(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2023년12월05일
(11) 등록번호 10-2609667
(24) 등록일자 2023년11월30일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C12N 15/86 (2006.01) *A61K 38/00* (2006.01)
A61K 39/00 (2006.01) *A61K 48/00* (2006.01)
C07K 14/485 (2006.01) *C07K 16/10* (2006.01)
C07K 16/28 (2006.01) *C07K 16/32* (2006.01)
C12N 15/113 (2010.01)
(52) CPC특허분류
C12N 15/86 (2013.01)
A61K 38/00 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2019-7000296
(22) 출원일자(국제) 2017년06월07일
심사청구일자 2020년06월02일
(85) 번역문제출일자 2019년01월04일
(65) 공개번호 10-2019-0023065
(43) 공개일자 2019년03월07일
(86) 국제출원번호 PCT/US2017/036433
(87) 국제공개번호 WO 2017/214327
국제공개일자 2017년12월14일
(30) 우선권주장
62/347,552 2016년06월08일 미국(US)
(뒷면에 계속)
(56) 선행기술조사문헌
US06635472 B1*
US20070026521 A1
US20040214158 A1
US20140336245 A1
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
아메리칸 진 테크놀로지스 인터내셔널 인코포레이티드
미국 20850 메릴랜드 록빌 키 웨스트 애비뉴 9713 5플로어
(72) 발명자
파우자 찰스 데이비드
미국 20850 메릴랜드주 록빌 브로스차트 로드 15010 넘버110
라우센 타일러
미국 20850 메릴랜드주 록빌 브로스차트 로드 15010 넘버110
(74) 대리인
특허법인코리아나

전체 청구항 수 : 총 41 항 심사관 : 손영희

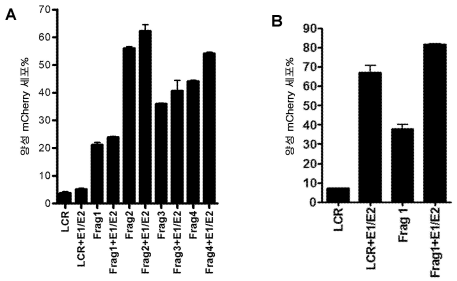
(54) 발명의 명칭 **비통합성 바이러스 전달 시스템 및 이와 관련된 방법**

(57) 요 약

비통합성 바이러스 전달 시스템이 개시된다. 시스템은 바이러스 운반체를 포함하고, 여기서 바이러스 운반체는 결함성 인테그라제 유전자, 이종성 바이러스 에피솜의 복제 기원; 이종성 바이러스 에피솜의 복제 기원에 특이적인 적어도 하나의 개시인자 단백질을 코딩하는 서열로서, 이종성 바이러스 에피솜의 DNA 복제 기원에 특이적

(뒷면에 계속)

대 표 도



인 적어도 하나의 개시인자 단백질을 코딩하는 서열의 발현은 유도성인 서열; 및 적어도 하나의 유전자, 유전자 산물, shRNA, siRNA, miRNA, 또는 다른 관심 RNA를 함유한다.

(52) CPC특허분류
A61K 48/0008 (2013.01)
C07K 14/485 (2013.01)
C07K 16/10 (2023.08)
C07K 16/2863 (2013.01)
C07K 16/32 (2013.01)
C12N 15/1138 (2013.01)
C12N 2310/141 (2013.01)
C12N 2710/20022 (2013.01)
C12N 2740/16043 (2013.01)

(30) 우선권주장
62/431,760 2016년12월08일 미국(US)
PCT/US2016/066185 2016년12월12일 미국(US)

명 세 서

청구범위

청구항 1

비통합성 바이러스 전달 시스템으로서, 시스템은

바이러스 운반체로서, 결함성 인테그라제 유전자를 함유하는 것인 바이러스 운반체;

5' 절단된 제16형 인간 파필로마바이러스 (HPV16) 긴 제어 영역 (LCR)을 포함하는 이종성 인간 파필로마바이러스 (HPV) 바이러스 에피솜의 DNA 복제 기원;

이종성 바이러스 에피솜의 DNA 복제 기원에 특이적인 적어도 하나의 개시인자 단백질을 코딩하는 제1 서열로서, 적어도 하나의 개시인자 단백질은 E1, E1-C, E2, E2-11, E1-T2A-E2 및 EBNA-1 에서 선택되고, 제1 서열의 발현은 유도성인 서열; 및

적어도 하나의 유전자, 유전자 산물, shRNA, siRNA, miRNA, 또는 다른 대상 RNA를 코딩하는 제2 서열

을 포함하며,

적어도 하나의 개시인자 단백질은 발현되었을 때 제2 서열의 발현을 조절하는 기능을 하고,

5' 절단된 HPV16 LCR 은 하기에서 선택되는 서열을 포함하는 것인 비통합성 바이러스 전달 시스템:

a) 3 개의 AP1 결합 부위, 1 개의 E1 결합 부위, 4 개의 E2 결합 부위 및 1 개의 YY1 결합 부위를 포함하는 서열,

b) 2 개의 AP1 결합 부위, 1 개의 E1 결합 부위 및 3 개의 E2 결합 부위를 포함하는 서열,

c) 1 개의 E1 결합 부위 및 3 개의 E2 결합 부위를 포함하는 서열, 및

d) 1 개의 E1 결합 부위 및 2 개의 E2 결합 부위를 포함하는 서열;

여기서, 결합 부위는 이의 임의의 기능성 엘리먼트를 포함함.

청구항 2

제1항에 있어서, 바이러스 운반체는 렌티바이러스인 비통합성 바이러스 전달 시스템.

청구항 3

삭제

청구항 4

삭제

청구항 5

삭제

청구항 6

삭제

청구항 7

삭제

청구항 8

삭제

청구항 9

제1항에 있어서, 5' 절단된 HPV16 LCR은 서열번호 1의 적어도 약 200개 뉴클레오티드의 5' 절단형, 서열번호 1의 적어도 약 300개 뉴클레오티드의 5' 절단형, 서열번호 1의 적어도 약 400개 뉴클레오티드의 5' 절단형, 서열번호 1의 적어도 약 500개 뉴클레오티드의 5' 절단형, 서열번호 1의 적어도 약 600개 뉴클레오티드의 5' 절단형, 또는 서열번호 1의 적어도 약 700개 뉴클레오티드의 5' 절단형 중 적어도 하나를 포함하는 것인 비통합성 바이러스 전달 시스템.

청구항 10

삭제

청구항 11

제1항에 있어서, 5' 절단된 HPV16 LCR은 Frag 1 (서열번호 2), Frag 2 (서열번호 3), Frag 3 (서열번호 4), 또는 Frag 4 (서열번호 5)를 포함하는 것인 비통합성 바이러스 전달 시스템.

청구항 12

제1항에 있어서, 이종성 바이러스 에피솜의 DNA 복제 기원에 특이적인 적어도 하나의 개시인자 단백질은 E1을 포함하는 것인 비통합성 바이러스 전달 시스템.

청구항 13

제1항에 있어서, 이종성 바이러스 에피솜의 DNA 복제 기원에 특이적인 적어도 하나의 개시인자 단백질은 E2를 포함하는 것인 비통합성 바이러스 전달 시스템.

청구항 14

제1항에 있어서, 이종성 바이러스 에피솜의 DNA 복제 기원에 특이적인 적어도 하나의 개시인자 단백질은 EBNA-1을 포함하는 것인 비통합성 바이러스 전달 시스템.

청구항 15

제1항에 있어서, 시스템은 이종성 바이러스 에피솜의 DNA 복제 기원에 특이적인 적어도 2종의 개시인자 단백질을 포함하는 것인 비통합성 바이러스 전달 시스템.

청구항 16

제15항에 있어서, 이종성 바이러스 에피솜의 DNA 복제 기원에 특이적인 적어도 2종의 개시인자 단백질은 E1 및 E2인 비통합성 바이러스 전달 시스템.

청구항 17

제1항에 있어서, 적어도 하나의 개시인자 단백질을 코딩하는 서열은 단일 개별 플라스미드 또는 비통합 바이러스 벡터 상에 존재하는 것인 비통합성 바이러스 전달 시스템.

청구항 18

제1항에 있어서, 시스템은 이종성 바이러스 에피솜의 DNA 복제 기원에 특이적인 적어도 2종의 개시인자 단백질을 포함하고, 적어도 2종의 개시인자 단백질을 코딩하는 서열은 단일 개별 플라스미드 또는 비통합 바이러스 벡터 상에 존재하는 것인 비통합성 바이러스 전달 시스템.

청구항 19

제1항에 있어서, 시스템은 이종성 바이러스 에피솜의 DNA 복제 기원에 특이적인 적어도 2종의 개시인자 단백질을 포함하고, 제1 개시인자 단백질에 대한 서열 및 제2 개시인자 단백질에 대한 서열은 개별 플라스미드 또는 비통합 바이러스 벡터 상에 존재하는 것인 비통합성 바이러스 전달 시스템.

청구항 20

제1항에 있어서, 적어도 하나의 유전자 산물은 항체, 항체 단편, 또는 성장 인자를 포함하는 것인 비통합성 바이러스 전달 시스템.

청구항 21

제1항에 있어서, miRNA는 CCR5 miRNA를 포함하는 것인 비통합성 바이러스 전달 시스템.

청구항 22

제1항의 비통합성 바이러스 전달 시스템 및 적어도 하나의 약학적으로 허용가능한 담체를 포함하는 약학 조성물.

청구항 23

세포에서 적어도 하나의 유전자, 유전자 산물, shRNA, siRNA, miRNA, 또는 다른 대상 RNA를 발현하는 방법에 사용하기 위한 비통합성 바이러스 전달 시스템으로서, 방법은

세포를 비통합성 바이러스 전달 시스템의 유효량과 접촉시키는 단계를 포함하고, 여기서 시스템은

바이러스 운반체로서, 결함성 인테그라제 유전자를 함유하는 것인 바이러스 운반체;

5' 절단된 제16형 인간 파필로마바이러스 (HPV16) 긴 제어 영역 (LCR)을 포함하는 이종성 인간 파필로마바이러스 (HPV) 바이러스 에피솜의 DNA 복제 기원;

이종성 바이러스 에피솜의 DNA 복제 기원에 특이적인 적어도 하나의 개시인자 단백질을 코딩하는 제1 서열로서, 적어도 하나의 개시인자 단백질은 E1, E1-C, E2, E2-11, E1-T2A-E2 및 EBNA-1 에서 선택되고, 제1 서열의 발현은 유도성인 서열; 및

적어도 하나의 유전자, 유전자 산물, shRNA, siRNA, miRNA, 또는 다른 대상 RNA 를 코딩하는 제2 서열

을 포함하며,

적어도 하나의 개시인자 단백질은 발현되었을 때 제2 서열의 발현을 조절하는 기능을 하고,

5' 절단된 HPV16 LCR 은 하기에서 선택되는 서열을 포함하는 것인, 비통합성 바이러스 전달 시스템:

a) 3 개의 AP1 결합 부위, 1 개의 E1 결합 부위, 4 개의 E2 결합 부위 및 1 개의 YY1 결합 부위를 포함하는 서열,

b) 2 개의 AP1 결합 부위, 1 개의 E1 결합 부위 및 3 개의 E2 결합 부위를 포함하는 서열,

c) 1 개의 E1 결합 부위 및 3 개의 E2 결합 부위를 포함하는 서열, 및

d) 1 개의 E1 결합 부위 및 2 개의 E2 결합 부위를 포함하는 서열;

여기서, 결합 부위는 이의 임의의 기능성 엘리먼트를 포함함.

청구항 24

적어도 하나의 유전자, 유전자 산물, shRNA, siRNA, miRNA, 또는 다른 대상 RNA를 이의 발현을 필요로 하는 대상체에서 발현시키는 방법에 사용하기 위한 비통합성 바이러스 전달 시스템으로서, 방법은

비통합성 바이러스 전달 시스템의 유효량을 이를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 단계를 포함하고, 여기서 시스템은

바이러스 운반체로서, 결함성 인테그라제 유전자를 함유하는 것인 바이러스 운반체;

5' 절단된 제16형 인간 파필로마바이러스 (HPV16) 긴 제어 영역 (LCR)을 포함하는 이종성 인간 파필로마바이러스 (HPV) 바이러스 에피솜의 복제 기원;

이종성 바이러스 에피솜의 DNA 복제 기원에 특이적인 적어도 하나의 개시인자 단백질을 코딩하는 제1 서열로서, 적어도 하나의 개시인자 단백질은 E1, E1-C, E2, E2-11, E1-T2A-E2 및 EBNA-1 에서 선택되고, 제1 서열의 발현은 유도성인 서열; 및

적어도 하나의 유전자, 유전자 산물, shRNA, siRNA, miRNA, 또는 다른 대상 RNA 를 코딩하는 제2 서열

을 포함하며,

적어도 하나의 개시인자 단백질은 발현되었을 때 제2 서열의 발현을 조절하는 기능을 하고,

5' 절단된 HPV16 LCR 은 하기에서 선택되는 서열을 포함하는 것인, 비통합성 바이러스 전달 시스템:

a) 3 개의 AP1 결합 부위, 1 개의 E1 결합 부위, 4 개의 E2 결합 부위 및 1 개의 YY1 결합 부위를 포함하는 서열,

b) 2 개의 AP1 결합 부위, 1 개의 E1 결합 부위 및 3 개의 E2 결합 부위를 포함하는 서열,

c) 1 개의 E1 결합 부위 및 3 개의 E2 결합 부위를 포함하는 서열, 및

d) 1 개의 E1 결합 부위 및 2 개의 E2 결합 부위를 포함하는 서열;

여기서, 결합 부위는 이의 임의의 기능성 엘리먼트를 포함함.

청구항 25

제24항에 있어서, 적어도 하나의 개시인자 단백질을 코딩하는 서열은 단일 개별 플라스미드 상에 존재하고, 적어도 하나의 개시인자 단백질은 E1 또는 E2인, 비통합성 바이러스 전달 시스템.

청구항 26

제25항에 있어서, 상기 방법은 적어도 하나의 유전자, 유전자 산물, shRNA, siRNA, miRNA, 또는 다른 대상 RNA의 제1 발현 수준을 개시하기 위해 단일 개별 플라스미드의 제1 양을 이를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 단계를 더 포함하는 것인, 비통합성 바이러스 전달 시스템.

청구항 27

제26항에 있어서, 상기 방법은 적어도 하나의 유전자, 유전자 산물, shRNA, siRNA, miRNA, 또는 다른 대상 RNA의 제2 발현 수준을 개시하기 위해 단일 개별 플라스미드의 제2 양을 이를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 단계를 더 포함하는 것인, 비통합성 바이러스 전달 시스템.

청구항 28

제27항에 있어서, 제2 양은 제1 양 미만이고, 적어도 하나의 유전자, 유전자 산물, shRNA, siRNA, miRNA, 또는 다른 대상 RNA의 발현 수준은 감소되는 것인, 비통합성 바이러스 전달 시스템.

청구항 29

제27항에 있어서, 제2 양은 제1 양을 초과하고, 적어도 하나의 유전자, 유전자 산물, shRNA, siRNA, miRNA, 또는 다른 대상 RNA의 발현 수준은 증가되는 것인, 비통합성 바이러스 전달 시스템.

청구항 30

유전자, 유전자 산물, shRNA, siRNA, miRNA, 또는 다른 대상 RNA의 발현을 유도하는 방법에 사용하기 위한 비통합성 바이러스 전달 시스템으로서,

바이러스 운반체로서, 결함성 인테그라제 유전자를 함유하는 것인 바이러스 운반체;

1사분면 인자, 2사분면 인자, 3사분면 인자, 및 4사분면 인자 중 적어도 하나;

이종성 바이러스 에피솜의 DNA 복제 기원에 특이적인 적어도 하나의 개시인자 단백질을 코딩하는 제1 서열로서, 적어도 하나의 개시인자 단백질은 E1, E1-C, E2, E2-11, E1-T2A-E2 및 EBNA-1 에서 선택되고, 제1 서열의 발현은 유도성인 서열; 및

적어도 하나의 유전자, 유전자 산물, shRNA, siRNA, miRNA, 또는 다른 대상 RNA를 코딩하는 제2 서열

을 포함하고,

1사분면 인자는 제1 5' 절단된 제16형 인간 파필로마바이러스 (HPV16) 긴 제어 영역 (LCR)을 포함하고,

2사분면 인자는 적어도 하나의 개시인자 단백질 및 제2 5' 절단된 HPV16 LCR을 포함하고,

3사분면 인자는 적어도 하나의 개시인자 단백질, 및 제3 5' 절단된 HPV16 LCR을 포함하고,

4사분면 인자는 제4 5' 절단된 HPV16 LCR 을 포함하고,

적어도 하나의 개시인자 단백질은 발현되었을 때 제2 서열의 발현을 조절하는 기능을 하고,

제1 또는 제2 5' 절단된 HPV16 LCR 은 하기에서 선택되는 서열을 포함하고:

a) 2 개의 AP1 결합 부위, 1 개의 E1 결합 부위 및 3 개의 E2 결합 부위를 포함하는 서열,

b) 1 개의 E1 결합 부위 및 3 개의 E2 결합 부위를 포함하는 서열, 및

c) 1 개의 E1 결합 부위 및 2 개의 E2 결합 부위를 포함하는 서열; 및

제3 또는 제4 5' 절단된 HPV16 LCR 은, 3 개의 AP1 결합 부위, 1 개의 E1 결합 부위, 4 개의 E2 결합 부위 및 1 개의 YY1 결합 부위를 코딩하는 서열을 포함하고,

여기서, 결합 부위는 이의 임의의 기능성 엘리먼트를 포함하는 것인, 비통합성 바이러스 전달 시스템.

청구항 31

제30항에 있어서, 제1 5' 절단된 HPV16 LCR 및 제2 5' 절단된 HPV16 LCR 중 적어도 하나는 API 전사 인자 결합 부위 또는 이의 임의의 일부분을 결여하는 것인, 비통합성 바이러스 전달 시스템.

청구항 32

제30항에 있어서, 제1 5' 절단된 HPV16 LCR 및 제2 5' 절단된 HPV16 LCR 중 적어도 하나는 하나 이하의 API 전사 인자 결합 부위 또는 이의 일부분을 포함하는 것인, 비통합성 바이러스 전달 시스템.

청구항 33

제30항에 있어서, 제1 5' 절단된 HPV16 LCR 및 제2 5' 절단된 HPV16 LCR 중 적어도 하나는 둘 이하의 API 전사 인자 결합 부위 또는 이의 일부분을 포함하는 것인, 비통합성 바이러스 전달 시스템.

청구항 34

삭제

청구항 35

제30항에 있어서, 제1 5' 절단된 HPV16 LCR 및 제2 5' 절단된 HPV16 LCR 중 적어도 하나는 약 200 염기쌍 미만의 길이를 포함하는 것인, 비통합성 바이러스 전달 시스템.

청구항 36

제30항에 있어서, 제1 5' 절단된 HPV16 LCR 및 제2 5' 절단된 HPV16 LCR 중 적어도 하나는 약 200 염기쌍 내지 약 300 염기쌍의 길이를 포함하는 것인, 비통합성 바이러스 전달 시스템.

청구항 37

제30항에 있어서, 제1 5' 절단된 HPV16 LCR 및 제2 5' 절단된 HPV16 LCR 중 적어도 하나는 약 300 염기쌍 내지 약 550 염기쌍의 길이를 포함하는 것인, 비통합성 바이러스 전달 시스템.

청구항 38

제30항에 있어서, 제3 5' 절단된 HPV16 LCR 및 제4 5' 절단된 HPV16 LCR 중 적어도 하나는 약 550 염기쌍 내지 약 750 염기쌍의 길이를 포함하는 것인, 비통합성 바이러스 전달 시스템.

청구항 39

삭제

청구항 40

제30항에 있어서, 제1 5' 절단된 HPV16 LCR 및 제2 5' 절단된 HPV16 LCR 중 적어도 하나는 서열번호 3, 서열번호 4, 및 서열번호 5 중 임의의 하나를 포함하는 것인, 비통합성 바이러스 전달 시스템.

청구항 41

삭제

청구항 42

제30항에 있어서, 제3 5' 절단된 HPV16 LCR, 또는 제4 5' 절단된 HPV16 LCR 중 적어도 하나는 서열번호 2를 포함하는 것인, 비통합성 바이러스 전달 시스템.

청구항 43

필요로 하는 대상체에서 질병을 치료하는 방법에 사용하기 위한 비통합성 바이러스 전달 시스템으로서,

상기 방법은, 제30항 내지 제33항, 제35항 내지 제38항, 제40항 및 제42항 중 어느 한 항의 비통합성 바이러스 전달 시스템의 유효량을 이를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 비통합성 바이러스 전달 시스템.

청구항 44

제43항에 있어서, 1사분면 인자 또는 2사분면 인자를 포함하는 바이러스 전달 시스템은 제1 유전자 카고를 더 포함하고, 3사분면 인자 또는 4사분면 인자를 포함하는 바이러스 전달 시스템은 제2 유전자 카고를 더 포함하는 것인, 비통합성 바이러스 전달 시스템.

청구항 45

제44항에 있어서, 상기 방법은 세포를 1사분면 인자를 포함하는 바이러스 전달 시스템과 접촉시키는 단계를 포함하여, 세포 당 약 0.02 초과의 제1 유전자 카고의 기초 에피솜 카피수를 초래하는 것인, 비통합성 바이러스 전달 시스템.

청구항 46

제44항에 있어서, 상기 방법은 세포를 4사분면 인자를 포함하는 바이러스 전달 시스템과 접촉시키는 단계를 포함하여, 세포 당 약 0.02 미만의 제2 유전자 카고의 기초 에피솜 카피수를 초래하는 것인, 비통합성 바이러스 전달 시스템.

청구항 47

제30항에 있어서, 유전자, 유전자 산물, shRNA, siRNA, miRNA, 또는 다른 대상 RNA의 발현의 유도는 치료 과정 또는 생리학적 결과 중 적어도 하나를 포함하는 것인, 비통합성 바이러스 전달 시스템.

청구항 48

제30항에 있어서, 1사분면 인자는 유전자 편집 또는 안전성 연구 중 적어도 하나에 사용되는 것인, 비통합성 바이러스 전달 시스템.

청구항 49

제30항에 있어서, 2사분면 인자는 세포 리프로그래밍, 장시간 작용성 성장 인자, 또는 체크포인트 억제 중 적어도 하나에 사용되는 것인, 비통합성 바이러스 전달 시스템.

청구항 50

제30항에 있어서, 3사분면 인자는 수동 면역, 면역 자극, 또는 전사/분화 인자 중 적어도 하나를 초래하는 것인, 비통합성 바이러스 전달 시스템.

청구항 51

제30항에 있어서, 4사분면 인자는 위약 대조군 또는 용량 상승 중 적어도 하나에 사용되는 것인, 비통합성 바이러스 전달 시스템.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] **관련 출원에 대한 교차 참조**

[0002] 본 출원은 그 개시내용이 참조로 본 명세서에 편입되는 "비통합성 바이러스 전달 시스템 및 이의 사용 방법"이라는 발명의 명칭으로 2016년 6월 8일 출원된 미국 가출원 제62/347,552호, "비통합성 바이러스 전달 시스템 및 이와 관련된 방법"이라는 발명의 명칭으로 2016년 12월 8일 출원된 미국 가출원 제62/431,760호, 및 "비통합성 바이러스 전달 시스템 및 이와 관련된 방법"이라는 발명의 명칭으로 2016년 12월 12일 출원된 국제 특허 출원 PCT/US16/66185에 대해 우선권을 청구한다.

[0003] **분야**

[0004] 본 개시내용은 대체로 유전자의 전달 및 다른 치료, 진단 또는 연구 용도를 위한 바이러스 벡터 및 시스템의 분야에 관한 것이다. 보다 구체적으로, 본 개시내용의 구체예는 유전자의 전달 및 다른 치료, 진단 또는 연구 용도를 위한 비통합성 바이러스 벡터 및 시스템에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0005] 바이러스 벡터는 그들의 특이적 바이러스 엔벨로프-숙주 세포 수용체 상호작용 및 유전자 발현을 위한 바이러스 기전때문에 표적 세포로 유전자 및 다른 치료적 핵산 구성체를 형질도입시키는데 사용되어 왔다. 그 결과로서, 바이러스 벡터는 제한없이, 단리된 조직 샘플, 제자리 조직 표적 및 배양된 세포주를 포함하는 많은 상이한 세포 유형으로 유전자의 전달을 위한 비히클로서 사용되고 있다. 세포로 외래 유전자를 도입시켜 발현시키는 능력은 유전자 발현 및 세포 계통 및 경로의 해명을 비롯하여 치료적 중재술 예컨대 유전자 요법 및 다양한 유형의 면역요법에 대한 잠재성을 제공하는 연구에서 유용하다.

[0006] 렌티바이러스, 쥣과동물 레트로바이러스, 아데노바이러스 및 아데노-연합 바이러스를 포함한 몇몇 바이러스 시스템은 잠재적인 치료적 유전자 전달 벡터로서 제안되었다. 그러나, 많은 장애가 승인된 치료제로서 이들의 활발한 이용을 방해하였다. 연구 및 개발 장애는 제한없이, 발현의 안정성 및 제어, 게놈 패키징 능력, 및 구성체-의존적 벡터 안정성을 포함한다. 또한, 바이러스 벡터의 생체내 적용은 유해한 항-벡터 면역학적 효과를 초래할 수 있는, 바이러스 구조 단백질 및/또는 형질도입 유전자 산물에 대한 숙주 면역 반응에 의해 제한될 수 있다.

[0007] 연구자들은 이들 장애의 일부를 극복하려는 방식으로 안정한 발현 시스템을 찾고자 시도하고 있다. 한 접근법은 이러한 발현 시스템으로, 소형 RNA를 포함하여, 재조합 폴리펩티드 또는 유전자 조절 분자를 이용한다. 이들 시스템은 숙주 세포의 게놈으로 형질도입된 레트로바이러스 게놈 또는 적어도 이의 일부분의 염색체 통합을 채택한다. 이들 접근법의 중요한 한계는 유전자 통합 부위가 일반적으로 무작위적이고 임의의 특정한 부위에서 통합되는 유전자의 수 및 비율이 종종 예측불가능하다는 것이다. 따라서, 염색체 통합에 의존하는 벡터는 치료 간격을 초과할 수 있는 재조합 유전자의 영구적인 유지를 초래하고, 플라스미드 또는 다른 비복제성 DNA가 불충분하게 제어되고 바람직한 치료 간격을 완료하기 전에 붕괴될 수 있다.

[0008] 다른 접근법은 일시적 발현 시스템의 사용이다. 일시적 발현 시스템 하에서, 관심 유전자의 발현은 비통합성 플라스미드를 기반으로 하며, 그런 이유로 발현은 전형적으로 세포가 후속 분열을 겪으면서 상실되거나 또는 플라스미드 벡터가 내생성 뉴클레아제에 의해 파괴된다. 따라서, 일시적 유전자 발현 시스템은 전형적으로 시간 경과에 따라 충분한 발현을 야기하지 않고 전형적으로 반복된 치료를 요구하며, 이것은 일반적으로 바람직하지 않은 특성으로 이해된다.

발명의 내용

[0009] 안정한 바이러스 전달 시스템 및 방법이 제공된다. 다양한 양상에서, 전달 시스템은 일시적 발현 시스템을 포함한다. 일 양상에 따라서, 전달 시스템은 비통합성이다. 다른 양상에서 전달 시스템은 비통합적이고

일시적이다.

[0010] 다양한 양상 및 구체예에서, 시스템은 다양하게 바이러스 운반체 중 하나 또는 전부를 포함하고, 여기서 바이러스 운반체는 결함성 인테그라제 유전자; 이종성 바이러스 에피솜의 DNA 복제 기원; 이종성 바이러스 에피솜의 DNA 복제 기원에 특이적인 적어도 하나의 개시인자 단백질을 코딩하는 서열로서, 이종성 바이러스 에피솜의 DNA 복제 기원에 특이적인 적어도 하나의 개시인자 단백질을 코딩하는 서열의 발현은 유도성인 서열; 및 적어도 하나의 유전자, 유전자 산물, shRNA, siRNA, miRNA, 또는 다른 관심 RNA를 함유한다. 바이러스 운반체는 렌티바이러스일 수 있다. 이종성 바이러스 에피솜의 DNA 복제 기원은 파필로마바이러스 유래일 수 있다. 이종성 바이러스 에피솜의 DNA 복제 기원은 인간 파필로마바이러스 또는 소 파필로마바이러스 유래일 수 있다.

[0011] 이종성 바이러스 에피솜의 DNA 복제 기원은 제16형 인간 파필로마바이러스 (HPV16) 유래일 수 있다. 이종성 바이러스 에피솜의 DNA 복제 기원은 HPV16의 긴 제어 영역 (LCR) 유래일 수 있다. 이종성 바이러스 에피솜의 DNA 복제 기원은 서열번호 1을 포함할 수 있다. 임의로, 이종성 바이러스 에피솜의 DNA 복제 기원은 서열번호 1의 5' 절단형을 포함할 수 있다. 이종성 바이러스 에피솜의 DNA 복제 기원은 서열번호 1의 적어도 약 200개 뉴클레오티드, 또는 적어도 약 300개 뉴클레오티드, 또는 적어도 약 400개 뉴클레오티드, 또는 적어도 약 500개 뉴클레오티드, 또는 적어도 약 600개 뉴클레오티드, 또는 적어도 약 700개 뉴클레오티드의 5' 절단형을 포함할 수 있다. 이종성 바이러스 에피솜의 DNA 복제 기원은 HPV16의 LCR의 Frag 1 (서열번호 2) (본 명세서에서 단편 1이라고도 함), 또는 Frag 2 (서열번호 3) (본 명세서에서 단편 2라고도 함), 또는 Frag 3 (서열번호 4) (본 명세서에서 단편 3이라고도 함), 또는 Frag 4 (서열번호 5) (본 명세서에서 단편 4라고도 함)와 적어도 약 80% 서열 동일성, 또는 적어도 약 85% 서열 동일성, 또는 적어도 약 90% 서열 동일성, 또는 적어도 약 95% 서열 동일성, 또는 적어도 약 98% 서열 동일성을 포함할 수 있다. 이종성 바이러스 에피솜의 DNA 복제 기원은 HPV16의 LCR의 Frag 1 (서열번호 2), 또는 Frag 2 (서열번호 3), 또는 Frag 3 (서열번호 4), 또는 Frag 4 (서열번호 5)를 포함할 수 있다.

[0012] 이종성 바이러스 에피솜의 DNA 복제 기원에 특이적인 적어도 하나의 개시인자 단백질은 E1 또는 이의 작동성 단편을 포함할 수 있다. 이종성 바이러스 에피솜의 DNA 복제 기원에 특이적인 적어도 하나의 개시인자 단백질은 E2 또는 이의 작동성 단편을 포함할 수 있다. 이종성 바이러스 에피솜의 DNA 복제 기원에 특이적인 적어도 하나의 개시인자 단백질은 EBNA-1 또는 이의 작동성 단편을 포함할 수 있다. 임의로, 시스템은 이종성 바이러스 에피솜의 복제 기원에 특이적인 적어도 2종의 개시인자 단백질을 포함할 수 있다. 이종성 바이러스 에피솜의 DNA 복제 기원에 특이적인 적어도 2종의 개시인자 단백질은 단독으로 또는 조합하여 E1 또는 E2, 또는 이의 작동성 단편을 포함할 수 있다. 적어도 하나의 개시인자 단백질을 코딩하는 서열은 단일 개별 플라스미드 또는 비통합성 바이러스 벡터 상에 존재할 수 있다. 임의로, 시스템은 이종성 바이러스 에피솜의 DNA 복제 기원에 특이적인 적어도 2종의 개시인자 단백질을 포함할 수 있고, 여기서 적어도 2종의 개시인자 단백질을 코딩하는 서열은 단일 개별 플라스미드 또는 비통합성 바이러스 벡터 상에 존재할 수 있다. 임의로, 시스템은 이종성 바이러스 에피솜의 DNA 복제 기원에 특이적인 적어도 2종의 개시인자 단백질을 포함할 수 있고, 여기서 제1 개시인자 단백질에 대한 서열 및 제2 개시인자 단백질에 대한 서열은 별개 플라스미드 또는 비통합성 바이러스 벡터 상에 존재할 수 있다.

[0013] 개시된 비통합성 바이러스 전달 시스템과 관련하여, 적어도 하나의 유전자 산물은 항체, 항체 단편, 또는 성장 인자를 포함할 수 있다. 항체는 항-HER2 항체 또는 이의 단편을 포함할 수 있다. 성장 인자는 혈관 내피 성장 인자 (VEGF) 또는 이의 변이체를 포함할 수 있다. miRNA는 CCR5 miRNA를 포함할 수 있다.

[0014] 다른 양상에서, 약학 조성물이 개시된다. 약학 조성물은 본 명세서에 개시된 비통합성 바이러스 전달 시스템 및 적어도 하나의 약학적으로 허용가능한 담체를 포함한다.

[0015] 다른 양상에서, 세포에서 적어도 하나의 유전자, 유전자 산물, shRNA, siRNA, miRNA, 또는 다른 관심 RNA를 발현하는 방법이 제공된다. 방법은 세포를 비통합성 바이러스 전달 시스템의 유효량과 접촉시키는 단계를 포함하고, 여기서 시스템은 바이러스 운반체를 포함하고, 바이러스 운반체는 결함성 인테그라제 유전자; 이종성 바이러스 에피솜의 DNA 복제 기원; 이종성 바이러스 에피솜의 DNA 복제 기원에 특이적인 적어도 하나의 개시인자 단백질을 코딩하는 서열로서, 이종성 바이러스 에피솜의 DNA 복제 기원에 특이적인 적어도 하나의 개시인자 단백질을 코딩하는 서열의 발현은 유도성인 서열; 및 적어도 하나의 유전자, 유전자 산물, shRNA, siRNA, miRNA, 또는 다른 관심 RNA 중 하나 또는 전부를 함유한다.

[0016] 다른 양상에서, 적어도 하나의 유전자, 유전자 산물, shRNA, siRNA, miRNA, 또는 다른 관심 RNA를 이의 발현을 필요로 하는 대상체에서 발현하는 방법이 제공된다. 방법은 비통합성 바이러스 전달 시스템의 유효량을 이

를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 단계를 포함하고, 여기서 시스템은 바이러스 운반체를 포함하고, 바이러스 운반체는 결함성 인테그라제 유전자; 이종성 바이러스 에피솜의 DNA 복제 기원; 이종성 바이러스 에피솜의 DNA 복제 기원에 특이적인 적어도 하나의 개시인자 단백질을 코딩하는 서열로서, 이종성 바이러스 에피솜의 DNA 복제 기원에 특이적인 적어도 하나의 개시인자 단백질을 코딩하는 서열의 발현은 유도성인 서열; 및 적어도 하나의 유전자, 유전자 산물, shRNA, siRNA, miRNA, 또는 다른 관심 RNA 중 하나 또는 전부를 함유한다. 적어도 하나의 개시인자 단백질을 코딩하는 서열은 단일 개별 플라스미드 상에 존재할 수 있고, 적어도 하나의 개시인자 단백질은 단독으로 또는 조합하여 E1 또는 E2, 또는 이의 작동성 단편을 포함할 수 있다. 방법은 적어도 하나의 유전자, 유전자 산물, shRNA, siRNA, miRNA, 또는 다른 관심 RNA의 발현의 제1 수준을 개시시키기 위해 단일 개별 플라스미드의 제1 양을 이를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 단계를 더 포함할 수 있다. 방법은 적어도 하나의 유전자, 유전자 산물, shRNA, siRNA, miRNA, 또는 다른 관심 RNA의 발현의 제2 수준을 개시하기 위해서 단일 개별 플라스미드의 제2 양을 이를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 단계를 더 포함할 수 있다.

제2 양이 제1 양보다 적은 상황에서, 적어도 하나의 유전자, 유전자 산물, shRNA, siRNA, miRNA, 또는 다른 관심 RNA의 발현의 수준은 감소될 수 있다. 제2 양이 제1 양보다 높은 경우에, 적어도 하나의 유전자, 유전자 산물, shRNA, siRNA, miRNA, 또는 다른 관심 RNA의 발현의 수준은 증가될 수 있다.

[0017] 다른 양상에서, 본 명세서에서 개시하는 비통합성 바이러스 전달 시스템은 적어도 하나의 유전자, 유전자 산물, shRNA, siRNA, miRNA, 또는 다른 관심 RNA의 낮은 수준의 기초 발현을 생산하도록 최적화된다. 이종성 바이러스 에피솜의 DNA 복제 기원은 HPV16의 LCR의 서열번호 1 또는 Frag 1 (서열번호 2)와 적어도 약 80% 서열 동일성, 또는 적어도 약 85% 서열 동일성, 또는 적어도 약 90% 서열 동일성, 또는 적어도 약 95% 서열 동일성, 또는 적어도 약 98%의 서열 동일성을 포함할 수 있다.

[0018] 다른 양상에서, 본 명세서에 개시된 비통합성 바이러스 전달 시스템은 적어도 하나의 유전자, 유전자 산물, shRNA, siRNA, miRNA, 또는 다른 관심 RNA의 낮은 수준의 기초 발현을 생산하도록 최적화되고, 이종성 바이러스 에피솜의 DNA 복제 기원은 HPV16의 LCR의 서열번호 1 또는 Frag 1 (서열번호 2)을 포함할 수 있다.

[0019] 다른 양상에서, 본 명세서에 개시된 비통합성 바이러스 전달 시스템은 적어도 하나의 유전자, 유전자 산물, shRNA, siRNA, miRNA, 또는 다른 관심 RNA의 중간 수준의 기초 발현을 생산하도록 최적화되고, 이종성 바이러스 에피솜의 DNA 복제 기원은 HPV16의 LCR의 Frag 2 (서열번호 3), Frag 3 (서열번호 4), 또는 Frag 4 (서열번호 5)와 적어도 약 80% 서열 동일성, 또는 적어도 약 85% 서열 동일성, 또는 적어도 약 90% 서열 동일성, 또는 적어도 약 95% 서열 동일성, 또는 적어도 약 98%의 서열 동일성을 포함할 수 있다. 시스템은 적어도 하나의 유전자, 유전자 산물, shRNA, siRNA, miRNA, 또는 다른 관심 RNA의 중간 수준의 기초 발현을 생산하도록 최적화될 수 있고, 이종성 바이러스 에피솜의 DNA 복제 기원은 HPV16의 LCR의 Frag 2 (서열번호 3), Frag 3 (서열번호 4), 또는 Frag 4 (서열번호 5)를 포함할 수 있다.

[0020] 다른 양상에서, 최적화된 비통합성 바이러스 전달 시스템을 선택하는 방법이 개시된다. 방법은 기초 발현의 수준을 선택하는 단계를 포함한다. 그 이후에, 수준 X가 선택되면, 상응하는 Y가 선택되고, 여기서 Y는 비통합성 바이러스 전달 시스템에 도입하기 위해 선택되는 이종성 바이러스 에피솜의 DNA 복제 기원에 해당되며, 그에 따라서 X = 카고의 기초 수준의 제1 확정 수준일 때; Y는 LCR (서열번호 1) 또는 Frag 1 (서열번호 2)을 포함하고; X = 카고의 기초 수준의 제2 확정 수준일 때; Y는 HPV16의 LCR의 Frag 2 (서열번호 3), Frag 3 (서열번호 4), 또는 Frag 4 (서열번호 5)를 포함한다. 구체예에서, 제1 확정 수준은 세포 당 0.020 미만의 카고의 에피솜 카피를 포함한다. 구체예에서, 제2 확정 수준은 세포 당 0.020 또는 그를 초과하는 카고의 에피솜 카피를 포함한다.

[0021] 추가 양상은 예를 들어 감염성 질환을 치료하는 방법을 포함한다. 추가 양상은 감염성 질환을 예방하는 방법을 포함한다. 다른 양상에서, 상처 치유를 증강시키는 방법이 개시된다. 다른 양상에서, 뼈 손상을 치료하는 방법이 개시된다. 추가 양상은 본 명세서에 상술된 시스템을 사용하여 유전성 질환을 치료하는 방법을 포함한다.

[0022] 상기의 일반 설명 및 하기의 구체적인 설명은 예시적이고 설명적인 것이며 청구된 본 발명의 추가 설명을 제공하고자 한다. 다른 목적, 장점 및 새로운 특성은 하기 도면의 간단한 설명 및 발명의 구체적인 설명을 통해서 당업자에게 쉽게 분명해질 것이다.

도면의 간단한 설명

[0023] **도 1**은 예시적인 벡터-인-벡터 (VIV) 구체예를 도시한다. **도 1(A)**는 벡터의 선형 형태를 도시하고 **도 1(B)**

는 벡터의 원형 형태를 도시한다.

도 2는 E1 개시인자 단백질를 함유하는 예시적인 벡터-인-벡터 (VIV) 구체예 (본 명세서에서 벡터 1이라고도 함)를 도시한다.

도 3은 벡터 1을 사용한 3회의 별개 실험에 따른 293T 세포에서의 형질도입 결과를 도시한다.

도 4는 E1 및 E2 개시인자 단백질 둘 모두를 함유하는 예시적인 벡터-인-벡터 (VIV) 구체예 (본 명세서에서 벡터 19라고도 함)를 도시한다.

도 5는 개별적으로, **(A)** mCherry 및 **(B)** VEGF를 발현하는 예시적인 벡터-인-벡터 (VIV) 구체예를 도시한다.

도 6은 E1 및 E2가 개별적으로 플라스미드 (A) 또는 렌티바이러스 (B)에 의해 제공될 때 다양하게 기술된 구성체에 대한 mCherry-양성 세포의 발현을 도시한다.

도 7은 본 명세서에서 상술하는 실시예와 함께 사용되는 예시적인 벡터-인-벡터 (VIV) 구체예를 도시한다.

도 8은 HPV16 긴 제어 영역 (LCR)의 단편 1을 함유하는 다양하게 기술된 구성체에 대한 VEGF의 발현 수준을 도시한다.

도 9는 본 명세서에서 상술하는 실시예와 함께 사용되는 예시적인 벡터-인-벡터 (VIV) 구체예를 도시한다.

도 10은 비통합성 렌티바이러스 벡터의 에피솜 형태의 예시적인 다이아그램을 도시한다.

도 11은 HPV16의 LCR의 Frag 1, Frag 2, Frag 3, 및 Frag 4 간 게놈 관련성을 도시한다.

도 12는 본 명세서에 기술된 바와 같은 인테그라제-결핍 렌티바이러스 벡터에서 HPV16 ori의 에피솜 카피수의 분석을 도시한다.

도 13은 (A) HPV LCR 및 3' 단편을 함유하는 인테그라제-결핍 렌티바이러스 벡터로부터 mCherry 발현; 및 (B) 단일 벡터로부터 HPV16 E1-T2A-E2를 발현하거나 또는 발현하지 않는 인테그라제-결핍 벡터로부터 mCherry 발현의 분석을 도시한다.

도 14는 E1, E1-C, 및 E2-11의 첨가 이후에 HPV LCR을 함유하는 인테그라제-결핍 렌티바이러스 벡터로부터 mCherry 발현의 분석을 도시한다.

도 15는 (A) 면역블롯; 및 (B) IgG 농도에 의해 결정되는, HPV LCR을 함유하는 인테그라제-결핍 렌티바이러스 벡터를 사용한 항-HER2 항체의 발현을 도시한다.

도 16은 HPV ori 서열을 함유하는 인테그라제-결핍 렌티바이러스 벡터를 사용한 항-EGFR 항체의 발현을 도시한다.

도 17은 HPV16의 전체 길이 LCR을 함유하는 렌티바이러스 벡터를 사용하는 CCR5 발현의 넉다운을 도시한다.

도 18은 HPV16의 LCR의 Frag 2를 함유하는 렌티바이러스 벡터를 사용한 CCR5 발현의 넉다운을 도시한다.

도 19는 엡스타인-바 바이러스 (EBV) oriP 서열을 사용하는 D64V 인테그라제-결핍 렌티바이러스 벡터가 형질도입된 세포에서 GFP의 발현을 도시한다.

도 20은 HVP16의 Frag 1, Frag 2, Frag 3, Frag 4, 및 전체 길이 LCR에 대한 기초 및 E1-E2-유도된 에피솜 카피수를 입증하는 개략도를 도시한다.

도 21은 본 명세서에서 상술되는 실시예에서 더욱 설명하는 바와 같이 상대적 구조-기능 활성에 관한 발견을 기반으로 LCR 단편 선택의 선택에 대한 구체예를 도시한다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0024] 본 명세서는 안정한 바이러스 전달 시스템 및 방법을 개시한다. 다양한 양상에서, 전달 시스템은 일시적 발현 시스템을 포함한다. 일 양상에 따라서, 전달 시스템은 비통합적이다. 다른 양상에서 전달 시스템은 비통합적이고 일시적이다.

[0025] 추가 양상에서, 비통합적인, 에피솜 복제성 바이러스 벡터 (예를 들어, 렌티바이러스 벡터) 및 이의 사용 방법이 제공된다. 본 개시내용의 에피솜 복제성 벡터는 파포바바이러스과 (예를 들어, 소 파필로마바이러스 또는 BPV) 또는 헤르페스바이러스과 (예를 들어, 엡스타인 바 바이러스 또는 EBV) 또는 헤파드나바이러스과 (예를

들어, B형 간염 바이러스 또는 HBV)와 같은 바이러스 유래의 바이러스 성분을 함유할 수 있다. 이들 바이러스로부터 유래된 에피솜 복제성 벡터는 복제 기원 및 적어도 하나의 바이러스 트랜스-작용성 인자, 예를 들어 개시인자 단백질, 예컨대 BPV의 경우 E1 및 EBV의 경우 EBNA-1 또는 HBV 폴리머라제 또는 아데노바이러스의 말단 결합 단백질을 함유할 수 있다. 에피솜 복제 과정은 전형적으로 숙주 세포 복제 기구 및 바이러스 트랜스-작용성 인자 둘 모두를 포함한다.

[0026] 이종성 바이러스의 복제 기원을 사용함으로써, 신규 벡터는 복제 기원을 인식하는데 요구되는 바이러스 단백질의 발현을 위한 스위치를 "오프 (off)"하도록 조작될 수 있다. DNA 복제 스위치의 오프는 시간 경과에 따라 치료적 DNA 수준을 극적으로 강하시키게 될 것이다. 임의의 특정 이론에 한정하려는 것은 아니지만, 비복제성 DNA는 간단히 예를 들어 뉴클레아제 활성에 의해서 그리고 숙주 세포가 시간 경과에 따라 자연 아폽토시스 (세포 사멸) 사건을 겪게되면서 분해된다고 여겨진다. 결국 이러한 비복제성 DNA는 검출불가할 수 있고 시간 경과에 따라서 환자로부터 완전하게 또는 거의 청소될 수 있다.

[0027] 개시된 시스템 및 방법은 형질도입된 유전자의 과발현 또는 장기간 발현에 의한 독성 및 독성 효과의 감소 또는 예방을 포함한다. DNA 복제가 중단되면 유전자의 제거는 향후 숙주 유전자 발현의 넉다운 또는 원치않는 유전자 발현을 방지한다. 유사하게, 이종성 바이러스 시스템으로 에피솜 복제의 이득의 조합은 다양한 세포 유형으로 관심 유전자를 안전하고 효율적으로 형질도입시킬 수 있는 플랫폼을 제공한다.

[0028] **파필로마바이러스**

[0029] 파필로마바이러스는 포유동물 세포에서 주로 에피솜으로서 복제된다. DNA 복제의 바이러스 기원 (ori) 상에서 DNA 헬리카제로서 기능하는 바이러스 E1 단백질의 작용은 감염된 내피 세포의 분화 상태에 의존적으로 세포당 수백 내지 수천의 DNA 카피의 생산을 구동시킨다. "셔틀 플라스미드"라고 알려지게 된 것을 사용하여 파필로마바이러스-기반 유전자 전달 시스템을 개발하려는 시도가 있어왔다. 포유동물 세포에서 에피솜 복제가 가능하도록 파필로마바이러스 ori 및 이. 콜라이 (*E.coli*)에서 DNA 생산을 가능케 하는 DNA 복제의 박테리아 기원에 의해서, 수많은 연구가 수행되어 유전자 발현의 안정성 및 내구성이 입증되었다. 대부분의 경우에서 ori는 소 파필로마바이러스로부터 비롯되었다.

[0030] 파필로마바이러스는 상피 및 내피 세포를 감염하도록 진화되어 왔다. 감염된 세포가 기저로부터 내강 표면으로 분화되면서, 파필로마바이러스는 DNA 복제를 증가시키고 카피수는 엄청난 용량의 바이러스가 내강 표면에서 방출될 때까지 매우 높아진다. 이것은 인간 파필로마바이러스에서 분명하듯이 파필로마바이러스를 고도로 전염성으로 만든다. 카피수의 급증은 주로 숙주 인자에 기인한다. 그러나, 파필로마바이러스의 이러한 특성은 상피 및 내피 표면으로 일시적 유전자 요법을 표적화시키는데 이용될 수 있다.

[0031] 파필로마바이러스의 일정한 특성은 특별한 세포 유형에 대해 벡터의 발현을 표적화시키는 것을 비롯하여, 에피솜 벡터의 복제 및 발현을 구동하기 위해 본 개시내용의 다양한 양상 및 구체예에 따라서 사용된다.

[0032] **엡스타인 바 바이러스 (EBV)**

[0033] 엡스타인-바 바이러스 (EBV)는 인간 헤르페스바이러스 4라고도 알려져 있고, 헤르페스 바이러스 패밀리의 구성원이다. 가장 흔한 인간 바이러스 중 하나이고, 대부분의 사람은 그들 삶의 일부 시기에 EBV에 감염된다.

[0034] EBV는 대략 85개 유전자를 함유하는 이중 가닥 DNA 바이러스이고; EBV는 B 세포 및 상피 세포를 감염시키는 것으로 알려져 있다. EBV는 용해기 및 잠복기 복제 둘 모두를 할 수 있는데, 후자의 경우 EBV 게놈의 원형 형태는 숙주 세포 핵으로 전좌되어 거기서 숙주 세포 DNA 폴리머라제에 의해 복제될 수 있다.

[0035] EBV는 적어도 3개의 개별 경로를 통해 잠복기 복제를 겪을 수 있지만, 각각은 에피솜 복제 기원에 결합하여 숙주 세포의 분열 동안 에피솜의 분할을 매개하는 단백질인, 엡스타인-바 바이러스 핵 항원 1 (EBNA-1)의 발현이 관여된다. EBNA-1은 EBV 유전자 조절, 복제, 및 에피솜 유지에서 중추적인 역할을 한다.

[0036] EBV의 일정 특성은 본 개시내용의 다양한 양상 및 구체예에 따라서 사용된다.

[0037] **B형 간염 바이러스 (HBV)**

[0038] B형 간염 바이러스 (HBV)는 헤파드나바이러스 패밀리의 구성원이다. 진행성 간 섬유증, 간염 및 간세포 암종과 연관된 일반적인 인간 바이러스이다.

[0039] HBV는 RNA 중간체를 통해서 복제되고 바이러스 폴리머라제에 의존하는 이중 가닥 DNA 바이러스이다. 간 세포에서 HBV의 안정한 유지는 근절하기가 어려운 공유적으로-폐쇄된 바이러스 DNA 원형 형태의 존재에 기인한다.

[0040] 따라서, HBV의 일정한 특성은 본 개시내용의 다양한 양상 및 구체예에 따라서 사용된다.

[0041] **레트로바이러스**

[0042] 레트로바이러스는 RNA 주형으로부터 DNA 카피를 생성시킬 수 있는 역전사효소의 코딩 및 숙주 세포 염색체로 프로바이러스의 통합을 특징으로 하는 바이러스 패밀리이다. 렌티바이러스는 숙주 세포로 바이러스 핵산의 상당량을 전달할 수 있는 레트로바이러스 속이다. 렌티바이러스는 비분열 세포를 감염/형질도입시키는 고유한 능력을 갖는 것을 특징으로 하고, 형질도입 이후에, 렌티바이러스는 숙주 세포의 염색체로 그들 핵산을 통합시킨다.

[0043] 감염성 렌티바이러스는 독성 단백질을 코딩하는 3개의 주요 유전자, *gag*, *pol*, 및 *env*, 및 *tat* 및 *rev*를 포함하는 2개의 조절성 유전자를 갖는다. 특별한 혈청형 및 바이러스에 의존적으로, 바이러스 핵산의 조절, 합성 및/또는 프로세싱, 및 렌티바이러스 감염에 대항하는 대응성 선천적 세포 방어를 포함한 복제 기능에 관여하는 단백질을 코딩하는 추가적인 부속 유전자가 존재할 수 있다.

[0044] 렌티바이러스는 대략 600 nt 길이일 수 있는 긴 말단 반복부 (LTR) 영역을 함유한다. LTR은 U3, R, 및 U5 영역으로 절편화될 수 있다. LTR은 인테그라제의 작용을 통해서 숙주 염색체로 레트로바이러스 DNA의 통합을 매개할 수 있다. 대안적으로, 인테그라제의 기능없이, LTR은 바이러스 핵산을 원형화시키는데 사용될 수 있다.

[0045] 렌티바이러스 복제의 초기 단계에 관여되는 바이러스 단백질은 역전사효소 및 인테그라제를 포함한다. 역전사효소는 바이러스에 의해 코딩되는, RNA-의존적 DNA 폴리머라제이다. 이 효소는 상보적 DNA 카피의 합성을 위한 주형으로서 바이러스 RNA 게놈을 사용한다. 역전사효소는 또한 통합을 위해 준비되는 이중 가닥 DNA의 생산을 완료하기 위해 DNA 2차 가닥 합성에 필요한 RNA-주형의 파괴를 위한 RNaseH 활성을 갖는다. 인테그라제는 역전사효소에 의해 생성되는 바이러스 cDNA 및 숙주 DNA 둘 모두에 결합한다. 인테그라제는 숙주 DNA로 바이러스 게놈의 삽입 전에 LTR을 프로세싱한다. *Tat*는 바이러스 DNA로부터 만들어지는 RNA 카피의 개시 및 연장을 증강시키기 위해 전사 동안 트랜스-활성인자로서 작용된다. *rev* 반응성 엘리먼트는 전사후에 작용하여, mRNA 스플라이싱을 조절하고 세포질로 수송된다.

[0046] 렌티바이러스를 포함하여, 레트로바이러스의 일정 특성은 본 개시내용의 다양한 양상 및 구체예에 따라서 사용된다.

[0047] **벡터-인-벡터 시스템**

[0048] 신규한 벡터-인-벡터 (VIV) 시스템은 다양한 바이러스종으로부터의 바람직한 특성을 조합하여 유전자의 전달 및 발현을 정밀하게 조절할 수 있다. 렌티바이러스 (LV) 플랫폼을 포함하는 많은 바이러스 벡터가 사용될 수 있다. 대부분의 다른 안정한 형질도입 형태와 비슷하게, 렌티바이러스 형질도입은 그 결과로 LV 페이로드 (예를 들어, 관심 유전자)의 염색체 통합이 일어난다. 다양한 양상에 따라서, 염색체 통합은 바이러스 인테그라제 유전자를 불활성화시키는 선택적 돌연변이를 통해서 폐지된다. E1 단백질이 더해진 파필로마바이러스 ori, 또는 EBNA-1이 더해진 EBV ori 또는 바이러스 폴리머라제가 더해진 헤파드나바이러스 말단이 일상적으로는 에피솜으로 유지될 수 없는 이종성 바이러스의 유전자 카고의 일부로서 본 명세서에서 사용된다. 렌티바이러스 벡터로 이러한 이종성 바이러스 복제 기구의 통합은 관심 치료적 유전자를 수용하기 위해 이용가능한 대략 5 kb의 추가적인 카고 공간을 남겨둔다.

[0049] 다른 양상에서, 다른 제어 엘리먼트가 개시된 VIV 시스템에 도입될 수 있다. 비제한적인 예로서, E1 또는 E2 또는 EBNA-1 또는 HBV 폴리머라제의 발현은 유도성 프로모터에 의해 구동될 수 있다. 더 나아가, 비제한적인 예로서, E1 및/또는 E2, 또는 이의 변이체는 플라스미드 또는 비통합 바이러스 벡터를 사용하여 발현될 수 있다. 수많은 유형의 유도성 프로모터가 당분야에 공지되어 있고, 본 개시내용의 목적을 위해서, 유도성 프로모터는 제한없이 항생제 (즉, 테트라사이클린, 아미노글리코시드, 페니실린, 세팔로스포린, 폴리믹신 등), 또는 다른 약물, 구리 및 다른 금속, 알콜, 스테로이드, 빛, 산소, 열, 저온 또는 다른 물리적 또는 화학적 자극에 반응하는 프로모터를 포함할 수 있다. 예를 들어, 개시된 바이러스 시스템을 사용하는 방법은 카고 유전자의 발현을 위해 약물의 일정한 공급에 의존하는 테트라사이클린-유도성 유전자 발현의 적용을 포함한다. 유도성 프로모터를 유도시키는데 사용되는 화합물은 바람직한 카고 전달의 시기 및 에피솜 복제의 지속기간에 의존적으로 1회 또는 반복적으로 첨가될 수 있다. 에피솜의 유지 및 DNA 복제는 다양하게 E1, E2 및/또는 EBNA-1 유도에 의존적이고, 이것은 차례로 유전자 발현의 유도인자 (즉, 테트라사이클린)에 의존적이다.

[0050] 예시적인 VIV 시스템은 도 1에 도시되어 있다. 개시된 VIV는 적어도 하나의 관심 유전자 또는 뉴클레오티드 서열 (예를 들어, 도 1A에 도시된 바와 같은 카고)을 포함한다. VIV에 도입되는 유전자 또는 서열은 VIV의 목적에 따라 좌우될 것이다. 대체로 도 1을 참조하면, 렌티바이러스는 인테그라제-결함성 시스템에 의해 패키징되거나 또는 형질도입은 인테그라제 활성을 차단하는데 사용되는 임상적 약물 (예를 들어, 돌루테그라비어 또는 랄테그라비어)의 존재 하에서 수행된다. 통합에 실패하면, 선형 이중 가닥 벡터 DNA는 일반적으로 숙주 효소 기구를 사용하여 원형화될 것이다 (예를 들어, 도 1B). 임의로, 약물-유도성 프로모터는 바람직하다면 E1 및/또는 E2 단백질을 발현하도록 활성화될 수 있고, 결국에 DNA 복제를 구동하게 될 것이다. 치료적 카고는 통합된 카세트(들)로부터 발현될 것이다. 다양한 구체예에서, 유도성 프로모터를 유도시키는 화합물 (본 명세서에서 또한 "유도인자"라고도 함)은 사용이 중단되거나 또는 종료된다. 유도인자의 종료는 E1 및/또는 E2 합성을 하향 조절하게 된다. 추가 구체예에서, E1 및/또는 E2 생산은 효율적으로 종료된다. 각 사건에서, 이것은 에피솜 DNA 수준의 감쇠를 야기하게 되고 최종적으로는 벡터 구성체를 제거시키게 된다.

[0051] VIV 시스템에 관한 추가의 예시적인 다이아그램은 도 2에 도시되어 있다. E1 개시인자 단백질이 존재하고 카고는 EF1-HTLV 프로모터 하의 GFP이다. 도 1 및 2는 E1을 함유하는 VIV 시스템을 도시하고 있지만, 본 명세서에서 기술된 바와 같이, 도 4는 단일 바이러스 벡터 상에 E1 및 E2 둘 모두를 함유하는 VIV 시스템을 도시한다. 추가의 구체예에서, 동일한 mRNA로부터 E1 및 E2 둘 모두를 발현시키기 위해서, 내부 리보솜 진입 부위 (IRES)가 단백질 번역의 재개시를 허용하도록 첨가된다. 개시인자 단백질 예컨대 E1 및 E2는 또한 개별 플라스미드 또는 비통합성 렌티바이러스 벡터 상에서 발현될 수 있다.

[0052] VIV 시스템의 추가의 예시적인 다이아그램은 도 4에 도시되어 있다. 유전자 카고는 CMV/GFP 카세트로 표시된다. 카고 유전자 서열은 폴리머라제 사슬 반응 (PCR)에 의해 증폭될 수 있다. 예를 들어, 합성 올리고뉴클레오티드 프라이머, 예컨대 카고 유전자의 5' 말단과 동일하고/하거나 카고 유전자의 3' 말단에 상보적인 프라이머를 사용할 수 있다. 5' 프라이머는 엔도뉴클레아제에 대한 인식 부위를 갖는 5' 말단으로부터 연장될 수 있다. 3' 프라이머는 또한 엔도뉴클레아제 인식에 상보적인 이의 3' 말단으로부터 연장될 수 있다. 최종적으로 증폭된 카고 유전자 서열은 적합한 벡터, 예컨대 렌티바이러스 벡터에 어닐링될 수 있다. 유전자 카고의 비제한적인 예는 CMV/VEGF, CMV/항-상피 성장 인자 수용체 (EGFR), 항-HER2 항체, 또는 miRNA 억제성 C-C 케모카인 수용체 제5형 (CCR5)을 포함한다.

[0053] 카고의 적합한 발현은 적절한 어세이에 의해 결정될 수 있다. 예를 들어, DNA 카피수는 정량적 PCR에 의해 측정될 수 있다. 비제한적인 예 예컨대 벡터 1 또는 벡터 19 (본 명세서에 기재된 바와 같음)로부터 번역되는 단백질 산물은 예를 들어 분석적 유세포측정법으로 측정될 수 있다. ELISA 어세이는 일정 카고의 존재, 예컨대 분비된 단백질, 예컨대 VEGF를 검출하는데 사용될 수 있다. 웨스턴 블롯 기술은 또한 일정 카고 예컨대 항체, 예컨대 항-EGFR을 검출하는데 사용될 수 있다. 더 나아가서, 카고 단백질, 예컨대 케모카인 수용체 예컨대 CCR5의 세포 표면 발현의 감소의 모니터링이 또한 적용될 수 있다.

[0054] 카고와 관련하여, 비제한적인 예로서 제공되는, 혈소판-유래 성장 인자 (PDGF)를 코딩하는 유전자가 shRNA, siRNA, miRNA, 및/또는 다른 유전자-침묵화 RNA와 함께 관심 유전자로서 VIV에 통합되어 상처 치유를 촉진시킬 수 있다. 개시된 VIV 시스템은 발현될 수 있는 특정 유형의 유전자 또는 서열에 제한적이지 않다.

[0055] 개시된 VIV는 예를 들어, 감염성 질환 또는 암과 연관된 항원 (복제되는 병원체 상의 항원 및 외생성 독소인 항원 및 종양 세포 상의 항원 포함)에 대한 항체를 코딩하는 서열, 혈소판 유래 성장 인자, 혈관 내피 성장 인자, 뇌 유래 성장 인자, 신경 성장 인자, 인간 성장 인자, 인간 융모성 고나도트로핀, 낭성 섬유증 경막 전도도 조절인자 (CFTR), 디스트로핀 또는 디스트로핀-연관 복합체, 페닐알라닌 히드록실라제, 지단백질 리파제, α-탈라세미아 및/또는 β-탈라세미아, 인자 VIII, 뼈 형태형성성 단백질 1-4, 사이클로옥시게나제 2, 혈관 내피 성장 인자, 케모카인 수용체 CCR5, 케모카인 수용체 CXCR4, 케모카인 수용체 CXCR5, 결장염, 염증성 장질환 또는 크론병에 관여하는 자가면역 항원에 대한 안티센스 DNA 또는 RNA, 아편류 또는 알콜에 대한 신경 약독화를 조절하는 miRNA를 포함하는 중독에 관여되는 소형 간섭 RNA, 종양 억제인자 유전자, 프로아폽토시스 또는 항아폽토시스 유전자 및 프로오토파지 또는 항오토파지 유전자를 포함하는 세포 생존을 조절하는 유전자, 방사선 내성 인자를 코딩하는 유전자, 종양 세포 전이의 추적 또는 다른 세포 수송 현상에 사용되는 발광성 단백질을 코딩하는 유전자, 또는 신체를 방사선, 수술 또는 화학요법제의 최대 효과에 대해 조건화하거나 또는 조직을 방사선, 수술 또는 또는 화학요법제에 대해 보호하거나, 장기 이식을 개선시키도록 숙주 또는 이식 조직을 변형시키거나 또는 특히 기도에서 과반응성을 억제하는데 사용될 수 있는 다양한 다른 치료적으로 유용한 서열을 포함하는,

수많은 치료적 또는 예방적 유전자 또는 서열을 편입시킬 수 있다.

[0056] 임의의 전술한 내용에 제한되지 않고, 카고는 진단적 단백질 예컨대 GFP 및 mCherry를 비롯하여, cDNA, 마이크로RNA, shRNA 및 항체를 포함할 수 있다. 더 나아가서, 카고는 본 명세서에 기술된 바와 같이 특별한 카고 예컨대 VEGF 및 BMP를 포함할 수 있다.

[0057] 추가 양상에서, "안전성 스위치"로서 VIV 시스템 중 에피솜 형태로 유전자를 유지시키는 것이 바람직하다. 예를 들어, 특정 유전자 산물이 유독한 경우에, 유도인자 분자의 회수는 DNA 복제를 감소시키게 되거나 또는 종료시키게 된다. 에피솜 수는 이후에 하락하게 되며, 유전자 및 벡터는 결국에 소멸될 것이다. 전통적으로 조절되는 유전자 발현과 달리, 개시된 발현 구성체는 효율적으로 소멸될 때까지 내생성 뉴클레아제에 의해 분해되고, 세포 분열에 의해 희석되어서, 임의의 단기간 또는 장기간 급등 발현이 예방된다.

[0058] 추가 양상에 따라서, 유전자, 유전자 산물, shRNA, siRNA, miRNA, 및/또는 다른 관심 유전자-침묵화 RNA를 에피솜 형태로 유지시키는 것은 또한 넓은 범위로 카피수를 조절하는 것을 가능하게 하고 그보다 훨씬 높은 수준은 전통적인 렌티바이러스 형질도입에 의해 획득된다.

[0059] 개시된 VIV 시스템은 수많은 이득이 존재한다. 예를 들어, 에피솜 DNA는 전통적인 형질도입 벡터의 유전자 침묵화를 초래할 수 있는, 염색체 변형에 덜 감수성이다. 유사하게, VIV 에피솜 DNA는 적어도 약 1 내지 약 4개월, 및 가능하게는 그보다 긴 단기-범위 내지 중기-범위의 시간 간격 동안 활성 유전자 전달을 지원한다. 다른 구체예에서, 에피솜 DNA 벡터는 약 1주, 약 2주, 약 3주, 약 4주, 약 5주, 약 6주, 약 7주, 약 8주, 약 9주, 약 10주, 약 11주, 또는 약 12주 또는 그 이상의 기간 동안 활성 유전자 전달을 지원한다. 다른 구체예에서, 에피솜 DNA 벡터는 약 1개월, 2개월, 3개월, 4개월, 5개월, 6개월, 7개월, 8개월, 9개월, 10개월, 11개월, 12개월, 또는 그 이상의 기간 동안 활성 유전자 전달을 지원한다. 이들 시간 기간의 임의 조합, 예를 들어 1개월 및 1주, 또는 3개월 및 2주가 본 명세서에 개시된 방법에서 또한 사용될 수 있다.

[0060] 개시된 VIV 시스템의 도입을 위해 렌티바이러스 운반체의 사용과 연관된 이득이 특별히 존재하지만, 개시된 시스템은 단일 유형의 바이러스 벡터에 제한되지 않는다. 제한없이 렌티바이러스, 아데노-연합 바이러스(AAV), 아데노바이러스, 백시니아, 헤르페스 바이러스, 홍역 바이러스, 헤파드나바이러스, 파보바이러스 및 쥣과동물 바이러스를 포함하여, 임의의 DNA 바이러스 또는 DNA 중간체를 사용하는 바이러스가 본 명세서의 VIV 시스템은 도입시키기 위한 운반체로서 사용될 수 있다.

[0061] 임의의 전술한 내용에 제한되지 않고, 본 개시내용의 양상에서, 비통합성 바이러스 전달 시스템이 개시된다. 시스템은 바이러스 운반체로서, 하나 이상의 결함성 인테그라제 유전자를 함유하는 것인 바이러스 운반체; 이종성 바이러스 에피솜의 복제 기원; 이종성 바이러스 에피솜의 복제 기원에 특이적인 적어도 하나의 개시인자 단백질을 코딩하는 서열로서, 이종성 바이러스 에피솜의 DNA 복제 기원에 특이적인 적어도 하나의 개시인자 단백질을 코딩하는 서열의 발현은 유도성인 서열; 및 적어도 하나의 유전자, 유전자 산물, shRNA, siRNA, miRNA, 또는 다른 관심 RNA를 포함한다. 바이러스 운반체는 렌티바이러스일 수 있다. 이종성 바이러스 에피솜의 DNA 복제 기원은 파필로마바이러스 유래일 수 있다. 이종성 바이러스 에피솜의 DNA 복제 기원은 인간 파필로마바이러스 또는 소 파필로마바이러스 유래일 수 있다.

[0062] 이종성 바이러스 에피솜의 DNA 복제 기원은 제16형 인간 파필로마바이러스 (HPV16) 유래일 수 있다. 이종성 바이러스 에피솜의 DNA 복제 기원은 HPV16의 긴 제어 영역 (LCR) 유래일 수 있다. 이종성 바이러스 에피솜의 DNA 복제 기원은 서열번호 1을 포함할 수 있다. 임의로, 이종성 바이러스 에피솜의 DNA 복제 기원은 서열번호 1의 5' 절단형을 포함할 수 있다. 이종성 바이러스 에피솜의 DNA 복제 기원은 서열번호 1의 적어도 약 200개 뉴클레오티드, 또는 적어도 약 300개 뉴클레오티드, 또는 적어도 약 400개 뉴클레오티드, 또는 적어도 약 500개 뉴클레오티드, 또는 적어도 약 600개 뉴클레오티드, 또는 적어도 약 700개 뉴클레오티드의 5' 절단형을 포함할 수 있다. 이종성 바이러스 에피솜의 DNA 복제 기원은 HPV16의 LCR의 Frag 1 (서열번호 2), 또는 Frag 2 (서열번호 3), 또는 Frag 3 (서열번호 4), 또는 Frag 4 (서열번호 5)와 적어도 약 80%의 서열 동일성, 또는 적어도 약 85%의 서열 동일성, 또는 적어도 약 90%의 서열 동일성, 또는 적어도 약 95%의 서열 동일성, 또는 적어도 약 98%의 서열 동일성을 포함할 수 있다. 이종성 바이러스 에피솜의 DNA 복제 기원은 HPV16의 LCR의 Frag 1 (서열번호 2), 또는 Frag 2 (서열번호 3), 또는 Frag 3 (서열번호 4), 또는 Frag 4 (서열번호 5)를 포함할 수 있다. 임의의 전술한 내용 또는 본 명세서에 기술된 실시예에 제한없이, LCR의 게놈 구성은 도 11에 도시되어 있다. 본 명세서에서 상술되는 단편이외에도, 추가적인 단편은 LCR의 5' 및 3' 영역 결실에 의해 생성될 수 있다. 더 나아가서, 돌연변이, 치환, 첨가 및/또는 결실이 전체 길이 LCR 또는 연관된 단편에 만들어질 수 있다. 더 나아가서 전술한 내용 또는 본 명세서에서 상술하는 실시예에 제한되지 않고,

본 명세서에서 상술되는 벡터의 성분은 신규 및/또는 변형 벡터를 개발하는데 상호교환적으로 사용될 수 있다는 것은 본 개시내용의 구체예의 범주 내에서 이해된다.

[0063] **벡터-인-벡터 시스템의 조율성**

[0064] 본 개시내용의 일 양상에서, 바이러스 벡터 시스템은 바이러스 운반체; 이종성 바이러스 에피솜의 DNA 복제 기원; 이종성 바이러스 에피솜의 DNA 복제 기원에 특이적인 적어도 하나의 개시인자 단백질을 코딩하는 서열로서, 이종성 바이러스 에피솜의 DNA 복제 기원에 특이적인 적어도 하나의 개시인자 단백질을 코딩하는 서열의 발현이 조절되는 것인 서열; 또는 적어도 하나의 유전자, 유전자 산물, shRNA, siRNA, miRNA, 또는 다른 관심 RNA 중 하나 이상을 변형시킴으로써 조율가능하거나 또는 최적화된다. 적어도 하나의 유전자 산물의 최대 용량을 제어하기 위해서, 표적 세포 또는 조직에서 발현의 내구성에 영향을 미치기 위해서, 그리고 일시적으로 필요한 생물학적 분자로 질환 또는 손상을 치료하기 위해 그 동일한 생물학적 분자가 오용량으로 전달되어 이러한 생물학적 분자가 더 이상 필요하지 않거나 또는 유독할 수 있는 이후에도 발현이 계속될 때의 독성 또는 부작용을 방지하기 위해, 변형이 가해진다.

[0065] 구체예에서, 개시된 시스템에서 변형은 생물학적 분자에 대한 발현의 수준을 조율하고, 유전자 요법 실험에서 위약 대조군에 요구될 수 있는 것과 같은 검출불가하거나 또는 거의 검출불가한 카고 발현을 획득하도록 발현의 지속기간을 제어하는 것을 가능하게 한다. 구체예에서, 이것은 검출불가와는 통계적으로 상이하지만, 결함 유전자의 제거 또는 교정을 위한 노력으로 짧은 간격 동안 낮은 수준으로 제공될 때 더 안전한 유전자 편집 단백질 및 RNA의 전달에 필요할 수 있는 것과 같은 유도되거나 또는 높은 수준 발현에 대한 기준은 충족하지 못하는 낮은 수준 발현을 야기한다. 구체예에서, 검출가능과 비교하여 대략 5배 더 높은 피크 발현 수준을 포함하는 높거나 또는 유도된 카고의 발현 수준이지만, 동일 카고의 낮은 기초 수준이 생성된다. 구체예에서, 이것은 종양 부위에서 또는 그 근처에서 생산시 더 유효한 종양 표적화 생물학적 약물을 포함하는 치료적 항체의 발현이 높은 수준으로 존재하고, 정상 조직 상에서의 부위외 효과를 피하거나 또는 자가면역의 개시를 예방하기 위해 혈액으로부터 제거되어야만 할 때 최적일 수 있다.

[0066] 구체예에서, 개시된 시스템은 암을 치료하기 위해서 조율가능하다. 개시된 시스템은 종양의 부위에서 또는 그 근처에서 종양-표적화 항체 예컨대 세툭시맙, 리툭시맙 또는 트라스투주맙의 발현을 허용하고, 표적 세포에서 유전자 용량을 증가시키기 위해 에피솜 DNA를 복제시킴으로써 유효한 종양 표적화를 위한 충분한 수준으로 항체를 생산하고, 그 이후에 이들 및 유사한 생물학적 약물의 안전성 및 효능을 개선시키는 것으로 알려진 치료적 항체에 대한 예상 붕괴 그래프와 일치되는 항체 발현의 하락과 함께 에피솜 이식유전자 분자의 붕괴가 야기되게 E1/E2 단백질이 생산을 중단할 때 에피솜 DNA 복제를 종료하도록 조율가능하다.

[0067] 구체예에서, 개시된 시스템은 감염성 질환을 치료하거나 또는 예방하도록 조율가능하다. 개시된 시스템은 병원체 복제를 파괴하거나 또는 중화시킬 수 있는 치료적 항체를 발현하고, 감염 부위에서 또는 그 근처에서 항체의 국소 생산을 유도시키거나 또는 혈액 또는 림프 순환계로 항체를 방출시키고, 표적 세포에서 유전자 용량을 증가시키기 위해 에피솜 DNA를 복제시킴으로써 유효한 병원체 예방 또는 근절을 위한 충분한 수준으로 항체를 생산하고, 이후에 이들 및 유사한 생물학적 약물의 안전성 및 효능을 개선하는 것으로 알려진 치료적 항체에 대해 예상되는 붕괴 그래프와 일치되는 항체 발현의 하락과 함께 에피솜 유전자이식 분자의 붕괴가 야기되게 E1/E2 단백질이 생산을 중단할 때 에피솜 DNA 복제를 종료하도록 조율가능하다.

[0068] 구체예에서, 개시된 시스템은 외상성 손상 또는 재생성 질환을 치료하도록 조율가능하다. 구체예에서, 개시된 시스템은 치료적 잠재성이 있는 생물학적 활성 분자를 발현시키고, 손상 또는 질환 부위에서 또는 그 근처에서 항체의 국소 생산을 유도하며, 표적 세포에서 유전자 용량이 증가되도록 에피솜 DNA를 복제시켜 유효한 요법에 충분한 수준으로 항체를 생산시키며, 짧은 치료창 동안 요구되는 생물학적 치료제의 영구적 또는 매우 장기간의 발현으로 인한 부작용 또는 독성은 피하지만 피크 이식유전자 용량에서 고수준 용량을 획득하는 생물학적 치료제의 발현의 하락과 함께 에피솜 이식유전자 분자의 붕괴가 야기되게 E1/E2 단백질이 생산을 중단할 때 에피솜 DNA 복제를 종료하도록 조율가능하다.

[0069] 구체예에서, LCR 단편은 치료의 바람직한 과정 또는 결과에 의존적으로 선택되어 사용될 수 있다. 도 20-21, 표 1 및 실시예 16-20에 제공되는 비제한적인 예에 표시된 바와 같이, 치료의 바람직한 과정 또는 결과에 의존적으로, 바이러스 전달 시스템을 조율가능하거나 또는 최적화한다.

[0070] **표 1 - 질환 표적의 요약 및 관련 설명**

표 1

질환 표적 또는 생물학적 특성	예
재생 의학	만성 퇴행성 신경학적 또는 전신 질환에 대한 요법.
세포 리프로그래밍	전사 수준에서 유전자 발현, 프로세싱, 번역 또는 번역후 변형을 증가, 감소 또는 방지할 수 있는 생물학적 분자의 이식유전자 발현을 통해 표현형, 기능, 거동, 성장률 또는 수명의 변화를 야기함.
장시간 작용성 성장 인자	조직 기능 또는 무결성을 지속시키는데 요구되는 단백질 또는 펩티드 인자.
체크포인트 억제	면역성을 증가시키거나 또는 종양 성장 또는 감염된 세포수를 감소시키도록 면역 체크포인트 시스템을 조정함.
효소 대체	단백질 주사의 DNA 전달로의 대체 적합성을 검사하거나 또는 현행 용법을 가교하는데 필요할 수 있는 필수 성장 인자 또는 다른 단백질의 단기간 전달.
면역 자극	면역 반응의 활성화 및/또는 지시에 요구되는 단백질, 펩티드, 조절성 RNA 또는 다른 세포 변형. 이것은 사이토카인의 발현 또는 세포 표면 상에 부착, 수용체, 공신호전달 또는 공자극 단백질의 발현, 또는 세포 인식의 지시를 위한 키메라 항원 수용체 및/또는 천연 항원 수용체의 도입을 포함할 수 있다.
유전자 편집	유전자 편집에 사용되나 세포에서 영구적 또는 장기간 발현에 적합하지 않은 CRISPR, 징크 핑거 뉴클레아제, TALEN 및 다른 유도 DNA 변형 시스템.
안전성 실험	이 광범위 카테고리는 프로그램 목적이 고도의 항구적 유전자 요법 예컨대 통합 렌티바이러스 벡터의 도입이지만, 제안된 DNA 구성체의 안전성을 평가하고/하거나 동일 DNA 구성체의 장기 지속형 형태의 도입을 정당화시키는 객관적 임상 반응을 수득하기 위해 중간 단계가 필요한 상황을 포괄한다.
수동 면역	예상되는 병원체 조우로부터 보호하고, 현행 면역요법을 가교하고, 화학요법 또는 방사선 요법과 조합하고, 암, 감염성 질환, 또는 신경퇴행성 질환 또는 자가면역 표적의 활성인자를 포함할 수 있는 장기간 병상에 대해 면역을 유도하도록 보호성 항체 또는 항원 수용체의 일시적 발현.
전사/분화 인자	단백질, 지질, DNA 및/또는 RNA 를 포함한 세포 인자가 장기간 발현이 완전하게 분화된 기능에 유해하거나 또는 악성 질환의 위험성을 일으킬 수 있는 태아 또는 성인 줄기 세포를 포함한 개별 세포의 운명을 변경시키는데 필요할 수 있다.
단기간 성장 인자	장기간 인자 발현이 세포 또는 조직 기능에 유해한 세포

[0071]

	성장, 조직 형성, 혈관 형성, 근육 성장, 신경 성장, 피부 성장 및 다른 객관적 임상 반응을 유도시키려는 목적으로 세포 활성을 자극시키고자 의도되는 단백질, 펩티드, DNA 또는 RNA 분자.
위약 대조군, 용량 상승	벡터가 치료적 유전자 카고이지만 발현이 초저 유전자 용량에 기인해 미검출되는 경우 임상 결과에 대한 벡터 전달의 영향을 모니터링하기 위한 동일 카고이나 극저 발현의 위약 대조군.

[0072]

[0073] 본 개시내용의 양상에서, 바람직한 치료 과정 또는 결과를 기반으로, 바이러스 전달 시스템은 1사분면,

2사분면, 3사분면, 또는 4사분면 인자에 따라서 조율가능하거나 또는 최적화된다.

[0074] 구체예에서, 1사분면 인자는 LCR이 전체 길이 Frag 2, Frag 3, Frag 4, 또는 이의 변이체로부터 선택되는 바이러스 전달 시스템을 포함한다. 1사분면 인자는 기술된 벡터 시스템을 사용하여 유전자 카고의 일시적 기초 발현을 제공한다. 대부분의 경우에서, DNA 카피수는 이 시스템으로 획득될 수 있는 최고 수준보다 대략 20배 이하일 것이다. 카고의 발현을 구동하는 프로모터의 신중한 선택은 이 시스템의 탄력성 및 조직 특이성을 더 증가시킬 것이다.

[0075] 구체예에서, 2사분면 인자는 LCR이 Frag 2, Frag 3, Frag 4, 또는 이의 변이체로부터 선택되는 바이러스 전달 시스템을 포함한다. 2사분면 인자는 또한 E1 및/또는 E2 개시인자 단백질을 포함한다. 구체예에서, E1 및/또는 E2 개시인자 단백질은 플라스미드를 통해서 제공된다. 구체예에서, E1 및/또는 E2 개시인자 단백질은 렌티바이러스 벡터를 통해 제공된다. 2사분면 인자는 역시 프로모터 선택에 의존적으로, 잠재적으로 매우 높은 유전자 발현 수준과 함께 높은 에피솜 DNA 카피수를 제공한다. 더 나아가서, 짧은 LCR 단편의 사용은 카고로서 도입될 수 있는 DNA 삽입물의 크기를 증가시킨다.

[0076] 구체예에서, 3사분면 인자는 LCR이 LCR, Frag 1, 또는 이의 변이체로부터 선택되는 바이러스 전달 시스템을 포함한다. 3사분면 인자는 또한 E1 및/또는 E2 개시인자 단백질을 포함한다. 구체예에서, E1 및/또는 E2 개시인자 단백질은 플라스미드를 통해 제공된다. 구체예에서, E1 및/또는 E2 개시인자 단백질은 렌티바이러스 벡터를 통해 제공된다. 3사분면 인자는 2사분면에서 수득할 수 있는 것보다 약간 적지만 높은 에피솜 카피수를 제공한다. 3사분면의 장점은 E1/E2 단백질의 도입 여부에 의해 시스템을 고도로 제어가능하게 만드는 에피솜 DNA가 초저 기초 수준으로 존재한다는 것이다.

[0077] 구체예에서, 4사분면 인자는 LCR이 전체 길이 LCR, Frag 1, 또는 이의 변이체로부터 선택되는 바이러스 전달 시스템을 포함한다. 4사분면 인자의 선택은 바람직한 지표를 위한 최대 내성 또는 최적 수준을 확립하기 위해 용량 상승 임상 실험 또는 용량 검사의 개시 용량 또는 위약 대조군에 대해 요구될 수 있는 것과 같은 초저 발현을 야기한다.

[0078] 본 개시내용의 양상에서, 매우 낮은 기초 수준의 카고 발현이 바람직할 때, 4사분면 인자가 바이러스 전달 시스템에 도입된다. 구체예에서, 4사분면 인자는 Frag 1 또는 전체 길이 LCR 또는 이의 변이체를 포함한다. 구체예에서, 약간 더 높은 기초 수준의 카고 발현이 바람직할 때, 1사분면 인자가 바이러스 전달 시스템에 도입된다. 구체예에서, 1사분면 인자는 Frag 2, Frag 3, Frag 4 또는 이의 변이체를 포함한다.

[0079] 구체예에서, 높은 유도성 수준의 카고 발현이 바람직할 때, 2사분면 인자 또는 3사분면 인자가 바이러스 전달 시스템에 도입된다. 구체예에서, 2사분면 인자는 Frag 2, Frag 3, Frag 4, 또는 이의 변이체를 포함한다. 구체예에서, 2사분면 인자는 E1 및/또는 E2 개시인자 단백질을 포함한다. 구체예에서, 3사분면 인자는 LCR, Frag 1, 또는 이의 변이체를 포함한다. 구체예에서, 3사분면 인자는 E1 및/또는 E2 개시인자 단백질을 포함한다. 구체예에서, 높은 유도성 수준의 카고 발현이 바람직하고, 더 큰 카고 크기가 고려될 때, 2사분면 인자가 바이러스 전달 시스템에 도입된다. 구체예에서, 높은 유도성 수준의 카고 발현이 바람직하고, 더 작은 카고 크기가 고려될 때, 3사분면 인자가 바이러스 전달 시스템에 도입된다. 따라서, 현 시스템의 조율가능성 또는 최적화는 카고 크기를 기반으로 조율가능성 또는 최적화를 가능하게 한다.

[0080] 구체예에서, 카고 발현의 기초 수준 및 유도성 수준 간에 큰 배수-변화 증가가 바람직할 때, 3사분면 인자가 바이러스 전달 시스템에 도입된다. 구체예에서, 3사분면 인자는 LCR, Frag 1, 또는 이의 변이체를 포함한다. 구체예에서, 3사분면 인자는 E1 및/또는 E2 개시인자 단백질을 포함한다.

[0081] 구체예에서, 더 적은 배수-변화 증가가 카고 발현의 기초 수준 및 유도성 수준 간에 바람직할 때, 2사분면 인자가 바이러스 전달 시스템에 도입된다. 추가 구체예로서, 도 12 및 20에 도시된 3사분면 프로파일과 비교하여 카고 발현의 기초 수준 및 유도성 수준 간에 더 적은 배수-변화 증가가 바람직할 때, 2사분면 인자가 바이러스 전달 시스템에 도입된다. 구체예에서, 2사분면 인자는 Frag 2, Frag 3, Frag 4, 또는 이의 변이체를 포함한다. 구체예에서, 2사분면 인자는 E1 및/또는 E2 개시인자 단백질을 포함한다.

[0082] 다른 양상에서, 대상체를 1사분면의 치료 과정으로 치료하는 방법이 제공된다. 방법은 피험체에게 1사분면 인자를 포함하는 바이러스 전달 시스템을 투여하는 단계를 포함한다. 구체예에서, 1사분면 인자는 LCR이 전체 길이 Frag 2, Frag 3, Frag 4, 또는 이의 변이체로부터 선택되는 바이러스 전달 시스템을 포함한다.

[0083] 다른 양상에서, 대상체를 2사분면의 치료 과정으로 치료하는 방법이 제공된다. 방법은 2사분면 인자를 포함하는 바이러스 전달 시스템을 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다. 구체예에서, 2사분면 인자는 Frag 2,

Frag 3, Frag 4, 또는 이의 변이체를 포함한다. 구체예에서, 2사분면 인자는 E1 및/또는 E2 개시인자 단백질을 포함한다.

[0084] 다른 양상에서, 대상체를 3사분면의 치료 과정으로 치료하는 방법이 제공된다. 방법은 3사분면 인자를 포함하는 바이러스 전달 시스템을 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다. 구체예에서, 3사분면 인자는 LCR, Frag 1, 또는 이의 변이체를 포함한다. 구체예에서, 3사분면 인자는 E1 및/또는 E2 개시인자 단백질을 포함한다.

[0085] 다른 양상에서, 대상체를 4사분면의 치료 과정으로 치료하는 방법이 제공된다. 방법은 4사분면 인자를 포함하는 바이러스 전달 시스템을 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다. 구체예에서, 4사분면 인자는 LCR, Frag 1, 또는 이의 변이체를 포함한다.

[0086] 다른 양상에서, 이종성 바이러스 에피솜의 DNA 복제 기원에 특이적인 적어도 하나의 개시인자 단백질이 바이러스 시스템에 존재한다. 구체예에서, 이종성 바이러스 에피솜의 DNA 복제 기원에 특이적인 적어도 하나의 개시인자 단백질은 E1 또는 이의 작동성 단편을 포함한다. 구체예에서, 이종성 바이러스 에피솜의 DNA 복제 기원에 특이적인 적어도 하나의 개시인자 단백질은 E2 또는 이의 작동성 단편을 포함한다. 구체예에서, 이종성 바이러스 에피솜의 DNA 복제 기원에 특이적인 적어도 하나의 개시인자 단백질은 EBNA-1 또는 이의 작동성 단편을 포함한다. 구체예에서, 시스템은 이종성 바이러스 에피솜의 복제 기원에 특이적인 적어도 2종의 개시인자 단백질을 포함한다. 구체예에서, 이종성 바이러스 에피솜의 DNA 복제 기원에 특이적인 적어도 2종의 개시인자 단백질은 E1 및 E2 또는 이의 작동성 단편이다. 구체예에서, 적어도 하나의 개시인자 단백질을 코딩하는 서열은 단일 개별 플라스미드 상에 존재한다. 구체예에서, 시스템은 이종성 바이러스 에피솜의 복제 기원에 특이적인 적어도 2종의 개시인자 단백질을 포함하고, 여기서 적어도 2종의 개시인자 단백질을 코딩하는 서열은 단일 개별 플라스미드 상에 존재할 수 있다. 구체예에서, 시스템은 이종성 바이러스 에피솜의 복제 기원에 특이적인 적어도 2종의 개시인자 단백질을 포함하고, 제1 개시인자 단백질에 대한 서열 및 제2 개시인자 단백질에 대한 서열은 별개 플라스미드 상에 존재할 수 있다.

[0087] 본 개시내용의 양상에서, 적어도 하나의 유전자 산물이 존재한다. 구체예에서, 적어도 하나의 유전자 산물은 항체, 항체 단편, 성장 인자, 또는 소형 RNA를 포함한다. 구체예에서, 항체는 항-HER2 항체 또는 이의 단편을 포함한다. 구체예에서, 성장 인자는 혈관 내피 성장 인자 (VEGF) 또는 이의 변이체를 포함한다. 구체예에서, 소형 RNA는 shRNA, siRNA, 또는 miRNA를 포함한다. 구체예에서, miRNA는 CCR5 miRNA를 포함한다.

[0088] **방법**

[0089] 본 개시내용의 양상은 VIV 시스템을 이를 필요로 하는 환자에게 투여하는 방법을 포함하고, 여기서 VIV 시스템은 적어도 하나, 적어도 둘, 적어도 셋, 적어도 넷, 또는 적어도 다섯의 관심 유전자를 코딩한다. 다재다능성 및 치료적 잠재성 및 개시된 VIV 시스템을 고려하면, 개시내용의 양상에 따른 VIV 시스템은 감염성 질환과 연관된 항원 또는 감염성 병원체에 의해 생산되는 독소에 대한 항체, 혈소판 유래 성장 인자, 혈관 내피 성장 인자, 뇌 유래 성장 인자, 신경 성장 인자, 인간 성장 인자, 인간 융모성 고나도트로핀, 낭성 섬유증 경막 전도도 조절인자 (CFTR), 디스트로핀 또는 디스트로핀-연관 복합체, 지단백질 리파제, α-탈라세미아 및/또는 β-탈라세미아, 인자 VIII, 뼈 형태형성성 단백질 1-4, 사이클로옥시게나제 2, 혈관 내피 성장 인자, 케모카인 수용체 CCR5, 케모카인 수용체 CXCR4, 케모카인 수용체 CXCR5, 결장염, 염증성 장질환 또는 크론병에 관여되는 자가면역 항원에 대한 안티센스 DNA 또는 RNA, 아편류 또는 알콜에 대한 신경 약독화를 조절하는 miRNA를 포함하는 중독에 관여하는 소형 간섭 RNA, 종양 억제인자 유전자, 프로아폽토시스 또는 항아폽토시스 유전자 및 프로오토파지 또는 항오토파지 유전자를 포함하는 세포 생존을 조절하는 유전자, 방사선 내성 인자를 코딩하는 유전자, 종양 세포 전이를 추적하거나 또는 다른 세포 수송 현상에 사용되는 발광성 단백질을 코딩하는 유전자, 또는 신체를 방사선, 수술 또는 화학요법제의 최대 효과를 위해 조건화하거나 또는 방사선, 수술 또는 화학요법제로부터 조직을 보호하거나, 숙주 또는 이식 조직을 변형시켜 장기 이식을 개선시키거나 또는 특히 기도에서 과반응성을 억제하는데 사용할 수 있는 다양한 다른 치료적으로 유용한 서열을 포함하는 유전자 또는 핵산 서열을 코딩할 수 있다.

[0090] 더 나아가서, 임의의 전술한 내용에 제한없이, 다른 양상에서, 세포에서 적어도 하나의 유전자, 유전자 산물, shRNA, siRNA, miRNA, 또는 다른 관심 RNA를 발현하는 방법이 제공된다. 방법은 세포를 비통합성 바이러스 전달 시스템의 유효량과 접촉시키는 단계를 포함하고, 여기서 시스템은 바이러스 운반체로서, 결함성 인테그라제 유전자를 함유하는 것인 바이러스 운반체; 이종성 바이러스 에피솜의 복제 기원; 이종성 바이러스 에피솜의

복제 기원에 특이적인 적어도 하나의 개시인자 단백질을 코딩하는 서열로서, 이종성 바이러스 에피솜의 DNA 복제 기원에 특이적인 적어도 하나의 개시인자 단백질을 코딩하는 서열의 발현은 유도성인 서열; 및 적어도 하나의 유전자, 유전자 산물, shRNA, siRNA, miRNA, 또는 다른 관심 RNA를 포함한다.

[0091] 다른 양상에서, 적어도 하나의 유전자, 유전자 산물, shRNA, siRNA, miRNA, 또는 다른 관심 RNA를 이를 필요로 하는 대상체에서 발현하는 방법이 제공된다. 방법은 비통합성 바이러스 전달 시스템의 유효량을 이를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 단계를 포함하고, 여기서 시스템은 바이러스 운반체로서, 결함성 인테그라제 유전자를 함유하는 것인 바이러스 운반체; 이종성 바이러스 에피솜의 복제 기원; 이종성 바이러스 에피솜의 복제 기원에 특이적인 적어도 하나의 개시인자 단백질을 코딩하는 서열로서, 이종성 바이러스 에피솜의 DNA 복제 기원에 특이적인 적어도 하나의 개시인자 단백질을 코딩하는 서열의 발현은 유도성인 서열; 및 적어도 하나의 유전자, 유전자 산물, shRNA, siRNA, miRNA, 또는 다른 관심 RNA를 포함한다. 적어도 하나의 개시인자 단백질을 코딩하는 서열은 단일 개별 플라스미드 상에 존재할 수 있고, 적어도 하나의 개시인자 단백질은 단독으로 또는 조합하여, E1 또는 E2, 또는 이의 단편일 수 있다. 방법은 임의로 적어도 하나의 유전자, 유전자 산물, shRNA, siRNA, miRNA, 또는 다른 관심 RNA의 발현의 제1 수준을 개시하도록 단일 개별 플라스미드의 제1 양을 이를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다. 방법은 임의로 적어도 하나의 유전자, 유전자 산물, shRNA, siRNA, miRNA, 또는 다른 관심 RNA의 발현의 제2 수준을 개시하도록 단일 개별 플라스미드의 제2 양을 이를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다. 제2 양이 제1 양 미만인 상황에서, 적어도 하나의 유전자, 유전자 산물, shRNA, siRNA, miRNA, 또는 다른 관심 RNA의 발현 수준은 감소될 수 있다. 제2 양이 제1 양을 초과하는 상황에서, 적어도 하나의 유전자, 유전자 산물, shRNA, siRNA, miRNA, 또는 다른 관심 RNA의 발현 수준은 증가될 수 있다.

[0092] **감염성 질환**

[0093] 감염성 질환을 치료하거나 또는 예방하는 방법이 제공된다. 고위험성 개체, 예컨대 건강 상태 또는 지리적 위치에 기인하여, 감염성 질환에 걸릴 고위험성의 개체에게 단일클론 항체의 예방적 전달이 현재 실행되고 있다. 예방적 전달은 예컨대 풍토성 지역을 통해 이동하는 개체 (예를 들어, 에볼라-감염 지역에 들어가는 군대 및 국제 구호원)를 보호하기 위해서, 치명적 바이러스 작용제에 대한 보호성 항체 전달을 포함한다. 백신은 대체로 에볼라 또는 라싸열 바이러스 또는 뎅기열 또는 치쿤군야 바이러스 또는 말라리아를 일으키는 플라스모듐 종과 같은 질환에 대해 검사되지 않으며, 통합 벡터의 사용에 의한 예방적 항체 유전자의 만성적 발현은 알려지지 않은 건강상 위험성을 보유한다. 따라서, 높지만 일시적이어야하는 유효한 항체 발현에 대한 상당한 의료적 요구가 존재한다.

[0094] 높은 카피수의 유전자, 유전자 산물, shRNA, siRNA, miRNA, 및/또는 다른 관심 유전자-침묵화 RNA를 제한된 기간 동안 전달하는 개시된 방법 및 VIV 시스템은 이러한 의학적 요구를 충족한다. 감염성 질환을 치료하기 위해 전달될 수 있는 유전자 산물의 비제한적인 예는 대상 감염성 질환에 특이적인 항체이다.

[0095] 일 양상에서, 본 개시내용은 감염성 질환과 연관된 병태, 증상, 또는 부작용을 치료하거나, 예방하거나, 또는 최소화하는 방법에 관한 것이다. 일정 구체예에서, 감염성 질환은 인간 면역결핍 바이러스 (HIV), 인간 T 세포 백혈병 바이러스, 에볼라 바이러스, 라싸열 바이러스, 뎅기열, 지카 바이러스, 말라리아, 결핵, 광견병, 백시니아 바이러스 또는 다른 감염성 질환일 수 있다. 일부 구체예에서, VIV 시스템은 예방적으로 또는 감염성 질환으로 감염 이후에 투여될 수 있다.

[0096] 다른 양상에서, VIV 시스템은 감염성 질환을 예방하는데 사용될 수 있다. 특정한 감염 질환에 걸릴 높은 위험성을 가질 것으로 의심되는 대상체는 대상 감염성 질환을 특이적으로 표적화하는 항체를 코딩하는 VIV의 예방적 유효량의 투여를 수용할 수 있다.

[0097] 일정 구체예에서, 감염성 질환은 인간 면역결핍 바이러스 (HIV), 인간 T 세포 백혈병 바이러스, 에볼라 바이러스, 라싸열 바이러스, 뎅기열, 지카 바이러스, 말라리아, 결핵, 광견병, 백시니아 바이러스 또는 다른 감염성 질환일 수 있다. 일정 구체예에서, VIV 벡터는 예방적으로 또는 감염성 질환으로 감염 이후에 투여될 수 있다.

[0098] **상처 치유**

[0099] 다른 구체예에서, 본 개시내용은 상처 치유와 연관된 병태, 증상 또는 부작용을 치료하거나, 예방하거나, 또는 최소화하는 방법에 관한 것이다. 개시된 조성물은 사고, 손상, 또는 수술 이후에 상처에 직접적으로 또는 전신으로 투여될 수 있다. 수술의 경우에, VIV 시스템은 치유를 진척시키기 위해 예방적으로 투여될 수 있

다. 사고, 손상, 또는 수술에 의한 상처의 경우에서, VIV 시스템은 상처의 형성 이후 언젠가 투여될 수 있다. 예를 들어, VIV 시스템은 상처 형성의 약 1시간, 약 2시간, 약 3시간, 약 4시간, 약 5시간, 약 10시간, 약 12시간, 약 24시간, 약 36시간, 약 48시간, 약 60시간, 약 72시간, 약 84시간, 약 96시간, 약 108시간, 약 120시간, 또는 약 168시간 이내에 투여될 수 있다.

[0100] 본 개시내용의 방법 및 조성물의 다른 적용은 상처 치유를 가속화하도록 혈소판 성장 인자를 발현할 수 있는 VIV 구성체의 일시적 전달이다. 고 용량의 혈소판-유래 성장 인자 (PDGF), 관련 성장 인자, 이의 단편, 및 이와 관련된 뉴클레오티드 돌연변이체는 매우 신속하지만 일시적으로 요구된다. 개시된 시스템 및 방법은 이러한 유형의 적용에 이상적이다.

[0101] 추가적인 단기간 적용은 피부 병태에 대한 국소 도포, 척수 재생을 위한 신경 성장 인자 및 알콜 남용의 간혈적 치료를 위한 뇌-유래 성장 인자의 발현을 포함한다.

[0102] **뼈 질환 또는 손상**

[0103] 일 구체예에서, 개시내용은 뼈 손상을 갖는 대상체를 식별하는 단계 및 대상체에게 본 명세서에 개시된 바이러스 전달 시스템의 치료적 유효량을 투여하는 단계를 포함하는, 뼈 치유를 증강시키는 방법에 관한 것이다. 바이러스 전달 시스템은 바이러스 운반체, 이종성 바이러스 에피솜의 복제 기원, 이종성 바이러스 에피솜의 복제 기원에 특이적인 개시인자 단백질을 코딩하는 서열, 및 적어도 하나의 유전자, 유전자 산물, shRNA, siRNA, miRNA, 및/또는 다른 관심 유전자-침묵화 RNA를 포함하고, 여기서 바이러스 운반체는 결함성 인테그라제 유전자를 가지며, 이종성 바이러스 에피솜의 DNA 복제 기원에 특이적인 개시인자 단백질을 코딩하는 서열의 발현은 유도성 프로모터의 제어 하에 있다. 뼈 손상은 예를 들어, 사고, 손상, 또는 수술로 인한 것일 수 있고, 뼈 불유합, 또는 급성 골절일 수 있거나, 또는 척추 융합술을 요구할 수 있다. 일부 구체예에서, 유전자, 유전자 산물, shRNA, siRNA, miRNA, 및/또는 다른 관심 유전자-침묵화 RNA는 뼈 형태형성성 단백질 1-4 또는 사이클로옥시게나제-2 또는 혈관 내피 성장 인자, 또는 이의 단편을 코딩한다. 더 나아가서, 일정 구체예에서, 전술한 것의 돌연변이체가 바람직하고 뼈 손상 또는 관련 질환을 치료하기 위해 본 개시내용의 범주 내에 속한다.

[0104] 구체예에서, 본 개시내용은 뼈 질환을 갖는 대상체를 식별하는 단계 및 대상체에게 본 개시내용에 따른 바이러스 전달 시스템의 치료적 유효량을 투여하는 단계를 포함하는, 뼈 치유를 증강시키는 방법에 관한 것이다. 바이러스 전달 시스템은 바이러스 운반체, 이종성 바이러스 에피솜의 복제 기원, 이종성 바이러스 에피솜의 복제 기원에 특이적인 개시인자 단백질을 코딩하는 서열, 및 적어도 하나의 유전자, 유전자 산물, shRNA, siRNA, miRNA, 및/또는 다른 관심 유전자-침묵화 RNA를 포함하고, 여기서 바이러스 운반체는 결함성 인테그라제 유전자를 가지고, 이종성 바이러스 에피솜의 DNA 복제 기원에 특이적인 개시인자 단백질을 코딩하는 서열의 발현은 유도성 프로모터의 제어 하에 존재한다. 뼈 질환은 예를 들어, 사고, 손상, 또는 수술로 인한 것일 수 있고, 뼈 불유합, 또는 급성 골절일 수 있거나, 또는 척추 융합술을 요구할 수 있다. 추가적으로, 뼈 질환은 낮은 골밀도, 뼈로의 저혈류량, 노화, 유전성 병태 등에 의한 것일 수 있다. 일부 구체예에서, 유전자, 유전자 산물, shRNA, siRNA, miRNA, 및/또는 다른 관심 유전자-침묵화 RNA는 뼈 형태형성성 단백질 1-4 또는 사이클로옥시게나제-2 또는 혈관 내피 성장 인자를 코딩한다.

[0105] **유전성 유전자 질환**

표 2

표 2 –유전성 유전자 질환 및 관여 유전자 인자의 요약

장애	돌연변이	염색체
22q11.2 결실 증후군	D	22q
알파-1-항-트립신 장애	P	14q32
14q32 엔젤만 증후군		
카나반병		17p
샤르코-마리-투스병		
색맹	P	X
고양이 울음 증후군	D	5
낭포성 섬유증	P	7q
다운 증후군	C	21
뒤센 근육 이영양증	D	Xp
혈색소증	P	6
혈우병	P	X
클라인펠터 증후군	C	X
신경섬유종증		17q/22q/?
페닐케톤뇨증	P	12q
다낭성 신장 질환	P	16 (PKD1) 또는 4 (PKD2)
프래더-윌리 증후군	DC	15
겸상 적혈구병	P	11p
테이-삭스병	P	15
터너 증후군	C	X

[0106]

[0107] 구체예에서, 본 개시내용은 유전성 유전자 질환과 연관된 병태, 증상 또는 부작용을 치료하거나, 예방하거나, 또는 최소화하는 방법에 관한 것이다. 이러한 유전성 유전자 질환의 몇몇 예를 하기의 명명법을 사용하여 관여되는 돌연변이 및 염색체의 인과 유형과 함께 본 명세서의 표 2에 개시한다:

[0108] P - 전체적으로 한 유전자 내의 점 돌연변이, 또는 임의의 삽입/결실

[0109] D - 유전자 또는 유전자들의 결실

[0110] C - 전체 염색체 과잉, 누락, 또는 둘 모두 (염색체 이상 참조)

[0111] T - 트리뉴클레오티드 반복 장애: 유전자가 길이가 연장됨

[0112] 현행 유전자 요법은 유전자 결실, 치환, 또는 재-시퀀싱을 통해서 게놈 DNA를 편집하려는 노력을 포함한다. Talen, CRISPR-Cas9, 징크 핑거 엔도뉴클레아제, TALEN 및 기타를 포함하여, 당분야에 공지된 다양한 유전자 요법 시스템은 렌티바이러스 형질도입에 의한 유전 물질의 전달에 의존한다. 그러나, 본 개시내용과 달리, 이들 시스템은 활성 염색체 변형 시스템이 예상치않은 부위를 변경시켜서, 암을 포함하는 새로운 유전자 질환을 초래할 수 있기 때문에 장기간 동안 세포에서 활성인 채로 남아있으면 예상치 않은 결과를 가질 수 있다. 숙주 DNA의 변형을 위해 실제로 실용적인 시스템은 본 명세서에 개시된 방법과 같은 방법을 통해서, 일시적으로, 철저히-조절되는 발현을 요구한다.

[0113] 구체예에서, 본 개시내용은 유전성 유전자 질환을 치료하는 방법에 관한 것으로서, 유전성 유전자 질환을 갖는 대상체를 식별하는 단계 및 대상체에게 본 개시내용에 따른 바이러스 전달 시스템의 치료적 유효량을 투여하는 단계를 포함한다. 바이러스 전달 시스템은 바이러스 운반체, 이종성 바이러스 에피솜의 복제 기원, 이종성

바이러스 에피솜의 복제 기원에 특이적인 개시인자 단백질을 코딩하는 서열, 및 적어도 하나의 유전자, 유전자 산물, shRNA, siRNA, miRNA, 및/또는 다른 관심 유전자-침묵화 RNA 중 하나 이상을 포함하고, 여기서 바이러스 운반체는 결함성 인테그라제 유전자를 갖고, 이종성 바이러스 에피솜의 DNA 복제 기원에 특이적인 개시인자 단백질을 코딩하는 서열의 발현은 유도성 프로모터의 제어 하에 존재한다. 유전성 유전자 질환은 예를 들어, 표 2에 열거된 질환일 수 있고, 일부 구체예에서, 유전자, 유전자 산물, shRNA, siRNA, miRNA, 및/또는 다른 관심 유전자-침묵화 RNA는 표 2에 열거된 유전자의 비돌연변이된 형태를 코딩한다. 전술한 내용을 제한하지 않고, 특별한 유전성 유전자 질환은 CF일 수 있고 치료는 본 명세서에서 상술하는 바와 같이 CFTR의 비돌연변이된 형태를 발현시켜서 수행될 수 있다.

[0114] 다른 구체예에서, 가이드 RNA 표적 서열은 개시된 VIV 시스템으로 도입된다. 가이드 RNA 서열은 돌연변이되거나 또는 그렇지 않으면 교정을 요구하는 숙주 게놈 내의 특별한 부위로 유전자 편집 기구를 표적화시키는데 사용되는 서열이다. VIV 시스템의 카고 내에 가이드 RNA의 내포는 교정을 요구하는 염색체 구획의 변형을 가능하게 하고, 동일한 변형이 VIV 내에서 발생되어 숙주에 의한 분해 및/또는 희석이 가속화될 것이다. 구체예에서, 개시된 바이러스 전달 시스템은 바이러스 운반체, 이종성 바이러스 에피솜의 복제 기원, 이종성 바이러스 에피솜의 복제 기원에 특이적인 개시인자 단백질을 코딩하는 서열, 적어도 하나의 유전자, shRNA, siRNA, miRNA, 및/또는 다른 관심 유전자-침묵화 RNA, 및 적어도 하나의 가이드 RNA 중 하나 이상을 포함하고, 여기서 바이러스 운반체는 결함성 인테그라제 유전자를 가지고, 이종성 바이러스 에피솜의 DNA 복제 기원에 특이적인 개시인자 단백질을 코딩하는 서열의 발현은 유도성 프로모터의 제어 하에 존재한다.

[0115] **세포 또는 조직의 생체외 변형**

[0116] 다른 양상에서, VIV 시스템은 질환 요법을 위해 사용되는 세포 또는 조직을 변형시키는데 사용될 수 있다. 세포는 제한없이, 초대 세포 예컨대 림프구, 줄기 세포, 상피 세포, 신경 세포 및 기타를 포함할 수 있다. 예를 들어, VIV 시스템은 암, 감염성 질환 또는 자가면역을 포함한 특별한 질환에 대해 재지정되는 림프구를 변형시키는데 사용될 수 있고, 여기서는 유전자 변형 세포의 장기간 존재가 건강 위험을 제기한다. 예를 들어, VIV 시스템은 또한 정해진 간격 동안 전사 인자의 높은 수준을 요구하고, 통합된 바이러스 벡터의 장기간 존재가 바람직하지 않을 수 있는 다능성 줄기 세포를 프로그래밍하는데 사용될 수 있다. 적합한 상피 세포는 합성 피부 또는 다른 적용에 사용되는 것들을 포함한다. 이들은 치료 이후에 정상 조직의 기능에 유해할 수 있는 초기 치료 동안 영양 또는 성장 인자의 발현을 요구할 수 있고 본 명세서에 개시된 VIV 시스템에 의해 최고로 전달된다.

[0117] **용량 및 제형**

[0118] 개시된 VIV 시스템은 개시된 벡터의 에피솜 유지 및 관심 유전자 또는 서열의 단기간, 중간 기간, 또는 장기간 발현을 가능하게 한다. 따라서, 용량 용법은 치료되는 병태 및 투여 방법을 기반으로 다양할 수 있다.

[0119] 구체예에서, VIV는 다양한 용량으로 필요로 하는 대상체에게 투여될 수 있다. 특히, 대상체는 $\geq 10^6$ 감염 용량 (여기서 1 용량이 1 표적 세포를 형질도입시키는데 평균적으로 필요함)이 투여될 수 있다. 보다 특히, 대상체는 $\geq 10^7$, $\geq 10^8$, $\geq 10^9$, 또는 $\geq 10^{10}$ 감염 용량이 투여될 수 있다. VIV 용량의 상한치는 각 질환 징후에 대해 결정될 것이고 각 개별 제품 또는 제품 로트에 대한 독성/안전성 프로파일에 따라 좌우될 것이다.

[0120] 추가적으로, VIV는 1일 1회 또는 2회 투여될 수 있다. 대안적으로, VIV는 필요로 하는 대상체에게 1주에 1회, 2주에 1회, 3주에 1회, 1개월에 1회, 2개월 마다, 3개월 마다, 6개월 마다, 9개월 마다, 1년에 1회, 18개월 마다, 2년 마다, 36개월 마다, 또는 3년 마다 또는 그 이상으로 투여될 수 있다.

[0121] 다양한 양상 및 구체예에서, VIV는 약학 조성물로서 투여된다. 구체예에서, VIV를 포함하는 약학 조성물은 임상 적용을 위해 광범위하게 다양한 코, 폐, 경구, 국소, 또는 비경구 제형으로 제제화될 수 있다. 각각의 제형은 다양한 붕해제, 계면활성제, 충전제, 증점제, 결합제, 희석제 예컨대 습윤제 또는 다른 약학적으로 허용가능한 부형제를 함유할 수 있다. VIV를 포함하는 약학 조성물은 또한 주사용으로 제제화될 수도 있다.

[0122] VIV 조성물은 임의의 약학적으로 허용가능한 방법을 사용하여, 예컨대 비내, 구강, 설하, 경구, 직장, 안구, 비경구 (정맥내, 피부내, 근육내, 피하, 수조내, 복강내), 폐, 질내, 국부 투여, 국소 투여, 난절 이후 국소 투여, 점막 투여, 에어로졸, 구강 또는 코 스프레이 제제를 통해서 투여될 수 있다.

[0123] 더 나아가서, VIV 조성물은 임의의 약학적으로 허용가능한 제형, 예컨대 고체 제형, 정제, 알약, 로젠지, 캡슐, 액체 분산액, 겔, 에어로졸, 폐 에어로졸, 코 에어로졸, 연고, 크림, 반고체 제형, 및 현탁액으로 제제화될 수

있다. 또한, 조성물은 제어 방출 제제, 지속 방출 제제, 즉시 방출 제제 또는 이의 임의 조합일 수 있다. 또한, 조성물은 경피 전달 시스템일 수 있다.

[0124] 다른 구체예에서, VIV를 포함하는 약학 조성물은 경구 투여용 고체 제형으로 제제화될 수 있고, 고체 제형은 분말, 과립, 캡슐, 정제 또는 알약일 수 있다. 다른 구체예에서, 고체 제형은 하나 이상의 부형제 예컨대 칼슘 카보네이트, 전분, 수크로스, 락토스, 미세결정질 셀룰로스 또는 젤라틴을 포함할 수 있다. 또한, 고체 제형은 부형제이외에도, 윤활제 예컨대 탈크 또는 마그네슘 스테아레이트를 포함할 수 있다. 구체예에서, 경구 제형은 즉시 방출 또는 변형 방출 형태일 수 있다. 변형 방출 제형은 제어 또는 장기간 방출, 장 방출 등을 포함한다. 변형 방출 제형에 사용되는 부형제는 일반적으로 당업자에게 공지되어 있다.

[0125] 구체예에서, VIV를 포함하는 약학 조성물은 설하 또는 구강 제형으로서 제제화될 수 있다. 이러한 제형은 혀 아래에 투여되는 설하 정제 또는 용액 조성물 및 뺨과 잇몸 사이에 놓여지는 구강 정제를 포함한다.

[0126] 다른 구체예에서, VIV를 포함하는 약학 조성물은 코 제형으로서 제제화될 수 있다. 본 개시내용의 이러한 제형은, 코 전달을 위한 용액, 현탁액 및 겔 조성물을 포함한다.

[0127] 구체예에서, 약학 조성물은 경구 투여용 액상 제형, 예컨대 현탁액, 에멀션 또는 시럽으로 제제화될 수 있다. 구체예에서, 액상 제형은 통용되는 단순한 희석제 예컨대 물 및 액체 파라핀이외에도, 다양한 부형제 예컨대 보습제, 감미제, 방향제 또는 보존제를 포함할 수 있다. 구체예에서, VIV 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 포함하는 조성물은 소아과 환자에게 투여하기 적합하도록 제제화될 수 있다.

[0128] 구체예에서, 약학 조성물은 비경구 투여용 제형, 예컨대 멸균 수성 용액, 현택액, 에멀션, 비수성 용액 또는 좌제로 제제화될 수 있다. 구체예에서, 비수성 용액 또는 현탁액은 프로필렌글리콜, 폴리에틸렌글리콜, 식물성 오일 예컨대 올리브 오일 또는 주사용 에스테르 예컨대 에틸 올레에이트를 포함할 수 있다. 좌제용 베이스로서, 위텝솔, 마크로골, 트윈 61, 카카오 오일, 라우린 오일 또는 글리세린화된 젤라틴이 사용될 수 있다.

[0129] 약학 조성물의 용량은 환자의 체중, 연령, 성별, 투여 시기 및 방식, 배설률, 및 질환의 중증도에 따라서 다양할 수 있다.

[0130] **정의**

[0131] 본 명세서에서 특별하게 정의되지 않은 단어는 당업자가 이해하는 바와 일관된 의미를 갖는 것으로 이해하게 될 것이다.

[0132] 본 명세서에서 사용되는, 용어 "약"은 당업자가 이해하게 될 것이며 사용되는 문맥에 따라서 어느 정도 다양할 수 있다. 사용된 문맥을 고려했을 때 당업자에게 분명하지 않은 용어의 사용이 존재하면, "약"은 특정한 용어의 10%를 최대로 더하거나 뺀 것을 의미하게 된다.

[0133] 용어 활성제를 "투여하는" 또는 활성제의 "투여"는 개체의 신체에 치료적으로 유용한 형태 및 치료적 유효량으로 유입될 수 있는 형태로 치료를 필요로 하는 대상체에게 본 개시내용의 활성제를 제공하는 것을 의미한다.

[0134] 용어 "기초 수준"은 적어도 하나의 개시인자 단백질이 첨가되지 않았을 때 카고의 발현을 의미한다.

[0135] 용어 "BMP"는 뼈 형태형성성 단백질을 의미한다.

[0136] 용어 "카고"는 본 명세서에 개시된 바이러스 전달 시스템(들)을 사용하여 발현되는 유전자 또는 유전자 산물을 의미한다.

[0137] 용어 "CF"는 낭성 섬유증을 의미하고, 용어 "CFTR"은 낭성 섬유증 경막 전도도 조절인자 단백질을 의미한다.

[0138] 용어 "발현", "발현되는" 또는 "코딩하는"은 폴리뉴클레오티드가 mRNA로 전사되는 과정 및/또는 전사된 mRNA가 이후에 펩티드, 폴리펩티드 또는 단백질로 번역되는 과정을 의미한다. 발현은 진핵생물 세포에서 mRNA의 스플라이싱 또는 전사후 변형 또는 번역후 변형의 다른 형태를 포함할 수 있다.

[0139] 용어 "단편 1"은 "F1" 및 "Frag 1"과 동의어이고 본 명세서에서 상술되는 LCR의 단편 1 절단형을 의미한다. 용어 "단편 2"는 "F2" 및 "Frag 2"와 동의어이고 본 명세서에서 상술되는 LCR의 단편 2 절단형을 의미한다. 용어 "단편 3"은 "F3" 및 "Frag 3"과 동의어이고 본 명세서에서 상술되는 LCR의 단편 3 절단형을 의미한다. 용어 "단편 4"는 "F4" 및 "Frag 4"와 동의어이고 본 명세서에서 상술되는 LCR의 단편 1 구성체를 의미한다.

[0140] 용어 "개체", "숙주", "대상체" 및 "환자"는 본 명세서에서 상호교환적으로 사용된다.

[0141] 용어 "유도성 수준"은 적어도 하나의 개시인자 단백질의 첨가 이후 카고의 발현을 의미한다.

[0142] 용어 "LCR"은 예를 들어 HVP16의 긴 제어 영역을 의미한다.

[0143] 용어 "PDGF"는 혈소판-유래 성장 인자를 의미한다.

[0144] 용어 "1사분면의 치료 과정"은 도 21의 1사분면에 포함된 치료 과정의 참조를 포함한다. 비제한적인 예로서, 1사분면의 치료 과정은 유전자 편집, 안전성 연구, 및 실시예 17에 요약된 목적을 포함한다. 용어 "2사분면의 치료 과정"은 도 21의 2사분면에 포함된 치료 과정의 참조를 포함한다. 비제한적인 예로서, 2사분면의 치료 과정은 세포 리프로그래밍, 체크포인트 억제, 및 실시예 18에 요약된 목적을 포함한다. 용어 "3사분면의 치료 과정"은 도 21의 3사분면에 포함된 치료 과정의 참조를 포함한다. 비제한적인 예로서, 3사분면의 치료 과정은 수동 면역, 면역 자극, 및 실시예 19에 요약된 목적을 포함한다. 용어 "4사분면의 치료 과정"은 도 21의 4사분면에 포함된 치료 과정의 참조를 포함한다. 비제한적인 예로서, 4사분면의 치료 과정은 위약 대조군, 및 실시예 20에 요약된 목적을 포함한다.

[0145] 용어 "1사분면 인자"는 도 20의 1사분면에 도시된 기초 에피솜 카피수 프로파일을 촉진하는 임의의 생물학적 인자를 의미한다. 비제한적인 예로서, 1사분면 인자는 Frag 2, Frag 3, 및 Frag 4 서열을 포함한다. 용어 "2사분면 인자"는 도 20의 2사분면에 도시된 유도성 에피솜 카피수 프로파일을 촉진하는 임의의 생물학적 인자를 의미한다. 비제한적인 예로서, 2사분면 인자는 E1 및/또는 E2 개시인자 단백질과 조합하여 Frag 2, Frag 3, 및 Frag 4 서열을 포함한다. 용어 "3사분면 인자"는 도 20의 3사분면에 도시된 유도성 에피솜 카피수 프로파일을 촉진하는 임의의 생물학적 인자를 의미한다. 비제한적인 예로서, 3사분면 인자는 E1 및/또는 E2 개시인자 단백질과 조합하여 LCR 및 Frag 1 서열을 포함한다. 용어 "4사분면 인자"는 도 20의 4사분면에 도시된 기초 에피솜 카피수 프로파일을 촉진하는 임의의 생물학적 인자를 의미한다. 비제한적인 예로서, 4사분면 인자는 LCR 및 Frag 1 서열을 포함한다.

[0146] 용어 "shRNA"는 짧은 헤어핀 RNA를 의미하고; 용어 "siRNA"는 소형 (또는 단형) 간섭 RNA를 의미하며; 용어 "miRNA"는 마이크로RNA를 의미한다.

[0147] 용어 "치료적 유효량"은 소정 질병, 손상, 질환 또는 병태를 앓고 있는 환자에서 보이는 합병증의 증상, 진행 또는 개시를 치료하거나 또는 예방하기 위한, 적합한 제형, 및 적합한 조성물 중 본 개시내용의 활성제의 충분한 분량을 의미한다. 치료적 유효량은 환자의 병태의 상태 또는 이의 중증도, 및 치료하려는 대상체의 연령, 체중 등에 따라서 다양할 것이다. 치료적 유효량은 예를 들어 투여 경로, 대상체의 병태를 비롯하여 당업자가 이해하는 다른 인자들을 포함하는, 임의의 많은 인자들에 따라서 다양할 수 있다.

[0148] 용어 "치료" 또는 "치료하는"은 일반적으로 치료되는 대상체의 자연적 과정을 변경시키려고 시도하는 중재술을 의미하며, 예방법으로 또는 임상 병리학 과정 동안 수행될 수 있다. 바람직한 효과는 제한없이, 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.

[0149] 기초 발현 수준의 내용에서 사용될 때 용어 "초저"는 에피솜 카피수 (적절하면) 및/또는 발현의 초저 수준을 의미하고 검출불가능한 에피솜 카피수 및/또는 발현을 포함할 수 있다. 비제한적인 예로서, 초저 수준의 발현은 세포 당 0.020 미만의 에피솜 카피를 포함한다. 기초 발현 수준의 내용에서 사용될 때 용어 "초저"는 또한 본 명세서에서 "제1 확정 수준"을 의미할 수 있다. 기초 발현 수준의 내용에서 사용될 때 용어 "약간 더 높은"은 "초저" 표준과 비교하여 약간 더 높은 에피솜 카피수 및/또는 발현의 낮은 수준을 의미한다. 비제한적인 예로서, 발현의 약간 더 높은 수준은 세포 당 0.020 에피솜 카피 또는 이의 초과이지만 세포 당 0.2 카피 미만인 세포 당 에피솜 카피 값을 포함한다. 기초 발현 수준의 내용에서 사용될 때 용어 "약간 더 높은"은 또한 본 명세서에서 "제2 확정 수준"을 의미할 수도 있다.

[0150] 본 명세서에서 사용되는, 용어 "VIV"는 적어도 하나의 유전자, 유전자 산물, shRNA, siRNA, miRNA, 또는 다른 관심 RNA를 발현시키기 위한 벡터-인-벡터 시스템을 의미한다. 용어 "VIV"는 본 명세서에서 사용될 때, 바이러스 전달 시스템 및 일시적 벡터와 동의어로 사용된다.

[0151] 하기의 실시예는 본 발명의 양상들을 예시하기 위해 제공된다. 그러나, 본 발명을 이들 실시예에서 기술하는 특정한 상태 또는 구체적인 내용으로 제한하지 않는다는 것을 이해해야 한다. 본 명세서에서 참조하는 모든 인쇄된 공개물은 특별히 참조로 편입된다.

[0152] **실시예**

[0153] **실시예 1 - 감염성 질환을 치료하기 위한 VIV**

[0154] 이 실시예는 감염성 질환을 치료하기 위한 예시적인 VIV 구성체를 입증한다.

[0155] 이 실시예에서, 도 1A는 에볼라 바이러스, 감염성 질환을 치료하기 위한 예시적인 선형 VIV 구성체를 나타낸다. 본 명세서에서, 도 1A에 도시된 "카고" 부분의 적어도 하나는 에볼라 바이러스를 특이적으로 표적화하는 항체를 코딩한다. 예시적인 VIV 구성체의 긴 말단 반복부 (LTR) 부분은 도 1B에 도시된 바와 같이 바이러스 핵산을 원형화시키는데 사용될 수 있다.

[0156] 에볼라 바이러스를 갖는 것으로 의심되거나 또는 진단된 대상체는 에볼라의 치료 또는 예방을 위한 하나 이상의 추가적인 작용제와 조합하여 또는 단독으로, 에볼라 바이러스를 특이적으로 표적화하는 항체를 코딩하는 VIV의 치료적 유효량의 투여를 수용할 수 있다. 추가적인 작용제 및/또는 에볼라 바이러스를 특이적으로 표적화하는 항체를 코딩하는 VIV는 당분야에 공지되거나 또는 본 명세서에 기술된 바와 같은 방법에 따라서 경구로, 비내로, 척추강내로, 안구내로, 피부내로, 경점막으로, 이온영동으로, 국소로, 전신으로, 정맥내로, 피하로, 복강내로, 또는 근육내로 투여된다. 다음으로 대상체는 제한없이, 예를 들어, 발열, 피로, 권태, 나약, 충혈, 관절 및 근육 통증, 두통, 구역, 구토, 출혈, 및 사망을 포함하는, 에볼라 바이러스와 연관된 징후 및 증상의 존재 및/또는 중증도에 대해 날마다 평가된다. 치료는 에볼라 바이러스 감염의 하나 이상의 징후 또는 증상이 경감되거나 또는 제거되는 시기까지 유지된다.

[0157] 에볼라 바이러스가 감염된 것으로 의심되거나 또는 에볼라 바이러스 감염으로 진단되어 에볼라 바이러스를 특이적으로 표적화하는 항체를 코딩하는 VIV의 치료적 유효량을 수용한 대상체가 에볼라 바이러스 감염과 연관된 하나 이상의 증상의 제거 또는 감소된 중증도를 나타낼 것이라는 것이 합리적으로 예측된다. 더 나아가서 하나 이상의 추가적인 작용제와 조합하여 에볼라 바이러스를 특이적으로 표적화하는 항체를 코딩하는 VIV의 투여가 상승적 효과를 가질 것이라는 것이 합리적으로 예측된다.

[0158] 이들 결과는 에볼라 바이러스를 특이적으로 표적화하는 항체를 코딩하는 VIV가 에볼라 바이러스의 치료에 유용하다는 것을 보여줄 것이다.

[0159] **실시예 2 - 감염성 질환을 예방하기 위한 VIV**

[0160] 이 실시예는 감염성 질환을 예방하기 위한 예시적인 VIV 구성체를 입증한다. 이 실시예에서, 도 1A는 에볼라 바이러스에 의한 감염, 감염성 질환을 예방하기 위한 예시적인 선형 VIV 구성체를 나타낸다. 여기서, 도 1A에 도시된 "카고" 부분의 적어도 하나는 에볼라 바이러스를 특이적으로 표적화하는 항체를 코딩한다. 예시적인 VIV 구성체의 긴 말단 반복부 (LTR) 부분은 도 1B에 도시된 바와 같은 바이러스 핵산을 원형화하는데 사용될 수 있다.

[0161] 에볼라 바이러스에 걸릴 높은 위험성을 갖는 것으로 의심되는 대상체는 에볼라에 걸릴 위험성이 높은 지역으로 들어가기 전에 에볼라의 치료 또는 예방을 위해 하나 이상의 추가적인 작용제와 조합하여 또는 단독으로, 에볼라 바이러스를 특이적으로 표적화하는 항체를 코딩하는 VIV의 예방적 유효량의 투여를 수용할 수 있다. 추가적인 작용제 및/또는 에볼라 바이러스를 특이적으로 표적화하는 항체를 코딩하는 VIV는 당분야에 공지되거나 또는 본 명세서에 기술된 바와 같은 방법에 따라서 경구로, 비내로, 척추강내로, 안구내로, 피부내로, 경점막으로, 이온영동으로, 국소로, 전신으로, 정맥내로, 피하로, 복강내로, 또는 근육내로 투여된다. 다음으로 대상체는 제한없이, 예를 들어, 발열, 피로, 권태, 나약, 충혈, 관절 및 근육 통증, 두통, 구역, 구토, 출혈, 및 사망을 포함한, 에볼라 바이러스와 연관된 징후 및 증상의 존재 및/또는 중증도에 대해 날마다 평가된다. 치료는 에볼라 바이러스 감염의 하나 이상의 징후 또는 증상이 예방되는 시기까지 유지된다.

[0162] 에볼라 바이러스에 노출된 것으로 의심되거나 또는 노출된 것으로 진단되어 에볼라 바이러스를 특이적으로 표적화하는 항체를 코딩하는 VIV의 예방적 유효량을 수용한 대상체는 에볼라에 걸릴 감소된 위험성을 가질 것이라는 것이 합리적으로 예측된다. 또한 하나 이상의 추가적인 작용제와 조합하여 에볼라 바이러스를 특이적으로 표적화하는 항체를 코딩하는 VIV의 투여가 상승적 효과를 가질 것이라는 것이 합리적으로 예측된다. 이들 결과는 에볼라 바이러스를 특이적으로 표적화하는 항체를 코딩하는 VIV가 에볼라 바이러스의 예방에 유용하다는 것을 보여줄 것이다.

[0163] **실시예 3 - 상처 치유의 증강을 위한 VIV**

[0164] 이 실시예는 상처 치유를 증강시키기 위한 예시적인 VIV 구성체를 입증한다. 이 실시예에서, 도 1A는 상처 치유를 증강시키기 위한 예시적인 선형 VIV 구성체를 나타낸다. 여기서, 도 1A에 도시된 "카고" 부분의 적

어도 하나는 혈소판-유래 성장 인자 (PDGF) (서열번호 17)를 코딩한다. 예시적인 VIV 구성체의 긴 말단 반복부 (LTR) 부분은 도 1B에 도시된 바와 같이, 바이러스 핵산을 원형화시키는데 사용될 수 있다.

[0165] 상처 (예를 들어, 사고, 손상, 또는 수술에 의함)를 갖는 대상체는 상처를 치료하거나 또는 멸균하기 위해 하나 이상의 추가적인 작용제와 조합하거나 또는 단독으로, 혈소판-유래 성장 인자 (PDGF)를 코딩하는 VIV의 치료적 유효량의 투여를 수용할 수 있다. VIV PDGF 및/또는 추가적인 작용제는 당 분야에 공지되거나 또는 본 명세서에 기술된 바와 같은 방법에 따라서 경구로, 비내로, 척추강내로, 안구내로, 피부내로, 경점막으로, 이온영동으로, 국소로, 전신으로, 정맥내로, 피하로, 복강내로, 또는 근육내로 투여된다. 다음으로, 대상체는 상처의 상태를 결정하기 위해 날마다 평가된다. 치료는 상처가 치유되어 반흔이 최소화되는 시기까지 유지된다.

[0166] 상처를 가져서 VIV PDGF의 치료적 유효량을 수용한 대상체가 증강된 상처 치유를 나타내게 될 것이라는 것이 합리적으로 예측된다. 또한 하나 이상의 추가적인 작용제와 조합하여 PDGF를 코딩하는 VIV의 투여가 상승적 효과를 가지게 될 것이라는 것이 합리적으로 예측된다. 이들 결과는 PDGF를 코딩하는 VIV가 상처 치유를 증강시키는데 유용하다는 것을 보여줄 것이다.

[0167] **실시예 4 - 뼈 손상의 치료를 위한 VIV**

[0168] 이 실시예는 뼈 손상을 치료하기 위한 예시적인 VIV 구성체를 입증한다. 이 실시예에서, 도 1A는 뼈 손상을 치료하기 위한 예시적인 선형 VIV 구성체를 나타낸다. 여기서, 도 1A에 도시된 "카고" 부분의 적어도 하나는 뼈 형태형성성 단백질 (BMP) (서열번호 18)을 코딩한다. 예시적인 VIV 구성체의 긴 말단 반복부 (LTR) 부분은 도 1B에 도시된 바와 같이, 바이러스 핵산을 원형화시키는데 사용될 수 있다.

[0169] 뼈 손상을 갖는 것으로 의심되거나 또는 뼈 손상을 갖는 것으로 진단된 대상체는 뼈 손상의 치료를 위해서 하나 이상의 추가적인 작용제와 조합하여 또는 단독으로, 뼈 형태형성성 단백질 (BMP)을 코딩하는 VIV의 치료적 유효량의 투여를 수용할 수 있다. 추가적인 작용제 및/또는 BMP를 코딩하는 VIV는 당분야에 공지되거나 또는 본 명세서에 기술된 바와 같은 방법에 따라서 경구로, 비내로, 척추강내로, 안구내로, 피부내로, 경점막으로, 이온영동으로, 국소로, 전신으로, 정맥내로, 피하로, 복강내로, 또는 근육내로 투여된다. 다음으로 대상체는 치유 속도 및 강도를 결정하기 위해서 뼈 손상과 연관된 징후 및 증상의 존재 및/또는 중증도에 대해서 매주 평가된다. 치료는 뼈가 치유되는 시기까지 유지된다.

[0170] 뼈 손상을 갖는 것으로 의심되거나 또는 뼈 손상을 갖는 것으로 진단되어 BMP를 코딩하는 VIV의 치료적 유효량을 수용한 대상체는 손상의 감소된 중증도 및 증강된 치유를 나타낼 것이라는 것이 합리적으로 예측된다. 하나 이상의 추가적인 작용제와 조합하여 BMP를 코딩하는 VIV의 투여가 상승적 효과를 가질 것이라는 것이 또한 합리적으로 예측된다. 이들 결과는 BMP를 코딩하는 VIV가 뼈 손상 또는 질환의 치료에서 유용하다는 것을 보여줄 것이다.

[0171] **실시예 5 - 유전성 질환의 치료를 위한 VIV**

[0172] 이 실시예는 낭성 섬유증 (CF)을 치료하기 위한 예시적인 VIV 구성체를 입증한다. 이러한 실시예에서, 도 1A는 유전성 질환인 CF를 치료하기 위한 예시적인 선형 VIV 구성체를 나타낸다. 여기서, 도 1A에 도시된 "카고" 부분의 적어도 하나는 낭성 섬유증 경막 전도도 조절인자 (CFTR) (NM_000492)를 코딩한다. 예시적인 VIV 구성체의 긴 말단 반복부 (LTR) 부분은 도 1B에 도시된 바와 같이, 바이러스 핵산을 원형화시키는데 사용될 수 있다.

[0173] (CF)를 갖는 것으로 의심되거나 또는 (CF)를 갖는 것으로 진단된 대상체는 CF의 치료를 위해서 하나 이상의 추가적인 작용제와 조합하여 또는 단독으로 낭성 섬유증 경막 전도도 조절인자 (CFTR)를 코딩하는 VIV의 치료적 유효량의 투여를 수용할 수 있다. 추가적인 작용제 및/또는 CFTR을 코딩하는 VIV는 당분야에 공지되거나 또는 본 명세서에 기술된 바와 같은 방법에 따라서 경구로, 비내로, 척추강내로, 안구내로, 피부내로, 경점막으로, 이온영동으로, 국소로, 전신으로, 정맥내로, 피하로, 복강내로, 또는 근육내로 투여된다. 다음으로 대상체는 제한없이, 예를 들어, 저조한 성장, 지속적인 기침, 진한 객담 및 점액, 천명, 호흡곤란, 운동 능력 감소, 반복된 폐감염, 염증이 생긴 비도, 기름성 대변, 장폐색, 및 저조한 체중 증량을 포함하는 CF와 연관된 징후 및 증상의 존재 및/또는 중증도에 대해서 매주 평가된다. 치료는 CF의 하나 이상의 징후 또는 증상이 경감되거나 또는 제거되는 시기까지 유지된다.

[0174] CF를 갖는 것으로 의심되거나 또는 CF를 갖는 것으로 진단되어 CFTR을 코딩하는 VIV의 치료적 유효량을 수용한 대상체는 CF와 연관된 하나 이상의 증상의 제거 또는 감소된 중증도를 나타낼 것이라는 것이 합리적으로 예측된다. 하나 이상의 추가적인 작용제와 조합하여 CFTR을 코딩하는 VIV의 투여가 상승적 효과를 가지게 될 것이

또한 합리적으로 예측된다. 이들 결과는 CFTR을 코딩하는 VIV가 CF의 치료에서 유용하다는 것을 보여줄 것이다.

[0175] **실시예 6 - 카고를 발현하기 위해 E1을 함유하는 VIV**

[0176] 도 2에 따른 벡터는 카고로서 녹색 형광발광 단백질 유전자 (GFP)를 함유하는 것을 제조하였다. 제16형 인간 파필로마바이러스 유래의 완전한 유전자좌 제어 영역 (Locus Control Region) 및 E1 단백질을 함유하는 DNA (NCBI 수탁 번호 U89348;서열번호 19)를 화학적으로 합성하였다. 개별 절편 및/또는 코딩 서열을 초기에 합성하였다. 이들을 녹색 형광발광성 단백질 유전자의 5' 말단과 동일하고 녹색 형광발광 단백질의 3' 말단에 상보적인 합성 올리고뉴클레오티드 프라이머를 사용하여 폴리머라제 사슬 반응 (PCR)에 의해 증폭시켰다. 5' 프라이머 (서열번호 20)는 BamHI 또는 EcoRI 엔도뉴클레아제에 대한 인식 부위를 갖는 이의 5' 말단으로부터 연장되었다. 3' 프라이머 (서열번호 21)는 BamHI, 또는 EcoRI 엔도뉴클레아제 인식 부위의 상보체인 이의 3' 말단으로부터 연장되었다. 다음으로 최종적으로 증폭된 녹색 형광발광 단백질 유전자 서열을 BamHI 및 EcoRI 제한 엔도뉴클레아제로 분해시켰다.

[0177] 렌티바이러스 벡터는 System Biosciences, Inc로부터 입수하였다. 플라스미드를 BamHI 및 EcoRI 효소로 절단하였고, 1:3 비율의 삽입물 대 벡터 비율로 과량의 증폭된 녹색 형광발광 단백질 유전자 서열과 혼합하였다.

[0178] 이어서 효소 활성을 20분간 70℃에서 가열 불활성화에 의해 중단시켰다. 상기 혼합물을 실온으로 냉각시켜 어닐링되도록 하였다.

[0179] 어닐링 반응은 실온에서 30분간 박테리오파지 T4 DNA 리가제에 의해 수행되었다. 2.5 마이크로리터의 최종 결찰 믹스를 25 마이크로리터의 STBL3 컴피턴트 박테리아 세포에 첨가하였다.

[0180] 이어서 42℃에서 짧은 (1분) 열-충격을 통해 형질감염을 수행하였다.

[0181] 박테리아 배양물을 수득하기 위해서 암피실린을 함유하는 한천 플레이트 상에 박테리아 세포를 스트리킹하였다. 이들 배양물을 루리아 액체 배지에서 확장시켰다.

[0182] 렌티바이러스 벡터 패키징 플라스미드로 증폭된 녹색 형광발광 단백질 유전자 서열의 삽입을 검토하기 위해서, DNA를 상기 박테리아 배양물로부터 추출하였고 표준 방법으로 정제하였다. 정제된 DNA를 구성체를 만들기 위해 사용된 동일한 엔도뉴클레아제로 분해하였다. 단편 길이를 아가로스 겔 전기영동을 통해 분석하였고, 증폭된 녹색 형광발광 단백질 유전자 서열은 Eurofins MWG Operon LLC에서 수득된 특이적 프라이머를 사용한 DNA 시퀀싱을 통해 검증하였다.

[0183] 렌티바이러스 벡터 스톡을 다음과 같이 제조하였다. 카고 플라스미드가 더해진 적어도 2종의 렌티바이러스 패키징 플라스미드를 HEK 세포에 형질감염시켰고 여기서 바이러스 유전자 및 게놈 RNA가 발현되어, 인테그라제-결핍 렌티바이러스 입자로 조립되고 배양 배지로 방출되었다. 세포-무함유 상청액을 제조하고 형질감염 이후 3 내지 10일의 간격 동안 수집하였다. 렌티바이러스 입자를 원심분리, 부정류 여과, 크기 배제 크로마토그래피, 크기 배제 여과 또는 이온 교환 크로마토그래피를 포함할 수 있는 방법의 조합을 포함하는 표준 절차에 의해 정제하였다. 각 스톡에 대한 농도 및 생물학적 활성 (mL 당 형질도입 단위)을 결정하였다.

[0184] 293T 세포를 포함하는 포유동물 세포를 사용하여 렌티바이러스-유래된 에피솜 형성, 카피수 및 발현에 대해 검사하였다. 293T 세포는 폴리브렌의 존재 하에서 1 내지 10 범위의 감염 다중도로 인테그라제 결핍성 렌티바이러스 입자를 형질도입시켰다. 비흡착 바이러스는 적용 이후 3시간에 세포를 세척하여 제거하였고, 세포를 3일 동안 배양하였다. 세포를 형광 현미경에서 관찰하였고 GFP를 발현하는 세포를 계측하였다. 비형질도입된 293T 세포는 음성 대조군으로서 사용되었다. 데이타는 배양 중 100개 생존 세포 당 GFP-양성 세포로서 기록하였다. 최소 300개 세포가 현미경 필드 당 계측되었고 5 내지 10개 필드를 각 반복 실험에서 계측하였다. 하나의 음성 대조군 (가장 왼쪽 데이타 컬럼) 및 3회의 반복 실험 (즉, 실험 1, 실험 2 및 실험 3으로 표시된 데이타 컬럼)을 포함하는 4회의 독립적인 형질도입 실험을 수행하여 형질도입된 세포의 빈도를 결정하였다. 데이타는 도 3에 도시하였고, 3회의 반복 실험으로 GFP의 발현을 확인하였다.

[0185] **실시예 7 - 카고를 발현시키기 위한 E1 및 E2를 함유하는 VIV**

[0186] 도 4를 참조하면, 벡터 19는 E1 (서열번호 6) 및 E2 (서열번호 7) 개시인자 단백질 둘 모두를 함유하도록 구축되었다. 여기서, 유전자 카고는 유도성 프로모터 제어 하의 CMV/GFP 발현 카세트이다.

[0187] 293T 세포는 세포 당 1 내지 20 형질도입 단위의 범위인 감염 다중도로 벡터 19에 의해 형질도입될 수 있다.

3시간 후에, 세포를 배지로 세척하여 비흡착된 비리온을 제거하여 배지로 귀환시켰다. 형질도입 이후 12 내지 24시간에, 세포를 유도성 프로모터를 유도시킬 수 있는 화합물의 적어도 한 용량으로 처리한다. 유도성 프로모터를 유도시킬 수 있는 화합물의 첨가 시에, E1 및 E2 mRNA는 에피솜으로부터 전사되어 유전자좌 제어 영역 단편 2 (LCR/F2) (서열번호 3) 상에서 조합 및 조립되어 DNA 복제를 촉발시킨다. 렌티바이러스-유래 에피솜은 프로모터 유도의 중단 이후 대략 24시간 내지 36시간에 붕괴가 시작된다. 벡터 19의 카고 유래 단백질 산물은 분석적 유세포측정법으로 측정된다.

[0188] **실시예 8 - 카고 발현을 위한 E1 및 E2의 도입**

[0189] 카고를 발현시키는데서 E1 및 E2의 효과를 결정하기 위해서, 본 명세서에서 단편 1 (서열번호 2), 단편 2 (서열번호 3), 단편 3 (서열번호 4), 및 단편 4 (서열번호 5)에 대해 설명한 바와 같이, 293T 세포를 mCherry 및 전체 길이 HPV16 (서열번호 1) 긴 제어 영역 (LCR) 또는 3' 단편을 발현하는 D64V 인테그라제-결핍 렌티바이러스 벡터 (즉, 도 5A의 벡터)로 형질도입시켰다.

[0190] 특히, 도 5A를 참조하면, 전체 길이 LCR 또는 3' 단편은 도 5A에 도시된 LCR 영역에서 이용되었다. 보다 특히, 디자인된 구성체의 묘사는 본 명세서의 도 7의 벡터 9-13으로서 설명된다. 도 7에 도시된 추가적인 엘리먼트는 psi 패키징 엘리먼트 (서열번호 22); rev 엘리먼트 (서열번호 23); cPPT (central polypurine tract) 엘리먼트 (서열번호 24); 및 우드척 간염 바이러스의 전사후 조절 엘리먼트 (WPRE) (서열번호 25)를 의미한다.

[0191] 24시간 후에, 세포는 리포펙타민 2000을 사용하여 HPV16 E1 (서열번호 6) 및 E2 (서열번호 7)를 함유하는 플라스미드로 형질감염되었다. 2일 이후에, mCherry 발현을 FACS로 분석하였다. 이들 실험의 결과는 본 명세서의 도 6A에 도시되어 있다.

[0192] E1 및 E2가 플라스미드를 통해서 도입된 상기 실험들과 대조적으로, 두번째 세트의 실험은 하기에 기술된 대로 수행되었다. 간략하게, 293T 세포는 본 명세서에서 도 5A에 도시된 일반화된 벡터를 기반으로 mCherry 및 전체 길이 HPV16 긴 제어 영역 (LCR) (서열번호 1) 또는 보다 짧은 단편 1 (서열번호 2)을 발현하는 D64V 인테그라제-결핍 렌티바이러스 벡터로 형질도입되었다. 동시에, 세포는 HPV16 E1 (서열번호 6) 및 E2 (서열번호 7)를 발현하는 렌티바이러스가 형질도입되었다. 2일 이후에, mCherry 발현은 본 명세서의 도 6B에 도시된 바와 같이 FACS로 분석하였다. 본 명세서의 도 6B에 도시된 바와 같이, mCherry 세포의 상당한 백분율이 mCherry 및 전체 길이 LCR (서열번호 1) 또는 보다 짧은 단편 1 (또한 본 명세서에서 단편 1이라고도 하며, 역시 본 명세서에서 서열번호 2라고도 함)을 발현하는 D64V 인테그라제-결핍 렌티바이러스 벡터가 도입되었을 때 획득되었다.

[0193] 이 실시예에서 상술된 데이타는 E1 및 E2가 렌티바이러스-매개 발현을 통해 발현될 때, HPV ori (LCR) 전체 길이 및 단편의 더 강력한 발현과 그에 따라 더 활성화되었다는 것을 입증하였다.

[0194] 두번째로, 이 실시예의 데이타는 LCR 영역의 크기에 따라서 HPV ori 활성화에 차이가 존재한다는 것을 입증하였다. 예를 들어, 도 6을 참조하면, 단편 2 (서열번호 3), 3 (서열번호 4), 및 4 (서열번호 5)와 비교하여, 전체 길이 LCR (서열번호 1) 및 단편 1 (서열번호 2)을 사용했을 때 mCherry의 발현에 보다 유의한 변화가 존재하였다.

[0195] **실시예 9 - VEGF의 발현**

[0196] 본 명세서에서 언급한 바와 같이, VEGF는 다른 것들 중에서도, 뼈 손상을 치료하기 위한 "카고" 영역으로서 선택될 수 있다. VEGF 발현 수준을 더 분석하기 위해서, 293T 세포는 HPV16 긴 제어 영역 (LCR)의 단편 1 (서열번호 2) 및 VEGF (서열번호 26)에 대한 인간 cDNA를 함유하는 D64V 인테그라제-결핍 렌티바이러스 벡터가 형질도입되었다 (VEGF-함유 벡터의 일반 설명은 도 5B를 참조함). 동시에, 세포는 HPV16 E1 (서열번호 6) 및 E2 (서열번호 7)를 함유하는 렌티바이러스 벡터가 형질도입되었다. 2일 후에, 세포 배양 배지를 수집하였고 VEGF에 대한 E1ISA 키트 (Thermo Scientific)로 분석하였다. 도 8에 도시된 바와 같이, VEGF 발현 벡터에 의해 VEGF 수준 (3,594 pg/mL)이 증가되었고, 이것은 E1 및 E2에 의해 더 증가되었다 (11,856 pg/mL).

[0197] 상기 실시예 8에서 mCherry 결과와 유사한 방식으로, 그 결과는 LCR 영역의 길이에 따라서 HPV ori 활성화에 차이가 존재한다는 것을 입증하였다. 도 8에 도시된 바와 같이, E1/E2를 첨가한 후에 VEGF 수준은 대략 3배 변화되었다. 그러므로, 전체 길이 LCR (서열번호 1) 또는 단편 1 (서열번호 2)은 낮은 수준으로 관심 유전자 (즉, VEGF)를 발현하지만, E1/E2가 도입되면, 발현의 강력한 유도가 존재하였다. 대조적으로, 검사된 다른 단편들은 더 높은 개시 수준으로 발현되었고 그리하여 E1/E2 도입 시에 감소된 차이가 존재하였다.

[0198] **실시예 10 - E1 및 E2-함유 벡터의 개발**

[0199] 표준 분자 생물학 기술 (예를 들어, Sambrook; Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 4th Ed.)을 비롯하여 본 명세서에 기술된 기술을 사용하여, HPV LCR 및 E1 및 E2를 함유하는 일련의 렌티바이러스 벡터를 하기에 더욱 상세하게 기술하는 바와 같이 개발하였다. 이들 벡터를 또한 본 명세서의 도 9에 도시하였다.

[0200] 도 9를 참조하면, 벡터 20을 개발하였고 cDNA, 마이크로RNA, 또는 shRNA의 발현을 위한 일반적인 렌티바이러스 벡터이다. 벡터 20을 참조하면, 좌측에서 우측으로, 개발된 벡터의 핵심 성분은 긴 말단 반복부 부분 (서열번호 27); psi 패키징 엘리먼트 (서열번호 22); rev 반응 엘리먼트 (RRE) (서열번호 23); 프로모터; cDNA, 마이크로RNA, shRNA 또는 다른 카고 엘리먼트; 우드척 간염 바이러스의 전사후 조절 엘리먼트 (WPRE) (서열번호 25), LCR 부분으로서, 본 명세서에서 상술한 바와 같은 LCR의 단편을 함유할 수 있는 LCR 부분; 및 긴 말단 반복부 부분 (서열번호 28)이다.

[0201] 도 9를 참조하면, 벡터 21을 개발하였고, E1의 발현을 위한 렌티바이러스 벡터이다. 벡터 21을 참조하면, 좌측에서 우측으로, 개발된 벡터의 핵심 성분은 긴 말단 반복부 부분 (서열번호 27); psi 패키징 엘리먼트 (서열번호 22); rev 반응 엘리먼트 (RRE) (서열번호 23); CMV 프로모터 (서열번호 29); E1 (서열번호 6); 우드척 간염 바이러스의 전사후 조절 엘리먼트 (WPRE) (서열번호 25); 및 긴 말단 반복부 부분 (서열번호 28)이다

[0202] 도 9를 참조하면, 벡터 22를 개발하였고 E1-C (카복시 말단) (서열번호 8)의 발현을 위한 렌티바이러스 벡터이다. 벡터 22를 참조하면, 좌측에서 우측으로, 개발된 벡터의 핵심 성분은 긴 말단 반복부 부분 (서열번호 27); psi 패키징 엘리먼트 (서열번호 22); rev 반응 엘리먼트 (RRE) (서열번호 23); CMV 프로모터 (서열번호 29); E1-C (서열번호 8); 우드척 간염 바이러스의 전사후 조절 엘리먼트 (WPRE) (서열번호 25); 및 긴 말단 반복부 부분 (서열번호 28)이다.

[0203] 도 9를 참조하면, 벡터 23을 개발하였고 E2 (HPV 16) (서열번호 7)를 발현하기 위한 렌티바이러스 벡터이다. 벡터 23을 참조하면, 좌측에서 우측으로, 개발된 벡터의 핵심 성분은 긴 말단 반복부 부분 (서열번호 27); psi 패키징 엘리먼트 (서열번호 22); rev 반응 엘리먼트 (RRE) (서열번호 23); UbiC 프로모터 (서열번호 30); E2 (HPV16) (서열번호 7); 우드척 간염 바이러스의 전사후 조절 엘리먼트 (WPRE) (서열번호 25); 및 긴 말단 반복부 부분 (서열번호 28)이다.

[0204] 도 9를 참조하면, 벡터 24를 개발하였고 E2-11 (HPV11) (서열번호 9)의 발현을 위한 렌티바이러스 벡터이다. 벡터 24를 참조하면, 좌측에서 우측으로, 개발된 벡터의 핵심 성분은 긴 말단 반복부 부분 (서열번호 27); psi 패키징 엘리먼트 (서열번호 22); rev 반응 엘리먼트 (RRE) (서열번호 23); UbiC 프로모터 (서열번호 30); E2-11 (HPV11) (서열번호 9); 우드척 간염 바이러스의 전사후 조절 엘리먼트 (WPRE) (서열번호 25); 및 긴 말단 반복부 엘리먼트 (서열번호 28)이다.

[0205] 도 9를 참조하면, 벡터 25를 개발하였고 E1-T2A-E2 (서열번호 10)의 발현을 위한 렌티바이러스 벡터이다. 벡터 25를 참조하면, 좌측에서 우측으로, 개발된 벡터의 핵심 성분은 긴 말단 반복부 부분 (서열번호 27); psi 패키징 엘리먼트 (서열번호 22); rev 반응 엘리먼트 (RRE) (서열번호 23); CMV 프로모터 (서열번호 29); E1-T2A-E2 (서열번호 10); 우드척 간염 바이러스의 전사후 조절 엘리먼트 (WPRE) (서열번호 25); 및 긴 말단 반복부 부분 (서열번호 28)이다.

[0206] 도 9를 참조하면, 벡터 26을 개발하였고 E1-T2A-E2 (서열번호 10) 및 전체 길이 LCR (서열번호 1) 또는 이의 단편 (예를 들어, 서열번호 2-5)의 발현을 위한 렌티바이러스 벡터이다. 벡터 26을 참조하면, 좌측에서 우측으로, 개발된 벡터의 핵심 성분은 긴 말단 반복부 부분 (서열번호 27); psi 패키징 엘리먼트 (서열번호 22); rev 반응 엘리먼트 (RRE) (서열번호 23); CMV 프로모터 (서열번호 29); E1-T2A-E2 (서열번호 10); 우드척 간염 바이러스의 전사후 조절 엘리먼트 (WPRE) (서열번호 25); LCR 부분, 및 긴 말단 반복부 부분 (서열번호 28)이다.

[0207] 역시 도 9를 참조하면, 벡터 27는 예를 들어, cDNA, 항체, 마이크로RNA, 또는 shRNA를 발현하기 위한 일반 렌티바이러스 벡터를 도시한다. 벡터 27을 참조하면, 좌측에서 우측으로, 개발된 벡터의 핵심 성분은 긴 말단 반복부 부분 (서열번호 27); psi 패키징 엘리먼트 (서열번호 22); rev 반응 엘리먼트 (RRE) (서열번호 23); 프로모터; cDNA. 마이크로RNA, shRNA 또는 다른 카고 엘리먼트; 우드척 간염 바이러스의 전사후 조절 엘리먼트 (WPRE) (서열번호 25); EBV ori (서열번호 31); 및 긴 말단 반복부 엘리먼트 (서열번호 28)이다.

[0208] 본 명세서에 상술된 선형 벡터는 벡터 20의 원형화를 도시한, 예를 들어 도 10에 도시된 바와 같이, 세포 내에

서 원형화된다 (도 9에 도시된 바와 같음). 본 명세서에 상술된 실험의 목적을 위해서, 도 10은 3' 및 5' 긴 말단 반복부 (LTR) 상에 위치된 화살표와 같은 프라이머 세트를 상술한다. 이 프라이머 세트는 렌티바이러스 벡터의 에피솜 형태를 증폭하기 위해 디자인되었고, 벡터의 통합된 형태를 증폭하지 않는다. 렌티바이러스 에피솜의 검출을 위해 적절한 프라이머는 하기 서열을 함유한다:

[0209] 3'LTR Fwd CTAATTCACTCCCAACGAAG (서열번호 11); 및

[0210] 5'LTR Rev GCCGAGTCCTGCGTCGAGAG (서열번호 12).

[0211] 본 명세서에서 상술하는 실험에서, 인테그라제-결핍 렌티바이러스 벡터 카피수는 벡터 21 또는 벡터 22 또는 벡터 23 또는 벡터 24와 조합하여 이용되는 벡터 20의 조합에 의해 조절되었다. 대안적으로, 인테그라제-결핍 렌티바이러스 벡터 카피수는 벡터 25 또는 벡터 26과 조합하여 이용되는 벡터 20의 조합에 의해 조절되었다.

[0212] **실시예 11 - LCR 단편 및 관련 벡터의 개발**

[0213] 본 명세서에서 논의되는 바와 같이, 본 명세서에서 상술하는 벡터의 LCR 부분은 단편 예컨대 단편 1 (서열번호 2), 단편 2 (서열번호 3), 단편 3 (서열번호 4); 및 단편 4 (서열번호 5)의 사용을 통해서 변형될 수 있고 변형되었다.

[0214] 본 명세서에 기술된 LCR 및 단편의 게놈 구성은 도 11에 도시되어 있다. 거기서, 전체 길이 LCR (상부)은 일련의 AP1, YY1, E1, 및 E2 결합 부위를 함유한다. 예를 들어, 도 11에 도시된 바와 같이, 단편 1 (서열번호 2), 단편 2 (서열번호 3), 단편 3 (서열번호 4), 및 단편 4 (서열번호 5)는 일련의 AP1, YY1, 및 E2 결합 부위가 감소되는 증가된 5' 절단에 따른 증가된 LCR을 나타낸다. LCR 단편을 사용하는 렌티바이러스 벡터가 본 명세서에 상술되어 있다 (예를 들어, 도 7 및 본 명세서의 관련 실시예).

[0215] **실시예 12 - LCR 단편 및 E1/E2 변이체를 함유하는 벡터의 검사**

[0216] 본 명세서에 상술된 다양한 LCR 단편을 함유하는 벡터를 검사하기 위해서, 293T 세포는 본 명세서에 기술된 바와 같이 전체 길이 HPV16 긴 제어 영역 (LCR) 또는 단편 1 (서열번호 2), 단편 2 (서열번호 3), 단편 3 (서열번호 4), 및 단편 4 (서열번호 5)를 함유하는 D64V 인테그라제-결핍 렌티바이러스 벡터로 형질도입되었다 (예를 들어, 도 7 및 본 명세서의 관련 실시예 참조).

[0217] 24시간 후에, 세포는 리포펙타민 2000을 사용하여 HPV16 E1 (서열번호 6) 및 E2 (서열번호 7)를 함유하는 플라스미드로 형질감염되었다. 2일 후에, DNA는 qPCR에 의한 분석을 위해 추출되었다. 렌티바이러스 벡터의 에피솜 형태에 특이적인 서열번호 11 및 서열번호 12로 표시되는 프라이머를 사용하여 에피솜 카피수를 결정하였다. 특히, 이 프라이머 세트는 오직 1-LCR 및 2-LCR 에피솜만을 증폭시켰다. 이 실시예에 대한 데이타는 도 12에 도시되어 있다. 거기서, LCR 및 이의 단편과 연관된 수는 E1 및 E2의 첨가 이후에 각 조건에 대한 배수-변화 증가를 반영한다.

[0218] 도 12에 도시된 바와 같이, 전체 길이 LCR 및 Frag 1에 대한 기초 에피솜 카피수는 초저였다. 예를 들어, 이들 2가지 조건 (즉, 전체 길이 LCR 및 Frag 1)의 경우, 기초 에피솜 카피수는 세포 당 0.020 미만의 에피솜 카피였다. Frag 2, Frag 3, 및 Frag 4 구성체에 대한 기초 에피솜 카피수는 약간 더 높았다. 예를 들어, 이들 3가지 조건 (즉, Frag 2, Frag 3, 및 Frag 4)의 경우에, 기초 에피솜 카피수는 세포 당 0.020 또는 그를 초과하는 에피솜 카피였다. 기초 에피솜 카피수 데이타는 검사된 조건 각각에 대해 상대적 배수-변화에 영향을 미쳤다. 도 12에 도시된 바와 같이, E1/E2가 시스템에 도입되었을 때, 전체 길이 LCR 구성체는 에피솜 카피수에서 267배 변화의 증가를 야기시켰다. E1/E2가 시스템에 도입되었을 때, Frag 1 구성체는 에피솜 카피수에서 362배 변화의 증가를 야기시켰다. E1/E2가 시스템에 도입되었을 때, Frag 2 구성체는 에피솜 카피수에서 6배 변화의 증가를 야기시켰다. E1/E2가 시스템에 도입되었을 때, Frag 3 구성체는 에피솜 카피수에서 61배 변화의 증가를 야기시켰다. E1/E2가 시스템에 도입되었을 때, Frag 4 구성체는 에피솜 카피수에서 7배 변화의 증가를 야기시켰다. 도 12에 상술된 데이타는 본 명세서의 도 20에서 개별 형식으로 또한 재계측되었다.

[0219] 관련 실험의 별개 세트에서, 분석은 HPV LCR 및 이의 3' 단편을 함유하는 인테그라제-결핍 렌티바이러스 벡터로부터 mCherry 발현에 대해 수행되었다. 간략하게, 293T 세포는 mCherry 및 전체 길이 HPV16 긴 제어 영역 (LCR) 또는 단편 1 (서열번호 2), 단편 2 (서열번호 3), 단편 3 (서열번호 4), 및 단편 4 (서열번호 5)를 발현하는 D64V 인테그라제-결핍 렌티바이러스 벡터가 형질도입되었다. 동시에, 세포는 HPV16 E1 (서열번호 6) 및 E2 (서열번호 7)를 발현하는 렌티바이러스가 형질도입되었다. 2일 후에, mCherry 발현을 FACS로 분석하

였다.

[0220] 도 13A에 도시된 바와 같이, mCherry 세포의 백분율은 검사된 조건 각각에 대해 확인된다. LCR 및 이의 단편과 연관된 수는 E1 및 E2의 첨가 이후에 각 조건에 대한 배수-변화 증가를 반영한다.

[0221] 관련 실험의 별개 세트에서, 293T 세포는 mCherry 및 이전에 서열번호 1로서 식별된 전체 길이 HPV16 긴 제어 영역을 발현하는 D64V 인테그라제-결핍 렌티바이러스 벡터가 형질도입되었다. 동시에, 세포는 단일 벡터(도 9의 벡터 25 참조)로부터 HPV16 E1-T2A-E2 (서열번호 10)를 발현하는 렌티바이러스가 형질도입되었다. 2일 후에, mCherry 발현을 FACS를 통해 분석하였고 데이타는 도 13B에 도시하였다. 이에 도시된 바와 같이, HPV16 E1-T2A-E2 (서열번호 10)의 형질도입은 양성 mCherry 세포에서 상당한 증가를 야기하였다.

[0222] 관련 실험의 별개 세트에서, 분석은 E1, E1-C, 및 E2-11의 첨가 이후에 HPV LCR을 함유하는 인테그라제-결핍 렌티바이러스 벡터를 사용하여 mCherry 발현에 대해 수행되었다. 간략하게, 293T 세포는 mCherry 및 HPV16 LCR (서열번호 1) 또는 단편 1 (서열번호 2)을 발현하는 D64V 인테그라제-결핍 렌티바이러스 벡터가 형질도입되었다. 동시에, 세포는 HPV16 E1 (즉, 도 9의 벡터 21; 및 서열번호 6) 또는 E1 카복시 (C)-말단 단편 (즉, 도 9의 벡터 22; 및 서열번호 8) 및 HPV16 E2 (즉, 도 9의 벡터 23; 및 서열번호 7) 또는 HPV11 E2 (즉, 도 9의 벡터 24; 및 서열번호 9)가 형질도입되었다. 2일 후에, mCherry 발현을 FACS를 통해 분석하였다. 도 14에 도시된 바와 같이, mCherry 세포의 백분율은 검사된 조건 각각에 대해 확인되었다. 검사된 조건과 연관된 수는 E1 및 E2의 첨가 이후에 각각의 조건에 대한 배수-변화 증가를 반영한다.

[0223] **실시예 13 - 항체 발현**

[0224] 본 명세서에 언급된 바와 같이, 개시된 시스템의 특성들 중 하나는 항체를 발현하는 개시된 시스템의 유용성이다. 본 명세서에 상술된 일련의 대표적인 실험에서, 항-HER2 항체를 렌티바이러스 벡터 시스템을 사용하여 발현시켰다. 간략하게, 293T 세포는 HER2 (서열번호 13)에 대한 항체 서열 및 HPV LCR (서열번호 1) 서열을 함유하는 D64 인테그라제-결핍 렌티바이러스 벡터 (즉, 벡터 20)로 감염시켰다.

[0225] 동시에, 세포는 E1 (서열번호 6) 및 E2 (서열번호 7)를 함유하는 렌티바이러스 벡터로 감염시켰다. 3일 후에, 세포 배양 배지를 회수하였다. 항체는 단백질 A/G 아가로스 비드를 사용하여 배지로부터 정제하였다. 면역블롯은 양 항-인간 항체 (Thermo Scientific)를 사용하여 수행하였다. 항체 생산은 도 15A에 도시된 바와 같이 E1 및 E2의 첨가에 따라서 증가되었다. 더 나아가서, 도 15B에 도시된 바와 같이, 항-HER2 IgG 농도는 EasyTiter IgG 키트 (Thermo Scientific)를 사용하여 결정되었다.

[0226] 더 나아가서, 본 명세서의 도 16에 도시된 바와 같이, 추가적인 항체는 또한 본 명세서에 개시된 시스템을 사용하여 발현될 수 있다. 도 16에, 항-EGFR 항체 (서열번호 14)의 발현을 입증하는 면역블롯이 도시되어 있다. 간략하게, 293T 세포는 EGFR (하기 서열번호 14 참조)에 대한 항체 서열 및 HPV 단편 2 (서열번호 3)를 함유하는 D64 인테그라제-결핍 렌티바이러스 벡터로 감염되었다.

[0227] 24시간 후에, 세포는 E1 (서열번호 6) 및 E2 (서열번호 7)를 함유하는 렌티바이러스 벡터로 감염되었다. 3일 후에, 세포 용해물 및 세포 배양 배지를 수집하였다. 항체는 단백질 A/G 아가로스 비드를 사용하여 배지로부터 정제하였고 세포 용해를 통해 세포로부터 추출되었다. 면역블롯은 세포 용해물에 대한 단백질 로딩 대조군으로서 항-액틴 (Sigma) 항체 및 양 항-인간 항체 (Thermo Scientific)를 사용하여 수행하였다. 항체 생산은 도 16에 도시된 바와 같이, E1 및 E2의 첨가에 따라서 세포 용해물과 배지 둘 모두에서 증가되었다.

[0228] **실시예 14 - 마이크로RNA 발현 및 넉다운**

[0229] 본 명세서에 언급된 바와 같이, 개시된 시스템의 특성들 중 하나는 마이크로RNA를 발현하는 개시된 시스템의 유용성이다. 비제한적인 예로서, 서열번호 15를 기반으로 CCR5에 대한 마이크로RNA를 발현하도록 구성체를 디자인하였다.

[0230] 간략하게, CCR5를 발현하는 HeLa 세포는 CCR5 (서열번호 15)에 대한 마이크로RNA 서열 및 전체 길이 HPV LCR (서열번호 1) 서열을 함유하는 D64 인테그라제-결핍 렌티바이러스 벡터 (즉, 벡터 20)로 감염시켰다. 동시에, 세포는 E1 및 E2를 함유하는 렌티바이러스 벡터로 감염되었다. 3일 후에, 세포를 수집하였고 CCR5 발현에 대해서 항-CCR5 APC-접합된 항체를 사용한 FACS 분석에 의해 분석하였다. 도 17에 도시된 바와 같이, CCR5 양성 세포의 백분율은 LV-LCR miR-CCR5의 경우에 92.6%에서 70.9%로 감소되었고 E1 및 E2를 더한 LV-LCR miR-CCR5의 경우에는 44%까지 감소되었다.

[0231] 관련 실험에서, CCR5에 대한 마이크로RNA 서열 및 단편 2 (서열번호 3) LCR 서열을 함유하는 D64 인테그라제-결

펍 렌티바이러스 벡터가 이용되었다. 도 18에 도시된 바와 같이, miR-CCR5 첨가 이후에 CCR 발현에서 유사한 감소가 존재하였고 E1 및 E2가 첨가되었을 때는 훨씬 더 그러하였다.

[0232] 도 18을 보다 상세하게 참조하면, 상층 패널은 mCherry의 발현 수준을 기반으로, 각각 단일 도트로 표시된, 세포의 분포를 도시한다. 아래 패널은 CCR5에 대한 miRNA의 생산 및 DNA 복제의 수준과 관련된 CCR5 발현에서의 상응하는 변화를 보여준다. CCR5는 세포 표면을 염색하는데 사용되는 형광발광성 단일클론 항체에 의해 검출된다. 임의의 LV 벡터 (좌측 패널)없이, mCherry (모든 세포는 섹터 1에 있음)의 발현이 존재하지 않았고 CCR5 발현은 대략 200 형광발광 강도 유닛에서 균일하게 높다. miRCCR5를 함유하는 LV-LCR (단편 2; 서열번호 3)을 첨가하여, 우리는 mCherry의 기초 발현의 세포 (이제 섹터 2에서 발견된 세포의 55%) 및 대략 30 강도 유닛에 집중된 형광발광 강도를 갖는 새로운 개체군을 야기시키는 CCR5 발현의 일부 감소가 있는 세포를 발견하였다 (아래, 중심 패턴 상의 점선). LV-LCR miRCCR5 및 E1 및 E2 복제 단백질을 발현하는 비통합성 렌티바이러스 벡터 둘 모두를 첨가함으로써, 우리는 mCherry가 최고로 발현되는 18.8%의 세포 (섹터 3)를 확인하였고 20 미만의 형광발광 강도 유닛의 보다 더 낮은 CCR5 발현의 새로운 개체군 (그래프 3, 회색 및 점선)을 확인하였다. 이들 데이타는 CCR5 단백질의 세포 표면 발현을 감소시키는데서 생물학적으로 활성인 miRCCR5의 기초 수준을 발현하는 LCR 단편 2 (서열번호 3)를 함유하는 VIV의 능력을 입증한다. 더 나아가서, 결과는 벡터 카피수 (mCherry의 발현과 관련) 및 세포 표면 CCR5 발현의 추가 감소를 야기하는 증가된 miRCCR5 발현에 대한 E1/E2 DNA 복제 단백질 첨가의 영향을 보여준다.

[0233] **실시예 15 - EBV-기반 개시인자 단백질**

[0234] 본 명세서에 언급된 바와 같이, 개시인자 단백질 예컨대 E1 (서열번호 6) 및 E2 (서열번호 7)는 본 명세서에 기술된 시스템의 유효성을 증가시키는데 사용된다. 현재 시스템에서 사용되는 교대된 개시인자 단백질은 EBNA-1 (서열번호 32)이다. 따라서, 일련의 실험에서, 293T 세포는 GFP 및 엡스타인-바 바이러스 (EBV) OriP 서열 (서열번호 31)을 발현하는 D64V 인테그라제-결핍 렌티바이러스 벡터 (즉, 벡터 27)가 형질도입되었다.

[0235] 24시간 후에, 세포는 리포펙타민 2000을 사용해 EBV EBNA-1 (서열번호 32)을 함유하는 플라스미드로 형질감염시켰다. 2일 후에, GFP 발현을 FACS를 통해 분석하였다. 도 19의 대표적인 데이타로 도시된 바와 같이, EBNA가 더해진 EBV는 증강된 GFP 발현을 야기하였다. 따라서, 이러한 데이타는 개시인자 단백질/ori 상호작용이 E1/E2 상호작용에 제한되는 것이 아니라 또한 엡스타인-바 바이러스 성분도 포함한다는 것을 입증한다.

[0236] **실시예 16 - 최적화된 바이러스 전달 시스템을 구성하기 위한 LCR 단편 선택**

[0237] LCR 단편 길이는 세포에서 바람직한 수준의 발현에 따라서 선택되었다. 도 20은 본 명세서의 도 12에서 생성된 에피솜 카피수 데이타를 도시한다. 보다 특히, 도 20은 본 발명의 양상에 따른 선택 규정을 예시한다. 세포 당 에피솜 카피 (Y-축)은 LCR 단편 길이 (X-축)에 따라 기록되었다. 도 20에 도시된 바와 같이, 세포 당 에피솜 카피로 결정되는 다양한 발현 수준은 본 명세서에서 검사된 다양한 LCR 단편에 기인하였다. 도 20에 도시된 바와 같이, 우측에서 좌측으로 이동하여, 전체 길이 LCR (서열번호 1), 단편 1 (서열번호 2), 단편 2 (서열번호 3), 단편 3 (서열번호 4) 및 단편 4 (서열번호 5)에 대한 데이타는 E1/E2가 있는 경우 (검은색 도트 데이타 점) 및 없는 경우 (연회색 도트 데이타 점)로 도시된다. 도 12에 도시된 바와 같이, 세포 당 에피솜 카피로 결정되는, 기초 발현은 LCR 및 Frag 1 구성체의 경우 최저였다. 예를 들어, 이들 2가지 조건 (즉, 전체 길이 LCR 및 Frag 1)의 경우, 기초 에피솜 카피수는 세포 당 0.020 미만의 에피솜 카피였다. 기초 발현은 Frag 2, Frag 3, 및 Frag 4 조건의 경우 약간 더 높았다. 예를 들어, 이들 3가지 조건 (즉, Frag 2, Frag 3, 및 Frag 4)의 경우, 기초 에피솜 카피수는 세포 당 0.020 이상의 에피솜 카피였다.

[0238] 도 11과 도 20을 참조하면, LCR의 5' 말단으로부터 증가된 결실은 핵심 기능성 엘리먼트를 제거하였다. 기초 발현은 E1/E2 단백질 첨가없이, LCR 또는 LCR의 단편이 렌티바이러스-유래된 에피솜 벡터에 존재할 때 정량적 PCR 어세이를 통해 측정된 에피솜 DNA 카피의 수로 정의되었다 (예를 들어, 연회색 도트 데이타 점). 유도성 활성은 E1 및 E2를 함유하는 발현 플라스미드를 형질감염 (예를 들어, 검은색 도트 데이터 점)시키고 나서, 정량적 PCR 어세이에서 세포 당 에피솜 DNA 카피수를 측정하기 전에 렌티바이러스-유도된 에피솜 벡터를 도입시켜서 측정되었다. E1/E2 단백질 발현 구성체가 비통합성 렌티바이러스 벡터로서 전달되었을 때 유사한 결과가 수득되었다. 본 명세서에서 상술되는 바와 같이, 기초 발현은 LCR의 단편 2, 3, 및 4에 대해 최고인 것으로 결정되었다. 이것은 도 11에 도시된 바와 같이, 기초 발현이 LCR 및 단편 1에는 존재하지만 단편 2-4에는 존재하지 않는 YY1 전사 인자 결합 부위의 존재에 의해 억제되었다는 것을 의미한다. 단편 2-4 내에서, 단편 2는 최고의 기초 발현을 가졌으며 양쪽 AP1 전사 인자 결합 부위를 포함하는 유일한 단편이었다.

따라서, YY1 부위가 제거되고 양쪽 AP1 부위는 보존되었을 때 기초 전사는 증가되었다. 본 명세서에 상술되는 바와 같이, 유도성 활성은 단편 1 및 3의 경우가 최고였고, 단편 2 및 4의 경우는 더 낮고, 온전한 LCR의 경우가 최저인 것으로 결정되었다. 단편 1에 존재하지 않지만 유도성 DNA 복제를 억제하도록 작용하는 LCR 내 미동정된 엘리먼트가 존재하였다. YY1 및 AP1 부위가 존재할 때 (단편 1), YY1 및 모든 AP1 부위를 제거한 것 (단편 3)과 비교하여 에피솜 DNA 수준은 더 낮았다. YY1 없이 AP1 부위가 존재한 경우 (단편 2) 또는 YY1, AP1 및 4개 E2 결합 부위 중 2개가 제거된 경우 (단편 4) 유도성 에피솜 DNA 형성은 중간 정도였고 LCR과 유사하였다.

[0239] 도 20에 요약된 바와 같이, 본 명세서에서 상술되는 데이타는 발현의 기초 수준의 한정할 수 있는 차이 및 이러한 발현을 유도하는 능력을 입증한다. 이 데이타를 기반으로 적어도 4개 사분면의 활성이 도 20에 도시된 바와 같이 정의되었다.

[0240] 도 21을 참조하면, 4개 사분면은 LCR 및 그들 관련 단편에 기인하는 다양한 정도의 활성을 나타낸다. 도 21에 도시된 바와 같이, 1사분면은 보다 작은 LCR 단편에 의한 낮은 활성이지만 4사분면보다 3-4배 더 높은 활성을 반영한다. 2사분면은 역시 보다 작은 LCR 단편에 의한 높은 활성을 반영한다. 3사분면은 이 때에는 비교적 긴 LCR 단편에 의한 더 높은 활성을 반영한다. 마지막으로, 4사분면은 비교적 긴 LCR 단편에 의한 초저 활성을 반영한다.

[0241] 도 21에 상술된 바와 같이, 각각의 사분면은 특정한 바람직한 치료 과정 또는 결과와 타당하게 연관된다. 대표적인 예로서, 바람직한 치료 과정 또는 결과가 유전자 편집을 포함할 때, 1사분면에서 선택된 LCR이 선택된다. 대표적인 예로서, 바람직한 치료 과정 또는 결과가 세포 리프로그래밍을 포함할 때, 2사분면의 LCR이 선택된다. 대표적인 예로서, 바람직한 치료 과정 또는 결과가 면역 자극일 때, 3사분면의 LCR이 선택된다. 대표적인 예로서, 바람직한 치료 과정 또는 결과가 위약 효과일 때, 4사분면의 LCR이 선택될 수 있다. 따라서, 바람직한 치료 과정 또는 결과를 기반으로 다양한 LCR 단편이 현 시스템을 사용하여 적용된다.

[0242] **실시예 17 - 1사분면 하에서 개체의 치료**

[0243] 겸상 적혈구 빈혈을 위한 치료가 디자인된다. 이 접근법에서, CD34+ 골수-유래 조혈 전구체 줄기 세포 (HPSC)를 제거하여, 생체외에서 유전자 변형으로 처리되고 자기유래 세포 요법으로서 이식된다. 전략은 태아 글로빈 발현의 강력한 억제인자인, Bcl11A 단백질의 발현을 감소시키는 억제성 miRNA의 발현에 의해 좌우된다 (Akinsheye, et al., Blood 118:19, 2011). Bcl11A 수준이 감소되는 경우, 태아 글로빈 발현이 증가되어 정상 세포 기능의 관점에서 성체 글로빈을 대체한다.

[0244] 안전성 연구 우려는, 결국에, 형질도입된 CD34+ HPSC의 생존능을 감소시키게 되고, 치료 효율을 감소시키고 요법 비용을 상승시키게 되는 바이러스 벡터 용량의 극적인 증가없이, 억제성 miRNA의 충분한 수준을 발현하는 능력에 대해서 제기되었다. 렌티바이러스 벡터의 양을 증가시키지 않고 발현을 증가시키는 문제를 극복하기 위해서, 유전자 용량을 증가시킬 수 있는 비통합성 벡터가 최선의 선택권이라고 결정되었다. 먼저, Bcl11A miRNA를 발현하는 염색체외 DNA의 저용량이 Bcl11A 발현을 억제하고 태아 글로빈 발현을 상승시키는데 충분할 것인지 여부를 검사하는 것이 필수적이다.

[0245] 렌티바이러스 벡터 (LVmiRBcl11A)는 적합한 프로모터 제어 하의 Bcl11A mRNA 내에서 발견되는 서열과 일치되는 가이드 서열을 갖는 합성 miRNA 구성체; 길이가 200개 뉴클레오티드인 LCR 단편을 함유하지만; E1 및/또는 E2 복제 단백질의 부수적 발현은 없는 표준적이고 일반적으로 허용되는 임상 등급 벡터 골격 및 패키징 시스템 (인테그라제 기능은 돌연변이에 의해 불활성화됨)을 사용해 구축된다.

[0246] LVmiRBcl11A는 5의 감염 다중도에서, 형질도입되는 세포의 빈도를 최대화하고 HPSC 세포 사멸은 최소로 하는 조건에서 HPSC를 형질도입시키는데 사용된다. 형질도입된 세포는 적절한 세포수감소 조건화 이후에 본래 도너의 골수로 이식된다. 시험 참가자는 형질도입된 세포의 빈도, 세포 당 염색체외 DNA의 카피 및 태아 글로빈 발현 수준을 결정하기 위해 모니터링된다. 이러한 1사분면 접근법은 세포 당 염색체외 DNA의 낮은 카피수를 생산하고 LVmiRBcl11A의 낮은 치료적 용량을 구성한다고 타당하게 예측된다.

[0247] **실시예 18 - 2사분면 하에서 개체의 치료**

[0248] 치료는 겸상 적혈구 빈혈과 관련된 세포 리프로그래밍에 대해 디자인된다. 이러한 접근법에서, CD34+ 골수-유래 조혈 전구체 줄기 세포 (HPSC)를 제거하고, 생체외에서 유전자 변형으로 처리하며 자기유래 세포 요법으로서 이식된다. 전략은 태아 글로빈 발현의 강력한 억제인자인, Bcl11A 단백질의 발현을 감소시키는 억제성 mRNA의 발현에 의해 좌우된다. Bcl11A 수준이 감소될 때, 태아 글로빈 발현이 증가되어 정상 세포 기능의

관점에서 성체 글로빈을 대체한다.

[0249] 결국에, 형질도입된 CD34+ HPSC의 생존능을 감소시키게 되고, 치료의 효율을 감소시키고, 요법 비용을 상승시키게 되는 바이러스 벡터 용량의 극적인 증가없이 억제성 miRNA의 충분한 수준을 발현시키는 능력에 대한 우려가 제기되었다.

[0250] 렌티바이러스 벡터의 양을 증가시키지 않고 발현을 증가시키는 문제를 극복하기 위해서, 유전자 용량을 다양화할 수 있는 비통합성 벡터가 최선의 선택안이라고 결정된다. 1사분면 조건 (E1 및/또는 E2 복제 단백질의 부수적 발현없이 짧은 LCR 단편) (즉, 실시예 17)을 사용한 초기 검사 이후에, Bcl11A miRNA를 발현하는 염색체외 DNA의 고용량이 Bcl11A 발현을 억제하고 태아 글로빈 발현을 상승시키는데 충분할지 여부를 검사하는 것이 필수적이다. 짧은 LCR을 사용하는 유전자 용량의 유도성 성질 및 E1 및/또는 E2 복제 단백질의 부수적 발현에 기인하여, CD34+ HPSC 생존능을 감소시키는 렌티바이러스 벡터 용량을 상승시키지 않고 5배를 초과하게 유전자 용량을 증가시키기 위해서, E1 및/또는 E2 단백질의 일시적 발현을 위한 비통합성 렌티바이러스 벡터와 함께, 동일한 용량의 LVmiRBcl11A를 전달할 수 있다.

[0251] 렌티바이러스 벡터 (LVmiRBcl11A)는 적합한 프로모터 제어 하에 Bcl11A mRNA 내에서 발견되는 서열과 일치되는 가이드 서열을 갖는 합성 miRNA 구성체; 길이가 200개 뉴클레오티드인 LCR 단편을 함유하는 표준의 일반적으로 허용되는 임상 등급의 벡터 골격 및 패키징 시스템 (인테그라제 기능은 돌연변이에 의해 불활성화됨)을 사용하여 구축되며; E1 및/또는 E2 복제 단백질은 DNA 복제를 제어하기 위해 LCR을 함유하지 않는 비통합성 렌티바이러스 벡터 상에서 발현된다.

[0252] LVmiRBcl11A를 사용하여 5의 감염 다중도에서, 형질도입된 세포의 빈도를 최대화하고 HPSC 세포 사멸은 최소로 하는 조건에서 HPSC를 형질도입시킨다. 형질도입된 세포는 적절한 세포수감소 조건화 이후에 본래 도너의 골수에 이식된다. 시험 참여자는 형질도입된 세포의 빈도, 세포 당 염색체외 DNA의 카피 및 태아 글로빈 발현의 수준을 결정하기 위해 모니터링된다. 이러한 2사분면 접근법은 세포 당 염색체외 DNA의 높은 카피수를 생산하고 LVmiRBcl11A의 높은 치료적 용량을 구성한다고 합리적으로 예측된다.

[0253] 실시예 17 및 18에 표시된 연구들은 치료의 효율 및 역가를 최대화하기 위해 LVmiRBcl11A로 CD34+ HPSC를 형질도입시키기 위한 최적 조건을 결정하도록 비교된다.

[0254] **실시예 19 - 3사분면 하에서 개체의 치료**

[0255] HIV 질환에 대해 제안된 수동 면역 치료는 감수성 T 세포에 대한 바이러스의 부착 및 침투를 촉진하는 세포 표면 인테그린 수용체 알파4베타7을 결실시키기 위한 CRISP-Cas9 유전자 편집의 사용을 포함한다. 치료 전략은 말초 혈액으로부터 T 세포의 단리와 이후에 알파4베타7 유전자 서열에 특이적인 가이드 RNA를 포함하는 항-알파4베타7 CRISPR-Cas9 구성체를 운반하는 렌티바이러스에 의한 형질도입을 포함한다. 단리된 T 세포는 알파4베타7 수용체를 결실시키기 위해 치료적 렌티바이러스가 형질도입된다. 다음으로 세포를 주입을 통해 신체로 복귀된다. 순환계로 되돌아가면, 이들 HIV-내성 세포는 그 수가 증가될 수 있고 HIV 복제에 저항하는 능력을 포함한 정상 면역 기능을 제공하기 시작할 것이다. 고 용량의 CRISPR-Cas9 렌티바이러스 벡터가 알파4베타7 유전자의 균일한 결실을 획득하는데 요구될 것으로 예상된다. 제안된 임상 시험 (즉, 실시예 20)의 한 부문은 CRISPR-Cas9알파4베타7을 발현하지만 거의 검출불가한 수준 이상으로 카피수를 증가시키는데 필요한 E1 및/또는 E2 복제 단백질은 포함하지 않는 긴 형태의 LCR을 갖는 비통합성 렌티바이러스 벡터를 이용한다.

[0256] 임상 시험의 이러한 치료 부문에서, 동일한 LVCRISPR-Cas9알파4베타7이 전달되고, LCR을 함유하지 않고 DNA 복제를 할 수 없는 구성체에서 E1 및/또는 E2 복제 단백질을 발현하는 비통합성 렌티바이러스의 부수적 전달이 존재한다. 이것은 T 세포를 효율적으로 형질도입시키는데 필요한 LV-CRISPR-Cas9알파4베타7의 양을 변경시키지 않고 유전자 용량을 증가시키게 될 것이며, 시험의 고용량 치료 부문으로 간주된다.

[0257] 렌티바이러스 벡터가 구축되어 일반적으로 사용되는 바이러스 벡터 골격 내에 다음의 엘리먼트들이 함유된다: E1 및/또는 E2 복제 단백질이 제공될 때 유도될 수 있는 720개 뉴클레오티드 길이의 LCR; CRISPR-Cas9 단백질 및 알파4베타7-상보성 가이드 RNA의 유전자 전사에 적합한 프로모터를 함유하는 발현 카세트. 벡터는 정상 바이러스 DNA 통합을 차단하도록 인테그라제 유전자에 돌연변이를 가지고 패키징된다. 제2 비통합성 렌티바이러스가 사용되어 LCR을 함유하지 않고 DNA 복제를 할 수 없는 구성체로 E1 및/또는 E2 DNA 복제 단백질의 일시적 발현을 제공한다.

[0258] T 세포는 유전자 용량이 E1 및/또는 E2 단백질의 첨가에 의해 증가되었기 때문에 높은 CRISPR-Cas9 및 가이드 RNA 발현을 갖는 비통합성 렌티바이러스 벡터에 의해 생체외에서 변형된다. 세포는 실험의 치료 부문에서

임상 시험 대상체에게 복귀된다. 임상 결과는 HIV의 존재 하에서 알파4베타7 유전자 결실을 보유한 T 세포 비율의 증가, 항레트로바이러스 약물의 부재 하에서 HIV 복제의 자연 제어 및 T 세포 기능의 개선을 기반으로 평가된다. 이러한 3사분면 접근법은 HIV의 존재 하에서 알파4베타7 유전자 결실을 보유하는 T 세포 비율의 증가, 항레트로바이러스 약물의 부재 하에서 HIV 복제의 자연 제어 및 T 세포 기능의 개선을 야기한다고 합리적으로 예측된다.

[0259] **실시예 20 - 4사분면 하에서 개체의 치료**

[0260] HIV 질환에 대해 제안된 치료는 감수성 T 세포에 대한 바이러스의 부착 및 침투를 촉진하는 세포 표면 인테그린 수용체 알파4베타7을 결실시키기 위해 CRISPR-Cas9 유전자 편집의 사용을 포함한다. 치료 전략은 말초 혈액으로부터 T 세포의 단리이후에 알파4베타7 유전자 서열에 특이적인 가이드 RNA를 포함하는 항-알파4베타7 CRISPR-Cas9 구성체를 운반하는 렌티바이러스에 의한 형질도입을 포함한다. 단리된 T 세포는 알파4베타7 수용체를 결실시키기 위해 치료적 렌티바이러스가 형질도입되며, 이후에 세포를 주입을 통해 신체로 복귀시킨다.

순환계로 복귀되면, 이들 HIV-내성 세포는 그 수가 증가될 수 있고 HIV 복제에 저항하는 능력을 포함하여 정상 면역 기능을 제공하기 시작할 것이다.

[0261] 이 치료의 임상 연구를 개시하기 이전에, 벡터 안전성 및 특이성을 확증하는 것이 중요하다. 핵심적인 우려는 알파4베타7-특이적 가이드 RNA를 포함하는 치료적 유전자 카세트가 통합되어서 유전독성을 초래할 수 있는지 여부이다. 그러한 우려는 가이드 RNA가 인간 게놈에 직접적인 상동성을 가지며 장기간 CRISPR-Cas9 발현이 가능한 구성체를 통합시키는 효과가 세포 형질전환 및 암을 포함한 예상치 않은 결과를 가질 수 있기 때문에 존재한다.

[0262] 알파4베타7 유전자로 벡터 통합이 높은 확률 사건이 아니라는 것을 입증하기 위해서, 비통합성 일시적 벡터를 사용하여 주입 이전에 T 세포를 변형시키는 한 부문을 포함한 임상 대조군 시험이 디자인된다. 시험관내 연구는 생체내에서 분석되는 사건의 수가 시험관내 또는 생체외 연구에 의해 모의될 수 있는 것보다 훨씬 많기 때문에 위험성을 평가하는데 충분하지 않다.

[0263] 일반적으로 사용되는 바이러스 벡터 골격 내에 다음의 엘리먼트들을 함유하는 렌티바이러스 벡터가 구축된다: E1 및 E2 단백질의 부수적 발현이 없는 720개 뉴클레오티드 길이의 LCR; CRISPR-Cas9 단백질 및 알파4베타7-상보적 가이드 RNA의 유전자 전사에 적합한 프로모터를 함유하는 발현 카세트. 벡터는 정상 바이러스 DNA 통합을 차단하기 위해 인테그라제 유전자에 돌연변이를 갖게 패키징된다.

[0264] T 세포는 유전자 용량이 E1 및/또는 E2 단백질 없이 증가되지 않기 때문에 최소의 CRISPR-Cas9 또는 가이드 RNA 발현을 갖는 비통합성 렌티바이러스 벡터로 생체외에서 변형된다. 세포는 연구의 대조군 부문의 임상 시험 대상체에게 복귀시키고 바이러스 DNA 통합의 패턴은 염색체 DNA를 추출하고 염색체 DNA와 재조합된 바이러스 DNA를 동정하기 위해 적절한 PCR-기반 연구를 수행하여 측정된다. 임의의 통합된 DNA의 재조합 부위는 고속-대량 DNA 시퀀싱에 의해 결정되어 부작용에 대한 잠재성을 의미하는 잠재적인 유전독성 사건으로서 기록된다.

이러한 4사분면 접근법이 재조합 사건을 모니터링하기 위한 효과 대조군으로 제공된다는 것은 합리적으로 예측된다.

[0265] **서열**

[0266] 하기 서열을 본 명세서에서 참조한다:

서열번호	설명	서열
1	HPV16 LCR 뉴클레오티드 서열 (945 뉴클레오티드; 본 명세서에서 LCR 이라고도 함	AAGGCCAAACCAAAATTTACATTAGGAAAACGAAA AGCTACACCCACCACCTCATCTACCTCTACAACTGCT AAACGCAAAAAACGTAAGCTGTAAGTATTGTATGTA TGTTGAATTAGTGTTGTTTGTTGTGTATATGTTTGTA TGTGCTTGTATGTGCTTGTAAATATTAAGTTGTATGT GTGTTTGTATGTATGGTATAATAAACACGTGTGTAT GTGTTTTTAAATGCTTGTGTAACTATTGTGTCATGCA ACATAAATAAACTTATTGTTTCAACACCTACTAATTG TGTTGTGGTTATTCATTGTATATAAACTATATTTGCT ACATCCTGTTTTTGTTTTATATATACTATATTTTGTAG CGCCAGGCCCATTTTGTAGCTTCAACCGAATTCGGTT GCATGCTTTTTGGCACAAAATGTGTTTTTTTAAATAG TTCTATGTCAGCAACTATGGTTTAAACTTGTACGTTT CCTGCTTGCCATGCGTGCCAAATCCCTGTTTTCCTGA CCTGCACTGCTTGCCAACCATTCCATTGTTTTTTACA CTGCACTATGTGCAACTACTGAATCACTATGTACATT GTGTCATATAAAATAAATCACTATGCGCCAACGCCT TACATACCGCTGTTAGGCACATATTTTTGGCTTGTTT TAACTAACCTAATTGCATATTTGGCATAAGGTTTAA ACTTCTAAGGCCAACTAAATGTCACCCTAGTTCATA CATGAACTGTGTAAAGGTTAGTCATACATTGTTCATT TGTAAAACTGCACATGGGTGTGTGCAAACCGATTTT GGGTTACACATTTACAAGCAACTTATATAATAATAC TAAACTACAATAATTCATGTATAAAACTAAGGGCGT AACCGAAATCGGTTGAACCGAAACCGGTTAGTATAA AAGCAGACATTTTATGCACCAAAAGAGAACT
2	HPV16 LCR 단편 1 뉴클레오티드 서열 (736 뉴클레오티드,	GTGTGTATGTGTTTTTAAATGCTTGTGTAACTATTGT GTCATGCAACATAAATAAACTTATTGTTTCAACACC TACTAATTGTGTTGTGGTTATTCATTGTATATAAACT ATATTTGCTACATCCTGTTTTTGTTTTATATATACTAT ATTTTGTAGCGCCAGGCCCATTTTGTAGCTTCAACCG AATTCGGTTGCATGCTTTTTGGCACAAAATGTGTTTT

[0267]

	5' 말단부터 209 염기가 결실됨; 본 명세서에서 단편 1 이라고도 함)	TTTAAATAGTTCTATGTCAGCAACTATGGTTTAAACT TGTACGTTTCCTGCTTGCCATGCGTGCCAAATCCCTG TTTTCCTGACCTGCACTGCTTGCCAACCATTCCATTG TTTTTTACACTGCACTATGTGCAACTACTGAATCACT ATGTACATTGTGTCATATAAAATAAATCACTATGCG CCAACGCCTTACATACCGCTGTTAGGCACATATTTTT GGCTTGTTTTAACTAACCTAATTGCATATTTGGCATA AGGTTTAAACTTCTAAGGCCAACTAAATGTCACCCT AGTTCATACATGAACTGTGTAAAGGTTAGTCATACA TTGTTCATTTGTAAAACTGCACATGGGTGTGTGCAA ACCGATTTTGGGTTACACATTTACAAGCAACTTATAT AATAATACTAAACTACAATAATTCATGTATAAAACT AAGGGCGTAACCGAAATCGGTTGAACCGAAACCGG TTAGTATAAAAGCAGACATTTTATGCACCAAAAGAG AACT
3	HPV16 LCR 단편 2 뉴클레오티드 서열 (358 뉴클레오티드, 5' 말단부터 587 뉴클레오티드가 결실됨; 본 명세서에서 단편 2 라고도 함)	TGTGTCATATAAAATAAATCACTATGCGCCAACGCC TTACATACCGCTGTTAGGCACATATTTTTGGCTTGTT TTAACTAACCTAATTGCATATTTGGCATAAGGTTTAA ACTTCTAAGGCCAACTAAATGTCACCCTAGTTCATA CATGAACTGTGTAAAGGTTAGTCATACATTGTTCATT TGTAAAACTGCACATGGGTGTGTGCAAACCGATTTT GGGTTACACATTTACAAGCAACTTATATAATAATAC TAAACTACAATAATTCATGTATAAAACTAAGGGCGT AACCGAAATCGGTTGAACCGAAACCGGTTAGTATAA AAGCAGACATTTTATGCACCAAAAGAGAACT
4	HPV16 LCR 단편 3 뉴클레오티드 서열 (276 뉴클레오티드,	CTAATTGCATATTTGGCATAAGGTTTAAACTTCTAAG GCCAACTAAATGTCACCCTAGTTCATACATGAACTG TGTAAAGGTTAGTCATACATTGTTCATTTGTAAAACT GCACATGGGTGTGTGCAAACCGATTTTGGGTTACAC ATTTACAAGCAACTTATATAATAATACTAAACTACA

[0268]

	5' 말단부터 669 염기가 결실됨; 본 명세서에서 단편 3 이라고도 함)	ATAATTCATGTATAAAACTAAGGGCGTAACCGAAAT CGGTTGAACCGAAACCGGTTAGTATAAAAGCAGAC ATTTTATGCACCAAAAGAGAACT
5	HPV16 LCR 단편 4 뉴클레오티드 서열 (194 뉴클레오티드, 5' 말단부터 751 뉴클레오티드가 결실됨; 본 명세서에서 단편 4 라고도 함)	TAGTCATACATTGTTCATTTGTAAAACTGCACATGG GTGTGTGCAAACCGATTTTGGGTTACACATTTACAA GCAACTTATATAATAATACTAAACTACAATAATTCA TGTATAAAACTAAGGGCGTAACCGAAATCGGTTGAA CCGAAACCGGTTAGTATAAAAGCAGACATTTTATGC ACCAAAAGAGAACT
6	E1 HPV16 코돈-최적화된 뉴클레오티드 서열 (1,950 뉴클레오티드; 본 명세서에서 E1 이라고도 함)	ATGGCAGACCCCGCTGGAACAAATGGAGAGGAGGG CACTGGGTGTAACGGCTGGTTTTACGTGGAAGCAGT CGTAGAGAAGAAGACAGGCGACGCCATTTCAGACG ACGAGAATGAGAACGATAGCGACACTGGTGAGGAT CTTGTGGACTTTATTGTGAACGACAATGACTATCTCA CCCAGGCAGAAACCGAGACCGCCCACGCCCTCTTCA CAGCCCAGGAAGCTAAGCAACATCGGGATGCAGTG CAGGTGCTCAAAAGAAAGTACCTGGTTAGTCCTCTG TCCGACATCTCTGGATGCGTCGACAATAATATCAGT CCAAGGCTGAAGGCTATATGCATAGAGAAGCAGTC AAGAGCGGCGAAGAGGAGACTGTTTGAAAGCGAGG ATAGTGGATACGGGAACACAGAAGTCGAGACCCAA CAGATGCTCCAGGTGGAGGGTCGCCATGAGACTGAG ACCCCCTGCTCCCAGTACAGCGGCGGATCAGGCGGT

[0269]

		GGATGCTCTCAGTACTCCAGTGGGTCCGGCGGGGAG
		GGTGTTTCCGAAAGACACACCATCTGTCAGACCCCC
		CTGACTAATATTCTGAACGTACTGAAAACATCCAAC
		GCCAAGGCTGCCATGCTGGCGAAGTTTAAGGAGCTG
		TATGGCGTGAGCTTCAGCGAACTGGTGAGACCATTC
		AAGAGCAACAAGAGCACCTGTTGTGATTGGTGTATT
		GCCGCCTTTGGGCTGACTCCATCCATCGCTGACTCTA
		TTAAAACCCTGTTGCAACAGTACTGCCTCTACCTGC
		ATATTCAGTCCCTCGCTTGCTCCTGGGGAATGGTGGT
		GCTGCTTCTGGTTCGGTATAAGTGTGGCAAAAACAG
		GGAGACCATCGAGAAGCTCCTTAGTAAGCTCCTGTG
		TGTGTCTCCCATGTGCATGATGATTGAACCGCCAAA
		ATTGCGGAGCACGGCCGCCGCCCTGTACTGGTACAA
		AACAGGCATAAGCAACATCAGCGAAGTGTATGGTG
		ACACGCCAGAATGGATACAGAGACAGACCGTGCTC
		CAGCACAGTTTTAACGATTGCACATTTGAGCTGTCTC
		AGATGGTGCAGTGGGCTTATGATAATGACATTGTAG
		ACGATTCCGAAATAGCGTATAAGTACGCCCAGCTCG
		CAGATACCAATTCCAATGCCAGCGCATTTCTGAAGT
		CCAATTCACAGGCAAAGATAGTAAAGGATTGCGCTA
		CAATGTGCCGCCATTATAAAAGAGCGGAGAAAAAG
		CAGATGTCAATGTCCCAATGGATCAAGTATAGGTGT
		GATCGCGTTGATGATGGCGGTGATTGGAAGCAGATC
		GTGATGTTCCTCCGCTATCAAGGCGTAGAATTCATG
		TCATTCCTGACCGCCCTGAAACGCTTCCTGCAGGGC
		ATTCCTAAAAAAAATTGCATCCTGCTGTATGGCGCG
		GCTAACACTGGAAAGAGTCTGTTCGGCATGAGCCTT
		ATGAAGTTCCTCCAGGGATCCGTGATATGCTTTGTG
		AACAGCAAATCACACTTTTGGCTTCAGCCATTGGCA
		GATGCAAAGATCGGCATGCTGGACGACGCCACAGTC
		CCATGCTGGAACTACATAGACGATAATCTCCGAAAC
		GCATTGGACGGCAATCTGGTGAGCATGGACGTCAAG
		CACAGGCCTCTGGTGCAACTGAAGTGTCCCCCTCTC
		CTCATTACGTCAAACATCAACGCCGGAACAGATAGT

[0270]

		CGGTGGCCGTACCTGCACAATAGACTTGTGGTGTTT ACATTTCCTAATGAATTCCCATTTGACGAAAACGGC AATCCAGTATACGAGCTGAATGACAAGAACTGGAA GAGTTTTTTCTCTAGGACATGGTCCAGGTTGAGTCTC CACGAAGACGAGGATAAAGAGAATGACGGAGACTC TTTGCCCACTTTTAAGTGCGTGTCTGGACAAAATACC AATACCCTGTGA
7	E2 HPV16 뉴클레오티드 서열 (천연 서열, 코돈-최적화안됨; 본 명세서에서 E2 라고도 함)	ATGGAGACTCTTTGCCAACGTTTAAATGTGTGTCAG GACAAAATACTAACACATTATGAAAATGATAGTACA GACCTACGTGACCATATAGACTATTGGAAACACATG CGCCTAGAATGTGCTATTTATTACAAGGCCAGAGAA ATGGGATTTAAACATATTAACCACCAGGTGGTGCCA ACACTGGCTGTATCAAAGAATAAAGCATTACAAGCA ATTGAACTGCAACTAACGTTAGAAACAATATATAAC TCACAATATAGTAATGAAAAGTGGACATTACAAGAC GTTAGCCTTGAAGTGTATTTAACTGCACCAACAGGA TGTATAAAAAAAACATGGATATACAGTGGAAGTGCA GTTTGATGGAGACATATGCAATACAATGCATTATAC AAACTGGACACATATATATATTTGTGAAGAAGCATC AGTAACTGTGGTAGAGGGTCAAGTTGACTATTATGG TTTATATTATGTTCATGAAGGAATACGAACATATTTT GTGCAGTTTAAAGATGATGCAGAAAAATATAGTAAA AATAAAGTATGGGAAGTTCATGCGGGTGGTCAGGTA ATATTATGTCCTACATCTGTGTTTAGCAGCAACGAA GTATCCTCTCCTGAAATTATTAGGCAGCACTTGGCC AACCACCCCGCCGCGACCCATACCAAAGCCGTCGCC TTGGGCACCGAAGAAACACAGACGACTATCCAGCG ACCAAGATCAGAGCCAGACACCGGAAACCCCTGCC ACACCACTAAGTTGTTGCACAGAGACTCAGTGGACA GTGCTCCAATCCTCACTGCATTTAACAGCTCACACA AAGGACGGATTAACTGTAATAGTAACACTACACCCA TAGTACATTTAAAAGGTGATGCTAATACTTTAAAAT GTTTAAGATATAGATTTAAAAAGCATTGTACATTGT ATACTGCAGTGTCGTCTACATGGCATTGGACAGGAC

[0271]

		ATAATGTAAAACATAAAAGTGCAATTGTTACACTTA CATATGATAGTGAATGGCAACGTGACCAATTTTTGT CTCAAGTTAAAATACCAAAAACTATTACAGTGTCTA CTGGATTTATGTCTATATGA
8	벡터 22 에서 사용되는 E1-C (카복시 말단) 서열은 다음과 같다:	ATGTACTCCAGTGGGTCCGGCGGGGAGGGTGTTTCC GAAAGACACACCATCTGTCAGACCCCCCTGACTAAT ATTCTGAACGTACTGAAAACATCCAACGCCAAGGCT GCCATGCTGGCGAAGTTTAAGGAGCTGTATGGCGTG AGCTTCAGCGAACTGGTGAGACCATTCAAGAGCAAC AAGAGCACCTGTTGTGATTGGTGTATTGCCGCCTTTG GGCTGACTCCATCCATCGCTGACTCTATTAAAACCCT GTTGCAACAGTACTGCCTCTACCTGCATATTCAGTCC CTCGCTTGCTCCTGGGGAATGGTGGTGCTGCTTCTGG TTCGGTATAAGTGTGGCAAAAACAGGGAGACCATCG AGAAGCTCCTTAGTAAGCTCCTGTGTGTGTCTCCCAT GTGCATGATGATTGAACCGCCAAAATTGCGGAGCAC GGCCGCCGCCCTGTACTGGTACAAAACAGGCATAAG CAACATCAGCGAAGTGTATGGTGACACGCCAGAATG GATACAGAGACAGACCGTGCTCCAGCACAGTTTTAA CGATTGCACATTTGAGCTGTCTCAGATGGTGCAGTG GGCTTATGATAATGACATTGTAGACGATTCCGAAAT AGCGTATAAGTACGCCCAGCTCGCAGATACCAATTC CAATGCCAGCGCATTTCTGAAGTCCAATTCACAGGC AAAGATAGTAAAGGATTGCGCTACAATGTGCCGCCA TTATAAAAGAGCGGAGAAAAAGCAGATGTCAATGT CCCAATGGATCAAGTATAGGTGTGATCGCGTTGATG ATGGCGGTGATTGGAAGCAGATCGTGATGTTCCTCC GCTATCAAGGCGTAGAATTCATGTCATTCCTGACCG CCCTGAAACGCTTCCTGCAGGGCATTCCTAAAAAAA ATTGCATCCTGCTGTATGGCGCGGCTAACACTGGAA AGAGTCTGTTCGGCATGAGCCTTATGAAGTTCCTCC AGGGATCCGTGATATGCTTTGTGAACAGCAAATCAC ACTTTTGGCTTCAGCCATTGGCAGATGCAAAGATCG GCATGCTGGACGACGCCACAGTCCCATGCTGGAACT

[0272]

[0273]

		ACATAGACGATAATCTCCGAAACGCATTGGACGGCA ATCTGGTGAGCATGGACGTCAAGCACAGGCCTCTGG TGCAACTGAAGTGTCCCCCTCTCCTCATTACGTCAAA CATCAACGCCGGAACAGATAGTCGGTGGCCGTACCT GCACAATAGACTTGTGGTGTTTACATTTCCTAATGA ATTCCCATTTGACGAAAACGGCAATCCAGTATACGA GCTGAATGACAAGAACTGGAAGAGTTTTTTCTCTAG GACATGGTCCAGGTTGAGTCTCCACGAAGACGAGGA TAAAGAGAATGACGGAGACTCTTTGCCCACTTTTAA GTGCGTGTCTGGACAAAATACCAATACCCTGTGA
9	E2-11 (HPV11)	ATGGAAGCCATTGCCAAAAGGCTTGATGCTTGCCAG GATCAGCTTCTCGAGCTGTATGAGGAGAACTCTATT GACATTCATAAACACATCATGCACTGGAAATGCATT AGACTGGAGAGCGTGTTGCTGCACAAAGCGAAGCA GATGGGACTGAGCCACATTGGGCTTCAGGTGGTCCC ACCCCTTACTGTGTCAGAGACAAAGGGGCATAATGC CATCGAGATGCAGATGCATTTGGAGTCCCTGGCGAA AACCCAGTATGGTGTCGAGCCATGGACGCTGCAGGA CACCAGTTACGAAATGTGGCTCACCCCACCCAAACG CTGCTTTAAGAAGCAGGGAAATACTGTGGAGGTAAA GTTCGATGGCTGTGAGGACAATGTTATGGAGTACGT GGTCTGGACACACATCTACTTGCAGGATAATGACTC TTGGGTAAAAGTCACTTCCTCCGTTGATGCCAAGGG CATCTATTACACGTGTGGACAATTCAAGACGTACTA CGTCAATTTCAATAAGGAAGCTCAGAAGTACGGCAG CACAAACCATTGGGAAGTTTGCTATGGCTCTACTGT TATTTGTTCCCCTGCTTCAGTGAGTAGCACAGTCCGG GAAGTCAGTATAGCCGAACCCACCACTTACACCCCA GCCCAGACAACCGCCCCTACAGTTTCCGCTTGCACC ACTGAGGACGGCGTGTCTGCACCTCCCCGCAAGCGT GCAAGAGGACCCAGCACTAACAACACCCTGTGTGTG GCCAACATACGGTCAGTGGACAGTACAATCAACAAC ATCGTAACCGACAATTACAACAAGCACCAGAGGCG GAATAATTGTCACTCCGCAGCAACACCGATAGTGCA

		ACTGCAAGGTGATAGCAACTGCCTGAAATGCTTCCG CTATAGGCTGAATGATAAGTATAAACACCTGTTTGA ACTGGCATCTAGCACCTGGCATTGGGCCTCTCCTGA AGCTCCACACAAGAACGCTATTGTGACACTGACTTA TAGCTCCGAAGAGCAACGACAGCAATTTCTGAACAG CGTGAAAATCCCTCCGACCATCAGACATAAGGTGGG GTTTATGTCACTCCATCTCCTCTAA
10	E1-T2A-E2	ATGGCAGACCCCGCTGGAACAAATGGAGAGGAGGG CACTGGGTGTAACGGCTGGTTTTACGTGGAAGCAGT CGTAGAGAAGAAGACAGGCGACGCCATTTCAGACG ACGAGAATGAGAACGATAGCGACACTGGTGAGGAT CTTGTGGACTTTATTGTGAACGACAATGACTATCTCA CCCAGGCAGAAACCGAGACCGCCCACGCCCTCTTCA CAGCCCAGGAAGCTAAGCAACATCGGGATGCAGTG CAGGTGCTCAAAAGAAAGTACCTGGTTAGTCCTCTG TCCGACATCTCTGGATGCGTCGACAATAATATCAGT CCAAGGCTGAAGGCTATATGCATAGAGAAGCAGTC AAGAGCGGCGAAGAGGAGACTGTTTGAAAGCGAGG ATAGTGGATACGGGAACACAGAAGTCGAGACCCAA CAGATGCTCCAGGTGGAGGGTCGCCATGAGACTGAG ACCCCCTGCTCCCAGTACAGCGGCGGATCAGGCGGT GGATGCTCTCAGTACTCCAGTGGGTCCGGCGGGGAG GGTGTTTCCGAAAGACACACCATCTGTCAGACCCCC CTGACTAATATTCTGAACGTACTGAAAACATCCAAC GCCAAGGCTGCCATGCTGGCGAAGTTTAAGGAGCTG TATGGCGTGAGCTTCAGCGAACTGGTGAGACCATTC AAGAGCAACAAGAGCACCTGTTGTGATTGGTGTATT GCCGCCTTTGGGCTGACTCCATCCATCGCTGACTCTA TTAAAACCCTGTTGCAACAGTACTGCCTCTACCTGC ATATTCAGTCCCTCGCTTGCTCCTGGGGAATGGTGGT GCTGCTTCTGGTTCGGTATAAGTGTGGCAAAAACAG GGAGACCATCGAGAAGCTCCTTAGTAAGCTCCTGTG TGTGTCTCCCATGTGCATGATGATTGAACCGCCAAA ATTGCGGAGCACGGCCGCCGCCCTGTACTGGTACAA

[0274]

		AACAGGCATAAGCAACATCAGCGAAGTGTATGGTG
		ACACGCCAGAATGGATACAGAGACAGACCGTGCTC
		CAGCACAGTTTTAACGATTGCACATTTGAGCTGTCTC
		AGATGGTGCAGTGGGCTTATGATAATGACATTGTAG
		ACGATTCCGAAATAGCGTATAAGTACGCCCAGCTCG
		CAGATACCAATTCCAATGCCAGCGCATTTCTGAAGT
		CCAATTCACAGGCAAAGATAGTAAAGGATTGCGCTA
		CAATGTGCCGCCATTATAAAAGAGCGGAGAAAAAG
		CAGATGTCAATGTCCCAATGGATCAAGTATAGGTGT
		GATCGCGTTGATGATGGCGGTGATTGGAAGCAGATC
		GTGATGTTCCTCCGCTATCAAGGCGTAGAATTCATG
		TCATTCCTGACCGCCCTGAAACGCTTCCTGCAGGGC
		ATTCCTAAAAAAAAATTGCATCCTGCTGTATGGCGCG
		GCTAACACTGGAAAGAGTCTGTTCGGCATGAGCCTT
		ATGAAGTTCCTCCAGGGATCCGTGATATGCTTTGTG
		AACAGCAAATCACACTTTTGGCTTCAGCCATTGGCA
		GATGCAAAGATCGGCATGCTGGACGACGCCACAGTC
		CCATGCTGGAACTACATAGACGATAATCTCCGAAAC
		GCATTGGACGGCAATCTGGTGAGCATGGACGTCAAG
		CACAGGCCTCTGGTGCAACTGAAGTGTCCCCCTCTC
		CTCATTACGTCAAACATCAACGCCGGAACAGATAGT
		CGGTGGCCGTACCTGCACAATAGACTTGTGGTGTTT
		ACATTTCCTAATGAATTCCCATTTGACGAAAACGGC
		AATCCAGTATACGAGCTGAATGACAAGAACTGGAA
		GAGTTTTTTCTCTAGGACATGGTCCAGGTTGAGTCTC
		CACGAAGACGAGGATAAAGAGAATGACGGAGACTC
		TTTGCCCACTTTTAAGTGCGTGTCTGGACAAAATACC
		AATACCCTGGGAAGCGGAGAGGGCAGAGGAAGTCT
		GCTAACATGCGGTGACGTCGAGGAGAATCCTGGACC
		TATGGAGACTCTTTGCCAACGTTTAAATGTGTGTCA
		GGACAAAATACTAACACATTATGAAAATGATAGTAC
		AGACCTACGTGACCATATAGACTATTGGAAACACAT
		GCGCCTAGAATGTGCTATTTATTACAAGGCCAGAGA
		AATGGGATTTAAACATATTAACCACCAGGTGGTGCC

[0275]

[0276]

		AACACTGGCTGTATCAAAGAATAAAGCATTACAAGC AATTGAACTGCAACTAACGTTAGAAACAATATATAA CTCACAATATAGTAATGAAAAGTGGACATTACAAGA CGTTAGCCTTGAAGTGTATTTAACTGCACCAACAGG ATGTATAAAAAAACATGGATATACAGTGGAAGTGC AGTTTGATGGAGACATATGCAATACAATGCATTATA CAAACTGGACACATATATATATTTGTGAAGAAGCAT CAGTAACTGTGGTAGAGGGTCAAGTTGACTATTATG GTTTATATTATGTTCATGAAGGAATACGAACATATTT TGTGCAGTTTAAAGATGATGCAGAAAAATATAGTAA AAATAAAGTATGGGAAGTTCATGCGGGTGGTCAGGT AATATTATGTCCTACATCTGTGTTTAGCAGCAACGA AGTATCCTCTCCTGAAATTATTAGGCAGCACTTGGC CAACCACTCCGCCGCGACCCATACCAAAGCCGTCGC CTTGGGCACCGAAGAAACACAGACGACTATGCAGC GACCAAGATCAGAGCCAGACACCGGAAACCCCTGC CACACCACTAAGTTGTTGCACAGAGACTCAGTGGAC AGTGCTCCAATCCTCACTGCATTTAACAGCTCACAC AAAGGACGGATTAACTGTAATAGTAACACTACACCC ATAGTACATTTAAAAGGTGATGCTAATACTTTAAAA TGTTTAAGATATAGATTTAAAAAGCATTGTACATTG TATACTGCAGTGTCGTCTACATGGCATTGGACAGGA CATAATGTAAAACATAAAAGTGCAATTGTTACACTT ACATATGATAGTGAATGGCAACGTGACCAATTTTTG TCTCAAGTTAAAATACCAAAAACTATTACAGTGTCT ACTGGATTTATGTCTATATGA
11	3'LTR Fwd 프라이머	CTAATTCACTCCCAACGAAG
12	5'LTR Rev	GCCGAGTCCTGCGTCGAGAG
13	항-HER2 항체 뉴클레오티드 서열	ATGTACAGGATGCAACTCCTGTCTTGCATTGCACTA AGTCTTGCACTTGTCACGGAGGTTCAGCTGGTGGAG TCTGGCGGTGGCCTGGTGCAGCCAGGGGGCTCACTC CGTTTGTCCTGTGCAGCTTCTGGCTTCAACATTAAAG ACACCTATATACACTGGGTGCGTCAGGCCCCGGGTA

		AGGGCCTGGAATGGGTTGCAAGGATTTATCCTACGA ATGGTTATACTAGATATGCCGATAGCGTCAAGGGCC GTTTCACTATAAGCGCAGACACATCCAAAAACACAG CCTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGTGCTGAGGACA CTGCCGTCTATTATTGTTCTAGATGGGGAGGGGACG GCTTCTATGCTATGGACGTGTGGGGTCAAGGAACCC TGGTCACCGTCTCCTCGGCTAGCACCAAGGGCCCAT CGGTCTTCCCCCTGGCACCCTCCTCCAAGAGCACCTC TGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGA CTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAACTC AGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGC TGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGC GTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAG ACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAAC ACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGT GACAAAACTCACACATGCCCACCGTGCCCAGCACCT GAACTCCTGGGGGGGACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCC CAAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCC CTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACG AAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACG GCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGG GAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAG CGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGG CAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCT CCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAA AGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCC CCCATCCCGGGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTCAG CCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGA CATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGG AGAACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACT CCGACGGCTCCTTCTTCCTCTACAGCAAGCTCACCGT GGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCT CATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACT ACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAAC

[0277]

		GTAGACGAAAGCGCGGAAGCGGAGAGGGCAGAGGA AGTCTGCTAACATGCGGTGACGTCGAGGAGAATCCT GGACCTGGATCCATGTACAGGATGCAACTCCTGTCT TGCATTGCACTAAGTCTTGCACTTGTCACGGATATCC AGATGACCCAGTCCCCGAGCTCCCTGTCCGCCTCTG TGGGCGATAGGGTCACCATCACCTGCCGTGCCAGTC AGGATGTGAATACTGCTGTAGCCTGGTATCAACAGA AACCAGGAAAAGCTCCGAAACTACTGATTTACTCGG CATCCTTCCTCGAGTCTGGAGTCCCTTCTCGCTTCTC TGGTTCCAGATCTGGGACGGATTTCACTCTGACCAT CAGCAGTCTGCAGCCGGAAGACTTCGCAACTTATTA CTGTCAGCAACATTATACTACTCCTCCCACGTTCGGA CAGGGTACCAAGGTGGAGATCAAAGAATTCGTGGCT GCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGC AGTTGAAATCTGGAACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCT GAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTG GAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCA GGAGAGTGTCACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCA CCTACAGCCTCAGCAGCACCCTGACGCTGAGCAAAG CAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAA GTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAG AGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG
14	항-EGFR 항체 뉴클레오티드 서열	ATGCAGGTGCAGCTGAAGCAGAGCGGCCCGGGGCT CGTCCAGCCCTCGCAGAGCCTGAGCATCACCTGCAC GGTGAGCGGCTTCAGCCTGACCAACTACGGGGTGCA CTGGGTCCGGCAGTCGCCCGGCAAGGGGCTGGAGTG GCTGGGCGTGATCTGGAGCGGCGGGAACACCGACT ACAACACCCCCTTCACGAGCCGCCTGAGCATCAACA AGGACAACAGCAAGTCGCAGGTGTTCTTCAAGATGA ACAGCCTCCAGAGCAACGACACCGCCATCTACTACT GCGCGCGGGCCCTGACCTACTACGACTACGAGTTCG CCTACTGGGGCCAGGGGACCCTGGTCACGGTGAGCG CCGCGAGCACCAAGGGCCCGAGCGTGTTCCCCCTCG CCCCCTCCAGCAAGAGCACCAGCGGCGGGACCGCC

[0278]

		GCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAG
		CCGGTGACGGTGAGCTGGAACTCGGGGGCCCTCACC
		AGCGGCGTCCACACCTTCCCCGCGGTGCTGCAGAGC
		AGCGGGCTGTACAGCCTCAGCTCGGTGGTCACCGTG
		CCCAGCAGCAGCCTGGGCACGCAGACCTACATCTGC
		AACGTGAACCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTCGA
		CAAGCGCGTGGAGCCGAAGTCGCCCAAGAGCTGCG
		ACAAGACCCACACGTGCCCGCCCTGCCCCGCCCCCG
		AGCTGCTCGGCGGGCCCAGCGTGTTCCTGTTCCCGC
		CCAAGCCCAAGGACACCCTGATGATCAGCCGGACCC
		CCGAGGTCACCTGCGTGGTGGTCGACGTGAGCCACG
		AGGACCCGGAGGTGAAGTTCAACTGGTACGTCGACG
		GCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACGAAGCCCCGC
		GAGGAGCAGTACAACAGCACCTACCGGGTCGTGTCG
		GTGCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGG
		AAGGAGTACAAGTGCAAGGTGAGCAACAAGGCCCT
		CCCCGCGCCCATCGAGAAGACCATCAGCAAGGCCA
		AGGGCCAGCCGCGCGAGCCCCAGGTGTACACGCTGC
		CCCCCAGCCGGGACGAGCTGACCAAGAACCAGGTC
		AGCCTCACCTGCCTGGTGAAGGGGTTCTACCCGTCG
		GACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAACGGCCAGCC
		CGAGAACAACTACAAGACCACGCCCCCGGTCCTGGA
		CAGCGACGGCAGCTTCTTCCTCTACAGCAAGCTGAC
		CGTGGACAAGAGCCGCTGGCAGCAGGGGAACGTGT
		TCTCGTGCAGCGTCATGCACGAGGCCCTGCACAACC
		ACTACACCCAGAAGAGCCTCAGCCTGAGCCCCGGCA
		AGTGAGGAAGCGGAGAGGGCAGAGGAAGTCTGCTA
		ACATGCGGTGACGTCGAGGAGAATCCTGGACCTGGA
		TCCATGGACATCCTGCTCACCCAGAGCCCGGTGATC
		CTGTCGGTCAGCCCCGGCGAGCGGGTGAGCTTCAGC
		TGCCGCGCCAGCCAGTCGATCGGGACGAACATCCAC
		TGGTACCAGCAGCGGACCAACGGCAGCCCCCGCCTG
		CTCATCAAGTACGCGAGCGAGAGCATCAGCGGGATT
		CCCTCGCGGTTCAGCGGCAGCGGGAGCGGCACCGAC

[0279]

		TTCACCCTGAGCATCAACAGCGTGGAGTCGGAGGAC ATCGCCGACTACTACTGCCAGCAGAACAACAACTGG CCGACGACCTTCGGCGCCGGGACCAAGCTGGAGCTC AAGCGCGAATTCGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCT TCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACTG CCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAG AGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCC TCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTCACAGAGC AGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGC ACCCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACA CAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCT GAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAG AGTGTTAGGCG
15	CCR5 마이크로 RNA 표적 서열	GAGCAAGCTCAGTTTACA
16	엡스타인-바 OriP 서열	ATGAGGATAGCATATGCTACCCGGATACAGATTAGG ATAGCATATACTACCCAGATATAGATTAGGATAGCA TATGCTACCCAGATATAGATTAGGATAGCCTATGCT ACCCAGATATAAATTAGGATAGCATATACTACCCAG ATATAGATTAGGATAGCATATGCTACCCAGATATAG ATTAGGATAGCCTATGCTACCCAGATATAGATTAGG ATAGCATATGCTACCCAGATATAGATTAGGATAGCA TATGCTATCCAGATATTTGGGTAGTATATGCTACCCA GATATAAATTAGGATAGCATATACTACCCTAATCTC TATTAGGATAGCATATGCTACCCGGATACAGATTAG GATAGCATATACTACCCAGATATAGATTAGGATAGC ATATGCTACCCAGATATAGATTAGGATAGCCTATGC TACCCAGATATAAATTAGGATAGCATATACTACCCA GATATAGATTAGGATAGCATATGCTACCCAGATATA GATTAGGATAGCCTATGCTACCCAGATATAGATTAG GATAGCATATGCTATCCAGATATTTGGGTAGTATAT GCTACCCATGGCAACATTAGCCCACCGTGCTCTCAG CGACCTCGTGAATATGAGGACCAACAACCCTGTGCT

[0280]

[0281]

		TGGCGCTCAGGCGCAAGTGTGTGTAATTTGTCCTCC AGATCGCAGCAATCGCGCCCCTATCTTGGCCCGCCC ACCTACTTATGCAGGTATTCCCCGGGGTGCCATTAG TGGTTTTGTGGGCAAGTGGTTTGACCGCAGTGGTTA GCGGGGTTACAATCAGCCAAGTTATTACACCCTTAT TTTACAGTCCAAAACCGCAGGGCGGCGTGTGGGGGC TGACGCGTGCCCCCACTCCACAATTTCAAAAAAAAG AGTGGCCACTTGTCTTTGTTTATGGGCCCCATTGGCG TGGAGCCCCGTTTAATTTTCGGGGGTGTTAGAGACA ACCAGTGGAGTCCGCTGCTGTCGGCGTCCACTCTCTT TCCCCTTGTTACAAATAGAGTGTAACAACATGGTTC ACCTGTCTTGGTCCCTGCCTGGGACACATCTTAATAA CCCCAGTATCATATTGCACTAGGATTATGTGTTGCCC ATAGCCATAAATTCGTGTGAGATGGACATCCAGTCT TTACGGCTTGTCCCCACCCCATGGATTTCTATTGTTA AAGATATTCAGAATGTTTCATTCCTACACTAGTATTT ATTGCCCAAGGGGTTTGTGAGGGTTATATTGGTGTC ATAGCACAATGCCACCACTGAACCCCCCGTCCAAAT TTTATTCTGGGGGCGTCACCTGAAACCTTGTTTTCGA GCACCTCACATACACCTTACTGTTCACAACTCAGCA GTTATTCTATTAGCTAAACGAAGGAGAATGAAGAAG CAGGCGAAGATTCAGGAGAGTTCACTGCCCGCTCCT TGATCTTCAGCCACTGCCCTTGTGACTAAAATGGTTC ACTACCCTCGTGGAATCCTGACCCCATGTAAATAAA ACCGTGACAGCTCATGGGGTGGGAGATATCGCTGTT CCTTAGGACCCTTTTACTAACCCTAATTCGATAGCAT ATGCTTCCCGTTGGGTAACATATGCTATTGAATTAG GGTTAGTCTGGATAGTATATACTACTACCCGGGAAG CATATGCTACCCGTTTAGGGT
17	혈소판-유래 성장 인자 (PDGF)	ATGAATCGCTGCTGGGCGCTCTTCCTGTCTCTCTGCT GCTACCTGCGTCTGGTCAGCGCCGAGGGGGACCCCA TTCCCGAGGAGCTTTATGAGATGCTGAGTGACCACT CGATCCGCTCCTTTGATGATCTCCAACGCCTGCTGCA CGGAGACCCCGGAGAGGAAGATGGGGCCGAGTTGG

		ACCTGAACATGACCCGCTCCCACTCTGGAGGCGAGC TGGAGAGCTTGGCTCGTGGAAGAAGGAGCCTGGGTT CCCTGACCATTGCTGAGCCGGCCATGATCGCCGAGT GCAAGACGCGCACCGAGGTGTTCGAGATCTCCCGGC GCCTCATAGACCGCACCAACGCCAACTTCCTGGTGT GGCCGCCCTGTGTGGAGGTGCAGCGCTGCTCCGGCT GCTGCAACAACCGCAACGTGCAGTGCCGCCCCACCC AGGTGCAGCTGCGACCTGTCCAGGTGAGAAAGATCG AGATTGTGCGGAAGAAGCCAATCTTTAAGAAGGCCA CGGTGACGCTGGAAGACCACCTGGCATGCAAGTGTG AGACAGTGGCAGCTGCACGGCCTGTGACCCGAAGCC CGGGGGGTTCCCAGGAGCAGCGAGCCAAAACGCCC CAAACTCGGGTGACCATTCGGACGGTGCGAGTCCGC CGGCCCCCCAAGGGCAAGCACCGGAAATTCAAGCA CACGCATGACAAGACGGCACTGAAGGAGACCCTTG GAGCCTAG
18	골형성 단백질 1 (BMP1) 뉴클레오티드 서열 (NM_001199.3)	ATGCCCGGCGTGGCCCGCCTGCCGCTGCTGCTCGGG CTGCTGCTGCTCCCGCGTCCCGGCCGGCCGCTGGAC TTGGCCGACTACACCTATGACCTGGCGGAGGAGGAC GACTCGGAGCCCCTCAACTACAAAGACCCCTGCAAG GCGGCTGCCTTTCTTGGGGACATTGCCCTGGACGAA GAGGACCTGAGGGCCTTCCAGGTACAGCAGGCTGTG GATCTCAGACGGCACACAGCTCGTAAGTCCTCCATC AAAGCTGCAGTTCCAGGAAACACTTCTACCCCCAGC TGCCAGAGCACCAACGGGCAGCCTCAGAGGGGAGC CTGTGGGAGATGGAGAGGTAGATCCCGTAGCCGGC GGGCGGCGACGTCCCGACCAGAGCGTGTGTGGCCCG ATGGGGTCATCCCCTTTGTCATTGGGGGAAACTTCA CTGGTAGCCAGAGGGCAGTCTTCCGGCAGGCCATGA GGCACTGGGAGAAGCACACCTGTGTCACCTTCCTGG AGCGCACTGACGAGGACAGCTATATTGTGTTCACCT ATCGACCTTGCGGGTGCTGCTCCTACGTGGGTCGCC GCGGCGGGGGCCCCCAGGCCATCTCCATCGGCAAGA ACTGTGACAAGTTCGGCATTGTGGTCCACGAGCTGG

[0282]

		GCCACGTCGTCGGCTTCTGGCACGAACACACTCGGC
		CAGACCGGGACCGCCACGTTTCCATCGTTCGTGAGA
		ACATCCAGCCAGGGCAGGAGTATAACTTCCTGAAGA
		TGGAGCCTCAGGAGGTGGAGTCCCTGGGGGAGACCT
		ATGACTTCGACAGCATCATGCATTACGCTCGGAACA
		CATTCTCCAGGGGCATCTTCCTGGATACCATTGTCCC
		CAAGTATGAGGTGAACGGGGTGAAACCTCCCATTGG
		CCAAAGGACACGGCTCAGCAAGGGGGACATTGCCC
		AAGCCCGCAAGCTTTACAAGTGCCCAGCCTGTGGAG
		AGACCCTGCAAGACAGCACAGGCAACTTCTCCTCCC
		CTGAATACCCCAATGGCTACTCTGCTCACATGCACT
		GCGTGTGGCGCATCTCTGTCACACCCGGGGAGAAGA
		TCATCCTGAACTTCACGTCCCTGGACCTGTACCGCA
		GCCGCCTGTGCTGGTACGACTATGTGGAGGTCCGAG
		ATGGCTTCTGGAGGAAGGCGCCCCTCCGAGGCCGCT
		TCTGCGGGTCCAAACTCCCTGAGCCTATCGTCTCCAC
		TGACAGCCGCCTCTGGGTTGAATTCCGCAGCAGCAG
		CAATTGGGTTGGAAAGGGCTTCTTTGCAGTCTACGA
		AGCCATCTGCGGGGGTGATGTGAAAAAGGACTATG
		GCCACATTCAATCGCCCAACTACCCAGACGATTACC
		GGCCCAGCAAAGTCTGCATCTGGCGGATCCAGGTGT
		CTGAGGGCTTCCACGTGGGCCTCACATTCCAGTCCTT
		TGAGATTGAGCGCCACGACAGCTGTGCCTACGACTA
		TCTGGAGGTGCGCGACGGGCACAGTGAGAGCAGCA
		CCCTCATCGGGCGCTACTGTGGCTATGAGAAGCCTG
		ATGACATCAAGAGCACGTCCAGCCGCCTCTGGCTCA
		AGTTCGTCTCTGACGGGTCCATTAACAAAGCGGGCT
		TTGCCGTCAACTTTTTCAAAGAGGTGGACGAGTGCT
		CTCGGCCCAACCGCGGGGGCTGTGAGCAGCGGTGCC
		TCAACACCCTGGGCAGCTACAAGTGCAGCTGTGACC
		CCGGGTACGAGCTGGCCCCAGACAAGCGCCGCTGTG
		AGGCTGCTTGTGGCGGATTCCTCACCAAGCTCAACG
		GCTCCATCACCAGCCCGGGCTGGCCCAAGGAGTACC
		CCCCCAACAAGAACTGCATCTGGCAGCTGGTGGCCC

[0283]

		CCACCCAGTACCGCATCTCCCTGCAGTTTGACTTCTT TGAGACAGAGGGCAATGATGTGTGCAAGTACGACTT CGTGGAGGTGCGCAGTGGACTCACAGCTGACTCCAA GCTGCATGGCAAGTTCTGTGGTTCTGAGAAGCCCGA GGTCATCACCTCCCAGTACAACAACATGCGCGTGGA GTTCAAGTCCGACAACACCGTGTCCAAAAAGGGCTT CAAGGCCCACTTCTTCTCAGAAAAGAGGCCAGCTCT GCAGCCCCCTCGGGGACGCCCCCACCAGCTCAAATT CCGAGTGCAGAAAAGAAACCGGACCCCCCAGTGA
19	U89348.1 인간 파필로마바이러스 제 16 형 변이체 뉴클레오티드 서열	ACTACAATAATCCATGTATAAAACTAAGGGCGTAAC CGAAATCGGTTGAACCGAAACCGGTTAGTATAAAAG CAGACATTTTATGCACCAAAAGAGAACTGCAATGTT TCAGGACCCACAGGAGCGACCCGGAAAGTTACCAC AGTTATGCACAGAGCTGCAAACAACTATACATGATA TAATATTAGAATGTGTGTACTGCAAGCAACAGTTAC TGCGACGTGAGGTATATGACTTTGCTTTTCGGGATTT ATGCATAGTATATAGAGATGGGAATCCATATGCTGT ATGTGATAAATGTTTAAAGTTTTATTCTAAAATTAGT GAGTATAGACATTATTGTTATAGTGTGTATGGAACA ACATTAGAACAGCAATACAACAAACCGTTGTGTGAT TTGTTAATTAGGTGTATTAACTGTCAAAAGCCACTGT GTCCTGAAGAAAAGCAAAGACATCTGGACAAAAAG CAAAGATTCCATAATATAAGGGGTCGGTGGACCGGT CGATGTATGTCTTGTTGCAGATCATCAAGAACACGT AGAGAAACCCAGCTGTAATCATGCATGGAGATACAC CTACATTGCATGAATATATGTTAGATTTGCAACCAG AGACAACTGATCTCTACTGTTATGAGCAATTAAATG ACAGCTCAGAGGAGGAGGATGAAATAGATGGTCCA GCTGGACAAGCAGAACCGGACAGAGCCCATTACAA TATTGTAACCTTTTGTTGCAAGTGTGACTCTACGCTT CGGTTGTGCGTACAAAGCACACACGTAGACATTCGT ACTTTGGAAGACCTGTTAATGGGCACACTAGGAATT GTGTGCCCCATCTGTTCTCAGAAACCATAATCTACC ATGGCTGATCCTGCAGGTACCAATGGGGAAGAGGGT

[0284]

		ACGGGATGTAATGGATGGTTTTATGTAGAGGCTGTA GTGGAAAAAAAAACAGGGGATGCTATATCAGATGA CGAGAACGAAAATGACAGTGATACAGGTGAAGATT TGGTAGATTTTATAGTAAATGATAATGATTATTTAAC ACAGGCAGAAACAGAGACAGCACATGCGTTGTTTAC TGCACAGGAAGCAAAACAACATAGAGATGCAGTAC AGGTTCTAAAACGAAAGTATTTGGGTAGTCCACTTA GTGATATTAGTGGATGTGTAGACAATAATATTAGTC CTAGATTAAAAGCTATATGTATAGAAAAACAAAGTA GAGCTGCAAAAAGGAGATTATTTGAAAGCAAAGAC AGCGGGTATGGCAATACTGAAGTGGAAACTCAGCA GATGTTACAGGTAGAAGGGCGCCATGAGACTGAAA CACCATGTAGTCAGTATAGTGGTGGAAGTGGGGGTG GTTGCAGTCAGTACAGTAGTGGAAGTGGGGGAGAG GGTGTTAGTGAAAGACACAATATATGCCAAACACCA CTTACAAATATTTTAAATGTACTAAAAACTAGTAAT GCAAAGGCAGCAATGTTAGCAAAATTTAAAGAGTTA TACGGGGTGAGTTTTACAGAATTAGTAAGACCAT TTAAAAGTAATAAATCAACGTGTTGCGATTGGTGTA TTGCTGCATTTGGACTTACACCCAGTATAGCTGACA GTATAAAAACACTATTACAACAATATTGTTTATATTT ACACATTCAAAGTTTAGCATGTTCATGGGGAATGGT TGTGTTACTATTAGTAAGATATAAATGTGGAAAAAA TAGAGAAACAATTGAAAAATTGCTGTCTAAACTATT ATGTGTGTCTCCAATGTGTATGATGATAGAGCCTCC AAAATTGCGTAGTACAGCAGCAGCATTATATTGGTA TAAAACAGGTATATCAAATATTAGTGAAGTGTATGG AGACACGCCAGAATGGATACAAAGACAAACAGTAT TACAACATAGTTTTAATGATTGTACATTTGAATTATC ACAGATGGTACAATGGGCCTACGATAATGACATAGT AGACGATAGTGAAATTGCATATAAATATGCACAATT GGCAGACACTAATAGTAATGCAAGTGCCTTTCTAAA AAGTAATTCACAGGCAAAAATTGTAAAGGATTGTGC AACAATGTGTAGACATTAT

[0285]

		AAACGAGCAGAAAAAAAACAAATGAGTATGAGTCA ATGGATAAAATATAGATGTGATAGGGTAGATGATGG AGGTGATTGGAAGCAAATTGTTATGTTTTTAAGGTA TCAAGGTGTAGAGTTTATGTCATTTTTAACTGCATTA AAAAGATTTTTGCAAGGCATACCTAAAAAAAATTGC ATATTACTATATGGTGCAGCTAACACAGGTAAATCA TTATTTGGTATGAGTTTAATGAAATTTCTGCAAGGGT CTGTAATATGTTTTGTAAATTCTAAAAGCCATTTTTG GTTACAACCATTAGCAGATGCCAAAATAGGTATGTT AGATGATGCTACAGTGCCCTGTTGGAACTATATAGA TGACAATTTAAGAAATGCATTGGATGGAAATTTAGT TTCTATGGATGTAAAGCATAGACCATTGGTACAACT AAAATGCCCTCCATTATTAATTACATCTAACATTAAT GCTGGTACAGATTCTAGGTGGCCTTATTTACATAAT AGATTGGTGGTGTTTACATTTCCTAATGAGTTTCCAT TTGACGAAAACGGAAA TCCAGTGTATGAGCTTAATGATAAGAACTGGAAATC CTTTTTCTCAAGGACGTGGTCCAGATTAAGTTTGCAC GAGGACGAGGACAAGGAAAACGATGGAGACTCTTT GCCAACGTTTAAATGTGTGTCAGGACAAAATACTAA CACATTATGAAAATGATAGTACAGACCTACGTGACC ATATAGACTATTGGAAACACATGCGCCTAGAATGTG CTATTTATTACAAGGCCAGAGAAATGGGATTTAAAC ATATTAACCACCAGGTGGTGCCAACGCTGGCTGTAT CAAAGAATAAAGCATTACAAGCAATTGAACTGCAA CTAACGTTAGAAACAATATATAACTCACAATATAGT AATGAAAAGTGGACATTACAAGACGTTAGCCTTGAA GTGTATTTAACTGCACCAACAGGATGTATAAAAAAA CATGGATATACAGTGGAAGTGCAGTTTGATGGAGAC ATATGCAATACAATGCATTATACAAACTGGACACAT ATATATATTTGTGAAGAAGCATCAGTAACTGTGGTA GAGGGTCAAGTTGACTATTATGGTTTATATTATGTTC ATGAAGGAATACGAACATATTTTGTGCAGTTTAAAG ATGATGCAGAAAAATATAGTAAAAATAAAGTATGG

[0286]

		GAAGTTCATGCGGGTGGTCAGGTAATATTATGTCCT ACATCTGTGTTTAGCAGCAACGAAGTATCCTCTCCT GAAACTATTAGGCAGCACTTGGCCAACCACTCCGCC GCGACCCATACCAAA GCCGTCGCCTTGGGCACCGAAGAAACACAGACGACT ATCCAGCGACCAAGATCAGAGCCAGACACCGGAAA CCCCTGCCACACCACTAAGTTGTTGCACAGAGACTC AGTGGACAGTGCTCCAATCCTCACTGCATTTAACAG CTCACACAAAGGACGGATTAACTGTAATAGTAACAC TACACCCATAGTACATTTAAAAGGTGATGCT AATACTTTAAAATGTTTAAGATATAGATTTAAAAAG CATTGTAAATTGTATACTGCAGTGTCGTCTACATGGC ATTGGACAGGACATAATGTAAAACATAAAAGTGCA ATTGTTACACTTACATATGATAGTGAATGGCAACGT GACCAATTTTTGTCTCAAGTTAAAATACCAAAAACT ATTACAGTGTCTACTGGATTTATGTCTATATGACAAA TCTTGATACTGCATACACAACATTACTGGCGTGCTTT TTGCTTTGCTTTTGTGTGCTTTTGTGTGTCTGCCTATT AATACGTCCGCTGCTTTTGTCTGTGTCTACATACACA TCATTAATACTATTGGTATTACTATTGTGGATAACAG CAGCCTCTGCGTTTAGGTGTTTTATTGTATATATTGT ATTTGTTTATATACCATTATTTTTAATACATACACAT GCACGCTTTTTAATTACATAATGTATATGTACATAAT GTAATTGTTACATATAATTGTTGTATACCATAACTTA CTATTTTTTCTTTTTTATTTTTATATATAATTTTTTTTT GGTTTGTTTGTTTGTTTTTTAATAAACTGTTCTCACTT AACAATGCGACACAAACGTTCTGCAAAACGCACAA AACGTGCATCGGCTACCCAACTTTATAAAACATGCA AACAGGCAGGTACATGTCCACCTGACATTATACCTA AG GTTGAAGGCAAAACTATTGCTGATCAAATATTACAA TATGGAAGTATGGGTGTATTTTTTGGTGGGTTAGGA ATTGGAACAGGGTCGGGTACAGGCGGACGCACTGG GTATATTCCATTGGGAACAAGGCCTCCCACAGCTAC

[0287]

		AGATACACTTGCTCCTGTAAGACCCCCTTTAACAGT AGATCCTGTGGGCCCTTCTGATCCTTCTATAGTTTCT TTAGTGGAAGAAACTAGTTTTATTGATGCTGGTGCA CCAACATCTGTACCTTCCATCCCCCCAGATGTATCAG GATTTAGTATTACTACTTCAACTGATACCACACCTGC TATATTAGATATTAATAATACTGTTACTACTGTTACT ACACATAATAATCCCACTTTCACTGACCCATCTGTAT TGCAGCCTCCAACACCTGCAGAAACTGGAGGGCATT TTACACTTTCATCATCCACTATTAGTACACATAATTA TGAAGAAATTCCTATGGATACATTTATTGTTAGCAC AAACCCTAACACAGTAACTAGTAGCACACCCATACC AGGGTCTCGCCCAGTGGCACGCCTAGGATTATATAG TCGCACAACACAACAAGTTAAAGTTGTAGACCCTGC TTTTGTAACCACTCCCACTAAACTTATTACATATGAT AATCCTGCATATGAAGGTATAGATGTGGATAATACA TTATATTTTCCTAGTAATGATAATAGTATTAATATAG CTCCAGATCCTGACTTTTTGGATATAGTTGCTTTACA TAGGCCAGCATTAACCTCTAGGCGTACTGGCATTAG GTACAGTAGAATTGGTAATAAACAAACACTACGTAC TCGTAGTGGAAAATCTATAGGTGCTAAGGTACATTA TTATTATGATTTGAGTACTATTGATCCTGCAGAAGA AA TAGAATTACAAACTATAACACCTTCTACATATACTA CCACTTCACATGCAGCCTCACCTACTTCTATTAATAA TGGCTTATATGATATTTATGCAGATGACTTTATTACA GATACTTCTACAACCCCGGTACCATCTGTACCCTCTA CATCTTTATCAGGTTATATTCCTGCAAATACAACAAT TCCTTTTGGTGGTGCATACAATATTCCTTTAGTATCA GGTCCTGATATACCCATTAATATAACTGACCAAGCT CCTTCATTAATTCCTATAGTTCCAGGGTCTCCACAAT ATACAATTATTGCTGATGCAGGTGACTTTTATTTACA TCCTAGTTATTACATGTTA CGAAAACGACGTAAACGTTTACCATATTTTTTTTCAG ATGTCTCTTTGGCTGCCTAGTGAGGCCACTGTCTACT

[0288]

		TGCCTCCTGTCCCAGTATCTAAGGTTGTAAGCACGG ATGAATATGTTGCACGCACAAACATATATTATCATG CAGGAACATCCAGACTACTTGCAGTTGGACATCCCT ATTTTCCTATTAAAAAACCTAACAATAACAAAATAT TAGTTCCTAAAGTATCAGGATTACAATACAGGGTAT TTAGAATACATTTACCTGACCCCAATAAGTTTGGTTT TCCTGACACCTCATTTTATAATCCAGATACACAGCG GCTGGTTTGGGCCTGTGTAGGTGTTGAGGTAGGTCG TGGTCAGCCATTAGGTGTGGGCATTAGTGGCCATCC TTTATTAAATAAATTGGATGACACAGAAAATGCTAG TGCTTATGCAGCAAATGCAGGTGTGGATAATAGAGA ATGTATATCTATGGATTACAAACAAACACAATTGTG TTTAATTGGTTGCAAACCACCTATAGGGGAACACTG GGGCAAAGGATCCCCAT GTACCAATGTTGCAGTAAATCCAGGTGATTGTCCAC CATTAGAGTTAATAAACACAGTTATTCAGGATGGTG ATATGGTTGATACTGGCTTTGGTGCTATGGACTTTAC TACATTACAGGCTAACAAAAGTGAAGTTCCACTGGA TATTTGTACATCTATTTGCAAATATCCAGATTATATT AAAATGGTGTCAGAACCATATGGCGACAGCTTATTT TTTTATTTACGAAGGGAACAAATGTTTGTTAGACATT TATTTAATAGGGCTGGTGCTGTTGGTGAAAATGTAC CAGACGATTTATACATTAAAGGCTCTGGGTCTACTG CAAATTTAGCCAGTTCAAATTATTTTCCTACACCTAG TGGTTCTATGGTTACCTCTGATGCCCAAATATTCAAT AAACCTTATTGGTTACAACGAGCACAGGGCCACAAT AATGGCATTTGTTGGGGTAACCAACTATTTGTTACTG TTGTTGATACTACACGCAGTACAAATATGTCATTAT GTGCTGCCATATCTACTTCAGAAACTACATATAAAA ATACTAACTTTAAGGAGTACCTACGACATGGGGAGG AATATGATTTACAGTTTATTTTTCAACTGTGCAAAAT AACCTTAACTGCAGACGTTATGACATACATACATTC TATGAATTCCACTATTTTGGAGGACTGGAATTTTGGT CTACAACCCCCCCCAGGAGGCACACTAGAAGATACT

[0289]

		TATAGGTTTGTAACATCCCAGGCAATTGCTTGTCAA AAACATACACCTCCAGCACCTAAAGAAGATCCCCTT AAAAAATACACTTTTTGGGAAGTAAATTTAAAGGAA AAGTTTTCTGCAGACCTAGATCAGTTTCCTTTAGGAC GCAAATTTTTACTACAAGCAGGATTGAAGGCCAAAC CAAAATTTACATTAGGAAAACGAAAAGCTACACCCA CCACCTCATCTACCTCTACAACTGCTAAACGCAAAA AACGTAAGCTGTAAGTATTGTATGTATGTTGAATTA GTGTTGTTTGTTGTTTATATGTTTGTATGTGCTTGTAT GTGCTTGTAAATATTAAGTTGTATGTGTGTTTGTATG TATGGTATAATAAACACGTGTGTATGTGTTTTTAAAT GCTTGTGTAACTATTGTGTGATGCAACATAAATAAA CTTATTGTTTCAACACCTACTAATTGTGTTGTGGTTA TTCATTGTATATAAACTATATTTGCTACAATCTGTTT TTGTTTTATATATACTATATTTTGTAGCGCCAGCGGC CATTTTGTAGCTTCAACCGAATTCGGTTGCATGCTTT TTGGCACAAAATGTGTTTTTTTAAATAGTTCTATGTC AGCAACTATAGTTTAAACTTGTACGTTTCCTGCTTGC CATGCGTGCCAAATCCCTGTTTTCCTGACCTGCACTG CTTGCCAACCATTCCATTGTTTTTTACACTGCACTAT GTGCAACTACTGAATCACTATGTACATTGTGTCATAT AAAATAAATCACTATGCGCCAACGCCTTACATACCG CTGTTAGGCACATATTTTTGGCTTGTTTTAACTAACC TAATTGCATATTTGGCATAAGGTTTAAACTTCTAAG GCCAACTAAATGTCACCCTAGTTCATACATGAACTG TGTAAAGGTTAGTCATACATTGTTCATTTGTAAAACT GCACATGGGTGTGTGCAAACCGTTTTGGGTTACACA TTTACAAGCAACTTATATAATAATACTAA
20	GFP Fwd 프라이머:	GGATCCGCCACCATGGAGAGCGACGAGAGCGGC
21	GFP Rev 프라이머:	GAATTCTTAGCGAGATCCGGTGGAGCC
22	Psi 패키징	TACGCCAAAAATTTTGACTAGCGGAGGCTAGAAGGA GAGAG

[0290]

	엘리먼트	
23	Rev 반응 엘리먼트	AGGAGCTTTGTTCCTTGGGTTCTTGGGAGCAGCAGG AAGCACTATGGGCGCAGCCTCAATGACGCTGACGGT ACAGGCCAGACAATTATTGTCTGGTATAGTGCAGCA GCAGAACAATTTGCTGAGGGCTATTGAGGCGCAACA GCATCTGTTGCAACTCACAGTCTGGGGCATCAAGCA GCTCCAGGCAAGAATCCTGGCTGTGGAAAGATACCT AAAGGATCAACAGCTCC
24	cPPT 뉴클레오티드 서열	TTTTAAAAGAAAAGGGGGGATTGGGGGGTACAGTG CAGGGGAAAGAATAGTAGACATAATAGCAACAGAC ATACAAACTAAAGAATTACAAAAACAAATTACAAA ATTCAAAATTTTA
25	WPRE 뉴클레오티드 서열	AATCAACCTCTGATTACAAAATTTGTGAAAGATTGA CTGGTATTCTTAACTATGTTGCTCCTTTTACGCTATG TGGATACGCTGCTTTAATGCCTTTGTATCATGCTATT GCTTCCCGTATGGCTTTCATTTTCTCCTCCTTGTATA AATCCTGGTTGCTGTCTCTTTATGAGGAGTTGTGGCC CGTTGTCAGGCAACGTGGCGTGGTGTGCACTGTGTT TGCTGACGCAACCCCCACTGGTTGGGGCATTGCCAC CACCTGTCAGCTCCTTTCCGGGACTTTCGCTTTCCCC CTCCCTATTGCCACGGCGGAACTCATCGCCGCCTGC CTTGCCCGCTGCTGGACAGGGGCTCGGCTGTTGGGC ACTGACAATTCCGTGGTGTTGTCGGGGAAATCATCG TCCTTTCCTTGGCTGCTCGCCTGTGTTGCCACCTGGA TTCTGCGCGGGACGTCCTTCTGCTACGTCCCTTCGGC CCTCAATCCAGCGGACCTTCCTTCCCGCGGCCTGCTG CCGGCTCTGCGGCCTCTTCCGCGTCTTCGCCTTCGCC CTCAGACGAGTCGGATCTCCCTTTGGGCCGCCTCCC CGCCT
26	VEGF 뉴클레오티드 서열	ATGACGGACAGACAGACAGACACCGCCCCCAGCCC CAGCTACCACCTCCTCCCCGGCCGGCGGCGGACAGT GGACGCGGCGGCGAGCCGCGGGCAGGGGCCGGAGC CCGCGCCCGGAGGCGGGGTGGAGGGGGTCGGGGCT CGCGGCGTCGCACTGAAACTTTTCGTCCAACTTCTG

[0291]

[0292]

		GGCTGTTCTCGCTTCGGAGGAGCCGTGGTCCGCGCG GGGGAAGCCGAGCCGAGCGGAGCCGCGAGAAGTGC TAGCTCGGGCCGGGAGGAGCCGCAGCCGGAGGAGG GGGAGGAGGAAGAAGAGAAGGAAGAGGAGAGGGG GCCGCAGTGGCGACTCGGCGCTCGGAAGCCGGGCTC ATGGACGGGTGAGGCGGCGGTGTGCGCAGACAGTG CTCCAGCCGCGCGCGCTCCCCAGGCCCTGGCCCGGG CCTCGGGCCGGGGAGGAAGAGTAGCTCGCCGAGGC GCCGAGGAGAGCGGGCCGCCCCACAGCCCGAGCCG GAGAGGGAGCGCGAGCCGCGCCGGCCCCGGTCGGG CCTCCGAAACCATGAACTTTCTGCTGTCTTGGGTGCA TTGGAGCCTTGCCTTGCTGCTCTACCTCCACCATGCC AAGTGGTCCCAGGCTGCACCCATGGCAGAAGGAGG AGGGCAGAATCATCACGAAGTGGTGAAGTTCATGG ATGTCTATCAGCGCAGCTACTGCCATCCAATCGAGA CCCTGGTGGACATCTTCCAGGAGTACCCTGATGAGA TCGAGTACATCTTCAAGCCATCCTGTGTGCCCCTGAT GCGATGCGGGGGCTGCTGCAATGACGAGGGCCTGG AGTGTGTGCCCACTGAGGAGTCCAACATCACCATGC AGATTATGCGGATCAAACCTCACCAAGGCCAGCACA TAGGAGAGATGAGCTTCCTACAGCACAACAAATGTG AATGCAGACCAAAGAAAGATAGAGCAAGACAAGAA AAAAAATCAGTTCGAGGAAAGGGAAAGGGGCAAAA ACGAAAGCGCAAGAAATCCCGGTATAAGTCCTGGA GCGTGTACGTTGGTGCCCGCTGCTGTCTAATGCCCTG GAGCCTCCCTGGCCCCCATCCCTGTGGGCCTTGCTCA GAGCGGAGAAAGCATTTGTTTGTACAAGATCCGCAG ACGTGTAAATGTTCCTGCAAAAACACAGACTCGCGT TGCAAGGCGAGGCAGCTTGAGTTAAACGAACGTACT TGCAGATGTGACAAGCCGAGGCGGTGA
27	5' LTR 뉴클레오티드 서열	GGTCTCTCTGGTTAGACCAGATCTGAGCCTGGGAGC TCTCTGGCTAACTAGGGAACCCACTGCTTAAGCCTC AATAAAGCTTGCCTTGAGTGCTTCAAGTAGTGTGTG CCCGTCTGTTGTGTGACTCTGGTAACTAGAGATCCCT

		CAGACCCTTTTAGTCAGTGTGGAAAATCTCTAGCA
28	3' LTR 뉴클레오티드 서열	TGGAAGGGCTAATTCACTCCCAACGAAGATAAGATC TGCTTTTTGCTTGTACTGGGTCTCTCTGGTTAGACCA GATCTGAGCCTGGGAGCTCTCTGGCTAACTAGGGAA CCCACTGCTTAAGCCTCAATAAAGCTTGCCTTGAGT GCTTCAAGTAGTGTGTGCCCGTCTGTTGTGTGACTCT GGTAACTAGAGATCCCTCAGACCCTTTTAGTCAGTG TGGAAAATCTCTAGCAGTAGTAGTTCATGTCA
29	CMV 프로모터 뉴클레오티드 서열	ACTAGTATTATGCCCAGTACATGACCTTATGGGACT TTCCTACTTGGCAGTACATCTACGTATTAGTCATCGC TATTACCATGGTGATGCGGTTTTGGCAGTACATCAA TGGGCGTGGATAGCGGTTTGACTCACGGGGATTTCC AAGTCTCCACCCCATTGACGTCAATGGGAGTTTGTTT TGGCACCAAAATCAACGGGACTTTCCAAAATGTCGT AACAACTCCGCCCCATTGACGCAAATGGGCGGTAGG CGTGTACGGTGGGAGGTTTATATAAGCAGAGCTCGT TTAGTGAACCGTCAGATCGCCTGGAGACGCCATCCA CGCTGTTTTGACCTCCATAGAAGA
30	UbiC 프로모터 뉴클레오티드 서열	GCGCCGGGTTTTGGCGCCTCCCGCGGGCGCCCCCCT CCTCACGGCGAGCGCTGCCACGTCAGACGAAGGGC GCAGGAGCGTTCCTGATCCTTCCGCCCGGACGCTCA GGACAGCGGCCCGCTGCTCATAAGACTCGGCCTTAG AACCCCAGTATCAGCAGAAGGACATTTTAGGACGGG ACTTGGGTGACTCTAGGGCACTGGTTTTCTTTCCAGA GAGCGGAACAGGCGAGGAAAAGTAGTCCCTTCTCG GCGATTCTGCGGAGGGATCTCCGTGGGGCGGTGAAC GCCGATGATTATATAAGGACGCGCCGGGTGTGGCAC AGCTAGTTCCGTCGCAGCCGGGATTTGGGTCGCGGT TCTTGTTTGTGGATCGCTGTGATCGTCACTTGGTGAG TTGCGGGCTGCTGGGCTGGCCGGGGCTTTCGTGGCC GCCGGGCCGCTCGGTGGGACGGAAGCGTGTGGAGA GACCGCCAAGGGCTGTAGTCTGGGTCCGCGAGCAAG GTTGCCCTGAACTGGGGGTTGGGGGGAGCGCACAA AATGGCGGCTGTTCCCGAGTCTTGAATGGAAGACGC

[0293]

		TTGTAAGGCGGGCTGTGAGGTCGTTGAAACAAGGTG GGGGGCATGGTGGGCGGCAAGAACCCAAGGTCTTG AGGCCTTCGCTAATGCGGGAAAGCTCTTATTCGGGT GAGATGGGCTGGGGCACCATCTGGGGACCCTGACGT GAAGTTTGTCACTGACTGGAGAACTCGGGTTTGTCG TCTGGTTGCGGGGGCGGCAGTTATGCGGTGCCGTTG GGCAGTGCACCCGTACCTTTGGGAGCGCGCGCCTCG TCGTGTCGTGACGTCACCCGTTCTGTTGGCTTATAAT GCAGGGTGGGGCCACCTGCCGGTAGGTGTGCGGTAG GCTTTTCTCCGTCGCAGGACGCAGGGTTCGGGCCTA GGGTAGGCTCTCCTGAATCGACAGGCGCCGGACCTC TGGTGAGGGGAGGGATAAGTGAGGCGTCAGTTTCTT TGGTCGGTTTTATGTACCTATCTTCTTAAGTAGCTGA AGCTCCGGTTTTGAACTATGCGCTCGGGGTTGGCGA GTGTGTTTTGTGAAGTTTTTTAGGCACCTTTTGAAAT GTAATCATTTGGGTCAATATGTAATTTTCAGTGTTAG ACTAGTAAA
31	EBV ori	ATGAGGATAGCATATGCTACCCGGATACAGATTAGG ATAGCATATACTACCCAGATATAGATTAGGATAGCA TATGCTACCCAGATATAGATTAGGATAGCCTATGCT ACCCAGATATAAATTAGGATAGCATATACTACCCAG ATATAGATTAGGATAGCATATGCTACCCAGATATAG ATTAGGATAGCCTATGCTACCCAGATATAGATTAGG ATAGCATATGCTACCCAGATATAGATTAGGATAGCA TATGCTATCCAGATATTTGGGTAGTATATGCTACCCA GATATAAATTAGGATAGCATATACTACCCTAATCTC TATTAGGATAGCATATGCTACCCGGATACAGATTAG GATAGCATATACTACCCAGATATAGATTAGGATAGC ATATGCTACCCAGATATAGATTAGGATAGCCTATGC TACCCAGATATAAATTAGGATAGCATATACTACCCA GATATAGATTAGGATAGCATATGCTACCCAGATATA GATTAGGATAGCCTATGCTACCCAGATATAGATTAG GATAGCATATGCTATCCAGATATTTGGGTAGTATAT GCTACCCATGGCAACATTAGCCCACCGTGCTCTCAG

[0294]

		CGACCTCGTGAATATGAGGACCAACAACCCTGTGCT TGGCGCTCAGGCGCAAGTGTGTGTAATTTGTCCTCC AGATCGCAGCAATCGCGCCCCTATCTTGGCCCGCCC ACCTACTTATGCAGGTATTCCCCGGGGTGCCATTAG TGGTTTTGTGGGCAAGTGGTTTGACCGCAGTGGTTA GCGGGGTTACAATCAGCCAAGTTATTACACCCTTAT TTTACAGTCCAAAACCGCAGGGCGGCGTGTGGGGGC TGACGCGTGCCCCCACTCCACAATTTCAAAAAAAAG AGTGGCCACTTGTCTTTGTTTATGGGCCCCATTGGCG TGGAGCCCCGTTTAATTTTCGGGGGTGTTAGAGACA ACCAGTGGAGTCCGCTGCTGTCGGCGTCCACTCTCTT TCCCCTTGTTACAAATAGAGTGTAACAACATGGTTC ACCTGTCTTGGTCCCTGCCTGGGACACATCTTAATAA CCCCAGTATCATATTGCACTAGGATTATGTGTTGCCC ATAGCCATAAATTCGTGTGAGATGGACATCCAGTCT TTACGGCTTGTCCCCACCCCATGGATTTCTATTGTTA AAGATATTCAGAATGTTTCATTCCTACACTAGTATTT ATTGCCCAAGGGGTTTGTGAGGGTTATATTGGTGTC ATAGCACAATGCCACCACTGAACCCCCCGTCCAAAT TTTATTCTGGGGGCGTCACCTGAAACCTTGTTTTCGA GCACCTCACATACACCTTACTGTTCACAACTCAGCA GTTATTCTATTAGCTAAACGAAGGAGAATGAAGAAG CAGGCGAAGATTCAGGAGAGTTCACTGCCCGCTCCT TGATCTTCAGCCACTGCCCTTGTGACTAAAATGGTTC ACTACCCTCGTGGAATCCTGACCCCATGTAAATAAA ACCGTGACAGCTCATGGGGTGGGAGATATCGCTGTT CCTTAGGACCCTTTTACTAACCCTAATTCGATAGCAT ATGCTTCCCGTTGGGTAACATATGCTATTGAATTAG GGTTAGTCTGGATAGTATATACTACTACCCGGGAAG CATATGCTACCCGTTTAGGGT
32	EBNA-1	ATGTCTGACGAGGGGCCAGGTACAGGACCTGGAAA TGGCCTAGGAGAGAAGGGAGACACATCTGGACCAG AAGGCTCCGGCGGCAGTGGACCTCAAAGAAGAGGG GGTGATAACCATGGACGAGGACGGGGAAGAGGACG

[0295]

		AGGACGAGGAGGCGGAAGACCAGGAGCCCCGGGCG
		GCTCAGGATCAGGGCCAAGACATAGAGATGGTGTCC
		GGAGACCCCAAAAACGTCCAAGTTGCATTGGCTGCA
		AAGGGACCCACGGTGGAACAGGAGCAGGAGCAGGA
		GCGGGAGGGGCAGGAGCAGGAGGGGCAGGAGCAG
		GAGGAGGGGCAGGAGCAGGAGGAGGGGCAGGAGG
		GGCAGGAGGGGCAGGAGGGGCAGGAGCAGGAGGA
		GGGGCAGGAGCAGGAGGAGGGGCAGGAGGGGCAG
		GAGGGGCAGGAGCAGGAGGAGGGGCAGGAGCAGG
		AGGAGGGGCAGGAGGGGCAGGAGCAGGAGGAGGG
		GCAGGAGGGGCAGGAGGGGCAGGAGCAGGAGGAG
		GGGCAGGAGCAGGAGGAGGGGCAGGAGGGGCAGG
		AGCAGGAGGAGGGGCAGGAGGGGCAGGAGGGGCA
		GGAGCAGGAGGAGGGGCAGGAGCAGGAGGGGCAG
		GAGGGGCAGGAGGGGCAGGAGCAGGAGGGGCAGG
		AGCAGGAGGAGGGGCAGGAGGGGCAGGAGGGGCA
		GGAGCAGGAGGGGCAGGAGCAGGAGGGGCAGGAG
		CAGGAGGGGCAGGAGCAGGAGGGGCAGGAGGGGC
		AGGAGCAGGAGGGGCAGGAGGGGCAGGAGCAGGA
		GGGGCAGGAGGGGCAGGAGCAGGAGGAGGGGCAG
		GAGGGGCAGGAGCAGGAGGAGGGGCAGGAGGGGC
		AGGAGCAGGAGGGGCAGGAGGGGCAGGAGCAGGA
		GGGGCAGGAGGGGCAGGAGCAGGAGGGGCAGGAG
		GGGCAGGAGCAGGAGGAGGGGCAGGAGCAGGAGG
		GGCAGGAGCAGGAGGTGGAGGCCGGGGTCGAGGAG
		GCAGTGGAGGCCGGGGTCGAGGAGGTAGTGGAGGC
		CGGGGTCGAGGAGGTAGTGGAGGCCGCCGGGGTAG
		AGGACGTGAAAGAGCCAGGGGGGGAAGTCGTGAAA
		GAGCCAGGGGGAGAGGTCGTGGACGTGGAGAAAAG
		AGGCCCAGGAGTCCCAGTAGTCAGTCATCATCATCC
		GGGTCTCCACCGCGCAGGCCCCCTCCAGGTAGAAGG
		CCATTTTTCCACCCTGTAGGGGAAGCCGATTATTTTG
		AATACCACCAAGAAGGTGGCCCAGATGGTGAGCCT
		GACGTGCCCCCGGGAGCGATAGAGCAGGGCCCCGC

[0296]

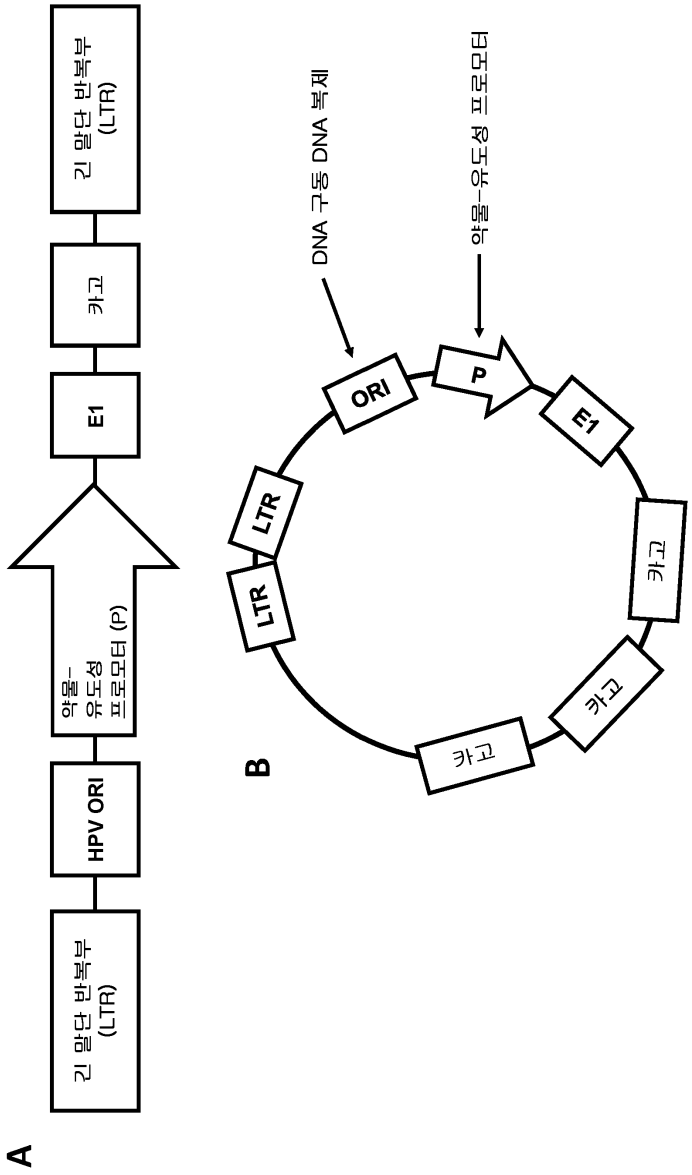
		AGATGACCCAGGAGAAGGCCCAAGCACTGGACCCC GGGGTCAGGGTGATGGAGGCAGGCGCAAAAAAGGA GGGTGGTTTGGAAAGCATCGTGGTCAAGGAGGTTCC AACCCGAAATTTGAGAACATTGCAGAAGGTTTAAGA GCTCTCCTGGCTAGGAGTCACGTAGAAAGGACTACC GACGAAGGAACTTGGGTCGCCGGTGTGTTCGTATAT GGAGGTAGTAAGACCTCCCTTTACAACCTAAGGCGA GGAACTGCCCTTGCTATTCCACAATGTCGTCTTACAC CATTGAGTCGTCTCCCCTTTGGAATGGCCCCTGGACC CGGCCCACAACCTGGCCCGCTAAGGGAGTCCATTGT CTGTTATTTCATGGTCTTTTTACAAACTCATATATTT GCTGAGGTTTTGAAGGATGCGATTAAGGACCTTGTT ATGACAAAGCCCGCTCCTACCTGCAATATCAGGGTG ACTGTGTGCAGCTTTGACGATGGAGTAGATTTGCCT CCCTGGTTTCCACCTATGGTGGAAGGGGCTGCCGCG GAGGGTGATGACGGAGATGACGGAGATGAAGGAGG TGATGGAGATGAGGGTGAGGAAGGGCAGGAGTGA

[0297]

[0298] 본 발명의 바람직한 일정 구체예를 본 명세서에 기술하고 특별히 예시하였지만, 이러한 구체예에 본 발명을 한정하려는 의도가 아니다. 다양한 변형이 본 발명의 범주 및 정신을 벗어나지 않고 이에 가해질 수 있다.

도면

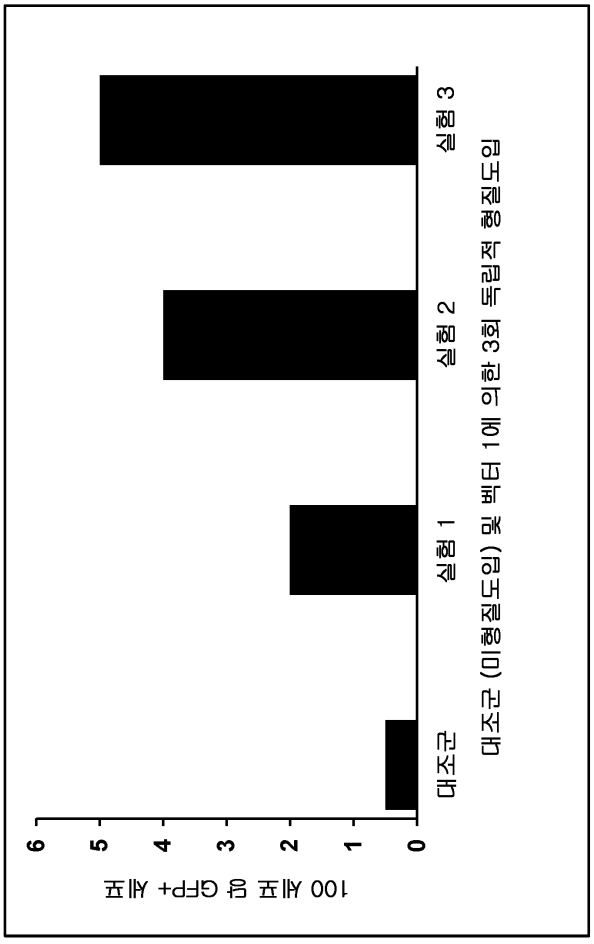
도면1


A
긴 말단 반복부 (LTR)
HPV ORI
약물-유도성 프로모터 (P)
E1
카고
긴 말단 반복부 (LTR)
B
DNA 구동 DNA 복제
약물-유도성 프로모터
ORI
P
E1
카고
카고
카고
LTR
LTR

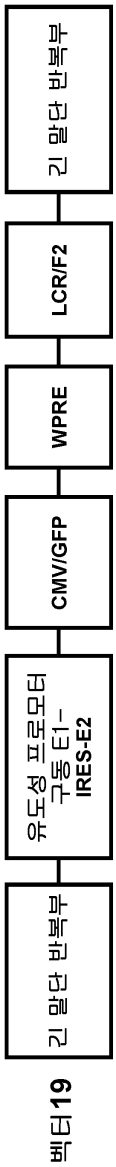
도면2

벡터1
긴 말단 반복부
CMV 프로모터 구동 E1
LCR
EF1-HTLV 프로모터 구동 GFP
WPRE
PPT
긴 말단 반복부

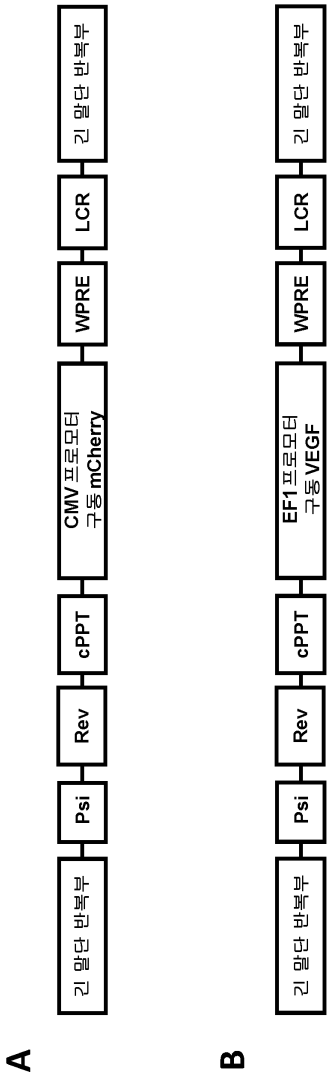
도면3


대조군 (미형질도입) 및 벡터 1에 의한 3회 독립적 형질도입
대조군
실험 1
실험 2
실험 3
0
1
2
3
4
5
6
100 세포 당 GFP+ 세포

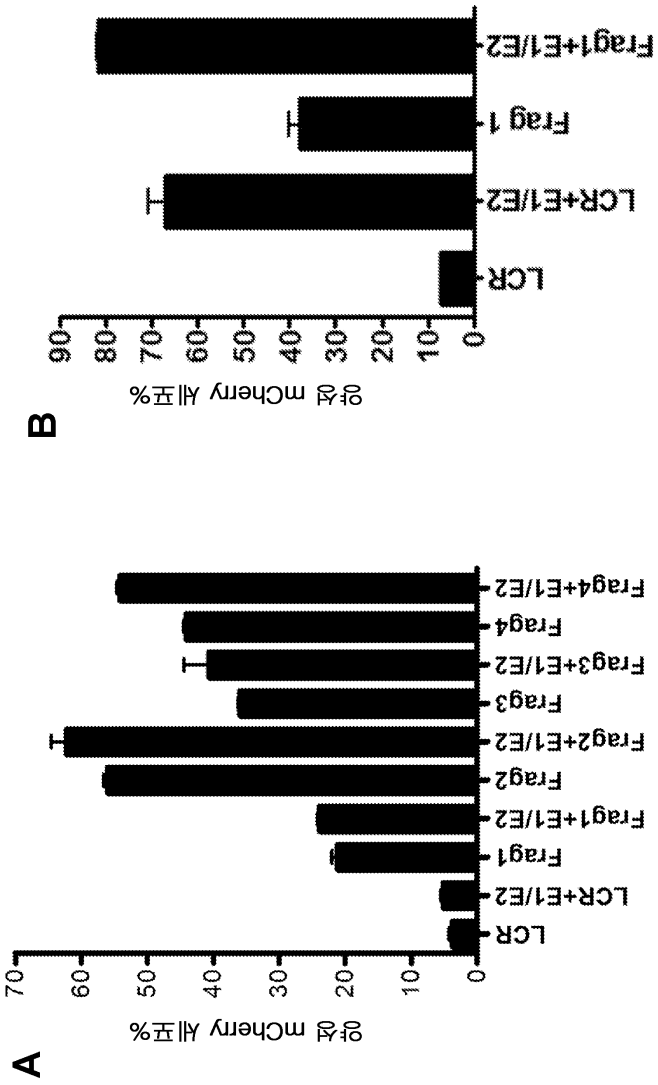
도면4



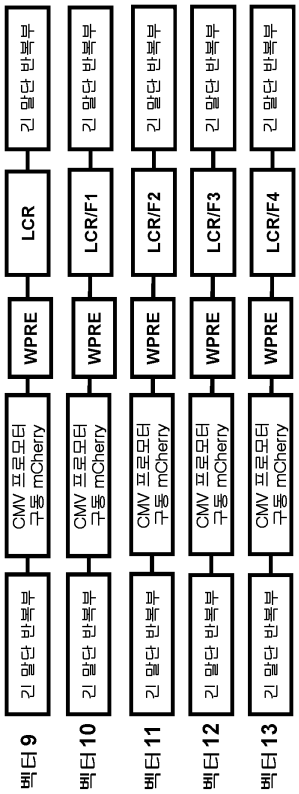
도면5


A
긴 말단 반복부
Psi
Rev
cPPT
CMV 프로모터
구동 mCherry
WPRE
LCR
긴 말단 반복부
B
긴 말단 반복부
Psi
Rev
cPPT
EF1 프로모터
구동 VEGF
WPRE
LCR
긴 말단 반복부

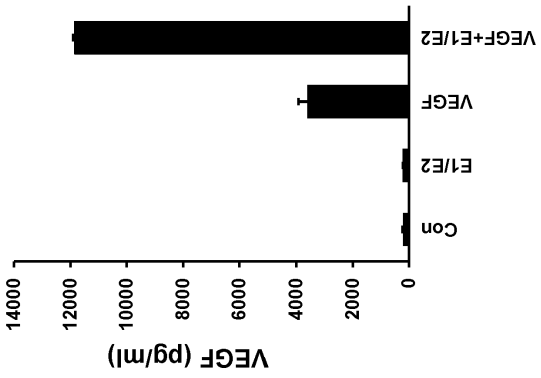
도면6


B
양성 mCherry 세포%
0
10
20
30
40
50
60
70
80
90
LCR
LCR+E1/E2
Frag1
Frag1+E1/E2
A
양성 mCherry 세포%
0
10
20
30
40
50
60
70
LCR
LCR+E1/E2
Frag1
Frag1+E1/E2
Frag2
Frag2+E1/E2
Frag3
Frag3+E1/E2
Frag4
Frag4+E1/E2

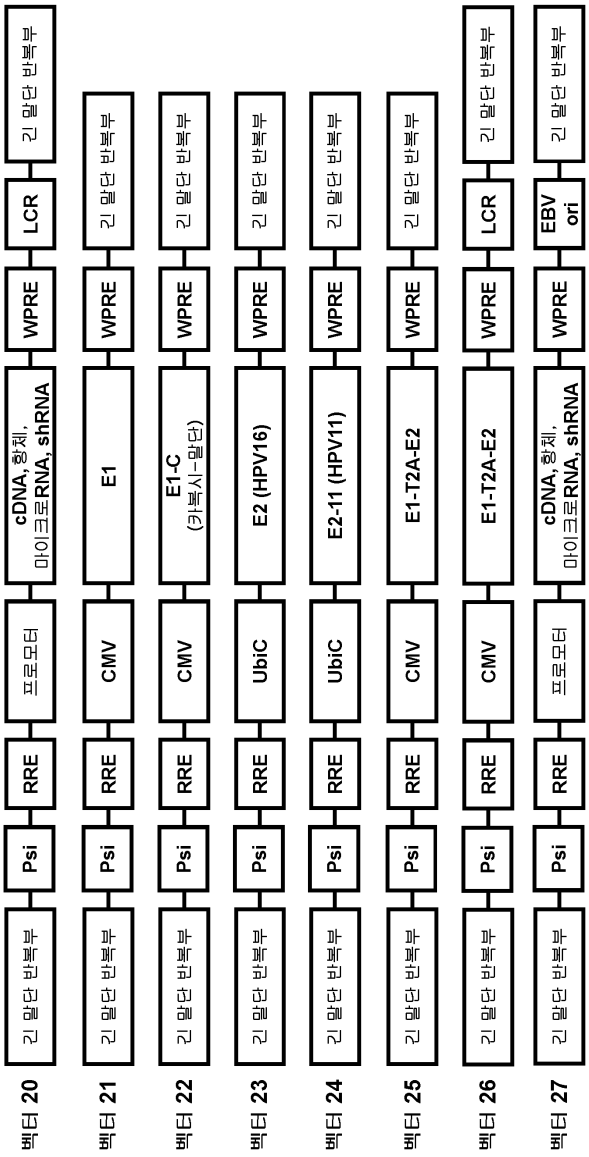
도면7


벡터 9
벡터 10
벡터 11
벡터 12
벡터 13
긴 말단 반복부
CMV 프로모터 구동 mCherry
WPRE
LCR
LCR/F1
LCR/F2
LCR/F3
LCR/F4
긴 말단 반복부

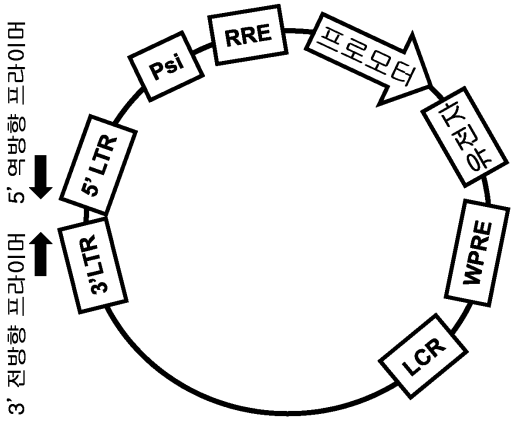
도면8


VEGF (pg/ml)
0
2000
4000
6000
8000
10000
12000
14000
Con
E1/E2
VEGF
VEGF+E1/E2

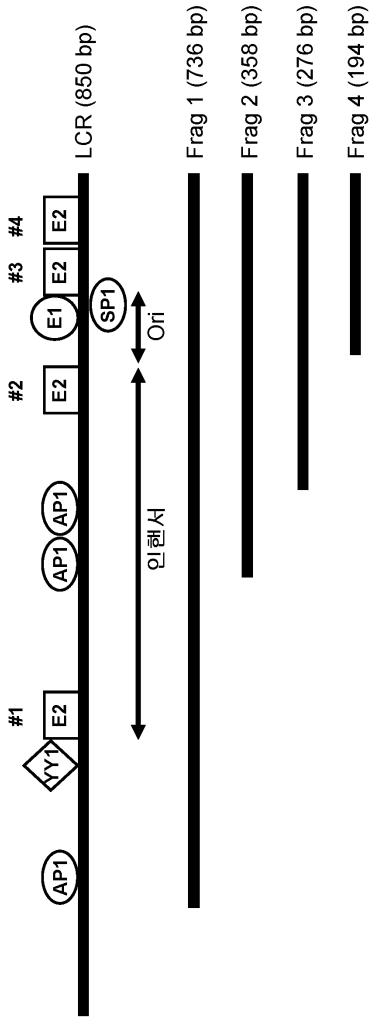
도면9


벡터 20
긴 말단 반복부
Psi
RRE
프로모터
cDNA, 항체, 마이크로RNA, shRNA
WPRE
LCR
긴 말단 반복부
벡터 21
긴 말단 반복부
Psi
RRE
CMV
E1
WPRE
긴 말단 반복부
벡터 22
긴 말단 반복부
Psi
RRE
CMV
E1-C (카복시-말단)
WPRE
긴 말단 반복부
벡터 23
긴 말단 반복부
Psi
RRE
UbiC
E2 (HPV16)
WPRE
긴 말단 반복부
벡터 24
긴 말단 반복부
Psi
RRE
UbiC
E2-11 (HPV11)
WPRE
긴 말단 반복부
벡터 25
긴 말단 반복부
Psi
RRE
CMV
E1-T2A-E2
WPRE
긴 말단 반복부
벡터 26
긴 말단 반복부
Psi
RRE
CMV
E1-T2A-E2
WPRE
LCR
긴 말단 반복부
벡터 27
긴 말단 반복부
Psi
RRE
프로모터
cDNA, 항체, 마이크로RNA, shRNA
WPRE
EBV ori
긴 말단 반복부

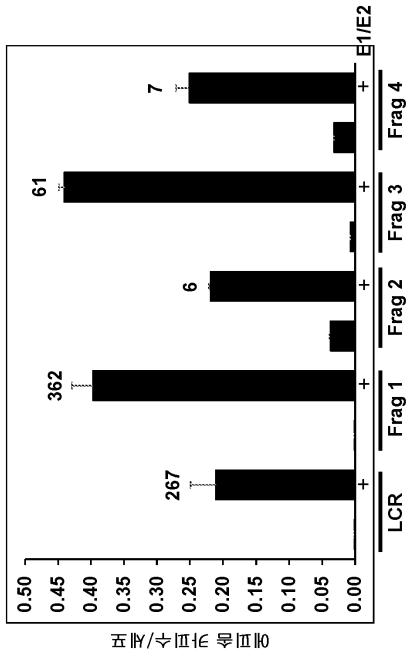
도면10


3' 전방향 프라이머
5' 역방향 프라이머
3'LTR
5'LTR
Psi
RRE
프로모터
유전자
WPRE
LCR

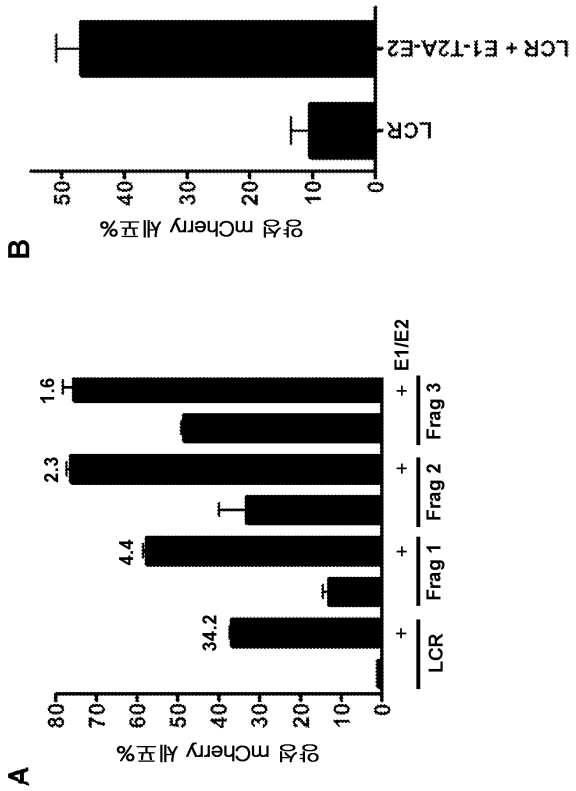
도면11


LCR (850 bp)
Frag 1 (736 bp)
Frag 2 (358 bp)
Frag 3 (276 bp)
Frag 4 (194 bp)
#1
#2
#3
#4
AP1
YY1
E2
AP1
AP1
인핸서
E2
E1
E2
E2
SP1
Ori

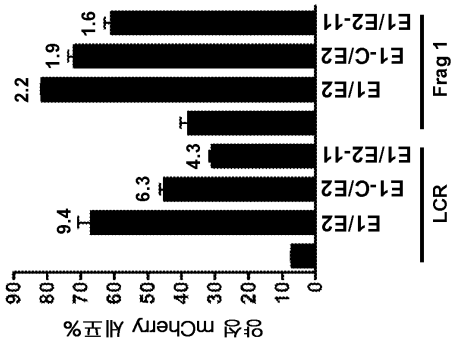
도면12


E1/E2
LCR
Frag 1
Frag 2
Frag 3
Frag 4
267
362
6
61
7
0.50
0.45
0.40
0.35
0.30
0.25
0.20
0.15
0.10
0.05
0.00

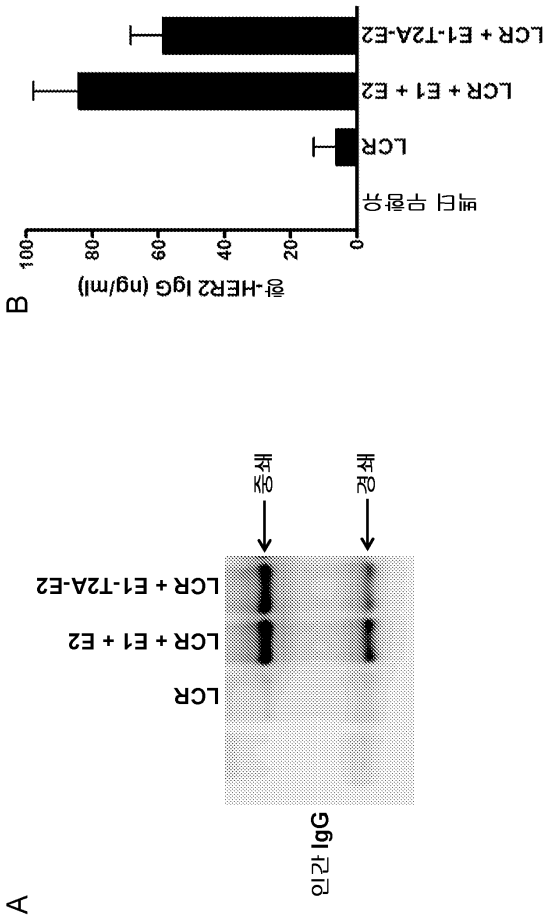
도면13


B
양성 mCherry 세포%
0
10
20
30
40
50
LCR
LCR + E1-T2A-E2
A
양성 mCherry 세포%
0
10
20
30
40
50
60
70
80
34.2
4.4
2.3
1.6
LCR
Frag 1
Frag 2
Frag 3
E1/E2

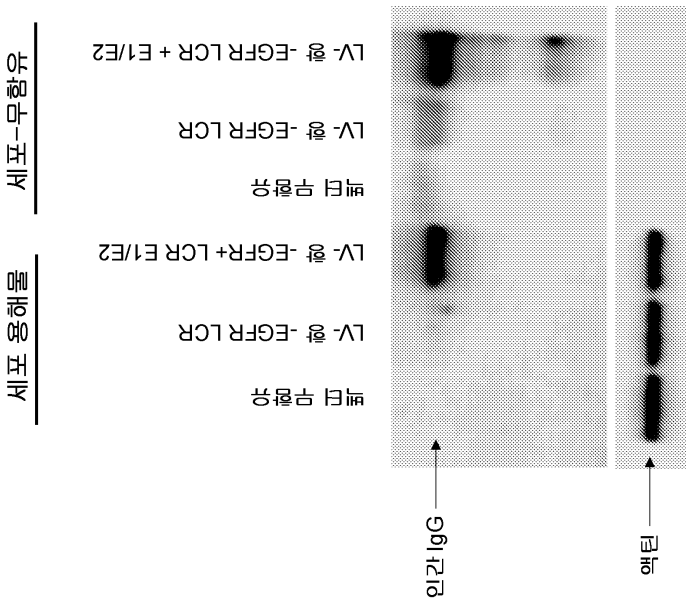
도면14


양성 mCherry 세포%
0
10
20
30
40
50
60
70
80
90
9.4
6.3
4.3
2.2
1.9
1.6
LCR
Frag 1
E1/E2
E1-C/E2
E1/E2-11
E1/E2
E1-C/E2
E1/E2-11

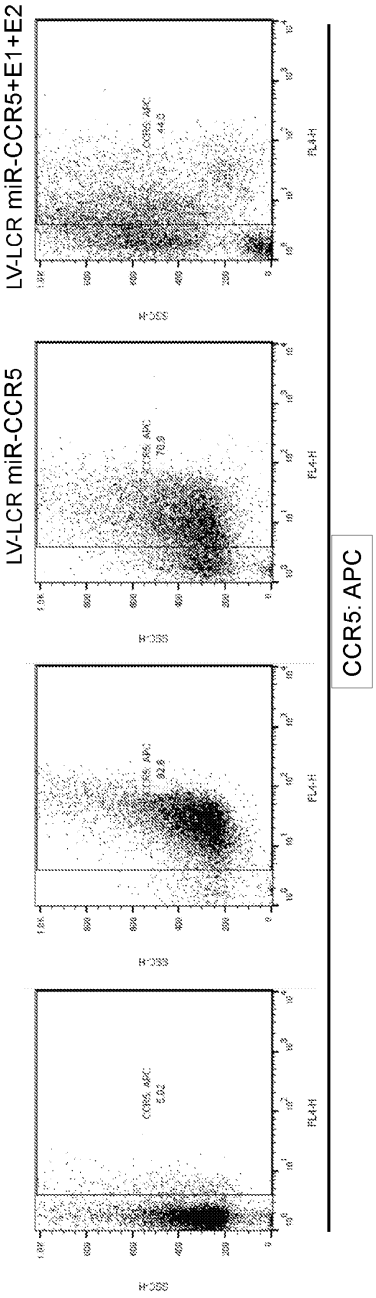
도면15


B
항-HER2 IgG (ng/ml)
0
20
40
60
80
100
벡터 무함유
LCR
LCR + E1 + E2
LCR + E1-T2A-E2
A
인간 IgG
LCR
LCR + E1 + E2
LCR + E1-T2A-E2
중쇄
경쇄

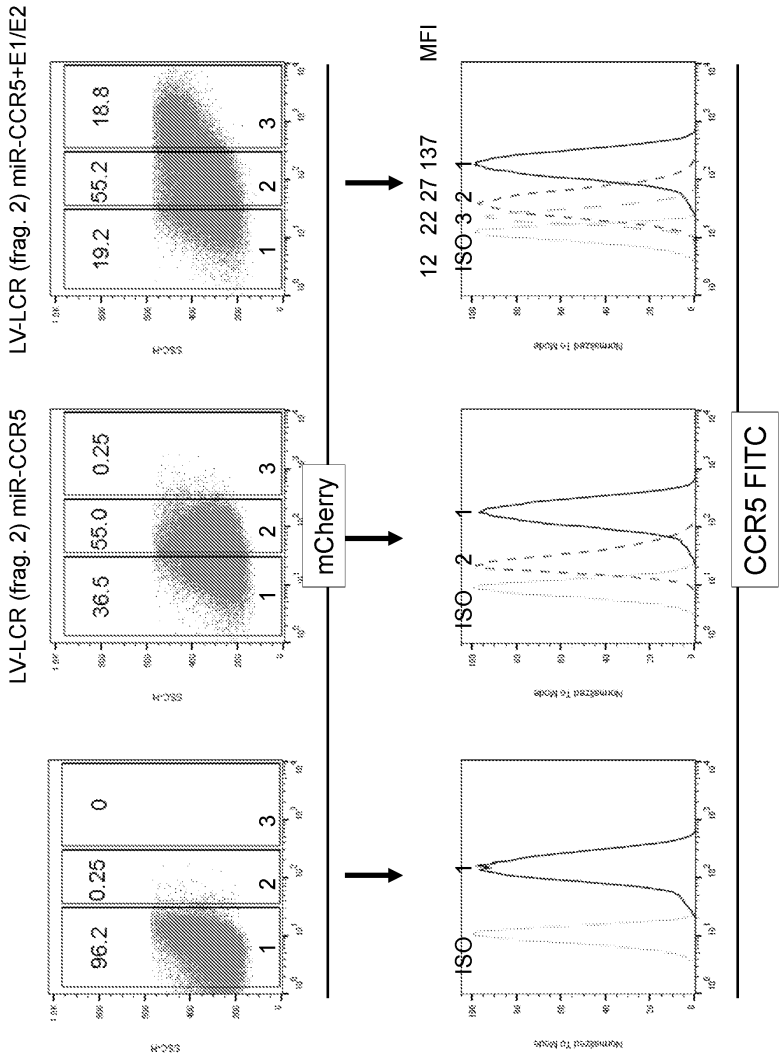
도면16


세포 용해물
세포-무함유
벡터 무함유
LV- 항 -EGFR LCR
LV- 항 -EGFR+ LCR E1/E2
벡터 무함유
LV- 항 -EGFR LCR
LV- 항 -EGFR LCR + E1/E2
인간 IgG
액틴

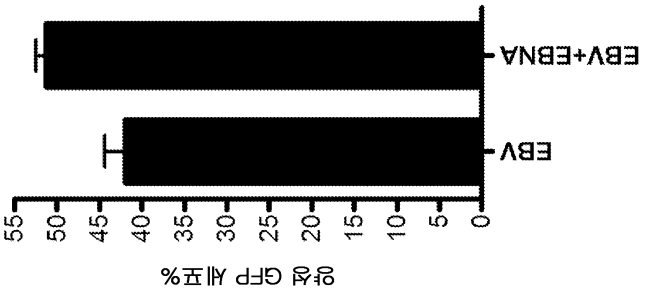
도면17



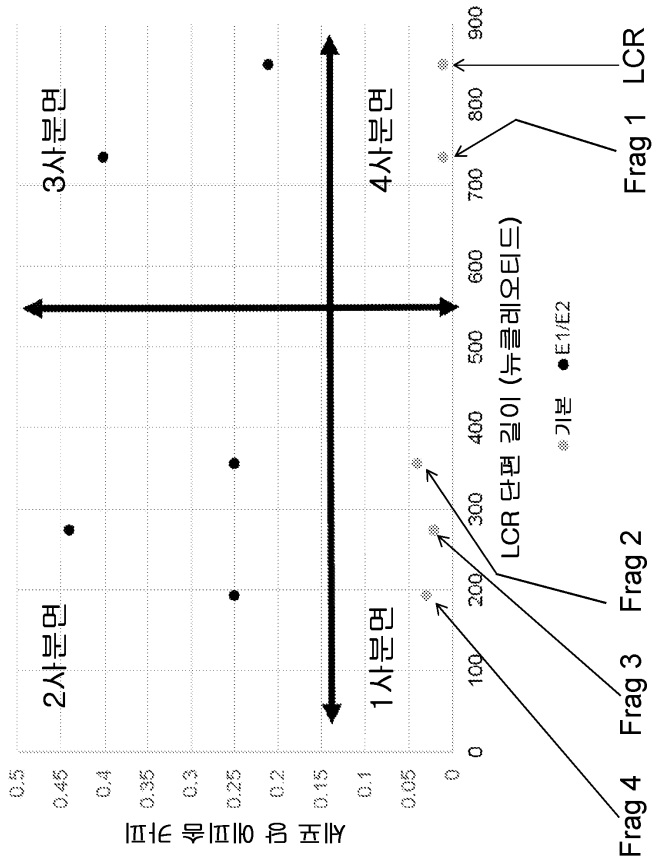
도면18


LV-LCR (frag. 2) miR-CCR5+E1/E2
LV-LCR (frag. 2) miR-CCR5
mCherry
CCR5 FITC
MFI
12 22 27 137
ISO
96.2
0.25
0
36.5
55.0
0.25
19.2
55.2
18.8

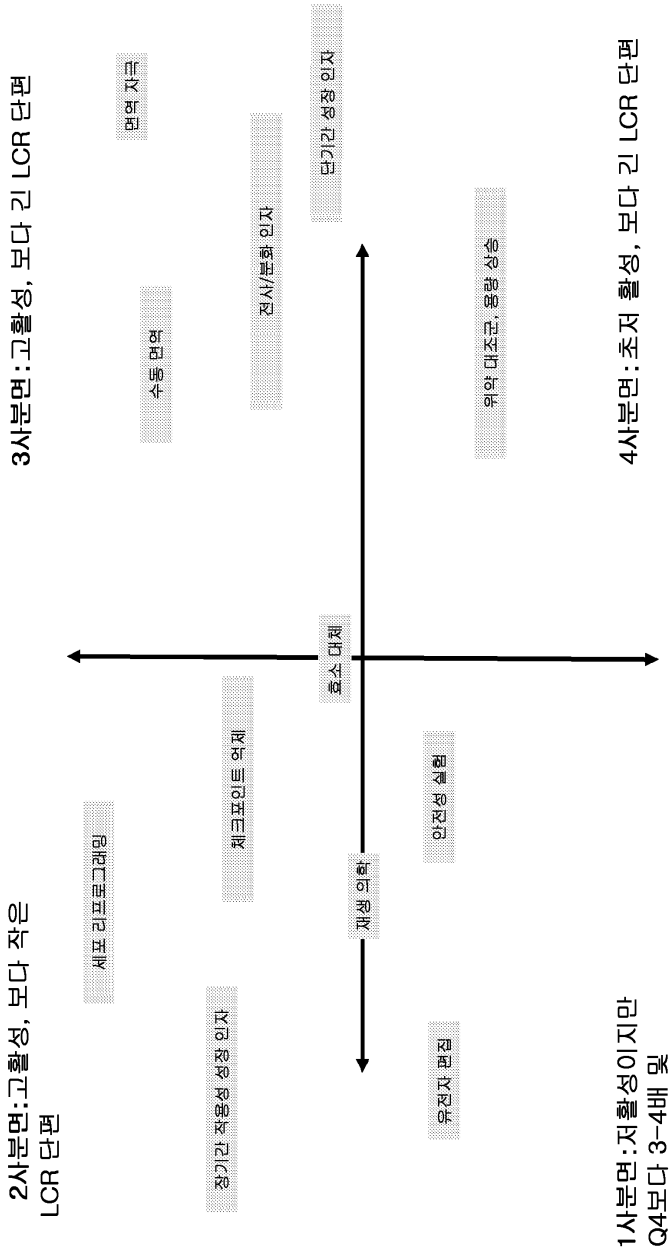
도면19


양성 GFP 세포%
55
50
45
40
35
30
25
20
15
10
5
0
EBV
EBV+EBNA

도면20


3사분면
4사분면
2사분면
1사분면
세포 당 엑피솜 카피
LCR 단편 길이 (뉴클레오티드)
※기본 ●E1/E2
Frag 1 LCR
Frag 2
Frag 3
Frag 4

도면21



서 열 목 록

<110> AMERICAN GENE TECHNOLOGIES

<120> NON-INTEGRATING VIRAL DELIVERY SYSTEM AND METHODS RELATED THERETO

<130> 70612.01693

<140> WO PCT/US2017/036433

<141> 2016-07-07

<150> WO PCT/US2016/66185

<151> 2016-12-12

<150> US 62/347,552

<151> 2016-06-08

<150> US 62/431,760

<151> 2016-12-08

<160> 32

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 946

<212> DNA

<213> human papillomavirus type 16

<400> 1

aaggccaaac caaaatttac attaggaaaa cgaaaagcta cacccaccac ctcatctacc 60

tctacaactg ctaaacgcaa aaaacgtaag ctgtaagtat tgtatgtatg ttgaattagt 120

gttgtttgtt gtgtatatgt ttgtatgtgc ttgtatgtgc ttgtaaatat taagttgtat 180

gtgtgtttgt atgtatggta taataaacac gtgtgtatgt gtttttaaat gcttgtgtaa 240

ctattgtgtc atgcaacata aataaactta ttgtttcaac acctactaat tgtgttgtgg 300

ttattcattg tatataaact atatttgcta catcctgttt ttgttttata tatactatat 360

tttgtagcgc caggcccatt ttgtagcttc aaccgaattc ggttgcatgc tttttggcac 420

aaaatgtgtt tttttaaata gttctatgtc agcaactatg gtttaaactt gtacgtttcc 480

tgcttgccat gcgtgccaaa tccctgtttt cctgacctgc actgcttgcc aaccattcca 540

ttgtttttta cactgcacta tgtgcaacta ctgaatcact atgtacattg tgtcatataa 600

aataaatcac tatgcgccaa cgccttacat accgctgtta ggcacatatt tttggcttgt 660

tttaactaac ctaattgcat atttggcata aggtttaaac ttctaaggcc aactaaatgt 720

caccctagtt catacatgaa ctgtgtaaag gttagtcata cattgttcat ttgtaaaact 780

gcacatgggt gtgtgcaaac cgattttggg ttacacattt acaagcaact tatataataa 840

tactaaacta caataattca tgtataaaac taagggcgta accgaaatcg gttgaaccga 900

aaccggttag tataaaagca gacattttat gcaccaaaag agaact 946

<210> 2

<211> 736

<212> DNA

<213> human papillomavirus type 16

<400> 2

gtgtgtatgt gtttttaaat gcttgtgtaa ctattgtgtc atgcaacata aataaactta 60

ttgtttcaac acctactaat tgtgttgtgg ttattcattg tatataaact atatttgcta 120

catcctgttt ttgttttata tatactatat tttgtagcgc caggcccatt ttgtagcttc 180

aaccgaattc ggttgcatgc tttttggcac aaaatgtgtt tttttaaata gttctatgtc 240

agcaactatg gtttaaactt gtacgtttcc tgcttgccat gcgtgccaaa tccctgtttt 300

cctgacctgc actgcttgcc aaccattcca ttgtttttta cactgcacta tgtgcaacta 360

ctgaatcact atgtacattg tgtcatataa aataaatcac tatgcgccaa cgccttacat 420

accgctgtta ggcacatatt tttggcttgt tttaactaac ctaattgcat atttggcata 480

aggtttaaac ttctaaggcc aactaaatgt caccctagtt catacatgaa ctgtgtaaag 540

gttagtcata cattgttcat ttgtaaaact gcacatgggt gtgtgcaaac cgattttggg 600

ttacacattt acaagcaact tatataataa tactaaacta caataattca tgtataaaac 660

taagggcgta accgaaatcg gttgaaccga aaccggttag tataaaagca gacattttat 720

gcaccaaaag agaact 736

<210> 3

<211> 358

<212> DNA

<213> human papillomavirus type 16

<400> 3

tgtgtcatat aaaataaatc actatgcgcc aacgccttac ataccgctgt taggcacata 60

tttttggctt gttttaacta acctaattgc atatttggca taaggtttaa acttctaagg 120

ccaactaaat gtcaccctag ttcatacatg aactgtgtaa aggttagtca tacattgttc 180

atttgtaaaa ctgcacatgg gtgtgtgcaa accgattttg ggttacacat ttacaagcaa 240

cttatataat aatactaaac tacaataatt catgtataaa actaagggcg taaccgaaat 300

cggttgaacc gaaaccggtt agtataaaag cagacatttt atgcaccaaa agagaact 358

<210> 4

<211> 276

<212> DNA

<213> human papillomavirus type 16

<400> 4

ctaattgcat atttggcata aggtttaaac ttctaaggcc aactaaatgt caccctagtt 60

catacatgaa ctgtgtaaag gttagtcata cattgttcat ttgtaaaact gcacatgggt 120

gtgtgcaaac cgattttggg ttacacattt acaagcaact tatataataa tactaaacta 180

caataattca tgtataaaac taagggcgta accgaaatcg gttgaaccga aaccggttag 240

tataaaagca gacattttat gcaccaaaag agaact 276

<210> 5

<211> 194

<212> DNA

<213> human papillomavirus type 16

<400> 5

tagtcataca ttgttcattt gtaaaactgc acatgggtgt gtgcaaaccg attttgggtt 60

acacatttac aagcaactta tataataata ctaaactaca ataattcatg tataaaacta 120

agggcgtaac cgaaatcggt tgaaccgaaa ccggttagta taaaagcaga cattttatgc 180

accaaaagag aact 194

<210> 6

<211> 1950

<212> DNA

<213> human papillomavirus type 16

<400> 6

atggcagacc ccgctggaac aaatggagag gagggcactg ggtgtaacgg ctggttttac 60

gtggaagcag tcgtagagaa gaagacaggc gacgccattt cagacgacga gaatgagaac 120

gatagcgaca ctggtgagga tcttgtggac tttattgtga acgacaatga ctatctcacc 180

caggcagaaa ccgagaccgc ccacgccctc ttcacagccc aggaagctaa gcaacatcgg 240

gatgcagtgc aggtgctcaa aagaaagtac ctggttagtc ctctgtccga catctctgga 300

tgcgtcgaca ataatatcag tccaaggctg aaggctatat gcatagagaa gcagtcaaga 360

gcggcgaaga ggagactgtt tgaaagcgag gatagtggat acgggaacac agaagtcgag 420

acccaacaga tgctccaggt ggagggtcgc catgagactg agacccccctg ctcccagtac 480

agcggcggat caggcggtgg atgctctcag tactccagtg ggtccggcgg ggagggtgtt 540

tccgaaagac acaccatctg tcagaccccc ctgactaata ttctgaacgt actgaaaaca 600

tccaacgcca aggctgccat gctggcgaag tttaaggagc tgtatggcgt gagcttcagc 660

gaactggtga gaccattcaa gagcaacaag agcacctgtt gtgattggtg tattgccgcc 720

tttgggctga ctccatccat cgctgactct attaaaaccc tgttgcaaca gtactgcctc 780

tacctgcata ttcagtccct cgcttgctcc tggggaatgg tggtgctgct tctggttcgg 840

tataagtgtg gcaaaaacag ggagaccatc gagaagctcc ttagtaagct cctgtgtgtg 900

tctcccatgt gcatgatgat tgaaccgcca aaattgcgga gcacggccgc cgccctgtac 960

tggtacaaaa caggcataag caacatcagc gaagtgtatg gtgacacgcc agaatggata 1020

cagagacaga ccgtgctcca gcacagtttt aacgattgca catttgagct gtctcagatg 1080

gtgcagtggg cttatgataa tgacattgta gacgattccg aaatagcgta taagtacgcc 1140

cagctcgcag ataccaattc caatgccagc gcatttctga agtccaattc acaggcaaag 1200

atagtaaagg attgcgctac aatgtgccgc cattataaaa gagcggagaa aaagcagatg 1260

tcaatgtccc aatggatcaa gtataggtgt gatcgcgttg atgatggcgg tgattggaag 1320

cagatcgtga tgttcctccg ctatcaaggc gtagaattca tgtcattcct gaccgccctg 1380

aaacgcttcc tgcagggcat tcctaaaaaa aattgcatcc tgctgtatgg cgcggctaac 1440

actggaaaga gtctgttcgg catgagcctt atgaagttcc tccagggatc cgtgatatgc 1500

tttgtgaaca gcaaatcaca cttttggctt cagccattgg cagatgcaaa gatcggcatg 1560

ctggacgacg ccacagtccc atgctggaac tacatagacg ataatctccg aaacgcattg 1620

gacggcaatc tggtgagcat ggacgtcaag cacaggcctc tggtgcaact gaagtgtccc 1680

cctctcctca ttacgtcaaa catcaacgcc ggaacagata gtcggtggcc gtacctgcac 1740

aatagacttg tggtgtttac atttcctaat gaattcccat ttgacgaaaa cggcaatcca 1800

gtatacgagc tgaatgacaa gaactggaag agttttttct ctaggacatg gtccaggttg 1860

agtctccacg aagacgagga taaagagaat gacggagact ctttgcccac ttttaagtgc 1920

gtgtctggac aaaataccaa taccctgtga 1950

<210> 7

<211> 1098

<212> DNA

<213> human papillomavirus type 16

<400> 7

atggagactc tttgccaacg tttaaatgtg tgtcaggaca aaatactaac acattatgaa 60

aatgatagta cagacctacg tgaccatata gactattgga aacacatgcg cctagaatgt 120

gctatttatt acaaggccag agaaatggga tttaaacata ttaaccacca ggtggtgcca 180

acactggctg tatcaaagaa taaagcatta caagcaattg aactgcaact aacgttagaa 240

acaatatata actcacaata tagtaatgaa aagtggacat tacaagacgt tagccttgaa 300

gtgtatttaa ctgcaccaac aggatgtata aaaaaacatg gatatacagt ggaagtgcag 360

tttgatggag acatatgcaa tacaatgcat tatacaaact ggacacatat atatatttgt 420

gaagaagcat cagtaactgt ggtagagggt caagttgact attatggttt atattatgtt 480

catgaaggaa tacgaacata ttttgtgcag tttaaagatg atgcagaaaa atatagtaaa 540

aataaagtat gggaagttca tgcgggtggt caggtaatat tatgtcctac atctgtgttt 600

agcagcaacg aagtatcctc tcctgaaatt attaggcagc acttggccaa ccaccccgcc 660

gcgacccata ccaaagccgt cgccttgggc accgaagaaa cacagacgac tatccagcga 720

ccaagatcag agccagacac cggaaacccc tgccacacca ctaagttgtt gcacagagac 780

tcagtggaca gtgctccaat cctcactgca tttaacagct cacacaaagg acggattaac 840

tgtaatagta acactacacc catagtacat ttaaaaggtg atgctaatac tttaaaatgt 900

ttaagatata gatttaaaaa gcattgtaca ttgtatactg cagtgtcgtc tacatggcat 960

tggacaggac ataatgtaaa acataaaagt gcaattgtta cacttacata tgatagtgaa 1020

tggcaacgtg accaattttt gtctcaagtt aaaataccaa aaactattac agtgtctact 1080

ggatttatgt ctatatga 1098

<210> 8

<211> 1443

<212> DNA

<213> human papillomavirus type 16

<400> 8

atgtactcca gtgggtccgg cggggagggt gtttccgaaa gacacaccat ctgtcagacc 60

cccctgacta atattctgaa cgtactgaaa acatccaacg ccaaggctgc catgctggcg 120

aagtttaagg agctgtatgg cgtgagcttc agcgaactgg tgagaccatt caagagcaac 180

aagagcacct gttgtgattg gtgtattgcc gcctttgggc tgactccatc catcgctgac 240

tctattaaaa ccctgttgca acagtactgc ctctacctgc atattcagtc cctcgcttgc 300

tcctggggaa tggtggtgct gcttctggtt cggtataagt gtggcaaaaa cagggagacc 360

atcgagaagc tccttagtaa gctcctgtgt gtgtctccca tgtgcatgat gattgaaccg 420

ccaaaattgc ggagcacggc cgccgccctg tactggtaca aaacaggcat aagcaacatc 480

agcgaagtgt atggtgacac gccagaatgg atacagagac agaccgtgct ccagcacagt 540

tttaacgatt gcacatttga gctgtctcag atggtgcagt gggcttatga taatgacatt 600

gtagacgatt ccgaaatagc gtataagtac gcccagctcg cagataccaa ttccaatgcc 660

agcgcatttc tgaagtccaa ttcacaggca aagatagtaa aggattgcgc tacaatgtgc 720

cgccattata aaagagcgga gaaaaagcag atgtcaatgt cccaatggat caagtatagg 780

tgtgatcgcg ttgatgatgg cggtgattgg aagcagatcg tgatgttcct ccgctatcaa 840

ggcgtagaat tcatgtcatt cctgaccgcc ctgaaacgct tcctgcaggg cattcctaaa 900

aaaaattgca tcctgctgta tggcgcggct aacactggaa agagtctgtt cggcatgagc 960

cttatgaagt tcctccaggg atccgtgata tgctttgtga acagcaaatc acacttttgg 1020

cttcagccat tggcagatgc aaagatcggc atgctggacg acgccacagt cccatgctgg 1080
aactacatag acgataatct ccgaaacgca ttggacggca atctggtgag catggacgtc 1140
aagcacaggc ctctggtgca actgaagtgt ccccctctcc tcattacgtc aaacatcaac 1200
gccggaacag atagtcggtg gccgtacctg cacaatagac ttgtggtgtt tacatttcct 1260
aatgaattcc catttgacga aaacggcaat ccagtatacg agctgaatga caagaactgg 1320
aagagttttt tctctaggac atggtccagg ttgagtctcc acgaagacga ggataaagag 1380
aatgacggag actctttgcc cacttttaag tgcgtgtctg gacaaaatac caataccctg 1440

tga 1443

<210> 9
<211> 1104
<212> DNA
<213> human papillomavirus type 11
<400> 9

atggaagcca ttgccaaaag gcttgatgct tgccaggatc agcttctcga gctgtatgag 60
gagaactcta ttgacattca taaacacatc atgcactgga aatgcattag actggagagc 120
gtgttgctgc acaaagcgaa gcagatggga ctgagccaca ttgggcttca ggtggtccca 180
ccccttactg tgtcagagac aaaggggcat aatgccatcg agatgcagat gcatttggag 240
tccctggcga aaacccagta tggtgtcgag ccatggacgc tgcaggacac cagttacgaa 300

atgtggctca ccccacccaa acgctgcttt aagaagcagg gaaatactgt ggaggtaaag 360
ttcgatggct gtgaggacaa tgttatggag tacgtggtct ggacacacat ctacttgcag 420
gataatgact cttgggtaaa agtcacttcc tccgttgatg ccaagggcat ctattacacg 480
tgtggacaat tcaagacgta ctacgtcaat ttcaataagg aagctcagaa gtacggcagc 540
acaaaccatt gggaagtttg ctatggctct actgttattt gttcccctgc ttcagtgagt 600
agcacagtcc gggaagtcag tatagccgaa cccaccactt acaccccagc ccagacaacc 660
gcccctacag tttccgcttg caccactgag gacggcgtgt ctgcacctcc ccgcaagcgt 720

gcaagaggac ccagcactaa caacaccctg tgtgtggcca acatacggtc agtggacagt 780
acaatcaaca acatcgtaac cgacaattac aacaagcacc agaggcggaa taattgtcac 840
tccgcagcaa caccgatagt gcaactgcaa ggtgatagca actgcctgaa atgcttccgc 900
tataggctga atgataagta taaacacctg tttgaactgg catctagcac ctggcattgg 960
gcctctcctg aagctccaca caagaacgct attgtgacac tgacttatag ctccgaagag 1020

caacgacagc aatttctgaa cagcgtgaaa atccctccga ccatcagaca taaggtgggg 1080

tttatgtcac tccatctcct ctaa 1104

<210> 10

<211> 3108

<212> DNA

<213> human papillomavirus type 16

<400> 10

atggcagacc ccgctggaac aaatggagag gagggcactg ggtgtaacgg ctggttttac 60

gtggaagcag tcgtagagaa gaagacaggc gacgccattt cagacgacga gaatgagaac 120

gatagcgaca ctggtgagga tcttgtggac tttattgtga acgacaatga ctatctcacc 180

caggcagaaa ccgagaccgc ccacgccctc ttcacagccc aggaagctaa gcaacatcgg 240

gatgcagtgc aggtgctcaa aagaaagtac ctggttagtc ctctgtccga catctctgga 300

tgcgtcgaca ataatatcag tccaaggctg aaggctatat gcatagagaa gcagtcaaga 360

gcggcgaaga ggagactgtt tgaaagcgag gatagtggat acgggaacac agaagtcgag 420

acccaacaga tgctccaggt ggagggtcgc catgagactg agacccccctg ctcccagtac 480

agcggcggat caggcggtgg atgctctcag tactccagtg ggtccggcgg ggagggtgtt 540

tccgaaagac acaccatctg tcagaccccc ctgactaata ttctgaacgt actgaaaaca 600

tccaacgcca aggctgccat gctggcgaag tttaaggagc tgtatggcgt gagcttcagc 660

gaactggtga gaccattcaa gagcaacaag agcacctgtt gtgattggtg tattgccgcc 720

tttgggctga ctccatccat cgctgactct attaaaaccc tgttgcaaca gtactgcctc 780

tacctgcata ttcagtccct cgcttgctcc tggggaatgg tggtgctgct tctggttcgg 840

tataagtgtg gcaaaaacag ggagaccatc gagaagctcc ttagtaagct cctgtgtgtg 900

tctcccatgt gcatgatgat tgaaccgcca aaattgcgga gcacggccgc cgccctgtac 960

tggtacaaaa caggcataag caacatcagc gaagtgtatg gtgacacgcc agaatggata 1020

cagagacaga ccgtgctcca gcacagtttt aacgattgca catttgagct gtctcagatg 1080

gtgcagtggg cttatgataa tgacattgta gacgattccg aaatagcgta taagtacgcc 1140

cagctcgcag ataccaattc caatgccagc gcatttctga agtccaattc acaggcaaag 1200

atagtaaagg attgcgctac aatgtgccgc cattataaaa gagcggagaa aaagcagatg 1260

tcaatgtccc aatggatcaa gtataggtgt gatcgcgttg atgatggcgg tgattggaag 1320

cagatcgtga tgttcctccg ctatcaaggc gtagaattca tgtcattcct gaccgccctg 1380

aaacgcttcc tgcagggcat tcctaaaaaa aattgcatcc tgctgtatgg cgcggctaac 1440

actggaaaga gtctgttcgg catgagcctt atgaagttcc tccagggatc cgtgatatgc 1500

tttgtgaaca gcaaatcaca cttttggctt cagccattgg cagatgcaaa gatcggcatg 1560

ctggacgacg ccacagtccc atgctggaac tacatagacg ataatctccg aaacgcattg 1620

gacggcaatc tggtgagcat ggacgtcaag cacaggcctc tggtgcaact gaagtgtccc 1680

cctctcctca ttacgtcaaa catcaacgcc ggaacagata gtcggtggcc gtacctgcac 1740

aatagacttg tggtgtttac atttcctaat gaattcccat ttgacgaaaa cggcaatcca 1800

gtatacgagc tgaatgacaa gaactggaag agttttttct ctaggacatg gtccaggttg 1860

agtctccacg aagacgagga taaagagaat gacggagact ctttgcccac ttttaagtgc 1920

gtgtctggac aaaataccaa taccctggga agcggagagg gcagaggaag tctgctaaca 1980

tgcggtgacg tcgaggagaa tcctggacct atggagactc tttgccaacg tttaaatgtg 2040

tgtcaggaca aaatactaac acattatgaa aatgatagta cagacctacg tgaccatata 2100

gactattgga aacacatgcg cctagaatgt gctatttatt acaaggccag agaaatggga 2160

tttaaacata ttaaccacca ggtggtgcca acactggctg tatcaaagaa taaagcatta 2220

caagcaattg aactgcaact aacgttagaa acaatatata actcacaata tagtaatgaa 2280

aagtggacat tacaagacgt tagccttgaa gtgtatttaa ctgcaccaac aggatgtata 2340

aaaaaacatg gatatacagt ggaagtgcag tttgatggag acatatgcaa tacaatgcat 2400

tatacaaact ggacacatat atatatttgt gaagaagcat cagtaactgt ggtagagggt 2460

caagttgact attatggttt atattatgtt catgaaggaa tacgaacata ttttgtgcag 2520

tttaaagatg atgcagaaaa atatagtaaa aataaagtat gggaagttca tgcgggtggt 2580

caggtaatat tatgtcctac atctgtgttt agcagcaacg aagtatcctc tcctgaaatt 2640

attaggcagc acttggccaa ccactccgcc gcgacccata ccaaagccgt cgccttgggc 2700

accgaagaaa cacagacgac tatgcagcga ccaagatcag agccagacac cggaaacccc 2760

tgccacacca ctaagttgtt gcacagagac tcagtggaca gtgctccaat cctcactgca 2820

tttaacagct cacacaaagg acggattaac tgtaatagta acactacacc catagtacat 2880

ttaaaaggtg atgctaatac tttaaaatgt ttaagatata gatttaaaaa gcattgtaca 2940

ttgtatactg cagtgtcgtc tacatggcat tggacaggac ataatgtaaa acataaaagt 3000

gcaattgtta cacttacata tgatagtgaa tggcaacgtg accaattttt gtctcaagtt 3060

aaaataccaa aaactattac agtgtctact ggatttatgt ctatatga 3108

<210> 11

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Primer

<400> 11

ctaattcact cccaacgaag 20

<210> 12

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Primer

<400> 12

gccgagtcct gcgtcgagag 20

<210> 13

<211> 2187

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Anti-HER2 Antibody

<400> 13

atgtacagga tgcaactcct gtcttgcatt gcactaagtc ttgcacttgt cacggaggtt 60

cagctggtgg agtctggcgg tggcctggtg cagccagggg gctcactccg tttgtcctgt 120

gcagcttctg gcttcaacat taaagacacc tatatacact gggtgcgtca ggccccgggt 180

aagggcctgg aatgggttgc aaggatttat cctacgaatg gttatactag atatgccgat 240

agcgtcaagg gccgtttcac tataagcgca gacacatcca aaaacacagc ctacctgcag 300

atgaacagcc tgcgtgctga ggacactgcc gtctattatt gttctagatg gggaggggac 360

ggcttctatg ctatggacgt gtggggtcaa ggaaccctgg tcaccgtctc ctcggctagc 420

accaagggcc catcggtctt ccccctggca ccctcctcca agagcacctc tgggggcaca 480

gcggccctgg gctgcctggt caaggactac ttccccgaac cggtgacggt gtcgtggaac 540

tcaggcgccc tgaccagcgg cgtgcacacc ttcccggctg tcctacagtc ctcaggactc 600

tactccctca gcagcgtggt gaccgtgccc tccagcagct tgggcaccca gacctacatc 660

tgcaacgtga atcacaagcc cagcaacacc aaggtggaca agaaagttga gcccaaatct 720

tgtgacaaaa ctcacacatg cccaccgtgc ccagcacctg aactcctggg gggaccgtca 780

gtcttcctct tccccccaaa acccaaggac accctcatga tctcccggac ccctgaggtc 840

acatgcgtgg tggtggacgt gagccacgaa gaccctgagg tcaagttcaa ctggtacgtg 900

gacggcgtgg aggtgcataa tgccaagaca aagccgcggg aggagcagta caacagcacg 960

taccgtgtgg tcagcgtcct caccgtcctg caccaggact ggctgaatgg caaggagtac 1020

aagtgcaagg tctccaacaa agccctccca gcccccatcg agaaaaccat ctccaaagcc 1080

aaagggcagc cccgagaacc acaggtgtac accctgcccc catcccggga tgagctgacc 1140

aagaaccagg tcagcctgac ctgcctggtc aaaggcttct atcccagcga catcgccgtg 1200

gagtgggaga gcaatgggca gccggagaac aactacaaga ccacgcctcc cgtgctggac 1260

tccgacggct ccttcttcct ctacagcaag ctcaccgtgg acaagagcag gtggcagcag 1320

gggaacgtct tctcatgctc cgtgatgcat gaggctctgc acaaccacta cacgcagaag 1380

agcctctccc tgtctccggg taaacgtaga cgaaagcgcg gaagcggaga gggcagagga 1440

agtctgctaa catgcggtga cgtcgaggag aatcctggac ctggatccat gtacaggatg 1500

caactcctgt cttgcattgc actaagtctt gcacttgtca cggatatcca gatgacccag 1560

tccccgagct ccctgtccgc ctctgtgggc gatagggtca ccatcacctg ccgtgccagt 1620

caggatgtga atactgctgt agcctggtat caacagaaac caggaaaagc tccgaaacta 1680

ctgatttact cggcatcctt cctcgagtct ggagtccctt ctcgcttctc tggttccaga 1740

tctgggacgg atttcactct gaccatcagc agtctgcagc cggaagactt cgcaacttat 1800

tactgtcagc aacattatac tactcctccc acgttcggac agggtaccaa ggtggagatc 1860

aaagaattcg tggctgcacc atctgtcttc atcttcccgc catctgatga gcagttgaaa 1920

tctggaactg cctctgttgt gtgcctgctg aataacttct atcccagaga ggccaaagta 1980

cagtggaagg tggataacgc cctccaatcg ggtaactccc aggagagtgt cacagagcag 2040

gacagcaagg acagcaccta cagcctcagc agcaccctga cgctgagcaa agcagactac 2100

gagaaacaca aagtctacgc ctgcgaagtc acccatcagg gcctgagctc gcccgtcaca 2160

aagagcttca acaggggaga gtgttag 2187

<210> 14

<211> 2085

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Anti-EGFR Antibody

<400> 14

atgcaggtgc agctgaagca gagcggcccg gggctcgtcc agccctcgca gagcctgagc 60

atcacctgca cggtgagcgg cttcagcctg accaactacg gggtgcactg ggtccggcag 120

tcgcccggca aggggctgga gtggctgggc gtgatctgga gcggcgggaa caccgactac 180

aacacccccct tcacgagccg cctgagcatc aacaaggaca acagcaagtc gcaggtgttc 240

ttcaagatga acagcctcca gagcaacgac accgccatct actactgcgc gcgggccctg 300

acctactacg actacgagtt cgcctactgg ggccagggga ccctggtcac ggtgagcgcc 360

gcgagcacca agggcccgag cgtgttcccc ctcgcccccct ccagcaagag caccagcggc 420

gggaccgccg ccctgggctg cctggtcaag gactacttcc ccgagccggt gacggtgagc 480

tggaactcgg gggccctcac cagcggcgtc cacaccttcc ccgcggtgct gcagagcagc 540

gggctgtaca gcctcagctc ggtggtcacc gtgcccagca gcagcctggg cacgcagacc 600

tacatctgca acgtgaacca caagcccagc aacaccaagg tcgacaagcg cgtggagccg 660

aagtcgccca agagctgcga caagacccac acgtgcccgc cctgccccgc ccccgagctg 720

ctcggcgggc ccagcgtgtt cctgttcccg cccaagccca aggacaccct gatgatcagc 780

cggacccccg aggtcacctg cgtggtggtc gacgtgagcc acgaggaccc ggaggtgaag 840

ttcaactggt acgtcgacgg cgtggaggtg cacaacgcca agacgaagcc ccgcgaggag 900

cagtacaaca gcacctaccg ggtcgtgtcg gtgctcaccg tcctgcacca ggactggctg 960

aacgggaagg agtacaagtg caaggtgagc aacaaggccc tccccgcgcc catcgagaag 1020

accatcagca aggccaaggg ccagccgcgc gagccccagg tgtacacgct gccccccagc 1080

cgggacgagc tgaccaagaa ccaggtcagc ctcacctgcc tggtgaaggg gttctacccg 1140

tcggacatcg ccgtggagtg ggagagcaac ggccagcccg agaacaacta caagaccacg 1200

cccccggtcc tggacagcga cggcagcttc ttcctctaca gcaagctgac cgtggacaag 1260

agccgctggc agcaggggaa cgtgttctcg tgcagcgtca tgcacgaggc cctgcacaac 1320

cactacaccc agaagagcct cagcctgagc cccggcaagt gaggaagcgg agagggcaga 1380

ggaagtctgc taacatgcgg tgacgtcgag gagaatcctg gacctggatc catggacatc 1440

ctgctcaccc agagcccggt gatcctgtcg gtcagccccg gcgagcgggt gagcttcagc 1500

tgccgcgcca gccagtcgat cgggacgaac atccactggt accagcagcg gaccaacggc 1560

agcccccgcc tgctcatcaa gtacgcgagc gagagcatca gcgggattcc ctcgcggttc 1620

agcggcagcg ggagcggcac cgacttcacc ctgagcatca acagcgtgga gtcggaggac 1680

atcgccgact actactgcca gcagaacaac aactggccga cgaccttcgg cgccgggacc 1740

aagctggagc tcaagcgcga attcgtggct gcaccatctg tcttcatctt cccgccatct 1800

gatgagcagt tgaaatctgg aactgcctct gttgtgtgcc tgctgaataa cttctatccc 1860

agagaggcca aagtacagtg gaaggtggat aacgccctcc aatcgggtaa ctcccaggag 1920

agtgtcacag agcaggacag caaggacagc acctacagcc tcagcagcac cctgacgctg 1980

agcaaagcag actacgagaa acacaaagtc tacgcctgcg aagtcaccca tcagggcctg 2040

agctcgcccg tcacaaagag cttcaacagg ggagagtgtt aggcg 2085

<210> 15

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> microRNA sequence against CCR5

<400> 15

gagcaagctc agtttaca 18

<210> 16

<211> 1687

<212> DNA

<213> Epstein-Barr Virus

<400> 16

atgaggatag catatgctac ccggatacag attaggatag catatactac ccagatatag 60

attaggatag catatgctac ccagatatag attaggatag cctatgctac ccagatataa 120

attaggatag catatactac ccagatatag attaggatag catatgctac ccagatatag 180

attaggatag cctatgctac ccagatatag attaggatag catatgctac ccagatatag 240

attaggatag catatgctat ccagatattt gggtagtata tgctacccag atataaatta 300

ggatagcata tactacccta atctctatta ggatagcata tgctacccgg atacagatta 360

ggatagcata tactacccag atatagatta ggatagcata tgctacccag atatagatta 420

ggatagccta tgctacccag atataaatta ggatagcata tactacccag atatagatta 480

ggatagcata tgctacccag atatagatta ggatagccta tgctacccag atatagatta 540

ggatagcata tgctatccag atatttgggt agtatatgct acccatggca acattagccc 600

accgtgctct cagcgacctc gtgaatatga ggaccaacaa ccctgtgctt ggcgctcagg 660

cgcaagtgtg tgtaatttgt cctccagatc gcagcaatcg cgcccctatc ttggcccgcc 720

cacctactta tgcaggtatt ccccggggtg ccattagtgg ttttgtgggc aagtggtttg 780

accgcagtgg ttagcggggt tacaatcagc caagttatta cacccttatt ttacagtcca 840

aaaccgcagg gcggcgtgtg ggggctgacg cgtgccccca ctccacaatt tcaaaaaaaa 900

gagtggccac ttgtctttgt ttatgggccc cattggcgtg gagccccgtt taattttcgg 960

gggtgttaga gacaaccagt ggagtccgct gctgtcggcg tccactctct ttccccttgt 1020

tacaaataga gtgtaacaac atggttcacc tgtcttggtc cctgcctggg acacatctta 1080

ataaccccag tatcatattg cactaggatt atgtgttgcc catagccata aattcgtgtg 1140

agatggacat ccagtcttta cggcttgtcc ccaccccatg gatttctatt gttaaagata 1200

ttcagaatgt ttcattccta cactagtatt tattgcccaa ggggtttgtg agggttatat 1260

tggtgtcata gcacaatgcc accactgaac cccccgtcca aattttattc tgggggcgtc 1320

acctgaaacc ttgttttcga gcacctcaca tacaccttac tgttcacaac tcagcagtta 1380

ttctattagc taaacgaagg agaatgaaga agcaggcgaa gattcaggag agttcactgc 1440

ccgctccttg atcttcagcc actgcccttg tgactaaaat ggttcactac cctcgtggaa 1500

tcctgacccc atgtaaataa aaccgtgaca gctcatgggg tgggagatat cgctgttcct 1560

taggaccctt ttactaaccc taattcgata gcatatgctt cccgttgggt aacatatgct 1620

attgaattag ggttagtctg gatagtatat actactaccc gggaagcata tgctacccgt 1680

ttagggt 1687

<210> 17

<211> 726

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 17

atgaatcgct gctgggcgct cttcctgtct ctctgctgct acctgcgtct ggtcagcgcc 60

gaggggggacc ccattcccga ggagctttat gagatgctga gtgaccactc gatccgctcc 120

tttgatgatc tccaacgcct gctgcacgga gaccccggag aggaagatgg ggccgagttg 180

gacctgaaca tgacccgctc ccactctgga ggcgagctgg agagcttggc tcgtggaaga 240

aggagcctgg gttccctgac cattgctgag ccggccatga tcgccgagtg caagacgcgc 300

accgaggtgt tcgagatctc ccggcgcctc atagaccgca ccaacgccaa cttcctggtg 360

tggccgccct gtgtggaggt gcagcgctgc tccggctgct gcaacaaccg caacgtgcag 420

tgccgcccca cccaggtgca gctgcgacct gtccaggtga gaaagatcga gattgtgcgg 480

aagaagccaa tctttaagaa ggccacggtg acgctggaag accacctggc atgcaagtgt 540

gagacagtgg cagctgcacg gcctgtgacc cgaagcccgg ggggttccca ggagcagcga 600

gccaaaacgc cccaaactcg ggtgaccatt cggacggtgc gagtccgccg gccccccaag 660

ggcaagcacc ggaaattcaa gcacacgcat gacaagacgg cactgaagga gacccttgga 720

gcctag 726

<210> 18

<211> 2193

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 18

atgcccggcg tggcccgcct gccgctgctg ctcgggctgc tgctgctccc gcgtcccggc 60

cggccgctgg acttggccga ctacacctat gacctggcgg aggaggacga ctcggagccc 120

ctcaactaca aagacccctg caaggcggct gcctttcttg gggacattgc cctggacgaa 180

gaggacctga gggccttcca ggtacagcag gctgtggatc tcagacggca cacagctcgt 240

aagtcctcca tcaaagctgc agttccagga aacacttcta cccccagctg ccagagcacc 300

aacgggcagc ctcagagggg agcctgtggg agatggagag gtagatcccg tagccggcgg 360

gcggcgacgt cccgaccaga gcgtgtgtgg cccgatgggg tcatcccctt tgtcattggg 420

ggaaacttca ctggtagcca gagggcagtc ttccggcagg ccatgaggca ctgggagaag 480

cacacctgtg tcaccttcct ggagcgcact gacgaggaca gctatattgt gttcacctat 540

cgaccttgcg ggtgctgctc ctacgtgggt cgccgcggcg ggggccccca ggccatctcc 600

atcggcaaga actgtgacaa gttcggcatt gtggtccacg agctgggcca cgtcgtcggc 660

ttctggcacg aacacactcg gccagaccgg gaccgccacg tttccatcgt tcgtgagaac 720

atccagccag ggcaggagta taacttcctg aagatggagc ctcaggaggt ggagtccctg 780

ggggagacct atgacttcga cagcatcatg cattacgctc ggaacacatt ctccaggggc 840

atcttcctgg ataccattgt ccccaagtat gaggtgaacg gggtgaaacc tcccattggc 900

caaaggacac ggctcagcaa gggggacatt gcccaagccc gcaagcttta caagtgccca 960

gcctgtggag agaccctgca agacagcaca ggcaacttct cctcccctga ataccccaat 1020

ggctactctg ctcacatgca ctgcgtgtgg cgcatctctg tcacacccgg ggagaagatc 1080

atcctgaact tcacgtccct ggacctgtac cgcagccgcc tgtgctggta cgactatgtg 1140

gaggtccgag atggcttctg gaggaaggcg cccctccgag gccgcttctg cgggtccaaa 1200

ctccctgagc ctatcgtctc cactgacagc cgcctctggg ttgaattccg cagcagcagc 1260

aattgggttg gaaagggctt ctttgcagtc tacgaagcca tctgcggggg tgatgtgaaa 1320

aaggactatg gccacattca atcgcccaac tacccagacg attaccggcc cagcaaagtc 1380

tgcatctggc ggatccaggt gtctgagggc ttccacgtgg gcctcacatt ccagtccttt 1440

gagattgagc gccacgacag ctgtgcctac gactatctgg aggtgcgcga cgggcacagt 1500

gagagcagca ccctcatcgg gcgctactgt ggctatgaga agcctgatga catcaagagc 1560

acgtccagcc gcctctggct caagttcgtc tctgacgggt ccattaacaa agcgggcttt 1620

gccgtcaact ttttcaaaga ggtggacgag tgctctcggc ccaaccgcgg gggctgtgag 1680

cagcggtgcc tcaacaccct gggcagctac aagtgcagct gtgaccccgg gtacgagctg 1740

gccccagaca agcgccgctg tgaggctgct tgtggcggat tcctcaccaa gctcaacggc 1800

tccatcacca gcccgggctg gcccaaggag taccccccca acaagaactg catctggcag 1860

ctggtggccc ccacccagta ccgcatctcc ctgcagtttg acttctttga gacagagggc 1920

aatgatgtgt gcaagtacga cttcgtggag gtgcgcagtg gactcacagc tgactccaag 1980

ctgcatggca agttctgtgg ttctgagaag cccgaggtca tcacctccca gtacaacaac 2040

atgcgcgtgg agttcaagtc cgacaacacc gtgtccaaaa agggcttcaa ggcccacttc 2100

ttctcagaaa agaggccagc tctgcagccc cctcggggac gcccccacca gctcaaattc 2160

cgagtgcaga aaagaaaccg gacccccag tga 2193

<210> 19

<211> 7905

<212> DNA

<213> human papillomavirus type 16

<400> 19

actacaataa tccatgtata aaactaaggg cgtaaccgaa atcggttgaa ccgaaaccgg 60

ttagtataaa agcagacatt ttatgcacca aaagagaact gcaatgtttc aggacccaca 120

ggagcgaccc ggaaagttac cacagttatg cacagagctg caaacaacta tacatgatat 180

aatattagaa tgtgtgtact gcaagcaaca gttactgcga cgtgaggtat atgactttgc 240

ttttcgggat ttatgcatag tatatagaga tgggaatcca tatgctgtat gtgataaatg 300

tttaaagttt tattctaaaa ttagtgagta tagacattat tgttatagtg tgtatggaac 360

aacattagaa cagcaataca acaaaccgtt gtgtgatttg ttaattaggt gtattaactg 420

tcaaaagcca ctgtgtcctg aagaaaagca aagacatctg gacaaaaagc aaagattcca 480

taatataagg ggtcggtgga ccggtcgatg tatgtcttgt tgcagatcat caagaacacg 540

tagagaaacc cagctgtaat catgcatgga gatacaccta cattgcatga atatatgtta 600

gatttgcaac cagagacaac tgatctctac tgttatgagc aattaaatga cagctcagag 660

gaggaggatg aaatagatgg tccagctgga caagcagaac cggacagagc ccattacaat 720

attgtaacct tttgttgcaa gtgtgactct acgcttcggt tgtgcgtaca aagcacacac 780

gtagacattc gtactttgga agacctgtta atgggcacac taggaattgt gtgccccatc 840

tgttctcaga aaccataatc taccatggct gatcctgcag gtaccaatgg ggaagagggt 900

acgggatgta atggatggtt ttatgtagag gctgtagtgg aaaaaaaaac aggggatgct 960

atatcagatg acgagaacga aaatgacagt gatacaggtg aagatttggt agattttata 1020

gtaaatgata atgattattt aacacaggca gaaacagaga cagcacatgc gttgtttact 1080

gcacaggaag caaaacaaca tagagatgca gtacaggttc taaaacgaaa gtatttgggt 1140

agtccactta gtgatattag tggatgtgta gacaataata ttagtcctag attaaaagct 1200

atatgtatag aaaaacaaag tagagctgca aaaaggagat tatttgaaag caaagacagc 1260

gggtatggca atactgaagt ggaaactcag cagatgttac aggtagaagg gcgccatgag 1320

actgaaacac catgtagtca gtatagtggt ggaagtgggg gtggttgcag tcagtacagt 1380

agtggaagtg ggggagaggg tgttagtgaa agacacaata tatgccaaac accacttaca 1440

aatattttaa atgtactaaa aactagtaat gcaaaggcag caatgttagc aaaatttaaa 1500

gagttatacg gggtgagttt tacagaatta gtaagaccat ttaaaagtaa taaatcaacg 1560

tgttgcgatt ggtgtattgc tgcatttgga cttacaccca gtatagctga cagtataaaa 1620

acactattac aacaatattg tttatattta cacattcaaa gtttagcatg ttcatgggga 1680

atggttgtgt tactattagt aagatataaa tgtggaaaaa atagagaaac aattgaaaaa 1740

ttgctgtcta aactattatg tgtgtctcca atgtgtatga tgatagagcc tccaaaattg 1800

cgtagtacag cagcagcatt atattggtat aaaacaggta tatcaaatat tagtgaagtg 1860

tatggagaca cgccagaatg gatacaaaga caaacagtat tacaacatag ttttaatgat 1920

tgtacatttg aattatcaca gatggtacaa tgggcctacg ataatgacat agtagacgat 1980

agtgaaattg catataaata tgcacaattg gcagacacta atagtaatgc aagtgccttt 2040

ctaaaaagta attcacaggc aaaaattgta aaggattgtg caacaatgtg tagacattat 2100

aaacgagcag aaaaaaaaca aatgagtatg agtcaatgga taaaatatag atgtgatagg 2160

gtagatgatg gaggtgattg gaagcaaatt gttatgtttt taaggtatca aggtgtagag 2220

tttatgtcat ttttaactgc attaaaaaga tttttgcaag gcatacctaa aaaaaattgc 2280

atattactat atggtgcagc taacacaggt aaatcattat ttggtatgag tttaatgaaa 2340

tttctgcaag ggtctgtaat atgttttgta aattctaaaa gccatttttg gttacaacca 2400

ttagcagatg ccaaaatagg tatgttagat gatgctacag tgccctgttg gaactatata 2460

gatgacaatt taagaaatgc attggatgga aatttagttt ctatggatgt aaagcataga 2520

ccattggtac aactaaaatg ccctccatta ttaattacat ctaacattaa tgctggtaca 2580

gattctaggt ggccttattt acataataga ttggtggtgt ttacatttcc taatgagttt 2640

ccatttgacg aaaacggaaa tccagtgtat gagcttaatg ataagaactg gaaatccttt 2700

ttctcaagga cgtggtccag attaagtttg cacgaggacg aggacaagga aaacgatgga 2760

gactctttgc caacgtttaa atgtgtgtca ggacaaaata ctaacacatt atgaaaatga 2820
tagtacagac ctacgtgacc atatagacta ttggaaacac atgcgcctag aatgtgctat 2880
ttattacaag gccagagaaa tgggatttaa acatattaac caccaggtgg tgccaacgct 2940
ggctgtatca aagaataaag cattacaagc aattgaactg caactaacgt tagaaacaat 3000
atataactca caatatagta atgaaaagtg gacattacaa gacgttagcc ttgaagtgta 3060
tttaactgca ccaacaggat gtataaaaaa acatggatat acagtggaag tgcagtttga 3120
tggagacata tgcaatacaa tgcattatac aaactggaca catatatata tttgtgaaga 3180

agcatcagta actgtggtag agggtcaagt tgactattat ggtttatatt atgttcatga 3240
aggaatacga acatattttg tgcagtttaa agatgatgca gaaaaatata gtaaaaataa 3300
agtatgggaa gttcatgcgg gtggtcaggt aatattatgt cctacatctg tgtttagcag 3360
caacgaagta tcctctcctg aaactattag gcagcacttg gccaaccact ccgccgcgac 3420
ccataccaaa gccgtcgcct tgggcaccga agaaacacag acgactatcc agcgaccaag 3480
atcagagcca gacaccggaa acccctgcca caccactaag ttgttgcaca gagactcagt 3540
ggacagtgct ccaatcctca ctgcatttaa cagctcacac aaaggacgga ttaactgtaa 3600

tagtaacact acacccatag tacatttaaa aggtgatgct aatactttaa aatgtttaag 3660
atatagattt aaaaagcatt gtaaattgta tactgcagtg tcgtctacat ggcattggac 3720
aggacataat gtaaaacata aaagtgcaat tgttacactt acatatgata gtgaatggca 3780
acgtgaccaa tttttgtctc aagttaaaat accaaaaact attacagtgt ctactggatt 3840
tatgtctata tgacaaatct tgatactgca tacacaacat tactggcgtg ctttttgctt 3900
tgcttttgtg tgcttttgtg tgtctgccta ttaatacgtc cgctgctttt gtctgtgtct 3960
acatacacat cattaatact attggtatta ctattgtgga taacagcagc ctctgcgttt 4020

aggtgtttta ttgtatatat tgtatttgtt tatataccat tatttttaat acatacacat 4080
gcacgctttt taattacata atgtatatgt acataatgta attgttacat ataattgttg 4140
tataccataa cttactattt tttctttttt atttttatat ataatttttt tttggtttgt 4200
ttgtttgttt tttaataaac tgttctcact taacaatgcg acacaaacgt tctgcaaaac 4260
gcacaaaacg tgcatcggct acccaacttt ataaaacatg caaacaggca ggtacatgtc 4320
cacctgacat tatacctaag gttgaaggca aaactattgc tgatcaaata ttacaatatg 4380
gaagtatggg tgtatttttt ggtgggttag gaattggaac agggtcgggt acaggcggac 4440

gcactgggta tattccattg ggaacaaggc ctcccacagc tacagataca cttgctcctg 4500

taagaccccc tttaacagta gatcctgtgg gcccttctga tccttctata gtttctttag 4560

tggaagaaac tagttttatt gatgctggtg caccaacatc tgtaccttcc atccccccag 4620

atgtatcagg atttagtatt actacttcaa ctgataccac acctgctata ttagatatta 4680

ataatactgt tactactgtt actacacata ataatcccac tttcactgac ccatctgtat 4740

tgcagcctcc aacacctgca gaaactggag ggcattttac actttcatca tccactatta 4800

gtacacataa ttatgaagaa attcctatgg atacatttat tgttagcaca aaccctaaca 4860

cagtaactag tagcacaccc ataccagggt ctcgcccagt ggcacgccta ggattatata 4920

gtcgcacaac acaacaagtt aaagttgtag accctgcttt tgtaaccact cccactaaac 4980

ttattacata tgataatcct gcatatgaag gtatagatgt ggataataca ttatattttc 5040

ctagtaatga taatagtatt aatatagctc cagatcctga ctttttggat atagttgctt 5100

tacataggcc agcattaacc tctaggcgta ctggcattag gtacagtaga attggtaata 5160

aacaaacact acgtactcgt agtggaaaat ctataggtgc taaggtacat tattattatg 5220

atttgagtac tattgatcct gcagaagaaa tagaattaca aactataaca ccttctacat 5280

atactaccac ttcacatgca gcctcaccta cttctattaa taatggctta tatgatattt 5340

atgcagatga ctttattaca gatacttcta caaccccggt accatctgta ccctctacat 5400

ctttatcagg ttatattcct gcaaatacaa caattccttt tggtggtgca tacaatattc 5460

ctttagtatc aggtcctgat atacccatta atataactga ccaagctcct tcattaattc 5520

ctatagttcc agggtctcca caatatacaa ttattgctga tgcaggtgac ttttatttac 5580

atcctagtta ttacatgtta cgaaaacgac gtaaacgttt accatatttt ttttcagatg 5640

tctctttggc tgcctagtga ggccactgtc tacttgcctc ctgtcccagt atctaaggtt 5700

gtaagcacgg atgaatatgt tgcacgcaca aacatatatt atcatgcagg aacatccaga 5760

ctacttgcag ttggacatcc ctattttcct attaaaaaac ctaacaataa caaaatatta 5820

gttcctaaag tatcaggatt acaatacagg gtatttagaa tacatttacc tgaccccaat 5880

aagtttggtt ttcctgacac ctcattttat aatccagata cacagcggct ggtttgggcc 5940

tgtgtaggtg ttgaggtagg tcgtggtcag ccattaggtg tgggcattag tggccatcct 6000

ttattaaata aattggatga cacagaaaat gctagtgctt atgcagcaaa tgcaggtgtg 6060

gataatagag aatgtatatc tatggattac aaacaaacac aattgtgttt aattggttgc 6120

aaaccaccta taggggaaca ctggggcaaa ggatccccat gtaccaatgt tgcagtaaat 6180

ccaggtgatt gtccaccatt agagttaata aacacagtta ttcaggatgg tgatatggtt 6240

gatactggct ttggtgctat ggactttact acattacagg ctaacaaaag tgaagttcca 6300

ctggatattt gtacatctat ttgcaaatat ccagattata ttaaaatggt gtcagaacca 6360

tatggcgaca gcttatttt ttatttacga agggaacaaa tgtttgttag acatttattt 6420

aatagggctg gtgctgttgg tgaaaatgta ccagacgatt tatacattaa aggctctggg 6480

tctactgcaa atttagccag ttcaaattat tttcctacac ctagtggttc tatggttacc 6540

tctgatgccc aaatattcaa taaaccttat tggttacaac gagcacaggg ccacaataat 6600

ggcatttgtt ggggtaacca actatttgtt actgttgttg atactacacg cagtacaaat 6660

atgtcattat gtgctgccat atctacttca gaaactacat ataaaaatac taactttaag 6720

gagtacctac gacatgggga ggaatatgat ttacagttta tttttcaact gtgcaaaata 6780

accttaactg cagacgttat gacatacata cattctatga attccactat tttggaggac 6840

tggaattttg gtctacaacc ccccccagga ggcacactag aagatactta taggtttgta 6900

acatcccagg caattgcttg tcaaaaacat acacctccag cacctaaaga agatcccctt 6960

aaaaaataca ctttttggga agtaaattta aaggaaaagt tttctgcaga cctagatcag 7020

tttcctttag gacgcaaatt tttactacaa gcaggattga aggccaaacc aaaatttaca 7080

ttaggaaaac gaaaagctac acccaccacc tcatctacct ctacaactgc taaacgcaaa 7140

aaacgtaagc tgtaagtatt gtatgtatgt tgaattagtg ttgtttgttg tttatatgtt 7200

tgtatgtgct tgtatgtgct tgtaaatatt aagttgtatg tgtgtttgta tgtatggtat 7260

aataaacacg tgtgtatgtg tttttaaatg cttgtgtaac tattgtgtga tgcaacataa 7320

ataaacttat tgtttcaaca cctactaatt gtgttgtggt tattcattgt atataaacta 7380

tatttgctac aatctgtttt tgttttatat atactatatt ttgtagcgcc agcggccatt 7440

ttgtagcttc aaccgaattc ggttgcatgc tttttggcac aaaatgtgtt tttttaaata 7500

gttctatgtc agcaactata gtttaaactt gtacgtttcc tgcttgccat gcgtgccaaa 7560

tccctgtttt cctgacctgc actgcttgcc aaccattcca ttgtttttta cactgcacta 7620

tgtgcaacta ctgaatcact atgtacattg tgtcatataa aataaatcac tatgcgccaa 7680

cgccttacat accgctgtta ggcacatatt tttggcttgt tttaactaac ctaattgcat 7740

atttggcata aggtttaaac ttctaaggcc aactaaatgt caccctagtt catacatgaa 7800

ctgtgtaaag gttagtcata cattgttcat ttgtaaaact gcacatgggt gtgtgcaaac 7860

cgttttgggt tacacattta caagcaactt atataataat actaa 7905

<210> 20

<211> 33

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Primer

<400> 20

ggatccgcca ccatggagag cgacgagagc ggc 33

<210> 21

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Primer

<400> 21

gaattcttag cgagatccgg tggagcc 27

<210> 22

<211> 41

<212> DNA

<213> human immunodeficiency virus

<400> 22

tacgccaaaa attttgacta gcggaggcta gaaggagaga g 41

<210> 23

<211> 233

<212> DNA

<213> human immunodeficiency virus

<400> 23

aggagctttg ttccttgggt tcttgggagc agcaggaagc actatgggcg cagcctcaat 60

gacgctgacg gtacaggcca gacaattatt gtctggtata gtgcagcagc agaacaattt 120

gctgagggct attgaggcgc aacagcatct gttgcaactc acagtctggg gcatcaagca 180

gctccaggca agaatcctgg ctgtggaaag atacctaaag gatcaacagc tcc 233

<210> 24

<211> 118

<212> DNA

<213> human immunodeficiency virus

<400> 24

ttttaaaaga aaaggggga ttgggggta cagtgcaggg gaaagaatag tagacataat 60

agcaacagac atacaaacta aagaattaca aaaacaaatt acaaaattca aaatttta 118

<210> 25

<211> 590

<212> DNA

<213> woodchuck hepatitis virus

<400> 25

aatcaacctc tgattacaaa atttgtgaaa gattgactgg tattcttaac tatgttgctc 60

cttttacgct atgtggatac gctgctttaa tgcctttgta tcatgctatt gcttcccgta 120

tggctttcat tttctcctcc ttgtataaat cctggttgct gtctctttat gaggagttgt 180

ggcccgttgt caggcaacgt ggcgtggtgt gcactgtgtt tgctgacgca acccccactg 240

gttggggcat tgccaccacc tgtcagctcc tttccgggac tttcgctttc cccctcccta 300

ttgccacggc ggaactcatc gccgcctgcc ttgcccgctg ctggacaggg gctcggctgt 360

tgggcactga caattccgtg gtgttgtcgg ggaaatcatc gtcctttcct tggctgctcg 420

cctgtgttgc cacctggatt ctgcgcggga cgtccttctg ctacgtccct tcggccctca 480

atccagcgga ccttccttcc cgcggcctgc tgccggctct gcggcctctt ccgcgtcttc 540

gccttcgccc tcagacgagt cggatctccc tttgggccgc ctccccgcct 590

<210> 26

<211> 1239

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 26

atgacggaca gacagacaga caccgccccc agccccagct accacctcct ccccggccgg 60

cggcggacag tggacgcggc ggcgagccgc gggcaggggc cggagcccgc gcccggaggc 120

ggggtggagg gggtcggggc tcgcggcgtc gcactgaaac ttttcgtcca acttctgggc 180

tgttctcgct tcggaggagc cgtggtccgc gcgggggaag ccgagccgag cggagccgcg 240

agaagtgcta gctcgggccg ggaggagccg cagccggagg agggggagga ggaagaagag 300

aaggaagagg agagggggcc gcagtggcga ctcggcgctc ggaagccggg ctcatggacg 360

ggtgaggcgg cggtgtgcgc agacagtgct ccagccgcgc gcgctcccca ggccctggcc 420

cgggcctcgg gccggggagg aagagtagct cgccgaggcg ccgaggagag cgggccgccc 480

cacagcccga gccggagagg gagcgcgagc cgcgccggcc ccggtcgggc ctccgaaacc 540

atgaactttc tgctgtcttg ggtgcattgg agccttgcct tgctgctcta cctccaccat 600

gccaagtggt cccaggctgc acccatggca gaaggaggag ggcagaatca tcacgaagtg 660

gtgaagttca tggatgtcta tcagcgcagc tactgccatc caatcgagac cctggtggac 720

atcttccagg agtaccctga tgagatcgag tacatcttca agccatcctg tgtgcccctg 780

atgcgatgcg ggggctgctg caatgacgag ggcctggagt gtgtgcccac tgaggagtcc 840

aacatcacca tgcagattat gcggatcaaa cctcaccaag gccagcacat aggagagatg 900

agcttcctac agcacaacaa atgtgaatgc agaccaaaga aagatagagc aagacaagaa 960

aaaaaatcag ttcgaggaaa gggaaagggg caaaaacgaa agcgcaagaa atcccggtat 1020

aagtcctgga gcgtgtacgt tggtgcccgc tgctgtctaa tgccctggag cctccctggc 1080

ccccatccct gtgggccttg ctcagagcgg agaaagcatt tgtttgtaca agatccgcag 1140

acgtgtaaat gttcctgcaa aaacacagac tcgcgttgca aggcgaggca gcttgagtta 1200

aacgaacgta cttgcagatg tgacaagccg aggcggtga 1239

<210> 27

<211> 180

<212> DNA

<213> human papillomavirus type 16

<400> 27

ggtctctctg gttagaccag atctgagcct gggagctctc tggctaacta gggaacccac 60

tgcttaagcc tcaataaagc ttgccttgag tgcttcaagt agtgtgtgcc cgtctgttgt 120

gtgactctgg taactagaga tccctcagac ccttttagtc agtgtggaaa atctctagca 180

180

<210> 28

<211> 250

<212> DNA

<213> human papillomavirus type 16

<400> 28

tggaagggct aattcactcc caacgaagat aagatctgct ttttgcttgt actgggtctc 60

tctggttaga ccagatctga gcctgggagc tctctggcta actagggaac ccactgctta 120

agcctcaata aagcttgcct tgagtgcttc aagtagtgtg tgcccgtctg ttgtgtgact 180

ctggtaacta gagatccctc agacccttttt agtcagtgtg gaaaatctct agcagtagta 240

gttcatgtca 250

<210> 29

<211> 350

<212> DNA

<213>

cytomegalovirus

<400> 29

actagtatta tgcccagtac atgaccttat gggactttcc tacttggcag tacatctacg 60

tattagtcat cgctattacc atggtgatgc ggttttggca gtacatcaat gggcgtggat 120

agcggtttga ctcacgggga tttccaagtc tccaccccat tgacgtcaat gggagtttgt 180

tttggcacca aaatcaacgg gactttccaa aatgtcgtaa caactccgcc ccattgacgc 240

aaatgggcgg taggcgtgta cggtgggagg tttatataag cagagctcgt ttagtgaacc 300

gtcagatcgc ctggagacgc catccacgct gttttgacct ccatagaaga 350

<210

> 30

<211> 1162

<212> DNA

<213> human papillomavirus type 16

<400> 30

gcgccgggtt ttggcgcctc ccgcgggcgc ccccctcctc acggcgagcg ctgccacgtc 60

agacgaaggg cgcaggagcg ttcctgatcc ttccgcccgg acgctcagga cagcggcccg 120

ctgctcataa gactcggcct tagaacccca gtatcagcag aaggacattt taggacggga 180

cttgggtgac tctagggcac tggttttctt tccagagagc ggaacaggcg aggaaaagta 240

gtcccttctc ggcgattctg cggagggatc tccgtggggc ggtgaacgcc gatgattata 300

taaggacgcg ccgggtgtgg cacagctagt tccgtcgcag ccgggatttg ggtcgcggtt 360

cttgtttgtg gatcgctgtg atcgtcactt ggtgagttgc gggctgctgg gctggccggg 420

gctttcgtgg ccgccgggcc gctcggtggg acggaagcgt gtggagagac cgccaagggc 480

tgtagtctgg gtccgcgagc aaggttgccc tgaactgggg gttgggggga gcgcacaaaa 540

tggcggctgt tcccgagtct tgaatggaag acgcttgtaa ggcgggctgt gaggtcgttg 600

aaacaaggtg gggggcatgg tgggcggcaa gaacccaagg tcttgaggcc ttcgctaatg 660

cgggaaagct cttattcggg tgagatgggc tggggcacca tctggggacc ctgacgtgaa 720

gtttgtcact gactggagaa ctcgggtttg tcgtctggtt gcgggggcgg cagttatgcg 780

gtgccgttgg gcagtgcacc cgtacctttg ggagcgcgcg cctcgtcgtg tcgtgacgtc 840

acccgttctg ttggcttata atgcagggtg gggccacctg ccggtaggtg tgcggtaggc 900

ttttctccgt cgcaggacgc agggttcggg cctagggtag gctctcctga atcgacaggc 960

gccggacctc tggtgagggg agggataagt gaggcgtcag tttctttggt cggttttatg 1020

tacctatctt cttaagtagc tgaagctccg gttttgaact atgcgctcgg ggttggcgag 1080

tgtgttttgt gaagtttttt aggcaccttt tgaaatgtaa tcatttgggt caatatgtaa 1140

ttttcagtgt tagactagta aa 1162

<210> 31

<211> 1687

<212> DNA

<213> Epstein-Barr Virus

<400> 31

atgaggatag catatgctac ccggatacag attaggatag catatactac ccagatatag 60

attaggatag catatgctac ccagatatag attaggatag cctatgctac ccagatataa 120

attaggatag catatactac ccagatatag attaggatag catatgctac ccagatatag 180

attaggatag cctatgctac ccagatatag attaggatag catatgctac ccagatatag 240

attaggatag catatgctat ccagatattt gggtagtata tgctacccag atataaatta 300

ggatagcata tactacccta atctctatta ggatagcata tgctacccgg atacagatta 360

ggatagcata tactacccag atatagatta ggatagcata tgctacccag atatagatta 420

ggatagccta tgctacccag atataaatta ggatagcata tactacccag atatagatta 480

ggatagcata tgctacccag atatagatta ggatagccta tgctacccag atatagatta 540

ggatagcata tgctatccag atatttgggt agtatatgct acccatggca acattagccc 600

accgtgctct cagcgacctc gtgaatatga ggaccaacaa ccctgtgctt ggcgctcagg 660

cgcaagtgtg tgtaatttgt cctccagatc gcagcaatcg cgcccctatc ttggcccgcc 720

cacctactta tgcaggtatt ccccggggtg ccattagtgg ttttgtgggc aagtggtttg 780

accgcagtgg ttagcggggt tacaatcagc caagttatta cacccttatt ttacagtcca 840

aaaccgcagg gcggcgtgtg ggggctgacg cgtgccccca ctccacaatt tcaaaaaaaa 900

gagtggccac ttgtctttgt ttatgggccc cattggcgtg gagccccgtt taattttcgg 960

gggtgttaga gacaaccagt ggagtccgct gctgtcggcg tccactctct ttccccttgt 1020

tacaaataga gtgtaacaac atggttcacc tgtcttggtc cctgcctggg acacatctta 1080

ataaccccag tatcatattg cactaggatt atgtgttgcc catagccata aattcgtgtg 1140

agatggacat ccagtcttta cggcttgtcc ccaccccatg gatttctatt gttaaagata 1200

ttcagaatgt ttcattccta cactagtatt tattgcccaa ggggtttgtg agggttatat 1260

tggtgtcata gcacaatgcc accactgaac cccccgtcca aattttattc tgggggcgtc 1320

acctgaaacc ttgttttcga gcacctcaca tacaccttac tgttcacaac tcagcagtta 1380

ttctattagc taaacgaagg agaatgaaga agcaggcgaa gattcaggag agttcactgc 1440

ccgctccttg atcttcagcc actgcccttg tgactaaaat ggttcactac cctcgtggaa 1500

tcctgacccc atgtaaataa aaccgtgaca gctcatgggg tgggagatat cgctgttcct 1560

taggaccctt ttactaaccc taattcgata gcatatgctt cccgttgggt aacatatgct 1620

attgaattag ggttagtctg gatagtatat actactaccc gggaagcata tgctacccgt 1680

ttagggt 1687

<210> 32

<211> 1926

<212> DNA

<213> Epstein-Barr Virus

<400> 32

atgtctgacg aggggccagg tacaggacct ggaaatggcc taggagagaa gggagacaca 60

tctggaccag aaggctccgg cggcagtgga cctcaaagaa gaggggtga taaccatgga 120

cgaggacggg gaagaggacg aggacgagga ggcggaagac caggagcccc gggcggctca 180

ggatcagggc caagacatag agatggtgtc cggagacccc aaaaacgtcc aagttgcatt 240

ggctgcaaag ggacccacgg tggaacagga gcaggagcag gagcgggagg ggcaggagca 300

ggaggggcag gagcaggagg aggggcagga gcaggaggag gggcaggagg ggcaggaggg 360

gcaggagggg caggagcagg aggaggggca ggagcaggag gaggggcagg aggggcagga 420

ggggcaggag caggaggagg ggcaggagca ggaggagggg caggaggggc aggagcagga 480

ggaggggcag gaggggcagg aggggcagga gcaggaggag gggcaggagc aggaggaggg 540

gcaggagggg caggagcagg aggaggggca ggaggggcag gaggggcagg agcaggagga 600

ggggcaggag caggaggggc aggaggggca ggaggggcag gagcaggagg ggcaggagca 660

ggaggagggg caggaggggc aggaggggca ggagcaggag gggcaggagc aggaggggca 720

ggagcaggag gggcaggagc aggaggggca ggaggggcag gagcaggagg ggcaggaggg 780

gcaggagcag gaggggcagg aggggcagga gcaggaggag gggcaggagg ggcaggagca 840

ggaggagggg caggaggggc aggagcagga ggggcaggag gggcaggagc aggaggggca 900

ggaggggcag gagcaggagg ggcaggaggg gcaggagcag gaggaggggc aggagcagga 960

ggggcaggag caggaggtgg aggccggggt cgaggaggca gtggaggccg gggtcgagga 1020

ggtagtggag gccggggtcg aggaggtagt ggaggccgcc ggggtagagg acgtgaaaga 1080

gccaggggggg gaagtcgtga aagagccagg gggagaggtc gtggacgtgg agaaaagagg 1140

cccaggagtc ccagtagtca gtcatcatca tccgggtctc caccgcgcag gccccctcca 1200

ggtagaaggc catttttcca ccctgtaggg gaagccgatt attttgaata ccaccaagaa 1260

ggtggcccag atggtgagcc tgacgtgccc ccgggagcga tagagcaggg ccccgcagat 1320

gacccaggag aaggcccaag cactggaccc cggggtcagg gtgatggagg caggcgcaaa 1380

aaaggagggt ggtttggaaa gcatcgtggt caaggaggtt ccaacccgaa atttgagaac 1440

attgcagaag gtttaagagc tctcctggct aggagtcacg tagaaaggac taccgacgaa 1500

ggaacttggg tcgccggtgt gttcgtatat ggaggtagta agacctccct ttacaaccta 1560

aggcgaggaa ctgcccttgc tattccacaa tgtcgtctta caccattgag tcgtctcccc 1620

tttggaatgg cccctggacc cggcccacaa cctggcccgc taagggagtc cattgtctgt 1680

tatttcatgg tctttttaca aactcatata tttgctgagg ttttgaagga tgcgattaag 1740

gaccttgtta tgacaaagcc cgctcctacc tgcaatatca gggtgactgt gtgcagcttt 1800

gacgatggag tagatttgcc tccctggttt ccacctatgg tggaaggggc tgccgcggag 1860

ggtgatgacg gagatgacgg agatgaagga ggtgatggag atgagggtga ggaagggcag 1920

gagtga 1926