

(52) CPC특허분류

C12N 2710/10043 (2013.01)

C12N 2710/10322 (2013.01)

C12N 2710/10344 (2013.01)

C12N 2750/14121 (2013.01)

C12N 2750/14143 (2013.01)

C12N 2750/14152 (2013.01)

C12N 2750/14322 (2013.01)

(72) 발명자

리유, 유

미국, 메릴랜드 20850, 락빌, 스위트 100, 메디컬
센터 드라이브 9620

첸, 큐이핑

미국, 메릴랜드 20850, 락빌, 스위트 100, 메디컬
센터 드라이브 9620

양, 룡제

미국, 메릴랜드 20850, 락빌, 스위트 100, 메디컬
센터 드라이브 9620

명세서

청구범위

청구항 1

재조합 파르보바이러스의 생산을 위한 폴리뉴클레오티드 발현 작제물로서,

- (1) E4 오픈 리딩 프레임 6/7을 인코딩하는 변형된 아데노바이러스 E4 코딩 영역;
- (2) E2a 단백질을 인코딩하는 변형된 아데노바이러스 E2a 코딩 영역;
- (3) 아데노바이러스 VAI RNA 및 VAII를 인코딩하는 아데노바이러스 VA RNA 코딩 영역;
- (4) 재조합 파르보바이러스의 생산을 위해 필요한 파르보바이러스 단백질을 인코딩하는 파르보바이러스 단백질 코딩 영역;
- (5) (1) 전이유전자를 인코딩하는 뉴클레오티드 서열 및 뉴클레오티드 서열에 작동가능하게 연결된 조절 요소를 포함하는 발현 카세트 및 (2) 발현 카세트의 하나의 말단에 적어도 하나의 ITR을 포함하는 재조합 파르보바이러스 서열; 및
- (6) 숙주 세포에서 E4 오픈 리딩 프레임 6/7, E2a 단백질, 아데노바이러스 VA RNA, 및 재조합 파르보바이러스의 생산을 위해 필요한 파르보바이러스 단백질의 발현을 허용하는 하나 이상의 조절 요소를 포함하는, 발현 작제물.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 변형된 아데노바이러스 E4 코딩 영역은 (i) E4orf6/7 인트론 1의 부분적 또는 완전한 결실, 또는 (ii) E4orf6/7 인트론 2의 부분적 또는 완전한 결실, 또는 (i) 및 (ii) 둘 다를 포함하는, 발현 작제물.

청구항 3

제2항에 있어서, 상기 변형된 아데노바이러스 E4 코딩 영역은 E4orf6/7 인트론 2의 부분적 또는 완전한 결실을 갖는 Ad2 계통의 뉴클레오티드 서열 32645-35835에 상응하는 서열을 포함하고, 상기 E4orf6/7 인트론 2는 서열 번호 2의 서열 및 E4orf6/7 인트론 1의 부분적 또는 완전한 결실을 갖고, 상기 E4orf6/7 인트론 1은 서열번호 1의 서열을 갖는, 발현 작제물.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 변형된 아데노바이러스 E2a 코딩 영역은 (i) 초기-E2a 또는 후기-E2a 인트론 1의 부분적 또는 완전한 결실, (ii) E2a 인트론 2의 부분적 또는 완전한 결실, 또는 (i) 및 (ii) 둘 다를 포함하는, 발현 작제물.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 변형된 아데노바이러스 E2a 코딩 영역은 (i) 초기-E2a 또는 후기-E2a 인트론 1의 부분적 또는 완전한 결실, (ii) E2a 인트론 2의 부분적 또는 완전한 결실, 또는 (i) 및 (ii) 둘 다를 갖는 Ad2 계통의 뉴클레오티드 서열 22233-27575에 상응하는 서열을 포함하는, 발현 작제물.

청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 재조합 파르보바이러스는 rAAV이고, 상기 파르보바이러스 단백질 코딩 영역은 AAV Rep 단백질을 인코딩하는 AAV Rep 코딩 영역 및 AAV Cap 단백질을 인코딩하는 AAV Cap 코딩 영역을 포함하는, 발현 작제물.

청구항 7

제6항에 있어서, 상기 AAV Rep 코딩 영역은 AAV P5I 프로모터에 작동가능하게 연결된 AAV Rep 코딩 서열을 포함

하는, 발현 작제물.

청구항 8

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서,

- (1) 서열번호 17 또는 서열번호 18;
- (2) 서열번호 4;
- (3) 서열번호 16;
- (4) 서열번호 19;
- (5) 서열번호 20; 및
- (6) 서열번호 21을 포함하는, 발현 작제물.

청구항 9

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, 20 킬로베이스 미만의 크기를 갖는, 발현 작제물.

청구항 10

재조합 파르보바이러스를 생산하는 방법으로서,

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항의 발현 작제물을 숙주 세포 내로 도입하는 단계;

발현 작제물을 보유하는 숙주 세포를 원하는 기간 동안 인큐베이션하여 재조합 파르보바이러스 입자를 생산하는 단계; 및

인큐베이션 기간 후 재조합 파르보바이러스 입자를 수확하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 11

재조합 파르보바이러스의 생산을 위한 폴리뉴클레오티드 발현 작제물로서,

(a) 아데노바이러스 E4orf6/7을 인코딩하는 변형된 아데노바이러스 E4 코딩 영역으로서, 상기 변형된 아데노바이러스 E4 코딩 영역은 (i) E4orf6/7 인트론 1의 부분적 또는 완전한 결실, 또는 (ii) E4orf6/7 인트론 2의 부분적 또는 완전한 결실, 또는 (i) 및 (ii) 둘 다를 포함하는 코딩 영역;

(b) 아데노바이러스 E2a 단백질을 인코딩하는 변형된 아데노바이러스 E2a 코딩 영역으로서, 상기 변형된 아데노바이러스 E2a 코딩 영역은 E4orf6/7 인트론 1 또는 E4orf6/7 인트론 2에서 적어도 하나의 결실을 포함하는 코딩 영역;

(c) 하나 이상의 아데노바이러스 VA RNA를 인코딩하는 서열; 및

(d) (a), (b) 및 (c)에 작동가능하게 연결된 하나 이상의 조절 요소를 포함하는, 발현 작제물.

청구항 12

제11항에 있어서, 상기 변형된 아데노바이러스 E4 코딩 영역은 E4orf6/7 인트론 2의 부분적 또는 완전한 결실을 갖는 Ad2 계통의 뉴클레오티드 서열 32645-35835에 상응하는 서열을 포함하고, 상기 E4orf6/7 인트론 2는 서열번호 2의 서열 및 E4orf6/7 인트론 1의 부분적 또는 완전한 결실을 갖고, 상기 E4orf6/7 인트론 1은 서열번호 1의 서열을 갖는, 발현 작제물.

청구항 13

제11항 또는 제12항에 있어서, 상기 변형된 아데노바이러스 E4 코딩 영역은 서열번호 7의 코돈 최적화된 뉴클레오티드 서열을 포함하는 변형된 아데노바이러스 E4orf6/7 코딩 영역을 포함하는, 발현 작제물.

청구항 14

제11항 내지 제13항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 변형된 아데노바이러스 E2a 코딩 영역은 (i) 초기-E2a 또는

후기-E2a 인트론 1의 부분적 또는 완전한 결실, (ii) E2a 인트론 2의 부분적 또는 완전한 결실, 또는 (i) 및 (ii) 둘 다를 포함하는, 발현 작제물.

청구항 15

제11항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 변형된 아데노바이러스 E2a 코딩 영역은 (i) 초기-E2a 또는 후기-E2a 인트론 1의 부분적 또는 완전한 결실, (ii) E2a 인트론 2의 부분적 또는 완전한 결실, 또는 (i) 및 (ii) 둘 다를 갖는 Ad2 게놈의 뉴클레오티드 서열 22233-27575에 상응하는 서열을 포함하는, 발현 작제물.

청구항 16

제11항 내지 제15항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 변형된 아데노바이러스 E2a 코딩 영역은 후기-E2a 인트론 1 및 E2a 인트론 2의 완전한 서열을 포괄하는 서열번호 3의 1897 bp 결실을 갖는 Ad2 게놈의 뉴클레오티드 서열 22233-27575에 상응하는 서열을 포함하는, 발현 작제물.

청구항 17

제11항 내지 제16항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 변형된 아데노바이러스 E2a 코딩 영역은 서열번호 4의 코돈 최적화된 뉴클레오티드 서열을 포함하는, 발현 작제물.

청구항 18

제11항에 있어서, (1) 서열번호 17 또는 서열번호 18; (2) 서열번호 4; (3) 서열번호 16; 및 (4) 서열번호 19를 포함하는, 발현 작제물.

청구항 19

제11항 내지 제18항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 발현 작제물은 9 킬로베이스 미만으로 구성되는, 발현 작제물.

청구항 20

제11항 내지 제19항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 발현 작제물은 AAV Rep 코딩 영역 및 AAV Cap 코딩 영역을 추가로 포함하는, 발현 작제물.

청구항 21

제20항에 있어서, 서열번호 20 및 서열번호 21을 포함하는, 발현 작제물.

청구항 22

제20항 또는 제21항에 있어서, 상기 AAV Rep 코딩 영역 및/또는 AAV Cap 코딩 영역은 AAV P5I 프로모터에 작동 가능하게 연결되는, 발현 작제물.

청구항 23

제22항에 있어서, 상기 AAV P5I 프로모터는 서열번호 16을 포함하는, 발현 작제물.

청구항 24

제11항 내지 제19항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 발현 작제물은
 관심 유전자를 인코딩하는 서열 및 관심 유전자를 인코딩하는 서열에 작동가능하게 연결된 조절 요소를 포함하는 발현 카세트; 및
 발현 카세트를 플랭킹하는 2개의 AAV ITR
 을 포함하는 재조합 AAV 게놈을 추가로 포함하는, 발현 작제물.

청구항 25

재조합 AAV를 생산하기 위한 방법으로서,

제11항 내지 제19항 중 어느 한 항의 발현 작제물, AAV Rep 단백질 및 AAV Cap 단백질을 인코딩하는 AAV 트랜스 플라스미드, 및 재조합 AAV 계놈을 인코딩하는 AAV 시스 플라스미드를 숙주 세포 내로 도입하는 단계;

발현 작제물, AAV 트랜스 플라스미드 및 AAV 시스 플라스미드를 보유하는 숙주 세포를 원하는 기간 동안 인큐베이션하여 재조합 AAV 입자를 생산하는 단계; 및

인큐베이션 기간 후 재조합 AAV 입자를 수확하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 26

재조합 AAV를 생산하기 위한 방법으로서,

제20항 내지 제23항 중 어느 한 항의 발현 작제물 및 재조합 AAV 계놈을 인코딩하는 AAV 시스 플라스미드를 숙주 세포 내로 도입하는 단계;

발현 작제물 및 AAV 시스 플라스미드를 보유하는 숙주 세포를 원하는 기간 동안 인큐베이션하여 재조합 AAV 입자를 생산하는 단계; 및

인큐베이션 기간 후 재조합 AAV 입자를 수확하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 27

재조합 AAV를 생산하기 위한 방법으로서,

제24항의 발현 작제물 및 AAV Rep 단백질 및 AAV Cap 단백질을 인코딩하는 AAV 트랜스 플라스미드를 숙주 세포 내로 도입하는 단계;

발현 작제물 및 AAV 트랜스 플라스미드를 보유하는 숙주 세포를 원하는 기간 동안 인큐베이션하여 재조합 AAV 입자를 생산하는 단계; 및

인큐베이션 기간 후 재조합 AAV 입자를 수확하는 단계를 포함하는, 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 출원은 2022년 5월 12일자로 출원된 미국 가출원 제63/341,201호의 우선권을 주장하며, 이는 본원에 참조로 통합된다.

[0002] **분야**

[0003] 본 출원은 일반적으로 재조합 바이러스를 생산하기 위한 조성물 및 방법에 관한 것이다. 보다 구체적으로, 본 출원은 재조합 파르보바이러스, 예컨대 아데노-연관 바이러스(AAV)를 생산하기 위한 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0004] 재조합 바이러스, 예컨대 재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)는 벡터 패키징 및 DNA 복제를 위해 요구되는, 유일한 시스 요소인 ITR을 유지하면서, 모든 바이러스 유전자를 치료적 전이유전자 발현 카세트로 대체함으로써 벡터로서 개발되었다. rAAV 생산의 초기 방법은 다음을 포함하는 플라스미드 시스템에 의존하였다: 1) AAV 헬퍼 플라스미드(일반적으로 AAV Rep 및 Cap 코딩 영역을 포괄하는 한편, AAV ITR이 결여되어 자체 복제 또는 패키징 할 수 없음) 및 2) ITR-함유 플라스미드(일반적으로, 바이러스 복제 및 패키징 기능을 제공하는 AAV ITR과 접해 있는 선택된 관심 전이유전자를 포괄함). 헬퍼 플라스미드 및 선택된 유전자를 보유하는 ITR-함유 플라스미드 둘 다는 일시적 형질감염에 의한 생산을 위해 적합한 세포 내로 도입될 수 있다. 이후 형질감염된 세포는 헬퍼 바이러스, 예컨대 아데노바이러스 또는 단순 헤르페스 바이러스로 감염될 수 있으며, 이는 AAV Rep 및 Cap 영역의 전사 및 번역을 지시하는 헬퍼 플라스미드 상에 존재하는 AAV 프로모터를 전사 활성화시킨다. Ad 헬퍼 바이러스와 관련하여 E1a, E1b, E2a, E4 및 VA RNA 유전자는 rAAV 생산에 필요한 헬퍼 기능을 공급할 수 있다.

[0005] rAAV를 생성하기 위해 생산자 세포 내로 헬퍼 바이러스의 감염은 rAAV를 생산하는 데 효과적이었다. 그러나, 결과는 숙주로부터 면역 반응을 유발할 수 있는 Ad 헬퍼 바이러스 입자도 생산할 수 있다는 것이다. 특정 플랫폼에서, AAV 제조에 필요한 바이러스 헬퍼 유전자는 제조 세포주(예를 들어, HEK293 세포)에 안정적으로 형질감염될 수 있고, 이에 따라 숙주 면역 시스템이 극미량 수준의 잔여 헬퍼 바이러스로부터 비롯된 항-헬퍼 바이러스

면역 반응의 가능성을 줄인다.

[0006] 보다 최근에, 트리플-플라스미드 형질감염이 개발되었다. 이 방법은 AAV 혈청형-특이적 Rep 및 Cap 플라스미드 뿐만 아니라 전이유전자-함유 플라스미드를 사용하지만, 제3 플라스미드 상에 필수적인 헬퍼 바이러스 유전자를 공급함으로써 헬퍼 바이러스 감염의 사용을 제거하며(즉, 바이러스 코딩 서열이 제거되거나 감소됨), 따라서 숙주 면역 시스템에 의한 잠재적인 항-헬퍼 바이러스 면역 반응을 낮춘다. 제3 플라스미드 상에 바이러스 헬퍼 유전자를 공급하면 형질감염된 세포에서 헬퍼 바이러스 생산이 크게 감소하여 rAAV만 제공된다. 부착 HEK293 세포의 멀티플라스미드 일시적 형질감염은 rAAV 생산을 위해 통상적으로 사용되는 방법이다.

[0007] 멀티플라스미드 시스템에서, 형질감염 효율 및 AAV 생산을 최대화하기 위해 적절한 플라스미드 크기 및 플라스미드 비율을 유지하는 것이 중요하다. rAAV를 생산하기 위한 단순화되고 효율적인 플라스미드-기반 시스템이 당 업계에 필요하며, 이는 개선된 형질감염 및 낮아진 면역원성을 제공하는 한편, 여전히 전이유전자의 최적 발현을 유지한다. 본 출원은 이러한 이익을 제공하기 위해 전통적인 헬퍼 플라스미드에서 불필요한 아데노바이러스 영역의 발견에 대해 예측된다.

발명의 내용

[0008] **요약**

[0009] 본 출원의 일 측면은 제조합 파르보바이러스의 생산을 위한 발현 작제물에 관한 것이다. 발현 작제물은 (1) E4 오픈 리딩 프레임 6/7을 인코딩하는 변형된 또는 비변형된 아데노바이러스 E4 코딩 영역; (2) E2a 단백질을 인코딩하는 변형된 또는 비변형된 아데노바이러스 E2a 코딩 영역; (3) 아데노바이러스 VAI 및 VAI RNA를 인코딩하는 아데노바이러스 VA RNA 코딩 영역; (4) 제조합 파르보바이러스의 생산을 위해 필요한 파르보바이러스 단백질을 인코딩하는 파르보바이러스 단백질 코딩 영역; (5) (a) 전이유전자를 인코딩하는 뉴클레오티드 서열 및 뉴클레오티드 서열에 작동가능하게 연결된 조절 요소를 포함하는 발현 카세트 및 (b) 발현 카세트의 하나의 말단에 적어도 하나의 ITR을 포함하는 제조합 파르보바이러스 서열; 및 (6) 숙주 세포에서 E4 오픈 리딩 프레임 6/7, E2a 단백질, 아데노바이러스 VA RNA, 및 제조합 파르보바이러스의 생산을 위해 필요한 파르보바이러스 단백질의 발현을 허용하는 하나 이상의 조절 요소를 포함한다.

[0010] 본 출원의 다른 측면은 제조합 아데노-연관 바이러스(AAV)의 생산을 위한 폴리뉴클레오티드 발현 작제물과 관한 것이다. 발현 작제물은 (a) 아데노바이러스 E4orf6/7을 인코딩하는 변형된 아데노바이러스 E4 코딩 영역으로서, 상기 변형된 아데노바이러스 E4 코딩 영역은 (i) E4orf6/7 인트론 1의 부분적 또는 완전한 결실, 또는 (ii) E4orf6/7 인트론 2의 부분적 또는 완전한 결실, 또는 (i) 및 (ii) 둘 다를 포함하는 코딩 영역; (b) 아데노바이러스 E2a 단백질을 인코딩하는 변형된 아데노바이러스 E2a 코딩 영역으로서, 상기 변형된 아데노바이러스 E2a 코딩 영역은 E4orf6/7 인트론 1 또는 E4orf6/7 인트론 2에서 적어도 하나의 결실을 포함하는 코딩 영역; (c) 하나 이상의 아데노바이러스 VA RNA를 인코딩하는 서열; 및 (d) (a), (b) 및 (c)에 작동가능하게 연결된 하나 이상의 조절 요소를 포함한다.

[0011] 본 출원의 다른 측면은 본 출원의 발현 작제물을 사용하여 제조합 파르보바이러스 입자를 생산하기 위한 방법에 관한 것이다. 상기 방법은 본 출원의 발현 작제물을 숙주 세포 내로 도입하는 단계, 발현 작제물을 보유하는 숙주 세포를 원하는 기간 동안 인큐베이션하여 제조합 파르보바이러스 입자를 생산하는 단계, 및 인큐베이션 기간 후 제조합 파르보바이러스 입자를 수확하는 단계를 포함한다.

도면의 간단한 설명

[0012] 도 1은 본 출원의 일련의 예시적인 발현 카세트에서 다양한 결실과 관련된 아데노바이러스(Ad2) 코딩 영역의 배열을 도시한 맵을 나타낸다. CoE2A: 코돈 최적화된 E2A 코딩 서열.

도 2는 도 1에 도시된 Ad2 E4 코딩 영역, 코딩 영역 내 Ad E4orf의 배열 및 결실을 도시한 확장된 맵을 나타낸다.

도 3은 감염 초기 및 후기에 발현되는 Ad2 E2a 코딩 영역, Ad2 E2A 프로모터 및 Ad2 mRNA, 및 도에 도시된 결실을 도시한 확장된 맵을 나타낸다.

도 4는 도 1에 나타난 Ad 헬퍼 유전자의 상응하는 배열을 함유하는 플라스미드 작제물인, 미니-p헬퍼를 나타낸다.

도 5는 도 1에 나타난 Ad 헬퍼 유전자의 상응하는 배열을 함유하는 플라스미드 작제물인, 미니-p헬퍼-1.0을 나

타낸다.

도 6은 AAV 패키징을 위해 헬퍼 기능을 충분히 제공하는 발현 카세트의 능력에 대한 도 1의 다양한 결실 및 결실의 조합의 효과를 나타낸다.

도 7은 미니-p헬퍼 기반 트리플-플라스미드, 듀얼-플라스미드 및 단일-플라스미드 바이러스 생산 시스템을 나타내는 복합 개략도이다.

도 8은 부착형 HEK 293T 세포에서 미니-헬퍼 기반 AAV 생산 시스템의 패키지 효율을 나타낸다.

도 9는 현탁 배양된 HEK 293T 세포에서 미니-헬퍼 기반 AAV 생산 시스템의 패키지 효율을 나타낸다.

도 10은 상이한 AAV 혈청형에 대한 미니-헬퍼 기반 듀얼-플라스미드 V2 시스템의 패키지 효율을 나타낸다.

도 11은 AAV 라이브러리 생산을 위한 미니-헬퍼의 사용을 나타낸다.

도 12는 단일-플라스미드 AAV 생산 시스템을 위한, 예시적인 플라스미드 작제물, pAAVone-AAV2-CMV-EGFP를 나타낸다.

도 13은 변형된 P5 프로모터 (P5I)가 야생형 AAV2 P5 프로모터와 비교하여 AAV 수율을 증가시킴을 나타낸다.

도 14는 본 출원에 기술된 뉴클레오티드 및 아미노산 서열의 목록을 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0013]

I. 정의

[0014]

본 명세서 및 첨부된 청구범위에 사용된 바와 같이, 단수 형태 "한(a)," "하나(an)" 및 "그(the)"는 내용이 명확히 달리 명시되지 않는 한 복수 참조 대상을 포함한다.

[0015]

범위는 본원에서 "약" 하나의 특정 값에서 및/또는 "약" 다른 특정 값까지로 표현될 수 있다. 이러한 범위가 표현될 때, 다른 구현에는 하나의 특정 값에서 및/또는 다른 특정 값까지를 포함한다. 마찬가지로, 값이 선행사 "약"의 사용에 의해 근사치로 표현될 때, 특정 값이 다른 구현예를 형성함을 이해할 것이다. 각 범위의 중점은 다른 중점과 관련하여 그리고 다른 중점과 독립적으로 모두 중요함을 추가로 이해할 것이다. 또한, 본원에 개시된 다수의 값이 있고, 그 각각의 값은 또한 그 값 자체 외에도 "약" 그 특정 값으로도 본원에 개시됨을 이해한다. 예를 들어, 값 "10"이 개시된 경우라면, "약 10"도 개시된다. 또한, 값이 개시된 경우, 숙련된 당업자에 의해 적절히 이해되는 바와 같이, "값 이하", "값 이상" 및 값 사이의 가능한 범위도 개시됨을 이해한다. 예를 들어, 값 "10"이 개시된 경우라면, "10 이하" 뿐만 아니라 "10 이상" 또한 개시된다.

[0016]

본원에 사용된 바와 같이, 용어 "폴리뉴클레오티드"는 폴리디옥시리보뉴클레오티드를 지칭하며, 이는 비변형된 DNA 또는 변형된 DNA를 포함할 수 있으며, 단일- 및 이중-가닥 DNA 둘 다를 포함할 수 있다.

[0017]

본원에 사용된 바와 같이, 용어 "이종성"은 비교되거나 도입되거나 통합되는 독립체의 나머지와 유전자형으로 구별되는 독립체로부터 유래됨을 의미한다. 예를 들어, 유전공학 기술에 의해 상이한 세포 유형으로 도입된 폴리뉴클레오티드는 이종성 폴리뉴클레오티드이다(그리고, 발현될 때 이종성 폴리펩티드를 인코딩할 수 있음). 마찬가지로, 바이러스 벡터에 통합된 세포 서열(예를 들어, 유전자 또는 이의 일부)은 벡터와 관련하여 이종성 뉴클레오티드 서열이다. 예로서, 코딩 서열 및 제어 서열과 같은 핵산 서열의 맥락에서 사용되는 경우 "이종성"은 일반적으로 함께 결합되지 않고/않거나, 자연에서 발견되는 보통의 상황 하에서 일반적으로 서로 연관되지 않는 서열을 지칭할 수 있다. 이종성 코딩 서열의 다른 예는 코딩 서열 자체가 자연에서 발견되지 않는 작제물(예를 들어, 천연 유전자와 상이한 코돈을 갖는 합성 서열)이다. 마찬가지로, 세포에 정상적으로 존재하지 않는 작제물로 형질전환된 세포는 본 출원의 목적을 위해 이종성으로 간주될 것이다. 대립유전자의 변이 또는 자연적으로 발생하는 돌연변이 이벤트는 본원에 사용된 바와 같이 이종성 DNA를 발생시키지 않는다.

[0018]

본원에 사용된 바와 같이, "코딩 서열"은 특정 단백질 또는 기능적 뉴클레오티드, 예컨대 siRNA를 "인코딩"하는 핵산 서열을 지칭한다. 폴리뉴클레오티드 내의 핵산 서열은 적절한 조절 서열의 제어 하에 놓일 때 시험관내에서 또는 생체내에서 폴리펩티드로 (DNA의 경우에) 전사되고 (mRNA의 경우에) 번역된다. 코딩 서열의 경계는 5' (아미노) 말단에서 시작 코돈 및 3' (카르복시) 말단에서 번역 정지 코돈에 의해 결정된다. 코딩 서열은 이에 제한되지는 않으나, 원핵 또는 진핵 mRNA로부터의 cDNA, 원핵 또는 진핵 DNA로부터의 게놈 DNA 서열, 및 심지어 합성 DNA 서열을 포함할 수 있다. 전사 종결 서열은 일반적으로 코딩 서열에 대해 3'에 위치된다.

- [0019] 본원에 사용된 바와 같이, "코딩 영역"은 유전자에 대한 코딩 서열이 위치하는 게놈 DNA 내의 영역을 지칭한다. 유전자의 코딩 영역은 유전자의 엑손 및 인트론 서열 둘 다 뿐만 아니라 유전자에 대한 조절 서열(예를 들어, 프로모터 및 인핸서)을 포함할 수 있다. 예를 들어, 아데노바이러스 E4 코딩 영역은 Ad2 게놈의 뉴클레오티드 서열 32645-35835를 포함할 수 있고, 아데노바이러스 E2a 코딩 영역은 Ad2 게놈의 뉴클레오티드 서열 22233-27575를 포함할 수 있다.
- [0020] 본원에 사용된 바와 같이, "변형된 코딩 영역"은 하나 이상의 뉴클레오티드의 결실, 치환 및/또는 삽입에 의해 변형된 코딩 영역을 지칭한다. 예를 들어, 변형된 아데노바이러스 E4 코딩 영역은 E4orf6/7 인트론 1 및/또는 인트론 2에서 하나 이상의 뉴클레오티드의 결실을 갖는 Ad2 게놈의 뉴클레오티드 서열 32645-35835를 포함할 수 있고, 변형된 아데노바이러스 E2a 코딩 영역은 후기-E2a 인트론 1 및/또는 인트론 2에서 하나 이상의 뉴클레오티드의 결실을 갖는 Ad2 게놈의 뉴클레오티드 서열 22233-27575를 포함할 수 있다.
- [0021] 용어 "아데노바이러스 E4 단백질"은 (1) 아데노바이러스 E4 영역에 의해 생산되고 (2) 숙주 세포에서 AAV 생산을 위해 요구되는 단백질을 지칭한다. 아데노바이러스 E4 단백질은 상이한 아데노바이러스에서 상이한 오픈 리딩 프레임에 의해 인코딩될 수 있다. 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "아데노바이러스 E4 단백질"은 아데노바이러스 E4 단백질의 기능적 동족체 및 기능적 동등체를 포괄한다. 아데노바이러스 E4 단백질의 예는 Ad2/5의 E4 오픈 리딩 프레임 6/7(E4orf6/7)에 의해 인코딩된 단백질 및 이의 기능적 동등체를 포함한다.
- [0022] 용어 "아데노바이러스 E2a 단백질"은 아데노바이러스 게놈의 E2a 영역에 의해 인코딩된 단백질을 지칭한다. 아데노바이러스 E2a 단백질은 ATP-독립적인 방식으로 주형을 풀어냄으로써 바이러스 가닥 대치 복제의 신장 단계에서 역할을 하는 DNA-결합 단백질이다. 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "아데노바이러스 E2a 단백질"은 아데노바이러스 E2a 단백질의 기능적 동족체 및 기능적 동등체를 포괄한다.
- [0023] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "아데노바이러스 VA RNA"는 번역을 조절하는 역할을 하는 아데노바이러스에서 발견되는 비-코딩 RNA의 유형을 지칭한다. VA RNA는 VAI 및 VAII를 포함한다. 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "아데노바이러스 VA RNA"는 아데노바이러스 VA RNA의 기능적 동족체 및 기능적 동등체를 포괄한다.
- [0024] 용어 "아데노바이러스 VA RNA 코딩 영역"은 아데노바이러스 VA RNA를 인코딩하는 영역을 지칭한다. 예시적인 VA 코딩 영역은 Ad2 게놈의 뉴클레오티드 서열 10426-11156(서열번호 16)을 포함한다.
- [0025] 용어 "조절 요소", "조절 서열" 및 "조절 영역"은 프로모터, 인핸서, 폴리아데닐화 신호, 전사 종결 서열, 상류 조절 도메인, 복제 기점, 내부 리보솜 진입 부위("IRES") 등을 참조하여 사용되며, 이는 수용자 세포에서 코딩 서열의 복제, 전사 및 번역을 위해 집합적으로 제공한다. 선택된 코딩 서열이 적절한 숙주 세포에서 복제, 전사 및 번역될 수 있는 한 이러한 조절 서열 모두가 항상 존재할 필요는 없다.
- [0026] 용어 "프로모터" 및 "프로모터 영역"은 RNA 중합효소가 결합하여 하류(3' 방향) 코딩 서열의 전사를 개시하는 DNA 조절 서열과 관련하여 본원에서 사용된다. 추가로, 이러한 용어는 인핸서 영역, 인트론 스플라이스 공여자 및 수용자, 기타 5' 비번역된 영역 등을 포함한, 기타 조절 요소를 추가적으로 포괄하는 것으로 광범위하게 해석되어야 한다. 프로모터 서열은 원하는 유전자 서열과 상동성 또는 이종성일 수 있다. 광범위한 바이러스 및 포유류 프로모터를 포함하여, 광범위한 프로모터가 알려져 있으며 본 출원을 위해 당업계에서 이용가능하다. 세포 유형 선택적 또는 조직 특이적 프로모터는 다른 세포 집단에 비해 특정 세포 집단에서 유전자 서열의 발현을 표적화하거나 향상시키는 데 활용될 수 있다. 적합한 포유류 및 바이러스 프로모터. 프로모터는 세포 유형에 따라 구성적으로 활성이거나, 조건적으로 활성이거나, 유도성일 수 있다.
- [0027] 본원에서 사용된, 용어 "인핸서" 및 "인핸서 영역"은 시스 위치에서 프로모터의 활성화에 작용하고, 따라서 이 프로모터에 기능적으로 연결된 유전자 또는 코딩 서열의 전사를 자극하는 폴리뉴클레오티드 서열을 나타낸다. 프로모터와 달리 인핸서의 효과는 위치 및 배향과 관련이 없고, 이들은 따라서 전사 단위 앞 또는 뒤, 인트론 내에 또는 심지어 코딩 영역 내에 위치할 수 있다. 인핸서는 전사 단위 바로 근처에 그리고 프로모터로부터의 상당한 거리 둘 다에 위치할 수 있다. 또한, 프로모터와 물리적 및 기능적 중첩을 갖는 것도 가능하다. 숙련된 기술자는 다양한 공급원 (및 GenBank와 같은 데이터뱅크에 기탁됨, 예를 들어 SV40 인핸서, CMV 인핸서, 폴리오마 인핸서, 아데노바이러스 인핸서)으로부터의 다수의 인핸서를 알고 있을 것이며, 이는 독립적인 요소 또는 폴리뉴클레오티드 서열 내에 클로닝된 요소로 이용가능하다(예를 들어, ATCC 또는 상업적 및 개별 공급원으로부터 기탁됨). 다수의 프로모터 서열은 또한 빈번하게 사용되는 CMV 프로모터와 같은 인핸서 서열을 함유한다. 유도성 인핸서의 일 예는 메탈로티오네인 인핸서이며, 이는 글루코코르티코이드 또는 중금속에 의해 자극될 수 있다.

- [0028] "작동가능하게 연결된"은 기술된 구성요소가 이들의 일반적인 기능을 수행하도록 구성된 요소의 배열을 지칭한다. 따라서, 코딩 서열에 작동가능하게 연결된 제어 서열은 코딩 서열의 발현에 영향을 미칠 수 있다. 프로모터에 이중성 서열을 작동가능하게 연결하면 키메라 유전자가 생성된다. 제어 서열은 이들이 이의 발현을 지시하는 기능을 하는 한, 코딩 서열과 인접할 필요는 없다. 따라서, 예를 들어, 비번역되었지만 전사된 개재 서열이 프로모터 서열과 코딩 서열 사이에 존재할 수 있으며, 프로모터 서열은 여전히 코딩 서열에 "작동가능하게 연결된" 것으로 간주될 수 있다.
- [0029] 본 출원 전체에 걸쳐 특정 핵산 분자 내의 뉴클레오티드 서열의 상대적 위치를 기술하기 위해, 예컨대 특정 뉴클레오티드 서열이 다른 서열에 비해 "상류", "하류", "3'" 또는 "5'"에 위치하는 것으로 기술되는 경우, 이러한 수식어는 당업계에서 통상적인 바와 같이, DNA 분자의 "센스" 또는 "코딩" 가닥 내의 서열 부분을 관련시키는 것으로 해석되어야 한다.
- [0030] 용어 "전이유전자"는 세포 내로 도입되고 RNA로 전사되며, 선택적으로, 적절한 조건 하에서 번역 및/또는 발현될 수 있는 폴리뉴클레오티드를 지칭한다. 전이유전자는 이것이 도입된 세포에 원하는 특성을 부여하거나, 그렇지 않으면 원하는 치료적 또는 진단적 결과를 야기한다. 다른 측면에서, 이는 돌연변이 대립유전자의 CRISPR/Cas9 매개 표적화를 위한 miRNA, siRNA, shRNA 또는 가이드 RNA와 같은 RNA 간섭을 매개하는 분자로 전사될 수 있다.
- [0031] 용어 "발현"은 핵산(예를 들어, DNA)이 전사되어 처리되고 폴리펩티드로 번역되는 RNA, 예컨대 mRNA를 생산하는 공정을 포괄한다.
- [0032] 용어 "유전자 산물"(본원에서 "유전자 발현 산물" 또는 "발현 산물"로도 지칭됨)은 유전자의 발현에 기인하는 산물, 예컨대 유전자로부터 전사된 mRNA 및 mRNA의 번역으로 인해 발생하는 폴리펩티드를 포괄한다. 특정 유전자 산물은 예를 들어, 세포에서 가공 또는 변형을 거칠 수 있음을 인식할 것이다. 예를 들어, RNA 전사물은 mRNA 번역 전에 스플라이싱, 폴리아데닐화 등이 될 수 있고/있거나, 폴리펩티드는 분비 신호 서열의 제거, 세포 소기관 표적화 서열의 제거 또는 변형 예컨대 인산화, 지방 아실화 등과 같은 공-번역 또는 번역-후 가공을 거칠 수 있다. 용어 "유전자 산물"은 이러한 가공된 또는 변형된 형태를 포괄한다. 인간을 포함한 다양한 종으로부터의 게놈 뉴클레오티드 서열, cDNA 서열, mRNA 서열 및 폴리펩티드 서열은 당업계에 알려져 있으며, 이는 국립생물정보센터(www.ncbi.nih.gov) 또는 범용 단백질 자원(Universal Protein Resource; www.uniprot.org)에서 이용가능한 것들과 같은 공개적으로 접근가능한 데이터베이스에서 이용가능하다. 데이터베이스는 예를 들어 GenBank, RefSeq, Gene, UniProtKB/SwissProt, UniProtKB/Trembl 등을 포함한다. 일반적으로, NCBI 참조 서열 데이터베이스에서의 서열, 예를 들어, mRNA 및 폴리펩티드 서열은 관심 유전자에 대한 유전자 산물 서열로서 사용될 수 있다.
- [0033] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "변형된 단백질"은 야생형 단백질로부터 하나 이상의 변형을 함유하는 단백질을 지칭한다. 변형의 예는 이에 제한되지는 않으나, 하나 이상의 아미노산 잔기의 치환, 결실 및 삽입, 및 전사 후 변형, 예컨대 글리코실화를 포함한다.
- [0034] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "형질감염", "유전자 전이" 및 "유전자 전달"은 숙주 세포 내로 외래 핵산을 삽입하기 위한 방법 또는 시스템과 관련하여 본원에서 상호교환적으로 사용된다. 유전자 전이는 비-통합된 전이된 DNA의 일시적 발현, 염색체외 복제 및 전이된 레플리콘(예를 들어, 에피솜)의 발현, 또는 숙주 세포의 게놈 DNA 내로 전이된 유전 물질의 통합을 초래할 수 있다. 화학적, 전기적 및 바이러스-매개 형질감염 절차를 포함하여, 하나 이상의 외인성 핵산 분자를 적합한 숙주 세포 내로 도입하기 위한 다양한 기술이 당업계의 통상의 기술자에게 알려져 있다.
- [0035] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "숙주 세포"는 일반적으로 외인성으로 도입된 핵산을 위한 수용자 역할을 하거나 외인성 핵산으로 형질감염된 세포(예를 들어, 박테리아 세포, 효모 세포, 곤충 세포, 포유류 세포)를 지칭한다. 단일 모 세포의 자손은 자연적, 우발적 또는 의도적인 돌연변이로 인해, 원래의 모와 형태학적 또는 게놈 또는 총 상보적 DNA에서 반드시 완전히 동일하지 않을 수 있음을 이해해야 한다. 숙주 세포는 원하는 유전자 산물을 발현하도록 조작된 (예를 들어, 하나 이상의 외인성 유전자 산물을 발현하도록 안정적으로 형질전환된) 세포, 예컨대 아테노바이러스 E1a 및 E1b 단백질을 안정적으로 발현하는 세포(E1-발현 세포)일 수 있다.
- [0036] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "세포주"는 시험관내에서 지속적인 또는 장기적인 성장 및 분열이 가능한 세포의 집단을 지칭한다. 종종, 세포주는 단일 전구 세포로부터 유래된 클론 집단이다. 이러한 클론 집단의 보관 또는 이송 동안 자발적 또는 유도된 변화가 핵형에서 발생할 수 있음이 당업계에 추가로 알려져 있다. 따라서, 지

칭된 세포주로부터 유래된 세포는 조상 세포 또는 배양물과 정확히 동일하지 않을 수 있으며, 지칭된 세포주는 이러한 변이체를 포함한다.

- [0037] 제1 핵산 또는 단백질 내의 뉴클레오티드 또는 아미노산 잔기는 두 잔기가 하나 이상의 상응하는 기능을 수행하고/하거나 제1 및 제2 핵산 또는 단백질 내 상응하는 위치에 위치하는 경우 제2 핵산 또는 단백질 내의 잔기에 "상응한다". 상응하는 기능은 두 핵산 또는 단백질의 환경에서의 차이를 적절히 고려하여, 전형적으로 동일하거나, 동등하거나, 실질적으로 동등한 기능이다. 두 핵산 또는 단백질의 서열이 하기에 언급된 것과 같은 서열 정렬 알고리즘 또는 컴퓨터 프로그램을 사용하여 동일성을 최대화하도록 정렬될 때(갭의 도입을 허용함), 전형적으로 상응하는 위치에서 잔기는 서로 정렬되고/되거나("동일성" 참조), 단백질의 3차원 구조가 중첩될 때 잔기가 겹치거나 구조적으로 동등한 위치를 차지하고/하거나, 동일하거나 동등하거나 실질적으로 동등한 분자 내 및/또는 분자 간 접촉 또는 결합(예를 들어, 수소 결합)을 형성하는 해당 위치에 위치한다. 구조는 예를 들어, X-선 결정학 또는 NMR에 의해 실험적으로 결정되거나, 예를 들어, 구조 예측 또는 분자 모델링 소프트웨어를 사용하여 예측될 수 있다. 정렬은 정렬된 핵산 또는 폴리펩티드 서열 중 하나 이상의 전체 길이에 걸쳐 또는 적어도 하나의 단백질 도메인 (또는 단백질 도메인을 인코딩하는 뉴클레오티드 서열)에 걸쳐 있을 수 있다.
- [0038] 용어 "발현 카세트"는 mRNA 전사물에서 그 안에 단백질로 번역될 수 있는 코딩 영역의 발현을 매개하는 조절 요소 (또한 "조절 서열", "발현 제어 요소" 또는 "발현 제어 서열"로도 칭해짐)에 작동가능한 연결로 관심 유전자를 함유하는 폴리뉴클레오티드와 관련하여 본원에서 사용된다. 발현 카세트는 플라스미드, 바이러스 벡터에 함유되거나 통합될 수 있거나, 핵산 단편으로 존재할 수 있다.
- [0039] "발현 벡터"는 숙주 세포에서 발현을 위해 필요한 필수적인 조절 영역을 갖는 유전자 또는 핵산 서열을 함유하는 특화된 벡터이다. 발현 벡터는 예를 들어, 플라스미드 및 바이러스 벡터, 예컨대 아데노-연관 바이러스(AAV) 벡터, 아데노바이러스 벡터, 렌티바이러스 벡터, 헤르페스 바이러스 벡터를 포함한다.
- [0040] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "바이러스 벡터"는 적합한 제어 요소 및 하나 이상의 이종성 서열(즉, 바이러스 기원이 아닌 핵산 서열)에 작동가능하게 연결된 외인성으로 통합된 전이유전자 서열의 복제 및 발현을 용이하게 하는 서열을 함유하는 바이러스-유래 핵산을 포함하는 재조합 폴리뉴클레오티드 벡터를 지칭한다.
- [0041] 용어 "재조합 바이러스"는 예를 들어, 바이러스 입자 내로 이종성 핵산 작제물의 부가 또는 삽입에 의해, 유전적으로 변경된 바이러스와 관련하여 본원에서 사용된다.
- [0042] 용어 "파르보바이러스"는 패밀리 파르보바이러스과를 구성하는 동물 바이러스의 패밀리를 지칭한다. 이들은 전형적으로 NS1로 칭해진 복제 개시 단백질 및 바이러스 캡시드로 이루어진 단백질에 대해 인코딩하는 2개의 유전자를 함유하는 선형, 단일-가닥 DNA(ssDNA) 게놈을 갖는다. 게놈의 코딩 부분은 복제 동안 중요한 헤어핀 루프를 형성하는 각 말단의 역전된 말단 반복부(ITR)에 의해 플랭킹된다. 파르보바이러스 비리온은 직경이 23-28 나노미터로, 대부분의 바이러스에 비해 작고, 거친 표면을 가진 이십면체 캡시드에 둘러싸인 게놈을 함유한다. 파르보바이러스 패밀리는 아데노-연관 바이러스(AAV), 보카바이러스 및 프로토파르보바이러스를 포함한 3개의 서브 패밀리 및 126종을 함유한다.
- [0043] 용어 "파르보바이러스 단백질 코딩 영역"은 바이러스 게놈을 복제하는 데 요구되는 비-구조 단백질, 예컨대 NS1 및 바이러스 캡시드를 위한 구조 단백질을 인코딩하는 파르보바이러스 게놈의 당업계에 인식된 영역을 지칭한다. 상기 영역은 모든 야생형 유전자를 포함할 필요는 없지만, 비-구조 단백질 및 구조 단백질이 상응하는 야생형 비-구조 및 구조 단백질을 인코딩하는 파르보바이러스 단백질 코딩 영역이 지원하는 수준의 적어도 25%, 적어도 40%, 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90% 또는 적어도 95% 수준으로 적합한 숙주 세포에서 관련 재조합 파르보바이러스의 생산을 허용하는 충분한 기능을 제공하는 한, 예를 들어, 뉴클레오티드의 삽입, 결실 또는 치환에 의해 변경될 수 있다.
- [0044] 용어 "재조합 파르보바이러스 게놈을 인코딩하는 서열"은 적합한 숙주 세포에서 기능적 재조합 파르보바이러스의 게놈을 생산할 수 있는 서열을 인코딩하는 뉴클레오티드 서열을 지칭한다. 재조합 파르보바이러스 게놈을 인코딩하는 서열은 전형적으로 (1) "전이유전자"로도 지칭되는 관심 유전자(GOI)를 인코딩하는 서열을 포함하는 발현 카세트, 및 GOI를 인코딩하는 서열에 작동가능하게 연결된 조절 서열, 및 (2) 발현 카세트의 적어도 하나의 말단을 플랭킹하는 ITR을 포함한다. 일부 구현예에서, 재조합 파르보바이러스 게놈을 인코딩하는 서열은 발현 카세트의 각 말단에 ITR을 포함한다.
- [0045] 용어 "재조합 AAV 게놈을 인코딩하는 서열"은 적합한 숙주 세포에서 기능적 재조합 AAV의 게놈을 생산할 수 있는 서열을 인코딩하는 뉴클레오티드 서열을 지칭한다. 재조합 AAV 게놈을 인코딩하는 서열은 전형적으로 (1) "

전이유전자"로도 지칭되는 GOI를 인코딩하는 서열을 포함하는 발현 카세트, 및 GOI를 인코딩하는 서열에 작동가능하게 연결된 조절 서열, 및 (2) 발현 카세트의 적어도 하나의 말단을 플랭킹하는 ITR을 포함한다. 일부 구현예에서, 제조합 AAV 게놈을 인코딩하는 서열은 발현 카세트의 각 말단에 ITR을 포함한다.

[0046] 본 출원의 맥락에서 용어 "아데노-연관 바이러스"(AAV)는 제한 없이 AAV 유형 1, AAV 유형 2, AAV 유형 3(유형 3A 및 3B를 포함함), AAV 유형 4, AAV 유형 5, AAV 유형 6, AAV 유형 7, AAV 유형 8, AAV 유형 9, AAV 유형 10, AAV 유형 11, 조류 AAV, 소 AAV, 개 AAV, 말 AAV, 염소 AAV, 돼지 AAV, 양 AAV 및 임의의 다른 AAV는 현재 알려지거나 추후 발견되는 혈청형 및 변이체를 포함한다.

[0047] 용어 "AAV 시스 작제물" 및 "AAV 벡터"는 적어도 하나의 AAV ITR에 의해 플랭킹되는 하나 이상의 이중성 서열(즉, AAV 기원이 아닌 핵산 서열)을 포함하는 폴리뉴클레오티드 벡터와 관련하여 본원에서 상호교환적으로 사용된다. 해당 AAV 벡터는 적합한 헬퍼 바이러스로 감염된(또는 적합한 헬퍼 기능을 발현하는) 숙주 세포에 존재할 때 감염성 바이러스 입자 내로 복제되고 패키징될 수 있으며, 이는 AAV rep 및 Cap 유전자 산물(즉, AAV Rep 및 Cap 단백질)을 발현한다. AAV 벡터가 더 큰 폴리뉴클레오티드에(예를 들어, 염색체에 또는 클로닝 또는 형질감염을 위해 사용된 플라스미드와 같은 기타 벡터에) 통합되는 경우, 이후 AAV 벡터는 AAV 패키징 기능 및 적합한 헬퍼 기능의 존재 하에 복제 및 캡슐화에 의해 "구조(rescue)"될 수 있는 "프로-벡터"로 지칭될 수 있다. AAV 벡터는 임의의 다수의 형태일 수 있으며, 이는 플라스미드, 선형 인공 염색체, 지질과 복합체화, 리포솜 내에 캡슐화, 및 바이러스 입자, 예를 들어, AAV 입자 내 캡슐화를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. AAV 벡터는 AAV 바이러스 캡시드 내로 패키징되어 "제조합 아데노-연관 바이러스 입자(AAV 입자)"를 생성할 수 있다.

[0048] "AAV 시스 작제물" 또는 "AAV 벡터"는 임의의 아데노-연관 바이러스 혈청형으로부터 유래될 수 있으며, 이는 제한 없이, 예컨대 AAV-1, AAV-2, AAV-3, AAV-4, AAV-5, AAV-6, AAV-7, AAV-8, AAV-9, AAV-10 및 AAV-11 및 본원에 기술된 다른 것들을 포함한다. AAV 벡터는 전체 또는 일부가 결실된 하나 이상의 AAV 야생형 유전자, 바람직하게는 rep 및/또는 Cap 유전자를 가질 수 있지만, 기능적 플랭킹 ITR 서열은 유지한다. 기능적 ITR 서열은 AAV 비리온의 구조, 복제 및 패키징을 위해 필요하다. 따라서, AAV 시스 폴리뉴클레오티드 또는 AAV 벡터는 바이러스의 복제 및 패키징(예를 들어, 기능적 ITR)을 위해 *in cis*에서 요구되는 적어도 해당 서열을 포함하도록 본원에 정의된다. ITR은 야생형 뉴클레오티드 서열일 필요는 없으며, 상기 서열이 기능적 구조, 복제 및 패키징을 제공하는 한, 예를 들어 뉴클레오티드의 삽입, 결실 또는 치환에 의해 변경될 수 있다.

[0049] 용어 "AAV 벡터"는 또한 자가-상보성 아데노-연관 바이러스(scAAV) 벡터를 포함한다. scAAV 벡터는 자연적으로 발생하는 AAV로부터 조작된 바이러스 벡터이다. scAAV는 코딩 영역이 분자 내 이중-가닥 DNA 주형을 형성하도록 설계되었기 때문에 "자가-상보성"이라고 한다. 표준 AAV 게놈의 복제 동안 속도-제한 단계는 전형적인 AAV 게놈이 단일-가닥 DNA 주형이기 때문에 제2-가닥 합성이 수반한다. 그러나, 이는 scAAV 게놈에 대한 경우가 아니다. 감염 시, 제2 가닥의 세포 매개 합성을 기다리는 대신, scAAV의 두 상보적인 반쪽이 결합하여 즉각적인 복제 및 전사를 위해 준비된 하나의 이중 가닥 DNA(dsDNA) 단위를 형성할 것이다.

[0050] 용어 "제조합 AAV 비리온", "rAAV 비리온" 및 "rAAV 바이러스 입자"는 적어도 하나의 AAV 캡시드 단백질로 구성된 바이러스 입자 및 AAV ITR에 의해 양 측면에 플랭킹된 관심 이중성 뉴클레오티드 서열을 포함하는 캡시드화된 rAAV 벡터 게놈으로 구성된 감염성, 복제-결합성 바이러스 입자와 관련하여 본원에서 상호교환적으로 사용된다. rAAV 비리온은 AAV 벡터, AAV 헬퍼 기능 및 보조 기능을 포함하는 적합한 숙주 세포에서 생산된다. 이러한 구성요소를 함유하는 숙주 세포는 후속 유전자 전달을 위해 AAV 벡터(관심 제조합 뉴클레오티드 서열 함유)를 감염성 제조합 비리온 입자 내로 패키징하는 데 요구되는 AAV 폴리펩티드를 인코딩할 수 있다.

[0051] 용어 "아데노-연관 바이러스 역전 말단 반복부" 또는 "AAV ITR"은 DNA 복제의 기원으로서 그리고 바이러스 게놈에 대한 패키징 신호로서 *in cis*에서 함께 기능하는, AAV 게놈의 각각의 말단에서 발견되는 당업계에 인식된 영역을 지칭한다. AAV ITR은, AAV rep 코딩 영역과 함께, 포유류 세포 게놈 내로 2개의 플랭킹 ITR 사이에 개재된 뉴클레오티드 서열의 효율적인 삭제 및 이로부터의 구조, 및 이의 통합을 제공한다. AAV ITR 영역의 뉴클레오티드 서열은 당업계에 잘 알려져 있다. 본원에 사용된 바와 같이, "AAV ITR"은 이전에 인용된 참조에 나타난 야생형 뉴클레오티드 서열을 가질 필요는 없지만, 예를 들어, 뉴클레오티드의 삽입, 결실 또는 치환에 의해 변경될 수 있다. 추가적으로, AAV ITR은 임의의 여러 AAV 혈청형으로부터 유래될 수 있으며, 이는 제한 없이, AAV-1, AAV-2, AAV-3, AAV-4, AAV-5, AAV-6, AAV-7, AAV-8, AAV-9, AAV-10, AAV-11 등을 포함한다. 더욱이, AAV 벡터에서 선택된 뉴클레오티드 서열을 플랭킹하는 5' 및 3' ITR은 의도한 바와 같이 이들이 기능하는 한, 즉 숙주 세포 게놈 또는 벡터로부터 관심 서열의 삭제 및 구조를 허용하고, AAV Rep 유전자 산물이 세포에 존재할 때 이중성 서열을 수용자 세포 게놈으로의 통합을 허용하는 한, 반드시 동일하거나 동일한 AAV 혈청형

또는 분리물로부터 유래할 필요는 없다.

- [0052] 용어 "Rep 코딩 영역"은 파르보바이러스 Rep 단백질을 인코딩하는 파르보바이러스에 대해 당업계에 인식된 영역을 지칭한다. 이 용어는 또한 이의 기능적 동족체, 예컨대 AAV DNA 복제를 매개하는 것으로도 알려진 인간 헤르페스바이러스 6(HHV-6) rep 유전자 및 다른 파르보바이러스 예컨대 보카바이러스 및 프로토파르보바이러스의 rep 유전자를 포함한다.
- [0053] 용어 "AAV Rep 코딩 영역"은 바이러스 게놈을 복제하고 잠복 감염 동안 숙주 게놈 내로 바이러스 게놈을 삽입하기 위해 요구되는 바이러스의 복제 단백질을 인코딩하는 AAV 게놈에 대해 당업계에 인식된 영역을 지칭한다. 본원에 사용된 바와 같이, Rep 코딩 영역은 임의의 바이러스 혈청형, 예컨대 상기 기술된 AAV 혈청형으로부터 유래될 수 있다.
- [0054] 상기 영역은 모든 야생형 유전자를 포함할 필요는 없지만, 이는 존재하는 변경된 rep 유전자가 적합한 숙주 세포에서 발현될 때 충분한 통합 기능을 위해 제공되는 한, 예를 들어, 뉴클레오티드의 삽입, 결실 또는 치환에 의해 변경될 수 있다. 변경된 Rep 유전자는 기능 변이체가 야생형 rep 유전자 산물에 의해 지원되는 수준의 적어도 25%, 적어도 40%, 적어도 50%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90% 또는 적어도 95% 수준에서 rAAV 생산을 지원하는 경우, 야생형 Rep 단백질의 "기능적 변이체"를 인코딩하는 것으로 간주될 것이다.
- [0055] 용어 "Rep의 긴 형태"는 이의 기능적 동족체를 포함하는, AAV Rep 코딩 영역의 Rep 78 및 Rep 68 유전자 산물을 지칭한다. Rep의 긴 형태는 일반적으로 AAV p5 프로모터의 지시하에 발현된다.
- [0056] 문구 "Rep의 짧은 형태"는 이의 기능적 동족체를 포함하는, AAV Rep 코딩 영역의 Rep 52 및 Rep 40 유전자 산물을 지칭한다. Rep의 짧은 형태는 AAV p19 프로모터의 지시하에 발현된다.
- [0057] 용어 "Cap 코딩 영역"은 바이러스 게놈을 패키징하기 위해 요구되는 바이러스의 외피 단백질을 인코딩하는 파르보바이러스 게놈에 대해 당업계에 인식된 영역을 지칭한다.
- [0058] 용어 "AAV Cap 코딩 영역"은 바이러스 게놈을 패키징하기 위해 요구되는 바이러스의 외피 단백질(예를 들어, VP1, VP2 및 VP3)을 인코딩하는 AAV 게놈에 대해 당업계에 인식된 영역을 지칭한다. 본원에 사용된 바와 같이, AAV Cap 코딩 영역은 상기 기술된 바와 같은 임의의 AAV 혈청형으로부터 유래될 수 있다. 이 영역은 모든 야생형 Cap 유전자를 포함할 필요는 없지만, 이는 변경된 Cap 유전자가 AAV 벡터와 함께 숙주 세포에 존재할 때 충분한 패키징 기능이 제공되는 한, 예를 들어, 뉴클레오티드의 삽입, 결실 또는 치환에 의해 변경될 수 있다. 변경된 Cap 유전자는 기능 변이체가 야생형 Cap 유전자 산물에 의해 지원되는 수준의 적어도 25%, 적어도 40%, 적어도 50%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90% 또는 적어도 95% 수준에서 rAAV 생산을 지원하는 경우, 야생형 Cap 단백질의 "기능적 변이체"를 인코딩하는 것으로 간주될 것이다.
- [0059] 용어 "AAV 헬퍼 기능"은 AAV 유전자 산물을 제공하기 위해 발현될 수 있는, 결국, 생산적인 AAV 복제를 위해 트랜스에서 기능하는, AAV-유래 코딩 서열을 지칭한다. 따라서, AAV 헬퍼 기능은 Rep 및 Cap 영역을 포함한다. Rep 발현 산물은 특히, AAV DNA 복제 기점의 인식, 결합 및 nicking(nicking); DNA 헬리카제 활성화; 및 AAV (또는 다른 이중성) 프로모터로부터의 전사 조절을 비롯하여, 많은 기능을 소유하는 것으로 나타났다. Cap 발현 산물은 필요한 패키징 기능을 공급한다. AAV 헬퍼 기능은 AAV 벡터로부터 손실된 트랜스에서 AAV 기능을 보완하기 위해 본원에서 사용된다.
- [0060] 용어 "AAV 트랜스 작제물" 또는 "AAV 헬퍼 작제물"은 관심 뉴클레오티드 서열의 전달을 위한 형질도입 벡터를 생산하는 데 사용되는 AAV 벡터로부터 결실된 AAV 기능을 제공하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산 분자를 지칭한다. AAV 트랜스 작제물은 일반적으로 용해성 AAV 복제를 위해 필요한 손실된 AAV 기능을 보완하기 위해 AAV Rep 및/또는 Cap 유전자의 일시적인 발현을 제공하는 데 사용된다; 그러나, 트랜스 작제물은 AAV ITR이 결여되어 있으며, 이는 스스로 복제하거나 패키징할 수 없다. AAV 트랜스 작제물은 플라스미드, 미니-서클, 파지, 트랜스포존, 코스미드, 바이러스 또는 비리온의 형태일 수 있다. Rep 및 Cap 둘 다의 발현 산물을 인코딩하는 일반적으로 사용되는 플라스미드 pAAV/Ad 및 pIM29+45와 같은, 다수의 AAV 트랜스 작제물이 기술되어 있다. 예를 들어, Samulski 등 (1989) J. Virology 63, 3822-3828; McCarty 등 (1991) J. Virology 65, 2936-2945를 참조한다. Rep 및/또는 Cap 발현 산물을 인코딩하는 다수의 다른 벡터가 기술되어 있다. 예를 들어, 미국특허 번호 제5,139,941호를 참조한다.
- [0061] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "아데노바이러스"는 아데노바이러스 벡터와 동일한 의미를 가지며, 아데노바이러스과 패밀리의 구성원을 지칭한다. 아데노바이러스과는 마스트아데노바이러스 속의 모든 동물 아데노바이러스를 포함한다. 특히, 인간 아데노바이러스는 A-F 아속 및 이의 개별 혈청형을 포함한다. A-F 아속은 인간 아데노

바이러스 유형 1, 2, 3, 4, 4a, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11(Ad11A 및 Ad11P), 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 19a, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 34a, 35, 35p, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48 및 51을 포함한다.

[0062] 용어 "보조 기능"은 AAV가 이의 복제에 의존하는 비-AAV 유래 바이러스 및/또는 세포 기능을 지칭한다. 따라서, 상기 용어는 AAV 유전자 전사 활성화, 단계 특이적 AAV mRNA 스플라이싱, AAV DNA 복제, Cap 발현 산물의 합성 및 AAV 캡시드 조립에 관련된 모이머를 비롯하여, AAV 복제를 위해 요구되는 DNA, RNA 및 단백질을 포괄한다. 바이러스-기반 보조 기능은 알려진 헬퍼 바이러스, 예컨대 아데노바이러스, 헤르페스바이러스(단순 헤르페스 바이러스 유형-1 제외) 및 백시니아 바이러스로부터 유래될 수 있다.

[0063] 아데노바이러스-유래된 보조 기능은 널리 연구되었으며, 보조 기능에 관련된 다수의 아데노바이러스 유전자가 확인되었고 부분적으로 특징지어졌다. 구체적으로, 초기 아데노바이러스 E1A, E1B 55K, E2A, E4 및 VA RNA 유전자 영역이 보조 공정에 참여하는 것으로 여겨진다.

[0064] 주어진 아데노바이러스 뉴클레오티드 영역의 "기능적 동족체" 또는 "기능적 동등체"는 이종성 아데노바이러스 혈청형으로부터 유래된 유사한 영역, 다른 바이러스 또는 세포 공급원으로부터 유래된 뉴클레오티드 영역, 원하는 결과를 달성하기 위해 참조 뉴클레오티드 영역과 유사한 방식으로 기능하는 재조합적으로 생산되거나 화학적으로 합성된 폴리뉴클레오티드를 포함한다. 따라서, 아데노바이러스 VA RNA 유전자 영역 또는 아데노바이러스 E2A 유전자 영역의 기능적 동족체는, 동족체가 백그라운드보다 높은 검출가능한 수준에서 AAV 비리온 생산을 지원하기 위해 이의 고유한 보조 기능을 제공하는 능력을 유지하는 한, 영역 내에서 발생하는 임의의 단일 또는 다중 뉴클레오티드 염기 부가, 치환 및/또는 결실을 포함하는 - 해당 유전자 영역의 유도체 및 유사체를 포괄한다.

[0065] 용어 "동일성 백분율"은 핵산 또는 아미노산 서열 간의 비교를 참조하여 본원에서 사용된다. 핵산 및 아미노산 서열은 종종 예를 들어 국립 의학 도서관 BLAST 정렬 프로그램 내의 컴퓨터 프로그램을 사용하여 비교된다.

[0066] **II. 조성물 및 키트**

[0067] 본 출원의 일 측면은 재조합 파르보바이러스, 예컨대 rAAV의 생산을 위한 발현 작제물에 관한 것이다. 본 출원의 발현 작제물은 숙주 세포에서 재조합 파르보바이러스의 생산을 위한 보조 기능을 제공하는 아데노바이러스 단백질을 인코딩하고 발현할 수 있다.

[0068] 일부 구현예에서, 본 출원의 발현 작제물은 아데노바이러스 헬퍼 기능, 예컨대 아데노바이러스 E4, E2, VA RNA 및/또는 E1 기능을 제공할 수 있으며, 이는 재조합 파르보바이러스 생산을 위한 트리플-플라스미드 시스템에서 사용될 수 있다.

[0069] 일부 구현예에서, 본 출원의 발현 작제물은 (1) 아데노바이러스 헬퍼 기능을 제공하는 아데노바이러스 유전자를 인코딩하는 서열, 및 (2) 파르보바이러스 비-구조 및 구조 단백질, 예컨대 AAV Rep 및 Cap 단백질을 인코딩하는 서열, 또는 재조합 파르보바이러스 계놈을 인코딩하는 서열을 포함하며, 이는 재조합 파르보바이러스 생산을 위한 듀얼-플라스미드 시스템에 사용될 수 있다.

[0070] 일부 구현예에서, 본 출원의 발현 작제물은 (1) 아데노바이러스 헬퍼 기능을 제공하는 아데노바이러스 유전자를 인코딩하는 서열, (2) 파르보바이러스 비-구조 및 구조 단백질, 예컨대 AAV Rep 및 Cap 단백질을 인코딩하는 서열, 및 (3) 재조합 파르보바이러스 계놈을 인코딩하는 서열을 포함하며, 이는 재조합 파르보바이러스의 생산을 위한 단일-플라스미드 시스템에 사용될 수 있다. 표 1은 rAAV의 생산을 위한 일부 예시적인 발현 작제물을 나타낸다.

[0071] 표 1: AAV 생산을 위한 예시적인 발현 작제물.

	E2A	E4orf6/7	VA RNA	Rep	Cap	AAV-GOI	크기 제한
미니-p 헬퍼	있음	있음	있음	없음	없음	없음	2-11 kb
Mini -pHelper-Rep-Cap	있음	있음	있음	있음	있음	없음	6-15 kb
미니-p 헬퍼-GOI	있음	있음	있음	있음	있음	있음	3-16 kb
pAAVone-AAVs-GOI (미니-p 헬퍼-Rep-Cap-GOI)	있음	있음	있음	있음	있음	있음	7-20 kb
미니-p 헬퍼-Rep	있음	있음	있음	있음	없음	없음	4-13 kb

[0072]

[0073] 일부 구현예에서, 본 출원의 발현 작제물은 또한 기능적 아데노바이러스 E1a 및/또는 E1b 단백질을 인코딩한다. 일부 구현예에서, 본 출원의 발현 작제물은 기능적 아데노바이러스 E1a 및/또는 E1b 단백질을 인코딩하지 않는다.

[0074] **트리플-플라스미드 파르보바이러스 생산 시스템을 위한 발현 작제물**

[0075] 일부 구현예에서, 본 출원의 발현 작제물은 트리플-플라스미드 파르보바이러스 생산 시스템에서 사용되도록 설계된다. 도 7은 트리플-플라스미드 AAV 생산 시스템을 위한 예시적인 작제물이다. 발현 작제물은 변형된 아데노바이러스 E4 코딩 영역 또는 변형된 아데노바이러스 E2a 코딩 영역을 포함하며, 이는 숙주 세포에서 AAV 생산을 위해 요구되는 하나 이상의 아데노바이러스 E4 단백질, 또는 아데노바이러스 E2a 단백질을 발현할 수 있다.

[0076] 일부 구현예에서, 발현 작제물은 변형된 아데노바이러스 E4 코딩 영역 및 변형된 아데노바이러스 E2a 코딩 영역 둘 다를 포함하며, 이는 하나 이상의 아데노바이러스 E4 단백질 및 아데노바이러스 E2a 단백질을 발현시켜 적합한 숙주 세포에서 재조합 파르보바이러스의 생산을 위해 필요한 아데노바이러스 헬퍼 기능을 제공할 수 있다.

[0077] 일부 구현예에서, 발현 작제물은 변형된 아데노바이러스 E4 코딩 영역, 변형된 아데노바이러스 E2a 코딩 영역, 및 하나 이상의 아데노바이러스-연관 RNA(VA RNA)를 인코딩하는 서열을 포함하며, 이는 인코딩된 아데노바이러스 단백질 및 RNA를 발현하여 적합한 숙주 세포에서 재조합 파르보바이러스의 생산을 위해 필요한 아데노바이러스 헬퍼 기능을 제공할 수 있다. 일부 구현예에서, 발현 작제물은 기능적 아데노바이러스 E1a 및/또는 E1b 단백질을 인코딩하지 않으며, 숙주 세포는 E1a 및/또는 E1b 헬퍼 기능을 제공한다.

[0078] 일부 구현예에서, 발현 작제물은 변형된 아데노바이러스 E4 코딩 영역, 변형된 아데노바이러스 E2a 코딩 영역, 하나 이상의 아데노바이러스-연관 RNA(VA RNA)를 인코딩하는 서열, AAV Rep 코딩 영역을 포함하며, 이는 적합한 숙주 세포에서 재조합 AAV의 생산을 위해 인코딩된 아데노바이러스 단백질, VA RNA 및 AAV Rep 단백질을 발현할 수 있다.

[0079] **변형된 아데노바이러스 E4 코딩 영역**

[0080] 상기 변형된 아데노바이러스 E4 코딩 영역은 숙주 세포에서 파르보바이러스 복제를 지원할 수 있는 기능적 E4 단백질을 인코딩한다. 일부 구현예에서, 기능적 E4 단백질은 E4orfs6/7에 의해 인코딩된 아미노산만이 파르보바이러스 복제를 지원하는 데 필요한 활성을 위해 요구되므로, 아데노바이러스 E4 오픈 리딩 프레임 6 및 7(E4orfs6/7)에 의해 인코딩된 아미노산만을 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 기능적 E4 단백질은 E4orfs6/7의 전부 또는 상당 부분에 의해 인코딩된 폴리펩티드 서열을 포함하고, E4orfs 1-4 및 E4 34K 단백질의 전부 또는 일부에 의해 인코딩된 폴리펩티드 서열을 포함하지 않는다.

[0081] 일부 구현예에서, 변형된 아데노바이러스 E4 코딩 영역은 하나 이상의 결실을 포함한다. 일부 구현예에서, 변형된 아데노바이러스 E4 코딩 영역은 E4orf6/7 인트론 1의 부분적 또는 완전한 결실을 포함한다.

[0082] 일부 구현예에서, 변형된 아데노바이러스 E4 코딩 영역은 E4orf6/7 인트론 1의 부분적 결실을 포함하며, 상기 E4orf6/7 인트론 1 서열의 최대 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% 또는 95%가 결실된다.

- [0083] 일부 구현예에서, 변형된 아데노바이러스 E4 코딩 영역은 E4orf6/7 인트론 2의 부분적 또는 완전한 결실을 포함한다. 일부 구현예에서, 변형된 아데노바이러스 E4 코딩 영역은 E4orf6/7 인트론 2 서열의 부분적 결실을 포함하며, 상기 E4orf6/7 인트론 2 서열의 최대 10%, 20, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% 또는 95%가 결실된다.
- [0084] 일부 구현예에서, 변형된 아데노바이러스 E4 코딩 영역은 E4orf6/7 인트론 1의 부분적 또는 완전한 결실 및 E4orf6/7 인트론 2의 부분적 또는 완전한 결실을 포함한다.
- [0085] 일부 구현예에서, 변형된 아데노바이러스 E4 코딩 영역은 400-500, 400-600, 400-800, 400-1000, 400-1200, 400-1500, 400-2000, 500-600, 500-800, 500-1000, 500-1200, 500-1500, 또는 500-2000 bp의 총 크기를 가지며, 비-E4 발현 숙주 세포에서 파르보바이러스 생산을 위해 요구되는 E4 기능을 제공할 수 있는 기능적 E4 단백질을 인코딩한다.
- [0086] 일부 구현예에서, 변형된 아데노바이러스 E4 코딩 영역은 (a) E4orf6/7 인트론 1의 부분적 또는 완전한 결실, (b) E4orf6/7 인트론 2의 부분적 또는 완전한 결실, 또는 (a) 및 (b) 둘 다를 갖는 Ad2 게놈의 뉴클레오티드 서열 32645-35835에 상응하는 서열을 포함한다.
- [0087] 일부 구현예에서, 변형된 아데노바이러스 E4 코딩 영역은 E4orf6/7 인트론 2(711 bp, **서열번호 2**)의 완전한 서열의 결실 및 E4orf6/7 인트론 1(1275 bp, **서열번호 1**)의 완전한 서열의 결실을 갖는 Ad2 게놈의 뉴클레오티드 서열 32645-35835에 상응하는 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 변형된 아데노바이러스 E4orf6/7 코딩 영역은 아데노바이러스 E4orf6/7 단백질을(**서열번호 8**)을 인코딩하는 코돈 최적화된 뉴클레오티드 서열(**서열번호 7**)을 포함한다.
- [0088] **변형된 아데노바이러스 E2a 코딩 영역**
- [0089] 일부 구현예에서, 변형된 아데노바이러스 E2a 코딩 영역은 (a) 초기-E2a 또는 후기-E2a 인트론 1의 부분적 또는 완전한 결실, (b) E2a 인트론 2의 부분적 또는 완전한 결실, 또는 (a) 및 (b) 둘 다를 포함한다.
- [0090] 일부 구현예에서, 변형된 아데노바이러스 E2a 코딩 영역은 후기-E2a 인트론 1 및/또는 후기-E2a 인트론 2의 부분적 결실을 포함하며, 상기 후기-E2a 인트론 1 및/또는 후기-E2a 인트론 2의 최대 10%, 20, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% 또는 95%가 결실된다.
- [0091] 일부 구현예에서, 변형된 아데노바이러스 E2a 코딩 영역은 1600-3500, 1600-3000, 1600-2500, 1600-2000, 1600-1800 또는 1600-1700 bp의 총 크기를 가지며, 비-E2a 발현 숙주 세포에서 파르보바이러스 생산을 위해 요구되는 E2a 기능을 제공할 수 있는 기능적 E2a 단백질을 인코딩한다.
- [0092] 일부 구현예에서, 변형된 아데노바이러스 E2a 코딩 영역은 (a) 초기-E2a 또는 후기-E2a 인트론 1의 부분적 또는 완전한 결실, (b) E2a 인트론 2의 부분적 또는 완전한 결실, 또는 (a) 및 (b) 둘 다를 갖는 Ad2 게놈의 뉴클레오티드 서열 22233-27575에 상응하는 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 변형된 아데노바이러스 E2a 코딩 영역은 후기-E2a 인트론 1 및 후기-E2a 인트론 2의 완전한 서열을 포괄하는 1897 bp 결실(**서열번호 3**)을 갖는 Ad2 게놈의 뉴클레오티드 서열 22233-27575에 상응하는 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 변형된 아데노바이러스 E2a 코딩 영역은 후기-E2a 인트론 1 및 후기-E2a 인트론 2의 부분적 결실을 포함하며, 상기 **서열번호 3**의 최대 10%, 20, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% 또는 95%가 결실된다.
- [0093] 일부 구현예에서, 변형된 아데노바이러스 E2a 코딩 영역은 (a) 코돈 최적화된 아데노바이러스 E2a 단백질 E2a 인트론 1을 인코딩하는 후기 서열의 부분적 또는 완전한 결실, (b) 후기 E2a 인트론 2의 부분적 또는 완전한 결실, 및 (c) 아데노바이러스 E2a 단백질을 인코딩하는 코돈 변형된 뉴클레오티드 서열을 포함한다.
- [0094] **아데노바이러스 VA RNA 코딩 영역**
- [0095] 일부 구현예에서, 발현 작제물은 하나 이상의 아데노바이러스 VA RNA를 인코딩하는 아데노바이러스 VA RNA 코딩 영역을 추가로 포함한다. 일부 구현예에서, 발현 작제물은 아데노바이러스 VAI RNA 및/또는 VAII RNA를 인코딩하는 아데노바이러스 VA RNA 코딩 영역을 포함한다. 일부 구현예에서, VA RNA 코딩 영역은 비-VA RNA 발현 숙주 세포에서 파르보바이러스 생산을 위해 요구되는 VA RNA 기능을 제공할 수 있는 기능적 VA RNA I 및/또는 VA RNAII를 인코딩한다. 일부 구현예에서, 발현 작제물은 **서열번호 16**을 포함한다.
- [0096] 본원 및 그 이후에 사용된 바와 같이, "기능적" 아데노바이러스 E4 단백질, 아데노바이러스 E2a 단백질 또는 아데노바이러스 VA RNA I 또는 VA RNA II는 재조합 파르보바이러스, 예컨대 보카바이러스의 생산을 용이하게 할

수 있다. 이는 주어진 VA RNA I 및 II, E2A 단백질 또는 E4 단백질이 기능적인지 여부를 결정하는 숙련된 자의 능력 내에 있다. 한 구현예에서, 아데노바이러스 E4 단백질, 아데노바이러스 E2a 단백질 또는 아데노바이러스 VA RNA I 또는 VA RNA II는 동일한 트리-플라스미드, 듀얼-플라스미드 또는 단일-플라스미드 시스템에서 상응하는 야생형 단백질 또는 RNA에 의해 지원되는 수준의 적어도 25%, 적어도 40%, 적어도 50%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90% 또는 적어도 95% 수준에서 파르보바이러스 생산을 지원하는 경우 "기능적"인 것으로 간주될 것이다.

[0097] 본 출원의 조성물 및 방법에서 사용하기 위한 아데노바이러스 및 이들의 핵산 단편은 아데노바이러스과 패밀리의 모든 인간 아데노바이러스를 포함하며, 이는 마스트아데노바이러스 속의 구성원을 포함한다. 현재까지, 51개 이상의 인간 아데노바이러스의 혈청형이 확인되었다. 아데노바이러스는 혈청군 A, B, C, D, E, 또는 F일 수 있다. 인간 아데노바이러스는 혈청형 1(Ad 1), 혈청형 2(Ad2), 혈청형 3(Ad3), 혈청형 4(Ad4), 혈청형 5(Ad5), 혈청형 6(Ad6), 혈청형 7(Ad7), 혈청형 8(Ad8), 혈청형 9(Ad9), 혈청형 10(Ad10), 혈청형 11(Ad11), 혈청형 12(Ad12), 혈청형 13(Ad13), 혈청형 14(Ad14), 혈청형 15(Ad15), 혈청형 16(Ad16), 혈청형 17(Ad17), 혈청형 18(Ad18), 혈청형 19(Ad19), 혈청형 19a(Ad19a), 혈청형 19p(Ad19p), 혈청형 20(Ad20), 혈청형 21(Ad21), 혈청형 22(Ad22), 혈청형 23(Ad23), 혈청형 24(Ad24), 혈청형 25(Ad25), 혈청형 26(Ad26), 혈청형 27(Ad27), 혈청형 28(Ad28), 혈청형 29(Ad29), 혈청형 30(Ad30), 혈청형 31(Ad31), 혈청형 32(Ad32), 혈청형 33(Ad33), 혈청형 34(Ad34), 혈청형 35(Ad35), 혈청형 36(Ad36), 혈청형 37(Ad37), 혈청형 38(Ad38), 혈청형 39(Ad39), 혈청형 40(Ad40), 혈청형 41(Ad41), 혈청형 42(Ad42), 혈청형 43(Ad43), 혈청형 44(Ad44), 혈청형 45(Ad45), 혈청형 46(Ad46), 혈청형 47(Ad47), 혈청형 48(Ad48), 혈청형 49(Ad49), 혈청형 50(Ad50), 혈청형 51(Ad51), 또는 이들의 조합일 수 있으나, 이들 예에 제한되지는 않는다. 특정 구현예에서, 아데노바이러스는 혈청형 5(Ad5)이다.

[0098] **조절 요소**

[0099] 일부 구현예에서, 본 출원의 발현 작제물은 인코딩된 아데노바이러스 단백질 및/또는 RNA의 발현을 제어하는 하나 이상의 조절 요소를 포함한다. 예시적인 프로모터는 예를 들어, 바이러스 프로모터, 포유류 프로모터, 복합 프로모터, 세포 유형- 또는 조직-특이적 프로모터, 및 유도성/억제성 프로모터를 포함한다.

[0100] 바이러스 프로모터는 예를 들어, SV40 초기 프로모터, 마우스 유방 종양 바이러스 LTR 프로모터; 아데노바이러스 주요 후기 프로모터(Ad MLP); 아데노바이러스 E4 프로모터, 아데노바이러스 e2a 프로모터, 단순 헤르페스 바이러스(HSV) 프로모터, 거대세포바이러스(CMV) 프로모터, 예컨대 CMV 즉시 초기 프로모터 영역(CMV-IE), SFFV 프로모터, 및 라우스 육종 바이러스(RSV) 프로모터를 포함한다.

[0101] 포유류 프로모터는 예를 들어, EF1 α , 유비퀴틴(예를 들어, 유비퀴틴 B 또는 C), 글로빈, 액틴, 포스포글리세레이트 키나제(PGK), NSE(신경원 특이적 에놀라제), 시냅신 또는 NeuN, 뿐만 아니라 복합 프로모터, 예컨대 CAG 프로모터(CMV 초기 인핸서 요소 및 닭 베타-액틴 프로모터의 조합)를 발현하기 위한 것들을 포함한다.

[0102] 프로모터는 인간 기원 또는 마우스 유래를 비롯하여, 다른 종 유래일 수 있다. 일부 구현예에서, 인간 프로모터가 사용될 수 있다. 일부 구현예에서, 진핵 RNA 중합효소 II에 의해 정상적으로 전사를 지시하는 프로모터("pol II 프로모터") 또는 이의 기능적 변이체가 사용된다. 일부 구현예에서, 진핵 RNA 중합효소 I 프로모터에 의해 정상적으로 전사를 지시하는 프로모터, 예를 들어, 리보솜 RNA(5S rRNA 제외)의 전사를 위한 프로모터 또는 이의 기능적 변이체가 사용될 수 있다. 일부 구현예에서, 진핵 RNA 중합효소 III에 의해 정상적으로 전사를 지시하는 프로모터("pol III 프로모터"), 예를 들어, (U6, H1, 7SK 또는 tRNA 프로모터 또는 이의 기능적 변이체)가 사용될 수 있다.

[0103] 일부 구현예에서, 본 출원의 발현 작제물에서 변형된 아데노바이러스 E4 코딩 영역은 조절 요소, 예컨대 프로모터, 인핸서 또는 둘 다에 작동가능하게 연결된다. 일부 구현예에서, 변형된 아데노바이러스 E4 코딩 영역은 아데노바이러스 E4 프로모터에 작동가능하게 연결된다. 일부 구현예에서, 변형된 아데노바이러스 E4 코딩 영역은 **서열번호 22**를 포함하는 아데노바이러스 E4 프로모터에 작동가능하게 연결된다.

[0104] 일부 구현예에서, 본 출원의 발현 작제물에서 변형된 아데노바이러스 E2a 코딩 영역은 조절 요소, 예컨대 프로모터, 인핸서 또는 둘 다에 작동가능하게 연결된다. 일부 구현예에서, 변형된 아데노바이러스 E2a 코딩 영역은 아데노바이러스 E2a 프로모터에 작동가능하게 연결된다. 일부 구현예에서, 변형된 아데노바이러스 E2a 코딩 영역은 **서열번호 23**를 포함하는 아데노바이러스 E2a 프로모터에 작동가능하게 연결된다.

[0105] **코돈 최적화된 코딩 서열**

- [0106] 일부 구현예에서, 본 출원의 발현 작제물은 예를 들어, 인간, 포유류 또는 영장류 세포, 예컨대 HuH7, HEK293T 또는 CHO 세포에서 발현을 위해 하나 이상의 코돈 최적화된 단백질을 인코딩하는 하나 이상의 폴리뉴클레오티드를 포함한다. 본 출원의 단백질을 인코딩하는 폴리뉴클레오티드는 인코딩된 아미노산 서열 변경 없이 숙주 세포에서 활성, 안정성 또는 발현을 개선하기 위해 코돈 최적화될 수 있다. 코돈 최적화는 폴리뉴클레오티드 서열에 존재하는 코돈을 동일한 아미노산을 인코딩하는 바람직한 코돈, 예를 들어, 포유류 발현을 위한 바람직한 코돈으로 대체한다. 따라서, 아미노산 서열은 공정 동안 변경되지 않는다. 코돈 최적화는 유전자 최적화 소프트웨어를 사용하여 수행될 수 있다. 코돈 최적화된 뉴클레오티드 서열은 아미노산 서열에 변화가 이루어지지 않음을 보장하도록 원래의 단백질 서열로 번역되고 정렬된다. 코돈 최적화의 방법은 당업계에 알려져 있으며, 예를 들어, 미국출원 공개번호 제2008/0194511호 및 미국특허 번호 제6,114,148호에 기술되어 있다.
- [0107] 일부 구현예에서, 본 출원의 발현 작제물은 (a) 코돈-변형된 E4 코딩 서열을 포함하는 변형된 아데노바이러스 E4 코딩 영역 또는 (b) 코돈-변형된 E2a 코딩 서열을 포함하는 변형된 아데노바이러스 E2a 코딩 영역을 포함한다.
- [0108] 일부 구현예에서, 본 출원의 발현 작제물은 (a) 코돈-변형된 E4 코딩 서열을 포함하는 변형된 아데노바이러스 E4 코딩 영역 및 (b) 코돈-변형된 E2a 코딩 서열을 포함하는 변형된 아데노바이러스 E2a 코딩 영역을 포함한다.
- [0109] 일부 구현예에서, 본 출원의 발현 작제물은 코돈 변형된 뉴클레오티드 서열(**서열번호 7**)을 포함하는 변형된 아데노바이러스 E4 코딩 영역을 포함한다. 일부 구현예에서, 본 출원의 발현 작제물은 코돈 변형된 뉴클레오티드 서열(**서열번호 4**)을 포함하는 변형된 아데노바이러스 E2a 코딩 영역을 포함한다.
- [0110] **추가 요소**
- [0111] 일부 구현예에서, 본 출원의 발현 작제물은 아데노바이러스 E1a 및 E1b 단백질을 인코딩하는 서열을 추가로 포함한다.
- [0112] 일부 구현예에서, 발현 작제물은 하나 이상의 추가 요소, 예컨대 플라스미드 복제 기원 서열 및 선택 마커를 추가로 포함한다. 선택 마커의 예는 이에 제한되지는 않으나, 암피실린 내성 유전자, 네오마이신 내성 유전자 및 카나마이신 내성 유전자를 포함한다.
- [0113] 일부 구현예에서, 트리플-플라스미드 파르보바이러스 생산 시스템을 위해 설계된 발현 작제물은 13 kb, 12 kb, 11 kb, 10 kb, 9 kb, 8 kb, 7 kb, 6, kb, 5 kb, 4 kb, 3 kb 또는 2 kb 미만의 크기를 갖는다. 일부 구현예에서, 발현 작제물은 2-11 kb, 2-4 kb, 2-6 kb, 2-8 kb, 2-10 kb, 4-6 kb, 4-8 kb, 4-10 kb, 4-11 kb, 6-8 kb, 6-10 kb, 6-11 kb, 8-10 kb, 8-11 kb 또는 10-11 kb 범위의 크기를 갖는다.
- [0114] 일부 구현예에서, 트리플-플라스미드 파르보바이러스 생산 시스템을 위해 설계된 발현 작제물은 변형된 아데노바이러스 E4 코딩 영역, 변형된 아데노바이러스 E2a 코딩 영역, 하나 이상의 아데노바이러스-연관 RNA(VA RNA), AAV Rep 단백질을 인코딩하는 서열을 포함하며, 13 kb, 12 kb, 11 kb, 10 kb, 9 kb, 8 kb, 7 kb, 6, kb, 5 kb, 또는 4 kb 미만의 크기를 갖는다. 일부 구현예에서, 발현 작제물은 4-13 kb, 4-11 kb, 4-9 kb, 4-7 kb, 7-13 kb, 7-11 kb, 7-9 kb, 9-13 kb, 9-11 kb, 또는 11-13 kb 범위의 크기를 갖는다.
- [0115] **트리플-플라스미드 파르보바이러스 생산 시스템을 위한 발현 작제물의 바람직한 구현예**
- [0116] 일부 구현예에서, 발현 작제물은 트리플-플라스미드 AAV 생산을 위한 플라스미드이다. 플라스미드는 **서열번호 17** 또는 **서열번호 18**을 포함하는 변형된 아데노바이러스 E4 코딩 영역, **서열번호 4**를 포함하는 변형된 아데노바이러스 E2a 코딩 영역, **서열번호 16**을 포함하는 아데노바이러스 VAI RNA 코딩 영역을 인코딩하는 서열, 및 **서열번호 19**를 포함하는 조절 영역을 포함하며, 상기 플라스미드는 6-7 kb, 6-8 kb, 6-9 kb, 7-8 kb, 7-9 kb 및 8-9 kb 범위의 크기를 갖는다. 일부 구현예에서, 플라스미드는 7-9 kb의 크기를 갖는다.
- [0117] **듀얼-플라스미드 파르보바이러스 생산 시스템을 위한 발현 작제물**
- [0118] 일부 구현예에서, 본 출원의 발현 작제물은 듀얼-플라스미드 파르보바이러스 생산 시스템에서 사용되도록 설계된다. 도 7은 AAV 생산을 위한 두 가지 예시적인 듀얼-플라스미드 시스템을 나타낸다.
- [0119] **아데노바이러스 단백질 및 파르보바이러스 단백질을 인코딩하는 작제물**
- [0120] 일부 구현예에서, 듀얼-플라스미드 파르보바이러스 생산을 위한 발현 작제물은 트리플-플라스미드 파르보바이러스 생산 시스템을 위한 발현 작제물에 기술된 하나 이상의 요소 외에도, 파르보바이러스 단백질 코딩 영역을 포함한다. 일부 구현예에서, 파르보바이러스 코딩 영역은 AAV Rep 코딩 영역을 포괄하는 서열 및 AAV Cap 코딩 영

역을 포괄하는 서열을 포함한다.

[0121] 일부 구현예에서, 듀얼-플라스미드 파르보바이러스 생산을 위한 발현 작제물은 AAV 생산을 위해 구축되고, 이는 (1) E4orf6/7을 인코딩하는 변형된 아데노바이러스 E4 코딩 영역, (2) E2a 단백질을 인코딩하는 변형된 아데노바이러스 E2a 코딩 영역, (3) 아데노바이러스 VA RNA 코딩 영역, (4) AAV Rep 코딩 영역, 및 (5) AAV Cap 코딩 영역, 및 (6) 숙주 세포에서 E4orf6/7; E2a 단백질, 아데노바이러스 VA RNA, AAV Rep 단백질, 및 AAV Cap 단백질의 발현을 허용하는 하나 이상의 조절 요소를 포함한다. 도 7에 나타난 바와 같이, 이러한 발현 작제물은 숙주 세포에서 재조합 AAV의 생산을 위한 재조합 AAV 게놈(예를 들어, 하나의 측면에서 적어도 하나의 ITR에 의해 플랭킹된 전이유전자 발현 카세트)을 인코딩하는 다른 발현 벡터와 조합하여 사용될 수 있다. 일부 구현예에서, AAV Rep 코딩 영역은 하나 이상의 조절 요소, 예컨대 AAV P5 프로모터 또는 AAV P5I 프로모터에 작동가능하게 연결된다. 일부 구현예에서, AAV Rep 코딩 영역은 하나 이상 조절 요소, 예컨대 AAV P19 프로모터에 작동가능하게 연결된다. 일부 구현예에서, 조절 요소는 P5I 프로모터(**서열번호 15**)를 포함한다. 일부 구현예에서, 듀얼-플라스미드 AAV 생산을 위한 발현 작제물은 아데노바이러스 E1a 및/또는 E1b 단백질을 인코딩하는 서열을 추가로 포함한다. 일부 구현예에서, 듀얼-플라스미드 AAV 생산을 위한 발현 작제물은 아데노바이러스 E1a 또는 E1b 단백질을 인코딩하는 서열을 포함하지 않는다. 일부 구현예에서, 발현 작제물은 15 kb, 14 kb, 13 kb, 12 kb, 11 kb, 10 kb, 9 kb, 8 kb, 또는 7 kb 미만의 크기를 갖는다. 일부 구현예에서, 발현 작제물은 6-15 kb, 6-13 kb, 6-11 kb, 6-9 kb, 9-15 kb, 9-13 kb, 9-11 kb, 11-15 kb, 11-13 kb 또는 13-15 kb 범위의 크기를 갖는다.

[0122] **아데노바이러스 단백질 및 재조합 파르보바이러스 게놈을 인코딩하는 작제물**

[0123] 일부 구현예에서, 듀얼-플라스미드 파르보바이러스 생산 시스템을 위한 발현 작제물은 (1) E4 오픈 리딩 프레임 6/7을 인코딩하는 변형된 아데노바이러스 E4 코딩 영역, (2) E2a 단백질을 인코딩하는 변형된 아데노바이러스 E2a 코딩 영역, (3) 아데노바이러스 VA RNA를 인코딩하는 서열, (4) 재조합 파르보바이러스 게놈을 인코딩하는 서열 (예를 들어, 하나의 측면에 적어도 하나의 ITR에 의해 플랭킹된 전이유전자 발현 카세트), 및 (5) 숙주 세포에서 E4 오픈 리딩 프레임 6/7; E2a 단백질, 및 아데노바이러스 VA RNA의 발현을 허용하는 하나 이상의 조절 요소를 포함한다.

[0124] 일부 구현예에서, 듀얼-플라스미드 AAV 생산 시스템을 위해 설계된 발현 작제물은 (1) E4 오픈 리딩 프레임 6/7을 인코딩하는 변형된 아데노바이러스 E4 코딩 영역, (2) E2a 단백질을 인코딩하는 변형된 아데노바이러스 E2a 코딩 영역, (3) 아데노바이러스 VA RNA를 인코딩하는 서열, (4) 재조합 AAV 게놈 (예를 들어, 2개의 ITR에 의해 플랭킹된 전이유전자 발현 카세트), (5) 숙주 세포에서 E4 오픈 리딩 프레임 6/7; E2a 단백질, 및 아데노바이러스 VA RNA의 발현을 허용하는 하나 이상의 조절 요소를 포함한다. 도 7에 나타난 바와 같이, 이러한 발현 작제물은 숙주 세포에서 재조합 AAV의 생산을 위한 AAV Rep 및 Cap 단백질을 인코딩하는 다른 발현 벡터와 조합하여 사용될 수 있다. 일부 구현예에서, 듀얼-플라스미드 AAV 생산을 위한 발현 작제물은 아데노바이러스 E1a 및 E1b 단백질을 인코딩하는 서열을 추가로 포함한다. 일부 구현예에서, 발현 작제물은 16 kb, 15 kb, 14 kb, 13 kb, 12 kb, 11 kb, 10 kb, 9 kb, 8 kb, 7 kb, 6 kb, 5 kb, 또는 4 kb 미만의 크기를 갖는다. 일부 구현예에서, 발현 작제물은 3-16 kb, 3-14 kb, 3-12 kb, 3-10 kb, 3-8 kb, 3-6 kb, 6-16 kb, 6-14 kb, 6-12 kb, 6-10 kb, 6-8 kb, 8-16 kb, 8-14 kb, 8-12 kb, 8-10 kb, 10-16 kb, 10-14 kb, 10-12 kb, 12-16 kb, 12-14 kb, 또는 14-16 kb 범위의 크기를 갖는다.

[0125] **듀얼-플라스미드 AAV 생산 시스템을 위한 발현 작제물의 바람직한 구현예**

[0126] 일부 구현예에서, 듀얼-플라스미드 파르보바이러스 생산 시스템을 위한 발현 작제물은 AAV 생산을 위한 플라스미드이다. 플라스미드는 **서열번호 17** 또는 **서열번호 18**을 포함하는 변형된 아데노바이러스 E4 코딩 영역, **서열번호 4**를 포함하는 변형된 아데노바이러스 E2a 코딩 영역, **서열번호 16**을 포함하는 아데노바이러스 VAI RNA 코딩 영역을 인코딩하는 서열, **서열번호 19**를 포함하는 조절 영역, **서열번호 20**을 포함하고 AAV Rep 단백질을 인코딩하는 서열, 및 **서열번호 21**을 포함하고 AAV Cap 단백질을 인코딩하는 서열을 포함하며, 상기 플라스미드는 12-14 kb 범위의 크기를 갖는다.

[0127] 일부 구현예에서, 듀얼-플라스미드 파르보바이러스 생산 시스템을 위한 발현 작제물은 AAV 생산을 위한 플라스미드이다. 플라스미드는 **서열번호 17** 또는 **서열번호 18**을 포함하는 변형된 아데노바이러스 E4 코딩 영역, **서열번호 4**를 포함하는 변형된 아데노바이러스 E2a 코딩 영역, **서열번호 16**을 포함하는 아데노바이러스 VAI RNA 코딩 영역을 인코딩하는 서열, **서열번호 19**를 포함하는 조절 영역, 재조합 AAV 게놈을 인코딩하는 서열을 포함하며, 상기 재조합 AAV 게놈은 하나 이상의 조절 요소에 작동가능하게 연결된 관심 전이유전자를 포함하는 전이유전자 발현 카세트, 및 전이유전자 발현 카세트를 플랭킹하는 2개의 AAV ITR을 포함하며, 상기 플라스미드는 10-

14 kb 범위의 크기를 갖는다.

[0128] 원-플라스미드 파르보바이러스 생산 시스템을 위한 발현 작제물

[0129] 일부 구현예에서, 본 출원의 발현 작제물은 단일-플라스미드 파르보바이러스 생산 시스템에서 사용되도록 설계된다. 발현 작제물은 진술한 변형된 아데노바이러스 코딩 영역 중 일부 또는 전부, 파르보바이러스 단백질 코딩 영역, 뿐만 아니라 조절 요소에 작동가능하게 연결된 GOI를 갖는 발현 카세트, 및 발현 카세트의 하나의 말단에 적어도 하나의 ITR을 포함하는 재조합 파르보바이러스 게놈을 인코딩하는 서열을 함유한다. 발현 작제물은 단일 플라스미드로 숙주 세포를 형질감염시킴으로써 재조합 파르보바이러스의 생산을 허용한다. 일부 구현예에서, 발현 작제물은 아데노바이러스 E1a 및 E1b 기능을 제공하지 않으며, 아데노바이러스 E1a 및 E1b 단백질의 내인성 발현을 제공하는 숙주 세포에서 파르보바이러스 생산을 위해 사용될 필요가 있다. 일부 구현예에서, 발현 작제물은 또한 아데노바이러스 E1a 및 E1b 기능을 제공하며, 아데노바이러스 E1a 및 E1b 단백질의 내인성 발현을 제공하지 않는 숙주 세포에서 파르보바이러스 생산을 위해 사용될 수 있다.

[0130] 도 7은 단일-플라스미드 AAV 생산 시스템을 위한 발현 작제물에 대한 예시적인 구현예를 제공한다. 일부 구현예에서, 발현 작제물은 (1) E4 오픈 리딩 프레임 6/7을 인코딩하는 변형된 아데노바이러스 E4 코딩 영역, (2) E2a 단백질을 인코딩하는 변형된 아데노바이러스 E2a 코딩 영역, (3) 아데노바이러스 VA RNA 코딩 영역, (4) AAV Rep 코딩 영역, (5) AAV Cap 코딩 영역, (6) 전이유전자를 인코딩하는 뉴클레오티드 서열 및 뉴클레오티드 서열에 작동가능하게 연결된 조절 요소를 갖는 발현 카세트 및 발현 카세트의 하나의 말단에 적어도 하나의 ITR을 포함하는, 재조합 AAV 게놈을 인코딩하는 서열, 및 (7) 숙주 세포에서 E4 오픈 리딩 프레임 6/7; E2a 단백질, 아데노바이러스 VA RNA, AAV Rep 단백질, 및 AAV Cap 단백질의 발현을 허용하는 하나 이상의 조절 요소를 포함한다. 일부 구현예에서, 재조합 AAV 게놈 내의 발현 카세트는 각 말단에 AAV ITR에 의해 플랭킹된다.

[0131] 일부 구현예에서, 본 출원의 발현 작제물은 (1) E4 오픈 리딩 프레임 6/7을 인코딩하는 변형된 아데노바이러스 E4 코딩 영역, (2) E2a 단백질을 인코딩하는 변형된 아데노바이러스 E2a 코딩 영역, (3) 아데노바이러스 VA RNA 코딩 영역, (4) 파르보바이러스 단백질 코딩 영역, (5) 재조합 파르보바이러스 클로닝 영역, 및 (6) 숙주 세포에서 E4 오픈 리딩 프레임 6/7; E2a 단백질, 아데노바이러스 VA RNA, 및 파르보바이러스 단백질의 발현을 허용하는 하나 이상의 조절 요소를 포함한다.

[0132] 일부 구현예에서, 재조합 파르보바이러스 클로닝 영역은 (1) 조절 요소에 작동가능하게 연결된 관심 유전자 (GOI)를 포함하는 발현 카세트 및 (2) 발현 카세트의 하나의 측면에서 적어도 하나의 ITR을 포함하는 발현 카세트를 포함하는 재조합 파르보바이러스 서열의 삽입을 위한 클로닝 부위를 포함한다. 일부 구현예에서, 재조합 파르보바이러스 서열은 발현 카세트의 각 말단에 하나씩, 2개의 ITR을 포함한다.

[0133] 일부 구현예에서, 재조합 파르보바이러스 클로닝 영역은 (1) 조절 요소에 작동가능하게 연결된 GOI를 포함하는 발현 카세트를 포함하는 서열의 삽입을 위한 클로닝 부위, 및 (2) 클로닝 부위의 하나의 측면에 적어도 하나의 ITR을 포함한다. 일부 구현예에서, 재조합 파르보바이러스 서열은 클로닝 부위의 각 측면에 하나씩, 2개의 ITR을 포함한다.

[0134] 일부 구현예에서, 재조합 파르보바이러스 클로닝 영역은 (1) GOI가 클로닝 부위에 삽입될 때 GOI에 작동가능하게 연결될 수 있는 것인, GOI의 삽입을 위한 클로닝 부위 및 클로닝 부위의 근처에 조절 요소를 포함하는 발현 카세트, 및 (2) 발현 카세트의 하나의 측면에 적어도 하나의 ITR을 포함한다. 일부 구현예에서, 재조합 파르보바이러스 서열은 발현 카세트의 각 측면에 하나씩, 2개의 ITR을 포함한다.

[0135] 일부 구현예에서, 변형된 아데노바이러스 E4 코딩 영역은 E4orf6/7 인트론 1의 부분적 또는 완전한 결실을 갖는 E4orf6/7을 인코딩한다. 일부 구현예에서, 변형된 아데노바이러스 E4 코딩 영역은 E4orf6/7 인트론 2의 부분적 또는 완전한 결실을 갖는 E4orf6/7을 인코딩한다. 일부 구현예에서, 변형된 아데노바이러스 E4 코딩 영역은 E4orf6/7 인트론 1 및 E4orf6/7 인트론 2 둘 다의 부분적 또는 완전한 결실을 갖는 E4orf6/7을 인코딩한다.

[0136] 일부 구현예에서, 변형된 아데노바이러스 E4 코딩 영역은 400-500, 400-600, 400-800, 400-1000, 400-1200, 400-1500, 400-2000, 500-600, 500-800, 500-1000, 500-1200, 500-1500, 또는 500-2000 bp의 총 크기를 가지며, 비-E4 발현 숙주 세포에서 파르보바이러스 생산을 위해 요구되는 E4 기능을 제공할 수 있는 기능적 E4 단백질을 인코딩한다.

[0137] 일부 구현예에서, 변형된 아데노바이러스 E4 코딩 영역은 (a) E4orf6/7 인트론 1의 부분적 또는 완전한 결실, (b) E4orf6/7 인트론 2의 부분적 또는 완전한 결실, 또는 (a) 및 (b) 둘 다를 갖는 Ad2 게놈의 뉴클레오티드 서

열 32645-35835에 상응하는 서열을 포함한다.

- [0138] 일부 구현예에서, 변형된 아데노바이러스 E4 코딩 영역은 E4orf6/7 인트론 2(711 bp, **서열번호 2**)의 완전한 서열의 결실 및 E4orf6/7 인트론 1(1275 bp, **서열번호 1**)의 완전한 서열의 결실을 갖는 Ad2 계놈의 뉴클레오티드 서열 32645-35835에 상응하는 서열을 포함한다.
- [0139] 일부 구현예에서, 변형된 아데노바이러스 E4 코딩 영역은 E4orf6/7 인트론 1의 부분적 결실을 포함하며, 상기 **서열번호 1**의 최대 10%, 20, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% 또는 95%가 결실되고/되거나, E4orf6/7 인트론 2의 부분적 결실을 포함하며, 상기 **서열번호 2**의 최대 10%, 20, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% 또는 95%가 결실된다.
- [0140] 일부 구현예에서, 변형된 아데노바이러스 E4orf6/7 코딩 영역은 아데노바이러스 E4orf6/7 단백질(**서열번호 8**)을 인코딩하는 코돈 최적화된 뉴클레오티드 서열 (**서열번호 7**)을 포함한다.
- [0141] 일부 구현예에서, 변형된 아데노바이러스 E4 코딩 영역은 Ad2 E4orf6/7을 인코딩한다. 일부 구현예에서, 변형된 아데노바이러스 E4 코딩 영역은 **서열번호 17**을 포함한다. 일부 구현예에서, 변형된 아데노바이러스 E4 코딩 영역은 **서열번호 18**을 포함한다.
- [0142] 일부 구현예에서, 변형된 아데노바이러스 E2a 코딩 영역은 초기 E2a 인트론 1의 부분적 또는 완전한 결실을 갖는 아데노바이러스 E2a 단백질을 인코딩하는 코돈-변형된, 또는 비-변형된 서열을 함유한다.
- [0143] 일부 구현예에서, 변형된 아데노바이러스 E2a 코딩 영역은 후기 E2a 인트론 1의 부분적 또는 완전한 결실을 갖는 아데노바이러스 E2a 단백질을 인코딩하는 코돈-변형된, 또는 비-변형된 서열을 함유한다.
- [0144] 일부 구현예에서, 변형된 아데노바이러스 E2a 코딩 영역은 E2a 인트론 2의 부분적 또는 완전한 결실을 갖는 아데노바이러스 E2a 단백질을 인코딩하는 코돈-변형된, 또는 비-변형된 서열을 함유한다.
- [0145] 일부 구현예에서, 변형된 아데노바이러스 E2a 코딩 영역은 초기 E2a 인트론 1의 부분적 또는 완전한 결실 및 E2a 인트론 2의 부분적 또는 완전한 결실을 갖는 아데노바이러스 E2a 단백질을 인코딩하는 코돈-변형된, 또는 비-변형된 서열을 함유한다.
- [0146] 일부 구현예에서, 변형된 아데노바이러스 E2a 코딩 영역은 후기 E2a 인트론 1의 부분적 또는 완전한 결실 및 E2a 인트론 2의 부분적 또는 완전한 결실을 갖는 아데노바이러스 E2a 단백질을 인코딩하는 코돈-변형된, 또는 비-변형된 서열을 함유한다.
- [0147] 일부 구현예에서, 변형된 아데노바이러스 E2a 코딩 영역은 후기-E2a 인트론 1 및/또는 후기-E2a 인트론 2의 부분적 결실을 포함하며, 상기 후기-E2a 인트론 1 및/또는 후기-E2a 인트론 2의 최대 10%, 20, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% 또는 95%가 결실된다.
- [0148] 일부 구현예에서, 변형된 아데노바이러스 E2a 코딩 영역은 1600-3500, 1600-3000, 1600-2500, 1600-2000, 1600-1800 또는 1600-1700 bp의 총 크기를 가지며, 비-E2a 발현 숙주 세포에서 파르보바이러스 생산을 위해 요구되는 E2a 기능을 제공할 수 있는 기능적 E2a 단백질을 인코딩한다.
- [0149] 일부 구현예에서, 변형된 아데노바이러스 E2a 코딩 영역은 (a) 초기-E2a 또는 후기-E2a 인트론 1의 부분적 또는 완전한 결실, (b) E2a 인트론 2의 부분적 또는 완전한 결실, 또는 (a) 및 (b) 둘 다를 갖는 Ad2 계놈의 뉴클레오티드 서열 22233-27575에 상응하는 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 변형된 아데노바이러스 E2a 코딩 영역은 후기-E2a 인트론 1 및 후기-E2a 인트론 2의 완전한 서열을 포괄하는 1897 bp 결실(**서열번호 3**)을 갖는 Ad2 계놈의 뉴클레오티드 서열 22233-27575에 상응하는 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 변형된 아데노바이러스 E2a 코딩 영역은 후기-E2a 인트론 1 및/또는 후기-E2a 인트론 2의 부분적 결실을 포함하며, 상기 **서열번호 3**의 최대 10%, 20, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% 또는 95%가 결실된다.
- [0150] 일부 구현예에서, 변형된 아데노바이러스 E2a 코딩 영역은 (a) 코돈 최적화된 아데노바이러스 E2a 단백질 E2a 인트론 1을 인코딩하는 후기 서열의 부분적 또는 완전한 결실, (b) 후기 E2a 인트론 2의 부분적 또는 완전한 결실, 및 (c) 아데노바이러스 E2a 단백질을 인코딩하는 코돈 변형된 뉴클레오티드 서열을 포함한다.
- [0151] 일부 구현예에서, 변형된 아데노바이러스 E2a 코딩 영역은 **서열번호 4**를 포함한다
- [0152] 일부 구현예에서, 아데노바이러스 VA RNA 코딩 영역은 아데노바이러스 VA1, 아데노바이러스 VAII 또는 둘 다를 인코딩하는 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 아데노바이러스 VA RNA 코딩 영역은 Ad2 VA1, Ad2 VAII 또는 둘

다를 인코딩하는 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 아데노바이러스 VA RNA 코딩 영역은 **서열번호 16**을 포함한다.

- [0153] 일부 구현예에서, AAV Rep 코딩 영역은 **서열번호 20**을 포함한다.
- [0154] 일부 구현예에서, AAV Cap 코딩 영역은 **서열번호 21**을 포함한다.
- [0155] 일부 구현예에서, 하나 이상 조절 요소는 변형된 아데노바이러스 E4 코딩 영역에 작동가능하게 연결된 아데노바이러스 E4 프로모터, 변형된 아데노바이러스 E2a 코딩 영역에 작동가능하게 연결된 아데노바이러스 E2a 프로모터, 및 AAV Rep 및 Cap 단백질을 인코딩하는 서열에 작동가능하게 연결된 변형된 AAV P5 프로모터를 포함한다. 일부 구현예에서, 아데노바이러스 E4 프로모터는 **서열번호 22**를 포함한다. 일부 구현예에서, 아데노바이러스 E2a 프로모터는 **서열번호 23**을 포함한다. 일부 구현예에서, 변형된 AAV P5 프로모터는 **서열번호 16**을 포함한다.
- [0156] 일부 구현예에서, 발현 작제물은 아데노바이러스 E1a 단백질을 인코딩하는 뉴클레오티드 서열 및/또는 아데노바이러스 E1b 단백질을 인코딩하는 뉴클레오티드 서열을 추가로 포함한다.
- [0157] 일부 구현예에서, 단일-플라스미드 파르보바이러스 생산 시스템을 위해 설계된 발현 작제물은 20 kb, 19 kb, 18 kb, 16 kb, 15 kb, 14 kb, 13 kb, 12 kb, 11 kb, 10 kb, 9 kb, 8 kb, 또는 7 kb 미만의 크기를 갖는다.
- [0158] 일부 구현예에서, 단일-플라스미드 파르보바이러스 생산 시스템을 위해 설계된 발현 작제물은 7-25 kb, 7-20 kb, 7-18 kb, 7-16 kb, 7-14 kb, 7-12 kb, 7-10 kb, 10-25 kb, 10-20 kb, 10-18 kb, 10-16 kb, 10-14 kb, 10-12 kb, 12-25 kb, 12-20 kb, 12-18 kb, 12-16 kb, 12-14 kb, 14-25 kb, 14-20 kb, 14-18 kb, 14-16 kb, 16-25 kb, 16-20 kb, 16-18 kb, 18-25 kb, 18-20 kb, 또는 20-25 kb 범위의 크기를 갖는다.
- [0159] 일부 구현예에서, 발현 작제물은 10-15 kb, 10-20 kb, 10-25 kb, 15-20 kb, 15-25 kb 또는 20-25 kb의 총 크기를 갖는 플라스미드이다.
- [0160] **원-플라스미드 AAV 생산 시스템에 대한 발현 작제물의 바람직한 구현예**
- [0161] 일부 구현예에서, 발현 작제물은 원-플라스미드 AAV 생산을 위한 플라스미드이며, **서열번호 17** 또는 **서열번호 18**을 포함하는 변형된 아데노바이러스 E4 코딩 영역, **서열번호 4**를 변형된 아데노바이러스 E2a 코딩 영역, **서열번호 16**을 포함하는 아데노바이러스 VAI RNA 코딩 영역을 인코딩하는 서열, **서열번호 19**를 포함하는 조절 영역, **서열번호 20**을 포함하는 AAV Rep 코딩 영역, **서열번호 21**을 포함하는 AAV Cap 코딩 영역, 및 재조합 AAV 게놈을 인코딩하는 서열을 포함하며, 상기 발현 작제물은 7-19 kb 범위의 크기를 갖는다.
- [0162] 다른 구현예에서, 본 출원은 각각 본원에 기술된 하나 이상의 발현 작제물을 함유하는, 하나 이상의 세포를 제공한다. 다른 구현예에서, 본 출원은 각각 본원에 기술된 하나 이상의 발현 작제물로 안정적으로 형질전환된, 하나 이상의 세포주를 제공한다.
- [0163] 다른 측면에서, 본 출원은 재조합 AAV 입자를 생산하기 위한 키트를 제공한다. 일 구현예에서, 키트는 본 출원의 발현 작제물을 포함하는 플라스미드를 포함한다.
- [0164] 특정 구현예에서, 키트는 사용을 위한 지침, 예를 들어, 본원에 기술된 방법에 사용하기 위한 지침을 추가로 포함한다. 일부 구현예에서, 키트는 세포 용해물을 위한 하나 이상의 튜브 또는 다른 유형의 용기(예를 들어, 에펜도르프 튜브) 및/또는 생성된 폐기물을 위한 하나 이상의 튜브 또는 다른 유형의 용기를 추가로 포함한다.
- [0165] **III. 재조합 파르보바이러스를 생산하기 위한 방법**
- [0166] 본 출원의 다른 측면은 본 출원의 발현 작제물을 사용하여 재조합 파르보바이러스 입자를 생산하기 위한 방법에 관한 것이다. 상기 방법은 본 출원의 발현 작제물을 파르보바이러스 생산을 위해 필요한 헬퍼 기능을 제공하는 숙주 세포 내로 도입하는 단계, 발현 카세트를 보유하는 숙주 세포를 원하는 기간 동안 인큐베이션하여 재조합 파르보바이러스 입자를 생산하는 단계; 및 인큐베이션 기간 후 재조합 파르보바이러스 입자를 수확하는 단계를 포함한다. 일부 구현예에서, 파르보바이러스는 AAV이다.
- [0167] 일부 구현예에서, 상기 방법은 (1) (A) 트리플-플라스미드 파르보바이러스 생산 시스템의 발현 작제물, (B) 재조합 파르보바이러스의 생산을 위해 필요한 파르보바이러스 단백질을 발현할 수 있는 파르보바이러스 트랜스 작제물, 및 (C) 재조합 파르보바이러스 게놈을 인코딩하는 서열을 함유하는 파르보바이러스 시스 작제물을 숙주 세포 내로 도입하는 단계, (2) 작제물을 보유하는 숙주 세포를 원하는 기간 동안 인큐베이션하여 재조합 파르보바이러스 입자를 생산하는 단계, 및 (3) 인큐베이션 기간 후 재조합 파르보바이러스 입자를 수확하는 단계를 포

함한다. 일부 구현예에서, 작제물 A, B 및 C는 1-10:1-10:1-10의 A:B:C 몰 비율로 숙주 세포 내로 공동 형질감염된다. 일부 구현예에서, 작제물 A, B 및 C는 1:1:1의 A:B:C 몰 비율로 숙주 세포 내로 공동 형질감염된다. 이 방법은 종종 트리플-형질감염 방법으로 지칭된다. 일부 구현예에서, 파르보바이러스는 AAV이고, 트랜스 작제물은 AAV Rep 코딩 영역 및 AAV Cap 코딩 영역을 포함한다.

[0168] 일부 구현예에서, 상기 방법은 (1) (A) E4orf6/7을 인코딩하는 변형된 아데노바이러스 E4 코딩 영역, E2a 단백질을 인코딩하는 변형된 아데노바이러스 E2a 코딩 영역, 아데노바이러스 VA RNA 코딩 영역, 파르보바이러스 단백질 코딩 영역, 및 아데노바이러스 E4orf6/7, E2a, VA RNA 및 파르보바이러스 단백질의 발현을 허용하는 하나 이상의 조절 요소를 함유하는 듀얼-플라스미드 파르보바이러스 생산 시스템의 발현 작제물(작제물 A) 및 (B) 재조합 파르보바이러스 게놈을 인코딩하는 서열을 포함하는 발현 작제물(작제물 B)을 숙주 세포 내로 도입하는 단계, (2) 작제물을 보유하는 숙주 세포를 원하는 기간 동안 인큐베이션하여 재조합 파르보바이러스 입자를 생산하는 단계, 및 (3) 인큐베이션 기간 후 재조합 파르보바이러스 입자를 수확하는 단계를 포함한다. 일부 구현예에서, 재조합 파르보바이러스는 rAAV이다. 일부 구현예에서, 작제물 A 및 B는 1:10 내지 10:1의 범위의 A:B 몰 비율로 숙주 세포 내로 공동 형질감염된다. 일부 구현예에서, 작제물 A 및 B는 1:1, 1:2, 1:3, 2:1 또는 3:1의 A:B 몰 비율로 숙주 세포 내로 공동 형질감염된다.

[0169] 일부 구현예에서, 상기 방법은 (1) (A) E4orf6/7을 인코딩하는 변형된 아데노바이러스 E4 코딩 영역, E2a 단백질을 인코딩하는 변형된 아데노바이러스 E2a 코딩 영역, 아데노바이러스 VA RNA 코딩 영역, 재조합 파르보바이러스 게놈을 인코딩하는 서열, 및 아데노바이러스 E4orf6/7, E2a, VA RNA의 발현을 허용하는 하나 이상의 조절 요소를 함유하는 듀얼-플라스미드 파르보바이러스 생산 시스템의 발현 작제물(작제물 A) 및 (B) 파르보바이러스 단백질 코딩 영역을 포함하는 발현 작제물(작제물 B)을 숙주 세포 내로 도입하는 단계, (2) 작제물을 보유하는 숙주 세포를 원하는 기간 동안 인큐베이션하여 재조합 파르보바이러스 입자를 생산하는 단계, 및 (3) 인큐베이션 기간 후 재조합 파르보바이러스 입자를 수확하는 단계를 포함한다. 일부 구현예에서, 재조합 파르보바이러스는 rAAV이다. 일부 구현예에서, 작제물 A 및 B는 1:10 내지 10:1의 범위의 A:B 몰 비율로 숙주 세포 내로 공동 형질감염된다. 일부 구현예에서, 작제물 A 및 B는 1:1, 1:2, 1:3, 2:1 또는 3:1의 A:B 몰 비율로 숙주 세포 내로 공동 형질감염된다.

[0170] 일부 구현예에서, 상기 방법은 (1) 단일-플라스미드 파르보바이러스 생산 시스템의 발현 작제물을 숙주 세포 내로 도입하는 단계, (2) 발현 카세트를 보유하는 숙주 세포를 원하는 기간 동안 인큐베이션하여 재조합 파르보바이러스 입자를 생산하는 단계, 및 (3) 인큐베이션 기간 후 재조합 파르보바이러스 입자를 수확하는 단계를 포함한다. 일부 구현예에서, 발현 작제물은 재조합 AAV의 생산을 위한 플라스미드이다. 일부 구현예에서, 플라스미드는 아데노바이러스 E1a 및 E1b 단백질을 인코딩하지 않으며, 숙주 세포는 아데노바이러스 E1a 및 E1b 단백질을 내인성으로 발현한다.

[0171] 파르보바이러스 입자를 생산하기 위한 숙주 세포는 예를 들어, 예피솜 플라스미드의 형태로 본 출원의 발현 작제물을 함유할 수 있다. 본 출원의 발현 작제물은 또한 숙주 세포 게놈에 안정적으로 통합될 수 있다. 추가로, 숙주 세포는 파르보바이러스 생산을 위해 요구되는 아데노바이러스 단백질, 예컨대 E1a 및 E1b를 생산하기 위한 발현 시스템을 구성할 수 있다. 숙주 세포의 예는 이에 제한되지는 않으나 미생물, 효모 세포, 곤충 세포 및 동물 세포를 포함한다. 일부 구현예에서, 숙주 세포는 포유류 숙주 세포, 예컨대 인간 HuH7 및 HEK293 세포, 중국 햄스터 난소 세포("CHO") 및 새끼 햄스터 신장("BHK") 세포이다. 본 출원을 수행하기에 적합한 포유류 세포는 특히, COS(예를 들어, ATCC No. CRL 1650 또는 1651), BHK(예를 들어, ATCC No. CRL 6281), CHO(ATCC No. CCL 61), HeLa(예를 들어, ATCC No. CCL 2), 293(ATCC No. 1573), CHOP, HuH7, HEK293 및 NS-1 세포를 포함한다. 용어 "숙주 세포"는 형질감염된 원래 세포의 자손을 포함한다. 단일 모 세포의 자손은 자연적, 우연적 또는 의도적인 돌연변이로 인해, 원래 모와 형태학 또는 게놈 또는 전체 DNA 상보성에서 반드시 완전히 동일하지 않을 수 있음이 이해된다. "포유류 숙주 세포"는 포유동물로부터 유래된 원래 세포이거나 이의 자손 세포이다.

[0172] 일 구현예에서, 숙주 세포는 Ad E1a 및 E1b 단백질을 발현한다. 특정 바람직한 구현예에서, 숙주 세포는 아데노바이러스 E1a 및 E1b를 발현하는 HEK-293 세포이다.

[0173] 일부 구현예에서, 본 출원의 발현 작제물 및 다른 발현 작제물 (있는 경우)은 CaPO₄-매개 형질감염, 지질 또는 폴리에틸렌아민(PEI)과 같은 중합체성 분자를 통해 HEK293 세포(ATCC®로부터 사용가능) 내로 형질감염된다. 이후, HEK293 세포를 적어도 60시간 동안 인큐베이션하여 재조합 파르보바이러스 입자 생산을 허용한다.

[0174] 추가로 자세히 설명하지 않더라도, 당업계의 숙련자는 상기 설명에 기초하여 본 개시내용을 최대한 활용할 수 있는 것으로 여긴다. 따라서, 하기 구체적인 구현예는 단지 예시로 해석되어야 하며, 개시내용의 나머지를 무었

이든지 어떠한 방식으로도 제한하지 않는다. 본원에 인용된 모든 간행물은 본원에 참조된 목적 또는 주제를 위해 참조로 통합된다.

[0175] **IV. 키트**

[0176] 본 출원의 다른 측면은 재조합 파르보바이러스를 생산하기 위한 키트에 관한 것이다. 일부 구현예에서, 키트는 본 출원의 발현 작제물 및 발현 작제물을 사용하는 방법에 대한 지침을 포함한다.

[0177] 일부 구현예에서, 발현 작제물은 (1) E4 오픈 리딩 프레임 6/7을 인코딩하는 변형된 아데노바이러스 E4 코딩 영역, (2) E2a 단백질을 인코딩하는 변형된 아데노바이러스 E2a 코딩 영역, (3) 아데노바이러스 VA RNA 코딩 영역, (4) 파르보바이러스 단백질 코딩 영역, (5) 재조합 파르보바이러스 클로닝 영역, 및 (6) 숙주 세포에서 E4 오픈 리딩 프레임 6/7; E2a 단백질, 아데노바이러스 VA RNA, 및 파르보바이러스 단백질의 발현을 허용하는 하나 이상의 조절 요소를 포함한다. 일부 구현예에서, 재조합 파르보바이러스 클로닝 영역은 (1) 조절 요소에 작동가능하게 연결된 관심 유전자(GOI)를 포함하는 발현 카세트 및 (2) 발현 카세트의 하나의 측면에서 적어도 하나의 ITR을 포함하는 발현 카세트를 포함하는 재조합 파르보바이러스 서열의 삽입을 위한 클로닝 부위를 포함한다. 일부 구현예에서, 재조합 파르보바이러스 서열은 발현 카세트의 각 말단에 하나씩, 2개의 ITR을 포함한다. 일부 구현예에서, 재조합 파르보바이러스 클로닝 영역은 (1) 조절 요소에 작동가능하게 연결된 GOI를 포함하는 발현 카세트를 포함하는 서열의 삽입을 위한 클로닝 부위, 및 (2) 클로닝 부위의 하나의 측면에 적어도 하나의 ITR을 포함한다. 일부 구현예에서, 재조합 파르보바이러스 서열은 클로닝 부위의 각 측면에 하나씩, 2개의 ITR을 포함한다. 일부 구현예에서, 재조합 파르보바이러스 클로닝 영역은 (1) GOI가 클로닝 부위에 삽입될 때 GOI에 작동가능하게 연결될 수 있는 것인, GOI의 삽입을 위한 클로닝 부위 및 클로닝 부위의 근처에 조절 요소를 포함하는 발현 카세트, 및 (2) 발현 카세트의 하나의 측면에 적어도 하나의 ITR을 포함한다. 일부 구현예에서, 재조합 파르보바이러스 서열은 발현 카세트의 각 측면에 하나씩, 2개의 ITR을 포함한다.

[0178] 일부 구현예에서, 발현 작제물은 (1) E4 오픈 리딩 프레임 6/7을 인코딩하는 변형된 아데노바이러스 E4 코딩 영역, (2) E2a 단백질을 인코딩하는 변형된 아데노바이러스 E2a 코딩 영역, (3) 아데노바이러스 VA RNA 코딩 영역, (4) AAV Rep 코딩 영역, (5) AAV Cap 코딩 영역, (6) 전이유전자를 인코딩하는 뉴클레오티드 서열 및 뉴클레오티드 서열에 작동가능하게 연결된 조절 요소를 갖는 발현 카세트 및 발현 카세트의 하나의 말단에 적어도 하나의 ITR을 포함하는, 재조합 AAV 게놈을 인코딩하는 서열, 및 (7) 숙주 세포에서 E4 오픈 리딩 프레임 6/7; E2a 단백질, 아데노바이러스 VA RNA, AAV Rep 단백질, 및 AAV Cap 단백질의 발현을 허용하는 하나 이상의 조절 요소를 포함한다. 일부 구현예에서, 재조합 AAV 게놈 내의 발현 카세트는 각 말단에 AAV ITR에 의해 플랭킹된다.

[0179] 일부 구현예에서, 키트는 발현 작제물의 형질감염을 위한 시약을 추가로 포함한다.

[0180] **실시예**

[0181] **실시예 1: AAV 헬퍼 작제물의 구축**

[0182] AAV 벡터 패키징을 위한 Ad 서열의 무용성(dispensability)을 조사하기 위해, 플라스미드의 크기를 감소시키고 재조합 AAV 바이러스 입자를 생산하기 위한 헬퍼 기능을 증가시키고자 일련의 Ad-기반 결실 돌연변이체를 구축하였다. 도 1은 Ad2 뉴클레오티드 서열 표표에 대한 아데노바이러스(Ad2) 코딩 영역 및 주변 결실들의 배열과 관련하여 일련의 발현 카세트를 도시한다.

[0183] 도 2는 Ad2 게놈 서열과 관련하여 도 1에 도시된 Ad E4orf 및 주변 결실의 배열을 도시한 확장된 맵을 나타낸다.

[0184] 도 3은 Ad 게놈 서열과 관련하여 도 1에 도시된 주변 결실을 포함하는, 감염 초기 및 후기에 발현된 Ad2 E2a 프로모터 및 Ad2 mRNA를 도시한 확장된 맵을 나타낸다.

[0185] 도 4는 본 출원의 구현예의 발현 카세트를 함유하는 예시적인 헬퍼 플라스미드, 미니-p헬퍼 플라스미드(서열번호 6)를 나타낸다. 상기 플라스미드는 도 1에 나타낸 미니-p헬퍼 Ad 헬퍼 유전자 배열을 함유한다. 미니-p헬퍼 백본 플라스미드는 서열번호 5에 제시된 야생형 Ad E2a 아미노산 서열을 인코딩하는 코돈-최적화된 Ad E2a 코딩 영역 서열(서열번호 4)을 포함한다.

[0186] 도 5는 본 출원의 다른 구현예의 발현 카세트를 함유하는 다른 예시적인 헬퍼 플라스미드, 미니-p헬퍼-1.0 플라스미드(서열번호 10)를 나타낸다. 상기 플라스미드는 도 1에 나타낸 미니-p헬퍼 Ad 헬퍼 유전자 배열을 함유한

다.

[0187] 실시예 2: AAV 생산을 위해 불필요한 아데노바이러스 영역의 확인

[0188] 도 6은 아데노-연관 바이러스(AAV) 패키징을 위해 헬퍼 기능을 충분히 제공하는 발현 카세트의 능력에 대한 도 1의 결실 또는 결실의 조합의 효과를 나타낸다. rAAV의 생산 역가는 트리플 플라스미드 형질감염 시스템을 사용하여 획득하였다: ITR 함유 플라스미드(예컨대 pAAV-CAG-EGFP), AAV 헬퍼 플라스미드(예컨대 pRep2-AAV1, pRep2-AAV2 또는 pRep2-AAV9), 및 요구되는 아데노바이러스 기능을 제공하는 도 1에 나타난 Ad 헬퍼 유전자 배열을 가진 Ad 헬퍼 플라스미드 Ad(예컨대 p헬퍼, p헬퍼-dE4orf6/7인트론, 미니-p헬퍼1.0 등). 모든 AAV 벡터는 HEK 293T 세포에서 생산되었다. Y-축은 원래 p헬퍼와 비교하여 상이한 신규 p헬퍼 사용에 대해 배수 증가를 나타내었다.

[0189] 실시예 3: AAV 라이브러리 생산을 위한 미니-헬퍼 플라스미드의 구축

[0190] 도 7은 원래의 트리플-플라스미드 형질감염 시스템과 미니-p헬퍼 기반-생산 시스템을 비교한 개략도를 나타낸다. 녹색-Ad 유전자, 청색-AAV 유전자, 분홍색-전이유전자 요소. 원래의 트리플-플라스미드 시스템에서, 3개의 플라스미드(p헬퍼, pRep&Cap, GOI)의 총 질량은 24.1-28.1 kb 사이에 있다. 미니-p헬퍼 플라스미드 시스템에서, 3개의 플라스미드의 총 질량은 20.9-24.9 kb로 감소하였다. 듀얼-플라스미드 시스템은 2개의 상이한 버전이 있다(V1, AAV 유전자(Rep 및 Cap)가 미니-p헬퍼 내로 삽입되었음; V2, 전이유전자 요소가 미니-p헬퍼 내로 삽입되었음). V1 및/또는 V2의 총 질량은 17.9-21.9 kb이다. 하나의 플라스미드 시스템에서, AAV 유전자 및 전이유전자 요소 둘 다는 미니-p헬퍼 내로 삽입되었다. 플라스미드의 총 질량은 13.9-17.9 kb이다.

[0191] 미니-p헬퍼-AAV2(서열번호 10)의 작제물: 미니-p헬퍼1.0 플라스미드를 ClaI로 소화시켰다. AAV 헬퍼 유전자(Rep 및 Cap)를 PCR 증폭하고 ClaI 부위 내로 조립하였다.

[0192] 미니-p헬퍼-CMV-EGFP(서열번호 11)의 작제물: 미니-p헬퍼1.0 플라스미드(서열번호 9)를 PmeI로 소화시켜 백본으로 사용하였다. pAAV-CMV-EGFP로부터 SbfI을 사용하여 삽입물 ITR-CMV-EGFP-ITR 카세트를 소화시켰다. 백본 및 삽입물을 T4 DNA 리가제를 사용하여 결합시켰다.

[0193] pAAVone-AAV2-CMV-EGFP(서열번호 12)의 작제물: 미니-p헬퍼-AAV2 플라스미드를 PmeI로 소화시키고 백본으로 사용하였다. pAAV-CMV-EGFP로부터 SbfI을 사용하여 삽입물 ITR-CMV-EGFP-ITR 카세트를 소화시켰다. 백본 및 삽입물을 T4 DNA 리가제를 사용하여 결합시켰다.

[0194] 도 8은 부착 HEK 293 T 세포에서 미니-헬퍼 기반 AAV 생산 시스템의 패키지 효율을 나타낸다. rAAV의 생산 역가는 형질감염 후 72시간째에 HEK 293T 세포에서 획득하였다. 트리플 플라스미드 형질감염 시스템에서, 0.6 ug/웰의 총 DNA 질량을 갖는 3개의 플라스미드(p헬퍼 또는 미니-p헬퍼-1.0):pRep2-AAV2:pAAV-CMV-EGFP의 4개의 상이한 분자 비율을 고정된 양의 폴리에틸렌이민(PEI)(1.8 ul/웰)을 사용하여 HEK 293T 세포에 형질감염시켰다. 듀얼 플라스미드 시스템의 경우, 3개의 상이한 분자 비율을 평가하였다. 원 플라스미드 시스템에서, 상이한 양의 플라스미드를 고정된 양의 PEI로 형질감염시켰다.

[0195] 도 9는 현탁 배양된 HEK 293T 세포에서 미니-헬퍼 기반 AAV 생산 시스템의 패키지 효율을 나타낸다. rAAV의 생산 역가는 형질감염 후 72시간째에 획득하였다. 트리플 플라스미드 형질감염 시스템에서 3개의 플라스미드의 비율은 1:1:1이고, 총 DNA는 0.75 ug/10⁶ 세포이다. 듀얼 플라스미드 형질감염 시스템에서, 2개의 플라스미드의 비율은 1:1이고, 총 DNA는 0.75 ug/10⁶ 세포이다. 원 플라스미드 시스템에서, 상이한 양의 플라스미드를 고정된 PEI:DNA 비율 2로 형질감염시켰다.

[0196] 도 10은 상이한 AAV 혈청형에 대한 미니-헬퍼 기반 듀얼-플라스미드 V2 시스템의 패키지 효율성을 나타낸다. 듀얼-플라스미드 V2 시스템에서, 전이유전자 요소를 미니-p헬퍼에 삽입하였다. 현탁 배양된 HEK 293T 세포에서의 AAV 생산 시스템. rAAV의 생산 역가는 형질감염 후 72시간째에 획득하였다. 트리플 플라스미드 형질감염 시스템에서 3개의 플라스미드의 분자 비율은 1:1:1이고, 총 DNA는 0.6 ug/웰의 총 DNA 질량이다. 듀얼 플라스미드 형질감염 시스템에서 2개의 플라스미드의 분자 비율은 1:1이고, 총 DNA는 0.6 ug/웰의 총 DNA 질량이다.

[0197] 실시예 4: AAV 라이브러리 생산을 위한 미니 헬퍼의 사용

[0198] 도 11은 AAV 라이브러리 생산을 위한 미니-헬퍼의 사용을 나타낸다. rAAV의 생산 역가는 형질감염 후 72시간째에 HEK 293T 세포에서 획득하였다. pAAV-라이브러리 플라스미드는 200개 카피/세포로 사용되었다. p헬퍼 및 pRep, 미니-p헬퍼-1.0 및 미니-p헬퍼-Rep(서열번호 13)은 10⁵개 카피/세포로 사용되었다. PEI는 1.5 ug/웰로 사

용되었다. 미니-p헬퍼-Rep: 미니-p헬퍼-AAV2 플라스미드는 SwaI 및 SnaBI로 소화시켜 Cap 유전자를 제거하였다.

[0199] 도 12는 본 출원의 다른 구현예의 발현 카세트를 함유하는 예시적인 헬퍼 플라스미드 pAAVone-AAV2-CMV-EGFP(서열번호 12)를 나타낸다. 플라스미드는 도 1에 나타난 미니-p헬퍼 Ad 헬퍼 유전자 배열, AAV Rep 및 Cap 유전자, 및 제조용 AAV 게놈(ITR-CMV-EGFP-폴리A-ITR)의 서열을 함유한다.

[0200] 도 13은 야생형 AAV2 P5 프로모터 P5(P5-AAV2, 서열번호 14) 및 변형된 AAV P5 프로모터 P5(P5I, 서열번호 15)의 서열 및 AAVone 시스템의 패키지 효율에 대한 이들의 효과를 나타낸다. 총 DNA는 0.6 ug/웰의 총 DNA 질량이다. rAAV의 생산 역가는 형질감염 후 72시간째에 수득하였다.

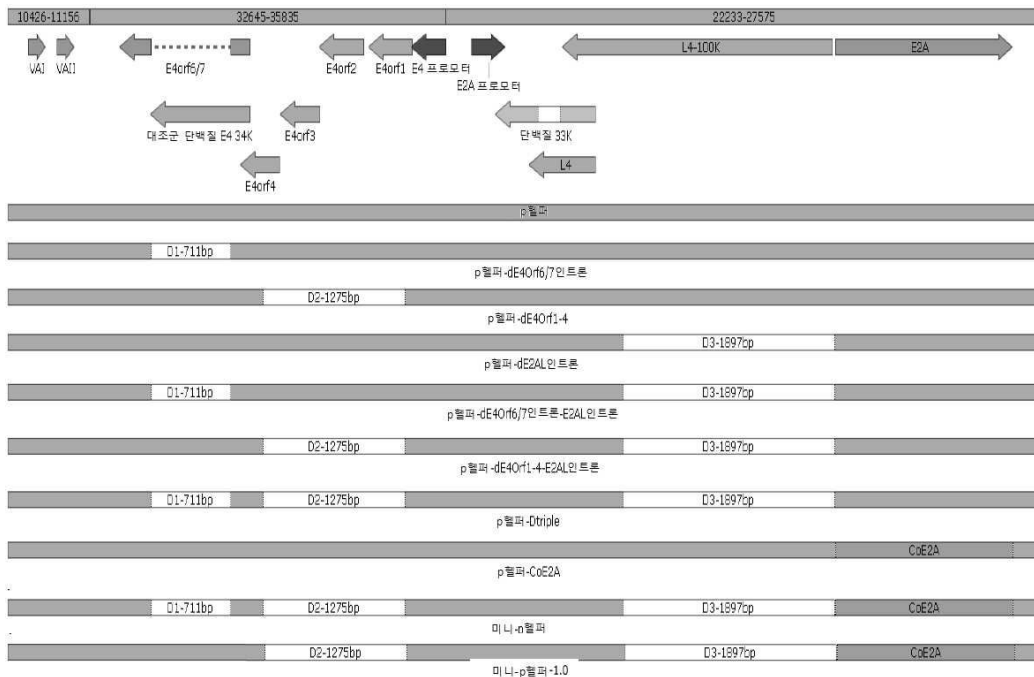
[0201] 도 14는 본 출원에 기술된 서열의 목록이다.

[0202] 본원에서는, 2023년 2월 27일자로 생성되고 크기가 107kB인, 2037-004 US.xml로 칭해진, 2023년 3월 10일자로 제출된 서열 목록 xml 파일이 통합되어 있다.

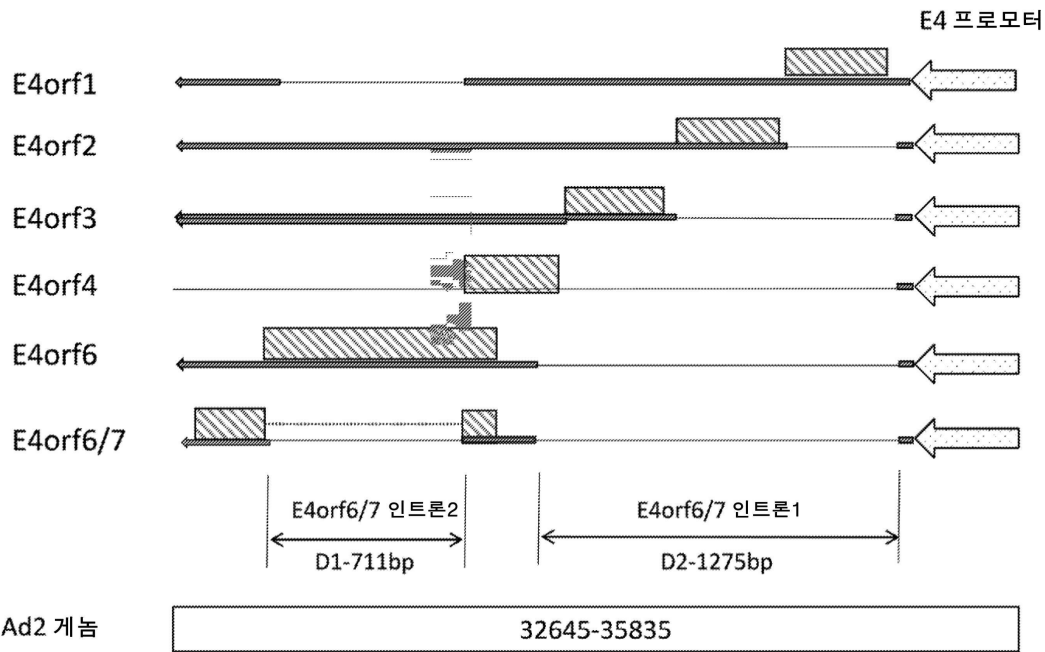
[0203] 상기 설명은 당업계의 통상의 기술자에게 본 출원을 어떻게 실시하는지를 교시하기 위한 목적을 위한 것이다. 이 설명을 읽으면 숙련된 작업자에게 명백해질 모든 분명한 변형 및 변이를 상세히 설명하도록 의도되지는 않는다. 그러나, 그러한 모든 분명한 변형 및 변이는 하기 청구범위에 의해 정의되는, 본 출원의 범위 내에 포함되는 것으로 의도된다. 본원에 설명된 임의의 특허 또는 특허 간행물은 그 전체가 참조로 명시적으로 통합된다. 청구범위는 문맥상 특별히 반대되는 내용을 나타내지 않는 한, 의도되는 목적을 충족시키는 데 효과적인 임의의 순서로 청구된 구성요소 및 단계를 포괄하는 것으로 의도된다.

도면

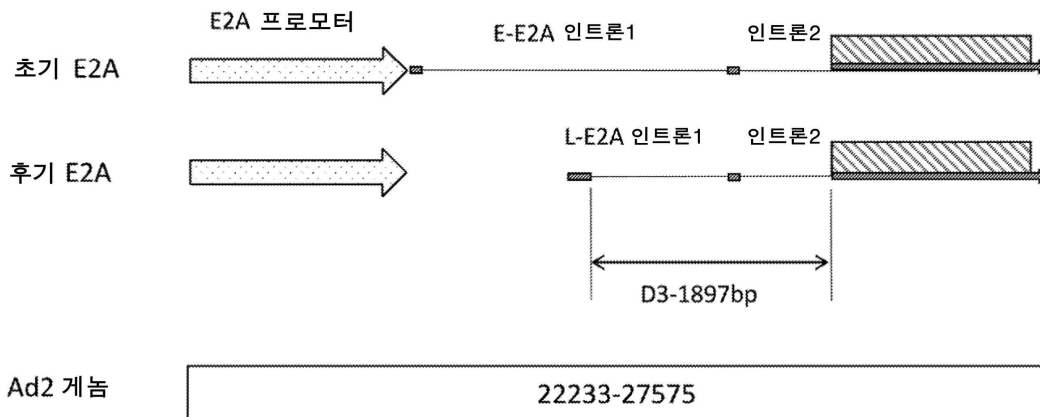
도면1



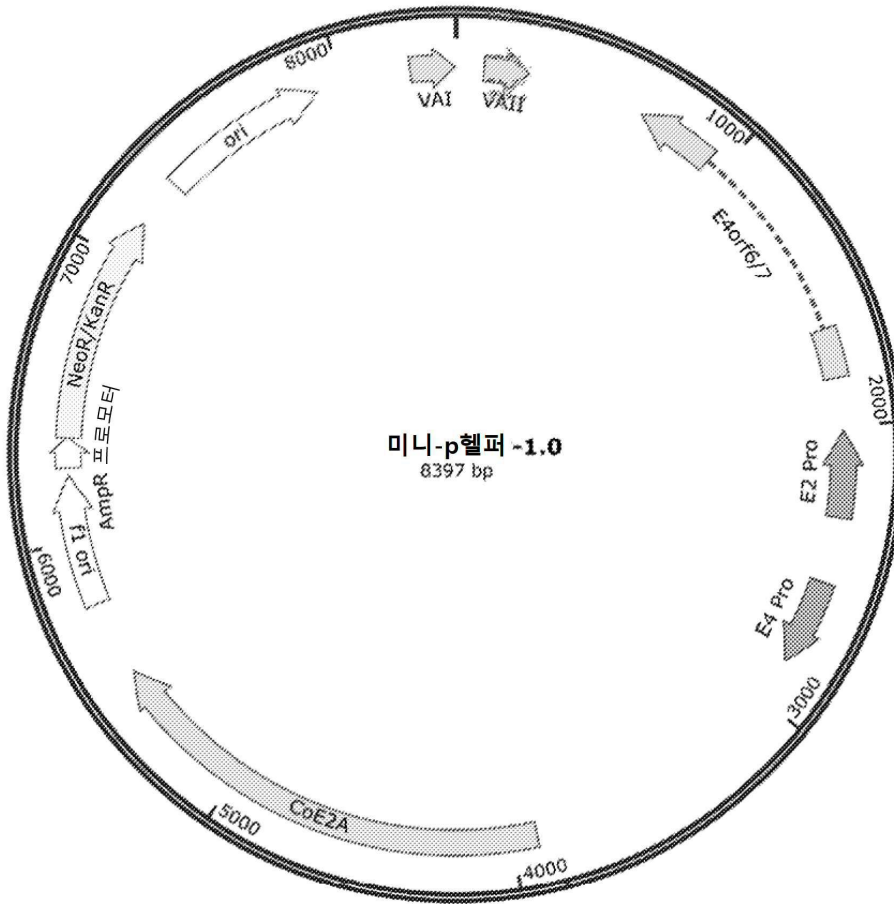
도면2



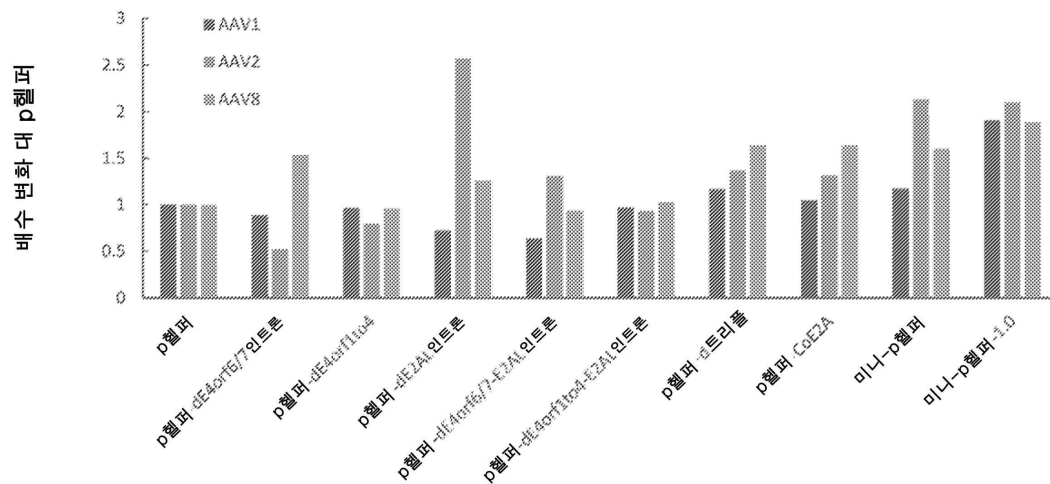
도면3



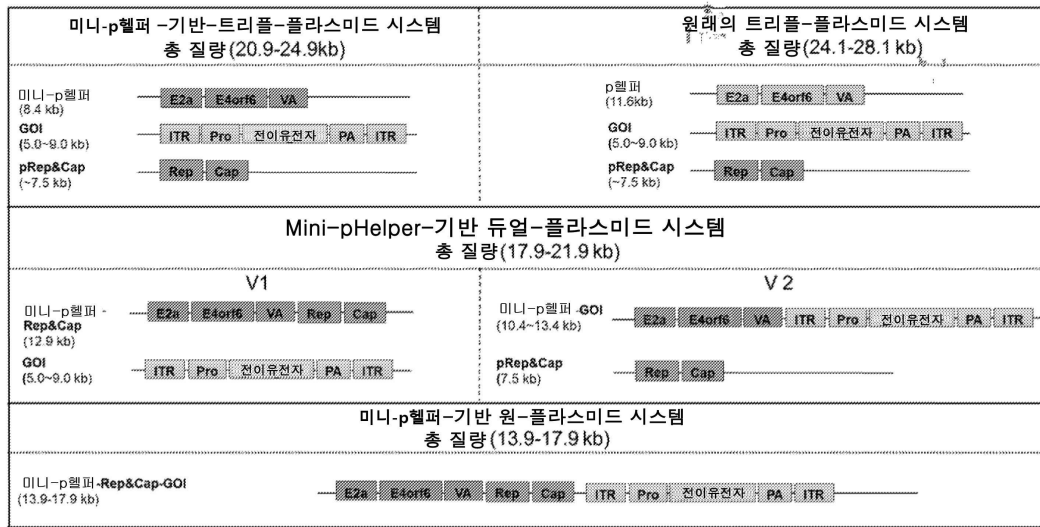
도면5



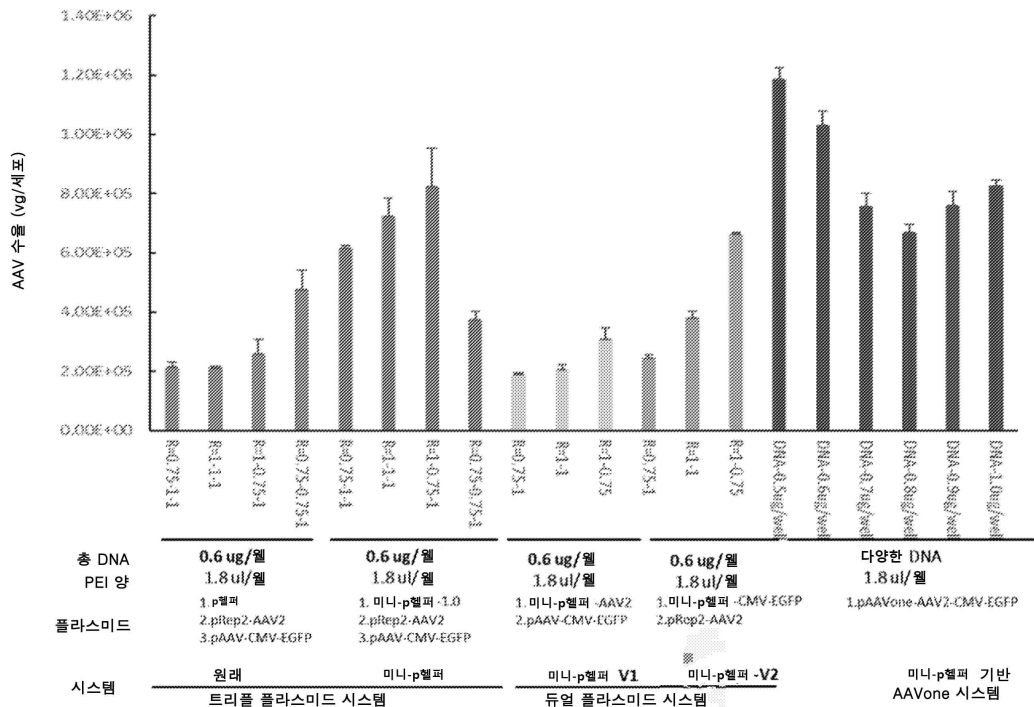
도면6



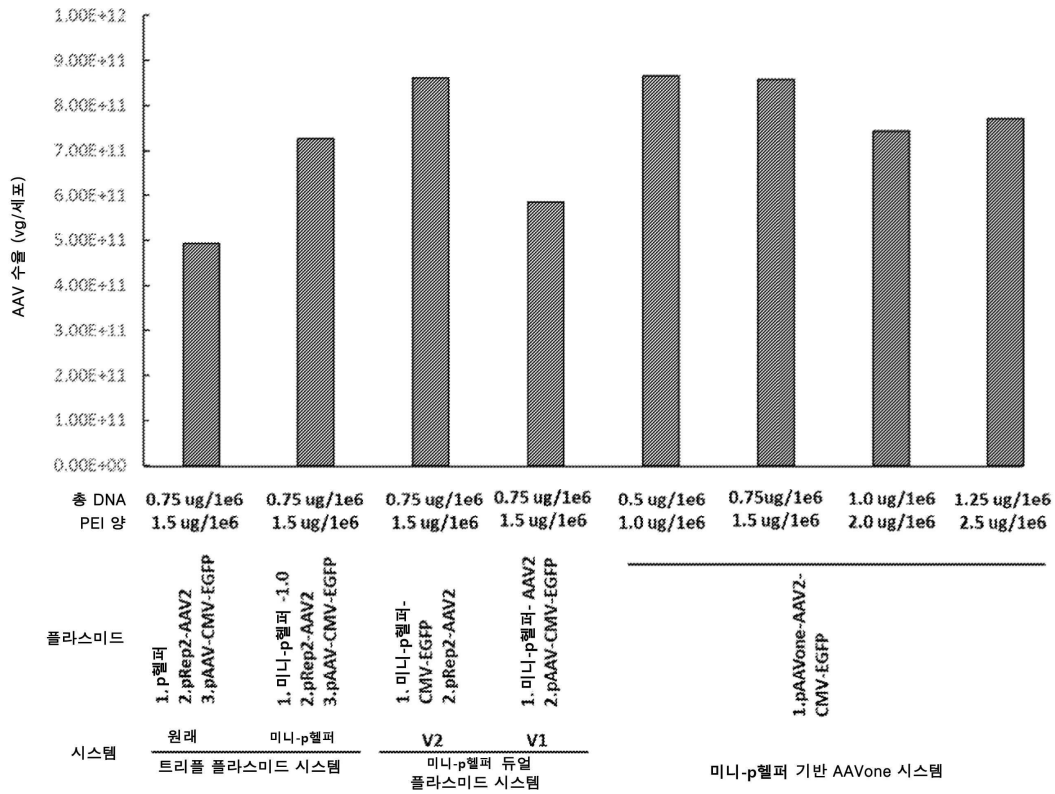
도면7



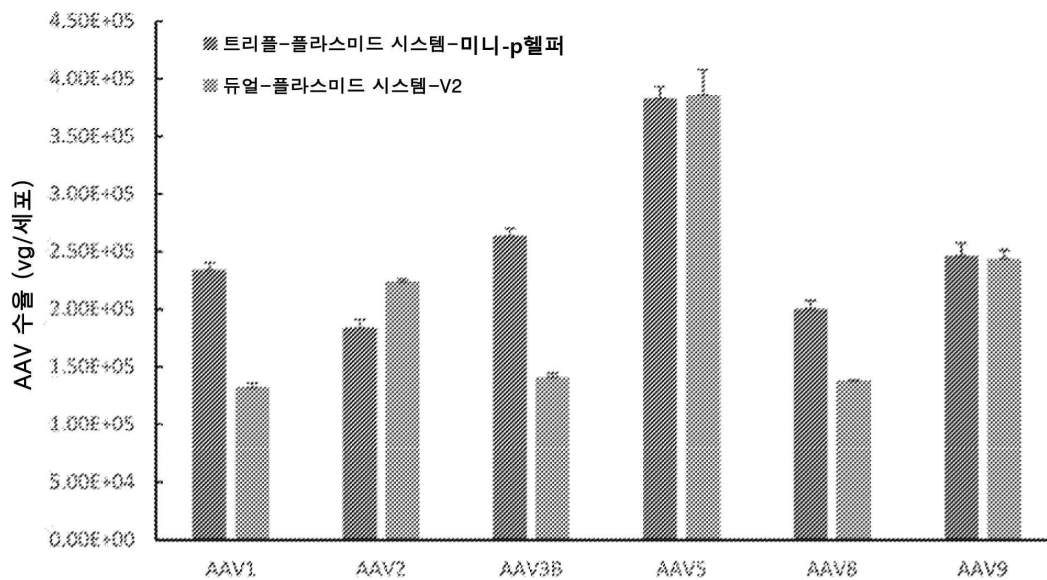
도면8



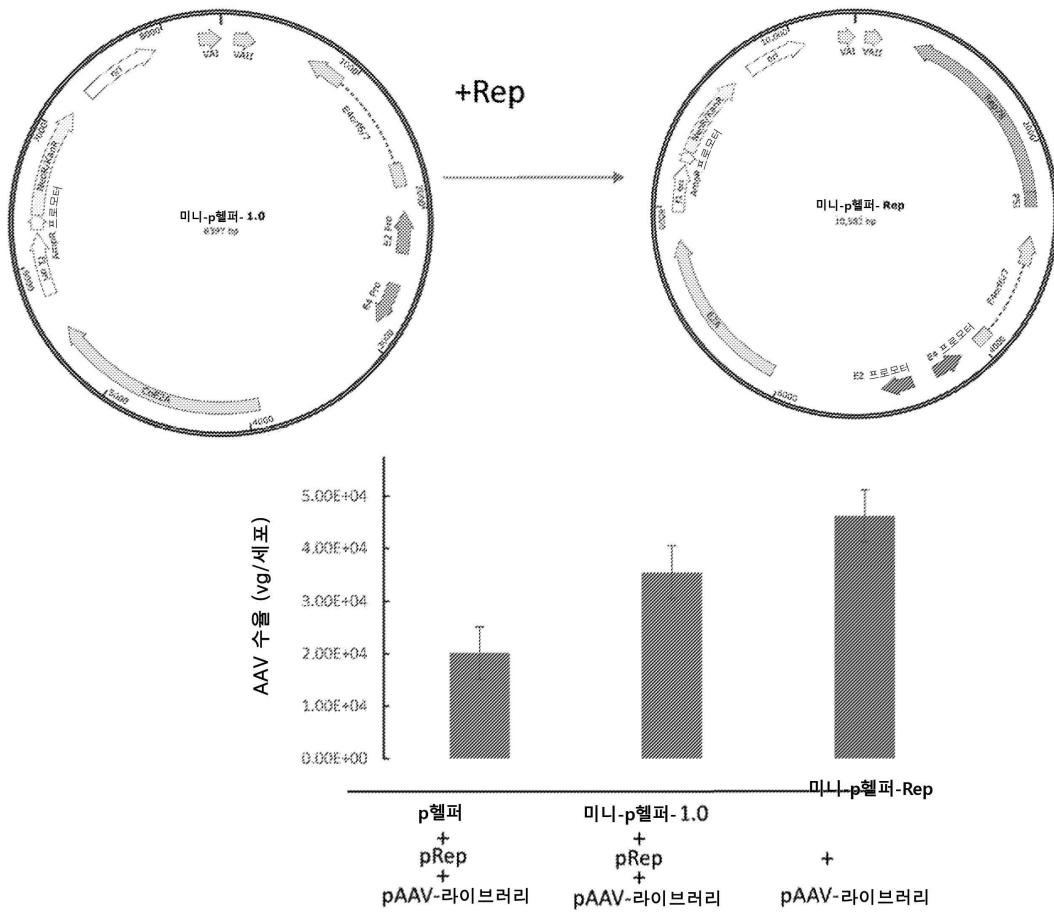
도면9



도면10



도면11



도면12



도면13

P5-AAV2 GGTCTGTATTAGAGGTCA~~CGTGAGTGT~~TTTGCACATTTTGCACACCATGTGGTCACGCTG~~GGTAT~~
 P5I GGTCTGTATTAGAGGTCAACGTGAGTGT~~TTTGCACATTTTGCACACCATGTGGTCACGCTGAGGTAT~~

P5-AAV2 TTAAGCCCGAGTGAGCAGCAAGG~~GT~~CTCCATTTTGAAGCGGAGGTTTGAACCGCAGCCGCC 131 (서열번호:14)
 P5I ATATG6CCGAGTGAGCGAGCAGGATGCAACCTCCATTTTGAC CGCGAAATTTGAACGAGCAGCCGCC 137 (서열번호:15)

	실험 1	실험 2	실험 3	실험 4	실험 5	실험 6	평균 역가 (VG/ml)	rcAAV(VG/ml)
P5-AAV2	5.60E+11	5.97E+11	7.69E+11	3.73E+11	3.79E+11	5.09E+11	5.31±0.15*E+11	
P5I	6.59E+11	6.44E+11	8.00E+11	6.65E+11	6.76E+11	8.60E+11	7.17±0.90*E+11	

도면14a

서열번호:1

D2-1275 bp Ad2 서열

CCCTGGCTTCGGGTTCTATGTAAACTCCTTCATGCGCCGCTGCCCTGATAACATCCACCACCGCAGAA
 TAAGCCACACCCAGCCAACCTACACATTCGTTCTGCGAGTCACACACGGGAGGAGCGGGAAGAGCT
 GGAAGAACCATGTTTTTTTTTTTTTATTCCAAAAGATTATCCAAAACCTCAAAATGAAGATCTATTAAG
 TGAACGCGCTCCCCTCCGGTGGCGTGGTCAAACCTACAGCCAAAGAACAGATAATGGCATTGTAA
 GATGTTGCACAATGGCTTCCAAAAGGCAAACCTGCCCTCACGTCCAAGTGGACGTAAAGGCTAAACCC
 TTCAGGGTGAATCTCCTCTATAAAACATCCAGCACCTTCAACCATGCCCAAATAATTTTCATCTCGCCA
 CCTTATCAATATGTCTCTAAGCAAATCCCGAATATTAAGTCCGGCCATTGTAATAATCTGCTCCAGAG
 CGCCCTCCACCTTCAGCCTCAAGCAGCGAATCATGATTGCAAAAATTCAGGTTCCCTCACAGACCTGTA
 TAAGATTCAAAGCGGAACATTAACAAAAATACCGCGATCCCCTAGGTCCTTCGCAGGGCCAGCT
 GAACATACTGTGCAGGTCTGCACGGACCAGCGCGGCACTTCCCAGGCAAGCAACCATGACAAAAG
 AACCCACACTGATTGACACGCATACTCGGAGCTATGCTAACAGCGTAGCCCTATGTAAGCTTG
 TTGCATGGGCGCGATATAAAATGCAAGGTGCTGCTCAAAAAATCAGGCAAAGCCTCGCGCAAAAA
 AGCAAGCACATCGTAGTCATGCTCATGCAGATAAAGGCGAGTAAGTTCGGGAACCACCACAGAAAA
 AGACACCATTTTTCTCTCAAACATGTCTGCGGGTCTGCTTAAACACAAAAATAAAATAACAAAAAA
 AAAAAATTAAACATTAGAAGCCTGTCTTACAACAGGAAAAACAACCCTTATAAGCATAAGACGGA
 CTACGGCCATGCCGGCGTGACCGTAAAAAACTGGTCACCGTGATTAAAAAGCACCACCGACAGTT
 CCTCGGTGATGTCGGGAGTCATAATGTAAGACTCGGTAACACATCAGGTTGGTTAACATCGGTCAG
 TGCTAAAAAGCGACCGAAATAGCCCGGGGAATACATACCCGAGGCGTAGAGACAACATTACAGC
 CCCCATAGGAGGTATAACAAAATTAATAGGAGAGAAAAACACATAAACACCTGAAAAACCTCCTG
 CC

서열번호:2

D1-711 bp Ad2 서열

CTACATGGGGGTAGAGTCATAATCGTGATCAGGATAGGGCGGTGGTGTGTCAGCAGCGCGCGAA
 TAAACTGCTGCCCGCCGCTCCGTCCTGCAGGAATACAACATGGCAGTGGTCTCCTCAGCGATGAT
 TCGCACCGCCCGCAGCATGAGACGCCTTGTCTCCGGGCACAGCAGCGCACCCCTGATCTCACTTAAA
 TCAGCACAGTAAGTGCAGCACAGCACCAATAATTGTTCAAATCCCACAGTGCAAGGCGCTGTATC
 CAAAGCTCATGGCGGGGACCACAGAACCCACGTGGCCATCATACCACAAGCGCAGGTAGATTAAGT
 GGGCACCCCTCATAAACACGCTGGACATAAACATTACCTCTTTGGCATGTTGTAATTCACCACCTCC
 CGGTACCATATAAACCTCTGATTAACATGGCGCCATCCACCACCATCCTAAACCAGCTGGCCAAAA
 CCTGCCCGCCGGCTATGCACTGCAGGGAACCGGACTGGAACAATGACAGTGGAGAGCCCAGGAC
 TCGTAACCATGGATCATCATGCTCGTCATGATATCAATGTTGGCACAACACAGGCACACGTGCATAC
 ACTTCTCAGGATTACAAGCTCCTCCCGCTCAGAACCATATCCCAGGGAACAACCCATTCTGAATC
 AGCGTAAATCCACACTGCAGGGAAGACCTCGCACGTAACCTCAC

도면14b

서열번호:3

D3-1897 bp Ad2 서열

TACAAATTTGCGAAGGTAAGCCGACGTCCACAGCCCCGGAGTGAGTTTCAACCCCGAGCCGCGGA
 CTTTTCGTCAGGCGAGGGACCCTGCAGCTCAAAGGTACCGATAATTTGACTTTGCTAAGCAGTTGC
 GAATTGCAGACCAGGGAGCGGTGCGGGGTGCATAGGTTGCAGCGACAGTGACACTCCAGTAGGCC
 GTCACCG
 CTCACGTCTTCCATGATGTGCGAGTGGTAGGCAAGGTAGTTGGCTAGCTGCAGAAGGTAGCAGTGA
 CCCCAAAGCGGCGGAGGGCATTACCGTACTTAATGGGCACAAAGTCGCTAGGAAGCGCACAGCA
 GGTGGCGGGCAGAATTCTGAACGCTCTAGGATAAAGTTCCTAAAGTTTTGCAACATGCTTTGACTG
 GTGAAGTCTGGCAGACCCTGTTGCAAGGTTTTAAGCAGGCGTTCCGGGAAGATAATGTCCGCCAGG
 TGCGCGGCCACGGAGCGCTGTTGAAGGCCGCCATAGGTCCTCAAGTTTTGCTTTAGCAGTTCT
 GCAGTCTCTTAGGTTGCGCTCCTCCAGGCATTGCTGCCACACGCCCATGGCCGTTTGCAGGTGTA
 GCACAGAAATAAGTAAACGCAGTCGCGGACGTAGTCGCGGCGCCCTCGCCCTTGAGCGTGGAATG
 AAGCACGTTTTGCCGAGGCGGTTTTCTGTGCAAAATCCAAGGTAGGAGACCAGGTTGCAGAGCTC
 CACGTTGGAATTTTGCAGGCCTGGCGCACGTAGCCCTGGCGAAAGGTGTAGTGCAACGTTTCTCT
 AGCTTGCCTGCATCTCCGGTCCAGCAAAGAACCCTGCATGCACTCAAGCTCCACGGTAACAAGCA
 CTGCGGCATCATTAGCTTGCCTGCTCCTCAAGTCGCGAGGCTCGCGCTCAAGCCAGCGCGC
 CAGCTGCTCATCGCCAACCTGCGGGTAGGCCCTCCTCGTTTGTCTTGCAAGTTTGATCCCTCTCCA
 GGGGTCGTGCACGGCGCACGATCAGCTCGCTCATGACTGTGCTCATAACCTTGGGGGTAGGTTAA
 GTGCCGGGTAGGCAAAGTGGGTGACCTCGATGCTGCGTTTCAGCACGGCTAGGGCGCGGTTGTAC
 CCTCAAGTTCACCAGCACTCCACAGTGACTTTCATTTTCGCTGTTTTCTTGTTCAG

서열번호:4

코돈 최적화된 Ad2 E2a 코딩 서열

ATGGCCAGTCGGGAAGAGGAGCAGCGCAAACACCCCGAGCGCGGACGCGGTGCGGCGCGAC
 GTCCACCAACCATGGAGGACGTGTGTCCTCCCGTCGCCGTCGCCGCGCCTCCCGCGCGCCCCAAA
 AAAGACTGCGGAGACGCTGGAGTCCGAGGACGAGGAAGACAGTCCAGGACGCTCTGGTGC
 CTAGGACACCATCTCCAAGACCCTCACTTCCACCGCCGACCTGGCCATTGCCAGCAAAAAAAGAA
 GAAGAGGCCCTCCCCTAAACCTGAACGACCACCCAGCCCAGAAGTGATCGTGGACTCAGAGGAAGA
 GCGGAGGACGTGCTCTGCAGATGGTGGGATTAGCAATCCACCTGTGCTCATCAAGCACGGCAA
 AGGGGGAAAACGGACCGTGCAGGCTGAACGAGGATGATCCTGTGGCAAGGGGCATGAGGACA
 CAGGAGGAGAAGGAAGTCTCCGAGCCGAGAGCGAGAGCACAGTGATTAATCCACTGTCCCT
 GCCAATTGTGAGCGCTTGGGAGAAGGGAATGGAGGCCGCCCGGGCCCTGATGGACAAGTACCACG
 TGGACAACGACCTGAAGGCTAATTTCAAACCTGCTGCCTGACCAGGTGGAGGCCCTGGCTGCCGTG
 GCAAGACATGGCTGAATGAGGAGCATAGAGGGCTGCAGCTGACCTTTACATCAAACAAGACCTTTG
 TGACCATGATGGGCAGGTTTCTGCAGGCCTACCTGCAATCTTTCGCCGAAGTGACTTACAAGCACA
 CGAGCCCACCGGCTGCGCCCTGTGGCTGCACAGATGCGCCGAGATTGAGGGCGAGCTGAAATGCCT
 GCACGGCTCATCATGATTAACAAGGAGCACGTGATCGAGATGGATGTGACTTCCGAAAACGGCCA
 GCGCGCCCTGAAGGAGCAGTCCAGCAAGGCCAAGATCGTGAAGAACAGGTGGGGCAGGAACGTG
 GTGCAGATTTCTAACACAGACGCCAGATGTTGCGTGCATGACGCCGCTGCCCTGCCAATCAGTTTA
 GCGGCAAGAGCTGCGGAATGTTCTTCAGCGAGGGAGCCAAGGCCAAGTGGCCTTCAAGCAGATC
 AAGGCCCTCATGAAGCCCTGTATCCAATGCCAGACCGGCC

도면14c

ACGGCCACCTCTGATGCCCTGCGCTGCGAATGTAACCTCCAAGCCCGGCCACGCCCTTTCTGGG
 CAGGCAGCTGCCAAAAGTACCCCTTTTGCCTGAGCAACCGCGAAGATCTGGATGCCGATCTGATC
 AGCGACAAGTCCGTGCTGGCCTCCGTTACCACCCCGCCCTGATCGTGTTCCAGTGCTGCAATCCCGT
 GTACAGGAATAGCAGAGCTCAGGGTGGAGGCCCAACTGCGACTTCAAGATCTCCGCCCCAGATCT
 GCTGAACGCTCTCGTGATGGTGGGAGCCTGTGGTCTGAGAACTTACAGAGCTGCCCGCATGGT
 GGTGCCCGAGTTCAAGTGGAGACTAAGCATCAGTACCGGAATGTGTCTCTGCCCGTGGCCACTCT
 GACGCCAGACAGAATCCTTTTGACTTCTGA

서열번호:5

야생형 Ad2 E2a 아미노산 서열

MASREEEQRETTPERGRGAARRPPTMEDVSSPSPSPPPRAPPKRLRRRLESEDEEDSSQDALVPRTPS
 PRPSTADLAIASKKKRPSKPERPPSPEVIVDSEEREDVALQMVGFNPPVLIKHGKGGKRTVRRLL
 NEDDPVARGMRTQEEKEESEAESESTVINPLSLPIVSAWEKGM EAARALMDKYHVDNDLKANFKLLPD
 QVEALAAVCKTWLNEEHRGLQLTFTSNKTFVTMMGRFLQAYLQSF AEVTKHHEPTGCALWLHRC AEI
 EGELKCLHGSIMINKEHVIEMDVTS ENQRALKEQSSKAKIVKNRWGRNVVQISNTDARCCVHDAACP
 ANQFSGKSCGMFFSEGAQAQVAFKQIKAFMQALYPNAQTGHGHLLMPLRCECNSKPGHAPFLGRQLP
 KLTPFALSNAEDLDADLISDKSVLASVHHPALIVFQCCNPVYRNSRAQGGGPNCDFKISAPDLLNALVMV
 RSLWSENFTLEPRMVVPEFKWSTKHQYRNVSLPVAHSDARQNPFD*

서열번호:6

미니-p헬퍼 플라스미드 서열

GGATCCATCGCGCCTGTAGCGGCGCATTAAAGCGCGCGGGTGTGGTGGTTACGCGCAGCGTGACC
 GCTCACTTGCCAGCGCCCTAGCGCCGCTCCTTTTCGCTTTCTCCCTTCTCGCCACGTTTCGCC
 GGCTTTCCCGTCAAGCTCTAAATCGGGGGCTCCCTTAGGGTTCGATTTAGTGCTTACGGCACCT
 CGACCCCAAAAACTTGATTAGGGTGTGGTTCACGTAGTGGGCCATCGCCCTGATAGACGGTTTTT
 CGCCCTTGACGTTGGAGTCCACGTTCTTAAATAGTGGACTCTGTTCAAACTGGAACAACACTCAA
 CCCTATCTCGGTCTATTCTTTGATTTATAAGGGATTTTCCGATTTCCGGCTATTGGTTAAAAAATGA
 GCTGATTTAACAAAAATTAACGCGAATTTAACAAAATATTAACGCTTACAATTTAGGTGGCACTTT
 TCGGGGAAATGTGCGCGGAACCCCTATTTGTTATTTTCTAAATACATTCAAATATGTATCCGCTCA
 TGAGACAATAACCTGATAAATGCTTCAATAATATTGAAAAAGGAAGATGATTGAACAAGATG
 GATTGCACGCAGGTTCTCCGGCCGCTTGGGTGGAGAGGCTATTCGGCTATGACTGGGCACAACAGA
 CAATCGGCTGCTCTGATGCCGCCGTGTTCCGGCTGTGAGCGCAGGGGCGCCCGGTTCTTTTGTCAA
 GACCGACCTGTCGGGTGCCCTGAATGAACTGCAAGACGAGGCAGCGCGGCTATCGTGGCTGCCAC
 GACGGCGGTTCTTTCGCGAGCTGACTCGACGTTGCTCACTGAAGCGGGAAGGGACTGGCTGCTATT
 GGGCGAAGTGCCGGGGCAGGATCTCCTGTCATCTCACCTTGCTCCTGCCGAGAAAGTATCCATCATG
 GCTGATGCAATGCGGCGGCTGCATACGCTTGATCCGGCTACCTGCCATTGACCACCAAGCGAAAC
 ATCGCATCGAGCGAGCACGTA CTGATGGAAGCCGGTCTTGTGATCAGGATGATCTGGACGAAG
 AGCATCAGGGGCTCGCGCCAGCCGAACTGTTCCGCGAGGCTCAAGGCGAGCATGCCCGACGGCGAG
 GATCTCGTCGTGACCCATGGCGATGCCTGCTTCCCGAATATCATGGTGGAAAAATGGCCGCTTTTCTG
 GATTATCGACTGTGGCCGGCTGGGTGTGGCGGACCGCTATCAGGACATAGCGTTGGCTACCCGTG
 ATATTGCTGAAGAGCTTGGCGCGAATGGGCTGACCGCTTCTCTGTG

도면14d

CTTTACGGTATCGCCGCTCCCGATTGCGAGCGCATCGCCTTCTATCGCCTTCTTGACGAGTTCCTCTGA
 CTGTCAGACCAAGTTTACTCATATATACTTTAGATTGATTTAAAACCTCATTTTTAATTTAAAAGGATC
 TAGGTGAAGATCCTTTTTGATAATCTCATGACCAAAATCCCTAACGTGAGTTTTCTGTTCCACTGAGC
 GTCAGACCCCGTAGAAAAGATCAAAGGATCTTCTTGAGATCCTTTTTCTGCGCGTAATCTGCTGCT
 TGCAAAACAAAAACCACCGCTACCAGCGGTGTTGTTTGCCGGATCAAGAGCTACCAACTCTTTT
 TCCGAAGGTAAGTGGCTTACGACAGAGCGCAGATACCAAATACTGTTCTTAGTGTAGCCGTAGTTA
 GGCCACCCTTCAAGAAGTCTGTAGCACCCTACATACTCGCTCTGCTAATCCTGTTACCAGTGGC
 TGCTGCCAGTGGCGATAAGTCGTGTCTTACCGGGTTGGACTCAAGACGATAGTTACCGGATAAGGC
 GCAGCGGTGGGGTGAACGGGGGTTCTGTGCACACAGCCAGCTTGGAGCGAACGACTACACCG
 AACTGAGATACCTACAGCGTAGCTATGAGAAAAGCGCCACGCTTCCGAAAGGGAGAAAGGCGGAC
 AGGTATCCGGTAAGCGGCAGGGTCGGAACAGGAGAGCGCACGAGGGAGCTTCCAGGGGAAAACG
 CCTGGTATCTTTATAGTCTGCGGTTTCGCCACCTCTGACTTGAGCGTGCATTTTTGTGATGCTCGT
 CAGGGGGGGCGGAGCTTGAAGAAAACGCCAGCAACGCGGCTTTTTACGGTTCCTGGCCTTTTGCT
 GGCTTTTTGCTCACATGTTCTTCTGCGTTATCCCTGATTCTGTGGATAACCGTATTACCGCCTTTG
 AGTGAGCTGATCATATGGTTTAAACGTCGACGTAATCCGTAGATGTACCTGGACATCCAGGTGATGC
 CGGCGGCGGTGGTGGAGGCGCGGAAAGTCGCGGACGCGGTTCCAGATGTTGCGCAGCGGCAA
 AAAGTGCTCCATGGTCGGGACGCTCTGGCCGGTGAGGCGTGCAGTCGTTGACGCTTAGACCGT
 GCAAAGGAGAGCCTGTAAGCGGGCACTCTCCGTGGTCTGGTGGATAAATTCGCAAGGGTATCAT
 GGCGGACGACCCGGGTTTCGAACCCCGGACTCCGGCGTCCGCCGTGATCCATGCGGTTACCGCCCGC
 GTGTCGAACCCAGGTGTGCGACGTCAGACAACGGGGGAGCGCTCTTTTGGCTTCTTCCAGGCGC
 GGCGGCTGCTGCGTAGCTTTTTGGCCACTGGCCGCGCGCGGCGTAAGCGTTAGGCTGGAAAAGC
 GAAAGCATTAAAGTGCTCGCTCCCTGTAGCCGGAGGGTATTTTTCAAGGGTTAGTTCGAGGACC
 CCCGTTTCGAGTCTCGGGCCGGCCGACTGCGGCGAACGGGGTTTGCCTCCCGCTCATGCAAGAC
 CCCGTTGCAAATTCCTCCGAAACAGGGACGAGCCCTTTTTGCTTTTCCAGATGCATCCGGTGC
 TGCGGCAGATGCGCCCCCTCTCAGCAGCGGCAAGAGCAAGAGCAGCGGCAGACATGCAGGGCA
 CCTCCCTTCTCCTACCGGTCAGGAGGGGCAACATCCTACATCGATTCTAGTGAATCCACAGAAAC
 TAGCGAGGTAAGCACTTACTCTATGCTTTTACATGGTCTGGGAAAGTGGAATAACACCACTGAA
 ACTTTTGCTACCAACTCTTACACCTTCTCCTACATTGCCAGGAATAAAGAATCGTGAACCTGTTGCAT
 GTTATGTTTCAACGTGTTTATTTTTCAATTGCAGAAAATTTCAAGTCATTTTTATTAGTATAGC
 CCCACCACCATAGCTTATATTGATCACCGTACCTTAATCAAACCTCACAGAACCCTAGTATTCAACCT
 GCCACCTCCCTCCCAACACACAGAGTACACAGTCTTTCTCCCGGCTGGCCTTAAAAAGCATCATAT
 CATGGGTAAACAGACATATTTAGGTGTTATATCCACACGGTTTCTGTGCGAGCCAAACGCTCATCA
 GTGATATTAATAAACTCCCGGGCAGCTCGCTTAAAGTTCATGTCGCTGCCAGCTGCTGAGCCACAG
 GCTGCTGTTCAACTTGGGGTTGCTCAACGGGCGGCGAAGGGAAAGTCCACGCGTTGTGATTGTCA
 AAGTGTACATTCGGGCAGCAGCGGATGATCCTCCAGTATGGTAGCGGGTCTCTGTCTCAAAG
 GAGGTAGGCGATCCCTACTGTACGGAGTGCGCCGAGACAACCGAGATCGTGTGGTGTAGTGTCA
 TGCCAAATGAAACGCCGACGTAGTATATTTCTGAAGCAAACAGGTGCGGCTGACAAACA
 GATCTGCGTCTCCGGTCTGGTCTGCTTAGCTCGCTCTGTGTAGTAGTTGTAGTATATCCACTCTCTCAA
 AGCATCCAGGCGCTAGGCAAAATAGCACCTCCCGCTCCAGAACAACATACAGCGCTTCCACAGCG
 GCAGCCATAACAGTACGCTTACCAGTAAAAAAACCTATTAATAAACACCACTCGACACGGCACCCAG
 CTCAATCAGTACAGTGTAAAAAGGGCCAAGTACAGAGCGAGTATATAGGACTAAAAAATGACG
 TAACGGTTAAAGTCCACAAAAACCCAGAAAACCGCACGCAACCTACGCCAGAAAACGAAAGC
 CAAAAACCCACAACCTCTCAAATCTTCACTTCCG

도면14e

TTTTCCACGATACGTCACTTCCCATTTAAAAAACTACAATTCCAATACATGCAAGTACTCCGCC
 CTAANAACGCCGGGCGACCCGACCCTGTGACGAAAGCCGCCGCAAGCTGCGCCCTGAGTTAGTC
 ATCTGAACTTCGGCCTGGGCGTCTCTGGGAAGTACCACAGTGGTGGGAGCGGGACTTTCCTGGTAC
 ACCAGGGCAGCGGGCCAACACGGGGATTAAGGTTATTACGAGGTGTGGTGGTAATAGCCGCTGT
 TCGAGGAGAATTCCGGTTTCGGTGGGCGCGGATTCCGTTGACCCGGGATATCATGTGGGGTCCCGCG
 CTCATGTAGTTTATTCGGGTTGAGTAGTCTTGGGCAGCTCCAGCCGCAAGTCCCATTTGTGGCTGGT
 AACTCCACATGTAGGGCGTGGGAATTTCTTGTGCATAAATGGCGCTGACGACAGGTGCTGGCGCCG
 GGTGTGGCCGCTGGAGATGACGTAGTTTTCGCGCTTAAATTTGAGAAAGGGCGCGAAACTAGTCTT
 TAAGAGTCAGCGCGCAGTATTTGCTGAAGAGAGCCTCCGCGTCTTCCAGCGTGCGCCGAAGCTGAT
 CTTCCGTTTTGTGATACAGGCAGCTGCGGGTGAGGGAGCGCAGAGACCTGTTTTTATTTTCAGCTC
 TTGTTCTTGGCCCTGCTTTGTTGAAATATAGCATACAGAGTGGGAAAAATCCTATTTCTAAGCTCGC
 GGGTCGATACGGGTTCTGTTGGGCGCCAGACGCGCTCCTCCTCTGCTGCTGCCGCCGCTGTGG
 ATTTCTTGGGCTTTGTGAGAGTCTTGCTATCCGGTCCGCTTTGCTTCTGTGTGACCCGCTGCTGTTGCTG
 CCGCTGCCGCTGCCGCCGGTGCAGTAGGGGCTGTAGAGATGACGGTAGTAATGCAGGATGTTACG
 GGGGAAGGCCACGCCGTGATGGTAGAGAAGAAAGCGCGGGCGAAGGAGATGTTGCCCCACAG
 TCTTGCAAGCAAGCAACTATGGCGTTCTTGTGCCCGGCCACGAGCGGTAGCCTTGGCGCTGTTGTT
 GCTCTTGGGCTAACGGCGCGGCTGCTTAGACTTACCGGCCCTGGTTCAGTGGTGTCCCATCTACG
 GTTGGGTCGGCGAACAGGCAGTGCCGGCGGCGCCTGAGGAGCGGAGGTTGTAGCGATGCTGGGA
 ACGGTTGCCAATTTCTGGGGCGCCGCGGAGGGGAATGCGACCGAGGGTGACGGTGTTCGCTGA
 CACCTCTTCGGCTCGGAAGTTCGCTTAGGCTGTCCAGTCTTCCATCATCTCCTCCTCGTCCAA
 AACCTCCTCTGCCTGACTGTCCAGTATTCTCCTCGTCCGTGGGTGGCGGGCGGGCAGCTGCAGC
 TTCTTTTTGGGTGCCATCTGGGAAGCAAGGGCCCGCGGCTGCTGATAGGGCTGCGGCGGGCGGG
 GGATTGGGTTGAGTCTCTCGCCGACTGGGGTCCAGGTAACCCCCCTCCCTTTGCTAGCAGAA
 ACTCTTGGCGGGCTTTGTTGATGGCTTGCAATTTGGCCAAGGATGTGGCCCTGGGTAATGACGCAGG
 CGGTAAGCTCCGCAATTTGGCGGGCGGGATTGGTCTTCTGAGAACCTAATCTCGTGGGCGTGGTAGT
 CCTCAGGGAGAAGGAAATGGCCAGTCGGGAAGAGGAGCAGCGCGAAACCACCCCGAGCGCGGA
 CGCGGTGCGGCGCGACGTCCACCAACCATGGAGGACGTGTCGTCGCCGTCGCGCTCGCCGCGCCT
 CCCCAGCGCCCCCAAAAAGAGACTGCGGAGACGCTGGAGTCCGAGGACGAGGAAGACAGTTC
 CCAGGACGCTCTGGTGCCTAGGACACCATCTCCAAGACCTCCACTTCCACC GCCGACCTGGCCATT
 GCCAGCAAAAAAAGAAGAAGAGGCCCTCCCCTAAACCTGAACGACCACCCAGCCAGAAGTGATC
 GTGGACTCAGAGGAAGAGCGCGAGGACGTCGCTCTGCAGATGGTGGGATTACAGCAATCCACCTGT
 GCTCATCAAGCACGGCAAAAGGGGAAAACGGACCGTGCAGGCTGAACGAGGATGATCCTGTGG
 CAAGGGGCATGAGGACACAGGAGGAGAAGGAAGAATCCTCGAGGCCGAGAGCGAGAGCACAGT
 GATTAATCCACTGTCCCTGCCAATTGTGAGCGCTTGGGAGAAGGGAATGGAGGCCGCCGGGCCCT
 GATGGACAAGTACCAGTGGACAACGACCTGAAGGCTAATTTCAAAGTCTGCTGACCCAGGTGGA
 GGCCCTGGCTGCGGTGTGCAAGACATGGCTGAATGAGGAGCATAGAGGGCTGCAGCTGACCTTTAC
 ATCAAACAAGACCTTTGTGACCATGATGGGCAGGTTTCTGAGGCCTACCTGCAATCTTTCGCCGAA
 GTGACTTACAAGCACCACGAGCCACCCGGCTGCGCCCTGTGGCTGCACAGATGCGCCGAGATTGAG
 GCGGAGCTGAAATGCTGCACGGCTCTATCATGATTAACAAGGAGCACGTGATCGAGATGGATGTG
 ACTTCGAAAAACGGCAGCGCCCTGAAGGAGCAGTCCAGCAAGGCCAAGATCGTGAAGAACAG
 GTGGGGCAGGAACGTGGTGCAGATTTCTAACACAGACGCCAGATGTTGCGTGCATGACGCCGCTG
 CCCTGCCAATCAGTTTAGCGGCAAGAGCTGCGGAATGT

도면14f

TCTTCAGCGAGGGAGCCAAAGGCGCAAGTGGCCTTCAAGCAGATCAAGGCCTTCATGCAAGCCCTGT
 ATCCAAATGCCAGACCGGCCACGGCCACCTCCTGATGCCCCCTGCGCTGCGAATGTAACCTCAAGCC
 CGGCCACGCCCTTTCTGGGCAGGCAGCTGCCAAAAGTACCCCTTTTGGCCTGAGCAACGCCGAA
 GATCTGGATGCCGATCTGATCAGCGACAAGTCCGTGCTGGCCTCCGTTACCACCCCGCCCTGATCG
 TGTTCCAGTGCTGCAATCCCGTGTACAGGAATAGCAGAGCTCAGGGTGGAGGCCCAACTGCGACT
 TCAAGATCTCCGCCAGATCTGCTGAACGCTCTCGTGATGGTGCAGGAGCCTGTGGTCTGAGAACTT
 CACAGAGCTGCCCGCATGGTGGTGGCCGAGTTCAAGTGGAGCACTAAGCATCAGTACCGGAATGT
 GTCTCTGCCCGTGGCCACTCTGACGCCAGACAGAATCCTTTTACTTCTGAACGGCGCAGACGGCA
 AGGGTGGGGGTAAATAATCACCCGAGAGTGTACAAATAAAAACATTTGCCTTTATTGAAAGTGTCT
 CCTAGTACATTTATTTTACATGTTTTTCAAGTGACAAAAGAAGTGGCGCTCCTAATCTGCGCACTGT
 GGCTGCGGAAGTAGGGCGAGTGGCGCTCCAGGAAGCTGTAGAGCTGTTCTGTTGCGACGCAGG
 GTGGGCTGTACTGGGGACTGTTAAGCATGGAGTTGGGTACC

서열번호:7

코돈 최적화된 Ad2 E4orf6/7 코딩 서열

ATGACCACAAGCGCGTGCCTTTGGCATGACCCTGAGGCCAACAGGAGCAGGCTGTCCAGACGC
 ACACCATACAGCAGGGACCGCTGCCTCCTTTGAGACAGAGACCAGAGCCACTATCCTCGAGGAT
 CATCCTCTGCTGCTGAGTGAATACTGACCATGCACAATGCTGGACCTCCCTTCCCCCGGT
 GGAACAGCCACAGGTGGGACAGCAGCCTGTGGCCAGCAGCTGGACAGCGACATGAACCTGAGCG
 AACTGCCCGGCGAGTTCATCAATATCACCGACGAGAGACTGGCCAGACAGGAGACCGTGTGGAATA
 TCACCCCAAAAATATGAGCGTGACCCACGACATGATGCTGTTCAAAGCCAGCCGGGGCGAGAGAA
 CCGTGTACAGCGTGTGCTGGGAGGGCGGCGGAAGACTGAATACTAGGGTGTGTGA

서열번호:8

야생형 Ad2 E4orf6/7 아미노산 서열

MTTSGVPFGMTLRPSTRSRLSRTPYSRDRLPPEFETETRAILEDHPILLPECNTLTMHNAWTSPPVVEQP
 QVGGQPVAQQLDSDMNLSELPGEFINITDERLARQETVWNITPKNMSVTHDMMLFKASRGERTVYSV
 CWEGGGRLNTRVL*

서열번호:9

미니 p헬퍼 1.0

TTTGGCTTCTTCCAGGCGCGGGCTGCTGCGCTAGCTTTTTTGGCCACTGGCCCGCGCGGGCGTA
 AGCGGTTAGGCTGGAAAGCGAAAGCATTAAAGTGGCTCGCTCCCTGTAGCCGGAGGGTTATTTTCCA
 AGGGTTGAGTGCAGGACCCCGTTGAGTCTCGGGCCGGCCGACTGCGGCGAACGGGGGTTT
 GCCTCCCCGTCATGCAAGACCCCGCTTCAAATCCTCCGAAACAGGGACGAGCCCTTTTTTGTCTT
 TTCCAGATGCATCCGGTGTGCGGCAGATGCGCCCCCTCCTCAGCAGCGGCAAGAGCAAGAGCA
 GCGGCAGACATGCAGGGCACCTCCCTTCTCCTACCGCTCAGGAGGGGCAACATCCTACATCGAT
 TCTAGTGAATCCACAGAACTAGCGAGGTAAGCACTTACTCTATGTCTTTACATGGTCCTGGGAAA
 GTGGAAAATACACCACTGAACTTTTGTACCAACTTTACACCTTCTCCTACATTGCCAGGAATAA
 AGAATCGTGAACCTGTTGCATGTTATGTTTCAACGTGTTTATTTTCAATTGCAGAAAATTTCAAGTC
 ATTTTTATTTCAGTAGTATAGCCCCACCACATAGCTTATATTGATCACCGTACCTTAATCAAACCTC
 ACAGAACCCTAGTATTCAACCTGCCA

도면14g

CCTCCCTCCCAACACACAGAGTACACAGTCCTTTCTCCCGGCTGGCCTTAAAAAGCATCATATCATG
GGTAACAGACATATTCTTAGGTGTTATATTCCACACGGTTTCTGTGCGAGCCAAACGCTCATCAGTGA
TATTAATAAACTCCCGGGCAGCTCGCTTAAGTTCATGTGCGTGTCCAGCTGTGAGCCACAGGCTG
CTGTCCAACCTGCGGTTGCTCAACGGGCGGCGAAGGGGAAAGTCCACGCCTACATGGGGGTAGAGTC
ATAATCGTGCATCAGGATAGGGCGGTGGTGTGTCAGCAGCGCGCAATAAACTGCTGCCGCCGCG
CTCCGTCTGCAGGAATACAACATGGCAGTGGTCTCCTCAGCGATGATTGACCCGCCCGCAGCATG
AGACGCCTTGTCTCCGGGCACAGCAGCGCACCCCTGATCTCACTTAAATCAGCACAGTAACTGCAGC
ACAGCACCAATAATTGTTCAAATCCACAGTGAAGGCGCTGTATCCAAAGCTCATGGCGGGGAC
CACAGTCCACGTTGGCC
ATCATACCACAAGCGCAGGTAGATTAAGTGGCGACCCCTCATAAACACGCTGGACATAAACATTACC
TCTTTGGCATGTTGTAATTCACCACCTCCCGGTACCATATAAACCTCTGATTAAACATGGCGCCATCC
ACCACCTCTAAACCAGCTGGCCAAAACCTGCCCGCGGCTATGCACTGCAGGGAACCGGGACTG
GAACAATGACAGTGGAGAGCCAGGACTCGTAACCATGGATCATCATGCTCGTCATGATATCAATGT
TGGCACAACACAGGCACACGTGCATACACTTCTCAGGATTACAAGTCTCTCCCGCGTCAGAACCAT
ATCCAGGGAACAACCCATTCTGAATCAGCGTAAATCCCACTGCAGGGAAGACCTCGCACGTAA
CTCACGTTGTGCTTCAAAAGTGTACATTGGGCAGCAGCGGATGATCCTCCAGTATGGTAGCGC
GGGTCTGTCTCAAAGGAGGTAGGGGATCCCTACTGTACGGAGTGCGCCGAGACAACCGAGATC
GTGTTGGTGTAGTGTATGCCAAATGGAACGCCGGACGTAGTCAATTTCTGAAGCAAAACCG
GTGCGGGCGTGACAAACAGATCTCGGTCTCCGGTCTCGTGGCTTAGCTCGCTGTGTAGTAGTTGT
AGTATATCCACTCTCTCAAAGCATCCAGGCGCTAGGCAAAATAGCACCCCTCCCGCTCCAGAAAC
ATACAGCGCTTCCACAGCGGCAGCCATAACAGTCAAGCCTTACCAGTAAAAAACCTATTAAAAAACA
CCACTCGACACGGCACCAGCTCAATCAGTCACAGTGTAAAAGGGCCAAGTACAGAGCGAGTATAT
ATAGGACTAAAAATGACGTAACGGTTAAAGTCCACAAAAACACCAGAAAACCGCACGCGAACC
TACGCCAGAAACGAAAGCCAAAAACCCACAACCTTCTCAAATCTTCACTTCCGTTTTCCACGATA
CGTCACTTCCATTTAAAAAACTACAATCCCAATACATGCAAGTACTCCGCCCTAAAACGCCCG
GGCAGCCGACCCTGTGACGAAAGCCCGCCGCAAGCTGCGCCCTGAGTTAGTCATCTGAACTTCG
GCCTGGGCGTCTCTGGGAAGTACCACAGTGGTGGGAGCGGGACTTTCTGGTACACCAGGGCAGC
GGGCCAACTACGGGGATTAAGGTTATTACGAGGTGTGGTGGTAAAGCCGCTGTTTCGAGGAGAAT
TCGGTTTCGGTGGGCGCGGATTCCGTTGACCCGGGATATCATGTGGGGTCCCGCGCTCATGTAGTTT
ATTCGGGTTGAGTAGTCTTGGGCGAGCTCCAGCCGCAAGTCCATTTGTGGCTGGTAACCTCCACATGT
AGGGCGTGGGAATTTCTTGTCTATAATGGCGCTGACGACAGGTGTGGCGCCGGGTGTGGCCGCT
GGAGATGACGTAGTTTTTCGCGCTTAAATTTGAGAAAAGGGCGCGAACTAGTCTTAAGAGTCAGCG
CGCAGTATTTGCTGAAGAGAGCCTCCGCGTCTTCCAGCGTGCGCCGAAGCTGATCTTCGCTTTTGTG
ATACAGGACGTGCGGGTGAAGGAGCGCAGAGACCTGTTTTTATTTTACGCTCTTGTCTTGGCCC
CTGCTTTGTTGAAATATAGCATAACAGAGTGGGAAAAATCCTATTTCTAAGCTCGCGGGTGCATACGG
GTTGTTGGGCGCCAGACGCGCTCTCTCTCTGCTGCTGCCGCCGCTGTGGATTCTTGGGCTTT
GTCAGAGTCTTGTATCCGGTCCCTTTGCTTCTGTGTGACCGCTGCTGTTGCTGCCGCTGCCGCTGC
CGCCGGTGCAGTAGGGGCTGTAGAGATGACGGTAGTAATGCAGGATGTTACGGGGGAAGGCCACG
CCGTGATGGTAGAGAAGAAAGCGGGCGGCGAAGGAGATGTTGCCCCACAGTCTTGAAGCAAGC
AACTATGGCGTTCTTGTGCCCGCCACGAGCGGTAGCCTTGGCGCTGTTGTTGCTCTTGGGCTAAC
GGCGGGGCTGCTTAGACTTACCGCCCTGGTCCAGTGGTGTCCCATCTACGGTTGGGTGGCGGA
ACAGGACGTGCCGGCGCGCTGAGGAGCGGAGGTTGTAGCGATGCTGGGAACGGTTGCCAATTT
CTGGGGCGCCGCGAGGGGAATGCGACCGAGGGTACGGTGTTCGCTGACACCTCTTCGGCCTC
GAAAGCTTCGTCTAGGCTG

도면14h

TCCCAGTCTTCCATCATCTCCTCCTCCTCGTCCAAAACCTCCTCTGCCTGACTGTCCCAGTATTCTCCT
CGTCCGTGGGTGGCGGGCGGCGGACGTGCAGCTTCTTTTTGGGTGCCATCCTGGGAAGCAAGGGCC
CGCGGTGCTGATAGGGCTGCGGGCGGGGGGATTGGGTTGAGCTCCTCGCCGGACTGGGGGTC
CAGGTAAACCCCGTCCCTTCGTAGCAGAACTCTTGGCGGGCTTTGTTGATGGCTTGAATTGG
CCAAGGATGTGGCCCTGGGTAATGACGCAGGCGGTAAGCTCCGCATTTGGCGGGCGGGATTGGTCT
TCGTAGAACCTAATCTCGTGGCGTGGTAGTCTCAGGGAGAAGGAAATGGCCAGTCGGGAAGAG
GAGCAGCGCAAAACACCCCGAGCGCGGACGCGGTGCGGCGGACGTCCACCAACCATGGAGGA
CGTGTCTCCCCGTCGCGCTCGCCGCCCTCCCCGCGGCCCCAAAAAGAGACTGCGGAGACG
CCTGGAGTCCGAGGACGA
GGAAGACAGTTCAGGACGCTCTGGTGCCTAGGACACCATCTCCAAGACCCTCCACTTCCACCGCC
GACCTGGCCATTGCCAGCAAAAAAAGAAGAAGAGGGCCCTCCCTAAACCTGAACGACCACCCAGC
CCAGAAGTGTGCTGGACTCAGAGGAAGAGCGGAGGACGCTGCTCTGCAGATGGTGGGATTGAG
CAATCCACCTGTGCTCATCAAGCACGGCAAAAGGGGAAAAACGGACCGTGCAGGCTGAACGAGG
ATGATCTGTGGCAAGGGGATGAGGACACAGGAGGAGAAGGAAGAATCTCCGAGGCCGAGAG
CGAGAGCACAGTGATTAATCACTGTCCCTGCCAATTGTGAGCGCTTGGGAGAAGGGAATGGAGGC
CGCCCGGGCCCTGATGGACAAGTACCACGTGGACAACGACCTGAAGGCTAATTTCAAACCTGCTGCCT
GACCAGTGGAGGCCCTGGCTGCCGTGTGCAAGACATGGTGAATGAGGAGCATAGAGGGGTGCA
GCTGACCTTTACATCAAAACAAGACCTTTGTGACCATGATGGGCAGGTTTCTGCAGGCCACCTGCAA
TCTTTCGCGGAAGTGACTTACAAGCACGACGACCCACCGCTGCGCCCTGTGGTGCACAGATGCG
CCGAGATTGAGGGCGAGCTGAAATGCCTGCACGGCTCTATCATGATTAACAAGGAGCACGATCG
AGATGGATGTGACTTCCGAAAACGGCCAGCGGCCCTGAAGGAGCAGTCCAGCAAGGCCAAGATC
GTGAAGAACAGGTGGGGCAGGAACGTGGTGCAGATTTCTAACACAGACGCCAGATGTTGCGTGCA
TGACCGCGCTGCCCTGCCAATCAGTTTAGCGGCAAGAGCTGCGGAATGTTCTCAGCGAGGGAGC
CAAGGCGCAAGTGGCCTTCAAGCAGATCAAGGCCCTTATGCAAGCCCTGTATCCAATGCCAGACC
GGCCACGGCCACCTCCTGATGCCCTGCGCTGCGAATGTAACCTCAAGCCCGGCCACGCCCCCTTCC
TGGGCAGGCGAGTGCAAAACCTGACCCCTTTTGCCTGAGCAACGCCGAAGATCTGGATGCCGATCT
GATCAGCGACAAGTCCGTGCTGGCCTCCGTTACCACCCCGCCCTGATCGTGTCCAGTGCTGCAAT
CCCGTGTACAGGAATAGCAGAGCTCAGGGTGGAGGCCCAACTGCGACTTCAAGATCTCCGCCCA
GATCTGCTGAACGCTCTCGTGTGTTGCGGAGCCTGTGGTCTGAGAACTTACAGAGCTGCCCGC
ATGGTGGTGCCTGAGTTCAAGTGGAGCACTAAGCATCAGTACCGGAATGTGTCTCTGCCCGTGGCC
CACTCTGACGCCAGACAGAATCCTTTGACTTCTGAACGGCGCAGACGGCAAGGGTGGGGGTAAA
TAATCACCCGAGAGTGTACAAATAAAAAACATTTGCCTTTATTGAAAGTGTCTCCTAGTACATTATTTT
ACATGTTTTCAAGTGACAAAAAAGAGTGGCGCTCCTAATCTGCGCACTGTGGCTGCGGAAGTAGG
GCGAGTGGCGCTCCAGGAAGCTGTAGAGCTGTTCTGTTGCGGACGAGGGTGGGCTGTACTGG
GGACTGTTAAGCATGGAGTTGGGTACCGGATCCATCGCGCCCTGTAGCGGCGCATTAAAGCGCGGCG
GGTGTGGTGGTTACGCGCAGCGTGACCGCTACACTGCCAGCGCCCTAGCGCCCGCTCCTTTGCTT
TCTTCCCTCCTTTCTCGCCACGTTCCGCGGCTTTCCCGTCAAGCTCTAAATCGGGGGCTCCCTTTAG
GGTTCGATTTAGTCTTTACGGCACCTCGACCCCAAAAAACTTGATTAGGGTGTGGTTACGCTAG
TGGGCCATCGCCCTGATAGACGTTTTTCGCCCTTTGACGTTGGAGTCCACGTTCTTTAATAAGTGGAC
ICTTTTCCAACTGGAACAACACTCAACCCTATCTCGGTCTATTCTTTGATTTATAAGGGATTTTGC
CGATTTGCGCCTATTGGTTAAAAAATGAGCTGATTTAACAAAAATTAACGCGAATTTAACAAAATA
TTAACGCTTACAATTTAGGTGGCACTTTTCGGGAAATGTGCGCGGAACCCCTATTTGTTATTTTC
TAAATACATTCAAATATGTATCCGCTCATGAGACAATAACCCCTGATAAATGCTTCAATAATTTGAAA
AAGGAAGAGTatgattga

도면14i

cggtatcgcgctcccgattcgcagcgcacgccttctatcgccttcttgacgagttcttctgaCTGTCAGACCAAGTTTACTC
 ATATATACTTTAGATTGATTTAAACTTCATTTTTAAATTTAAAAGGATCTAGGTGAAGATCCTTTTTGA
 TAATCTCATGACCAAAATCCCTTAACGTGAGTTTTCTGTTCCACTGAGCGTCAGACCCCGTAGAAAAGA
 TCAAAGGATCTTCTTGAGATCCTTTTTTCTGCGCGTAATCTGCTGCTTGCAAACAAAAAACCCCG
 CTACCAGCGGTGGTTTTGTTGCGGATCAAGAGCTACCAACTCTTTTTCCGAAGGTAAGTGGCTTCA
 GCAGAGCGCAGATACCAAACTGTTCTTCTAGTGTAGCCGTAAGTGGCCACCCTTCAAGAACTC
 TGTAGCACCCCTACATACCTCGCTCTGCTAATCTGTTACCAGTGGCTGCTGCCAGTGGCGATAAGT
 CGTGTCTTACCGGTTGGACTCAAGACGATAGTTACCGGATAAGGCGCAGCGGTGCGGGCTGAACGG
 GGGGTTCTGTCACACAGCCAGCTTGGAGCGAACGACCTACCCGAAGTGAAGTACCTACAGCGTG
 AGCTATGAGAAAGCGCCACGCTTCCCGAAGGGAGAAAGGCGGACAGGTATCCGGTAAGCGGCAGG
 GTCGGAACAGGAGAGCGCACGAGGGAGCTTCCAGGGGAAACGCTGATCTTTATAGTCTGTC
 GGGTTTCGCCACTCTGACTTGAGCGTCGATTTTTGTGATGCTCGTCAGGGGGCGGAGCCTATGGA
 AAAACGCCAGCAACGCGGCTTTTTACGGTTCTGGCCTTTTGCTGGCCTTTGCTCACATGTTCTTTC
 CTGCGTTATCCCTGATTCTGTGGATAACCGTATTACCGCCTTTGAGTGAGCTGATCATATGGTTTAA
 ACGTCGACGTAATCCGTAGATGTACCTGGACATCCAGGTGATGCCGGCGCGGTGGTGGAGGCGC
 GCGGAAAGTCGCGGACGCGGTTCCAGATGTTGCGCAGCGGCAAAAGTGTCCATGGTTCGGGACG
 CTCTGGCCGGTGAGGCGTGCAGCTGTTGACGCTCTAGACCGTGCAAAAGGAGAGCCTGTAAGCG
 GGCACTCTTCGTGGTCTGGTGGATAAATTCGCAAGGGTATCATGGCGGACGACCCGGGGTTCGAAC
 CCCGGATCCCGCGTCCGCCGTGATCCATGCGGTTACCGCCCGCTGTCGAACCCAGGTGTGCGAC
 GTCAGACAACGGGGAGCGCTCCT

서열번호:10

미니-p헬퍼 -AAV2

GGTACCCAACCTCATGCTTAACAGTCCCCAGGTACAGCCCACCTGCGTCGCAACCAGGAACAGCTC
 TACAGTTCCTGGAGCGCACTCGCCCTACTTCCGACGCCACAGTGCAGATTAGGAGCGCCACTT
 CTTTTGTCACTTGAAAAACATGAAAAAATGTAAGTACTAGGAGACACTTTCAATAAAGGCAAATGTTT
 TTATTTGTACACTCTCGGGTATTATTTACCCCCACCTTCCCGTCTGCGCCGTTCAGAAGTCAAAA
 GGATTCTGTCTGGCGTCAGAGTGGGCCACGGGCAGAGACACATTCCGGTACTGATGCTTAGTGCTC
 CACTTGAACCTCGGGCACCCATGCGGGGAGCTCTGTGAAGTTCTCAGACCACAGGCTCCGCACCA
 TCACGAGAGCGTTCAGCAGATCTGGGGCGGAGATCTTGAAGTCGAGTTGGGGCCTCCACCCTGAG
 CTCTGCTATTCTGTACACGGGATTGCAACTGGAACACGATCAGGGCGGGGTGGTGAACGGAGG
 CCAGCACGGACTTGTGCTGATCAGATCGGCATCCAGATCTTCGGCGTTGCTCAGGGCAAAAGGGG
 TCAGTTTTGGCAGCTGCTGCCAGGAAAGGGGCGTGGCCGGGCTTGGAGTTACATTCCGACGCGCA
 GGGGCATCAGGAGGTGGCCGTGGCCGGTCTGGGCATTTGGATACAGGGCTTGCATGAAGGCCTTG
 ATCTGCTTGAAGGCCACTTGCCTTGGCTCCCTCGCTGAAGAACATTCGCGAGCTTTGCCGCTAAA
 CTGATTGGCAGGGCAGGCGGCTCATGCACGCAACATCTGGCGTCTGTGTTAGAAATCTGCACCAC
 GTTCCGCCCCACCTGTTCTTACGATCTTGGCCTTGTGGACTGCTCCTTCAGGGCGCGCTGGCCGT
 TTTCCGAAAGTCACATCCATCTCGATCACGTGCTCCTTGTAAATCATGATAGAGCCGTGCAGGCATTT
 AGCTCGCCCTCAATCTCGGCGCATCTGTGCAGCCACAGGGCGCAGCCGGTGGGCTCGTGGTCTTG
 TAAGTCACTTCGGCGAAAGATTGCAAGTAGGCCTGCAGAACTGCCATCATGGTCAAAAGGTCT
 TGTTTGATGTAAGGTGACGTGCAGCCCTATGCTCCTCATTAGCCATGCTTGCACACGGCAGCC
 AGGGCTTCACCTGGTCAAGGAGCAGTTTGAATAGCCTTACGGTCTGTTGCCAGTGGTACTTGT
 CCATCAGGGCCCGGGCGGCTCCATTCCTTCTCCAAGCGCTCACA

도면14j

ATTGGCAGGGACAGTGGATTAATCACTGTGCTCTCGCTCTCGGCCTCGGAGGATTCTTCTTCTCTC
 CTGTGCTCTCATGCCCTTGCCACAGGATCATCTCGTTCAGCCTGCGCACGGTCCGTTTTCCCTTT
 GCCGTGCTTGATGAGCACAGGTGGATTGCTGAATCCCACCATCTGCAGAGCGACGTCTCGCGCTCT
 TCCTCTGAGTCCACGATCACTTCTGGGCTGGGTGGTCTCAGGTTTAGGGGAGGGCCTCTTCTTCT
 TTTTTGCTGGCAATGGCCAGGTGCGCGGTGGAAGTGGAGGGTCTTGAGATGGTGTCTAGGCAC
 CAGAGCGTCTGGAACTGTCTTCTCGTCTCGGACTCCAGGCGTCTCCGCACTCTTTTTTGGGG
 GCGCGCGGGGAGGCGGGCGGACGGCGACGGGGACGACACGTCTCCATGGTTGGTGGACGTG
 CGCCGACCCGCTCCGCGCTCGGGGGTGGTTTCGCGCTGCTCTTCCCGACTGGCCATTTCTTCT
 CCTGAGGACTACCACGCCACGAGATTAGGTTCTACGAAGACCAATCCCGCGCGCAATGCGGA
 GCTTACCCTGCGTCATTACCAGGGCCACATCCTTGCCCAATTGCAAGCCATCAACAAAGCCCGC
 CAAGAGTTTCTGCTACGAAAGGGACGGGGGTTTACCTGGACCCCGAGTCCGCGGAGGAGCTCAAC
 CCAATCCCCCGCGCGGAGCCCTATCAGCAGCCGCGGGCCCTTGTCTCCAGGATGGCACCCAAA
 AAGAAGTGCAGCTGCCCGCGCCACCCACGGACGAGGAGGAATACTGGGACAGTCAGGCAGA
 GGAGTTTTGGACGAGGAGGAGAGATGATGGAAGACTGGGACAGCCTAGACGAAGCTTCCGAG
 GCGGAAGAGGTGTCAGACGAAACACCGTCAACCCTCGTTCGATTCCCTCGCGCGCCCAAGAAA
 TTGGCAACCGTTCAGCATCGCTACAACCTCCGCTCTCAGGGCGCGCGCACTGCCTGTTCCG
 GACCAACCGTAGATGGGACACCCTGGAACCAGGGCCGTAAGTCTAAGCAGCCGCGCGCTTAG
 CCCAAGAGCAACAACAGCGCAAGGCTACCGCTCGTGGCGCGGCACAAGAACCCTATAGTTGCTT
 GCTTGCAAGACTGTGGGGGCAACATCTCTTCCGCGCGGCTTCTTCTTACCATCACGGCGTGGCC
 TTCCCCGTAACTCTGCTACTACTACCGTCTCTACAGCCCTACTGCACCGGGCGGAGCGGCAG
 CGGCAGCAACAGCAGCGGTACACAGAAGCAAAGGCGACCGGATAGCAAGACTTGACAAAGCCC
 AAGAAATCCACAGCGGCGCAGCAGCAGGAGGAGGAGCGTGCCTGCGCCCAACGAACCCGT
 ATCGACCCGCGAGCTTAGAAATAGGATTTTTCCACTCTGTATGCTATTTCAACAAAGCAGGGGC
 CAAGAACAAGAGCTGAAAATAAAAAACAGGTCTCTGCGCTCCCTCACCCGAGCTGCCTGTATCACA
 AAAGCGAAGATCAGCTTCCGCGCACGCTGGAAGACGCGGAGGCTCTTTCAGCAAATACTGCGCGC
 TGACTCTTAAGGACTAGTTTCGCGCCCTTCTCAAATTAAGCGCGAAAACACTACGTCTCTCAGCGG
 CCACACCCGCGCCAGCACCTGTGTCAGCGCCATTATGAGCAAGGAAATTCACCGCCCTACATGT
 GGAGTTACCAGCCACAAATGGGACTTGGCGCTGGAGCTGCCAAGACTACTCAACCCGAATAAACT
 ACATGAGCGCGGGACCCACATGATATCCCGGGTCAACGGAATCCGCGCCACCGAAACCGAATTC
 TCCTGAAACAGGCGGCTATTACCACACACCTCGTAATAACCTTAATCCCCGTAAGTTGGCCCGTGGC
 CTGGTGTACCAGGAAAGTCCCGCTCCACCACTGTGGTACTTCCAGAGACGCCAGGCCGAAGTTC
 AGATGACTAACTCAGGGGCGCAGCTTGGGGCGGCTTTCGTACAGGGTGGGTGCGCCGGGCGT
 TTAGGGCGGAGTAACTTGATGTATTGGGAATTGTAGTTTTTTAAATGGGAAGTGACGTATCGTG
 GGAAACGGAAGTGAAGATTTAGGAAGTTGGGGTTTTTGGCTTTCGTTCTGGGCGTAGGTTT
 GCGTGGGTTTTCTGGGTGTTTTTGTGGACTTAAACCGTTACGTCATTTTTGTAGTCTATATACTC
 GCTGTGACTTGGCCTTTTTACTGTGACTGATTGAGCTGGTGGCGTGTGAGTGGTGTTTTTTAA
 TAGTTTTTTTTACTGGTAAGGCTGACTGTTATGGCTGCCGCTGTGGAAGCGCTGTATGTTGTTCTGG
 AGCGGGAGGGTGTATTTGCTAGGCGCTGGATGCTTTGAGAGAGTGATATACTACAATACTACT
 ACACAGAGCGAGCTAAGCGACGAGACCGGAGACGAGATCTGTTTGTACGCGCCGACCTGGTTTT
 GCTTCAGGAAATATGACTACGTCCGGCGTTCATTTGGCATGACACTACGACCAACACGATCTCGGT
 TGCTCGGGCACTCCGTACAGTAGGGATCGCCTACCTCTTTGAGACAGAGACCCGCGCTACCAT
 ACTGGAGGATCATCCGCTGTGCCGAATGTAACACTTTGACAATGCACAACGTGAGTTACGTGCGA
 GGCTTCCCTGCAGTGTGGGATTACGCTGATTCA

도면14k

GGAATGGGTTGTTCCCTGGGATATGTTCTGACGCGGGAGGAGCTTGAATCCTGAGGAAGTGTAT
 GCACGTGTGCCTGTGTTGTGCCAACATTGATATCATGACGAGCATGATGATCCATGGTTACGAGTCC
 TGGGCTCTCCACTGTCATTGTTCCAGTCCCGGTCCCTGCAGTGCATAGCCGGCGGGCAGGTTTTGG
 CCAGCTGGTTTAGGATGGTGGTGGATGGCGCCATGTTAATCAGAGGTTTATATGGTACCGGGAGG
 TGGTGAATTACAACATGCCAAAAGAGGTAATGTTTATGTCCAGCGTGTATTATGAGGGGTCCGCACTT
 AATCTACCTGCGCTTGTGGTATGATGGCCACGTGGGTTCTGTGGTCCCCGCCATGAGCTTTGGATAC
 AGCGCCTTGCACTGTGGGATTTGAACAATATTGTGGTGTCTGTCTGAGTTACTGTGCTGATTTAA
 GTGAGATCAGGGTGCCTGTCTGTGCCGAGGACAAAGCGTCTCATGCTGCGGGCGGTGCGAATC
 ATCGCTGAGGAGACCACTGCCATGTTGATTCTCTGCAGGACGGAGCGGGCGGCAGCAGTTTATT
 CGCGCGCTGCTGCAGCACCACCGCCCTATCTGTATGCACGATTATGACTCTACCCCATGTAGGCGT
 GGACTTCCCCTTCCCGCCCGTTGAGCAACCGCAAGTTGGACAGCAGCTGTGGCTCAGCAGCTGG
 ACAGCGACATGAACCTAAGCGAGCTGCCCGGGAGTTTATTAATCACTGATGAGCGTTTGGCTCG
 ACAGGAAACCGTGTGGAATATAACACCTAAGAATATGTCTGTTACCCATGATATGATGCTTTTTAAG
 GCCAGCCGGGGAGAAAGGACTGTACTCTGTGTGTTGGGAGGGAGGTGGCAGTTGAATACTAG
 GGTTCTGTGAGTTGCTAAGGTACGGTGATCAATATAAGCTATGTGGTGGTGGGCTATACTACTG
 AATGAAAAATGACTTGAAATTTCTGCAATTGAAAAATAAACACGTTGAAACATAACATGCAACAGG
 TTCACGATTCTTATTCTGGGCAATGTAGGAGAAGGTGAAGAGTTGGTAGCAAAAGTTTCAGTGG
 TGTATTTCCACTTTCCAGGACCATGTAAAAGACATAGAGTAAGTCTTACCTCGCTAGTTTCTGTG
 GATTCCTAGAgcggcgcggtctctattagAGGTCAACGTGAGTGTGTTTGCACATTTTGCACACCATG
 TGGTCACTgaggtatataatgcccagtgagcagcaggatGCAACctccatttgAcccgaaAttgaaacgagcagc
 ccaTgCgggggtttacgagattgtaataaggccccagcgccttgacgAgcatctgcccggcatttctgacagcttggtaactg
 ggtggccgagaaggaaatgggagttccgcccagattctgacatggatctgaatctgattgagcaggcacccctgaccgtggccgaga
 agctgcagcgcgacttctgacgggaatggcgccgtgtagtaaggcAccggaggcccttcttctgtcaatttgagaaggggagag
 agctactccacatgcacgtgctggtgaaaccaccggggtgaaatccatggtttgggacgttctgagtcagattcgcgaaaa
 ctgattcagagaatttaccgcccagctgagccgacttgcacaactggttccggtcacaagaccagaaatggcgggagggcgg
 gaacaagggtggatgagtgctacatccccattacttctcccaaaaccagcctgagctccagtgggcgtggactaatgga
 acagtatttaagcgcctgttgaatctcacggagcgtaaacgggtggcgcagcatctgacgcagctgtcagacgcaggagc
 agaacaagagaatcagaatccaattctgatgcccgggtgatcagatcaaaaactcagccaggtacatgagctggcgggtg
 gctcgtggacaagggttacctcgagaagcagtggtccaggaggaccaggcctacatctcttcaatgcggcctccaact
 cgCggtcccaaatcaagcgtgcttgggacaatcggggaaagattatgagcctgactaaaaccgccccgactacctggtggccag
 cagcccgtggaggacatttccagcaatcgggattataaaatgggaaactaaacgggtacgatccccaatatgaggcttccgtcttc
 tgggatggccacgaaaagttcggcaagaggaaaccactctggctgttgggctgcaactaccgggaagccaacatcgcgga
 ggccatagcccacactgtcccttctacgggtgctgtaaacggaccaatgagaacttcccttcaacgactgtgcaagaatggt
 gatctggtgggaggagggaagatgaccgcaaggtcgtggatcgccaaagccattctcggagggaagcaaggtgagcgtgga
 ccagaaatgcaagtctcggcccagatagaccgactcccgtgatctcacctccaacccaacatgtgcccgtgattgacggga
 actcaacgaccttcgaacaccagcagccgttgcaagaccggatgttcaatttgaactcaccgcccgtctggatcatgacttggga
 aggtcaacaagcaggaaagcaaaacttccgggggcaaaaggatcacgtggtgaggtggagcatgaattctacgtcaaaaag
 ggtggagccaagaaaagaccgccccagtgacgcagafataagtgagccaaacgggtgagcaggtcagttgagcagccatcg
 acgtcagacgcggaagcttcatcaactacgcagacaggtaCGTaaacaatgttctgctcagtgaggcatgaatctgatgctgtt
 tcctcgagacaatgcgagagaatgaatcagaattcaaatatctgcttcaactcaggacagaaagactgtttagagtgcttcccgt
 gtcagaatctcaaccgttctgctgcaaaaaggcgtatcagaactgtgctacattcatatcatgggaaagggtccagacgc
 ttgactcctgcgatctggtcaatggtgattggatgactgcatcttgaacaataaatgatttaaatcaggtatggctgcccaggtg
 tatcttccagattggctcggagcactctctgaaggataag

도면141

acagtggtggaagctcaaacctggcccaccaccaccaaaagcccgcagagcggcataaaggacgacagcaggggcttctgtcttct
gggtacaagtaacctcggaccctcaacggactcgcacaaggagagccgggtcaacgagcagacgcccggccctcagcagcagc
aaagcctacgaccggcagctcgcagcggagacaacccgtacctcaagtaaacacgcccagcggagtttcaggagcgcctta
aagaagatacgtctttgggggcaacctcggacgagcagctctccaggcgaaaaagaggggtcttgaacctctgggctgggtgag
gaacctgttaagacggctcgggaaaaaagaggccggtagagcactctctgtggagccagactcctcctcgggaaccggaagg
cggccagcagcctgcaagaaaaagattgaatttggctcagactggagacgcaactcagctaccccagcctcggacag
ccaccagcagcccctctgtctgggaactaatcagatggctacaggcagtgggcgcacaaatggcagacaataacgagggcggc
acggagtggttaattctcgggaaatggcattgcatgcatccacatggatggggcagagatcaccaccagcaccggaacctgg
gcccctgccacctacaacaaccctctacaacaattccagccaatcaggagcctcgaacgacaatcactacttggctacagc
acccttgggggtattttgactcaacagattccactgccactttaccacgtgactggcaagactcatcaacaacaactggggat
tccgaccaagagactcaactcaagctcttaacatfcaagtaaaagggtcagcagaatgacggtagcagcagcagattgccaat
aaccttaccagcagcgttcaggtgttactgactcggagtagcagcctccgtagctcctcggctcggcgcacaaaggatgctcccgc
ggttccagcagcgtctcaggtgccaagtagttagatacctcaccctgaacaacgggagtcaggcagtaggagcgtctctcatttta
ctgctggagtagtcttctctcagatgctgctgacggaaacaactttacctcagctacacttttgaggagcttcttccacagcag
ctacgctcacagccagagctcggaccgtctcatgaatcctctcatcgaccagtagcttattacttgagcagaacaaactccaagt
ggaaccaccacgtagcaaggctcagtttctcaggccggagcagtagcattcgggaccagctaggaactggcttctcggacc
tgttaccgagcagcagtagtaaaagacatctcgggataacaacaacagtagaatactcgggactggagctaccaagtaccact
caatggcagagactctctggigaatcggggccggccatggcaagccacaaggagcagtagaagaaagttttctcagagcggg
gttctcatcttgggaagcaaggctcagagaaaaaactgtggacattgaaaggctcatgattacagacgaagaggaaatcagga
caaccaatccgtggctcggagcagtagtggctctgatatcacaacctccagagaggcaacagacaagcagctaccgagatgct
aacacacaaggcgttctccaggcatggtctggcaggacagagatgtgtacctcaggggcccatctgggcaagattccacacac
ggacggacatttaccctctccctcatgggtggttccgacttaaacaccctctccacagattctcatcaagaacccccggta
ccAgcgaatccttgaccacctcagctcggcaagtttctcctcatcacagtagctccacgggacaggtcagcgtggagatc
gagtgggagctgcagaaggaacagcaaacctgggaatccgaaattcagtagactccaactacaacaagtctgttaatgtgg
acttactgtggacactaatggcgtgattcagagcctcggccattggcaccagatactgactcgtaatctgTAACAATTGctt
gttaataaaaccgttaactcgtttcagttgaacttggctctgctgatttcttctatctagttccatgctctagGATCCACT
AGTAACGGCCGCGCAGTGTGCTGGAATTCGGCTTTGTAGTTAATGATTAACCCGCCATGCTACTTATCT
ACGTAGCCATGCTCTAGAGGTCCTGTATTAGAGGTCACGTGAGTGTTTTGCGACATTTTGCACACC
ATGTGGTCACGCTGGGTATTTAAGCCGAGTGAGCACGCAGGGTCTCCATTTTGAAGCGGGAGGTT
TGAACGCGCAGCCGCAAGCCGAATTCGACAGATCTAtcgATGTAGGATGTTGCCCTCTGACGCG
GTAGGAGAAGGGGAGGGTGCCCTGCATGTCTGCCGCTGCTCTTGCTCTTGCCGCTGCTGAGGAGGG
GGGCGCATCTGCCGACGCCGATGCATCTGGGAAAAGCAAAAAGGGGCTCGTCCCTGTTCCG
GAGGAATTTGCAAGCGGGTCTTTCATGACGGGGAGGCAAAACCCCGTTCCGCGCAGTCCGCGCC
GCCCGAGACTCGAACCGGGGTCTGCGACTCAACCCTTGAAAAATAACCTCCGGCTACAGGGAG
CGAGCCACTTAATGCTTTCGTTTCCAGCCTAACCGCTTACGCCGCGCGGGCCAGTGGCCAAAAAA
GCTAGCGCAGCAGCCCGCGCTGGAAGGAAGCAAAAGGAGCGCTCCCCGTGCTGACGTCG
CACACTGGGTTCGACACGCGGGCGTAACCGCATGGATCACGGCGGACGGCCGGATCCGGGGTT
CGAACCCCGGTGCTCCGCCATGATACCTTGCGAATTTATCCACCAGACCACGGAAGAGTGCCCGCT
TACAGGCTCTCTTTTGACCGTCTAGAGCGTCAACGACTGCGCACGCCCTACCCGGCCAGAGCGTCC
CGACCATGGAGCACTTTTTCGCTGCGCAACATCTGGAACCGCGTCCGCGACTTTCCGCGCGCTC
CACCACCGCCCGGCATCACCTGGATGTCCAGGTACATCTACGGATTACGTCGACGTTTAAACCAT
ATGATCAGCTCACTAAAGGCGGTAATACGGTTATCCACAGAATCAGGGGATAACGCAGGAAAGAA
CATGTGAGCAAAGGCCAGCAAAGGCCAGGAACCGT

도면 14m

AAAAAAGCCGCGTTGCTGGCGTTTTTCCATAGGCTCCGCCCCCTGACGAGCATCACAAAAATCGAC
 GCTCAAGTCAGAGGTGGCGAAACCCGACAGGACTATAAAGATACCAGGCGTTTCCCTTGGAAGCT
 CCCTCGTGCCTCTCCTGTTCCGACCTGCCGCTTACCGGATACCTGTCCGCTTTCTCCCTTCGGGAA
 GCGTGG
 CGCTTTCATAGCTCACGCTGTAGGTATCTCAGTTCGGTGTAGGTGCTTCGCTCCAAGCTGGGCTGT
 GTGCACGAACCCCGTTAGCCCGACCGCTGCGCCTTATCCGGTAACTATCGTCTTGAGTCCAACCC
 GGTAAAGACACGACTTATCGCCACTGGCAGCAGCCACTGGTAACAGGATTAGCAGAGCGAGGTATGT
 AGGCGGTGCTACAGAGTCTTGAAGTGGTGGCCTAACTACGGCTACACTAGAAGAACAGTATTTGG
 TATCTGCGCTCTGCTGAAGCCAGTTACCTTCGGAAAAAGAGTTGGTAGCTCTTGATCCGGCAAACAA
 ACCACCGCTGGTAGCGGTGGTTTTTTGTTTGAAGCAGCAGATTACGCGCAGAAAAAAGGATCTC
 AAGAAGATCCTTTGATCTTTTACGGGGTCTGACGCTCAGTGGAAACGAAAACTCACGTTAAGGGAT
 TTTGGTCAAGATTATCAAAAAGGATCTTACCTAGATCTTTTAAATTAATAAATGAAGTTTTAAAT
 CAATCTAAAGTATATGAGTAACTTGGTCTGACAGTcagaagaactcgtcaagaaggcgatagaaggcgatgc
 gctgcgaatgggagcggcgataccgtaagcacgaggaagcggcagccattcgccgcaagctctcagcaatcacgggt
 agccaacgctatgtcctgatagcggctccgcccacccagccggccacagtcgatgaatccagaaaagcggccatttccaccatga
 tattcggcaagcaggcatcggatgggtcacgacgagatcctcgccgtcggcatgctccttgagcctggcgaacagttcggctg
 gcgagagccctgatgctcttctccagatcctgatcgacaagaccgcttccatccgagtacgtgctcctcgatgctgatgctt
 gcttgggtgctgaatgggcaggtagccgatcaagcgtatgcagccgcttgcacatcagccatgatggatacttctcggcagga
 gcaagtgagatgacaggagatcctgccccggcacttcgccaatagcagccagtccttccgcttcagtgacaacgtcgagTac
 agctgcgcaaggaaccccgtcgtggccagccacgatagccgctgctcctcgtcttgagttcattcagggcaccggacaggtcgg
 tcttgacaaaagaacccggcgcccctgctgacagccggaacacggcgcatcagagcagccgattgtctgttggcccagtc
 tagccgaatagccttccaccaagcggcggagaaacctgctgcaatccatctgttcaatcatACTCTTCTTTTCAATA
 TTATTGAAGCATTATCAGGGTTATTGTCTCATGAGCGGATACATATTTGAATGTATTTAGAAAAATA
 AACAAATAGGGGTTCCGCGCACATTTCCCGAAAAGTGCCACCTAAATTGAAGCGTTAATATTTTG
 TTAATAATCGCGTTAAATTTTTGTTAAATCAGCTCATTTTTTAACCAATAGGCCGAAATCGGCAAAAT
 CCCTTATAAATCAAAAAGATAGACCGAGATAGGGTTGAGTGTGTTTCCAGTTTGAACAAGAGTCCA
 CTATTAAGAACGTGGACTCCAACGTCAAAGGGCGAAAAACCGTCTATCAGGGCGATGGCCCACTA
 CGTGAACCATCACCTAATCAAGTTTTTTGGGGTCGAGGTGCCGTAAAGCACTAAATCGGAACCCTA
 AAGGGAGCCCCGATTTAGAGCTTGACGGGGAAAGCCGGCGAACGTGGCGAGAAAGGAAGGGAA
 GAAAGCGAAAGGAGCGGGCGCTAGGGCGCTGGCAAGTGTAGCGGTCACGCTGCGCGTAACCACCA
 CACCCGCCGCTTAATGCGCCGCTACAGGGCGCGATGGATCC

도면 14n

서열번호:11

미니-p헬퍼 - CMV-EGFP

GGCAGCTGCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGGCCGCCGGGCAAAGCCCCGGGCGTCGGGCGACCTTTG
 GTCGCCCCGCCCTCAGTGAGCGAGCGAGCGCGCAGAGAGGGAGTGGCCAACCTCCATCACTAGGGGT
 TCTGCGGCCGACGCGTAcattgattattgactagttattaatagtaaatcaattacggggcattagttcatagcccatata
 ggagttccggttacataaacttacggtaaatggcccctggctgaccccaacgacccccgccattgacgtcaataatgacgta
 tgttcccatagtaacgccaatagggactttccattgacgtcaatgggtggagtatttacggtaaacctcccacttggcagtaacaa
 gtgtatcatatgccaagtacgccccctattgacgtcaatgacggtaaatggcccctggcattatgccagtaacatgacctatggg
 actttcacttggcagtaacatctacgtattatgcatcgtattaccatggatgacgggttttggcagtaacatgaggcgtgatag
 cggtttgaactcaggggatttccaagtctcccccattgacgtcaatggggagttgttttggcaccaaaatcaacgggactttcaa
 aatgtcgtaaacaactcgcaccattgacgcaaatggcggttaggctgtacggtagggaggctataaagctaGCGCCACatg
 gtgagcaaggcgaggagctgttaccgggggtggtcccatcctggtcagctggacggcgacgtaaacggccaagttagcg
 tgtccggcgaggcgaggcgatgcccactacggcaagctgaccctgaagtcatctgcaccaccggcaagctgcccgtgcccctgg
 cccacctctgtaccacctgacctacggcgtgacgtcttccagcctaccccaccacatgaagcagcagacttctcaagtcc
 gccatgcccgaaggctacgtccaggagcgaccatcttcaaggacgacggcaactacaagaccgcccggaggtgaagtgcg
 agggcgaccctggtagaccatcagctgaaggcatcgaactcaaggaggacggtaacatcctggggcacaagctggagt
 acaactacaacagccacaacgtctatatcattggccgacaagcagaagacggcatcaaggtgaactcaagatccgccacaac
 cgaggacggcagcgtgagctcgcgcaccatcaccagcagaacacccccatcggcgacggccccgtgctgctcccgacaaccac
 tacctgagcaccagtcgcccctgagcaaaagacccaacgagaagcgcgatcacatggctcctgctggagttcgtgaccgcccgg
 gatcactctcggcattgagcagagctgtacaagtaaCGTACGGATATCAAGCTTATCGATAATCAACCTCTGGATTA
 CAAAATTTGTGAAAGATTGACTGCTATTCTTAACTATGTTGCTCCTTTTACGCTATGTGGATACGCGT
 CTTAATGCCTTTGTATCATGCTATTGCTTCCCGTATGGCTTTCATTTTCTCCTCTGTATAAATCCTG
 GTTGCTGTCTTTATGAGGAGTTGTGGCCGTTGTCAGGCAACGTGGCGTGGTGTGCACTGTGTTT
 GCTGACGCAACCCCACTGGTTGGGGCATTGCCACCACCTGTCAGCTCCTTTCCGGGACTTTCGCTT
 CCCCTCCCTATTGCCACGGCGAACTCATCGCCGCTGCCTTGGCCGCTGCTGGACAGGGGCTCGG
 CTGTTGGGCACTGACAATCCGTGGTGTGTTGTCGGGAAATCATCGCTCTTCTTGGCTGCTCGCCTA
 TGTGGCACTGGATTCTGCGCGGGACGTCCTTCTGCTACGTCCTTTCGGCCCTCAATCCAGCGGACC
 TTCTTCCCGCGGCTGCTGCGGCTCTGCGGCTCTTCCGCGTCTTTCGCTTTCGCCCTCAGACGAGT
 CGGATCTCCCTTTGGGCCGCTCCCCGCATCGATACCGAGCGCTGCTCGAGAGATCTACGGGTGGCA
 TCCCTGTGACCCTCCCAAGTGCCTCTCCTGGCCCTGGAAGTTGCCACTCCAGTGCCACCAGCCTTG
 TCCTAATAAAAATTAAGTTGCATCATTTTGTCTGACTAGGTGTCCTTCTATAAATATTATGGGGTGGAGG
 GGGGTGGTATGAGCAAGGGGCAAGTTGGGAAGACAACCTGTAGGGCTGCGGGGTCTATTGGG
 AACCAAGCTGGAGTGCAGTGGCACAATCTGGCTCACTGCAATCTCGCCTCCTGGTTCAAGCGAT
 TCTCTGCCTCAGCCTCCGAGTTGTTGGGATTCCAGGCATGCATGACCAGGCTCAGCTAATTTTTGT
 TTTTTTGGTAGAGACGGGTTTACCATATTGGCCAGGCTGGTCTCAAACCTAATCTCAGGTGATC
 TACCCACCTTGGCTCCCAAATTGCTGGGATTACAGGCGTGAACCACTGCTCCTTCCCTGCTCTTCT
 GATTTTGTAGGTAACACGCTGCGGACCGAGCGGCGCAGGAACCCCTAGTGATGGAGTTGGCCACT
 CCCTCTGCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGGCCGGGCGACCAAGGTCGCCGACGCCGGGCTTTG
 CCCGGGCGGCTCAGTGAGCGAGCGAGCGCGCAGCTGCCAAACCATATGATCAGCTCACTCAAAGG
 CGTAATACGGTTATCCACAGAATCAGGGGATAACGCAGGAAAGAATGTGAGCAAAAGGCCAG
 CAAAAGGCCAGGAACCGTAAAAAGGCCGCTTGTGCGGTTTTTTCATAGGCTCCGCCCTGAC
 GAGCATCACAAAATCGACGCTCAAGTCAGAGGTGGCGAAACCCGACAGGACTATAAAGATACCAG
 GCGTTTTCCCTGGAAGCTCCCTCGTGCGC

도면14o

TCTCCTGTTCCGACCTGCCGCTTACCGGATACCTGTCCGCTTTCTCCCTTCGGGAAGCGTGCGCT
TTCTCATAGCTCACGCTGTAGGTATCTCAGTTCGGTGTAGGTCGTTCCGCTCAAGCTGGGCTGTGTG
CACGAACCCCGTTCCAGCCGACCGCTGCGCTTATCCGGTAACTATCGTCTTGAGTCCAACCCGGT
AAGACACGACTTATCGCCACTGGCAGCAGCCACTGGTAACAGGATTAGCAGAGCGAGGTATGTAGG
CGGTGTACAGAGTCTTGAAGTGGTGGCCTAACTACGGCTACACTAGAAGAACAGTATTTGGTATC
TGCGCTCTGTGAAGCCAGTTACCTTCGGAAAAAGATTGGTAGCTCTTGATCCGGCAAACAAACCA
CCGCTGGTAGCGGTGGTTTTTTTGTTCGCAAGCAGCAGATTACGCGCAGAAAAAAGGATCTCAAG
AAGATCCTTTGATCTTTTCTACGGGGTCTGACGCTCAGTGGAAACGAAAACTCACGTTAAGGGATTTT
GGTCATGAGATTATCAAAAAGGATCTTACCTAGATCCTTTTAAATTAATAAATGAAGTTTTAAATCAA
TCTAAAGTATATAGATAAATTGGTCTGACAGTcagaagaactcgtcaagaaggcagataagaaggcagtcgctg
cgaatcgggagcggcgataccgtaaacgacgaggaagggtcagccattcggcccaagctctcagcaatcacggtagcc
aacgctatgtcctgatagcggcggccacaccagccggccacagtcgatgaatcagaaaaggcggcatttccaccatgatattc
ggcaagcaggcatgccatgggtcagcagagatcctcggcggcagtcgctcgtgagcctggcgaacagttcggctggcgc
gagccctgatgctctcgtcagatcatcctgatcgacaagaccggcctccatccagtagcgtcgcgctcagatggttcgctt
gggtgctgaatgggagtagcggatcaagcgtatgagcggcggcattgcatcagccatgatggatacttctcggcaggagca
aggtgagatgacaggagatcctcccggcacttcccataagcagccagtccttcccgttcagtgacaacgtcagTacagc
tgcgcaaggaaaccccgtggtggccagccagatagccgctgctcgtcgtcagttcattcagggcaaccggacaggtcggctt
gacaaaaagaaccggcggcctcgtcgtgacagccggaacacggcggcatcagagcagccgattgtctgttggccagtcatag
ccgaatagcctcccaccaagcggcgggagaacctgctgcaatccatctgttcaatcatACTCTTCTTTTTCAATATTA
TTGAAGCATTATCAGGGTTATTGTCTCATGAGCGGATACATATTTGAATGTATTTAGAAAAATAAAC
AAATAGGGGTTCCGCGCACATTTCCCGAAAAAGTGCCACCTAAATTGTAAGCGTTAATATTTTGTAA
AATTCGCGTTAAATTTTTGTTAAATCAGCTCATTTTTTAACCAATAGGCCGAAATCGGCAAAATCCCTT
ATAAATCAAAAAGATAGACCGGATAGGGTTGAGTGTGTTCCAGTTTGGAAACAAGAGTCCACTATT
AAAGAACGTGGACTCCAACGTCAAAGGCGGAAAAACCGTCTATCAGGGCGATGGCCCACTACGTGA
ACCATCACCTAATCAAGTTTTTTGGGGTCGAGGTGCCGTAAGCACTAAATCGGAACCTAAAGGG
AGCCCCGATTAGAGCTTGACGGGGAAAGCCGGCGAACGTGGCGAGAAAGGAAGGGAAGAAAG
CGAAAGGAGCGGGGCTAGGGCGCTGGCAAGTGTAGCGGTACGCTGCGCGTAACCAACACACC
GCCGCGCTTAATGCGCGCTACAGGGCGCGATGGATCCGGTACCCAACCTCATGCTTAACAGTCCCC
AGGTACAGCCACCCTGCGTCGCAACCAGGAACAGCTCTACAGCTTCTGGAGCGCCACTCGCCCTA
TTCCGCAAGCCACAGTGCAGATTAGGAGCGCCACTTCTTTTTGTCACTTGAAAAACATGTAATAA
TAATGTACTAGGAGACACTTTCAATAAAGGCAAATGTTTTTATTTGTACACTCTCGGGTATTATTTA
CCCCCACCTTGGCGTCTGCGCGTTCAGAAGTCAAAGGATTCTGTCTGGCGTCAGAGTGGGCCA
CGGGCAGAGACACATTCCGGTACTGATGCTTAGTGTCTCACTTGAACCTCGGGCACCACCATGCGGG
GCAGCTCTGTGAAGTTCTCAGACCACAGGCTCCGCACCATCAGGAGAGCGTTACAGCAGATCTGGGG
CGGAGATCTTGAAGTCGAGTTGGGGCTCCACCCTGAGCTCTGCTATTCTGTACAGGGATTGCA
GCACTGGAACACGATCAGGGCGGGGTGGTGAACGGAGGCCAGCAGGACTTGTGCTGATCAGAT
CGGCATCCAGATCTTCGGCGTTGCTCAGGGCAAAGGGGTGAGTTTTGGCAGCTGCCTGCCAGGA
AAGGGCGTGGCCGGCTTGGAGTTACATTTCGACGCGCAGGGGCATCAGGAGGTGGCCGTGGCCG
GTCTGGGCATTTGGATACAGGGCTTGCATGAAGGCCTTGTCTGCTTGAAGGCCACTTGCCTTGG
CTCCCTCGCTGAAGAACATTCCGCAGCTTTGCCGCTAAACTGATTGGCAGGGCAGGCGGGCTCATG
CACGCAACATCTGGCGTCTGTGTTAGAAATCTGCACCACGTTCTGCCCCACTGTTCTTACGATCT
TGGCCTTGCTGACTGCTCTTTCAGGGCGCGCTGGCCGTTTTTCGGAAGTCACATCCATCTCGATCAC
GTGCTCCTTGTAAATCATGATAGAGCCGTGCAGG

도면14p

CATTTAGCTCGCCCTCAATCTCGGCGCATCTGTGCAGCCACAGGGCGCAGCCGGTGGGCTCGTGGT
GCTTGAAGTCACTTCGGCGAAAGATTGCAGGTAGGCTGCAGAAACCTGCCATCATGGTCACAAA
GGTCTTGTGGTATGAAAGTGCAGCTGCAGCCCTATGCTCCTCATTAGCCATGCTTGCACACGG
CAGCCAGGGCCTCCACCTGGTCAGGCAGCAGTTTGAATTAGCCTCAGGTCGTTGTCCACGTGGTA
CTTGTCCATCAGGGCCCGGGCGGCCTCCATTCCCTTCTCCCAAGCGCTCACAAATTGGCAGGGACAGT
GGATTAATCACTGTGCTCTCGCTCTCGGCCTCGGAGGATTCTTCTTCTCCTCCTGTGCTCATGCCC
CTTGCCACAGGATCATCCTGTTACAGCTGCGCACGGTCCGTTTTCCCTTTGCCGTGCTTGATGAG
CACAGGTGGATTGCTGAATCCACCATCTGCAGAGCGACGTCTCGCGCTTCTCTGAGTCCACG
ATCACTTCTGGGCTGGGTGGTTCAGGTTTAGGGGAGGGCTTCTTCTTTTTTTGCTGGCAAT
GGCCAGGTGCGCGGTGGAAGTGGAGGGTCTTGAGATGGTGTCTAGGCACCAGAGCGTCTGGG
AACTGTCTTCTCGTCTCGACTCCAGGCGTCTCGCAGTCTTTTTTGGGGGCGCGGGGAGG
CGGCGGCGACGGGACGGGGACGACAGTCTCCATGGTGGTGGACGTGCGCGCCGACCCGCGT
CGCGCTCGGGGGTGGTTTCGCGCTGCTCCTTCCCGACTGGCCATTTCTTCTCCTGAGGACTACC
ACGCCACAGGATTAGTCTACGAAGACCAATCCGCCGCAAATGCGGAGCTTACCGCTGGCT
CATTACCCAGGGCCACATCCTTGCCAAATTGCAAGCCATCAACAAAGCCCGCAAGAGTTTCTGCTA
CGAAAGGGACGGGGGTTTACTGGACCCCGAGTCCGGCGAGGAGCTCAACCAATCCCCCGCCG
CCGAGCCCTATCAGCAGCCGCGGGCCCTTGCTTCCAGGATGGCACCCAAAAAGAAGTGCAGCT
GCCGCCGCCGCCACCCACGGACGAGGAGGAATACTGGGACAGTCAGGCAGAGGAGTTTTGGACG
AGGAGGAGGAGATGATGGAAGACTGGGACAGCTAGACGAAGCTTCCGAGGCCGAAGAGGTGTC
AGACGAAACACCGTCAACCCTCGGTCGATTTCCCTCGCCGGCGCCCAAGAAATTGGCAACCGTTCC
AGCATCGCTACAACCTCCGCTCAGGCGCCGCGGCACTGCTGTTCCGCCACCAACCGTAGAT
GGGACACCACTGGAACAGGGCCGGTAAGTCTAAGCAGCCGCGCTTAGCCCAAGAGCAACAA
CAGCGCAAGGCTACCGCTGTTGGCGGGCACAAGAACGCCATAGTTGCTTGCTGCAAGACTGT
GGGGGCAACATCTCTTCCCGCGGCTTTCTTCTTACCATCACGGCGTGGCCTTCCCCGTAACAT
CCTGCATTACTACCGTATCTTACAGCCCTACTGCACCGCGCGCAGCGGCGAGCGGCAACAGC
AGCGGTACACAGAAGCAAAGGCGACCCGGATAGCAAGACTCTGACAAAGCCCAAGAAATCCACAG
CGGCGGCAGCAGCAGGAGGAGGAGCGCTGCGTCTGGCGCCCAACGAACCCGTATCGACCCGCGAG
CTAGAAAATAGGATTTTTCCCACTCTGTATGCTATATTTCAACAAAGCAGGGGCCAAGAACAAGAGC
TGAAAATAAAAAACAGGTCTCTGCGCTCCCTACCCGCGAGTGCCTGTATCACAAAAGCGAAGATCA
GCTTCGGCGCACGCTGGAAGACGCGGAGGCTCTTTCAGCAAACTGCGCGCTGACTCTTAAGGA
CTAGTTTCGCGCCCTTTCTCAAATTAAGCGCGAAAACACGTCATCTCCAGCGGCCACACCCGGCGC
CAGCACCTGTGTCAGCGCCATTATGAGCAAGGAAATCCACGCCCTACATGTGGAGTTACCAGCC
ACAAATGGGACTTGGCGCTGGAGCTGCCAAGACTACTCAACCCGAATAAACTACATGAGCGCGGG
ACCCACATGATATCCCGGGTCAACGGAATCCGCGCCACCGAAACCGAATTCCTCGAACAGGCG
GCTATTACCACCACACTCGTAATAACCTTAATCCCGTAGTTGGCCCGTGCCTGGTGTACCAGGA
AAGTCCCGCTCCACCACTGTGGTACTTCCAGAGACGCCAGGCCGAAGTTCAGATGACTAACTCA
GGGGCGCAGCTTGCGGCGGCTTTCTGTCACAGGGTGGGTCGCGCGGGCGTTTTAGGGCGGAGTA
ACTTGCATGTATTGGGAATTGTAGTTTTTTAAAAATGGGAAGTGACGTATCGTGGGAAAACGGAAGT
GAAGATTTGAGGAAGTTGTGGTTTTTTGGCTTTCGTTTCTGGGCGTAGGTTGCGGTGCGGTTTTCT
GGGTGTTTTTTGGGACTTAACCGTTACGTCATTTTTTAGTCTATATATACTCGCTCTGACTTGGC
CCTTTTTACTGTGACTGATTGAGCTGGTCCCGTGTGAGTGGTGTTTTTTAATAGGTTTTTTACTG
GTAAGGCTGACTGTTATGGCTGCCGCTGTGGAAGCGCTGTATGTTGTTCTGGAGCGGGAGGGTGT
ATTTTGCCTAGGCGCTGGATGCTTTGAGAGAGT

도면14q

GGATACTACAACACTACTACACAGAGCGAGCTAAGCGACGAGACCGGAGACGAGATCTGTTTGTG
ACGCCCCGACCTGGTTTTGCTTCAGGAAATATGACTACGTCCGGCGTTCCATTTGGCATGACACTAC
GACCAACACGATCTCGGTTGTCTCGGCGCACTCCGTACAGTAGGGATCGCCTACCTCCTTTGAGAC
AGAGACCCGCGTACCATACTGGAGGATCATCCGCTGCTGCCGAATGTAACACTTTGACAATGCAC
AACGTGAGTTACGTGCGAGGTCTCCCTGCAGTGTGGGATTTACGCTGATTAGGAATGGGTTGTT
CCTGGGATATGGTTCTGACGCGGGAGGAGCTTGAATCCTGAGGAAGTGTATGCACGTGTGCCTGT
GTTGTGCCAACATTGATATCATGACGAGCATGATGATCCATGTTACGAGTCTGGGCTCTCCACTG
TCATTGTTCCAGTCCCGGTTCCCTGCAGTGCATAGCCGGCGGGCAGGTTTTGGCCAGCTGGTTAGG
ATGGTGGTGGATGGCGCCATGTTAATCAGAGGTTTATATGGTACCGGGAGGTGGTGAATTACAAC
ATGCCAAAAGAGGTAATGTTTATGTCCAGCGTGTATGAGGGGTCGCCACTTAATCTACCTGCGCT
TGTGGTATGATGGCCACGTGGGTTCTGTGGTCCCGCCATGAGCTTTGGATACAGCGCCTTGCACTG
TGGGATTTTGAACAATATTGTGGTGTGTGCTGCACTTACTGTGCTGATTTAAGTGAGATCAGGGTG
CGTGCTGTGCCCGGAGGACAAGGCGTCTCATGCTGCGGGCGGTGCGAATCATCGCTGAGGAGAC
CACTGCCATGTTGATTCCTGCAAGGACGAGCGCGCGGCGGAGCAGTTTATCGCGCGTGTGCA
GCACCACCGCCCTATCCTGATGCACGATTATGACTTACCCCATGTAGCGTGGACTTCCCTTCGC
CGCCCGTTGAGCAACCGCAAGTTGGACAGCAGCCTGTGGCTCAGCAGCTGGACAGCGACATGAACT
TAAGCGAGCTGCCCGGGGAGTTTATTAATCACTGATGAGCGTTTGGCTCGACAGGAAACCGTGT
GGAATATAACACCTAAGAATATGTCTGTTACCATGATATGATGCTTTTAAGGCCAGCCGGGGAGA
AAGGACTGTGACTCTGTGTGTTGGAGGGAGGTGGCAGGTTGAATACTAGGTTCTGTGAGTTTG
ATTAAGGTACGGTATCAATATAAGCTATGTGGTGGTGGGGCTATACTACTGAATGAAAAATGACTT
GAAATTTTCTGCAATTGAAAAATAAACACGTTGAAACATAACATGCAACAGGTTACGATTCTTTATT
CCTGGGCAATGTAGGAGAAGGTGTAAGAGTTGGTAGCAAAAGTTTCAGTGGTATTTTTCCACTTTC
CCAGGACCATGTAAGACATAGAGTAAGTCTTACCTCGCTAGTTTCTGTGGATTCACTAGAATCG
ATGTAGGATGTTGCCCTCCTGACGCGGTAGGAGAAGGGGAGGGTGCCCTGCATGTCTGCCGCTGC
TCTTGCTTTCGCGCTGCTGAGGAGGGGGCGCATCTGCCGAGCACCGGATGCATCTGGGAAAAG
CAAAAAAGGGGCTCGTCCCTGTTCCGGAGGAATTTGCAAGCGGGTCTTGCATGACGGGGAGGC
AAACCCCGTTTCGCGCAGTCCGGCCGGCCGAGACTCGAAACCGGGGTCTGCGACTCAACCTT
GGAAAATAACCTCCGGCTACAGGGAGCGAGCCACTTAATGCTTTCGCTTCCAGCCTAACCGCTTA
CGCCGCGCGCGCCAGTGGCCAAAAAGCTAGCGCAGCAGCCCGCGCCTGGAAGGAAGCCAAA
AGGAGCGCTCCCGTTGTCTGACGTGCGACACCTGGGTTGACACCGGGCGGTAACCGCATGGA
TCACGGCGGACCGCCGATCCGGGGTTGCAACCCCGGTGTCGCGCATGATACCTTGCGAATTTAT
CCACCAGACCACGGAAGAGTGCCCGCTTACAGGCTCCTTTTGCACGGTCTAGAGCGTCAACGACT
GCCACGCCTCACCGGCCAGAGGCTCCCGACCATGGAGCACTTTTTCGCGTGCGCAACATCTGGAA
CCGCGTCCGCGACTTTCGCGCGCTCCACCACCGCCCGGCATCACCTGGATGTCCAGGTACATC
TACGGATTACGTCGACGTTT

서열번호:12

pAAVone-AAV2-CMV-EGFP

GGCAGCTGCGCGCTCGCTCAGTACGAGCCCGCCGGCAAAGCCCGGGCGTGGGCGACCTTTG
GTCGCCCGCCTCAGTGAGCGAGCGAGCGCGCAGAGAGGGAGTGGCCAACTCCATCACTAGGGGT
TCCTGCGGCCGACGCGTaccattgattatfgactagtattaatagtaataaattacggggtcattagttcatagccatata
ggagttccggttacataacttacgtaaatggcccctggctgaccgccaacgacccccccattgacgtcaataatgacgta
tgttcccatagta

도면14r

acgccaatagggactttccattgacgtcaatgggtggagtatttacggtaaactgcccaactggcagtacatcaagtgtatcatatgc
 caagtacgccccctattgacgtcaatgacggtaaatggcccctggcattatgccagtacatgacctatgggactttcctacttg
 gcagtacatctacgtattagtcacgtattaccatgggtgatgagggtttggcagtaacatggggcgtggatagcgggttgactcac
 ggggatttcaagtctcccccattgacgtcaatgggtggagtattttggcaccaaaatcaacgggactttccaaaatgctgaacaa
 ctccgccccattgacgcaaatggggcggtagggcgtgacgggtgggaggtctatataagctaGCGCCACCatgggtgagcaaggggc
 gagggagctgttcaacgggggtgggtgccatcctgggtcagctgggacggcgacgtaaacggccacaagttcagcgttccggcgaggg
 cgaggcgatgccacctaaggcaagctgacctgaagttcatctgcaccaccggcaagctgcccgtgcccggcccacctcgtga
 ccacctgacctaggcgtgagctctcagccgctaccggaccacatgaagcagcagcacttctcaagtccgcatgcccgaag
 gctacgtccaggagcgcaccatcttctcaaggacgacggcaactacaagaccgcccggaggtgaagttcaggggcgacacct
 ggtgaaccgcatgagctgaaggcctgactcaaggaggacggcaacatcctggggcacaagctggagtacaactacaacag
 ccacaacgtctatcatgcccgaagcagaagaacggcatcaagggtgaactcaagatccgccaacatcaggacggcagc
 gtgacgtcggcaccactaccagcagaacccccatcggcgacggccccgtgctgctgcccgaacaccactcctgagcaccca
 gtccgacctgagcaaaagcccaacgagaagcgcgatcacatggctcgtgagggttcgtgaccgcccgggatcactctcgga
 tggacgagctgtacaagtaaCGTACGGATATCAAGCTTATCGATAATCAACCTCTGGATTACAAAATTTGTG
 AAAGATTGACTGGTATTCTTAACATATGTTGCTCCTTTTACGCTATGTGGATACGCTGCTTAAATGCCTT
 TGTATCATGCTATTGCTTCCCGTATGGCTTTCATTTTCTCCTCTGTATAAATCCTGGTTGCTGTCTCT
 TTATGAGGAGTTGTGGCCGTTGTGAGGCAACGTGGCGTGGTGTGACTGTGTTTGTGACGCAAC
 CCCCCTGTTGGGGCATTGCCACCACCTGTCAGCTCCTTTCCGGGACTTTCGCTTCCCCTCCCTAT
 TGCCACGGCGGAACCTCATGCCCCCTGCCTTGCCCGTGTGACAGGGGCTCGGCTGTTGGGCAC
 TGACAATTCGGTGGTGTGTCGGGGAAATCATCGTCTTTCTTGGTGTGCTCGCCTATGTTGCCACCT
 GGATTCTGCGCGGGACGTCCTTCTGCTACGTCCCTTCCGGCCCAATCCAGCGGACCTTCTTCCC
 GCGCCTGCTGCGCGCTCTGCGGCTCTTCCGCGTCTTCCGCTTCCGCTCAGACGAGTCGGATCCTCCT
 TTGGGCCGCTCCCGCATCGATACCGAGCGCTGCTCGAGAGATCTACGGGTGGCATCCCTGTGACC
 CCTCCCAGTGCTCTCTGCGCCCTGGAAGTTGCCACTCCAGTGCCACCAGCCTTGTCTAATAAAAA
 TTAAGTTGCATCATTTTGTGCTGACTAGGTGTCTTATAATATTATGGGGTGGAGGGGGTGGTAT
 GGAGCAAGGGGCAAGTTGGGAAGACAACCTGTAGGGCTGCGGGGTCTATTGGGAACCAAGCTGG
 AGTGCAAGTGGCAATCTTGGCTCACTGCAATCTCCGCTCCTGGTTCAAGCGATTCTCCTGCCTCA
 GCCTCCGAGTTGTTGGGATTCCAGGCATGCATGACCAGGCTCAGCTAATTTTGTGTTTTTGGTAGA
 GACGGGGTTTACCATATTGGCCAGGCTGGTCTCAACTCCTAATCTCAGGTGATCTACCCACCTTGG
 CCTCCCAAATTGCTGGGATTACAGGCGTGAACCACTGCTCCCTCCCTGTCTTCTGATTTTGTAGGT
 AACCAAGTGCAGGACCGAGCGGCCGAGGAACCCCTAGTGATGGAGTTGGCCACTCCCTCTCTGCGC
 GCTCGCTCGTCACTGAGGCCGGGCGACCAAAGGTCGCCGACGCCGGGCTTTCGCCGGGCGGCC
 TCAGTGAGCGAGCGAGCGCAGCTGCCAAACCATATGATCAGCTCACTCAAAGCGGTAATACGG
 TTATCCACAGAATCAGGGGATAACGCAGGAAAGAATGTGAGCAAAAGGCCAGCAAAAGGCCAG
 GAACCGTAAAAAGGCCGCGTTGCTGGCGTTTTTCATAGGCTCCGCCCCCTGACGAGCATCACAAA
 AATCGACGCTCAAGTCAGAGGTGGCGAAACCCGACAGGACTATAAAGATACCAGCGTTTTCCCCT
 GGAAGCTCCCTCGTGCCTCTCTGTTCCGACCCTGCCGTTACCGGATACCTGTCCGCTTCTCCCT
 TCGGGAAGCGTGGCGCTTCTCATAGCTCACGCTGTAGGTATCTCAGTTCCGGTGTAGGTGTTGCT
 CCAAGTGGGCTGTGTCACGAACCCCGTTGACCCGACCGCTGCGGCTTACCGGTAACATCG
 TCTTGTGATCCAAACCGGTAAAGACACGACTTATGCCACTGGCAGCAGCCACTGGTAACAGGATTAGC
 AGAGCGAGGTATGTAGGCGGTGTACAGAGTTCTTGAAGTGGTGGCCTAACTACGGCTACACTAGA
 AGAACAGTATTTGGTATCTGCGCTCTGCT

도면14s

GAAGCCAGTTACCTTCGGAAAAAGAGTTGGTAGCTCTTGATCCGGCAAACAAACCACCGCTGGTAG
 CGGTGGTTTTTTTTGTTTGAAGCAGCAGATTACGCGCAGAAAAAAGGATCTCAAGAAGATCCTTTG
 ATCTTTTCTACGGGGTCTGACGCTCAGTGGAAACGAAACTCACGTTAAGGGATTTTGGTCATGAGAT
 TATCAAAAAGGATCTTACCTAGATCCTTTTAAATTAATAAATGAAGTTTTAAATCAATCTAAAGTATA
 TATGAGTAAACTTGGTCTGACAGTcagaagaactcgtcaagaaggcgatagaaggcgatcgctcgcaatcgggagcg
 ggataccgtaaagcacgaggaagcggtcagccattcgccccaagctctcagcaatcacgggtagccaacgctatgctctg
 atagcggctcgccacaccagccggccacagtcgatgaatccagaaaagcggccattttccaccatgatattcggaagcaggcat
 cgcatgggtcacgacgagatcctcccgctgggcatgctcgccttgagcctggcgaacagttcggctggcgcgagccctgatgct
 cttcgtccagatcatcctgatgacaagaccggcttccatccgagtagctcgtcctgatcgatgcttgcctgggtggtcgaatggg
 caggtagcggatcaagctatgacgcccgcattgcatcagccatgatggatactttctggcaggagcaaggtgagatgacag
 gagatcctgccccggcacttcgccaatagcagccagtccttccgcttcagtagacaacgctgagTcacgctgccaaggaacgc
 ccgtgctggcagccagatagccgctgctcctcgtcttcagttcattcaggcaccggacaggtcggtcttgacaaaagaaccg
 ggcccccctgctgacagccggaacacggcgcatcagagcagccgattgtctgtgtgcccagtcatagccaatagcctccc
 acccaagcggcggagaacctcgtgcaatccatctgttcaatcatACTCTTCTTTTCAATATTATTGAAGCATTT
 ATCAGGGTTATTGTCTCATGAGCGGATACATATTTGAATGATTTAGAAAAATAAACAAATAGGGGT
 TCCGCGCACATTTCCCGAAAAGTGCCACCTAAATTTGTAAGCGTTAATATTTTGTAAAAATTCGCGTT
 AAATTTTGTAAATCAGCTCATTTTTAAACCAATAGGCCGAAATCGGCAAAATCCCTTATAAATCAA
 AAGAATAGACCGAGATAGGGTTGAGTGTGTCCAGTTTGGAAACAAGAGTCCACTATTAAGAACG
 TGGACTCCAACGTCAAAGGGCGAAAAACCGTCTATCAGGGCGATGGCCCACTACGTGAACCATCAC
 CCTAATCAAGTTTTTTGGGGTGCAGGTGCCGTAAGCACTAAATCGGAACCTAAAGGGAGCCCC
 GATTAGAGCTTGACGGGAAAGCCGGCAACGTGGCGAGAAAGGAAGGGAAAGAAAGCGAAAGG
 AGCGGGGCTAGGGCGTGGCAAGTGTAGCGGTCACGCTGCGCGTAACCACCACCCGCGCGCT
 TAATGCGCCCTACAGGGCGCGATGGATCCGGTACCCAACCTCCATGCTTAACAGTCCCCAGGTACAG
 CCCACCCTGCGTCGCAACCAGGAACAGCTCTACAGCTTCTGGAGCGCCACTCGCCCTACTTCCGCA
 GCCACAGTGCAGATAGGAGCGCCACTTCTTTTGTCACTTAAAAACATGAAAAATAATGTAC
 TAGGAGACACTTTCAATAAAGGCAAATGTTTTTATTTGTACACTCTGGGTGATTATTTACCCCCAC
 CCTTGCCGCTGCGCCGTTCAGAAGTCAAAGGATTCTGTCTGGCGTCAGAGTGGGCCACGGGCAG
 AGACACATTCGGTACTGATGCTTAGTGTCTCACTTGAACCTGGGCACCACCATGCGGGGCAGCTCT
 GTGAAGTCTCAGACCACAGGCTCCGCACCATCACGAGAGCGTTCAGCAGATCTGGGGCGGAGATC
 TTGAAGTCGAGTTGGGGCTCCACCCTGAGCTGCTATTCTGTACACGGGATTGACGACTGGA
 ACACGATCAGGGCGGGTGGTGAACGGAGGCCAGCACGGACTTGTGCTGATCAGATCGGCATCC
 AGATCTTCGGCGTGTCTCAGGGCAAAGGGGTCAGTTTTGGCAGCTGCCTGCCAGGAAAGGGGC
 GTGGCCGGGCTTGGAGTTACATTCGACGCGCAGGGGCATCAGGAGTGGCCGTGGCCGGTCTGGG
 CATTGGATACAGGGCTTGCATGAAGGCCTTGATCTGCTTGAAGGCCACTTGCGCCTGGCTCCCTC
 GCTGAAGAACATTCGCGACTCTTGCCGCTAAACTGATTGGCAGGGCAGGGCGCTCATGCACGCA
 ACATCTGGCGTCTGTGTTAGAAATCTGCACCAGTTCCTGCCCACTGTTCTTACGATCTTGGCCTT
 GCTGGACTGCTCTCAGGGCGCGTGGCCGTTTTCGAAAGTACATCCATCTCGATCAGTGCTCCT
 TGTTAATCATGATAGAGCCGTGCAGGCATTTAGCTCGCCCTCAATCTCGGGCATCTGTGCAGCCA
 CAGGGCGCAGCCGGTGGGCTCGTGGTGTGTTAAGTCACTTCGGCGAAAGATTGCAGGTAGGCCTG
 CAGAAAACCTGCCATATGGTCACAAAGTCTTGTGTTGATGTAAGGTGAGCTGCAGCCCTCATGC
 TCCTCATTACGCATGTCTTGCACACGGCAGCCAGGGCCTCCACCTGGTCAGGCAGCAGTTTGAAT
 TAGCCTTACAGTCTTGTCCACGTGGTACTTGTCCATCAGGGCCCGGGCGCCTCCATTCCCTTCTCC
 CAAGCGCTCACAATTGGCAGGGACAGTGGATTAATCAC

도면14t

TGTGCTCTCGTCTCGGCCTCGGAGGATTCTTCTCTCTCTGTGTCTCATGCCCCCTGCCACAGG
 ATCATCTCTGTTTTCAGCCTGCGCACGGTCCGTTTTCCCTTTGCGGTGCTTGATGAGCACAGGTGGAT
 TGCTGAATCCACCATCTGCAGAGCGACGTCCTCGCGCTTCTCTGAGTCCACGATCACTTCTGGG
 CTGGGTGGTCTCAGGTTTAGGGGAGGGCCTCTTCTTTTTTTTGTGGCAATGGCCAGGTCCG
 CGGTGGAAAGTGGAGGGTCTTGGAGATGGTGTCTAGGCACAGAGCGTCTGGGAACTGTCTTCT
 CGTCTCGGACTCCAGGCGTCTCCGAGTCTCTTTTTGGGGGCGCGGGGAGGCGGGCGGCGACG
 GCGACGGGAGCAGACGTCCTCCATGTTGGTGGACGTCGCGCCGACCGCGTCCGCGCTCGGGG
 GTGGTTTTCGCGTCTCTCTTCCCGACTGGCCATTTCTTCTCTCTGAGGACTACCACGCCACGAG
 ATTAGGTTCTACGAAGACCAATCCCGCCGCCAAATGCGGAGCTTACCGCTGCGTCATTACCCAGG
 GCCACATCCTTGGCAATTGCAAGCCATCAACAAAGCCCGCCAAGAGTTTCTGCTACGAAAGGGACG
 GGGGGTTTACCTGGACCCCAAGTCCGGCGAGGAGCTCAACCAATCCCGCCGCCGCGCAGCCCTAT
 CAGCAGCCGCGGGCCCTTGTCTCCAGGATGGCACCCAAAAAGAAGCTGCAGCTGCCGCCGCCGCC
 ACCCAGGACGAGGAGGAATACTGGGACAGTCAGGCAGAGGAGGTTTTGGACGAGGAGGAGGAG
 ATGATGGAAGCTGGGATAGCAAGACTTCCGAGGCGAAGAGTGTGACGAAACACG
 GTCAACCCTCGGTCTCTCTTCCCGCGCCCGCCAGAAATGGCAACCGTTCCAGCATCGCTACA
 ACCTCCGCTCTCAGGCGCGCCGGCACTGCCTGTTCCGCCGCCAACCGTAGATGGGACACCACTG
 GAACGAGGGCCGTAAGTCTAAGCAGCCGCCCGTTAGCCCAAGAGCAACAACAGCGCCAAGGC
 TACCGCTCTGGCGCGGGCACAAGAAGCCATAGTTGCTTGTGCTTGAAGACTGTGGGGCAACATC
 TCTTCCGCCCGCGCTTCTTCTTCTACCATCACGGCGTGGCCTTCCCGTAACATCCTGCATTACTAC
 CGTCATCTTACAGCCCTACTGCACCGGCGGCGAGCGGCGAGCGGCAACAGCAGCGGTACACA
 GAAGCAAAGGCGACCCGATAGCAAGACTCTGACAAAGCCCAAGAAATCCACAGCGGGCGGACGAG
 CAGGAGGAGGAGCGCTGCGTCTGGCGCCCAACGAAACCGTATCGACCCGCGAGCTTAGAAATAGG
 ATTTTTCCACTCTGTATGTATATTTCAACAAAGCAGGGGCCAAGAACAAGAGTGAAAAATAAAA
 ACAGGTCTCTGCGCTCCCTCACCCGAGCTGCCTGTATCAAAAAGCGAAGATCAGCTTCGGCGCAC
 GCTGGAAGACGCGGAGGCTCTTTCAGCAAATACTGCGCGCTGACTCTTAAGGACTAGTTTCGCGCC
 CTTTCTCAAATTAAGCGCAAAAACACGTCATCTCCAGCGGCCACACCCGGCGCCAGCACCTGTG
 TCAGCGCCATTATGAGCAAGGAAATCCACGCCCTACATGTGGAGTTACCAGCCACAAATGGGACT
 TGGGCTGGAGCTGCCAAGACTACTCAACCCGAATAAACTACATGAGCGCGGGACCCACATGAT
 ATCCCGGTCAACGGAATCCGCGCCACCGAAACCGAATTCTCTCGAACAGGCGGCTATTACCACC
 ACACCTCGTAATAACCTTAATCCCGTAGTTGGCCCGCTGCCCTGGTGTACCAGGAAAGTCCCGCTCC
 CACCACTGTGGTACTTCCAGAGACGCCAGGCCGAAGTTCAGATGACTAACTCAGGGGCGCAGCT
 TGCGGGCGGCTTTCGTACAGGGTGCGGTCCCGGGCGTTTTAGGGCGGAGTAACCTGATGTAT
 TGGGAATTGTAGTTTTTTAAATGGGAAGTGACGTATCGTGGGAAAACGGAAGTGAAGATTTGAG
 GAAGTTGTGGGTTTTTTGGCTTTCGTTTTCTGGGCGTAGGTTCCGCTGCGGTTTTCTGGGTTTTTTTG
 TGGACTTTAACCGTTACGTCATTTTTTAGTCTTATATACTCGCTCTGACTTGGCCTTTTTACACTG
 TGACTGATTGAGCTGGTGCCTGTGAGTGGTGTTTTTTAATAGGTTTTTTACTGGTAAGGCTGACT
 GTTATGGCTGCCGCTGGAAGCGCTGTATGTTGTTCTGGAGCGGGAGGGTGTATTTTGCCTAGG
 CGCCTGGATGCTTTGAGAGAGTGGATATACTACAATACTACACAGAGCGAGCTAAGCGACGAGAC
 CGGAGACGAGATCTGTTGTACGCCCGCACCTGGTTTTGCTTACGAAATATGACTACGTCGGGC
 GTTCCATTTGGCATGACTACGACCAACAGATCTCGGTTGTCTCGGCGCACTCCGTACAGTAGGG
 ATCGCTACCTCCTTTGAGACAGAGACCCGCGCTACCATACTGGAGGATCATCCGCTGCTGCCCGA
 ATGTAACACTTTGACAATGCACAACGTGAGTTACGTGCGAGGTTCTTCCCTGCAGTGTGGGATTTACG
 CTGATTCAGGAATGGGTTGTTCCCTGGGATATGGTT

도면14u

CTGACGCGGGAGGAGCTTGTAACTCTGAGGAAGTGTATGCACGTGTGCCTGTGTTGTGCCAACATT
 GATATCATGACGAGCATGATGATCCATGGTTACGAGTCTCGGGCTCCACTGTCATTGTTCCAGTCC
 CGGTTCCCTGCAGTGCATAGCCGGCGGGCAGGTTTTGGCCAGCTGGTTTAGGATGGTGGTGGATGG
 CGCCATGTTTAAATCAGAGGTTTATATGGTACCGGGAGGTGGTGAATTACAACATGCCAAAAGAGGT
 AATGTTTATGTCCAGCGTGTATATGAGGGGTGCGCACCTAATCTACTGCGCTTGTGGTATGATGGCC
 ACGTGGGTCTGTGGTCCCGCCATGAGCTTTGGATACAGCGCCTTGCACTGTGGGATTTTGAACAA
 TATTGTGGTGTGTGCTGCAGTACTGTGCTGATTTAAGTGAGATCAGGGTGCCTGTGTGCCCGG
 AGGACAAGCGCTCTACTGCTGCGGGCGGTGCGAATCATCGCTGAGGAGACCACTGCCATGTTGTAT
 JCTGTGACGAGCAGCGAGCGCGGGCGGAGCAGTATTTCGCGCGTGTGCAGCACCACCGCCCTATC
 CTGATGCACGATTATGACTCTACCCCATGTAGGCGTGGACTTCCCCTTGCCTGCCCGCCGTTGAGCAACC
 GCAAGTTGGACAGCAGCTGTGGCTCAGCAGCTGGACAGCGACATGAACCTAAGCGAGCTGCCCGG
 GGAGTTTATAATATCACTGATGAGCGTTTGGCTCGACAGGAAACCGTGTGGAATATAACACCTAAG
 AATATGTCTGTACCCATGATATGATGCTTTTTAAGGCCAGCCGGGAGAAAGACTGTGACTCTG
 TGTGTTGGGAGGGAGGTGGCAGGTTGAATACTAGGGTCTGTGAGTTTGATTAAGGTACGGTGATC
 AATAAAGCTATGTGGTGGTGGGCTATACTACTGAATGAAAAATGACTTGAAATTTTCTGCAATTG
 AAAAATAAACACTGTTGAAACATAACATGCAACAGGTTACGATTCTTTATTCTGGCAATGTAGGA
 GAAGGTGAAGAGTTGGTAGCAAAAGTTTCACTGGTGTATTTCCACTTCCAGGACCATGTAATA
 GACATAGAGTAAGTGCTTACCTCGTAGTTTCTGTGGATTCACTAGAgcggccgctctgtatttagAGGT
 CAACGTGAGTGTTCGCGACATTTTGCAGACCATGTGCTCACGCTgaggatataatggccgagtgagcagc
 aggatGCAACctccatttgAcccgaaAtttgaaacgagcagcccatgCgggggtttacgagattgtgattaaggccccag
 cgacctgacgAgcatctgcccggcatttctgacagcttggactgggggagcagagaaggaatgggagttgcccagattctga
 catggatctgaactgattgagcagccaccctgaccgtggcgagaagctgacgagcagcttctgacggaatggcggctgga
 gtaaggcAccggaggccctttcttcttgcaatttgagaaggagagagctacttccacatgcaactgctggaacacacggg
 gtgaaatccatggtttgggagcttctgagtcagattcgcaaaaactgattcagagaattaccgaggatcgagccgacttgc
 caaactggttcggctcacaagaccagaatggcggcgggagggggaacaagtggtggatgagtgctacatcccaattactt
 gctcccaaaaccagcctgagctcagtgggcgtggactaatatggaaacagatttaagcgcctgttgaatctcagggagcgtaa
 acggttggcgagcagcatctgacgacgctgctcagacgagcagagaacaaagagaatcagaatccaattctgatgccc
 gtgatcagatcaaaaactgacggagtgatggagctggcgggctgctggacaaggggattacctggagaagcagtgat
 ccaggaggaccagccctacatctcttcaatcgggcctcaactcggtcccaatcaaggctgcttggacaatgaggga
 agattatgagcctgactaaaaccgccccgactcactggggcagcagccgtggaggacatttccagcaatcggtattataaa
 atttggaactaaacgggtacgatcccaaatatgccccttccgtcttctgggatgggccacgaaaaagtgcgcaagggaacacc
 atctggctgttgggctgcaactaccgggaagaccaacatcgaggagccatagcccactgtgcccctctacgggtgctaaac
 tggaccaatgagaacttcccttcaacgactgtgcaagaagatggatctggggaggagggaagatgaccgcaaggtcgt
 ggagtcggccaaagccattctggaggaaagcaaggtgagcgtggaccagaaatgcaagctcggccagatagaccgactccc
 gtgatcgtcacctcaacacacatgctgcccgtgattgacgggaactcaacgacttcaaacaccagcagccgttgaagaccg
 gatgttcaatttgaactaccgcccctgagatcatgacttgggaaggtcacaagcaggaagtcaagacttttccgggtggc
 aaaggatcacgtggttgaggggagcatgaattctacgtcaaaaagggtggagccaagaaaagaccgccccagtgacgcaga
 tataagtgagcccaaacgggtgagcagtcagttgagcagccatgagcgtcagacgaggaaagcttctgatcaactacgacagcag
 tacGTaaacaatgttctgctcagctgggcatgaatctgatctgtttccctgagacaatgagagagaatgaatcagaattcaaat
 atctgcttcaactacggaagaaagactgttagagtgcttcccgtgcaaatctcaaccgtttctgtgcaaaaaggcgtatca
 gaaactgtgtacattcatatcatgggaaagggtccagacgcttcaactgctgctgcaatgtggaattggatgactgc
 atcttgaacaataaatgattaaatcaggtatggctgccatggttatcttccagattggctcgaggacactctctgaaggaata
 agacagtggtggaagctcaaacctggccccaccaccaaaagcc

도면 14w

서열번호:13

미니-p헬퍼 -Rep

TTTGGCTTCCTCCAGGCGCGGCGGCTGCTGCGCTAGCTTTTTGGCCACTGGCCGCGCGGGCGTA
 AGCGGTTAGGCTGAAAGCGAAAGCATTAAAGTGGCTCGCTCCCTGTAGCCGGAGGGTTATTTTCCA
 AGGGTTGAGTCGACAGGACCCCGGTTCCAGTCTCGGGCCGGCCGACTGCGGCGAACGGGGGTTT
 GCCTCCCCGTATGCAAGACCCCGCTTGCAAATCCTCCGAAACAGGGACGAGCCCCTTTTTTGCTT
 TTCCAGATGCATCCGGTGTGCGGCAGATGCGCCCCCTCCTCAGCAGCGGCAAGAGCAAGAGCA
 GCGGCAGACATGCAAGGACCCCTCCGTTCTCCTACCGCGTCAGGAGGGCAACATCCTACATCGAT
 AGATCTGCAGAAATCGGCTTGGCGGCTGCGTTCAAACCTCCCGCTTCAAATGGAGACCCTGCGT
 GCTCACTCGGGCTTAAATACCCAGCGTGACCACATGGTGTGCAAAATGTCGCAAAACACTCACGTG
 ACCTTAATACAGGACCTCTAGAGCATGGCTACaaatcatttattgttcaaagatgcagtcacaaatccacattga
 ccagatcgacaggcagtgcaagcgtctggcaccttcccatgatgatgaatgtagcacagttctgatacgccttttgacgacaga
 aacgggttgagattctgacacgggaaagcactctaaacagctcttctgtccgtgagtgaaagcagatattgaaattctgattcattctc
 cgcattgtctgagggaaacagcatcagattcatgccacgtgacgagaacattgtttACgtacctgtctgctagtgatcgaag
 ctcccgctgacgctgatggctgccaactgactcgcgacccgtttgggctcacttatatctgctgactggggcgggctctttct
 tggctccaccctttttgacgtagaattcatgctccaccctcaaccacgtgatcctttgccaccggaaaaagctttgacttctgcttgg
 tgacctccaaagtcatgatccagacggcgggtgagttcaaattgaacatccggcttgcaacggctgctgggttcgaaggctgt
 tgagttcccgtaacacggcgacatgttgggtgagtgacgatcacgggagtcgggtctatctgggacgaggacttgattc
 tggctcacgacacctgcttcccgagaatggcttggccgactccacgaccttggcggtcacttcccctctccaccagatcac
 catctgtcgaacagctgtgaagggaagttctcattgggtccagtttacgccacctgagaaaggccacagtgaggctatggcctcc
 gcatgttggctctccggtagttgacggcccaaacagccagatgggttctcttggcgaactttttctggcccatccagaaaga
 cggaaagcgcataattgggagctgacccgttagttcaaaaatttataaaatccgattgctggaaatgtctccacgggctgctggcc
 caccaggtagtcggggcggttttagtcaggtcataatcttcccgactgtcaaggcagccttgattgggaccgagttggag
 gccgcatgaaaggagatgatgaggcctggtcctctggatccactgcttctccagggtatccccttgcacagaccaccgacca
 gctccatgtaactgctgaagttttgactgctgacccggcgcacagaattgggattctgattctcttggctctcctgctgca
 cacgtgctcagatgctgcccaccaaccgtttacgctcgtgagattcaaacagggccttaaaactgttccatattagtcacgcc
 cactggagctcaggctgggtttggggagcaagtaattgggagtagcactcatccaccctgttcccgcctccggcgcatttc
 tggcttttgaccgcaaccagtttggcaagtcggctcgcacccggtaaatctctgaaatcagtttttcggaatctgactcagg
 aaacgtcccaaaaccatggatttccaccgggtggttccacgagcagctgcatgtggaagtagctctctccctctcaaatgcaca
 agaaaaaggcctccgTgccttactcacggcgccattccgtcagaaagtcgctgagcttctcggccaggtcaggggtgcc
 tctcaatcagattcagatccatgtcagaatctggcgcaactcccattctctcggccaccagttcaaaagctgtcagaaatgc
 cgggagatgcTcgtcaaggtcgtggggaccttaatacacaatctcgtaaaaccccgGcAtggcggtgctcgttcaaaTtccg
 gTcaaaatggagGTGcAtcctgctcgtcactcggccatatactcaGCGTGACCACATGGTGTGCAAAATGT
 CGCAAAACACTCACGTTGACCTctaatacaggaccgcgccgctTCTAGTGAATCCACAGAACTAGCGAGG
 TAAGCACTTACTCTATGTCTTTACATGGTCTTGGGAAAGTGGAAATACACCACTGAAACTTTTGT
 ACCAACTCTTACACCTTCTCTACATTGCCAGGAATAAAGAATCGTGAACCTGTTGCATGTTATGTT
 TCAACGTGTTTATTTTCAATTGCAGAAAATTTCAAGTCATTTTTCATTAGTAGTATAGCCCCACCAC
 CATATAGCTTATATGATCACCGTACCTTAATCAAACACTCACAGAACCCTAGTATTCAACCTGCCACCTC
 CCTCCCAACACACAGAGTACACAGTCTTTTCTCCCGGCTGGCCTTAAAAAGCATCATATCATGGGTA
 ACAGACATATTCTTAGGTGTTATATTCCACACGGTTTCTGTGAGCCAAACGCTCATAGTGATATT
 AATAAACTCCCGGGCAGCTCGTTAAGTTCATGTCGCTGTCCAGCTGCTGAGCCACAGGCTGCTGT
 CCAACTGCGGTTGCTCAACGGCGCGGAAGGGGAAGTCCACGCCTACATGGGGGTAGAGTCATA
 ATCGTGATCAGGATAGGGCGGTGGTG

도면14x

CTGCAGCAGCGCGAATAAACTGCTGCCGCCGCCGCTCCGTCCTGCAGGAATACAACATGGCAGT
 GGTCCTCAGCGATGATTCGCACCGCCCCGAGCATGAGACGCCTTGTCTCCGGGCACAGCAGCGC
 ACCCTGATCTCACTTAAATCAGCACAGTAACTGCAGCACAGCACCACAATATTGTTCAAATCCCACA
 GTGCAAGGCGTGTATCCAAAGCTCATGGCGGGGACCACAGAACCACGTGGCCATCATACCACAA
 GCGCAGGTAGATTAAGTGGCGACCCCTCATAAACACGCTGGACATAAACATTACCTCTTTTGGCATG
 TTGTAATTCACCACCTCCCGGTACCATATAAACCTCTGATTAACATGGCGCCATCCACCACCATCCTA
 AACCAGCTGGCCAAAACCTGCCCGCCGGCTATGCACTGCAGGGAACCGGGACTGGAACAATGACAG
 TGGAGAGCCAGGACTCGTAACCATGGATCATCATGCTCGTATGATATCAATGTTGGCACAACACA
 GGCACACGTGCATACACTTCTCAGGATTACAAGCTCCTCCCGCTCAGAACCATATCCAGGGAAC
 AACCCATTCTGAATCAGCGTAAATCCCACACTGCAGGGAAGACCTCGCACGTAACCTCACGTTGTGC
 ATTGTCAAAGTGTACATTGGGCGAGCAGCGGATGATCCTCCAGTATGGTAGCGCGGGTCTCTGTCT
 CAAAAGGAGGTAGGCGATCCCTACTGTACGGAGTGCGCCGAGACAACCGAGATCGTGTGGTCTGA
 GTGTCATGCCAAATGGAACGCCGGACGTAGTCATATTTCTGAAGCAAAACCAGGTGCCGGCGTGA
 CAAACAGATCTGCTCTCCGGTCTCGTCTGCTAGCTCGCTCTGTGTAGTAGTTGTAGTATATCCACTC
 TCTCAAAGCATCCAGGCGCTAGGCAAAATAGCACCTCCCGCTCCAGAACAACATACAGCGCTCC
 ACAGCGGCAGCCATAACAGTCAGCCTTACCAGTAAAAAACCTATTAAAAAACCACTCGACACGG
 CACCAGCTCAATCAGTCACAGTGTA AAAAGGGCCAAGTACAGAGCGAGTATATATAGGACTAAAAA
 ATGACCTAACGGTTAAAGTCCACAAAAACCCAGAAAACCGCACGGAACCTACGCCAGAAAC
 CTAAGCTAAAAAACCCACAACCTCCTCAAATCTTCACTTCCGTTTTTCCACGATACGTCACTTCCCATT
 TTA AAAAAACTACAATTCCCAATACATGCAAGTTACTCCGCCCTAAAACGCCCGGGCGACCCGACCC
 TGTGACGAAAGCCGCCCAAGCTGCGCCCTGAGTTAGTCATCTGAACTTCGGCCTGGGCGTCTCT
 GGGAAGTACCACAGTGGTGGGAGCGGGACTTTCCTGGTACACCAGGGCAGCGGGCCAACCTACGGG
 GATTAAGGTTATTACGAGGTGTGGTGGTAATAGCCGCTGTTGAGGAGAAATTCGGTTTCGGTGGG
 CGCGGATCCGTTGACCCGGGATATCATGTGGGGTCCCGCGCTCATGTAGTTTATTCCGGTTGAGTA
 GCCTTGGGCGCTCCAGCCGCAAGTCCCATTTGTGGCTGGTAACTCCACATGTAGGGCGTGGGAATT
 TCCTTGCTCATAATGGCGCTGACGACAGGTGCTGGCGCCGGGTGGCCGCTGGAGATGACGTAGT
 TTTCCGCTTAAATTTGAGAAAGGGCGCGAAACTAGTCTTAAGAGTCAGCGCGCAGTATTTGCTGA
 AGAGAGCTCCGCGTCTCCAGCGTGCGCCGAAGCTGATCTTCGCTTTTGTGATACAGGCAGCTGCG
 GGTGAGGGAGCGCAGAGACCTGTTTTTATTTTTCAGCTCTTGTCTTGGCCCTGCTTTGTTGAAATA
 TAGCATACAGAGTGGGAAAAATCTATTTCTAAGCTCGCGGGTGCATACGGGTTCTGTGGGCGCCA
 GACGCAGCGCTCCTCCTCTGCTGCTGCCGCCGCTGTGGATTTCTGGGCTTTGTCAGAGTCTTGCTA
 TCCGGTCGCTTTGCTTCTGTGTGACCGCTGCTGTTGCTGCCGCTGCCGCTGCCGCCGGTGCAGTAG
 GGGCTGTAGAGATGACGGTATGTAATGCAGGATGTTACGGGGGAAGGCCACCGCTGATGGTAGAG
 AAGAAAGCGCGGGCGAAGGAGATGTTGCCCCACAGTCTTGCAAGCAAGCAACTATGGCGTTCTT
 GTGCCCGGCCACGAGCGGTAGCCTTGGCGCTGTTGTTGCTCTTGGGCTAACGGCGGGCGCTGCTT
 AGACTTACCGGCCCTGGTTCCAGTGGTGTCCCATCTACGGTTGGGTCCGGCAACAGGCAGTGCCGG
 CGCGCCTGAGGAGCGGAGGTTGTAGCGATGCTGGGAACGTTGCCAATTTCTGGGCGCCGGCGG
 AGGGGAATGCGACCGAGGGTACGGGTGTTTCGTCTGACACCTCTTCGGCCTCGGAAGCTTCGTCTA
 GGCTGTCCAGTCTTCCATCATCTCCTCCTCCTCGTCCAAAACCTCCTCTGCTGACTGTCCAGTATT
 CCTCTGCTCCGTGGGTGGCGGGCGGGCAGCTGCAGCTTCTTTTGGGTGCCATCTGGGAAGCA
 AGGGCCCGGGCTGCTGATAGGGTGCGGCGCGGGGGATTGGGTTGAGCTCCTCGCCGACTG
 GGGGTCCAGGTAACCCCGTCCCTTTCGTAGCAGAAACTCTTGGCGGGCTTTGTTGATGGCTTGC
 AATTGGCCAAGGATGTGCCCTGGGTAATGACG

도면14y

CAGGCGGTAAGCTCCGCATTTGGCGGGCGGGATTGGTCTTCGTAGAACCTAATCTCGTGGGCGTGG
 TAGTCTCAGGGGAGAAGGAAATGGCCAGTCGGGAAGAGGAGCAGCGGAAACCACCCCGAGCGC
 GGACGCGGTGCGGCGCGACGTCCACCAACCATGGAGGACGTGTCGTCCTCCCGTCGCGCTCGCCGCCG
 CCTCCCGCGCGCCCCAAAAAGAGACTGCGGAGACGCCTGGAGTCCGAGGACGAGGAAGACAG
 TTCCCAGGACGCTCTGGTGCCTAGGACACCATCTCCAAGACCCTCCACTTCCACCCGCCGACCTGGCCA
 TTGCCAGCAAAAAAAGAAGAAGAGGGCCCTCCCTAAACCTGAACGACCACCCAGCCAGAAAGTGA
 TCGTGACTCAGAGGAAGAGCGCGAGGACGTGCTCTGCAGATGGTGGGATTGAGCAATCCACCTG
 TGCTCATCAAGCACGGCAAAGGGGAAAAACGGACCGTGCGCAGGCTGAACGAGGATGATCCTGTG
 GCAAGGGGCATGAGGACACAGGAGGAGAAGGAAGAATCCTCCGAGGCCGAGAGCGAGAGCACAG
 TGATTAATCCACTGTCCCTGCCAATTGTGAGCGCTTGGGAGAAGGGAATGGAGCGCCCGGGGCC
 TGATGGACAAGTACCAGTGGACAACGACCTGAAGGCTAATTTCAAAGTCTGCTGACCTGACAGGTGG
 AGGCCCTGGCTGCCGTGTGCAAGACATGGCTGAATGAGGAGCATAGAGGGCTGACGCTGACCTTTA
 CATCAAAACAAGACCTTTGTGACCATGATGGGCAGGTTTCTGCAGGCCTACCTGCAATCTTTGCGCGA
 AGTGACTTACAAGCACACGAGCCACCGGCTGCGCCCTGTGGCTGCACAGATGCGCCGAGATTGA
 GGGCGAGCTGAAATGCCTGCACGGCTCTATCATGATTAACAAGGAGCAGTGTGATCGAGATGGATGT
 GACTTCCGAAAACGGCCAGCGCGCCCTGAAGGAGCAGTCCAGCAAGGCCAAGATCGTGAAGAACA
 GGTGGGGCAGGAACGTGGTGCAGATTTCTAACACAGACGCCAGATGTTGCGTGCATGACGCGCCCT
 GCCCTGCCAATCAGTTTAGCGGCAAGAGCTGCGGAATGTTCTCAGCGAGGGAGCCAAGGCGCAAG
 TGGCCTTCAAGCAGATCAAGGCCCTCATGCAAGCCCTGTATCCAATGCCAGACCCGGCCACGGCCA
 CCTCTGATGCCCTGCGTGCATGTAATGTAACCTCAAGCCCGCCACGCCCCCTTTCTGGGCAGGCAG
 CTGCCAAAACGACCCCTTTTCCCTGAGCAACGCGGAAGATCTGGATGCCGATCTGATCAGCGACA
 AGTCCGTGCTGGCCTCCGTTACCACCCCGCCCTGATCGTGTCCAGTGTGCAATCCCGTGTACAGG
 AATAGCAGAGCTCAGGGTGGAGGCCCAACTGCGACTTCAAGATCTCCGCCAGATCTGCTGAAC
 GCTCTCGTGTGGTGGGAGCCTGTGGTCTGAGAACTTACAGAGCTGCCCCGATGTTGGTGGCC
 GAGTTCAAGTGGAGCATAAGCATCAGTACCGGAATGTGTCTCTGCCGTGGCCACTCTGACGCCA
 GACAGAATCCTTTGACTTCTGAACGGCGCAGACGGCAAGGGTGGGGGTAATAATCACCCGAGA
 GTGTACAAAATAAAACATTTGCCCTTATTGAAAGTGTCTCCTAGTACATTATTTTACATGTTTTCAA
 GTGACAAAAGAAAGTGGCGCTCCTAATCTGCGCACTGTGGCTGCGGAAGTAGGGCGAGTGGCGCT
 CCAGGAAGCTGTAGAGCTGTTCTGGTTCGACGCGAGGGTGGGCTGTACCTGGGGACTGTTAAGCA
 TGGAGTTGGGTACCGGATCCATCGCGCCCTGTAGCGGCGCATTAAAGCGCGGGGTGGTGGTGA
 CGCGCAGCGTGACCGTACACTTGCCAGCGCCCTAGCGCCCGCTCTTTGCTTTCTTCCCTTCTTTT
 TCGCCACGTTCCCGGGCTTTCCCGTCAAGCTCTAAATCGGGGGCTCCCTTTAGGGTCCGATTTAGT
 GCTTTACGGCACCTCGACCCAAAAAACTTGATTAGGGTGTGGTTCACGTAGTGGGCCATCGCCCT
 GATAGACGGTTTTTCGCCCTTTGACGTTGGAGTCCACGTTCTTTAATAGTGGACTTTGTTCCAACT
 GGAACAACACTCAACCCTATCTCGGTCTATTCTTTGATTTATAAGGGATTTGCGGATTTCCGGCTAT
 TGGTTAAAAATGAGCTGATTTAACAATAATTAACGCGAATTTAACAATAATTAACGCTTACAAT
 TTAGGTGGCACTTTTCCGGGAAATGTGCGCGGAACCCCTATTTGTTATTTTCTAAATACATTCAA
 TATGTATCCGCTCATGAGACAATAACCTGATAAATGCTTCAATAATATTGAAAAAGGAAGAGTatga
 ttgaacaagatggattgcacgcagggttccggcccttgggtggagaggctattcggctatgactgggcacaacagacaatcggct
 gctctgatccgctgttccggctgtcagcgcagggcgccgggtctttttgtcaagaccgactgtccgggtccctgaatgaact
 gcaagacgaggcagcgcggctatcgtggctggccagcagggcggttctcttgcagctgtActcgactgtcactgaagcgggaa
 gggactggctattgggcgaagtccggggcaggatctcctgtcatctcacctgtcctcgcgagaagatccatcatggctga
 tgcaatgcggcgctcatcacctgtatccggctacc

도면14z

tgccattcgaccaccaagcgaacatcgcatcgagcgcagcactcggatggaagccggtcttgcgatcaggatgatctgga
cgaagagcatcaggggctcgcgccagccgaactgttcgaggctcaaggcgcagcatgccgacggcgaggatctcgtcgtgacc
catggcgatgctgctfcccgaatatcatggggaaaatggccgcttttctggattcatcgactgtggccggctgggtgtggcggacc
gctatcaggacatagcgttggctaccctgatattgctgaagagcctggcggcgaatgggctgaccgcttccctcgtgcttacgggat
cgccgctcccgatcgcagcgcacgccttctatcgcccttctgacgagttcttctgaCTGTCAGACCAAGTTTACTCATAT
ATACTTTAGATTGATTTAAACTTCATTTTTAATTTAAAAGGATCTAGGTGAAGATCCTTTTTGATAAT
CTCATGACCAAAATCCCTTAACGTGAGTTTTCTGTTCCACTGAGCGTCAGACCCCGTAGAAAAGATCA
AAGGATCTTCTTGAGATCCTTTTTTCTGCGCGTAATCTGCTGCTTGCAAACAAAAAACCACCGCTA
CCAGCGGTGGTTTGTGGCGGATCAAGAGCTACCAACTCTTTTTCCGAAGGTAAGTGGCTTCAGCA
GAGCGCAGATACCAATACTGTTCTTCTAGTGTAGCCGTAGTTAGGCCACCACTTCAAGAACTCTGT
AGCACCGCTACATACTCGCTCTGCTAATCTGTTACCAGTGGCTGCTGCCAGTGGCGATAAGTCG
TGTCTTACCGGGTTGGACTCAAGACGATAGTTACCGGATAAAGCGCAGCGGTCCGGGCTGAACGGG
GGGTTTCGTGCACACAGCCAGCTTGGAGCGAACGACCTACACCGAACTGAGATACCTACAGCGTGA
GCTATGAGAAAGCGCCACGCTTCCCGAAGGGAGAAAGGCGGACAGGTATCCGGTAAGCGGCAGGG
TCGGAACAGGAGAGCGCACGAGGGAGCTTCCAGGGGGAAACGCCTGGTATCTTTATAGTCCTGTGC
GGTTTTCGCCACCTGACTTGTAGCGTCGATTTTTGTGATGCTCGTCAGGGGGCGGAGCCTATGGAA
AAACGCCAGCAACGCGGCCCTTTTACGGTTCCTGGCCTTTTGTGGCCTTTTGTCCACATGTTCTTTCC
TGCGTTATCCCTGATTCTGTGGATAACCGTATTACCGCCTTTGAGTGAGCTGATCATATGGTTTAAA
CGTCGACGTAATCCGTAGATGTACCTGGACATCCAGGTGATGCCGGCGGGTGGTGGAGGCGCG
CGAAAGTCGCGGACGCGGTTCCAGATGTTGCGCAGCGGCAAAAAGTGCTCCATGGTTCGGGACGC
TCTGGCCGGTGGAGCGTGCAGTCTGACGCTCTAGACCGTGCAAAAGGAGAGCCTGTAAGCG
GGCACTCTCCGTGGTCTGGTGGATAAATTCGAAGGGTATCATGGCGGACGACCGGGGTTTGAAC
CCCGATCCGGCCGTCGCGGTGATCCATGCGGTTACCGCCCGGTGTCGAACCCAGGTGTGCGAC
GTCAGACAACGGGGGAGCGCTCCT

서열번호:14

야생형 AAV2 P5 프로모터 (P5-AAV2)

GGTCCTGTATTAGAGGTCACGTGAGTGTGTTTTCGACATTTTTCGACACCATGTGGTCACGCTGGGTA
TTTAAGCCCGAGTGAGCACGCAGGGTCTCCATTTTGAAGCGGGAGGTTTGAACGCGCAGCCGCC

서열번호:15

변형된 AAV2 P5 프로모터 (P5I)

GGTCCTGTATTAGAGGTCACGTGAGTGTGTTTTCGACATTTTTCGACACCATGTGGTCACGCTGAGG
TATATATGGCCGAGTGAGCGAGCAGGATGCAACCTCCATTTTGAACCGGAAATTTGAACGAGCAGC
CGCC

도면14a

서열번호:16

Ad2의 VA 코딩 영역

GGGCACTCTCCGTGGTCTGGTGGATAAATTCGCAAGGGTATCATGGCGGACGACCGGGGTTTCGAA
 CCCCAGATCCGGCCGTCCGCCGTGATCCATGCGGTTACCGCCCGGTGTCGAACCCAGGTGTGCGA
 CGTCAGACAACGGGGGAGCGCTCCTTTTGGCTTCCTTCCAGGCGCGGGGCTGCTGCGCTAGCTTTT
 TTGGCCACTGGCCGCGCGCGGCTAAGCGTTAGGCTGGAAAGCGAAAGCATTAAAGTGGCTCGCTC
 CCTGTAGCCGGAGGGTATTTTCCAAGGGTTGAGTCGCAGGACCCCGGTTTCGAGTCTCGGGCCGG
 CCGGACTGCGGCGAACGGGGGTTTGCCTCCCGTTCATGCAAGACCCCGCTTGCAAATTCCTCCGGAA
 ACAGGGACGAGCCCCT

서열번호:17

미니-p헬퍼의 변형된 E4 코딩 영역

ATGACTACGTCCGGCGTTCATTTGGCATGACACTACGACCAACACGATCTCGGTTGTCTCGGCGCA
 CTCCTACAGTAGGGATCGCCTACCTCCTTTTGGACAGAGACCCCGCTACCATACTGGAGGATCA
 TCCGCTGCTGCCGAATGTAACACTTTGACAATGCACAACGCGTGGACTTCCCCTTCGCCGCCCGTTG
 AGCAACCGCAAGTTGGACAGCAGCCTGTGGCTCAGCAGCTGGACAGCGACATGAACTTAAGCGAGC
 TGCCCGGGGAGTTTATAATCACTGATGAGCGTTTGGCTCGACAGGAAACCGTGTGGAATATAAC
 ACCTAAGAATATGTCTGTTACCCATGATATGATGCTTTTTAAGGCCAGCCGGGGAGAAAGGACTGTG
 TACTCTGTGTGTTGGGAGGGAGGTGGCAGGTTGAATACTAGGGTTCTGTGA

서열번호:18

미니-p헬퍼 1.0의 변형된 E4 코딩 영역

ATGACTACGTCCGGCGTTCATTTGGCATGACACTACGACCAACACGATCTCGGTTGTCTCGGCGCA
 CTCCTACAGTAGGGATCGCCTACCTCCTTTTGGACAGAGACCCCGCTACCATACTGGAGGATCA
 TCCGCTGCTGCCGAATGTAACACTTTGACAATGCACAACGAGTACGTGCGAGGTCTTCCCTGC
 AGTGTGGGATTTACGCTGATTCAGGAATGGGTTGTTCCCTGGGATATGGTTCTGACGCGGGAGGAG
 CTTGTAATCCTGAGGAAGTGTATGCACGTGTGCCTGTGTTGTGCCAACATTGATATCATGACGAGCA
 TGATGATCCATGGTTACGAGTCCCTGGGCTCTCCTACTGTCATTGTTCCAGTCCCAGTCCCCTGCAGTGC
 ATAGCCGGCGGGCAGGTTTTGGCCAGCTGGTTTAGGATGGTGGTGGATGGCGCCATGTTAATCAG
 AGGTTTATATGGTACCGGGAGGTGGTGAATTACAACATGCCAAAAGAGGTAATGTTTATGTCCAGC
 GTGTTTATGAGGGGTGCGCACTTAATCTACCTGCGCTTGTGGTATGATGGCCACGTGGGTTCTGTGG
 TCCCCGCCATGAGCTTTGGATACAGCGCCTTGCACTGTGGGATTTTGAACAATATTGTGGTGTGTG
 CTGCAGTACTGTGCTGATTTAAGTGAATCAGGGTGCCTGCTGTGCCCCGAGGACAAGGCGTCT
 CATGCTGCGGGCGGTGCGAATCATCGCTGAGGAGACCACTGCCATGTTGTATTCTGCAGGACGGA
 GCGGCGGCGGACAGTATTTCGCGCGCTGCTGCAGCACCCACCGCCCTATCCTGATGCACGATTAT
 GACTCTACCCCATGTAGGCGTGGACTTCCCCTTCGCCCGCCGTTGAGCAACCGCAAGTTGGACAGC
 AGCCTGTGGCTCAGCAGCTGGACAGCGACATGAACTTAAGCGAGCTGCCCGGGGAGTTTATAATA
 TCACTGATGAGCGTTTGGCTCGACAGGAAACCGTGTGGAATATAACACCTAAGAATATGTCTGTTAC
 CCATGATATGATGCTTTTTAAGGCCAGCCGGGGAGAAAGGACTGTGTAATCTGTGTGTTGGGAGGG
 AGGTGGCAGGTTGAATACTAGGGTTCTGTGA

도면 14ab

서열번호:19

Ad2 E4 프로모터 + E2a 프로모터 서열

AACAGTCAGCCTTACCAGTAAAAAACCTATTAATAAACACCACTCGACACGGCACCAGCTCAATCA
 GTCACAGTGTAAAAAGGGCCAAGTACAGAGCGAGTATATATAGGACTAAAAATGACGTAACGGTT
 AAAGTCCACAAAAACCCAGAAAACCGCACGCGAACCTACGCCAGAAAACGAAAGCCAAAAAAC
 CCACAATTCCTCAAATCTTCACTTCGGTTTTCCACGATACGTCACCTCCCATTTAAAAAACTACA
 ATTCCCAATACATGCAAGTTACTCCGCCCTAAAAACGCCGGGCGACCCGACCCTGTGACGAAAGCCG
 CCCGCAAGCTGCGCCCTGAGTTAGTCATCTGAACCTCGGCCTGGGCGTCTCTGGGAAGTACCACAG
 TGGTGGGAGCGGGACTTTCCTGGTACACCAGGGCAGCGGGCCAACACGGGGATTAAGGTTATTAC
 GAGGTGTGGTGGTAATAGCCGCTGTTGAGGAGAATTCGGTTTTGGTGGGCGGGATTCCGTTGA
 CCCGGGATATCATGTGGGGTCCCGCTCATGTAGTTTATTCCGGTTGAGTAGTCTTGGGCAGCTCC
 AGCCGCAAGTCCCATTTGTGGCTGGTAACTCCACATGTAGGGCGTGGGAATTCCTTGCTCATAATG
 GCGCTGACGACAGGTGCTGGCGCCGGGTGTGGCCGCTGGAGATGACGTAGTTTTCGCGCTAAATT
 TGAGAAAGGGCGCGAAACTAGTCCTTAAGAGTCAGCGCGCAGTATTTGCTGAAGAGAGCCTCCGCG
 TCTTCCAGCGTGCGCCGAAGCTGATCTTCGCTTTT

서열번호:20

AAV rep 코딩 서열

atgccggggttttacgagattgtgattaagggtccacgacctgacgAgcatctgcccggcatttctgacagcttttgaactggg
 tggccgagaaggaaatgggagttgccccagattctgacatggatctgaatctgattgagcaggcaccctgaccgtggccgagaag
 ctgacgacgactttctgacggaatggcggctgtgagtaaggcAccggaggccctttcttggcaatttgagaaggagagagc
 tacttccacatgacgctgctggtgaaacaccgggggtgaaatccatggtttgggacgttctgagtcagattcgcgaaaaactg
 attcagagaatttacgcgggatcgagcggactttgcaaaactggttcggtgcacaagaccagaaatggcgggagcgggga
 acaagggtggatgagtgctacatcccaattacttgcctcccaaaaccagcctgagctccagtgggcgtggactaatatggaac
 agtatttaagcgcctgttgaatctcacggagcgtaaacgggtggcgagcatctgacgcacgtgtcgacagcagggagcag
 aacaagagaatcagaatcccaattctgatgcccgggtgatcagatcaaaaaactcagccaggtacatggagctggtcgggtggct
 cgtgggacaagggtattacctcggagaagcagtggtatccaggagaccaggcctatacatctcctcaatgcccctccaactcgc
 ggtcccaaatcaaggctgccttggaacaatcggggaaagattatgagcctgactaaaaccgccccgactacctgggtggccagcag
 cccgtggaggacattccagcaatcggattataaaatfttggactaaacgggtacgatcccaaatatcggttccgtcttctgg
 gatgggcccagaaaagtccgcaagaggaaacacatctggctgttgggctgcaactaccgggaagaccaacatcgcgaggc
 catagcccacactgtccctctacgggtgctgtaaaactggaccaatgagaactttccctcaacgactgtgcaagaatgggtgat
 tggggggaggagggaagatgaccgccaaggtcgtggagtcggccaagccattctggagggaagcaaggtgcggtggaccag
 aatgcaagtcctcgccagatagaccgactcccgtgatcgtcacctcaacaccaatgtgcccgtgattgacgggaactc
 aacgaccttgcaacaccagcagccgttgcaagaccgatgtcaaatggaactcaccgcccgtggatcatgactttgggaagggt
 caccaagcaggaaagtcaagacttttccgggtgggcaaggatcacgtggtgaggtggagcatgaattctacgtcaaaaagggtg
 gagccaagaaaagaccgccccagtgacgagataaagtgagcccaaacgggtgctgagtcagttgagcagccatcgacgtc
 agacgaggaaagcttcgatcaactacgacaggtacGTAaacaatgttctgacgctgggcatgaatctgatgctgttccctg
 cagacaatgagagagaatgaaatcagaatcaaatatctgctcactcacggacagaaagactgttagagtgctttccgtgtaga
 atctcaaccgtttctgctgcaaaaaggcgtatcagaactgtctacattcatcatatcatgggaagggtgccagacgcttgact
 gcctgcatctggcaatgtggattggatgactgcatcttgaacaa

도면14ac

서열번호:21

AAV2cap 코딩 서열

atggctgccgatggtaictccagattggctcggggacactctctcgaaggaaataagacagtgggtggaagctcaacctggcccacc
accaccaaaagcccagagcggcacaaggacgacagcaggggcttggctcctgggtfacaagtacctcggaccctcaacggac
tcgacaaggagagaccgggtcaacagggcagacccggccctcggagcagacaagccacgaccggcagctcagacggga
gacaacccgfacctcaagfacaaccacgacgacggaggtttcaggagcgcctaaagaaagatagctctttgggggcaacctcggga
cggcagctctccaggcgaanaagggggtcttgaacctctggcctgggtgaggaaacctgtaagacggctccgggaaaaaagg
ccggtagagcactcctctgtaggaccagactcctcctcgggaaccggaaagcgggccaagcctgcaagaaaaagattgaattt
ggfcaagactggagacgcagactcagctgacccccagcctcctcggacagccaccagcagccccctctggctcgggaactaafac
gatggctacagggcagtgggcgaccaatggcagacaataacggggcggcggacggagtggaattcctcgggaaatggcaltgcg
atccacatggatggggcagacagatcaccaccagcaccggaaacctggccctgcccactacaaacacctctacaacaaa
ttccagccaatcaggagcctcgaacgacaactactttggctacagcacccttgggggtatitgacttcaacagaltccactgcca
ctttcaccactgactggcaaaagactcaacaacaactggggattccgccaagagactcaacttcaagctcttfaacttcaagt
caaaagggtcacgcagaatgacggctacgacgacgattgccaataacctaccagcacggttcaggttttactgactcggagtaccg
ctcccgtactcctcggctcggcgaalcaaggatgctcccggcttcccagcagactcttcatggfcccacagatggafaccac
cctgaacaacggggatcaggcagtagggacgctctcattttactggctggagtacttctctcagatgctgctaccggaaacaactt
acctcagctacacttttggagcgtttcttccacagcagctacgctcagaccagagcttggaccgtctcagatcctctcatcgacc
agtactcttactttagcagacaacaactccaagtgggaaccaccacgcagtcaggcttctcagtttctcagggccggagcagtg
cattcgggaccagctcaggaaactggctcctggaccctgttaccgccagcagcagatcaaaagacacttgggataacaacaacagt
gaatactgtaggactggagctaccagaccactcaatggcagagactctctggtagaatccggggccggccatggcaagccaca
ggacgatgaagaaaagtitttctcagagcggggttctcattttgggaagcaaggctcagagaaaacaatgtggacattgaaaag
gtcatgtatfacagacgaaggaatcaggacaaccaatccgtggctacggagcagatggttctgtatctaccaacctccagagag
gcaacagacaagcagctaccgcagatgtcaacacacaaggcgcttccaggcatggctggcagggacagagatgtfacctcagg
ggcccacttggcaaaagattccacacacggacggacatttaccacctcctccctcattgggtggattcggactaaacacctctcca
cagattctatcaagaacaccocggtaaccAgcgaatecttegaccaacctcagtgccgcaagtttgccttcaacacagactacc
acgggacaggctcagcgtggagatcagtgaggctcagaagggaaaacagcaaacgctggaaatcccgaaatcagtaactcca
actacaacaagtctgtaatgtggactttacttggacactaatggcgtgtatcagagccctgcccattggcaccagataactgactcg
taatcig

서열번호:22

Ad2 E4 프로모터 서열

GACCCGGGATATCATGTGGGGTCCCGCCTCATGTAGTTTATTGCGGTTGAGTAGTCTTGGGCAGCT
CCAGCCGCAAGTCCCATTGTGGCTGGTAACCTCCACATGTAGGGCGTGGGAATTTCTTGCTCATAA
TGGCGCTGACGACAGGTGCTGGCGCCGGGTGTGGCCGCTGGAGATGACGTAGTTTTGCGCTTAA
TTTGAGAAAGGCGCGAAACTAGTCTTAAGAGTCAGCGCGCAGTATTTGCTGAAGAGAGCCTCCG
CGTCTTCCAGCGTGCGCCGAAGCTGATCTTCGCTTT

서열번호:23

Ad2 E2a 프로모터 서열

GTTTTAGGGCGGAGTAACCTGCATGTATTGGAATTGTAGTTTTTTTAAATGGAAGTGACGTATC
GTGGGAAAACGGAAGTGAAGATTTGAGGAAGTTGTGGTTTTTTGGCTTTCGTTCTGGGCGTAGG
TTCGCGTGCGGTTTTCTGGGTGTTTTTGTGGACTTAAACCGTTACGTATTTTTAGTCTATATATA
CTCGCTGTACTTGGCCCTTTTTACACTGTGACTGATTGAGCTGGTGCCGTGTCGAGTGGTGTTTTT
TAATAGGTTTTTTACTGGTAAGGCTGACTGTT

서 열 목 록 (첨부)



아이콘을 클릭하시면 서열목록 파일이 열립니다.

본 공보 PDF는 첨부파일을 가지고 있습니다. Acrobat Reader PDF뷰어를 제공하지 않는 브라우저(크롬, 파이어폭스, 사파리 등)의 경우 첨부파일 열기가 제한되어 있으므로 Acrobat Reader PDF뷰어 설치 후 공보 PDF를 다운로드 받아 해당 뷰어에서 조회해주시기 바랍니다.