



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

전체 청구항 수 : 총 18 항

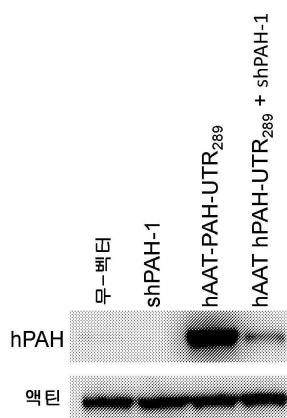
심사관 : 이재영

(54) 발명의 명칭 폐닐케톤뇨증을 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 폐닐알라닌 히드록실라아제 (PAH) 를 발현하기 위한 PAH 서열 또는 이의 변이체를 포함하며, 여기서 PAH 서열은 절두된다.

대 표 도 - 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

관련 출원에 대한 교차-참조

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

기술분야

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 (BH_4), 그의 비단백질 보조인자의 존재 하에 페닐알라닌 (Phe) 의 티로신 (Tyr) 으로의 히드록실화를 촉매화하는 다양체성 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-티록신 및 카테콜아민 신경전달물질 (도파민을 포함) 을 포함하는 그의 다운스 트림 생성물의 결핍을 유발할 수 있다.

[0008] PKU 는 PAH 에서의 돌연변이 및/또는 PAH 보조인자 (즉, BH_4) 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 칠훼시키는 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 폐닐알라닌 수치에 대해 검사한다.

[0011] 현재, Phe 및 BH₄ 보충의 평생 식이 제한은 PKU에 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 생성에서의 결함과 관련된 바에 따라 경증 고폐닐알라닌혈증의 치료에 주로 효과적인 반면, 경증 또는 고전적 PKU를 갖는 환자의 오직 20-30% 만이 반응성이다. 따라서, 과도한 Phe-제한 식단에 대한 대안으로서 PKU를 위한 새로운 치료 방식이 절실히 필요하다. 따라서, 폐닐케톤뇨증의 치료를 위한 대안적 방법을 개발하는 것이 바람직할 것이다. 유전적 약물은 PKU를 효과적으로 치료하는 가능성을 갖는다.

발명의 내용

발명의 개요

[0012] [0013] 한 양태에서, 바이러스 벡터가 개시된다. 바이러스 벡터는 적어도 하나의 폐닐알라닌 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 shRNA를 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 폐닐알라닌 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: 1과 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 폐닐알라닌 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 폐닐케톤뇨증 (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 폐닐알라닌 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 폐닐케톤뇨증 (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

상세한 설명

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 초과의 요소를 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 (의도하는) 것으로 의도된다.
- [0032] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "발현", "발현된" 또는 "인코딩하는" 은 폴리뉴클레오티드가 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 히드록실라이

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

[0034] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "페닐알라닌 히드록실라아제"는 또한 본원에서 PAH 로도 지칭될 수 있다. 인간 PAH 는 또한 본원에서 hPAH 로도 지칭될 수 있다. 마우스 PAH 는 또한 본원에서 mPAH 로도 지칭될 수 있다.

[0035] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "shPAH"는 PAH 를 표적으로 하는 작은 헤어핀 RNA 를 지칭한다.

[0036] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "hAAT-hPAH-3'UTR₂₈₉"은 또한 본원에서 U₂₈₉ 로도, 또는 일반적으로 이식유전자-발현 절두된 hPAH 3'UTR 로도, 또는 일반적으로 절두된 3' UTR 로도 지칭될 수 있다.

[0037] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "hAAT-hPAH-3'UTR₂₃₈"은 또한 본원에서 U₂₃₈ 로도, 또는 일반적으로 이식유전자-발현 절두된 hPAH 3'UTR 로도, 또는 일반적으로 절두된 3' UTR 로도 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 "갖지 않는"으로도 지칭될 수 있다.

[0040] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "변이체"는 또한 본원에서 유사체 또는 변이로도 지칭될 수 있다. 변이체는 뉴클오티드 서열에 대한 임의의 치환, 결실 또는 부가를 나타낸다.

[0041] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "유전적 약물" 또는 "유전적 약물들"은 일반적으로 임상적 질환 또는 정후를 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 PAH 를 표적으로 하는 shRNA 를 발현하는 렌티바이러스에 대한 언급이다.

[0044] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "페키징 세포주"는 렌티바이러스 입자를 발현하는데 사용될 수 있는 임의의 세포주를 지칭한다.

[0045] 본원에서 사용되는 바와 같이, 2 개 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 백분율의 뉴클레오티드 또는 아미노산 잔기를 갖는 2 개 이상의 서열 또는 하위서열을 지칭한다. 적용에 따라, "동일성 %"는 비교되는 서열의 부위에 걸쳐, 예를 들어 기능적 도메인에 걸쳐 존재할 수 있거나, 대안적으로, 비교될 2 개 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, 이를 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), NWGapDNA.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 갑화된 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, 항균 및 항진균제, 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 간섭 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 간섭 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:

ATGTCCACTGCGGTCTGGAAACCCAGGCTTGGGCAGGAAACTCTCTGA
CTTGAGACAGGAAACAAGCTATATTGAAGACAACTGCAATCAAAATGGTG

[0059]

CCATATCACTGATCTTCACTCAAAGAAGAAGTTGGTGCATTGCCAA
 GTATTGCGCTTATTGAGGAGAATGATGATGAAACCTGACCCACATTGAATCT
 AGACCTCTCGTTAAAGAAAGATGAGTATGAATTTCACCCATTGGAT
 AACCGTAGCCTGCCTGCTCTGACAAACATCATCAAGATCTGAGGCATGA
 CATTGGTCCACTGTCCATGAGCTTCACGAGATAAGAAGAAAGACACAG
 TGCCCTGGTCCCAAGAACCATTCAGAGCTGGACAGATTGCCAATCAG
 ATTCTCAGCTATGGAGCGGAAGTGGATGCTGACCACCCGGTTAAAGA
 TCCGTGTACCGTGCAGACGGAAGCAGTTGCTGACATTGCCTACAACT
 ACCGCCATGGGCAGCCCATCCCTGAGTGGAAATACATGGAGGAAGAAAA
 GAAAACATGGGGCACAGTGTCAAGACTCTGAAGTCCTGTATAAAACCC
 ATGCTTGCTATGAGTACAATCACATTTCACCTCTGAAAAGTACTGTG
 GCTTCCATGAAGATAACATTCCCCAGCTGGAAGACGTTCTCAATTCTGC
 AGACTTGACTGGTTCCGCCTCCGACCTGTGGCTGGCTGCTTCCTCTC
 GGGATTCTGGGTGGCCTGGCCTCCGAGTCTTCAACTGCACACAGTACA
 TCAGACATGGATCCAAGCCATGTATAACCCCGAACCTGACATGCCC
 GAGCTGTTGGACATGTGCCCTGTTCACTGAGTCAGCTTGGCCAGTT
 TCCCAGGAAATTGGCCTGCCTCTGGTGCACCTGATGAATACATTGAA
 AAGCTGCCACAATTACTGGTTACTGTGGAGTTGGCTCTGCAAACAA
 GGAGACTCCATAAAGGCATATGGTGTGGCTCCTGTCATCCTTGGTGA
 ATTACAGTACTGCTTATCAGAGAAGCCAAAGCTCTCCCCCTGGAGCTGG
 AGAAGACAGCCATCCAAAATTACACTGTCACGGAGTCCAGCCCCGTAT
 TACGTGGCAGAGAGTTAATGATGCCAAGGAGAAAGTAAGGAACCTTGC
 TGCCACAATACCTCGGCCCTCTCAGTCGCTACGACCCATACACCCAAAG
 GATTGAGGTCTGGACAATACCCAGCAGCTTAAGATTGGCTGATTCCAT
 TAACAGTGAATTGGAATCCTTGCAGTGCCCTCCAGAAAATAAGTAA
 (SEQ ID NO: 1);

ATGAGCACAGCTGTGGAAATCCTGGCTGGCCGTAAGCTTCCGA
 TTTCGGCCAGGAGACTTCATACATTGAGGACAACGCAACCAGAAATGGGG
 CCATTCTTGATCTCAGTCTCAAAGAAGAGGTAGGCGCTGGCTAAGG
 TCCTGAGGCTGTTGAGGAAATGACGTGAATCTGACACACATTGAGTCT
 AGGCCTCCGACTTAAGAAGGATGAGTATGAGTTCTCACACACCTGGA
 CAAACGATCTCTCCAGCACTGACCAATATCATCAAGATTCTCAGGCATG
 ATATCGGTGCCACGGTCCACGAACCTTCACCGATAAGAAGAAAGACACA
 GTTCCCTGGTCCGAGAACCATTCAGGAACGGATAGGTTGCCAATCA
 GATTCTGAGCTATGGGCAGAGTTGGATGCCGACCATCCAGGCTCAAAG

[0060]

ACCCGTATATCGGCTCGAGAAAGCAGTTGCAGACATCGCTTACAAT
 TACAGGCATGGACAGCCCCTAGAGTGGAGTACATGGAAGAAGGCA
 AGAAAACCTGGGAACGGTGTAAAGACCCCTCAAAAGCCTGTATAAGACC
 CACGCGTGTATGAGTACAACCACATTTCCCATTGCTGGAGAAGTACTGT
 GGCTTCACGGAGGACAACATCCCTCAACTGGAGGATGTTACAGTCCTT
 CAGACTTGACTGGTTCGCCTCGACCTGTGGCTGGCTGCTTAGCTCA
 CGGGACTTCCTGGAGGCCTGGCCTCAGAGTCTTCAGTCAGTAC
 ATTGGCATGGCTCTAACGCAATGTACACCCCTGAACCGGATATATGCCA
 CGAGCTGTTGGACATGTGCCCTGTTCTGATCGCAGCTTGCCAGTT
 TTCCAGGAGATTGGCCTGGCAAGTCTTGGTGCCTGATGAGTACATCG
 AGAAGCTCGCAGAACATCTACTGGTTACCGTGAATTGGACTCTGCAA
 CAAGGGACTCTAACGCTACGGAGCAGGACTCCTCTCCAGCTCGG
 TGAACACTGAGTATTGCTGTCCGAGAAACCCAAACTCTTGCCCTGGA
 GGAAAAGACTGCCATCCAAACTATACTGTCACGGAATTCAAGCCACTGT
 ATTATGTTGGCTGAATCCTTAACGATGCCAAGGAGAAGGTCCGTAATT
 GCTGCCACAATACCACGCCCTCAGCGTGGAGATACGACCCGTATACACA
 ACGGATAGAGGTTCTGGACAAACACCCAGCAACTGAAAATTCTGGCAGACA
 GTATAAACACGCAAATAGGGATCCTCTGTAGTGCCTGCAGAAAATCAA
 TGA (SEQ ID NO: 2);
 AGCCATGGACAGAACATGTGGTCTGTCAGCTGTGAATCTGTTGATGGAGATC
 CAACTATTCTTCATCAGAAAAAGTCCGAAAAGCAAACCTTAATTGAA
 ATAACAGCCTTAAATCCTTACAAGATGGAGAAACAACAAATAAGTC
 ATAATCTGAAATGACAGGATATGAGTACATACTCAAGAGCATAATGGTAA
 ATCTTTGGGTTCATCTTGATTAGAGATGATAATCCCATACTCTCAATT
 GAGTTAAATCAGTAATCTGCGATTCATCAAGATTAATTAAAATTGGG
 ACCTGCTTCATTCAAGCTTCATATATGCTTGAGAGACTCATAAAGGAG
 CATATAAGGCTAAATGTAACCAAGACTGTCATTAGAATTGAATTATT
 GGGCTTAATATAATCGTAACCTATGAAGTTATTGTTATTAGTTAAC
 TATGATTCCAATTACTACTTTGTTATTGTACCTAAGTAAATTCTTAAAGT
 CAGAAGCCCATTAAATAGTTACAAGCATTGAACTTCTTAGTATTATATT
 AATATAAAAACATTGTTATGTTATTGTAAATCATAAAACTGCTGTAT
 AAGGTAAATAAAACCTGCACTTACATCCCCATAACTCCAGTATCATT
 AATTAAATTATCAAGTCTGTTGGAAACACTTGAGGACATTATGATGC
 AGCAGATGTTGACTAAAGGCTGGTGGTAGATATTCAAGGAAATGTTCAC
 TGAATAATAAGTAAATACATTATTGAAAAGCAAATCTGTATAATGTGA

[0061]

AATTTTATTGTTATTAGTAAATAAACATTAGTAGTTAAACAAAAAAA
 AAAAAAAAAAAAAAAACTCGACTCTAGATT (SEQ ID NO: 3); or
 AGCCATGGACAGAACATGTGGTCTGTCAGCTGTGAATCTGTTGATGGAGATC
 CAACTATTCTTCATCAGAAAAAGTCCGAAAAGCAAACCTTAATTGAA
 ATAACAGCCTTAAATCCTTACAAGATGGAGAAACAACAAATAAGTC
 ATAATCTGAAATGACAGGATATGAGTACATACTCAAGAGCATAATGGTAA
 ATCTTTGGGTTCATCTTGATTAGAGATGATAATCCCATACTCTCAATT
 GAGTTAAATCAGTAATCTGCGATTCATCAAGATTA (SEQ ID NO: 4).

[0062]

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:

TCGCATTTCATCAAGATTAATCTGAGATTAATCTTGATGAAATGCGATT

TT (SEQ ID NO: 5); 또는

ACTCATAAAGGAGCATATAAGCTCGAGCTTATATGCTCCTTATGAGTTT

TT (SEQ ID NO: 6).

[0065]

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.

[0066]

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.

[0067]

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

[0068]

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.

[0069]

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.

[0070]

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

[0071]

페닐케톤뇨증

[0072]

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 철풀시키는 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.

[0073]

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 μM), 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. 힐 스틱으로부터 수집한 1 점적의 혈액을 페닐알라닌 수준에 대해 검사한다. NBS 는 USA 의 모든 50 개 주에서 의무적이다.

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 특징 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.

치료적 벡터

[0081] 본원의 다양한 양태 및 구현예에 따른 렌티바이러스 베리온 (입자) 은 베리온 (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 (립프구성 맥락수막염 바이러스), 플라비바이러스 (진드기 매개 뇌염 바이러스, 뎅기 바이러스, C 형 간염 바이러스, GB 바이러스), 랍도바이러스 (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 PAH 의 생성을 억제하고/하거나 내인성 PAH 의 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 판) (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) (WPRE) (SEQ ID NO: 13) 및 △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 판) (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 (WPRE) (SEQ ID NO: 13) 및 △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 A 는 토끼 베타 글로빈 폴리 A 를 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, MD로부터의 Lent i-vpac packaging kit), 또한 본원에 기재된 바와 같이 설계될 수 있다. 더욱 이, 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 Operon에 의해 합성될 수 있다. 중첩 센스 및 앤티센스 올리고뉴클레오티드 서열은 70 °C에서 실온으로 냉각하는 동안 혼합 및 어닐링될 수 있다. pAAV는 제한 효소 BamHI 및 EcoRI으로 1시간 동안 37°C에서 소화될 수 있다. 소화된 pAAV 플라스미드는 아가로오스 젤 전기영동에 의해 정제되고 Thermo Scientific으로부터의 DNA 젤 추출 키트를 사용하여 젤로부터 추출될 수 있다. DNA 농도를 측정할 수 있고, 벡터 대 올리고 (3:1 비)를 혼합하고, 어닐링하고, 라이케이션 할 수 있다. 라이케이션 반응은 30분 동안 실온에서 T4 DNA 리가아제에 의해 수행될 수 있다. 2.5 μl의 라이케이션 믹스를 25 μl의 STBL3 적격 박테리아 세포에 첨가할 수 있다. 형질전환을 42°C에서 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 DNA를 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 3에서 도시한다. 간략하게, 가장 좌측의 AAV 헬퍼 플라스미드는 좌측 ITR (SEQ ID NO: 47), 프로트롬빈 인핸서 (SEQ ID NO: 48), 인간 항 알파 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 3의 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, pHelper는 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 μg의 각각의 플라스미드를 1 ml의 DMEM 중 함께 첨가할 수 있다. 또 다른 튜브에서, 60 μl의 형질감염 시약 PEI (1 μg/ml) (Polysciences)를 1 ml의 DMEM에 첨가할 수 있다. 2개의 튜브를 함께 혼합하여 15분 동안 인큐베이션할 수 있다. 그런 다음, 형질감염 혼합물을 세포에 첨가할 수 있고, 세포를 3일 후 수집할 수 있다. 세포를 드라이 아이스/이소프로판온 중 동결/해동 용해 (lysis)에 의해 용해할 수 있다. 벤조나아제 뉴클레아제 (Sigma)를 37°C에서 30분 동안 세포 용해물에 첨가할 수 있다. 그런 다음, 세포 잔해를 4°C에서 15분 동안 12,000 rpm에서 원심분리에 의해 펠렛화할 수 있다. 상청액을 수집한 다음, 표적 세포에 첨가할 수 있다.

투약량 및 투약 형태

[0097] 개시된 벡터 시스템은 개시된 벡터의 애피솔 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 정후에 대해 결정될 것이며, 각각의 개별 제품 또는 제품 로트에 대한 독성/안전성 프로파일에 따라 좌우될 것이다.

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

예 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, 주사가능 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 구현 예에서, 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, 폐, 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, 젤, 에어로졸, 폐 에어로졸, 코 에어로졸, 연고, 크림, 반고체 투약 형태, 용액, 에멀젼 및 혼탁액으로 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 뺨과 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, 혼탁액 및 젤 조성물을 포함한다.

[0107] 구현예에서, 약학 조성물은 경구 투여용 액체 투약 형태, 예컨대 혼탁액, 에멀젼 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, 혼탁액, 에멀젼, 비-수용액 또는 좌제로 제형화될 수 있다. 구현예에서, 용액 또는 혼탁액은 프로필렌 글리콜, 폴리에틸렌 글리콜, 식물성 오일 예컨대 올리브 오일 또는 주사가능 에스테르 예컨대 에틸 올레이트를 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, VA로부터 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 DNA를 초기에 3:1의 비 (PEI 대 DNA의 질량비)로, 혈청 없는 배양 배지에서 별도로 첨가하였다. 2-3일 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. TU의 결정은 배양액 (p24 단백질이 렌티바이러스 입자에 통합됨) 중 HIV p24 수준을 측정함으로써, 정량 PCR에 의해 형질도입된 세포 당 바이러스 DNA 카피수를 측정함으로써, 또는 세포를 감염시키고 광을 사용하여 (벡터가 루시퍼라아제 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 1에 나타낸다. 간략하게, 도 1을 참조하면, 최상부 벡터는 헬퍼 플라스미드이며, 이러한 경우, 이는 Rev를 포함한다. 도 1의 중앙에 나타나는 벡터는 외피 플라스미드이다. 최하부 벡터는 본원에 기재된 바와 같은 치료용 벡터이다.

[0116] 도 1을 참조하면, 헬퍼 플러스 Rev 플라스미드는 CAG 인핸서 (SEQ ID NO: 24); CAG 프로모터 (SEQ ID NO: 16); 닫 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'-TAAGCAGAATTTCATGAATTGCCAGGAAGAT-3') (SEQ ID NO: 28)였으며, 역방향 프라이머는 (5'-CCATACAATGAATGGACACTAGGCGGCCGACGAAT-3') (SEQ ID NO: 29)였다.

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

```

GAATTCATGAATTGCCAGGAAGATGAAACCAAAATGATAGGGGAATTG
GAGGTTTATCAAAGTAAGACAGTATGATCAGATACTCATAGAAATCTGCGGACATA
AAGCTATAGGTACAGTATTAGTAGGACCTACACCTGTCAACATAATTGGAAGAAATC
TGTTGACTCAGATTGGCTGACTTAAATTCCCATTAGTCCTATTGAGACTGTACC
AGTAAAATTAAGCCAGGAATGGATGGCCAAAAGTTAACAAATGCCATTGACAG
AAGAAAAAATAAAGCATTAGTAGAAATTGTACAGAAATGGAAAAGGAAGGAAA
AATTCAAAAATTGGCCTGAAAATCCATACAATACTCCAGTATTGCCATAAAGAA
AAAAGACAGTACTAATGGAGAAAATTAGTAGATTTCAGAGAACTTAATAAGAGAA
CTCAAGATTCTGGGAAGTTCAATTAGGAATACCACATCCTGCAGGGTTAAACAGA
AAAAATCAGTAACAGTACTGGATGTGGCGATGCATATTTCAGTCCCTAGATA
AAGACTTCAGGAAGTATACTGCATTACCATACCTAGTATAAACAAATGAGACACCAG
GGATTAGATATCAGTACAATGTGCTTCACAGGGATGGAAAGGATCACCAGCAATA
TTCCAGTGTAGCATGACAAAAATCTTAGAGCCTTAGAAAACAAATCCAGACATA
GTCATCTATCAATACATGGATGATTGTATGTAGGATCTGACTTAGAAATAGGGCAG
CATAGAACAAAAATAGAGGAACGTGAGACAACATCTGTTGAGGTGGGTTATGAACTCCA
ACCAGACAAAAAACATCAGAAAGAACCTCCATTCTTGGATGGGTTATGAACTCCA
TCCTGATAAAATGGACAGTACAGCCTATAGTGCTGCCAGAAAAGGACAGCTGGACTG
TCAATGACATACAGAAATTAGTGGAAAATTGAATTGGCAAGTCAGATTATGCA

```

[0122]

GGGATTAAAGTAAGGCAATTATGTAAACCTTCTAGGGAACCAAGCACTAACAGA
 AGTAGTACCACTAACAGAAGAAGCAGAGCTAGAACTGGCAGAAAACAGGGAGATT
 CTAAGAAGAACCGGTACATGGAGTGTATTATGACCATCAAAGACTTAATAGCAGA
 AATACAGAAGCAGGGCAAGGCCAATGGACATATCAAATTATCAAGAGCCATT
 AAAATCTGAAAACAGGAAAGTATGCAAGAATGAAGGGTCCCCACACTAATGATGTG
 AAACAATTAACAGAGGCAGTACAAAAATAGCCACAGAAAGCATAGTAATATGGG
 GAAAGACTCCTAAATTAAATTACCCATACAAAAGGAAACATGGAAAGCATGGTGG
 ACAGAGTATTGGCAAGCCACCTGGATTCTGAGTGGAGTTGTCAATACCCCTCCC
 TTAGTGAAGTTATGGTACCGAGTAGAGAAAAGAACCCATAATAGGAGCAGAAACTTT
 CTATGTAGATGGGCAGCCAATAGGAAACTAAATTAGGAAAAGCAGGATATGTAA
 CTGACAGAGGAAGACAAAAAGTTGTCCTAACGGACACAACAAATCAGAAGACT
 GAGTTACAAGCAATTCTAGCTTGAGGATTGGGATTAGAAGTAAACATAGT
 ACAGACTCACAATATGCATTGGAATCATTCAAGCACAACCAGATAAGAGTGAATC
 AGAGTTAGTCAGTCAAATAATAGAGCAGTTAATAAAAAGGAAAAAGTCTACCTGG
 CATGGTACCGACACAAAGGAATTGGAGGAAATGAACAAGTAGATAAAATTGGTC
 AGTGCTGGAATCAGGAAAGTACTATTTAGATGGAATAGATAAGGCCAAGAAGA
 ACATGAGAAAATATCACAGTAATTGGAGAGCAATGGCTAGTGTGTTAACCTACCACC
 TGTAGTAGCAAAGAAAATAGTAGCCAGCTGTGATAATGTCAGCTAAAGGGGAAG
 CCATGCATGGACAAGTAGACTGTAGCCCAGGAATATGGCAGCTAGATTGTACACATT
 TAGAAGGAAAAGTTCTGGTAGCAGTTCATGTAGCCAGTGGATATAGAAGCA
 GAAGTAATTCCAGCAGAGACAGGGCAAGAACAGCATACTCCTCTAAATTAGC
 AGGAAGATGGCCAGTAAAAACAGTACATACAGACAATGGCAGCAATTCAACCAGTA
 CTACAGTTAAGGCCGCTGTTGGTGGCGGGGATCAAGCAGGAATTGGCATTCCCT
 ACAATCCCCAAAGTCAGGAGTAATAGAATCTATGAATAAAGAATTAAAGAAAATT
 ATAGGACAGGTAAGAGATCAGGCTGAACATCTTAAGACAGCAGTACAAATGGCAGT
 ATTTCATCCACAATTAAAAGAAAAGGGGGATTGGGGGTACAGTGCAGGGAAA
 GAATAGTAGACATAATAGCAACAGACATACAAACTAAAGAATTACAAAACAAATT
 ACAAAAATTCAAATTTGGTTTATTACAGGGACAGCAGAGATCCAGTTGGAAA
 GGACCAGCAAAGCTCCTCTGAAAGGTGAAGGGCAGTAGTAATACAAGATAATAG
 TGACATAAAAAGTAGTGCAAGAAGAAAAGCAAAGATCATCAGGGATTATGGAAA
 AGATGGCAGGTGATGATTGTGTGGCAAGTAGACAGGATGAGGATTAA (SEQ ID NO:
 30)

[0123]

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:

TCTAGAATGGCAGGAAGAAGCGGAGACAGCGACGAAGAGCTCATCAGAAC
 GTCAGACTCATCAAGCTTCTATCAAAGCAACCCACCTCCCAATCCCGAGGGGACC
 CGACAGGCCCGAAGGAATAGAAGAAGAAGGTGGAGAGAGAGACAGAGACAGATCC
 ATTCGATTAGTAGAACGGATCCTGGCACTTATCTGGGACGATCTCGGGAGCCTGTGC
 CTCTTCAGCTACCACCGCTTGAGAGACTTACTCTTGATTGTAACGAGGATTGTGGAA
 CTTCTGGACGCAGGGGTGGGAAGCCCTCAAATATTGGTGGAAATCTCCTACAATAT
 TGGAGTCAGGAGCTAAAGAATAGAGGAGCTTGTCTGGGTTCTGGGAGCAGCA
 GGAAGCACTATGGCGCAGCGTCAATGACGCTGACGGTACAGGCCAGACAATTATT
 GTCTGGTATAGTGCAGCAGCAGAACATTGCTGAGGGCTATTGAGGGCGAACAGC
 ATCTGTTGCAACTCACAGTCTGGGCATCAAGCAGCTCCAGGCAAGAACCTGGCTG
 TGAAAGATACCTAAAGGATCAACAGCTCTAGATCTTCCCTCTGCCAAAAATT
 ATGGGGACATCATGAAGCCCCCTGAGCATCTGACTTCTGGCTAATAAAGGAAATT
 TTTTCATTGCAATAGTGTGTTGAAATTCTTGTCTCTCACTCGGAAGGACATATGG
 GAGGGCAAATCATTAAAACATCAGAATGAGTATTGGTTAGAGTTGGAACATA
 TGCCATATGCTGGCTGCCATGAACAAAGGTGGCTATAAGAGGTGATCAGTATATGA
 AACAGCCCCCTGCTGTCCATTCTTATTCCATAGAAAAGCCTTGACTTGAGGTTAGA
 TTTTTTATATTGTGTTGTGTTATTCTTCTTAACATCCCTAAATTTCTTAC
 ATGTTTACTAGCCAGATTCTCCTCTCCTGACTACTCCAGTCAGTGTCCCT
 CTTCTCTTATGAAGATCCCTCGACCTGCAGCCAAGCTGGCTAATCATGGTCATA
 GCTGTTCTGTGAAATTGTTATCCGCTCACAACTCCACACACATACGAGCCGG
 AAGCATAAAAGTGTAAAGCCTGGGTGCTTAATGAGTGAGCTAACTCACATTAATTGC
 GTTGCCTCACTGCCGCTTCCAGTCGGGAAACCTGTCGTGCCAGCGGATCCGCAT
 CTCATTAGTCAGCAACCATACTCCGCCCTAACTCCGCCATCCGCCCTAACT
 CCGCCAGTTCCGCCATTCTCCGCCCTAGGCTGACTAATTCTTATTATGCAG
 AGGCCGAGGCCGCTCGGCCTTGAGCTATTCCAGAAGTAGTGAGGAGGCTTTG
 GAGGCCTAGGCTTGTCAAAAGCTAACTTGTATTGAGCTTATAATGGTTACAA
 ATAAAGCAATAGCATCACAAATTCAAAATAAGCATTCTACTGCATTCTAG
 TTGTGGTTGTCCAAACTCATCAATGTATCTTATCAGCGGCCGCCCCGGG (SEQ ID
 NO: 31)

[0125]

[0126]

마지막으로, pCDNA3.1 의 CMV 프로모터를 CAG 인핸서/프로모터 + 닫 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:

ACGCGTTAGTTATTAATAGTAATCAATTACGGGTCATTAGTCATAGCCCCAT
 ATATGGAGTTCGCGTTACATAACTTACGGTAAATGGCCCGCCTGGCTGACCGCCCA
 ACGACCCCCGCCCATTGACGTCAATAATGACGTATGTTCCCAGTAACGCCAATAG
 GGACTTCCATTGACGTCAATGGTGGACTATTTACGGTAAACTGCCCACTTGGCAG
 TACATCAAGTGTATCATATGCCAAGTACGCCCTATTGACGTCAATGACGGTAAAT
 GGCCCGCCTGGCATTATGCCAGTACATGACCTATGGACTTTCCTACTTGGCAGT
 ACATCTACGTATTAGTCATCGCTATTACCATGGTCAGGGTGGAGGCCCCACGTTCTGC
 TTCACTCTCCCCATCTCCCCCCCCCTCCCCACCCCCAATTTGTATTTATTTATTTTA
 ATTATTTGTGCAGCGATGGGGCGGGGGGGGGGGGGGGGGCGCGCCAGGCGGGCG
 GGGCGGGCGAGGGCGGGGGCGAGGCGGAGAGGTGCGCGGCAGCCAATC
 AGAGCGGCGCGCTCCGAAAGTTCTTTATGGCGAGGCAGGCGCCGGCGGGCG
 TATAAAAAGCGAAGCGCGCGGGGGAGTCGCTGCGTTGCCTCGCCCCGTGC
 CCCGCTCCGCGCCGCTCGCGCCGCCCGCCCGCTCTGACTGACCGCGTTACTCCC
 ACAGGTGAGCGGGCGGGACGGCCCTCTCCTCCGGCTGTAATTAGCGCTTGGTTA
 ATGACGGCTCGTTCTTTCTGTTGCTGCGTGAAGCCTTAAAGGGCTCCGGGAGGG
 CCCTTGTGCGGGGGGGAGCGGCTCGGGGGTGCCTGCGTGTGTGTGCGTGGGG
 AGCGCCGCGTGCAGGGGGCGCTGCGAGGGGAACAAAGGCTGCGTGCAGGGTGTGCGTGGGG
 GGGCTTGTGCGCTCCGCGTGTGCGAGGGAGCGCGGGCCGGGGGGGGCGGTGCCCG
 CGGTGCGGGGGGGCTGCGAGGGGAACAAAGGCTGCGTGCAGGGTGTGCGTGGGG
 GGGTGAAGCAGGGGGTGTGGCGCGGGCTGGCTGTAACCCCCCTGCACCCCC
 CTCCCCGAGTTGCTGAGCACGGCCGGCTCGGGTGCAGGGCTCCGTGCGGGCGT
 GCGCGGGGCTCGCGTGCAGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGG
 GGCAGGG
 GCGCCGGCGCGTGTGAGGCGCGAGGCCATTGCCCTTATGGTAATCGT
 GCGAGAGGGCGCAGGGACTTCTTGTCCCAAATCTGGCGGAGCCAAATCTGGGA
 GGCGCCGGCGCAGGG
 AGGAAATGGGCGGGGAGGGCCTCGTGCAGGGCTGCGTGCAGGGGGGGGGGGGG
 TCCAGCCTCGGGCTGCCGCAGGGGACGGCTGCCCTCGGGGGGGGGGGGGGGGG
 CGGGGTTCGGCTTCTGGCGTGTGACCGGGGGAAATTC (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 의해 합성하였다. 그런 다음, DNA 단편을 EcoRI 제한 위치에서 pCDNA3.1 플라스미드 (Invitrogen) 에 삽입하고, CMV 특이적 프라이머를 사용하는 서열분석에 의해 올바른 배향을 결정하였다.

[0130]

DNA 서열은 하기와 같았다:

```

GAATTCATGAAGTGCCTTGTACTTAGCCTTTATTCAATTGGGTGAATTGC
AAGTCACCATAGTTTCCACACAACCAAAAAGAACTGGAAAAATGTTCCCTCT
AATTACCATTATTGCCCGTCAAGCTCAGATTAAATTGGCATAATGACTTAATAGGC
ACAGCCTTACAAGTCAAATGCCAAGAGTCACAAGGCTATTCAAGCAGACGGTTG
GATGTGTCATGCTCCAATGGTCACTACTTGTGATTCCGCTGGTATGGACCGAA
GTATATAACACATTCCATCCGATCCTCACTCCATCTGTAGAACAAATGCAAGGAAAG
CATTGAACAAACGAAACAAGGAACCTGGCTGAATCCAGGCTCCCTCCTCAAAGTTG
TGGATATGCAACTGTGACGGATGCCGAAGCAGTGATTGTCCAGGTGACTCCTCACCA
TGTGCTGGTTGATGAATAACACAGGAGAACGGTTGATTCACAGTTCATCAACGGAAA
ATGCAGCAATTACATATGCCCACTGTCCATAACTCTACAAACCTGGCATTCTGACTA
TAAGGTCAAAGGGCTATGTGATTCTAACCTCATTCCATGGACATCACCTTCTCTCA
GAGGACGGAGAGCTATCATCCCTGGAAAGGAGGGCACAGGGTTAGAAGTAAC
CTTGCTTATGAAACTGGAGGCAAGGCCTGCAAATGCAATACTGCAAGCATTGG
GAGTCAGACTCCCATCAGGTGCTGGTCAGATGGCTGATAAGGATCTTGTG
CAGCCAGATTCCCTGAATGCCAGAAGGGTCAAGTATCTGCTCCATCTCAGACCT
CAGTGGATGTAAGTCTAATTCAAGGACGTTGAGAGGATCTGGATTATCCCTCTGCC
AAGAAACCTGGAGCAAAATCAGAGCGGGTCTCCAATCTCCAGTGGATCTCAGCT
ATCTTGCTCCTAAAAACCCAGGAACCGGTCTGCTTCACCATAATCAATGGTACCC
TAAAATACTTGAGACCAAGATACTCAGAGTCGATATTGCTGCTCCAATCCTCTCAA
GAATGGTCGAATGATCAGTGGAACTACCACAGAAAGGAACTGTGGATGACTGG
GCACCATATGAAGACGTGGAAATTGGACCCAATGGAGTTCTGAGGACCAAGTCAGG
ATATAAGTTCCCTTATACATGATTGGACATGGTATGTTGGACTCCGATCTCATCTT
AGCTCAAAGGCTCAGGTGTTGAACATCCTCACATTCAAGACGCTGCTCGCAACTT
CCTGATGATGAGAGTTATTTTGGTGATACTGGCTATCCAAAATCCAATCGAG
CTTGTAGAAGGGTGGTCAGTAGTTGGAAAAGCTCTATTGCCTCTTTCTTATCA
TAGGGTTAACATTGGACTATTCTGGTCTCCGAGTTGGTATCCATCTTGCATTAA
ATTAAAGCACACCAAGAAAAGACAGATTATACAGACATAGAGATGAGAATT

```

(SEQ ID NO: 23)

[0131]

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); 닫 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-벡터 렌티바이러스 패키징 시스템을 포함하는 4-벡터 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:

```

TCTAGAAGGAGCTTGTCCCTGGGTTCTGGGAGCAGCAGGAAGCACTATG
GGCGCAGCGTCAATGACGCTGACGGTACAGGCCAGACAATTATTGTCTGGTATAGTG
CAGCAGCAGAACAAATTGCTGAGGGCTATTGAGGCGAACAGCATCTGTTGCAACTC
ACAGTCTGGGCATCAAGCAGCTCCAGGCAAGAACCTGGCTGTGGAAAGATAACCT
AAAGGATCAACAGCTCCTAGATCTTTCCCTCTGCCAAAAATTATGGGGACATCAT
GAAGCCCCTGAGCATCTGACTCTGGCTAATAAAGGAAATTATTTCAATTGCAAT
AGTGTGTTGGAATTTCGTTGCTCTCACTCGGAAGGACATATGGGAGGGCAAATCA
TTTAAACATCAGAATGAGTATTGGTTAGAGTTGGAACATATGCCATATGCTG
GCTGCCATGAACAAAGGTGGCTATAAAGAGGTCACTAGTATATGAAACAGCCCCCT
GCTGTCCATTCCATTCCATAGAAAAGCCTTGACTTGAGGTTAGATTTTTATAT
TTGTTTGTGTTATTTCCTTAACATCCCTAAATTTCCTACATGTTACTAG

```

```

CCAGATTTCCCTCCTCCTGACTACTCCCAGTCATAGCTGCCCTTCTCTTATGA
AGATCCCTCGACCTGCAGCCCAAGCTGGCTAACATGGTCATAGCTGTTCCCTGT
GTGAAATTGTTATCCGCTCACAAATTCCACACAAACATACGAGCCGGAAGCATAAAGTG
TAAAGCCTGGGTGCCTAATGAGTGAGCTAACTCACATTAAATTGCGTTGCGCTCACT
GCCCGTTCCAGTCGGAAACCTGTCGTGCCAGCGGATCCGCATCTCAATTAGTCA
GCAACCATAGTCCCGCCCCCTAACTCCGCCATCCGCCCTAACTCCGCCAGTTCC
GCCCATCTCCGCCCATGGCTGACTAATTTCATTATGCAGAGGCCAGGCCG
CCTCGGCCTCTGAGCTATTCCAGAAGTAGTGAGGAGGTTGGAGGCCTAGGCT
TTGCAAAAGCTAACTGTTATTGCAAGCTTATAATGGTTACAAATAAGCAATAG
CATCACAAATTTCACAAATAAGCATTTCACTGCATTCTAGTTGTGGTTGTCC
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
 TTTAGGCGAAAAGCGGGGCTCGGTTGACCGGGTAGGAGTCCCCTCAGGATATAG
 TAGTTTCGCTTGCATAGGGAGGGGGAAATGTAGTCTTATGCAATACACTTGTAGT
 CTTGCAACATGGTAACGATGAGTTAGAACATGCCTTACAAGGAGAGAAAAAGCAC
 CGTGCATGCCGATTGGTGGAAAGTAAGGTGGTACGATCGTGCCTTATTAGGAAGGCA
 ACAGACAGGTCTGACATGGATTGGACGAACCACTGAATTCCGCATTGCAGAGATAA
 TTGTATTTAAGTGCCTAGCTCGATACAATAACGCCATTGACCATTACCAACATTG
 GTGTGCACCTCCAAGCTCGAGCTCGTTAGTGAACCGTCAGATCGCCTGGAGACGCC
 ATCCACGCTGTTTGACCTCCATAGAAGACACCGGGACCGATCCAGCCTCCCCTCGA
 AGCTAGCGATTAGGCATCTCCTATGGCAGGAAGAAGCGGGAGACAGCGACGAAGAAC
 TCCTCAAGGCAGTCAGACTCATCAAGTTCTATCAAAGCAACCCACCTCCCAATC
 CCGAGGGGACCCGACAGGCCGAAGGAATAGAAGAAGAAGGTGGAGAGAGAGACA
 GAGACAGATCCATTGATTAGTGAACGGATCCTAGCACTTATCTGGGACGATCTGC
 GGAGCCTGTGCCTCTCAGCTACCACCGCTTGAGAGACTTACTCTTGATTGTAACGA
 GGATTGTGGAACCTCTGGGACCGAGGGGGTGGAAAGCCCTCAAATATTGGTGGAAAT
 CTCCTACAATATTGGAGTCAGGAGCTAAAGAATAGTCTAGA (SEQ ID NO: 33)

[0146]

[0147] 패키징 시스템에서 사용한 플라스미드는 유사한 요소로 변형될 수 있으며, 인트론 서열은 백터 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-백터 시스템 대 4-백터 시스템은 하기와 같이 비교되고 대조될 수 있다. 3-백터 렌티바이러스 백터 시스템은 하기를 함유한다: 1. 헬퍼 플라스미드: HIV Gag, Pol, 인테그라아제 및 Rev/Tat; 2. 외피 플라스미드: VSV-G/FUG 외피; 및 3. 치료적 백터: RSV 5'LTR, Psi 패키징 신호, RRE, cPPT, ApoE 인핸서, 항-알파 트립신 프로모터, 페닐알라닌 히드록실라아제, 3' UTR, WPRE, 및 3' 델타 LTR. 4-백터 렌티바이러스 백터 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 백터: 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.

실시예 2. 치료적 백터

[0153] 예시적인 치료적 백터는 예를 들어 도 4에서 나타낸 바와 같이 설계되고 개발되었다.

[0154] 먼저 도 4A를 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 나타낸 바와 같음), 우드체 전사후 조절 요소 (WPRE), 및 U3 부위에서의 결실을 갖는 LTR.

[0155] 다음으로 도 4B를 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 나타낸 바와 같음), hAAT 프로모터, PAH 서열 및 이의 변이체 (본원에 상세히 나타낸 바와 같음)를 포함하는 PAH 서열, 우드체 전사후 조절 요소 (WPRE), 및 U3 부위에서의 결실을 갖는 LTR.

[0156] 도 4A 및 4B에서 일반적으로 요약한 백터를 생성하기 위해, 하기의 방법 및 재료를 이용하였다.

[0157] 억제 RNA 설계: 호모 사피엔스 (*Homo sapiens*) 폐닐알라닌 히드록실라아제 (PAH) (NM_000277.1) mRNA의 서열을, 인간 세포에서 PAH 수준을 낮다운시키기 위한 잠재적 shRNA 후보물에 대한 검색에 사용하였다. 잠재적 RNA shRNA 서열을 Broad Institute에 의해 주관되는 GPP 웹 포털 (<http://portals.broadinstitute.org/gpp/public/>) 또는 Thermo Scientific으로부터의 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 백터에 삽입하여, shRNA 발현을 조절하였다. 이러한 렌티바이러스 shRNA 구축물을 사용하여, 세포를 형질도입하고 특정 mRNA 수준에서의 변화를 측정하였다.

[0158] 백터 구축: PAH shRNA에 대해, BamHI 및 EcoRI 제한 위치를 함유하는 올리고뉴클레오티드를 Eurofins MWG Operon에 의해 합성하였다. 중첩 센스 및 안티센스 올리고뉴클레오티드 서열을 70°C에서 실온으로 냉각하는 동안 혼합 및 어닐링하였다. 렌티바이러스 백터를 제한 효소 BamHI 및 EcoRI으로 1시간 동안 37°C에서 소화시켰다. 소화된 렌티바이러스 백터를 아가로오스 겔 전기영동에 의해 정제하고, Thermo Scientific으로부터의 DNA 겔 추출 키트를 사용하여 겔로부터 추출하였다. DNA 농도를 측정하고, 백터 대 올리고 (3:1 비)를 혼합하고, 어닐링하고, 라이게이션하였다. 라이게이션 반응을 T4 DNA 리가아제로 30분 동안 실온에서 수행하였다. 2.5 μl의 라이게이션 믹스를 25 μl의 STBL3 적격 박테리아 세포에 첨가하였다. 형질 전환을 42°C에서 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 DNA를 Thermo Scientific DNA mini prep 키트를 사용하여 수확된 박테리아 배양물로부터 추출하였다. 렌티바이러스 백터 내의 shRNA의 삽입은 shRNA 발현을 조절하는데 사용되는 프로모터에 대한 특이적 프라이머를 사용하여 DNA 서열분석에 의해 확인하였다. 하기 표적 서열을 사용하여, 예시적 shRNA 서열을 PAH를 낮다운시키는 것으로 결정하였다.

[0159] PAH shRNA 서열 #1:

TCGCATTTCATCAAGATTAATCTCGAGATTAATCTTGATGAAATGCGAT

TTTT (SEQ ID NO: 5)

[0160] PAH shRNA 서열 #2:

ACTCATAAAGGAGCATATAAGCTCGAGCTTATATGCTCCTTATGAGT

TTTTT (SEQ ID NO: 6)

실시예 3 - 완전한 5' 및 3' UTR을 포함하는 폐닐알라닌 히드록실라아제 오픈 리딩 프레임

[0161] Hepa1-6 마우스 간암 세포를, 도 5에서 나타낸 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 백터로 감염시켰다. 도 5는 인간 PAH에 대한 cDNA 발현 구축물의 완전한 DNA 서열을 제공한다 (SEQ ID NO: 57).

이러한 버전은 미손상 (intact) 5' UTR 부위 (볼드체로 나타냄), hPAH에 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

Hepa1-6 마우스 간암 세포를, 도 6에서 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 6은 5' UTR (897 개 뉴클레오티드) (볼드체로 나타냄), hPAH에 대한 코딩 부위, 및 절두된 3' UTR (289 개 뉴클레오티드) (볼드체로 나타냄)을 포함하는 인간 PAH에 대한 cDNA 서열을 제공한다 (SEQ ID NO: 58).

[0168] 실시예 5. PAH에 대한 재료 및 방법

호모 사피엔스 페닐알라닌 히드록실라아제 (hPAH) mRNA의 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 hPAH를 절단하고, ApoE (NM_000001.11, U35114.1) 및 hAAT (HG98385.1) 유전자와 제어 부위의 부분을 포함하는 하이브리드 프로모터의 제어 하에 pCDH 플라스미드에 라이케이션하였다. 유사하게, 마우스 PAH 유전자 (mPAH) (NM_008777.3)를 합성하고, 동일한 하이브리드 프로모터의 제어 하에 pCDH에 삽입하였다. 추가로, 인간 PAH는 3' 미번역 부위 (UTR)를 포함하도록 합성하였다.

추가 변형에서, 간-특이적 프로모터 hAAT에 의해 제어될 때 hPAH 유전자의 발현이 개선되도록 자연 발생적 UTR을 절두하였다. hPAH, 전장 UTR을 갖는 hPAH, 절두된 UTR을 갖는 hPAH, 또는 mPAH 단독 (BamHI 및 EcoRI 제한 위치를 가짐)을 함유하는 올리고뉴클레오티드 서열을 Eurofins Genomics에 의해 합성하였다. 올리고뉴클레오티드 서열을 70°C에서 인큐베이션하고 실온으로 냉각시켜 어닐링하였다. 렌티바이러스 벡터를 제한 효소 BamHI 및 EcoRI으로 1시간 동안 37°C에서 소화시켰다. 소화된 렌티바이러스 벡터를 아가로오스 겔 전기영동에 의해 정제하고, Invitrogen으로부터의 DNA 겔 추출 키트를 사용하여 겔로부터 추출하였다. DNA 농도를 측정한 다음, 3:1 삽입물 대 벡터의 벡터 대 올리고 서열 비를 사용하여 합성 올리고뉴클레오티드 (hPAH 또는 mPAH)와 혼합하였다. 혼합물을 T4 DNA 리가아제로 30분 동안 실온에서 라이케이션하였다. 2.5 μl의 라이케이션 믹스를 25 μl의 STBL3 적격 박테리아 세포에 첨가하였다. 형질전환을 42°C에서 열 충격에 의해 실행하였다. 박테리아 세포를 암피실린을 함유하는 아가 플레이트에 스트리킹한 다음, 콜로니를 LB 브로쓰에서 확장시켰다. 올리고 서열의 삽입을 확인하기 위해, 플라스미드 DNA를 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, PAH를 발현하는 능력을 시험하기 위해 렌티바이러스 입자를 패키징하였다. 포유동물 세포를 렌티바이러스 입자로 형질도입하였다. 세포를 2-4일 후 수집하고, 단백질을 PAH 발현에 대해 웨스턴 블로트에 의해 분석하였다.

[0171] hPAH 서열의 변형:

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-UTR을 생성시켰다. hPAH 발현의 수준은 3' UTR을 첨가함으로써 증가하였으나, 유사한 벡터에서 발현된 mPAH의 수준에 도달하지는 않았다.

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-UTR의 발현을 mPAH 발현에 대해 달성된 것과 유사한 수준까지 증가시켰다. 놀랍게도, 간-특이적 hAAT 프로모터를 사용할 때 UTR의 절두는 단지 높은 수준 발현에만 요구되었다. CMV 즉시 초기 프로모터의 제어 하에 hPAH 발현 구축물을 생성시키는 것은, UTR의 존재 또는 부재에 관계없이, 그리고 UTR이 절두되었는지 여부에 관계없이 높은 수준 발현을 제공하였다. hPAH 유전자의 유전자좌에 대한 구조 기능을 이해하는데 있어서 이러한 중요한 진전은, hPAH의 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

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

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

[0178] 이 실시예는 도 8 에 나타낸 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 나타낸 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.

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

[0182] 이 실시예는 도 9 에 나타낸 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 나타낸 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.

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 나타낸 바와 같이 WPRE 가 최적 단백질 발현에 필요하다

는 것을 나타낸다. 이 실시예는 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 블로트에 의해 분석하였다. 인간 PAH 의 상대 발현은 항-PAH 항체 (Abcam) 및 로딩 대조군 베타-액틴을 사용하는 면역블로트에 의해 검출되었다.

[0188] 이 실시예는 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 실시예는 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.

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

[0189] 이 실시예는 도 11 에서 나타낸 바와 같이, 렌티바이러스-전달된 PAH shRNA 가 인간 Hep3B 세포에서의 hPAH 발현을 감소시킨다는 것을 입증한다.

[0190] 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 블로트에 의해 분석하였다. 렌티바이러스 벡터 (LV) 내의 shRNA 서열의 삽입은 shRNA 발현을 조절하는 데 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 면역블로트에 의해 검출되었다.

[0191] 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 실시예는 shPAH-1 및 shPAH-2 둘 모두가 내인성 hPAH 발현 수준을 감소시키는데 있어서 효과적이었음을 설명한다.

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

[0192] 이 실시예는 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.

[0193] 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 블로트에 의해 분석하였다. 인간 PAH 의 상대 발현은 항-PAH 항체 (Abcam) 및 로딩 대조군 베타-액틴을 사용하는 면역블로트에 의해 검출되었다. 전장 및 3'UTR-절두된 구축물들 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-1에 대한 표적 서열은 전장 및 단축 베전들 모두에서 보존되는 3'UTR의 부분에 존재한다.

[0196] 도 12는 인간 Hep3B 세포에서의 hPAH 및 PAH shRNA의 발현을 나타낸다. 도 12에서 나타낸 바와 같이, 하기 4개 군을 비교한다: Hep3B 세포 단독을 포함하는 대조군 (레인 1), Hep3B 세포 + shPAH-1을 발현하는 렌티바이러스 벡터를 포함하는 군 (레인 2), hAAT-hPAH-3'UTR₂₈₉ 단독을 포함하는 대조군 (레인 3), 및 hAAT-hPAH-3'UTR₂₈₉ 및 shPAH-1을 발현하는 렌티바이러스 벡터 둘 모두를 함유하는 군 (레인 4). 특히, Hep3B 세포 단독은 내인성 PAH를 유의한 수준으로 발현시킨다. 이 실시예는 shPAH-1이 내인성 PAH 및 hAAT-hPAH-3'UTR₂₈₉의 발현 둘 모두를 억제한다는 것을 설명한다. 또한, 이는 Hep3B 세포에서 내인성 PAH 및 hAAT-hPAH-3'UTR₂₈₉에 대한 shPAH-1의 유의한 효능을 확인시켜준다.

[0197] 실시예 12. HepG2 세포에서 내인성 hPAH의 shPAH-2 억제, 그러나 hAAT-hPAH-3'UTR₂₈₉에 대해서는 억제하지 않음

[0198] 이 실시예는 도 13에서 나타낸 바와 같이, shPAH-2이 HepG2 세포에서 내인성 PAH의 발현을 억제하나 hAAT-hPAH-3'UTR₂₈₉의 발현은 억제하지 않는다는 것을 설명한다.

[0199] 인간 PAH를 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, VA에서 구입)를 형질도입시켰다. 세포를 렌티바이러스 입자로 형질도입하고, 2-4일 후 단백질을 PAH 발현에 대해 웨스턴 블로트에 의해 분석하였다. 인간 PAH의 상대 발현은 항-PAH 항체 (Abcam) 및 로딩 대조군 베타-액틴을 사용하는 면역블로트에 의해 검출되었다. 전장 및 3'UTR-절두된 구축물들 모두에서의 hPAH 발현은 hAAT 프로모터에 의해 구동되었다. 렌티바이러스 벡터는 다양한 경우에, 그의 3'UTR을 갖는 인간 PAH 유전자, 절두된 3'UTR을 갖는 인간 PAH 유전자 및/또는 shPAH-2을 포함하였다. 렌티바이러스 벡터 (LV) 내의 shRNA 서열의 삽입은 shPAH-2 발현을 조절하는데 사용되는 프로모터에 대해 상보적인 프라이머를 사용하여 DNA 서열분석에 의해 확인하였다. shPAH-2에 대한 표적 서열은 전장 hPAH 구축물에 존재하지만 절두된 hPAH 구축물 (hAAT-hPAH-3'UTR₂₈₉)에는 부재하는 hPAH 3'UTR의 원위 부분에 존재한다.

[0200] 도 13은 인간 Hep3B 세포에서의 hPAH 및 PAH shRNA의 발현을 나타낸다. 도 13에서 나타낸 바와 같이, 하기 4개 군을 비교한다: HepG2 세포 단독을 포함하는 대조군 (레인 1), HepG2 세포 + shPAH-2를 발현하는 렌티바이러스 벡터 (레인 2), 절두된 hPAH 3'UTR을 발현하는 렌티바이러스 벡터를 포함하는 대조군 (레인 3), 및 절두된 hPAH 3'UTR (hPAH-3'UTR)을 발현하는 렌티바이러스 벡터 및 shPAH-2를 발현하는 렌티바이러스 벡터 둘 모두를 포함하는 레인 (레인 4). 이 실시예는 shPAH-2 서열이 내인성 PAH의 발현을 억제하지만 hAAT-hPAH-3'UTR₂₈₉의 발현에는 확실한 효과를 갖지 않는다는 것을 설명한다.

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

[0202] 도 14는 PKU에 대한 실험적 연구를 위한 표준 모델인 Pah(enu2) 마우스에서의 hAAT-PAH-UTR의 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 A는 신생아 Pah(enu2) 마우스의 간에 직접 주사된 렌티바이러스 벡터 hAAT-PAH가, PAH를 발현하지 않는 대조군 렌티바이러스 벡터만을 받은 마우스에서 나타난 성장 결함을 실질적으로 교정한다는 것을 보여준다. 패널 B는 정상 마우스에 대한 체중 증가 곡선과 LV-hAAT-PAH로 처리된 Pah(enu2) 사이에 명백한 중첩을 나타내는 패널 A에서의 데이터의 클러스터 플롯 표시를 제공한다. 패널 C는 LV-hAAT-PAH가 암컷 마우스에서 효과적이었다는 것을 보여준다. 암컷에서의 PAH 결함은 수컷 마우스에 비해 교정하기가 더 어려우므로, 이는 중요한 것이다. 패널 D는 대조군 (정상) 마우스, LV-hAAT-PAH로 처리된 Pah(enu2) 마우스 및 PAH를 발현하지 않는 대조군 렌티바이러스 벡터로 처리된 Pah(enu2) 마우스에 대한 혈장 패널알라닌 수준을 플롯팅한다.

[0203] 실험 방법론:

[0204] 1 내지 2 일령의 신생아 마우스를 각각 4마리 신생아 마우스의 3개 군으로 나누었다. 신생아 마우스의 제1군은 정상적인 PAH 발현 활성을 갖는 대조군을 포함한다. 신생아 마우스의 제2 및 제3군은 돌연변이 PAH(enu2)를 함유하며, 이는 PAH의 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 대체재 1 ml 당 1×10^6 내지 1×10^{10} 형질도입 단위를 함유하는 $10 \mu\text{l}$ 의 렌티바이러스 입자 혼탁액을 간에 직접 주사하였다. 주사하기 전에, 신생아 마우스를 클로드로네이트 (clodronate) 리포솜으로 처리하여 간 쿠퍼 세포 (liver Kupffer cell) 를 고갈시켰다.
- [0207] 신생아 마우스를 텔 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 3에서의 신생아 마우스의 성장이 군 2에서의 신생아 마우스의 성장에 비해 개선된 경우, T-미로 자발적 교차 시험 (T-maze Spontaneous Alteration Test) 및 원-스테이 8-팔 방사형 미로 작업 (Win-Stay Eight-arm Radial Maze Task) 을 포함하는 거동 시험이 수행될 것이다. 주사 후 8 주에, 각 군으로서 2 마리의 마우스가 희생되고 간에서의 인간 PAH 발현이 측정될 것이다. 희생된 마우스에 대해 메틸옴 (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 15에서 나타낸 바와 같이, CMV 즉시 초기 프로모터의 제어 하에 hPAH 발현 구축물을 이용하는 것이 3'UTR의 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, VA에서 구입) 를 형질도입시켰다. 세포를 렌티바이러스 입자로 형질도입하고, 2-4 일 후 단백질을 PAH 발현에 대해 웨스턴 블로트에 의해 분석하였다. 인간 PAH 의 상대 발현은 항-PAH 항체 (Abcam) 또는 로딩 대조군으로서 항-튜불린 항체 (Sigma) 를 사용하는 면역블로트에 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 15에서 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 UTR의 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, 페닐케تون뇨증에 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, VA에서 구입) 를 형질도입시켰다. 세포를 렌티바이러스 입자로 형질도입하고, 2-4 일 후 단백질을 PAH 발현에 대해 웨스턴 블로트에 의해 분석하였다. PAH 는 항-PAH 항체 및 항-베타 액틴 항체 (로딩 대조군용) 를 사용하는 면역 블로트에 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) 인핸서를 발현하는 렌티바이러스 벡터 (레인 2), hAAT 프로모터의 제어 하의 전장 3'UTR hPAH 를 갖는 ApoE(2) 인핸서를 발현하는 렌티바이러스 벡터 (레인 3) 및 hAAT 프로모터의 제어 하의 전장 3'UTR hPAH 를 갖는 프로트롬빈 인핸서를 발현하는 렌티바이러스 벡터 (레인 4). 이 실시예는 ApoE (1), ApoE (2) 및 프로트롬빈 인핸서가 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	ATGTCCACTGCGGTCTGGAAAACCCAGGCTGGCAGGAAACTCT CTGACTTTGGACAGGAAACAAGCTATATTGAAGACAACTGCAATCA AAATGGTGCATATCACTGATCTTCACTCAAAGAAGAAGTGGT CATTGGCCAAAGTATTGCGCTTATTGAGGAGAATGATGAAACCTG ACCCACATTGAATCTAGACCTTCTCGTTAAAGAAAGATGAGTATGA ATTTTCACCCATTGGATAAACGTAGCCTGCCTGCTCTGACAAACA TCATCAAGATCTTGAGGCATGACATTGGTGCCTACTGTCCATGAGCTT TCACGAGATAAGAAGAAAGACACAGTGCCTGGTCCAAAGAACCA TTCAAGAGCTGGACAGATTGCCAATCAGATTCTCAGCTATGGAGCG GAACGGATGCTGACCACCCCTGGTTAAAGATCCTGTGACCGTGC AAGACGGAAGCAGTTGCTGACATTGCCCTACAACCTACCGCCATGGG CAGCCCATCCCTCGAGTGGAAATACATGGAGGAAGAAAAGAACAT GGGGCACAGTGTCAAGACTCTGAAGTCCTGTATAAAACCCATGCT TGCTATGAGTACAATCACATTTCACACTTCTGAAAGTACTGTGG CTTCCATGAAGATAACATTCCCCAGCTGGAAGACGTTCTCAATTCC TGCAGACTTGCCTGGTTCCGCCCTCCGACCTGTGGCTGCCCTGCTT CCTCTCGGGATTCTGGGTGGCCTGGCCTTCCGAGTCTTCAACTGCA CACAGTACATCAGACATGGATCCAAGCCATGTATAACCCCGAACCT GACATCTGCATGAGCTGTTGGACATGTGCCCTGTTTCAGATCG CAGCTTGCCCAGTTCCCAGGAAATTGGCCTGCCCTCTGGTG CACCTGATGAATACATTGAAAAGCTGCCACAATTACTGGTTACT GTGGAGTTGGGCTCTGCAAACAAGGAGACTCCATAAAGGCATATG GTGCTGGCCTGTCATCCTTGGTGAATTACAGTACTGCTTATCA GAGAAGCCAAGCTCTCCCCCTGGAGCTGGAGAAGACAGCCATCC AAAATTACACTGTCACGGAGTCCAGCCCTGTATTACGTGGCAGAG AGTTTAATGATGCCAAGGAGAAAGTAAGGAACCTTGCTGCCACAA TACCTCGGCCCTCTCAGTCGCTACGACCCATACACCCAAAGGATT GAGGTCTTGGACAATACCCAGCAGCTTAAGATTTGGCTGATTCCAT TAACAGTGAATTGGAATCCTTGCAGTGCCCTCAGAAAATAAGT AA
2	코돈 최적화된 PAH	ATGAGCACAGCTGTGGAAAATCCTGGCTGGCCGTAAAGCTTTC CGATTTCGGCCAGGAGACTTCATACATTGAGGACAACCTGCAACCA AATGGGGCCATTCTTGTCTTCAGTCTCAAAGAAGAGGTAGGC TCTGGCTAAGGTCTGGAGGCTGTTGAGGAAATGACGTGAATCTGA CACACATTGAGTCTAGGCCTCCGACTTAAGAAGGATGAGTATGA

[0218]

		TTTCTTCACACACCTGGACAAACGATCTCTCCCAGCACTGACCAATA TCATCAAGATTCTCAGGCATGATATCGGTGCCACGGTCCACGAACCTT TCACGCATAAGAAGAAGACACAGTTCCCTGGTCCAGAACCA TTCAGGAACCTGGATAGGTTGCCAATCAGATTCTGAGCTATGGGGCA GAGTTGGATGCCGACCATCCAGGCTCAAAGACCCCGTATATCGGG CTCGGAGAACAGCAGTTGCAGACATCGCTTACAATTACAGGCATGG ACAGCCCACCCCTAGAGTGGAGTACATGGAAGAAGGAAGAAAACC TGGGGAACGGTGTAAAGACCCCTAAAGCCTGTATAAGACCCACG CGTGTATGAGTACAACCACTTTCCCATTGCTGGAGAAGTACTGTT GGCTTCACGAGGACAACATCCCTCAACTGGAGGATGTTCACAGTT CCTTCAGACTTGCACTGGTTCCGCCCTCGACCTGTGGCTGGCTGCT TAGCTCACGGACTTCCTGGAGGCCTGGCCTCAGAGTCTTCACT GCACTCAGTACATTGGCATGGCTAAGCCAATGTACACCCCTGAA CCGGATATATGCCACGAGCTTGGACATGTGCCCTGTTCTGA TCGCAGCTTGCCCAGTTTCCCAGGAGATTGGCCTGGCAAGTCTTG GTGCGCCTGATGAGTACATCGAGAAGCTCGCGACAATCTACTGGTT ACCGTGAATTGGACTCTGAAACAAGGGACTCTATCAAAGCCT ACGGAGCAGGACTCCCTCCAGCTCGGTGAACGTGAGTATTGTCTG TCCGAGAAACCCAAACTCTGCCCTGGAACCTGGAAAAGACTGCCA TCCAAAACATACTGTCACGAAATTCCAGCCACTGTATTATGTGGCT GAATCCTTAACGATGCAAGGAGAAGGTCCGAATTTCGCTGCCAC AATACCACGCCCTTCAGCGTAGAGATACGACCCGTATACACAACGG ATAGAGGTTCTGGACAACACCCAGCAACTGAAAATTCTGGCAGACA GTATAAACACGCGAAATAGGATCCTCTGTAGTGCCTGCAGAAAAT CAAATGA
3	PAH 3'UTR 서열 (897 뉴클레오티드)	AGCCATGGACAGAATGTGGCTGTCAGCTGTGAATCTGTTGATGGAG ATCCAACATTCTTCATCAGAAAAAGTCCGAAAGCAAACCTTAA TTGAAATAACAGCCTTAAATCCTTACAAGATGGAGAACAAACAA ATAAGTCAAAATAATCTGAAATGACAGGATATGAGTACATACTCAA GAGCATAATGGTAAATCTTGGGTCTCTTGATTAGAGATGAT AATCCCATACTCTCAATTGAGTTAAATCAGTAATCTGTCGCATTCA TCAAGATTAATTAAAATTGGACCTGCTTCATTCAAGCTTCATATA TGCTTGAGAGAACTCATAAAGGAGCATATAAGGCTAAATGTAAA ACCCAAAGACTGTCATTAGAATTGAATTATTGGCTTAATATAATCG TAACCTATGAAGTTATTTTATTAGTTAACTATGATTCAATT CTACTTTGTTATTGTACCTAAGTAAATTCTTAAGTCAGAAGCCCA TTAAAATAGTTACAAGCATTGAACCTCTTAGTATTATATAATATA AAAACATTGGTATGTTATTGTAATCATAAATACTGCTGTATAAG

		GTAATAAAACTCTGCACCTAATCCCCATAACTTCCAGTATCATTTC CAATTAAATTATCAAGTCTGTTGGAAACACTTGGAGGACATTAT GATGCAGCAGATGTTGACTAAAGGCTTGGTGGTAGATATTCAAGGA AATGTTCACTGAATAATAAGTAAATACATTATTGAAAAGCAAATCT GTATAAATGTGAAATTTTATTGTATTAGTAATAAAACATTAGTAG TTTAAACAAAAAAAAAAAAAAACATTCGACT CTAGATT
4	PAH 3'UTR 서열 (289 뉴클레오티드)	AGCCATGGACAGAATGTGGCTGTCAGCTGTGAATCTGTTGATGGAG ATCCAACATTCTTCATCAGAAAAAGTCCGAAAAGCAAACCTTAA TTGAAATAACAGCCTTAAATCCTTACAAGATGGAGAAACAACAA ATAAGTCAAAATAATCTGAAATGACAGGATATGAGTACACTCAA GAGCATAATGGTAAATCTTGGGGTCATCTTGATTAGAGATGAT AATCCCATACTCTCAATTGAGTTAAATCAGTAATCTGTCGATTCA TCAAGATTA
5	PAH shRNA 서열 #1	TCGCATTTCATCAAGATTAATCTCGAGATTAATCTTGATGAAATGCG ATTTTT
6	PAH shRNA 서열 #2	ACTCATAAAGGAGCATATAAGCTCGAGTTATATGCTCCTTATGAG TTTTTT
7	라우스 육종 바이러스 (RSV) 프로모터	GTAGCTTATGCAATACTCTGTAGTCTGCAACATGGTAACGATGA GTTAGCAACATGCCTTACAAGGAGAGAAAAAGCACCCTGCATGCCG ATTGGTGGAAAGTAAGGTGGTACGATCGTGCCTTATTAGGAAGGCAA CAGACGGGCTGACATGGATTGGACGAACCACTGAATTGCCGCATT GCAGAGATATTGATTAAAGTGCCTAGCTGATACAATAAACG
8	5' 긴 말단 반복부 (LTR)	GGTCTCTGGTAGACCAGATCTGAGCCTGGAGCTCTGGCTAA CTAGGGAACCCACTGCTTAAGCCTAATAAGCTTGCCTTGAGTGCT TCAAGTAGTGTGTGCCGTCTGTTGTGACTCTGGTAACTAGAGAT CCCTCAGACCCCTTAGTCAGTGTGGAAATCTCTAGCA
9	Psi 패키징 신호	TACGCCAAAATTTGACTAGCGGAGGCTAGAAGGAGAGAG
10	Rev 반응 요소 (RRE)	AGGAGCTTGTTCCTGGTTCTGGAGCAGCAGGAAGCACTATGG GCGCAGCCTCAATGACGCTGACGGTACAGGCCAGACAATTATTGTCT GGTATAGTGCAGCAGCAGAACAAATTGCTGAGGGCTATTGAGGC AACAGCATCTGTCACACTCACAGCTGGGCATCAAGCAGCTCA GGCAAGAACCTGGCTGTGGAAAGATAACCTAAAGGATCAACAGCTC C
11	중심 폴리퓨린 관 (cPPT)	TTTAAAAGAAAAGGGGGATTGGGGGTACAGTGCAGGGAAAG AATAGTAGACATAATAGCAACAGACATACAAACTAAAGAATTACAA AAACAAATTACAAATTCAAAATTAA

12	인간 알파-1 황트립신 프로모터 (hAAT)	GATCTTGCTACCAGTGGAACAGCCACTAAGGATTTCAGTGAGAG CAGAGGGCCAGCTAAGTGGTACTCTCCAGAGACTGTCTGACTCAC GCCACCCCTCCACCTTGGACACAGGACGCTGTTCTGAGCCAG GTACAATGACTCTTCGTAAGTGCAGTGGAAAGCTGTACACTGCC AGGCAAAGCGTCCGGCAGCGTAGGCGGGCACTCAGATCCCAGCC AGTGGACTTAGCCCTGTTGCTCCTCGATAACTGGGTGACCTTG GTTAATATTCAACCAGCAGCCTCCCCGTTGCCCCTGGATCCACTG CTTAAATACGGACGAGGACAGGGCCCTGTCCTCAGCTTCAGGCAC CACCACTGACCTGGGACAGTGAAT
13	긴 WPRE 서열	AATCAACCTCTGATTACAAAATTGTGAAAGATTGACTGGTATTCTT AACTATGTTGCTCCTTTACGCTATGTGGATACGCTGCTTAATGCCT TTGTATCATGCTATTGCTTCCCGTATGGCTTCATTTCTCCTCCTTGT ATAAATCCTGGTTGCTCTTATGAGGAGTTGTGGCCCGTTGTC AGGCAACGTGGCGTGGTGTGCACTGTGTTGCTGACGCAACCCCCAC TGGTTGGGGCATTGCCACCACCTGTCAGCTCCTTCCGGACTTCG CTTCCCCCTCCCTATTGCCACGGCGGAACTCATGCCGCGCTGCCCTG CCCGCTGCTGGACAGGGGCTGGCTGTTGGGACTGACAATTCCGTG GTGTTGTCGGGAAATCATCGTCCTTCTGGCTGCTGCCCTGTGTT GCCACCTGGATTCTGCGCGGACGTCCTCTGCTACGTCCCTCGGC CCTCAATCCAGCGGACCTCCTCCCGCGGCGCTGCTGCCGCTCTGC GCCCTTCCCGCTTCGCCCTCAGACGAGTCGGATCTCC CTTGGGCCGCTCCCCGCT
14	3' 데타 LTR	TGGAAGGGCTAATTCACTCCAACGAAGATAAGATCTGCTTTTGCT TGTACTGGGCTCTCTGGTTAGACCAAGATCTGAGCCTGGAGCTCTC TGGCTAACTAGGGAACCCACTGCTTAAGCCTCAATAAGCTTGCCTT GAGTGCTTCAAGTAGTGTGCCCCCTGTTGTGACTCTGGTAAC TAGAGATCCCTCAGACCCCTTAGTCAGTGTGAAAATCTAGCAG TAGTAGTTCATGTCA
15	H1 프로모터	GAACGCTGACGTCAACCCGCTCCAAGGAATCGGGGCCAGTG TCACTAGGCGGAAACACCCAGCGCGGTGCGCCCTGGCAGGAAGAT GGCTGTGAGGGACAGGGGAGTGGCGCCCTGCAATATTGCTATGCG CTATGTGTTCTGGAAATACCATAACGTGAAATGTCTTGGATT GGGAATCTTATAAGTTCTGTATGAGACCACTT
16	CAG 프로모터	TAGTTATTAAATAGTAATCAATTACGGGGTCATTAGTCATAGCCCAT ATATGGAGTTCCCGCTACATAACTACGGTAAATGGCCCGCTGGC TGACCGCCCAACGACCCCCGCCATTGACGTCAATAATGACGTATGT TCCCATAGTAACGCCAATAGGACTTCCATTGACGTCAATGGGTGG ACTATTACGGTAAACTGCCACTTGGCAGTACATCAAGTGTATCAT

		ATGCCAAGTACGCCCCCTATTGACGTCAATGACGGTAAATGGCCGC CTGGCATTATGCCAGTACATGACCTTATGGGACTTCCACTTGGC AGTACATCTACGTATTAGTCATCGTATTACCATGGTCAGGTGAG CCCCACGTTCTGCTTCACTCTCCCCATCTCCCCCCCCCTCCCCACCCCC AATTTGTATTTATTTATTTTAATTATTTGTGCAGCGATGGGGC GGGGGGGGGGGGGGCGCGCCAGGCAGGGCGGGCGGGCGAGG GGCGGGGCGGGCGAGGCAGGGTGCAGGGCAGCCAATCAGA GCGGCGCGCTCGAAAGTTCTTATGGCGAGGCAGGGCGGCG GCGGCCCTATAAAAGCGAAGCGCGCGCGCG
17	HIV Gag	ATGGGTGCGAGAGCGTCAGTATTAAGCGGGGGAGAATTAGATCGAT GGGAAAAAATCGGTTAAGGCCAGGGGAAAGAAAAATATAAT TAAAACATATAGTATGGCAAGCAGGGAGCTAGAACGATTGCGAGT TAATCCTGGCTGTTAGAAACATCAGAAGGCTGTAGACAAATACTG GGACAGCTACAACCATCCCTCAGACAGGATCAGAAGAACTTAGAT CATTATATAATACAGTAGCAACCCTCTATTGTGTGCATCAAAGGATA GAGATAAAAGACACCAAGGAAGCTTAGACAAGATAGAGGAAGAG CAAAACAAAAGTAAGAAAAAAGCACAGCAAGCAGCAGCTGACACA GGACACAGCAATCAGGTCAAGCCAAAATTACCCCTATAGTCAGAAC TCCAGGGCAAATGGTACATCAGGCCATATCACCTAGAACTTTAAAT GCATGGTAAAAGTAGTAGAAGAGAAGGCTTCAGCCCAGAAGTGA TACCCATGTTTCAGCATTATCAGAAGGAGCCACCCACAAGATT AACACCATGCTAAACACAGTGGGGGACATCAAGCAGCCATGCAA TGTAAAAGAGACCATCAATGAGGAAGCTGCAGAATGGATAGAGT GCATCCAGTGCATGCAGGCCATTGCAACAGGCCAGATGAGAGAA CCAAGGGAAAGTGCACATAGCAGGAACACTACTAGTACCCCTCAGGAAC AAATAGGATGGATGACACATAATCCACCTATCCCAGTAGGAGAAAT CTATAAAAGATGGATAATCCTGGGATTAAATAAAATAGTAAGAATG TATAGCCCTACCAGCATTCTGGACATAAGACAAGGACAAAGGAAC CCTTAGAGACTATGTAGACCGATTCTATAAAACTCTAACAGAGCCGAG CAAGCTTCACAAGAGGTAAAAATTGGATGACAGAAACCTTGGTGG TCCAAAATGCGAACCCAGATTGTAAGACTATTAAAAGCATTGGG ACCAGGAGCGACACTAGAAGAAATGATGACAGCATGTCAGGAGTG GGGGGACCCGGCCATAAGCAAGAGTTGGCTGAAGCAATGAGCC AAAGTAACAAATCCAGCTACCATAATGATACAGAAAGGAATTAG GAACCAAAGAAAGACTGTTAAGTGTTCAGGAAAGCAAGGAG CACATAGCCAAAATTGCAGGGCCCTAGGAAAAGGGCTGTTGGA AATGTGGAAAGGAAGGACACCAAATGAAAGATTGACTGAGAGAC AGGCTAATTTTAGGAAGATCTGGCCTCCCACAAGGGAAGGCC

[0222]

		AGGGAAATTTCAGAGCAGACCAGAGCCAACAGCCCCACCAGAA GAGAGCTTCAGGTTGGGAAGAGACAACAACCTCCCTCTCAGAAGC AGGAGCCGATAGACAAGGAACGTATCCTTAGCTTCAGATCA CTCTTGGCAGCGACCCCTCGTCACAATAA
18	HIV Pol	ATGAATTGCCAGGAAGATGGAAACCAAAATGATAGGGGAATTG GAGGTTTATCAAAGTAGGACAGTATGATCAGATACTCATAGAAAT CTGCGGACATAAAGCTATAGGTACAGTATTAGTAGGACCTACACCT GTCAACATAATTGGAAGAAATCTGTTGACTCAGATTGGCTGCACTTT AAATTTCCCATAGCCTATTGAGACTGTACAGTAAATTAAAGC CAGGAATGGATGGCCAAAAGTAAACAATGGCATTGACAGAAGA AAAAAATAAAAGCATTAGTAGAAATTGTACAGAAATGGAAAAGGAA GGAAAAATTCAAAAATTGGCCTGAAATCCATACAATACTCCAG TATTGCCCCATAAGAAAAAGACAGTACTAAATGGAGAAAATTAGT AGATTTCAGAGAACTTAATAAGAGAACTCAAGATTCTGGAGTT CAATTAGGAATACCACATCCTGCAGGGTAAACAGAAAAATCAG TAACAGTACTGGATGGCGATGCATATTTCAGTTCCCTAGAT AAAGACTTCAGGAAGTATACTGCATTTACCATACCTAGTATAACAA TGAGACACCAGGGATTAGATATCAGTACAATGTGCTTCACAGGG TGGAAAGGATCACCAGCAATATTCCAGTGTAGCATGACAAAAATCT TAGAGCCTTTAGAAAACAAAATCCAGACATAGTCATCTATCAATAC ATGGATGATTGTATGAGGATCTGACTTAGAAATAGGGCAGCATA GAACAAAAATAGAGGAACCTGAGACAACATCTGTTGAGGTGGGATT TACCACACCAGACAAAAACATCAGAAAGAACCTCCATTCTTGG ATGGGTTATGAACCTCCATCCTGATAAAATGGACAGTACAGCCTATA GCTGCCAGAAAAGGACAGCTGGACTGTCAATGACATACAGAAATT GTGGGAAAATTGAATTGGCAAGTCAGATTATGCAGGGATTAAAG TAAGGCAATTATGAACTTCTAGGGAAACCAAGCACTAACAGA AGTAGTACCACTAACAGAAGAACAGAGCTAGAAACTGGCAGAAAA CAGGGAGATTCTAAAGAACCGGTACATGGAGTGTATTATGACCCA TCAAAAGACTTAATAGCAGAAATACAGAACGGCAAGGCCAAT GGACATATCAAATTATCAAGAGCCATTAAAAATCTGAAAACAGG AAAATATGCAAGAACGGTCCCCACACTAATGATGTGAAACAA TTAACAGAGGCAGTACAAAAAATGCCACAGAAAGCATAGTAATAT GGGGAAAGACTCCTAAATTAAATTACCCATACAAAAGGAAACATG GGAAGCATGGTGGACAGAGTATTGGCAAGCCACCTGGATTCCCTGAG TGGGAGTTGTCAATACCCCTCCCTAGTGAAGTTATGGTACCAAGTT AGAGAAAGAACCCATAATAGGAGCAGAAACTTCTATGTAGATGGG GCAGCCAATAGGAAACTAAATTAGGAAAGCAGGATATGTAAC

[0223]

		ACAGAGGAAGACAAAAAGTTGTCCCCCTAACGGACACAACAAATCA GAAGACTGAGTTACAAGCAATTCTAGCTTGCAGGATTGGGAT TAGAAGTAAACATAGTGCAGACTCACAATATGCATTGGAATCAT TCAAGCACAACCAAGATAAGAGTGAATCAGAGTTAGTCAGTCAAATA ATAGAGCAGTTAATAAAAAAGGAAAAGTCTACCTGGCATGGTAC CAGCACACAAAGGAATTGGAGGAAATGAACAAGTAGATGGTTGGT CAGTGCTGGAATCAGGAAAGTACTA
19	HIV Int	TTTTAGATGGAATAGATAAGGCCAAGAAGAACATGAGAAATATC ACAGTAATTGGAGAGCAATGGCTAGTGATTTAACCTACCACCTGTA GTAGCAAAAGAAATAGTAGGCCAGCTGTGATAAATGTCAGCTAAAG GGGAAGCCATGCATGGACAAGTAGACTGTAGCCAGGAATATGGCA GCTAGATTGTACACATTAGAAGGAAAAGTTATCTGGTAGCAGTTC ATGTAGCCAGTGGATATATAGAAGCAGAAGTAATTCCAGCAGAGAC AGGGCAAGAAACAGCATACTTCCTCTAAATTAGCAGGAAGATGG CCAGTAAAACAGTACATACAGACAATGGCAGCAATTTCACCAGTA CTACAGTTAAGGCCGCGCTGTTGGTGGCGGGGATCAAGCAGGAATT TGGCATTCCCTACAATCCCCAAAGTCAAGGAGTAATAGAATCTATGA ATAAAGAATTAAAGAAAATTATAGGACAGGTAAAGAGATCAGGCTGA ACATCTTAAGACAGCAGTACAAATGGCAGTATTCTACACAAATT AAAGAAAAGGGGGATTGGGGGTACAGTGAGGGAAAGAATAG TAGACATAATAGCAACAGACATACAAACTAAAGAATTACAAAAACA AATTACAAAAATTCAAAATTTCGGGTTTATTACAGGGACAGCAGA GATCCAGTTGGAAGGACCAGCAAAGCTCCTCTGGAAAGGTGAAG GGGCAGTAGTAATACAAGATAATAGTGACATAAAAGTAGTGCAAG AAGAAAAGCAAAGATCATCAGGGATTATGGAAAACAGATGGCAGG TGATGATTGTGCAAGTAGACAGGATGAGGATTA
20	HIV RRE	AGGAGCTTGTTCCTTGGTTCTGGAGCAGCAGGAAGCACTATGG GCGCAGCGTCAATGACGCTGACGGTACAGGCCAGACAATTATTGTC TGGTATAGTGCAGCAGCAGAACAAATTGCTGAGGGCTATTGAGGCG CAACAGCATCTGTTGCAACTCACAGTCTGGGCATCAAGCAGCTCCA GGCAAGAATCTGGCTGTGGAAAGATAACCTAAAGGATCAACAGCTC CT
21	HIV Rev	ATGGCAGGAAGAAGCGGAGACAGCGACGAAGAACTCCTCAAGGCA GTCAGACTCATCAAGTTCTATCAAAGCAACCCACCTCCAAATCC CGAGGGGACCCGACAGGCCGAAGGAATAGAAGAAGAAGGTGGAG AGAGAGACAGAGACAGATCCATTGATTAGTGACGGATCCTTAGC ACTTATCTGGACGATCTGGAGCCTGTGCCTTCAAGCTACCACC GCTTGAGAGACTTAACCTTGATTGAAACGAGGATTGTGGAACCTCTG

[0224]

		GGACGCAGGGGGTGGGAAGCCCTCAAATATTGGTGGAACTCCTAC AATATTGGAGTCAGGAGCTAAAGAATAG
22	CMV 프로모터	ACATTGATTATTGACTAGTTATTAAAGTAATCAATTACGGGGTCA TAGTTCATAGCCCATAATGGAGTTCGCGTTACATAACTACGGTA AATGGCCCGCCTGGCTGACCGCCCAACGACCCCCGCCATTGACGTC AATAATGACGTATGTTCCCATAGTAACGCCAATAGGGACTTCCATT GACGTCAATGGTGGAGTATTACCGTAAACTGCCACTGGCAGTA CATCAAGTGTATCATATGCCAAGTACGCCCTATTGACGTCAATGA CGGTAAATGCCCGCCTGGCATTATGCCAGTACATGACCTTATGGG ACTTCCTACTTGGCAGTACATCTACGTATTAGTCATCGCTATTACCA TGGTGATGGGTTTGGCAGTACATCAATGGGCGTGGATAGCGGTTT GACTCACGGGATTCCAAGTCTCACCACATTGACGTCAATGGGAG TTTGTGACCGGACCAAAATCAACGGACTTCCAAATGTCGTAACA ACTCCGCCATTGACGCAAATGGCGGTAGGGTGTACGGTGGGA GGTCTATATAAGC
23	VSV-G / DNA 단편 (VSV-G / 외피 당단백질 함유)	GAATTCATGAAGTGCCTTTGTACTTAGCCTTTATTCAATTGGGTG AATTGCAAGTTCACCATAAGTTTCCACACAACCAAAAGGAACTG AAAAAATGTCCTCTAATTACCATTATTGCCGTCAAGCTCAGATT TAAATTGGCATAATGACTTAATAGGCACAGCCTACAAGTCAAAT GCCCAAGAGTCACAAGGCTATTCAAGCAGACGGTTGGATGTGTCAT GCTTCCAAATGGGTCACTACTTGTGATTCCGCTGGTATGGACCGAA GTATATAACACATTCCATCCGATCCTCACTCCATCTGTAGAACAAAT GCAAGGAAAGCATTGAACAAACGAAACAAGGAACGGTGAATCC AGGCTCCCTCCTCAAAGTTGTGGATATGCAACTGTGACGGATGCCG AAGCAGTGATTGTCCAGGTGACTCCTCACCATGTGCTGGTGTGAA TACACAGGAGAATGGGTGATTCACAGTTCATCAACGGAAATGCA GCAATTACATATGCCCACTGTCATAACTCTACAACCTGGCATTCT GACTATAAGGTCAAAGGGCTATGTGATTCTAACCTCATTTCCATGGA CATCACCTTCTCAGAGGACGGAGAGCTATCATCCCTGGAAAGG AGGGCACAGGGTTCAGAAGTAACTACTTGCTTATGAAACTGGAGG CAAGGCCTGAAAATGCAATACTGCAAGCATTGGGAGTCAGACTC CCATCAGGTGCTGGTCAGATGGCTGATAAGGATCTCTGCTGC AGCCAGATTCCCTGAATGCCAGAAGGGTCAAGTATCTGCTCCAT CTCAGACCTCAGTGGATGTAAGTCTAATTCAAGGACGTTGAGAGGATC TTGGATTATCCCTCTGCCAAGAAACCTGGAGCAAATCAGAGCGG GTCTTCAATCTCTCAGTGGATCTCAGCTATCTGCTCTAAAC CAGGAACCGGTCTGCTTCACCATAATCAATGGTACCCCTAAATAC TTGAGACCAGATACTCAGAGTCGATATTGCTGCTCCAATCCTCTC

[0225]

		AAGAATGGTCGGAATGATCAGTGGAACTACCACAGAAAGGAACTG TGGGATGACTGGGCACCATATGAAGACGTGGAAATTGGACCCAATG GAGTTCTGAGGACCAGTCAGGATATAAGTTCTTATACATGATT GGACATGGTATGTTGACTCCGATCTCATCTTAGCTAAAGGCTCA GGTGTTCGAACATCCTCACATTCAAGACGCTGCTCGCAACTCCTG ATGATGAGAGTTATTTTGGTGATACTGGCTATCCAAAATCCA ATCGAGCTTGTAGAAGGTTGGTTCAGTAGTTGGAAAAGCTTATTGC CTCTTTCTTATCATAGGGTTAATCATTGACTATTCTGGTCTC CGAGTTGGTATCCATCTTGCATTAATTAAAGCACACCAAGAAAAG ACAGATTATACAGACATAGAGATGAGAATT
24	CAG 인핸서	TAGTTATTAAATAGTAATCAATTACGGGTCAATTAGTCATAGCCCAT ATATGGAGTTCCCGCTTACATAACTTACGGTAAATGGCCCGCTGGC TGACCGCCCCAACGACCCCCCGCCCATGACGTCAATAATGACGTATGT TCCCATAGTAACGCCAATAGGGACTTCCATTGACGTCAATGGGTGG ACTATTACGGTAAACTGCCACTTGGCAGTACATCAAGTGTATCAT ATGCCAAGTACGCCCTATTGACGTCAATGACGGTAAATGGCCCGC CTGGCATTATGCCAGTACATGACCTTATGGACTTCTACTTGGC AGTACATCTACGTATTAGTCATC
25	달 베타 액틴 인트론	GGAGTCGCTGCGTTGCCTTCGCCCCGTGCCCCGCTCCGCCGCC GCGCCGCCGCCGCCGGCTCTGACTGACCGCTTACTCCCACAGGTGA GCGGGCGGGACGGCCCTTCTCCTCCGGGCTGTAATTAGCGCTTGGTT TAATGACGGCTCGTTCTTCTGTGGCTGCGTGAAAGCCTAAAGG GCTCCGGGAGGGCCCTTGTGCGGGGGAGCGGCTGGGGGTGC GTGCGTGTGTGTGCGTGGCTGGGGAGCGCCGCGTGC CCGGCGGCTGTGAGCGCTGCCGCCGCCGGCGCTTGTGCGCT CCCGTGTGCGCAGGGGAGCGCCGCCGGGGCGGTGCCCGCG GCGGGGGGCTGCGAGGGGAACAAAGGCTGCGTGC GTGGGGGGGTGAGCAGGGGTGTGGCGCGCGTGGCTGTAAC CCCCCCTGCACCCCCCTCCCGAGTTGCTGAGCACGGCCGGCTTC GGGTGCGGGCTCGTGC GGCGGGGGGTGGCGCAGGTGGGGTGC CCTCGGGCCGGGAGGGCTCGGGGGAGGGGGCGGCCGG GCGCCGGCGCTGCGAGGCCGCGAGCCGAGCCATTGCC ATGGTAATCGTGCAGAGGGCGCAGGGACTCC GGCGGAGCCGAAATCTGGAGGGCGCCGCCGAC CGCGGGCGAAGCGGTGC AGGGCCTTCGTGC CCTCGGGCTGCC - 41 -

		CAGGGCGGGGTTCGGCTCTGGCGTGTGACCGGGCGG
26	토끼 베타 글로빈 폴리 A	AGATCTTTCCCTCTGCCAAAATTATGGGACATCATGAAGCCCC TTGAGCATCTGACTCTGGCTAATAAAGGAATTATTTCATTGCA ATAGTGTGTTGAATTGGTGTCTCACTCGAAGGACATATGG GAGGGCAAATCATTAAAACATCAGAATGAGTATTGGTTAGAGTT TGGCAACATATGCCATATGCTGGCTGCCATGAACAAAGGTGGCTAT AAAGAGGTCACTAGTATATGAAACAGCCCCCTGCTGTCCATTCTTA TTCCATAGAAAAGCCTGACTTGAGGTTAGATTTTTATATTGT TTTGTGTTATTTTTCTTAACATCCCTAAATTTCCCTACATGTTT TACTAGCCAGATTTCCCTCCTGACTACTCCAGTCAGCTG TCCCTCTCTTATGAAGATC
27	베타 글로빈 인트론	GTGAGTTGGGACCCCTGATTGTTCTTCTTTCGCTATTGTA TTCATGTTATATGGAGGGGGCAAAGTTTCAGGGTGTGTTAGAAT GGGAAGATGCCCTGTATCACCATGGACCCCTCATGATAATTGTT TCTTCACTTCTACTCTGTTGACAACCATTGTCCTCTTATTTCTT TTCATTTCTGTAACCTTCGTTAAACTTAGCTGCAATTGTAACG AATTTAAATTCACTTTGTTATTGTCAGATTGTAAGTACTTCT CTAATCACTTTCAAGGCAATCAGGGTATATTATATTGTA AGCACAGTTAGAGAACAAATTGTTATAATTAAATGATAAGGTAGA ATATTCTGCATATAAATTCTGGCTGGGTGGAAATTCTTATTGGT AGAAACAACACCCCTGGTCATCCTGCCTTCTTTATGGTTA CAATGATATACACTGTTGAGATGAGGATAAAACTCTGAGTCAA ACCGGGCCCCCTGCTAACCATGTTCATGCCTCTTCTTCC G
28	프라이머	TAAGCAGAATTGATGAAATTGCCAGGAAGAT
29	프라이머	CCATACAATGAATGGACACTAGGCGGCCGACGAAT
30	Gag, Pol, 인테그 라아제 단편	GAATTGATGAAATTGCCAGGAAGATGGAAACAAAAATGATAGGGG GAATTGGAGGTTTATCAAAGTAAGACAGTATGATCAGATACTCATA GAAATCTGGGACATAAGCTATAGGTACAGTATTAGTAGGACCTA CACCTGTCAACATAATTGAAAGAACTGTTGACTCAGATTGGCTGC ACTTTAAATTCCCATTAGTCCTATTGAGACTGTACCAAGTAA AAAGCCAGGAATGGATGGCCAAAAGTTAAACAATGCCATTGACA GAAGAAAAAATAAAGCATTAGTAGAAATTGTACAGAAATGGAAA AGGAAGGAAAAATTCAAAAATTGGCCTGAAATCCATACAATAC TCCAGTATTGCCATAAGAAAAAGACAGTACTAAATGGAGAAA TTAGTAGATTTCAGAGAACTTAATAAGAGAACTCAAGATTCTGGGA AGTCAATTAGGAATACCAACATCCTGCAGGGTTAAACAGAAAAAA TCAGTAACAGTACTGGATGTGGCGATGCATATTTCAGTTCC G

	<p>AGATAAAGACTTCAGGAAGTATACTGCATTTACCATACCTAGTATAA ACAATGAGACACCAGGGATTAGATATCAGTACAATGTGCTTCCACA GGGATGGAAAGGATCACCAGCAATATTCCAGTGTAGCATGACAAAAA ATCTTAGAGCCTTTAGAAAACAAATCCAGACATAGTCATCTATCA ATACATGGATGATTGTATGTAGGATCTGACTTAGAAATAGGGCAGC ATAGAACAAAATAGAGGAACGTGAGACAACATCTGTTGAGGTGGGG ATTTACCACACCAGACAAAAACATCAGAAAGAACCTCCATTCCCTT GGATGGGTTATGAACCTCCATCCTGATAATGGACAGTACAGCCTATA GTGCTGCCAGAAAAGGACAGCTGGACTGTCAATGACATACAGAAAT TAGTGGGAAAATTGAATTGGCAAGTCAGATTATGCAGGGATTAA AGTAAGGCAATTATGTAAACTTCTAGGGAACCAAGCACTAACAA GAAGTAGTACCACTAACAGAAGAACAGAGCTAGAACTGGCAGAA AACAGGGAGATTCTAAAGAACCGGTACATGGAGTGTATTATGACC CATCAAAAGACTTAATAGCAGAAATACAGAACAGCAGGGCAAGGCC AATGGACATATCAAATTATCAAGAGCCATTAAAAATCTGAAAAC AGGAAAGTATGCAAGAATGAAGGGTCCCACACTAATGATGTGAAA CAATTAAACAGAGGCAGTACAAAAAATGCCACAGAAAGCATAGTAA TATGGGAAAGACTCCTAAATTAAATTACCCATACAAAAGGAAAC ATGGGAAGCAGTGGACAGAGTATTGGCAAGCCACCTGGATTCC GAGTGGGAGTTGTCAATACCCCTCCCTAGTGAAGTTATGGTACCA GTTAGAGAAAGAACCCATAATAGGAGCAGAAACTTCTATGTAGAT GGGGCAGCCAATAGGGAAACTAAATTAGGAAAGCAGGATATGTA ACTGACAGAGGAAGACAAAAAGTTGTCCCCCTAACGGACACAACAA ATCAGAAGACTGAGTTACAAGCAATTCTAGCTTGCAGGATTG GGATTAGAAGTAAACATAGTGACAGACTCACAATATGCATTGGAA TCATTCAAGCACAACCAAGATAAGAGTGAATCAGAGTTAGTCAGTCA AATAATAGAGCAGTTAATAAAAAGGAAAAGTCTACCTGGCATGG GTACCAGCACACAAAGGAATTGGAGGAAATGAACAAGTAGATAAT TGGTCAGTGTGGAATCAGGAAAGTACTATTTTAGATGGAATAGAT AAGGCCAAGAAGAACATGAGAAATATCACAGTAATTGGAGAGCA ATGGCTAGTGTGATTTAACCTACCACCTGTAGTAGCAAAAGAAATAGT AGCCAGCTGTGATAATGTCAGCTAAAGGGGAAGCCATGCATGGA CAAGTAGACTGTAGCCCAGGAATATGGCAGCTAGATTGTACACATT AGAAGGAAAAGTTATCTGGTAGCAGTCATGTAGCCAGTGGATAT ATAGAAGCAGAAGTAATTCCAGCAGAGACAGGGCAAGAACAGCA TACTCCCTCTAAAATTAGCAGGAAGATGCCAGTAAAACAGTAC ATACAGACAATGGCAGCAATTCAACAGTACTACAGTTAAGGCCGC CTGTTGGTGGCGGGGATCAAGCAGGAATTGGCATTCCCTACAATC</p>
--	---

[0228]

		CCCAAAGTCAGGAGTAATAGAATCTATGAATAAAGAATTAAGAA AATTATAGGACAGGTAAAGAGATCAGGCTGAACATCTTAAGACAGCA GTACAAATGGCAGTATTCCATCCACAATTTAAAAGAAAAGGGGGGA TTGGGGGGTACAGTGCAGGGAAAGAATAGTAGACATAATAGCAAC AGACATACAAACTAAAGAATTACAAAACAAATTACAAAATTCAA AATTTCGGTTTATTACAGGGACAGCAGAGATCCAGTTGGAAAG GACCAGCAAAGCTCCTGGAAAGGTGAAGGGGCAGTAGTAATACA AGATAATAGTACATAAAAGTAGTGCAAGAAGAAAAGCAAAGAT CATCAGGGATTATGGAAAACAGATGGCAGGTGATGATTGTGGCA AGTAGACAGGTGAGGATTAA
31	Rev, RRE 및 토끼 베타 글로빈 폴리 A 를 함유하는 DNA 단편	TCTAGAATGGCAGGAAGAAGCGGAGACAGCGACGAAGAGCTCATC AGAACAGTCAGACTCATCAAGCTTCTATCAAAGCAACCCACCTCC CAATCCCGAGGGGACCCGACAGGCCGAAGGAATAGAAGAAG GTGGAGAGAGAGACAGACAGATCCATTGATTAGTGAACGGATC CTTGGCACTTATCTGGACGATCTGGAGCCTGTGCCTCTTCAGCT ACCACCGCTTGAGAGACTTACTCTGATTGTAACGAGGATTGTGGAA CTTCTGGGACGCAGGGGTGGGAAGCCCTAAATATTGGTGAATC TCCTACAATATTGGAGTCAGGAGCTAAAGAATAGAGGAGCTTGTTC CTTGGGTTCTGGAGCAGCAGGAAGCACTATGGCGCAGCGTCAA TGACGCTGACGGTACAGGCCAGACAATTATTGTCTGGTATAGTCAG CAGCAGAACATTGCTGAGGGCTATTGAGGCAGAACAGCATCTGT TGCAACTCACAGTCTGGGCATCAAGCAGCTCCAGGAAGAACCT GGCTGTGGAAAGATACTAAAGGATCAACAGCTCTAGATCTTTTC CCTCTGCCAAAATTATGGGACATCATGAAGCCCTTGAGCATCTG ACTTCTGGCTAATAAAGGAAATTATTTCTTACATGCAATAGTGTGTTG GAATTTTTGTGCTCTCACTCGAAGGACATATGGGAGGGCAATC ATTAAAACATCAGAATGAGTATTGGTTAGAGTTGGCAACATAT GCCATATGCTGGCTGCCATGAACAAAGGTGGCTATAAAGAGGTCA CAGTATATGAAACAGCCCCCTGCTGTCCATTCTTATTCCATAGAAA AGCCTTGACTTGAGGTTAGATTTTTATATTTGTGTTGTGTTATT TTTCTTAAACATCCCTAAATTCTTACATGTTACTAGCCAGA TTTCTCTCCTCTGACTACTCCAGTCAGCTGTCCCTTCTCT TATGAAGATCCCTCGACCTGCAGCCAAGCTGGCGTAATCATGGTC ATAGCTGTTCTGTGAAATTGTTATCGCTCACAACTCCACACA ACATACGAGCCGAAGCATAAAGTGTAAAGCCTGGGTGCTAATG AGTGAGCTAACACATTAATTGCGTGCCTCACTGCCGCTTCC AGTCGGAAACCTGCGGCCAGCGGATCCGATCTCAATTAGTCAG CAACCATAGTCCCCTAACTCCGCCATCCGCCCTAATCCCG

[0229]

		CCAGTCCGCCATTCTCCGCCCATGGCTGACTAATTTCATT TATGCAGAGGCCGAGGCCGCTGGCTCTGAGCTATCCAGAAGT AGTGAGGAGGCTTTGGAGGCCAGGCTTGCAGCTTAAAGCTAACT TGTTTATTGCAGCTTATAATGGTACAAATAAGCAATAGCATCACA AATTCACAAATAAGCATTTCACTGCATTCTAGTTGGTTG TCCAAACTCATCAATGTATCTTACAGCGGCCGGGG
32	CAG 인핸서/ 프로모터/ 인트론 서열을 함유하는 DNA 단편	ACGCGTTAGTTATTAATAGTAATCAATTACGGGGTCAATTAGTCATA GCCCATATATGGAGTCCGCGTTACATAACTTACGGTAAATGGCCCG CCTGGCTGACCGCCCAACGACCCCCGCCATTGACGTCAATAATGAC GTATGTTCCCATAGTAACGCCAATAGGGACTTCCATTGACGTCAAT GGGTGGACTATTTACGGTAAACTGCCACTTGGCAGTACATCAAGTG TATCATATGCCAAGTACGCCCTATTGACGTCAATGACGGTAAATG GCCCGCCTGGCATTATGCCAGTACATGACCTTATGGACTTCCCTA CTTGGCAGTACATCTACGTATTAGTCATCGTATTACCATGGTCGA GGTGAGCCCCACGTTCTGCTTCACTCTCCCATCTCCCCCCCCCTCCCC ACCCCCAATTTGTATTATTATTATTAAATTATTTGTGCAGCGAT GGGGGCGGGGGGGGGGGGGGGCGCGCCAGGCGGGGGGGGGGGGG GCGAGGGGGGGGGCGGGCGAGGCGGAGAGGTGCGGGCGAGCCA ATCAGAGCGGCGCGCTCCGAAAGTTCTTATGGCGAGGCGCG GCGGCAGGGCCCTATAAAAGCGAAGCGCCGGCGGGAGT CGCTGCGTTGCCCTCGCCCGTGCCTCGCCGCGCTCGGCC GCCCGCCCCGGCTCTGACTGACCGCGTTACTCCACAGGTGAGCGGG CGGGACGGCCCTCTCCTCCGGCTGTAATTAGCGTTGGTTAATG ACGGCTCGTTCTTCTGTGGCTCGTGAAGCCTTAAAGGGCTCC GGGAGGGCCCTTGTGCGGGGGGAGCGGCGTCGGGGGTGCGTGCG TGTGTGTGCGTGGGAGCGCCGCGTGCAGCGCTCGCCGG GGCTGTGAGCGCTGCGGGCGCCGGCGGGGCTTGTGCGCTCGCC TGTGCGCGAGGGGAGCGCGCCGGGGCGGTGCCCCCGCGGTGCGGG GGGGCTGCGAGGGGAACAAAGGCTGCGTGGGGGTGTGCGTGGG GGGGTGAAGCAGGGGTGTGGGCCCGCGTGGGCTGTAACCCCC CCTGCACCCCCCTCCCCGAGTTGCTGAGCACGGCCGGCTCGGG CGGGGCTCCGTGCGGGCGTGGCGGGGCTCGCCGTGCCGG GGGGTGGGGCAGGTGGGGTGCAGGGGGGGGGGGGGGGGGGG GGCCGGGGAGGGCTGGGGAGGGGGCGCCGGCGAGGCCAGC GGCGGCTGTCGAGGCAGGGCGAGGCCAGCATTGCTTATGGTA ATCGTGCAGAGAGGGCCAGGGACTTCTTGTGCCAAATCTGGCG AGCCGAAATCTGGGAGGCAGGCCGACCCCTAGCGGGCGCG GCGAAGCGGTGCGGCCGGCAGGAAGGAATGGCGGGAGGGC

[0230]

		CTTCGTGCGTCGCCGCCGCCGTCCCCCTCTCCATCTCAGCCTCGG GGCTGCCGCAGGGGGACGGCTGCCCTCGGGGGGACGGGGCAGGGC GGGGTTCGGCTCTGGCGTGTGACCGCGGGGAATT
33	RSV <u>프로모터</u> 및 HIV Rev	CAATTGCGATGTACGGGCCAGATATACCGGTATCTGAGGGGACTAG GGTGTGTTAGGCAAAAGCGGGGCTTCGGTTGTACCGGGTTAGGA GTCCCCCTCAGGGATATAGTAGTTCGCTTGTGATAGGGAGGGGAAA TGTAGTCTTATGCAATACACTTGTAGTCTGCAACATGGTAACGATG AGTTAGCAACATGCCCTACAAGGAGAGAAAAGCACCGTGCATGCC GATTGGTGGAAAGTAAGGTGGTACGATCGTGCCTTATTAGGAAGGCA ACAGACAGGTCTGACATGGATTGGACGAACCCTGAATTCCGCATT GCAGAGATAATTGTATTAAAGTGCTAGCTGATACAATAAACGCCA TTTGACCATTCAACCACATTGGTGTGCACCTCAAGCTCGAGCTCGTT TAGTGAACCGTCAGATGCCCTGGAGACGCCATCCACGCTGTTTGAC CTCCATAGAAGACACCGGGACCGATCCAGCCTCCCTGAAGCTAG CGATTAGGCATCTCTATGGCAGGAAGAAGCGGAGACAGCAGCAA GAACCTCTCAAGGCAGTCAGACTCATCAAGTTCTATCAAAGCAA CCCACCTCCAATCCGAGGGGACCGACAGGCCGAAGGAATAGA AGAAGAAGGTGGAGAGAGAGACAGAGACAGATCCATTGATTAGT GAACGGATCCTTAGCACTTATCTGGGACGATCTCGGAGCCTGTGCC TCTTCAGCTACCACCGCTTGAGAGACTTACTCTGATTGTAACGAGG ATTGTGGAACCTCTGGGACGCAGGGGGTGGGAAGCCCTCAAATATT GGTGAATCTCCTACAATATTGGAGTCAGGAGCTAAAGAATAGTCT AGA
34	신장 인자-1 알파 (EF1-알파) 프로모터	CCGGTGCCTAGAGAAGGTGGCGGGGTAAACTGGAAAGTGATGT CGTGTACTGGCTCCGCCTTTTCCCAGGGTGGGGAGAACCGTATA TAAGTGCAGTAGTCGCCGTGAACGTTCTTTCGCAACGGTTTGCC GCCAGAACACAGGTAAAGTGCCGTGTGGTTCCCGCGGGCTGGCC TCTTACGGTTATGCCCTTGCCTGGCTGAATTACTCCACGCC TGGCTCAGTACGTGATTCTGATCCGAGCTCGGGTTGGAAGTGG GTGGGAGAGTCGAGGCCCTGCCTTAAGGAGCCCTCGCCTCGTG CTTGAGTTGAGGCCCTGCCCTGGCGCTGGGGCCCGCGTGC CTGGTGGCACCTCGCCGTGCTCGCTGTTGATAAGTCTCTAGC CATTAAAATTTTGATGACCTGCTGCGACGCTTTCTGGCAAGA TAGTCTGTAAATCGGGCCAAGATCTGCACACTGGTATTGGTTT TTGGGGCCCGGGCGGGCACGGGGCCCGTGCCTCCAGCGCACATG TTCGGCGAGGCCGGGCGCTGCGAGCGCGGCCACCGAGAATCGGACGG GGGTAGTCTAAGCTGCCGGCTGCTCTGGTGCCTGCCCTCGCGCC GCCGTGTATGCCCGCCCTGGCGGCAAGGCTGCCCGTGGCA

[0231]

		CCAGTTGCGTGAGCGGAAAGATGCCGCTTCCCAGCCCTGCTGCAG GGAGCTAAATGGAGGACGCGCGCTCGGAGAGCGGGCGGGTG AGTCACCCACACAAAGGAAAGGGCCTTCCGTCCAGCCGTCGCT TCATGTGACTCCACGGAGTACCGGGCGCCGTCCAGGCACCTCGATT GTTCTGAGCTTGAGTACGTGCTTTAGTTGGGGAGGGGT TTTATGCGATGGAGTTCCCCACACTGAGTGGGTGGAGACTGAAGTT AGGCCAGCTGGCACTTGATGTAATTCTCCTTGAATTGCCCTTTT GAGTTGGATCTGGTCATTCTCAAGCCTCAGACAGTGGTCAAAG TTTTTCTTCCATTCAAGGTGCGTGA
35	프로모터: PGK	GGGGTTGGGTTGCGCCTTTCCAAGGCAGCCCTGGGTTGCGCAGG GACGCGGCTGCTCTGGCGTGGTCCGGAAACGCAGCGCGCCGA CCCTGGGTCTCGCACATTCTCACGTCCGTCAGCGTCACCCGGA TCTTCGCCGCTACCCCTGTGGGCCCCCGCGACGCTTCTGCTCCG CCCCTAAGTCGGGAAGGTTCTTGCCTGCCTGCCTGCCTGCCTGCCTG ACAAACGGAAGCCGACGTCTACTAGTACCCCTCGCAGACGGACAG CGCCAGGGAGCAATGGCAGCGCCGACCGCGATGGCTGTGGCCA ATAGCGGCTGCTCAGCAGGGCGCCGAGAGCAGCGGCCGGGAAG GGGCGGTGCGGGAGGGGGGTGTGGGCGGTAGTGTGGGCCCTGTT CCTGCCCGCGCGGTGTCCGCATTCTGAAGCCTCCGGAGCGCACGT CGGCAGTCGGCTCCCTCGTTGACCGAATCACCGACCTCTCTCCCCAG
36	프로모터: UbC	GCGCCGGTTTGGCGCCTCCCGGGCGCCCCCTCCTCACGGCGA GCGCTGCCACGTCAGACGAAGGGCGCAGGAGCGTCTGATCCTTC CGCCCGGACGCTCAGGACAGCGGCCGCTGCTCATAGACTCGGCC TTAGAACCCAGTATCAGCAGAAGGACATTAGGACGGACTTGG GTGACTCTAGGGCACTGGTTTCTTCCAGAGAGCGGAACAGGCAG GGAAAAAGTAGTCCCTCTGGCGATTCTGCGGAGGGATCTCGTGG GCGGTGAACGCCGATGATTATATAAGGACGCCGGGTGTGGCACA GCTAGTCCGTGCGAGCCGGATTGGGTGCGGTTCTTGTGG ATCGCTGTGATCGTCACTGGTGAGTTGCGGCTGCTGGCTGGCC GGGTTTGTGGCCCGGGCGCTCGTGGGACCGAAGCGTGTGG AGAGACGCCAAGGGCTGTAGTCTGGGTCCCGCAGCAAGGTTGCC TGAACCTGGGGTTGGGGGAGCGCACAAATGGCGCTGTTCCGA GTCTTGAATGGAAGACGCTTGTAAAGCGGGCTGTGAGGTGTTGAA ACAAGGTGGGGGCATGGTGGCGCGAAGAACCAAGGTCTGAGG CCTCGCTAATGCCGAAAGCTTATTGGGTGAGATGGCTGGGG CACCATCTGGGACCGTACGTGAAGTTGTCACTGACTGGAGAACT CGGGTTTGTGCGTCTGGGTGCGGGGGCGCAGTTATGCGGTGCCGTT GGCAGTGCACCGTACCTTGGGAGCGCGCCCTCGTGTGCGTGA

		CGTCACCCGTTCTGTTGGCTTATAATGCAGGGTGGGGCACCTGCCG GTAGGTGTGCGGTAGGCTTTCTCGTCGAGGACGCAGGGTTCGGG CCTAGGGTAGGCTCCTGAATCGACAGGCACCTCTGGTGA GGGGAGGGATAAGTGAAGCTCGGTTTGAACATGCGCTCGG CTATCTCTTAAGTAGCTGAAGCTCGGTTTGAACATGCGCTCGG GGTTGGCGAGTGTGTTTGTGAAGTTTTAGGCACCTTGAAATGT AATCATTGGTCAATATGTAATTTCAGTGTAGACTAGTAAA
37	폴리 A; SV40	GTTTATTGCAGCTTATAATGGTTACAAATAAGCAATAGCATCACAA ATTTCAAAATAAAGCATTTCAGTCATTCTAGTTGTGGTTGT CCAAACTCATCAATGTATCTTATCA
38	폴리 A; bGH	GAATGTGCCTCTAGTTGCCAGCCATCTGTTGCCCTCCCCGT GCCTTCCTGACCTGGAAGGTGCCACTCCACTGTCCCTTCTAATA AAATGAGGAAATTGCATCGCATTGTCTGAGTAGGTGTCATTCTATT TGGGGGGTGGGTGGGCAGGACAGCAAGGGGGAGGATTGGGAAG ACAATAGCAGGCATGCTGGGATCGGGTGGCTATGG
39	외피; RD114	ATGAAACTCCAACAGGAATGGTCATTTATGTAGCCTAATAATAGT TCGGGCAGGGTTTGACGACCCCCGCAAGGCTATGCATTAGTACAA AAACAACATGGTAAACCATGCGAATGCAGCGGAGGGCAGGTATCCG AGGCCCCACCGAACCTCCACAGGAACAGTAATTGCCAGGCAAGAC GCCCTACTTAATGACCAACCAAAATGAAATGCAGAGTCACTCCA AAAAATCTCACCCCTAGCGGGGAGAACTCCAGAACTGCCCTGTA ACACTTCCAGGACTCGATGCACAGTTCTTACTGAATACCGG CAATGCAGGGCGAATAATAAGACATACTACACGGCCACCTTGCTTA AAATACGGTCTGGAGCCTAACGAGGTACAGATATTACAAAACCC CAATCAGCTCCTACAGTCCCTGTAGGGCTCTATAATCAGCCCG TTGCTGGAGTGCACAGCCCCATCCATATCTCGATGGTGGAGGA CCCCCTCGATACTAAGAGAGTGTGGACAGTCAAAAAAGGCTAGAAC AAATTCTACAAGGCTATGCATCCTGAACCTCAATACCAACCCCTAGCC CTGCCCAAAGTCAGAGATGACCTTAGCCTGATGCACGGACTTTGA TATCCTGAATACCAACTTTAGGTTACTCCAGATGTCCAATTTCAGCCT TGCCCAAGATTGTTGGCTCTGTTAAAATAGGTACCCCTACCCCTC TTGCGATACCAACTCCCTTTAACCTACTCCCTAGCAGACTCCCTAG CGAATGCCTCTGTCAGATTACCTCCCTTGTGGTTAACCGATG CAGTTCTCCAACTCGTCTGTTATCTCCCTTCAACGATACG GAACAAATAGACTTAGGTGCAGTCACCTTACTAACTGCACCTCTGT AGCCAATGTCACTAGTCCCTTATGTGCCCTAACGGGTCAAGTCTTCC TCTGTGGAATAACATGGCATACACCTATTACCCAAAATGGACA GGACTTGCGTCCAAGCCTCCCTCCCGACATTGACATCATCCC

[0233]

		GGGGGATGAGCCAGTCCCCATTCTGCCATTGATCATTATATACATA GACCTAAACGAGCTGTACAGTTACCCCTTACTAGCTGGACTGGGA ATCACCGCAGCATTCAACCACCGGAGCTACAGGCCTAGGTGTCTCCGT CACCCAGTATACAAAATTATCCCATCAGTTAATATCTGATGTCCAAG TCCTATCCGGTACCATACAAGATTACAAGACCCAGGTAGACTCGTTA GCTGAAGTAGTTCTCCAAAATAGGAGGGACTGGACCTACTAACGG CAGAACAAAGGAGGAATTGTTAGCCTTACAAGAAAATGCTTTT TATGCTAACAAAGTCAGGAATTGTGAGAAACAAAATAAGAACCCCTAC AAGAAGAATTACAAAACGCAGGGAAAGCCTGGCATCCAACCCCTCT CTGGACCGGGCTGCAGGGTTTCTCCGTACCTCCTACCTCTCCTGG GACCCCTACTCACCCCTACTCATACTAACCATGGGCCATGCGTT TTCATCGATTGGTCCAATTGTTAAAGACAGGATCTAGTGGTCCA GGCTCTGGTTTGACTCAGCAATATCACCAAGCTAAACCCATAGAGT ACGAGCCATGA
40	외피 : GALV	ATGCTTCTCACCTCAAGCCCGCACCACTTCGGCACAGATGAGTCC TGGGAGCTGGAAAAGACTGATCATCCTCTTAAGCTCGTATTGGAG ACGGCAAAACGAGTCAGAATAAGAACCCCCACCAGCCTGTGAC CCTCACCTGGCAGGTACTGTCCAAACTGGGACGTTGTCTGGGACA AAAAGGCAGTCCAGCCCCTTGGACTTGGTGGCCCTCTTACACCT GATGTATGTGCCCTGGCGGCCGGTCTGAGTCCTGGGATATCCGGG ATCCGATGTATCGCCTCTAAAGAGTTAGACCTCTGATTCAACT ATACTGCCGTTATAAGCAAATCACCTGGGAGCCATAGGGTGCAG CTACCCCTGGGCTAGGACCAGGATGGCAAATTCCCCCTACGTGT GTCCCCGAGCTGGCGAACCCATTCAAAGCTAGGAGGTGTGGGG GCTAGAATCCCTACTGTAAAGAATGGAGTTGTGAGACCAACGGG ACCGTTATTGGCAACCCAAGTCCTCATGGACCTCATAACTGTAAA ATGGGACAAAATGTGAAATGGGAGCAAAATTCAAAGTGTGAA CAAACCGCTGGTGTAAACCCCTCAAGATAGACTCACAGAAAAG GAAAACCTCCAGAGATTGGATAACGGAAAAACCTGGGATTAAG GTTCTATGTATGGACACCCAGGCATACAGTTGACTATCCGCTTAG AGGTCACTAACATGCCGGTTGTGGCAGTGGGGCCAGACCCCTGTCTT GCGGAACAGGGACCTCTAGCAAGCCCCACTCTCCCTCTCCCC ACGGAAAGCAGCCGCCACCCCTACCCCGCGGCTAGTGAGCAA ACCCCTGCGGTGCATGGAGAAAATGTTACCCCTAAACTCTCCGCTCC CACCAAGTGGCGACCGACTCTTGGCCTGTGCAGGGGGCCTCTAA CCTTGAATGCTACCAACCCAGGGGCCACTAAGTCTTGCTGGCTGT TTGGGCATGAGCCCCCTTATTATGAAGGGATAGCCTCTCAGGAGA GGTCGCTTACCTCAACCATACCGATGCCACTGGGGGCCAAG

[0234]

		GAAAGCTTACCCCTACTGAGGTCTCGGACTCGGGTCATGCATAGGG AAGGTGCCTTACCCATCAACATTTGCAACCAGACCTTACCCAT CAATTCCCTCTAAAAACCACATCAGTATCTGCTCCCTCAAACCATAGCT GGTGGGCCTGCAGCACTGGCCTACCCCCCTGCCTCTCCACCTCAGTT TTAATCAGTCTAAAGACTTCTGTGTCAGGTCAGCTGATCCCCG CATCTATTACCATTCTGAAGAAACCTTGTACAAGCCTATGACAAAT CACCCCCCAGGTTAAAAGAGAGCCTGCCTCACTTACCCAGCTGTC TTCCCTGGGGTTAGGGATTGCGGCAGGTAGGACTGGCTCAACCGC CCTAATTAAAGGGCCCATAGACCTCAGCAAGGCCTAACAGCCTC CAAATGCCATTGACGCTGACCTCCGGGCCCTCAGGACTCAATCAG CAAGCTAGAGGACTCACTGACTTCCCTATCTGAGGTAGTACTCCAAA ATAGGAGAGGCCTGACTTACTATTCTTAAAGAAGGAGGCCTG GCGGCCCTAAAAGAAGAGTGCTGTTTATGTAGACCACTCAGGTGC AGTACGAGACTCCATGAAAAAACTTAAAGAAGACTAGATAAAAGA CAGTTAGAGCGCCAGAAAAACCAAAACTGGTATGAAGGGTGGTCA ATAACTCCCTGGTTACTACCCACTATCAACCATCGCTGGGCC CTATTGCTCCTCTTTGTTACTCACTTGGGCCCTGCATCATCAAT AAATTAAATCCAATTCAATGATAGGATAAGTGCAGTCAAAATTT AGTCCTAGACAGAAATATCAGACCCAGATAACGAGGAAACCTT TAA
41	외피 : FUG	ATGGTTCCGCAGGTTCTTTGTTGACTCCTCTGGGTTTCGTTGT GTTTCGGGAAGTCCCCATTACACGATACCGACAGCAACTGGTCCC TGGAGCCCTATTGACATACACCATCTCAGCTGTCAAATAACCTGGT TGTGGAGGATGAAGGATGTACCAACCTGTCCGAGTTCTCCTACATGG AACTCAAAGTGGATACATCTCAGCCATCAAAGTGAACGGGTTCAC TTGCACAGGTGTTGTGACAGAGGCAGAGACCTACACCAACTTGGT GTTATGTCACAACCACATTCAAGAGAAAGCATTCCGCCACCCCA GACGCATGTAGAGCCCGTATAACTGGAAGATGGCCGGTGACCCCA GATATGAAGAGTCCCTACACAATCCATACCCGACTACCAACTGGCT CGAACTGTAAGAACCAACCAAGAGTCCCTATTATCATATCCCCAAG TGTGACAGATTGGACCCATATGACAAATCCCTCACTCAAGGGTCT TCCCTGGCGAAAGTGCCTCAGGAATAACGGTGTCCCTACCTACTGC TCAACTAACCATGATTACACCATTGGATGCCGAGAACCGAGACC AAGGACACCTTGTGACATTTCACCAATAGCAGAGGGAAAGAGAGCA TCCAACGGGAACAAGACTTGCGGCTTGTGGATGAAAGAGGCCTGT ATAAGTCTCTAAAGGAGCATGCAGGCTCAAGTTATGTGGAGTTCTT GGACTTAGACTTATGGATGGAACATGGTCGGATGCAAACATCAG ATGAGACCAAATGGTGCCCTCCAGATCAGTTGGTAATTGACGAC

		TTTCGCTCAGACGAGATCGAGCATCTCGTTGGAGGAGTTAGTTAA GAAAAGAGAGGAATGCTGGATGCATTAGAGTCCATCATGACCACC AAGTCAGTAAGTTCAGACGCTCAGTCACCTGAGAAAACCTGCCCC AGGGTTGGAAAAGCATATACCATATTCAACAAAACCTGATGGAG GCTGATGCTCACTACAAGTCAGTCCGGACCTGGAATGAGATCATCCC CTCAAAAGGGTGTGAAAGTTGGAGGAAGGTGCCATCCTCATGTG AACGGGGTGTGAAAGTTGGAGGAAGGTGCCATCCTCATGTG CCTAATCCCAGAGATGCAATCATCCTCCTCCAGCAACATATGGAGT TGTTGGAATCTCAGTTATCCCCCTGATGCACCCCTGGCAGACCCCT TCTACAGTTTCAAAGAAGGTGATGAGGCTGAGGATTTGTTGAAGT TCACCTCCCCGATGTGACAAACAGATCTCAGGGGTTGACCTGGGTC TCCCGAACTGGGAAAGTATGTATTGACTGCAGGGCCATGAT TGGCCTGGTGTGATATTTCCCTAATGACATGGTCAGAGTTGGTA TCCATTTGCATTAATTAAAGCACACCAAGAAAAGACAGATTAT ACAGACATAGAGATGAACCGACTGGAAAGTAA
42	외피 ; LCMV	ATGGGTCAATTGACAATGTTGAGGCTCTGCCTCACATCATCGA TGAGGTGATCAACATTGTCATTATTGTGCTTATCGTGATCACGGGTA TCAAGGCTGTCACAATTGCACTGTGGGATATTGCAATTGATC AGTTTCTACTTCTGGCTGGCAGGTGCTGTGGCATGTACGGTCTTAA GGGACCCGACATTACAAGGAGTTACCAATTAAAGTCAGTGGAG TTTGATATGTCACATCTGAACCTGACCATGCCAACGCATGTTCAGC CAACAACCTCCACCATTACATCAGTATGGGACTTCTGACTAGAAT TGACCTTCACCAATGATTCCATCATCAGTCACAACATTGCAATCTG ACCTCTGCCTTCAACAAAAGACCTTGACCAACACACTCATGAGTAT AGTTTCGAGCCTACACCTCAGTATCAGAGGAACTCCAACATATAAG GCAGTATCCTGCGACTTCAACAATGGCATAACCATCCAACAACTT GACATTCTCAGATCGACAAAGTGCTCAGAGCCAGTGTAGAACCTTC AGAGGTAGAGTCCTAGATATGTTAGAACTGCCTCGGGGGAAAT ACATGAGGAGTGGCTGGGCTGGACAGGCTCAGATGGCAAGACCAC CTGGTGTAGCCAGACGAGTTACCAATACCTGATTATAACAAATAGA ACCTGGGAAAACCACTGCACATATGCAGGTCTTGGGATGTCCAG GATTCTCCTTCCCAAGAGAAGACTAAGTTCTCACTAGGGAGACTAG CGGGCACATTACCTGACTTGTCACTCTCAGGGTGGAGAAT CCAGGTGGTTATTGCCTGACCAATGGATGATTCTGCTGCAGAGCT TAAGTGTTCGGAACACAGCAGTTGCGAAATGCAATGAAATCAT GATGCCGAATTCTGTGACATGCTGCGACTAATTGACTACAACAAGGC TGCTTGTGAGTAAGTTCAAAGAGGACGTAGAATCTGCCTTGCACATTAT TCAAAACAAAGTGAATTCTTGATTTCAGATCAACTACTGATGAGG

[0236]

		AACCACTTGAGAGATCTGATGGGGTGCCATATTGCAATTACTCAAAGTTTGGTACCTAGAACATGCAAAGACCGCGAAACTAGTGTCCCCAAGTGCTGGCTGTCACCAATGGTCTTACTTAAATGAGACCCACTTCAGTGATCAAATCGAACAGGAAGCCGATAACATGATTACAGAGATGTTGAGGAAGGATTACATAAAGAGGCAGGGAGTACCCCCCTAGCATTGATGGACCTTCTGATGTTTCCACATCTGCATATCTAGTCAGCATCTCCTGCACCTGTCAAATACCAACACACAGGCACATAAAAGGTGGCTCATGTCAAAGCCACACCGATTAACCAACAAAGGAATTGTAGTTGTGGTGCATTAAGGTGCCTGGTAAAAACCGTCTGGAAAAGACGCTGA
43	외피 : FPV	ATGAACACTCAAATCCTGGTTTGCCTTGCGAGTCATCCCCACAAATGCAGACAAAATTGTCTTGGACATCATGCTGTATCAAATGGCACAAAGTAAACACACTCACTGAGAGAGGGAGTAGAAGTTGTCAATGCAACGGAAACAGTGGAGCGGACAAACATCCCCAAAATTGCTAAAAAGGAAAGAACCAACTGATCTGGCCAATGCGACTGTTAGGGACCATTACCGGACCACCTCAATGCGACCAATTCTAGAATTTCAGCTGATCTAATAATCGAGAGACGAGAAGGAAATGATGTTGTTACCCGGGAGAGTTGTTAATGAAGAGGCATTGCGACAAATCCTCAGAGGATCAGGTGGGATTGACAAAGAAACAATGGGATTACATATAGTGAATAAGGACCAACCGAACAACTAGTCATGTTAGAAGATCAGGGTCTTCATTCTATGCAGAAATGGAGTGGCTCCTGTCAAATACAGACAATGCTGTTCCACAAATGACAAAATCATACAAAAACACAAGGAGAGAATCAGCTCTGATAGTCTGGGAATCCACCATTAGGATCAACCACCGAACAGACCAAACATGGGAGTGGAAATAACTGATAACAGTCGGAGTTCCAAATATCATCAATCTTGTGCCAGTCCAGGAACACGACCGCAGATAATGCCAGTCCGGACGGATTGATTTCAATTGGTTGATCTGGATCCAAATGATACTTTAGTTCAATGGGCTTCATAGCTCAAATCGTGCAGGTTGATGCCAATTGCGAAGGGGAATGCTACCAACAGTGGAGGGACTATAACAAGCAGATTGCCATTCAAAACATCAATAGCAGAGCAGTTGGCAAATGCCAAGATATGTAACAGAGGAAAGTTTATTATGGCAACTGGGATGAAGAACGTTCCGAACCTTCCAAAAAAAGGAAAAAAAGAGGCTTTGGCGCTATAGCAGGGTTATTGAAAATGGTTGGGAAGGTCTGGTCGACGGGTGGTACGGTTTCAGGCATCAGAATGCAACAGGAGAAGGAACTGCAGCAGACTACAAAGCACCAATCGCAATTGATCAGATAACCGGAAAGTTAAATAGACTCATTGAGAAAACCAACAGCAATTGAGCTAATAGATAATGAATTCACTGAGGTGGAAAGCAGATTGCAATTAACTGGACCAAAAGACTCCATCACAGA

[0237]

		AGTATGGTCTTACAATGCTGAACCTCTTGTGGCAATGGAAAACCAGC ACACTATTGATTGGCTGATTAGAGATGAACAAGCTGTATGAGCGA GTGAGGAAACAATTAAGGGAAATGCTGAAGAGGATGGCACTGGTT GCTTGAATTTTCATAAATGTGACGTGATTGTATGGCTAGTATA AGGAACAATACCTATGATCACAGCAAATACAGAGAAGAAGCGATGC AAAATAGAATACAATTGACCCAGTCAAATTGAGTAGTGGCTACAA AGATGTGATACTTGGTTAGCTTCGGGCATCATGCTTTGCTTCT TGCCATTGCAATGGGCCTTGTTCATATGTGTGAAGAACGGAAACA TGCAGTGCACTATTGTATATAA
44	외피 : RRV	AGTGTAAACAGAGCACTTAATGTGTATAAGGCTACTAGACCACCT AGCACATTGCGCCGATTGCGGGGACGGGTACTCTGCTATAGCCCAG TTGCTATCGAGGAGATCGAGATGAGGCGTCTGATGGCATGCTTAA GATCCAAGTCTCCGCCAAATAGGTCTGGACAAGGCAGGCACCCAC GCCACACGAAGCTCCGATATATGGCTGGTCATGATGTTCAAGGAAATC TAAGAGAGATTCTTGAGGGTGTACACGTCGGCAGCGTGTCCATAC ATGGGACGATGGGACACTTCATCGTCGACACTGTCCACCCAGGCAG CTACCTCAAGGTTCTGTCGAGGACGCAGATTCGACGTGAAGGCAT GTAAGGTCCAATACAAGCACAATCCATTGCCGTGGTAGAGAGAA GTTCGTGGTTAGACCACACTTGGCGTAGAGCTGCCATGCACCTCAT ACCAGCTGACAACGGCTCCACCGACGAGGAGATTGACATGCATAC ACCGCCAGATATACCGGATCGCACCCCTGCTATCACAGACGGCGGGC AACGTAAAATAACAGCAGGCCAGGACTATCAGGTACAACGTAA CCTCGGGCGTGAACACGTAGGCACCTACCGACTACTGACAAGACCAT CAACACATGCAAGATTGACCAATGCCATGCTGCCGTACCAGCCAT GACAATGCAATTACCTCTCCATTGTTCCCAGGGTGTACAGAC AGCTAGGAAAGGCAAGGTACACGTTCCGTTCCCTCTGACTAACGTCA CCTGCCAGTGCGTTGGCTCGAGCGCCGGATGCCACCTATGGTAAG AAGGAGGTGACCTCTGAGATTACACCCAGATCATCCGACGCTCTTC CTATAGGAGTTAGGAGCCGAACACCGCCGGTACGAGGAATGGGTT GACAAGTTCTGAGCGCATATCCAGTGACGGAAGAAGGGATTG AGTACCAAGTGGGGCAACAACCCGCCGGTCTGCCGTGGCGCAACT GACGACCGAGGGCAAACCCCATGGCTGGCCACATGAAATCATTCA TACTATTATGGACTATAACCCGCCCACTATTGCCGAGTATCCGG GGCGAGTCTGATGGCCCTCTAACTCTGGCGGCCACATGCTGCATGC TGGCCACCGCGAGGAGAAAGTGCCTAACACCGTACGCCGTGACGCC AGGAGCGGTGGTACCGTTGACACTGGGCTGCTTGCTGCGCACCG AGGGCGAATGCA
45	외피 :	ATGGAAGGTCCAGCGTTCTCAAAACCCCTAAAGATAAGATTAACC

[0238]

	MLV 10A1	<p>CGTGGAAAGTCCTTAATGGTCATGGGGTCTATTAAGAGTAGGGATG GCAGAGAGCCCCATCAGGTCTTAATGTAACCTGGAGAGTCACCA ACCTGATGACTGGCGTACCGCCAATGCCACCTCCCTTAGGAAC GTACAAGATGCCTCCAAAGATTATTTGATCTATGTGATCTGGT CGGAGAAGAGTGGGACCCCTCAGACCAGGAACCATAATGCGGGTAT GGCTGCAAATACCCGGAGGGAGAAAGCGGACCCGGACTTTGACT TTTACGTGTGCCCTGGGCATACCGTAAAATCGGGTGTGGGGGCC AAGAGAGGGCTACTGTGGTGAATGGGTTGTGAAACCACCGGACAG GCTTAAGGCCCACATCATCATGGGACCTAATCTCCCTAAGCG CGGTAACACCCCTGGGACACGGATGCTCCAAATGGCTGTGGC CCCTGCTACGACCTCTCCAAAGTATCCAATTCTCCAAGGGCTAC TCGAGGGGCCAGATGCAACCCCTAGTCCTAGAATTCACTGATGCA GGAAAAAAGGCTAATTGGGACGGCCAAATCGTGGGACTGAGAC TGTACCGGACAGGAACAGATCCTATTACCATGTTCTCCCTGACCGC CAGGTCTCAATATAGGGCCCGCATCCCCATTGGCCTAATCCCCT GATCACTGGTCAACTACCCCCCTCCGACCCGTGCAGATCAGGCTCC CCAGGCCTCCTCAGCCTCCTACAGGCGCAGCCTCTAGTCCCT GAGACTGCCACCTCTCAACAAACCTGGGACGGGAGACAGGCTGC TAAACCTGGTAGAAGGAGCCTATCAGGCCTTAACCTACCAATCCC GACAAGACCCAAGAATGTTGGCTGTGCTTAGTGTGGGACCTCCTA TTACGAAGGAGTAGCGCTCGTGGCACTTACCAATCATCTACCG CCCCGGCCAGCTGTACGCCACTTCCAACATAAGCTTACCCCTATCT GAAAGTGACAGGACAGGGCCTATGCATGGGACCACTACCTAAACTC ACCAGGCCTATGTAACACCACCCAAAGTGCCTCAGGATCCTAC TACCTTGACGCCGCTGGAACAATGTGGCTGTAGCACTGGATT GACTCCCTGTTGTCACCACGATGCTCAATCTAACACAGACTATT GTGTATTAGTTGAGCTCTGGCCAGAATAATTACCAACTCCCCGAT TATATGTATGGTCAGCTGAACAGCGTACCAATATAAGAGGGAGC CAGTATCGTTGACCCCTGGCCCTCTGCTAGGAGGATTAACCATGGGA GGGATTGCAGCTGGAATAGGGACGGGACCACTGCCCTAATCAAAA CCCAGCAGTTGAGCAGCTTACGCCGCTATCCAGACAGACCTCAAC GAAGTCGAAAATCAATTACCAACCTAGAAAAGTCACTGACCTCGT TGTCTGAAGTAGTCCTACAGAACCGAAGAGGCCTAGATTGCTCTTC CTAAGAGGGAGGTCTCTGCGCAGCCCTAAAGAAGAATGTTGTT TTTATGCAGACCACACGGGACTAGTGAGAGACAGCATGCCAAACT AAGGGAAAGGCTTAATCAGAGACAAAAACTATTTGAGTCAGGCCAA GGTTGGTTCGAAGGGCAGTTAATAGATCCCCCTGGTTACCACCTT AATCTCCACCATCATGGGACCTCTAATAGTACTCTACTGATCTTACT</p>
--	----------	---

[0239]

		CTTTGGACCTGCATTCTCAATCGATTGGTCCAATTGTTAAAGACA GGATCTCAGTGGTCCAGGCTCTGGTTTGACTCAACAATATCACCAG CTAAAACCTATAGAGTACGAGCCATGA
46	외피 : 에볼라	ATGGGTGTTACAGGAATATTGCAGTTACCTCGTATCGATTCAAGAG GACATCATTCTTCTTGGTAATTATCCTTCCAAAGAACATTTC CATCCCCTGGAGTCATCCACAATAGCACATTACAGGTTAGTGATG TCGACAAACTGGTTGCCGTGACAAACTGTATCCACAAATCAATTG AGATCAGTTGGACTGAATCTGAAGGGAAATGGAGTGGCAACTGACG TGCCATCTGCAACTAAAAGATGGGCTCAGGTCGGTGTCCCACCA AAGGTGGTCAATTATGAAGCTGGTGAATGGCCTGAAAAGTCTACA ATCTTGAAATCAAAAAACCTGACGGGAGTGAGTGTCTACCAGCAGC GCCAGACGGGATTCGGGGCTCCCCCGTGCCTGATGTGCACAAA GTATCAGGAACGGGACCGTGTGCCGGAGACTTGCCCTCACAAAG AGGGTGCTTCTTCCTGATGACCGACTTGCTTACAGTTATCTACC GAGGAACGACTTCGCTGAAGGTGTCGTTGCATTCTGATACTGCC CAAGCTAAGAAGGACTTCTCAGCTCACACCCCTGAGAGAGCCGG TCAATGCAACGGAGGACCCGTCTAGTGGCTACTATTCTACCACAATT AGATATCAAGCTACCGTTTGGAACCAATGAGACAGAGTATTGTT CGAGGTTGACAATTGACCTACGTCACACTGAATCAAGATTACAC CACAGTTCTGCTCCAGCTGAATGAGACAATATACAAAGTGGAA AAGGAGCAATACCACGGGAAAACAATTGGAAGGTCAACCCCGAA ATTGATACAAACATCGGGAGTGGCCTCTGGAAACTAAAAAAA CCTCACTAGAAAATTGCACTGAGTGGTCTTCAAGCTGTAT CAAACAGAGCCAAAACATCAGTGGTCAGAGTCCGGCGCAACTTC TTCCGACCCAGGGACCAACACAACACTGAAGACACCACAAATCATG GCTTCAGAAAATTCTGCAATGGTTCAAGTCACAGTCAGGAA GGGAAGCTGCAGTGTGCGATCTGACAACCTGCCACAATCTCCACG AGTCCTCAACCCCCACAACCAACCAACAGGTCCGGACACAGCACCC ACAATACACCGTGTATAAACTGACATCTGAGGCAACTCAAGTT GAACAAACATCACCGCAGAACAGACAACGACAGCACAGCTCCGACA CTCCCCCGCCACGACCGCAGCCGGACCCCTAAAGCAGAGAACAC CAACACGAGCAAGGGTACCGACCTCCTGGACCCGCCACCAACA AGTCCCCAAAACCACAGCGAGACCGCTGGCAACAACAACTCATC ACCAAGATACCGGAGAAGAGAGTGCAGCAGCGGGAGCTAGGCTT AATTACCAATACTATTGCTGGAGTGCAGGACTGATCACAGGCGGG AGGAGAGCTGAAGAGAAGCAATTGCAATGCTAACCCAAATGCA ACCTAATTACATTACTGGACTACTCAGGATGAAGGTGCTGCAATC GGACTGGCCTGGATACCATTTCGGCCAGCAGCCGAGGGAAATT

[0240]

		ACATAGAGGGGCTGATGCACAATCAAGATGGTTAACATGTGGGTT GAGACAGCTGGCCAACGAGACGACTCAAGCTTCAACTGTTCTG AGAGCCACAACCGAGCTACGCACCTTCAATCCTAACCGTAAGGC AATTGATTCTGCTGCAGCGATGGGCGGCACATGCCACATTTGG GACCGGACTGCTGTATCGAACCATGATTGGACCAAGAACATAAC AGACAAAATTGATCAGATTATTCATGATTGGTGTGATAAAACCCTC CGGACCAGGGGACAATGACAATTGGTGGACAGGATGGAGACAAAT GGATACCGGCAGGTATTGGAGTTACAGGCCTATAATTGCAGTTATC GCTTATTCTGTATATGCAAATTGTCTTTAG
47	좌측ITR	CCTGCAGGCAGCTGCGCGCTCGCTCGCTACTGAGGCCGCCGGGC AAAGCCCGGGCGTCGGCGACCTTGGTCGCCGGCCTCAGTGAGC GAGCGAGCGCGCAGAGAGGGAGTGGCCAACTCCATCACTAGGGTT CCT
48	프로트롬비 인핸서	GCGAGAACTTGTGCCTCCCCGTGTTCCCTGCTCTTGTCCCTCTGTCCT ACTTAGACTAATATTCGCCTTGGGTACTGCAAACAGGAAATGGGGG AGGGACAGGAGTAGGGCGGAGGGTAG
49	풀리A	GACTGTGCCTCTAGTTGCCAGCCATCTGTTGTTGCCCTCCCCGT GCCTTCCTTGACCTGGAAGGTGCCACTCCACTGTCCTTCCTAATA AAATGAGGAAATTGCATCGCATTGCTGAGTAGGTGTCAATTCTATT TGGGGGGTGGGGTGGGCAGGACAGCAAGGGGAGGATTGGGAAG ACAATAGCAGGCATGCTGGGATGCGGTGGCTATGGC
50	우측ITR	AGGAACCCCTAGTGATGGAGTTGCCACTCCCTCTGCGCGCTCGC TCGCTCACTGAGGCCGGCGACCAAGGTGCCAGCCCCGGCT TTGCCCGGGCGCCTAGTGAGCGAGCGAGCGCAGCTGCCTGCA GG
51	E2A	TTAAAAGTCGAAGGGTTCTCGCGCTCGTCGTTGTGCGCCCGCTGG GGAGGGCCACGTTGCGAACTGGTACTTGGGCTGCCACTTGAACTC GGGGATCACCAGTTGGGACTGGGTCTCGGGGAAGGTCTCGCTC CACATGCGCCGGCTCATCTGCAGGGCGCCAGCATGTCAGGCGCG AGATCTGAAATCGCAGTTGGGCGGTGCTCTGCGCGCAGTTG CGGTACACTGGGTGCAAGCACTGGAACACCATCAGACTGGGTACT TCACACTAGCCAGCACGCTTGTGCTGATCTGATCCTGTCCAGG TCCTCGCGTTGCTCAGGCCAACGGGTCATCTGCACAGCTGGCG GCCCAAGGAAGGGCACGCTCTGAGGCTTGTGGTACACTCGCAGTGC ACGGGCATCAGCATATCCCCCGCCGCCGCTGCATATTGGGTAGA GGGCCTTGACGAAGGCCCGATCTGCTGAAAGCTTGTGGCCTTG GCCCGCTCGTAAAAACAGGCCAGCTTCCCGCTGAACGTGATT

[0241]

		ATTCCCGCACCCGGCATCATGGACGCAGCAGCGCGCATGGCTG GTCAGTTGCACCACGCTCCGTCCCCAGCGGTTCTGGGTACCTTGGC CTTGCTGGGTGCTCCTCAGCGCACGCTGCCGTTCTACTGGTCAC ATCCATCTCCACCACGTGGTCCTTGTGGATCATCACCGTCCCATGCA GACACTTGAGCTGCCCTTCCACCTCGGTGCAGCCGTGGTCCCACAGG GCACTGCCGGTGCACTCCCAGTTCTGTGCGCGATCCCGCTGTGGCT GAAGATGTAACCTTGCAACAGGGCAGCCATGATGGTGCTAAAGCTC TTCTGGGTGGTGAAGGTCAGTTGCAGACCGCGGGCTCTCGTTCAT CCAGGTCTGGCACATCTTTGAAAGATCTCGGTCTGCTCGGGCATGA GCTTGTAAGCATCGCGCAGGCCGCTGTCGACCGGGTAGCGTTCCATC AGCACATTGATGGTATCCATGCCCTCTCCAGGACGAGACAGAGG CAGACTCAGGGGTTGCGCACGTTCAAGGACACCGGGGGTCGCGGGC TCGACGATGCGTTTCCGTCCTGCCTCCTCAACAGAACCGGGCG CTGGCTGAATCCCACCTCCACGATCACGGCTCTCCTGGGCATCT CTTCGTCTGGGTCTACCTTGGTCACATGCTTGGCTTCTGGCTTGCT TCTTTTTGGAGGGCTGTCCACGGGACACGGCTCTCGGAAGAC CCGGATCCCACCGCTGATACTTCGGCGCTTGGTTGGAGAGGAGG TGGCGCGAGGGGCTCCTCTCCTGCTCCGGGGATAGCCGCTGAA CCGTGGCCCCGGGGCGAGTGGCCTCTCGGTCCATGAACCGGC CGTCCTGACTGCCGCCGCAT
52	E4	TCATGTATCTTATTGATTTTACACCAGCACGGTAGTCAGTCTCCC ACCACCAGCCCATTACAGTGTAAACAATTCTCTCAGCACGGGTGG CCTTAAATAGGGCAATATTCTGATTAGTGCAGGAACTGGACTTGGGG TCTATAATCCACACAGTTCTGGCGAGCAAACGGGGTCGGTGAT TGAGATGAAGCCGTCTCTGAAAAGTCATCCAAGCGAGCCTCACAG TCCAAGGTACAGTATTATGATAATCTGCATGATCACAAATCGGGCAA CAGGGATGTTGTCAGTCAGTGAAGCCCTGGTTCTCATCAGATC GTGGTAAACGGGCCCTGCGATATGGATGATGGCGAGCGAGCTGGA TTGAATCTCGGTTGCAT
53	VA RNA	AGCGGGCACTTCCGTGGCTGGGATAAATTGCAAGGGTATCA TGGCGGACGACCGGGGTTCGAGCCCCGTATCCGGCCGTCCGCCGTG ATCCATGCGGTTACCGCCCCGCGTGTGCAACCCAGGTGTGCGACGTCA GACAACGGGGAGTGTCTCCTT
54	AAV2 Rep	ATGGCTGCCGATGGTTATCTTCAGATTGGCTCGAGGACACTCTCTC TGAAGGAATAAGACAGTGGTGGAAAGCTCAAACCTGGCCACCACCA CCAAAGCCCGCAGAGCGGCATAAGGACGACAGCAGGGGTCTGTGC TTCCTGGGTACAAGTACCTCGGACCCCTCAACGGACTCGACAAGGG AGAGCCGGTCAACGAGGCAGACGCCGCGGCCCTCGAGCAGCACAAA

		GCCTACGACCGGCAGCTCGACAGCGGAGACAACCGTACCTCAAGT ACAACCACGCCGACGCCGGAGTTCAAGGAGCGCCTTAAAGAAGATAC GTCTTTGGGGCAACCTCGGACGAGCAGTCTCCAGGCAGAAAG AGGGTTCTGAACCTCTGGCCTGGTTGAGGAACCTGTTAAGACGGC TCCGGGAAAAAAAGAGGCCGGTAGAGCACTCTCCTGTGGAGGCCAGAC TCCTCCTCGGAACCGGAAAGGCCGGCAGCAGCCTGCAAGAAAAA GATTGAATTGGTCAGACTGGAGACGCAGACTCAGTACCTGACCCC CAGCCTCTCGACAGCCACCAGCAGCCCCCTCTGGCTGGAACTAA TACGATGGCTACAGGCAGTGGCGACCAATGGCAGACAATAACGAG GGCGCCGACGGAGTGGTAATTCTCGGAAATTGGCATTGCGATT CCACATGGATGGCGACAGAGTCATCACCACAGCACCGAACCTG GGCCCTGCCACCTACAACAACCACCTCTACAAACAAATTCCAGCC AATCAGGAGCCTCGAACGACAATCACTACTTGGCTACAGCACCCCT TGGGGTATTGACTCAACAGATTCACTGCCACTTTACCAC TGAUTGGCAAAGACTCATCAACAACAACTGGGATTCCGACCCAAG AGACTCAACTCAAGCTTTAACATTCAAGTCAAAGAGGTCACGCA GAATGACGGTACGACGACGATTGCAATAACCTTACCGACGGTT CAGGTGTTACTGACTCGGAGTACCAGCTCCGTACGTCTCGGCTC GGCGCATCAAGGATGCCCTCCGCCCTCCAGCAGCAGTCTCATGG TGCCACAGTATGGATACCTCACCTGAACAACGGAGTCAGGCAGT AGGACGCTCTCATTACTGCCTGGAGTACTTCTCAGATGCT GCGTACCGGAAACAACCTTACCTCAGCTACACTTGAGGACGTT CTTCCACAGCAGCTACGCTCACAGCCAGAGTCTGGACCGTCTCATG AATCCTCTCATGACCACTGTATTACTTGAGCAGAACAAACAC TCCAAGTGGAAACCACCGCAGTCAGGCTCAGTTCTCAGGCCG GAGCGAGTGACATTGGGACCACTGAGCTAGGAACGGCTCTGGACC CTGTTACGCCAGCAGGAGTATCAAAGACATCTGGATAAACAC AACAGTGAATACTGTTGAGCTGGAGCTACCAAGTACCACTCAATG GCAGAGACTCTGGTGAATCCGGCCGGCCATGGCAAGGCCAA GGACGATGAAGAAAGTTTCTCAGAGGGGTTCTCATTTG GGAAGCAAGGCTCAGAGAAAACAATGTGGACATTGAAAAGGTCAT GATTACAGACGAAGAGGAAATCAGGACAACCAATCCGTGGCTACG GAGCAGTATGGTCTGTATCTACCAACCTCCAGAGAGGCAACAGAC AAGCAGCTACCGCAGATGTCAACACACAAGGGTTCTCAGGCC GGTCTGGCAGGACAGAGATGTGTACCTCAGGGGCCATCTGGCA AAGATTCCACACACGGACGGACATTTCACCCCTCTCCCATGGG TGGATTGGACTTAAACACCCCTCCACAGATTCTCATCAAGAAC CCCCGGTACCTCGCAATCTCGACCACCTCAGTGCAGGAAAGTTT
--	--	---

[0243]

		GCTTCCTTCATCACACAGTACTCCACGGGACAGGTAGCGTGAGATCGAGTGGGAGCTGCAGAAGGAAAACAGCAAACGCTGGAATCCCGAAATTCACTACACTTCAACTACAACAAGTCTGTTAATGTGGACTTTA
55	AAV2 Cap	CTGTGGACACTAATGGCGTGTATTAGAGCCTGCCATTGGCACCAGATACTGACTCGTAATCTGAAATGCGGGTTTACGAGATTGTGATTAAGGTCCCCAGCGACCTTGA

[0244]

		CAGTTGCGCAGCCATCGACGTAGACGCGGAAGCTTCGATCAACTA CGCAGACAGGTACCAAAACAAATGTTCTCGTCACGTGGCATGAAT CTGATGCTGTTCCCTCGAGACAATGCGAGAGAATGAATCAGAATT AAATATCTGCTTCACTCACGGACAGAAAGACTGTTAGAGTGTTTC CCGTGTCAGAATCTAACCCGTTCTGTCGTCAGAAGGGTACAG AAACTGTGTCACATTCAATCATGGAAAGGTGCCAGACGCTTG CACTGCCTGCGATCTGGCAATGTGGATTGGACTGCATCTTG AACAAATAA
56	RRE 및 토끼 베타 글로빈 폴리 A 를 함유하는 DNA 단편	TCTAGAAGGAGCTTGTCCCTGGGTTCTGGGAGCAGCAGGAAGCA CTATGGGCCAGCGTCAATGACGCTGACGGTACAGGCCAGACAATT ATTGTCTGGTATAGTGCAGCAGCAGAACAAATTGCTGAGGGCTATTG AGGCGCAACAGCATCTGGCAACTCACAGTCTGGGCATCAAGCA GCTCCAGGAAGAACATCTGGCTGTGGAAAGATACTAAAGGATCAA CAGCTCCTAGATCTTCCCTCTGCCAAAAATTATGGGACATCAT GAAGCCCCTTGAGCATCTGACTCTGGCTAAATAAGGAAATTATT TCATTGCAATAGTGTGTTGAAATTGGTGTCTCTACTCGAAGG ACATATGGGAGGGCAAATCATTTAAACATCAGAACATGAGTATTGG TTTAGAGTTGGCAACATATGCCATATGCTGGCTGCCATGAACAAAG GTGGCTATAAAGAGGTCACTAGTATATGAAACAGCCCCGTGTCC ATTCCCTTATCCATAGAAAAGCCTGACTTGAGGTTAGATTTTTTA TATTTTGTTTGTGTTATTTTTCTTAACATCCCTAAATTTCCTT ACATGTTTACTAGCCAGATTTCCCTCTCTGACTACTCCAGT CATAGCTGTCCTCTCTTATGAAGATCCCTGACCTGAGGCCA AGCTTGGCGTAATCATGGTCATAGCTGTTCTGTGAAATTGTTA TCCGCTCACAAATTCCACACAACATACGAGCCGAAGCATAAAGTGT AAAGCCTGGGTGCCTAATGAGTGAGCTAACACTACATTAATTGCGTT GCGCTCACTGCCGTTCCAGTCGGAAACCTGTCGTGCCAGCGGA TCCGCATCTCAATTAGTCAGCAACCATACTCCGCCATTCTCCGCC CCATCCGCCCTAACTCCGCCAGTCCGCCATTCTCCGCC GGCTGACTAATTTTTATTTATGCAAGAGGCCAGGCCCTCGGC CTCTGAGCTATTCCAGAAGTAGTGAGGAGGCTTTGGAGGCCTAG GCTTTGCAAAAGCTAACTTGTTATTGCAAGCTTATAATGGTTACA ATAAAAGCAATAGCATCACAAATTCAAAATAAGCATTTC CTGCATTCTAGTTGTGGTTGTCAAACACTCATCAATGTATCTTAC CCGGG
57	전체 5' 및 3' UTR 을 갖는 hPAH	GGCACGAGGTACCTGAGGCCCTAAAAGCCAGAGACCTCACTCCG GGGAGGCCAGCATGTCCACTGCGGTCTGGAAAACCCAGGCTTGGGC AGGAAACTCTCTGACTTGACAGGAAACAAGCTATATTGAAGACA

	<pre> ACTGCAATCAAATGGGCCATATCACTGATCTTCTCACTCAAAGAA GAAGTTGGTGCATTGCCAAAGTATTGCGTTATTGAGGAGAATGA TGAAACCTGACCCACATTGAATCTAGACCTCTCGTTAAAGAAG ATGAGTATGAATTTCACCCATTGGATAACGTAGCCTGCCACTGT CTGACAAACATCATCAAGATCTTGAGGCATGACATTGGTGCCTGCT CCATGAGCTTCACGAGATAAGAAGAAGACACAGTGCCTGGTT CCAAGAACCATCAAGAGCTGGACAGATTGCCAATCAGATTCTCA GCTATGGAGCGGAAGCTGGATGCTGACCACCTGGTTAAAGATCCT GTGTACCGTGCAGAGCGGAAGCAGTTGCTGACATTGCCACACTA CCGCCATGGGCAGCCCACCCCTCGAGTGGAAATACATGGAGGAAGAA AAGAAAACATGGGCACAGTGTCAAGACTCTGAAGTCCTGTATA AAACCCATGCTGCTATGAGTACAATCACATTTCACCTTGTAA AAGTACTGTGGCTCCATGAAGATAACATTCCCCAGCTGGAAAGACGT TTCTCAGTTCCTGCAGACTGCACTGGTTCCGCCCTGGACCTGTAGC TGGCCTGCTTCCTCTCGGGATTCTTGGGTGGCCTGCCCTCCGAGT CTTCCACTGCACACAGTACATCAGACATGGATCCAAGCCCATGTATA CCCCCGAACCTGACATCTGCATGAGCTGGGGACATGTGCCCTG TTTCAGATCGCAGCTTGCCCAGTTTCCCAGGAAATTGGCCTTGCC TCTCTGGGTGCACCTGATGAATACATTGAAAAGCTGCCACAATTAA CTGGTTACTGTGGAGTTGGCTCTGCAAACAAGGAGACTCCATAA AGGCATATGGTGCCTGGCTCTGTACATCCTTGGTAATTACAGTAC TGCTTATCAGAGAAGCCAAGCTCTCCCCCTGGAGCTGGAGAAGA CAGCCATCCAAAATTACACTGTACGGAGTCCAGCCCCGTATTAC GTGGCAGAGAGTTTAATGATGCCAAGGAGAAAGTAAGGAACCTT CTGCCACAATACCTCGGCCCTCTCAGTTGCTACGACCCATACACC CAAAGGATTGAGGTCTGGACAATACCCAGCAGCTTAAGATTGGC TGATTCCATTAACAGTGAATTGGAATCCTTGCAGTGCCTCCAGA AAATAAGTAAAGCCATGGACAGAAATGTGGCTGTAGCTGTGAAT CTGTTGATGGAGATCCAACATTCTTCTCATCAGAAAAAGTCGAAA AGCAAACCTTAATTGAAATAACAGCCTAAATCCTTACAAGATGG AGAAACAACAAATAAGTCAAAATAATCTGAAATGACAGGATATGAG TACATACTCAAGAGCATAATGGAAATCTTGGGGTCATCTTGAT TTAGAGATGATAATCCACTCTCAATTGAGTTAAATCAGTAATCT GTCGCATTCATCAAGATTAATTAAATTGGGACCTGCTTCATTCA AGCTTCATATATGCTTGAGAGAACTCATAAAGGAGCATATAAGG CTAAATGTAAAACCCAAGACTGTCATTAGAATTGAATTATTGGGCTT AATATAAATCGAACCTATGAAGTTATTGACCTAAGTAAATTCTTAAAG GATTCCAATTACTACTTGTATTGACCTAACGTTAAAGTAAATTCTTAAAG </pre>
--	---

[0246]

		TCAGAAGCCCATTAAAATAGTTACAAGCATTGAACCTTCTTAGTATT ATATTAATATAAAAACATTITGTATGTTTATTGTAATCATAAATAC TGCTGTATAAGGTAAATAAAACTCTGCACCTAATCCCCATAACTTCCA GTATCATTCCAATTAAATTATCAAGTCTGTTGGAAACACTTGA GGACATTATGATGCAGCAGATGTTGACTAAAGGTTGGTGGTAGA TATTCAAGGAAATGTTCACTGAATAAATAAGTAAATACATTATTGAAA AGCAAATCTGTATAAATGTGAAATTTTATTGTTAGTAAATAAAA CATTAGTAGTTAAACAAAAAAACAAAAAAACAAAAAAACAAAAAA AACTCGACTCTAGATT
58	전체 5' UTR 및 절두된 3' UTR 을 갖는 hPAH	GGCAGCAGGGTACCTGAGGCCCTAAAAGCCAGAGACCTCACTCCCG GGGAGCCAGCATGTCCACTGCGGTCTGGAAAACCCAGGCTTGGC AGGAAACTCTGACTTGGACAGGAAACAAGCTATATTGAAAGACA ACTGCAATCAAATGGGCCATATCACTGATCTCTCACTCAAAGAA GAAGTTGGTGATTGCCAAAGTATTGCGCTTATTGAGGGAGAATGA TGTAAACCTGACCCACATTGAATCTAGACCTCTCGTTAAAGAAAG ATGAGTATGAATTTCACCCATTGGATAAACGTAGCCTGCCTGCT CTGACAAACATCATCAAGATCTGAGGCATGACATTGGTGCCTACTGT CCATGAGCTTCACGAGATAAGAAGAAAGACACAGTGCCCTGGTTC CCAAGAACCAATTCAAGAGCTGGACAGATTGCCAATCAGATTCTCA GCTATGGAGCGGAACCTGGATGCTGACCACCTGGTTAAAGATCCT GTGTACCGTGCAAGACCGAAGCAGTTGCTGACATTGCCCTACAACTA CCGCCATGGCAGCCCATTCCCTCGAGTGAATACATGGAGGAAGAA AAGAAAACATGGGGCACAGTGTCAAGACTCTGAAGTCCTGTATA AAACCCATGCTTGCTATGAGTACAATCACATTTCACCTCTGAA AAAGTACTGTGGCTTCCATGAAGATAACATTCCCCAGCTGGAAGACGT TTCTCAGTCTGCAGACTTGCACGGTTCCGCCTCCGACCTGTAGC TGGCCTGCTTCCCTCGGGATTCTGGCTGGCCTGGCCTCCGAGT CTTCCACTGCACACAGTACATCAGACATGGATCCAAGCCATGTATA CCCCCGAACCTGACATCTGCCATGAGCTGTTGGACATGTGCCCTTG TTTCAGATCGCAGCTTGCACCTGGCTGAATACATTGAAAAGCTGCCACAATTAA CTGGTTTACTGTGGAGTTGGCTCTGCAAACAAGGAGACTCCATAA AGGCATATGGTGCTGGCTCTGTCATCCTTGGTAATTACAGTAC TGCTTATCAGAGAACGAAAGCTCTCCCCCTGGAGCTGGAGAAGA CAGCCATCCAAAATTACACTGTACGGAGTCCAGCCCCGTATTAC GTGGCAGAGAGTTTAATGATGCCAAGGAGAAAGTAAGGAACCTTG CTGCCACAATACCTGGCCCTCTCAGTCGCTACGACCCACACACC CAAAGGATTGAGGTCTGGACAATACCCAGCAGCTTAAGATTGGC

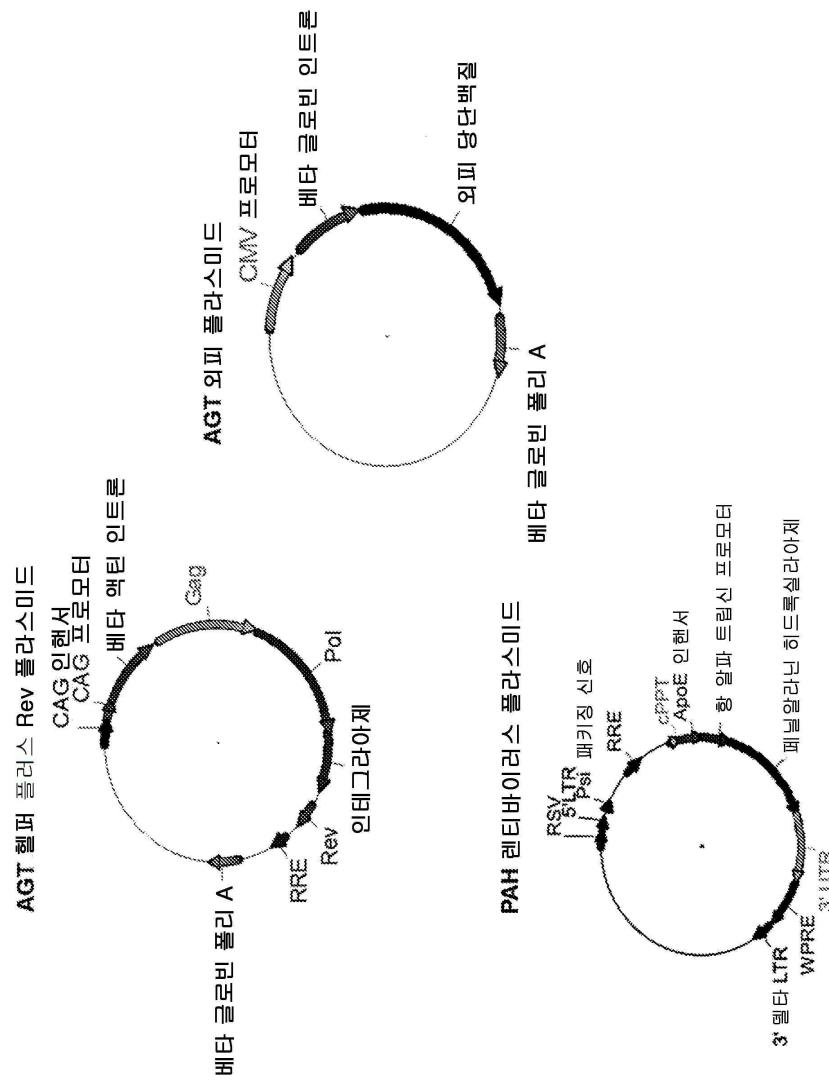
[0247]

		TGATTCCATTAAACAGTGAATTGGAATCCTTGCAGTGCCTCCAGA AAATAAAGTAAAGCCATGGACAGAAATGTGGTCTGTCAGCTGTGAAT CTGTTGATGGAGATCCAACATTCTTCATCAGAAAAGTCCGAAA AGCAAACCTTAATTGAAATAACAGCCTAAATCCTTACAAGATGG AGAAAACAACAAATAAGTCAAATAATCTGAAATGACAGGATATGAG TACATACTCAAGAGCATAATGGTAAATCTTGGGGTCATCTTGAT TTAGAGATGATAATCCCACACTCTCAATTGAGTTAAATCAGTAATCT GTCGCATTTCATCAAGATTA
--	--	--

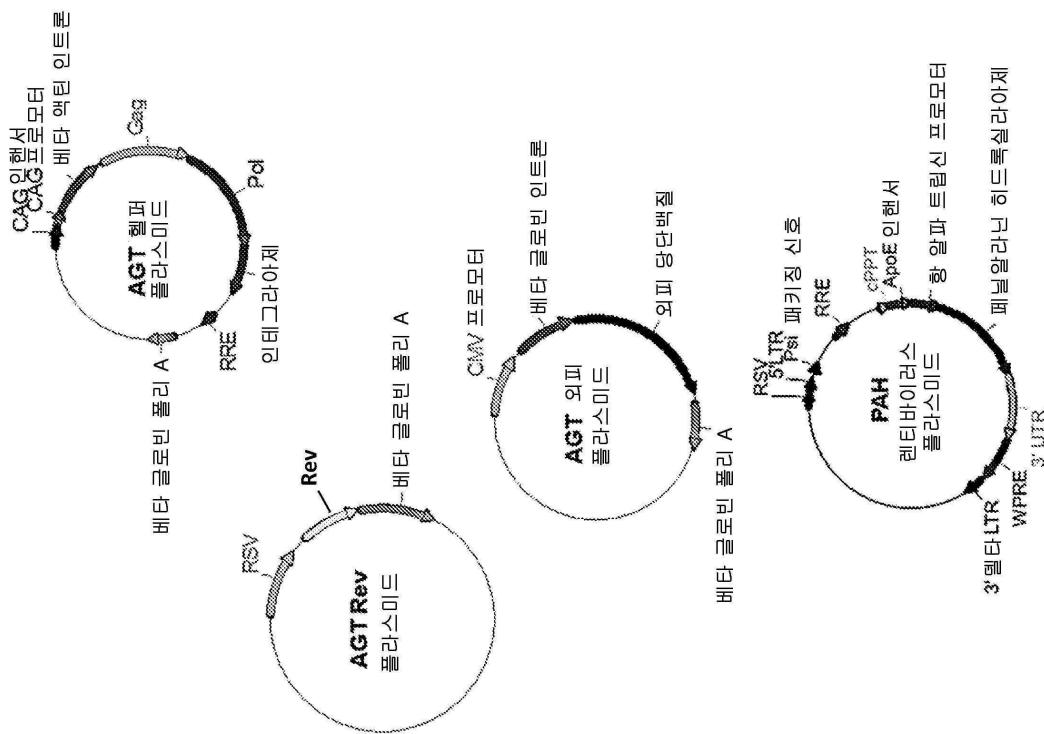
[0248]

도면

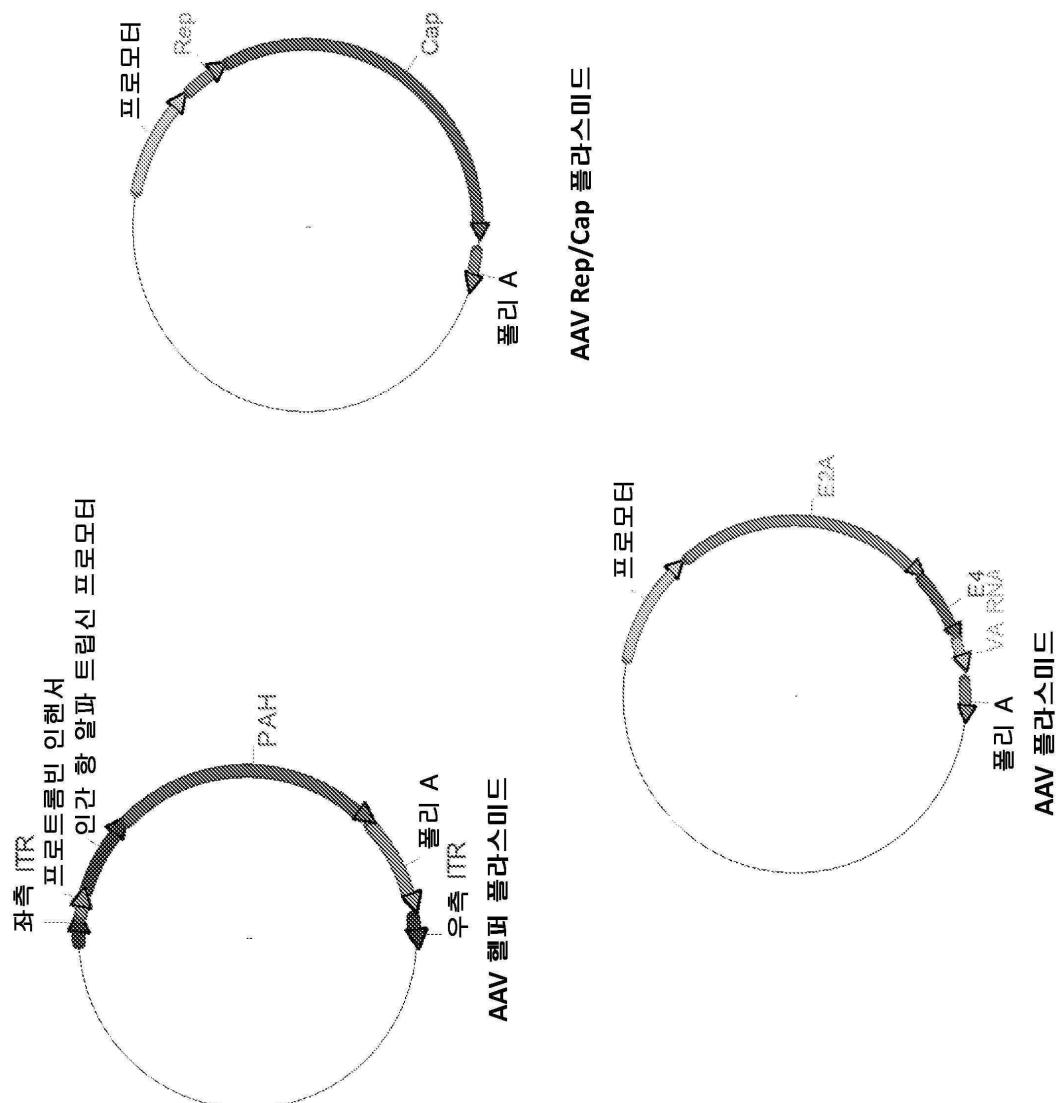
도면 1



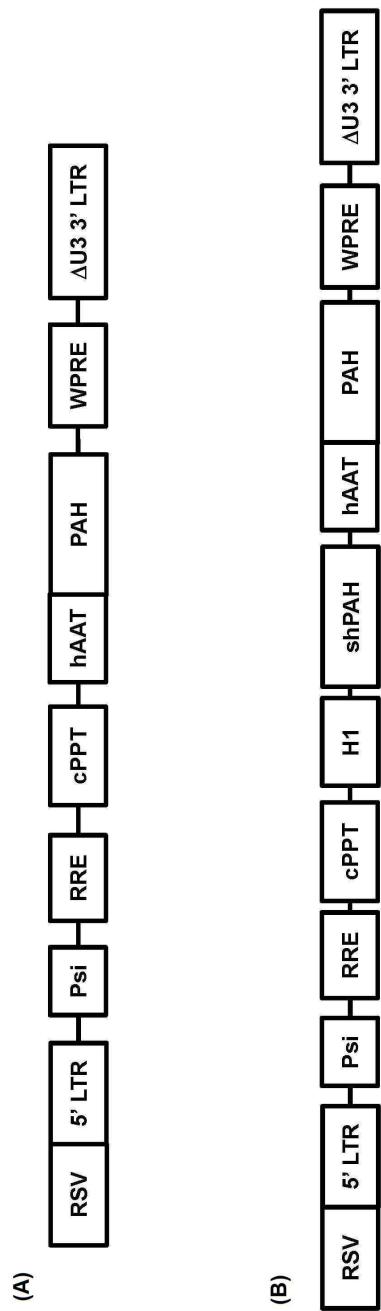
도면2



도면3



도면4



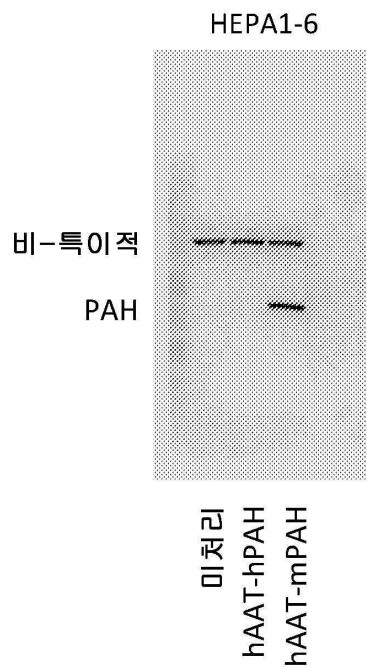
도면5

GGCACGAGGTACCTGAGGCCCTAAAAAGCCAGAGACCTCACTCCGGGGAGCCAGCATGCCCCACTGCGGTCTCTGGAAAACCAGGCTGGG
CAGGAAACCTCTGACCTTGGCAGGAAACAGCTTATTAAGACAACCTGCAATCAAATGGGCCATATCAGTCACTGATCTTCTACCTCAAAAGAA
GAAGTTGGTCACTGGCAAAGTATTGGCTTATTGGAGAATGATGTTAACCTGACCCACATTGAACTGACCTCTCGTTAAAGAAA
GATGAGTGAATTTCACCAATTGGATAAACGTTAGCCTGCTGCTGACAAACATCACTCAAGATCTTGAGGCACTGACATTGGTGCCTG
TCCATGAGCTTCACGAGATAAAGAAGAACAGTGCCCTGGTTCCAAAGAAACATTCAAGAGCTGGACAGATTGCCAATCAGATTCTCA
GCTATGGAGGGAAACTGGATGCAACCCCTGGTACCGTGGCTGAGTGAATCATGGAGAAGAAAAACATGGGCACAGCTGAAAGTCCTGTAT
ACCGCCATGGCAGCCCATCCCTGAGTACATGGAGAAATCATGGAGAAGAAAAACATGGGCACAGCTGAAAGTCCTGTAT
AAAACCCCATGCTTGTCTTCACTTCACTACATTGGTAAAGAATCACTTGTAAAAGTACTGTGGCTTCCATGAAGATAACATTCCCAGCTGGAAAGACGT
TTCTCAGTCCCTGAGACTGGCACTGGTCACTGGTGGCCCTCCGACCTGTAAGTGGCTGGCTGGGGCTGGGGCTTCCGAG
TCTTCCACTGACACAGTACATGAGCATGGATCAAGCCATGTTACCCCGAAACCTGACATCTGCCATGAGCTGTTGGACATGTGCCCTT
GTTTCAGATCGCAGCTTGGCCAGTTTCCAGGAAATTGGCCTTGCCTCTCTGGGTGACCTGATGAATACATTGAAAGCTGCCACAAATT
ACTGGTTACTGTGGATTTGGCTCTGCAAACAAAGGAGACTCCATAAAGGCATATGGCTGGCTCTGTCATCCTTGTGAATTACAGT
ACTGCTTATCAGAGGAGCCAAAGCTTCCCCCTGGAGCTGGAGAAAGACGCCATCAAAATTACACTGTCAGGGAGTTCAAGCCCTGTTA
CGTGGCAAGAGGTTTAATGATGCCAAGGGAGAAGTAAGGAACCTTGGCTGCCAAATACCTGGCCCTCTCAGTTCGCTAGACCCATACAC
CCAAAGGATTGAGGCTTGGACAAATACCCAGAGCTTAAGATTGGCTGATTCCATTAAACAGTGAATTTGGAAATCTGAGTGCCTCCAG
AAAATAAAGTAAAGCAGTGGACAGAAATGGTGTCACTGTGAATCTGTGAGGAGATCCAACTATTCTTCATCAGAAAAAGTCGGA
AAAGCAAACCTTAATTGAAATAACAGCCTTAAATCCTTACAAGATGGAGAAACACAAATAAGTCAAAATAATCTGAATAITGACAGAGATA
TGAGTACATCAAGAGCATAAAGTAAATCTGGGTCATCTTGTGATGATAATCTCAAGCTCATAATGCTTGGAGAACTCATAAAGGACATA
AATCTGTCGCAATTTCATCAAGATTAAATTAAATTGGGACCTGCTTCACTCAAGCTCATAATGCTTGGGCTTAATAATCTGAACCTTATTTAGT
TAAGGCTAAATGTAACCCAAAGACTGTCATTAGAATTGAAATTGCTTAATTGGGCTTAATAATCTGAACCTTATTTTTATTTAGT
TAACTATGATCCAAATACTACTTGTATGACCTTAAGTAAATTCTTAAAGTCAAGAAGCCATTAAATAGTACAAGGCACTTATGAACTCT
TTAGTATTATATAATATAAAACATTCTGTTTGTATGTTTGTATAAGGTAAATAAAACTCTGACCTAATCCCATACTGACCTAATCCC
TAACTTCAGTATCATTCCAAATTAAATTCAAGTCTGTTGGAAACACTTGGGACATTATGATGAGCAGATGTGACTAAAGGT
TGGTTGGTAGATACTCAGGAAATGTTCACTGAATAAAATAAGTAAATACATTATGAAATAATCTGATAAAATCTGAAATCTGACTCTAGATT
ATTAGTAATAAAACATTAGTAGTTAAACAAAAAAACAAAAAAACAAAAAAACAAAAAAACAAAAAAACAAAAAAACAAAAAAAC

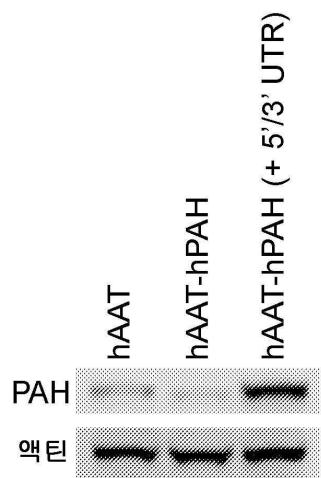
도면6

GGCACGAGGTACCTGGGCCCTAAAAGCCAGAGACCTCACTCCGGGAGCCAGCATGTC
AGCTGGCAGGAACACTCTGACTTGGCAGGAAACAAAGCTATAATGAAAGAACACTGCA
ATCAAATGTTGTCATGACAAACTGCAAAAGGTTGGCTGATTTGCCAAAGATTTGGC
CTTGAATCTGACCTTCGTTAAAGAAAGATGAGTATGAAATTTCACCCATTGGATAA
ACATCAAGATCTGAGGCATGACATTTGGTGCCTACTGTCATGAGCTTCA
CCAAAGAACCAATTCAAGAGCTGGACAGATTGCCAAAGACGGAAAGCAGTTGCT
AAAGATCTGTGTACCGTGCAGAACAGGGAAAGCAGTTGCTGACATTGCTCA
GAATACATGGAGGAAGAAAAGAACATGGGGCACAGTGTCAAGACTCTGA
GTACAATCACATTTCACCTCTTGTAAAAGTACTGTGGCTTCCATGAAGATAAC
ATCCCAGCTGGAAAGACGTTCTCACTTCCAGCTGGAAAGACGTTCTCA
TGCAGACTTGCACACTGTTCCGCTCCGACCTGTAGCTGGCTGCTTCTCGGG
ATTTCTCTGCTTCCAGATCGCACAGTGGCTGGCAGTTGCCAGTTCCAGAA
AAAGCTGCCAACATTACTGGTTTACTGTGGAGTTGGCTTACTGTGGAG
CCTGTCATCCCTTGGTGAATTACAGTACTGCTTATCAGAGAAAGCTTCT
CTCCACTGACGGAGTTCCAGCCCCCTGTATTACGTGGCAGAGAGTT
GCCACAATACCTGGCCCTTCAGTGGCTAGACCCATACCCAAAGGA
TTTGGCTGATTCCATTAAACAGTGAATTGGAAATCCTTGCAGTGC
CTGTGAGCTGTGAATCTGTGAAGGAGATCAACTATTCTTCATCAGAA
ACAGCCTTAAATCCTTACAAGATGGGAAACACAATAATCTGAAATGAG
AGAGCATTAATGGTAATCTTGGGTCACTTGTGATTAGAGATGATA
GTGCAATTCAAGATTA

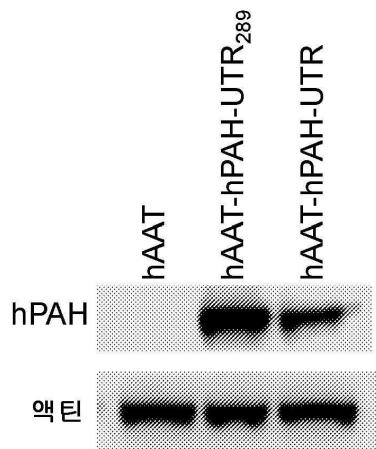
도면7



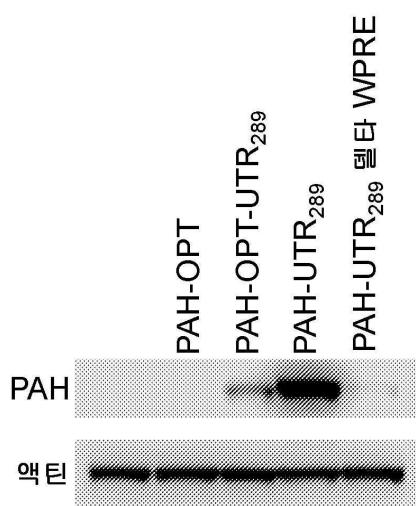
도면8



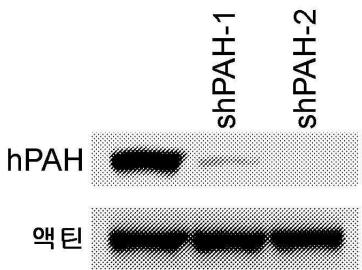
도면9



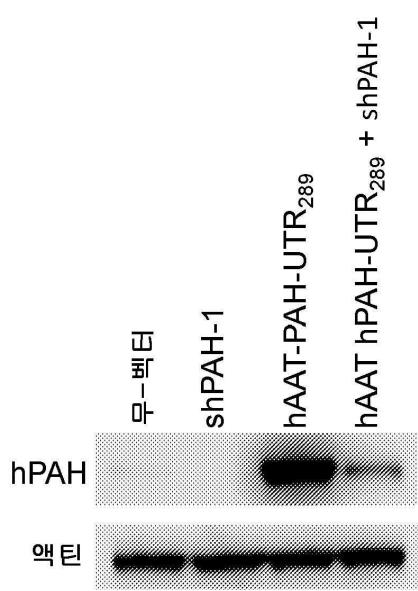
도면10



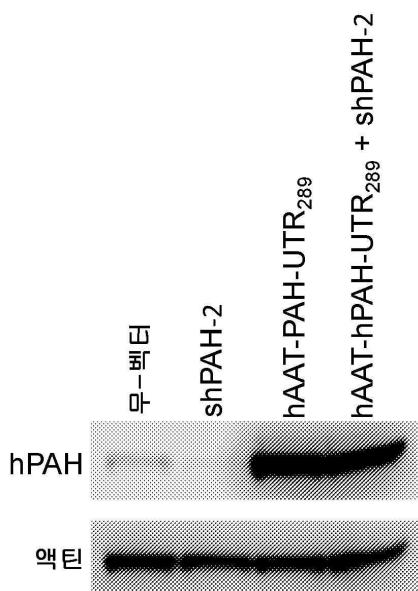
도면11



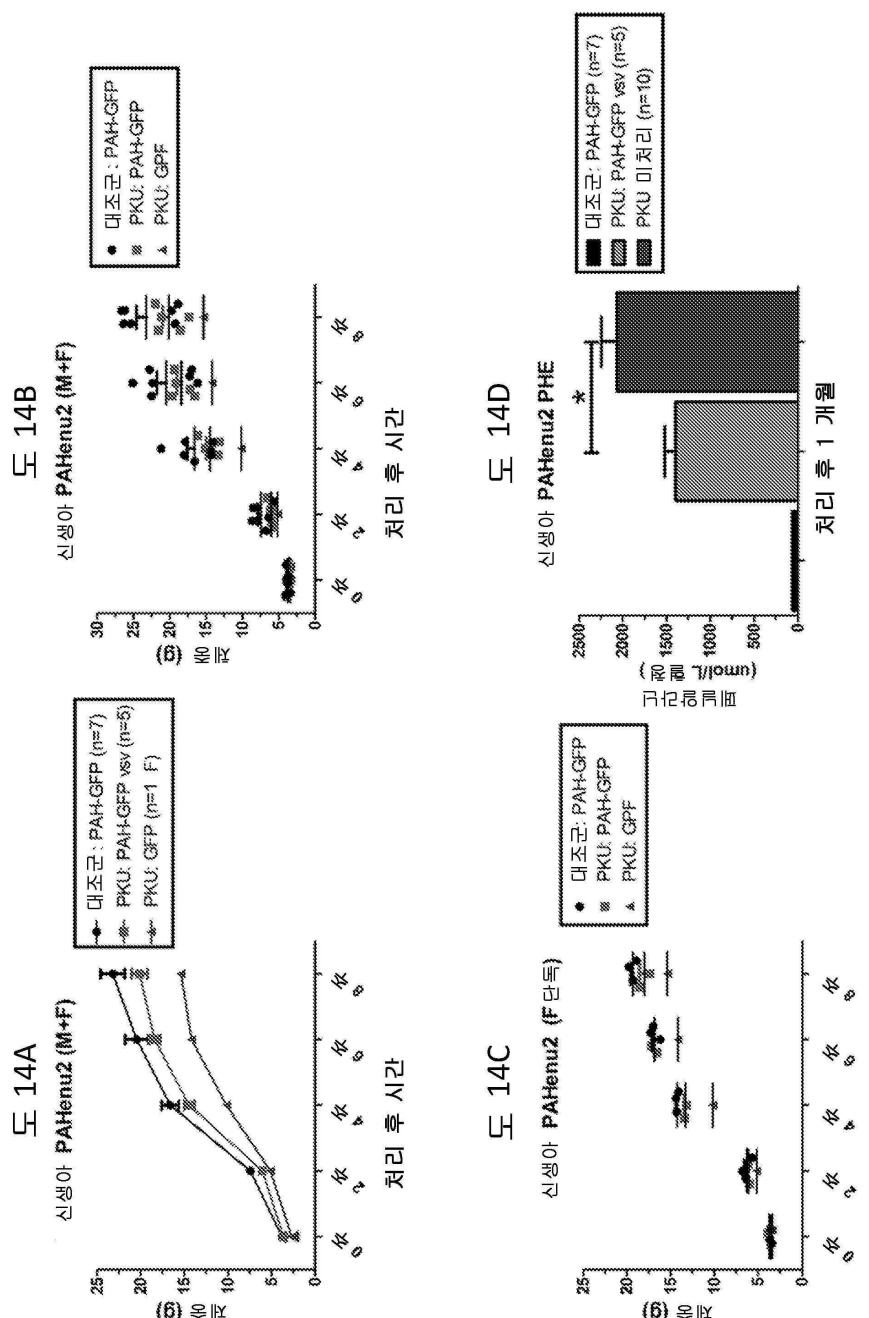
도면12



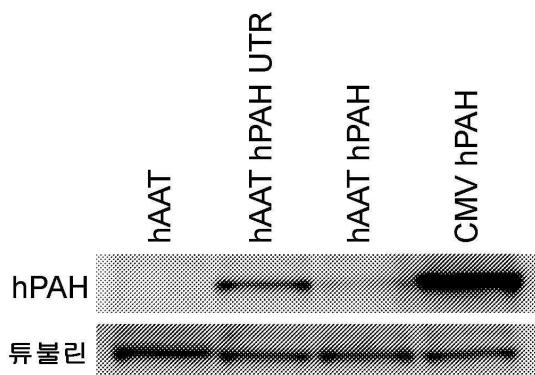
도면13



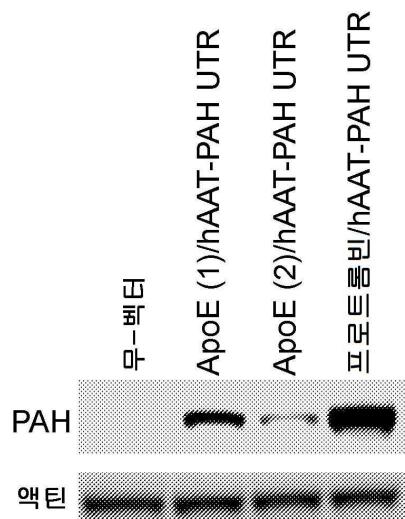
도면 14



도면15



도면16



서 롤 목 록

- <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> Patent In version 3.5
- <210> 1
- <211> 1359

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> PAH

<400> 1

atgtccactg cggtcctgga aaacccaggc ttgggcagga aactctctga ctttggacag 60

gaaacaagct atattgaaga caactgcaat caaaatggtg ccatatcaact gatcttc 120

ctcaaagaag aagttggtgcc attggccaaa gtattgcgt tatttgagga gaatgatgt 180

aacctgaccc acattgaatc tagacacctt cgtttaaaga aagatgagta tgaattttc 240

accatggataaacgtagcctgcgtcttgacaaaca tcatcaagat cttgaggcat 300

gacatggtg ccactgtcca tgagcttca cgagataaga agaaagacac agtgcctgg 360

ttcccaagaa ccattcaaga gctggacacaga ttgcacaatc agattctcag ctatggagcg 420

gaactggatg ctgaccaccc tggttttaaa gatcctgtgt accgtgcaag acggaagcag 480

tttgctgaca ttgcctacaa ctaccgccc gggcagccca tccctcgagt ggaatacatg 540

gaggaagaaa agaaaaacatg gggcacagtg ttcaagactc tgaagtctt gtataaaacc 600

catgttgct atgagtacaa tcacatttt ccacttcttg aaaagtactg tggttccat 660

gaagataaca ttccccagct ggaagacgtt tctcaattcc tgcagacttg cactggtttc 720

cgccctccgac ctgtggctgg cctgcttcc tctcgggatt tcttgggtgg cctggccttc 780

cgaggcttcc actgcacaca gtacatcaga cattggatcca agccccatgtt tcccccccgaa 840

ccggacatc gggatggatc gttggggatc gttggggatc ttccatggatc cttggatggatc 900

cagtttccc aggaaattgg ctttgctct ctgggtgcac ctgatgaata cattgaaaag 960

ctcgccacaa ttactgggt tactggggag ttggggcct gcaaacaagg agactccata 1020

dagccaaadage tttccccccggagatggag dagatagcca tccaaatata cactggatcg 1140

REGGAE

<220><223> Codon optimized PAH

<400> 2

atgagcacag ctgtgttggaaatcctgg ctggccgta agcttccga tttcgccag	60
gagacitcat acattgagga caactgcaac cagaatgggg ccatttctt gatcticagt	120
ctcaaagaag aggtaggcgc tctggctaag gtcctgaggc tgttttaggaa aatgacgtg	180
aatctgacac acattgagtc taggcctcc cgacttaaga aggatgagta tgagttttc	240

acacacctgg acaaacgatc tctccagca ctgaccaata tcatcaagat tctcaggcat	300
gatatcggtg ccacggtcca cgaacttca cgcgataaga agaaagacac agttccctgg	360
ttcccgagaa ccattcagga actggatagg ttgcacatc agattcttagt ctatggggca	420
gagttggatg ccgaccatcc aggcttcaaa gacccgtat atcgggctcg gagaaagcag	480
tttgcagaca tcgttacaa ttacaggeat ggacagccca tccctagagt ggagtacatg	540
gaagaaggca agaaaacctg gggAACGGTG tttaagaccc tcaaaagcct gtataagacc	600
cacgcgtgtt atgatcacaa ccacatttc ccattgtgg agaagtactg tggcttcac	660

gaggacaaca tccctcaact ggaggatgtt tcacagttcc ttcatcacttgc cactggttc	720
cgccctcgac ctgtggctgg gctgcatttc tcacggact tcctgggagg cctggccttc	780
agagtcttc actgcactca gtacattcgg catggctcta agccaatgtt caccctgaa	840
ccggatataat gccacgagct gttggacat gtgcctgtt ttctgtatcg cagcttgcc	900
cagtttccc aggagattgg cctggcaagt ctgggtgcgc ctgtatggat catcgagaag	960
ctcgcgacaa tctactgggtt caccgtggaa ttggactct gcaaacaagg ggactctatc	1020
aaaggctacg gaggcactt cctctccagc ttgggtgaac tgcatgttttgc tctgtccgag	1080

aaacccaaac tttggccctt ggaactggaa aagactgcca tccaaaacta tactgtcact	1140
gaatttcagc cactgttata tgggtggaa tccttaacg atgccaaggaa gaagggtccgt	1200
aattttctgttccacaaatacc acgcccccttc agcgtgagat acgaccgtt tacacaacgg	1260
atagggttccatgttccacaaatacc acgcccccttc agcgtgagat acgaccgtt tacacaacgg	1320
atagggttccatgttccacaaatacc acgcccccttc agcgtgagat acgaccgtt tacacaacgg	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 caactattc	60
tttcatcaga aaaagtccga aaagcaaacc ttaattgaa ataacagcct taaatcctt	120
acaagatgga gaaacaacaa ataagtcaaa ataatctgaa atgacaggat atgagtgat	180
actcaagagc ataatggtaa atcttttggg gtcacatcttg atttagagat gataatccca	240
tactctcaat tgagttaat cagtaatctg tcgcattca tcaagattaa taaaatttg	300
ggacctgctt cattcaagct tcataatatgc tttgcagaga actcataaag gagcatataa	360
ggctaaatgt aaaacccaag actgtcatta gaattgaatt attggctta atataaatcg	420
taacctatga agtttatttt ttattttagt taactatgtat tccaattact actttgttat	480
tgtacctaag taaaatttct ttaagtccaga agccattaa aatagtaca agcatigaac	540
ttcttttagta ttatattaat ataaaaacat ttttgtatgt tttattgtaa tcataaatac	600
tgctgtataa ggtataaaaaa ctctgcacat aatccccata acttccagta tcatttcca	660
attaattatc aagtctgttt tggaaacac tttgaggaca tttatgtgc agcagatgtt	720
gactaaaggc ttgggtggta gatattcagg aaatgttac tgaataata agtaaataca	780
ttattgaaaa gcaaatctgt ataaatgtga aattttatt tgtatttagta ataaaacatt	840
agttagttaa aaaaaaaaaaaaaaaa aaaaaaaaaaaa aaaaaaaaaaa 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 caactattc	60
tttcatcaga aaaagtccga aaagcaaacc ttaattgaa ataacagcct taaatcctt	120
acaagatgga gaaacaacaa ataagtcaaa ataatctgaa atgacaggat atgagtgat	180
actcaagagc ataatggtaa atcttttggg gtcacatcttg atttagagat gataatccca	240
tactctcaat tgagttaat cagtaatctg tcgcattca tcaagattaa	289
<210> 5	
<211> 53	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> PAH shRNA sequence #1	
<400> 5	

tcgcattca 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 ttagtcttg caacatggta acgatgagtt agcaacatgc	60
cttacaagga gagaaaaagc accgtgcattg ccgattgggt gaagtaaggt ggtacgatcg	120
tgccttatta ggaaggcaac agacgggtct gacatggatt ggacgaacca ctgaattgcc	180
gcattgcaga gatattgtat ttaagtgcct agctcgatac aataaacg	228
<210> 8	
<211> 180	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> 5' Long terminal repeat (LTR)	
<400> 8	
ggtcctcttg gttagaccag atctgagccct gggagctctc tggctaacta ggaaaccac	60
tgcttaagcc tcaataaagc ttgcctttagt tgcttcaagt agtgtgtgcc cgtctgttgt	120
gtgactctgg taactagaga tccctcagac ccttttagtc agtgtggaaa atctctagca	180
	180
<210> 9	
<211> 41	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Psi Packaging signal	

<400>	9	
taccccaaaa atttgacta gcggaggcta gaaggagaga g		41
<210>	10	
<211>	233	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223> Rev response element (RRE)		
<400>	10	
aggagcttg ttccttgggt tcttgggagc agcaggaagc actatggcgc cagcctaat		60
gacgctgacg gtacaggcca gacaattatt gtctggata gtgcagcagc agaacaattt		120
gctgagggct attgaggcgc aacagcatct gttcaactc acagtcgtgg gcatcaagca		180
gctccaggca agaattctgg ctgtggaaag atacctaag gatcaacagc tcc		233
<210>	11	
<211>	118	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223> Central polypurine tract (cPPT)		
<400>	11	
ttttaaaaga aaagggggta ttgggggtta cagtgcaggg gaaagaatag tagacataat		60
agcaacagac atacaacta aagaattaca aaaacaattt acaaaattca aaattttt		118
<210>	12	
<211>	397	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223> Human alpha-1 antitrypsin promoter (hAAT)		
<400>	12	
gatcttgcta ccagtggaaac agccactaag gattctgcag tgagagcaga gggccagcta		60
agtggtaactc tcccagagac tgtctgactc acgccacccc ctccacccctt gacacaggac		120
gctgtggttt ctgagccagg tacaatgact ctttcggta agtgcagtgg aagctgtaca		180
ctgcccaggc aaagcgcccg ggcagcgtag gcgggcgact cagatcccag ccagtggact		240
tagccccgttgc ttgtccctcc gataactggg gtgaccccttgg ttaatattca ccagcagcct		300
ccccccgttgc ccctctggat ccactgctta aatacgacg aggacaggc cctgtctcct		360

cagcttcagg caccaccact gacctggac 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
ctttacgct atggatac gctgcttaa tgcctttaa tcatgttatt gcttccgta	120
tggcttcat ttctccctcc ttgtataaat cctgggtgct gtcttttat gaggagttgt	180
ggccggtgt caggcaacgt ggcgtgggt gcactgtgt tgctgacgca acccccactg	240
gttggggcat tgccaccacc tgcagctcc ttccggac ttgccttc cccctcccta	300
ttgccacggc ggaactcatc gcccctgcc ttgcccgtg ctggacaggg gctggctgt	360
tggcactga caattccgtg gtgtgtcg ggaaatcatc gtcccttc tggctgctcg	420
cctgtgttgc cacctggatt ctgcgcggga cgtccttctg ctacgtccct tcggccctca	480
atccagcggaa cttcccttcc cggccctgc tgccggctct gccgccttcc cggcgtttc	540
gccttcgccc tcagacgagt cggatctccc ttggccgcctc ctcccccgcct	590
<210> 14	
<211> 250	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> 3' delta LTR	
<400> 14	
tggaaggcgt aattcactcc caacgaagat aagatctgt tttgttgcgt actgggtctc	60
tctgggtttaga ccagatctga gcctgggagc tctctggctta actaggaaac ccactgttta	120
agcctcaata aagttgcct tgagtgttcc aagtagtgtg tgcccgcttg 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

gaacgctgac gtcataacc cgctccaagg aatcgccggc ccagtgtcac taggcggaa 60
 caccaggcgc gcgtgcgccc tggcaggaag atggctgtga gggacagggg agtggcggcc 120
 tgcaatattt gcatgtcgct atgtgttctg ggaaatcacc ataaacgtga aatgtcttg 180

gatttggaa tcttataagt tctgtatgag accactt 217

<210> 16

<211> 642

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> CAG promoter

<400> 16

tagttattaa tagtaatcaa ttacgggtc attagttcat agccatata tggagttcg 60
 cgttacataa cttaacgtaa atggccgc tggctgaccg cccaacgacc cccggccatt 120
 gacgtcaata atgacgtatg ttcccatagt aacgccaata gggacttcc attgacgtca 180
 atgggtggac tatttacggt aaactgccc cttggcagta catcaagtgt atcatatgcc 240

aagtagcccc cctattgacg tcaatgacgg taaatggccc gcctggcatt atgcccagta 300
 catgaccta tgggacttcc ctacttggca gtacatctac gtattagtca tcgttattac 360
 catgggtcga ggtgagcccc acgttctgt tcactctccc catctcccc ccctccccac 420
 ccccaatttt gtattttttt attttttaat tattttgtgc agcgatgggg ggggggggggg 480
 ggggggcccc cggccaggcgg ggcggggcgg ggcgaggggc ggggccccg gaggcggaga 540
 ggtgcggcgg cagccaatca gagcggcgcg ctccgaaagt ttcctttat ggcgaggcgg 600
 cggccggcggc gggccataaa aaagcgaagc ggcggcggg cg 642

<210> 17

<211> 1503

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> HIV Gag

<400> 17

atgggtgcga gagcgtcagt attaagcggg ggagaattag atcgatggaa aaaaattcgg 60
 ttaaggccag gggaaagaa aaaatataaa ttaaaacata tagatggc aagcagggag 120
 cttagaacat tcgcagttaa tcctggcctg ttagaaacat cagaaggctg tagacaata 180

ctggacacgc tacaaccatc cttcagaca ggatcagaag aacttagatc attatataat	240
acagtagcaa ccctctattg tgtgcataa aggatagaga taaaagacac caaggaaatc	300
ttagacaaga tagaggaaga gcaaaacaaa agtaagaaaa aagcacagca agcagcagct	360
gacacaggac acagcaatca ggtcagccaa aattacccta tagtgcagaa catccaggg	420
caaattgtac atcaggccat atcacctaga actttaatg catggtaaa agtagtagaa	480
gagaaggctt tcagcccaga agtgataccc atgtttcag cattatcaga aggagccacc	540
ccacaagatt taaacaccat gctaaacaca gtgggggac atcaagcagc catgcaaatg	600
ttaaaagaga ccatcaatga ggaagctgca gaatggata gagtgcattc agtgcattc	660
gggccttattg caccaggca gatgagagaa ccaagggaa gtgacatgc aggaactact	720
agtacccttc aggaacaaat aggatggatg acacataatc cacatatccc agtaggagaa	780
atctataaaa gatggataat cctgggatta aataaaatag taagaatgtt tagccctacc	840
agcattctgg acataagaca aggaccaaag gaaccctta gagactatgt agaccgattc	900
tataaaactc taagagccga gcaagcttca caagaggtaa aaaattggat gacagaaacc	960
ttgttggtcc aaaatgcgaa cccagattt aagactattt taaaagcatt gggaccagga	1020
gcgcacactag aagaatgtt gacagcatgt cagggagttt ggggacccgg ccataaagca	1080
agagtttgg ctgaagcaat gagccaaatc acaaattccag ctaccataat gatacagaaa	1140
ggcaatttttta ggaaccaaag aaagactgtt aagtgtttca attgtggcaa agaagggcac	1200
atagccaaaa attgcaggc ccctaggaaa aaggctgtt ggaaatgtgg aaaggaagga	1260
caccaaatga aagattgtac tgagagacag gctaatttt taggaaatgt ctggccttcc	1320
cacaaggaa gcccaggaa ttttcttcag agcagaccag agccaacacg cccaccagaa	1380
gagagcttca gtttgggaa agagacaaca actcccttc agaagcagga gccgatagac	1440
aaggaactgt atcccttagc ttccctcaga tcacttttg gcagcgaccc ctcgtcacaat	1500
taa	1503
<210> 18	
<211> 1872	
<212> DNA	

<213> Artificial Sequence

<220><223> HIV Pol

<400> 18

atgaatttgc caggaagatg gaaaccaaaa atgataggg gaattggagg ttttatcaaa	60
gttagcacatg atgatcagat actcatagaa atctgcggac ataaagctat aggtacagta	120

tttagggac ctacacctgt caacataatt ggaagaaatc tggactca gattggctgc 180
actttaaatt ttcccattag tcctatttag actgtaccag taaaattaaa gccaggaatg 240
gatggcccaa aagttaaaca atggcattg acagaagaaa aaataaaagc attagtagaa 300
attgtacag aaatggaaaa ggaagggaaa attcaaaaa ttgggcctga aaatccatac 360

aatactccag tatttgcatt aaagaaaaaa gacagtacta aatggagaaa attagtagat 420
ttcagagaac ttaataagag aactcaagat ttctggaaag tcaatttagg aataccacat 480
cctgcagggt taaaacagaa aaaatcgta acagttactgg atgtggcga tgcataat 540
tcagttccct tagataaaga ctccaggaag tatactgcat ttaccatacc tagtataaac 600
aatgagacac cagggattag atatcgatc aatgtgctc cacagggatg gaaaggatca 660
ccagcaataat tccagtgtag catgacaaaa atcttaggc cttttagaaa acaaataatc 720
gacatagtca tctatcaata catggatgat ttgtatgttag gatctgactt agaaataggg 780

cagcatagaa caaaaataga ggaactgaga caacatctgt tgagggtggg atttaccaca 840
ccagacaaaa aacatcgaa agaacctcca ttcccttggg tgggtatga actccatcct 900
gataaatgga cagtacagcc tatagtgcgt ccagaaaagg acagctggac tgtcaatgac 960
atacagaaaaat tagtggaaaa attgaattgg gcaagtcaga tttatgcagg gattaaagta 1020
aggcaattat gtaaacttct taggggaacc aaagcactaa cagaagtagt accactaaca 1080
gaagaagcag agctagaact ggcagaaaaac agggagattc taaaagaacc ggtcatgga 1140
gtgtattatg acccatcaaa agacttaata gcagaaatac agaagcaggg gcaaggccaa 1200

tggacatatc aaatttatca agagccattt aaaaatctga aaacagggaaa atatgcaaga 1260
atgaagggtg ccccacactaa tggatgtgaaa caattaaacag aggcgttaca aaaaatagcc 1320
acagaaagca tagtaatatg gggaaagact cctaaattta aattaccat acaaaaggaa 1380
acatgggaag catggtgac agagtattgg caagccacct ggattcctga gtgggagttt 1440
gtcaataccct ctccttagt gaagttatgg taccagttag agaaagaacc cataatagga 1500
gcagaaaactt tctatgtaga tggggcagcc aataggaaaa ctaaatttagg aaaagcaggg 1560
tatgttaactg acagagggaaag acaaaaatgtt gtccccctaa cggacacaac aaatcagaag 1620

actgagttac aagcaattca tctagcttgc caggattcgg gatttagaagt aaacatagt 1680
acagactcac aatatgcatt gggatcattt caagcacaac cagataagag tgaatcagag 1740
tttagtcgtc aaataataga gcagttataa aaaaaggaaaa aagtctaccc ggcattggta 1800
ccagcacaca aaggaattgg aggaaatgaa caagtagatg ggtaggtcag tgctgaaatc 1860
aggaaagtgac ta 1872

<211>	867	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	HIV Int	
<400>	19	
tttttagatg gaatagataa ggcccaagaa gaacatgaga aatatcacag taattggaga		60
gcaatggcta gtgatttaa cctaccacct gtagtagcaa aagaatagt agccagctgt		120
gataaatgtc agctaaaagg ggaagccatg catggacaag tagactgtag cccaggaata		180
tggcagctag atgtacaca tttagaagga aaagtatct tggtagcagt tcatgttagcc		240
agtggatata tagaagcaga agtaattcca gcagagacag ggcaagaaac agcatactc		300
ctcttaaaat tagcaggaag atggccagta aaaacagtac atacagacaa tggcagcaat		360
ttcaccagta ctacagttaa ggccgcctgt tggtagggcgg gcatcaagca ggaatttggc		420
attccctaca atccccaaag tcaaggagta atagaatcta tgaataaaga attaaagaaa		480
attataggac aggttaagaga tcaggctgaa catcttaaga cagcagtaca aatggcagta		540
ttcatccaca attttaaaag aaaagggggg attgggggtt acagtgcagg gaaagaata		600
gtagacataa tagcaacaga catacaaact aaagaattac aaaacaaat tacaattttt		660
caaaattttc ggttttatta cagggacagc agagatccag tttggaaagg accagcaaag		720
ctcccttgaa aaggtgaagg ggcagtagta atacaagata atagtgcacat aaaagttagt		780
ccaagaagaa aagcaaagat catcagggat tatggaaaac agatggcagg tggatgttgc		840
gtggcaagta gacaggatga ggtaaa		867
<210>	20	
<211>	234	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	HIV RRE	
<400>	20	
aggagcttg ttcttggt tcttggagc agcaggaagc actatggcg cagcgtcaat		60
gacgctgacg gtacaggcca gacaattatt gtctggata gtgcagcagc agaacaattt		120
gctgaggcgt attgaggcgc aacagcatct gttcaactc acagtctgg gcatcaagca		180
gctccaggca agaatcctgg ctgtggaaag atacctaag gatcaacagc tcct		234
<210>	21	
<211>	351	

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223>

> HIV Rev

<400> 21

atggcaggaa gaagcggaga cagcgacgaa gaactcctca aggca	60
tttctctatc aaagcaaccc acctccaaat cccgagggga cccgacaggc	120
agaagaagaa ggtggagaga gagacagaga cagatccatt cgattagtga	180
agcacttatac tggacgatc tgcggagcct gtgcctctc agtaccacc	240
cttacitgg atitgaacga ggattgtgga actitggaa cgca	300
caaataattgg tggaaatctcc tacaatattg gagtcaggag ctaaagaata g	351

<210> 22

<211> 577

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> CMV Promoter

<400> 22

acattgatta ttgacttagtt attaatagta atcaattacg gggcatttag ttc	60
atatatggag ttccgcgtta cataacttac ggttaatggc cgcctggct gaccgccc	120
cgaccccccgc ccattgacgt caataatgac gtatgtccc atagtaacgc caataggac	180
tttccattga cgtcaatggg tggagtattt acggtaaact gcccacttgg cagtacatca	240
agtgtatcat atgccaagta cggccctat tgacgtcaat gacggtaaat ggcccgc	300
gcattatgcc cagtacatga ctttatgggaa ctttcctact tggcagtaca tctacgtatt	360

agtcatcgct attaccatgg tggatgcgtt ttggcagtaatcaatggc gtggatagcg	420
gtttgactca cggggatttc caagtctcca cccattgac gtcaatggaa gtttgg	480
gcaccaaaat caacggact ttccaaatg tcgtacaac tccggccat tgacgcaat	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 agtgccttt gtacttagcc ttttattca ttgggtgaa ttgcaagttc	60
accatagttt ttccacacaa ccaaaaagga aactggaaaa atgttccttc taattaccat	120
tattggccgt caagctcaga tttaaattgg cataatgact taataggcac agccttacaa	180
gtcaaaatgc ccaagagtca caaggctatt caagcagacg gttggatgtg tcatgctcc	240
aatgggtca ctacttgta tttccgctgg tatggaccga agtatataac acattccatc	300
cgatccttca ctccatctgt agaacaatgc aaggaaagca ttgaacaaac gaaacaagga	360
acttggctga atccaggctt ccctcctcaa agttgtggat atgcaactgt gacggatgcc	420
gaaggcagtga ttgtccaggt gactcctcac catgtgctgg ttgatgaata cacaggagaa	480
tggttgatt cacagttcat caacggaaaa tgcagcaatt acatatgccc cactgtccat	540
aactctacaa cctggcattc tgactataag gtcaaaggc tatgtgattc taacccatt	600
tccatggaca tcacccctt ctcagaggac ggagagctat catccctggg aaaggaggc	660
acagggttca gaagtaacta ctttgcttat gaaactggag gcaaggcctg caaaatgca	720
tactgcaagc atggggagt cagactccca tcaggtgtct gttcgagat ggctgataag	780
gatctcttg ctgcagccag attccctgaa tgcccaagaag ggtcaagttt ctctgctcca	840
tctcagacct cagtggatgt aagtctaatt caggacgtt agaggatctt ggattattcc	900
ctctgccaag aaacctggag caaaatcaga gcgggtcttc caatctctcc agtggatctc	960
agctatcttgc tcctaaaaa cccaggaacc ggtccctgtt tcaccataat caatggtaacc	1020
ctaaaatact ttgagaccag atacatcaga gtcgatattt ctgctccat cctctcaaga	1080
atggtcggaa tgatcagtgg aactaccaca gaaaggaaac tgtggatga ctggcacca	1140
tatgaagacg tgaaatttg acccaatgga gttctgagga ccagttcagg atataagttt	1200
ccttataca tgattggaca tggatgttg gactccgatc ttcatcttag ctcaaaggct	1260
caggtgttcg aacatcctca cattcaagac gctgcttcgc aacttcctga tggatgagat	1320
ttatttttgt gtgatactgg gctatccaaa aatccaatcg agttgtaga aggttggttc	1380
agtagttgga aaagctctat tgccttttt ttctttatca tagggtaat cattggacta	1440
ttcttggttc tccgagttgg tatccatctt tgcattaaat taaagcacac caagaaaaga	1500
cagattata cagacataga gatgagaatt c	1531
<210> 24	
<211> 352	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> CAG enhancer	

<400> 24

tagttataa tagtaatcaa ttacgggtc attagttcat agccatata tggagttcg 60

cgttacataa ctacggtaa atggccgcg tggctgaccg cccaacgacc cccgcccatt
 gacgtcaata atgacgtatg ttcccatagt aacgccaata gggacttcc attgacgtca
 atgggtggac tatttacggt aaactgccc cttggcagta catcaagtgt atcatatgcc
 aagtacccc cctattgacg tcaatgacgg taaatggccc gcctggcatt atgcccagta
 catgaccta tggacttgc ctacttggca gtacatctac gtattagtca tc 352

<210> 25

<211> 960

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Chicken beta actin intron

<

400> 25

ggagtgcgtc cgttgccttc gccccgtgcc cccgctccgcg ccgcctcgcg ccgccccccc
 cggctctgac tgaccgcgtt actcccacag gtgagcgggc gggacggccc ttctcctccg
 ggctgttaatt agcgcttggt ttaatgacgg ctcgttttt ttctgtggct gcgtgaaagc
 cttaaaggc tccggggaggg cccttgcg gggggggagc ggctcgggggg gtgcgtgcgt
 gtgtgtgtgc gtggggagcg ccgcgtgcgg cccgcgtcgc ccggcgctg tgagcgtgc
 gggcgccgccc cggggctttg tgcgtccgc gtgtgcgcga gggagcgcg gccggggcg
 gtgcgtgcgtc gtgcgggggg gtcgtcgaggg gaacaaaggc tgcgtgcggg gtgtgtgcgt 420

gggggggtga gcagggggtg tggcgccggc ggtcgggctg taacccccc ctgcaccccc
 ctcccccagt tgctgagcac gccccggctt cgggtgcggg gctccgtcg gggcgtggcg
 cgggctcgc cgtgcgggc ggggggtggc ggcaggtggg ggtgcggggc gggcgccggc
 cgcctcgcc cggggaggcc tcggggagg ggcgcggcgg cccggagcg ccggcgctg
 tcgaggcgcg gcgagccgca gccattgcct ttatggtaa tcgtgcgaga gggcgcaggg
 acttccttg tcccaatct ggcggagccg aaatctggga ggcgcggccg caccctct
 agcggcgccg ggcgaagcgg tgcggcgccg gcaggaagga aatggcgccg gaggccctc 840

gtgcgtcgcc ggcgcggcgt ccccttcctcc atctccagcc tcgggctgc cgcaagggg
 cggctgcctt cgggggggac gggcaggcc ggggttcggc ttctggcgtg tgaccggcg
 900
 960
 960

<210> 26

<211> 448

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Rabbit beta globin poly A

<400> 26

agatctttt ccctctgcca aaaattatgg ggacatcatg aagcccttg agcatctgac	60
ttctggctaa taaaggaaat ttatttcat tgcaatagtg tggttggatt ttttgtgtct	120

ctcactcgga aggacatatg ggagggcaaa tcatttaaaa catcagaatg agtatttgg	180
tttagagtttgc aacacatatg ccatatgtg gctgcatga acaaagggtgg ctataaagag	240
gtcatcagta tatgaaacag cccctgctg tccattcattt attccataga aaaggcttga	300
ctttaggtta gatttttt atatttgtt ttgtgttatt ttttttttta acatccctaa	360
aattttcattt acatgttttta ctagccagat ttttcctctt ctcctgacta ctcccagtc	420
tagctgtccc ttttttttta tgaagatc	448

<210> 27

<211> 573

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Beta globin intron

<400> 27

gtgagtttgg ggacccttga ttgttcttgc tttttcgcta ttgtaaaatt catgttat	60
ggagggggca aagtttcag ggtgttgc ttgttgc ttgttgc ttgttgc ttgttgc	120
ggaccctcat gataatttttgc ttcttttgc ttcttttgc ttcttttgc ttcttttgc	180
cttatttttgc ttcttttgc ttcttttgc ttcttttgc ttcttttgc ttcttttgc	240
attttaaat tcacttttgc ttatttttgc gattgttgc ttgttgc ttgttgc ttgttgc	300
tttcaaggca atcaggat attatatttgc acttcagcac agttttagag aacaattgtt	360

ataattaaat gataaggtag aatatttctg catataaattt ctggctggcg tgaaatattt	420
cttattggta gaaaacaacta caccctggtc atcatcctgc ctttctctt atgggttacaa	480
tgtatatacac tggggat gaggataaaa tactctgagt ccaaaccggg cccctctgct	540
aaccatgttc atgccttctt ctctttctt cttttttttt cttttttttt cttttttttt	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 aggccggccgc acgaat	36
--	----

<210> 30

<211> 2745

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Gag, Pol, Integrase fragment

<400> 30

gaattcatga atttgcagg aagatggaaa ccaaaaatga taggggaaat tggaggttt	60
---	----

atcaaagtaa gacagtatga ttagatactc atagaaatct gcggacataa agctataggt	120
---	-----

acagtattag taggacctac acctgtcaac ataattggaa gaaatctgtt gactcagatt	180
---	-----

ggctgcactt taaattttcc cattagtctt attgagactg taccagtaaa attaaagcca	240
---	-----

ggaatggatg gccaaaagt taaacaatgg ccattgacag aagaaaaat aaaagcatta	300
---	-----

gtagaaattt gtacagaaat ggaaaaggaa ggaaaaattt caaaaattgg gcctgaaaat	360
---	-----

ccataacaata ctccagtatt tgccataaaag aaaaaagaca gtactaaatg gagaaaatta	420
---	-----

gtagatttca gagaacttaa taagagaact caagatttct ggaaaggatca attaggaata	480
--	-----

ccacatcctg cagggttaaa acagaaaaaa tcagtaacag tactggatgt gggcgatgca	540
---	-----

tattttcag ttcccttaga taaagacttc aggaagtata ctgcatttac catacctagt	600
--	-----

ataaacaatg agacaccagg gattagat cagtacaatg tgcttccaca gggatggaaa	660
---	-----

ggatcaccag caatattcca gtgttagcatg acaaaaatct tagagcctt tagaaaacaa	720
---	-----

aatccagaca tagtcatcta tcaatacatg gatgatttgt atgttaggatc tgacttagaa	780
--	-----

atagggcagc atagaacaaa aatagaggaa ctgagacaac atctgtttag gtggggattt	840
---	-----

accacaccag acaaaaaaca tcagaaagaa cctccattcc tttggatggg ttatgaactc	900
---	-----

catcctgata aatggacagt acagcctata gtgctgccag aaaaggacag ctggactgtc	960
aatgacatac agaaattagt gggaaaattg aattggcaa gtcagattt tgcaaggatt	1020
aaagtaaggc aattatgtaa acttcttagg ggaaccaaag cactaacaga agtagtacca	1080
ctaacagaag aagcagagct agaactggca gaaaacaggg agattctaa agaaccggt	1140
catggagtgt attatgaccc atcaaaagac ttaatagcag aaatacagaa gcagggcaa	1200
ggccaatgga catabaaat ttatcaagag ccattaaaa atctgaaaac aggaaagtat	1260
gcaagaatga agggtccccca cactaatgt gtgaaacaat taacagaggc agtacaaaaa	1320
atagccacag aaagcatagt aatatggga aagactccta aatttaatt acccatacaa	1380
aaggaaacat gggagcatg gtggacagag tatggcaag ccacctggat tcctgagtgg	1440
gagtttgtca atacccctcc ctttgtaaat ttatggtacc agtttagagaa agaaccata	1500
ataggagcag aaacttcta tgttagatggg gcagccaata gggaaactaa attaggaaaa	1560
gcaggatatg taactgacag aggaagacaa aaagttgtcc ccctaacgga cacaacaat	1620
cagaagactg agttacaagc aattcatcta gcttgcagg attcgggatt agaagtaaac	1680
atagtgacag actcacaata tgcattgggatcattcaag cacaaccaga taagagtga	1740
tcagagtttgcattcaat aatagagcag ttaataaaaa agggaaaaagt ctacctggca	1800
tgggtaccag cacacaaagg aattggagga aatgaacaag tagataaatt ggtcagtgt	1860
ggaatcagga aagtactatt tttagatgga atagataagg cccagaaga acatgagaaa	1920
tatcacagta attggagagc aatggctagt gatTTAACCTaccacctgt agtagcaaaa	1980
gaaatagtag ccagctgtga taaatgtcag ctaaaagggg aagccatgca tggacaagta	2040
gactgttagcc caggaatatg gcagctagat tgtacacatt tagaaggaaa agttatcttgc	2100
gttagcgttc atgtagccag tggatataa gaagcagaag taattccagc agagacaggg	2160
caagaaacag catacttcct cttaaaatttgcaggaagat ggccagtaaa aacagtacat	2220
acagacaatg gcagcaattt caccagttact acagttaaagg ccgcctgttg gtggcgcccc	2280
atcaaggcagg aatttggcat tccctacaat ccccaaagtc aaggagtaat agaatctatg	2340
aataaagaat taaagaaaat tataggacag gtaagagatc aggctgaaca tcttaagaca	2400
gcagttacaaa tggcagtatt catccacaat tttaaaagaa aaggggggat tgggggtac	2460
agtgcagggg aaagaatagt agacataata gcaacagaca tacaactaa agaattacaa	2520
aaacaaatttca caaaaatttca aatTTTCGG gtttattaca gggacagcag agatccagtt	2580
tggaaaggac cagcaagct cctctggaaa ggtgaagggg cagtagtaat acaagataat	2640

agtgacataa aagttagtgcc aagaagaaaa gcaaagatca tcagggatta tgaaaacag	2700
atggcaggtg atgattgtgt 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 caacccacct cccaatcccg aggggacccg acaggccgaa	120
aggaatagaa gaagaagggtg gagagagaga cagagacaga tccattcgat tagtgaacgg	180
atccttggca ctatctggg acgatctgcg gagcctgtgc ctttcagct accaccgctt	240
gagagactta ctcttgattt taacgaggat tggaaactt ctgggacgca ggggtggaa	300
agccctaaa tattggtggaa atctcctaca atattggagt caggagctaa agaatagagg	360
agctttgttc ctgggttct tgggagcagc aggaagcact atgggcgcag cgtcaatgac	420
gctgacggta caggccagac aattattgtc tggatagtg cagcagcaga acaatttgct	480
gagggttatt gaggcgcaac agcatctgtt gcaactcaca gtctgggca tcaagcagct	540
ccaggcaaga atcctggctg tggaaagata cctaaaggat caacagctcc tagatcttt	600
tccctctgcc aaaaattatg gggacatcat gaagccccctt gagcatctga cttctggcta	660
ataaaggaaa ttatttca ttgcaatagt gtgttggaaat tttttgtgtc tctcactcg	720
aaggacatat gggagggcaa atcatttaaa acatcagaat gatattttgg ttttagagttt	780
ggcaacatat gccatatgtc ggctgccatg aacaaagggtg gctataaaga ggtcatcgt	840
atatgaaaca gccccctgtc gtccattctt tattccatag aaaaggcttg acttgaggtt	900
agatttttt tatattttgt tttgtgttat tttttcttt aacatcccta aaattttctt	960
tacatgtttt actagccaga ttttcctcc tctcctgact actcccagtc atagctgtcc	1020
ctcttctt atgaagatcc ctgcacatgc agcccaagct tggcgtaatc atggctatag	1080
ctgtttccgt tgtaaaattt tttatccgtc acaattccac acaacatacg agccgaaagc	1140
ataaagtgtt aagcctgggg tgcctaatga gtgagctaac tcacattaaat tgcgttgcgc	1200
tcactgcccgttccatgc gggaaacctg tcgtgcgcagc ggatccgcattt ctcattttttt	1260
cagcaaccat agtccccccc ctaactccgc ccatcccccc cctaactccg cccagttccg	1320
ccctttttccgc gccccatggc tgactaattt tttttttttt tgcagaggcc gaggccgcct	1380

cggcctctga gctattccag aagtagtgag gaggctttt tggaggccta ggctttgca	1440
aaaagctaac ttgttattt cagcttataa tggttacaaa taaagcaata gcatcacaaa	1500
tttcacaaat aaagcatttt tttactgca ttctagttgt ggttgtcca 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 catatatggaa	60
gttccgcgtt acataactta cggtaatgg cccgcctggc tgaccgccc acgacccccc	120
cccattgacg tcaataatga cgtatgttcc catagtaacg ccaataggaa ctttccattt	180
acgtcaatgg gtggactatt tacggtaaac tgcccacttgc gcaagtacatc aagtgtatca	240
tatgccaagt acgcccccta ttgacgtcaa tgacggtaaa tggccgcct ggcattatgc	300
ccagtagatc accttatggg actttcctac ttggcagttac atctacgtat tagtcatcg	360
tattaccatg ggtcgaggtg agccccacgt tctgcttac tctcccccac tccccccct	420
ccccacccccc aattttgtat ttattttttt tttaattttt ttgtgcagcg atggggcg	480
gggggggggg ggcgcgcgcg aggccccccg gggccccccg aggggggggg cggggcgagg	540
cgagaggttgc cgccggcagc caatcagagc ggccgcctcc gaaagtttcc ttttatggcg	600
aggccggccgc ggcggccgcctataaaaag cgaagcgcgc ggcggccgg agtcgtgcgc	660
ttgccttcgc cccgtcccc gctccgcgc gcctcgcgc gcccgcggc gctctgactg	720
accgcgttac tcccacaggt gaggccggc gacggccctt ctccctccgg ctgttaattag	780
cgctggttt aatgacggct cggttctttt ctgtggctgc gtgaaagcct taaagggctc	840
cgggaggccctt tttgtgcgg gggggagccgg ctgggggggtt gctgtgcgtgt gtgtgtgcgt	900
ggggagccgc gctgcggcc cgcgcgtgc ggcggctgtg agcgctgcgg ggcggccgc	960
gggcattttgttgc cgccgcgtgttgcgcgagg ggagccgcgc cggggccggt gccccccgg	1020
gcgggggggc tgcgagggaa acaaaggctg cgtgcgggtt gtgtgcgtgg ggggggtgagc	1080
agggggtgtg ggcgcggccg tcgggtgtta accccccccct gcaccccccctt ccccgagtttgc	1140
ctgagcacgg cccggcttcg ggtgcggggc tccgtgcggg gctgtgcgcg gggctcgccg	1200
tgccggccgg ggggtggccgg caggtgggg tggccggccgg ggcggggccg cctcggccg	1260

gggaggggctc	gggggagggg	cgcgccggcc	ccggagcgcc	ggcggtgtc	gaggcgccgc	1320
gagccgcagc	cattgcctt	tatggtaatc	gtgcgagagg	gcmcaggac	ttcccttgtc	1380
ccaaatctgg	cgagccgaa	atctggagg	cgccgcccga	ccccctctag	cggcgccgg	1440
cgaagcggtg	cggcgccggc	aggaaggaaa	tggcgggga	gggccttcgt	gcgtcgccgc	1500
gccggcggtcc	ccttctccat	ctccagcctc	ggggctgccc	cagggggacg	gctgccttcg	1560
ggggggacgg	ggcaggcg	ggttcggctt	ctggcgtgt	accggcgga	attc	1614
<210>	33					
<211>	884					
<212>	DNA					
<213>	Artificial Sequence					
<220><223>	RSV promoter and HIV Rev					
<400>	33					
caattgcgt	gtacgggcca	gatatacgcg	tatctgaggg	gactagggtg	tgtttaggcg	60
aaaagcgggg	cttcgggtgt	acgcggtag	gagtccctc	aggatatagt	agtttcgc	120
ttgcataggg	agggggaaat	gtagtcttat	gcaatacact	tgttagtctt	caacatggta	180
acgatgagtt	agcaacatgc	cttacaagga	gagaaaaagc	accgtgcatt	ccgattggtg	240
gaagtaaggt	ggtacgatcg	tgccttatta	ggaaggcaac	agacaggct	gacatggatt	300
ggacgaacca	ctgaattccg	cattgcagag	ataattgtat	ttaagtgcct	agctcgatac	360
aataaacgcc	attgaccat	tcaccacatt	ggtgtgcacc	tccaagctcg	agctcgat	420
gtgaaccgtc	agatgcctg	gagacgccat	ccacgcgtt	ttgaccccca	tagaagacac	480
cgggaccgat	ccagcctccc	ctcgaagcta	gcgattaggc	atctcctatg	gcaggaagaa	540
gcggagacag	cgacgaagaa	ctcctaagg	cagttagact	catcaagttt	ctctatcaa	600
gcaacccacc	tcccaatccc	gaggggaccc	gacaggcccg	aaggaataga	agaagaaggt	660
ggagagagag	acagagacag	atccattcga	tttagtgaacg	gatccttagc	acttatctgg	720
gacgatctgc	ggagcctgtg	cctcttcagc	taccaccgt	tgagagactt	actcttgatt	780
gtaacgagga	tttgtgaaact	tctgggacgc	aggggggtgg	aagccctcaa	atattggtg	840
aatctcctac	aatattggag	tcaaggagcta	aagaatagtc	taga		884
<210>	34					
<211>	1104					
<212>	DNA					
<213>	Artificial Sequence					

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

<400> 34

ccgggtgccta	gagaagggtgg	cgcggggtaa	actggaaag	tgtatgtcgtg	tactggctcc	60
gccttttcc	cgaggggtggg	ggagaaccgt	atataagtgc	agtatgcgcc	gtgaacgttc	120
ttttcgcaa	cgggttgcc	gccagaacac	aggtaagtgc	cgtgtgtgg	tcccgccggc	180
ctggccttt	tacgggttat	ggcccttgcg	tgcctgaat	tacttcacg	cccctggctg	240
cagtagtga	ttcttgatcc	cgagcttcgg	gttggaaagt	ggtgggagag	ttcgaggcct	300
tgcgttaag	gagcccttc	gcctcgtgct	tgagttgagg	cctggctgg	gctggggc	360

cgcgcgtgc	gaatctggtg	gcacccitcgc	gccctgtctcg	ctgccttcga	taagtctcta	420
gccatTTaaa	atTTTgatg	acctgctgcg	acgcttttt	tctggcaaga	tagtcttgta	480
aatgcggcc	aagatctgca	cactggatt	tcggTTTT	ggggccgcgg	cggcgcacggg	540
gcccgtgcgt	cccagcgcac	atgttcggcg	aggcggggcc	tgcgagcgcg	gccaccgaga	600
atcggacggg	ggttagtctca	agctggccgg	cctgctctgg	tgcctggcct	cgcggccgg	660
tgtatcgccc	cggccctgggc	ggcaaggctg	gcccggtcgg	caccagtgc	gtgagcggaa	720
agatggccgc	ttccggcccc	tgctgcaggg	agctcaaaat	ggaggacgcg	gctggggc	780

gagcggccgg	gtgagtcacc	cacacaaagg	aaaaggcct	ttccgtcctc	agccgtcgct	840
tcatgtgact	ccacggagta	ccgggcgcgc	tccaggcacc	tgcatttagt	ctcgagctt	900
tggagtagt	cgtctttagg	ttggggggag	gggtttatg	cgatggagtt	tccccacact	960
gagtgggtgg	agactgaagt	taggcagct	tggcacttga	tgttaattctc	cttggaaatt	1020
gccccTTTt	agtttggatc	ttggttcatt	ctcaaggcctc	agacagtgg	tcaaagttt	1080
tttcttccat	ttcaggtgtc	gtga				1104

<210> 35

<211> 511

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Promoter-PGK

<400> 35

ggggTTgggg	ttgcgcctt	tccaaggcag	ccctgggtt	gcmcaggac	gcccgtgctc	60
tgggcgttgt	tccggaaac	gcagcggcgc	cgaccctgg	tctgcacat	tcttcacgtc	120
cgttcgcagc	gtcacccgga	tcttcggcgc	tacccttgc	ggccccccgg	cgacgcttcc	180
tgctccgccc	ctaagtgggg	aaggttcctt	gcccgttcgcg	gctgtccgg	cgtgacaaac	240
ggaagccgca	cgtctacta	gtaccctcgc	agacggacag	cgccaggag	caatggcagc	300

gcccgcaccg	cgtggcgtg	tggccaatag	cggctgctca	gcagggcg	ccgagagcag	360
cggccggaa	ggggcggtgc	gggaggcggg	gtgtggggcg	gtagtgtgg	ccctgttcct	420
gcccgcgg	tgtccgcgt	tctgcaagcc	tccggagcgc	acgtcgccag	tcggctccct	480
cggtgaccga	atcacccgacc	tctctccca	g			511
<210>	36					
<211>	1162					
<212>	DNA					
<213>	Artificial Sequence					
<220><223>	Promoter-UbC					
<400>	36					
gcccgggtt	ttggccctc	ccggggcgc	ccccctcctc	acggcgagcg	ctggccacgtc	60
agacgaaggg	cgcaggagcg	ttcctgatcc	ttccggccgg	acgctcagga	cagcgcccg	120
ctgctataa	gactcgccct	tagaacccta	gtatcagcag	aaggacattt	taggacggga	180
cttgggtgac	tctagggcac	tggttttttt	tccagagagc	gaaacaggcg	aggaaaagta	240
gtcccttctc	ggcgattctg	cgaggggatc	tccgtggggc	ggtgaacgcc	gatgattata	300
taaggacgcg	ccgggtgtgg	cacagctagt	tccgtcgccag	ccgggatttg	ggtcgccgtt	360
cttgggggtg	gatcgctgtg	atcgtaactt	ggtgagttgc	gggctgctgg	gctggccggg	420
gcttcgtgg	ccgccccggcc	gctcggtggg	acgaaagcgt	gtggagagac	cggcaaggc	480
tgttagtctgg	gtccgcgagc	aaggttgccc	tgaactgggg	gttgggggg	gcccacaaaa	540
tggcggtgt	tcccgagtct	tgaatggaag	acgcttgtaa	ggcgggctgt	gaggtcgttt	600
aaacaagggtg	gggggcatgg	tggccggcaa	gaacccaagg	tcttgaggcc	ttcgctaatg	660
cgggaaagct	cttattcggg	ttagatgggc	tggggcacca	tctggggacc	ctgacgtgaa	720
gtttgtca	gactggagaa	ctcggttttgcgtctgg	gcggggcg	cagtatgcg		780
gtgccgttg	gcagtgcacc	cgtaccttgcgt	ggagcgccgc	cctcgctgt	tcgtgacgtc	840
acccgttctg	ttggcttata	atgcagggtg	gggccacctg	ccggtaggtg	tgcgttaggc	900
ttttctccgt	cgcaggacgc	agggttcggg	cctaggtag	gctctcctga	atcgacaggc	960
gccggaccc	tggtgagggg	aggataagt	gaggcgtag	tttcttgg	cggtttatg	1020
tacctatctt	cttaagtgc	tgaagctcg	gttttgaact	atgcgtcg	ggttggcgag	1080
tgtgtttgt	gaagttttt	aggcacctt	tgaaatgtaa	tcatgggt	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
agcattttt tcactgcatt ctagttgtgg tttgtccaaa ctcataatg tatcttatca	120

120

<210> 38

<211> 227

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Poly A-bGH

<400> 38

gactgtgcct tctagttgcc agccatctgt tgtttgcctt tccccgtgc cttcccttgc	60
cctggaaggt gccactccca ctgtccttcc ctaataaaat gagaaatttgcatgcatttgc	120
tctgagtagg tgcatttcta ttctgggggg tgggtgggg caggacagca agggggagga	180
ttgggaagac aatagcagggc atgctgggta tgccgtggc tctatgg	227

<210

> 39

<211> 1695

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Envelope-RD114

<400> 39

atgaaaactcc caacaggaat ggtcattta tgcgttccaa taatagttcg ggcagggttt	60
gacgacccccc gcaaggctat cgcattagta caaaaacaac atggtaaacc atgcataatgc	120
agcggaggcgc aggtatccga ggccccacgg aactccatcc aacaggtaac ttgcccagggc	180
aagacggcct acttaatgac caaccaaaaa tggaaatgca gagtcactcc aaaaaatctc	240
acccttagcg ggggagaact ccagaactgc ccctgttaca ctttccaggg ctcgtatgcac	300
agttcttggta atactgaata ccggcaatgc agggcgaata ataagacata ctacacggcc	360

accttgctta aaatacggtc tgggagcctc aacgaggtaa agatattaca aaacccaaat	420
cagtcctac agtcccccttg tagggctct ataaatcagc ccgtttgtgg gagtgccaca	480

gccccatcc atatctccga tggggagga cccctcgata ctaagagagt gtggacagtc	540
caaaaaaggc tagaacaat tcataaggct atgcacccctg aacttcaata ccacccctta	600
gccctgcca aagttagaga tgaccttagc cttgatgcac ggactttga tatcctgaat	660
accacitita ggttactcca gatgtccat tttagcttg cccaagatig ttggcttgt	720
ttaaaaactag gtaccctac ccctcttgcg ataccactc cctcttaac ctactcccta	780
gcagactccc tagcgaatgc ctccgtcag attataccctc ccctcttgg tcaaccgatg	840
cagttctcca actcgccctg tttatcttcc cctttcatta acgatacgga acaaataagac	900
ttaggtgcag tcaccccttac taactgcacc tctgttagcca atgtcagtag tcctttatgt	960
gccctaaacg ggtcagtctt cctctgtgga aataacatgg catacaccta tttacccaa	1020
aactggacag gactttgcgt ccaaggctcc ctccctcccg acattgacat catccgggg	1080
gatgagccag tccccattcc tgccattgtt cattatatac atagacctaa acgagctgt	1140
cagttcatcc ctttactagc tggactggga atcaccgcag cattcaccac cggagctaca	1200
ggcttaggtg tctccgtcac ccagtataca aaattatccc atcagttat atctgatgtc	1260
caagtcttat ccggtaccat acaagatttta caagaccagg tagactcggt agctgaagta	1320
gttctccaaa ataggagggg actggaccta ctaacggcag aacaaggagg aatttgttta	1380
gccttacaag aaaaatgctg ttttatgtt aacaagtcag gaattgtgag aaacaaaata	1440
agaaccctac aagaagaatt acaaaaacgc agggaaagcc tggcatccaa ccctctctgg	1500
accgggctgc agggcttct tccgtaccc ctaccccttcc tggaccctt actcaccctc	1560
ctactcatac taaccattgg gccatgcgtt ttcaatcgat tggccaaatt tgtaaagac	1620
aggatctcag tggccaggc tctggtttg actcagcaat atcaccagct aaaaccata	1680
gagtacgagc catga	1695
<210> 40	
<211> 2013	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Envelope-GALV	
<400> 40	
atgcttctca cctcaagccc gcaccaccc ttccggcaccaga tgagtccctgg gagctggaaa	60
agactgtatca tcctcttaag ctgcgtattc ggagacggca aaacgagtct gcagaataag	120
aaccccccacc agcctgtgac cctcacctgg caggtactgt cccaaactgg ggacgttgc	180
tgggacaaaa aggagtcga gccccttgg acttgggtgc cctctttac acctgatgt	240

tgtgccctgg cgccgggtct tgagtccctgg gatatcccg gatccgatgt atcgccctct	300
aaaagagtta gacccctctga ttcaagactat actgccgtt ataagcaaataccctggggaa	360
gccatagggt gcagctaccc tcgggcttagg accaggatgg caaattcccc cttctacgtgt	420
tgtccccag ctggccgaac ccattcagaa gctaggaggt gtgggggct agaatcccta	480
tactgtaaag aatggagttg tgagaccacg ggtaccgtt attggcaacc caagtccca	540
tgggaccta taactgtaaa atgggaccaa aatgtgaaat gggagcaaaa atttcaaaag	600
tgtgaacaaa ccggctgggtg taacccctc aagatagact tcacagaaaa agggaaaactc	660
tccagagatt ggataacgga aaaaacctgg gaattaaggt tctatgtata tggacaccca	720
ggcatacagt tgactatccg cttagaggtc actaacatgc cggttgtggc agtggccca	780
gaccctgtcc ttgcggaca gggacctctt agcaagcccc tcactctccc tctctcccc	840
cgaaaaagcgc cgeccaccccc tctaccccg gcggttagt agcaaaccccc tgccgtgcat	900
ggagaaactg ttaccctaaa ctctccgcct cccaccagt ggcaccgact cttggcctt	960
gtgcaggggg ctttcctaaac cttgaatgtt accaaccacggggactaa gtctgtgg	1020
ctctgtttgg gcatgagccc cccttattat gaagggatag cctttcagg agaggtcgct	1080
tatacctcca accatacccg atgccactgg gggcccaag gaaagcttac cctcaactgag	1140
gtctccggac tcgggtcatg cataggaaag gtgcctctta cccatcaaca tcttgcaac	1200
cagaccttac ccatcaattt ctctaaaaac catcaacttgc tgcctccctc aaaccatagc	1260
tggggccct gcagcactgg cctcaccccc tgcctctca cctcagttt taatcagtct	1320
aaagacttct gtgtccaggt ccagctgatc cccgcatactt attaccattt tgaagaaacc	1380
ttgttacaag cctatgacaa atcacccccc aggtttaaaa gagagcctgc ctcaacttacc	1440
ctagctgtct tcctggggtt agggatttgc gcaggtatag gtactggctc aaccggcccta	1500
attaaaggc ccatagaccc ctggcaaggc ctaaccagcc tccaaatcgc cattgacgct	1560
gaccctccggg cccttcagga ctcaatcagc aagcttagagg actcaactgac ttccctatct	1620
gaggttagtac tccaaatag gagaggcctt gacttactat tcctaaaga aggaggcctc	1680
tgcgcggccc taaaagaaga gtgtgtttt tatgttagacc actcaggtgc agtacgagac	1740
tccatgaaaa aactttaaga aagacttagat aaaagacagt tagagcgc gaaaaaccaa	1800
aactggatag aagggtgggtt caataactcc cttgggtta ctaccctact atcaaccatc	1860
gctggggccc tattgtctt cttttgtta ctcaactcttgc ggcctgtcat catcaataaa	1920
ttaatccaaat tcatcaatga taggataagt gcagtcaaaa ttttagtct tagacagaaaa	1980
tatcagaccc tagataacga gaaaaacctt taa	2013

<211>	1530
<212>	DNA
<213>	Artificial Sequence
<220><223>	Envelope-FUG
<400>	41
atggttccgc aggttcttt gtttgtactc cttctgggtt ttcgttg tttcggaag	60
ttccccat tt acacgatacc agacgaactt ggtccctgga gccctattga catacaccat	120
ctcagctgtc caaataacct gggttggag gatgaaggat gtaccaacct gtccgagttc	180
tcctacatgg aactcaaagt gggatacatc tcagccatca aagtgaacgg gttcaacttgc	240
acaggtgttg tgacagaggc agagacctac accaacttgc ttggttatgt cacaaccaca	300
ttcaagagaa agcattccg ccccacccca gacgcatgta gagccgcgta taactggaag	360
atggccggtg accccagata tgaagagtcc ctacacaatc catacccgat ctaccactgg	420
cttcgaactg taagaaccac caaagagtcc ctcattatca tatcccaag tgtgacagat	480
ttggaccat atgacaaatc ctttactca agggtcttcc ctggcggaaa gtgctcagga	540
ataacggtgt cctctaccta ctgcicaact aaccatgatt acaccattt gatgcccgag	600
aatccgagac caaggacacc ttgtgacatt tttaccaata gcagagggaa gagagcatcc	660
aacgggaaca agacttgcgg ctttgtggat gaaagaggcc tgtataagtc tctaaaagga	720
gcatgcaggc tcaagttatg tggagttctt ggacttagac ttatggatgg aacatgggtc	780
gcatgcgaaa catcagatga gaccaaatttgg tgccctccag atcagttggt gaatttgac	840
gactttcgct cagacgagat cgagcatctc gtttgtggagg agtttagttaa gaaaagagag	900
gaatgtctgg atgcattttaga gtcctatcatg accaccaagt cagtaagttt cagacgtctc	960
agtcacctga gaaaacttgt cccagggttt ggaaaagcat ataccatatt caacaaaacc	1020
ttgatggagg ctgatgtca ctacaagtca gtccggaccc ggaatgagat catccctca	1080
aaagggttt taaaagggttgg aggaaggtc catcctcatg tgaacgggtt gttttcaat	1140
ggtataatat tagggcctga cgaccatgtc ctaatcccg agatgcaatc atccctcc	1200
cagcaacata tggagttgtt ggaatttca gttatcccc tcatgcaccc cctggcagac	1260
ccttctacag tttcaaaaga aggtgtatgag gctgaggatt ttgttgaatg tcacccccc	1320
gatgtgtaca aacagatctc aggggttgac ctgggtctcc cgaactgggg aaagtatgt	1380
ttgatgactg cagggccat gattggcctg gtgttgcata tttccctaaat gacatgggc	1440
agagttggta tccatcttgc cattaaattt aagcacacca agaaaagaca gatttataca	1500
gacatagaga tgaaccgact tggaaagttaa	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 cgtgatcagc ggtatcaagg ctgtctacaa ttttgccacc	120

tgtggatat tcgcattat cagttccata cttctggctg gcaggtccctg tggcaitac	180
ggcttaagg gaccgcacat ttacaaagga gtttaccaat ttaagtcagt ggagtttgat	240
atgtcacatc tgaacctgac catgccaaac gcatgtttag ccaacaactc ccaccattac	300
atcagttatgg ggacttctgg actagaattt accttccat atgattccat catcagtcac	360
aacttttgc aactgaccc tgcctcaac aaaaagacct ttgaccacac actcatgagt	420
atagtttcga gcctacaccc cagttcaga gggaaactcca actataaggc agtatcctgc	480
gacttcaaca atggcataac catccaaatc aacttgcacat tctcagatcg acaaagtgt	540

cagagccagt gtagaacctt cagaggtaga gtcctagata tgtttagaac tgccttcggg	600
ggaaataaca tgaggagtgg ctggggctgg acaggctcag atggcaagac cacctgggt	660
agccagacga gttaccaata cctgattata caaaatagaa cctggaaaaa ccactgcaca	720
tatgcaggc ctttggat gtccaggatt ctccccc aagagaagac taagtttttc	780
actaggagac tagcggcac attcacctgg actttgtcag acttttcagg ggtggagaat	840
ccaggtggatt attgcctgac caaatggatg attttgcgtc cagagcttaa gtgtttcggg	900
aacacagcag ttgcgaaatg caatgtaaat catgtgccg aattctgtga catgtgcga	960

ctaatttgc acaacaaggc tgctttgagt aagtccaaag aggacgtaga atctgccttg	1020
cacttattca aaacaacagt gaattcttg atttcagatc aactactgtat gaggaaccac	1080
ttgagagatc tggatgggggt gccatattgc aattactcaa agttttggta cctagaacat	1140
gcaaagaccc gcgaaactag tgccttcaag tgctggcttg tcaccaatgg ttcttactta	1200
aatgagaccc acttcagtga tcaaattcga caggaagccg ataacatgtat tacagagatg	1260
ttgaggaagg attacataaa gaggcagggg agtacccccc tagcatgtat ggaccccttg	1320
atgtttcca catgtcata tctagtcagc atcttcgtc accttgcata aatccaaca	1380

cacaggcaca taaaaggtgg ctcatgtcca aagccacacc gattaaccaa caaaggaatt	1440
tgttagttgtg gtgcatttaa ggtgcctggt gtaaaaaccc tctggaaaag acgctga	1497

<210> 43

<211> 1692

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Envelope-FPV

<400> 43

atgaacactc aaatcctgg tttcgccctt gtggcagtca tccccacaaa tgcagacaaa	60
atttgtcttg gacatcatgc tgtatcaaat ggcaccaaag taaacacact cactgagaga	120
ggagtagaaag ttgtcaatgc aacggaaaca gtggagcgga caaacatccc caaaatttgc	180
tcaaaaggga aaagaaccac tgatcttggc caatgcggac tggtagggac cattaccgga	240
ccacctaattt ggcaccaattt tctagaattt tcagctgtatc taataatcga gagacgagaa	300
ggaaatgatg tttgttaccc ggggaagttt gttaatgaag aggcatgtcg acaaattcctc	360
agaggatcag gtgggattga caaagaaaca atgggattca catatagtgg aataaggacc	420
aacggaaaca ctagtgcattt tagaagatca gggctttcat tctatgcaga aatggagtgg	480
ctccgttcaa atacagacaa tgctgcttc ccacaaatga caaaatcata caaaaacaca	540
aggagagaat cagctctgat agtctggga atccaccatt caggatcaac caccgaacag	600
accaaactat atgggagtgg aaataaactg ataacagtgc ggagttccaa atatcatcaa	660
tctttgtgc cgagtccagg aacacgaccc cagataaatg gccagtcgg acggattgtat	720
tttcatttgg ttagtcttgg tcccaatgtt acagttactt tttagttcaa tggggcttca	780
atagctccaa atcgtgccag cttcttgagg ggaaagtcca tggggatcca gagcgatgt	840
caggtttagtgc ccaattgcga agggaaatgc taccacagtgg gaggactat aacaagcaga	900
ttgcctttc aaaacatcaa tagcagagca gttggcaat gccaaagata tgtaaaacag	960
gaaagtttat tattggcaac tgggatgaag aacgttcccg aaccttccaa aaaaaggaaa	1020
aaaagaggcc tttttggcgc tatagcagg tttattgaaa atgggtggg aggtctggc	1080
gacgggtggt acggtttcag gcatcagaat gcacaaggag aaggaactgc agcagactac	1140
aaaagcaccc aatcgcaat tgatcagata accggaaagt taaatagact cattgagaaa	1200
accaaccacg aatttggact aatagataat gaattcactg aggtggaaaa gcagattggc	1260
aatttaatta actggacca agactccatc acagaagtat ggtcttacaa tgctgaactt	1320
cttggcaat tggaaaacca gcacactatt gattggctg attcagagat gaacaagctg	1380
tatgagcgag tgagggaaaca attaaggaa aatgctgaag aggtggcac tggttgctt	1440
gaaattttc ataaatgtga cgtatgtt atggcttagta taaggaacaa tacttatgt	1500

cacagcaa at acagagaaga agcgatgcaa aatagaatac aaattgaccc agtcaaattg 1560
 agtagtggt acaaagatgt gatacttgg ttttagctcg gggcatcatg cttttgctt 1620
 cttgccattg caatggcct tttttcata tgtgtgaaga acggaaacat gcgggtgcact 1680
 atttgtatataa 1692

<210> 44

<211> 1266

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Envelope-RRV

<400> 44

agtgtaacag agcacttaa tgtgtataag gctactagac cataccttagc acattgccc 60
 gattgcgggg acgggtactt ctgctatagc ccagttgcta tcgaggagat ccgagatgag 120
 gcgtctgatg gcatgcttaa gatccaagtc tccgc当地aa taggtctgga caaggcaggc 180
 acccacgccc acacaaagct ccgatataatg gctggtcatg atgttcagga atctaagaga 240
 gattccttga ggggtgtacac gtccgcagcg tgctccatac atggacgat gggacacttc 300
 atcgtcgac actgtccacc aggcgactac ctcaagggtt cggtcgagga cgcagattcg 360
 cacgtgaagg catgtaaagg ccaatacaag cacaatccat tgccgggtgg tagagagaag 420

tgcgtggta gaccacactt tggcgttagag ctgccatgca cctcatacca gctgacaacg 480
 gctcccaccc acgaggagat tgacatgcat acaccgc当地 atataccgga tcgcaccctg 540
 ctatcacaga cggcgggcaa cgtcaaata acagcaggcg gcaggactat caggtacaac 600
 tgtacctgac gccgtgacaa cgtaggcact accagtactg acaagaccat caacacatgc 660
 aagattgacc aatgccatgc tgccgtcacc agccatgaca aatggcaatt tacctctcca 720
 tttgttccca gggctgatca gacagctagg aaaggcaagg tacacgttcc gttccctctg 780
 actaacgtca cctgcccagt gccgttggt cgagcgc当地 atgccaccta tggtaaag 840

gaggtgaccc ttagattaca cccagatcat ccgacgctt ttcctatag gagtttagga 900
 gcccgaaccgc acccgtaacgaa ggaatgggtt gacaagttct ctgagcgc当地 catcccgatg 960
 acggaaagaag ggattgagta ccagtggggc aacaaccgc当地 cggctgc当地 gtggc当地 1020
 ctgacgaccg agggcaaaacc ccatggctgg ccacatgaaa tcattcagta ctattatgga 1080
 ctataccccg ccgc当地at tgccgc当地 tccggggc当地 gtctgatggc cctcc当地act 1140
 ctggc当地ccca catgctgcat gctggccacc gcgaggagaa agtgc当地taac accgtacgccc 1200
 ctgacgccc当地 gagcgggtggt accgttgaca ctggggctgc tttgctgccc accgaggc当地 1260

aatgca	1266
<210> 45	
<211> 1938	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Envelope-MLV 10A1	
<400> 45	
atggaaggtc cagcgttctc aaaaccctt aaagataaga ttaaccgtg gaagtcctta	60
atggcatgg gggctattt aagagtaggg atggcagaga gccccatca ggtcttaat	120
gtaaccttgg aagtacccaa cctgtatgt gggcgtaccg ccaatgccac ctcccttta	180
ggaactgtac aagatgcctt cccaaagatta tattttgatc tatgtatct ggtcgagaa	240
gagtgccgacc cttcagacca ggaaccatata gtcgggtatg gctgcaataa ccccgagg	300
agaaagcgga cccggacttt tgactttac gtgtgcctg ggcataccgt aaaatcggg	360
tgtgggggc caagagaggg ctactgtggt gaatgggtt gtgaaaccac cggacaggct	420
tactggaaacccatcataatggaccta atctccctta agcgcgttaa cacccttgg	480
gacacggat gctccaaat ggcttgcgc ccctgtacg acctctccaa agtaccaat	540
tccttccaag gggctactcg agggggcaga tgcaaccctc tagtctttaga atttactgt	600
gcaggaaaaa aggtaatttgg gacggcccaaaatcggtttt gactgagact gtaccggaca	660
ggaacagatc ctattaccat gttctccctg acccgccagg tcccaataat agggccccgc	720
atccccattt ggcctaattcc cgtgtactt ggtcaactac cccctcccg acccggtcag	780
atcaggttcc ccaggcctcc tcagcctctt cctacaggcg cagccttat agtcccttgc	840
actggccac ctctcaaca acctggacg ggagacaggc tgctaaacctt ggtttaggg	900
gcctatcagg cgcttaacctt caccaatccc gacaagaccc aagaatgtt gctgtgttta	960
gtgtcggttcc ctcttattt cgaaggatgta ggcgtgttgg gcacttatac caatattttt	1020
accggcccgcc ccagctgtac ggccacttcc caacataaacc ttaccctatc tgaagtgaca	1080
ggacaggccc tatgcatggg agcactaccc aaaactcacc aggcctttagt taacaccacc	1140
caaagtgcgg gctcaggatc ctactaccc ttgcagcacccg ctggaaacaat gtgggttgt	1200
agcactggat tgactccctg cttgtccacc acgtatgtca atctaaccac agactattgt	1260
gtattatgtt agctctggcc cagaataattt taccactccc ccgattatgtt gtatgttgc	1320
cttgaacacgc gtaccaataa taagagggag ccagttatgt tgaccctggc ctttctgtta	1380
ggaggattaa ccatggagg gattgcagct ggaataggga cggggaccac tgccctaattc	1440

aaaacccagc agttttagca gcttcacgcc gctatccaga cagacctcaa cgaagtcgaa	1500
aatcaatta ccaacctaga aaagtcaactg acctcggtgt ctgaagtagt cctacagaac	1560
cgaagaggcc tagatttgccttccctaaaa gagggaggtc tctgcgcagc cctaaaagaa	1620
gaatgttggtt ttatgcaga ccacacggga ctatgtgagag acagcatggc caaactaagg	1680
gaaaggctta atcagagaca aaaactattt gagtcaggcc aagggtgggt cgaagggcag	1740
ttaatagat cccctgggtt taccaccta atctccacca tcatgggacc tctaatagtat	1800
ctcttactga tcttactctt tggaccctgc attctcaatc gattggtcca atttggtaaa	1860
gacaggatct cagtggtcca ggctctgggtt ttgactcaac aatatcacca gctaaaacct	1920
atagagtacg agccatga	1938
<210> 46	
<211> 2030	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Envelope-Ebola	
<400> 46	
atgggtgtta caggaatatt gcagttaccc cgtgatcgat tcaagaggac atcatttttt	60
ctttggtaa ttatcctttt ccaaagaaca ttttccatcc cacttggagt catccacaat	120
agcacattac aggttagtga tgtcgacaaa ctggttgcc gtgacaaact gtcatccaca	180
aatcaattga gatcagttgg actgaatctc gaaggaaatg gatggcaac tgacgtgcca	240
tctgcaacta aaagatgggg cttcagggtcc ggtgtcccac caaagggttgtt caattatgaa	300
gctggtaat gggctaaaaa ctgctacaat cttgaaatca aaaaacctga cgggagttag	360
tgtctaccag cagcgccaga cgggattcgg ggctccccc ggtgccggta tgtgcacaaa	420
gtatcaggaa cgggaccgtg tgccggagac ttgccttcc acaaagaggg tgctttttc	480
ctgtatgacc gacttgcttc cacagttatc taccgaggaa cgacttcgc tgaaggtgtc	540
gttgcatttc tgatactgcc ccaagctaaag aaggacttct tcaagctcaca ccccttgaga	600
gagccggta atgcaacgga ggacccgtct agtggctact attctaccac aatttagat	660
caagctaccg gttttggaaac caatgagaca gaggatgttgc tgcagggttgc caatttgcacc	720
tacgtccaaat ttgaaatcaag attcacacca cagtttctgc tccagctgaa tgagacaata	780
tatacaagtggaaaggag caataccacg ggaaaactaa tttggaaaggtt caaccccgaa	840
attgatacaa caatcggggta gtggcccttc tggaaacta aaaaacctc actagaaaaaa	900
ttcgcagtga agagttgtct ttcacagctg tatcaaacag agccaaaaac atcagtggtc	960

agagtccggc	gCGAACTTCT	tcggacccag	ggaccaacac	aacaactgaa	gaccacaaaa	1020
tcatggcttc	agaaaattcc	tctgcaatgg	ttcaagtgcA	cagtcaagga	agggaagctg	1080
cagtgtcgca	tctgacaacc	cttgccacaa	tctccacgag	tcctcaaccc	cccacaacca	1140
aaccagggtcc	ggacaacagc	acccacaata	cacccgtgta	taaacttgac	atctctgagg	1200
caactcaagt	tgaacaacat	cacccgagaa	cagacaacga	cagcacagcc	tccgacactc	1260
cccccgccac	gacccgagcc	ggacccctaa	aagcagagaa	accaacacg	agcaaggta	1320
ccgacacctt	ggaccccgcc	accacaacaa	gtccccaaaa	ccacagcgag	accgctggca	1380
acaacaacac	tcatcacca	gataccggag	aagagagtgc	cagcagcggg	aagctaggct	1440
taattaccaa	tactattgct	ggagtgcgag	gactgatcac	aggcgggagg	agagctcgaa	1500
gagaagcaat	tgtcaatgct	caacccaaat	gcaaccctaa	tttacattac	tggactactc	1560
aggatgaagg	tgtgcaatc	ggactggct	ggataccata	tttcgggcca	gcagccgagg	1620
gaatttacat	agaggggctg	atgcacaatc	aagatggtt	aatctgtggg	ttgagacagc	1680
tggccaaacga	gacgactcaa	gctttcaac	tgttctgag	agccacaacc	gagctacgca	1740
cctttcaat	cctcaaccgt	aaggcaattt	atttcttgc	gcagcgatgg	ggcggcacat	1800
gccacatttt	gggaccggac	tgctgtatcg	aaccacatga	ttggaccaag	aacataacag	1860
acaaaattga	tcagattatt	catgattttg	ttgataaaaac	cttccggac	cagggggaca	1920
atgacaattt	gtggacagga	tggagacaat	ggataccggc	agttatggaa	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	ccggggcgtc	60
gggcgacctt	tggtcgcccc	gcctcagtga	gcgagcgagc	gcmcagagag	ggagtggcca	120
actccatcac	taggggttcc	t				141
<210						
>	48					
<211>	120					
<212>	DNA					
<213>	Artificial Sequence					

<220><223> Prothrombin enhancer

<400> 48

gcgagaacctt	gtgcctcccc	gtgttcctgc	tcttgtccc	tctgtcctac	tttagactaat	60
atttgccttg	ggtaactgcaa	acaggaaatg	ggggagggac	aggagtaggg	cgaggaggtag	120
						120

<210> 49

<211> 228

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> PolyA

<400> 49

gactgtgcct	tcttagttgcc	agccatctgt	tgtttgcctt	tcccccgtgc	cttccttgac	60
------------	-------------	------------	------------	------------	------------	----

cctggaaggt	gccactccca	ctgtcctttc	ctaataaaat	gaggaaatttgc	catgcatttgc	120
tctgagtagg	tgtcattcta	ttctgggggg	tgggtgggg	caggacagca	agggggagga	180
ttgggaagac	aataggcggc	atgctgggg	tgccgtgggc	tctatggc		228

<210> 50

<211> 141

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Right ITR

<400> 50

aggaaccctt	agtgtatggag	ttggccactc	cctctctgcg	cgctcgctcg	ctcaactgagg	60
ccgggcgacc	aaaggctgcc	cgacgcccgg	gctttgcccg	ggcggcctca	gtgagcgagc	120
gagcgcgcag	ctgcctgcag	g				141

<210> 51

<211> 1470

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> E2A

<400> 51

ttaaaagtgcg	aagggttct	cgcgctcg	gttgtgcgc	gctgtgggg	ggccacgtt	60
gcggactgg	tacttggct	gccacttga	ctcggggatc	accagttgg	gcactgggt	120
ctcggggaa	gtctcgctcc	acatgcgcgc	gctcatctgc	agggcgccca	gcatgtcagg	180

cgccggagatc ttgaaatcgc agttggggcc ggtgctctgc ggcgcgcagt tgcggtagac	240
tgggttgcag cactggaaca ccatcagact ggggtacttc acactagcca gcacgcttt	300
gtcgctgatc tgatccttgt ccaggtcctc ggcgttgctc aggccgaacg gggtcatctt	360
gcacagctgg cggcccagga agggcacgct ctgaggcttg tggttacact cgca	420
ggccatcagc atcatcccg cgccgcgtg catattcggg tagagggcct tgacgaaggc	480
cgcgatctgc ttgaaagctt gctgggcctt ggccccctcg ctgaaaaaca ggccgcagct	540
cttcccgtg aactgattat tcccgaccc ggcacatgg acgcagcagc ggcgtcatg	600
gctggtcagt tgaccacgc tccgtccca gcggtctgg gtacaccttg cttgctggg	660
ttgctccctc aggcacgct gcccgttctc actggtcaca tccatctcca ccacgtggc	720
cttgtggatc atcaccgtcc catgcagaca cttgagctgg cttccacact cggtgcagcc	780
gtggtccac agggcactgc cggtgcaactc ccagttcttg tgcgcatcc cgctgtggct	840
gaagatgtaa ctttgcaca ggcgacccat gatggtgcta aagctttct gggtggtaa	900
ggtcagttgc agaccgcggg ctcctcggt catccaggc tggcacatct tttgaaagat	960
ctcggtctgc tcgggcatga gtttgcataatcgcgatccggccgtgtcgacgcgttagcg	1020
ttccatcagc acattcatgg tatccatgcc cttctccag gacgagacca gaggcagact	1080
cagggggttg cgcacgttca ggacacccggg ggtcgccggc tcgacgatgc gtttccgtc	1140
cttgccttcc ttcaacagaa ccggcggctg gctgaatccc actcccacga tcacggcttc	1200
ttcctgggc atctttcgt ctgggtctac cttggtcaca tgcttggct ttctggcttg	1260
cttctttttt ggagggctgt ccacggggac cacgtctcc tcggaaagacc cggatccac	1320
ccgctgatac tttcggcgct tggttggcag aggagggtggc ggcgaggggc tcctctctg	1380
ctccggcgga tagcgcgtg aaccgtggcc ccggggcgga gtggcccttc ggtccatgaa	1440
ccggcgcacg tcctgactgc cgcggccat	1470
<210> 52	
<211> 393	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> E4	
<400> 52	
tcatgtatct ttattgattt ttacaccaggc acggtagtc agtctccac caccagccca	60
ttcacagtg taaaacattc tctcagcagg ggtggccta aataggcaaa tattctgtttt	120
agtgcggaa ctggacttgg ggtctataat ccacacagtt tcctggcgag ccaaacgggg	180

gtcggtgatt gagatgaagc cgtcctctga aaagtcatcc aagcgagcct cacagtccaa	240
ggtcacagta ttatgataat ctgcatgatc acaatcggtc aacagggat gttttcagt	300
cagtgaagcc ctggttcct catcagatcg tggtaaacgg gccctgcgt atggatgtg	360
gcggagcggc ctggattgaa tctcggtttt cat	393
<210> 53	
<211> 162	
<212> DNA	

<213> Artificial Sequence

<220><223> VA RNA

<400> 53

agcgggact ctccgtggt ctggtgata aattcgcaag ggtatcatgg cggacgaccg	60
gggttcgagc cccgtatccg gccgtccgccc gtgatccatg cggttaccgc ccgcgtgtcg	120
aaccagggtg tgcgacgtca gacaacgggg gagtgtctt tt	162

<210> 54

<211> 2208

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> AAV2 Rep

<400> 54

atggctgccc atggttatct tccagatgg ctggaggaca ctctctctga aggaataaga	60
cagttgtgga agctcaaacc tggccacca ccaccaaagc ccgcagagcg gcataaggac	120

gacagcaggg gtttgtgct tcctgggtac aagtacctcg gacccttcaa cggactcgac	180
aaggagagc cggtaacga ggcagacgcc gcccctcg agcacgacaa agcctacgac	240
cgccagctcg acagcggaga caacccgtac ctcaagtaca accacgccga cgcggagttt	300
caggagcgcc ttaagaaga tacgtttt ggggcaacc tcggacgagc agtcttccag	360
gcgaaaaaga gggttttga acctctggc ctggttgagg aacctttaa gacggctcg	420
ggaaaaaaaga gcccggtaga gcactctct gtggagccag actcctctc gggacccgga	480
aaggcgggcc agcagcctgc aagaaaaaga ttgaatttg gtcagactgg agacgcagac	540

tcaatgtttt acccccagcc tctcgacag ccaccaggcag cccctctgg tctggaaact	600
aatacgatgg ctacaggcag tggcgacca atggcagaca ataacgaggg cgccgacgga	660
gtggtaatt cctcggaaa ttggcattgc gattccacat ggtatggcga cagagtcatc	720
accaccagca cccgaacctg gcccctgccc acctacaaca accacctcta caaacaatt	780

tccagccat caggagcctc gaacgacaat cactacttg gctacagcac cccttgggg	840
tattttgact tcaacagatt ccactgccac ttttccacac gtgactggca aagactcatc	900
aacaacaact ggggattccg acccaagaga ctcaacttca agctcttaa cattcaagtc	960
aaagaggta cgccagaatga cggtacgacg acgattgcca ataaccttac cagcacggtt	1020
caggtgttta ctgactcgga gtaccagtc ccgtacgtcc tcggctggc gcatcaagga	1080
tgcctccgc cgttcccagc agacgtcttc atggtgccac agtatggata cctcaccctg	1140
aacaacggga gtcaggcagt aggacgctct tcattttact gcctggagta ctttccttct	1200
cagatgctgc gtacggaaa caacttacc ttcaagctaca ctttgagga cgttccttcc	1260
cacagcagct acgctcacag ccagagctg gaccgtctca tgaatcctct catgaccag	1320
tacctgtatt acttgagcag aacaaacact ccaagtggaa ccaccacgca gtcaaggctt	1380
cagtttctc aggccggagc gagtgacatt cgggaccagt ctaggaactg gcttccttgg	1440
ccctgttacc gccagcagcg agtatcaaag acatctgccc ataacaacaa cagtgaatac	1500
tcgtggactg gagctaccaa gtaccaccc aatggcagag actctctggt gaatccggc	1560
ccggccatgg caagccacaa ggacgatgaa gaaaagttt ttctcagag cggggttctc	1620
atcttggga agcaaggctc agagaaaaca aatgtggaca ttgaaaaggt catgattaca	1680
gacgaagagg aatcaggac aaccaatccc gtggctacgg agcagttatgg ttctgtatct	1740
accaacctcc agagaggcaa cagacaagca gctaccgcag atgtcaacac acaaggcg	1800
cttccaggca tggctggca ggacagagat gtgtaccttc agggcccat ctggcaaaag	1860
attccacaca cggacggaca tttcacccc tctccctca tgggtggatt cggacttaaa	1920
caccctctc cacagattct catcaagaac accccggtaac ctgcgaatcc ttgcaccacc	1980
ttcagtgcgg caaagttgc ttcttcatc acacagttact ccacgggaca ggtcagcgtg	2040
gagatcgagt gggagctgca gaaggaaaac agcaaacgct ggaatcccga aattcagttac	2100
acttccaact acaaacaagtc tggtaatgtg gactttactg tggacactaa tggcggtat	2160
tcagagcctc gccccattgg caccagatac ctgactcgta atctgtaa	2208
<210> 55	
<211> 1866	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> AAV2 Cap	
<400> 55	
atgcggggt ttacgagat tggatggat gtcggccacg accttgacga gcatctgccc	60

ggcattctg acagtttgt gaactgggtg gccgagaagg aatggagtt gccgccagat	120
tctgacatgg atctgaatct gattgagcag gcacccctga ccgtggccga gaagctgcag	180
cgcgacttgc tgacggaatg ggcgcgtgtg agtaaggccc cggaggccct tttcttgc	240
caatttgcgaggagactaattccac atgcacgtgc tcgtggaaac caccgggtg	300
aaatccatgg tttggacg tttctgagt cagattcgca aaaaactgtat tcagagaatt	360
taccgcggga tcgagccgac ttgccaaac tggtcgccg tcacaaagac cagaaatggc	420
cccgaggcggaaacaaggt ggtggatgatgatccatcc ccaattactt gctcccaaa	480
acccagccgtg agctccagtg ggcgtggact aatatggaaac agtatttaag cgcctgttg	540
aatctcacgg agcgtaaacg gttgggtggc cagcatctga cgcacgtgtc gcagacgcag	600
gagcagaaca aagagaatca gaatccaaat tctgatgcgc cggtgatcag atcaaaaact	660
tcagccaggt acatggagct ggtcggtgg ctctggaca aggggattac ctcggagaag	720
cagtggatcc aggaggacca ggcctcatac atctcattca atgcggcctc caactcgccg	780
tcccaaatac aggtgcctt ggacaatgcg ggaaagatta tgaccgtac taaaaccgc	840
cccgactacc tggggcca gcagccgtg gaggacattt ccagcaatcg gatttataaa	900
attttggaaac taaacgggta cgatcccaa tatgcggctt ccgtcttct gggatggcc	960
acgaaaaagt tcggcaagag gaacaccatc tggctgttg ggcctgcaac taccggaaag	1020
accaacatcg cggaggccat agcccacact gtgccttct acgggtgcgt aaactggacc	1080
aatgagaact ttcccttcaa cgactgtgtc gacaagatgg tgatctgggtg ggaggaggg	1140
aagatgaccg ccaaggtcgt ggagtggcc aaagccattc tcggaggaag caaggtgcgc	1200
gtggaccaga aatgcaagtc ctggcccg atagacccga ctccgtat cgtcaccc	1260
aacaccaaca tggcgccgt gattgacggg aactcaacga cttcaaca ccagcagccg	1320
ttgcaagacc ggtgttcaa attgaactc acccgccgtc tggatcatga ctttggaaag	1380
gtcaccaagc aggaagtcaa agacttttc cggtggcaaa aggtcacgt gtttggatgt	1440
gagcatgaat tctacgtcaa aaagggtgaa gccaagaaaa gacccggccc cagtgcacca	1500
gatataagt agcccaaacg ggtgcgcgag tcagttgcgc agccatcgac gtcagacgcg	1560
gaagcttcga tcaactacgc agacaggtac caaaacaaat gttctgtca cgtggcatg	1620
aatctgtatgc tttccctg cagacaatgc gagagaatga atcagaattc aaatatctgc	1680
ttcaactacgc gacagaaaga ctgttttagag tgcttcccg tgcagaatc tcaacccgtt	1740
tctgtcgta aaaaggcgta tcagaaactg tgctacattc atcatatcat gggaaagggtg	1800
ccagacgctt gcactgcctg cgtatgtggact aatgtggatt tggatgactg catcttgc	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 ctgacggtac aggccagaca attattgtct ggtatagtgc agcagcagaa	120
caatttgcgtt agggctattt aggcgcaca gcatctgtt caactcacag tctgggcat	180
caaggcagtc caggcaagaa tcctggctgt ggaaagatac ctaaaggatc aacagctct	240
agatctttt ccctctgcca aaaattatgg ggacatcatg aagcccttg agcatctgac	300
ttctggctaa taaaggaaat ttatttcat tgcaatagtg tggttggatt ttttgtct	360
ctcactcgga aggacatatg ggagggcaaa tcattaaaa catcagaatg agtatttggt	420
ttagagttt gcaacatatg ccatatgtg gctgccatga acaaagggtgg ctataaagag	480
gtcatcagta tatgaaacag cccctgctg tccattcctt attccataga aaaggcttga	540
cttggaggta gatttttttt atatttgtt ttgtgttatt ttttcttta acatccctaa	600
aatttcctt acatgttttta cttagccagat tttcctcctt ctcctgacta ctcccagtca	660
tagctgtccc tttctctta tgaagatccc tcgacactgca gccaagctt ggcgtaatca	720
tggtcatagc ttttcctgt gtgaaattgt tatccgctca caattccaca caacatacga	780
gccggaagca taaagtgtaa agcctgggt gcctaatgag tgagctact cacattaatt	840
gcgttgcgtt cactgcccgc tttccagtcg ggaaacctgt cgtgccagcg gatccgcattc	900
tcaatttagtc agcaaccata gtcccgcccc taactccgccc catcccgccc ctaactccgc	960
ccagttccgc ccattctccg ccccatggct gactaattttt ttttattttt gcagaggccg	1020
aggccgcctc ggcctctgag ctattccaga agtagtgagg aggctttttt ggaggcctag	1080
gcttttgcaa aaagctaact tgtttattgc agcttataat ggtaaaaaat aaagcaatag	1140
catcacaat ttacaaaata aagcattttt ttcactgcat tctagttgtg gtttgtccaa	1200
actcatcaat gtatcttatac acccgaa	1227

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

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

<400> 57

ggcacgagg	acctgaggcc	ctaaaaagcc	agagaccta	ctccggga	gccagcatgt	60
ccactgcgt	ccggaaaac	ccaggctgg	gcagggaaact	ctctgacttt	ggacaggaaa	120
caagctata	tgaagacaac	tgcaatcaa	atggtgccat	atcactgatc	ttctcactca	180
aagaagaat	tggtgcat	gccaaggat	tgcgttatt	tgaggagaat	gatgtaaacc	240
tgacccacat	tgaatctaga	ccttcgtt	taaagaaaga	tgagtatgaa	ttttcaccc	300
atttggataa	acgtggcctg	cctgctctga	caaacatcat	caagatctt	aggcatgaca	360
ttggtgccac	tgtccatgag	ctttcacgag	ataagaagaa	agacacagt	ccctgggtcc	420
caagaaccat	tcaagagctg	gacagattt	ccaatcagat	tctcagctat	ggagcggAAC	480
tggatgtga	ccaccctgg	tttaaagatc	ctgtgtaccg	tgcaagacgg	aagcagt	540
ctgacattgc	ctacaactac	cgccatgggc	agccatccc	tcgagtggaa	tacatggagg	600
aagaaaagaa	aacatggggc	acagtgtca	agactctgaa	gtccttgtat	aaaacccatg	660
cttgctatga	gtacaatcac	attttccac	ttcttgaaaa	gtactgtggc	ttccatgaag	720
ataacattcc	ccagctggaa	gacgttctc	agttcctgca	gacttgact	ggttccgccc	780
tccgacactgt	agtgccctg	ctttcctctc	gggatttt	gggtggctg	gccttccgag	840
tcttccactg	cacacagtac	atcagacatg	gatccaagcc	catgtatacc	cccgAACCTG	900
acatctgcca	ttagctgtt	ggacatgtgc	ccttggttt	agatcgac	tttggccagt	960
tttcccagga	aattggcctt	gcctctctgg	gtgcacctga	tgaatacatt	gaaaagctcg	1020
ccacaattta	ctggttact	gtggagttt	ggctctgcaa	acaaggagac	tccataaagg	1080
catatggtgc	tgggctcctg	tcatcctt	gtgaattaca	gtactgctt	tcagagaagc	1140
caaagcttct	ccccctggag	ctggagaaga	cagccatcca	aaattacact	gtcacggagt	1200
tccagccct	gtattacgt	gcagagagtt	ttaatgatgc	caaggagaaa	gtaaggaact	1260
ttgctgccac	aatacctcg	cccttctcag	ttcgctacga	cccatacacc	caaaggattt	1320
aggtcttgg	caataccag	cagcttaaga	ttttggctga	ttccatttaac	agtgaaattt	1380
gaatcctt	cagtgcctc	cagaaaataa	agtaaagcca	tggacagaat	gtggctgtc	1440
agctgtgaat	ctgttgatgg	agatccaact	atttcttca	tcagaaaaag	tccgaaaagc	1500
aaaccttaat	ttgaaataac	agccttaat	ccttacaag	atggagaaac	aacaaataag	1560
tcaaaataat	ctgaaatgac	aggatatgag	tacatactca	agagcataat	ggtaaatctt	1620
ttggggtcat	cttgattta	gagatgataa	tcccatactc	tcaatttgagt	taaatcgtat	1680
atctgtcga	tttcatcaag	attaattaaa	atttgggacc	tgcttcattc	aagcttcata	1740

tatgcttc agagaactca taaaggagca tataaggcta aatgtaaaac ccaagactgt	1800
cattagaatt gaattattgg gcttaatata aatcgtaacc tatgaagttt atttttatt	1860
ttagttact atgattccaa ttactacttt gttattgtac ctaagtaaat tttcttaag	1920
tcagaagccc ataaaaatag ttacaagcat tgaacttctt tagtattata ttaatataaa	1980

aacattttg tatgtttat tgaatcata aatactgctg tataaggtaa taaaactctg	2040
cacctaattcc ccataacttc cagtttttattt ttccaattaa ttatcaagtc tggtttggaa	2100
aacacttga ggacattttt gatgcagcag atgttgacta aaggcttggt tggttagat	2160
tcagggaaatg ttactgaat aaataagtaa atacattttt gaaaagcaaa tctgtataaa	2220
tgtggaaattt ttattttat tagtaataaa acatttagtag tttaaacaaa aaaaaaaaaa	2280
aaaaaaaaaaa aaaaaaaaaact 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 ctccggggaa gccagcatgt	60
ccactgcgggt cctggaaaac ccaggcttgg gcaggaaact ctctgacttt ggacaggaaa	120
caagctatat tgaagacaac tgcaatcaaa atggtgcattt atcactgtatc ttctcactca	180
aagaagaagt tgggcatttgc gccaaagtat tgcgcttatt tgaggagaat gatgtaaacc	240
tgacccacat tgaatctaga ctttcgtt taaagaaga tgagtatgaa ttttcaccc	300
atttggataaa acgtgcctg cctgctctga caaacatcat caagatcttggccatgaca	360

ttgggtccac tggccatgag ctttcacgag ataagaagaa agacacagtg ccctgggtcc	420
caagaaccat tcaagagctg gacagatttgc ccaatcagat tctcagctat ggagcggaaac	480
tggatgctga ccaccctgggt ttaaagatc ctgtgtaccg tgcaagacgg aagcagtttgc	540
ctgacattgc ctacaactac cgccatgggc agcccatccc tcgagtgaa tacatggagg	600
aagaaaagaa aacatggggc acagtgttca agactctgaa gtccttgat aaaaacccatg	660
cttgctatga gtacaatcac attttccac ttcttgaaaa gtactgtggc ttccatgaag	720
ataacattcc ccagctggaa gacgtttctc agttctgca gacttgcact ggttccggcc	780

tccgacctgt agctggcctg ctttcctctc gggatttctt ggggtggcctg gccttccgag	840
tcttccactg cacacagtac atcagacatg gatccaagcc catgtataacc cccgaacctg	900

acatctgcgc	tgagctgttg	ggacatgtgc	ccttgcgttc	agatcgccgc	tttgcggcgt	960
tttcccagga	aattggccct	gcctctctgg	gtgcacctga	tgaatacatt	gaaaagctcg	1020
ccacaattta	ctggttact	gtggagtttgc	ggctctgcaa	acaaggagac	tccataaagg	1080
catatggtgc	tgggctcctg	tcatccttgc	gtgaattaca	gtactgctta	tcagagaagc	1140
caaagcttct	ccccctggag	ctggagaaga	cagccatcca	aaattacact	gtcacggagt	1200
tccagccccct	gtattacgtgc	gcagagagtt	ttaatgatgc	caaggagaaaa	gtaaggaaact	1260
ttgctgccac	aataccctgg	cccttctcag	ttcgctacga	cccatacacc	caaaggattg	1320
aggcttggca	caataccccag	cagcttaaga	tttggctga	ttccattaac	agtgaaattg	1380
gaatcccttg	cagtgcctc	cagaaaaataa	agtaaagccat	tggacagaat	gtggctgtc	1440
agctgtgaat	ctgttgatgg	agatccaaact	atttctttca	tcaaaaaaag	tccgaaaagc	1500
aaaccttaat	ttgaaataaac	agccttaat	ccttacaag	atggagaaac	aacaaataaag	1560
tcaaaataat	ctgaaatgac	aggatgtgag	tacatactca	agagcataat	ggtaaatctt	1620
ttggggtcat	cttgcgttta	gagatgataa	tccctactc	tcaattggat	taaatcgtat	1680
atctgtcgca	tttcatcaag	atta				1704