을 정맥내 투여하는 단계;

[0482] (iv) 본원에 개시된 바와 같은 rAAV를 시스테나 마그나 내로 주사하는 단계;

[0483] (v) 단계 (iii)의 메틸프레드니솔론 투여 다음 날에 시작하여 14일 동안, 일당 약 30 mg의 투여량으로 프레드니손을 경구 투여하는 단계 및

[0484] (vi) 단계 (v)의 14일 기간 종료 후 7일 동안 프레드니손을 점감 투여하는 단계;

[0485] (vii) 단계 (iv)의 rAAV 투여 전 3일, 2일 또는 일당 약 6 mg의 단일 투여량으로 시롤리무스를 경구 투여하는 단계;

[0486] (vii) 단계 (iv)의 rAAV 투여 후 약 90일 동안 약 4 ng/ml 내지 약 9 ng/mL의 혈청 저점 수준을 유지하기 위해 일당 약 2 mg의 투여량으로 시롤리무스를 경구 투여하는 단계로서, 시롤리무스의 일당 약 2 mg의 제1 투여량은 시롤리무스의 약 6 mg의 단일 투여의 다음날 투여되는, 단계; 및

[0487] (ix) 단계(viii)의 90일 기간 종료 후 15일 내지 30일 동안 시롤리무스를 점감 투여하는 단계를 포함한다.

[0488] 일부 구현예에서, 대상체의 면역 반응은 rAAV에 대한 면역 반응이다. 일부 구현예에서, 면역 반응은 T 세포 반응이다. 일부 구현예에서, 면역 반응은 B 세포 반응이다. 일부 구현예에서, 면역 반응은 항체 반응이다. 일부 구현예에서, 면역 반응은 백혈구 증가증이다. 일부 구현예에서, 백혈구증가증은 뇌척수액(CSF) 백혈구증가증이다. 일부 구현예에서, 면역 반응은 비정상적인 수준의 CSF 단백질이다. 일부 구현예에서, CSF 단백질의 비정상적인 수준은 70 mg/dL 초과이다.

[0489] 일부 구현예에서, 예방적 IV 코르티코스테로이드 치료(T 세포 및 B 세포 둘 모두를 표적화함)는 rAAV로 치료하기 전날에 시작되며, 경구 치료는 14일 동안 지속되고, 이어서 7일 동안 점감이 이어진다. T 세포를 주로 표적화하는 시롤리무스 치료는 rAAV 치료 전날에 시작되며, 90일 동안 지속된 후 점감된다. B-세포를 주로 표적화하는 리툭시맙은, 바람직하게는 rAAV 치료 전날에 1회 투여되며, 그 활성은 6개월 동안 지속될 것으로 예상된다.

[0490] 일부 구현예에서, 대상체는 코르티코스테로이드, 리툭시맙, 및 시롤리무스로 이루어진 면역억제 요법을 받는다. 대상체는 -1일차(-1일차 또는 0일차에 허용됨)에 메틸프레드니솔론 1000 mg의 부하 투여량을 IV 펄스로 투여받는다. 30 mg/일 투여량의 프레드니손을 1000 mg IV 메틸프레드니솔론 펄스 다음 날(0일차 또는 1일차)부터 14일 동안 병용 약물로 경구 투여한 다음, 후속 7일 동안 점감한다. 대상체는 -14일차와 -1일차 사이의 어느 날에 1000 mg의 리툭시맙 1회 투여량을 IV로 투여받는다. 리툭시맙과 연관된 주입 관련 반응(IRR)의 위험과 중증도를 완화하기 위해, 대상체는 IV 리툭시맙을 투여받기 전에 IV 메틸프레드니솔론을 투여받는다. -1일차에 리툭시맙 투여량을 투여하기 위해, 대상체는 전술한 1000 mg IV 메틸프레드니솔론 펄스 후 적어도 30분에 리툭시맙 주입을 받는다. -14일차와 -2일차 사이에 리툭시맙 투여량을 투여하는 경우, 대상체는 IV 리툭시맙을 투여받기 약 30분 전에 100 mg의 메틸프레드니솔론 IV 주입을 받는다. 대상체는 -1일차(-3일차 내지 -1일차의 윈도우)에 6 mg의 시롤리무스 경구 부하 투여량을 투여받는다. 2 mg/일의 후속 시롤리무스 경구 유지 투여량은 0일차(또는 시로리무스 부하 투여량이 -3일차 또는 -2일차에 투여되는 경우, 시롤리무스 부하 투여량 다음 날)에 시작하는 병용 약물로서 제공되며, 필요한 경우 90일 동안 6 ng/mL(4 내지 9 ng/mL 범위)의 혈청 최저 수준을 유지하도록 90일 동안 조정된다. 그런 다음, 이어지는 15 내지 30일 동안 시롤리무스를 점감한다. 코르티코스테로이드 및 시롤리무스의 보다 높은 투여량 또는 더 긴 점감이 사용될 수 있다.

[0491] 일부 구현예에서, 보다 긴 점감, 또는 면역억제 치료의 재개가 사용될 수 있다(예를 들어, AST 또는 ALT 상승, CSF의 염증성 변화, 또는 다른 의심되는 면역계 반응의 경우).

[0492] 일부 구현예에서, 시롤리무스, 메틸프레드니솔론, 리툭시맙 또는 프레드니손이 아닌 추가의 면역억제제가 대상체에게 추가로 투여된다.

[0493] 일부 구현예에서, 본원에 개시된 방법은 면역 반응과 일치하는 임상 징후 또는 증상에 기초하여 면역억제제의 투여량 증가, 장기간의 점감 요법, 추가 제제의 사용, 또는 치료의 재개를 포함할 수 있으며, 이는 예를 들어 다음과 같다:

[0494] · 백혈구 수(WBC) > 30 mm^3 및/또는 고 뇌척수액(CSF) 단백질(> 70 mg/dL)을 동반한 무증상성 백혈구 증가증

[0495] · 임상적 증상을 동반하는 CSF 백혈구 증가증 및/또는 단백질 증가(기저 FTD 증상의 대상부전 포함)

[0496] · 신경학적 검사 및/또는 치료 유도 신경병증 평가 척도(TNAS)에 기반한 감각 증상의 발발

[0497] · 간염 증상(예를 들어, 황달, 피로)과 조합된 알라닌 아미노전이효소(ALT) 및/또는 아스파르테이트 아미노전

이효소(AST) 상승, > 5 X 정상 상한치(ULN)

[0498] · 임상 증상의 유무와 상관없는 ALT 및/또는 AST 상승, > 10 X ULN.

[0499] 대상체에게 투여되는 본 개시에 의해 기술된 바와 같은 조성물(예를 들어, 단리된 핵산 또는 벡터 또는 rAAV를 포함하는 조성물)의 양은 투여 방법에 따라 달라질 것이다. 예를 들어, 일부 구현예에서, 본원에 기술된 바와 같은 rAAV는 약 10^{9} 게놈 카피(GC)/kg 내지 약 10^{14} GC/kg(예를 들어, 약 10^{9} GC/kg, 약 10^{10} GC/kg, 약 10^{11} GC/kg, 약 10^{12} GC/kg, 약 10^{12} GC/kg, 또는 약 10^{14} GC/kg)의 역가로 대상체에게 투여된다. 일부 구현예에서, 대상체에게 높은 역가(예를 들어, > 10^{12} rAAV의 게놈 카피 GC/kg)가 CSF 공간에 주사되거나, 실질내 주사에 의해 투여된다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 바와 같은 rAAV는 정맥내 주사에 의해 약 1 x 10^{10} 벡터 게놈(vg) 내지 약 1 x 10^{17} vg 범위의 투여량으로 대상체에게 투여된다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 바와 같은 rAAV는 시스테나 마그나 내로 주사에 의해 약 1 x 10^{10} vg 내지 약 1 x 10^{16} vg 범위의 투여량으로 대상체에게 투여된다.

[0500] 본 개시에서 기술된 바와 같은 조성물(예를 들어, 단리된 핵산 또는 벡터 또는 rAAV를 포함하는 조성물)은 1회 또는 다회(예를 들어, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20회 이상) 대상체에게 투여될 수 있다. 일부 구현예에서, 조성물은 예를 들어 주입 펌프를 통해 대상체에게 연속적으로(예를 들어, 만성적으로) 투여된다.

[0501] **실시예**

[0502] ***실시예 1: rAAV 벡터***

[0503] AAV 벡터는 삼중 플라스미드 형질감염을 위한 HEK293 세포와 같은 세포를 사용하여 생성된다. ITR 서열은 각각의 관심 이식유전자에 대한 프로모터/인핸서 요소, 3' polyA 신호, 및 WPRE 요소와 같은 번역 후 신호를 포함하는 발현 작제물의 측면에 위치한다. 다수의 유전자 산물은, 단백질 서열의 융합에 의해, *GBA1* 및 *LIMP2* 및/또는 프로사포신과 같이, 동시에 발현될 수 있거나; T2A 또는 P2A와 같은 2A 펩티드 링커를 사용하여 발현될 수 있으며, 이는 펩티드 결합의 생성 방지로 인해 아미노산이 첨가된 2개의 펩티드 단편을 유도하거나; IRES 요소를 사용하거나; 2개의 별도의 발현 카세트를 사용하는 발현에 의해 발현될 수 있다. 발현된 유전자의 상류에 효율적으로 스플라이싱되는 짧은 인트론 서열의 존재는 발현 수준을 개선할 수 있다. shRNA 및 다른 조절 RNA는 이들 서열 내에 잠재적으로 포함될 수 있다. 본 개시에서 기술된 rAAV 벡터를 포함하는 플라스미드의 예는 도 1 내지 6, 도 21 내지 27, 및 도 55 내지 58에 도시되고, 아래 표 2에 제시되어 있다.

[표 2]

[0504]

명칭	프로모터 1	shRNA	CDS1	PolyA 1	비시스트론 요소	프로모터 2	CDS 2	PolyA 2	ITR 간 길이
CMVe_CBAp_GBA1_WPRE_bGH	CBA		GBA1	WPRE-bGH					3741
LT1s_JetLong_mRNAiaSYn_SCARB2-T2A-GBA1_bGH	JetLong	aSyn	SCARB2	bGH	T2A		GBA1		4215
LI1_JetLong_SCARB2-IRES-GBA1_bGH	JetLong		SCARB2	bGH	IRES		GBA1		4399
FP1_JetLong_GBA1_bGH_JetLong_SCARB2_SV40L	JetLong		GBA1	bGH		JetLong	SCARB2	SV40L	4464
PrevailVector_LT2s_JetLong_mRNAiaSYn_PSAP-T2A-GBA1_bGH_4353nt	JetLong	aSyn	PSAP	bGH	T2A	-	GBA1	-	4353
PrevailVector_LI2_JetLong_PSAP_IRES_GBA1_SyntheticpolyA_4337nt	JetLong	-	PSAP	합성 pA	IRES	-	GBA1	-	4337

[0505] ***실시예 2: GBA 결핍 세포 내로의 바이러스 형질도입의 세포 기반 분석***

[0506] *GBA1* 결핍 세포는, 예를 들어 GD 환자, 단핵구, 또는 hES 세포, 또는 환자 유래의 유도성 다능성 줄기 세포(iPSC)로부터의 섬유아세포로서 수득된다. 이들 세포는 글루코실세라미드 및 글루코실스핑고신(GluCer 및 Glusph)과 같은 기질을 축적한다. CBE와 같은 Gcase 억제제를 사용하는 야생형 또는 돌연변이 배양된 세포주의 치료는 GBA 결핍 세포를 수득하는 데에도 사용된다.

[0507] 이러한 세포 모델을 사용하여, 리소좀 결함을, 이러한 단백질 또는 포스포-αSyn에 대한 항체를 갖는 α-시뉴클레인과 같은 단백질 응집체의 축적의 관점에서 정량화한 다음, 형광 현미경을 사용하여 영상화한다. 또한, LAMP1, LAMP2, LIMP1, LIMP2와 같은 단백질 마커에 대한 ICC를 사용하거나, Lysotracker와 같은 염료를 사용하거나, 형광 덱스트란 또는 다른 마커의 세포내 구획을 통한 흡수를 사용하여 리소좀 이상에 대한 영상화가 수행된다. LC3과 같은 리소좀과의 결함성 융합으로 인한 자가 포식 마커 축적에 대한 영상화가 또한 수행될 수 있다. 웨스턴 블롯팅 및/또는 ELISA를 사용하여 이들 마커의 비정상적인 축적을 정량화한다. 또한, 당지질 기질 및 GBA1의 산물의 축적은 표준 접근법을 사용하여 측정된다.

[0508] 치료 종말점(예를 들어, PD 관련 병리의 감소)은 AAV 벡터의 형질도입의 발현 맥락에서 측정되어 활성 및 기능을 확인하고 정량화한다. Gcase는 또한 단백질 ELISA 측정치를 사용하거나, 표준 Gcase 활성 분석에 의해 정량화될 수 있다.

[0509] ***실시예 2.1: Gcase를 암호화하는 rAAV를 사용한 시험관 내 약리학 연구***

[0510] *형질도입 및 효능*

[0511] HEK293T 세포에서 *GBA1* 이식유전자를 발현하는 인간 *GBA1*의 코돈 최적화된 코딩 서열(서열번호 15)을 포함하는 PR001A(AAV9.CBA.GBA1.A)(도 55에 제공된 벡터를 암호화하는 플라스미드의 구성)의 능력을 평가하기 위한 시험관 내 연구는 HEK293T 세포에서 PR001A 형질도입 후 GCase 활성의 투여량 의존적 증가를 입증하였다(도 33).

[0512] *효능 측정(α-시뉴클레인)*

[0513] 시험관 내 연구는 인간 세포주인 HeLa 세포 및 일차 마우스 해마 뉴런에서도 수행되었다. 2 X 10^6 vg/세포 PR001A로 치료한 HeLa 세포에서, 부형제로 치료한 대조군 세포와 비교하여 GCase 활성 수준의 대략 2배 증가 및 총 α-시뉴클레인 수준의 감소가 관찰되었다(도 34a 및 도 34b). PR001A의 더 낮은 투여량에서는 유사한 효과가 관찰되지 않았다.

[0514] 1.3 X 10^5 vg/세포 또는 1.3 X 10^6 vg/세포 PR001A로 형질도입된 마우스 해마 뉴런은 증가된 GCase 활성 수준을 나타냈고 총 α-시뉴클레인 수준을 감소시키는 경향을 나타냈다(도 35a 및 도 35b).

[0515] 요약하면, 세포주 및 일차 뉴런 배양물에서의 PR001A 형질도입은 GCase 활성을 증가시켰다. HeLa 세포 및 마우스 해마 뉴런에서, PR001A 형질도입은 또한 α-시뉴클레인 수준을 감소시켰으며, 이는 GCase 활성과 α-시뉴클레인 수준 사이의 연결을 지지한다(Mazzulli 등, *Cell*. 2011;146(1):37-52).

[0516] ***실시예 3: 돌연변이 마우스를 사용한 생체 내 검정***

[0517] 본 실시예는 돌연변이 마우스를 사용한 AAV 벡터의 생체 내 검정을 기술한다. 돌연변이 마우스에서 전술한 바와 같은 AAV 벡터의 생체 내 연구는, 예를 들어 Liou 등 (2006) *J. Biol. Chem.* 281(7): 4242-4253, Sun 등 (2005) *J. Lipid Res.* 46:2102-2113, 및 Farfel-Becker 등 (2011) *Dis. Model Mech.* 4(6):746-752에 기술된 검정을 사용하여 수행되었다.

[0518] 비히클 대조군 및 (예를 들어, 2 X 10^{11} vg/마우스의 투여량에서의) AAV 벡터의 경막내 또는 뇌실내 전달은, 농축된 AAV 스톡을 사용하여, 예를 들어 5 내지 10 μL의 주입 부피로 수행되었다. 대류 강화 전달에 의한 실질내 전달이 수행되었다.

[0519] 치료는 증상의 발병 전에 또는 발병 후에 개시된다. 측정된 종말점은 CNS 및 CSF 내 기질의 축적, ELISA 및 효소 활성에 의한 Gcase 효소의 축적, 운동 및 인지 종말점, 리소좀 기능 장애, 및 α-시뉴클레인 단량체, 원시섬유 또는 원섬유의 축적이다.

[0520] ***실시예 4: 질환의 화학적 모델***

[0521] 본 실시예는 고세병의 화학적으로 유도된 마우스 모델(예를 들어, CBE 마우스 모델)을 사용하는 AAV 벡터의 생

체 내 검정을 기술한다. 이들 AAV 벡터의 생체 내 연구는, 예를 들어, Vardi 등 (2016) *J Pathol.* 239(4):496-509에 기술된 바와 같은 고셰병의 화학적으로 유도된 마우스 모델에서 수행되었다.

[0522] 비히클 대조군 및 (예를 들어, 2 X 10^{11} vg/마우스의 투여량에서의) AAV 벡터의 경막내 또는 뇌실내 전달은, 농축된 AAV 스톡을 사용하여, 예를 들어 5 내지 10 μL의 주입 부피를 사용하여 수행되었다. 대류 강화 전달에 의한 실질내 전달이 수행되었다. 말초 전달은 꼬리 정맥 주사에 의해 이루어졌다.

[0523] 치료는 증상의 발병 전에 또는 발병 후에 개시된다. 측정된 종말점은 CNS 및 CSF 내 기질의 축적, ELISA 및 효소 활성에 의한 Gcase 효소의 축적, 운동 및 인지 종말점, 리소좀 기능 장애, 및 α-시뉴클레인 단량체, 원시섬유 또는 원섬유의 축적이다.

[0524] ***실시예 5: PD, LBD, 고셰병 환자를 대상으로 한 임상시험***

[0525] 일부 구현예에서, 특정 형태의 고셰병(예를 들어, GD1)을 가진 환자는 파킨슨병(PD) 또는 루이 소체 치매(LBD)가 발생할 위험이 증가한다. 본 실시예는 고셰병, PD 및/또는 LBD를 앓고 있는 환자를 대상으로 본 개시에서 기술된 rAAV의 안전성 및 효능을 평가하기 위한 임상시험을 기술한다.

[0526] 고셰병, PD 및/또는 LBD의 치료를 위한 이러한 벡터의 임상시험은 Grabowski 등 (1995) *Ann. Intern. Med.* 122(1):33-39에 기술된 것과 유사한 연구 설계를 사용하여 수행되었다.

[0527] ***실시예 6: 말초 질환의 치료***

[0528] 일부 구현예에서, 특정 형태의 고셰병을 가진 환자는, 예를 들어, Biegstraaten 등 (2010) *Brain* 133(10):2909-2919에 기술된 바와 같은 말초 신경병증의 증상을 나타낸다.

[0529] 본 실시예는 고셰병(*예를 들어*, 1형 고셰병)과 연관된 말초 신경병증의 치료를 위한 본원에 기술된 바와 같은 AAV 벡터의 생체 내 검정을 기술한다. 간략하게, 말초 신경병증의 징후 또는 증상을 갖는 것으로 식별된 1형 고셰병 환자에게 본 개시에 의해 기술된 바와 같은 rAAV가 투여된다. 일부 구현예에서, 대상체의 말초 신경병성 징후 및 증상은, 예를 들어, rAAV의 투여 후, Biegstraten 등에 기술된 방법을 사용하여 모니터링된다.

[0530] 환자에 존재하는 (예를 들어, 환자의 혈청, 환자의 말초 조직(예를 들어, 간 조직, 비장 조직 등)에 존재하는) 본 개시에 기술된 바와 같은 형질도입된 유전자 산물의 수준은, 예를 들어 웨스턴 블롯 분석, 효소 기능 분석 또는 이미징 연구에 의해 검정된다.

[0531] ***실시예 7: CNS 형태의 치료***

[0532] 본 실시예는 고셰병의 CNS 형태의 치료를 위한 본원에 기술된 바와 같은 rAAV의 생체 내 검정을 기술한다. 요약하면, 고셰병의 CNS 형태(예를 들어, 2형 또는 3형 고셰병)가 있는 것으로 식별된 고셰병 환자에게 본 개시에 기술된 바와 같은 rAAV가 투여된다. 환자의 CNS에 존재하는 (예를 들어, 환자의 CNS의 혈청, 환자의 뇌척수액(CSF) 또는 환자의 CNS 조직에 존재하는) 본 개시에 기술된 바와 같은 형질도입된 유전자 산물의 수준은, 예를 들어 웨스턴 블롯 분석, 효소 기능 분석 또는 이미징 연구에 의해 검정된다.

[0533] ***실시예 8: GBA1에 돌연변이를 갖는 대상체에서의 파킨슨병의 유전자 요법***

[0534] 본 실시예는 *GBA1* 유전자의 돌연변이를 특징으로 하는 파킨슨병을 앓고 있는 대상체에게 *GBA1*을 암호화하는 재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)를 투여하는 것을 기술한다.

[0535] rAAV 벡터 삽입체는 인간 GBA1의 코돈 최적화된 코딩 서열(CDS)(적갈색)을 구성적으로 발현시키도록, CMV 인핸서(CMVe), CBA 프로모터(CBAp), 엑손 1, 및 인트론(int)의 4개 부분으로 이루어진 CBA 프로모터 요소(CBA)를 함유한다. 3' 영역은 또한 우드척 간염 바이러스 전사후 조절 요소(WPRE)에 이어서 소 성장 호르몬 polyA 신호(bGH polyA) 꼬리를 함유한다. 측부 ITR은 개재 서열의 정확한 패키징을 가능하게 한다. 5' ITR 서열의 2개의 변이체(도 7, 삽입 박스, 하단 서열)가 평가되었으며; 이들 변이체는 패키징 및 발현의 효율에 영향을 미치는 것으로 여겨지는, ITR의 20-뉴클레오티드 "D" 영역 내에서 몇 가지 뉴클레오티드 차이를 갖는다. rAAV 산물은 도 7에 도시된 "D" 도메인 뉴클레오티드 서열을 함유한다(삽입 박스, 상단 서열). 돌연변이체 "D" 도메인(본원에서 "S" 도메인으로 지칭되며, 뉴클레오티드 변화는 음영으로 표시됨)을 보유하는 변이체 벡터는 전임상 연구에서 유사하게 수행된다. 골격은 카나마이신에 대한 내성을 부여하는 유전자뿐만 아니라 역 패키징을 방지하는 스터퍼 서열을 함유한다. rAAV 벡터를 도시하는 개략도가 도 8에 도시되어 있다. rAAV 벡터는 AAV9 혈청형 캡시드 단백질을 사용하여 rAAV 내에 패키징된다.

[0536] GBA1-rAAV는 시스테나 마그나(수조내 마그나; ICM) 내로 형광투시 유도 소후두 주사를 통해 1회 투여량으로 대상체에게 투여된다. 투여 요법 연구의 일 구현예는 다음과 같다:

[0537] ***실시예 8.1: Gcase를 암호화하는 rAAV를 사용한 생체 내 약리학 연구***

[0538] PR001A rAAV 벡터(AAV9.CBA.GBA1.A)(도 55에 제공된 벡터를 암호화하는 플라스미드의 구조)의 효능 및 안전성을 평가하기 위해, GCase의 억제제인 콘두리톨-β-에폭시드(CBE)의 매일 전달을 포함하는 화학적 마우스 모델에서 초기 연구를 수행하였으며, 이는 인간 *GBA1*의 코돈 최적화된 서열(서열번호 15), 및 (아래에서 추가로 기술되는 바와 같은) PR001B rAAV S-변이체 작제물을 포함한다. 또한, 동형접합성 *GBA1* 돌연변이를 갖고 사포신(4 L/PS-NA)이 부분적으로 결핍된 유전자 마우스 모델에서 초기 연구를 수행하였다. 벡터 안전성 및 효능을 추가로 평가하기 위해 마우스 및 비인간 영장류(NHP)에서의 추가 투여량-범위 연구를 수행하였다.

[0539] 이들 마우스 모델은, 감소된 GCase 활성, GCase의 당지질 기질의 축적, 운동 행동의 결핍, 및 염증을 반영하는, 별아교증 및 미세신경교증을 포함하는 신경병리학적 변화를 포함하는, nGD(신경병성 고셰병) 및 PD-GBA(*GBA1* 유전자의 돌연변이를 특징으로 하는 파킨슨병을 가짐)의 특징적인 표현형을 나타낸다. PR001A의 뇌실내 주사는 이러한 질환 관련 표현형 모두를 억제하였다. 또한, 4L/PS-NA 마우스 모델은 α-시뉴클레인의 축적을 나타냈고, 4L/PS-NA 모델에서의 PR001A의 ICV 투여는 α-시뉴클레인의 축적을 감소시켰다.

[0540] AAV 골격에서 5' 역위 말단 반복(ITR)의 2개의 약간 상이한 버전을 시험하여 제조 가능성 및 이식유전자 발현을 평가하였다(도 7). 145 bp 5' ITR 내의 20 bp "D" 도메인은 최적의 바이러스 벡터 생산을 위해 필요한 것으로 여겨지지만, "D" 도메인 내의 돌연변이는 일부 경우 이식유전자 발현을 증가시키는 것으로도 보고되었다. 따라서, 온전한 "D" 도메인을 보유하는 PR001A 바이러스 벡터에 추가하여, 돌연변이체 D 도메인(본원에서 "S" 도메인으로 지칭됨)을 갖는 제2 벡터 형태(PR001B)를 또한 평가하였다. PR001A rAAV 및 변이체 PR001B rAAV 둘 모두는 동일한 이식유전자를 발현한다. 두 벡터 모두 아래에 상세히 기술된 바와 같이 생체 내에서 효과적인 바이러스를 생성했지만, 야생형 "D" 도메인을 함유하는 PR001A rAAV를 추가 개발을 위해 선택하였다.

[0541] 비임상 생체 내 약리학(효능) 연구는 표 14에 요약되어 있다. 총 10건의 연구가 완료되었으며, 4건의 주요 연구는 다음 섹션에서 자세히 논의된다.

[0542] ***실시예 8.1.1: CBE 마우스 모델 연구***

[0543] *CBE 모델의 개요*

[0544] CBE 화학 마우스 모델에서, GCase의 선택적 및 비가역적 공유 경쟁 억제제를 사용하여, 당지질(GluCer 및 GluSph) 축적, 별아교증 및 미세신경교증을 포함하는 신경병리학적 변화, 및 운동 행동 결핍을 야기하는 GCase 활성의 약리학적 억제를 달성하였다(Manning-Bo ɳ 등, *Neurotoxicology*. 2009;30(6):1127-32; Farfel-Becker 등, *Dis Model Mech.* 2011;4(6):746-52; Rocha 등, *Antioxid Redox Signal.* 2015;23(6):550-64).

[0545] CBE는 GCase의 약리학적 억제제이며, CBE로 치료한 마우스는 GCase 기능 상실과 일치하는 표현형을 나타낸다. CBE 투여량을 변화시키고, 이에 따라 생체 내에서 GCase 억제의 정도를 변화시킴으로써, 상이한 *GBA1* 관련 장애에서 관찰된 다양한 정도의 효소 결핍을 반복하여, 생성된 표현형의 중증도를 조절하는 것이 가능하다. 이러한 이유로, CBE 마우스 모델은 GCase 결핍증의 유전자 모델에 비해 상당한 기술적 이점을 가지며, PD-GBA에 대한 매력적인 모델이다. PD-GBA가 있는 환자가 CNS 및 말초 기관 전체에 걸쳐 GCase 활성의 감소를 나타내기 때문에, CBE 모델에서의 GCase 활성의 전신 감소는 인간 질환을 재현한다. CBE는 내인성 GCase 활성뿐만 아니라 PR001A 치료로부터 기인하는 외인성 GCase 활성을 억제할 것이므로, 이 모델은 PR001A의 효과를 과소평가할 것으로 예상된다.

[0546] *연구 PRV-2017-001: CBE 투여량 범위 연구*

[0547] GCase 결핍증의 CBE 모델을 확립하기 위해, 유년기 마우스에 GCase의 특이적 억제제인 CBE를 투여하였다. 마우스에게 출생 후 8일차(P8)부터 시작하여 매일 IP 주사로 CBE를 투여하였다. 3가지 상이한 CBE 투여량(25 mg/kg, 37.5 mg/kg, 50 mg/kg) 또는 매일 복강내(IP) 비히클(PBS)을 시험하여 행동 표현형을 나타내는 모델을 확립하였다(도 9a 내지 도 9f). 보다 높은 투여량의 CBE는 투여량 의존적인 방식으로 치사를 초래하였다. 50 mg/kg CBE로 치료한 모든 마우스는 P23에 사망하였고, 37.5 mg/kg CBE로 치료한 8마리 마우스 중 5마리는 P27에 사망하였다(도 9a). 25 mg/kg CBE로 치료한 마우스에서는 치사가 없었다. CBE로 치료한 마우스는 CBE 투여량과 상관 관계가 있는 체중 증가 실패를 나타냈다. 연구의 생전 부분의 종료인 P27에서, 체중 차이는 대조군 동물과 25 또는 37.5 mg/kg CBE로 치료한 동물 간에 통계적으로 유의했으며; 50 mg/kg CBE로 치료한 마우스는 P27까지 생존

하지 않았다(도 9b, 도 9c). 반면, CBE 주사 마우스는 개방 필드 검정에서 일반적인 운동 결함을 나타내지 않았으며(PBS가 투여된 마우스와 동일한 거리 및 동일한 속도로 이동함; 도 9f), CBE로 치료한 마우스는 로타로드 검정으로 측정했을 때 운동 조정 및 균형 결핍을 나타냈다(도 9d).

[0548] 연구 종료 시까지 생존한 마우스를 마지막 CBE 투여 다음 날(P27, "1일차") 또는 CBE 중단 후 3일차(P29, "3일차")에 희생시켰다. 25 mg/kg의 CBE가 투여된 마우스의 피질에 대해 지질 분석을 수행하여 1일차 및 3일차 코호트 모두에서의 GCase 기질의 축적을 평가하였다. GluSph 및 GalSph 수준(본 실시예에서는 응집물로 측정됨)은 PBS로 치료한 대조군과 비교하여 CBE로 치료한 마우스에서 유의하게 축적되었으며, 이는 GCase 기능부전과 일치한다(도 9e).

[0549] 요약하면, 매일 IP로 주사된 CBE의 25 mg/kg 투여량은 운동 행동 결핍 및 GCase 기질의 축적(GluSph 및 GalSph 수준의 응집)을 초래하였으며, 이는 GCase 활성의 억제와 일치한다. 따라서, 25 mg/kg 투여량은 후속 연구를 위해 선택되었으며, 이는 벡터의 지속성을 평가하기 위한 보다 장기적인 연구를 가능하게 하면서 인간 질환의 주요 특징을 재현하였기 때문이다.

[0550] *연구 PRV-2018-002: CBE 모델에서의 PR001B의 효능*

[0551] 전술한 연구에 기초하여, 25 mg/kg CBE 투여량은 생존에 영향을 미치지 않으면서 행동 결함을 생성했기 때문에 이를 선택하였다. 모든 비임상 마우스 연구에서, 뇌실내(ICV) 주사를 투여 경로(ROA)로 선택하였다. 시스테나 마그나 내(ICM) 주사(의도된 임상 ROA)는 마우스에서 기술적으로 어렵기 때문에, ICV 주사가 뇌척수액(CSF) 내로의 치료제의 ICM 전달을 반복하기 위한 가장 적합한 대안적 접근법으로 간주되었다. CBE 치료 동안 뇌 및 이식유전자 발현 전체에 걸쳐 광범위한 GBA1 분포를 달성하기 위해, 4 μL 비히클(dPBS + 0.001% Pluronic F68, "dPBS") 또는 8.8 X 10^9 vg(5.9 X 10^{10} vg/g 뇌, 150 mg의 뇌 중량 기준) PR001B를 P3에 ICV 주사를 통해 전달하고, PBS 또는 25 mg/kg CBE의 IP 주사를 P8에서 개시하였다(도. 10). CBE 치료가 PR001B의 효과를 완전히 은폐할 것인지의 여부를 결정하기 위해, 동물 절반은 최종 CBE 주사 후 1일차인 P36에 희생시킨 반면, 나머지 절반은 CBE를 금단 처치하고, 최종 CBE 주사 후 3일차인 P38에 희생시켰다. 모든 측정에 대해, 수집일에 대한 분석을 공변량으로 보정하기 위해 군을 통합하였다.

[0552] CBE 치료 마우스는 PR001B 치료로 약화되었던 체중 변화 감소를 나타냈다(도 11a; 도 11b). rAAV를 투여한 CBE 치료 마우스는 부형제를 투여한 마우스에 비해 로타로드 상에서 통계적으로 유의하게 보다 양호한 결과를 나타냈다(도 11c). 변이체 벡터 치료군의 마우스는 시험 중 이동한 총 거리에 있어서 부형제로 치료한 마우스와 차이를 나타내지 않았다(도 11c).

[0553] 생전 연구의 완료 시, 생화학적 분석을 위해 마우스의 절반을 마지막 CBE 투여 다음 날(P36, "1일차") 또는 CBE 중단 후 3일 후(P38, "3일차")에 희생시켰다(도 12b 내지 도 12d). 3회 반복으로 수행된 생물학적 형광 효소 검정을 사용하여, 피질에서의 GCase 활성을 평가하였다. GCase 활성은 PR001B rAAV로 치료한 마우스에서 증가한 반면, CBE 치료는 GCase 활성을 감소시켰다(도 12b). 또한, CBE 및 PR001B rAAV 둘 모두를 투여한 마우스는 PBS 치료군과 유사한 GCase 활성 수준을 가졌으며, 이는 rAAV의 전달이 CBE 치료에 의해 유도된 GCase 활성의 억제를 극복할 수 있음을 나타낸다. 마우스의 운동 피질에 대해 지질 분석을 수행하여 기질 GluCer 및 GluSph의 수준을 조사하였다. CBE를 투여한 마우스의 뇌에 축적된 지질, 및 rAAV 치료 둘 모두는 GluCer 축적을 유의미하게 감소시켰고 GluSph 축적을 감소시키는 경향을 보였다(도 12c; 도 12d).

[0554] 지질 수준은 GCase 활성 및 로타로드에서의 성능 모두와 부정적인 상관 관계가 있었다. rAAV 투여 후 증가된 GCase 활성은 기질 감소 및 운동 기능 향상과 관련이 있었다(도 13).

[0555] 도 14에 도시된 바와 같이, qPCR로 측정했을 경우, 벡터 게놈 존재를 사용하여 예비 생체분포를 평가하였다(양성으로 정의된 1 μg 게놈 DNA당 > 100개의 벡터 게놈). CBE가 있거나 없는 PRPR001B rAAV를 투여한 마우스는 피질에서 rAAV 벡터 게놈에 대해 양성이었으며(도 12a), 이는 ICV 전달이 피질에 rAAV 전달을 초래한다는 것을 나타낸다. 또한, 벡터 게놈은 간, 비장, 심장 및 폐에서 검출되었고, 신장에서는 더 낮은 수준이었고, 생식선에서는 전혀 검출되지 않았다(도 14). 모든 측정에서, 1일차와 3일차 군 간에 통계적으로 유의한 차이는 없었다(데이터 미도시).

[0556] 요약하면, 8.8 X 10^9 vg(5.9 X 10^{10} vg/g 뇌)의 투여량으로 주사된 ICV에서, PR001B는 뇌 및 말초 조직에 분포되었고, 효소적으로 활성인 GCase는 뇌에서 발현되었다. PR001B는 생화학적(즉, 당지질 수준) 결함 및 로타로드 상에서의 성능을 개선시켰다. PR001B의 효과를 입증하기 CBE 중단이 필요하지 않았기 때문에, 모든 향후 연구에

서는 마지막 CBE 투여 후 1일차에 마우스를 희생시켰다.

[0557] *연구 PRV-2018-005: CBE 모델에서의 투여량 범위 PR001A*

[0558] 예시적인 투여량-범위 연구 설계를 보여주는 개략도가 도 15a에 제공되어 있다.

[0559] CBE 모델에서의 보다 광범위한 연구는 CBE 모델에서 PR001 rAAV의 유효 투여량을 추가로 조사하였다. 25 mg/kg CBE 투여량 모델을 사용하여, 부형제 또는 PR001 rAAV를 ICV를 통해 P3로 전달하고, 매일 IP PBS 또는 CBE 치료를 P8에 개시하였다. 이전 연구에서 관찰된 CBE를 중단한 군과 이를 중단하지 않은 군 간의 유사성을 고려하여, 최종 CBE 투여(P38-40) 후 1일차에 모든 마우스를 희생시켰다. 3가지 상이한 rAAV 투여량의 효과를 평가하여, 군 당 10마리의 마우스(5M/5F)로 다음의 5개의 군을 생성하였다:

[0560] 부형제 ICV + PBS IP

[0561] 부형제 ICV + 25 mg/kg CBE IP

[0562] 2.0e9 vg (1.3e10 vg/g 뇌) rAAV ICV + 25 mg/kg CBE IP

[0563] 6.2e10 vg (4.2e10 vg/g 뇌) rAAV ICV + 25 mg/kg CBE IP

[0564] 2.0e10 vg (1.3e11 vg/g 뇌) rAAV ICV + 25 mg/kg CBE IP.

[0565] CBE 치료 동물은 대조군 동물보다 더 낮은 속도로 체중이 증가하였으며, 이는 이 동물 모델에서 전형적인 관찰 결과였다. 최고 투여량에서, PR001A는 CBE 치료 관련 체중 증가 실패를 보정하였다. 또한, 이 투여량은 PR001A를 투여받지 않은 CBE 치료 군과 비교하여, 로타로드 및 테이퍼 빔 평가에서 통계적으로 유의한 개선을 야기하였다(도 15b 내지 도 15e). 뇌 GCase 활성은 로타로드 상에서의 성능과 양의 상관 관계가 있었다. 부형제 치료 군과 rAAV 치료군을 포함하여 여러 군에서 치사율을 관찰하였다.

[0566] 생전 연구 완료 시, 마우스를 희생시키고 생체분포 및 생화학 분석을 수행하였다(도 16a 내지 도 16d). 조사한 조직 중, 뇌, 척수, 간, 비장, 심장, 신장 및 폐는 중간 및 최고 투여량에서 벡터 게놈에 대해 양성이었다. 또한, 뇌, 척수, 폐, 및 심장는 저 투여량에서 양성이었다(도 16a). 생식선은 어떠한 투여량에서도 양성이 아니었다. 형광 분석법을 사용하여 모든 조직에서 효소 활성을 측정함으로써 평가한, 효과적인 GCase 활성은 CBE로 치료한 후 최대 60%까지 감소하였다(도 16b). PR001A의 최고 투여량에서, GCase 활성은 뇌, 척수 및 심장에서 유의하게 증가하였다. CBE 치료는 내인성 GCase와 동일한 정도로 PR001A-암호화된 GCase의 활성을 약 50% 억제하므로, CBE 모델 연구는 GCase 활성에 의해 측정된 PR001A의 효능을 약 2배만큼 과소평가할 가능성이 높다는 점에 유의한다. CBE 치료 마우스는 뇌 피질에서 GluCer 및 GluSph의 축적을 나타냈다. PR001A의 고 투여량은 이들의 축적을 감소시켰다(도 16c; 도 16d).

[0567] 반응성 별아교세포증 및 미세아교세포 활성화는 신경병성 GD 및 PD-GBA 환자에서 기술된 CNS 병리의 현저한 염증성 양태이다(Wong 등 2004; Ginns 등 2014). 이 연구에서, CBE 치료 마우스는 대뇌 피질에서 반응성 별아교세포증의 발현인 신경교 흉터를 나타냈으며, 이는 CBE의 맥락에서 CNS 활성화를 나타내는 이전의 연구와 일치한다(Sun 등 2011). PR001A 치료는 신경교 흉터 표현형의 통계적으로 유의한 투여량 의존적 감소를 초래하였다(도 16e). 따라서, PR001 치료는 CNS에서 GCase 결핍과 관련된 신경병리를 억제한다. 본 연구의 조직병리학적 소견에 대한 전체 설명은 독성학 섹션에서 논의된다.

[0568] GCase 및 피질에서의 이온화 칼슘 결합 어댑터 분자 1(Iba1; 미세신경증 마커) 발현에 대해 면역조직화학을 수행하였다(도 16f)(Wong 등 2004; Vitner등 2016). GCase의 발현은 CBE + 부형제로 치료한 동물과 비교하여 PR001A로 치료한 모든 마우스에서 유의하게 증가하였으며, 이는 전달된 투여량과 상관 관계가 있었다. Iba1 염색은 CBE + 부형제가 투여된 마우스와 비교하여 PR001A로 치료한 마우스에서 투여량 의존적 방식으로 유의하게 감소하였으며, 여기에서 Iba1 염색은 PBS가 투여된 마우스와 비교하여 유의하게 증가하였다.

[0569] 요약하면, 연구 PRV-2018-005의 결과는 3가지 투여량 수준에서의 PR001A의 ICV 투여가 광범위한 벡터 게놈 생체분포, GCase 활성의 증가, 운동 행동 평가변수의 개선, 및 당지질 축적의 감소를 초래하였음을 나타낸다. 신경염증의 2가지 상이한 측정(미세신경증 및 별아교세포증)은 PR001A로 치료한 마우스에서 투여량 의존적이고 통계적으로 유의한 감소를 나타냈다. CBE 모델은 본질적으로 PR001A의 효능을 과소평가하는데, 이는 CBE가 PR001A 치료로 인한 효소 활성을 또한 억제하기 때문이다. 종합하면, 이들 결과는 PR001A를 2.0×10^{10} vg(1.3×10^{11} vg/g 뇌)로 ICV 투여하는 것은 CBE 마우스 모델에서 효과적이었음을 나타낸다. 효능에 대한 경향은 평가변수의 하위 집합에서 보다 낮은 투여량의 PR001A에서 관찰되었다.

[0570] *연구 PRV-2018-007: CBE 모델에서의 장기적인 PR001A 효과*

[0571] 본 연구는 CBE 마우스 모델에서 PR001A 벡터 카피 수 생체분포의 지속성 및 GCase의 PR001A-매개 발현의 지속성을 평가하였다. 부형제 또는 PR001A의 1회 투여량을 P3에서 ICV를 통해 전달하고, 매일 IP PBS 또는 CBE 치료를 P8에 개시하고, P183 내지 P185까지 이를 계속하였다(도 36). 최종 CBE 투여 1일 후 모든 마우스를 희생시켰다. 어떤 군에서도 치사는 관찰되지 않았다.

[0572] CBE 치료 마우스에서 PR001A의 단일 ICV 투여량은 ICV 투여 후 약 1개월차에 관찰된 수준(연구 PRV-2018-005 참조)과 유사한 수준으로 투여 후 6개월차(도 37a)에 벡터 게놈 카피의 존재를 유도하였다. 만성 CBE 치료는 GCase 활성 수준을 감소시켰다; PR001A를 투여한 마우스에서 GCase 활성이 거의 정규화되었으며, 이는 PR001A의 1회 투여량이 GCase의 지속적인 발현을 초래함을 나타낸다(도 37b). 6개월 CBE 치료 마우스는 1개월 CBE 치료 마우스와 비교하여, 대뇌 피질에서 당지질 기질 GluCer 및 GluSph의 현저한 축적을 나타냈다. P3에서 PR001A를 1회 투여한 결과 GluCer 및 GluSph 수준이 야생형 수준에 가깝게 상당히 감소하였다(도 37c; 도 37d).

[0573] *연구 PRV-2018-008: CBE 모델에서의 추가 투여량 범위 PR001A*

[0574] 본 연구는 PR001A의 추가 투여량을 평가하여 최소 유효 투여량을 결정하고 내약성에 대한 보다 높은 투여량을 조사하고자 하였다. 그러나, 예상치 못한 투약 이탈로 인해, 본 연구는 PRV-2018-005의 투여량을 재현하였다. PRV-2018-005(도 15a)와 유사한 설계를 따라, 4 μL 부형제 또는 PR001A를 P3에서 ICV를 통해 전달하고, 매일 IP PBS 또는 CBE 치료를 P8에서 개시하고, P51 내지 P53까지 이를 계속하였다.

[0575] 이전 연구들과 달리, CBE 치료는 체중의 유의한 변화를 초래하지 않았다. CBE 치료는 로타로드 및 테이퍼 빔 상에서 상당히 더 불량한 성능을 초래하였지만, PR001A를 이용한 치료는 이러한 성능을 유의하게 변화시키지 않았다(도 38a 내지 도 38e).

[0576] 조사한 조직 중, 뇌, 척수, 간, 심장 및 폐는 모든 투여량 수준에서 PR001A에 대해 양성이었다. 신장 또한 중간 및 최고 투여량에서 양성이었던 반면, 비장은 최고 투여량에서만 양성이었다. 또한, 생식선을 조사하였지만, 어떠한 투여량 수준에서도 양성이 아니었다(도 39). 선택된 장기에서만 GCase 활성을 평가하였다. 대뇌 피질에서, PR001A의 저 및 중간 투여량은 GCase 활성 수준을 PBS + 부형제 수준 이상의 등가 수준으로 회복시켰지만, 이는 통계적 유의성에 도달하지는 않았다. PR001A의 고 투여량은 CBE + 부형제로 치료한 동물에서의 수준과 비교하여 GCase 활성의 유의한 증가를 향한 경향을 보였다(도 40).

[0577] 이 모델에서의 다른 연구들과 일관되게, CBE 치료 마우스는 뇌에서 GluSph 및 GluCer의 축적을 나타냈으며, 이는 PR001A를 투여함으로써 감소하였다(도 41; 도 41b). 투여량 의존적인 방식으로, PR001A의 모든 투여량은 GluSph 수준을 유의하게 감소시켰으며, 이의 중간 및 고 투여량은 GluCer 수준을 상당히 감소시켰다.

[0578] 본 연구는 PRV-2018-005의 결과를 확인하였으며, 이는 PR001A 치료가 광범위한 생체분포 및 CBE 치료에 의해 야기된 당지질 기질 축적을 유의하게 감소시키는 GCase 활성의 강력한 상승을 초래함을 나타낸다. 본 연구는 PRV-2018-005에서 관찰된 행동 표현형을 재현하지 않았지만, 이들 표현형은 마우스에서 가변적이고 신뢰성이 덜한 것으로 알려져 있다.

[0579] *PRV-2018-025: CBE 모델에서의 추가 투여량 범위 PR001A*

[0580] PRV-2018-008의 연구 편차를 고려하여, 이전 투여량 범위 연구를 확장하기 위해 CBE 모델에서 추가 연구를 수행하였다. PR001A의 ICV 투여와 PBS 또는 CBE의 IP 주사는 PRV-2018-005와 동일한 프로토콜을 따랐다. 그러나, 본 연구는 최소 유효 투여량 조사를 위한 보다 낮은 PR001A 투여량 및 내약성 조사를 위한 보다 높은 투여량을 포함하였다.

[0581] 본 연구에서, CBE 치료는 시간이 지남에 따라 체중을 증가시키지 못하였지만, CBE + 부형제 동물에서는 로타로드 및 테이퍼 빔 모두에서 운동 성능이 통계적으로 유의하게 감소하는 것으로 관찰되었다. 5.2 X 10^{10} vg의 PR001A 치료는 PBS + 부형제 동물과 거의 동일한 수준으로 운동 성능을 유의하게 개선시켰다. 1.7 X 10^{10} vg의 PR001A로 치료한 동물에서도 개선이 관찰되었지만, 이는 유의성에 도달하지 않았다(도 42a 내지 도 42d).

[0582] PR001A로 치료한 동물의 대뇌 피질은 모든 투여량에서 벡터 게놈에 대해 양성이었고, 5.2 X 10^{10} vg PR001A의 치료는 GCase 활성을 유의하게 증가시켰다. 1.7 X 10^{10} vg PR001A의 치료는 활성을 거의 야생형 수준으로 회복시켰지만(도 43a 및 도 43b), 이는 통계적 유의성에 도달하지는 않았다.

[0583] 이 모델에서의 다른 연구들과 일관되게, CBE 치료 마우스는 뇌에서 GluSph 및 GluCer의 축적을 나타냈으며, 이는 PR001A를 1.7 X 10^{10} vg 또는 5.2 X 10^{10} vg로 투여함으로써 유의하게 감소하였다(도 44a 및 도 44b).

[0584] 본 연구는 CBE 모델에서의 이전 연구들의 결과를 확인하고 확장하였다. 본 연구는 PRV-2018-005에서 관찰된 행동 표현형을 완전히 재현하지는 않았지만, 1.7 X 10^{10} vg PR001A의 치료에서는 로타로드 및 테이퍼 빔 모두에서 유의하지 않은 개선이 관찰되었으며, 5.2 X 10^{10} vg PR001A의 치료는 두 평가 모두에서 성능을 유의하게 개선시켰다. 또한, 모든 투여량의 치료는 당지질 기질 축적을 감소시켰으며, 다른 CBE 연구의 결과를 확인하였다.

[0585] *CBE 모델 연구 요약*

[0586] CBE 모델 연구의 결과는 PR001A가 ICV 주사에 의해 CNS 및 말초 조직에도 효과적으로 전달될 수 있음을 보여준다. CNS 내에서, PR001A의 ICV 전달은 GCase 활성의 일관된 증가, 당지질 기질 GluCer 및 GluSph의 감소, 신경교 흉터의 감소, 및 일부 운동 결핍의 개선을 초래하였다. 이러한 효과는, 평가된 경우, 치료 후 6개월차에 지속되었다.

[0587] ***실시예 8.1.2: 4L/PS-NA 유전자 마우스 모델 연구***

[0588] *4L/PS-NA 모델의 개요*

[0589] 4L/PS-NA 마우스는 GD 및 PD-GBA의 확립된 유전자 모델이다(Sun 등, *J Lipid Res.* 2005;46(10):2102-13; Mazzulli 등, *Cell*. 2011;146(1):37-52; Xu 등, *Mol Genet Metab*. 2011;102(4):436-47). 이들 마우스는 GBA1에서 V394L 돌연변이에 대해 동형접합체이고, 추가적으로 GCase의 활성화제인 사포신 C를 암호화하는 PSAP에 돌연변이를 보유하며; 돌연변이체 GCase 효소의 존재 및 GCase 활성화제 사포신 C의 낮은 수준은 함께 GCase 활성의 심각한 감소, 글리코지질 기질의 축적, 및 운동 행동 결핍을 초래한다. 이들 마우스는, 빔 워크, 로타로드, 및 와이어 행 검정에서의 이들의 성능에 의해 입증되는 바와 같이, 운동 강도, 조정, 및 균형 결함을 나타낸다. 일반적으로 이들 마우스의 수명은 22주 미만이다. 본 연구에서의 "대조군" 마우스는 *Gba1*에서 V394L 돌연변이에 대해 동형접합체이지만, 내인성 프로사포신 유전자에 대해서는 야생형이며, 따라서 GCase 활성에 있어서 보다 적당한 감소를 갖는다. PR001A 치료는 사포신 C에 영향을 미치지 않기 때문에, 4L/PS-NA 마우스에서 획득된 결과는 인간에서 예측된 효과를 과소평가할 가능성이 높다는 점에 유의한다. 이들 마우스에서 PR001A를 사용하여 2건의 연구를 수행하였다.

[0590] *연구 PRV-2018-006: 4L/PS-NA 유전자 모델에서의 PR001A*

[0591] 연구 PRV-2018-006에서, PR001A 또는 부형제를 3 내지 4주령 4L/PS-NA 마우스에게 ICV로 전달하고, PR001A 후 15주차에 동물을 희생시켰다. 3 μL의 희석되지 않은 벡터(총 1.5 X 10^{10} vg; 3.7 X 10^{10} vg/g 뇌)의 투여량을 투여하였다(도 45).

[0592] 4L/PS-NA 마우스에서 진행성 운동 결핍이 관찰되었으며, PR001A 치료는 치료 후 5주 및 9주차에 빔 워크를 유의하게 개선시켰다. 치료 후 15주차에, 군 간에는 통계적으로 유의한 차이가 없었다. 투여 후 약 15주차에 4L/PS-NA 마우스에서 PR001A 벡터 게놈의 생체분포를 정량화하였다. 대뇌 피질, 척수, 간, 신장, 심장, 폐, 비장 및 생식선을 포함하여 검사한 모든 조직은 벡터 게놈에 대해 양성이었다. (도 46). 형광 분석을 사용하여 평가한 조직 용해물에서의 GCase 활성의 분석은 피질 및 간에서의 효과적인 GCase 활성의 유의한 증가를 나타냈다(도 47).

[0593] 대조군 동물의 용해물 대비 4L/PS-NA 마우스의 뇌 용해물에서의 GluSph 및 GluCer의 축적은 통계적으로 유의하였다. 4L/PS-NA 마우스에서, PR001A 치료는 통계적으로 유의한 GluSph 축적 감소 및 GluCer 감소 경향(P = 0.16)을 나타냈다(도 48a; 도 48b).

[0594] 이전 연구는 4L/PS-NA 마우스 모델의 피질에서 α-시뉴클레인 단백질의 축적 증가를 입증하였으며 이는 α-시뉴클레인 병리학에서 제안된 GCase의 역할과 일치한다(Sun 등, *J Lipid Res.* 2005;46(10):2102-13; Mazzulli 등, *Cell*. 2011;146(1):37-52; Xu 등, *Mol Genet Metab*. 2011;102(4):436-47). 가용성 및 불용성 α-시뉴클레인의 대뇌 피질 수준을 생화학적으로 조사하였다. 부형제로 치료한 4L/PS-NA 마우스에서, 대뇌 피질 내 불용성 α-시뉴클레인 및 가용성 α-시뉴클레인의 비율의 유의하지 않은 증가가 있었으며; ICV PR001A 치료는 이러한 효과를 역전시켰다(각각 P = 0.19, P = 0.87)(도 49a; 도 49b). 이들 데이터는 α-시뉴클레인의 축적 감소를 입증하는 실시예 2.1에 기술된 시험관 내 연구와 일치한다.

[0595] rAAV 전달 후 4주차에 빔 워크 시험을 사용하여 운동 성능을 평가하였다. PR001A rAAV를 투여한 돌연변이 마우스의 군은 부형제로 치료한 돌연변이 마우스와 비교 시, 더 적은 총 슬립 및 속도당 더 적은 슬립의 경향을 나타냈으며, 이는 운동 기능을 거의 야생형 수준까지 회복시켰다(도 17).

[0596] *연구 PRV-2018-011: 4L/PS-NA 유전자 모델에서의 투여량 범위 PR001A*

[0597] 4L/PS-NA 마우스를 사용한 제2 연구는 연구 PRV-2018-006에 사용된 것과 유사한 설계를 사용하여 PRPR001A 투여량의 범위를 조사하였다(도 50).

[0598] 빔 워크 시험에서, 4L/PS-NA 마우스는 대조군 마우스보다 유의하게 보다 악화되었다. 2.9 X 10^{11} vg, 9.3 X 10^{10} vg, 또는 2.9 X 10^{10} vg PR001A로 치료한 4L/PS-NA 마우스는 부형제로 치료한 4L/PS-NA 마우스와 비교했을 때 18주차에서 상당한 개선을 나타냈다(도 51). 초기 시점에서 PR001A의 효과는 없었다. 로타로드 시험 결과에서 4L/PS-NA 마우스와 대조군 마우스 간의 차이가 없었으며, PR001A 치료는 이러한 결과에 영향을 미치는 것으로 보이지 않았다.

[0599] 모든 PR001A 치료군은 피질의 벡터 게놈에 대해 양성이었다. 형광 분석법을 사용하여 평가된, 효과적인 GCase 활성을 피질에서 측정하였고, 이는 2.9 X 10^{11} vg PR001A로 치료한 마우스에서 유의하게 증가한 것으로 밝혀졌다(도 52a; 도 52b).

[0600] 가용성 및 불용성 α-시뉴클레인의 대뇌 피질 및 해마 수준을 생화학적으로 조사하였다. 4L/PS-NA 마우스와 대조군 동물 사이에서 이들 수준의 차이는 없었으며; 문헌에 공개된 보고서는 가변적인 α-시뉴클레인 표현형을 입증한 바 있다.

[0601] 부형제로 치료한 4L/PS-NA 마우스의 소뇌에서는 통계적으로 유의한 GluSph 및 GluCer 축적이 있었다. PR001A 치료는, GluSph의 수준이 감소하는 투여량 의존적 경향 및 GluCer의 통계적으로 유의한 투여량 의존적 감소를 나타냈다(도 53a; 도 53b).

[0602] *4L/PS-NA 유전자 마우스 모델 요약*

[0603] 4L/PS-NA 마우스는 전술한 2건의 연구에 걸쳐 측정된 표현형에 대해 변동성을 나타냈지만, 전체 데이터는 CBE 모델 결과 및 공개된 데이터와 일치하였다: GPase 결핍증은 당지질 기질의 수준 증가 및 운동 행동 결함과 관련이 있었다. ICV PR001A 치료는 이들 표현형을 강력하게 약화시켰다. 연구 PRV-2018-006에서, 공개된 연구(Sun 등, *J Lipid Res.* 2005;46(10):2102-13; Mazzulli 등, *Cell.* 2011;146(1):37-52; Xu 등, *Mol Genet Metab.* 2011;102(4):436-47)에서 보고된 바와 같이, 대뇌 피질 내 불용성 α-시뉴클레인 수준은 대조군 마우스에 비해 4L/PS-NA에서 유의하게 증가하지 않았다. ICV PR001A 치료는 이러한 축적을 역전시켰으며, 이는 본원에 개시된 시험관 내 분석과 일치한다. 종합하면, 이들 연구는 PR001A의 임상 개발을 뒷받침한다.

[0604] ***실시예 8.1.3: 생체 내 -시뉴클레인 모델 연구***

[0605] *연구 PRV-2018-019 및 PRV-2019-001: CBE로 치료한 -시뉴클레인 이식유전자 마우스에서의 PR001A*

[0606] α-시뉴클레인 병리에 대한 PR001A의 효과를 추가로 조사하기 위해, 2건의 연구가 dbl-PAC-Tg(SNCAA53T); *Snca* 녹아웃 배경에서 인간 PD 연관 α-시뉴클레인 A53T 돌연변이 이식유전자에 대해 동형접합성인 $Snca^{-/-}$ 마우스(*Snca*는 쥣과 α-시뉴클레인 단백질을 암호화함)에서 수행되었다. 이들 마우스는 6 내지 12개월령의 위장관 표현형 및 미묘한 운동 이상을 나타내지만, 뇌에서는 광범위한 α-시뉴클레인 병리를 나타내지 않는 것으로 보고되었다(Kuo 등, *Hum Mol Genet.* 2010;19(9):1633-50). 인간 α-시뉴클레인 A53T 이식유전자 마우스 모델에서의 이전의 연구는 이러한 마우스의 CBE 치료가 α-시뉴클레인 수준의 상승을 초래한다는 것을 보고하였다(Rockenstein 등, *Hum Mol Genet.* 2016; 25(13):2645-60; Papadopoulos 등, *Hum Mol Genet.* 2018;27(10):1696-1710). 이러한 공개된 발견을 근거로 하여, 그리고 본 모델에서의 GCase 결핍의 효과를 검증하기 위해, 이들 마우스를 CBE로 치료하였다. 9 내지 10주령에서, 10 μL의 부형제 또는 2.9 X 10^{11} vg(7.4 X 10^{11} vg/g 뇌, 400 mg의 뇌 중량 기준)의 PR001A의 ICV 주사를 통해 마우스를 치료하였다. ICV 치료 후 2주차에, IP PBS 또는 100 mg/kg CBE를 1주일 동안 매일 투여하였다.

[0607] 벡터 게놈의 존재 및 GCase 활성을 대뇌 피질에서 평가하였다. PRV-2018-019의 경우, CBE 치료에 의한 증가된 피질 당지질 기질을 확인하고, Jess 기기 상에서 자동화된 모세관 Simple Western™ 면역블롯 시스템을 사용하여

해마 용해물로부터의 α-시뉴클레인 수준을 평가하였다. 단량체 및 고분자량(HMW) 종의 존재와 일치하는 다수의 α-시뉴클레인 면역 반응성 밴드가 관찰되었다. CBE 투여 α-시뉴클레인 이식유전자 마우스의 PR001A 치료에서 단량체 α-시뉴클레인 수준에 대한 HMW α-시뉴클레인 종의 비율의 통계적으로 유의한 감소가 관찰되었다(도 54a; 도 54b).

[0608] ***비임상 효능 연구의 요약***

[0609] 전술한 연구는 PR001A의 단일 ICV 주사가 마우스의 CNS 및 말초 조직에 *GBA1*을 효과적으로 전달함을 입증한다. PD-GBA 및 nGD의 2개의 동물 모델에서, PR001A는 CNS에서 GCase 활성을 증가시켰다. 증가된 GCase 활성은 뇌에서 당지질 기질의 축적을 감소시켰으며; 이러한 당지질 기질은 의도된 임상시험에 대한 바이오마커 결과 척도로서 제안된다. 중요하게는, 이러한 이점은 PR001A의 단일 치료 후 적어도 6개월 동안 지속된다. CBE 모델은 반응성 별아교세포증 및 미세아교세포증을 나타내며, 이는 PD-GBA, nGD를 갖는 환자, 및 이들 장애의 동물 모델에서의 전형적인 조직병리학적 소견이다(Hamby 및 Sofroniew, *Neurotherapeutics*. 2010;7(4):494-506; Farfel-Becker 등, *Dis. Model Mech.* 2011;4(6):746-752; Farfel-Becker 등, *Hum Mol Genet*. 2011;20(7):1375-86; Booth 등, *Trends Neurosci*. 2017;40(6):358-70; McMahon 등, *Mol Genet Metab*. 2018;123(2):S93). PR001A는 CBE-유도 반응성 신경교증 및 미세신경교증을 예방하거나 역전시킬 수 있다. 두 모델 모두 운동 결핍증을 나타내며, PR001A 치료는 두 모델 모두에서 이러한 결핍증 중 일부를 개선시킨다. 이들 2개의 모델과 함께, α-시뉴클레인 병리를 조사하기 위해 추가 마우스 모델을 사용하였다. α-시뉴클레인 표현형은 마우스 모델에서 가변적이지만, PR001A는 표현형이 관찰되는 경우에서의 표현형을 억제하거나 역전시킬 수 있었으며; 추가적인 시험관내 연구는 α-시뉴클레인 수준을 감소시키는 데 있어서의 PR001A의 효과를 뒷받침한다. 종합적으로, 이들 연구는 PD-GBA 및 nGD 모델에서의 PR001A의 효능을 입증한다.

[0610] ***실시예 8.1.4: 독성학***

[0611] *단일 투여량 마우스 연구*

[0612] 마우스 모델에서 PR001A로 수행된 안전성 및 독성학 연구는 표 15에 요약되어 있다. 마우스 모델 효능 연구 중 2건(PRV-2018-005 및 PRV-2018-006)은 또한 질병 모델에서 PR001A의 안전성을 평가하기 위한 조직병리학과 같은 선택된 안전성 평가변수를 포함하였다.

[0613] *연구 PRV-2018-005: CBE 모델에서의 투여량 범위 PR001A*

[0614] 조직병리학적 분석은 뇌, 흉수 척수, 심장, 간, 비장, 폐 및 신장의 헤마톡실린 및 에오신(H&E) 염색에 의해 수행되었으며; 결과는 면허를 가진 동물 병리학자에 의해 평가되었다. CBE로 치료한 마우스에서, CNS에서의 소견은 대뇌 피질, 뇌간 및 흉수 척수의 신경교 흉터 및 신경 괴사를 포함하였다. 이들 마우스에서 최대 1.3 X 10^{11} vg/g 투여량의 뇌실내 PR001A는 내약성이 양호했으며, 이러한 최고 투여량은 이들 CNS 소견의 발생률을 눈에 띄게 감소시켰으며; 저 투여량 및 중간 투여량 PR001A는 대뇌 피질에 신경교 흉터가 있는 동물의 수를 투여량 의존적으로 감소시켰고, 신경 괴사와 같은 다른 CNS 소견에 대해서는 모호한 효과를 나타냈다. 말초 조직에서의 CBE 또는 PR001A의 부작용은 관찰되지 않았다. 요약하면, CBE 마우스 모델을 사용한 연구에서 PR001A 치료에 기인하는 유해한 조직병리학 소견이나 독성의 증거는 발견되지 않았다.

[0615] ***실시예 9: rAAV 벡터의 시험관 내 분석***

[0616] 프로사포신(*PSAP*) 및 *SCARB2*를 암호화하는 rAAV 벡터의 시험관 내 활성을 단독으로 또는 *GBA1* 및/또는 하나 이상의 억제 RNA와 조합하여 평가하기 위한 예비 연구를 수행하였다. PSAP 및 프로그라눌린(PGRN)을 암호화하는 하나의 작제물도 시험하였다. 시험된 벡터는 표 3에 나타낸 것들을 포함한다. "Opt"는 포유류 세포(예를 들어, 인간 세포)에서의 발현에 최적화된 핵산 서열 코돈을 지칭한다. 도 18은 각각의 작제물을 이용한 HEK293 세포의 형질감염이 모의 형질감염 세포와 비교하여 상응하는 유전자 산물의 과발현을 초래하였음을 나타내는 대표적인 데이터를 보여준다.

[표 3]

ID	프로모터	억제 RNA	프로모터	이식유전자
I00015	JL_인트론	*SNCA*	JetLong	Opt-PSAP_GBA1
I00039	-	-	JetLong	Opt-PSAP-GRN
I00046	-	-		Opt-PSAP
I00014	JetLong	*SNCA*	JetLong	Opt-SCARB2_GBA1

[0617]

[0618] ***실시예 10: ITR "D" 서열 배치 및 세포 형질도입***

[0619] rAAV 벡터의 세포 형질도입에 대한 ITR "D" 서열의 배치 효과를 조사하였다. HEK 293 세포를, 도 19에 도시된 바와 같이, 1) 야생형 ITR(예를 들어, 이식유전자 삽입체에 근위이고 ITR의 말단에 원위인"D" 서열) 또는 2) 벡터의 "외부"에 위치한 "D" 서열을 갖는 ITR(예를 들어, ITR의 말단에 대해 근위이고 이식유전자 삽입체에 대해 원위에 위치한 "D" 서열)을 갖는 Gcase-암호화 rAAV로 형질도입하였다. 놀랍게도, 데이터는 "외부" 위치에 위치한 "D" 서열을 갖는 rAAV가 패키징되고 세포를 효율적으로 형질도입하는 능력을 보유한다는 것을 나타낸다(도 20).

[0620] ***실시예 11: 생체 내 독성 연구***

[0621] 50마리의 마우스에게 출생 후 3일차에 4 μl의 GBA1-암호화 rAAV를 뇌실내(ICV) 주사를 통해 투여하였다. 모든 마우스에게, 치료군에 따라, 출생 후 8일차부터 연구 종료 시까지, 콘두리톨 B-에폭시드(CBE) 또는 PBS를 매일 복강 내(IP) 주사하였다. 마지막 IP 투여 후 24시간 시점에 동물을 안락사시켰다. 안락사 후, 표적 조직을 수확하고, 냉각된 4% 파라포름알데히드에 드롭 고정시키고, 4° C에서 보관한 다음, 조직병리학적 처리 및 평가를 위해 전송하였다.

[0622] 38 내지 40일차에 안락사된 42마리의 동물로부터의 조직을 트리밍하고, 처리하고, 파라핀 블록에 포매시켰다. 그런 다음, 이들을 약 5 μm로 절단하고, 헤마톡실린 및 에오신(H&E)으로 염색하고, 평가를 위해 슬라이드에 부착하였다.

[0623] rAAV 치료에 기인하는 조직병리학적 소견 또는 독성의 증거는 없었다. 콘두리톨 B-에폭시드(CBE)로 치료한 마우스에서, 대뇌 피질의 신경교 흉터 및 신경 괴사, 및 뇌간 및 흉수 척수의 신경 괴사를 포함하는 중추 신경 시스템 m(CNS)의 소견이 있었다. 고 투여량 rAAV 치료는 이들 CNS 소견의 발생률을 눈에 띄게 감소시킨 반면, 저 투여량 및 중간 투여량 바이러스는 대뇌 피질에서 신경교 흉터의 발생률을 투여량 의존적으로 감소시켰고, 다른 CNS 소견에는 모호한 효과가 있었다(도 28).

[0624] 피질 중 GCase 및 Iba1 발현을 평가하기 위해 면역조직화학을 수행하였다(도 29a 및 도 29b). GSase 발현은 CBE/부형제로 치료한 동물과 비교하여 rAAV-GBA1로 치료한 모든 동물에서 유의하게 증가하였다. GCase 발현의 증가는 전달된 투여량과 상관성이 있었고, 고 투여량으로 치료한 동물에 이어 중간 투여량 및 저 투여량으로 치료한 동물의 순서로 가장 높은 GCase 발현이 관찰되었다. 미세신경교증의 마커인 Iba1은 CBE/부형제로 치료한 동물에서 유의하게 증가하였다. rAAV-GBA1의 모든 투여량은 Iba1 염색을 감소시켰으며, 따라서 CBE 모델에서 미세신경교증을 완화시켰다. 미세신경교증은 신경병성 GD 및 이러한 장애의 모델에서 양호하게 기술되는 평가변수이다.

[표 4]

신경퇴행성 질환의 예

질환	연관 유전자
알츠하이머병	*APP, PSEN1, PSEN2, APOE*
파킨슨병	*LRRK2, PARK7, PINK1, PRKN, SNCA, GBA, UCHL1, ATP13A2, VPS35*
헌팅톤병	*HTT*
근위축성 측삭 경화증	*ALS2, ANG, ATXN2, C9orf72, CHCHD10, CHMP2B, DCTN1, ERBB4, FIG4, FUS, HNRNPA1, MATR3, NEFH, OPTN, PFN1, PRPH, SETX, SIGMAR1, SMN1, SOD1, SPG11, SQSTM1, TARDBP, TBK1, TRPM7, TUBA4A, UBQLN2, VAPB, VCP*
바텐병(신경 세로이드 리포푼시노시스)	*PPT1, TPP1, CLN3, CLN5, CLN6, MFSD8, CLN8, CTSD, DNAJC5, CTSF, ATP13A2, GRN, KCTD7*
프리드라이히 운동실조	*FXN*
루이 소체 질환	*APOE, GBA, SNCA, SNCB*
척수 근위축증	*SMN1, SMN2*
다발성 경화증	*CYP27B1, HLA-DRB1, IL2RA, IL7R, TNFRSF1A*
프리온 질환(크로이츠펠트-야콥병, 치명적 가족성 불면증, 게르트스만-스트라우슬러-샤인커 증후군, 가변적 프로테아제 민감성 프리온병증)	*PRNP*

[0625]

[표 5]

시뉴클레인병증의 예

질환	연관 유전자
파킨슨병	*LRRK2, PARK7, PINK1, PRKN, SNCA, GBA, UCHL1, ATP13A2, VPS35*
루이 소체 동반 치매	*APOE, GBA, SNCA, SNCB*
다중 계통 위축증	*COQ2, SNCA*

[0626]

[표 6]

타우병증의 예

질환	연관 유전자
알츠하이머병	*APP, PSEN1, PSEN2, APOE*
원발성 연령 관련 호변증	*MAPT*
진행성 핵상 마비	*MAPT*
피질기저 변성	*MAPT, GRN, C9orf72, VCP, CHMP2B, TARDBP, FUS*
파킨슨증 동반 전두측두엽 치매-17	*MAPT*
아급성 경화성 범뇌염	*SCN1A*
리티코-보디그 질환	
신경교종, 신경절세포종	
수막 혈관종증	
뇌염후 파킨슨증	
만성 외상성 뇌병증	

[0627]

[표 7]

리소좀 축적 질환의 예

질환	연관 유전자
니만-피크 질환	*NPC1, NPC2, SMPD1*
파브리병	*GLA*
크라베병	*GALC*
고셰병	*GBA*
타크-삭스병	*HEXA*
이염색 백색질형성장애	*ARSA, PSAP*
파베르병	*ASAH1*
갈락토실리도시스	*CTSA*
쉰들러병	*NAGA*
GM1 강글리오시드증	*GLB1*
GM2 강글리오시드증	*GM2A*
샌드호프 질환	*HEXB*
리소좀 산 리파아제 결핍	*LIPA*
다중 설파타아제 결핍	*SUMF1*
점액다당류증 I 형	*IDUA*
점액다당류증 II 형	*IDS*
점액다당류증 III 형	*GNS, HGSNAT, NAGLU, SGSH*
점액다당류증 IV 형	*GALNS, GLB1*
점액다당류증 V 형	*ARSB*
점액다당류증 VII 형	*GUSB*
점액다당류증 IX 형	*HYAL1*
점액지질증 II 형	*GNPTAB*
점액지질증 III 형 알파/베타	*GNPTAB*
점액지질증 III 형 감마	*GNPTG*
점액지질증 IV 형	*MCOLN1*
뉴런 세로이드 리포푸시노시스	*PPT1, TPP1, CLN3, CLN5, CLN6, MFSD8, CLN8, CTSD, DNAJC5, CTSF, ATP13A2, GRN, KCTD7*
알파-만노시드증	*MAN2B1*
베타-만노시드증	*MANBA*
아스파틸글루코사민뇨증	*AGA*
푸코시드증	*FUCA1*

[0628]

[0629] ***실시예 12: Gcase를 암호화하는 rAAV를 이용한 비인간 영장류 연구***

[0630] 인간 *GBA1*의 코돈 최적화된 코딩 서열(서열번호 15)을 포함하는 PR001A(AAV9.CBA.GBA1.A)의 안전성을 비인간 영장류(NHP) 생체 내에서 평가하였다. PR001A 성분에 대한 추가적인 세부 사항이 위에 제공되어 있다. NHP의 뇌는 인간과 가장 유사하고, NHP 척수 및 CSF 부피 및 유동의 해부학적 특징은 ICM(시스테나 마그나 내) 주사를 가능하게 한다. 인간과의 해부학적 유사성으로 인해, NHP 연구는 PR001A의 임상 투여를 뒷받침하는 신뢰할 수 있는 생체분포 데이터를 제공할 것으로 예상되었다.

[0631] 시노몰구스 원숭이를 대상으로 한 3건의 독성학 연구(표 8): 2건의 비-GLP(비임상시험 관리 기준, Good Laboratory Practice) 연구(PRV-2018-015 및 PRV-2019-005), 및 보다 광범위한 21CFR58 GLP 준수 연구(PRV-2018-016)에서 PR001A의 안전성 및 생체분포를 평가하였다.

[표 8]

PR001A 를 사용한 NHP 비임상 안전성 연구의 개요

연구 번호	규제 감독	종(연령)	ROA	투여량 군 (vg/g 뇌)	총 PR001A 투여량(vg)	부검 시점	평가변수
PRV-2018-015	비-GLP	시노몰구스 (2-3년 연령)	ICM ICM + IPa	0 2.0×10^{11} 2.1×10^{11}	0 1.47×10^{13} 1.53×10^{13}	D18	생전 안전 생체분포; 조직병리학
PRV-2018-016	GLP	시노몰구스 (2-4년 연령)	ICM	0 6.2×10^{10} 2.3×10^{11}	0 4.6×10^{12} 1.7×10^{13}	D7, D30, D183	생전 안전 생체분포; 조직병리학; CBC; 벡터 흘림
PRV-2019-005	비-GLP	시노몰구스 (2-3년 연령)	ICM	0 7.0×10^{11}	0 5.2×10^{13}	D30, D90	생전 안전 생체분포; 조직병리학

약어: CBC, 전혈구 수; D, 일; GLP, 비임상시험 관리기준; ICM; 시스테나 마그나 내; IPa, 실질내; NHP, 비인간 영장류; ROA, 투여 경로; vg, 벡터 게놈.

[0632]

[0633] 최종 PR001A 산물이 ICM 투여 후 NHP 뇌에 전달됨을 확인하기 위해 NHP에서 예비 비-GLP 연구(PRV-2018-015)를 수행하였다. NHP에서의 GLP 독성학 및 생체분포 연구(PRV-2018-016)는 PR001A의 안전성과 생체분포를 평가하였다.

[0634] NHP에서 시험된 투여량은 투여된 부피 및 시험 생성물 역가에 의해 결정되는 최대 실행가능 투여량을 포함한다. 또한, GLP 연구에서 보다 낮은 투여량을 평가하였다. GLP 연구의 시점은 치료 후 피크 발현 전(7일차), 피크 발현 시작 전(30일차), 및 피크 발현 후 장기간(183일차)에서의 안전성을 평가하기 위해 선택되었다.

[0635] *연구 PRV-2018-015: PR001A의 비-GLP NHP 연구*

[0636] PR001A의 비-GLP 예비 내성 및 생체분포 연구를 수컷 시노몰구스 원숭이를 대상으로 수행하였다. 이 연구의 목표는 ICM 전달 후 다양한 뇌 영역 및 주요 말초 기관에 대한 PR001A의 생체분포를 검증하는 것이었다. 희생 시점은 잠재적 조기 독성의 의미 있는 측정을 가능하게 하여, 계획된 GLP NHP 독성학 연구에 정보, 특히 기능적 관찰 종합평가(FOB)에 의해 측정했을 때 초기 생전 관찰을 통해 알려진 정보를 제공할 수 있을 것으로 예측되는 바에 따라 선택되었다. 경막내 AAV 전달에 대한 연구는 이식유전자 발현이 주사 후 2 내지 3주차에 피크를 이룬다는 것을 입증하였다(Hinderer 등, *Mol Ther*. 2014;22(12):2018-27; Hinderer 등, *Mol Ther Methods Clin Dev*. 2014;1:14051; Hinderer 등, *Mol Ther*. 2015;23(8)1298-307; Hinderer 등, *Mol Genet Metab*. 2016;119(1-2):124-30). 따라서, 18일차 평가는 주사 절차 또는 시험 물품에 대한 선천적 염증 반응에 기인한 즉각적인 독성을 검출할 뿐만 아니라, 조기 피크 발현에 상응하는 시점에 이식유전자 생체분포 및 발현에 관한 정보를 제공할 것이다. 면역억제가 잠재적 독성을 완화시키는 데 유익한지의 여부를 결정하기 위해, 연구 설계에는 PR001A와 병용하여 라파마이신 치료(0.3 mg/kg 경구, -3일차 내지 18일차)를 투여받는 아암이 포함되었다. 뇌에서 이식유전자 발현을 증가시키기 위해, 본 연구에서의 하나의 아암에는 ICM 전달과 함께 양측 흑색질 치밀부를 표적화하는 PR001A를 중뇌 내에 직접 실질내(IPa) 투여하는 것이 포함되었다. ICM 투여량은 투여 경험이 있는 최대 부피인 0.5 mL이었고, IPa 투여량은 ICM 단독의 경우 1.47×10^{13} vg, ICM 및 IPa 둘 모두를사용하는 치료의 경우 1.53×10^{13} vg의 투여량으로 해석되는 10 μL 양측성 투여량이었다. 뇌 중량이 74 g으로 추정되는 경우, 이는 2.0×10^{11} vg/g의 ICM 투여량 및 ICM을 IPa와 병용 투여하는 군에 대해 2.1×10^{11} vg/g 뇌의 투여량으로 해석된다. 본 연구의 설계에 대한 도표화된 요약이 표 9에 제공되어 있다.

[표 9]

비-GLP NHP 연구 PRV-2018-015 의 개요

<table>
<tr><td colspan="2">NHP 에서 PR001A 투여 후 생체분포 및 안전성 연구</td></tr>
<tr><td>목적</td><td>NHP 에서 PR001A 의 내성 및 생체분포 평가</td></tr>
<tr><td>규정 준수</td><td>비-GLP</td></tr>
<tr><td>시험 물품</td><td>PR001A</td></tr>
<tr><td>총 동물 수</td><td>8 마리 수컷 시노몰구스 원숭이</td></tr>
<tr><td>체중(연령)</td><td>3 -4 kg(2 - 3 세)</td></tr>
<tr><td>동물 수/군</td><td>2 마리/군</td></tr>
<tr><td>연구 설계</td><td>군 할당
<table>
<tr><th>군</th><th>투여량 (vg/g 뇌)</th><th>ROA</th><th>면역억제</th><th>동물 수</th></tr>
<tr><td>1</td><td>0</td><td>ICM</td><td>아니요</td><td>2</td></tr>
<tr><td>2</td><td>2.0×10^{11}</td><td>ICM</td><td>아니요</td><td>2</td></tr>
<tr><td>3</td><td>2.0×10^{11}</td><td>ICM</td><td>예</td><td>2</td></tr>
<tr><td>4</td><td>2.1×10^{11}</td><td>ICM + IPa</td><td>아니요</td><td>2</td></tr>
</table></td></tr>
<tr><td>투여 경로 및 빈도</td><td>주사기를 사용한 ICM; 해밀턴 주사기를 사용한 0.5 mL IPa 의 단일 주사; 각 반구에 10 µL 의 양측 주사</td></tr>
<tr><td>제형</td><td>투여 용액은 2.9×10^{13} vg/mL 의 농도로 제공됨; 대조군에 사용된 부형제는 임상용으로 의도된 것과 유사한 제형임(20 mM 트리스 pH 8.0, 200 mM NaCl, 1 mM $MgCl_2$, 및 0.001%[w/v] 폴록사머 188)</td></tr>
<tr><td>FOB</td><td>매주</td></tr>
<tr><td>체중</td><td>매주</td></tr>
<tr><td>부검</td><td>18 일차</td></tr>
<tr><td>H&E 및 qPCR</td><td>모든 군의 모든 동물로부터 다음의 조직을 조사하였다:
간 전두엽 피질 심실 상
폐 두정엽 피질 핵
신장 후두피질 뇌교
생식선 결절성 피질 전정 피질
심장 대상물 피질 수질
경추 중뇌 시상골의 비장 해마
소뇌 후근 신경절
척수

중뇌 H&E 의 경우, IPa 군의 주입 부위 주위의 6 개의 절편을 포함하는 적어도 12 개의 절편을 포함하고; ICM 단독군(1-3)은 동일한 해부학적 수준을 포함한다.</td></tr>
</table>

약어: FOB, 기능적 관찰 배터리; GLP, 비임상시험 관리기준; H&E, 헤마톡실린 및 에오신; ICM; 인트라-시스테나 마그나; 면역 억제, 면역 억제; IPa, 실질 내; $MgCl_2$; 염화마그네슘; NaCl, 염화나트륨; NHP, 비인간 영장류; qPCR, 정량적 중합효소 연쇄 반응; ROA, 투여 경로; vg, 벡터 게놈(들).

[0637]

[0638] H&E 분석은 2명의 면허 취득 수의과 병리학자가 독립적으로 수행하였으며, 두 사람 모두 PR001A-관련 독성 소견이 없다고 결론을 내렸다. 관찰된 척수 변화는 ICM 주사 시 외상의 결과일 가능성이 높았으며 PR001A와 관련이 있는 것으로 간주되지 않았다. 비신경계 조직에서의 모든 조직병리학적 소견은 대조군 원숭이에서 흔히 관찰되는 자발적 또는 부수적 변화로 간주되었다. 전반적으로, 뇌 또는 척수에서 확정적인 PR001A 유해 효과는 없었다.

[0639] 이를 검토한 병리학자는 수막, 뇌 또는 척수 실질 및/또는 (이들 조직 내) 주사 부위에서 비특이적 변화(주로 단핵 세포의 가변적인 침윤물)가 시험 물질과 관련이 있을 가능성이 높다는 것을 관찰하였지만, 병리학자는 이러한 변화를 유해한 것으로 간주하지 않았다. 언급된 중증도에서, 유사한 침윤물이 수막 및/또는 혈액 뇌 장벽을 파괴하는 실험 절차에 의해 임의의 원숭이에서 관찰될 것으로 합리적으로 예상될 수 있다. 또한, 일부 침윤물(특히 맥락막 신경총 내 심윤물, 종종 실질 조직 내 침윤물)은 대조군 원숭이에서 흔히 관찰된다(Butt 등, *Toxicol Pathol.* 2015;43:513-8). 관찰된 다른 모든 조직병리학적 소견은 부형제 및 PR001A-치료 동물에서 부

수적인 것으로 간주되었고/되거나 유사한 발생률 및 중증도를 나타냈으며, 따라서 PR001A의 투여와 관련이 없는 것으로 간주되었다. 동일한 조직 샘플을 검토한 2명의 독립적인 면허 취득 동물 병리학자는, 모든 소견이 비특이적이기 때문에 주사 절차 동안 발생한 부수적인 소견 또는 외상과 구별할 수 없고, 부형제만을 투여한 대조군을 포함한 모든 군에 걸쳐 상이하다는 것을 언급하였다. 또한, 다른 기관-인증 동물 병리학자가 비-GLP 조직을 검토하였고, PR001A-관련 효과가 없다는 결론을 내렸다.

[0640] 전반적으로, 연구 과정 동안 연구 군과 상관없이, 그리고 여러 시점에 걸쳐, FOB 점수, 체중 증가 또는 음식 섭취의 변화는 없었다. 중뇌에서의 미세아교세포 형태는 (Iba1 염색으로 결정된 바와 같이) 치료군 간에 상이한 것으로 나타나지 않았다. 중뇌의 티로신 히드록실라아제 양성 뉴런의 발현 및 형태는 치료군 간에 상이한 것으로 나타나지 않았다. 18일차에, AAV9-nAb 역가는 모든 PR001A-치료 동물에서 증가한 반면, 부형제-치료 대조군 동물은 베이스라인 대비 약간의 변화만을 나타냈다. 경구 라파마이신을 투여받은 군의 원숭이 중 한 마리는 PR001A 치료를 받은 다른 동물(> 1:256)에 비해 18일차에의 AAV9 nAb 역가가 더 낮았으며(1:64); 이러한 역가의 차이는 생체분포에 영향을 미치는 것으로 보이지 않았지만, 이를 결정적으로 간주하게에는 샘플 크기가 너무 작았다.

[0641] 정량적 중합효소 연쇄 반응(qPCR)을 사용하여 수집된 모든 시험 샘플에서 생체분포를 평가하였다; 조직은 적어도 100 vg/μg의 DNA에서 양성으로 간주되었다(이 기준은 또한 마우스 효능 연구에서 양성 조직을 평가하는 데 사용됨). PR001A로 치료한 모든 군에서 시험된 모든 조직은 양성이었으며, 이는 CNS 및 주변부 전체에 걸친 광범위한 분포를 나타낸다. 또한, 중뇌로의 양측성 IPa 투여와 함께 PR001A의 ICM 투여를 받은 동물은 국소 발현이 증가하였다. 라파마이신 치료는 안전성 또는 생체분포에 어떠한 영향도 미치지 않는 것으로 나타났다(도 30). 주목할 점은, 대조군 동물로부터의 여러 조직(뇌교, 척수, 뇌실, 후근 신경절 및 폐) 또한 qPCR로 결정했을 때 양성이었다는 것이다. 상이한 치료군의 동물 및 각 동물 내의 상이한 기관들 간의 교차 오염에 대한 위험이 증가한다는 것을 나타내는 부검 절차에 관한 몇 가지 문제점이 관찰되었다. 향후 연구에서의 오염을 최소화하기 위해 부검 절차에 변경을 적용하였다. 그러나, qPCR에 대해 양성인 어떠한 동물에서도 유해한 독성 소견은 없었다. 이식유전자 발현(GCase 활성)의 분석은 대조군과 비교하여 PR001A 치료 동물에서 GCase 활성의 유의한 증가를 나타내지 않았으며; GLP NHP 독성 연구 PRV-2018-016에서 GCase 활성을 보다 상세하게 조사하였다.

[0642] 종합하면, 비-GLP NHP 연구 PRV-2018-015의 결과는 생전 또는 사후 평가 중 어느 것에 대해서도 안전성 또는 독성 우려를 나타내지 않았다. 모든 동물은 예정된 부검일까지 생존했으며, 사후 병리학 분석은 유해한 독성 우려를 나타내지 않았다. 연구는 또한 뇌에서의 PR001A의 균일한 생체분포를 나타냈다.

[0643] *연구 PRV-2018-016: PR001A의 GLP NHP 연구*

[0644] 연구 설계:

[0645] 본 GLP 연구의 목적은 시노몰구스 원숭이에게 PR001A를 ICM 주사를 통해 1회 투여될 때, 7일, 30일 또는 183일의 투여 후 관찰 기간에 있어서의 독성 및 생체분포를 평가하는 것이었다. 이 연구는 2가지 투여량 수준을 평가하도록 설계되었다: 가장 높은 투여량은 1.2 mL 부피(투여 경험이 있는 가장 높은 부피)의 희석되지 않은 시험 제품으로 달성 가능한 최대 투여량이며, 더 낮은 투여량은 고 투여량보다 1/2 로그 단위가 더 낮다. 투여량은 4.6×10^{12} vg의 저 투여량 및 1.7×10^{13} vg의 고 투여량에 해당하였다; 시노몰구스 원숭이의 뇌 중량 추정치는 74 g이며, 이는 약 6.2×10^{10} vg/g의 뇌 및 2.3×10^{11} vg/g의 뇌로 해석된다. 이 연구는 또한 동물이 1.2 mL의 부형제(20 mM 트리스 pH 8.0, 200 mM NaCl, 1 mM $MgCl_2$, 및 0.001%[w/v] 폴록사머 188)만을 투여받는 대조군을 포함하였다. 이 연구는 수컷 및 암컷 시노몰구스 원숭이를 모두 사용하였다. 7일차 군에는 최고 투여량의 수컷 1마리가 포함되었고, 이는 초기 독성에 대한 전초로서 설계되었다; 나머지 2개의 시점(30일차 및 183일차)에는 각 투여량에 대해 수컷 2마리 및 암컷 1마리가 포함되었다. 다수의 뇌 영역으로부터의 샘플 이외에, qPCR 분석을 위한 말초 조직 샘플을 수집하였다. 이식유전자 발현에 대해 qPCR에서 양성인 모든 샘플을 분석하였다. 본 연구의 설계에 대한 도표화된 요약이 표 10에 제공되어 있다.

[표 10]

GLP NHP 연구 PRV-2018-016 의 개요

<table>
<tr><td colspan="2">시노몰구스 원숭이에서의 1 회 투여 후 7 일, 30 일 또는 183 일의 관찰 기간의 시스테나 내 독성 및 생체분포 연구</td></tr>
<tr><td>목적</td><td>NHP 에서 PR001A 의 내성 및 생체분포 평가</td></tr>
<tr><td>규정 준수</td><td>GLP</td></tr>
<tr><td>시험 물품</td><td>PR001A</td></tr>
<tr><td>총 동물 수</td><td>19 마리 시노몰구스 원숭이</td></tr>
<tr><td>체중(연령)</td><td>2 내지 5 kg(25 내지 50 개월)</td></tr>
<tr><td>연구 설계</td><td>군 할당
<table>
<tr><td rowspan="2">군</td><td rowspan="2">투여량(vg/g 뇌)</td><td colspan="3">동물 수</td></tr>
<tr><td>부검 (7 일차)</td><td>부검 (30 일차)</td><td>부검 (183 일차)</td></tr>
<tr><td>1</td><td>0</td><td>0</td><td>2M/1F</td><td>2M/1F</td></tr>
<tr><td>2</td><td>6.2×10^{10}</td><td>0</td><td>2M/1F</td><td>2M/1F</td></tr>
<tr><td>3</td><td>2.3×10^{11}</td><td>IM</td><td>2M/1F</td><td>2M/1F</td></tr>
</table></td></tr>
<tr><td>투여 경로 및 빈도</td><td>주사기를 사용하는 ICM; 1 내지 3 cc 주사기 및 척수 바늘(Pencan 25 G x 2.5 cm BBraun); 0.5 cc/분의 최대 속도로 전달되는 단일 저속 볼루스</td></tr>
<tr><td>제형</td><td>1.42×10^{13} vg/mL 농도의 투여 용액이 제공됨</td></tr>
<tr><td>임상 징후</td><td>매일(음식 섭취 포함); 매주 상세한 관찰</td></tr>
<tr><td>체중</td><td>매주</td></tr>
<tr><td>신경학적, 안과적 및 심전도 검사</td><td>투여 1 회 및 2 주 및 26 주 동안</td></tr>
<tr><td>임상 병리학</td><td>모든 군, 혈액학, 임상 화학, 응고 파라미터</td></tr>
<tr><td>혈액학</td><td>적혈구 수
헤모글로빈
헤마토크릿
평균 혈구
헤모글로빈
평균 혈구
헤모글로빈 농도
평균 혈구 부피
혈소판 수
백혈구 수
혈액 도말
절대 망상적혈구 수
백혈구 수
차동 혈액 세포 수</td></tr>
<tr><td>임상 화학</td><td>포도당
요소 질소
크레아티닌
총 단백질
아미노전이효소
알부민
글로불린
알부민/글로불린 비율
콜레스테롤
총 빌리루빈
크레아틴 키나아제
알라닌 아미노전이효소
알칼리 인산분해효소
감마 글루타밀전이효소
아스파르테이트
칼슘
무기 인
나트륨
칼륨
염화물
중성지방</td></tr>
</table>

[0646]

[0647]

응집	프로트롬빈 시간 피브리노겐 활성화된 부분 트롬보플라스틴 시간
벡터 쉐딩(소변/대변)	희생 시
부검	7 일차, 30 일차, 183 일차
조직병리학을 위한 조직 보존	각 동물로부터, 다음의 조직을 (달리 나타내지 않는 한) 10% 중성 완충 포르말린에 수집하거나, 해당되는 경우 누락으로 기록함:
조직병리학	모든 군 - 모든 조직
생체분포	다음의 조직을 qPCR 에 의한 생체분포에 대해 분석함: 전두엽 / 간 해마 / DRG (자궁경부) 복측 중뇌 / DRG(흉부) 뇌실주위 회색 / DRG(요추) 비문 / 척수(흉부) 고환 / 척수(요추) 난소 / 척수(자궁경부) 신장 / 비장 위(유문) / 심장(심첨) 혈액 / CSF
GCase 발현	qPCR 에 양성인 모든 샘플은 GCase 발현에 대해 평가됨
조직 보존	부신 [a], 대동맥, 뼈, 있는 대퇴골, 골수, 골수, 뇌 [a], 흉부, 맹장, 자궁경부, 결장, 십이지장, 부고환, 식도, 안구 [b], 담낭, GALT (Peyer 패치), 심장 [a], 회장 주사 부위 (피부 위), 제주넘(Jejunum), 신장 [a], 간 [a], 폐, 기관지, 림프절 (하악), 림프절 (간막), 유선, 근육, 부갑상선, 대퇴, 시신경, 난소 [a], 난관, 췌장, 뇌하수체, 기질 [a] 직장, 타액선, 좌골신경이, 정낭 [a], 척수 (자궁경부, 요추), 비장 [a], 위, 고환 [a], 흉선 [a], 갑상선, 이두근 [a], 혀, 기관, 방광, 자궁 [a], 질

	[a] 기관(존재하는 경우)의 칭량되거나 누락된 것으로 표시됨: [b] 변형된 Davidson 고정액 중 수집하여 10% 중성 완충 포르말린에 보관함

약어: CSF, 뇌척수액; DRG, 후근 신경절; F, 암컷; GALT, 장-연관 림프 조직; GLP, 비임상시험 관리기준; ICM; 시스테나 마그나 내; M, 수컷; $MgCl_2$; 염화마그네슘; NaCl, 염화나트륨; NHP, 비인간 영장류; qPCR, 정량적 중합효소 연쇄 반응; vg, 벡터 게놈(들). [a] 20 mM 트리스 pH 8.0, 200 mM NaCl, 1 mM $MgCl_2$, 및 0.001%(w/v) 폴록사머 188.

[0648]

[0649] 사망율/이환율(매일), 임상 관찰(매일), 체중(베이스라인 및 그 후 매주), 음식 섭취에 대한 육안 검사(매일), 신경학적 관찰(베이스라인 및 2주 내지 26주 동안), 간접 검안경 검사(베이스라인 및 2주 내지 26주 동안), 및 심전도 측정(베이스라인 및 2주 내지 26주 동안)을 포함하는 다수의 생전 관찰 및 측정으로 시노몰구스 NHP를 평가하였다.

[0650] 베이스라인 및 7일차, 30일차 또는 183일차 희생 시 AAV9 캡시드에 대한 nAb의 분석을 수행하였다. 혈액학, 응집, 임상 화학 및 소변검사로 이루어진 임상 병리학을 베이스라인에서 2회(혈액 검사; 소변검사용 1회) 및 투여

단계의 1주차 및 13주차 동안 1회 수행하였다.

[0651] 동물을 안락사시키고, 7일차, 30일차 또는 183일차의 조직을 채취하였다. 조직을 모든 동물로부터 수집하고, 칭량하고(해당되는 경우), 복제물로 분류하였다. 조직병리학적 평가(모든 동물)를 위해 10% 중성 완충 포르말린(최적의 고정을 위해 특별한 고정제가 필요한 경우는 제외)에서 하나의 복제물을 보존하였다. qPCR 및 이식유전자 발현 분석을 위해 추가의 복제물을 채취하였다.

[0652] 안전성 및 독성

[0653] 모든 동물은 예정된 부검일까지 생존하였으며 예상치 못한 사망은 없었다. 모든 군에 대해 생존 중 평가에 대한 우려나 문제는 없었으며, 부검 시 육안 검사에서 어떠한 군에서도 PR001A-관련 이상은 나타나지 않았다.

[0654] 7일차 또는 30일차의 중간 희생 시 또는 183일차의 최종 희생 시PR001A-관련 기관 중량 차이 또는 육안적 또는 현미경적 소견은 어느 군에서도 존재하지 않았다. 주로 뇌간 부위에서 혈관주위 출혈의 국소 부위를 특징으로 하는 출혈은 대조군을 포함한 모든 군에 걸쳐 존재하였으며, 이는 절차와 관련된 것(부검 전의 CSF 채취)으로 간주되었으며 PR001A와는 관련이 없었다. 뇌 또는 척수 내 최소 단핵 침윤물을 포함한 다른 모든 현미경적 소견은 낮은 발생률로 발생했고, 해당 군에 무작위로 분포했고/했거나(동시 대조군 포함), 이는 해당 연령의 원숭이에 대해 예상되는 중증도였으며, 자발적 및/또는 부수적인 것으로 간주되었으므로, PR001A와는 관련이 없는 것으로 간주되었다.

[0655] 임상 병리학 시험 결과에서 PR001A-관련 소견은 관찰되지 않았으며, 벡터에 대한 면역 반응과 일치하는 최고 항-AAV9 역가를 나타내는 동물에서 피브리노겐 증가가 관찰되었다. 항-AAV9 항체에 대한 양성 역가는 PR001A가 투여된 모든 동물에서 7일차까지 관찰되었다. PR001A-관련 임상 관찰, 체중 변화, 안과 관찰, 또는 신체 또는 신경학적 검사 소견은 관찰되지 않았다. PR001A의 투여량 중 하나를 투여한 수컷 단독 또는 성별 조합에서, 평균 PR 간격, QRS 지속 시간, QT 간격, 보정된 QT(QTc) 간격 또는 심박수에서의 PRPR001A-관련 상이점은 관찰되지 않았다. PR001A-관련 부정맥 또는 비정상적인 파형은 관찰되지 않았다.

[0656] 수컷 및 암컷 원숭이에게 시스테나 마그나로 1회 주사했을 경우, 0, 6.2 X 10^{10}, 또는 2.3 X 10^{11} vg/g 뇌 PR001A의 투여량 수준은 내약성이 양호했다. PR001A에서, 유전자 산물과 관련이 있는 것으로 간주된 생전, 임상 병리학 또는 해부학적 병리학 관찰은 관찰되지 않았다.

[0657] 생체분포 및 면역 반응

[0658] 벡터 게놈 카피의 생체분포 분석을 qPCR 기반 검정(벡터 존재)을 사용하여 수행하였고; 벡터 게놈 존재에 대해 양성인 샘플에서 이식유전자(*GBA1*)의 발현을 측정하였다. 30일차 및 183일차에, 고 투여량(2.3 X 10^{11} vg/g 뇌)으로 치료한 후, 검사한 모든 조직(CNS 및 말초 포함)은 qPCR 분석에 의해 양성이었다(도 30에 도시된 183일차의 대표적인 영역을 선택함). 30일차에, 고 투여량의 PR001A(2.3 X 10^{11} vg/g 뇌)로 치료한 모든 NHP에서의 고환 및 난소로부터 채취한 조직 샘플은 형질도입에 대해 양성이었다. 또한, 저 투여량의 PR001A(6.2 X 10^{10} vg/g 뇌)로 치료한 1마리의 수컷 NHP는 30일차에 고환에서 양성이었다. 183일차에, 고 투여량으로 치료한 후의 수컷 1마리 및 암컷 1마리는 생식선에서 PR001A 형질도입에 양성이었고, 저 투여량으로 치료한 수컷 2마리는 고환에서 양성이었다.

[0659] 인간 GCase가 치료된 NHP에서 생산되었음을 확인하기 위해, 단백질 수준을 Jess 기기의 Simple Western™ 면역블롯 시스템에서 평가하였다. PR001A가 투여된 NHP로부터 획득된 피질, 해마, 및 중뇌 샘플의 결과는 부형제만을 투여한 정상 NHP로부터의 샘플과 비교하여 종합적으로 분석했을 때, GCase 발현의 수준이 상승하였음을 나타냈으며; 여기에서 대조군과의 통계적 비교를 위해 저 투여량 및 고 투여량 군 둘 모두를 조합하였다(도 31a 및 도 31b). 이러한 결과는 ICM 투여 후 NHP에서, PR001A의 효과적이고 광범위한 형질도입이 GCase 발현을 증가시킨다는 것을 나타낸다.

[0660] 결론적으로, 생체분포 소견은 NHP에서 PR001A의 ICM 투여가 뇌 및 말초 장기에서의 인간 *GBA1* 이식유전자의 강력하고 광범위한 형질도입을 초래함을 나타낸다. NHP 생체분포 데이터를 요약하면, PR001A의 ICM 투여는 마우스 모델에서 효과적인 것으로 나타난 수준과 유사한 뇌 전체에 걸친 광범위한 생체분포를 초래하며; 이러한 형질도입은 뇌에서 GSase 단백질 수준의 상승을 초래한다.

[0661] *연구 PRV-2019-005: PR001A의 비-GLP NHP 연구*

[0662] 연구 설계:

[0663] ICM 주사를 통해 1회 투여 시 투여 후 30일 및 90일의 관찰 기간 동안 PR001A의 독성 및 생체분포를 평가하기 위해 12마리의 수컷 시노몰구스 원숭이를 대상으로 비-GLP 시험을 수행하였다. 연구는 시노몰구스 원숭이의 74 g의 평균 뇌 중량을 가정하여, 5.2 X 10^{13} vg, 또는 7.0 X 10^{11} vg/g 뇌의 단일 투여량 수준을 평가하도록 설계되었다. 투여되는 투여량은 희석되지 않은 PR001A 산물의 1.2 mL 부피(투여 경험이 있었던 최고 부피)로 달성할 수 있는 최대 실현 가능한 투여량이다. 이 연구는 동물이 1.2 mL의 부형제(20 mM 트리스 pH 8.0, 200 mM NaCl, 1 mM $MgCl_2$, + 0.001%[w/v] Pluronic F68)만을 투여받는 대조군을 포함하였다. 생체분포를 측정하기 위한 qPCR 분석을 위해 다수의 뇌 영역 및 말초 기관으로부터의 샘플을 수집하고, 임상 병리학 측정 및 조직병리학을 수행하여 안전성을 평가하였다. 본 연구의 설계에 대한 도표화된 요약이 표 11에 제공되어 있다.

[표 11]

비-GLP NHP 연구 PRV-2019-015 의 개요

<table>
<tr><td colspan="2">비인간 영장류에서 시스테나 마그나 내 PR001A 투여 후 비-GLP 독성학 및 생체분포 연구</td></tr>
<tr><td>목적</td><td>NHP 에서 PR001A 의 내성 및 생체분포 평가</td></tr>
<tr><td>규정 준수</td><td>비-GLP</td></tr>
<tr><td>시험 물품</td><td>PR001A</td></tr>
<tr><td>총 동물 수</td><td>12 마리 시노몰구스 원숭이</td></tr>
<tr><td>체중(연령)</td><td>2 -4 kg(2 - 3 세)</td></tr>
<tr><td>연구 설계</td><td>군 할당
<table>
<tr><th rowspan="2">군</th><th rowspan="2">투여량(vg/g 뇌)</th><th colspan="2">동물 수</th></tr>
<tr><th>30 일차</th><th>90 일차</th></tr>
<tr><td>1</td><td>0</td><td>3</td><td>3</td></tr>
<tr><td>2</td><td>7.0 x 10^{11}</td><td>3</td><td>3</td></tr>
</table></td></tr>
<tr><td>투여 경로 및 빈도</td><td>시스테나 마그나 내; 3 분에 걸쳐 1 회의 느린 볼루스 전달</td></tr>
<tr><td>제형</td><td>4.3 x 10^{13} vg/mL 농도의 투여 용액이 제공됨</td></tr>
<tr><td>임상 징후</td><td>매일(음식 섭취 포함)</td></tr>
<tr><td>체중</td><td>매일</td></tr>
<tr><td>FOB</td><td>14 일차, 7 일차, 30 일차, 60 일차, 90 일차</td></tr>
<tr><td>임상 병리학(화학 및 혈액학)</td><td>14 일차, 7 일차, 30 일차, 60 일차, 90 일차</td></tr>
<tr><td>혈액학</td><td>적혈구 수
헤모글로빈
헤마토크릿
평균 혈구 헤모글로빈
평균 혈구 헤모글로빈 농도
평균 혈구 부피
혈소판 수
백혈구 수
혈액 도말
망상적혈구 수
차동 혈액 세포 수</td></tr>
<tr><td>임상 화학</td><td>포도당
알칼린 요소 질소
크레아티닌
총 단백질
아미노전이효소
알부민
글로불린
알부민/글로불린 비율
알라닌 아미노전이효소
인산분해효소
감마 글루타밀전이효소
아스파르테이트
칼슘
무기 인
나트륨</td></tr>
</table>

[0664]

	콜레스테롤 칼륨 총 빌리루빈 염화물 중성지방
부검	30 일차 및 90 일차
조직 보존	모든 군의 모든 동물로부터 다음의 조직을 조사하였다: 전두엽 간 해마 신장 복측 중뇌 심장(심첨) 뇌실주위 핵 비장 비문 위(유문) 후근 신경절(경부) 고환 후근 신경절(흉근) 척수(경부) 후근 신경절(요추) 척수(흉부) CSF 척수(요추)
조직병리학	위의 조직 목록에 있는 샘플은 보존되고 H&E 조직학용 파라핀 왁스가 포매됨.
생체분포	위에 표시된 조직 목록은 수집되어 저장됨. 모든 동물의 샘플은 정량적 PCR(qPCR)로 생체분포에 대해 분석됨.

약어: CSF, 뇌척수액; FOB, 기능적 관찰 배터리; GLP, 비임상시험 관리기준; H&E, 헤마톡실린 및 에오신; NHP, 비인간 영장류; qPCR, 정량적 중합효소 연쇄 반응; vg, 벡터 게놈(들).

[0665]

[0666] 본 연구의 일부로서, 조직을 10% 포르말린에 고정시키고, 파라핀에 포매시키고, 처리하여 H&E-염색 슬라이드를 생산하였다. 디지털 슬라이드를 제조하고, 이를 독립된 면허를 가진 수의과 병리학자가 검사하였다. 치료 후 30일차 및 90일차 시점 둘 모두에서,

[0667] PR001A-치료 동물에서의 소견은 시노몰구스 원숭이에서 통상적으로 관찰된 소견(Chamanza 등, *Toxicol Pathol.* 2010;38(4):642-57)과 일치하였고/일치하였거나, 비히클 대조군 동물 및 PR001A 치료 동물 모두에서 관찰되었으며, 이에 따라 부수적인 것으로 간주된 바와 같이, PR001A 치료에 기이하는 소견은 없었다.

[0668] 연구 과정 동안 치료군과 대조군 간에 통계적 차이가 없었으며, 시스테나 마그나에 투여된 PR001A가 체중 증가 또는 음식 섭취에 미치는 영향은 없었다. 또한, 군 및 시점 전반에 걸쳐 FOB 점수에 변화가 없었으며, 이는 연구의 생전 단계 동안의 문제 또는 우려 사항이 없음을 나타낸다. 시험관 내 검정을 사용하여 AAV9에 대한 nAb의 혈장 수준을 측정하였다. 샘플은 베이스라인(ICM 투여 전) 및 희생 시점(30일차 또는 90일차)에서의 연구 동물로부터 제조되었다. PR001A 치료는, 30일차와 90일차 모두에서 베이스라인과 부검 시간 사이에 AAV9 nAb 역가를 증가시킨 반면, 비히클로 치료한 동물의 역가는 전반적으로 안정하거나 감소하였다.

[0669] <u>PR001A의 생체분포 및 발현</u>

[0670] qPCR을 사용하여 수집된 모든 시험 샘플에서 PR001A 이식유전자의 생체분포를 평가하였다; 조직은 적어도 50 vg/μg DNA, 즉 검정에 대한 정량 하한으로 양성으로 간주되었다. PR001A로 치료한 모든 군에서 시험된 모든 조직은 양성이었으며, 이는 CNS 및 주변부 전체에 걸친 광범위한 분포를 나타낸다. 30일차 및 90일차 군 둘 모두의 선택된 대표적인 영역으로부터의 데이터는 도 32에 도시되어 있다.

[0671] 종합하면, 비-GLP NHP 연구 PRV-2019-005의 결과는 생전 또는 사후 평가 중 어느 것에 대해서도 안전성 또는 독성 우려를 나타내지 않았다. 모든 동물은 예정된 부검일까지 생존했으며, 사후 병리학 분석은 유해한 독성 우려를 나타내지 않았다.

[0672] NHP에서 PR001A로 수행된 안전성 및 독성학 연구는 표 16에 요약되어 있다.

[0673] ***실시예 13: 인간 대상체에서의 1/2상 시험***

[0674] <u>*GBA1* 돌연변이를 갖는 파킨슨병</u>

[0675] 인간 대상체는 PR001A rAAV의 공개 상승 투여량 임상시험에 등록될 것이다. 대상체의 선정 기준은 단일 또는 이중 대립유전자 *GBA1* 돌연변이, 중등 내지 중증 파킨슨병을 포함하며, 이는 임상시험용 의약품 투여 전에 백그라운드 파킨슨병 약물을 안정적으로 사용한다. 대상체는 다음의 2개의 군으로 나누어진다: (1) PR001 저 투여량 (1.4×10^{14} vg) (N = 6); 및 (2) PR001 고 투여량(2.8×10^{14} vg) (N = 6). 각 대상체는 임상시험용 의약품을

단일 ICM(시스테나 마그나 내) 주사로서 투여받는다. 임상시험에는 3개월 바이오마커 판독, 12개월 임상 판독, 5년 안전성 및 임상 추적관찰이 포함된다. 임상시험은 (1) 안전성 및 내약성; (2) 다음을 포함하는 주요 생체지표를 분석한다: Gcase, GluCer, 및 GluSph(CSF 및 혈액); (3) α-시뉴클레인, NfL(신경필라멘트 광), DAT(도파민 수송체) SPECT(단일 광자 방출 컴퓨터 단층촬영); 및 MRI(자기 공명 영상); 및 (4) 효능: MDS-UPDRS(운동 장애 학회 통합 파킨슨병 평가 척도, Movement Disorders Society Unified Parkinson's disease Rating Scale); 인지; 및 ADL(일상 생활 활동).

[0676] *2형 고세병*

[0677] 인간 대상체(n = 15)는 PR001A rAAV의 공개 시험에 등록될 것이다. 대상체의 선정 기준은 다음을 포함한다: 생후 0 내지 24개월 영아; 이중 대립유전자 *GBA1* 돌연변이; 2형 고세병과 일치하는 신경학적 징후 및 증상; 및 안정적인 표준 치료 백그라운드 약물. 각 대상체는 임상시험용 의약품을 단일 ICM(시스테나 마그나 내) 주사로서 투여받는다. 임상시험에는 3개월 바이오마커 판독, 12개월 임상 판독, 5년 안전성 및 임상 추적관찰이 포함된다. 임상시험은 (1) 안전성 및 내약성; (2) 다음을 포함하는 주요 생체지표를 분석한다: Gcase, GluCer 및 GluSph(CSF 및 혈액); (3) 임상 이벤트(예를 들어, 기관절개술, PEG(경피적 내시경 위루술) 삽입, 사망)까지의 기간; 및 (4) 효능: 행동, 인지, 대동작, 기능, QoL(삶의 질).

[0678] ***실시예 14: Gcase를 암호화하는 rAAV의 정맥내 투여 연구***

[0679] D409V Hom 마우스 모델에서 PR001 정맥내 투여량 범위 연구를 수행하였다. 동형 접합 *Gba1*$^{D409V/D409V}$(D409V Hom) 마우스(The Jackson Laboratory, Bar Harbor, ME)는 GCase 활성 감소를 포함하는 고세병 관련 표현형을 나타낸다(예를 들어, Sardi 등, *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2011;108(29):12101-6 참조). 연구 설계는 도 59에 제공된다. 군 및 투여량이 표 12에 제공되어 있다.

[표 12]

D409V Hom 마우스에서의 PR001 정맥 내 투여의 연구를 위한 군 및 투여량

군	벡터 게놈/kg
WT† + 부형제	N/A
D409V + 부형제	N/A
D409V + PR001 투여량 1	1.1×10^{10}
D409V + PR001 투여량 2	1.1×10^{11}
D409V + PR001 투여량 3	1.1×10^{12}
D409V + PR001 투여량 4	1.1×10^{13}
D409V + PR001 투여량 5	1.1×10^{14}

† Jackson Laboratory(Bar Harbor, ME)로부터 구매한 야생형 동물, 한배 새끼 아님.

[0680]

[0681] PR001의 정맥내 투여는 간의 염증을 감소시켰다(도 60a). D409V Hom 마우스는 PR001 치료에 의해 투여량 의존적 방식으로 억제된 간에서의 당지질 축적을 나타냈다(도 60b; 도 60c). D409V Hom 마우스는 뇌에서 GluSph 축적을 나타냈으며, 이는 PR001 치료에 의해 감소하였다(도 61b). PR001의 정맥내 투여는 폐의 염증을 감소시켰다(도 62).

[0682] 또한, 4L/PS-NA 마우스 모델에서 PR001 정맥내 투여량 범위 연구를 수행하였다. 연구 설계는 도 63에 제공된다. 군 및 투여량이 표 13에 제공되어 있다.

[표 13]

4L/PS-NA 마우스에서의 PR001 정맥 내 투여의 연구를 위한 군 및 투여량

군	벡터 게놈/kg
대조군 + 부형제	N/A
4L/PS-NA + 부형제	N/A
4L/PS-NA + PR001 투여량 1	9.5×10^{12}
4L/PS-NA + PR001 투여량 2	3.0×10^{13}
4L/PS-NA + PR001 투여량 3	9.5×10^{13}
4L/PS-NA + PR001 투여량 4	3.0×10^{14}

[0683]

[0684] 4L/PS-NA 마우스는 간에서 당지질 축적을 나타냈으며, 이는 PR001 치료에 의해 감소되었다(도 64a; 도 64b). 4L/PS-NA 마우스는 뇌에서 당지질 축적을 나타냈으며, 이는 PR001 치료에 의해 감소되었다(도 65a; 도 65b).

[0685] ***실시예 15:*** α-시뉴클레인***을 표적화하는 억제 RNA를 암호화하는 rAAV의 연구***

[0686] HeLa 세포를 여러 감염 다중성(MOI)에서 PR004 또는 PR014로 형질도입하였다. PR004 및 PR014 둘 모두는 투여량 의존적 방식으로 -시뉴클레인 단백질 수준을 감소시켰다(도 66a). PR004는 투여량 의존적 방식으로 GCase 활성을 증가시켰다(도 66b).

[0687] PR004 효능을 파킨슨병 환자 유래의 다능성 줄기 세포(iPSC)로부터의 뉴런 배양물에서 평가하였다. *SNCA* 삼중화를 갖는 파킨슨병 환자로부터 유래된 유도 만능 줄기 세포를 뉴런으로 분화시켰다(도 67a). PR004로 형질도입된 뉴런은 GCase 활성을 증가시켰고(도 67b), -시뉴클레인 단백질 수준을 감소시켰다(도 67c).

[0688] PR004 rAAV 벡터의 탈표적 효과는 관찰되지 않았다. PR004 벡터로부터의 shRNA 표적화 *SNCA*의 탈표적 효과를 HEK293 세포에서 qRT-PCR로 평가하였다. *SNCA*의 표적 영역과 서열이 가장 유사한 15개의 유전자의 발현을 평가하였다(도 68a). 또한, *SNCA* 계열 구성원인 베타- 및 감마-시뉴클레인(각각 *SNCB* 및 *SNCG*)의 발현을 평가하였다(도 68b). 이들 유전자의 mRNA 수준은 PR004에 의해 영향을 받지 않았다.

[0689] PR004 효능을 파키슨병의 AAV2-*SNCA*-A53T AAV 마우스 모델에서 평가하였다(도 69; 도 70). A53T 돌연변이를 갖는 인간 *SNCA*를 암호화하는 AAV2는 성인 야생형 마우스의 흑색질 내에 직접 주사되었다. 주사 후 4주차부터, 동물은 보행 이상, 도파민 대사의 변화, 도파민성 뉴런의 상실, 신경염증, 및 인산화된 -시뉴클레인 발현을 나타냈다. 자동화 운동 보행 분석(MotoRater)은 PR004 뇌실내 주입 후 4주차(도 71a) 및 9주차(도 71b)에 수행되었다. 두 시점 모두에서 PR004 치료 효과의 경향이 관찰되었다.

[0690] ***실시예 16: 인간 대상체에 대한 Gcase를 암호화하는 rAAV의 임상 투여***

[0691] 2형 고세병이 있는 22개월령 인간 영아를 시스테나 마그나 내 주사를 통해 PR001의 1.3×10^{14} vg(1.1×10^{11} vg/g 뇌) 투여량으로 치료하였다. 대상체의 뇌척수액(CSF)에서의 Gcase 효소 활성은 베이스라인에서의 검출 불가능한 수준에서 PR001의 투여 후 4개월차에 정상 수준으로 증가하였다(표 17 참조).

[표 17]

0 일차에 PR001 을 투여한 GD2 대상체에서의 Gcase 활성

	0 일차	1 개월차	4 개월차	정상 범위(성인)
CSF 중 GCase 활성(μmol/L/d)	검출 불가	1.0	4.7	1.1 - 8.1

[0692]

[0693] *GBA1* 돌연변이를 가진 파킨슨병을 앓고 있는 대상체를 시스테나 마그나 내 주사를 통해 PR001의 1.4×10^{14} vg 투여량으로 치료하였다. 대상체는 두 염색체 카피 모두에서 *GBA1* 돌연변이를 가졌다. 대상체의 CSF에서의 Gcase

효소 활성은 베이스라인에서의 검출 불가능한 수준에서 PR001의 투여 후 약 3개월차에 정상 수준으로 증가하였다(표 18 참조).

[표 18]

0 일차에 PR001 을 투여한 PD-GBA 대상체에서의 Gcase 활성

	0 일차	약 3 개월차	정상 범위(성인)
CSF 중 GCase 활성(μmol/L/d)	검출 불가	3.0	1.1 - 8.1

[0694]

[0695] ***실시예 17: 인간 환자에서 PR001 및 면역억제 프로토콜의 Gcase 수준에 대한 안전성 및 효과를 평가하기 위한 1/2상 연구***

[0696] PR001A는 AAV9 바이러스 벡터를 사용하여 Gcase를 암호화하는 유전자인 야생형 *GBA1*을 암호화하는 DNA를 환자의 세포에 전달하는 임상시험용 유전자 요법이다(도 55 참조). *GBA1* 돌연변이 또는 고셰병(2형 또는 3형)을 동반하는 파킨슨병 환자는 PR001A를 1회 투여받게 되며, 시술자는 이를 후두엽 아래 시스테나 마그나 내에 주사한다. 인간 대상체의 1/2상 시험에 대한 설명은 실시예 13을 참조한다. rAAV(PR001A)의 1회 투여량은 각 처방에서 0일차에 대상체에게 투여된다.

[0697] **면역억제제 투여**

[0698] 코르티코스테로이드 투여: 환자는 -1일차에 메틸프레드니솔론(MPS) 1000 mg IV 펄스의 부하 투여량을 투여받는다(-1일차 또는 시험기관 설정에 따라 0일에도 가능함). 리툭시맙(RTX) 투여 전 -14일차에서 -2일차 사이에 가능한 100 mg IV 메틸프레드니솔론 투여는 아래 내용을 참조한다. 30 mg/일 투여량의 프레드니손을 1000 mg IV 메틸프레드니솔론 펄스 다음 날(0일차 또는 1일차)부터 14일 동안 병용 약물로 경구 투여한 다음, 후속 7일 동안 점감하게 된다. 담당 의료인의 재량에 따라 코르티코스테로이드의 보다 높은 투여량 또는 보다 장기적인 점감을 사용할 수 있다.

[0699] 리툭시맙 투여: 환자는 -14일차와 -1일차 사이의 어느 날에 1000 mg의 리툭시맙 1회 투여량을 IV로 투여받는다. 리툭시맙과 연관된 주입 관련 반응(IRR)의 위험과 중증도를 완화하기 위해, 환자는 IV 리툭시맙을 투여받기 전에 IV 메틸프레드니솔론을 투여받는다. -1일차에 리툭시맙 투여량을 투여하기 위해, 환자는 전술한 1000 mg IV 메틸프레드니솔론 펄스 후 적어도 30분에 리툭시맙 주입을 받는다. -14일차와 -2일차 사이에 리툭시맙 투여량을 투여하는 경우, 환자는 IV 리툭시맙을 투여받기 약 30분 전에 100 mg의 메틸프레드니솔론 IV 주입을 받는다.

[0700] 또한, 해당 기관 및/또는 의료제공자의 재량에 따라 IRR 예방을 위해 아세트아미노펜 및/또는 디펜히드라민을 제공할 수 있다.

[0701] 시롤리무스 투여: 환자는 -1일차(-3일차 내지 -1일차의 윈도우)에 6 mg의 시롤리무스 경구 부하 투여량을 투여받는다. 2 mg/일의 후속 시롤리무스 경구 유지 투여량은 0일차(또는 시로리무스 부하 투여량이 -3일차 또는 -2일차에 투여되는 경우, 시롤리무스 부하 투여량 다음 날)에 시작하는 병용 약물로서 제공되며, 필요한 경우 90일 동안 6 ng/mL(4 내지 9 ng/mL 범위)의 혈청 최저 수준을 유지하도록 조정된다. 이어서, 이어지는 15 내지 30일 동안 시롤리무스를 점감한다. 시롤리무스 저점 수준을 각 방문의 시롤리무스 투여량 투여 전에 수집한다. 담당 의료인의 재량에 따라 시롤리무스의 보다 높은 투여량 또는 보다 장기적인 점감을 사용할 수 있다.

[0702] 면역억제 모니터링 기준: 시롤리무스 저점 수준을 모니터링하는 것 외에도, 각 환자의 임상 상태, 실험실 소견 및 잠재적 이상반응을 평가할 것이다.

[0703] 면역 억제제의 투여량을 증량하거나, 점감 요법을 연장하거나, 추가 제제를 추가하거나, 면역 반응과 일치하는 임상 징후 또는 다음과 같은 증상에 기초하여 치료를 재개해야 할 필요성을 고려해야 한다:

[0704] · 백혈구 수(WBC) > 30 mm^3 및/또는 고 뇌척수액(CSF) 단백질(> 70 mg/dL)을 동반한 무증상성 백혈구 증가증

[0705] · 임상적 증상을 동반하는 CSF 백혈구 증가증 및/또는 단백질 증가(기저 FTD 증상의 대상부전 포함)

[0706] · 신경학적 검사 및/또는 치료 유도 신경병증 평가 척도(TNAS)에 기반한 감각 증상의 발발

[0707] · 간염 증상(예를 들어, 황달, 피로)과 조합된 알라닌 아미노전이효소(ALT) 및/또는 아스파르테이트 아미노전이효소(AST) 상승, > 5 X 정상 상한치(ULN)

[0708] · 임상 증상의 유무와 상관없는 ALT 및/또는 AST 상승, > 10 X ULN.

[0709] 담당 의료인은 초기 14일 감량이 끝날 때의 ALT 및/또는 AST >3 X ULN인 환자에서, 추가로 4주에 걸쳐 보다 장기적인 프레드니손 점감을 실시하는 것을 고려해야 한다. 프레드니손 치료에 불응성인 AST/ALT 상승의 경우, 의료 서비스 제공자는 간 전문의의 전문적인 조언을 구해야 한다. 구조 면역억제가 필요한 CSF 염증 변화의 경우, 면역억제 재개/투여량 증가/추가 면역억제제 도입 후 1 내지 2개월 사이에 예정되지 않은 요추천자를 시행해야 한다.

[0710] **Pre-시스테나 천자 절차**

[0711] 환자는 마취과 의사와의 상담을 포함하는, 시스테나 천자에 대비하여 표준 치료 의학적 평가를 받게 된다. 시술의 및 마취과 의사는 스크리닝 임상 실험실 분석(음성 임신 검사 기록 포함), 뇌 및 경추(시술 전문가가 요청하는 경우) MRI 및 MRA, 및 현지 ECG 결과를 검토한다. 최근의 변경 사항과 관련하여 병력 및 현재 처방 및 일반 의약품을 검토한다. 마취과 의사의 재량에 따라 추가 임상 평가를 실시할 수 있다(병용 의학적 상태에 따라 다름).

[0712] **시스테나 내 주사**

[0713] 0일차에, PR001A는 시술의에 의해 시스테나 마그나 내 주사를 통해 1회 투여량으로 투여된다. 주사 전, PR001A 투여량과 등가인 일정 부피의 시스테나 내 체액을 제거한다. 이 절차는 전신 마취 또는 깊은 진정 상태에서 영상 촬영 지침을 사용하여 수행될 것이다. 환자는 PR001A 투여 후 24시간 동안(야간 입원) 관찰을 받는다.

[0714] 본 출원은 다음 문헌의 전체의 내용을 참조로서 통합한다: 미국 특허 공개 제2020/0338148호; 국제 PCT 출원 WO 2019/070894; 국제 PCT 출원 공개 WO 2019/070891; 2017년 10월 3일 출원된 "GENE THERAPIES FOR LYSOSOMAL DISORDERS"로 명명된 미국 가출원 제62/567,311호; 2017년 10월 3일 출원된 "GENE THERAPIES FOR LYSOSOMAL DISORDERS"로 명명된 미국 가출원 제62/567,319호; 2018년 10월 3일 출원된 "GENE THERAPIES FOR LYSOSOMAL DISORDERS"로 명명된 미국 가출원 제62/567,301호; 2017년 10월 3일 출원된 "GENE THERAPIES FOR LYSOSOMAL DISORDERS"로 명명된 미국 가출원 제62/567,310호; 2017년 10월 3일 출원된 "GENE THERAPIES FOR LYSOSOMAL DISORDERS"로 명명된 미국 가출원 제62/567,303호; 및 2017년 10월 3일 출원된 "GENE THERAPIES FOR LYSOSOMAL DISORDERS"로 명명된 미국 가출원 제62/567,305호.

[0715] 따라서, 본 발명의 적어도 하나의 구현예의 여러 양태를 설명하였지만, 이에 대한 다양한 변경, 변형 및 개선이 당업자에게 용이하게 발생할 것임을 이해해야 한다. 이러한 변경, 변형 및 개선은 본 개시의 일부가 되도록 의도되고, 본 발명의 사상 및 범주 내에 있도록 의도된다. 따라서, 전술한 설명 및 도면은 단지 예시일 뿐이다.

[0716] 본 발명의 몇몇 구현예가 본원에 기술되고 예시되었지만, 당업자는 본 발명에 기술된 기능 및/또는 결과 및/또는 하나 이상의 이점을 수행하기 위한 다양한 다른 수단 및/또는 구조를 쉽게 구상할 수 있을 것이고, 이러한 변경 및/또는 변형 각각은 본 발명의 범위 내에 있는 것으로 간주된다. 보다 일반적으로, 당업자는 본원에 기술된 모든 파라미터, 치수, 물질 및 구성이 예시적인 것임을 쉽게 이해할 것이고, 실제 파라미터, 치수, 물질 및/또는 구성은 본 발명의 교시가 사용되는 특정 적용 또는 응용에 따라 달라질 것임을 이해할 것이다. 당업자는 단지 통상적인 실험만을 사용하여 본원에 기술된 특정 구현예에 대한 다수의 등가물을 인식하거나 확인할 수 있을 것이다. 따라서, 전술한 구현예는 단지 예로서 제시된 것이며, 첨부된 청구범위 및 그에 대한 등가물의 범위 내에서, 본 발명은 구체적으로 기술되고 청구된 바와 달리 실시될 수 있음을 이해해야 한다. 본 발명은 본원에 기술된 각각의 개별 특징, 시스템, 물품, 물질, 및/또는 방법에 관한 것이다. 또한, 이러한 특징, 시스템, 물품, 물질, 및/또는 방법이 상호 불일치하지 않는 경우, 둘 이상의 이러한 특징, 시스템, 물품, 물질, 및/또는 방법의 임의의 조합은 본 발명의 범위 내에 포함된다.

[0717] 본원의 명세서 및 청구범위에 사용된 부정 관사("일" 및 "하나의")는 명확하게 달리 나타내지 않는 한 "적어도 하나"를 의미하는 것으로 이해되어야 한다.

[0718] 본원의 명세서 및 청구범위에 사용된 어구 "및/또는"은 그렇게 결합된 요소, 즉 일부 경우 결합적으로 존재하고 다른 경우 분리적으로 존재하는 요소의 "어느 하나 또는 모두"를 의미하는 것으로 이해되어야 한다. 달리 명확하게 명시되지 않는 한, 구체적으로 식별되는 요소와 관련이 있든 관련이 없든, "및/또는" 절에 의해 구체적으로 식별되는 요소 이외에 다른 요소가 선택적으로 존재할 수 있다. 따라서, 비제한적 예로서, "A 및/또는 B"에 대한 참조가 "포함하는"과 같은 개방형 언어와 함께 사용될 경우, 일 구현예에서, B 없은 A(선택적으로 B 이외의 요소를 포함); 다른 구현예에서, A 없는 B(선택적으로 A 이외의 요소를 포함); 또 다른 구현예에서, A 및 B

모두(선택적으로 다른 요소를 포함) 등을 나타낼 수 있다.

[0719] 본원의 명세서 및 청구범위에 사용된 "또는"은 앞서 정의된 "및/또는"과 동일한 의미를 갖는 것으로 이해되어야 한다. 예를 들어, 목록에서 항목들을 분리할 때, "또는" 또는 "및/또는"은 포괄적인 것으로, 즉 다수의 요소 또는 요소 목록 중 적어도 하나의 포함뿐만 아니라 둘 이상, 및 선택적으로 목록에 없는 추가 항목도 포함하는 것으로 해석되어야 한다. "~중 하나만" 또는 "~중 정확히 하나", 또는 청구범위에 사용되는 경우, "~로 이루어진"과 같이 명확하게 달리 나타낸 용어만이 다수의 요소 또는 요소 목록 중 정확히 하나의 요소의 포함을 나타낼 것이다. 일반적으로, 본원에 사용된 용어 "또는"은 "어느 하나", ~중 하나", "~중 하나만", 또는 "~중 정확히 하나"와 같은 배타적 용어가 뒤따를 경우 배타적 대안(즉, 하나 또는 다른 하나이지만 둘 다는 아님)을 나타내는 것으로 해석되어야만 한다.

[0720] 하나 이상의 요소의 목록과 관련하여 본원의 명세서 및 청구범위에 사용된 어구 "적어도 하나"는 요소의 목록 내 임의의 하나 이상의 요소로부터 선택되는 적어도 하나를 의미하지만, 요소의 목록 내에 구체적으로 나열된 각각의 모든 요소 중 적어도 하나를 반드시 포함하지는 않으며, 요소의 목록 내 요소의 임의의 조합을 제외하지는 않는다. 이 정의는 또한, 구체적으로 식별되는 요소와 관련이 있든 관련이 없든, 어구 "적어도 하나"가 지칭하는 요소의 목록 내에서 구체적으로 식별되는 요소 이외의 요소가 선택적으로 존재할 수 있음을 허용한다. 따라서, 비제한적 예로서, "A 및 B 중 적어도 하나"(또는, 동등하게, "A 또는 B 중 적어도 하나", 또는 동등하게 "A 및/또는 B 중 적어도 하나")는, 일 구현예에서, B는 존재하지 않고(선택적으로 B 이외의 요소를 포함) 선택적으로 둘 이상을 포함하는 적어도 하나의 A; 다른 구현예에서, A는 존재하지 않고(선택적으로 A 이외의 요소를 포함) 선택적으로 둘 이상을 포함하는 적어도 하나의 B; 또 다른 구현예에서, 선택적으로 둘 이상을 포함하는 적어도 하나의 A, 및 선택적으로 둘 이상을 포함하는 적어도 하나의 B (및 선택적으로 다른 요소를 포함) 등을 나타낼 수 있다.

[0721] 청구 요소를 정의하기 위해, 청구범위에서의 "제1", "제2", "제3" 등과 같은 서수 용어의 사용은 그 자체가 다른 청구 요소의 우선순위, 선행 또는 순서, 또는 방법의 작용이 수행되는 시간적 순서에 대한 것이 아니라, 특정 명칭을 갖는 하나의 청구 요소를 동일한 명칭을 갖는 (단, 서수 용어를 사용하는) 다른 요소와 구별하기 위한 표식으로서만 사용된다.

[0722] 또한, 달리 명확하게 명시되지 않는 한, 하나 이상의 단계 또는 작용을 포함하는 본원에 청구된 방법 중 하나에서, 해당 방법의 단계 또는 작용의 순서는 해당 방법의 단계 또는 작용이 인용되는 순서에 반드시 한정되지는 않는다는 것을 이해해야 한다.

[0723] 본 출원에서 언급된 미국 특허, 미국 특허 출원 공개, 미국 특허 출원, 외국 특허, 외국 특허 출원 및 비특허 공개 각각은 그 전체가 참조로서 본원에 통합된다.

[0724] **서열**

[0725] 일부 구현예에서, 하나 이상의 유전자 산물(예를 들어, 제1, 제2 및/또는 제3 유전자 산물)을 암호화하는 발현 카세트는 서열번호 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, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 또는 48 중 어느 하나에 제시된 서열을 포함하거나 이로 이루어진다(또는 이를 갖는 펩티드를 암호화한다). 일부 구현예에서, 하나 이상의 유전자 산물을 암호화하는 발현 카세트는 서열번호 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, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 또는 48 중 어느 하나에 제시된 서열에 상보성(즉, 해당 서열의 상보물)인 서열을 포함하거나 이로 이루어진다. 일부 구현예에서, 하나 이상의 유전자 산물을 암호화하는 발현 카세트는 서열번호 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, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 또는 48 중 어느 하나에 제시된 서열에 역 상보물인 서열을 포함하거나 이로 이루어진다. 일부 구현예에서, 유전자 산물은 서열번호 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, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 또는 48 중 어느 하나의 일부(예를 들어, 단편)에 의해 암호화된다. 일부 구현예에서, 핵산 서열은 핵산 센스 가닥(예를 들어, 5'에서 3' 가닥)이거나, 바이러스 서열의 맥락에서 더하기(+) 가닥이다. 일부 구현예에서, 핵산 서열은 핵산 안티센스 가닥(예를 들어, 3'에서 5' 가닥)이거나, 바이러스 서열의 맥락에서 빼기(-) 가닥이다.

[0726] **번호가 매겨진 구현예:**

[0727] 첨부된 청구범위에도 불구하고, 본 개시는 다음의 번호가 매겨진 구현예를 제시한다:

[0728] 1. 글루코세레브로시다아제-1(*GBA1*) 돌연변이로 파키슨병을 앓고 있거나 앓고 있는 것으로 의심되는 대상체를 치료하기 위한 방법으로서, 상기 방법은:

[0729] 재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)로서:

[0730] (i) 글루코세레브로시다아제(Gcase) 단백질을 암호화하는 이식유전자 삽입체에 작동가능하게 연결된 프로모터를 포함하는 발현 작제물을 포함하는 핵산을 포함하되, 상기 이식유전자 삽입체는 서열번호 15의 뉴클레오티드 서열을 포함하는, rAAV 벡터; 및

[0731] (ii) 아데노-연관 바이러스(AAV) 9 캡시드 단백질; 및

[0732] (A) 시롤리무스;

[0733] (B) 메틸프레드니솔론;

[0734] (C) 리툭시맙; 및

[0735] (D) 프레드니손 중 하나 이상을 포함하는, 재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)를 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

[0736] 2. 글루코세레브로시다아제-1(*GBA1*) 돌연변이로 파키슨병을 앓고 있거나 앓고 있는 것으로 의심되는 대상체의 면역 반응을 억제하기 위한 방법으로서, 상기 방법은:

[0737] 재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)로서:

[0738] (i) 글루코세레브로시다아제(Gcase) 단백질을 암호화하는 이식유전자 삽입체에 작동가능하게 연결된 프로모터를 포함하는 발현 작제물을 포함하는 핵산을 포함하되, 상기 이식유전자 삽입체는 서열번호 15의 뉴클레오티드 서열을 포함하는, rAAV 벡터; 및

[0739] (ii) 아데노-연관 바이러스(AAV) 9 캡시드 단백질; 및

[0740] (A) 시롤리무스;

[0741] (B) 메틸프레드니솔론;

[0742] (C) 리툭시맙; 및

[0743] (D) 프레드니손 중 하나 이상을 포함하는, 재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)를 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

[0744] 3. 구현예 1 또는 2에 있어서, rAAV는 약 5 X 10^{13} 벡터 게놈(vg) 내지 약 5 X 10^{14} vg 범위의 투여량으로 대상체에게 투여되는, 방법.

[0745] 4. 구현예 1 또는 2에 있어서, rAAV는 약 1.4 X 10^{14} vg 또는 약 2.8 x 10^{14} vg의 투여량으로 대상체에게 투여되는, 방법.

[0746] 5. 2형 고셰병 또는 3형 고셰병을 앓고 있거나 앓고 있는 것으로 의심되는 대상체를 치료하기 위한 방법으로서, 상기 방법은:

[0747] 재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)로서:

[0748] (i) 글루코세레브로시다아제(Gcase) 단백질을 암호화하는 이식유전자 삽입체에 작동가능하게 연결된 프로모터를 포함하는 발현 작제물을 포함하는 핵산을 포함하되, 상기 이식유전자 삽입체는 서열번호 15의 뉴클레오티드 서열을 포함하는, rAAV 벡터; 및

[0749] (ii) 아데노-연관 바이러스(AAV) 9 캡시드 단백질; 및

[0750] (A) 시롤리무스;

[0751] (B) 메틸프레드니솔론;

[0752] (C) 리툭시맙; 및

[0753] (D) 프레드니손 중 하나 이상을 포함하는, 재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)를 대상체에게 투여하는 단계를

포함하는, 방법.

[0754] 6. 2형 고셰병 또는 3형 고셰병을 앓고 있거나 앓고 있는 것으로 의심되는 대상체의 면역 반응을 억제하기 위한 방법으로서, 상기 방법은:

[0755] 재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)로서:

[0756] (i) 글루코세레브로시다아제(Gcase) 단백질을 암호화하는 이식유전자 삽입체에 작동가능하게 연결된 프로모터를 포함하는 발현 작제물을 포함하는 핵산을 포함하되, 상기 이식유전자 삽입체는 서열번호 15의 뉴클레오티드 서열을 포함하는, rAAV 벡터; 및

[0757] (ii) 아데노-연관 바이러스(AAV) 9 캡시드 단백질; 및

[0758] (A) 시롤리무스;

[0759] (B) 메틸프레드니솔론;

[0760] (C) 리툭시맙; 및

[0761] (D) 프레드니손 중 하나 이상을 포함하는, 재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)를 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

[0762] 7. 구현예 5 또는 6에 있어서, rAAV는 약 5 X 10^{10} vg/g 뇌 내지 약 5 X 10^{11} vg/g 뇌 범위의 투여량으로 대상체에게 투여되는, 방법.

[0763] 8. 구현예 5 또는 6에 있어서, rAAV는 약 1.3 X 10^{11} vg/g 뇌의 투여량으로 대상체에게 투여되는, 방법.

[0764] 9. 구현예 1 내지 8 중 어느 하나에 있어서, rAAV는 시스테나 마그나 내로의 주사를 통해 투여되는, 방법.

[0765] 10. 1형 고셰병을 앓고 있거나 앓고 있는 것으로 의심되는 대상체를 치료하기 위한 방법으로서, 상기 방법은:

[0766] 재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)로서:

[0767] (i) 글루코세레브로시다아제(Gcase) 단백질을 암호화하는 이식유전자 삽입체에 작동가능하게 연결된 프로모터를 포함하는 발현 작제물을 포함하는 핵산을 포함하되, 상기 이식유전자 삽입체는 서열번호 15의 뉴클레오티드 서열을 포함하는, rAAV 벡터; 및

[0768] (ii) 아데노-연관 바이러스(AAV) 9 캡시드 단백질; 및

[0769] (A) 시롤리무스;

[0770] (B) 메틸프레드니솔론;

[0771] (C) 리툭시맙; 및

[0772] (D) 프레드니손 중 하나 이상을 포함하는, 재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)를 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

[0773] 11. 1형 고셰병을 앓고 있거나 앓고 있는 것으로 의심되는 대상체의 면역 반응을 억제하기 위한 방법으로서, 상기 방법은:

[0774] 재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)로서:

[0775] (i) 글루코세레브로시다아제(Gcase) 단백질을 암호화하는 이식유전자 삽입체에 작동가능하게 연결된 프로모터를 포함하는 발현 작제물을 포함하는 핵산을 포함하되, 상기 이식유전자 삽입체는 서열번호 15의 뉴클레오티드 서열을 포함하는, rAAV 벡터; 및

[0776] (ii) 아데노-연관 바이러스(AAV) 9 캡시드 단백질; 및

[0777] (A) 시롤리무스;

[0778] (B) 메틸프레드니솔론;

[0779] (C) 리툭시맙; 및

[0780] (D) 프레드니손 중 하나 이상을 포함하는, 재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)를 대상체에게 투여하는 단계를

포함하는, 방법.

[0781] 12. 구현예 10 또는 11에 있어서, rAAV는 약 5 X 10^{13} vg 내지 약 5 X 10^{14} vg 범위의 투여량으로 대상체에게 투여되는, 방법.

[0782] 13. 구현예 10 내지 12 중 어느 하나에 있어서, rAAV는 정맥내 투여되는, 방법.

[0783] 14. 시뉴클레인 병증 또는 파킨슨증을 앓고 있거나 앓고 있는 것으로 의심되는 대상체를 치료하기 위한 방법으로서, 상기 방법은:

[0784] 재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)로서:

[0785] (i) 이식유전자를 포함하는 발현 작제물을 포함하는 핵산을 포함하는 rAAV 벡터로서, 상기 이식유전자는,

[0786] (a) 서열번호 15의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 Gcase 단백질 코딩 서열; 및

[0787] (b) 서열번호 20의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 억제 핵산 코딩 서열을 포함하는, rAAV 벡터; 및

[0788] (ii) 아데노-연관 바이러스(AAV) 9 캡시드 단백질; 및

[0789] (A) 시롤리무스;

[0790] (B) 메틸프레드니솔론;

[0791] (C) 리툭시맙; 및

[0792] (D) 프레드니손 중 하나 이상을 포함하는, 재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)를 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

[0793] 15. 시뉴클레인 병증 또는 파킨슨증을 앓고 있거나 앓고 있는 것으로 의심되는 대상체의 면역 반응을 억제하기 방법으로서, 상기 방법은:

[0794] 재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)로서:

[0795] (i) 이식유전자를 포함하는 발현 작제물을 포함하는 핵산을 포함하는 rAAV 벡터로서, 상기 이식유전자는,

[0796] (a) 서열번호 15의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 Gcase 단백질 코딩 서열; 및

[0797] (b) 서열번호 20의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 억제 핵산 코딩 서열을 포함하는, rAAV 벡터; 및

[0798] (ii) 아데노-연관 바이러스(AAV) 9 캡시드 단백질; 및

[0799] (A) 시롤리무스;

[0800] (B) 메틸프레드니솔론;

[0801] (C) 리툭시맙; 및

[0802] (D) 프레드니손 중 하나 이상을 포함하는, 재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)를 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

[0803] 16. 시뉴클레인 병증 또는 파킨슨증을 앓고 있거나 앓고 있는 것으로 의심되는 대상체를 치료하기 위한 방법으로서, 상기 방법은:

[0804] 재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)로서:

[0805] (i) 서열번호 20의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 억제 핵산 코딩 서열을 포함하는 이식유전자를 포함하는 발현 작제물을 포함하는 핵산을 포함하는 rAAV 벡터; 및

[0806] (ii) 아데노-연관 바이러스(AAV) 9 캡시드 단백질; 및

[0807] (A) 시롤리무스;

[0808] (B) 메틸프레드니솔론;

[0809] (C) 리툭시맙; 및

[0810] (D) 프레드니손 중 하나 이상을 포함하는, 재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)를 대상체에게 투여하는 단계를

포함하는, 방법.

[0811] 17. 시뉴클레인 병증 또는 파킨슨증을 앓고 있거나 앓고 있는 것으로 의심되는 대상체의 면역 반응을 억제하기 방법으로서, 상기 방법은:

[0812] 재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)로서:

[0813] (i) 서열번호 20의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 억제 핵산 코딩 서열을 포함하는 이식유전자를 포함하는 발현 작제물을 포함하는 핵산을 포함하는 rAAV 벡터; 및

[0814] (ii) 아데노-연관 바이러스(AAV) 9 캡시드 단백질; 및

[0815] (A) 시롤리무스;

[0816] (B) 메틸프레드니솔론;

[0817] (C) 리툭시맙; 및

[0818] (D) 프레드니손 중 하나 이상을 포함하는, 재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)를 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

[0819] 18. 구현예 14 내지 17 중 어느 하나에 있어서, 시뉴클레인병증 또는 파킨슨증은, 다중 전신 위축증, 파킨슨병, *GBA1* 돌연변이를 갖는 파킨슨병, 루이 소체 질환, 루이 소체를 갖는 치매, *GBA1* 돌연변이를 갖는 루이 소체를 갖는 치매, 진행성 핵상 마비, 또는 피질기저 증후군인, 방법.

[0820] 19. 구현예 1 내지 18 중 어느 하나에 있어서, 프로모터는 닭 베타 액틴(CBA) 프로모터인, 방법.

[0821] 20. 구현예 1 내지 19 중 어느 하나에 있어서, rAAV 벡터는 거대세포바이러스(CMV) 인핸서를 추가로 포함하는, 방법.

[0822] 21. 구현예 1 내지 20 중 어느 하나에 있어서, rAAV 벡터는 우드척(Woodchuck) 간염 바이러스 전사후 조절 요소(WPRE)를 추가로 포함하는, 방법.

[0823] 22. 구현예 1 내지 21 중 어느 하나에 있어서, rAAV 벡터는 소 성장 호르몬 polyA 신호 꼬리를 추가로 포함하는, 방법.

[0824] 23. 구현예 1 내지 22 중 어느 하나에 있어서, 핵산은 발현 작제물의 측면에 위치하는 2개의 아데노-연관 바이러스 역위 말단 반복(ITR) 서열을 포함하는, 방법.

[0825] 24. 구현예 23에 있어서, 각각의 ITR 서열은 AAV2 ITR 서열인, 방법.

[0826] 25. 구현예 23 또는 24에 있어서, rAAV 벡터는 5' ITR과 발현 작제물 사이에 TRY 영역을 추가로 포함하되, TRY 영역은 서열번호 28을 포함하는, 방법.

[0827] 26. *GBA1* 돌연변이로 파키슨병을 앓고 있거나 앓고 있는 것으로 의심되는 대상체를 치료하기 위한 방법으로서, 상기 방법은:

[0828] 재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)로서:

[0829] (i) 핵산을 포함하는 rAAV 벡터로서, 5'에서 3'으로의 순서로:

[0830] (a) 아데노-연관 바이러스(AAV) 2 ITR;

[0831] (b) 거대세포바이러스(CMV) 인핸서;

[0832] (c) 닭 베타 액틴(CBA) 프로모터;

[0833] (d) Gcase 단백질을 암호화하는 이식유전자 삽입체로서, 상기 이식유전자 삽입체는 서열번호 15의 뉴클레오티드 서열을 포함하는, 이식유전자 삽입체;

[0834] (e)우드척 간염 바이러스 전사후 조절 요소(WPRE);

[0835] (f) 소 성장 호르몬 polyA 신호 꼬리; 및

[0836] (g) AAV2 역위 말단 반복(ITR)을 포함하는, rAAV 벡터; 및

[0837] (ii) AAV9 캡시드 단백질; 및

[0838] (A) 시롤리무스;

[0839] (B) 메틸프레드니솔론;

[0840] (C) 리툭시맙; 및

[0841] (D) 프레드니손 중 하나 이상을 포함하는, 재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)를 대상체에게 투여하는 단계를 포함하되,

[0842] 상기 rAAV는 약 5 X 10^{13} vg 내지 약 5 X 10^{14} vg 범위의 투여량으로 대상체에게 투여되는, 방법.

[0843] 27. *GBA1* 돌연변이로 파킨슨병을 앓고 있거나 앓고 있는 것으로 의심되는 대상체의 면역 반응을 억제하기 위한 방법으로서, 상기 방법은:

[0844] 재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)로서:

[0845] (i) 핵산을 포함하는 rAAV 벡터로서, 5'에서 3'으로의 순서로:

[0846] (a) 아데노-연관 바이러스(AAV) 2 ITR;

[0847] (b) 거대세포바이러스(CMV) 인핸서;

[0848] (c) 닭 베타 액틴(CBA) 프로모터;

[0849] (d) Gcase 단백질을 암호화하는 이식유전자 삽입체로서, 상기 이식유전자 삽입체는 서열번호 15의 뉴클레오티드 서열을 포함하는, 이식유전자 삽입체;

[0850] (e)우드척 간염 바이러스 전사후 조절 요소(WPRE);

[0851] (f) 소 성장 호르몬 polyA 신호 꼬리; 및

[0852] (g) AAV2 역위 말단 반복(ITR)을 포함하는, rAAV 벡터; 및

[0853] (ii) AAV9 캡시드 단백질; 및

[0854] (A) 시롤리무스;

[0855] (B) 메틸프레드니솔론;

[0856] (C) 리툭시맙; 및

[0857] (D) 프레드니손 중 하나 이상을 포함하는, 재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)를 대상체에게 투여하는 단계를 포함하되,

[0858] 상기 rAAV는 약 5 X 10^{13} vg 내지 약 5 X 10^{14} vg 범위의 투여량으로 대상체에게 투여되는, 방법.

[0859] 28. 2형 고셰병 또는 3형 고셰병을 앓고 있거나 앓고 있는 것으로 의심되는 대상체를 치료하기 위한 방법으로서, 상기 방법은:

[0860] 재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)로서:

[0861] (i) 핵산을 포함하는 rAAV 벡터로서, 5'에서 3'으로의 순서로:

[0862] (a) 아데노-연관 바이러스(AAV) 2 ITR;

[0863] (b) 거대세포바이러스(CMV) 인핸서;

[0864] (c) 닭 베타 액틴(CBA) 프로모터;

[0865] (d) Gcase 단백질을 암호화하는 이식유전자 삽입체로서, 상기 이식유전자 삽입체는 서열번호 15의 뉴클레오티드 서열을 포함하는, 이식유전자 삽입체;

[0866] (e)우드척 간염 바이러스 전사후 조절 요소(WPRE);

[0867] (f) 소 성장 호르몬 polyA 신호 꼬리; 및

[0868] (g) AAV2 역위 말단 반복(ITR)을 포함하는, rAAV 벡터; 및

[0869] (ii) AAV9 캡시드 단백질; 및

[0870] (A) 시롤리무스;

[0871] (B) 메틸프레드니솔론;

[0872] (C) 리툭시맙; 및

[0873] (D) 프레드니손 중 하나 이상을 포함하는, 재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)를 대상체에게 투여하는 단계를 포함하되,

[0874] 상기 rAAV는 약 5 X 10^{10} vg/g 뇌 내지 약 5 X 10^{11} vg/g 뇌 범위의 투여량으로 대상체에게 투여되는, 방법.

[0875] 29. 2형 고셰병 또는 3형 고셰병을 앓고 있거나 앓고 있는 것으로 의심되는 대상체의 면역 반응을 억제하기 위한 방법으로서, 상기 방법은:

[0876] 재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)로서:

[0877] (i) 핵산을 포함하는 rAAV 벡터로서, 5'에서 3'으로의 순서로:

[0878] (a) 아데노-연관 바이러스(AAV) 2 ITR;

[0879] (b) 거대세포바이러스(CMV) 인핸서;

[0880] (c) 닭 베타 액틴(CBA) 프로모터;

[0881] (d) Gcase 단백질을 암호화하는 이식유전자 삽입체로서, 상기 이식유전자 삽입체는 서열번호 15의 뉴클레오티드 서열을 포함하는, 이식유전자 삽입체;

[0882] (e)우드척 간염 바이러스 전사후 조절 요소(WPRE);

[0883] (f) 소 성장 호르몬 polyA 신호 꼬리; 및

[0884] (g) AAV2 역위 말단 반복(ITR)을 포함하는, rAAV 벡터; 및

[0885] (ii) AAV9 캡시드 단백질; 및

[0886] (A) 시롤리무스;

[0887] (B) 메틸프레드니솔론;

[0888] (C) 리툭시맙; 및

[0889] (D) 프레드니손 중 하나 이상을 포함하는, 재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)를 대상체에게 투여하는 단계를 포함하되,

[0890] 상기 rAAV는 약 5 X 10^{10} vg/g 뇌 내지 약 5 X 10^{11} vg/g 뇌 범위의 투여량으로 대상체에게 투여되는, 방법.

[0891] 30. 구현예 26 내지 29 중 어느 하나에 있어서, rAAV는 시스테나 마그나 내로의 주사를 통해 투여되는, 방법.

[0892] 31. 구현예 1 내지 30 중 어느 하나에 있어서, rAAV는 약 20 mM 트리스, pH 8.0, 약 1 mM $MgCl_2$, 약 200 mM NaCl, 및 약 0.001% w/v 폴록사머 188을 포함하는 제형으로 투여되는, 방법.

[0893] 32. 구현예 1 내지 31 중 어느 하나에 있어서, 메틸프레드니솔론은 rAAV 투여의 1일 전 또는 동일한 날에 약 1000 mg의 투여량으로 정맥내 투여되는, 방법.

[0894] 33. 구현예 1 내지 32 중 어느 하나에 있어서, 프레드니손은,

[0895] (A) 1000 mg의 메틸프레드니솔론 투여 다음 날에 시작하여 14일 동안, 일당 약 30 mg의 투여량으로 경구 투여되고;

[0896] (B) (A)의 14일 기간이 끝난 후 이에 이어서 7일 동안 점감하여 경구 투여되는, 방법.

[0897] 34. 구현예 1 내지 구현예 33 중 어느 하나에 있어서, 리툭시맙은 rAAV의 투여 전 14일 내지 1일 사이의 어느

하루에 약 1000 mg의 투여량으로 정맥내 투여되는, 방법.

[0898] 35. 구현예 34에 있어서, 메틸프레드니솔론은 리툭시맙이 투여되기 전에 투여되는, 방법.

[0899] 36. 구현예 35에 있어서, 메틸프레드니솔론은 리툭시맙이 투여되기 적어도 약 30분 전에 투여되는, 방법.

[0900] 37. 구현예 34에 있어서, 메틸프레드니솔론 및 리툭시맙은 rAAV의 투여 전날에 투여되고; 여기에서 메틸프레드니솔론은 리툭시맙이 투여되기 적어도 약 30분 전에 투여되는, 방법.

[0901] 38. 구현예 34에 있어서, 리툭시맙은 rAAV의 투여 14일 전 내지 2일 사이의 어느 하루에 투여되고; 여기에서 메틸프레드니솔론은 리툭시맙이 투여되는 당일에 리툭시맙이 투여되기 적어도 약 30분 전에 약 100 mg의 투여량으로 정맥내 투여되는, 방법.

[0902] 39. 구현예 1 내지 38 중 어느 하나에 있어서, 시롤리무스는,

[0903] (a) rAAV의 투여 전 3일, 2일 또는 1일에 약 6 mg의 1회 투여량으로 경구 투여되고;

[0904] (b) rAAV의 투여 후 약 90일 동안 약 4 ng/ml 내지 약 9 ng/mL의 혈청 저점 수준을 유지하도록 1일 약 2 mg의 투여량으로 경구 투여되되;

[0905] 시롤리무스의 1일 약 2 mg의 제1 투여량은 약 6 mg의 시롤리무스의 단일 투여량 다음 날 투여되는, 방법.

[0906] 40. 구현예 5 내지 13, 28 및 29 중 어느 하나에 있어서, 시롤리무스는,

[0907] (a) 각각 약 1.0 mg/m^2의 2회 투여량으로 경구 투여되며, 여기에서 상기 2회 투여량은 rAAV의 투여 1일 또는 2일 전에 투여되되, 제1 투여량은 아침에 투여되고, 제2 투여량은 상기 2회 투여량이 투여되는 날의 저녁에 경구 투여되고;

[0908] (b) rAAV의 투여 후 약 3개월 동안 약 2 ng/mL 내지 약 8 ng/mL의 혈청 저점 수준을 유지하도록 약 0.6 mg/m^2/일 내지 약 1.0 mg/m^2/일의 투여량으로 경구 투여되는, 방법.

[0909] 41. 구현예 39 또는 40에 있어서, 시롤리무스 투여는 rAAV의 투여 후 90일 기간의 종료 후 15일 내지 30일 동안 점감 투여되는, 방법.

[0910] 42. 구현예 1 내지 39 및 41 중 어느 하나에 있어서, 방법은:

[0911] (i) 메틸프레드니솔론을 약 1000 mg의 투여량으로 정맥내 투여하는 단계;

[0912] (ii) 단계 (i)의 메틸프레드니솔론 투여 후 약 30분에 약 1000 mg의 투여량으로 리툭시맙을 정맥내 투여하는 단계;

[0913] (iii) 단계 (i)의 메틸프레드니솔론 투여 다음 날, rAAV를 시스테나 마그나 내로 주사로 투여하는 단계;

[0914] (iv) 단계 (i)의 메틸프레드니솔론 투여 다음 날에 시작하여 14일 동안, 일당 약 30 mg의 투여량으로 프레드니손을 경구 투여하는 단계 및

[0915] (v) 단계 (iv)의 14일 기간 종료 후 7일 동안 프레드니손을 점감 투여하는 단계;

[0916] (vi) 단계 (iii)의 rAAV 투여 전 3일, 2일 또는 일당 약 6 mg의 단일 투여량으로 시롤리무스를 경구 투여하는 단계;

[0917] (vii) 단계 (iii)의 rAAV 투여 후 약 90일 동안 약 4 ng/ml 내지 약 9 ng/mL의 혈청 저점 수준을 유지하기 위해 일당 약 2 mg의 투여량으로 시롤리무스를 경구 투여하는 단계로서, 시롤리무스의 일당 약 2 mg의 제1 투여량은 시롤리무스의 약 6 mg의 단일 투여의 다음날 투여되는, 단계; 및

[0918] (viii) 단계(vii)의 90일 기간 종료 후 15일 내지 30일 동안 시롤리무스를 점감 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

[0919] 43. 구현예 1 내지 39 및 41 중 어느 하나에 있어서, 방법은:

[0920] (i) 단계 (iv)의 rAAV 투여 전 14일 내지 2일 사이의 어느 하루에 약 100 mg의 투여량으로 메틸프레드니솔론을 정맥내 투여하는 단계;

[0921] (ii) 단계 (i)의 메틸프레드니솔론 투여 후 약 30분에 약 1000 mg의 투여량으로 리툭시맙을 정맥내 투여하는 단

계;

[0922] (iii) 단계 (iv)의 rAAV 투여 1일 전 또는 동일한 날에 약 1000 mg의 투여량으로 메틸프레드니솔론을 정맥내 투여하는 단계;

[0923] (iv) rAAV를 시스테나 마그나 내로 주사하는 단계;

[0924] (v) 단계 (iii)의 메틸프레드니솔론 투여 다음 날에 시작하여 14일 동안, 일당 약 30 mg의 투여량으로 프레드니손을 경구 투여하는 단계 및

[0925] (vi) 단계 (v)의 14일 기간 종료 후 7일 동안 프레드니손을 점감 투여하는 단계;

[0926] (vii) 단계 (iv)의 rAAV 투여 전 3일, 2일 또는 일당 약 6 mg의 단일 투여량으로 시롤리무스를 경구 투여하는 단계;

[0927] (vii) 단계 (iv)의 rAAV 투여 후 약 90일 동안 약 4 ng/ml 내지 약 9 ng/mL의 혈청 저점 수준을 유지하기 위해 일당 약 2 mg의 투여량으로 시롤리무스를 경구 투여하는 단계로서, 시롤리무스의 일당 약 2 mg의 제1 투여량은 시롤리무스의 약 6 mg의 단일 투여의 다음날 투여되는, 단계; 및

[0928] (ix) 단계(viii)의 90일 기간 종료 후 15일 내지 30일 동안 시롤리무스를 점감 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

[0929] 44. 구현예 2, 6, 11, 15, 17, 27 및 29 중 어느 하나에 있어서, 면역 반응은 rAAV에 대한 면역 반응인, 방법.

[0930] 45. 구현예 2, 6, 11, 15, 17, 27, 29 및 44 중 어느 하나에 있어서, 면역 반응은 T 세포 반응인, 방법.

[0931] 46. 구현예 2, 6, 11, 15, 17, 27, 29 및 44 중 어느 하나에 있어서, 면역 반응은 B 세포 반응인, 방법.

[0932] 47. 구현예 2, 6, 11, 15, 17, 27, 29 및 44 중 어느 하나에 있어서, 면역 반응은 항체 반응인, 방법.

[0933] 48. 구현예 2, 6, 11, 15, 17, 27, 29 및 44 중 어느 하나에 있어서, 면역 반응은 백혈구증가증인, 방법.

[0934] 49. 구현예 48에 있어서, 백혈구증가증은 뇌척수액(CSF) 백혈구증가증인, 방법.

[0935] 50. 구현예 2, 6, 11, 15, 17, 27, 29 및 44 중 어느 하나에 있어서, 면역 반응은 CSF 단백질의 비정상적인 수준인, 방법.

[0936] 51. 구현예 1 내지 50 중 어느 하나에 있어서, 시롤리무스, 메틸프레드니솔론, 리툭시맙 또는 프레드니손이 아닌 추가의 면역억제제가 대상체에게 추가로 투여되는, 방법.

[0937] 52. 치료적 조합이되,

[0938] 재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)로서:

[0939] (i) Gcase 단백질을 암호화하는 이식유전자 삽입체에 작동가능하게 연결된 프로모터를 포함하는 발현 작제물을 포함하는 핵산을 포함하되, 상기 이식유전자 삽입체는 서열번호 15의 뉴클레오티드 서열을 포함하는, rAAV 벡터; 및

[0940] (ii) 아데노-연관 바이러스(AAV) 9 캡시드 단백질; 및

[0941] (A) 시롤리무스;

[0942] (B) 메틸프레드니솔론;

[0943] (C) 리툭시맙; 및

[0944] (D) 프레드니손 중 하나 이상을 포함하는, 재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)를 포함하며,

[0945] 이는 대상체에서 *GBA1* 돌연변이를 갖는 1형 고셰병, 2형 고셰병, 3형 고셰병 또는 파키슨병을 치료하는 방법에 사용하기 위한 것인, 치료적 조합.

[0946] 53. 치료적 조합이되,

[0947] 재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)로서:

[0948] (i) Gcase 단백질을 암호화하는 이식유전자 삽입체에 작동가능하게 연결된 프로모터를 포함하는 발현 작제물을

포함하는 핵산을 포함하되, 상기 이식유전자 삽입체는 서열번호 15의 뉴클레오티드 서열을 포함하는, rAAV 벡터; 및

[0949] (ii) 아데노-연관 바이러스(AAV) 9 캡시드 단백질; 및

[0950] (A) 시롤리무스;

[0951] (B) 메틸프레드니솔론;

[0952] (C) 리툭시맙; 및

[0953] (D) 프레드니손 중 하나 이상을 포함하는, 재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)를 포함하며,

[0954] 이는 *GBA1* 돌연변이를 갖는 1형 고셰병, 2형 고셰병, 3형 고셰병 또는 파키슨병을 잃고 있거나 앓고 있는 것으로 의심되는 대상체에서의 면역 반응을 억제하는 방법에 사용하기 위한 것인, 치료적 조합.

[0955] 54. 구현예 52 또는 53에 있어서, 조합은 약 5 X 10^{13} vg 내지 약 5 X 10^{14} vg의 rAAV를 포함하는, 치료적 조합.

[0956] 55. 구현예 52 또는 53에 있어서, 조합은 약 1.4 X 10^{14} vg 또는 약 2.8 X 10^{14} vg의 rAAV를 포함하는, 치료적 조합.

[0957] 56. 치료적 조합이되,

[0958] 재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)로서:

[0959] (i) 이식유전자 삽입체에 작동가능하게 연결된 프로모터를 포함하는 발현 작제물을 포함하는 핵산을 포함하는 rAAV 벡터로서, 상기 이식유전자 삽입체는,

[0960] (a) 서열번호 15의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 Gcase 단백질 코딩 서열; 및

[0961] (b) 서열번호 20의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 억제 핵산 코딩 서열을 포함하는, rAAV 벡터; 및

[0962] (ii) 아데노-연관 바이러스(AAV) 9 캡시드 단백질; 및

[0963] (A) 시롤리무스;

[0964] (B) 메틸프레드니솔론;

[0965] (C) 리툭시맙; 및

[0966] (D) 프레드니손 중 하나 이상을 포함하는, 재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)를 포함하며,

[0967] 이는 대상체에서 시뉴클레인병증 또는 파킨슨증을 치료하는 방법에 사용하기 위한 것인, 치료적 조합.

[0968] 57. 치료적 조합이되,

[0969] 재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)로서:

[0970] (i) 이식유전자 삽입체에 작동가능하게 연결된 프로모터를 포함하는 발현 작제물을 포함하는 핵산을 포함하는 rAAV 벡터로서, 상기 이식유전자 삽입체는,

[0971] (a) 서열번호 15의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 Gcase 단백질 코딩 서열; 및

[0972] (b) 서열번호 20의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 억제 핵산 코딩 서열을 포함하는, rAAV 벡터; 및

[0973] (ii) 아데노-연관 바이러스(AAV) 9 캡시드 단백질; 및

[0974] (A) 시롤리무스;

[0975] (B) 메틸프레드니솔론;

[0976] (C) 리툭시맙; 및

[0977] (D) 프레드니손 중 하나 이상을 포함하는, 재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)를 포함하며,

[0978] 이는 시뉴클레인병증 또는 파킨슨증을 잃고 있거나 앓고 있는 것으로 의심되는 대상체에서의 면역 반응을 억제

하는 방법에 사용하기 위한 것인, 치료적 조합.

[0979] 58. 치료적 조합이되,

[0980] 재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)로서:

[0981] (i) 서열번호 20의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 억제 핵산 코딩 서열을 포함하는 이식유전자 삽입체에 작동가능하게 연결된 프로모터를 포함하는 발현 작제물을 포함하는 핵산을 포함하는 rAAV 벡터; 및

[0982] (ii) 아데노-연관 바이러스(AAV) 9 캡시드 단백질; 및

[0983] (A) 시롤리무스;

[0984] (B) 메틸프레드니솔론;

[0985] (C) 리툭시맙; 및

[0986] (D) 프레드니손 중 하나 이상을 포함하는, 재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)를 포함하며,

[0987] 이는 대상체에서 시뉴클레인병증 또는 파킨슨증을 치료하는 방법에 사용하기 위한 것인, 치료적 조합.

[0988] 59. 치료적 조합이되,

[0989] 재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)로서:

[0990] (i) 서열번호 20의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 억제 핵산 코딩 서열을 포함하는 이식유전자 삽입체에 작동가능하게 연결된 프로모터를 포함하는 발현 작제물을 포함하는 핵산을 포함하는 rAAV 벡터; 및

[0991] (ii) 아데노-연관 바이러스(AAV) 9 캡시드 단백질; 및

[0992] (A) 시롤리무스;

[0993] (B) 메틸프레드니솔론;

[0994] (C) 리툭시맙; 및

[0995] (D) 프레드니손 중 하나 이상을 포함하는, 재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)를 포함하며,

[0996] 이는 시뉴클레인병증 또는 파킨슨증을 잃고 있거나 앓고 있는 것으로 의심되는 대상체에서의 면역 반응을 억제하는 방법에 사용하기 위한 것인, 치료적 조합.

[표 14] 비임상 생체 내 약리학(효능) 연구 요약

[0997]

연구 번호	목적	상태	결과
PRV-2017-001	GCase 결핍증의 모델로서 CBE 마우스 검증	완료	• 25 mg/kg CBE 는 GCase 결핍증의 핵심 특징을 요약함 • 대조군 대비 당지질(Glusph 및 갈락토실스핑고신[GalSph] 응집체) 축적 • 로타로드 검정에서의 운동 결핍
PRV-2018-002	CBE 마우스에서 PR001B[a]의 가능한 최고 투여량의 효능을 입증함	완료	• PR001B 의 넓은 벡터 게놈 생체분포 • GCase 활성의 증가는 당지질 기질 축적의 감소와 상관 관계가 있었음 • 로타로드 검정에 대한 개선된 행동 성능 • PR001B-관련 부작용은 관찰되지 않음
PRV-2018-005	CBE 마우스 모델에서 ICV PR001A 의 유효 투여량을 결정함	완료	• PR001A 의 넓은 벡터 게놈 생체분포 • GCase 활성의 증가 및 비정상적인 당지질 기질 축적의 감소 • 별아교세포증 및 미세아교세포증 감소 • 운동 행동 결핍 개선 • PR001A-관련 부작용은 관찰되지 않음
PRV-2018-007	CBE 마우스 모델에서 ICV PR001A 의 장기(6 개월) 지속성	완료	• 치료 후 6 개월차에의 벡터 게놈 지속성, 지속적인 GCase 활성 증가, 및 당지질 감소 • PR001A-관련 부작용은 관찰되지 않음
PRV-2018-008	CBE 마우스 모델에서의 추가 투여량 범위 ICV PR001A	완료	• PR001A 의 넓은 벡터 게놈 생체분포 • 피질 GCase 활성의 증가 및 비정상적인 당지질 기질 축적의 감소 • PR001A-관련 부작용은 관찰되지 않음
PRV-2018-025	CBE 마우스 모델에서의 추가의 투여량 범위 ICV PR001A	진행 중	• PR001A 의 피질 벡터 게놈 생체분포 • 피질 GCase 활성의 증가 및 비정상적인 당지질 기질 축적의 감소 • 운동 행동 결핍 개선
PRV-2018-006	4L/PS-NA 마우스 모델에서 ICV PR001A 의 효능 입증	완료	• PR001A 의 넓은 벡터 게놈 생체분포 • 당지질 기질 축적 감소와 연관된 CNS 및 주변부에서의 GCase 활성 증가 • 운동 행동이 개선된 경향 • 불용성 α-시뉴클레인 축적의 감소 • PR001A-관련 부작용은 관찰되지 않음

연구 번호	목적	상태	결과
PRV-2018-011	4L/PS-NA 유전자 마우스 모델에서의 투여량 범위 ICV PR001A	완료	• PR001A의 넓은 벡터 게놈 생체분포 • GCase 활성의 증가 및 비정상적인 당지질 기질 축적의 감소 • 운동 행동 결핍 개선 • PR001A-관련 부작용은 관찰되지 않음
PRV-2018-019	CBE로 치료한 이식유전자 마우스에서의 α-시뉴클레인에 대한 ICV PR001A의 영향	진행 중	• PR001A의 피질 벡터 게놈 생체분포 및 당지질의 감소 • 불용성 α-시뉴클레인 축적의 감소 및 불용성에 대한 불용성 α-시뉴클레인의 가용성 비율 • PR001A-관련 부작용은 관찰되지 않음
PRV-2019-001	CBE로 치료한 이식유전자 마우스에서의 α-시뉴클레인에 대한 ICV PR001A의 영향	진행 중	• PR001A의 피질 벡터 게놈 생체분포 및 피질 GCase 활성의 증가 • PR001A-관련 부작용은 관찰되지 않음

약어: CBE, 콘두리톨-β-에폭시드; CNS, 중추 신경계; GCase, 글루코세레브로시다아제; GluSph, 글루코실스핑고신; ICV, 뇌실내; vg, 벡터 게놈.
[a]PR001B는 변경된 D 도메인을 갖는 PR001A의 버전이며; PR001A 및 PR001B는 달리 동일함.

[0998]

[표 15]

PR001A의 마우스 효능 연구에서의 안전성 평가 요약

연구 목적	연구 번호	투여 경로	종	투여량 (vg/g 뇌)	총 PR001A 투여량(vg)	주사 부피(들)(μl)	부검 시점[a]
선택된 안전성 평가변수를 갖는 효능	PRV-2018-005	ICV	CBE-주사 C57BL/6J 마우스	1.3×10^{10} 4.2×10^{10} 1.3×10^{11}	2.0×10^{9} 6.2×10^{9} 2.0×10^{10}	4	35 내지 37 일차
선택된 안전성 평가변수를 갖는 효능	PRV-2018-006	ICV	4L/PS-NA 마우스	3.7×10^{10}	1.5×10^{10}	3	15 주차

약어: CBE, 콘두리톨-β-에폭시드; ICV, 뇌실내; vg, 벡터 게놈.
[a] PR001A 치료 후

[0999]

[표 16]

PR001A의 NHP 안전성 연구에서의 안전성 평가 요약

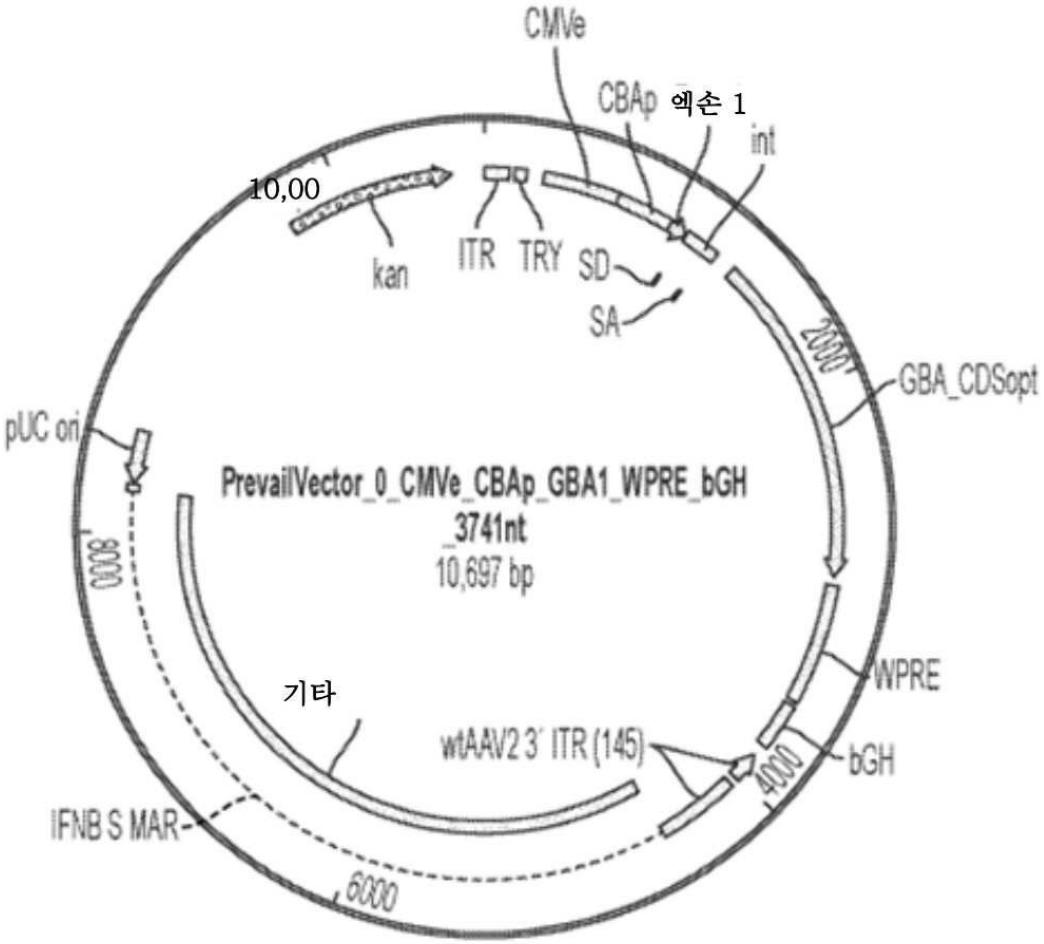
연구 목적	연구 번호	투여 경로	종	투여량 (vg/g 뇌)	총 PR001A 투여량(vg)	주사 부피(들)(μl)	부검 시점[a]
사전 비-GLP 독성학	PRV-2018-015	ICM ICM + IPa (중뇌)	시노몰구스 원숭이	2.0×10^{11} 2.1×10^{11}	1.47×10^{13} 1.53×10^{13}	500 520	18 일차
GLP 독성학	PRV-2018-016	ICM	시노몰구스 원숭이	6.2×10^{10} 2.3×10^{11}	4.6×10^{12} 1.7×10^{13}	1200	7 일차, 30 일차, 183 일차
비-GLP 독성학	PRV-2019-005	ICM	시노몰구스 원숭이	7.0×10^{11}	5.2×10^{13}	1200	30 일차, 90 일차:

약어: GLP, 비임상시험 관리기준; ICM; 시스테나 마그나 내; IPa, 실질내; NHP, 비인간 영장류; vg, 벡터 게놈.

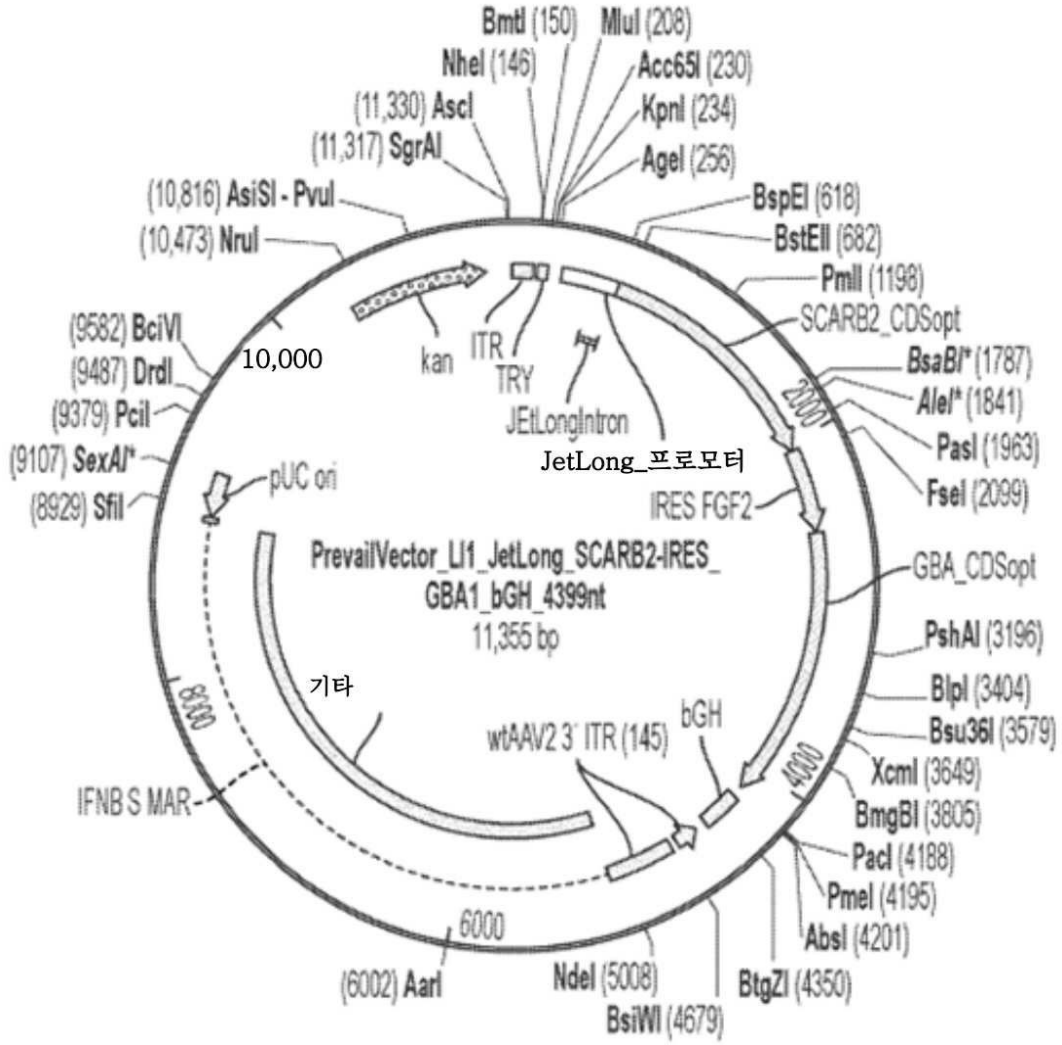
[1000]

도면

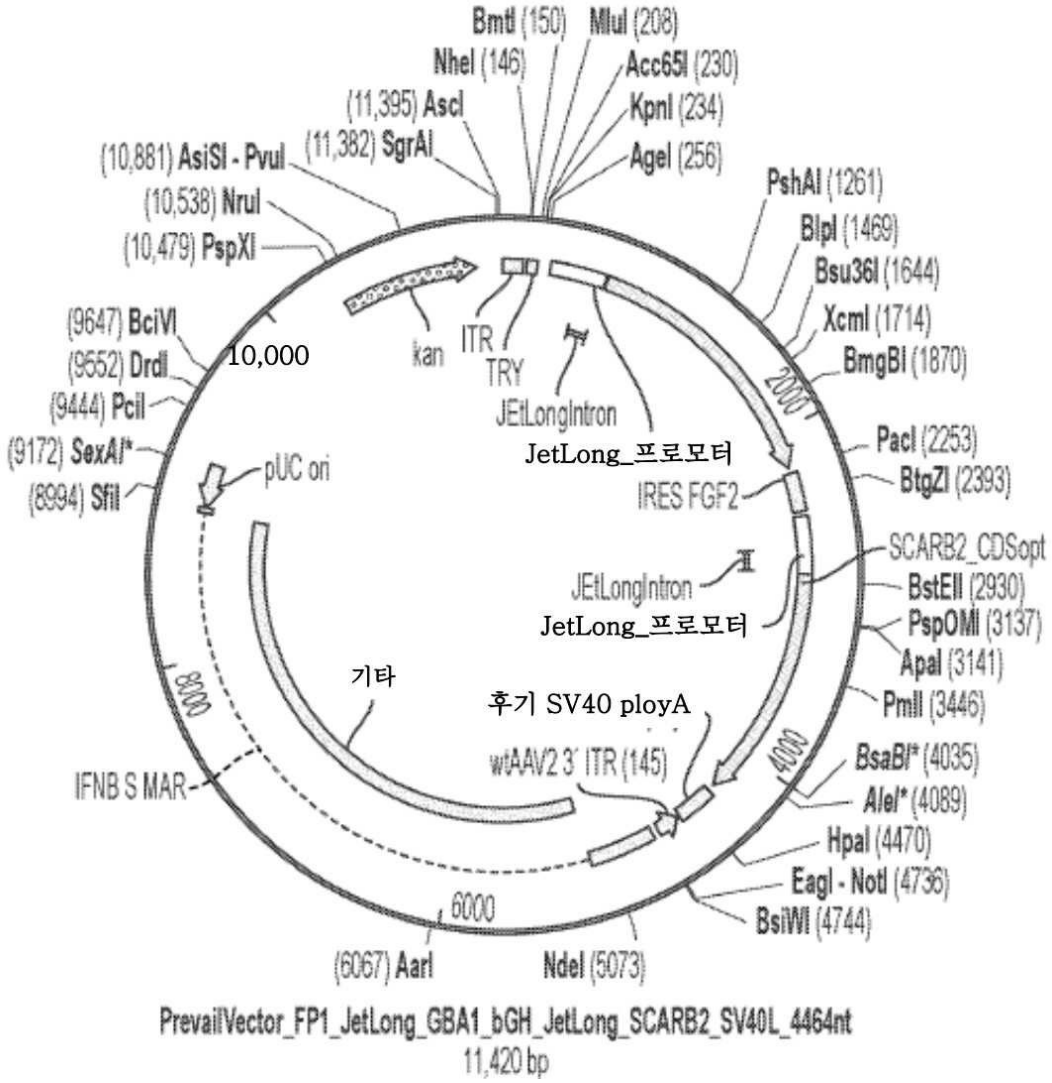
도면1


CMVe
CBAp
엑손 1
int
10,00
kan
ITR
TRY
SD
SA
2000
GBA_CDSopt
pUC ori
PrevailVector_0_CMVe_CBAp_GBA1_WPRE_bGH
_3741nt
10,697 bp
8000
기타
WPRE
wtAAV2 3' ITR (145)
4000
bGH
IFNB S MAR
6000

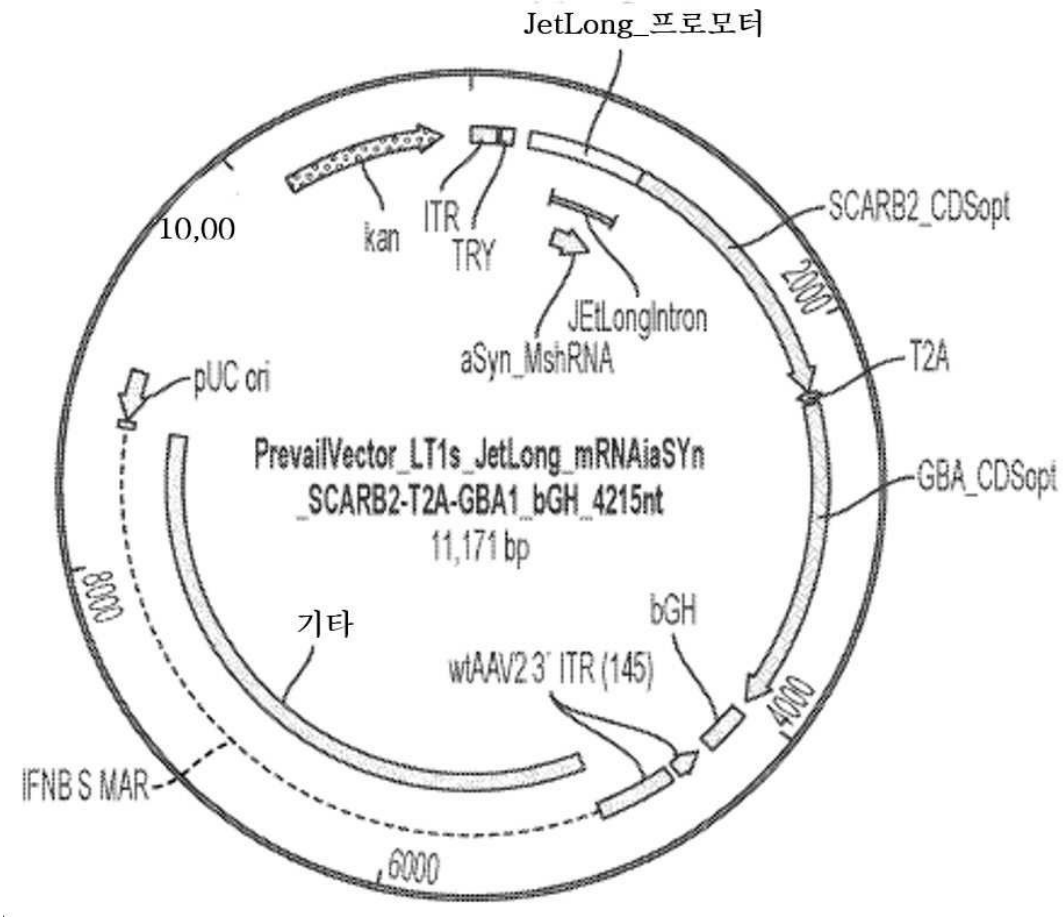
도면2


BmtI (150)
MluI (208)
NheI (146)
Acc65I (230)
(11,330) AscI
KpnI (234)
(11,317) SgrAI
AgeI (256)
(10,816) AsiSI - PvuI
BspEI (618)
(10,473) NruI
BstEII (682)
PmlI (1198)
SCARB2_CDSopt
(9582) BciVI
10,000
kan
ITR
TRY
BsaBI* (1787)
(9487) DrdI
AleI* (1841)
(9379) PciI
JEtLongIntron
PasI (1963)
(9107) SexAI*
JetLong_프로모터
pUC ori
FseI (2099)
(8929) SfiI
IRES FGF2
PrevailVector_LI1_JetLong_SCARB2-IRES_
GBA1_bGH_4399nt
11,355 bp
GBA_CDSopt
PshAI (3196)
기타
BlpI (3404)
wtAAV2 3' ITR (145)
bGH
Bsu36I (3579)
XcmI (3649)
IFNB S MAR
BmgBI (3805)
PacI (4188)
PmeI (4195)
AbsI (4201)
6000
(6002) AarI
NdeI (5008)
BtgZI (4350)
BsiWI (4679)

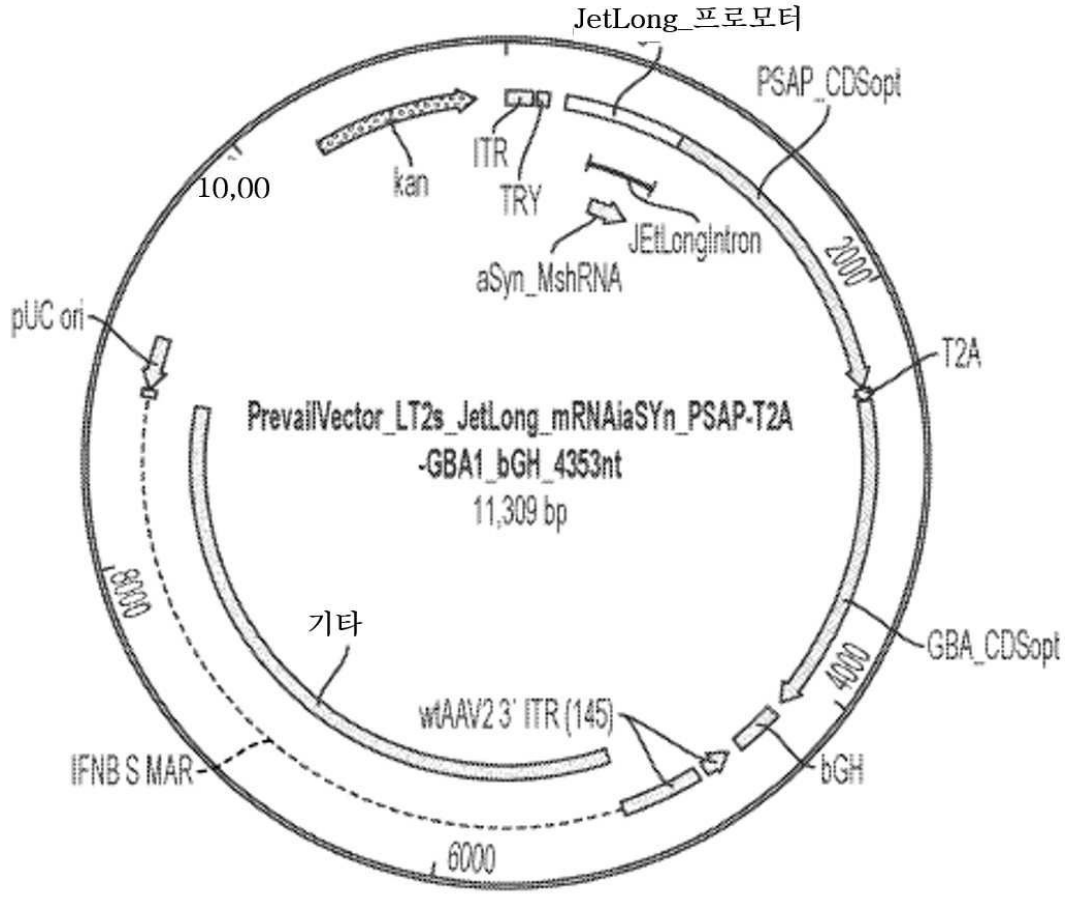
도면3


BmtI (150)
MluI (208)
NheI (146)
Acc65I (230)
(11,395) AscI
KpnI (234)
(11,382) SgrAI
AgeI (256)
(10,881) AsiSI - PvuI
PshAI (1261)
(10,538) NruI
BlpI (1469)
(10,479) PspXI
Bsu36I (1644)
XcmI (1714)
(9647) BciVI
BmgBI (1870)
(9552) DrdI
10,000
kan
ITR
TRY
JEtLongIntron
(9444) PciI
JetLong_프로모터
PacI (2253)
(9172) SexAI*
BtgZI (2393)
pUC ori
IRES FGF2
(8994) SfiI
SCARB2_CDSopt
JEtLongIntron
BstEII (2930)
JetLong_프로모터
PspOMI (3137)
ApaI (3141)
기타
후기 SV40 ployA
PmlI (3446)
wtAAV2 3' ITR (145)
BsaBI* (4035)
IFNB S MAR
AleI* (4089)
HpaI (4470)
EagI - NotI (4736)
6000
BsiWI (4744)
(6067) AarI
NdeI (5073)
PrevailVector_FP1_JetLong_GBA1_bGH_JetLong_SCARB2_SV40L_4464nt
11,420 bp

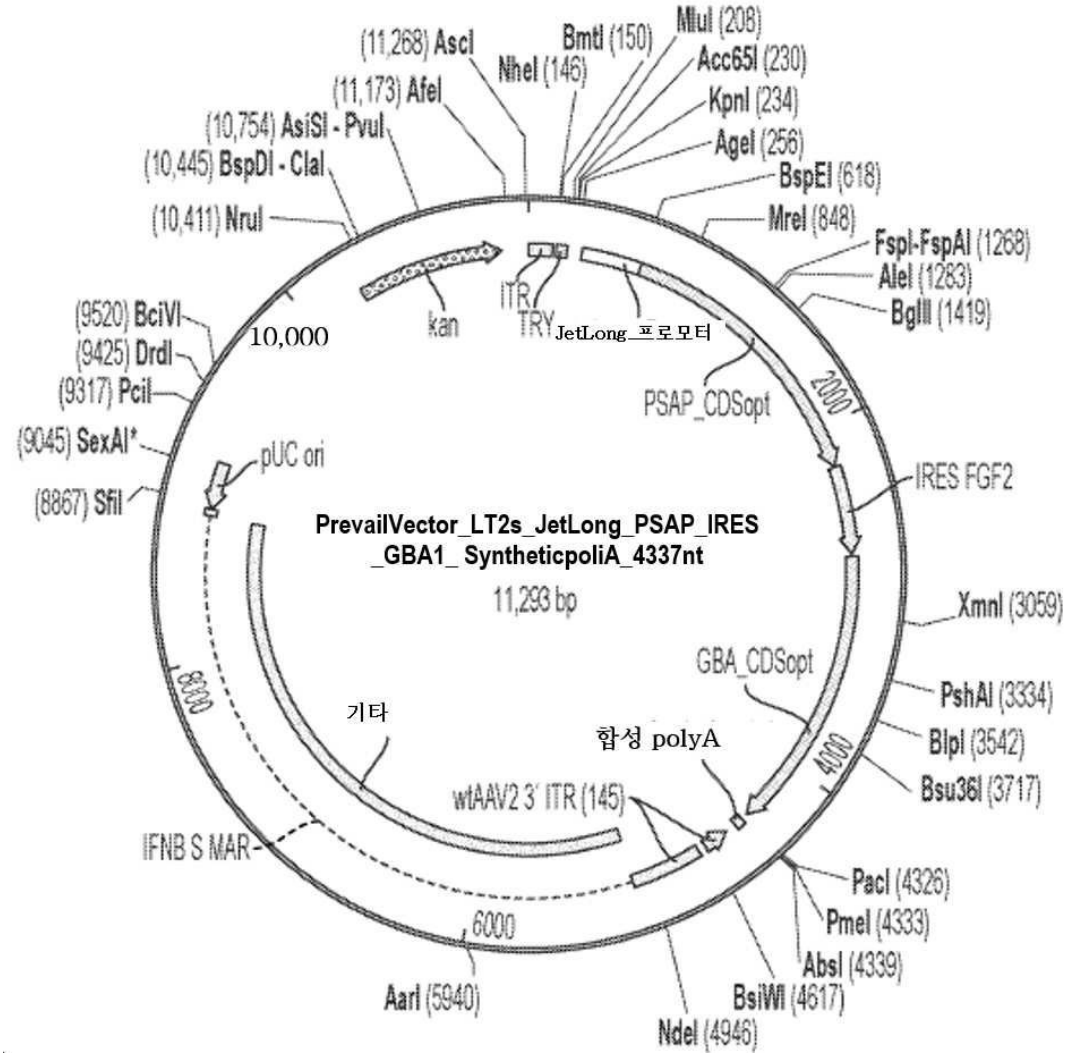
도면4


JetLong_프로모터
10,00
kan
ITR
TRY
JEtLongIntron
aSyn_MshRNA
SCARB2_CDSopt
2000
T2A
GBA_CDSopt
pUC ori
PrevailVector_LT1s_JetLong_mRNAiaSYn
_SCARB2-T2A-GBA1_bGH_4215nt
11,171 bp
8000
기타
bGH
wtAAV2 3' ITR (145)
4000
IFNB S MAR
6000

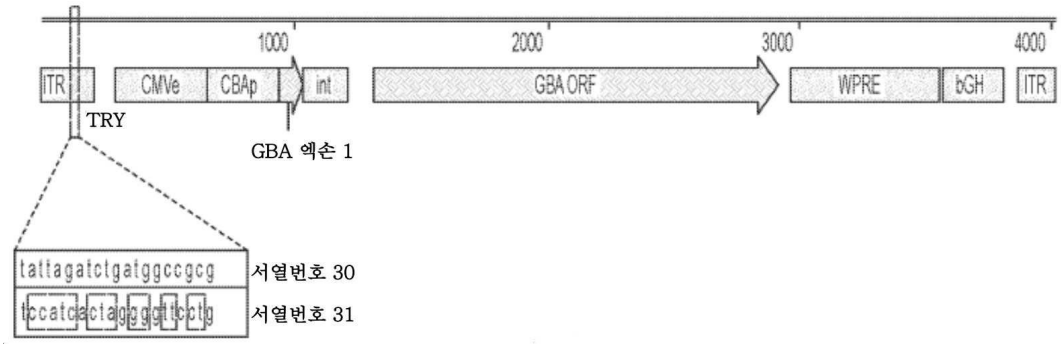
도면5


JetLong_프로모터
PSAP_CDSopt
ITR
kan
TRY
10,00
JEtLongIntron
aSyn_MshRNA
2000
pUC ori
T2A
PrevailVector_LT2s_JetLong_mRNAiaSYn_PSAP-T2A
-GBA1_bGH_4353nt
11,309 bp
8000
기타
4000
GBA_CDSopt
wtAAV2 3' ITR (145)
IFNB S MAR
bGH
6000

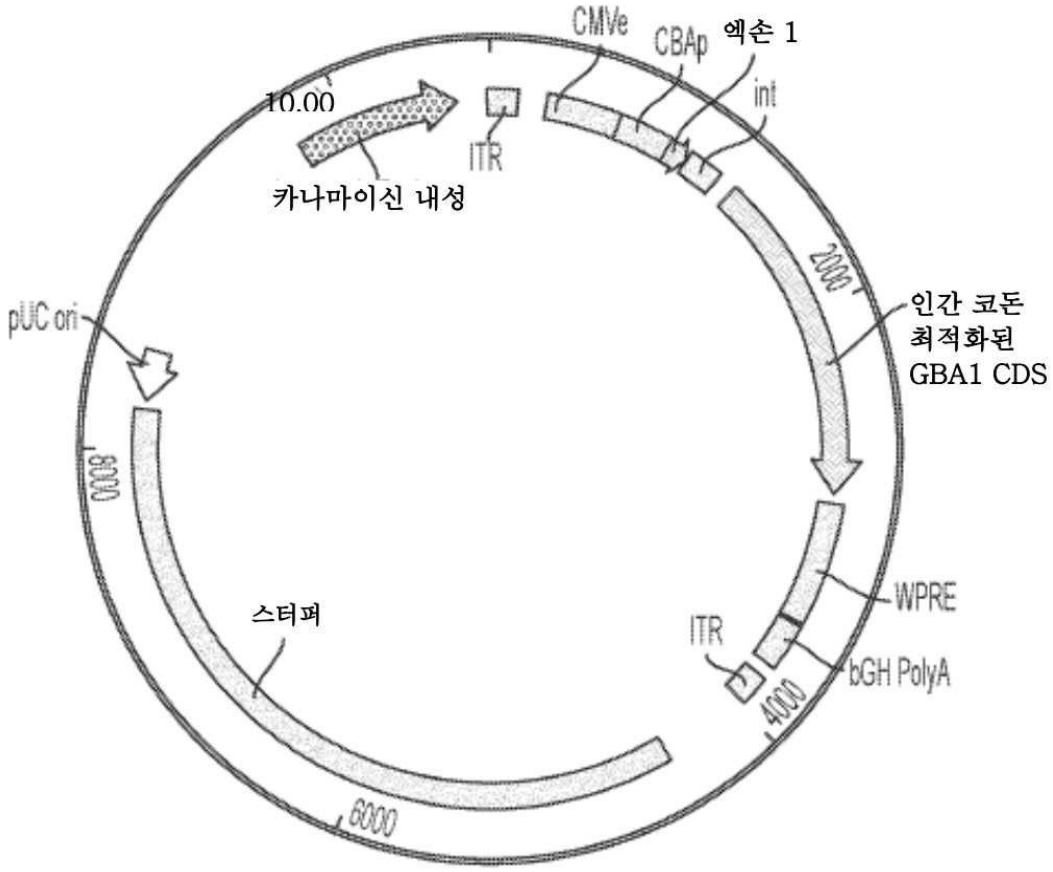
도면6


PrevailVector_LT2s_JetLong_PSAP_IRES
GBA1 SyntheticpoliA_4337nt
11,293 bp
10,000
2000
4000
6000
8000
kan
ITR
TRY
JetLong_프로모터
PSAP_CDSopt
IRES FGF2
GBA_CDSopt
기타
합성 polyA
wtAAV2 3' ITR (145)
IFNB S MAR
pUC ori
(11,268) AscI
NheI (146)
BmtI (150)
MluI (208)
Acc65I (230)
KpnI (234)
AgeI (256)
BspEI (618)
MreI (848)
FspI-FspAI (1268)
AleI (1263)
BglII (1419)
XmnI (3059)
PshAI (3334)
BlpI (3542)
Bsu36I (3717)
PacI (4326)
PmeI (4333)
AbsI (4339)
BsiWI (4617)
NdeI (4946)
AarI (5940)
(11,173) AfeI
(10,754) AsiSI - PvuI
(10,445) BspDI - ClaI
(10,411) NruI
(9520) BciVI
(9425) DrdI
(9317) PciI
(9045) SexAI*
(8867) SfiI

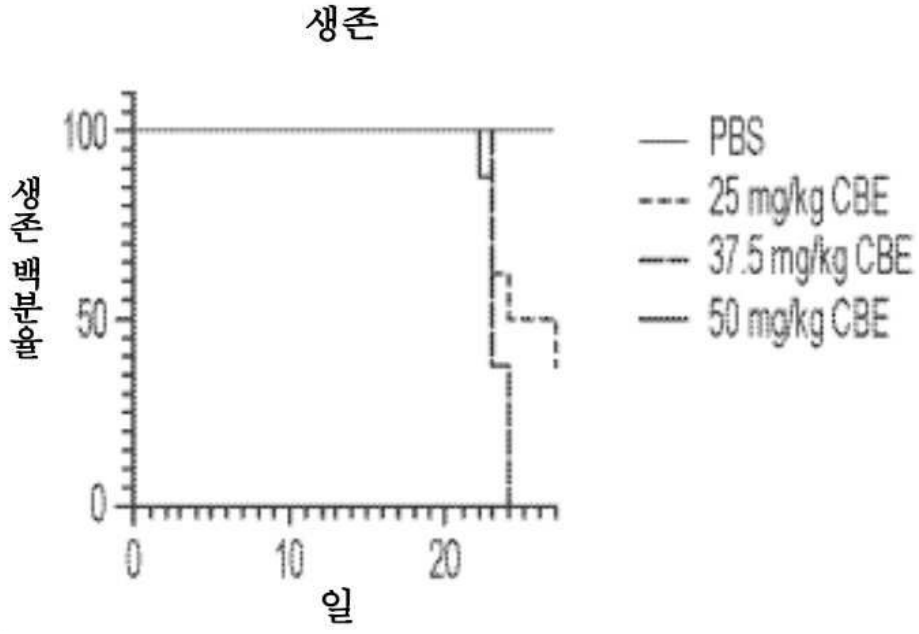
도면7


1000
2000
3000
4000
ITR
CMVe
CBAp
int
GBA ORF
WPRE
bGH
ITR
TRY
GBA 엑손 1
tattagatctgatggccgcg
서열번호 30
서열번호 31

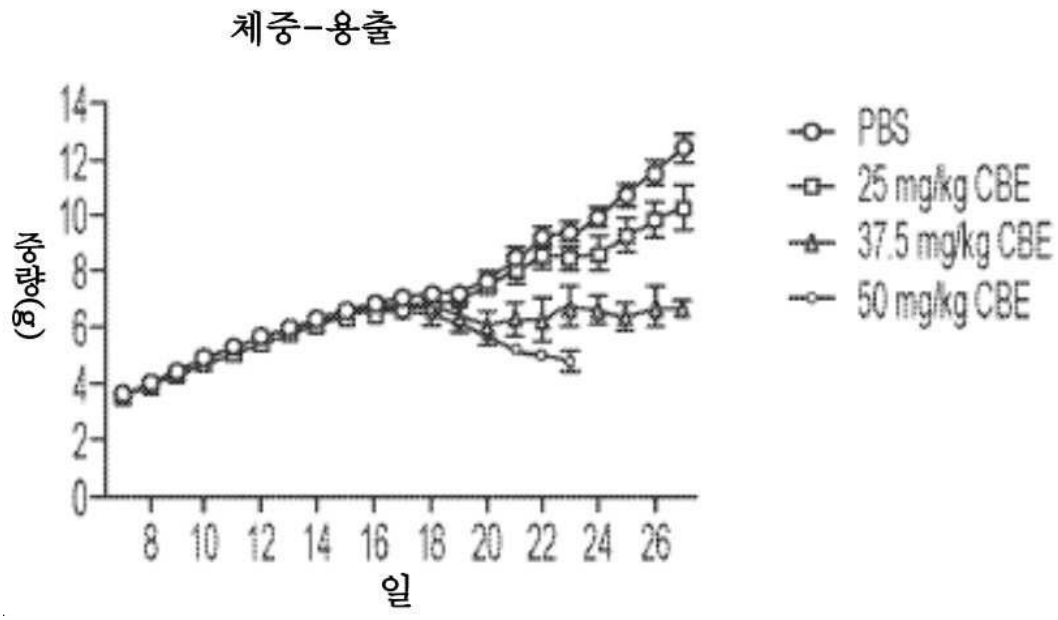
도면8


CMVe
CBAp
엑손 1
int
10.00
ITR
카나마이신 내성
2000
인간 코돈
최적화된
GBA1 CDS
pUC ori
6000
스터퍼
WPRE
ITR
bGH PolyA
4000
6000

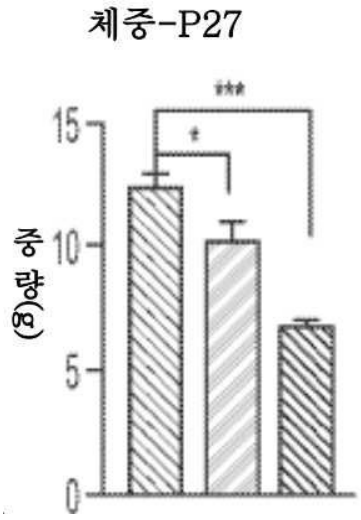
도면9a


생존
100
50
0
생존 백분율
0
10
20
일
PBS
25 mg/kg CBE
37.5 mg/kg CBE
50 mg/kg CBE

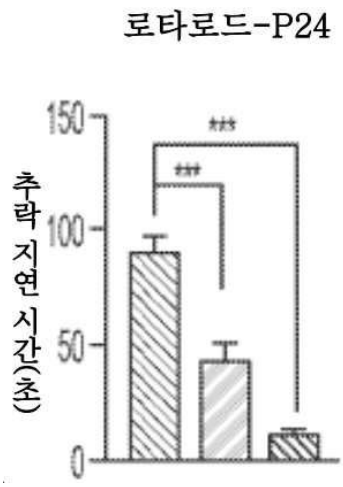
도면9b


체중-용출
중량(g)
14
12
10
8
6
4
2
0
8 10 12 14 16 18 20 22 24 26
일
PBS
25 mg/kg CBE
37.5 mg/kg CBE
50 mg/kg CBE

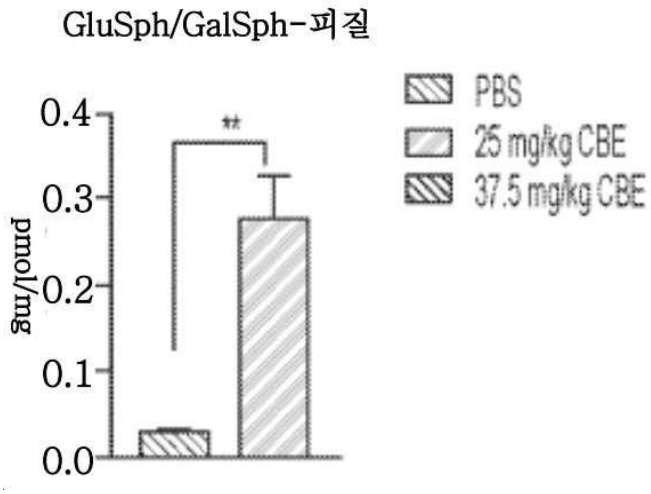
도면9c


체중-P27
***
*
중량(g)
15
10
5
0

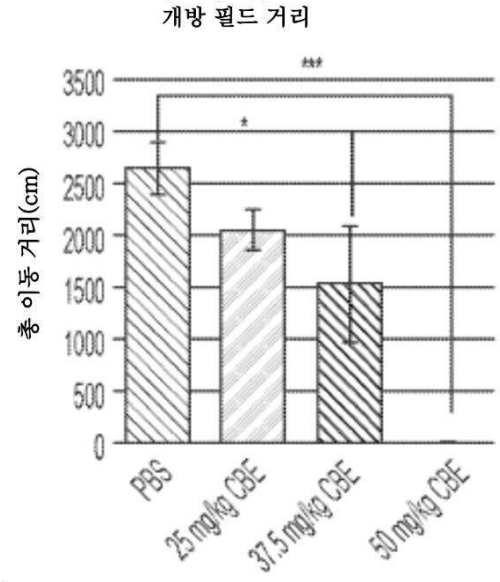
도면9d



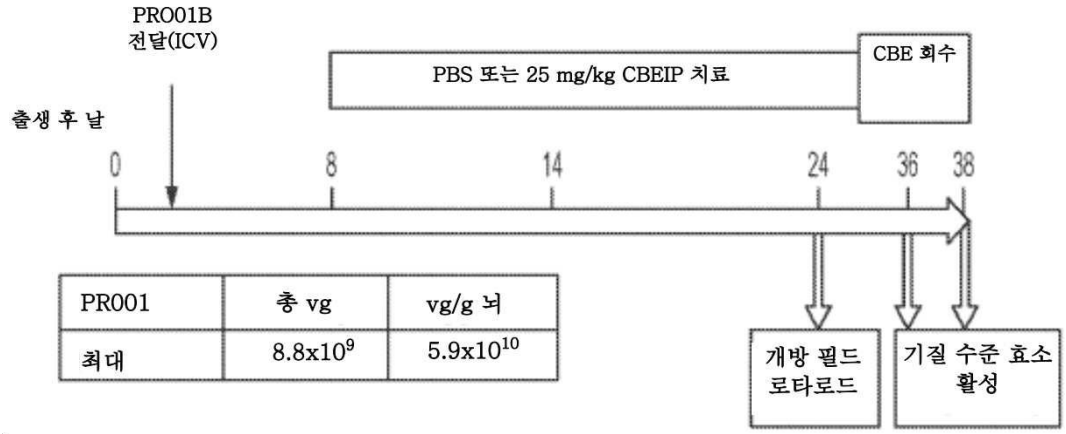
도면9e



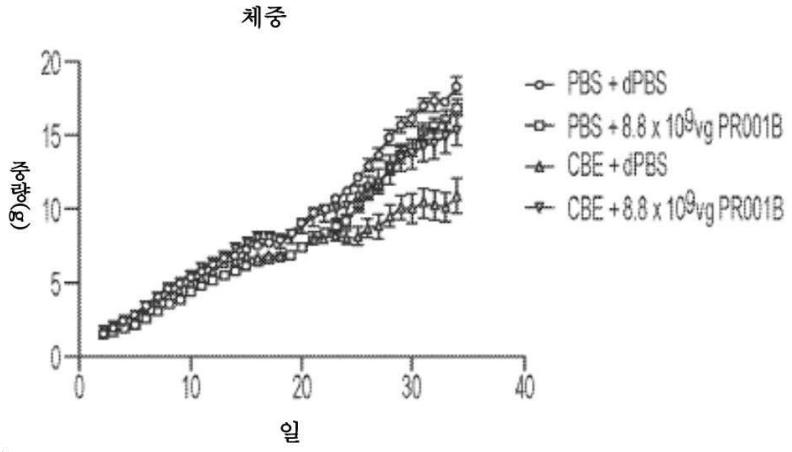
도면9f



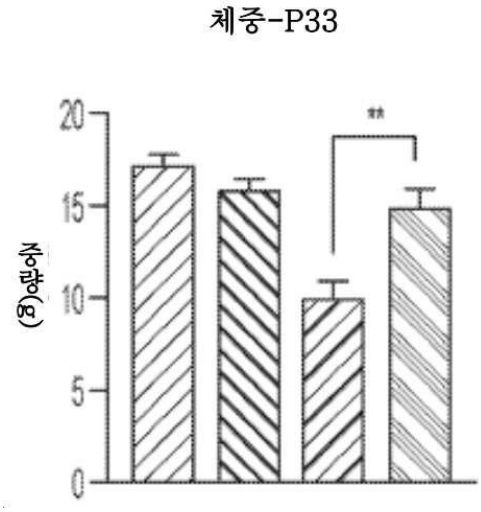
도면10



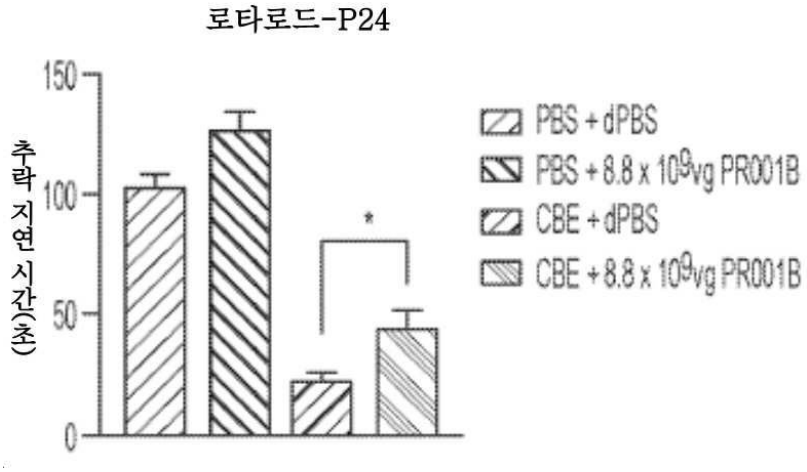
도면11a



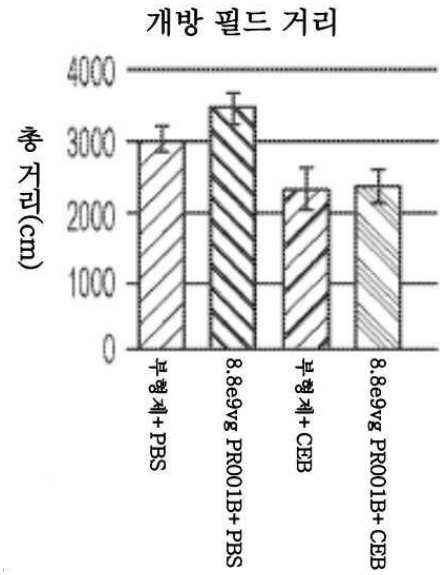
도면11b



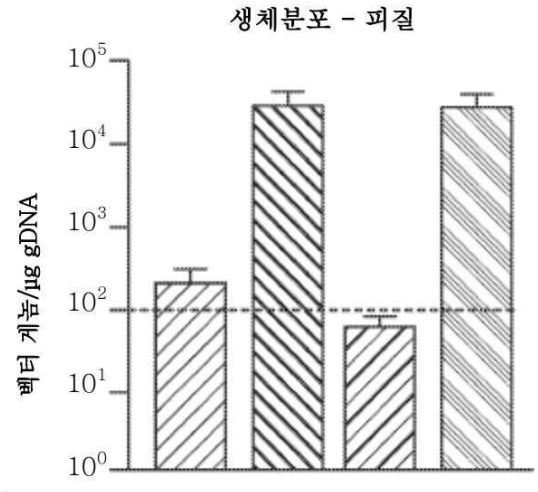
도면11c



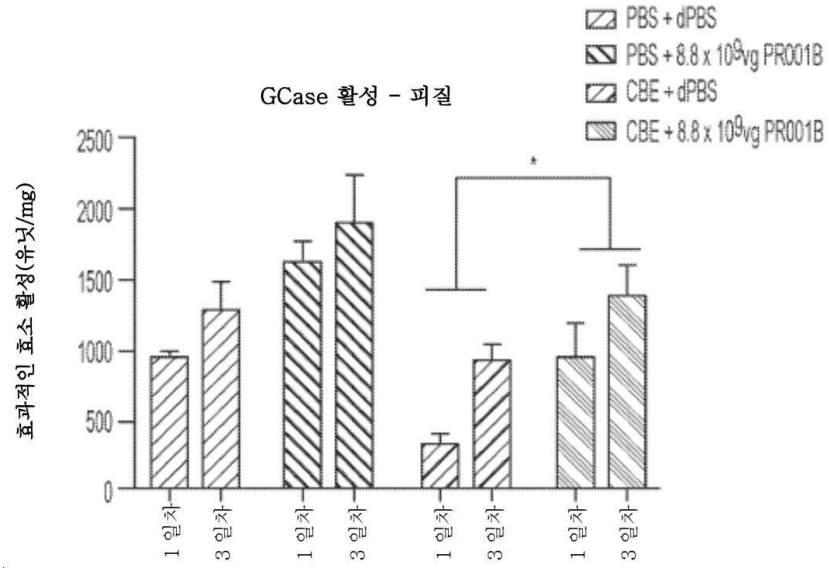
도면11d



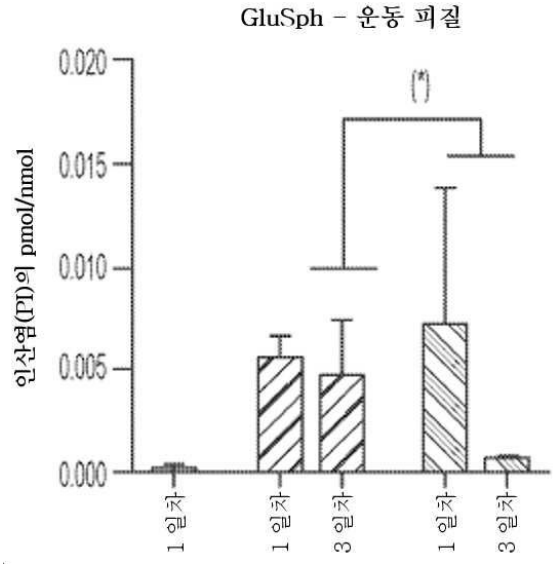
도면12a



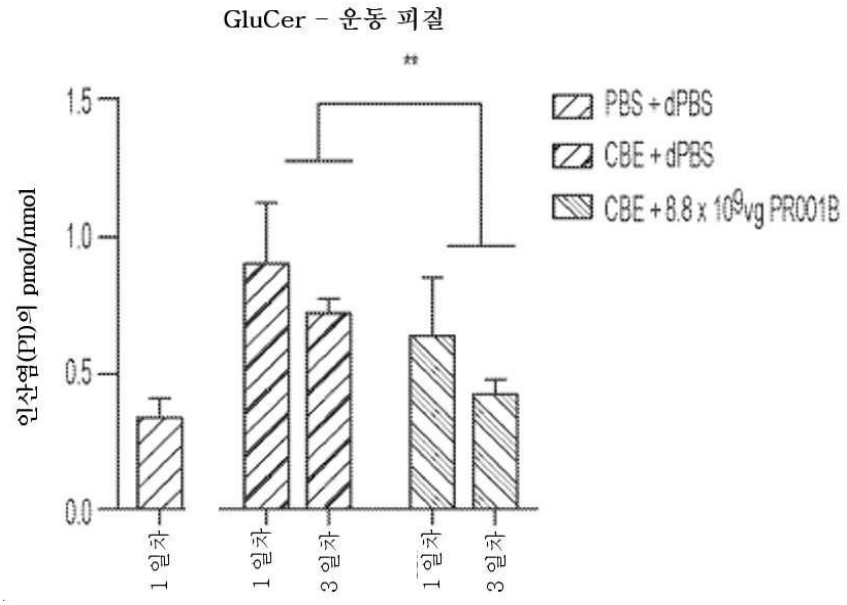
도면12b


GCase 활성 - 피질
PBS + dPBS
PBS + 8.8 x 10^9vg PR001B
CBE + dPBS
CBE + 8.8 x 10^9vg PR001B
효과적인 효소 활성(유닛/mg)
2500
2000
1500
1000
500
0
*
1 일차
3 일차
1 일차
3 일차
1 일차
3 일차
1 일차
3 일차

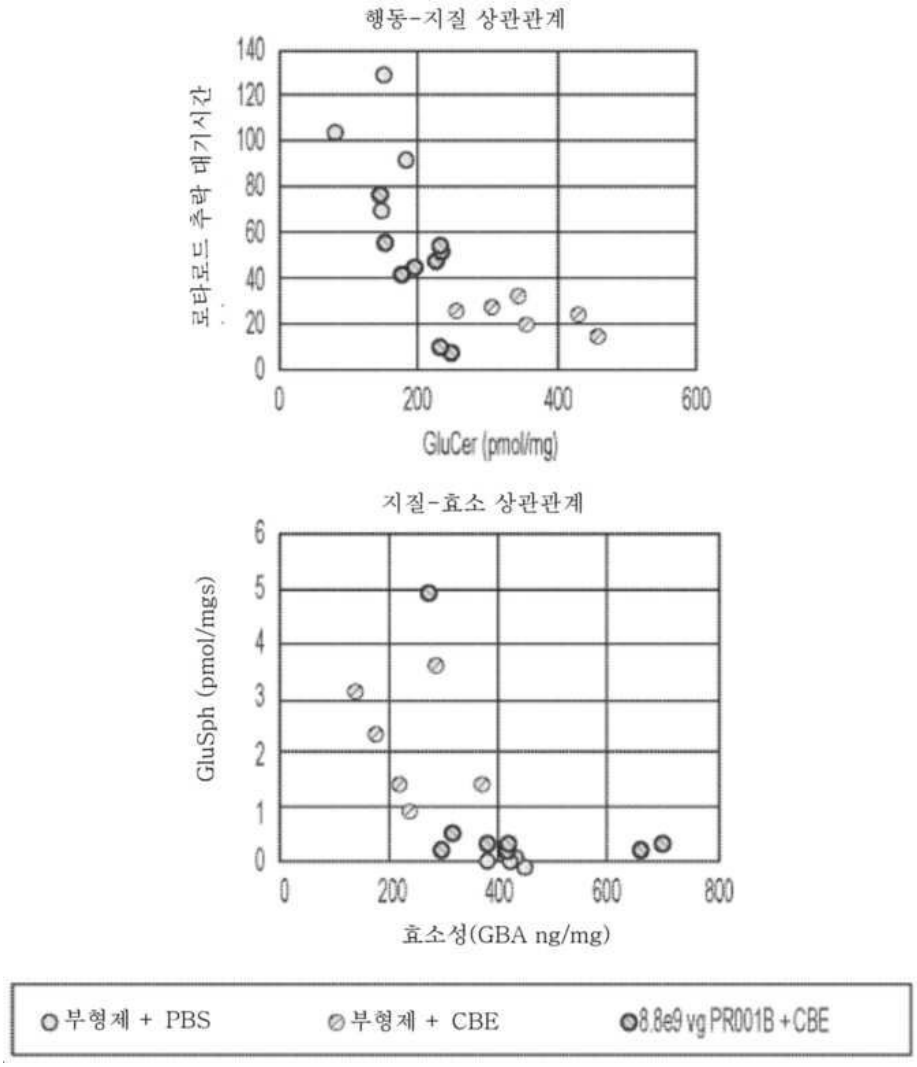
도면12c


GluSph - 운동 피질
인산염[Pi]의 pmol/nmol
0.020
0.015
0.010
0.005
0.000
(*)
1 일차
1 일차
3 일차
1 일차
3 일차

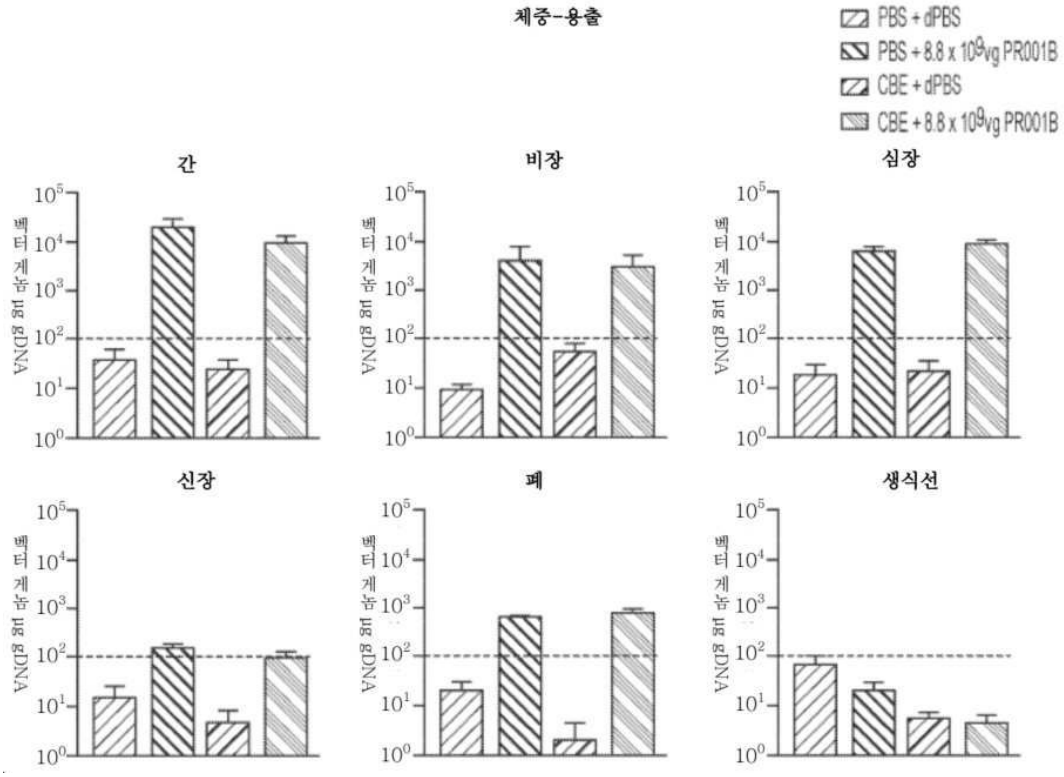
도면12d


GluCer - 운동 피질
**
인산염(PI)의 pmol/nmol
1.5
1.0
0.5
0.0
PBS + dPBS
CBE + dPBS
CBE + 8.8 x 10^9vg PR001B
1 일차
1 일차
3 일차
1 일차
3 일차

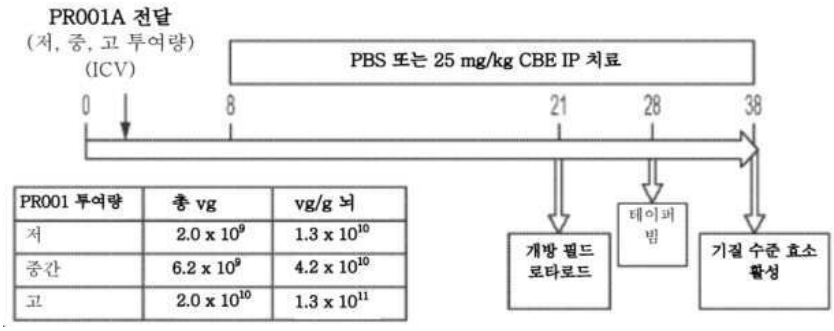
도면13


행동-지질 상관관계
로타로드 추락 대기시간
GluCer (pmol/mg)
지질-효소 상관관계
GluSph (pmol/mgs)
효소성(GBA ng/mg)
부형제 + PBS
부형제 + CBE
8.8e9 vg PR001B + CBE

도면14

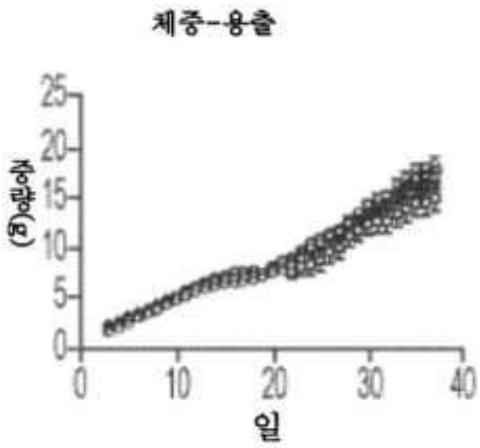


도면15a

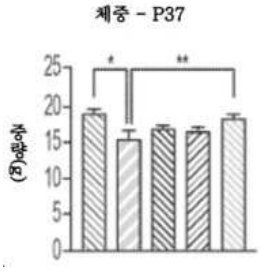


PR001 투여량	총 vg	vg/g 뇌
저	2.0 x 10^9	1.3 x 10^{10}
중간	6.2 x 10^9	4.2 x 10^{10}
고	2.0 x 10^{10}	1.3 x 10^{11}

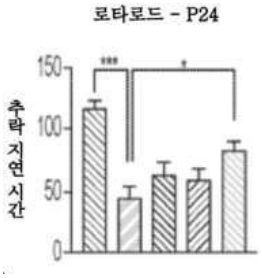
도면15b



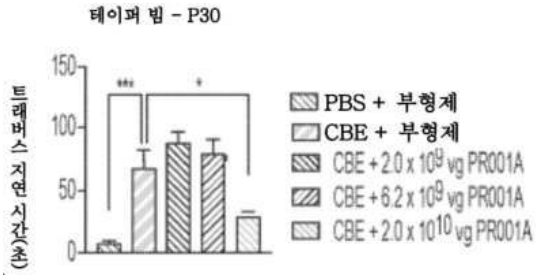
도면15c



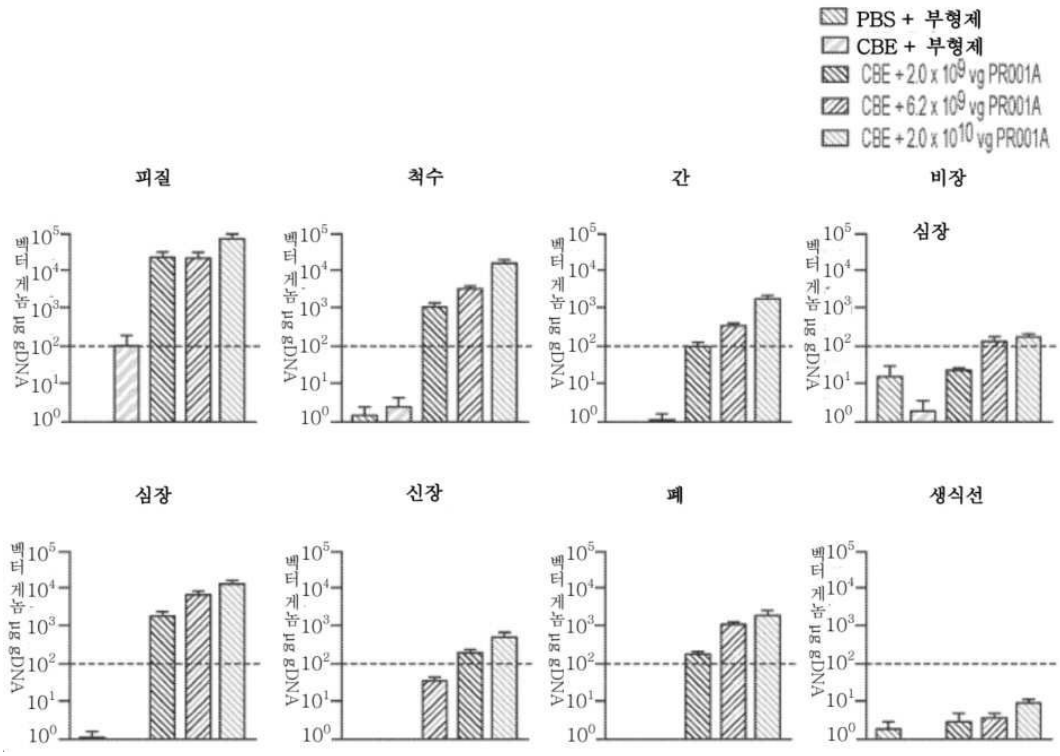
도면15d



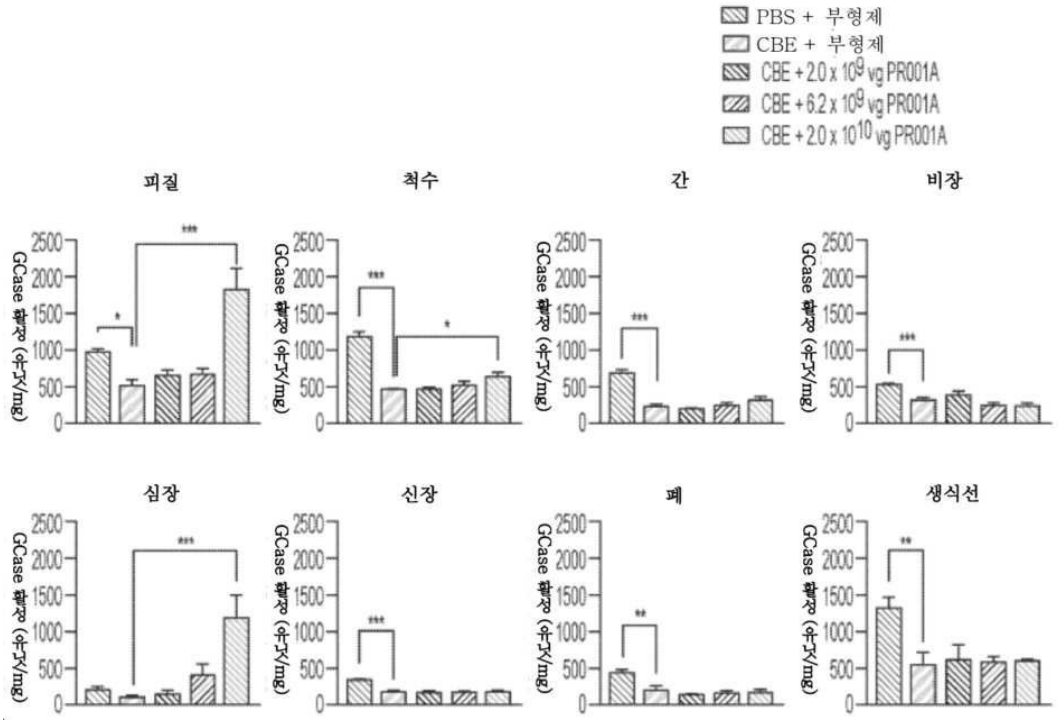
도면15e



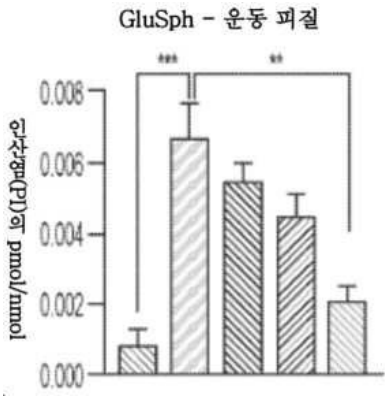
도면16a


PBS + 부형제
CBE + 부형제
CBE + 2.0 x 10^9 vg PR001A
CBE + 6.2 x 10^9 vg PR001A
CBE + 2.0 x 10^10 vg PR001A
피질
척수
간
비장
심장
신장
폐
생식선
벡터 게놈 µg gDNA

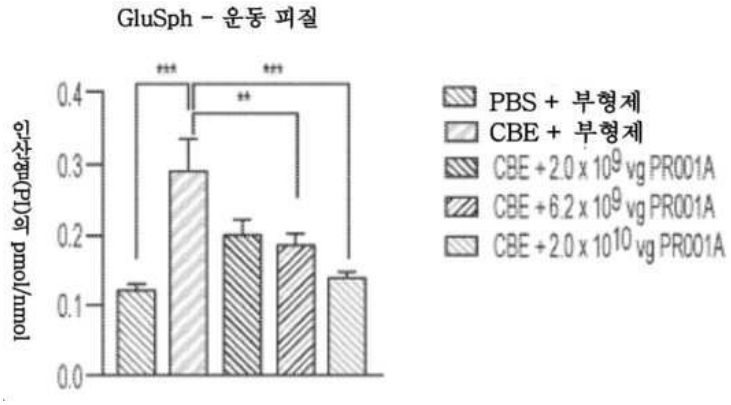
도면16b


PBS + 부형제
CBE + 부형제
CBE + 2.0 x 10^9 vg PR001A
CBE + 6.2 x 10^9 vg PR001A
CBE + 2.0 x 10^10 vg PR001A
피질
척수
간
비장
심장
신장
폐
생식선
GCase 활성 (수치/mg)

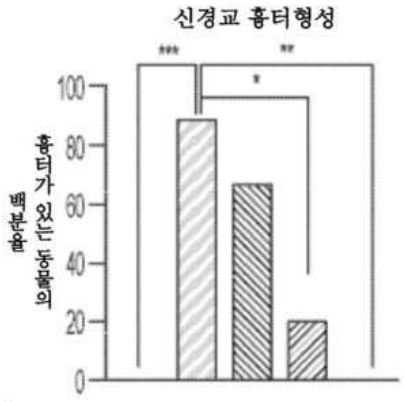
도면16c



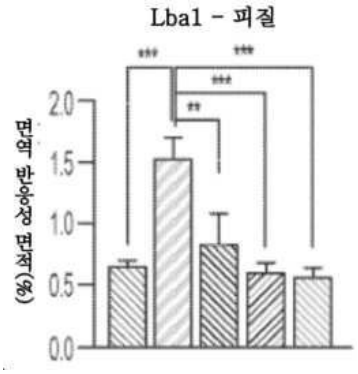
도면16d



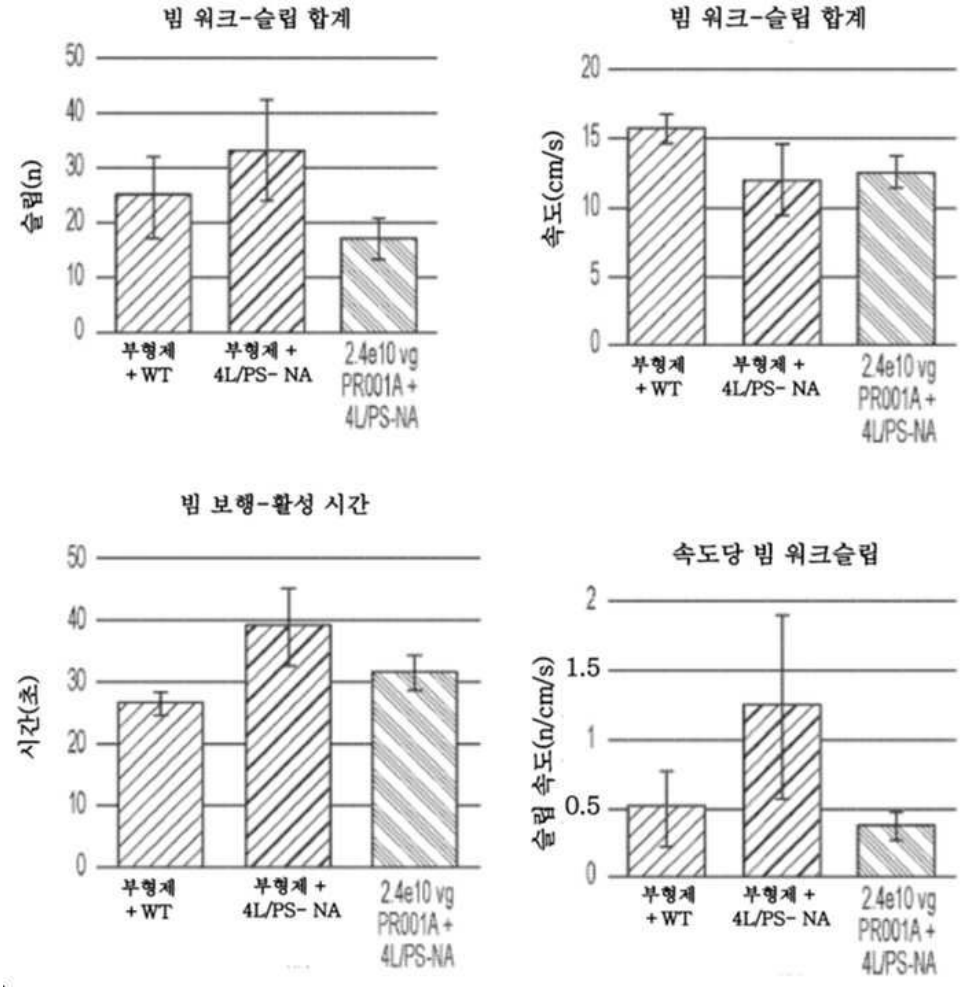
도면16e



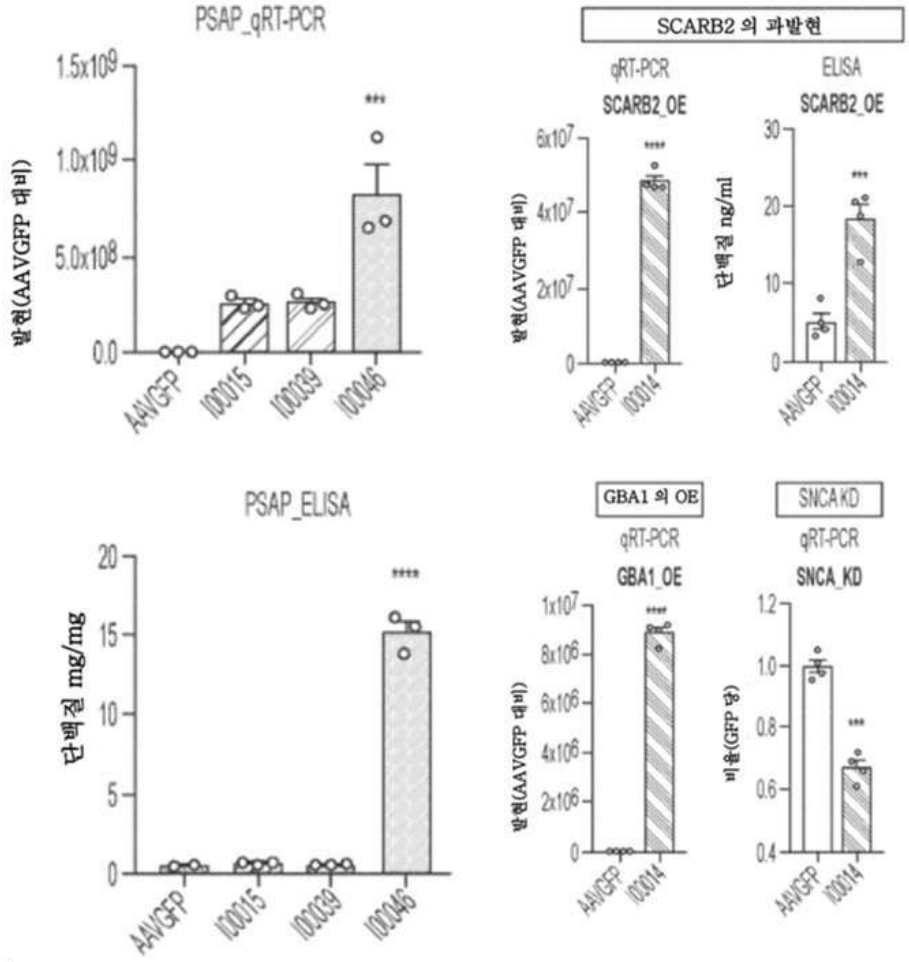
도면16f


Lbal - 피질
***
***
***
**
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0

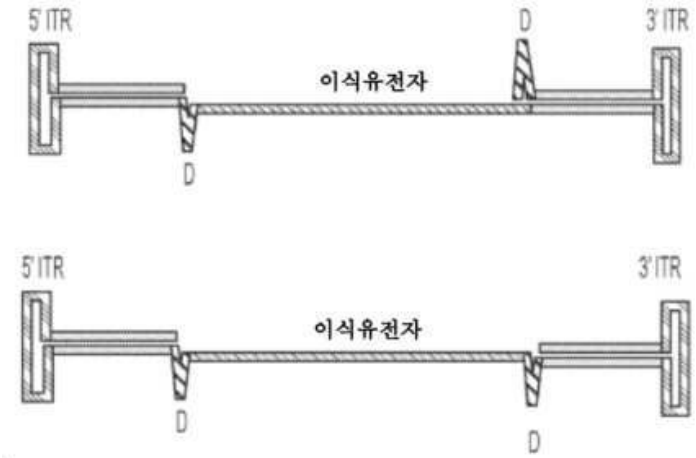
도면17


빔 워크-슬립 합계
슬립(n)
50
40
30
20
10
0
부형제 + WT
부형제 + 4L/PS- NA
2.4e10 vg PR001A + 4L/PS-NA
빔 워크-슬립 합계
속도(cm/s)
20
15
10
5
0
부형제 + WT
부형제 + 4L/PS- NA
2.4e10 vg PR001A + 4L/PS-NA
빔 보행-활성 시간
시간(초)
50
40
30
20
10
0
부형제 + WT
부형제 + 4L/PS- NA
2.4e10 vg PR001A + 4L/PS-NA
속도당 빔 워크슬립
슬립 속도(n/cm/s)
2
1.5
1
0.5
0
부형제 + WT
부형제 + 4L/PS- NA
2.4e10 vg PR001A + 4L/PS-NA

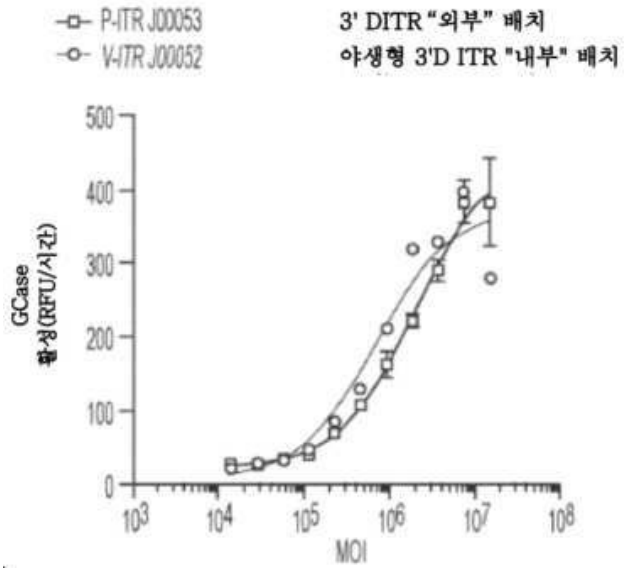
도면18


PSAP_qRT-PCR
발현(AAVGFP 대비)
1.5x10^9
1.0x10^9
5.0x10^8
0.0
***
AAVGFP
I00015
I00039
I00046
SCARB2 의 과발현
qRT-PCR
SCARB2_OE
6x10^7
4x10^7
2x10^7
0
****
AAVGFP
I00014
ELISA
SCARB2_OE
단백질 ng/ml
30
20
10
0
***
AAVGFP
I00014
PSAP_ELISA
단백질 mg/mg
20
15
10
5
0
****
AAVGFP
I00015
I00039
I00046
GBA1 의 OE
qRT-PCR
GBA1_OE
1x10^7
8x10^6
6x10^6
4x10^6
2x10^6
0
****
AAVGFP
I00014
SNCA KD
qRT-PCR
SNCA_KD
비율(GFP 당)
1.2
1.0
0.8
0.6
0.4
***
AAVGFP
I00014

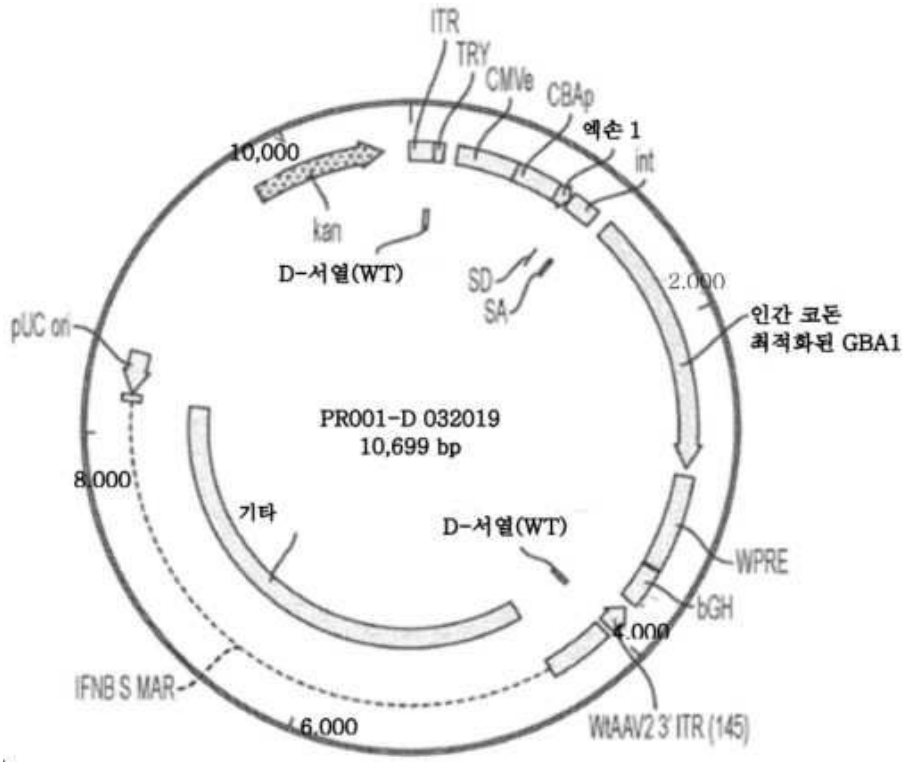
도면19


5' ITR
D
3' ITR
이식유전자
D
5' ITR
3' ITR
이식유전자
D
D

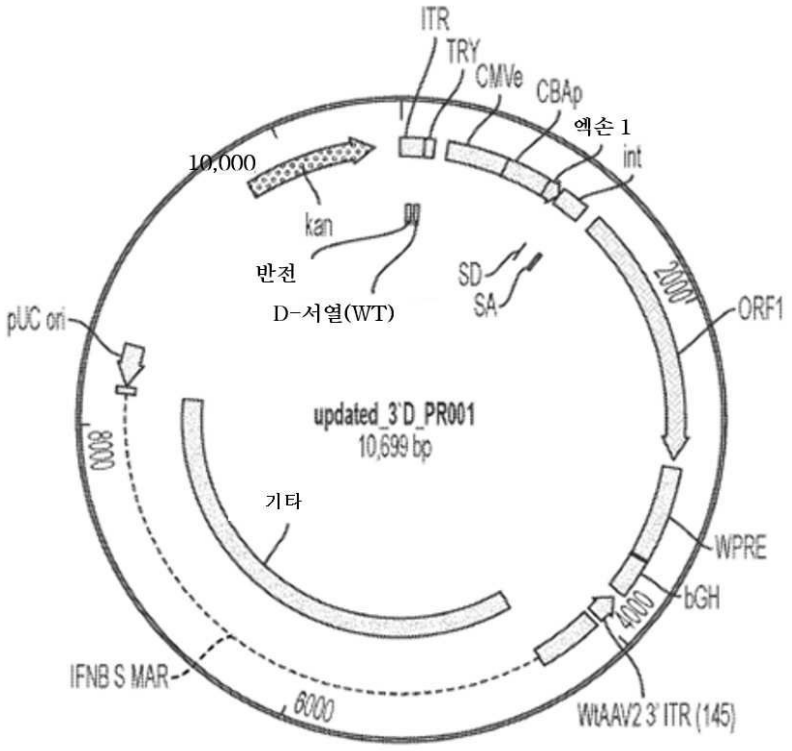
도면20


P-ITR J00053
V-ITR J00052
3' DITR "외부" 배치
야생형 3'D ITR "내부" 배치
GCase 활성(RFU/시간)
500
400
300
200
100
0
10^3
10^4
10^5
10^6
10^7
10^8
MOI

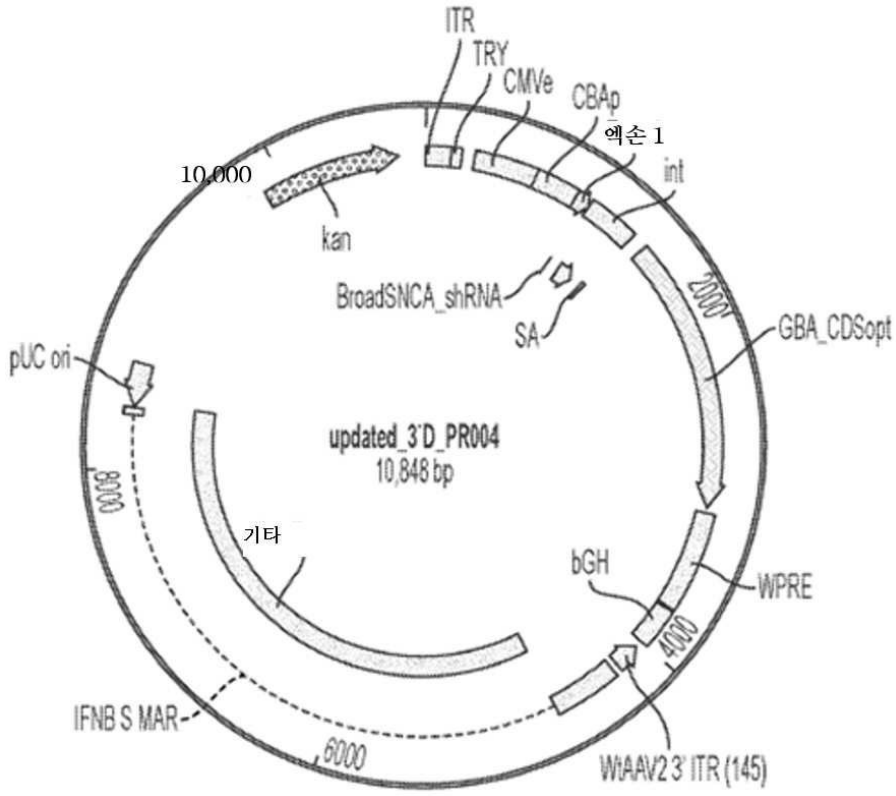
도면21


ITR
TRY
CMVe
CBAp
엑손 1
int
10,000
kan
D-서열(WT)
SD
SA
2,000
인간 코돈
최적화된 GBA1
pUC ori
PR001-D 032019
10,699 bp
8,000
기타
D-서열(WT)
WPRE
bGH
4,000
IFNB S MAR
6,000
WtAAV2 3' ITR (145)

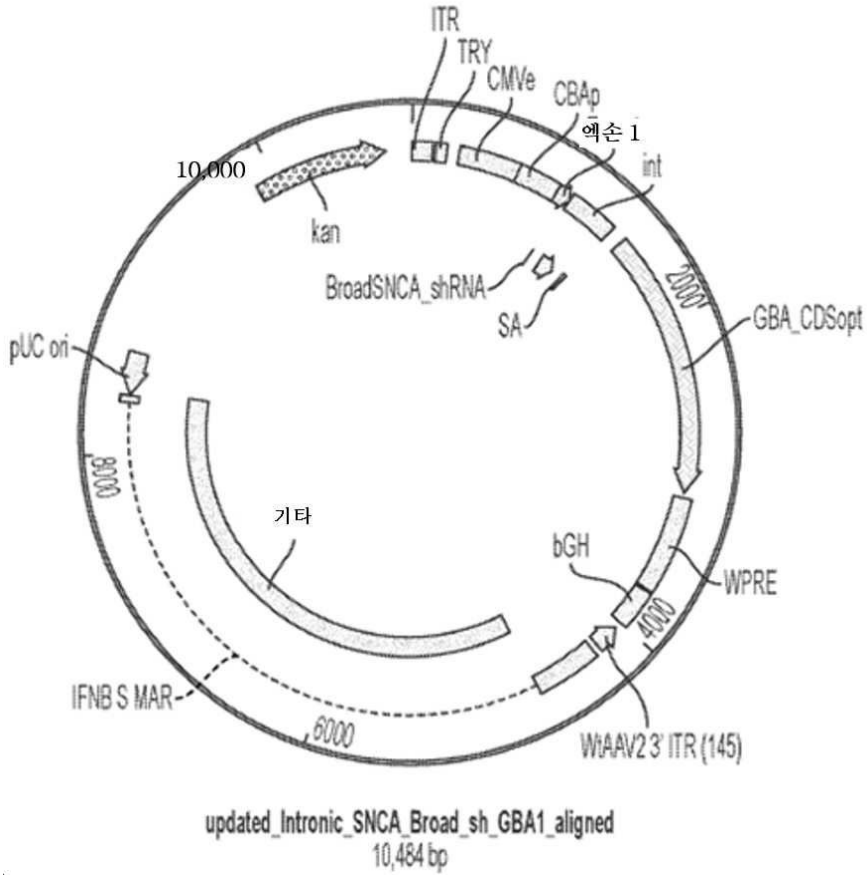
도면22


ITR
TRY
CMVe
CBAp
엑손 1
int
10,000
kan
반전
D-서열(WT)
SD
SA
2000
ORF1
pUC ori
updated_3'D_PR001
10,699 bp
8000
기타
WPRE
bGH
4000
IFNB S MAR
6000
WtAAV2 3' ITR (145)

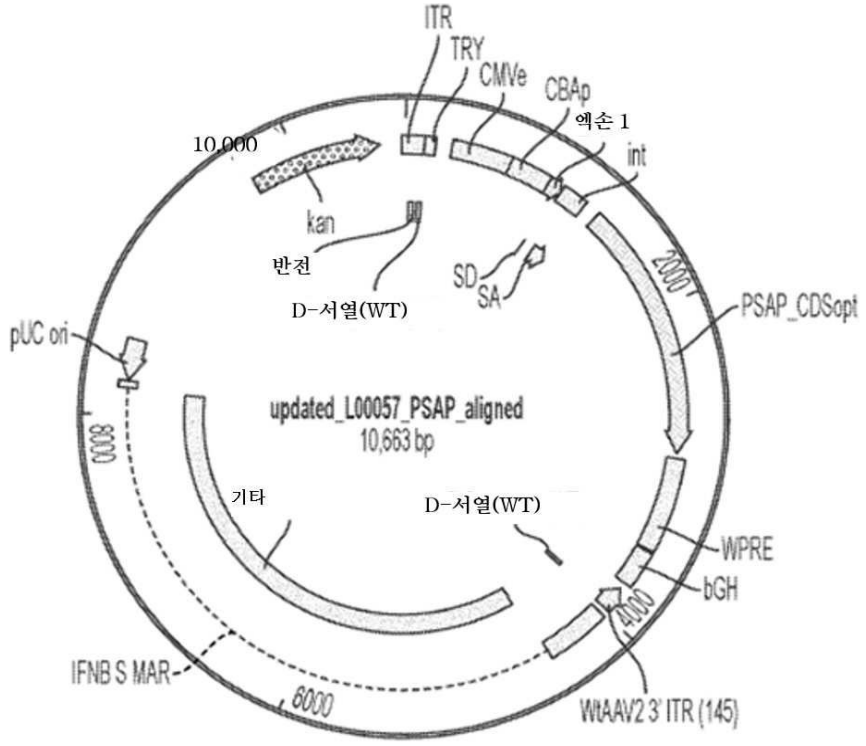
도면23


ITR
TRY
CMVe
CBAp
엑손 1
int
10,000
kan
BroadSNCA_shRNA
SA
2000
GBA_CDSopt
pUC ori
updated_3'D_PR004
10,848 bp
8000
기타
bGH
WPRE
4000
IFNB S MAR
6000
WtAAV2 3' ITR (145)

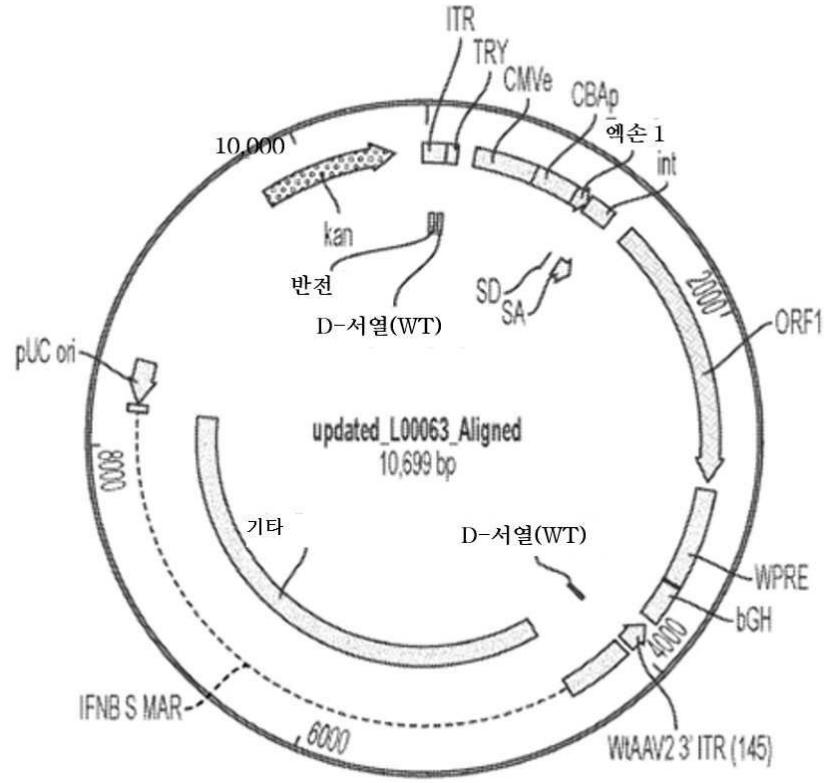
도면24


ITR
TRY
CMVe
CBAp
엑손 1
int
10,000
kan
BroadSNCA_shRNA
SA
2000
GBA_CDSopt
pUC ori
8000
기타
bGH
WPRE
4000
IFNB S MAR
6000
WtAAV2 3' ITR (145)
updated_Intronic_SNCA_Broad_sh_GBA1_aligned
10,484 bp

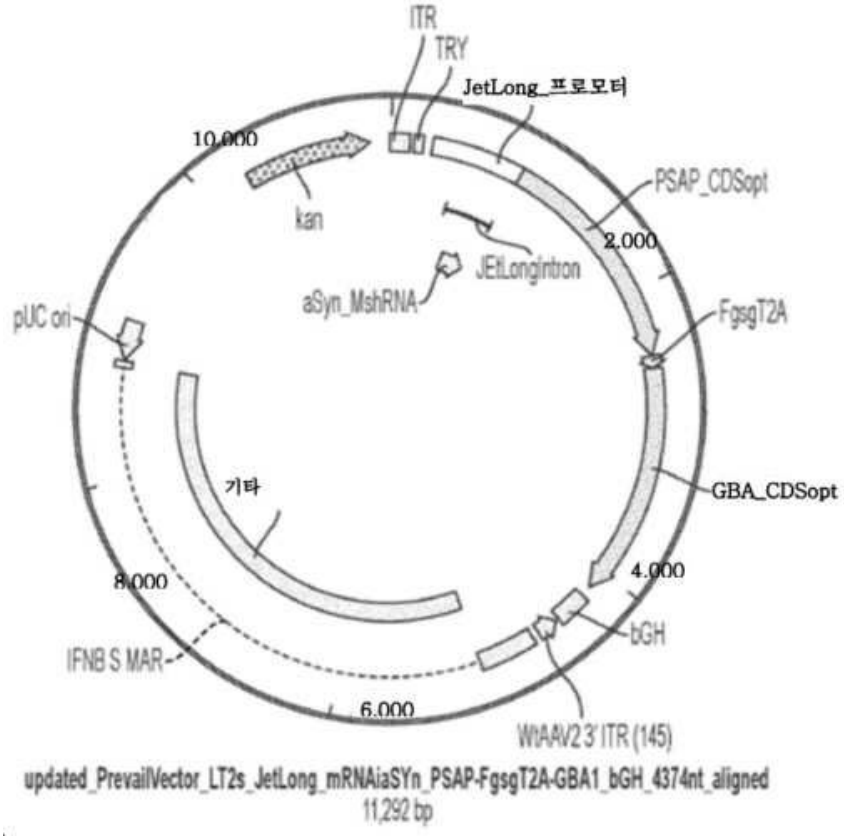
도면25


ITR
TRY
CMVe
CBAp
엑손 1
int
10,000
kan
반전
D-서열(WT)
SD
SA
2000
PSAP_CDSopt
pUC ori
8000
updated_L00057_PSAP_aligned
10,663 bp
기타
D-서열(WT)
WPRE
bGH
4000
IFNB S MAR
6000
WtAAV2 3' ITR (145)

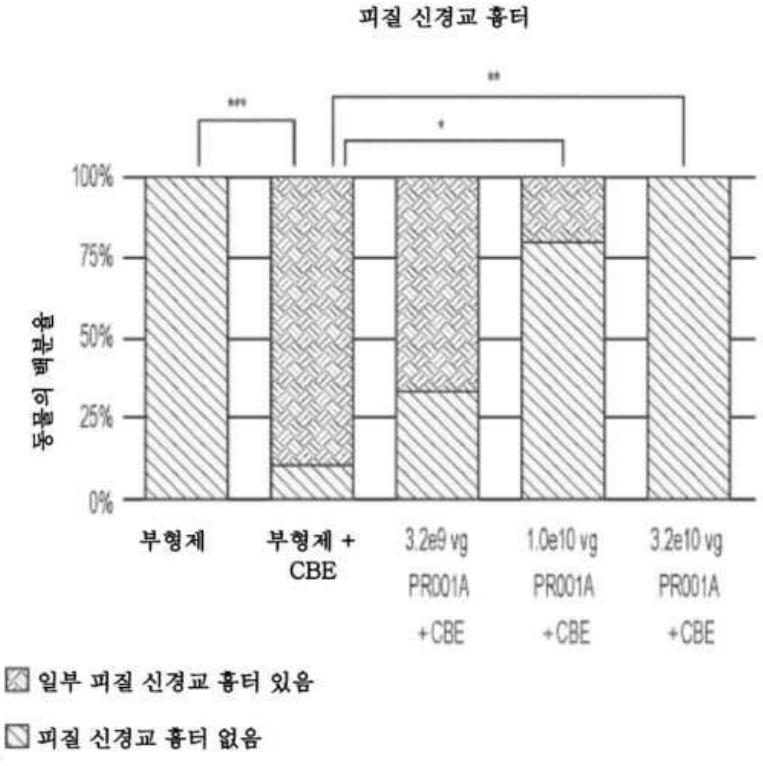
도면26


ITR
TRY
CMVe
CBAp
엑손 1
int
10,000
kan
반전
D-서열(WT)
SD
SA
2000
ORF1
pUC ori
updated_L00063_Aligned
10,699 bp
0000
기타
D-서열(WT)
WPRE
bGH
4000
IFNB S MAR
6000
WtAAV2 3' ITR (145)

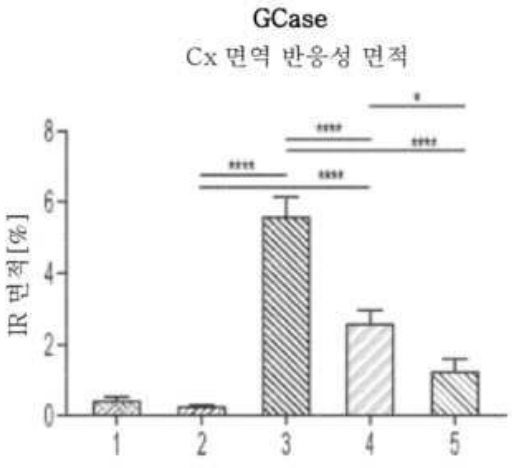
도면27


ITR
TRY
JetLong_프로모터
10,000
kan
PSAP_CDSopt
2,000
JEtLongintron
aSyn_MshRNA
pUC ori
FgsgT2A
기타
GBA_CDSopt
8,000
4,000
bGH
IFNB S MAR
6,000
WtAAV2 3' ITR (145)
updated_PrevailVector_LT2s_JetLong_mRNAiaSYn_PSAP-FgsgT2A-GBA1_bGH_4374nt_aligned
11,292 bp

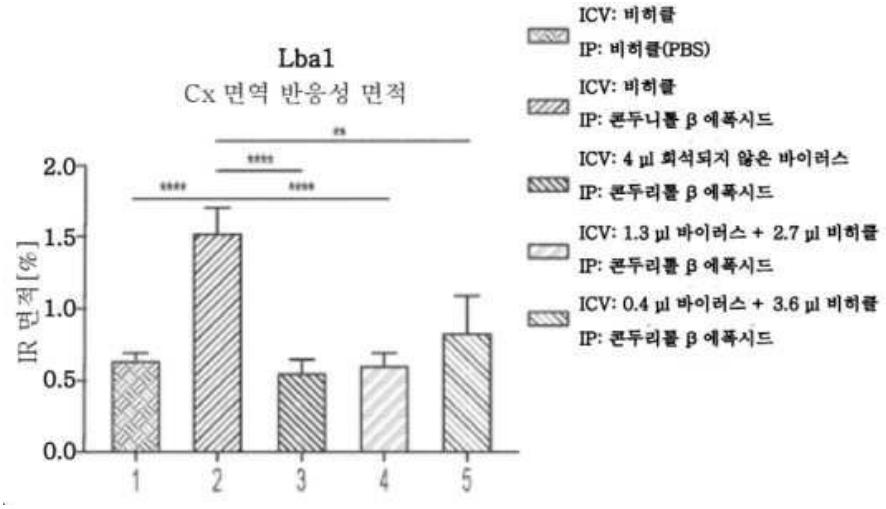
도면28


피질 신경교 흉터
***
**
*
100%
75%
50%
25%
0%
동물의 비율
부형제
부형제 + CBE
3.2e9 vg PR001A +CBE
1.0e10 vg PR001A +CBE
3.2e10 vg PR001A +CBE
일부 피질 신경교 흉터 있음
피질 신경교 흉터 없음

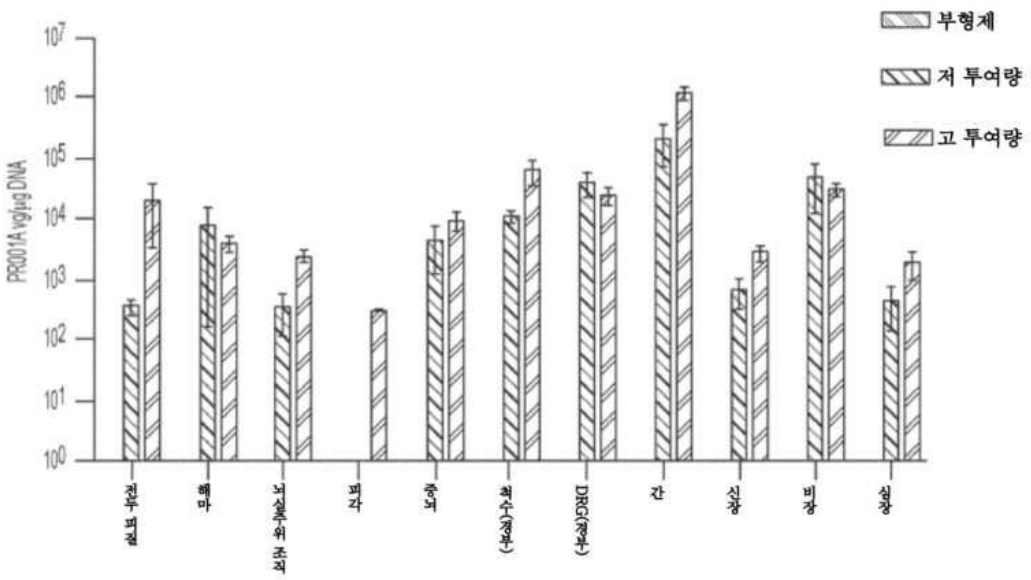
도면29a


GCase
Cx 면역 반응성 면적
IR 면적 [%]
8
6
4
2
0
1
2
3
4
5
****
****
****
****
*

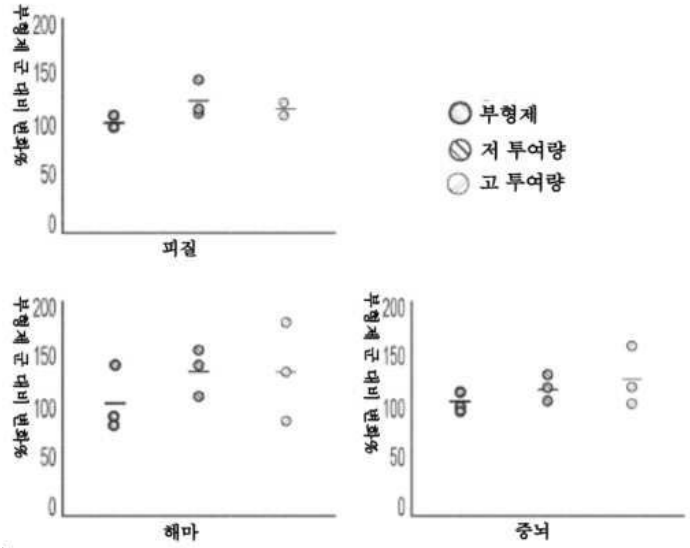
도면29b


Lbal
Cx 면역 반응성 면적
IR 면적 [%]
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
1
2
3
4
5
**
****
****
****
ICV: 비히클
IP: 비히클(PBS)
ICV: 비히클
IP: 콘두니톨 β 에폭시드
ICV: 4 μl 희석되지 않은 바이러스
IP: 콘두리톨 β 에폭시드
ICV: 1.3 μl 바이러스 + 2.7 μl 비히클
IP: 콘두리톨 β 에폭시드
ICV: 0.4 μl 바이러스 + 3.6 μl 비히클
IP: 콘두리톨 β 에폭시드

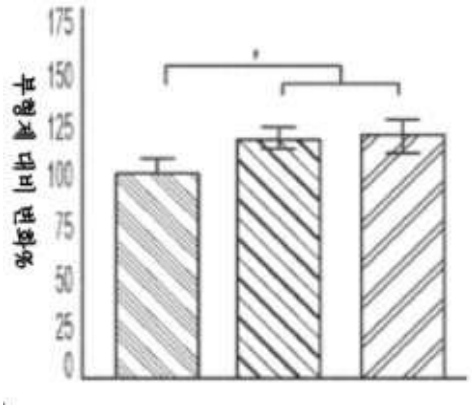
도면30


PRD01A vg/μg DNA
10^7
10^6
10^5
10^4
10^3
10^2
10^1
10^0
부형제
저 투여량
고 투여량
전두 피질
해마
뇌신경위 조직
피각
중뇌
척수(경부)
DRG(경부)
간
신장
비장
심장

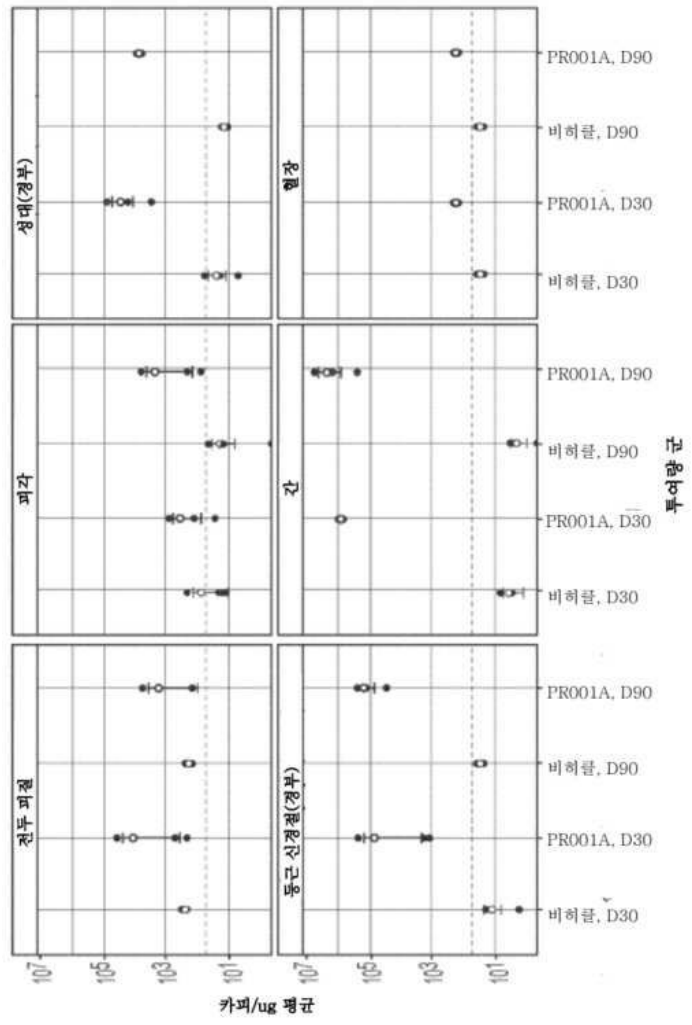
도면31a


부형제 대비 변화%
200
150
100
50
0
피질
해마
중뇌
부형제
저 투여량
고 투여량

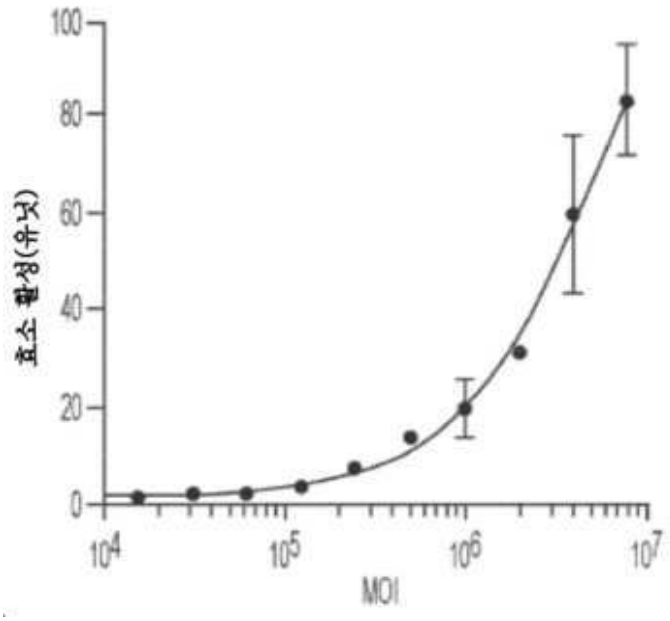
도면31b


부형제 대비 변화%
175
150
125
100
75
50
25
0
*

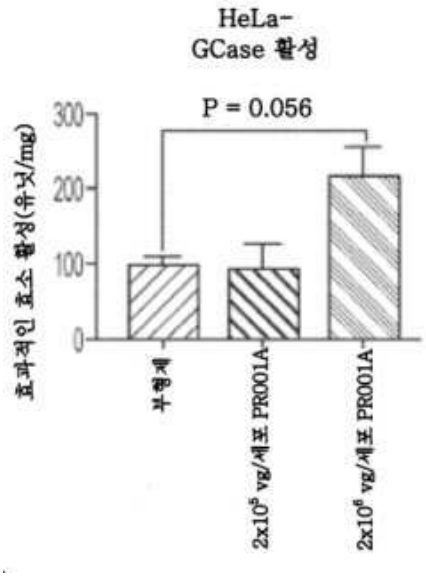
도면32


성대(경부)
혈장
피각
간
전두 피질
등근 신경절(경부)
PR001A, D90
비히클, D90
PR001A, D30
비히클, D30
투여량 군
카피/ug 평균

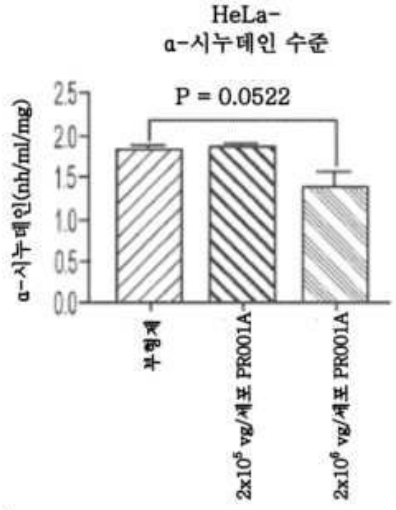
도면33


효소 활성(유닛)
MOI

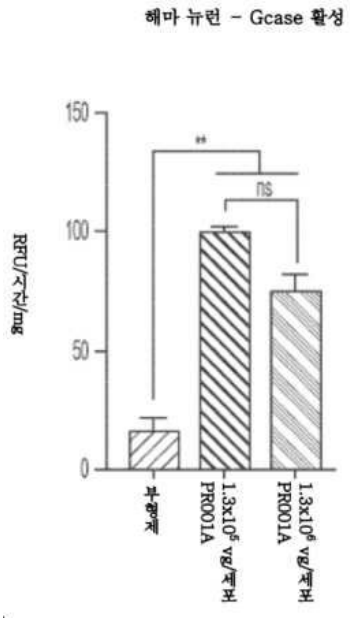
도면34a


HeLa-
GCase 활성
P = 0.056
효과적인 효소 활성(유닛/mg)
300
200
100
0
부형제
2x10^5 vg/세포 PR001A
2x10^6 vg/세포 PR001A

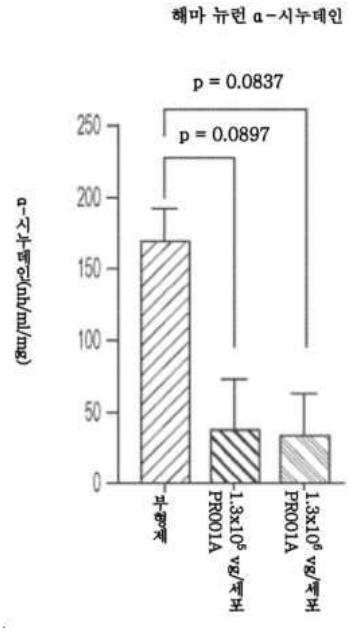
도면34b


HeLa-
α-시누데인 수준
P = 0.0522
α-시누데인(nh/ml/mg)
2.5
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
부형제
2x10^5 vg/세포 PR001A
2x10^6 vg/세포 PR001A

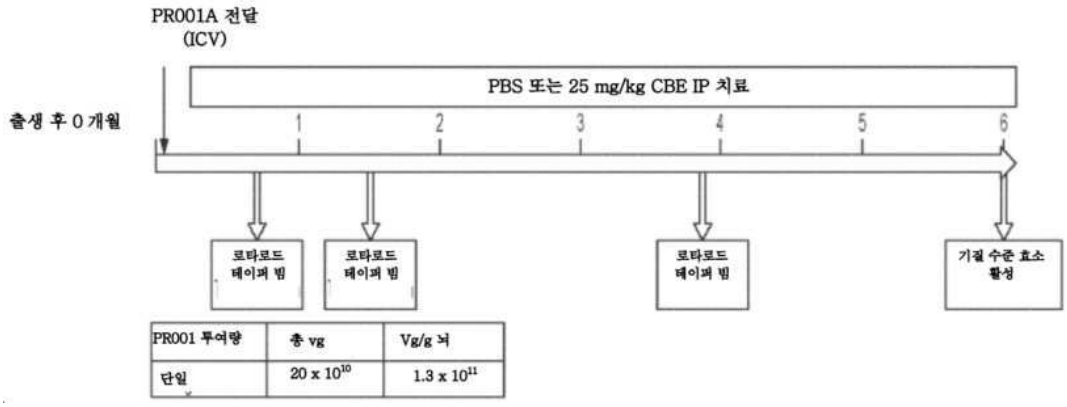
도면35a


해마 뉴런 - Gcase 활성
RFU/단백질/mg
150
100
50
0
**
ns
부형제
1.3x10^5 vg/웰
PR001A
1.3x10^6 vg/웰
PR001A

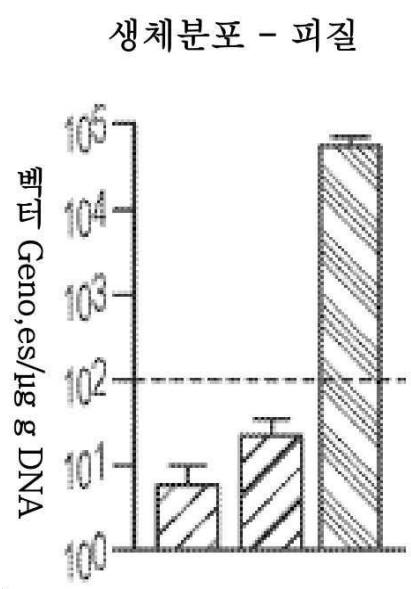
도면35b


해마 뉴런 α-시누데인
α-시누클레인(nM/ml/mg)
250
200
150
100
50
0
p = 0.0837
p = 0.0897
부형제
1.3x10^5 vg/웰
PR001A
1.3x10^6 vg/웰
PR001A

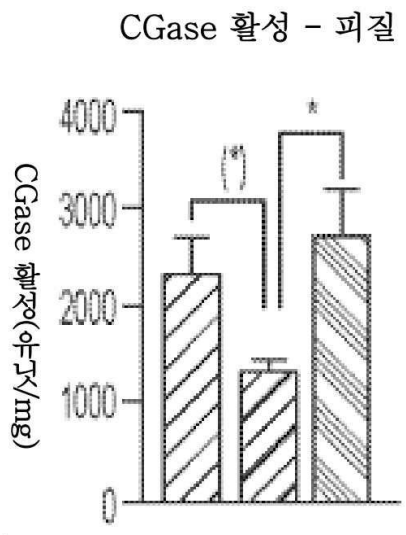
도면36



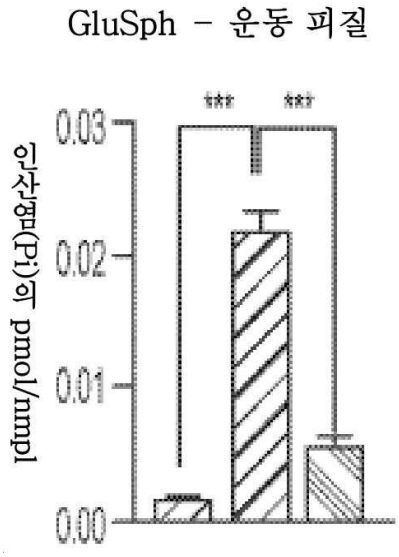
도면37a



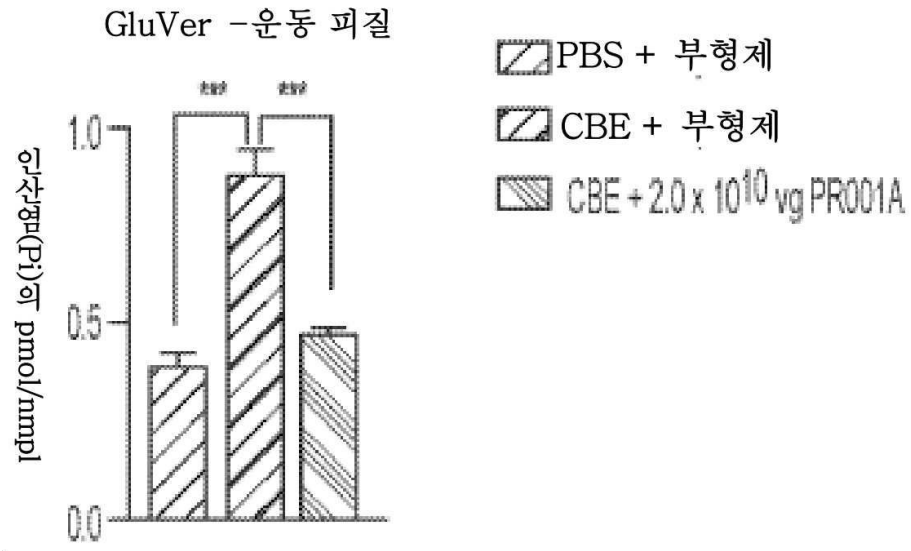
도면37b



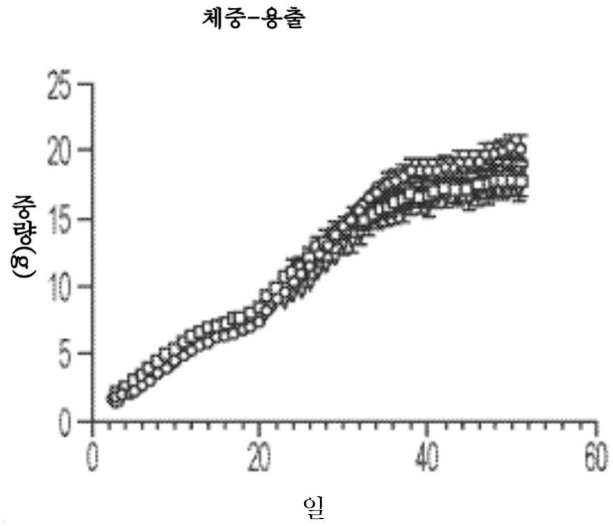
도면37c


GluSph - 운동 피질
***
***
0.03
0.02
0.01
0.00
인산염(Pi)의 pmol/mpl

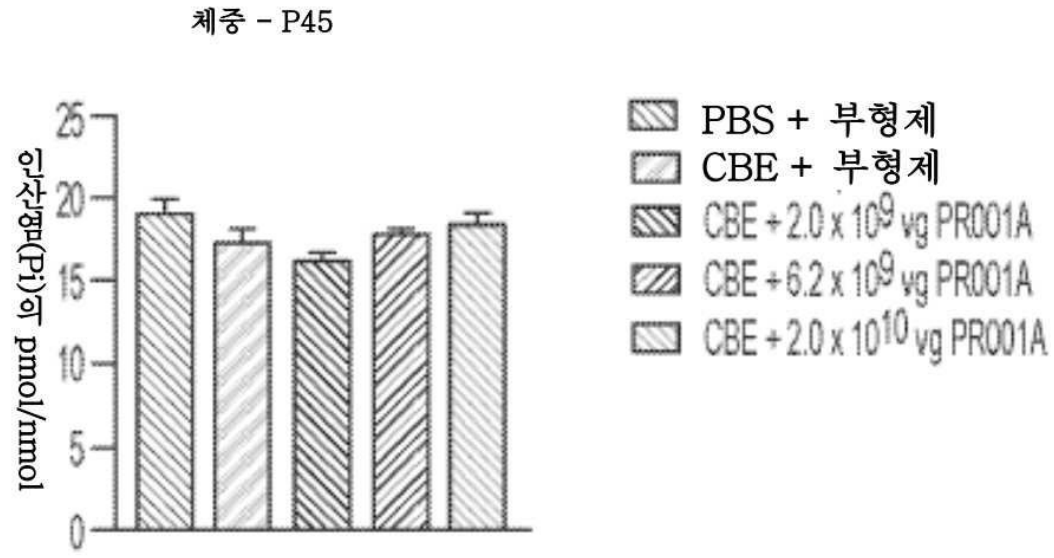
도면37d


GluVer -운동 피질
***
***
1.0
0.5
0.0
인산염(Pi)의 pmol/mpl
PBS + 부형제
CBE + 부형제
CBE + 2.0 x 10^10 vg PR001A

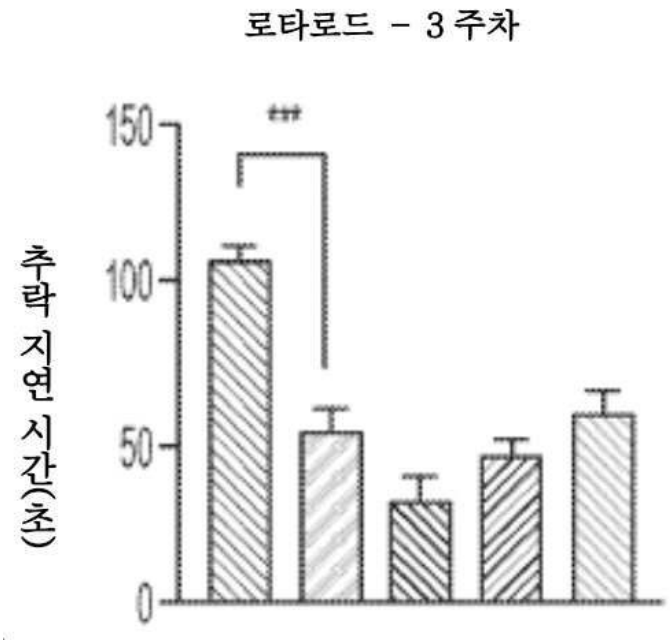
도면38a


체중-용출
중량(g)
25
20
15
10
5
0
0
20
40
60
일

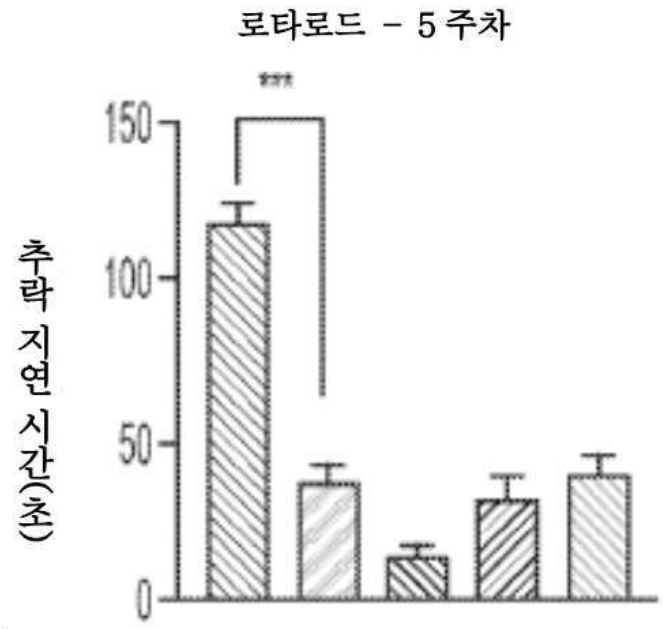
도면38b


체중 - P45
인산염(Pi)의 pmol/nmol
25
20
15
10
5
0
PBS + 부형제
CBE + 부형제
CBE + 2.0 x 10^9 vg PR001A
CBE + 6.2 x 10^9 vg PR001A
CBE + 2.0 x 10^10 vg PR001A

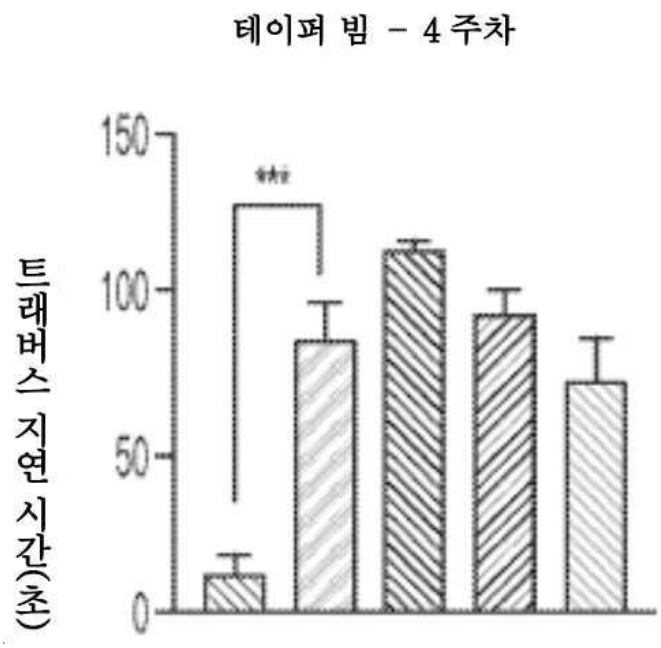
도면38c



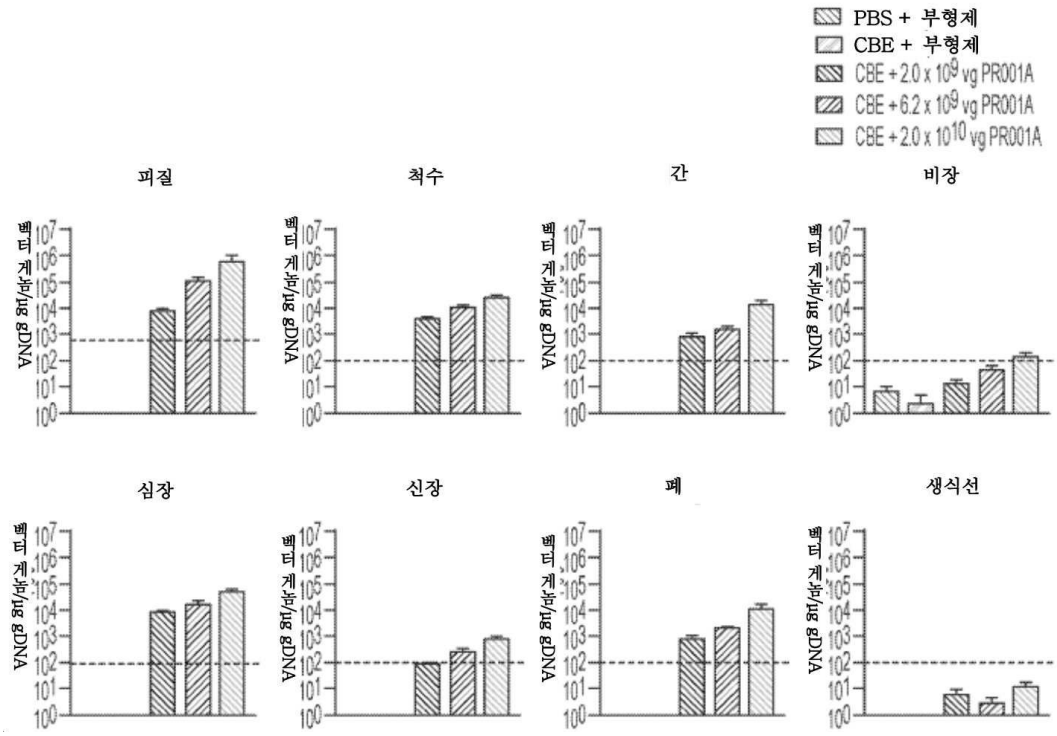
도면38d



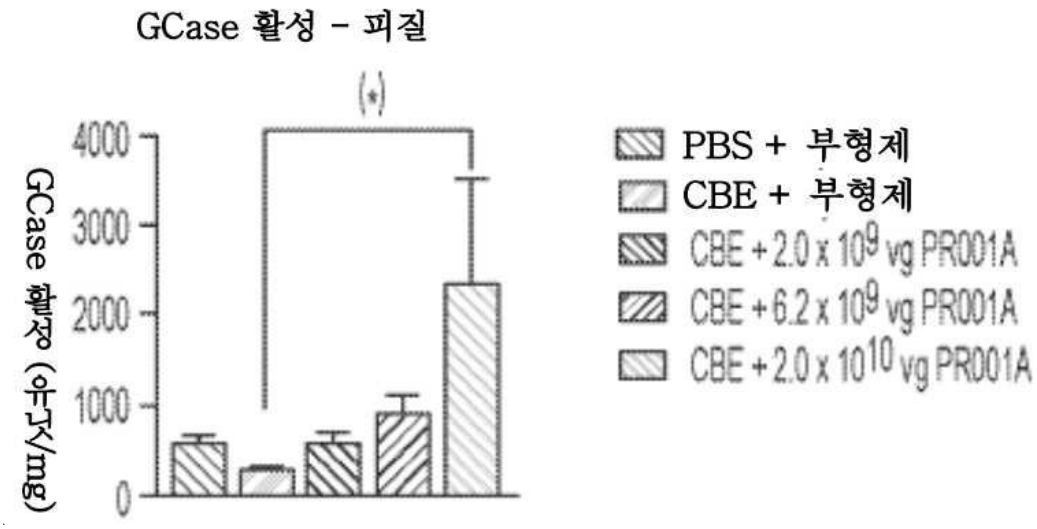
도면38e


테이퍼 빔 - 4주차
트래버스 지연 시간(초)
150
100
50
0
***

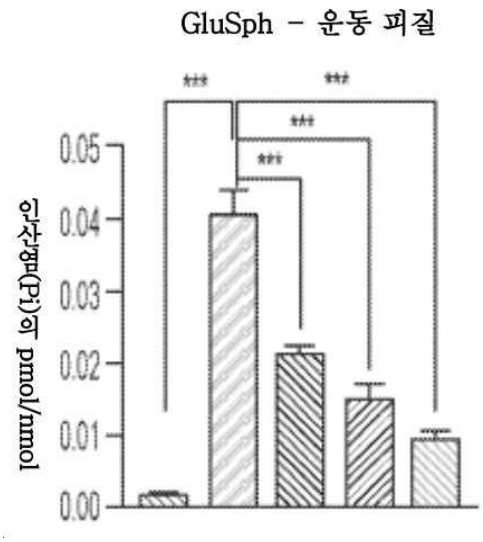
도면39


PBS + 부형제
CBE + 부형제
CBE + 2.0 x 10^9 vg PR001A
CBE + 6.2 x 10^9 vg PR001A
CBE + 2.0 x 10^10 vg PR001A
피질
척수
간
비장
심장
신장
폐
생식선
벡터 게놈/μg gDNA

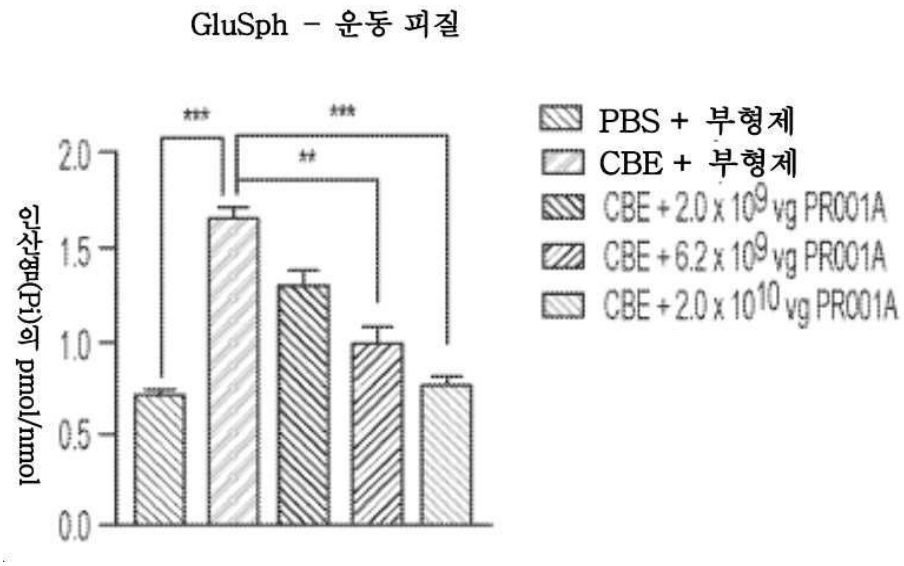
도면40


GCase 활성 - 피질
(*)
4000
3000
2000
1000
0
GCase 활성 (아고/mg)
PBS + 부형제
CBE + 부형제
CBE + 2.0 x 10^9 vg PR001A
CBE + 6.2 x 10^9 vg PR001A
CBE + 2.0 x 10^10 vg PR001A

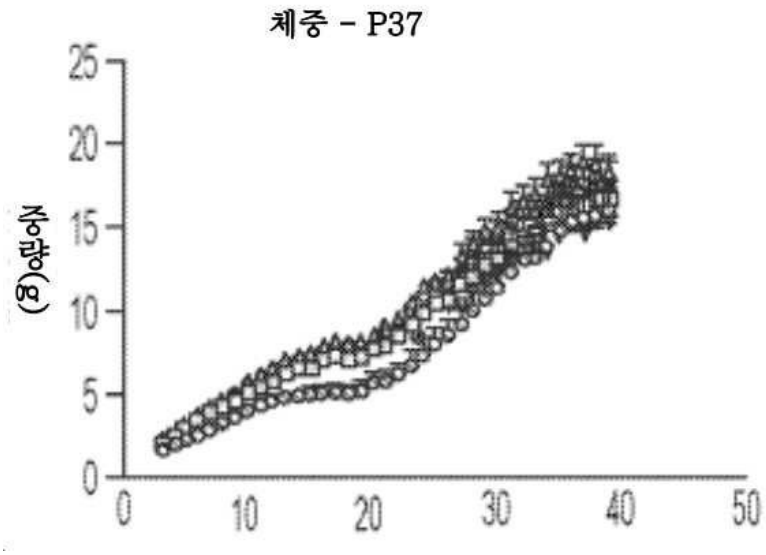
도면41a


GluSph - 운동 피질
***
***
***
***
0.05
0.04
0.03
0.02
0.01
0.00
인산염(Pi)의 pmol/nmol

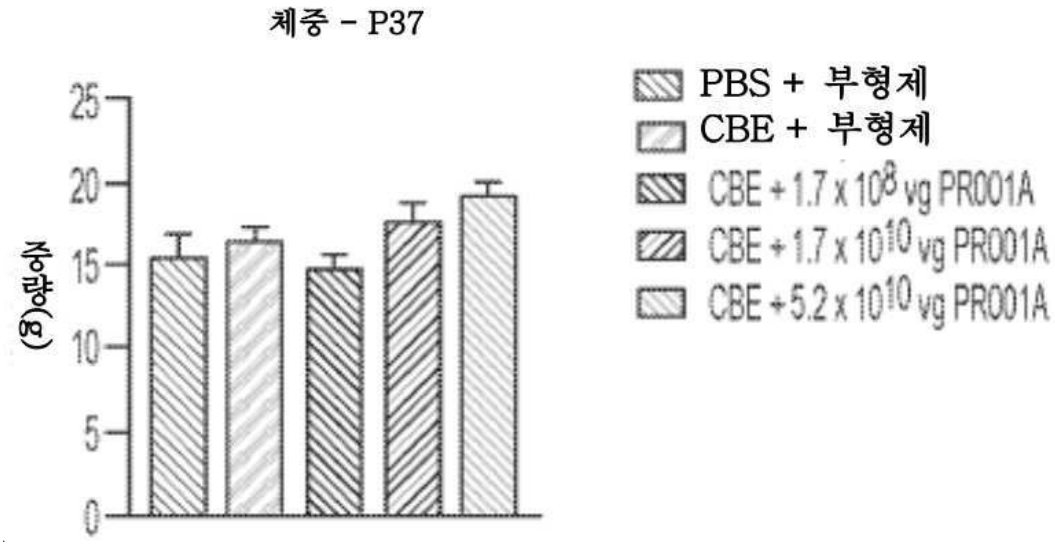
도면41b


GluSph - 운동 피질
***
***
**
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
인산염(Pi)의 pmol/nmol
PBS + 부형제
CBE + 부형제
CBE + 2.0 x 10^9 vg PR001A
CBE + 6.2 x 10^9 vg PR001A
CBE + 2.0 x 10^10 vg PR001A

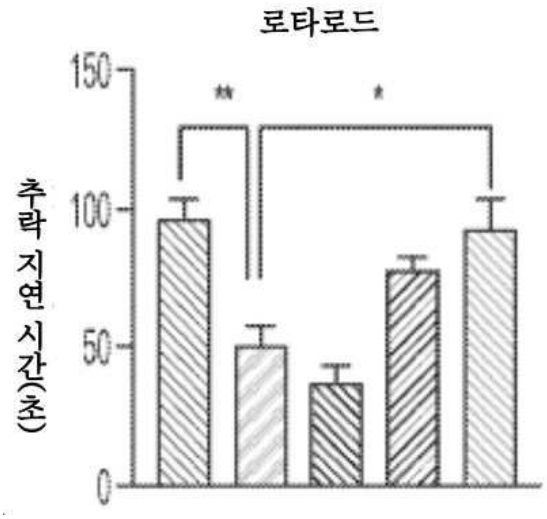
도면42a


체중 - P37
25
20
15
10
5
0
0
10
20
30
40
50
체중(g)

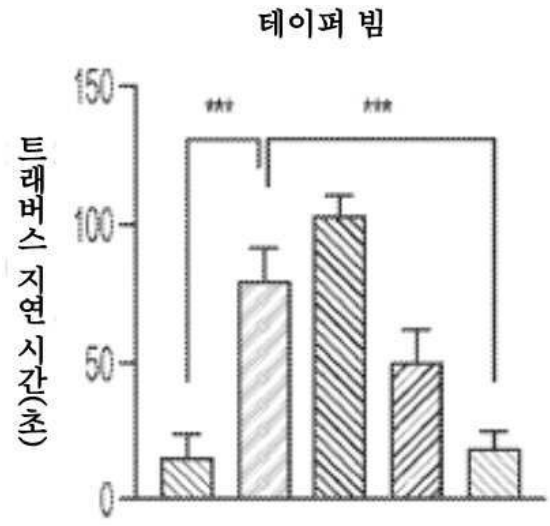
도면42b



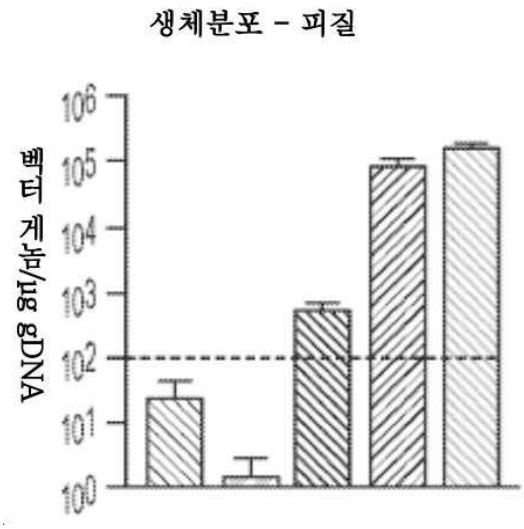
도면42c



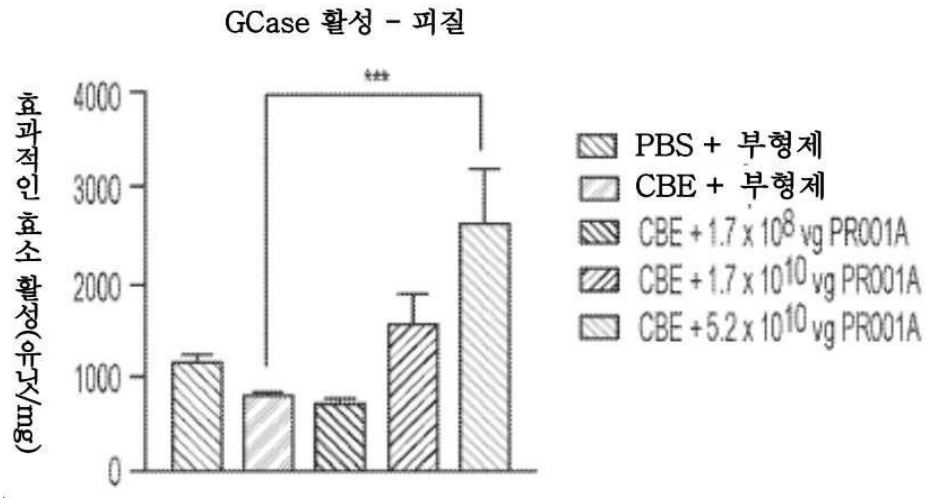
도면42d



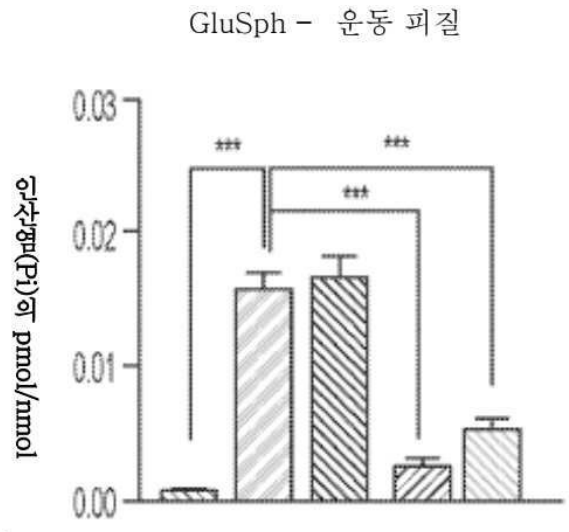
도면43a



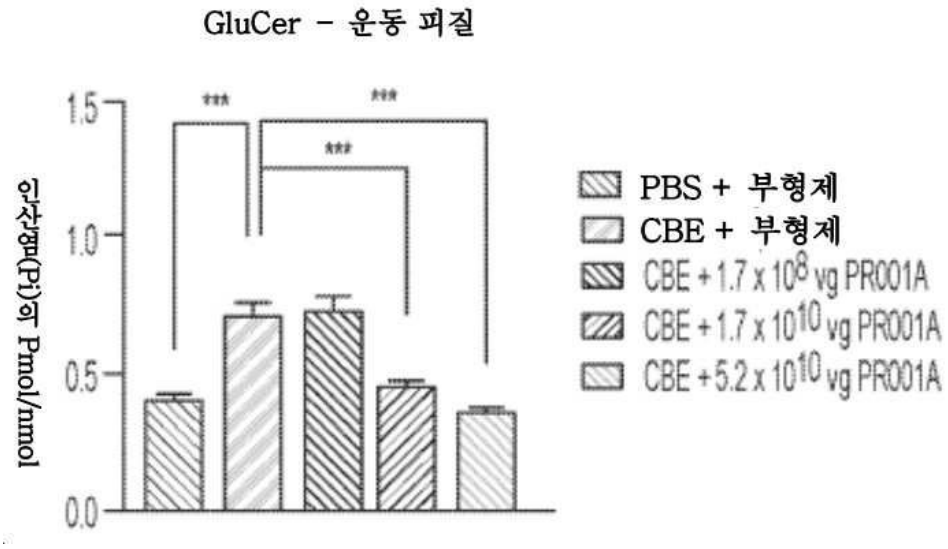
도면43b



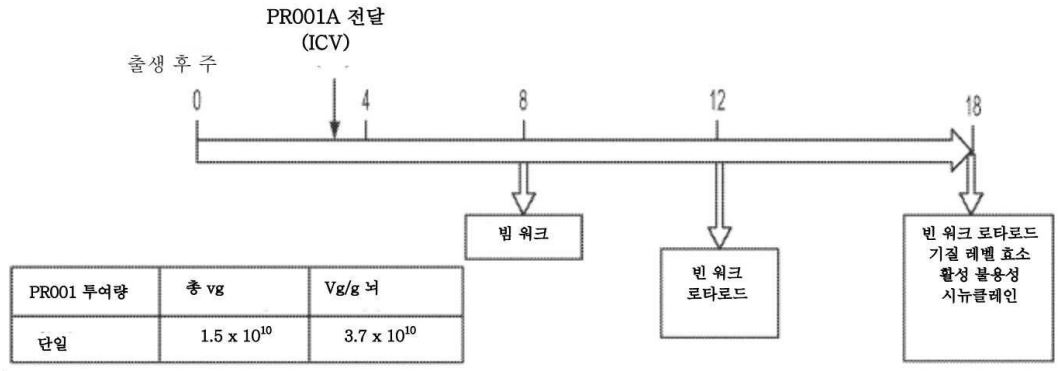
도면44a



도면44b

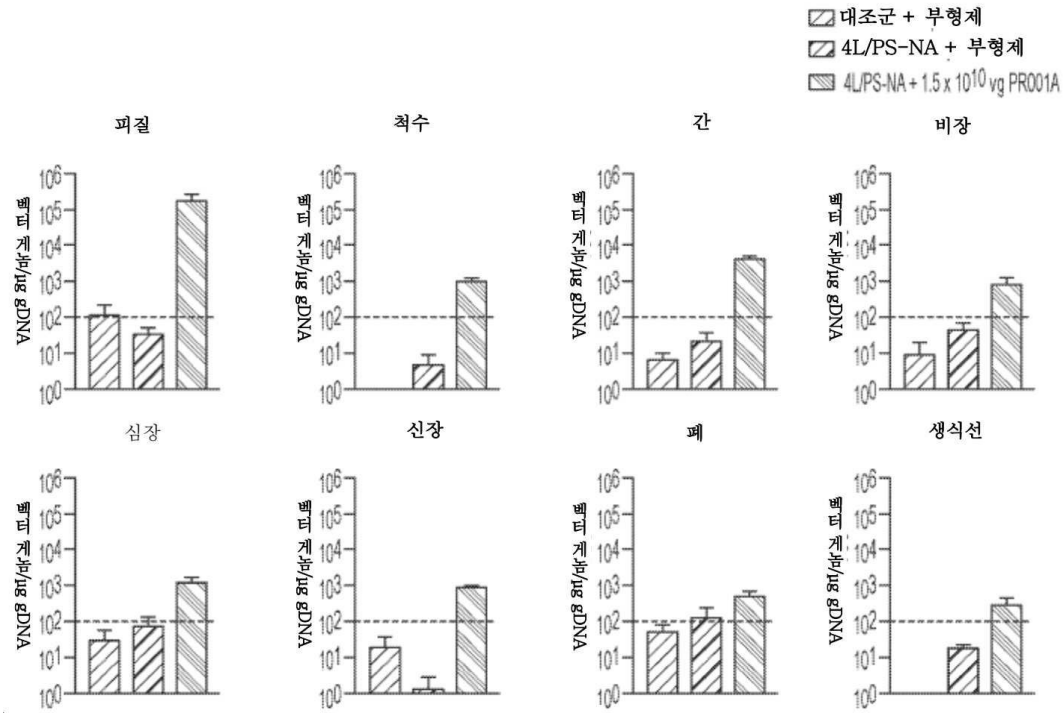


도면45

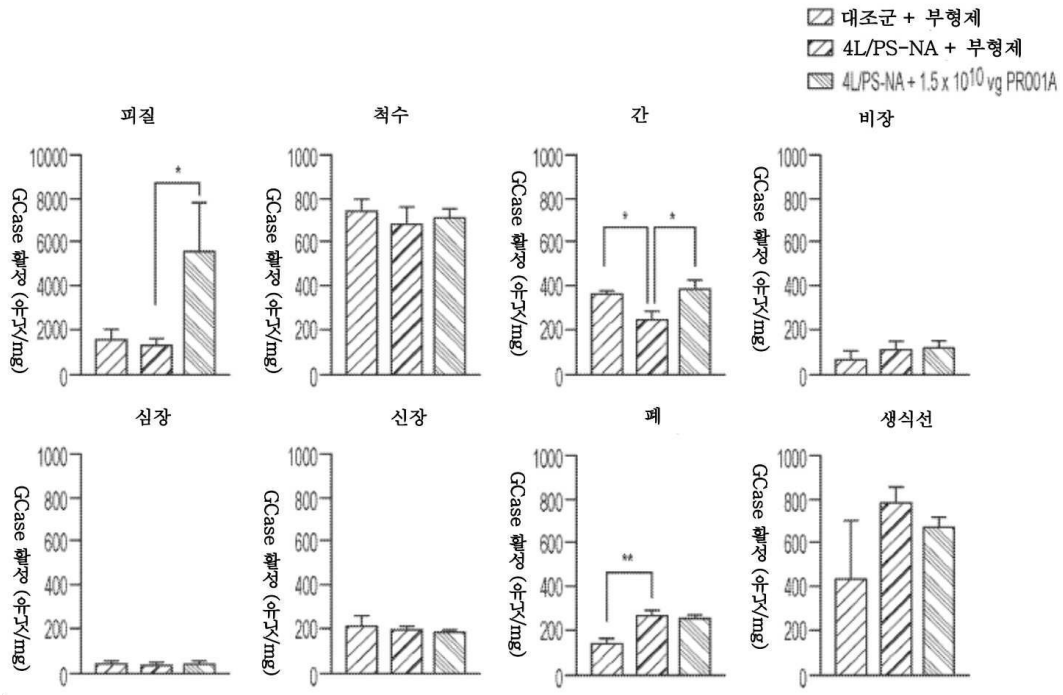


PR001 투여량	총 vg	Vg/g 뇌
단일	1.5 x 10^{10}	3.7 x 10^{10}

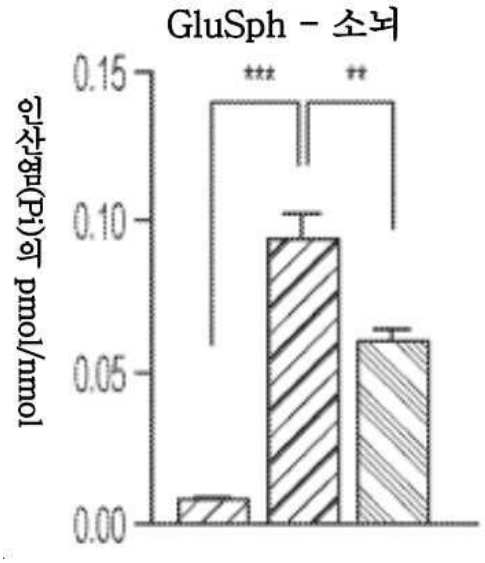
도면46


대조군 + 부형제
4L/PS-NA + 부형제
4L/PS-NA + 1.5 x 10^10 vg PR001A
피질
척수
간
비장
심장
신장
폐
생식선
벡터 게놈/μg gDNA

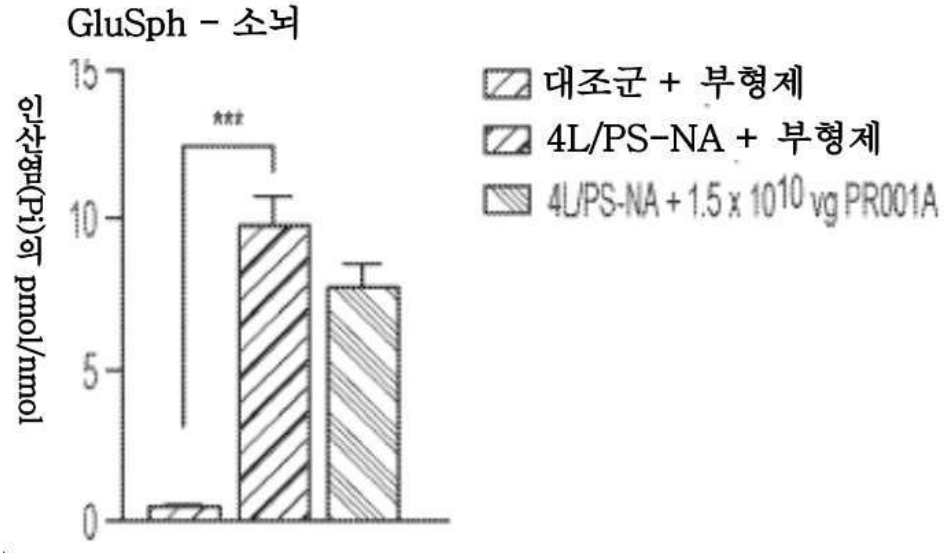
도면47


대조군 + 부형제
4L/PS-NA + 부형제
4L/PS-NA + 1.5 x 10^10 vg PR001A
피질
척수
간
비장
심장
신장
폐
생식선
GCase 활성 (nmol/mg)

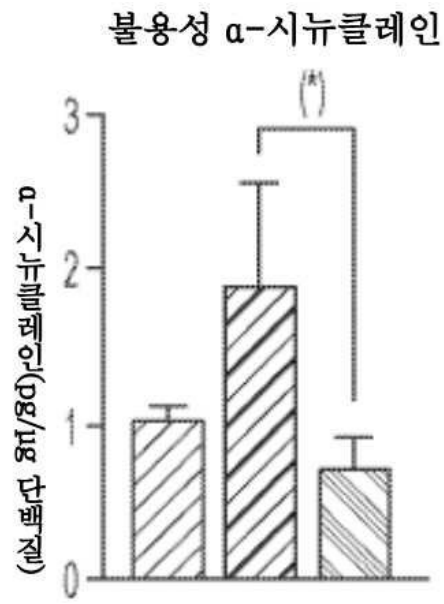
도면48a


GluSph - 소뇌
인산염(Pi)의 pmol/nmol
0.15
0.10
0.05
0.00
***
**

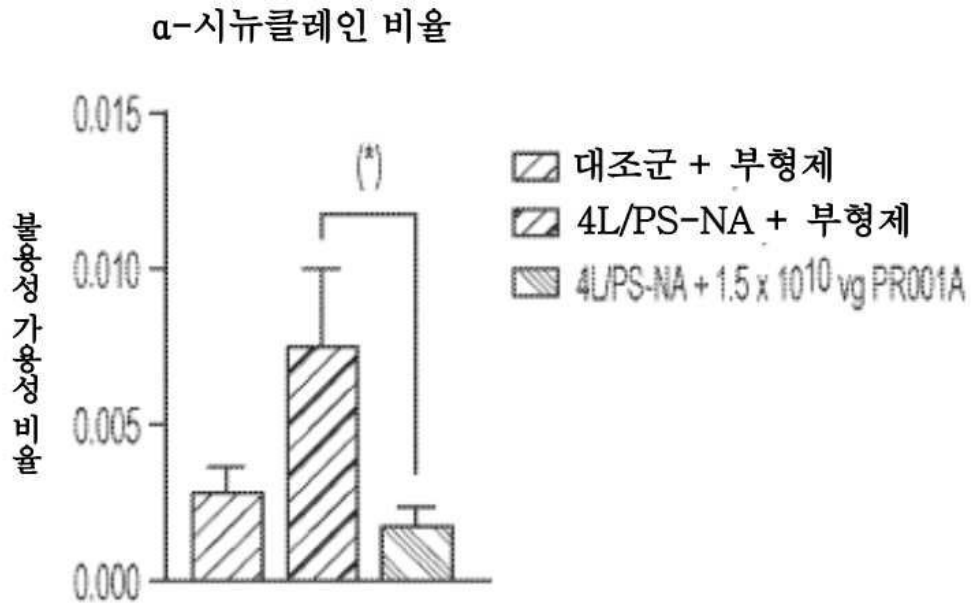
도면48b


GluSph - 소뇌
인산염(Pi)의 pmol/nmol
15
10
5
0
***
대조군 + 부형제
4L/PS-NA + 부형제
4L/PS-NA + 1.5 x 10^10 vg PR001A

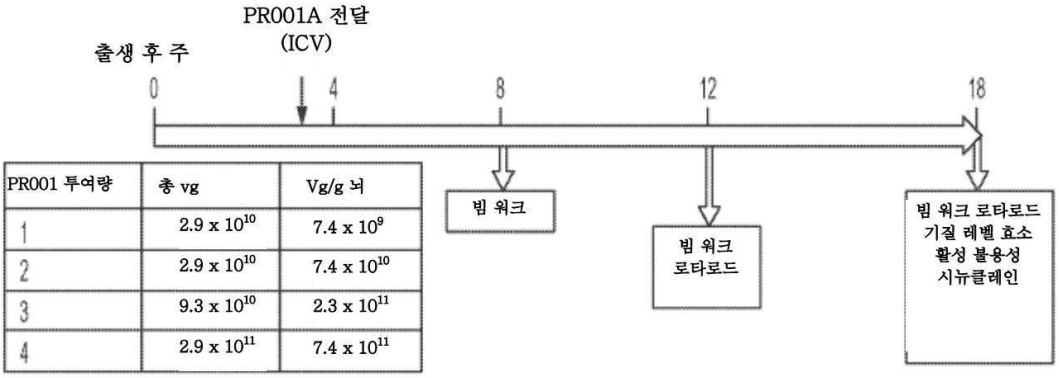
도면49a


불용성 α-시뉴클레인
(*)
3
2
1
0
α-시뉴클레인(pg/μg 단백질)

도면49b

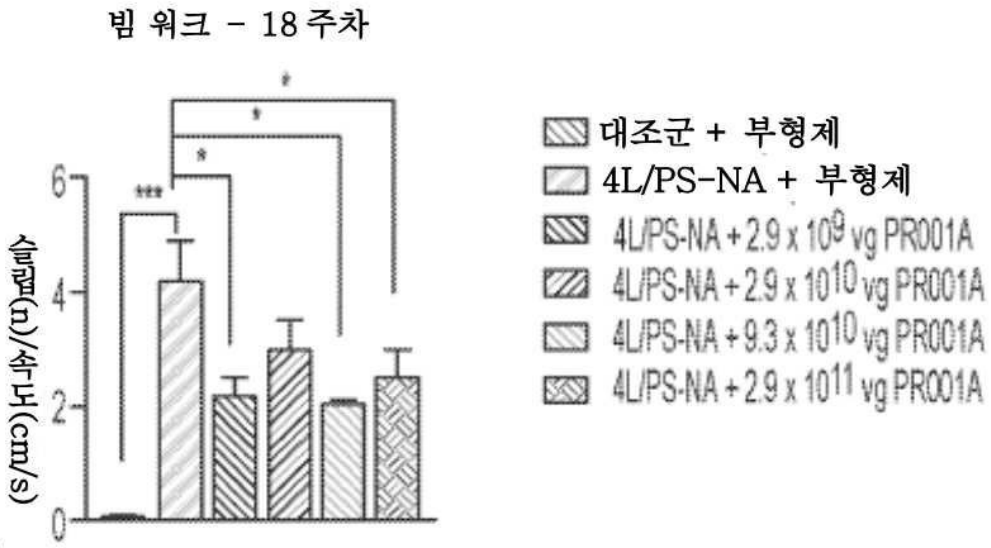

α-시뉴클레인 비율
(*)
0.015
0.010
0.005
0.000
불용성 가용성 비율
대조군 + 부형제
4L/PS-NA + 부형제
4L/PS-NA + 1.5 x 10^10 vg PR001A

도면50

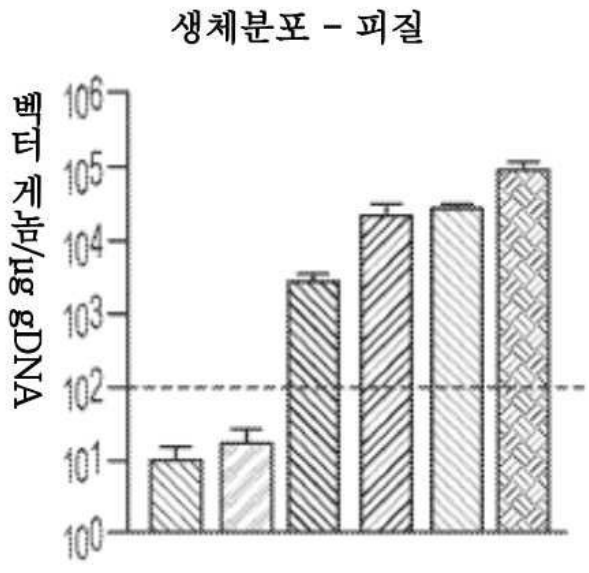


PR001 투여량	총 vg	Vg/g 뇌
1	2.9×10^{10}	7.4×10^{9}
2	2.9×10^{10}	7.4×10^{10}
3	9.3×10^{10}	2.3×10^{11}
4	2.9×10^{11}	7.4×10^{11}

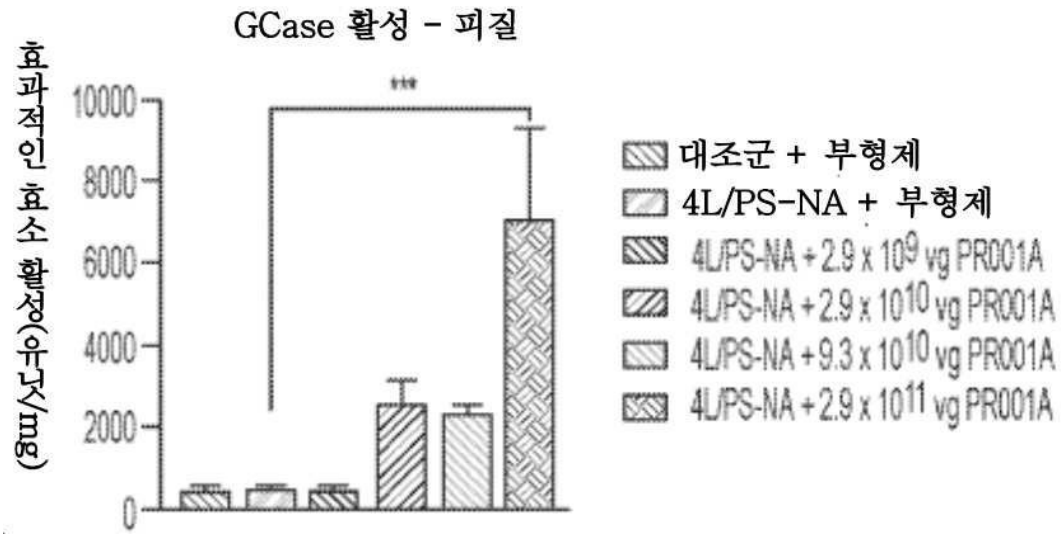
도면51



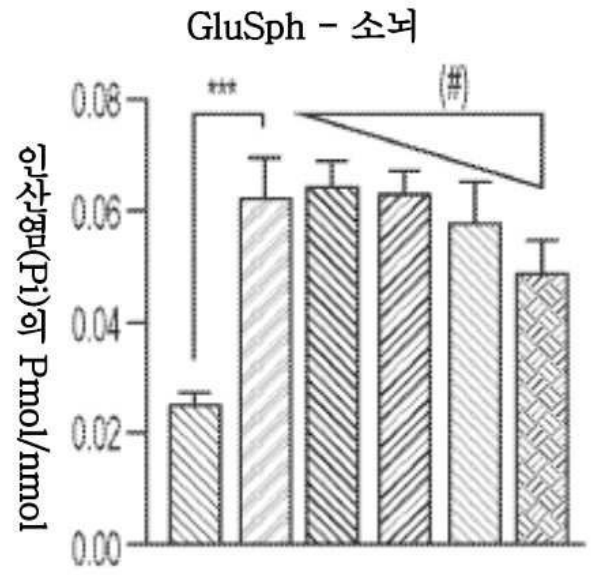
도면52a



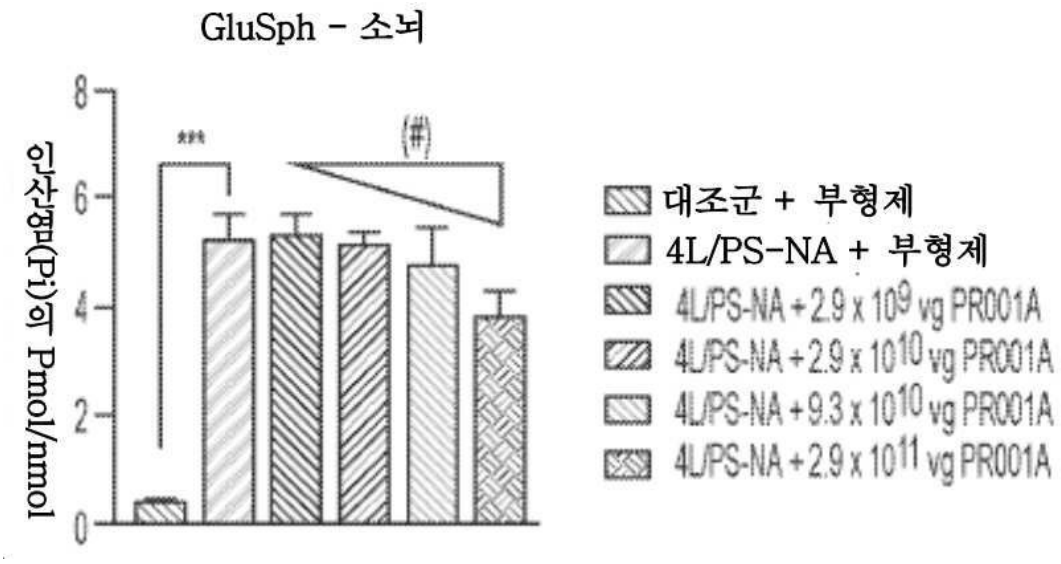
도면52b


GCase 활성 - 피질
효과적인 효소 활성(야그/mg)
10000
8000
6000
4000
2000
0
***
대조군 + 부형제
4L/PS-NA + 부형제
4L/PS-NA + 2.9 x 10^9 vg PR001A
4L/PS-NA + 2.9 x 10^10 vg PR001A
4L/PS-NA + 9.3 x 10^10 vg PR001A
4L/PS-NA + 2.9 x 10^11 vg PR001A

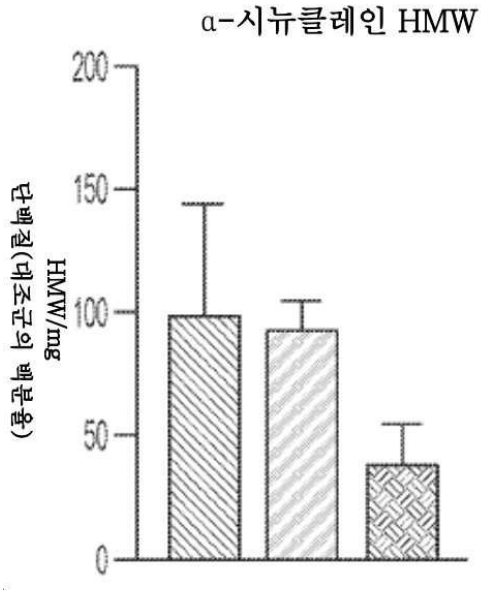
도면53a


GluSph - 소뇌
인산염(Pi)의 Pmol/nmol
0.08
0.06
0.04
0.02
0.00
***
(#)

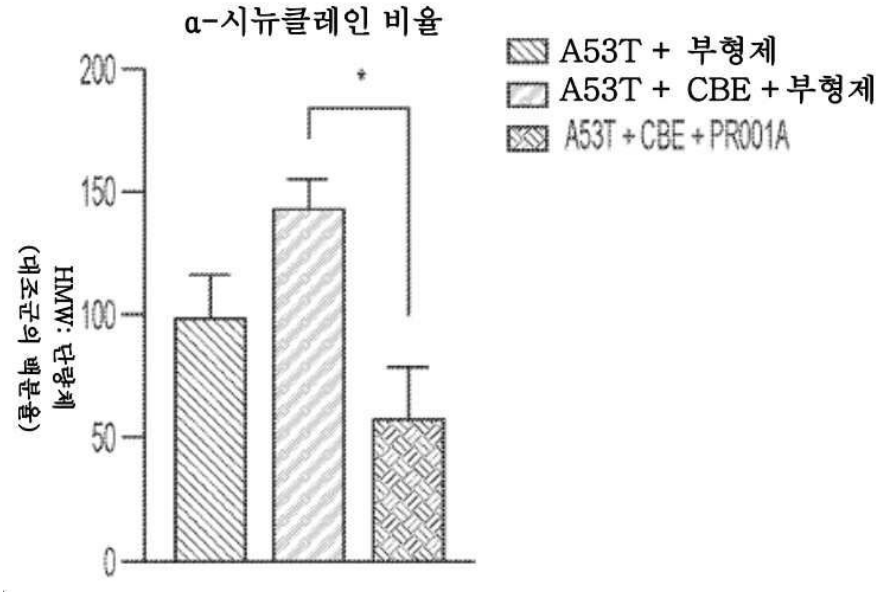
도면53b


GluSph - 소뇌
인산염(Pi)의 Pmol/nmol
8
6
4
2
0
***
(#)
대조군 + 부형제
4L/PS-NA + 부형제
4L/PS-NA + 2.9 x 10^9 vg PR001A
4L/PS-NA + 2.9 x 10^10 vg PR001A
4L/PS-NA + 9.3 x 10^10 vg PR001A
4L/PS-NA + 2.9 x 10^11 vg PR001A

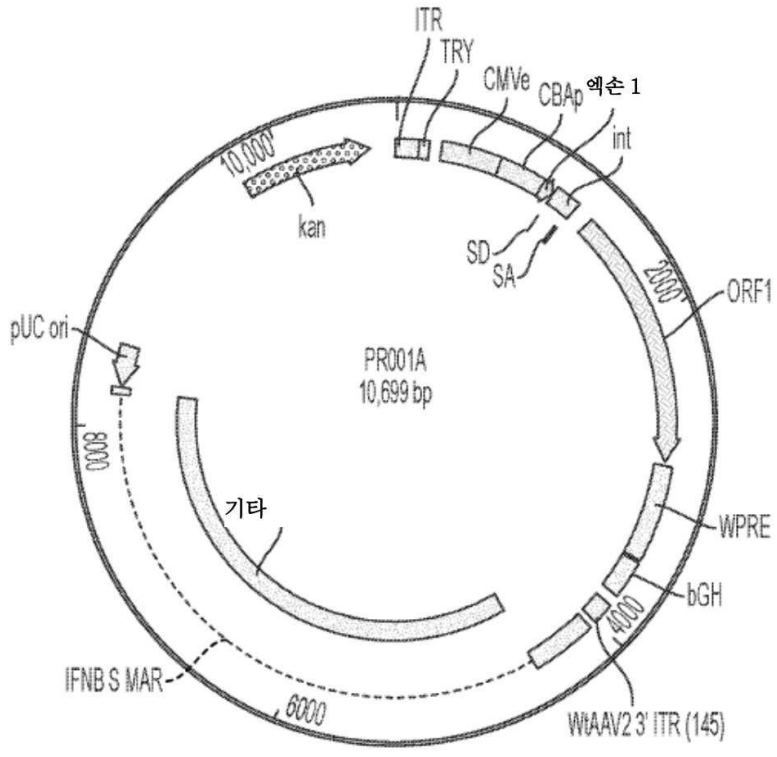
도면54a


α-시뉴클레인 HMW
단백질(뇌조군의 백분율)
HMW/mg
200
150
100
50
0

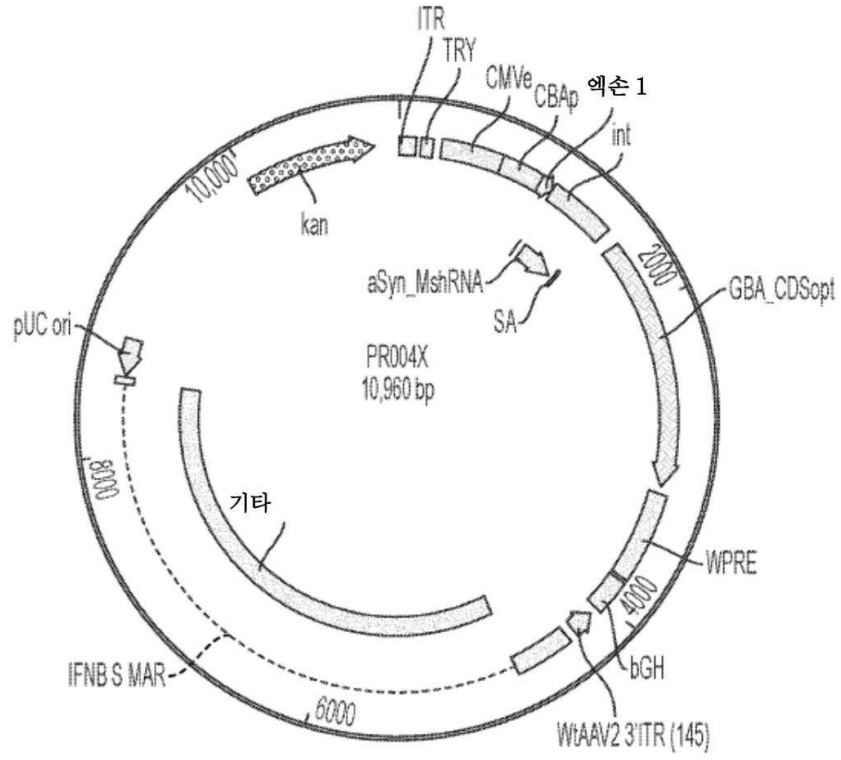
도면54b


α-시뉴클레인 비율
A53T + 부형제
A53T + CBE + 부형제
A53T + CBE + PR001A
HMW: 단량체 (대조군의 백분율)
200
150
100
50
0
*

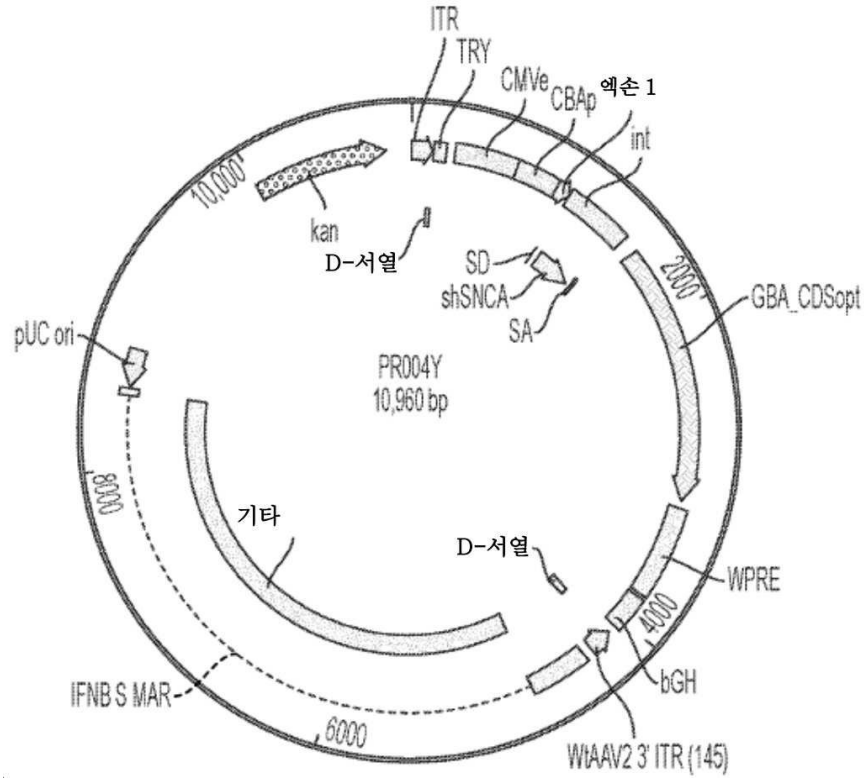
도면55


ITR
TRY
CMVe
CBAp
엑손 1
int
10,000
kan
SD
SA
2000
ORF1
pUC ori
PR001A
10,699 bp
8000
기타
WPRE
bGH
4000
IFNB S MAR
6000
WtAAV2 3' ITR (145)

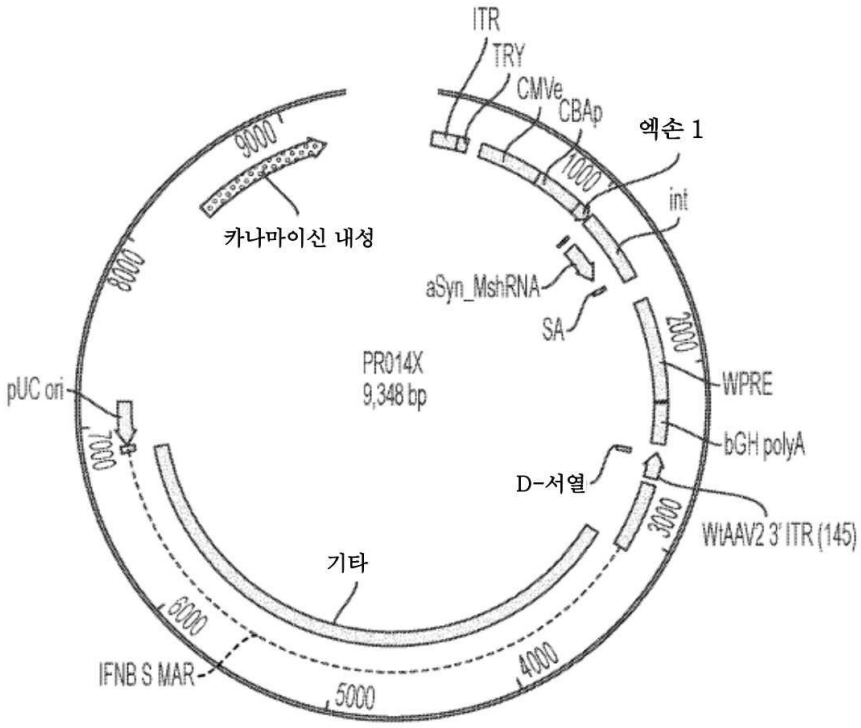
도면56


ITR
TRY
CMVe
CBAp
엑손 1
int
10,000
kan
aSyn_MshRNA
SA
2000
GBA_CDSopt
pUC ori
PR004X
10,960 bp
8000
기타
WPRE
4000
bGH
IFNB S MAR
6000
WtAAV2 3'ITR (145)

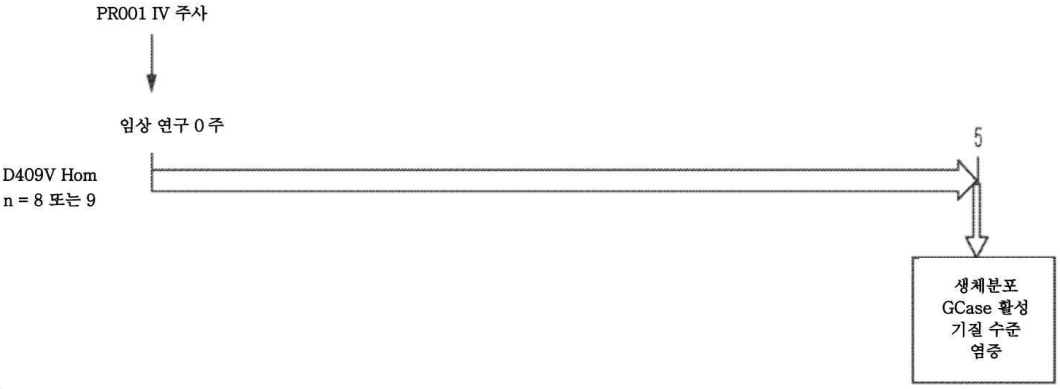
도면57


ITR
TRY
CMVe
CBAp
엑손 1
int
10,000
kan
D-서열
SD
shSNCA
SA
2000
GBA_CDSopt
pUC ori
PR004Y
10,960 bp
8000
기타
D-서열
WPRE
4000
bGH
IFNB S MAR
6000
WtAAV2 3' ITR (145)

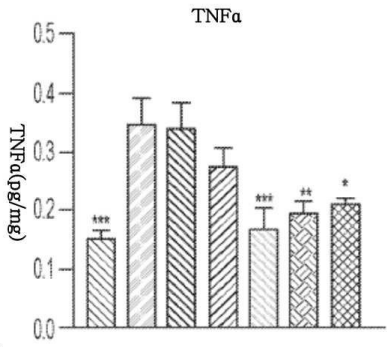
도면58



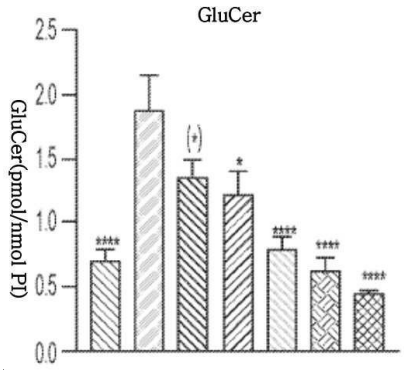
도면59



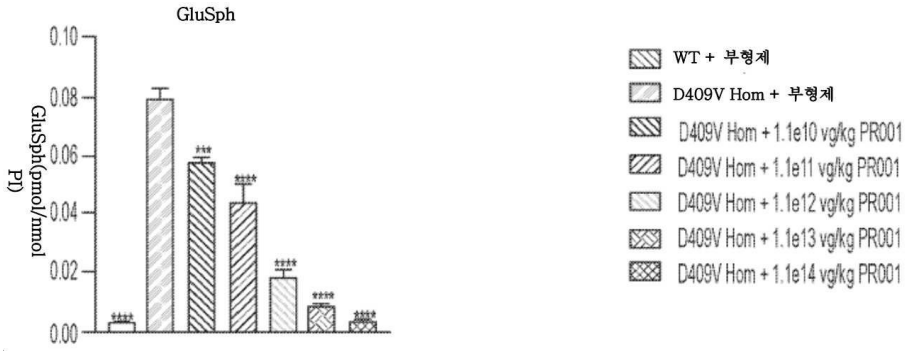
도면60a



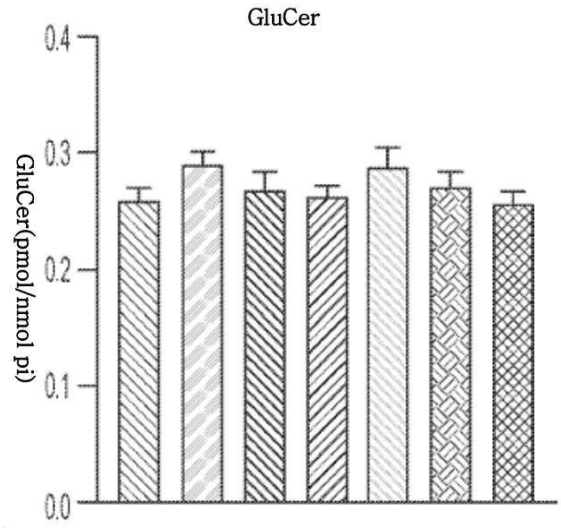
도면60b



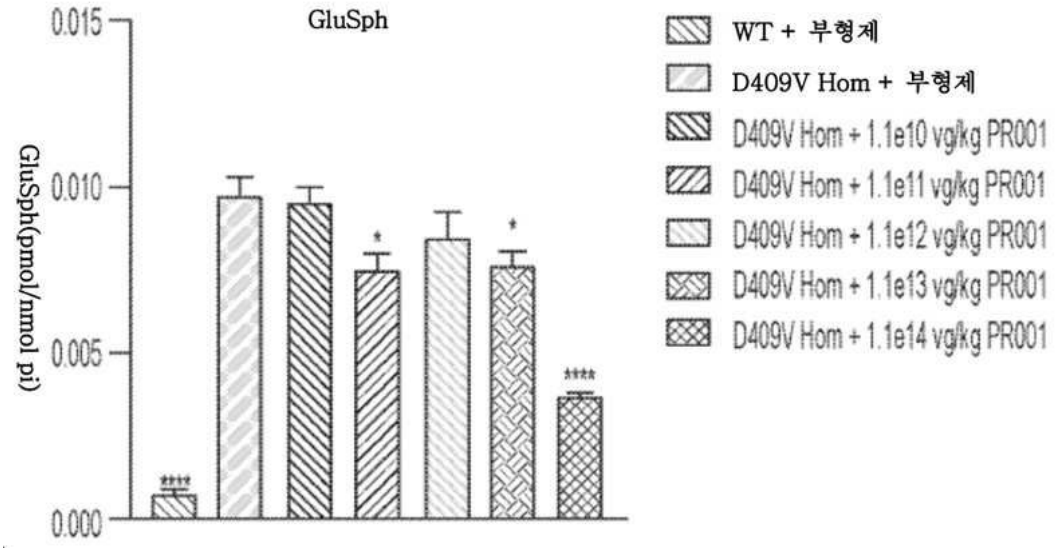
도면60c



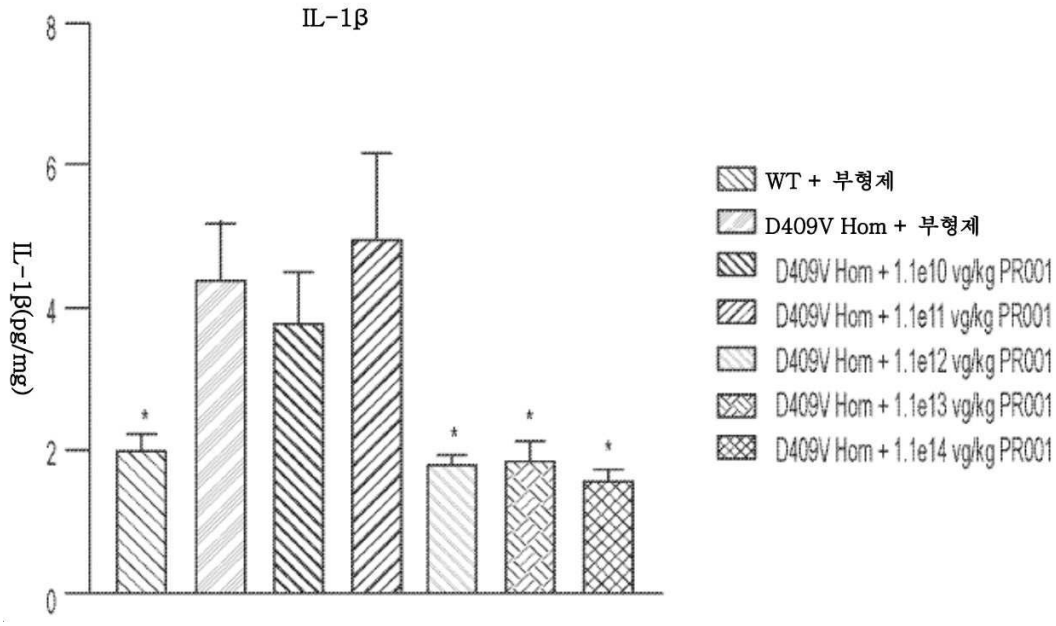
도면61a



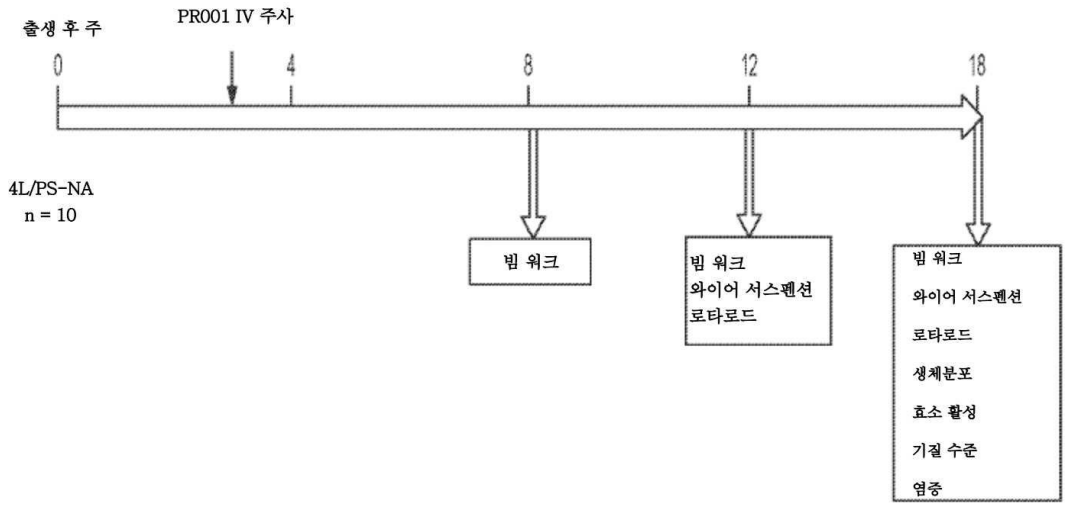
도면61b


GluSph
GluSph(pmol/nmol pi)
0.015
0.010
0.005
0.000
****
*
*
****
WT + 부형제
D409V Hom + 부형제
D409V Hom + 1.1e10 vg/kg PR001
D409V Hom + 1.1e11 vg/kg PR001
D409V Hom + 1.1e12 vg/kg PR001
D409V Hom + 1.1e13 vg/kg PR001
D409V Hom + 1.1e14 vg/kg PR001

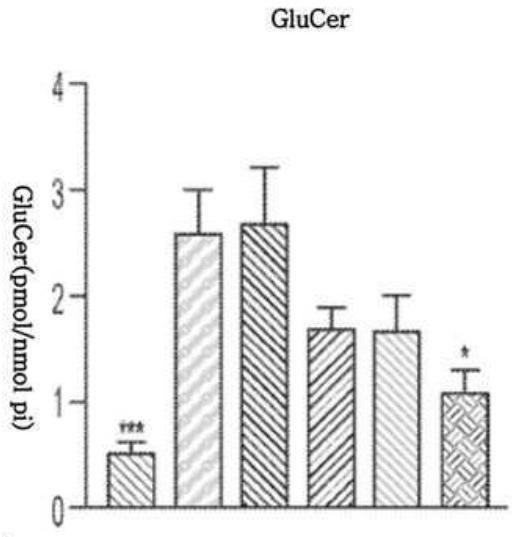
도면62


IL-1β
IL-1β(pg/mg)
8
6
4
2
0
*
*
*
*
WT + 부형제
D409V Hom + 부형제
D409V Hom + 1.1e10 vg/kg PR001
D409V Hom + 1.1e11 vg/kg PR001
D409V Hom + 1.1e12 vg/kg PR001
D409V Hom + 1.1e13 vg/kg PR001
D409V Hom + 1.1e14 vg/kg PR001

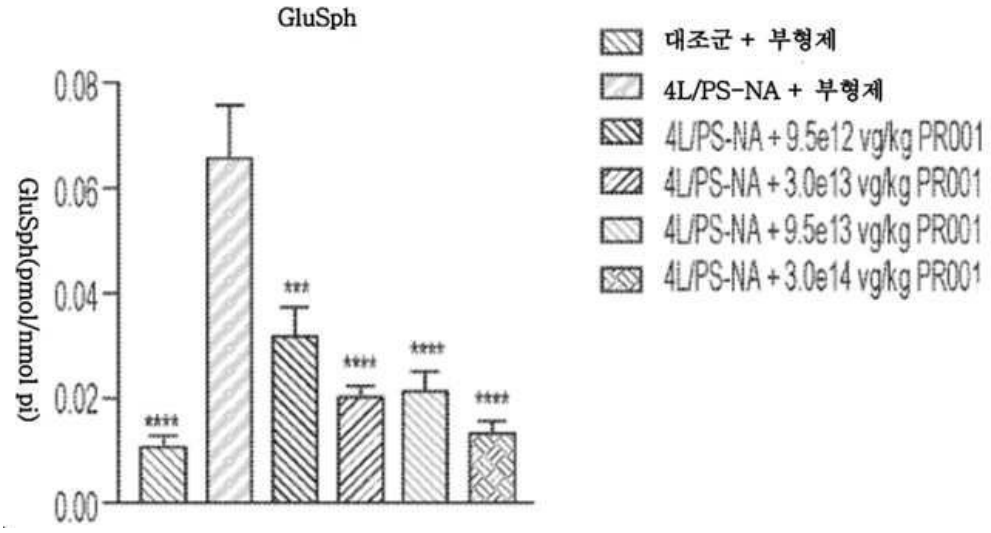
도면63


출생 후 주
PR001 IV 주사
0
4
8
12
18
4L/PS-NA
n = 10
빔 워크
빔 워크
와이어 서스펜션
로타로드
빔 워크
와이어 서스펜션
로타로드
생체분포
효소 활성
기질 수준
염증

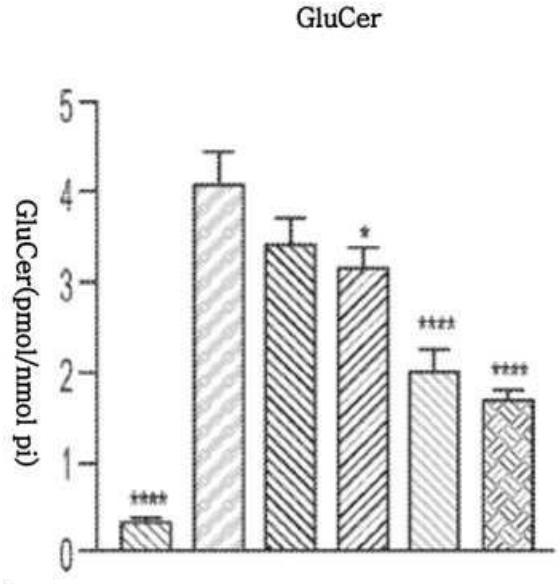
도면64a


GluCer
GluCer(pmol/nmol pi)
0
1
2
3
4
***
*

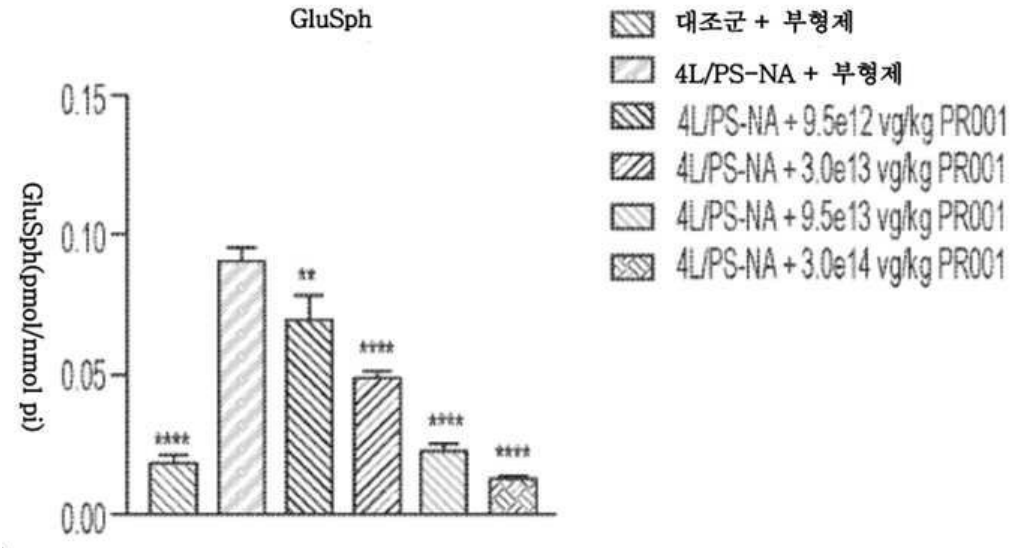
도면64b


GluSph
GluSph(pmol/nmol pi)
0.08
0.06
0.04
0.02
0.00
대조군 + 부형제
4L/PS-NA + 부형제
4L/PS-NA + 9.5e12 vg/kg PR001
4L/PS-NA + 3.0e13 vg/kg PR001
4L/PS-NA + 9.5e13 vg/kg PR001
4L/PS-NA + 3.0e14 vg/kg PR001

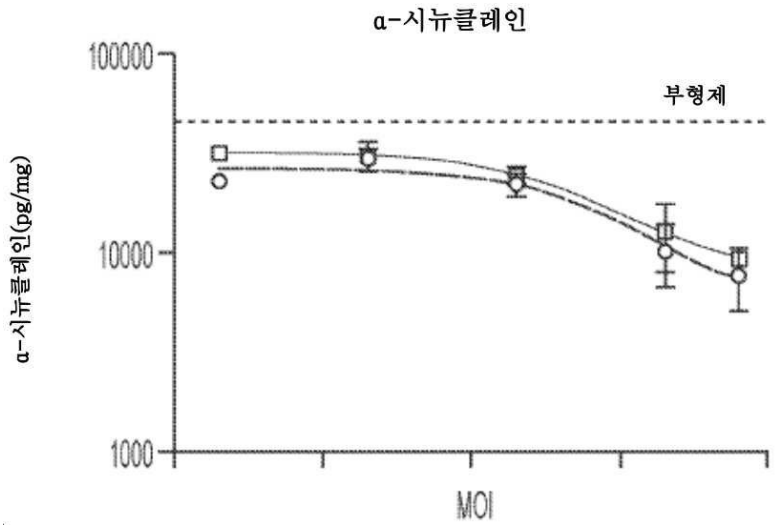
도면65a


GluCer
GluCer(pmol/nmol pi)
5
4
3
2
1
0

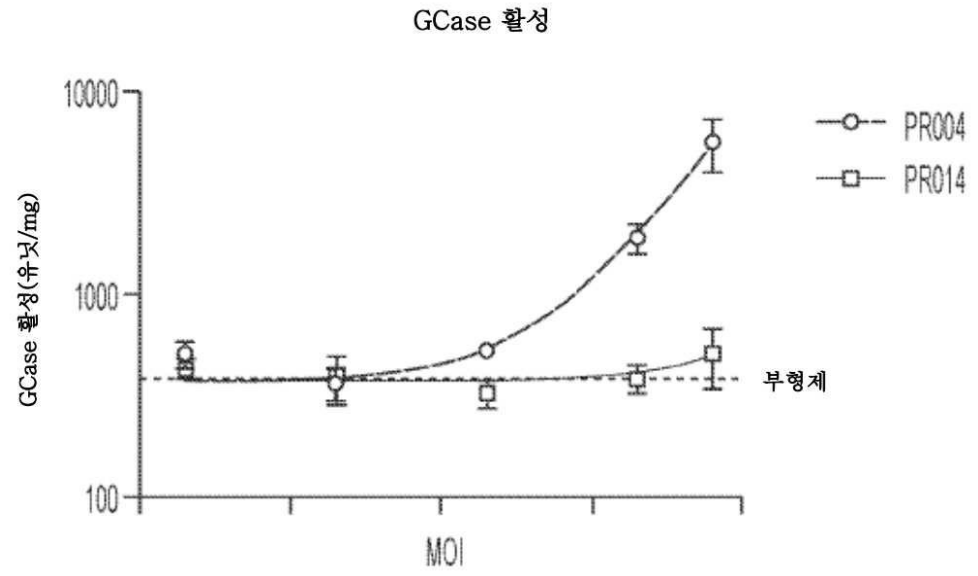
도면65b


GluSph
대조군 + 부형제
4L/PS-NA + 부형제
4L/PS-NA + 9.5e12 vg/kg PR001
4L/PS-NA + 3.0e13 vg/kg PR001
4L/PS-NA + 9.5e13 vg/kg PR001
4L/PS-NA + 3.0e14 vg/kg PR001
GluSph(pmol/nmol pi)
0.15
0.10
0.05
0.00
****
**
****
****
****

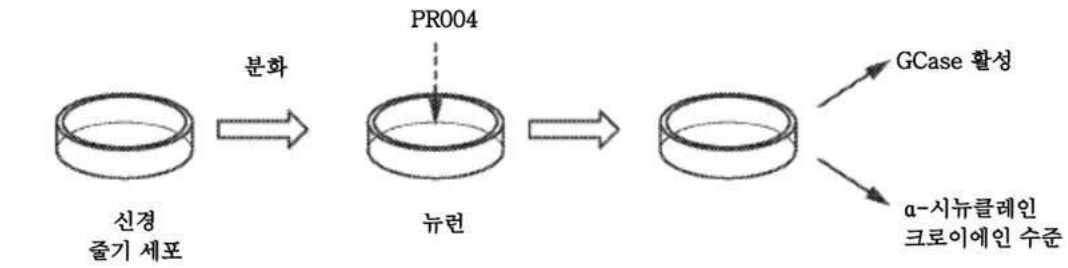
도면66a

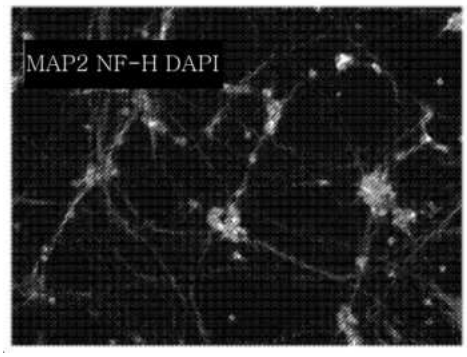

α-시뉴클레인
부형제
α-시뉴클레인(pg/mg)
100000
10000
1000
MOI

도면66b

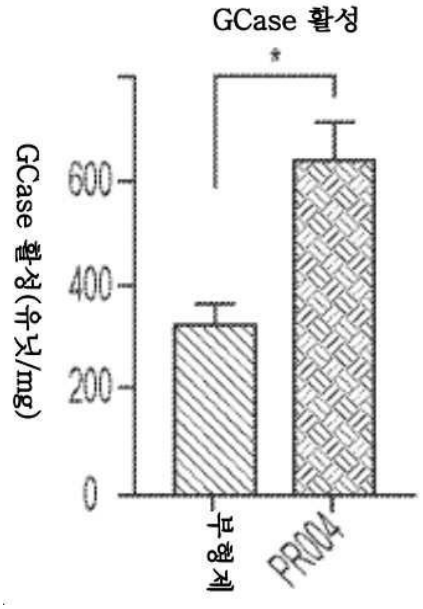

GCase 활성
10000
1000
100
GCase 활성(유닛/mg)
MOI
PR004
PR014
부형제

도면67a

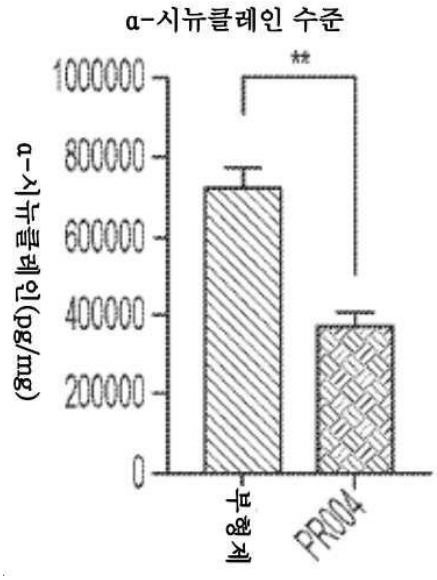

PR004
분화
GCase 활성
신경
줄기 세포
뉴런
α-시뉴클레인
크로이에인 수준


MAP2 NF-H DAPI

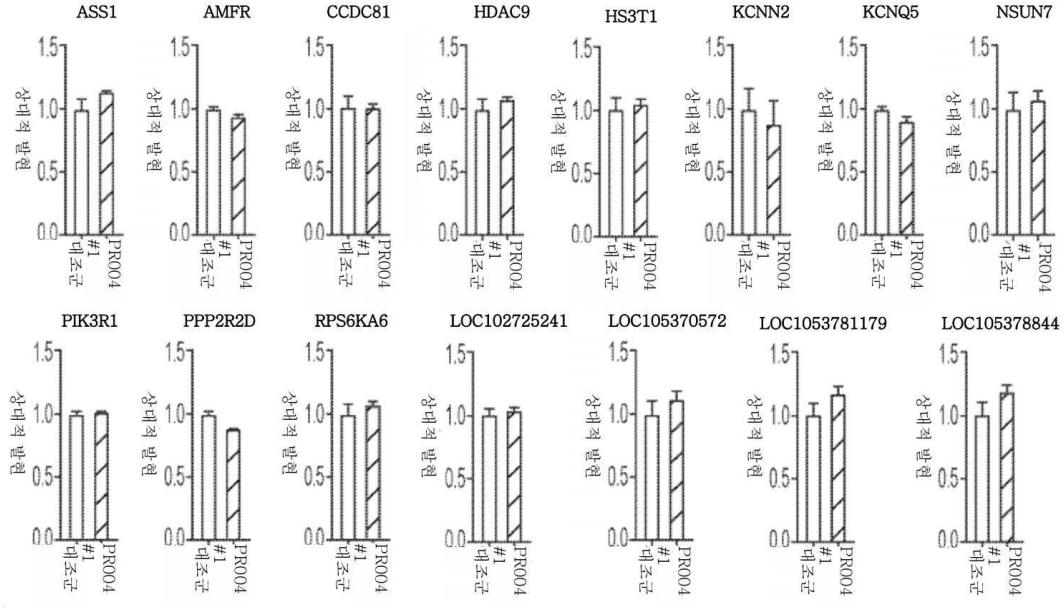
도면67b


GCase 활성
*
GCase 활성(유닛/mg)
600
400
200
0
부형제
PR004

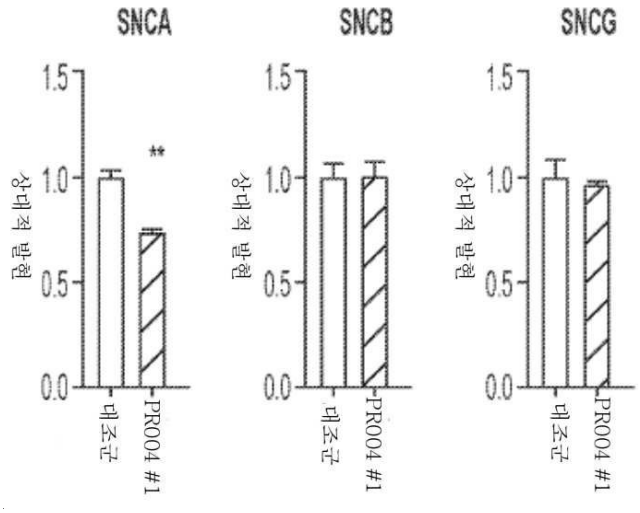
도면67c


α-시뉴클레인 수준
**
α-시뉴클레인(pg/mg)
1000000
800000
600000
400000
200000
0
부형제
PR004

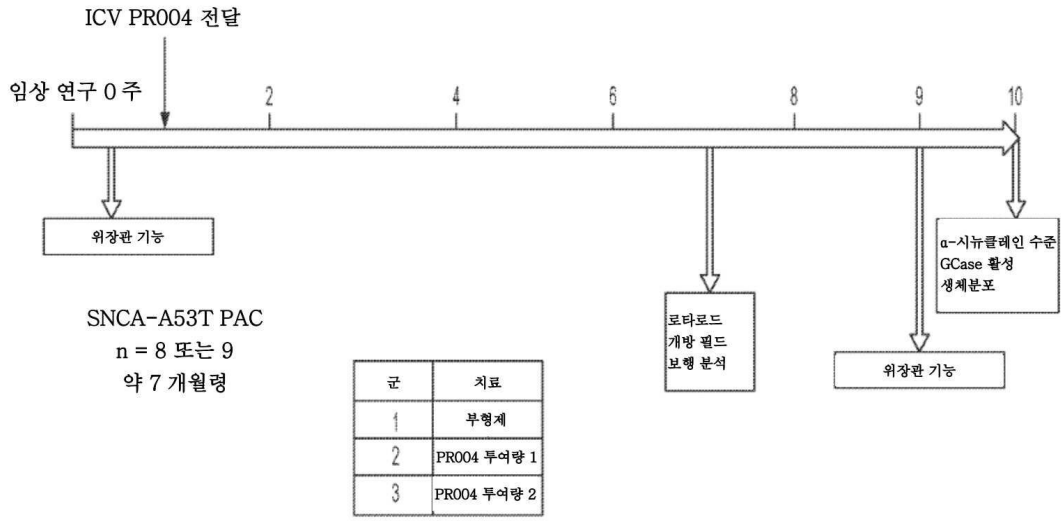
도면68a


ASS1
AMFR
CCDC81
HDAC9
HS3T1
KCNN2
KCNQ5
NSUN7
PIK3R1
PPP2R2D
RPS6KA6
LOC102725241
LOC105370572
LOC1053781179
LOC105378844
상대적 발현
1.5
1.0
0.5
0.0
대조군
#1
PR004

도면68b

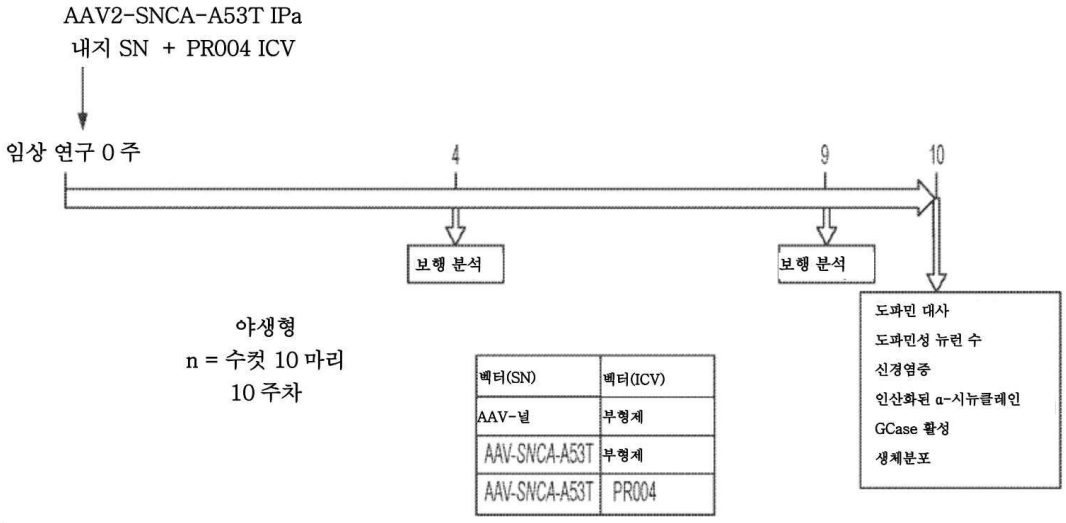

SNCA
SNCB
SNCG
상대적 발현
1.5
1.0
0.5
0.0
**
대조군
PR004 #1

도면69



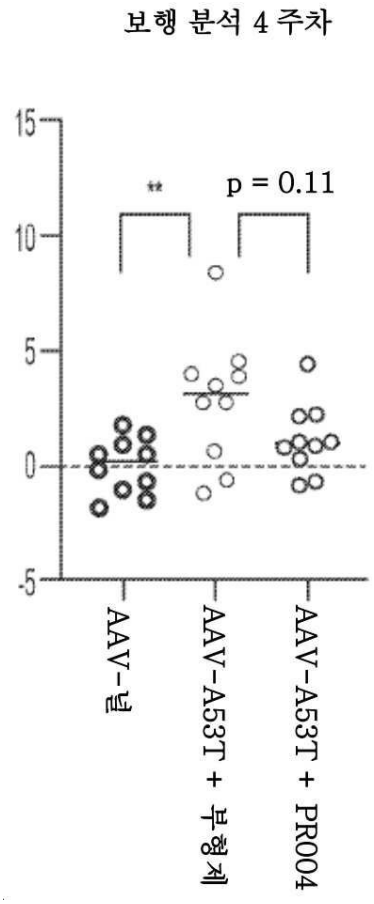
군	치료
1	부형제
2	PR004 투여량 1
3	PR004 투여량 2

도면70

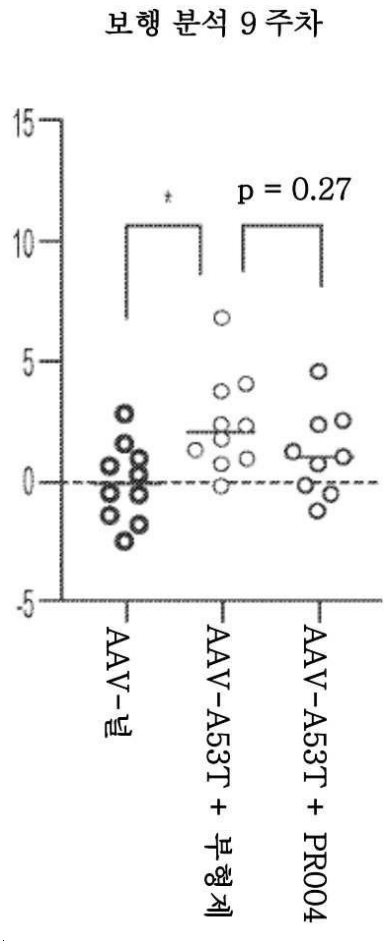


벡터(SN)	벡터(ICV)
AAV-널	부형제
AAV-SNCA-A53T	부형제
AAV-SNCA-A53T	PR004

도면71a



도면71b



서 열 목 록

SEQUENCE LISTING

<110> Prevail Therapeutics, Inc.

ABELIOVICH, Asa

SEVIGNY, Jeffrey

LEWIS, Travis

USPENSKAYA, Olga

<120> GENE THERAPIES FOR LYSOSOMAL DISORDERS

<130> PRVL-014/01WO 334806-2134

<150> US 63/063,851

<151> 2020-08-10

<160> 48

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 10697

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polynucleotide

<400> 1

ttggccactc cctctctgcg cgctcgctcg ctcactgagg ccgggcgacc aaaggtcgcc 60

cgacgcccgg gctttgcccg ggcggcctca gtgagcgagc gagcgcgcag agagggagtg 120

gccaactcca tcactagggg ttcctgctag ctctgggtat ttaagcccga gtgagcacgc 180

agggtctcca ttttgaagcg ggaggttacg cgttcgtcga ctactagtgg gtaccagagc 240

tccctaggtt ctagaaccgg tgacgtctcc catggtgaag cttggatctg aattcggtac 300

cctagttatt aatagtaatc aattacgggg tcattagttc atagcccata tatggagttc 360

cgcgttacat aacttacggt aaatggcccg cctggctgac cgcccaacga cccccgccca 420

ttgacgtcaa taatgacgta tgttcccata gtaacgccaa tagggacttt ccattgacgt 480

caatgggtgg actatttacg gtaaactgcc cacttggcag tacatcaagt gtatcatatg 540

ccaagtacgc cccctattga cgtcaatgac ggtaaatggc ccgcctggca ttatgcccag 600

tacatgacct tatgggactt tcctacttgg cagtacatct acgtattagt catcgctatt 660

accatggtcg aggtgagccc cacgttctgc ttcactctcc ccatctcccc cccctcccca 720

cccccaattt tgtatttatt tatttttaa ttattttgtg cagcgatggg ggcgggggggg 780

ggggggggggc gcgcgccagg cggggcgggg cggggcgagg ggcggggcgg ggcgaggcgg 840

agaggtgcgg cggcagccaa tcagagcggc gcgctccgaa agtttccttt tatggcgagg 900

cggcggcggc ggcggcccta taaaaagcga agcgcgcggc gggcgggagt cgctgcgacg 960

ctgccttcgc cccgtgcccc gctccgccgc cgcctcgcgc cgcccgcccc ggctctgact 1020

gaccgcgtta ctcccacagg tgagcgggcg ggacggccct tctcctccgg gctgtaatta 1080

gcgcttggtt taatgacggc ttgttttctg tggctgcgtg aaagccttga ggggctccgg 1140

gagctagagc ctctgctaac catgttcatg ccttcttctt tttcctacag ctcctgggca 1200

acgtgctggt tattgtgctg tctcatcatt ttggcaaaga attcctcgaa gatccgaagg 1260

gaaagtcttc cacgactgtg ggatccgttc gaagatatca ccggttgagc caccatggaa 1320

ttcagcagcc ccagcagaga ggaatgcccc aagcctctga gccgggtgtc aatcatggcc 1380

ggatctctga caggactgct gctgcttcag gccgtgtctt gggcttctgg cgctagacct 1440

tgcatcccca agagcttcgg ctacagcagc gtcgtgtgcg tgtgcaatgc cacctactgc 1500

gacagcttcg accctcctac ctttcctgct ctgggcacct tcagcagata cgagagcacc 1560

agatccggca gacggatgga actgagcatg ggacccatcc aggccaatca cacaggcact 1620

ggcctgctgc tgacactgca gcctgagcag aaattccaga aagtgaaagg cttcggcgga 1680

gccatgacag atgccgccgc tctgaatatc ctggctctgt ctccaccagc tcagaacctg 1740

ctgctcaaga gctacttcag cgaggaaggc atcggctaca acatcatcag agtgcccatg 1800

gccagctgcg acttcagcat caggacctac acctacgccg acacacccga cgatttccag 1860

ctgcacaact tcagcctgcc tgaagaggac accaagctga agatccctct gatccacaga 1920

gccctgcagc tggcacaaag acccgtgtca ctgctggcct ctccatggac atctcccacc 1980

tggctgaaaa caaatggcgc cgtgaatggc aagggcagcc tgaaaggcca acctggcgac 2040

atctaccacc agacctgggc cagatacttc gtgaagttcc tggacgccta tgccgagcac 2100

aagctgcagt tttgggccgt gacagccgag aacgaacctt ctgctggact gctgagcggc 2160

tacccctttc agtgcctggg ctttacaccc gagcaccagc gggactttat cgcccgtgat 2220

ctgggaccca cactggccaa tagcacccac cataatgtgc ggctgctgat gctggacgac 2280

cagagactgc ttctgcccca ctgggctaaa gtggtgctga cagatcctga ggccgccaaa 2340

tacgtgcacg gaatcgccgt gcactggtat ctggactttc tggcccctgc caaggccaca 2400

ctgggagaga cacacagact gttccccaac accatgctgt tcgccagcga agcctgtgtg 2460

ggcagcaagt tttgggaaca gagcgtgcgg ctcggcagct gggatagagg catgcagtac 2520

agccacagca tcatcaccaa cctgctgtac cacgtcgtcg gctggaccga ctggaatctg 2580

gccctgaatc ctgaaggcgg ccctaactgg gtccgaaact tcgtggacag ccccatcatc 2640

gtggacatca ccaaggacac cttctacaag cagcccatgt tctaccacct gggacacttc 2700

agcaagttca tccccgaggg ctctcagcgc gttggactgg tggcttccca gaagaacgat 2760

ctggacgccg tggctctgat gcaccctgat ggatctgctg tggtggtggt cctgaaccgc 2820

agcagcaaag atgtgcccct gaccatcaag gatcccgccg tgggattcct ggaaacaatc 2880

agccctggct actccatcca cacctacctg tggcgtagac agtgacaatt gttaattaag 2940

tttaaaccct cgaggccgca agcttatcga taatcaacct ctggattaca aaatttgtga 3000

aagattgact ggtattctta actatgttgc tccttttacg ctatgtggat acgctgcttt 3060

aatgcctttg tatcatgcta ttgcttcccg tatggctttc attttctcct ccttgtataa 3120

atcctggttg ctgtctcttt atgaggagtt gtggcccgtt gtcaggcaac gtggcgtggt 3180

gtgcactgtg tttgctgacg caacccccac tggttggggc attgccacca cctgtcagct 3240

cctttccggg actttcgctt tccccctccc tattgccacg gcggaactca tcgccgcctg 3300

ccttgcccgc tgctggacag gggctcggct gttgggcact gacaattccg tggtgttgtc 3360

ggggaaatca tcgtcctttc cttggctgct cgcctgtgtt gccacctgga ttctgcgcgg 3420

gacgtccttc tgctacgtcc cttcggccct caatccagcg gaccttcctt cccgcggcct 3480
gctgccggct ctgcggcctc ttccgcgtct tcgccttcgc cctcagacga gtcggatctc 3540
cctttgggcc gcctccccgc atcgataccg tcgactagag ctcgctgatc agcctcgact 3600
gtgccttcta gttgccagcc atctgttgtt tgcccctccc ccgtgccttc cttgaccctg 3660
gaaggtgcca ctcccactgt cctttcctaa taaaatgagg aaattgcatc gcattgtctg 3720
agtaggtgtc attctattct gggggggtggg gtggggcagg acagcaaggg ggaggattgg 3780
gaagacaata gcaggcatgc tggggagaga tccacgataa caaacagctt ttttggggtg 3840

aacatattga ctgaattccc tgcaggttgg ccactccctc tctgcgcgct cgctcgctca 3900
ctgaggccgc ccgggcaaag cccgggcgtc gggcgacctt tggtcgcccg gcctcagtga 3960
gcgagcgagc gcgcagagag ggagtggcca actccatcac taggggttcc tgcggccgct 4020
cgtacggtct cgaggaattc ctgcaggata acttgccaac ctcattctaa aatgtatata 4080
gaagcccaaa agacaataac aaaaatattc ttgtagaaca aaatgggaaa gaatgttcca 4140
ctaaatatca agatttagag caaagcatga gatgtgtggg gatagacagt gaggctgata 4200
aaatagagta gagctcagaa acagacccat tgatatatgt aagtgaccta tgaaaaaaat 4260

atggcatttt acaatgggaa aatgatggtc tttttctttt ttagaaaaac agggaaatat 4320
atttatatgt aaaaaataaa agggaaccca tatgtcatac catacacaca aaaaaattcc 4380
agtgaattat aagtctaaat ggagaaggca aaactttaaa tcttttagaa aataatatag 4440
aagcatgcag accagcctgg ccaacatgat gaaaccctct ctactaataa taaaatcagt 4500
agaactactc aggactactt tgagtgggaa gtccttttct atgaagactt ctttggccaa 4560
aattaggctc taaatgcaag gagatagtgc atcatgcctg gctgcactta ctgataaatg 4620
atgttatcac catctttaac caaatgcaca ggaacaagtt atggtactga tgtgctggat 4680

tgagaaggag ctctacttcc ttgacaggac acatttgtat caacttaaaa aagcagattt 4740
ttgccagcag aactattcat tcagaggtag gaaacttaga atagatgatg tcactgatta 4800
gcatggcttc cccatctcca cagctgcttc ccacccaggt tgcccacagt tgagtttgtc 4860
cagtgctcag ggctgcccac tctcagtaag aagccccaca ccagcccctc tccaaatatg 4920
ttggctgttc cttccattaa agtgacccca ctttagagca gcaagtggat ttctgtttct 4980
tacagttcag gaaggaggag tcagctgtga gaacctggag cctgagatgc ttctaagtcc 5040
cactgctact ggggtcaggg aagccagact ccagcatcag cagtcaggag cactaagccc 5100

ttgccaacat cctgtttctc agagaaactg cttccattat aatggttgtc ctttttaag 5160

ctatcaagcc aaacaaccag tgtctaccat tattctcatc acctgaagcc aagggttcta 5220

gcaaaagtca agctgtcttg taatggttga tgtgcctcca gcttctgtct tcagtcactc 5280

cactcttagc ctgctctgaa tcaactctga ccacagttcc ctggagcccc tgccacctgc 5340

tgcccctgcc accttctcca tctgcagtgc tgtgcagcct tctgcactct tgcagagcta 5400

ataggtggag acttgaagga agaggaggaa agtttctcat aatagccttg ctgcaagctc 5460

aaatgggagg tgggcactgt gcccaggagc cttggagcaa aggctgtgcc caacctctga 5520

ctgcatccag gtttggtctt gacagagata agaagccctg gcttttggag ccaaaatcta 5580

ggtcagactt aggcaggatt ctcaaagttt atcagcagaa catgaggcag aagacccttt 5640

ctgctccagc ttcttcaggc tcaaccttca tcagaataga tagaaagaga ggctgtgagg 5700

gttcttaaaa cagaagcaaa tctgactcag agaataaaca acctcctagt aaactacagc 5760

ttagacagag catctggtgg tgagtgtgct cagtgtccta ctcaactgtc tggtatcagc 5820

cctcatgagg acttctcttc tttccctcat agacctccat ctctgttttc cttagcctgc 5880

agaaatctgg atggctattc acagaatgcc tgtgctttca gagttgcatt ttttctctgg 5940

tattctggtt caagcatttg aaggtaggaa aggttctcca agtgcaagaa agccagccct 6000

gagcctcaac tgcctggcta gtgtggtcag taggatgcaa aggctgttga atgccacaag 6060

gccaaacttt aacctgtgta ccacaagcct agcagcagag gcagctctgc tcactggaac 6120

tctctgtctt ctttctcctg agccttttct tttcctgagt tttctagctc tcctcaacct 6180

tacctctgcc ctacccagga caaacccaag agccactgtt tctgtgatgt cctctccagc 6240

cctaattagg catcatgact tcagcctgac cttccatgct cagaagcagt gctaatccac 6300

ttcagatgag ctgctctatg caacacaggc agagcctaca aacctttgca ccagagccct 6360

ccacatatca gtgtttgttc atactcactt caacagcaaa tgtgactgct gagattaaga 6420

ttttacacaa gatggtctgt aatttcacag ttagttttat cccattaggt atgaaagaat 6480

tagcataatt ccccttaaac atgaatgaat cttagatttt ttaataaata gttttggaag 6540

taaagacaga gacatcagga gcacaaggaa tagcctgaga ggacaaacag aacaagaaag 6600

agtctggaaa tacacaggat gttcttggcc tcctcaaagc aagtgcaagc agatagtacc 6660

agcagcccca ggctatcaga gcccagtgaa gagaagtacc atgaaagcca cagctctaac 6720

caccctgttc cagagtgaca gacagtcccc aagacaagcc agcctgagcc agagagagaa 6780

ctgcaagaga aagtttctaa tttaggttct gttagattca gacaagtgca ggtcatcctc 6840

tctccacagc tactcacctc tccagcctaa caaagcctgc agtccacact ccaaccctgg 6900

tgtctcacct cctagcctct cccaacatcc tgctctctga ccatcttctg catctctcat 6960

ctcaccatct cccactgtct acagcctact cttgcaacta ccatctcatt ttctgacatc 7020

ctgtctacat cttctgccat actctgccat ctaccatacc acctcttacc atctaccaca 7080

ccatctttta tctccatccc tctcagaagc ctccaagctg aatcctgctt tatgtgttca 7140

tctcagcccc tgcatggaaa gctgacccca gaggcagaac tattcccaga gagcttggcc 7200

aagaaaaaca aaactaccag cctggccagg ctcaggagta gtaagctgca gtgtctgttg 7260

tgttctagct tcaacagctg caggagttcc actctcaaat gctccacatt tctcacatcc 7320

tcctgattct ggtcactacc catcttcaaa gaacagaata tctcacatca gcatactgtg 7380

aaggactagt catgggtgca gctgctcaga gctgcaaagt cattctggat ggtggagagc 7440

ttacaaacat ttcatgatgc tccccccgct ctgatggctg gagcccaatc cctacacaga 7500

ctcctgctgt atgtgttttc ctttcactct gagccacagc cagagggcag gcattcagtc 7560

tcctcttcag gctggggctg gggcactgag aactcaccca acaccttgct ctcactcctt 7620

ctgcaaaaca agaaagagct ttgtgctgca gtagccatga agaatgaaag gaaggcttta 7680

actaaaaaat gtcagagatt attttcaacc ccttactgtg gatcaccagc aaggaggaaa 7740

cacaacacag agacattttt tcccctcaaa ttatcaaaag aatcactgca tttgttaaag 7800

agagcaactg aatcaggaag cagagttttg aacatatcag aagttaggaa tctgcatcag 7860

agacaaatgc agtcatggtt gtttgctgca taccagccct aatcattaga agcctcatgg 7920

acttcaaaca tcattccctc tgacaagatg ctctagccta actccatgag ataaaataaa 7980

tctgcctttc agagccaaag aagagtccac cagcttcttc tcagtgtgaa caagagctcc 8040

agtcaggtta gtcagtccag tgcagtagag gagaccagtc tgcatcctct aattttcaaa 8100

ggcaagaaga tttgtttacc ctggacacca ggcacaagtg aggtcacaga gctcttagat 8160

atgcagtcct catgagtgag gagactaaag cgcatgccat caagacttca gtgtagagaa 8220

aacctccaaa aaagcctcct cactacttct ggaatagctc agaggccgag gcggcctcgg 8280

cctctgcata aataaaaaaa attagtcagc catggggcgg agaatgggcg gaactgggcg 8340

gagttagggg cgggatgggc ggagttaggg gcgggactat ggttgctgac taattgagat 8400

gcatgctttg catacttctg cctgctgggg agcctgggga ctttccacac ctggttgctg 8460

actaattgag atgcatgctt tgcatacttc tgcctgctgg ggagcctggg gactttccac 8520

accctaactg acacacattc cacagctgca ttaatgaatc ggccaacgcg cggggagagg 8580

cggtttgcgt attgggcgct cttccgcttc ctcgctcact gactcgctgc gctcggtcgt 8640

tcggctgcgg cgagcggtat cagctcactc aaaggcggta atacggttat ccacagaatc 8700

aggggataac gcaggaaaga acatgtgagc aaaaggccag caaaaggcca ggaaccgtaa 8760

aaaggccgcg ttgctggcgt ttttccatag gctccgcccc cctgacgagc atcacaaaaa 8820

tcgacgctca agtcagaggt ggcgaaaccc gacaggacta taaagatacc aggcgtttcc 8880

ccctggaagc tccctcgtgc gctctcctgt tccgaccctg ccgcttaccg gatacctgtc 8940
cgcctttctc ccttcgggaa gcgtggcgct ttctcatagc tcacgctgta ggtatctcag 9000
ttcggtgtag gtcgttcgct ccaagctggg ctgtgtgcac gaacccccccg ttcagcccga 9060
ccgctgcgcc ttatccggta actatcgtct tgagtccaac ccggtaagac acgacttatc 9120
gccactggca gcagccactg gtaacaggat tagcagagcg aggtatgtag gcggtgctac 9180
agagttcttg aagtggtggc ctaactacgg ctacactaga agaacagtat ttggtatctg 9240
cgctctgctg aagccagtta ccttcggaaa aagagttggt agctcttgat ccggcaaaca 9300

aaccaccgct ggtagcggtg gttttttgt ttgcaagcag cagattacgc gcagaaaaaa 9360
aggatctcaa gaagatcctt tgatcttttc tacggggtct gacgctcagt ggaacgaaaa 9420
ctcacgttaa gggattttgg tcatgagatt atcaaaaagg atcttcacct agatcctttt 9480
aaattaaaaa tgaagtttta aatcaatcta aagtatatat gagtaaactt ggtctgacag 9540
ttaccaatgc ttaatcagtg aggcacctat ctcagcgatc tgtctatttc gttcatccat 9600
agttgcctga ctcctgcaaa ccacgttgtg tctcaaaatc tctgatgtta cattgcacaa 9660
gataaaaata tatcatcatg aacaataaaa ctgtctgctt acataaacag taatacaagg 9720

ggtgttatga gccatattca acgggaaacg tcttgctcga ggccgcgatt aaattccaac 9780
atggatgctg atttatatgg gtataaatgg gctcgcgata atgtcgggca atcaggtgcg 9840
acaatctatc gattgtatgg gaagcccgat gcgccagagt tgtttctgaa acatggcaaa 9900
ggtagcgttg ccaatgatgt tacagatgag atggtcagac taaactggct gacggaattt 9960
atgcctcttc cgaccatcaa gcattttatc cgtactcctg atgatgcatg gttactcacc 10020
actgcgatcc ccgggaaaac agcattccag gtattagaag aatatcctga ttcaggtgaa 10080
aatattgttg atgcgctggc agtgttcctg cgccggttgc attcgattcc tgtttgtaat 10140

tgtccttta acagcgatcg cgtatttcgt ctcgctcagg cgcaatcacg aatgaataac 10200
ggtttggttg atgcgagtga ttttgatgac gagcgtaatg gctggcctgt tgaacaagtc 10260
tggaaagaaa tgcataagct tttgccattc tcaccggatt cagtcgtcac tcatggtgat 10320
ttctcacttg ataaccttat ttttgacgag gggaaattaa taggttgtat tgatgttgga 10380
cgagtcggaa tcgcagaccg ataccaggat cttgccatcc tatggaactg cctcggtgag 10440
ttttctcctt cattacagaa acggcttttt caaaaatatg gtattgataa tcctgatatg 10500
aataaattgc agtttcattt gatgctcgat gagtttttct aagggcggcc tgccaccata 10560

cccacgccga aacaagcgct catgagcccg aagtggcgag cccgatcttc cccatcggtg 10620

atgtcggcga tataggcgcc agcaaccgca cctgtggcgc cggtgatgag ggcgcgccaa 10680

gtcgacgtcc ggcagtc 10697

<210> 2

<211> 11355

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polynucleotide

<400> 2

ttggccactc cctctctgcg cgctcgctcg ctcactgagg ccgggcgacc aaaggtcgcc 60

cgacgcccgg gctttgcccg ggcggcctca gtgagcgagc gagcgcgcag agagggagtg 120

gccaactcca tcactagggg ttcctgctag ctctgggtat ttaagcccga gtgagcacgc 180

agggtctcca ttttgaagcg ggaggttacg cgttcgtcga ctactagtgg gtaccagagc 240

tccctaggtt ctagaaccgg tgacgtctcc catggtgaag cttggatctg agggcggagt 300

tagggcggag ccaatcagcg tgcgccgttc cgaaagttgc cttttatggc tgggcggaga 360

atgggcggtg aacgccgatg attatataag gacgcgccgg gtgtggcaca gctagttccg 420

tcgcagccgg gatttgggtc gcggttcttg tttgtggatc cctgtgatcg tcacttggta 480

agtcactgac tgtctatgcc tgggaaaggg tgggcaggag atggggcagt gcaggaaaag 540

tggcactatg aaccctgcag ccctaggaat gcatctagac aattgtacta accttcttct 600

ctttcctctc ctgacagtcc ggaaagccac catgggccgc tgctgcttct acaccgccgg 660

caccctgagc ctgctgctgc tggtgaccag cgtgaccctg ctggtggccc gcgtgttcca 720

gaaggccgtg gaccagagca tcgagaagaa gatcgtgctg cgcaacggca ccgaggcctt 780

cgacagctgg gagaagcccc ccctgcccgt gtacacccag ttctacttct tcaacgtgac 840

caaccccgag gagatcctgc gcggcgagac cccccgcgtg gaggaggtgg gcccctacac 900

ctaccgcgag ctgcgcaaca aggccaacat ccagttcggc gacaacggca ccaccatcag 960

cgccgtgagc aacaaggcct acgtgttcga gcgcgaccag agcgtgggcg accccaagat 1020

cgacctgatc cgcaccctga acatccccgt gctgaccgtg atcgagtgga gccaggtgca 1080

cttcctgcgc gagatcatcg aggccatgct gaaggcctac cagcagaagc tgttcgtgac 1140

ccacaccgtg gacgagctgc tgtggggcta caaggacgag atcctgagcc tgatccacgt 1200

gttccgcccc gacatcagcc cctacttcgg cctgttctac gagaagaacg gcaccaacga 1260

cggcgactac gtgttcctga ccggcgagga cagctacctg aacttcacca agatcgtgga 1320

gtggaacggc aagaccagcc tggactggtg gatcaccgac aagtgcaaca tgatcaacgg 1380

caccgacggc gacagcttcc acccccctgat caccaaggac gaggtgctgt acgtgttccc 1440

cagcgacttc tgccgcagcg tgtacatcac cttcagcgac tacgagagcg tgcagggcct 1500
gcccgccttc cgctacaagg tgcccgccga gatcctggcc aacaccagcg acaacgccgg 1560
cttctgcatc cccgagggca actgcctggg cagcggcgtg ctgaacgtga gcatctgcaa 1620
gaacggcgcc cccatcatca tgagcttccc ccacttctac caggccgacg agcgcttcgt 1680
gagcgccatc gagggcatgc accccaacca ggaggaccac gagaccttcg tggacatcaa 1740
ccccctgacc ggcatcatcc tgaaggccgc caagcgcttc cagatcaaca tctacgtgaa 1800
gaagctggac gacttcgtgg agaccggcga catccgcacc atggtgttcc ccgtgatgta 1860

cctgaacgag agcgtgcaca tcgacaagga gaccgccagc cgcctgaaga gcatgatcaa 1920
caccaccctg atcatcacca acatccccta catcatcatg gccctgggcg tgttcttcgg 1980
cctggtgttc acctggctgg cctgcaaggg ccagggcagc atggacgagg gcaccgccga 2040
cgagcgcgcc cccctgatcc gcacctgatt gtggccgaac cgccgaactc agaggccggc 2100
cccagaaaac ccgagcgagt agggggcggc gcgcaggagg gaggagaact gggggcgcgg 2160
gaggctggtg ggtgtggggg gtggagatgt agaagatgtg acgccgcggc ccggcgggtg 2220
ccagattagc ggacgcggtg cccgcggttg caacgggatc ccgggcgctg cagcttggga 2280

ggcggctctc cccaggcggc gtccgcggag acacccatcc gtgaacccca ggtcccgggc 2340
cgccggctcg ccgcgcacca ggggccggcg gacagaagag cggccgagcg gctcgaggct 2400
gggggaccgc gggcgcggcc gcgcgctgcc gggcgggagg ctgggggccc ggggccgggg 2460
ccgtgccccg gagcgggtcg gaggccgggg ccggggccgg gggacggcgg ctccccgcgc 2520
ggctccagcg gctcggggat cccggccggg ccccgcaggg accatgatgg aattcagcag 2580
ccccagcaga gaggaatgcc ccaagcctct gagccgggtg tcaatcatgg ccggatctct 2640
gacaggactg ctgctgcttc aggccgtgtc ttgggcttct ggcgctagac cttgcatccc 2700

caagagcttc ggctacagca gcgtcgtgtg cgtgtgcaat gccacctact gcgacagctt 2760
cgaccctcct acctttcctg ctctgggcac cttcagcaga tacgagagca ccagatccgg 2820
cagacggatg gaactgagca tgggacccat ccaggccaat cacacaggca ctggcctgct 2880
gctgacactg cagcctgagc agaaattcca gaaagtgaaa ggcttcggcg gagccatgac 2940
agatgccgcc gctctgaata tcctggctct gtctccacca gctcagaacc tgctgctcaa 3000
gagctacttc agcgaggaag gcatcggcta caacatcatc agagtgccca tggccagctg 3060
cgacttcagc atcaggacct acacctacgc cgacacaccc gacgatttcc agctgcacaa 3120

cttcagcctg cctgaagagg acaccaagct gaagatccct ctgatccaca gagccctgca 3180

gctggcacaa agacccgtgt cactgctggc ctctccatgg acatctccca cctggctgaa 3240

aacaaatggc gccgtgaatg gcaagggcag cctgaaaggc caacctggcg acatctacca 3300

ccagacctgg gccagatact tcgtgaagtt cctggacgcc tatgccgagc acaagctgca 3360

gttttgggcc gtgacagccg agaacgaacc ttctgctgga ctgctgagcg gctacccctt 3420

tcagtgcctg ggctttacac ccgagcacca gcgggacttt atcgcccgtg atctgggacc 3480

cacactggcc aatagcaccc accataatgt gcggctgctg atgctggacg accagagact 3540

gcttctgccc cactgggcta aagtggtgct gacagatcct gaggccgcca aatacgtgca 3600

cggaatcgcc gtgcactggt atctggactt tctggcccct gccaaggcca cactgggaga 3660

gacacacaga ctgttcccca acaccatgct gttcgccagc gaagcctgtg tgggcagcaa 3720

gttttgggaa cagagcgtgc ggctcggcag ctgggataga ggcatgcagt acagccacag 3780

catcatcacc aacctgctgt accacgtcgt cggctggacc gactggaatc tggccctgaa 3840

tcctgaaggc ggccctaact gggtccgaaa cttcgtggac agccccatca tcgtggacat 3900

caccaaggac accttctaca agcagcccat gttctaccac ctgggacact tcagcaagtt 3960

catccccgag ggctctcagc gcgttggact ggtggcttcc cagaagaacg atctggacgc 4020

cgtggctctg atgcaccctg atggatctgc tgtggtggtg gtcctgaacc gcagcagcaa 4080

agatgtgccc ctgaccatca aggatcccgc cgtgggattc ctggaaacaa tcagccctgg 4140

ctactccatc cacacctacc tgtggcgtag acagtgacaa ttgttaatta agtttaaacc 4200

ctcgaggccg caagccgcat cgataccgtc gactagagct cgctgatcag cctcgactgt 4260

gccttctagt tgccagccat ctgttgtttg cccctccccc gtgccttcct tgaccctgga 4320

aggtgccact cccactgtcc tttcctaata aaatgaggaa attgcatcgc attgtctgag 4380

taggtgtcat tctattctgg ggggtggggt ggggcaggac agcaaggggg aggattggga 4440

agacaatagc aggcatgctg gggagagatc cacgataaca aacagctttt ttggggtgaa 4500

catattgact gaattccctg caggttggcc actccctctc tgcgcgctcg ctcgctcact 4560

gaggccgccc gggcaaagcc cgggcgtcgg gcgacctttg gtcgcccggc ctcagtgagc 4620

gagcgagcgc gcagagaggg agtggccaac tccatcacta ggggttcctg cggccgctcg 4680

tacggtctcg aggaattcct gcaggataac ttgccaacct cattctaaaa tgtatataga 4740

agcccaaaag acaataacaa aaatattctt gtagaacaaa atgggaaaga atgttccact 4800

aaatatcaag atttagagca aagcatgaga tgtgtgggga tagacagtga ggctgataaa 4860

atagagtaga gctcagaaac agacccattg atatatgtaa gtgacctatg aaaaaaatat 4920

ggcattttac aatgggaaaa tgatggtctt tttctttttt agaaaaacag ggaaatatat 4980

ttatatgtaa aaaataaaag ggaacccata tgtcatacca tacacacaaa aaaattccag 5040

tgaattataa gtctaaatgg agaaggcaaa actttaaatc ttttagaaaa taatatagaa 5100

gcatgcagac cagcctggcc aacatgatga aaccctctct actaataata aaatcagtag 5160

aactactcag gactactttg agtgggaagt ccttttctat gaagacttct ttggccaaaa 5220

ttaggctcta aatgcaagga gatagtgcat catgcctggc tgcacttact gataaatgat 5280

gttatcacca tctttaacca aatgcacagg aacaagttat ggtactgatg tgctggattg 5340

agaaggagct ctacttcctt gacaggacac atttgtatca acttaaaaaa gcagattttt 5400

gccagcagaa ctattcattc agaggtagga aacttagaat agatgatgtc actgattagc 5460

atggcttccc catctccaca gctgcttccc acccaggttg cccacagttg agtttgtcca 5520

gtgctcaggg ctgcccactc tcagtaagaa gccccacacc agcccctctc caaatatgtt 5580

ggctgttcct tccattaaag tgaccccact ttagagcagc aagtggattt ctgtttctta 5640

cagttcagga aggaggagtc agctgtgaga acctggagcc tgagatgctt ctaagtccca 5700

ctgctactgg ggtcagggaa gccagactcc agcatcagca gtcaggagca ctaagccctt 5760

gccaacatcc tgtttctcag agaaactgct tccattataa tggttgtcct tttttaagct 5820

atcaagccaa acaaccagtg tctaccatta ttctcatcac ctgaagccaa gggttctagc 5880

aaaagtcaag ctgtcttgta atggttgatg tgcctccagc ttctgtcttc agtcactcca 5940

ctcttagcct gctctgaatc aactctgacc acagttccct ggagcccctg ccacctgctg 6000

cccctgccac cttctccatc tgcagtgctg tgcagccttc tgcactcttg cagagctaat 6060

aggtggagac ttgaaggaag aggaggaaag tttctcataa tagccttgct gcaagctcaa 6120

atgggaggtg ggcactgtgc ccaggagcct tggagcaaag gctgtgccca acctctgact 6180

gcatccaggt ttggtcttga cagagataag aagccctggc ttttggagcc aaaatctagg 6240

tcagacttag gcaggattct caaagtttat cagcagaaca tgaggcagaa gaccctttct 6300

gctccagctt cttcaggctc aaccttcatc agaatagata gaaagagagg ctgtgagggt 6360

tcttaaaaca gaagcaaatc tgactcagag aataaacaac ctcctagtaa actacagctt 6420

agacagagca tctggtggtg agtgtgctca gtgtcctact caactgtctg gtatcagccc 6480

tcatgaggac ttctcttctt tccctcatag acctccatct ctgttttcct tagcctgcag 6540

aaatctggat ggctattcac agaatgcctg tgctttcaga gttgcatttt ttctctggta 6600

ttctggttca agcatttgaa ggtaggaaag gttctccaag tgcaagaaag ccagccctga 6660

gcctcaactg cctggctagt gtggtcagta ggatgcaaag gctgttgaat gccacaaggc 6720

caaactttaa cctgtgtacc acaagcctag cagcagaggc agctctgctc actggaactc 6780

tctgtcttct ttctcctgag ccttttcttt tcctgagttt tctagctctc ctcaacctta 6840

cctctgccct acccaggaca aacccaagag ccactgtttc tgtgatgtcc tctccagccc 6900

taattaggca tcatgacttc agcctgacct tccatgctca gaagcagtgc taatccactt 6960
cagatgagct gctctatgca acacaggcag agcctacaaa cctttgcacc agagccctcc 7020
acatatcagt gtttgttcat actcacttca acagcaaatg tgactgctga gattaagatt 7080
ttacacaaga tggtctgtaa tttcacagtt agttttatcc cattaggtat gaaagaatta 7140
gcataattcc ccttaaacat gaatgaatct tagatttttt aataaatagt tttggaagta 7200
aagacagaga catcaggagc acaaggaata gcctgagagg acaaacagaa caagaaagag 7260
tctggaaata cacaggatgt tcttggcctc ctcaaagcaa gtgcaagcag atagtaccag 7320

cagccccagg ctatcagagc ccagtgaaga gaagtaccat gaaagccaca gctctaacca 7380
ccctgttcca gagtgacaga cagtccccaa gacaagccag cctgagccag agagagaact 7440
gcaagagaaa gtttctaatt taggttctgt tagattcaga caagtgcagg tcatcctctc 7500
tccacagcta ctcacctctc cagcctaaca aagcctgcag tccacactcc aaccctggtg 7560
tctcacctcc tagcctctcc caacatcctg ctctctgacc atcttctgca tctctcatct 7620
caccatctcc cactgtctac agcctactct tgcaactacc atctcatttt ctgacatcct 7680
gtctacatct tctgccatac tctgccatct accataccac ctcttaccat ctaccacacc 7740

atcttttatc tccatccctc tcagaagcct ccaagctgaa tcctgcttta tgtgttcatc 7800
tcagcccctg catggaaagc tgaccccaga ggcagaacta ttcccagaga gcttggccaa 7860
gaaaaacaaa actaccagcc tggccaggct caggagtagt aagctgcagt gtctgttgtg 7920
ttctagcttc aacagctgca ggagttccac tctcaaatgc tccacatttc tcacatcctc 7980
ctgattctgg tcactaccca tcttcaaaga acagaatatc tcacatcagc atactgtgaa 8040
ggactagtca tgggtgcagc tgctcagagc tgcaaagtca ttctggatgg tggagagctt 8100
acaaacattt catgatgctc cccccgctct gatggctgga gcccaatccc tacacagact 8160

cctgctgtat gtgttttcct ttcactctga gccacagcca gagggcaggc attcagtctc 8220
ctcttcaggc tggggctggg gcactgagaa ctcacccaac accttgctct cactccttct 8280
gcaaaacaag aaagagcttt gtgctgcagt agccatgaag aatgaaagga aggctttaac 8340
taaaaaatgt cagagattat tttcaacccc ttactgtgga tcaccagcaa ggaggaaaca 8400
caacacagag acatttttc ccctcaaatt atcaaaagaa tcactgcatt tgttaaagag 8460
agcaactgaa tcaggaagca gagttttgaa catatcagaa gttaggaatc tgcatcagag 8520
acaaatgcag tcatggttgt ttgctgcata ccagccctaa tcattagaag cctcatggac 8580

ttcaaacatc attccctctg acaagatgct ctagcctaac tccatgagat aaaataaatc 8640

tgcctttcag agccaaagaa gagtccacca gcttcttctc agtgtgaaca agagctccag 8700

tcaggttagt cagtccagtg cagtagagga gaccagtctg catcctctaa ttttcaaagg 8760

caagaagatt tgtttaccct ggacaccagg cacaagtgag gtcacagagc tcttagatat 8820

gcagtcctca tgagtgagga gactaaagcg catgccatca agacttcagt gtagagaaaa 8880

cctccaaaaa agcctcctca ctacttctgg aatagctcag aggccgaggc ggcctcggcc 8940

tctgcataaa taaaaaaaat tagtcagcca tggggcggag aatgggcgga actgggcgga 9000

gttaggggcg ggatgggcgg agttaggggc gggactatgg ttgctgacta attgagatgc 9060

atgctttgca tacttctgcc tgctggggag cctggggact ttccacacct ggttgctgac 9120

taattgagat gcatgctttg catacttctg cctgctgggg agcctgggga ctttccacac 9180

cctaactgac acacattcca cagctgcatt aatgaatcgg ccaacgcgcg gggagaggcg 9240

gtttgcgtat tgggcgctct tccgcttcct cgctcactga ctcgctgcgc tcggtcgttc 9300

ggctgcggcg agcggtatca gctcactcaa aggcggtaat acggttatcc acagaatcag 9360

gggataacgc aggaaagaac atgtgagcaa aaggccagca aaaggccagg aaccgtaaaa 9420

aggccgcgtt gctggcgttt ttccataggc tccgcccccc tgacgagcat cacaaaaatc 9480

gacgctcaag tcagaggtgg cgaaacccga caggactata aagataccag gcgtttcccc 9540

ctggaagctc cctcgtgcgc tctcctgttc cgaccctgcc gcttaccgga tacctgtccg 9600

cctttctccc ttcgggaagc gtggcgcttt ctcatagctc acgctgtagg tatctcagtt 9660

cggtgtaggt cgttcgctcc aagctgggct gtgtgcacga acccccccgtt cagcccgacc 9720

gctgcgcctt atccggtaac tatcgtcttg agtccaaccc ggtaagacac gacttatcgc 9780

cactggcagc agccactggt aacaggatta gcagagcgag gtatgtaggc ggtgctacag 9840

agttcttgaa gtggtggcct aactacggct acactagaag aacagtattt ggtatctgcg 9900

ctctgctgaa gccagttacc ttcggaaaaa gagttggtag ctcttgatcc ggcaaacaaa 9960

ccaccgctgg tagcggtggt ttttttgttt gcaagcagca gattacgcgc agaaaaaaag 10020

gatctcaaga agatcctttg atcttttcta cggggtctga cgctcagtgg aacgaaaact 10080

cacgttaagg gattttggtc atgagattat caaaaaggat cttcacctag atccttttaa 10140

attaaaaatg aagttttaaa tcaatctaaa gtatatatga gtaaacttgg tctgacagtt 10200

accaatgctt aatcagtgag gcacctatct cagcgatctg tctatttcgt tcatccatag 10260

ttgcctgact cctgcaaacc acgttgtgtc tcaaaatctc tgatgttaca ttgcacaaga 10320

taaaaatata tcatcatgaa caataaaact gtctgcttac ataaacagta atacaagggg 10380

tgttatgagc catattcaac gggaaacgtc ttgctcgagg ccgcgattaa attccaacat 10440

ggatgctgat ttatatgggt ataaatgggc tcgcgataat gtcgggcaat caggtgcgac 10500

aatctatcga ttgtatggga agcccgatgc gccagagttg tttctgaaac atggcaaagg 10560

tagcgttgcc aatgatgtta cagatgagat ggtcagacta aactggctga cggaatttat 10620

gcctcttccg accatcaagc attttatccg tactcctgat gatgcatggt tactcaccac 10680

tgcgatcccc gggaaaacag cattccaggt attagaagaa tatcctgatt caggtgaaaa 10740

tattgttgat gcgctggcag tgttcctgcg ccggttgcat tcgattcctg tttgtaattg 10800

tccttttaac agcgatcgcg tatttcgtct cgctcaggcg caatcacgaa tgaataacgg 10860

tttggttgat gcgagtgatt ttgatgacga gcgtaatggc tggcctgttg aacaagtctg 10920

gaaagaaatg cataagcttt tgccattctc accggattca gtcgtcactc atggtgattt 10980

ctcacttgat aaccttattt ttgacgaggg gaaattaata ggttgtattg atgttggacg 11040

agtcggaatc gcagaccgat accaggatct tgccatccta tggaactgcc tcggtgagtt 11100

ttctccttca ttacagaaac ggctttttca aaaatatggt attgataatc ctgatatgaa 11160

taaattgcag tttcatttga tgctcgatga gtttttctaa gggcggcctg ccaccatacc 11220

cacgccgaaa caagcgctca tgagcccgaa gtggcgagcc cgatcttccc catcggtgat 11280

gtcggcgata taggcgccag caaccgcacc tgtggcgccg gtgatgaggg cgcgccaagt 11340

cgacgtccgg cagtc 11355

<210> 3

<211> 11420

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polynucleotide

<400> 3

ttggccactc cctctctgcg cgctcgctcg ctcactgagg ccgggcgacc aaaggtcgcc 60

cgacgcccgg gctttgcccg ggcggcctca gtgagcgagc gagcgcgcag agagggagtg 120

gccaactcca tcactagggg ttcctgctag ctctgggtat ttaagcccga gtgagcacgc 180

agggtctcca ttttgaagcg ggaggttacg cgttcgtcga ctactagtgg gtaccagagc 240

tccctaggtt ctagaaccgg tgacgtctcc catggtgaag cttggatctg agggcggagt 300

tagggcggag ccaatcagcg tgcgccgttc cgaaagttgc cttttatggc tgggcggaga 360

atgggcggtg aacgccgatg attatataag gacgcgccgg gtgtggcaca gctagttccg 420

tcgcagccgg gatttgggtc gcggttcttg tttgtggatc cctgtgatcg tcacttggta 480

agtcactgac tgtctatgcc tgggaaaggg tgggcaggag atggggcagt gcaggaaaag 540

tggcactatg aaccctgcag ccctaggaat gcatctagac aattgtacta accttcttct 600

ctttcctctc ctgacagtcc ggaaagccac catggaattc agcagcccca gcagagagga 660

atgccccaag cctctgagcc gggtgtcaat catggccgga tctctgacag gactgctgct 720

gcttcaggcc gtgtcttggg cttctggcgc tagaccttgc atccccaaga gcttcggcta 780

cagcagcgtc gtgtgcgtgt gcaatgccac ctactgcgac agcttcgacc ctcctacctt 840

tcctgctctg ggcaccttca gcagatacga gagcaccaga tccggcagac ggatggaact 900

gagcatggga cccatccagg ccaatcacac aggcactggc ctgctgctga cactgcagcc 960

tgagcagaaa ttccagaaag tgaaaggctt cggcggagcc atgacagatg ccgccgctct 1020

gaatatcctg gctctgtctc caccagctca gaacctgctg ctcaagagct acttcagcga 1080

ggaaggcatc ggctacaaca tcatcagagt gcccatggcc agctgcgact tcagcatcag 1140

gacctacacc tacgccgaca cacccgacga tttccagctg cacaacttca gcctgcctga 1200

agaggacacc aagctgaaga tccctctgat ccacagagcc ctgcagctgg cacaaagacc 1260

cgtgtcactg ctggcctctc catggacatc tcccacctgg ctgaaaacaa atggcgccgt 1320

gaatggcaag ggcagcctga aaggccaacc tggcgacatc taccaccaga cctgggccag 1380

atacttcgtg aagttcctgg acgcctatgc cgagcacaag ctgcagtttt gggccgtgac 1440

agccgagaac gaaccttctg ctggactgct gagcggctac ccctttcagt gcctgggctt 1500

tacacccgag caccagcggg actttatcgc ccgtgatctg ggacccacac tggccaatag 1560

cacccaccat aatgtgcggc tgctgatgct ggacgaccag agactgcttc tgccccactg 1620

ggctaaagtg gtgctgacag atcctgaggc cgccaaatac gtgcacggaa tcgccgtgca 1680

ctggtatctg gactttctgg cccctgccaa ggccacactg ggagagacac acagactgtt 1740

ccccaacacc atgctgttcg ccagcgaagc ctgtgtgggc agcaagtttt gggaacagag 1800

cgtgcggctc ggcagctggg atagaggcat gcagtacagc cacagcatca tcaccaacct 1860

gctgtaccac gtcgtcggct ggaccgactg gaatctggcc ctgaatcctg aaggcggccc 1920

taactgggtc cgaaacttcg tggacagccc catcatcgtg gacatcacca aggacacctt 1980

ctacaagcag cccatgttct accacctggg acacttcagc aagttcatcc ccgagggctc 2040

tcagcgcgtt ggactggtgg cttcccagaa gaacgatctg gacgccgtgg ctctgatgca 2100

ccctgatgga tctgctgtgg tggtggtcct gaaccgcagc agcaaagatg tgcccctgac 2160

catcaaggat cccgccgtgg gattcctgga aacaatcagc cctggctact ccatccacac 2220

ctacctgtgg cgtagacagt gacaattgtt aattaagttt catcgatacc gtcgactaga 2280

gctcgctgat cagcctcgac tgtgccttct agttgccagc catctgttgt ttgcccctcc 2340

cccgtgcctt ccttgaccct ggaaggtgcc actcccactg tcctttcctа ataaaatgag 2400

gaaattgcat cgcattgtct gagtaggtgt cattctattc tgggggtgg ggtggggcag 2460

gacagcaagg gggaggattg ggaagacaat agcaggcatg ctggggagag atccacgata 2520

acaaacagct tttttggggg ggcggagtta gggcggagcc aatcagcgtg cgccgttccg 2580

aaagttgcct tttatggctg ggcggagaat gggcggtgaa cgccgatgat tatataagga 2640

cgcgccgggt gtggcacagc tagttccgtc gcagccggga tttgggtcgc ggttcttgtt 2700

tgtggatccc tgtgatcgtc acttggtaag tcactgactg tctatgcctg ggaaagggtg 2760

ggcaggagat ggggcagtgc aggaaaagtg gcactatgaa ccctgcagcc ctaggaatgc 2820

atctagacaa ttgtactaac cttcttctct ttcctctcct gacagtccgg aaagccacca 2880

tgggccgctg ctgcttctac accgccggca ccctgagcct gctgctgctg gtgaccagcg 2940

tgaccctgct ggtggcccgc gtgttccaga aggccgtgga ccagagcatc gagaagaaga 3000

tcgtgctgcg caacggcacc gaggccttcg acagctggga gaagcccccc ctgcccgtgt 3060

acacccagtt ctacttcttc aacgtgacca accccgagga gatcctgcgc ggcgagaccc 3120

cccgcgtgga ggaggtgggc ccctacacct accgcgagct gcgcaacaag gccaacatcc 3180

agttcggcga caacggcacc accatcagcg ccgtgagcaa caaggcctac gtgttcgagc 3240

gcgaccagag cgtgggcgac cccaagatcg acctgatccg caccctgaac atccccgtgc 3300

tgaccgtgat cgagtggagc caggtgcact tcctgcgcga gatcatcgag gccatgctga 3360

aggcctacca gcagaagctg ttcgtgaccc acaccgtgga cgagctgctg tggggctaca 3420

aggacgagat cctgagcctg atccacgtgt tccgccccga catcagcccc tacttcggcc 3480

tgttctacga gaagaacggc accaacgacg gcgactacgt gttcctgacc ggcgaggaca 3540

gctacctgaa cttcaccaag atcgtggagt ggaacggcaa gaccagcctg gactggtgga 3600

tcaccgacaa gtgcaacatg atcaacggca ccgacggcga cagcttccac cccctgatca 3660

ccaaggacga ggtgctgtac gtgttcccca gcgacttctg ccgcagcgtg tacatcacct 3720

tcagcgacta cgagagcgtg cagggcctgc ccgccttccg ctacaaggtg cccgccgaga 3780

tcctggccaa caccagcgac aacgccggct tctgcatccc cgagggcaac tgcctgggca 3840

gcggcgtgct gaacgtgagc atctgcaaga acggcgcccc catcatcatg agcttccccc 3900

acttctacca ggccgacgag cgcttcgtga gcgccatcga gggcatgcac cccaaccagg 3960

aggaccacga gaccttcgtg gacatcaacc ccctgaccgg catcatcctg aaggccgcca 4020

agcgcttcca gatcaacatc tacgtgaaga agctggacga cttcgtggag accggcgaca 4080

tccgcaccat ggtgttcccc gtgatgtacc tgaacgagag cgtgcacatc gacaaggaga 4140

ccgccagccg cctgaagagc atgatcaaca ccaccctgat catcaccaac atcccctaca 4200

tcatcatggc cctgggcgtg ttcttcggcc tggtgttcac ctggctggcc tgcaagggcc 4260

agggcagcat ggacgagggc accgccgacg agcgcgcccc cctgatccgc acctgaccca 4320
ggggactcaa tcagcctcga agacatgata agatacattg atgagtttgg acaaaccaca 4380
acaagaatgc agtgaaaaaa atgctttatt tgtgaaattt gtgatgctat tgctttattt 4440
gtaaccatta taagctgcaa taaacaagtt aacaacaaca attgcattca ttttatgttt 4500
caggttcagg gggagatgtg ggaggttttt taaagcaagt aaaacctcta caaatgtggt 4560
atgaacatat tgactgaatt ccctgcaggt tggccactcc ctctctgcgc gctcgctcgc 4620
tcactgaggc cgcccgggca aagcccgggc gtcgggcgac ctttggtcgc ccggcctcag 4680

tgagcgagcg agcgcgcaga gagggagtgg ccaactccat cactaggggt tcctgcggcc 4740
gctcgtacgg tctcgaggaa ttcctgcagg ataacttgcc aacctcattc taaaatgtat 4800
atagaagccc aaaagacaat aacaaaaata ttcttgtaga acaaaatggg aaagaatgtt 4860
ccactaaata tcaagattta gagcaaagca tgagatgtgt ggggatagac agtgaggctg 4920
ataaaataga gtagagctca gaaacagacc cattgatata tgtaagtgac ctatgaaaaa 4980
aatatggcat tttacaatgg gaaaatgatg gtctttttct tttttagaaa aacagggaaa 5040
tatatttata tgtaaaaaat aaaagggaac ccatatgtca taccatacac acaaaaaaat 5100

tccagtgaat tataagtcta aatggagaag gcaaaacttt aaatctttta gaaaataata 5160
tagaagcatg cagaccagcc tggccaacat gatgaaaccc tctctactaa taataaaatc 5220
agtagaacta ctcaggacta ctttgagtgg gaagtccttt tctatgaaga cttctttggc 5280
caaaattagg ctctaaatgc aaggagatag tgcatcatgc ctggctgcac ttactgataa 5340
atgatgttat caccatcttt aaccaaatgc acaggaacaa gttatggtac tgatgtgctg 5400
gattgagaag gagctctact tccttgacag gacacatttg tatcaactta aaaaagcaga 5460
tttttgccag cagaactatt cattcagagg taggaaactt agaatagatg atgtcactga 5520

ttagcatggc ttccccatct ccacagctgc ttcccaccca ggttgcccac agttgagttt 5580
gtccagtgct cagggctgcc cactctcagt aagaagcccc acaccagccc ctctccaaat 5640
atgttggctg ttccttccat taaagtgacc ccactttaga gcagcaagtg gatttctgtt 5700
tcttacagtt caggaaggag gagtcagctg tgagaacctg gagcctgaga tgcttctaag 5760
tcccactgct actggggtca gggaagccag actccagcat cagcagtcag gagcactaag 5820
cccttgccaa catcctgttt ctcagagaaa ctgcttccat tataatggtt gtccttttt 5880
aagctatcaa gccaaacaac cagtgtctac cattattctc atcacctgaa gccaagggtt 5940

ctagcaaaag tcaagctgtc ttgtaatggt tgatgtgcct ccagcttctg tcttcagtca 6000

ctccactctt agcctgctct gaatcaactc tgaccacagt tccctggagc ccctgccacc 6060

tgctgcccct gccaccttct ccatctgcag tgctgtgcag ccttctgcac tcttgcagag 6120

ctaataggtg gagacttgaa ggaagaggag gaaagtttct cataatagcc ttgctgcaag 6180

ctcaaatggg aggtgggcac tgtgcccagg agccttggag caaaggctgt gcccaacctc 6240

tgactgcatc caggtttggt cttgacagag ataagaagcc ctggcttttg gagccaaaat 6300

ctaggtcaga cttaggcagg attctcaaag tttatcagca gaacatgagg cagaagaccc 6360

tttctgctcc agcttcttca ggctcaacct tcatcagaat agatagaaag agaggctgtg 6420

agggttctta aaacagaagc aaatctgact cagagaataa acaacctcct agtaaactac 6480

agcttagaca gagcatctgg tggtgagtgt gctcagtgtc ctactcaact gtctggtatc 6540

agccctcatg aggacttctc ttctttccct catagacctc catctctgtt ttccttagcc 6600

tgcagaaatc tggatggcta ttcacagaat gcctgtgctt tcagagttgc atttttttctc 6660

tggtattctg gttcaagcat ttgaaggtag gaaaggttct ccaagtgcaa gaaagccagc 6720

cctgagcctc aactgcctgg ctagtgtggt cagtaggatg caaaggctgt tgaatgccac 6780

aaggccaaac tttaacctgt gtaccacaag cctagcagca gaggcagctc tgctcactgg 6840

aactctctgt cttctttctc ctgagccttt tcttttcctg agttttctag ctctcctcaa 6900

ccttacctct gccctaccca ggacaaaccc aagagccact gtttctgtga tgtcctctcc 6960

agccctaatt aggcatcatg acttcagcct gaccttccat gctcagaagc agtgctaatc 7020

cacttcagat gagctgctct atgcaacaca ggcagagcct acaaaccttt gcaccagagc 7080

cctccacata tcagtgtttg ttcatactca cttcaacagc aaatgtgact gctgagatta 7140

agattttaca caagatggtc tgtaatttca cagttagttt tatcccatta ggtatgaaag 7200

aattagcata attcccctta aacatgaatg aatcttagat tttttaataa atagttttgg 7260

aagtaaagac agagacatca ggagcacaag gaatagcctg agaggacaaa cagaacaaga 7320

aagagtctgg aaatacacag gatgttcttg gcctcctcaa agcaagtgca agcagatagt 7380

accagcagcc ccaggctatc agagcccagt gaagagaagt accatgaaag ccacagctct 7440

aaccaccctg ttccagagtg acagacagtc cccaagacaa gccagcctga gccagagaga 7500

gaactgcaag agaaagtttc taatttaggt tctgttagat tcagacaagt gcaggtcatc 7560

ctctctccac agctactcac ctctccagcc taacaaagcc tgcagtccac actccaaccc 7620

tggtgtctca cctcctagcc tctcccaaca tcctgctctc tgaccatctt ctgcatctct 7680

catctcacca tctcccactg tctacagcct actcttgcaa ctaccatctc attttctgac 7740

atcctgtcta catcttctgc catactctgc catctaccat accacctctt accatctacc 7800

acaccatctt ttatctccat ccctctcaga agcctccaag ctgaatcctg ctttatgtgt 7860

tcatctcagc ccctgcatgg aaagctgacc ccagaggcag aactattccc agagagcttg 7920

gccaagaaaa acaaaactac cagcctggcc aggctcagga gtagtaagct gcagtgtctg 7980

ttgtgttcta gcttcaacag ctgcaggagt tccactctca aatgctccac atttctcaca 8040

tcctcctgat tctggtcact acccatcttc aaagaacaga atatctcaca tcagcatact 8100

gtgaaggact agtcatgggt gcagctgctc agagctgcaa agtcattctg gatggtggag 8160

agcttacaaa catttcatga tgctcccccc gctctgatgg ctggagccca atccctacac 8220

agactcctgc tgtatgtgtt ttcctttcac tctgagccac agccagaggg caggcattca 8280

gtctcctctt caggctgggg ctggggcact gagaactcac ccaacacctt gctctcactc 8340

cttctgcaaa acaagaaaga gctttgtgct gcagtagcca tgaagaatga aaggaaggct 8400

ttaactaaaa aatgtcagag attattttca acccccttact gtggatcacc agcaaggagg 8460

aaacacaaca cagagacatt ttttcccctc aaattatcaa aagaatcact gcatttgtta 8520

aagagagcaa ctgaatcagg aagcagagtt ttgaacatat cagaagttag gaatctgcat 8580

cagagacaaa tgcagtcatg gttgtttgct gcataccagc cctaatcatt agaagcctca 8640

tggacttcaa acatcattcc ctctgacaag atgctctagc ctaactccat gagataaaat 8700

aaatctgcct ttcagagcca aagaagagtc caccagcttc ttctcagtgt gaacaagagc 8760

tccagtcagg ttagtcagtc cagtgcagta gaggagacca gtctgcatcc tctaattttc 8820

aaaggcaaga agatttgttt accctggaca ccaggcacaa gtgaggtcac agagctctta 8880

gatatgcagt cctcatgagt gaggagacta aagcgcatgc catcaagact tcagtgtaga 8940

gaaaacctcc aaaaaagcct cctcactact tctggaatag ctcagaggcc gaggcggcct 9000

cggcctctgc ataaataaaa aaaattagtc agccatgggg cggagaatgg gcggaactgg 9060

gcggagttag gggcgggatg ggcggagtta ggggcgggac tatggttgct gactaattga 9120

gatgcatgct ttgcatactt ctgcctgctg gggagcctgg ggactttcca cacctggttg 9180

ctgactaatt gagatgcatg ctttgcatac ttctgcctgc tggggagcct ggggactttc 9240

cacaccctaa ctgacacaca ttccacagct gcattaatga atcggccaac gcgcggggag 9300

aggcggtttg cgtattgggc gctcttccgc ttcctcgctc actgactcgc tgcgctcggt 9360

cgttcggctg cggcgagcgg tatcagctca ctcaaaggcg gtaatacggt tatccacaga 9420

atcaggggat aacgcaggaa agaacatgtg agcaaaaggc cagcaaaagg ccaggaaccg 9480

taaaaaggcc gcgttgctgg cgtttttcca taggctccgc ccccctgacg agcatcacaa 9540

aaatcgacgc tcaagtcaga ggtggcgaaa cccgacagga ctataaagat accaggcgtt 9600

tccccctgga agctccctcg tgcgctctcc tgttccgacc ctgccgctta ccggatacct 9660

gtccgccttt ctcccttcgg gaagcgtggc gctttctcat agctcacgct gtaggtatct 9720

cagttcggtg taggtcgttc gctccaagct gggctgtgtg cacgaacccc ccgttcagcc 9780
cgaccgctgc gccttatccg gtaactatcg tcttgagtcc aacccggtaa gacacgactt 9840
atcgccactg gcagcagcca ctggtaacag gattagcaga gcgaggtatg taggcggtgc 9900
tacagagttc ttgaagtggt ggcctaacta cggctacact agaagaacag tatttggtat 9960
ctgcgctctg ctgaagccag ttaccttcgg aaaaagagtt ggtagctctt gatccggcaa 10020
acaaaccacc gctggtagcg gtggtttttt tgtttgcaag cagcagatta cgcgcagaaa 10080
aaaaggatct caagaagatc ctttgatctt ttctacgggg tctgacgctc agtggaacga 10140

aaactcacgt taagggattt tggtcatgag attatcaaaa aggatcttca cctagatcct 10200
tttaaattaa aaatgaagtt ttaaatcaat ctaaagtata tatgagtaaa cttggtctga 10260
cagttaccaa tgcttaatca gtgaggcacc tatctcagcg atctgtctat ttcgttcatc 10320
catagttgcc tgactcctgc aaaccacgtt gtgtctcaaa atctctgatg ttacattgca 10380
caagataaaa atatatcatc atgaacaata aaactgtctg cttacataaa cagtaataca 10440
aggggtgtta tgagccatat tcaacgggaa acgtcttgct cgaggccgcg attaaattcc 10500
aacatggatg ctgatttata tgggtataaa tgggctcgcg ataatgtcgg gcaatcaggt 10560

gcgacaatct atcgattgta tgggaagccc gatgcgccag agttgtttct gaaacatggc 10620
aaaggtagcg ttgccaatga tgttacagat gagatggtca gactaaactg gctgacggaa 10680
tttatgcctc ttccgaccat caagcatttt atccgtactc ctgatgatgc atggttactc 10740
accactgcga tccccgggaa aacagcattc caggtattag aagaatatcc tgattcaggt 10800
gaaaatattg ttgatgcgct ggcagtgttc ctgcgccggt tgcattcgat tcctgtttgt 10860
aattgtcctt ttaacagcga tcgcgtattt cgtctcgctc aggcgcaatc acgaatgaat 10920
aacggtttgg ttgatgcgag tgattttgat gacgagcgta atggctggcc tgttgaacaa 10980

gtctggaaag aaatgcataa gcttttgcca ttctcaccgg attcagtcgt cactcatggt 11040
gatttctcac ttgataacct tatttttgac gaggggaaat taataggttg tattgatgtt 11100
ggacgagtcg gaatcgcaga ccgataccag gatcttgcca tcctatggaa ctgcctcggt 11160
gagttttctc cttcattaca gaaacggctt tttcaaaaat atggtattga taatcctgat 11220
atgaataaat tgcagtttca tttgatgctc gatgagtttt tctaagggcg gcctgccacc 11280
atacccacgc cgaaacaagc gctcatgagc ccgaagtggc gagcccgatc ttccccatcg 11340
gtgatgtcgg cgatataggc gccagcaacc gcacctgtgg cgccggtgat gagggcgcgc 11400

caagtcgacg tccggcagtc 11420

<210> 4

<211> 11171

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polynucleotide

<400> 4

ttggccactc cctctctgcg cgctcgctcg ctcactgagg ccgggcgacc aaaggtcgcc 60

cgacgcccgg gctttgcccg ggcggcctca gtgagcgagc gagcgcgcag agagggagtg 120

gccaactcca tcactagggg ttcctgctag ctctgggtat ttaagcccga gtgagcacgc 180

agggtctcca ttttgaagcg ggaggttacg cgttcgtcga ctactagtgg gtaccagagc 240

tccctaggtt ctagaaccgg tgacgtctcc catggtgaag cttggatctg agggcggagt 300

tagggcggag ccaatcagcg tgcgccgttc cgaaagttgc cttttatggc tgggcggaga 360

atgggcggtg aacgccgatg attatataag gacgcgccgg gtgtggcaca gctagttccg 420

tcgcagccgg gatttgggtc gcggttcttg tttgtggatc cctgtgatcg tcacttggta 480

agtcactgac tgtctatgcc tgggaaaggg tgggcaggag atggggcagt gcaggaaaag 540

tggcactatg aaccctcctg gtggcgaggg gagggggggtg gtcctcgaac gccttgcaga 600

actggcctgg atacagagtg gaccggctgg ccccatctgg aagacttcga gatacactgt 660

tgtcttactg cgctcaacag tgtatctcga agtcttccaa atggtgccag ccatcgcagc 720

ggggtgcagg aaatgggggc agccccccctt tttggctatc cttccacgtg ttctttttttg 780

tatcttttgt gtttcctaga aaacatctca gtcaccaccg cagccctagg aatgcatcta 840

gacaattgta ctaaccttct tctctttcct ctcctgacag tccggaaagc caccatgggc 900

cgctgctgct tctacaccgc cggcaccctg agcctgctgc tgctggtgac cagcgtgacc 960

ctgctggtgg cccgcgtgtt ccagaaggcc gtggaccaga gcatcgagaa gaagatcgtg 1020

ctgcgcaacg gcaccgaggc cttcgacagc tgggagaagc ccccccctgcc cgtgtacacc 1080

cagttctact tcttcaacgt gaccaacccc gaggagatcc tgcgcggcga gacccccccgc 1140

gtggaggagg tgggccccta cacctaccgc gagctgcgca acaaggccaa catccagttc 1200

ggcgacaacg gcaccaccat cagcgccgtg agcaacaagg cctacgtgtt cgagcgcgac 1260

cagagcgtgg gcgaccccaa gatcgacctg atccgcaccc tgaacatccc cgtgctgacc 1320

gtgatcgagt ggagccaggt gcacttcctg cgcgagatca tcgaggccat gctgaaggcc 1380

taccagcaga agctgttcgt gacccacacc gtggacgagc tgctgtgggg ctacaaggac 1440

gagatcctga gcctgatcca cgtgttccgc cccgacatca gcccctactt cggcctgttc 1500

tacgagaaga acggcaccaa cgacggcgac tacgtgttcc tgaccggcga ggacagctac 1560

ctgaacttca ccaagatcgt ggagtggaac ggcaagacca gcctggactg gtggatcacc 1620

gacaagtgca acatgatcaa cggcaccgac ggcgacagct tccacccccct gatcaccaag 1680

gacgaggtgc tgtacgtgtt ccccagcgac ttctgccgca gcgtgtacat caccttcagc 1740

gactacgaga gcgtgcaggg cctgcccgcc ttccgctaca aggtgcccgc cgagatcctg 1800

gccaacacca gcgacaacgc cggcttctgc atccccgagg gcaactgcct gggcagcggc 1860

gtgctgaacg tgagcatctg caagaacggc gcccccatca tcatgagctt cccccacttc 1920

taccaggccg acgagcgctt cgtgagcgcc atcgagggca tgcaccccaa ccaggaggac 1980

cacgagacct tcgtggacat caaccccctg accggcatca tcctgaaggc cgccaagcgc 2040

ttccagatca acatctacgt gaagaagctg gacgacttcg tggagaccgg cgacatccgc 2100

accatggtgt tccccgtgat gtacctgaac gagagcgtgc acatcgacaa ggagaccgcc 2160

agccgcctga agagcatgat caacaccacc ctgatcatca ccaacatccc ctacatcatc 2220

atggccctgg gcgtgttctt cggcctggtg ttcacctggc tggcctgcaa gggccagggc 2280

agcatggacg agggcaccgc cgacgagcgc gcccccctga tccgcaccga gggcagagga 2340

agtcttctga catgcggaga cgtggaagag aatcccggcc ctatggaatt cagcagcccc 2400

agcagagagg aatgccccaa gcctctgagc cgggtgtcaa tcatggccgg atctctgaca 2460

ggactgctgc tgcttcaggc cgtgtcttgg gcttctggcg ctagaccttg catccccaag 2520

agcttcggct acagcagcgt cgtgtgcgtg tgcaatgcca cctactgcga cagcttcgac 2580

cctcctacct ttcctgctct gggcaccttc agcagatacg agagcaccag atccggcaga 2640

cggatggaac tgagcatggg acccatccag gccaatcaca caggcactgg cctgctgctg 2700

acactgcagc ctgagcagaa attccagaaa gtgaaaggct tcggcggagc catgacagat 2760

gccgccgctc tgaatatcct ggctctgtct ccaccagctc agaacctgct gctcaagagc 2820

tacttcagcg aggaaggcat cggctacaac atcatcagag tgcccatggc cagctgcgac 2880

ttcagcatca ggacctacac ctacgccgac acacccgacg atttccagct gcacaacttc 2940

agcctgcctg aagaggacac caagctgaag atccctctga tccacagagc cctgcagctg 3000

gcacaaagac ccgtgtcact gctggcctct ccatggacat ctcccacctg gctgaaaaca 3060

aatggcgccg tgaatggcaa gggcagcctg aaaggccaac ctggcgacat ctaccaccag 3120

acctgggcca gatacttcgt gaagttcctg gacgcctatg ccgagcacaa gctgcagttt 3180

tgggccgtga cagccgagaa cgaaccttct gctggactgc tgagcggcta ccccttttcag 3240

tgcctgggct ttacacccga gcaccagcgg gactttatcg cccgtgatct gggacccaca 3300

ctggccaata gcacccacca taatgtgcgg ctgctgatgc tggacgacca gagactgctt 3360

ctgccccact gggctaaagt ggtgctgaca gatcctgagg ccgccaaata cgtgcacgga 3420

atcgccgtgc actggtatct ggactttctg gcccctgcca aggccacact gggagagaca 3480

cacagactgt tccccaacac catgctgttc gccagcgaag cctgtgtggg cagcaagttt 3540

tgggaacaga gcgtgcggct cggcagctgg gatagaggca tgcagtacag ccacagcatc 3600

atcaccaacc tgctgtacca cgtcgtcggc tggaccgact ggaatctggc cctgaatcct 3660

gaaggcggcc ctaactgggt ccgaaacttc gtggacagcc ccatcatcgt ggacatcacc 3720

aaggacacct tctacaagca gcccatgttc taccacctgg gacacttcag caagttcatc 3780

cccgagggct ctcagcgcgt tggactggtg gcttcccaga agaacgatct ggacgccgtg 3840

gctctgatgc accctgatgg atctgctgtg gtggtggtcc tgaaccgcag cagcaaagat 3900

gtgcccctga ccatcaagga tcccgccgtg ggattcctgg aaacaatcag ccctggctac 3960

tccatccaca cctacctgtg gcgtagacag tgacaattgt taattaagtt taaaccctcg 4020

aggccgcaag ccgcatcgat accgtcgact agagctcgct gatcagcctc gactgtgcct 4080

tctagttgcc agccatctgt tgtttgcccc tcccccgtgc cttccttgac cctggaaggt 4140

gccactccca ctgtcctttc ctaataaaat gaggaaattg catcgcattg tctgagtagg 4200

tgtcattcta ttctgggggg tggggtgggg caggacagca agggggagga ttgggaagac 4260

aatagcaggc atgctgggga gagatccacg ataacaaaca gctttttgg ggtgaacata 4320

ttgactgaat tccctgcagg ttggccactc cctctctgcg cgctcgctcg ctcactgagg 4380

ccgcccgggc aaagcccggg cgtcgggcga cctttggtcg cccggcctca gtgagcgagc 4440

gagcgcgcag agagggagtg gccaactcca tcactagggg ttcctgcggc cgctcgtacg 4500

gtctcgagga attcctgcag gataacttgc caacctcatt ctaaaatgta tatagaagcc 4560

caaaagacaa taacaaaaat attcttgtag aacaaaatgg gaaagaatgt tccactaaat 4620

atcaagattt agagcaaagc atgagatgtg tggggataga cagtgaggct gataaaatag 4680

agtagagctc agaaacagac ccattgatat atgtaagtga cctatgaaaa aaatatggca 4740

ttttacaatg ggaaaatgat ggtctttttc ttttttagaa aaacagggaa atatatttat 4800

atgtaaaaaa taaaagggaa cccatatgtc ataccataca cacaaaaaaa ttccagtgaa 4860

ttataagtct aaatggagaa ggcaaaactt taaatctttt agaaaataat atagaagcat 4920

gcagaccagc ctggccaaca tgatgaaacc ctctctacta ataataaaat cagtagaact 4980

actcaggact actttgagtg ggaagtcctt ttctatgaag acttctttgg ccaaaattag 5040

gctctaaatg caaggagata gtgcatcatg cctggctgca cttactgata aatgatgtta 5100

tcaccatctt taaccaaatg cacaggaaca agttatggta ctgatgtgct ggattgagaa 5160

ggagctctac ttccttgaca ggacacattt gtatcaactt aaaaaagcag atttttgcca 5220

gcagaactat tcattcagag gtaggaaact tagaatagat gatgtcactg attagcatgg 5280

cttccccatc tccacagctg cttcccaccc aggttgccca cagttgagtt tgtccagtgc 5340

tcagggctgc ccactctcag taagaagccc cacaccagcc cctctccaaa tatgttggct 5400

gttccttcca ttaaagtgac cccactttag agcagcaagt ggatttctgt ttcttacagt 5460

tcaggaagga ggagtcagct gtgagaacct ggagcctgag atgcttctaa gtcccactgc 5520

tactggggtc agggaagcca gactccagca tcagcagtca ggagcactaa gcccttgcca 5580

acatcctgtt tctcagagaa actgcttcca ttataatggt tgtccttttt taagctatca 5640

agccaaacaa ccagtgtcta ccattattct catcacctga agccaagggt tctagcaaaa 5700

gtcaagctgt cttgtaatgg ttgatgtgcc tccagcttct gtcttcagtc actccactct 5760

tagcctgctc tgaatcaact ctgaccacag ttccctggag cccctgccac ctgctgcccc 5820

tgccaccttc tccatctgca gtgctgtgca gccttctgca ctcttgcaga gctaataggt 5880

ggagacttga aggaagagga ggaaagtttc tcataatagc cttgctgcaa gctcaaatgg 5940

gaggtgggca ctgtgcccag gagccttgga gcaaaggctg tgcccaacct ctgactgcat 6000

ccaggtttgg tcttgacaga gataagaagc cctggctttt ggagccaaaa tctaggtcag 6060

acttaggcag gattctcaaa gtttatcagc agaacatgag gcagaagacc ctttctgctc 6120

cagcttcttc aggctcaacc ttcatcagaa tagatagaaa gagaggctgt gagggttctt 6180

aaaacagaag caaatctgac tcagagaata aacaacctcc tagtaaacta cagcttagac 6240

agagcatctg gtggtgagtg tgctcagtgt cctactcaac tgtctggtat cagccctcat 6300

gaggacttct cttctttccc tcatagacct ccatctctgt tttccttagc ctgcagaaat 6360

ctggatggct attcacagaa tgcctgtgct ttcagagttg catttttct ctggtattct 6420

ggttcaagca tttgaaggta ggaaaggttc tccaagtgca agaaagccag ccctgagcct 6480

caactgcctg gctagtgtgg tcagtaggat gcaaaggctg ttgaatgcca caaggccaaa 6540

ctttaacctg tgtaccacaa gcctagcagc agaggcagct ctgctcactg gaactctctg 6600

tcttctttct cctgagcctt ttcttttcct gagttttcta gctctcctca accttacctc 6660

tgccctaccc aggacaaacc caagagccac tgtttctgtg atgtcctctc cagccctaat 6720

taggcatcat gacttcagcc tgaccttcca tgctcagaag cagtgctaat ccacttcaga 6780

tgagctgctc tatgcaacac aggcagagcc tacaaacctt tgcaccagag ccctccacat 6840

atcagtgttt gttcatactc acttcaacag caaatgtgac tgctgagatt aagattttac 6900

acaagatggt ctgtaatttc acagttagtt ttatcccatt aggtatgaaa gaattagcat 6960

aattcccctt aaacatgaat gaatcttaga ttttttaata aatagttttg gaagtaaaga 7020

cagagacatc aggagcacaa ggaatagcct gagaggacaa acagaacaag aaagagtctg 7080
gaaatacaca ggatgttctt ggcctcctca aagcaagtgc aagcagatag taccagcagc 7140
cccaggctat cagagcccag tgaagagaag taccatgaaa gccacagctc taaccaccct 7200
gttccagagt gacagacagt ccccaagaca agccagcctg agccagagag agaactgcaa 7260
gagaaagttt ctaatttagg ttctgttaga ttcagacaag tgcaggtcat cctctctcca 7320
cagctactca cctctccagc ctaacaaagc ctgcagtcca cactccaacc ctggtgtctc 7380
acctcctagc ctctcccaac atcctgctct ctgaccatct tctgcatctc tcatctcacc 7440

atctcccact gtctacagcc tactcttgca actaccatct cattttctga catcctgtct 7500
acatcttctg ccatactctg ccatctacca taccacctct taccatctac cacaccatct 7560
tttatctcca tccctctcag aagcctccaa gctgaatcct gctttatgtg ttcatctcag 7620
cccctgcatg gaaagctgac cccagaggca gaactattcc cagagagctt ggccaagaaa 7680
aacaaaacta ccagcctggc caggctcagg agtagtaagc tgcagtgtct gttgtgttct 7740
agcttcaaca gctgcaggag ttccactctc aaatgctcca catttctcac atcctcctga 7800
ttctggtcac tacccatctt caaagaacag aatatctcac atcagcatac tgtgaaggac 7860

tagtcatggg tgcagctgct cagagctgca aagtcattct ggatggtgga gagcttacaa 7920
acatttcatg atgctccccc cgctctgatg gctggagccc aatccctaca cagactcctg 7980
ctgtatgtgt tttcctttca ctctgagcca cagccagagg gcaggcattc agtctcctct 8040
tcaggctggg gctggggcac tgagaactca cccaacacct tgctctcact ccttctgcaa 8100
aacaagaaag agctttgtgc tgcagtagcc atgaagaatg aaaggaaggc tttaactaaa 8160
aaatgtcaga gattattttc aaccccttac tgtggatcac cagcaaggag gaaacacaac 8220
acagagacat tttttcccct caaattatca aaagaatcac tgcatttgtt aaagagagca 8280

actgaatcag gaagcagagt tttgaacata tcagaagtta ggaatctgca tcagagacaa 8340
atgcagtcat ggttgtttgc tgcataccag ccctaatcat tagaagcctc atggacttca 8400
aacatcattc cctctgacaa gatgctctag cctaactcca tgagataaaa taaatctgcc 8460
tttcagagcc aaagaagagt ccaccagctt cttctcagtg tgaacaagag ctccagtcag 8520
gttagtcagt ccagtgcagt agaggagacc agtctgcatc ctctaatttt caaaggcaag 8580
aagatttgtt taccctggac accaggcaca agtgaggtca cagagctctt agatatgcag 8640
tcctcatgag tgaggagact aaagcgcatg ccatcaagac ttcagtgtag agaaaacctc 8700

caaaaaagcc tcctcactac ttctggaata gctcagaggc cgaggcggcc tcggcctctg 8760

cataaataaa aaaaattagt cagccatggg gcggagaatg ggcggaactg ggcggagtta 8820

ggggcgggat gggcggagtt aggggcggga ctatggttgc tgactaattg agatgcatgc 8880

tttgcatact tctgcctgct ggggagcctg gggactttcc acacctggtt gctgactaat 8940

tgagatgcat gctttgcata cttctgcctg ctggggagcc tggggacttt ccacacccta 9000

actgacacac attccacagc tgcattaatg aatcggccaa cgcgcgggga gaggcggttt 9060

gcgtattggg cgctcttccg cttcctcgct cactgactcg ctgcgctcgg tcgttcggct 9120

gcggcgagcg gtatcagctc actcaaaggc ggtaatacgg ttatccacag aatcagggga 9180

taacgcagga aagaacatgt gagcaaaagg ccagcaaaag gccaggaacc gtaaaaaggc 9240

cgcgttgctg gcgtttttcc ataggctccg ccccccctgac gagcatcaca aaaatcgacg 9300

ctcaagtcag aggtggcgaa acccgacagg actataaaga taccaggcgt ttcccccctgg 9360

aagctccctc gtgcgctctc ctgttccgac cctgccgctt accggatacc tgtccgcctt 9420

tctcccttcg ggaagcgtgg cgctttctca tagctcacgc tgtaggtatc tcagttcggt 9480

gtaggtcgtt cgctccaagc tgggctgtgt gcacgaaccc cccgttcagc ccgaccgctg 9540

cgccttatcc ggtaactatc gtcttgagtc caacccggta agacacgact tatcgccact 9600

ggcagcagcc actggtaaca ggattagcag agcgaggtat gtaggcggtg ctacagagtt 9660

cttgaagtgg tggcctaact acggctacac tagaagaaca gtatttggta tctgcgctct 9720

gctgaagcca gttaccttcg gaaaaagagt tggtagctct tgatccggca aacaaaccac 9780

cgctggtagc ggtggttttt ttgtttgcaa gcagcagatt acgcgcagaa aaaaaggatc 9840

tcaagaagat cctttgatct tttctacggg gtctgacgct cagtggaacg aaaactcacg 9900

ttaagggatt ttggtcatga gattatcaaa aaggatcttc acctagatcc ttttaaatta 9960

aaaatgaagt tttaaatcaa tctaaagtat atatgagtaa acttggtctg acagttacca 10020

atgcttaatc agtgaggcac ctatctcagc gatctgtcta tttcgttcat ccatagttgc 10080

ctgactcctg caaaccacgt tgtgtctcaa aatctctgat gttacattgc acaagataaa 10140

aatatatcat catgaacaat aaaactgtct gcttacataa acagtaatac aaggggtgtt 10200

atgagccata ttcaacggga aacgtcttgc tcgaggccgc gattaaattc caacatggat 10260

gctgatttat atgggtataa atgggctcgc gataatgtcg ggcaatcagg tgcgacaatc 10320

tatcgattgt atgggaagcc cgatgcgcca gagttgtttc tgaaacatgg caaaggtagc 10380

gttgccaatg atgttacaga tgagatggtc agactaaact ggctgacgga atttatgcct 10440

cttccgacca tcaagcattt tatccgtact cctgatgatg catggttact caccactgcg 10500

atccccgggga aaacagcatt ccaggtatta gaagaatatc ctgattcagg tgaaaatatt 10560

gttgatgcgc tggcagtgtt cctgcgccgg ttgcattcga ttcctgtttg taattgtcct 10620

tttaacagcg atcgcgtatt tcgtctcgct caggcgcaat cacgaatgaa taacggtttg 10680

gttgatgcga gtgattttga tgacgagcgt aatggctggc ctgttgaaca agtctggaaa 10740

gaaatgcata agcttttgcc attctcaccg gattcagtcg tcactcatgg tgatttctca 10800

cttgataacc ttatttttga cgaggggaaa ttaataggtt gtattgatgt tggacgagtc 10860

ggaatcgcag accgatacca ggatcttgcc atcctatgga actgcctcgg tgagttttct 10920

ccttcattac agaaacggct ttttcaaaaa tatggtattg ataatcctga tatgaataaa 10980

ttgcagtttc atttgatgct cgatgagttt ttctaagggc ggcctgccac catacccacg 11040

ccgaaacaag cgctcatgag cccgaagtgg cgagcccgat cttccccatc ggtgatgtcg 11100

gcgatatagg cgccagcaac cgcacctgtg gcgccggtga tgagggcgcg ccaagtcgac 11160

gtccggcagt c 11171

<210> 5

<211> 11309

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polynucleotide

<400> 5

ttggccactc cctctctgcg cgctcgctcg ctcactgagg ccgggcgacc aaaggtcgcc 60

cgacgcccgg gctttgcccg ggcggcctca gtgagcgagc gagcgcgcag agagggagtg 120

gccaactcca tcactagggg ttcctgctag ctctgggtat ttaagcccga gtgagcacgc 180

agggtctcca ttttgaagcg ggaggttacg cgttcgtcga ctactagtgg gtaccagagc 240

tccctaggtt ctagaaccgg tgacgtctcc catggtgaag cttggatctg agggcggagt 300

tagggcggag ccaatcagcg tgcgccgttc cgaaagttgc cttttatggc tgggcggaga 360

atgggcggtg aacgccgatg attatataag gacgcgccgg gtgtggcaca gctagttccg 420

tcgcagccgg gatttgggtc gcggttcttg tttgtggatc cctgtgatcg tcacttggta 480

agtcactgac tgtctatgcc tgggaaaggg tgggcaggag atggggcagt gcaggaaaag 540

tggcactatg aaccctcctg gtggcgaggg gagggggggtg gtcctcgaac gccttgcaga 600

actggcctgg atacagagtg gaccggctgg ccccatctgg aagacttcga gatacactgt 660

tgtcttactg cgctcaacag tgtatctcga agtcttccaa atggtgccag ccatcgcagc 720

ggggtgcagg aaatgggggc agccccccctt tttggctatc cttccacgtg ttctttttttg 780

tatcttttgt gtttcctaga aaacatctca gtcaccaccg cagccctagg aatgcatcta 840

gacaattgta ctaaccttct tctctttcct ctcctgacag tccggaaagc caccatgtac 900

gccctgttcc tgctggccag cctgctgggc gccgccctgg ccggccccgt gctgggcctg 960

aaggagtgca cccgcggcag cgccgtgtgg tgccagaacg tgaagaccgc cagcgactgc 1020

ggcgccgtga agcactgcct gcagaccgtg tggaacaagc ccaccgtgaa gagcctgccc 1080

tgcgacatct gcaaggacgt ggtgaccgcc gccggcgaca tgctgaagga caacgccacc 1140

gaggaggaga tcctggtgta cctggagaag acctgcgact ggctgcccaa gcccaacatg 1200

agcgccagct gcaaggagat cgtggacagc tacctgcccg tgatcctgga catcatcaag 1260

ggcgagatga gccgccccgg cgaggtgtgc agcgccctga acctgtgcga gagcctgcag 1320

aagcacctgg ccgagctgaa ccaccagaag cagctggaga gcaacaagat ccccgagctg 1380

gacatgaccg aggtggtggc ccccttcatg gccaacatcc ccctgctgct gtaccccag 1440

gacggccccc gcagcaagcc ccagcccaag gacaacggcg acgtgtgcca ggactgcatc 1500

cagatggtga ccgacatcca gaccgccgtg cgcaccaaca gcaccttcgt gcaggccctg 1560

gtggagcacg tgaaggagga gtgcgaccgc ctgggccccg gcatggccga catctgcaag 1620

aactacatca gccagtacag cgagatcgcc atccagatga tgatgcacat gcagcccaag 1680

gagatctgcg ccctggtggg cttctgcgac gaggtgaagg agatgcccat gcagaccctg 1740

gtgcccgcca aggtggccag caagaacgtg atccccgccc tggagctggt ggagcccatc 1800

aagaagcacg aggtgcccgc caagagcgac gtgtactgcg aggtgtgcga gttcctggtg 1860

aaggaggtga ccaagctgat cgacaacaac aagaccgaga aggagatcct ggacgccttc 1920

gacaagatgt gcagcaagct gcccaagagc ctgagcgagg agtgccagga ggtggtggac 1980

acctacggca gcagcatcct gagcatcctg ctggaggagg tgagccccga gctggtgtgc 2040

agcatgctgc acctgtgcag cggcacccgc ctgcccgccc tgaccgtgca cgtgacccag 2100

cccaaggacg gcggcttctg cgaggtgtgc aagaagctgg tgggctacct ggaccgcaac 2160

ctggagaaga acagcaccaa gcaggagatc ctggccgccc tggagaaggg ctgcagcttc 2220

ctgcccgacc cctaccagaa gcagtgcgac cagttcgtgg ccgagtacga gcccgtgctg 2280

atcgagatcc tggtggaggt gatggacccc agcttcgtgt gcctgaagat cggcgcctgc 2340

cccagcgccc acaagccccc gctgggcacc gagaagtgca tctggggccc cagctactgg 2400

tgccagaaca ccgagaccgc cgcccagtgc aacgccgtgg agcactgcaa gcgccacgtg 2460

tggaacgagg gcagaggaag tcttctgaca tgcggagacg tggaagagaa tcccggccct 2520

atggaattca gcagccccag cagagaggaa tgccccaagc ctctgagccg ggtgtcaatc 2580

atggccggat ctctgacagg actgctgctg cttcaggccg tgtcttgggc ttctggcgct 2640

agaccttgca tccccaagag cttcggctac agcagcgtcg tgtgcgtgtg caatgccacc 2700

tactgcgaca gcttcgaccc tcctaccttt cctgctctgg gcaccttcag cagatacgag 2760

agcaccagat ccggcagacg gatggaactg agcatgggac ccatccaggc caatcacaca 2820

ggcactggcc tgctgctgac actgcagcct gagcagaaat tccagaaagt gaaaggcttc 2880

ggcggagcca tgacagatgc cgccgctctg aatatcctgg ctctgtctcc accagctcag 2940

aacctgctgc tcaagagcta cttcagcgag gaaggcatcg gctacaacat catcagagtg 3000

cccatggcca gctgcgactt cagcatcagg acctacacct acgccgacac acccgacgat 3060

ttccagctgc acaacttcag cctgcctgaa gaggacacca agctgaagat ccctctgatc 3120

cacagagccc tgcagctggc acaaagaccc gtgtcactgc tggcctctcc atggacatct 3180

cccacctggc tgaaaacaaa tggcgccgtg aatggcaagg gcagcctgaa aggccaacct 3240

ggcgacatct accaccagac ctgggccaga tacttcgtga agttcctgga cgcctatgcc 3300

gagcacaagc tgcagttttg ggccgtgaca gccgagaacg aaccttctgc tggactgctg 3360

agcggctacc cctttcagtg cctgggcttt acacccgagc accagcggga ctttatcgcc 3420

cgtgatctgg gacccacact ggccaatagc acccaccata atgtgcggct gctgatgctg 3480

gacgaccaga gactgcttct gccccactgg gctaaagtgg tgctgacaga tcctgaggcc 3540

gccaaatacg tgcacggaat cgccgtgcac tggtatctgg actttctggc ccctgccaag 3600

gccacactgg gagagacaca cagactgttc cccaacacca tgctgttcgc cagcgaagcc 3660

tgtgtgggca gcaagttttg ggaacagagc gtgcggctcg gcagctggga tagaggcatg 3720

cagtacagcc acagcatcat caccaacctg ctgtaccacg tcgtcggctg gaccgactgg 3780

aatctggccc tgaatcctga aggcggccct aactgggtcc gaaacttcgt ggacagcccc 3840

atcatcgtgg acatcaccaa ggacaccttc tacaagcagc ccatgttcta ccacctggga 3900

cacttcagca agttcatccc cgagggctct cagcgcgttg gactggtggc ttcccagaag 3960

aacgatctgg acgccgtggc tctgatgcac cctgatggat ctgctgtggt ggtggtcctg 4020

aaccgcagca gcaaagatgt gcccctgacc atcaaggatc ccgccgtggg attcctggaa 4080

acaatcagcc ctggctactc catccacacc tacctgtggc gtagacagtg acaattgtta 4140

attaagttta aaccctcgag gccgcaagcc gcatcgatac cgtcgactag agctcgctga 4200

tcagcctcga ctgtgccttc tagttgccag ccatctgttg tttgcccctc ccccgtgcct 4260

tccttgaccc tggaaggtgc cactcccact gtcctttcct aataaaatga ggaaattgca 4320

tcgcattgtc tgagtaggtg tcattctatt ctgggggggtg gggtggggca ggacagcaag 4380

ggggaggatt gggaagacaa tagcaggcat gctggggaga gatccacgat aacaaacagc 4440

ttttttgggg tgaacatatt gactgaattc cctgcaggtt ggccactccc tctctgcgcg 4500

ctcgctcgct cactgaggcc gcccgggcaa agcccgggcg tcgggcgacc tttggtcgcc 4560

cggcctcagt gagcgagcga gcgcgcagag agggagtggc caactccatc actaggggtt 4620
cctgcggccg ctcgtacggt ctcgaggaat tcctgcagga taacttgcca acctcattct 4680
aaaatgtata tagaagccca aaagacaata acaaaaatat tcttgtagaa caaaatggga 4740
aagaatgttc cactaaatat caagatttag agcaaagcat gagatgtgtg gggatagaca 4800
gtgaggctga taaaatagag tagagctcag aaacagaccc attgatatat gtaagtgacc 4860
tatgaaaaaa atatggcatt ttacaatggg aaaatgatgg tctttttctt ttttagaaaa 4920
acagggaaat atatttatat gtaaaaaata aaagggaacc catatgtcat accatacaca 4980

caaaaaaatt ccagtgaatt ataagtctaa atggagaagg caaaacttta aatcttttag 5040
aaaataatat agaagcatgc agaccagcct ggccaacatg atgaaaccct ctctactaat 5100
aataaaatca gtagaactac tcaggactac tttgagtggg aagtcctttt ctatgaagac 5160
ttctttggcc aaaattaggc tctaaatgca aggagatagt gcatcatgcc tggctgcact 5220
tactgataaa tgatgttatc accatcttta accaaatgca caggaacaag ttatggtact 5280
gatgtgctgg attgagaagg agctctactt ccttgacagg acacatttgt atcaacttaa 5340
aaaagcagat ttttgccagc agaactattc attcagaggt aggaaactta gaatagatga 5400

tgtcactgat tagcatggct tccccatctc cacagctgct tcccacccag gttgcccaca 5460
gttgagtttg tccagtgctc agggctgccc actctcagta agaagcccca caccagcccc 5520
tctccaaata tgttggctgt tccttccatt aaagtgaccc cactttagag cagcaagtgg 5580
atttctgttt cttacagttc aggaaggagg agtcagctgt gagaacctgg agcctgagat 5640
gcttctaagt cccactgcta ctggggtcag ggaagccaga ctccagcatc agcagtcagg 5700
agcactaagc ccttgccaac atcctgtttc tcagagaaac tgcttccatt ataatggttg 5760
tccttttta agctatcaag ccaaacaacc agtgtctacc attattctca tcacctgaag 5820

ccaagggttc tagcaaaagt caagctgtct tgtaatggtt gatgtgcctc cagcttctgt 5880
cttcagtcac tccactctta gcctgctctg aatcaactct gaccacagtt ccctggagcc 5940
cctgccacct gctgcccctg ccaccttctc catctgcagt gctgtgcagc cttctgcact 6000
cttgcagagc taataggtgg agacttgaag gaagaggagg aaagtttctc ataatagcct 6060
tgctgcaagc tcaaatggga ggtgggcact gtgcccagga gccttggagc aaaggctgtg 6120
cccaacctct gactgcatcc aggtttggtc ttgacagaga taagaagccc tggcttttgg 6180
agccaaaatc taggtcagac ttaggcagga ttctcaaagt ttatcagcag aacatgaggc 6240

agaagaccct ttctgctcca gcttcttcag gctcaacctt catcagaata gatagaaaga 6300

gaggctgtga gggttcttaa aacagaagca aatctgactc agagaataaa caacctccta 6360

gtaaactaca gcttagacag agcatctggt ggtgagtgtg ctcagtgtcc tactcaactg 6420

tctggtatca gccctcatga ggacttctct tctttccctc atagacctcc atctctgttt 6480

tccttagcct gcagaaatct ggatggctat tcacagaatg cctgtgcttt cagagttgca 6540

ttttttctct ggtattctgg ttcaagcatt tgaaggtagg aaaggttctc caagtgcaag 6600

aaagccagcc ctgagcctca actgcctggc tagtgtggtc agtaggatgc aaaggctgtt 6660

gaatgccaca aggccaaact ttaacctgtg taccacaagc ctagcagcag aggcagctct 6720

gctcactgga actctctgtc ttctttctcc tgagcctttt cttttcctga gttttctagc 6780

tctcctcaac cttacctctg ccctacccag gacaaaccca agagccactg tttctgtgat 6840

gtcctctcca gccctaatta ggcatcatga cttcagcctg accttccatg ctcagaagca 6900

gtgctaatcc acttcagatg agctgctcta tgcaacacag gcagagccta caaacctttg 6960

caccagagcc ctccacatat cagtgtttgt tcatactcac ttcaacagca aatgtgactg 7020

ctgagattaa gattttacac aagatggtct gtaatttcac agttagtttt atcccattag 7080

gtatgaaaga attagcataa ttccccttaa acatgaatga atcttagatt ttttaataaa 7140

tagttttgga agtaaagaca gagacatcag gagcacaagg aatagcctga gaggacaaac 7200

agaacaagaa agagtctgga aatacacagg atgttcttgg cctcctcaaa gcaagtgcaa 7260

gcagatagta ccagcagccc caggctatca gagcccagtg aagagaagta ccatgaaagc 7320

cacagctcta accaccctgt tccagagtga cagacagtcc ccaagacaag ccagcctgag 7380

ccagagagag aactgcaaga gaaagtttct aatttaggtt ctgttagatt cagacaagtg 7440

caggtcatcc tctctccaca gctactcacc tctccagcct aacaaagcct gcagtccaca 7500

ctccaaccct ggtgtctcac ctcctagcct ctcccaacat cctgctctct gaccatcttc 7560

tgcatctctc atctcaccat ctcccactgt ctacagccta ctcttgcaac taccatctca 7620

ttttctgaca tcctgtctac atcttctgcc atactctgcc atctaccata ccacctctta 7680

ccatctacca caccatcttt tatctccatc cctctcagaa gcctccaagc tgaatcctgc 7740

tttatgtgtt catctcagcc cctgcatgga aagctgaccc cagaggcaga actattccca 7800

gagagcttgg ccaagaaaaa caaaactacc agcctggcca ggctcaggag tagtaagctg 7860

cagtgtctgt tgtgttctag cttcaacagc tgcaggagtt ccactctcaa atgctccaca 7920

tttctcacat cctcctgatt ctggtcacta cccatcttca aagaacagaa tatctcacat 7980

cagcatactg tgaaggacta gtcatgggtg cagctgctca gagctgcaaa gtcattctgg 8040

atggtggaga gcttacaaac atttcatgat gctccccccg ctctgatggc tggagcccaa 8100

tccctacaca gactcctgct gtatgtgttt tcctttcact ctgagccaca gccagagggc 8160

aggcattcag tctcctcttc aggctggggc tggggcactg agaactcacc caacaccttg 8220

ctctcactcc ttctgcaaaa caagaaagag ctttgtgctg cagtagccat gaagaatgaa 8280

aggaaggctt taactaaaaa atgtcagaga ttattttcaa ccccttactg tggatcacca 8340

gcaaggagga aacacaacac agagacattt tttcccctca aattatcaaa agaatcactg 8400

catttgttaa agagagcaac tgaatcagga agcagagttt tgaacatatc agaagttagg 8460

aatctgcatc agagacaaat gcagtcatgg ttgtttgctg cataccagcc ctaatcatta 8520

gaagcctcat ggacttcaaa catcattccc tctgacaaga tgctctagcc taactccatg 8580

agataaaata aatctgcctt tcagagccaa agaagagtcc accagcttct tctcagtgtg 8640

aacaagagct ccagtcaggt tagtcagtcc agtgcagtag aggagaccag tctgcatcct 8700

ctaattttca aaggcaagaa gatttgttta ccctggacac caggcacaag tgaggtcaca 8760

gagctcttag atatgcagtc ctcatgagtg aggagactaa agcgcatgcc atcaagactt 8820

cagtgtagag aaaacctcca aaaaagcctc ctcactactt ctggaatagc tcagaggccg 8880

aggcggcctc ggcctctgca taaataaaaa aaattagtca gccatggggc ggagaatggg 8940

cggaactggg cggagttagg ggcgggatgg gcggagttag gggcgggact atggttgctg 9000

actaattgag atgcatgctt tgcatacttc tgcctgctgg ggagcctggg gactttccac 9060

acctggttgc tgactaattg agatgcatgc tttgcatact tctgcctgct ggggagcctg 9120

gggactttcc acaccctaac tgacacacat tccacagctg cattaatgaa tcggccaacg 9180

cgcggggaga ggcggtttgc gtattgggcg ctcttccgct tcctcgctca ctgactcgct 9240

gcgctcggtc gttcggctgc ggcgagcggt atcagctcac tcaaaggcgg taatacggtt 9300

atccacagaa tcaggggata acgcaggaaa gaacatgtga gcaaaaggcc agcaaaaggc 9360

caggaaccgt aaaaaggccg cgttgctggc gtttttccat aggctccgcc cccctgacga 9420

gcatcacaaa aatcgacgct caagtcagag gtggcgaaac ccgacaggac tataaagata 9480

ccaggcgttt cccccctggaa gctccctcgt gcgctctcct gttccgaccc tgccgcttac 9540

cggatacctg tccgcctttc tcccttcggg aagcgtggcg ctttctcata gctcacgctg 9600

taggtatctc agttcggtgt aggtcgttcg ctccaagctg ggctgtgtgc acgaaccccc 9660

cgttcagccc gaccgctgcg ccttatccgg taactatcgt cttgagtcca acccggtaag 9720

acacgactta tcgccactgg cagcagccac tggtaacagg attagcagag cgaggtatgt 9780

aggcggtgct acagagttct tgaagtggtg gcctaactac ggctacacta gaagaacagt 9840

atttggtatc tgcgctctgc tgaagccagt taccttcgga aaaagagttg gtagctcttg 9900

atccggcaaa caaaccaccg ctggtagcgg tggttttttt gtttgcaagc agcagattac 9960

gcgcagaaaa aaaggatctc aagaagatcc tttgatcttt tctacggggt ctgacgctca 10020

gtggaacgaa aactcacgtt aagggatttt ggtcatgaga ttatcaaaaa ggatcttcac 10080
ctagatcctt ttaaattaaa aatgaagttt taaatcaatc taaagtatat atgagtaaac 10140
ttggtctgac agttaccaat gcttaatcag tgaggcacct atctcagcga tctgtctatt 10200
tcgttcatcc atagttgcct gactcctgca aaccacgttg tgtctcaaaa tctctgatgt 10260
tacattgcac aagataaaaa tatatcatca tgaacaataa aactgtctgc ttacataaac 10320
agtaatacaa ggggtgttat gagccatatt caacgggaaa cgtcttgctc gaggccgcga 10380
ttaaattcca acatggatgc tgatttatat gggtataaat gggctcgcga taatgtcggg 10440

caatcaggtg cgacaatcta tcgattgtat gggaagcccg atgcgccaga gttgtttctg 10500
aaacatggca aaggtagcgt tgccaatgat gttacagatg agatggtcag actaaactgg 10560
ctgacggaat ttatgcctct tccgaccatc aagcatttta tccgtactcc tgatgatgca 10620
tggttactca ccactgcgat ccccgggaaa acagcattcc aggtattaga agaatatcct 10680
gattcaggtg aaaatattgt tgatgcgctg gcagtgttcc tgcgccggtt gcattcgatt 10740
cctgtttgta attgtccttt taacagcgat cgcgtatttc gtctcgctca ggcgcaatca 10800
cgaatgaata acggtttggt tgatgcgagt gattttgatg acgagcgtaa tggctggcct 10860

gttgaacaag tctggaaaga aatgcataag cttttgccat tctcaccgga ttcagtcgtc 10920
actcatggtg atttctcact tgataacctt atttttgacg aggggaaatt aataggttgt 10980
attgatgttg gacgagtcgg aatcgcagac cgataccagg atcttgccat cctatggaac 11040
tgcctcggtg agttttctcc ttcattacag aaacggcttt ttcaaaaata tggtattgat 11100
aatcctgata tgaataaatt gcagtttcat ttgatgctcg atgagttttt ctaagggcgg 11160
cctgccacca tacccacgcc gaaacaagcg ctcatgagcc cgaagtggcg agcccgatct 11220
tccccatcgg tgatgtcggc gatataggcg ccagcaaccg cacctgtggc gccggtgatg 11280

agggcgcgcc aagtcgacgt ccggcagtc 11309

<210> 6

<211> 11293

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polynucleotide

<400> 6

ttggccactc cctctctgcg cgctcgctcg ctcactgagg ccgggcgacc aaaggtcgcc 60
cgacgcccgg gctttgcccg ggcggcctca gtgagcgagc gagcgcgcag agagggagtg 120

gccaactcca tcactagggg ttcctgctag ctctgggtat ttaagcccga gtgagcacgc 180

agggtctcca ttttgaagcg ggaggttacg cgttcgtcga ctactagtgg gtaccagagc 240

tccctaggtt ctagaaccgg tgacgtctcc catggtgaag cttggatctg agggcggagt 300

tagggcggag ccaatcagcg tgcgccgttc cgaaagttgc cttttatggc tgggcggaga 360

atgggcggtg aacgccgatg attatataag gacgcgccgg gtgtggcaca gctagttccg 420

tcgcagccgg gatttgggtc gcggttcttg tttgtggatc cctgtgatcg tcacttggta 480

agtcactgac tgtctatgcc tgggaaaggg tgggcaggag atggggcagt gcaggaaaag 540

tggcactatg aaccctgcag ccctaggaat gcatctagac aattgtacta accttcttct 600

ctttcctctc ctgacagtcc ggaaagccac catgtacgcc ctgttcctgc tggccagcct 660

gctgggcgcc gccctggccg gccccgtgct gggcctgaag gagtgcaccc gcggcagcgc 720

cgtgtggtgc cagaacgtga agaccgccag cgactgcggc gccgtgaagc actgcctgca 780

gaccgtgtgg aacaagccca ccgtgaagag cctgccctgc gacatctgca aggacgtggt 840

gaccgccgcc ggcgacatgc tgaaggacaa cgccaccgag gaggagatcc tggtgtacct 900

ggagaagacc tgcgactggc tgcccaagcc caacatgagc gccagctgca aggagatcgt 960

ggacagctac ctgcccgtga tcctggacat catcaagggc gagatgagcc gccccggcga 1020

ggtgtgcagc gccctgaacc tgtgcgagag cctgcagaag cacctggccg agctgaacca 1080

ccagaagcag ctggagagca acaagatccc cgagctggac atgaccgagg tggtggcccc 1140

cttcatggcc aacatccccc tgctgctgta cccccaggac ggcccccgca gcaagcccca 1200

gcccaaggac aacggcgacg tgtgccagga ctgcatccag atggtgaccg acatccagac 1260

cgccgtgcgc accaacagca ccttcgtgca ggccctggtg gagcacgtga aggaggagtg 1320

cgaccgcctg ggccccggca tggccgacat ctgcaagaac tacatcagcc agtacagcga 1380

gatcgccatc cagatgatga tgcacatgca gcccaaggag atctgcgccc tggtgggctt 1440

ctgcgacgag gtgaaggaga tgcccatgca gaccctggtg cccgccaagg tggccagcaa 1500

gaacgtgatc cccgccctgg agctggtgga gcccatcaag aagcacgagg tgcccgccaa 1560

gagcgacgtg tactgcgagg tgtgcgagtt cctggtgaag gaggtgacca agctgatcga 1620

caacaacaag accgagaagg agatcctgga cgccttcgac aagatgtgca gcaagctgcc 1680

caagagcctg agcgaggagt gccaggaggt ggtggacacc tacggcagca gcatcctgag 1740

catcctgctg gaggaggtga gccccgagct ggtgtgcagc atgctgcacc tgtgcagcgg 1800

cacccgcctg cccgccctga ccgtgcacgt gacccagccc aaggacggcg gcttctgcga 1860

ggtgtgcaag aagctggtgg gctacctgga ccgcaacctg gagaagaaca gcaccaagca 1920

ggagatcctg gccgccctgg agaagggctg cagcttcctg cccgacccct accagaagca 1980

gtgcgaccag ttcgtggccg agtacgagcc cgtgctgatc gagatcctgg tggaggtgat 2040
ggaccccagc ttcgtgtgcc tgaagatcgg cgcctgcccc agcgcccaca agcccctgct 2100
gggcaccgag aagtgcatct ggggccccag ctactggtgc cagaacaccg agaccgccgc 2160
ccagtgcaac gccgtggagc actgcaagcg ccacgtgtgg aactgattgt ggccgaaccg 2220
ccgaactcag aggccggccc cagaaaaccc gagcgagtag ggggcggcgc gcaggaggga 2280
ggagaactgg gggcgcggga ggctggtggg tgtgggggggt ggagatgtag aagatgtgac 2340
gccgcggccc ggcgggtgcc agattagcgg acgcggtgcc cgcggttgca acgggatccc 2400

gggcgctgca gcttgggagg cggctctccc caggcggcgt ccgcggagac acccatccgt 2460
gaaccccagg tcccgggccg ccggctcgcc gcgcaccagg ggccggcgga cagaagagcg 2520
gccgagcggc tcgaggctgg gggaccgcgg gcgcggccgc gcgctgccgg gcgggaggct 2580
gggggccgg ggccggggcc gtgccccgga gcgggtcgga ggccggggcc ggggccgggg 2640
gacggcggct ccccgcgcgg ctccagcggc tcggggatcc cggccgggcc ccgcagggac 2700
catgatggaa ttcagcagcc ccagcagaga ggaatgcccc aagcctctga gccgggtgtc 2760
aatcatggcc ggatctctga caggactgct gctgcttcag gccgtgtctt gggcttctgg 2820

cgctagacct tgcatcccca agagcttcgg ctacagcagc gtcgtgtgcg tgtgcaatgc 2880
cacctactgc gacagcttcg accctcctac ctttcctgct ctgggcacct tcagcagata 2940
cgagagcacc agatccggca gacggatgga actgagcatg ggacccatcc aggccaatca 3000
cacaggcact ggcctgctgc tgacactgca gcctgagcag aaattccaga aagtgaaagg 3060
cttcggcgga gccatgacag atgccgccgc tctgaatatc ctggctctgt ctccaccagc 3120
tcagaacctg ctgctcaaga gctacttcag cgaggaaggc atcggctaca acatcatcag 3180
agtgcccatg gccagctgcg acttcagcat caggacctac acctacgccg acacacccga 3240

cgatttccag ctgcacaact tcagcctgcc tgaagaggac accaagctga agatccctct 3300
gatccacaga gccctgcagc tggcacaaag acccgtgtca ctgctggcct ctccatggac 3360
atctcccacc tggctgaaaa caaatggcgc cgtgaatggc aagggcagcc tgaaaggcca 3420
acctggcgac atctaccacc agacctgggc cagatacttc gtgaagttcc tggacgccta 3480
tgccgagcac aagctgcagt tttgggccgt gacagccgag aacgaacctt ctgctggact 3540
gctgagcggc taccctttc agtgcctggg ctttacaccc gagcaccagc gggactttat 3600
cgcccgtgat ctgggaccca cactggccaa tagcacccac cataatgtgc ggctgctgat 3660

gctggacgac cagagactgc ttctgcccca ctgggctaaa gtggtgctga cagatcctga 3720

ggccgccaaa tacgtgcacg gaatcgccgt gcactggtat ctggactttc tggcccctgc 3780

caaggccaca ctgggagaga cacacagact gttccccaac accatgctgt tcgccagcga 3840

agcctgtgtg ggcagcaagt tttgggaaca gagcgtgcgg ctcggcagct gggatagagg 3900

catgcagtac agccacagca tcatcaccaa cctgctgtac cacgtcgtcg gctggaccga 3960

ctggaatctg gccctgaatc ctgaaggcgg ccctaactgg gtccgaaact tcgtggacag 4020

ccccatcatc gtggacatca ccaaggacac cttctacaag cagcccatgt tctaccacct 4080

gggacacttc agcaagttca tccccgaggg ctctcagcgc gttggactgg tggcttccca 4140

gaagaacgat ctggacgccg tggctctgat gcaccctgat ggatctgctg tggtggtggt 4200

cctgaaccgc agcagcaaag atgtgcccct gaccatcaag gatcccgccg tgggattcct 4260

ggaaacaatc agccctggct actccatcca cacctacctg tggcgtagac agtgacaatt 4320

gttaattaag tttaaaccct cgaggccgca agcaataaaa tatctttatt ttcattacat 4380

ctgtgtgttg gttttttgtg tggagatcca cgataacaaa cagctttttt ggggtgaaca 4440

tattgactga attccctgca ggttggccac tccctctctg cgcgctcgct cgctcactga 4500

ggccgcccgg gcaaagcccg ggcgtcgggc gacctttggt cgcccggcct cagtgagcga 4560

gcgagcgcgc agagagggag tggccaactc catcactagg ggttcctgcg gccgctcgta 4620

cggtctcgag gaattcctgc aggataactt gccaacctca ttctaaaatg tatatagaag 4680

cccaaaagac aataacaaaa atattcttgt agaacaaaat gggaaagaat gttccactaa 4740

atatcaagat ttagagcaaa gcatgagatg tgtggggata gacagtgagg ctgataaaat 4800

agagtagagc tcagaaacag acccattgat atatgtaagt gacctatgaa aaaaatatgg 4860

cattttacaa tgggaaaatg atggtctttt tctttttttag aaaaacaggg aaatatattt 4920

atatgtaaaa aataaaaggg aacccatatg tcataccata cacacaaaaa aattccagtg 4980

aattataagt ctaaatggag aaggcaaaac tttaaatctt ttagaaaata atatagaagc 5040

atgcagacca gcctggccaa catgatgaaa ccctctctac taataataaa atcagtagaa 5100

ctactcagga ctactttgag tgggaagtcc ttttctatga agacttcttt ggccaaaatt 5160

aggctctaaa tgcaaggaga tagtgcatca tgcctggctg cacttactga taaatgatgt 5220

tatcaccatc tttaaccaaa tgcacaggaa caagttatgg tactgatgtg ctggattgag 5280

aaggagctct acttccttga caggacacat ttgtatcaac ttaaaaaagc agatttttgc 5340

cagcagaact attcattcag aggtaggaaa cttagaatag atgatgtcac tgattagcat 5400

ggcttcccca tctccacagc tgcttcccac ccaggttgcc cacagttgag tttgtccagt 5460

gctcagggct gcccactctc agtaagaagc cccacaccag cccctctcca aatatgttgg 5520

ctgttccttc cattaaagtg accccacttt agagcagcaa gtggatttct gtttcttaca 5580

gttcaggaag gaggagtcag ctgtgagaac ctggagcctg agatgcttct aagtcccact 5640

gctactgggg tcagggaagc cagactccag catcagcagt caggagcact aagcccttgc 5700

caacatcctg tttctcagag aaactgcttc cattataatg gttgtccttt tttaagctat 5760

caagccaaac aaccagtgtc taccattatt ctcatcacct gaagccaagg gttctagcaa 5820

aagtcaagct gtcttgtaat ggttgatgtg cctccagctt ctgtcttcag tcactccact 5880

cttagcctgc tctgaatcaa ctctgaccac agttccctgg agcccctgcc acctgctgcc 5940

cctgccacct tctccatctg cagtgctgtg cagccttctg cactcttgca gagctaatag 6000

gtggagactt gaaggaagag gaggaaagtt tctcataata gccttgctgc aagctcaaat 6060

gggaggtggg cactgtgccc aggagccttg gagcaaaggc tgtgcccaac ctctgactgc 6120

atccaggttt ggtcttgaca gagataagaa gccctggctt ttggagccaa aatctaggtc 6180

agacttaggc aggattctca aagtttatca gcagaacatg aggcagaaga ccctttctgc 6240

tccagcttct tcaggctcaa ccttcatcag aatagataga aagagaggct gtgagggttc 6300

ttaaaacaga agcaaatctg actcagagaa taaacaacct cctagtaaac tacagcttag 6360

acagagcatc tggtggtgag tgtgctcagt gtcctactca actgtctggt atcagccctc 6420

atgaggactt ctcttctttc cctcatagac ctccatctct gttttcctta gcctgcagaa 6480

atctggatgg ctattcacag aatgcctgtg ctttcagagt tgcatttttt ctctggtatt 6540

ctggttcaag catttgaagg taggaaaggt tctccaagtg caagaaagcc agccctgagc 6600

ctcaactgcc tggctagtgt ggtcagtagg atgcaaaggc tgttgaatgc cacaaggcca 6660

aactttaacc tgtgtaccac aagcctagca gcagaggcag ctctgctcac tggaactctc 6720

tgtcttcttt ctcctgagcc ttttcttttc ctgagttttc tagctctcct caaccttacc 6780

tctgccctac ccaggacaaa cccaagagcc actgtttctg tgatgtcctc tccagcccta 6840

attaggcatc atgacttcag cctgaccttc catgctcaga agcagtgcta atccacttca 6900

gatgagctgc tctatgcaac acaggcagag cctacaaacc tttgcaccag agccctccac 6960

atatcagtgt ttgttcatac tcacttcaac agcaaatgtg actgctgaga ttaagatttt 7020

acacaagatg gtctgtaatt tcacagttag ttttatccca ttaggtatga aagaattagc 7080

ataattcccc ttaaacatga atgaatctta gatttttaa taaatagttt tggaagtaaa 7140

gacagagaca tcaggagcac aaggaatagc ctgagaggac aaacagaaca agaaagagtc 7200

tggaaataca caggatgttc ttggcctcct caaagcaagt gcaagcagat agtaccagca 7260

gccccaggct atcagagccc agtgaagaga agtaccatga aagccacagc tctaaccacc 7320

ctgttccaga gtgacagaca gtccccaaga caagccagcc tgagccagag agagaactgc 7380

aagagaaagt ttctaattta ggttctgtta gattcagaca agtgcaggtc atcctctctc 7440

cacagctact cacctctcca gcctaacaaa gcctgcagtc cacactccaa ccctggtgtc 7500
tcacctccta gcctctccca acatcctgct ctctgaccat cttctgcatc tctcatctca 7560
ccatctccca ctgtctacag cctactcttg caactaccat ctcattttct gacatcctgt 7620
ctacatcttc tgccatactc tgccatctac cataccacct cttaccatct accacaccat 7680
cttttatctc catccctctc agaagcctcc aagctgaatc ctgctttatg tgttcatctc 7740
agcccctgca tggaaagctg accccagagg cagaactatt cccagagagc ttggccaaga 7800
aaaacaaaac taccagcctg gccaggctca ggagtagtaa gctgcagtgt ctgttgtgtt 7860

ctagcttcaa cagctgcagg agttccactc tcaaatgctc cacatttctc acatcctcct 7920
gattctggtc actacccatc ttcaaagaac agaatatctc acatcagcat actgtgaagg 7980
actagtcatg ggtgcagctg ctcagagctg caaagtcatt ctggatggtg gagagcttac 8040
aaacatttca tgatgctccc cccgctctga tggctggagc ccaatcccta cacagactcc 8100
tgctgtatgt gttttccttt cactctgagc cacagccaga gggcaggcat tcagtctcct 8160
cttcaggctg gggctggggc actgagaact cacccaacac cttgctctca ctccttctgc 8220
aaaacaagaa agagctttgt gctgcagtag ccatgaagaa tgaaaggaag gctttaacta 8280

aaaaatgtca gagattattt tcaacccctt actgtggatc accagcaagg aggaaacaca 8340
acacagagac attttttccc ctcaaattat caaaagaatc actgcatttg ttaaagagag 8400
caactgaatc aggaagcaga gttttgaaca tatcagaagt taggaatctg catcagagac 8460
aaatgcagtc atggttgttt gctgcatacc agccctaatc attagaagcc tcatggactt 8520
caaacatcat tccctctgac aagatgctct agcctaactc catgagataa aataaatctg 8580
cctttcagag ccaaagaaga gtccaccagc ttcttctcag tgtgaacaag agctccagtc 8640
aggttagtca gtccagtgca gtagaggaga ccagtctgca tcctctaatt ttcaaaggca 8700

agaagatttg tttaccctgg acaccaggca caagtgaggt cacagagctc ttagatatgc 8760
agtcctcatg agtgaggaga ctaaagcgca tgccatcaag acttcagtgt agagaaaacc 8820
tccaaaaaag cctcctcact acttctggaa tagctcagag gccgaggcgg cctcggcctc 8880
tgcataaata aaaaaaatta gtcagccatg gggcggagaa tgggcggaac tgggcggagt 8940
taggggcggg atgggcggag ttaggggcgg gactatggtt gctgactaat tgagatgcat 9000
gctttgcata cttctgcctg ctggggagcc tggggacttt ccacacctgg ttgctgacta 9060
attgagatgc atgctttgca tacttctgcc tgctggggag cctggggact ttccacaccc 9120

taactgacac acattccaca gctgcattaa tgaatcggcc aacgcgcggg gagaggcggt 9180

ttgcgtattg ggcgctcttc cgcttcctcg ctcactgact cgctgcgctc ggtcgttcgg 9240

ctgcggcgag cggtatcagc tcactcaaag gcggtaatac ggttatccac agaatcaggg 9300

gataacgcag gaaagaacat gtgagcaaaa ggccagcaaa aggccaggaa ccgtaaaaag 9360

gccgcgttgc tggcgttttt ccataggctc cgccccccctg acgagcatca caaaaatcga 9420

cgctcaagtc agaggtggcg aaacccgaca ggactataaa gataccaggc gtttcccccct 9480

ggaagctccc tcgtgcgctc tcctgttccg accctgccgc ttaccggata cctgtccgcc 9540

tttctccctt cgggaagcgt ggcgctttct catagctcac gctgtaggta tctcagttcg 9600

gtgtaggtcg ttcgctccaa gctgggctgt gtgcacgaac cccccgttca gcccgaccgc 9660

tgcgccttat ccggtaacta tcgtcttgag tccaacccgg taagacacga cttatcgcca 9720

ctggcagcag ccactggtaa caggattagc agagcgaggt atgtaggcgg tgctacagag 9780

ttcttgaagt ggtggcctaa ctacggctac actagaagaa cagtatttgg tatctgcgct 9840

ctgctgaagc cagttacctt cggaaaaaga gttggtagct cttgatccgg caaacaaacc 9900

accgctggta gcggtggttt ttttgtttgc aagcagcaga ttacgcgcag aaaaaaagga 9960

tctcaagaag atcctttgat cttttctacg gggtctgacg ctcagtggaa cgaaaactca 10020

cgttaaggga ttttggtcat gagattatca aaaaggatct tcacctagat ccttttaaat 10080

taaaaatgaa gttttaaatc aatctaaagt atatatgagt aaacttggtc tgacagttac 10140

caatgcttaa tcagtgaggc acctatctca gcgatctgtc tatttcgttc atccatagtt 10200

gcctgactcc tgcaaaccac gttgtgtctc aaaatctctg atgttacatt gcacaagata 10260

aaaatatatc atcatgaaca ataaaactgt ctgcttacat aaacagtaat acaaggggtg 10320

ttatgagcca tattcaacgg gaaacgtctt gctcgaggcc gcgattaaat tccaacatgg 10380

atgctgattt atatgggtat aaatgggctc gcgataatgt cgggcaatca ggtgcgacaa 10440

tctatcgatt gtatgggaag cccgatgcgc cagagttgtt tctgaaacat ggcaaaggta 10500

gcgttgccaa tgatgttaca gatgagatgg tcagactaaa ctggctgacg gaatttatgc 10560

ctcttccgac catcaagcat tttatccgta ctcctgatga tgcatggtta ctcaccactg 10620

cgatccccgg gaaaacagca ttccaggtat tagaagaata tcctgattca ggtgaaaata 10680

ttgttgatgc gctggcagtg ttcctgcgcc ggttgcattc gattcctgtt tgtaattgtc 10740

cttttaacag cgatcgcgta tttcgtctcg ctcaggcgca atcacgaatg aataacggtt 10800

tggttgatgc gagtgatttt gatgacgagc gtaatggctg gcctgttgaa caagtctgga 10860

aagaaatgca taagcttttg ccattctcac cggattcagt cgtcactcat ggtgatttct 10920

cacttgataa ccttatttttt gacgagggga aattaatagg ttgtattgat gttggacgag 10980

tcggaatcgc agaccgatac caggatcttg ccatcctatg gaactgcctc ggtgagtttt 11040

ctccttcatt acagaaacgg ctttttcaaa aatatggtat tgataatcct gatatgaata 11100

aattgcagtt tcatttgatg ctcgatgagt ttttctaagg gcggcctgcc accataccca 11160

cgccgaaaca agcgctcatg agcccgaagt ggcgagcccg atcttcccca tcggtgatgt 11220

cggcgatata ggcgccagca accgcacctg tggcgccggt gatgagggcg cgccaagtcg 11280

acgtccggca gtc 11293

<210> 7

<211> 10700

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polynucleotide

<400> 7

ttggccactc cctctctgcg cgctcgctcg ctcactgagg ccgcccgggc aaagcccggg 60

cgtcgggcga cctttggtcg cccggcctca gtgagcgagc gagcgcgcag agagggagtg 120

gccaactcca tcactagggg ttcctgctag ctctgggtat ttaagcccga gtgagcacgc 180

agggtctcca ttttgaagcg ggaggttacg cgttcgtcga ctactagtgg gtaccagagc 240

tccctaggtt ctagaaccgg tgacgtctcc catggtgaag cttggatctg aattcggtac 300

ctagttatta atagtaatca attacggggt cattagttca tagcccatat atggagttcc 360

gcgttacata acttacggta aatggcccgc ctggctgacc gcccaacgac ccccgcccat 420

tgacgtcaat aatgacgtat gttcccatag taacgccaat agggactttc cattgacgtc 480

aatgggtgga gtatttacgg taaactgccc acttggcagt acatcaagtg tatcatatgc 540

caagtacgcc ccctattgac gtcaatgacg gtaaatggcc cgcctggcat tatgcccagt 600

acatgacctt atgggacttt cctacttggc agtacatcta cgtattagtc atcgctatta 660

ccatggtcga ggtgagcccc acgttctgct tcactctccc catctccccc ccctccccac 720

ccccaatttt gtatttattt atttttaat tattttgtgc agcgatgggg gcgggggggg 780

ggggggggcg cgcgccaggc ggggcggggc ggggcgaggg gcggggcggg gcgaggcgga 840

gaggtgcggc ggcagccaat cagagcggcg cgctccgaaa gtttcctttt atggcgaggc 900

ggcggcggcg gcggccctat aaaaagcgaa gcgcgcggcg ggcgggagtc gctgcgacgc 960

tgccttcgcc ccgtgccccg ctccgccgcc gcctcgcgcc gcccgccccg gctctgactg 1020

accgcgttac tcccacaggt gagcgggcgg gacggccctt ctcctccggg ctgtaattag 1080

cgcttggttt aatgacggct tgtttctttt ctgtggctgc gtgaaagcct tgaggggctc 1140

cgggagctag agcctctgct aaccatgttc atgccttctt ctttttccta cagctcctgg 1200

gcaacgtgct ggttattgtg ctgtctcatc attttggcaa agaattcctc gaagatccga 1260

agggaaagtc ttccacgact gtgggatccg ttcgaagata tcaccggttg agccaccatg 1320

gaattcagca gccccagcag agaggaatgc cccaagcctc tgagccgggt gtcaatcatg 1380

gccggatctc tgacaggact gctgctgctt caggccgtgt cttgggcttc tggcgctaga 1440

ccttgcatcc ccaagagctt cggctacagc agcgtcgtgt gcgtgtgcaa tgccacctac 1500

tgcgacagct tcgaccctcc tacctttcct gctctgggca ccttcagcag atacgagagc 1560

accagatccg gcagacggat ggaactgagc atgggaccca tccaggccaa tcacacaggc 1620

actggcctgc tgctgacact gcagcctgag cagaaattcc agaaagtgaa aggcttcggc 1680

ggagccatga cagatgccgc cgctctgaat atcctggctc tgtctccacc agctcagaac 1740

ctgctgctca agagctactt cagcgaggaa ggcatcggct acaacatcat cagagtgccc 1800

atggccagct gcgacttcag catcaggacc tacacctacg ccgacacacc cgacgatttc 1860

cagctgcaca acttcagcct gcctgaagag gacaccaagc tgaagatccc tctgatccac 1920

agagccctgc agctggcaca aagacccgtg tcactgctgg cctctccatg gacatctccc 1980

acctggctga aaacaaatgg cgccgtgaat ggcaagggca gcctgaaagg ccaacctggc 2040

gacatctacc accagacctg ggccagatac ttcgtgaagt tcctggacgc ctatgccgag 2100

cacaagctgc agttttgggc cgtgacagcc gagaacgaac cttctgctgg actgctgagc 2160

ggctacccct ttcagtgcct gggctttaca cccgagcacc agcgggactt tatcgcccgt 2220

gatctgggac ccacactggc caatagcacc caccataatg tgcggctgct gatgctggac 2280

gaccagagac tgcttctgcc ccactgggct aaagtggtgc tgacagatcc tgaggccgcc 2340

aaatacgtgc acggaatcgc cgtgcactgg tatctggact ttctggcccc tgccaaggcc 2400

acactgggag agacacacag actgttcccc aacaccatgc tgttcgccag cgaagcctgt 2460

gtgggcagca agttttggga acagagcgtg cggctcggca gctgggatag aggcatgcag 2520

tacagccaca gcatcatcac caacctgctg taccacgtcg tcggctggac cgactggaat 2580

ctggccctga atcctgaagg cggccctaac tgggtccgaa acttcgtgga cagccccatc 2640

atcgtggaca tcaccaagga caccttctac aagcagccca tgttctacca cctgggacac 2700

ttcagcaagt tcatccccga gggctctcag cgcgttggac tggtggcttc ccagaagaac 2760

gatctggacg ccgtggctct gatgcaccct gatggatctg ctgtggtggt ggtcctgaac 2820

cgcagcagca aagatgtgcc cctgaccatc aaggatcccg ccgtgggatt cctggaaaca 2880

atcagccctg gctactccat ccacacctac ctgtggcgta gacagtgaca attgttaatt 2940

aagtttaaac cctcgaggcc gcaagcttat cgataatcaa cctctggatt acaaaatttg 3000

tgaaagattg actggtattc ttaactatgt tgctcctttt acgctatgtg gatacgctgc 3060

tttaatgcct ttgtatcatg ctattgcttc ccgtatggct ttcattttct cctccttgta 3120

taaatcctgg ttgctgtctc tttatgagga gttgtggccc gttgtcaggc aacgtggcgt 3180

ggtgtgcact gtgtttgctg acgcaacccc cactggttgg ggcattgcca ccacctgtca 3240

gctcctttcc gggactttcg ctttcccccc ccctattgcc acggcggaac tcatcgccgc 3300

ctgccttgcc cgctgctgga caggggctcg gctgttgggc actgacaatt ccgtggtgtt 3360

gtcggggaaa tcatcgtcct ttccttggct gctcgcctgt gttgccacct ggattctgcg 3420

cgggacgtcc ttctgctacg tcccttcggc cctcaatcca gcggaccttc cttcccgcgg 3480

cctgctgccg gctctgcggc ctcttccgcg tcttcgcctt cgccctcaga cgagtcggat 3540

ctccctttgg gccgcctccc cgcatcgata ccgtcgacta gagctcgctg atcagcctcg 3600

actgtgcctt ctagttgcca gccatctgtt gtttgcccct cccccgtgcc ttccttgacc 3660

ctggaaggtg ccactcccac tgtcctttcc taataaaatg aggaaattgc atcgcattgt 3720

ctgagtaggt gtcattctat tctgggggggt ggggtggggc aggacagcaa gggggaggat 3780

tgggaagaca atagcaggca tgctggggag agatccacga taacaaacag ctttttttggg 3840

gtgaacatat tgactgaatt ccctgcaggt tggccactcc ctctctgcgc gctcgctcgc 3900

tcactgaggc cgcccgggca aagcccgggc gtcgggcgac ctttggtcgc ccggcctcag 3960

tgagcgagcg agcgcgcaga gagggagtgg ccaactccat cactaggggt tcctgcggcc 4020

gctcgtacgg tctcgaggaa ttcctgcagg ataacttgcc aacctcattc taaaatgtat 4080

atagaagccc aaaagacaat aacaaaaata ttcttgtaga acaaaatggg aaagaatgtt 4140

ccactaaata tcaagattta gagcaaagca tgagatgtgt ggggatagac agtgaggctg 4200

ataaaataga gtagagctca gaaacagacc cattgatata tgtaagtgac ctatgaaaaa 4260

aatatggcat tttacaatgg gaaaatgatg gtctttttct tttttagaaa aacagggaaa 4320

tatatttata tgtaaaaaat aaaagggaac ccatatgtca taccatacac acaaaaaaat 4380

tccagtgaat tataagtcta aatggagaag gcaaaacttt aaatctttta gaaaataata 4440

tagaagcatg cagaccagcc tggccaacat gatgaaaccc tctctactaa taataaaatc 4500

agtagaacta ctcaggacta ctttgagtgg gaagtccttt tctatgaaga cttctttggc 4560

caaaattagg ctctaaatgc aaggagatag tgcatcatgc ctggctgcac ttactgataa 4620

atgatgttat caccatcttt aaccaaatgc acaggaacaa gttatggtac tgatgtgctg 4680

gattgagaag gagctctact tccttgacag gacacatttg tatcaactta aaaaagcaga 4740

tttttgccag cagaactatt cattcagagg taggaaactt agaatagatg atgtcactga 4800

ttagcatggc ttccccatct ccacagctgc ttcccaccca ggttgcccac agttgagttt 4860

gtccagtgct cagggctgcc cactctcagt aagaagcccc acaccagccc ctctccaaat 4920
atgttggctg ttccttccat taaagtgacc ccactttaga gcagcaagtg gatttctgtt 4980
tcttacagtt caggaaggag gagtcagctg tgagaacctg gagcctgaga tgcttctaag 5040
tcccactgct actggggtca gggaagccag actccagcat cagcagtcag gagcactaag 5100
cccttgccaa catcctgttt ctcagagaaa ctgcttccat tataatggtt gtccttttt 5160
aagctatcaa gccaaacaac cagtgtctac cattattctc atcacctgaa gccaagggtt 5220
ctagcaaaag tcaagctgtc ttgtaatggt tgatgtgcct ccagcttctg tcttcagtca 5280

ctccactctt agcctgctct gaatcaactc tgaccacagt tccctggagc ccctgccacc 5340
tgctgcccct gccaccttct ccatctgcag tgctgtgcag ccttctgcac tcttgcagag 5400
ctaataggtg gagacttgaa ggaagaggag gaaagtttct cataatagcc ttgctgcaag 5460
ctcaaatggg aggtgggcac tgtgcccagg agccttggag caaaggctgt gcccaacctc 5520
tgactgcatc caggtttggt cttgacagag ataagaagcc ctggcttttg gagccaaaat 5580
ctaggtcaga cttaggcagg attctcaaag tttatcagca gaacatgagg cagaagaccc 5640
tttctgctcc agcttcttca ggctcaacct tcatcagaat agatagaaag agaggctgtg 5700

agggttctta aaacagaagc aaatctgact cagagaataa acaacctcct agtaaactac 5760
agcttagaca gagcatctgg tggtgagtgt gctcagtgtc ctactcaact gtctggtatc 5820
agccctcatg aggacttctc ttctttccct catagacctc catctctgtt ttccttagcc 5880
tgcagaaatc tggatggcta ttcacagaat gcctgtgctt tcagagttgc atttttttctc 5940
tggtattctg gttcaagcat ttgaaggtag gaaaggttct ccaagtgcaa gaaagccagc 6000
cctgagcctc aactgcctgg ctagtgtggt cagtaggatg caaaggctgt tgaatgccac 6060
aaggccaaac tttaacctgt gtaccacaag cctagcagca gaggcagctc tgctcactgg 6120

aactctctgt cttctttctc ctgagccttt tcttttcctg agttttctag ctctcctcaa 6180
ccttacctct gccctaccca ggacaaaccc aagagccact gtttctgtga tgtcctctcc 6240
agccctaatt aggcatcatg acttcagcct gaccttccat gctcagaagc agtgctaatc 6300
cacttcagat gagctgctct atgcaacaca ggcagagcct acaaaccttt gcaccagagc 6360
cctccacata tcagtgtttg ttcatactca cttcaacagc aaatgtgact gctgagatta 6420
agattttaca caagatggtc tgtaatttca cagttagttt tatcccatta ggtatgaaag 6480
aattagcata attcccctta aacatgaatg aatcttagat tttttaataa atagttttgg 6540

aagtaaagac agagacatca ggagcacaag gaatagcctg agaggacaaa cagaacaaga 6600

aagagtctgg aaatacacag gatgttcttg gcctcctcaa agcaagtgca agcagatagt 6660

accagcagcc ccaggctatc agagcccagt gaagagaagt accatgaaag ccacagctct 6720

aaccaccctg ttccagagtg acagacagtc cccaagacaa gccagcctga gccagagaga 6780

gaactgcaag agaaagtttc taatttaggt tctgttagat tcagacaagt gcaggtcatc 6840

ctctctccac agctactcac ctctccagcc taacaaagcc tgcagtccac actccaaccc 6900

tggtgtctca cctcctagcc tctcccaaca tcctgctctc tgaccatctt ctgcatctct 6960

catctcacca tctcccactg tctacagcct actcttgcaa ctaccatctc attttctgac 7020

atcctgtcta catcttctgc catactctgc catctaccat accacctctt accatctacc 7080

acaccatctt ttatctccat ccctctcaga agcctccaag ctgaatcctg ctttatgtgt 7140

tcatctcagc ccctgcatgg aaagctgacc ccagaggcag aactattccc agagagcttg 7200

gccaagaaaa acaaaactac cagcctggcc aggctcagga gtagtaagct gcagtgtctg 7260

ttgtgttcta gcttcaacag ctgcaggagt tccactctca aatgctccac atttctcaca 7320

tcctcctgat tctggtcact acccatcttc aaagaacaga atatctcaca tcagcatact 7380

gtgaaggact agtcatgggt gcagctgctc agagctgcaa agtcattctg gatggtggag 7440

agcttacaaa catttcatga tgctcccccc gctctgatgg ctggagccca atccctacac 7500

agactcctgc tgtatgtgtt ttcctttcac tctgagccac agccagaggg caggcattca 7560

gtctcctctt caggctgggg ctggggcact gagaactcac ccaacacctt gctctcactc 7620

cttctgcaaa acaagaaaga gctttgtgct gcagtagcca tgaagaatga aaggaaggct 7680

ttaactaaaa aatgtcagag attattttca acccccttact gtggatcacc agcaaggagg 7740

aaacacaaca cagagacatt ttttcccctc aaattatcaa aagaatcact gcatttgtta 7800

aagagagcaa ctgaatcagg aagcagagtt ttgaacatat cagaagttag gaatctgcat 7860

cagagacaaa tgcagtcatg gttgtttgct gcataccagc cctaatcatt agaagcctca 7920

tggacttcaa acatcattcc ctctgacaag atgctctagc ctaactccat gagataaaat 7980

aaatctgcct ttcagagcca aagaagagtc caccagcttc ttctcagtgt gaacaagagc 8040

tccagtcagg ttagtcagtc cagtgcagta gaggagacca gtctgcatcc tctaattttc 8100

aaaggcaaga agatttgttt accctggaca ccaggcacaa gtgaggtcac agagctctta 8160

gatatgcagt cctcatgagt gaggagacta aagcgcatgc catcaagact tcagtgtaga 8220

gaaaacctcc aaaaaagcct cctcactact tctggaatag ctcagaggcc gaggcggcct 8280

cggcctctgc ataaataaaa aaaattagtc agccatgggg cggagaatgg gcggaactgg 8340

gcggagttag gggcgggatg ggcggagtta ggggcgggac tatggttgct gactaattga 8400

gatgcatgct ttgcatactt ctgcctgctg gggagcctgg ggactttcca cacctggttg 8460

ctgactaatt gagatgcatg ctttgcatac ttctgcctgc tggggagcct ggggactttc 8520

cacaccctaa ctgacacaca ttccacagct gcattaatga atcggccaac gcgcggggag 8580

aggcggtttg cgtattgggc gctcttccgc ttcctcgctc actgactcgc tgcgctcggt 8640

cgttcggctg cggcgagcgg tatcagctca ctcaaaggcg gtaatacggt tatccacaga 8700

atcaggggat aacgcaggaa agaacatgtg agcaaaaggc cagcaaaagg ccaggaaccg 8760

taaaaaggcc gcgttgctgg cgtttttcca taggctccgc ccccctgacg agcatcacaa 8820

aaatcgacgc tcaagtcaga ggtggcgaaa cccgacagga ctataaagat accaggcgtt 8880

tccccctgga agctccctcg tgcgctctcc tgttccgacc ctgccgctta ccggatacct 8940

gtccgccttt ctcccttcgg gaagcgtggc gctttctcat agctcacgct gtaggtatct 9000

cagttcggtg taggtcgttc gctccaagct gggctgtgtg cacgaacccc ccgttcagcc 9060

cgaccgctgc gccttatccg gtaactatcg tcttgagtcc aacccggtaa gacacgactt 9120

atcgccactg gcagcagcca ctggtaacag gattagcaga gcgaggtatg taggcggtgc 9180

tacagagttc ttgaagtggt ggcctaacta cggctacact agaagaacag tatttggtat 9240

ctgcgctctg ctgaagccag ttaccttcgg aaaaagagtt ggtagctctt gatccggcaa 9300

acaaaccacc gctggtagcg gtggtttttt tgtttgcaag cagcagatta cgcgcagaaa 9360

aaaaggatct caagaagatc ctttgatctt ttctacgggg tctgacgctc agtggaacga 9420

aaactcacgt taagggattt tggtcatgag attatcaaaa aggatcttca cctagatcct 9480

tttaaattaa aaatgaagtt ttaaatcaat ctaaagtata tatgagtaaa cttggtctga 9540

cagttaccaa tgcttaatca gtgaggcacc tatctcagcg atctgtctat ttcgttcatc 9600

catagttgcc tgactcctgc aaaccacgtt gtgtctcaaa atctctgatg ttacattgca 9660

caagataaaa atatatcatc atgaacaata aaactgtctg cttacataaa cagtaataca 9720

aggggtgtta tgagccatat tcaacgggaa acgtcttgct cgaggccgcg attaaattcc 9780

aacatggatg ctgatttata tgggtataaa tgggctcgcg ataatgtcgg gcaatcaggt 9840

gcgacaatct atcgattgta tgggaagccc gatgcgccag agttgtttct gaaacatggc 9900

aaaggtagcg ttgccaatga tgttacagat gagatggtca gactaaactg gctgacggaa 9960

tttatgcctc ttccgaccat caagcatttt atccgtactc ctgatgatgc atggttactc 10020

accactgcga tccccgggaa aacagcattc caggtattag aagaatatcc tgattcaggt 10080

gaaaatattg ttgatgcgct ggcagtgttc ctgcgccggt tgcattcgat tcctgtttgt 10140

aattgtcctt ttaacagcga tcgcgtattt cgtctcgctc aggcgcaatc acgaatgaat 10200

aacggtttgg ttgatgcgag tgattttgat gacgagcgta atggctggcc tgttgaacaa 10260

gtctggaaag aaatgcataa gcttttgcca ttctcaccgg attcagtcgt cactcatggt 10320

gatttctcac ttgataacct tatttttgac gaggggaaat taataggttg tattgatgtt 10380
ggacgagtcg gaatcgcaga ccgataccag gatcttgcca tcctatggaa ctgcctcggt 10440
gagttttctc cttcattaca gaaacggctt tttcaaaaat atggtattga taatcctgat 10500
atgaataaat tgcagtttca tttgatgctc gatgagtttt tctaagggcg gcctgccacc 10560
atacccacgc cgaaacaagc gctcatgagc ccgaagtggc gagcccgatc ttccccatcg 10620
gtgatgtcgg cgatataggc gccagcaacc gcacctgtgg cgccggtgat gagggcgcgc 10680
caagtcgacg tccggcagtc 10700

<210> 8
<211> 10700
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic polynucleotide
<400> 8
ttggccactc cctctctgcg cgctcgctcg ctcactgagg ccgggcgacc aaaggtcgcc 60
cgacgcccgg gctttgcccg ggcggcctca gtgagcgagc gagcgcgcag agagggagtg 120
gccaactatt agatctgatg gccgcgctag ctctgggtat ttaagcccga gtgagcacgc 180
agggtctcca ttttgaagcg ggaggttacg cgttcgtcga ctactagtgg gtaccagagc 240
tccctaggtt ctagaaccgg tgacgtctcc catggtgaag cttggatctg aattcggtac 300
ctagttatta atagtaatca attacggggt cattagttca tagcccatat atggagttcc 360

gcgttacata acttacggta aatggcccgc ctggctgacc gcccaacgac ccccgcccat 420
tgacgtcaat aatgacgtat gttcccatag taacgccaat agggactttc cattgacgtc 480
aatgggtgga gtatttacgg taaactgccc acttggcagt acatcaagtg tatcatatgc 540
caagtacgcc ccctattgac gtcaatgacg gtaaatggcc cgcctggcat tatgcccagt 600
acatgacctt atgggacttt cctacttggc agtacatcta cgtattagtc atcgctatta 660
ccatggtcga ggtgagcccc acgttctgct tcactctccc catctccccc ccctccccac 720
ccccaatttt gtatttattt atttttttaat tattttgtgc agcgatgggg gcgggggggg 780

ggggggggcg cgcgccaggc ggggcggggc ggggcgaggg gcggggcggg gcgaggcgga 840
gaggtgcggc ggcagccaat cagagcggcg cgctccgaaa gtttcctttt atggcgaggc 900
ggcggcggcg gcggccctat aaaaagcgaa gcgcgcggcg ggcgggagtc gctgcgacgc 960
tgccttcgcc ccgtgccccg ctccgccgcc gcctcgcgcc gcccgccccg gctctgactg 1020

accgcgttac tcccacaggt gagcgggcgg gacggccctt ctcctccggg ctgtaattag 1080

cgcttggttt aatgacggct tgtttctttt ctgtggctgc gtgaaagcct tgaggggctc 1140

cgggagctag agcctctgct aaccatgttc atgccttctt ctttttccta cagctcctgg 1200

gcaacgtgct ggttattgtg ctgtctcatc attttggcaa agaattcctc gaagatccga 1260

agggaaagtc ttccacgact gtgggatccg ttcgaagata tcaccggttg agccaccatg 1320

gaattcagca gccccagcag agaggaatgc cccaagcctc tgagccgggt gtcaatcatg 1380

gccggatctc tgacaggact gctgctgctt caggccgtgt cttgggcttc tggcgctaga 1440

ccttgcatcc ccaagagctt cggctacagc agcgtcgtgt gcgtgtgcaa tgccacctac 1500

tgcgacagct tcgaccctcc tacctttcct gctctgggca ccttcagcag atacgagagc 1560

accagatccg gcagacggat ggaactgagc atgggaccca tccaggccaa tcacacaggc 1620

actggcctgc tgctgacact gcagcctgag cagaaattcc agaaagtgaa aggcttcggc 1680

ggagccatga cagatgccgc cgctctgaat atcctggctc tgtctccacc agctcagaac 1740

ctgctgctca agagctactt cagcgaggaa ggcatcggct acaacatcat cagagtgccc 1800

atggccagct gcgacttcag catcaggacc tacacctacg ccgacacacc cgacgatttc 1860

cagctgcaca acttcagcct gcctgaagag gacaccaagc tgaagatccc tctgatccac 1920

agagccctgc agctggcaca aagacccgtg tcactgctgg cctctccatg gacatctccc 1980

acctggctga aaacaaatgg cgccgtgaat ggcaagggca gcctgaaagg ccaacctggc 2040

gacatctacc accagacctg ggccagatac ttcgtgaagt tcctggacgc ctatgccgag 2100

cacaagctgc agttttgggc cgtgacagcc gagaacgaac cttctgctgg actgctgagc 2160

ggctacccct ttcagtgcct gggctttaca cccgagcacc agcgggactt tatcgcccgt 2220

gatctgggac ccacactggc caatagcacc caccataatg tgcggctgct gatgctggac 2280

gaccagagac tgcttctgcc ccactgggct aaagtggtgc tgacagatcc tgaggccgcc 2340

aaatacgtgc acggaatcgc cgtgcactgg tatctggact ttctggcccc tgccaaggcc 2400

acactgggag agacacacag actgttcccc aacaccatgc tgttcgccag cgaagcctgt 2460

gtgggcagca agttttggga acagagcgtg cggctcggca gctgggatag aggcatgcag 2520

tacagccaca gcatcatcac caacctgctg taccacgtcg tcggctggac cgactggaat 2580

ctggccctga atcctgaagg cggccctaac tgggtccgaa acttcgtgga cagccccatc 2640

atcgtggaca tcaccaagga caccttctac aagcagccca tgttctacca cctgggacac 2700

ttcagcaagt tcatccccga gggctctcag cgcgttggac tggtggcttc ccagaagaac 2760

gatctggacg ccgtggctct gatgcaccct gatggatctg ctgtggtggt ggtcctgaac 2820

cgcagcagca aagatgtgcc cctgaccatc aaggatcccg ccgtgggatt cctggaaaca 2880

atcagccctg gctactccat ccacacctac ctgtggcgta gacagtgaca attgttaatt 2940
aagtttaaac cctcgaggcc gcaagcttat cgataatcaa cctctggatt acaaaatttg 3000
tgaaagattg actggtattc ttaactatgt tgctccttttt acgctatgtg gatacgctgc 3060
tttaatgcct ttgtatcatg ctattgcttc ccgtatggct ttcattttct cctccttgta 3120
taaatcctgg ttgctgtctc tttatgagga gttgtggccc gttgtcaggc aacgtggcgt 3180
ggtgtgcact gtgtttgctg acgcaacccc cactggttgg ggcattgcca ccacctgtca 3240
gctcctttcc gggactttcg ctttcccccct ccctattgcc acggcggaac tcatcgccgc 3300

ctgccttgcc cgctgctgga caggggctcg gctgttgggc actgacaatt ccgtggtgtt 3360
gtcggggaaa tcatcgtcct ttccttggct gctcgcctgt gttgccacct ggattctgcg 3420
cgggacgtcc ttctgctacg tcccttcggc cctcaatcca gcggaccttc cttcccgcgg 3480
cctgctgccg gctctgcggc ctcttccgcg tcttcgcctt cgccctcaga cgagtcggat 3540
ctccctttgg gccgcctccc cgcatcgata ccgtcgacta gagctcgctg atcagcctcg 3600
actgtgcctt ctagttgcca gccatctgtt gtttgcccct cccccgtgcc ttccttgacc 3660
ctggaaggtg ccactcccac tgtcctttcc taataaaatg aggaaattgc atcgcattgt 3720

ctgagtaggt gtcattctat tctgggggggt ggggtggggc aggacagcaa gggggaggat 3780
tgggaagaca atagcaggca tgctggggag agatccacga taacaaacag ctttttttggg 3840
gtgaacatat tgactgaatt ccctgcaggt tggccactcc ctctctgcgc gctcgctcgc 3900
tcactgaggc cgcccgggca aagcccgggc gtcgggcgac ctttggtcgc ccggcctcag 3960
tgagcgagcg agcgcgcaga gagggagtgg ccaactccat cactaggggt tcctgcggcc 4020
gctcgtacgg tctcgaggaa ttcctgcagg ataacttgcc aacctcattc taaaatgtat 4080
atagaagccc aaaagacaat aacaaaaata ttcttgtaga acaaaatggg aaagaatgtt 4140

ccactaaata tcaagattta gagcaaagca tgagatgtgt ggggatagac agtgaggctg 4200
ataaaataga gtagagctca gaaacagacc cattgatata tgtaagtgac ctatgaaaaa 4260
aatatggcat tttacaatgg gaaaatgatg gtctttttct tttttagaaa aacagggaaa 4320
tatatttata tgtaaaaaat aaaagggaac ccatatgtca taccatacac acaaaaaaat 4380
tccagtgaat tataagtcta aatggagaag gcaaaacttt aaatctttta gaaaataata 4440
tagaagcatg cagaccagcc tggccaacat gatgaaaccc tctctactaa taataaaatc 4500
agtagaacta ctcaggacta ctttgagtgg gaagtccttt tctatgaaga cttctttggc 4560

caaaattagg ctctaaatgc aaggagatag tgcatcatgc ctggctgcac ttactgataa 4620

atgatgttat caccatcttt aaccaaatgc acaggaacaa gttatggtac tgatgtgctg 4680

gattgagaag gagctctact tccttgacag gacacatttg tatcaactta aaaaagcaga 4740

tttttgccag cagaactatt cattcagagg taggaaactt agaatagatg atgtcactga 4800

ttagcatggc ttccccatct ccacagctgc ttcccaccca ggttgcccac agttgagttt 4860

gtccagtgct cagggctgcc cactctcagt aagaagcccc acaccagccc ctctccaaat 4920

atgttggctg ttccttccat taaagtgacc ccactttaga gcagcaagtg gatttctgtt 4980

tcttacagtt caggaaggag gagtcagctg tgagaacctg gagcctgaga tgcttctaag 5040

tcccactgct actggggtca gggaagccag actccagcat cagcagtcag gagcactaag 5100

cccttgccaa catcctgttt ctcagagaaa ctgcttccat tataatggtt gtccttttt 5160

aagctatcaa gccaaacaac cagtgtctac cattattctc atcacctgaa gccaagggtt 5220

ctagcaaaag tcaagctgtc ttgtaatggt tgatgtgcct ccagcttctg tcttcagtca 5280

ctccactctt agcctgctct gaatcaactc tgaccacagt tccctggagc ccctgccacc 5340

tgctgcccct gccaccttct ccatctgcag tgctgtgcag ccttctgcac tcttgcagag 5400

ctaataggtg gagacttgaa ggaagaggag gaaagtttct cataatagcc ttgctgcaag 5460

ctcaaatggg aggtgggcac tgtgcccagg agccttggag caaaggctgt gcccaacctc 5520

tgactgcatc caggtttggt cttgacagag ataagaagcc ctggcttttg gagccaaaat 5580

ctaggtcaga cttaggcagg attctcaaag tttatcagca gaacatgagg cagaagaccc 5640

tttctgctcc agcttcttca ggctcaacct tcatcagaat agatagaaag agaggctgtg 5700

agggttctta aaacagaagc aaatctgact cagagaataa acaacctcct agtaaactac 5760

agcttagaca gagcatctgg tggtgagtgt gctcagtgtc ctactcaact gtctggtatc 5820

agccctcatg aggacttctc ttctttccct catagacctc catctctgtt ttccttagcc 5880

tgcagaaatc tggatggcta ttcacagaat gcctgtgctt tcagagttgc atttttttctc 5940

tggtattctg gttcaagcat ttgaaggtag gaaaggttct ccaagtgcaa gaaagccagc 6000

cctgagcctc aactgcctgg ctagtgtggt cagtaggatg caaaggctgt tgaatgccac 6060

aaggccaaac tttaacctgt gtaccacaag cctagcagca gaggcagctc tgctcactgg 6120

aactctctgt cttctttctc ctgagccttt tcttttcctg agttttctag ctctcctcaa 6180

ccttacctct gccctaccca ggacaaaccc aagagccact gtttctgtga tgtcctctcc 6240

agccctaatt aggcatcatg acttcagcct gaccttccat gctcagaagc agtgctaatc 6300

cacttcagat gagctgctct atgcaacaca ggcagagcct acaaaccttt gcaccagagc 6360

cctccacata tcagtgtttg ttcatactca cttcaacagc aaatgtgact gctgagatta 6420

agattttaca caagatggtc tgtaatttca cagttagttt tatcccatta ggtatgaaag 6480

aattagcata attcccctta aacatgaatg aatcttagat tttttaataa atagttttgg 6540

aagtaaagac agagacatca ggagcacaag gaatagcctg agaggacaaa cagaacaaga 6600

aagagtctgg aaatacacag gatgttcttg gcctcctcaa agcaagtgca agcagatagt 6660

accagcagcc ccaggctatc agagcccagt gaagagaagt accatgaaag ccacagctct 6720

aaccaccctg ttccagagtg acagacagtc cccaagacaa gccagcctga gccagagaga 6780

gaactgcaag agaaagtttc taatttaggt tctgttagat tcagacaagt gcaggtcatc 6840

ctctctccac agctactcac ctctccagcc taacaaagcc tgcagtccac actccaaccc 6900

tggtgtctca cctcctagcc tctcccaaca tcctgctctc tgaccatctt ctgcatctct 6960

catctcacca tctcccactg tctacagcct actcttgcaa ctaccatctc attttctgac 7020

atcctgtcta catcttctgc catactctgc catctaccat accacctctt accatctacc 7080

acaccatctt ttatctccat ccctctcaga agcctccaag ctgaatcctg ctttatgtgt 7140

tcatctcagc ccctgcatgg aaagctgacc ccagaggcag aactattccc agagagcttg 7200

gccaagaaaa acaaaactac cagcctggcc aggctcagga gtagtaagct gcagtgtctg 7260

ttgtgttcta gcttcaacag ctgcaggagt tccactctca aatgctccac atttctcaca 7320

tcctcctgat tctggtcact acccatcttc aaagaacaga atatctcaca tcagcatact 7380

gtgaaggact agtcatgggt gcagctgctc agagctgcaa agtcattctg gatggtggag 7440

agcttacaaa catttcatga tgctcccccc gctctgatgg ctggagccca atccctacac 7500

agactcctgc tgtatgtgtt ttcctttcac tctgagccac agccagaggg caggcattca 7560

gtctcctctt caggctgggg ctggggcact gagaactcac ccaacacctt gctctcactc 7620

cttctgcaaa acaagaaaga gctttgtgct gcagtagcca tgaagaatga aaggaaggct 7680

ttaactaaaa aatgtcagag attattttca acccccttact gtggatcacc agcaaggagg 7740

aaacacaaca cagagacatt ttttcccctc aaattatcaa aagaatcact gcatttgtta 7800

aagagagcaa ctgaatcagg aagcagagtt ttgaacatat cagaagttag gaatctgcat 7860

cagagacaaa tgcagtcatg gttgtttgct gcataccagc cctaatcatt agaagcctca 7920

tggacttcaa acatcattcc ctctgacaag atgctctagc ctaactccat gagataaaat 7980

aaatctgcct ttcagagcca aagaagagtc caccagcttc ttctcagtgt gaacaagagc 8040

tccagtcagg ttagtcagtc cagtgcagta gaggagacca gtctgcatcc tctaattttc 8100

aaaggcaaga agatttgttt accctggaca ccaggcacaa gtgaggtcac agagctctta 8160

gatatgcagt cctcatgagt gaggagacta aagcgcatgc catcaagact tcagtgtaga 8220

gaaaacctcc aaaaaagcct cctcactact tctggaatag ctcagaggcc gaggcggcct 8280

cggcctctgc ataaataaaa aaaattagtc agccatgggg cggagaatgg gcggaactgg 8340

gcggagttag gggcgggatg ggcggagtta ggggcgggac tatggttgct gactaattga 8400
gatgcatgct ttgcatactt ctgcctgctg gggagcctgg ggactttcca cacctggttg 8460
ctgactaatt gagatgcatg ctttgcatac ttctgcctgc tggggagcct ggggactttc 8520
cacaccctaa ctgacacaca ttccacagct gcattaatga atcggccaac gcgcggggag 8580
aggcggtttg cgtattgggc gctcttccgc ttcctcgctc actgactcgc tgcgctcggt 8640
cgttcggctg cggcgagcgg tatcagctca ctcaaaggcg gtaatacggt tatccacaga 8700
atcaggggat aacgcaggaa agaacatgtg agcaaaaggc cagcaaaagg ccaggaaccg 8760

taaaaaggcc gcgttgctgg cgtttttcca taggctccgc ccccctgacg agcatcacaa 8820
aaatcgacgc tcaagtcaga ggtggcgaaa cccgacagga ctataaagat accaggcgtt 8880
tccccctgga agctccctcg tgcgctctcc tgttccgacc ctgccgctta ccggatacct 8940
gtccgccttt ctcccttcgg gaagcgtggc gctttctcat agctcacgct gtaggtatct 9000
cagttcggtg taggtcgttc gctccaagct gggctgtgtg cacgaacccc ccgttcagcc 9060
cgaccgctgc gccttatccg gtaactatcg tcttgagtcc aacccggtaa gacacgactt 9120
atcgccactg gcagcagcca ctggtaacag gattagcaga gcgaggtatg taggcggtgc 9180

tacagagttc ttgaagtggt ggcctaacta cggctacact agaagaacag tatttggtat 9240
ctgcgctctg ctgaagccag ttaccttcgg aaaaagagtt ggtagctctt gatccggcaa 9300
acaaaccacc gctggtagcg gtggtttttt tgtttgcaag cagcagatta cgcgcagaaa 9360
aaaaggatct caagaagatc ctttgatctt ttctacgggg tctgacgctc agtggaacga 9420
aaactcacgt taagggattt tggtcatgag attatcaaaa aggatcttca cctagatcct 9480
tttaaattaa aaatgaagtt ttaaatcaat ctaaagtata tatgagtaaa cttggtctga 9540
cagttaccaa tgcttaatca gtgaggcacc tatctcagcg atctgtctat ttcgttcatc 9600

catagttgcc tgactcctgc aaaccacgtt gtgtctcaaa atctctgatg ttacattgca 9660
caagataaaa atatatcatc atgaacaata aaactgtctg cttacataaa cagtaataca 9720
aggggtgtta tgagccatat tcaacgggaa acgtcttgct cgaggccgcg attaaattcc 9780
aacatggatg ctgatttata tgggtataaa tgggctcgcg ataatgtcgg gcaatcaggt 9840
gcgacaatct atcgattgta tgggaagccc gatgcgccag agttgtttct gaaacatggc 9900
aaaggtagcg ttgccaatga tgttacagat gagatggtca gactaaactg gctgacggaa 9960
tttatgcctc ttccgaccat caagcatttt atccgtactc ctgatgatgc atggttactc 10020

accactgcga tccccgggaa aacagcattc caggtattag aagaatatcc tgattcaggt 10080

gaaaatattg ttgatgcgct ggcagtgttc ctgcgccggt tgcattcgat tcctgtttgt 10140

aattgtcctt ttaacagcga tcgcgtattt cgtctcgctc aggcgcaatc acgaatgaat 10200

aacggtttgg ttgatgcgag tgattttgat gacgagcgta atggctggcc tgttgaacaa 10260

gtctggaaag aaatgcataa gcttttgcca ttctcaccgg attcagtcgt cactcatggt 10320

gatttctcac ttgataacct tatttttgac gaggggaaat taataggttg tattgatgtt 10380

ggacgagtcg gaatcgcaga ccgataccag gatcttgcca tcctatggaa ctgcctcggt 10440

gagttttctc cttcattaca gaaacggctt tttcaaaaat atggtattga taatcctgat 10500

atgaataaat tgcagtttca tttgatgctc gatgagtttt tctaagggcg gcctgccacc 10560

atacccacgc cgaaacaagc gctcatgagc ccgaagtggc gagcccgatc ttccccatcg 10620

gtgatgtcgg cgatataggc gccagcaacc gcacctgtgg cgccggtgat gagggcgcgc 10680

caagtcgacg tccggcagtc 10700

<210> 9

<211> 10700

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polynucleotide

<400> 9

ttggccactc cctctctgcg cgctcgctcg ctcactgagg ccgggcgacc aaaggtcgcc 60

cgacgcccgg gctttgcccg ggcggcctca gtgagcgagc gagcgcgcag agagggagtg 120

gccaactcca tcactagggg ttcctgctag ctctgggtat ttaagcccga gtgagcacgc 180

agggtctcca ttttgaagcg ggaggttacg cgttcgtcga ctactagtgg gtaccagagc 240

tccctaggtt ctagaaccgg tgacgtctcc catggtgaag cttggatctg aattcggtac 300

ctagttatta atagtaatca attacggggt cattagttca tagcccatat atggagttcc 360

gcgttacata acttacggta aatggcccgc ctggctgacc gcccaacgac ccccgcccat 420

tgacgtcaat aatgacgtat gttcccatag taacgccaat agggactttc cattgacgtc 480

aatgggtgga gtatttacgg taaactgccc acttggcagt acatcaagtg tatcatatgc 540

caagtacgcc ccctattgac gtcaatgacg gtaaatggcc cgcctggcat tatgcccagt 600

acatgacctt atgggacttt cctacttggc agtacatcta cgtattagtc atcgctatta 660

ccatggtcga ggtgagcccc acgttctgct tcactctccc catctccccc ccctccccac 720

ccccaatttt gtatttattt atttttaat tattttgtgc agcgatgggg gcgggggggg 780

ggggggggcg cgcgccaggc ggggcggggc ggggcgaggg gcggggcggg gcgaggcgga 840

gaggtgcggc ggcagccaat cagagcggcg cgctccgaaa gtttcctttt atggcgaggc 900

ggcggcggcg gcggccctat aaaaagcgaa gcgcgcggcg ggcgggagtc gctgcgacgc 960

tgccttcgcc ccgtgccccg ctccgccgcc gcctcgcgcc gcccgccccg gctctgactg 1020

accgcgttac tcccacaggt gagcgggcgg gacggcgctt ctcctccggg ctgtaattag 1080

cgcttggttt aatgacggct tgtttctttt ctgtggctgc gtgaaagcct tgaggggctc 1140

cgggagctag agcctctgct aaccatgttc atgccttctt ctttttccta cagctcctgg 1200

gcaacgtgct ggttattgtg ctgtctcatc attttggcaa agaattcctc gaagatccga 1260

agggaaagtc ttccacgact gtgggatccg ttcgaagata tcaccggttg agccaccatg 1320

gaattcagca gccccagcag agaggaatgc cccaagcctc tgagccgggt gtcaatcatg 1380

gccggatctc tgacaggact gctgctgctt caggccgtgt cttgggcttc tggcgctaga 1440

ccttgcatcc ccaagagctt cggctacagc agcgtcgtgt gcgtgtgcaa tgccacctac 1500

tgcgacagct tcgaccctcc tacctttcct gctctgggca ccttcagcag atacgagagc 1560

accagatccg gcagacggat ggaactgagc atgggaccca tccaggccaa tcacacaggc 1620

actggcctgc tgctgacact gcagcctgag cagaaattcc agaaagtgaa aggcttcggc 1680

ggagccatga cagatgccgc cgctctgaat atcctggctc tgtctccacc agctcagaac 1740

ctgctgctca agagctactt cagcgaggaa ggcatcggct acaacatcat cagagtgccc 1800

atggccagct gcgacttcag catcaggacc tacacctacg ccgacacacc cgacgatttc 1860

cagctgcaca acttcagcct gcctgaagag gacaccaagc tgaagatccc tctgatccac 1920

agagccctgc agctggcaca aagacccgtg tcactgctgg cctctccatg gacatctccc 1980

acctggctga aaacaaatgg cgccgtgaat ggcaagggca gcctgaaagg ccaacctggc 2040

gacatctacc accagacctg ggccagatac ttcgtgaagt tcctggacgc ctatgccgag 2100

cacaagctgc agttttgggc cgtgacagcc gagaacgaac cttctgctgg actgctgagc 2160

ggctacccct ttcagtgcct gggctttaca cccgagcacc agcgggactt tatcgcccgt 2220

gatctgggac ccacactggc caatagcacc caccataatg tgcggctgct gatgctggac 2280

gaccagagac tgcttctgcc ccactgggct aaagtggtgc tgacagatcc tgaggccgcc 2340

aaatacgtgc acggaatcgc cgtgcactgg tatctggact ttctggcccc tgccaaggcc 2400

acactgggag agacacacag actgttcccc aacaccatgc tgttcgccag cgaagcctgt 2460

gtgggcagca agttttggga acagagcgtg cggctcggca gctgggatag aggcatgcag 2520

tacagccaca gcatcatcac caacctgctg taccacgtcg tcggctggac cgactggaat 2580

ctggccctga atcctgaagg cggccctaac tgggtccgaa acttcgtgga cagccccatc 2640

atcgtggaca tcaccaagga caccttctac aagcagccca tgttctacca cctgggacac 2700

ttcagcaagt tcatccccga gggctctcag cgcgttggac tggtggcttc ccagaagaac 2760

gatctggacg ccgtggctct gatgcaccct gatggatctg ctgtggtggt ggtcctgaac 2820

cgcagcagca aagatgtgcc cctgaccatc aaggatcccg ccgtgggatt cctggaaaca 2880

atcagccctg gctactccat ccacacctac ctgtggcgta gacagtgaca attgttaatt 2940

aagtttaaac cctcgaggcc gcaagcttat cgataatcaa cctctggatt acaaaatttg 3000

tgaaagattg actggtattc ttaactatgt tgctcctttt acgctatgtg gatacgctgc 3060

tttaatgcct ttgtatcatg ctattgcttc ccgtatggct ttcattttct cctccttgta 3120

taaatcctgg ttgctgtctc tttatgagga gttgtggccc gttgtcaggc aacgtggcgt 3180

ggtgtgcact gtgtttgctg acgcaacccc cactggttgg ggcattgcca ccacctgtca 3240

gctcctttcc gggactttcg ctttcccccc ccctattgcc acggcggaac tcatcgccgc 3300

ctgccttgcc cgctgctgga caggggctcg gctgttgggc actgacaatt ccgtggtgtt 3360

gtcggggaaa tcatcgtcct ttccttggct gctcgcctgt gttgccacct ggattctgcg 3420

cgggacgtcc ttctgctacg tcccttcggc cctcaatcca gcggaccttc cttcccgcgg 3480

cctgctgccg gctctgcggc ctcttccgcg tcttcgcctt cgccctcaga cgagtcggat 3540

ctccctttgg gccgcctccc cgcatcgata ccgtcgacta gagctcgctg atcagcctcg 3600

actgtgcctt ctagttgcca gccatctgtt gtttgcccct cccccgtgcc ttccttgacc 3660

ctggaaggtg ccactcccac tgtcctttcc taataaaatg aggaaattgc atcgcattgt 3720

ctgagtaggt gtcattctat tctgggggggt ggggtggggc aggacagcaa gggggaggat 3780

tgggaagaca atagcaggca tgctggggag agatccacga taacaaacag ctttttggg 3840

gtgaacatat tgactgaatt ccctgcaggt tggccactcc ctctctgcgc gctcgctcgc 3900

tcactgaggc cgcccgggca aagcccgggc gtcgggcgac ctttggtcgc ccggcctcag 3960

tgagcgagcg agcgcgcaga gagggagtgg ccaactccat cactaggggt tcctgcggcc 4020

gctcgtacgg tctcgaggaa ttcctgcagg ataacttgcc aacctcattc taaaatgtat 4080

atagaagccc aaaagacaat aacaaaaata ttcttgtaga acaaaatggg aaagaatgtt 4140

ccactaaata tcaagattta gagcaaagca tgagatgtgt ggggatagac agtgaggctg 4200

ataaaataga gtagagctca gaaacagacc cattgatata tgtaagtgac ctatgaaaaa 4260

aatatggcat tttacaatgg gaaaatgatg gtctttttct tttttagaaa aacagggaaa 4320

tatatttata tgtaaaaaat aaaagggaac ccatatgtca taccatacac acaaaaaaat 4380

tccagtgaat tataagtcta aatggagaag gcaaaacttt aaatctttta gaaaataata 4440

tagaagcatg cagaccagcc tggccaacat gatgaaaccc tctctactaa taataaaatc 4500

agtagaacta ctcaggacta ctttgagtgg gaagtccttt tctatgaaga cttctttggc 4560

caaaattagg ctctaaatgc aaggagatag tgcatcatgc ctggctgcac ttactgataa 4620

atgatgttat caccatcttt aaccaaatgc acaggaacaa gttatggtac tgatgtgctg 4680

gattgagaag gagctctact tccttgacag gacacatttg tatcaactta aaaaagcaga 4740

tttttgccag cagaactatt cattcagagg taggaaactt agaatagatg atgtcactga 4800

ttagcatggc ttccccatct ccacagctgc ttcccaccca ggttgcccac agttgagttt 4860

gtccagtgct cagggctgcc cactctcagt aagaagcccc acaccagccc ctctccaaat 4920

atgttggctg ttccttccat taaagtgacc ccactttaga gcagcaagtg gatttctgtt 4980

tcttacagtt caggaaggag gagtcagctg tgagaacctg gagcctgaga tgcttctaag 5040

tcccactgct actggggtca gggaagccag actccagcat cagcagtcag gagcactaag 5100

cccttgccaa catcctgttt ctcagagaaa ctgcttccat tataatggtt gtccttttt 5160

aagctatcaa gccaaacaac cagtgtctac cattattctc atcacctgaa gccaagggtt 5220

ctagcaaaag tcaagctgtc ttgtaatggt tgatgtgcct ccagcttctg tcttcagtca 5280

ctccactctt agcctgctct gaatcaactc tgaccacagt tccctggagc ccctgccacc 5340

tgctgcccct gccaccttct ccatctgcag tgctgtgcag ccttctgcac tcttgcagag 5400

ctaataggtg gagacttgaa ggaagaggag gaaagtttct cataatagcc ttgctgcaag 5460

ctcaaatggg aggtgggcac tgtgcccagg agccttggag caaaggctgt gcccaacctc 5520

tgactgcatc caggtttggt cttgacagag ataagaagcc ctggcttttg gagccaaaat 5580

ctaggtcaga cttaggcagg attctcaaag tttatcagca gaacatgagg cagaagaccc 5640

tttctgctcc agcttcttca ggctcaacct tcatcagaat agatagaaag agaggctgtg 5700

agggttctta aaacagaagc aaatctgact cagagaataa acaacctcct agtaaactac 5760

agcttagaca gagcatctgg tggtgagtgt gctcagtgtc ctactcaact gtctggtatc 5820

agccctcatg aggacttctc ttctttccct catagacctc catctctgtt ttccttagcc 5880

tgcagaaatc tggatggcta ttcacagaat gcctgtgctt tcagagttgc atttttctc 5940

tggtattctg gttcaagcat ttgaaggtag gaaaggttct ccaagtgcaa gaaagccagc 6000

cctgagcctc aactgcctgg ctagtgtggt cagtaggatg caaaggctgt tgaatgccac 6060

aaggccaaac tttaacctgt gtaccacaag cctagcagca gaggcagctc tgctcactgg 6120

aactctctgt cttctttctc ctgagccttt tcttttcctg agttttctag ctctcctcaa 6180

ccttacctct gccctaccca ggacaaaccc aagagccact gtttctgtga tgtcctctcc 6240

agccctaatt aggcatcatg acttcagcct gaccttccat gctcagaagc agtgctaatc 6300

cacttcagat gagctgctct atgcaacaca ggcagagcct acaaaccttt gcaccagagc 6360

cctccacata tcagtgtttg ttcatactca cttcaacagc aaatgtgact gctgagatta 6420

agattttaca caagatggtc tgtaatttca cagttagttt tatcccatta ggtatgaaag 6480

aattagcata attcccctta aacatgaatg aatcttagat tttttaataa atagttttgg 6540

aagtaaagac agagacatca ggagcacaag gaatagcctg agaggacaaa cagaacaaga 6600

aagagtctgg aaatacacag gatgttcttg gcctcctcaa agcaagtgca agcagatagt 6660

accagcagcc ccaggctatc agagcccagt gaagagaagt accatgaaag ccacagctct 6720

aaccaccctg ttccagagtg acagacagtc cccaagacaa gccagcctga gccagagaga 6780

gaactgcaag agaaagtttc taatttaggt tctgttagat tcagacaagt gcaggtcatc 6840

ctctctccac agctactcac ctctccagcc taacaaagcc tgcagtccac actccaaccc 6900

tggtgtctca cctcctagcc tctcccaaca tcctgctctc tgaccatctt ctgcatctct 6960

catctcacca tctcccactg tctacagcct actcttgcaa ctaccatctc attttctgac 7020

atcctgtcta catcttctgc catactctgc catctaccat accacctctt accatctacc 7080

acaccatctt ttatctccat ccctctcaga agcctccaag ctgaatcctg ctttatgtgt 7140

tcatctcagc ccctgcatgg aaagctgacc ccagaggcag aactattccc agagagcttg 7200

gccaagaaaa acaaaactac cagcctggcc aggctcagga gtagtaagct gcagtgtctg 7260

ttgtgttcta gcttcaacag ctgcaggagt tccactctca aatgctccac atttctcaca 7320

tcctcctgat tctggtcact acccatcttc aaagaacaga atatctcaca tcagcatact 7380

gtgaaggact agtcatgggt gcagctgctc agagctgcaa agtcattctg gatggtggag 7440

agcttacaaa catttcatga tgctcccccc gctctgatgg ctggagccca atccctacac 7500

agactcctgc tgtatgtgtt ttcctttcac tctgagccac agccagaggg caggcattca 7560

gtctcctctt caggctgggg ctggggcact gagaactcac ccaacacctt gctctcactc 7620

cttctgcaaa acaagaaaga gctttgtgct gcagtagcca tgaagaatga aaggaaggct 7680

ttaactaaaa aatgtcagag attattttca acccccttact gtggatcacc agcaaggagg 7740

aaacacaaca cagagacatt ttttcccctc aaattatcaa aagaatcact gcatttgtta 7800

aagagagcaa ctgaatcagg aagcagagtt ttgaacatat cagaagttag gaatctgcat 7860

cagagacaaa tgcagtcatg gttgtttgct gcataccagc cctaatcatt agaagcctca 7920

tggacttcaa acatcattcc ctctgacaag atgctctagc ctaactccat gagataaaat 7980

aaatctgcct ttcagagcca aagaagagtc caccagcttc ttctcagtgt gaacaagagc 8040

tccagtcagg ttagtcagtc cagtgcagta gaggagacca gtctgcatcc tctaattttc 8100

aaaggcaaga agatttgttt accctggaca ccaggcacaa gtgaggtcac agagctctta 8160

gatatgcagt cctcatgagt gaggagacta aagcgcatgc catcaagact tcagtgtaga 8220

gaaaacctcc aaaaaagcct cctcactact tctggaatag ctcagaggcc gaggcggcct 8280

cggcctctgc ataaataaaa aaaattagtc agccatgggg cggagaatgg gcggaactgg 8340

gcggagttag gggcgggatg ggcggagtta ggggcgggac tatggttgct gactaattga 8400

gatgcatgct ttgcatactt ctgcctgctg gggagcctgg ggactttcca cacctggttg 8460

ctgactaatt gagatgcatg ctttgcatac ttctgcctgc tggggagcct ggggactttc 8520

cacaccctaa ctgacacaca ttccacagct gcattaatga atcggccaac gcgcggggag 8580

aggcggtttg cgtattgggc gctcttccgc ttcctcgctc actgactcgc tgcgctcggt 8640

cgttcggctg cggcgagcgg tatcagctca ctcaaaggcg gtaatacggt tatccacaga 8700

atcaggggat aacgcaggaa agaacatgtg agcaaaaggc cagcaaaagg ccaggaaccg 8760

taaaaaggcc gcgttgctgg cgtttttcca taggctccgc ccccctgacg agcatcacaa 8820

aaatcgacgc tcaagtcaga ggtggcgaaa cccgacagga ctataaagat accaggcgtt 8880

tccccctgga agctccctcg tgcgctctcc tgttccgacc ctgccgctta ccggatacct 8940

gtccgccttt ctcccttcgg gaagcgtggc gctttctcat agctcacgct gtaggtatct 9000

cagttcggtg taggtcgttc gctccaagct gggctgtgtg cacgaacccc ccgttcagcc 9060

cgaccgctgc gccttatccg gtaactatcg tcttgagtcc aacccggtaa gacacgactt 9120

atcgccactg gcagcagcca ctggtaacag gattagcaga gcgaggtatg taggcggtgc 9180

tacagagttc ttgaagtggt ggcctaacta cggctacact agaagaacag tatttggtat 9240

ctgcgctctg ctgaagccag ttaccttcgg aaaaagagtt ggtagctctt gatccggcaa 9300

acaaaccacc gctggtagcg gtggtttttt tgtttgcaag cagcagatta cgcgcagaaa 9360

aaaaggatct caagaagatc ctttgatctt ttctacgggg tctgacgctc agtggaacga 9420

aaactcacgt taagggattt tggtcatgag attatcaaaa aggatcttca cctagatcct 9480

tttaaattaa aaatgaagtt ttaaatcaat ctaaagtata tatgagtaaa cttggtctga 9540

cagttaccaa tgcttaatca gtgaggcacc tatctcagcg atctgtctat ttcgttcatc 9600

catagttgcc tgactcctgc aaaccacgtt gtgtctcaaa atctctgatg ttacattgca 9660

caagataaaa atatatcatc atgaacaata aaactgtctg cttacataaa cagtaataca 9720

aggggtgtta tgagccatat tcaacgggaa acgtcttgct cgaggccgcg attaaattcc 9780

aacatggatg ctgatttata tgggtataaa tgggctcgcg ataatgtcgg gcaatcaggt 9840

gcgacaatct atcgattgta tgggaagccc gatgcgccag agttgtttct gaaacatggc 9900

aaaggtagcg ttgccaatga tgttacagat gagatggtca gactaaactg gctgacggaa 9960

tttatgcctc ttccgaccat caagcatttt atccgtactc ctgatgatgc atggttactc 10020

accactgcga tccccgggaa aacagcattc caggtattag aagaatatcc tgattcaggt 10080

gaaaatattg ttgatgcgct ggcagtgttc ctgcgccggt tgcattcgat tcctgtttgt 10140

aattgtcctt ttaacagcga tcgcgtattt cgtctcgctc aggcgcaatc acgaatgaat 10200

aacggtttgg ttgatgcgag tgattttgat gacgagcgta atggctggcc tgttgaacaa 10260

gtctggaaag aaatgcataa gcttttgcca ttctcaccgg attcagtcgt cactcatggt 10320

gatttctcac ttgataacct tatttttgac gaggggaaat taataggttg tattgatgtt 10380

ggacgagtcg gaatcgcaga ccgataccag gatcttgcca tcctatggaa ctgcctcggt 10440

gagttttctc cttcattaca gaaacggctt tttcaaaaat atggtattga taatcctgat 10500

atgaataaat tgcagtttca tttgatgctc gatgagtttt tctaagggcg gcctgccacc 10560

atacccacgc cgaaacaagc gctcatgagc ccgaagtggc gagcccgatc ttccccatcg 10620

gtgatgtcgg cgatataggc gccagcaacc gcacctgtgg cgccggtgat gagggcgcgc 10680

caagtcgacg tccggcagtc 10700

<210> 10

<211> 10700

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polynucleotide

<400> 10

ttggccactc cctctctgcg cgctcgctcg ctcactgagg ccgcccgggc aaagcccggg 60

cgtcgggcga cctttggtcg cccggcctca gtgagcgagc gagcgcgcag agagggagtg 120

gccaactcca tcactagggg ttcctgctag ctctgggtat ttaagcccga gtgagcacgc 180

agggtctcca ttttgaagcg ggaggttacg cgttcgtcga ctactagtgg gtaccagagc 240

tccctaggtt ctagaaccgg tgacgtctcc catggtgaag cttggatctg aattcggtac 300

ctagttatta atagtaatca attacggggt cattagttca tagcccatat atggagttcc 360

gcgttacata acttacggta aatggcccgc ctggctgacc gcccaacgac ccccgcccat 420

tgacgtcaat aatgacgtat gttcccatag taacgccaat agggactttc cattgacgtc 480

aatgggtgga gtatttacgg taaactgccc acttggcagt acatcaagtg tatcatatgc 540

caagtacgcc ccctattgac gtcaatgacg gtaaatggcc cgcctggcat tatgcccagt 600

acatgacctt atgggacttt cctacttggc agtacatcta cgtattagtc atcgctatta 660

ccatggtcga ggtgagcccc acgttctgct tcactctccc catctccccc ccctccccac 720

ccccaatttt gtatttattt atttttttaat tattttgtgc agcgatgggg gcgggggggg 780

gggggggggcg cgcgccaggc ggggcggggc ggggcgaggg gcggggcggg gcgaggcgga 840

gaggtgcggc ggcagccaat cagagcggcg cgctccgaaa gtttccttttt atggcgaggc 900

ggcggcggcg gcggccctat aaaaagcgaa gcgcgcggcg ggcgggagtc gctgcgacgc 960

tgccttcgcc ccgtgccccg ctccgccgcc gcctcgcgcc gcccgccccg gctctgactg 1020

accgcgttac tcccacaggt gagcgggcgg gacggccctt ctcctccggg ctgtaattag 1080

cgcttggttt aatgacggct tgtttctttt ctgtggctgc gtgaaagcct tgaggggctc 1140

cgggagctag agcctctgct aaccatgttc atgccttctt ctttttccta cagctcctgg 1200

gcaacgtgct ggttattgtg ctgtctcatc attttggcaa agaattcctc gaagatccga 1260

agggaaagtc ttccacgact gtgggatccg ttcgaagata tcaccggttg agccaccatg 1320

gaattcagca gccccagcag agaggaatgc cccaagcctc tgagccgggt gtcaatcatg 1380

gccggatctc tgacaggact gctgctgctt caggccgtgt cttgggcttc tggcgctaga 1440

ccttgcatcc ccaagagctt cggctacagc agcgtcgtgt gcgtgtgcaa tgccacctac 1500

tgcgacagct tcgaccctcc tacctttcct gctctgggca ccttcagcag atacgagagc 1560

accagatccg gcagacggat ggaactgagc atgggaccca tccaggccaa tcacacaggc 1620

actggcctgc tgctgacact gcagcctgag cagaaattcc agaaagtgaa aggcttcggc 1680

ggagccatga cagatgccgc cgctctgaat atcctggctc tgtctccacc agctcagaac 1740

ctgctgctca agagctactt cagcgaggaa ggcatcggct acaacatcat cagagtgccc 1800

atggccagct gcgacttcag catcaggacc tacacctacg ccgacacacc cgacgatttc 1860

cagctgcaca acttcagcct gcctgaagag gacaccaagc tgaagatccc tctgatccac 1920

agagccctgc agctggcaca aagacccgtg tcactgctgg cctctccatg gacatctccc 1980

acctggctga aaacaaatgg cgccgtgaat ggcaagggca gcctgaaagg ccaacctggc 2040

gacatctacc accagacctg ggccagatac ttcgtgaagt tcctggacgc ctatgccgag 2100

cacaagctgc agttttgggc cgtgacagcc gagaacgaac cttctgctgg actgctgagc 2160

ggctacccct ttcagtgcct gggctttaca cccgagcacc agcgggactt tatcgcccgt 2220

gatctgggac ccacactggc caatagcacc caccataatg tgcggctgct gatgctggac 2280

gaccagagac tgcttctgcc ccactgggct aaagtggtgc tgacagatcc tgaggccgcc 2340

aaatacgtgc acggaatcgc cgtgcactgg tatctggact ttctggcccc tgccaaggcc 2400

acactgggag agacacacag actgttcccc aacaccatgc tgttcgccag cgaagcctgt 2460

gtgggcagca agttttggga acagagcgtg cggctcggca gctgggatag aggcatgcag 2520

tacagccaca gcatcatcac caacctgctg taccacgtcg tcggctggac cgactggaat 2580

ctggccctga atcctgaagg cggccctaac tgggtccgaa acttcgtgga cagccccatc 2640

atcgtggaca tcaccaagga caccttctac aagcagccca tgttctacca cctgggacac 2700

ttcagcaagt tcatccccga gggctctcag cgcgttggac tggtggcttc ccagaagaac 2760

gatctggacg ccgtggctct gatgcaccct gatggatctg ctgtggtggt ggtcctgaac 2820

cgcagcagca aagatgtgcc cctgaccatc aaggatcccg ccgtgggatt cctggaaaca 2880

atcagccctg gctactccat ccacacctac ctgtggcgta gacagtgaca attgttaatt 2940

aagtttaaac cctcgaggcc gcaagcttat cgataatcaa cctctggatt acaaaatttg 3000

tgaaagattg actggtattc ttaactatgt tgctcctttt acgctatgtg gatacgctgc 3060

tttaatgcct ttgtatcatg ctattgcttc ccgtatggct ttcattttct cctccttgta 3120

taaatcctgg ttgctgtctc tttatgagga gttgtggccc gttgtcaggc aacgtggcgt 3180

ggtgtgcact gtgtttgctg acgcaacccc cactggttgg ggcattgcca ccacctgtca 3240

gctcctttcc gggactttcg ctttcccccc ccctattgcc acggcggaac tcatcgccgc 3300

ctgccttgcc cgctgctgga caggggctcg gctgttgggc actgacaatt ccgtggtgtt 3360

gtcggggaaa tcatcgtcct ttccttggct gctcgcctgt gttgccacct ggattctgcg 3420

cgggacgtcc ttctgctacg tcccttcggc cctcaatcca gcggaccttc cttcccgcgg 3480

cctgctgccg gctctgcggc ctcttccgcg tcttcgcctt cgccctcaga cgagtcggat 3540

ctccctttgg gccgcctccc cgcatcgata ccgtcgacta gagctcgctg atcagcctcg 3600

actgtgcctt ctagttgcca gccatctgtt gtttgcccct cccccgtgcc ttccttgacc 3660

ctggaaggtg ccactcccac tgtcctttcc taataaaatg aggaaattgc atcgcattgt 3720

ctgagtaggt gtcattctat tctgggggggt ggggtggggc aggacagcaa gggggaggat 3780

tgggaagaca atagcaggca tgctggggag agatccacga taacaaacag ctttttttggg 3840

gtgaacatat tgactgaatt ccctgcagga ggaaccccta gtgatggagt tggccactcc 3900

ctctctgcgc gctcgctcgc tcactgaggc cgcccgggca aagcccgggc gtcgggcgac 3960

ctttggtcgc ccggcctcag tgagcgagcg agcgcgcaga gagggagtgg ccaagcggcc 4020

gctcgtacgg tctcgaggaa ttcctgcagg ataacttgcc aacctcattc taaaatgtat 4080

atagaagccc aaaagacaat aacaaaaata ttcttgtaga acaaaatggg aaagaatgtt 4140

ccactaaata tcaagattta gagcaaagca tgagatgtgt ggggatagac agtgaggctg 4200

ataaaataga gtagagctca gaaacagacc cattgatata tgtaagtgac ctatgaaaaa 4260

aatatggcat tttacaatgg gaaaatgatg gtctttttct tttttagaaa aacagggaaa 4320

tatatttata tgtaaaaaat aaaagggaac ccatatgtca taccatacac acaaaaaaat 4380

tccagtgaat tataagtcta aatggagaag gcaaaacttt aaatctttta gaaaataata 4440
tagaagcatg cagaccagcc tggccaacat gatgaaaccc tctctactaa taataaaatc 4500
agtagaacta ctcaggacta ctttgagtgg gaagtccttt tctatgaaga cttctttggc 4560
caaaattagg ctctaaatgc aaggagatag tgcatcatgc ctggctgcac ttactgataa 4620
atgatgttat caccatcttt aaccaaatgc acaggaacaa gttatggtac tgatgtgctg 4680
gattgagaag gagctctact tccttgacag gacacatttg tatcaactta aaaaagcaga 4740
tttttgccag cagaactatt cattcagagg taggaaactt agaatagatg atgtcactga 4800

ttagcatggc ttccccatct ccacagctgc ttcccaccca ggttgcccac agttgagttt 4860
gtccagtgct cagggctgcc cactctcagt aagaagcccc acaccagccc ctctccaaat 4920
atgttggctg ttccttccat taaagtgacc ccactttaga gcagcaagtg gatttctgtt 4980
tcttacagtt caggaaggag gagtcagctg tgagaacctg gagcctgaga tgcttctaag 5040
tcccactgct actggggtca gggaagccag actccagcat cagcagtcag gagcactaag 5100
cccttgccaa catcctgttt ctcagagaaa ctgcttccat tataatggtt gtccttttt 5160
aagctatcaa gccaaacaac cagtgtctac cattattctc atcacctgaa gccaagggtt 5220

ctagcaaaag tcaagctgtc ttgtaatggt tgatgtgcct ccagcttctg tcttcagtca 5280
ctccactctt agcctgctct gaatcaactc tgaccacagt tccctggagc ccctgccacc 5340
tgctgcccct gccaccttct ccatctgcag tgctgtgcag ccttctgcac tcttgcagag 5400
ctaataggtg gagacttgaa ggaagaggag gaaagtttct cataatagcc ttgctgcaag 5460
ctcaaatggg aggtgggcac tgtgcccagg agccttggag caaaggctgt gcccaacctc 5520
tgactgcatc caggtttggt cttgacagag ataagaagcc ctggcttttg gagccaaaat 5580
ctaggtcaga cttaggcagg attctcaaag tttatcagca gaacatgagg cagaagaccc 5640

tttctgctcc agcttcttca ggctcaacct tcatcagaat agatagaaag agaggctgtg 5700
agggttctta aaacagaagc aaatctgact cagagaataa acaacctcct agtaaactac 5760
agcttagaca gagcatctgg tggtgagtgt gctcagtgtc ctactcaact gtctggtatc 5820
agccctcatg aggacttctc ttctttccct catagacctc catctctgtt ttccttagcc 5880
tgcagaaatc tggatggcta ttcacagaat gcctgtgctt tcagagttgc atttttttctc 5940
tggtattctg gttcaagcat ttgaaggtag gaaaggttct ccaagtgcaa gaaagccagc 6000
cctgagcctc aactgcctgg ctagtgtggt cagtaggatg caaaggctgt tgaatgccac 6060

aaggccaaac tttaacctgt gtaccacaag cctagcagca gaggcagctc tgctcactgg 6120

aactctctgt cttctttctc ctgagccttt tcttttcctg agttttctag ctctcctcaa 6180

ccttacctct gccctaccca ggacaaaccc aagagccact gtttctgtga tgtcctctcc 6240

agccctaatt aggcatcatg acttcagcct gaccttccat gctcagaagc agtgctaatc 6300

cacttcagat gagctgctct atgcaacaca ggcagagcct acaaaccttt gcaccagagc 6360

cctccacata tcagtgtttg ttcatactca cttcaacagc aaatgtgact gctgagatta 6420

agattttaca caagatggtc tgtaatttca cagttagttt tatcccatta ggtatgaaag 6480

aattagcata attcccctta aacatgaatg aatcttagat tttttaataa atagttttgg 6540

aagtaaagac agagacatca ggagcacaag gaatagcctg agaggacaaa cagaacaaga 6600

aagagtctgg aaatacacag gatgttcttg gcctcctcaa agcaagtgca agcagatagt 6660

accagcagcc ccaggctatc agagcccagt gaagagaagt accatgaaag ccacagctct 6720

aaccaccctg ttccagagtg acagacagtc cccaagacaa gccagcctga gccagagaga 6780

gaactgcaag agaaagtttc taatttaggt tctgttagat tcagacaagt gcaggtcatc 6840

ctctctccac agctactcac ctctccagcc taacaaagcc tgcagtccac actccaaccc 6900

tggtgtctca cctcctagcc tctcccaaca tcctgctctc tgaccatctt ctgcatctct 6960

catctcacca tctcccactg tctacagcct actcttgcaa ctaccatctc attttctgac 7020

atcctgtcta catcttctgc catactctgc catctaccat accacctctt accatctacc 7080

acaccatctt ttatctccat ccctctcaga agcctccaag ctgaatcctg ctttatgtgt 7140

tcatctcagc ccctgcatgg aaagctgacc ccagaggcag aactattccc agagagcttg 7200

gccaagaaaa acaaaactac cagcctggcc aggctcagga gtagtaagct gcagtgtctg 7260

ttgtgttcta gcttcaacag ctgcaggagt tccactctca aatgctccac atttctcaca 7320

tcctcctgat tctggtcact acccatcttc aaagaacaga atatctcaca tcagcatact 7380

gtgaaggact agtcatgggt gcagctgctc agagctgcaa agtcattctg gatggtggag 7440

agcttacaaa catttcatga tgctcccccc gctctgatgg ctggagccca atccctacac 7500

agactcctgc tgtatgtgtt ttcctttcac tctgagccac agccagaggg caggcattca 7560

gtctcctctt caggctgggg ctggggcact gagaactcac ccaacacctt gctctcactc 7620

cttctgcaaa acaagaaaga gctttgtgct gcagtagcca tgaagaatga aaggaaggct 7680

ttaactaaaa aatgtcagag attattttca acccccttact gtggatcacc agcaaggagg 7740

aaacacaaca cagagacatt ttttcccctc aaattatcaa aagaatcact gcatttgtta 7800

aagagagcaa ctgaatcagg aagcagagtt ttgaacatat cagaagttag gaatctgcat 7860

cagagacaaa tgcagtcatg gttgtttgct gcataccagc cctaatcatt agaagcctca 7920

tggacttcaa acatcattcc ctctgacaag atgctctagc ctaactccat gagataaaat 7980

aaatctgcct ttcagagcca aagaagagtc caccagcttc ttctcagtgt gaacaagagc 8040

tccagtcagg ttagtcagtc cagtgcagta gaggagacca gtctgcatcc tctaattttc 8100

aaaggcaaga agatttgttt accctggaca ccaggcacaa gtgaggtcac agagctctta 8160

gatatgcagt cctcatgagt gaggagacta aagcgcatgc catcaagact tcagtgtaga 8220

gaaaacctcc aaaaaagcct cctcactact tctggaatag ctcagaggcc gaggcggcct 8280

cggcctctgc ataaataaaa aaaattagtc agccatgggg cggagaatgg gcggaactgg 8340

gcggagttag gggcgggatg ggcggagtta ggggcgggac tatggttgct gactaattga 8400

gatgcatgct ttgcatactt ctgcctgctg gggagcctgg ggactttcca cacctggttg 8460

ctgactaatt gagatgcatg ctttgcatac ttctgcctgc tggggagcct ggggactttc 8520

cacaccctaa ctgacacaca ttccacagct gcattaatga atcggccaac gcgcggggag 8580

aggcggtttg cgtattgggc gctcttccgc ttcctcgctc actgactcgc tgcgctcggt 8640

cgttcggctg cggcgagcgg tatcagctca ctcaaaggcg gtaatacggt tatccacaga 8700

atcaggggat aacgcaggaa agaacatgtg agcaaaaggc cagcaaaagg ccaggaaccg 8760

taaaaaggcc gcgttgctgg cgtttttcca taggctccgc ccccctgacg agcatcacaa 8820

aaatcgacgc tcaagtcaga ggtggcgaaa cccgacagga ctataaagat accaggcgtt 8880

tccccctgga agctccctcg tgcgctctcc tgttccgacc ctgccgctta ccggatacct 8940

gtccgccttt ctcccttcgg gaagcgtggc gctttctcat agctcacgct gtaggtatct 9000

cagttcggtg taggtcgttc gctccaagct gggctgtgtg cacgaacccc ccgttcagcc 9060

cgaccgctgc gccttatccg gtaactatcg tcttgagtcc aacccggtaa gacacgactt 9120

atcgccactg gcagcagcca ctggtaacag gattagcaga gcgaggtatg taggcggtgc 9180

tacagagttc ttgaagtggt ggcctaacta cggctacact agaagaacag tatttggtat 9240

ctgcgctctg ctgaagccag ttaccttcgg aaaaagagtt ggtagctctt gatccggcaa 9300

acaaaccacc gctggtagcg gtggtttttt tgtttgcaag cagcagatta cgcgcagaaa 9360

aaaaggatct caagaagatc ctttgatctt ttctacgggg tctgacgctc agtggaacga 9420

aaactcacgt taagggattt tggtcatgag attatcaaaa aggatcttca cctagatcct 9480

tttaaattaa aaatgaagtt ttaaatcaat ctaaagtata tatgagtaaa cttggtctga 9540

cagttaccaa tgcttaatca gtgaggcacc tatctcagcg atctgtctat ttcgttcatc 9600

catagttgcc tgactcctgc aaaccacgtt gtgtctcaaa atctctgatg ttacattgca 9660

caagataaaa atatatcatc atgaacaata aaactgtctg cttacataaa cagtaataca 9720

aggggtgtta tgagccatat tcaacgggaa acgtcttgct cgaggccgcg attaaattcc 9780

aacatggatg ctgatttata tgggtataaa tgggctcgcg ataatgtcgg gcaatcaggt 9840

gcgacaatct atcgattgta tgggaagccc gatgcgccag agttgtttct gaaacatggc 9900
aaaggtagcg ttgccaatga tgttacagat gagatggtca gactaaactg gctgacggaa 9960
tttatgcctc ttccgaccat caagcatttt atccgtactc ctgatgatgc atggttactc 10020
accactgcga tccccgggaa aacagcattc caggtattag aagaatatcc tgattcaggt 10080
gaaaatattg ttgatgcgct ggcagtgttc ctgcgccggt tgcattcgat tcctgtttgt 10140
aattgtcctt ttaacagcga tcgcgtattt cgtctcgctc aggcgcaatc acgaatgaat 10200
aacggtttgg ttgatgcgag tgattttgat gacgagcgta atggctggcc tgttgaacaa 10260

gtctggaaag aaatgcataa gcttttgcca ttctcaccgg attcagtcgt cactcatggt 10320
gatttctcac ttgataacct tatttttgac gaggggaaat taataggttg tattgatgtt 10380
ggacgagtcg gaatcgcaga ccgataccag gatcttgcca tcctatggaa ctgcctcggt 10440
gagttttctc cttcattaca gaaacggctt tttcaaaaat atggtattga taatcctgat 10500
atgaataaat tgcagtttca tttgatgctc gatgagtttt tctaagggcg gcctgccacc 10560
atacccacgc cgaaacaagc gctcatgagc ccgaagtggc gagcccgatc ttccccatcg 10620
gtgatgtcgg cgatataggc gccagcaacc gcacctgtgg cgccggtgat gagggcgcgc 10680

caagtcgacg tccggcagtc 10700

<210> 11
<211> 11188
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic polynucleotide
<400> 11

ttggccactc cctctctgcg cgctcgctcg ctcactgagg ccgggcgacc aaaggtcgcc 60
cgacgcccgg gctttgcccg ggcggcctca gtgagcgagc gagcgcgcag agagggagtg 120
gccaactatt agatctgatg gccgcgctag ctctgggtat ttaagcccga gtgagcacgc 180
agggtctcca ttttgaagcg ggaggttacg cgttcgtcga ctactagtgg gtaccagagc 240
gtggtgactg agatgttttc taggaaacac aaaagataca aaaaagaaca cgtggaagga 300

tagccaaaaa ggggggctgc ccccatttcc tgcaccccgc tgcgatggct ggcaccattt 360
ggaagacttc gagatacact gttgagcgca gtaagacaac agtgtatctc gaagtcttcc 420
agatggggcc agccggtcca ctctgtatcc aggccagttc tgcaaggcgt tcgaggacca 480
ccccctccc ctcgccacca gggtggtctc atacagaact tataagattc ccaaatccaa 540

agacatttca cgtttatggt gatttcccag aacacatagc gacatgcaaa tattgcaggg 600

cgccactccc ctgtccctca cagccatctt cctgccaggg cgcacgcgcg ctgggtgttc 660

ccgcctagtg acactgggcc cgcgattcct tggagcgggt tgatgacgtc agcgtttccc 720

atggtgaatc cctaggttct agaaccggtg acgtctccca tggtgaagct tggatctgaa 780

ttcggtacct agttattaat agtaatcaat tacggggtca ttagttcata gcccatatat 840

ggagttccgc gttacataac ttacggtaaa tggcccgcct ggctgaccgc ccaacgaccc 900

ccgcccattg acgtcaataa tgacgtatgt tcccatagta acgccaatag ggactttcca 960

ttgacgtcaa tgggtggagt atttacggta aactgcccac ttggcagtac atcaagtgta 1020

tcatatgcca agtacgcccc ctattgacgt caatgacggt aaatggcccg cctggcatta 1080

tgcccagtac atgaccttat gggactttcc tacttggcag tacatctacg tattagtcat 1140

cgctattacc atggtcgagg tgagccccac gttctgcttc actctcccca tctccccccc 1200

ctccccaccc ccaattttgt atttatttat tttttaatta ttttgtgcag cgatgggggc 1260

gggggggggg ggggggcgcg cgccaggcgg ggcggggcgg ggcgaggggc ggggcggggc 1320

gaggcggaga ggtgcggcgg cagccaatca gagcggcgcg ctccgaaagt ttccttttat 1380

ggcgaggcgg cggcggcggc ggccctataa aaagcgaagc gcgcggcggg cgggagtcgc 1440

tgcgacgctg ccttcgcccc gtgccccgct ccgccgccgc ctcgcgccgc ccgccccggc 1500

tctgactgac cgcgttactc ccacaggtga gcgggcggga cggcccttct cctccgggct 1560

gtaattagcg cttggtttaa tgacggcttg tttcttttct gtggctgcgt gaaagccttg 1620

aggggctccg ggagctagag cctctgctaa ccatgttcat gccttcttct ttttcctaca 1680

gctcctgggc aacgtgctgg ttattgtgct gtctcatcat tttggcaaag aattcctcga 1740

agatccgaag ggaaagtctt ccacgactgt gggatccgtt cgaagatatc accggttgag 1800

ccaccatgga attcagcagc cccagcagag aggaatgccc caagcctctg agccgggtgt 1860

caatcatggc cggatctctg acaggactgc tgctgcttca ggccgtgtct tgggcttctg 1920

gcgctagacc ttgcatcccc aagagcttcg gctacagcag cgtcgtgtgc gtgtgcaatg 1980

ccacctactg cgacagcttc gaccctccta cctttcctgc tctgggcacc ttcagcagat 2040

acgagagcac cagatccggc agacggatgg aactgagcat gggacccatc caggccaatc 2100

acacaggcac tggcctgctg ctgacactgc agcctgagca gaaattccag aaagtgaaag 2160

gcttcggcgg agccatgaca gatgccgccg ctctgaatat cctggctctg tctccaccag 2220

ctcagaacct gctgctcaag agctacttca gcgaggaagg catcggctac aacatcatca 2280

gagtgcccat ggccagctgc gacttcagca tcaggaccta cacctacgcc gacacacccg 2340

acgatttcca gctgcacaac ttcagcctgc ctgaagagga caccaagctg aagatccctc 2400

tgatccacag agccctgcag ctggcacaaa gacccgtgtc actgctggcc tctccatgga 2460
catctcccac ctggctgaaa acaaatggcg ccgtgaatgg caagggcagc ctgaaaggcc 2520
aacctggcga catctaccac cagacctggg ccagatactt cgtgaagttc ctggacgcct 2580
atgccgagca caagctgcag ttttgggccg tgacagccga gaacgaacct tctgctggac 2640
tgctgagcgg ctaccccttt cagtgcctgg gctttacacc cgagcaccag cgggacttta 2700
tcgcccgtga tctgggaccc acactggcca atagcaccca ccataatgtg cggctgctga 2760
tgctggacga ccagagactg cttctgcccc actgggctaa agtggtgctg acagatcctg 2820

aggccgccaa atacgtgcac ggaatcgccg tgcactggta tctggacttt ctggcccctg 2880
ccaaggccac actgggagag acacacagac tgttccccaa caccatgctg ttcgccagcg 2940
aagcctgtgt gggcagcaag ttttgggaac agagcgtgcg gctcggcagc tgggatagag 3000
gcatgcagta cagccacagc atcatcacca acctgctgta ccacgtcgtc ggctggaccg 3060
actggaatct ggccctgaat cctgaaggcg gccctaactg ggtccgaaac ttcgtggaca 3120
gccccatcat cgtggacatc accaaggaca ccttctacaa gcagcccatg ttctaccacc 3180
tgggacactt cagcaagttc atccccgagg gctctcagcg cgttggactg gtggcttccc 3240

agaagaacga tctggacgcc gtggctctga tgcaccctga tggatctgct gtggtggtgg 3300
tcctgaaccg cagcagcaaa gatgtgcccc tgaccatcaa ggatcccgcc gtgggattcc 3360
tggaaacaat cagccctggc tactccatcc acacctacct gtggcgtaga cagtgacaat 3420
tgttaattaa gtttaaaccc tcgaggccgc aagcttatcg ataatcaacc tctggattac 3480
aaaatttgtg aaagattgac tggtattctt aactatgttg ctccttttac gctatgtgga 3540
tacgctgctt taatgccttt gtatcatgct attgcttccc gtatggcttt cattttctcc 3600
tccttgtata aatcctggtt gctgtctctt tatgaggagt tgtggcccgt tgtcaggcaa 3660

cgtggcgtgg tgtgcactgt gtttgctgac gcaaccccca ctggttgggg cattgccacc 3720
acctgtcagc tcctttccgg gactttcgct ttccccctcc ctattgccac ggcggaactc 3780
atcgccgcct gccttgcccg ctgctggaca ggggctcggc tgttgggcac tgacaattcc 3840
gtggtgttgt cggggaaatc atcgtccttt ccttggctgc tcgcctgtgt tgccacctgg 3900
attctgcgcg ggacgtcctt ctgctacgtc ccttcggccc tcaatccagc ggaccttcct 3960
tcccgcggcc tgctgccggc tctgcggcct cttccgcgtc ttcgccttcg ccctcagacg 4020
agtcggatct ccctttgggc cgcctccccg catcgatacc gtcgactaga gctcgctgat 4080

cagcctcgac tgtgccttct agttgccagc catctgttgt ttgcccctcc cccgtgcctt 4140

ccttgaccct ggaaggtgcc actcccactg tcctttccta ataaaatgag gaaattgcat 4200

cgcattgtct gagtaggtgt cattctattc tgggggggtgg ggtggggcag gacagcaagg 4260

gggaggattg ggaagacaat agcaggcatg ctggggagag atccacgata acaaacagct 4320

tttttggggt gaacatattg actgaattcc ctgcaggttg gccactccct ctctgcgcgc 4380

tcgctcgctc actgaggccg cccgggcaaa gcccgggcgt cgggcgacct ttggtcgccc 4440

ggcctcagtg agcgagcgag cgcgcagaga gggagtggcc aactccatca ctaggggttc 4500

ctgcggccgc tcgtacggtc tcgaggaatt cctgcaggat aacttgccaa cctcattcta 4560

aaatgtatat agaagcccaa aagacaataa caaaaatatt cttgtagaac aaaatgggaa 4620

agaatgttcc actaaatatc aagatttaga gcaaagcatg agatgtgtgg ggatagacag 4680

tgaggctgat aaaatagagt agagctcaga aacagaccca ttgatatatg taagtgacct 4740

atgaaaaaaa tatggcattt tacaatggga aaatgatggt ctttttcttt tttagaaaaa 4800

cagggaaata tatttatatg taaaaaataa aagggaaccc atatgtcata ccatacacac 4860

aaaaaaattc cagtgaatta taagtctaaa tggagaaggc aaaactttaa atcttttaga 4920

aaataatata gaagcatgca gaccagcctg gccaacatga tgaaaccctc tctactaata 4980

ataaaatcag tagaactact caggactact ttgagtggga agtccttttc tatgaagact 5040

tctttggcca aaattaggct ctaaatgcaa ggagatagtg catcatgcct ggctgcactt 5100

actgataaat gatgttatca ccatctttaa ccaaatgcac aggaacaagt tatggtactg 5160

atgtgctgga ttgagaagga gctctacttc cttgacagga cacatttgta tcaacttaaa 5220

aaagcagatt tttgccagca gaactattca ttcagaggta ggaaacttag aatagatgat 5280

gtcactgatt agcatggctt ccccatctcc acagctgctt cccacccagg ttgcccacag 5340

ttgagtttgt ccagtgctca gggctgccca ctctcagtaa gaagccccac accagcccct 5400

ctccaaatat gttggctgtt ccttccatta aagtgacccc actttagagc agcaagtgga 5460

tttctgtttc ttacagttca ggaaggagga gtcagctgtg agaacctgga gcctgagatg 5520

cttctaagtc ccactgctac tggggtcagg gaagccagac tccagcatca gcagtcagga 5580

gcactaagcc cttgccaaca tcctgtttct cagagaaact gcttccatta taatggttgt 5640

ccttttttaa gctatcaagc caaacaacca gtgtctacca ttattctcat cacctgaagc 5700

caagggttct agcaaaagtc aagctgtctt gtaatggttg atgtgcctcc agcttctgtc 5760

ttcagtcact ccactcttag cctgctctga atcaactctg accacagttc cctggagccc 5820

ctgccacctg ctgcccctgc caccttctcc atctgcagtg ctgtgcagcc ttctgcactc 5880

ttgcagagct aataggtgga gacttgaagg aagaggagga aagtttctca taatagcctt 5940

gctgcaagct caaatgggag gtgggcactg tgcccaggag ccttggagca aaggctgtgc 6000

ccaacctctg actgcatcca ggtttggtct tgacagagat aagaagccct ggcttttgga 6060

gccaaaatct aggtcagact taggcaggat tctcaaagtt tatcagcaga acatgaggca 6120

gaagaccctt tctgctccag cttcttcagg ctcaaccttc atcagaatag atagaaagag 6180

aggctgtgag ggttcttaaa acagaagcaa atctgactca gagaataaac aacctcctag 6240

taaactacag cttagacaga gcatctggtg gtgagtgtgc tcagtgtcct actcaactgt 6300

ctggtatcag ccctcatgag gacttctctt ctttccctca tagacctcca tctctgtttt 6360

ccttagcctg cagaaatctg gatggctatt cacagaatgc ctgtgctttc agagttgcat 6420

tttttctctg gtattctggt tcaagcattt gaaggtagga aaggttctcc aagtgcaaga 6480

aagccagccc tgagcctcaa ctgcctggct agtgtggtca gtaggatgca aaggctgttg 6540

aatgccacaa ggccaaactt taacctgtgt accacaagcc tagcagcaga ggcagctctg 6600

ctcactggaa ctctctgtct tctttctcct gagccttttc ttttcctgag ttttctagct 6660

ctcctcaacc ttacctctgc cctacccagg acaaacccaa gagccactgt ttctgtgatg 6720

tcctctccag ccctaattag gcatcatgac ttcagcctga ccttccatgc tcagaagcag 6780

tgctaatcca cttcagatga gctgctctat gcaacacagg cagagcctac aaacctttgc 6840

accagagccc tccacatatc agtgtttgtt catactcact tcaacagcaa atgtgactgc 6900

tgagattaag attttacaca agatggtctg taatttcaca gttagtttta tcccattagg 6960

tatgaaagaa ttagcataat tccccttaaa catgaatgaa tcttagattt tttaataaat 7020

agttttggaa gtaaagacag agacatcagg agcacaagga atagcctgag aggacaaaca 7080

gaacaagaaa gagtctggaa atacacagga tgttcttggc ctcctcaaag caagtgcaag 7140

cagatagtac cagcagcccc aggctatcag agcccagtga agagaagtac catgaaagcc 7200

acagctctaa ccaccctgtt ccagagtgac agacagtccc caagacaagc cagcctgagc 7260

cagagagaga actgcaagag aaagtttcta atttaggttc tgttagattc agacaagtgc 7320

aggtcatcct ctctccacag ctactcacct ctccagccta acaaagcctg cagtccacac 7380

tccaaccctg gtgtctcacc tcctagcctc tcccaacatc ctgctctctg accatcttct 7440

gcatctctca tctcaccatc tcccactgtc tacagcctac tcttgcaact accatctcat 7500

tttctgacat cctgtctaca tcttctgcca tactctgcca tctaccatac cacctcttac 7560

catctaccac accatctttt atctccatcc ctctcagaag cctccaagct gaatcctgct 7620

ttatgtgttc atctcagccc ctgcatggaa agctgacccc agaggcagaa ctattcccag 7680

agagcttggc caagaaaaac aaaactacca gcctggccag gctcaggagt agtaagctgc 7740

agtgtctgtt gtgttctagc ttcaacagct gcaggagttc cactctcaaa tgctccacat 7800

ttctcacatc ctcctgattc tggtcactac ccatcttcaa agaacagaat atctcacatc 7860

agcatactgt gaaggactag tcatgggtgc agctgctcag agctgcaaag tcattctgga 7920

tggtggagag cttacaaaca tttcatgatg ctccccccgc tctgatggct ggagcccaat 7980

ccctacacag actcctgctg tatgtgtttt cctttcactc tgagccacag ccagagggca 8040

ggcattcagt ctcctcttca ggctggggct ggggcactga gaactcaccc aacaccttgc 8100

tctcactcct tctgcaaaac aagaaagagc tttgtgctgc agtagccatg aagaatgaaa 8160

ggaaggcttt aactaaaaaa tgtcagagat tattttcaac cccttactgt ggatcaccag 8220

caaggaggaa acacaacaca gagacatttt ttcccctcaa attatcaaaa gaatcactgc 8280

atttgttaaa gagagcaact gaatcaggaa gcagagtttt gaacatatca gaagttagga 8340

atctgcatca gagacaaatg cagtcatggt tgtttgctgc ataccagccc taatcattag 8400

aagcctcatg gacttcaaac atcattccct ctgacaagat gctctagcct aactccatga 8460

gataaaataa atctgccttt cagagccaaa gaagagtcca ccagcttctt ctcagtgtga 8520

acaagagctc cagtcaggtt agtcagtcca gtgcagtaga ggagaccagt ctgcatcctc 8580

taattttcaa aggcaagaag atttgtttac cctggacacc aggcacaagt gaggtcacag 8640

agctcttaga tatgcagtcc tcatgagtga ggagactaaa gcgcatgcca tcaagacttc 8700

agtgtagaga aaacctccaa aaaagcctcc tcactacttc tggaatagct cagaggccga 8760

ggcggcctcg gcctctgcat aaataaaaaa aattagtcag ccatggggcg gagaatgggc 8820

ggaactgggc ggagttaggg gcgggatggg cggagttagg ggcgggacta tggttgctga 8880

ctaattgaga tgcatgcttt gcatacttct gcctgctggg gagcctgggg actttccaca 8940

cctggttgct gactaattga gatgcatgct ttgcatactt ctgcctgctg gggagcctgg 9000

ggactttcca caccctaact gacacacatt ccacagctgc attaatgaat cggccaacgc 9060

gcggggagag gcggtttgcg tattgggcgc tcttccgctt cctcgctcac tgactcgctg 9120

cgctcggtcg ttcggctgcg gcgagcggta tcagctcact caaaggcggt aatacggtta 9180

tccacagaat caggggataa cgcaggaaag aacatgtgag caaaaggcca gcaaaaggcc 9240

aggaaccgta aaaaggccgc gttgctggcg tttttccata ggctccgccc ccctgacgag 9300

catcacaaaa atcgacgctc aagtcagagg tggcgaaacc cgacaggact ataaagatac 9360

caggcgtttc cccctggaag ctccctcgtg cgctctcctg ttccgaccct gccgcttacc 9420

ggatacctgt ccgcctttct cccttcggga agcgtggcgc tttctcatag ctcacgctgt 9480

aggtatctca gttcggtgta ggtcgttcgc tccaagctgg gctgtgtgca cgaaccccc 9540

gttcagcccg accgctgcgc cttatccggt aactatcgtc ttgagtccaa cccggtaaga 9600

cacgacttat cgccactggc agcagccact ggtaacagga ttagcagagc gaggtatgta 9660

ggcggtgcta cagagttctt gaagtggtgg cctaactacg gctacactag aagaacagta 9720

tttggtatct gcgctctgct gaagccagtt accttcggaa aaagagttgg tagctcttga 9780

tccggcaaac aaaccaccgc tggtagcggt ggtttttttg tttgcaagca gcagattacg 9840

cgcagaaaaa aaggatctca agaagatcct ttgatctttt ctacggggtc tgacgctcag 9900

tggaacgaaa actcacgtta agggattttg gtcatgagat tatcaaaaag gatcttcacc 9960

tagatccttt taaattaaaa atgaagtttt aaatcaatct aaagtatata tgagtaaact 10020

tggtctgaca gttaccaatg cttaatcagt gaggcaccta tctcagcgat ctgtctattt 10080

cgttcatcca tagttgcctg actcctgcaa accacgttgt gtctcaaaat ctctgatgtt 10140

acattgcaca agataaaaat atatcatcat gaacaataaa actgtctgct tacataaaca 10200

gtaatacaag gggtgttatg agccatattc aacgggaaac gtcttgctcg aggccgcgat 10260

taaattccaa catggatgct gatttatatg ggtataaatg ggctcgcgat aatgtcgggc 10320

aatcaggtgc gacaatctat cgattgtatg ggaagcccga tgcgccagag ttgtttctga 10380

aacatggcaa aggtagcgtt gccaatgatg ttacagatga gatggtcaga ctaaactggc 10440

tgacggaatt tatgcctctt ccgaccatca agcattttat ccgtactcct gatgatgcat 10500

ggttactcac cactgcgatc cccgggaaaa cagcattcca ggtattagaa gaatatcctg 10560

attcaggtga aaatattgtt gatgcgctgg cagtgttcct gcgccggttg cattcgattc 10620

ctgtttgtaa ttgtccttttt aacagcgatc gcgtatttcg tctcgctcag gcgcaatcac 10680

gaatgaataa cggtttggtt gatgcgagtg attttgatga cgagcgtaat ggctggcctg 10740

ttgaacaagt ctggaaagaa atgcataagc ttttgccatt ctcaccggat tcagtcgtca 10800

ctcatggtga tttctcactt gataacctta tttttgacga ggggaaatta ataggttgta 10860

ttgatgttgg acgagtcgga atcgcagacc gataccagga tcttgccatc ctatggaact 10920

gcctcggtga gttttctcct tcattacaga aacggctttt tcaaaaatat ggtattgata 10980

atcctgatat gaataaattg cagtttcatt tgatgctcga tgagtttttc taagggcggc 11040

ctgccaccat acccacgccg aaacaagcgc tcatgagccc gaagtggcga gcccgatctt 11100

ccccatcggt gatgtcggcg atataggcgc cagcaaccgc acctgtggcg ccggtgatga 11160

gggcgcgcca agtcgacgtc cggcagtc 11188

<210> 12

<211> 11187

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polynucleotide

<400> 12

ctagaaccgg tgacgtctcc catggtgaag cttggatctg aattcggtac ctagttataa 60

tagtaatcaa ttacggggtc attagttcat agcccatata tggagttccg cgttacataa 120

cttacggtaa atggcccgcc tggctgaccg cccaacgacc cccgcccatt gacgtcaata 180

atgacgtatg ttcccatagt aacgccaata gggactttcc attgacgtca atgggtggag 240

tatttacggt aaactgccca cttggcagta catcaagtgt atcatatgcc aagtacgccc 300

cctattgacg tcaatgacgg taaatggccc gcctggcatt atgcccagta catgacctta 360

tgggactttc ctacttggca gtacatctac gtattagtca tcgctattac catggtcgag 420

gtgagcccca cgttctgctt cactctcccc atctcccccc cctccccacc cccaattttg 480

tatttattta ttttttaatt attttgtgca gcgatggggg cgggggggggg gggggggcgc 540

gcgccaggcg gggcggggcg gggcgagggg cggggcgggg cgaggcggag aggtgcggcg 600

gcagccaatc agagcggcgc gctccgaaag tttccttta tggcgaggcg gcggcggcgg 660

cggccctata aaaagcgaag cgcgcggcgg gcgggagtcg ctgcgacgct gccttcgccc 720

cgtgccccgc tccgccgccg cctcgcgccg cccgccccgg ctctgactga ccgcgttact 780

cccacaggtg agcgggcggg acggcccttc tcctccgggc tgtaattagc gcttggttta 840

atgacggctt gtttcttttc tgtggctgcg tgaaagcctt gaggggctcc gggagctaga 900

gcctctgcta accatgttca tgccttcttc tttttcctac agctcctggg caacgtgctg 960

gttattgtgc tgtctcatca ttttggcaaa gaattcctcg aagatccgaa gggaaagtct 1020

tccacgactg tgggatccgt tcgaagatat caccggttga gccaccatgg aattcagcag 1080

ccccagcaga gaggaatgcc ccaagcctct gagccgggtg tcaatcatgg ccggatctct 1140

gacaggactg ctgctgcttc aggccgtgtc ttgggcttct ggcgctagac cttgcatccc 1200

caagagcttc ggctacagca gcgtcgtgtg cgtgtgcaat gccacctact gcgacagctt 1260

cgaccctcct acctttcctg ctctgggcac cttcagcaga tacgagagca ccagatccgg 1320

cagacggatg gaactgagca tgggacccat ccaggccaat cacacaggca ctggcctgct 1380

gctgacactg cagcctgagc agaaattcca gaaagtgaaa ggcttcggcg gagccatgac 1440

agatgccgcc gctctgaata tcctggctct gtctccacca gctcagaacc tgctgctcaa 1500

gagctacttc agcgaggaag gcatcggcta caacatcatc agagtgccca tggccagctg 1560

cgacttcagc atcaggacct acacctacgc cgacacaccc gacgatttcc agctgcacaa 1620

cttcagcctg cctgaagagg acaccaagct gaagatccct ctgatccaca gagccctgca 1680

gctggcacaa agacccgtgt cactgctggc ctctccatgg acatctccca cctggctgaa 1740

aacaaatggc gccgtgaatg gcaagggcag cctgaaaggc caacctggcg acatctacca 1800

ccagacctgg gccagatact tcgtgaagtt cctggacgcc tatgccgagc acaagctgca 1860

gttttgggcc gtgacagccg agaacgaacc ttctgctgga ctgctgagcg gctacccctt 1920

tcagtgcctg ggctttacac ccgagcacca gcgggacttt atcgcccgtg atctgggacc 1980

cacactggcc aatagcaccc accataatgt gcggctgctg atgctggacg accagagact 2040

gcttctgccc cactgggcta aagtggtgct gacagatcct gaggccgcca aatacgtgca 2100

cggaatcgcc gtgcactggt atctggactt tctggcccct gccaaggcca cactgggaga 2160

gacacacaga ctgttcccca acaccatgct gttcgccagc gaagcctgtg tgggcagcaa 2220

gttttgggaa cagagcgtgc ggctcggcag ctgggataga ggcatgcagt acagccacag 2280

catcatcacc aacctgctgt accacgtcgt cggctggacc gactggaatc tggccctgaa 2340

tcctgaaggc ggccctaact gggtccgaaa cttcgtggac agccccatca tcgtggacat 2400

caccaaggac accttctaca agcagcccat gttctaccac ctgggacact tcagcaagtt 2460

catccccgag ggctctcagc gcgttggact ggtggcttcc cagaagaacg atctggacgc 2520

cgtggctctg atgcaccctg atggatctgc tgtggtggtg gtcctgaacc gcagcagcaa 2580

agatgtgccc ctgaccatca aggatcccgc cgtgggattc ctggaaacaa tcagccctgg 2640

ctactccatc cacacctacc tgtggcgtag acagtgacaa ttgttaatta agtttaaacc 2700

ctcgaggccg caagcttatc gataatcaac ctctggatta caaaatttgt gaaagattga 2760

ctggtattct taactatgtt gctcctttta cgctatgtgg atacgctgct ttaatgcctt 2820

tgtatcatgc tattgcttcc cgtatggctt tcattttctc ctccttgtat aaatcctggt 2880

tgctgtctct ttatgaggag ttgtggcccg ttgtcaggca acgtggcgtg gtgtgcactg 2940

tgtttgctga cgcaaccccc actggttggg gcattgccac cacctgtcag ctcctttccg 3000

ggactttcgc tttccccctc cctattgcca cggcggaact catcgccgcc tgccttgccc 3060

gctgctggac aggggctcgg ctgttgggca ctgacaattc cgtggtgttg tcggggaaat 3120

catcgtcctt tccttggctg ctcgcctgtg ttgccacctg gattctgcgc gggacgtcct 3180

tctgctacgt cccttcggcc ctcaatccag cggaccttcc ttcccgcggc ctgctgccgg 3240

ctctgcggcc tcttccgcgt cttcgccttc gccctcagac gagtcggatc tccctttggg 3300

ccgcctcccc gcatcgatac cgtcgactag agctcgctga tcagcctcga ctgtgccttc 3360

tagttgccag ccatctgttg tttgcccctc ccccgtgcct tccttgaccc tggaaggtgc 3420

cactcccact gtcctttcct aataaaatga ggaaattgca tcgcattgtc tgagtaggtg 3480

tcattctatt ctgggggggtg gggtggggca ggacagcaag ggggaggatt gggaagacaa 3540

tagcaggcat gctggggaga gatccacgat aacaaacagc ttttttgggg tgaacatatt 3600

gactgaattc cctgcaggtt ggccactccc tctctgcgcg ctcgctcgct cactgaggcc 3660

gcccgggcaa agcccgggcg tcgggcgacc tttggtcgcc cggcctcagt gagcgagcga 3720

gcgcgcagag agggagtggc caactccatc actaggggtt cctgcggccg ctcgtacggt 3780

ctcgaggaat tcctgcagga taacttgcca acctcattct aaaatgtata tagaagccca 3840

aaagacaata acaaaaatat tcttgtagaa caaaatggga aagaatgttc cactaaatat 3900

caagatttag agcaaagcat gagatgtgtg gggatagaca gtgaggctga taaaatagag 3960

tagagctcag aaacagaccc attgatatat gtaagtgacc tatgaaaaaa atatggcatt 4020

ttacaatggg aaaatgatgg tctttttctt ttttagaaaa acagggaaat atatttatat 4080

gtaaaaaata aaagggaacc catatgtcat accatacaca caaaaaaatt ccagtgaatt 4140

ataagtctaa atggagaagg caaaacttta aatcttttag aaaataatat agaagcatgc 4200

agaccagcct ggccaacatg atgaaaccct ctctactaat aataaaatca gtagaactac 4260

tcaggactac tttgagtggg aagtcctttt ctatgaagac ttctttggcc aaaattaggc 4320

tctaaatgca aggagatagt gcatcatgcc tggctgcact tactgataaa tgatgttatc 4380

accatcttta accaaatgca caggaacaag ttatggtact gatgtgctgg attgagaagg 4440

agctctactt ccttgacagg acacatttgt atcaacttaa aaaagcagat ttttgccagc 4500

agaactattc attcagaggt aggaaactta gaatagatga tgtcactgat tagcatggct 4560

tccccatctc cacagctgct tcccacccag gttgcccaca gttgagtttg tccagtgctc 4620

agggctgccc actctcagta agaagcccca caccagcccc tctccaaata tgttggctgt 4680

tccttccatt aaagtgaccc cactttagag cagcaagtgg atttctgttt cttacagttc 4740

aggaaggagg agtcagctgt gagaacctgg agcctgagat gcttctaagt cccactgcta 4800

ctggggtcag ggaagccaga ctccagcatc agcagtcagg agcactaagc ccttgccaac 4860

atcctgtttc tcagagaaac tgcttccatt ataatggttg tccttttta agctatcaag 4920

ccaaacaacc agtgtctacc attattctca tcacctgaag ccaagggttc tagcaaaagt 4980

caagctgtct tgtaatggtt gatgtgcctc cagcttctgt cttcagtcac tccactctta 5040

gcctgctctg aatcaactct gaccacagtt ccctggagcc cctgccacct gctgcccctg 5100

ccaccttctc catctgcagt gctgtgcagc cttctgcact cttgcagagc taataggtgg 5160

agacttgaag gaagaggagg aaagtttctc ataatagcct tgctgcaagc tcaaatggga 5220

ggtgggcact gtgcccagga gccttggagc aaaggctgtg cccaacctct gactgcatcc 5280

aggtttggtc ttgacagaga taagaagccc tggcttttgg agccaaaatc taggtcagac 5340

ttaggcagga ttctcaaagt ttatcagcag aacatgaggc agaagaccct ttctgctcca 5400

gcttcttcag gctcaacctt catcagaata gatagaaaga gaggctgtga gggttcttaa 5460
aacagaagca aatctgactc agagaataaa caacctccta gtaaactaca gcttagacag 5520
agcatctggt ggtgagtgtg ctcagtgtcc tactcaactg tctggtatca gccctcatga 5580
ggacttctct tctttccctc atagacctcc atctctgttt tccttagcct gcagaaatct 5640
ggatggctat tcacagaatg cctgtgcttt cagagttgca ttttttctct ggtattctgg 5700
ttcaagcatt tgaaggtagg aaaggttctc caagtgcaag aaagccagcc ctgagcctca 5760
actgcctggc tagtgtggtc agtaggatgc aaaggctgtt gaatgccaca aggccaaact 5820

ttaacctgtg taccacaagc ctagcagcag aggcagctct gctcactgga actctctgtc 5880
ttctttctcc tgagcctttt cttttcctga gttttctagc tctcctcaac cttacctctg 5940
ccctacccag gacaaaccca agagccactg tttctgtgat gtcctctcca gccctaatta 6000
ggcatcatga cttcagcctg accttccatg ctcagaagca gtgctaatcc acttcagatg 6060
agctgctcta tgcaacacag gcagagccta caaacctttg caccagagcc ctccacatat 6120
cagtgtttgt tcatactcac ttcaacagca aatgtgactg ctgagattaa gattttacac 6180
aagatggtct gtaatttcac agttagtttt atcccattag gtatgaaaga attagcataa 6240

ttccccttaa acatgaatga atcttagatt ttttaataaa tagttttgga agtaaagaca 6300
gagacatcag gagcacaagg aatagcctga gaggacaaac agaacaagaa agagtctgga 6360
aatacacagg atgttcttgg cctcctcaaa gcaagtgcaa gcagatagta ccagcagccc 6420
caggctatca gagcccagtg aagagaagta ccatgaaagc cacagctcta accaccctgt 6480
tccagagtga cagacagtcc ccaagacaag ccagcctgag ccagagagag aactgcaaga 6540
gaaagtttct aatttaggtt ctgttagatt cagacaagtg caggtcatcc tctctccaca 6600
gctactcacc tctccagcct aacaaagcct gcagtccaca ctccaaccct ggtgtctcac 6660

ctcctagcct ctcccaacat cctgctctct gaccatcttc tgcatctctc atctcaccat 6720
ctcccactgt ctacagccta ctcttgcaac taccatctca ttttctgaca tcctgtctac 6780
atcttctgcc atactctgcc atctaccata ccacctctta ccatctacca caccatcttt 6840
tatctccatc cctctcagaa gcctccaagc tgaatcctgc tttatgtgtt catctcagcc 6900
cctgcatgga aagctgaccc cagaggcaga actattccca gagagcttgg ccaagaaaaa 6960
caaaactacc agcctggcca ggctcaggag tagtaagctg cagtgtctgt tgtgttctag 7020
cttcaacagc tgcaggagtt ccactctcaa atgctccaca tttctcacat cctcctgatt 7080

ctggtcacta cccatcttca aagaacagaa tatctcacat cagcatactg tgaaggacta 7140

gtcatgggtg cagctgctca gagctgcaaa gtcattctgg atggtggaga gcttacaaac 7200

atttcatgat gctccccccg ctctgatggc tggagcccaa tccctacaca gactcctgct 7260

gtatgtgttt tcctttcact ctgagccaca gccagagggc aggcattcag tctcctcttc 7320

aggctggggc tggggcactg agaactcacc caacaccttg ctctcactcc ttctgcaaaa 7380

caagaaagag ctttgtgctg cagtagccat gaagaatgaa aggaaggctt taactaaaaa 7440

atgtcagaga ttattttcaa ccccttactg tggatcacca gcaaggagga aacacaacac 7500

agagacattt tttcccctca aattatcaaa agaatcactg catttgttaa agagagcaac 7560

tgaatcagga agcagagttt tgaacatatc agaagttagg aatctgcatc agagacaaat 7620

gcagtcatgg ttgtttgctg cataccagcc ctaatcatta gaagcctcat ggacttcaaa 7680

catcattccc tctgacaaga tgctctagcc taactccatg agataaaata aatctgcctt 7740

tcagagccaa agaagagtcc accagcttct tctcagtgtg aacaagagct ccagtcaggt 7800

tagtcagtcc agtgcagtag aggagaccag tctgcatcct ctaattttca aaggcaagaa 7860

gatttgttta ccctggacac caggcacaag tgaggtcaca gagctcttag atatgcagtc 7920

ctcatgagtg aggagactaa agcgcatgcc atcaagactt cagtgtagag aaaacctcca 7980

aaaaagcctc ctcactactt ctggaatagc tcagaggccg aggcggcctc ggcctctgca 8040

taaataaaaa aaattagtca gccatggggc ggagaatggg cggaactggg cggagttagg 8100

ggcgggatgg gcggagttag gggcgggact atggttgctg actaattgag atgcatgctt 8160

tgcatacttc tgcctgctgg ggagcctggg gactttccac acctggttgc tgactaattg 8220

agatgcatgc tttgcatact tctgcctgct ggggagcctg gggactttcc acaccctaac 8280

tgacacacat tccacagctg cattaatgaa tcggccaacg cgcggggaga ggcggtttgc 8340

gtattgggcg ctcttccgct tcctcgctca ctgactcgct gcgctcggtc gttcggctgc 8400

ggcgagcggt atcagctcac tcaaaggcgg taatacggtt atccacagaa tcaggggata 8460

acgcaggaaa gaacatgtga gcaaaaggcc agcaaaaggc caggaaccgt aaaaaggccg 8520

cgttgctggc gtttttccat aggctccgcc cccctgacga gcatcacaaa aatcgacgct 8580

caagtcagag gtggcgaaac ccgacaggac tataaagata ccaggcgttt cccccctggaa 8640

gctccctcgt gcgctctcct gttccgaccc tgccgcttac cggatacctg tccgcctttc 8700

tcccttcggg aagcgtggcg ctttctcata gctcacgctg taggtatctc agttcggtgt 8760

aggtcgttcg ctccaagctg ggctgtgtgc acgaaccccc cgttcagccc gaccgctgcg 8820

ccttatccgg taactatcgt cttgagtcca acccggtaag acacgactta tcgccactgg 8880

cagcagccac tggtaacagg attagcagag cgaggtatgt aggcggtgct acagagttct 8940

tgaagtggtg gcctaactac ggctacacta gaagaacagt atttggtatc tgcgctctgc 9000

tgaagccagt taccttcgga aaaagagttg gtagctcttg atccggcaaa caaaccaccg 9060

ctggtagcgg tggttttttt gtttgcaagc agcagattac gcgcagaaaa aaaggatctc 9120

aagaagatcc tttgatcttt tctacggggt ctgacgctca gtggaacgaa aactcacgtt 9180

aagggatttt ggtcatgaga ttatcaaaaa ggatcttcac ctagatcctt ttaaattaaa 9240

aatgaagttt taaatcaatc taaagtatat atgagtaaac ttggtctgac agttaccaat 9300

gcttaatcag tgaggcacct atctcagcga tctgtctatt tcgttcatcc atagttgcct 9360

gactcctgca aaccacgttg tgtctcaaaa tctctgatgt tacattgcac aagataaaaa 9420

tatatcatca tgaacaataa aactgtctgc ttacataaac agtaatacaa ggggtgttat 9480

gagccatatt caacgggaaa cgtcttgctc gaggccgcga ttaaattcca acatggatgc 9540

tgatttatat gggtataaat gggctcgcga taatgtcggg caatcaggtg cgacaatcta 9600

tcgattgtat gggaagcccg atgcgccaga gttgtttctg aaacatggca aaggtagcgt 9660

tgccaatgat gttacagatg agatggtcag actaaactgg ctgacggaat ttatgcctct 9720

tccgaccatc aagcatttta tccgtactcc tgatgatgca tggttactca ccactgcgat 9780

ccccgggaaa acagcattcc aggtattaga agaatatcct gattcaggtg aaaatattgt 9840

tgatgcgctg gcagtgttcc tgcgccggtt gcattcgatt cctgtttgta attgtccttt 9900

taacagcgat cgcgtatttc gtctcgctca ggcgcaatca cgaatgaata acggtttggt 9960

tgatgcgagt gattttgatg acgagcgtaa tggctggcct gttgaacaag tctggaaaga 10020

aatgcataag cttttgccat tctcaccgga ttcagtcgtc actcatggtg atttctcact 10080

tgataacctt atttttgacg aggggaaatt aataggttgt attgatgttg gacgagtcgg 10140

aatcgcagac cgataccagg atcttgccat cctatggaac tgcctcggtg agttttctcc 10200

ttcattacag aaacggcttt ttcaaaaata tggtattgat aatcctgata tgaataaatt 10260

gcagtttcat ttgatgctcg atgagttttt ctaagggcgg cctgccacca tacccacgcc 10320

gaaacaagcg ctcatgagcc cgaagtggcg agcccgatct tccccatcgg tgatgtcggc 10380

gatataggcg ccagcaaccg cacctgtggc gccggtgatg agggcgcgcc aagtcgacgt 10440

ccggcagtct tggccactcc ctctctgcgc gctcgctcgc tcactgaggc cgggcgacca 10500

aaggtcgccc gacgcccggg ctttgcccgg gcggcctcag tgagcgagcg agcgcgcaga 10560

gagggagtgg ccaactccat cactaggggt tcctgctagc tctgggtatt taagcccgag 10620

tgagcacgca gggtctccat tttgaagcgg gaggttacgc gttcgtcgac tactagtggg 10680

taccagagcg tggtgactga gatgttttct aggaaacaca aaagatacaa aaaagaacac 10740

gtggaaggat agccaaaaag gggggctgcc cccatttcct gcaccccgct gcgatggctg 10800

gcaccatttg gaagacttcg agatacactg ttgagcgcag taagacaaca gtgtatctcg 10860

aagtcttcca gatggggcca gccggtccac tctgtatcca ggccagttct gcaaggcgtt 10920

cgaggaccac ccccctcccc tcgccaccag ggtggtctca tacagaactt ataagattcc 10980

caaatccaaa gacatttcac gtttatggtg atttcccaga acacatagcg acatgcaaat 11040

attgcagggc gccactcccc tgtccctcac agccatcttc ctgccagggc gcacgcgcgc 11100

tgggtgttcc cgcctagtga cactgggccc gcgattcctt ggagcgggtt gatgacgtca 11160

gcgtttccca tggtgaatcc ctaggtt 11187

<210> 13

<211> 10960

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polynucleotide

<400> 13

ttggccactc cctctctgcg cgctcgctcg ctcactgagg ccgggcgacc aaaggtcgcc 60

cgacgcccgg gctttgcccg ggcggcctca gtgagcgagc gagcgcgcag agagggagtg 120

gccaactcca tcactagggg ttcctgctag ctctgggtat ttaagcccga gtgagcacgc 180

agggtctcca ttttgaagcg ggaggttacg cgttcgtcga ctactagtgg gtaccagagc 240

tccctaggtt ctagaaccgg tgacgtctcc catggtgaag cttggatctg aattcggtac 300

cctagttatt aatagtaatc aattacgggg tcattagttc atagcccata tatggagttc 360

cgcgttacat aacttacggt aaatggcccg cctggctgac cgcccaacga cccccgccca 420

ttgacgtcaa taatgacgta tgttcccata gtaacgccaa tagggacttt ccattgacgt 480

caatgggtgg actatttacg gtaaactgcc cacttggcag tacatcaagt gtatcatatg 540

ccaagtacgc cccctattga cgtcaatgac ggtaaatggc ccgcctggca ttatgcccag 600

tacatgacct tatgggactt tcctacttgg cagtacatct acgtattagt catcgctatt 660

accatggtcg aggtgagccc cacgttctgc ttcactctcc ccatctcccc cccctcccca 720

cccccaattt tgtatttatt tatttttaa ttattttgtg cagcgatggg ggcgggggggg 780

gggggggggc gcgcgccagg cggggcgggg cggggcgagg ggcggggcgg ggcgaggcgg 840

agaggtgcgg cggcagccaa tcagagcggc gcgctccgaa agtttccttt tatggcgagg 900

cggcggcggc ggcggcccta taaaaagcga agcgcgcggc gggcgggagt cgctgcgacg 960

ctgccttcgc cccgtgcccc gctccgccgc cgcctcgcgc cgcccgcccc ggctctgact 1020

gaccgcgtta ctcccacagg tgagcgggcg ggacggccct tctcctccgg gctgtaatta 1080

gcgcttggtt taatgacggc ttgtcctggt ggcgagggga ggggggtggt cctcgaacgc 1140

cttgcagaac tggcctggat acagagtgga ccggctggcc ccatctggaa gacttcgaga 1200

tacactgttg tcttactgcg ctcaacagtg tatctcgaag tcttccaaat ggtgccagcc 1260

atcgcagcgg ggtgcaggaa atgggggcag ccccccttttt tggctatcct tccacgtgtt 1320

ctttttgta tcttttgtgt ttcctagaaa acatctcagt caccaccttt ctgtggctgc 1380

gtgaaagcct tgaggggctc cgggagctag agcctctgct aaccatgttc atgccttctt 1440

ctttttccta cagctcctgg gcaacgtgct ggttattgtg ctgtctcatc attttggcaa 1500

agaattcctc gaagatccga agggaaagtc ttccacgact gtgggatccg ttcgaagata 1560

tcaccggttg agccaccatg gaattcagca gccccagcag agaggaatgc cccaagcctc 1620

tgagccgggt gtcaatcatg gccggatctc tgacaggact gctgctgctt caggccgtgt 1680

cttgggcttc tggcgctaga ccttgcatcc ccaagagctt cggctacagc agcgtcgtgt 1740

gcgtgtgcaa tgccacctac tgcgacagct tcgaccctcc tacctttcct gctctgggca 1800

ccttcagcag atacgagagc accagatccg gcagacggat ggaactgagc atgggaccca 1860

tccaggccaa tcacacaggc actggcctgc tgctgacact gcagcctgag cagaaattcc 1920

agaaagtgaa aggcttcggc ggagccatga cagatgccgc cgctctgaat atcctggctc 1980

tgtctccacc agctcagaac ctgctgctca agagctactt cagcgaggaa ggcatcggct 2040

acaacatcat cagagtgccc atggccagct gcgacttcag catcaggacc tacacctacg 2100

ccgacacacc cgacgatttc cagctgcaca acttcagcct gcctgaagag gacaccaagc 2160

tgaagatccc tctgatccac agagccctgc agctggcaca aagacccgtg tcactgctgg 2220

cctctccatg gacatctccc acctggctga aaacaaatgg cgccgtgaat ggcaagggca 2280

gcctgaaagg ccaacctggc gacatctacc accagacctg ggccagatac ttcgtgaagt 2340

tcctggacgc ctatgccgag cacaagctgc agttttgggc cgtgacagcc gagaacgaac 2400

cttctgctgg actgctgagc ggctacccct ttcagtgcct gggctttaca cccgagcacc 2460

agcgggactt tatcgcccgt gatctgggac ccacactggc caatagcacc caccataatg 2520

tgcggctgct gatgctggac gaccagagac tgcttctgcc ccactgggct aaagtggtgc 2580

tgacagatcc tgaggccgcc aaatacgtgc acggaatcgc cgtgcactgg tatctggact 2640

ttctggcccc tgccaaggcc acactgggag agacacacag actgttcccc aacaccatgc 2700

tgttcgccag cgaagcctgt gtgggcagca agttttggga acagagcgtg cggctcggca 2760

gctgggatag aggcatgcag tacagccaca gcatcatcac caacctgctg taccacgtcg 2820

tcggctggac cgactggaat ctggccctga atcctgaagg cggccctaac tgggtccgaa 2880

acttcgtgga cagccccatc atcgtggaca tcaccaagga caccttctac aagcagccca 2940
tgttctacca cctgggacac ttcagcaagt tcatccccga gggctctcag cgcgttggac 3000
tggtggcttc ccagaagaac gatctggacg ccgtggctct gatgcaccct gatggatctg 3060
ctgtggtggt ggtcctgaac cgcagcagca aagatgtgcc cctgaccatc aaggatcccg 3120
ccgtgggatt cctggaaaca atcagccctg gctactccat ccacacctac ctgtggcgta 3180
gacagtgaca attgttaatt aagtttaaac cctcgaggcc gcaagcttat cgataatcaa 3240
cctctggatt acaaaatttg tgaaagattg actggtattc ttaactatgt tgctcctttt 3300

acgctatgtg gatacgctgc tttaatgcct ttgtatcatg ctattgcttc ccgtatggct 3360
ttcattttct cctccttgta taaatcctgg ttgctgtctc tttatgagga gttgtggccc 3420
gttgtcaggc aacgtggcgt ggtgtgcact gtgtttgctg acgcaacccc cactggttgg 3480
ggcattgcca ccacctgtca gctcctttcc gggactttcg ctttcccctt ccctattgcc 3540
acggcggaac tcatcgccgc ctgccttgcc cgctgctgga caggggctcg gctgttgggc 3600
actgacaatt ccgtggtgtt gtcggggaaa tcatcgtcct ttccttggct gctcgcctgt 3660
gttgccacct ggattctgcg cgggacgtcc ttctgctacg tcccttcggc cctcaatcca 3720

gcggaccttc cttcccgcgg cctgctgccg gctctgcggc ctcttccgcg tcttcgcctt 3780
cgccctcaga cgagtcggat ctccctttgg gccgcctccc cgcatcgata ccgtcgacta 3840
gagctcgctg atcagcctcg actgtgcctt ctagttgcca gccatctgtt gtttgcccct 3900
cccccgtgcc ttccttgacc ctggaaggtg ccactcccac tgtcctttcc taataaaatg 3960
aggaaattgc atcgcattgt ctgagtaggt gtcattctat tctgggggggt ggggtggggc 4020
aggacagcaa gggggaggat tgggaagaca atagcaggca tgctggggag agatccacga 4080
taacaaacag ctttttggg gtgaacatat tgactgaatt ccctgcaggt tggccactcc 4140

ctctctgcgc gctcgctcgc tcactgaggc cgcccgggca aagcccgggc gtcgggcgac 4200
ctttggtcgc ccggcctcag tgagcgagcg agcgcgcaga gagggagtgg ccaactccat 4260
cactaggggt tcctgcggcc gctcgtacgg tctcgaggaa ttcctgcagg ataacttgcc 4320
aacctcattc taaaatgtat atagaagccc aaaagacaat aacaaaaata ttcttgtaga 4380
acaaaatggg aaagaatgtt ccactaaata tcaagattta gagcaaagca tgagatgtgt 4440
ggggatagac agtgaggctg ataaaataga gtagagctca gaaacagacc cattgatata 4500
tgtaagtgac ctatgaaaaa aatatggcat tttacaatgg gaaaatgatg gtctttttct 4560

tttttagaaa aacagggaaa tatatttata tgtaaaaaat aaaagggaac ccatatgtca 4620

taccatacac acaaaaaaat tccagtgaat tataagtcta aatggagaag gcaaaacttt 4680

aaatctttta gaaaataata tagaagcatg cagaccagcc tggccaacat gatgaaaccc 4740

tctctactaa taataaaatc agtagaacta ctcaggacta ctttgagtgg gaagtccttt 4800

tctatgaaga cttctttggc caaaattagg ctctaaatgc aaggagatag tgcatcatgc 4860

ctggctgcac ttactgataa atgatgttat caccatcttt aaccaaatgc acaggaacaa 4920

gttatggtac tgatgtgctg gattgagaag gagctctact tccttgacag gacacatttg 4980

tatcaactta aaaaagcaga tttttgccag cagaactatt cattcagagg taggaaactt 5040

agaatagatg atgtcactga ttagcatggc ttccccatct ccacagctgc ttcccaccca 5100

ggttgcccac agttgagttt gtccagtgct cagggctgcc cactctcagt aagaagcccc 5160

acaccagccc ctctccaaat atgttggctg ttccttccat taaagtgacc ccactttaga 5220

gcagcaagtg gatttctgtt tcttacagtt caggaaggag gagtcagctg tgagaacctg 5280

gagcctgaga tgcttctaag tcccactgct actggggtca gggaagccag actccagcat 5340

cagcagtcag gagcactaag cccttgccaa catcctgttt ctcagagaaa ctgcttccat 5400

tataatggtt gtccttttt aagctatcaa gccaaacaac cagtgtctac cattattctc 5460

atcacctgaa gccaagggtt ctagcaaaag tcaagctgtc ttgtaatggt tgatgtgcct 5520

ccagcttctg tcttcagtca ctccactctt agcctgctct gaatcaactc tgaccacagt 5580

tccctggagc ccctgccacc tgctgcccct gccaccttct ccatctgcag tgctgtgcag 5640

ccttctgcac tcttgcagag ctaataggtg gagacttgaa ggaagaggag gaaagtttct 5700

cataatagcc ttgctgcaag ctcaaatggg aggtgggcac tgtgcccagg agccttggag 5760

caaaggctgt gcccaacctc tgactgcatc caggtttggt cttgacagag ataagaagcc 5820

ctggcttttg gagccaaaat ctaggtcaga cttaggcagg attctcaaag tttatcagca 5880

gaacatgagg cagaagaccc tttctgctcc agcttcttca ggctcaacct tcatcagaat 5940

agatagaaag agaggctgtg agggttctta aaacagaagc aaatctgact cagagaataa 6000

acaacctcct agtaaactac agcttagaca gagcatctgg tggtgagtgt gctcagtgtc 6060

ctactcaact gtctggtatc agccctcatg aggacttctc ttctttccct catagacctc 6120

catctctgtt ttccttagcc tgcagaaatc tggatggcta ttcacagaat gcctgtgctt 6180

tcagagttgc atttttttctc tggtattctg gttcaagcat ttgaaggtag gaaaggttct 6240

ccaagtgcaa gaaagccagc cctgagcctc aactgcctgg ctagtgtggt cagtaggatg 6300

caaaggctgt tgaatgccac aaggccaaac tttaacctgt gtaccacaag cctagcagca 6360

gaggcagctc tgctcactgg aactctctgt cttctttctc ctgagccttt tcttttcctg 6420

agttttctag ctctcctcaa ccttacctct gccctaccca ggacaaaccc aagagccact 6480

gtttctgtga tgtcctctcc agccctaatt aggcatcatg acttcagcct gaccttccat 6540

gctcagaagc agtgctaatc cacttcagat gagctgctct atgcaacaca ggcagagcct 6600

acaaaccttt gcaccagagc cctccacata tcagtgtttg ttcatactca cttcaacagc 6660

aaatgtgact gctgagatta agattttaca caagatggtc tgtaatttca cagttagttt 6720

tatcccatta ggtatgaaag aattagcata attcccctta aacatgaatg aatcttagat 6780

tttttaataa atagttttgg aagtaaagac agagacatca ggagcacaag gaatagcctg 6840

agaggacaaa cagaacaaga aagagtctgg aaatacacag gatgttcttg gcctcctcaa 6900

agcaagtgca agcagatagt accagcagcc ccaggctatc agagcccagt gaagagaagt 6960

accatgaaag ccacagctct aaccaccctg ttccagagtg acagacagtc cccaagacaa 7020

gccagcctga gccagagaga gaactgcaag agaaagtttc taatttaggt tctgttagat 7080

tcagacaagt gcaggtcatc ctctctccac agctactcac ctctccagcc taacaaagcc 7140

tgcagtccac actccaaccc tggtgtctca cctcctagcc tctcccaaca tcctgctctc 7200

tgaccatctt ctgcatctct catctcacca tctcccactg tctacagcct actcttgcaa 7260

ctaccatctc attttctgac atcctgtcta catcttctgc catactctgc catctaccat 7320

accacctctt accatctacc acaccatctt ttatctccat ccctctcaga agcctccaag 7380

ctgaatcctg ctttatgtgt tcatctcagc ccctgcatgg aaagctgacc ccagaggcag 7440

aactattccc agagagcttg gccaagaaaa acaaaactac cagcctggcc aggctcagga 7500

gtagtaagct gcagtgtctg ttgtgttcta gcttcaacag ctgcaggagt tccactctca 7560

aatgctccac atttctcaca tcctcctgat tctggtcact acccatcttc aaagaacaga 7620

atatctcaca tcagcatact gtgaaggact agtcatgggt gcagctgctc agagctgcaa 7680

agtcattctg gatggtggag agcttacaaa catttcatga tgctcccccc gctctgatgg 7740

ctggagccca atccctacac agactcctgc tgtatgtgtt ttcctttcac tctgagccac 7800

agccagaggg caggcattca gtctcctctt caggctgggg ctggggcact gagaactcac 7860

ccaacacctt gctctcactc cttctgcaaa acaagaaaga gctttgtgct gcagtagcca 7920

tgaagaatga aaggaaggct ttaactaaaa aatgtcagag attattttca accccttact 7980

gtggatcacc agcaaggagg aaacacaaca cagagacatt ttttcccctc aaattatcaa 8040

aagaatcact gcatttgtta aagagagcaa ctgaatcagg aagcagagtt ttgaacatat 8100

cagaagttag gaatctgcat cagagacaaa tgcagtcatg gttgtttgct gcataccagc 8160

cctaatcatt agaagcctca tggacttcaa acatcattcc ctctgacaag atgctctagc 8220

ctaactccat gagataaaat aaatctgcct ttcagagcca aagaagagtc caccagcttc 8280

ttctcagtgt gaacaagagc tccagtcagg ttagtcagtc cagtgcagta gaggagacca 8340

gtctgcatcc tctaattttc aaaggcaaga agatttgttt accctggaca ccaggcacaa 8400
gtgaggtcac agagctctta gatatgcagt cctcatgagt gaggagacta aagcgcatgc 8460
catcaagact tcagtgtaga gaaaacctcc aaaaaagcct cctcactact tctggaatag 8520
ctcagaggcc gaggcggcct cggcctctgc ataaataaaa aaaattagtc agccatgggg 8580
cggagaatgg gcggaactgg gcggagttag gggcgggatg ggcggagtta ggggcgggac 8640
tatggttgct gactaattga gatgcatgct ttgcatactt ctgcctgctg gggagcctgg 8700
ggactttcca cacctggttg ctgactaatt gagatgcatg ctttgcatac ttctgcctgc 8760

tggggagcct ggggactttc cacaccctaa ctgacacaca ttccacagct gcattaatga 8820
atcggccaac gcgcggggag aggcggtttg cgtattgggc gctcttccgc ttcctcgctc 8880
actgactcgc tgcgctcggt cgttcggctg cggcgagcgg tatcagctca ctcaaaggcg 8940
gtaatacggt tatccacaga atcaggggat aacgcaggaa agaacatgtg agcaaaaggc 9000
cagcaaaagg ccaggaaccg taaaaaggcc gcgttgctgg cgtttttcca taggctccgc 9060
ccccctgacg agcatcacaa aaatcgacgc tcaagtcaga ggtggcgaaa cccgacagga 9120
ctataaagat accaggcgtt tccccctgga agctccctcg tgcgctctcc tgttccgacc 9180

ctgccgctta ccggatacct gtccgccttt ctcccttcgg gaagcgtggc gctttctcat 9240
agctcacgct gtaggtatct cagttcggtg taggtcgttc gctccaagct gggctgtgtg 9300
cacgaacccc ccgttcagcc cgaccgctgc gccttatccg gtaactatcg tcttgagtcc 9360
aacccggtaa gacacgactt atcgccactg gcagcagcca ctggtaacag gattagcaga 9420
gcgaggtatg taggcggtgc tacagagttc ttgaagtggt ggcctaacta cggctacact 9480
agaagaacag tatttggtat ctgcgctctg ctgaagccag ttaccttcgg aaaaagagtt 9540
ggtagctctt gatccggcaa acaaaccacc gctggtagcg gtggtttttt tgtttgcaag 9600

cagcagatta cgcgcagaaa aaaaggatct caagaagatc ctttgatctt ttctacgggg 9660
tctgacgctc agtggaacga aaactcacgt taagggattt tggtcatgag attatcaaaa 9720
aggatcttca cctagatcct tttaaattaa aaatgaagtt ttaaatcaat ctaaagtata 9780
tatgagtaaa cttggtctga cagttaccaa tgcttaatca gtgaggcacc tatctcagcg 9840
atctgtctat ttcgttcatc catagttgcc tgactcctgc aaaccacgtt gtgtctcaaa 9900
atctctgatg ttacattgca caagataaaa atatatcatc atgaacaata aaactgtctg 9960
cttacataaa cagtaataca aggggtgtta tgagccatat tcaacgggaa acgtcttgct 10020

cgaggccgcg attaaattcc aacatggatg ctgatttata tgggtataaa tgggctcgcg 10080

ataatgtcgg gcaatcaggt gcgacaatct atcgattgta tgggaagccc gatgcgccag 10140

agttgtttct gaaacatggc aaaggtagcg ttgccaatga tgttacagat gagatggtca 10200

gactaaactg gctgacggaa tttatgcctc ttccgaccat caagcatttt atccgtactc 10260

ctgatgatgc atggttactc accactgcga tccccgggaa aacagcattc caggtattag 10320

aagaatatcc tgattcaggt gaaaatattg ttgatgcgct ggcagtgttc ctgcgccggt 10380

tgcattcgat tcctgtttgt aattgtcctt ttaacagcga tcgcgtattt cgtctcgctc 10440

aggcgcaatc acgaatgaat aacggtttgg ttgatgcgag tgattttgat gacgagcgta 10500

atggctggcc tgttgaacaa gtctggaaag aaatgcataa gcttttgcca ttctcaccgg 10560

attcagtcgt cactcatggt gatttctcac ttgataacct tatttttgac gaggggaaat 10620

taataggttg tattgatgtt ggacgagtcg gaatcgcaga ccgataccag gatcttgcca 10680

tcctatggaa ctgcctcggt gagttttctc cttcattaca gaaacggctt tttcaaaaat 10740

atggtattga taatcctgat atgaataaat tgcagtttca tttgatgctc gatgagtttt 10800

tctaagggcg gcctgccacc atacccacgc cgaaacaagc gctcatgagc ccgaagtggc 10860

gagcccgatc ttccccatcg gtgatgtcgg cgatataggc gccagcaacc gcacctgtgg 10920

cgccggtgat gagggcgcgc caagtcgacg tccggcagtc 10960

<210> 14

<211> 536

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 14

Met Glu Phe Ser Ser Pro Ser Arg Glu Glu Cys Pro Lys Pro Leu Ser

1 5 10 15

Arg Val Ser Ile Met Ala Gly Ser Leu Thr Gly Leu Leu Leu Leu Gln

20 25 30

Ala Val Ser Trp Ala Ser Gly Ala Arg Pro Cys Ile Pro Lys Ser Phe

35 40 45

Gly Tyr Ser Ser Val Val Cys Val Cys Asn Ala Thr Tyr Cys Asp Ser

50 55 60

Phe Asp Pro Pro Thr Phe Pro Ala Leu Gly Thr Phe Ser Arg Tyr Glu

65 70 75 80

Ser Thr Arg Ser Gly Arg Arg Met Glu Leu Ser Met Gly Pro Ile Gln

85 90 95

Ala Asn His Thr Gly Thr Gly Leu Leu Leu Thr Leu Gln Pro Glu Gln

100 105 110

Lys Phe Gln Lys Val Lys Gly Phe Gly Gly Ala Met Thr Asp Ala Ala

115 120 125

Ala Leu Asn Ile Leu Ala Leu Ser Pro Pro Ala Gln Asn Leu Leu Leu

130 135 140

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

145 150 155 160

Pro Met Ala Ser Cys Asp Phe Ser Ile Arg Thr Tyr Thr Tyr Ala Asp

165 170 175

Thr Pro Asp Asp Phe Gln Leu His Asn Phe Ser Leu Pro Glu Glu Asp

180 185 190

Thr Lys Leu Lys Ile Pro Leu Ile His Arg Ala Leu Gln Leu Ala Gln

195 200 205

Arg Pro Val Ser Leu Leu Ala Ser Pro Trp Thr Ser Pro Thr Trp Leu

210 215 220

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

225 230 235 240

Gly Asp Ile Tyr His Gln Thr Trp Ala Arg Tyr Phe Val Lys Phe Leu

245 250 255

Asp Ala Tyr Ala Glu His Lys Leu Gln Phe Trp Ala Val Thr Ala Glu

260 265 270

Asn Glu Pro Ser Ala Gly Leu Leu Ser Gly Tyr Pro Phe Gln Cys Leu

275 280 285

Gly Phe Thr Pro Glu His Gln Arg Asp Phe Ile Ala Arg Asp Leu Gly

290 295 300

Pro Thr Leu Ala Asn Ser Thr His His Asn Val Arg Leu Leu Met Leu

305 310 315 320

Asp Asp Gln Arg Leu Leu Leu Pro His Trp Ala Lys Val Val Leu Thr

325 330 335

Asp Pro Glu Ala Ala Lys Tyr Val His Gly Ile Ala Val His Trp Tyr
340 345 350
Leu Asp Phe Leu Ala Pro Ala Lys Ala Thr Leu Gly Glu Thr His Arg

355 360 365
Leu Phe Pro Asn Thr Met Leu Phe Ala Ser Glu Ala Cys Val Gly Ser
370 375 380
Lys Phe Trp Glu Gln Ser Val Arg Leu Gly Ser Trp Asp Arg Gly Met
385 390 395 400
Gln Tyr Ser His Ser Ile Ile Thr Asn Leu Leu Tyr His Val Val Gly
405 410 415
Trp Thr Asp Trp Asn Leu Ala Leu Asn Pro Glu Gly Gly Pro Asn Trp

420 425 430
Val Arg Asn Phe Val Asp Ser Pro Ile Ile Val Asp Ile Thr Lys Asp
435 440 445
Thr Phe Tyr Lys Gln Pro Met Phe Tyr His Leu Gly His Phe Ser Lys
450 455 460
Phe Ile Pro Glu Gly Ser Gln Arg Val Gly Leu Val Ala Ser Gln Lys
465 470 475 480
Asn Asp Leu Asp Ala Val Ala Leu Met His Pro Asp Gly Ser Ala Val

485 490 495
Val Val Val Leu Asn Arg Ser Ser Lys Asp Val Pro Leu Thr Ile Lys
500 505 510
Asp Pro Ala Val Gly Phe Leu Glu Thr Ile Ser Pro Gly Tyr Ser Ile
515 520 525
His Thr Tyr Leu Trp Arg Arg Gln
530 535

<210> 15
<211> 1608
<212> DNA
<213> Homo sapiens
<400> 15

atggaattca gcagccccag cagagaggaa tgccccaagc ctctgagccg ggtgtcaatc 60

atggccggat ctctgacagg actgctgctg cttcaggccg tgtcttgggc ttctggcgct 120
agaccttgca tccccaagag cttcggctac agcagcgtcg tgtgcgtgtg caatgccacc 180
tactgcgaca gcttcgaccc tcctaccttt cctgctctgg gcaccttcag cagatacgag 240
agcaccagat ccggcagacg gatggaactg agcatgggac ccatccaggc caatcacaca 300
ggcactggcc tgctgctgac actgcagcct gagcagaaat tccagaaagt gaaaggcttc 360
ggcggagcca tgacagatgc cgccgctctg aatatcctgg ctctgtctcc accagctcag 420
aacctgctgc tcaagagcta cttcagcgag gaaggcatcg gctacaacat catcagagtg 480

cccatggcca gctgcgactt cagcatcagg acctacacct acgccgacac acccgacgat 540
ttccagctgc acaacttcag cctgcctgaa gaggacacca agctgaagat ccctctgatc 600
cacagagccc tgcagctggc acaaagaccc gtgtcactgc tggcctctcc atggacatct 660
cccacctggc tgaaaacaaa tggcgccgtg aatggcaagg gcagcctgaa aggccaacct 720
ggcgacatct accaccagac ctgggccaga tacttcgtga agttcctgga cgcctatgcc 780
gagcacaagc tgcagttttg ggccgtgaca gccgagaacg aaccttctgc tggactgctg 840
agcggctacc cctttcagtg cctgggcttt acacccgagc accagcggga ctttatcgcc 900

cgtgatctgg gacccacact ggccaatagc acccaccata atgtgcggct gctgatgctg 960
gacgaccaga gactgcttct gccccactgg gctaaagtgg tgctgacaga tcctgaggcc 1020
gccaaatacg tgcacggaat cgccgtgcac tggtatctgg actttctggc ccctgccaag 1080
gccacactgg gagagacaca cagactgttc cccaacacca tgctgttcgc cagcgaagcc 1140
tgtgtgggca gcaagttttg ggaacagagc gtgcggctcg gcagctggga tagaggcatg 1200
cagtacagcc acagcatcat caccaacctg ctgtaccacg tcgtcggctg gaccgactgg 1260
aatctggccc tgaatcctga aggcggccct aactgggtcc gaaacttcgt ggacagcccc 1320

atcatcgtgg acatcaccaa ggacaccttc tacaagcagc ccatgttcta ccacctggga 1380
cacttcagca agttcatccc cgagggctct cagcgcgttg gactggtggc ttcccagaag 1440
aacgatctgg acgccgtggc tctgatgcac cctgatggat ctgctgtggt ggtggtcctg 1500
aaccgcagca gcaaagatgt gcccctgacc atcaaggatc ccgccgtggg attcctggaa 1560
acaatcagcc ctggctactc catccacacc tacctgtggc gtagacag 1608

<210> 16

<211> 524

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 16

Met Tyr Ala Leu Phe Leu Leu Ala Ser Leu Leu Gly Ala Ala Leu Ala

1 5 10 15

Gly Pro Val Leu Gly Leu Lys Glu Cys Thr Arg Gly Ser Ala Val Trp

20 25 30

Cys Gln Asn Val Lys Thr Ala Ser Asp Cys Gly Ala Val Lys His Cys

35 40 45

Leu Gln Thr Val Trp Asn Lys Pro Thr Val Lys Ser Leu Pro Cys Asp

50 55 60

Ile Cys Lys Asp Val Val Thr Ala Ala Gly Asp Met Leu Lys Asp Asn

65 70 75 80

Ala Thr Glu Glu Glu Ile Leu Val Tyr Leu Glu Lys Thr Cys Asp Trp

85 90 95

Leu Pro Lys Pro Asn Met Ser Ala Ser Cys Lys Glu Ile Val Asp Ser

100 105 110

Tyr Leu Pro Val Ile Leu Asp Ile Ile Lys Gly Glu Met Ser Arg Pro

115 120 125

Gly Glu Val Cys Ser Ala Leu Asn Leu Cys Glu Ser Leu Gln Lys His

130 135 140

Leu Ala Glu Leu Asn His Gln Lys Gln Leu Glu Ser Asn Lys Ile Pro

145 150 155 160

Glu Leu Asp Met Thr Glu Val Val Ala Pro Phe Met Ala Asn Ile Pro

165 170 175

Leu Leu Leu Tyr Pro Gln Asp Gly Pro Arg Ser Lys Pro Gln Pro Lys

180 185 190

Asp Asn Gly Asp Val Cys Gln Asp Cys Ile Gln Met Val Thr Asp Ile

195 200 205

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

210 215 220

His Val Lys Glu Glu Cys Asp Arg Leu Gly Pro Gly Met Ala Asp Ile

225 230 235 240

Cys Lys Asn Tyr Ile Ser Gln Tyr Ser Glu Ile Ala Ile Gln Met Met
245 250 255
Met His Met Gln Pro Lys Glu Ile Cys Ala Leu Val Gly Phe Cys Asp

260 265 270
Glu Val Lys Glu Met Pro Met Gln Thr Leu Val Pro Ala Lys Val Ala
275 280 285
Ser Lys Asn Val Ile Pro Ala Leu Glu Leu Val Glu Pro Ile Lys Lys
290 295 300
His Glu Val Pro Ala Lys Ser Asp Val Tyr Cys Glu Val Cys Glu Phe
305 310 315 320
Leu Val Lys Glu Val Thr Lys Leu Ile Asp Asn Asn Lys Thr Glu Lys

325 330 335
Glu Ile Leu Asp Ala Phe Asp Lys Met Cys Ser Lys Leu Pro Lys Ser
340 345 350
Leu Ser Glu Glu Cys Gln Glu Val Val Asp Thr Tyr Gly Ser Ser Ile
355 360 365
Leu Ser Ile Leu Leu Glu Glu Val Ser Pro Glu Leu Val Cys Ser Met
370 375 380
Leu His Leu Cys Ser Gly Thr Arg Leu Pro Ala Leu Thr Val His Val

385 390 395 400
Thr Gln Pro Lys Asp Gly Gly Phe Cys Glu Val Cys Lys Lys Leu Val
405 410 415
Gly Tyr Leu Asp Arg Asn Leu Glu Lys Asn Ser Thr Lys Gln Glu Ile
420 425 430
Leu Ala Ala Leu Glu Lys Gly Cys Ser Phe Leu Pro Asp Pro Tyr Gln
435 440 445
Lys Gln Cys Asp Gln Phe Val Ala Glu Tyr Glu Pro Val Leu Ile Glu

450 455 460
Ile Leu Val Glu Val Met Asp Pro Ser Phe Val Cys Leu Lys Ile Gly
465 470 475 480
Ala Cys Pro Ser Ala His Lys Pro Leu Leu Gly Thr Glu Lys Cys Ile

485 490 495

Trp Gly Pro Ser Tyr Trp Cys Gln Asn Thr Glu Thr Ala Ala Gln Cys

500 505 510

Asn Ala Val Glu His Cys Lys Arg His Val Trp Asn

515 520

<210> 17

<211> 1572

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 17

atgtacgccc tgttcctgct ggccagcctg ctgggcgccg ccctggccgg ccccgtgctg 60

ggcctgaagg agtgcacccg cggcagcgcc gtgtggtgcc agaacgtgaa gaccgccagc 120

gactgcggcg ccgtgaagca ctgcctgcag accgtgtgga acaagcccac cgtgaagagc 180

ctgccctgcg acatctgcaa ggacgtggtg accgccgccg gcgacatgct gaaggacaac 240

gccaccgagg aggagatcct ggtgtacctg gagaagacct gcgactggct gcccaagccc 300

aacatgagcg ccagctgcaa ggagatcgtg gacagctacc tgcccgtgat cctggacatc 360

atcaagggcg agatgagccg ccccggcgag gtgtgcagcg ccctgaacct gtgcgagagc 420

ctgcagaagc acctggccga gctgaaccac cagaagcagc tggagagcaa caagatcccc 480

gagctggaca tgaccgaggt ggtggccccc ttcatggcca acatcccccc gctgctgtac 540

ccccaggacg gccccccgcag caagccccag cccaaggaca acggcgacgt gtgccaggac 600

tgcatccaga tggtgaccga catccagacc gccgtgcgca ccaacagcac cttcgtgcag 660

gccctggtgg agcacgtgaa ggaggagtgc gaccgcctgg gccccggcat ggccgacatc 720

tgcaagaact acatcagcca gtacagcgag atcgccatcc agatgatgat gcacatgcag 780

cccaaggaga tctgcgccct ggtgggcttc tgcgacgagg tgaaggagat gcccatgcag 840

accctggtgc ccgccaaggt ggccagcaag aacgtgatcc ccgccctgga gctggtggag 900

cccatcaaga agcacgaggt gcccgccaag agcgacgtgt actgcgaggt gtgcgagttc 960

ctggtgaagg aggtgaccaa gctgatcgac aacaacaaga ccgagaagga gatcctggac 1020

gccttcgaca agatgtgcag caagctgccc aagagcctga gcgaggagtg ccaggaggtg 1080

gtggacacct acggcagcag catcctgagc atcctgctgg aggaggtgag ccccgagctg 1140

gtgtgcagca tgctgcacct gtgcagcggc acccgcctgc ccgccctgac cgtgcacgtg 1200

acccagccca aggacggcgg cttctgcgag gtgtgcaaga agctggtggg ctacctggac 1260

cgcaacctgg agaagaacag caccaagcag gagatcctgg ccgccctgga gaagggctgc 1320

agcttcctgc ccgaccccta ccagaagcag tgcgaccagt tcgtggccga gtacgagccc 1380

gtgctgatcg agatcctggt ggaggtgatg gaccccagct tcgtgtgcct gaagatcggc 1440

gcctgcccca gcgcccacaa gcccctgctg ggcaccgaga agtgcatctg gggccccagc 1500

tactggtgcc agaacaccga gaccgccgcc cagtgcaacg ccgtggagca ctgcaagcgc 1560

cacgtgtgga ac 1572

<210> 18

<211> 478

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 18

Met Gly Arg Cys Cys Phe Tyr Thr Ala Gly Thr Leu Ser Leu Leu Leu

1 5 10 15

Leu Val Thr Ser Val Thr Leu Leu Val Ala Arg Val Phe Gln Lys Ala

20 25 30

Val Asp Gln Ser Ile Glu Lys Lys Ile Val Leu Arg Asn Gly Thr Glu

35 40 45

Ala Phe Asp Ser Trp Glu Lys Pro Pro Leu Pro Val Tyr Thr Gln Phe

50 55 60

Tyr Phe Phe Asn Val Thr Asn Pro Glu Glu Ile Leu Arg Gly Glu Thr

65 70 75 80

Pro Arg Val Glu Glu Val Gly Pro Tyr Thr Tyr Arg Glu Leu Arg Asn

85 90 95

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

100 105 110

Ser Asn Lys Ala Tyr Val Phe Glu Arg Asp Gln Ser Val Gly Asp Pro

115 120 125

Lys Ile Asp Leu Ile Arg Thr Leu Asn Ile Pro Val Leu Thr Val Ile

130 135 140

Glu Trp Ser Gln Val His Phe Leu Arg Glu Ile Ile Glu Ala Met Leu

145 150 155 160

Lys Ala Tyr Gln Gln Lys Leu Phe Val Thr His Thr Val Asp Glu Leu

165 170 175

Leu Trp Gly Tyr Lys Asp Glu Ile Leu Ser Leu Ile His Val Phe Arg

180 185 190

Pro Asp Ile Ser Pro Tyr Phe Gly Leu Phe Tyr Glu Lys Asn Gly Thr

195 200 205

Asn Asp Gly Asp Tyr Val Phe Leu Thr Gly Glu Asp Ser Tyr Leu Asn

210 215 220

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

225 230 235 240

Ile Thr Asp Lys Cys Asn Met Ile Asn Gly Thr Asp Gly Asp Ser Phe

245 250 255

His Pro Leu Ile Thr Lys Asp Glu Val Leu Tyr Val Phe Pro Ser Asp

260 265 270

Phe Cys Arg Ser Val Tyr Ile Thr Phe Ser Asp Tyr Glu Ser Val Gln

275 280 285

Gly Leu Pro Ala Phe Arg Tyr Lys Val Pro Ala Glu Ile Leu Ala Asn

290 295 300

Thr Ser Asp Asn Ala Gly Phe Cys Ile Pro Glu Gly Asn Cys Leu Gly

305 310 315 320

Ser Gly Val Leu Asn Val Ser Ile Cys Lys Asn Gly Ala Pro Ile Ile

325 330 335

Met Ser Phe Pro His Phe Tyr Gln Ala Asp Glu Arg Phe Val Ser Ala

340 345 350

Ile Glu Gly Met His Pro Asn Gln Glu Asp His Glu Thr Phe Val Asp

355 360 365

Ile Asn Pro Leu Thr Gly Ile Ile Leu Lys Ala Ala Lys Arg Phe Gln

370 375 380

Ile Asn Ile Tyr Val Lys Lys Leu Asp Asp Phe Val Glu Thr Gly Asp

385 390 395 400

Ile Arg Thr Met Val Phe Pro Val Met Tyr Leu Asn Glu Ser Val His

405 410 415

Ile Asp Lys Glu Thr Ala Ser Arg Leu Lys Ser Met Ile Asn Thr Thr

420 425 430

Leu Ile Ile Thr Asn Ile Pro Tyr Ile Ile Met Ala Leu Gly Val Phe

435 440 445

Phe Gly Leu Val Phe Thr Trp Leu Ala Cys Lys Gly Gln Gly Ser Met

450 455 460

Asp Glu Gly Thr Ala Asp Glu Arg Ala Pro Leu Ile Arg Thr

465 470 475

<210> 19

<211> 1434

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 19

atgggccgct gctgcttcta caccgccggc accctgagcc tgctgctgct ggtgaccagc 60

gtgaccctgc tggtggcccg cgtgttccag aaggccgtgg accagagcat cgagaagaag 120

atcgtgctgc gcaacggcac cgaggccttc gacagctggg agaagccccc cctgcccgtg 180

tacacccagt tctacttctt caacgtgacc aaccccgagg agatcctgcg cggcgagacc 240

ccccgcgtgg aggaggtggg cccctacacc taccgcgagc tgcgcaacaa ggccaacatc 300

cagttcggcg acaacggcac caccatcagc gccgtgagca acaaggccta cgtgttcgag 360

cgcgaccaga gcgtgggcga ccccaagatc gacctgatcc gcaccctgaa catccccgtg 420

ctgaccgtga tcgagtggag ccaggtgcac ttcctgcgcg agatcatcga ggccatgctg 480

aaggcctacc agcagaagct gttcgtgacc cacaccgtgg acgagctgct gtggggctac 540

aaggacgaga tcctgagcct gatccacgtg ttccgccccg acatcagccc ctacttcggc 600

ctgttctacg agaagaacgg caccaacgac ggcgactacg tgttcctgac cggcgaggac 660

agctacctga acttcaccaa gatcgtggag tggaacggca agaccagcct ggactggtgg 720

atcaccgaca agtgcaacat gatcaacggc accgacggcg acagcttcca ccccctgatc 780

accaaggacg aggtgctgta cgtgttcccc agcgacttct gccgcagcgt gtacatcacc 840

ttcagcgact acgagagcgt gcagggcctg cccgccttcc gctacaaggt gcccgccgag 900

atcctggcca acaccagcga caacgccggc ttctgcatcc ccgagggcaa ctgcctgggc 960

agcggcgtgc tgaacgtgag catctgcaag aacggcgccc ccatcatcat gagcttcccc 1020

cacttctacc aggccgacga gcgcttcgtg agcgccatcg agggcatgca ccccaaccag 1080

gaggaccacg agaccttcgt ggacatcaac cccctgaccg gcatcatcct gaaggccgcc 1140

aagcgcttcc agatcaacat ctacgtgaag aagctggacg acttcgtgga gaccggcgac 1200

atccgcacca tggtgttccc cgtgatgtac ctgaacgaga gcgtgcacat cgacaaggag 1260

accgccagcc gcctgaagag catgatcaac accaccctga tcatcaccaa catcccctac 1320

atcatcatgg ccctgggcgt gttcttcggc ctggtgttca cctggctggc ctgcaagggc 1380

cagggcagca tggacgaggg caccgccgac gagcgcgccc ccctgatccg cacc 1434

<210> 20

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polynucleotide

<400> 20

tggaagactt cgagatacac tgt 23

<210> 21

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polynucleotide

<400> 21

acagtgtatc tcgaagtctt cca 23

<210> 22

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polynucleotide

<400> 22

tttagaaata agtggtagtc a 21

<210> 23

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polynucleotide

<400> 23

tgactaccac ttatttctaa a 21

<210> 24

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polynucleotide

<400> 24

agggtatcaa gactacgaa 19

<210> 25

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polynucleotide

<400> 25

ttcgtagtct tgataccct 19

<210> 26

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polynucleotide

<400> 26

tattagatct gatggccgc 19

<210> 27

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polynucleotide

<400> 27

ctccatcact aggggttcct 20

<210> 28

<211> 60

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polynucleotide

<400> 28

agctctgggt atttaagccc gagtgagcac gcagggtctc cattttgaag cgggaggtta 60

<210> 29

<211> 145

<212> DNA

<213> Unknown

<220><223> AAV2 ITR

<400> 29

aggaacccct agtgatggag ttggccactc cctctctgcg cgctcgctcg ctcactgagg 60

ccgggcgacc aaaggtcgcc cgacgcccgg gctttgcccg ggcggcctca gtgagcgagc 120

gagcgcgcag agagggagtg gccaa 145

<210> 30

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polynucleotide

<400> 30

tattagatct gatggccgcg 20

<210> 31

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polynucleotide

<400> 31

tccatcacta ggggttcctg 20

<210> 32

<211> 4013

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polynucleotide

<400> 32

ttggccactc cctctctgcg cgctcgctcg ctcactgagg ccgcccgggc aaagcccggg 60

cgtcgggcga cctttggtcg cccggcctca gtgagcgagc gagcgcgcag agagggagtg 120

gccaactcca tcactagggg ttcctgctag ctctgggtat ttaagcccga gtgagcacgc 180

agggtctcca ttttgaagcg ggaggttacg cgttcgtcga ctactagtgg gtaccagagc 240

tccctaggtt ctagaaccgg tgacgtctcc catggtgaag cttggatctg aattcggtac 300

ctagttatta atagtaatca attacggggt cattagttca tagcccatat atggagttcc 360

gcgttacata acttacggta aatggcccgc ctggctgacc gcccaacgac ccccgcccat 420

tgacgtcaat aatgacgtat gttcccatag taacgccaat agggactttc cattgacgtc 480

aatgggtgga gtatttacgg taaactgccc acttggcagt acatcaagtg tatcatatgc 540

caagtacgcc ccctattgac gtcaatgacg gtaaatggcc cgcctggcat tatgcccagt 600

acatgacctt atgggacttt cctacttggc agtacatcta cgtattagtc atcgctatta 660

ccatggtcga ggtgagcccc acgttctgct tcactctccc catctccccc ccctccccac 720

ccccaatttt gtatttattt atttttaat tattttgtgc agcgatgggg gcgggggggg 780

gggggggggcg cgcgccaggc ggggcggggc ggggcgaggg gcggggcggg gcgaggcgga 840

gaggtgcggc ggcagccaat cagagcggcg cgctccgaaa gtttcctttt atggcgaggc 900

ggcggcggcg gcggccctat aaaaagcgaa gcgcgcggcg ggcgggagtc gctgcgcgct 960

gccttcgccc cgtgccccgc tccgccgccg cctcgcgccg cccgccccgg ctctgactga 1020

ccgcgttact cccacaggtg agcgggcggg acggcccttc tcctccgggc tgtaattagc 1080

gcttggttta atgacggctt gtttcttttc tgtggctgcg tgaaagcctt gaggggctcc 1140

gggagctaga gcctctgcta accatgttca tgccttcttc tttttcctac agctcctggg 1200

caacgtgctg gttattgtgc tgtctcatca ttttggcaaa gaattcctcg aagatccgaa 1260

gggaaagtct tccacgactg tgggatccgt tcgaagatat caccggttga gccaccatgg 1320

aattcagcag ccccagcaga gaggaatgcc ccaagcctct gagccgggtg tcaatcatgg 1380

ccggatctct gacaggactg ctgctgcttc aggccgtgtc ttgggcttct ggcgctagac 1440

cttgcatccc caagagcttc ggctacagca gcgtcgtgtg cgtgtgcaat gccacctact 1500

gcgacagctt cgaccctcct acctttcctg ctctgggcac cttcagcaga tacgagagca 1560

ccagatccgg cagacggatg gaactgagca tgggacccat ccaggccaat cacacaggca 1620

ctggcctgct gctgacactg cagcctgagc agaaattcca gaaagtgaaa ggcttcggcg 1680

gagccatgac agatgccgcc gctctgaata tcctggctct gtctccacca gctcagaacc 1740

tgctgctcaa gagctacttc agcgaggaag gcatcggcta caacatcatc agagtgccca 1800

tggccagctg cgacttcagc atcaggacct acacctacgc cgacacaccc gacgatttcc 1860

agctgcacaa cttcagcctg cctgaagagg acaccaagct gaagatccct ctgatccaca 1920

gagccctgca gctggcacaa agacccgtgt cactgctggc ctctccatgg acatctccca 1980

cctggctgaa aacaaatggc gccgtgaatg gcaagggcag cctgaaaggc caacctggcg 2040

acatctacca ccagacctgg gccagatact tcgtgaagtt cctggacgcc tatgccgagc 2100

acaagctgca gttttgggcc gtgacagccg agaacgaacc ttctgctgga ctgctgagcg 2160

gctacccctt tcagtgcctg ggctttacac ccgagcacca gcgggacttt atcgcccgtg 2220

atctgggacc cacactggcc aatagcaccc accataatgt gcggctgctg atgctggacg 2280

accagagact gcttctgccc cactgggcta aagtggtgct gacagatcct gaggccgcca 2340

aatacgtgca cggaatcgcc gtgcactggt atctggactt tctggcccct gccaaggcca 2400

cactgggaga gacacacaga ctgttcccca acaccatgct gttcgccagc gaagcctgtg 2460

tgggcagcaa gttttgggaa cagagcgtgc ggctcggcag ctgggataga ggcatgcagt 2520

acagccacag catcatcacc aacctgctgt accacgtcgt cggctggacc gactggaatc 2580

tggccctgaa tcctgaaggc ggccctaact gggtccgaaa cttcgtggac agccccatca 2640

tcgtggacat caccaaggac accttctaca agcagcccat gttctaccac ctgggacact 2700

tcagcaagtt catccccgag ggctctcagc gcgttggact ggtggcttcc cagaagaacg 2760

atctggacgc cgtggctctg atgcaccctg atggatctgc tgtggtggtg gtcctgaacc 2820

gcagcagcaa agatgtgccc ctgaccatca aggatcccgc cgtgggattc ctggaaacaa 2880

tcagccctgg ctactccatc cacacctacc tgtggcgtag acagtgacaa ttgttaatta 2940

agtttaaacc ctcgaggccg caagcttatc gataatcaac ctctggatta caaaatttgt 3000

gaaagattga ctggtattct taactatgtt gctcctttta cgctatgtgg atacgctgct 3060

ttaatgcctt tgtatcatgc tattgcttcc cgtatggctt tcattttctc ctccttgtat 3120

aaatcctggt tgctgtctct ttatgaggag ttgtggcccg ttgtcaggca acgtggcgtg 3180

gtgtgcactg tgtttgctga cgcaaccccc actggttggg gcattgccac cacctgtcag 3240

ctcctttccg ggactttcgc tttccccctc cctattgcca cggcggaact catcgccgcc 3300

tgccttgccc gctgctggac aggggctcgg ctgttgggca ctgacaattc cgtggtgttg 3360

tcggggaaat catcgtcctt tccttggctg ctcgcctgtg ttgccacctg gattctgcgc 3420

gggacgtcct tctgctacgt cccttcggcc ctcaatccag cggaccttcc ttcccgcggc 3480

ctgctgccgg ctctgcggcc tcttccgcgt cttcgccttc gccctcagac gagtcggatc 3540

tccctttggg ccgcctcccc gcatcgatac cgtcgactag agctcgctga tcagcctcga 3600

ctgtgccttc tagttgccag ccatctgttg tttgcccctc ccccgtgcct tccttgaccc 3660

tggaaggtgc cactcccact gtcctttcct aataaaatga ggaaattgca tcgcattgtc 3720

tgagtaggtg tcattctatt ctgggggggtg gggtggggca ggacagcaag ggggaggatt 3780

gggaagacaa tagcaggcat gctggggaga gatccacgat aacaaacagc ttttttgggg 3840

tgaacatatt gactgaattc cctgcaggtt ggccactccc tctctgcgcg ctcgctcgct 3900

cactgaggcc gcccgggcaa agcccgggcg tcgggcgacc tttggtcgcc cggcctcagt 3960

gagcgagcga gcgcgcagag agggagtggc caactccatc actaggggtt cct 4013

<210> 33

<211> 4013

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polynucleotide

<400> 33

ttggccactc cctctctgcg cgctcgctcg ctcactgagg ccgcccgggc aaagcccggg 60

cgtcgggcga cctttggtcg cccggcctca gtgagcgagc gagcgcgcag agagggagtg 120

gccaactcca tcactagggg ttcctgctag ctctgggtat ttaagcccga gtgagcacgc 180

agggtctcca ttttgaagcg ggaggttacg cgttcgtcga ctactagtgg gtaccagagc 240

tccctaggtt ctagaaccgg tgacgtctcc catggtgaag cttggatctg aattcggtac 300

ctagttatta atagtaatca attacggggt cattagttca tagcccatat atggagttcc 360

gcgttacata acttacggta aatggcccgc ctggctgacc gcccaacgac ccccgcccat 420

tgacgtcaat aatgacgtat gttcccatag taacgccaat agggactttc cattgacgtc 480

aatgggtgga gtatttacgg taaactgccc acttggcagt acatcaagtg tatcatatgc 540

caagtacgcc ccctattgac gtcaatgacg gtaaatggcc cgcctggcat tatgcccagt 600

acatgacctt atgggacttt cctacttggc agtacatcta cgtattagtc atcgctatta 660

ccatggtcga ggtgagcccc acgttctgct tcactctccc catctccccc ccctccccac 720

ccccaatttt gtatttattt atttttaat tattttgtgc agcgatgggg gcgggggggg 780

gggggggggcg cgcgccaggc ggggcggggc ggggcgaggg gcggggcggg gcgaggcgga 840

gaggtgcggc ggcagccaat cagagcggcg cgctccgaaa gtttcctttt atggcgaggc 900

ggcggcggcg gcggccctat aaaaagcgaa gcgcgcggcg ggcgggagtc gctgcgcgct 960

gccttcgccc cgtgccccgc tccgccgccg cctcgcgccg cccgccccgg ctctgactga 1020

ccgcgttact cccacaggtg agcgggcggg acggcccttc tcctccgggc tgtaattagc 1080

gcttggttta atgacggctt gtttcttttc tgtggctgcg tgaaagcctt gaggggctcc 1140

gggagctaga gcctctgcta accatgttca tgccttcttc tttttcctac agctcctggg 1200

caacgtgctg gttattgtgc tgtctcatca ttttggcaaa gaattcctcg aagatccgaa 1260

gggaaagtct tccacgactg tgggatccgt tcgaagatat caccggttga gccaccatgg 1320

aattcagcag ccccagcaga gaggaatgcc ccaagcctct gagccgggtg tcaatcatgg 1380

ccggatctct gacaggactg ctgctgcttc aggccgtgtc ttgggcttct ggcgctagac 1440

cttgcatccc caagagcttc ggctacagca gcgtcgtgtg cgtgtgcaat gccacctact 1500

gcgacagctt cgaccctcct acctttcctg ctctgggcac cttcagcaga tacgagagca 1560

ccagatccgg cagacggatg gaactgagca tgggacccat ccaggccaat cacacaggca 1620

ctggcctgct gctgacactg cagcctgagc agaaattcca gaaagtgaaa ggcttcggcg 1680

gagccatgac agatgccgcc gctctgaata tcctggctct gtctccacca gctcagaacc 1740

tgctgctcaa gagctacttc agcgaggaag gcatcggcta caacatcatc agagtgccca 1800

tggccagctg cgacttcagc atcaggacct acacctacgc cgacacaccc gacgatttcc 1860

agctgcacaa cttcagcctg cctgaagagg acaccaagct gaagatccct ctgatccaca 1920

gagccctgca gctggcacaa agacccgtgt cactgctggc ctctccatgg acatctccca 1980

cctggctgaa aacaaatggc gccgtgaatg gcaagggcag cctgaaaggc caacctggcg 2040

acatctacca ccagacctgg gccagatact tcgtgaagtt cctggacgcc tatgccgagc 2100

acaagctgca gttttgggcc gtgacagccg agaacgaacc ttctgctgga ctgctgagcg 2160

gctacccctt tcagtgcctg ggctttacac ccgagcacca gcgggacttt atcgcccgtg 2220

atctgggacc cacactggcc aatagcaccc accataatgt gcggctgctg atgctggacg 2280

accagagact gcttctgccc cactgggcta aagtggtgct gacagatcct gaggccgcca 2340

aatacgtgca cggaatcgcc gtgcactggt atctggactt tctggcccct gccaaggcca 2400

cactgggaga gacacacaga ctgttcccca acaccatgct gttcgccagc gaagcctgtg 2460

tgggcagcaa gttttgggaa cagagcgtgc ggctcggcag ctgggataga ggcatgcagt 2520

acagccacag catcatcacc aacctgctgt accacgtcgt cggctggacc gactggaatc 2580

tggccctgaa tcctgaaggc ggccctaact gggtccgaaa cttcgtggac agccccatca 2640

tcgtggacat caccaaggac accttctaca agcagcccat gttctaccac ctgggacact 2700

tcagcaagtt catccccgag ggctctcagc gcgttggact ggtggcttcc cagaagaacg 2760

atctggacgc cgtggctctg atgcaccctg atggatctgc tgtggtggtg gtcctgaacc 2820

gcagcagcaa agatgtgccc ctgaccatca aggatcccgc cgtgggattc ctggaaacaa 2880

tcagccctgg ctactccatc cacacctacc tgtggcgtag acagtgacaa ttgttaatta 2940

agtttaaacc ctcgaggccg caagcttatc gataatcaac ctctggatta caaaatttgt 3000

gaaagattga ctggtattct taactatgtt gctcctttta cgctatgtgg atacgctgct 3060

ttaatgcctt tgtatcatgc tattgcttcc cgtatggctt tcattttctc ctccttgtat 3120

aaatcctggt tgctgtctct ttatgaggag ttgtggcccg ttgtcaggca acgtggcgtg 3180

gtgtgcactg tgtttgctga cgcaaccccc actggttggg gcattgccac cacctgtcag 3240

ctcctttccg ggactttcgc tttccccctc cctattgcca cggcggaact catcgccgcc 3300

tgccttgccc gctgctggac aggggctcgg ctgttgggca ctgacaattc cgtggtgttg 3360

tcggggaaat catcgtcctt tccttggctg ctcgcctgtg ttgccacctg gattctgcgc 3420

gggacgtcct tctgctacgt cccttcggcc ctcaatccag cggaccttcc ttcccgcggc 3480

ctgctgccgg ctctgcggcc tcttccgcgt cttcgccttc gccctcagac gagtcggatc 3540

tccctttggg ccgcctcccc gcatcgatac cgtcgactag agctcgctga tcagcctcga 3600

ctgtgccttc tagttgccag ccatctgttg tttgcccctc ccccgtgcct tccttgaccc 3660

tggaaggtgc cactcccact gtcctttcct aataaaatga ggaaattgca tcgcattgtc 3720

tgagtaggtg tcattctatt ctgggggggtg gggtggggca ggacagcaag ggggaggatt 3780

gggaagacaa tagcaggcat gctggggaga gatccacgat aacaaacagc ttttttgggg 3840

tgaacatatt gactgaattc cctgcaggtt ggccactccc tctctgcgcg ctcgctcgct 3900

cactgaggcc gcccgggcaa agcccgggcg tcgggcgacc tttggtcgcc cggcctcagt 3960

gagcgagcga gcgcgcagag agggagtggc caactccatc actaggggtt cct 4013

<210> 34

<211> 4162

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polynucleotide

<400> 34

ttggccactc cctctctgcg cgctcgctcg ctcactgagg ccgggcgacc aaaggtcgcc 60

cgacgcccgg gctttgcccg ggcggcctca gtgagcgagc gagcgcgcag agagggagtg 120

gccaactcca tcactagggg ttcctgctag ctctgggtat ttaagcccga gtgagcacgc 180

agggtctcca ttttgaagcg ggaggttacg cgttcgtcga ctactagtgg gtaccagagc 240

tccctaggtt ctagaaccgg tgacgtctcc catggtgaag cttggatctg aattcggtac 300

ctagttatta atagtaatca attacggggt cattagttca tagcccatat atggagttcc 360

gcgttacata acttacggta aatggcccgc ctggctgacc gcccaacgac ccccgcccat 420

tgacgtcaat aatgacgtat gttcccatag taacgccaat agggactttc cattgacgtc 480

aatgggtgga gtatttacgg taaactgccc acttggcagt acatcaagtg tatcatatgc 540

caagtacgcc ccctattgac gtcaatgacg gtaaatggcc cgcctggcat tatgcccagt 600

acatgacctt atgggacttt cctacttggc agtacatcta cgtattagtc atcgctatta 660

ccatggtcga ggtgagcccc acgttctgct tcactctccc catctccccc ccctccccac 720

ccccaatttt gtatttattt atttttttaat tattttgtgc agcgatgggg gcgggggggg 780

gggggggggcg cgcgccaggc ggggcggggc ggggcgaggg gcggggcggg gcgaggcgga 840

gaggtgcggc ggcagccaat cagagcggcg cgctccgaaa gtttccttttt atggcgaggc 900

ggcggcggcg gcggccctat aaaaagcgaa gcgcgcggcg ggcgggagtc gctgcgacgc 960

tgccttcgcc ccgtgccccg ctccgccgcc gcctcgcgcc gcccgccccg gctctgactg 1020

accgcgttac tcccacaggt gagcgggcgg gacggcccttt ctcctcagcg ctgtaattag 1080

cgcttggttt aatgacggct tgttggaggc ttgctgaagg ctgtatgctg ttgtctttag 1140

aaataagtgg tagtcaagtg aagccacaga tgtgactacc acttatttct aaaaggacac 1200

aaggcctgtt actagcactc acatggaaca aatggccacc gtgggaggat gacaatttct 1260

gtggctgcgt gaaagccttg aggggctccg ggagctagag cctctgctaa ccatgttcat 1320

gccttcttct ttttcctaca gctcctgggc aacgtgctgg ttattgtgct gtctcatcat 1380

tttggcaaag aattcctcga agatccgaag ggaaagtctt ccacgactgt gggatccgtt 1440

cgaagatatc accggttgag ccaccatgga attcagcagc cccagcagag aggaatgccc 1500

caagcctctg agccgggtgt caatcatggc cggatctctg acaggactgc tgctgcttca 1560

ggccgtgtct tgggcttctg gcgctagacc ttgcatcccc aagagcttcg gctacagcag 1620

cgtcgtgtgc gtgtgcaatg ccacctactg cgacagcttc gaccctccta cctttcctgc 1680

tctgggcacc ttcagcagat acgagagcac cagatccggc agacggatgg aactgagcat 1740

gggacccatc caggccaatc acacaggcac tggcctgctg ctgacactgc agcctgagca 1800

gaaattccag aaagtgaaag gcttcggcgg agccatgaca gatgccgccg ctctgaatat 1860

cctggctctg tctccaccag ctcagaacct gctgctcaag agctacttca gcgaggaagg 1920

catcggctac aacatcatca gagtgcccat ggccagctgc gacttcagca tcaggaccta 1980

cacctacgcc gacacacccg acgatttcca gctgcacaac ttcagcctgc ctgaagagga 2040

caccaagctg aagatccctc tgatccacag agccctgcag ctggcacaaa gacccgtgtc 2100

actgctggcc tctccatgga catctcccac ctggctgaaa acaaatggcg ccgtgaatgg 2160

caagggcagc ctgaaaggcc aacctggcga catctaccac cagacctggg ccagatactt 2220

cgtgaagttc ctggacgcct atgccgagca caagctgcag ttttgggccg tgacagccga 2280

gaacgaacct tctgctggac tgctgagcgg ctacccccttt cagtgcctgg gctttacacc 2340

cgagcaccag cgggacttta tcgcccgtga tctgggaccc acactggcca atagcaccca 2400

ccataatgtg cggctgctga tgctggacga ccagagactg cttctgcccc actgggctaa 2460
agtggtgctg acagatcctg aggccgccaa atacgtgcac ggaatcgccg tgcactggta 2520
tctggacttt ctggcccctg ccaaggccac actgggagag acacacagac tgttccccaa 2580
caccatgctg ttcgccagcg aagcctgtgt gggcagcaag ttttgggaac agagcgtgcg 2640
gctcggcagc tgggatagag gcatgcagta cagccacagc atcatcacca acctgctgta 2700
ccacgtcgtc ggctggaccg actggaatct ggccctgaat cctgaaggcg gccctaactg 2760
ggtccgaaac ttcgtggaca gccccatcat cgtggacatc accaaggaca ccttctacaa 2820

gcagcccatg ttctaccacc tgggacactt cagcaagttc atccccgagg gctctcagcg 2880
cgttggactg gtggcttccc agaagaacga tctggacgcc gtggctctga tgcaccctga 2940
tggatctgct gtggtggtgg tcctgaaccg cagcagcaaa gatgtgcccc tgaccatcaa 3000
ggatcccgcc gtgggattcc tggaaacaat cagccctggc tactccatcc acacctacct 3060
gtggcgtaga cagtgacaat tgttaattaa gtttaaaccc tcgaggccgc aagcttatcg 3120
ataatcaacc tctggattac aaaatttgtg aaagattgac tggtattctt aactatgttg 3180
ctccttttac gctatgtgga tacgctgctt taatgccttt gtatcatgct attgcttccc 3240

gtatggcttt cattttctcc tccttgtata aatcctggtt gctgtctctt tatgaggagt 3300
tgtggcccgt tgtcaggcaa cgtggcgtgg tgtgcactgt gtttgctgac gcaacccccа 3360
ctggttgggg cattgccacc acctgtcagc tcctttccgg gactttcgct ttcccctcc 3420
ctattgccac ggcggaactc atcgccgcct gccttgcccg ctgctggaca ggggctcggc 3480
tgttgggcac tgacaattcc gtggtgttgt cggggaaatc atcgtccttt ccttggctgc 3540
tcgcctgtgt tgccacctgg attctgcgcg ggacgtcctt ctgctacgtc ccttcggccc 3600
tcaatccagc ggaccttcct tcccgcggcc tgctgccggc tctgcggcct cttccgcgtc 3660

ttcgccttcg ccctcagacg agtcggatct ccctttgggc cgcctccccg catcgatacc 3720
gtcgactaga gctcgctgat cagcctcgac tgtgccttct agttgccagc catctgttgt 3780
ttgcccctcc cccgtgcctt ccttgaccct ggaaggtgcc actcccactg tcctttccta 3840
ataaaatgag gaaattgcat cgcattgtct gagtaggtgt cattctattc tgggggggtgg 3900
ggtggggcag gacagcaagg gggaggattg ggaagacaat agcaggcatg ctggggagag 3960
atccacgata acaaacagct tttttggggc ccacatgtac actgaattcc ctgcaggttg 4020
gccactccct ctctgcgcgc tcgctcgctc actgaggccg cccgggcaaa gcccgggcgt 4080

cgggcgacct ttggtcgccc ggcctcagtg agcgagcgag cgcgcagaga gggagtggcc 4140

aactccatca ctaggggttc ct 4162

<210> 35

<211> 4162

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polynucleotide

<400> 35

ttggccactc cctctctgcg cgctcgctcg ctcactgagg ccgggcgacc aaaggtcgcc 60

cgacgcccgg gctttgcccg ggcggcctca gtgagcgagc gagcgcgcag agagggagtg 120

gccaactcca tcactagggg ttcctgctag ctctgggtat ttaagcccga gtgagcacgc 180

agggtctcca ttttgaagcg ggaggttacg cgttcgtcga ctactagtgg gtaccagagc 240

tccctaggtt ctagaaccgg tgacgtctcc catggtgaag cttggatctg aattcggtac 300

ctagttatta atagtaatca attacggggt cattagttca tagcccatat atggagttcc 360

gcgttacata acttacggta aatggcccgc ctggctgacc gcccaacgac ccccgcccat 420

tgacgtcaat aatgacgtat gttcccatag taacgccaat agggactttc cattgacgtc 480

aatgggtgga gtatttacgg taaactgccc acttggcagt acatcaagtg tatcatatgc 540

caagtacgcc ccctattgac gtcaatgacg gtaaatggcc cgcctggcat tatgcccagt 600

acatgacctt atgggacttt cctacttggc agtacatcta cgtattagtc atcgctatta 660

ccatggtcga ggtgagcccc acgttctgct tcactctccc catctccccc ccctccccac 720

ccccaatttt gtatttattt atttttaat tattttgtgc agcgatgggg gcgggggggg 780

gggggggggcg cgcgccaggc ggggcggggc ggggcgaggg gcggggcggg gcgaggcgga 840

gaggtgcggc ggcagccaat cagagcggcg cgctccgaaa gtttccttt atggcgaggc 900

ggcggcggcg gcggccctat aaaaagcgaa gcgcgcggcg ggcgggagtc gctgcgacgc 960

tgccttcgcc ccgtgccccg ctccgccgcc gcctcgcgcc gcccgccccg gctctgactg 1020

accgcgttac tcccacaggt gagcgggcgg gacggccctt ctcctcagcg ctgtaattag 1080

cgcttggttt aatgacggct tgttggaggc ttgctgaagg ctgtatgctg ttgtctttag 1140

aaataagtgg tagtcaagtg aagccacaga tgtgactacc acttatttct aaaaggacac 1200

aaggcctgtt actagcactc acatggaaca aatggccacc gtgggaggat gacaatttct 1260

gtggctgcgt gaaagccttg aggggctccg ggagctagag cctctgctaa ccatgttcat 1320

gccttcttct ttttcctaca gctcctgggc aacgtgctgg ttattgtgct gtctcatcat 1380

tttggcaaag aattcctcga agatccgaag ggaaagtctt ccacgactgt gggatccgtt 1440

cgaagatatc accggttgag ccaccatgga attcagcagc cccagcagag aggaatgccc 1500

caagcctctg agccgggtgt caatcatggc cggatctctg acaggactgc tgctgcttca 1560
ggccgtgtct tgggcttctg gcgctagacc ttgcatcccc aagagcttcg gctacagcag 1620
cgtcgtgtgc gtgtgcaatg ccacctactg cgacagcttc gaccctccta cctttcctgc 1680
tctgggcacc ttcagcagat acgagagcac cagatccggc agacggatgg aactgagcat 1740
gggacccatc caggccaatc acacaggcac tggcctgctg ctgacactgc agcctgagca 1800
gaaattccag aaagtgaaag gcttcggcgg agccatgaca gatgccgccg ctctgaatat 1860
cctggctctg tctccaccag ctcagaacct gctgctcaag agctacttca gcgaggaagg 1920

catcggctac aacatcatca gagtgcccat ggccagctgc gacttcagca tcaggaccta 1980
cacctacgcc gacacacccg acgatttcca gctgcacaac ttcagcctgc ctgaagagga 2040
caccaagctg aagatccctc tgatccacag agccctgcag ctggcacaaa gacccgtgtc 2100
actgctggcc tctccatgga catctcccac ctggctgaaa acaaatggcg ccgtgaatgg 2160
caagggcagc ctgaaaggcc aacctggcga catctaccac cagacctggg ccagatactt 2220
cgtgaagttc ctggacgcct atgccgagca caagctgcag ttttgggccg tgacagccga 2280
gaacgaacct tctgctggac tgctgagcgg ctacccctttt cagtgcctgg gctttacacc 2340

cgagcaccag cgggacttta tcgcccgtga tctgggaccc acactggcca atagcaccca 2400
ccataatgtg cggctgctga tgctggacga ccagagactg cttctgcccc actgggctaa 2460
agtggtgctg acagatcctg aggccgccaa atacgtgcac ggaatcgccg tgcactggta 2520
tctggacttt ctggcccctg ccaaggccac actgggagag acacacagac tgttccccaa 2580
caccatgctg ttcgccagcg aagcctgtgt gggcagcaag ttttgggaac agagcgtgcg 2640
gctcggcagc tgggatagag gcatgcagta cagccacagc atcatcacca acctgctgta 2700
ccacgtcgtc ggctggaccg actggaatct ggccctgaat cctgaaggcg gccctaactg 2760

ggtccgaaac ttcgtggaca gccccatcat cgtggacatc accaaggaca ccttctacaa 2820
gcagcccatg ttctaccacc tgggacactt cagcaagttc atccccgagg gctctcagcg 2880
cgttggactg gtggcttccc agaagaacga tctggacgcc gtggctctga tgcaccctga 2940
tggatctgct gtggtggtgg tcctgaaccg cagcagcaaa gatgtgcccc tgaccatcaa 3000
ggatcccgcc gtgggattcc tggaaacaat cagccctggc tactccatcc acacctacct 3060
gtggcgtaga cagtgacaat tgttaattaa gtttaaaccc tcgaggccgc aagcttatcg 3120
ataatcaacc tctggattac aaaatttgtg aaagattgac tggtattctt aactatgttg 3180

ctccttttac gctatgtgga tacgctgctt taatgccttt gtatcatgct attgcttccc 3240

gtatggcttt cattttctcc tccttgtata aatcctggtt gctgtctctt tatgaggagt 3300

tgtggcccgt tgtcaggcaa cgtggcgtgg tgtgcactgt gtttgctgac gcaacccccа 3360

ctggttgggg cattgccacc acctgtcagc tcctttccgg gactttcgct ttccccctcc 3420

ctattgccac ggcggaactc atcgccgcct gccttgcccg ctgctggaca ggggctcggc 3480

tgttgggcac tgacaattcc gtggtgttgt cggggaaatc atcgtccttt ccttggctgc 3540

tcgcctgtgt tgccacctgg attctgcgcg ggacgtcctt ctgctacgtc ccttcggccc 3600

tcaatccagc ggaccttcct tcccgcggcc tgctgccggc tctgcggcct cttccgcgtc 3660

ttcgccttcg ccctcagacg agtcggatct ccctttgggc cgcctccccg catcgatacc 3720

gtcgactaga gctcgctgat cagcctcgac tgtgccttct agttgccagc catctgttgt 3780

ttgcccctcc cccgtgcctt ccttgaccct ggaaggtgcc actcccactg tcctttccta 3840

ataaaatgag gaaattgcat cgcattgtct gagtaggtgt cattctattc tgggggggtgg 3900

ggtggggcag gacagcaagg gggaggattg ggaagacaat agcaggcatg ctggggagag 3960

atccacgata acaaacagct tttttggggc ccacatgtac actgaattcc ctgcaggttg 4020

gccactccct ctctgcgcgc tcgctcgctc actgaggccg cccgggcaaa gcccgggcgt 4080

cgggcgacct ttggtcgccc ggcctcagtg agcgagcgag cgcgcagaga gggagtggcc 4140

aactccatca ctaggggttc ct 4162

<210> 36

<211> 3977

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polynucleotide

<400> 36

ttggccactc cctctctgcg cgctcgctcg ctcactgagg ccgcccgggc aaagcccggg 60

cgtcgggcga cctttggtcg cccggcctca gtgagcgagc gagcgcgcag agagggagtg 120

gccaactcca tcactagggg ttcctgctag ctctgggtat ttaagcccga gtgagcacgc 180

agggtctcca ttttgaagcg ggaggttacg cgttcgtcga ctactagtgg gtaccagagc 240

tccctaggtt ctagaaccgg tgacgtctcc catggtgaag cttggatctg aattcggtac 300

ctagttatta atagtaatca attacggggt cattagttca tagcccatat atggagttcc 360

gcgttacata acttacggta aatggcccgc ctggctgacc gcccaacgac ccccgcccat 420

tgacgtcaat aatgacgtat gttcccatag taacgccaat agggactttc cattgacgtc 480

aatgggtgga gtatttacgg taaactgccc acttggcagt acatcaagtg tatcatatgc 540

caagtacgcc ccctattgac gtcaatgacg gtaaatggcc cgcctggcat tatgcccagt 600

acatgacctt atgggacttt cctacttggc agtacatcta cgtattagtc atcgctatta 660

ccatggtcga ggtgagcccc acgttctgct tcactctccc catctccccc ccctccccac 720

ccccaatttt gtatttattt atttttttaat tattttgtgc agcgatgggg gcgggggggg 780

gggggggggcg cgcgccaggc ggggcggggc ggggcgaggg gcggggcggg gcgaggcgga 840

gaggtgcggc ggcagccaat cagagcggcg cgctccgaaa gtttcctttt atggcgaggc 900

ggcggcggcg gcggccctat aaaaagcgaa gcgcgcggcg ggcgggagtc gctgcgcgct 960

gccttcgccc cgtgccccgc tccgccgccg cctcgcgccg cccgccccgg ctctgactga 1020

ccgcgttact cccacaggtg agcgggcggg acggcccttc tcctccgggc tgtaattagc 1080

gcttggttta atgacggctt gtttcttttc tgtggctgcg tgaaagcctt gaggggctcc 1140

gggagctaga gcctctgcta accatgttca tgccttcttc tttttcctac agctcctggg 1200

caacgtgctg gttattgtgc tgtctcatca ttttggcaaa gaattcctcg aagatccgaa 1260

gggaaagtct tccacgactg tgggatccgt tcgaagatat caccggttga gccaccatgt 1320

acgccctgtt cctgctggcc agcctgctgg gcgccgccct ggccggcccc gtgctgggcc 1380

tgaaggagtg cacccgcggc agcgccgtgt ggtgccagaa cgtgaagacc gccagcgact 1440

gcggcgccgt gaagcactgc ctgcagaccg tgtggaacaa gcccaccgtg aagagcctgc 1500

cctgcgacat ctgcaaggac gtggtgaccg ccgccggcga catgctgaag gacaacgcca 1560

ccgaggagga gatcctggtg tacctggaga agacctgcga ctggctgccc aagcccaaca 1620

tgagcgccag ctgcaaggag atcgtggaca gctacctgcc cgtgatcctg gacatcatca 1680

agggcgagat gagccgcccc ggcgaggtgt gcagcgccct gaacctgtgc gagagcctgc 1740

agaagcacct ggccgagctg aaccaccaga agcagctgga gagcaacaag atccccgagc 1800

tggacatgac cgaggtggtg gccccttca tggccaacat ccccctgctg ctgtaccccc 1860

aggacggccc ccgcagcaag ccccagccca aggacaacgg cgacgtgtgc caggactgca 1920

tccagatggt gaccgacatc cagaccgccg tgcgcaccaa cagcaccttc gtgcaggccc 1980

tggtggagca cgtgaaggag gagtgcgacc gcctgggccc cggcatggcc gacatctgca 2040

agaactacat cagccagtac agcgagatcg ccatccagat gatgatgcac atgcagccca 2100

aggagatctg cgccctggtg ggcttctgcg acgaggtgaa ggagatgccc atgcagaccc 2160

tggtgcccgc caaggtggcc agcaagaacg tgatccccgc cctggagctg gtggagccca 2220

tcaagaagca cgaggtgccc gccaagagcg acgtgtactg cgaggtgtgc gagttcctgg 2280

tgaaggaggt gaccaagctg atcgacaaca acaagaccga gaaggagatc ctggacgcct 2340

tcgacaagat gtgcagcaag ctgcccaaga gcctgagcga ggagtgccag gaggtggtgg 2400

acacctacgg cagcagcatc ctgagcatcc tgctggagga ggtgagcccc gagctggtgt 2460

gcagcatgct gcacctgtgc agcggcaccc gcctgcccgc cctgaccgtg cacgtgaccc 2520

agcccaagga cggcggcttc tgcgaggtgt gcaagaagct ggtgggctac ctggaccgca 2580

acctggagaa gaacagcacc aagcaggaga tcctggccgc cctggagaag ggctgcagct 2640

tcctgcccga cccctaccag aagcagtgcg accagttcgt ggccgagtac gagcccgtgc 2700

tgatcgagat cctggtggag gtgatggacc ccagcttcgt gtgcctgaag atcggcgcct 2760

gccccagcgc ccacaagccc ctgctgggca ccgagaagtg catctggggc cccagctact 2820

ggtgccagaa caccgagacc gccgcccagt gcaacgccgt ggagcactgc aagcgccacg 2880

tgtggaactg acaattgtta attaagttta aaccctcgag gccgcaagct tatcgataat 2940

caacctctgg attacaaaat ttgtgaaaga ttgactggta ttcttaacta tgttgctcct 3000

tttacgctat gtggatacgc tgctttaatg cctttgtatc atgctattgc ttcccgtatg 3060

gctttcattt tctcctcctt gtataaatcc tggttgctgt ctctttatga ggagttgtgg 3120

cccgttgtca ggcaacgtgg cgtggtgtgc actgtgtttg ctgacgcaac ccccactggt 3180

tggggcattg ccaccacctg tcagctcctt tccgggactt tcgctttccc cctccctatt 3240

gccacggcgg aactcatcgc cgcctgcctt gcccgctgct ggacaggggc tcggctgttg 3300

ggcactgaca attccgtggt gttgtcgggg aaatcatcgt cctttccttg gctgctcgcc 3360

tgtgttgcca cctggattct gcgcgggacg tccttctgct acgtcccttc ggccctcaat 3420

ccagcggacc ttccttcccg cggcctgctg ccggctctgc ggcctcttcc gcgtcttcgc 3480

cttcgccctc agacgagtcg gatctccctt tgggccgcct ccccgcatcg ataccgtcga 3540

ctagagctcg ctgatcagcc tcgactgtgc cttctagttg ccagccatct gttgtttgcc 3600

cctcccccgt gccttccttg accctggaag gtgccactcc cactgtcctt tcctaataaa 3660

atgaggaaat tgcatcgcat tgtctgagta ggtgtcattc tattctgggg ggtggggtgg 3720

ggcaggacag caagggggag gattgggaag acaatagcag gcatgctggg gagagatcca 3780

cgataacaaa cagcttttt ggggcccaca tgtacactga attccctgca ggttggccac 3840

tccctctctg cgcgctcgct cgctcactga ggccgcccgg gcaaagcccg ggcgtcgggc 3900

gacctttggt cgcccggcct cagtgagcga gcgagcgcgc agagagggag tggccaactc 3960

catcactagg ggttcct 3977

<210> 37

<211> 4013

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polynucleotide

<400> 37

ttggccactc cctctctgcg cgctcgctcg ctcactgagg ccgcccgggc aaagcccggg 60

cgtcgggcga cctttggtcg cccggcctca gtgagcgagc gagcgcgcag agagggagtg 120

gccaactcca tcactagggg ttcctgctag ctctgggtat ttaagcccga gtgagcacgc 180

agggtctcca ttttgaagcg ggaggttacg cgttcgtcga ctactagtgg gtaccagagc 240

tccctaggtt ctagaaccgg tgacgtctcc catggtgaag cttggatctg aattcggtac 300

ctagttatta atagtaatca attacggggt cattagttca tagcccatat atggagttcc 360

gcgttacata acttacggta aatggcccgc ctggctgacc gcccaacgac ccccgcccat 420

tgacgtcaat aatgacgtat gttcccatag taacgccaat agggactttc cattgacgtc 480

aatgggtgga gtatttacgg taaactgccc acttggcagt acatcaagtg tatcatatgc 540

caagtacgcc ccctattgac gtcaatgacg gtaaatggcc cgcctggcat tatgcccagt 600

acatgacctt atgggacttt cctacttggc agtacatcta cgtattagtc atcgctatta 660

ccatggtcga ggtgagcccc acgttctgct tcactctccc catctccccc ccctccccac 720

ccccaatttt gtatttattt atttttaat tattttgtgc agcgatgggg gcgggggggg 780

gggggggggcg cgcgccaggc ggggcggggc ggggcgaggg gcggggcggg gcgaggcgga 840

gaggtgcggc ggcagccaat cagagcggcg cgctccgaaa gtttccttt atggcgaggc 900

ggcggcggcg gcggccctat aaaaagcgaa gcgcgcggcg ggcgggagtc gctgcgcgct 960

gccttcgccc cgtgccccgc tccgccgccg cctcgcgccg cccgccccgg ctctgactga 1020

ccgcgttact cccacaggtg agcgggcggg acggcccttc tcctccgggc tgtaattagc 1080

gcttggttta atgacggctt gtttcttttc tgtggctgcg tgaaagcctt gaggggctcc 1140

gggagctaga gcctctgcta accatgttca tgccttcttc tttttcctac agctcctggg 1200

caacgtgctg gttattgtgc tgtctcatca ttttggcaaa gaattcctcg aagatccgaa 1260

gggaaagtct tccacgactg tgggatccgt tcgaagatat caccggttga gccaccatgg 1320

aattcagcag ccccagcaga gaggaatgcc ccaagcctct gagccgggtg tcaatcatgg 1380

ccggatctct gacaggactg ctgctgcttc aggccgtgtc ttgggcttct ggcgctagac 1440

cttgcatccc caagagcttc ggctacagca gcgtcgtgtg cgtgtgcaat gccacctact 1500

gcgacagctt cgaccctcct acctttcctg ctctgggcac cttcagcaga tacgagagca 1560

ccagatccgg cagacggatg gaactgagca tgggacccat ccaggccaat cacacaggca 1620

ctggcctgct gctgacactg cagcctgagc agaaattcca gaaagtgaaa ggcttcggcg 1680

gagccatgac agatgccgcc gctctgaata tcctggctct gtctccacca gctcagaacc 1740

tgctgctcaa gagctacttc agcgaggaag gcatcggcta caacatcatc agagtgccca 1800

tggccagctg cgacttcagc atcaggacct acacctacgc cgacacaccc gacgatttcc 1860

agctgcacaa cttcagcctg cctgaagagg acaccaagct gaagatccct ctgatccaca 1920

gagccctgca gctggcacaa agacccgtgt cactgctggc ctctccatgg acatctccca 1980

cctggctgaa aacaaatggc gccgtgaatg gcaagggcag cctgaaaggc caacctggcg 2040

acatctacca ccagacctgg gccagatact tcgtgaagtt cctggacgcc tatgccgagc 2100

acaagctgca gttttgggcc gtgacagccg agaacgaacc ttctgctgga ctgctgagcg 2160

gctacccctt tcagtgcctg ggctttacac ccgagcacca gcgggacttt atcgcccgtg 2220

atctgggacc cacactggcc aatagcaccc accataatgt gcggctgctg atgctggacg 2280

accagagact gcttctgccc cactgggcta aagtggtgct gacagatcct gaggccgcca 2340

aatacgtgca cggaatcgcc gtgcactggt atctggactt tctggcccct gccaaggcca 2400

cactgggaga gacacacaga ctgttcccca acaccatgct gttcgccagc gaagcctgtg 2460

tgggcagcaa gttttgggaa cagagcgtgc ggctcggcag ctgggataga ggcatgcagt 2520

acagccacag catcatcacc aacctgctgt accacgtcgt cggctggacc gactggaatc 2580

tggccctgaa tcctgaaggc ggccctaact gggtccgaaa cttcgtggac agccccatca 2640

tcgtggacat caccaaggac accttctaca agcagcccat gttctaccac ctgggacact 2700

tcagcaagtt catccccgag ggctctcagc gcgttggact ggtggcttcc cagaagaacg 2760

atctggacgc cgtggctctg atgcaccctg atggatctgc tgtggtggtg gtcctgaacc 2820

gcagcagcaa agatgtgccc ctgaccatca aggatcccgc cgtgggattc ctggaaacaa 2880

tcagccctgg ctactccatc cacacctacc tgtggcgtag acagtgacaa ttgttaatta 2940

agtttaaacc ctcgaggccg caagcttatc gataatcaac ctctggatta caaaatttgt 3000

gaaagattga ctggtattct taactatgtt gctcctttta cgctatgtgg atacgctgct 3060

ttaatgcctt tgtatcatgc tattgcttcc cgtatggctt tcattttctc ctccttgtat 3120

aaatcctggt tgctgtctct ttatgaggag ttgtggcccg ttgtcaggca acgtggcgtg 3180

gtgtgcactg tgtttgctga cgcaaccccc actggttggg gcattgccac cacctgtcag 3240

ctcctttccg ggactttcgc tttccccctc cctattgcca cggcggaact catcgccgcc 3300

tgccttgccc gctgctggac aggggctcgg ctgttgggca ctgacaattc cgtggtgttg 3360

tcggggaaat catcgtcctt tccttggctg ctcgcctgtg ttgccacctg gattctgcgc 3420

gggacgtcct tctgctacgt cccttcggcc ctcaatccag cggaccttcc ttcccgcggc 3480

ctgctgccgg ctctgcggcc tcttccgcgt cttcgccttc gccctcagac gagtcggatc 3540

tccctttggg ccgcctcccc gcatcgatac cgtcgactag agctcgctga tcagcctcga 3600

ctgtgccttc tagttgccag ccatctgttg tttgcccctc ccccgtgcct tccttgaccc 3660

tggaaggtgc cactcccact gtcctttcct aataaaatga ggaaattgca tcgcattgtc 3720

tgagtaggtg tcattctatt ctgggggggtg gggtggggca ggacagcaag ggggaggatt 3780

gggaagacaa tagcaggcat gctggggaga gatccacgat aacaaacagc ttttttgggg 3840

tgaacatatt gactgaattc cctgcaggtt ggccactccc tctctgcgcg ctcgctcgct 3900

cactgaggcc gcccgggcaa agcccgggcg tcgggcgacc tttggtcgcc cggcctcagt 3960

gagcgagcga gcgcgcagag agggagtggc caactccatc actaggggtt cct 4013

<210> 38

<211> 4606

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polynucleotide

<400> 38

ttggccactc cctctctgcg cgctcgctcg ctcactgagg ccgggcgacc aaaggtcgcc 60

cgacgcccgg gctttgcccg ggcggcctca gtgagcgagc gagcgcgcag agagggagtg 120

gccaactcca tcactagggg ttcctgctag ctctgggtat ttaagcccga gtgagcacgc 180

agggtctcca ttttgaagcg ggaggttacg cgttcgtcga ctactagtgg gtaccagagc 240

tccctaggtt ctagaaccgg tgacgtctcc catggtgaag cttggatctg agggcggagt 300

tagggcggag ccaatcagcg tgcgccgttc cgaaagttgc cttttatggc tgggcggaga 360

atgggcggtg aacgccgatg attatataag gacgcgccgg gtgtggcaca gctagttccg 420

tcgcagccgg gatttgggtc gcggttcttg tttgtggatc cctgtgatcg tcacttggta 480

agtcactgac tgtctatgcc tgggaaaggg tgggcaggag atggggcagt gcaggaaaag 540

tggcactatg aaccctcctg gtggcgaggg gagggggggtg gtcctcgaac gccttgcaga 600

actggcctgg atacagagtg gaccggctgg ccccatctgg aagacttcga gatacactgt 660

tgtcttactg cgctcaacag tgtatctcga agtcttccaa atggtgccag ccatcgcagc 720

ggggtgcagg aaatgggggc agccccccctt tttggctatc cttccacgtg ttctttttg 780

tatcttttgt gtttcctaga aaacatctca gtcaccaccg cagccctagg aatgcatcta 840

gacaattgta ctaaccttct tctctttcct ctcctgacag tccggaaagc caccatgtac 900

gccctgttcc tgctggccag cctgctgggc gccgccctgg ccggccccgt gctgggcctg 960

aaggagtgca cccgcggcag cgccgtgtgg tgccagaacg tgaagaccgc cagcgactgc 1020

ggcgccgtga agcactgcct gcagaccgtg tggaacaagc ccaccgtgaa gagcctgccc 1080

tgcgacatct gcaaggacgt ggtgaccgcc gccggcgaca tgctgaagga caacgccacc 1140

gaggaggaga tcctggtgta cctggagaag acctgcgact ggctgcccaa gcccaacatg 1200

agcgccagct gcaaggagat cgtggacagc tacctgcccg tgatcctgga catcatcaag 1260

ggcgagatga gccgccccgg cgaggtgtgc agcgccctga acctgtgcga gagcctgcag 1320

aagcacctgg ccgagctgaa ccaccagaag cagctggaga gcaacaagat ccccgagctg 1380

gacatgaccg aggtggtggc ccccttcatg gccaacatcc ccctgctgct gtaccccag 1440

gacggccccc gcagcaagcc ccagcccaag gacaacggcg acgtgtgcca ggactgcatc 1500

cagatggtga ccgacatcca gaccgccgtg cgcaccaaca gcaccttcgt gcaggccctg 1560

gtggagcacg tgaaggagga gtgcgaccgc ctgggccccg gcatggccga catctgcaag 1620

aactacatca gccagtacag cgagatcgcc atccagatga tgatgcacat gcagcccaag 1680

gagatctgcg ccctggtggg cttctgcgac gaggtgaagg agatgcccat gcagaccctg 1740

gtgcccgcca aggtggccag caagaacgtg atccccgccc tggagctggt ggagcccatc 1800

aagaagcacg aggtgcccgc caagagcgac gtgtactgcg aggtgtgcga gttcctggtg 1860

aaggaggtga ccaagctgat cgacaacaac aagaccgaga aggagatcct ggacgccttc 1920

gacaagatgt gcagcaagct gcccaagagc ctgagcgagg agtgccagga ggtggtggac 1980

acctacggca gcagcatcct gagcatcctg ctggaggagg tgagccccga gctggtgtgc 2040

agcatgctgc acctgtgcag cggcacccgc ctgcccgccc tgaccgtgca cgtgacccag 2100

cccaaggacg gcggcttctg cgaggtgtgc aagaagctgg tgggctacct ggaccgcaac 2160

ctggagaaga acagcaccaa gcaggagatc ctggccgccc tggagaaggg ctgcagcttc 2220

ctgcccgacc cctaccagaa gcagtgcgac cagttcgtgg ccgagtacga gcccgtgctg 2280

atcgagatcc tggtggaggt gatggacccc agcttcgtgt gcctgaagat cggcgcctgc 2340

cccagcgccc acaagccccc gctgggcacc gagaagtgca tctggggccc cagctactgg 2400

tgccagaaca ccgagaccgc cgcccagtgc aacgccgtgg agcactgcaa gcgccacgtg 2460

tggaacagaa gaaagagagg aagtggagag ggcagaggaa gtcttctgac atgcggagac 2520

gtggaagaga atcccggccc tatggaattc agcagcccca gcagagagga atgccccaag 2580

cctctgagcc gggtgtcaat catggccgga tctctgacag gactgctgct gcttcaggcc 2640

gtgtcttggg cttctggcgc tagaccttgc atccccaaga gcttcggcta cagcagcgtc 2700

gtgtgcgtgt gcaatgccac ctactgcgac agcttcgacc ctcctacctt tcctgctctg 2760

ggcaccttca gcagatacga gagcaccaga tccggcagac ggatggaact gagcatggga 2820

cccatccagg ccaatcacac aggcactggc ctgctgctga cactgcagcc tgagcagaaa 2880

ttccagaaag tgaaaggctt cggcggagcc atgacagatg ccgccgctct gaatatcctg 2940
gctctgtctc caccagctca gaacctgctg ctcaagagct acttcagcga ggaaggcatc 3000
ggctacaaca tcatcagagt gcccatggcc agctgcgact tcagcatcag gacctacacc 3060
tacgccgaca cacccgacga tttccagctg cacaacttca gcctgcctga agaggacacc 3120
aagctgaaga tccctctgat ccacagagcc ctgcagctgg cacaaagacc cgtgtcactg 3180
ctggcctctc catggacatc tcccacctgg ctgaaaacaa atggcgccgt gaatggcaag 3240
ggcagcctga aaggccaacc tggcgacatc taccaccaga cctgggccag atacttcgtg 3300

aagttcctgg acgcctatgc cgagcacaag ctgcagtttt gggccgtgac agccgagaac 3360
gaaccttctg ctggactgct gagcggctac ccctttcagt gcctgggctt tacacccgag 3420
caccagcggg actttatcgc ccgtgatctg ggacccacac tggccaatag cacccaccat 3480
aatgtgcggc tgctgatgct ggacgaccag agactgcttc tgccccactg ggctaaagtg 3540
gtgctgacag atcctgaggc cgccaaatac gtgcacggaa tcgccgtgca ctggtatctg 3600
gactttctgg cccctgccaa ggccacactg ggagagacac acagactgtt ccccaacacc 3660
atgctgttcg ccagcgaagc ctgtgtgggc agcaagtttt gggaacagag cgtgcggctc 3720

ggcagctggg atagaggcat gcagtacagc cacagcatca tcaccaacct gctgtaccac 3780
gtcgtcggct ggaccgactg gaatctggcc ctgaatcctg aaggcggccc taactgggtc 3840
cgaaacttcg tggacagccc catcatcgtg gacatcacca aggacacctt ctacaagcag 3900
cccatgttct accacctggg acacttcagc aagttcatcc ccgagggctc tcagcgcgtt 3960
ggactggtgg cttcccagaa gaacgatctg gacgccgtgg ctctgatgca ccctgatgga 4020
tctgctgtgg tggtggtcct gaaccgcagc agcaaagatg tgcccctgac catcaaggat 4080
cccgccgtgg gattcctgga aacaatcagc cctggctact ccatccacac ctacctgtgg 4140

cgtagacagt gacaattgtt aattaagttt aaaccctcga ggccgcaagc cgcatcgata 4200
ccgtcgacta gagctcgctg atcagcctcg actgtgcctt ctagttgcca gccatctgtt 4260
gtttgccctt cccccgtgcc ttccttgacc ctggaaggtg ccactcccac tgtcctttcc 4320
taataaaatg aggaaattgc atcgcattgt ctgagtaggt gtcattctat tctgggggggt 4380
ggggtggggc aggacagcaa gggggaggat tgggaagaca atagcaggca tgctggggat 4440
gtacactgaa ttccctgcag gttggccact ccctctctgc gcgctcgctc gctcactgag 4500
gccgcccggg caaagcccgg gcgtcgggcg acctttggtc gcccggcctc agtgagcgag 4560

cgagcgcgca gagagggagt ggccaactcc atcactaggg gttcct 4606

<210> 39

<211> 10699

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> PR001A vector first strand sequence

<400> 39

ttggccactc cctctctgcg cgctcgctcg ctcactgagg ccgcccgggc aaagcccggg 60

cgtcgggcga cctttggtcg cccggcctca gtgagcgagc gagcgcgcag agagggagtg 120

gccaactcca tcactagggg ttcctgctag ctctgggtat ttaagcccga gtgagcacgc 180

agggtctcca ttttgaagcg ggaggttacg cgttcgtcga ctactagtgg gtaccagagc 240

tccctaggtt ctagaaccgg tgacgtctcc catggtgaag cttggatctg aattcggtac 300

ctagttatta atagtaatca attacggggt cattagttca tagcccatat atggagttcc 360

gcgttacata acttacggta aatggcccgc ctggctgacc gcccaacgac ccccgcccat 420

tgacgtcaat aatgacgtat gttcccatag taacgccaat agggactttc cattgacgtc 480

aatgggtgga gtatttacgg taaactgccc acttggcagt acatcaagtg tatcatatgc 540

caagtacgcc ccctattgac gtcaatgacg gtaaatggcc cgcctggcat tatgcccagt 600

acatgacctt atgggacttt cctacttggc agtacatcta cgtattagtc atcgctatta 660

ccatggtcga ggtgagcccc acgttctgct tcactctccc catctccccc ccctccccac 720

ccccaatttt gtatttattt atttttaat tattttgtgc agcgatgggg gcgggggggg 780

gggggggcg cgcgccaggc ggggcggggc ggggcgaggg gcggggcggg gcgaggcgga 840

gaggtgcggc ggcagccaat cagagcggcg cgctccgaaa gtttcctttt atggcgaggc 900

ggcggcggcg gcggccctat aaaaagcgaa gcgcgcggcg ggcgggagtc gctgcgcgct 960

gccttcgccc cgtgccccgc tccgccgccg cctcgcgccg cccgccccgg ctctgactga 1020

ccgcgttact cccacaggtg agcgggcggg acggcccttc tcctccgggc tgtaattagc 1080

gcttggttta atgacggctt gtttcttttc tgtggctgcg tgaaagcctt gaggggctcc 1140

gggagctaga gcctctgcta accatgttca tgccttcttc tttttcctac agctcctggg 1200

caacgtgctg gttattgtgc tgtctcatca ttttggcaaa gaattcctcg aagatccgaa 1260

gggaaagtct tccacgactg tgggatccgt tcgaagatat caccggttga gccaccatgg 1320

aattcagcag ccccagcaga gaggaatgcc ccaagcctct gagccgggtg tcaatcatgg 1380

ccggatctct gacaggactg ctgctgcttc aggccgtgtc ttgggcttct ggcgctagac 1440

cttgcatccc caagagcttc ggctacagca gcgtcgtgtg cgtgtgcaat gccacctact 1500

gcgacagctt cgaccctcct acctttcctg ctctgggcac cttcagcaga tacgagagca 1560
ccagatccgg cagacggatg gaactgagca tgggacccat ccaggccaat cacacaggca 1620
ctggcctgct gctgacactg cagcctgagc agaaattcca gaaagtgaaa ggcttcggcg 1680
gagccatgac agatgccgcc gctctgaata tcctggctct gtctccacca gctcagaacc 1740
tgctgctcaa gagctacttc agcgaggaag gcatcggcta caacatcatc agagtgccca 1800
tggccagctg cgacttcagc atcaggacct acacctacgc cgacacaccc gacgatttcc 1860
agctgcacaa cttcagcctg cctgaagagg acaccaagct gaagatccct ctgatccaca 1920

gagccctgca gctggcacaa agacccgtgt cactgctggc ctctccatgg acatctccca 1980
cctggctgaa aacaaatggc gccgtgaatg gcaagggcag cctgaaaggc caacctggcg 2040
acatctacca ccagacctgg gccagatact tcgtgaagtt cctggacgcc tatgccgagc 2100
acaagctgca gttttgggcc gtgacagccg agaacgaacc ttctgctgga ctgctgagcg 2160
gctacccctt tcagtgcctg ggctttacac ccgagcacca gcgggacttt atcgcccgtg 2220
atctgggacc cacactggcc aatagcaccc accataatgt gcggctgctg atgctggacg 2280
accagagact gcttctgccc cactgggcta aagtggtgct gacagatcct gaggccgcca 2340

aatacgtgca cggaatcgcc gtgcactggt atctggactt tctggcccct gccaaggcca 2400
cactgggaga gacacacaga ctgttcccca acaccatgct gttcgccagc gaagcctgtg 2460
tgggcagcaa gttttgggaa cagagcgtgc ggctcggcag ctgggataga ggcatgcagt 2520
acagccacag catcatcacc aacctgctgt accacgtcgt cggctggacc gactggaatc 2580
tggccctgaa tcctgaaggc ggccctaact gggtccgaaa cttcgtggac agccccatca 2640
tcgtggacat caccaaggac accttctaca agcagcccat gttctaccac ctgggacact 2700
tcagcaagtt catccccgag ggctctcagc gcgttggact ggtggcttcc cagaagaacg 2760

atctggacgc cgtggctctg atgcaccctg atggatctgc tgtggtggtg gtcctgaacc 2820
gcagcagcaa agatgtgccc ctgaccatca aggatcccgc cgtgggattc ctggaaacaa 2880
tcagccctgg ctactccatc cacacctacc tgtggcgtag acagtgacaa ttgttaatta 2940
agtttaaacc ctcgaggccg caagcttatc gataatcaac ctctggatta caaaatttgt 3000
gaaagattga ctggtattct taactatgtt gctcctttta cgctatgtgg atacgctgct 3060
ttaatgcctt tgtatcatgc tattgcttcc cgtatggctt tcattttctc ctccttgtat 3120
aaatcctggt tgctgtctct ttatgaggag ttgtggcccg ttgtcaggca acgtggcgtg 3180

gtgtgcactg tgtttgctga cgcaaccccc actggttggg gcattgccac cacctgtcag 3240

ctcctttccg ggactttcgc tttccccctc cctattgcca cggcggaact catcgccgcc 3300

tgccttgccc gctgctggac aggggctcgg ctgttgggca ctgacaattc cgtggtgttg 3360

tcggggaaat catcgtcctt tccttggctg ctcgcctgtg ttgccacctg gattctgcgc 3420

gggacgtcct tctgctacgt cccttcggcc ctcaatccag cggaccttcc ttcccgcggc 3480

ctgctgccgg ctctgcggcc tcttccgcgt cttcgccttc gccctcagac gagtcggatc 3540

tccctttggg ccgcctcccc gcatcgatac cgtcgactag agctcgctga tcagcctcga 3600

ctgtgccttc tagttgccag ccatctgttg tttgcccctc ccccgtgcct tccttgaccc 3660

tggaaggtgc cactcccact gtcctttcct aataaaatga ggaaattgca tcgcattgtc 3720

tgagtaggtg tcattctatt ctgggggggtg gggtggggca ggacagcaag ggggaggatt 3780

gggaagacaa tagcaggcat gctggggaga gatccacgat aacaaacagc ttttttgggg 3840

tgaacatatt gactgaattc cctgcaggtt ggccactccc tctctgcgcg ctcgctcgct 3900

cactgaggcc gcccgggcaa agcccgggcg tcgggcgacc tttggtcgcc cggcctcagt 3960

gagcgagcga gcgcgcagag agggagtggc caactccatc actaggggtt cctgcggccg 4020

ctcgtacggt ctcgaggaat tcctgcagga taacttgcca acctcattct aaaatgtata 4080

tagaagccca aaagacaata acaaaaatat tcttgtagaa caaaatggga aagaatgttc 4140

cactaaatat caagatttag agcaaagcat gagatgtgtg gggatagaca gtgaggctga 4200

taaaatagag tagagctcag aaacagaccc attgatatat gtaagtgacc tatgaaaaaa 4260

atatggcatt ttacaatggg aaaatgatgg tctttttctt ttttagaaaa acagggaaat 4320

atatttatat gtaaaaaata aaagggaacc catatgtcat accatacaca caaaaaaatt 4380

ccagtgaatt ataagtctaa atggagaagg caaaacttta aatcttttag aaaataatat 4440

agaagcatgc agaccagcct ggccaacatg atgaaaccct ctctactaat aataaaatca 4500

gtagaactac tcaggactac tttgagtggg aagtcctttt ctatgaagac ttctttggcc 4560

aaaattaggc tctaaatgca aggagatagt gcatcatgcc tggctgcact tactgataaa 4620

tgatgttatc accatcttta accaaatgca caggaacaag ttatggtact gatgtgctgg 4680

attgagaagg agctctactt ccttgacagg acacatttgt atcaacttaa aaaagcagat 4740

ttttgccagc agaactattc attcagaggt aggaaactta gaatagatga tgtcactgat 4800

tagcatggct tccccatctc cacagctgct tcccacccag gttgcccaca gttgagtttg 4860

tccagtgctc agggctgccc actctcagta agaagcccca caccagcccc tctccaaata 4920

tgttggctgt tccttccatt aaagtgaccc cactttagag cagcaagtgg atttctgttt 4980

cttacagttc aggaaggagg agtcagctgt gagaacctgg agcctgagat gcttctaagt 5040

cccactgcta ctggggtcag ggaagccaga ctccagcatc agcagtcagg agcactaagc 5100

ccttgccaac atcctgtttc tcagagaaac tgcttccatt ataatggttg tccttttta 5160

agctatcaag ccaaacaacc agtgtctacc attattctca tcacctgaag ccaagggttc 5220

tagcaaaagt caagctgtct tgtaatggtt gatgtgcctc cagcttctgt cttcagtcac 5280

tccactctta gcctgctctg aatcaactct gaccacagtt ccctggagcc cctgccacct 5340

gctgcccctg ccaccttctc catctgcagt gctgtgcagc cttctgcact cttgcagagc 5400

taataggtgg agacttgaag gaagaggagg aaagtttctc ataatagcct tgctgcaagc 5460

tcaaatggga ggtgggcact gtgcccagga gccttggagc aaaggctgtg cccaacctct 5520

gactgcatcc aggtttggtc ttgacagaga taagaagccc tggcttttgg agccaaaatc 5580

taggtcagac ttaggcagga ttctcaaagt ttatcagcag aacatgaggc agaagaccct 5640

ttctgctcca gcttcttcag gctcaacctt catcagaata gatagaaaga gaggctgtga 5700

gggttcttaa aacagaagca aatctgactc agagaataaa caacctccta gtaaactaca 5760

gcttagacag agcatctggt ggtgagtgtg ctcagtgtcc tactcaactg tctggtatca 5820

gccctcatga ggacttctct tctttccctc atagacctcc atctctgttt tccttagcct 5880

gcagaaatct ggatggctat tcacagaatg cctgtgcttt cagagttgca ttttttctct 5940

ggtattctgg ttcaagcatt tgaaggtagg aaaggttctc caagtgcaag aaagccagcc 6000

ctgagcctca actgcctggc tagtgtggtc agtaggatgc aaaggctgtt gaatgccaca 6060

aggccaaact ttaacctgtg taccacaagc ctagcagcag aggcagctct gctcactgga 6120

actctctgtc ttctttctcc tgagcctttt cttttcctga gttttctagc tctcctcaac 6180

cttacctctg ccctacccag gacaaaccca agagccactg tttctgtgat gtcctctcca 6240

gccctaatta ggcatcatga cttcagcctg accttccatg ctcagaagca gtgctaatcc 6300

acttcagatg agctgctcta tgcaacacag gcagagccta caaacctttg caccagagcc 6360

ctccacatat cagtgtttgt tcatactcac ttcaacagca aatgtgactg ctgagattaa 6420

gattttacac aagatggtct gtaatttcac agttagtttt atcccattag gtatgaaaga 6480

attagcataa ttccccttaa acatgaatga atcttagatt ttttaataaa tagttttgga 6540

agtaaagaca gagacatcag gagcacaagg aatagcctga gaggacaaac agaacaagaa 6600

agagtctgga aatacacagg atgttcttgg cctcctcaaa gcaagtgcaa gcagatagta 6660

ccagcagccc caggctatca gagcccagtg aagagaagta ccatgaaagc cacagctcta 6720

accaccctgt tccagagtga cagacagtcc ccaagacaag ccagcctgag ccagagagag 6780

aactgcaaga gaaagtttct aatttaggtt ctgttagatt cagacaagtg caggtcatcc 6840

tctctccaca gctactcacc tctccagcct aacaaagcct gcagtccaca ctccaaccct 6900

ggtgtctcac ctcctagcct ctcccaacat cctgctctct gaccatcttc tgcatctctc 6960

atctcaccat ctcccactgt ctacagccta ctcttgcaac taccatctca ttttctgaca 7020
tcctgtctac atcttctgcc atactctgcc atctaccata ccacctctta ccatctacca 7080
caccatcttt tatctccatc cctctcagaa gcctccaagc tgaatcctgc tttatgtgtt 7140
catctcagcc cctgcatgga aagctgaccc cagaggcaga actattccca gagagcttgg 7200
ccaagaaaaa caaaactacc agcctggcca ggctcaggag tagtaagctg cagtgtctgt 7260
tgtgttctag cttcaacagc tgcaggagtt ccactctcaa atgctccaca tttctcacat 7320
cctcctgatt ctggtcacta cccatcttca aagaacagaa tatctcacat cagcatactg 7380

tgaaggacta gtcatgggtg cagctgctca gagctgcaaa gtcattctgg atggtggaga 7440
gcttacaaac atttcatgat gctccccccg ctctgatggc tggagcccaa tccctacaca 7500
gactcctgct gtatgtgttt tcctttcact ctgagccaca gccagagggc aggcattcag 7560
tctcctcttc aggctggggc tggggcactg agaactcacc caacaccttg ctctcactcc 7620
ttctgcaaaa caagaaagag ctttgtgctg cagtagccat gaagaatgaa aggaaggctt 7680
taactaaaaa atgtcagaga ttattttcaa ccccttactg tggatcacca gcaaggagga 7740
aacacaacac agagacattt tttcccctca aattatcaaa agaatcactg catttgttaa 7800

agagagcaac tgaatcagga agcagagttt tgaacatatc agaagttagg aatctgcatc 7860
agagacaaat gcagtcatgg ttgtttgctg cataccagcc ctaatcatta gaagcctcat 7920
ggacttcaaa catcattccc tctgacaaga tgctctagcc taactccatg agataaaata 7980
aatctgcctt tcagagccaa agaagagtcc accagcttct tctcagtgtg aacaagagct 8040
ccagtcaggt tagtcagtcc agtgcagtag aggagaccag tctgcatcct ctaattttca 8100
aaggcaagaa gatttgttta ccctggacac caggcacaag tgaggtcaca gagctcttag 8160
atatgcagtc ctcatgagtg aggagactaa agcgcatgcc atcaagactt cagtgtagag 8220

aaaacctcca aaaaagcctc ctcactactt ctggaatagc tcagaggccg aggcggcctc 8280
ggcctctgca taaataaaaa aaattagtca gccatggggc ggagaatggg cggaactggg 8340
cggagttagg ggcgggatgg gcggagttag gggcgggact atggttgctg actaattgag 8400
atgcatgctt tgcatacttc tgcctgctgg ggagcctggg gactttccac acctggttgc 8460
tgactaattg agatgcatgc tttgcatact tctgcctgct ggggagcctg gggactttcc 8520
acaccctaac tgacacacat tccacagctg cattaatgaa tcggccaacg cgcggggaga 8580
ggcggtttgc gtattgggcg ctcttccgct tcctcgctca ctgactcgct gcgctcggtc 8640

gttcggctgc ggcgagcggt atcagctcac tcaaaggcgg taatacggtt atccacagaa 8700

tcaggggata acgcaggaaa gaacatgtga gcaaaaggcc agcaaaaggc caggaaccgt 8760

aaaaaggccg cgttgctggc gtttttccat aggctccgcc cccctgacga gcatcacaaa 8820

aatcgacgct caagtcagag gtggcgaaac ccgacaggac tataaagata ccaggcgttt 8880

cccccctggaa gctccctcgt gcgctctcct gttccgaccc tgccgcttac cggatacctg 8940

tccgcctttc tcccttcggg aagcgtggcg ctttctcata gctcacgctg taggtatctc 9000

agttcggtgt aggtcgttcg ctccaagctg ggctgtgtgc acgaaccccc cgttcagccc 9060

gaccgctgcg ccttatccgg taactatcgt cttgagtcca acccggtaag acacgactta 9120

tcgccactgg cagcagccac tggtaacagg attagcagag cgaggtatgt aggcggtgct 9180

acagagttct tgaagtggtg gcctaactac ggctacacta gaagaacagt atttggtatc 9240

tgcgctctgc tgaagccagt taccttcgga aaaagagttg gtagctcttg atccggcaaa 9300

caaaccaccg ctggtagcgg tggttttttt gtttgcaagc agcagattac gcgcagaaaa 9360

aaaggatctc aagaagatcc tttgatcttt tctacggggt ctgacgctca gtggaacgaa 9420

aactcacgtt aagggatttt ggtcatgaga ttatcaaaaa ggatcttcac ctagatcctt 9480

ttaaattaaa aatgaagttt taaatcaatc taaagtatat atgagtaaac ttggtctgac 9540

agttaccaat gcttaatcag tgaggcacct atctcagcga tctgtctatt tcgttcatcc 9600

atagttgcct gactcctgca aaccacgttg tgtctcaaaa tctctgatgt tacattgcac 9660

aagataaaaa tatatcatca tgaacaataa aactgtctgc ttacataaac agtaatacaa 9720

ggggtgttat gagccatatt caacgggaaa cgtcttgctc gaggccgcga ttaaattcca 9780

acatggatgc tgatttatat gggtataaat gggctcgcga taatgtcggg caatcaggtg 9840

cgacaatcta tcgattgtat gggaagcccg atgcgccaga gttgtttctg aaacatggca 9900

aaggtagcgt tgccaatgat gttacagatg agatggtcag actaaactgg ctgacggaat 9960

ttatgcctct tccgaccatc aagcatttta tccgtactcc tgatgatgca tggttactca 10020

ccactgcgat ccccgggaaa acagcattcc aggtattaga agaatatcct gattcaggtg 10080

aaaatattgt tgatgcgctg gcagtgttcc tgcgccggtt gcattcgatt cctgtttgta 10140

attgtccttt taacagcgat cgcgtatttc gtctcgctca ggcgcaatca cgaatgaata 10200

acggtttggt tgatgcgagt gattttgatg acgagcgtaa tggctggcct gttgaacaag 10260

tctggaaaga aatgcataag cttttgccat tctcaccgga ttcagtcgtc actcatggtg 10320

atttctcact tgataacctt atttttgacg aggggaaatt aataggttgt attgatgttg 10380

gacgagtcgg aatcgcagac cgataccagg atcttgccat cctatggaac tgcctcggtg 10440

agttttctcc ttcattacag aaacggcttt ttcaaaaata tggtattgat aatcctgata 10500

tgaataaatt gcagtttcat ttgatgctcg atgagttttt ctaagggcgg cctgccacca 10560

tacccacgcc gaaacaagcg ctcatgagcc cgaagtggcg agcccgatct tccccatcgg 10620

tgatgtcggc gatataggcg ccagcaaccg cacctgtggc gccggtgatg agggcgcgcc 10680

aagtcgacgt ccggcagtc 10699

<210> 40

<211> 10699

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> PR001A vector second strand sequence

<400> 40

gactgccgga cgtcgacttg gcgcgccctc atcaccggcg ccacaggtgc ggttgctggc 60

gcctatatcg ccgacatcac cgatggggaa gatcgggctc gccacttcgg gctcatgagc 120

gcttgtttcg gcgtgggtat ggtggcaggc cgcccttaga aaaactcatc gagcatcaaa 180

tgaaactgca atttattcat atcaggatta tcaataccat atttttgaaa aagccgtttc 240

tgtaatgaag gagaaaactc accgaggcag ttccatagga tggcaagatc ctggtatcgg 300

tctgcgattc cgactcgtcc aacatcaata caacctatta atttcccctc gtcaaaaata 360

aggttatcaa gtgagaaatc accatgagtg acgactgaat ccggtgagaa tggcaaaagc 420

ttatgcattt ctttccagac ttgttcaaca ggccagccat tacgctcgtc atcaaaatca 480

ctcgcatcaa ccaaaccgtt attcattcgt gattgcgcct gagcgagacg aaatacgcga 540

tcgctgttaa aaggacaatt acaaacagga atcgaatgca accggcgcag gaacactgcc 600

agcgcatcaa caatattttc acctgaatca ggatattctt ctaatacctg gaatgctgtt 660

ttcccgggga tcgcagtggt gagtaaccat gcatcatcag gagtacggat aaaatgcttg 720

atggtcggaa gaggcataaa ttccgtcagc cagtttagtc tgaccatctc atctgtaaca 780

tcattggcaa cgctaccttt gccatgtttc agaaacaact ctggcgcatc gggcttccca 840

tacaatcgat agattgtcgc acctgattgc ccgacattat cgcgagccca tttataccca 900

tataaatcag catccatgtt ggaatttaat cgcggcctcg agcaagacgt ttcccgttga 960

atatggctca taacacccct tgtattactg tttatgtaag cagacagttt tattgttcat 1020

gatgatatat ttttatcttg tgcaatgtaa catcagagat tttgagacac aacgtggttt 1080

gcaggagtca ggcaactatg gatgaacgaa atagacagat cgctgagata ggtgcctcac 1140

tgattaagca ttggtaactg tcagaccaag tttactcata tatactttag attgatttaa 1200

aacttcattt ttaatttaaa aggatctagg tgaagatcct ttttgataat ctcatgacca 1260

aaatccctta acgtgagttt tcgttccact gagcgtcaga ccccgtagaa aagatcaaag 1320

gatcttcttg agatcctttt tttctgcgcg taatctgctg cttgcaaaca aaaaaaccac 1380

cgctaccagc ggtggtttgt ttgccggatc aagagctacc aactcttttt ccgaaggtaa 1440

ctggcttcag cagagcgcag ataccaaata ctgttcttct agtgtagccg tagttaggcc 1500

accacttcaa gaactctgta gcaccgccta catacctcgc tctgctaatc ctgttaccag 1560

tggctgctgc cagtggcgat aagtcgtgtc ttaccgggtt ggactcaaga cgatagttac 1620

cggataaggc gcagcggtcg ggctgaacgg ggggttcgtg cacacagccc agcttggagc 1680

gaacgaccta caccgaactg agatacctac agcgtgagct atgagaaagc gccacgcttc 1740

ccgaagggag aaaggcggac aggtatccgg taagcggcag ggtcggaaca ggagagcgca 1800

cgagggagct tccagggggа aacgcctggt atctttatag tcctgtcggg tttcgccacc 1860

tctgacttga gcgtcgattt ttgtgatgct cgtcaggggg gcggagccta tggaaaaacg 1920

ccagcaacgc ggccttttta cggttcctgg ccttttgctg gccttttgct cacatgttct 1980

ttcctgcgtt atcccctgat tctgtggata accgtattac cgcctttgag tgagctgata 2040

ccgctcgccg cagccgaacg accgagcgca gcgagtcagt gagcgaggaa gcggaagagc 2100

gcccaatacg caaaccgcct ctccccgcgc gttggccgat tcattaatgc agctgtggaa 2160

tgtgtgtcag ttagggtgtg gaaagtcccc aggctcccca gcaggcagaa gtatgcaaag 2220

catgcatctc aattagtcag caaccaggtg tggaaagtcc ccaggctccc cagcaggcag 2280

aagtatgcaa agcatgcatc tcaattagtc agcaaccata gtcccgcccc taactccgcc 2340

catcccgccc ctaactccgc ccagttccgc ccattctccg ccccatggct gactaatttt 2400

ttttatttat gcagaggccg aggccgcctc ggcctctgag ctattccaga agtagtgagg 2460

aggctttttt ggaggttttc tctacactga agtcttgatg gcatgcgctt tagtctcctc 2520

actcatgagg actgcatatc taagagctct gtgacctcac ttgtgcctgg tgtccagggt 2580

aaacaaatct tcttgccttt gaaaattaga ggatgcagac tggtctcctc tactgcactg 2640

gactgactaa cctgactgga gctcttgttc acactgagaa gaagctggtg gactcttctt 2700

tggctctgaa aggcagattt attttatctc atggagttag gctagagcat cttgtcagag 2760

ggaatgatgt ttgaagtcca tgaggcttct aatgattagg gctggtatgc agcaaacaac 2820

catgactgca tttgtctctg atgcagattc ctaacttctg atatgttcaa aactctgctt 2880

cctgattcag ttgctctctt taacaaatgc agtgattctt ttgataattt gaggggaaaa 2940

aatgtctctg tgttgtgttt cctccttgct ggtgatccac agtaaggggt tgaaaataat 3000

ctctgacatt ttttagttaa agccttcctt tcattcttca tggctactgc agcacaaagc 3060

tctttcttgt tttgcagaag gagtgagagc aaggtgttgg gtgagttctc agtgccccag 3120

ccccagcctg aagaggagac tgaatgcctg ccctctggct gtggctcaga gtgaaaggaa 3180

aacacataca gcaggagtct gtgtagggat tgggctccag ccatcagagc ggggggagca 3240

tcatgaaatg tttgtaagct ctccaccatc cagaatgact ttgcagctct gagcagctgc 3300

acccatgact agtccttcac agtatgctga tgtgagatat tctgttcttt gaagatgggt 3360

agtgaccaga atcaggagga tgtgagaaat gtggagcatt tgagagtgga actcctgcag 3420

ctgttgaagc tagaacacaa cagacactgc agcttactac tcctgagcct ggccaggctg 3480

gtagttttgt ttttcttggc caagctctct gggaatagtt ctgcctctgg ggtcagcttt 3540

ccatgcaggg gctgagatga acacataaag caggattcag cttggaggct tctgagaggg 3600

atggagataa aagatggtgt ggtagatggt aagaggtggt atggtagatg gcagagtatg 3660

gcagaagatg tagacaggat gtcagaaaat gagatggtag ttgcaagagt aggctgtaga 3720

cagtgggaga tggtgagatg agagatgcag aagatggtca gagagcagga tgttgggaga 3780

ggctaggagg tgagacacca gggttggagt gtggactgca ggctttgtta ggctggagag 3840

gtgagtagct gtggagagag gatgacctgc acttgtctga atctaacaga acctaaatta 3900

gaaactttct cttgcagttc tctctctggc tcaggctggc ttgtcttggg gactgtctgt 3960

cactctggaa cagggtggtt agagctgtgg ctttcatggt acttctcttc actgggctct 4020

gatagcctgg ggctgctggt actatctgct tgcacttgct ttgaggaggc caagaacatc 4080

ctgtgtattt ccagactctt tcttgttctg tttgtcctct caggctattc cttgtgctcc 4140

tgatgtctct gtctttactt ccaaaactat ttattaaaaa atctaagatt cattcatgtt 4200

taaggggaat tatgctaatt ctttcatacc taatgggata aaactaactg tgaaattaca 4260

gaccatcttg tgtaaaatct taatctcagc agtcacattt gctgttgaag tgagtatgaa 4320

caaacactga tatgtggagg gctctggtgc aaaggtttgt aggctctgcc tgtgttgcat 4380

agagcagctc atctgaagtg gattagcact gcttctgagc atggaaggtc aggctgaagt 4440

catgatgcct aattagggct ggagaggaca tcacagaaac agtggctctt gggtttgtcc 4500

tgggtagggc agaggtaagg ttgaggagag ctagaaaact caggaaaaga aaaggctcag 4560

gagaaagaag acagagagtt ccagtgagca gagctgcctc tgctgctagg cttgtggtac 4620

acaggttaaa gtttggcctt gtggcattca acagcctttg catcctactg accacactag 4680

ccaggcagtt gaggctcagg gctggctttc ttgcacttgg agaacctttc ctaccttcaa 4740

atgcttgaac cagaatacca gagaaaaaat gcaactctga aagcacaggc attctgtgaa 4800

tagccatcca gatttctgca ggctaaggaa aacagagatg gaggtctatg agggaaagaa 4860

gagaagtcct catgagggct gataccagac agttgagtag gacactgagc acactcacca 4920

ccagatgctc tgtctaagct gtagtttact aggaggttgt ttattctctg agtcagattt 4980
gcttctgttt taagaaccct cacagcctct ctttctatct attctgatga aggttgagcc 5040
tgaagaagct ggagcagaaa gggtcttctg cctcatgttc tgctgataaa ctttgagaat 5100
cctgcctaag tctgacctag attttggctc caaaagccag ggcttcttat ctctgtcaag 5160
accaaacctg gatgcagtca gaggttgggc acagcctttg ctccaaggct cctgggcaca 5220
gtgcccacct cccatttgag cttgcagcaa ggctattatg agaaactttc ctcctcttcc 5280
ttcaagtctc cacctattag ctctgcaaga gtgcagaagg ctgcacagca ctgcagatgg 5340

agaaggtggc aggggcagca ggtggcaggg gctccaggga actgtggtca gagttgattc 5400
agagcaggct aagagtggag tgactgaaga cagaagctgg aggcacatca accattacaa 5460
gacagcttga cttttgctag aacccttggc ttcaggtgat gagaataatg gtagacactg 5520
gttgtttggc ttgatagctt aaaaaaggac aaccattata atggaagcag tttctctgag 5580
aaacaggatg ttggcaaggg cttagtgctc ctgactgctg atgctggagt ctggcttccc 5640
tgaccccagt agcagtggga cttagaagca tctcaggctc caggttctca cagctgactc 5700
ctccttcctg aactgtaaga aacagaaatc cacttgctgc tctaaagtgg ggtcacttta 5760

atggaaggaa cagccaacat atttggagag gggctggtgt ggggcttctt actgagagtg 5820
ggcagccctg agcactggac aaactcaact gtgggcaacc tgggtgggaa gcagctgtgg 5880
agatggggaa gccatgctaa tcagtgacat catctattct aagtttccta cctctgaatg 5940
aatagttctg ctggcaaaaa tctgcttttt taagttgata caaatgtgtc ctgtcaagga 6000
agtagagctc cttctcaatc cagcacatca gtaccataac ttgttcctgt gcatttggtt 6060
aaagatggtg ataacatcat ttatcagtaa gtgcagccag gcatgatgca ctatctcctt 6120
gcatttagag cctaattttg gccaaagaag tcttcataga aaaggacttc ccactcaaag 6180

tagtcctgag tagttctact gattttatta ttagtagaga gggtttcatc atgttggcca 6240
ggctggtctg catgcttcta tattattttc taaaagattt aaagttttgc cttctccatt 6300
tagacttata attcactgga attttttttgt gtgtatggta tgacatatgg gttccctttt 6360
atttttttaca tataaatata tttccctgtt tttctaaaaa agaaaaagac catcattttc 6420
ccattgtaaa atgccatatt tttttcatag gtcacttaca tatatcaatg ggtctgtttc 6480
tgagctctac tctattttat cagcctcact gtctatcccc acacatctca tgctttgctc 6540
taaatcttga tatttagtgg aacattcttt cccattttgt tctacaagaa tatttttgtt 6600

attgtctttt gggcttctat atacatttta gaatgaggtt ggcaagttat cctgcaggaa 6660

ttcctcgaga ccgtacgagc ggccgcagga acccctagtg atggagttgg ccactccctc 6720

tctgcgcgct cgctcgctca ctgaggccgg gcgaccaaag gtcgcccgac gcccgggctt 6780

tgcccgggcg gcctcagtga gcgagcgagc gcgcagagag ggagtggcca acctgcaggg 6840

aattcagtca atatgttcac cccaaaaaag ctgtttgtta tcgtggatct ctccccagca 6900

tgcctgctat tgtcttccca atcctccccc ttgctgtcct gccccacccc acccccccaga 6960

atagaatgac acctactcag acaatgcgat gcaatttcct cattttatta ggaaaggaca 7020

gtgggagtgg caccttccag ggtcaaggaa ggcacggggg aggggcaaac aacagatggc 7080

tggcaactag aaggcacagt cgaggctgat cagcgagctc tagtcgacgg tatcgatgcg 7140

gggaggcggc ccaaagggag atccgactcg tctgagggcg aaggcgaaga cgcggaagag 7200

gccgcagagc cggcagcagg ccgcgggaag gaaggtccgc tggattgagg gccgaaggga 7260

cgtagcagaa ggacgtcccg cgcagaatcc aggtggcaac acaggcgagc agccaaggaa 7320

aggacgatga tttccccgac aacaccacgg aattgtcagt gcccaacagc cgagcccctg 7380

tccagcagcg ggcaaggcag gcggcgatga gttccgccgt ggcaataggg agggggaaag 7440

cgaaagtccc ggaaaggagc tgacaggtgg tggcaatgcc ccaaccagtg ggggttgcgt 7500

cagcaaacac agtgcacacc acgccacgtt gcctgacaac gggccacaac tcctcataaa 7560

gagacagcaa ccaggattta tacaaggagg agaaaatgaa agccatacgg gaagcaatag 7620

catgatacaa aggcattaaa gcagcgtatc cacatagcgt aaaaggagca acatagttaa 7680

gaataccagt caatctttca caaattttgt aatccagagg ttgattatcg ataagcttgc 7740

ggcctcgagg gtttaaactt aattaacaat tgtcactgtc tacgccacag gtaggtgtgg 7800

atggagtagc cagggctgat tgtttccagg aatcccacgg cgggatcctt gatggtcagg 7860

ggcacatctt tgctgctgcg gttcaggacc accaccacag cagatccatc agggtgcatc 7920

agagccacgg cgtccagatc gttcttctgg gaagccacca gtccaacgcg ctgagagccc 7980

tcggggatga acttgctgaa gtgtcccagg tggtagaaca tgggctgctt gtagaaggtg 8040

tccttggtga tgtccacgat gatggggctg tccacgaagt ttcggaccca gttagggccg 8100

ccttcaggat tcagggccag attccagtcg gtccagccga cgacgtggta cagcaggttg 8160

gtgatgatgc tgtggctgta ctgcatgcct ctatcccagc tgccgagccg cacgctctgt 8220

tcccaaaact tgctgcccac acaggcttcg ctggcgaaca gcatggtgtt ggggaacagt 8280

ctgtgtgtct ctcccagtgt ggccttggca ggggccagaa agtccagata ccagtgcacg 8340

gcgattccgt gcacgtattt ggcggcctca ggatctgtca gcaccacttt agcccagtgg 8400

ggcagaagca gtctctggtc gtccagcatc agcagccgca cattatggtg ggtgctattg 8460

gccagtgtgg gtcccagatc acgggcgata aagtcccgct ggtgctcggg tgtaaagccc 8520

aggcactgaa aggggtagcc gctcagcagt ccagcagaag gttcgttctc ggctgtcacg 8580

gcccaaaact gcagcttgtg ctcggcatag gcgtccagga acttcacgaa gtatctggcc 8640

caggtctggt ggtagatgtc gccaggttgg cctttcaggc tgcccttgcc attcacggcg 8700

ccatttgttt tcagccaggt gggagatgtc catggagagg ccagcagtga cacgggtctt 8760

tgtgccagct gcagggctct gtggatcaga gggatcttca gcttggtgtc ctcttcaggc 8820

aggctgaagt tgtgcagctg gaaatcgtcg ggtgtgtcgg cgtaggtgta ggtcctgatg 8880

ctgaagtcgc agctggccat gggcactctg atgatgttgt agccgatgcc ttcctcgctg 8940

aagtagctct tgagcagcag gttctgagct ggtggagaca gagccaggat attcagagcg 9000

gcggcatctg tcatggctcc gccgaagcct ttcactttct ggaatttctg ctcaggctgc 9060

agtgtcagca gcaggccagt gcctgtgtga ttggcctgga tgggtcccat gctcagttcc 9120

atccgtctgc cggatctggt gctctcgtat ctgctgaagg tgcccagagc aggaaaggta 9180

ggagggtcga agctgtcgca gtaggtggca ttgcacacgc acacgacgct gctgtagccg 9240

aagctcttgg ggatgcaagg tctagcgcca gaagcccaag acacggcctg aagcagcagc 9300

agtcctgtca gagatccggc catgattgac acccggctca gaggcttggg gcattcctct 9360

ctgctggggc tgctgaattc catggtggct caaccggtga tatcttcgaa cggatcccac 9420

agtcgtggaa gactttccct tcggatcttc gaggaattct ttgccaaaat gatgagacag 9480

cacaataacc agcacgttgc ccaggagctg taggaaaaag aagaaggcat gaacatggtt 9540

agcagaggct ctagctcccg gagcccctca aggctttcac gcagccacag aaaagaaaca 9600

agccgtcatt aaaccaagcg ctaattacag cccggaggag aagggccgtc ccgcccgctc 9660

acctgtggga gtaacgcggt cagtcagagc cggggcgggc ggcgcgaggc ggcggcggag 9720

cggggcacgg ggcgaaggca gcgcgcagcg actcccgccc gccgcgcgct tcgcttttta 9780

tagggccgcc gccgccgccg cctcgccata aaaggaaact ttcggagcgc gccgctctga 9840

ttggctgccg ccgcacctct ccgcctcgcc ccgccccgcc cctcgccccg ccccgccccg 9900

cctggcgcgc gccccccccc cccccccgcc cccatcgctg cacaaaataa ttaaaaaata 9960

aataaataca aaattggggg tggggagggg ggggagatgg ggagagtgaa gcagaacgtg 10020

gggctcacct cgaccatggt aatagcgatg actaatacgt agatgtactg ccaagtagga 10080

aagtcccata aggtcatgta ctgggcataa tgccaggcgg gccatttacc gtcattgacg 10140

tcaatagggg gcgtacttgg catatgatac acttgatgta ctgccaagtg ggcagtttac 10200

cgtaaatact ccacccattg acgtcaatgg aaagtcccta ttggcgttac tatgggaaca 10260

tacgtcatta ttgacgtcaa tgggcggggg tcgttgggcg gtcagccagg cgggccattt 10320

accgtaagtt atgtaacgcg gaactccata tatgggctat gaactaatga ccccgtaatt 10380

gattactatt aataactagg taccgaattc agatccaagc ttcaccatgg gagacgtcac 10440

cggttctaga acctagggag ctctggtacc cactagtagt cgacgaacgc gtaacctccc 10500

gcttcaaaat ggagaccctg cgtgctcact cgggcttaaa tacccagagc tagcaggaac 10560

ccctagtgat ggagttggcc actccctctc tgcgcgctcg ctcgctcact gaggccgggc 10620

gaccaaaggt cgcccgacgc ccgggctttg cccgggcggc ctcagtgagc gagcgagcgc 10680

gcagagaggg agtggccaa 10699

<210> 41

<211> 10960

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> PR004B vector first strand sequence

<400> 41

ttggccactc cctctctgcg cgctcgctcg ctcactgagg ccgggcgacc aaaggtcgcc 60

cgacgcccgg gctttgcccg ggcggcctca gtgagcgagc gagcgcgcag agagggagtg 120

gccaactcca tcactagggg ttcctgctag ctctgggtat ttaagcccga gtgagcacgc 180

agggtctcca ttttgaagcg ggaggttacg cgttcgtcga ctactagtgg gtaccagagc 240

tccctaggtt ctagaaccgg tgacgtctcc catggtgaag cttggatctg aattcggtac 300

cctagttatt aatagtaatc aattacgggg tcattagttc atagcccata tatggagttc 360

cgcgttacat aacttacggt aaatggcccg cctggctgac cgcccaacga cccccgccca 420

ttgacgtcaa taatgacgta tgttcccata gtaacgccaa tagggacttt ccattgacgt 480

caatgggtgg actatttacg gtaaactgcc cacttggcag tacatcaagt gtatcatatg 540

ccaagtacgc cccctattga cgtcaatgac ggtaaatggc ccgcctggca ttatgcccag 600

tacatgacct tatgggactt tcctacttgg cagtacatct acgtattagt catcgctatt 660

accatggtcg aggtgagccc cacgttctgc ttcactctcc ccatctcccc cccctcccca 720

cccccaattt tgtatttatt tatttttaa ttattttgtg cagcgatggg ggcgggggggg 780

gggggggggc gcgcgccagg cggggcgggg cggggcgagg ggcggggcgg ggcgaggcgg 840

agaggtgcgg cggcagccaa tcagagcggc gcgctccgaa agtttccttt tatggcgagg 900

cggcggcggc ggcggcccta taaaaagcga agcgcgcggc gggcgggagt cgctgcgacg 960

ctgccttcgc cccgtgcccc gctccgccgc cgcctcgcgc cgcccgcccc ggctctgact 1020

gaccgcgtta ctcccacagg tgagcgggcg ggacggccct tctcctccgg gctgtaatta 1080

gcgcttggtt taatgacggc ttgtcctggt ggcgagggga ggggggtggt cctcgaacgc 1140

cttgcagaac tggcctggat acagagtgga ccggctggcc ccatctggaa gacttcgaga 1200

tacactgttg tcttactgcg ctcaacagtg tatctcgaag tcttccaaat ggtgccagcc 1260

atcgcagcgg ggtgcaggaa atgggggcag ccccccttttt tggctatcct tccacgtgtt 1320

ctttttgta tcttttgtgt ttcctagaaa acatctcagt caccaccttt ctgtggctgc 1380

gtgaaagcct tgaggggctc cgggagctag agcctctgct aaccatgttc atgccttctt 1440

ctttttccta cagctcctgg gcaacgtgct ggttattgtg ctgtctcatc attttggcaa 1500

agaattcctc gaagatccga agggaaagtc ttccacgact gtgggatccg ttcgaagata 1560

tcaccggttg agccaccatg gaattcagca gccccagcag agaggaatgc cccaagcctc 1620

tgagccgggt gtcaatcatg gccggatctc tgacaggact gctgctgctt caggccgtgt 1680

cttgggcttc tggcgctaga ccttgcatcc ccaagagctt cggctacagc agcgtcgtgt 1740

gcgtgtgcaa tgccacctac tgcgacagct tcgaccctcc tacctttcct gctctgggca 1800

ccttcagcag atacgagagc accagatccg gcagacggat ggaactgagc atgggaccca 1860

tccaggccaa tcacacaggc actggcctgc tgctgacact gcagcctgag cagaaattcc 1920

agaaagtgaa aggcttcggc ggagccatga cagatgccgc cgctctgaat atcctggctc 1980

tgtctccacc agctcagaac ctgctgctca agagctactt cagcgaggaa ggcatcggct 2040

acaacatcat cagagtgccc atggccagct gcgacttcag catcaggacc tacacctacg 2100

ccgacacacc cgacgatttc cagctgcaca acttcagcct gcctgaagag gacaccaagc 2160

tgaagatccc tctgatccac agagccctgc agctggcaca aagacccgtg tcactgctgg 2220

cctctccatg gacatctccc acctggctga aaacaaatgg cgccgtgaat ggcaagggca 2280

gcctgaaagg ccaacctggc gacatctacc accagacctg ggccagatac ttcgtgaagt 2340

tcctggacgc ctatgccgag cacaagctgc agttttgggc cgtgacagcc gagaacgaac 2400

cttctgctgg actgctgagc ggctacccct ttcagtgcct gggctttaca cccgagcacc 2460

agcgggactt tatcgcccgt gatctgggac ccacactggc caatagcacc caccataatg 2520

tgcggctgct gatgctggac gaccagagac tgcttctgcc ccactgggct aaagtggtgc 2580

tgacagatcc tgaggccgcc aaatacgtgc acggaatcgc cgtgcactgg tatctggact 2640

ttctggcccc tgccaaggcc acactgggag agacacacag actgttcccc aacaccatgc 2700

tgttcgccag cgaagcctgt gtgggcagca agttttggga acagagcgtg cggctcggca 2760

gctgggatag aggcatgcag tacagccaca gcatcatcac caacctgctg taccacgtcg 2820

tcggctggac cgactggaat ctggccctga atcctgaagg cggccctaac tgggtccgaa 2880

acttcgtgga cagccccatc atcgtggaca tcaccaagga caccttctac aagcagccca 2940
tgttctacca cctgggacac ttcagcaagt tcatccccga gggctctcag cgcgttggac 3000
tggtggcttc ccagaagaac gatctggacg ccgtggctct gatgcaccct gatggatctg 3060
ctgtggtggt ggtcctgaac cgcagcagca aagatgtgcc cctgaccatc aaggatcccg 3120
ccgtgggatt cctggaaaca atcagccctg gctactccat ccacacctac ctgtggcgta 3180
gacagtgaca attgttaatt aagtttaaac cctcgaggcc gcaagcttat cgataatcaa 3240
cctctggatt acaaaatttg tgaaagattg actggtattc ttaactatgt tgctcctttt 3300

acgctatgtg gatacgctgc tttaatgcct ttgtatcatg ctattgcttc ccgtatggct 3360
ttcattttct cctccttgta taaatcctgg ttgctgtctc tttatgagga gttgtggccc 3420
gttgtcaggc aacgtggcgt ggtgtgcact gtgtttgctg acgcaacccc cactggttgg 3480
ggcattgcca ccacctgtca gctcctttcc gggactttcg ctttcccctt ccctattgcc 3540
acggcggaac tcatcgccgc ctgccttgcc cgctgctgga caggggctcg gctgttgggc 3600
actgacaatt ccgtggtgtt gtcggggaaa tcatcgtcct ttccttggct gctcgcctgt 3660
gttgccacct ggattctgcg cgggacgtcc ttctgctacg tcccttcggc cctcaatcca 3720

gcggaccttc cttcccgcgg cctgctgccg gctctgcggc ctcttccgcg tcttcgcctt 3780
cgccctcaga cgagtcggat ctccctttgg gccgcctccc cgcatcgata ccgtcgacta 3840
gagctcgctg atcagcctcg actgtgcctt ctagttgcca gccatctgtt gtttgcccct 3900
cccccgtgcc ttccttgacc ctggaaggtg ccactcccac tgtcctttcc taataaaatg 3960
aggaaattgc atcgcattgt ctgagtaggt gtcattctat tctgggggggt ggggtggggc 4020
aggacagcaa gggggaggat tgggaagaca atagcaggca tgctggggag agatccacga 4080
taacaaacag ctttttggg gtgaacatat tgactgaatt ccctgcaggt tggccactcc 4140

ctctctgcgc gctcgctcgc tcactgaggc cgcccgggca aagcccgggc gtcgggcgac 4200
ctttggtcgc ccggcctcag tgagcgagcg agcgcgcaga gagggagtgg ccaactccat 4260
cactaggggt tcctgcggcc gctcgtacgg tctcgaggaa ttcctgcagg ataacttgcc 4320
aacctcattc taaaatgtat atagaagccc aaaagacaat aacaaaaata ttcttgtaga 4380
acaaaatggg aaagaatgtt ccactaaata tcaagattta gagcaaagca tgagatgtgt 4440
ggggatagac agtgaggctg ataaaataga gtagagctca gaaacagacc cattgatata 4500
tgtaagtgac ctatgaaaaa aatatggcat tttacaatgg gaaaatgatg gtctttttct 4560

tttttagaaa aacagggaaa tatatttata tgtaaaaaat aaaagggaac ccatatgtca 4620

taccatacac acaaaaaaat tccagtgaat tataagtcta aatggagaag gcaaaacttt 4680

aaatctttta gaaaataata tagaagcatg cagaccagcc tggccaacat gatgaaaccc 4740

tctctactaa taataaaatc agtagaacta ctcaggacta ctttgagtgg gaagtccttt 4800

tctatgaaga cttctttggc caaaattagg ctctaaatgc aaggagatag tgcatcatgc 4860

ctggctgcac ttactgataa atgatgttat caccatcttt aaccaaatgc acaggaacaa 4920

gttatggtac tgatgtgctg gattgagaag gagctctact tccttgacag gacacatttg 4980

tatcaactta aaaaagcaga tttttgccag cagaactatt cattcagagg taggaaactt 5040

agaatagatg atgtcactga ttagcatggc ttccccatct ccacagctgc ttcccaccca 5100

ggttgcccac agttgagttt gtccagtgct cagggctgcc cactctcagt aagaagcccc 5160

acaccagccc ctctccaaat atgttggctg ttccttccat taaagtgacc ccactttaga 5220

gcagcaagtg gatttctgtt tcttacagtt caggaaggag gagtcagctg tgagaacctg 5280

gagcctgaga tgcttctaag tcccactgct actggggtca gggaagccag actccagcat 5340

cagcagtcag gagcactaag cccttgccaa catcctgttt ctcagagaaa ctgcttccat 5400

tataatggtt gtccttttt aagctatcaa gccaaacaac cagtgtctac cattattctc 5460

atcacctgaa gccaagggtt ctagcaaaag tcaagctgtc ttgtaatggt tgatgtgcct 5520

ccagcttctg tcttcagtca ctccactctt agcctgctct gaatcaactc tgaccacagt 5580

tccctggagc ccctgccacc tgctgcccct gccaccttct ccatctgcag tgctgtgcag 5640

ccttctgcac tcttgcagag ctaataggtg gagacttgaa ggaagaggag gaaagtttct 5700

cataatagcc ttgctgcaag ctcaaatggg aggtgggcac tgtgcccagg agccttggag 5760

caaaggctgt gcccaacctc tgactgcatc caggtttggt cttgacagag ataagaagcc 5820

ctggcttttg gagccaaaat ctaggtcaga cttaggcagg attctcaaag tttatcagca 5880

gaacatgagg cagaagaccc tttctgctcc agcttcttca ggctcaacct tcatcagaat 5940

agatagaaag agaggctgtg agggttctta aaacagaagc aaatctgact cagagaataa 6000

acaacctcct agtaaactac agcttagaca gagcatctgg tggtgagtgt gctcagtgtc 6060

ctactcaact gtctggtatc agccctcatg aggacttctc ttctttccct catagacctc 6120

catctctgtt ttccttagcc tgcagaaatc tggatggcta ttcacagaat gcctgtgctt 6180

tcagagttgc atttttttctc tggtattctg gttcaagcat ttgaaggtag gaaaggttct 6240

ccaagtgcaa gaaagccagc cctgagcctc aactgcctgg ctagtgtggt cagtaggatg 6300

caaaggctgt tgaatgccac aaggccaaac tttaacctgt gtaccacaag cctagcagca 6360

gaggcagctc tgctcactgg aactctctgt cttctttctc ctgagccttt tcttttcctg 6420

agttttctag ctctcctcaa ccttacctct gccctaccca ggacaaaccc aagagccact 6480

gtttctgtga tgtcctctcc agccctaatt aggcatcatg acttcagcct gaccttccat 6540

gctcagaagc agtgctaatc cacttcagat gagctgctct atgcaacaca ggcagagcct 6600

acaaaccttt gcaccagagc cctccacata tcagtgtttg ttcatactca cttcaacagc 6660

aaatgtgact gctgagatta agattttaca caagatggtc tgtaatttca cagttagttt 6720

tatcccatta ggtatgaaag aattagcata attcccctta aacatgaatg aatcttagat 6780

tttttaataa atagttttgg aagtaaagac agagacatca ggagcacaag gaatagcctg 6840

agaggacaaa cagaacaaga aagagtctgg aaatacacag gatgttcttg gcctcctcaa 6900

agcaagtgca agcagatagt accagcagcc ccaggctatc agagcccagt gaagagaagt 6960

accatgaaag ccacagctct aaccaccctg ttccagagtg acagacagtc cccaagacaa 7020

gccagcctga gccagagaga gaactgcaag agaaagtttc taatttaggt tctgttagat 7080

tcagacaagt gcaggtcatc ctctctccac agctactcac ctctccagcc taacaaagcc 7140

tgcagtccac actccaaccc tggtgtctca cctcctagcc tctcccaaca tcctgctctc 7200

tgaccatctt ctgcatctct catctcacca tctcccactg tctacagcct actcttgcaa 7260

ctaccatctc attttctgac atcctgtcta catcttctgc catactctgc catctaccat 7320

accacctctt accatctacc acaccatctt ttatctccat ccctctcaga agcctccaag 7380

ctgaatcctg ctttatgtgt tcatctcagc ccctgcatgg aaagctgacc ccagaggcag 7440

aactattccc agagagcttg gccaagaaaa acaaaactac cagcctggcc aggctcagga 7500

gtagtaagct gcagtgtctg ttgtgttcta gcttcaacag ctgcaggagt tccactctca 7560

aatgctccac atttctcaca tcctcctgat tctggtcact acccatcttc aaagaacaga 7620

atatctcaca tcagcatact gtgaaggact agtcatgggt gcagctgctc agagctgcaa 7680

agtcattctg gatggtggag agcttacaaa catttcatga tgctcccccc gctctgatgg 7740

ctggagccca atccctacac agactcctgc tgtatgtgtt ttcctttcac tctgagccac 7800

agccagaggg caggcattca gtctcctctt caggctgggg ctggggcact gagaactcac 7860

ccaacacctt gctctcactc cttctgcaaa acaagaaaga gctttgtgct gcagtagcca 7920

tgaagaatga aaggaaggct ttaactaaaa aatgtcagag attattttca accccttact 7980

gtggatcacc agcaaggagg aaacacaaca cagagacatt ttttcccctc aaattatcaa 8040

aagaatcact gcatttgtta aagagagcaa ctgaatcagg aagcagagtt ttgaacatat 8100

cagaagttag gaatctgcat cagagacaaa tgcagtcatg gttgtttgct gcataccagc 8160

cctaatcatt agaagcctca tggacttcaa acatcattcc ctctgacaag atgctctagc 8220

ctaactccat gagataaaat aaatctgcct ttcagagcca aagaagagtc caccagcttc 8280

ttctcagtgt gaacaagagc tccagtcagg ttagtcagtc cagtgcagta gaggagacca 8340

gtctgcatcc tctaattttc aaaggcaaga agatttgttt accctggaca ccaggcacaa 8400
gtgaggtcac agagctctta gatatgcagt cctcatgagt gaggagacta aagcgcatgc 8460
catcaagact tcagtgtaga gaaaacctcc aaaaaagcct cctcactact tctggaatag 8520
ctcagaggcc gaggcggcct cggcctctgc ataaataaaa aaaattagtc agccatgggg 8580
cggagaatgg gcggaactgg gcggagttag gggcgggatg ggcggagtta ggggcgggac 8640
tatggttgct gactaattga gatgcatgct ttgcatactt ctgcctgctg gggagcctgg 8700
ggactttcca cacctggttg ctgactaatt gagatgcatg ctttgcatac ttctgcctgc 8760

tggggagcct ggggactttc cacaccctaa ctgacacaca ttccacagct gcattaatga 8820
atcggccaac gcgcggggag aggcggtttg cgtattgggc gctcttccgc ttcctcgctc 8880
actgactcgc tgcgctcggt cgttcggctg cggcgagcgg tatcagctca ctcaaaggcg 8940
gtaatacggt tatccacaga atcaggggat aacgcaggaa agaacatgtg agcaaaaggc 9000
cagcaaaagg ccaggaaccg taaaaaggcc gcgttgctgg cgtttttcca taggctccgc 9060
ccccctgacg agcatcacaa aaatcgacgc tcaagtcaga ggtggcgaaa cccgacagga 9120
ctataaagat accaggcgtt tccccctgga agctccctcg tgcgctctcc tgttccgacc 9180

ctgccgctta ccggatacct gtccgccttt ctcccttcgg gaagcgtggc gctttctcat 9240
agctcacgct gtaggtatct cagttcggtg taggtcgttc gctccaagct gggctgtgtg 9300
cacgaacccc ccgttcagcc cgaccgctgc gccttatccg gtaactatcg tcttgagtcc 9360
aacccggtaa gacacgactt atcgccactg gcagcagcca ctggtaacag gattagcaga 9420
gcgaggtatg taggcggtgc tacagagttc ttgaagtggt ggcctaacta cggctacact 9480
agaagaacag tatttggtat ctgcgctctg ctgaagccag ttaccttcgg aaaaagagtt 9540
ggtagctctt gatccggcaa acaaaccacc gctggtagcg gtggtttttt tgtttgcaag 9600

cagcagatta cgcgcagaaa aaaaggatct caagaagatc ctttgatctt ttctacgggg 9660
tctgacgctc agtggaacga aaactcacgt taagggattt tggtcatgag attatcaaaa 9720
aggatcttca cctagatcct tttaaattaa aaatgaagtt ttaaatcaat ctaaagtata 9780
tatgagtaaa cttggtctga cagttaccaa tgcttaatca gtgaggcacc tatctcagcg 9840
atctgtctat ttcgttcatc catagttgcc tgactcctgc aaaccacgtt gtgtctcaaa 9900
atctctgatg ttacattgca caagataaaa atatatcatc atgaacaata aaactgtctg 9960
cttacataaa cagtaataca aggggtgtta tgagccatat tcaacgggaa acgtcttgct 10020

cgaggccgcg attaaattcc aacatggatg ctgatttata tgggtataaa tgggctcgcg 10080

ataatgtcgg gcaatcaggt gcgacaatct atcgattgta tgggaagccc gatgcgccag 10140

agttgtttct gaaacatggc aaaggtagcg ttgccaatga tgttacagat gagatggtca 10200

gactaaactg gctgacggaa tttatgcctc ttccgaccat caagcatttt atccgtactc 10260

ctgatgatgc atggttactc accactgcga tccccgggaa aacagcattc caggtattag 10320

aagaatatcc tgattcaggt gaaaatattg ttgatgcgct ggcagtgttc ctgcgccggt 10380

tgcattcgat tcctgtttgt aattgtcctt ttaacagcga tcgcgtattt cgtctcgctc 10440

aggcgcaatc acgaatgaat aacggtttgg ttgatgcgag tgattttgat gacgagcgta 10500

atggctggcc tgttgaacaa gtctggaaag aaatgcataa gcttttgcca ttctcaccgg 10560

attcagtcgt cactcatggt gatttctcac ttgataacct tatttttgac gaggggaaat 10620

taataggttg tattgatgtt ggacgagtcg gaatcgcaga ccgataccag gatcttgcca 10680

tcctatggaa ctgcctcggt gagttttctc cttcattaca gaaacggctt tttcaaaaat 10740

atggtattga taatcctgat atgaataaat tgcagtttca tttgatgctc gatgagtttt 10800

tctaagggcg gcctgccacc atacccacgc cgaaacaagc gctcatgagc ccgaagtggc 10860

gagcccgatc ttccccatcg gtgatgtcgg cgatataggc gccagcaacc gcacctgtgg 10920

cgccggtgat gagggcgcgc caagtcgacg tccggcagtc 10960

<210> 42

<211> 10960

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> PR004B vector second strand sequence

<400> 42

gactgccgga cgtcgacttg gcgcgccctc atcaccggcg ccacaggtgc ggttgctggc 60

gcctatatcg ccgacatcac cgatggggaa gatcgggctc gccacttcgg gctcatgagc 120

gcttgtttcg gcgtgggtat ggtggcaggc cgcccttaga aaaactcatc gagcatcaaa 180

tgaaactgca atttattcat atcaggatta tcaataccat atttttgaaa aagccgtttc 240

tgtaatgaag gagaaaactc accgaggcag ttccatagga tggcaagatc ctggtatcgg 300

tctgcgattc cgactcgtcc aacatcaata caacctatta atttcccctc gtcaaaaata 360

aggttatcaa gtgagaaatc accatgagtg acgactgaat ccggtgagaa tggcaaaagc 420

ttatgcattt ctttccagac ttgttcaaca ggccagccat tacgctcgtc atcaaaatca 480

ctcgcatcaa ccaaaccgtt attcattcgt gattgcgcct gagcgagacg aaatacgcga 540

tcgctgttaa aaggacaatt acaaacagga atcgaatgca accggcgcag gaacactgcc 600

agcgcatcaa caatattttc acctgaatca ggatattctt ctaatacctg gaatgctgtt 660

ttcccgggga tcgcagtggt gagtaaccat gcatcatcag gagtacggat aaaatgcttg 720

atggtcggaa gaggcataaa ttccgtcagc cagtttagtc tgaccatctc atctgtaaca 780

tcattggcaa cgctaccttt gccatgtttc agaaacaact ctggcgcatc gggcttccca 840

tacaatcgat agattgtcgc acctgattgc ccgacattat cgcgagccca tttataccca 900

tataaatcag catccatgtt ggaatttaat cgcggcctcg agcaagacgt ttcccgttga 960

atatggctca taacacccct tgtattactg tttatgtaag cagacagttt tattgttcat 1020

gatgatatat ttttatcttg tgcaatgtaa catcagagat tttgagacac aacgtggttt 1080

gcaggagtca ggcaactatg gatgaacgaa atagacagat cgctgagata ggtgcctcac 1140

tgattaagca ttggtaactg tcagaccaag tttactcata tatactttag attgatttaa 1200

aacttcattt ttaatttaaa aggatctagg tgaagatcct ttttgataat ctcatgacca 1260

aaatcccttа acgtgagttt tcgttccact gagcgtcaga ccccgtagaa aagatcaaag 1320

gatcttcttg agatcctttt tttctgcgcg taatctgctg cttgcaaaca aaaaaaccac 1380

cgctaccagc ggtggtttgt ttgccggatc aagagctacc aactcttttt ccgaaggtaa 1440

ctggcttcag cagagcgcag ataccaaata ctgttcttct agtgtagccg tagttaggcc 1500

accacttcaa gaactctgta gcaccgccta catacctcgc tctgctaatc ctgttaccag 1560

tggctgctgc cagtggcgat aagtcgtgtc ttaccgggtt ggactcaaga cgatagttac 1620

cggataaggc gcagcggtcg ggctgaacgg ggggttcgtg cacacagccc agcttggagc 1680

gaacgaccta caccgaactg agatacctac agcgtgagct atgagaaagc gccacgcttc 1740

ccgaagggag aaaggcggac aggtatccgg taagcggcag ggtcggaaca ggagagcgca 1800

cgagggagct tccaggggga aacgcctggt atctttatag tcctgtcggg tttcgccacc 1860

tctgacttga gcgtcgattt ttgtgatgct cgtcaggggg gcggagccta tggaaaaacg 1920

ccagcaacgc ggccttttta cggttcctgg ccttttgctg gccttttgct cacatgttct 1980

ttcctgcgtt atcccctgat tctgtggata accgtattac cgcctttgag tgagctgata 2040

ccgctcgccg cagccgaacg accgagcgca gcgagtcagt gagcgaggaa gcggaagagc 2100

gcccaatacg caaaccgcct ctccccgcgc gttggccgat tcattaatgc agctgtggaa 2160

tgtgtgtcag ttagggtgtg gaaagtcccc aggctcccca gcaggcagaa gtatgcaaag 2220

catgcatctc aattagtcag caaccaggtg tggaaagtcc ccaggctccc cagcaggcag 2280

aagtatgcaa agcatgcatc tcaattagtc agcaaccata gtcccgcccc taactccgcc 2340

catcccgccc ctaactccgc ccagttccgc ccattctccg ccccatggct gactaatttt 2400

ttttatttat gcagaggccg aggccgcctc ggcctctgag ctattccaga agtagtgagg 2460

aggctttttt ggaggttttc tctacactga agtcttgatg gcatgcgctt tagtctcctc 2520

actcatgagg actgcatatc taagagctct gtgacctcac ttgtgcctgg tgtccagggt 2580

aaacaaatct tcttgccttt gaaaattaga ggatgcagac tggtctcctc tactgcactg 2640

gactgactaa cctgactgga gctcttgttc acactgagaa gaagctggtg gactcttctt 2700

tggctctgaa aggcagattt attttatctc atggagttag gctagagcat cttgtcagag 2760

ggaatgatgt ttgaagtcca tgaggcttct aatgattagg gctggtatgc agcaaacaac 2820

catgactgca tttgtctctg atgcagattc ctaacttctg atatgttcaa aactctgctt 2880

cctgattcag ttgctctctt taacaaatgc agtgattctt ttgataattt gaggggaaaa 2940

aatgtctctg tgttgtgttt cctccttgct ggtgatccac agtaaggggt tgaaaataat 3000

ctctgacatt ttttagttaa agccttcctt tcattcttca tggctactgc agcacaaagc 3060

tctttcttgt tttgcagaag gagtgagagc aaggtgttgg gtgagttctc agtgccccag 3120

ccccagcctg aagaggagac tgaatgcctg ccctctggct gtggctcaga gtgaaaggaa 3180

aacacataca gcaggagtct gtgtagggat tgggctccag ccatcagagc ggggggagca 3240

tcatgaaatg tttgtaagct ctccaccatc cagaatgact ttgcagctct gagcagctgc 3300

acccatgact agtccttcac agtatgctga tgtgagatat tctgttcttt gaagatgggt 3360

agtgaccaga atcaggagga tgtgagaaat gtggagcatt tgagagtgga actcctgcag 3420

ctgttgaagc tagaacacaa cagacactgc agcttactac tcctgagcct ggccaggctg 3480

gtagttttgt ttttcttggc caagctctct gggaatagtt ctgcctctgg ggtcagcttt 3540

ccatgcaggg gctgagatga acacataaag caggattcag cttggaggct tctgagaggg 3600

atggagataa aagatggtgt ggtagatggt aagaggtggt atggtagatg gcagagtatg 3660

gcagaagatg tagacaggat gtcagaaaat gagatggtag ttgcaagagt aggctgtaga 3720

cagtgggaga tggtgagatg agagatgcag aagatggtca gagagcagga tgttgggaga 3780

ggctaggagg tgagacacca gggttggagt gtggactgca ggctttgtta ggctggagag 3840

gtgagtagct gtggagagag gatgacctgc acttgtctga atctaacaga acctaaatta 3900

gaaactttct cttgcagttc tctctctggc tcaggctggc ttgtcttggg gactgtctgt 3960

cactctggaa cagggtggtt agagctgtgg ctttcatggt acttctcttc actgggctct 4020

gatagcctgg ggctgctggt actatctgct tgcacttgct ttgaggaggc caagaacatc 4080

ctgtgtattt ccagactctt tcttgttctg tttgtcctct caggctattc cttgtgctcc 4140

tgatgtctct gtctttactt ccaaaactat ttattaaaaa atctaagatt cattcatgtt 4200

taaggggaat tatgctaatt ctttcatacc taatgggata aaactaactg tgaaattaca 4260

gaccatcttg tgtaaaatct taatctcagc agtcacattt gctgttgaag tgagtatgaa 4320

caaacactga tatgtggagg gctctggtgc aaaggtttgt aggctctgcc tgtgttgcat 4380

agagcagctc atctgaagtg gattagcact gcttctgagc atggaaggtc aggctgaagt 4440

catgatgcct aattagggct ggagaggaca tcacagaaac agtggctctt gggtttgtcc 4500

tgggtagggc agaggtaagg ttgaggagag ctagaaaact caggaaaaga aaaggctcag 4560

gagaaagaag acagagagtt ccagtgagca gagctgcctc tgctgctagg cttgtggtac 4620

acaggttaaa gtttggcctt gtggcattca acagcctttg catcctactg accacactag 4680

ccaggcagtt gaggctcagg gctggctttc ttgcacttgg agaacctttc ctaccttcaa 4740

atgcttgaac cagaatacca gagaaaaaat gcaactctga aagcacaggc attctgtgaa 4800

tagccatcca gatttctgca ggctaaggaa aacagagatg gaggtctatg agggaaagaa 4860

gagaagtcct catgagggct gataccagac agttgagtag gacactgagc acactcacca 4920

ccagatgctc tgtctaagct gtagtttact aggaggttgt ttattctctg agtcagattt 4980

gcttctgttt taagaaccct cacagcctct ctttctatct attctgatga aggttgagcc 5040

tgaagaagct ggagcagaaa gggtcttctg cctcatgttc tgctgataaa ctttgagaat 5100

cctgcctaag tctgacctag attttggctc caaaagccag ggcttcttat ctctgtcaag 5160

accaaacctg gatgcagtca gaggttgggc acagcctttg ctccaaggct cctgggcaca 5220

gtgcccacct cccatttgag cttgcagcaa ggctattatg agaaactttc ctcctcttcc 5280

ttcaagtctc cacctattag ctctgcaaga gtgcagaagg ctgcacagca ctgcagatgg 5340

agaaggtggc aggggcagca ggtggcaggg gctccaggga actgtggtca gagttgattc 5400

agagcaggct aagagtggag tgactgaaga cagaagctgg aggcacatca accattacaa 5460

gacagcttga cttttgctag aacccttggc ttcaggtgat gagaataatg gtagacactg 5520

gttgtttggc ttgatagctt aaaaaaggac aaccattata atggaagcag tttctctgag 5580

aaacaggatg ttggcaaggg cttagtgctc ctgactgctg atgctggagt ctggcttccc 5640

tgaccccagt agcagtggga cttagaagca tctcaggctc caggttctca cagctgactc 5700

ctccttcctg aactgtaaga aacagaaatc cacttgctgc tctaaagtgg ggtcacttta 5760

atggaaggaa cagccaacat atttggagag gggctggtgt ggggcttctt actgagagtg 5820

ggcagccctg agcactggac aaactcaact gtgggcaacc tgggtgggaa gcagctgtgg 5880

agatggggaa gccatgctaa tcagtgacat catctattct aagtttccta cctctgaatg 5940

aatagttctg ctggcaaaaa tctgcttttt taagttgata caaatgtgtc ctgtcaagga 6000

agtagagctc cttctcaatc cagcacatca gtaccataac ttgttcctgt gcatttggtt 6060

aaagatggtg ataacatcat ttatcagtaa gtgcagccag gcatgatgca ctatctcctt 6120
gcatttagag cctaattttg gccaaagaag tcttcataga aaaggacttc ccactcaaag 6180
tagtcctgag tagttctact gattttatta ttagtagaga gggtttcatc atgttggcca 6240
ggctggtctg catgcttcta tattattttc taaaagattt aaagttttgc cttctccatt 6300
tagacttata attcactgga attttttttgt gtgtatggta tgacatatgg gttccctttt 6360
atttttttaca tataaatata tttccctgtt tttctaaaaa agaaaaagac catcattttc 6420
ccattgtaaa atgccatatt tttttcatag gtcacttaca tatatcaatg ggtctgtttc 6480

tgagctctac tctattttat cagcctcact gtctatcccc acacatctca tgctttgctc 6540
taaatcttga tatttagtgg aacattcttt cccattttgt tctacaagaa tatttttgtt 6600
attgtctttt gggcttctat atacatttta gaatgaggtt ggcaagttat cctgcaggaa 6660
ttcctcgaga ccgtacgagc ggccgcagga acccctagtg atggagttgg ccactccctc 6720
tctgcgcgct cgctcgctca ctgaggccgg gcgaccaaag gtcgcccgac gcccgggctt 6780
tgcccgggcg gcctcagtga gcgagcgagc gcgcagagag ggagtggcca acctgcaggg 6840
aattcagtca atatgttcac cccaaaaaag ctgtttgtta tcgtggatct ctccccagca 6900

tgcctgctat tgtcttccca atcctccccc ttgctgtcct gccccacccc acccccccaga 6960
atagaatgac acctactcag acaatgcgat gcaatttcct cattttatta ggaaaggaca 7020
gtgggagtgg caccttccag ggtcaaggaa ggcacggggg aggggcaaac aacagatggc 7080
tggcaactag aaggcacagt cgaggctgat cagcgagctc tagtcgacgg tatcgatgcg 7140
gggaggcggc ccaaagggag atccgactcg tctgagggcg aaggcgaaga cgcggaagag 7200
gccgcagagc cggcagcagg ccgcgggaag gaaggtccgc tggattgagg gccgaaggga 7260
cgtagcagaa ggacgtcccg cgcagaatcc aggtggcaac acaggcgagc agccaaggaa 7320

aggacgatga tttccccgac aacaccacgg aattgtcagt gcccaacagc cgagcccctg 7380
tccagcagcg ggcaaggcag gcggcgatga gttccgccgt ggcaataggg agggggaaag 7440
cgaaagtccc ggaaaggagc tgacaggtgg tggcaatgcc ccaaccagtg ggggttgcgt 7500
cagcaaacac agtgcacacc acgccacgtt gcctgacaac gggccacaac tcctcataaa 7560
gagacagcaa ccaggattta tacaaggagg agaaaatgaa agccatacgg gaagcaatag 7620
catgatacaa aggcattaaa gcagcgtatc cacatagcgt aaaaggagca acatagttaa 7680
gaataccagt caatctttca caaattttgt aatccagagg ttgattatcg ataagcttgc 7740

ggcctcgagg gtttaaactt aattaacaat tgtcactgtc tacgccacag gtaggtgtgg 7800

atggagtagc cagggctgat tgtttccagg aatcccacgg cgggatcctt gatggtcagg 7860

ggcacatctt tgctgctgcg gttcaggacc accaccacag cagatccatc agggtgcatc 7920

agagccacgg cgtccagatc gttcttctgg gaagccacca gtccaacgcg ctgagagccc 7980

tcggggatga acttgctgaa gtgtcccagg tggtagaaca tgggctgctt gtagaaggtg 8040

tccttggtga tgtccacgat gatggggctg tccacgaagt ttcggaccca gttagggccg 8100

ccttcaggat tcagggccag attccagtcg gtccagccga cgacgtggta cagcaggttg 8160

gtgatgatgc tgtggctgta ctgcatgcct ctatcccagc tgccgagccg cacgctctgt 8220

tcccaaaact tgctgcccac acaggcttcg ctggcgaaca gcatggtgtt ggggaacagt 8280

ctgtgtgtct ctcccagtgt ggccttggca ggggccagaa agtccagata ccagtgcacg 8340

gcgattccgt gcacgtattt ggcggcctca ggatctgtca gcaccacttt agcccagtgg 8400

ggcagaagca gtctctggtc gtccagcatc agcagccgca cattatggtg ggtgctattg 8460

gccagtgtgg gtcccagatc acgggcgata aagtcccgct ggtgctcggg tgtaaagccc 8520

aggcactgaa aggggtagcc gctcagcagt ccagcagaag gttcgttctc ggctgtcacg 8580

gcccaaaact gcagcttgtg ctcggcatag gcgtccagga acttcacgaa gtatctggcc 8640

caggtctggt ggtagatgtc gccaggttgg cctttcaggc tgcccttgcc attcacggcg 8700

ccatttgttt tcagccaggt gggagatgtc catggagagg ccagcagtga cacgggtctt 8760

tgtgccagct gcagggctct gtggatcaga gggatcttca gcttggtgtc ctcttcaggc 8820

aggctgaagt tgtgcagctg gaaatcgtcg ggtgtgtcgg cgtaggtgta ggtcctgatg 8880

ctgaagtcgc agctggccat gggcactctg atgatgttgt agccgatgcc ttcctcgctg 8940

aagtagctct tgagcagcag gttctgagct ggtggagaca gagccaggat attcagagcg 9000

gcggcatctg tcatggctcc gccgaagcct ttcactttct ggaatttctg ctcaggctgc 9060

agtgtcagca gcaggccagt gcctgtgtga ttggcctgga tgggtcccat gctcagttcc 9120

atccgtctgc cggatctggt gctctcgtat ctgctgaagg tgcccagagc aggaaaggta 9180

ggagggtcga agctgtcgca gtaggtggca ttgcacacgc acacgacgct gctgtagccg 9240

aagctcttgg ggatgcaagg tctagcgcca gaagcccaag acacggcctg aagcagcagc 9300

agtcctgtca gagatccggc catgattgac acccggctca gaggcttggg gcattcctct 9360

ctgctggggc tgctgaattc catggtggct caaccggtga tatcttcgaa cggatcccac 9420

agtcgtggaa gactttccct tcggatcttc gaggaattct ttgccaaaat gatgagacag 9480

cacaataacc agcacgttgc ccaggagctg taggaaaaag aagaaggcat gaacatggtt 9540

agcagaggct ctagctcccg gagcccctca aggctttcac gcagccacag aaaggtggtg 9600

actgagatgt tttctaggaa acacaaaaga tacaaaaaag aacacgtgga aggatagcca 9660

aaaaggggggg ctgcccccat ttcctgcacc ccgctgcgat ggctggcacc atttggaaga 9720

cttcgagata cactgttgag cgcagtaaga caacagtgta tctcgaagtc ttccagatgg 9780

ggccagccgg tccactctgt atccaggcca gttctgcaag gcgttcgagg accacccccc 9840

tcccctcgcc accaggacaa gccgtcatta aaccaagcgc taattacagc ccggaggaga 9900

agggccgtcc cgcccgctca cctgtgggag taacgcggtc agtcagagcc ggggcgggcg 9960

gcgcgaggcg gcggcggagc ggggcacggg gcgaaggcag cgtcgcagcg actcccgccc 10020

gccgcgcgct tcgcttttta tagggccgcc gccgccgccg cctcgccata aaaggaaact 10080

ttcggagcgc gccgctctga ttggctgccg ccgcacctct ccgcctcgcc ccgccccgcc 10140

cctcgccccg ccccgccccg cctggcgcgc gccccccccc cccccccgcc cccatcgctg 10200

cacaaaataa ttaaaaaata aataaataca aaattggggg tggggagggg ggggagatgg 10260

ggagagtgaa gcagaacgtg gggctcacct cgaccatggt aatagcgatg actaatacgt 10320

agatgtactg ccaagtagga aagtcccata aggtcatgta ctgggcataa tgccaggcgg 10380

gccatttacc gtcattgacg tcaatagggg gcgtacttgg catatgatac acttgatgta 10440

ctgccaagtg ggcagtttac cgtaaatagt ccacccattg acgtcaatgg aaagtcccta 10500

ttggcgttac tatgggaaca tacgtcatta ttgacgtcaa tgggcggggg tcgttgggcg 10560

gtcagccagg cgggccattt accgtaagtt atgtaacgcg gaactccata tatgggctat 10620

gaactaatga ccccgtaatt gattactatt aataactagg gtaccgaatt cagatccaag 10680

cttcaccatg ggagacgtca ccggttctag aacctaggga gctctggtac ccactagtag 10740

tcgacgaacg cgtaacctcc cgcttcaaaa tggagaccct gcgtgctcac tcgggcttaa 10800

atacccagag ctagcaggaa cccctagtga tggagttggc cactccctct ctgcgcgctc 10860

gctcgctcac tgaggccgcc cgggcaaagc ccgggcgtcg ggcgaccttt ggtcgcccgg 10920

cctcagtgag cgagcgagcg cgcagagagg gagtggccaa 10960

<210> 43

<211> 10960

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> PR004E vector first strand sequence

<400> 43

ttggccactc cctctctgcg cgctcgctcg ctcactgagg ccgggcgacc aaaggtcgcc 60

cgacgcccgg gctttgcccg ggcggcctca gtgagcgagc gagcgcgcag agagggagtg 120

gccaactcca tcactagggg ttcctgctag ctctgggtat ttaagcccga gtgagcacgc 180

agggtctcca ttttgaagcg ggaggttacg cgttcgtcga ctactagtgg gtaccagagc 240

tccctaggtt ctagaaccgg tgacgtctcc catggtgaag cttggatctg aattcggtac 300

cctagttatt aatagtaatc aattacgggg tcattagttc atagcccata tatggagttc 360

cgcgttacat aacttacggt aaatggcccg cctggctgac cgcccaacga cccccgccca 420

ttgacgtcaa taatgacgta tgttcccata gtaacgccaa tagggacttt ccattgacgt 480

caatgggtgg actatttacg gtaaactgcc cacttggcag tacatcaagt gtatcatatg 540

ccaagtacgc cccctattga cgtcaatgac ggtaaatggc ccgcctggca ttatgcccag 600

tacatgacct tatgggactt tcctacttgg cagtacatct acgtattagt catcgctatt 660

accatggtcg aggtgagccc cacgttctgc ttcactctcc ccatctcccc cccctcccca 720

cccccaattt tgtatttatt tatttttaa ttattttgtg cagcgatggg ggcgggggggg 780

gggggggggc gcgcgccagg cggggcgggg cggggcgagg ggcggggcgg ggcgaggcgg 840

agaggtgcgg cggcagccaa tcagagcggc gcgctccgaa agtttccttt tatggcgagg 900

cggcggcggc ggcggcccta taaaaagcga agcgcgcggc gggcgggagt cgctgcgacg 960

ctgccttcgc cccgtgcccc gctccgccgc cgcctcgcgc cgcccgcccc ggctctgact 1020

gaccgcgtta ctcccacagg tgagcgggcg ggacggccct tctcctccgg gctgtaatta 1080

gcgcttggtt taatgacggc ttgtcctggt ggcgaggggga ggggggtggt cctcgaacgc 1140

cttgcagaac tggcctggat acagagtgga ccggctggcc ccatctggaa gacttcgaga 1200

tacactgttg tcttactgcg ctcaacagtg tatctcgaag tcttccaaat ggtgccagcc 1260

atcgcagcgg ggtgcaggaa atgggggcag ccccccttt tggctatcct tccacgtgtt 1320

ctttttgta tcttttgtgt ttcctagaaa acatctcagt caccaccttt ctgtggctgc 1380

gtgaaagcct tgaggggctc cgggagctag agcctctgct aaccatgttc atgccttctt 1440

ctttttccta cagctcctgg gcaacgtgct ggttattgtg ctgtctcatc attttggcaa 1500

agaattcctc gaagatccga agggaaagtc ttccacgact gtgggatccg ttcgaagata 1560

tcaccggttg agccaccatg gaattcagca gccccagcag agaggaatgc cccaagcctc 1620

tgagccgggt gtcaatcatg gccggatctc tgacaggact gctgctgctt caggccgtgt 1680

cttgggcttc tggcgctaga ccttgcatcc ccaagagctt cggctacagc agcgtcgtgt 1740

gcgtgtgcaa tgccacctac tgcgacagct tcgaccctcc tacctttcct gctctgggca 1800

ccttcagcag atacgagagc accagatccg gcagacggat ggaactgagc atgggaccca 1860

tccaggccaa tcacacaggc actggcctgc tgctgacact gcagcctgag cagaaattcc 1920

agaaagtgaa aggcttcggc ggagccatga cagatgccgc cgctctgaat atcctggctc 1980

tgtctccacc agctcagaac ctgctgctca agagctactt cagcgaggaa ggcatcggct 2040

acaacatcat cagagtgccc atggccagct gcgacttcag catcaggacc tacacctacg 2100

ccgacacacc cgacgatttc cagctgcaca acttcagcct gcctgaagag gacaccaagc 2160

tgaagatccc tctgatccac agagccctgc agctggcaca aagacccgtg tcactgctgg 2220

cctctccatg gacatctccc acctggctga aaacaaatgg cgccgtgaat ggcaagggca 2280

gcctgaaagg ccaacctggc gacatctacc accagacctg ggccagatac ttcgtgaagt 2340

tcctggacgc ctatgccgag cacaagctgc agttttgggc cgtgacagcc gagaacgaac 2400

cttctgctgg actgctgagc ggctacccct ttcagtgcct gggctttaca cccgagcacc 2460

agcgggactt tatcgcccgt gatctgggac ccacactggc caatagcacc caccataatg 2520

tgcggctgct gatgctggac gaccagagac tgcttctgcc ccactgggct aaagtggtgc 2580

tgacagatcc tgaggccgcc aaatacgtgc acggaatcgc cgtgcactgg tatctggact 2640

ttctggcccc tgccaaggcc acactgggag agacacacag actgttcccc aacaccatgc 2700

tgttcgccag cgaagcctgt gtgggcagca agttttggga acagagcgtg cggctcggca 2760

gctgggatag aggcatgcag tacagccaca gcatcatcac caacctgctg taccacgtcg 2820

tcggctggac cgactggaat ctggccctga atcctgaagg cggccctaac tgggtccgaa 2880

acttcgtgga cagccccatc atcgtggaca tcaccaagga caccttctac aagcagccca 2940

tgttctacca cctgggacac ttcagcaagt tcatccccga gggctctcag cgcgttggac 3000

tggtggcttc ccagaagaac gatctggacg ccgtggctct gatgcaccct gatggatctg 3060

ctgtggtggt ggtcctgaac cgcagcagca aagatgtgcc cctgaccatc aaggatcccg 3120

ccgtgggatt cctggaaaca atcagccctg gctactccat ccacacctac ctgtggcgta 3180

gacagtgaca attgttaatt aagtttaaac cctcgaggcc gcaagcttat cgataatcaa 3240

cctctggatt acaaaatttg tgaaagattg actggtattc ttaactatgt tgctcctttt 3300

acgctatgtg gatacgctgc tttaatgcct ttgtatcatg ctattgcttc ccgtatggct 3360

ttcattttct cctccttgta taaatcctgg ttgctgtctc tttatgagga gttgtggccc 3420

gttgtcaggc aacgtggcgt ggtgtgcact gtgtttgctg acgcaacccc cactggttgg 3480

ggcattgcca ccacctgtca gctcctttcc gggactttcg ctttcccctc ccctattgcc 3540

acggcggaac tcatcgccgc ctgccttgcc cgctgctgga caggggctcg gctgttgggc 3600

actgacaatt ccgtggtgtt gtcggggaaa tcatcgtcct ttccttggct gctcgcctgt 3660

gttgccacct ggattctgcg cgggacgtcc ttctgctacg tcccttcggc cctcaatcca 3720

gcggaccttc cttcccgcgg cctgctgccg gctctgcggc ctcttccgcg tcttcgcctt 3780

cgccctcaga cgagtcggat ctccctttgg gccgcctccc cgcatcgata ccgtcgacta 3840
gagctcgctg atcagcctcg actgtgcctt ctagttgcca gccatctgtt gtttgcccct 3900
cccccgtgcc ttccttgacc ctggaaggtg ccactcccac tgtcctttcc taataaaatg 3960
aggaaattgc atcgcattgt ctgagtaggt gtcattctat tctgggggggt ggggtggggc 4020
aggacagcaa gggggaggat tgggaagaca atagcaggca tgctggggag agatccacga 4080
taacaaacag ctttttggg gtgaacatat tgactgaatt ccctgcagga ggaaccccta 4140
gtgatggagt tggccactcc ctctctgcgc gctcgctcgc tcactgaggc cgcccgggca 4200

aagcccgggc gtcgggcgac ctttggtcgc ccggcctcag tgagcgagcg agcgcgcaga 4260
gagggagtgg ccaagcggcc gctcgtacgg tctcgaggaa ttcctgcagg ataacttgcc 4320
aacctcattc taaaatgtat atagaagccc aaaagacaat aacaaaaata ttcttgtaga 4380
acaaaatggg aaagaatgtt ccactaaata tcaagattta gagcaaagca tgagatgtgt 4440
ggggatagac agtgaggctg ataaaataga gtagagctca gaaacagacc cattgatata 4500
tgtaagtgac ctatgaaaaa aatatggcat tttacaatgg gaaaatgatg gtctttttct 4560
tttttagaaa aacagggaaa tatatttata tgtaaaaaat aaaagggaac ccatatgtca 4620

taccatacac acaaaaaaat tccagtgaat tataagtcta aatggagaag gcaaaacttt 4680
aaatctttta gaaaataata tagaagcatg cagaccagcc tggccaacat gatgaaaccc 4740
tctctactaa taataaaatc agtagaacta ctcaggacta ctttgagtgg gaagtccttt 4800
tctatgaaga cttctttggc caaaattagg ctctaaatgc aaggagatag tgcatcatgc 4860
ctggctgcac ttactgataa atgatgttat caccatcttt aaccaaatgc acaggaacaa 4920
gttatggtac tgatgtgctg gattgagaag gagctctact tccttgacag gacacatttg 4980
tatcaactta aaaaagcaga tttttgccag cagaactatt cattcagagg taggaaactt 5040

agaatagatg atgtcactga ttagcatggc ttccccatct ccacagctgc ttcccaccca 5100
ggttgcccac agttgagttt gtccagtgct cagggctgcc cactctcagt aagaagcccc 5160
acaccagccc ctctccaaat atgttggctg ttccttccat taaagtgacc ccactttaga 5220
gcagcaagtg gatttctgtt tcttacagtt caggaaggag gagtcagctg tgagaacctg 5280
gagcctgaga tgcttctaag tcccactgct actggggtca gggaagccag actccagcat 5340
cagcagtcag gagcactaag cccttgccaa catcctgttt ctcagagaaa ctgcttccat 5400
tataatggtt gtccttttt aagctatcaa gccaaacaac cagtgtctac cattattctc 5460

atcacctgaa gccaagggtt ctagcaaaag tcaagctgtc ttgtaatggt tgatgtgcct 5520

ccagcttctg tcttcagtca ctccactctt agcctgctct gaatcaactc tgaccacagt 5580

tccctggagc ccctgccacc tgctgcccct gccaccttct ccatctgcag tgctgtgcag 5640

ccttctgcac tcttgcagag ctaataggtg gagacttgaa ggaagaggag gaaagtttct 5700

cataatagcc ttgctgcaag ctcaaatggg aggtgggcac tgtgcccagg agccttggag 5760

caaaggctgt gcccaacctc tgactgcatc caggtttggt cttgacagag ataagaagcc 5820

ctggcttttg gagccaaaat ctaggtcaga cttaggcagg attctcaaag tttatcagca 5880

gaacatgagg cagaagaccc tttctgctcc agcttcttca ggctcaacct tcatcagaat 5940

agatagaaag agaggctgtg agggttctta aaacagaagc aaatctgact cagagaataa 6000

acaacctcct agtaaactac agcttagaca gagcatctgg tggtgagtgt gctcagtgtc 6060

ctactcaact gtctggtatc agccctcatg aggacttctc ttctttccct catagacctc 6120

catctctgtt ttccttagcc tgcagaaatc tggatggcta ttcacagaat gcctgtgctt 6180

tcagagttgc atttttttctc tggtattctg gttcaagcat ttgaaggtag gaaaggttct 6240

ccaagtgcaa gaaagccagc cctgagcctc aactgcctgg ctagtgtggt cagtaggatg 6300

caaaggctgt tgaatgccac aaggccaaac tttaacctgt gtaccacaag cctagcagca 6360

gaggcagctc tgctcactgg aactctctgt cttctttctc ctgagccttt tcttttcctg 6420

agttttctag ctctcctcaa ccttacctct gccctaccca ggacaaaccc aagagccact 6480

gtttctgtga tgtcctctcc agccctaatt aggcatcatg acttcagcct gaccttccat 6540

gctcagaagc agtgctaatc cacttcagat gagctgctct atgcaacaca ggcagagcct 6600

acaaaccttt gcaccagagc cctccacata tcagtgtttg ttcatactca cttcaacagc 6660

aaatgtgact gctgagatta agattttaca caagatggtc tgtaatttca cagttagttt 6720

tatcccatta ggtatgaaag aattagcata attcccctta aacatgaatg aatcttagat 6780

tttttaataa atagttttgg aagtaaagac agagacatca ggagcacaag gaatagcctg 6840

agaggacaaa cagaacaaga aagagtctgg aaatacacag gatgttcttg gcctcctcaa 6900

agcaagtgca agcagatagt accagcagcc ccaggctatc agagcccagt gaagagaagt 6960

accatgaaag ccacagctct aaccaccctg ttccagagtg acagacagtc cccaagacaa 7020

gccagcctga gccagagaga gaactgcaag agaaagtttc taatttaggt tctgttagat 7080

tcagacaagt gcaggtcatc ctctctccac agctactcac ctctccagcc taacaaagcc 7140

tgcagtccac actccaaccc tggtgtctca cctcctagcc tctcccaaca tcctgctctc 7200

tgaccatctt ctgcatctct catctcacca tctcccactg tctacagcct actcttgcaa 7260

ctaccatctc attttctgac atcctgtcta catcttctgc catactctgc catctaccat 7320

accacctctt accatctacc acaccatctt ttatctccat ccctctcaga agcctccaag 7380

ctgaatcctg ctttatgtgt tcatctcagc ccctgcatgg aaagctgacc ccagaggcag 7440

aactattccc agagagcttg gccaagaaaa acaaaactac cagcctggcc aggctcagga 7500

gtagtaagct gcagtgtctg ttgtgttcta gcttcaacag ctgcaggagt tccactctca 7560

aatgctccac atttctcaca tcctcctgat tctggtcact acccatcttc aaagaacaga 7620

atatctcaca tcagcatact gtgaaggact agtcatgggt gcagctgctc agagctgcaa 7680

agtcattctg gatggtggag agcttacaaa catttcatga tgctcccccc gctctgatgg 7740

ctggagccca atccctacac agactcctgc tgtatgtgtt ttcctttcac tctgagccac 7800

agccagaggg caggcattca gtctcctctt caggctgggg ctggggcact gagaactcac 7860

ccaacacctt gctctcactc cttctgcaaa acaagaaaga gctttgtgct gcagtagcca 7920

tgaagaatga aaggaaggct ttaactaaaa aatgtcagag attattttca accccttact 7980

gtggatcacc agcaaggagg aaacacaaca cagagacatt ttttcccctc aaattatcaa 8040

aagaatcact gcatttgtta aagagagcaa ctgaatcagg aagcagagtt ttgaacatat 8100

cagaagttag gaatctgcat cagagacaaa tgcagtcatg gttgtttgct gcataccagc 8160

cctaatcatt agaagcctca tggacttcaa acatcattcc ctctgacaag atgctctagc 8220

ctaactccat gagataaaat aaatctgcct ttcagagcca aagaagagtc caccagcttc 8280

ttctcagtgt gaacaagagc tccagtcagg ttagtcagtc cagtgcagta gaggagacca 8340

gtctgcatcc tctaattttc aaaggcaaga agatttgttt accctggaca ccaggcacaa 8400

gtgaggtcac agagctctta gatatgcagt cctcatgagt gaggagacta aagcgcatgc 8460

catcaagact tcagtgtaga gaaaacctcc aaaaaagcct cctcactact tctggaatag 8520

ctcagaggcc gaggcggcct cggcctctgc ataaataaaa aaaattagtc agccatgggg 8580

cggagaatgg gcggaactgg gcggagttag gggcgggatg ggcggagtta ggggcgggac 8640

tatggttgct gactaattga gatgcatgct ttgcatactt ctgcctgctg gggagcctgg 8700

ggactttcca cacctggttg ctgactaatt gagatgcatg ctttgcatac ttctgcctgc 8760

tggggagcct ggggactttc cacaccctaa ctgacacaca ttccacagct gcattaatga 8820

atcggccaac gcgcggggag aggcggtttg cgtattgggc gctcttccgc ttcctcgctc 8880

actgactcgc tgcgctcggt cgttcggctg cggcgagcgg tatcagctca ctcaaaggcg 8940

gtaatacggt tatccacaga atcaggggat aacgcaggaa agaacatgtg agcaaaaggc 9000

cagcaaaagg ccaggaaccg taaaaaggcc gcgttgctgg cgtttttcca taggctccgc 9060

ccccctgacg agcatcacaa aaatcgacgc tcaagtcaga ggtggcgaaa cccgacagga 9120

ctataaagat accaggcgtt tccccctgga agctccctcg tgcgctctcc tgttccgacc 9180

ctgccgctta ccggatacct gtccgccttt ctcccttcgg gaagcgtggc gctttctcat 9240

agctcacgct gtaggtatct cagttcggtg taggtcgttc gctccaagct gggctgtgtg 9300
cacgaacccc ccgttcagcc cgaccgctgc gccttatccg gtaactatcg tcttgagtcc 9360
aacccggtaa gacacgactt atcgccactg gcagcagcca ctggtaacag gattagcaga 9420
gcgaggtatg taggcggtgc tacagagttc ttgaagtggt ggcctaacta cggctacact 9480
agaagaacag tatttggtat ctgcgctctg ctgaagccag ttaccttcgg aaaaagagtt 9540
ggtagctctt gatccggcaa acaaaccacc gctggtagcg gtggtttttt tgtttgcaag 9600
cagcagatta cgcgcagaaa aaaaggatct caagaagatc ctttgatctt ttctacgggg 9660

tctgacgctc agtggaacga aaactcacgt taagggattt tggtcatgag attatcaaaa 9720
aggatcttca cctagatcct tttaaattaa aaatgaagtt ttaaatcaat ctaaagtata 9780
tatgagtaaa cttggtctga cagttaccaa tgcttaatca gtgaggcacc tatctcagcg 9840
atctgtctat ttcgttcatc catagttgcc tgactcctgc aaaccacgtt gtgtctcaaa 9900
atctctgatg ttacattgca caagataaaa atatatcatc atgaacaata aaactgtctg 9960
cttacataaa cagtaataca aggggtgtta tgagccatat tcaacgggaa acgtcttgct 10020
cgaggccgcg attaaattcc aacatggatg ctgatttata tgggtataaa tgggctcgcg 10080

ataatgtcgg gcaatcaggt gcgacaatct atcgattgta tgggaagccc gatgcgccag 10140
agttgtttct gaaacatggc aaaggtagcg ttgccaatga tgttacagat gagatggtca 10200
gactaaactg gctgacggaa tttatgcctc ttccgaccat caagcatttt atccgtactc 10260
ctgatgatgc atggttactc accactgcga tccccgggaa aacagcattc caggtattag 10320
aagaatatcc tgattcaggt gaaaatattg ttgatgcgct ggcagtgttc ctgcgccggt 10380
tgcattcgat tcctgtttgt aattgtcctt ttaacagcga tcgcgtattt cgtctcgctc 10440
aggcgcaatc acgaatgaat aacggtttgg ttgatgcgag tgattttgat gacgagcgta 10500

atggctggcc tgttgaacaa gtctggaaag aaatgcataa gcttttgcca ttctcaccgg 10560
attcagtcgt cactcatggt gatttctcac ttgataacct tatttttgac gaggggaaat 10620
taataggttg tattgatgtt ggacgagtcg gaatcgcaga ccgataccag gatcttgcca 10680
tcctatggaa ctgcctcggt gagttttctc cttcattaca gaaacggctt tttcaaaaat 10740
atggtattga taatcctgat atgaataaat tgcagtttca tttgatgctc gatgagtttt 10800
tctaagggcg gcctgccacc atacccacgc cgaaacaagc gctcatgagc ccgaagtggc 10860
gagcccgatc ttccccatcg gtgatgtcgg cgatataggc gccagcaacc gcacctgtgg 10920

cgccggtgat gagggcgcgc caagtcgacg tccggcagtc 10960

<210> 44

<211> 10960

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> PR004E vector second strand sequence

<400> 44

gactgccgga cgtcgacttg gcgcgccctc atcaccggcg ccacaggtgc ggttgctggc 60

gcctatatcg ccgacatcac cgatggggaa gatcgggctc gccacttcgg gctcatgagc 120

gcttgtttcg gcgtgggtat ggtggcaggc cgcccttaga aaaactcatc gagcatcaaa 180

tgaaactgca atttattcat atcaggatta tcaataccat atttttgaaa aagccgtttc 240

tgtaatgaag gagaaaactc accgaggcag ttccatagga tggcaagatc ctggtatcgg 300

tctgcgattc cgactcgtcc aacatcaata caacctatta atttcccctc gtcaaaaata 360

aggttatcaa gtgagaaatc accatgagtg acgactgaat ccggtgagaa tggcaaaagc 420

ttatgcattt ctttccagac ttgttcaaca ggccagccat tacgctcgtc atcaaaatca 480

ctcgcatcaa ccaaaccgtt attcattcgt gattgcgcct gagcgagacg aaatacgcga 540

tcgctgttaa aaggacaatt acaaacagga atcgaatgca accggcgcag gaacactgcc 600

agcgcatcaa caatattttc acctgaatca ggatattctt ctaatacctg gaatgctgtt 660

ttcccgggga tcgcagtggt gagtaaccat gcatcatcag gagtacggat aaaatgcttg 720

atggtcggaa gaggcataaa ttccgtcagc cagtttagtc tgaccatctc atctgtaaca 780

tcattggcaa cgctaccttt gccatgtttc agaaacaact ctggcgcatc gggcttccca 840

tacaatcgat agattgtcgc acctgattgc ccgacattat cgcgagccca tttataccca 900

tataaatcag catccatgtt ggaatttaat cgcggcctcg agcaagacgt ttcccgttga 960

atatggctca taacacccct tgtattactg tttatgtaag cagacagttt tattgttcat 1020

gatgatatat ttttatcttg tgcaatgtaa catcagagat tttgagacac aacgtggttt 1080

gcaggagtca ggcaactatg gatgaacgaa atagacagat cgctgagata ggtgcctcac 1140

tgattaagca ttggtaactg tcagaccaag tttactcata tatactttag attgatttaa 1200

aacttcattt ttaatttaaa aggatctagg tgaagatcct ttttgataat ctcatgacca 1260

aaatcccttа acgtgagttt tcgttccact gagcgtcaga ccccgtagaa aagatcaaag 1320

gatcttcttg agatcctttt tttctgcgcg taatctgctg cttgcaaaca aaaaaaccac 1380

cgctaccagc ggtggtttgt ttgccggatc aagagctacc aactcttttt ccgaaggtaa 1440

ctggcttcag cagagcgcag ataccaaata ctgttcttct agtgtagccg tagttaggcc 1500

accacttcaa gaactctgta gcaccgccta catacctcgc tctgctaatc ctgttaccag 1560
tggctgctgc cagtggcgat aagtcgtgtc ttaccgggtt ggactcaaga cgatagttac 1620
cggataaggc gcagcggtcg ggctgaacgg ggggttcgtg cacacagccc agcttggagc 1680
gaacgaccta caccgaactg agatacctac agcgtgagct atgagaaagc gccacgcttc 1740
ccgaagggag aaaggcggac aggtatccgg taagcggcag ggtcggaaca ggagagcgca 1800
cgagggagct tccagggggа aacgcctggt atctttatag tcctgtcggg tttcgccacc 1860
tctgacttga gcgtcgattt ttgtgatgct cgtcaggggg gcggagccta tggaaaaacg 1920

ccagcaacgc ggccttttta cggttcctgg ccttttgctg gccttttgct cacatgttct 1980
ttcctgcgtt atcccctgat tctgtggata accgtattac cgcctttgag tgagctgata 2040
ccgctcgccg cagccgaacg accgagcgca gcgagtcagt gagcgaggaa gcggaagagc 2100
gcccaatacg caaaccgcct ctccccgcgc gttggccgat tcattaatgc agctgtggaa 2160
tgtgtgtcag ttagggtgtg gaaagtcccc aggctcccca gcaggcagaa gtatgcaaag 2220
catgcatctc aattagtcag caaccaggtg tggaaagtcc ccaggctccc cagcaggcag 2280
aagtatgcaa agcatgcatc tcaattagtc agcaaccata gtcccgcccc taactccgcc 2340

catcccgccc ctaactccgc ccagttccgc ccattctccg ccccatggct gactaatttt 2400
ttttatttat gcagaggccg aggccgcctc ggcctctgag ctattccaga agtagtgagg 2460
aggctttttt ggaggttttc tctacactga agtcttgatg gcatgcgctt tagtctcctc 2520
actcatgagg actgcatatc taagagctct gtgacctcac ttgtgcctgg tgtccagggt 2580
aaacaaatct tcttgccttt gaaaattaga ggatgcagac tggtctcctc tactgcactg 2640
gactgactaa cctgactgga gctcttgttc acactgagaa gaagctggtg gactcttctt 2700
tggctctgaa aggcagattt attttatctc atggagttag gctagagcat cttgtcagag 2760

ggaatgatgt ttgaagtcca tgaggcttct aatgattagg gctggtatgc agcaaacaac 2820
catgactgca tttgtctctg atgcagattc ctaacttctg atatgttcaa aactctgctt 2880
cctgattcag ttgctctctt taacaaatgc agtgattctt ttgataattt gaggggaaaa 2940
aatgtctctg tgttgtgttt cctccttgct ggtgatccac agtaaggggt tgaaaataat 3000
ctctgacatt ttttagttaa agccttcctt tcattcttca tggctactgc agcacaaagc 3060
tctttcttgt tttgcagaag gagtgagagc aaggtgttgg gtgagttctc agtgccccag 3120
ccccagcctg aagaggagac tgaatgcctg ccctctggct gtggctcaga gtgaaaggaa 3180

aacacataca gcaggagtct gtgtagggat tgggctccag ccatcagagc gggggggagca 3240

tcatgaaatg tttgtaagct ctccaccatc cagaatgact ttgcagctct gagcagctgc 3300

acccatgact agtccttcac agtatgctga tgtgagatat tctgttcttt gaagatgggt 3360

agtgaccaga atcaggagga tgtgagaaat gtggagcatt tgagagtgga actcctgcag 3420

ctgttgaagc tagaacacaa cagacactgc agcttactac tcctgagcct ggccaggctg 3480

gtagttttgt ttttcttggc caagctctct gggaatagtt ctgcctctgg ggtcagcttt 3540

ccatgcaggg gctgagatga acacataaag caggattcag cttggaggct tctgagaggg 3600

atggagataa aagatggtgt ggtagatggt aagaggtggt atggtagatg gcagagtatg 3660

gcagaagatg tagacaggat gtcagaaaat gagatggtag ttgcaagagt aggctgtaga 3720

cagtgggaga tggtgagatg agagatgcag aagatggtca gagagcagga tgttgggaga 3780

ggctaggagg tgagacacca gggttggagt gtggactgca ggctttgtta ggctggagag 3840

gtgagtagct gtggagagag gatgacctgc acttgtctga atctaacaga acctaaatta 3900

gaaactttct cttgcagttc tctctctggc tcaggctggc ttgtcttggg gactgtctgt 3960

cactctggaa cagggtggtt agagctgtgg ctttcatggt acttctcttc actgggctct 4020

gatagcctgg ggctgctggt actatctgct tgcacttgct ttgaggaggc caagaacatc 4080

ctgtgtattt ccagactctt tcttgttctg tttgtcctct caggctattc cttgtgctcc 4140

tgatgtctct gtctttactt ccaaaactat ttattaaaaa atctaagatt cattcatgtt 4200

taaggggaat tatgctaatt ctttcatacc taatgggata aaactaactg tgaaattaca 4260

gaccatcttg tgtaaaatct taatctcagc agtcacattt gctgttgaag tgagtatgaa 4320

caaacactga tatgtggagg gctctggtgc aaaggtttgt aggctctgcc tgtgttgcat 4380

agagcagctc atctgaagtg gattagcact gcttctgagc atggaaggtc aggctgaagt 4440

catgatgcct aattagggct ggagaggaca tcacagaaac agtggctctt gggtttgtcc 4500

tgggtagggc agaggtaagg ttgaggagag ctagaaaact caggaaaaga aaaggctcag 4560

gagaaagaag acagagagtt ccagtgagca gagctgcctc tgctgctagg cttgtggtac 4620

acaggttaaa gtttggcctt gtggcattca acagcctttg catcctactg accacactag 4680

ccaggcagtt gaggctcagg gctggctttc ttgcacttgg agaacctttc ctaccttcaa 4740

atgcttgaac cagaatacca gagaaaaaat gcaactctga aagcacaggc attctgtgaa 4800

tagccatcca gatttctgca ggctaaggaa aacagagatg gaggtctatg agggaaagaa 4860

gagaagtcct catgagggct gataccagac agttgagtag gacactgagc acactcacca 4920

ccagatgctc tgtctaagct gtagtttact aggaggttgt ttattctctg agtcagattt 4980

gcttctgttt taagaaccct cacagcctct ctttctatct attctgatga aggttgagcc 5040

tgaagaagct ggagcagaaa gggtcttctg cctcatgttc tgctgataaa ctttgagaat 5100

cctgcctaag tctgacctag attttggctc caaaagccag ggcttcttat ctctgtcaag 5160

accaaacctg gatgcagtca gaggttgggc acagcctttg ctccaaggct cctgggcaca 5220

gtgcccacct cccatttgag cttgcagcaa ggctattatg agaaactttc ctcctcttcc 5280

ttcaagtctc cacctattag ctctgcaaga gtgcagaagg ctgcacagca ctgcagatgg 5340

agaaggtggc aggggcagca ggtggcaggg gctccaggga actgtggtca gagttgattc 5400

agagcaggct aagagtggag tgactgaaga cagaagctgg aggcacatca accattacaa 5460

gacagcttga cttttgctag aacccttggc ttcaggtgat gagaataatg gtagacactg 5520

gttgtttggc ttgatagctt aaaaaaggac aaccattata atggaagcag tttctctgag 5580

aaacaggatg ttggcaaggg cttagtgctc ctgactgctg atgctggagt ctggcttccc 5640

tgaccccagt agcagtggga cttagaagca tctcaggctc caggttctca cagctgactc 5700

ctccttcctg aactgtaaga aacagaaatc cacttgctgc tctaaagtgg ggtcacttta 5760

atggaaggaa cagccaacat atttggagag gggctggtgt ggggcttctt actgagagtg 5820

ggcagccctg agcactggac aaactcaact gtgggcaacc tgggtgggaa gcagctgtgg 5880

agatggggaa gccatgctaa tcagtgacat catctattct aagtttccta cctctgaatg 5940

aatagttctg ctggcaaaaa tctgcttttt taagttgata caaatgtgtc ctgtcaagga 6000

agtagagctc cttctcaatc cagcacatca gtaccataac ttgttcctgt gcatttggtt 6060

aaagatggtg ataacatcat ttatcagtaa gtgcagccag gcatgatgca ctatctcctt 6120

gcatttagag cctaattttg gccaaagaag tcttcataga aaaggacttc ccactcaaag 6180

tagtcctgag tagttctact gattttatta ttagtagaga gggtttcatc atgttggcca 6240

ggctggtctg catgcttcta tattattttc taaaagattt aaagttttgc cttctccatt 6300

tagacttata attcactgga attttttttgt gtgtatggta tgacatatgg gttccctttt 6360

atttttaca tataaatata tttccctgtt tttctaaaaa agaaaaagac catcattttc 6420

ccattgtaaa atgccatatt tttttcatag gtcacttaca tatatcaatg ggtctgtttc 6480

tgagctctac tctattttat cagcctcact gtctatcccc acacatctca tgctttgctc 6540

taaatcttga tatttagtgg aacattcttt cccattttgt tctacaagaa tatttttgtt 6600

attgtctttt gggcttctat atacatttta gaatgaggtt ggcaagttat cctgcaggaa 6660

ttcctcgaga ccgtacgagc ggccgcttgg ccactccctc tctgcgcgct cgctcgctca 6720

ctgaggccgg gcgaccaaag gtcgcccgac gcccgggctt tgcccgggcg gcctcagtga 6780

gcgagcgagc gcgcagagag ggagtggcca actccatcac taggggttcc tcctgcaggg 6840

aattcagtca atatgttcac cccaaaaaag ctgtttgtta tcgtggatct ctccccagca 6900

tgcctgctat tgtcttccca atcctccccc ttgctgtcct gccccacccc acccccccaga 6960

atagaatgac acctactcag acaatgcgat gcaatttcct cattttatta ggaaaggaca 7020

gtgggagtgg caccttccag ggtcaaggaa ggcacggggg aggggcaaac aacagatggc 7080

tggcaactag aaggcacagt cgaggctgat cagcgagctc tagtcgacgg tatcgatgcg 7140

gggaggcggc ccaaagggag atccgactcg tctgagggcg aaggcgaaga cgcggaagag 7200

gccgcagagc cggcagcagg ccgcgggaag gaaggtccgc tggattgagg gccgaaggga 7260

cgtagcagaa ggacgtcccg cgcagaatcc aggtggcaac acaggcgagc agccaaggaa 7320

aggacgatga tttccccgac aacaccacgg aattgtcagt gcccaacagc cgagcccctg 7380

tccagcagcg ggcaaggcag gcggcgatga gttccgccgt ggcaataggg agggggaaag 7440

cgaaagtccc ggaaaggagc tgacaggtgg tggcaatgcc ccaaccagtg ggggttgcgt 7500

cagcaaacac agtgcacacc acgccacgtt gcctgacaac gggccacaac tcctcataaa 7560

gagacagcaa ccaggattta tacaaggagg agaaaatgaa agccatacgg gaagcaatag 7620

catgatacaa aggcattaaa gcagcgtatc cacatagcgt aaaaggagca acatagttaa 7680

gaataccagt caatctttca caaattttgt aatccagagg ttgattatcg ataagcttgc 7740

ggcctcgagg gtttaaactt aattaacaat tgtcactgtc tacgccacag gtaggtgtgg 7800

atggagtagc cagggctgat tgtttccagg aatcccacgg cgggatcctt gatggtcagg 7860

ggcacatctt tgctgctgcg gttcaggacc accaccacag cagatccatc agggtgcatc 7920

agagccacgg cgtccagatc gttcttctgg gaagccacca gtccaacgcg ctgagagccc 7980

tcggggatga acttgctgaa gtgtcccagg tggtagaaca tgggctgctt gtagaaggtg 8040

tccttggtga tgtccacgat gatggggctg tccacgaagt ttcggaccca gttagggccg 8100

ccttcaggat tcagggccag attccagtcg gtccagccga cgacgtggta cagcaggttg 8160

gtgatgatgc tgtggctgta ctgcatgcct ctatcccagc tgccgagccg cacgctctgt 8220

tcccaaaact tgctgcccac acaggcttcg ctggcgaaca gcatggtgtt ggggaacagt 8280

ctgtgtgtct ctcccagtgt ggccttggca ggggccagaa agtccagata ccagtgcacg 8340

gcgattccgt gcacgtattt ggcggcctca ggatctgtca gcaccacttt agcccagtgg 8400

ggcagaagca gtctctggtc gtccagcatc agcagccgca cattatggtg ggtgctattg 8460

gccagtgtgg gtcccagatc acgggcgata aagtcccgct ggtgctcggg tgtaaagccc 8520

aggcactgaa aggggtagcc gctcagcagt ccagcagaag gttcgttctc ggctgtcacg 8580

gcccaaaact gcagcttgtg ctcggcatag gcgtccagga acttcacgaa gtatctggcc 8640

caggtctggt ggtagatgtc gccaggttgg cctttcaggc tgcccttgcc attcacggcg 8700

ccatttgttt tcagccaggt gggagatgtc catggagagg ccagcagtga cacgggtctt 8760

tgtgccagct gcagggctct gtggatcaga gggatcttca gcttggtgtc ctcttcaggc 8820

aggctgaagt tgtgcagctg gaaatcgtcg ggtgtgtcgg cgtaggtgta ggtcctgatg 8880

ctgaagtcgc agctggccat gggcactctg atgatgttgt agccgatgcc ttcctcgctg 8940

aagtagctct tgagcagcag gttctgagct ggtggagaca gagccaggat attcagagcg 9000

gcggcatctg tcatggctcc gccgaagcct ttcactttct ggaatttctg ctcaggctgc 9060

agtgtcagca gcaggccagt gcctgtgtga ttggcctgga tgggtcccat gctcagttcc 9120

atccgtctgc cggatctggt gctctcgtat ctgctgaagg tgcccagagc aggaaaggta 9180

ggagggtcga agctgtcgca gtaggtggca ttgcacacgc acacgacgct gctgtagccg 9240

aagctcttgg ggatgcaagg tctagcgcca gaagcccaag acacggcctg aagcagcagc 9300

agtcctgtca gagatccggc catgattgac acccggctca gaggcttggg gcattcctct 9360

ctgctggggc tgctgaattc catggtggct caaccggtga tatcttcgaa cggatcccac 9420

agtcgtggaa gactttccct tcggatcttc gaggaattct ttgccaaaat gatgagacag 9480

cacaataacc agcacgttgc ccaggagctg taggaaaaag aagaaggcat gaacatggtt 9540

agcagaggct ctagctcccg gagcccctca aggctttcac gcagccacag aaaggtggtg 9600

actgagatgt tttctaggaa acacaaaaga tacaaaaaag aacacgtgga aggatagcca 9660

aaaaggggggg ctgcccccat ttcctgcacc ccgctgcgat ggctggcacc atttggaaga 9720

cttcgagata cactgttgag cgcagtaaga caacagtgta tctcgaagtc ttccagatgg 9780

ggccagccgg tccactctgt atccaggcca gttctgcaag gcgttcgagg accacccccc 9840

tcccctcgcc accaggacaa gccgtcatta aaccaagcgc taattacagc ccggaggaga 9900

agggccgtcc cgcccgctca cctgtgggag taacgcggtc agtcagagcc ggggcgggcg 9960

gcgcgaggcg gcggcggagc ggggcacggg gcgaaggcag cgtcgcagcg actcccgccc 10020

gccgcgcgct tcgcttttta tagggccgcc gccgccgccg cctcgccata aaaggaaact 10080

ttcggagcgc gccgctctga ttggctgccg ccgcacctct ccgcctcgcc ccgccccgcc 10140

cctcgccccg ccccgccccg cctggcgcgc gccccccccc cccccccgcc cccatcgctg 10200

cacaaaataa ttaaaaaata aataaataca aaattggggg tggggagggg ggggagatgg 10260

ggagagtgaa gcagaacgtg gggctcacct cgaccatggt aatagcgatg actaatacgt 10320

agatgtactg ccaagtagga aagtcccata aggtcatgta ctgggcataa tgccaggcgg 10380

gccatttacc gtcattgacg tcaatagggg gcgtacttgg catatgatac acttgatgta 10440

ctgccaagtg ggcagtttac cgtaaatagt ccacccattg acgtcaatgg aaagtcccta 10500

ttggcgttac tatgggaaca tacgtcatta ttgacgtcaa tgggcggggg tcgttgggcg 10560

gtcagccagg cgggccattt accgtaagtt atgtaacgcg gaactccata tatgggctat 10620

gaactaatga ccccgtaatt gattactatt aataactagg gtaccgaatt cagatccaag 10680

cttcaccatg ggagacgtca ccggttctag aacctaggga gctctggtac ccactagtag 10740

tcgacgaacg cgtaacctcc cgcttcaaaa tggagaccct gcgtgctcac tcgggcttaa 10800

atacccagag ctagcaggaa cccctagtga tggagttggc cactccctct ctgcgcgctc 10860

gctcgctcac tgaggccgcc cgggcaaagc ccgggcgtcg ggcgaccttt ggtcgcccgg 10920

cctcagtgag cgagcgagcg cgcagagagg gagtggccaa 10960

<210> 45

<211> 9348

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> PR014A vector first strand sequence

<400> 45

ttggccactc cctctctgcg cgctcgctcg ctcactgagg ccgcccgggc aaagcccggg 60

cgtcgggcga cctttggtcg cccggcctca gtgagcgagc gagcgcgcag agagggagtg 120

gccaactcca tcactagggg ttcctgctag ctctgggtat ttaagcccga gtgagcacgc 180

agggtctcca ttttgaagcg ggaggttacg cgttcgtcga ctactagtgg gtaccagagc 240

tccctaggtt ctagaaccgg tgacgtctcc catggtgaag cttggatctg aattcggtac 300

ctagttatta atagtaatca attacggggt cattagttca tagcccatat atggagttcc 360

gcgttacata acttacggta aatggcccgc ctggctgacc gcccaacgac ccccgcccat 420

tgacgtcaat aatgacgtat gttcccatag taacgccaat agggactttc cattgacgtc 480

aatgggtgga gtatttacgg taaactgccc acttggcagt acatcaagtg tatcatatgc 540

caagtacgcc ccctattgac gtcaatgacg gtaaatggcc cgcctggcat tatgcccagt 600

acatgacctt atgggacttt cctacttggc agtacatcta cgtattagtc atcgctatta 660

ccatggtcga ggtgagcccc acgttctgct tcactctccc catctccccc ccctccccac 720

ccccaatttt gtatttattt atttttttaat tattttgtgc agcgatgggg gcgggggggg 780

ggggggggcg cgcgccaggc ggggcggggc ggggcgaggg gcggggcggg gcgaggcgga 840

gaggtgcggc ggcagccaat cagagcggcg cgctccgaaa gtttcctttt atggcgaggc 900

ggcggcggcg gcggccctat aaaaagcgaa gcgcgcggcg ggcgggagtc gctgcgacgc 960

tgccttcgcc ccgtgccccg ctccgccgcc gcctcgcgcc gcccgccccg gctctgactg 1020

accgcgttac tcccacaggt gagcgggcgg gacggccctt ctcctcagcg ctgtaattag 1080

cgcttggttt aatgacggct tgtcctggtg gcgaggggag gggggtggtc ctcgaacgcc 1140

ttgcagaact ggcctggata cagagtggac cggctggccc catctggaag acttcgagat 1200

acactgttgt cttactgcgc tcaacagtgt atctcgaagt cttccaaatg gtgccagcca 1260

tcgcagcggg gtgcaggaaa tgggggcagc ccccctttt ggctatcctt ccacgtgttc 1320

ttttttgtat cttttgtgtt tcctagaaaa catctcagtc accacctttc tgtggctgcg 1380

tgaaagcctt gaggggctcc gggagctaga gcctctgcta accatgttca tgccttcttc 1440

tttttcctac agctcctggg caacgtgctg gttattgtgc tgtctcatca ttttggcaaa 1500

gaattcctcg aagatccgaa gggaaagtct tccacgactg tgggatccgt tcgaagatat 1560

caccggttga gccacccaat tgttaattaa gtttaaaccc tcgaggccgc aagcttatcg 1620

ataatcaacc tctggattac aaaatttgtg aaagattgac tggtattctt aactatgttg 1680

ctccttttac gctatgtgga tacgctgctt taatgccttt gtatcatgct attgcttccc 1740

gtatggcttt cattttctcc tccttgtata aatcctggtt gctgtctctt tatgaggagt 1800

tgtggcccgt tgtcaggcaa cgtggcgtgg tgtgcactgt gtttgctgac gcaacccccа 1860

ctggttgggg cattgccacc acctgtcagc tcctttccgg gactttcgct ttccccctcc 1920

ctattgccac ggcggaactc atcgccgcct gccttgcccg ctgctggaca ggggctcggc 1980

tgttgggcac tgacaattcc gtggtgttgt cggggaaatc atcgtccttt ccttggctgc 2040

tcgcctgtgt tgccacctgg attctgcgcg ggacgtcctt ctgctacgtc ccttcggccc 2100

tcaatccagc ggaccttcct tcccgcggcc tgctgccggc tctgcggcct cttccgcgtc 2160

ttcgccttcg ccctcagacg agtcggatct ccctttgggc cgcctccccg catcgatacc 2220

gtcgactaga gctcgctgat cagcctcgac tgtgccttct agttgccagc catctgttgt 2280

ttgcccctcc cccgtgcctt ccttgaccct ggaaggtgcc actcccactg tcctttccta 2340

ataaaatgag gaaattgcat cgcattgtct gagtaggtgt cattctattc tgggggggtgg 2400

ggtggggcag gacagcaagg gggaggattg ggaagacaat agcaggcatg ctggggagag 2460

atccacgata acaaacagct tttttggggt gaacatattg actgaattcc ctgcaggagg 2520

aacccctagt gatggagttg gccactccct ctctgcgcgc tcgctcgctc actgaggccg 2580

cccgggcaaa gcccgggcgt cgggcgacct ttggtcgccc ggcctcagtg agcgagcgag 2640

cgcgcagaga gggagtggcc aagcggccgc tcgtacggtc tcgaggaatt cctgcaggat 2700

aacttgccaa cctcattcta aaatgtatat agaagcccaa aagacaataa caaaaatatt 2760

cttgtagaac aaaatgggaa agaatgttcc actaaatatc aagatttaga gcaaagcatg 2820

agatgtgtgg ggatagacag tgaggctgat aaaatagagt agagctcaga aacagaccca 2880

ttgatatatg taagtgacct atgaaaaaaa tatggcattt tacaatggga aaatgatggt 2940

ctttttcttt tttagaaaaa cagggaaata tatttatatg taaaaaataa aagggaaccc 3000

atatgtcata ccatacacac aaaaaaattc cagtgaatta taagtctaaa tggagaaggc 3060

aaaactttaa atcttttaga aaataatata gaagcatgca gaccagcctg gccaacatga 3120

tgaaaccctc tctactaata ataaaatcag tagaactact caggactact ttgagtggga 3180

agtccttttc tatgaagact tctttggcca aaattaggct ctaaatgcaa ggagatagtg 3240

catcatgcct ggctgcactt actgataaat gatgttatca ccatctttaa ccaaatgcac 3300

aggaacaagt tatggtactg atgtgctgga ttgagaagga gctctacttc cttgacagga 3360

cacatttgta tcaacttaaa aaagcagatt tttgccagca gaactattca ttcagaggta 3420

ggaaacttag aatagatgat gtcactgatt agcatggctt ccccatctcc acagctgctt 3480

cccacccagg ttgcccacag ttgagtttgt ccagtgctca gggctgccca ctctcagtaa 3540

gaagccccac accagcccct ctccaaatat gttggctgtt ccttccatta aagtgacccc 3600

actttagagc agcaagtgga tttctgtttc ttacagttca ggaaggagga gtcagctgtg 3660

agaacctgga gcctgagatg cttctaagtc ccactgctac tggggtcagg gaagccagac 3720

tccagcatca gcagtcagga gcactaagcc cttgccaaca tcctgtttct cagagaaact 3780

gcttccatta taatggttgt cctttttaa gctatcaagc caaacaacca gtgtctacca 3840

ttattctcat cacctgaagc caagggttct agcaaaagtc aagctgtctt gtaatggttg 3900

atgtgcctcc agcttctgtc ttcagtcact ccactcttag cctgctctga atcaactctg 3960

accacagttc cctggagccc ctgccacctg ctgcccctgc caccttctcc atctgcagtg 4020

ctgtgcagcc ttctgcactc ttgcagagct aataggtgga gacttgaagg aagaggagga 4080

aagtttctca taatagcctt gctgcaagct caaatgggag gtgggcactg tgcccaggag 4140

ccttggagca aaggctgtgc ccaacctctg actgcatcca ggtttggtct tgacagagat 4200

aagaagccct ggcttttgga gccaaaatct aggtcagact taggcaggat tctcaaagtt 4260

tatcagcaga acatgaggca gaagaccctt tctgctccag cttcttcagg ctcaaccttc 4320

atcagaatag atagaaagag aggctgtgag ggttcttaaa acagaagcaa atctgactca 4380

gagaataaac aacctcctag taaactacag cttagacaga gcatctggtg gtgagtgtgc 4440

tcagtgtcct actcaactgt ctggtatcag ccctcatgag gacttctctt ctttccctca 4500

tagacctcca tctctgtttt ccttagcctg cagaaatctg gatggctatt cacagaatgc 4560

ctgtgctttc agagttgcat tttttctctg gtattctggt tcaagcattt gaaggtagga 4620

aaggttctcc aagtgcaaga aagccagccc tgagcctcaa ctgcctggct agtgtggtca 4680

gtaggatgca aaggctgttg aatgccacaa ggccaaactt taacctgtgt accacaagcc 4740
tagcagcaga ggcagctctg ctcactggaa ctctctgtct tctttctcct gagccttttc 4800
ttttcctgag ttttctagct ctcctcaacc ttacctctgc cctacccagg acaaacccaa 4860
gagccactgt ttctgtgatg tcctctccag ccctaattag gcatcatgac ttcagcctga 4920
ccttccatgc tcagaagcag tgctaatcca cttcagatga gctgctctat gcaacacagg 4980
cagagcctac aaacctttgc accagagccc tccacatatc agtgtttgtt catactcact 5040
tcaacagcaa atgtgactgc tgagattaag attttacaca agatggtctg taatttcaca 5100

gttagtttta tcccattagg tatgaaagaa ttagcataat tccccttaaa catgaatgaa 5160
tcttagattt tttaataaat agttttggaa gtaaagacag agacatcagg agcacaagga 5220
atagcctgag aggacaaaca gaacaagaaa gagtctggaa atacacagga tgttcttggc 5280
ctcctcaaag caagtgcaag cagatagtac cagcagcccc aggctatcag agcccagtga 5340
agagaagtac catgaaagcc acagctctaa ccaccctgtt ccagagtgac agacagtccc 5400
caagacaagc cagcctgagc cagagagaga actgcaagag aaagtttcta atttaggttc 5460
tgttagattc agacaagtgc aggtcatcct ctctccacag ctactcacct ctccagccta 5520

acaaagcctg cagtccacac tccaaccctg gtgtctcacc tcctagcctc tcccaacatc 5580
ctgctctctg accatcttct gcatctctca tctcaccatc tcccactgtc tacagcctac 5640
tcttgcaact accatctcat tttctgacat cctgtctaca tcttctgcca tactctgcca 5700
tctaccatac cacctcttac catctaccac accatctttt atctccatcc ctctcagaag 5760
cctccaagct gaatcctgct ttatgtgttc atctcagccc ctgcatggaa agctgacccc 5820
agaggcagaa ctattcccag agagcttggc caagaaaaac aaaactacca gcctggccag 5880
gctcaggagt agtaagctgc agtgtctgtt gtgttctagc ttcaacagct gcaggagttc 5940

cactctcaaa tgctccacat ttctcacatc ctcctgattc tggtcactac ccatcttcaa 6000
agaacagaat atctcacatc agcatactgt gaaggactag tcatgggtgc agctgctcag 6060
agctgcaaag tcattctgga tggtggagag cttacaaaca tttcatgatg ctcccccgc 6120
tctgatggct ggagcccaat ccctacacag actcctgctg tatgtgtttt cctttcactc 6180
tgagccacag ccagagggca ggcattcagt ctcctcttca ggctggggct ggggcactga 6240
gaactcaccc aacaccttgc tctcactcct tctgcaaaac aagaaagagc tttgtgctgc 6300
agtagccatg aagaatgaaa ggaaggcttt aactaaaaaa tgtcagagat tattttcaac 6360

ccctttactgt ggatcaccag caaggaggaa acacaacaca gagacatttt ttcccctcaa 6420

attatcaaaa gaatcactgc atttgttaaa gagagcaact gaatcaggaa gcagagtttt 6480

gaacatatca gaagttagga atctgcatca gagacaaatg cagtcatggt tgtttgctgc 6540

ataccagccc taatcattag aagcctcatg gacttcaaac atcattccct ctgacaagat 6600

gctctagcct aactccatga gataaaataa atctgccttt cagagccaaa gaagagtcca 6660

ccagcttctt ctcagtgtga acaagagctc cagtcaggtt agtcagtcca gtgcagtaga 6720

ggagaccagt ctgcatcctc taattttcaa aggcaagaag atttgtttac cctggacacc 6780

aggcacaagt gaggtcacag agctcttaga tatgcagtcc tcatgagtga ggagactaaa 6840

gcgcatgcca tcaagacttc agtgtagaga aaacctccaa aaaagcctcc tcactacttc 6900

tggaatagct cagaggccga ggcggcctcg gcctctgcat aaataaaaaa aattagtcag 6960

ccatggggcg gagaatgggc ggaactgggc ggagttaggg gcgggatggg cggagttagg 7020

ggcgggacta tggttgctga ctaattgaga tgcatgcttt gcatacttct gcctgctggg 7080

gagcctgggg actttccaca cctggttgct gactaattga gatgcatgct ttgcatactt 7140

ctgcctgctg gggagcctgg ggactttcca caccctaact gacacacatt ccacagctgc 7200

attaatgaat cggccaacgc gcggggagag gcggtttgcg tattgggcgc tcttccgctt 7260

cctcgctcac tgactcgctg cgctcggtcg ttcggctgcg gcgagcggta tcagctcact 7320

caaaggcggt aatacggtta tccacagaat caggggataa cgcaggaaag aacatgtgag 7380

caaaaggcca gcaaaaggcc aggaaccgta aaaaggccgc gttgctggcg tttttccata 7440

ggctccgccc ccctgacgag catcacaaaa atcgacgctc aagtcagagg tggcgaaacc 7500

cgacaggact ataaagatac caggcgtttc cccctggaag ctccctcgtg cgctctcctg 7560

ttccgaccct gccgcttacc ggatacctgt ccgcctttct cccttcggga agcgtggcgc 7620

tttctcatag ctcacgctgt aggtatctca gttcggtgta ggtcgttcgc tccaagctgg 7680

gctgtgtgca cgaaccccc gttcagcccg accgctgcgc cttatccggt aactatcgtc 7740

ttgagtccaa cccggtaaga cacgacttat cgccactggc agcagccact ggtaacagga 7800

ttagcagagc gaggtatgta ggcggtgcta cagagttctt gaagtggtgg cctaactacg 7860

gctacactag aagaacagta tttggtatct gcgctctgct gaagccagtt accttcggaa 7920

aaagagttgg tagctcttga tccggcaaac aaaccaccgc tggtagcggt ggtttttttg 7980

tttgcaagca gcagattacg cgcagaaaaa aaggatctca agaagatcct ttgatctttt 8040

ctacggggtc tgacgctcag tggaacgaaa actcacgtta agggattttg gtcatgagat 8100

tatcaaaaag gatcttcacc tagatccttt taaattaaaa atgaagtttt aaatcaatct 8160

aaagtatata tgagtaaact tggtctgaca gttaccaatg cttaatcagt gaggcaccta 8220

tctcagcgat ctgtctattt cgttcatcca tagttgcctg actcctgcaa accacgttgt 8280

gtctcaaaat ctctgatgtt acattgcaca agataaaaat atatcatcat gaacaataaa 8340

actgtctgct tacataaaca gtaatacaag gggtgttatg agccatattc aacgggaaac 8400

gtcttgctcg aggccgcgat taaattccaa catggatgct gatttatatg ggtataaatg 8460

ggctcgcgat aatgtcgggc aatcaggtgc gacaatctat cgattgtatg ggaagcccga 8520

tgcgccagag ttgtttctga aacatggcaa aggtagcgtt gccaatgatg ttacagatga 8580

gatggtcaga ctaaactggc tgacggaatt tatgcctctt ccgaccatca agcattttat 8640

ccgtactcct gatgatgcat ggttactcac cactgcgatc cccgggaaaa cagcattcca 8700

ggtattagaa gaatatcctg attcaggtga aaatattgtt gatgcgctgg cagtgttcct 8760

gcgccggttg cattcgattc ctgtttgtaa ttgtcctttt aacagcgatc gcgtatttcg 8820

tctcgctcag gcgcaatcac gaatgaataa cggtttggtt gatgcgagtg attttgatga 8880

cgagcgtaat ggctggcctg ttgaacaagt ctggaaagaa atgcataagc ttttgccatt 8940

ctcaccggat tcagtcgtca ctcatggtga tttctcactt gataacctta tttttgacga 9000

ggggaaatta ataggttgta ttgatgttgg acgagtcgga atcgcagacc gataccagga 9060

tcttgccatc ctatggaact gcctcggtga gttttctcct tcattacaga aacggctttt 9120

tcaaaaatat ggtattgata atcctgatat gaataaattg cagtttcatt tgatgctcga 9180

tgagtttttc taagggcggc ctgccaccat acccacgccg aaacaagcgc tcatgagccc 9240

gaagtggcga gcccgatctt ccccatcggt gatgtcggcg atataggcgc cagcaaccgc 9300

acctgtggcg ccggtgatga gggcgcgcca agtcgacgtc cggcagtc 9348

<210> 46

<211> 9348

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> PR014A vector second strand sequence

<400> 46

gactgccgga cgtcgacttg gcgcgccctc atcaccggcg ccacaggtgc ggttgctggc 60

gcctatatcg ccgacatcac cgatggggaa gatcgggctc gccacttcgg gctcatgagc 120

gcttgtttcg gcgtgggtat ggtggcaggc cgcccttaga aaaactcatc gagcatcaaa 180

tgaaactgca atttattcat atcaggatta tcaataccat atttttgaaa aagccgtttc 240

tgtaatgaag gagaaaactc accgaggcag ttccatagga tggcaagatc ctggtatcgg 300

tctgcgattc cgactcgtcc aacatcaata caacctatta atttcccctc gtcaaaaata 360

aggttatcaa gtgagaaatc accatgagtg acgactgaat ccggtgagaa tggcaaaagc 420

ttatgcattt ctttccagac ttgttcaaca ggccagccat tacgctcgtc atcaaaatca 480

ctcgcatcaa ccaaaccgtt attcattcgt gattgcgcct gagcgagacg aaatacgcga 540

tcgctgttaa aaggacaatt acaaacagga atcgaatgca accggcgcag gaacactgcc 600

agcgcatcaa caatattttc acctgaatca ggatattctt ctaatacctg gaatgctgtt 660

ttcccgggga tcgcagtggt gagtaaccat gcatcatcag gagtacggat aaaatgcttg 720

atggtcggaa gaggcataaa ttccgtcagc cagtttagtc tgaccatctc atctgtaaca 780

tcattggcaa cgctaccttt gccatgtttc agaaacaact ctggcgcatc gggcttccca 840

tacaatcgat agattgtcgc acctgattgc ccgacattat cgcgagccca tttataccca 900

tataaatcag catccatgtt ggaatttaat cgcggcctcg agcaagacgt ttcccgttga 960

atatggctca taacacccct tgtattactg tttatgtaag cagacagttt tattgttcat 1020

gatgatatat ttttatcttg tgcaatgtaa catcagagat tttgagacac aacgtggttt 1080

gcaggagtca ggcaactatg gatgaacgaa atagacagat cgctgagata ggtgcctcac 1140

tgattaagca ttggtaactg tcagaccaag tttactcata tatactttag attgatttaa 1200

aacttcattt ttaatttaaa aggatctagg tgaagatcct ttttgataat ctcatgacca 1260

aaatccctta acgtgagttt tcgttccact gagcgtcaga ccccgtagaa aagatcaaag 1320

gatcttcttg agatcctttt tttctgcgcg taatctgctg cttgcaaaca aaaaaaccac 1380

cgctaccagc ggtggtttgt ttgccggatc aagagctacc aactcttttt ccgaaggtaa 1440

ctggcttcag cagagcgcag ataccaaata ctgttcttct agtgtagccg tagttaggcc 1500

accacttcaa gaactctgta gcaccgccta catacctcgc tctgctaatc ctgttaccag 1560

tggctgctgc cagtggcgat aagtcgtgtc ttaccgggtt ggactcaaga cgatagttac 1620

cggataaggc gcagcggtcg ggctgaacgg ggggttcgtg cacacagccc agcttggagc 1680

gaacgaccta caccgaactg agatacctac agcgtgagct atgagaaagc gccacgcttc 1740

ccgaagggag aaaggcggac aggtatccgg taagcggcag ggtcggaaca ggagagcgca 1800

cgagggagct tccagggga aacgcctggt atctttatag tcctgtcggg tttcgccacc 1860

tctgacttga gcgtcgattt ttgtgatgct cgtcaggggg gcggagccta tggaaaaacg 1920

ccagcaacgc ggcctttta cggttcctgg ccttttgctg gccttttgct cacatgttct 1980

ttcctgcgtt atcccctgat tctgtggata accgtattac cgcctttgag tgagctgata 2040

ccgctcgccg cagccgaacg accgagcgca gcgagtcagt gagcgaggaa gcggaagagc 2100

gcccaatacg caaaccgcct ctccccgcgc gttggccgat tcattaatgc agctgtggaa 2160

tgtgtgtcag ttagggtgtg gaaagtcccc aggctcccca gcaggcagaa gtatgcaaag 2220

catgcatctc aattagtcag caaccaggtg tggaaagtcc ccaggctccc cagcaggcag 2280

aagtatgcaa agcatgcatc tcaattagtc agcaaccata gtcccgcccc taactccgcc 2340

catcccgccc ctaactccgc ccagttccgc ccattctccg ccccatggct gactaatttt 2400

ttttatttat gcagaggccg aggccgcctc ggcctctgag ctattccaga agtagtgagg 2460

aggctttttt ggaggttttc tctacactga agtcttgatg gcatgcgctt tagtctcctc 2520

actcatgagg actgcatatc taagagctct gtgacctcac ttgtgcctgg tgtccagggt 2580

aaacaaatct tcttgccttt gaaaattaga ggatgcagac tggtctcctc tactgcactg 2640

gactgactaa cctgactgga gctcttgttc acactgagaa gaagctggtg gactcttctt 2700

tggctctgaa aggcagattt attttatctc atggagttag gctagagcat cttgtcagag 2760

ggaatgatgt ttgaagtcca tgaggcttct aatgattagg gctggtatgc agcaaacaac 2820

catgactgca tttgtctctg atgcagattc ctaacttctg atatgttcaa aactctgctt 2880

cctgattcag ttgctctctt taacaaatgc agtgattctt ttgataattt gaggggaaaa 2940

aatgtctctg tgttgtgttt cctccttgct ggtgatccac agtaaggggt tgaaaataat 3000

ctctgacatt ttttagttaa agccttcctt tcattcttca tggctactgc agcacaaagc 3060

tctttcttgt tttgcagaag gagtgagagc aaggtgttgg gtgagttctc agtgccccag 3120

ccccagcctg aagaggagac tgaatgcctg ccctctggct gtggctcaga gtgaaaggaa 3180

aacacataca gcaggagtct gtgtagggat tgggctccag ccatcagagc ggggggagca 3240

tcatgaaatg tttgtaagct ctccaccatc cagaatgact ttgcagctct gagcagctgc 3300

acccatgact agtccttcac agtatgctga tgtgagatat tctgttcttt gaagatgggt 3360

agtgaccaga atcaggagga tgtgagaaat gtggagcatt tgagagtgga actcctgcag 3420

ctgttgaagc tagaacacaa cagacactgc agcttactac tcctgagcct ggccaggctg 3480

gtagttttgt ttttcttggc caagctctct gggaatagtt ctgcctctgg ggtcagcttt 3540

ccatgcaggg gctgagatga acacataaag caggattcag cttggaggct tctgagaggg 3600

atggagataa aagatggtgt ggtagatggt aagaggtggt atggtagatg gcagagtatg 3660

gcagaagatg tagacaggat gtcagaaaat gagatggtag ttgcaagagt aggctgtaga 3720

cagtgggaga tggtgagatg agagatgcag aagatggtca gagagcagga tgttgggaga 3780

ggctaggagg tgagacacca gggttggagt gtggactgca ggctttgtta ggctggagag 3840

gtgagtagct gtggagagag gatgacctgc acttgtctga atctaacaga acctaaatta 3900

gaaactttct cttgcagttc tctctctggc tcaggctggc ttgtcttggg gactgtctgt 3960

cactctggaa cagggtggtt agagctgtgg ctttcatggt acttctcttc actgggctct 4020

gatagcctgg ggctgctggt actatctgct tgcacttgct ttgaggaggc caagaacatc 4080
ctgtgtattt ccagactctt tcttgttctg tttgtcctct caggctattc cttgtgctcc 4140
tgatgtctct gtctttactt ccaaaactat ttattaaaaa atctaagatt cattcatgtt 4200
taaggggaat tatgctaatt ctttcatacc taatgggata aaactaactg tgaaattaca 4260
gaccatcttg tgtaaaatct taatctcagc agtcacattt gctgttgaag tgagtatgaa 4320
caaacactga tatgtggagg gctctggtgc aaaggtttgt aggctctgcc tgtgttgcat 4380
agagcagctc atctgaagtg gattagcact gcttctgagc atggaaggtc aggctgaagt 4440

catgatgcct aattagggct ggagaggaca tcacagaaac agtggctctt gggtttgtcc 4500
tgggtagggc agaggtaagg ttgaggagag ctagaaaact caggaaaaga aaaggctcag 4560
gagaaagaag acagagagtt ccagtgagca gagctgcctc tgctgctagg cttgtggtac 4620
acaggttaaa gtttggcctt gtggcattca acagcctttg catcctactg accacactag 4680
ccaggcagtt gaggctcagg gctggctttc ttgcacttgg agaacctttc ctaccttcaa 4740
atgcttgaac cagaatacca gagaaaaaat gcaactctga aagcacaggc attctgtgaa 4800
tagccatcca gatttctgca ggctaaggaa aacagagatg gaggtctatg agggaaagaa 4860

gagaagtcct catgagggct gataccagac agttgagtag gacactgagc acactcacca 4920
ccagatgctc tgtctaagct gtagtttact aggaggttgt ttattctctg agtcagattt 4980
gcttctgttt taagaaccct cacagcctct ctttctatct attctgatga aggttgagcc 5040
tgaagaagct ggagcagaaa gggtcttctg cctcatgttc tgctgataaa ctttgagaat 5100
cctgcctaag tctgacctag attttggctc caaaagccag ggcttcttat ctctgtcaag 5160
accaaacctg gatgcagtca gaggttgggc acagcctttg ctccaaggct cctgggcaca 5220
gtgcccacct cccatttgag cttgcagcaa ggctattatg agaaactttc ctcctcttcc 5280

ttcaagtctc cacctattag ctctgcaaga gtgcagaagg ctgcacagca ctgcagatgg 5340
agaaggtggc aggggcagca ggtggcaggg gctccaggga actgtggtca gagttgattc 5400
agagcaggct aagagtggag tgactgaaga cagaagctgg aggcacatca accattacaa 5460
gacagcttga cttttgctag aacccttggc ttcaggtgat gagaataatg gtagacactg 5520
gttgtttggc ttgatagctt aaaaaaggac aaccattata atggaagcag tttctctgag 5580
aaacaggatg ttggcaaggg cttagtgctc ctgactgctg atgctggagt ctggcttccc 5640
tgaccccagt agcagtggga cttagaagca tctcaggctc caggttctca cagctgactc 5700

ctccttcctg aactgtaaga aacagaaatc cacttgctgc tctaaagtgg ggtcacttta 5760

atggaaggaa cagccaacat atttggagag gggctggtgt ggggcttctt actgagagtg 5820

ggcagccctg agcactggac aaactcaact gtgggcaacc tgggtgggaa gcagctgtgg 5880

agatggggaa gccatgctaa tcagtgacat catctattct aagtttccta cctctgaatg 5940

aatagttctg ctggcaaaaa tctgcttttt taagttgata caaatgtgtc ctgtcaagga 6000

agtagagctc cttctcaatc cagcacatca gtaccataac ttgttcctgt gcatttggtt 6060

aaagatggtg ataacatcat ttatcagtaa gtgcagccag gcatgatgca ctatctcctt 6120

gcatttagag cctaattttg gccaaagaag tcttcataga aaaggacttc ccactcaaag 6180

tagtcctgag tagttctact gattttatta ttagtagaga gggtttcatc atgttggcca 6240

ggctggtctg catgcttcta tattattttc taaaagattt aaagttttgc cttctccatt 6300

tagacttata attcactgga atttttttgt gtgtatggta tgacatatgg gttccctttt 6360

atttttaca tataaatata tttccctgtt tttctaaaaa agaaaaagac catcattttc 6420

ccattgtaaa atgccatatt tttttcatag gtcacttaca tatatcaatg ggtctgtttc 6480

tgagctctac tctattttat cagcctcact gtctatcccc acacatctca tgctttgctc 6540

taaatcttga tatttagtgg aacattcttt cccattttgt tctacaagaa tatttttgtt 6600

attgtctttt gggcttctat atacatttta gaatgaggtt ggcaagttat cctgcaggaa 6660

ttcctcgaga ccgtacgagc ggccgcttgg ccactccctc tctgcgcgct cgctcgctca 6720

ctgaggccgg gcgaccaaag gtcgcccgac gcccgggctt tgcccgggcg gcctcagtga 6780

gcgagcgagc gcgcagagag ggagtggcca actccatcac taggggttcc tcctgcaggg 6840

aattcagtca atatgttcac cccaaaaaag ctgtttgtta tcgtggatct ctccccagca 6900

tgcctgctat tgtcttccca atcctccccc ttgctgtcct gccccacccc acccccccaga 6960

atagaatgac acctactcag acaatgcgat gcaatttcct cattttatta ggaaaggaca 7020

gtgggagtgg caccttccag ggtcaaggaa ggcacggggg aggggcaaac aacagatggc 7080

tggcaactag aaggcacagt cgaggctgat cagcgagctc tagtcgacgg tatcgatgcg 7140

gggaggcggc ccaaagggag atccgactcg tctgagggcg aaggcgaaga cgcggaagag 7200

gccgcagagc cggcagcagg ccgcgggaag gaaggtccgc tggattgagg gccgaaggga 7260

cgtagcagaa ggacgtcccg cgcagaatcc aggtggcaac acaggcgagc agccaaggaa 7320

aggacgatga tttccccgac aacaccacgg aattgtcagt gcccaacagc cgagcccctg 7380

tccagcagcg ggcaaggcag gcggcgatga gttccgccgt ggcaataggg agggggaaag 7440

cgaaagtccc ggaaaggagc tgacaggtgg tggcaatgcc ccaaccagtg ggggttgcgt 7500

cagcaaacac agtgcacacc acgccacgtt gcctgacaac gggccacaac tcctcataaa 7560

gagacagcaa ccaggattta tacaaggagg agaaaatgaa agccatacgg gaagcaatag 7620

catgatacaa aggcattaaa gcagcgtatc cacatagcgt aaaaggagca acatagttaa 7680

gaataccagt caatctttca caaattttgt aatccagagg ttgattatcg ataagcttgc 7740

ggcctcgagg gtttaaactt aattaacaat tgggtggctc aaccggtgat atcttcgaac 7800

ggatcccaca gtcgtggaag actttccctt cggatcttcg aggaattctt tgccaaaatg 7860

atgagacagc acaataacca gcacgttgcc caggagctgt aggaaaaaga agaaggcatg 7920

aacatggtta gcagaggctc tagctcccgg agcccctcaa ggctttcacg cagccacaga 7980

aaggtggtga ctgagatgtt ttctaggaaa cacaaaagat acaaaaaaga acacgtggaa 8040

ggatagccaa aaaggggggc tgcccccatt tcctgcaccc cgctgcgatg gctggcacca 8100

tttggaagac ttcgagatac actgttgagc gcagtaagac aacagtgtat ctcgaagtct 8160

tccagatggg gccagccggt ccactctgta tccaggccag ttctgcaagg cgttcgagga 8220

ccacccccct cccctcgcca ccaggacaag ccgtcattaa accaagcgct aattacagcg 8280

ctgaggagaa gggccgtccc gcccgctcac ctgtgggagt aacgcggtca gtcagagccg 8340

gggcgggcgg cgcgaggcgg cggcggagcg gggcacgggg cgaaggcagc gtcgcagcga 8400

ctcccgcccg ccgcgcgctt cgctttttat agggccgccg ccgccgccgc ctcgccataa 8460

aaggaaactt tcggagcgcg ccgctctgat tggctgccgc cgcacctctc cgcctcgccc 8520

cgccccgccc ctcgccccgc cccgccccgc ctggcgcgcg ccccccccca ccccccgccc 8580

ccatcgctgc acaaaataat taaaaaataa ataaatacaa aattgggggt ggggaggggg 8640

gggagatggg gagagtgaag cagaacgtgg ggctcacctc gaccatggta atagcgatga 8700

ctaatacgta gatgtactgc caagtaggaa agtcccataa ggtcatgtac tgggcataat 8760

gccaggcggg ccatttaccg tcattgacgt caataggggg cgtacttggc atatgataca 8820

cttgatgtac tgccaagtgg gcagtttacc gtaaatactc cacccattga cgtcaatgga 8880

aagtccctat tggcgttact atgggaacat acgtcattat tgacgtcaat gggcgggggt 8940

cgttgggcgg tcagccaggc gggccattta ccgtaagtta tgtaacgcgg aactccatat 9000

atgggctatg aactaatgac cccgtaattg attactatta ataactaggt accgaattca 9060

gatccaagct tcaccatggg agacgtcacc ggttctagaa cctagggagc tctggtaccc 9120

actagtagtc gacgaacgcg taacctcccg cttcaaaatg gagaccctgc gtgctcactc 9180

gggcttaaat acccagagct agcaggaacc cctagtgatg gagttggcca ctccctctct 9240

gcgcgctcgc tcgctcactg aggccgggcg accaaaggtc gcccgacgcc cgggctttgc 9300

ccgggcggcc tcagtgagcg agcgagcgcg cagagaggga gtggccaa 9348

<210> 47

<211> 263

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> First strand sequence encoding aSyn shRNA

<400>

47

cctggtggcg aggggagggg ggtggtcctc gaacgccttg cagaactggc ctggatacag 60

agtggaccgg ctggccccat ctggaagact tcgagataca ctgttgtctt actgcgctca 120

acagtgtatc tcgaagtctt ccaaatggtg ccagccatcg cagcggggtg caggaaatgg 180

gggcagcccc ccttttggc tatccttcca cgtgttcttt tttgtatctt ttgtgtttcc 240

tagaaaacat ctcagtcacc acc 263

<210> 48

<211> 263

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Second strand sequence encoding aSyn shRNA

<400> 48

ggtggtgact gagatgtttt ctaggaaaca caaaagatac aaaaaagaac acgtggaagg 60

atagccaaaa agggggggctg cccccatttc ctgcaccccg ctgcgatggc tggcaccatt 120

tggaagactt cgagatacac tgttgagcgc agtaagacaa cagtgtatct cgaagtcttc 180

cagatggggc cagccggtcc actctgtatc caggccagtt ctgcaaggcg ttcgaggacc 240

acccccctcc cctcgccacc agg 263