(12) **PATENT**

(19) NO (11) **319571** (13) **B1**

NORGE (51) Int Cl[7] C 12 N 15/86, A 61 K 48/00
// (A 61 K 48/00, C 12 N 7/01)

Patentstyret

(21)	Søknadsnr	19953329	(86)	Int.inng.dag og søknadsnr	1994.02.28 PCT/FR94/00220
(22)	Inng.dag	1995.08.24	(85)	Videreføringsdag	1995.08.24
(24)	Løpedag	1994.02.28	(30)	Prioritet	1993.03.03, FR, 9302438
(41)	Alm.tilgj	1995.08.24			
(45)	Meddelt	2005.08.29			

(73)	Innehaver	Institut National de la Recherche Agronomique (INRA), 147, rue de l'Université, 75007 PARIS CEDEX 07, FR Aventis Pharma SA , 20, avenue Raymond Aron, 92160 ANTONY CÉDEX, FR
(72)	Oppfinner	Michel Perricaudet, 31, rue de Chartres, F-28320 Ecrosnes, FR Pascale Briand, Paris, FR
(74)	Fullmektig	Jan E. Helgerud - Bryns Zacco AS, Postboks 765 Sentrum, 0106 Oslo, NO

(54) Benevnelse **Anvendelse av et defektivt, rekombinant adenovirus.**

(56) Anførte publikasjoner

Bone Marrow Transplantation, vol. 9, 1992, side 151-152

Human Gene Transfer, vol. 219, 1991, side 51-61

Science, vol. 259, 1993, side 988-990

WO 9002551

(57) Sammendrag

Anvendelsen av defektive, rekombinante viruser inneholdende et innskutt gen for fremstilling av et farmasøytisk preparat ment for behandling av okulære patologier.

Foreliggende oppfinnelse angår anvendelse av nye rekombinante viruser.

Behandlingen av okulære patologier og særlig arvelige sykdommer utgjør et problem som i dag ikke er helt løst. Blant disse patologier kan for eksempel nevnes pigmentære retinitter som skyldes genetiske endringer og mot hvilke det i dag ikke er noen aktuell behandling til disposisjon. Videre finnes det i dag heller ingen brukbar behandling mot ikke-arvelige patologier som postinflammatoriske skader (retina-degenerering og så videre). Hvis man i særdeleshet tar sikte på å innvirke preventivt og særlig ved hjelp av korticoider, disponerer man i dag i virkeligheten intet tilfredsstillende middel for å behandle disse skader.

Det er således viktig å kunne definere verktøyet som tillater en spesifikk behandling, effektivt og lokalt, av okulære patologier. Foreliggende oppfinnelse tilbyr en fordelaktig løsning på dette problem og viser muligheten for å behandle okulære patologier ved genterapi.

Genterapien omfatter å korrigere en defekt eller en anormalitet (mutasjon, feilekspresjon og så videre) ved innføring av en genetisk informasjon i den angjeldende celle eller organ. Denne genetiske informasjon kan innføres enten in vitro i en celle som er ekstrahert fra organet og der den modifiserte celle deretter gjeninnføres i organismen, eller direkte in vivo i det angjeldende vev. I det andre tilfellet foreligger det diverse forskjellige teknikker blant hvilke skal nevnes transfeksjoner som implikerer DNA- og DEAE-dekstrankompleksene (Pagano et al., "J.Virol. 1 (1967) 891), DNA og nukleære proteiner "Science" 243 (1989) 375), DNA og lipider "PNAS" 84 (1987) 7413), anvendelse av liposomer (Fraley et al., "J.Biol.Chem." 255 (1980) 10431), og så videre. I den senere tid har anvendelsen av virus som vektorer for overføring av gener kommet frem som et lovende alternativ til disse fysiske transfeksjonsteknikker. I denne forbindelse er forskjellige viruser prøvet med henblikk på deres evne til åinfektere visse cellulære populasjoner. I særdeleshet gjelder dette retrovirusene (RSV, HMS, MMS, og så videre), HSV-viruset, de adeno-assosierte viruser samt adenovirusene.

Til i dag har imidlertid ingen av disse vektorer verken vært benyttet eller beskrevet som brukbare for overføring av gener til øyet. Foreliggende oppfinnelse utgjør den første påvisning av at det er mulig å behandle okulærpatologier ved genterapi.

En første gjenstand for oppfinnelsen ligger i anvendelse av et rekombinant, defekt virus inneholdende et innskutt gen for fremstilling av et farmasøytisk preparat ment for

behandling av okulære patologier.

Mer spesielt anvender man ifølge foreliggende oppfinnelse defektive, rekombinante viruser avledet fra viruser som er i stand til å infektere og uttrykke et innskutt gen i cellene i øyet uten å medføre cytopatologiske fenomener eller patogene effekter. Viruser som eventuelt kan benyttes ifølge oppfinnelsen er for eksempel adenovirusene, de adenoassosierte viruser eller også HSV-viruset.

Foreliggende oppfinnelse er mer spesielt basert på påvisning av at viruser av typen adenovirus er i stand til å overføre og å uttrykke de ønskede gener i øyet. Eksemplene som gis nedenfor viser at adenovirusene alt etter administreringsmetoden er i stand til effektivt å overføre, med vesentlig varighet og uten cytopatologiske effekter, gener til det corneale endotelium, til fotoreseptorcellen, til de optiske nerveceller, til de bipolare celler og så videre. Tatt i betraktning den relativt enkle tilgang til de forskjellige deler av øyet ved hjelp av mikrokirurgi (mikroinjeksjon) samt eksistensen av de naturlige barrierer i dette organ (Descemet-membranet, Bruch-membranet, krystaller og så videre) tillater foreliggende oppfinnelse med fordel å gjennomføre en meget målrettet overføring av gener som funksjon av patologien som skal behandles. Resultatene viser likeledes at ekspresjonen av et ønsket gen er stabil over en lang periode (intet aktivitetstap etter 50 dager).

I en foretrukket utførelsesform ligger oppfinnelsen i anvendelsen av et rekombinant, defektiv adenovirus inneholdende et innskutt gen for fremstilling av et farmasøytisk preparat som er ment for behandling av okulære patologier.

Uttrykket "defektivt virus eller adenovirus" angir et virus som er ute av stand til autonom replikering i målcellen. Generelt er genomet til det defektive virus som benyttes innenfor rammen av oppfinnelsen berøvet for minst de sekvenser som er nødvendig for replikering av viruset i den infekterte celle. Disse områder kan således enten være eliminert (helt eller delvis), gjort ikke-funksjonelle, eller være erstattet med andre sekvenser og særlig med det innskutte gen. Fortrinnsvis bevarer ikke desto mindre det defektive virus sekvensene for sitt genom som er nødvendig for enkapsidering av de virale partikler.

Særlig når det dreier seg om adenoviruser eksisterer det forskjellige serotyper hvis struktur og egenskaper varierer noe. Imidlertid er disse viruser ikke patogene for mennesker og særlig ikke for ikke-immunodeprimerte personer.

Blant disse serotyper foretrekker man innenfor rammen av oppfinnelsen å benytte adenoviruser av type 2 eller 5 (Ad 2 eller Ad 5). Når det gjelder adenovirus Ad 5 er sekvensene som er nødvendig for replikering områdene E1A og E1B.

Defektive, rekombinante viruser som avledes fra retrovirus, adenoassosierte viruser eller HSV-virus (herpes simplex virus) er allerede beskrevet i litteraturen [Roemer et Friedmann, "Eur. J. Biochem." 208 (1992) 211; Dobson et al., "Neuron" 5 (1990) 353; Chiocca et al., "New Biol." 2 (1990) 739; Miyanohara et al., "New Biol." 4 (1992) 238; WO91/18088].

Innenfor oppfinnelsens kontekst angir uttrykket "innskutt gen" en hvilken som helst DNA-sekvens som er innført i det rekombinante virus og hvis ekspresjon i målcellen er ønsket.

Det kan særlig dreie seg om et eller flere strukturgener som koder for et eller flere proteiner eller for en del av et eller flere proteiner. Proteinet eller delen av proteinet det således kodes for kan således være et protein som er homologt vis-à-vis målcellen (det vil si et protein som vanligvis uttrykkes i målcellen når denne ikke oppviser noen patologi), eller et protein som er heterologt vis-à-vis cellen. I det førstnevnte tilfellet tillater ekspresjonen av proteinet for eksempel å bøte på en utilstrekkelig ekspresjon i cellen eller ekspresjon av et protein som er inaktivt eller lite aktivt på grunn av en modifikasjon, eller også en overekspresjon av proteinet. I det andre tilfellet kan det eksprimerte protein for eksempel komplettere eller tilveiebringe en defisient aktivitet i cellen for å tillate den å kjempe mot en patologi.

Blant de innskutte gener innenfor oppfinnelsens kontekst kan særlig nevnes:

- gener som implikeres i de genetiske okulære patologier,
- gener som koder for vekstfaktorer, cytokiner eller neurotrofiner: den beskyttende eller helbredende rolle for ekspresjonsproduktet for disse gener i de forskjellige okulære patologier er påvist og særlig på forringelsen av fotoreseptor-cellene under innvirkning av lys (Lavail et al., "PNAS" 89 (1992) 11249). - reguleringsfaktorgener (transkripsjonsfaktorer, traduksjonsfaktorer),
- gener som koder for enzymer,
- gener som koder for proteiner som har anticancerøse egenskaper, for eksempel interferoner, nekrose-tumor-faktorer og så videre, eller også
- gener som koder for antigener som tillater en lokal vaksinasjon (beskyttelse) mot en infeksjon i øyet.

Som spesifikke, men ikke begrensende eksempler kan nevnes:

- aminotransferase ornitingenet som er implikert i gyrert atrofi (Akaki et al., "J.Biol.Chem." 267 (18)(1992)12950),
- rhodopsingenet, implikert i en form for pigmentær retinitt (Dryja et al., "Nature" 343 (1990) 364),
- RDS periferingenet, implikert i en form for pigmentær retinitt (Farrar et al., "Nature" 354 (1991) 478),
- tyrosinasegenet, implikert i oculocutan-albinisme type B1 (Giebel et al., "Am.J.Hum.Genet." 48 (1991) 1159),
- det NDI-mitochondriske gen, implikert i Leber's sykdom (Howell et al., "Am.J.Hum." 48 (1991) 935),
- ß-subenhetgenet av cGMP-fosfodiesterease som tillater å forsinke retina-degenerering (Lem et al., "PNAS" 89 (1992) 4422),
- rab-geranylgeranyl-transferase-genet hvis defekt synes forbundet med en retina-degenerering under korroidermis (Seabra et al., "Science" 259 (1993) 377),
- det basiske fibroblast-vekstfaktor-gen (bFGF), i stand til å forsinke degenerering av fotoreseptorcellene som observeres under visse arvelige retina-dystrofier (Faktorovich et al., "Nature" 347 (1990) 83),
- interleukin-8-genet som tillater å indusere neovaskularisering i cornea (Strieter et al., "Am.J.Pathol." 141 (6)(1992)1279).

Uttrykket "innskutt gen" angir likeledes antiretningssekvenser hvis ekspresjon i målcellen tillater å kontrollere ekspresjonen av gener eller den cellulære mRNA-transkripsjon. Slike celler kan for eksempel være transkribert i målcellen, til RNA som er komplementær den cellulære mRNA og således blokkerer traduksjonen til protein.

Generelt omfatter det innskutte gen likeledes sekvenser som tillater dets ekspresjon i den infekterte celle. Det kan dreie seg om sekvenser som er naturlig ansvarlige for ekspresjonen av genet når disse sekvenser er i stand til å funksjonere i den infekterte celle. Det kan likeledes dreie seg om sekvenser av annen opprinnelse (ansvarlige for ekspresjonen av andre proteiner, eller sågar syntetiske). Særlig kan det dreie seg om sekvenser som stammer fra genomet av cellen som man ønsker å infektere, eller genomet av det benyttede virus. Dreier det seg om adenovirus kan man for eksempel nevne promoterne for genene E1A, MLP og så videre. Videre kan disse ekspresjonssekvenser modifiseres ved tilsetning av sekvenser for aktivering, regulering og så videre. Når videre det innskutte gen ikke omfatter ekspresjonssekvenser, kan det

skytes inn i genomet av det defektive virus nedstrøms en slik sekvens.

Nedenfor skal i større detalj konstruksjonen og anvendelsen av defektive, rekombinante adenoviruser beskrives. Det skal være klart at denne beskrivelse av fagmannen kan anvendes på andre viruser som er i stand til å kunne benyttes innenfor rammen av oppfinnelsen, slik det er antydet ovenfor.

De defektive, rekombinante adenoviruser kan fremstilles ved homolog rekombinering mellom et adenovirus og et plasmid som blant annet bærer genet man ønsker å skyte inn. Den homologe rekombinering skjer etter ko-transfektering av adenoviruset og plasmidet i en egnet cellelinje. Den benyttede cellelinje må fortrinnsvis
(i) være transformerbart av de nevnte elementer og
(ii) bære sekvenser som er i stand til å komplementere delen av genomet av det defektive adenovirus, fortrinnsvis i integrert form for å unngå rekombineringsrisiki.
Som eksempel på cellelinje kan nevnes den humane 293 embryonyrelinje (Graham et al., "J.Gen.Virol." 36 (1977) 59) som særlig, integrert i genomet, inneholder den venstre del av genomet til Ad5-adenoviruset (12 %).

Deretter gjenvinnes de oppnådde vektorer og de renses i henhold til klassiske teknikker i molekylærbiologien.

Foreliggende oppfinnelse muliggjør et farmasøytisk preparat omfattende en tilstrekkelig mengde av et defektivt, rekombinant virus som beskrevet ovenfor, i en form tilpasset okulær anvendelse.

Særlig kan det defektive rekombinantvirus foreligge i form av en injiserbar oppløsning, en collyre, oftalmisk pommade og så videre. De farmasøytisk akseptable bærere for slike formuleringer tilpasset okulær anvendelse er særlig saltoppløsninger (mononatriumfosfat, dinatriumfosfat, natrium-, kalium-, kalsium- eller magnesiumklorid og så videre, eller blandinger av slike salter), vaselin, vaselinolje og så videre.

Når det gjelder collyrer eller oftalmiske pomader, skal det være klart at den terapeutiske anvendelse kan være ytterligere begrenset på grunn av en for lav diffusjon av det defektive rekombinantvirus.

Ved deres anvendelse for behandling av okulære patologier kan de defektive

rekombinantviruser administres i henhold til forskjellige metoder og særlig ved subretinal injeksjon, eventuelt etter en vitrektomi, eller ved intravenøs, enkel eller multippel injeksjon (se figur 1). Den subretinale injeksjon kan gjennomføres selektivt i forskjellige rom av øyet og særlig kan injeksjonen gjennomføres i glassvæsken, i det fremre kammer eller i de retrobulbære rom. De resultater som presenteres i foreliggende søknad viser at disse forskjellige injeksjonsmetoder tillater på rettet måte å infisere de forskjellige vev i øyet og særlig det korneale endotelium, fotoreseptorcellen, de bipolare cellene, de ganglionære celler eller også de okulomotoriske muskelceller.

Virusdosene som benyttes for injeksjonen kan tilpasses som funksjon av forskjellige parametere og særlig som en funksjon av den benyttede administreringsvei, den angjeldende patologi, genet som skal uttrykkes eller også den tilsiktede behandlingsvarighet. Generelt formuleres og administreres de rekombinante adenoviruser ifølge oppfinnelsen i form av doser mellom 10^4 og 10^{14} pfu/ml og fortrinnsvis 10^6 til 10^{10} pfu/ml. Uttrykket pfu ("plaque forming unity") tillater den infektive evne for en virusoppløsning og bestemmes ved infeksjon av en egnet cellekultur og måling, generelt etter 48 timer, av antallet infekterte plater av celler. Bestemmelsesteknikkene for pfu-verdien for en viral oppløsning er godt dokumentert i litteraturen.

Tatt i betraktning ekspresjonsstabiliteten til genet som innskytes i målcellen tillater oppfinnelsen å behandle hovedandelen av de okulære potologier med få injeksjoner.

Foreliggende oppfinnelse muliggjør således et meget effektivt middel for behandling av okulære patologier og særlig slike der mekanismene er påvist på det molekylære nivå. Særlig er implikasjon av gener påvist i gyrert atrofi, Norries' sykdom ("Hum.Mol.Genet." 1(7)(1992)461), ved retina-degenerering ("Bowes et al.", PNAS 86 (1989) 9722), ved Lebers' sykdom, ved choroïdermier (Cremers et al., "Nature" 347 (1990) 674), ved degenerering av fotoreseptorcellene, ved pigmentær retinit, albinisme, Kearns-Sayre-syndromet (Shoffner et al. "PNAS" 86 (1989) 7952), og så videre. Oppfinnelsen kan likeledes benyttes for behandling av endringer av cornea som et resultat av inflammatoriske sykdommer, postinflammatoriske retinaskader og så videre. Foreliggende oppfinnelse muliggjør også terapi med proteiner eller peptider hvis anvendelse ved klassiske administrasjonsmåter er meget hypotetiske på grunn av deres sterke sensibilitet overfor nedbrytningsmekanisme og organismens eliminering, og problemer forbundet med penetrering inn i cellene. Anvendelsen av virus ifølge oppfinnelsen tillater direkte, i det indre av målcellepopulasjonen, å eksprimere det

ønskede polypeptid eller protein, noe som ikke har vært mulig med de ovenfor nevnte mekanismer.

Totaliteten av resultatene som angis ifølge foreliggende søknad viser mer spesielt at de rekombinante adenoviruser, defektive for replikering, utgjør spesielt interessante vektorer for overføring av gener in vivo til okulærceller. De oppnådde erfaringer viser muligheten for en langtidsstabil ekspresjon av gener i cellene. Særlig er en stabil ekspresjon observert 50 dager etter injeksjonen. Videre utgjør det brede ekspresjonsspektrum i de forskjellige okulære celler likeledes et spesielt interessant resultat idet praktisk talt alle retina-sykdommer (særlig pigmentøs retinit) påvirker en stor overflate av retina.

Videre kan behandlingen gjennomføres både på mennesker og på dyr som sau og geit, kveg, husdyr som hunder og katter, hester, fisk og så videre.

Foreliggende oppfinnelse omfatter anvendelse av et defektivt, rekombinant adenovirus inneholdende et innskutt gen for fremstilling av et farmasøytisk preparat ment for behandling av okulære patologier.

Oppfinnelsen skal beskrives nærmere nedenfor ved hjelp av ikke-begrensende eksempler.

Figurforklaring:

Figur 1: Skjematisk snitt gjennom øyet: C = cornea; AC = antékammere; L = linsen; V = glassvæsken; I = iris; ON = optisk nerve; R = retrobulbært rom.

Konstruksjon av en defektiv rekombinant adenovirus (Ad.RSVßGal):

Den generelle prosedyre som beskrives fremstilling av rekombinante adenoviruser er beskrevet i den generelle del av beskrivelsen.

Adenoviruset Ad.RSVßGal er et defektivt, rekombiannt adenovirus (berøvet område E1 og E3), oppnådd ved homolog rekombinering in vivo mellom det mutante adenovirus Ad-d1324 (Thimmappaya et al., "Cell", 31 (1982) 543) og plasmidet pAd.RSVßGal (Akli et al. 1993).

Plasmidet pAd.RSVßGal inneholder i retningen 5' → 3':

- fragmentet PvuII tilsvarende den venstre ekstremitet av adenovirus Ad5 omfattende: ITR-sekvensen, replikasjonsopprinnelsen, enkapsideringssignalet og forsterkeren E1A;
- genet som koder for ß-galactosidase under kontroll av promoteren RSV (Rous-sarcom-virus),
- et andre genom-fragment av adenovirus Ad5 som tillater homolog rekombinering mellom plasmid pAd.RSVßGal og adenovirus d1324.

Etter linearisering med ClaI-enzymet blir plasmid pAd.RSVßGal og adenovirus d1324 ko-transfektert i linje 293 i nærvær av kalsiumfosfatet for å tillate homolog rekombinering. De rekombinante adenoviruser som på denne måte omdannes seleksjoneres ved platerensing. Etter isolering blir DNA fra det rekombinante adenovirus forsterket i cellelinje 293, noe som fører til en kultursupernatant inneholdende ikke-renset rekombinant, defektivt adenovirus med en titer på ca. 10^{10} pfu/ml.

De virale partikler renses generelt ved sentrifugering på ceciumklorid-gradient i henhold til i og for seg kjente teknikker (se særlig Graham et al., "Virology" 52 (1973) 456). Adenovirus Ad.RSVßGal oppbevares ved -80°C i 20 % glycerol. Før injeksjon blir adenovirus-suspensjonen fortynnet til tredjedelen i en PBS-fosfatbuffer.

In vivo injeksjon

- Protokoll

3 til 7 uker gamle C57B1/6-mus anestetiseres med avertin. I hvert øye injiseres det deretter 10^7 til 10^8 pfu rekombinant adenovirus Ad.RSVßGal i antekammeret, i glassvæsken eller i de retrobulbære rom (se figur 1). Dyrene avlives 7 til 50 dager etter

injeksjonen ved cervical dislokasjon og øyet skjæres ut og fikseres i flytende nitrogen. Sagital- og korronalsnitt på 10 til 15 µm tas i krystat og farves deretter i nærvær av X-gal for å avdekke ß-galctosidase-aktivitet som kan visualiseres ved opptreden av en blåfarving i infekterte cellekjerner, og kontrafarving med hemotoxylin og eosin.

- Injeksjon i antekammeret

Etter injeksjon av 10^8 pfu adenovirus Ad.RSVßGal i antekammeret er det kun cellene fra det endoteliale sjikt som viser ß-galactosidase-aktivitet. I motsetning til dette viser de epiteliale eller stroma-celler slett ingen farving etter en slik injeksjon. Videre er de markerte (infekterte) celler fordelt regelmessig i det endoteliale sjikt uansett tidspunktet for administrering. Dette resultat viser at foreliggende oppfinnelse tillater å transferer og eksprimere et gen i de endoteliale celler i øyet.

- Intravenøse injeksjoner

Det ble likeledes gjennomført intravenøse injeksjoner med det formål å infektere forskjellige typer retinaceller. I motsetning til den enhetlige fordeling i de endoteliale celler etter injeksjon i antekammer-rommet, er fordelingen av positive (infekterte) celler etter intravenøs injeksjon begrenset til det hemi-retina som tilsvarer injeksjonspunktet. Den betydelige dimensjon av linsen og viskositetsegenskapene for glassvæsken kan forklare denne begrensede ekspresjon. Når imidlertid temporale og nasale injeksjoner gjennomføres samtidig blir cellene i de to hemiretina-områder infektert. Dette resultat viser således at det er mulig å overføre og å eksprimere et gen i retina. Det viser likeledes at det, alt etter patologi som skal behandles og særlig i henhold til fordelingen på retina, er mulig å styre denne overføring på kun et hemiretina.

Tre nukleære sjikt tilsvarende de ganglionære, bipolare og fotoreseptor-celler oppviser likeledes en intens farving i tre uker (det tidspunkt fra hvilket retina-utviklingen er avsluttet), samt hos voksne mus. På tross av nærværet av signalet som tillater den nukleære lokalisering av LacZ-proteinet er markeringen (og således infeksjonen) av visse celler i injeksjonssetet så intens at farvingen diffuserer i cytoplasma. Av denne grunn blir nervefibersjiktet som tilsvarer aksonene for de markerte kjerner (som konvergerer for å danne øyenerven) markert på homogen måte.

En sluttanalyse av de forskjellige retina cellesjikt tilveiebringer ingen signifikant forringelse i tykkelsen. Videre blir hodet av øyenerven ikke endret uansett forhøyede adenovirusdoser (10^7 pfu).

- Injeksjon i det retrobulbære rom

For å bedømme muligheten for en virusdiffusjon gjennom sklera ble musene injisert i det retrobulbære rom. I motsetning til retina-farvingen ble ca. 100 % av fibrene i de fire okulomotoriske muskler infektert og viste ß-galactosidase-aktivitet.

Alle disse resultater viser klart at de rekombinante adenoviruser, defektive for replikeringen, utgjør spesielt interessante vektorer for overføring av gener in vivo i okulære celler.

Patentkrav

1.
Anvendelse av et defektivt, rekombinant adenovirus inneholdende et innskutt gen for fremstilling av et farmasøytisk preparat ment for behandling av okulære patologier.

2.
Anvendelse ifølge krav 1, k a r a k t e r i s e r t v e d at det defektive, rekombinante adenovirus er berøvet områdene i sitt genom som er nødvendige for replikering i den infekterte celle.

3.
Anvendelse ifølge krav 1 eller 2, k a r a k t e r i s e r t v e d at det defektive, rekombinante adenovirus er et adenovirus av typen Ad 2.

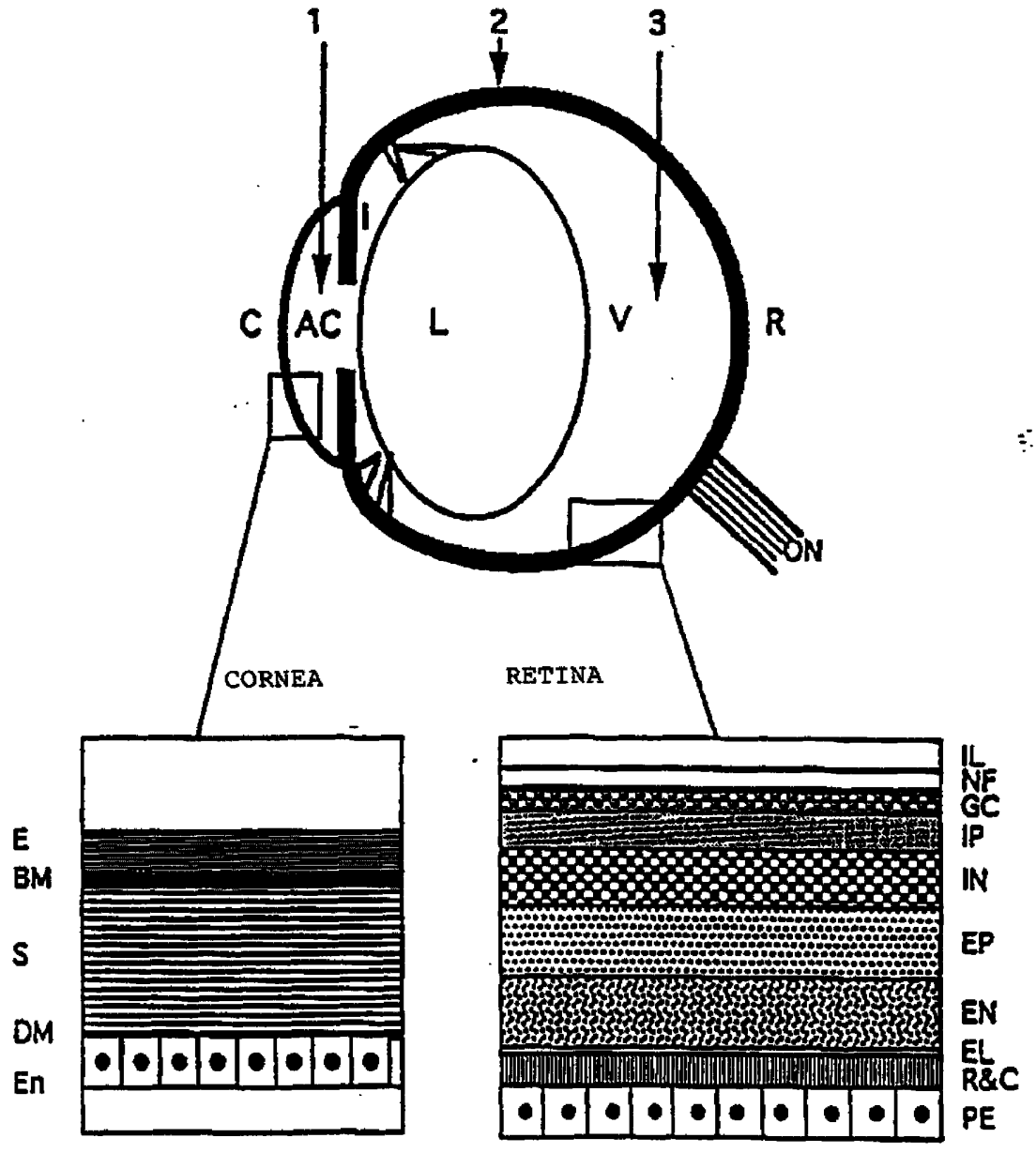
4.
Anvendelse ifølge krav 1 eller 2, k a r a k t e r i s e r t v e d at det defektive, rekombinante adenovirus er et adenovirus av typen Ad 5.

5.
Anvendelse ifølge et av kravene 1 til 4, k a r a k t e r i s e r t v e d at det innskutte gen omfatter sekvenser som tillater dets ekspresjon i den infekterte celle.

6.
Anvendelse ifølge et av kravene 1 til 5, k a r a k t e r i s e r t v e d at det innskutte gen koder for et protein eller et fragment av proteinet.

7.
Anvendelse ifølge et av kravene 1 til 5, k a r a k t e r i s e r t v e d at det innskutte gen er en antiretningssekvens.

8.
Anvendelse ifølge krav 1 for fremstilling av et farmasøytisk preparat ment for behandling av arvelige patologier som pigmentær retinitt.


1
2
3
C
AC
I
L
V
R
ON
CORNEA
RETINA
E
BM
S
DM
En
IL
NF
GC
IP
IN
EP
EN
EL
R&C
PE

FIGUR 1