



등록특허 10-2737836



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2024년12월03일

(11) 등록번호 10-2737836

(24) 등록일자 2024년11월29일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C12N 15/86 (2006.01) A61K 48/00 (2006.01)
A61P 43/00 (2006.01) C12N 9/02 (2006.01)

(52) CPC특허분류
C12N 15/86 (2013.01)
A61K 48/0058 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2019-7032224

(22) 출원일자(국제) 2018년04월02일
심사청구일자 2021년03월26일

(85) 번역문제출일자 2019년10월30일

(65) 공개번호 10-2019-0136048

(43) 공개일자 2019년12월09일

(86) 국제출원번호 PCT/US2018/025733

(87) 국제공개번호 WO 2018/187231

국제공개일자 2018년10월11일

(30) 우선권주장

62/480,962 2017년04월03일 미국(US)

62/491,118 2017년04월27일 미국(US)

(56) 선행기술조사문헌

Catherine Elisabeth Charron, THE UNIVERSITY OF FLORIDA IN PARTIAL FULFILLMENT OF THE REQUIREMENTS FOR THE DEGREE OF DOCTOR OF PHILOSOPHY, 2005.*

Petri I. Makinen 등, J Gene Med., 8(4), 페이지 433-441, 2006.*

*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자

아메리칸 진 테크놀로지스 인터내셔널 인코포레이티드

미국 20850 메릴랜드 록빌 키 웨스트 애비뉴 9713 5폴로어

(72) 발명자

라후젠 타일러

미국 20850 메릴랜드주 록빌 메디컬 센터 드라이브 9640

파우자 찰스 데이비드

미국 20850 메릴랜드주 록빌 메디컬 센터 드라이브 9640

(74) 대리인

특허법인코리아나

전체 청구항 수 : 총 18 항

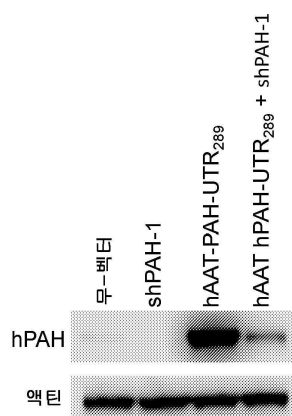
심사관 : 이재영

(54) 발명의 명칭 페닐케톤뇨증을 치료하기 위한 조성물 및 방법

(57) 요약

렌티바이러스 입자를 발현하기 위한 렌티바이러스 벡터 시스템이 개시된다. 렌티바이러스 벡터 시스템은 치료적 벡터를 포함한다. 치료적 벡터는 적어도 하나의 페닐알라닌 히드록실라아제 (PAH) 를 발현하기 위한 PAH 서열 또는 이의 변이체를 포함하며, 여기서 PAH 서열은 절두된다.

대표도 - 도12



(52) CPC특허분류

A61P 43/00 (2018.01)

C12N 9/0071 (2013.01)

C12Y 114/16001 (2013.01)

C12N 2740/16043 (2013.01)

C12N 2840/007 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

페닐알라닌 히드록실라아제 (PAH) 효소 중 적어도 하나를 발현하기 위한 PAH 서열, 여기서 PAH 서열은 절두된 3' 미번역 부위 (UTR)을 포함함; 및

적어도 하나의 사전결정된 상보적 PAH mRNA 서열에 결합할 수 있는 적어도 하나의 작은 RNA 서열을 포함하는 바이러스 벡터로서,

적어도 하나의 작은 RNA 서열은 절두된 3' UTR 을 포함하는 PAH 서열을 표적으로 하지 않고, 적어도 하나의 작은 RNA 는 microRNA (miRNA), 작은 간섭 RNA (siRNA), 이중가닥 RNA (dsRNA) 및 짧은 헤어핀 RNA (shRNA) 로 이루어지는 군으로부터 선택되는 바이러스 벡터.

청구항 2

제 1 항에 있어서, 적어도 하나의 작은 RNA 서열이 제 1 프로모터의 제어 하에 있고, PAH 서열이 제 2 프로모터의 제어 하에 있는 바이러스 벡터.

청구항 3

제 2 항에 있어서, 제 1 프로모터가 H1 프로모터를 포함하고;

제 2 프로모터가 간-특이적 프로모터를 포함하거나, 또는 제 2 프로모터가 hAAT 프로모터를 포함하는 바이러스 벡터.

청구항 4

제 1 항에 있어서, PAH 서열이 SEQ ID NO: 1 또는 SEQ ID NO: 2 중 적어도 하나와 80%, 85%, 90%, 95% 또는 100% 동일성 중 적어도 하나를 포함하는 바이러스 벡터.

청구항 5

제 1 항에 있어서, 절두된 서열이 SEQ ID NO: 3 또는 SEQ ID NO: 4 중 적어도 하나와 80%, 85%, 90%, 95% 또는 100% 동일성 중 적어도 하나를 갖는 서열을 포함하는 바이러스 벡터.

청구항 6

제 1 항에 있어서, 적어도 하나의 작은 RNA 서열이 SEQ ID NO: 5 또는 SEQ ID NO: 6 중 적어도 하나와 80%, 85%, 90%, 95% 또는 100% 동일성 중 적어도 하나를 갖는 서열을 포함하는 바이러스 벡터.

청구항 7

패키징 세포에 의해 생성되며 표적 세포를 감염시킬 수 있는 렌티바이러스 입자로서:

표적 세포를 감염시킬 수 있는 외피 단백질; 및

제 1 항에 따른 바이러스 벡터

를 포함하는 렌티바이러스 입자.

청구항 8

제 7 항에 있어서, 표적 세포가 간 세포, 근육 세포, 상피 세포, 내피 세포, 신경 세포, 신경내분비 세포, 내분비 세포, 림프구, 골수 세포, 고형 기관 내에 존재하는 세포, 또는 조혈 계통의 세포, 조혈모세포, 또는 전구체 조혈모세포 중 적어도 하나인 렌티바이러스 입자.

청구항 9

페닐알라닌 히드록실라아제 (PAH) 효소 중 적어도 하나를 발현하기 위한 PAH 서열을 포함하는 바이러스 벡터로서, PAH 서열은 절두된 3' UTR 을 포함하고, 절두된 서열은 SEQ ID NO: 3 또는 SEQ ID NO: 4 와 80%, 85%, 90%, 95% 또는 100% 동일성 중 적어도 하나를 갖는 서열을 포함하는 바이러스 벡터.

청구항 10

제 9 항에 있어서, PAH 서열이 SEQ ID NO: 1 또는 SEQ ID NO: 2 중 적어도 하나와 80%, 85%, 90%, 95% 또는 100% 동일성 중 적어도 하나를 포함하는 바이러스 벡터.

청구항 11

제 9 항에 있어서, 적어도 하나의 사전결정된 상보적 mRNA 서열에 결합할 수 있는 적어도 하나의 작은 RNA 서열을 추가로 포함하고, 적어도 하나의 작은 RNA 는 microRNA (miRNA), 작은 간섭 RNA (siRNA), 이중가닥 RNA (dsRNA) 및 짧은 헤어핀 RNA (shRNA) 로 이루어지는 군으로부터 선택되는 바이러스 벡터.

청구항 12

제 11 항에 있어서, 적어도 하나의 작은 RNA 서열이 제 1 프로모터의 제어 하에 있고, PAH 서열이 제 2 프로모터의 제어 하에 있는 바이러스 벡터.

청구항 13

제 12 항에 있어서, 제 1 프로모터가 H1 프로모터를 포함하고;

제 2 프로모터가 간-특이적 프로모터를 포함하거나, 또는 제 2 프로모터가 hAAT 프로모터를 포함하는 바이러스 벡터.

청구항 14

제 11 항에 있어서, 적어도 하나의 작은 RNA 서열이 SEQ ID NO: 5 또는 SEQ ID NO: 6 중 적어도 하나와 80%, 85%, 90%, 95% 또는 100% 동일성 중 적어도 하나를 갖는 서열을 포함하는 바이러스 벡터.

청구항 15

제 1 항 내지 제 6 항 또는 제 9 항 내지 제 14 항 중 어느 한 항에 있어서, 대상에서 페닐케톤뇨증 (PKU) 을 치료하는데 사용하기 위한 바이러스 벡터.

청구항 16

대상에서 페닐케톤뇨증 (PKU) 을 치료하는데 사용하기 위한, 제 1 항 내지 제 6 항 또는 제 9 항 내지 제 14 항 중 어느 한 항의 바이러스 벡터를 포함하는 렌티바이러스 입자.

청구항 17

제 7 항 또는 제 8 항에 있어서, 대상에서 페닐케톤뇨증 (PKU) 을 치료하는데 사용하기 위한 렌티바이러스 입자.

청구항 18

제 15 항에 있어서, 대상이 자궁내 (*in utero*) 에 있는 바이러스 벡터.

청구항 19

삭제

청구항 20

삭제

청구항 21

삭제

청구항 22

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001] 관련 출원에 대한 교차-참조

[0002] 본 출원은 그 개시물이 본원에 참조로 포함되는 U.S. 가출원 번호 62/480,962 (2017 년 4 월 3 일 출원, 명칭 "COMPOSITIONS AND METHODS FOR TREATING PHENYLKETONURIA") 및 U.S. 가출원 번호 62/491,118 (2017 년 4 월 27 일 출원, 명칭 "COMPOSITIONS AND METHODS FOR TREATING PHENYLKETONURIA") 에 대해 우선권을 주장한다.

[0003] 기술분야

[0004] 본 발명의 양태는 페닐케톤뇨증 (PKU) 을 치료하기 위한 유전적 약물에 관한 것이다. 보다 특히, 본 발명의 양태는 PKU 를 치료하기 위해 PAH-함유 렌티바이러스 벡터를 포함하는 렌티바이러스 벡터를 사용하는 것에 관한 것이다.

배경 기술

[0005] 페닐케톤뇨증 (PKU) 은 혈액 내 페닐알라닌 농도 증가, 또는 고페닐알라닌혈증을 유발할 수 있는 장애의 이종 군을 나타낸다. 고페닐알라닌혈증은 치료받지 않은 채로 있다면 영향을 받는 어린이에서의 지적 장애, 발작, 행동 문제 및 손상된 성장 및 발달을 일으킬 수 있다. 고페닐알라닌 혈증이 지적 장애를 초래하는 메커니즘은 고용량 페닐알라닌의 놀라운 독성을 반영하며 신경계 조직의 저수초화 또는 탈수초화를 포함한다. PKU는 북미에서 12,000 건 중 1 건의 평균 보고 발생률을 가지며, 남성과 여성에게 동일하게 영향을 준다. 이 장애는 유럽인 또는 아메리카 원주민 조상에서 가장 흔하며 동부 지중해 지역에서 훨씬 높은 수준에 이른다.

[0006] PKU 환자의 신경학적 변화는 생후 1 개월 이내에 입증되었으며, 성인 PKU 환자의 자기 공명 영상 (MRI) 은 뇌에서의 백질 병변을 보여주었다. 이러한 병변의 크기와 수는 혈액 페닐알라닌 농도와 직접적으로 관련된다. 대조군 대상과 비교하여 PKU 를 갖는 청소년 및 성인의 인지 프로파일은 현저하게 감소된 IQ, 처리 속도, 운동 제어 및 억제 능력, 및 주의력 시험에서의 수행 감소를 포함할 수 있다.

[0007] PKU 의 대부분은 간 페닐알라닌 히드록실라아제 (PAH) 의 결핍으로 인해 야기된다. PAH 는 분자 산소 및 촉매량의 테트라히드로바이오프테린 (BH₄), 그의 비단백질 보조인자의 존재 하에 페닐알라닌 (Phe) 의 티로신 (Tyr) 으로의 히드록실화를 촉매화하는 다량체성 간 효소이다. PAH 의 충분한 발현의 부재 하에, 혈액 내 페닐알라닌 수치 증가는 PKU 환자에서 고페닐알라닌혈증 및 유해한 부작용을 일으킨다. PAH 활성의 감소 또는 부재는 티로신, 및 멜라닌, 1-티로신 및 카테콜아민 신경전달물질 (도파민을 포함) 을 포함하는 그의 다운스트림 생성물의 결핍을 유발할 수 있다.

[0008] PKU 는 PAH 에서의 돌연변이 및/또는 PAH 보조인자 (즉, BH₄) 의 합성 또는 재생 결함에 의해 유발될 수 있다. 특히, 몇몇 PAH 돌연변이는 소포체에서의 단백질 폴딩에 영향을 미치는 것으로 나타났으며, 이는 효소 촉매 활성을 약화시키거나 크게 철회시키는 단백질 구조에서의 미스센스 돌연변이 (63%) 및 작은 결실 (13%) 로 인한 가속화된 분해 및/또는 응집을 초래한다.

[0009] 일반적으로, 혈장 Phe 수준, Phe 에 대한 식이 내성 및 치료요법에 대한 잠재적 반응성을 기반으로 하여 PKU 를 분류하기 위해 3 개의 주요 표현형 군이 사용된다. 이들 군은 고전적 PKU (Phe > 1200 μM), 비정형 또는 경증 PKU (Phe 가 600 - 1200 μM 임) 및 영구적인 경증 고페닐알라닌혈증 (HPA, Phe 120 - 600 μM) 을 포함한다.

[0010] PKU 의 검출은 보편적 신생아 스크리닝 (NBS) 에 의존한다. 힐 스틱 (heel stick) 으로부터 채취한 혈액 1

점적을 미국의 모든 50 개 주에서 필수인 스크린에서 페닐알라닌 수치에 대해 검사한다.

[0011] 현재, Phe 및 BH₄ 보충의 평생 식이 제한은 PKU 에 대해 유일하게 이용가능한 두 가지 치료 옵션이며, 영향받은 영아에서 최적의 임상 결과를 보장하기 위해 조기 치료 개입이 중요하다. 그러나, 고가의 약물 치료와 특수 저-단백 식품은, 특히 이들 제품이 민감 의료 보험에 의해 완전히 커버되지 않는 경우, 영양결핍, 심리사회적 또는 신경인지적 합병증으로 이어질 수 있는 환자에 대한 큰 부담을 부과한다. 또한, BH₄ 치료요법은 BH₄ 생합성에서의 결함과 관련된 바에 따라 경증 고페닐알라닌혈증의 치료에 주로 효과적인 반면, 경증 또는 고전적 PKU 를 갖는 환자의 오직 20-30% 만이 반응성이다. 따라서, 과도한 Phe-제한 식단에 대한 대안으로서 PKU 를 위한 새로운 치료 방식이 절실히 필요하다. 따라서, 페닐케톤뇨증의 치료를 위한 대안적 방법을 개발하는 것이 바람직할 것이다. 유전적 약물은 PKU 를 효과적으로 치료하는 가능성을 갖는다.

발명의 내용

[0012] 발명의 개요

[0013] 한 양태에서, 바이러스 벡터가 개시된다. 바이러스 벡터는 적어도 하나의 페닐알라닌 히드록실라아제 (PAH) 를 발현하기 위한 PAH 서열 또는 이의 변이체를 포함하며, 여기서 PAH 서열은 절두된다. 구현예에서, PAH 서열은 서열의 3' 미번역 부위 (UTR) 에서 절두된다. 구현예에서, PAH 서열은 SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3 또는 SEQ ID NO: 4 중 적어도 하나와 80%, 85%, 90%, 95% 또는 100% 동일성 중 적어도 하나를 포함한다.

[0014] 구현예에서, 바이러스 벡터는 적어도 하나의 사전결정된 상보적 mRNA 서열에 결합할 수 있는 적어도 하나의 작은 RNA 서열을 추가로 포함한다. 구현예에서, 적어도 하나의 사전결정된 상보적 mRNA 서열은 전장 3' 미번역 부위 (UTR) 를 포함한다. 구현예에서, 적어도 하나의 사전결정된 상보적 mRNA 서열은 PAH mRNA 서열이다. 구현예에서, 적어도 하나의 작은 RNA 서열은 shRNA 를 포함한다. 구현예에서, 적어도 하나의 작은 RNA 서열은 SEQ ID NO: 5 또는 SEQ ID NO: 6 중 적어도 하나와 80%, 85%, 90%, 95% 또는 100% 동일성 중 적어도 하나를 갖는 서열을 포함한다. 구현예에서, 적어도 하나의 작은 RNA 서열은 제 1 프로모터의 제어 하에 있으며, PAH 서열은 제 2 프로모터의 제어 하에 있다. 구현예에서, 제 1 프로모터는 H1 프로모터를 포함한다. 구현예에서, 제 2 프로모터는 간-특이적 프로모터를 포함한다. 구현예에서, 간-특이적 프로모터는 hAAT 프로모터를 포함한다.

[0015] 또 다른 양태에서, 바이러스 벡터가 개시된다. 바이러스 벡터는 적어도 하나의 페닐알라닌 히드록실라아제 (PAH) 를 발현하기 위한 PAH 서열 또는 이의 변이체, 및 적어도 하나의 사전결정된 상보적 mRNA 서열에 결합할 수 있는 적어도 하나의 작은 RNA 서열을 포함한다. 구현예에서, PAH 서열은 SEQ ID NO: 1 과 80%, 85%, 90%, 95% 또는 100% 동일성 중 적어도 하나를 포함한다.

[0016] 또 다른 양태에서, 패키징 세포에 의해 생성되며 표적 세포를 감염시킬 수 있는 렌티바이러스 입자가 개시된다. 렌티바이러스 입자는 표적 세포를 감염시킬 수 있는 외피 단백질을 포함하고, 바이러스 벡터는 적어도 하나의 페닐알라닌 히드록실라아제 (PAH) 를 발현하기 위한 PAH 서열 또는 이의 변이체, 및 적어도 하나의 사전결정된 상보적 mRNA 서열에 결합할 수 있는 적어도 하나의 작은 RNA 서열을 포함한다. 구현예에서, 표적 세포는 간 세포, 근육 세포, 상피 세포, 내피 세포, 신경 세포, 신경내분비 세포, 내분비 세포, 림프구, 골수 세포, 고형 기관 내에 존재하는 세포, 또는 조혈 계통의 세포, 조혈모세포, 또는 전구체 조혈모세포 중 적어도 하나이다.

[0017] 또 다른 양태에서, 대상에서의 페닐케톤뇨증 (PKU) 의 치료 방법이 개시된다. 방법은 패키징 세포에 의해 생성되며 표적 세포를 감염시킬 수 있는 치료적 유효량의 렌티바이러스 입자를 대상에게 투여하는 것을 포함하고, 여기서 렌티바이러스 입자는 표적 세포를 감염시킬 수 있는 외피 단백질, 및 적어도 하나의 페닐알라닌 히드록실라아제 (PAH) 를 발현하기 위한 PAH 서열 또는 이의 변이체, 및 적어도 하나의 사전결정된 상보적 mRNA 서열에 결합할 수 있는 적어도 하나의 작은 RNA 서열을 포함하는 바이러스 벡터를 포함한다.

[0018] 구현예에서, 치료적 유효량의 렌티바이러스 입자는 복수의 단일 용량의 렌티바이러스 입자를 포함한다. 구현예에서, 치료적 유효량의 렌티바이러스 입자는 단일 용량의 렌티바이러스 입자를 포함한다. 구현예에서, 대상은 자궁내 (*in utero*) 에 있다. 구현예에서, 방법은 PKU 표현형과 상호연관되는 대상에서의 PKU 유전자형을 진단하는 것을 추가로 포함한다. 구현예에서, 진단하는 것은 대상에서의 태아기 스크리닝 동안 발생한다. 구현예에서, 진단하는 것은 투여하기 전에 발생한다.

[0019] 또 다른 양태에서, 대상에서의 페닐케톤뇨증 (PKU) 치료를 위한 치료적 유효량의 렌티바이러스 입자의 용도가

개시된다. 렌티바이러스 입자는 패키징 세포에 의해 생성되고, 표적 세포를 감염시킬 수 있으며, 표적 세포를 감염시킬 수 있는 외피 단백질, 및 바이러스 벡터를 포함한다. 구현예에서, 바이러스 벡터는 적어도 하나의 페닐알라닌 히드록실라아제 (PAH) 를 발현하기 위한 PAH 서열 또는 이의 변이체를 포함하며, 여기서 PAH 서열은 절두된다. 구현예에서, 바이러스 벡터는 적어도 하나의 페닐알라닌 히드록실라아제 (PAH) 를 발현하기 위한 PAH 서열 또는 이의 변이체, 및 적어도 하나의 사전결정된 상보적 mRNA 서열에 결합할 수 있는 적어도 하나의 작은 RNA 서열을 포함한다.

[0020] 본원에 기재된 본 발명의 다른 양태 및 이점은 예로서 본 발명의 양태를 설명하는 수반되는 도면과 함께 취해져, 하기 상세한 설명으로부터 명백해질 것이다.

도면의 간단한 설명

- [0021] 도 1 은 원형화된 형태의 예시적 3-벡터 렌티바이러스 벡터 시스템을 도시한다.
- 도 2 는 원형화된 형태의 예시적 4-벡터 렌티바이러스 벡터 시스템을 도시한다.
- 도 3 은 원형화된 형태의 예시적 3-벡터 아데노-관련 바이러스 벡터 시스템을 도시한다.
- 도 4 는: (A) PAH 를 발현하는 렌티바이러스 벡터의 선형 맵; 및 (B) PAH shRNA 서열 및 PAH 서열을 발현하는 렌티바이러스 벡터의 선형 맵을 도시한다.
- 도 5 는 완전한 5' 및 3' UTR 을 포함하는 페닐알라닌 히드록실라아제 오픈 리딩 프레임 (open reading frame) 을 도시한다.
- 도 6 은 완전한 5' UTR 및 절두된 3' UTR 을 포함하는 페닐알라닌 히드록실라아제 오픈 리딩 프레임을 도시한다.
- 도 7 은 인간 및 마우스 PAH 유전자에 대한 발현 수준을 비교하는 면역블롯 데이터를 도시한다.
- 도 8 은 Hepa1-6 세포에서 3' UTR 부위를 갖거나 갖지 않는 hPAH 의 렌티바이러스-전달된 발현을 입증하는 데이터를 도시한다.
- 도 9 는 Hepa1-6 세포에서 절두된 3' UTR 을 갖는 hPAH 를 발현하는 렌티바이러스 벡터의 결과를 도시한다.
- 도 10 은 마우스 Hepa1-6 세포에서 WPRE 를 갖거나 갖지 않는 코돈-최적화된 hPAH 의 발현을 입증하는 데이터를 도시한다.
- 도 11 은 shPAH-1 및 shPAH-2 가 인간 Hep3B 세포에서 hPAH 발현을 감소시킨다는 것을 입증하는 데이터를 도시한다.
- 도 12 는 Hep3B 세포에서 내인성 hPAH 및 hAAT-hPAH-3'UTR₂₈₉ 의 shPAH-1 억제를 입증하는 데이터를 도시한다.
- 도 13 은 shPAH-2 가 HepG2 세포에서 내인성 hPAH 를 억제하나 hAAT-hPAH-3'UTR₂₈₉ 는 억제하지 않는다는 것을 입증하는 데이터를 도시한다.
- 도 14 는 hAAT-PAH-UTR 을 갖는 Pah(enu2) 마우스 치료의 결과를 입증하는 데이터를 도시한다. 도 14A 는 그에 도시된 군에 대한 8 주에 걸친 체중 변화를 도시한다. 도 14B 는 그에 도시된 군에 대한 8 주에 걸친 체중 변화를 도시한다. 도 14C 는 그에 도시된 군에 대한 8 주에 걸친 체중 변화를 도시한다. 도 14D 는 처리 후 1 개월에 걸친 페닐알라닌의 수준을 도시한다.
- 도 15 는 Hepa1-6 마우스 간암 세포 (hepatoma cell) 에서 hAAT 및 CMV 프로모터를 사용하는 인간 PAH 유전자의 렌티바이러스-전달된 발현을 입증하는 데이터를 도시한다.
- 도 16 은 마우스 Hepa1-6 세포에서 hAAT 프로모터 및 간-특이적 인핸서 요소 ApoE (1), ApoE (2), 또는 프로트롬빈을 갖는 발현 구축물을 사용하는 hPAH 의 렌티바이러스-전달된 발현을 입증하는 데이터를 도시한다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0022] 상세한 설명

[0023] 개시물의 개괄

- [0024] 본 개시물은 치료적 벡터 및 이의 세포에 대한 전달에 관한 것이다. 구현예에서, 치료적 벡터는 PAH 서열 또는 이의 변이체를 포함한다. 구현예에서, 치료적 벡터는 또한 숙주 (내인성) PAH 발현을 표적으로 하는 작은 RNA 를 포함한다.
- [0025] **정의 및 해석**
- [0026] 본원에서 달리 정의되지 않는 한, 본 개시물과 관련하여 사용된 과학 및 기술 용어는 당업자에게 일반적으로 이해되는 의미를 가질 것이다. 또한, 문맥에서 달리 요구되지 않는 한, 단수형 용어는 복수형을 포함할 것이고, 복수형 용어는 단수형을 포함할 것이다. 일반적으로, 본원에 기재된 세포 및 조직 배양, 분자 생물학, 면역학, 미생물학, 유전학 및 단백질 및 핵산 화학 및 하이브리드화와 관련하여 사용된 명명법 및 이의 기법은 당업계에 잘 공지되어 있으며 통상적으로 사용되는 것들이다. 본 개시물의 방법 및 기법은 일반적으로 당업계에 잘 공지된 종래의 방법에 따라, 그리고 달리 지시되지 않는 한 본 명세서 전반에 걸쳐 인용되고 논의된 다양한 일반적이고 보다 구체적인 참고문헌에 기재된 바와 같이 수행된다. 예를 들어, 다음을 참조한다: Sambrook J. & Russell D. Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 3rd ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (2000); Ausubel et al., Short Protocols in Molecular Biology: A Compendium of Methods from Current Protocols in Molecular Biology, Wiley, John & Sons, Inc. (2002); Harlow and Lane Using Antibodies: A Laboratory Manual; Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (1998); 및 Coligan et al., Short Protocols in Protein Science, Wiley, John & Sons, Inc. (2003). 임의의 효소 반응 또는 정제 기법은 당업계에서 일반적으로 달성되거나 본원에 기재된 바와 같이 제조사의 사양에 따라 수행된다. 본원에 기재된 분석 화학, 합성 유기 화학, 및 의학 및 제약 화학과 관련하여 사용된 명명법 및 이의 실험실 절차 및 기법은 당업계에 잘 공지되며 통상적으로 사용되는 것들이다.
- [0027] 상세한 설명 및 첨부된 청구범위에 사용되는 바와 같이, 단수형 형태는 문맥에서 명백하게 달리 나타내지 않는 한, 복수형 형태와 상호교환가능하게 사용되며 복수형 형태를 포함하는 것 뿐만 아니라 각각의 의미 내에 포함되는 것으로 의도된다. 또한, 본원에서 사용되는 바와 같이, "및/또는" 은 하나 이상의 열거된 항목의 임의의 및 모든 가능한 조합 뿐만 아니라 대안으로 해석될 때의 조합 부족 ("또는") 을 나타내며 포함한다.
- [0028] 모든 숫자 지정, 예를 들어 범위를 포함하는, pH, 온도, 시간, 농도 및 분자량은 0.1 씩 증가하여 (+) 또는 (-) 로 변동되는 근사치이다. 항상 명확하게 언급되지 않더라도, 모든 수치 지정은 용어 "약" 이 선행된다는 것이 이해된다. 항상 명확하게 언급되지 않더라도, 본원에서 기재되는 시약은 단지 예시적이며 이들의 등가물이 당업계에 공지되어 있다는 것이 이해된다.
- [0029] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "약" 은 당업자에 의해 이해될 것이며 사용되는 문맥에 따라서 어느 정도 가변적일 것이다. 사용되는 문맥을 고려했을 때 당업자에게 분명하지 않은 용어가 사용되는 경우, "약" 은 특정한 용어의 10% 까지를 더하거나 뺀 것을 의미할 것이다.
- [0030] 용어 활성제의 "투여" 또는 활성제를 "투여하는" 은 개인의 신체에 치료적으로 유용한 형태 및 치료적 유효량으로 도입될 수 있는 형태로 치료를 필요로 하는 대상에게 활성제를 제공하는 것을 의미하는 것으로 이해되어야 한다.
- [0031] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "포함하는" 은 조성물 및 방법이 열거된 요소를 포함하지만 다른 것은 배제하지 않는다는 것을 의미하는 것으로 의도된다. 조성물 및 방법을 정의하는데 사용되는 경우 "~로 본질적으로 이루어지는" 은 조성물 또는 방법에 임의의 필수적인 중요한 다른 요소를 배제하는 것을 의미할 것이다. "~로 이루어지는" 은 청구된 조성물 및 실질적인 방법 단계에 대한 다른 구성성분의 미량 초과 요소 배제하는 것을 의미할 것이다. 이들 전환 용어 각각에 의해 정의되는 구현예는 본 개시물의 범주 내에 있다. 따라서, 방법 및 조성물이 추가의 단계 및 성분을 포함할 수 있거나 (포함하는), 대안적으로, 중요하지 않은 단계 또는 조성물을 포함하거나 (본질적으로 이루어지는), 또는 대안적으로, 오직 언급된 방법 단계 및 조성물을 의도하는 (이루어지는) 것으로 의도된다.
- [0032] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "발현", "발현된" 또는 "인코딩하는" 은 폴리뉴클레오타이드가 mRNA 로 전사되는 과정 및/또는 전사된 mRNA 가 이후 펩티드, 폴리펩티드 또는 단백질로 번역되는 과정을 지칭한다. 발현은 진핵생물 세포에서 mRNA 의 스플라이싱 또는 전사후 변형 또는 번역후 변형의 다른 형태를 포함할 수 있다.
- [0033] 본원에서 사용되는 바와 같이, 본원에서 "PKU" 로도 나타내는 용어 "페닐케톤뇨증" 은 페닐알라닌 히드록실라아

제의 만성적 결핍 뿐만 아니라 경증 및 고전적 형태의 질환을 포함하여 이와 관련된 모든 증상을 지칭한다. 따라서, "페닐케톤뇨증"의 치료는 PKU와 관련된 모든 또는 일부 증상의 치료에 관한 것일 수 있다.

- [0034] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "페닐알라닌 히드록실라아제"는 또한 본원에서 PAH로도 지칭될 수 있다. 인간 PAH는 또한 본원에서 hPAH로도 지칭될 수 있다. 마우스 PAH는 또한 본원에서 mPAH로도 지칭될 수 있다.
- [0035] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "shPAH"는 PAH를 표적으로 하는 작은 헤어핀 RNA를 지칭한다.
- [0036] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "hAAT-hPAH-3'UTR₂₈₉"은 또한 본원에서 U₂₈₉로도, 또는 일반적으로 이식유전자-발현 절두된 hPAH 3'UTR로도, 또는 일반적으로 절두된 3'UTR로도 지칭될 수 있다.
- [0037] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "hAAT-hPAH-3'UTR₂₃₈"은 또한 본원에서 U₂₃₈로도, 또는 일반적으로 이식유전자-발현 절두된 hPAH 3'UTR로도, 또는 일반적으로 절두된 3'UTR로도 지칭될 수 있다.
- [0038] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "야생형 hPAH"는 또한 본원에서 "내인성 PAH" 또는 "전장 PAH"로도 지칭될 수 있다.
- [0039] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "절두된"은 또한 본원에서 "단축된" 또는 "깎지 않는"으로도 지칭될 수 있다.
- [0040] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "변이체"는 또한 본원에서 유사체 또는 변이로도 지칭될 수 있다. 변이체는 뉴클로티드 서열에 대한 임의의 치환, 결실 또는 부가를 나타낸다.
- [0041] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "유전적 약물" 또는 "유전적 약물들"은 일반적으로 임상적 질환 또는 징후를 치료하기 위해 유전적 표적에 초점을 두는 치료제 및 치료 전략을 지칭한다. 용어 "유전적 약물"은 유전자 요법 등을 포함한다.
- [0042] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "개인", "대상" 및 "환자"는 본원에서 상호교환가능하게 사용되며, 임의의 개별 포유동물 대상, 예를 들어 소, 개, 고양이, 말 또는 인간을 지칭한다.
- [0043] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "LV"는 일반적으로 "렌티바이러스"를 지칭한다. 예를 들어, "LV-shPAH"에 대한 언급은 PAH를 표적으로 하는 shRNA를 발현하는 렌티바이러스에 대한 언급이다.
- [0044] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "패키징 세포주"는 렌티바이러스 입자를 발현하는데 사용될 수 있는 임의의 세포주를 지칭한다.
- [0045] 본원에서 사용되는 바와 같이, 2개 이상의 핵산 또는 폴리펩티드 서열의 문맥에서 용어 "동일성 %"는, 하기 기재된 서열 비교 알고리즘 중 하나 (예를 들어 BLASTP 및 BLASTN 또는 기타 숙련자가 이용가능한 기타 알고리즘) 또는 육안 검사에 의해 측정된 바와 같은, 최대 상응성을 위해 비교되고 정렬될 때 동일한 특정 핵분자의 뉴클레오타이드 또는 아미노산 잔기를 갖는 2개 이상의 서열 또는 하위서열을 지칭한다. 적용에 따라, "동일성 %"는 비교되는 서열의 부위에 걸쳐, 예를 들어 기능적 도메인에 걸쳐 존재할 수 있거나, 대안적으로, 비교될 2개 서열의 전체 길이에 걸쳐 존재한다. 서열 비교를 위해, 통상적으로 하나의 서열은 시험 서열을 그에 대해 비교하는 참조 서열로서 역할한다. 서열 비교 알고리즘을 사용하는 경우, 시험 및 참조 서열이 컴퓨터에 입력되고, 필요하다면 하위서열 좌표가 지정되며, 서열 알고리즘 프로그램 매개변수가 지정된다. 이후, 서열 비교 알고리즘은 지정된 프로그램 매개변수를 기반으로 하여, 참조 서열에 대한 시험 서열(들)의 서열 동일성 %를 계산한다.
- [0046] 비교를 위한 최적의 서열 정렬을 예를 들어 Smith & Waterman, Adv. Appl. Math. 2:482 (1981)의 국부적 상동성 알고리즘에 의해, Needleman & Wunsch, J. Mol. Biol. 48:443 (1970)의 상동성 정렬 알고리즘에 의해, Pearson & Lipman, Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA 85:2444 (1988)의 유사성 방법에 대한 검색에 의해, 이들 알고리즘의 컴퓨터화된 실행 (Wisconsin Genetics Software Package, Genetics Computer Group, 575 Science Dr., Madison, Wis.에서의 GAP, BESTFIT, FASTA 및 TFASTA)에 의해, 또는 육안 검사에 의해 (일반적으로, 상기 Ausubel et al. 참조) 실시할 수 있다.
- [0047] 서열 동일성 % 및 서열 유사성을 측정하기에 적합한 알고리즘의 한 예는 BLAST 알고리즘이며 이는 [Altschul et al., J. Mol. Biol. 215:403-410 (1990)]에 기재되어 있다. BLAST 분석을 수행하기 위한 소프트웨어는 국립생물정보센터 (National Center for Biotechnology Information) 웹사이트로부터 공개적으로

입수가능하다.

- [0048] 2 개 뉴클레오티드 서열 사이의 동일성 % 는 GCG 소프트웨어 패키지에서의 GAP 프로그램을 사용하여 (<http://www.gcg.com> 에서 이용가능), NWSgapdna.CMP 매트릭스 및 갭 중량 40, 50, 60, 70 또는 80 및 길이 중량 1, 2, 3, 4, 5 또는 6 을 사용하여 측정될 수 있다. 2 개 뉴클레오티드 또는 아미노산 서열 사이의 동일성 % 는 ALIGN 프로그램 (version 2.0) 에 통합된 E. Meyers and W. Miller (CABIOS, 4:11-17 (1989)) 의 알고리즘을 사용하여, PAM120 중량 잔류 테이블 (weight residue table), 갭 길이 패널티 12 및 갭 패널티 4 를 사용하여 또한 측정될 수 있다. 또한, 2 개 아미노산 서열 사이의 동일성 % 는 GCG 소프트웨어 패키지에서의 GAP 프로그램 (<http://www.gcg.com> 에서 이용가능) 에 통합된 Needleman and Wunsch (*J. Mol. Biol.* (48):444-453 (1970)) 알고리즘을 사용하여, Blossum 62 매트릭스 또는 PAM250 매트릭스, 및 갭 중량 16, 14, 12, 10, 8, 6 또는 4 및 길이 중량 1, 2, 3, 4, 5 또는 6 을 사용하여 측정될 수 있다.
- [0049] 본 개시물의 핵산 및 단백질 서열은 또한, 예를 들어 관련된 서열을 확인하기 위해 공개적 데이터베이스에 대한 검색을 수행하기 위한 "질의 서열 (query sequence)" 로서 사용될 수 있다. 이러한 검색은 [Altschul, *et al.* (1990) *J. Mol. Biol.* 215:403-10] 의 NBLAST 및 XBLAST 프로그램 (version 2.0) 을 사용하여 수행될 수 있다. BLAST 뉴클레오티드 검색은 개시물에서 제공된 핵산 분자와 상동인 뉴클레오티드 서열을 수득하기 위해 NBLAST 프로그램, 스코어 = 100, 단어 길이 = 12 로 수행될 수 있다. BLAST 단백질 검색은 개시물의 단백질 분자와 상동인 아미노산 서열을 수득하기 위해 XBLAST 프로그램, 스코어 = 50, 단어 길이 = 3 으로 수행될 수 있다. 비교 목적을 위한 갭화된 정렬 (gapped alignment) 을 수득하기 위해, Gapped BLAST 를 [Altschul *et al.*, (1997) *Nucleic Acids Res.* 25(17):3389-3402] 에서 기재된 바와 같이 이용할 수 있다. BLAST 및 Gapped BLAST 프로그램을 이용하는 경우, 각각의 프로그램 (예를 들어 XBLAST 및 NBLAST) 의 디폴트 매개변수를 사용할 수 있다. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov> 를 참조한다.
- [0050] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "약학적으로 허용가능한" 은 타당한 의료적 판단의 범주 내에서, 과도한 독성, 자극, 알레르기 반응, 또는 기타 문제점 또는 합병증이 합당한 이익/위험 비에 비례하지 않으면서, 인간 및 동물의 조직, 기관 및/또는 체액과 접촉하여 사용하기에 적합한 이러한 화합물, 물질, 조성물 및/또는 투약 형태를 지칭한다.
- [0051] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "약학적으로 허용가능한 담체" 는 생리적으로 양립가능한 임의의 및 모든 용매, 분산 매질, 코팅물, 향균 및 향진균제, 등장제 및 흡수 지연제 등을 지칭하며 포함한다. 조성물은 약학적으로 허용가능한 염, 예를 들어 산 부가염 또는 염기 부가염을 포함할 수 있다 (예를 들어, Berge *et al.* (1977) *J Pharm Sci* 66:1-19 참조).
- [0052] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "SEQ ID NO" 는 용어 "서열 ID 번호 (Sequence ID No)" 와 동의어이다.
- [0053] 본원에서 사용되는 바와 같이, "작은 RNA" 는 일반적으로 약 200 개 이하의 뉴클레오티드 길이이며 침묵 또는 간접 기능을 갖는 비-코딩 RNA 를 지칭한다. 다른 구현예에서, 작은 RNA 는 약 175 개 이하의 뉴클레오티드, 약 150 개 이하의 뉴클레오티드, 약 125 개 이하의 뉴클레오티드, 약 100 개 이하의 뉴클레오티드, 또는 약 75 개 이하의 뉴클레오티드 길이이다. 이러한 RNA 는 microRNA (miRNA), 작은 간접 RNA (siRNA), 이중가닥 RNA (dsRNA) 및 짧은 헤어핀 RNA (shRNA) 를 포함한다. 개시물의 "작은 RNA" 는 일반적으로 표적 유전자 mRNA 의 파괴를 초래하는 경로를 통해 표적 유전자의 유전자 발현을 억제 또는 녹다운시킬 수 있어야 한다.
- [0054] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "치료적 유효량" 은 특정한 질병, 상해, 질환 또는 병상을 앓고 있는 환자에서 보이는 합병증의 증상, 진행 또는 개시를 치료하거나 예방하기 위한, 적합한 조성물, 및 적합한 투약 형태 중 본 개시물의 활성제의 충분한 양을 지칭한다. 치료적 유효량은 환자의 병상의 상태 또는 이의 중증도, 및 치료하려는 대상의 연령, 체중 등에 따라 가변적일 것이다. 치료적 유효량은 예를 들어 투여 경로, 대상의 병상 뿐만 아니라 당업자에 의해 이해되는 기타 인자를 포함하는, 임의의 수많은 인자에 따라 가변적일 수 있다.
- [0055] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "치료적 벡터" 는 비제한적으로, 렌티바이러스 벡터 또는 아데노-관련 바이러스 (AAV) 벡터에 대한 언급을 포함한다. 추가로, 렌티바이러스 벡터 시스템과 관련하여 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "벡터" 는 용어 "플라스미드" 와 동의어이다. 예를 들어, 2-벡터 및 3-벡터 패키징 시스템을 포함하는 3-벡터 및 4-벡터 시스템은 또한, 3-플라스미드 및 4-플라스미드 시스템으로도 지칭될 수 있다.

[0056] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "치료" 또는 "치료하는" 은 일반적으로 치료하는 대상의 자연적 과정을 변경시키려고 시도하는 중재술을 지칭하며, 예방을 위해 또는 임상 병리학 과정 동안 수행될 수 있다. 바람직한 효과는 비제한적으로, 질환의 발생 또는 재발의 예방, 증상의 완화, 질환의 임의의 직접적 또는 간접적 병리학적 결과의 저해, 감소 또는 억제, 질환 상태의 경감 또는 일시적 완화, 및 차도의 야기 또는 개선된 예후를 포함한다. 따라서 특정한 치료는 표적이 될 질환 상태, 및 의학적 치료요법의 현재 또는 미래 상태에 따라 좌우될 것이다. 치료는 관련된 독성을 가질 수 있다.

[0057] **개시물의 양태 및 구현예의 설명**

[0058] 본 개시물의 한 양태에서, 바이러스 벡터가 개시된다. 바이러스 벡터는 치료적 카고 (cargo) 부분을 포함하며, 여기서 치료적 카고 부분은 PAH 서열 또는 이의 변이체를 포함한다. 구현예에서, PAH 서열 또는 변이체는 절두된다. 구현예에서, 절두되는 PAH 서열 또는 이의 변이체의 부분은 PAH 서열 또는 이의 변이체의 3' 미번역 부위 (UTR) 이다. 구현예에서, PAH 서열 또는 이의 변이체는 하기와 적어도 80%, 또는 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95% 또는 그 이상의 동일성 % 를 갖는 서열을 포함한다:

ATGTCCACTGCGGTCCTGGAAAACCCAGGCTTGGGCAGGAACTCTCTGA
CTTTGGACAGGAAACAAGCTATATTGAAGACAACTGCAATCAAAATGGTG

[0059]

CCATATCACTGATCTTCTCACTCAAAGAAGAAGTTGGTGCATTGGCCAAA
 GTATTGCGCTTATTTGAGGAGAATGATGTAAACCTGACCCACATTGAATCT
 AGACCTTCTCGTTTTAAAGAAAGATGAGTATGAATTTTACCCATTTGGAT
 AAACGTAGCCTGCCTGCTCTGACAAACATCATCAAGATCTTGAGGCATGA
 CATTGGTGCCACTGTCCATGAGCTTTCACGAGATAAGAAGAAAGACACAG
 TGCCCTGGTTCCCAAGAACCATTCAAGAGCTGGACAGATTTGCCAATCAG
 ATTCTCAGCTATGGAGCGGAACCTGGATGCTGACCACCCTGGTTTTAAAGA
 TCCTGTGTACCGTGCAAGACGGAAGCAGTTTGCTGACATTGCCTACAAC
 ACCGCCATGGGCAGCCCATCCCTCGAGTGGAATACATGGAGGAAGAAAA
 GAAAACATGGGGCACAGTGTTCAGACTCTGAAGTCCTTGTATAAAACCC
 ATGCTTGCTATGAGTACAATCACATTTTTCCACTTCTTGAAAAGTACTGTG
 GCTTCCATGAAGATAACATTCCCCAGCTGGAAGACGTTTCTCAATTCCTGC
 AGACTTGCACTGGTTTCCGCCTCCGACCTGTGGCTGGCCTGCTTTCCTCTC
 GGGATTTCTTGGGTGGCCTGGCCTTCCGAGTCTTCCACTGCACACAGTACA
 TCAGACATGGATCCAAGCCCATGTATACCCCCGAACCTGACATCTGCCAT
 GAGCTGTTGGGACATGTGCCCTTGTTTTTCAGATCGCAGCTTTGCCCAGTTT
 TCCCAGGAAATTGGCCTTGCTCTCTGGGTGCACCTGATGAATACATTGAA
 AAGCTCGCCACAATTTACTGGTTTACTGTGGAGTTTGGGCTCTGCAAACAA
 GGAGACTCCATAAAGGCATATGGTGCTGGGCTCCTGTCATCCTTTGGTGA
 ATTACAGTACTGCTTATCAGAGAAGCCAAAGCTTCTCCCCCTGGAGCTGG
 AGAAGACAGCCATCCAAAATTACACTGTCACGGAGTTCCAGCCCCGTGAT
 TACGTGGCAGAGAGTTTTAATGATGCCAAGGAGAAAAGTAAGGAACTTTGC
 TGCCACAATACCTCGGCCCTTCTCAGTTCGCTACGACCCATACACCCAAAG
 GATTGAGGTCTTGGACAATACCCAGCAGCTTAAGATTTTGGCTGATTCCAT
 TAACAGTGAAATTGGAATCCTTTGCAGTGCCCTCCAGAAAATAAAGTAA
 (SEQ ID NO: 1);
 ATGAGCACAGCTGTGTTGGAAAATCCTGGGCTGGGCCGTAAAGCTTTCCGA
 TTTCGGCCAGGAGACTTCATACATTGAGGACAACTGCAACCAGAATGGGG
 CCATTTCTTTGATCTTCAGTCTCAAAGAAGAGGTAGGCGCTCTGGCTAAGG
 TCCTGAGGCTGTTTGAGGAAAATGACGTGAATCTGACACACATTGAGTCT
 AGGCCTTCCCGACTTAAGAAGGATGAGTATGAGTTCTCACACACCTGGA
 CAAACGATCTCTCCAGCACTGACCAATATCATCAAGATTCTCAGGCATG
 ATATCGGTGCCACGGTCCACGAACTTTCACGCGATAAGAAGAAAGACACA
 GTTCCCTGGTTCCCGAGAACCATTTCAGGAACTGGATAGGTTTGCCAATCA
 GATTCTGAGCTATGGGGCAGAGTTGGATGCCGACCATCCAGGCTTCAAAG

[0060]

ACCCCGTATATCGGGCTCGGAGAAAGCAGTTTGCAGACATCGCTTACAAT
TACAGGCATGGACAGCCCATCCCTAGAGTGGAGTACATGGAAGAAGGCA
AGAAAACCTGGGGAACGGTGTTTAAGACCCTCAAAAGCCTGTATAAGACC
CACGCGTGTATGAGTACAACCACATTTTCCCATTGCTGGAGAAGTACTGT
GGCTTTCACGAGGACAACATCCCTCAACTGGAGGATGTTTCACAGTTCCTT
CAGACTTGCACTGGTTTCCGCCTTCGACCTGTGGCTGGGCTGCTTAGCTCA
CGGGACTTCCTGGGAGGCCTGGCCTTCAGAGTCTTTCAGTGCAGTCACTAC
ATTCCGCATGGCTCTAAGCCAATGTACACCCCTGAACCGGATATATGCCA
CGAGCTGTTGGGACATGTGCCCCGTGTTTCTGATCGCAGCTTTGCCAGTT
TTCCCAGGAGATTGGCCTGGCAAGTCTTGGTGCGCCTGATGAGTACATCG
AGAAGCTCGCGACAATCTACTGGTTCACCGTGAATTTGGACTCTGCAAA
CAAGGGGACTCTATCAAAGCCTACGGAGCAGGACTCCTCTCCAGCTTCGG
TGAAGTGCAGTATTGTCTGTCCGAGAAACCCAAACTCTTGCCCCCTGGAAT
GGAAAAGACTGCCATCCAAAACATACTGTACGGAATTTAGCCACTGT
ATTATGTGGCTGAATCCTTTAACGATGCCAAGGAGAAGGTCCGTAATTTT
GCTGCCACAATACCACGCCCTTCAGCGTGAGATACGACCCGTATACACA
ACGGATAGAGTTCTGGACAACACCCAGCAACTGAAAATTCTGGCAGACA
GTATAAACAGCGAAATAGGGATCCTCTGTAGTGCCCTGCAGAAAATCAAA
TGA (SEQ ID NO: 2);
AGCCATGGACAGAATGTGGTCTGTCAGCTGTGAATCTGTTGATGGAGATC
CAACTATTTCTTTCATCAGAAAAAGTCCGAAAAGCAAACCTTAATTTGAA
ATAACAGCCTTAAATCCTTTACAAGATGGAGAAACAACAATAAGTCAAA
ATAATCTGAAATGACAGGATATGAGTACATACTCAAGAGCATAATGGTAA
ATCTTTTGGGGTCATCTTTGATTTAGAGATGATAATCCCATACTCTCAATT
GAGTTAAATCAGTAATCTGTGCGCATTTTCATCAAGATTAATTTAAATTTGGG
ACCTGCTTCATTCAAGCTTCATATATGCTTTGCAGAGAACTCATAAAGGAG
CATATAAGGCTAAATGTAAAACCCAAGACTGTCATTAGAATTGAATTATT
GGGCTTAATATAAAATCGTAACCTATGAAGTTTATTTTTATTTTAGTTAAC
TATGATTCCAATTACTACTTTGTTATTGTACCTAAGTAAATTTCTTTAAGT
CAGAAGCCCATTAATAATAGTTACAAGCATTGAACCTCTTTAGTATTATATT
AATATAAAAAACATTTTTGTATGTTTTATTGTAATCATAAATACTGCTGTAT
AAGGTAATAAAACTCTGCACCTAATCCCCATAACTTCCAGTATCATTTC
AATTAATTATCAAGTCTGTTTTGGGAAACACTTTGAGGACATTTATGATGC
AGCAGATGTTGACTAAAGGCTTGGTTGGTAGATATTCAGGAAATGTTTAC
TGAATAAATAAGTAAATACATTATTGAAAAGCAAATCTGTATAAATGTGA

[0061]

AATTTTTATTTGTATTAGTAATAAAACATTAGTAGTTTAAACAAAAAAA
AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAACTCGACTCTAGATT (SEQ ID NO: 3); or
AGCCATGGACAGAATGTGGTCTGTCAGCTGTGAATCTGTTGATGGAGATC
CAACTATTTCTTTCATCAGAAAAAGTCCGAAAAGCAAACCTTAATTTGAA
ATAACAGCCTTAAATCCTTTACAAGATGGAGAAACAACAATAAGTCAAA
ATAATCTGAAATGACAGGATATGAGTACATACTCAAGAGCATAATGGTAA
ATCTTTTGGGGTCATCTTTGATTTAGAGATGATAATCCCATACTCTCAATT
GAGTTAAATCAGTAATCTGTGCGCATTTTCATCAAGATTA (SEQ ID NO: 4).

[0062]

[0063]

구현예에서, 변이체는 상기 기재된 서열 중 임의의 것으로 만들어질 수 있다. 구현예에서, PAH 서열 또는 이의 변이체는 (SEQ ID NO: 1), (SEQ ID NO: 2), (SEQ ID NO: 3) 또는 (SEQ ID NO: 4) 를 포함한다.

[0064]

구현예에서, 치료적 카고 부분은 적어도 하나의 사전결정된 상보적 mRNA 서열에 결합할 수 있는 적어도 하나의

작은 RNA 서열을 포함한다. 구현예에서, 적어도 하나의 작은 RNA 서열은 전장 UTR 을 함유하는 상보적 mRNA 서열을 표적으로 한다. 구현예에서, 적어도 하나의 작은 RNA 서열은 절두된 UTR 을 함유하는 상보적 mRNA 서열을 표적으로 하지 않는다. 구현예에서, 절두된 UTR 은 본원에 확인된 절두된 서열 또는 이의 임의의 변이체 중 임의의 것을 포함할 수 있다. 구현예에서, 적어도 하나의 사전결정된 상보적 mRNA 서열은 PAH mRNA 서열이다. 구현예에서, 적어도 하나의 작은 RNA 서열은 shRNA 를 포함한다. 구현예에서, 적어도 하나의 작은 RNA 서열은 제 1 프로모터의 제어 하에 있으며, PAH 서열 또는 이의 변이체는 제 2 프로모터의 제어 하에 있다. 구현예에서, 제 1 프로모터는 H1 프로모터를 포함한다. 구현예에서, 제 2 프로모터는 간-특이적 프로모터를 포함한다. 구현예에서, 간-특이적 프로모터는 hAAT 프로모터를 포함한다. 구현예에서, 적어도 하나의 작은 RNA 서열은 하기와 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95% 또는 그 이상의 동일성 % 를 갖는 서열을 포함한다:

TCGCATTTTCATCAAGATTAATCTCGAGATTAATCTTGATGAAATGCGATTT
TT (SEQ ID NO: 5); 또는
ACTCATAAAGGAGCATATAAGCTCGAGCTTATATGCTCCTTTATGAGTTTT
TT (SEQ ID NO: 6).

[0065]

[0066]

구현예에서, 변이체는 상기 기재된 서열로 만들어질 수 있다. 구현예에서, 적어도 하나의 작은 RNA 서열은 (SEQ ID NO: 5) 또는 (SEQ ID NO: 6) 을 포함한다. 구현예에서, 바이러스 벡터는 렌티바이러스 벡터 또는 아데노-관련 바이러스 벡터이다.

[0067]

또 다른 양태에서, 표적 세포를 감염시킬 수 있는 렌티바이러스 입자가 개시된다. 렌티바이러스 입자는 표적 세포를 감염시키기 위해 최적화된 외피 단백질을 포함하고; 본원에 상세히 나타낸 바와 같은 바이러스 벡터를 추가로 포함한다. 구현예에서, 표적 세포는 간 세포이다.

[0068]

또 다른 양태에서, 대상에서의 PKU 의 치료 방법이 개시된다. 방법은 본원에서 상세히 나타낸 바와 같은 치료적 유효량의 렌티바이러스 입자를 대상에게 투여하는 것을 포함한다.

[0069]

또 다른 양태에서, 대상에서의 PKU 의 예방 방법이 개시된다. 방법은 본원에서 상세히 나타낸 바와 같은 치료적 유효량의 렌티바이러스 입자를 대상에게 투여하는 것을 포함한다. 구현예에서, 치료적 유효량의 렌티바이러스 입자는 복수의 단일 용량의 렌티바이러스 입자를 포함한다. 구현예에서, 치료적 유효량의 렌티바이러스 입자는 단일 용량의 렌티바이러스 입자를 포함한다. 구현예에서, 방법은 치료적 유효량의, 바이러스 벡터를 포함하는 제 1 렌티바이러스 입자 및 제 2 렌티바이러스 입자를 대상에게 투여하는 것을 포함한다. 구현예에서, 제 1 렌티바이러스 입자는 PAH 서열 또는 이의 변이체를 포함하며, 제 2 렌티바이러스 입자는 적어도 하나의 사전결정된 상보적 mRNA 서열에 결합할 수 있는 적어도 하나의 작은 RNA 서열을 포함한다.

[0070]

또 다른 양태에서, 대상에서의 PKU 의 치료 또는 예방 방법이 개시된다. 구현예에서, 대상은 자궁내에 있다. 구현예에서, PKU 의 치료 또는 예방 방법은 PKU 표현형과 상호연관되는 대상에서의 PKU 유전자형을 진단하는 것을 추가로 포함한다. 구현예에서, PKU 의 치료 또는 예방 방법은 대상의 태아기 스크리닝 동안 진단을 포함한다. 그러나 구현예에서, 대상은 치료 전에 또는 치료 후에 언제라도 진단될 수 있다.

[0071]

본원에 기재된 본 발명의 다른 양태 및 이점은 예로서 본 발명의 양태를 설명하는 수반되는 도면과 함께 취해져, 하기 상세한 설명으로부터 명백해질 것이다.

[0072]

페닐케톤뇨증

[0073]

PKU 는 PAH 의 돌연변이 및/또는 PAH 보조인자 (즉; BH₄) 의 합성 또는 재생 결함에 의해 유발된다고 여겨진다.

특히, 몇몇 PAH 돌연변이는 소포체에서의 단백질 폴딩에 영향을 미치는 것으로 나타났으며, 이는 효소 촉매 활성을 약화시키거나 크게 철회시키는 단백질 구조에서의 미스센스 돌연변이 (63%) 및 작은 결실 (13%) 로 인한 가속화된 분해 및/또는 응집을 초래한다. PAH 의 기능성에 영향을 줄 수 있는 수많은 돌연변이가 존재하므로, PKU 를 치료하기 위한 효과적인 치료적 접근방식은 비정상 PAH 및/또는 대체 PAH 가 투여될 수 있는 방식을 다룰 수 있다.

[0074]

일반적으로, 3 가지 주요 표현형 군은 진단시 측정된 Phe 수준, Phe 에 대한 식이 내성 및 치료요법에 대한 잠재적 반응성을 기반으로 하여 PKU 에서 분류된다. 이들 군은 고전적 PKU (Phe > 1200 μ M), 비정형 또는

경증 PKU (Phe 가 600 - 1200 μ M 임) 및 영구적인 경증 고페닐알라닌혈증 (HPA, Phe 120 - 600 μ M) 을 포함한다.

[0075] PKU 의 검출은 전형적으로 보편적 신생아 스크리닝 (NBS) 동안 발생한다. 혈 스틱으로부터 수집한 1 점적의 혈액을 페닐알라닌 수준에 대해 검사한다. NBS 는 USA 의 모든 50 개 주에서 의무적이다.

[0076] 유전적 약물

[0077] 유전적 약물은 질환 치료 또는 예방의 목적으로 숙주 세포에 유전적 구축물을 전달하는데 사용되는 바이러스 벡터에 대한 언급을 포함한다.

[0078] 유전적 구축물은 비제한적으로, 존재하는 결함을 교정하거나 보완하기 위한 기능적 유전자 또는 유전자의 일부, 조절 단백질을 인코딩하는 DNA 서열, 안티센스, 짧은 상동성 RNA, 긴 비-코딩 RNA, 작은 간섭 RNA 또는 기타의 것들을 포함하는 조절 RNA 분자를 인코딩하는 DNA 서열, 및 질환 상태를 변경하기 위해 중요한 세포 인자에 대해 경쟁하도록 설계된 RNA 또는 단백질을 인코딩하는 디코이 서열 (decoy sequence) 을 포함할 수 있다. 유전적 약물은 특정 질환의 치료 또는 완화를 제공하기 위해 이러한 치료적 유전적 구축물을 표적 세포에 전달하는 것을 포함한다.

[0079] 기능적 PAH 유전자를 간에 생체내 전달함으로써, 그의 활성이 재구성될 수 있어, 혈액 내 Phe 의 정상적인 정리 (clearance) 를 초래하여 따라서 식이 제한 또는 빈번한 효소 대체 치료요법에 대한 필요성을 제거한다. 이러한 치료적 접근방식의 효과는 내인성 PAH 에 대한 shRNA 의 표적화에 의해 개선될 수 있다. 개시물의 한 양태에서, 기능적 PAH 유전자 또는 이의 변이체는, 태아가 PKU 유전자형을 가질 위험성이 있는 것으로 확인된 경우, 특히 부모 유전자형이 공지되는 경우, 자궁내 전달될 수 있다. 치료는 생체내 또는 자궁내 발생할 수 있다. 구현예에서, 진단 단계는 태아가 PKU 표현형에 대한 위험성이 있는지 여부를 결정하기 위해 실행될 수 있다. 진단 단계에서 태아가 PKU 표현형에 대한 위험성이 있는 것으로 결정되는 경우, 태아는 본원에 상세히 나타낸 유전적 약물로 치료될 수 있다.

[0080] 치료적 벡터

[0081] 본원의 다양한 양태 및 구현예에 따른 렌티바이러스 비리온 (입자) 은 비리온 (바이러스 입자) 를 생성하기 위해 필요한 바이러스 단백질을 인코딩하는 벡터 시스템에 의해 발현된다. 다양한 구현예에서, 프로모터에 작동가능하게 연결된, 렌티바이러스 pol 단백질을 인코딩하는 핵산 서열을 함유하는 하나의 벡터가 역전사 및 통합을 위해 제공된다. 또 다른 구현예에서, pol 단백질은 다수의 벡터에 의해 발현된다. 다른 구현예에서, 프로모터에 작동가능하게 연결된, 바이러스 캡시드를 형성하기 위한 렌티바이러스 Gag 단백질을 인코딩하는 핵산 서열을 함유하는 벡터가 제공된다. 구현예에서, 이러한 gag 핵산 서열은 적어도 일부의 pol 핵산 서열 외에 별개의 벡터 상에 존재한다. 다른 구현예에서, gag 핵산은 pol 단백질을 인코딩하는 모든 pol 핵산 서열로부터 별개의 벡터 상에 존재한다.

[0082] 야생형 복귀 돌연변이체 (revertant) 를 수득하는 가능성을 더 최소화하기 위해, 입자 생성에 사용되는 본원의 벡터에 수많은 변형이 이루어질 수 있다. 이들은 비제한적으로, LTR 의 U3 부위의 결실, tat 결실 및 매트릭스 (MA) 결실을 포함한다. 구현예에서, gag, pol 및 env 벡터(들) 는 렌티바이러스 패키징 서열로 지칭되는, 렌티바이러스 RNA 를 패키징하는 렌티바이러스 계놈으로부터의 뉴클레오티드를 함유하지 않는다.

[0083] 입자를 형성하는 벡터(들) 는 바람직하게는 외피 단백질을 발현하는 렌티바이러스 계놈으로부터의 핵산 서열을 함유하지 않는다. 바람직하게는, 프로모터에 작동가능하게 연결된 외피 단백질을 인코딩하는 핵산 서열을 함유하는 별개의 벡터가 사용된다. 이러한 env 벡터는 또한 렌티바이러스 패키징 서열을 함유하지 않는다. 한 구현예에서 env 핵산 서열은 렌티바이러스 외피 단백질을 인코딩한다.

[0084] 또 다른 구현예에서 외피 단백질은 렌티바이러스로부터가 아니라 상이한 바이러스로부터 유래된다. 생성된 입자는 위형 입자 (pseudotyped particle) 로 지칭된다. 외피를 적절히 선택함으로써 사실상 임의의 세포를 "감염" 시킬 수 있다. 예를 들어, 인플루엔자 바이러스, VSV-G, 알파 바이러스 (셈리키 삼립열바이러스, 신드비스 바이러스), 아레나바이러스 (림프구성 맥락수막염 바이러스), 플라비바이러스 (진드기 매개 뇌염 바이러스, 뎅기 바이러스, C 형 간염 바이러스, GB 바이러스), 람다바이러스 (수포성 구내염 바이러스, 광견병 바이러스), 파라믹소바이러스 (볼거리 또는 홍역) 및 오르토믹소바이러스 (인플루엔자 바이러스) 의 것과 같은 세포내 이입성 구획을 표적으로 하는 외피 단백질을 인코딩하는 env 유전자를 사용할 수 있다. 바람직하게 사용될 수 있는 다른 외피는 MLV-E, MLV-A 및 GALV 와 같은 몰로니 백혈병 바이러스로부터의 것들을 포함한다. 이들 후자의 외피는 숙주 세포가 1 차 세포인 경우에 특히 바람직하다. 원하는 숙주 세포에 따라 다른 외피

단백질이 선택될 수 있다.

[0085] 본원에서 제공된 바와 같은 렌티바이러스 벡터 시스템은 전형적으로 gag, pol 또는 rev 유전자 중 적어도 하나를 포함하는 적어도 하나의 헬퍼 플라스미드를 포함한다. 각각의 gag, pol 및 rev 유전자는 개별 플라스미드 상에 제공될 수 있거나, 하나 이상의 유전자가 동일한 플라스미드 상에 함께 제공될 수 있다. 한 구현예에서, gag, pol 및 rev 유전자는 동일한 플라스미드 상에 제공된다 (예를 들어, 도 1). 또 다른 구현예에서, gag 및 pol 유전자는 제 1 플라스미드 상에 제공되며 rev 유전자는 제 2 플라스미드 상에 제공된다 (예를 들어, 도 2). 따라서, 3-벡터 및 4-벡터 시스템 둘 모두가 본원에 기재된 바와 같은 렌티바이러스를 생성하는데 사용될 수 있다. 구현예에서, 치료적 벡터, 적어도 하나의 외피 플라스미드 및 적어도 하나의 헬퍼 플라스미드는 패키징 세포, 예를 들어 패키징 세포주에 형질감염된다. 패키징 세포주의 비제한적인 예는 293T/17 HEK 세포주이다. 치료적 벡터, 외피 플라스미드 및 적어도 하나의 헬퍼 플라스미드가 패키징 세포주에 형질감염되는 경우, 렌티바이러스 입자가 궁극적으로 생성된다.

[0086] 또 다른 양태에서, 렌티바이러스 입자를 발현하기 위한 렌티바이러스 벡터 시스템이 개시된다. 시스템은 본원에 기재된 바와 같은 렌티바이러스 벡터; 세포를 감염시키기 위해 최적화된 외피 단백질을 발현하기 위한 외피 플라스미드; 및 gag, pol 및 rev 유전자를 발현하기 위한 적어도 하나의 헬퍼 플라스미드를 포함하며, 여기서 렌티바이러스 벡터, 외피 플라스미드 및 적어도 하나의 헬퍼 플라스미드가 패키징 세포주에 형질감염되는 경우, 렌티바이러스 입자가 패키징 세포주에 의해 생성되며, 렌티바이러스 입자는 PAH의 생성을 억제하고/하거나 내인성 PAH의 발현을 억제할 수 있다.

[0087] 또 다른 양태에서, 본원에서 치료적 벡터로도 지칭되는 렌티바이러스 벡터는 하기 요소를 포함한다: 하이브리드 5' 긴 말단 반복부 (RSV/5' LTR) (SEQ ID NO: 7-8), Psi 서열 (RNA 패키징 위치) (SEQ ID NO: 9), RRE (Rev-반응 요소) (SEQ ID NO: 10), cPPT (폴리퓨린 관) (SEQ ID NO: 11), 항 알파 트립신 프로모터 (hAAT) (SEQ ID NO: 12), 페닐알라닌 히드록실라아제 (PAH) (SEQ ID NO: 1-4), 우드척 전사후 조절 요소 (Woodchuck Post-Transcriptional Regulatory Element) (WPPE) (SEQ ID NO: 13) 및 Δ U3 3' LTR (SEQ ID NO: 14). 구현예에서, 치환, 결실에 의한 서열 변이, 또 다른 양태에서, 본원에서 치료적 벡터로도 지칭되는 렌티바이러스 벡터는 하기 요소를 포함한다: 하이브리드 5' 긴 말단 반복부 (RSV/5' LTR) (SEQ ID NO: 7-8), Psi 서열 (RNA 패키징 위치) (SEQ ID NO: 9), RRE (Rev-반응 요소) (SEQ ID NO: 10), cPPT (폴리퓨린 관) (SEQ ID NO: 11), H1 프로모터 (SEQ ID NO: 15), PAH shRNA (SEQ ID NO: 1-4), 항 알파 트립신 프로모터 (hAAT) (SEQ ID NO: 12), PAH shRNA (SEQ ID NO: 1-4), 우드척 전사후 조절 요소 (WPPE) (SEQ ID NO: 13) 및 Δ U3 3' LTR (SEQ ID NO: 14). 구현예에서, 치환, 결실, 부가 또는 돌연변이에 의한 서열 변이는 본원에서 서열 참조물을 변형시키는데 사용될 수 있다.

[0088] 또 다른 양태에서, 헬퍼 플라스미드는 하기 요소를 포함한다: CAG 프로모터 (SEQ ID NO: 16); HIV 성분 gag (SEQ ID NO: 17); HIV 성분 pol (SEQ ID NO: 18); HIV Int (SEQ ID NO: 19); HIV RRE (SEQ ID NO: 20); 및 HIV Rev (SEQ ID NO: 21). 또 다른 양태에서, 헬퍼 플라스미드는 gag 및 pol 유전자를 발현하기 위한 제 1 헬퍼 플라스미드, 및 rev 유전자를 발현하기 위한 제 2 및 별개의 플라스미드를 포함하도록 변형될 수 있다. 구현예에서, 치환, 결실, 부가 또는 돌연변이에 의한 서열 변이는 본원에서 서열 참조물을 변형시키는데 사용될 수 있다.

[0089] 또 다른 양태에서, 외피 플라스미드는 하기 요소를 포함한다: RNA 폴리머라아제 II 프로모터 (CMV) (SEQ ID NO: 22) 및 수포성 구내염 바이러스 G 당단백질 (VSV-G) (SEQ ID NO: 23). 구현예에서, 치환, 결실, 부가 또는 돌연변이에 의한 서열 변이는 본원에서 서열 참조물을 변형시키는데 사용될 수 있다.

[0090] 다양한 양태에서, 렌티바이러스 패키징에 사용된 플라스미드는 벡터 기능의 손실 없이 다양한 요소의 치환, 부가, 감산 또는 돌연변이에 의해 변형된다. 예를 들어, 비제한적으로, 하기 요소는 패키징 시스템을 포함하는 플라스미드 내의 유사한 요소를 대체할 수 있다: 신장 인자-1 (EF-1), 포스포글리세레이트 키나아제 (PGK) 및 유비퀴틴 C (UbC) 프로모터는 CMV 또는 CAG 프로모터를 대체할 수 있다. SV40 폴리 A 및 bGH 폴리 A는 토끼 베타 글로빈 폴리 A를 대체할 수 있다. 헬퍼 플라스미드 내 HIV 서열은 상이한 HIV 계통 또는 클레이드로부터 구축될 수 있다. VSV-G 당단백질은 고양이 내인성 바이러스 (RD114), 긴팔 원숭이 백혈병 바이러스 (GALV), 광견병 (FUG), 림프성 맥락수막염 바이러스 (LCMV), 인플루엔자 A 가금류 바이러스 (FPV), 로스 리버 알파바이러스 (RRV), 쥐 백혈병 바이러스 10A1 (MLV) 또는 에볼라 바이러스 (EboV)로부터의 멤브레인 당단백질로 치환될 수 있다.

[0091] 다양한 렌티바이러스 패키징 시스템은 상업적으로 구입할 수 있으며 (예를 들어 OriGene Technologies, Inc.,

Rockville, MD 로부터의 Lenti-vpak packaging kit), 또한 본원에 기재된 바와 같이 설계될 수 있다. 더욱이, 렌티바이러스 입자의 생성 효율을 포함하여 임의의 수의 관련 인자를 개선하기 위해 렌티바이러스 패키징 시스템의 양태를 치환하거나 변형시키는 것은 당업자의 기술 내에 있다.

[0092] 또 다른 양태에서, 아데노-관련 바이러스 (AAV) 벡터를 사용할 수 있다.

[0093] **AAV 벡터 구축.** PAH shRNA 서열 #1 (SEQ ID NO: 5) 또는 PAH shRNA 서열 #2 (SEQ ID NO: 6) 는 pAAV 플라스미드 (Cell Biolabs) 에 삽입될 수 있다. BamHI 및 EcoRI 제한 위치를 함유하는 PAH 올리고뉴클레오티드 서열은 Eurofins MWG Operon 에 의해 합성될 수 있다. 중첩 센스 및 안티센스 올리고뉴클레오티드 서열은 70 °C 에서 실온으로 냉각하는 동안 혼합 및 어닐링될 수 있다. pAAV 는 제한 효소 BamHI 및 EcoRI 으로 1 시간 동안 37 °C 에서 소화될 수 있다. 소화된 pAAV 플라스미드는 아가로오스 겔 전기영동에 의해 정제되고 Thermo Scientific 으로부터의 DNA 겔 추출 키트를 사용하여 겔로부터 추출될 수 있다. DNA 농도를 측정할 수 있고, 벡터 대 올리고 (3:1 비) 를 혼합하고, 어닐링하고, 라이게이션할 수 있다. 라이게이션 반응은 30 분 동안 실온에서 T4 DNA 리가아제에 의해 수행될 수 있다. 2.5 μ l 의 라이게이션 믹스를 25 μ l 의 STBL3 적격 박테리아 세포에 첨가할 수 있다. 형질전환을 42 °C 에서 열 충격 후 달성할 수 있다. 박테리아 세포를 암피실린을 함유하는 아가 플레이트 상에 스프레딩할 수 있고, 약물-내성 콜로니 (암피실린 내성 플라스미드의 존재를 나타냄) 를 회수하고 LB 브로쓰에서 확장시킬 수 있다. 올리고 서열의 삽입을 확인하기 위해, 플라스미드 DNA 를 Thermo Scientific DNA mini prep 키트를 사용하여 수확된 박테리아 배양물로부터 추출할 수 있다. pAAV 플라스미드 내의 shRNA 서열의 삽입은 shRNA 발현을 조절하는데 사용되는 프로모터에 대한 특이적 프라이머를 사용하여 DNA 서열분석에 의해 확인할 수 있다.

[0094] PAH (SEQ ID NO: 1) 를 발현하기 위한 예시적인 AAV 플라스미드 시스템을 도 3 에서 도시한다. 간략하게, 가장 좌측의 AAV 헬퍼 플라스미드는 좌측 ITR (SEQ ID NO: 47), 프로트롬빈 인핸서 (SEQ ID NO: 48), 인간 항알파 트립신 프로모터 (SEQ ID NO: 12), PAH 요소 (SEQ ID NO: 1), 폴리 A 요소 (SEQ ID NO: 49) 및 우측 ITR (SEQ ID NO: 50) 을 함유한다. 도 3 의 가운데에 도시한 AAV 플라스미드는 적합한 프로모터 요소 (SEQ ID NO: 16; SEQ ID NO: 22), 및 E2A 요소 (SEQ ID NO: 51), E4 요소 (SEQ ID NO: 52), VA RNA 요소 (SEQ ID NO: 53), 및 폴리 A 요소 (SEQ ID NO: 49) 를 함유하는 AAV 플라스미드를 나타낸다. 가장 우측의 플라스미드는 적합한 프로모터 요소, Rep 요소 (SEQ ID NO: 54), Cap 요소 (SEQ ID NO: 55) 및 폴리 A 요소 (SEQ ID NO: 49) 를 함유하는 AAV Rep/Cap 플라스미드를 도시한다.

[0095] **AAV 입자의 생성.** AAV-PAH shRNA 플라스미드는 플라스미드 pAAV-RC2 (Cell Biolabs) 및 pHelper (Cell Biolabs) 와 조합될 수 있다. pAAV-RC2 플라스미드는 Rep 및 AAV2 캡시드 유전자를 함유할 수 있으며, pHelper 는 아데노바이러스 E2A, E4 및 VA 유전자를 함유할 수 있다. AAV 입자를 생성하기 위해, 이들 플라스미드를 1:1:1 비 (pAAV-shPAH: pAAV-RC2: pHelper) 로 293T 세포에 형질감염시킬 수 있다. 150 mm 디쉬 (BD Falcon) 에서 세포의 형질감염을 위해, 10 μ g 의 각각의 플라스미드를 1 ml 의 DMEM 중 함께 첨가할 수 있다. 또 다른 튜브에서, 60 μ l 의 형질감염 시약 PEI (1 μ g/ml) (Polysciences) 를 1 ml 의 DMEM 에 첨가할 수 있다. 2 개의 튜브를 함께 혼합하여 15 분 동안 인큐베이션할 수 있다. 그런 다음, 형질감염 혼합물을 세포에 첨가할 수 있고, 세포를 3 일 후 수집할 수 있다. 세포를 드라이 아이스/이소프로판올 중 동결/해동 용해 (lysis) 에 의해 용해할 수 있다. 벤조나아제 뉴클레아제 (Sigma) 를 37 °C 에서 30 분 동안 세포 용해물에 첨가할 수 있다. 그런 다음, 세포 잔해를 4 °C 에서 15 분 동안 12,000 rpm 에서 원심분리에 의해 펠렛화할 수 있다. 상청액을 수집한 다음, 표적 세포에 첨가할 수 있다.

[0096] 투약량 및 투약 형태

[0097] 개시된 벡터 시스템은 개시된 벡터의 에피솜 유지 및 관심 유전자 또는 서열의 단기간, 중간 기간 또는 장기간 발현을 가능하게 한다. 따라서, 용량 용법은 치료되는 병상 및 투여 방법을 기반으로 가변적일 수 있다.

[0098] 구현예에서, 벡터 조성물은 가변적 용량으로 이를 필요로 하는 대상에게 투여될 수 있다. 특히, 대상은 약 $\geq 10^6$ 감염 용량 (여기서 1 용량이 1 표적 세포를 형질도입시키는데 평균적으로 필요함) 이 투여될 수 있다.

보다 특히, 대상은 약 $\geq 10^7$, 약 $\geq 10^8$, 약 $\geq 10^9$ 또는 약 $\geq 10^{10}$ 감염 용량, 또는 이들 값 사이의 임의의 수의 용량을 투여받을 수 있다. 용량의 상한치는 특정 암 유형을 포함하는 각각의 질환 징후에 대해 결정될 것이며, 각각의 개별 제품 또는 제품 로트에 대한 독성/안전성 프로파일에 따라 좌우될 것이다.

[0099] 추가로, 본 개시물의 벡터 조성물은 1 일 1 회 또는 2 회와 같이 주기적으로, 또는 임의의 다른 적합한 시간으로 투여될 수 있다. 예를 들어, 벡터 조성물은 이를 필요로 하는 대상에게 1 주에 1 회, 2 주에 1 회, 3 주

에 1 회, 1 개월에 1 회, 2 개월마다, 3 개월마다, 6 개월마다, 9 개월마다, 1 년에 1 회, 18 개월마다, 2 년마다, 30 개월마다, 또는 3 년마다 투여될 수 있다.

[0100] 구현예에서, 개시된 벡터 조성물은 약학 조성물로서 투여된다. 구현예에서, 약학 조성물은 임상 적용을 위한 코, 폐, 경구, 국소 또는 비경구 투약 형태를 비제한적으로 포함하는 광범위한 투약 형태로 제형화될 수 있다. 각각의 투약 형태는 다양한 가용화제, 봉해제, 계면활성제, 충전제, 증점제, 결합제, 희석제 예컨대 습윤제 또는 다른 약학적으로 허용가능한 부형제를 포함할 수 있다. 약학 조성물은 또한 주사, 흡입, 주입 또는 피내 노출을 위해 제형화될 수 있다. 예를 들어, 주사가 가능 제형은 적합한 pH 및 등장성에서 수성 또는 비-수성 용액 중에 개시된 벡터를 포함할 수 있다.

[0101] 개시된 벡터 조성물은 종양 위치 또는 감염 위치에 직접 주사를 통해 대상에게 투여될 수 있다. 일부 구현예에서, 벡터는 전신 투여될 수 있다. 일부 구현예에서, 벡터 조성물은 유도 관삽입 (guided cannulation) 을 통해 종양 또는 감염 위치를 바로 둘러싼 조직에 투여될 수 있다.

[0102] 개시된 벡터 조성물은 임의의 약학적으로 허용가능한 방법, 예컨대 비내, 구강, 설하, 경구, 직장, 안구, 비경구 (정맥내, 피부내, 근육내, 피하, 복강내), 폐, 질내, 국부 투여, 국소 투여, 난절 이후 국소 투여, 점막 투여를 사용하여, 에어로졸을 통해, 반고체 매질 예컨대 아가로오스 또는 젤라틴에서, 또는 구강 또는 코 스프레이 제형을 통해 투여될 수 있다.

[0103] 또한, 개시된 벡터 조성물은 임의의 약학적으로 허용가능한 투약 형태, 예컨대 고체 투약 형태, 정제, 알약, 로젠지, 캡슐, 액체 분산액, 겔, 에어로졸, 폐 에어로졸, 코 에어로졸, 연고, 크림, 반고체 투약 형태, 용액, 에멀전 및 현탁액으로 제형화될 수 있다. 또한, 약학 조성물은 제어 방출 제형, 지속 방출 제형, 즉시 방출 제형 또는 이의 임의 조합일 수 있다. 또한, 약학 조성물은 경피 전달 시스템일 수 있다.

[0104] 구현예에서, 약학 조성물은 경구 투여용 고체 투약 형태로 제형화될 수 있고, 고체 투약 형태는 분말, 과립, 캡슐, 정제 또는 알약일 수 있다. 구현예에서, 고체 투약 형태는 하나 이상의 부형제 예컨대 칼슘 카르보네이트, 전분, 수크로오스, 락토오스, 미세결정질 셀룰로오스 또는 젤라틴을 포함할 수 있다. 또한, 고체 투약 형태는 부형제에 추가로, 윤활제 예컨대 탈크 또는 마그네슘 스테아레이트를 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 경구 투약 형태는 즉시 방출 또는 변형 방출 형태일 수 있다. 변형 방출 투약 형태는 제어 또는 연장 방출, 장 방출 등을 포함한다. 변형 방출 투약 형태에서 사용되는 부형제는 일반적으로 당업자에게 공지되어 있다.

[0105] 구현예에서, 약학 조성물은 설하 또는 구강 투약 형태로서 제형화될 수 있다. 이러한 투약 형태는 혀 아래에 투여되는 설하 정제 또는 용액 조성물 및 빨과 잇몸 사이에 놓여지는 구강 정제를 포함한다.

[0106] 구현예에서, 약학 조성물은 코 투약 형태로서 제형화될 수 있다. 본 발명의 이러한 투약 형태는 코 전달을 위한 용액, 현탁액 및 겔 조성물을 포함한다.

[0107] 구현예에서, 약학 조성물은 경구 투여용 액체 투약 형태, 예컨대 현탁액, 에멀전 또는 시럽으로 제형화될 수 있다. 구현예에서, 액체 투약 형태는 통용되는 단순한 희석제 예컨대 물 및 액체 파라핀에 추가로, 다양한 부형제 예컨대 보습제, 감미제, 방향제 또는 보존제를 포함할 수 있다. 구현예에서, 조성물은 소아과 환자에게 투여하기 적합하도록 제형화될 수 있다.

[0108] 구현예에서, 약학 조성물은 비경구 투여용 투약 형태, 예컨대 멸균 수용액, 현탁액, 에멀전, 비-수용액 또는 좌제로 제형화될 수 있다. 구현예에서, 용액 또는 현탁액은 프로필렌 글리콜, 폴리에틸렌 글리콜, 식물성 오일 예컨대 올리브 오일 또는 주사가 가능 에스테르 예컨대 에틸 올레에이트를 포함할 수 있다.

[0109] 약학 조성물의 투약량은 환자의 체중, 연령, 성별, 투여 시기 및 방식, 배설률, 및 질환의 중증도에 따라 가변적일 수 있다.

[0110] 구현예에서, 벡터 조성물은 정맥 또는 동맥 관삽입 또는 주사, 피내 전달, 근육내 전달 또는 질환 위치 근처의 배수 기관으로의 주사에 의해 뇌척수액, 혈액 또는 림프 순환에 투여된다.

[0111] 하기 실시예는 본 발명의 양태를 예시하기 위해 제공된다. 그러나, 본 발명이 이들 실시예에서 기재되는 특정한 상태 또는 세부 사항에 제한되지 않는다는 것이 이해되어야 한다. 본원에서 참조하는 모든 인쇄된 공개물은 명확하게 참조로 통합된다.

[0112] **실시예**

[0113] **실시예 1: 렌티바이러스 벡터 시스템의 개발**

[0114] 렌티바이러스 벡터 시스템을 도 1 (원형화된 형태) 에서 요약한 바와 같이 개발하였다. 렌티바이러스 입자를 293T/17 HEK 세포 (American Type Culture Collection, Manassas, VA 로부터 구입) 에서 생성시킨 후, 치료적 벡터, 외피 플라스미드 및 헬퍼 플라스미드로 형질감염하였다. 기능적 바이러스 입자를 생성한 293T/17 HEK 세포의 형질감염에는 시약 폴리(에틸렌이민) (PEI) 을 이용하여 플라스미드 DNA 흡수 효율을 증가시켰다.

플라스미드 및 DNA 를 초기에 3:1 의 비 (PEI 대 DNA 의 질량비) 로, 혈청 없는 배양 배지에서 별도로 첨가하였다. 2-3 일 후, 세포 배지를 수집하고 렌티바이러스 입자를 고속 원심분리 및/또는 여과에 의해 정제한 후, 음이온 교환 크로마토그래피를 수행하였다. 렌티바이러스 입자의 농도는 형질도입 단위/ml (TU/ml) 로 표현될 수 있다. TU 의 결정은 배양액 (p24 단백질이 렌티바이러스 입자에 통합됨) 중 HIV p24 수준을 측정함으로써, 정량 PCR 에 의해 형질도입된 세포 당 바이러스 DNA 카피수를 측정함으로써, 또는 세포를 감염시키고 광을 사용하여 (벡터가 루시페라아제 또는 형광 단백질 마커를 인코딩하는 경우) 달성되었다.

[0115] 상기 언급한 바와 같이, 3-벡터 시스템 (즉, 2-벡터 렌티바이러스 패키징 시스템을 포함함) 은 렌티바이러스 입자의 생성을 위해 설계되었다. 3-벡터 시스템의 개략도를 도 1 에 나타낸다. 간략하게, 도 1 을 참조하면, 최상부 벡터는 헬퍼 플라스미드이며, 이러한 경우, 이는 Rev 를 포함한다. 도 1 의 중앙에 나타나는 벡터는 외피 플라스미드이다. 최하부 벡터는 본원에 기재된 바와 같은 치료용 벡터이다.

[0116] 도 1 을 참조하면, 헬퍼 플러스 Rev 플라스미드는 CAG 인핸서 (SEQ ID NO: 24); CAG 프로모터 (SEQ ID NO: 16); 닭 베타 액틴 인트론 (SEQ ID NO: 25); HIV gag (SEQ ID NO: 17); HIV Pol (SEQ ID NO: 18); HIV Int (SEQ ID NO: 19); HIV RRE (SEQ ID NO: 20); HIV Rev (SEQ ID NO: 21); 및 토끼 베타 글로빈 폴리 A (SEQ ID NO: 26) 를 포함한다.

[0117] 외피 플라스미드는 CMV 프로모터 (SEQ ID NO: 22); 베타 글로빈 인트론 (SEQ ID NO: 27); VSV-G 외피 당단백질 (SEQ ID NO: 23); 및 토끼 베타 글로빈 폴리 A (SEQ ID NO: 26) 를 포함한다.

[0118] 헬퍼 (플러스 Rev) 및 외피 플라스미드로 이루어지는 2-벡터 렌티바이러스 패키징 시스템을 포함하는 3-벡터 시스템의 합성이 개시된다.

[0119] **재료 및 방법:**

[0120] 헬퍼 플라스미드의 구축: Gag, Pol 및 인테그라아제 유전자를 함유하는 pNL4-3 HIV 플라스미드 (NIH Aids Reagent Program) 로부터 DNA 단편의 초기 PCR 증폭에 의해 헬퍼 플라스미드를 구축하였다. 프라이머는, pCDNA3 플라스미드 (Invitrogen) 의 동일한 위치에서 삽입하는데 사용될 수 있는 EcoRI 및 NotI 제한 위치를 갖는 단편이 증폭되도록 설계되었다. 정방향 프라이머는 (5'-TAAGCAGAATTCATGAATTGCCAGGAAGAT-3') (SEQ ID NO: 28) 였으며, 역방향 프라이머는 (5'-CCATACAATGAATGGACACTAGGCGGCCGCACGAAT-3') (SEQ ID NO: 29) 였다.

[0121] Gag, Pol, 인테그라아제 단편에 대한 서열은 하기와 같았다:

```

GAATTCATGAATTTGCCAGGAAGATGGAAACCAAAAATGATAGGGGGAATTG
GAGGTTTTATCAAAGTAAGACAGTATGATCAGATACTCATAGAAATCTGCGGACATA
AAGCTATAGGTACAGTATTAGTAGGACCTACACCTGTCAACATAATTGGAAGAAATC
TGTTGACTCAGATTGGCTGCACTTTAAATTTTCCCATTAGTCCTATTGAGACTGTACC
AGTAAAATTAAGCCAGGAATGGATGGCCCAAAAGTTAAACAATGGCCATTGACAG
AAGAAAAAATAAGCATTAGTAGAAATTTGTACAGAAATGGAAAAGGAAGGAAA
AATTTCAAAAATTGGGCCTGAAAATCCATACAATACTCCAGTATTTGCCATAAAGAA
AAAAGACAGTACTAAATGGAGAAAATTAGTAGATTTTCAGAGAACTTAATAAGAGAA
CTCAAGATTTCTGGGAAGTTCAATTAGGAATACCACATCCTGCAGGGTTAAAACAGA
AAAAATCAGTAACAGTACTGGATGTGGGCGATGCATATTTTTCAGTTCCCTTAGATA
AAGACTTCAGGAAGTATACTGCATTTACCATACCTAGTATAAACAATGAGACACCAG
GGATTAGATATCAGTACAATGTGCTTCCACAGGGATGGAAAGGATCACCAGCAATA
TTCCAGTGTAGCATGACAAAAATCTTAGAGCCTTTTAGAAAACAAAATCCAGACATA
GTCATCTATCAATACATGGATGATTTGTATGTAGGATCTGACTTAGAAATAGGGCAG
CATAGAACAAAAATAGAGGAACTGAGACAACATCTGTTGAGGTGGGGATTTACCAC
ACCAGACAAAAAACATCAGAAAGAACCTCCATTCCCTTGGATGGGTTATGAACTCCA
TCCTGATAAATGGACAGTACAGCCTATAGTGCTGCCAGAAAAGGACAGCTGGACTG
TCAATGACATACAGAAATTAGTGGGAAAATTGAATTGGGCAAGTCAGATTTATGCA

```

[0122]

GGGATTAAAGTAAGGCAATTATGTAACTTCTTAGGGGAACCAAAGCACTAACAGA
AGTAGTACCCTAACAGAAGAAGCAGAGCTAGAACTGGCAGAAAACAGGGAGATT
CTAAAAGAACCGGTACATGGAGTGTATTATGACCCATCAAAAGACTTAATAGCAGA
AATACAGAAGCAGGGGCAAGGCCAATGGACATATCAAATTTATCAAGAGCCATTTA
AAAATCTGAAAACAGGAAAGTATGCAAGAATGAAGGGTGCCACACTAATGATGTG
AAACAATTAACAGAGGCAGTACAAAAAATAGCCACAGAAAGCATAGTAATATGGG
GAAAGACTCCTAAATTTAAATTACCCATACAAAAGGAAACATGGGAAGCATGGTGG
ACAGAGTATTGGCAAGCCACCTGGATTCTGAGTGGGAGTTTGTCAATACCCCTCCC
TTAGTGAAGTTATGGTACCAGTTAGAGAAAGAACCATAATAGGAGCAGAACTTT
CTATGTAGATGGGGCAGCCAATAGGGAACTAAATTAGGAAAAGCAGGATATGTAA
CTGACAGAGGAAGACAAAAAGTTGTCCTCCCTAACGGACACAACAAATCAGAAGACT
GAGTTACAAGCAATTCATCTAGCTTTGCAGGATTCGGGATTAGAAGTAAACATAGTG
ACAGACTCACAATATGCATTGGGAATCATTCAAGCACACCAGATAAGAGTGAATC
AGAGTTAGTCAGTCAAATAATAGAGCAGTTAATAAAAAAGGAAAAAGTCTACCTGG
CATGGGTACCAGCACACAAAGGAATTGGAGGAAATGAACAAGTAGATAAATTGGTC
AGTGCTGGAATCAGGAAAGTACTATTTTTAGATGGAATAGATAAGGCCCAAGAAGA
ACATGAGAAATATCACAGTAATTGGAGAGCAATGGCTAGTGATTTTAACCTACCACC
TGTAGTAGCAAAAGAAATAGTAGCCAGCTGTGATAAATGTCAGCTAAAAGGGGAAG
CCATGCATGGACAAGTAGACTGTAGCCCAGGAATATGGCAGCTAGATTGTACACATT
TAGAAGGAAAAGTTATCTTGGTAGCAGTTCATGTAGCCAGTGGATATATAGAAGCA
GAAGTAATTCCAGCAGAGACAGGGCAAGAAACAGCATACTTCCTCTTAAAATTAGC
AGGAAGATGGCCAGTAAAAACAGTACATACAGACAATGGCAGCAATTTACCCAGTA
CTACAGTTAAGGCCGCCTGTTGGTGGGCGGGGATCAAGCAGGAATTTGGCATTCCCT
ACAATCCCCAAAGTCAAGGAGTAATAGAATCTATGAATAAAGAATTAAAGAAAATT
ATAGGACAGGTAAGAGATCAGGCTGAACATCTTAAGACAGCAGTACAAATGGCAGT
ATTCATCCACAATTTTAAAAGAAAAGGGGGGATTGGGGGGTACAGTGCAGGGGAAA
GAATAGTAGACATAATAGCAACAGACATACAACTAAAGAATTACAAAAACAAATT
ACAAAAATTCAAAATTTTCGGGTTTATTACAGGGACAGCAGAGATCCAGTTTGGAAA
GGACCAGCAAAGCTCCTCTGGAAAGGTGAAGGGGCAGTAGTAATACAAGATAATAG
TGACATAAAAGTAGTGCCAAGAAGAAAAGCAAAGATCATCAGGGATTATGGAAAAC
AGATGGCAGGTGATGATTGTGTGGCAAGTAGACAGGATGAGGATTAA (SEQ ID NO:
30)

[0123]

[0124]

다음으로, XbaI 및 XmaI 측방 (flanking) 제한 위치를 갖는 Rev, RRE 및 토끼 베타 글로빈 폴리 A 서열을 함유하는 DNA 단편을 Eurofins Genomics 에 의해 합성하였다. 그런 다음, DNA 단편을 XbaI 및 XmaI 제한 위치에서 플라스미드에 삽입하였다. DNA 서열은 하기와 같았다:

TCTAGAATGGCAGGAAGAAGCGGAGACAGCGACGAAGAGCTCATCAGAACA
 GTCAGACTCATCAAGCTTCTCTATCAAAGCAACCCACCTCCAATCCCGAGGGGACC
 CGACAGGCCCCGAAGGAATAGAAGAAGAAGGTGGAGAGAGAGACAGAGACAGATCC
 ATTCGATTAGTGAACGGATCCTTGGCACTTATCTGGGACGATCTGCGGAGCCTGTGC
 CTCTTCAGCTACCACCGCTTGAGAGACTTACTCTTGATTGTAACGAGGATTGTGGAA
 CTTCTGGGACGCAGGGGGTGGGAAGCCCTCAAATATTGGTGGAATCTCCTACAATAT
 TGGAGTCAGGAGCTAAAGAATAGAGGAGCTTTGTTCCCTTGGGTTCTTGGGAGCAGCA
 GGAAGCACTATGGGCGCAGCGTCAATGACGCTGACGGTACAGGCCAGACAATTATT
 GTCTGGTATAGTGCAGCAGCAGAACAATTTGCTGAGGGCTATTGAGGGCGAACAGC
 ATCTGTTGCAACTCACAGTCTGGGGCATCAAGCAGCTCCAGGCAAGAATCCTGGCTG
 TGGAAAGATACCTAAAGGATCAACAGCTCCTAGATCTTTTTCCCTCTGCCAAAAATT
 ATGGGGACATCATGAAGCCCCTTGAGCATCTGACTTCTGGCTAATAAAGGAAATTTA
 TTTTCATTGCAATAGTGTGTTGGAATTTTTTGTGTCTCTCACTCGGAAGGACATATGG
 GAGGGCAAATCATTTAAACATCAGAATGAGTATTTGGTTTAGAGTTTGGCAACATA
 TGCCATATGCTGGCTGCCATGAACAAAGGTGGCTATAAAGAGGTCATCAGTATATGA
 AACAGCCCCCTGCTGTCCATTCTTATTCCATAGAAAAGCCTTGACTTGAGGTTAGA
 TTTTTTTTATATTTTGTGTTATTTTTTTCTTTAACATCCCTAAAATTTTCCTTAC
 ATGTTTTTACTAGCCAGATTTTTTCTCTCTCCTGACTACTCCAGTCATAGCTGTCCCT
 CTTCTCTTATGAAGATCCCTCGACCTGCAGCCCAAGCTTGGCGTAATCATGGTCATA
 GCTGTTTCCTGTGTGAAATTGTTATCCGCTCACAATTCACACAACATACGAGCCGG
 AAGCATAAAGTGTAAGCCTGGGGTGCCTAATGAGTGAGCTAACTCACATTAATTGC
 GTTGCGCTCACTGCCCCGCTTTCCAGTCGGGAAACCTGTCTGCGCCAGCGGATCCGCAT
 CTCAATTAGTCAGCAACCATAGTCCCGCCCTAACTCCGCCCATCCCGCCCCTAACT
 CCGCCCAGTTCCGCCCATCTCCGCCCATGGCTGACTAATTTTTTTTATTTATGCAG
 AGGCCGAGGCCGCCTCGGCCTCTGAGCTATTCCAGAAGTAGTGAGGAGGCTTTTTTG
 GAGGCCTAGGCTTTTGCAAAAGCTAACTTGTATTGTCAGCTTATAATGGTTACAA
 ATAAAGCAATAGCATCACAAATTTACAAATAAAGCATTTTTTTTCACTGCATTCTAG
 TTGTGGTTTGTCCAACTCATCAATGTATCTTATCAGCGGCCGCCCGGG (SEQ ID
 NO: 31)

[0125]

[0126]

마지막으로, pCDNA3.1 의 CMV 프로모터를 CAG 인핸서/프로모터 + 닭 베타 액틴 인트론 서열로 대체하였다. MluI 및 EcoRI 측방 제한 위치를 갖는 CAG 인핸서/프로모터/인트론 서열을 함유하는 DNA 단편을 Eurofins Genomics 에 의해 합성하였다. 그런 다음, DNA 단편을 MluI 및 EcoRI 제한 위치에서 플라스미드에 삽입하였다. DNA 서열은 하기와 같았다:

ACGCGTTAGTTATTAATAGTAATCAATTACGGGGTCATTAGTTCATAGCCCAT
 ATATGGAGTTCCGCGTTACATAACTTACGGTAAATGGCCCGCCTGGCTGACCGCCCA
 ACGACCCCCGCCATTGACGTCAATAATGACGTATGTTCCCATAGTAACGCCAATAG
 GGACTTTCATTGACGTCAATGGGTGGACTATTTACGGTAAACTGCCCCACTTGGCAG
 TACATCAAGTGTATCATATGCCAAGTACGCCCCCTATTGACGTCAATGACGGTAAAT
 GGCCCGCCTGGCATTATGCCAGTACATGACCTTATGGGACTTTCCTACTTGGCAGT
 ACATCTACGTATTAGTCATCGCTATTACCATGGGTGCGAGGTGAGCCCCACGTTCTGC
 TTCACTCTCCCCATCTCCCCCCCCCTCCCCACCCCCAATTTTGTATTTATTTATTTTAA
 ATTATTTTGTGCAGCGATGGGGGCGGGGGGGGGGGGGGGCGCGGCCAGGCGGGGCG
 GGGCGGGGCGAGGGGCGGGGCGGGGCGAGGCGGAGAGGTGCGGCGGCAGCCAATC
 AGAGCGGCGCGCTCCGAAAGTTTCCTTTTATGGCGAGGCGGCGGCGGCGGCGGCC
 TATAAAAAGCGAAGCGCGCGGGCGGGAGTCGCTGCGTTGCC TTCGCCCCGTGC
 CCCGCTCCGCGCCGCCTCGCGCCGCCCGCCCCGGCTCTGACTGACCGCGTTACTCCC
 ACAGGTGAGCGGGCGGGACGGCCCTTCTCCTCCGGGCTGTAATTAGCGCTTGGTTTA
 ATGACGGCTCGTTTCTTTTCTGTGGCTGCGTGAAAGCCTTAAAGGGCTCCGGGAGGG
 CCTTTGTGCGGGGGGAGCGGCTCGGGGGGTGCGTGCGTGTGTGTGTGCGTGGGG
 AGCGCCGCGTGCGGCCCCGCGCTGCCCCGGCGGCTGTGAGCGCTGCGGGCGCGGCGCG
 GGGCTTTGTGCGCTCCGCGTGTGCGCGAGGGGAGCGCGGCCGGGGGCGGTGCCCCG
 CGGTGCGGGGGGGCTGCGAGGGGAACAAAGGCTGCGTGCGGGGTGTGTGCGTGGGG
 GGGTGAGCAGGGGGTGTGGGCGCGGCGGTGCGGGCTGTAACCCCCCCTGCACCCCC
 CTCCCCGAGTTGCTGAGCACGGCCCGGCTTCGGGTGCGGGGCTCCGTGCGGGGCGTG
 GCGCGGGGCTCGCCGTGCCGGGCGGGGGGTGCGGCGAGGTGGGGGTGCCGGGCGG
 GCGGGGGCCGCCTCGGGCCGGGGAGGGCTCGGGGGAGGGGCGCGGCGGCCCCCGGA
 GCGCCGGCGGCTGTGAGGCGCGGCGAGCCGCAGCCATTGCC TTTTATGGTAATCGT
 GCGAGAGGGCGCAGGGACTTCCTTTGTCCCAAATCTGGCGGAGCCGAAATCTGGGA
 GCGCCCGCCGACCCCCCTCTAGCGGGCGCGGGCGAAGCGGTGCGGCGCCGGCAGGA
 AGGAAATGGGCGGGGAGGGCCTTCGTGCGTCGCCGCGCCGCGTCCCTTCTCCATC
 TCCAGCCTCGGGGCTGCCGCAGGGGACGGCTGCC TTCGGGGGGACGGGGCAGGG
 CGGGGTTCGGCTTCTGGCGTGTGACCGGCGGGAATTC (SEQ ID NO: 32)

[0127]

[0128]

VSV-G 외피 플라스미드의 구축:

[0129]

수포성 구내염 인디아나 바이러스 당단백질 (VSV-G) 서열을 측방 EcoRI 제한 위치로, Eurofins Genomics 에 의
 해 합성하였다. 그런 다음, DNA 단편을 EcoRI 제한 위치에서 pCDNA3.1 플라스미드 (Invitrogen) 에 삽입하
 고, CMV 특이적 프라이머를 사용하는 서열분석에 의해 올바른 배향을 결정하였다.

[0130] DNA 서열은 하기와 같았다:

GAATTCATGAAGTGCCTTTTGTACTTAGCCTTTTATTCATTGGGGTGAATTGC
AAGTTCACCATAGTTTTTCCACACAACCAAAAAGGAAACTGGAAAAATGTTCCCTTCT
AATTACCATTATTGCCCGTCAAGCTCAGATTTAAATTGGCATAATGACTTAATAGGC
ACAGCCTTACAAGTCAAAATGCCCAAGAGTCACAAGGCTATTCAAGCAGACGGTTG
GATGTGTCATGCTTCCAAATGGGTCCTACTTGTGATTTCGCTGGTATGGACCGAA
GTATATAACACATTCCATCCGATCCTTCACTCCATCTGTAGAACAATGCAAGGAAAG
CATTGAACAAACGAAACAAGGAACCTGGCTGAATCCAGGCTTCCCTCCTCAAAGTTG
TGGATATGCAACTGTGACGGATGCCGAAGCAGTGATTGTCCAGGTGACTCCTCACCA
TGTGCTGGTTGATGAATACACAGGAGAATGGGTTGATTACAGTTCATCAACGGAAA
ATGCAGCAATTACATATGCCCCACTGTCCATAACTCTACAACCTGGCATTCTGACTA
TAAGGTCAAAGGGCTATGTGATTCTAACCTCATTTCATGGACATCACCTTCTTCTCA
GAGGACGGAGAGCTATCATCCCTGGGAAAGGAGGGCACAGGGTTCAGAAGTAACTA
CTTTGCTTATGAACTGGAGGCAAGGCCTGCAAAATGCAATACTGCAAGCATTGGG
GAGTCAGACTCCCATCAGGTGTCTGGTTCGAGATGGCTGATAAGGATCTCTTTGCTG
CAGCCAGATTCCCTGAATGCCCAGAAGGGTCAAGTATCTCTGCTCCATCTCAGACCT
CAGTGGATGTAAGTCTAATTCAGGACGTTGAGAGGATCTTGGATTATCCCTCTGCC
AAGAAACCTGGAGCAAAATCAGAGCGGGTCTTCCAATCTCTCCAGTGGATCTCAGCT
ATCTTGCTCCTAAAAACCCAGGAACCGGTCCTGCTTTCACCATAATCAATGGTACCC
TAAAATACTTTGAGACCAGATACATCAGAGTCGATATTGCTGCTCCAATCCTCTCAA
GAATGGTCGGAATGATCAGTGGAACCTACCACAGAAAGGGAACCTGTGGGATGACTGG
GCACCATATGAAGACGTGGAAATTGGACCCAATGGAGTTCTGAGGACCAGTTCAGG
ATATAAGTTTCCTTTATACATGATTGGACATGGTATGTTGGACTCCGATCTTCATCTT
AGCTCAAAGGCTCAGGTGTTCAACATCCTCACATTCAAGACGCTGCTTCGCAACTT
CCTGATGATGAGAGTTTATTTTTTGGTGATACTGGGCTATCCAAAAATCCAATCGAG
CTTGTAAGAAGGTTGGTTCAGTAGTTGGAAAAGCTCTATTGCCTCTTTTTTCTTTATCA
TAGGGTTAATCATTGGACTATTCTTGGTTCTCCGAGTTGGTATCCATCTTTGCATTAA
ATTAAAGCACACCAAGAAAAGACAGATTTATACAGACATAGAGATGAGAATTC
(SEQ ID NO: 23)

[0131]

[0132] 3-백터 렌티바이러스 패키징 시스템을 포함하는 4-백터 시스템은 또한, 본원에 기재된 방법 및 재료를 사용하여 설계되고 생성되었다. 4-백터 시스템의 개략도를 도 2에 나타낸다. 간략하게, 도 2를 참조하면, 최상부 백터는 헬퍼 플라스미드이며, 이러한 경우, 이는 Rev를 포함하지 않는다. 상부로부터 두 번째 백터는 별개의 Rev 플라스미드이다. 하부로부터 두 번째 백터는 외피 플라스미드이다. 최하부 백터는 본원에 기재된 바와 같은 치료적 백터이다.

[0133] 도 2를 참조하면, 헬퍼 플라스미드는 CAG 인핸서 (SEQ ID NO: 24); CAG 프로모터 (SEQ ID NO: 16); 닭 베타 액틴 인트론 (SEQ ID NO: 25); HIV gag (SEQ ID NO: 17); HIV Pol (SEQ ID NO: 18); HIV Int (SEQ ID NO: 19); HIV RRE (SEQ ID NO: 20); 및 토끼 베타 글로빈 폴리 A (SEQ ID NO: 26)를 포함한다.

[0134] Rev 플라스미드는 RSV 프로모터 (SEQ ID NO: 7); HIV Rev (SEQ ID NO: 21); 및 토끼 베타 글로빈 폴리 A (SEQ ID NO: 26)를 포함한다.

[0135] 외피 플라스미드는 CMV 프로모터 (SEQ ID NO: 22); 베타 글로빈 인트론 (SEQ ID NO: 27); VSV-G (SEQ ID NO: 23); 및 토끼 베타 글로빈 폴리 A (SEQ ID NO: 26)를 포함한다.

[0136] 한 양태에서, 치료적 PAH 렌티바이러스 플라스미드는 도 4A에 나타낸 모든 요소를 포함한다. 또 다른 양태에서, 치료적 PAH 렌티바이러스 플라스미드는 도 4B에서 나타낸 모든 요소를 포함한다.

[0137] 헬퍼, Rev 및 외피 플라스미드로 이루어지는 3-백터 렌티바이러스 패키징 시스템을 포함하는 4-백터 시스템의 합성이 개시된다.

[0138] **재료 및 방법:**

[0139] Rev 가 없는 헬퍼 플라스미드의 구축:

[0140] RRE 및 토끼 베타 글로빈 폴리 A 서열을 함유하는 DNA 단편을 삽입하여, Rev 가 없는 헬퍼 플라스미드를 구축하였다. 이 서열을 측방 XbaI 및 XmaI 제한 위치로, Eurofins Genomics 에 의해 합성하였다. 그런 다음, RRE/토끼 폴리 A 베타 글로빈 서열을 XbaI 및 XmaI 제한 위치에서 헬퍼 플라스미드에 삽입하였다.

[0141] DNA 서열은 하기와 같다:

TCTAGAAGGAGCTTTGTTCCCTTGGGTTCTTGGGAGCAGCAGGAAGCACTATG
GGCGCAGCGTCAATGACGCTGACGGTACAGGCCAGACAATTATTGTCTGGTATAGTG
CAGCAGCAGAACAATTTGCTGAGGGCTATTGAGGCGCAACAGCATCTGTTGCAACTC
ACAGTCTGGGGCATCAAGCAGCTCCAGGCAAGAATCCTGGCTGTGGAAAGATACCT
AAAGGATCAACAGCTCCTAGATCTTTTTCCCTCTGCCAAAAATTATGGGGACATCAT
GAAGCCCCCTGAGCATCTGACTTCTGGCTAATAAAGGAAATTTATTTTCATTGCAAT
AGTGTGTTGGAATTTTTTGTGTCTCTCACTCGGAAGGACATATGGGAGGGCAAATCA
TTTAAACATCAGAATGAGTATTTGGTTTAGAGTTTGGCAACATATGCCATATGCTG
GCTGCCATGAACAAAGGTGGCTATAAAGAGGTCATCAGTATATGAAACAGCCCCCT
GCTGTCCATTCTTATTCCATAGAAAAGCCTTGACTTGAGGTTAGATTTTTTTTATAT
TTTGTTTTGTGTTATTTTTTTCTTTAACATCCCTAAAATTTTCCTTACATGTTTTACTAG

[0142]

CCAGATTTTTCTCCTCTCCTGACTACTCCCAGTCATAGCTGTCCCTCTTCTCTTATGA
AGATCCCTCGACCTGCAGCCCAAGCTTGGCGTAATCATGGTCATAGCTGTTTCCTGT
GTGAAATTGTTATCCGCTCACAAATCCACACAACATACGAGCCGGAAGCATAAAGTG
TAAAGCCTGGGGTGCCTAATGAGTGAGCTAACTCACATTAATTGCGTTGCGCTCACT
GCCCCGCTTTCCAGTCGGGAAACCTGTCTGTGCCAGCGGATCCGCATCTCAATTAGTCA
GCAACCATAGTCCCGCCCCCTAACTCCGCCCCTAACTCCGCCCAGTTCC
GCCCCATTCTCCGCCCCATGGCTGACTAATTTTTTTTATTTATGCAGAGGCCGAGGCCG
CCTCGGCCCTCTGAGCTATTCCAGAAGTAGTGAGGAGGCTTTTTTGGAGGCCTAGGCT
TTTGCAAAAAGCTAACTTGTATTATGCAGCTTATAATGGTTACAAATAAAGCAATAG
CATCACAAATTTACAAATAAAGCATTTTTTTTCACTGCATTCTAGTTGTGGTTTGTCC
AAACTCATCAATGTATCTTATCACCCGGG (SEQ ID NO: 56)

[0143]

[0144] Rev 플라스미드의 구축:

[0145] 측방 MfeI 및 XbaI 제한 위치로, Eurofins Genomics 에 의해 단일 DNA 단편으로서 RSV 프로모터 및 HIV Rev 서열을 합성하였다. 그런 다음, DNA 단편을, CMV 프로모터가 RSV 프로모터로 대체되는 MfeI 및 XbaI 제한 위치에서 pCDNA3.1 플라스미드 (Invitrogen) 에 삽입하였다. DNA 서열은 하기와 같았다:

CAATTGCGATGTACGGGCCAGATATACGCGTATCTGAGGGGACTAGGGTGTG
TTTAGGCGAAAAGCGGGGCTTCGGTTGTACGCGGTTAGGAGTCCCCTCAGGATATAG
TAGTTTTCGCTTTTGCATAGGGAGGGGAAATGTAGTCTTATGCAATACACTTGTAGT
CTTGCAACATGGTAACGATGAGTTAGCAACATGCCTTACAAGGAGAGAAAAAGCAC
CGTGCATGCCGATTGGTGAAGTAAGGTGGTACGATCGTGCCTTATTAGGAAGGCA
ACAGACAGGTCTGACATGGATTGGACGAACCACTGAATTCCGCATTGCAGAGATAA
TTGTATTTAAGTGCCTAGCTCGATACAATAAACGCCATTTGACCATTACACCATTTG
GTGTGCACCTCCAAGCTCGAGCTCGTTTGTAGTGAACCGTCAGATCGCCTGGAGACGCC
ATCCACGCTGTTTTGACCTCCATAGAAGACACCGGGACCGATCCAGCCTCCCCCTCGA
AGCTAGCGATTAGGCATCTCCTATGGCAGGAAGAAGCGGAGACAGCGACGAAGAAC
TCCTCAAGGCAGTCAGACTCATCAAGTTTCTCTATCAAAGCAACCCACCTCCCAATC
CCGAGGGGACCCGACAGGCCCCGAAGGAATAGAAGAAGAAGGTGGAGAGAGAGACA
GAGACAGATCCATTTCGATTAGTGAACGGATCCTTAGCACTTATCTGGGACGATCTGC
GGAGCCTGTGCCTCTTCAGCTACCACCGCTTGAGAGACTTACTCTTGATTGTAACGA
GGATTGTGGAACCTTCTGGGACGCAGGGGGTGGGAAGCCCTCAAATATTGGTGAAT
CTCCTACAATATTGGAGTCAGGAGCTAAAGAATAGTCTAGA (SEQ ID NO: 33)

[0146]

[0147]

패키징 시스템에서 사용한 플라스미드는 유사한 요소로 변형될 수 있으며, 인트론 서열은 벡터 기능의 손실 없이 잠재적으로 제거될 수 있다. 예를 들어, 하기 요소는 패키징 시스템에서 유사한 요소를 대체할 수 있다:

[0148]

프로모터: 신장 인자-1 (EF-1) (SEQ ID NO: 34), 포스포글리세레이트 키나아제 (PGK) (SEQ ID NO: 35) 및 유비퀴틴 C (UbC) (SEQ ID NO: 36) 는 CMV (SEQ ID NO: 22) 또는 CAG 프로모터 (SEQ ID NO: 16) 를 대체할 수 있다. 이러한 서열은 또한 첨가, 치환, 결실 또는 돌연변이에 의해 더 가변적일 수 있다.

[0149]

폴리 A 서열: SV40 폴리 A (SEQ ID NO: 37) 및 bGH 폴리 A (SEQ ID NO: 38) 는 토끼 베타 글로빈 폴리 A (SEQ ID NO: 26) 를 대체할 수 있다. 이러한 서열은 또한 첨가, 치환, 결실 또는 돌연변이에 의해 더 가변적일 수 있다.

[0150]

HIV Gag, Pol 및 인테그라아제 서열: 헬퍼 플라스미드에서의 HIV 서열은 상이한 HIV 계통 또는 클레이드로부터 구축될 수 있다. 예를 들어, Bal 계통으로부터의 HIV Gag (SEQ ID NO: 17); HIV Pol (SEQ ID NO: 18); 및 HIV Int (SEQ ID NO: 19) 는 본원에 요약된 바와 같은 헬퍼/헬퍼 플러스 Rev 플라스미드에 함유된 gag, pol 및 int 서열과 상호교환될 수 있다. 이러한 서열은 또한 첨가, 치환, 결실 또는 돌연변이에 의해 더 가변적일 수 있다.

[0151]

외피: VSV-G 당단백질은 고양이 내인성 바이러스 (RD114) (SEQ ID NO: 39), 긴팔 원숭이 백혈병 바이러스 (GALV) (SEQ ID NO: 40), 광견병 (FUG) (SEQ ID NO: 41), 림프성 맥락수막염 바이러스 (LCMV) (SEQ ID NO: 42), 인플루엔자 A 가금류 바이러스 (FPV) (SEQ ID NO: 43), 로스 리버 알파바이러스 (RRV) (SEQ ID NO: 44), 쥐 백혈병 바이러스 10A1 (MLV) (SEQ ID NO: 45) 또는 에볼라 바이러스 (EboV) (SEQ ID NO: 46) 로부터의 멤브레인 당단백질로 치환될 수 있다. 이러한 외피에 대한 서열은 본원의 서열 부분에서 확인된다. 추가로, 이러한 서열은 또한 첨가, 치환, 결실 또는 돌연변이에 의해 더 가변적일 수 있다.

[0152]

요약하여, 3-벡터 시스템 대 4-벡터 시스템은 하기와 같이 비교되고 대조될 수 있다. 3-벡터 렌티바이러스 벡터 시스템은 하기를 함유한다: 1. 헬퍼 플라스미드: HIV Gag, Pol, 인테그라아제 및 Rev/Tat; 2. 외피 플라스미드: VSV-G/FUG 외피; 및 3. 치료적 벡터: RSV 5'LTR, Psi 패키징 신호, RRE, cPPT, ApoE 인핸서, 항-알파 트립신 프로모터, 페닐알라닌 히드록실라아제, 3' UTR, WPRE, 및 3' 델타 LTR. 4-벡터 렌티바이러스 벡터 시스템은 하기를 함유한다: 1. 헬퍼 플라스미드: HIV Gag, Pol, 및 인테그라아제; 2. Rev 플라스미드: Rev; 3. 외피 플라스미드: VSV-G/FUG 외피; 및 4. 치료적 벡터: RSV 5'LTR, Psi 패키징 신호, RRE, cPPT, ApoE 인핸서, 항-알파 트립신 프로모터, 페닐알라닌 히드록실라아제, WPRE, 및 3' 델타 LTR. 상기 요소에 상응하는 서열은 본원의 서열 목록 부분에서 확인된다.

[0153] **실시예 2. 치료적 벡터**

[0154] 예시적인 치료적 벡터는 예를 들어 도 4 에서 나타난 바와 같이 설계되고 개발되었다.

[0155] 먼저 도 4A 를 참조하면, 좌측에서 우측으로, 핵심적 유전적 요소는 하기와 같다: 하이브리드 5' 긴 말단 반복부 (RSV/LTR), Psi 서열 (RNA 패키징 위치), RRE (Rev-반응 요소), cPPT (폴리퓨린 관), hAAT 프로모터, PAH 또는 이의 변이체 (본원에 상세히 나타난 바와 같음), 우드척 전사후 조절 요소 (WPRE), 및 U3 부위에서의 결실을 갖는 LTR.

[0156] 다음으로 도 4B 를 참조하면, 좌측에서 우측으로, 핵심적 유전적 요소는 하기와 같다: 하이브리드 5' 긴 말단 반복부 (RSV/LTR), Psi 서열 (RNA 패키징 위치), RRE (Rev-반응 요소), cPPT (폴리퓨린 관), H1 프로모터, PAH shRNA 서열 또는 이의 변이체 (본원에서 상세히 나타난 바와 같음), hAAT 프로모터, PAH 서열 및 이의 변이체 (본원에 상세히 나타난 바와 같음) 를 포함하는 PAH 서열, 우드척 전사후 조절 요소 (WPRE), 및 U3 부위에서의 결실을 갖는 LTR.

[0157] 도 4A 및 4B 에서 일반적으로 요약한 벡터를 생성하기 위해, 하기의 방법 및 재료를 이용하였다.

[0158] **억제 RNA 설계:** 호모 사피엔스 (*Homo sapiens*) 페닐알라닌 히드록실라아제 (PAH) (NM_000277.1) mRNA 의 서열을, 인간 세포에서 PAH 수준을 녹다운시키기 위한 잠재적 shRNA 후보물에 대한 검색에 사용하였다. 잠재적 RNA shRNA 서열을 Broad Institute 에 의해 주관되는 GPP 웹 포털 (<http://portals.broadinstitute.org/gpp/public/>) 또는 Thermo Scientific 으로부터의 BLOCK-iT RNAi Designer (<https://rnaidesigner.thermofisher.com/rnaiexpress/>) 와 같은 siRNA 또는 shRNA 설계 프로그램에 의해 선택된 후보물에서 선택하였다. 개별 선택된 shRNA 서열을 RNA 폴리머라아제 III 프로모터 H1 (SEQ ID NO: 15) 에 바로 3 프라임 (prime) 으로 렌티바이러스 벡터에 삽입하여, shRNA 발현을 조절하였다. 이러한 렌티바이러스 shRNA 구축물을 사용하여, 세포를 형질도입하고 특정 mRNA 수준에서의 변화를 측정하였다.

[0159] **벡터 구축:** PAH shRNA 에 대해, BamHI 및 EcoRI 제한 위치를 함유하는 올리고뉴클레오타이드를 Eurofins MWG Operon 에 의해 합성하였다. 중첩 센스 및 안티센스 올리고뉴클레오타이드 서열을 70℃ 에서 실온으로 냉각하는 동안 혼합 및 어닐링하였다. 렌티바이러스 벡터를 제한 효소 BamHI 및 EcoRI 으로 1 시간 동안 37℃ 에서 소화시켰다. 소화된 렌티바이러스 벡터를 아가로오스 겔 전기영동에 의해 정제하고, Thermo Scientific 으로부터의 DNA 겔 추출 키트를 사용하여 겔로부터 추출하였다. DNA 농도를 측정하고, 벡터 대 올리고 (3:1 비) 를 혼합하고, 어닐링하고, 라이게이션하였다. 라이게이션 반응을 T4 DNA 리가아제로 30 분 동안 실온에서 수행하였다. 2.5 µl 의 라이게이션 믹스를 25 µl 의 STBL3 적격 박테리아 세포에 첨가하였다. 형질 전환을 42℃ 에서 열 충격 후 달성하였다. 박테리아 세포를 암피실린을 함유하는 아가 플레이트 상에 스프레딩하고, 약물-내성 콜로니 (암피실린 내성 플라스미드의 존재를 나타냄) 를 회수하고 LB 브로쓰에서 확장시켰다. 올리고 서열의 삽입을 확인하기 위해, 플라스미드 DNA 를 Thermo Scientific DNA mini prep 키트를 사용하여 수확된 박테리아 배양물로부터 추출하였다. 렌티바이러스 벡터 내의 shRNA 의 삽입은 shRNA 발현을 조절하는데 사용되는 프로모터에 대한 특이적 프라이머를 사용하여 DNA 서열분석에 의해 확인하였다. 하기 표적 서열을 사용하여, 예시적 shRNA 서열을 PAH 를 녹다운시키는 것으로 결정하였다.

[0160] PAH shRNA 서열 #1:

TCGCATTTTCATCAAGATTAATCTCGAGATTAATCTTGATGAAATGCGAT
TTTT (SEQ ID NO: 5)

[0161]

[0162] PAH shRNA 서열 #2:

ACTCATAAAGGAGCATATAAGCTCGAGCTTATATGCTCCTTTATGAGT
TTTTT (SEQ ID NO: 6)

[0163]

[0164] **실시예 3 - 완전한 5' 및 3' UTR 을 포함하는 페닐알라닌 히드록실라아제 오픈 리딩 프레임**

[0165] Hepa1-6 마우스 간암 세포를, 도 5 에서 나타난 바와 같이 그의 전체 5 프라임 미번역 부위 및 그의 전체 3 프라임 미번역 부위 (SEQ ID NO: 3) 를 포함하는 PAH 유전자 (SEQ ID NO: 1) 를 함유하는 렌티바이러스 벡터로 감염시켰다. 도 5 는 인간 PAH 에 대한 cDNA 발현 구축물의 완전한 DNA 서열을 제공한다 (SEQ ID NO: 57). 이러한 버전은 미손상 (intact) 5' UTR 부위 (볼드체로 나타냄), hPAH 에 대한 코딩 부위, 및 완전한 3' UTR

(볼드체로 나타냄) 을 포함한다. 이러한 감염에 대한 결과를 본원의 추가 실시예에서 상세히 나타낸다.

[0166] **실시예 4 - 완전한 5' UTR 및 절두된 3' UTR 을 포함하는 페닐알라닌 히드록실라아제 오픈 리딩 프레임**

[0167] Hepa1-6 마우스 간암 세포를, 도 6 에서 나타낸 바와 같이 그의 전체 5 프라임 미번역 부위 및 절두된 3 프라임 미번역 부위 (SEQ ID NO: 4) 를 포함하는 PAH 유전자 (SEQ ID NO: 1) 를 함유하는 렌티바이러스 벡터로 감염시켰다. 도 6 은 5' UTR (897 개 뉴클레오티드) (볼드체로 나타냄), hPAH 에 대한 코딩 부위, 및 절두된 3' UTR (289 개 뉴클레오티드) (볼드체로 나타냄) 을 포함하는 인간 PAH 에 대한 cDNA 서열을 제공한다 (SEQ ID NO: 58).

[0168] **실시예 5. PAH 에 대한 재료 및 방법**

[0169] 호모 사피엔스 페닐알라닌 히드록실라아제 (hPAH) mRNA 의 서열 (Gen Bank: NM_000277.1) 을 유전자의 원위 및 근위 말단에 위치한 EcoRI 및 SalI 제한 효소 위치로 화학적으로 합성하였다. EcoRI 및 SalI 제한 효소로 처리된 hPAH 를 절단하고, ApoE (NM_000001.11, U35114.1) 및 hAAT (HG98385.1) 유전자와 제어 부위의 부분을 포함하는 하이브리드 프로모터의 제어 하에 pCDH 플라스미드에 라이게이션하였다. 유사하게, 마우스 PAH 유전자 (mPAH) (NM_008777.3) 를 합성하고, 동일한 하이브리드 프로모터의 제어 하에 pCDH 에 삽입하였다. 추가로, 인간 PAH 는 3' 미번역 부위 (UTR) 를 포함하도록 합성하였다.

[0170] 추가 변형에서, 간-특이적 프로모터 hAAT 에 의해 제어될 때 hPAH 유전자의 발현이 개선되도록 자연 발생적 UTR 을 절두하였다. hPAH, 전장 UTR 을 갖는 hPAH, 절두된 UTR 을 갖는 hPAH, 또는 mPAH 단독 (BamHI 및 EcoRI 제한 위치를 가짐) 을 함유하는 올리고뉴클레오티드 서열을 Eurofins Genomics 에 의해 합성하였다. 올리고 뉴클레오티드 서열을 70℃ 에서 인큐베이션하고 실온으로 냉각시켜 어닐링하였다. 렌티바이러스 벡터를 제한 효소 BamHI 및 EcoRI 으로 1 시간 동안 37℃ 에서 소화시켰다. 소화된 렌티바이러스 벡터를 아가로오스 겔 전기영동에 의해 정제하고, Invitrogen 으로부터의 DNA 겔 추출 키트를 사용하여 겔로부터 추출하였다. DNA 농도를 측정된 다음, 3:1 삽입물 대 벡터의 벡터 대 올리고 서열 비를 사용하여 합성 올리고뉴클레오티드 (hPAH 또는 mPAH) 와 혼합하였다. 혼합물을 T4 DNA 리가아제로 30 분 동안 실온에서 라이게이션하였다. 2.5 μ l 의 라이게이션 믹스를 25 μ l 의 STBL3 적격 박테리아 세포에 첨가하였다. 형질전환을 42℃ 에서 열 충격에 의해 실행하였다. 박테리아 세포를 암피실린을 함유하는 아가 플레이트에 스트리킹한 다음, 콜로니를 LB 브로쓰에서 확장시켰다. 올리고 서열의 삽입을 확인하기 위해, 플라스미드 DNA 를 Invitrogen DNA mini prep 키트를 사용하여 수확된 박테리아 배양물로부터 추출하였다. 렌티바이러스 벡터 (LV) 내의 shRNA 서열의 삽입은 shRNA 발현을 위해 사용되는 프로모터에 대해 상보적인 프라이머를 사용하여 DNA 서열분석에 의해 확인하였다. 그런 다음, 확인된 hPAH 또는 mPAH 서열을 함유하는 렌티바이러스 벡터를 사용하여, PAH 를 발현하는 능력을 시험하기 위해 렌티바이러스 입자를 패키징하였다. 포유동물 세포를 렌티바이러스 입자로 형질도입하였다. 세포를 2-4 일 후 수집하고, 단백질을 PAH 발현에 대해 웨스턴 블롯에 의해 분석하였다.

[0171] *hPAH 서열의 변형:*

[0172] hPAH 서열의 여러 변형을 세포 발현 수준을 개선시키기 위해 포함시켰다. 먼저, 정상 hPAH 3' 미번역 부위 (UTR) 를 PAH 코딩 부위 후 및 mRNA 말단 전에 삽입하였다. 이는 LV-hAAT-hPAH-UTR 을 생성시켰다. hPAH 발현의 수준은 3' UTR 을 첨가함으로써 증가하였으나, 유사한 벡터에서 발현된 mPAH 의 수준에 도달하지는 않았다.

[0173] 다음으로, 간-특이적 프로모터의 제어 하에 발현 수준을 개선시키기 위해 hPAH UTR 부위를 변형시켰다. 서열의 원위 절반과 대략 동일한 미번역 부위의 일부가 제거되었다. 이러한 변형은 LV-hAAT-hPAH-UTR 의 발현을 mPAH 발현에 대해 달성된 것과 유사한 수준까지 증가시켰다. 놀랍게도, 간-특이적 hAAT 프로모터를 사용할 때 UTR 의 절두는 단지 높은 수준 발현에만 요구되었다. CMV 즉시 초기 프로모터의 제어 하에 hPAH 발현 구축물을 생성시키는 것은, UTR 의 존재 또는 부재에 관계없이, 그리고 UTR 이 절두되었는지 여부에 관계없이 높은 수준 발현을 제공하였다. hPAH 유전자의 유전자좌에 대한 구조 기능을 이해하는데 있어서 이러한 중요한 진전은, hPAH 의 높은 수준 생성을 달성하면서 간 조직에서의 특이적 발현을 위한 구축물을 생성할 수 있게 한다. 간 세포에 대한 이식유전자 발현을 제한하는 것은, 페닐케톤뇨증에 대한 유전적 약물에서 벡터 안전성 및 표적 특이성을 위한 중요한 고려 사항이다.

[0174] **실시예 6. 인간 및 마우스 PAH 유전자에 대한 발현 수준을 비교하는 면역블롯 분석**

[0175] 인간 및 마우스 PAH 유전자에 대한 발현 수준을 비교하는 면역블롯 분석을 도 7 에서 요약한 바와 같이 수행하였다. 이 실시예는 Hepa1-6 마우스 간암 세포 (Hepa1-6) 에서 마우스 PAH 의 발현이 Hepa1-6 에서 인간

PAH 의 거의 검출불가능한 발현과 비교하여 더 높다는 것을 설명한다.

[0176] 인간 및 마우스 PAH 를 합성하고 렌티바이러스 벡터에 삽입하였다. 그런 다음, 서열의 삽입을 DNA 서열분석에 의해 확인하였다. 이후, 올바른 hPAH 또는 mPAH 서열을 함유하는 렌티바이러스 벡터를 사용하여 Hepa1-6 마우스 간암 세포 (American Type Culture Collection, Manassas, VA 에서 구입) 를 형질도입하였다. 세포를 2-4 일 후 수집하고, 단백질을 PAH 발현에 대해 웨스턴 블롯에 의해 분석하였다. Hepa1-6 세포를 형질도입 효율에 대한 마커로서 녹색 형광 단백질 (GFP) 을 함유하는 렌티바이러스 입자로 감염시켰다. 인간 또는 마우스 PAH 의 상대 발현은 항-PAH 항체 (Abcam) 를 사용하는 면역블롯에 의해 검출되었다.

[0177] **실시예 7. Hepa1-6 세포에서 3' UTR 부위를 갖거나 갖지 않는 hPAH 의 렌티바이러스-전달된 발현**

[0178] 이 실시예는 도 8 에 나타난 바와 같이 렌티바이러스 벡터가 5' UTR 및 3' UTR 둘 모두를 포함하는 hPAH 를 발현할 때 Hepa1-6 암종 세포에서 PAH 의 발현이 실질적으로 증가한다는 것을 설명한다. 이 실시예는 또한 hPAH 에 대한 코딩 부위만을 발현하는 렌티바이러스 벡터가 Hepa1-6 세포에서 PAH 단백질의 수준을 증가시키지 않는다는 것을 설명한다.

[0179] 인간 PAH 를 합성하고 렌티바이러스 벡터에 삽입하였다. 서열의 삽입을 DNA 서열분석에 의해 확인하였다. 그런 다음, 확인된 hPAH 서열을 함유하는 렌티바이러스 벡터를 사용하여 Hepa1-6 마우스 간암 세포 (American Type Culture Collection, Manassas, VA 에서 구입) 를 형질도입시켰다. 렌티바이러스 벡터는 그의 3' UTR 의 존재 또는 부재 하에 인간 PAH 유전자를 포함하였다. 또한, 이들 구축물에서 hPAH 발현은 hAAT 프로모터에 의해 구동되었다. 세포를 렌티바이러스 입자로 형질도입하고, 2-4 일 후 단백질을 PAH 발현에 대해 웨스턴 블롯에 의해 분석하였다. Hepa1-6 세포를 형질도입 효율에 대한 마커로서 녹색 형광 단백질 (GFP) 을 함유하는 렌티바이러스 입자로 감염시켰다. 인간 PAH 의 상대 발현은 항-PAH 항체 (Abcam) 를 사용하는 면역블롯에 의해 검출되었다.

[0180] 도 8 에서 나타난 바와 같이, 하기 3 개 군을 비교한다: Hepa1-6 세포 단독을 포함하는 대조군 (레인 1), hPAH 에 대한 코딩 부위만을 발현하는 렌티바이러스 벡터를 발현하는 군 (레인 2), 및 hPAH 를 발현하며 5' 및 3' UTR 부위 둘 모두를 포함하는 렌티바이러스 벡터 (레인 3). 특히, Hepa1-6 암종 세포는 마우스 간 조직으로부터 유래되며, 따라서 레인 1 에서 관찰된 PAH 의 자연적 배경 발현이 존재한다 (표지된 hAAT). 도 8 은 PAH shRNA 를 발현하는 렌티바이러스 (LV) 가 5' UTR 및 3' UTR 둘 모두를 포함할 때 Hepa1-6 암종 세포에서 PAH 의 발현이 실질적으로 증가한다는 것을 입증한다.

[0181] **실시예 8. Hepa1-6 세포에서 절두된 3' UTR 을 갖는 hPAH 를 발현하는 렌티바이러스 벡터**

[0182] 이 실시예는 도 9 에 나타난 바와 같이, 절두된 3' UTR (hPAH-3'UTR) 을 갖는 hPAH 를 발현하는 렌티바이러스 벡터가 전장 3'UTR 서열을 함유하는 구축물에 비해 hPAH 의 실질적으로 증가한 발현을 입증한다는 것을 설명한다.

[0183] 인간 PAH 를 합성하고 렌티바이러스 벡터에 삽입하였다. 서열의 삽입을 DNA 서열분석에 의해 확인하였다. 그런 다음, 확인된 hPAH 서열을 함유하는 렌티바이러스 벡터를 사용하여 Hepa1-6 간암 세포 (American Type Culture Collection, Manassas, VA 에서 구입) 를 형질도입시켰다. 렌티바이러스 벡터는 그의 3' UTR 의 존재 또는 부재 하에 인간 PAH 유전자를 포함하였다. 또한, 이들 구축물에서 hPAH 발현은 hAAT 프로모터에 의해 구동되었다. 세포를 렌티바이러스 입자로 형질도입하고, 2-4 일 후 단백질을 PAH 발현에 대해 웨스턴 블롯에 의해 분석하였다. Hepa1-6 세포를 형질도입 효율에 대한 마커로서 녹색 형광 단백질 (GFP) 을 함유하는 렌티바이러스 입자로 감염시켰다. 인간 PAH 의 상대 발현은 항-PAH 항체 (Abcam) 및 로딩 대조군 베타-액틴을 사용하는 면역블롯에 의해 검출되었다.

[0184] 도 9 는 Hepa1-6 암종 세포에서 hPAH 구축물의 발현을 나타낸다. 도 9 에서 나타난 바와 같이, 하기 3 개 군을 비교한다: hPAH 에 대한 코딩 부위만을 발현하는 대조군 렌티바이러스 벡터 (레인 1), hPAH-3'UTR 을 함유하는 구축물 (레인 2) 및 전장 hPAH 3'UTR 서열 (레인 3). 특히, Hepa1-6 암종 세포는 인간 간 조직으로부터 유래되며, 따라서 레인 1 에서 관찰된 PAH 의 자연적 배경 발현이 존재한다 (표지된 hAAT). 이 실시예는 hPAH-3'UTR 이 Hepa1-6 세포에서 야생형 3'UTR 서열에 비해 hPAH 발현을 증가시킨다는 것을 설명한다.

[0185] **실시예 9. 마우스 Hepa1-6 세포에서 WPRE 를 갖거나 갖지 않는 코돈-최적화된 hPAH 의 발현**

[0186] 이 실시예는 hAAT-hPAH-3'UTR₂₈₉ 를 함유하는 렌티바이러스 벡터로부터 WPRE 요소를 제거하는 것이, hPAH 발현을 현저히 감소시킨다는 것을 설명하며, 이는 도 10 에서 나타난 바와 같이 WPRE 가 최적 단백질 발현에 필요하다

는 것을 나타낸다. 이 실시예에는 또한 바람직한 인간 코돈 편향 (PAH-OPT) 을 기반으로 하는 코돈 선택 최적화가, hPAH 발현 수준을 증가시키는데 실패하였음을 설명한다.

[0187] 인간 PAH 를 합성하고 렌티바이러스 벡터에 삽입하였다. 서열의 삽입을 DNA 서열분석에 의해 확인하였다. 그런 다음, 확인된 hPAH 서열을 함유하는 렌티바이러스 벡터를 사용하여 마우스 Hepa1-6 세포 (American Type Culture Collection, Manassas, VA 에서 구입) 를 형질도입시켰다. 또한, 이들 구축물에서 hPAH 발현은 hAAT 프로모터에 의해 구동되었다. 세포를 렌티바이러스 입자로 형질도입하고, 2-4 일 후 단백질을 PAH 발현에 대해 웨스턴 블롯에 의해 분석하였다. 인간 PAH 의 상대 발현은 항-PAH 항체 (Abcam) 및 로딩 대조군 베타-액틴을 사용하는 면역블롯에 의해 검출되었다.

[0188] 이 실시예에는 1) hPAH 코딩 부위의 코돈 최적화 및 2) WPRE 유전자 성분의 결실의, Hepa1-6 세포에서의 hPAH 발현에 대한 효과를 나타낸다. 이 문제점을 다루기 위해 마우스 Hepa1-6 세포에서의 다양한 hPAH 구축물의 발현을 비교하였다. 도 10 에서 나타낸 바와 같이, 하기 5 개 군을 비교한다: 베타-액틴 로딩 대조군 (레인 1), 최적화된 코돈 대조군 구축물 (레인 2), 절두된 hPAH 3'UTR 서열을 함유하는 최적화된 코돈 구축물 (레인 3), 절두된 hPAH 3'UTR 서열을 함유하는 대조군 구축물 (레인 4), 및 결실된 WPRE 서열을 가지며 절두된 hPAH 3'UTR 을 함유하는 구축물 (레인 5). Hepa1-6 암종 세포는 마우스 간 조직으로부터 유래되며, 따라서 레인 1 에서 관찰된 PAH 의 자연적 배경 발현이 존재한다 (표지된 hAAT). 이 실시예에는 바람직한 인간 코돈 편향 (PAH-OPT) 을 기반으로 하는 코돈 선택 최적화가, hPAH 발현 수준을 증가시키는데 실패하였음을 설명한다. 야생형 hPAH 유전자에서 관찰된 바와 같이, 절두된 3'UTR (UTR₂₈₉) 을 포함시키는 것은 hPAH 발현을 증가시키지만 UTR₂₈₉ 에 연결된 야생형 (최적화되지 않은) 서열에서 관찰되는 것보다 실질적으로 낮은 수준으로만 증가시킨다. hAAT-hPAH-3'UTR₂₈₉ 를 함유하는 렌티바이러스 벡터로부터 WPRE 요소를 제거하는 것은 또한 hPAH 발현을 감소시키며, 이는 WPRE 가 최적 단백질 발현에 필요하다는 것을 나타낸다.

[0189] 실시예 10. shPAH-1 및 shPAH-2 가 인간 Hep3B 세포에서 hPAH 발현을 감소시킴

[0190] 이 실시예에는 도 11 에서 나타낸 바와 같이, 렌티바이러스-전달된 PAH shRNA 가 인간 Hep3B 세포에서의 hPAH 발현을 감소시킨다는 것을 입증한다.

[0191] 인간 PAH 를 합성하고 렌티바이러스 벡터에 삽입하였다. 서열의 삽입을 DNA 서열분석에 의해 확인하였다. 그런 다음, hPAH 서열을 함유하는 렌티바이러스 벡터를 사용하여 인간 Hep3B 세포 (American Type Culture Collection, Manassas, VA 에서 구입) 를 형질도입시켰다. 또한, 이들 구축물에서 hPAH 발현은 hAAT 프로모터에 의해 구동되었다. 세포를 렌티바이러스 입자로 형질도입하고, 2-4 일 후 단백질을 PAH 발현에 대해 웨스턴 블롯에 의해 분석하였다. 렌티바이러스 벡터 (LV) 내의 shRNA 서열의 삽입은 shRNA 발현을 조절하는데 사용되는 프로모터에 대해 상보적인 프라이머를 사용하여 DNA 서열분석에 의해 확인하였다. 인간 PAH 의 상대 발현은 항-PAH 항체 (Abcam) 및 로딩 대조군 베타-액틴을 사용하는 면역블롯에 의해 검출되었다.

[0192] 도 11 은 2 가지 상이한 shRNA 구축물, 즉 PAH shRNA 서열 #1 (shPAH-1) 및 PAH shRNA 서열 #2 (shPAH-2) 의, Hep3B 세포에서의 hPAH 발현을 감소시키는 능력을 비교한다. 도 11 에서 나타낸 바와 같이, 하기 3 개 구축물을 비교한다: Hep3B 세포 단독을 포함하는 대조군 (레인 1), Hep3B 세포 + shPAH-1 을 함유하는 구축물 (레인 2), 및 Hep3B 세포 + shPAH-2 를 함유하는 구축물 (레인 3). 특히, Hep3B 세포는 내인성 PAH 를 유의한 수준으로 발현시킨다. 이 실시예에는 shPAH-1 및 shPAH-2 둘 모두가 내인성 hPAH 발현 수준을 감소시키는데 있어서 효과적이었음을 설명한다.

[0193] 실시예 11. Hep3B 세포에서 내인성 hPAH 및 hAAT-hPAH-3'UTR₂₈₉ 의 shPAH-1 억제

[0194] 이 실시예에는 도 12 에서 나타낸 바와 같이, shPAH-1 이 Hep3B 세포에서 내인성 PAH 및 절두된 hPAH 3'UTR (hAAT-hPAH-3'UTR₂₈₉) 의 발현을 억제한다는 것을 입증한다.

[0195] 인간 PAH 를 합성하고 렌티바이러스 벡터에 삽입하였다. 서열의 삽입을 DNA 서열분석에 의해 확인하였다. 그런 다음, hPAH 서열을 함유하는 렌티바이러스 벡터를 사용하여 인간 Hep3B 세포 (American Type Culture Collection, Manassas, VA 에서 구입) 를 형질도입시켰다. 세포를 렌티바이러스 입자로 형질도입하고, 2-4 일 후 단백질을 PAH 발현에 대해 웨스턴 블롯에 의해 분석하였다. 인간 PAH 의 상대 발현은 항-PAH 항체 (Abcam) 및 로딩 대조군 베타-액틴을 사용하는 면역블롯에 의해 검출되었다. 전장 및 3'UTR-절두된 구축물 둘 모두에서의 hPAH 발현은 hAAT 프로모터에 의해 구동되었다. 렌티바이러스 벡터는 다양한 경우에, 그의 3'UTR 을 갖는 인간 PAH 유전자, 절두된 3'UTR 을 갖는 인간 PAH 유전자 및/또는 shPAH-1 을 포함하였다.

렌티바이러스 벡터 (LV) 내의 shRNA 서열의 삽입은 shRNA 발현을 조절하는데 사용되는 프로모터에 대해 상보적인 프라이머를 사용하여 DNA 서열분석에 의해 확인하였다. shPAH-1 에 대한 표적 서열은 전장 및 단축 버전 둘 모두에서 보존되는 3'UTR 의 부분에 존재한다.

[0196] 도 12 는 인간 Hep3B 세포에서의 hPAH 및 PAH shRNA 의 발현을 나타낸다. 도 12 에서 나타낸 바와 같이, 하기 4 개 군을 비교한다: Hep3B 세포 단독을 포함하는 대조군 (레인 1), Hep3B 세포 + shPAH-1 을 발현하는 렌티바이러스 벡터를 포함하는 군 (레인 2), hAAT-hPAH-3'UTR₂₈₉ 단독을 포함하는 대조군 (레인 3), 및 hAAT-hPAH-3'UTR₂₈₉ 및 shPAH-1 을 발현하는 렌티바이러스 벡터 둘 모두를 함유하는 군 (레인 4). 특히, Hep3B 세포 단독은 내인성 PAH 를 유의한 수준으로 발현시킨다. 이 실시예는 shPAH-1 이 내인성 PAH 및 hAAT-hPAH-3'UTR₂₈₉ 의 발현 둘 모두를 억제한다는 것을 설명한다. 또한, 이는 Hep3B 세포에서 내인성 PAH 및 hAAT-hPAH-3'UTR₂₈₉ 에 대한 shPAH-1의 유의한 효능을 확인시켜준다.

[0197] **실시예 12. HepG2 세포에서 내인성 hPAH 의 shPAH-2 억제, 그러나 hAAT-hPAH-3'UTR₂₈₉ 에 대해서는 억제하지 않음**

[0198] 이 실시예는 도 13 에서 나타낸 바와 같이, shPAH-2 이 HepG2 세포에서 내인성 PAH 의 발현을 억제하나 hAAT-hPAH-3'UTR₂₈₉ 의 발현은 억제하지 않는다는 것을 설명한다.

[0199] 인간 PAH 를 합성하고 렌티바이러스 벡터에 삽입하였다. 서열의 삽입을 DNA 서열분석에 의해 확인하였다. 그런 다음, hPAH 서열을 함유하는 렌티바이러스 벡터를 사용하여 인간 Hep3B 세포 (American Type Culture Collection, Manassas, VA 에서 구입) 를 형질도입시켰다. 세포를 렌티바이러스 입자로 형질도입하고, 2-4 일 후 단백질을 PAH 발현에 대해 웨스턴 블롯에 의해 분석하였다. 인간 PAH 의 상대 발현은 항-PAH 항체 (Abcam) 및 로딩 대조군 베타-액틴을 사용하는 면역블롯에 의해 검출되었다. 전장 및 3'UTR-절두된 구축물 둘 모두에서의 hPAH 발현은 hAAT 프로모터에 의해 구동되었다. 렌티바이러스 벡터는 다양한 경우에, 그의 3'UTR 을 갖는 인간 PAH 유전자, 절두된 3'UTR 을 갖는 인간 PAH 유전자 및/또는 shPAH-2 을 포함하였다. 렌티바이러스 벡터 (LV) 내의 shRNA 서열의 삽입은 shPAH-2 발현을 조절하는데 사용되는 프로모터에 대해 상보적인 프라이머를 사용하여 DNA 서열분석에 의해 확인하였다. shPAH-2 에 대한 표적 서열은 전장 hPAH 구축물에 존재하지만 절두된 hPAH 구축물 (hAAT-hPAH-3'UTR₂₈₉) 에는 부재하는 hPAH 3'UTR 의 원위 부분에 존재한다.

[0200] 도 13 은 인간 Hep3B 세포에서의 hPAH 및 PAH shRNA 의 발현을 나타낸다. 도 13 에서 나타낸 바와 같이, 하기 4 개 군을 비교한다: HepG2 세포 단독을 포함하는 대조군 (레인 1), HepG2 세포 + shPAH-2 를 발현하는 렌티바이러스 벡터 (레인 2), 절두된 hPAH 3'UTR 을 발현하는 렌티바이러스 벡터를 포함하는 대조군 (레인 3), 및 절두된 hPAH 3'UTR (hPAH-3'UTR) 을 발현하는 렌티바이러스 벡터 및 shPAH-2 를 발현하는 렌티바이러스 벡터 둘 모두를 포함하는 레인 (레인 4). 이 실시예는 shPAH-2 서열이 내인성 PAH 의 발현을 억제하지만 hAAT-hPAH-3'UTR₂₈₉ 의 발현에는 확실한 효과를 갖지 않는다는 것을 설명한다.

[0201] **실시예 13. Pah(enu2) 마우스에서 hAAT-PAH-UTR 의 예비 시험**

[0202] 도 14 는 PKU 에 대한 실험적 연구를 위한 표준 모델인 Pah(enu2) 마우스에서의 hAAT-PAH-UTR 의 예비 시험 결과를 요약한다 (Shedlovsky, McDonald et al. 1993, Fang, Eisensmith et al. 1994, Mochizuki, Mizukami et al. 2004, Oh, Park et al. 2004). 패널 A 는 신생아 Pah(enu2) 마우스의 간에 직접 주사된 렌티바이러스 벡터 hAAT-PAH 가, PAH 를 발현하지 않는 대조군 렌티바이러스 벡터만을 받은 마우스에서 나타난 성장 결함을 실질적으로 교정한다는 것을 보여준다. 패널 B 는 정상 마우스에 대한 체중 증가 곡선과 LV-hAAT-PAH 로 처리된 Pah(enu2) 사이에 명백한 중첩을 나타내는 패널 A 에서의 데이터의 클러스터 플롯 표시를 제공한다. 패널 C 는 LV-hAAT-PAH 가 암컷 마우스에서 효과적이었다는 것을 보여준다. 암컷에서의 PAH 결함은 수컷 마우스에 비해 교정하기가 더 어려우므로, 이는 중요한 것이다. 패널 D 는 대조군 (정상) 마우스, LV-hAAT-PAH 로 처리된 Pah(enu2) 마우스 및 PAH 를 발현하지 않는 대조군 렌티바이러스 벡터로 처리된 Pah(enu2) 마우스에 대한 혈장 페닐알라닌 수준을 플롯팅한다.

[0203] **실험 방법론:**

[0204] 1 내지 2 일령의 신생아 마우스를 각각 4 마리 신생아 마우스의 3 개 군으로 나누었다. 신생아 마우스의 제 1 군은 정상적인 PAH 발현 활성을 갖는 대조군을 포함한다. 신생아 마우스의 제 2 및 제 3 군은 돌연변이 PAH(enu2) 를 함유하며, 이는 PAH 의 효소 활성을 억제하는 PAH 유전자에서 화학적으로 유도된 돌연변이이다.

- [0205] 신생아 마우스의 제 1 군에 hAAT 프로모터, 인간 PAH, 신장 인자 (EF1) 및 녹색 형광 단백질 (GFP) 을 포함하는 렌티바이러스 벡터를 주사하였다. 신생아 마우스의 제 2 군에 인간 PAH 가 없으나 hAAT 프로모터, 신장 인자 (EF1) 및 녹색 형광 단백질 (GFP) 을 포함하는 렌티바이러스 벡터를 주사하였다. 신생아 마우스의 제 3 군에 hAAT 프로모터, 인간 PAH, 신장 인자 (EF1) 및 녹색 형광 단백질 (GFP) 을 포함하는 렌티바이러스 벡터를 주사하였다.
- [0206] 신생아 마우스에 생리식염수 또는 혈장 대체제 1 ml 당 1×10^6 내지 1×10^{10} 형질도입 단위를 함유하는 10 μ l 의 렌티바이러스 입자 현탁액을 간에 직접 주사하였다. 주사하기 전에, 신생아 마우스를 클로드로네이트 (clodronate) 리포솜으로 처리하여 간 쿠퍼 세포 (liver Kupffer cell) 를 고갈시켰다.
- [0207] 신생아 마우스를 털 색 변화, PAH 및 페닐알라닌 수준, 및 거동을 포함하여 혈액에서 감소된 페닐알라닌 수준과 관련된 표현형 변화에 대해 모니터링하였다. 주사 후 0, 4 및 8 주에, 혈액 페닐알라닌 수준을 측정하였다. 주사 후 0, 2, 4 및 8 주에, 신생아 마우스 체중을 측정하였다. 군 3 에서의 신생아 마우스의 성장이 군 2 에서의 신생아 마우스의 성장에 비해 개선된 경우, T-미로 자발적 교차 시험 (T-maze Spontaneous Alternation Test) 및 윈-스테이 8-팔 방사형 미로 작업 (Win-Stay Eight-arm Radial Maze Task) 을 포함하는 거동 시험이 수행될 것이다. 주사 후 8 주에, 각 군으로부터 2 마리의 마우스가 희생되고 간에서의 인간 PAH 발현이 측정될 것이다. 희생된 마우스에 대해 메틸롬 (Methylome) 평가 및 긴 뼈와 척추 뼈 평가가 수행될 것이다. 남아 있는 마우스를 유지시켰고, 주사 후 6 개월에 혈액 페닐알라닌을 측정할 것이다.
- [0208] **실시예 14. Hepa1-6 마우스 간암 세포에서 hAAT 및 CMV 프로모터를 사용하는 인간 PAH 유전자의 렌티바이러스-전달된 발현**
- [0209] 이 실시예는 도 15 에서 나타낸 바와 같이, CMV 즉시 초기 프로모터의 제어 하에 hPAH 발현 구축물을 이용하는 것이 3'UTR 의 존재 또는 부재에 관계없이, 그리고 3'UTR 이 절두되었는지 여부에 관계없이 높은 수준 발현을 제공한다는 것을 설명한다.
- [0210] 인간 PAH 를 합성하고 렌티바이러스 벡터에 삽입하였다. 서열의 삽입을 DNA 서열분석에 의해 확인하였다. 그런 다음, hPAH 서열을 함유하는 렌티바이러스 벡터를 사용하여 인간 Hep3B 세포 (American Type Culture Collection, Manassas, VA 에서 구입) 를 형질도입시켰다. 세포를 렌티바이러스 입자로 형질도입하고, 2-4 일 후 단백질을 PAH 발현에 대해 웨스턴 블롯에 의해 분석하였다. 인간 PAH 의 상대 발현은 항-PAH 항체 (Abcam) 또는 로딩 대조군으로서 항-튜불린 항체 (Sigma) 를 사용하는 면역블롯에 의해 검출되었다. 전장 및 3'UTR-절두된 구축물 둘 모두에서의 hPAH 발현은 각각 hAAT 프로모터 또는 CMV 프로모터에 의해 구동되었다. 렌티바이러스 벡터는 다양한 경우에, 그의 3'UTR 을 갖는 인간 PAH 유전자, 절두된 3'UTR 을 갖는 인간 PAH 유전자를, hAAT 프로모터 또는 CMV 프로모터의 존재 또는 부재 하에 포함하였다.
- [0211] 도 15 에서 나타낸 바와 같이, 하기 4 개 군을 비교한다: Hepa1-6 세포 및 hAAT 프로모터 단독을 포함하는 대조군 (레인 1), hAAT 프로모터의 제어 하에 전장 3'UTR hPAH 를 발현하는 렌티바이러스 벡터 (레인 2), hAAT 프로모터의 제어 하에 절두된 3'UTR hPAH 를 발현하는 렌티바이러스 벡터 (레인 3) 및 CMV 프로모터의 제어 하에 절두된 3'UTR hPAH 를 발현하는 렌티바이러스 벡터를 포함하는 군 (레인 4). 이 실시예는 CMV 즉시 초기 프로모터의 제어 하의 hPAH 발현이 UTR 의 존재 또는 부재에 관계없이, 그리고 UTR 이 절두되었는지 여부에 관계없이 높은 수준 발현을 야기한다는 것을 설명한다. 이는 hPAH 의 높은 수준 생성을 달성하면서 간 조직에서 특이적 발현을 위한 구축물의 생성을 허용한다. 특히, 간 세포에 대한 이식유전자 발현을 제한하는 것은, 페닐케톤뇨증에 대한 유전적 약물에서 벡터 안전성 및 표적 특이성을 위한 중요한 고려 사항이다.
- [0212] **실시예 15. 마우스 Hepa1-6 세포에서 hAAT 프로모터 및 간-특이적 인핸서 요소 ApoE (1), ApoE (2), 또는 프로트롬빈을 갖는 발현 구축물을 사용하는 hPAH 의 렌티바이러스-전달된 발현**
- [0213] 이 실시예는 ApoE (1), ApoE (2) 및 프로트롬빈 인핸서가 마우스 Hepa1-6 세포에서 PAH 의 발현을 증가시키기 위해 이용될 수 있다는 것을 설명한다.
- [0214] 인간 PAH 를 합성하고 렌티바이러스 벡터에 삽입하였다. 서열의 삽입을 DNA 서열분석에 의해 확인하였다. 그런 다음, hPAH 서열을 함유하는 렌티바이러스 벡터를 사용하여 인간 Hep3B 세포 (American Type Culture Collection, Manassas, VA 에서 구입) 를 형질도입시켰다. 세포를 렌티바이러스 입자로 형질도입하고, 2-4 일 후 단백질을 PAH 발현에 대해 웨스턴 블롯에 의해 분석하였다. PAH 는 항-PAH 항체 및 항-베타 액틴 항체 (로딩 대조군용) 를 사용하는 면역 블롯에 의해 검출되었다.

[0215] 도 16 에서 나타낸 바와 같이, 하기 4 개 군을 비교한다: Hepa1-6 세포 단독을 포함하는 대조군 (레인 1), hAAT 프로모터의 제어 하의 전장 3'UTR hPAH 를 갖는 ApoE(1) 인헨서를 발현하는 렌티바이러스 벡터 (레인 2), hAAT 프로모터의 제어 하의 전장 3'UTR hPAH 를 갖는 ApoE(2) 인헨서를 발현하는 렌티바이러스 벡터 (레인 3) 및 hAAT 프로모터의 제어 하의 전장 3'UTR hPAH 를 갖는 프로트롬빈 인헨서를 발현하는 렌티바이러스 벡터 (레인 4). 이 실시예는 ApoE (1), ApoE (2) 및 프로트롬빈 인헨서가 각각 hAAT 프로모터의 제어 하에 마우스 Hepa1-6 세포에서 PAH 의 발현을 증가시키기 위해 이용될 수 있다는 것을 설명한다.

[0216] 상기 실시예 구현예의 개시물은 하기 청구범위 및 그의 등가물에 나타내는 본 발명의 범주를 예시하는 것으로 의도되지만 이를 제한하는 것은 아니다. 본 발명의 실시예 구현예가 이해의 명확성을 목적으로 일부 상세히 기재되었으나, 특정 변화 및 변형이 하기의 청구범위의 범주 내에서 실행될 수 있다는 것이 명백할 것이다. 하기 청구범위에서, 요소 및/또는 단계는 청구범위에 명시적으로 언급되거나 본 개시물에 의해 암시적으로 요구되지 않는 한, 임의의 특정 작업 순서를 의미하지 않는다.

[0217] 서열 목록

SEQ ID NO:	설명	서열
1	PAH	ATGTCCACTGCGGTCTGGAAAACCCAGGCTTGGGCAGGAACTCTCTGACTTTGGACAGGAAACAAGCTATATTGAAGACAACTGCAATCAAAATGGTGCCATATCACTGATCTTCTCACTCAAAGAAGAAGTTGGTG CATTGGCCAAAGTATTGCGCTTATTTGAGGAGAATGATGTAAACCTGACCCACATTGAATCTAGACCTTCTCGTTTAAAGAAAGATGAGTATGAATTTTACCCATTTGGATAAACGTAGCCTGCCTGCTCTGACAAACA TCATCAAGATCTTGAGGCATGACATTGGTGCCACTGTCCATGAGCTT TCACGAGATAAGAAGAAAGACACAGTGCCTGGTTCCCAAGAACCA TTCAAGAGCTGGACAGATTTGCCAATCAGATTCTCAGCTATGGAGCG GAACTGGATGCTGACCACCCTGGTTTTAAAGATCCTGTGTACCGTGC AAGACGGAAGCAGTTTGTGCTGACATTGCCTACAACCTACCGCCATGGG CAGCCCATCCCTCGAGTGGAATACATGGAGGAAGAAAAGAAAACAT GGGGCACAGTGTTCAAGACTCTGAAGTCCTTGTATAAAACCCATGCT TGCTATGAGTACAATCACATTTTTCCACTTCTTGAAAAGTACTGTGG CTTCCATGAAGATAACATTCCCCAGCTGGAAGACGTTTCTCAATTCC TGCAGACTTGCACTGGTTTCCGCCTCCGACCTGTGGCTGGCCTGCTTT CCTCTCGGGATTTCTTGGGTGGCCTGGCCTTCCGAGTCTTCCACTGCA CACAGTACATCAGACATGGATCCAAGCCCATGTATACCCCCGAACCT GACATCTGCCATGAGCTGTTGGGACATGTGCCCTTGTTTTAGATCG CAGCTTTGCCAGTTTCCCAGGAAATTGGCCTTGCTCTCTGGGTG CACCTGATGAATACATTGAAAAGCTCGCCACAATTTACTGGTTTACT GTGGAGTTTGGGCTCTGCAAAACAAGGAGACTCCATAAAGGCATATG GTGCTGGGCTCCTGTCATCCTTTGGTGAATTACAGTACTGCTTATCA GAGAAGCCAAAGCTTCTCCCCCTGGAGCTGGAGAAGACAGCCATCC AAAATTACACTGTCACGGAGTTCCAGCCCCTGTATTACGTGGCAGAG AGTTTTAATGATGCCAAGGAGAAAGTAAGGAACTTTGCTGCCACAA TACCTCGGCCCTTCTCAGTTTCGCTACGACCCATACACCCAAAGGATT GAGGTCTTGGACAATACCCAGCAGCTTAAGATTTTGGCTGATTCCAT TAACAGTGAAATTGGAATCCTTTGCACTGCCCTCCAGAAAATAAAGT AA
2	코돈 최적화된 PAH	ATGAGCACAGCTGTGTTGGAAAATCCTGGGCTGGGCCGTAAGCTTTC CGATTTTCGGCCAGGAGACTTCATACATTGAGGACAACTGCAACCAG AATGGGGCCATTTCTTTGATCTTCAGTCTCAAAGAAGAGGTAGGCGC TCTGGCTAAGGTCCTGAGGCTGTTTGAGGAAAATGACGTGAATCTGA CACACATTGAGTCTAGGCCCTCCCGACTTAAGAAGGATGAGTATGA

[0218]

		<p>GTTCTTCACACACCTGGACAAACGATCTCTCCAGCACTGACCAATA TCATCAAGATTCTCAGGCATGATATCGGTGCCACGGTCCACGAACCTT TCACGCGATAAGAAGAAAGACACAGTTCCTGGTCCCCGAGAACCA TTCAGGAACTGGATAGGTTTGCCAATCAGATTCTGAGCTATGGGGCA GAGTTGGATGCCGACCATCCAGGCTTCAAAGACCCCGTATATCGGG CTCGGAGAAAGCAGTTTGCAGACATCGCTTACAATTACAGGCATGG ACAGCCCATCCCTAGAGTGGAGTACATGGAAGAAGGCAAGAAAACC TGGGGAACGGTGTTTAAGACCCTCAAAGCCTGTATAAGACCCACG CGTGTTATGAGTACAACCACATTTTCCCATTGCTGGAGAAGTACTGT GGCTTTCACGAGGACAACATCCCTCAACTGGAGGATGTTTCACAGTT CCTTCAGACTTGCCTGGTTTCCGCCTTCGACCTGTGGCTGGGCTGCT TAGCTCACGGGACTTCCTGGGAGGCTGGCCTTCAGAGTCTTTCCT GCACTCAGTACATTCGGCATGGCTCTAAGCCAATGTACACCCCTGAA CCGGATATATGCCACGAGCTGTTGGGACATGTGCCCTGTTTTCTGA TCGCAGCTTTGCCAGTTTTTCCAGGAGATTGGCCTGGCAAGTCTTG GTGCGCCTGATGAGTACATCGAGAAGCTCGCGACAATCTACTGGTTC ACCGTGGAATTTGGACTCTGCAAACAAGGGGACTCTATCAAAGCCT ACGGAGCAGGACTCCTCTCCAGCTTCGGTGAAGTGCAGTATTGTCTG TCCGAGAAACCCAACTCTTGCCCTGGAAGTGGAAAAGACTGCCA TCCAAAACATACTGTCACGGAATTCAGCCACTGTATTATGTGGCT GAATCCTTTAACGATGCCAAGGAGAAGGTCCGTAATTTTGCTGCCAC AATACCACGCCCTTCAGCGTGAGATACGACCCGTATACACAACGG ATAGAGGTTCTGGACAACACCCAGCAACTGAAAATTCTGGCAGACA GTATAAACAGCGAAATAGGGATCCTCTGTAGTGCCCTGCAGAAAAT CAATGA</p>
3	PAH 3'UTR 서열 (897 뉴클레오타이드)	<p>AGCCATGGACAGAATGTGGTCTGTCAGCTGTGAATCTGTTGATGGAG ATCCAATATTTCTTTCATCAGAAAAAGTCCGAAAAGCAAACCTTAA TTTGAAATAACAGCCTTAAATCCTTTACAAGATGGAGAAACAACAA ATAAGTCAAATAATCTGAAATGACAGGATATGAGTACATACTCAA GAGCATAATGGTAAATCTTTGGGGTCATCTTTGATTTAGAGATGAT AATCCCATCTCTCAATTGAGTTAAATCAGTAATCTGTTCGATTTCA TCAAGATTAATTAATTTTGGGACCTGCTTCATTCAAGCTTCATATA TGCTTTGCAGAGAACTCATAAAGGAGCATATAAGGCTAAATGTAAA ACCCAAGACTGTCATTAGAATTGAATTATTGGGCTTAATATAAATCG TAACCTATGAAGTTATTTTTATTTTAGTTAACTATGATTCCAATTA CTACTTTGTTATTGTACCTAAGTAAATTTCTTTAAGTCAGAAGCCCA TTAAAATAGTTACAAGCATTGAAGTCTTTAGTATTATTAATATA AAAAATTTTTGTATGTTTTATTGTAATCATAAATACTGCTGTATAAG</p>

[0219]

		GTAATAAACTCTGCACCTAATCCCCATAACTTCCAGTATCATTTTC CAATTAATTATCAAGTCTGTTTTGGGAAACACTTTGAGGACATTTAT GATGCAGCAGATGTTGACTAAAGGCTTGGTTGGTAGATATTCAGGA AATGTTCACTGAATAAATAAGTAAATACATTATTGAAAAGCAAATCT GTATAAATGTGAAATTTTATTTGTATTAGTAATAAAACATTAGTAG TTTAAACAAAAAATCTCGACT CTAGATT
4	PAH 3' UTR 서열 (289 뉴클레오티드)	AGCCATGGACAGAATGTGGTCTGTGAGCTGTGAATCTGTTGATGGAG ATCCAATATTTCTTTCATCAGAAAAAGTCCGAAAAGCAAACCTTAA TTTGAAATAACAGCCTTAAATCCTTTACAAGATGGAGAAACAACAA ATAAGTCAAAATAATCTGAAATGACAGGATATGAGTACATACTCAA GAGCATAATGGTAAATCTTTTGGGGTCATCTTTGATTTAGAGATGAT AATCCCATACTCTCAATTGAGTTAAATCAGTAATCTGTCGCATTTCA TCAAGATTA
5	PAH shRNA 서열 #1	TCGCATTTTCATCAAGATTAATCTCGAGATTAATCTTGATGAAATGCG ATTTTT
6	PAH shRNA 서열 #2	ACTCATAAAGGAGCATATAAGCTCGAGCTTATATGCTCCTTTATGAG TTTTTT
7	라우스 육종 바이러스 (RSV) 프로모터	GTAGTCTTATGCAATACTCTTGTAGTCTTGCAACATGGTAACGATGA GTTAGCAACATGCCTTACAAGGAGAGAAAAAGCACCGTGCATGCCG ATTGGTGGAAGTAAGGTGGTACGATCGTGCCTTATTAGGAAGGCAA CAGACGGGTCTGACATGGATTGGACGAACCACTGAATTGCCGCATT GCAGAGATATTGATTTAAGTGCCTAGCTCGATACAATAAACG
8	5' 긴 말단 반복부 (LTR)	GGTCTCTCTGGTTAGACCAGATCTGAGCCTGGGAGCTCTCTGGCTAA CTAGGGAACCCACTGCTTAAGCCTCAATAAAGCTTGCCTTGAGTGCT TCAAGTAGTGTGTGCCCGTCTGTTGTGTGACTCTGGTAACTAGAGAT CCCTCAGACCCCTTTTAGTCAGTGTGGAAAATCTCTAGCA
9	Psi 패키징 신호	TACGCCAAAAATTTTACTAGCGGAGGCTAGAAGGAGAGAG
10	Rev 반응 요소 (RRE)	AGGAGCTTTGTTCCCTTGGGTTCTTGGGAGCAGCAGGAAGCACTATGG GCGCAGCCTCAATGACGCTGACGGTACAGGCCAGACAATTATTGTCT GGTATAGTGCAGCAGCAGAACAATTTGCTGAGGGCTATTGAGGCGC AACAGCATCTGTTGCAACTCACAGTCTGGGGCATCAAGCAGCTCCA GGCAAGAATCCTGGCTGTGGAAAGATACCTAAAGGATCAACAGCTC C
11	중심 폴리퓨린 관 (cPPT)	TTTTAAAAGAAAAGGGGGGATTGGGGGTACAGTGCAGGGGAAAG AATAGTAGACATAATAGCAACAGACATACAACTAAAGAATTACAA AAACAAATTACAAAATTCAAAATTTTA

[0220]

12	인간 알파-1 항트립신 프로모터 (hAAT)	GATCTTGCTACCAGTGGAAACAGCCACTAAGGATTCTGCAGTGAGAG CAGAGGGCCAGCTAAGTGGTACTCTCCAGAGACTGTCTGACTCAC GCCACCCCTCCACCTTGGACACAGGACGCTGTGGTTTCTGAGCCAG GTACAATGACTCCTTTTCGGTAAGTGCAGTGGAAGCTGTACACTGCCC AGGCAAAGCGTCCGGGCAGCGTAGGCGGGCGACTCAGATCCCAGCC AGTGGACTTAGCCCCCTGTTTGCTCCTCCGATAACTGGGGTGACCTTG GTAAATATTCACCAGCAGCCTCCCCGTTGCCCTCTGGATCCACTG CTTAAATACGGACGAGGACAGGGCCCTGTCTCCTCAGCTTCAGGCAC CACCCTGACCTGGGACAGTGAAT
13	인 WPRE 서열	AATCAACCTCTGATTACAAAATTTGTGAAAGATTGACTGGTATTCTT AACTATGTTGCTCCTTTTACGCTATGTGGATACGCTGCTTAAATGCCT TTGTATCATGCTATTGCTTCCCGTATGGCTTTCATTTCTCCTCCTTGT ATAAATCCTGGTTGCTGTCTCTTTATGAGGAGTTGTGGCCCGTTGTC AGGCAACGTGGCGTGGTGTGCACTGTGTTTGCTGACGCAACCCCCAC TGTTTGGGGCATTGCCACCACCTGTCAGCTCCTTTCGGGACTTTTCG CTTTCCCCCTCCCTATTGCCACGGCGGAACATCGCCGCCTGCCTTG CCCCTGCTGGACAGGGGCTCGGCTGTTGGGCACTGACAATTCCGTG GTGTTGTCGGGGAAATCATCGTCCTTTCCTTGCTGCTCGCCTGTGTT GCCACCTGGATTCTGCGCGGGACGTCCTTCTGCTACGTCCTTCGGC CCTCAATCCAGCGGACCTTCCTTCCCGCGGCCTGCTGCCGGCTCTGC GGCCTCTTCGCGCTCTTCGCCTTCGCCCTCAGACGAGTCGGATCTCC CTTTGGGCCGCCTCCCCGCCT
14	3' 델타 LTR	TGGAAGGGCTAATTCACTCCCAACGAAGATAAGATCTGCTTTTGTG TGTAAGGGTCTCTCTGGTTAGACCAGATCTGAGCCTGGGAGCTCTC TGGCTAACTAGGGAACCCACTGCTTAAGCCTCAATAAAGCTTGCCCT GAGTGCTTCAAGTAGTGTGTGCCCGTCTGTTGTGTGACTCTGGTAAC TAGAGATCCCTCAGACCCTTTTAGTCAGTGTGGAATCTCTAGCAG TAGTAGTTCATGTCA
15	H1 프로모터	GAACGCTGACGTCATCAACCCGCTCCAAGGAATCGCGGGCCAGTG TCACTAGGCGGGAACACCCAGCGCGCGTGCGCCCTGGCAGGAAGAT GGCTGTGAGGGACAGGGGAGTGGCGCCCTGCAATATTTGCATGTCG CTATGTGTTCTGGGAAATCACCATAAACGTGAAATGTCTTTGGATTT GGGAATCTTATAAGTTCTGTATGAGACCACTT
16	CAG 프로모터	TAGTTATTAATAGTAATCAATTACGGGGTCATTAGTTCATAGCCAT ATATGGAGTTCGCGTTACATAACTTACGGTAAATGGCCCGCCTGGC TGACCGCCCAACGACCCCGCCATTGACGTCAATAATGACGTATGT TCCCATAGTAACGCCAATAGGGACTTTCATTGACGTCAATGGGTGG ACTATTTACGGTAAACTGCCCCACTTGGCAGTACATCAAGTGTATCAT

[0221]

		<p>ATGCCAAGTACGCCCCCTATTGACGTCAATGACGGTAAATGGCCCGC CTGGCATTATGCCAGTACATGACCTTATGGGACTTTCCTACTTGGC AGTACATCTACGTATTAGTCATCGCTATTACCATGGGTCGAGGTGAG CCCCACGTTCTGCTTCACTCTCCCCATCTCCCCCCCCCTCCCCACCCCC AATTTTGTATTATTTATTTTAAATTATTTTGTGCAGCGATGGGGGC GGGGGGGGGGGGGGCGCGGCCAGGCGGGGCGGGGCGGGGCGAGG GGCGGGGCGGGGCGAGGCGGAGAGGTGCGGCGGCAGCCAATCAGA GCGGCGCGCTCCGAAAGTTTCCTTTTATGGCGAGGCGGCGGCGGCG GCGGCCCTATAAAAAGCGAAGCGCGCGGCGGGCG</p>
17	HIV Gag	<p>ATGGGTGCGAGAGCGTCAGTATTAAGCGGGGAGAATTAGATCGAT GGGAAAAAATTCGGTTAAGGCCAGGGGGAAGAAAAAATATAAAT TAAACATATAGTATGGGCAAGCAGGGAGCTAGAACGATTTCGAGT TAATCCTGGCCTGTTAGAAACATCAGAAGGCTGTAGACAAATACTG GGACAGCTACAACCATCCCTTCAGACAGGATCAGAAGAACTTAGAT CATTATATAATACAGTAGCAACCTCTATTGTGTGCATCAAAGGATA GAGATAAAAGACACCAAGGAAGCTTTAGACAAGATAGAGGAAGAG CAAAACAAAAGTAAGAAAAAAGCACAGCAAGCAGCAGCTGACACA GGACACAGCAATCAGGTCAGCCAAAATTACCCTATAGTGCAGAACA TCCAGGGGCAAATGGTACATCAGGCCATATCACCTAGAACTTTAAAT GCATGGGTAAAAGTAGTAGAAGAGAAGGCTTTCAGCCAGAAGTGA TACCCATGTTTTCAGCATTATCAGAAGGAGCCACCCACAAGATTTA AACACCATGCTAAACACAGTGGGGGGACATCAAGCAGCCATGCAAA TGTTAAAAGAGACCATCAATGAGGAAGCTGCAGAATGGGATAGAGT GCATCCAGTGCATGCAGGGCCTATTGCACCAGGCCAGATGAGAGAA CCAAGGGGAAGTGACATAGCAGGAACCTACTAGTACCCTTCAGGAAC AAATAGGATGGATGACACATAATCCACCTATCCAGTAGGAGAAAT CTATAAAAGATGGATAATCCTGGGATTAATAAAATAGTAAGAATG TATAGCCCTACCAGCATTCTGGACATAAGACAAGGACCAAAGGAAC CCTTTAGAGACTATGTAGACCGATTCTATAAACTCTAAGAGCCGAG CAAGCTTCACAAGAGGTAAAAAATTGGATGACAGAAACCTTGTTGG TCCAAAATGCGAACCCAGATTGTAAGACTATTTTAAAAGCATTGGG ACCAGGAGCGGACACTAGAAGAAATGATGACAGCATGTCAGGGAGTG GGGGGACCCGGCCATAAAGCAAGAGTTTTGGCTGAAGCAATGAGCC AAGTAACAAATCCAGCTACCATAATGATACAGAAAGGCAATTTTAG GAACCAAAGAAAGACTGTAAAGTGTTCATTGTGGCAAAGAAGGG CACATAGCCAAAAATTGCAGGGCCCTAGGAAAAAGGGCTGTTGGA AATGTGGAAGGAAGGACACCAAATGAAAGATTGTACTGAGAGAC AGGCTAATTTTTTAGGGAAGATCTGGCCTTCCCAAGGGAAGGCC</p>

[0222]

		AGGGAATTTTCTTCAGAGCAGACCAGAGCCAACAGCCCCACCAGAA GAGAGCTTCAGGTTTGGGGAAGAGACAACAACCTCCCTCTCAGAAGC AGGAGCCGATAGACAAGGAACTGTATCCTTTAGCTTCCCTCAGATCA CTCTTTGGCAGCGACCCCTCGTCACAATAA
18	HIV Pol	ATGAATTTGCCAGGAAGATGGAAACCAAAATGATAGGGGGAATTG GAGGTTTTATCAAAGTAGGACAGTATGATCAGATACTCATAGAAAT CTGCGGACATAAAAGCTATAGGTACAGTATTAGTAGGACCTACACCT GTCAACATAATTGGAAGAAATCTGTTGACTCAGATTGGCTGCACTTT AAATTTTCCATTAGTCCTATTGAGACTGTACCAGTAAAATTAAGC CAGGAATGGATGGCCCAAAAGTTAAACAATGGCCATTGACAGAAGA AAAAATAAAAGCATTAGTAGAAATTTGTACAGAAATGGAAAAGGAA GGAAAAATTTCAAAAATTGGGCCTGAAAATCCATACAATACTCCAG TATTTGCCATAAAGAAAAAGACAGTACTAAATGGAGAAAATTAGT AGATTTTCAGAGAACTTAATAAGAGAACTCAAGATTTCTGGGAAGTT CAATTAGGAATACCACATCCTGCAGGGTTAAACAGAAAAAATCAG TAACAGTACTGGATGTGGGCGATGCATATTTTCAGTTCCCTTAGAT AAAGACTTCAGGAAGTATACTGCATTTACCATACCTAGTATAAACAA TGAGACACCAGGGATTAGATATCAGTACAATGTGCTTCCACAGGGA TGGAAGGATCACCAGCAATATTCCAGTGTAGCATGACAAAAATCT TAGAGCCTTTTAGAAAACAAAATCCAGACATAGTCATCTATCAATAC ATGGATGATTTGTATGTAGGATCTGACTTAGAAATAGGGCAGCATA GAACAAAAATAGAGGAACTGAGACAACATCTGTTGAGGTGGGGATT TACCACACCAGACAAAAAACATCAGAAAGAACCTCCATTCTTTGG ATGGGTTATGAACTCCATCCTGATAAATGGACAGTACAGCCTATAGT GCTGCCAGAAAAGGACAGCTGGACTGTCAATGACATACAGAAATTA GTGGGAAAAATTGAATTGGGCAAGTCAGATTTATGCAGGGATTAAAG TAAGGCAATTATGTAACTTCTTAGGGGAACCAAGCACTAACAGA AGTAGTACCACTAACAGAAGAAGCAGAGCTAGAACTGGCAGAAAA CAGGGAGATTCTAAAAGAACCGGTACATGGAGTGTATTATGACCCA TCAAAAGACTTAATAGCAGAAATACAGAAGCAGGGGCAAGGCCAAT GGACATATCAAATTTATCAAGAGCCATTTAAAAATCTGAAAACAGG AAAATATGCAAGAATGAAGGGTGCCCACTAATGATGTGAAACAA TTAACAGAGGCAGTACAAAAATAGCCACAGAAAGCATAGTAATAT GGGGAAAGACTCCTAAATTTAAATTACCCATACAAAAGGAAACATG GGAAGCATGGTGGACAGAGTATTGGCAAGCCACCTGGATTCTGAG TGGGAGTTTGTCAATACCCCTCCCTTAGTGAAGTTATGGTACCAGTT AGAGAAAGAACCCATAATAGGAGCAGAACTTTCTATGTAGATGGG GCAGCCAATAGGGAAACTAAATTAGGAAAAGCAGGATATGTAACCTG

[0223]

		ACAGAGGAAGACAAAAAGTTGTCCCCCTAACGGACACAACAAATCA GAAGACTGAGTTACAAGCAATTCATCTAGCTTTGCAGGATTTCGGGAT TAGAAGTAAACATAGTGACAGACTCACAATATGCATTGGGAATCAT TCAAGCACAACCAGATAAGAGTGAATCAGAGTTAGTCAGTCAAATA ATAGAGCAGTTAATAAAAAAGGAAAAAGTCTACCTGGCATGGGTAC CAGCACACAAAGGAATTGGAGGAAATGAACAAGTAGATGGGTTGGT CAGTGCTGGAATCAGGAAAAGTACTA
19	HIV Int	TTTTAGATGGAATAGATAAGGCCCAAGAAGAACATGAGAAATATC ACAGTAATTGGAGAGCAATGGCTAGTGATTTTAACCTACCACCTGTA GTAGCAAAAGAAATAGTAGCCAGCTGTGATAAATGTCAGCTAAAAG GGGAAGCCATGCATGGACAAGTAGACTGTAGCCCAGGAATATGGCA GCTAGATTGTACACATTTAGAAGGAAAAGTTATCTTGGTAGCAGTTC ATGTAGCCAGTGGATATATAGAAGCAGAAGTAATTCCAGCAGAGAC AGGGCAAGAAACAGCATACTTCTCTTAAATAGCAGGAAGATGG CCAGTAAAAACAGTACATACAGACAATGGCAGCAATTTACACAGTA CTACAGTTAAGGCCGCCTGTTGGTGGGCGGGGATCAAGCAGGAATT TGGCATTCCCTACAATCCCCAAAGTCAAGGAGTAATAGAATCTATGA ATAAAGAATTAAAGAAAATTATAGGACAGGTAAGAGATCAGGCTGA ACATCTTAAGACAGCAGTACAAATGGCAGTATTCATCCACAATTTTA AAAGAAAAGGGGGGATTGGGGGTACAGTGCAGGGGAAAGAATAG TAGACATAATAGCAACAGACATACAACTAAAGAATTACAAAAACA AATTACAAAAATTCAAAATTTTCGGGTTTATTACAGGGACAGCAGA GATCCAGTTTGGAAAGGACCAGCAAAGCTCTCTGGAAAGGTGAAG GGGCAGTAGTAATACAAGATAATAGTGACATAAAAGTAGTGCCAAG AAGAAAAGCAAAGATCATCAGGGATTATGGAAAACAGATGGCAGG TGATGATTGTGTGGCAAGTAGACAGGATGAGGATTAA
20	HIV RRE	AGGAGCTTTGTTCCCTTGGGTTCTTGGGAGCAGCAGGAAGCACTATGG GCGCAGCGTCAATGACGCTGACGGTACAGGCCAGACAATTATTGTC TGGTATAGTGACAGCAGCAGAACAATTTGCTGAGGGCTATTGAGGCG CAACAGCATCTGTTGCAACTCACAGTCTGGGGCATCAAGCAGCTCCA GGCAAGAATCCTGGCTGTGGAAAGATACCTAAAGGATCAACAGCTC CT
21	HIV Rev	ATGGCAGGAAGAAGCGGAGACAGCGACGAAGAAGTCTCAAGGCA GTCAGACTCATCAAGTTTCTCTATCAAAGCAACCCACCTCCCAATCC CGAGGGGACCCGACAGGCCCGAAGGAATAGAAGAAGAAGGTGGAG AGAGAGACAGAGACAGATCCATTGATTAGTGAACGGATCCTTAGC ACTTATCTGGGACGATCTGCGGAGCCTGTGCCTCTTCAGCTACCACC GCTTGAGAGACTTACTCTTGATTGTAACGAGGATTGTGGAACCTTCTG

[0224]

		GGACGCAGGGGGTGGGAAGCCCTCAAATATTGGTGGAATCTCCTAC AATATTGGAGTCAGGAGCTAAAGAATAG
22	CMV 프로모터	ACATTGATTATTGACTAGTTATTAATAGTAATCAATTACGGGGTCAT TAGTTTCATAGCCCATATATGGAGTTCGCGTTACATAACTTACGGTA AATGGCCCGCCTGGCTGACCGCCCAACGACCCCGCCCATTGACGTC AATAATGACGTATGTTCCCATAGTAACGCCAATAGGGACTTTCCATT GACGTCAATGGGTGGAGTATTTACGGTAAACTGCCCCTTGGCAGTA CATCAAGTGTATCATATGCCAAGTACGCCCCCTATTGACGTCAATGA CGGTAAATGGCCCGCCTGGCATTATGCCCAGTACATGACCTTATGGG ACTTTCCTACTTGGCAGTACATCTACGTATTAGTCATCGCTATTACCA TGGTGATGCGGTTTTGGCAGTACATCAATGGGCGTGGATAGCGGTTT GACTCACGGGGATTTCCAAGTCTCCACCCCATTGACGTCAATGGGAG TTTGTGTTTGGCACCAAAATCAACGGGACTTTCCAAAATGTCGTAACA ACTCCGCCCATTGACGCAATGGGCGGTAGGCGTGTACGGTGGGA GGTCTATATAAGC
23	VSV-G / DNA 단편 (VSV-G / 외피 당단백질 함유)	GAATTCATGAAGTGCCTTTTGTACTTAGCCTTTTTATTTCATTGGGGTG AATTGCAAGTTCACCATAGTTTTTCCACACAACCAAAAAGGAACTG GAAAAATGTTCTTCTAATTACCATTATTGCCCGTCAAGCTCAGATT TAAATTGGCATAATGACTTAATAGGCACAGCCTTACAAGTCAAAAT GCCCAAGAGTCACAAGGCTATTCAAGCAGACGGTTGGATGTGTCAT GCTTCCAAATGGGTCACTACTTGTGATTTCCGCTGGTATGGACCGAA GTATATAACACATTCCATCCGATCCTTCACTCCATCTGTAGAACAAT GCAAGGAAAGCATTGAACAAACGAAACAAGGAACCTGGCTGAATCC AGGCTTCCCTCCTCAAAGTTGTGGATATGCAACTGTGACGGATGCCG AAGCAGTGATTGTCCAGGTGACTCCTCACCATGTGCTGGTTGATGAA TACACAGGAGAATGGGTTGATTACAGTTCATCAACGGAATATGCA GCAATTACATATGCCCCACTGTCCATAACTCTACAACCTGGCATTCT GACTATAAGGTCAAAGGGCTATGTGATTCTAACCTCATTTCATGGA CATCACCTTCTTCTCAGAGGACGGAGAGCTATCATCCCTGGGAAAGG AGGGCACAGGGTTCAGAAGTAACTACTTTGCTTATGAACTGGAGG CAAGGCCTGCAAAATGCAATACTGCAAGCATTGGGGAGTCAGACTC CCATCAGGTGTCTGGTTCGAGATGGCTGATAAGGATCTCTTTGCTGC AGCCAGATTCCCTGAATGCCCAGAAGGGTCAAGTATCTCTGCTCCAT CTCAGACCTCAGTGGATGTAAGTCTAATTCAGGACGTTGAGAGGATC TTGGATTATCCCTCTGCCAAGAAACCTGGAGCAAAATCAGAGCGG GTCTTCCAATCTCTCCAGTGGATCTCAGCTATCTTGCTCCTAAAAACC CAGGAACCGGTCCTGCTTTACCATAATCAATGGTACCCTAAAATAC TTTGAGACCAGATACATCAGAGTCGATATTGCTGCTCCAATCCTCTC

[0225]

		AAGAATGGTCGGAATGATCAGTGGAACACCACAGAAAGGGAACGTG TGGGATGACTGGGCACCATATGAAGACGTGGAAATTGGACCCAATG GAGTTCAGAGGACCAAGTTCAGGATATAAGTTTCCTTTATACATGATT GGACATGGTATGTTGGACTCCGATCTTCATCTTAGCTCAAAGGCTCA GGTGTTCGAACATCCTCACATTCAAGACGCTGCTTCGCAACTTCCTG ATGATGAGAGTTTATTTTTTGGTGATACTGGGCTATCCAAAAATCCA ATCGAGCTTGTAAGAGTTGGTTCAGTAGTTGGAAAAGCTCTATTGC CTCTTTTTCTTTATCATAGGGTTAATCATTGGACTATTCTTGGTTCTC CGAGTTGGTATCCATCTTTCATTAAATTAAGCACACCAAGAAAAG ACAGATTTATACAGACATAGAGATGAGAATTC
24	CAG 인핸서	TAGTTATTAATAGTAATCAATTACGGGGTCATTAGTTCATAGCCCAT ATATGGAGTTCGCGTTACATAACTTACGGTAAATGGCCCGCCTGGC TGACCGCCCAACGACCCCGCCATTGACGTCAATAATGACGTATGT TCCCATAGTAACGCCAATAGGGACTTTCATTGACGTCAATGGGTGG ACTATTTACGGTAACTGCCCCACTTGGCAGTACATCAAGTGTATCAT ATGCCAAGTACGCCCCCTATTGACGTCAATGACGGTAAATGGCCCGC CTGGCATTATGCCAGTACATGACCTTATGGGACTTTCCTACTTGGC AGTACATCTACGTATTAGTCATC
25	닭 베타 액틴 인트론	GGAGTCGCTGCGTTGCCTTCGCCCCGTGCCCCGTCCGCGCCGCCTC GCGCCGCCCGCCCCGGCTCTGACTGACCGCGTTACTCCACAGGTGA GCGGGCGGGACGGCCCTTCTCCTCCGGGCTGTAATTAGCGCTTGGTT TAATGACGGCTCGTTTCTTTCTGTGGCTGCGTGAAAGCCTTAAAGG GCTCCGGGAGGGCCCTTTGTGCGGGGGGAGCGGCTCGGGGGGTGC GTGCGTGTGTGTGTGCGTGGGGAGCGCCGCGTGCGGCCCGCGCTGC CCGGCGGCTGTGAGCGCTGCGGGCGCGGCGCGGGGCTTTGTGCGCT CCGCGTGTGCGCGAGGGGAGCGCGGCCGGGGGCGGTGCCCCGCGGT GCGGGGGGGCTGCGAGGGGAACAAAGGCTGCGTGCGGGGTGTGTGC GTGGGGGGGTGAGCAGGGGGTGTGGGCGCGGCGGTGCGGCTGTAAC CCCCCCTGCACCCCCCTCCCCGAGTTGCTGAGCACGCCCCGGCTTC GGGTGCGGGGCTCCGTGCGGGGCGTGGCGCGGGGCTCGCCGTGCCG GGCGGGGGGTGGCGGCAGGTGGGGGTGCCGGGCGGGGCGGGGCCG CCTCGGGCCGGGGAGGGCTCGGGGGAGGGGCGCGGCGGGCCCCGGA GCGCCGGCGGCTGTGAGGCGCGGCGAGCCGCAGCCATTGCCTTTT ATGGTAATCGTGCGAGAGGGGCGCAGGGACTTCCTTTGTCCAAATCT GGCGGAGCCGAAATCTGGGAGGCGCCGCCGACCCCCCTTAGCGGG CGCGGGCGAAGCGGTGCGGCGCCGGCAGGAAGGAAATGGGCGGGG AGGGCCTTCGTGCGTCGCCGCGCCGCCGTCCCTTCTCCATCTCCAG CCTCGGGGCTGCCGAGGGGGACGGCTGCCTTCGGGGGGACGGGG

[0226]

		CAGGGCGGGGTTCTGGCTTCTGGCGTGTGACCGGCGG
26	토끼 베타 글로빈 폴리 A	AGATCTTTTCCCTCTGCCAAAAATTATGGGGACATCATGAAGCCCC TTGAGCATCTGACTTCTGGCTAATAAAGGAAATTTATTTTCATTGCA ATAGTGTGTTGGAATTTTTTGTGTCTCTCACTCGGAAGGACATATGG GAGGGCAAATCATTTAAAACATCAGAATGAGTATTTGGTTTAGAGTT TGGCAACATATGCCATATGCTGGCTGCCATGAACAAAGGTGGCTAT AAAGAGGTCATCAGTATATGAAACAGCCCCCTGCTGTCCATTCCCTTA TTCCATAGAAAAGCCTTGACTTGAGGTTAGATTTTTTTTATATTTTGT TTTGTGTTATTTTTTCTTTAACATCCCTAAAATTTTCCTTACATGTTT TACTAGCCAGATTTTCTCTCTCTCTGACTACTCCCAGTCATAGCTG TCCCTCTTCTCTTATGAAGATC
27	베타 글로빈 인트론	GTGAGTTTGGGGACCCTTGATTGTTCTTTCTTTTCGCTATTGTAAAA TTCATGTTATATGGAGGGGGCAAAGTTTCAGGGTGTGTTTAGAAT GGGAAGATGTCCCTTGATCACCATGGACCCTCATGATAATTTTGTT TCTTTCACCTTCTACTCTGTTGACAACCATTGTCTCCTCTTATTTCTT TTCATTTTCTGTAACTTTTTCGTTAACTTTAGCTTGCAATTTGTAACG AATTTTTAAATTCACCTTTTGTTTATTTGTCAGATTGTAAGTACTTTCT CTAATCACTTTTTTTTCAAGGCAATCAGGGTATATTATATTGTAATTC AGCACAGTTTTAGAGAACAAATTGTTATAATTAAATGATAAGGTAGA ATATTTCTGCATATAAATTCCTGGCTGGCGTGGAATATTCTTATTGGT AGAAACAACCTACACCCTGGTCATCATCCTGCCTTCTCTTTATGGTTA CAATGATATACACTGTTTGAGATGAGGATAAAATACTCTGAGTCCAA ACCGGGCCCCCTCTGCTAACCATGTTTCATGCCTTCTTCTTTTCTACA G
28	프라이머	TAAGCAGAATTCATGAATTTGCCAGGAAGAT
29	프라이머	CCATACAATGAATGGACACTAGGCGGCCGCACGAAT
30	Gag, Pol, 인테그 라아제 단편	GAATTCATGAATTTGCCAGGAAGATGGAAACCAAAATGATAGGGG GAATTGGAGGTTTTATCAAAGTAAGACAGTATGATCAGATACTCATA GAAATCTGCGGACATAAAGCTATAGGTACAGTATTAGTAGGACCTA CACCTGTCAACATAATTGGAAGAAATCTGTTGACTCAGATTGGCTGC ACTTTAAATTTCCCATTAGTCCTATTGAGACTGTACCAGTAAAATT AAAGCCAGGAATGGATGGCCCAAAGTTAAACAATGGCCATTGACA GAAGAAAAAATAAAAGCATTAGTAGAAATTTGTACAGAAATGGAAA AGGAAGGAAAAATTTCAAAAATTGGGCCTGAAAATCCATACAATAC TCCAGTATTTGCCATAAAGAAAAAGACAGTACTAAATGGAGAAAA TTAGTAGATTTAGAGAACTTAATAAGAGAACTCAAGATTTCTGGGA AGTTCAATTAGGAATACCACATCCTGCAGGGTTAAAACAGAAAAAA TCAGTAACAGTACTGGATGTGGGCGATGCATATTTTTCAGTTCCCTT

[0227]

	AGATAAAGACTTCAGGAAGTATACTGCATTTACCATACCTAGTATAA ACAATGAGACACCAGGGATTAGATATCAGTACAATGTGCTTCCACA GGGATGGAAAGGATCACCAGCAATATTCCAGTGTAGCATGACAAAA ATCTTAGAGCCTTTTAGAAAAACAAAATCCAGACATAGTCATCTATCA ATACATGGATGATTTGTATGTAGGATCTGACTTAGAAATAGGGCAGC ATAGAACAAAAATAGAGGAACTGAGACAACATCTGTTGAGGTGGGG ATTTACCACACCAGACAAAAAACATCAGAAAGAACCTCCATTCTTT GGATGGGTATGAACTCCATCCTGATAAATGGACAGTACAGCCTATA GTGCTGCCAGAAAAGGACAGCTGGACTGTCAATGACATACAGAAAT TAGTGGGAAAATTGAATTGGGCAAGTCAGATTTATGCAGGGATTAA AGTAAGGCAATTATGTAAACTTCTTAGGGGAACCAAAGCACTAACA GAAGTAGTACCACTAACAGAAGAAGCAGAGCTAGAACTGGCAGAA AACAGGGGAGATTCTAAAAGAACCGGTACATGGAGTGTATTATGACC CATCAAAAGACTTAATAGCAGAAATACAGAAGCAGGGGCAAGGCC AATGGACATATCAAATTTATCAAGAGCCATTTAAAAATCTGAAAAC AGGAAAGTATGCAAGAATGAAGGGTGCCCACTAATGATGTGAAA CAATTAACAGAGGCAGTACAAAAAATAGCCACAGAAAGCATAGTAA TATGGGGAAAGACTCCTAAATTTAAATTACCCATACAAAAGGAAAC ATGGGAAGCATGGTGGACAGAGTATTGGCAAGCCACCTGGATTCTT GAGTGGGAGTTTGTCAATACCCCTCCCTTAGTGAAGTTATGGTACCA GTTAGAGAAAGAACCCATAATAGGAGCAGAACTTTCTATGTAGAT GGGGCAGCCAATAGGGAAACTAAATTAGGAAAAAGCAGGATATGTA ACTGACAGAGGAAGACAAAAAGTTGTCCCCCTAACGGACACAACAA ATCAGAAGACTGAGTTACAAGCAATTCATCTAGCTTTGCAGGATTCTG GGATTAGAAGTAAACATAGTGACAGACTCACAATATGCATTGGGAA TCATTCAAGCACAAACCAGATAAGAGTGAATCAGAGTTAGTCAGTCA AATAATAGAGCAGTTAATAAAAAAGGAAAAAGTCTACCTGGCATGG GTACCAGCACACAAAGGAATTGGAGGAAATGAACAAGTAGATAAAT TGGTCAGTGCTGGAATCAGGAAAGTACTATTTTATAGATGGAATAGAT AAGGCCCAAGAAGAACATGAGAAATATCACAGTAATTGGAGAGCA ATGGCTAGTGATTTTAACCTACCACCTGTAGTAGCAAAAGAAATAGT AGCCAGCTGTGATAAATGTCAGCTAAAAGGGGAAGCCATGCATGGA CAAGTAGACTGTAGCCCAGGAATATGGCAGCTAGATTGTACACATTT AGAAGGAAAAGTTATCTTGGTAGCAGTTCATGTAGCCAGTGGATAT ATAGAAGCAGAAGTAATTCAGCAGAGACAGGGCAAGAAACAGCA TACTTCCTCTTAAATTAGCAGGAAGATGGCCAGTAAAAACAGTAC ATACAGACAATGGCAGCAATTCACCAGTACTACAGTTAAGGCCGC CTGTTGGTGGGCGGGGATCAAGCAGGAATTTGGCATTCCCTACAATC
--	--

[0228]

		CCCAAAGTCAAGGAGTAATAGAATCTATGAATAAAGAATTAAAGAA AATTATAGGACAGGTAAGAGATCAGGCTGAACATCTTAAGACAGCA GTACAAATGGCAGTATTATCCACAATTTTAAAAGAAAAGGGGGGA TTGGGGGGTACAGTGCAGGGGAAAGAATAGTAGACATAATAGCAAC AGACATACAACTAAAGAATTACAAAAACAAATTACAAAAATTCAA AATTTTCGGGTTTATTACAGGGACAGCAGAGATCCAGTTTGGAAAG GACCAGCAAAGCTCCTCTGGAAAGGTGAAGGGGCAGTAGTAATACA AGATAATAGTGACATAAAAGTAGTGCCAAGAAGAAAAGCAAAGAT CATCAGGGATTATGGAAAACAGATGGCAGGTGATGATTGTGTGGCA AGTAGACAGGATGAGGATTAA
31	Rev, RRE 및 토끼 베타 글로빈 폴리 A 를 함유하는 DNA 단편	TCTAGAATGGCAGGAAGAAGCGGAGACAGCGACGAAGAGCTCATC AGAACAGTCAGACTCATCAAGCTTCTCTATCAAAGCAACCCACCTCC CAATCCCGAGGGGACCCGACAGGCCCGAAGGAATAGAAGAAGAAG GTGGAGAGAGAGACAGAGACAGATCCATTCGATTAGTGAACGGATC CTTGGCACTTATCTGGGACGATCTGCGGAGCCTGTGCCTCTTCAGCT ACCACCGCTTGAGAGACTTACTCTTGATTGTAAACGAGGATTGTGGAA CTTCTGGGACGCAGGGGGTGGGAAGCCCTCAAATATTGGTGGAAATC TCCTACAATATTGGAGTCAGGAGCTAAAGAATAGAGGAGCTTTGTTC CTTGGGTTCTTGGGAGCAGCAGGAAGCACTATGGGCGCAGCGTCAA TGACGCTGACGGTACAGGCCAGACAATTATTGTCTGGTATAGTGCAG CAGCAGAAACAATTTGCTGAGGGCTATTGAGGCGCAACAGCATCTGT TGCAACTCACAGTCTGGGGCATCAAGCAGCTCCAGGCAAGAATCCT GGCTGTGGAAAGATACCTAAAGGATCAACAGCTCCTAGATCTTTTTC CCTCTGCCAAAAATTATGGGGACATCATGAAGCCCCTTGAGCATCTG ACTTCTGGCTAATAAAGGAAATTTATTTTCATTGCAATAGTGTGTG GAATTTTTTGTGTCTCTCACTCGGAAGGACATATGGGAGGGCAAATC ATTTAAACATCAGAATGAGTATTGGTTTAGAGTTTGGCAACATAT GCCATATGCTGGCTGCCATGAACAAAGGTGGCTATAAAGAGGTCAT CAGTATATGAAACAGCCCCCTGCTGTCCATTCTTATTCCATAGAAA AGCCTTGACTTGAGGTTAGATTTTTTTTATATTTTGTGTGTATTT TTTTCTTTAACATCCCTAAAATTTTCCTTACATGTTTTACTAGCCAGA TTTTTCCTCCTCTCCTGACTACTCCCAGTCATAGCTGTCCCTCTCTCT TATGAAGATCCCTCGACCTGCAGCCCAAGCTTGGCGTAATCATGGTC ATAGCTGTTTCTGTGTGAAATTGTTATCCGCTCACAATTCCACACA ACATACGAGCCGGAAGCATAAAGTGTAAGCCTGGGGTGCCTAATG AGTGAGCTAACTCACATTAATTGCGTTGCGCTCACTGCCCCGCTTCC AGTCGGGAAACCTGTCGTGCCAGCGGATCCGCATCTCAATTAGTCAG CAACCATAGTCCCGCCCCCTAACTCCGCCCATCCCGCCCCCTAACTCCG

[0229]

		CCCAGTTCGCCCCATTCTCCGCCCCATGGCTGACTAATTTTTTTTATT TATGCAGAGGCCGAGGCCGCCTCGGCCCTGAGCTATTCCAGAAGT AGTGAGGAGGCTTTTTTGGAGGCCCTAGGCTTTTGCAAAAAGCTAACT TGTTTATTGCAGCTTATAATGGTTACAAATAAAGCAATAGCATCACA AATTCACAAATAAAGCATTTTTTTCACCTGCATTCTAGTTGTGGTTTG TCCAAACTCATCAATGTATCTTATCAGCGGCCGCCCCGGG
32	CAG 인핸서/ 프로모터/ 인트론 서열을 함유하는 DNA 단편	ACGCGTTAGTTATTAATAGTAATCAATTACGGGGTCATTAGTTCATA GCCCATATATGGAGTTCCGCGTTACATAACTTACGGTAAATGGCCCCG CCTGGCTGACCGCCCAACGACCCCCGCCATTGACGTCAATAATGAC GTATGTTCCCATAGTAACGCCAATAGGGACTTTCCATTGACGTCAAT GGGTGGACTATTTACGGTAAACTGCCCACTTGGCAGTACATCAAGTG TATCATATGCCAAGTACGCCCCCTATTGACGTCAATGACGGTAAATG GCCCCCTGGCATTATGCCCAGTACATGACCTTATGGGACTTTCCTA CTTGGCAGTACATCTACGTATTAGTCATCGCTATTACCATGGGTCGA GGTGAGCCCCACGTTCTGCTTCACTCTCCCCATCTCCCCCCCCCCCC ACCCCCAATTTGTATTTATTTATTTTAAATTATTTGTGCAGCGAT GGGGGCGGGGGGGGGGGGGCGCGCCAGGCGGGGCGGGGCGGG GCGAGGGGCGGGGCGGGGCGAGGCGGAGAGGTGCGGCGGCAGCCA ATCAGAGCGGCGCGCTCCGAAAGTTTCCTTTTATGGCGAGGCGGCG GCGGCGGCGGCCCTATAAAAAGCGAAGCGCGCGGCGGGCGGGAGT CGCTGCGTTGCCTTCGCCCCGTGCCCGCTCCGCGCCGCTCGCGCC GCCCCCCCCGCTCTGACTGACCGCGTTACTCCACAGGTGAGCGGG CGGGACGGCCCTTCTCCTCCGGGCTGTAATTAGCGCTTGTTTAAATG ACGGCTCGTTTCTTTCTGTGGCTGCGTGAAAGCCTTAAAGGGCTCC GGGAGGGCCCTTGTGCGGGGGGAGCGGCTCGGGGGGTGCGTGCG TGTGTGTGTGCGTGGGGAGCGCCGCGTGCGGCCCCGCGTGCCCCGC GGCTGTGAGCGCTGCGGGCGCGGCGCGGGGCTTGTGCGCTCCGCG TGTGCGCGAGGGGAGCGCGGCCGGGGCGGTGCCCCGCGGTGCGGG GGGGCTGCGAGGGGAACAAAGGCTGCGTGCGGGGTGTGTGCGTGGG GGGGTGAGCAGGGGTGTGGGCGCGGCGGTGCGGCTGTAACCCCC CCTGCACCCCCCTCCCCGAGTTGCTGAGCACGGCCCGGCTTCGGGTG CGGGGCTCCGTGCGGGGCGTGCGCGGGGCTCGCCGTGCCGGGCGG GGGGTGCGGCGCAGGTGGGGGTGCCGGGCGGGGCGGGGCCCTCG GGCCGGGGAGGGCTCGGGGGAGGGGCGCGGCGGCCCGGAGCGCC GGCGGCTGTGAGGCGCGGCGAGCCGCAGCCATTGCCTTTTATGGTA ATCGTGCGAGAGGGCGCAGGGACTTCCTTTGTCCCAAATCTGGCGG AGCCGAAATCTGGGAGGCGCCGCGCACCCCCTCTAGCGGGCGCGG GCGAAGCGGTGCGGCGCCGGCAGGAAGGAAATGGGCGGGGAGGGC

[0230]

		CTTCGTGCGTCGCCGCGCCGCGCTCCCTTCTCCATCTCCAGCCTCGG GGCTGCCGCAGGGGGACGGCTGCCTTCGGGGGGGACGGGGCAGGGC GGGGTTCGGCTTCTGGCGTGTGACCGGCGGGAATTC
33	RSV 프로모터 및 HIV Rev	CAATTGCGATGTACGGGCCAGATATACGCGTATCTGAGGGGACTAG GGTGTGTTTAGGCGAAAAGCGGGGCTTCGGTTGTACGCGTTAGGA GTCCCCTCAGGATATAGTAGTTTCGCTTTTGCATAGGGAGGGGAAA TGTAAGTCTTATGCAATACACTTGTAGTCTTGCAACATGGTAACGATG AGTTAGCAACATGCCTTACAAGGAGAGAAAAAGCACCGTGCATGCC GATTGGTGGAAGTAAGGTGGTACGATCGTGCCTTATTAGGAAGGCA ACAGACAGGTCTGACATGGATTGGACGAACCACTGAATTCCGCATT GCAGAGATAATTGTATTTAAGTGCCTAGCTCGATACAATAAACGCCA TTTGACCATTACACATTGGTGTGCACCTCCAAGCTCGAGCTCGTT TAGTGAACCGTCAGATCGCCTGGAGACGCCATCCACGCTGTTTTGAC CTCCATAGAAGACACCGGGACCGATCCAGCCTCCCTCGAAGCTAG CGATTAGGCATCTCCTATGGCAGGAAGAAGCGGAGACAGCGACGAA GAACTCCTCAAGGCAGTCAGACTCATCAAGTTTCTCTATCAAAGCAA CCCACCTCCCAATCCCGAGGGGACCCGACAGGCCCCGAAGGAATAGA AGAAGAAGGTGGAGAGAGAGACAGAGACAGATCCATTCGATTAGT GAACGGATCCTTAGCACTTATCTGGGACGATCTGCGGAGCCTGTGCC TCTTCAGCTACCACCGCTTGAGAGACTTACTCTTGATTGTAACGAGG ATTGTGGAACCTTCTGGGACGCAGGGGGTGGGAAGCCCTCAAATATT GGTGGAATCTCCTACAATATTGGAGTCAGGAGCTAAAGAATAGTCT AGA
34	신장 인자-1 알파 (EF1-알파) 프로모터	CCGGTGCCTAGAGAAGGTGGCGCGGGGTAACTGGGAAAGTGATGT CGTGTACTGGCTCCGCTTTTTCCCGAGGGTGGGGGAGAACC GTATA TAAGTGCAGTAGTCGCCGTGAACGTTCTTTTTCGCAACGGGTTTGCC GCCAGAACACAGGTAAGTGCCGTGTGTGGTTCCCGCGGGCCTGGCC TCTTTACGGGTTATGGCCCTTGCGTGCCTTGAATTACTTCCACGCCCC TGGCTGCAGTACGTGATTCTTGATCCCGAGCTTCGGGTGGAAAGTGG GTGGGAGAGTTTCGAGGCCTTGCGCTTAAGGAGCCCCCTTCGCCTCGTG CTTGAGTTGAGGCCTGGCCTGGGCGCTGGGGCCGCCGCGTGCGAAT CTGGTGGCACCTTCGCGCCTGTCTCGCTGCTTTTCGATAAGTCTCTAGC CATTTAAAATTTTGATGACCTGCTGCGACGCTTTTTTCTGGCAAGA TAGTCTTGTAATGCGGGCCAAGATCTGCACACTGGTATTTTCGTTT TTGGGGCCGCGGGCGGCGACGGGGCCCGTGCGTCCCAGCGCACATG TTCGGCGAGGCGGGGCTGCGAGCGCGGCCACCGAGAATCGGACGG GGGTAGTCTCAAGCTGGCCGGCCTGCTCTGGTGCCTGGCCTCGCGCC GCCGTGTATCGCCCCGCCCTGGGCGGCAAGGCTGGCCCGGTCGGCA

[0231]

		CCAGTTGCGTGAGCGGAAAGATGGCCGCTTCCCGGCCCTGCTGCAG GGAGCTCAAAATGGAGGACGCGGCGCTCGGGAGAGCGGGCGGGTG AGTCACCCACACAAAGGAAAAGGGCCTTTCCGTCTCAGCCGTCGCT TCATGTGACTCCACGGAGTACCGGGCGCCGTCCAGGCACCTCGATTA GTTCTCGAGCTTTTGGAGTACGTCGCTTTAGGTTGGGGGGAGGGGT TTTATGCGATGGAGTTTCCCCACACTGAGTGGGTGGAGACTGAAGTT AGGCCAGCTTGGCACTTGATGTAATTCTCCTTGGAAATTTGCCCTTTTT GAGTTTGGATCTTGGTTCATTCTCAAGCCTCAGACAGTGGTTCAAAG TTTTTTTCTTCCATTTACAGGTGTCGTGA
35	<u>프로모터</u> ; PGK	GGGGTTGGGGTTGCGCCTTTTCCAAGGCAGCCCTGGGTTTGCAGG GACGCGGCTGCTCTGGGCGTGGTTCCGGGAAACGCAGCGGCGCCGA CCCTGGGTCTCGCACATTCTTCACGTCCGTTCGCAGCGTCACCCGGA TCTTCGCCGCTACCTTGTGGGCCCCCGGCGACGCTTCTGCTCCG CCCCTAAGTCGGGAAGGTTTCTTGCAGTTCGCGGCGTGCCCGACGTG ACAAACGGAAGCCGCACGTCTCACTAGTACCCTCGCAGACGGACAG CGCCAGGGAGCAATGGCAGCGCGCCGACCGCGATGGGCTGTGGCCA ATAGCGGCTGCTCAGCAGGGCGCGCCGAGAGCAGCGGCCGGGAAG GGGCGGTGCGGGAGGCGGGGTGTGGGGCGGTAGTGTGGGCCCTGTT CCTGCCCCGCGGGTGTTCGCAATTCTGCAAGCCTCCGGAGCGCACGT CGGCAGTCGGCTCCCTCGTTGACCGAATCACCGACCTCTCTCCCCAG
36	<u>프로모터</u> ; UbC	GCGCCGGGTTTTGGCGCCTCCCGCGGGCGCCCCCTCTCACGGCGA GCGTGCCACGTGAGACGAAGGGCGCAGGAGCGTTCTGATCCTTC CGCCCGGACGCTCAGGACAGCGGCCCGCTGCTCATAAGACTCGGCC TTAGAACCCCAAGTATCAGCAGAAGGACATTTTAGGACGGGACTTGG GTGACTCTAGGGCACTGGTTTTCTTTCCAGAGAGCGGAACAGGCGA GGAAAAGTAGTCCCTTCTCGGCGATTCTGCGGAGGGATCTCCGTGGG GCGGTGAACGCCGATGATTATATAAGGACGCGCCGGGTGTGGCACA GCTAGTTCCGTGCGAGCCGGGATTTGGGTGCGGTTCTTGTGTGG ATCGCTGTGATCGTCACTTGGTGAGTTGCGGGCTGCTGGGCTGGCCG GGGCTTTCGTGGCCGCCGGGCCGCTCGGTGGGACGGAAGCGTGTGG AGAGACCGCCAAGGGCTGTAGTCTGGGTCCGCGAGCAAGGTTGCC TGAAGTGGGGGTGGGGGGAGCGCACAAAATGGCGGCTGTTCCCGA GTCTTGAATGGAAGACGCTTGTAAAGCGGGCTGTGAGGTCGTTGAA ACAAGGTGGGGGGCATGGTGGGCGGCAAGAACCAAGGTCTTGAGG CCTTCGCTAATGCGGGAAAGCTTTATTGGGTGAGATGGGCTGGGG CACCATCTGGGGACCCTGACGTGAAGTTTGTCACTGACTGGAGAACT CGGGTTTGTGCTCTGGTTGCGGGGGCGGCAGTTATGCGGTGCCGTTG GGCAGTGACCCGTACCTTTGGGAGCGCGCCTCGTCGTGTCGTGA

[0232]

		CGTCACCCGTTCTGTTGGCTTATAATGCAGGGTGGGGCCACCTGCCG GTAGGTGTGCGGTAGGCTTTTCTCCGTCGCAGGACGCAGGGTTCGGG CCTAGGGTAGGCTCTCCTGAATCGACAGGCGCCGACCTCTGGTGA GGGGAGGGATAAGTGAGGCGTCAGTTTCTTTGGTCGGTTTTATGTAC CTATCTTCTTAAGTAGCTGAAGCTCCGGTTTTGAACTATGCGCTCGG GGTTGGCGAGTGTGTTTTGTGAAGTTTTTAGGCACCTTTTGAAATGT AATCATTTGGGTCAATATGTAATTTTCAGTGTTAGACTAGTAAA
37	폴리 A; SV40	GTTTATTGCAGCTTATAATGGTTACAAATAAAGCAATAGCATCACAA ATTTACAAATAAAGCATTTTTTCACTGCATTCTAGTTGTGGTTTGT CCAAACTCATCAATGTATCTTATCA
38	폴리 A; bGH	GACTGTGCCTTCTAGTTGCCAGCCATCTGTTGTTTGGCCCTCCCCCGT GCCTTCCTTGACCCTGGAAGGTGCCACTCCCACTGTCCTTTCCTAATA AAATGAGGAAATTGCATCGCATTGTCTGAGTAGGTGTCATTCTATTC TGGGGGGTGGGGTGGGGCAGGACAGCAAGGGGGAGGATTGGGAAG ACAATAGCAGGCATGCTGGGGATGCGGTGGGCTCTATGG
39	외 표; RD114	ATGAAACTCCCAACAGGAATGGTCATTTTATGTAGCCTAATAATAGT TCGGGCAGGGTTTGACGACCCCCGCAAGGCTATCGCATTAGTACAA AAACAACATGGTAAACCATGCGAATGCAGCGGAGGGCAGGTATCCG AGGCCCCACCGAACTCCATCCAACAGGTAACCTTGCCCAGGCAAGAC GGCCTACTTAATGACCAACCAAAAATGGAAATGCAGAGTCACTCCA AAAAATCTCACCCCTAGCGGGGAGAACTCCAGAACTGCCCTGT ACACTTTCAGGACTCGATGCACAGTTCTTGTATACTGAATACCGG CAATGCAGGGCGAATAATAAGACATACTACACGGCCACCTTGCTTA AAATACGGTCTGGGAGCCTCAACGAGGTACAGATATTACAAAACCC CAATCAGCTCCTACAGTCCCCTTGTAGGGGCTCTATAAATCAGCCCG TTTGCTGGAGTGCCACAGCCCCCATCCATATCTCCGATGGTGGAGGA CCCCCTCGATACTAAGAGAGTGTGGACAGTCCAAAAAAGGCTAGAAC AAATTACATAAGGCTATGCATCCTGAACTTCAATACCACCCCTTAGCC CTGCCCAAAGTCAGAGATGACCTTAGCCTTGATGCACGGACTTTTGA TATCCTGAATACCACTTTTAGGTTACTCCAGATGTCCAATTTTAGCCT TGCCCAAGATTGTTGGCTCTGTTTAAACTAGGTACCCCTACCCCTC TTGCGATACCCACTCCCTCTTTAACCTACTCCCTAGCAGACTCCCTAG CGAATGCCTCCTGTCAGATTATACCTCCCCTCTTGGTTCAACCGATG CAGTTCTCCAACCTCGTCCTGTTTATCTTCCCCTTTCATTACGATACG GAACAAATAGACTTAGGTGCAGTCACCTTTACTAACTGCACCTCTGT AGCCAATGTCAGTAGTCCTTTATGTGCCCTAAACGGGTCAGTCTTCC TCTGTGGAAATAACATGGCATAACCTATTTACCCCAAACTGGACA GGACTTTGCGTCCAAGCCTCCCTCCTCCCCGACATTGACATCATCCC

[0233]

		GGGGGATGAGCCAGTCCCCATTCCTGCCATTGATCATTATATACATA GACCTAAACGAGCTGTACAGTTTCATCCCTTTACTAGCTGGACTGGGA ATCACCGCAGCATTACACCACCGGAGCTACAGGCCTAGGTGTCTCCGT CACCCAGTATACAAAATTATCCCATCAGTTAATATCTGATGTCCAAG TCTTATCCGGTACCATAACAAGATTTACAAGACCAGGTAGACTCGTTA GCTGAAGTAGTTCTCCAAAATAGGAGGGGACTGGACCTACTAACGG CAGAACAAGGAGGAATTTGTTTAGCCTTACAAGAAAAATGCTGTTTT TATGCTAACAAGTCAGGAATTGTGAGAAACAAAATAAGAACCCTAC AAGAAGAATTACAAAACGCAGGGAAAGCCTGGCATCCAACCCTCT CTGGACCGGGCTGCAGGGCTTTCTTCCGTACCTCCTACCTCTCCTGG GACCCCTACTCACCTCCTACTCATACTAACCATTGGGCCATGCGTT TTCAATCGATTGGTCCAATTTGTTAAAGACAGGATCTCAGTGGTCCA GGCTCTGGTTTTGACTCAGCAATATCACCAGCTAAAACCCATAGAGT ACGAGCCATGA
40	외피 ; GALV	ATGCTTCTCACCTCAAGCCCGCACCACTTCGGCACCAGATGAGTCC TGGGAGCTGGAAAAGACTGATCATCCTCTTAAGCTGCGTATTCGGAG ACGGCAAAACGAGTCTGCAGAATAAGAACCCCCACCAGCCTGTGAC CCTCACCTGGCAGGTACTGTCCCAAACCTGGGGACGTTGTCTGGGACA AAAAGGCAGTCCAGCCCCCTTGGACTTGGTGGCCCTCTCTTACACCT GATGTATGTGCCCTGGCGGCCGGTCTTGAGTCCTGGGATATCCCGGG ATCCGATGTATCGTCCTCTAAAAGAGTTAGACCTCCTGATTACAGACT ATACTGCCGCTTATAAGCAAATCACCTGGGGAGCCATAGGGTGCAG CTACCCTCGGGCTAGGACCAGGATGGCAAATTCCCCCTTCTACGTGT GTCCCCGAGCTGGCCGAACCCATTACAGAAGCTAGGAGGTGTGGGGG GCTAGAATCCCTATACTGTAAAGAATGGAGTTGTGAGACCACGGGT ACCGTTTATTGGCAACCCAAGTCCTCATGGGACCTCATAACTGTAAA ATGGGACCAAAATGTGAAATGGGAGCAAAAATTTCAAAGTGTGAA CAAACCGGCTGGTGTAAACCCCTCAAGATAGACTTCACAGAAAAAG GAAAACTCTCCAGAGATTGGATAACGGAAAAAACCTGGGAATTAAG GTTCTATGTATATGGACACCCAGGCATACAGTTGACTATCCGCTTAG AGGTCACTAACATGCCGGTTGTGGCAGTGGGCCAGACCCTGTCCTT GCGGAACAGGGACCTCCTAGCAAGCCCCCTCACTCTCCCTCTCTCCCC ACGGAAAGCGCCGCCACCCCTCTACCCCCGGCGGCTAGTGAGCAA ACCCCTGCGGTGCATGGAGAACTGTTACCCTAAACTCTCCGCCTCC CACCAGTGGCGACCGACTCTTTGGCCTTGTGCAGGGGGCCTTCCTAA CCTTGAATGCTACCAACCCAGGGGCCACTAAGTCTTGCTGGCTCTGT TTGGGCATGAGCCCCCTTATTATGAAGGGATAGCCTCTTCAGGAGA GGTCGCTTATACCTCCAACCATAACCCGATGCCACTGGGGGGCCCAAG

[0234]

		<p>GAAAGCTTACCCTCACTGAGGTCTCCGGACTCGGGTCATGCATAGGG AAGGTGCCTCTTACCCATCAACATCTTTGCAACCAGACCTTACCCAT CAATTCCTCTAAAAACCATCAGTATCTGCTCCCCTCAAACCATAGCT GGTGGGCCTGCAGCACTGGCCTCACCCCCTGCCTCTCCACCTCAGTT TTTAATCAGTCTAAAGACTTCTGTGTCCAGGTCCAGCTGATCCCCCG CATCTATTACCATTCTGAAGAAACCTTGTTACAAGCCTATGACAAAT CACCCCCCAGGTTTAAAAGAGAGCCTGCCTCACTTACCCTAGCTGTC TTCCTGGGGTTAGGGATTGCGGCAGGTATAGGTACTGGCTCAACCGC CCTAATTAAGGGCCCATAGACCTCCAGCAAGGCCTAACCAGCCTC CAAATCGCCATTGACGCTGACCTCCGGGCCCTTCAGGACTCAATCAG CAAGCTAGAGGACTCACTGACTTCCCTATCTGAGGTAGTACTCCAAA ATAGGAGAGGCCTTGACTTACTATTCTTAAAGAAGGAGGCCTCTGC GCGGCCCTAAAAGAAGAGTGCTGTTTTATGTAGACCACTCAGGTGC AGTACGAGACTCCATGAAAAACTTAAAGAAAGACTAGATAAAAGA CAGTTAGAGCGCCAGAAAAACCAAACTGGTATGAAGGGTGGTCA ATAACTCCCCTTGGTTTACTACCCTACTATCAACCATCGCTGGGCCC CTATTGCTCCTCCTTTTGTACTACTCTTGGGCCCTGCATCATCAAT AAATTAATCCAATTCATCAATGATAGGATAAGTGCAGTCAAAATTTT AGTCCTTAGACAGAAATATCAGACCCTAGATAACGAGGAAAACCTT TAA</p>
41	외피 ; FUG	<p>ATGGTTCCGCAGGTTCTTTTGTGTGACTCCTTCTGGGTTTTTCGTTGT GTTTCGGGAAGTTCCTCATTTACACGATACCAGACGAACTTGGTCCC TGGAGCCCTATTGACATACACCATCTCAGCTGTCAAATAACCTGGT TGTGGAGGATGAAGGATGTACCAACCTGTCCGAGTTCTCCTACATGG AACTCAAAGTGGGATACATCTCAGCCATCAAAGTGAACGGGTTAC TTGCACAGGTGTTGTGACAGAGGCAGAGACCTACACCAACTTTGTTG GTTATGTCACAACCACATTCAAGAGAAAGCATTTCGCCCCACCCCA GACGCATGTAGAGCCGCGTATAACTGGAAGATGGCCGGTGACCCCA GATATGAAGAGTCCCTACACAATCCATACCCCGACTACCACTGGCTT CGAACTGTAAGAACCACCAAAGAGTCCCTCATTATCATATCCCAAG TGTGACAGATTTGGACCCATATGACAAATCCCTTCACTCAAGGGTCT TCCCTGGCGGAAAGTGCTCAGGAATAACGGTGTCTCTACCTACTGC TCAACTAACCATGATTACACCATTTGGATGCCCCGAGAATCCGAGACC AAGGACACCTTGTGACATTTTTACCAATAGCAGAGGGAAGAGAGCA TCCAACGGGAACAAGACTTGCGGCTTTGTGGATGAAAGAGGCCTGT ATAAGTCTCTAAAAGGAGCATGCAGGCTCAAGTTATGTGGAGTCTT GGACTTAGACTTATGGATGGAACATGGGTGCGGATGCAAACATCAG ATGAGACCAAATGGTGCCCTCCAGATCAGTTGGTGAATTTGCACGAC</p>

[0235]

		<p>TTTCGCTCAGACGAGATCGAGCATCTCGTTGTGGAGGAGTTAGTTAA GAAAAGAGAGGAATGTCTGGATGCATTAGAGTCCATCATGACCACC AAGTCAGTAAGTTTCAGACGTCTCAGTCACCTGAGAAAACCTTGTCCTC AGGGTTTGAAAAAGCATATACCATATTCAACAAAACCTTGATGGAG GCTGATGCTCACTACAAGTCAGTCCGGACCTGGAATGAGATCATCCC CTCAAAAAGGGTGTTTGAAAGTTGGAGGAAGGTGCCATCCTCATGTG AACGGGGTGTTTTTCAATGGTATAATATTAGGGCCTGACGACCATGT CCTAATCCCAGAGATGCAATCATCCCTCCTCCAGCAACATATGGAGT TGTTGGAATCTTCAGTTATCCCCCTGATGCACCCCTGGCAGACCCT TCTACAGTTTTCAAAGAAGGTGATGAGGCTGAGGATTTTGTTGAAGT TCACCTCCCCGATGTGTACAAACAGATCTCAGGGGTTGACCTGGGTC TCCCGAACTGGGGAAAGTATGTATTGATGACTGCAGGGGCCATGAT TGGCCTGGTGTTGATATTTCCCTAATGACATGGTGCAGAGTTGGTA TCCATCTTTGCATTAAATTAAGCACACCAAGAAAAGACAGATTTAT ACAGACATAGAGATGAACCGACTTGGAAGTAA</p>
42	외 파 : LCMV	<p>ATGGGTCAGATTGTGACAATGTTTGAGGCTCTGCCTCACATCATCGA TGAGGTGATCAACATTGTCTATTATTGTGCTTATCGTGATCACGGGTA TCAAGGCTGTCTACAATTTTGCCACCTGTGGGATATTGCGATTGATC AGTTTCCTACTTCTGGCTGGCAGGTCCTGTGGCATGTACGGTCTTAA GGGACCCGACATTTACAAAGGAGTTTACCAATTTAAGTCAGTGGAG TTTGATATGTACATCTGAACCTGACCATGCCCCAACGCATGTTTCAGC CAACAACCTCCACCATTACATCAGTATGGGGACTTCTGGACTAGAAT TGACCTTCACCAATGATTCCATCATCAGTCACAACTTTTGCAATCTG ACCTCTGCCTTCAACAAAAAGACCTTTGACCACACACTCATGAGTAT AGTTTCGAGCCTACACCTCAGTATCAGAGGGAACCTCAACTATAAG GCAGTATCCTGCGACTTCAACAATGGCATAACCATCCAATACAACCT GACATTCTCAGATCGACAAAGTGCTCAGAGCCAGTGTAGAACCCTC AGAGGTAGAGTCCTAGATATGTTTAGAACTGCCTTCGGGGGGAAAT ACATGAGGAGTGGCTGGGGCTGGACAGGCTCAGATGGCAAGACCAC CTGGTGTAGCCAGACGAGTTACCAATACCTGATTATACAAAATAGA ACCTGGGAAAACCACTGCACATATGCAGGTCCTTTTGGGATGTCCAG GATTCTCCTTTCCCAAGAGAAGACTAAGTTCTTCACTAGGAGACTAG CGGGCACATTCACCTGGACTTTGTGAGACTCTCAGGGGTGGAGAAT CCAGGTGGTTATTGCCTGACCAAATGGATGATTCTTGCTGCAGAGCT TAAGTGTTTCGGGAACACAGCAGTTGCGAAATGCAATGTAAATCAT GATGCCGAATTCTGTGACATGCTGCGACTAATTGACTACAACAAGGC TGCTTTGAGTAAGTTCAAAGAGGACGTAGAATCTGCCTTGCACTTAT TCAAAACAACAGTGAATTCCTTTGATTTTCAGATCAACTACTGATGAGG</p>

[0236]

		<p>AACCACTTGAGAGATCTGATGGGGGTGCCATATTGCAATTACTCAA GTTTTGGTACCTAGAACATGCAAAGACCGGCGAACTAGTGTCCCC AAGTGCTGGCTTGTACCAATGGTTCCTACTTAAATGAGACCCACTT CAGTGATCAAATCGAACAGGAAGCCGATAACATGATTACAGAGATG TTGAGGAAGGATTACATAAAGAGGCAGGGGAGTACCCCCCTAGCAT TGATGGACCTTCTGATGTTTTCCACATCTGCATATCTAGTCAGCATCT TCCTGCACCTTGTCAAAATACCAACACACAGGCACATAAAAGGTGG CTCATGTCCAAAGCCACACCGATTAAACCAACAAAGGAATTTGTAGTT GTGGTGCATTTAAGGTGCCTGGTGTAAAAACCGTCTGGAAAAGACG CTGA</p>
43	외피 ; FPV	<p>ATGAACACTCAAATCCTGGTTTTTCGCCCTTGTTGGCAGTCATCCCCAC AAATGCAGACAAAATTTGTCTTGACATCATGCTGTATCAAATGGCA CCAAAGTAAACACACTCACTGAGAGAGGAGTAGAAGTTGTCAATGC AACGGAAACAGTGGAGCGGACAAACATCCCCAAAATTTGCTCAAAA GGGAAAAGAACCCTGATCTTGGCCAATGCGGACTGTTAGGGACCA TTACCGGACCACCTCAATGCGACCAATTTCTAGAATTTTCAGCTGAT CTAATAATCGAGAGACGAGAAGGAAATGATGTTTGTACCCGGGGA AGTTTGTAAATGAAGAGGCATTGCGACAAATCCTCAGAGGATCAGG TGGGATTGACAAAGAAACAATGGGATTCACATATAGTGAATAAGG ACCAACGGAACAACCTAGTGCATGTAGAAGATCAGGGTCTTCATTCT ATGCAGAAATGGAGTGGCTCCTGTCAAATACAGACAATGCTGCTTTC CCACAAATGACAAAATCATACAAAACACAAGGAGAGAATCAGCTC TGATAGTCTGGGGAATCCACCATTGAGGATCAACCACCGAACAGAC CAAATATATGGGAGTGGAAATAAACTGATAACAGTCGGGAGTTCC AAATATCATCAATCTTTTGTGCCGAGTCCAGGAACACGACCGCAGAT AAATGGCCAGTCCGGACGGATTGATTTTCATTGGTTGATCTTGGATC CCAATGATACAGTTACTTTTAGTTTCAATGGGGCTTTCATAGCTCCA AATCGTGCCAGCTTCTTGAGGGGAAAGTCCATGGGGATCCAGAGCG ATGTGCAGGTTGATGCCAATTGCGAAGGGGAATGCTACCACAGTGG AGGGACTATAACAAGCAGATTGCCTTTTCAAACATCAATAGCAGA GCAGTTGGCAAATGCCCAAGATATGTAAAACAGGAAAGTTTATTAT TGGCAACTGGGATGAAGAACGTTCCCGAACCTTCCAAAAAAGGAA AAAAAGAGGCCTGTTTGGCGCTATAGCAGGGTTTATTGAAAATGGTT GGGAAGGTCTGGTCGACGGGTGGTACGGTTTCAGGCATCAGAATGC ACAAGGAGAAGGAACTGCAGCAGACTACAAAAGCACCCAATCGGC AATTGATCAGATAACCGGAAAGTTAAATAGACTCATTGAGAAAACC AACCAGCAATTTGAGCTAATAGATAATGAATTCAGTGGGTGGAAA AGCAGATTGGCAATTTAATTAAGTGGACCAAGACTCCATCACAGA</p>

[0237]

		AGTATGGTCTTACAATGCTGAACTTCTTGTGGCAATGGAAAACCAGC ACACTATTGATTTGGCTGATTCAGAGATGAACAAGCTGTATGAGCGA GTGAGGAAACAATTAAGGGAAAATGCTGAAGAGGATGGCACTGGTT GCTTTGAAATTTTCATAAATGTGACGATGATTGTATGGCTAGTATA AGGAACAATACTTATGATCACAGCAAATACAGAGAAGAAGCGATGC AAAATAGAATACAAATTGACCCAGTCAAATTGAGTAGTGGCTACAA AGATGTGATACTTTGGTTTAGCTTCGGGGCATCATGCTTTTGGCTTCT TGCCATTGCAATGGGCCTTGTTTTCATATGTGTGAAGAACGGAAACA TGCGGTGCACTATTTGTATATAA
44	외피 ; RRV	AGTGTAAACAGAGCACTTTAATGTGTATAAGGCTACTAGACCATACCT AGCACATTGCGCCGATTGCGGGGACGGGTACTTCTGCTATAGCCAG TTGCTATCGAGGAGATCCGAGATGAGGCGTCTGATGGCATGCTTAA GATCCAAGTCTCCGCCCAAATAGGTCTGGACAAGGCAGGCACCCAC GCCCACACGAAGCTCCGATATATGGCTGGTCATGATGTTTCAGGAATC TAAGAGAGATTCTTGAGGGTGTACACGTCCGCAGCGTGCTCCATAC ATGGGACGATGGGACACTTCATCGTCGCACACTGTCCACCAGGCGA CTACCTCAAGGTTTCGTTTCGAGGACGCAGATTTCGCACGTGAAGGCAT GTAAGGTCCAATACAAGCACAATCCATTGCCGGTGGGTAGAGAGAA GTTTCGTGGTTAGACCACACTTTGGCGTAGAGCTGCCATGCACCTCAT ACCAGCTGACAACGGCTCCCACCGACGAGGAGATTGACATGCATAC ACCGCCAGATATACCGGATCGCACCCCTGCTATCACAGACGGCGGGC AACGTCAAAAATAACAGCAGGCGGCAGGACTATCAGGTACAACGTGA CCTGCGGCCGTGACAACGTAGGCACTACCAGTACTGACAAGACCAT CAACACATGCAAGATTGACCAATGCCATGCTGCCGTACCAGCCAT GACAAATGGCAATTTACCTCTCCATTTGTTCCAGGGCTGATCAGAC AGCTAGGAAAGGCAAGGTACACGTTCCGTTCCTCTGACTAACGTCA CCTGCCGAGTGCCGTTGGCTCGAGCGCCGGATGCCACCTATGGTAAG AAGGAGGTGACCCTGAGATTACACCCAGATCATCCGACGCTCTTCTC CTATAGGAGTTTAGGAGCCGAACCGCACCCGTACGAGGAATGGGTT GACAAGTTCTCTGAGCGCATCATCCAGTGACGGAAGAAGGGATTG AGTACCAGTGGGGCAACAACCCGCCGGTCTGCCTGTGGGCGCAACT GACGACCGAGGGCAAAACCCATGGCTGGCCACATGAAATCATTAG TACTATTATGGACTATACCCCGCCGCCACTATTGCCGCAGTATCCGG GGCGAGTCTGATGGCCCTCCTAACTCTGGCGGCCACATGCTGCATGC TGCCACCGCGAGGAGAAAAGTGCCTAACACCGTACGCCCTGACGCC AGGAGCGGTGGTACCGTTGACACTGGGGCTGCTTTGCTGCGCACCG AGGGCGAATGCA
45	외피 ;	ATGGAAGGTCCAGCGTTCTCAAAACCCCTTAAAGATAAGATTAACC

[0238]

MLV 10A1	<p>CGTGGAAGTCCTTAATGGTCATGGGGGTCTATTAAAGAGTAGGGATG GCAGAGAGCCCCATCAGGTCTTTAATGTAACCTGGAGAGTCACCA ACCTGATGACTGGGCGTACCGCCAATGCCACCTCCCTTTTAGGAACT GTACAAGATGCCTTCCCAAGATTATATTTTGATCTATGTGATCTGGT CGGAGAAGAGTGGGACCCCTTCAGACCAGGAACCATATGTCGGGTAT GGCTGCAAATACCCCGGAGGGAGAAAGCGGACCCGGACTTTTACT TTTACGTGTGCCCTGGGCATACCGTAAAATCGGGGTGTGGGGGGCC AAGAGAGGGCTACTGTGGTGAATGGGGTTGTGAAACCACCGGACAG GCTTACTGGAAGCCACATCATCATGGGACCTAATCTCCCTTAAGCG CGGTAACACCCCCTGGGACACGGGATGCTCCAAAATGGCTTGTGGC CCCTGCTACGACCTCTCCAAAGTATCCAATTCCTTCCAAGGGGCTAC TCGAGGGGGCAGATGCAACCCTCTAGTCCTAGAATTCACTGATGCA GGAAAAAGGCTAATTGGGACGGGGCCAAATCGTGGGGACTGAGAC TGTACCGGACAGGAACAGATCCTATTACCATGTTCTCCCTGACCCGC CAGGTCTCAATATAGGGCCCCGCATCCCCATTGGGCCTAATCCCGT GATCACTGGTCAACTACCCCCCTCCCGACCCGTGCAGATCAGGCTCC CCAGGCCTCCTCAGCCTCCTCCTACAGGCGCAGCCTCTATAGTCCCT GAGACTGCCCCACCTTCTCAACAACCTGGGACGGGAGACAGGCTGC TAAACCTGGTAGAAGGAGCCTATCAGGCGCTTAACCTACCAATCCC GACAAGACCCAAGAATGTTGGCTGTGCTTAGTGTCTGGGACCTCCTTA TTACGAAGGAGTAGCGGTCGTGGGCACTTATACCAATCATTCTACCG CCCCGGCCAGCTGTACGGCCACTTCCCAACATAAGCTTACCCTATCT GAAGTGACAGGACAGGGCCTATGCATGGGAGCACTACCTAAACTC ACCAGGCCTTATGTAACACCACCCAAAGTGCCGGCTCAGGATCTAC TACCTTGCAGCACCCGCTGGAACAATGTGGGCTTGTAGCACTGGATT GACTCCCTGCTTGCCACCACGATGCTCAATCTAACCACAGACTATT GTGTATTAGTTGAGCTCTGGCCCAGAATAATTTACCACTCCCCGAT TATATGTATGGTCAGCTTGAACAGCGTACCAAATATAAGAGGGAGC CAGTATCGTTGACCCTGGCCCTTCTGCTAGGAGGATTAACCATGGGA GGGATTGCAGCTGGAATAGGGACGGGGACCACTGCCCTAATCAAAA CCCAGCAGTTTGAGCAGCTTCACGCCGCTATCCAGACAGACCTCAAC GAAGTCGAAAAATCAATTACCAACCTAGAAAAGTCACTGACCTCGT TGTCTGAAGTAGTCCTACAGAACCGAAGAGGCCTAGATTGCTCTTC CTAAAAGAGGGAGGTCTCTGCGCAGCCCTAAAAGAAGAATGTTGTT TTTATGCAGACCACACGGGACTAGTGAGAGACAGCATGGCCAACT AAGGGAAAGGCTTAATCAGAGACAAAACTATTTGAGTCAGGCCAA GGTTGGTTCGAAGGGCAGTTTAATAGATCCCCCTGGTTTACCACCTT AATCTCCACCATCATGGGACCTCTAATAGTACTCTTACTGATCTTACT</p>
----------	---

[0239]

		CTTTGGACCCTGCATTCTCAATCGATTGGTCCAATTTGTTAAAGACA GGATCTCAGTGGTCCAGGCTCTGGTTTTGACTCAACAATATCACCAG CTAAAACCTATAGAGTACGAGCCATGA
46	외피 ; 에볼라	ATGGGTGTTACAGGAATATTGCAGTTACCTCGTGATCGATTCAAGAG GACATCATTCTTTCTTTGGGTAATTATCCTTTTCCAAAGAACATTTTC CATCCCACTTGGAGTCATCCACAATAGCACATTACAGGTTAGTGATG TCGACAAACTGGTTTGCCGTGACAACTGTATCCACAAATCAATTG AGATCAGTTGGACTGAATCTCGAAGGGAATGGAGTGGCAACTGACG TGCCATCTGCAACTAAAAGATGGGGCTTCAGGTCCGGTGTCCACCA AAGGTGGTCAATTATGAAGCTGGTGAATGGGCTGAAAAGTGTCTACA ATCTTGAAATCAAAAAACCTGACGGGAGTGAGTGTCTACCAGCAGC GCCAGACGGGATTCTGGGGCTTCCCCCGGTGCCGGTATGTGCACAAA GTATCAGGAACGGGACCGTGTGCCGGAGACTTTGCCTTCCACAAAG AGGGTGCTTTCTTCCTGTATGACCGACTTGCTTCCACAGTTATCTACC GAGGAACGACTTTCGCTGAAGGTGTCGTTGCATTTCTGATACTGCCC CAAGCTAAGAAGGACTTCTTCAGCTCACACCCCTTGAGAGAGCCGG TCAATGCAACGGAGGACCCGTCTAGTGGCTACTATTCTACCACAATT AGATATCAAGCTACCGGTTTTGGAACCAATGAGACAGAGTATTTGTT CGAGGTTGACAATTTGACCTACGTCCAACCTGAATCAAGATTCACAC CACAGTTTCTGCTCCAGCTGAATGAGACAATATATACAAGTGGGAA AAGGAGCAATACCACGGGAAAACTAATTTGGAAGGTCAACCCCGAA ATTGATACAACAATCGGGGAGTGGGCCTTCTGGGAACTAAAAAAA CCTCACTAGAAAAATTCGCAGTGAAGAGTTGTCTTTCACAGCTGTAT CAAACAGAGCCAAAAACATCAGTGGTCAGAGTCCGGCGCGAACTTC TTCCGACCCAGGGACCAACACAACAACTGAAGACCACAAAATCATG GCTTCAGAAAATTCCTCTGCAATGGTTCAAGTGCACAGTCAAGGAA GGGAAGCTGCAGTGTGCGATCTGACAACCCTTGCCACAATCTCCACG AGTCCTCAACCCCCACAACCAACCAGGTCCGGACAACAGCACCC ACAATACACCCGTGTATAAACTTGACATCTCTGAGGCAACTCAAGTT GAACAACATCACCGCAGAACAGACAACGACAGCACAGCCTCCGACA CTCCCCCGCCACGACCGCAGCCGGACCCCTAAAAGCAGAGAACAC CAACACGAGCAAGGGTACCGACCTCCTGGACCCCGCCACCACAACA AGTCCCCAAAACCACAGCGAGACCGCTGGCAACAACAACACTCATC ACCAAGATACCGGAGAAGAGAGTGCCAGCAGCGGGAAGCTAGGCTT AATTACCAATACTATTGCTGGAGTCGCAGGACTGATCACAGGCGGG AGGAGAGCTCGAAGAGAAGCAATTGTCAATGCTCAACCCAAATGCA ACCCTAATTTACATTACTGGACTACTCAGGATGAAGGTGCTGCAATC GGACTGGCCTGGATACCATATTTCTGGGCCAGCAGCCGAGGGAATTT

[0240]

		ACATAGAGGGGCTGATGCACAATCAAGATGGTTTAATCTGTGGGTT GAGACAGCTGGCCAACGAGACGACTCAAGCTCTTCAACTGTTCTTG AGAGCCACAACCGAGCTACGCACCTTTTCAATCCTCAACCGTAAGGC AATTGATTTCTTGCTGCAGCGATGGGGCGGCACATGCCACATTTTGG GACCGGACTGCTGTATCGAACCACATGATTGGACCAAGAACATAAC AGACAAAATTGATCAGATTATTCATGATTTTGTGATAAAACCCCTC CGGACCAGGGGGACAATGACAATTGGTGGACAGGATGGAGACAAT GGATACCGGCAGGTATTGGAGTTACAGGCGTTATAATTGCAGTTATC GCTTTATTCTGTATATGCAAATTTGTCTTTTAG
47	좌측 ITR	CCTGCAGGCAGCTGCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGGCCGCCGGGC AAAGCCCGGGCGTCGGGCGACCTTTGGTCGCCCGGCCTCAGTGAGC GAGCGAGCGCGCAGAGAGGGAGTGGCCAACTCCATCACTAGGGGTT CCT
48	프로트롬빈 인핸서	GCGAGAACTTGTGCCTCCCCGTGTTCTGCTCTTTGTCCCTCTGTCCT ACTTAGACTAATATTTGCCCTGGGTACTGCAAACAGGAAATGGGGG AGGGACAGGAGTAGGGCGGAGGGTAG
49	폴리 A	GACTGTGCCTTCTAGTTGCCAGCCATCTGTTGTTTGCCCTCCCCCGT GCCTTCCTTGACCCTGGAAGGTGCCACTCCCACTGTCTTTCCTAATA AAATGAGGAAATTGCATCGCATTGTCTGAGTAGGTGTCATTCTATTC TGGGGGGTGGGGTGGGGCAGGACAGCAAGGGGGAGGATTGGGAAG ACAATAGCAGGCATGCTGGGGATGCGGTGGGCTCTATGGC
50	우측 ITR	AGGAACCCCTAGTGATGGAGTTGGCCACTCCCTCTCTGCGCGCTCGC TCGCTCACTGAGGCCGGGCGACCAAAGGTGCCCCGACGCCCGGGCT TTGCCCCGGGCGGCCTCAGTGAGCGAGCGAGCGCGCAGCTGCCTGCA GG
51	E2A	TTAAAAGTCGAAGGGGTTCTCGCGCTCGTCGTTGTGCGCCGCGCTGG GGAGGGCCACGTTGCGGAACTGGTACTTGGGCTGCCACTTGAATC GGGGATCACAGTTTGGGCACTGGGGTCTCGGGGAAGGTCTCGCTC CACATGCGCCGGCTCATCTGCAGGGCGCCCAGCATGTCAGGCGCGG AGATCTTGAAATCGCAGTTGGGGCCGGTGTCTGCGCGCGCGAGTTG CGGTACACTGGGTTGCAGCACTGGAACACCATCAGACTGGGGTACT TCACACTAGCCAGCACGCTCTTGTGCTGATCTGATCCTTGTCAGG TCCTCGGCGTTGCTCAGGCCGAACGGGGTCATCTTGACAGCTGGCG GCCCAGGAAGGGCACGCTCTGAGGCTTGTTGGTTACACTCGCAGTGC ACGGGCATCAGCATCATCCCCGCGCCGCTGCATATTCGGGTAGA GGGCCTTGACGAAGGCCGCGATCTGCTTGAAAGCTTGCTGGGCCTTG GCCCCCTCGCTGAAAAACAGGCCGAGCTCTTCCCGCTGAACTGATT

[0241]

		<p>ATTCCCGCACCCGGCATCATGGACGCAGCAGCGCGCGTCATGGCTG GTCAGTTGCACCACGCTCCGTCCCCAGCGGTTCTGGGTACCTTGGC CTTGCTGGGTTGCTCCTTCAGCGCACGCTGCCCCGTTCTACTGGTCAC ATCCATCTCCACCACGTGGTCCTTGTGGATCATACCGTCCCATGCA GACACTTGAGCTGGCCTTCCACCTCGGTGCAGCCGTGGTCCCACAGG GCACTGCCGGTGCACCTCCAGTTCTTGTGCGCGATCCCCTGTGGCT GAAGATGTAACCTTGCAACAGGCGACCCATGATGGTGCTAAAGCTC TTCTGGGTGGTGAAGGTCAGTTGCAGACCGCGGGCCTCCTCGTTCAT CCAGGTCTGGCACATCTTTTGAAGATCTCGGTCTGCTCGGGCATGA GCTTGTAAGCATCGCGCAGGCCGCTGTCGACGCGGTAGCGTTCCATC AGCACATTCATGGTATCCATGCCCTTCTCCAGGACGAGACCAGAGG CAGACTCAGGGGGTTGCGCACGTTCAAGACACCGGGGGTCGCGGGC TCGACGATGCGTTTTCCGTCCTTGCCTTCTTCAACAGAACCGGCGG CTGGCTGAATCCCACTCCCACGATCACGGCTTCTTCTGGGGCATCT CTTCGTCTGGGTCTACCTTGGTCACATGCTTGGTCTTCTGGCTTGCT TCTTTTTTGAGGGCTGTCCACGGGGACCACGTCTCCTCGGAAGAC CCGATCCCAACCGCTGATACTTTCGGCGCTTGGTTGGCAGAGGAGG TGCGGCGAGGGGCTCCTCTCCTGCTCCGGCGGATAGCGCGCTGAA CCGTGGCCCCGGGGCGGAGTGGCCTCTCGGTCCATGAACCGGCGCA CGTCCTGACTGCCGCCGGCCAT</p>
52	E4	<p>TCATGTATCTTTATTGATTTTTACACCAGCACGGGTAGTCAGTCTCCC ACCACCAGCCATTTACAGTGTAACAATTCTCTCAGCACGGGTGG CCTTAAATAGGGCAATATTCTGATTAGTGCGGAACTGGACTTGGGG TCTATAATCCACACAGTTTCTGGCGAGCCAAACGGGGGTCGGTGAT TGAGATGAAGCCGTCTCTGAAAAGTCATCCAAGCGAGCCTCACAG TCCAAGGTCACAGTATTATGATAATCTGCATGATCACAATCGGGCAA CAGGGGATGTTGTTCACTAGTGAAGCCCTGGTTTCTCATCAGATC GTGGTAAACGGGCCCTGCGATATGGATGATGGCGGAGCGAGCTGGA TTGAATCTCGGTTTGCA</p>
53	VA RNA	<p>AGCGGGCACTCTTCCGTGGTCTGGTGGATAAATTCGAAGGTATCA TGGCGGACGACCGGGGTTTCGAGCCCCGTATCCGGCCGTCCGCCGTG ATCCATGCGGTTACCGCCCGGTGTGGAACCCAGGTGTGCGACGTCA GACAACGGGGGAGTGCTCCTTT</p>
54	AAV2 Rep	<p>ATGGCTGCCGATGGTTATCTTCCAGATTGGCTCGAGGACACTCTCTC TGAAGGAATAAGACAGTGGTGGAAGCTCAAACCTGGCCCACCACCA CCAAAGCCCCGAGAGCGGCATAAGGACGACAGCAGGGGTCTTGTGC TTCCTGGGTACAAGTACCTCGGACCCTTCAACGGAAGTCTGACAAGGG AGAGCCGGTCAACGAGGACAGACGCCGCGGCCCTCGAGCACGACAAA</p>

[0242]

	<p>GCCTACGACCGGCAGCTCGACAGCGGAGACAACCCGTACCTCAAGT ACAACCACGCCGACGCGGAGTTTCAGGAGCGCCTTAAAGAAGATAC GTCTTTTGGGGGCAACCTCGGACGAGCAGTCTTCCAGGCGAAAAAG AGGGTTCTTGAACCTCTGGGCCTGGTTGAGGAACCTGTTAAGACGGC TCCGGGAAAAAAGAGGCCGGTAGAGCACTCTCCTGTGGAGCCAGAC TCCTCCTCGGGAACCGGAAAGGCGGGCCAGCAGCCTGCAAGAAAAA GATTGAATTTTGGTCAGACTGGAGACGCAGACTCAGTACCTGACCCC CAGCCTCTCGGACAGCCACCAGCAGCCCCCTCTGGTCTGGGAACTAA TACGATGGCTACAGGCAGTGGCGCACCAATGGCAGACAATAACGAG GCGCGCGACGGAGTGGGTAAATCCTCGGGAATTTGGCATTGCGATT CCACATGGATGGGCGACAGAGTCATCACCACCAGCACCCGAACCTG GGCCCTGCCACCTACAACAACCACCTCTACAAACAAATTTCCAGCC AATCAGGAGCCTCGAACGACAATCACTACTTTGGCTACAGCACCCCT TGGGGGTATTTGACTTCAACAGATTCCACTGCCACTTTTACCACG TGAATGCGAAAGACTCATCAACAACAACCTGGGGATTCCGACCCAAG AGACTCAACTTCAAGCTCTTTAACATTCAAGTCAAAGAGGTCACGCA GAATGACGGTACGACGAGATTGCCAATAACCTTACCAGCACGGTT CAGGTGTTTACTGACTCGGAGTACCAGCTCCCGTACGTCCTCGGCTC GGCGCATCAAGGATGCCTCCCGCCGTTCCAGCAGACGTCTTCATGG TGCCACAGTATGGATACCTCACCTGAACAACGGGAGTCAGGCAGT AGGACGCTCTTCATTTTACTGCCTGGAGTACTTTCCTTCTCAGATGCT GCGTACCGGAAACAACCTTTACCTTCAGCTACACTTTTGAGGACGTTT CTTTCCACAGCAGCTACGCTCACAGCCAGAGTCTGGACCGTCTCATG AATCCTCTCATCGACCAGTACCTGTATTACTTGAGCAGAAACAAAC TCCAAGTGGAACCAACACGAGTCAAGGCTTCAGTTTTCTCAGGCCG GAGCGAGTGACATTCGGGACCAGTCTAGGAACTGGCTTCTTGACC CTGTTACCGCCAGCAGCGAGTATCAAAGACATCTGCGGATAACAAC AACAGTGAATACTCGTGGACTGGAGCTACCAAGTACCACCTCAATG GCAGAGACTCTCTGGTGAATCCGGGGCCCGCCATGGCAAGCCACAA GGACGATGAAGAAAAGTTTTTCTCAGAGCGGGTTTCTCATCTTTG GGAAGCAAGGCTCAGAGAAAACAAATGTGGACATTGAAAAGGTCAT GATTACAGACGAAGAGGAAATCAGGACAACCAATCCCGTGGCTACG GAGCAGTATGGTTCTGTATCTACCAACCTCCAGAGAGGCAACAGAC AAGCAGCTACCGCAGATGTCAACACACAAGGCGTTCTTCCAGGCAT GGTCTGGCAGGACAGAGATGTGTACCTTCAGGGGCCCATCTGGGCA AAGATTCCACACCGGACGGACATTTTCACCCCTCTCCCTCATGGG TGGATTTCGACTTAAACACCCTCCTCCACAGATTCTCATCAAGAACA CCCCAGTACCTGCGAATCCTTCGACCACCTTCAGTGCGGCAAAGTTT</p>
--	---

[0243]

		GCTTCCTTCATCACACAGTACTCCACGGGACAGGTCAGCGTGGAGAT CGAGTGGGAGCTGCAGAAGGAAAACAGCAAACGCTGGAATCCCGA AATTCAGTACACTTCCAACATAACAAGTCTGTTAATGTGGACTTTA CTGTGGACACTAATGGCGTGTATTAGAGCCTCGCCCCATTGGCACC AGATACCTGACTCGTAATCTGTAA
55	AAV2 Cap	ATGCCGGGGTTTTACGAGATTGTGATTAAGGTCCCCAGCGACCTTGA CGAGCATCTGCCCCGGCATTCTGACAGCTTTGTGAACTGGGTGGCCG AGAAGGAATGGGAGTTGCCGCCAGATTCTGACATGGATCTGAATCT GATTGAGCAGGCACCCCTGACCGTGGCCGAGAAGCTGCAGCGCGAC TTTCTGACGGAATGGCGCCGTGTGAGTAAGGCCCGGAGGCCCTTTT CTTTGTGCAATTTGAGAAGGGAGAGAGCTACTTCCACATGCACGTGC TCGTGGAACCACCGGGGTGAAATCCATGGTTTTGGGACGTTTCCTG AGTCAGATTTCGCAAAAACTGATTCAGAGAATTTACCGCGGGATCG AGCCGACTTTGCCAAACTGGTTCGCGGTACAAAAGACCAGAAATGG CGCCGGAGGCGGGAACAAGGTGGTGGATGAGTGCTACATCCCCAAT TACTTGCTCCCCAAAACCCAGCCTGAGCTCCAGTGGGCGTGGACTAA TATGGAACAGTATTTAAGCGCCTGTTTGAATCTCACGGAGCGTAAAC GGTTGGTGGCGCAGCATCTGACGCACGTGTCGACAGCGCAGGAGCA GAACAAAGAGAATCAGAATCCCAATTCTGATGCGCCGGTGATCAGA TCAAAAACTTCAGCCAGGTACATGGAGCTGGTCGGGTGGCTCGTGG ACAAGGGGATTACCTCGGAGAAGCAGTGGATCCAGGAGGACCAGGC CTCATACATCTCCTTCAATGCGGCCTCCAACCTCGCGGTCCCAAATCA AGGCTGCCTTGGACAATGCGGGAAAGATTATGAGCCTGACTAAAAC CGCCCCGACTACCTGGTGGGCCAGCAGCCCGTGGAGGACATTTCC AGCAATCGGATTTATAAAATTTTGGAACTAAACGGGTACGATCCCCA ATATGCGGCTTCCGTCTTTCTGGGATGGGCCACGAAAAAGTTCGGCA AGAGGAACACCATCTGGCTGTTTGGGCCTGCAACTACCGGGAAGAC CAACATCGCGGAGGCCATAGCCCACACTGTGCCCTTCTACGGGTGCG TAAACTGGACCAATGAGAAGTTCCCTTCAACGACTGTGTCGACAAG ATGGTGATCTGGTGGGAGGAGGGGAAGATGACCGCCAAGGTCGTGG AGTCGGCCAAAGCCATTCTCGGAGGAAGCAAGGTGCGCGTGGACCA GAAATGCAAGTCCTCGGCCAGATAGACCCGACTCCCGTGATCGTC ACCTCCAACACCAACATGTGCGCCGTGATTGACGGGAACCTAACGA CCTTCGAACACCAGCAGCCGTTGCAAGACCGGATGTTCAAATTTGAA CTACCCGCCGTCTGGATCATGACTTTGGGAAGGTCACCAAGCAGG AAGTCAAAGACTTTTCCGGTGGGCAAAGGATCACGTGGTTGAGGT GGAGCATGAATTCTACGTCAAAAAGGGTGGAGCCAAGAAAAGACCC GCCCCAGTGACGCAGATATAAGTGAGCCCAAACGGGTGCGCGAGT

[0244]

		CAGTTGCGCAGCCATCGACGTCAGACGCGGAAGCTTCGATCAACTA CGCAGACAGGTACCAAAACAAATGTTCTCGTCACGTGGGCATGAAT CTGATGCTGTTTCCCTGCAGACAATGCGAGAGAATGAATCAGAATT AAATATCTGCTTCACTCACGGACAGAAAGACTGTTTAGAGTGCTTTC CCGTGTCAGAATCTCAACCCGTTTCTGTCTGTCAAAAAGGCGTATCAG AAACTGTGCTACATTCATCATATCATGGGAAAGGTGCCAGACGCTTG CACTGCCTGCGATCTGGTCAATGTGGATTTGGATGACTGCATCTTTG AACAATAA
56	RRE 및 토끼 베타 글로빈 폴리 A 를 함유하는 DNA 단편	TCTAGAAGGAGCTTTGTTCCCTTGGGTTCTTGGGAGCAGCAGGAAGCA CTATGGGCGCAGCGTCAATGACGCTGACGGTACAGGCCAGACAATT ATTGCTGTTATAGTGCAGCAGCAGAACAATTTGCTGAGGGCTATTG AGGCGCAACAGCATCTGTTGCAACTCACAGTCTGGGGCATCAAGCA GCTCCAGGCAAGAATCCTGGCTGTGGAAAGATACCTAAAGGATCAA CAGCTCCTAGATCTTTTCCCTCTGCCAAAAATTATGGGGACATCAT GAAGCCCCTTGAGCATCTGACTTCTGGCTAATAAAGGAAATTTATTT TCATTGCAATAGTGTGTTGGAATTTTTTGTGTCTCTCACTCGGAAGG ACATATGGGAGGGCAAAATCATTTAAAACATCAGAATGAGTATTTGG TTTAGAGTTTGGCAACATATGCCATATGCTGGCTGCCATGAACAAAG GTGGCTATAAAGAGGTCATCAGTATATGAAACAGCCCCCTGCTGTCC ATTCCCTATTCCATAGAAAAGCCTTGACTTGAGGTTAGATTTTTTTTA TATTTTGTGTTGTTATTTTTTCTTTAACATCCCTAAAATTTTCCTT ACATGTTTTACTAGCCAGATTTTTCTCCTCTCCTGACTACTCCCAGT CATAGCTGTCCCTCTCTCTTATGAAGATCCCTCGACCTGCAGCCCA AGCTTGGCGTAATCATGGTCATAGCTGTTTCTGTGTGAAATTGTTA TCCGCTCACAATTCCACACAACATACGAGCCGGAAGCATAAAGTGT AAAGCCTGGGGTGCCTAATGAGTGAGCTAACTCACATTAATTGCGTT GCGCTCACTGCCCGCTTCCAGTCGGGAAACCTGTCGTGCCAGCGGA TCCGCATCTCAATTAGTCAGCAACCATAGTCCCGCCCCTAACTCCGC CCATCCCGCCCCTAACTCCGCCAGTTCGCCCCATTCTCGCCCCAT GGCTGACTAATTTTTTTTATTTATGCAGAGGCCGAGGCCGCTCGGC CTCTGAGCTATTCCAGAAGTAGTGAGGAGGCTTTTTTGGAGGCCTAG GCTTTTGCAAAAAGCTAAGTTGTTTATTGCAGCTTATAATGGTTACA AATAAAGCAATAGCATCACAATTTACAAATAAAGCATTTTTTTTCA CTGCATTCTAGTTGTGGTTGTCCAACTCATCAATGTATCTTATCAC CCGGG
57	전체 5' 및 3' UTR 을 갖는 hPAH	GGCACGAGGTACCTGAGGCCCTAAAAAGCCAGAGACCTCACTCCCG GGGAGCCAGCATGTCCACTGCGGTCCTGGAAAACCCAGGCTTGGGC AGGAAACTCTCTGACTTTGGACAGGAAACAAGCTATATTGAAGACA

[0245]

	<p> ACTGCAATCAAAATGGTGCCATATCACTGATCTTCTCACTCAAAGAA GAAGTTGGTGCAATTGGCCAAAGTATTGCGCTTATTTGAGGAGAATGA TGTAACCTGACCCACATTGAATCTAGACCTTCTCGTTTAAAGAAAG ATGAGTATGAATTTTTCACCCATTTGGATAAACGTAGCCTGCCTGCT CTGACAAAACATCATCAAGATCTTGAGGCATGACATTGGTGCCACTGT CCATGAGCTTTCACGAGATAAGAAGAAAGACACAGTGCCCTGGTTC CCAAGAACCATTCAAGAGCTGGACAGATTTGCCAATCAGATTCTCA GCTATGGAGCGGAAGTGGATGCTGACCACCCTGGTTTTAAAGATCCT GTGTACCGTGCAAGACGGAAGCAGTTTGCTGACATTGCCTACAATA CCGCCATGGGCAGCCCATCCCTCGAGTGGAATACATGGAGGAAGAA AAGAAAACATGGGGCACAGTGTTCAAGACTCTGAAGTCCTTGTATA AAACCCATGCTTGCTATGAGTACAATCACATTTTCCACTTCTTGAA AAGTACTGTGGCTTCCATGAAGATAACATTCCCCAGCTGGAAGACGT TTCTCAGTTCCTGCAGACTTGCACTGGTTTCCGCCTCCGACCTGTAGC TGGCCTGCTTTCCTCTCGGGATTTCTTGGGTGGCCTGGCCTTCCGAGT CTCCACTGCACACAGTACATCAGACATGGATCCAAGCCCATGTATA CCCCCGAACCTGACATCTGCCATGAGCTGTTGGGACATGTGCCCTTG TTTTCAGATCGCAGCTTTGCCAGTTTCCCAGGAAATTGGCCTTGCC TCTCTGGGTGCACCTGATGAATACATTGAAAAGCTCGCCACAATTTA CTGGTTTACTGTGGAGTTTGGGCTCTGCAAACAAGGAGACTCCATAA AGGCATATGGTGCTGGGCTCCTGTCATCCTTTGGTGAATTACAGTAC TGCTTATCAGAGAAGCCAAAGCTTCTCCCCCTGGAGCTGGAGAAGA CAGCCATCCAAAATTACACTGTACGGAGTTCAGCCCCTGTATTAC GTGGCAGAGAGTTTTAATGATGCCAAGGAGAAAGTAAGGAACCTTG CTGCCACAATACCTCGGCCCTTCTCAGTTCGCTACGACCCATACACC CAAAGGATTGAGGTCTTGGACAATACCCAGCAGCTTAAGATTTTGGC TGATTCCATTAACAGTGAAATTGGAATCCTTTGCAGTGCCCTCCAGA AAATAAAGTAAAGCCATGGACAGAATGTGGTCTGTCAGCTGTGAAT CTGTTGATGGAGATCCAACATTTTCTTCATCAGAAAAAGTCCGAAA AGCAAACCTTAATTTGAAATAACAGCCTTAAATCCTTTACAAGATGG AGAAACAACAAATAAGTCAAAATAATCTGAAATGACAGGATATGAG TACATACTCAAGAGCATAATGGTAAATCTTTTGGGGTCATCTTTGAT TTAGAGATGATAATCCCATACTCTCAATTGAGTTAAATCAGTAATCT GTCGCATTTTCATCAAGATTAATTAATAATTTGGGACCTGCTTCATTCA AGCTTCATATATGCTTTGCAGAGAACTCATAAAGGAGCATATAAGG CTAAATGTAAACCCAAAGACTGTCATTAGAATTGAATTATTGGGCTT AATATAAATCGTAACCTATGAAGTTTATTTTTATTTTAGTTAACTAT GATTCCAATTACTACTTTGTTATTGTACCTAAGTAAATTTCTTTAAG </p>
--	--

[0246]

		TCAGAAGCCCATTTAAATAGTTACAAGCATTGAACTTCTTTAGTATT ATATTAATATAAAAAACATTTTGTATGTTTTATTGTAATCATAAATAC TGCTGTATAAGGTAATAAAACTCTGCACCTAATCCCATAACTTCCA GTATCATTTTCCAATTAATTATCAAGTCTGTTTTGGGAAACACTTTGA GGACATTTATGATGCAGCAGATGTTGACTAAAGGCTTGGTTGGTAGA TATTCAGGAAATGTTCACTGAATAAATAAGTAAATACATTATTGAAA AGCAAATCTGTATAAATGTGAAATTTTATTTGTATTAGTAATAAAA CATTAGTAGTTTAAACAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AACTCGACTCTAGATT
58	전체 5' UTR 및 절두된 3' UTR 을 갖는 hPAH	GGCACGAGGTACCTGAGGCCCTAAAAAGCCAGAGACCTCACTCCCG GGGAGCCAGCATGTCCACTGCGGTCTGGAAAACCCAGGCTTGGGC AGGAAACTCTCTGACTTTGGACAGGAAACAAGCTATATTGAAGACA ACTGCAATCAAAATGGTGCCATATCACTGATCTTCTCACTCAAAGAA GAAGTTGGTGCATTGGCCAAAGTATTGCGCTTATTTGAGGAGAATGA TGTAACCTGACCCACATTGAATCTAGACCTTCTCGTTAAAGAAAG ATGAGTATGAATTTTACCCATTTGGATAAACGTAGCCTGCCTGCT CTGACAAACATCATCAAGATCTTGAGGCATGACATTGGTGCCACTGT CCATGAGCTTTCACGAGATAAGAAGAAAGACACAGTGCCCTGGTTC CCAAGAACCATTCAAGAGCTGGACAGATTTGCCAATCAGATTCTCA GCTATGGAGCGGAACTGGATGCTGACCACCCTGGTTTTAAAGATCCT GTGTACCGTGCAAGACGGAAGCAGTTTGCTGACATTGCCTACAATA CCGCCATGGGCAGCCCATCCCTCGAGTGGAATACATGGAGGAAGAA AAGAAAACATGGGGCACAGTGTTCAAGACTCTGAAGTCCTTGTATA AAACCCATGCTTGCTATGAGTACAATCACATTTTCCACTTCTTGAA AAGTACTGTGGCTTCCATGAAGATAACATTCCCCAGCTGGAAGACGT TTCTCAGTTCTGACAGACTTGCACTGGTTTCCGCCTCCGACCTGTAGC TGGCCTGCTTTCCTCTCGGGATTTCTTGGGTGGCCTGGCCTCCGAGT CTTCCACTGCACACAGTACATCAGACATGGATCCAAGCCCATGTATA CCCCGAACCTGACATCTGCCATGAGCTGTTGGGACATGTGCCCTTG TTTTAGATCGCAGCTTTGCCAGTTTTCCAGGAAATTGGCCTTGCC TCTCTGGGTGCACCTGATGAATACATTGAAAAGCTCGCCACAATTTA CTGGTTTACTGTGGAGTTTGGGCTCTGCAACAAGGAGACTCCATAA AGGCATATGGTGCTGGGCTCCTGTCATCCTTTGGTGAATTACAGTAC TGCTTATCAGAGAAGCCAAAGCTTCTCCCCCTGGAGCTGGAGAAGA CAGCCATCCAAAATTACACTGTCACGGAGTTCCAGCCCCGTATTAC GTGGCAGAGAGTTTAAATGATGCCAAGGAGAAAGTAAGGAACTTTG CTGCCACAATACCTCGGCCCTTCTCAGTTCGCTACGACCCATACACC CAAAGGATTGAGGTCTTGACAATACCCAGCAGCTTAAGATTTTGGC

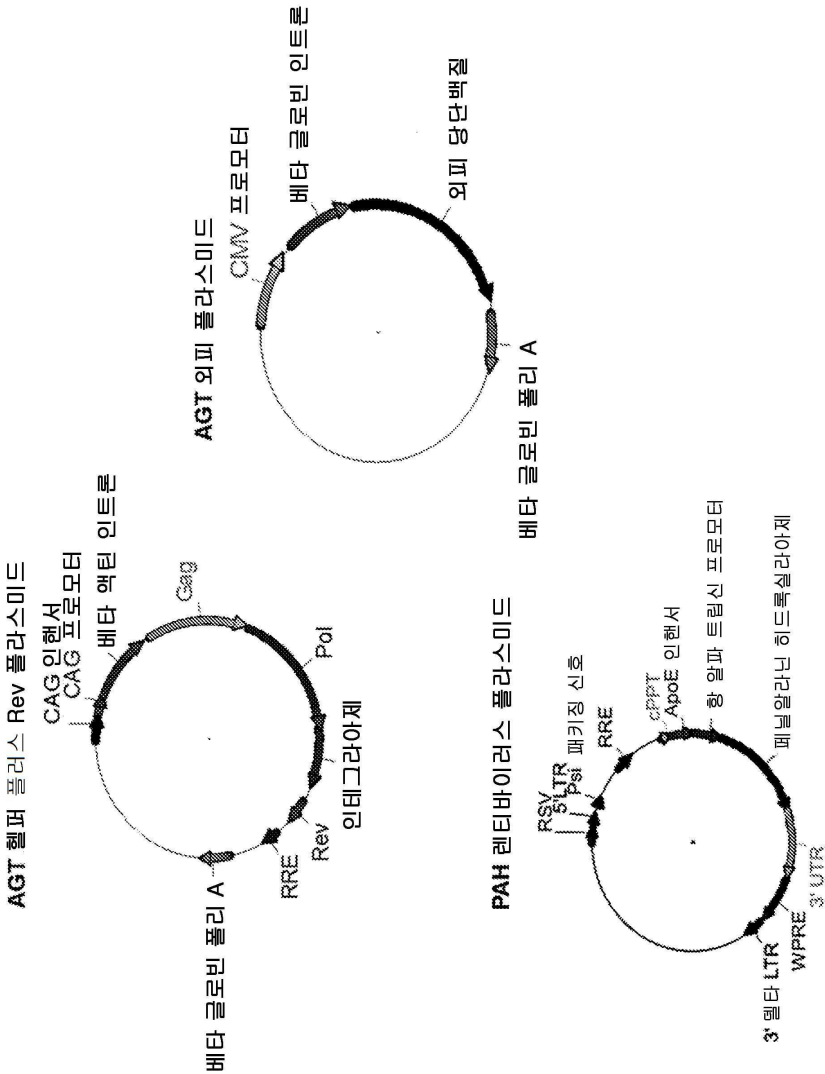
[0247]

		TGATTCCATTAAACAGTGAAATTGGAATCCTTTGCAGTGCCCTCCAGA AAATAAAGTAAAGCCATGGACAGAATGTTGCTGTGACAGCTGTGAAT CTGTTGATGGAGATCCAACATTTCTTTCATCAGAAAAAGTCCGAAA AGCAAACCTTAATTTGAAATAACAGCCTTAAATCCTTTACAAGATGG AGAAACAACAAATAAGTCAAAATAATCTGAAATGACAGGATATGAG TACATACTCAAGAGCATAATGGTAAATCTTTGGGGTCATCTTTGAT TTAGAGATGATAATCCCATACTCTCAATTGAGTTAAATCAGTAATCT GTCGCATTTTCATCAAGATTA
--	--	--

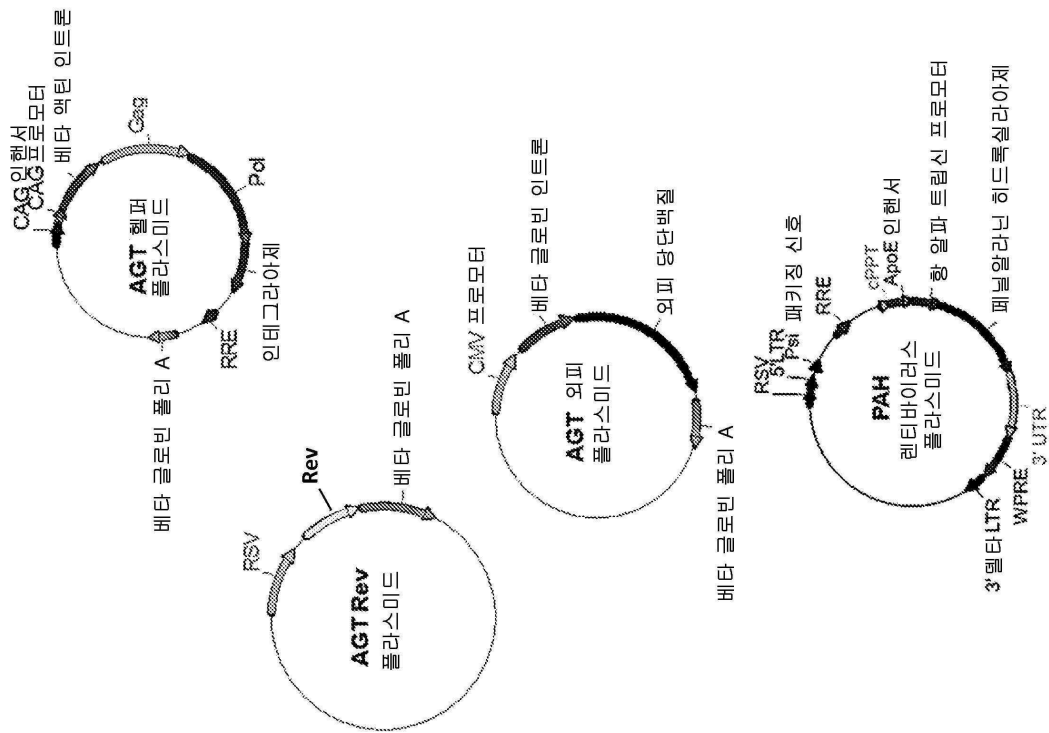
[0248]

도면

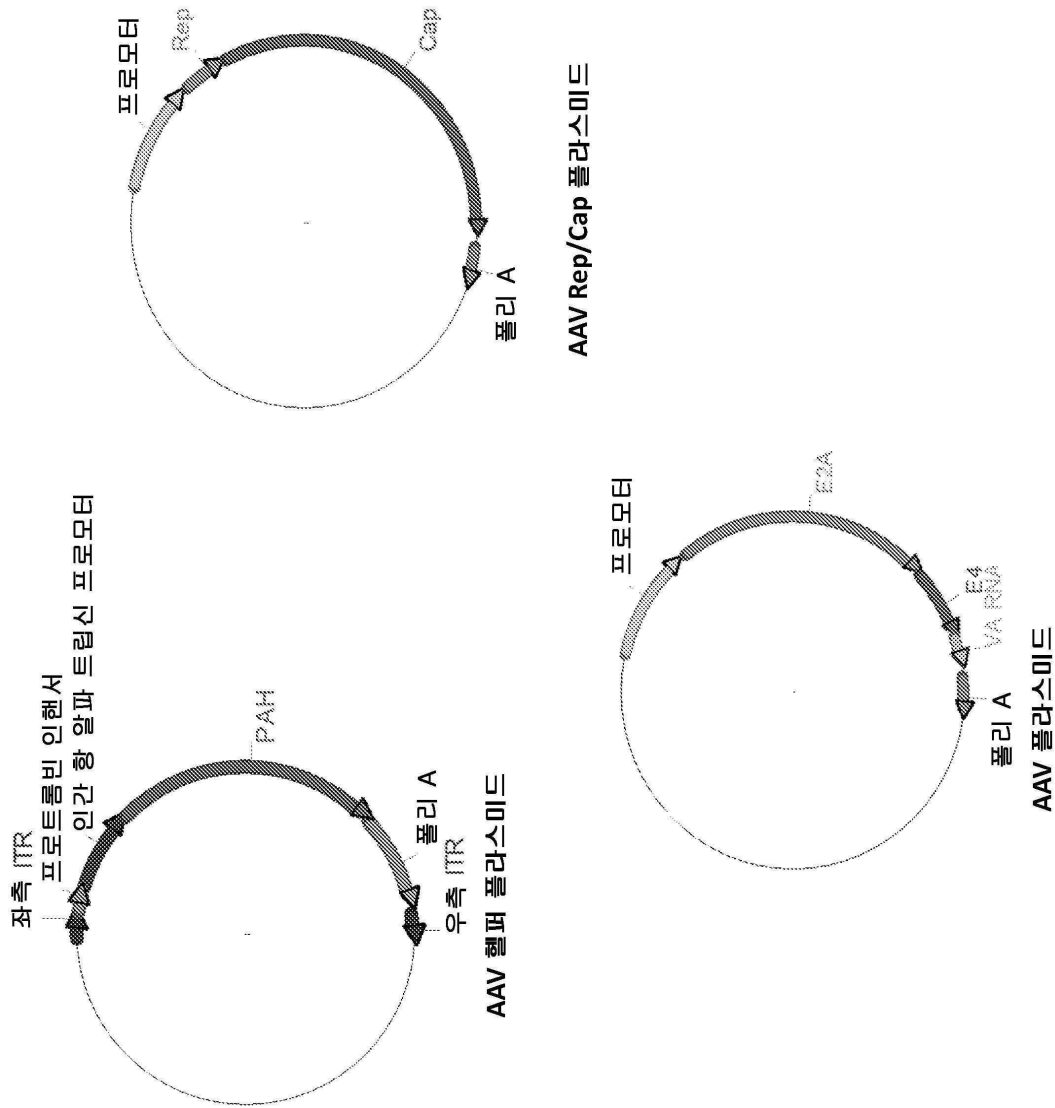
도면1



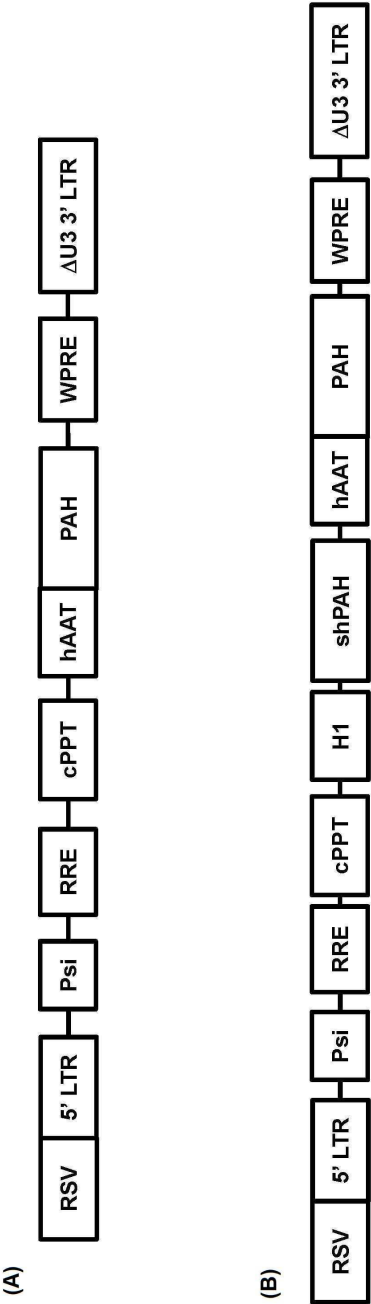
도면2



도면3



도면4



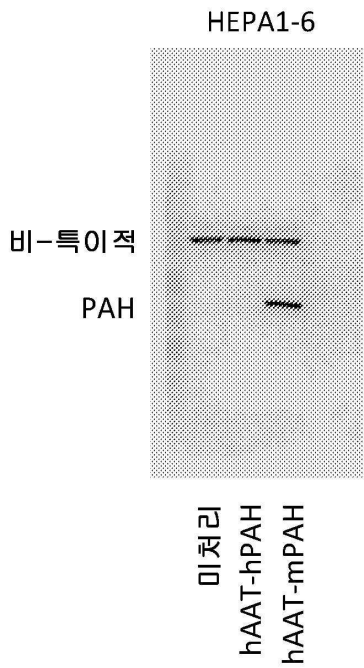
도면5

GGCACGAGGTACCTGAGGCCCTAAAAAGCCAGAGACCTCACTCCCGGGGAGCCAGCATGTCACCTGCGTCTCTGGAAACCCAGGCTTGGG
CAGGAAACTCTGACTTTGGACAGGAAACAAGCTATATTGAAGACAACCTGCAATCAAAATGGTCCATATCACTGATCTTCTCACTCAAGAA
GAAGTTGGTGCAATGGCCAAAGTATTGCGCTTATTTGAGGAGAAATGATGTAACCTGACCCACATTGAATCTAGACCTTCTCGTTTAAAGAAA
GATGAGTATGAATTTTACCCATTGGATAAACGTAGCTGCTGCTGACAAACATCAAGATCTTGAAGCATGACATGGTGCCACTG
TCCATGAGCTTTACGAGATAAGAGAAAGACACAGTGCCTGTTCCCAAGAACCATTCAGAGCTGGACAGATTTGCCAATCAGATTCTCA
GCTATGAGCGAACTGGATGCTGACCACTGGTTTTAAAGATCCTGTGACGAGGAGCAGTTTGTGACATTTGCCTACAACT
ACCGCATGGGCGAGCCATCCCTCGAGTGAATAACATGGAGGAAGAAAACAATGGGCGACAGTTTCAAGACTCTGAAGTCTTTGTAT
AAAACCATGCTTGTATGAGTACAATCACATTTTCCACTTCTGAAAGTACTGTGGCTTCCATGAAGATAACATTTCCAGCTGGAAGACGT
TTCTCAGTTCTGACAGCTTGCACTGGTTTCCGCTCCGACCTGAGCTGGCTGCTTCCCTCGGGATTTCTTGGTGGCTGGCTTCCGAG
TCTTCCACTGCACACAGTACATCAGACATGGATCCAAGCCCATGTATACCCCGAACCTGACATCTGCCATGAGCTGTTGGGACATGTGCCCTT
GTTTTCAGATCGCAGCTTTGCCAGTTTTCCAGGAAATTGGCTTGCCTCTCTGGGTGCACCTGATGAATACATTGAAAAGCTCGCCACAATTT
ACTGGTTTACTGTGGAGTTTGGGCTCTGCAACCAAGGAGACTCCATAAAGGCATATGGTGGGCTCTGTCTCTTGGTGAATTACAGT
ACTGCTTATCAGAGAGCCAAAGCTTCTCCCTGGAGCTGGAGAGGACAGCCATCCAAATTAACATGTACGGAGTTCCAGCCCTGTATTA
CGTGGCAGAGAGTTTAAATGATGCCAAGGAGAAAGTAAGAACTTTGCTGCCCAATACCTGGGCTTCTCAGTTGCTACGACCCATACAC
CCAAAGGATTGAGGCTTGGACAATACCCAGCAGCTTAAGATTTGGTGATTCCATTACAGTGAAATGGAAATCCTTGCAGTGCCCTCCAG
AAATAAAGTAAAGCCATGGACAGAAATGGTCTGCTGAGCTGAACTGTGATGGAGATCCAACTATTTCTTTCATCAGAAAAAGTCCGA
AAAGCAAACCTTAATTTGAAATAACAGCCTTAAATCCTTACAAGATGGAGAAACAACAATAAGTCAAAATTAATCTGAAATGACAGGATA
TGAGTACATACTCAAGAGCATAATGTTAAATCTTTGGGGTCACTTTGATTAGAGATGATAATCCCACTCTCAATTGAGTTAAATCAGT
AATCTGCGCATTTTCATCAAGATTAAATTAATAATTTGGGACCTGCTTCAAGCTTCATATATGCTTTCAGAGAACCTCATAAAGGAGCATA
TAAGGCTAAATGTAAACCCAGACTGTCAATTAGAATTGAATTTGGGCTTAATATAAATCGTAACCTATGAAGTTTATTTTATTAGT
TAACTATGATCCCAATTAATCTTGTATTGTACCTAAGTAAATTTCTTTAAGTCAGAAGCCCATTAATAATAGTTACAAGCATTGAATCTT
TTAGTATTATATAATAATAAACAATTTTGTATGTTTATGTAAATCAATAACTGCTGTATAAGGTAATAAACAATCTGCACCTAATCCCCA
TAACTCCAGTATCATTTTCCAATTAATTAATCAAGTCTGTTTGGGAAACACATTTGAGGACATTTATGATCGAGCAGATGTTGACTAAAGGCT
TGGTTGGTAGATATTCAGGAAATGTTCACTGAATAAATAAGTAAATACATTATTGAAAAGCAAAATCTGTATAAATGGAATTTTATTGT
ATTAGTAATAAACATTAGTAGTTTAAACAAAAAATTTTGGGACCTGCTTCAAGCTTCATATATGCTTTCAGAGAACCTCATAAAGGAGCATA

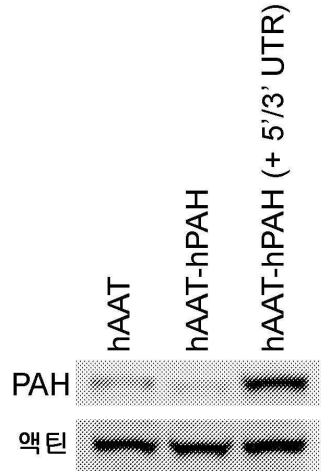
도면6

GGCACGAGGTACTGAGGCCCTAAAGCCAGAGACTCACTCCCGGGGAGCGAGCATGTCCACTGCGGTCCTGGAAAAACCC
 AGGCTTGGGCAGGAACTCTGACTTTGGACAGGAAACAAGCTATATTGAAGACAACCTGCAATCAAAATGGTGCCATATCACT
 GATCTTCACTCAAGAAAGAGTTGGTGCAATGGCCAAAGTATGCGCTTATTTGAGGAGAAATGATGAACCTGACCCACAT
 TGAATCTAGACCTTCTGTTTAAAGAAAGATGAGTATGAATTTTACCCTATTTGGATAAACGTAGCCTGCTGCTGACAAAC
 ATCATCAAGATCTTGAGGCATGACATTGGTGCCACTGTCCATGAGCTTTCACGAGATAAGAAAGAAAGACAGTGCCCTGGTTT
 CCAAGAACCATTTCAAGAGCTGGACAGATTGGCCAATCAGATTCTCAGCTATGGAGCGGAACCTGGATGCTGACCACTGGTTTT
 AAAGATCCTGTGTACCGTGCAAGACGGAAGCAGTTTGTGACATTGCCCTAACCTACCGCCATGGGCAGCCCATCCCTCGAGTG
 GAATACATGGAGGAAGAAAGAAACAATGGGGCACAGTGTTCAGAGCTCTGAAGTCTTGTATAAACCATGCTTGTCTATGA
 GTACAATCACATTTTCCACTTCTTGAAAAGTACTGTGGCTTCCATGAAGATAACATCCCGAGCTGGAAGACGTTTCTCAGTTCC
 TGCAGACTTGCACTGTTTCCGCTCCGACCTGTAGCTGGCCTGCTTCTCCTCGGATTTCTTGGGTGGCCTGGCCTTCCGAGT
 CTTCCACTGCACACAGTACATCAGACATGGATCCAAGCCCATGTATACCCCGAACCTGACATCTGCCATGAGCTGTTGGGACAT
 GTGCCCTTGTTCAGATCGCAGCTTGGCCAGTTTCCAGGAAATTGGCCTTGCCTCTCTGGGTGCACCTGATGAATACATTGA
 AAAGCTGCCACAATTTACTGGTTTACTGTGGAGTTTGGGCTCTGCAAAACAAGGAGACTCCATAAAGGCATATGGTCTGGGCT
 CCTGTCTCTTTGGTGAAATTACAGTACTGCTTATCAGAGAAAGCCAAAGCTTCTCCCTGGAGCTGGAGAGACAGCCATCCAA
 AATTACACTGTACGGAGTTCAGCCCTGTATTACGTGGCAGAGATTTTAAATGATGCCAAGGAGAAAGTAAAGAACTTTGCT
 GCCACAATACCTGGGCCCTTCTCAGTTCGCTACGACCCATACACCCCAAGGATGAGGTCTTGGACAATACCCAGCAGCTTAAGA
 TTTTGGCTGATTCATTACAGTGAAATTGGAAATCCTTGCAGTGCCCTCCAGAAATAAAGTAAAGCCATGSAACAGAAATGTGG
ICTGTGAGCTGTGAATCTGTGATGGAGATCCAACCTATTTCTTCATCAGAAAAAGTCCGAAAAAGCAACCTTAATTTGAAATA
ACAGCCTTAAATCCTTTACAAGATGGAGAAACAACAAATAAGTCAAAATAATCTGAAATGACAGGATATGAGTACATACTCA
AGAGCATAATGGTAAATCTTTTGGGGTCATCTTTGATTTAGAGATGATAATCCCATACTCTCAATTGAGTTAAATCAGTAAATCT
GTGCAATTTTCATCAAGATT

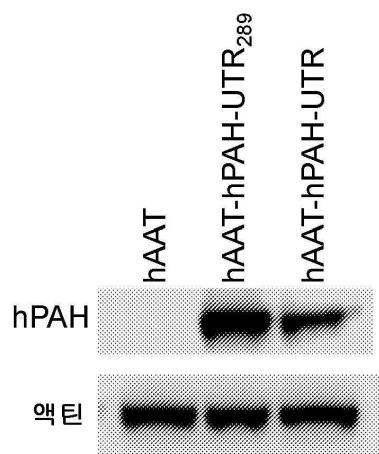
도면7



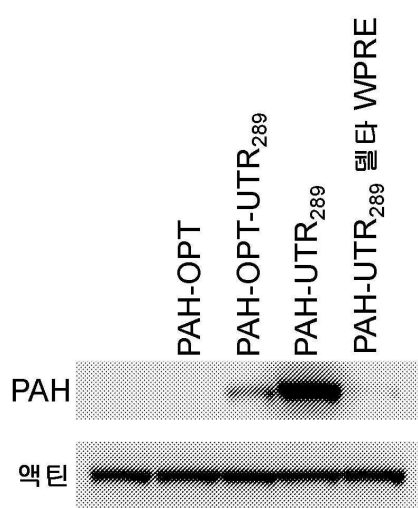
도면8



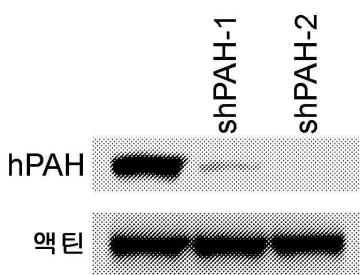
도면9



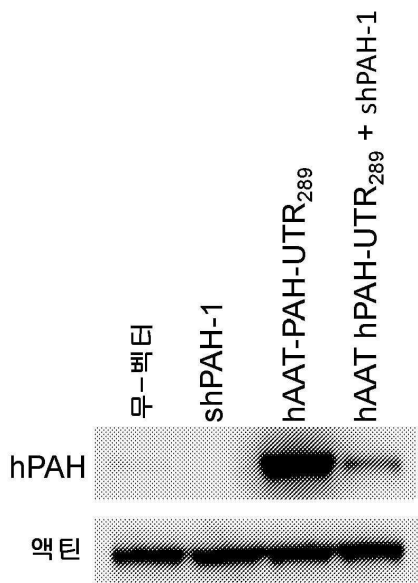
도면10



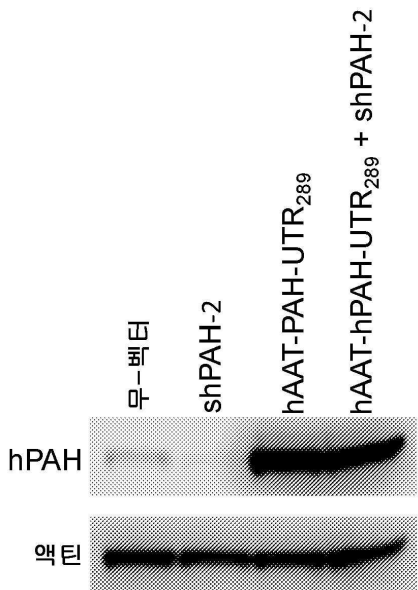
도면11



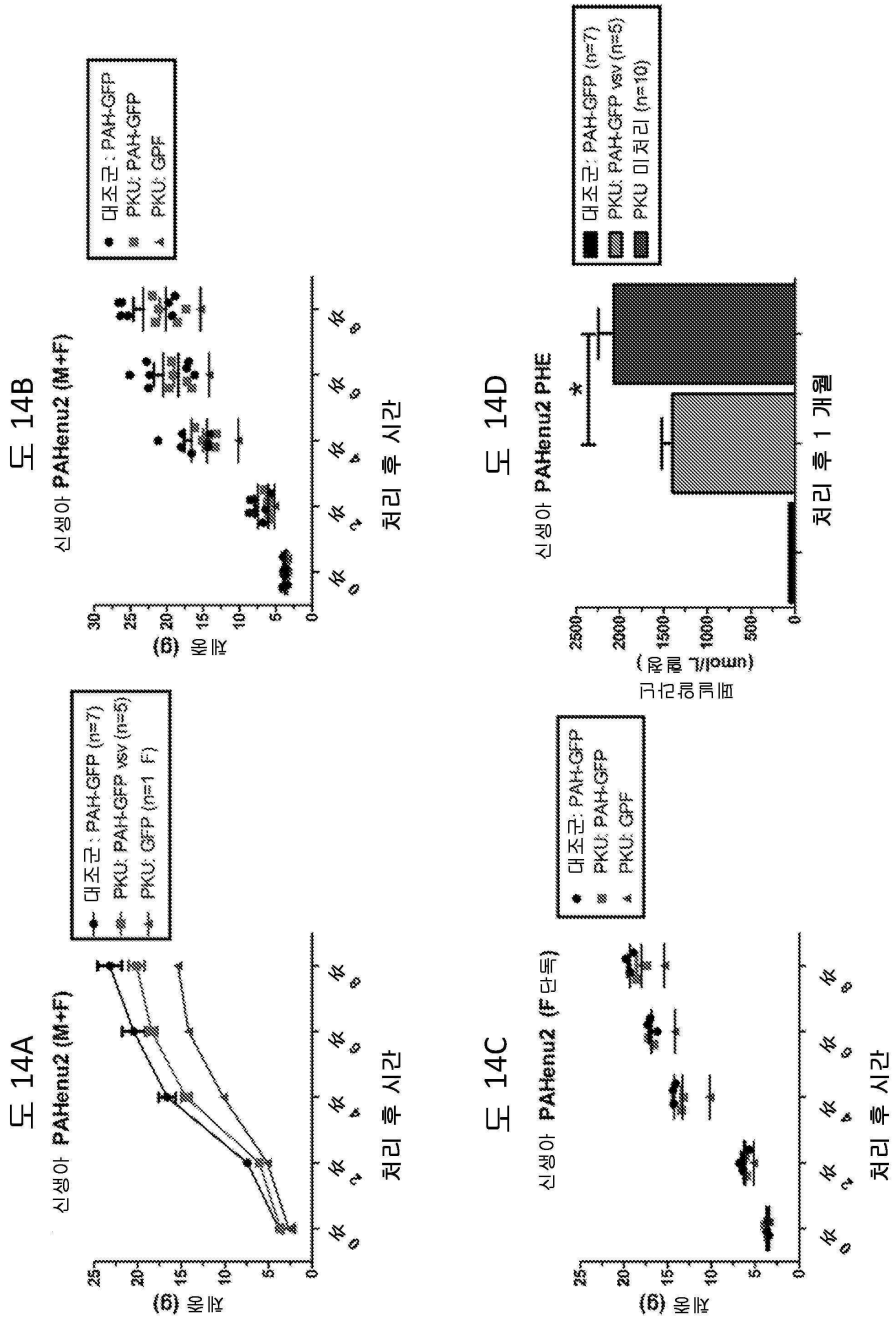
도면12



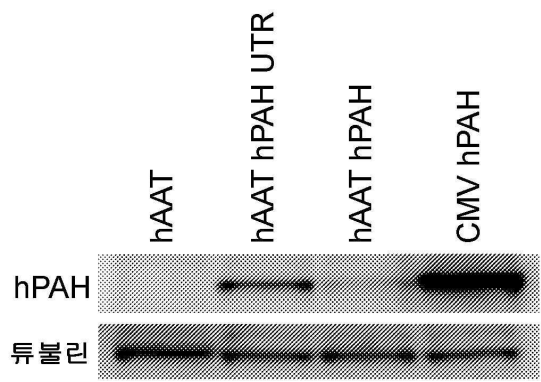
도면13



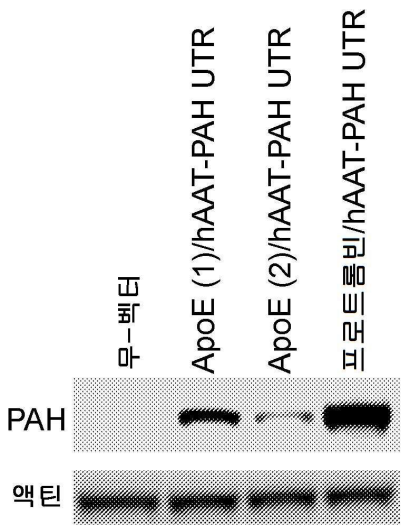
도면14



도면15



도면16



서열 목록

- <110> American Gene Technologies International Inc.
- <120> COMPOSITIONS AND METHODS FOR TREATING PHENYLKETONURIA
- <130> 70612.00716
- <140> WO PCT/US2018/025733
- <141> 2018-04-02
- <150> US 62/480,962
- <151> 2017-04-03
- <150> US 62/491,118
- <151> 2017-04-27
- <160> 58
- <170> PatentIn version 3.5
- <210> 1
- <211> 1359

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> PAH

<400> 1

atgtccactg cggtcctgga aaaccaggc ttgggcagga aactctctga ctttgacag	60
gaaacaagct atattgaaga caactgcaat caaaatgggtg ccatatcact gatcttctca	120
ctcaaagaag aagttgggtgc attggccaaa gtattgcgct tatttgagga gaatgatgta	180
aacctgacct acattgaatc tagaccttct cgtttaaaga aagatgagta tgaatttttc	240
acccatttgg ataaacgtag cctgcctgct ctgacaaaca tcatcaagat cttgaggcat	300
gacattgggtg ccactgtcca tgagctttca cgagataaga agaaagacac agtgccttgg	360
ttccaagaa ccattcaaga gctggacaga ttgccaatc agattctcag ctatggagcg	420
gaactggatg ctgaccacct tggttttaaa gatcctgtgt accgtgcaag acggaagcag	480
tttgctgaca ttgcctacaa ctaccgcat gggcagccca tcctctgagt ggaatacatg	540
gaggaagaaa agaaaacatg gggcacagtg ttcaagactc tgaagtcctt gtataaaacc	600
catgcttgct atgagtacaa tcacattttt ccacttcttg aaaagtactg tggttccat	660
gaagataaca ttccccagct ggaagacgtt tctcaattcc tgcagacttg cactggtttc	720
cgctccgac ctgtggctgg cctgctttcc tctcgggatt tcttgggtgg cctggccttc	780
cgagtcttcc actgcacaca gtacatcaga catggatcca agcccatgta taccctcgaa	840
cctgacatct gccatgagct gttgggacat gtgcccttgt tttcagatcg cagctttgcc	900
cagttttccc aggaaattgg ccttgccctc ctgggtgcac ctgatgaata cattgaaaag	960
ctgccacaa tttactggtt tactgtggag ttgggtctc gcaaacaagg agactccata	1020
aaggcatatg gtgtgggct cctgtcatcc ttgggtgaat tacagtactg cttatcagag	1080
aagccaaagc ttctccccct ggagctggag aagacagcca tccaaaatta cactgtcacg	1140
gagttccagc cctgtatta cgtggcagag agttttaatg atccaagga gaaagtaagg	1200
aactttgctg ccacaatacc tcggcccttc tcagttcgct acgaccata cacccaaagg	1260
attgaggtct tggacaatac ccagcagctt aagattttgg ctgattccat taacagtga	1320
attggaatcc ttgcagtg cctccagaaa ataaagtaa	1359

<210> 2

<211> 1359

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Codon optimized PAH

<400> 2

atgagcacag ctgtgttga aaatcctggg ctgggccgta agctttccga ttctggccag	60
gagacttcat acattgagga caactgcaac cagaatgggg ccatttcttt gatcttcagt	120
ctcaaagaag aggtaggcgc tctggctaag gtcctgaggc tgtttgagga aaatgacgtg	180
aatctgacac acattgagtc taggccttcc cgacttaaga aggatgagta tgagttcttc	240
acacacctgg acaaacgata tctcccagca ctgaccaata tcatcaagat tctcaggcat	300
gatatcggtg ccacggtcca cgaactttca cgcgataaga agaaagacac agttcccttg	360
ttcccagaaa ccattcagga actggatagg ttgccaatc agattctgag ctatggggca	420
gagttggatg ccgaccatcc aggcctcaaa gaccccgat atcgggctcg gagaaagcag	480
tttgacagca tcgcttaca ttacaggcat ggacagccca tccctagagt ggagtacatg	540
gaagaaggca agaaaacctg gggaacggtg ttaagaccc tcaaaagcct gtataagacc	600
cacgcgtggt atgagtacaa ccacattttc ccattgctgg agaagtactg tggtttcac	660
gaggacaaca tccctcaact ggaggatgtt tcacagtcc ttcagacttg cactggtttc	720
cgccttcgac ctgtggctgg gctgcttagc tcacgggact tctgggagg cctggccttc	780
agagtctttc actgcactca gtacattcgg catggctcta agccaatgta caccctgaa	840
ccgatataat gccacgagct gttgggacat gtgccctgt tttctgatcg cagctttgcc	900
cagttttccc aggagattgg cctggcaagt ctgggtgcgc ctgatgagta catcgagaag	960
ctcgcgacaa tctactggtt caccgtggaa ttggactct gcaaacaagg ggactctatc	1020
aaagcctacg gagcaggact cctctccagc ttcggtgaac tgcagtattg tctgtccgag	1080
aaacccaaac tcttcccct ggaactggaa aagactgcca tcaaaaacta tactgtcacg	1140
gaatttcagc cactgtatta tgtggctgaa tcttttaacg atgccaagga gaaggtccgt	1200
aattttgctg ccacaatacc acgccccttc agcgtgagat acgaccgta tacacaacgg	1260
atagaggttc tggacaacac ccagcaactg aaaattctgg cagacagtat aaacagcgaa	1320
atagggatcc tctgtagtgc cctgcagaaa atcaaatga	1359

<210> 3

<211> 897

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> PAH 3'UTR sequence (897 nucleotides)

<400> 3

agccatggac agaatgtggt ctgtcagctg tgaatctgtt gatggagatc caactatttc 60
 ttcatcaga aaaagtcgga aaagcaaacc ttaatttgaa ataacagcct taaatccttt 120
 acaagatgga gaaacaacaa ataagtcaaa ataatctgaa atgacaggat atgagtacat 180
 actcaagagc ataatggtaa atcttttggg gtcattcttg atttagagat gataatccca 240
 tactctcaat tgagttaaata cagtaatctg tcgcatttca tcaagattaa ttaaaatttg 300
 ggacctgctt cattcaagct tcatatatgc ttgacagaga actcataaag gagcatataa 360
 ggctaaatgt aaaaccaag actgtcattt gaattgaatt attgggctta atataaatcg 420

taacctatga agtttatttt ttattttagt taactatgat tccaattact actttgttat 480
 tgtacctaa gaaattttct ttaagtcaga agccatttaa aatagttaca agcattgaac 540
 ttcttttagta ttatattaat ataaaaacat tttgtatgt tttattgtaa tcataaatac 600
 tgctgtataa ggtaataaaa ctctgcacct aatccccata acttcagta tcattttcca 660
 attaattatc aagtcctgtt tgggaaacac ttgaggaca tttatgatgc agcagatgtt 720
 gactaaaggc ttggttggtg gatattcagg aaatgttcac tgaataaata agtaaataca 780
 ttattgaaaa gcaaatctgt ataaatgtga aatttttatt tgtattagta ataaaacatt 840

agtagtttaa acaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaactcgact ctagatt 897

<210> 4

<211> 289

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> PAH 3'UTR sequence (289 nucleotides)

<400> 4

agccatggac agaatgtggt ctgtcagctg tgaatctgtt gatggagatc caactatttc 60
 ttcatcaga aaaagtcgga aaagcaaacc ttaatttgaa ataacagcct taaatccttt 120
 acaagatgga gaaacaacaa ataagtcaaa ataatctgaa atgacaggat atgagtacat 180
 actcaagagc ataatggtaa atcttttggg gtcattcttg atttagagat gataatccca 240

tactctcaat tgagttaaata cagtaatctg tcgcatttca tcaagatta 289

<210> 5

<211> 53

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> PAH shRNA sequence #1

<400> 5

tcgcatttca tcaagattaa tctcgagatt aatcttgatg aaatgcgatt ttt 53

<210> 6

<211> 53

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> PAH shRNA sequence #2

<400> 6

actcataaag gagcatataa gctcgagctt atatgctcct ttatgagttt ttt 53

<210> 7

<211> 228

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Rous Sarcoma virus (RSV) promoter

<400> 7

gtagtcttat gcaatactct ttagtcttgc caacatggta acgatgagtt agcaacatgc 60

cttacaagga gagaaaaagc accgtgcatg cggattgggt gaagtaaggt ggtacgatcg 120

tgccttatta ggaaggcaac agacgggtct gacatggatt ggacgaacca ctgaattgcc 180

gcattgcaga gatattgtat ttaagtcct agctcgatac aataaacg 228

<210> 8

<211> 180

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> 5' Long terminal repeat (LTR)

<400> 8

ggctctcttg gttagaccag atctgagcct gggagctctc tggctaacta gggaacccac 60

tgcttaagcc tcaataaagc ttgccttgag tgcttcaagt agtgtgtgcc cgtctgttgt 120

gtgactctgg taactagaga tcctcagac ccttttagtc agtgtggaaa atctctagca 180

<210> 9

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Psi Packaging signal

<400>	9	
tacgccaaaa attttgacta gcggaggcta gaaggagaga g		41
<210>	10	
<211>	233	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	Rev response element (RRE)	
<400>	10	
aggagctttg ttccittgggt tcttgggagc agcaggaagc actatgggcg cagcctcaat		60
gacgctgacg gtacaggcca gacaattatt gtctggtata gtgcagcagc agaacaattt		120
gctgagggct attgaggcgc aacagcatct gttgcaactc acagtctggg gcatcaagca		180
gtccaggca agaatcctgg ctgtggaaag atacctaaag gatcaacagc tcc		233
<210>	11	
<211>	118	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	Central polypurine tract (cPPT)	
<400>	11	
ttttaaaaga aaagggggga ttggggggta cagtgcaggg gaaagaatag tagacataat		60
agcaacagac atacaaacta aagaattaca aaaacaaatt acaaaattca aaatttta		118
<210>	12	
<211>	397	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	Human alpha-1 antitrypsin promoter (hAAT)	
<400>	12	
gatcttgcta ccagtggaac agccactaag gattctgcag tgagagcaga gggccagcta		60
agtggfactc tccagagac tgtctgactc acgccacccc ctccacctg gacacaggac		120
gctgtggttt ctgagccagg tacaatgact cctttcggtta agtgagtg aagctgtaca		180
ctgccaggc aaagcgtccg ggcagcgtag gcgggcgact cagatcccag ccagtggact		240
tagccctgt ttgtctctcc gataactggg gtgaccttg ttaatatcca ccagcagcct		300
ccccgttg ccctctggat ccaactgctta aatacgagc aggacagggc cctgtctct		360

cagcttcagg caccaccact gacctgggac agtgaat	397
<210> 13	
<211> 590	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Long WPRE sequence	
<400> 13	
aatcaacctc tgattacaaa atttgtgaaa gattgactgg tattcttaac tatgttgctc	60
cttttacgct atgtggatac gctgctttaa tgcctttgta tcatgctatt gcttcccgta	120
tggctttcat ttctcctcc ttgtataaat cctggttgct gtctctttat gaggagtgt	180
ggcccgttgt caggcaacgt ggcggtggtgt gcaactgtgt tgctgacgca acccccactg	240
gttggggcat tgccaccacc tgtcagctcc ttccgggac ttctgctttc cccctcccta	300
ttgccacggc ggaactcatc gccgcctgcc ttgcccgctg ctggacaggg gctcggctgt	360
tgggcactga caattccgtg gtgttgtcgg ggaaatcatc gtcttttctt tggctgctcg	420
cctgtgttgc cacctggatt ctgcgcggga cgtccttctg ctacgtccct tcggccctca	480
atccagcgga cttctcttcc cgcggcctgc tgccggctct gcggcctctt ccgcgtcttc	540
gccttcgccc tcagacgagt cggatctccc ttggggccgc ctccccgcct	590
<210> 14	
<211> 250	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> 3' delta LTR	
<400> 14	
tggaagggct aattcactcc caacgaagat aagatctgct ttttgcttgt actgggtctc	60
tctggttaga ccagatctga gcctgggagc tctctggcta actaggaac ccactgctta	120
agcctcaata aagcttgctt tgagtgttc aagtagtgtg tgcccgtctg ttgtgtgact	180
ctggtaacta gagatccctc agaccctttt agtcagtgtg gaaaatctct agcagtagta	240
gttcatgtca	250
<210> 15	
<211> 217	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	

<220><223> H1 Promoter

<400> 15

gaacgtgac gtcacaaacc cgctccaagg aatcgcgggc ccagtgtcac taggcgggaa 60

caccacagcg gcgtgcgccc tggcaggaag atggctgtga gggacagggg agtggcgccc 120

tgcaatattt gcatgtcgct atgtgttctg ggaaatcacc ataacgtga aatgtctttg 180

gatttgggaa tcttataagt tctgtatgag accactt 217

<210> 16

<211> 642

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> CAG promoter

<400> 16

tagttattaa tagtaatcaa ttacggggtc attagtcat agcccatata tggagttccg 60

cgttacataa cttacggtaa atggcccgcc tgctgaccg cccaacgacc ccgcccatt 120

gacgtcaata atgacgtatg ttcccatagt aacccaata gggactttcc attgacgtca 180

atgggtggac tatttacggt aaactgcca ctggcagta catcaagtgt atcatatgcc 240

aagtacgcc cctattgacg tcaatgacgg taaatggccc gcctggcatt atgccagta 300

catgacctta tgggactttc ctacttgca gtacatctac gtattagtca tcgtattac 360

catgggtcga ggtgagcccc acgttctgct tcactctccc catctcccc cctccccac 420

ccccaatttt gtatttattt attttttaat tattttgtgc agcgatgggg gcgggggggg 480

ggggggcgcg cgccaggcgg ggcggggcgg ggcgaggggc ggggcggggc gaggcggaga 540

ggtgcggcgg cagccaatca gagcggcgcg ctccgaaagt ttccttttat ggcgaggcgg 600

cggcggcggc ggccctataa aaagcgaagc gcgcggcggg cg 642

<210> 17

<211> 1503

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> HIV Gag

<400> 17

atgggtgcga gagcgtcagt attaagcggg ggagaattag atcgatggga aaaaattcgg 60

ttaagccag ggggaaagaa aaaatataaa ttaaacata tagtatgggc aagcagggag 120

ctagaacgat tcgcagttaa tcctggcctg ttgaaacat cagaaggctg tagacaaata 180

ctgggacagc tacaaccatc ccttcagaca ggatcagaag aacttagatc attatataat	240
acagtagcaa cctctatttg tgtgcatcaa aggatagaga taaaagacac caaggaagct	300
ttagacaaga tagaggaaga gcaaaacaaa agtaagaaaa aagcacagca agcagcagct	360
gacacaggac acagcaatca ggtcagccaa aattacccta tagtgcagaa catccagggg	420
caaatggtac atcaggccat atcacctaga actttaaatg catgggtaaa agtagtagaa	480
gagaaggctt tcagcccaga agtgataccc atgttttcag cattatcaga aggagccacc	540
ccacaagatt taaacaccat gctaacaca gtggggggac atcaagcagc catgcaaatg	600
ttaaaagaga ccatcaatga ggaagctgca gaatgggata gagtgcattc agtgcattgca	660
gggcctattg caccaggcca gatgagagaa ccaaggggaa gtgacatagc aggaactact	720
agtacccttc aggaacaaat aggatggatg acacataatc cacctatccc agtaggagaa	780
atctataaaa gatggataat cctgggatta aataaaatag taagaatgta tagccctacc	840
agcattctgg acataagaca aggaccaaaag gaacccttta gagactatgt agaccgattc	900
tataaaactc taagagccga gcaagcttca caagaggtaa aaaattggat gacagaaacc	960
ttgttggtec aaaatgcgaa cccagattgt aagactatit taaaagcatt gggaccagga	1020
gcgacactag aagaaatgat gacagcatgt caggagtggt ggggacccgg ccataaagca	1080
agagttttgg ctgaagcaat gagccaagta acaaatccag ctaccataat gatacagaaa	1140
ggcaatttta ggaaccaaaag aaagactgtt aagtgtttca attgtggcaa agaagggcac	1200
atagccaaaa attgcagggc ccctaggaaa aagggtgtt ggaaatgtgg aaaggaagga	1260
caccaaataa aagattgtac tgagagacag gctaattttt tagggaagat ctggccttcc	1320
cacaagggaa ggccagggaa ttttcttcag agcagaccag agccaacagc cccaccagaa	1380
gagagcttca ggtttgggga agagacaaca actccctctc agaagcagga gccgatagac	1440
aaggaactgt atccttttagc ttccctcaga tcactctttg gcagcgaccc ctcgtcacaa	1500
taa	1503
<210> 18	
<211> 1872	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> HIV Pol	
<400> 18	
atgaatttgc caggaagatg gaaacacaaa atgatagggg gaattggagg ttttatcaaa	60
gtaggacagt atgatcatag actcatagaa atctgcggac ataaagctat aggtacagta	120

ttagtaggac ctacacctgt caacataatt ggaagaaatc tgttgactca gattggctgc	180
actttaaat ttccattag tctattgag actgtaccag taaaattaaa gccaggaatg	240
gatggcccaa aagttaaaca atggccattg acagaagaaa aaataaaagc attagtagaa	300
atttgtacag aaatggaaaa ggaaggaaaa atttcaaaaa ttgggcctga aaatccatac	360
aatactccag tatttgccat aaagaaaaaa gacagtacta aatggagaaa attagtagat	420
ttcagagAAC ttaataagag aactcaagat ttctgggaag ttcaattagg aataccacat	480
cctgcagggt taaaacagaa aaaatcagta acagtactgg atgtgggcga tgcataTTTT	540
tcagtTccct tagataaaga cttcaggaag tatactgcat ttaccatacc tagtataaac	600
aatgagacac cagggttag atatacgtac aatgtgcttc cacagggatg gaaaggatca	660
ccagcaatat tccagtgtag catgacaaaa atcttagagc cttttagaaa acaaaatcca	720
gacatagtca tctatcaata catggatgat ttgtatgtag gatctgactt agaaataggg	780
cagcatagaa caaaaataga ggaactgaga caacatctgt tgaggtgggg atttaccaca	840
ccagacaaaa aacatcagaa agaacctcca ttcttttga tgggttatga actccatcct	900
gataaatgga cagtacagcc tatagtgctg ccagaaaagg acagctggac tgtcaatgac	960
atacagaaat tagtgggaaa attgaattgg gcaagtcaga tttatgcagg gattaaagta	1020
aggcaattat gtaaacTct taggggaacc aaagcactaa cagaagtagt accactaaca	1080
gaagaagcag agctagaact ggcagaaaaac agggagattc taaaagaacc ggtacatgga	1140
gtgtattatg acccatcaaa agacttaata gcagaaatc agaagcaggg gcaaggccaa	1200
tggacatatc aaatttatca agagccattt aaaaatctga aaacaggaaa atatgcaaga	1260
atgaagggtg cccacactaa tgatgtgaaa caattaacag aggcagtaca aaaaatagcc	1320
acagaaagca tagtaatatg gggaaagact ctaaattta aattacccat acaaaaggaa	1380
acatgggaag catggtggac agagtattgg caagccacct ggattcctga gtgggagttt	1440
gtcaatacc ctccttagt gaagttagg taccagttag agaaagaacc cataatagga	1500
gcagaaactt tctatgtaga tgggcagacc aatagggaaa ctaaattagg aaaagcagga	1560
tatgtaactg acagaggaag acaaaaagtT gtccccctaa cggacacaac aaatcagaag	1620
actgagttac aagcaattca tctagctttg caggattcgg gattagaagt aaacatagtg	1680
acagactcac aatatgcatt gggaatcatt caagcacaac cagataagag tgaatcagag	1740
ttagtcatgc aaataataga gcagttaata aaaaaggaaa aagtctacct ggcattgggtA	1800
ccagcacaca aaggaattgg aggaaatgaa caagtagatg ggttggtcag tgctggaatc	1860
aggaaagtac ta	1872

<210> 19

<211> 867
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> HIV Int
 <400> 19

tttttagatg gaatagataa ggcccaagaa gaacatgaga aatatcacag taattggaga 60

gcaatggcta gtgattttaa cctaccacct gtagtagcaa aagaaatagt agccagctgt 120

gataaatgtc agctaaaagg ggaagccatg catggacaag tagactgtag cccaggaata 180

tggcagctag attgtacaca tttagaagga aaagtatatc tggtagcagt tcatgtagcc 240

agtggatata tagaagcaga agtaattcca gcagagacag ggcaagaaac agcatacttc 300

ctcttaaaat tagcaggaag atggccagta aaaacagtac atacagacaa tggcagcaat 360

ttcaccagta ctacagttaa ggccgcctgt tggtagggcgg ggatcaagca ggaatttggc 420

attcctaca atccccaaag tcaaggagta atagaatcta tgaataaaga attaaagaaa 480

attataggac aggtaagaga tcaggctgaa catcttaaga cagcagtaca aatggcagta 540

ttcatccaca attttaaaag aaaagggggg attggggggg acagtcagg ggaaagaata 600

gtagacataa tagcaacaga catacaaaact aaagaattac aaaaacaaat tacaaaaatt 660

caaaattttc gggttttatta caggacagc agagatccag tttggaaagg accagcaaag 720

ctcctctgga aaggtgaagg ggcagtagta atacaagata atagtacat aaaagtagtg 780

ccaagaagaa aagcaaagat catcagggat tatggaaaac agatggcagg tgatgattgt 840

gtggcaagta gacaggatga ggattaa 867

<210> 20
 <211> 234
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> HIV RRE
 <400> 20

aggagctttg ttccttgggt tcttgggagc agcaggaagc actatgggag cagcgtcaat 60

gacgctgacg gtacaggcca gacaattatt gtctggtata gtgcagcagc agaacaattt 120

gctgagggct attgaggcgc aacagcatct gttgcaactc acagtctggg gcatcaagca 180

gctccaggca agaattcctg ctgtggaaag atacctaaag gatcaacagc tcct 234

<210> 21
 <211> 351

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223>

> HIV Rev

<400> 21

atggcaggaa gaagcggaga cagcgacgaa gaactcctca aggcagtcag actcatcaag 60

tttctctatc aaagcaaccc acctcccaat cccgagggga cccgacaggc ccgaaggaat 120

agaagaagaa ggtggagaga gagacagaga cagatccatt cgattagtga acggatcctt 180

agcacttatac tgggacgata tgcggagcct gtgcctcttc agctaccacc gcttgagaga 240

cttactcttg attgtaacga ggattgtgga acttctggga cgcagggggg gggaagccct 300

caaatattgg tggaatctcc tacaatattg gagtcaggag ctaaagaata g 351

<210> 22

<211> 577

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> CMV Promoter

<400> 22

acattgatta ttgactagtt attaatagta atcaattacg gggtcattag ttcatagccc 60

atatatggag ttccgcgta cataacttac ggtaaatggc ccgcctggct gaccgcccaa 120

cgacccccgc ccattgacgt caataatgac gtatgttccc atagtaacgc caatagggac 180

tttccattga cgtaaatggg tggagtattt acggtaaact gcccaattgg cagtacatca 240

agtgtatcat atgccaagta cgccccctat tgacgtcaat gacggtaaat ggccgcctg 300

gcattatgcc cagtacatga ctttatggga ctttctact tggcagtaca tctacgtatt 360

agtcacgcgt attaccatgg tgatgcggtt ttggcagtac atcaatgggc gtggatagcg 420

gtttgactca cggggatttc caagtctcca cccattgac gtcaatggga gtttgttttg 480

gcacaaaaat caacgggact ttcaaaaatg tcgtaacaac tccgccccat tgacgcaaat 540

gggcggtagg cgtgtacggt gggaggtcta tataagc 577

<210> 23

<211> 1531

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> VSV-G / DNA fragment containing VSV-G / Envelope Glycoprotein

<400> 23

gaattcatga agtgcctttt gtacttagcc tttttattca ttggggtgaa ttgcaagttc 60

accatagttt ttccacacaa ccaaaaagga aactggaaaa atgttccttc taattacat 120

tattgccgt caagctcaga tttaaattgg cataatgact taataggcac agccttaca 180

gtcaaatgc ccaagagtc caaggtatc caagcagacg gttggatgtg tcatgcttc 240

aatgggtca ctacttgtga tttccgctgg tatggaccga agtatataac acattccatc 300

cgatccttca ctccatctgt agaacaatgc aaggaaagca ttgaacaaac gaaacaagga 360

acttggtga atccaggctt ccctcctcaa agttgtggat atgcaactgt gacggatgcc 420

gaagcagtga ttgtccaggt gactcctcac catgtgctgg ttgatgaata cacaggagaa 480

tggttgatt cacagttcat caacggaaaa tgcagcaatt acatatgccc cactgtccat 540

aactctacaa cctggcattc tgactataag gtcaaagggc tatgtgattc taacctcatt 600

tccatggaca tcacctctt ctcagaggac ggagagctat catccctggg aaaggagggc 660

acagggttca gaagtaacta ctttgcttat gaaactggag gcaaggcctg caaaatgcaa 720

tactgcaagc attggggagt cagactccca tcaggtgtct ggttcgagat ggctgataag 780

gatctctttg ctgcagccag attccctgaa tgcccagaag ggtcaagtat ctctgtcca 840

tctcagacct cagtggatgt aagtctaatt caggacgttg agaggatctt ggattattcc 900

ctctgccaag aaacctggag caaaatcaga gcgggtcttc caatctctcc agtggatctc 960

agctatcttg ctctaataa cccaggaacc ggtcctgctt tcaccataat caatggtacc 1020

ctaaaatact ttgagaccag atacatcaga gtcatattg ctgtctcaat cctctcaaga 1080

atggtcggaa tgatcagtgg aactaccaca gaaagggaac tgtgggatga ctgggcacca 1140

tatgaagacg tggaaattgg acccaatgga gtcttgagga ccagttcagg atataagttt 1200

cctttataca tgattggaca tggatatgtg gactccgac ttcattcttag ctcaaaggct 1260

caggtgttcg aacatcctca cattcaagac gctgcttcgc aacttctga tgatgagagt 1320

ttatTTTTTg gtgatactgg gctatccaaa aatccaatcg agcttgtaga aggttggttc 1380

agtagttgga aaagctctat tgctctttt ttctttatca taggtttaat cattggacta 1440

ttcttggttc tccgagttgg tatccatctt tgcattaaat taaagcacac caagaaaaga 1500

cagatttata cagacataga gatgagaatt c 1531

<210> 24

<211> 352

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> CAG enhancer

<400> 24

tagttattaa tagtaatcaa ttacgggggtc attagttcat agcccatata tggagttccg 60

cgttacataa cttacggtaa atggcccgcc tggctgaccg cccaacgacc ccgcccatt 120

gacgtcaata atgacgtatg ttcccatagt aacgccaata gggactttcc attgacgtca 180

atgggtggac tatttacggt aaactgccca ctgggcagta catcaagtgt atcatatgcc 240

aagtacgccc cctattgacg tcaatgacgg taaatggccc gcctggcatt atgccagta 300

catgacctta tgggactttc ctacttgga gtacatctac gtattagtca tc 352

<210> 25

<211> 960

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Chicken beta actin intron

<

400> 25

ggagtcgctg cgttgccctc gcccctgcc ccgctccgcg ccgctccgcg ccgcccgcc 60

cggctctgac tgaccgcgtt actccacag gtgagcgggc gggacggccc ttctcctccg 120

ggctgtaatt agcgccttgg ttaatgacgg ctcgcttctt ttctgtggct gcgtgaaagc 180

cttaaagggc tccgggaggc ccctttgtgc gggggggagc ggctcggggg gtgcgtgcgt 240

gtgtgtgtgc gtggggagcg ccgcgtgcgg ccgcgtgc ccggcggctg tgagcgtgc 300

gggcgcggcg cggggctttg tgcgtccgc gtgtgcgcga ggggagcgcg gccggggcg 360

gtcccccgcg gtgcgggggg gctgcgaggg gaacaaaggc tgcgtgcggg gtgtgtgcgt 420

gggggggtga gcagggggtg tgggcgcggc ggtcgggctg taaccccc ctgcaccccc 480

ctccccgagt tgctgagcac ggcccggctt cgggtgcggg gctccgtgcg gggcgtggcg 540

cggggctcgc cgtgccgggc ggggggtggc ggcaggtggg ggtgccgggc ggggcggggc 600

gcctcgggc cggggagggc tccggggagg ggcgcggcgg ccccgagcg ccggcggctg 660

tcgagcgcg gcgagccga gccattgctt ttatggtaa tcgtgcgaga gggcgcaggg 720

acttcctttg tccaaatct ggcgagccg aaatctggga ggcgcccg caccctct 780

agcgggcgcg ggcaagcg tgcggcgcg gcaggaagga aatgggcggg gagggccttc 840

gtgcgtgcc gcgcccgct ccccttctcc atctccagc tcggggctgc cgcaggggga 900

cggctgcctt cgggggggac ggggcagggc ggggttcggc ttctggcgtg tgaccggcgg 960

960

<210> 26

<211> 448
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Rabbit beta globin poly A
 <400> 26
 agatcttttt cctctgccca aaaattatgg ggacatcatg aagccccctg agcatctgac 60
 ttctggctaa taaaggaaat ttattttcat tgcaatagtg tgttgggaatt ttttgtgtct 120
 ctcaactcgga aggacatatg ggaggggcaaa tcatttaaaa catcagaatg agtatttggt 180
 ttagagtttg gcaacatatg ccatatgctg gctgccatga acaaaggtgg ctataaagag 240
 gtcacagta tatgaaacag cccctgctg tccattcctt attccataga aaagccttga 300
 cttgaggtta gatttttttt atattttgtt ttgtgttatt tttttcttta acatccctaa 360
 aattttcctt acatgtttta ctagccagat ttttctcct ctctgacta ctcccagtca 420
 tagctgtccc tcttctctta tgaagatc 448
 <210> 27
 <211> 573
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Beta globin intron
 <400> 27
 gtgagtttgg ggacccttga ttgttctttc tttttcgcta ttgtaaaatt catgttatat 60
 ggagggggca aagttttcag ggtgttgttt agaatgggaa gatgtccctt gtatcaccat 120
 ggaccctcat gataattttg tttctttcac tttctactct gttgacaacc attgtctcct 180
 cttattttct tttcattttc tgtaactttt tcgttaaact ttagcttgca ttgtaacga 240
 atttttaaat tcacttttgt ttatttgtca gattgtaagt actttctcta atcacttttt 300
 tttcaaggca atcagggtat attatattgt acttcagcac agttttagag aacaattgtt 360
 ataattaaat gataaggtag aatattttctg catataaatt ctggctggcg tggaaatatt 420
 cttattggta gaaacaacta caccctggtc atcatcctgc ctttctcttt atggttacaa 480
 tgatatacac tgtttgagat gaggataaaa tactctgagt ccaaaccggg cccctctgct 540
 aacctgttc atgccttctt ctctttccta cag 573
 <210> 28
 <211> 31
 <212> DNA

<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	Primer	
<400>	28	
taagcagaat tcatgaattt gccaggaaga t		31
<210>	29	
<211>	36	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	Primer	
<400>	29	
ccatacaatg aatggacact aggcggccgc acgaat		36
<210>	30	
<211>	2745	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	Gag, Pol, Integrase fragment	
<400>	30	
gaattcatga atttgccagg aagatggaaa ccaaaaatga tagggggaat tggaggtttt		60
atcaaagtaa gacagtatga tcagatactc atagaaatct gcggacataa agctataggt		120
acagtattag taggacctac acctgtcaac ataattggaa gaaatctgtt gactcagatt		180
ggctgcactt taaattttcc cattagtcct attgagactg taccagtaaa attaaagcca		240
ggaatggatg gcccaaaagt taaacaatgg ccattgacag aagaaaaaat aaaagcatta		300
gtagaaatgt gtacagaaat ggaaaaggaa gaaaaaatgt caaaaattgg gcctgaaaat		360
ccatacaata ctccagtatt tgccataaag aaaaaagaca gtactaaatg gagaaaatta		420
gtagatttca gagaacttaa taagagaact caagatttct gggaagttca attaggaata		480
ccacatcctg cagggttaaa acagaaaaaa tcagtaacag tactggatgt gggcgatgca		540
tatttttcag ttcccttaga taaagacttc aggaagtata ctgcatttac catacctagt		600
ataaacaatg agacaccagg gattagatat cagtacaatg tgcttcaca gggatggaaa		660
ggatcaccag caatattcca gtgtagcatg acaaaaatct tagagccttt tagaaaacaa		720
aatccagaca tagtcatcta tcaatacatg gatgatttgt atgtaggatc tgacttagaa		780
atagggcagc atagaacaaa aatagaggaa ctgagacaac atctgttgag gtggggattt		840
accacaccag acaaaaaaca tcagaaagaa cctccattcc tttggatggg ttatgaactc		900

catcctgata aatggacagt acagcctata gtgctgccag aaaaggacag ctggactgtc	960
aatgacatac agaaattagt gggaaaattg aattgggcaa gtcagattta tgcagggatt	1020
aaagtaaggc aattatgtaa acttcttagg ggaaccaag cactaacaga agtagtacca	1080
ctaacagaag aagcagagct agaactggca gaaaacaggg agattctaaa agaaccggt	1140
catggagtgt attatgacct atcaaaagac ttaatagcag aaatacagaa gcaggggcaa	1200
ggccaatgga catatcaaat ttatcaagag ccatttaaaa atctgaaaac aggaaagtat	1260
gcaagaatga agggtgccca cactaatgat gtgaaacaat taacagaggc agtacaaaaa	1320
atagccacag aaagcatagt aatatgggga aagactccta aatttaaatt acccatacaa	1380
aaggaaacat gggaagcatg gtggacagag tattggcaag ccacctggat tcctgagtgg	1440
gagtttgtca ataccctcc cttagtgaag ttatgttacc agttagagaa agaaccata	1500
ataggagcag aaactttcta tgtagatggg gcagccaata gggaaactaa attagaaaa	1560
gcaggatatg taactgacag aggaagacaa aaagttgtcc ccctaacgga cacaacaaat	1620
cagaagactg agttacaagc aattcatcta gctttgcagg attcgggatt agaagtaaac	1680
atagtgcag actcacaata tgcatggga atcattcaag cacaaccaga taagagtga	1740
tcagagttag tcagtcaaat aatagagcag ttaataaaaa aggaaaaagt ctacctggca	1800
tgggtaccag cacacaaagg aattggagga aatgaacaag tagataaatt ggtcagtgt	1860
ggaatcagga aagtactatt tttagatgga atagataagg cccaagaaga acatgagaaa	1920
tatcacagta attggagagc aatggctagt gattttaacc taccacctgt agtagcaaaa	1980
gaaatagtag ccagctgtga taaatgtcag ctaaaagggg aagccatgca tggacaagta	2040
gactgtagcc caggaatatg gcagctagat tglacacatt tagaaggaaa agttatcttg	2100
gtagcagttc atgtagccag tggatatata gaagcagaag taattccagc agagacaggg	2160
caagaaacag catacttcct cttaaaatta gcaggaagat ggccagtaaa aacagtacat	2220
acagacaatg gcagcaattt caccagtact acagttaagg ccgcctgttg gtgggcgggg	2280
atcaagcagg aatttggcat tcctacaat ccccaaagtc aaggagtaat agaattctatg	2340
aataaagaat taaagaaaat tataggacag gtaagagatc aggcctgaaca tcttaagaca	2400
gcagtacaaa tggcagtatt catccacaat tttaaaagaa aaggggggat tggggggtac	2460
agtgcagggg aaagaatagt agacataata gcaacagaca tacaaactaa agaattacaa	2520
aaacaaatta caaaaattca aaattttcgg gtttattaca gggacagcag agatccagtt	2580
tggaaaggac cagcaaagct cctctggaag ggtgaagggg cagtagtaat acaagataat	2640

agtgacataa aagtagtgcc aagaagaaaa gcaaagatca tcagggatta tggaaaacag 2700

 atggcaggtg atgatttgtt ggcaagtaga caggatgagg attaa 2745
 <210> 31
 <211> 1586
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> DNA Fragment containing Rev, RRE and rabbit beta globin poly A
 <400> 31

 tctagaatgg caggaagaag cggagacagc gacgaagagc tcatcagaac agtcagactc 60
 atcaagcttc tctatcaaag caaccacact cccaatcccg aggggacccg acaggcccga 120
 aggaatagaa gaagaagggtg gagagagaga cagagacaga tccattcgat tagtgaacgg 180
 atccttggca cttatctggg acgatctgcg gagcctgtgc ctcttcagct accaccgctt 240

 gagagactta ctcttgattg taacgaggat tgtggaactt ctgggacgca ggggggtggga 300
 agccctcaaa tattggtgga atctctaca atattggagt caggagctaa agaatagagg 360
 agctttgttc ctigggttct tgggagcagc aggaagcact atgggcgagc cgtcaatgac 420
 gctgacggta caggccagac aattattgtc tggatatagt cagcagcaga acaatttgct 480
 gagggctatt gaggcgcaac agcatctgtt gcaactcaca gtctggggca tcaagcagct 540
 ccaggcaaga atcctggctg tggaaagata cctaaaggat caacagctcc tagatctttt 600
 tcctctgcc aaaaattatg gggacatcat gaagccctt gagcatctga ctcttggtta 660

 ataaagaaa tttattttca ttgcaatagt gtgttggaaat tttttgtgtc tctcactcgg 720
 aaggacatat gggagggcaa atcatttaaa acatcagaat gagtatttgg tttagagttt 780
 ggcaacatat gccatatgct ggctgccatg aacaaagggtg gctataaaga ggtcatcagt 840
 atatgaaaca gccccctgct gtccattcct tattccatag aaaagccttg acttgagggt 900
 agattttttt tatattttgt tttgtgttat ttttttcttt aacatcccta aaattttcct 960
 tacatgtttt actageccaga ttttctctcc tctcctgact actcccagtc atagctgtcc 1020
 ctcttctctt atgaagatcc ctgcacctgc agcccaagct tggcgtaatc atggcatag 1080

 ctgtttcttg tgtgaaattg ttatccgtc acaattccac acaacatacg agccggaagc 1140
 ataaagtgtg aagcctgggg tgcctaatga gtgagctaac tcacattaat tgcgttgccg 1200
 tcaactgccc ctttccagtc gggaaacctg tcgtgccagc ggatccgcat ctcaattagt 1260
 cagcaacat agtcccgc ctaactccgc ccatcccgc cctaactccg cccagttccg 1320
 cccattctcc gcccctggc tgactaattt tttttattta tgcagaggcc gaggcgcct 1380

cggcctctga gctattccag aagtagtgag gaggcctttt tggaggccta ggcttttgca 1440
aaaagctaac ttgtttattg cagcttataa tggttacaaa taaagcaata gcatcacaaa 1500

tttcacaaat aaagcatttt ttctactgca ttctagtgtt ggtttgtcca aactcatcaa 1560
tgtatcttat cagcggccgc cccggg 1586

<210> 32
<211> 1614
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> DNA fragment containing the CAG enhancer/promoter/intron sequence
<400> 32

acgcgttagt tattaatagt aatcaattac ggggtcatta gttcatagcc catatatgga 60
gttcccggtt acataactta cggtaaatgg cccgcctggc tgaccgccca acgacccccg 120
cccattgacg tcaataatga cgtatgttcc catagtaacg ccaataggga ctttcattg 180

acgtcaatgg gtggactatt tacggtaaac tgcccacttg gcagtacatc aagtgtatca 240
tatgccaaagt acgcccccta ttgacgtcaa tgacggtaaa tggcccgctt ggcatatgac 300
ccagtacatg accttatggg actttcctac ttggcagtac atctacgtat tagtcatcgc 360
tattaccatg ggtcgagggt agccccacgt tctgcttca cctccccatc tccccccct 420
ccccaccccc aattttgtat ttatttattt tttattatt ttgtgcagcg atgggggcgg 480
gggggggggg ggcgcgcgcc aggcggggcg ggcggggcg aggggcgggg cggggcgagg 540
cggagagggt ggcgggcagc caatcagagc ggcgcgctcc gaaagtttcc ttttatggcg 600

aggcggcggc ggcggcggcc ctataaaaag cgaagcgcgc ggcgggcggg agtcgctgcg 660
ttgccttcgc cccgtgcccc gctccgcgcc gcctcgcgcc gcccgccccg gctctgactg 720
accgcgttac tcccacaggt gagcgggcgg gacggccctt ctcctccggg ctgtaattag 780
cgcttggttt aatgacggt cgtttctttt ctgtggctgc gtgaaagcct taaagggtc 840
cgggagggcc ctttgtgcgg gggggagcgg ctcggggggt gcgtgcgtgt gtgtgtcgt 900
ggggagcgcc gcgtgcggcc cgcgtgccc ggcggctgtg agcgtgcgg gcgcggcgcg 960
gggctttgtg cgtccgcgt gtgcgcgagg ggagcgcggc cgggggcgggt gcccccggt 1020

gcgggggggc tgcgaggga acaaaggctg cgtgcggggt gtgtgcgtgg gggggtgagc 1080
agggggtgtg ggcgcggcgg tcgggctgta accccccct gcacccccct ccccagttg 1140
ctgagcacgg cccggcttcg ggtgcggggc tccgtgcggg gcgtggcgcg gggctcgccg 1200
tgccgggcgg ggggtggcgg caggtggggg tgccgggcgg ggcggggcgg cctcgggccg 1260

gggagggtc gggggagggg cgcgcgcc ccggagcgcc ggcggctgtc gaggcgcggc	1320
gagccgcagc cattgccttt tatggtaatc gtgcgagagg ggcagggac ttcctttgtc	1380
ccaaatctgg cggagccgaa atctgggagg cgcccgcca cccctctag cgggcgcggg	1440
cgaagcgggtg cgcgccggc aggaaggaaa tggcgggga gggccttcgt gcgtcgccgc	1500
gccgcgtcc cttctccat ctccagctc ggggctccg cagggggacg gctgccttcg	1560
ggggggacgg ggcagggcgg ggttcggctt ctggcgtgtg accggcgga attc	1614
<210> 33	
<211> 884	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> RSV promoter and HIV Rev	
<400> 33	
caattgcgat gtacggcca gatatacgcg tatctgagg gactagggtg tgtttaggcg	60
aaaagcgggg cttcggttgt acgcggttag gattccctc aggatatagt agtttcgctt	120
ttgcataggg agggggaaat gtagtcttat gcaatacact ttagtcttg caacatggta	180
acgatgagtt agcaacatgc cttacaagga gaaaaaagc accgtgcatg ccgattgggtg	240
gaagtaaggt ggtacgatg tgccttatta ggaaggcaac agacaggtct gacatggatt	300
ggacgaacca ctgaattccg cattgcagag ataattgtat ttaagtgcct agctcgatac	360
aataaacgcc atttgacat taccacatt ggtgtgcacc tccaagctcg agctcgttta	420
gtgaaccgtc agatcgctg gagacgcat ccacgtgtt ttgacctca tagaagacac	480
cgggaccgat ccagcctccc ctggaagta gcgattaggc atctcctatg gcaggaagaa	540
gcggagacag cgacgaagaa ctctcaagg cagtcagact catcaagttt ctctatcaaa	600
gcaaccacc tccaatccc gaggggacc gacaggccc aaggaataga agaagaaggt	660
ggagagagag acagagacag atccattcga ttagtgaacg gatccttagc acttatctgg	720
gacgatctgc ggagcctgtg cctcttcagc taccacgct tgagagactt actcttgatt	780
glaacagga ttgtggaact tctgggacgc aggggtggg aagccctcaa atattggtgg	840
aatctctac aatattggag tcaggagcta aagaatagtc taga	884
<210> 34	
<211> 1104	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	

<220><223> Elongation Factor-1 alpha (EF1-alpha) promoter

<400> 34

ccggtgccta gagaaggtgg cgcggggtaa actgggaaag tgatgtcgtg tactggctcc	60
gcctttttcc cgagggtggg ggagaaccgt atataagtgc agtagtcgcc gtgaacgttc	120
tttttcgcaa cggttttgcc gccagaacac aggtaatgtc cgtgtgtggt tcccgcgggc	180
ctggcctctt tacgggttat ggcccttgcg tgccttgaat tacttccacg cccctggctg	240
cagtacgtga ttcttgatcc cgagcttcgg gttggaagtg ggtgggagag ttcgagcct	300
tgcgcttaag gagccccctc gcctcgtgct tgagttgagg cctggcctgg gcgctggggc	360
cgccgcgtgc gaatctggtg gcaccttcgc gccgtgtcgc ctgctttcga taagtctcta	420
gccatttaaa atttttgatg acctgtcgcg acgctttttt tctggcaaga tagtcttgta	480
aatgcgggcc aagatctgca cactggtatt tcggtttttg gggccgcggg cggcgacggg	540
gcccgtgcgt cccagcgcac atgttcggcg aggcggggcc tgcgagcgcg gccaccgaga	600
atcggacggg ggtagtctca agctggccgg cctgctctgg tgcctggcct cgcgccgccg	660
tgtatcgccc cgccctgggc ggcaaggctg gcccggtcgg caccagttgc gtgagcggaa	720
agatggccgc tccccggccc tgctgcaggg agctcaaaat ggaggacgcg gcgctcgga	780
gagcgggcgg gtgagtcacc cacacaaagg aaaaggcct ttcgctctc agccgtcgt	840
tcatgtgact ccacggagta ccgggcgcgc tccaggcacc tcgattagtt ctcgagcttt	900
tggagtacgt cgtctttagg ttggggggag gggttttatg cgatggagtt tccccacact	960
gagtgggtgg agactgaagt taggccagct tggcacttga tgtaattctc cttggaattt	1020
gccctttttg agtttgatc ttggttcatt ctcaagcctc agacagtggg tcaaagtttt	1080
tttcttccat ttcaggtgct gtga	1104

<210> 35

<211> 511

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Promoter-PGK

<400> 35

ggggttgggg ttgcgccttt tccaaggcag ccttgggttt gcgcaggac gcggtgctc	60
tggcggtggt tccgggaac gcagcggcgc cgaccctggg tctcgacat tcttcacgtc	120
cgttcgcagc gtcaccgga tcttcgccgc tacccttggt gggcccccg cgacgttcc	180
tgctccgcc ctaagtccgg aaggttcctt gcggttcgcg gcgtgccga cgtgacaaac	240
ggaagccga cgtctcacta gtaccctcgc agacggacag cgccaggag caatggcagc	300

gcgccgaccg cgatgggctg tggccaatag cggctgctca gcagggcgcg ccgagagcag 360

cgcccgaggaa ggggcggctg gggaggcggg gtgtggggcg gtagtgtggg ccctgttcct 420

gcccgcgcgg tggtccgcat tctgcaagcc tccggagcgc acgtcggcag tcggctccct 480

cgttgaccga atcaccgacc tctctcccca g 511

<210> 36

<211> 1162

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Promoter-UbC

<400> 36

gcgccgggtt ttggcgctc ccgcgggcgc cccctctctc acggcgagcg ctgccacgtc 60

agacgaaggg cgcaggagcg ttctgatcc ttccgcccg acgtcagga cagcgccccg 120

ctgctcataa gactcggcct tagaaccca gtatcagcag aaggacattt taggacggga 180

cttgggtgac tctaggcacc tggttttctt tccagagagc ggaacaggcg aggaaaagta 240

gtcccttctc ggcgattctg cggagggatc tccgtggggc ggtgaacgcc gatgattata 300

taaggacgcg ccgggtgtgg cacagctagt tccgtcgcag ccgggatttg ggtcgcggtt 360

cttgtttgtg gatcgtctg atcgtcactt ggtgagttgc gggctgctgg gctggccggg 420

gctttcgtgg ccgccgggcc gctcgttggg acggaagcgt gtggagagac cgccaagggc 480

tgtagtctgg gtccgcgagc aaggttgccc tgaactgggg gttgggggga gcgcacaaaa 540

tgccggctgt tcccagctc tgaatggaag acgtttgtaa ggcgggctgt gaggtcgttg 600

aaacaaggtg gggggcatgg tgggcggcaa gaaccaagg tcttgaggcc ttcgctaata 660

cgggaaagct cttattcggg tgagatgggc tggggcacca tctggggacc ctgacgtgaa 720

gtttgtcact gactggagaa ctccgggtttg tctcttggtt gcgggggcgg cagttatgcg 780

gtgccgttgg gcagtgcacc cgtacctttg ggagcgcgcg cctcgtcgtg tctgacgtc 840

accggttctg ttggcttata atgcagggtg gggccacctg ccggtagggtg tgcggtaggc 900

ttttctccgt cgcaggacgc aggggttcggg cctagggtag gctctcctga atcgacaggc 960

gccggacctc tggtaggggg agggataagt gaggcgtcag tttcttttgt cggttttatg 1020

tacctatctt cttaagtagc tgaagctccg gttttgaact atgcgctcgg ggttggcgag 1080

tgtgttttgt gaagtttttt aggcaccttt tgaatgtaa tcatttgggt caatatgtaa 1140

ttttcagtgt tagactagta aa 1162

<210> 37

<211> 120
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Poly A-SV40
 <400> 37
 gtttattgca gcttataatg gttacaaata aagcaatagc atcacaaatt tcacaaataa 60
 agcatttttt tcaactgcatt ctagttgtgg ttgtgccaaa ctcatcaatg tatcttatca 120
 120
 <210> 38
 <211> 227
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Poly A-bGH
 <400> 38
 gactgtgcct tctagttgcc agccatctgt tgtttgcccc tccccctgc cticcttgac 60
 cctggaaggt gccactccca ctgtcctttc ctaataaaat gaggaaattg catcgattg 120
 tctgagtagg tgtcattcta ttctgggggg tggggtgggg caggacagca agggggagga 180
 ttgggaagac aatagcaggc atgctgggga tgcggtgggc tctatgg 227
 <210>
 > 39
 <211> 1695
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Envelope-RD114
 <400> 39
 atgaaactcc caacaggaat ggtcatttta ttagcctaa taatagttcg ggcagggttt 60
 gacgaccccc gcaaggctat cgcattagta caaaaacaac atggtaaacc atgcgaatgc 120
 agcggagggc aggtatccga ggccccaccg aactccatcc aacaggtaac ttgccaggc 180
 aagacggcct acttaatgac caacaaaaaa tggaaatgca gagtcactcc aaaaaatctc 240
 acccctagcg ggggagaact ccagaactgc ccttgtaaca ctttcagga ctcgatgcac 300
 agttcttggt atactgaata ccggcaatgc agggcgaata ataagacata ctacacggcc 360
 acccttgctta aaatacggtc tgggagcctc aacgaggtaac agatattaca aaacccaat 420
 cagctcctac agtccccttg taggggctct ataaatcagc ccgtttgctg gaggccaca 480

gcccccatcc atatctccga tgggtggagga ccctcgcata ctaagagagt gtggacagtc 540
caaaaaaggc tagaacaat tcataaggct atgcacctcg aacttcaata ccaccctta 600
gccctgccca aagtcagaga tgaccttagc cttgatgcac ggacttttga tatectgaat 660
accactttta gggtactcca gatgtccaat tttagccttg cccaagattg ttggctctgt 720
ttaaaactag gtacccttac ccctcttgcg ataccactc cctctttaac ctactcccta 780

gcagactccc tagcgaatgc ctctgtcag attatactc ccctcttggt tcaaccgatg 840
cagttctcca actcgtcctg tttatcttcc cctttcatta acgatacga acaaatagac 900
ttaggtgcag tcacctttac taactgcacc tctgtagcca atgtcagtag tcctttatgt 960
gccctaaacg ggtcagtctt cctctgtgga aataacatgg catacaccta tttacccaa 1020
aactggacag gactttgcgt ccaagcctcc ctctccccg acattgacat catcccgggg 1080
gatgagccag tccccattcc tgccattgat cattatatac atagacctaa acgagctgta 1140
cagttcatcc ctttactage tggactggga atcaccgcag cattaccac cggagctaca 1200

ggcctagggtg tctccgtcac ccagatatac aaattatccc atcagttaat atctgatgtc 1260
caagtcttat ccggtaccat acaagattta caagaccagg tagactcgtt agctgaagta 1320
gttctccaaa ataggagggg actggacctt ctaacggcag aacaaggagg aatttgttta 1380
gccttacaag aaaaatgctg tttttatgct aacaagtcag gaattgtgag aaacaaaata 1440
agaaccctac aagaagaatt acaaaaacgc agggaaaagc tggcatccaa ccctctctgg 1500
accgggctgc agggctttct tccgtacctc ctacctctcc tgggaccctc actcacctc 1560
ctactcatac taaccattgg gccatgcgtt ttcaatcgat tggccaatt tgtaaagac 1620

aggatctcag tggccaggc tctggttttg actcagcaat atcaccagct aaaaccata 1680
gagtacgagc catga 1695

<210> 40
<211> 2013
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Envelope-GALV
<400> 40

atgtttctca cctcaagccc gcaccacctt cggcaccaga tgagtcctgg gagctggaaa 60
agactgatca tcctcttaag ctgcgtattc ggagacggca aaacgagtct gcagaataag 120
aacccccacc agcctgtgac cctcacctgg caggtactgt cccaaactgg ggacgttgtc 180

tgggacaaaa aggcagtcga gcccttttgg acttgggtggc cctctcttac acctgatgta 240

tgtgccctgg cggccggctc tgagtcctgg gatatcccgg gatccgatgt atcgctctct	300
aaaagagtta gacctcctga ttcagactat actgccgctt ataagcaaat cacctgggga	360
gccatagggt gcagctaccc tcgggctagg accaggatgg caaatcccc ctctacgtg	420
tgtccccgag ctggccgaac ccattcagaa gctaggaggt gtggggggct agaatcccta	480
tactgtaaag aatggagttg tgagaccacg ggtaccgttt attggcaacc caagtctca	540
tgggacctca taactgtaaa atgggaccaa aatgtgaaat gggagcaaaa atttcaaag	600
tgtgaacaaa ccggctgggtg taacccctc aagatagact tcacagaaaa aggaaaactc	660
tccagagatt ggataacgga aaaaacctgg gaattaaggt tctatgtata tggacacca	720
ggcatacagt tgactatccg cttagaggtc actaacatgc cggttgtggc agtgggcca	780
gacctgtcc ttgcggaaca gggacctcct agcaagcccc tcactctccc tctctccca	840
cggaaagcgc cggccacccc tctacccccg gcggctagtg agcaaacccc tgcggtgcat	900
ggagaaactg ttaccctaaa ctctccgcct cccaccagtg gcgaccgact ctttgcctt	960
gtgcaggggg ctttctaac cttgaatgct accaaccag gggccactaa gtcttgctgg	1020
ctctgtttgg gcatgagccc cccttattat gaaggatag cctcttcagg agaggtcgt	1080
tatactcca accatacccg atgccactgg ggggccaag gaaagcttac cctcactgag	1140
gtctccggac tcgggtcatg catagggaag gtgcctctta cccatcaaca tctttgcaac	1200
cagaccttac ccatcaatc ctctaaaaac catcagtatc tgctccctc aaacatagc	1260
tgggtggcct gcagcactgg cctcaccccc tgcctctcca cctcagtttt taatcagtct	1320
aaagacttct gtgtccaggt ccagctgac ccccgcatct attaccatc tgaagaaacc	1380
ttgttacaag cctatgacaa atcaccccc aggtttaaaa gagagcctgc ctcacttacc	1440
ctagctgtct tcctgggggtt agggattgcg gcaggatag gtactggctc aaccgccta	1500
attaaagggc ccatagacct ccagcaaggc ctaaccagcc tccaaatcgc cattgacgt	1560
gacctccggg cccttcagga ctcaatcagc aagctagagg actcactgac ttcctatct	1620
gaggtagtac tccaaaatag gagaggcctt gacttactat tccttaaaga aggaggcctc	1680
tgcgcgccc taaaagaaga gtgctgtttt tatgtagacc actcaggtgc agtacgagac	1740
tccatgaaaa aacttaaaga aagactagat aaaagacagt tagagcgcca gaaaaacca	1800
aactggtatg aagggtggtt caataactcc ccttggttta ctaccctact atcaaccatc	1860
gctgggcccc tattgtcct cttttgtta ctactcttg ggccctgcat catcaataaa	1920
ttaatccaat tcatcaatga taggataagt gcagtcaaaa ttttagtcct tagacagaaa	1980
tatcagacc tagataacga ggaaaacctt taa	2013

<210> 41

<211> 1530

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Envelope-FUG

<400> 41

atggttccgc aggttctttt gtttgtactc cttctgggtt tttcgttggtg tttcgggaag	60
ttccccattt acacgatacc agacgaactt ggtccctgga gccctattga catacaccat	120
ctcagctgtc caaataacct ggttgtggag gatgaaggat gtaccaacct gtccgagttc	180
tcctacatgg aactcaaagt gggatacatc tcagccatca aagtgaacgg gttcacttgc	240
acaggtgttg tgacagaggc agagacctac accaactttg ttggttatgt cacaaccaca	300
ttcaagagaa agcatttccg cccacccca gacgatgta gagccgcgta taactggaag	360
atggccggtg accccagata tgaagagtcc ctacacaatc cataccccga ctaccactgg	420
cttcgaactg taagaaccac caaagagtcc ctattatca tatccccaaag tgtgacagat	480
ttggacccat atgacaaatc ctttactca agggctcttc ctggcggaaa gtgtcagga	540
ataacggtgt cctctaccta ctgtcactt aaccatgatt acaccatttg gatgcccag	600
aatccgagac caaggacacc ttgtgacatt tttaaccaata gcagagggaa gagagcatcc	660
aacgggaaca agacttgcgg ctttgtggat gaaagaggcc tgtataagtc tctaaaagga	720
gcatgcaggc tcaagttatg tggagtctt ggacttagac ttatggatgg aacatgggtc	780
gcgatgcaaa catcagatga gaccaaattg tgccctccag atcagtttgt gaatttgcac	840
gactttcgct cagacgagat cgagcatctc gttgtggagg agttagttaa gaaaagagag	900
gaatgtctgg atgcattaga gtccatcatg accaccaagt cagtaagttt cagacgtctc	960
agtcacctga gaaaacttgt cccagggttt ggaaaagcat ataccatatt caacaaaacc	1020
ttgatggagg ctgatgtca ctacaagtca gtccggacct ggaatgagat catccctca	1080
aaagggtgtt tgaagttgg aggaaggtgc catctcatg tgaacgggtt gtttttcaat	1140
ggtataatat tagggcctga cgacctgtc ctaatcccag agatgcaatc atccctctc	1200
cagcaacata tggagtgtt ggaatcttca gttatcccc tgatgcaccc cctggcagac	1260
ccttctacag ttttcaaaga aggtgatgag gctgaggatt ttgttgaagt tcacctcccc	1320
gatgtgtaca aacagatctc aggggttgac ctgggtctcc cgaactgggg aaagtatgta	1380
ttgatgactg caggggcat gattggcctg gtgttgatat tttccctaat gacatggtgc	1440
agagttggta tccatctttg cattaaatta aagcacacca agaaaagaca gatattataca	1500
gacatagaga tgaaccgact tggaaagtaa	1530

<210> 42
 <211> 1497
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Envelope-LCMV
 <400> 42

atgggtcaga ttgtgacaat gtttgaggct ctgcctcaca tcatcgatga ggtgatcaac	60
attgtcatta ttgtgcttat cgtgatcacg ggtatcaagg ctgtctacaa ttttgccacc	120
tgtgggatat tcgcattgat cagtttcctia cttctggctg gcaggctcctg tggcatgtac	180
ggtcttaagg gacccgacat ttacaaagga gttaccaat ttaagtcagt ggagtttgat	240
atgtcacatc tgaacctgac catgcccaac gcatgttcag ccaacaactc ccaccattac	300
atcagtatgg ggactttctg actagaattg accttcacca atgattccat catcagtcac	360
aacttttgca atctgacctc tgccttcaac aaaaagacct ttgaccacac actcatgagt	420
atagtttcga gcctacacct cagtatcaga gggaactcca actataaggc agtatcctgc	480
gacttcaaca atggcataac catccaatac aacttgacat tctcagatcg acaaagtgt	540
cagagccagt gtagaacctt cagaggtaga gtcctagata tgtttagaac tgccttcggg	600
gggaaataca tgaggagtgg ctggggctgg acaggctcag atggcaagac cacctggtgt	660
agccagacga gttaccaata cctgattata caaaatagaa cctgggaaaa cactgcaca	720
tatgcaggtc cttttgggat gtccaggatt ctcctttccc aagagaagac taagttcttc	780
actaggagac tagcgggcac attcacctgg actttgtcag actcttcagg ggtggagaat	840
ccagggtggtt attgcctgac caaatggatg attcttctgc cagagcttaa gtgtttcggg	900
aacacagcag ttgcgaaatg caatgtaa atcatgatgcc aattctgtga catgctgcga	960
ctaattgact acaacaaggc tgctttgagt aagttcaaag aggacgtaga atctgccttg	1020
cacttattca aaacaacagt gaattctttg atttcagatc aactactgat gaggaaccac	1080
ttgagagatc tgatgggggt gccatattgc aattactcaa agtttttgta cctagaacat	1140
gcaaagaccg gcgaaactag tgtccccaag tgctggcttg tcaccaatgg ttcttactta	1200
aatgagacc acttcagtga tcaaatcgaa caggaagccg ataacatgat tacagagatg	1260
ttgaggaagg attacataaa gaggcagggg agtaccctcc tagcattgat ggaccttctg	1320
atgttttcca catctgcata tctagtcagc atcttctgc accttgtcaa aataccaaca	1380
cacaggcaca taaaagggtg ctcatgtcca aagccacacc gattaaccaa caaaggaatt	1440
tgtagttgtg gtgcatttaa ggtgcctggt gtaaaaaccg tctggaaaag acgctga	1497

<210> 43
 <211> 1692
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Envelope-FPV

<400> 43

atgaacactc aaatcctggt tttcgccctt gtggcagtc tccccacaaa tgcagacaaa	60
atttgtcttg gacatcatgc tgtatcaaat ggcaccaaag taaacacact cactgagaga	120
ggagtagaag ttgtcaatgc aacggaaaca gtggagcgga caaacatccc caaaatttgc	180
tcaaaagga aaagaaccac tgatcttggc caatgcggac tgtagggac cattaccgga	240
ccacctcaat gcgaccaatt tctagaattt tcagctgac taataatcga gagacgagaa	300
ggaaatgatg ttgtttacc ggggaagttt gttaatgaag aggcattgag acaaatcctc	360
agaggatcag gtgggattga caaagaaaca atgggattca catatagtgg aataaggacc	420
aacggaacaa ctagtcatg tagaatgca ggtcttcat tctatgcaga aatggagtgg	480
ctcctgtcaa atacagacaa tgctgctttc ccacaaatga caaaatcata caaaaacaca	540
aggagagaat cagctctgat agtctgggga atccaccatt caggatcaac caccgaacag	600
accaaactat atgggagtgg aaataaactg ataacagtcg ggagtccaa atatcatcaa	660
tcttttgtgc cgagtccagg aacacgaccg cagataaatg gccagtccgg acggattgat	720
tttcattggt tgatcttggg tcccaatgat acagttactt ttagtttcaa tggggctttc	780
atagctcaa atcgtgccag ctctcttagg ggaagtcca tggggatcca gagcgtgtg	840
caggttgatg ccaattgcga aggggaatgc taccacagtg gagggactat aacaagcaga	900
ttgccttttc aaaacatcaa tagcagagca gttggcaaat gcccaagata tgtaaacag	960
gaaagtattat tattggcaac tgggatgaag aacgttccc aaccttcaa aaaaaggaaa	1020
aaaagaggcc tgtttggcgc tatagcaggg ttattgaaa atggttggga aggtctggtc	1080
gacgggtggt acggtttcag gcatcagaat gcacaaggag aaggaactgc agcagactac	1140
aaaagcacc aatcggcaat tgatcagata accggaaagt taaatagact cattgagaaa	1200
accaaccagc aatttgagct aatagataat gaattcactg aggtggaaaa gcagattggc	1260
aatttaatta actggaccaa agactccatc acagaagtat ggtcttaca tgctgaactt	1320
cttgtggcaa tggaaaacca gcacactatt gatttggctg attcagagat gaacaagctg	1380
tatgagcgag tgaggaaaca attaaggga aatgctgaag aggatggcac tggttgcttt	1440
gaaatttttc ataatgtga cgatgattgt atggctagta taaggaacaa tacttatgat	1500

cacagcaaat acagagaaga agcgaatgcaa aatagaatac aaattgaccc agtcaaattg 1560
agtagtggct acaaagatgt gatactttgg tttagcttcg gggcatcatg ctttttgctt 1620
cttgccattg caatgggcct tgttttcata tgtgtgaaga acggaacat gcggtgcact 1680
atttgatat aa 1692

<210> 44

<211> 1266

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Envelope-RRV

<400> 44

agtgtaacag agcactttaa tgtgtataag gctactagac catacctagc acattgcgcc 60
gattgcgggg acgggtactt ctgctatagc ccagttgcta tgcaggagat ccgagatgag 120
gcgtctgatg gcatgcttaa gatccaagtc tccgccaaa taggtctgga caaggcaggc 180
accacgccc acacgaagct ccgatatatg gctggtcatg atgttcagga atctaagaga 240
gattccttga ggggtgtacac gtccgcagcg tgcctcatc atgggacgat gggacacttc 300
atcgtcgac actgtccacc aggcgactac ctcaagttt cgttcgagga cgcagattcg 360
cacgtgaagg catgtaaggt ccaatacaag cacaatccat tgccggtggg tagagagaag 420

ttcgtggtta gaccacactt tggcgtagag ctgccatgca cctcatacca gctgacaacg 480
gtcccaccg acgaggagat tgacatgcat acaccgccag atataccgga tcgcaccctg 540
ctatcacaga cggcgggcaa cgtcaaaata acagcaggcg gcaggactat caggtacaac 600
tgtacctgcg gccgtgacaa cgtaggcact accagtactg acaagaccat caacacatgc 660
aagattgacc aatgccatgc tgccgtcacc agccatgaca aatggcaatt tacctctcca 720
tttgttccca gggctgatca gacagctagg aaaggcaagg tacacgttcc gtccctctg 780
actaacgtca cctgccgagt gccgttggct cgagcgccgg atgccaccta tggtagaag 840

gaggtgacce tgagattaca cccagatcat ccgacgtct tctcctatag gagtttagga 900
gccgaaccgc acccgtacga ggaatgggtt gacaagttct ctgagcgcat catcccagtg 960
acggaagaag ggattgagta ccagtggggc aacaaccgc cggctctgcct gtgggcgcaa 1020
ctgacgaccg agggcaaac ccatggctgg ccacatgaaa tcattcagta ctattatgga 1080
ctataccccg ccgccactat tgccgcagta tccggggcga gtctgatggc cctcctaact 1140
ctggcgccca catgctgcat gctggccacc gcgaggagaa agtgcctaac accgtacgcc 1200
ctgacgccag gagcgttggg accgttgaca ctggggtgc tttgtctgcg accgaggcg 1260

aatgca	1266
<210> 45	
<211> 1938	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Envelope-MLV 10A1	
<400> 45	
atggaaggtc cagcgttctc aaaacccctt aaagataaga ttaacccgtg gaagtcctta	60
atggtcatgg gggctctatit aagagtaggg atggcagaga gccccatca ggtctttaat	120
gtaacctgga gagtcaccaa cctgatgact gggcgtaccg ccaatgccac ctccctttta	180
ggaactgtac aagatgcctt cccaagatta tttttgatac tatgtgatct ggtcggagaa	240
gagtgggacc cticagacca ggaaccatat gtcgggtatg gctgcaaata ccccgagggg	300
agaaagcgga cccggacttt tgacttttac gtgtgccctg ggcataccgt aaaatcgggg	360
tgtggggggc caagagaggg ctactgtggt gaatggggtt gtgaaaccac cggacaggct	420
tactggaagc ccacatcatc atgggacctt atctccctta agcgcggtaa cccccctgg	480
gacacgggat gtcctaaaat ggcttgtggc cctgtctacg acctctcaa agtatccaat	540
tccttccaag gggctactcg agggggcaga tgcaaccctc tagtcctaga attcactgat	600
gcaggaaaaa aggctaattg ggacggggcc aaatcgtggg gactgagact gtaccggaca	660
ggaacagatc ctattacat gttctccctg acccgccagg tctcaatat agggccccgc	720
atccccattg ggctaattcc cgtgatcact ggtcaactac cccctcccg acccgtgcag	780
atcaggctcc ccaggctccc tcagctcct cctacaggcg cagcctctat agtccctgag	840
actgccccac ctctcaaca acctgggacg ggagacagge tgctaaacct ggtagaagga	900
gcctatcagg cgcttaacct caccaatccc gacaagacc aagaatgttg gctgtgctta	960
gtgtcgggac ctcttatta cgaaggagta gcggtcgtgg gcacttatac caatattct	1020
accgccccgg ccagctgtac ggccacttcc caacataagc ttaccctatc tgaagtgaca	1080
ggacagggcc tatgcatggg agcactacct aaaactcacc aggccttatg taacaccacc	1140
caaagtgccg gctcaggatc ctactacctt gcagcaccgg ctggaacaat gtgggcttgt	1200
agcactggat tgactccctg ctgtgccacc acgatgtca atctaaccac agactattgt	1260
gtattagttg agctctggcc cagaataatt taccactccc ccgattatat gtatggtcag	1320
cttgaacagc gtaccaaata taagagggag ccagtatcgt tgaccctggc cttctgcta	1380
ggaggattaa ccatgggagg gattgcagct ggaatagga cggggaccac tgcctaatc	1440

aaaacccagc agtttgagca gcttcacgcc gctatccaga cagacctcaa cgaagtcgaa	1500
aaatcaatta ccaacctaga aaagtcactg acctcgttgt ctgaagtagt cctacagaac	1560
cgaagaggcc tagatttgct ctccctaaaa gagggaggtc tctgcgcagc cctaaaagaa	1620
gaatgttggt tttatgcaga ccacacggga ctagtgcagc acagcatggc caaactaagg	1680
gaaaggctta atcagagaca aaaactatct gagtcaggcc aaggttggtt cgaagggcag	1740
tttaatatagat ccccttggtt taccacctta atctccacca tcatgggacc tctaatagta	1800
ctcttactga tcttactctt tggaccctgc attctcaatc gattgggtcca atttggttaa	1860
gacaggatct cagtgggtcca ggctctggtt ttgactcaac aatatcacca gctaaaacct	1920
atagagtacg agccatga	1938
<210> 46	
<211> 2030	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Envelope-Ebola	
<400> 46	
atgggtgtta caggaatatt gcagttacct cgtgatcgat tcaagaggac atcattcttt	60
ctttgggtaa ttatctttt ccaaagaaca ttttccatcc cacttggagt catccacaat	120
agcacattac aggttagtga tgtcgacaaa ctggtttgcc gtgacaaact gtcattccaca	180
aatcaattga gatcagttgg actgaatctc gaagggaatg gattggcaac tgacgtgcca	240
tctgcaacta aaagatgggg cttcagggtcc ggtgtccac caaagggtgt caattatgaa	300
gctgtgtaat gggtgaaaa ctgctacaat ctgaaatca aaaaacctga cgggagtgcg	360
tgtctaccag cagcgccaga cgggattcgg ggtttccccc ggtgccggtg tgtgcacaaa	420
glatcaggaa cgggacctg tgccggagac ttgccttcc acaaagaggg tgctttcttc	480
ctgtatgacc gacttgcttc cacagttatc taccgaggaa cgactttcgc tgaagggtgc	540
gttgcatctc tgatactgcc ccaagctaag aaggacttct tcagctcaca ccccttgaga	600
gagccggtca atgcaacgga ggacctgtct agtggctact attctaccac aattagatat	660
caagctaccg gttttggaac caatgagaca gattatttgt tcgaggttga caatttgacc	720
tacgtccaac ttgaatcaag attcacacca cagtttctgc tccagctgaa tgagacaata	780
tatacaagtg ggaaaaggag caataccacg ggaaaactaa tttggaaggt caaccccgaa	840
attgatacaa caatcgggga gtgggccttc tgggaaacta aaaaaacctc actagaaaaa	900
ttcgagtgga agagttgtct ttacagctg tatcaaacag agccaaaaac atcagtggtc	960

agagtccggc gcgaacttct tccgacccag ggaccaacac aacaactgaa gaccacaaaa 1020
tcatggcttc agaaaattcc tctgcaatgg ttcaagtga cagtcaagga agggaagctg 1080

cagtgtcgca tctgacaacc cttgccacaa tctccacgag tctcaacce cccacaacca 1140
aaccaggtcc ggacaacagc acccacaata caccctgtga taaacttgac atctctgagg 1200
caactcaagt tgaacaacat caccgcagaa cagacaacga cagcacagcc tccgacactc 1260
ccccgccac gaccgcagcc ggaccacctaa aagcagagaa caccaacacg agcaagggtg 1320
ccgacctctt ggaccccgcc accacaacaa gtccccaaaa ccacagcgag accgctggca 1380
acaacaacac tcatcacaa gataccggag aagagagtgc cagcagcggg aagctaggct 1440
taattacaa tactattgct ggagtcgcag gactgatcac aggcgggagg agagctcgaa 1500

gagaagcaat tgtcaatgct caacccaaat gcaaccctaa tttacattac tggactactc 1560
aggatgaagg tgtctgaate ggactggcct ggataccata tttcgggcca gcagccgagg 1620
gaatttacat agaggggctg atgcacaatc aagatggttt aatctgtggg ttgagacagc 1680
tggccaacga gacgactcaa gctcttcaac tgttcctgag agccacaacc gagctacgca 1740
ccttttcaat cctcaaccgt aaggcaattg atttcttgct gcagcgatgg ggcggcacat 1800
gccacatttt gggaccggac tgctgtatcg aaccacatga ttggaccaag aacataacag 1860
acaaaattga tcagattatt catgatattg ttgataaaac ccttccggac cagggggaca 1920

atgacaattg gtggacagga tggagacaat ggataccggc aggtattgga gttacaggcg 1980
ttataattgc agttatcgct ttattctgta tatgcaaatt tgtcttttag 2030

<210> 47
<211> 141
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Left ITR
<400> 47

cctgcaggca gctgcgcgct cgctcgctca ctgaggccgc ccgggcaaag cccgggcgctc 60
gggcgacctt tggtcgcccc gcctcagtga gcgagcgagc gcgcagagag ggagtggcca 120
actccatcac taggggttcc t 141

<210>
> 48
<211> 120
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220><223> Prothrombin enhancer

<400> 48

gcgagaactt gtgcctcccc gtgttctctgc tctttgtccc tctgtcctac ttagactaat 60

atttgccttg ggtactgcaa acaggaaatg ggggagggac aggagtaggg cggagggtag 120

120

<210> 49

<211> 228

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> PolyA

<400> 49

gactgtgcct tctagttgcc agccatctgt tgtttgcccc tccccctgc ctctcttgac 60

cctggaaggt gccactccca ctgtcctttc ctaataaaat gaggaaattg catcgattg 120

tctgagtagg tgtcattcta ttctgggggg tgggtgggg caggacagca agggggagga 180

ttgggaagac aatagcaggc atgtggggga tgcggtgggc tctatggc 228

<210> 50

<211> 141

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Right ITR

<400> 50

aggaaccctt agtcatggag ttggccactc cctctctgcg cgctcgctcg ctactgagg 60

ccgggcgacc aaaggtcgcc cgacgcccg gctttgcccg ggccgctca gtgagcgagc 120

gagcgcgag ctgcctgcag g 141

<210> 51

<211> 1470

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> E2A

<400> 51

ttaaaagtcg aagggttct cgctcgctc gttgtgcgc gcctgggga gggccacgtt 60

gcggaactgg tacttgggt gccacttgaa ctggggatc accagtttg gcactgggtt 120

ctcggggaag gtctcgctcc acatgcgcc gctcatctgc agggcgccca gcatgtcagg 180

cgcgagatc ttgaaatcgc agttggggcc ggtgctctgc gcgcgcgagt tgcggtacac 240
 tgggttcgag cactggaaca ccatcagact ggggtacttc aactagcca gcacgtcttt 300
 gtcgctgac tgatccttgt ccaggtcttc ggcgttgctc aggccgaacg gggtcacatt 360

gcacagctgg cggcccagga agggcacgct ctgaggcttg tggttacact cgcagtgcac 420
 gggcatcagc atcatccccg cgccgcgtg catattcggg tagaggcct tgacgaaggc 480
 cgcatctgc ttgaaagctt gctgggcctt ggccccctcg ctgaaaaaca ggccgcagct 540
 ctccccgtg aactgattat tcccgcaccg ggcacatgg acgcagcagc gcgcgtcatg 600
 gctggtcagt tgcaccacgc tccgtccca gcggttcttg gtcacattgg ctttctggg 660
 ttgctcttc agcgcacgct gccgttctc actggtcaca tccatctcca ccacgtggtc 720
 cttgtggac atcacgtcc catgcagaca cttgagctgg cttccacct cggtcagcc 780

gtgtccac agggcactgc cggtcactc ccagttcttg tgcgcgatcc cgtgtggt 840
 gaagatgtaa cttgcaaca ggccacccat gatggtgcta aagctcttct ggggtgtgaa 900
 ggtcagttgc agaccgcggg cctctctgtt catccaggtc tggcacatct ttggaagat 960
 ctggtctgc tcgggatga gcttgaagc atcgccagg ccgtgtcga cgcggtagcg 1020
 ttccatcagc acattcatgg tatccatgcc ctctccag gacgagacca gaggcagact 1080
 cagggggttg cgcacgttca ggacaccggg ggtcgcgggc tcgacgatgc gttttccgtc 1140
 cttgccttc ttcaacagaa ccggcggtg gctgaatccc actcccacga tcacggttc 1200

ttctggggc atctcttctg ctgggtctac cttggtcaca tgcttggctt ttctggttg 1260
 ctctttttt ggagggtgt ccacggggac cagtcctcc tcggaagacc cggatccac 1320
 ccgtgatac tticggcgt tggttggcag aggaggtggc ggcgaggggc tcctctctg 1380
 ctccggcgga tagcgcgctg aaccgtggcc ccggggcgga gtggcctctc ggtccatgaa 1440
 ccggcgacg tctgactgc cgccggccat 1470

<210> 52
 <211> 393
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> E4
 <400> 52

tcatgtatct ttattgattt ttacaccagc acgggtagtc agtctccac caccagccca 60

tttcacagt taaacaattc tctcagcacg ggtggcctta aatagggcaa tattctgatt 120
 agtgcgggaa ctggacttgg ggtctataat ccacacagtt tcctggcgag ccaaacgggg 180

gtcgggtgatt gagatgaagc cgtcctctga aaagtcatcc aagcgagcct cacagtccaa	240
ggtcacagta ttatgataat ctgcatgata acaatcgggc aacaggggat gttgttcagt	300
cagtgaagcc ctggtttctt catcagatcg tggtaaacgg gccctgcgat atggatgatg	360
gcggagcgag ctggattgaa tctcggtttg cat	393
<210> 53	
<211> 162	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> VA RNA	
<400> 53	
agcgggcaact cttccgtggt ctgggtggata aattcgcaag ggtatcatgg cggacgaccg	60
gggttcgagc cccgtatccg gccgtccgcc gtgatccatg cggttaccgc ccgcgtgtcg	120
aaccaggtg tgcgacgtca gacaacgggg gagggtctct tt	162
<210> 54	
<211> 2208	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> AAV2 Rep	
<400> 54	
atggctgccg atggttatct tccagattgg ctcgaggaca ctctctctga aggaataaga	60
cagtgggtgga agctcaaacc tggccaccca ccacaaagc ccgcagagcg gcataaggac	120
gacagcaggg gtcttgtgct tcttgggtac aagtacctcg gacccttcaa cggactcgac	180
aaggagagc cggatcaacga ggcagacgcc gcggccctcg agcagacaa agcctacgac	240
cggcagctcg acagcggaga caaccgtac ctcaagtaca accacgccga cgcggagttt	300
caggagcgcc ttaaagaaga tacgtctttt gggggcaacc tcggacgagc agtcttccag	360
gcgaaaaaga ggggttcttg acctctgggc ctggttgagg aacctgttaa gacggctccg	420
ggaaaaaaga ggccggtaga gcactctcct gtggagccag actcctctc gggaaccgga	480
aaggcgggcc agcagcctgc aagaaaaaga ttgaattttg gtcagactgg agacgcagac	540
tcagtacctg acccccagcc tctcggacag ccaccagcag cccctctgg tctgggaact	600
aatacatggt ctacaggcag tggcgacca atggcagaca ataacgaggg cgccgacgga	660
gtgggttaatt cctcgggaaa ttggcattgc gattccacat ggatgggcga cagagtcac	720
accaccagca ccgaacctg ggccctgccc acctacaaca accacctcta caaacaatt	780

tccagccaat caggagcctc gaacgacaat cactactttg gctacagcac cccttggggg 840
tattttgact tcaacagatt ccactgccac ttttcaccac gtgactggca aagactcatc 900
aacaacaact ggggattccg acccaagaga ctcaacttca agctctttaa cattcaagtc 960

aaagaggta cgcagaatga cggtagcacg acgattgcca ataaccttac cagcacgggt 1020
cagggtgttta ctgactcgga gtaccagctc ccgtacgtcc tcggctcggc gcatcaagga 1080
tgcctcccgc cgttcccagc agacgtcttc atgggtgccac agtatggata cctcacctg 1140
aacaacggga gtcaggcagt aggacgtctt tcattttact gcctggagta ctttccttct 1200
cagatgctgc gtaccgga aaactttacc ttcagctaca cttttgagga cgttccttct 1260
cacagcagct acgtcacag ccagagtctg gaccgtctca tgaatcctct catcgaccag 1320
tacctgtatt acttgagcag aacaacact ccaagtggaa ccaccagca gtcaaggctt 1380

cagttttctc aggccggagc gaggacatt cgggaccagt ctaggaactg gcttcttga 1440
ccctgttacc gccagcagcg agtatcaaag acatctgcgg ataacaaca cagtgaatac 1500
tcgtggactg gagctacaa gtaccacctc aatggcagag actctctggt gaatccgggc 1560
ccggccatgg caagccaca ggacgatgaa gaaaagtgtt ttcctcagag cgggggttctc 1620
atctttggga agcaaggctc agagaaaaca aatgtggaca ttgaaaaggt catgattaca 1680
gacgaagagg aaatcaggac aaccaatccc gtggctacgg agcagtatgg ttctgtatct 1740
accaacctcc agagaggcaa cagacaagca gctaccgcag atgtcaacac acaaggcgtt 1800

cttcaggca tggctctgga ggacagagat gtgtacctc aggggcccat ctgggcaaag 1860
attccacaca cggacggaca ttttcacccc tctccctca tgggtggatt cggacttaaa 1920
caccctctc cacagattct catcaagaac acccgggtac ctgcgaatcc ttcgaccacc 1980
ttcagtgcgg caaagtgttc ttccttctc acacagtact ccacgggaca ggtcagcgtg 2040
gagatcgagt gggagctgca gaagaaaac agcaaagct ggaatcccga aattcagtac 2100
acttccaact acaacaagtc tgttaatgtg gactttactg tggacactaa tggcgtgtat 2160
tcagagcctc gccccattgg caccagatac ctgactcgta atctgtaa 2208

<210> 55
<211> 1866
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> AAV2 Cap
<400> 55

atgccggggt tttacagat tgtgattaag gtccccagcg accttgacga gcatctgccc 60

ggcattttctg acagctttgt gaactgggtg gccgagaagg aatgggagtt gccgccagat	120
tctgacatgg atctgaatct gattgagcag gcacccctga ccgtggccga gaagctgcag	180
cgcgactttc tgacggaatg gcgccgtgtg agtaaggccc cggaggccct tttctttgtg	240
caatttgaga agggagagag ctacttccac atgcacgtgc tcgtggaaac caccggggtg	300
aaatccatgg ttttgggacg tttcctgagt cagattcgcg aaaaactgat tcagagaatt	360
taccgcggga tcgagccgac ttgtccaaac tggttcgcgg tcacaaagac cagaaatggc	420
gccggaggcg ggaacaaggt ggtggatgag tgctacatcc ccaattactt gctcccaaa	480
accgacctg agctccagtg ggcgtggact aatatggaac agtatttaag cgcctgtttg	540
aatctcacgg agcgtaaacg gttggtggcg cagcatctga cgcacgtgic gcagacgcag	600
gagcagaaca aagagaatca gaatcccaat tctgatgcgc cggatgacag atcaaaaact	660
tcagccaggt acatggagct ggtcgggtgg ctctgggaca aggggattac ctcggaag	720
cagtggatcc aggaggacca ggcctcatal atctccttca atgcggcctc caactcgcg	780
tcccaaatca aggtgcctt ggacaatgcg ggaaagatta tgagcctgac taaaaccgcc	840
cccgaactacc tgggtgggcca gcagccctg gaggacatit ccagcaatcg gatitataaa	900
atittggaac taaacgggta cgatcccaa tatgcggctt ccgtctttct gggatgggcc	960
acgaaaaagt tcggcaagag gaacaccatc tggctgtttg ggcttgaac taccgggaag	1020
accaacatcg cggaggccat agcccacact gtgcccttct acgggtgcgt aaactggacc	1080
aatgagaact ttcccttcaa cgactgtgtc gacaagatgg tgatctggtg ggaggagggg	1140
aagatgaccg ccaaggtcgt ggagtcggcc aaagccattc tcggaggaag caaggtgcgc	1200
gtggaccaga aatgcaagtc ctgcggccag atagaccga ctcccgatg cgtcacctcc	1260
aacaccaaca tgtgcgcgt gattgacggg aactcaacga ccttgaaca ccagcagccg	1320
ttgcaagacc ggatgttcaa atttgaactc accgcccgtc tggatcatga ctttggaag	1380
gtcaccaagc aggaagtcaa agactttttc cgggtgggcaa aggatcacgt ggttgaggtg	1440
gagcatgaat tctacgtcaa aaagggtgga gccaaagaaa gaccgcccc cagtgcgca	1500
gatataagtg agcccaaagc ggtgcgcgag tcagttgcgc agccatcgac gtcagacgcg	1560
gaagcttca tcaactacgc agacaggtac caaaacaaat gttctcgtca cgtgggcatg	1620
aatctgatgc tgtttccctg cagacaatgc gagagaatga atcagaatc aaatatctgc	1680
ttcactcacg gacagaaaga ctgttttagag tgctttcccg tgcagaatc tcaaccgtt	1740
tctgtcgtca aaaaggcgta tcagaaactg tgctacattc atcatatcat gggaaggtg	1800
ccagacgctt gcactgcctg cgatctggtc aatgtggatt tggatgactg catctttgaa	1860
caataa	1866

<210> 56
 <211> 1227
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> DNA Fragment containing RRE and rabbit beta globin poly A

<400> 56
 tctagaagga gctttgttcc ttgggttctt gggagcagca ggaagcacta tgggcgcagc 60
 gtcaatgacg ctgacggtagc aggccagaca attattgtct ggtatagtgc agcagcagaa 120
 caatttgctg agggctattg aggcgcaaca gcattctgtt caactcacag tctggggcat 180
 caagcagctc caggcaagaa tcctggctgt ggaaagatac ctaaaggatc aacagctcct 240
 agatcttttt ccctctgcca aaaattatgg ggacatcatg aagccccttg agcatctgac 300
 ttctggctaa taaaggaaat ttattttcat tgcaatagtg tgttgaatt ttttgtgtct 360
 ctactcggga aggacatatg ggagggcaaa tcatttaaaa catcagaatg agtatttggt 420

 ttagagtttg gcaacatatg ccatatgctg gctgccatga acaaaggtgg ctataaagag 480
 gtcacagta tatgaaacag cccctgctg tccattcctt attccataga aaagccttga 540
 cttagaggta gatttttttt atattttgtt ttgtgttatt tttttcttta acatccctaa 600
 aattttcctt acatgtttta ctaggcagat ttttctcct ctcctgacta ctcccagtea 660
 tagctgtccc tcttctctta tgaagatccc tcgacctgca gccaagctt ggcgtaatca 720
 tggatcatagc tgtttcctgt gtgaaattgt tatccgctca caattccaca caacatacga 780
 gccggaagca taaagtgtaa agcctggggt gcctaatgag tgagctaact cacattaatt 840

 gcgttgcgct cactgcccgc tttccagtcg ggaaacctgt cgtgccagcg gatccgcac 900
 tcaattagtc agcaaccata gtcccgcccc taactccgcc catcccgccc ctaactccgc 960
 ccagttccgc ccattctcgc ccccatggct gactaatttt ttttatttat gcagaggccg 1020
 aggccgcctc ggcctctgag ctattccaga agtagtgagg aggccttttt ggaggcctag 1080
 gcttttgcaa aaagctaact tgtttattgc agcttataat ggttacaaat aaagcaatag 1140
 catcacaat ttacaaata aagcattttt ttactgcat tctagttgtg gtttgtccaa 1200
 actcatcaat gtatcttate acccggg 1227

<210> 57
 <211> 2312
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> hPAH with fill 5' and 3' UTR

<400> 57

ggcacgaggt acctgaggcc ctaaaaagcc agagacctca ctcccgggga gccagcatgt	60
ccactgcggt cciggaaaac ccaggcttgg gcaggaaact ctctgacttt ggacaggaaa	120
caagctatat tgaagacaac tgcaatcaaa atggtgccat atcactgac ttctcactca	180
aagaagaagt tggatgcatg gccaaagtat tgcgttatt tgaggagaat gatgtaaacc	240
tgaccacat tgaatctaga ctttctcgtt taaagaaaga tgagtatgaa tttttcaccc	300
atttgataa acgtagcctg cctgctctga caaacatcat caagatcttg aggcatgaca	360
ttggtgccac tgcctatgag ctttcacgag ataagaagaa agacacagtg ccctggttcc	420
caagaacat tcaagagctg gacagatttg ccaatcagat tctcagctat ggagcggaac	480
tggatgctga ccacctggt tttaaagatc ctgtgtaccg tgcaagacgg aagcagtttg	540
ctgacattgc ctacaactac cgccatgggc agcccatccc tcgagtggaa tacatggagg	600
aagaaaagaa aacatggggc acagtgttca agactctgaa gtccttgat aaaacccatg	660
cttgctatga gtacaatcac atttttccac ttcttgaaaa gtactgtggc ttccatgaag	720
ataacattcc ccagctggaa gacgtttctc agttcctgca gacttgact ggtttccgcc	780
tccgacctgt agctggcctg ctttcctctc gggatttctt ggggtggcctg gccttccgag	840
tcttccactg cacacagtac atcagacatg gatccaagcc catgtatacc cccgaacctg	900
acatctgcc aagagctgtg ggacatgtgc ccttgttttc agatcgagc ttgcccagt	960
tttccaggaa aattggcctt gcctctctgg gtgcacctga tgaatacatt gaaaagctcg	1020
ccacaattta ctggtttact gtggagtgtg ggctctgcaa acaaggagac tccataaagg	1080
catatggtgc tgggctcctg tcctcctttg gtgaattaca gtactgtta tcagagaagc	1140
caaagcttct cccctggag ctggagaaga cagccatcca aaattacact gtcacggagt	1200
tccagccctt gtattacgtg gcagagagtt ttaatgatgc caaggagaaa gtaaggaact	1260
ttgctgccac aataacctcg ccttctcag ttgctacga ccatacacc caaaggattg	1320
aggtcttgg aataaccag cagcttaaga ttttggtga ttccattaac agtgaaattg	1380
gaatcctttg cagtgcctc cagaaaataa agtaaagcca tggacagaat gtggtctgtc	1440
agctgtgaat ctgttgatgg agatccaact atttcttca tcagaaaaag tccgaaaagc	1500
aaaccttaat ttgaaataac agccttaaat cctttacaag atggagaaac aacaaataag	1560
tcaaaataat ctgaaatgac aggatatgag tacatactca agagcataat ggtaaatctt	1620
ttggggtcat ctttgattta gagatgataa tccatactc tcaattgagt taaatcagta	1680
atctgtcgca tttcatcaag attaatataa atttgggacc tgcttcattc aagcttcata	1740

tatgctttgc agagaactca taaaggagca tataaggcta aatgtaaaac ccaagactgt	1800
cattagaatt gaattattgg gcttaataata aatcgtaacc tatgaagttt attttttatt	1860
ttagttaact atgattccaa ttactacttt gttattgtac ctaagtaaat ttctcttaag	1920
tcagaagccc attaaaatag ttacaagcat tgaacttctt tagtattata ttaatatata	1980
aacatttttg tatgttttat tgtaatcata aatactgctg tataaggtaa taaaactctg	2040
cacctaatec ccataacttc cagtatcatt ttccaattaa ttatcaagtc tgttttggga	2100
aacactttga ggacatttat gatgcagcag atgttgacta aaggcttggt tggtagatat	2160
tcaggaaatg ttactgaat aaataagtaa atacattatt gaaaagcaaa tctgtataaa	2220
tgtgaaatth ttatttgtat tagtaataaa acattagtag tttaaacaaa aaaaaaaaaa	2280
aaaaaaaaa aaaaaaaact cgactctaga tt	2312
<210> 58	
<211> 1704	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> hPAH with full 5' UTR and truncated 3' UTR	
<400> 58	
ggcacgaggt acctgaggcc ctaaaaagcc agagacctca ctcccgggga gccagcatgt	60
ccactgcggt cctggaaaac ccaggcttgg gcaggaaact ctctgacttt ggacaggaaa	120
caagctatat tgaagacaac tgcaatcaaa atggtgccat atcactgac ttctcactca	180
aagaagaagt tggatgattg gccaaagtat tgcgcttatt tgaggagaat gatgtaaacc	240
tgaccacat tgaatctaga cttctctgt taaagaaaga tgaglatgaa tttttcaccc	300
atttgataa acgtagcctg cctgctctga caaacatcat caagatcttg aggcatgaca	360
ttggtgccac tgtccatgag ctttcacgag ataagaagaa agacacagtg ccttggttcc	420
caagaacat tcaagagctg gacagatttg ccaatcagat tctcagctat ggagcggaac	480
tggatgctga ccacctggt tttaaagatc ctgtgtaccg tgcaagacgg aagcagtttg	540
ctgacattgc ctacaactac cgccatgggc agcccatccc tcgagtggaa tacatggagg	600
aagaaaagaa aacatggggc acagtgttca agactctgaa gtccttgtat aaaacccatg	660
cttgctatga gtacaatcac atttttccac ttcttgaaaa gtactgtggc ttccatgaag	720
ataacattcc ccagctggaa gacgtttctc agttcctgca gacttgact ggtttccgcc	780
tccgacctgt agctggcctg ctttctcttc gggatttctt ggggtggcctg gccttccgag	840
tcttccactg cacacaglac atcagacatg gatccaagcc catgtatacc cccgaacctg	900

acatctgcc	tgagctgtg	ggacatgtg	ccttgtttc	agatcgagc	ttgcccagt	960
tttcccagga	aattggcctt	gcctctctgg	gtgcacctga	tgaatacatt	gaaaagctcg	1020
ccacaattta	ctggtttact	gtggagtttg	ggctctgcaa	acaaggagac	tccataaagg	1080
catatgggtg	tgggctcctg	tcctcttttg	gtgaattaca	gtactgctta	tcagagaagc	1140
caaagcttct	ccccctggag	ctggagaaga	cagccatcca	aaattacact	gtcacggagt	1200
tccagccct	gtattacgtg	gcagagagtt	ttaatgatgc	caaggagaaa	gtaaggaact	1260
ttgctgccac	aatacctcgg	cccttctcag	ttcgtacga	cccatacacc	caaaggattg	1320
aggtcttgg	caataccag	cagcttaaga	tttggctga	ttccattaac	agtgaattg	1380
gaatcctttg	cagtgcctc	cagaaaataa	agtaaagcca	tggacagaat	gtggtctgtc	1440
agctgtgaat	ctgttgatgg	agatccaact	atttctttca	tcagaaaaag	tccgaaaagc	1500
aaaccttaat	ttgaaataac	agccttaaat	cctttacaag	atggagaaac	aacaaataag	1560
tcaaaataat	ctgaaatgac	aggatatgag	tacatactca	agagcataat	ggtaaatctt	1620
ttgggtcat	ctttgattta	gagatgataa	tcccatctc	tcaattgagt	taaatacagta	1680
atctgtcgca	tttcatcaag	atta				1704