

(19)日本国特許庁(JP)

(12) **公表特許公報(A)**

(11)公表番号

特表2025-510150
(P2025-510150A)

(43)公表日 令和7年4月14日(2025.4.14)

(51)国際特許分類		F I		テーマコード (参考)	
A 6 1 K	35/76 (2015.01)	A 6 1 K	35/76	4 C 0 8 4	
A 6 1 P	25/16 (2006.01)	A 6 1 P	25/16	4 C 0 8 5	
A 6 1 K	48/00 (2006.01)	A 6 1 K	48/00	4 C 0 8 6	
A 6 1 K	49/10 (2006.01)	A 6 1 K	49/10	4 C 0 8 7	
A 6 1 K	49/22 (2006.01)	A 6 1 K	49/22	4 C 2 0 6	
		審査請求	未請求	予備審査請求	未請求 (全178頁) 最終頁に続く
(21)出願番号	特願2024-556470(P2024-556470)	(71)出願人	520375033		
(86)(22)出願日	令和5年3月24日(2023.3.24)		アスクバイオ インコーポレイテッド		
(85)翻訳文提出日	令和6年11月21日(2024.11.21)		アメリカ合衆国 ノースカロライナ 2 7		
(86)国際出願番号	PCT/US2023/016270		7 0 9, リサーチ トライアングル パ		
(87)国際公開番号	WO2023/183594		ーク, ティー. ダブリュー. アレクサ		
(87)国際公開日	令和5年9月28日(2023.9.28)		ンダー ドライブ 2 0, スイート 1 1 0		
(31)優先権主張番号	63/323,830	(74)代理人	100078282		
(32)優先日	令和4年3月25日(2022.3.25)		弁理士 山本 秀策		
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)	(74)代理人	100113413		
			弁理士 森下 夏樹		
(31)優先権主張番号	63/326,236	(74)代理人	100181674		
(32)優先日	令和4年3月31日(2022.3.31)		弁理士 飯田 貴敏		
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)	(74)代理人	100181641		
			弁理士 石川 大輔		
(31)優先権主張番号	63/341,841	(74)代理人	230113332		
最終頁に続く		最終頁に続く			

(54) 【発明の名称】 パーキンソン病の処置のための方法および組成物

(57) 【要約】

本開示の態様は、パーキンソン病を処置するために有用な組成物および方法に関する。一部の実施形態では、本開示は、GDNF 核酸配列を含むウイルスベクターの投与を含む、パーキンソン病を処置するための方法を提供する。一部の実施形態では、投与は、対象の被殻に局所的である。一部の実施形態では、投与は、例えば、CNS または PNS において細胞を優先的に標的とするために、例えば、改変されたウイルスカプシドを含むウイルスベクターを介して、全身的である。

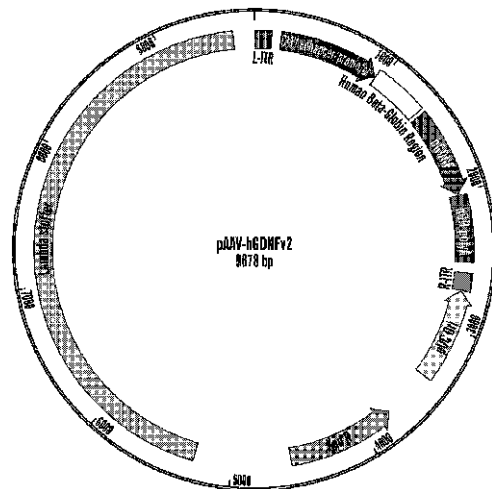


FIG. 26

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

それを必要とする対象におけるパーキンソン病（PD）の進行を減速または阻害する方法であって、前記方法が、

プロモーターに作動可能に連結されたグリア細胞系由来神経栄養因子（GDNF）導入遺伝子を含む組換えアデノ随伴ウイルス（rAAV）を前記対象に導入することを含み、

前記対象の被殻の体積の少なくとも30%が、前記GDNF導入遺伝子で形質導入され、

前記対象が、導入する前と比較して、前記導入した後少なくとも6か月間、PD関連症状の増加を示さない、

方法。

【請求項 2】

前記rAAVが、全身的導入を介して導入される、請求項1に記載の方法。

【請求項 3】

前記rAAVが、局所的導入を介して導入される、請求項1に記載の方法。

【請求項 4】

局所的導入が、前記対象の被殻への直接的な導入である、請求項3に記載の方法。

【請求項 5】

前記局所的導入が、前記rAAVを前記対象の被殻のそれぞれに直接的に導入することを含む、請求項3または4に記載の方法。

【請求項 6】

前記局所的導入が、非侵襲的イメージングと同時に進行される、請求項3～5のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 7】

前記非侵襲的イメージングが、術中磁気共鳴画像法（iMRI）ガイド対流増強送達（CED）、超音波、コンピュータ断層撮影（CT）；機能的磁気共鳴画像法（fMRI）；陽電子放射断層撮影（PET）；脳波記録法（EEG）；脳磁気図検査（MEG）；機能的近赤外線分光法（fNIRS）；およびそれらの組合せからなる群から選択される、請求項6に記載の方法。

【請求項 8】

前記局所的導入が、前記rAAVベクターの約半分を、術中磁気共鳴画像法（iMRI）ガイド対流増強送達（CED）を介して、それぞれの被殻に導入することを含む、請求項3～7のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 9】

局所的導入が、前記AAVベクターと実質的に同時に、MRI造影剤を導入することをさらに含む、請求項3～8のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 10】

前記MRI造影剤が、ガドテリドールである、請求項8に記載の方法。

【請求項 11】

前記MRI造影剤が、前記rAAVと同じ組成物において前記対象に導入される、請求項9または10に記載の方法。

【請求項 12】

前記MRI造影剤が、前記rAAVと異なる組成物において前記対象に導入される、請求項9または10に記載の方法。

【請求項 13】

前記rAAVが、全身的導入を介して導入される、請求項1に記載の方法。

【請求項 14】

前記被殻の形質導入および／またはカバレッジが、磁気共鳴画像法を介して評価される、請求項1～13のいずれかに記載の方法。

10

20

30

40

50

【請求項 15】

前記対象の被殻の体積の少なくとも40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%またはそれよりも多くが、前記GDNF導入遺伝子で形質導入される、請求項1～14のいずれかに記載の方法。

【請求項 16】

前記対象が、前記導入する前と比較して、前記導入した直後少なくとも12か月間、PD関連症状の実質的な増加を示さない、請求項1～15のいずれかに記載の方法。

【請求項 17】

前記対象が、導入する前と比較して、前記導入した直後少なくとも6か月またはそれよりも長い間、PD関連症状の減少を示す、請求項1～15のいずれかに記載の方法。

10

【請求項 18】

前記対象が、導入する前と比較して、前記導入した直後少なくとも12か月またはそれよりも長い間、PD関連症状の減少を示す、請求項1～15のいずれかに記載の方法。

【請求項 19】

前記対象が、導入前に、32未満である初期運動障害学会統一パーキンソン病評価尺度(MDS-UPDRS)スコアを有する、請求項1に記載の方法。

【請求項 20】

前記対象におけるパーキンソン病の前記進行を前記減速または阻害することが、前記初期MDS-UPDRSスコアよりも実質的に高くない、前記導入した直後6か月の第2のMDS-UPDRSスコアによって特徴付けられる、請求項19に記載の方法。

20

【請求項 21】

前記対象におけるパーキンソン病の前記進行を前記減速または阻害することが、前記初期MDS-UPDRSスコアよりも実質的に高くない、前記導入した直後約12か月の第2のMDS-UPDRSスコアによって特徴付けられる、請求項19または20に記載の方法。

【請求項 22】

前記対象が、導入前に、32よりも高いまたはそれに等しい初期MDS-UPDRSスコアを有する、請求項1に記載の方法。

【請求項 23】

前記対象が、導入する前と比較して、前記導入した直後少なくとも6か月間、前記初期MDS-UPDRSスコアの減少を示す、請求項22に記載の方法。

30

【請求項 24】

前記対象におけるパーキンソン病の前記進行を前記減速または阻害することが、前記初期MDS-UPDRSスコアよりも少なくとも約20%低い、前記導入した直後約6か月の第2のMDS-UPDRSスコアによって特徴付けられる、請求項22または23に記載の方法。

【請求項 25】

前記対象におけるパーキンソン病の前記進行を前記減速または阻害することが、前記初期MDS-UPDRSスコアよりも少なくとも約30%低い、前記導入した直後約12か月の第2のMDS-UPDRSスコアによって特徴付けられる、請求項21～23のいずれか一項に記載の方法。

40

【請求項 26】

導入する前に、前記対象についての初期MDS-UPDRSスコアを決定することをさらに含む、請求項1に記載の方法。

【請求項 27】

導入する前に、前記対象についての初期MDS-UPDRSスコアを提供するアッセイの結果を受け取ることをさらに含む、請求項1に記載の方法。

【請求項 28】

前記対象におけるPDの進行を減速または阻害することが、導入後の初期MDS-UPDRSスコアの低減によって特徴付けられる、請求項1に記載の方法。

50

【請求項 29】

前記低減が、導入6か月後、前記初期MDS－UPDRSスコアの少なくとも20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%またはそれよりも大きい低減である、請求項28に記載の方法。

【請求項 30】

前記低減が、導入12か月後、前記初期MDS－UPDRSスコアの少なくとも20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%またはそれよりも大きい低減である、請求項28に記載の方法。

【請求項 31】

前記対象におけるPDの進行を減速または阻害することが、導入後の初期MDS－UPDRSスコアの安定化によって特徴付けられる、請求項1に記載の方法。

10

【請求項 32】

前記安定化が、前記初期MDS－UPDRSスコアの10%以下の増加または減少によって特徴付けられる、請求項31に記載の方法。

【請求項 33】

安定化が、少なくとも6か月またはそれよりも長い間起こる、請求項31または32に記載の方法。

【請求項 34】

前記対象が、PDによって軽度の影響を受けている、請求項1に記載の方法。

【請求項 35】

PDによって軽度の影響を受けている前記対象が、rAAVの前記導入前に、32未満の初期MDS－UPDRSスコアを有し、前記導入前5年未満に、PDと診断された、請求項34に記載の方法。

20

【請求項 36】

前記導入前に、前記対象をPDによって軽度の影響を受けていると診断することをさらに含む、請求項1に記載の方法。

【請求項 37】

前記導入前に、前記対象をPDによって軽度の影響を受けていると診断するアッセイの結果を受け取ることをさらに含む、請求項1に記載の方法。

【請求項 38】

前記対象が、PDによって中度の影響を受けている、請求項1に記載の方法。

30

【請求項 39】

PDによって中度の影響を受けている前記対象が、rAAVの前記導入前に、32に等しいまたはそれよりも高い初期MDS－UPDRSスコアを有し、前記導入前4年未満に、PDと診断された、請求項38に記載の方法。

【請求項 40】

前記導入前に、前記対象をPDによって中度の影響を受けていると診断することをさらに含む、請求項1に記載の方法。

【請求項 41】

導入前に、前記対象をPDによって中度の影響を受けていると診断するアッセイの結果を受け取ることをさらに含む、請求項1に記載の方法。

40

【請求項 42】

前記プロモーターが、サイトメガロウイルス（CMV）プロモーターである、請求項1に記載の方法。

【請求項 43】

前記プロモーターが、神経系（NS）または中枢神経系（CNS）特異的プロモーターである、請求項1に記載の方法。

【請求項 44】

前記NS特異的プロモーターが、表1のNS特異的プロモーターから選択される、請求項43に記載の方法。

50

【請求項 45】

前記 CNS 特異的プロモーターが、表 2 の CNS 特異的プロモーターから選択される、請求項 43 に記載の方法。

【請求項 46】

前記 GDNF 導入遺伝子が、配列番号 1 の配列、または配列番号 1 に対して少なくとも 85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99% もしくはそれよりも高い程度、同一である機能的バリエーションを含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 47】

前記 rAAV が、AAV1、AAV2、AAV3、AAV3b、AAV4、AAV5、AAV6、AAV7、AAV8、AAV9、AAV10、AAV11、AAV12、Rh10、またはその有理単数体である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 48】

前記 rAAV が、AAV2 である、請求項 47 に記載の方法。

【請求項 49】

前記 rAAV が、脳特異的向性を示す、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 50】

前記 rAAV が、その脳特異的向性を増加させる改変を含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 51】

脳特異的向性が、改変されていない AAV と比較して、少なくとも 20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95% またはそれよりも大きく増加している、請求項 50 に記載の方法。

【請求項 52】

前記 rAAV が、 5×10^{12} v g $\sim$ 約 1.5×10^{13} v g の範囲内の総用量で導入される、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 53】

前記総用量の約 2 分の 1 分が、前記対象の被殻のそれぞれに投与される、請求項 52 に記載の方法。

【請求項 54】

導入することが、約 $1 \mu\text{L} / \text{分}$ $\sim$ 約 $30 \mu\text{L} / \text{分}$ の流速で行われる、請求項 3 に記載の方法。

【請求項 55】

前記 rAAV が、前記 rAAV および薬学的に許容される担体を含む液体組成物として導入される、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 56】

前記液体組成物が、約 3×10^{12} v g / mL $\sim$ 約 4×10^{12} v g / mL の rAAV 濃度を有する、請求項 55 に記載の方法。

【請求項 57】

前記対象が、前記 rAAV の前記導入前に、少なくとも 1 つの抗 PD 治療薬を投与される、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 58】

前記対象が、前記 rAAV の前記導入前および後に、少なくとも 1 つの抗 PD 治療薬を投与される、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 59】

前記少なくとも 1 つの抗 PD 治療薬が、レボドパ、Sinemet、Rytary、Stalevo、アマンタジン、プラミペキソール、ロチゴチン、ロピニロール、アポモルヒネ、エンタカボンからなる群から選択される、請求項 57 または 58 に記載の方法。

【請求項 60】

前記対象が、導入後、前記少なくとも 1 つの抗 PD 治療薬の用量を維持するか、または減少する、請求項 57 $\sim$ 59 のいずれか一項に記載の方法。

10

20

30

40

50

【請求項 6 1】

前記少なくとも 1 つの抗 PD 治療薬の前記用量が、少なくとも 5 %、10 %、15 %、20 %、25 %、30 %、35 %、40 %、45 %、50 % またはそれよりも大きく減少する、請求項 6 0 に記載の方法。

【請求項 6 2】

それを必要とする対象におけるパーキンソン病（PD）の進行を減速または阻害する方法であって、前記方法が、

プロモーターに作動可能に連結されたグリア細胞系由来神経栄養因子（GDNF）導入遺伝子を含む組換えアデノ随伴ウイルス（rAAV）ベクターを前記対象の被殻に局所的に導入すること

を含み、

前記対象の被殻の体積の少なくとも 30 % が、前記 GDNF 導入遺伝子で形質導入される、

方法。

【請求項 6 3】

それを必要とする対象における PD の進行を減速または阻害する方法であって、前記方法が、

グリア細胞系由来神経栄養因子（GDNF）導入遺伝子で、前記対象の被殻の体積の約 30 % よりも大きいまたはそれに等しい割合に形質導入すること

を含み、

前記対象が、前記導入した後少なくとも 6 か月間、PD 関連症状の実質的な増加を示さない、

方法。

【請求項 6 4】

前記形質導入することが、前記 GDNF 導入遺伝子を含む rAAV を前記対象の被殻のそれぞれに投与することによって行われる、請求項 6 3 に記載の方法。

【請求項 6 5】

パーキンソン病（PD）を有する対象における初期運動障害学会統一パーキンソン病評定尺度パート（MDS-UPDRS）スコアを低減または安定化する方法であって、前記方法が、

プロモーターに作動可能に連結されたグリア細胞系由来神経栄養因子（GDNF）導入遺伝子を含む組換えアデノ随伴ウイルス（rAAV）を前記対象の被殻に投与すること

を含み、

前記対象が、投与する前の前記対象の初期 MDS-UPDRS スコアと比較して、減少または安定化した、投与後 6 か月での第 2 の MDS-UPDRS スコアを有する、

方法。

【請求項 6 6】

投与する前に、前記対象から、初期 MDS-UPDRS スコアを入手するまたは受け取るステップをさらに含む、請求項 6 5 に記載の方法。

【請求項 6 7】

前記第 2 の MDS-UPDRS スコアが、投与した 12 か月後に、前記初期 MDS-UPDRS スコアと比較して、少なくとも 20 %、30 %、40 %、50 %、60 %、70 %、80 %、90 %、95 % またはそれよりも大きく減少する、請求項 6 5 に記載の方法。

【請求項 6 8】

安定化が、前記初期 MDS-UPDRS スコアの 10 % 以下の増加または減少である、請求項 6 5 に記載の方法。

【請求項 6 9】

パーキンソン病（PD）によって軽度の影響を受けている対象を処置する方法であって、前記方法が、

10

20

30

40

50

プロモーターに作動可能に連結されたグリア細胞系由来神経栄養因子（GDNF）導入遺伝子を含む組換えアデノ随伴ウイルス（rAAV）を前記対象の被殻のそれぞれに投与すること

を含み、

前記対象の被殻の少なくとも30%が、前記GDNF導入遺伝子で形質導入され、

前記対象が、初期MDS-UPDRSスコアと比較して、安定化された、投与した後6か月での第2のMDS-UPDRSスコアを有する、

方法。

【請求項70】

前記対象が、投与する前の前記初期MDS-UPDRSスコアと比較して、安定化された、投与した後12か月でのMDS-UPDRSスコアを有する、請求項69に記載の方法。

10

【請求項71】

安定化が、前記初期MDS-UPDRSスコアの10%以下の増加または減少である、請求項69または70に記載の方法。

【請求項72】

パーキンソン病（PD）によって中度の影響を受けている対象を処置する方法であって、前記方法が、

プロモーターに作動可能に連結されたグリア細胞系由来神経栄養因子（GDNF）導入遺伝子を含む組換えアデノ随伴ウイルス（AAV）を前記対象の被殻のそれぞれに投与すること

20

を含み、

前記対象の被殻の少なくとも30%が、前記GDNF導入遺伝子で形質導入され、

前記対象が、初期MDS-UPDRSスコアよりも少なくとも約20%低い投与した後6か月での第2のMDS-UPDRSスコアを有する、

方法。

【請求項73】

前記低減が、前記初期MDS-UPDRSスコアと比較して、少なくとも30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%またはそれよりも大きい、請求項72に記載の方法。

30

【請求項74】

それを必要とする対象におけるパーキンソン病（PD）の進行を減速または阻害する方法であって、前記方法が、

プロモーターに作動可能に連結されたグリア細胞系由来神経栄養因子（GDNF）導入遺伝子を含む組換えアデノ随伴ウイルス（rAAV）ベクターを前記対象の被殻のそれぞれに局所的に導入すること；および

前記rAAVと実質的に同時に、MRI造影剤を前記対象の被殻のそれぞれに局所的に導入すること

を含み、

前記対象の被殻の体積の少なくとも30%が、前記導入遺伝子で形質導入され、

40

前記対象が、導入する前と比較して、前記導入した直後少なくとも6か月間、PD関連症状の実質的な増加を示さない、

方法。

【請求項75】

それを必要とする対象におけるパーキンソン病（PD）の進行を減速または阻害する方法であって、前記方法が、

プロモーターに作動可能に連結されたグリア細胞系由来神経栄養因子（GDNF）導入遺伝子を含む組換えアデノ随伴ウイルス（rAAV）を前記対象に導入すること

を含み、

前記対象の被殻の体積の少なくとも30%が、前記GDNF導入遺伝子で形質導入され

50

、

前記対象が、導入する前と比較して、前記導入した直後少なくとも6か月間、PD関連症状の実質的な増加を示さない、方法。

【請求項76】

対象におけるパーキンソン病（PD）の進行を減速または阻害するための組成物であって、前記組成物が、

プロモーターに作動可能に連結されたグリア細胞系由来神経栄養因子（GDNF）導入遺伝子を含むゲノムを含む組換えアデノ随伴ウイルス（rAAV）；および

薬学的に許容される担体を含む、組成物。

【請求項77】

1mLあたり 3×10^{12} vg～ 4×10^{12} vgのrAAV濃度を有する、請求項76に記載の組成物。

【請求項78】

1mLあたり 3.3×10^{12} vgのrAAV濃度を含む、請求項76に記載の組成物。

【請求項79】

対象におけるパーキンソン病（PD）の進行を減速または阻害するための製剤であって、前記製剤が、薬学的に許容される担体の1mLあたり 3×10^{12} vg～ 4×10^{12} vgの濃度のアデノ随伴ウイルス（AAV）を含み、前記rAAVが、プロモーターに作動可能に連結されたグリア細胞系由来神経栄養因子（GDNF）導入遺伝子を含むゲノムを含む、製剤。

【請求項80】

前記対象が、前記導入または投与した直後少なくとも6か月間、任意の重篤な有害事象を示さない、いずれかの先行する請求項に記載の方法。

【請求項81】

対象におけるパーキンソン病（PD）の進行を減速、阻害もしくは安定化する方法、または軽度の形態のPDを有する対象を処置する方法のための医薬の調製における、プロモーターに作動可能に連結されたグリア細胞系由来神経栄養因子（GDNF）、以後GDNF導入遺伝子、をコードする核酸を含む組換えアデノ随伴ウイルス（rAAV）の使用であって、

被殻の体積の少なくとも30%が、前記GDNF導入遺伝子で形質導入され、前記対象が、前記医薬の導入前と比較して、前記導入直後少なくとも6か月間、PD関連症状の増加を示さない、使用。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願への相互参照

本出願は、2022年3月25日に出願された米国仮出願第63／323，830号；2022年3月31日に出願された米国仮出願第63／326，236号；2022年5月13日に出願された米国仮出願第63／341，841号；2022年7月28日に出願された米国仮出願第63／393，196号；および2023年1月10日に出願された米国仮出願第63／438，164号に基づき、米国特許法第119条（e）項の下での利益を主張し、それらのそれぞれの内容は、それらの全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【0002】

技術分野

本明細書に記載される技術は、神経疾患または障害、例えば、パーキンソン病を処置するための方法に関する。

【0003】

政府支援

本発明は、本発明のある特定の権利を有する、米国政府の機関である退役軍人省との共同研究開発契約の業績において作出された。

【背景技術】

【0004】

背景

パーキンソン病（PD）は、身体障害および死亡まで10～30年の期間にわたって容赦なく進行する進行性神経変性疾患である。薬物療法、一般には、公知の線条体のドーパミン欠乏の改善を助ける薬物療法は、PDの基本的な運動兆候、すなわち、静止時振戦、硬直、動作緩慢および姿勢保持障害に対する実質的な臨床上の利益を提供することができる。しかしながら、ドーパミン補充および他の内科的治療が、根本的な神経変性プロセスに影響を及ぼさないで、疾患進行は続く。抗パーキンソニズム薬物療法に対する臨床応答は、経時的に減弱し、運動変動、ジスキネジア、および神経精神医学的徴候を含む、各種の薬物関連合併症が続いて起きる。

10

【0005】

脳深部刺激（DBS）は、特異的な基本的運動兆候のための合理的で有効な対症処置の選択肢である。しかしながら、DBSの使用は、外科的埋め込みおよびデバイスのプログラミング、ならびにハードウェア関連の合併症および維持のリスクおよび複雑さに部分的に起因して限定されている。より最近では、Duopaが、重度の運動変動を有するより進行した患者のために承認された。Duopaは、一定の投薬を提供するための、外部ポータブルポンプに接続された胃瘻管を介して投与されるレボドパ／カルビドパ腸内ゲルである。これは頭蓋内手術を回避するが、Duopaは、ストーマ部位を維持する必要性、および外部構成要素を運ぶ不便さを必要とする。Duopaの酸化に起因して、この療法は、16時間／日について承認されており、したがって、一部の患者は、一晩で十分に処置されないままである。

20

【0006】

研究努力は、PDにおける神経変性プロセスの根底にある可能性があるいくつかの潜在的なメカニズムを指し示している。酸化ストレス、ミトコンドリア機能障害および細胞内タンパク質プロセッシングの異常は、一般に仮定されているメカニズムである。実験的療法研究は、神経変性プロセスを減速し、防止し、または反転させる趣旨で、そのような病理学的妨害を是正するように設計されている。GDNFなどの神経栄養因子は、特異的な臨床上の特色を処置するだけでなく、PDの経過を変更する可能性を有する。

30

【0007】

PDは、静止時振戦、硬直、動作緩慢および姿勢保持障害によって特徴付けられる、進行性の多中心性神経変性疾患である。PDの大部分は、特発性疾患であり、2番目に一般的なアルツハイマー病後の神経変性障害である。患者は、うつおよび不安を含む情動性症状ならびに特徴的な運動の特色および運動障害と戦っている。現在、PDに対する治療法は存在せず、治療選択肢は、疾患症状を改善することに限定されている。

40

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【0008】

要旨

本明細書に提供される一態様は、それを必要とする対象におけるパーキンソン病（PD）の進行を減速または阻害する方法であって、プロモーターに作動可能に連結されたグリア細胞系由来神経栄養因子（GDNF）をコードする核酸を含む組換えアデノ随伴ウイルス（rAAV）を対象に導入することを含み、対象の被殻の体積の少なくとも30%が、GDNF遺伝子（導入遺伝子と称される場合がある）で形質導入され、対象が、導入する

50

前と比較して、導入した後少なくとも6か月間、PD関連症状の増加を示さない、方法を記載する。

【0009】

本明細書のいずれかの態様の一実施形態では、rAAVは、全身的導入を介して導入される。

【0010】

本明細書のいずれかの態様の一実施形態では、rAAVは、局所的導入を介して導入される。

【0011】

本明細書のいずれかの態様の一実施形態では、局所的導入は、対象の被殻への直接的な導入である。

【0012】

本明細書のいずれかの態様の一実施形態では、局所的導入は、rAAVを対象の被殻のそれぞれに直接的に導入することを含む。

【0013】

本明細書のいずれかの態様の一実施形態では、局所的導入は、非侵襲的イメージングと同時に行われる。例示的な非侵襲的イメージング技法としては、術中磁気共鳴画像法（iMRI）ガイド対流増強送達（CED）、超音波、コンピュータ断層撮影（CT）；機能的磁気共鳴画像法（fMRI）；陽電子放射断層撮影（PET）；脳波記録法（EEG）；脳磁気図検査（MEG）；機能的近赤外線分光法（fNIRS）；およびそれらの組合せが挙げられる。

【0014】

本明細書のいずれかの態様の一実施形態では、局所的導入は、rAAVベクターの総送達用量の約半分を、術中磁気共鳴画像法（iMRI）ガイド対流増強送達（CED）を介して、それぞれの被殻に導入することを含む。

【0015】

本明細書のいずれかの態様の一実施形態では、局所的導入は、AAVベクターと実質的に同時に、MRI造影剤を導入することをさらに含む。

【0016】

本明細書のいずれかの態様の一実施形態では、MRI造影剤は、ガドテリドールである。

【0017】

本明細書のいずれかの態様の一実施形態では、MRI造影剤は、rAAVと同じ組成物において対象に導入される。本明細書のいずれかの態様の一実施形態では、MRI造影剤は、rAAVと異なる組成物において対象に導入される。

【0018】

本明細書のいずれかの態様の一実施形態では、rAAVは、全身的（例えば、静脈内）導入を介して導入される。

【0019】

本明細書のいずれかの態様の一実施形態では、被殻の形質導入および／またはカバレッジは、磁気共鳴画像法を介して評価される。本明細書のいずれかの態様の一実施形態では、対象の被殻の体積の少なくとも40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%またはそれよりも多くが、GDNF遺伝子で形質導入される。

【0020】

本明細書のいずれかの態様の一実施形態では、対象は、導入する前と比較して、導入した直後少なくとも12か月間、PD関連症状の実質的な増加を示さない。

【0021】

本明細書のいずれかの態様の一実施形態では、対象は、導入する前と比較して、導入した直後少なくとも6か月またはそれよりも長い間、PD関連症状の減少を示す。

【0022】

10

20

30

40

50

本明細書のいずれかの態様の一実施形態では、対象は、導入する前と比較して、導入した直後少なくとも12か月またはそれよりも長い間、PD関連症状の減少を示す。

【0023】

本明細書のいずれかの態様の一実施形態では、対象は、導入前に、32未満である初期運動障害学会統一パーキンソン病評価尺度(MDS-UPDRS)スコアを有する。

【0024】

本明細書のいずれかの態様の一実施形態では、対象におけるパーキンソン病の進行を減速または阻害することは、初期MDS-UPDRSスコアよりも実質的に高くない、導入した直後6か月の第2のMDS-UPDRSスコアによって特徴付けられる。

【0025】

本明細書のいずれかの態様の一実施形態では、対象におけるパーキンソン病の進行を減速または阻害することは、初期MDS-UPDRSスコアよりも実質的に高くない、導入した直後約12か月の第2のMDS-UPDRSスコアによって特徴付けられる。

【0026】

本明細書のいずれかの態様の一実施形態では、対象は、導入前に、32よりも高いまたはそれに等しい初期MDS-UPDRSスコアを有する。

【0027】

本明細書のいずれかの態様の一実施形態では、対象は、導入する前と比較して、導入した直後少なくとも6か月間、初期MDS-UPDRSスコアの減少を示す。

【0028】

本明細書のいずれかの態様の一実施形態では、対象におけるパーキンソン病の進行を減速または阻害することは、初期MDS-UPDRSスコアよりも少なくとも約20%低い、導入した直後約6か月の第2のMDS-UPDRSスコアによって特徴付けられる。

【0029】

本明細書のいずれかの態様の一実施形態では、対象におけるパーキンソン病の進行を減速または阻害することは、初期MDS-UPDRSスコアよりも少なくとも約30%低い、導入した直後約12か月の第2のMDS-UPDRSスコアによって特徴付けられる。

【0030】

本明細書のいずれかの態様の一実施形態では、方法は、導入する前に、対象についての初期MDS-UPDRSスコアを決定することをさらに含む。

【0031】

本明細書のいずれかの態様の一実施形態では、方法は、導入する前に、対象についての初期MDS-UPDRSスコアを提供するアッセイの結果を受け取ることをさらに含む。

【0032】

本明細書のいずれかの態様の一実施形態では、対象におけるPDの進行を減速または阻害することは、導入後の初期MDS-UPDRSスコアの低減によって特徴付けられる。

【0033】

本明細書のいずれかの態様の一実施形態では、低減は、導入6か月後、初期MDS-UPDRSスコアの少なくとも20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%またはそれよりも大きい低減である。

【0034】

本明細書のいずれかの態様の一実施形態では、低減は、導入12か月後、初期MDS-UPDRSスコアの少なくとも20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%またはそれよりも大きい低減である。

【0035】

本明細書のいずれかの態様の一実施形態では、対象におけるPDの進行を減速または阻害することは、導入後の初期MDS-UPDRSスコアの安定化によって特徴付けられる。

【0036】

本明細書のいずれかの態様の一実施形態では、安定化は、初期MDS-UPDRSスコ

10

20

30

40

50

アの10%以下の増加または減少によって特徴付けられる。本明細書のいずれかの態様の一実施形態では、安定化は、少なくとも6か月またはそれよりも長い間起こる。

【0037】

本明細書のいずれかの態様の一実施形態では、対象は、PDによって軽度の影響を受けている。本明細書のいずれかの態様の一実施形態では、PDによって軽度の影響を受けている対象は、rAAVの導入前に、32未満の初期MDS-UPDRSスコアを有し、導入前5年未満に、PDと診断された。

【0038】

本明細書のいずれかの態様の一実施形態では、方法は、導入前に、対象をPDによって軽度の影響を受けていると診断することをさらに含む。

【0039】

本明細書のいずれかの態様の一実施形態では、方法は、導入前に、対象をPDによって軽度の影響を受けていると診断するアッセイの結果を受け取ることをさらに含む。

【0040】

本明細書のいずれかの態様の一実施形態では、対象は、PDによって中度の影響を受けている。本明細書のいずれかの態様の一実施形態では、PDによって中度の影響を受けている対象は、rAAVの導入前に、32に等しいまたはそれよりも高い初期MDS-UPDRSスコアを有し、導入前4年未満に、PDと診断された。

【0041】

本明細書のいずれかの態様の一実施形態では、方法は、導入前に、対象をPDによって中度の影響を受けていると診断することをさらに含む。

【0042】

本明細書のいずれかの態様の一実施形態では、方法は、導入前に、対象をPDによって中度の影響を受けていると診断するアッセイの結果を受け取ることをさらに含む。

【0043】

本明細書のいずれかの態様の一実施形態では、プロモーターは、サイトメガロウイルス(CMV)プロモーターである。

【0044】

本明細書のいずれかの態様の一実施形態では、プロモーターは、神経系(NS)または中枢神経系(CNS)特異的プロモーターである。本明細書のいずれかの態様の一実施形態では、NS特異的プロモーターは、表1のNS特異的プロモーターから選択される。本明細書のいずれかの態様の一実施形態では、CNS特異的プロモーターは、表2のCNS特異的プロモーターから選択される。

【0045】

本明細書のいずれかの態様の一実施形態では、核酸は、配列番号1の配列、または配列番号1に対して少なくとも85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99%もしくはそれよりも高い程度、同一である機能的バリエーションを含む。

【0046】

本明細書のいずれかの態様の一実施形態では、rAAVは、AAV1、AAV2、AAV3、AAV3b、AAV4、AAV5、AAV6、AAV7、AAV8、AAV9、AAV10、AAV11、AAV12、Rh10、またはその有理単数体(rational haploid)である。本明細書のいずれかの態様の一実施形態では、rAAVは、AAV2である。

【0047】

本明細書のいずれかの態様の一実施形態では、rAAVは、脳特異的向性を示す。本明細書のいずれかの態様の一実施形態では、rAAVは、その脳特異的向性を増加させる改変を含む。本明細書のいずれかの態様の一実施形態では、脳特異的向性は、改変されていないAAVと比較して、少なくとも20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%またはそれよりも大きく増加している。

10

20

30

40

50

【0048】

本明細書のいずれかの態様の一実施形態では、 $rAAV$ は、 $5 \times 10^{12} \text{ v g} \sim$ 約 $1.5 \times 10^{13} \text{ v g}$ の範囲内の総用量で導入される。

【0049】

本明細書のいずれかの態様の一実施形態では、総用量の約2分の1が、対象の被殻のそれぞれに投与される。

【0050】

本明細書のいずれかの態様の一実施形態では、導入することは、約 $1 \mu\text{L} / \text{分} \sim$ 約 $30 \mu\text{L} / \text{分}$ の流速で行われる。

【0051】

本明細書のいずれかの態様の一実施形態では、 $rAAV$ は、 $rAAV$ および薬学的に許容される担体を含む液体組成物として導入される。

【0052】

本明細書のいずれかの態様の一実施形態では、液体組成物は、約 $3 \times 10^{12} \text{ v g} / \text{mL} \sim$ 約 $4 \times 10^{12} \text{ v g} / \text{mL}$ の $rAAV$ 濃度を有する。

【0053】

本明細書のいずれかの態様の一実施形態では、対象は、 $rAAV$ の導入前に、少なくとも1つの抗PD治療薬を投与される。

【0054】

本明細書のいずれかの態様の一実施形態では、対象は、 $rAAV$ の導入前および後に、少なくとも1つの抗PD治療薬を投与される。本明細書のいずれかの態様の一実施形態では、少なくとも1つの抗PD治療薬は、レボドパ、Sinemet、Rytary、Stalevo、アマンタジン、プラミペキソール、ロチゴチン、ロピニロール、アポモルヒネ、エンタカポンからなる群から選択される。

【0055】

本明細書のいずれかの態様の一実施形態では、対象は、導入後、少なくとも1つの抗PD治療薬の用量を維持するか、または減少する。本明細書のいずれかの態様の一実施形態では、少なくとも1つの抗PD治療薬の用量は、少なくとも5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%またはそれよりも大きく減少する。

【0056】

本明細書に提供される別の態様は、それを必要とする対象におけるパーキンソン病（PD）の進行を減速または阻害する方法であって、プロモーターに作動可能に連結されたグリア細胞系由来神経栄養因子（GDNF）をコードする核酸を含む組換えアデノ随伴ウイルス（ $rAAV$ ）ベクターを対象の被殻に局所的に導入することを含み、対象の被殻の体積の少なくとも30%が、GDNF遺伝子で形質導入される、方法を記載する。

【0057】

本明細書に提供される別の態様は、それを必要とする対象におけるPDの進行を減速または阻害する方法であって、グリア細胞系由来神経栄養因子（GDNF）遺伝子で、対象の被殻の体積の約30%よりも大きいまたはそれに等しい割合に形質導入することを含み、対象が、導入した後少なくとも6か月間、PD関連症状の実質的な増加を示さない、方法を記載する。本明細書のいずれかの態様の一実施形態では、形質導入することは、GDNF遺伝子を含む $rAAV$ を対象の被殻のそれぞれに投与することによって行われる。

【0058】

本明細書に提供される別の態様は、パーキンソン病（PD）を有する対象における初期運動障害学会統一パーキンソン病評定尺度パート（MDS-UPDRS）スコアを低減または安定化する方法であって、プロモーターに作動可能に連結されたグリア細胞系由来神経栄養因子（GDNF）をコードする核酸を含む組換えアデノ随伴ウイルス（ $rAAV$ ）を対象の被殻に投与することを含み、対象が、投与する前の対象の初期MDS-UPDRSスコアと比較して、減少または安定化した、投与後6か月での第2のMDS-UPDRS

10

20

30

40

50

S スコアを有する、方法を記載する。

【0059】

本明細書のいずれかの態様の一実施形態では、方法は、投与する前に、対象から、初期 MDS-UPDRS スコアを入手するまたは受け取るステップをさらに含む。本明細書のいずれかの態様の一実施形態では、第2の MDS-UPDRS スコアは、投与した12か月後に、初期 MDS-UPDRS スコアと比較して、少なくとも20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%またはそれよりも大きく減少する。

【0060】

本明細書のいずれかの態様の一実施形態では、安定化は、初期 MDS-UPDRS スコアの10%以下の増加または減少である。

【0061】

本明細書に提供される別の態様は、パーキンソン病 (PD) によって軽度の影響を受けている対象を処置する方法であって、プロモーターに作動可能に連結されたグリア細胞系由来神経栄養因子 (GDNF) をコードする核酸を含む組換えアデノ随伴ウイルス (rAAV) を対象の被殻のそれぞれに投与することを含み、対象の被殻の少なくとも30%が、GDNF で形質導入され、対象が、初期 MDS-UPDRS スコアと比較して、安定化された、投与した後6か月での第2の MDS-UPDRS スコアを有する、方法を記載する。

【0062】

本明細書のいずれかの態様の一実施形態では、対象は、投与する前の初期 MDS-UPDRS スコアと比較して、安定化された、投与した後12か月での MDS-UPDRS スコアを有する。

【0063】

本明細書に提供される別の態様は、パーキンソン病 (PD) によって中度の影響を受けている対象を処置する方法であって、プロモーターに作動可能に連結されたグリア細胞系由来神経栄養因子 (GDNF) をコードする核酸を含む組換えアデノ随伴ウイルス (AAV) を対象の被殻のそれぞれに投与することを含み、対象の被殻の少なくとも30%が、導入遺伝子で形質導入され、対象が、初期 MDS-UPDRS スコアよりも少なくとも約20%低い投与した後6か月での第2の MDS-UPDRS スコアを有する、方法を記載する。本明細書のいずれかの態様の一実施形態では、低減は、初期 MDS-UPDRS スコアと比較して、少なくとも30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%またはそれよりも大きい。

【0064】

本明細書に提供される別の態様は、それを必要とする対象におけるパーキンソン病 (PD) の進行を減速または阻害する方法であって、プロモーターに作動可能に連結されたグリア細胞系由来神経栄養因子 (GDNF) をコードする核酸を含む組換えアデノ随伴ウイルス (rAAV) ベクターを対象の被殻のそれぞれに局所的に導入すること；および rAAV と実質的に同時に、MRI 造影剤を対象の被殻のそれぞれに局所的に導入することを含み、対象の被殻の体積の少なくとも30%が、核酸で形質導入され、対象が、導入する前と比較して、導入した直後少なくとも6か月間、PD 関連症状の実質的な増加を示さない、方法を記載する。

【0065】

本明細書に提供される別の態様は、それを必要とする対象におけるパーキンソン病 (PD) の進行を減速または阻害する方法であって、プロモーターに作動可能に連結されたグリア細胞系由来神経栄養因子 (GDNF) をコードする核酸を含む組換えアデノ随伴ウイルス (rAAV) を対象に導入することを含み、対象の被殻の体積の少なくとも30%が、GDNF 遺伝子で形質導入され、対象が、導入する前と比較して、導入した直後少なくとも6か月間、PD 関連症状の実質的な増加を示さない、方法を記載する。

【0066】

本明細書に提供される別の態様は、対象におけるパーキンソン病 (PD) の進行を減速

10

20

30

40

50

または阻害するための組成物であって、プロモーターに作動可能に連結されたグリア細胞系由来神経栄養因子（GDNF）遺伝子を含むゲノムを含む組換えアデノ随伴ウイルス（rAAV）；および薬学的に許容される担体を含む、組成物を記載する。

【0067】

本明細書のいずれかの態様の一実施形態では、組成物は、1 mLあたり 3×10^{12} v g $\sim 4 \times 10^{12}$ v g の rAAV 濃度を有する。

【0068】

本明細書のいずれかの態様の一実施形態では、組成物は、1 mLあたり 3.3×10^{12} v g の rAAV 濃度を含む。

【0069】

本明細書に提供される別の態様は、対象におけるパーキンソン病（PD）の進行を減速または阻害するための製剤であって、薬学的に許容される担体の 1 mLあたり 3×10^{12} v g $\sim 4 \times 10^{12}$ v g の濃度のアデノ随伴ウイルス（AAV）を含み、rAAVが、プロモーターに作動可能に連結されたグリア細胞系由来神経栄養因子（GDNF）遺伝子を含むゲノムを含む、製剤を記載する。

【図面の簡単な説明】

【0070】

【図1】図1は、臨床研究スケジュールの概略図を示す。対象は、「オフ」（オフ薬物療法）および「オン」（オン薬物療法）の矢印によって示されるように、それらの処方された抗パーキンソン治療薬の「オン」および「オフ」をサイクルする。MRI、FDG、およびDaTスキャンは、クロスによって示されるように、投与される。血液研究は、ドロップによって示されるように、取得する。対象の活動を、六角形によって示されるように、モニターする。定義されたオフ薬物療法状態における評価を必要とする来院のために、参加者は、来院前の夜から、すべてのPD薬物療法（例えば、カルビドパ／レボドパ、Sinemet、Rytary、Stalevo、アマンタジン、プラミペキソール、ロチゴチン、ロピニロール、アポモルヒネ、エンタカポン）を停止するよう求められ、少なくとも12時間、控えなければならない。

【0071】

【図2】図2は、コホートAに含まれる対象（PDによって軽度の影響を受けている）の要約を示す。

【0072】

【図3】図3は、コホートBに含まれる対象（PDによって中度の影響を受けている）の要約を示す。

【0073】

【図4】図4は、AAV2-GDNFの局所的投与後に、GDNFで形質導入された対象の被殻の体積パーセントの要約を示す。GDNFで形質導入された被殻の平均体積は、63%である。

【0074】

【図5】図5は、CMVプロモーターに作動可能に連結されたAAV2-GDNFの局所的投与後に、GDNFで形質導入された対象の被殻の体積パーセントを示す棒グラフを表す。GDNFで形質導入された被殻の平均体積は、約63%である。

【0075】

【図6A-B】図6Aおよび6Bは、コホートAの対象の代表的な術後MRIを示す。図6Aは、治療薬の投与の所定期間後のMRI T1（造影剤前）画像を示す。図6Bは、治療薬の投与の所定期間後のMRI T2画像を示す。被殻の高信号の種々の出現が観察される。

【0076】

【図7A-B】図7Aおよび7Bは、コホートBの対象の代表的な術後MRIを示す。図7Aは、治療薬の投与の所定期間後のMRI T1（造影剤前）画像を示す。図7Bは、治療薬の投与の所定期間後のMRI T2画像を示す。被殻の高信号の種々の出現が観察

10

20

30

40

50

される。

【0077】

【図8A～B】図8A～8Hは、投与後のさまざまな時点でのPD進行を評価するデータを表す。図8A～8Dは、抗パーキンソン治療薬オン（図8A）または抗パーキンソン治療薬オフ（図8B）のいずれかのMDS-UPDRS凝集体運動技能の変化を示す線グラフを表す。安定化されたMDS-UPDRSスコアは、12か月間、コホートA（「軽度PDコホート」によって表される）において観察される。MDS-UPDRSスコアの著しい減少が、コホートB（「中度PDコホート」によって表される）において観察される。MDS-UPDRSスコアを、投与前のスクリーニング時に評価して、ベースラインを確立し、次いで、手術後3、6、9および12か月で評価した。総UPDRSスコア（図8C）およびMDS-UPDRS IISコア（図8D）は、手術後の示された時にわたって、同じ傾向に従う。図8E～8Hは、軽度PDコホートにおけるAAV2-GDNF投薬後18か月にわたる安定な運動尺度（図8Eおよび8F）、および中度PDコホートにおけるAAV2-GDNF投薬後18か月にわたる運動の改善（図8Gおよび8H）を示す。図8Eおよび8Fでは、（A）は、軽度PDにおける18か月にわたって実証された安定性を示す。（B）は、軽度PDにおける、程度が大きな機能的改善を測定するための限定的なウィンドウを示す。（C）は、TH突然変異を有すると特定された1つの異常値を示す。

【図8C～D】図8A～8Hは、投与後のさまざまな時点でのPD進行を評価するデータを表す。図8A～8Dは、抗パーキンソン治療薬オン（図8A）または抗パーキンソン治療薬オフ（図8B）のいずれかのMDS-UPDRS凝集体運動技能の変化を示す線グラフを表す。安定化されたMDS-UPDRSスコアは、12か月間、コホートA（「軽度PDコホート」によって表される）において観察される。MDS-UPDRSスコアの著しい減少が、コホートB（「中度PDコホート」によって表される）において観察される。MDS-UPDRSスコアを、投与前のスクリーニング時に評価して、ベースラインを確立し、次いで、手術後3、6、9および12か月で評価した。総UPDRSスコア（図8C）およびMDS-UPDRS IISコア（図8D）は、手術後の示された時にわたって、同じ傾向に従う。図8E～8Hは、軽度PDコホートにおけるAAV2-GDNF投薬後18か月にわたる安定な運動尺度（図8Eおよび8F）、および中度PDコホートにおけるAAV2-GDNF投薬後18か月にわたる運動の改善（図8Gおよび8H）を示す。図8Eおよび8Fでは、（A）は、軽度PDにおける18か月にわたって実証された安定性を示す。（B）は、軽度PDにおける、程度が大きな機能的改善を測定するための限定的なウィンドウを示す。（C）は、TH突然変異を有すると特定された1つの異常値を示す。

【図8E～F】図8A～8Hは、投与後のさまざまな時点でのPD進行を評価するデータを表す。図8A～8Dは、抗パーキンソン治療薬オン（図8A）または抗パーキンソン治療薬オフ（図8B）のいずれかのMDS-UPDRS凝集体運動技能の変化を示す線グラフを表す。安定化されたMDS-UPDRSスコアは、12か月間、コホートA（「軽度PDコホート」によって表される）において観察される。MDS-UPDRSスコアの著しい減少が、コホートB（「中度PDコホート」によって表される）において観察される。MDS-UPDRSスコアを、投与前のスクリーニング時に評価して、ベースラインを確立し、次いで、手術後3、6、9および12か月で評価した。総UPDRSスコア（図8C）およびMDS-UPDRS IISコア（図8D）は、手術後の示された時にわたって、同じ傾向に従う。図8E～8Hは、軽度PDコホートにおけるAAV2-GDNF投薬後18か月にわたる安定な運動尺度（図8Eおよび8F）、および中度PDコホートにおけるAAV2-GDNF投薬後18か月にわたる運動の改善（図8Gおよび8H）を示す。図8Eおよび8Fでは、（A）は、軽度PDにおける18か月にわたって実証された安定性を示す。（B）は、軽度PDにおける、程度が大きな機能的改善を測定するための限定的なウィンドウを示す。（C）は、TH突然変異を有すると特定された1つの異常値を示す。

【図 8 G - H】図 8 A ~ 8 H は、投与後のさまざまな時点での P D 進行を評価するデータを表す。図 8 A ~ 8 D は、抗パーキンソン治療薬オン（図 8 A）または抗パーキンソン治療薬オフ（図 8 B）のいずれかの M D S - U P D R S 凝集体運動技能の変化を示す線グラフを表す。安定化された M D S - U P D R S スコアは、12 か月間、コホート A（「軽度 P D コホート」によって表される）において観察される。M D S - U P D R S スコアの著しい減少が、コホート B（「中度 P D コホート」によって表される）において観察される。M D S - U P D R S スコアを、投与前のスクリーニング時に評価して、ベースラインを確立し、次いで、手術後 3、6、9 および 12 か月で評価した。総 U P D R S スコア（図 8 C）および M D S - U P D R S I I スコア（図 8 D）は、手術後の示された時にわたって、同じ傾向に従う。図 8 E ~ 8 H は、軽度 P D コホートにおける A A V 2 - G D N F 投薬後 18 か月にわたる安定な運動尺度（図 8 E および 8 F）、および中度 P D コホートにおける A A V 2 - G D N F 投薬後 18 か月にわたる運動の改善（図 8 G および 8 H）を示す。図 8 E および 8 F では、（A）は、軽度 P D における 18 か月にわたって実証された安定性を示す。（B）は、軽度 P D における、程度が大きな機能的改善を測定するための限定的なウィンドウを示す。（C）は、T H 突然変異を有すると特定された 1 つの異常値を示す。

10

【0078】

【図 9 A - B】図 9 A ~ 9 D は、P D 運動日記データを示すデータを表す。（図 9 A ~ 9 B）コホート A（図 9 A）およびコホート B（図 9 B）についての P D 運動日記データを示す棒グラフ。日記の「オン／オフ」時間は、16 時間の覚醒時間に対して正規化されている。（図 9 C）投与後 12 か月および 18 か月のコホート B における対象の著しい改善を示す円グラフ。良好なオン時間は、ベースラインから 27 % 改善され、オフ時間は、ベースラインから 52 % 改善された。（図 9 D）投与後 12 か月および 18 か月のコホート A における対象の著しい改善を示す円グラフ。良好なオン時間は、ベースラインから 12 % 減少し、オフ時間は、ベースラインから 46 % 減少した。

20

【図 9 C】図 9 A ~ 9 D は、P D 運動日記データを示すデータを表す。（図 9 A ~ 9 B）コホート A（図 9 A）およびコホート B（図 9 B）についての P D 運動日記データを示す棒グラフ。日記の「オン／オフ」時間は、16 時間の覚醒時間に対して正規化されている。（図 9 C）投与後 12 か月および 18 か月のコホート B における対象の著しい改善を示す円グラフ。良好なオン時間は、ベースラインから 27 % 改善され、オフ時間は、ベースラインから 52 % 改善された。（図 9 D）投与後 12 か月および 18 か月のコホート A における対象の著しい改善を示す円グラフ。良好なオン時間は、ベースラインから 12 % 減少し、オフ時間は、ベースラインから 46 % 減少した。

30

【図 9 D】図 9 A ~ 9 D は、P D 運動日記データを示すデータを表す。（図 9 A ~ 9 B）コホート A（図 9 A）およびコホート B（図 9 B）についての P D 運動日記データを示す棒グラフ。日記の「オン／オフ」時間は、16 時間の覚醒時間に対して正規化されている。（図 9 C）投与後 12 か月および 18 か月のコホート B における対象の著しい改善を示す円グラフ。良好なオン時間は、ベースラインから 27 % 改善され、オフ時間は、ベースラインから 52 % 改善された。（図 9 D）投与後 12 か月および 18 か月のコホート A における対象の著しい改善を示す円グラフ。良好なオン時間は、ベースラインから 12 % 減少し、オフ時間は、ベースラインから 46 % 減少した。

40

【0079】

【図 10 A - B】図 10 A および 10 B は、コホート A（軽度の影響を受けている；図 10 A）およびコホート B（中度の影響を受けている；図 10 B）に対する、N M S S（丸）および P D G - 39（四角）を示すプロットグラフを表す。N M S S および P D Q - 39 スコアを、投与前のスクリーニング時、手術後 6 か月、手術後 12 か月、手術後 18 か月、および手術後 24 か月に評価した。

【0080】

【図 11】図 11 は、治験のフェーズ 1 に対するコホート B（中度の影響を受けている）における A A V 2 - G D N F の用量応答を示す線グラフを表す。データは、中期ステージ

50

P Dにおける臨床応答との用量および被殻カバレッジ (> 50%) の相関が存在することを示す。中期ステージP Dにおける機能的運動改善の大きさは、予想されるプラセボの効果 (-5 pt) の期待を超えた。

【0081】

【図12】図12は、遺伝子治療を含む、被殻注入の体積分布を示すグラフを表し、動物モデルにおいて予測される通り、これは、送達された注入体積に非常に依存する。臨床P D症例について、平均の片側被殻体積は、およそ4200立方mmである。この図における点線の水平線の下に表されるように、被殻内に注入された早期の遺伝子治療産物は、総被殻体積の50%よりもはるかに少ない、限定的な分布の体積を提供した。分布体積の初期の限界は、主に、送達される小さい注入体積および被殻への標準的な両側前頭軌道の利用の結果であった。標準的な両側前頭アプローチは、被殻の長軸にほぼ垂直な軌道を提供し、被殻のそのような軌道体積カバレッジは、小さい背腹側被殻寸法によって限定され、体積カバレッジを拡大するために、複数の軌道を必要とする。被殻の長軸に平行した遺伝子治療注入の展開は、はるかに大きい注入体積（最大で1800マイクロリットル／被殻）を提供し、> 50%の被殻カバレッジを達成した。

10

【0082】

【図13A-B】図13Aおよび13Bは、両側前頭および両側後頭軌道技法の概略図を示す。(図13A) 両側前頭軌道-1つまたは複数の前頭穿頭孔を、両側に作製する。前および後交連神経被殻をカバーするために最小で被殻あたり2軌道。軌道は、被殻の長軸にほぼ垂直であり、体積カバレッジは、主に、被殻の短い背腹側寸法および使用される軌道の数によって限定される。典型的に達成される被殻の体積カバレッジは、< 50%である。(図13B) 両側後頭軌道-単一の後頭穿頭孔を、被殻ごとに作製する。この技法は、前および後交連神経被殻をカバーするために、被殻ごとに単一の軌道を必要とする。軌道は、被殻の長軸に平行であり、体積カバレッジは、主に、被殻内からの血管周囲の漏れによって限定される。典型的に達成される被殻の体積カバレッジは、> 50%である。

20

【0083】

【図14A】図14Aおよび14Bは、以前の完了した治験、および現在進行中の治験の要約を提示する。図14Aは、パーキンソン病における被殻に対するAAV2-GDNF遺伝子治療のための両側前頭および両側後頭送達方法の両方による臨床経験を示すチャートを提示する。図14Aは、進行ステージ、中期ステージ、および初期ステージのP Dにおける、異なるベクター用量の安全性および耐容性、ならびに被殻カバレッジを試験する以前の完了したフェーズ1臨床試験および進行中の臨床試験からの詳細を提供する。現在の臨床試験(本明細書の下記の実施例1~3に記載される通り)は、初期ステージP Dを有する参加者における遺伝子治療製品の安全性を試験するために承認された、最初のヒト遺伝子治療治験である。2022年3月末現在で、臨床研究は、12人の計画した参加者のうち11人を登録し、処置している。フェーズ1研究は、450マイクロリットルの注入体積(9×10^{10} vg ~ 9×10^{11} vg)を、13人の参加者のそれぞれの被殻に送達し、26%の平均被殻カバレッジをもたらした。本明細書に記載される臨床試験における両側後頭送達は、11人の参加者においてこれまでに、それぞれの被殻における最大で1800マイクロリットルの注入液を提供し、62.5%の平均被殻分布を提供した。図14Bは、示されたコホートに対する以前の完了したフェーズ1治験および現在の臨床試験(フェーズ1b; 本明細書の下記の実施例1~3に記載される通り)において達成された被殻カバレッジの要約を提示する。

30

40

【図14B】図14Aおよび14Bは、以前の完了した治験、および現在進行中の治験の要約を提示する。図14Aは、パーキンソン病における被殻に対するAAV2-GDNF遺伝子治療のための両側前頭および両側後頭送達方法の両方による臨床経験を示すチャートを提示する。図14Aは、進行ステージ、中期ステージ、および初期ステージのP Dにおける、異なるベクター用量の安全性および耐容性、ならびに被殻カバレッジを試験する以前の完了したフェーズ1臨床試験および進行中の臨床試験からの詳細を提供する。現在の臨床試験(本明細書の下記の実施例1~3に記載される通り)は、初期ステージP Dを

50

有する参加者における遺伝子治療製品の安全性を試験するために承認された、最初のヒト遺伝子治療試験である。2022年3月末現在で、臨床研究は、12人の計画した参加者のうち11人を登録し、処置している。フェーズ1研究は、450マイクロリットルの注入体積 ($9 \times 10^{10} \text{ v g} \sim 9 \times 10^{11} \text{ v g}$) を、13人の参加者のそれぞれの被殻に送達し、26%の平均被殻カバレッジをもたらした。本明細書に記載される臨床試験における両側後頭送達は、11人の参加者においてこれまでに、それぞれの被殻における最大で1800マイクロリットルの注入液を提供し、62.5%の平均被殻分布を提供した。図14Bは、示されたコホートに対する以前の完了したフェーズ1試験および現在の臨床試験（フェーズ1b；本明細書の下記の実施例1～3に記載される通り）において達成された被殻カバレッジの要約を提示する。

10

【0084】

【図15】図15は、AAV-GDNFの概略図を提示する。CMV、サイトメガロウイルス；hGDNF、ヒトグリア細胞系由来神経栄養因子；hGH、ヒト成長ホルモン；ITR、逆位末端反復配列。

【0085】

【図16】図16は、研究設計の概略図を提示する。AAV2-GDNFを、1回のMRIモニターCEDを介して両側被殻 ($1.2 \times 10^{13} \text{ v g}$ の最高用量で、被殻あたり最大で1.8mL) および分布を可視化するための造影剤 (2mMのガドテリドール) を投与した。

【0086】

【図17-1】図17は、手術後1か月超で観察された術後の有害効果（すなわち、治療薬投与下の有害事象（TEAE））の要約を提示する。

【図17-2】図17は、手術後1か月超で観察された術後の有害効果（すなわち、治療薬投与下の有害事象（TEAE））の要約を提示する。

【0087】

【図18A】図18Aおよび18Bは、軽度コホート（図18A）および中度コホート（図18B）についての運動および非運動評価にわたる個々の処置後の変化の要約を提示する。

【図18B】図18Aおよび18Bは、軽度コホート（図18A）および中度コホート（図18B）についての運動および非運動評価にわたる個々の処置後の変化の要約を提示する。

20

30

【0088】

【図19A-F】図19A～19Fは、投与後3.5年のAAV2-GDNFの発現を示すデータを提示する。（図19A）AAV2-GDNFの被殻内投与の参加者のMRI画像。（図19B～19D）被殻におけるドーパミン作動性ニューロンの濃縮を示す被殻生検試料のチロシンヒドロキシラーゼ染色。図19Bは、矢印によって示される図19A中の領域である。図19Cは、矢印によって示される図19B中の領域の濃縮された拡大画像を示す。図19Dは、矢印によって示される図19C中の領域の濃縮された拡大画像を示す。（図19E）試料において行われた生検6の場所。生検場所番号1および5は、手術の間に使用された注入部位である。生検場所番号6は、白質路における被殻の外側に位置する。（図19F）示された生検場所のGDNF導入遺伝子のレベル（pg GDNF / mg タンパク質）。GDNFの最も高いレベルは、場所番号1および5において見出された。GDNFの発現は、生検場所番号6において特定されなかった。

40

【0089】

【図20】図20は、安全性の読み取りのための長軸方向MRIモニタリングを示すデータを提示する。左欄のT1（上の行）およびT2（下の行）加重MRI脳スキャンは、被殻（外側）への両側注入後のガドテリドール分布（T1画像からの明るい白色シグナル）を示す。6および18か月の時点で取得されたマッチしたMRIスキャンは、ガドテリドールシグナルが残っていないこと、または被殻もしくは他の脳構造における組織の異常を実証する。

50

【0090】

【図21】図21は、中度PDコホートの応答を表すチャートを提示する。強く、より進行性の修復および運動機能が、以前のCGTと比較して、見出された。18か月の臨床データは、(1)以前の神経栄養性CGTよりも強い改善、(2)AAV2-GDNF効果が、他のCGTにおける短時間の改善とは異なって、6か月後の継続的な改善を伴って、以前の神経栄養因子GTxよりも進行性であること、および(3)予期される作用メカニズム、例えば、末端出芽およびドーパミン機能の進行性の修復と一致した、6か月を超える臨床的に意味のある改善を示す。

【0091】

【図22A-B】図22Aおよび22Bは、軽度(図22A)および中度(図22B)コホートについて、処置後最大で18か月の統一スキネジア評価尺度の歴史的、客観的および総スコアを示すチャートを提示する。

10

【0092】

【図23A-B】図23Aおよび23Bは、処置後最大で18か月の軽度(図23A)および中度(図23B)コホートについてのレボドパ(levodopa)換算1日用量(LED)の平均値を示すチャートを提示する。

【0093】

【図24A-C】図24A~24Cは、軽度および中度コホートにおけるDATスキャンによる機能的イメージングの予備的な分析を示すデータを提示する。図24Aは、値の棒グラフを提示する。図24Bおよび24Cは、軽度(図24B)および中度(図24C)コホートについての図24Aに表された値を提示する表を示す。経時的なDAT結合の変化の予備的な分析を示す。軽度および中度コホート両方における尾状核の結合の低減が観察される。両コホートにおけるDATシグナルの相対的に安定なまたは増加したプットヒム(put him)を示す。

20

【0094】

【図25A-D】図25A~25Dは、遺伝子治療投与6および18か月後の注入部位でのF-dopa取り込みの変化を示すデータを提示する。(図25A~25C)MRI画像は、内部(前交連神経)および後部(後交連神経)被殻への両側注入後の軸(左欄)および冠状(右欄)平面におけるガドテリドール分布を示す(図25A)。MRIにおいてガドテリドールシグナルとして可視化された注入部位に対応する領域におけるKiの増加を示す、ベースライン(図25B)および手術18か月後(図25C)での1人の患者からの軸および冠状平面におけるF-dopa Kiパラメトリックマップ。

30

【0095】

【図26】図26は、AAV2-GDNFベクター、例えば、配列番号64を作成するために使用されたプラスミドの概略図を提示する。

【発明を実施するための形態】

【0096】

詳細な説明

本明細書に開示される技術の態様は、対象の被殻の少なくとも30%が、遺伝子でカバーされるか、および／または形質導入されるような、グリア細胞系由来神経栄養因子(GDNF)遺伝子の投与、例えば、局所的または全身的投与に関する。このカバレッジおよび／または形質導入のレベルは、PDに関する症状の進行を低減する、減速する、または阻害するために有効であることを示す。したがって、本開示によって記載される方法および組成物は、一部の実施形態では、PDの処置のために、有用である。

40

【0097】

パーキンソン病(PD)

本明細書に提供される方法は、パーキンソン病の進行を減速または阻害することに関する。本明細書で使用される場合、「パーキンソン病」または「PD」は、進行的に悪化する揺れおよび硬直、ならびにバランス、歩行および協調での増加する問題によって特徴付けられる神経変性疾患を指す。PDの大部分は、典型的には、エピジェネティック制御に

50

において作用する遺伝的素因および環境の影響の組合せにおいて、事実上、特発性と考えられ、シヌクレインアルファ（SNCA；NCBI遺伝子ID：6622）、ロイシンリッ
チリピートキナーゼ2（LRRK2／PARK8；NCBI遺伝子ID 120892）、
、グルコシルセラミダーゼベータ（GBA1；NCBI遺伝子ID 2629）、パー
キンRBR E3ユビキチン（PRKN；NCBI遺伝子ID 5071）、PTEN誘導
キナーゼ1（PINK1；NCBI遺伝子ID 65018）、パーキンソニズム関連デ
グリカーゼ（DJ1／PARK7；NCBI遺伝子ID 11315）、VPS35レト
ロマー複合体構成要素（VPS35；NCBI遺伝子ID 55737）、真核生物翻訳
開始因子4ガンマ1（EIF4G1；NCBI遺伝子ID 1981）、DnaJ熱ショ
ックタンパク質ファミリーメンバーC13（DNAJC13；NCBI遺伝子ID 23
317）、コイルドコイルヘリックス-コイルドコイルヘリックスドメイン含有2（CH
CHD2；NCBI遺伝子ID 51142）、および／またはユビキチンC末端ヒドロ
ラーゼL1（UCHL1；NCBI遺伝子ID 7345）遺伝子によるその突然変異を
含む、いくつかの遺伝子突然変異が、PDに寄与し得るか、またはそのリスクを増加させ
得る。そのようなPD関連遺伝子の配列は、いくつかの種において公知であり、例えば、
ヒトのmRNAおよびタンパク質配列は、提供される遺伝子ID番号を使用して、NCB
Iデータベースにおいて利用可能である。これらのPD関連遺伝子および他のもの、なら
びにそのPD関連対立遺伝子（例えば、突然変異体、重複、SNPなど）は、当技術分野
において公知であり、例えば、D'Souza et al. *Acta Neuropsychiatrica* 2020
32:10-22；Sardi et al. *Parkinsonism & Related Disorders* 2019 59
:32-38；Hardy et al. *Current Opinion in Genetics & Development*
2009 19:254-65；Ferreria et al. *Neurologica* 2017 135:273-84；Ja
in et al. *Clinical Science* 2005 109:355-64；Fagan et al. *Europea
n Journal of Neurology* 2017 24:561-e20；Campelo et al. *Parkins
on's Disease* 2017 4318416；およびPorter et al. "Neurodegeneration
and Alzheimer's Disease" 2019のChapter 15にさらに記載されており、これ
らのそれぞれは、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。

10

20

【0098】

PDの発生についてのリスク因子としては、限定されるものではないが、年齢、遺伝、
ある特定の毒素への曝露、および性別が挙げられる。若年性および若年成人性としてのP
Dの診断は、まれである。パーキンソンを発生するリスクは、中年から晩年に開始して、
年齢とともに増加し、対象は、典型的には、60歳またはそれよりも上の年齢周辺で疾患
を発生する。PDを有する近親者（例えば、近親メンバー、叔父、叔母、または祖父母）
を持つことは、対象が疾患を発生する機会を増加させる。しかしながら、複数の血縁者が
PDを有すると診断されていない限り、リスクは、依然として、小さいと考えられる。あ
る特定の除草剤および殺虫剤への継続的な曝露は、対象におけるPDのリスクをわずかに
増加されることが示されている。そして最後に、男性は、女性よりもPDを発生する可
能性が高い。

30

【0099】

PDの症状は、十分に文書化されており、当業者に公知である。PDの初期症状として
は、限定されるものではないが、振戦（例えば、その身体の安静時に、通常、手足、多く
の場合、手または指で開始する揺れ）；ピル・ローリング振戦（例えば、その身体の安静
時に、親指をこすこと、および人差し指が前後すること）；ゆっくりとした動き（動作
緩慢）；硬直した筋肉（すなわち、痛みを伴い、その可動域が制限され得る、身体の任意
の部分における筋肉のこわばり）；損なわれた姿勢およびバランス（例えば、姿勢が停止
することがあり、またはバランスの問題を有することがある）；自動運動の喪失（例えば
、まばたき、微笑む、または歩行時の腕の振りを含む、無意識的な運動を行う能力の減少
）；発話の変化（例えば、より滑らかにおよびより速く話すことがある、不明瞭に発音す
ることがある、もしくは話す前にためらうことがある；またはトーンの変化および抑揚の
喪失）；および筆記の変化（例えば、筆記が、小さくなり、文字が混み合って見えること

40

50

がある）が挙げられる。

【0100】

P Dの合併症としては、限定されるものではないが、P Dのより後期ステージにおける認知の問題（認知症）および思考困難；パーキンソンの初期および後期ステージにおけるうつおよび情動変化（すなわち、恐怖、不安、または意欲の喪失）；状態の進行としての嚥下の問題（例えば、嚥下困難、唾液の蓄積および流涎）；息苦しさおよび栄養不足をもたらし得る、後期ステージのP Dにおける咀嚼および食事の問題；睡眠の問題および睡眠障害（すなわち、頻繁な覚醒、早く目覚める、および日中の居眠り）；レム睡眠行動異常症；膀胱の問題（すなわち、排尿を制御できない、または排尿困難を有する）；便秘；起立性低血圧（すなわち、血圧の突然の低下）；嗅覚機能障害（例えば、嗅覚の喪失、またはある特定の臭いもしくは臭い間の差の特定が困難）；疲労；疼痛、すなわち、その身体

10

【0101】

パーキンソンの存在を診断するための1つの特定の検査は存在せず、むしろ、熟練した臨床医は、対象の医療記録、家族歴、存在する兆候および／または症状、ならびに神経学的および身体的診察を介して、対象を診断する。ドーパミントランスポータスキャン（D a T s c a n）と呼ばれる特異的な単一光子放出コンピュータ断層撮影（S P E C T）スキャンは、診断のための重要な決定になる可能性は低いが、診断をサポートするために行われ得る。ほとんどの患者は、D a T s c a nを必要としない。非侵襲的イメージング、例えば、MRI、脳の超音波、およびPETスキャンは、他の神経障害を除外するために

20

【0102】

P Dのための処置としては、限定されるものではないが、疾患の進行中の症状を処置するように設計された治療薬が挙げられる。これらの治療薬としては、限定されるものではないが、カルビドパーレボドパ；吸入カルビドパーレボドパ；カルビドパーレボドパ注入；ドーパミンアゴニスト；M A O B 阻害剤；カテコールOーメチルトランスフェラーゼ（C O M T）阻害剤；抗コリン薬；およびアマンタジンが挙げられる。

30

【0103】

最も有効なP D薬物療法であるレボドパは、脳に移行する天然化学物質であり、ドーパミンに変換される。レボドパは、典型的には、脳外でのドーパミンの早期変換からレボドパを保護し、悪心などの副作用を防止または低下させる、カルビドパ（例えば、L o d o s y n（登録商標）カルビドパ）と組み合わせられる。疾患がより後期のステージに進行するにつれて、レボドパからの利益は、一進一退の傾向で、より不安定になり得る（すなわち、「ウェアリングオフ」）。不随意運動（ジスキネジア）は、より高い用量のレボドパと関連する。I n b r i j a（登録商標）レボドパ吸入粉末は、吸入形態のレボドパを送達する治療薬物である。D u o p a（商標）カルビドパ／レボドパ懸濁液は、薬物療法が、小腸に直接的にゲル形態を介して送達されるように、胃瘻管を介して投与されるカルビ

40

【0104】

レボドパとは異なって、ドーパミンアゴニストは、ドーパミンに変化せず、むしろ、患者の脳においてドーパミン作用を模倣する。ドーパミンアゴニストは、P D症状の処置において、レボドパよりも有効ではないが、しかしながら、それらは、より長く持続し、レボドパのオフおよびオン効果をサポートするために、レボドパとともに使用され得る。例

50

示的なドーパミンアゴニストとしては、プラミペキソール（例えば、Mirapex（登録商標）プラミペキソール）、ロピニロール（例えば、Requip（登録商標）ロピニロール）、ロチゴチン（例えば、Neupro（登録商標）ロチゴチン経皮システム、パッチとして与えられる）、および短時間作用型注射用ドーパミンアゴニストであるアポモルヒネ（例えば、Apokyn（登録商標）アポモルヒネ）が挙げられる。

【0105】

MAO B 阻害剤は、脳ドーパミンを代謝する脳の酵素モノアミンオキシダーゼ B（MAO B）を阻害することによって、脳のドーパミンの分解の防止を助ける。例示的な MAO B 阻害剤としては、セレギリン（例えば、Zelapar（登録商標）セレギリン塩酸塩）、ラサギリン（例えば、Azilect（登録商標）ラサギリン）およびサフィナミド（例えば、Xadago（登録商標）サフィナミド）が挙げられる。セレギリンとレボドパの投与は、ウェアリングオフの防止を助けることが示されている。

10

【0106】

カテコール O-メチルトランスフェラーゼ（COMT）阻害剤は、ドーパミンを破壊する酵素を遮断することによって、レボドパ療法の効果を穏やかに延長する。例示的な COMT 阻害剤としては、エンタカポン（例えば、Comtan（登録商標）エンタカポン）、オピカポン（例えば、Ongentys（登録商標）オピカポン）、およびトルカポン（例えば、Tasmar（登録商標）トルカポン）が挙げられる。トルカポンは、重篤な肝臓損傷および肝不全のリスクに起因して、まれに処方される。

【0107】

抗コリン薬は、以前、PD と関連する振戦の制御を助けるために、投与された。例示的な抗コリン薬としては、抗精神病薬（クロザピン、クエチアピン）；アトロピン；ベンズトロピン（例えば、Cogentin（登録商標）ベンズトロピンメシル酸塩）；ビペリデン；クロルフェニラミン；ある特定の SSRI（パロキセチン）；ジサイクロミン（ジシクロベリン）；ジメンヒドリナート；ジフェンヒドラミン；ドキシペミン（Doxepi）；ドキシラミン；フラボキサート；グリコピロレート；グリコピロニウム；ヒヨスチアミン；イプラトロピウム；オルフェナドリン；オキシトロピウム；オキシブチニン；プロメタジン；臭化プロパンテリン；スコポラミン；ソリフェナシン；トルテロジン；チオトロピウム；三環式抗うつ薬；トリヘキシフェニジル；トロピカミド；およびウメクリジニウムが挙げられる。

20

30

【0108】

アマンタジン（例えば、Gocovri（登録商標）アマンタジン）は、軽度の初期ステージ PD の症状の短期間の軽減を提供するための、単剤療法として処方される抗ジスキネジア薬物療法である。これは、カルビドパーレボドパによって誘導された不随意運動（ジスキネジア）を制御するために、PD のより後期のステージの間に、カルビドパーレボドパ療法とともにさらに処方される。

【0109】

PD を有する患者は、疾患関連症状を低減するために、脳深部刺激（DBS）を埋め込むための手術をさらに受けることができる。DBS は、患者の脳の特定の部分に電極を埋め込むことを含み、電極は、患者の鎖骨の近くの胸部に埋め込まれた発電機に接続され、発電機は、患者の脳に電気パルスを送る。DBS は、レボドパに対する一定しない、変動する応答の制御において、または薬物療法の調整により改善されないジスキネジアを制御するために有効である。DBS は、薬物療法、例えば、レボドパ（levopoda）に対する不安定な応答を示すより後期ステージの患者において、より一般的に使用されている。

40

【0110】

処置方法

核酸および／または導入遺伝子（例えば、GDNF をコードする核酸）を対象に送達するための方法が、本開示によって提供される。方法は、典型的には、有効量の GDNF をコードする核酸を対象に投与することを含む。一部の実施形態では、投与は、全身的投与である。一部の実施形態では、投与は、局所的投与である。一部の実施形態では、核酸は

50

、ウイルスベクター中、および／またはウイルス粒子、例えば、rAAV中で提供される。

【0111】

本明細書に提供される一態様は、それを必要とする対象におけるPDの進行を減速または阻害する方法であって、プロモーターに作動可能に連結されたグリア細胞系由来神経栄養因子(GDNF)をコードする核酸を含む組換えアデノ随伴ウイルス(rAAV)を対象に導入することを含み、対象の被殻の体積の少なくとも30%が、GDNF遺伝子で形質導入され、対象が、導入する前と比較して、導入した直後少なくとも6か月間、PD関連症状の増加を示さない、方法に関する。

【0112】

本明細書に提供される一態様は、それを必要とする対象におけるPDの進行を減速または阻害する方法であって、プロモーターに作動可能に連結されたグリア細胞系由来神経栄養因子(GDNF)をコードする核酸を含む組換えアデノ随伴ウイルス(rAAV)を対象に導入することを含み、rAAVを導入することが、rAAVによる対象の被殻の少なくとも30%のカバレッジをもたらす、対象が、導入する前と比較して、導入した直後少なくとも6か月間、PD関連症状の増加を示さない、方法に関する。

【0113】

被殻は、前側-後側(A-P)軸について長軸方向に伸長した2つの左右相称の楕円形の卵形の皮質下葉を含む。本明細書で使用される場合、および文脈により決定され得る場合、「被殻」という用語は、単一の被殻(すなわち、左被殻または右被殻)または両方の被殻をまとめて指し得る。被殻は、それぞれの脳半球の前脳の脳室周囲の深部白質内に位置し(終脳)、複数の神経細胞(ニューロン)体を含む。被殻は、隣接する尾状核と一緒に線条体を形成する。線条体は、さらに、それぞれの脳半球の基底核を形成する多くのうちの1つの構成要素である。さまざまな経路により、被殻は、大脳皮質の多くの領域に加えて、黒質(緻密部および網様部を含む)、淡蒼球、前障、および視床に接続される。被殻の主な機能は、物理的運動の準備および実行を調節することであり、さまざまな種類の学習において役割を果たす。被殻はまた、変性神経障害、例えば、PDの発生において役割を果たす。被殻から黒質へのGDNFタンパク質および／またはAAV2ベクターの逆行性の軸索輸送が可能であるが、しかしながら、網様部へのGDNFタンパク質および／またはAAV2ベクターの順行性の軸索輸送は、PD状態においてよりあり得るようである。軸索輸送の方向は、GDNF導入遺伝子を送達するために使用されるベクターによって決定され得る。

【0114】

本明細書に提供される一態様は、それを必要とする対象におけるPDの進行を減速または阻害する方法であって、プロモーターに作動可能に連結されたグリア細胞系由来神経栄養因子(GDNF)をコードする核酸を含む組換えアデノ随伴ウイルス(rAAV)を対象に導入することを含み、対象の被殻の体積の少なくとも30%が、GDNF遺伝子で形質導入され、および／または対象の被殻体積の少なくとも30%が、rAAVによってカバーされる、方法に関する。

【0115】

一実施形態では、rAAVは、局所的導入を介して導入される。一実施形態では、AAVカプシドは、有理単数体であり、例えば、カプシドは、AAV8、AAV9であり、アカゲザルAAV系由来の少なくとも1つのカプシドタンパク質を含有する。

【0116】

さまざまな実施形態では、局所的導入は、対象の被殻への直接的な導入である。例えば、局所的導入は、rAAVを対象の被殻の一方または両方に直接的に導入することを含み得る。

【0117】

さまざまな実施形態では、局所的導入は、非侵襲的イメージングと同時に行われる。例えば、局所的導入は、総rAAVベクター用量の約半分を、術中磁気共鳴画像法(iMR

10

20

30

40

50

I) ガイド対流増強送達 (CED) を介して、それぞれの被殻に導入することを含む。

【0118】

一実施形態では、局所的導入は、AAVベクターと同じ時または実質的に同時に、MRI造影剤を導入することをさらに含む。例示的なMRI造影剤としては、ガドテル酸；ガドブトロール (gadobutro)；ガドテリドール；ガドペンテト酸；ガドベン酸；ガドペンテト酸ジメグルミン；ガドキセト酸 (gadoxentate)；ガドベルセタミド；ガドジアミド；ガドホスベセット；ガドコレチン酸 (gadocolytic acid)；ガドメリトールおよびガドメル (gadomer) が挙げられる。

【0119】

一実施形態では、MRI造影剤は、rAAVと同じ組成物において対象に導入される。

一実施形態では、MRI造影剤は、rAAVと異なる組成物において対象に導入されるが、実質的に同時に投与される。

【0120】

一実施形態では、rAAVは、全身的導入を介して導入される。

【0121】

本明細書に提供される別の態様は、それを必要とする対象におけるPDの進行を減速または阻害する方法であって、方法が、プロモーターに作動可能に連結されたグリア細胞系由来神経栄養因子 (GDNF) をコードする核酸を含む組換えアデノ随伴ウイルス (rAAV) ベクターを対象の被殻に局所的に導入することを含み、対象の被殻の体積の少なくとも30%が、GDNF核酸で形質導入される、方法に関する。一実施形態では、被殻を形質導入することは、被殻ニューロン集団を形質導入することである。一実施形態では、対象の被殻ニューロン集団の体積の少なくとも30%が、GDNF核酸で形質導入される。

【0122】

本明細書に提供される別の態様は、それを必要とする対象におけるPDの進行を減速または阻害する方法であって、グリア細胞系由来神経栄養因子 (GDNF) 遺伝子で、対象の被殻の体積の約30%よりも大きいまたはそれに等しい割合に形質導入することを含み、対象が、導入した後少なくとも6か月間、PD関連症状の実質的な増加を示さない、方法に関する。一実施形態では、形質導入することは、GDNF遺伝子を含むrAAVを対象の脳半球のそれぞれの被殻に投与することによって行われる。一実施形態では、被殻を形質導入することは、被殻ニューロン集団を形質導入することである。一実施形態では、対象の被殻ニューロン集団の体積の少なくとも30%が、GDNF核酸で形質導入される。

【0123】

本明細書に提供される別の態様は、PDを有する対象における初期運動障害学会統一PD評価尺度パートIII (MDS-UPDRS III) スコアを低減または安定化する方法であって、プロモーターに作動可能に連結されたグリア細胞系由来神経栄養因子 (GDNF) をコードする核酸を含む組換えアデノ随伴ウイルス (rAAV) を対象の被殻に投与することを含み、対象が、投与する前の対象の初期MDS-UPDRS IIIスコアと比較して、減少または安定化した、投与後6か月での第2のMDS-UPDRS IIIスコアを有する、方法に関する。

【0124】

本明細書に提供される別の態様は、PDによって軽度の影響を受けている対象を処置する方法であって、プロモーターに作動可能に連結されたグリア細胞系由来神経栄養因子 (GDNF) をコードする核酸を含む組換えアデノ随伴ウイルス (rAAV) を対象の被殻のそれぞれに投与することを含み、対象の被殻の少なくとも30%が、GDNFで形質導入され、および／または対象の被殻体積の少なくとも30%が、rAAVによってカバーされ、対象が、初期MDS-UPDRS IIIスコアと比較して、安定化された、投与した後6か月での第2のMDS-UPDRS IIIスコアを有する、方法に関する。

【0125】

10

20

30

40

50

本明細書に提供される別の態様は、PDによって中度の影響を受けている対象を処置する方法であって、プロモーターに作動可能に連結されたグリア細胞系由来神経栄養因子（GDNF）をコードする核酸を含む組換えアデノ随伴ウイルス（AAV）を対象の被殻のそれぞれに投与することを含み、対象の被殻の少なくとも30%が、導入遺伝子で形質導入され、および／または対象の被殻体積の少なくとも30%が、rAAVによってカバーされ、対象が、初期MDS-UPDRS I I Iスコアよりも少なくとも約20%低い、投与した後6か月での第2のMDS-UPDRS I I Iスコアを有する、方法に関する。

【0126】

本明細書に提供される別の態様は、それを必要とする対象におけるPDの進行を減速または阻害する方法であって、プロモーターに作動可能に連結されたグリア細胞系由来神経栄養因子（GDNF）をコードする核酸を含む組換えアデノ随伴ウイルス（rAAV）ベクターを対象の被殻のそれぞれに局所的に導入すること；およびrAAVと実質的に同時に、MRI造影剤を対象の被殻のそれぞれに局所的に導入することを含み、対象の被殻の体積の少なくとも30%が、核酸で形質導入され、および／または対象の被殻体積の少なくとも30%が、rAAVによってカバーされ、対象が、導入する前と比較して、導入した直後少なくとも6か月間、PD関連症状の実質的な増加を示さない、方法に関する。

【0127】

本明細書に提供される別の態様は、それを必要とする対象におけるPDの進行を減速または阻害する方法であって、プロモーターに作動可能に連結されたグリア細胞系由来神経栄養因子（GDNF）をコードする核酸を含む組換えアデノ随伴ウイルス（rAAV）を対象に導入することを含み、対象の被殻の体積の少なくとも30%が、GDNF遺伝子で形質導入され、および／または対象の被殻体積の少なくとも30%が、rAAVによってカバーされ、対象が、導入する前と比較して、導入した直後少なくとも6か月間、PD関連症状の実質的な増加を示さない、方法に関する。

【0128】

さまざまな実施形態では、対象の被殻の体積の少なくとも5%、少なくとも10%、少なくとも15%、少なくとも20%、少なくとも25%、少なくとも30%、少なくとも35%、少なくとも40%、少なくとも45%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも99%またはそれよりも多くが、GDNF遺伝子で形質導入される。一実施形態では、対象の被殻の形質導入は、非侵襲的イメージングを介して、例えば、MRIを介して、評価される。当業者は、rAAVを含まない総体積と比較して、rAAVを含む被殻の総体積（例えば、注入されたMRI造影剤によって評価される通り）を測定することによって、rAAVの形質導入を評価することができる。

【0129】

一実施形態では、被殻を形質導入することは、被殻の内在性中型有棘ニューロン（MSN）を形質導入することである。一実施形態では、MSNの少なくとも5%、少なくとも10%、少なくとも15%、少なくとも20%、少なくとも25%、少なくとも30%、少なくとも31%、少なくとも32%、少なくとも33%、少なくとも34%、少なくとも35%、少なくとも36%、少なくとも37%、少なくとも38%、少なくとも39%、少なくとも40%、少なくとも41%、少なくとも42%、少なくとも43%、少なくとも44%、少なくとも45%、少なくとも46%、少なくとも47%、少なくとも48%、少なくとも49%、少なくとも50%、少なくとも51%、少なくとも52%、少なくとも53%、少なくとも54%、少なくとも55%、少なくとも56%、少なくとも57%、少なくとも58%、少なくとも59%、少なくとも60%、少なくとも61%、少なくとも62%、少なくとも63%、少なくとも64%、少なくとも65%、少なくとも66%、少なくとも67%、少なくとも68%、少なくとも69%、少なくとも70%、少なくとも71%、少なくとも72%、少なくとも73%、少なくとも74%、少なくとも75%、少なくとも76%、少なくとも77%、少なくとも78%、少なくとも79

%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも99%またはそれよりも多くが、核酸（例えば、GDNF）で形質導入される。

【0130】

一実施形態では、被殻を形質導入することは、被殻ニューロン集団を形質導入することである。一実施形態では、対象の被殻ニューロン集団の体積の少なくとも30%が、GDNF核酸で形質導入される。さまざまな実施形態では、カバレッジは、GDNF核酸で形質導入された対象の被殻ニューロン集団の少なくとも5%、少なくとも10%、少なくとも15%、少なくとも20%、少なくとも25%、少なくとも30%、少なくとも31%、少なくとも32%、少なくとも33%、少なくとも34%、少なくとも35%、少なくとも36%、少なくとも37%、少なくとも38%、少なくとも39%、少なくとも40%、少なくとも41%、少なくとも42%、少なくとも43%、少なくとも44%、少なくとも45%、少なくとも46%、少なくとも47%、少なくとも48%、少なくとも49%、少なくとも50%、少なくとも51%、少なくとも52%、少なくとも53%、少なくとも54%、少なくとも55%、少なくとも56%、少なくとも57%、少なくとも58%、少なくとも59%、少なくとも60%、少なくとも61%、少なくとも62%、少なくとも63%、少なくとも64%、少なくとも65%、少なくとも66%、少なくとも67%、少なくとも68%、少なくとも69%、少なくとも70%、少なくとも71%、少なくとも72%、少なくとも73%、少なくとも74%、少なくとも75%、少なくとも76%、少なくとも77%、少なくとも78%、少なくとも79%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも99%またはそれよりも大きい。

10

20

【0131】

種々の実施形態では、カバレッジは、rAAVでカバーされる対象の被殻の体積の少なくとも5%、少なくとも10%、少なくとも15%、少なくとも20%、少なくとも25%、少なくとも30%、少なくとも31%、少なくとも32%、少なくとも33%、少なくとも34%、少なくとも35%、少なくとも36%、少なくとも37%、少なくとも38%、少なくとも39%、少なくとも40%、少なくとも41%、少なくとも42%、少なくとも43%、少なくとも44%、少なくとも45%、少なくとも46%、少なくとも47%、少なくとも48%、少なくとも49%、少なくとも50%、少なくとも51%、少なくとも52%、少なくとも53%、少なくとも54%、少なくとも55%、少なくとも56%、少なくとも57%、少なくとも58%、少なくとも59%、少なくとも60%、少なくとも61%、少なくとも62%、少なくとも63%、少なくとも64%、少なくとも65%、少なくとも66%、少なくとも67%、少なくとも68%、少なくとも69%、少なくとも70%、少なくとも71%、少なくとも72%、少なくとも73%、少なくとも74%、少なくとも75%、少なくとも76%、少なくとも77%、少なくとも78%、少なくとも79%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも99%またはそれよりも多くである。一部の実施形態では、対象の被殻のカバレッジは、非侵襲的イメージングを介して、例えば、MRIを介して、評価される。当業者は、被殻の総体積と比較して、rAAVを含む被殻の総体積（例えば、注入されたMRI造影剤によって評価される通り）を測定することによって、rAAVのカバレッジを評価することができる。

30

40

【0132】

一実施形態では、MRI造影剤を、本明細書に記載されるrAAVのいずれかと共投与または共導入して、CED分布の増強されたリアルタイム術中MRIモニタリングを提供し、形質導入の体積を評価する。

【0133】

非侵襲的イメージング

一実施形態では、局所的投与は、非侵襲的イメージングと同時に行って、例えば、好ましいまたは所定の場所、例えば、被殻への局所的送達をガイドし、および／または投与後に形質導入を可視化する。一実施形態では、非侵襲的イメージングは、術中磁気共鳴画像

50

法 (iMRI) ガイド対流増強送達 (CED) である。本明細書で使用される場合、「術中磁気共鳴画像法 (iMRI)」は、脳神経外科的手順の間に取得された、例えば脳の、MRI 画像を指す。iMRI 技術は、脳神経外科的手順、例えば、腫瘍の除去、または所望の場所 (例えば、被殻) への治療薬の配置の間のガイダンスのために、脳の正確なリアルタイム写真を作成することに依拠し得る。本明細書で使用される場合、「対流-増強送達 (CED)」は、脳実質の局所的な領域内の間質腔に、直接的に、バルク流によって治療用物質を含有する流体を送達するために陽静水圧を使用する薬物送達技法を指す。直接大脳内 CED は、血液脳関門を回避し、ボラス堆積 (局所注射) または他の拡散に基づく直接送達アプローチよりも、より広範囲の、より均一な分布を提供する。CED は、例えば、Rogawski MA, Neurotherapeutics. 2009 Apr; 6(2): 344-351 および Mehta AM, et al. Neurotherapeutics. 2017 Apr; 14(2): 358-371 にさらに記載されており、それらのそれぞれの内容は、それらの全体が参照により本明細書に組み込まれる。

10

【0134】

一実施形態では、iMRI は、rAAV またはその組成物と共注入される、MRI 造影剤、例えば、ガドリニウム系造影剤を可視化するための T1 加重配列を使用して、本明細書に記載される rAAV またはその組成物の投与をモニターするために、使用される。

【0135】

一実施形態では、局所的導入は、AAV ベクターと実質的に同時に、MRI 造影剤を導入することをさらに含む。この場合では、MRI 造影剤は、MRI 画像においてキャプチャーされた内部脳構造の可視性を改善するために利用される。ガドリニウム系 MRI 造影剤 (GBCA) として当技術分野において公知のガドリニウム (III) を含有する常磁性造影剤が好ましく、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる "Gadolinium(III) Chelates as MRI Contrast Agents Structure, Dynamics, and Applications" by P. Caravan et al. Chem. Rev. 99, 2293-2352 (1999) を参照されたい。使用され得る他の造影剤としては、ガドキセト酸二ナトリウム (例えば、Eovist (商標) ガドキセト酸二ナトリウム; Schering AG); 米国特許第 5, 798, 092 号および同第 5, 695, 739 号に開示されている造影剤; ガドベン酸ジメグルミン (例えば、Multihance (商標) ガドベン酸ジメグルミン、Bracco SpA); ならびに米国特許第 5, 733, 528 号に開示されている造影剤が挙げられる。「血液プール」MRI 造影剤が特に好ましく、参照により本明細書に組み込まれる "Blood pool Contrast Agents for Cardiovascular MR Imaging" by L. J. M. Kroft et al. JMRI 10, 395-403 (1999)、およびこれも参照により本明細書に組み込まれる "The Future of Contrast-Enhanced Magnetic Resonance Angiography: Are Blood Pool Agents Needed?" by A. Muhler Invest. Radiol. 33, 709-714 (1998) を参照されたい。血液プール造影剤の例としては、MP-2269 (Mallinckrodt, Inc.); 米国特許第 5, 888, 576 号に開示されている造影剤; MS-325 (EPIX Medical, Inc.); PCT 公開第 WO 96/23526 号に開示されている造影剤; P760 (Geurbet); ガドリニウム-ジエチレントリアミン五酢酸 (GD-DTPA; 例えば、Gadomer-17 (商標)、Schering AG); 米国特許第 5, 876, 698 号、同第 5, 820, 849 号、同第 5, 681, 543 号、同第 5, 650, 136 号、および同第 5, 364, 614 号に開示されている造影剤; ガドテル酸メグルミン (例えば、Clariscan (商標) ガドテル酸メグルミン、Nycomed Amer sham); PCT 公開第 WO 96/09840 号および同第 WO 9725073 号に開示されている造影剤; B22956/1 (Bracco SpA); ならびに PCT 公開第 WO 00/30688 号、同第 WO 98/05625 号、同第 WO 98/05626 号、同第 WO 95/32741 号、同第 WO 98/38738 号、同第 WO 95/32741 号、および米国特許第 5, 649, 537 号に開示されている造影剤が挙げられる。そのような血液プール剤の他の例としては、限定されるものではない

20

30

40

50

が、フェルカルボトラン（例えば、Resovist（商標）フェルカルボトラン）またはSHU 555 AおよびC（Schering）が挙げられる。本明細書の上記で述べられるすべての特許および特許出願の内容は、それらの全体が参照により本明細書に明示的に組み込まれる。

【0136】

例示的なMRI造影剤としては、ガドテル酸；ガドブトロール；ガドテリドール；ガドペンテト酸；ガドベン酸；ガドペンテト酸ジメグルミン；ガドキセト酸；ガドベルセタミド；ガドジアミド；ガドホスベセット；ガドコレチン酸；ガドメリトールおよびガドメルが挙げられる。

【0137】

一実施形態では、MRI造影剤は、ガドテリドール（例えば、ProHance（登録商標）ガドテリドール）である。一実施形態では、ガドテリドール（例えば、ProHance（登録商標）ガドテリドール）は、2 mMの溶液で投与される。

【0138】

MRI造影剤は、目的の対象に応じて、血流への注射（静脈内）または経口投与されてもよい。経口投与は、G. I. 管スキャンに十分に適するが、血管内投与は、ほとんどの他のスキャンのためにより有用であると判明している。一実施形態では、MRI造影剤は、rAAVと同じ組成物において対象に投与される。一実施形態では、MRI造影剤は、rAAVとは別の組成物において投与されるが、別のrAAV組成物と同時に投与される。別々の組成物で投与される場合、MRI造影剤は、rAAVと同じ様式で投与される必要はない。例えば、rAAVが、例えば被殻に、局所的に投与される場合、MRI造影剤は、静脈内または経口投与することができる。

【0139】

MRI脳スキャンは、スクリーニングプロセスの一部として術前だけでなく、遺伝子治療注入手順の間、ならびに投薬の6および18か月後に行うことができる。スキャンは、治験責任医師によって必要と見なされる場合、他のポイントで得てもよい。MRI脳スキャンは、例えば、1.5または3 Tスキャナーにおいて得ることができ、シーケンスは、T1、T2、ターボFLAIR、T2勾配エコーおよび拡散を含んでいてもよい。18か月のスクリーニングでの必要に応じたイメージングはまた、参加者が、簡単なタスク（すなわち、指のタッピングまたは手を握る）を行っている間の、拡張拡散加重シーケンス、安静状態、および画像取得による機能評価を含み得る。総イメージング時間は、機能的イメージングおよび安静状態イメージングを包含して、セッションあたり90分である。

【0140】

本明細書に記載される方法において利用され得る例示的な非侵襲的イメージング技法としては、超音波、コンピュータ断層撮影（CT）；機能的磁気共鳴画像法（fMRI）；iMRI；陽電子放射断層撮影（PET）；脳波記録法（EEG）；脳磁気図検査（MEG）；機能的近赤外線分光法（fNIRS）；DaTscanドーパミントランスポーターイメージング；FDGイメージング、およびそれらの組合せが挙げられる。

【0141】

イオフルパンI-123（例えば、DaTscan（商標）イオフルパンI23）は、シナプス前ドーパミントランスポーターに選択的に結合し、線条体における黒質線条体末端を画像化するための方法を提供する。DaTscan（商標）イオフルパンI23は、成人における使用のために、単一光子放出コンピュータ断層撮影（SPECT）スキャンと併せて使用されるFDAが承認した放射性医薬品である。ヨウ素-123は、電子捕捉によって ^{123}Tl に減衰するサイクロトロン生成放射性核種であり、13.2時間の物理的半減期を有する。推奨用量は、成人において静脈内投与される111~185 MBq（3~5 mCi）である。185 MBq（5 mCi）の投与活性でDaTscan投与から得られる有効用量は、成人において3.94 mSvである。DaTscan注射は、遊離ヨウ化物（ヨウ素123）の最大で6%を含有し得る。ヨウ素-123の甲状腺蓄積を減少させるために、最大で100 mgの用量のヨウ化カリウム経口溶液またはルゴール液

10

20

30

40

50

が投与される。

【0142】

フルオロ-2-デオキシグルコース（FDG）は、脳および他の器官におけるグルコース代謝を測定するための陽電子放射トポグラフィー（PET）イメージングで使用される一般的なFDAが承認した放射性医薬品トレーサーである。他のパーキンソン病様疾患に存在しない、PDに特異的な脳代謝パターンが、特徴付けられている。FDG PETは、スクリーニングの間にPD診断を確認するために利用される。FDGは、110分の半減期で、 F^{18} 標識されている。推奨用量は、成人において静脈内投与される111～185 MBq（3～5 mCi）である。185 MBq（5 mCi）の投与活性でFDGスキャンから得られる有効用量は、成人において3.51 mSvである。

10

【0143】

一実施形態では、被殻のカバレッジまたは形質導入は、非侵襲的イメージング、例えば、術中MRIを介して、評価される。GDNFで形質導入される被殻の体積は、被殻の総体積と比較して、被殻内のCED注入MRIコントラストを示す被殻のパーセントを測定することによって間接的に決定される。一実施形態では、形質導入された被殻の体積は、術中CED注入MRIコントラストの局在化と相関するF-DOPA PETイメージングを介して評価される。

【0144】

本明細書で使用される場合、「カバレッジ」は、被殻の総体積と比べて、注入されたrAAVが占める被殻の体積を指す。カバレッジは、被殻細胞が、rAAVに曝露されることを提供する。投与後に送達された治療剤によるカバレッジを決定するための多くの方法がある。例えば、一実施形態では、被殻のカバレッジは、非侵襲的イメージングを介して、例えば、可視化され得るMRI造影剤との共注入を介して評価することができる。例えば、導入／投与後の被殻のカバレッジは、共注入されたMRI剤を表示する被殻の領域または体積を測定すること、およびそれを、薬剤を表示しない被殻の領域または体積と比較することによって決定することができる。同様に、カバレッジは、F-DOPA PETイメージングを介して評価される。さらに、一実施形態では、rAAVは、標準的な組織学的方法、例えば、顕微鏡法を使用して、死後に可視化することができるレポーター遺伝子、例えば、蛍光タグをさらに含むことができる。

20

【0145】

本明細書で使用される場合、「形質導入」または「形質導入された」は、投与されたrAAVまたはその組成物を含む被殻内の細胞を指す。一実施形態では、形質導入された細胞は、rAAVのゲノムを含み、GDNF導入遺伝子を発現する可能性を有する。一実施形態では、形質導入された細胞は、rAAVのゲノムを含み、GDNF導入遺伝子を発現する能力を含む必要はない。一実施形態では、形質導入された細胞は、GDNF導入遺伝子を一過性に発現する。一実施形態では、形質導入された細胞は、GDNF導入遺伝子を安定に発現する。

30

【0146】

投与後に形質導入を決定するための多くの方法があり、これらは、典型的には、間接的推論による（または間接的な）手法である。例えば、形質導入は、可視化され得るMRI造影剤との共注入を介して評価することができる。被殻のうちの形質導入された細胞のパーセンテージは、例えば、被殻の総体積と比較して、rAAVまたは組成物を含む被殻中の細胞のパーセントを測定することによって決定することができる。形質導入は、非侵襲的イメージングを介して、例えば、可視化され得るMRI造影剤との共注入を介して、評価することができる。一実施形態では、rAAVは、標準的な方法、例えば、顕微鏡法を使用して可視化され得るレポーター遺伝子、例えば、蛍光タグをさらに含むことができ、そのようなレポーター遺伝子は、形質導入パーセントを決定するために利用することができる。rAAV（例えば、カプシドタンパク質）をターゲティングするように設計されたプローブを使用して、細胞がrAAVで形質導入されているかどうかを評価することができる。さらに、GDNF核作用をターゲティングするように設計されたプローブを使用し

40

50

て、細胞が G D N F 導入遺伝子を発現するかどうかを評価することができる。一実施形態では、形質導入された被殻の体積は、F-D O P A P E T イメージングを介して評価される。さらに、一実施形態では、r A A V は、標準的な方法、例えば、顕微鏡法を使用して可視化することができるレポーター遺伝子、例えば、蛍光タグをさらに含むことができる。

【0147】

パーキンソン病および疾患進行のための診断アッセイ

P D の進行および重症度は、多くの場合、P D を有するか、P D を有すると思われる対象のさまざまな症状および精神状態を評価するさまざまな臨床統計を使用して測定される。これらの臨床統計は、対象、対象の介護者、および／または熟練した医師によって完了され得る。多くの場合、これらの統計は、臨床医および研究者によって使用されて、処置の経過の間または臨床研究において、P D の長期的経過が評価される。そのような統計の結果は、例えば、対象を処置するための行為の最良の経過の決定、すなわち、治療薬の種類、治療薬の投薬量、または治療薬のための投与の頻度の変更において、臨床医または研究者の助けになり得る。

10

【0148】

一実施形態では、本明細書に記載される方法は、本明細書に記載される r A A V を導入する前に、対象についての本明細書に記載される少なくとも1つの診断アッセイの初期スコアを決定するステップをさらに含む。一実施形態では、診断アッセイは、運動障害学会統一パーキンソン病評価尺度 (M D S - U P D R S)、非運動症状評価尺度 (N M S S)、パーキンソン病質問票 (P D Q - 3 9) スコア; M D S - U P D R S パート I I I; 改変 H o e h n および Y a h r; 立つ-歩く-座る (S t a n d - W a l k - S i t); 9 穴ペグボードの器用さ検査 (9 - H o l e P e g b o a r d D e x t e r i t y T e s t); および立位バランス検査; 全般印象度 (C G I & P G I); 簡易嗅覚識別検査 (B S I T); パーキンソン病睡眠評価尺度 (P D S S - 2); パーキンソン病のアウトカムについての評価尺度-自律神経系 (S C O P A - A U T); モントリオール認知評価 (M o C A) を介したグローバル認知評価; 30 項目のボストン呼称検査 (B N T); 言語流暢性検査; ケンブリッジ神経心理テスト自動バッテリー (C A N T A B); ベックうつ調査票-I I (B D I - I I); ベック不安調査票 (B A I); およびパーキンソン病における衝動性-強迫性障害のための質問票 (Q U I P - R S)、またはそれらの任意の組合せであり得る。

20

30

【0149】

一実施形態では、本明細書に記載される方法は、本明細書に記載される r A A V のいずれかを導入する前に、対象についての本明細書に記載される少なくとも1つの診断アッセイの初期スコアを受け取るステップをさらに含む。

【0150】

運動障害学会統一パーキンソン病評価尺度 (M D S - U P D R S)

【0151】

統一パーキンソン病評価尺度 (U P D R S) は、P D の短期 (1 年未満) および長期 (1 年超) の進行を評価するための評価尺度である。U P D R S は、客観的な様式で、患者の症状の進行を臨床医が追跡することを可能にする臨床背景で利用される、統一および許容されたアッセイである。この検査は、6 つの部分からなり、自己施行および臨床医／研究者施行の両方である。6 つの部分は、以下を含む-パート I: 知的機能障害、思考障害、意欲／主導、うつを含む、精神状態、行動、および気分の評価; パート I I: 日常生活動作 (A D L) である、発話、流涎、嚥下、手書き、食物を切る、更衣動作、衛生、ベッドの中での寝返り、転倒、すくみ、歩行、振戦、感覚の愁訴の自己評価; パート I I I: 発話、表情、安静時振戦、動作時振戦、硬直、指のタップ、手の動き、手の回内運動および回外運動、脚の敏しょう性、椅子からの立ち上がり、姿勢、歩調、姿勢安定性、身体動作緩慢を含む、臨床医がスコア付けした、モニタリングされた運動評価; パート I V: ジスキネジア-期間、ジスキネジア-身体障害、ジスキネジア-疼痛、早期モニタリン

40

50

グジストニア、オフー予測可能、オフー予測不可能、オフー突然、オフー期間、食欲不振－悪心－嘔吐、睡眠障害、症候性起立効果を含む、治療の合併症；パートV：PDの重症度のHoe hnおよびYahrステージ分類；ならびにパートVI：SchwabおよびEngland ADLスケール。

【0152】

運動障害学会統一パーキンソン病評価尺度（MDS－UPDRS）は、PDの短期（1年未満）および長期（1年超）の進行を評価するための評価尺度（すなわち、0～272）である。歴史的に、研究者は、UPDRSを使用して、統一および許容された評価システムにおいて、所与の療法からの治療利益を測定する。MDS－UPDRSは、それぞれの下位カテゴリーから非運動機能の態様を外した、UPDRSの更新版である。MDS－UPDRSパートIは、「非運動症状の日常生活での経験」というタイトルであり、パートIA（患者および介護人からのすべての関連のある情報を用いて、治験責任医師によって評価されるいくつかの行動に関する）およびパートIB（治験責任医師とは無関係であるが、介護人の助けありまたはなしで患者によって完了される）を含む。MDS－UPDRSパートIIは、元のUPDRSの第2のパートと同一であるが、パートIの新たなタイトルからこれを分けるために「運動症状の日常生活での経験」と名称が変更されている。MDS－UPDRSパートIIIは、「運動検査」というタイトルである。MDS－UPDRSパートIVは、「運動の合併症」のみを含めるために、UPDRSと比べて凝縮されている。総MDS－UPDRSスコアは、パートI、II、III（オフ状態）、およびIVの合計であり、これは、機能的サブスコアおよび評価者由来サブスコアの両方を提供する。当業者は、MDS－UPDRS調査を適切に施行することが可能であり、MDS－UPDRS調査の自己施行部分に対して対象をガイドして、例えば、初期MDS－UPDRSスコア（すなわち、本明細書に記載されるrAAVの投与前）、および第2のMDS－UPDRSスコア（すなわち、rAAVの投与後、例えば、本明細書に記載されるrAAVの投与直後少なくとも6か月または少なくとも12か月でのMDS－UPDRSスコア）を決定するであろう。追加のMDS－UPDRSスコア（例えば、第3、第4、第5など）を、例えば臨床医によって、必要と見なされる場合に決定することができる。初期および第2のMDS－UPDRSスコアが、MDS－UPDRS調査の任意の個々のパート（例えば、パートI、パートII、パートIII、パートIV）または総MDS－UPDRSスコアであり得ることがさらに理解される。

【0153】

一実施形態では、本明細書に記載される方法は、本明細書に記載されるrAAVのいずれかを導入する前に、対象についての初期MDS－UPDRSスコアを決定するステップをさらに含む。一実施形態では、本明細書に記載される方法は、本明細書に記載されるrAAVのいずれかを導入する前に、対象についての初期MDS－UPDRSスコアを受け取るステップ、すなわち、rAAVの投与を行っていない当業者によって、以前に決定された初期MDS－UPDRSスコアを受け取るステップをさらに含む。

【0154】

一実施形態では、対象は、PDによって軽度の影響を受けている。本明細書で使用される場合、「軽度の影響を受けている」は、32より低い初期MDS－UPDRSスコアを有する対象を指す。

【0155】

一実施形態では、PDによって軽度の影響を受けている対象は、rAAVの導入前に、32未満の初期MDS－UPDRSスコアを有し、rAAVの導入前5年未満に、PDと診断された。

【0156】

一実施形態では、MDS－UPDRSは、MDS－UPDRS IIIスコアを指す。

【0157】

一実施形態では、対象は、PDによって中度の影響を受けている。本明細書で使用され

る場合、「中度の影響を受けている」は、32に等しいまたはそれよりも高い初期MDS-UPDRSスコアを有する対象を指す。

【0158】

一実施形態では、PDによって中度の影響を受けている対象は、rAAVの導入前に、32に等しいまたはそれよりも高い初期MDS-UPDRSスコア（例えば、MDS-UPDRS IIIスコア）を有し、rAAVの導入前4年未満に、PDと診断された。

【0159】

一実施形態では、本明細書に記載される方法は、rAAVの投与／導入直後少なくとも6か月または少なくとも12か月で、第2のMDS-UPDRSスコアを決定するステップをさらに含む。

【0160】

一実施形態では、本明細書に記載される方法は、PDによって中度の影響を受けている対象（すなわち、32に等しいまたはそれよりも高い初期MDS-UPDRSスコアを有する対象）へのrAAVの投与／導入直後少なくとも6か月で、第2のMDS-UPDRSスコアを決定するステップをさらに含む。

【0161】

一実施形態では、本明細書に記載される方法は、PDによって軽度の影響を受けている対象（すなわち、32より低い初期MDS-UPDRSスコアを有する対象）へのrAAVの投与／導入直後少なくとも12か月で、第2のMDS-UPDRSスコアを決定するステップをさらに含む。

【0162】

一実施形態では、PDによって軽度の影響を受けている対象は、本明細書に記載されるrAAVのいずれかを導入した直後少なくとも12か月間、その初期MDS-UPDRSスコアの増加を示さない。一実施形態では、PDによって軽度の影響を受けている対象は、本明細書に記載されるrAAVのいずれかを導入した直後少なくとも1か月；2か月；3か月；4か月；5か月；6か月；7か月；8か月；9か月；10か月；11か月；13か月；14か月；15か月；16か月；17か月；18か月；19か月；20か月；21か月；22か月；23か月；24か月；またはそれよりも長い間、その初期MDS-UPDRSスコアの増加を示さない。

【0163】

一実施形態では、PDによって軽度の影響を受けている対象は、本明細書に記載されるrAAVのいずれかを導入した直後少なくとも12か月間、その初期MDS-UPDRSスコアの実質的な増加を示さない。本明細書で使用される場合、「実質的な増加」は、初期MDS-UPDRSスコアの10%以下である増加を指す。一実施形態では、PDによって軽度の影響を受けている対象は、本明細書に記載されるrAAVのいずれかを導入した直後少なくとも1か月；2か月；3か月；4か月；5か月；6か月；7か月；8か月；9か月；10か月；11か月；13か月；14か月；15か月；16か月；17か月；18か月；19か月；20か月；21か月；22か月；23か月；24か月；またはそれよりも長い間、その初期MDS-UPDRSスコアの実質的な増加を示さない。

【0164】

一実施形態では、PDによって軽度の影響を受けている対象は、本明細書に記載されるrAAVのいずれかを導入した直後少なくとも6か月間、その初期MDS-UPDRSスコアの安定化を示す。本明細書で使用される場合、「安定化」は、10%よりも大きく増加も減少もしない、すなわち、第2のMDS-UPDRSスコアが、初期MDS-UPDRSスコアの+/-10%以下である初期MDS-UPDRSスコアを指す。一実施形態では、PDによって軽度の影響を受けている対象は、本明細書に記載されるrAAVのいずれかを導入した直後少なくとも1か月；2か月；3か月；4か月；5か月；7か月；8か月；9か月；10か月；11か月；12か月；13か月；14か月；15か月；16か月；17か月；18か月；19か月；20か月；21か月；22か月；23か月；24か月；またはそれよりも長い間、その初期MDS-UPDRSスコアの安定化を示す。

10

20

30

40

50

【0165】

一実施形態では、PDによって軽度の影響を受けている対象は、本明細書に記載されるrAAVのいずれかを導入した直後少なくとも12か月間、その初期MDS-UPDRSスコアの低減を示す。一実施形態では、PDによって軽度の影響を受けている対象は、本明細書に記載されるrAAVのいずれかを導入した直後少なくとも1か月；2か月；3か月；4か月；5か月；6か月；7か月；8か月；9か月；10か月；11か月；12か月；13か月；14か月；15か月；16か月；17か月；18か月；19か月；20か月；21か月；22か月；23か月；24か月；またはそれよりも長い間、その初期MDS-UPDRSスコアの低減を示す。一実施形態では、初期MDS-UPDRSスコアの低減は、少なくとも1ポイント、2ポイント；3ポイント；4ポイント；5ポイント；6ポイント；7ポイント；8ポイント；9ポイント；10ポイント；11ポイント；12ポイント；13ポイント；14ポイント；15ポイント；16ポイント；17ポイント；18ポイント；19ポイント；20ポイント；21ポイント；22ポイント；23ポイント；24ポイント；25ポイント；26ポイント；27ポイント；28ポイント；29ポイント；30ポイント；もしくは31ポイント；または少なくとも5%；10%；15%；20%；25%；30%；35%；40%；45%；50%；55%；60%；65%；70%；75%；80%；85%；90%；95%；もしくはそれよりも大きい。

10

【0166】

一実施形態では、PDによって中度の影響を受けている対象は、本明細書に記載されるrAAVのいずれかを導入した直後少なくとも6か月間、その初期MDS-UPDRSスコアの低減を示す。一実施形態では、PDによって中度の影響を受けている対象は、本明細書に記載されるrAAVのいずれかを導入した直後少なくとも1か月；2か月；3か月；4か月；5か月；7か月；8か月；9か月；10か月；11か月；12か月；13か月；14か月；15か月；16か月；17か月；18か月；19か月；20か月；21か月；22か月；23か月；24か月；またはそれよりも長い間、その初期MDS-UPDRSスコアの低減を示す。一実施形態では、初期MDS-UPDRSスコアの低減は、少なくとも20%である。一実施形態では、初期MDS-UPDRSスコアの低減は、少なくとも1%；2%；3%；4%；5%；6%；7%；8%；9%；10%；11%；12%；13%；14%；15%；16%；17%；18%；19%；21%；22%；23%；24%；25%；26%；27%；28%；29%；30%；31%；32%；33%；34%；35%；36%；37%；38%；39%；40%；41%；42%；43%；44%；45%；46%；47%；48%；49%；50%；51%；52%；53%；54%；55%；56%；57%；58%；59%；60%；61%；62%；63%；64%；65%；66%；67%；68%；69%；70%；71%；72%；73%；74%；75%；76%；77%；78%；79%；80%；81%；82%；83%；84%；85%；86%；87%；88%；89%；90%；91%；92%；93%；94%；95%；96%；97%；98%；99%であるかもしくはそれよりも大きい。一実施形態では、または少なくとも1ポイント；2ポイント；3ポイント；4ポイント；5ポイント；6ポイント；7ポイント；8ポイント；9ポイント；10ポイント；11ポイント；12ポイント；13ポイント；14ポイント；15ポイント；16ポイント；17ポイント；18ポイント；19ポイント；20ポイント；21ポイント；22ポイント；23ポイント；24ポイント；25ポイント；26ポイント；27ポイント；28ポイント；29ポイント；30ポイント；31ポイント；32ポイント；33ポイント；34ポイント；35ポイント；36ポイント；37ポイント；38ポイント；39ポイント；40ポイント；41ポイント；42ポイント；43ポイント；44ポイント；45ポイント；46ポイント；47ポイント；48ポイント；49ポイント；50ポイント；51ポイント；52ポイント；53ポイント；54ポイント；55ポイント；56ポイント；57ポイント；58ポイント；59ポイント；60ポイント；61ポイント；62ポイント；63ポイント；64ポイント；65ポイント；66ポイント；67ポイント；68ポイント；69ポイント；70ポイント；71ポイント；72ポイント；73ポイント；74ポイント；7

20

30

40

50

5 ポイント； 7 6 ポイント； 7 7 ポイント； 7 8 ポイント； 7 9 ポイント； 8 0 ポイント
 ； 8 1 ポイント； 8 2 ポイント； 8 3 ポイント； 8 4 ポイント； 8 5 ポイント； 8 6 ポイ
 ント； 8 7 ポイント； 8 8 ポイント； 8 9 ポイント； 9 0 ポイント； 9 1 ポイント； 9 2
 ポイント； 9 3 ポイント； 9 4 ポイント； 9 5 ポイント； 9 6 ポイント； 9 7 ポイント；
 9 8 ポイント； 9 9 ポイント； 1 0 0 ポイント； 1 0 1 ポイント； 1 0 2 ポイント； 1 0
 3 ポイント； 1 0 4 ポイント； 1 0 5 ポイント； 1 0 6 ポイント； 1 0 7 ポイント； 1 0
 8 ポイント； 1 0 9 ポイント； 1 1 0 ポイント； 1 1 1 ポイント； 1 1 2 ポイント； 1 1
 3 ポイント； 1 1 4 ポイント； 1 1 5 ポイント； 1 1 6 ポイント； 1 1 7 ポイント； 1 1
 8 ポイント； 1 1 9 ポイント； 1 2 0 ポイント； 1 2 1 ポイント； 1 2 2 ポイント； 1 2
 3 ポイント； 1 2 4 ポイント； 1 2 5 ポイント； 1 2 6 ポイント； 1 2 7 ポイント； 1 2
 8 ポイント； 1 2 9 ポイント； 1 3 0 ポイント； 1 3 1 ポイント； 1 3 2 ポイント； 1 3
 3 ポイント； 1 3 4 ポイント； 1 3 5 ポイント； 1 3 6 ポイント； 1 3 7 ポイント； 1 3
 8 ポイント； 1 3 9 ポイント； 1 4 0 ポイント； 1 4 1 ポイント； 1 4 2 ポイント； 1 4
 3 ポイント； 1 4 4 ポイント； 1 4 5 ポイント； 1 4 6 ポイント； 1 4 7 ポイント； 1 4
 8 ポイント； 1 4 9 ポイント； 1 5 0 ポイント； 1 5 1 ポイント； 1 5 2 ポイント； 1 5
 3 ポイント； 1 5 4 ポイント； 1 5 5 ポイント； 1 5 6 ポイント； 1 5 7 ポイント； 1 5
 8 ポイント； 1 5 9 ポイント； 1 6 0 ポイント； 1 6 1 ポイント； 1 6 2 ポイント； 1 6
 3 ポイント； 1 6 4 ポイント； 1 6 5 ポイント； 1 6 6 ポイント； 1 6 7 ポイント； 1 6
 8 ポイント 1 6 9 ポイント； 1 7 0 ポイント； 1 7 1 ポイント； 1 7 2 ポイント； 1 7
 3 ポイント； 1 7 4 ポイント； 1 7 5 ポイント； 1 7 6 ポイント； 1 7 7 ポイント； 1 7
 8 ポイント； 1 7 9 ポイント； 1 8 0 ポイント； 1 8 1 ポイント； 1 8 2 ポイント； 1 8
 3 ポイント； 1 8 4 ポイント； 1 8 5 ポイント； 1 8 6 ポイント； 1 8 7 ポイント； 1 8
 8 ポイント； 1 8 9 ポイント； 1 9 0 ポイント； 1 9 1 ポイント； 1 9 2 ポイント； 1 9
 3 ポイント； 1 9 4 ポイント； 1 9 5 ポイント； 1 9 6 ポイント； 1 9 7 ポイント； 1 9
 8 ポイント； 1 9 9 ポイント； 2 0 0 ポイント； 2 0 1 ポイント； 2 0 2 ポイント； 2 0
 3 ポイント； 2 0 4 ポイント； 2 0 5 ポイント； 2 0 6 ポイント； 2 0 7 ポイント； 2 0
 8 ポイント； 2 0 9 ポイント； 2 1 0 ポイント； 2 1 1 ポイント； 2 1 2 ポイント； 2 1
 3 ポイント； 2 1 4 ポイント； 2 1 5 ポイント； 2 1 6 ポイント； 2 1 7 ポイント； 2 1
 8 ポイント； 2 1 9 ポイント； 2 2 0 ポイント； 2 2 1 ポイント； 2 2 2 ポイント； 2 2
 3 ポイント； 2 2 4 ポイント； 2 2 5 ポイント； 2 2 6 ポイント； 2 2 7 ポイント； 2 2
 8 ポイント； 2 2 9 ポイント； 2 3 0 ポイント； 2 3 1 ポイント； 2 3 2 ポイント； 2 3
 3 ポイント； 2 3 4 ポイント； 2 3 5 ポイント； 2 3 6 ポイント； 2 3 7 ポイント； 2 3
 8 ポイント； 2 3 9 ポイント； 2 4 0 ポイント； 2 4 1 ポイント； 2 4 2 ポイント； 2 4
 3 ポイント； 2 4 4 ポイント； 2 4 5 ポイント； 2 4 6 ポイント； 2 4 7 ポイント； 2 4
 8 ポイント； 2 4 9 ポイント； 2 5 0 ポイント； 2 5 1 ポイント； 2 5 2 ポイント； 2 5
 3 ポイント； 2 5 4 ポイント； 2 5 5 ポイント； 2 5 6 ポイント； 2 5 7 ポイント； 2 5
 8 ポイント； 2 5 9 ポイント； 2 6 0 ポイント； 2 6 1 ポイント； 2 6 2 ポイント； 2 6
 3 ポイント； 2 6 4 ポイント； 2 6 5 ポイント； 2 6 6 ポイント； 2 6 7 ポイント； 2 6
 8 ポイント； 2 6 9 ポイント； 2 7 0 ポイント； 2 7 1 ポイント； もしくは 2 7 2 ポイン
 トである。

10

20

30

40

【0167】

一実施形態では、PDによって中度の影響を受けている対象は、本明細書に記載される
 r A A V のいずれかを導入した直後少なくとも6か月間、その初期MDS－UPDRSス
 コアの増加を示さない。一実施形態では、PDによって中度の影響を受けている対象は、
 本明細書に記載されるr A A V のいずれかを導入した直後少なくとも1か月；2か月；3
 か月；4か月；5か月；7か月；8か月；9か月；10か月；11か月；12か月；13
 か月；14か月；15か月；16か月；17か月；18か月；19か月；20か月；21
 か月；22か月；23か月；24か月；またはそれよりも長い間、その初期MDS－UP
 DRSスコアの増加を示さない。

【0168】

50

一実施形態では、PDによって中度の影響を受けている対象は、本明細書に記載されるrAAVのいずれかを導入した直後少なくとも6か月間、その初期MDS-UPDRSスコアの実質的な増加を示さない。本明細書で使用される場合、「実質的な増加」は、初期MDS-UPDRSスコアの10%以下である増加を指す。一実施形態では、PDによって中度の影響を受けている対象は、本明細書に記載されるrAAVのいずれかを導入した直後少なくとも1か月；2か月；3か月；4か月；5か月；7か月；8か月；9か月；10か月；11か月；12か月；13か月；14か月；15か月；16か月；17か月；18か月；19か月；20か月；21か月；22か月；23か月；24か月；またはそれよりも長い間、その初期MDS-UPDRSスコアの実質的な増加を示さない。

【0169】

10

非運動症状評価尺度 (NMSS)

非運動症状評価尺度 (NMSS) は、PDを有する対象における広範囲の非運動症状を評価するための30項目の自己施行調査評価尺度である。PDにおける非運動症状としては、一般に、神経精神症状、睡眠障害、自律神経機能障害、胃空腸結腸症状および感覚症状が挙げられ、クオリティオブライフを大幅に低減し得る。NMSSは、9つの側面：心臓血管、睡眠／疲労、気分／認知、知覚の問題、注意／記憶、胃空腸結腸、排尿、性機能、およびその他にわたる、非運動症状の重症度および頻度を測定する。この評価尺度は、PDのすべてのステージで、患者のために使用することができる。それぞれの項目についてのスコアは、重度であるが、比較的まれな症状、またはあまり重度ではないが、持続する症状を捕捉するために、重症度 (0～3) および頻度スコア (1～4) の組合せに基づく。総NMSSスコアは、0～360の範囲である。

20

【0170】

一実施形態では、本明細書に記載される方法は、本明細書に記載されるrAAVのいずれかを導入する前に、対象についての初期NMSSスコアを決定するステップをさらに含む。一実施形態では、本明細書に記載される方法は、本明細書に記載されるrAAVのいずれかを導入する前に、対象についての初期NMSSスコアを受け取るステップ、すなわち、rAAVの投与を行っていない臨床医／研究者によって、以前に決定された初期NMSSスコアを受け取るステップをさらに含む。

【0171】

一実施形態では、本明細書に記載される方法は、rAAVの投与／導入直後少なくとも6か月または少なくとも12か月で、第2のNMSSスコアを決定するステップをさらに含む。

30

【0172】

一実施形態では、対象は、本明細書に記載されるrAAVのいずれかを導入した後少なくとも6か月間、その初期NMSSスコアの減少を示す。一実施形態では、対象は、本明細書に記載されるrAAVのいずれかを導入した後少なくとも1か月；2か月；3か月；4か月；5か月；7か月；8か月；9か月；10か月；11か月；12か月；13か月；14か月；15か月；16か月；17か月；18か月；19か月；20か月；21か月；22か月；23か月；24か月；またはそれよりも長い間、その初期NMSSスコアの減少を示す。一実施形態では、初期NMSSスコアの減少は、少なくとも20%である。一実施形態では、初期NMSSスコアの減少は、少なくとも1%；2%；3%；4%；5%；6%；7%；8%；9%；10%；11%；12%；13%；14%；15%；16%；17%；18%；19%；21%；22%；23%；24%；25%；26%；27%；28%；29%；30%；31%；32%；33%；34%；35%；36%；37%；38%；39%；40%；41%；42%；43%；44%；45%；46%；47%；48%；49%；50%；51%；52%；53%；54%；55%；56%；57%；58%；59%；60%；61%；62%；63%；64%；65%；66%；67%；68%；69%；70%；71%；72%；73%；74%；75%；76%；77%；78%；79%；80%；81%；82%；83%；84%；85%；86%；87%；88%；89%；90%；91%；92%；93%；94%；95%；96%；97%

40

50

50

0 ポイント；2 6 1 ポイント；2 6 2 ポイント；2 6 3 ポイント；2 6 4 ポイント；2 6
 5 ポイント；2 6 6 ポイント；2 6 7 ポイント；2 6 8 ポイント；2 6 9 ポイント；2 7
 0 ポイント；2 7 1 ポイント；2 7 2 ポイント；2 7 3 ポイント；2 7 4 ポイント；2 7
 5 ポイント；2 7 6 ポイント；2 7 7 ポイント；2 7 8 ポイント；2 7 9 ポイント；2 8
 0 ポイント；2 8 1 ポイント；2 8 2 ポイント；2 8 3 ポイント；2 8 4 ポイント；2 8
 5 ポイント；2 8 6 ポイント；2 8 7 ポイント；2 8 8 ポイント；2 8 9 ポイント；2 9
 0 ポイント；2 9 1 ポイント；2 9 2 ポイント；2 9 3 ポイント；2 9 4 ポイント；2 9
 5 ポイント；2 9 6 ポイント；2 9 7 ポイント；2 9 8 ポイント；2 9 9 ポイント；3 0
 0 ポイント；3 0 1 ポイント；3 0 2 ポイント；3 0 3 ポイント；3 0 4 ポイント；3 0
 5 ポイント；3 0 6 ポイント；3 0 7 ポイント；3 0 8 ポイント；3 0 9 ポイント；3 1
 0 ポイント；3 1 1 ポイント；3 1 2 ポイント；3 1 3 ポイント；3 1 4 ポイント；3 1
 5 ポイント；3 1 6 ポイント；3 1 7 ポイント；3 1 8 ポイント；3 1 9 ポイント；3 2
 0 ポイント；3 2 1 ポイント；3 2 2 ポイント；3 2 3 ポイント；3 2 4 ポイント；3 2
 5 ポイント；3 2 6 ポイント；3 2 7 ポイント；3 2 8 ポイント；3 2 9 ポイント；3 3
 0 ポイント；3 3 1 ポイント；3 3 2 ポイント；3 3 3 ポイント；3 3 4 ポイント；3 3
 5 ポイント；3 3 6 ポイント；3 3 7 ポイント；3 3 8 ポイント；3 3 9 ポイント；3 4
 0 ポイント；3 4 1 ポイント；3 4 2 ポイント；3 4 3 ポイント；3 4 4 ポイント；3 4
 5 ポイント；3 4 6 ポイント；3 4 7 ポイント；3 4 8 ポイント；3 4 9 ポイント；3 5
 0 ポイント；3 5 1 ポイント；3 5 2 ポイント；3 5 3 ポイント；3 5 4 ポイント；3 5
 5 ポイント；3 5 6 ポイント；3 5 7 ポイント；3 5 8 ポイント；3 5 9 ポイント；もし
 くは3 6 0 ポイントである。

10

20

【0 1 7 3】

一実施形態では、対象は、本明細書に記載される $rAAV$ のいずれかを導入した後少なくとも6か月間、その初期 $NMSS$ スコアの増加を示さない。一実施形態では、対象は、本明細書に記載される $rAAV$ のいずれかを導入した後少なくとも1か月；2か月；3か月；4か月；5か月；7か月；8か月；9か月；10か月；11か月；12か月；13か月；14か月；15か月；16か月；17か月；18か月；19か月；20か月；21か月；22か月；23か月；24か月；またはそれよりも長い間、その初期 $NMSS$ スコアの増加を示さない。

【0 1 7 4】

一実施形態では、対象は、本明細書に記載される $rAAV$ のいずれかを導入した後少なくとも6か月間、その初期 $NMSS$ スコアの実質的な増加を示さない。本明細書で 사용되는場合、「実質的な増加」は、初期 $NMSS$ スコアの10%以下である増加を指す。一実施形態では、対象は、本明細書に記載される $rAAV$ のいずれかを導入した後少なくとも1か月；2か月；3か月；4か月；5か月；7か月；8か月；9か月；10か月；11か月；12か月；13か月；14か月；15か月；16か月；17か月；18か月；19か月；20か月；21か月；22か月；23か月；24か月；またはそれよりも長い間、その初期 $NMSS$ スコアの実質的な増加を示さない。

30

【0 1 7 5】

一実施形態では、対象は、本明細書に記載される $rAAV$ のいずれかを導入した直後少なくとも6か月間、その初期 $NMSS$ スコアの安定化を示す。本明細書で 사용되는場合、「安定化」は、10%よりも大きく増加も減少もしない初期 $NMSS$ スコアを指す。一実施形態では、対象は、本明細書に記載される $rAAV$ のいずれかを導入した直後少なくとも1か月；2か月；3か月；4か月；5か月；7か月；8か月；9か月；10か月；11か月；12か月；13か月；14か月；15か月；16か月；17か月；18か月；19か月；20か月；21か月；22か月；23か月；24か月；またはそれよりも長い間、その初期 $NMSS$ スコアの安定化を示す。

40

【0 1 7 6】

パーキンソン病質問票（PDQ-39）スコア

パーキンソン病質問票（PDQ-39）は、8つのサブスケール：移動性、日常生活動

50

作（ADL）、感情的幸福、スティグマ、社会支援、認知機能障害、コミュニケーション、および身体的不快感を有する、39項目の自己施行質問票である。質問票は、0～100のスケールでスコア付けされ、より低いスコアが、より良好な健康状態の知覚を示し、より高いスコアが、疾患のより重度の状態を示す。PDQ-39は、PDを有する個体についてのクオリティオブライフを測定するための信頼できるツールとして使用することができる。総合的評価におけるその包含は、運動障害、ならびにうつ、認知機能障害およびクオリティオブライフに大いに影響を及ぼし得る転倒リスクを含む、臨床上の特色以外の基本的特色に焦点を当てる処置の傾向に起因して、特に重要である。

【0177】

一実施形態では、本明細書に記載される方法は、本明細書に記載されるrAAVのいずれかを導入する前に、対象についての初期PDQ-39スコアを決定するステップをさらに含む。一実施形態では、本明細書に記載される方法は、本明細書に記載されるrAAVのいずれかを導入する前に、対象についての初期PDQ-39スコアを受け取るステップ、すなわち、rAAVの投与を行っていない臨床医／研究者によって、以前に決定された初期PDQ-39スコアを受け取るステップをさらに含む。

【0178】

一実施形態では、本明細書に記載される方法は、rAAVの投与／導入直後少なくとも6か月または少なくとも12か月で、第2のPDQ-39スコアを決定するステップをさらに含む。

【0179】

一実施形態では、対象は、本明細書に記載されるrAAVのいずれかを導入した後少なくとも6か月間、その初期PDQ-39スコアの減少を示す。一実施形態では、対象は、本明細書に記載されるrAAVのいずれかを導入した後少なくとも1か月；2か月；3か月；4か月；5か月；7か月；8か月；9か月；10か月；11か月；12か月；13か月；14か月；15か月；16か月；17か月；18か月；19か月；20か月；21か月；22か月；23か月；24か月；またはそれよりも長い間、その初期PDQ-39スコアの減少を示す。一実施形態では、初期PDQ-39スコアの減少は、少なくとも20%である。一実施形態では、初期PDQ-39スコアの減少は、少なくとも1%；2%；3%；4%；5%；6%；7%；8%；9%；10%；11%；12%；13%；14%；15%；16%；17%；18%；19%；21%；22%；23%；24%；25%；26%；27%；28%；29%；30%；31%；32%；33%；34%；35%；36%；37%；38%；39%；40%；41%；42%；43%；44%；45%；46%；47%；48%；49%；50%；51%；52%；53%；54%；55%；56%；57%；58%；59%；60%；61%；62%；63%；64%；65%；66%；67%；68%；69%；70%；71%；72%；73%；74%；75%；76%；77%；78%；79%；80%；81%；82%；83%；84%；85%；86%；87%；88%；89%；90%；91%；92%；93%；94%；95%；96%；97%；98%；99%であるかもしくはそれよりも大きいか、または少なくとも1ポイント；2ポイント；3ポイント；4ポイント；5ポイント；6ポイント；7ポイント；8ポイント；9ポイント；10ポイント；11ポイント；12ポイント；13ポイント；14ポイント；15ポイント；16ポイント；17ポイント；18ポイント；19ポイント；20ポイント；21ポイント；22ポイント；23ポイント；24ポイント；25ポイント；26ポイント；27ポイント；28ポイント；29ポイント；30ポイント；31ポイント；32ポイント；33ポイント；34ポイント；35ポイント；36ポイント；37ポイント；38ポイント；39ポイント；40ポイント；41ポイント；42ポイント；43ポイント；44ポイント；45ポイント；46ポイント；47ポイント；48ポイント；49ポイント；50ポイント；51ポイント；52ポイント；53ポイント；54ポイント；55ポイント；56ポイント；57ポイント；58ポイント；59ポイント；60ポイント；61ポイント；62ポイント；63ポイント；64ポイント；65ポイント；66ポイント；67ポイント；68ポイント；69ポイント；70ポイ

10

20

30

40

50

ント；71ポイント；72ポイント；73ポイント；74ポイント；75ポイント；76ポイント；77ポイント；78ポイント；79ポイント；80ポイント；81ポイント；82ポイント；83ポイント；84ポイント；85ポイント；86ポイント；87ポイント；88ポイント；89ポイント；90ポイント；91ポイント；92ポイント；93ポイント；94ポイント；95ポイント；96ポイント；97ポイント；98ポイント；99ポイント；もしくは100ポイントである。

【0180】

一実施形態では、対象は、本明細書に記載されるrAAVのいずれかを導入した後少なくとも6か月間、その初期PDQ-39スコアの増加を示さない。一実施形態では、対象は、本明細書に記載されるrAAVのいずれかを導入した後少なくとも1か月；2か月；3か月；4か月；5か月；7か月；8か月；9か月；10か月；11か月；12か月；13か月；14か月；15か月；16か月；17か月；18か月；19か月；20か月；21か月；22か月；23か月；24か月；またはそれよりも長い間、その初期PDQ-39スコアの増加を示さない。

10

【0181】

一実施形態では、対象は、本明細書に記載されるrAAVのいずれかを導入した後少なくとも6か月間、その初期PDQ-39スコアの実質的な増加を示さない。本明細書で 사용되는場合、「実質的な増加」は、初期PDQ-39スコアの10%以下である増加を指す。一実施形態では、対象は、本明細書に記載されるrAAVのいずれかを導入した後少なくとも1か月；2か月；3か月；4か月；5か月；7か月；8か月；9か月；10か月；11か月；12か月；13か月；14か月；15か月；16か月；17か月；18か月；19か月；20か月；21か月；22か月；23か月；24か月；またはそれよりも長い間、その初期PDQ-39スコアの実質的な増加を示さない。

20

【0182】

一実施形態では、対象は、本明細書に記載されるrAAVのいずれかを導入した直後少なくとも6か月間、その初期PDQ-39スコアの安定化を示す。本明細書で 사용되는場合、「安定化」は、10%よりも大きく増加も減少もしない初期PDQ-39スコアを指す。一実施形態では、対象は、本明細書に記載されるrAAVのいずれかを導入した直後少なくとも1か月；2か月；3か月；4か月；5か月；7か月；8か月；9か月；10か月；11か月；12か月；13か月；14か月；15か月；16か月；17か月；18か月；19か月；20か月；21か月；22か月；23か月；24か月；またはそれよりも長い間、その初期PDQ-39スコアの安定化を示す。

30

【0183】

一実施形態では、対象は、本明細書に記載されるrAAVのいずれかの投与／導入の前および後に、PD患者の運動症状および機能を評価するために、少なくとも1つの標準的な臨床検査を施行される。そのような評価としては、MDS-UPDRSパートIII；改変HoehnおよびYahr；立つー歩くー座る；9穴ペグボードの器用さ検査；ならびに立位バランス検査が挙げられる。

【0184】

改変HoehnおよびYahrスケールは、PDに起因する身体障害の全体的なレベルを測定する5段階スケールである（Hoehn and Yahr, 1967）。

40

【0185】

立つー歩くー座る（SWS）は、椅子から立ち上がることで、直線の7メートル（23フィート）の歩行、向きを変えることで、ならびに椅子に歩いて戻ることおよび座ることを含む、姿勢安定性および歩調の評価である。タイマーは、対象の背中が、椅子の背面に接触したら、停止する。対象は、实际的に定義されたオフおよびオン薬物療法状態で、この検査を行う。SWS検査は、ビデオで記録し、MDS-UPDRS評価と組み合わせることができる。

【0186】

9穴ペグボードの器用さ検査は、手先の器用さの簡単な検査であり、これは、参加者が

50

、プラスチックペグボードに、9つのプラスチックペグを正確に配置し、除去するために必要な時間を記録する。

【0187】

立位バランス検査は、人の、空間内でその身体を方向付ける能力、静的および動的状態の両方で直立の姿勢を維持する能力、ならびに転倒することなく動き、歩行する能力を評価する。これは、参加者が、最大で5つのポーズをそれぞれ50秒間取り、それを維持することを含む。一連のポーズは、以下を含む：固体表面上で眼を開ける、固体表面上で眼を閉じる、フォーム表面上で眼を開ける、フォーム表面上で眼を閉じる、および固体表面上で縦列スタンスで眼を開ける。これらの徐々に厳しくなるポーズでの参加者の安全を確保するために、詳細な停止ルールが整えられている。姿勢の傾きは、参加者が腰のレベルに着けた加速度計を使用して、それぞれのポーズについて記録される。この検査は、施行するためにおよそ7分かかる。

10

【0188】

一実施形態では、対象は、投与／導入前、および投与／導入直後少なくとも3、6、9、12か月またはその後に再び、本明細書に記載される標準的な臨床検査のいずれかを施行される。一実施形態では、対象は、投与／導入直後少なくとも3、6、9、12か月またはその後に、標準的な臨床検査のいずれかにおけるスコアの改善を示す。一実施形態では、改善は、投与／導入前のスコアと比較して、少なくとも1%；2%；3%；4%；5%；6%；7%；8%；9%；10%；11%；12%；13%；14%；15%；16%；17%；18%；19%；21%；22%；23%；24%；25%；26%；27%；28%；29%；30%；31%；32%；33%；34%；35%；36%；37%；38%；39%；40%；41%；42%；43%；44%；45%；46%；47%；48%；49%；50%；51%；52%；53%；54%；55%；56%；57%；58%；59%；60%；61%；62%；63%；64%；65%；66%；67%；68%；69%；70%；71%；72%；73%；74%；75%；76%；77%；78%；79%；80%；81%；82%；83%；84%；85%；86%；87%；88%；89%；90%；91%；92%；93%；94%；95%；96%；97%；98%；99%；またはそれよりも大きい。

20

【0189】

一実施形態では、ジスキネジアの重症度は、統一ジスキネジア評価尺度（UDysRS）を用いて測定される。この尺度は、処置されたPDと多くの場合に関連する不随意運動を評価する。これは、2つの主要セクション：歴史的［パート1（オンジスキネジア）およびパート2（オフジストニア）］および客観的［パート3（機能障害）およびパート4（身体障害）］を含む。オンジスキネジアは、PD薬物療法が働いている場合に起こる痙攣またはねじれ運動として患者に記載された舞踏病性およびジストニー運動を指す。オフジストニアは、痛みを伴い、PD薬物療法を摂取していないか、または働いていない場合に起こり得る、攣縮または痙直を指す。評価全体を通して、焦点は、運動のこれらの2つの形態であり、継続的注目は、評価からのパーキンソニズム自体および振戦の影響を評価から除外することに置かれるべきである（Goetz 2008）。

30

【0190】

一実施形態では、対象は、対象が報告するPD運動日記を完了する。Hauserおよび同僚は、24時間の期間にわたるPD運動症状を評価するための紙の運動日記を開発した（Hauser 2004）。日記は、参加者が、ジスキネジアなしのオン状態、日常生活に支障を及ぼさないジスキネジアを有するオン状態、日常生活に支障を及ぼすジスキネジアを有するオン状態、オフ状態、または睡眠中の時間を30分間隔で記録する。参加者は、1日中、30分間隔でこの情報を記録することを要求される。

40

【0191】

一実施形態では、対象は、投与／導入前、および投与／導入直後少なくとも3、6、9、12か月またはその後に再び、UDysRSおよび／またはPD運動日記を施行される。一実施形態では、対象は、投与／導入直後少なくとも3、6、9、12か月またはその

50

後に、UDysRSおよび／またはPD運動におけるスコアの改善を示す。一実施形態では、改善は、投与／導入前のスコアと比較して、少なくとも1%；2%；3%；4%；5%；6%；7%；8%；9%；10%；11%；12%；13%；14%；15%；16%；17%；18%；19%；21%；22%；23%；24%；25%；26%；27%；28%；29%；30%；31%；32%；33%；34%；35%；36%；37%；38%；39%；40%；41%；42%；43%；44%；45%；46%；47%；48%；49%；50%；51%；52%；53%；54%；55%；56%；57%；58%；59%；60%；61%；62%；63%；64%；65%；66%；67%；68%；69%；70%；71%；72%；73%；74%；75%；76%；77%；78%；79%；80%；81%；82%；83%；84%；85%；86%；87%；88%；89%；90%；91%；92%；93%；94%；95%；96%；97%；98%；99%であるかまたはそれよりも大きい。

10

【0192】

一実施形態では、対象は、投与／導入直後少なくとも18か月間、日常活動を評価するために、ウェアラブル活動モニター（例えば、Fitbit（登録商標））を提供される。

【0193】

一実施形態では、対象は、投与／導入の前、および／またはその直後少なくとも3、6、9、12か月もしくはその後に、全体的な身体障害およびクオリティオブライフ評価を受ける。例示的な全体的な身体障害およびクオリティオブライフ評価には、全般印象度（CGI & PG I）；簡易嗅覚識別検査（BSIT）；パーキンソン病睡眠評価尺度（PDSS-2）；およびパーキンソン病のアウトカムについての評価尺度－自律神経系（SCOPA-AUT）が含まれる。

20

【0194】

臨床的全般印象度（CGI）は、患者の病歴、心理社会的状況、症状、行動、および患者の機能能力に対する症状の影響の知識を含む、すべての利用可能な情報を考慮に入れた、全体的な臨床医が決定する集約尺度を提供する。CGIは、実際は、2つの手引き1以下：（a）1～7の疾病の重症度、および（b）同様の7ポイントスケールにおける処置の開始からの変化を評価する尺度の項目を含む。患者の全般印象度（PGI）は、CGIと同じであるが、患者によって完了される。PGIおよびCGIは、別々に完了される。PGIは、自己評価ツールであり、紙での評価、またはスポンサーが提供したタブレットにおいて回答することによって、自宅で、参加者によって独立して完了される。

30

【0195】

簡易嗅覚識別検査（BSIT）は、「スクラッチおよびスニッフ」ストリップを使用する、嗅覚系の機能の12項目の検査である。それぞれの香りが、ペンシルでひっかくことによって放出された後、参加者は、臭いをかぎ、次いで、香りに関する4つの選択肢の複数選択問題に回答する。これは、自己主導型評価である。

【0196】

パーキンソン病睡眠評価尺度（PDSS-2）は、視覚アナログスケールを使用して、PDにおける睡眠障害と関連する15の一般に報告される症状に対処する。対象は、前週にわたるその経験に基づいて、15の質問を完了する。これは、自己主導型尺度である。

40

【0197】

パーキンソン病のアウトカムについての評価尺度－自律神経系（SCOPA-AUT）は、自律神経機能の26項目の自己報告質問票である。質問は、上部および下部胃腸機能、排尿機能、心臓循環機能、性的能力、および他の種々の自律神経の問題をカバーする。これは、自己主導型症状評価尺度である。

【0198】

一実施形態では、対象は、投与／導入前、および投与／導入直後少なくとも3、6、9、12か月またはその後に再び、本明細書に記載される全体的な身体障害およびクオリティオブライフ評価のいずれかを施行される。一実施形態では、対象は、投与／導入直後少

50

なくとも3、6、9、12か月またはその後に、全体的な身体障害およびクオリティオブライフ評価におけるスコアの改善を示す。一実施形態では、改善は、投与／導入前のスコアと比較して、少なくとも1%；2%；3%；4%；5%；6%；7%；8%；9%；10%；11%；12%；13%；14%；15%；16%；17%；18%；19%；21%；22%；23%；24%；25%；26%；27%；28%；29%；30%；31%；32%；33%；34%；35%；36%；37%；38%；39%；40%；41%；42%；43%；44%；45%；46%；47%；48%；49%；50%；51%；52%；53%；54%；55%；56%；57%；58%；59%；60%；61%；62%；63%；64%；65%；66%；67%；68%；69%；70%；71%；72%；73%；74%；75%；76%；77%；78%；79%；80%；81%；82%；83%；84%；85%；86%；87%；88%；89%；90%；91%；92%；93%；94%；95%；96%；97%；98%；99%であるかまたはそれより大きい。

10

【0199】

一実施形態では、対象は、投与／導入の前、および／またはその直後少なくとも3、6、9、12か月もしくはその後に、神経心理検査を受ける。例示的な神経心理検査としては、モントリオール認知評価（Moca）を介したグローバル認知評価；30項目のボストン呼称検査（BNT）；言語流暢性検査；ケンブリッジ神経心理テスト自動バッテリー（CANTAB）；ベックうつ調査票－II（BDI-II）；ベック不安調査票（BAI）；およびパーキンソン病における衝動性－強迫性障害のための質問票（QUIPRS）が挙げられる。

20

【0200】

モントリオール認知評価（Moca）は、軽度認知機能障害のための迅速スクリーニング手段として設計された。これは、異なる認知ドメイン：注意および集中、実行機能、記憶、言語、視覚構築スキル、概念的思考、計算、ならびに見当識を評価する。BNTは、PDにおいて存在し得る対立ネーミングおよび言語欠陥を評価する。参加者は、ネーミングの困難性が増加しながら、物体の線画の刺激が提示され、20秒以内に応答を提供することが要求される。スコアは、正しい応答を自発的に提供した数、与えられたキューの数、およびキュー後の応答の数に基づく。この簡易口頭評価は、ビデオ通話を介した研究チームからのリモートガイダンスにより完了される。

30

【0201】

原語流暢性検査では、対象は、固有名詞または接尾辞によってのみ変化する単語を使用しないよう指示されて、60秒以内に事前に選択された文字およびカテゴリーからできるだけ多くの単語を作成するように求められる。正しい回答の数を、それぞれのカテゴリーについてスコア付けする。

【0202】

ケンブリッジ神経心理テスト自動バッテリー（CANTAB）は、神経障害の評価における認知機能の感覚的および客観的尺度を含めるために開発された。認知評価は、介入の効果として、経時的な神経心理学的パフォーマンスの変化を検出するために開発された。いくつかの評価が、作業記憶、エピソード記憶、実行機能、計画、および情報処理のドメインを焦点にして、PDにおいて検証されている。すべてのタスクは、応答時間の収集を含むタブレットを使用して、対象によって完了される。CANTABは、各種の神経変性疾患において検証された電子的に捕捉されたアウトカム尺度を考慮する。CANTABは、自己主導型で、またはスポンサーが提供したタブレットにおける研究コーディネーターもしくは治験責任医師によるリモートガイドにより完了され得る。

40

【0203】

反応時間（RTI）は、精神応答時間、ならびに運動時間、反応時間、応答の精度および衝動性の尺度を評価する。

【0204】

運動スクリーニングタスク（MOT）は、感覚運動欠陥または理解の欠如が、参加者が

50

ら有効なデータを収集する能力を制限し得るどうかの一般的な評価を提供する。このタスクは、参加者の応答スピード、およびスクリーニングにおける目的の中心を指し示す精度を測定する。

【0205】

ケンブリッジのワンタッチストッキング（OTS）は、空間計画および作業記憶のサブドメインの評価による実行機能の評価である。参加者は、所定の回数の動きで、スクリーン上に3D配置を作出するように求められる。これは、最初の選択において解決された問題の数、選択肢の修正の平均、応答の平均潜時、および修正する平均潜時によって測定される。

【0206】

対連合学習検査（PAL）は、視覚的記憶であり、新しいことを学習する能力が、このタスクによって評価される。参加者は、困難さのレベルが増加しながら、あらかじめ指定されたパターンで、ボックスを選択するように求められる。結果は、行われた間違いの数、パターンを正しく特定するために必要な試行の数、完了したステージ、および記憶スコアによって測定される。推定完了時間：8分。

【0207】

パターン認識記憶（PRM）は、2つの選択肢の強制識別パラダイムの視覚パターン認識記憶の検査である。無関係の単語が、録音を介して提示され、参加者は、直ぐにまたは遅れて、できるだけ多くを思い起こす。これは、正しい試行の数およびパーセンテージ、ならびに応答の潜時によって測定される。

【0208】

マルチタスク検査（MTT）は、個体の、対立する情報を解釈および管理する能力ならびにタスクに無関係の情報を正しく無視する能力の評価である。試行間でルールを変更することで、PD患者においてしばしば影響されるドメインである実行機能障害の根本的な欠陥を明らかにするために、参加者に対してより高い認知要求を判別する。これは、応答の潜時および誤りの数によって測定される。

【0209】

ベックうつ調査票－II（BDI－II）は、例えば、適格性評価の一部としてスクリーニングで行うことができ、スクリーニングで>20のスコアを有する参加者は、研究から除外され、精神医学的評価および処置のためにそのプライマリーケア医に紹介される。BDI－IIについてのスコアガイドラインは、試料の特徴およびBDI－IIを使用するための目的に基づいて閾値が調整されるという推奨を提供する。一般に、0～13の総BDI－IIスコアは、最小限のうつを示し、14～19のスコアは、軽度のうつを示し、20～28のスコアは、中度のうつを示し、29～63のスコアは、重度のうつを示す。処置後のBDI－IIスコアが、28よりも高い場合、参加者は、研究を継続するが、精神医学的評価および処置のためにそのプライマリーケア医に紹介される。この評価は、自己主導型尺度である。

【0210】

ベック不安調査票（BAI）は、小児および成人における不安の重症度を測定するために使用される21の質問の複数選択自己報告調査票である。この評価は、自己主導型尺度である。

【0211】

PD評価尺度のための強迫性障害質問票（QUIP－RS）は、症状の重症度を測定し、PDにおける衝動制御障害および関連障害の診断をサポートするために設計された評価尺度である。この評価尺度は、以下の行動の頻度を評価するための5ポイントのリッカート尺度における衝動制御行動をカバーする：ギャンブル、買い物、摂食、性欲過剰、単純型（反復常同行動）および／または複合型（趣味への没頭）反復的行動、ならびに薬物療法（ドーパミン調節異常症候群）の強迫性過剰使用。この評価は、自己主導型尺度である。

【0212】

10

20

30

40

50

一実施形態では、対象は、投与／導入前、および投与／導入直後少なくとも3、6、9、12か月またはその後に再び、本明細書に記載される任意の神経心理学的検査を施行される。一実施形態では、対象は、投与／導入直後少なくとも3、6、9、12か月またはその後に、神経心理学的検査のいずれかにおけるスコアの改善を示す。一実施形態では、改善は、投与／導入前のスコアと比較して、少なくとも1%；2%；3%；4%；5%；6%；7%；8%；9%；10%；11%；12%；13%；14%；15%；16%；17%；18%；19%；21%；22%；23%；24%；25%；26%；27%；28%；29%；30%；31%；32%；33%；34%；35%；36%；37%；38%；39%；40%；41%；42%；43%；44%；45%；46%；47%；48%；49%；50%；51%；52%；53%；54%；55%；56%；57%；58%；59%；60%；61%；62%；63%；64%；65%；66%；67%；68%；69%；70%；71%；72%；73%；74%；75%；76%；77%；78%；79%；80%；81%；82%；83%；84%；85%；86%；87%；88%；89%；90%；91%；92%；93%；94%；95%；96%；97%；98%；99%；またはそれよりも大きい。

10

20

30

40

50

【0213】

一実施形態では、対象は、導入または投与した直後少なくとも6か月間、任意の重篤な有害事象を示さない。一実施形態では、対象は、導入または投与した直後少なくとも12か月間、任意の重篤な有害事象を示さない。一実施形態では、対象は、導入または投与した直後少なくとも1か月；2か月；3か月；4か月；5か月；7か月；8か月；9か月；10か月；11か月；13か月；14か月；15か月；16か月；17か月；18か月；19か月；20か月；21か月；22か月；23か月；24か月；またはそれよりも長い間、任意の重篤な有害事象を示さない。重篤な有害事象としては、限定されるものではないが、血液およびリンパ系の障害（例えば、貧血、リンパ球数の減少、および白血球増多）；胃腸障害（例えば、ディスペプシア、嚥下障害、および便秘）；限局性浮腫；疲労；転倒；首の挫傷；アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼの増加；血小板数の減少；活性化部分トロンボプラスチン時間の延長；体重減少；血中乳酸デヒドロゲナーゼ；代謝および栄養障害（例えば、高血糖症、低カルシウム血症、低アルブミン血症、低リン血症、高ナトリウム血症、低血糖症、高カリウム血症、および低ナトリウム血症）；筋骨格および結合組織障害（例えば、疼痛、頸部痛、背部痛、胸壁痛および四肢痛）；神経系障害（例えば、頭痛、不随意運動、記憶障害、睡眠障害－夢の増加、感覚性ニューロパチーおよび過眠症）；精神障害（例えば、幻覚、うつ、不眠症、および衝動制御障害）；腎臓および排尿障害（例えば、尿失禁）；呼吸器、胸部および縦隔障害（例えば、咳および湿性咳嗽）；皮膚および皮下組織障害（例えば、皮膚潰瘍）；手術および医学的手順（例えば、手根管開放術）；一過性錯覚；一過性振戦；低血圧症；ならびに血管疾患（例えば、高血圧症）が挙げられる。

【0214】

核酸

一部の態様では、本開示は、GDNF遺伝子またはGDNF遺伝子産物を発現するために有用である、単離された核酸を提供する。「核酸」配列は、DNAまたはRNAの配列を指す。一部の実施形態では、本開示の核酸およびそれから翻訳されたタンパク質は、単離されている。本明細書で使用される場合、「単離された」という用語は、人工的に生成したことを意味する。核酸に関して本明細書で使用される場合、「単離された」という用語は、(i) *in vitro*で、例えば、ポリメラーゼ連鎖反応(PCR)によって増幅された、(ii) クローニングによって組換え的に生成された、(iii) 切断およびゲル分離によってのように精製された、または(iv) 例えば、化学合成によって合成されたことを意味する。単離された核酸は、当技術分野において周知の組換えDNA技法によって容易に操作可能であるものである。そのため、5'および3'制限部位が公知であるか、またはそれについてのポリメラーゼ連鎖反応(PCR)プライマー配列が開示されているベクター中に含有されるヌクレオチド配列は、単離されたと考えられるが、その天然

宿主中にネイティブ状態で存在する核酸配列はそうではない。単離された核酸は、実質的に精製されていてもよいが、その必要がなくともよい。例えば、クローニングまたは発現ベクター内で単離された核酸は、それが存在する細胞中で、ほんのわずかなパーセンテージの物質しか含まないことがあるという点で純粋ではない。しかしながら、この用語が当業者に公知の標準技法によって容易に操作可能であるという理由で、本明細書で使用されるので、そのような核酸は単離されている。タンパク質またはペプチドに関して本明細書で使用される場合、「単離された」という用語は、その天然の環境から単離されたか、または人工的に生成した（例えば、化学合成によって、組換えDNA技術によってなど）タンパク質またはペプチドを指す。

【0215】

当業者は、保存的アミノ酸置換が、カプシドタンパク質の機能的に等価なバリエーションまたはホモログを提供するために行われてもよいことも認識するであろう。一部の態様では、本開示は、保存的アミノ酸置換をもたらす配列の変更を包含する。本明細書で使用される場合、保存的アミノ酸置換は、アミノ酸置換が行われるタンパク質の相対的電荷またはサイズ特徴を変更しないアミノ酸置換を指す。バリエーションは、当業者に公知のポリペプチド配列を変更するための方法、例えば、そのような方法を編集する参考文献、例えば、Molecular Cloning: A Laboratory Manual, J. Sambrook, et al., eds., Second Edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York, 1989、またはCurrent Protocols in Molecular Biology, F.M. Ausubel, et al., eds., John Wiley & Sons, Inc., New Yorkに見られる方法に従って調製することができる。アミノ酸の保存的置換としては、以下の群内のアミノ酸の中で行われる置換が挙げられる：(a) M、I、L、V；(b) F、Y、W；(c) K、R、H；(d) A、G；(e) S、T；(f) Q、N；および(g) E、D。したがって、本明細書に開示されるタンパク質およびポリペプチドのアミノ酸配列に対して保存的アミノ酸置換を行うことができる。

【0216】

本明細書に記載の単離された核酸は、組換えアデノ随伴ウイルス(AAV)ベクター(rAAVベクター)であってもよい。一部の実施形態では、本開示によって記載される単離された核酸は、第1のアデノ随伴ウイルス(AAV)逆位末端反復配列(ITR)またはそのバリエーションを含む領域(例えば、第1の領域)を含む。単離された核酸(例えば、組換えAAVベクター)は、カプシドタンパク質から構成されるカプシドにパッケージングされ、対象に投与されてもよく、および／または選択される標的細胞に送達されてもよい。「組換えAAV(rAAV)ベクター」は、典型的には、最小限の導入遺伝子およびその調節配列、ならびに5'および3' AAV逆位末端反復配列(ITR)から構成される。導入遺伝子は、本開示の他の箇所に記載されるように、例えば、タンパク質をコードする領域、および／または発現制御配列(例えば、ポリAテール)を含んでいてもよい。

【0217】

一般に、ITR配列は、約145bpの長さである。さまざまな態様では、左および右ITRは、独立して、145bpもしくはそれよりも少ない、または130bpもしくはそれよりも少ない。「独立して」とは、左および右ITRが、同じ長さまたは異なる長さであり得ることを意味する。非限定的な例として、左および右ITRは、独立して、145bp、130bp、128bp、124bp、または119bpであり得る。好ましくは、ITRをコードする配列の実質的に全体が、核酸配列中で使用されるが、これらの配列のいくらかの度合いのマイナーな改変は許容される。これらのITR配列を改変する能力は、当技術分野の技能内である(例えば、Sambrook et al., "Molecular Cloning. A Laboratory Manual", 2d ed., Cold Spring Harbor Laboratory, New York (1989); およびK. Fisher et al., J Virol., 70:520-532 (1996)などのテキストを参照されたい)。そのような核酸分子の例は、導入遺伝子を含む「シス作用性」プラスミドであり、ここで、選択される導入遺伝子配列および関連する調節エレメントは、5'および3' AAV ITR配列に隣接している。AAV ITR

10

20

30

40

50

R配列は、本発明によって特定された哺乳動物AAV型を含む、任意の公知のAAVから得てもよい。一部の実施形態では、単離された核酸（例えば、rAAVベクター）は、AAV1、AAV2、AAV5、AAV6、AAV6.2、AAV7、AAV8、AAV9、AAV10、AAV11、およびそれらのバリエーションから選択される血清型を有する少なくとも1つのITRを含む。一部の実施形態では、単離された核酸は、AAV2 ITRをコードする領域（例えば、第1の領域）を含む。

【0218】

一部の実施形態では、単離された核酸は、第2のAAV ITRを含む領域（例えば、第2の領域、第3の領域、第4の領域など）をさらに含む。一部の実施形態では、第2のAAV ITRは、AAV1、AAV2、AAV5、AAV6、AAV6.2、AAV7、AAV8、AAV9、AAV10、AAV11、およびそれらのバリエーションから選択される血清型を有する。一部の実施形態では、第2のITRは、機能的末端分離部位（TRS）を欠く突然変異体ITRである。「末端分離部位を欠く」という用語は、ITRの末端分離部位（TRS）の機能を無効にする突然変異（例えば、非同義突然変異などのセンス変異、またはミスセンス突然変異）を含むAAV ITR、または機能的TRSをコードする核酸配列を欠くトランケートされたAAV ITR（例えば、ATRS ITR）を指し得る。任意の特定の理論に縛られることを望まないが、機能的TRSを欠くITRを含むrAAVベクターは、例えば、McCarthy (2008) Molecular Therapy 16(10): 1648-1656によって記載される自己相補的rAAVベクターを生成する。

【0219】

組換えAAVベクターについて上記で特定されたエレメントに加えて、ベクターは、ベクターをトランスフェクトされたか、または本明細書に記載の方法によって生成したウイルスに感染した細胞中で、その転写、翻訳および／または発現を可能にする様式で、導入遺伝子のエレメントと作動可能に連結される従来の制御エレメントも含む。本明細書で 사용되는場合、「作動可能に連結された」配列は、目的の遺伝子（すなわち、GDNF）と連続している発現制御配列および目的の遺伝子を制御するためにトランスまたは遠くで作用する発現制御配列の両方を含む。発現制御配列は、適切な転写開始配列、停止配列、プロモーター配列およびエンハンサー配列；スプライシングシグナルおよびポリアデニル化（ポリA）シグナルなどの効率的なRNAプロセッシングシグナル；細胞質mRNAを安定化する配列；翻訳効率を増強する配列（すなわち、コザックコンセンサス配列）；タンパク質安定性を増強する配列；ならびに所望の場合に、コードされた産物の分泌を増強する配列を含む。ネイティブの、構造的な、誘導性のおよび／または組織特異的であるプロモーターを含むいくつかの発現制御配列が、当技術分野において公知であり、利用される。

【0220】

本明細書で 사용되는場合、核酸配列（例えば、コード配列）および調節配列は、核酸配列の発現または転写を調節配列の影響下または制御下に置くような方法で、それらが共有結合的に連結される場合に、作動可能に連結されたと言われる。核酸配列が機能的タンパク質に翻訳されることが望ましい場合、2つのDNA配列は、調節配列（例えば、5'調節配列）におけるプロモーターの誘導がコード配列の転写をもたらす場合、および2つのDNA配列間の連結の性質が（1）フレームシフト突然変異の導入をもたらさない、（2）プロモーター領域のコード配列の転写を指示する能力を妨げない、または（3）対応するRNA転写物のタンパク質に翻訳される能力を妨げない場合に、作動可能に連結されたと言われる。そのため、プロモーター領域は、得られる転写物が所望のタンパク質またはポリペプチドに翻訳され得るように、プロモーター領域がそのDNA配列の転写をもたらすことができる場合に、核酸配列に作動可能に連結されている。同様に、2つまたはそれよりも多くのコード領域は、共通のプロモーターからのそれらの転写がインフレームで翻訳されている2つまたはそれよりも多くのタンパク質の発現をもたらすような方法で、それらが連結されている場合に、作動可能に連結されている。一部の実施形態では、作動可能に連結されたコード配列は、融合タンパク質をもたらす。

【0221】

プロモーター

様々な実施形態では、導入遺伝子は、1つまたは複数の発現制御配列（例えば、プロモーターなど）をコードする核酸配列をさらに含む。発現制御配列は、適切な転写開始配列、停止配列、プロモーター配列およびエンハンサー配列；スプライシングシグナルおよびポリアデニル化（ポリA）シグナルなどの効率的なRNAプロセッシングシグナル；細胞質mRNAを安定化する配列；翻訳効率を増強する配列（すなわち、コザックコンセンサス配列）；タンパク質安定性を増強する配列；ならびに所望の場合に、コードされた産物の分泌を増強する配列を含む。ネイティブの、構成的な、誘導性のおよび／または組織特異的であるプロモーターを含む多数の発現制御配列が、当技術分野において公知であり、利用され得る。

10

【0222】

「プロモーター」は、遺伝子（例えば、遺伝子のコード配列）の特異的転写を開始するために必要な、細胞の合成機構によって認識されるか、または合成機構に導入されるDNA配列を指す。「動作可能に配置される」、「制御下」または「転写制御下」という語句は、プロモーターが、RNAポリメラーゼの開始および遺伝子の発現を制御するために核酸に関して正しい位置および方向にあることを意味する。

【0223】

タンパク質をコードする核酸について、ポリアデニル化配列は、一般に、導入遺伝子配列（すなわち、導入遺伝子配列の下流または導入遺伝子配列の3'側）の後、および3' AAV ITR配列の前に挿入される。本開示において有用なrAAV構築物は、プロモーター／エンハンサー配列と導入遺伝子の間に位置することが望ましいイントロンも含有し得る。1つの例示的なイントロン配列は、SV-40に由来し、SV-40 Tイントロン配列と称される。使用され得る別のベクターエレメントは、配列内リボソーム進入部位（IRES）である。IRES配列は、単一の遺伝子転写物から2つ以上のポリペプチドを生成するために使用される。IRES配列は、2つ以上のポリペプチド鎖を含有するタンパク質を生成するために使用されるであろう。これらのおよび他の一般的なベクターエレメントの選択は従来のものであり、多くのそのような配列が利用可能である〔例えば、Sambrook et al.、およびその中の例えば、3.18 3.26および16.17 16.27頁で引用された参考文献、ならびにAusubel et al., Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, New York, 1989を参照されたい〕。一部の実施形態では、口蹄疫ウイルス2A配列は、ポリタンパク質に含まれ、これはポリタンパク質の切断を媒介することが示されている小型ペプチド（およそ18アミノ酸の長さ）である（Ryan, M D et al., EMBO, 1994; 4: 928-933; Mattion, N M et al., J Virology, November 1996; p. 8124-8127; Furler, S et al., Gene Therapy, 2001; 8: 864-873; およびHalpin, C et al., The Plant Journal, 1999; 4: 453-459）。2A配列の切断活性は、プラスミドおよび遺伝子治療ベクター（AAVおよびレトロウイルス）を含む人工系において以前に実証されている（Ryan, M D et al., EMBO, 1994; 4: 928-933; Mattion, N M et al., J Virology, November 1996; p. 8124-8127; Furler, S et al., Gene Therapy, 2001; 8: 864-873; およびHalpin, C et al., The Plant Journal, 1999; 4: 453-459; de Felipe, P et al., Gene Therapy, 1999; 6: 198-208; de Felipe, P et al., Human Gene Therapy, 2000; 11: 1921-1931.; ならびにKlump, H et al., Gene Therapy, 2001; 8: 811-817）。

30

40

【0224】

構成的プロモーターの例としては、限定されないが、レトロウイルスラウス肉腫ウイルス（RSV）LTRプロモーター（必要に応じて、RSVエンハンサーを伴う）、サイトメガロウイルス（CMV）プロモーター（必要に応じて、CMVエンハンサーを伴う）〔例えば、Boshart et al., Cell, 41: 521-530 (1985)を参照されたい〕、SV

50

40プロモーター、ジヒドロ葉酸還元酵素プロモーター、 β -アクチンプロモーター、ホスホグリセロールキナーゼ (PGK) プロモーター、およびEF1 α プロモーター [Invitrogen] が挙げられる。一部の実施形態では、プロモーターは、増強されたニワトリ β -アクチンプロモーターである。一部の実施形態では、プロモーターは、U6プロモーターである。

【0225】

誘導性プロモーターは、遺伝子発現の調節を可能にし、外因的に供給される化合物、温度などの環境因子、もしくは特定の生理学的状態、例えば、急性期の存在、細胞の特定の分化状態によって、または複製細胞においてのみ、調節され得る。誘導性プロモーターおよび誘導性系は、限定されないが、Invitrogen、ClontechおよびAriadを含む各種の商業的供給源から入手可能である。多くの他の系が記載されており、当業者によって容易に選択することができる。外因的に供給されるプロモーターによって調節される誘導性プロモーターの例としては、亜鉛誘導性ヒツジメタロチオネイン (MT) プロモーター、デキサメタゾン (Dex) 誘導性マウス乳腺腫瘍ウイルス (MMTV) プロモーター、T7ポリメラーゼプロモーター系 (WO 98/10088号) ; エクダイソン昆虫プロモーター (No et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 93:3346-3351 (1996))、テトラサイクリン抑制系 (Gossen et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 89:5547-5551 (1992))、テトラサイクリン誘導系 (Gossen et al., Science, 268: 1766-1769 (1995)、またHarvey et al., Curr. Opin. Chem. Biol., 2:512-518 (1998)も参照されたい)、RU486誘導系 (Wang et al., Nat. Biotech., 15:239-243 (1997)およびWang et al., Gene Ther., 4:432-441 (1997)) およびラパマイシン誘導系 (Magari et al., J. Clin. Invest., 100:2865-2872 (1997)) が挙げられる。この文脈において有用であり得るさらに他の種類の誘導性プロモーターは、特定の生理学的状態、例えば、温度、急性期、細胞の特定の分化状態によって、または複製細胞中のみにおいて、調節されるものである。

【0226】

別の実施形態では、導入遺伝子についてのネイティブのプロモーターが使用される。ネイティブプロモーターは、導入遺伝子の発現がネイティブ発現を模倣すべきことが望まれる場合に、好ましくあり得る。ネイティブプロモーターは、導入遺伝子の発現が、時間的にもしくは発生的に、または組織特異的な様式で、または特定の転写刺激に応答して、調節されなければならない場合に、使用され得る。さらなる実施形態では、エンハンサーエレメント、ポリアデニル化部位またはコザックコンセンサス配列などの他のネイティブ発現制御エレメントも、ネイティブ発現を模倣するために使用され得る。本明細書で 사용되는場合、「ネイティブプロモーター」は、導入遺伝子の内因性プロモーターを指す。

【0227】

一部の実施形態では、調節配列は、組織特異的遺伝子発現能力を付与する。一部の場合では、組織特異的調節配列は、組織特異的な様式で、転写を誘導する組織特異的転写因子に結合する。そのような組織特異的調節配列 (例えば、プロモーター、エンハンサーなど) は、当技術分野において周知である。例示的な組織特異的調節配列としては、以下の組織特異的プロモーターに限定されるものではないが、肝臓特異的サイロキシン結合性グロブリン (TBG) プロモーター、インスリンプロモーター、グルカゴンプロモーター、ソマトスタチンプロモーター、膵臓ポリペプチド (PPY) プロモーター、シナプシン-1 (Syn) プロモーター、クレアチンキナーゼ (MCK) プロモーター、哺乳動物デスミン (DES) プロモーター、 α -ミオシン重鎖 (α -MHC) プロモーター、または心トロポニンT (cTnT) プロモーターが挙げられる。

【0228】

他の例示的なプロモーターとしては、当業者に明らかであろう中でも、ベータ-アクチンプロモーター、B型肝炎ウイルスコアプロモーター、Sandig et al., Gene Ther., 3: 1002-9 (1996); アルファーフェトプロテイン (AFP) プロモーター、Ar

buthnot et al., Hum. Gene Ther., 7: 1503-14 (1996)、骨オステオカルシンプロモーター (Stein et al., Mol. Biol. Rep., 24: 185-96 (1997)) ; 骨シアロタンパク質プロモーター (Chen et al., J. Bone Miner. Res., 11: 654-64 (1996))、CD2プロモーター (Hansal et al., J. Immunol., 161: 1063-8 (1998)) ; 免疫グロブリン重鎖プロモーター ; T細胞受容体 α -鎖プロモーター、ニューロン特異的エノラーゼ (NSE) プロモーターなどのニューロンプロモーター (Andersen et al., Cell. Mol. Neurobiol., 13:503-15 (1993))、神経フィラメント軽鎖遺伝子プロモーター (Piccioli et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 88:5611-5 (1991))、およびニューロン特異的 vgf 遺伝子プロモーター (Piccioli et al., Neuron, 15:373-84 (1995)) が挙げられる。

10

【0229】

本方法および本組成物における使用のために企図される神経系 (NS) 特異的プロモーターとしては、国際特許出願第 WO / 2022 / 049385 号および同第 WO / 2021 / 214443 号に記載されるものも挙げられ、これらは、それらの全体が参照により本明細書に組み込まれる。一部の実施形態では、NS 特異的プロモーターは、表1のプロモーター、または表1のプロモーターに対して少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%の同一性を有するプロモーターである。一部の実施形態では、NS 特異的プロモーターは、表1のプロモーター、または表1のプロモーターに対して少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%の同一性を有し、表1のプロモーターの NS 特異的プロモーター活性を保持するプロモーターである。

20

【0230】

本方法および本組成物における使用のために企図される CNS 特異的プロモーターとしては、国際特許出願 WO / 2021 / 214443 に記載されるものも挙げられ、この内容は、それらの全体が参照により本明細書に組み込まれる。一部の実施形態では、CNS 特異的プロモーターは、表2~4のプロモーター、または表2~4のプロモーターに対して少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%の同一性を有するプロモーターである。一部の実施形態では、CNS 特異的プロモーターは、表2~4のプロモーター、または表2~4のプロモーターに対して少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%の同一性を有し、表2~4のプロモーターの CNS 特異的プロモーター活性を保持するプロモーターである。

30

【0231】

一部の実施形態では、核酸は、1つまたは複数のシス制御エレメント (CRE) を含む。一部の実施形態では、核酸は、1つまたは複数の NS 特異的 CRE または CNS 特異的 CRE を含む。一部の実施形態では、核酸は、表4~6の1つもしくは複数の CRE、または表4~6の CRE に対して少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%の同一性を有する CRE を含む。一部の実施形態では、CRE は、表4~6の CRE、または表4~6の CRE に対して少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%の同一性を有し、表4~6の CRE の活性を保持する CRE である。

40

【0232】

一部の実施形態では、CRE は、当技術分野において公知の1つまたは複数の CRE を含むことができる。例えば、一実施形態では、1つまたは複数の CRE は、国際特許出願第 WO / 2022 / 049385 号の配列番号 19~24、27、28、37、38 から選択されてもよい。例えば、一実施形態では、1つまたは複数の CRE は、WO 2019 / 199867 A1 号の配列番号 1~8、WO 2020 / 076614 A1 号の配列番号 1~7、および WO 2020 / 097121 号の配列番号 25~51、177~178、188 から選択されてもよい。前述の参考文献は、それらの全体が参照により本明細書に組み込まれる。

50

【 0 2 3 3 】

【 表 1 - 1 】

表 1 - NS 特異的プロモーター

名称	配列	長さ
SP0013 (配列番号 3)	AACATATCCTGGTGTGGAGTAGGGGACGCTGCTCTGACAGAGGCTCGGGGGCCTGAGCTG GCTCTGTGAGCTGGGGAGGAGGCAGACAGCCAGGCCTTGTCTGCAAGCAGACCTGGCAGC ATTGGGCTGGCCGCCCCCAGGGCCTCCTCTTCATGCCCAGTGAATGACTCACCTTGGCA CAGACACAATGTTCTGGGGTGGGCACAGTGCTTGCTTCCCGCCGCACCCAGCCCCCTCA AATGCCTTCCGAGAAGCCCATTTAGCAGGGGGCTTGCAATTGCACCCAGCCTGACAGCCT GGCATCTTGGGATAAAAAGCAGCACAGCCCCCTAGGGGCTGCCCTTGCTGTGTGGCGCCAC CGGCGGTGGAGAACAAGGCTCTATTAGCCTGTGCCAGGAAAGGGGATCAGGGGATGCC CAGGCATGGACAGTGGGTGGCAGGGGGGAGAGGAGGGCTGTCTGCTTCCAGAAAGTCCA AGGACACAAATGGGTGAGGGGAGGGCTAGGCCTGCGCACCCACCCACCGACCCCTCACCC ACCGACCCGTCACCCACCGACCAAGGGGCACCCCTGGCCTAGAGGGGATGCTGAGCGGGAC CCGCTCCTGCCTCTGGCAGTCCAGATGGGACTTGGACCCCGCAGTTGCTCTCTCGGAC CCTAAGTTTCTACCCCTGGATCTAAGCGGAGCTGGGTTTGCGGATCCACGTTCCCGG CGGGGCGGGGCGCGTCCGCCCTCCCCCTCCCCGCGCTCCTGCGCCGGGAGCAGTGCATT GTGGGAAACTCCCCGA	795
SP0014 (配列番号 4)	AACATATCCTGGTGTGGAGTAGGGGACGCTGCTCTGACAGAGGCTCGGGGGCCTGAGCTG GCTCTGTGAGCTGGGGAGGAGGCAGACAGCCAGGCCTTGTCTGCAAGCAGACCTGGCAGC ATTGGGCTGGCCGCCCCCAGGGCCTCCTCTTCATGCCCAGTGAATGACTCACCTTGGCA CAGACACAATGTTCTGGGGTGGGCACAGTGCTTGCTTCCCGCCGCACCCAGCCCCCTCA AATGCCTTCCGAGAAGCCCATTTAGCAGGGGGCTTGCAATTGCACCCAGCCTGACAGCCT GGCATCTTGGGATAAAAAGCAGCACAGCCCCCTAGGGGCTGCCCTTGCTGTGTGGCGCCAC CGGCGGTGGAGAACAAGGCTCTATTAGCCTGTGCCAGGAAAGGGGATCAGGGGATGCC CAGGCATGGACAGTGGGTGGCAGGGGGGAGAGGAGGGCTGTCTGCTTCCAGAAAGTCCA AGGACACAAATGGGTGAGGGGATGCGGCGAGGCGCGTGCGCACTGCCAGCTTCAGCACCG CGGACAGTGCTTTCGCCCCCGCTGGCGGCGCGCGCCACCGCCGCTCAGCACTGAAGGC GCGCTGACGTCACTCGCCGGTCCCCCGCAAACCTCCCTTCCCGGCCACCTTGGTTCGCGTC CGCGCCGCGCGCGGCCAGCCGGACCGCACCGAGGCGCGAGATAGGGGGGCACGGG CGCGACCATCTGCGCTGCGGCGCGGCGACTCAGCGCTGCCTCAGTCTGCGGTGGGCAGC GGAGGAGTCGTGCTCGTGCCTGAGAGCGCAG	810
SP0026	AACATATCCTGGTGTGGAGTAGGGGACGCTGCTCTGACAGAGGCTCGGGGGCCTGAGCTG GCTCTGTGAGCTGGGGAGGAGGCAGACAGCCAGGCCTTGTCTGCAAGCAGACCTGGCAGC	916

10

20

30

40

50

【表 1 - 2】

(配列番号 5)	ATTGGGCTGGCCGCCCCCAGGGCCTCCTCTTCATGCCAGTGAATGACTCACCTTGGCA CAGACACAATGTTCCGGGTGGGCACAGTGCCTGCTTCCCGCCGACCCAGCCCCCTCA AATGCCCTCCGAGAAAGCCATTGAGCAGGGGGCTTGCAATGCAACCCAGCCTGACAGCCT GGCATCTTGGGATAAAAGCAGCACAGCCCCCTAGGGGCTGCCCTTGCTGTGTGGCGCCAC CGGCGGTGGAGAACAAGGCTCTATTAGCCTGTGCCAGGAAAGGGGATCAGGGGATGCC CAGGCATGGACAGTGGGTGGCAGGGGGGAGAGGAGGGCTGTCTGCTTCCCAGAAGTCCA AGGACACAATGGGTGAGGGGAAGCGCGCAGAGTCTGCATGCCGTGAGGAAGCTCCTGGGC GCGTCACAGCCGCTATTCTCAGCGTCTCTCCTTTTATGGCTCCGGAAGTGAGCTGGGG TTGCTGGCAGCCTGGCTGGCACTGGGCTAGGCCTGCGCACCACCCACCGACCCCTCACC CACCAGCCCGTCAACCCAGGACCAAGGGGACCCCTGGCCTAGAGGGGATGCTGAGCGGGA CCCGCCTCCTGCCCTGGCAGTCCCAGATGGGACTTGGACCCCGCAGTGTCTCTCGGA CCCTAAGTTTCTACCCCTGGATCTAAGGCGGAGCTGGGTTTGGCGATCCCACGGTTCCCG GCGGGCGGGGCCCGGTGCCCCCTCCCCCTCCCCGCCCTCCTGCGCCGGGAGCAGTGCAT TGTGGGAACTCCCGA	
SP0027 (配列番号 6)	AACATATCCTGGTGTGGAGTAGGGGACGCTGCTCTGACAGAGGCTCGGGGGCCTGAGCTG GCTCTGTGAGCTGGGGAGGAGGCAGACAGCCAGGCCCTTGTCTGCAAGCAGACCTGGCAGC ATTGGGCTGGCCGCCCCCAGGGCCTCCTCTTCATGCCAGTGAATGACTCACCTTGGCA CAGACACAATGTTCCGGGTGGGCACAGTGCCTGCTTCCCGCCGACCCAGCCCCCTCA AATGCCCTCCGAGAAGCCATTGAGCAGGGGGCTTGCAATGCAACCCAGCCTGACAGCCT GGCATCTTGGGATAAAAGCAGCACAGCCCCCTAGGGGCTGCCCTTGCTGTGTGGCGCCAC CGGCGGTGGAGAACAAGGCTCTATTAGCCTGTGCCAGGAAAGGGGATCAGGGGATGCC CAGGCATGGACAGTGGGTGGCAGGGGGGAGAGGAGGGCTGTCTGCTTCCCAGAAGTCCA AGGACACAATGGGTGAGGGGAAGCGCGCAGAGTCTGCATGCCGTGAGGAAGTCTCTGGGC GCGTCACAGCCGCTATTCTCAGCGTCTCTCCTTTTATGGCTCCGGAAGTGAGCTGGGG TTGCTGGCAGCCTGGCTGGCACTTGGCGGAGGCGCGTGGCACTGCCAGCTTCAAGCACC GCGGACAGTGCCTTGGCCCCGCTGGCGGCGCGGCCACCCGCGCCTCAGCACTGAAGG CGCGCTGACGTCACTCGCCGCTCCCCGCAAACTCCCTTCCCGGCCACCTTGGTTCGCT CCGCGCCGCGCGGCCAGCCGACCGCACCGAGGCGGAGATAGGGGGGACGG GCGGACCATCTGCGCTGCGCGCCGCGGCACTCAGCGCTGCCCTAGTCTGCGGTGGGCA CGGAGGAGTCGTGCTGCTGAGAGCGCAG	931
SP0030 (配列番号 7)	AACATATCCTGGTGTGGAGTAGGGGACGCTGCTCTGACAGAGGCTCGGGGGCCTGAGCTG GCTCTGTGAGCTGGGGAGGAGGCAGACAGCCAGGCCCTTGTCTGCAAGCAGACCTGGCAGC ATTGGGCTGGCCGCCCCCAGGGCCTCCTCTTCATGCCAGTGAATGACTCACCTTGGCA CAGACACAATGTTCCGGGTGGGCACAGTGCCTGCTTCCCGCCGACCCAGCCCCCTCA AATGCCCTCCGAGAAGCCATTGAGCAGGGGGCTTGCAATGCAACCCAGCCTGACAGCCT GGCATCTTGGGATAAAAGCAGCACAGGGCTAGGCCTGCGCACCACCCACCGACCCCTCAC CCACCGACCCGTCAACCCAGGACCAAGGGGACCCCTGGCCTAGAGGGGATGCTGAGCGGG ACCCGCTCCTGCCCTGCGCAGTCCCAGATGGGACTTGGACCCCGCAGTGTCTCTCGG ACCTAAGTTTCTACCCCTGGATCTAAGGCGGAGCTGGGTTTGGCGATCCCACGGTTCCG GGCGGGCGGGGCCCGGTGCCCCCTCCCCCTCCCCGCCCTCCTGCGCCGGGAGCAGTGCA TTGTGGGAACTCCCGA	617
SP0031 (配列番号 8)	AACATATCCTGGTGTGGAGTAGGGGACGCTGCTCTGACAGAGGCTCGGGGGCCTGAGCTG GCTCTGTGAGCTGGGGAGGAGGCAGACAGCCAGGCCCTTGTCTGCAAGCAGACCTGGCAGC ATTGGGCTGGCCGCCCCCAGGGCCTCCTCTTCATGCCAGTGAATGACTCACCTTGGCA CAGACACAATGTTCCGGGTGGGCACAGTGCCTGCTTCCCGCCGACCCAGCCCCCTCA AATGCCCTCCGAGAAGCCATTGAGCAGGGGGCTTGCAATGCAACCCAGCCTGACAGCCT GGCATCTTGGGATAAAAGCAGCACTGCGGCGAGGCGGTGCGCACTGCCAGCTTCAAGCAC CGCGGACAGTGCCTTGGCCCCGCTGGCGGCGCGGCCACCGCGCCTCAGCACTGAAG GCGCGCTGACGTCACTCGCCGGTCCCCGCAAACTCCCTTCCCGGCCACCTTGGTTCGCG TCCGCGCCGCGCGGCCAGCCGACCGACCGAGGCGGAGATAGGGGGGACG GGCGGACCATCTGCGCTGCGGCGCGGCGCACTCAGCGCTGCCCTAGTCTGCGGTGGGCA GCGGAGGAGTCGTGCTGCTGAGAGCGCAG	632
SP0032 (配列番号 9)	TTGAGAGGTCGGATCTGAATCCAGTCCAAAGGCCAGCACCCAGCCCTGACCCATGG CTGCCTGCTGGCTGGGAGTGGCATTCTTTAGAACAGGAAAGGAGTGAGTTCTCATTGCA TCAATACTTGCAATTGCTACAACAGAAGCTTTTGTCTCTTCTCCTACATTCCTTTAGAAC ACAAGCCTCCTTTTCTGCTGTGGCCATCGGTCACTGGAGTCAGCCTCGTGAGTGGCTTG GTGGCGGATGGCACCGTCTTTGTGGGAGAAAACAATGTTGCTGCCAGGCCCTTCTGGA ATGACCCCTTCCACCCCTGACAGCCCCAGCAAGGCCCGGGGCTGGCTGCCTAGTTGA TTGGAGCCAAGAGTTGCTGAATGGATGAAGGGAGAAGGGACATCCAAGGGCTAGGCCCTG CGACCCACCCACCGACCCCTCACCACCGACCCGTACCCACCGACCAAGGGGACCCCT	701

10

20

30

40

50

【表 1 - 3】

	GGCCTAGAGGGGATGCTGAGCGGGACCCGCCTCCTGCCTCTGGCAGTCCCAGATGGGACT TGGACCCCGCAGTTGCTCTCTCGGACCTAAGTTTCTACCCCTGGATCTAAGCGGAGCT GGGTTTGCGGATCCACGGTTCCCGCGGGGGCGGGCCCGGTGCCCCCTCCCCCTCCCCG CCCTCCTGCGCCGGGAGCAGTGCAATTGTGGGAACTCCCGA	
SP0033 (配列番号 10)	TTCAGAGGTGCGATCTGAATCCAGCTCCAAGGCCCCAGCACCCAAGCCCTGACCCCATGG CTGCCTGCTGGCTGGGAGTGGCATTCTTTAGAACAGGAAAGGCAGTGAGTTCTCATTGCA TCAATACTTGCAATTTGCTACAACAGAAGCTTTTGTCTCTTCCCTCACATTCTTTAGAAC ACAAGCCTCCTTTTCTGCCTGTGGCCATCGGTCACTGGAGTCAGCCTCGTGAGTGGCTTG GTGGCGGATGGCACCGTCCTTTGTGGGAGAAAACAATGTTGCTGCCAGGCCTTTCTGGA ATGACCCCTTCCCACCCCTGACCAGCCCCAGCAAGGCCCGGGGCTGGCTGCCTAGTTGA TTGGAGCCAAGAGTTTGTGAATGGATGAAGGGAGAAGGGACATCCAATGCGGCGAGGCG CGTGCGCACTGCCAGCTTCAGCACCGCGGACAGTGCCTTCGCCCCCGCTGGCGGCGCGC GCCACCGCCGCTCAGCACTGAAGGCGCGCTGACGTCACTCGCCGGTCCCCCGCAAACCTC CCCTTCCCGCCACCTTGGTGCCTCCGCGCCGCGCCGCGGCCAGCCGACCGCACCCAGC CGAGGCGCGAGATAGGGGGGACGGGCGCGACCATCTGCGCTGCGGCGCGGCGACTCAG CGCTGCCTCAGTCTGCGGTGGGCGAGCGAGGACTCGTGTCTGCTCTGAGAGCGCAG	716
SP0019 (配列番号 11)	TCAGGGGTGACGCTTTTTTCTGTCTTTACTCAGCCTGAGAAAGGTTGTCGTTTGACAA GGTTTGTTCAGAGTTCGGATCTGAATCCAGCTCCAAGGCCCCAGCACCCAAGCCCTGACC CCATGGCTGCCTGCTGGCTGGGAGTGGCATTCTTTAGAACAGGAAAGGCAGTGAGTTCTC ATTGCATCAATACTTGCAATTTGCTACAACAGAAGCTTTTGTCTCTTCCCTCACATTCTTT TAGAACACAAGCCTCCTTTTCTGCCTGTGGCCATCGGTCACTGGAGTCAGCCTCGTGAGT GGCTTGGTGGCGGATGGCACCGTCCTTTGTGGGAGAAAACAATGTTGCTGCCAGGCCTT TCTGGAATGACCCCTTCCCACCCCTGACCAGCCCCAGCAAGGCCCGGGGCTGGCTGCCT AGTTGATTGGAGCCAAGAGTTTGTGAATGGATGAAGGGAGAAGGGACATCCAAGTGACT GAAGAAGATCTTAACAGAAGGGCTAGGCCTGCGCACCCACCCACCGACCCCTCACCCACC GACCCGTCACCCACCGACCAAGGGGGACCCCTGGCCTAGAGGGGATGCTGAGCGGGACCCG CCTGGAATGACCCCTTGGCAGTCCAGATGGGACTTGGACCCCGCAGTTGCTCTCTCGGACCT AAGTTTCTACCCCTGGATCTAAGGCGGAGCTGGGTTTGCAGATCCACGGTTCCCGCGG GGCGGGGCCGCTGCCCCCTCCCCCTCCCCGCCCTCCTGCGCGGGAGCAGTGCAATTGTG GGAACTCCCGA	792
SP0020 (配列番号 12)	CTTCCTCTTATATTTACCAAGACTCAGTTCCTGAGCAAGAAACCACAGGCACAGCAAGT GCCATGAAAAGCGGCTTTGTGTGGGTGGGCTCTTCACACTCCAATCTCCACTTCCTTCT CAAGGCCTCAAAAAAGTTGAAAAATGAAAACAAAAGCCCTGCTGTGTTGAGCTGGGCTC TGGCGTTGCCATGGACCCAGGGCAAACAGCGGTGCTCCTGCTCTGCCCCCGGCTCAGCTC ATGCTGGGCTGCACTTCTGGAAGGGAGCATGGACTTTGGAATGACTGGTTAGAACCACAA ATGAATTAATGGAATTTGACATAGTTCAAAAATAATAAAATGTGATACCCATGAAATGCT GATATTCTGCCTTAATTTGCCAGATTGGGGGCGGGCTAGGCCTGCGCACCCACCCACCG ACCCCTCACCCACCGACCCGTACCCACCGACCAAGGGGACCCCTGGCCTAGAGGGGATG CTGAGCGGGACCCGCTCCTGCCTCTGGCAGTCCCAGATGGGACTTGGACCCCGCAGTTG CTCTCTCGGACCTAAGTTTCTACCCCTGGATCTAAGGCGGAGCTGGGTTTGCAGATCCC ACGGTTCCCGGGCGGGGCGGGCCGCTGCCCCCTCCCCCTCCCCGCCCTCCTGCGCGGG AGCAGTGCAATTGTGGGAACTCCCGA	686
SP0021 (配列番号 13)	TCAGGGGTGACGCTTTTTTCTGTCTTTACTCAGCCTGAGAAAGGTTGTCGTTTGACAA GGTTTGTTCAGAGTTCGGATCTGAATCCAGCTCCAAGGCCCCAGCACCCAAGCCCTGACC CCATGGCTGCCTGCTGGCTGGGAGTGGCATTCTTTAGAACAGGAAAGGCAGTGAGTTCTC ATTGCATCAATACTTGCAATTTGCTACAACAGAAGCTTTTGTCTCTTCCCTCACATTCTTT TAGAACACAAGCCTCCTTTTCTGCCTGTGGCCATCGGTCACTGGAGTCAGCCTCGTGAGT GGCTTGGTGGCGGATGGCACCGTCCTTTGTGGGAGAAAACAATGTTGCTGCCAGGCCTT TCTGGAATGACCCCTTCCCACCCCTGACCAGCCCCAGCAAGGCCCGGGGCTGGCTGCCT AGTTGATTGGAGCCAAGAGTTTGTGAATGGATGAAGGGAGAAGGGACATCCAAGTGACT GAAGAAGATCTTAACAGAATGCGGCGAGGCGGTGCGCACTGCCAGCTTCAGCACCGCGG ACAGTGCCCTTCGCCCCCGCTGGCGGCGCGCGCCACCGCCGCTCAGCACTGAAGGCGCG CTGACGTCACTCGCGGTCCCCCGCAAACCTCCCTTCCGGGACCTTGGTTCGGTCCGC GCCGCGCCGCGGACCGCGGACCCAGCGAGGCGGAGATAGGGGGGACGGGCGC GACCATCTGCGCTGCGGCGCGGCGGACTCAGCGCTGCCTCAGTCTGCGGTGGGCGCGGA GGAGTCGTGCTGCTGAGAGCGCAG	807
SP0022 (配列番号 14)	CTTCCTCTTATATTTACCAAGACTCAGTTCCTGAGCAAGAAACCACAGGCACAGCAAGT GCCATGAAAAGCGGCTTTGTGTGGGTGGGCTCTTCACACTCCAATCTCCACTTCCTTCT CAAGGCCTCAAAAAAGTTGAAAAATGAAAACAAAAGCCCTGCTGTGTTGAGCTGGGCTC TGGCGTTGCCATGGACCCAGGGCAAACAGCGGTGCTCCTGCTCTGCCCCCGGCTCAGCTC	701

10

20

30

40

【表 1 - 4】

	ATGCTGGGCGCTGCACCTTCTGGAAGGGAGCATGGACTTTGGAATGACTGGTTAGAACCCAA ATGAATTAATGGAATTTGACATAGTTCAAAAATAATAAAATGTGATACCCATGAAATGCT GATATTTCTGCCCTTAATTTGCCAGATTGGGGGCTGCGGGCGAGGCGCGTGGCGACTGCCAG CTTCAGCACCGCGGACAGTGCCTTCGCCCCGCGCTGGCGGGCGCGGCCACCGCGCGCTCA GCACTGAAGGCGCGCTGACGTCACTCGCGGTCCCCCGCAAATCCCCTTCCCGGCCACC TTGGTTCGCGTCCGCGCGCGCGCGGCCAGCCGCGACCGCACACGCGAGGCGCGAGATAG GGGGGCACGGGCGCGACCATCTGCGCTGCGGCGCGCGGCGACTCAGCGCTGCCTCAGTCTG CGGTGGGCAGCGAGGAGTCTGTCTGCTGAGAGCGCAG		
SP0028 (配列番号 15)	TCAGGGGTGCAGCTTTTTTTCTGTCTTTTACTCAGCCTGAGAAAGGTTGTCGTTTGACAA GGTTTGTTCAGAGGTGCGATCTGAATCCAGCTCCAAGGCCCGAGCACCCAAGCCCTGACC CCATGGCTGCCTGCTGGCTGGGAGTGGCATTCTTTAGAACAGGAAAGGCAGTGAGTTCTC ATTGCATCAATACTTGCATTTGCTACACAGAAGCTTTTGTCTCTTCTCACATTCCTT TAGAACACAAGCCTCCTTTTCTGCCTGTGGCCATCGGTCACTGGAGTCAGCCTCGTGAGT GGCTTGGTGGCGGATGGCACCGTCTTTGTGGGAGAAAACAATGTGCTGCCCAGGCCTT TCTGGAATGACCCCTTCCCACCCCTGACCCAGCCCCAGCAAGGCCCGGGGCTGGCTGCCT AGTTGATTGGAGCCAGAGTTTGTGTAATGGATGAAGGGAGAAGGGACATCCAAGTACT GAAGAAGATCTTAACAGAAAGCGCGCAGAGTCTGCATGCGTGAGGAAGCTCCTGGGCGCG TCACAGCCGCGCTATTCTCAGCGTCTCTCCTTTTATGGCTCCGGAAGTGAGCTGGGGTTG CTGGCAGCCTGGCTGGCACTGGGCTAGGCTGCGCACCCACCCACCGACCCCTCACCCAC CGACCCGTCACCCACCGACCAAGGGGACCCCTGGCCTAGAGGGGATGCTGAGCGGGACCC GCCTCCTGCCTCTGGCAGTCCAGATGGGACTTGGACCCCGCAGTTGCTCTCTCGGACCC TAAGTTTCTACCCCTGGATCTAAGGCGGAGCTGGGTTTGGCGATCCCACGGTTCCCGGCG GGCGGGGCGCGCTCGCCCTCCCCCTCCCCGCGCTCCTGCGCGGGAGCAGTGCAATTGT GGGAAACTCCCGA	913	10
SP0029 (配列番号 16)	TCAGGGGTGCAGCTTTTTTTCTGTCTTTTACTCAGCCTGAGAAAGGTTGTCGTTTGACAA GGTTTGTTCAGAGGTGCGATCTGAATCCAGCTCCAAGGCCCGAGCACCCAAGCCCTGACC CCATGGCTGCCTGCTGGCTGGGAGTGGCATTCTTTAGAACAGGAAAGGCAGTGAGTTCTC ATTGCATCAATACTTGCATTTGCTACACAGAAGCTTTTGTCTCTTCTCACATTCCTT TAGAACACAAGCCTCCTTTTCTGCCTGTGGCCATCGGTCACTGGAGTCAGCCTCGTGAGT GGCTTGGTGGCGGATGGCACCGTCTTTGTGGGAGAAAACAATGTGCTGCCCAGGCCTT TCTGGAATGACCCCTTCCCACCCCTGACCCAGCCCCAGCAAGGCCCGGGGCTGGCTGCCT AGTTGATTGGAGCCAGAGTTTGTGTAATGGATGAAGGGAGAAGGGACATCCAAGTACT GAAGAAGATCTTAACAGAAAGCGCGCAGAGTCTGCATGCGTGAGGAAGCTCCTGGGCGCG TCACAGCCGCGCTATTCTCAGCGTCTCTCCTTTTATGGCTCCGGAAGTGAGCTGGGGTTG CTGGCAGCCTGGCTGGCACTTGGCGGAGGCGCGTGGCACTGCCAGCTTCAGCACCGCG GACAGTGCCTTCGCCCCCGCTGGCGGGCGCGGCCACCGCCGCTCAGCACTGAAGGCGC GCTGACGTCACTCGCCGGTCCCCGCAAACTCCCTTCCCGGCCACCTTGGTCGCGTCCG CGCCGCGCGCGGCCAGCCGACCGCACCGAGGCGCGAGATAGGGGGGACGGGCG CGACCATCTGCGCTGCGGCGCGCGCACTCAGCGCTGCCTCAGTCTGCGGTGGGCAGCGG AGGAGTCTGTCTGCTGAGAGCGCAG	928	20
SP0011 (配列番号 17)	CTAGCCACAGGAAATGTCTGTCTATATCCAGGCAAGTACCTTGCTCATTGGACCAACCC GAAACTGTTTCAGGGAAGATCAGGGAATCAACTCAGTTACAAATGGGATAATCATGCCCA GTAAAACTACCTGTGGTGAATAAAGAGTTAACCCTGTTCCATCTTAGGTCACTATGCA GAGTACCAATGAGTACAAGAGATGGTGCCAAAGAGGGTGGCCCTCCCTAGCTGGGAACA GTCAACCCTTAGGAACTAGACTGTCAACACATCAGCCAGCCAGAGACAAGGGAACCGTG GCAACCAAGTGTGCTGGCACATTTGTGAGGTGGTGATGGGAACGCAGAGGCCCTGCACA GCATGCTAATGAGCCAGGCAACATGAGCTCTCCCCATAGCTGGGCTGCGGCCCCAACCC CACCCCTCAGGCTATGCCAGGGGTGTGCCAGGGGCACCGGGCATCGCCAGTCTAGC CCACTCCTTCATAAGCCCTCGCATCCAGGAGCGAGCAGAGCCAGAGC	529	30
SP0034 (配列番号 18)	TCCAAAGAAAAGCCAGATAAGTAGCTGATTATTGCATAGAGCTGACAGTATCACAGGAAG ATCAGTAGTAGCAGCTCAAGTACAAAAGGTTAATTAGCAATACTTAATAAGAAAACTA CCTCTGGCAGGTGAAGAGTTAATCCCTGGTCAATTTTAAGCTACTCTGCTGAGAGTACTA ATAAGTGTAGGGGTTGGAGCCAATGAGGGTGACCCCTTCTTGATGGGAACAGTCATCCC TTAGGAACTGCCCTGGAAAGCATCAGCCAGCCAGAAAACAGGGAAAGAGGCTGAGAAACC GTGGTAACCAAGTTTTGCTGGCACTTTGTAAAATGGTAACTGCAACTGCCAGGCTGTGC AGAGAATGCTAATAAGCCTAGGACAACCTGTAAAGAGTGGACCTAGAAAATGTCCACCCG CTAGAGAGAGGGAGCGAGCATGTGCGATGAGCAATAGCTGTGGACCTTACAGTTGCTGCT AACTGCCCTGGTGTGTGTGAGGGAGAGAGGGAGGGAGGGAGAGAGCGCGCTAGCGC GAGAGAGCGAGTGAGCAAGCGAGCAGAAAAGAGGTGGAGAGGGGGGAATAAGAAAGAGA GAGAAGGAAAGGAGAGAAGGCAGGAAGAAGGCAAGGGACGAGACAA	646	40

【表 1 - 5】

SP0035 (配列番号 19)	CTAGCCACAGGAAATGTCTGTCTATATCCAGGCAAGTACCTTGCTCATTTGGACCAACCC GAAACTGTTTCAGGGAAGATCAGGGAAATCAACTCAGTTACAAATGGGATAATCATGCCCA GTAAAAACTACCTGTGGTGAATAAAGAGTTAACCCCTGTTCCATCTTAGGTCATATGCA GAGTACCAATGAGTACAAGAGATGGTGCCAAAGAGGGTGGCCCTCCCTAGCTGGGAACA GTCAACCCCTTAGGAACCTAGACTGTCAACACATCAGCCAGCCAGAGACAGGGAAACCGTG GCAACCAAGTGTGCTGGCACATTGTGAGGTGGTGATGGGAACTGCAGAGGCCCTGCACA GCATGCTAATGAGCCAGGCAAAACATCGCTAGAGAGAGGGAGCGAGCATGTGCGATGAGC AATAGCTGTGGACCTTACAGTTGCTGCTAACTGCCCTGGTGTGTGTGAGGGAGAGAGAGG GAGGGAGGGAGAGAGAGCGCTAGCGCGAGAGAGCGAGTGAGCAAGCGAGCAGAAAAAGA GGTGGAGAGGGGGGAATAAGAAAGAGAGAGAAGGAAAGGAGAGAAGGCAGGAAGAAGGC AAGGGACGAGACAA	614
CNS-1 (配列番号 20)	CTGGGCAGAGAGGGGGCATCGGGGGCATGGCTAGGGGCCAGCACTGTGCTTCCTGGGCGC CTCACCTCCTCCCTGACTCCTGGAGACTCCCAGCCCTGTCTGGGAGATGAGCATTTAGG AATCTGCTTGTGCAGGGGTGGTGGGAGGGGCCGGGTGGAGGGCGCATCCCCACGGGGAG ATTGGATGGAATGGCCTGCCAGTGTGTGTGTGAGTGTGCGCCTGTGGCAGCAGCAGAGT AAACAGCCGCTGCCCTGTCTCTCTGCGGCCGTGGCCAGGTACACAGGCCCTGTTTGGACA GCTGCCTTGTCTGTCCGTCTGTTTGGGAGATGCTGGCTGATAGATGGGGATGGGCGGACT GTTAACCCCTCGTTGCCCTGCACTGCTATGTGCTTCCTGCCTCATCCATGGGGTAGAAGGT AGCCAGAAGGTGGTCTGGCTGTGCCCCAGCTCCTCTCTAGGGGGGAAACCTCTAGTTC TGAGTCAGGGACAGAGTGAGGAGGGCTCCAGGGCATCAAGAGCTTGCTCCTCCCCGACC AGGGAGCCCAAGGACAGAGGAGAAGGGGGTCTTCCCCAGTGGTGACTAGGGGCGAATATG TCTCTGAGTGAGTGTCTGGAGCCCTCCTCACCCCAACACCATGGGGCTGGGCATAAAAGT CAGGGCAGAGCCATCTATTGCTTACATTTGCTTCTG	696
CNS-2 (配列番号 21)	GGTGTGTGGAAGGGTGAGAGGCACACACAGACACTGAAAGAATCCTAGGCCTGGTAGG CACTTAACAAATGTCTGTACAGACCAGAATTTATTTGCTGTTAGAGACCCAAGCCCTC ATAGGAACAGTGAGAAACAGGTGCAGAAAGGCGGAGTAACCTTTATCTAAAGTCATAGGCT CCCTGAATAGCAGAGCTGACACCTACAAGGAAGCGTTGGAGACCAGATCTACCAGCTAGC CTCCCTGAGACCACAGAGTGGCGCGCAGCACCGGCTGTGGCCGATGCCAGCCAGGTAGC CGGTTTCCCACGTCCCCCGCACGCACGCACTCTTTGCTGCAGGAATCCCGGGCTGCCCC GACCTGGAGTAGGGGGGGTGGTGAAGTGGGACTGAGTCCCTAGAAGCCTGGACCCCTCACTT CGTTCTCTGTACATCCAGCTCGCCTGTAGACAGTGGGGGAGGATGAAGGGAAGAGGACTCA AGCGCAACTTTGAATCATCACGCCCTTCGACAGTCCGCGCACGTTTATTTCATTTATCTTT GAAACCGAGGGAGGGGAAGCCTGGAGAAGCGGGATGGGCCAAGGGTGAGTTGGCCCCCG GGGAGCTGCTCCCTGTTTCCCTTTAGTCCCAGGGGCGCGGTCTGTGTGTAGGGCGGGC TGGGCATAAAATCAGGGCAGAGCCATCTATTGCTTACATTTGCTTCTG	709
CNS-3 (配列番号 22)	TGCTACCAGAGCCGGGAGAGCTGCTCGGAGACGCTCCGGGGTGGGGCTGGACATGAGC AGCGGCTGCCGCTCCTGGGACTAGGCCCGCCATTTTGATCCGCTGACAGGTGAGCGAA GTCTCTTCTAGAGTTCGGGTGTCGTGAAGGCCGCCCTGACATCGCAATAGGGAATTAGT GGGAAGGGCCCTTAAATTGGGCGAGCCAAAGTGGGGGAGGATTGGAACAGAGACAAAAG GGAGGAGAGACGGACAGCGACAAGTGGAGAAAATCGGCGAACTTGAGTGGCAGAGAAGT CTGAGCGCTGAGACCCGGCGGCCCGTGCCTTCCACCTGGCGCCGATCCACTTTCTCCT CGGGGTAGCGGCCCAACCCACTTCGCTGCCAGCCGATCCCTTTTACCCGTGGCTACCGGG ACCACTCTACTCTCGCCCACTTGGCTCTGCCTAAGCGTCTAGCCGGAGCGCGGTCTCTG CCAGCTGGGGAGGGGCGCGGCCGAGTTGCTGAAGAGCGCTTCTGATTGGCCAGAGGGCGG GGTTCTTGGCGTCTCGCCGGCCAGACCCCTCCCTCAAAGGCGGGGCTGGAGATCCACAG CTGGAAGGGGCGAGCCCGAGCAGGGCAGCTGGAAAGGGGCGGGGCTGACGCGCGCGGC TCGCCGCGCGGGGCTGGGGGCGCCCTGGTCTGCCATAAAGTGAATGGGCGCCGGCTGGGG GTGGCAGTACGCGGTGAGGCTCACTCCCTCCGAGAGTCCAGGAGCGCC	
CNS-4 (配列番号 23)	AAGGAGAATGGTAAACAGCAGGAGCGAAGCGGCTGAGGAGAAAGAAGAGGAAAGAAAGGC GAGACGTGGGAGGATTGGAACAGAGACAAAAGGGAGGAGAGACGGACAGCGACAAGTGGA GAAATCGGCGAACTTGAGTGGCAGAGAAGTCTGAGCGCTGAGACCCGGCGGCCCGTG CGCCTTCCCACCTGGCGCGGATCCACTTTCTCGGGGTAGCGGCCCAACCCACTTCGCTG CCAGCCGATCCCTTTTACCCGTGGCTACCGGGACCACTCTACTCTCGCCCACTTGGCTCT GCCTAAGCGTCTAGCCGGAGCGCGGTCTCTGCCACGTGGGGAGGGGCGCGGCCGAGTTG CTGAAGAGCGCTTCTGATTGGCCAGAGGGCGGGGTTCTTGGCGTCTCGCCGGCCAGACCC CTCCCTCAAAGGCGGGGCTGGAGATCCACAGCTGGAAAGGGCGGAGCCCCAGAGGGCA GCTGGAAAGGGGCGGGGCTGACGCGCGCGGCTCGCCGCGGGGCTGGGGGCGCCCTGG TCTGCCATAAAGTGAATGGGCGCCGGCTGGGGGTGGCAGTACGCGGTGAGGCTCACTCC TCCGAGAGTCCAGGAGCGCCGAGCGGAGAGGCGGCCGGGAGCAGGGGGCGGCCCCCA	

10

20

30

40

50

【表 1 - 6】

	CTCCGGCCGGGTGCCCGGCCCTGGCCCTGCCTGCCCTCTAGATCGCCGCCGAGCCGC CGCTACTGGGAGTCTG	
CNS-5 (配列番号 24)	ttgtAATGGGAATAAGGCAGACTcctgggtataagtagctcagctgatccacccctgc ttctatgtgttaattcatttattcattcattcaacaagcatttgttgaatgctctttgt gtcaggctcagcaggaagcagtggtgcaataaaatggtgaacaagaaagactcggggtttct tcatctatgttgatgtctgcagagaacagtatcagccctctaggaagtttgaatcagat acattgttagagagatacttatctagtaaatcctactcatctataaggctcaaaacaa atgtcttaactaaacacttccgtgattccctcaggcagagtttaagagcttcccttccctggg cctctatctccttccattagattataactgtttaccagtttccctctagactaaattt ctcaaaagagagaatgaggtctctttcagtccttcttgcattcttaaaactagcctgggtc ccagcctgtttgatgaaagaacaagaacactgatacaagccacagcccttggcaaaaa agatacccaatagcaatggcaatgtaaaatcagtttttagtaaatgaatcaagaattctga tgcttttagggaaagtaagtgtgaacctggcaccattaacaaattcagaactcttctctta ggagctctctaactgaacagacagagggatgtcaaccctaatcagcttgatcgtatct cagcaactacatttaagagacagtgggaaaaagagagctgtccacttttaaatcagcat atttctaactaaacactggcaatggctaaatctttaaatgcctatttctctcaagaaca ctgcaatggaaacttttagactttgggaagagattagtgtttacattgctatctcactg atttaattttaaatgctcttccaaaccaaacacacatgtgccgaagaggctactaagaaac ccaacatgcagagttctctataagtcgagccgacagctgttgactgaaactaaacttggaa atccagggtcagtaatagcacaatatcaagcaataaaacggcatctcttggcaatatttaa tttaaaaaagaagaagagacagggcgaagatcaggcactgtctgttttggaggatcaacc attctgcatttcaaagcattggtccctgcaatatccaggttactgtgctagaatctcgac tattatctcagctgttgagagggagggcaaatgtgtttactcagtgattagggcctt agaataagcctctagctcctagagagacagctcaccacttattcatttgggccaattcac aaagcctaaggaaagattaaacatccatgctgagaagacaagcgaatgcagacggtgaaaaa gaaataaaaattctttaaaaactctgagatgacttcattttttccacaaggaaacttt aggaagtgttttagttagagaaaaaccacattgacctctcttaaaccttaacttttc ctttgtggtggcactgctttgtgtaagcgactggctcgccctcgccctcttttcaactgg aagctgagagaaaaagactctggagaaacagttttcgttccagggaacacaaaccctga cactgttaaacatgagatgccaggaaaaacacacttaaaaaaaaaattcccaacttaagct ttagactgaatgtgagaaaggagatgataaaaagagtatcacaaGAGAATCTTCAGGCTG TGGG	1744
CNS-6 (配列番号 25)	TTTGGCACTGTGAGCAGTTTACTtgacaaattctgtcaaatatttggctttctgaaatctc gagaattggttgaatataattgtacttaattgtttgcaaaaataaataaatgggactaag gacgttctatcatthaatttgtcagaaaagagagttgtcatttctgaaaatttaattgcat tgaagctctatttccaatagcaaggagcactattgtcaatagacttcagagcttgaaat aaataaatctttggaatcctgttgcatctcttgggggtgtgacatttgacagctctttata gcacagaacgaaacaggtttgtgagctggaattcaattgtggcgtattgattccttgcat cagtcattattccctgctgattgacaggtgaaaattggttacgttaagtatttcatatgt tataattggctgacatttgcctgctctctgtgtcaatattgttgtaaatgctccagc tttatgagatagcaatagacactgactgtggcttttgtgtgatgttccagtggttttccct gacataaatttaagacataattaaaaaccagcagcatcttccctcttgagaagcttaatgcc aatattattgtcttccaggggaagatcatgtatgctcataatcggtgtctaatttccacc agtacgctcatgttttaggcatttaggcactataactgtaaaattgagccttcttgattgat tcatgtcaagcctcatctcggtcctgcagggaagtcacccggtgacccctttttacac taaaagaagagatttgtgttcttcttcttccctggaacctcaaatgactgaataatc tgtaatacattagtgtgacatttgttagggagaattaaacaagacacagtaatcattcc ccagaataaaaattgtgtttgatttccagcagagttctattaaagggaggacagaatctg tctcttccaaggtggaatcgtgaatattccctgcattaatgaaccaagttaacacttt aattgcttatagaaccgagttctccaatgacagcattaaaagatagggaggctctgattt aTGGTCAACACAGATTGTGAACCC	1104
CNS-7 (配列番号 26)	TCAACATGGATAACCAAAGTTCTtaaaaactacgctttcaatgaacacatatcctttgagc aagactaataatgaggaatgggagccagctcctgtgatatttatgcaactactaaattct cactgaagtcaatgggagtttgettaacgtaagggtgcaaaccttagcctccagagatta aaggggaaaaaaatccttaaacctcttcaacattaatattgcctgtaagggaatccagcca tgacctaagccatggagctttctgaacctagcaagtagaagggtaaacagtaaacaccag ttattttaaagcacatctaatacagagttcaatgagaagcaatatttatatttgatctctaa ggtatttaatacttgtatatcactattagacatctttatgtagtccattatccaaacaatg gcttaagtctgtggtattttaaataaatcaagtttccatggccgtgagactgagtgaggagtg gggatgaagccttttttcttcatTTTTTTTTTcctcagggtgcaattctgtgttaataataag	1941

10

20

30

40

【表 1 - 7】

	agaagtgtggccttccttctcatagcactaaaagtgagataatccctgtgtaagaaatca gtaagtacggctctgcttaactctagtcaccagtggtgaaactggtgacatttggtcttttttc tatcattatgtgactgggcctgttttgtgctggattaggcacaaatctcctatgcagcac atgtggcatgttactagtagtttaacttcattaataatgtatgaagaaaatgtaatccat gacaaggaagcaaagaaaagtatgtttttttttttttttgtcttcccaaatcctttggaat gagtaattattcaacattttatgtttgatgttatattttacaattcaacttccatagtgga tatttaaaaaagaaactttggcaaatgcttgcaaaaaacacaccttttacaattttaaat gtgatttactgatggccagaacttggttaaacatagtaggaaattaaatattttattcatct tatttcattttcagggccgtaaacgctccttctgagtcattcccaataacaagaatttct accagtaaagctattaacaggcatcaaaataggggagtgctaaattaagatgagattgta aaagcaaataagaacatacgcagactcgcataaggagtgcaaatgatcggttctgattgaa atgtttatagctaaatgagtttggtgaattaaacacaaatgttccaaaagataagccgt agctggtgcttcttttttctgttttttaagctgctttacagacgaaaatggaactatatt tggaacaatgctttctgtttttccatactattgatatttgggaaagtcacaaaatggcc taaggaagctaagctcgcccaagcagtggtcacttacaagtaacttttgactctgtact cctgtcacatttgggcgatcagagcaacagctggggagactttttcaacaaagatgagtg tcagataatcctgatgagattccacatccacatcttttgtaattatgtcacattcagct gtaatggaataattcaagctgaaagaacaagctttgatcctttcttaaacctttccctgt ggactggctatctaaaagatttaagatatcttctgttacaagatctagtgttccctcaga gaagtcattgcttctgaagcatcgatgatctacaagaacaatatcaagtttgccaaacacat ttctgaaagcatcggtgttttggggggaggggttgattttaatgaagatatcaataatatg ctatgcttcaattttcatctaggtgatcaagattcattttcttgttctgtcatccaaata ggcagacagaaaagtgattgaaatacattatGGGAGATGTGTCATTGCACA	
CNS-8 (配列番号 27)	GCTGGTGCTTCTTTTTCTGTTTTTAAAGCTGCTTTACAGACGAAAATGGAACATATTT GGAACAATGCTTTCTGTTTTTCCATACTATTGATATTTGTGGAAAGTCACAAAATGGCCT AAGGAAGCTAAGCTCGCCCCAAGCAGTGGTCACTTACAAGTACTTTTGTACTCTGTACTC CTGTCACATTTGGGCGATCAGAGCAACAGCTGGGGAGACTTTTTCAACAAAGATGAGTGT CAGATAATCCTGATGAGATTCCACATCCAACATCTTTTGTAATTATGTCACATTCAGCTG TAATGGAATAATTCAAGCTGAAAGAACAAGCTTTGATCCTTTCTTAAACCTTTCCCTGTG GACTGGCTATCTAAAAGATTTAAAGATATTTCTGTTACAAGATCTAGTGTTCCTCAGAG AAGTCATGCTTCTGAAGCATCGTGATCTACAAGAACAATATCAAGTTTGCCAAACACATT TCTGAAAGCATCGTGTTTTGGGGGGAGGGGTGATTATTAATGAAGATATCAATAATATGC	540

【 0 2 3 4 】

10

20

30

40

50

【表 2 - 1】

表 2 - CNS 特異のプロモーター

名称	配列	長さ
CNS-1 (配列番号 28)	CTGGGCAGAGAGGGGGCATCGGGGGCATGGCTAGGGGCCAGCACTGTGCTTCCTGGGCGC CTCACCTCCTCCCTGACTCCTGGAGACTCCCAGCCCCCTGTCTGGGAGATGAGCATTTAGG AATCTGCTTGTGCAGGGGTGGTGGGAGGGGCCGGGGTGGAGGGCGCATCCCCACGGGGAG ATTGGATGGAAATGGCCTGCCAGTGTGTGTGTGAGTGTGCCCTGTGGCAGCAGCAGAGT AAACAGCCGCTGCCCTGTCTCTCTGCGGCCGTGGCCAGGTACACAGGCCGTGTTTGGACA GCTGCCTTGTCTGTCCGTCTGTTTGGGAGATGCTGGCTGATAGATGGGGATGGGCGGACT GTTAACCCCTCGTTGCCTGCACTGCTATGTGCTTCCTGCCTCATCCATGGGGTAGAAGGT AGCCAGAAGGTGGTCCCTGGCTGTGCCCCCAGCTCCTCTCTAGGGGGGAAACCTCTAGTTC TGAGTCAGGGACAGAGTGAGGAGGGCTCCAGGGCATCAAGAGCTTGCTCCTCCCCGCACC AGGGAGCCAAGGACAGAGGAGAAGGGGGTCTTCCCCAGTGGTGACTAGGGGCAGAATATG TCTCTGAGTGAGTGTCTGGAGCCCTCCTCACCCCAACACCATGGGGCTGGGCATAAAAGT CAGGGCAGAGCCATCTATTGCTTACATTTGCTTCTG	696
CNS-2 (配列番号 29)	GGTGTGTGGAAGGGTGAGAGGCACACACACAGACACTGAAAGAATCCTAGGCCTGGTAGG CACTTAACAAATGTCTGTTACAGACCAGAATTTTATTGCTGTTAGAGACCCAAGCCCCTC ATAGGAACAGTGAGAAACAGGTGCAGAAAGGCGGAGTAACTTTATCTAAAGTCATAGGCT CCCTGAATAGCAGAGCTGACACCTACAAGGAAGCGTTGGAGACCAGATCTACCAGCTAGC CTCCCTGAGACCACGAGGTGGCGCCGCAGCACCGGCTGTGGCCGATGCCAGCCAGGTAGC CGGTTTCCCACGTCCCCCGCACGCACGCACCTCTTTGCTGCAGGAATCCCGGGCTGCCCC GACCTGGAGTAGGGGGGGTGGTGGTGGGACTGAGTCCCTAGAAGCCTGGACCCTCACTT CGTTCCCTGTACATCCAGCTCGCCTGTAGACAGTGGGGGAGGATGAAGGGAAGAGGACTCA AGCGCAACTTTGAATCATCACGCCTTCGACAGTCCGCGCACGTTTATTTTATTTATCTTT GAAAACGAGGGAGGGGAAGCCTGGAGAAGGCGGGATGGGCAAGGGTGAGTTGGCCCCCG	709

10

20

30

40

50

【表 2 - 2】

	GGGAGCTGGTCCCTGTTCTGGCTTTAGTCCCAGGGGCGCGGTCTGTGTGTAGGGCGGGC TGGGCATAAAACTCAGGGCAGAGCCATCTATTGCTTACATTGGCTTCTG	
CNS-3 (配列番号 30)	TGCTACCAGAGCCGGGAGAGCTGCTCGGAGACGCCTCCGGGTGCGGGCTGGACATGAGC AGCGGTGCCGCTCCTGGGACTAGGCCCCGCCATTTTGGATCCGCTGACAGGTCAGCGAA GTCTCTTCTTAGAGTTCCGGTGCTGAAGGCCGCCCTGACATCGCAATAGGGAAATAGT GGGAAGGGCCCTAAATTGGGCGAGCCAAGTGGGGGAGGATTGGAACAGAGACAAAAG GGAGGAGAGACGGACAGCGACAAGTGGAGAAAATCGGCGAAACTTGAGTGGCAGAGAAAT CTGAGCGCTGAGACCCGGCGGCCCTGCGCTTCCCACCTGGCGCCGATCCACTTTCCT CGGGGTAGCGGCCCAACCCACTTCGCTGCCAGCCGATCCCTTTTACCCGTGGCTACCGGG ACCACTCTACTCTCGCCCACTTGGCTCTGCCTAAGCGTCTAGCCGGAGCGCGGTCTCTG CCACCTGGGGAGGGGGCGCGCCGAGTTGCTGAAGAGCGCTTCTGATTGGCCAGAGGGCGG GGTTCTTGGCGTCTCGCGGCCAGACCCCTCCCTCAAAGGCGGGGCTGGAGATCCACAG CTGGAAGGGGCGAGCCCCAGAGGGGAGCTGGAAGGGGCGGGGCTGACGCGCGCGGC TCGCCGCGGGGCTGGGGGCGCCCTGGTCTGCCATAAAGTGAATGGGCGCGCGGTGGGG GTGGCAGTACCGGTGAGGCTCACTCCCTCCGAGAGTCCAGGAGCGCC	10
CNS-4 (配列番号 31)	AAGGAGAATGGTAAACAGCAGGAGCGAAGCGGCTGAGGAGAAAGAAGAGGAAAGAAAGGC GAGACGTGGGAGGATTGGAACAGAGACAAAAGGGAGGAGACGACAGCGACAAGTGA GAAATCGGCGAAACTTGAGTGGCAGAGAAGTCTGAGCGCTGAGACCCGGCGGCCCGT CGCCTTCCCACCTGGCGCCGATCCACTTTCCTCGGGGTAGCGGCCCAACCCACTTCGCT CCAGCCGATCCCTTTTACCCGTGGCTACCGGGGACCACTCTACTCTCGCCCACTTGGCT GCCTAAGCGTCTAGCCGGAGCGCGGTCTCTGCCACGTGGGGAGGGGCGCGGCCGAGTTG CTGAAGAGCGTCTCTGATTGGCCAGAGGGCGGGGTCTTGGCGTCTCGCGGCCAGACCC CTCCCTCAAAGGCGGGGCTGGAGATCCACAGCTGGAAGGGCGGAGCCCAGCAGGGCA GCTGGAAAGGGCGGGGCTGACGCGCGCGGTCTCGCCGCGCGGGCTGGGGGCGCCCTGG TCTGCCATAAAGTGAATGGGCGCGGTGGGGTGGCAGTACGCGGTGAGGCTCACTCCC TCCGAGAGTCCAGGAGCGCCCAGCGGAGAGCGGCCCGGGAGCAGGGGGCGCGCCCCA CTCCGGCGGGTGCCCGGCCCTGGCCCTGCTGCCCTCTAGATCGCCGCCGACGCCG CGCTACTGGGAGTCTG	20
CNS- 5_v2 (配列番号 32)	ttgtAATGGGAATAAGGGCAGGACTcctgttggtataagtagctcagctgatccaccctgc ttctatgtgttaattcatttattcattcattcaacaagcatttgttgaaatgctctttgt gtcaggtcagcaggaagcagtggtgcaataaaatggtgaacaagaaagactcgggtttct tcattatgttgatgtctgcagagaacagtatcagccttctaggaagtttgtaatcagat acattgttagagagatacttattctagtaaaattcctactcatcctataaggctcaaaaca atgctctatgaaaccttccgtgattccctcaggcagagttaagagcttcccttccctggg cctctatctcctccattagattataactgtttaccagtttccctctagactaaattt ctcaaaagagagaatgaggtctctttcagctcttctttgcatctttaactagcctgggtc ccagcctgtttgatgaaagaaacaagaacactgatacaagccacagcccttgcaaaaa agatacccaatagcaatggcaatgtaaaatcagttttagtaaatgaatcaagaattctga tgcttttagggaagtaagtgtgaacctggcaccattaacaaattcagaactcttctctta ggagctctctaaactgaacagacagagggatgtcaaccctaaattcagcttgatcgtatct cagcaactacatttaattgagacagtggtgaaaaagagagctgtccacttttaaatcagcat atttctaactaaacaatggcaatggctaaatctttaaaatgcctatttctctcaagaaca ctgcaatggaacatttagactttgggaagagattagtgtttacattgctatctcactg atttaatttaaatgctcttccaaacaaacacacatgtgccgaagaggctactaagaac ccaacatgcagagttctctataagtgcagccgacagtggttgactgaaactaaacttgaa atccagggcactaatgcacaatatcaagcaataaaacggcatctctttggcaatatttaa tttaaaaaagaagaagagacaggcggaagatcaggcactgtctgttttgaggatcaacc attctgcatttcaagcattgtccctgcaatatccaggttactgtgctagaatctcgac tattatatcgcagttgtgagagggaggcgaaagatgtgtttactcagtgattaggccctt agaataagcctctagctcctagagagacagctcaccacttattcatttgggccaattcac aaagcctaggaagattaaacatccatgctgagaagacaagcgaatgcagacggtgaaaaa gaaataaaaattctttaaaaactctgagatgacttcatttttccacaaggaaacttt aggaaagtgttttagttagagaaaaaccacattgacctctctctaaacccttaactcttc ctttgtggtggcactgctttgtggttaagcgactggctcgctcgcctcgcctcttttactgg aagctgagagaaaaaagactctggagaaaacagttttcgttcagggacacaaaccctga cactgttaaacatgagatgccaggaaaaacacacttaaaaaaaattccactttaagct ttagactgaatgtgagaaaggagatgataaaaagagtacacaaGAGAATCTTCAGGCTG TGGG	1744
CNS- 6_v2	TTTGGCACTGTGAGCAGTTTACTtgacaaattctgtcaaatatttgccttctgaaatctc gagaattggttgaatataattgtacttaattgtttgcaaaataaataaatatgggactaag	1104

10

20

30

40

50

【表 2 - 3】

(配列番号 33)	gacgttctatcattaatttgtcagaaaagagagttgtcatttctgaaaatttaatgtcat tgaagctctatttccaatagcaaaggagcactattgtctaatagacttcagagcttgaaat aaataaactcttgggaatcctgttgcacatctcttgggtgtgacatttgacagtctttata gcacagaacgaaacaagtttgtgagctggaattcaattgtggcgattgattccttgcat cagtcattattccctgctgattgacaggtgaaaatttggttacgttaagtatttcatatgt tatattggctgacatttgcctgctcttgtgtcaatattgttgtaaagatctccagc tctatgtcaagcctcatctcgctcctgcaggggaagtcatccgctgacctttttacac taaaagaagagatttgtgttctttcttcaactggaacctcaaatgactgaataatc tgtaatacattagtgtgcacatttgttagggagaattaaacaagacacagtaatcattcc ccagaataaaaattgtgtttgatttccagcagagttctattaaagggaggacagaatctg tctctccaggtggaataatcgtgaatattccctgcattaatgaaccaagttaacacttt aattgcttatagaaccgagttctccaatgacagcattaaaagataggaggtctgattt aTGGTCAACACAGATTGTAAACCC	10
CNS- 7_v2 (配列番号 34)	TCAACATGGATAACCAAAGTTCTtaaaactacgctttcaatgaacacatacctttgagc aagactaataatgagggaatgggagccagctcctgtgatatttatgcaactactaaattct cactgaagtcaatggagtttgccttacgtaaggctgcaaaccttagcctccagagatta aaggggaaaaaaatccttaaaactctttcaacattaatattgctgtgaaggaatccagcca tgacctaaagccatggagctttctgaacctagcaagtagaagggttaaacagtaaacaccag tatttttaagcacaaatctaactcagagttcaatgagaagcaatattatatttgatctctaa ggttaagtaactttgatatacactattagacatctttatgtagtccattatccaaacaatg gcttaagtctgtggtatttaataaaatcaagtttccatggcctgagactgagtgaggagt gggatgaagcctttttcttcattttttttccctcaggtgcaattctgtgttaataataag agaagtgtggccttcttctcatagcactaaaagtgaagataatccctgtgtgaagaaatca gtaagtacggtctgtcttaactagtcccagtggtgaaactgttgacatttgttctttttc tatcattatgtgactggcctgttttgtgctggattaggcacaaatctcctatgcagcac atttgccatgttactagtagtttaacttcatttaataatgtatgaagaaaatgtaatccat gacaaggaagcaaagaaaagtatttttttttttttgccttctcccaaatcctttggaat gagtaattattcaacattttatgtttgatgttatattttacaattcaactccatagtgat tatttaaaaaaagaaactttggcaaatgcttgcaaaaaacacaccttttacaattttaaat gtgatttactgatggccagaactgtttaaacaatagtaggaattaaatatttattcatct tatttcattttcagggcgtgaaacgctccttctgagtcattcccaataacaagaatttct accagtaaagctattaacaggcatcaaaataggggagtgctaaattagatgagattgta aaagcaaatagaacacatacgcaactcgcataaggagtgcaaatgatcgtttctgattgaa atgtttatagctaaatgagtttggctgaattaaacacaaatgttccaaaagataagccgt agctggtgcttctttttctgttttttaagctgctttacagacgaaaatggaactatatt tggaacaatgcttctgttttccatactattgatatttgtggaagtcacaaaaatggcc taagggaagctaagctcgcgcccaagcagtggtcacttacaagtacttttgtactctgtact cctgtcacatttgggcatcagagcaacagctggggagactttttcaacaaagatgagtg tcagataatcctgatgagattccacatccaacatcctttgttaattatgtcacattcagct gtaatggaataattcaagctgaagaaacaagctttgatcctttcttaacctttccctgt ggactggctatctaaagatttaagataatttctgttacaagatctagtgtttctcaga gaagtcatgcttctgaagcatcgtgatctacaagaacaatatcaagtttgccaaacacat ttctgaaagcatcgtgttttggggggaggggtgtatttaatgaagatatcaataatatg ctatgcttcaattttcatcagtgatcaagattcattttctgttctgtcatccaaata ggcagacagaaaagtgattgaaatacattatGGAGATGTGTCATTGCACA	1941
CNS- 8_v2 (配列番号 35)	GCTGGTGCTTCTTTTTTCTGTTTTTAAAGCTGCTTTACAGACGAAAATGGAACCTATATTT GGAACAATGCTTTCTGTTTTTCCATACTATTGATATTTGTGGAAAGTCACAAAATGGCCT AAGGAAGCTAAGCTCGCCCCAAGCAGTGGTCACTTACAAGTACTTTTGTACTCTGTACTC CTGTACATTTGGGCGATCAGAGCAACAGCTGGGGAGACTTTTCAACAAAGATGAGTGT CAGATAATCCTGATGAGATTCCACATCCAACATCTTTTGTAAATTATGTCACATTGAGCTG TAATGGAATAATTCAAGCTGAAAGAACAAGCTTTGATCCTTTCTTAAACCTTTCCCTGTG GACTGGCTATCTAAAAGATTTAAAGATATTTCTGTTACAAGATCTAGTGTTTCCTCAGAG AAGTCATGCTTCTGAAGCATCGTGATCTACAAGAACAATCAAGTTTGCCAAACACATT TCTGAAAGCATCGTGTTTTGGGGGAGGGGTTGTATTTAATGAAGATATCAATAATATGC	540
CNS-1 +	CTGGGCAGAGAGGGGGCATCGGGGGCATGGCTAGGGGCCAGCACTGTGCTTCCTGGGCGC CTCACCTCCTCCCTGACTCCTGGAGACTCCCAGCCCCTGTCTGGGAGATGAGCATTTAGG	982

10

20

30

40

50

【表 2 - 4】

CMV-IE UTR および イントロン (配列番号 36)	AATCTGCTTGTGCAGGGGTGGTGGGAGGGGCCGGGGTGGAGGGCGCATCCCCACGGGGAG ATTGGATGGAAATGGCCCTGCCAGTGTGTGTGTGAGTGTGCGCCTGTGGCAGCAGCAGAGT AAACAGCCGCTGCCCTGTCTCTGCGGCCGTGCCAGGTACACAGGCCTGTTTGGACA GCTGCCTTGTCTGTCCTGTCTTGGGAGATGCTGGCTGATAGATGGGGATGGGCGGACT GTTAACCCCTCGTTGCCTGCACTGCTATGTGCTTCTGCTCATCCATGGGGTAGAAGGT AGCCAGAAGGTGGTCTGCTGTGCCCCAGCTCCTCTCTAGGGGGGAAACCTCTAGTTC TGAGTCAGGGACAGAGTGAGGAGGGCTCCAGGGCATCAAGAGCTTGCTCCTCCCGCACC AGGGAGCCAAGGACAGAGGAGAAGGGGGTCTTCCCAGTGGTGACTAGGGGCAGAAATATG TCTCTGAGTGAGTGTCTGGAGCCCTCCTCACCCCAACACCATGGGGCTGGGCATAAAAGT CAGGGCAGAGCCATCTATTGCTTACATTGTCTGAGTTCGCTGGAGACGCCATCCACGCTG TTTTGACCTCCATAGAAGACACCGGGACCGATCCAGCCTCCGCGGCCGGGAACGGTGCAT TGGAAACGCGGATTCCCGGTGCCAAGAGTGACGTAAGTACCGCTATAGACTCTATAGGCA CACCCCTTTGGCTCTTATGCATGAACGGTGGAGGGCAGTGTAGTCTGAGCAGTACTCGTT GCTGCCGCGCGGCCACCAGACATAATAGCTGACAGACTAACAGACTGTTTCTTTCCATG GGTCTTTTCTGCAGATGCCACC	
CNS-4+ CMV- IE UTR および イントロン (配列番号 37)	AAGGAGAATGGTAAACAGCAGGAGCGAAGCGGCTGAGGAGAAAGAAGAGGAAAGAAAGGC GAGACGTGGGAGGATTGGAACAGAGACAAAAGGGAGGAGACGGACAGCGACAAGTGGGA GAAATCGGCGAAACTTGAGTGGCAGAGAAGTCTGAGCGCTGAGACCCGGCGGCCCGTG CGCCTTCCCACCTGGCGCGGATCCACTTTCTCGGGGTAGCGGCCCAACCCACTTCGCTG CAGCCGATCCCTTTTACCCTGGCTACCGGGACCACTCTACTCTCGCCCACTTGGCTCT GCCTAAGCGTCTAGCCGGAGCGCGGTCTCTGCCACGTGGGGAGGGGCGCGGCCGAGTTG CTGAAGAGCGCTTCTGATTGGCCAGAGGGCGGGGTCTTGGCGTCTCGCCGCCAGACCC CTCCCTCAAAGCGGGGCGCTGGAGATCCACAGCTGAAAGGGCGGAGCCCAAGCAGGGCA GCTGGAAAGGGGCGGGGCTGACGCGCGCGGCTCGCCGCGCGGGCTGGGGCGCCCTGG TCTGCCATAAAGTGAATGGCGCGCGGTGGGGTGGCAGTACGCTCAGATCGCCTGGAGA CGCCATCCACGCTGTTTTGACCTCCATAGAAGACACCGGGACCGATCCAGCCTCCGCGGC CGGGAACGGTGCATTGGAACCGCGGATCCCGGTGCCAAGAGTGACGTAAGTACCGCTAT AGACTCTATAGGCACACCCCTTTGGCTCTTATGCATGAACGGTGGAGGGCAGTGTAGTCT GAGCAGTACTCGTTGCTGCCGCGCGGCCACCAGACATAATAGCTGACAGACTAACAGAC TGTTCTTTCCATGGGTCTTTTCTGCAGATGCCACC	876
CNS-5 (配列番号 38)	GGAACATTAGACTTTGGGAAAGAGATTAGTGATTACATTGCTATCTCACTGATTTAAT TTAAATGCTCTTCCAACCAACACACATGTGCCGAAGAGGCTACTAAGAAACCAACAT GCAGAGTTCTCTATAAGTGCAGCCGACAGTGTGACTGAACTAACTTGGAATCCAGG GCACTAATGCACAATATCAAGCAATAAAACGGCATCTCTTTGGCAATATTTAATTTAAAA AAGAAGAAAGAGACAGGCGAAGATCAGGCACTGTCTGTTTGGAGGATCAACCATTCTGC ATTTCAAAGCATTGGTCCCTGCAATATCCAGGTTACTGTGCTAGAATCTCGACTATTATA TCGCAGTTGTGAGAGGGAGGGCAAAGATGTTTTACTCAGTGATTAGGCCCTTAGAATAA GCTCTAGCTCCTAGAGAGACAGCTCACCACTTATTCATTGGGGCAATTACAAAGCCT AGGAAGATTAACATCCATGCTGAGAAGACAAGCGAATGCAGACGGTGAAAAAGAAATAA AAATTTCTTTAAAACTCTGAGATGACTTCATTATTTTCCACAAGGAACTTTAGGAAAG TGTTTAGTTAGAGAAAAACCCACATTGACCTCTCTCTAAACCCCTTAATCTTTCTTTGTG GTGGCACTGCTTTGTGGTAAGCGACTGGCTCGCCTCGCCCTCTTTTCACTGGAAGCTGA GAGAAAAAGACTCTGGAGAAACAGTTTTCGTTCCAGGGACACAAACCCCTGACACTGTT AAGGGCTGGGCATAAAAGTCAGGGCAGAGCCATCTATTGCTTACATTGCTTCTG	835
CNS-6 (配列番号 39)	GAAATTTAATGTCATTGAAGCTCTATTTCCAATAGCAAAGGAGCACTATTGCTAATAGA CTTCAGAGCTTGAAATAAATAAATCTTTGGAATCCTGTTGCATCTCTTGGGGTGTGACAT TTGACAGTCTTTTATAGCACAGAACGAAACAAGTTTGTGAGCTGGAATTCATTGTGGCG TATTGATTCCTTGATCAGTCATTATTCCTGCTGATTGACAGGTGAAAATTGGTTACGT TAAGTATTTATATGTTATATTGGCTGACATTTGCTTGCCTGCTCTTGTGTCAATATTGT TGTAAGATCTCCAGCTTTATGAGATAGCAATAGACACTGACTGTGGCTTTTGTGTGATG TTCCAGTGTTTTTCTGACATAATTTAAGACATATTAACCAAGCAGCATCTTCCCTCT TGAGAAGCTTAATGCCAATATTATGCTTCCAGGGGAAGATCATGTATGCTCATAATCG GGTGCTAATTTCCACCAGTACGCTCATGTTAGGCATTAGGCACTATAACTGTAAAAATG AGCCTTCTTGATTGATTCATGTCAAGCCTCATCTCGGCTCCTGCAGGGGAAGTCATCCGG CTGACCCCTTTTACACTAAAAGAAGAGATTGTGTTCTTTCTTTTACCTGGAACCATCA AATTGACTGAATAATCTGTAATACATTAGTGCTGACATTTGTAGGGAGAATTAACAAG ACACAGTAATCATTTCCCAGAATAAAATTTGTGTTTGTATGGGCTGGGCATAAAAGTCAGG GCAGAGCCATCTATTGCTTACATTGCTTCTG	812
CNS-7 (配列番号)	TGAGACTGAGTGGGAGTGGGGATGAAGCCTTTTTTCTTCATTTTTTTTTCTCAGGTGCA ATTCTGTGTTAATATAAGAGAAGTGTGGCCTTCTCTCATAGCACTAAAAGTGAGATAA	487

10

20

30

40

【表 2 - 5】

40)	TCCCTGTGTAAGAAATCAGTAAGTACGGTCTGCTTAATCTAGTCCCAGTGTGAACTGTT GACATTTGTTCTTTTTTCTATCATTATGTGACTGGGCCTGTTTTGTGCTGGATTAGGCAC AAATCTCCTATGCAGCACATTTGGCATGTTACTAGTAGTTTTAACTTCATTAATAATGTAT GAAGAAAATGTAATCCATGACAAGGAAGCAAAGAAAAGTATTTTTTTTTTTTTTTGCTTC TCCCAAATCCTTTGGAATGAGTAATTATTC AACATTTTATGTTTGATGTTATATTTTACA ATTCAACTTCCATAGGGCTGGGCATAAAAAGTCAGGGCAGAGCCATCTATTGCTTACATTT GCTTCTG	
CNS-8 (配列番号 41)	GCTGGTGCTTCTTTTTTCTGTTTTTAAAGCTGCTTTACAGACGAAAATGGAATATATTT GGAACAATGCTTTCTGTTTTTCCATACTATTGATATTTGTGGAAAGTCACAAAATGGCCT AAGGAAGCTAAGCTCGCCCCAAGCAGTGGTCACTTACAAGTACTTTTGACTCTGTACTC CTGTCACATTTGGGCGATCAGAGCAACAGCTGGGGAGACTTTTTCAACAAAGATGAGTGT CAGATAATCCTGATGAGATTCCACATCCAACATCTTTTGTAATTATGTCACATTCAGCTG TAATGGAATAATTCAAGCTGAAAGAACAAGCTTTGATCCTTTCTTAAACCTTTCCCTGTG GACTGGCTATCTAAAAGATTTAAAGATATTTCTGTTACAAGATCTAGTGTTTCCTCAGAG AAGTCATGCTTCTGAAGCATCGTGATCTACAAGAACAATATCAAGTTTGCCAAACACATT TCTGAAAGCATCGTGTTTTGGGGGGAGGGGTTGTATTTAATGAAGATATCAATAATATGC GGGCTGGGCATAAAAAGTCAGGGCAGAGCCATCTATTGCTTACATTTGCTTCTG	593

10

【 0 2 3 5】

【表 3】

表 3 - 表 2 のプロモーターに含まれるミニマル/近位プロモーター

名称	配列
SYNP_CRE151 (配列番号 42)	GGGCTGGGCATAAAAAGTCAGGGCAGAGCCATCTATTGCTTACATTTGCTTCTG
CRE0001v1_Pit x3 (配列番号 43)	GGGAGGATTGGAACAGAGACAAAAGGGAGGAGAGACGGACAGCGACAAGTGGAGAAAATCG GCGAAACTTGAGTGGCAGAGAAGTCTGAGCGCTGAGACCCGGCGGCCCGTGCGCCTTCCC ACCTGGCGCCGATCCACTTTCTCGGGGTAGCGGCCCAACCACTTCGCTGCCAGCCGATC CCTTTTACCCGTGGCTACCGGGGACCACTCTACTCTCGCCCACTTGCTCTGCCAAGCGTC CTAGCCGGAGCGCGGTCTCTGCCACGTGGGGAGGGGCGCGGCCGAGTTGCTGAAGAGCGCT TCTGATTGGCCAGAGGGCGGGGTTCTTGGCGTCTCGCCGGCCAGACCCCTCCCTCAAAGGC GGGGCCTGGAGATCCACAGCTGGAAAGGGCGGAGCCCCAGAGGGCAGCTGGAAAGGGGCG GGGCCTGACGCGCGCGGCTCGCCGCGGGCGGGCTGGGGGCGCCCTGGTCTGCCATAAAGTGA ATGGGCGCCGGCTGGGGGTGGCAGTACGCGGTGAGGCTCACTCCCTCCGAGAGTCCAGGAG CGCC

20

30

【 0 2 3 6】

40

50

【表 4】
表 4 - 合成 CNS 特異的プロモーターの概説

プロモーターの名称	ミニマル/近位 プロモーター	CRE	UTR
CNS-1	SYNP CRE151	CRE0004 Lmx1b	
CNS-2	SYNP CRE151	CRE0003 Pitx3	
CNS-3	CRE0001v1 Pitx3	CRE0002 Gbf1	
CNS-4	CRE0001 Pitx3		
CNS-5 v2	CRE0005 faf1		
CNS-6 v2	CRE0006 Pitx2		
CNS-7 v2	CRE0007 Pitx2		
CNS-8 v2	CRE0008 Pitx2		
CNS-1 + CMV-IE UTR およびイントロン	SYNP_CRE151	CRE0004_Lmx1b	CMV-IE UTR およびイントロン
CNS-4 + CMV-IE UTR およびイントロン	CRE0001_Pitx3		CMV-IE UTR およびイントロン
CNS-5	SYNP CRE151	CRE0005 faf1 short	
CNS-6	SYNP CRE151	CRE0006 Pitx2 short	
CNS-7	SYNP CRE151	CRE0007 Pitx2 short	
CNS-8	SYNP CRE151	CRE0008 Pitx2 short	

【 0 2 3 7 】

【表 5 - 1】

表 5 - 例示的な CRE

名称	配列
CRE0006 GFAP (配列番号 44)	AACATATCCTGGTGTGGAGTAGGGGACGCTGCTCTGACAGAGGCTCGGGGGCCTGAGCTG GCTCTGTGAGCTGGGGAGGAGGCAGACAGCCAGGCCTTGTCTGCAAGCAGACCTGGCAGC ATTGGGCTGGCCGCCCCCAGGGCCTCCTCTTCATGCCAGTGAATGACTCACCTTGGCA CAGACACAATGTTTCGGGGTGGGCACAGTGCCTGCTTCCCGCCGACCCAGCCCCCTCA AATGCCTTCCGAGAAGCCATTGAGCAGGGGGCTTGATTGCACCCAGCCTGACAGCCT GGCATCTTGGGATAAAAGCAGCACAGCCCCCTAGGGGCTGCCCTTGTGTGTGGGCCA
CRE0008 GFAP (配列番号 45)	AACATATCCTGGTGTGGAGTAGGGGACGCTGCTCTGACAGAGGCTCGGGGGCCTGAGCTG GCTCTGTGAGCTGGGGAGGAGGCAGACAGCCAGGCCTTGTCTGCAAGCAGACCTGGCAGC ATTGGGCTGGCCGCCCCCAGGGCCTCCTCTTCATGCCAGTGAATGACTCACCTTGGCA CAGACACAATGTTTCGGGGTGGGCACAGTGCCTGCTTCCCGCCGACCCAGCCCCCTCA AATGCCTTCCGAGAAGCCATTGAGCAGGGGGCTTGATTGCACCCAGCCTGACAGCCT GGCATCTTGGGATAAAAGCACCGCGGTGGAGAACAAGGCTCTATTAGCCTGTGCCAG GAAAGGGGATCAGGGGATGCCAGGCATGGACAGTGGGTGGCAGGGGGGAGAGGAGGGC TGCTGCTTCCCGAAGTCCAAGGACACAATGGGTGAGGGGA
CRE0006 AQP4 (配列番号 46)	CTAGCCACAGGAAATGTCTGTCTATATCCAGGCAAGTACCTTGTCTATTGGACCAACCC GAAACTGTTTACAGGAAGATCAGGGAATCAACTCAGTTACAAATGGGATAATCATGCCCA GTAAAAACTACCTGTGGTGAATAAAGAGTTAACCCCTGTTCATCTTAGGTCACTATGCA GAGTACCAATGAGTACAAGAGATGGTGCCAAAGAGGGTGGCCCCCTCCCTAGCTGGGAACA GTCAACCCCTTAGGAACTAGACTGTCAACACATCAGCCAGCCAGAGACAAGGGAACCGTG GCACCAAGTGTGCTGGCACATTGTAGGTGGTGATGGGAAGTGCAGAGGCCCTGCACA GCATGCTAATGAGCCAGGCAACAT
CRE0008 AQP4 (配列番号 47)	TCCAAAGAAAAGCCAGATAAGTAGCTGATTATTGCATAGAGCTGACAGTATCACAGGAAG ATCAGTAGTAGCAGCTCAAGTACAAAAAGGTTAATTAGCAATACTTAATAAGAAAACTA CCTCTGGCAGGTGAAGAGTTAATCCCTGGTCAATTTAAGCTACTCTGCTGAGAGTACTA ATAAGTGTAGGGGTTGGAGCCAATGAGGGTGACCCCTTCTTGATGGGAACAGTCATCCC TTAGGAAGTCCCTGGAAAGCATCAGCCAGCCAGAAAACAGGGAAAGAGGCTGAGAAACC GTGGTAACCAAGTTTTGCTGGCACTTTGTAATGTTAAGTGAAGTGCAGGCTGCCAGGCTGTGC AGAGAATGCTAATAAGCCTAGGACAACCTGTAAAGAGTGGACCTAGAAAATGTCCACC
CRE0005 GFAP (配列番号 48)	AACATATCCTGGTGTGGAGTAGGGGACGCTGCTCTGACAGAGGCTCGGGGGCCTGAGCTG GCTCTGTGAGCTGGGGAGGAGGCAGACAGCCAGGCCTTGTCTGCAAGCAGACCTGGCAGC ATTGGGCTGGCCGCCCCCAGGGCCTCCTCTTCATGCCAGTGAATGACTCACCTTGGCA CAGACACAATGTTTCGGGGTGGGCACAGTGCCTGCTTCCCGCCGACCCAGCCCCCTCA AATGCCTTCCGAGAAGCCATTGAGCAGGGGGCTTGATTGCACCCAGCCTGACAGCCT GGCATCTTGGGATAAAAGCAGCACAGCCCCCTAGGGGCTGCCCTTGTGTGTGGGCCAC CGGCGGTGGAGAACAAGGCTCTATTAGCCTGTGCCAGGAAAGGGGATCAGGGGATGCC CAGGCATGGACAGTGGGTGGCAGGGGGGAGAGGAGGGCTGTCTGCTTCCCGAAGTCCA AGGACACAATGGGTGAGGGGA
CRE0007 GFAP (配列番号 49)	AACATATCCTGGTGTGGAGTAGGGGACGCTGCTCTGACAGAGGCTCGGGGGCCTGAGCTG GCTCTGTGAGCTGGGGAGGAGGCAGACAGCCAGGCCTTGTCTGCAAGCAGACCTGGCAGC ATTGGGCTGGCCGCCCCCAGGGCCTCCTCTTCATGCCAGTGAATGACTCACCTTGGCA CAGACACAATGTTTCGGGGTGGGCACAGTGCCTGCTTCCCGCCGACCCAGCCCCCTCA AATGCCTTCCGAGAAGCCATTGAGCAGGGGGCTTGATTGCACCCAGCCTGACAGCCT GGCATCTTGGGATAAAAGCAGCAC
CRE0012 Arc (配列番号 50)	AGCGCGCAGAGTCTGCATGCGTGAGGAAGCTCCTGGGCGGTACAGCCGCGCTATTCTC AGCGTCTCTCTTTTATGGCTCCGGAAGTGAAGTGGGGTTGCTGGCAGCCTGGCTGGCAC T
CRE0001 S100B (配列番号 51)	CTCCTCTTATATTTACCAAGACTCAGTTCCTGAGCAAGAAACCACAGGCACAGCAAGT GCCATGAAAAGCGGCTTTGTGTGGGGTGGGCTCTTCACTCCAATCTCCACTTCTCTCT CAAGGCCTCAAAAAAGTTGAAAAATGAAAACAAAAGCCCTGCTGTGTTGAGCTGGGCTC TGGCGTTGCCATGGACCCAGGGCAACAGCGGTGCTCCTGCTCTGCCCGGCTCAGCTC ATGCTGGGCTGCACTTCTGGAAGGGAGCATGGACTTTGGAATGACTGGTTAGAACCCAA

10

20

30

40

【表 5 - 2】

	ATGAATTAATGGAATTTGACATAGTTCAAAAATAATAAATGTGATACCCATGAAATGCT GATATTCTGCCTTAATTTGCCAGATTGGGGGCC
CRE0009_S 100B (配列番号 52)	TTCAGAGGTCGGATCTGAATCCAGCTCCAAGGCCCCAGCACCCAAGCCCTGACCCCATGG CTGCCTGCTGGCTGGGAGTGGCATTCTTTAGAACAGGAAAGGCAGTGAGTTCTCATTGCA TCAATACTTGCATTTGCTACAACAGAAGCTTTTTGTCTCTTCCTCACATTCCCTTTAGAAC ACAAGCCTCCTTTTCTGCCTGTGGCCATCGGTCACTGGAGTCAGCCTCGTGAGTGGCTTG GTGGCGGATGGCACCGTCCTTTGTGGGAGAAAACAATGTTGCTGCCCAGGCCTTTCTGGA ATGACCCCTTCCCACCCCTGACCAGCCCCAGCAAGGCCCGGGGCTGGCTGCCTAGTTGA TTGGAGCCAAGAGTTTGCTGAATGGATGAAGGGAGAAGGGACATCCAA
CRE0002_ S100B (配列番号 53)	TCAGGGGTGCAGCTTTTTTCTGTCTTTTACTCAGCCTGAGAAAGGTTGTCGTTTGACAA GGTTTGTTTCAGAGGTCGGATCTGAATCCAGCTCCAAGGCCCCAGCACCCAAGCCCTGACC CCATGGCTGCCTGCTGGCTGGGAGTGGCATTCTTTAGAACAGGAAAGGCAGTGAGTTCTC ATTGCATCAATACTTGCATTTGCTACAACAGAAGCTTTTTGTCTCTTCCTCACATTCCCT TAGAACACAAGCCTCCTTTTCTGCCTGTGGCCATCGGTCACTGGAGTCAGCCTCGTGAGT GGCTTGGTGGCGGATGGCACCGTCCTTTGTGGGAGAAAACAATGTTGCTGCCCAGGCCTT TCTGGAATGACCCCTTCCCACCCCTGACCAGCCCCAGCAAGGCCCGGGGCTGGCTGCCT AGTTGATTGGAGCCAAGAGTTTGCTGAATGGATGAAGGGAGAAGGGACATCCAAGTGACT GAAGAAGATCTTAACAGAA

10

【 0 2 3 8 】

20

30

40

50

【表 6 - 1】

表 6. 表 2 のプロモーターに含まれるシス調節エレメント (CRE)

名称	配列
CRE0004_Lmx1 b (配列番号 54)	CTGGGCAGAGAGGGGGCATCGGGGGCATGGCTAGGGGCCAGCACTGTGCTTCCTGGGCGC CTCACCTCCTCCCTGACTCCTGGAGACTCCCAGCCCCCTGTCTGGGAGATGAGCATTTAGG AATCTGCTTGTGCAGGGGTGGTGGGAGGGGCCGGGTGGAGGGCGCATCCCCACGGGGAG ATTGGATGGAAATGGCCTGCCAGTGTGTGTGTGAGTGTGCGCCTGTGGCAGCAGCAGAGT AAACAGCCGCTGCCCTGTCTCTCTGCGGCCGTGGCCAGGTACACAGGCCTGTTTGGACA GCTGCCTTGTCTGTCCGTCTGTTTGGGAGATGCTGGCTGATAGATGGGGATGGGCGGACT GTAAACCCCTCGTTGCCTGCACCTGCTATGTGCTTCCTGCCTCATCCATGGGGTAGAAGGT AGCCAGAAGGTGGTCCCTGGCTGTGCCCCCAGCTCCTCTCTAGGGGGGAAACCTCTAGTTC TGAGTCAGGGACAGAGTGAGGAGGGCTCCAGGGCATCAAGAGCTTGCTCCTCCCCGCACC AGGGAGCCAAAGACAGAGGAGAAGGGGGTCTTCCCCAGTGGTGACTAGGGGCAGAATATG TCTCTGAGTGAGTGTCTGGAGCCCTCCTCACCCCAACACCATG
CRE0003_Pitx3 (配列番号 55)	GGTGTGTGGAAGGGTGAGAGGCACACACACAGACACTGAAAGAATCCTAGGCCTGGTAGG CACTTAACAAATGTCTGTTACAGACCAGAATTTTATTGCTGTTAGAGACCCAAAGCCCCCTC ATAGGAACAGTGAGAAACAGGTGCAGAAAGCGGAGTAACTTTATCTAAAGTCATAGGCT CCCTGAATAGCAGAGCTGACACCTACAAGGAAGCGTTGGAGACCAGATCTACCAGTAGC CTCCCTGAGACCAGAGGTGGCGCCGCAGCACCGGCTGTGGCCGATGCCAGCCAGGTAGC CGGTTTCCCACGTCCCCCGCACGCACGCACCTCTTTGCTGCAGGAATCCCGGGCTGCCCC GACCTGGAGTAGGGGGGGTGGTGAGTGGGACTGAGTCCCTAGAAGCCTGGACCCTCACTT CGTTCCTGTACATCCAGCTCGCCTGTAGACAGTGGGGGAGGATGAAGGGAAGAGGACTCA AGCGCAACTTTGAATCATCACGCCTTCGACAGTCCGCGCACGTTTATTTTATTTATCTTT GAAAACGAGGGAGGGGAAGCCTGGAGAAGCGGGATGGGCCAAGGGTGAGTTGGCCCCCG GGGAGCTGGTCCCTGTTCTGGCTTTAGTCCCAGGGGCGCGGTCTGTGTGTAGGGC
CRE0002_Gbf1 (配列番号 56)	TGCTACCAGAGCCGGGAGAGCTGCTCGGAGACGCCTCCGGGGTGCGGGCTGGACATGAGC AGCGGCTGCCGGTCCCTGGGACTAGGCCCCGCCATTTTGGATCCGCTGACAGGTGACCGAA GTCTCTTCCCTAGAGTTCCGGTGTCTGAAGGCCGCCCTGACATCGCAATAGGGAATTAGT GGGAAGGGCCCTTAAATTGGGCGAGCCAAGGTGGG
CRE0005_faf1_s hort (配列番号 57)	GGAACATTTAGACTTTGGGAAAGAGATTAGTGATTTACATTGCTATCTCACTGATTTAAT TTAAATGCTCTTCCAAACCAAACACACATGTGCCGAAGAGGCTACTAAGAAACCCAAAT GCAGAGTTCTCTATAAGTGCAGCCGACAGTGTGACTGAACTAACTTGGAAATCCAGG GCACTAATGCACAATATCAAGCAATAAAACGGCATCTCTTTGGCAATATTTAATTTAAAA AAGAAGAAAGAGACAGGCGAAGATCAGGCACCTGTCTGTTTTGGAGGATCAACCATTCTGC ATTTCAAAGCATTGGTCCCTGCAATATCCAGGTTACTGTGCTAGAATCTCGACTATTATA TCGCAGTTGTGAGAGGGAGGGCAAAGATGTGTTTACTCAGTGATTAGGCCCTTAGAATAA GCCTCTAGCTCCTAGAGAGACAGCTCACCACTTATTCATTTGGGCCAATTACAAAAGCCT AGGAAGATTAAACATCCATGCTGAGAAGACAAGCGAATGCAGACGGTGAAAAAGAAATAA

10

20

30

40

50

【表 6 - 2】

	AAATTCTTTTAAAAAACTCTGAGATGACTTCATTATTTTTTCCACAAGGAAACTTTAGGAAAAG TGTTTAGTTAGTAGAAAAAACCCACATTGACCTCTCTCTAAACCCCTTAATCTTTCCTTTGTG GTGGCACTGCTTTGTGGTAAGCGACTGGCTCGCCTCGCCCTCTTTTCACTGGAAGCTGA GAGAAAAAAGACTCTGGAGAAACAGTTTTTCGTTCCAGGGACACAAACCCCTGACACTGTT AA
CRE0006_Pitx2 short (配列番号 58)	GAAAATTTAATGTCATTGAAGCTCTATTTCCAATAGCAAAGGAGCACTATTGCTAATAGA CTTCAGAGCTTGAAATAAATAAATCTTTGGAATCCTGTTGCATCTCTTGGGGTGTGACAT TTGACAGTCTTTTTATAGCACAGAACGAAACAAGTTTGTGAGCTGGAATTCAATTGTGGCG TATTGATTCCCTTGCAATCAGTCATTATTCCTGCTGATTGACAGGTGAAAAATTGGTTACGT TAAGTATTTTCATATGTTATATTGGCTGACATTTGCTTGCCTGCTCTTGTGTCAATATTGT TGTAAGATCTCCAGCTTTATGAGATAGCAATAGACACTGACTGTGGCTTTTGTGTGATG TTCCAGTGTTTTTCTGACATAATTTAAGACATATTAACCAACAGCAGCATCTTCCCTCT TGAGAAGCTTAATGCCAATATTATTGTCTTCCAGGGGAAGATCATGTATGCTCATAATCG GGTGCTAATTTCCACCAGTACGCTCATGTTTAGGCATTAGGCACTATAACTGTAAAATTG AGCCTTCTTGATTGATTGATGTCAAGCCTCATCTCGGCTCCTGCAGGGGAAGTCATCCGG CTGACCCCTTTTTTACACTAAAAGAAGAGATTTGTGTTCTTTTCTTTTACCTGGAACCATCA AATTGACTGAATAATCTGTAATACATTAGTGCTGACATTTGTTAGGGAGAAATTAACAAG ACACAGTAATCATTTCCCAGAAATAAAAAATTGTGTTTTGAT
CRE0007_Pitx2 short (配列番号 59)	TGAGACTGAGTGGGAGTGGGGATGAAGCCTTTTTTCTTCATTTTTTTTTTCTCAGGTGCA ATTCTGTGTTAATATAAGAGAAAGTGTTGGCCTTCCTTCTCATAGCACTAAAAGTGAGATAA TCCCTGTGTAAGAAATCAGTAAGTACGGTCTGCTTAATCTAGTCCCAGTGTGAAACTGTT GACATTTGTTCTTTTTTCTATCATTATGTGACTGGGCTGTTTTGTGCTGGATTAGGCAC AAATCTCCTATGCAGCACATTTGGCATGTTACTAGTAGTTTAACTTCATTAATAATGTAT GAAGAAAATGTAATCCATGACAAGGAAGCAAAGAAAAGTATTTTTTTTTTTTTTGTCTC TCCCAAATCCTTTGGAATGAGTAATTATTCAACATTTTATGTTTGATGTTATATTTTACA ATTCAACTTCCATA
CRE0008_Pitx2 short (配列番号 60)	GCTGGTGCTTCTTTTTTCTGTTTTTTAAGCTGCTTTACAGACGAAAATGGAACATATATTT GGAACAATGCTTTCTGTTTTTCCATACTATTGATATTTGTGGAAAGTCACAAAATGGCCT AAGGAAGCTAAGCTCGCCCCAAGCAGTGGTCACTTACAAGTACTTTTGTACTCTGTACTC CTGTACATTTGGGCGATCAGAGCAACAGCTGGGGAGACTTTTTTCAACAAAGATGAGTGT CAGATAATCCTGATGAGATTCCACATCCAACATCTTTTGTAAATTATGTACATTCAGCTG TAATGGAATAATTCAAGCTGAAAGAACAAGCTTTGATCCTTTCTTAAACCTTTCCCTGTG GACTGGCTATCTAAAAGATTTAAAGATATTTCTGTTACAAGATCTAGTGTTCCTCAGAG AAGTCATGCTTCTGAAGCATCGTGATCTACAAGAACAATATCAAGTTTGCCAAACACATT TCTGAAAGCATCGTGTTTTGGGGGGAGGGGTTGTATTTAATGAAGATATCAATAATATGC

【0239】

一部の実施形態では、プロモーターは、シナプシン（Syn1）プロモーター（例えば、配列番号61を参照されたい）である。一態様では、プロモーターは、配列番号61に対して少なくとも80%同一、例えば、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%、少なくとも99%または100%同一の核酸配列を含む。一態様では、配列番号61に対して少なくとも80%同一、例えば、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%、少なくとも99%または100%同一の核酸配列を含むプロモーターを含む組換えウイルスベクターを含む組成物が本明細書に提供される。

【0240】

10

20

30

40

50

【化 1】

シナプシン-1 (配列番号 61)

GAGGGCCCTGCGTATGAGTGCAAGTGGGTTTTAGGACCAGGATGAGGCGGGGTGGGGGTGCC
TACCTGACGACCGACCCCGACCCACTGGACAAGCACCCAACCCCCATTCCCCAAATTGCGCA
TCCCCTATCAGAGAGGGGGAGGGGAAACAGGATGCGGCGAGGCGCGTGCGCACTGCCAGCTT
CAGCACCGCGGACAGTGCCTTCGCCCCCGCTGGCGGCGCGCGCCACCGCCGCTCAGCACT
GAAGGCGCGCTGACGTCACTCGCCGGTCCCCCGCAAACCTCCCCTTCCCGGCCACCTTGGTCG
CGTCCGCGCCGCCGCGGCCAGCCGGACCGCACCCACGCGAGGCGCGAGATAGGGGGGCACG

10

【化 2】

GGCGCGACCATCTGCGCTGCGGCGCCGGCGACTCAGCGCTGCCTCAGTCTGCGGTGGGCAGC
GGAGGAGTCGTGTCGTGCCTGAGAGCGCAGTCG (配列番号 61)

【0241】

一実施形態では、核酸は、CNS に対する、例えば、特殊な CNS 組織または細胞型に対する発現の駆動を助けるエンハンサー配列をさらに含む。例示的なエンハンサー配列は、例えば、米国特許出願第 17 / 283, 232 号；同第 US 17 / 291, 584 号；または国際特許公開第 WO 2020168279 A 2 号；同第 WO 2021195591 A 2 号；同第 WO 2021248085 A 2 号；同第 WO 2021216778 A 2 号に記載されており、それぞれの内容は、それらの全体が参照により本明細書に組み込まれる。

20

【0242】

一部の実施形態では、核酸は、タンパク質をコードする導入遺伝子を含む。タンパク質は、治療用タンパク質（例えば、哺乳動物対象における疾患状態の処置または防止に有用なペプチド、タンパク質、またはポリペプチド）またはリポータータンパク質であり得る。一部の実施形態では、タンパク質は、GDNF である。一部の実施形態では、タンパク質は、ヒト GDNF である。一部の実施形態では、GDNF 遺伝子は、配列番号 2、または配列番号 2 を含むタンパク質をコードする。一部の実施形態では、GDNF 遺伝子は、配列番号 2 に対して少なくとも 80 %、少なくとも 85 %、少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 98 % の配列同一性を有するタンパク質をコードする。一部の実施形態では、治療用タンパク質、およびそのようなタンパク質をコードする遺伝子は、PD の処置またはその進行を減速するために有用である。

30

【0243】

本明細書に記載される核酸は、レポーター配列（例えば、レポータータンパク質をコードする核酸配列）をさらに含んでもよい。レポーター配列としては、限定されないが、β-ラクタマーゼ、β-ガラクトシダーゼ（LacZ）、アルカリホスファターゼ、チミジンキナーゼ、緑色蛍光タンパク質（GFP）、クロラムフェニコールアセチルトランスフェラーゼ（CAT）、ルシフェラーゼ、および当技術分野において周知の他のものをコードする DNA 配列が挙げられる。それらの発現を駆動する調節エレメントに関連する場合、レポーター配列は、酵素的アッセイ、X 線撮影アッセイ、比色アッセイ、蛍光アッセイまたは他の分光学的アッセイ、蛍光標識細胞分取アッセイ、ならびに酵素結合免疫吸着アッセイ（ELISA）、ラジオイムノアッセイ（RIA）および免疫組織化学的検査を含む免疫学的アッセイを含む従来手段によって検出可能なシグナルを提供する。例えば、マーカー配列が LacZ 遺伝子である場合、シグナルを運ぶベクターの存在は、β-ガラクトシダーゼ活性についてのアッセイによって検出される。導入遺伝子が緑色蛍光タンパク質またはルシフェラーゼである場合、シグナルを運ぶベクターは、発光光度計における色または光の生成によって視覚的に測定されてもよい。そのようなレポーターは、例

40

50

えば、核酸の組織特異的標的化能力および組織特異的プロモーター調節活性を検証するのに有用であり得る。

【0244】

G D N F

A T F、A T F 1、A T F 2、H S C R 3、またはH F B 1-G D N Fとしても公知のグリア細胞由来神経栄養因子 (G D N F ; N C B I 遺伝子 I D : 2 6 6 8) は、末梢交感、副交感、腸管および感覚ニューロン、ならびに中脳ドーパミンニューロンおよび運動ニューロンの発生および生存をサポートする、神経栄養因子である。パーキンソン病 (P D) のさまざまな動物モデルでは、G D N F は、ドーパミンニューロンの神経毒誘導死を防止することができ、機能回復をもたらす軸索新芽形成を促進することができる。プレー (α) プロ-G D N F (以前はG D N F αと呼ばれた) およびプレー (β) プロ-G D N F (以前はG D N F βと呼ばれた) と呼ばれる2つのG D N F スプライスバリエーションが記載されている (Suter-Crazzolaro and Unsicker, Neuroreport, 5:2486-2488 (1994))。これらのスプライスバリエーションは、G D N F m R N A の選択的スプライシングによって生成する。

10

【0245】

神経栄養因子を含む多くの分泌タンパク質が、前駆体であるプレープロ成熟タンパク質の形態で合成されている。E R シグナルペプチドからなるプレ領域はシグナルペプチダーゼによる翻訳の間にクリップオフされ、プロ成熟タンパク質は、合成された直後に、E R の管腔に放出される。成熟タンパク質のタンパク質切断は、細胞の内部もしくは細胞外基質、またはその両方で起こり得る。

20

【0246】

プロ成熟タンパク質はまた、未切断のままであり得、切断された成熟タンパク質とは異なる機能を有し得る。例えば、成熟脳由来神経栄養因子 (B D N F) およびプロ-B D N F はどちらも、神経細胞から分泌される。成熟B D N F は、ニューロンの生存、分化およびシナプスモジュレーションを誘導するT r k B 受容体に結合するが、プロ-B D N F は、アポトーシスを誘導するp 7 5 ^{N T R} およびソーティリン受容体に結合する (概説するために、Thomas and Davies, Curr. Biol., 15:262-264 (2005); Teng et al., J. Neurosci., 25:5455-5463 (2005)を参照されたい)。

【0247】

科学テキストでは、G D N F m R N A およびG D N F タンパク質という名称は、全長プレー (α) プロ-G D N F m R N A のためおよび (α) プロ-G D N F タンパク質のタンパク質切断によって生成する成熟G D N F タンパク質に使用されている。この成熟G D N F タンパク質は、広く研究されており、P u b M e d では、2 5 0 0 超の引用が、G D N F について利用可能である。G D N F は、神経突起の長さ、細胞サイズ、およびドーパミン作動性ニューロンの数、ならびに培養中のその高親和性ドーパミン取り込みを増加させるその能力に基づいて特定された (Lin et al., Science, 260:1130-1132 (1993))。G D N F は、P D の動物モデルにおけるおよびP D を有する患者の処置にもおける、その毒素誘導分解に対する黒質のドーパミン作動性ニューロンの保護のための強力な因子である (Airaksinen and Saarma, Nat. Rev. Neurosci. 3:383-394 (2002)およびBespalov and Saarma, Trends Pharmacol. Sci. 28:68-74 (2007)において概説)。加えて、G D N F は、筋萎縮性側索硬化症 (A L S)、嗜癖、アルコール依存症およびうつ動物モデルの処置において治療的役割を有する (Bohn, Exp. Neurol., 190:263-275 (2004); Messer et al., Neuron, 26:247-257 (2000); He et al., J. Neurosci., 25:619-628 (2005); Angelucci et al., Int. J. Neuropsychopharmacol., 6:225-231 (2003)において概説)。G D N F は、神経系外でも重要な役割を有する。これは、腎臓発生においてモルフォゲンとして作用し、精原細胞の分化を調節する (Sariola and Saarma, J. Cell Sci. 116:3855-3862 (2003)において概説)。

30

40

【0248】

50

一部の実施形態では、PDの進行を減速または阻害するためのウイルスベクターであって、ベクターが、GDNFコード核酸を含む、ウイルスベクターが本明細書に記載される。一部の実施形態では、ウイルスベクターは、アデノ随伴ウイルス(AAV)ベクター(例えば、rAAV)である。

【0249】

一部の実施形態では、ウイルスベクターは、配列番号2のアミノ酸配列をコードする核酸配列を含む。一部の実施形態では、ウイルスベクターは、配列番号2に対して少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%、またはそれよりも高い配列同一性を有するアミノ酸配列をコードする核酸配列を含む。

【0250】

一部の実施形態では、ウイルスベクターは、配列番号1に対して少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%、またはそれよりも高い配列同一性を有する配列を含む。一部の実施形態では、ウイルスベクターは、配列番号1の配列を含む。

【0251】

「遺伝子」という用語は、転写または翻訳された後に特定のポリペプチドまたはタンパク質をコードすることができる少なくとも1つのオープンリーディングフレームを含有するポリヌクレオチドを指す。

【0252】

「コード配列」または「特定のタンパク質をコードする配列」という用語は、適切な調節配列の制御下に置かれた場合に、*in vitro*または*in vivo*でポリペプチドに転写(DNAの場合)および翻訳(mRNAの場合)される核酸配列を示す。コード配列の境界は、5' (アミノ) 末端の開始コドンおよび3' (カルボキシ) 末端の翻訳停止コドンによって決定される。コード配列としては、限定されるものではないが、原核生物または真核生物mRNA由来のcDNA、原核生物または真核生物DNA由来のゲノムDNA配列、およびさらに合成DNA配列が挙げられ得る。

【0253】

GDNFについての例示的なcDNA配列は、GenbankアクセスNM_000514.4 (配列番号1) に開示されている。アミノ酸配列を配列番号2に示す。PDの進行を減速または阻害するための、配列番号1の配列またはそのバリエーションを含む核酸構築物を使用する方法が本明細書に記載される。バリエーションとしては、例えば、個体間の対立遺伝子変異(例えば、多型)に起因する天然に存在するバリエーション、選択的スプライシング形態などが挙げられる。バリエーションという用語は、他の起源または生物由来のGDNF遺伝子も含む。バリエーションは、好ましくは、配列番号1および/または2に対して実質的に相同である、すなわち、配列番号1または2と、典型的には、少なくとも約75%、好ましくは、少なくとも約85%、より好ましくは、少なくとも約90%、より好ましくは、少なくとも約95%のヌクレオチド配列同一性を示す。一部の実施形態では、核酸構築物は、配列番号1に対して少なくとも95%の配列同一性を有し、配列番号1または2の活性を保持する配列を含む。GDNF遺伝子のバリエーションは、ストリンジェントなハイブリダイゼーション条件下で上記に定義される配列(またはその相補鎖)にハイブリダイズする核酸配列も含む。典型的なストリンジェントなハイブリダイゼーション条件は、30℃を上回る、好ましくは、35℃を上回る、より好ましくは、42℃を超える温度、および/または約500mM未満、好ましくは、200mM未満の塩分を含む。ハイブリダイゼーション条件は、温度、塩分、および/またはSDS、SSCなどの他の試薬の濃度を改変することにより、当業者によって調整され得る。

【0254】

GDNFのヌクレオチド277、633、および1389でのバリエーションの報告がある。例えば、ヌクレオチド277でのCからTの点突然変異(例えば、配列番号62を参照されたい)、ヌクレオチド633でのCからGの点突然変異(例えば、配列番号63を参照されたい)、およびヌクレオチド1389でのAからGの点突然変異。コドン最適化配

10

20

30

40

50

列および保存的变化を含む他のバリエーションが可能である。保存的置換は、当技術分野において周知である。

【0255】

一実施形態では、GDNF遺伝子は、コドン最適化されている。一実施形態では、GDNF核酸配列は、例えば、(1) *in vivo*での発現の増強、(2) CpGアイランドの低減、または(3) 自然免疫応答の低減のうちのいずれか1つまたは複数のために、コドン最適化されている。当業者は、当技術分野における標準的な技法を使用して、GDNFをコドン最適化することができる。

【0256】

一部の実施形態では、ウイルスベクターは、配列番号2のアミノ酸配列をコードする核酸配列、またはそのバリエーションを含む。一部の実施形態では、ウイルスベクターは、配列番号2に対して少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%、またはそれよりも高い配列同一性を有するアミノ酸配列をコードする核酸配列を含む。

【0257】

【化3】

配列番号1 GDNF mRNA

```
atgaagtta tgggatgtcg tggctgtctg cctggtgctg ctccacaccg
cgccccctt cccgctgccc gccggtaga ggctcccgga ggcgccccgc
gaagaccgct cctcggccg ccgcccgcgc ccttcgcgc tgagcagtga
ctcaaatatg ccagaggatt atcctgatca gttcgatgat gtcattggatt
ttattcaagc caccattaaa agactgaaaa ggtcaccaga taaacaaatg
gcagtgtctc ctagaagaga gcggaatcgg caggctgcag ctgccaaccc
agagaattcc agagggaaaag gtcggagagg ccagaggggc aaaaaccggg
gttgtgtctt aactgcaata catttaaatg tctactgactt ggggtctgggc
tatgaaacca aggaggaact gatttttagg tactgcagcg gctcttgcca
tgcagctgag acaacgtacg acaaaatatt gaaaaactta tccagaaata
gaaggctggg gactgacaaa gtagggcagg catgttgcag acccatcgcc
tttgatgatg acctgtcgtt tttagatgat aacctggttt accatattct
aagaaagcat tccgctaaaa ggtgtggatg tatctga (配列番号1)
```

【0258】

【化4】

配列番号2 GDNF アミノ酸配列

```
MKLWDVVAVCLVLLHTASAFPLPAGKRPPEAPAEDRSLGRRRAPFALSSDSNMPEDYPDQFDD
VMDFIQATIKRLKRSPDKQMAVLPRRERNRQAAAAANPENSRGKGRRGQRGKNRGCVLTAIHLN
VTDLGLGYETKEELIFRYCSGSCDAAETTYDKILKNLSRNRRLVSDKVGQACCRPIAFDDDL
FLDDNLVYHILRKHSKRKCGCI[stop] (配列番号2)
```

【0259】

10

20

30

40

50

【化 5】

配列番号 62

バリエント GDNF mRNA (C277T)

atgaagtta tgggatgtcg tggctgtctg cctggtgctg ctccacaccg
 cgtccgcctt cccgctgccc gccggtaaga ggccctccga ggcgcgcgcc
 gaagaccgct cctcggcccg ccgcgcgcgc ccttcgcgc tgagcagtga
 ctcaaataatg ccagaggatt atcctgatca gttcgatgat gtcattggatt
 ttattcaagc caccattaaa agactgaaaa ggtcaccaga taaacaaatg
 gcagtgcctt ctagaagaga gcggaattgg caggctgcag ctgccaaccc
 agagaattcc agaggaaaag gtcggagagg ccagaggggc aaaaaccggg
 gttgtgtctt aactgcaata catttaaatg tctactgactt gggctctgggc
 tatgaaacca aggaggaact gatttttagg tactgcagcg gctcttgcca

10

【化 6】

tgcagctgag acaacgtacg acaaaatatt gaaaaactta tccagaaata
 gaaggctggg gaggacaaa gtagggcagg catgttgag acccatcgcc
 tttgatgatg acctgtcgtt tttagatgat aacctgggtt accatattct
 aagaaagcat tccgctaaaa ggtgtggatg tatctga (配列番号 1)

20

【0260】

【化 7】

配列番号 63

バリエント GDNF mRNA (C633G)

atgaagtta tgggatgtcg tggctgtctg cctggtgctg ctccacaccg
 cgtccgcctt cccgctgccc gccggtaaga ggccctccga ggcgcgcgcc
 gaagaccgct cctcggcccg ccgcgcgcgc ccttcgcgc tgagcagtga
 ctcaaataatg ccagaggatt atcctgatca gttcgatgat gtcattggatt
 ttattcaagc caccattaaa agactgaaaa ggtcaccaga taaacaaatg
 gcagtgcctt ctagaagaga gcggaatcgg caggctgcag ctgccaaccc
 agagaattcc agaggaaaag gtcggagagg ccagaggggc aaaaaccggg
 gttgtgtctt aactgcaata catttaaatg tctactgactt gggctctgggc
 tatgaaacca aggaggaact gatttttagg tactgcagcg gctcttgcca
 tgcagctgag acaacgtacg acaaaatatt gaaaaactta tccagaaata
 gaaggctggg gaggacaaa gtagggcagg catgttgag acccatcgcc
 tttgatgatg acctgtcgtt tttagatgat aacctgggtt accatattct
 aagaaagcat tccgctaaaa ggtgtggatg tatgtga (配列番号 1)

30

40

【0261】

ベクター

一部の実施形態では、ベクターは、アデノ随伴ウイルス (AAV) または組換え AAV である。一部の態様では、本開示は、単離された AAV を提供する。AAV に関して本明細書で使用される場合、「単離された」という用語は、人工的に生成されたまたは得られた AAV を指す。単離された AAV は、組換え方法を使用して生成されてもよい。そのような AAV は、本明細書において、「組換え AAV」と称される。組換え AAV (rAAV) は、好ましくは、組織特異的標的化能力を有し、その結果、rAAV のヌクレアーゼ

50

および／または導入遺伝子は、1つまたは複数の所定の組織に特異的に送達される。AAVカプシドは、これらの組織特異的標的化能力を決定するのに重要なエレメントである。そのため、組織が標的にされるのに適切なカプシドを有するrAAVを選択することができる。

【0262】

所望のカプシドタンパク質を有する組換えAAVを得るための方法は、当技術分野において周知である（例えば、US2003/0138772号を参照されたく、この内容は、それらの全体が参照により本明細書に組み込まれる）。典型的には、方法は、AAVカプシドタンパク質をコードする核酸配列；機能的rep遺伝子；AAV逆位末端反復配列（ITR）および導入遺伝子から構成される組換えAAVベクター；ならびに組換えAAVベクターのAAVカプシドタンパク質へのパッケージングを可能にするのに十分なヘルパー機能を含む宿主細胞を培養することを含む。一部の実施形態では、カプシドタンパク質は、AAVのcap遺伝子によってコードされる構造的タンパク質である。AAVは、ビリオンタンパク質1～3（VP1、VP2およびVP3と名付けられる）の3つのカプシドタンパク質を含み、これらのすべては、選択的スプライシングを介して単一のcap遺伝子から転写される。一部の実施形態では、VP1、VP2およびVP3の分子量は、それぞれ、約87kDa、約72kDaおよび約62kDaである。一部の実施形態では、翻訳の際に、カプシドタンパク質は、AAVゲノムの周囲に球状の60merのタンパク質シェルを形成する。一部の実施形態では、カプシドタンパク質の機能は、ウイルスゲノムを保護すること、ゲノムを送達すること、および宿主と相互作用することである。一部の態様では、カプシドタンパク質は、組織特異的な様式で、ウイルスゲノムを宿主に送達する。

【0263】

一部の実施形態では、組換えAAV（rAAV）カプシドタンパク質は、AAV2、AAV3、AAV4、AAV5、AAV6、AAV8、AAVrh8、AAVrh10、AAV2G9、AAV2.5G9、AAV9、およびAAV10からなる群から選択されるAAV血清型のものである。一部の実施形態では、AAVカプシドタンパク質は、非ヒト霊長類に由来する血清型、例えば、AAVrh10血清型のものである。一部の実施形態では、AAVカプシドタンパク質は、AAV9血清型のものである。一部の実施形態では、カプシドタンパク質は、AAV1、AAV2、AAV3b、AAV4、AAV5、AAV6、AAV7、AAV8、AAV9、AAV10、AAV11、AAV12、もしくはAAV13カプシドタンパク質、またはそれらのキメラである。一部の実施形態では、rAAVは、血清型AAV1、AAV2、AAV3a、AAV3b、AAV4、AAV5、AAV6、AAV7、AAV8、AAV9、AAV2G9、AAV2.5G9、AAVrh8、AAVrh10、AAVrh74、AAV10、もしくはAAV11、またはそれらのキメラ由来のカプシドタンパク質を含む。

【0264】

一実施形態では、本明細書に記載されるAAV血清型および／またはカプシドは、表7から選択される。

10

20

30

40

50

【表 7 - 1】

表 7	
血清型およびカプシド配列が公開されている場所	血清型およびカプシド配列が公開されている場所
AAV3.3b (US20030138772 における配列番号 72 を参照されたい)	AAV3-3 (US20150315612 配列番号 200 を参照されたい)
AAV3-3 (US20150315612 における配列番号 217 を参照されたい)	AAV3a ((US6156303 における配列番号 5 を参照されたい)
AAV3a (US6156303 における配列番号 9 を参照されたい)	AAV3b (US6156303 における配列番号 6 を参照されたい)
AAV3b (US6156303 における配列番号 10 を参照されたい)	AAV3b (US6156303 における配列番号 1 を参照されたい)
AAV4 (US20140348794 配列番号 17 を参照されたい)	AAV4 ((US20140348794 における配列番号 5 を参照されたい)
AAV4 (US20140348794 における配列番号 3 を参照されたい)	AAV4 (US20140348794 における配列番号 14 を参照されたい)
AAV4 (US20140348794 における配列番号 15 を参照されたい)	AAV4 (US20140348794 における配列番号 19 を参照されたい)
AAV4 (US20140348794 における配列番号 12 を参照されたい)	AAV4 (US20140348794 における配列番号 13 を参照されたい)
AAV4 (US20140348794 における配列番号 7 を参照されたい)	AAV4 (US20140348794 における配列番号 8 を参照されたい)
AAV4 (US20140348794 における配列番号 9 を参照されたい)	AAV4 (US20140348794 における配列番号 2 を参照されたい)
AAV4 (US20140348794 における配列番号 10 を参照されたい)	AAV4 (US20140348794 における配列番号 11 を参照されたい)
AAV4 (US20140348794 における配列番号 18 を参照されたい)	AAV4 (US20030138772 における配列番号 63 を参照されたい) および US20160017295 配列
番号(US20140348794 における配列番号 4 を参照されたい)	AAV4 (US20140348794 における配列番号 16 を参照されたい)
AAV4 (US20140348794 における配列番号 20 を参照されたい)	AAV4 (US20140348794 における配列番号 6 を参照されたい)
AAV4 (US20140348794 における配列番号 1 を参照されたい)	AAV42.2 (US20030138772 における配列番号 9 を参照されたい)

10

20

30

40

50

【表 7 - 2】

AAV42.2 (US20030138772 における配列番号 102 を参照されたい)	AAV42.3b (US20030138772 における配列番号 36 を参照されたい)	
AAV42.3B (US20030138772 における配列番号 107 を参照されたい)	AAV42.4 (US20030138772 における配列番号 33 を参照されたい)	
AAV42.4 (US20030138772 における配列番号 88 を参照されたい)	AAV42.8 (US20030138772 における配列番号 27 を参照されたい)	
AAV42.8 (US20030138772 における配列番号 85 を参照されたい)	AAV43.1 (US20030138772 における配列番号 39 を参照されたい)	10
AAV43.1 (US20030138772 における配列番号 92 を参照されたい)	AAV43.12 (US20030138772 における配列番号 41 を参照されたい)	
AAV43.12 (US20030138772 における配列番号 93 を参照されたい)	AAV8 (US20150159173 における配列番号 15 を参照されたい)	
AAV8 (US20150376240 における配列番号 7 を参照されたい)	AAV8 (US20030138772 における配列番号 4;US20150315612 配列 を参照されたい)	
番号 182	AAV8 (US20030138772 における配列番号 95 を参照されたい)、US20140359799 配列	20
AAV8 (US20150159173 における配列番号 31 を参照されたい)	AAV8 (例えば、US20160017295 における配列番号 8、または US7198951 における配列番号 7、または US20150315612 における配列番号 223 を参照されたい)	
AAV8 (US20150376240 における配列番号 8 を参照されたい)	AAV8 (US20150315612 における配列番号 214 を参照されたい)	
AAV-8b (US20150376240 における配列番号 5 を参照されたい)	AAV-8b (US20150376240 における配列番号 3 を参照されたい)	
AAV-8h (US20150376240 における配列番号 6 を参照されたい)	AAV-8h (US20150376240 における配列番号 4 を参照されたい)	30
AAV9 (US20030138772 における配列番号 5 を参照されたい)	AAV9 (US7198951 における配列番号 1 を参照されたい)	
AAV9 (US20160017295 における配列番号 9 を参照されたい)	AAV9 (US20030138772 における配列番号 100 を参照されたい)、US7198951 配列番号 2	
	AAV9 (US7198951 における配列番号 3 を参照されたい)	
AAV9 (AAVhu.14) (US20150315612 における配列番号 3 を参照されたい)	AAV9 (AAVhu.14) (US20150315612 における配列番号 123 を参照されたい)	40

【表 7 - 3】

AAVA3.1 (US20030138772 における配列番号 120 を参照されたい)	AAVA3.3 (US20030138772 における配列番号 57 を参照されたい)	
AAVA3.3 (US20030138772 における配列番号 66 を参照されたい)	AAVA3.4 (US20030138772 における配列番号 54 を参照されたい)	
AAVA3.4 (US20030138772 における配列番号 68 を参照されたい)	AAVA3.5 (US20030138772 における配列番号 55 を参照されたい)	
AAVA3.5 (US20030138772 における配列番号 69 を参照されたい)	AAVA3.7 (US20030138772 における配列番号 56 を参照されたい)	10
AAVA3.7 (US20030138772 における配列番号 67 を参照されたい)	AAV29. ((AAVbb. 1) 161 US20030138772 における配列番号 11 を参照されたい)	
AAVC2 (US20030138772 における配列番号 61 を参照されたい)	AAVCh.5 (US20150159173 における配列番号 46 を参照されたい); US20150315612 配列	
番号 234	AAVcy.2 (AAV13.3) (US20030138772 における配列番号 15 を参照されたい)	
AAV24.1 (US20030138772 における配列番号 101 を参照されたい)	AAVcy.3 (AAV24.1) (US20030138772 における配列番号 16 を参照されたい)	20
AAV27.3 (US20030138772 における配列番号 104 を参照されたい)	AAVcy.4 (AAV27.3) (US20030138772 における配列番号 17 を参照されたい)	
AAVcy.5 (US20150315612 における配列番号 227 を参照されたい)	AAV7.2 (US20030138772 における配列番号 103 を参照されたい)	
AAVcy.5 (AAV7.2) (US20030138772) における配列番号 18 を参照されたい	AAV16.3 (US20030138772 における配列番号 105 を参照されたい)	
AAVcy.6 (AAV16.3) (US20030138772 における配列番号 10 を参照されたい)	AAVcy.5 (US20150159173 における配列番号 8 を参照されたい)	
AAVcy.5 (US20150159173 における配列番号 24 を参照されたい)	AAVCy.5R1 (US20150159173 における配列番号 を参照されたい)	30
AAVCy.5R2 (US20150159173 における配列番号 を参照されたい)	AAVCy.5R3 (US20150159173 における配列番号 を参照されたい)	
AAVCy.5R4 (US20150159173 における配列番号 を参照されたい)	AAVDJ (US20140359799 における配列番号 3)および US7588772 における配列番号 2 を参照されたい)	
	AAVDJ (US20140359799 における配列番号 2; および US7588772 における配列番号 1 を参照されたい)	40

【表 7 - 4】

	AAVDJ-8 (US7588772 における配列番号 ; Grimm et al 2008 を参照されたい)	
AAVDJ-8 (US7588772 における配列番号 ; Grimm et al 2008 を参照されたい)	AAVF5 (US20030138772 における配列番号 110 を参照されたい)	
AAVH2 (US20030138772 における配列番号 26 を参照されたい)	AAVH6 (US20030138772 における配列番号 25 を参照されたい)	
AAVhE1.1 (US9233131 における配列番号 44 を参照されたい)	AAVhE1.14 (US9233131 における配列番号 46 を参照されたい)	10
AAVhE1.16 (US9233131 における配列番号 48 を参照されたい)	AAVhE1.18 (US9233131 における配列番号 49 を参照されたい)	
AAVhE1.23 (AAVhEr2.29) (US9233131 における配列番号 53 を参照されたい)	AAVhE1.35 (US9233131 における配列番号 50 を参照されたい)	
AAVhE1.36 (US9233131 における配列番号 52 を参照されたい)	AAVhE1.5 (US9233131 における配列番号 45 を参照されたい)	
AAVhE1.7 (US9233131 における配列番号 51 を参照されたい)	AAVhE1.8 (US9233131 における配列番号 47 を参照されたい)	20
AAVhEr2.16 (US9233131 における配列番号 55 を参照されたい)	AAVhEr2.30 (US9233131 における配列番号 56 を参照されたい)	
AAVhEr2.31 (US9233131 における配列番号 58 を参照されたい)	AAVhEr2.36 (US9233131 における配列番号 57 を参照されたい)	
AAVhEr2.4 (US9233131 における配列番号 54 を参照されたい)	AAVhEr3.1 (US9233131 における配列番号 59 を参照されたい)	
AAVhu.1 (US20150315612 における配列番号 46 を参照されたい)	AAVhu.1 (US20150315612 における配列番号 144 を参照されたい)	30
AAVhu.10 (AAV16.8) (US20150315612 における配列番号 56 を参照されたい)	AAVhu.10 (AAV16.8) (US20150315612 における配列番号 156 を参照されたい)	
AAVhu.11 (AAV16.12) (US20150315612 における配列番号 57 を参照されたい)	AAVhu.11 (AAV16.12) (US20150315612 における配列番号 153 を参照されたい)	
AAVhu.12 (US20150315612 における配列番号 59 を参照されたい)	AAVhu.12 (US20150315612 における配列番号 154 を参照されたい)	
AAVhu.13 (US2015015917 における配列番号 16 および US20150315612 における配列番号 71 を参照されたい)		40

【表 7 - 5】

AAVhu.13 (US20150159173 における配列番号 32 および US20150315612 における配列番号 129 を参照されたい)	
AAVhu.136.1 (US20150315612 における配列番号 165 を参照されたい)	AAVhu.140.1 (US20150315612 における配列番号 166 を参照されたい)
AAVhu.140.2 (US20150315612 における配列番号 167 を参照されたい)	AAVhu.145.6 (US20150315612 における配列番号 178 を参照されたい)
AAVhu.15 (US20150315612 における配列番号 147 を参照されたい)	AAVhu.15 (AAV33.4) (US20150315612 における配列番号 50 を参照されたい)
AAVhu.156.1 (US20150315612 における配列番号 179 を参照されたい)	AAVhu.16 (US20150315612 における配列番号 148 を参照されたい)
AAVhu.16 (AAV33.8) (US20150315612 における配列番号 51 を参照されたい)	AAVhu.17 (US20150315612 における配列番号 83 を参照されたい)
AAVhu.17 (AAV33.12) (US20150315612 における配列番号 4 を参照されたい)	AAVhu.172.1 (US20150315612 における配列番号 171 を参照されたい)
AAVhu.172.2 (US20150315612 における配列番号 172 を参照されたい)	AAVhu.173.4 (US20150315612 における配列番号 173 を参照されたい)
AAVhu.173.8 (US20150315612 における配列番号 175 を参照されたい)	AAVhu.18 (US20150315612 における配列番号 52 を参照されたい)
AAVhu.18 (US20150315612 における配列番号 149 を参照されたい)	AAVhu.19 (US20150315612 における配列番号 62 を参照されたい)
AAVhu.19 (US20150315612 における配列番号 133 を参照されたい)	AAVhu.2 (US20150315612 における配列番号 48 を参照されたい)
AAVhu.2 (US20150315612 における配列番号 143 を参照されたい)	AAVhu.20 (US20150315612 における配列番号 63 を参照されたい)
AAVhu.20 (US20150315612 における配列番号 134 を参照されたい)	AAVhu.21 (US20150315612 における配列番号 65 を参照されたい)
AAVhu.21 (US20150315612 における配列番号 135 を参照されたい)	AAVhu.22 (US20150315612 における配列番号 67 を参照されたい)
AAVhu.22 239 (US20150315612 における配列番号 138 を参照されたい)	AAVhu.23 (US20150315612 における配列番号 60 を参照されたい)
AAVhu.23.2 (US20150315612 における配列番号 137 を参照されたい)	AAVhu.24 (US20150315612 における配列番号 66 を参照されたい)
AAVhu.24 (US20150315612 における配列番号 136 を参照されたい)	AAVhu.25 (US20150315612 における配列番号 49 を参照されたい)

10

20

30

40

50

【表 7 - 6】

AAVhu.25 (US20150315612 における配列番号 146 を参照されたい)	AAVhu.26 (US20150159173 における配列番号 17 および US20150315612 における配列番号 61 を参照されたい)
	AAVhu.26 (US20150159173 における配列番号 33)、US20150315612 配列 を参照されたい
	AAVhu.27 (US20150315612 における配列番号 64 を参照されたい)
AAVhu.27 (US20150315612 における配列番号 140 を参照されたい)	AAVhu.28 (US20150315612 における配列番号 68 を参照されたい)
AAVhu.28 (US20150315612 における配列番号 130 を参照されたい)	AAVhu.29 (US20150315612 における配列番号 69 を参照されたい)
AAVhu.29 (US20150159173 における配列番号 42 および US20150315612 における配列番号 132 を参照されたい)	
AAVhu.29 (US20150315612 における配列番号 225 を参照されたい)	AAVhu.29R (US20150159173 における配列番号 を参照されたい)
AAVhu.3 (US20150315612 における配列番号 44 を参照されたい)	AAVhu.3 (US20150315612 における配列番号 145 を参照されたい)
AAVhu.30 (US20150315612 における配列番号 70 を参照されたい)	AAVhu.30 (US20150315612 における配列番号 131 を参照されたい)
AAVhu.31 (US20150315612 における配列番号 1 を参照されたい)	AAVhu.31 (US20150315612 における配列番号 121 を参照されたい)
AAVhu.32 (US20150315612 における配列番号 2 を参照されたい)	AAVhu.32 (US20150315612 における配列番号 122 を参照されたい)
AAVhu.33 (US20150315612 における配列番号 75 を参照されたい)	AAVhu.33 (US20150315612 における配列番号 124 を参照されたい)
AAVhu.34 (US20150315612 における配列番号 72 を参照されたい)	AAVhu.34 (US20150315612 における配列番号 125 を参照されたい)
AAVhu.35 (US20150315612 における配列番号 73 を参照されたい)	AAVhu.35 (US20150315612 における配列番号 164 を参照されたい)
AAVhu.36 (US20150315612 における配列番号 74 を参照されたい)	AAVhu.36 (US20150315612 における配列番号 126 を参照されたい)
AAVhu.37 (US20150159173 における配列番号 34 および US20150315612 における配列番号 88 を参照されたい)	

10

20

30

40

50

【表 7 - 7】

AAVhu.37 (AAV106.1) (US20150315612 における配列番号 10 および US20150159173 における配列番号 18 を参照されたい)	
AAVhu.38 (US20150315612 における配列番号 161 を参照されたい)	AAVhu.39 (US20150315612 における配列番号 102 を参照されたい)
AAVhu.39 (AAVLG-9) (US20150315612 における配列番号 24 を参照されたい)	AAVhu.4 (US20150315612 における配列番号 47 を参照されたい)
AAVhu.4 (US20150315612 における配列番号 141 を参照されたい)	AAVhu.40 (US20150315612 における配列番号 87 を参照されたい)
AAVhu.40 (AAV114.3) (US20150315612 における配列番号 11 を参照されたい)	AAVhu.41 (US20150315612 における配列番号 91 を参照されたい)
AAVhu.41 (AAV127.2) (US20150315612 における配列番号 6 を参照されたい)	AAVhu.42 (US20150315612 における配列番号 85 を参照されたい)
AAVhu.42 (AAV127.5) (US20150315612 における配列番号 8 を参照されたい)	AAVhu.43 (US20150315612 における配列番号 160 を参照されたい)
AAVhu.43 (US20150315612 における配列番号 236 を参照されたい)	AAVhu.43 (AAV128.1) (US20150315612 における配列番号 80 を参照されたい)
AAVhu.44 (US20150159173 における配列番号 45 および US20150315612 における配列番号 158 を参照されたい)	
AAVhu.44 (AAV128.3) (US20150315612 における配列番号 81 を参照されたい)	AAVhu.44R1 (US20150159173 における配列番号 を参照されたい)
AAVhu.44R2 (US20150159173 における配列番号 を参照されたい)	AAVhu.44R3 (US20150159173 における配列番号 を参照されたい)
AAVhu.45 (US20150315612 における配列番号 76 を参照されたい)	AAVhu.45 (US20150315612 における配列番号 127 を参照されたい)
AAVhu.46 (US20150315612 における配列番号 82 を参照されたい)	AAVhu.46 (US20150315612 における配列番号 159 を参照されたい)
AAVhu.46 (US20150315612 における配列番号 224 を参照されたい)	AAVhu.47 (US20150315612 における配列番号 77 を参照されたい)
AAVhu.47 (US20150315612 における配列番号 128 を参照されたい)	AAVhu.48 (US20150159173 における配列番号 38 を参照されたい)
AAVhu.48 (US20150315612 における配列番号 157 を参照されたい)	AAVhu.48 (AAV130.4) (US20150315612 における配列番号 78 を参照されたい)

10

20

30

40

50

【表 7 - 8】

AAVhu.48R1 (US20150159173 における配列番号 を参照されたい)	AAVhu.48R2 (US20150159173 における配列番号 を参照されたい)
AAVhu.48R3 (US20150159173 における配列番号 を参照されたい)	AAVhu.49 (US20150315612 における配列番号 209 を参照されたい)
AAVhu.49 (US20150315612 における配列番号 189 を参照されたい)	AAVhu.5 (US20150315612 における配列番号 45 を参照されたい)
AAVhu.5 (US20150315612 における配列番号 142 を参照されたい)	AAVhu.51 (US20150315612 における配列番号 208 を参照されたい)
AAVhu.51 (US20150315612 における配列番号 190 を参照されたい)	AAVhu.52 (US20150315612 における配列番号 210 を参照されたい)
AAVhu.52 (US20150315612 における配列番号 191 を参照されたい)	AAVhu.53 (US20150159173 における配列番号 19 を参照されたい)
AAVhu.53 (US20150159173 における配列番号 35 を参照されたい)	AAVhu.53 (AAV145.1) (US20150315612 における配列番号 176 を参照されたい)
AAVhu.54 (US20150315612 における配列番号 188 を参照されたい)	AAVhu.54 (AAV145.5) (US20150315612 における配列番号 177 を参照されたい)
AAVhu.55 (US20150315612 における配列番号 187 を参照されたい)	AAVhu.56 (US20150315612 における配列番号 205 を参照されたい)
AAVhu.56 (AAV145.6) (US20150315612 における配列番号 168 を参照されたい)	AAVhu.56 (AAV145.6) (US20150315612 における配列番号 192 を参照されたい)
AAVhu.57 (US20150315612 における配列番号 206 を参照されたい)	AAVhu.57 (US20150315612 における配列番号 169 を参照されたい)
AAVhu.57 (US20150315612 における配列番号 193 を参照されたい)	AAVhu.58 (US20150315612 における配列番号 207 を参照されたい)
AAVhu.58 (US20150315612 における配列番号 194 を参照されたい)	AAVhu.6 (AAV3.1) (US20150315612 における配列番号 5 を参照されたい)
AAVhu.6 (AAV3.1) (US20150315612 における配列番号 84 を参照されたい)	AAVhu.60 (US20150315612 における配列番号 184 を参照されたい)
AAVhu.60 (AAV161.10) (US20150315612 における配列番号 170 を参照されたい)	AAVhu.61 (US20150315612 における配列番号 185 を参照されたい)
AAVhu.61 (AAV161.6) (US20150315612 における配列番号 174 を参照されたい)	AAVhu.63 (US20150315612 における配列番号 204 を参照されたい)
AAVhu.63 (US20150315612 における配列番号 195 を参照されたい)	AAVhu.64 (US20150315612 における配列番号 212 を参照されたい)

10

20

30

40

50

【表 7 - 9】

AAVhu.64 (US20150315612 における配列番号 196 を参照されたい)	AAVhu.66 (US20150315612 における配列番号 197 を参照されたい)
AAVhu.67 (US20150315612 における配列番号 215 を参照されたい)	AAVhu.67 (US20150315612 における配列番号 198 を参照されたい)
AAVhu.7 (US20150315612 における配列番号 226 を参照されたい)	AAVhu.7 (US20150315612 における配列番号 150 を参照されたい)
AAVhu.7 (AAV7.3) (US20150315612 における配列番号 55 を参照されたい)	AAVhu.71 (US20150315612 における配列番号 79 を参照されたい)
AAVhu.8 (US20150315612 における配列番号 53 を参照されたい)	AAVhu.8 (US20150315612 における配列番号 12 を参照されたい)
AAVhu.8 (US20150315612 における配列番号 151 を参照されたい)	AAVhu.9 (AAV3.1) (US20150315612 における配列番号 58 を参照されたい)
AAVhu.9 (AAV3.1) (US20150315612 における配列番号 155 を参照されたい)	AAV-LK01 (US20150376607 における配列番号 2 を参照されたい)
AAV-LK01 (US20150376607 における配列番号 29 を参照されたい)	AAV-LK02 (US20150376607 における配列番号 3 を参照されたい)
AAV-LK02 (US20150376607 における配列番号 30 を参照されたい)	AAV-LK03 (US20150376607 における配列番号 4 を参照されたい)
AAV-LK03 (WO2015121501 における配列番号 12 および US20150376607 における配列番号 31 を参照されたい)	
AAV-LK04 (US20150376607 における配列番号 5 を参照されたい)	AAV-LK04 (US20150376607 における配列番号 32 を参照されたい)
AAV-LK05 (US20150376607 における配列番号 6 を参照されたい)	AAV-LK05 (US20150376607 における配列番号 33 を参照されたい)
AAV-LK06 (US20150376607 における配列番号 7 を参照されたい)	AAV-LK06 (US20150376607 における配列番号 34 を参照されたい)
AAV-LK07 (US20150376607 における配列番号 8 を参照されたい)	AAV-LK07 (US20150376607 における配列番号 35 を参照されたい)
AAV-LK08 (US20150376607 における配列番号 9 を参照されたい)	AAV-LK08 (US20150376607 における配列番号 36 を参照されたい)
AAV-LK09 (US20150376607 における配列番号 10 を参照されたい)	AAV-LK09 (US20150376607 における配列番号 37 を参照されたい)
AAV-LK10 (US20150376607 における配列番号 11 を参照されたい)	AAV-LK10 (US20150376607 における配列番号 38 を参照されたい)

10

20

30

40

50

【表 7 - 10】

AAV-LK11 (US20150376607 における配列番号 12 を参照されたい)	AAV-LK11 (US20150376607 における配列番号 39 を参照されたい)
AAV-LK12 (US20150376607 における配列番号 13 を参照されたい)	AAV-LK12 (US20150376607 における配列番号 40 を参照されたい)
AAV-LK13 (US20150376607 における配列番号 14 を参照されたい)	AAV-LK13 (US20150376607 における配列番号 41 を参照されたい)
AAV-LK14 (US20150376607 における配列番号 15 を参照されたい)	AAV-LK14 (US20150376607 における配列番号 42 を参照されたい)
AAV-LK15 (US20150376607 における配列番号 16 を参照されたい)	AAV-LK15 (US20150376607 における配列番号 43 を参照されたい)
AAV-LK16 (US20150376607 における配列番号 17 を参照されたい)	AAV-LK16 (US20150376607 における配列番号 44 を参照されたい)
AAV-LK17 (US20150376607 における配列番号 18 を参照されたい)	AAV-LK17 (US20150376607 における配列番号 45 を参照されたい)
AAV-LK18 (US20150376607 における配列番号 19 を参照されたい)	AAV-LK18 (US20150376607 における配列番号 46 を参照されたい)
AAV-LK19 (US20150376607 における配列番号 20 を参照されたい)	AAV-LK19 (US20150376607 における配列番号 47 を参照されたい)
AAV-PAEC (US20150376607 における配列番号 1 を参照されたい)	AAV-PAEC (US20150376607 における配列番号 48 を参照されたい)
AAV-PAEC11 (US20150376607 における配列番号 26 を参照されたい)	AAV-PAEC11 (US20150376607 における配列番号 54 を参照されたい)
AAV-PAEC 12 (US20150376607 における配列番号 27 を参照されたい)	AAV-PAEC 12 (US20150376607 における配列番号 51 を参照されたい)
AAV-PAEC 13 (US20150376607 における配列番号 28 を参照されたい)	AAV-PAEC 13 (US20150376607 における配列番号 49 を参照されたい)
AAV-PAEC2 (US20150376607 における配列番号 21 を参照されたい)	AAV-PAEC2 (US20150376607 における配列番号 56 を参照されたい)
AAV-PAEC4 (US20150376607 における配列番号 22 を参照されたい)	AAV-PAEC4 (US20150376607 における配列番号 55 を参照されたい)
AAV-PAEC6 (US20150376607 における配列番号 23 を参照されたい)	AAV-PAEC6 (US20150376607 における配列番号 52 を参照されたい)
AAV-PAEC7 (US20150376607 における配列番号 24 を参照されたい)	AAV-PAEC7 (US20150376607 における配列番号 53 を参照されたい)

10

20

30

40

50

【表 7 - 1 1】

AAV-PAEC8 (US20150376607 における配列番号 25 を参照されたい)	AAV-PAEC8 (US20150376607 における配列番号 50 を参照されたい)
AAVpi.1 (US20150315612 における配列番号 28 を参照されたい)	AAVpi.1 (US20150315612 における配列番号 93 を参照されたい; AAVpi.2 408、US20150315612 における配列番号 30 を参照されたい)
AAVpi.2 (US20150315612 における配列番号 95 を参照されたい)	AAVpi.3 (US20150315612 における配列番号 29 を参照されたい)
AAVpi.3 (US20150315612 における配列番号 94 を参照されたい)	AAVrh.10 (US20150159173 における配列番号 9 を参照されたい)
AAVrh.10 (US20150159173 における配列番号 25 を参照されたい)	AAV44.2 (US20030138772 における配列番号 59 を参照されたい)
AAVrh.10 (AAV44.2) (US20030138772 における配列番号 81 を参照されたい)	AAV42.1B (US20030138772 における配列番号 90 を参照されたい)
AAVrh.12 (AAV42.1b) (US20030138772 における配列番号 30 を参照されたい)	AAVrh.13 (US20150159173 における配列番号 10 を参照されたい)
AAVrh.13 (US20150159173 における配列番号 26 を参照されたい)	AAVrh.13 (US20150315612 における配列番号 228 を参照されたい)
AAVrh.13R (US20150159173 における配列番号 を参照されたい)	AAV42.3A (US20030138772 における配列番号 87 を参照されたい)
AAVrh.14 (AAV42.3a) (US20030138772 における配列番号 32 を参照されたい)	AAV42.5A (US20030138772 における配列番号 89 を参照されたい)
AAVrh.17 (AAV42.5a) (US20030138772 における配列番号 34 を参照されたい)	AAV42.5B (US20030138772 における配列番号 91 を参照されたい)
AAVrh.18 (AAV42.5b) (US20030138772 における配列番号 29 を参照されたい)	AAV42.6B (US20030138772 における配列番号 112 を参照されたい)
AAVrh.19 (AAV42.6b) (US20030138772 における配列番号 38 を参照されたい)	AAVrh.2 (US20150159173 における配列番号 39 を参照されたい)
AAVrh.2 (US20150315612 における配列番号 231 を参照されたい)	AAVrh.20 (US20150159173 における配列番号 1 を参照されたい)
AAV42.10 (US20030138772 における配列番号 106 を参照されたい)	AAVrh.21 (AAV42.10) (US20030138772 における配列番号 35 を参照されたい)
AAV42.11 (US20030138772 における配列番号 108 を参照されたい)	AAVrh.22 (AAV42.11) (US20030138772 における配列番号 37 を参照されたい)
AAV42.12 (US20030138772 における配列番号 113 を参照されたい)	AAVrh.23 (AAV42.12) (US20030138772 における配列番号 58 を参照されたい)

10

20

30

40

50

【表 7 - 1 2】

AAV42.13 (US20030138772 における配列番号 86 を参照されたい)	AAVrh.24 (AAV42.13) (US20030138772 における配列番号 31 を参照されたい)
AAV42.15 (US20030138772 における配列番号 84 を参照されたい)	AAVrh.25 (AAV42.15) (US20030138772 における配列番号 28 を参照されたい)
AAVrh.2R (US20150159173 における配列番号 を参照されたい)	AAVrh.31 (AAV223.1) (US20030138772 における配列番号 48 を参照されたい)
AAVC1 (US20030138772 における配列番号 60 を参照されたい)	AAVrh.32 (AAVC1) (446 US20030138772 における配列番号 19 を参照されたい)
AAVrh.32/33 (US20150159173 における配列番号 2 を参照されたい)	AAVrh.51 (AAV2-5) (US20150315612 における配列番号 104 を参照されたい)
AAVrh.52 (AAV3-9) (US20150315612 における配列番号 18 を参照されたい)	AAVrh.52 (AAV3-9) (US20150315612 における配列番号 96 を参照されたい)
AAVrh.53 (US20150315612 における配列番号 を参照されたい)	AAVrh.53 (AAV3-11) (US20150315612 における配列番号 17 を参照されたい)
AAVrh.53 (AAV3-11) (US20150315612 における配列番号 186 を参照されたい)	AAVrh.54 (US20150315612 における配列番号 40 を参照されたい)
AAVrh.54 (US20150159173 における配列番号 49 および US20150315612 における配列番号 116 を参照されたい)	
AAVrh.55 (US20150315612 における配列番号 37 を参照されたい)	AAVrh.55 (AAV4-19) (US20150315612 における配列番号 117 を参照されたい)
AAVrh.56 (US20150315612 における配列番号 54 を参照されたい)	AAVrh.56 (US20150315612 における配列番号 152 を参照されたい)
AAVrh.57 (497 US20150315612 における配列番号 配列番号 26 を参照されたい)	AAVrh.57 (US20150315612 における配列番号 105 を参照されたい)
AAVrh.58 (US20150315612 における配列番号 27 を参照されたい)	AAVrh.58 (US20150159173 における配列番号 48 および US20150315612 における配列番号 106 を参照されたい)
	AAVrh.58 (US20150315612 における配列番号 232 を参照されたい)
AAVrh.59 (US20150315612 における配列番号 42 を参照されたい)	AAVrh.59 (US20150315612 における配列番号 110 を参照されたい)
AAVrh.60 (US20150315612 における配列番号 31 を参照されたい)	AAVrh.60 (US20150315612 における配列番号 120 を参照されたい)
AAVrh.61 (US20150315612 における配列番号 107 を参照されたい)	AAVrh.61 (AAV2-3) (US20150315612 における配列番号 21 を参照されたい)
AAVrh.62 (AAV2-15) (US20150315612 における配列番号 33 を参照されたい)	AAVrh.62 (AAV2-15) (US20150315612 における配列番号 114 を参照されたい)
AAVrh.64 (US20150315612 における配列番号 15 を参照されたい)	AAVrh.64 (US20150159173 における配列番号 43 および US20150315612 における配列番号 99 を参照されたい)
	AAVrh.64 (US20150315612 における配列番号 233 を参照されたい)
AAVRh.64R1 (US20150159173 における配列番号 を参照されたい)	AAVRh.64R2 (US20150159173 における配列番号 を参照されたい)

10

20

30

40

50

【表 7 - 1 3】

AAVrh.65 (US20150315612 における配列番号 35 を参照されたい)	AAVrh.65 (US20150315612 における配列番号 112 を参照されたい)
AAVrh.67 (US20150315612 における配列番号 36 を参照されたい)	AAVrh.67 (US20150315612 における配列番号 230 を参照されたい)
AAVrh.67 (US20150159173 における配列番号 47 および US20150315612 における配列番号 47 を参照されたい)	
AAVrh.68 (US20150315612 における配列番号 16 を参照されたい)	AAVrh.68 (US20150315612 における配列番号 100 を参照されたい)
AAVrh.69 (US20150315612 における配列番号 39 を参照されたい)	AAVrh.69 (US20150315612 における配列番号 119 を参照されたい)
AAVrh.70 (US20150315612 における配列番号 20 を参照されたい)	AAVrh.70 (US20150315612 における配列番号 98 を参照されたい)
AAVrh.71 (US20150315612 における配列番号 162 を参照されたい)	AAVrh.72 (US20150315612 における配列番号 9 を参照されたい)
AAVrh.73 (US20150159173 における配列番号 5 を参照されたい)	AAVrh.74 (US20150159173 における配列番号 6 を参照されたい)
AAVrh.8 (US20150159173 における配列番号 41 を参照されたい)	AAVrh.8 (US20150315612 における配列番号 235 を参照されたい)
AAVrh.8R (US20150159173、WO2015168666 における配列番号 9 を参照されたい)	AAVrh.8R A586R 突然変異体 (WO2015168666 における配列番号 10 を参照されたい)
AAVrh.8R R533A 突然変異体 (WO2015168666 における配列番号 11 を参照されたい)	BAAV (ウシ AAV) (US9193769 における配列番号 8 を参照されたい)
BAAV (ウシ AAV) (US9193769 における配列番号 10 を参照されたい)	BAAV (ウシ AAV) (US9193769 における配列番号 4 を参照されたい)
BAAV (ウシ AAV) (US9193769 における配列番号 2 を参照されたい)	BAAV (ウシ AAV) (US9193769 における配列番号 6 を参照されたい)
BAAV (ウシ AAV) (US9193769 における配列番号 1 を参照されたい)	BAAV (ウシ AAV) (US9193769 における配列番号 5 を参照されたい)
BAAV (ウシ AAV) (US9193769 における配列番号 3 を参照されたい)	BAAV (ウシ AAV) (US9193769 における配列番号 11 を参照されたい)
BAAV (ウシ AAV) (US7427396 における配列番号 5 を参照されたい)	BAAV (ウシ AAV) (US7427396 における配列番号 6 を参照されたい)
BAAV (ウシ AAV) (US9193769 における配列番号 7 を参照されたい)	BAAV (ウシ AAV) (US9193769 における配列番号 9 を参照されたい)
BNP61 AAV (US20150238550 における配列番号 1 を参照されたい)	BNP61 AAV (US20150238550 における配列番号 2 を参照されたい)
BNP62 AAV (US20150238550 における配列番号 3 を参照されたい)	BNP63 AAV (US20150238550 における配列番号 4 を参照されたい)
ヤギ AAV (US7427396 における配列番号 3 を参照されたい)	ヤギ AAV (US7427396 における配列番号 4 を参照されたい)
true type AAV (ttAAV) (WO2015121501 における配列番号 2 を参照されたい)	AAAV (トリ AAV) (US9238800 における配列番号 12 を参照されたい)
AAAV (トリ AAV) (US9238800 における配列番号 2 を参照されたい)	AAAV (トリ AAV) (US9238800 における配列番号 6 を参照されたい)
AAAV (トリ AAV) (US9238800 における配列番号 4 を参照されたい)	AAAV (トリ AAV) (US9238800 における配列番号 8 を参照されたい)
AAAV (トリ AAV) (US9238800 における配列番号 14 を参照されたい)	AAAV (トリ AAV) (US9238800 における配列番号 10 を参照されたい)

10

20

30

40

50

【表 7 - 1 4】

AAV (トリ AAV) (US9238800 における配列番号 15 を参照されたい)	AAV (トリ AAV) (US9238800 における配列番号 5 を参照されたい)
AAV (トリ AAV) (US9238800 における配列番号 9 を参照されたい)	AAV (トリ AAV) (US9238800 における配列番号 3 を参照されたい)
AAV (トリ AAV) (US9238800 における配列番号 7 を参照されたい)	AAV (トリ AAV) (US9238800 における配列番号 11 を参照されたい)
AAV (トリ AAV) (US9238800 における配列番号 を参照されたい)	AAV (トリ AAV) (US9238800 における配列番号 1 を参照されたい)
AAV シャッフル 100-1 (US20160017295 における配列番号 23 を参照されたい)	AAV シャッフル 100-1 (US20160017295 における配列番号 11 を参照されたい)
AAV シャッフル 100-2 (US20160017295 における配列番号 37 を参照されたい)	AAV シャッフル 100-2 (US20160017295 における配列番号 29 を参照されたい)
AAV シャッフル 100-3 (US20160017295 における配列番号 24 を参照されたい)	AAV シャッフル 100-3 (US20160017295 における配列番号 12 を参照されたい)
AAV シャッフル 100-7 (US20160017295 における配列番号 25 を参照されたい)	AAV シャッフル 100-7 (US20160017295 における配列番号 13 を参照されたい)
AAV シャッフル 10-2 (US20160017295 における配列番号 34 を参照されたい)	AAV シャッフル 10-2 (US20160017295 における配列番号 26 を参照されたい)
AAV シャッフル 10-6 (US20160017295 における配列番号 35 を参照されたい)	AAV シャッフル 10-6 (US20160017295 における配列番号 27 を参照されたい)
AAV シャッフル 10-8 (US20160017295 における配列番号 36 を参照されたい)	AAV シャッフル 10-8 (US20160017295 における配列番号 28 を参照されたい)
AAV SM 100-10 (US20160017295 における配列番号 41 を参照されたい)	AAV SM 100-10 (US20160017295 における配列番号 33 を参照されたい)
AAV SM 100-3 (US20160017295 における配列番号 40 を参照されたい)	AAV SM 100-3 (US20160017295 における配列番号 32 を参照されたい)
AAV SM 10-1 (US20160017295 における配列番号 38 を参照されたい)	AAV SM 10-1 (US20160017295 における配列番号 30 を参照されたい)
AAV SM 10-2 (US20160017295 における配列番号 10 を参照されたい)	AAV SM 10-2 (US20160017295 における配列番号 22 を参照されたい)
AAV SM 10-8 (US20160017295 における配列番号 39 を参照されたい)	AAV SM 10-8 (US20160017295 における配列番号 31 を参照されたい)
AAV CBr-7.1 (WO2016065001 における配列番号 4 を参照されたい)	AAV CBr-7.1 (WO2016065001 における配列番号 54 を参照されたい)
AAV CBr-7.10 (WO2016065001 における配列番号 11 を参照されたい)	AAV CBr-7.10 (WO2016065001 における配列番号 61 を参照されたい)
AAV CBr-7.2 (WO2016065001 における配列番号 5 を参照されたい)	AAV CBr-7.2 (WO2016065001 における配列番号 55 を参照されたい)
AAV CBr-7.3 (WO2016065001 における配列番号 6 を参照されたい)	AAV CBr-7.3 (WO2016065001 における配列番号 56 を参照されたい)
AAV CBr-7.4 (WO2016065001 における配列番号 7 を参照されたい)	AAV CBr-7.4 (WO2016065001 における配列番号 57 を参照されたい)
AAV CBr-7.5 (WO2016065001 における配列番号 8 を参照されたい)	AAV CHt-6.6 (WO2016065001 における配列番号 35 を参照されたい)
AAV CHt-6.6 (WO2016065001 における配列番号 85 を参照されたい)	AAV CHt-6.7 (WO2016065001 における配列番号 36 を参照されたい)

10

20

30

40

【表 7 - 1 5】

AAV CHt-6.7 (WO2016065001 における配列番号 86 を参照されたい)	AAV CHt-6.8 (WO2016065001 における配列番号 37 を参照されたい)
AAV CHt-6.8 (WO2016065001 における配列番号 87 を参照されたい)	AAV CHt-P1 (WO2016065001 における配列番号 29 を参照されたい)
AAV CHt-P1 (WO2016065001 における配列番号 79 を参照されたい)	AAV CHt-P2 (WO2016065001 における配列番号 1 を参照されたい)
AAV CHt-P2 (WO2016065001 における配列番号 51 を参照されたい)	AAV CHt-P5 (WO2016065001 における配列番号 2 を参照されたい)
AAV CHt-P5 (WO2016065001 における配列番号 52 を参照されたい)	AAV CHt-P6 (WO2016065001 における配列番号 30 を参照されたい)
AAV CHt-P6 (WO2016065001 における配列番号 80 を参照されたい)	AAV CHt-P8 (WO2016065001 における配列番号 31 を参照されたい)
AAV CHt-P8 (WO2016065001 における配列番号 81 を参照されたい)	AAV CHt-P9 (WO2016065001 における配列番号 3 を参照されたい)
AAV CHt-P9 (WO2016065001 における配列番号 53 を参照されたい)	AAV CKd-1 (US8734809 における配列番号 57 を参照されたい)
AAV CKd-1 (US8734809 における配列番号 131 を参照されたい)	AAV CKd-10 (US8734809 における配列番号 58 を参照されたい)
AAV CKd-10 (US8734809 における配列番号 132 を参照されたい)	AAV CKd-2 (US8734809 における配列番号 59 を参照されたい)
AAV CKd-2 (US8734809 における配列番号 133 を参照されたい)	AAV CKd-3 (US8734809 における配列番号 60 を参照されたい)
AAV CKd-3 (US8734809 における配列番号 134 を参照されたい)	AAV CKd-4 (US8734809 における配列番号 61 を参照されたい)
AAV CKd-4 (US8734809 における配列番号 135 を参照されたい)	AAV CKd-6 (US8734809 における配列番号 62 を参照されたい)
AAV CKd-6 (US8734809 における配列番号 136 を参照されたい)	AAV CKd-7 (US8734809 における配列番号 63 を参照されたい)
AAV CKd-7 (US8734809 における配列番号 137 を参照されたい)	AAV CKd-8 (US8734809 における配列番号 64 を参照されたい)
AAV CKd-8 (US8734809 における配列番号 138 を参照されたい)	AAV CKd-B 1 (US8734809 における配列番号 73 を参照されたい)
AAV CKd-B 1 (US8734809 における配列番号 147 を参照されたい)	AAV CKd-B2 (US8734809 における配列番号 74 を参照されたい)

10

20

30

40

50

【表 7 - 1 6】

AAV CKd-B2 (US8734809 における配列番号 148 を参照されたい)	AAV CKd-B3 (US8734809 における配列番号 75 を参照されたい)
AAV CKd-B3 (US8734809 における配列番号 を参照されたい)	AAV CKd-B3 (US8734809 における配列番号 149 を参照されたい)
AAV CLv-1 (US8734809 における配列番号 65 を参照されたい)	AAV CLv-1 (US8734809 における配列番号 139 を参照されたい)
AAV CLv1-1 (US8734809 における配列番号 171 を参照されたい)	AAV Civ 1-10 (US8734809 における配列番号 178 を参照されたい)
AAV CLv1-2 (US8734809 における配列番号 172 を参照されたい)	AAV CLv-12 (US8734809 における配列番号 66 を参照されたい)
AAV CLv-12 (US8734809 における配列番号 140 を参照されたい)	AAV CLv1-3 (US8734809 における配列番号 173 を参照されたい)
AAV CLv-13 (US8734809 における配列番号 67 を参照されたい)	AAV CLv-13 (US8734809 における配列番号 141 を参照されたい)
AAV CLv1-4 (US8734809 における配列番号 174 を参照されたい)	AAV Civ 1-7 (US8734809 における配列番号 175 を参照されたい)
AAV Civ 1-8 (US8734809 における配列番号 176 を参照されたい)	AAV Civ 1-9 (US8734809 における配列番号 177 を参照されたい)
AAV CLv-2 (US8734809 における配列番号 68 を参照されたい)	AAV CLv-2 (US8734809 における配列番号 142 を参照されたい)
AAV CLv-3 (US8734809 における配列番号 69 を参照されたい)	AAV CLv-3 (US8734809 における配列番号 143 を参照されたい)
AAV CLv-4 (US8734809 における配列番号 70 を参照されたい)	AAV CLv-4 (US8734809 における配列番号 144 を参照されたい)
AAV CLv-6 (US8734809 における配列番号 71 を参照されたい)	AAV CLv-6 (US8734809 における配列番号 145 を参照されたい)
AAV CLv-8 (US8734809 における配列番号 72 を参照されたい)	AAV CLv-8 (US8734809 における配列番号 146 を参照されたい)
AAV CLv-D1 (US8734809 における配列番号 22 を参照されたい)	AAV CLv-D1 (US8734809 における配列番号 96 を参照されたい)
AAV CLv-D2 (US8734809 における配列番号 23 を参照されたい)	AAV CLv-D2 (US8734809 における配列番号 97 を参照されたい)
AAV CLv-D3 (US8734809 における配列番号 24 を参照されたい)	AAV CLv-D3 (US8734809 における配列番号 98 を参照されたい)

10

20

30

40

50

【表 7 - 1 7】

AAV CLv-D4 (US8734809 における配列番号 25 を参照されたい)	AAV CLv-D4 (US8734809 における配列番号 99 を参照されたい)
AAV CLv-D5 (US8734809 における配列番号 26 を参照されたい)	AAV CLv-D5 (US8734809 における配列番号 100 を参照されたい)
AAV CLv-D6 (US8734809 における配列番号 27 を参照されたい)	AAV CLv-D6 (US8734809 における配列番号 101 を参照されたい)
AAV CLv-D7 (US8734809 における配列番号 28 を参照されたい)	AAV CLv-D7 (US8734809 における配列番号 102 を参照されたい)
AAV CLv-D8 (US8734809 における配列番号 29 を参照されたい)	AAV CLv-D8 (US8734809 における配列番号 103 を参照されたい); AAV CLv-K1 762、WO2016065001 における配列番号 18 を参照されたい)
AAV CLv-K1 (WO2016065001 における配列番号 68 を参照されたい)	AAV CLv-K3 (WO2016065001 における配列番号 19 を参照されたい)
AAV CLv-K3 (WO2016065001 における配列番号 69 を参照されたい)	AAV CLv-K6 (WO2016065001 における配列番号 20 を参照されたい)
AAV CLv-K6 (WO2016065001 における配列番号 70 を参照されたい)	AAV CLv-L4 (WO2016065001 における配列番号 15 を参照されたい)
AAV CLv-L4 (WO2016065001 における配列番号 65 を参照されたい)	AAV CLv-L5 (WO2016065001 における配列番号 16 を参照されたい)
AAV CLv-L5 (WO2016065001 における配列番号 66 を参照されたい)	AAV CLv-L6 (WO2016065001 における配列番号 17 を参照されたい)
AAV CLv-L6 (WO2016065001 における配列番号 67 を参照されたい)	AAV CLv-M1 (WO2016065001 における配列番号 21 を参照されたい)
AAV CLv-M1 (WO2016065001 における配列番号 71 を参照されたい)	AAV CLv-M11 (WO2016065001 における配列番号 22 を参照されたい)
AAV CLv-M1 1 (WO2016065001 における配列番号 72 を参照されたい)	AAV CLv-M2 (WO2016065001 における配列番号 23 を参照されたい)
AAV CLv-M2 (WO2016065001 における配列番号 73 を参照されたい)	AAV CLv-M5 (WO2016065001 における配列番号 24 を参照されたい)
AAV CLv-M5 (WO2016065001 における配列番号 74 を参照されたい)	AAV CLv-M6 (WO2016065001 における配列番号 25 を参照されたい)
AAV CLv-M6 (WO2016065001 における配列番号 75 を参照されたい)	AAV CLv-M7 (WO2016065001 における配列番号 26 を参照されたい)

10

20

30

40

50

【表 7 - 1 8】

AAV CLv-M7 (WO2016065001 における配列番号 76 を参照されたい)	AAV CLv-M8 (WO2016065001 における配列番号 27 を参照されたい)
AAV CLv-M8 (WO2016065001 における配列番号 77 を参照されたい)	AAV CLv-M9 (WO2016065001 における配列番号 28 を参照されたい)
AAV CLv-M9 (WO2016065001 における配列番号 78 を参照されたい)	AAV CLv-R1 (US8734809 における配列番号 30 を参照されたい)
AAV CLv-R1 (US8734809 における配列番号 104 を参照されたい)	AAV CLv-R2 (US8734809 における配列番号 31 を参照されたい)
AAV CLv-R2 (US8734809 における配列番号 105 を参照されたい)	AAV CLv-R3 (US8734809 における配列番号 32 を参照されたい)
AAV CLv-R3 (US8734809 における配列番号 106 を参照されたい)	AAV CLv-R4 (US8734809 における配列番号 33 を参照されたい)
AAV CLv-R4 (US8734809 における配列番号 107 を参照されたい)	AAV CLv-R5 (US8734809 における配列番号 34 を参照されたい)
AAV CLv-R5 (US8734809 における配列番号 108 を参照されたい)	AAV CLv-R6 (US8734809 における配列番号 35 を参照されたい)
AAV CLv-R6 (US8734809 における配列番号 109 を参照されたい); AAV CLv-R7 802 (US8734809 における配列番号 36 を参照されたい)	AAV CLv-R7 (US8734809 における配列番号 110 を参照されたい)
AAV CLv-R8 (US8734809 における配列番号 37 を参照されたい)	AAV CLv-R8 (US8734809 における配列番号 111 を参照されたい)
AAV CLv-R9 (US8734809 における配列番号 38 を参照されたい)	AAV CLv-R9 (US8734809 における配列番号 112 を参照されたい)
AAV CSp-1 (US8734809 における配列番号 45 を参照されたい)	AAV CSp-1 (US8734809 における配列番号 119 を参照されたい)
AAV CSp-10 (US8734809 における配列番号 46 を参照されたい)	AAV CSp-10 (US8734809 における配列番号 120 を参照されたい)
AAV CSp-11 (US8734809 における配列番号 47 を参照されたい)	AAV CSp-11 (US8734809 における配列番号 121 を参照されたい)
AAV CSp-2 (US8734809 における配列番号 48 を参照されたい)	AAV CSp-2 (US8734809 における配列番号 122 を参照されたい)
AAV CSp-3 (US8734809 における配列番号 49 を参照されたい)	AAV CSp-3 (US8734809 における配列番号 123 を参照されたい)
AAV CSp-4 (US8734809 における配列番号 50 を参照されたい)	AAV CSp-4 (US8734809 における配列番号 124 を参照されたい)

10

20

30

40

50

【表 7 - 1 9】

AAV CSp-6 (US8734809 における配列番号 51 を参照されたい)	AAV CSp-6 (US8734809 における配列番号 125 を参照されたい)
AAV CSp-7 (US8734809 における配列番号 52 を参照されたい)	AAV CSp-7 (US8734809 における配列番号 126 を参照されたい)
AAV CSp-8 (US8734809 における配列番号 53 を参照されたい)	AAV CSp-8 (US8734809 における配列番号 127 を参照されたい)
AAV CSp-8.10 (WO2016065001 における配列番号 38 を参照されたい)	AAV CSp-8.10 (WO2016065001 における配列番号 88 を参照されたい)
AAV CSp-8.2 (WO2016065001 における配列番号 39 を参照されたい)	AAV CSp-8.2 (WO2016065001 における配列番号 89 を参照されたい)
AAV CSp-8.4 (WO2016065001 における配列番号 40 を参照されたい)	AAV CSp-8.4 (WO2016065001 における配列番号 90 を参照されたい)
AAV CSp-8.5 (WO2016065001 における配列番号 41 を参照されたい)	AAV CSp-8.5 (WO2016065001 における配列番号 91 を参照されたい)
AAV CSp-8.6 (WO2016065001 における配列番号 42 を参照されたい)	AAV CSp-8.6 (WO2016065001 における配列番号 92 を参照されたい)
AAV CSp-8.7 (WO2016065001 における配列番号 43 を参照されたい)	AAV CSp-8.7 (WO2016065001 における配列番号 93 を参照されたい)
AAV CSp-8.8 (WO2016065001 における配列番号 44 を参照されたい)	AAV CSp-8.8 (WO2016065001 における配列番号 94 を参照されたい)
AAV CSp-8.9 (WO2016065001 における配列番号 45 を参照されたい)	AAV CSp-8.9 (WO2016065001 における配列番号 95 を参照されたい)
AAV CSp-9 842 (US8734809 における配列番号 54 を参照されたい)	AAV CSp-9 (US8734809 における配列番号 128 を参照されたい)
AAV.hu.48R3 (US8734809 における配列番号 183 を参照されたい)	AAV.VR-355 (US8734809 における配列番号 181 を参照されたい)
AAV3B (WO2016065001 における配列番号 48 を参照されたい)	AAV3B (WO2016065001 における配列番号 98 を参照されたい)
AAV4 (WO2016065001 における配列番号 49 を参照されたい)	AAV4 (WO2016065001 における配列番号 99 を参照されたい)
AAV5 (WO2016065001 における配列番号 50 を参照されたい)	AAV5 (WO2016065001 における配列番号 100 を参照されたい)
AAVFI/HSC1 (WO2016049230 における配列番号 20 を参照されたい)	AAVFI/HSC1 (WO2016049230 における配列番号 2 を参照されたい)

10

20

30

40

50

【表 7 - 2 0】

AAVF11/HSC11 (WO2016049230 における配列番号 26 を参照されたい)	AAVF11/HSC11 (WO2016049230 における配列番号 4 を参照されたい)
AAVF12/HSC12 (WO2016049230 における配列番号 30 を参照されたい)	AAVF12/HSC12 (WO2016049230 における配列番号 12 を参照されたい)
AAVF13/HSC13 (WO2016049230 における配列番号 31 を参照されたい)	AAVF13/HSC13 (WO2016049230 における配列番号 14 を参照されたい)
AAVF14/HSC14 (WO2016049230 における配列番号 32 を参照されたい)	AAVF14/HSC14 (WO2016049230 における配列番号 15 を参照されたい)
AAVF15/HSC15 (WO2016049230 における配列番号 33 を参照されたい)	AAVF15/HSC15 (WO2016049230 における配列番号 16 を参照されたい)
AAVF16/HSC16 (WO2016049230 における配列番号 34 を参照されたい)	AAVF16/HSC16 (WO2016049230 における配列番号 17 を参照されたい)
AAVF17/HSC17 (WO2016049230 における配列番号 35 を参照されたい)	AAVF17/HSC17 (WO2016049230 における配列番号 13 を参照されたい)
AAVF2/HSC2 (WO2016049230 における配列番号 21 を参照されたい)	AAVF2/HSC2 (WO2016049230 における配列番号 3 を参照されたい)
AAVF3/HSC3 (WO2016049230 における配列番号 22 を参照されたい)	AAVF3/HSC3 (WO2016049230 における配列番号 5 を参照されたい)
AAVF4/HSC4 (WO2016049230 における配列番号 23 を参照されたい)	AAVF4/HSC4 (WO2016049230 における配列番号 6 を参照されたい)
AAVF5/HSC5 (WO2016049230 における配列番号 25 を参照されたい)	AAVF5/HSC5 (WO2016049230 における配列番号 11 を参照されたい)
AAVF6/HSC6 (WO2016049230 における配列番号 24 を参照されたい)	AAVF6/HSC6 (WO2016049230 における配列番号 7 を参照されたい)
AAVF7/HSC7 (WO2016049230 における配列番号 27 を参照されたい)	AAVF7/HSC7 (WO2016049230 における配列番号 8 を参照されたい)
AAVF8/HSC8 (WO2016049230 における配列番号 28 を参照されたい)	AAVF8/HSC8 (WO2016049230 における配列番号 9 を参照されたい)
AAVF9/HSC9 (WO2016049230 における配列番号 10 を参照されたい)	AAVF9/HSC9 882 (WO2016049230 における配列番号 29 を参照されたい)

10

20

30

40

【 0 2 6 5 】

ある特定の実施形態では、rAAVは、WO2017/212019号に開示される化学的に改変されたカプシドを含み、例えば、マンノースリガンドが、AAV2に化学的にカップリングされる。WO2017/212019号に開示される化学的に改変されたカプシドを有するrAAVは、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。さらなる実施形態として、本明細書で使用されるAAVカプシドタンパク質およびウイルスカプシドは、参照により組み込まれるPCT/US18/22725号、PCT/US2018/044632号、またはUS10,550,405号に記載されるように、単一のAAVカプシド中にAAV血清型由来のVP1、VP2およびVP3 AAV血清型の異なる組

50

み合わせを含み得る点で、倍数体（有理単数体とも称される）であり得る。

【0266】

A A V キャプシド中に r A A V ベクターをパッケージングするために宿主細胞中で培養される構成要素は、トランスで宿主細胞に提供されてもよい。あるいは、必要とされる構成要素（例えば、組換え A A V ベクター、rep 配列、cap 配列、および／またはヘルパー機能）のうちのいずれか1つまたは複数は、当業者に公知の方法を使用して、必要とされる構成要素のうちの1つまたは複数を含むように工学的に操作された安定な宿主細胞によって提供され得る。最も好適には、そのような安定な宿主細胞は、誘導性プロモーターの制御下で、必要とされる構成要素を含む。しかしながら、必要とされる構成要素は、構成的プロモーターの制御下にあってもよい。好適な誘導性プロモーターおよび構成的プロモーターの例は、導入遺伝子を伴う使用に好適な調節エレメントの議論において、本明細書に提供される。さらに別の代替では、選択される安定な宿主細胞は、構成的プロモーターの制御下の選択される構成要素、および1つまたは複数の誘導性プロモーターの制御下の他の選択される構成要素を含むとしてもよい。例えば、293細胞（構成的プロモーターの制御下のE1ヘルパー機能を含む）に由来するが、誘導性プロモーターの制御下のrepおよび／またはcapタンパク質を含む、安定な宿主細胞が作成され得る。さらに他の安定な宿主細胞は、当業者によって作成され得る。一部の実施形態では、本開示は、タンパク質（例えば、野生型ハンチンチンタンパク質、必要に応じて、「硬化した」野生型ハンチンチンタンパク質）をコードするコード配列を含む核酸を含む宿主細胞に関する。一部の実施形態では、本開示は、上記に記載される宿主細胞を含む組成物に関する。一部の実施形態では、上記の宿主細胞を含む組成物は、凍結保存剤をさらに含む。

10

20

【0267】

組換え A A V ベクター、rep 配列、cap 配列、および本開示の r A A V を生成するために必要とされるヘルパー機能は、任意の適切な遺伝エレメント（ベクター）を使用してパッケージングする宿主細胞に送達されてもよい。選択される遺伝エレメントは、本明細書に記載されるものを含む任意の好適な方法によって送達されてもよい。本開示の任意の実施形態を構築するために使用される方法は、核酸操作における当業者に公知であり、遺伝子工学的操作、組換え的な工学的操作および合成技法を含む。例えば、Sambrook et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harbor, N.Y.を参照されたい。同様に、r A A V ビリオンを作成する方法は、周知であり、好適な方法の選択は、本開示に関する限定ではない。例えば、K. Fisher et al., J. Virol., 70:520-532 (1993)および米国特許第5,478,745号を参照されたい。

30

【0268】

一部の実施形態では、組換え A A V は、三重トランスフェクション方法（米国特許第6,001,650号に詳細に記載される）を使用して生成されてもよい。典型的には、組換え A A V は、宿主細胞を、A A V 粒子にパッケージングされる組換え A A V ベクター（導入遺伝子を含む）、A A V ヘルパー機能ベクター、およびアクセサリ機能ベクターをトランスフェクトすることによって生成される。A A V ヘルパー機能ベクターは、「A A V ヘルパー機能」配列（すなわち、repおよびcap）をコードし、これは、生成的 A A V 複製およびカプシド形成についてトランスで機能する。好ましくは、A A V ヘルパー機能ベクターは、任意の検出可能な野生型 A A V ビリオン（すなわち、機能的 rep および cap 遺伝子を含む A A V ビリオン）を作成することなく、効率的な A A V ベクター生成をサポートする。本開示による使用に好適なベクターの非限定的な例としては、両方の全体が参照により本明細書に組み込まれる米国特許第6,001,650号に記載される p H L P 19 および米国特許第6,156,303号に記載される p R e p 6 c a p 6 ベクターが挙げられる。アクセサリ機能ベクターは、A A V が複製に依存する非 A A V 由来ウイルスおよび／または細胞機能（すなわち、「アクセサリ機能」）についてのヌクレオチド配列をコードする。アクセサリ機能としては、限定されないが、A A V 遺

40

50

伝子転写、段階特異的な A A V mRNA スプライシング、A A V DNA 複製、c a p 発現産物の合成、および A A V カプシドアセンブリーの活性化に関与する部分を含む、A A V 複製に必要とされるこれらの機能が挙げられる。ウイルスに基づくアクセサリ機能は、アデノウイルス、ヘルペスウイルス（単純ヘルペスウイルス 1 型以外）、およびワクシニアウイルスなどの公知のヘルパーウイルスのいずれかに由来し得る。

【0269】

一部の態様では、本開示は、トランスフェクトされた宿主細胞を提供する。「トランスフェクション」という用語は、細胞による外来 DNA の取り込みを指すために使用され、細胞は、外因性 DNA が細胞膜の内側に導入された場合に「トランスフェクト」されている。いくつかのトランスフェクション技法が、一般に、当技術分野において公知である。例えば、Graham et al. (1973) Virology, 52:456、Sambrook et al. (1989) Molecular Cloning, a laboratory manual, Cold Spring Harbor Laboratories, New York、Davis et al. (1986) Basic Methods in Molecular Biology, Elsevier、および Chu et al. (1981) Gene 13: 197 を参照されたい。そのような技法を使用して、ヌクレオチド組込みベクターおよび他の核酸分子などの 1 つまたは複数の外因性核酸を、好適な宿主細胞に導入することができる。

【0270】

「宿主細胞」は、目的の物質を保有するか、またはそれを保有することができる任意の細胞を指す。宿主細胞は、多くの場合、哺乳動物細胞である。宿主細胞は、A A V ヘルパー構築物、A A V ミニ遺伝子プラスミド、アクセサリ機能ベクター、または組換え A A V の生成に関連する他のトランスファー DNA のレシピエントとして使用されてもよい。この用語は、トランスフェクトされた元の細胞の子孫を含む。そのため、「宿主細胞」は、本明細書で使用される場合、外因性 DNA 配列をトランスフェクトされた細胞を指していてもよい。単一の親細胞の子孫は、自然の、偶発的な、または計画的な突然変異に起因して、形態または遺伝子または DNA 相補体全体において、必ずしも元の親と完全に同一でなくてもよいことが理解される。

【0271】

本明細書で使用される場合、「細胞系」という用語は、in vitro での連続的なまたは長期にわたる成長および分裂が可能な細胞の集団を指す。多くの場合、細胞系は、単一の前駆細胞に由来するクローン集団である。自発的なまたは誘導される変化が、そのようなクローン集団の保存または移入の間に核型において生じ得ることが当技術分野においてさらに公知である。したがって、言及される細胞系に由来する細胞は、祖先の細胞または培養物と正確に同一でなくてもよく、言及される細胞系は、そのようなバリエーションを含む。

【0272】

本明細書で使用される場合、「組換え細胞」という用語は、生物学的に活性なポリペプチドの転写または RNA などの生物学的に活性な核酸の産生をもたらす DNA セグメントなどの外因性 DNA セグメントが導入されている細胞を指す。

【0273】

本明細書で使用される場合、「ベクター」という用語は、任意の遺伝エレメント、例えば、プラスミド、ファージ、トランスポゾン、コスミド、染色体、人工染色体、ウイルス、ビリオンなどを含み、これは、適当な制御エレメントと関連した場合に複製が可能であり、細胞間で遺伝子配列を移入することができる。そのため、「ベクター」という用語は、クローニングおよび発現ビヒクル、ならびにウイルスベクターを含む。ベクターの一種は「プラスミド」であり、これは、そこに追加の DNA セグメントがライゲーションされる環状二本鎖 DNA ループを指す。別の種類のベクターは、DNA セグメントがウイルスゲノムにライゲーションされるウイルスベクターである。ある特定のベクターは、そこにそれらが導入される宿主細胞において、自己複製が可能である（例えば、細菌の複製起点を有する細菌ベクターおよびエピソード哺乳動物ベクター）。また、ある特定のベクターは、それらが動作可能に連結している遺伝子の発現を指示することができる。そのような

ベクターは、本明細書で「発現ベクター」と称される。一般に、組換えDNA技法において有用性の発現ベクターは、多くの場合、プラスミドの形態である。本明細書では、「プラスミド」および「ベクター」は、プラスミドがベクターの最も一般に使用される形態であるので、互換的に使用される。しかしながら、本明細書に記載される技術は、等価な機能を果たすウイルスベクター（例えば、複製欠陥レトロウイルス、アデノウイルスおよびアデノ随伴ウイルス）などの発現ベクターのそのような他の形態を含むことを意図する。

【0274】

クローニングベクターは、自発的に複製することができるか、または宿主細胞のゲノム中に組み込まれるものであり、これは、ベクターが決定可能な様式で切断され得、所望のDNA配列が、新しい組換えベクターが宿主細胞において複製するその能力を保持するようにライゲーションされ得る、1つまたは複数のエンドヌクレアーゼ制限部位によってさらに特徴付けられる。プラスミドの場合では、所望の配列の複製は、プラスミドが、宿主細菌などの宿主細胞内でコピー数を増加させるように多数回起こり得るか、または宿主が有糸分裂によって再生する前に宿主ごとに一回だけ起こり得る。ファージの場合では、複製は、溶解段階の間に能動的に、または溶原段階の間に受動的に起こり得る。

【0275】

発現ベクターは、所望のDNA配列が、制限およびライゲーションによって挿入され得、その結果、それが、調節配列に作動可能に接合され、RNA転写物として発現され得るものである。ベクターは、ベクターで形質転換されたもしくはトランスフェクトされたか、または形質転換されていないもしくはトランスフェクトされていない、細胞の特定における使用に好適な1つまたは複数のマーカー配列をさらに含有することができる。マーカーは、例えば、抗生物質または他の化合物に対する耐性もしくは感受性のいずれかを増加または減少させるタンパク質をコードする遺伝子、その活性が当技術分野において公知の標準アッセイによって検出可能である酵素（例えば、β-ガラクトシダーゼ、ルシフェラーゼまたはアルカリホスファターゼ）をコードする遺伝子、および形質転換されたまたはトランスフェクトされた細胞、宿主、コロニーまたはプラークの表現型に視覚的影響を及ぼす遺伝子（例えば、緑色蛍光タンパク質）を含む。ある特定の実施形態では、本明細書で使用されるベクターは、それらが作動可能に接合しているDNAセグメントに存在する構造遺伝子産物の自己複製および発現が可能である。

【0276】

本発明の一部の態様では、GDNFをコードする核酸を含む組換えAAV（AAV2-GDNF）は、例えば、その全体が参照により本明細書に組み込まれる、WO/2021/146591号として公開されたPCT/US2021/013689号に記載されるように、細菌骨格配列を欠く末端が閉じた線状の二重鎖DNA分子を使用する、三重トランスフェクション法によって産生される。

【0277】

本発明の一部の態様では、GDNFをコードする核酸を含む組換えAAV（AAV2-GDNF）は、その全体が参照により本明細書に組み込まれるWO2022159679号として公開されたPCT/US2022/013279号に記載される方法によって産生される。

【0278】

一部の実施形態では、有用なベクターは、転写される核酸セグメントがプロモーターの転写制御下に置かれるこれらのベクターであることが企図される。コード配列が機能的タンパク質に翻訳されることが望ましい場合、2つのDNA配列は、5'調節配列におけるプロモーターの誘導がコード配列の転写をもたらす場合、および2つのDNA配列間の連結の性質が（1）フレームシフト突然変異の導入をもたらさない、（2）プロモーター領域のコード配列の転写を指示する能力を妨げない、または（3）対応するRNA転写物のタンパク質に翻訳される能力を妨げない場合に、作動可能に接合されたと言われる。そのため、プロモーター領域は、プロモーター領域が、得られる転写物が所望のタンパク質またはポリペプチドに翻訳され得るように、そのDNA配列の転写をもたらすことができる

場合に、コード配列に作動可能に連結されているであろう。

【0279】

遺伝子発現のために必要な調節配列の正確な性質は、種または細胞型間で変わり得るが、一般に、必要により、それぞれ、転写および翻訳の開始に関与する5'非転写配列および5'非翻訳配列、例えば、TATAボックス、キャッピング配列、CAAT配列などを含み得る。特に、そのような5'非転写調節配列は、作動可能に接合した遺伝子の転写制御のためのプロモーター配列を含むプロモーター領域を含む。調節配列はまた、所望により、エンハンサー配列または上流のアクチベーター配列を含むこともできる。本明細書に記載のベクターは、必要に応じて、5'リーダー配列またはシグナル配列を含んでいてもよい。適切なベクターの選択および設計は、当業者の能力および裁量内である。

10

【0280】

発現のためにすべての必要なエレメントを含有する発現ベクターは、市販されており、当業者に公知である。例えば、Sambrook et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Second Edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989を参照されたい。細胞は、異種DNA(RNA)の細胞への導入によって遺伝子工学的に操作される。この異種DNA(RNA)は、宿主細胞において異種DNAの発現を可能にする転写エレメントの作動可能な制御下に置かれる。

【0281】

「動作可能に連結される」、「動作可能に配置される」、「制御下」または「転写制御下」という語句は、プロモーターが、RNAポリメラーゼの開始および遺伝子の発現を制御するために核酸に関して正しい位置および方向にあることを意味する。「発現ベクターまたは構築物」という用語は、核酸コード配列の一部またはすべてを転写することができる核酸を含有する任意の種類の遺伝子構築物を意味する。一部の実施形態では、発現は、例えば、転写された遺伝子から生物学的に活性なポリペプチド産物または機能的RNA(例えば、ガイドRNA)を生じさせる核酸の転写を含む。

20

【0282】

本開示のrAAVを生成するために所望のAAVカプシドに組換えベクターをパッケージングするための前述の方法は限定することを意味するものではなく、他の好適な方法は、当業者に明らかであろう。

【0283】

一部の実施形態では、組換的に発現された遺伝子のうちの1つまたは複数は、細胞のゲノム中に組み込まれ得る。

30

【0284】

本明細書に記載される核酸分子は、当技術分野において標準的な方法および技法を使用して、1つまたは複数の細胞に導入することができる。例えば、核酸分子は、化学的形質転換および電気穿孔、形質導入、微粒子銃などを含む形質転換などの標準プロトコールによって導入することができる。明細書に記載される発明の酵素をコードする核酸分子の発現はまた、核酸分子をゲノムに組み込むことによって達成されてもよい。

【0285】

一実施形態では、AAV2-GDNF内にパッケージングされたゲノムは、配列番号64の配列を含む。一実施形態では、AAV2-GDNF内にパッケージングされたゲノムは、配列番号64の配列からなるか、またはそれから本質的になる。一実施形態では、AAV2-GDNF内にパッケージングされたゲノムは、配列番号64の配列に対して50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%またはそれよりも高い程度、同一である配列を含むか、それから本質的になるか、またはそれからなる。

40

50

【0286】

一実施形態では、AAV2-GDNFベクターは、配列番号64の配列のITR-ITR部分（すなわち、配列番号64の塩基対12～2,716）を含む。一実施形態では、AAV2-GDNFベクターは、配列番号64の配列のITR-ITR部分（すなわち、配列番号64の塩基対12～2,716）からなるか、またはそれから本質的になる。一実施形態では、AAV2-GDNFベクターは、配列番号64の配列のITR-ITR部分（すなわち、配列番号64の塩基対12～2,716）を含むか、それからなるか、またはそれから本質的になり、配列番号64を含むか、それからなるか、またはそれから本質的になるプラスミドから作成される。一実施形態では、AAV2-GDNFベクターは、配列番号64の配列のITR-ITR部分（すなわち、配列番号64の塩基対12～2,716）の配列に対して50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%またはそれよりも高い程度、同一である配列を含むか、それから本質的になるか、またはそれからなる。一部の実施形態では、rAAVは、配列番号64に示されるプラスミドDNAを使用して製造され、これは、図26に表される。一部の実施形態では、rAAVは、末端が閉じた線状の二重鎖DNAを使用して製造される。さまざまな実施形態では、AAV2-GDNFは、配列番号64の配列のITR-ITR部分（すなわち、配列番号64の塩基対12～2,716）を含むプラスミドを含む。他の実施形態では、AAV2-GDNFは、配列番号64の配列のITR-ITR部分（すなわち、配列番号64の塩基対12～2,716）を含む末端が閉じた線状の二重鎖DNAを含み、その非限定的な例は、米国出願第2018/0037943号およびKarbowniczek et al., Bioinsights, 2017に開示されているDoggybone DNA (dbDNA (商標))であり、これは、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

10

20

30

40

50

【化 8】

配列番号 64

cctgcaggcagctgcgcgctcgctcgctcactgagggccgcccgggcgctcgggcgacctttggtcgcccggcct
cagtgagcgagcgagcgcgagagagggagtgcccaactccatcactaggggttccttgtagttaatgattaa
cccgccatgctacttatctacgtagccatgctctagagcgggccgcacgcgtctagttattaatagtaataat
tacgggggtcattagttcatagccatatatggagttccgcgttacataacttacgggtaaatggcccgcctggc
tgaccgccccaacgacccccgcccattgacgtcaataatgacgtatgttcccatagtaacgccaatagggactt
tccattgacgtcaatgggtggagtatttacgggtaaactgcccacttggcagttacatcaagtgtatcatatgcc
aagtacgccccctattgacgtcaatgacgggtaaatggcccgcctggcattatgcccagttacatgaccttatgg
gactttcctacttggcagttacatctagttatgacgtatgacgtatgacgtatgacgtatgacgtatgacgtat
caatggggtggatagcggtttgactcacggggatttccaagtctccacccattgacgtcaatgggagtttg
ttttggcaccaaaatcaacgggactttccaaaatgtcgtaacaaactccgccccattgacgcaaatgggcggtta
ggcgtgtacgggtgggaggtctatataagcagagctcgtttagtgaaccgtcagatcgccctggagacgccatcc
acgtgtttttgacctccatagaagacacggggacogatocagcctccgcggattcgaaatcccgccggggaacg
gtgcattggaacgcggattccccgtgccaagagtgacgttaagtaccgcctatagagttctataggcccaaaaa
aatgctttcttttttaataacttttttggttatcttttctaataactttccctaactctttttctttcagg
gcaataatgatacaatgtatcatgctctttgcaccattctaaagaataacagtgataatttctgggttaagg
caatagcaatatttctgcatataaaatatttctgcatataaaattgtaactgatgtaagaggtttcatattgcta
atagcagctacaatocagctaccattctgctttttattttatgggttgggataaggctggattattctgagttcca
agctaggccctttttgctaatacatgttcataacctcttatcttctccacagctcctgggcaacgtgctgggtct
gtgtgctggcccatcactttggcacaagaattgggattcgaaacatcgattgaattgcaccatgaagttatggga
tgctgctgggtgtctgctgctgctccacacgcgtccgccttcccgctgcccgcgggtaagaggcctccc
gaggcgcccgccgaagacgcgtccctcgccgcgcgcgcgcgcgccttccgcgtgagcagtgactcaaatatgc
cagaggattatctgatcagttcgatgatgtcatggattttattcaagccaccattaaaagactgaaaaggctc
accagataaaacaaatggcagtgcttcttagaagagagcggaatcggcaggctgcagctgccaaccagagaat
tccagaggaaaaggctcgagagggccagaggggcaaaaacccggggttggtgtcttaactgcaatacatttaaatg
tactgacttgggtctgggctatgaaaccaaggagggaactgatttttaggtactgcagcggtcttgcgatgc

10

20

30

40

50

【化 9】

agctgagacaacgtacgacaaaatattgaaaaacttatccagaaatagaaggctggtgagtgacaaagtaggg
caggcatgtttgcagaccatcgccctttgatgatgacctgtcgttttttagatgataacctggtttaccatattc
taagaaagcattccgctaaaagggtgtggtatctgaccatcgatagatctacggttggcatccctgtgacc
ctccccagtgccctctcctggccctggaagttgccactccagtgcccaccagccttgtccataaaaaattaag
ttgcatcattttgtctgactaggtgtccttctataataattatgggttggaggggggtggtatggagcaagggg
caagttgggaagacaacctgttagggcctgcggtgtctattgggaaccaagctggagtgagtggcacaatctt
ggctcactgcaatctccgctcctgggttcaagcgattctcctgctcagcctcccgagttgttgggattcca
ggcatgcatgaccaggtcagctaatttttgttttttggtagagacgggtttcaccatattggccaggtg
gtctccaactcctaattcagtgatctaccacottggctcccaattgttgggttacaggcgtgaacca
ctgtcccttccctgtccttctgatttttgtaggtaacgacggagcggtcttagagcatggctacgtagat
aagtagcatggcggttaattcattaactacaaggaaccctagtgatggagttggccactccctctctgcgcg
ctcgtcgtcactgagggcgaccaaaggctcgcccgacggccgggtttgcccggcgccctcagtgag
cgagcgagcgcgagctgctcgaggacatgtgagcaaaaaggccagcaaaaaggccaggaaccgtaaaaaggcc
gcgttgcgtgggtttttccataggctccgccccctgacgagcatcacaaaaatcgacgctcaagtcagaggt
ggcgaaccgcagagactataaagataaccagcggtttcccccctggaagctccctcgtgcgctctcctgttcc
gacctgcgcttaccgggatacctgtccgcctttctcccttcgggaagcgtggcgctttctcatagctcacgc
tgtaggtatctcagttcgggtgtaggtcgttcgctccaagctgggtgtgtgcacgaacccccgttcagcccg
accgctgcgcttatccggtaactatcgtctttagtccaacccggtaagacacgacttatcgccactggcagc
agccactggttaacaggtatgacagagcgaggtatgttaggcggtgttacagagttcttgaagtgttggcctaac
tacggtacactagaagaacagtatattgtatctgcgctctgctgaagccagttaccttcggaaaaagagttg
gtagctcttgatccggcaaaacaaccacgcgtgtgtagcggtggttttttgtttgcaagcagcagattacgcg
cagaaaaaaaggtctcaagaagatcctttgatctttttctaccggtgtctgacgctcagtggaactccgtcgag
aggtctgcctcgtgaagaagggtgttgcgtgactcataccaggcctgaatcgccccatcatccagccagaaagt
agggagccacggttgatgagagctttgttgttaggtggaccaggttggtgattttgaacttttgcctttgccacgg
aacggtctcggttgtcggaagatgcgtgatctgatccttcaactcagcaaaagttcgatttattcaacaaag
ccacgttgtgtctcaaaatctctgatgttacattgcacaagataaaaaatatcatcatgaacaataaaactg
tctgcttacataaacagtaatacaaggggtgttatgagccatattcaacgggaacgctcttgcctcgaagccgc
gattaaattccaacatggatgctgatttatatgggtataaatgggctcgcgataatgtcgggcaatcaggtgc
gacaatctatcgattgtatgggaagccgatgcgccagagttgtttctgaaacatggcaaggtagcgttgc
aatgatgttacagatgagatggtcagactaaactggctgacgggaatttatgcctcttccgaccatcaagcatt
ttatccgtactcctgatgatgcatggttactcaccactgcgatccccgggaaaaacagcattccaggtattaga
agaatatcctgattcaggtgaaaatattgttgatgcgctggcagtgctcctgcgccggttgcatctgattcct
gtttgtaattgtccttttaacagcgatcggtatttctgtctcgctcaggcgcaatcacgaatgaataacggtt
tggttgatgcgagtgattttgatgacgagcgtaatggctggcctgttgaacaagtctggaaagaaatgcataa
gcttttgccattctcaccggattcagtcgtcactcatggtgatttctcacttgataacctatttttgacgag
gggaaattaataggttgattgatgttgacgagtcggaatcgacagccgataccaggatcttgccatcctat
ggaaactgcctcggtgagttttctccttattacagaaacggctttttcaaaaatattggtattgataatcctga
tatgaataaattgcagtttctatttgatgctcgatgagtttttctaatacagaattggttaattggttgtaaac
tggcagagcattacgctgacttgacgggacggcggtttgttgataaatcgattcgccattcaggctgcgc
aactgttgggaaggcgatcggtgcgggcctcttcgctattacgccagctggcgaaaggggatgtgctgcaa

10

20

30

40

50

【化 10】

ggcgattaagttgggtaacgccaggggttttccagtcacgacgttgtaaaacgacggccagtccaagcttgc
atgctgcaggtcctaaatcaaaagaatagcccagatagagttgagtggtgttccagtttgaacaagagtc
actattaaagaacgtggactccaacgtcaaagggcgaaaaaccgtctatcagggcgatggccactacgtgaa
ccatcacccaaatcaagtttttggggtcgaggtgccgtaaaagcactaaatcggaaccctaaaggagccccc
gatttagagcttgacggggaagcggcgaaacgtggcgagaaaggaaggaagaaagcgaaaggagcggcg
taaggcgctggaagtgtagcggctacgctgcgctgaaccacacaccgcgcgcttaatgcgcgctacag
ggcgctactatggttgctttgacgtatgcgggtgtgaaataccgcacagatgcgtaaggagaaaaataccgcat
caggcaggtcgccgcccgtaacctgtcggatcacccggaagqaccgtaaaagtqataatgattatcatctac
atatcacaacgtgcgtgagggccatcaaaaccacgtcaaaataatcaattatgacgcaggtatcgtattaattga
tctgcacacttaacgttaaaaaaacttcagacaatacaaatcagcgacactgaatacqqggcaacctcatg
tcaacgaagaacagaacccgcagaacaacaacccgcaacatccgctttcctaaccaaatgattgaacaaatta
acatcgctcttgagcaaaaagggtccgggaattttctcagcctgggtcattgaagcctgccgtcggagactaac
gtcagaaaaagagacataatatacaatcaattaaaagtgtgaaagaaatgaacatcccgcgttcttccctccgaacag
gacgataattgtaaaattcaacttaattacgagggcatttcagtaattgagttgcagttttaccactttcctgaca
gtgacagactgcgtgtttggctctgtcacagactaaaatagtttgaatgattagcagttatggtgatcagtcac
caccagggaaataatccttcataattattatcgtgcttcaccaacgctgcctcaattgctctgaatgcttcaga
gacacotttatgttctatacatgcaattacaacatcagggtaactcatagaatggtgtctattaagcatat
ttacacgaatcagatccacggaaggatcatcagcagattgttctttattcattttgtcgtccatgcgcttgc
tcttcctctagcgggttaaaatattacttcaaatcttctgtatgaagatttgagcacgttggccttacatata
tctgtcgggtgtatttccctccagaatgccagcagggaccgcactttgttacgcaaccaataactattaagtga
aacattcctaataatttgacataaatcatcaacaaaaacacaaaggaggtcagaccagattgaaacgataaaaaacg
ataatgcaaaactacgcgccctcgatcacatggaaggttttaccaatggctcaggttggcatttttaagaaa
tattcgatcaagtcggaagatttagactgtgaattgttttattctgaactaaaacgtcacacgctctcaca
ttataatttactatctagccacagataatattcacatcgtgttagaaaaacgataaacaccgtgttaataaaagaa
cttaaaaagggttgaataatttcaaaattctcaagaaacacgcatcttatagaacgctcctatgataaggttgaat
caaggaagaaatcacatttcagcaatacagggaaaaatcttgcataaaacaggaagttttccgatgggttacaaat
ccatgaacataaaaagataattactataacctttgataatcattactatttactgagagcattcaqaacactaca
caaatctttccacgctaaatcataacgctccggtttcttccgtgtcagcaccggggcgttggcataatgcaata
cgtgtacgcgctaaaccctgtgtgcacgttttaattatttcccgacactcccgcagagaaagttccccgtcag
ggctgtggacatagttaatccgggaatacaatgacgattcatcgccctgacatacattaataaataattaaca
atatgaaatttcaactcattgttttaggtttgttttaattttctacacatacagattctgcqaacttcaaaaaacg
atcgggaataaacacatgaaaaaaatgtactcgtactgcgctggccctgcttattacaggaatgtgctcaac
agacgtttactgttcaaaaacaaaccggcagcagtaacaccaaaggaacacatcacccatcatttcttctgtt
tggaaattgggcagaaagaaaactgtcgatgcagccaaaatttggcgccgcagaaaaatgttgttaaaacagaa
accagcaaacattcgtaaatggattgtcgcggttttattacttttagcatttatactccgctggaagcgcgtg
gtattgtctcacaataattgcatgagttgcccatcgatatgggcaactctatctgactgctcattaataatac
ttctgggttcccttcagttgtttttgcatagtgacgcctctctctgaggggtgaaataatcccggttcagcgg
tgctctgcagtcggggggaggtgcattatccacgcccggaggggtggtggttcacgcactgactgacagac
tgccttgatgtgcaaccgacgacgacgacgagcggcaacatcatcacgcaagacatcattttcagcttttagcatca
gctaactccttcgtgtattttgcatacgagcgcagcaacatcacgctgacgcatctgcatgtcagtaattgccg

10

20

30

40

50

【化 1 1】

cgttcgccagcttcagttctctggcatttttgtcgcgctgggctttgtaggtaatggcgttatcacggtaatg
attaacagcccatgacaggcagacgatgatgcagataaccagagcggagataatcgccgtgactctgctcata
catcaatctctctgaccgttccgcccgttctttgaattttgcaatcaggctgtcagccttatgctcgaactg
accataaccagcggccggcagtgaaagccagatattgctgcaacggctcgattgcctgacggatataccacga
tcaatcataggtaaaagcccgccagctcccttaatatgtgtgcaatgccacagcgtccctgacttttcggagagaagt
ctttcaggccaagctgcttgccgttaggcattcccaccaacgggaaagaagctggtagcgtccggcgccctgttga
tttgaqtttttgggttttagcgtgacaagtttgcgaggggtgatcggagtaatcagtaaatagctctccgcctaca
atgacgtcataaccatgattttctggtttttctgacgtccgttatcagttccctccgaccacgccagcatatcga
ggaacgccttacgttgattattgattttctaccatcttctactccggcttttttagcagcgaagcgtttgataa
gcgaaccaatcgagtcagttaccgatgtagccgataaaacacgctcgttatataagcgagattgctacttagtcc
ggcgaagtcgagaaggtcacgaatgaactaggcgataatggcgacacatcgttgctgcgattactgtttttgta
aacgcaccgccattatctgcccgaaggtacgccattgcaaacgcaaggattgccccgatgccttgcttccct
ttgcccgcgaagtggcgcccaacaggtcatgtttttctggcatcttcatgtcttaccaccaataaggggattt
gctctatttaattaggaataaggctcgattactgatagaacaaatccaaggctactgtgttttagtaatcagattt
gttcgtgaccgatatgcacgggcaaaacggcaggaaggttatttagcgcacccctccctgccacccgcctttcacgaa
ggtcatgtgtaaaaagggcgagcgttaactattactaatgaattcaggacagacagtggtctacggctcagtttg
ggttgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgt
aattcagcacacgggaaagagcactggctaacaggctcggcgactcttcacgattatcgactcaatgctctt
acctgttgtgcagatataaaaaatcccgaaccgttatgcaggctctaactattacctgcgaactgtttcggg
attgcatttttcagacctctctgacctgcgatgggttggaagttccagacgatacgtcgaagtgaaccaactaggcg
gaatcggtagtaagcgccgcctcttttcatctcactaccacaacgagcgaattaaccatcggttgagtcaaat
ttacccaatttttattcaataaagtcaatatcatgccgttaatatgttgccatccgtggcaatcatgctgctaac
gtgtgaccgcattcaaaatgttgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgt
cggttaaacagtgctgaccaggtgggttggttaaggtttgggattagcatcgtcacagcgcgatatgctgcg
cttgctggcatccttgaaatagccgacgcctttgcatcttccgcactctttctcgacaactctccccacagct
ctgtttttggcaatatcaaccgcacggcctgtaccatggcaactgttggaaggcgatcggtgcgggcctctt
 cgctattacgccagctggcgaaagggggatgtgctgcaaggcgattaagtgggtaacgccagggttttccca
 gtcacgacgttgtaaaacgacggccagtgccaagcttgcatg (配列番号 64)

10

20

30

【0 2 8 7】

一実施形態では、図 2 6 に表されるプラスミドを使用して、AAV2-GDNFゲノムが作成される。

【0 2 8 8】

一実施形態では、AAV2-GDNF内にパッケージングされたゲノムは、図 2 6 に表される。

40

【0 2 8 9】

一実施形態では、AAV2-GDNFは、図 2 6 に表されるプラスミドを使用して製造される。

【0 2 9 0】

一実施形態では、AAV2-GDNFは、表 8 にリストされる少なくとも 1 つの構成要素を含む。

50

【表 8】

表 8			
AAV2-GDNF の構成要素	配列番号	配列番号 34 において表される	配列番号 64 の塩基対
左 ITR 配列	65	配列番号 64 において下線付きのテキストによって表される	12-130
右 ITR 配列	66	配列番号 64 において太字の二重下線付きのテキストによって表される	2,587-2,716
CMV エンハンサー/プロモーター配列	67	配列番号 64 において太字テキストによって表される	198-944
ヒトベータ-グロビン領域配列	68	配列番号 64 において太字の下線付きのテキストによって表される	946-1,345
hGDNF 導入遺伝子配列	69	配列番号 64 において二重下線付きのテキストによって表される	1,374-2009
hGH ポリ A テール配列	70	配列番号 64 において点線下線付きのテキストによって表される	2,025-2,510
pUC Ori 配列	71	配列番号 64 において太字のイタリック体の下線付きのテキストによって表される	2,734-3,399
カナマイシン耐性配列	72	配列番号 64 において波線下線付きのテキストによって表される	3,757-4,569
ラムダスタッパー配列	73	配列番号 64 においてイタリック体の下線付きのテキストによって表される	5,274-9,529

【 0 2 9 1 】

改変されたカプシド

一実施形態では、本明細書に記載されるカプシドは、CNS に対する向性を増加させるようにさらに改変される。一実施形態では、カプシド、したがって、AAV の向性は、改変されていない AAV と比較して、少なくとも 1 % ; 2 % ; 3 % ; 4 % ; 5 % ; 6 % ; 7 % ; 8 % ; 9 % ; 10 % ; 11 % ; 12 % ; 13 % ; 14 % ; 15 % ; 16 % ; 17 % ; 18 % ; 19 % ; 20 % ; 21 % ; 22 % ; 23 % ; 24 % ; 25 % ; 26 % ; 27 % ; 28 % ; 29 % ; 30 % ; 31 % ; 32 % ; 33 % ; 34 % ; 35 % ; 36 % ; 37 % ; 38 % ; 39 % ; 40 % ; 41 % ; 42 % ; 43 % ; 44 % ; 45 % ; 46 % ; 47 % ;

48% ; 49% ; 50% ; 51% ; 52% ; 53% ; 54% ; 55% ; 56% ; 57% ;
 58% ; 59% ; 60% ; 61% ; 62% ; 63% ; 64% ; 65% ; 66% ; 67% ;
 68% ; 69% ; 70% ; 71% ; 72% ; 73% ; 74% ; 75% ; 76% ; 77% ;
 78% ; 79% ; 80% ; 81% ; 82% ; 83% ; 84% ; 85% ; 86% ; 87% ;
 88% ; 89% ; 90% ; 91% ; 92% ; 93% ; 94% ; 95% ; 96% ; 97% ;
 98% ; 99% またはそれよりも大きく、あるいは少なくとも1倍、2倍、3倍、4倍、
 5倍 ; 10倍 ; 15倍 ; 20倍 ; 25倍 ; 30倍 ; 35倍 ; 40倍 ; 45倍 ; 50倍 ; 5
 5倍 ; 60倍 ; 65倍 ; 70倍 ; 75倍 ; 80倍 ; 85倍 ; 90倍 ; 95倍 ; 100倍 ;
 250倍 ; 500倍 ; 750倍もしくは1,000倍、またはそれよりも大きく増加する
 。

10

【0292】

一実施形態では、カプシドは、非CNS組織に対するその向性が減少するように、改変される。例えば、肝臓特異的向性を有するカプシドは、それがもはやそのような向性を有さないように、改変することができる。一実施形態では、カプシドは、非CNS組織に対するその向性が、改変されていないカプシドと比較して、少なくとも1% ; 2% ; 3% ; 4% ; 5% ; 6% ; 7% ; 8% ; 9% ; 10% ; 11% ; 12% ; 13% ; 14% ; 15% ; 16% ; 17% ; 18% ; 19% ; 20% ; 21% ; 22% ; 23% ; 24% ; 25% ; 26% ; 27% ; 28% ; 29% ; 30% ; 31% ; 32% ; 33% ; 34% ; 35% ; 36% ; 37% ; 38% ; 39% ; 40% ; 41% ; 42% ; 43% ; 44% ; 45% ; 46% ; 47% ; 48% ; 49% ; 50% ; 51% ; 52% ; 53% ; 54% ; 55% ; 56% ; 57% ; 58% ; 59% ; 60% ; 61% ; 62% ; 63% ; 64% ; 65% ; 66% ; 67% ; 68% ; 69% ; 70% ; 71% ; 72% ; 73% ; 74% ; 75% ; 76% ; 77% ; 78% ; 79% ; 80% ; 81% ; 82% ; 83% ; 84% ; 85% ; 86% ; 87% ; 88% ; 89% ; 90% ; 91% ; 92% ; 93% ; 94% ; 95% ; 96% ; 97% ; 98% ; 99% またはそれよりも大きく減少するように、改変される。

20

【0293】

さらに別の実施形態では、改変されたカプシドは、CNS組織に対するその向性が増加し、非CNS組織に対するその向性が減少するように、改変される。例えば、肝臓特異的向性を有するカプシドは、それが、CNS特異的向性を示し、肝臓特異的向性が減少するように、改変することができる。一実施形態では、カプシドのCNS向性は、改変されていないカプシドと比較して、少なくとも1% ; 2% ; 3% ; 4% ; 5% ; 6% ; 7% ; 8% ; 9% ; 10% ; 11% ; 12% ; 13% ; 14% ; 15% ; 16% ; 17% ; 18% ; 19% ; 20% ; 21% ; 22% ; 23% ; 24% ; 25% ; 26% ; 27% ; 28% ; 29% ; 30% ; 31% ; 32% ; 33% ; 34% ; 35% ; 36% ; 37% ; 38% ; 39% ; 40% ; 41% ; 42% ; 43% ; 44% ; 45% ; 46% ; 47% ; 48% ; 49% ; 50% ; 51% ; 52% ; 53% ; 54% ; 55% ; 56% ; 57% ; 58% ; 59% ; 60% ; 61% ; 62% ; 63% ; 64% ; 65% ; 66% ; 67% ; 68% ; 69% ; 70% ; 71% ; 72% ; 73% ; 74% ; 75% ; 76% ; 77% ; 78% ; 79% ; 80% ; 81% ; 82% ; 83% ; 84% ; 85% ; 86% ; 87% ; 88% ; 89% ; 90% ; 91% ; 92% ; 93% ; 94% ; 95% ; 96% ; 97% ; 98% ; 99% またはそれよりも大きく、あるいは少なくとも1倍、2倍、3倍、4倍 ; 5倍 ; 10倍 ; 15倍 ; 20倍 ; 25倍 ; 30倍 ; 35倍 ; 40倍 ; 45倍 ; 50倍 ; 55倍 ; 60倍 ; 65倍 ; 70倍 ; 75倍 ; 80倍 ; 85倍 ; 90倍 ; 95倍 ; 100倍 ; 250倍 ; 500倍 ; 750倍もしくは1,000倍、またはそれよりも大きく増加し、非CNS組織に対する向性は、改変されていないカプシドと比較して、少なくとも1% ; 2% ; 3% ; 4% ; 5% ; 6% ; 7% ; 8% ; 9% ; 10% ; 11% ; 12% ; 13% ; 14% ; 15% ; 16% ; 17% ; 18% ; 19% ; 20% ; 21% ; 22% ; 23% ; 24% ; 25% ; 26% ; 27% ; 28% ; 29% ; 30% ; 31% ; 32% ; 33% ; 34% ; 35% ; 36% ; 37% ; 38% ; 39% ; 40% ; 41% ; 42% ; 43% ; 44%

30

40

50

； 4 5 % ； 4 6 % ； 4 7 % ； 4 8 % ； 4 9 % ； 5 0 % ； 5 1 % ； 5 2 % ； 5 3 % ； 5 4 %
； 5 5 % ； 5 6 % ； 5 7 % ； 5 8 % ； 5 9 % ； 6 0 % ； 6 1 % ； 6 2 % ； 6 3 % ； 6 4 %
； 6 5 % ； 6 6 % ； 6 7 % ； 6 8 % ； 6 9 % ； 7 0 % ； 7 1 % ； 7 2 % ； 7 3 % ； 7 4 %
； 7 5 % ； 7 6 % ； 7 7 % ； 7 8 % ； 7 9 % ； 8 0 % ； 8 1 % ； 8 2 % ； 8 3 % ； 8 4 %
； 8 5 % ； 8 6 % ； 8 7 % ； 8 8 % ； 8 9 % ； 9 0 % ； 9 1 % ； 9 2 % ； 9 3 % ； 9 4 %
； 9 5 % ； 9 6 % ； 9 7 % ； 9 8 % ； 9 9 % またはそれよりも大きく減少する。

【 0 2 9 4 】

ペイロードを含む改変されたウイルスカプシドを含む組成物であって、ペイロードが、調節配列、および中枢神経系障害を標的にする逆位末端反復配列（ITR）に隣接した核配列を含み、改変が、化学的改変、非化学的改変またはアミノ酸改変である、組成物が本明細書に提供される。一部の実施形態では、ペイロードの核酸配列は、導入遺伝子（例えば、GDNF）をコードする単離された核酸を含む。一部の実施形態では、ペイロードの核酸配列は、GDNFタンパク質をコードする単離された核酸を含む。

10

【 0 2 9 5 】

ある特定の実施形態では、改変されたウイルスカプシドは、CNSのその優先的な標的化をもたらす改変を含む。例えば、改変されたウイルスカプシドは、CNSに対する増加した向性、および／または少なくとも第2の場所、例えば、肝臓に対する減少した向性を有する。CNSの優先的な標的化は、他の部位への標的化を排除しないが、むしろ、別の部位と比較して、それがCNSに対してより高く標的にされることを示す。

【 0 2 9 6 】

一実施形態では、改変されたウイルスカプシドは、CNSのその標的化をもたらす改変を含む。例えば、典型的には、非CNS部位（例えば、肝臓）を標的にするカプシドへの改変は、CNS部位および非CNS部位の両方を直ちに標的にするようにカプシドを再指示することができる。そのような実施形態では、CNS標的化は、優先的である必要はない。

20

【 0 2 9 7 】

一実施形態では、カプシドに対する改変は、アミノ酸改変、例えば、アミノ酸の欠失、挿入、または置換である。一実施形態では、アミノ酸改変は、CNSに対する向性を増加させる。一実施形態では、アミノ酸改変は、CNSに改変されたカプシドを標的化する。

【 0 2 9 8 】

一実施形態では、改変されたウイルスカプシドは、その内容が、その全体が参照により本明細書に組み込まれる米国特許出願第16／511,913号の配列番号1～4に対して90%同一である核酸配列を有するか、またはそれからなるか、またはそれから本質的になる。この米国特許出願は、乏突起膠細胞に対する優性の向性を示すキメラAAVカプシド配列を記載し、対象のCNSにおける乏突起膠細胞に形質導入するAAVベクターを作出するために使用することができる。

30

【 0 2 9 9 】

一実施形態では、改変されたウイルスカプシドは、1つまたは複数のアミノ酸置換を含むAAVカプシドタンパク質であり、ここで、置換は、AAVカプシドタンパク質に新たなグリカン結合部位を導入する。一部の実施形態では、アミノ酸置換は、AAV2におけるアミノ酸266、アミノ酸463～475、およびアミノ酸499～502、またはAAV1、AAV3、AAV4、AAV5、AAV6、AAV7、AAV8もしくはAAV10における対応するアミノ酸位置にある。そのようなAAVカプシドタンパク質は、例えば、米国特許出願第16／110,773号にさらに記載されており、この内容は、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。

40

【 0 3 0 0 】

一実施形態では、改変されたウイルスカプシドは、新たなグリカン結合部位を導入する1つまたは複数のアミノ酸置換を含むAAV2.5カプシドタンパク質（国際特許出願第PCT／US2020／029493号の配列番号1；この内容は、その全体が参照により本明細書に組み込まれる）を含むか、それからなるか、またはそれから本質的になる

50

AAVカプシドタンパク質である。そのようなアミノ酸置換は、ニューロンおよびグリア細胞、例えば、アストロサイトにカプシドを標的化し得る。国際特許出願第WO／2020／219656号に記載されるカプシドタンパク質、カプシド、ウイルスベクターおよび方法の実施形態では、1つまたは複数のアミノ酸置換は、A267S、SQAGASDI RDQSR464-476SX₁AGX₂SX₃X₄X₅X₆QX₇R（それぞれ、配列番号153および154）（ここで、X₁～7は、任意のアミノ酸であり得る）、およびEYSW500～503（配列番号155）EX₈X₉W（ここで、X₈～9は、任意のアミノ酸であり得る）を含む。本明細書に記載されるカプシドタンパク質、カプシド、ウイルスベクターおよび方法の実施形態では、X₁は、Vもしくはその保存的置換であり；X₂は、Pもしくはその保存的置換であり；X₃は、Nもしくはその保存的置換であり；X₄は、Mもしくはその保存的置換であり；X₅は、Aもしくはその保存的置換であり；X₆は、Vもしくはその保存的置換であり；X₇は、Gもしくはその保存的置換であり；X₈は、Fもしくはその保存的置換であり；および／またはX₉は、Aもしくはその保存的置換である。本明細書に記載されるカプシドタンパク質、カプシド、ウイルスベクターおよび方法の実施形態では、X₁は、Vであり、X₂は、Pであり、X₃は、Nであり、X₄は、Mであり、X₅は、Aであり、X₆は、Vであり、X₇は、Gであり、X₈は、Fであり、およびX₉は、Aであり、ここで、新たなグリカン結合部位は、ガラクトース結合部位である。そのようなAAVカプシドタンパク質は、例えば、国際特許出願第WO／2020／219656号にさらに記載されており、この内容は、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。

10

20

【0301】

一実施形態では、例えば、米国特許出願第16／956,306号に記載されるように、改変されたウイルスカプシドは、表面結合ペプチドを含むAAVカプシドタンパク質粒子であり、ここで、AAV粒子の表面に結合したペプチドは、Angiopеп-2、GSH、HIV-1TAT（48～60）、ApoE（159～167）2、レプチン30（61～90）、THR、PB5-3、PB5-5、PB5-14、またはそれらの任意の組合せであり、この内容は、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。そのようなAAVカプシドは、血液脳関門を通過して、例えば、ペイロードの送達を可能にする。

【0302】

一実施形態では、改変されたウイルスカプシドは、AAVカプシドタンパク質（例えば、AAV1、AAV5、またはAAV6カプシドタンパク質）を含み、ここで、カプシドタンパク質のVP3領域は、改変（例えば、チロシン残基の非チロシン残基による置き換え、および／またはトレオニン残基の非トレオニン残基による置き換え）を、野生型AAV1カプシドタンパク質（例えば、米国特許出願第16／565,191号の配列番号1；この内容は、その全体が参照により本明細書に組み込まれる）のY705、Y731、およびT492のうちの1つもしくは複数、またはそのそれぞれ；野生型AAV5カプシドタンパク質（例えば、米国特許出願第16／565,191号の配列番号2）のY436、Y693、およびY719のうちの1つもしくは複数、またはそのそれぞれ；あるいは野生型AAV6カプシドタンパク質（例えば、米国特許出願第16／565,191号の配列番号3）のY705、Y731、およびT492のうちの1つもしくは複数、またはそのそれぞれに対応する位置を含む。そのようなAAVカプシドは、ニューロンおよびアストロサイトを標的にする。

30

40

【0303】

一実施形態では、改変されたウイルスカプシドは、カプシドのVP3領域におけるYからFへの（チロシンからフェニルアラニンへの）改変またはTからVへの（トレオニンからバリンへの）改変を、野生型AAV1カプシドタンパク質（例えば、米国特許出願第16／565,191号の配列番号1）のY705F、Y731F、およびT492Vのうちの1つもしくは複数、またはそのそれぞれ；野生型AAV5カプシドタンパク質（例えば、米国特許出願第16／565,191号の配列番号2）のY436F、Y693F、

50

および Y 7 1 9 F のうちの 1 つもしくは複数、またはそのそれぞれ；あるいは野生型 A A V 6 カプシドタンパク質（例えば、米国特許出願第 1 6 / 5 6 5 , 1 9 1 号の配列番号 3）の Y 7 0 5 F、Y 7 3 1 F、および T 4 9 2 V のうちの 1 つもしくは複数、またはそのそれぞれに対応する位置に含む、A A V カプシドタンパク質（例えば、A A V 1、A A V 5、または A A V 6 カプシドタンパク質）を含む。そのような A A V カプシドは、ニューロンおよびアストロサイトを標的にする。

【 0 3 0 4 】

一実施形態では、改変されたウイルスカプシドは、A A V カプシドタンパク質（例えば、A A V 1、A A V 5、または A A V 6 カプシドタンパク質）を含み、ここで、カプシドタンパク質の V P 3 領域は、改変（例えば、チロシン残基の非チロシン残基による置き換え、および／またはトレオニン残基の非トレオニン残基による置き換え）を、野生型 A A V 1 カプシドタンパク質（例えば、米国特許出願第 1 6 / 5 6 5 , 1 9 1 号の配列番号 1）の Y 7 0 5、Y 7 3 1、および T 4 9 2 のうちの 1 つもしくは複数、またはそのそれぞれ；野生型 A A V 5 カプシドタンパク質（例えば、米国特許出願第 1 6 / 5 6 5 , 1 9 1 号の配列番号 2）の Y 4 3 6、Y 6 9 3、および Y 7 1 9 のうちの 1 つもしくは複数、またはそのそれぞれ；あるいは野生型 A A V 6 カプシドタンパク質（例えば、米国特許出願第 1 6 / 5 6 5 , 1 9 1 号の配列番号 3）の Y 7 0 5、Y 7 3 1、および T 4 9 2 のうちの 1 つもしくは複数、またはそのそれぞれに対応する位置に含む。そのような A A V カプシドは、ニューロンおよびアストロサイトを標的にする。

【 0 3 0 5 】

一実施形態では、改変されたウイルスカプシドは、カプシドタンパク質の V P 3 領域における Y から F への（チロシンからフェニルアラニンへの）改変または T から V への（トレオニンからバリンへの）改変を、野生型 A A V 1 カプシドタンパク質（例えば、米国特許出願第 1 6 / 5 6 5 , 1 9 1 号の配列番号 1）の Y 7 0 5 F、Y 7 3 1 F、および T 4 9 2 V のうちの 1 つもしくは複数、またはそのそれぞれ；野生型 A A V 5 カプシドタンパク質（例えば、米国特許出願第 1 6 / 5 6 5 , 1 9 1 号の配列番号 2）の Y 4 3 6 F、Y 6 9 3 F、および Y 7 1 9 F のうちの 1 つもしくは複数、またはそのそれぞれ；あるいは野生型 A A V 6 カプシドタンパク質（例えば、米国特許出願第 1 6 / 5 6 5 , 1 9 1 号の配列番号 3）の Y 7 0 5 F、Y 7 3 1 F、および T 4 9 2 V のうちの 1 つもしくは複数、またはそのそれぞれに対応する位置に含む、A A V カプシドタンパク質（例えば、A A V 1、A A V 5、または A A V 6 カプシドタンパク質）である。そのような A A V カプシドは、ニューロンおよびアストロサイトを標的にする。

【 0 3 0 6 】

一実施形態では、アミノ酸改変は、改変されたカプシドが、例えば同じ血清型のウイルスベクターに対して、例えば生じる中和抗体を回避することを可能にする。一実施形態では、アミノ酸改変は、改変されたカプシドを、反復投与のために使用することを可能にし、例えば、改変は、再投与の際に、カプシドが治療効果を有することを可能にする。

【 0 3 0 7 】

一実施形態では、改変されたウイルスカプシドは、キメラカプシドである。「キメラ」カプシドタンパク質は、本明細書で使用される場合、野生型と比べて、カプシドタンパク質のアミノ酸配列における 1 つまたは複数の（例えば、2、3、4、5、6、7、8、9、10 などの）アミノ酸残基の置換、ならびに野生型と比べて、アミノ酸配列における 1 つまたは複数の（例えば、2、3、4、5、6、7、8、9、10 などの）アミノ酸残基の挿入および／または欠失によって改変された A A V カプシドタンパク質（例えば、V P 1、V P 2 または V P 3 のうちのいずれか 1 つまたは複数）を意味する。一部の実施形態では、1 つの A A V 血清型由来の完全なまたは部分的なドメイン、機能的領域、エピトープなどは、任意の組合せで、異なる A A V 血清型の対応する野生型ドメイン、機能的領域、エピトープなどを置き換えて、キメラカプシドタンパク質を生成することができる。キメラカプシドタンパク質の生成は、当技術分野において周知のプロトコールに従って行うことができ、カプシドに含まれ得るかなりの数のキメラカプシドタンパク質は、文献およ

び本明細書に記載されている。

【0308】

一実施形態では、改変されたウイルスカプシドは、単数体カプシドである。本明細書で使用される場合、「単数体AAV」という用語は、参照によりそれらの全体が本明細書に組み込まれる国際出願第WO2018/170310号または米国出願第US2018/037149号に記載されるAAVを意味するものとする。一部の実施形態では、ビリオンの集団は、ビリオン粒子を構築することができる単数体AAV集団であり、ここで、AAVカプシドタンパク質であるVP1、VP2およびVP3からなる群由来の少なくとも1つのウイルスタンパク質は、AAVゲノムを封入することができるビリオン粒子を形成するために必要とされる、他のウイルスタンパク質のうちの少なくとも1つとは異なる。存在するそれぞれのウイルスタンパク質（VP1、VP2、および／またはVP3）について、そのタンパク質は、同じ種類（例えば、すべてAAV2 VP1）である。一例では、ウイルスタンパク質の少なくとも1つは、キメラウイルスタンパク質であり、他の2つのウイルスタンパク質の少なくとも1つは、キメラではない。一実施形態では、VP1およびVP2は、キメラであり、VP3のみが、キメラではない。例えば、キメラAAV2/8（AAV2のN末端およびAAV8のC末端）由来のVP1/VP2から構成されるウイルス粒子のみが、AAV2由来のVP3のみと対形成するか、またはキメラVP1/VP2 28m-2P3（VP3開始コドンの突然変異を有さないAAV8由来のN末端およびAAV2由来のC末端）のみが、AAV2由来のVP3のみと対形成した。別の実施形態では、VP3のみが、キメラであり、VP1およびVP2は、キメラではない。別の実施形態では、ウイルスタンパク質のうちの少なくとも1つは、完全に異なる血清型由来である。例えば、キメラVP1/VP2 28m-2P3のみが、AAV3にのみ由来のVP3と対形成した。別の例では、キメラタンパク質は存在しない。

【0309】

本明細書に記載される技術の一部の実施形態では、改変されたウイルスカプシドは、1つまたは複数の改変、例えば、カプシドに対する化学的改変、非化学的改変、またはアミノ酸改変を含む。そのような改変は、例えば、数ある中でも、改変されたカプシドの組織型向性または細胞型向性を改変することができる。

【0310】

改変は、受容体結合などの生化学的特性を含むカプシドの特性を直接的に変更することができ、その結果、改変それ自身が、カプシドの挙動を変更するか、または所望の様式でカプシドの挙動を次に改変するリガンドの付着などの更なる改変を可能にし得る。

【0311】

一実施形態では、天然に存在し得るか、またはカプシドポリペプチドコード配列の遺伝子改変によって導入され得るシステイン残基の化学的改変は、ジスルフィド結合形成を介してリガンドの共有結合的付着を可能にする（例えば、WO2005/106046号を参照されたく、この内容は、参照により本明細書に組み込まれる）。

【0312】

限定されるものではないが、例えば、標的細胞によって発現された細胞表面タンパク質を標的にする抗体またはその抗原結合性断片を含むさまざまなリガンドが企図される（例えば、WO2000/002654号を参照されたく、これは、参照により本明細書に組み込まれる）。

【0313】

その内容も参照により本明細書に組み込まれるWO2015/062516号は、カプシド遺伝子の遺伝子改変によるアジド基を含むアミノ酸の挿入と、それに続くアジド基を介したリガンドの化学的コンジュゲーションを記載している。

【0314】

糖化、または糖部分の化学的コンジュゲーションによるAAVカプシド向性の改変は、Horowitz et al., Bioconjugate Chem. 22: 529-532 (2011)によって記載されている。この手法および類似の手法は、本明細書に記載されるカプシドの改変のた

めに企図される。

【0315】

他の実施形態では、ウイルスカプシドのポリエチレングリコール（PEG）またはポリ（N-ヒドロキシプロピル）メタクリルアミド（pHPMA）などのポリマーによるコーティングが、具体的に企図される。そのような改変は、例えば、非標的組織との特異的なおよび非特異的な相互作用を低減することができる。

【0316】

他の実施形態では、カルボジイミドカップリングが、具体的に企図される。例えば、Joo et al. ACS Nano 5、タイトル"Enhanced Real-time Monitoring of Adeno-Associated Virus Trafficking by Virus-Quantum Dot Conjugates" (2011)を参照されたい。

【0317】

他の実施形態では、ウイルスカプシドは、例えば、WO2017/212019号に記載されるように改変することができ、また米国国内段階USN16/308,740号も参照されたく、これらの内容は、参照により本明細書にそれぞれ組み込まれる。そこに記載される手法は、-CSNH-および芳香族部分を含む結合を介してウイルスカプシドをリガンドにカップリングする。遺伝子改変されたウイルスカプシドは、この手法によってさらに改変することができるが、そこに記載される改変は、ウイルスカプシドの遺伝子改変を必要としない。そこに記載されるリガンドとしては、例えば、標的化剤、中和抗体相互作用を回避するための立体遮蔽剤、標識剤、または磁気剤が挙げられる。そこに記載される標的化リガンドとしては、例えば、細胞型特異的リガンド、タンパク質、単糖または多糖、ステロイドホルモン、RGDモチーフペプチド（例えば、細胞接着タンパク質を模倣し、インテグリンに結合することができる細胞接着モチーフであるArg-Gly-Asp）、ビタミン、および小分子が挙げられる。

【0318】

一実施形態では、本明細書に記載の化学的改変は、国際特許出願第WO/2017/212019号に記載される改変であり、この内容は、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。

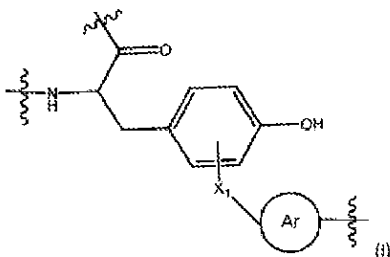
【0319】

一実施形態では、本明細書に記載の化学的改変は、国際特許出願第WO/2021/005210号に記載される改変であり、この内容は、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【0320】

一実施形態では、カプシドは、そのカプシド中に少なくとも1つの化学的に改変されたチロシン残基を有し、ここで、前記化学的に改変されたチロシン残基は、式（I）：

【化12】



のものである

【0321】

〔式中、

【0322】

— X1は、

10

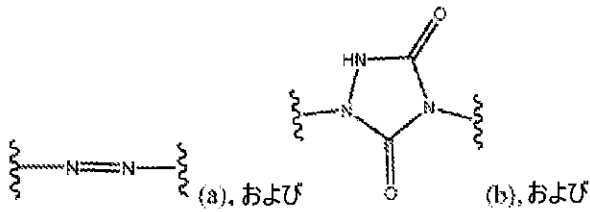
20

30

40

50

【化 1 3】



からなる群から選択され、

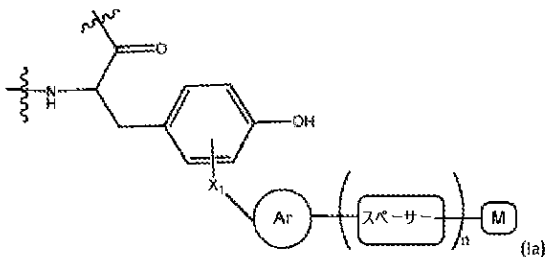
【0 3 2 3】

— Ar は、必要に応じて置換されたアリールまたはヘテロアリール部分である】。

【0 3 2 4】

— 実施形態では、カプシドは、式 (I a) :

【化 1 4】



である少なくとも 1 つの化学的に改変されたチロシン残基を有する

【0 3 2 5】

【式中、

【0 3 2 6】

— Xi および Ar は、上記の本明細書に定義される通りであり、

【0 3 2 7】

— スペーサーは、「Ar」基を機能性部分「M」に連結するための基であり、これは、最大で 1000 個の炭素原子を含み、好ましくは、必要に応じてヘテロ原子および／または環状部分を含む化学鎖の形態であり、

【0 3 2 8】

— n は、0 または 1 であり、

【0 3 2 9】

— M は、立体剤、標識剤、細胞型特異的リガンドまたは薬物部分を含む機能性部分である】。

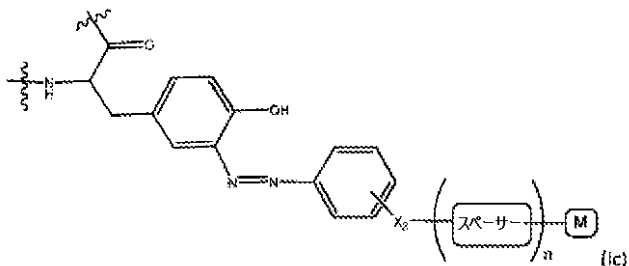
【0 3 3 0】

— 実施形態では、Xi は、式 (a) のものであり、および／または「Ar」は、置換または無置換のフェニル、ピリジル、ナフチル、およびアントラセニルから選択される。

【0 3 3 1】

— 実施形態では、カプシドは、式 (I c) :

【化 1 5】



10

20

30

40

50

である少なくとも1つの化学的に改変されたチロシンを有する

【0332】

〔式中、

【0333】

— X2は、—C(=O)—NH、—C(=O)—O、—C(=O)—O—C(=O)—、O—C(=O)—、NH—C(=O)—、NH—C(=O)—NH、—O—C(=O)—O—、O、NH、—NH(C=S)—、または—(C=S)—NH—、好ましくは、—(C=O)—NH—または—(C=O)—O—であり、

【0334】

— X2は、フェニル基の、パラ、メタまたはオルト位に、好ましくは、パラ位にあり、

【0335】

— スペース、nおよびMは、上記の本明細書に定義される通りである〕。

【0336】

一実施形態では、「スペース」は、存在する場合、必要に応じて置換された飽和または不飽和の直鎖状または分枝状のC2～C40炭化水素鎖、ポリエチレングリコール、ポリプロピレングリコール、pHPMA(N-(2-ヒドロキシプロピル)メタクリルアミドのポリマー)、ポリ乳酸-c o -グリコール酸(PLGA)、アルキルジアミンのポリマー、およびそれらの組合せからなる群から選択され、ならびに／または、

【0337】

「M」は、細胞型標的化リガンド、好ましくは、単糖もしくは多糖、ステロイドホルモンを含むホルモン、ペプチド、例えば、RGDペプチド(例えば、細胞接着タンパク質を模倣し、インテグリンに結合することができる細胞接着モチーフであるArg-Gly-Asp)、筋肉標的化ペプチド(MTP)もしくはAngiopep-2、タンパク質もしくはその断片、膜受容体もしくはその断片、アプタマー、重鎖抗体を含む抗体およびその断片、例えば、抗原結合性断片(Fab)、Fab'(遊離スルフヒドリル基をさらに含む抗原結合性断片である)、およびVHH、一本鎖可変断片(ScFv)、spiegelmer、ペプチドアプタマー、ビタミン、ならびに薬物、例えば、カンナビノイド受容体1(CB1)および／またはカンナビノイド受容体2(CB2)リガンドから選択される細胞型標的化リガンドを含むか、あるいはそれからなる。

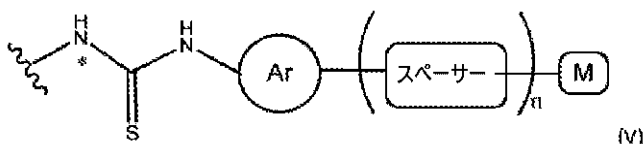
【0338】

一実施形態では、「スペース」(存在する場合)は、直鎖状または分枝状のC2～C20アルキル鎖、ポリエチレングリコール、ポリプロピレングリコール、pHPMA、PLGA、アルキルジアミンのポリマー、およびそれらの組合せからなる群から選択され、前記ポリマーは、2～20のモノマーを有し、ならびに／あるいは、「M」は、トランスフェリン、上皮増殖因子(EGF)、および塩基性線維芽細胞増殖因子13FGF、1つまたはいくつかのガラクトース、マンノース、N-アセチルガラクトサミン残基、架橋GalNaCもしくはマンノース-6-リン酸を含む単糖もしくは多糖、配列番号1～配列番号7から選択されるMTP、およびビタミン、例えば、葉酸から選択されるタンパク質に由来する細胞型特異的リガンドを含むか、またはそれからなる。

【0339】

一実施形態では、カプシドは、カプシド中に少なくとも1つの追加の化学的に改変されたアミノ酸残基をさらに有し、これは、チロシン残基とは異なり、前記アミノ酸残基は、好ましくは、式(V)：

【化16】



の基で化学的に改変されたアミノ基を持つ

【0340】

〔式中、

【0341】

－ N^* は、アミノ酸残基、例えば、リシン残基またはアルギニン残基のアミノ基の窒素であり、

【0342】

－ A_r 、スペーサー、 n および M は、請求項 2 の式 (I I) の A_r 、スペーサー、 n および M と同じ定義を有する〕。

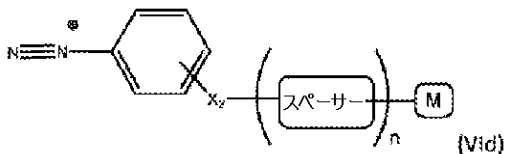
【0343】

－実施形態では、カプシドは、アリールジアゾニウムおよび 4-フェニル-1, 2, 4-トリアゾール-3, 5-ジオン (PTAD) 部分から選択される反応性基を持つ化学試薬と、共有結合を形成するように前記反応性基をカプシド中に存在するチロシン残基と反応させるために貢献する条件下でインキュベートされる。

【0344】

－実施形態では、カプシドは、式 V I d の化学試薬とともにインキュベートされて、式 I c

【化 17】



のカプシド中の少なくとも 1 つの化学的に改変されたチロシン残基が得られる。

【0345】

医薬組成物

本発明の発現カセット、ベクターまたはビリオンは、薬学的に許容される賦形剤、すなわち、1 つまたは複数の薬学的に許容される担体物質および／または添加剤、例えば、緩衝剤、担体、賦形剤、安定化剤などを用いて医薬組成物に製剤化され得る。医薬組成物は、キットの形態で提供されてもよい。

【0346】

したがって、本発明のさらなる態様は、本明細書に記載される発現カセット、ベクターまたはビリオンを含む医薬組成物を提供する。

【0347】

さまざまな態様では、医薬組成物は、リン酸緩衝液を含む。リン酸緩衝液は、約 1 mM ～約 50 mM のリン酸塩、例えば、約 1 mM、約 2 mM、約 3 mM、約 4 mM、約 5 mM、約 6 mM、約 7 mM、約 8 mM、約 9 mM、約 10 mM、約 15 mM、約 20 mM、約 25 mM、約 30 mM、約 35 mM、約 40 mM、約 45 mM、または約 50 mM の濃度のリン酸塩を含む。リン酸塩は、約 1 : 10 ～約 10 : 1 の二塩基性リン酸塩：一塩基性リン酸塩のモル比で、二塩基性リン酸塩（例えば、 Na_2HPO_4 、 K_2HPO_4 ）および一塩基性リン酸塩（例えば、 NaH_2PO_4 、 KH_2PO_4 ）の組合せから調製される。例えば、さまざまな例示的な実施形態では、10 mM のリン酸塩は、9.5 mM の二塩基性リン酸塩および 0.5 mM の一塩基性リン酸塩、9 mM の二塩基性リン酸塩および 1 mM の一塩基性リン酸塩、8.5 mM の二塩基性リン酸塩および 1.5 mM の一塩基性リン酸塩、8 mM の二塩基性リン酸塩および 2 mM の一塩基性リン酸塩、7.5 mM の二塩基性リン酸塩および 2.5 mM の一塩基性リン酸塩、または 7 mM の二塩基性リン酸塩および 3 mM の一塩基性リン酸塩を含む。リン酸緩衝液の pH は、約 6.5 ～約 7.5、例えば、6.5、6.6、6.7、6.8、6.9、7.0、7.1、7.2、7.3、7.4、または 7.5 の pH である。一実施形態では、リン酸緩衝液の pH は、7.2 ～7.3 である。一実施形態では、リン酸緩衝液の pH は、7.22 である。リン酸緩衝液は、約 50 mM ～約 200 mM の濃度、例えば、約 50 mM、約 60 mM、約 70 mM、約

80 mM、約90 mM、約100 mM、約110 mM、約120 mM、約130 mM、約135 mM、約136 mM、約137 mM、約138 mM、約139 mM、約140 mM、約150 mM、約160 mM、約170 mM、約180 mM、約190 mM、または約200 mMの濃度のNaClを含むこともできる。リン酸緩衝液は、約0.5 mM～約10 mMの濃度、例えば、約0.5 mM、約0.6 mM、約0.7 mM、約0.8 mM、約0.9 mM、約1 mM、約2 mM、約2.5 mM、約2.6 mM、約2.7 mM、約2.8 mM、約2.9 mM、約3 mM、約4 mM、約5 mM、約6 mM、約7 mM、約8 mM、約9 mM、または約10 mMの濃度のKClを含むこともできる。リン酸緩衝液は、約0.20 mM～約10 mMの濃度、例えば、約0.2 mM、約0.3 mM、約0.4 mM、約0.5 mM、約0.6 mM、約0.7 mM、約0.8 mM、約0.81 mM、約0.82 mM、約0.83 mM、約0.84 mM、約0.85 mM、約0.86 mM、約0.87 mM、約0.88 mM、約0.89 mM、約0.9 mM、約1 mM、約2 mM、約3 mM、約4 mM、約5 mM、約6 mM、約7 mM、約8 mM、約9 mM、または約10 mMの濃度のCaCl₂を含むこともできる。リン酸緩衝液は、約0.10 mM～約1 mMの濃度、例えば、約0.1 mM、約0.2 mM、約0.3 mM、約0.4 mM、0.41 mM、0.42 mM、0.43 mM、0.44 mM、0.45 mM、0.46 mM、0.47 mM、0.48 mM、0.49 mM、約0.5 mM、約0.6 mM、約0.7 mM、約0.8 mM、約0.9 mM、または約1 mMの濃度のMgCl₂を含むこともできる。リン酸緩衝液は、約0.0001重量%～約0.005重量%の濃度、例えば、約0.0001重量%、約0.0002重量%、約0.0003重量%、約0.0004重量%、約0.0005重量%、約0.0006重量%、約0.0007重量%、約0.0008重量%、約0.0009重量%、約0.001重量%、約0.0015重量%、約0.002重量%、約0.0025重量%、約0.003重量%、約0.0035重量%、約0.004重量%、約0.0045重量%、または約0.005重量%の濃度のポロキサマー188（例えば、Pluronic（商標）F-68非イオン性界面活性剤）を含むこともできる。リン酸緩衝液は、約0.005重量%～約10重量%の濃度、例えば、約0.005重量%、約0.075重量%、約0.01重量%、約0.02重量%、約0.03重量%、約0.04重量%、約0.05重量%、約0.06重量%、約0.07重量%、約0.08重量%、約0.09重量%、約0.1重量%、約0.2重量%、約0.3重量%、約0.4重量%、約0.5重量%、約0.6重量%、約0.7重量%、約0.8重量%、約0.9重量%、約1重量%、約2重量%、約3重量%、約4重量%、約5重量%、約6重量%、約7重量%、約8重量%、約9重量%、または約10重量%の濃度のソルビトールを含むこともできる。核酸を含むrAAV（例えば、CMVプロモーター、および配列番号1に対して、少なくとも80%同一である、例えば、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%、少なくとも99%または100%同一である配列を含む核酸を含むAAV2；AAV2-GDNF）は、約 1×10^{12} vg/mL～約 4×10^{12} vg/mL； 2×10^{12} vg/mL～約 4×10^{12} vg/mL； 1×10^{12} vg/mL～約 3×10^{12} vg/mL； 1×10^{12} vg/mL～約 2×10^{12} vg/mL； 2×10^{12} vg/mL～約 4×10^{12} vg/mL； 8×10^{11} vg/mL～約 9×10^{12} vg/mL； 9×10^{11} vg/mL～約 9×10^{12} vg/mL； 1×10^{12} vg/mL～約 9×10^{12} vg/mL； 2×10^{12} vg/mL～約 9×10^{12} vg/mL； 3×10^{12} vg/mL～約 9×10^{12} vg/mL； 4×10^{12} vg/mL～約 9×10^{12} vg/mL； 5×10^{12} vg/mL～約 9×10^{12} vg/mL； 6×10^{12} vg/mL～約 9×10^{12} vg/mL； 7×10^{12} vg/mL～約 9×10^{12} vg/mL； 8×10^{12} vg/mL～約 9×10^{12} vg/mL； 8×10^{11} vg/mL～約 8×10^{12} vg/mL； 8×10^{11} vg/mL～約 7×10^{12} vg/mL； 8×10^{11} vg/mL～約 6×10^{12} vg/mL； 8×10^{11} vg/mL～約 5×10^{12} vg/mL； 8×10^{11} vg/mL～約 4×10^{12} vg/mL； 8×10^{11} vg/mL～約 3×10^{12} vg/mL； 8×10^{11} vg/mL～約 2×10^{12} vg/mL； 8×10^{11} vg/mL～約 1×10^{12} v

10

20

30

40

50

g / mL ; $8 \times 10^{11} \text{ v g} / \text{mL} \sim$ 約 $9 \times 10^{11} \text{ v g} / \text{mL}$; $1 \times 10^{12} \text{ v g} / \text{mL} \sim$ 約 $7 \times 10^{12} \text{ v g} / \text{mL}$; $3 \times 10^{12} \text{ v g} / \text{mL} \sim$ 約 $6 \times 10^{12} \text{ v g} / \text{mL}$;
 $4 \times 10^{12} \text{ v g} / \text{mL} \sim$ 約 $5 \times 10^{12} \text{ v g} / \text{mL}$; $3.1 \times 10^{12} \text{ v g} / \text{mL} \sim$ 約
 $4 \times 10^{12} \text{ v g} / \text{mL}$; $3.2 \times 10^{12} \text{ v g} / \text{mL} \sim$ 約 $4 \times 10^{12} \text{ v g} / \text{mL}$; $3.3 \times 10^{12} \text{ v g} / \text{mL} \sim$ 約 $4 \times 10^{12} \text{ v g} / \text{mL}$; $3.4 \times 10^{12} \text{ v g} / \text{mL} \sim$
 約 $4 \times 10^{12} \text{ v g} / \text{mL}$; $3.5 \times 10^{12} \text{ v g} / \text{mL} \sim$ 約 $4 \times 10^{12} \text{ v g} / \text{mL}$;
 $3.6 \times 10^{12} \text{ v g} / \text{mL} \sim$ 約 $4 \times 10^{12} \text{ v g} / \text{mL}$; $3.7 \times 10^{12} \text{ v g} / \text{mL} \sim$ 約 $4 \times 10^{12} \text{ v g} / \text{mL}$;
 $3.8 \times 10^{12} \text{ v g} / \text{mL} \sim$ 約 $4 \times 10^{12} \text{ v g} / \text{mL}$; $3.9 \times 10^{12} \text{ v g} / \text{mL} \sim$ 約 $4 \times 10^{12} \text{ v g} / \text{mL}$; $3 \times 10^{12} \text{ v g} / \text{mL} \sim$
 約 $3.9 \times 10^{12} \text{ v g} / \text{mL}$; $3 \times 10^{12} \text{ v g} / \text{mL} \sim$ 約 $3.8 \times 10^{12} \text{ v g} / \text{mL}$; $3 \times 10^{12} \text{ v g} / \text{mL} \sim$ 約 $3.7 \times 10^{12} \text{ v g} / \text{mL}$; $3 \times 10^{12} \text{ v g} / \text{mL} \sim$ 約 $3.6 \times 10^{12} \text{ v g} / \text{mL}$; $3 \times 10^{12} \text{ v g} / \text{mL} \sim$ 約 $3.5 \times 10^{12} \text{ v g} / \text{mL}$; $3 \times 10^{12} \text{ v g} / \text{mL} \sim$ 約 $3.4 \times 10^{12} \text{ v g} / \text{mL}$; $3 \times 10^{12} \text{ v g} / \text{mL} \sim$ 約 $3.3 \times 10^{12} \text{ v g} / \text{mL}$; $3 \times 10^{12} \text{ v g} / \text{mL} \sim$ 約 $3.2 \times 10^{12} \text{ v g} / \text{mL}$; および $3 \times 10^{12} \text{ v g} / \text{mL} \sim$ 約 $3.1 \times 10^{12} \text{ v g} / \text{mL}$ のリン酸緩衝液中の力価を有し得る。

10

【0348】

一実施形態では、医薬組成物は、表9に記載された組成物を含むか、それから本質的になるか、またはそれからなる。

【表9】

20

表9	
構成要素	濃度
塩化ナトリウム	180 mM
一塩基性リン酸ナトリウム一水和物	2 mM
二塩基性リン酸ナトリウム二水和物	8 mM
ポロキサマーP188	0.001%
注射用水 適量	NA
pH	7.22

30

【0349】

一部の実施形態では、医薬組成物は、リン酸塩（一塩基性および二塩基性リン酸塩）、NaCl、およびポロキサマー；pH 7.2～7.3を含むか、それから本質的になるか、またはそれからなる。

【0350】

一部の実施形態では、医薬組成物は、約10 mMのリン酸塩（一塩基性および二塩基性リン酸塩）、約180 mMのNaCl、および約0.001%のポロキサマー；pH 7.2～7.3を含むか、それから本質的になるか、またはそれからなる。

【0351】

一部の実施形態では、医薬組成物は、約8 mMの二塩基性リン酸塩、約2 mMの一塩基性リン酸塩、約180 mMのNaCl、および約0.001%のポロキサマー；pH 7.2～7.3を含むか、それから本質的になるか、またはそれからなる。

40

【0352】

一部の実施形態では、医薬組成物は、約8 mMの Na_2HPO_4 、約2 mMの NaH_2PO_4 、約180 mMのNaCl、および約0.001%のポロキサマー；pH 7.2～7.3を含むか、それから本質的になるか、またはそれからなる。

【0353】

一部の実施形態では、医薬組成物は、約8 mMの二塩基性リン酸塩、約2 mMの一塩基性リン酸塩、約180 mMのNaCl、および約0.001%のポロキサマー；pH 7.2～7.3；ならびに約 $1 \times 10^{12} \text{ v g} / \text{mL} \sim$ 約 $3.1 \times 10^{13} \text{ v g} / \text{mL}$ のAA

50

V2-GDNFを含むか、それから本質的になるか、またはそれからなる。

【0354】

一部の実施形態では、医薬組成物は、約8mMの二塩基性リン酸塩、約2mMの一塩基性リン酸塩、約180mMのNaCl、および約0.001%のポロキサマー；pH7.2～7.3；ならびに少なくとも 1×10^{12} vg/mLのAAV2-GDNFを含むか、それから本質的になるか、またはそれからなる。

【0355】

一部の実施形態では、医薬組成物は、約8mMの二塩基性リン酸塩、約2mMの一塩基性リン酸塩、約180mMのNaCl、および約0.001%のポロキサマー；pH7.2～7.3；ならびに少なくとも 5×10^{12} vg/mL vg/mLのAAV2-GDNFを含むか、それから本質的になるか、またはそれからなる。

10

【0356】

一部の実施形態では、医薬組成物は、約8mMの二塩基性リン酸塩、約2mMの一塩基性リン酸塩、約180mMのNaCl、および約0.001%のポロキサマー；pH7.2～7.3；ならびに少なくとも 1×10^{13} vg/mLのAAV2-GDNFを含むか、それから本質的になるか、またはそれからなる。

【0357】

一部の実施形態では、医薬組成物は、約8mMの二塩基性リン酸塩、約2mMの一塩基性リン酸塩、約180mMのNaCl、および約0.001%のポロキサマー；pH7.2～7.3；ならびに少なくとも 3×10^{13} vg/mLのAAV2-GDNFを含むか、それから本質的になるか、またはそれからなる。

20

【0358】

一部の実施形態では、医薬組成物は、約8mMの K_2HPO_4 、約2mMの KH_2PO_4 、約180mMのNaCl、および約0.001%のポロキサマー；pH7.2～7.3；ならびに約 1×10^{12} vg/mL～約 3.1×10^{13} vg/mLのAAV2-GDNFを含むか、それから本質的になるか、またはそれからなる。

【0359】

一部の実施形態では、医薬組成物は、約8mMの K_2HPO_4 、約2mMの KH_2PO_4 、約180mMのNaCl、および約0.001%のポロキサマー；pH7.2～7.3；ならびに少なくとも 1×10^{12} vg/mLのAAV2-GDNFを含むか、それから本質的になるか、またはそれからなる。

30

【0360】

一部の実施形態では、医薬組成物は、約8mMの K_2HPO_4 、約2mMの KH_2PO_4 、約180mMのNaCl、および約0.001%のポロキサマー；pH7.2～7.3；ならびに少なくとも 5×10^{12} vg/mL vg/mLのAAV2-GDNFを含むか、それから本質的になるか、またはそれからなる。

【0361】

一部の実施形態では、医薬組成物は、約8mMの K_2HPO_4 、約2mMの KH_2PO_4 、約180mMのNaCl、および約0.001%のポロキサマー；pH7.2～7.3；ならびに少なくとも 1×10^{13} vg/mLのAAV2-GDNFを含むか、それから本質的になるか、またはそれからなる。

40

【0362】

一部の実施形態では、医薬組成物は、約8mMの K_2HPO_4 、約2mMの KH_2PO_4 、約180mMのNaCl、および約0.001%のポロキサマー；pH7.2～7.3；ならびに少なくとも 3×10^{13} vg/mLのAAV2-GDNFを含むか、それから本質的になるか、またはそれからなる。

【0363】

投与

本開示のrAAVは、当技術分野において公知の任意の適切な方法に従って、組成物中で対象に送達されてもよい。例えば、rAAV、好ましくは、生理学的に適合する担体に

50

懸濁された r A A V (すなわち、組成物中) は、対象、すなわち、宿主動物、例えば、ヒト、マウス、ラット、ネコ、イヌ、ヒツジ、ウサギ、ウマ、ウシ、ヤギ、ブタ、モルモット、ハムスター、ニワトリ、シチメンチョウ、または非ヒト霊長類 (例えば、マカク) に投与されてもよい。一部の実施形態では、宿主動物は、ヒトを含まない。

【0364】

本明細書に記載される r A A V が、対象の C N S に直接的に送達されることが望ましくあり得る。「C N S」とは、脊椎動物の脳および脊髄のすべての細胞および組織を意味する。そのため、この用語は、限定されるものではないが、神経細胞、グリア細胞、アストロサイト、脳脊髄液 (C S F)、間質腔、骨、軟骨などを含む。組換え A A V は、例えば、心室領域への注射によって C N S または脳に、ならびに定位注射によってなどの、当技術分野において公知の神経外科的技法を使用して、ニードル、カテーテルまたは関連するデバイスを用いて、線条体 (例えば、背側線条体の尾状核および／または被殻)、脊髄および神経筋接合部、または小脳小葉に、直接的に送達されてもよい (例えば、Stein et al., J Virol 73:3424-3429, 1999; Davidson et al., PNAS 97:3428-3432, 2000; Davidson et al., Nat. Genet. 3:219-223, 1993; および Alisky and Davidson, Hum. Gene Ther. 11 :2315-2329, 2000 を参照されたい)。一部の実施形態では、本開示に記載される r A A V は、静脈内注射によって投与される。一部の実施形態では、r A A V は、大脳内注射によって投与される。一部の実施形態では、r A A V は、くも膜下腔内注射によって投与される。一部の実施形態では、r A A V は、線条体内注射によって投与される。一部の実施形態では、r A A V は、頭蓋内注射によって送達される。一部の実施形態では、r A A V は、大槽注射によって送達される。一部の実施形態では、r A A V は、大脳の側脳室注射によって送達される。

【0365】

一実施形態では、r A A V またはその組成物は、例えば、米国特許第 7, 815, 623 号; 同第 8, 337, 458 号; および同第 9, 302, 070 号に記載されているようにして、ステップ付きカニューレを介して、C N S に局所的に、例えば、被殻に直接的に、送達され、それらのそれぞれの内容は、それらの全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【0366】

一実施形態では、r A A V またはその組成物は、M R I 適合注入ポンプ (例えば、Medfusion シリンジポンプ、Smiths Medical Inc.) に接続された SmartFlow カニューレを介して、C N S に局所的に、例えば、被殻に直接的に、送達される。

【0367】

一実施形態では、本明細書に記載される組成物は、例えば、カニューレを介して、1 ~ 30 μ L / 分の流速で、被殻に、局所的に投与される。一実施形態では、流速は、約 1 ~ 25 μ L / 分; 1 ~ 20 μ L / 分; 1 ~ 15 μ L / 分; 1 ~ 10 μ L / 分; 1 ~ 5 μ L / 分; 5 ~ 30 μ L / 分; 10 ~ 30 μ L / 分; 15 ~ 30 μ L / 分; 20 ~ 30 μ L / 分; 25 ~ 30 μ L / 分; 5 ~ 25 μ L / 分; 10 ~ 20 μ L / 分; 15 ~ 25 μ L / 分; 5 ~ 15 μ L / 分; 5 ~ 25 μ L / 分; または 10 ~ 15 μ L / 分である。

【0368】

一実施形態では、流速は、約 1 μ L / 分; 2 μ L / 分; 3 μ L / 分; 4 μ L / 分; 5 μ L / 分; 6 μ L / 分; 7 μ L / 分; 8 μ L / 分; 9 μ L / 分; 10 μ L / 分; 11 μ L / 分; 12 μ L / 分; 13 μ L / 分; 14 μ L / 分; 15 μ L / 分; 16 μ L / 分; 17 μ L / 分; 18 μ L / 分; 19 μ L / 分; 20 μ L / 分; 21 μ L / 分; 22 μ L / 分; 23 μ L / 分; 24 μ L / 分; 25 μ L / 分; 26 μ L / 分; 27 μ L / 分; 28 μ L / 分; 29 μ L / 分; または 30 μ L / 分である。

【0369】

さらに、ある特定の例では、r A A V を、例えば、筋肉内注射によって、または哺乳動物対象の血流への投与によって哺乳動物対象へ送達することが望ましくあり得る。血流へ

の投与は、静脈、動脈、または任意の他の血管導管への注射によってであってもよい。一部の実施形態では、r A A Vは、外科手術の技術分野において周知の技法である、分離式肢灌流によって、血流に投与され、この方法は、本質的に、当業者が、r A A Vビリオンの投与前に体循環から四肢を分離することを可能にする。米国特許第6, 177, 403号に記載される分離式肢灌流技法のバリエーションはまた、ビリオンを分離された四肢の血管に投与して、筋肉細胞または組織への形質導入を潜在的に増強するために、当業者によって用いられ得る。

【0370】

一実施形態では、r A A Vまたはその組成物は、対象の「オフ」期間の間に投与される。

10

【0371】

一実施形態では、r A A Vまたはその組成物は、対象の「オン」期間の間に投与される。

【0372】

本開示の態様は、対象におけるPDの進行を減速または阻害するための組成物であって、本明細書に記載されるプロモーターに作動可能に連結されたグリア細胞系由来神経栄養因子(GDNF)遺伝子を含むゲノムを含む組換えアデノ随伴ウイルス(r A A V)のいずれか、および薬学的に許容される担体を含む、組成物に関する。一態様では、組成物は、本明細書に記載されるウイルスベクターのいずれか、および必要に応じて、薬学的に許容される担体を含む。本開示の組成物は、r A A Vを、単独で、または1つもしくは複数の他のウイルス(例えば、1つまたは複数の異なる導入遺伝子を有してコードする第2のr A A V)との組合せで含んでいてもよい。一部の実施形態では、組成物は、1つまたは複数の異なる導入遺伝子をそれぞれ有する1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、またはそれよりも多くの異なるr A A Vを含む。

20

【0373】

本開示の組成物は、第2の治療薬、例えば、本明細書に記載される抗パーキンソン治療薬をさらに含んでいてもよい。本開示の組成物は、本明細書に記載される任意の免疫モジュレーターをさらに含んでいてもよい。本開示の組成物は、第2の治療薬、例えば、本明細書に記載される抗パーキンソン治療薬、および本明細書に記載される任意の免疫モジュレーターをさらに含んでいてもよい。

30

【0374】

好適な担体は、r A A Vが対象とする指示を考慮して、当業者によって容易に選択され得る。例えば、ある好適な担体としては、食塩水が挙げられ、これは、各種の緩衝溶液(例えば、リン酸緩衝生理食塩水)とともに製剤化されてもよい。他の例示的な担体としては、滅菌食塩水、ラクトース、スクロース、リン酸カルシウム、ゼラチン、デキストラン、寒天、ペクチン、ピーナッツ油、ゴマ油、および水が挙げられる。担体の選択は、本開示を限定するものではない。

【0375】

必要に応じて、本開示の組成物は、r A A Vおよび担体に加えて、保存剤、または化学安定剤などの他の従来の医薬成分を含有していてもよい。好適な例示的な保存剤としては、クロロブタノール、ソルビン酸カリウム、ソルビン酸、二酸化硫黄、没食子酸プロピル、パラベン、エチルパラニリン、グリセリン、フェノール、およびパラクロロフェノールが挙げられる。好適な化学安定剤としては、ゼラチンおよびアルブミンが挙げられる。

40

【0376】

r A A Vは、所望の組織の細胞にトランスフェクトし、過度な有害効果なしで、十分なレベルの遺伝子の移入および発現を提供するのに十分な量で投与される。従来のおよび薬学的に許容される投与の経路としては、限定されるものではないが、選択された器官への直接送達(例えば、被殻への送達)、経口、吸入(鼻腔内および気管内送達を含む)、眼内、静脈内、筋肉内、皮下、皮内、腫瘍内、および他の投与の非経口経路が挙げられる。所望により、投与の経路は組み合わせられてもよい。一部の実施形態では、本明細書に開示

50

される核酸配列のすべて、またはそのうちの少なくとも1つは、少なくとも1つのD D - I T Rを含む非ウイルスDNA構築物を介して送達される。例えば、W O 2 0 1 9 / 2 4 6 5 5 4号に記載される非ウイルスDNA構築物を利用して、本明細書に記載される核酸のうちの1つまたは複数を送達することができる。W O 2 0 1 9 / 2 4 6 5 5 4号は、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【0377】

特定の「治療効果」を達成するために必要なr A A Vビリオンの用量、例えば、体重1キログラムあたりのゲノムコピー数(G C / k g)での用量の単位は、限定されるものではないが、r A A Vビリオン投与の経路、治療効果を達成するのに必要とされる遺伝子またはRNAの発現のレベル、処置される具体的な疾患または障害、および遺伝子またはRNA産物の安定性を含むいくつかの因子に基づいて変わる。当業者であれば、前述の因子、および当技術分野において周知の他の因子に基づいて、特定の疾患または障害を有する患者を処置するためのr A A Vビリオンの用量範囲を容易に決定することができる。

【0378】

一実施形態では、r A A Vは、 5×10^{12} v g ~ 約 1.5×10^{13} v g の範囲内の総用量で投与される。別の実施形態では、r A A Vは、 1×10^{12} v g ~ 約 6.5×10^{13} v g ; 2×10^{12} v g ~ 約 6.5×10^{13} v g ; 3×10^{12} v g ~ 約 6.5×10^{13} v g ; 4×10^{12} v g ~ 約 6.5×10^{13} v g ; 6×10^{12} v g ~ 約 6.5×10^{13} v g ; 7×10^{12} v g ~ 約 6.5×10^{13} v g ; 8×10^{12} v g ~ 約 6.5×10^{13} v g ; 9×10^{12} v g ~ 約 6.5×10^{13} v g ; 1×10^{13} v g ~ 約 6.5×10^{13} v g ; 1×10^{12} v g ~ 約 1.5×10^{13} v g ; 2×10^{12} v g ~ 約 1.5×10^{13} v g ; 3×10^{12} v g ~ 約 1.5×10^{13} v g ; 4×10^{12} v g ~ 約 1.5×10^{13} v g ; 6×10^{12} v g ~ 約 1.5×10^{13} v g ; 7×10^{12} v g ~ 約 1.5×10^{13} v g ; 8×10^{12} v g ~ 約 1.5×10^{13} v g ; 9×10^{12} v g ~ 約 1.5×10^{13} v g ; 1×10^{13} v g ~ 約 1.5×10^{13} v g ; 1×10^{12} v g ~ 約 6.5×10^{13} v g ; 2×10^{12} v g ~ 約 6.5×10^{13} v g ; 3×10^{12} v g ~ 約 6.5×10^{13} v g ; 4×10^{12} v g ~ 約 6.5×10^{13} v g ; 6×10^{12} v g ~ 約 6.5×10^{13} v g ; 7×10^{12} v g ~ 約 6.5×10^{13} v g ; 8×10^{12} v g ~ 約 6.5×10^{13} v g ; 9×10^{12} v g ~ 約 6.5×10^{13} v g ; 1×10^{13} v g ~ 約 6.5×10^{13} v g ; 1×10^{12} v g ~ 約 1×10^{13} v g ; 1×10^{12} v g ~ 約 9×10^{12} v g ; 1×10^{12} v g ~ 約 8×10^{12} v g ; 1×10^{12} v g ~ 約 7×10^{12} v g ; 1×10^{12} v g ~ 約 6×10^{12} v g ; 1×10^{12} v g ~ 約 5×10^{12} v g ; 1×10^{12} v g ~ 約 4×10^{12} v g ; 1×10^{12} v g ~ 約 3×10^{12} v g ; 1×10^{12} v g ~ 約 2×10^{12} v g ; 5×10^{12} v g ~ 約 1×10^{13} v g ; 5×10^{12} v g ~ 約 9×10^{12} v g ; 5×10^{12} v g ~ 約 8×10^{12} v g ; 5×10^{12} v g ~ 約 7×10^{12} v g ; 5×10^{12} v g ~ 約 6×10^{12} v g ; 5×10^{12} v g ~ 約 5.5×10^{13} v g ; 5×10^{12} v g ~ 約 4.5×10^{13} v g ; 5×10^{12} v g ~ 約 3.5×10^{13} v g ; および 5×10^{12} v g ~ 約 2.5×10^{13} v g の範囲内の総用量で投与される。

【0379】

一実施形態では、r A A Vは、少なくとも 5.1×10^{12} v g ; 5.2×10^{12} v g ; 5.3×10^{12} v g ; 5.4×10^{12} v g ; 5.5×10^{12} v g ; 5.6×10^{12} v g ; 5.7×10^{12} v g ; 5.8×10^{12} v g ; 5.9×10^{12} v g ; 6×10^{12} v g ; 6.1×10^{12} v g ; 6.2×10^{12} v g ; 6.3×10^{12} v g ; 6.4×10^{12} v g ; 6.5×10^{12} v g ; 6.6×10^{12} v g ; 6.7×10^{12} v g ; 6.8×10^{12} v g ; 6.9×10^{12} v g ; 7×10^{12} v g ; 7.1×10^{12} v g ; 7.2×10^{12} v g ; 7.3×10^{12} v g ; 7.4×10^{12} v g ; 7.5×10^{12} v g ; 7.6×10^{12} v g ; 7.7×10^{12} v g ; 7.8×10^{12} v g ; 7.9×10^{12} v g ; 8×10^{12} v g ; 8.1×10^{12} v g ; 8.2×10^{12} v g ; 8.3×10^{12} v g ; 8.4×10^{12} v g ; 8.5×10^{12} v g ; 8.6×10^{12}

$v g ; 8.7 \times 10^{12} v g ; 8.8 \times 10^{12} v g ; 8.9 \times 10^{12} v g ; 9 \times 10^{12} v g ; 9.1 \times 10^{12} v g ; 9.2 \times 10^{12} v g ; 9.3 \times 10^{12} v g ; 9.4 \times 10^{12} v g ; 9.5 \times 10^{12} v g ; 9.6 \times 10^{12} v g ; 9.7 \times 10^{12} v g ; 9.8 \times 10^{12} v g ; 9.9 \times 10^{12} v g ; 1.1 \times 10^{13} v g ; 1.2 \times 10^{13} v g ; 1.3 \times 10^{13} v g ;$ および $1.4 \times 10^{13} v g$ の総用量で投与される。一実施形態では、 $r A A V$ は、少なくとも $1 \times 10^{12} v g$; 少なくとも $2 \times 10^{12} v g$; 少なくとも $3 \times 10^{12} v g$; 少なくとも $4 \times 10^{12} v g$; 少なくとも $5 \times 10^{12} v g$; 少なくとも $6 \times 10^{12} v g$; 少なくとも $7 \times 10^{12} v g$; 少なくとも $8 \times 10^{12} v g$; 少なくとも $9 \times 10^{12} v g$; 少なくとも $1 \times 10^{13} v g$; 少なくとも $2 \times 10^{13} v g$; 少なくとも $3 \times 10^{13} v g$; 少なくとも $4 \times 10^{13} v g$; 少なくとも $5 \times 10^{13} v g$; 少なくとも $6 \times 10^{13} v g$; および 少なくとも $7 \times 10^{13} v g$ またはそれよりも高い合計で投与される。

10

【0380】

一実施形態では、投与または誘導は、対象の被殻に対して局所的に行われ、総用量の2分の1分が、対象の被殻のそれぞれに投与される。さらに別の方法では、総用量は、対象の左被殻および右被殻の間で実質的に均等に分けられる。

【0381】

$r A A V$ の有効量は、動物における感染を標的にするか、または所望の組織を標的にするのに十分な量である。一部の実施形態では、 $r A A V$ の有効量は、安定な体細胞トランスジェニック動物モデルを生成するのに十分な量である。有効量は、対象の種、年齢、体重、健康、および標的にされる組織などの因子に主に依存し、そのため、動物および組織の間で変化し得る。例えば、 $r A A V$ の有効量は、一般に、約 $10^9 \sim 10^{16}$ ゲノムコピーを含有する、約 $1 \text{ mL} \sim 100 \text{ mL}$ の溶液の範囲内である。一部の場合では、約 $10^{11} \sim 10^{13}$ の $r A A V$ ゲノムコピーの間の投薬量が適切である。ある特定の実施形態では、 10^{12} または 10^{13} の $r A A V$ ゲノムコピーが、CNS組織（例えば、被殻）を標的にするのに有効である。一部の場合では、安定なトランスジェニック動物は、複数用量の $r A A V$ によって生成される。

20

【0382】

一実施形態では、 $r A A V$ は、液体組成物で導入または投与される。一実施形態では、液体組成物は、約 $3 \times 10^{12} v g / \text{mL} \sim 4 \times 10^{12} v g / \text{mL}$ の $r A A V$ 濃度を有する。一実施形態では、液体組成物は、約 $1 \times 10^{12} v g / \text{mL} \sim 4 \times 10^{12} v g / \text{mL}$; $2 \times 10^{12} v g / \text{mL} \sim 4 \times 10^{12} v g / \text{mL}$; $1 \times 10^{12} v g / \text{mL} \sim 2 \times 10^{12} v g / \text{mL}$; $2 \times 10^{12} v g / \text{mL} \sim 4 \times 10^{12} v g / \text{mL}$; $8 \times 10^{11} v g / \text{mL} \sim 9 \times 10^{12} v g / \text{mL}$; $9 \times 10^{11} v g / \text{mL} \sim 9 \times 10^{12} v g / \text{mL}$; $1 \times 10^{12} v g / \text{mL} \sim 9 \times 10^{12} v g / \text{mL}$; $2 \times 10^{12} v g / \text{mL} \sim 9 \times 10^{12} v g / \text{mL}$; $3 \times 10^{12} v g / \text{mL} \sim 9 \times 10^{12} v g / \text{mL}$; $4 \times 10^{12} v g / \text{mL} \sim 9 \times 10^{12} v g / \text{mL}$; $5 \times 10^{12} v g / \text{mL} \sim 9 \times 10^{12} v g / \text{mL}$; $6 \times 10^{12} v g / \text{mL} \sim 9 \times 10^{12} v g / \text{mL}$; $7 \times 10^{12} v g / \text{mL} \sim 9 \times 10^{12} v g / \text{mL}$; $8 \times 10^{12} v g / \text{mL} \sim 9 \times 10^{12} v g / \text{mL}$; $8 \times 10^{11} v g / \text{mL} \sim 8 \times 10^{12} v g / \text{mL}$; $8 \times 10^{11} v g / \text{mL} \sim 7 \times 10^{12} v g / \text{mL}$; $8 \times 10^{11} v g / \text{mL} \sim 6 \times 10^{12} v g / \text{mL}$; $8 \times 10^{11} v g / \text{mL} \sim 5 \times 10^{12} v g / \text{mL}$; $8 \times 10^{11} v g / \text{mL} \sim 4 \times 10^{12} v g / \text{mL}$; $8 \times 10^{11} v g / \text{mL} \sim 3 \times 10^{12} v g / \text{mL}$; $8 \times 10^{11} v g / \text{mL} \sim 2 \times 10^{12} v g / \text{mL}$; $8 \times 10^{11} v g / \text{mL} \sim 1 \times 10^{12} v g / \text{mL}$; $8 \times 10^{11} v g / \text{mL} \sim 9 \times 10^{11} v g / \text{mL}$; $1 \times 10^{12} v g / \text{mL} \sim 7 \times 10^{12} v g / \text{mL}$; $3 \times 10^{12} v g / \text{mL} \sim 6 \times 10^{12} v g / \text{mL}$; $4 \times 10^{12} v g / \text{mL} \sim 5 \times 10^{12} v g / \text{mL}$; $3.1 \times 10^{12} v g / \text{mL} \sim 4 \times 10^{12} v g / \text{mL}$; $3.2 \times 10^{12} v g / \text{mL} \sim 4 \times 10^{12} v g / \text{mL}$; $3.3 \times 10^{12} v g / \text{mL} \sim 4 \times 10^{12} v g / \text{mL}$; $3.4 \times 10^{12} v g / \text{mL} \sim 4 \times 10^{12} v g / \text{mL}$; 3.

30

40

50

$5 \times 10^{12} \text{ vg/mL} \sim 4 \times 10^{12} \text{ vg/mL}$; $3.6 \times 10^{12} \text{ vg/mL} \sim 4 \times 10^{12} \text{ vg/mL}$; $3.7 \times 10^{12} \text{ vg/mL} \sim 4 \times 10^{12} \text{ vg/mL}$; $3.8 \times 10^{12} \text{ vg/mL} \sim 4 \times 10^{12} \text{ vg/mL}$; $3.9 \times 10^{12} \text{ vg/mL} \sim 4 \times 10^{12} \text{ vg/mL}$; $3 \times 10^{12} \text{ vg/mL} \sim 3.9 \times 10^{12} \text{ vg/mL}$; $3 \times 10^{12} \text{ vg/mL} \sim 3.8 \times 10^{12} \text{ vg/mL}$; $3 \times 10^{12} \text{ vg/mL} \sim 3.7 \times 10^{12} \text{ vg/mL}$; $3 \times 10^{12} \text{ vg/mL} \sim 3.6 \times 10^{12} \text{ vg/mL}$; $3 \times 10^{12} \text{ vg/mL} \sim 3.5 \times 10^{12} \text{ vg/mL}$; $3 \times 10^{12} \text{ vg/mL} \sim 3.4 \times 10^{12} \text{ vg/mL}$; $3 \times 10^{12} \text{ vg/mL} \sim 3.3 \times 10^{12} \text{ vg/mL}$; $3 \times 10^{12} \text{ vg/mL} \sim 3.2 \times 10^{12} \text{ vg/mL}$; および $3 \times 10^{12} \text{ vg/mL} \sim 3.1 \times 10^{12} \text{ vg/mL}$ の rAAV 濃度を有する。

10

【0383】

一実施形態では、液体組成物は、約 $8 \times 10^{11} \text{ vg/mL}$; $9 \times 10^{11} \text{ vg/mL}$; $1 \times 10^{12} \text{ vg/mL}$; $2 \times 10^{12} \text{ vg/mL}$; $3 \times 10^{12} \text{ vg/mL}$; $3.1 \times 10^{12} \text{ vg/mL}$; $3.2 \times 10^{12} \text{ vg/mL}$; $3.3 \times 10^{12} \text{ vg/mL}$; $3.4 \times 10^{12} \text{ vg/mL}$; $3.5 \times 10^{12} \text{ vg/mL}$; $3.6 \times 10^{12} \text{ vg/mL}$; $3.7 \times 10^{12} \text{ vg/mL}$; $3.8 \times 10^{12} \text{ vg/mL}$; $3.9 \times 10^{12} \text{ vg/mL}$; $4 \times 10^{12} \text{ vg/mL}$; $5 \times 10^{12} \text{ vg/mL}$; $6 \times 10^{12} \text{ vg/mL}$; $7 \times 10^{12} \text{ vg/mL}$; $8 \times 10^{12} \text{ vg/mL}$; および $9 \times 10^{12} \text{ vg/mL}$ の rAAV 濃度を有する。

【0384】

一部の実施形態では、rAAVの用量は、1回以下で対象に投与され、例えば、これは、1回以下でそれぞれの被殻に投与される。一部の実施形態では、rAAVの用量は、暦日（例えば、24時間の期間）あたり1回以下で対象に投与される。一部の実施形態では、rAAVの用量は、2、3、4、5、6または7暦日あたり1回以下で対象に投与される。一部の実施形態では、rAAVの用量は、暦週（例えば、7暦日）あたり1回以下で対象に投与される。一部の実施形態では、rAAVの用量は、2週間に1回以下（例えば、2暦週の期間に1回）で対象に投与される。一部の実施形態では、rAAVの用量は、暦月あたり1回以下（例えば、30暦日に1回）で対象に投与される。一部の実施形態では、rAAVの用量は、6暦月あたり1回以下で対象に投与される。一部の実施形態では、rAAVの用量は、暦年（例えば、365日またはうるう年では366日）あたり1回以下で対象に投与される。

20

30

【0385】

一実施形態では、rAAVまたはその組成物は、経前頭（例えば、両側前頭）軌道を介して、注入として投与される。経前頭軌道は、それぞれの被殻のA-P軸に実質的に垂直であり、頭蓋の前頭骨を通してアクセスされる、少なくとも1つの軌道である。経前頭投与は、それぞれの被殻のA-P軸に実質的に垂直である、2つ以上の軌道を通してrAAVを注入することを含み得る。それぞれの軌道は、頭蓋の前頭骨を通る単一の穿頭孔を通して、または別々の個々の穿頭孔を通してアクセスされ得る。そのため、前頭骨の少なくとも1つの穿頭孔は、左および右被殻のそれぞれについて必要である。例えば、投与は、経前頭軌道、例えば、両側前頭軌道を使用して行うことができ、ここで、カニューレは、第1の被殻のA-P軸に実質的に垂直である第1の軌道で前頭骨からガイドされ、rAAVは、第1の軌道を使用して注入される。次いで、カニューレは、第1の被殻のA-P軸に実質的に垂直である第2の軌道（第2の軌道は、第1の軌道と異なる）に置かれ、rAAVは、第2の軌道を使用して注入される。次いで、プロセスは、第2の被殻で繰り返される。それぞれの軌道が、異なる場所で被殻と接触するカニューレをもたらすことが理解される。図13Aは、例示的な経前頭軌道を示す。

40

【0386】

一実施形態では、rAAVまたはその組成物は、両側後頭軌道を介して、注入として投与される。後頭軌道は、被殻のA-P軸に実質的に平行である単一の後側軌道であり、頭蓋の後頭骨を通してアクセスされる。したがって、後頭骨の単一の穿頭孔は、被殻ごとに

50

必要である。例えば、投与は、両側後頭軌道を使用して行うことができ、ここで、カニューレは、第1の被殻のA-P軸に実質的に平行である軌道を使用して後頭骨からガイドされ、rAAVは、カニューレを第1の被殻の吻端の方に進めながら、注入される。次いで、プロセスは、第2の被殻で繰り返される。変形では、rAAVは、カニューレが、固定され、それぞれの被殻の吻端に進めずに、それぞれの被殻に注入される。図13Bは、例示的な後頭軌道を示す。

【0387】

一実施形態では、それぞれの被殻は、同じ軌道技法を使用して注入され、すなわち、それぞれの被殻は、両側前頭軌道を介して注入される。一実施形態では、それぞれの被殻は、異なる軌道技法を使用して注入され、すなわち、一方の被殻は、両側前頭軌道を介して注入され、他方の被殻は、両側後頭軌道を介して注入される。

10

【0388】

一実施形態では、単一の被殻への注入体積は、 $2000\mu\text{l}$ 未満またはそれに等しく、 $1,800\mu\text{l}$ よりも大きい。例えば、単一の被殻は、 $1,800\mu\text{l}$ ； $1,810\mu\text{l}$ ； $1,820\mu\text{l}$ ； $1,830\mu\text{l}$ ； $1,840\mu\text{l}$ ； $1,850\mu\text{l}$ ； $1,860\mu\text{l}$ ； $1,870\mu\text{l}$ ； $1,880\mu\text{l}$ ； $1,890\mu\text{l}$ ； $1,900\mu\text{l}$ ； $1,910\mu\text{l}$ ； $1,920\mu\text{l}$ ； $1,930\mu\text{l}$ ； $1,940\mu\text{l}$ ； $1,950\mu\text{l}$ ； $1,960\mu\text{l}$ ； $1,970\mu\text{l}$ ； $1,980\mu\text{l}$ ； $1,990\mu\text{l}$ ；または $2,000\mu\text{l}$ である総体積で注入され得る。一実施形態では、それぞれの被殻に対する注入体積は、同じである。一実施形態では、それぞれの被殻に対する注入体積は、異なる（例えば、一方の被殻は、 $1,800\mu\text{l}$ の体積で注入され、他方の被殻は、 $2,000\mu\text{l}$ の体積で注入される）。

20

【0389】

一部の実施形態では、rAAV組成物は、特に、高濃度のrAAVが存在する（例えば、 $-10^{13}\text{GC}/\text{mL}$ またはそれよりも多い）場合に、組成物中のAAV粒子の凝集を低減するために製剤化される。rAAVの凝集を低減するための方法は、当技術分野において周知であり、例えば、界面活性剤の添加、pH調整、塩濃度調整などが挙げられる（例えば、Wright FR, et al., Molecular Therapy (2005) 12, 171-178を参照されたく、この内容は、参照により本明細書に組み込まれる）。

【0390】

薬学的に許容される賦形剤および担体溶液の製剤は、好適な投与レジメンおよび処置レジメンの開発が、各種の処置レジメンにおいて本明細書に記載される特定の組成物を使用するためのものであるので、当業者に周知である。

30

【0391】

本明細書に記載される一態様は、対象におけるPDの進行を減速または阻害するための製剤であって、薬学的に許容される担体の 1mL あたり $3\times 10^{12}\text{vg}\sim 4\times 10^{12}\text{vg}$ の濃度の本明細書に記載される任意のウイルスベクター（例えば、AAV）を含む、製剤である。一実施形態では、ウイルスベクターの濃度は、約 $1\times 10^{12}\text{vg}/\text{mL}\sim$ 約 $4\times 10^{12}\text{vg}/\text{mL}$ ； $2\times 10^{12}\text{vg}/\text{mL}\sim$ 約 $4\times 10^{12}\text{vg}/\text{mL}$ ； $1\times 10^{12}\text{vg}/\text{mL}\sim$ 約 $3\times 10^{12}\text{vg}/\text{mL}$ ； $1\times 10^{12}\text{vg}/\text{mL}\sim$ 約 $2\times 10^{12}\text{vg}/\text{mL}$ ； $2\times 10^{12}\text{vg}/\text{mL}\sim$ 約 $4\times 10^{12}\text{vg}/\text{mL}$ ； $8\times 10^{11}\text{vg}/\text{mL}\sim$ 約 $9\times 10^{12}\text{vg}/\text{mL}$ ； $9\times 10^{11}\text{vg}/\text{mL}\sim$ 約 $9\times 10^{12}\text{vg}/\text{mL}$ ； $1\times 10^{12}\text{vg}/\text{mL}\sim$ 約 $9\times 10^{12}\text{vg}/\text{mL}$ ； $2\times 10^{12}\text{vg}/\text{mL}\sim$ 約 $9\times 10^{12}\text{vg}/\text{mL}$ ； $3\times 10^{12}\text{vg}/\text{mL}\sim$ 約 $9\times 10^{12}\text{vg}/\text{mL}$ ； $4\times 10^{12}\text{vg}/\text{mL}\sim$ 約 $9\times 10^{12}\text{vg}/\text{mL}$ ； $5\times 10^{12}\text{vg}/\text{mL}\sim$ 約 $9\times 10^{12}\text{vg}/\text{mL}$ ； $6\times 10^{12}\text{vg}/\text{mL}\sim$ 約 $9\times 10^{12}\text{vg}/\text{mL}$ ； $7\times 10^{12}\text{vg}/\text{mL}\sim$ 約 $9\times 10^{12}\text{vg}/\text{mL}$ ； $8\times 10^{12}\text{vg}/\text{mL}\sim$ 約 $9\times 10^{12}\text{vg}/\text{mL}$ ； $8\times 10^{11}\text{vg}/\text{mL}\sim$ 約 $8\times 10^{12}\text{vg}/\text{mL}$ ； $8\times 10^{11}\text{vg}/\text{mL}\sim$ 約 $7\times 10^{12}\text{vg}/\text{mL}$ ； $8\times 10^{11}\text{vg}/\text{mL}\sim$ 約 $6\times 10^{12}\text{vg}/\text{mL}$ ； $8\times 10^{11}\text{vg}/\text{mL}\sim$ 約 $5\times 10^{12}\text{vg}/\text{mL}$ ； $8\times 10^{11}\text{vg}/\text{mL}\sim$ 約 $4\times 10^{12}\text{vg}/\text{mL}$ 。

40

50

g/mL ; $8 \times 10^{11} \text{ v g/mL}$ $\sim$ 約 $3 \times 10^{12} \text{ v g/mL}$; $8 \times 10^{11} \text{ v g/mL}$ $\sim$ 約 $2 \times 10^{12} \text{ v g/mL}$; $8 \times 10^{11} \text{ v g/mL}$ $\sim$ 約 $1 \times 10^{12} \text{ v g/mL}$; $8 \times 10^{11} \text{ v g/mL}$ $\sim$ 約 $9 \times 10^{11} \text{ v g/mL}$; $1 \times 10^{12} \text{ v g/mL}$ $\sim$ 約 $7 \times 10^{12} \text{ v g/mL}$; $3 \times 10^{12} \text{ v g/mL}$ $\sim$ 約 $6 \times 10^{12} \text{ v g/mL}$; $4 \times 10^{12} \text{ v g/mL}$ $\sim$ 約 $5 \times 10^{12} \text{ v g/mL}$; $3.1 \times 10^{12} \text{ v g/mL}$ $\sim$ 約 $4 \times 10^{12} \text{ v g/mL}$; $3.2 \times 10^{12} \text{ v g/mL}$ $\sim$ 約 $4 \times 10^{12} \text{ v g/mL}$; $3.3 \times 10^{12} \text{ v g/mL}$ $\sim$ 約 $4 \times 10^{12} \text{ v g/mL}$; $3.4 \times 10^{12} \text{ v g/mL}$ $\sim$ 約 $4 \times 10^{12} \text{ v g/mL}$; $3.5 \times 10^{12} \text{ v g/mL}$ $\sim$ 約 $4 \times 10^{12} \text{ v g/mL}$; $3.6 \times 10^{12} \text{ v g/mL}$ $\sim$ 約 $4 \times 10^{12} \text{ v g/mL}$; $3.7 \times 10^{12} \text{ v g/mL}$ $\sim$ 約 $4 \times 10^{12} \text{ v g/mL}$; $3.8 \times 10^{12} \text{ v g/mL}$ $\sim$ 約 $4 \times 10^{12} \text{ v g/mL}$; $3.9 \times 10^{12} \text{ v g/mL}$ $\sim$ 約 $4 \times 10^{12} \text{ v g/mL}$; $3 \times 10^{12} \text{ v g/mL}$ $\sim$ 約 $3.9 \times 10^{12} \text{ v g/mL}$; $3 \times 10^{12} \text{ v g/mL}$ $\sim$ 約 $3.8 \times 10^{12} \text{ v g/mL}$; $3 \times 10^{12} \text{ v g/mL}$ $\sim$ 約 $3.7 \times 10^{12} \text{ v g/mL}$; $3 \times 10^{12} \text{ v g/mL}$ $\sim$ 約 $3.6 \times 10^{12} \text{ v g/mL}$; $3 \times 10^{12} \text{ v g/mL}$ $\sim$ 約 $3.5 \times 10^{12} \text{ v g/mL}$; $3 \times 10^{12} \text{ v g/mL}$ $\sim$ 約 $3.4 \times 10^{12} \text{ v g/mL}$; $3 \times 10^{12} \text{ v g/mL}$ $\sim$ 約 $3.3 \times 10^{12} \text{ v g/mL}$; $3 \times 10^{12} \text{ v g/mL}$ $\sim$ 約 $3.2 \times 10^{12} \text{ v g/mL}$; および $3 \times 10^{12} \text{ v g/mL}$ $\sim$ 約 $3.1 \times 10^{12} \text{ v g/mL}$ である。一実施形態では、ウイルスベクターの濃度は、約 $8 \times 10^{11} \text{ v g/mL}$; $9 \times 10^{11} \text{ v g/mL}$; $1 \times 10^{12} \text{ v g/mL}$; $2 \times 10^{12} \text{ v g/mL}$; $3 \times 10^{12} \text{ v g/mL}$; $3.1 \times 10^{12} \text{ v g/mL}$; $3.2 \times 10^{12} \text{ v g/mL}$; $3.3 \times 10^{12} \text{ v g/mL}$; $3.4 \times 10^{12} \text{ v g/mL}$; $3.5 \times 10^{12} \text{ v g/mL}$; $3.6 \times 10^{12} \text{ v g/mL}$; $3.7 \times 10^{12} \text{ v g/mL}$; $3.8 \times 10^{12} \text{ v g/mL}$; $3.9 \times 10^{12} \text{ v g/mL}$; $4 \times 10^{12} \text{ v g/mL}$; $5 \times 10^{12} \text{ v g/mL}$; $6 \times 10^{12} \text{ v g/mL}$; $7 \times 10^{12} \text{ v g/mL}$; $8 \times 10^{12} \text{ v g/mL}$; および $9 \times 10^{12} \text{ v g/mL}$ である。

【0392】

典型的には、これらの製剤は、少なくとも約 0.1% の活性化合物またはそれよりも多くを含有していてもよいが、活性成分のパーセンテージは、当然ながら変化してもよく、好都合には、総製剤重量または体積の約 1% または 2% $\sim$ 約 70% もしくは 80% の間またはそれよりも大きくてもよい。本来、それぞれ治療上有用な組成物中の活性化合物の量は、好適な投薬量が、化合物の任意の所与の単位用量で得られるような方法で、調製され得る。溶解度、生物学的利用率、生物学的半減期、投与の経路、製品有効期間などの因子、および他の薬理学的考慮事項は、そのような医薬製剤を調製する当業者によって企図され、そのようにして、各種の投薬レジメンおよび処置レジメンが望ましくあり得る。

【0393】

ある特定の状況では、本明細書に開示される好適に製剤化された医薬組成物中の rAAV に基づく治療用構築物を、皮下、臍臓内、鼻腔内、非経口、静脈内、筋肉内、髄腔内、または経口、腹腔内、または吸入によってのいずれかで、送達することが望ましい。一部の実施形態では、米国特許第 5,543,158 号、同第 5,641,515 号および同第 5,399,363 号（その全体が参照により本明細書にそれぞれ具体的に組み込まれる）に記載される投与モダリティを使用して、rAAV を送達してもよい。一部の実施形態では、好ましい投与の様式は、門脈注射による。

【0394】

注射可能な使用に好適な医薬形態としては、無菌水溶液または分散液、および無菌注射用溶液または分散液の即時調製のための無菌粉末が挙げられる。分散液はまた、グリセロール、液体ポリエチレングリコール、およびそれらの混合物中、ならびに油中で調製されてもよい。保管および使用の通常の条件下、これらの調製物は、微生物の成長を防止する保存剤を含有する。多くの場合に、この形態は、無菌であり、容易な注射性が存在する程度に流体である。これは、製造および保管の条件下で安定でなければならず、細菌および真菌などの微生物の汚染作用に対して保存されなければならない。担体は、例えば、水、エタノール、ポリオール（例えば、グリセロール、プロピレングリコール、および液体ポ

リエチレングリコールなど）、それらの好適な混合物、および／または植物油を含有する溶媒または分散媒であり得る。例えば、適当な流動性は、レシチンなどのコーティングの使用によって、分散液の場合では必要とされる粒子サイズの維持によって、および界面活性剤の使用によって、維持され得る。微生物の作用の防止は、さまざまな抗菌剤および抗真菌剤、例えば、パラベン、クロロブタノール、フェノール、ソルビン酸、チメロサルなどによってもたらされ得る。多くの場合では、等張剤、例えば、糖または塩化ナトリウムを含むことが好ましい。注射用組成物の持続的吸収は、吸収を遅延させる薬剤、例えば、モノステアリン酸アルミニウムおよびゼラチンの組成物中での使用によってもたらされ得る。

【0395】

注射用水溶液の投与のために、例えば、溶液は、必要により、好適に緩衝されていてもよく、液体希釈剤は、最初に、十分な生理食塩水またはグルコースで等張にされる。これらの特定の水溶液は、静脈内、筋肉内、皮下および腹腔内投与に特に好適である。これに関連して、用いることができる無菌水性媒体は、当業者に公知である。例えば、1投薬量は、1mlの等張なNaCl溶液中に溶解され、1000mlの皮下注入液に添加されてもよく、または注入の計画部位に注射されてもよい（例えば、"Remington's Pharmaceutical Sciences" 15th Edition, pages 1035-1038 and 1570-1580を参照されたい）。投薬量におけるいくつかの変形形態は、宿主の状態に応じて必然的に生じる。投与の責任者は、いずれにしても、個々の宿主についての適切な用量を決定する。

【0396】

無菌注射用溶液は、活性rAAVを、本明細書に列挙される各種の他の成分とともに、適切な溶媒に必要な量で組み込み、必要により、それに続いて濾過滅菌することによって調製される。一般に、分散液は、さまざまな滅菌された活性成分を、基礎分散媒および上記に列挙されたものからの必要とされる他の成分を含有する無菌ビヒクルに組み込むことによって調製される。無菌注射用溶液の調製のための無菌粉末の場合では、好ましい調製の方法は、あらかじめその滅菌濾過された溶液から活性成分と任意の追加の所望の成分の粉末を得る真空乾燥技法および凍結乾燥技法である。

【0397】

本明細書に開示されるrAAV組成物はまた、中性形態または塩形態で製剤化されていてもよい。薬学的に許容される塩としては、酸付加塩（タンパク質の遊離アミノ基と形成される）が挙げられ、これらは、例えば、塩酸もしくはリン酸などの無機酸、または酢酸、シュウ酸、酒石酸、マンデル酸などの有機酸と形成される。遊離カルボキシル基と形成される塩はまた、例えば、水酸化ナトリウム、水酸化カリウム、水酸化アンモニウム、水酸化カルシウム、または水酸化鉄などの無機塩基、およびイソプロピルアミン、トリメチルアミン、ヒスチジン、プロカインなどの有機塩基に由来し得る。製剤化されると、溶液は、投薬製剤と適合し、そのような量が治療上有効である様式で投与される。製剤は、各種の剤形、例えば、注射用溶液、薬物放出カプセル剤などで容易に投与される。

【0398】

本明細書で使用される場合、「担体」としては、ありとあらゆる溶媒、分散媒、ビヒクル、コーティング、希釈剤、抗細菌剤および抗真菌剤、等張剤および吸収遅延剤、緩衝剤、担体溶液、懸濁剤、コロイドなどが挙げられる。薬学的に活性な物質についてのそのような媒体および薬剤の使用は、当技術分野において周知である。補助活性成分を、組成物に組み込むこともできる。「薬学的に許容される」という語句は、宿主に投与された場合に、アレルギー反応または類似する不都合な反応を生じない分子実体および組成物を指す。

【0399】

送達ビヒクル、例えば、リポソーム、ナノカプセル、マイクロ粒子、マイクロスフェア、脂質粒子、脂質ナノ粒子、ベシクルなどは、本開示の組成物の好適な宿主細胞への導入のために使用されてもよい。特に、rAAVベクターが送達する導入遺伝子は、脂質粒子

10

20

30

40

50

、リポソーム、ベシクル、ナノスフェア、またはナノ粒子などに封入されて、送達のために製剤化されていてもよい。

【0400】

そのような製剤は、本明細書に開示される核酸または rAAV 構築物の薬学的に許容される製剤の導入のために好ましくあり得る。リポソームの形成および使用は、一般に、当業者に公知である。最近、血清安定性および循環半減期が改善されたリポソームが開発された（米国特許第 5,741,516 号）。さらに、潜在的な薬物担体としてのリポソームおよびリポソーム様調製物のさまざまな方法が記載されている（米国特許第 5,567,434 号；同第 5,552,157 号；同第 5,565,213 号；同第 5,738,868 号および同第 5,795,587 号）。

10

【0401】

リポソームは、通常、他の手順によるトランスフェクションに抵抗性であるいくつかの細胞型で成功裏に使用されている。加えて、リポソームは、ウイルスに基づく送達系に典型的である DNA 長の制約がない。リポソームは、遺伝子、薬物、放射性療法剤、ウイルス、転写因子およびアロステリックエフェクターを、各種の培養細胞系および動物に導入するのに有効に使用されている。加えて、リポソーム媒介薬物送達の有効性を調べるいくつかの成功裏の臨床試験が完了している。

【0402】

リポソームは、水性媒体に分散されているリン脂質から形成され、多重層同心二重層ベシクル（多重層ベシクル（MLV）とも称される）を自発的に形成する。MLV は、一般に、25 nm ~ 4 μm の直径を有する。MLV の超音波処理は、コア中に水溶液を含有する 200 ~ 500 Å の範囲の直径を有する小さな単層ベシクル（SUV）の形成をもたらす。

20

【0403】

あるいは、rAAV のナノカプセル製剤を使用してもよい。ナノカプセルは、一般に、安定な再生可能な方法で物質を捕捉することができる。細胞内ポリマーの過剰ローディングに起因する副作用を回避するために、そのような超微粒子（おおよそ 0.1 μm のサイズ）は、in vivo で分解され得るポリマーを使用して設計されるべきである。これらの要件を満たす生分解性ポリアルキルシアノアクリレートナノ粒子が使用のために企図される。

30

【0404】

上記に記載される送達の方法に加えて、以下の技法も、rAAV 組成物を宿主に送達する代替方法として企図される。循環系へのおよび循環系を通じた薬物の浸透の速度および効率を増強するためのデバイスとして、ソノフォレーシス（すなわち、超音波）が使用されており、米国特許第 5,656,016 号に記載されている。企図される他の薬物送達の代替手段は、骨内注射（米国特許第 5,779,708 号）、マイクロチップデバイス（米国特許第 5,797,898 号）、眼科用製剤（Bourlais et al., 1998）、経皮マトリックス（米国特許第 5,770,219 号および同第 5,783,208 号）ならびにフィードバック制御送達（米国特許第 5,697,899 号）である。

【0405】

一部の実施形態では、本明細書に記載される方法は、PD を有するか、またはそれを有すると診断された対象を、本明細書に記載される核酸で処置することに関する。PD を有する対象は、そのような疾患および障害を診断する現在の方法、例えば、本明細書の上記に記載される方法を臨床医が使用することによって、特定することができる。この状態を特徴付け、診断を助ける PD の症状および／または合併症、ならびにそれを行う臨床検査は、当技術分野において周知であり、本明細書の上記に記載する。PD の家族歴も、対象が、PD を有する可能性があるかを決定する、または PD の診断を行う助けになり得る。

40

【0406】

一実施形態では、対象は、本明細書に記載される処置を受ける前に、PD を有すると診断されている。一実施形態では、対象は、本明細書に記載される処置を受ける少なくとも

50

1年；2年；3年；4年；5年；6年；7年；8年；9年；10年前、またはそれよりも前に、PDを有すると診断された。

【0407】

一実施形態では、対象は、本明細書に記載される処置を受ける前に、PDを有するリスクがあると診断されている。

【0408】

一実施形態では、対象は、本明細書に記載される処置を受ける前に、PDを有するか、またはそれを有するリスクがあると診断されていない。

【0409】

一実施形態では、対象は、本明細書に記載される処置を受ける前に、PDを有すると診断される。一実施形態では、対象は、本明細書に記載される処置を受ける前に、PDを有するリスクがあると診断される。

【0410】

一実施形態では、処置を投与する前に、処置を投与する人は、PDを有するとして対象を診断する診断アッセイの結果を受け取る。一実施形態では、処置を投与する前に、処置を投与する人は、PDを有するリスクがあるとして対象を診断するアッセイの結果を受け取る。

【0411】

本明細書に記載される組成物および方法は、PDを有するか、またはそれを有すると診断された対象に投与することができる。一部の実施形態では、本明細書に記載される方法は、有効量の本明細書に記載される組成物、例えば、本明細書に記載される核酸を、PDの症状を軽減するために、対象に投与することを含む。本明細書で使用される場合、「症状を軽減すること」は、PDに関連する任意の状態または症状を改善することである。同等の未処置対照と比較した場合、そのような低減は、任意の標準技法によって測定される場合に、少なくとも5%、10%、20%、40%、50%、60%、80%、90%、95%、99%またはそれよりも高い。

【0412】

有効量、毒性、および治療有効性は、例えば、最小有効用量および／または最大耐用量を決定するために、細胞培養または実験動物において、標準的な薬学的手順によって決定することができる。投薬量は、用いられる剤形および利用される投与の経路に応じて変わり得る。治療有効用量は、細胞培養アッセイから最初に推定することができる。また、用量は、最小有効用量と最大耐用量との間の投薬量範囲を達成するために、動物モデルにおいて処方され得る。任意の特定の投薬量の効果は、好適なバイオアッセイ、例えば、とりわけ、ニューロンの分解または機能性についてのアッセイによってモニターすることができる。投薬量は、医師によって決定され、必要により、観察された処置の効果に合わせて調整することができる。

【0413】

併用療法

一実施形態では、対象は、本明細書に記載されるrAAVのいずれかの指図または投与の前に、少なくとも1つの抗PD治療薬を投与される。

【0414】

一実施形態では、対象は、本明細書に記載されるrAAVのいずれかの指図または投与後に、少なくとも1つの抗PD治療薬を投与される。

【0415】

一実施形態では、少なくとも1つの抗PD治療薬は、Duopaを除く。

【0416】

一実施形態では、本明細書に記載されるrAAVは、単剤療法として使用される。一実施形態では、本明細書に記載されるrAAVは、PDのための他の公知の薬剤および療法と組み合わせて使用することができる。「組み合わせて」投与されるとは、本明細書で 사용되는場合、2つ（またはそれよりも多く）の異なる処置が、疾患による対象の苦痛の

10

20

30

40

50

経過の間に対象に送達されること、例えば、2つまたはそれよりも多くの処置が、対象がPDと診断された後、および疾患が、治癒もしくは排除される前、または処置が、他の理由のために停止される前に、送達されることを意味する。一部の実施形態では、1つの処置の送達は、第2の処置の送達を開始する時に、まだ行われており、その結果、投与の期間の重複が存在する。これは、本明細書において、「同時」または「同時的送達」と称される場合がある。他の実施形態では、1つの処置の送達は、他の処置の送達を開始する前に、終了する。いずれかの場合の一部の実施形態では、処置は、組合せ投与を理由として、より有効である。例えば、第2の処置は、より有効であり、例えば、同等の効果が、より少ない第2の処置で見られるか、または第2の処置が第1の処置の非存在下で投与された場合に見られるよりも、第2の処置が、より大きな程度まで症状を低減し、あるいは類似の状況が、第1の処置で見られる。一部の実施形態では、送達は、症状、または疾患に関連する他のパラメーターの低減が、他のものの非存在下で送達された1つの処置で観察されるものよりも大きいようなものである。2つの処置の効果は、部分的に相加的、完全に相加的、または相加的よりも大きくてもよい。送達は、送達された第1の処置の効果が、第2の処置が送達された場合に、依然として検出可能であるようなものであり得る。本明細書に記載されるrAAVおよび少なくとも1つの追加療法は、同じまたは別々の組成物で同時に、または逐次的に投与され得る。逐次的投与のために、本明細書に記載される薬剤は、最初に投与することができ、追加薬剤は、2番目に投与することができ、または投与の順序は反対にできる。薬剤および／または他の治療剤、手順またはモダリティは、活動性疾患の期間の間、または寛解もしくはあまり活動性でない疾患の期間の間に投与することができる。薬剤は、別の処置の前、処置と同時的に、処置後、または障害の寛解の間に投与することができる。

10

20

【0417】

PDを処置するために使用される例示的な治療薬は、本明細書の上記に記載されている。

【0418】

rAAVと組み合わせて投与される場合、追加治療薬（例えば、第2または第3の抗PD治療薬）は、例えば、単剤療法として、個々に使用されるそれぞれの治療薬の量または投薬量よりも高い、低い、または同じ量または用量で投与することができる。ある特定の実施形態では、追加治療薬の投与される量または投薬量は、個々に使用されるそれぞれの追加治療薬の量または投薬量よりも低い（例えば、少なくとも5%；10%；15%；20%；25%；30%；35%；40%；45%；50%；55%；60%；65%；70%；75%；80%；85%；90%；95%またはそれよりも大きく低い）。

30

【0419】

他の実施形態では、所望の効果（例えば、PDの進行を阻害または減速すること）をもたらす追加治療薬の量または投薬量は、同じ治療効果を達成するのに個々に必要なそれぞれの追加治療薬の量または投薬量よりも低い（例えば、少なくとも5%；10%；15%；20%；25%；30%；35%；40%；45%；50%；55%；60%；65%；70%；75%；80%；85%；90%；95%またはそれよりも大きく低い）。

【0420】

一実施形態では、対象は、本明細書に記載されるrAAVのいずれかの導入または投与後に、少なくとも1つの抗PD治療薬の同じ量または投薬量を維持する。

40

【0421】

一実施形態では、対象は、本明細書に記載されるrAAVのいずれかの導入または投与後に、少なくとも1つの抗PD治療薬の量または投薬量を減少する。一実施形態では、少なくとも1つの抗PD治療薬の量または投薬量は、rAAVのいずれかの導入または投与前に摂取した量または投薬量と比較して、少なくとも5%；10%；15%；20%；25%；30%；35%；40%；45%；50%；55%；60%；65%；70%；75%；80%；85%；90%；95%またはそれよりも大きく減少する。

【0422】

50

一実施形態では、対象は、本明細書に記載される r A A V のいずれかの導入または投与後に、もはや抗 P D 治療薬を投与されない。

【0423】

免疫モジュレーター

一部の実施形態では、本明細書に記載される組成物は、免疫モジュレーターを含み、方法は、免疫モジュレーターを投与することをさらに含む。免疫モジュレーターは、投与の時、投与前、または投与後に投与することができる。対象が少なくとも第2の組成物を再投与される場合では、免疫モジュレーターは、少なくとも第2の投与の前、それとともに、またはその後投与することができる。

【0424】

好ましい実施形態では、免疫モジュレーターは、組換えウイルスベクターの投与の前に投与される。さまざまな実施形態では、免疫モジュレーターは、組換えウイルスベクターの投与の少なくとも1時間、2時間、3時間、4時間、5時間、6時間、7時間、8時間、9時間、10時間、11時間、12時間、13時間、14時間、15時間、16時間、17時間、18時間、19時間、20時間、21時間、22時間、23時間、24時間前、またはそれよりも長い前に投与される。一実施形態では、免疫モジュレーターは、組換えウイルスベクターの投与前24時間以下で投与される。

【0425】

一実施形態では、免疫モジュレーターは、組換えウイルスベクターと実質的に同じ時、例えば、本明細書に開示される組換えウイルスベクターの投与のわずかに前（すなわち、6時間、または5時間、または4時間、または3時間、または2時間、または1時間以内）に投与される。一部の実施形態では、免疫モジュレーターは、ウイルスベクターの投与と同時に、またはその後6時間以内（すなわち、開示されるウイルスベクター組成物の投与後1時間以内、または2時間以内、または3時間以内、または4時間以内、または5時間以内、または6時間以内、または約6時間）に投与される。

【0426】

一部の実施形態では、免疫モジュレーターは、そうでなければそのようなベクターを受け的良好な候補ではないであろう対象への組換えウイルスベクターの投与を可能にする。そうでなければそのようなベクターを受け的良好な候補ではないであろう対象は、例えば、組換えウイルスベクターの投与を以前に受けたか、および／または組換えウイルスベクターに以前に曝露されており、ベクターへの抗体応答をその後発生する、対象である。典型的には、対象は、それらが1：5未満（例えば、1：1、1：2、1：3、または1：4）であるウイルスベクター結合抗体に対する力価を有する場合、組換えウイルスベクターの投与のための候補、すなわち、良好な候補であると考えられる。対照的に、対象は、それらが1：5またはそれよりも大きい（例えば、1：6、1：6、1：7、1：8、1：9、1：10、1：20、1：30、1：50、1：100、1：1、000またはそれよりも大きい）ウイルスベクター結合抗体に対する力価を有する場合、組換えウイルスベクターの投与のための好適な候補ではないと考えられる。当業者は、当技術分野における標準的な技法を使用して、例えば、対象由来の生体試料、例えば、対象の血液を取得すること、生体試料を公知の抗原でチャレンジすること、および公知の抗原に対するウイルス結合抗体の存在を検出することによって、対象の抗体価を評価することができる。抗体価は、50%のウイルスベクター中和が試料中で検出され得る前に、どのぐらい試料を希釈することができるかの尺度である。抗体価は、通常、比、例えば、1：100として表され、100部の生理食塩水溶液（すなわち、希釈剤）に対する1部の血清が、試料における50%の抗体中和をもたらすことを意味し、すなわち、ウイルス感染を50%阻害するために必要な血清の希釈の逆数が、50%の阻害での中和抗体価として指定され得る。1：10のウイルスベクター抗体の力価は、したがって、1：100の力価よりも低いレベルのウイルスベクター抗体の指標である。

【0427】

したがって、一実施形態では、対象は、遺伝子治療の投与前に、遺伝子治療の A A V

10

20

30

40

50

クターに対する抗 A A V 抗体の存在について評価される。一実施形態では、対象は、遺伝子治療の投与前に、遺伝子治療の A A V ベクターに対する中和抗 A A V 抗体の存在について評価される。中和抗 A A V 抗体を検出するための方法は、例えば、Kasprzyk T., et al. Mol Therapy. Methods & Clinical Dev. Jan 6, 2022にさらに記載されており、その内容は、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【0428】

一実施形態では、免疫モジュレーターは、約 1 : 5 未満（例えば、1 : 1、1 : 2、1 : 3、または 1 : 4）である、対象由来の生体試料、例えば、血液試料中に存在するウイルスベクター結合抗体の力価を有する対象に投与され、ここで、10,000部の緩衝液に希釈された1部の生体試料は、50%のウイルスベクター中和をもたらす。

10

【0429】

一実施形態では、免疫モジュレーターは、A A V 遺伝子治療で効果的に処置され得る対象のプールを拡大するために、1.5より大きいまたはそれに等しく、約 1 : 10 未満（例えば、1 : 6、1 : 7、1 : 8、または 1 : 9）である、対象由来の生体試料または血液製剤中に存在するウイルスベクター結合抗体の力価を有する対象に投与され、ここで、10,000部の緩衝液に希釈された1部の生体試料または血液製剤は、50%のウイルスベクター中和をもたらす。現在、1 : 5 またはそれよりも高いウイルス中和抗体レベルを有するプロスペクティブな患者は、そのような処置から排除され、すなわち、それらは、良好な候補ではない。1 : 5 よりも大きいまたはそれに等しいが、1 : 10 未満である抗体価を有する対象への免疫モジュレーターの投与は、対象に存在する抗体価を 1 : 5 未

20

【0430】

一実施形態では、免疫モジュレーターは、1 : 5 よりも大きいまたはそれに等しく、約 1 : 25 未満（例えば、1 : 6、1 : 7、1 : 8、1 : 9、1 : 10、1 : 11、1 : 12、1 : 13、1 : 14、1 : 15、1 : 16、1 : 17、1 : 18、1 : 19、1 : 20、1 : 21、1 : 22、1 : 23 および 1 : 24）である、対象由来の生体試料、例えば、血液試料中に存在するウイルスベクター結合抗体の力価を有することが見出された対象に投与され、ここで、10,000部の緩衝液に希釈された1部の生体試料または血液製剤は、50%のウイルスベクター中和をもたらす。例えば、1 : 5 よりも大きいまたはそれに等しいが、1 : 15 未満である力価を有する対象への免疫モジュレーターの投与は、対象に存在する抗体価を 1 : 5 未満まで減少させると予想され、それにより、対象は、組換えウイルスベクター（例えば、遺伝子治療ベクター）の投与のための候補として適格である。一実施形態では、免疫モジュレーターは、1 : 5 よりも大きいまたはそれに等しく、約 1 : 100 未満（例えば、1 : 6、1 : 7、1 : 8、1 : 9、1 : 10、1 : 11、1 : 12、1 : 13、1 : 14、1 : 15、1 : 16、1 : 17、1 : 18、1 : 19、1 : 20、1 : 21、1 : 22、1 : 23、1 : 24、1 : 25、1 : 30、1 : 35、1 : 40、1 : 45、1 : 50、1 : 55、1 : 60、1 : 65、1 : 70、1 : 75、1 : 80、1 : 85、1 : 90、1 : 95、および 1 : 99）の、対象由来の生体試料中に存在するウイルスベクター結合抗体の抗体価を有する対象に投与され、ここで、10,000部の緩衝液に希釈された1部の生体試料または血液製剤は、50%のウイルスベクター中和をもたらす。1 : 5 よりも大きいまたはそれに等しいが、1 : 25 未満の抗体価を有する対象への免疫モジュレーターの投与は、対象に存在する抗体価を 1 : 5 未満まで減少させると予想され、それにより、対象は、組換えウイルスベクター（例えば、遺伝子治療ベクター）の投与のための候補として適格である。

30

40

【0431】

一部の実施形態では、免疫モジュレーターは、本明細書に開示される A A V ベクターの反復投薬または反復投与が可能である。例えば、本明細書に開示されるウイルスベクター、例えば、A A V ベクターと免疫モジュレーターとの投与（A A V ベクターの投与の実質的に同じ時に、またはその前もしくは後）は、規定の期間にわたって、複数回（すなわち

50

、1回よりも多い)投与することができる。例示の目的で、AAVベクターは、数回、すなわち、数週間(例えば、2週間)～数か月(例えば、2か月)にわたって、1回よりも多く投与することができる。理論に限定されることを望まないが、本明細書に開示される方法によるAAVベクターと免疫モジュレーターとの投与は、非限定的な例として、6か月の期間にわたって毎月、6週間の期間にわたって3～4回、1か月(または約4週間)または2か月(または約8週間)の期間にわたって毎週であり得る。一部の実施形態では、本明細書に開示されるAAVベクターが、免疫モジュレーターとともに、複数回(例えば、反復投薬)投与される場合(AAVベクターの投与と実質的に同じ時に、またはその前、またはその後)、ウイルスベクター、例えば、AAVベクターの用量は、例えば、本明細書に記載される単回投薬レジメンよりも低い用量で、単回投薬レジメンで典型的に使用されるよりも低い。例えば、AAVベクターの用量は、約 10^{12} 未満もしくはそれに等しいか、または約 10^{12} 未満であり得、例えば、用量は、約 10^7 、 10^8 、 10^9 、 10^{10} 、 10^{11} 、もしくは 10^{12} 、または $10^7 \sim 10^{12}$ の任意の用量であり得る。一部の実施形態では、本明細書に開示されるAAVベクターの反復投薬は、免疫モジュレーターとともに、本明細書に開示される方法に従って、対象に投与され、免疫モジュレーターは、用量間で変化させることができ、すなわち、同じまたは異なる免疫モジュレーターを、反復投薬において使用することができる。例えば、AAVの第1の用量が、免疫モジュレーターAと共投与される場合、第2または第3の用量のAAVとともに投与される第2の免疫モジュレーターは、免疫モジュレーターAとは異なり、例えば、第2の免疫モジュレーターは、免疫モジュレーターBである。例示的な目的で、開示される方法による投薬レジメンは、 10^{12} または 10^{12} 未満の濃度でのAAVベクターの投与であり得、免疫モジュレーターは、A-B-C-D、またはA-A-B-C、またはA-B-A-Cとして投与され、ここで、A、B、CおよびDは、本明細書に開示される異なる免疫モジュレーターである。言い換えれば、投薬レジメンは、期間にわたる免疫モジュレーターの複数の用量を含むことができ、ここで、その複数のそれぞれの用量は、免疫モジュレーターA、免疫モジュレーターB、免疫モジュレーターC、免疫モジュレーターD、およびそれらの組合せから独立して選択される免疫モジュレーターを含む(すなわち、それぞれの用量は、2つ以上の免疫モジュレーターを含むことができる)。そのような種々の免疫モジュレーターは、本明細書に開示されるAAVベクターの反復投薬を可能にする。一部の実施形態では、本明細書に開示されるように、例えば、免疫モジュレーター「A」は、例えば、IdESであり得、免疫モジュレーター「B」は、ImmTOR(商標)であり得る。一部の実施形態では、本明細書に開示されるAAVベクターは、第1の時点で、IdES免疫モジュレーターとともに投与され、本明細書に開示されるAAVベクターは、第2の時点で、異なる免疫モジュレーター、例えば、免疫グロブリン(immunoglobulin)分解タンパク質もしくは小分子、例えば、ImmTOR(商標)とともに投与され、またはその逆である。例えば、本明細書に開示されるAAVベクターは、第1の時点で、ImmTOR(商標)免疫モジュレーターとともに投与され得、本明細書に開示されるAAVベクターは、第2の時点で、IdESとともに投与され得る。

【0432】

本明細書の一態様は、組換えウイルスベクター(例えば、遺伝子治療ベクター)を、組換えウイルスベクター、例えば、同じ組換えウイルスベクターまたは類似の血清型を有する別のウイルスベクターを以前に受けた対象に投与するための方法であって、方法が、組換えウイルスベクターを投与する前に、免疫モジュレーターを対象に投与することを含む、方法を提供する。一実施形態では、以前に受けた組換えウイルスベクターは、投与された組換えウイルスベクターを標的とする(すなわち、認識および結合する)抗AAV抗体をもたらす免疫応答を誘発する。

【0433】

本明細書の別の態様は、組換えウイルスベクター(例えば、遺伝子治療ベクター)をウイルスベクターに以前に曝露された対象に投与するための方法であって、曝露が、投与された組換えウイルスベクターを標的とする抗AAV抗体をもたらす免疫応答を誘発し、対

象が、少なくとも1：5～1：15、少なくとも1：5～1：25、少なくとも1：5～1：50、または少なくとも1：5～1：100の抗AAV抗体価を有し、方法が、組換えウイルスベクターを投与する前に、免疫モジュレーターを対象に投与するステップを含む、方法を提供する。

【0434】

一実施形態では、免疫モジュレーターは、全身投与される。

【0435】

一部の実施形態では、免疫モジュレーターは、血液脳関門を通過する。代替の実施形態では、免疫モジュレーターは、血液脳関門を通過しない。

【0436】

一実施形態では、免疫モジュレーターは、局所投与される。例えば、組換えウイルスベクターが、脳組織に局所投与され、免疫モジュレーターが、血液脳関門を通過しない場合、免疫モジュレーターを、例えば、適切なカテーテルを介して、脳組織に直接的にまたは脊髄を循環している脳脊髄液を通して脳組織に間接的に（すなわち、脊椎穿刺）のいずれかで、脳組織に局所投与することが好ましい。

【0437】

一実施形態では、免疫モジュレーターは、中枢神経系（CNS）組織（例えば、脳組織、脊髄組織、脳脊髄液（CSF））に局所投与される。CNS組織としては、限定されるものではないが、神経細胞、グリア細胞、アストロサイト、脳脊髄液（CSF）、間質腔、骨、軟骨なども挙げられる。本明細書に記載される任意の組成物は、例えば、脳室領域、ならびに線条体（例えば、線条体の尾状核または被殻）、脊髄および神経筋接合部、または小脳小葉への注射によって、CNSまたは脳に直接送達され得る。

【0438】

一実施形態では、免疫モジュレーターは、以下のうちのいずれかに、局所投与される：神経経路、体性感覚系、視覚系、聴覚系、神経、神経内分泌系、神経血管系、脳神経伝達物質系、硬膜髄膜系、またはそれらの組合せ。

【0439】

一実施形態では、免疫モジュレーターは、眼、例えば、硝子体、網膜、または強膜に局所投与される。

【0440】

一実施形態では、免疫モジュレーターは、全身投与される。

【0441】

一部の実施形態では、免疫モジュレーターは、Ide S、Ide Z、Ide S / Z、Endo S、またはそれらの機能的バリエーションなどの免疫グロブリン分解酵素である。そのような免疫グロブリン分解酵素およびそれらの使用の非限定的な例は、US 7, 666, 582号、US 8, 133, 483号、US 20180037962号、US 20180023070号、US 20170209550号、US 8, 889, 128号、WO 2010057626号、US 9, 707, 279号、US 8, 323, 908号、US 20190345533号、US 20190262434号、US 20210246469号およびWO 2020016318号に記載されており、これらのそれぞれは、それらの全体が本明細書に参照により組み込まれる。

【0442】

一部の実施形態では、本明細書に開示される免疫モジュレーターは、任意の好適な用量、例えば、医療専門家によって決定された好適な用量で、対象に投与することができる。例えば、好適な投薬量は、対象の体重1 kgあたり約0.05 mg～約5 mg、または対象の体重1 kgあたり約0.1 mg～約4 mgであり得る。

【0443】

一部の実施形態では、本明細書に開示される免疫モジュレーター、例えば、Ide Zは、対象の体重1 kgあたり約0.01 mg～約10 mgの投薬量で投与される。例えば、好適な投薬量は、対象の体重1 kgあたり約0.05 mg～約5 mg、または対象の体重

10

20

30

40

50

1 k g あたり約 0.1 m g ～約 4 m g であり得る。

【0444】

一部の実施形態では、本明細書に開示される免疫モジュレーター、例えば、I d e S は、対象の体重 1 k g あたり約 0.01 m g ～約 10 m g の投薬量で投与される。例えば、好適な投薬量は、対象の体重 1 k g あたり約 0.05 m g ～約 5 m g、または対象の体重 1 k g あたり約 0.1 m g ～約 4 m g であり得る。

【0445】

一部の実施形態では、本明細書に開示される免疫モジュレーター、例えば、E n d o S は、対象の体重 1 k g あたり約 0.01 m g ～約 10 m g の投薬量で投与される。例えば、好適な投薬量は、対象の体重 1 k g あたり約 0.05 m g ～約 5 m g、または対象の体重 1 k g あたり約 0.1 m g ～約 4 m g であり得る。

【0446】

さらに、数値範囲への言及、例えば、「0.01～10」は、0.011、0.012、0.013 など、および 9.5、9.6、9.7、9.8、9.9、10 などを含む。例えば、対象の体重 1 k g あたり約「0.01 m g ～約 10 m g」の投薬量は、0.011 m g / k g、0.012 m g / k g、0.013 m g / k g、0.014 m g / k g、0.015 m g / k g など、および 9.5 m g / k g、9.6 m g / k g、9.7 m g / k g、9.8 m g / k g、9.9 m g / k g などを含む。

【0447】

さまざまな実施形態では、組換えウイルスベクターの対象への投与は、異種ポリヌクレオチドもしくはタンパク質、またはウイルスベクターによって封入された異種ポリヌクレオチドによってコードされるペプチドに結合する、組換えウイルスベクターまたは抗体に対する免疫応答（例えば、体液性免疫応答）を阻害、低減、または防止するために、プロテアーゼおよび／またはグリコシダーゼの投与が先行する。例えば、ウイルスベクターの投与に、プロテアーゼおよび／またはグリコシダーゼの投与が、少なくとも 1 時間、2 時間、3 時間、4 時間、5 時間、6 時間、7 時間、8 時間、9 時間、10 時間、11 時間、12 時間、13 時間、14 時間、15 時間、16 時間、17 時間、18 時間、19 時間、20 時間、21 時間、22 時間、23 時間；または少なくとも 1 日、2 日、3 日、4 日、5 日、6 日、7 日、8 日、9 日、10 日、11 日、12 日、13 日、14 日、15 日、16 日、17 日、18 日、19 日、20 日、21 日、22 日、23 日、24 日、25 日、26 日、27 日、28 日、29 日、30 日、または少なくとも 1 か月、2 か月、3 か月、4 か月、5 か月、6 か月、7 か月、8 か月、9 か月、10 か月、11 か月、または少なくとも 1 年、2 年、3 年、4 年、5 年、またはそれよりも長く先行し得る。

【0448】

一実施形態では、組換えウイルスベクターの対象への投与は、異種ポリヌクレオチドもしくはタンパク質、またはウイルスベクターによって封入された異種ポリヌクレオチドによってコードされるペプチドに結合する、組換えウイルスベクターまたは抗体に対する免疫応答（例えば、体液性免疫応答）を阻害、低減、または防止するために、プロテアーゼおよび／またはグリコシダーゼの投与と同時的に行われる。

【0449】

ある特定の実施形態では、プロテアーゼおよび／またはグリコシダーゼは、免疫応答（例えば、体液性免疫応答）の前、例えば、中和抗体の発生、または異種ポリヌクレオチド、タンパク質、もしくはウイルスベクターによって封入された異種ポリヌクレオチドによってコードされるペプチドに結合する抗体の発生前に、対象に投与される。一実施形態では、免疫応答は、組換えウイルスベクターの投与後、1 時間、2 時間、3 時間、4 時間、5 時間、6 時間、7 時間、8 時間、9 時間、10 時間、11 時間、12 時間、13 時間、14 時間、15 時間、16 時間、17 時間、18 時間、19 時間、20 時間、21 時間、22 時間、23 時間以内；もしくは 1 日、2 日、3 日、4 日、5 日以内、またはそれよりも長くで起こる。

【0450】

一部の実施形態では、免疫モジュレーターは、プロテアソーム阻害剤である。一部の実施形態では、免疫モジュレーターは、プロテアーゼまたはグリコシダーゼである。ある特定の態様では、プロテアソーム阻害剤は、ボルテゾミブである。実施形態の一部の態様では、免疫モジュレーターは、ボルテゾミブ、および抗CD20抗体、例えば、リツキシマブを含む。実施形態の他の態様では、免疫モジュレーターは、ボルテゾミブ、リツキシマブ、メトトレキサート、および静脈内ガンマグロブリンを含む。プロテアソーム阻害剤、ならびにそれらのリツキシマブ、メトトレキサートおよび静脈内ガンマグロブリンとの組合せの非限定的な例は、US10,028,993号、US9,592,247号、およびUS8,809,282号に記載されており、これらのそれぞれは、その全体が参照により組み込まれる。

10

【0451】

代替の実施形態では、免疫モジュレーターは、NF-κB経路の阻害剤である。実施形態のある特定の態様では、免疫モジュレーターは、ラパマイシン、またはその機能的バリエーションである。ラパマイシンの使用の非限定的な例は、US10,071,114号、US20160067228号、US20160074531号、US20160074532号、US20190076458号、US10,046,064号に記載されており、これらはそれぞれ、それらの全体が参照により本明細書に組み込まれる。実施形態の他の態様では、免疫モジュレーターは、免疫抑制剤を含む合成ナノキャリアである。免疫抑制剤、合成ナノキャリアにカップリングされた免疫抑制剤、ラパマイシンを含む合成ナノキャリア、および／または免疫寛容原性合成ナノキャリア、それらの用量、投与および使用の非限定的な例は、US20150320728号、US20180193482号、US20190142974号、US20150328333号、US20160243253号、US10,039,822号、US20190076522号、US20160022650号、US10,441,651号、US10,420,835号、US20150320870号、US2014035636号、US10,434,088号、US10,335,395号、US20200069659号、US10,357,483号、US20140335186号、US10,668,053号、US10,357,482号、US20160128986号、US20160128987号、US20200038462号、US20200038463号に記載されており、これらのそれぞれは、それらの全体が参照により本明細書に組み込まれる。

20

30

【0452】

一部の実施形態では、免疫モジュレーターは、Kishimoto, et al., 2016, Nat Nanotechnol, 11(10): 890-899; Maldonado, et al., 2015, PNAS, 112(2): E156-165)、ならびにUS20200038463号および米国特許第9,006,254号に開示される、ラパマイシンを含む合成ナノキャリア（すなわち、ImmTOR（商標）ナノ粒子）を含み、これらのそれぞれは、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。一部の実施形態では、免疫モジュレーターは、工学的に操作された細胞、例えば、WO2017192786号に記載されるSQZ技術を使用して改変された免疫細胞であり、これは、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【0453】

一部の実施形態では、免疫モジュレーターは、ポリ-ICLC、1018 ISS、アルミニウム塩、Amplivax、AS15、BCG、CP-870,893、CpG7909、CyaA、dSLIM、GM-CSF、IC30、IC31、イミキモド、ImuFact IMP321、IS Patch、ISS、ISCOMATRIX、JuvImmune、LipoVac、MF59、モノホスホリルリピドA、Montanide IMS 1312、Montanide ISA 206、Montanide ISA 50V、Montanide ISA-51、OK-432、OM-174、OM-197-MP-EC、ONTAK、PEPTEL、ベクター系、PLGAマイクロ粒子、レシキモド、SRL172、ピロソームおよび他のウイルス様粒子、YF-17D、VEGFトラップ、R848、ベクターグルカン、Pam3Cys、Aquila's Q

40

50

S 2 1 s t i m u l o n、ならびにそれらの組み合わせからなる群から選択される。別のさらなる実施形態では、免疫モジュレーターまたはポリ-ICLC。

【0454】

一部の実施形態では、免疫モジュレーターは、本明細書に開示される少なくとも1つのrAAVを含む組成物と組み合わせて投与することもできる、クロロキン（TLRシグナル伝達阻害剤）および／または2-アミノプリン（PKR阻害剤）などの細胞において自然免疫応答を阻害する小分子である。市販のTLRシグナル伝達阻害剤のいくつかの非限定的な例としては、BX795、クロロキン、CLE-095、OxPAPC、ポリミキシンB、およびラパマイシン（すべてINVIVOGENから購入可能）が挙げられる。加えて、2-アミノプリン、BX795、クロロキン、およびH-89などのパターン認識受容体（PRR）（自然免疫シグナル伝達に関与する）の阻害剤も、本明細書に開示されるin vivoタンパク質発現のために、本明細書に開示される少なくとも1つのrAAVベクターを含む組成物および方法において使用することができる。

10

【0455】

一部の実施形態では、免疫モジュレーターは、体外循環式光化学療法、またはECPとしても公知のフォトフェーシスである。フォトフェーシス処置は、対象の血液において行われる。IVまたはカテーテルのいずれかを使用して、血液は、白血球細胞（白血球）の一部分を分離するデバイスを通して、対象から送られる。分離された白血球細胞は、8-メトキシプソラレン（8-MOP）と呼ばれる天然に存在する光感作化学物質で処置され、次いで、特定の波長の紫外（UVA）光に曝露される。UVA光への曝露後、血液は、対象に戻し投与される。フォトフェーシスは、少なくとも1日1回行うことができる。一実施形態では、フォトフェーシスは、組換えウイルスベクターの投与前に、1週間に少なくとも1、2、3、4、5、6、7回行われる。一実施形態では、フォトフェーシスは、組換えウイルスベクターの投与前に少なくとも1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12週間もしくはそれよりも長く、または少なくとも1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、または12か月間、1週間に少なくとも1、2、3、4、5、6、7回行われる。したがって、免疫モジュレーターの対象への投与は、対象においてフォトフェーシスを行うことを含み得る。フォトフェーシスを、本明細書に記載される酵素、ナノ粒子、および化学組成物、ならびに／または複数の投薬レジメンの一部分から選択される第2の免疫モジュレーターの投与と併せて行うことができることが理解される。

20

30

【0456】

一部の実施形態では、改変ウイルスカプシドを有するrAAVベクターは、NLRX1などの自然免疫の負の調節因子をコードすることもできる。したがって、一部の実施形態では、rAAVベクターは、NLRX1、NS1、NS3／4A、またはA46Rのうちの1つもしくは複数を必要に応じてコードすることもできる。加えて、一部の実施形態では、本明細書に開示される少なくとも1つのrAAVベクターを含む組成物は、組織または対象によって生じる自然免疫応答を回避するために、自然免疫系の阻害剤をコードする合成の改変されたRNAを含むこともできる。

【0457】

40

一部の実施形態では、本明細書に開示される投与方法における使用のための免疫モジュレーターは、免疫抑制薬または免疫抑制剤である。本明細書で使用される場合、「免疫抑制薬または免疫抑制剤」という用語は、正常な免疫機能を阻害または妨げる医薬品を指す。本明細書に開示される方法に好適な免疫抑制薬または免疫抑制剤の例としては、米国特許公開第2002／0182211号に開示されるCTLA4およびB7経路を介したT細胞およびB細胞のカップリングを妨げる薬剤などの、T細胞／B細胞共刺激経路を阻害する薬剤が挙げられ、これは、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。一実施形態では、免疫抑制剤は、シクロスポリンAである。免疫抑制剤の他の例としては、ミオフェニレートモフェチル、ラパマイシン、および抗胸腺細胞グロブリンが挙げられる。種々の実施形態では、免疫抑制薬は、本明細書に開示される少なくとも1つのrAAVベクタ

50

ーを含む組成物中で、または別々の組成物中であるが、本明細書に開示されている投与の方法に従って、少なくとも1つのr A A Vベクターを含む組成物の投与と同時に、もしくはその前に、もしくはその後に投与される。免疫抑制薬は、投与の経路に適合する製剤中で投与され、所望の治療効果を達成するのに十分な投薬量で対象に投与される。一部の実施形態では、免疫抑制薬は、本明細書に開示されるr A A Vベクターに対する耐容性を誘導するのに十分な時間、一時的に投与される。

【0458】

本明細書に開示される方法および組成物の任意の実施形態では、本明細書に開示される組成物を投与される対象は、免疫抑制剤も投与される。A A Vを投与される患者の免疫応答の免疫抑制を達成するためのさまざまな方法が公知である。当技術分野において公知の方法は、患者に、免疫抑制剤、例えば、プロテアソーム阻害剤を投与することを含む。例えば、両方ともそれらの全体が参照により本明細書に組み込まれる米国特許第9, 169, 492号および米国特許出願第15 / 796, 137号に開示される当技術分野において公知の1つのそのようなプロテアソーム阻害剤は、ボルテゾミブである。一部の実施形態では、免疫抑制剤は、例えば、抗体産生細胞の排除または抑制により、免疫応答を抑制することができるポリクローナル抗体、モノクローナル抗体、s c f vまたは他の抗体由来の分子を含む抗体である。さらなる実施形態では、免疫抑制エレメントは、低分子ヘアピン型RNA (s h RNA) である。この実施形態では、s h RNAのコード領域は、r A A Vカセットに含まれ、一般に、下流、すなわち、ポリAテールの3'に位置する。s h RNAは、サイトカイン、増殖因子(トランスフォーミング増殖因子β 1およびβ 2、T N F、ならびに当技術分野において公知である他のものを含む)などの免疫刺激剤の発現を低減または排除するために、標的とされ得る。

【0459】

そのような免疫モジュレート剤の使用は、数か月および／または数年にわたって、複数回の投薬(例えば、複数回の投与)を使用する能力を促進する。これは、下記で議論される複数の薬剤、例えば、複数の遺伝子をコードするr A A Vベクターの使用、または対象への複数回の投与を可能にする。

【0460】

定義

便宜上、本明細書、実施例、および添付の特許請求の範囲で使用される一部の用語および語句の意味を下記に提供する。他に明記されない限り、または文脈から暗示されない限り、以下の用語および語句は、下記に提供される意味を含む。定義は、特定の実施形態を記載するのを助けるために提供され、特許請求の範囲に記載された技術が特許請求の範囲によってのみ限定されるので、定義は、本明細書に記載の特許請求の範囲に記載された技術を限定することを意図するものではない。他に定義されない限り、本明細書で 사용되는すべての技術用語および科学用語は、本技術が属する技術分野における当業者によって通常理解されるものと同じ意味を有する。当技術分野における用語の使用と本明細書で提供されるその定義との間に明らかな矛盾が存在する場合、本明細書内で提供される定義が有効であるものとする。

【0461】

便宜上、本明細書、実施例および添付の特許請求の範囲において、本明細書で用いられるある特定の用語を、ここに集める。

【0462】

物質の「有効量」は、所望の効果を生じるのに十分な量である。一部の実施形態では、単離された核酸の有効量は、対象の標的組織の十分な数の標的細胞にトランスフェクトする(またはr A A V媒介送達の文脈では感染させる)のに十分な量である。一部の実施形態では、標的組織は、中枢神経系(C N S)組織(例えば、脳組織、脊髄組織、脳脊髄液(C S F)など)である。一部の実施形態では、単離された核酸(例えば、r A A Vを介して送達され得るもの)の有効量は、対象において治療利益を有する、例えば、対象のM D S - U P D R Sスコアを減少または安定化する、対象の寿命を延長させる、対象におい

て疾患の1つまたは複数の症状（例えば、PDの症状）を改善するなど十分な量であり得る。有効量は、例えば、対象の種、年齢、体重、健康、および標的にされる組織などの各種の因子に依存し、そのため、本開示の他の箇所に記載されるように、対象および組織の間で変化し得る。

【0463】

「減少させる」、「低減された」、「低減」、または「阻害する」という用語はすべて、統計学的に有意な量での減少を意味するために、本明細書で使用される。一部の実施形態では、「低減する」、「低減」または「減少させる」または「阻害する」は、典型的には、参照レベル（例えば、所与の処置または薬剤の非存在）と比較して、少なくとも10%の減少を意味し、例えば、少なくとも約10%、少なくとも約20%、少なくとも約25%、少なくとも約30%、少なくとも約35%、少なくとも約40%、少なくとも約45%、少なくとも約50%、少なくとも約55%、少なくとも約60%、少なくとも約65%、少なくとも約70%、少なくとも約75%、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約98%、少なくとも約99%、またはそれよりも大きな減少を含み得る。本明細書で使用される場合、「低減」または「阻害」は、参照レベルと比較して、完全な阻害または低減を包含しない。「完全な阻害」は、参照レベルと比較して、100%の阻害である。減少は、好ましくは、所与の障害を有さない個体についての正常な範囲内として許容されるレベルへの低下であり得る。

10

【0464】

「増加した」、「増加する」、「増強する」、または「活性化する」という用語はすべて、統計学的に有意な量での増加を意味するために、本明細書で使用される。一部の実施形態では、「増加した」、「増加する」、「増強する」、または「活性化する」という用語は、参照レベルと比較して、少なくとも10%の増加、例えば、参照レベルと比較して、少なくとも約20%、もしくは少なくとも約30%、もしくは少なくとも約40%、もしくは少なくとも約50%、もしくは少なくとも約60%、もしくは少なくとも約70%、もしくは少なくとも約80%、もしくは少なくとも約90%、または100%を含んで最大で100%の増加、または10~100%の間の任意の増加、あるいは参照レベルと比較して、少なくとも約2倍、もしくは少なくとも約3倍、もしくは少なくとも約4倍、もしくは少なくとも約5倍、もしくは少なくとも約10倍の増加、または2倍~10倍もしくはそれよりも大きな倍数の間の任意の増加を意味し得る。マーカーまたは症状の文脈では、「増加」は、そのようなレベルの統計学的に有意な増加である。

20

30

【0465】

本明細書で使用される場合、「対象」は、ヒトまたは非ヒト動物を意味する。通常、非ヒト動物は、霊長類、げっ歯動物、家畜動物、または狩猟動物などの脊椎動物である。霊長類としては、チンパンジー、カニクイザル、クモザル、およびマカク、例えば、アカゲザルが挙げられる。げっ歯動物としては、マウス、ラット、ウッドチャック、フェレット、ウサギおよびハムスターが挙げられる。家畜動物および狩猟動物としては、ウシ、ウマ、ブタ、シカ、バイソン、バッファロー、ネコ科の種、例えば、イエネコ、イヌ科の種、例えば、イヌ、キツネ、オオカミ、鳥類の種、例えば、ニワトリ、エミュー、ダチョウ、ならびに魚類、例えば、マス、ナマズおよびサケが挙げられる。一部の実施形態では、対象は、哺乳動物、例えば、霊長類、例えば、ヒトである。「個体」、「患者」および「対象」という用語は、本明細書で互換的に使用される。

40

【0466】

好ましくは、対象は、哺乳動物である。哺乳動物は、ヒト、非ヒト霊長類、マウス、ラット、イヌ、ネコ、ウマ、またはウシであり得るが、これらの例に限定されない。ヒト以外の哺乳動物は、PDの動物モデルを表す対象として有利に使用することができる。対象は、雄または雌であり得る。

【0467】

対象は、処置を必要とする状態（例えば、PD）またはそのような状態に関連する1つ

50

もしくは複数の合併症を有すると以前に診断されているか、あるいはそれを患っているまたは有すると特定された対象であり得、必要に応じて、状態または状態に関連する1つもしくは複数の合併症に対する処置を既に受けている。あるいは、対象はまた、状態または状態に関連する1つもしくは複数の合併症を有するとして以前に診断されていない対象であり得る。例えば、対象は、状態または状態に関連する1つもしくは複数の合併症についての1つまたは複数のリスク因子を示す対象、あるいはリスク因子を示さない対象であり得る。

【0468】

特定の状態（例えば、PD）に対する処置を「必要とする対象」は、その状態を有するか、その状態を有すると診断されたか、またはその状態を発生するリスクがある対象であり得る。

10

【0469】

本明細書で使用される場合、「タンパク質」および「ポリペプチド」という用語は、隣接する残基のアルファアミノ基とカルボキシ基との間のペプチド結合によって互いに接続された、一連のアミノ酸残基を示すために、本明細書において互換的に使用される。「タンパク質」および「ポリペプチド」という用語は、そのサイズまたは機能にかかわらず、改変されたアミノ酸（例えば、リン酸化、糖化、グリコシル化など）およびアミノ酸アナログを含む、アミノ酸のポリマーを指す。「タンパク質」および「ポリペプチド」は、多くの場合、比較的大きなポリペプチドに関して使用される一方で、「ペプチド」という用語は、多くの場合、小さいポリペプチドに関して使用されるが、これらの用語の使用は、当技術分野において重複している。「タンパク質」および「ポリペプチド」という用語は、遺伝子産物およびその断片に言及する場合、本明細書において互換的に使用される。そのため、例示的なポリペプチドまたはタンパク質は、遺伝子産物、天然に存在するタンパク質、ホモログ、オルソログ、パラログ、断片および他の等価物、前述のもののバリエーション、断片、ならびにアナログを含む。

20

【0470】

バリエーションアミノ酸またはDNA配列は、ネイティブ配列または参照配列に対して、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、またはそれよりも高く同一であり得る。ネイティブ配列と突然変異体配列の間の相同性（同一性パーセント）の度合いは、例えば、ワールドワイドウェブにおいてこの目的で一般に用いられる無料で利用可能なコンピュータプログラム（例えば、デフォルト設定を用いるBLASTpまたはBLASTn）を使用して2つの配列を比較することによって、決定することができる。

30

【0471】

ネイティブアミノ酸配列の変更は、当業者に公知のいくつかの技法のいずれかによって達成することができる。突然変異は、例えば、ネイティブ配列の断片へのライゲーションを可能にする制限部位に隣接した突然変異体配列を含有するオリゴヌクレオチドを合成することによって、特定の遺伝子座で導入することができる。ライゲーション後、得られる再構築された配列は、所望のアミノ酸の挿入、置換、または欠失を有するアナログをコードする。あるいは、オリゴヌクレオチド指向性部位特異的突然変異誘発の手順を用いて、必要とされる置換、欠失、または挿入により変更された特定のコドンを含む変異されたヌクレオチド配列を提供することができる。そのような変更を行うための技法は、非常によく確立されており、例えば、Walder et al. (Gene 42:133, 1986); Bauer et al. (Gene 37:73, 1985); Craik (BioTechniques, January 1985, 12-19); Smith et al. (Genetic Engineering: Principles and Methods, Plenum Press, 1981); ならびに米国特許第4,518,584号および同第4,737,462号によって開示されるものが挙げられ、これらは、それらの全体が参照により本明細書に組み込まれる。ポリペプチドの適切なコンフォメーションを維持することに関与しない任意のシステイン残基を、一般にセリンで置換して、分子の酸化安定性を改

40

50

善し、異常な架橋を防止することもできる。逆に、システイン結合を、ポリペプチドに付加して、その安定性を改善するか、またはオリゴマー化を容易にすることができる。

【0472】

本明細書で使用される場合、「核酸」または「核酸配列」という用語は、リボ核酸、デオキシリボ核酸またはそれらのアナログの単位を組み込む、任意の分子、好ましくは、ポリマー分子を指す。核酸は、一本鎖または二本鎖のいずれかであり得る。一本鎖核酸は、変性した二本鎖DNAの1つの核酸鎖であり得る。あるいは、これは、任意の二本鎖DNAに由来しない一本鎖核酸であり得る。一態様では、核酸は、DNAであり得る。別の態様では、核酸は、RNAであり得る。好適なDNAとしては、例えば、ゲノムDNAまたはcDNAが挙げられ得る。好適なRNAとしては、例えば、mRNA、miRNAが挙げられ得る。

10

【0473】

態様のいずれかの一部の実施形態では、本明細書に記載されるポリペプチド、核酸または細胞は、工学的に操作することができる。本明細書で使用される場合、「工学的に操作された」は、人間の手によって操作されている態様を指す。例えば、ポリペプチドは、ポリペプチドの少なくとも1つの態様、例えば、その配列が、人間の手によって、それが天然に存在する態様とは異なるように操作されている場合に、「工学的に操作された」と考えられる。通常の実施であるように、および当業者によって理解されるように、工学的に操作された細胞の子孫は、典型的には、実際の操作が以前において実体で行われたとしても、「工学的に操作された」と依然として称される。

20

【0474】

バリエーションアミノ酸またはDNA配列は、ネイティブ配列または参照配列に対して、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、またはそれよりも高く同一であり得る。ネイティブ配列と突然変異体配列の間の相同性（同一性パーセント）の度合いは、例えば、ワールドワイドウェブにおいてこの目的で一般に用いられる無料で利用可能なコンピュータプログラム（例えば、デフォルト設定を用いるBLASTpまたはBLASTn）を使用して2つの配列を比較することによって、決定することができる。

【0475】

「外因性」という用語は、そのネイティブ起源以外の細胞に存在する物質を指す。「外因性」という用語は、本明細書で使用される場合、それが通常見出されず、核酸またはポリペプチドをそのような細胞または生物に導入しようとする、細胞または生物などの生物システムに、人間の手を含むプロセスによって導入された核酸（例えば、ポリペプチドをコードする核酸）またはポリペプチドを指し得る。あるいは、「外因性」は、それが比較的低い量で見出され、細胞または生物中の核酸またはポリペプチドの量を増加させようとする、例えば、異所発現またはレベルを作出しようとする、細胞または生物などの生物システムに、人間の手を含むプロセスによって導入された核酸またはポリペプチドを指し得る。対照的に、「内因性」という用語は、生物システムまたは細胞に対してネイティブである物質を指す。本明細書で使用される場合、「異所性」は、普通ではない場所および／または量で見出される物質を指す。異所性の物質は、所与の細胞において通常見出されるが、非常に低い量および／または異なる時に見られる物質であり得る。異所性はまた、天然で見出されないか、またはその天然環境において所与の細胞において発現されない、ポリペプチドまたは核酸などの物質も含む。

30

40

【0476】

「ベクター」という用語は、本明細書で使用される場合、宿主細胞への送達のため、または異なる宿主細胞間での移入のために設計された核酸構築物を指す。本明細書で使用される場合、ベクターは、ウイルスまたは非ウイルスであり得る。「ベクター」という用語は、適切な制御エレメントに関連する場合に複製が可能であり、遺伝子配列を細胞に移入することができる、任意の遺伝エレメントを包含する。ベクターとしては、限定されるも

50

のではないが、クローニングベクター、発現ベクター、プラスミド、ファージ、トランスポゾン、コスミド、染色体、ウイルス、ビリオンなどが挙げられ得る。

【0477】

態様のいずれかの一部の実施形態では、ベクターは、組換えであり、例えば、これは、少なくとも2つの異なる起源が起源である配列を含む。態様のいずれかの一部の実施形態では、ベクターは、少なくとも2つの異なる種が起源である配列を含む。態様のいずれかの一部の実施形態では、ベクターは、少なくとも2つの異なる遺伝子が起源である配列を含み、例えば、これは、融合タンパク質、または少なくとも1つの非ネイティブ（例えば、異種）遺伝制御エレメント（例えば、プロモーター、サプレッサー、アクチベーター、エンハンサー、応答エレメントなど）に作動可能に連結した発現産物をコードする核酸を含む。

10

【0478】

態様のいずれかの一部の実施形態では、本明細書に記載されるベクターまたは核酸は、コドン最適化され、例えば、核酸配列のネイティブ配列または野生型配列は、変更または工学的に操作された核酸が、ネイティブ／野生型配列と同じポリペプチド発現産物をコードするが、所望の発現系において改善された効率で転写および／または翻訳されるように、代替のコドンを含むように変更または工学的に操作されている。態様のいずれかの一部の実施形態では、発現系は、ネイティブ／野生型配列の起源以外の生物（またはそのような生物から得られる細胞）である。態様のいずれかの一部の実施形態では、本明細書に記載されるベクターおよび／または核酸配列は、哺乳動物または哺乳動物細胞、例えば、マウス、マウス細胞、またはヒト細胞における発現のためにコドン最適化されている。態様のいずれかの一部の実施形態では、本明細書に記載されるベクターおよび／または核酸配列は、酵母または酵母細胞における発現のためにコドン最適化されている。態様のいずれかの一部の実施形態では、本明細書に記載されるベクターおよび／または核酸配列は、細菌細胞における発現のためにコドン最適化されている。態様のいずれかの一部の実施形態では、本明細書に記載されるベクターおよび／または核酸配列は、E. coli 細胞における発現のためにコドン最適化されている。

20

【0479】

本明細書で使用される場合、「発現ベクター」という用語は、ベクター上の転写調節配列に連結された配列からRNAまたはポリペプチドの発現を指示するベクターを指す。発現される配列は、必ずしもそうではないが、細胞に対して異種である場合が多い。発現ベクターは、追加のエレメントを含んでいてもよく、例えば、発現ベクターは、2つの複製系を有していてもよく、このようにして、これが、2つの生物において、例えば、発現のためのヒト細胞において、ならびにクローニングおよび増幅のための原核生物宿主において、維持されることを可能にする。

30

【0480】

本明細書で使用される場合、「ウイルスベクター」という用語は、ウイルス起源の少なくとも1つのエレメントを含み、ウイルスベクター粒子にパッケージングされる能力を有する、核酸ベクター構築物を指す。ウイルスベクターは、非必須ウイルス遺伝子の代わりに、本明細書に記載されるポリペプチドをコードする核酸を含有することができる。ベクターおよび／または粒子は、in vitro または in vivo のいずれかで、任意の核酸を細胞に移入する目的で利用されてもよい。多数の形態のウイルスベクターが当技術分野において公知である。本明細書に記載されるウイルスベクターの非限定的な例としては、AAVベクター、アデノウイルスベクター、レンチウイルスベクター、レトロウイルスベクター、ヘルペスウイルスベクター、アルファウイルスベクター、ポックスウイルスベクター、バキュロウイルスベクター、およびキメラウイルスベクターが挙げられる。

40

【0481】

本明細書に記載されるベクターは、一部の実施形態では、他の好適な組成物および治療

50

と組み合わせることができることが理解されるべきである。一部の実施形態では、ベクターは、エピソームである。好適なエピソームベクターの使用は、対象における目的のヌクレオチドを、高コピー数の染色体外DNAにおいて維持する手段を提供し、それによって、染色体への組み込みの潜在的効果を排除する。

【0482】

本明細書で使用される場合、「処置する」、「処置」、「処置すること」、または「改善」という用語は、治療的処置を指し、ここで、その目的は、疾患または障害、例えば、PDに関連する状態の進行または重症度を、反転、軽減、改善、阻害、遅くするまたは停止することである。「処置すること」という用語は、例えば、対象の初期（すなわち、投与前の）MDS-UPDRSスコアを減少または安定化することによって評価されるように、状態、疾患または障害の少なくとも1つの有害な効果または症状を低減することまたは軽減することを含む。処置は、一般に、1つまたは複数の症状または臨床マーカーが低減される場合に、「有効」である。あるいは、処置は、疾患の進行が低減されるか、または中断される場合に、「有効」である。すなわち、「処置」は、症状またはマーカーの改善だけではなく、処置の非存在下で予想されるであろうものと比較して、症状の進行または悪化の中止、またはその少なくとも減速を含む。有益な臨床結果または所望される臨床結果としては、限定されるものではないが、検出可能または検出不能にかかわらず、1つもしくは複数の症状の軽減、疾患の程度の減弱、疾患の安定化した（すなわち悪化していない）状態、疾患進行の遅延もしくは減速、疾患状態の改善もしくは緩和、寛解（部分的または全体的にかかわらない）、および／または死亡率の減少が挙げられる。疾患の「処置」という用語は、疾患の症状または副作用からの解放（緩和処置を含む）を提供することを含む。

【0483】

本明細書で使用される場合、「医薬組成物」という用語は、薬学的に許容される担体、例えば、製薬業界において一般に使用される担体と組み合わせた活性薬剤を指す。「薬学的に許容される」という語句は、正当な医学的判断の範囲内で、妥当な利益／リスク比にふさわしい、過度の毒性、刺激、アレルギー反応、または他の問題もしくは合併症がなく、人間および動物の組織と接触して使用するのに好適である、これらの化合物、材料、組成物、および／または剤形を指すために本明細書で用いられる。態様のいずれかの一部の実施形態では、薬学的に許容される担体は、水以外の担体であり得る。態様のいずれかの一部の実施形態では、薬学的に許容される担体は、クリーム、エマルジョン、ゲル、リポソーム、ナノ粒子、および／または軟膏であり得る。態様のいずれかの一部の実施形態では、薬学的に許容される担体は、人工的なまたは工学的に操作された担体、例えば、活性成分が天然に存在すると見出されないであろう担体であり得る。

【0484】

本明細書で使用される場合、「投与すること」という用語は、薬剤の所望の部位での少なくとも部分的な送達をもたらす方法または経路による、本明細書に開示される化合物の対象への配置を指す。本明細書に開示される化合物を含む医薬組成物は、対象における有効な処置をもたらす任意の適切な経路によって投与され得る。一部の実施形態では、投与は、物理的なヒトの活動、例えば、注射、摂取の行動、適用の行動、および／または送達デバイスもしくは機械の操作を含む。そのような活動は、例えば、医療専門家および／または処置される対象によって行うことができる。

【0485】

本明細書で使用される場合、「接触させること」または「導入すること」は、薬剤を少なくとも1つの細胞に送達するか、または曝露するための任意の好適な手段を指す。例示的な送達方法としては、限定されるものではないが、細胞培養培地への直接送達、灌流、注射、または当業者に周知の他の送達方法が挙げられる。一部の実施形態では、接触させることは、物理的なヒト活動、例えば、注射；分注、混合、および／もしくはデカンテーションする行動；ならびに／または送達デバイスもしくは機械の操作を含む。

【0486】

10

20

30

40

50

本明細書で使用される場合、「オン」は、対象が抗パーキンソン治療薬（例えば、レボドパ）を投与されている期間を指し、ここで、対象は、治療薬に対する有益な応答を有する。

【0487】

本明細書で使用される場合、「オフ」は、対象が抗パーキンソン治療薬（例えば、レボドパ）を投与されていない期間（例えば、最大で12時間）、または対象が、抗パーキンソン治療薬（例えば、レボドパ）を投与されているが、治療薬に対する低い有益な応答を示す期間を指す。

【0488】

本明細書で使用される場合、「cDNA」または「cDNA分子」は、RNA依存性DNAポリメラーゼまたは逆転写酵素が触媒する、鋳型として目的のRNA分子の少なくとも一部分を使用して目的のRNA分子にアニールするプライマーの伸長によって合成される「相補的DNA」を指す（このプロセスは、「逆転写」とも呼ばれる）。合成されたcDNA分子は、鋳型の少なくとも一部分「と相同」であるか、「との塩基対」であるか、または「それと複合体を形成」する。

【0489】

「統計学的に有意な」または「有意に」という用語は、統計学的有意性を指し、一般に、2標準偏差（2SD）またはより大きな差を意味する。

【0490】

操作例以外に、または他に示される場合、本明細書で使用される成分または反応条件の量を表すすべての数は、すべての例において、「約」という用語によって修飾されていると理解されるべきである。「約」という用語は、パーセンテージと併せて使用される場合、±1%を意味し得る。

【0491】

本明細書で使用される場合、「含む（comprising）」という用語は、表される定義された要素に加えて、他の要素も存在し得ることを意味する。「含む（comprising）」の使用は、限定よりもむしろ包含を示す。

【0492】

「からなる（consisting of）」という用語は、本明細書に記載される組成物、方法、およびそれらのそれぞれの構成要素を指し、実施形態のその記載において列挙されていないすべての要素を除外する。

【0493】

本明細書で使用される場合、「から本質的になる（consisting essentially of）」という用語は、所与の実施形態に必要とされるこれらの要素を指す。この用語は、本明細書に記載の技術の実施形態の基本的なおよび新規のまたは機能的な特徴に実質的に影響を及ぼさない追加の要素の存在を許容する。

【0494】

本明細書で使用される場合、「に対応する」という用語は、第1のポリペプチドもしくは核酸において列挙された位置のアミノ酸もしくはヌクレオチド、または第2のポリペプチドもしくは核酸において列挙されたアミノ酸もしくはヌクレオチドと同等であるアミノ酸もしくはヌクレオチドを指す。同等の列挙されたアミノ酸またはヌクレオチドは、当技術分野において公知の相同性プログラム、例えば、BLASTの度合いを使用して、候補配列のアライメントによって決定することができる。

【0495】

本明細書で使用される場合、「特異的結合」という用語は、第1の実体が第2の実体に結合し、標的ではない第3の実体にそれが結合するよりも高い特異性および親和性で実体を標的にする、2つの分子、化合物、細胞および／または粒子の間の化学的相互作用を指す。一部の実施形態では、特異的結合は、第3の非標的実体に対する親和性よりも、少なくとも10倍、少なくとも50倍、少なくとも100倍、少なくとも500倍、少なくとも1000倍、またはそれより高い倍数である、第1の実体の第2の標的実体に対する親

10

20

30

40

50

和性を指し得る。所与の標的に対して特異的な試薬は、利用されるアッセイの条件下で、その標的に対して特異的結合を示す試薬である。

【0496】

「a」、「an」、および「the」という単数形の用語は、文脈が他に明確に示さない限り、複数の指示対象を含む。同様に、「または」という語は、文脈が他に明確に示さない限り、「および」を含むことを意図する。本明細書に記載されるものに類似のそれと同等の方法および材料は、本開示の実施または試験において使用することができるが、好適な方法および材料を、下記に記載する。略語の「例えば (e. g.)」は、ラテン語の例えば (exempli gratia) に由来し、非限定的な例を示すために本明細書で使用される。そのため、略語の「例えば (e. g.)」は、「例えば (for example)」という用語と同義である。

10

【0497】

本明細書に開示される技術の代替の要素または実施形態のグループ分けは、限定として解釈されるべきではない。それぞれの群のメンバーは、個々に、またはその群の他のメンバーもしくは本明細書に見出される他の要素との任意の組合せで、言及し、特許請求の範囲に記載することができる。群の1つまたは複数のメンバーは、便宜上および／または特許性の理由のために、群に含めることができ、または群から削除することができる。任意のそのような包含または削除が生じる場合、本明細書は、ここで、改変された群を含有すると見なされ、そのため、添付の特許請求の範囲において使用されるすべてのマーカッシュ群の書面の記載を満たす。

20

【0498】

本明細書で他に定義されない限り、本出願と併せて使用される科学用語および技術用語は、本開示が属する技術分野における当業者によって通常理解される意味を有するものとする。本技術は、本明細書に記載される特定の方法論、プロトコール、および試薬などに限定されず、それ自体変更することができることが理解されるべきである。本明細書で使用される専門用語は、特定の実施形態のみを記載する目的のものであり、本技術の範囲を限定することを意図するものではなく、これは、特許請求の範囲によってのみ定義される。免疫学および分子生物学における一般用語の定義は、The Merck Manual of Diagnosis and Therapy, 20th Edition, Merck Sharp & Dohme Corp., 2018 (ISBN 0911910190, 978-0911910421)によって公開；Robert S. Porter et al. (eds.), The Encyclopedia of Molecular Cell Biology and Molecular Medicine, Blackwell Science Ltd., 1999-2012 (ISBN 9783527600908)によって公開；およびRobert A. Meyers (ed.), Molecular Biology and Biotechnology: a Comprehensive Desk Reference, VCH Publishers, Inc., 1995 (ISBN 1-56081-569-8)によって公開；Immunology by Werner Luttmann, Elsevier, 2006によって公開；Janeway's Immunobiology, Kenneth Murphy, Allan Mowat, Casey Weaver (eds.), W. W. Norton & Company, 2016 (ISBN 0815345054, 978-0815345053)；Lewin's Genes XI, Jones & Bartlett Publishers, 2014 (ISBN-1449659055)によって公開；Michael Richard Green and Joseph Sambrook, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 4th ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., USA (2012) (ISBN 1936113414)；Davis et al., Basic Methods in Molecular Biology, Elsevier Science Publishing, Inc., New York, USA (2012) (ISBN 044460149X)；Laboratory Methods in Enzymology: DNA, Jon Lorsch (ed.) Elsevier, 2013 (ISBN 0124199542)；Current Protocols in Molecular Biology (CPMB), Frederick M. Ausubel (ed.), John Wiley and Sons, 2014 (ISBN 047150338X, 9780471503385)、Current Protocols in Protein Science (CPPS), John E. Coligan (ed.), John Wiley and Sons, Inc., 2005；およびCurrent Protocols in Immunology (

30

40

50

CPI) (John E. Coligan, ADA M Kruisbeek, David H Margulies, Ethan M Shevach, Warren Strobe, (eds.) John Wiley and Sons, Inc., 2003 (ISBN 0471142735, 9780471142737)、WO 2018 / 057855 A号、US 10, 457, 940号に見ることができ、これらのそれぞれの内容は、それらの全体が参照により本明細書にすべて組み込まれる。

【0499】

態様のいずれかの一部の実施形態では、本明細書に記載される開示は、人間をクローニングするためのプロセス、人間の生殖細胞系列の遺伝的同一性を改変するためのプロセス、産業もしくは商業目的でのヒトの胚の使用、または人もしくは動物に対して任意の実質的な医学的利益なしに、動物に罹患を引き起こす可能性がある、動物の遺伝的同一性を改変するためのプロセス、およびそのようなプロセスから得られる動物に、関係しない。

10

【0500】

他の用語は、本明細書に記載される技術のさまざまな態様の記載内で、本明細書で定義される。

【0501】

本出願全体を通して引用される、参照文献、発行された特許、公開された特許出願、および同時係属の特許出願を含むすべての特許および他の刊行物は、例えば、本明細書に記載される技術と併せて使用され得るそのような刊行物に記載される方法論を記載および開示する目的で、参照により本明細書に明示的に組み込まれる。これらの刊行物は、本出願の出願日前のそれらの開示を提供するだけである。このことについて、本発明者らが、先行発明によってまたは任意の他の理由で、そのような開示に先行する権利を与えられないことの自認として、解釈されるべきではない。日付についてのすべての陳述またはこれらの文書の内容についての表明は、出願人らに利用可能な情報に基づいており、これらの文書の日付または内容の正確性について任意の自認を構成しない。

20

【0502】

本開示の実施形態の記載は、排他的であること、または開示される正確な形態に本開示を限定することを意図しない。本開示の具体的な実施形態およびそれについての例は、例示目的で本明細書に記載されており、関連する技術分野における当業者が認識するように、さまざまな同等の改変が本開示の範囲内で可能である。例えば、方法のステップまたは機能は、所与の順序で表されるが、代替の実施形態は、異なる順序で機能を行ってもよく、または機能は、実質的に同時に行われてもよい。本明細書に提供される本開示の教示は、必要に応じて、他の手順または方法に適用することができる。本明細書に記載されるさまざまな実施形態を組み合わせ、さらなる実施形態を提供することができる。本開示の態様は、必要により、上記の参考文献および出願の組成物、機能および概念を用いるように改変して、本開示のまたさらなる実施形態を提供することができる。これらのおよび他の変更は、詳細な説明を考慮して、本開示に対して行うことができる。すべてのそのような改変は、添付の特許請求の範囲の範囲内に含まれることが意図される。

30

【0503】

前述の実施形態のいずれかの具体的な要素は、他の実施形態における要素と組み合わせることができ、またはそれを置換することができる。さらにまた、本開示のある特定の実施形態に関連する利点は、これらの実施形態に照らして記載されているが、他の実施形態が、そのような利点を示してもよく、また、すべての実施形態が、本開示の範囲内に含まれるためにそのような利点を必ず示す必要はない。

40

【0504】

本明細書に記載される技術を、さらなる限定であるとして決して解釈されるべきではない以下の実施例によってさらに説明する。

【0505】

本明細書に記載される技術を、以下の番号付き段落においてさらに記載することができる。

1. それを必要とする対象におけるパーキンソン病 (PD) の進行を減速または阻害す

50

る方法であって、前記方法が、

プロモーターに作動可能に連結されたグリア細胞系由来神経栄養因子（G D N F）をコードする核酸を含む組換えアデノ随伴ウイルス（r A A V）を前記対象に導入することを含み、前記対象の被殻の体積の少なくとも30%が、前記核酸で形質導入され、および／または前記対象の被殻体積の少なくとも30%が、前記r A A Vによってカバーされ、前記対象が、導入する前と比較して、前記導入した後少なくとも6か月間、P D 関連症状の増加を示さない、方法。当技術分野において公知であるように、プロモーターに作動可能に連結されたG D N Fをコードする核酸配列を含む組換えA A Vを使用して、本明細書に開示されるおよび以下の段落におけるさまざまな方法を行うための医薬を調製することができる。

2. 前記r A A Vが、全身的導入を介して導入される、段落1に記載の方法。

3. 前記r A A Vが、局所的導入を介して導入される、いずれかの先行する段落に記載の方法。

4. 局所的導入が、前記対象の被殻への直接的な導入である、いずれかの先行する段落に記載の方法。

5. 前記局所的導入が、前記r A A Vを前記対象の被殻のそれぞれに直接的に導入することを含む、いずれかの先行する段落に記載の方法。

6. 前記局所的導入が、非侵襲的イメージングと同時に行為れる、いずれかの先行する段落に記載の方法。

7. 前記非侵襲的イメージングが、術中磁気共鳴画像法（i M R I）ガイド対流増強送達（C E D）、超音波、コンピュータ断層撮影（C T）；機能的磁気共鳴画像法（f M R I）；陽電子放射断層撮影（P E T）；脳波記録法（E E G）；脳磁気図検査（M E G）；機能的近赤外線分光法（f N I R S）；およびそれらの組合せからなる群から選択される、いずれかの先行する段落に記載の方法。

8. 前記局所的導入が、前記r A A Vベクターの約半分を、術中磁気共鳴画像法（i M R I）ガイド対流増強送達（C E D）を介して、それぞれの被殻に導入することを含む、いずれかの先行する段落に記載の方法。

9. 局所的導入が、前記A A Vベクターと実質的に同時に、M R I造影剤を導入することをさらに含む、いずれかの先行する段落に記載の方法。

10. 前記M R I造影剤が、ガドテリドールである、いずれかの先行する段落に記載の方法。

11. 前記M R I造影剤が、前記r A A Vと同じ組成物において前記対象に導入される、いずれかの先行する段落に記載の方法。

12. 前記M R I造影剤が、前記r A A Vと異なる組成物において前記対象に導入される、いずれかの先行する段落に記載の方法。

13. 前記r A A Vが、全身的導入を介して導入される、いずれかの先行する段落に記載の方法。

14. 前記被殻の形質導入および／またはカバレッジが、磁気共鳴画像法を介して評価される、いずれかの先行する段落に記載の方法。

15. 前記対象の被殻の体積の少なくとも40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%またはそれよりも多くが、前記G D N F遺伝子で形質導入される、いずれかの先行する段落に記載の方法。

16. 前記対象が、前記導入する前と比較して、前記導入した直後少なくとも12か月間、P D 関連症状の実質的な増加を示さない、いずれかの先行する段落に記載の方法。

17. 前記対象が、導入する前と比較して、前記導入した直後少なくとも6か月またはそれよりも長い間、P D 関連症状の減少を示す、いずれかの先行する段落に記載の方法。

18. 前記対象が、導入する前と比較して、前記導入した直後少なくとも12か月またはそれよりも長い間、P D 関連症状の減少を示す、いずれかの先行する段落に記載の方法。

19. 前記対象が、導入前に、32未満である初期運動障害学会統一パーキンソン病評

10

20

30

40

50

価尺度（MDS－UPDRS）スコアを有する、いずれかの先行する段落に記載の方法。

20．前記対象におけるパーキンソン病の前記進行を前記減速または阻害することが、前記初期MDS－UPDRSスコアよりも実質的に高くない、前記導入した直後6か月の第2のMDS－UPDRSスコアによって特徴付けられる、いずれかの先行する段落に記載の方法。

21．前記対象におけるパーキンソン病の前記進行を前記減速または阻害することが、前記初期MDS－UPDRSスコアよりも実質的に高くない、前記導入した直後約12か月の第2のMDS－UPDRSスコアによって特徴付けられる、いずれかの先行する段落に記載の方法。

22．前記対象が、導入前に、32よりも高いまたはそれに等しい初期MDS－UPDRSスコアを有する、いずれかの先行する段落に記載の方法。

23．前記対象が、導入する前と比較して、前記導入した直後少なくとも6か月間、前記初期MDS－UPDRSスコアの減少を示す、いずれかの先行する段落に記載の方法。

24．前記対象におけるパーキンソン病の前記進行を前記減速または阻害することが、前記初期MDS－UPDRSスコアよりも少なくとも約20%低い、前記導入した直後約6か月の第2のMDS－UPDRSスコアによって特徴付けられる、いずれかの先行する段落に記載の方法。

25．前記対象におけるパーキンソン病の前記進行を前記減速または阻害することが、前記初期MDS－UPDRSスコアよりも少なくとも約30%低い、前記導入した直後約12か月の第2のMDS－UPDRSスコアによって特徴付けられる、いずれかの先行する段落に記載の方法。

26．導入する前に、前記対象についての初期MDS－UPDRSスコアを決定することをさらに含む、いずれかの先行する段落に記載の方法。

27．導入する前に、前記対象についての初期MDS－UPDRSスコアを提供するアッセイの結果を受け取ることをさらに含む、いずれかの先行する段落に記載の方法。

28．前記対象におけるPDの進行を減速または阻害することが、導入後の初期MDS－UPDRSスコアの低減によって特徴付けられる、いずれかの先行する段落に記載の方法。

29．前記低減が、導入6か月後、前記初期MDS－UPDRSスコアの少なくとも20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%またはそれよりも大きい低減である、いずれかの先行する段落に記載の方法。

30．前記低減が、導入12か月後、前記初期MDS－UPDRSスコアの少なくとも20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%またはそれよりも大きい低減である、いずれかの先行する段落に記載の方法。

31．前記対象におけるPDの進行を減速または阻害することが、導入後の初期MDS－UPDRSスコアの安定化によって特徴付けられる、いずれかの先行する段落に記載の方法。

32．前記安定化が、前記初期MDS－UPDRSスコアの10%以下の増加または減少によって特徴付けられる、いずれかの先行する段落に記載の方法。

33．安定化が、少なくとも6か月またはそれよりも長い間起こる、いずれかの先行する段落に記載の方法。

34．前記対象が、PDによって軽度の影響を受けている、いずれかの先行する段落に記載の方法。

35．PDによって軽度の影響を受けている前記対象が、rAAVの前記導入前に、32未満の初期MDS－UPDRSスコアを有し、前記導入前5年未満に、PDと診断された、いずれかの先行する段落に記載の方法。

36．前記導入前に、前記対象をPDによって軽度の影響を受けていると診断することをさらに含む、いずれかの先行する段落に記載の方法。

37．前記導入前に、前記対象をPDによって軽度の影響を受けていると診断するアッセイの結果を受け取ることをさらに含む、いずれかの先行する段落に記載の方法。

10

20

30

40

50

38. 前記対象が、PDによって中度の影響を受けている、いずれかの先行する段落に記載の方法。

39. PDによって中度の影響を受けている前記対象が、rAAVの前記導入前に、32に等しいまたはそれよりも高い初期MDS-UPDRSスコアを有し、前記導入前4年未満に、PDと診断された、いずれかの先行する段落に記載の方法。

40. 前記導入前に、前記対象をPDによって中度の影響を受けていると診断することをさらに含む、いずれかの先行する段落に記載の方法。

41. 導入前に、前記対象をPDによって中度の影響を受けていると診断するアッセイの結果を受け取ることをさらに含む、いずれかの先行する段落に記載の方法。

42. 前記プロモーターが、サイトメガロウイルス(CMV)プロモーターである、いずれかの先行する段落に記載の方法。

43. 前記プロモーターが、神経系(NS)または中枢神経系(CNS)特異的プロモーターである、いずれかの先行する段落に記載の方法。

44. 前記NS特異的プロモーターが、表1のNS特異的プロモーターから選択される、いずれかの先行する段落に記載の方法。

45. 前記CNS特異的プロモーターが、表2のCNS特異的プロモーターから選択される、いずれかの先行する段落に記載の方法。

46. 前記核酸が、配列番号1の配列、または配列番号1に対して少なくとも85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99%もしくはそれよりも高い程度、同一である機能的バリエーションを含む、いずれかの先行する段落に記載の方法。

47. 前記rAAVが、AAV1、AAV2、AAV3、AAV3b、AAV4、AAV5、AAV6、AAV7、AAV8、AAV9、AAV10、AAV11、AAV12、Rh10、またはその有理化数体である、いずれかの先行する段落に記載の方法。

48. 前記rAAVが、AAV2である、いずれかの先行する段落に記載の方法。

49. 前記rAAVが、脳特異的向性を示す、いずれかの先行する段落に記載の方法。

50. 前記rAAVが、その脳特異的向性を増加させる改変を含む、いずれかの先行する段落に記載の方法。

51. 脳特異的向性が、改変されていないAAVと比較して、少なくとも20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%またはそれよりも大きく増加している、いずれかの先行する段落に記載の方法。

52. 前記rAAVが、 5×10^{12} vg ~ 約 1.5×10^{13} vg の範囲内の総用量で導入される、いずれかの先行する段落に記載の方法。

53. 前記総用量の約2分の1分が、前記対象の被殻のそれぞれに投与される、いずれかの先行する段落に記載の方法。

54. 導入することが、約 $1 \mu\text{L}/\text{分}$ ~ 約 $30 \mu\text{L}/\text{分}$ の流速で行われる、いずれかの先行する段落に記載の方法。

55. 前記rAAVが、前記rAAVおよび薬学的に許容される担体を含む液体組成物として導入される、いずれかの先行する段落に記載の方法。

56. 前記液体組成物が、約 3×10^{12} vg/mL ~ 約 4×10^{12} vg/mL のrAAV濃度を有する、いずれかの先行する段落に記載の方法。

57. 前記対象が、前記rAAVの前記導入前に、少なくとも1つの抗PD治療薬を投与される、いずれかの先行する段落に記載の方法。

58. 前記対象が、前記rAAVの前記導入前および後に、少なくとも1つの抗PD治療薬を投与される、いずれかの先行する段落に記載の方法。

59. 前記少なくとも1つの抗PD治療薬が、レボドパ、Sinemet、Rytary、Stalevo、アマンタジン、プラミペキソール、ロチゴチン、ロピニロール、アポモルヒネ、エンタカポンからなる群から選択される、いずれかの先行する段落に記載の方法。

60. 前記対象が、導入後、前記少なくとも1つの抗PD治療薬の用量を維持するか、

10

20

30

40

50

または減少する、いずれかの先行する段落に記載の方法。

61. 前記少なくとも1つの抗PD治療薬の前記用量が、少なくとも5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%またはそれよりも大きく減少する、いずれかの先行する段落に記載の方法。

62. それを必要とする対象におけるパーキンソン病(PD)の進行を減速または阻害する方法であって、前記方法が、

プロモーターに作動可能に連結されたグリア細胞系由来神経栄養因子(GDNF)コード核酸を含む組換えアデノ随伴ウイルス(rAAV)ベクターを前記対象の被殻に局所的に導入すること

を含み、

前記対象の被殻の体積の少なくとも30%が、前記GDNF遺伝子で形質導入される、方法。

63. それを必要とする対象におけるPDの進行を減速または阻害する方法であって、前記方法が、

グリア細胞系由来神経栄養因子(GDNF)遺伝子で、前記対象の被殻の体積の約30%よりも大きいまたはそれに等しい割合に形質導入すること

を含み、

前記対象が、前記導入した後少なくとも6か月間、PD関連症状の実質的な増加を示さない、

方法。

64. 前記形質導入することが、前記GDNF導入遺伝子を含むrAAVを前記対象の被殻のそれぞれに投与することによって行われる、いずれかの先行する段落に記載の方法。

65. それを必要とする対象におけるPDの進行を減速または阻害する方法であって、前記方法が、

グリア細胞系由来神経栄養因子(GDNF)遺伝子で、前記対象の被殻の体積の約30%よりも大きいまたはそれに等しい割合をカバーすること

を含み、

前記対象が、前記カバーした後少なくとも6か月間、PD関連症状の実質的な増加を示さない、方法。

66. 前記形質導入することが、前記GDNF遺伝子を含むrAAVを前記対象の被殻のそれぞれに投与することによって行われる、いずれかの先行する段落に記載の方法。

67. パーキンソン病(PD)を有する対象における初期運動障害学会統一パーキンソン病評定尺度パート(MDS-UPDRS)スコアを低減または安定化する方法であって、前記方法が、

プロモーターに作動可能に連結されたグリア細胞系由来神経栄養因子(GDNF)コード核酸を含む組換えアデノ随伴ウイルス(rAAV)を前記対象の被殻に投与すること

を含み、

前記対象が、投与する前の前記対象の初期MDS-UPDRSスコアと比較して、減少または安定化した、投与後6か月での第2のMDS-UPDRSスコアを有する、方法。

68. 投与する前に、前記対象から、初期MDS-UPDRSスコアを入手するまたは受け取るステップをさらに含む、いずれかの先行する段落に記載の方法。

69. 前記第2のMDS-UPDRSスコアが、投与した12か月後に、前記初期MDS-UPDRSスコアと比較して、少なくとも20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%またはそれよりも大きく減少する、いずれかの先行する段落に記載の方法。

70. 安定化が、前記初期MDS-UPDRSスコアの10%以下の増加または減少である、いずれかの先行する段落に記載の方法。

71. パーキンソン病(PD)によって軽度の影響を受けている対象を処置する方法で

10

20

30

40

50

あって、前記方法が、

プロモーターに作動可能に連結されたグリア細胞系由来神経栄養因子（GDNF）コード核酸を含む組換えアデノ随伴ウイルス（rAAV）を前記対象の被殻のそれぞれに投与すること

を含み、

前記対象の被殻の少なくとも30%が、前記GDNFで形質導入され、

前記対象が、初期MDS-UPDRSスコアと比較して、安定化された、投与した後6か月での第2のMDS-UPDRSスコアを有する、方法。

72. 前記対象が、投与する前の前記初期MDS-UPDRSスコアと比較して、安定化された、投与した後12か月でのMDS-UPDRSスコアを有する、いずれかの先行する段落に記載の方法。

73. 安定化が、前記初期MDS-UPDRSスコアの10%以下の増加または減少である、いずれかの先行する段落に記載の方法。

74. パーキンソン病（PD）によって軽度の影響を受けている対象を処置する方法であって、前記方法が、

プロモーターに作動可能に連結されたグリア細胞系由来神経栄養因子（GDNF）をコードする核酸を含む組換えアデノ随伴ウイルス（rAAV）を前記対象の被殻のそれぞれに投与すること

を含み、

前記対象の被殻の少なくとも30%が、前記rAAVによってカバーされ、

前記対象が、初期MDS-UPDRSスコアと比較して、安定化された、投与した後6か月での第2のMDS-UPDRSスコアを有する、方法。

75. 前記対象が、投与する前の前記初期MDS-UPDRSスコアと比較して、安定化された、投与した後12か月でのMDS-UPDRSスコアを有する、いずれかの先行する段落に記載の方法方法。

76. 安定化が、前記初期MDS-UPDRSスコアの10%以下の増加または減少である、いずれかの先行する段落に記載の方法。

77. パーキンソン病（PD）によって中度の影響を受けている対象を処置する方法であって、前記方法が、

プロモーターに作動可能に連結されたグリア細胞系由来神経栄養因子（GDNF）コード核酸を含む組換えアデノ随伴ウイルス（AAV）を前記対象の被殻のそれぞれに投与すること

を含み、

前記対象の被殻の少なくとも30%が、前記核酸で形質導入され、

前記対象が、初期MDS-UPDRSスコアよりも少なくとも約20%低い投与した後6か月での第2のMDS-UPDRSスコアを有する、方法。

78. 前記低減が、前記初期MDS-UPDRSスコアと比較して、少なくとも30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%またはそれよりも大きい、いずれかの先行する段落に記載の方法。

79. パーキンソン病（PD）によって中度の影響を受けている対象を処置する方法であって、前記方法が、

プロモーターに作動可能に連結されたグリア細胞系由来神経栄養因子（GDNF）をコードする核酸を含む組換えアデノ随伴ウイルス（AAV）を前記対象の被殻のそれぞれに投与すること

を含み、

前記対象の被殻の少なくとも30%が、前記rAAVでカバーされ、

前記対象が、初期MDS-UPDRSスコアよりも少なくとも約20%低い投与した後

10

20

30

40

50

6 か月での第 2 の M D S - U P D R S スコアを有する、
方法。

8 0 . 前記低減が、前記初期 M D S - U P D R S スコアと比較して、少なくとも 3 0 %
、 4 0 % 、 5 0 % 、 6 0 % 、 7 0 % 、 8 0 % 、 9 0 % 、 9 5 % またはそれよりも大きい、
いずれかの先行する段落に記載の方法。

8 1 . それを必要とする対象におけるパーキンソン病 (P D) の進行を減速または阻害
する方法であって、前記方法が、

プロモーターに作動可能に連結されたグリア細胞系由来神経栄養因子 (G D N F) コー
ド核酸を含む組換えアデノ随伴ウイルス (r A A V) ベクターを前記対象の被殻のそれぞ
れに局所的に導入すること ; および

前記 r A A V と実質的に同時に、M R I 造影剤を前記対象の被殻のそれぞれに局所的に
導入すること

を含み、

前記対象の被殻の体積の少なくとも 3 0 % が、前記核酸で形質導入され、

前記対象が、導入する前と比較して、前記導入した直後少なくとも 6 か月間、P D 関連
症状の実質的な増加を示さない、

方法。

8 2 . それを必要とする対象におけるパーキンソン病 (P D) の進行を減速または阻害
する方法であって、前記方法が、

プロモーターに作動可能に連結されたグリア細胞系由来神経栄養因子 (G D N F) をコ
ードする核酸を含む組換えアデノ随伴ウイルス (r A A V) ベクターを前記対象の被殻の
それぞれに局所的に導入すること ; および

前記 r A A V と実質的に同時に、M R I 造影剤を前記対象の被殻のそれぞれに局所的に
導入すること

を含み、

前記対象の被殻の体積の少なくとも 3 0 % が、前記 r A A V でカバーされ、

前記対象が、導入する前と比較して、前記導入した直後少なくとも 6 か月間、P D 関連
症状の実質的な増加を示さない、

方法。

8 3 . それを必要とする対象におけるパーキンソン病 (P D) の進行を減速または阻害
する方法であって、前記方法が、

プロモーターに作動可能に連結されたグリア細胞系由来神経栄養因子 (G D N F) をコ
ードする核酸を含む組換えアデノ随伴ウイルス (r A A V) を前記対象に導入すること

を含み、前記対象の被殻の体積の少なくとも 3 0 % が、前記核酸で形質導入され、

前記対象が、導入する前と比較して、前記導入した直後少なくとも 6 か月間、P D 関連
症状の実質的な増加を示さない、

方法。

8 4 . それを必要とする対象におけるパーキンソン病 (P D) の進行を減速または阻害
する方法であって、前記方法が、

プロモーターに作動可能に連結されたグリア細胞系由来神経栄養因子 (G D N F) をコ
ードする核酸を含む組換えアデノ随伴ウイルス (r A A V) を前記対象に導入すること

を含み、前記対象の被殻の体積の少なくとも 3 0 % が、前記 r A A V でカバーされ、

前記対象が、導入する前と比較して、前記導入した直後少なくとも 6 か月間、P D 関連
症状の実質的な増加を示さない、

方法。

8 5 . 対象におけるパーキンソン病 (P D) の進行を減速または阻害するための組成物
であって、前記組成物が、

プロモーターに作動可能に連結されたグリア細胞系由来神経栄養因子 (G D N F) 遺伝
子を含むゲノムを含む組換えアデノ随伴ウイルス (r A A V) ; および

薬学的に許容される担体

10

20

30

40

50

を含む、組成物。

86. 1 mLあたり 3×10^{12} v g $\sim 4 \times 10^{12}$ v g の r A A V 濃度を有する、いずれかの先行する段落に記載の方法。

87. 1 mLあたり 3×10^{12} v g の r A A V 濃度を含む、いずれかの先行する段落に記載の方法。

88. 対象におけるパーキンソン病 (P D) の進行を減速または阻害するための製剤であって、前記製剤が、薬学的に許容される担体の 1 mL あたり 3×10^{12} v g $\sim 4 \times 10^{12}$ v g の濃度のアデノ随伴ウイルス (A A V) を含み、前記 r A A V が、プロモーターに作動可能に連結されたグリア細胞系由来神経栄養因子 (G D N F) 遺伝子を含むゲノムを含む、製剤。

10

89. 前記対象が、前記導入または投与した直後少なくとも 6 か月間、任意の重篤な有害事象を示さない、いずれかの先行する段落に記載の方法。

90. 段落 1 $\sim$ 84 および 89 の方法を含む、パーキンソン病 (P D) の進行を減速もしくは阻害する方法のための医薬の調製における、またはそれを必要とする対象における P D の進行を安定化するための、または P D によって軽度もしくは中度の影響を受けている対象の処置における、プロモーターに作動可能に連結されたグリア細胞系由来神経栄養因子 (G D N F) をコードする核酸を含む組換えアデノ随伴ウイルス (r A A V) の使用。

【実施例】

20

【0506】

(実施例 1)

C M V プロモーターに作動可能に連結された G D N F ポリペプチドをコードする核酸を含むウイルスベクターの生成。

接着 H E K 2 9 3 Q u a l i f i e d M a s t e r C e l l B a n k からの浮遊 H E K 2 9 3 細胞の誘導。親 H E K 2 9 3 M a s t e r C e l l B a n k (M C B) からの浮遊細胞系の誘導を、クラス 10, 000 クリーンルーム施設において行う。浮遊細胞系の誘導を、最初に、ウシ血清を含有する培地から細胞を引き離すこと、および次いで、H E K 2 9 3 細胞と適合する無血清懸濁培地に細胞を適応させることを含む、2 相プロセスにおいて行う。浮遊細胞系を、以下の通り作出する。最初に、適格な M a s t e r C e l l B a n k (M C B) のバイアルを、解凍し、10% のウシ胎仔血清 (F B S) を含有する D M E M 培地中で培養し、数日間培養して、細胞を凍結／解凍サイクルから回復させる。M C B 細胞を、培養し、組織培養培地中の F B S の量を、10% から 2.5% に徐々に低減しながら、4 週間の期間にわたって継代する。次いで、細胞を、D M E M 2.5% の F B S から、無血清懸濁培地に移し、シェーカーフラスコ中で成長させる。次いで、細胞を、その成長速度および生存率をモニターしながら、無血清培地中でさらに 3 週間培養する。次いで、適応した細胞を、拡大増殖し、凍結する。この細胞バンクからのいくつかのバイアルを、その後、解凍し、開発研究のプロセスの間に使用して、r A A V ベクターを作成するための、シェーカーフラスコおよび w a v e バイオリアクターシステムを使用するスケラブルな製造プロセスを作出する。浮遊 H E K 2 9 3 細胞を、シェーカーフラスコおよび w a v e バイオリアクターバッグ中での成長および高トランスフェクション効率の両方をサポートする、無血清懸濁培地中で成長させる。M u l t i t r o n シェーカーインキュベーター (A T R) を、特定の r p m 振とうスピード (細胞培養体積に基づく)、湿度 80%、および 5% の C O₂ で、細胞の維持および r A A V ベクターの作成のために使用する。

30

40

【0507】

浮遊 H E K 2 9 3 細胞のトランスフェクション。トランスフェクションの日に、細胞を、V i C e l l X R V i a b i l i t y A n a l y z e r (B e c k m a n C o u l t e r) を使用してカウントし、トランスフェクションのために希釈する。トランスフェクションカクテルを混合するために、以下の試薬を、この順序でコニカル管に添加す

50

る：プラスミドDNA、OPTIMEM（登録商標）I（Gibco）もしくはOptiPro SFM（Gibco）、または他の無血清適合トランスフェクション培地、および次いで、プラスミドDNAに対する特定の比でトランスフェクション試薬。プラスミドDNAは、CMVプロモーターに作動可能に連結されたGDNF遺伝子（すなわち、GDNFをコードする核酸配列（配列番号1））の異種核酸配列を含む配列を有する。カクテルは、Rep2および血清型特異的Cap2をコードするパッケージングプラスミド：AAV-Rep/Cap、およびAd-Helperプラスミド（XX680：アデノウイルスヘルパー配列をコードする）をさらに含む。カクテルを、逆さにして混合した後、室温でインキュベートする。次いで、トランスフェクションカクテルを、フラスコにピペティングし、シェーカー／インキュベーターに戻す。すべての最適化研究を、30mL培養体積で行い、それに続いてより大きな培養体積でバリデーションを行う。細胞を、トランスフェクション48時間後に回収する。

10

【0508】

waveバイオリアクターシステムを使用するrAAVの生成。waveバッグに、トランスフェクションの2日前に播種する。waveバッグへの播種の2日後、細胞培養物のカウントを取得し、次いで、細胞培養物を、トランスフェクション前に増殖／希釈する。次いで、waveバイオリアクターの細胞培養物に、トランスフェクトする。細胞培養物を、誘導後少なくとも48時間で、waveバイオリアクターバッグから回収する。

【0509】

フローサイトメトリーを使用するトランスフェクション効率の分析。誘導後およそ24時間で、1mLの細胞培養物を、それぞれのフラスコまたはwaveバイオリアクターバッグ、および未導入対照から取り出す。試料を、Dako Cyanフローサイトメーターを使用して分析して、プラスミドDNAを確認する。

20

【0510】

シェーカーフラスコおよびwaveバイオリアクターバッグからの浮遊細胞の回収。誘導後48時間で、細胞培養物を、シェーカーフラスコからの注入、またはwaveバイオリアクターバッグからのポンピングのいずれかによって、500mLのポリプロピレンコニカル管（Corning）に収集する。次いで、細胞培養物を、Sorvall RC3C plus centrifugeおよびH6000Aローターを使用して、655×gで10分間遠心分離する。上清を廃棄し、細胞を、1×PBSに再懸濁させ、50mLのコニカル管に移し、655×gで10分間遠心分離する。この時に、ペレットを、NLT-60℃で保管するか、または精製を継続することができる。

30

【0511】

qPCRを使用する細胞溶解物からのrAAVの滴定。10mLの細胞培養物を取り出し、Sorvall RC3C plus centrifugeおよびH6000Aローターを使用して、655×gで10分間遠心分離する。上清を、細胞ペレットからデカンテーションする。次いで、細胞ペレットを、5mLのDNase緩衝液（5mMのCaCl₂、5mMのMgCl₂、50mMのTris-HCl pH8.0）に再懸濁させ、それに続いて超音波処理して、細胞を効率的に溶解させる。次いで、300μLを取り出し、1.5mLのマикроフュージ管に入れる。次いで、140単位のDNase Iをそれぞれの試料に添加し、37℃で1時間インキュベートする。DNase消化の有効性を決定するために、4～5μgのプラスミドDNAを、DNaseの添加ありおよびなしで、非トランスフェクト細胞溶解物に加える。次いで、50μLのEDTA／サルコシル溶液（6.3%のサルコシル、62.5mMのEDTA pH8.0）をそれぞれの管に添加し、70℃で20分間インキュベートする。次いで、50μLのプロテイナーゼK（10mg/mL）を添加し、55℃で少なくとも2時間インキュベートする。次いで、試料を、15分間沸騰させて、プロテイナーゼKを不活性化する。アリコートそれぞれの試料から取り出して、qPCRによって分析する。どのぐらいの量のrAAVベクターが細胞あたり生じるかを効率的に決定するために、2つのqPCR反応を行う。

40

【0512】

50

粗溶解物からの r A A V の精製。それぞれの細胞ペレットを、10 mL の最終体積に調整する。ペレットを、短くボルテックスし、1 秒オン、1 秒オフのバーストで、30 % の収率で4 分間超音波処理する。超音波処理後、550 U の D N a s e を添加し、37 °C で45 分間インキュベートする。次いで、ペレットを、S o r v a l l R C S B c e n t r i f u g e および H S - 4 ローターを使用して、9400 × g で遠心分離して、細胞デブリをペレット化し、澄清化した溶解物を、T y p e 70 T i 遠心分離管 (B e c k m a n 361625) に移す。r A A V の単離のために浮遊 H E K 293 細胞を回収および溶解することに関して、当業者は、マイクロフルイダイゼーションなどの機械的方法またはデタージェントなどの化学的方法などを使用し、それに続いて深層濾過またはタンジェンシャルフロー濾過 (T F F) を使用する澄清化ステップを行うことができる。

10

【0513】

A A V ベクター精製。澄清化した A A V 溶解物を、以下の原稿 (A l l a y e t a l . , D a v i d o f f e t a l . , K a l u d o v e t a l . , Z o l o t u k h i n e t a l . , Z o l o t u k i n e t a l など) において当業者が認識し、それに記載されているようにして、カラムクロマトグラフィーによって精製する。

【0514】

ドットプロットを使用する r A A V の滴定。100 μ l の D N a s e 緩衝液 (140 単位の D N a s e 、 5 m M の C a C l ₂ 、 5 m M の M g C l ₂ 、 50 m M の T r i s - H C l p H 8 . 0) を、96 ウェルマイクロタイタープレートのそれぞれのウェルに添加する。1 ~ 3 μ l または連続希釈のウイルスを、それぞれのウェルに添加し、37 °C で30 分間インキュベートする。次いで、試料を、15 μ l のサルコシル / E D T A 溶液 (6 . 3 % のサルコシル、62 . 5 m M の E D T A p H 8 . 0) で再懸濁させ、20 分間、70 °C に置く。次に、15 μ l のプロテイナーゼ K (10 m g / m L) を添加し、50 °C で少なくとも2 時間インキュベートする。125 μ l の N a O H 緩衝液 (80 m M の N a O H 、 4 m M の E D T A p H 8 . 0) を、それぞれのウェルに添加する。一連の導入遺伝子特異的標準を、希釈系列により作出する。次いで、N a O H 緩衝液を、添加し、インキュベートする。ナイロン膜を、0 . 4 M の T r i s - H C l 、 p H 7 . 5 中、R T でインキュベートし、次いで、ドットプロット機器にセットする。N a O H 緩衝液中での10 ~ 15 分のインキュベーション後、試料および標準を、G e n e S c r e e n P l u s R ハイブリダイゼーション転写膜 (P e r k i n E l m e r) 上で、ドットプロット機器にロードする。次いで、試料を、真空を使用して、膜に適用する。ナイロン膜を、0 . 4 M の T r i s - H C l 、 p H 7 . 5 に浸漬し、次いで、600 μ ジュール × 100 で、U V s t r a t a l i n k e r 1800 (S t r a t a g e n e) を使用して架橋する。次いで、膜を、C H U R C H 緩衝液 (1 % の B S A 、 7 % の S D S 、 1 m M の E D T A 、 0 . 5 M の N a ₃ P O ₄ 、 p H 7 . 5) 中、プレハイブリダイズする。プレハイブリダイゼーション後、膜を、³² P - C T P 標識化導入遺伝子プローブ (R o c h e R a n d o m P r i m e D N A 標識化キット) で、一晩ハイブリダイズする。翌日、膜を、低ストリンジェンシーの S S C 緩衝液 (1 × S S C 、 0 . 1 % の S D S) および高ストリンジェンシー (0 . 1 × S S C 、 0 . 1 % の S D S) で洗浄する。次いで、これを、ホスフオイメージャースクリーン上で曝露し、S T O R M 840 スキャナー (G E) を使用して、

20

30

40

【0515】

銀染色法を使用する r A A V ベクター純度の分析。精製されたベクターからの試料を、N u P a g e 10 % B i s - T r i s ゲル (I n v i t r o g e n) にロードし、1 × N u P a g e ランニング緩衝液を使用して流す。典型的には、ウェルあたり 1 × 10¹⁰ 個の粒子をロードする。ゲルを、S i l v e r X p r e s s S i l v e r 染色キット番号 L C 6100 (I n v i t r o g e n) で処理する。

【0516】

アルカリ性ゲル電気泳動およびサザンプロットを使用する自己相補的ゲノムの分析。簡潔には、精製された自己相補的 r A A V を、200 μ l の D N a s e I 緩衝液 (1

50

40単位のDNase、5mMのCaCl₂、5mMのMgCl₂、50mMのTris-HCl pH8.0)に添加し、37℃で60分間インキュベートし、それに続いて、30μlのEDTAサルコシル/EDTA溶液(6.3%のサルコシル、62.5mMのEDTA pH8.0)を添加することによって、DNaseの不活性化を行い、20分間、70℃に置く。次いで、20μlのプロテイナーゼK(10mg/mL)を、試料に添加し、50℃で、最低でも2時間インキュベートする。フェノール/クロロホルムを、1:1の比で添加し、それに続いて、ウイルスベクターDNAのエタノール沈殿を行う。次いで、ペレット化したDNAを、変性のためにアルカリ性緩衝液(50mMのNaOH、1mMのEDTA)に再懸濁させ、1%のアルカリ性アガロースゲルにロードし、25Vで一晩流す。次いで、ゲルを、アルカリ性転写緩衝液(0.4MのNaOH、1MのNaCl)中で平衡化し、サザンブロットを、ベクターDNAのGeneScreen Plus R ハイブリダイゼーション転写膜(PerkinElmer)への一晩の転写により行う。次いで、膜を、1MのNaClを有する0.5MのTris pH7.5を使用して中和し、³²P-CTP標識化導入遺伝子プローブと、一晩ハイブリダイズする。以前に記載されたようにして膜を洗浄した後、膜を、ホスフォイメージャースクリーンに曝露し、STORM840スキャナーを使用して分析する。

10

【0517】

形質導入アッセイ。HeLaRC-32細胞(Chadeuf et al., J Gene Med. 2:260 (2000))を、2×10⁵個細胞/24ウェルプレートのウェルで蒔き、37℃で一晩インキュベートする。細胞は、90~100%のコンフルエンスについて観察される。2%のFBS、1%のPen/Strepを有する50mLのDMEMを、あらかじめ温め、アデノウイルス(d1309)を、10のMOIで添加する。d1309含有培地を、900μlの画分にアリコートし、それを使用して、10倍希釈系列で、rAAVを希釈する。次いで、rAAVを、400μlで蒔き、37℃で48時間インキュベートする。

20

【0518】

濃度アッセイ。開始ベクターストックを、サンプリングし、ビバスピナラムにロードし、470×g(Sorvall H1000B)で、10分間隔で遠心分離する。所望の体積/濃度が達成されたら、膜の両側を、残余分ですすぎ、次いで、回収する。事前濃縮および濃縮rAAVの試料を、取り、物理的力価および形質導入単位を決定する。

30

【0519】

陰性染色rAAV粒子の透過型電子顕微鏡(TEM)。電子顕微鏡法は、ウイルス粒子の直接可視化を可能にする。精製された透析rAAVベクターを、20μlのウイルス滴上のグリッドの反転によって、400メッシュのグロー放電炭素グリッド上に置く。次いで、グリッドを、20μlのddH₂O滴上の反転によって、2回洗浄し、それに続いて、30秒間の20μlの2%の酢酸ウラニル滴上のグリッドの反転を行った。グリッドを、グリッドの端に、Whatman紙を穏やかに接触させることによって、乾燥させてふき取る。それぞれのベクターを、Zeiss EM 910電子顕微鏡を使用して、可視化する。

【0520】

40

(実施例2)

パーキンソン病の処置のためのAAV2-GDNFの局所的投与。

GDNFは、ドーパミン作動性ニューロンの生存をサポートし、その分化を促進することが公知であり、パーキンソン病のための推定上の治療剤として長く評価されてきた。非臨床研究は、脳へのGDNFの局所的送達、PDのげっ歯動物モデルおよび非ヒト霊長類モデルにおいて、神経毒性発作に対してドーパミン作動性ニューロンを保護し、解剖学および機能的回復を刺激し得ることを実証した(Kordower 2013)。

【0521】

組換えGDNFタンパク質の直接投与は、1990年代以降、複数の臨床研究において検討されている(Kordower 1999、Nutt 2003、Gill 2003、Slevin 2005、

50

Lang 2006、Whone 2019)。GDNFが血液脳関門を通過できないことを考慮して、これらの臨床検討は、脳に直接的にGDNFの連続的または断続的用量を送達することを意図した埋め込みデバイスを利用している。これまでに、GDNFタンパク質の直接送達は、GDNFタンパク質の被殻内送達がPD患者によって十分に耐容性を示すにもかかわらず、プラセボ処置対照と比較して、有意な臨床上の利益を実証することに失敗している。しかしながら、最近の研究におけるF-DOPA PETを介した被殻ドーパミン機能を評価する神経画像処理は、断続的なGDNF投与を受けた患者における活動の有意な修復を明らかにした(Whone 2019)。この研究者らは、PETで決定された脳内ドーパミン機能の修復とPDの臨床上の特色の臨床的回復との間の潜在的なラグ、ならびにその研究の9か月の評価期間を超えて、より長い投薬期間および観察が正当化されることを提案した。

10

【0522】

脳への治験薬剤の注射のためのCED方法論の採用は、流体拡散に依存する方法によって以前は実現不可能であった、大脳領域のターゲティングを可能にした(Christine 2019)。CEDは、標的組織への逆流耐性送達カニューレの正確な配置を含み、CEDは、カニューレの先端周辺の間質液を動かし、単回の投与手順の間に比較的大きな実質容積にわたって、AAVベクターなどの注入液内の大分子の安全で均一な分布を可能にする(Richardson 2011)。リアルタイムでのCEDのiMRIモニタリングの使用により、以前に送達されたもの(50~450 μ L)より多くの被殻CED注入体積が、送達されて、被殻体積がより効率的にカバーされた。

20

【0523】

現在の検討のための注入体積(被殻あたり最大で1.8 mL)は、最近、別の臨床PD研究において、安全かつ有効に使用された(ClinicalTrials.gov Identifier: NCT03065192)。

【0524】

非臨床研究は、AAV2ベクターと共投与されたガドテリドールのMRI可視化が、ニューロンの遺伝子移入を組織学的に示す実質体積の正確な解剖学的表現を提供すること、および送達された造影剤が、固有の局所毒性を提供しないことを実証した(Su 2010、Richardson 2011)。したがって、術中MRIモニタリングは、薬物分布として、手術チームへのリアルタイムのフィードバックを提供し、個々の患者の解剖所見に基づいてCEDを合わせるための機会を提供し、可視化された逆流または注入液の漏れからの非標的領域の曝露を制限しながら、標的への送達を最大化する。

30

【0525】

最近の非臨床研究は、以前の研究で使用されたより伝統的な前頭アプローチを介する必要な複数の軌道とは対照的に、単一軌道の後頭アプローチを使用する被殻内のより有効な分布のための能力を文書化している(Bankiewicz 2016)。後頭/頭頂アプローチは、被殻の長軸に沿った単一の注入軌道を利用し、以前のPD遺伝子治療治験において有効に使用されている(ClinicalTrials.gov Identifier: NCT03065192)。

【0526】

パーキンソン病のためのGDNF遺伝子送達

【0527】

本明細書に記載される本研究は、PDのための疾患修飾処置としてのGDNF遺伝子送達を検討する。研究薬物であるAAV2-GDNFは、サイトメガロウイルス最初期プロモーター(CMV)の制御下のヒトGDNFに対する相補配列をコードするDNA発現カセットを含有するAAV血清型2ベクターである。

【0528】

用量漸増安全性研究の進行中の観察追跡は、NIH Clinical Centerで継続している(ClinicalTrials.gov Identifier: NCT01621581)。PDを有する合計で13人の参加者が、2013~2017年に

50

、同じ研究薬物を受けた。3濃度の研究薬物を、被殻あたり0.45mLの注入体積で、評価した(1.0×10^{11} 、 3.3×10^{11} 、および 1.0×10^{12} v g / mL)。以前の研究で達成された平均被殻カバレッジは、総被殻体積の26%であった。これは、中間解析で述べられた予想カバレッジよりも低く、13人の対象の処置後、改善された送達オプションを提供する取り組みにおいて、この以前の研究の選択的停止が奨励された。承認および計画されたより高用量の 3.3×10^{12} v g / mLは、以前の研究が募集を停止する時までに、ヒトにおいて試験されなかった。13人のP研究参加者は、被殻への研究薬物の経前頭送達された両側注入が、投与された3用量で、研究薬物に関連するSAEなしで、実際に安全で、十分な耐容性を示した(9×10^{10} v g / mLおよび 3.3×10^{11} v g / mLでそれぞれ6人の対象；1人の対象が 9×10^{11} v g / mL用量を受けた)という証拠を提供した。被殻薬物送達部位のF-DOPA PET分析は、推定されるGDNFの効果を示す、DA活性の増加を示した。F-DOPA取り込みの増加が、ベースラインと比較して、投与6および18か月後で観察された(図25A~25D)。

10

【0529】

本明細書に記載される本研究は、術中MRIガイドCEDを介した、研究参加者における研究薬物の注入を特色とする。最大で1.8mLの研究薬物を、被殻体積の50~80%への分布を期待して、それぞれの被殻に注入した。研究薬物の1回の送達は、固有の中型有棘ニューロン(MSN)を予備的に形質導入する、被殻体積の $\geq 50\%$ 以内でのGDNFタンパク質の継続的な発現をもたらすことを意図する。MSNからSNへの(直接および間接経路を介した)研究薬物の追加の順行性輸送は、SN内のGDNF発現およびドーパミン作動性ニューロン体への直接的な栄養サポートを提供する。

20

【0530】

合計で12人の研究参加者は、この研究において、治験製品(すなわち、AAV2-GDNF)を投与された。参加者は、そのPDの期間およびステージに基づいて、2つの並行コホートの1つに登録される。コホートAは、PDによって軽度の影響を受けている対象を含み(図2)、コホートBは、PDによって中度の影響を受けている対象を含む(図3)。

研究組み入れ基準

1. インフォームドコンセントを提供することが可能な、35~75歳(それを含む)の男性および女性成人

30

2. 特発性PDと診断されている

a. 以下の臨床上的特色のうちの少なくとも3つ：静止時振戦、硬直、動作緩慢、姿勢反射機能障害

b. 上記のうちの少なくとも1つは、静止時振戦または動作緩慢でなければならない

上記の臨床上的特色は、外傷、脳腫瘍、感染症、脳血管疾患、他の公知の神経疾患(例えば、多系統萎縮症、進行性核上性麻痺、線条体黒質変性症、ハンチントン病、大脳皮質基底核症候群、びまん性レビー小体病、ウィルソン病)、またはPD診断に関連する薬物、化学物質もしくは毒物に対する続発に起因するものであってはならない

3. 改変HoehnおよびYahrステージI~IIIのオフ薬物療法

40

4. PDの臨床診断を受けてからの時間、および疾患の重症度が、以下のうちの1つと一致する：

EITHER：PDの臨床診断から5年未満、およびMDS-UPDRS III「オフ状態」運動スコア ≤ 32 (コホートA)

または：PDの臨床診断から少なくとも4年、および33~60のMDS-UPDRS III「オフ状態」運動スコア(コホートB)

5. レボドパ負荷後のMDS-UPDRS III運動スコアの30%またはそれよりも大きい改善に基づく、レボドパに対する明快な応答性

6. スクリーニング来院時の臨床検査値

a. 血小板 $> 100,000 / \text{mm}^3$ (輸血非依存性)

50

- b. 正常範囲内のPT/PTT、およびINR<1.3（および手術前）
- c. 好中球絶対数（ANC）>1500/mm³
- d. ヘモグロビン>10.0g/dL（輸血は許容される）
- e. アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼまたはアラニンアミノトランスフェラーゼ<2.5×ULN
- f. 総ビリルビン<2.5mg/dL
- g. 血清クレアチニン<1.5mg/dL
- h. HbA1C<10%

7. 18か月の研究来院の完了後まで、深部脳刺激を含む神経学的手術を先送りする意志（治験責任医師によって推奨されない限り）

8. スクリーニング前>5週間の安定なPD薬物療法レジメン

除外基準

- 1. 顕著な眼球運動麻痺、小脳の兆候、声帯不全麻痺、起立性低血圧（起立時の収縮期圧における>20mmHgまたは拡張期圧における>10mmHgの低下）、錐体路の兆候または筋萎縮症の存在
- 2. PD関連遺伝的因子（例えば、PRKN、PINK1、またはLRRKK2突然変異）
- 3. 重篤なジスキネジア（UDysRS>30）
- 4. 認知症の存在（モントリオール認知評価（MoCA）<25）
- 5. 精神病の存在または病歴、運動症状を改善するために必要な用量で抗PD薬物療法に影響を及ぼす場合を含む
- 6. 未処置または準最適に処置されたうつ（BDI-IIスコア>20）または深刻な気分障害の病歴（すなわち、精神科入院を必要とする、または以前の自殺未遂）の存在
- 7. DSM-5基準によって定義され、治験責任医師の判断における物質（薬物、アルコール）乱用の存在。注記：テトラヒドロカンナビノールまたはカンナビジオールの使用は除外対象ではない
- 8. 凝固障害、抗凝固療法、低血小板数、または任意の抗血栓薬物療法を一時的に停止できない
- 9. 喫煙歴または十分に管理されていない心臓血管疾患
- 10. 管理不良高血圧もしくは糖尿病、または脳神経外科手順のリスクを有意に増加させるであろう任意の他の急性および慢性の医学的状態
- 11. 処置された皮膚扁平上皮癌または基底細胞癌以外の悪性腫瘍（大脳または全身）の病歴
- 12. 急性または慢性頭皮感染症を含む、臨床的に活動性の感染症
- 13. 脳の手術前、または他の脳イメージング異常
- 14. MRIおよび／またはガドリニウムの使用に対する禁忌
- 15. 妊娠または授乳
- 16. 生殖能力があり、投薬後3か月間、バリア避妊法を使用することに消極的である、男性または女性
- 17. 慢性免疫抑制療法（例えば、慢性のステロイド、腫瘍壊死因子、アンタゴニスト、化学療法）
- 18. 処置の前後1か月以内に任意のワクチン接種の先送りに消極的である
- 19. スクリーニング前12週間以内に任意の治験薬剤を受けた
- 20. 頻繁なおよび延長された追跡評価を含む、プロトコル手順を完了できない
- 21. 手術のリスクを増加させるであろうがんまたは不十分に管理された医学的状態の病歴
- 22. 衝動性または強迫性行動の懸念を含む、神経学者、心理学者／精神医学者または脳神経外科医によって挙げられた任意の重要な問題

【0531】

治験薬物

治験製品のAAV2-GDNFは、ヒトGDNF相補的DNA（cDNA）、ヒトサイ

10

20

30

40

50

トメガロウイルス（CMV）プロモーターおよび3'UTR配列を含有する血清型2（AAV2）のアデノ随伴ウイルスを含む。AAV2-GDNFは、 7.9×10^{12} v g / mLの濃度の1 mLのアリコートで供給される。

【0532】

AAV2-GDNFの希釈のための賦形剤は、1 mLのアリコートで供給された。ガドテリドール（ProHance（登録商標））を、脳内への注入の前に、研究薬物調製物に添加した（2 mMの溶液を提供するため）。ガドリニウム系造影剤であるガドテリドール（2 mM）を、それぞれの研究薬物溶液と混合して、CED分布の増強されたリアルタイム術中MRIモニタリングを提供した。

【0533】

研究設計の概要

本明細書に記載される本研究は、PDを有する患者の被殻への両側のCEDによって送達されるAAV2-GDNF（例えば、図15を参照されたい）の非盲検安全性研究である。主要な研究目的は、軽度および中度両方の進行PD患者における、送達されたウイルスベクターの安全性、およびその後のGDNF導入遺伝子の発現を確認することであった。主要な安全性および臨床試験成績の評価を、研究薬物の投与18か月後に行う。現在の治験の概略図を、図1および16に提示する。

【0534】

長期の追跡は、長期安全性および任意の予備的臨床効果の永続性を評価するために、可能な場合、少なくとも5年行う。長期の追跡における1年に1回の来院は、対面で、オフ／オン薬物療法状態で行うことが意図されるが、しかしながら、短縮されたオンの来院は、評価のスケジュールにリストされた必要に応じた評価を除いて、ビデオ通話を介してリモートで行ってもよい。

【0535】

研究薬物を受ける前のベースライン評価および術前評価は、研究参加者において行われる。研究薬物は、それぞれの被殻へのiMRIガイドCED神経学的注入を介して、頭蓋内投与される。

【0536】

スクリーニング手順

研究薬物の外科的投与のための予定日の3か月以内に、研究参加者は、以下を含む、一連のスクリーニング手順を受ける。

- ・ 病歴
- ・ 現在のPDおよび非PD薬物療法のレビュー
- ・ バイタルサインを伴う健康診断；神経学的検査
- ・ 活動モニター：設定および使用説明書のレビュー
- ・ 臨床検査：

○血液学（CBCと血小板）

○臨床化学物質—基礎代謝パネル（ナトリウム、カリウム、塩化物、総CO₂、クレアチニン、グルコース、尿素窒素、eGFR）、肝臓パネル（アルカリホスファターゼ、ALT／GPT、AST／GOT、総ビリルビンおよび直接ビリルビン）、およびHbA1C

○凝固パネル（INR、PT、PTT）

○妊娠検査（適用可能な場合；血清または尿検査はそれぞれの神経画像処理セッションの30日以内に行われる）

○PD遺伝子検査

○妊娠検査（適用可能な場合；血清または尿検査はそれぞれの神経画像処理セッションの30日以内に行われる）

○免疫学マーカー（血清）：AAV2中和抗体、GDNF抗体

- ・ 神経画像処理：

○脳MRI（オンまたはオフ状態、手術前の計画のための造影剤ありおよびなし）

10

20

30

40

50

- F D G P E T (オフ状態、PD 関連パターンについて評価する)
- D a T S P E C T (オフ状態、シナプス前終末密度を評価する)
- ・ PD 運動症状および機能の臨床評価：
- レボドパ応答性を評価するための M D S - U P D R S パート I ~ I V (パート I I I はオフおよびオンを評価する)
- 改変 H o e h n および Y a h r (オフ)
- 立つー歩くー座る (オフ／オン)
- 器用さおよびバランス検査 (オフ／オン)
- ジスキネジア評価 (U D y s R S、オン)
- ・ 一致検査を伴う PD 運動日記
- ・ 神経心理学的評価：M o C A、C A N T A B、B D I - I I、B A I、Q U I P - R S
- ・ クオリティオブライフ尺度 (P D Q - 3 9)
- ・ C G I および P G I
- ・ C S S R S (この来院についてのみ使用されるスクリーニングバージョン)
- ・ PD 非運動症状評価：N M S S、B S I T、P D S S - 2、S C O P A - A U T

【0537】

対象は、研究の治験責任医師の裁量で、最大2回、再スクリーニングされ得る。

【0538】

研究の処置および投薬

研究薬物の投与は、術中MRIモニタリングを用いて、研究の脳神経外科医によって行われる。研究薬物は、事前に計画された軌道に沿って正確にガイドされるMRI適合カニューレ (SmartFlow (登録商標) ; MRI Interventions、Irvine、CA USA) を介して、直接的に投与された。執刀医は、それぞれの被殻の長軸を横断する頭頂／後頭軌道を優先的に計画するが、代替の軌道を使用することができる。外科的手順を、MRI適合の軌道ガイド (例えば、ClearPoint (登録商標) 神経ナビゲーションシステム) を伴う一式の介入MRI内で行った。手順を、脳へのデバイス (例えば、生検針、電極、アブレーションプローブ) のMRに基づく定位配置を経験した脳神経外科医によって行なった。対象を、頭部ホルダーに固定し、計画された進入ポイントおよび標的部位 (両側被殻) を、脳MRI画像上に位置させた。送達カニューレの適正なターゲティングの際に、最大で1.8mLの研究薬物を、CEDを使用して、それぞれの被殻に注入した。MRイメージングごとの可視化された分布が、準最適と思われる場合、標的体積の限界に達した場合、または標的を超えて漏れている (または逆流している) 場合、外科医は、被殻への薬剤送達を最適化するために、カニューレの再配置を選択することができる。3.6mL (1.8mL／被殻) の最大体積を、1～30μL／分の可変の流速で、CEDを使用して、送達した。

【0539】

投薬

すべての参加者に、1回の外科的手順を介して、研究薬物を投与した。研究薬物の濃度は、すべての対象について、それぞれの被殻に最大で1.8mLが注入される、 3.3×10^{12} v g / mL で一貫した。対象あたりの総薬物用量は、最大で 1.2×10^{13} v g (3.3×10^{12} v g / mL $\times$ 3.6mL) であった。

【0540】

研究薬物を、MRI適合の注入ポンプ (例えば、Medfusion シリンジポンプ、Smiths Medical Inc.) に接続されたSmartFlowカニューレを使用して、単回の外科的設定で、被殻に両側で送達した。注入の速度の増加を伴う (1～30μL／分) CED注入を使用して、それぞれの被殻に薬物体積を送達した。カニューレの深さおよび注入速度の調整を、それぞれの被殻体積の50～80%をカバーする目標で、標的の体積内で分布を制御するために手術チームによって行なった。注入は、標的カバレッジが達成された場合に終了し、追加注入は、標的カバレッジを有意に増加させ、ま

10

20

30

40

50

たは注入体積の増加は、標的体積を超えてカバレッジを拡大し、または最大注入体積の被殻あたり1.8 mLに達する。

【0541】

以前の研究では、投与される研究薬物の体積は、被殻あたり0.45 mLであった。利用されるより低い用量体積、および経前頭ターゲットティングアプローチのために、平均被殻体積カバレッジは、26%に限定された。その研究におけるF-DOPA PET取り込みの増強は、iMRIを介して確認されるように、被殻の注入領域を限定した。

【0542】

MRIがモニターする投薬手順の目的は、オフターゲット送達を最小化しながら、それぞれの被殻のカバレッジを最大化することであった。少量のガドテリドールと研究薬物の混合により、手術チームは、iMRIを介してリアルタイムで分布を視覚的にモニターすることが可能になり、必要により、カバレッジを確認し、カニューレの位置、注入速度、または注入停止の改変を可能にした。PD患者の脳、特に、被殻のサイズ、形状および解剖学的特徴の個々の変動を考慮して、注入の実際の体積および得られた分布の体積、ならびに被殻体積カバレッジのパーセンテージは、対象間で変動すると予想された。投与手順全体にわたる薬物注入液の分布のモニタリングは、最適に、50~80%の被殻カバレッジを可能にした。研究薬物の注入は、(i)最大標的カバレッジの80%が達成される場合、(ii)追加注入が、標的カバレッジを有意に増加させない場合、(iii)かなりの逆流または漏れが、標的体積を超えて確認される場合、または(iv)被殻あたり1.8 mLの最大注入体積に達する場合のいずれかで停止した。

【0543】

結果

本明細書に記載される注入方法を利用することで、コホートAおよびコホートBの両方について、単一の被殻（すなわち、左または右被殻）について63%の平均カバレッジをもたらす（例えば、図4、5、および6A~7Bを参照されたい）。コホートAの対象は、投与直後少なくとも12か月間、その初期MDS-UPDRS IIIスコアの安定化を示した一方で、コホートBの対象は、投与直後少なくとも12か月間、そのMDS-UPDRS IIIスコアの著しい低下を示した（図8A）。これらの結果は、「オン」および「オフ」状態の両方で観察された（図8Aおよび8B）。類似の結果が、MDS-UPDRS IIIスコアで観察された（図8D）。

【0544】

類似の結果が、対象のPD日記（図9Aおよび9Bを参照されたい）、ならびに投与後のNMSおよびPDQ-39スコアをモニタリングする場合に観察された。良好な「オン」期間の安定化が、投与直後6か月で、コホートAにおいて観察され、良好なオン期間の著しい増加が、投与直後6か月で、コホートBにおいて観察された（図9A~9D）。さらに、対象のNMSおよびPDQ-39スコアの安定化が、投与直後6、12および18か月で、コホートAにおいて観察され（図10A）、対象のNMSおよびPDQ-39スコアの著しい増加が、投与直後6および12か月で、コホートBにおいて観察された（図10B）。最後に、UDYSRS客観的サブスコアは、軽度コホートにおいて投与後最大で少なくとも18か月まで、安定であり（図22A）、中度コホートにおいてわずかに減少した（図22B）。中度コホートでは、UDYSRS全体的および組織学的サブスコアは、投与18か月後で減少する（図22B）。また、レボドパ換算一日用量の平均値スコアは、軽度コホートにおいて、投与後少なくとも18か月で、ベースラインと比較して安定化され（図23A）、中度コホートにおいて、投与後少なくとも18か月で、減少する（図23B）。

【0545】

最後に、対象のMDS-UPDRS IIIスコアの用量依存性の減少が、投与後12か月（図11）および投与後18か月（図21）で観察された。以前の臨床試験は、本明細書に記載されるものよりも低い総用量の投与を含んでおり（すなわち、 9.0×10^{-1} v g および 3.0×10^{-1} v g）、より低い被殻の総カバレッジ（すなわち、26%

）をもたらした。この投与は、投与後12か月で、対象の初期MDS-UPDRS I I Iスコアのわずかな減少のみをもたらした。対照的に、より高い総用量（すなわち、 1.2×10^{13} v g）が投与された場合、63%の被殻のカバレッジをもたらし、MDS-UPDRS I I Iスコアの著しい減少が、投与後12か月で観察された。これらのデータは、本明細書に記載される方法が、以前に利用された方法よりも優れていることを示す。

【0546】

軽度および中度コホートに対するすべての運動および非運動評価についての処置後の変化の要約を、それぞれ、図18Aおよび18Bに提供する。

【0547】

合計で56のTEAEが、11人の参加者において、この研究で観察された。これらの事象の大部分は、一過性であり、周術期事象と予想された。これらの事象を、図17に要約する。AAV2-GDNF関連有害事象は報告されなかった。任意の理由（TEAEを含む）のために研究を中止した対象はなかった。生命を脅かすTEAEまたは死亡は、これまでに起きなかった。

【0548】

（実施例3）

初期および中期ステージのパーキンソン病における両側の単一後側軌道を介したAAV2-GDNFの非常に再現性があり、安全な被殻内送達

序論：遺伝子治療のための用量最適化（特異的CNS標的のターゲティングは、直接的な実質内送達のための技術的課題を提示したが、有意な結果を達成するために重要である）（例えば、図12を参照されたい）。高い被殻カバレッジと改善された臨床試験成績との間の強い相関が、最近、パーキンソン病（PD）遺伝子治療の治験において実証された。しかしながら、前の研究で使用された経前頭軌道は、可変の低い体積カバレッジ（ $<5 \sim 42\%$ ）をもたらした。本発明者らの現在のPD臨床試験では、両側の単一後側軌道は、PD症候に対する高用量、高カバレッジの臨床効果を評価するために、被殻の伸長したA-P軸内で改善されたAAV2-GDNF分布を提供した。

【0549】

方法：初期ステージPD（ <5 年；MDS-UPDRS I I I オフ ≤ 32 ）または中期ステージPD（ >4 年；MDS-UPDRS $33 \sim 60$ ）のいずれかと診断された適格な参加者は、術中MRI（iMRI）モニタリングを使用して対流される被殻あたり最大で 1.8 mLのAAV2-GDNF（ 3×10^{12} v g/mL）を受けた。参加者（ $n=10$ ）は、ガドテリドール（ 2 mM）と混合されたAAV2-GDNFを受け、これは、個々の解剖学的変動に注入を合わせることを可能にし、注入全体を通して、iMRIモニタリングによってほぼリアルタイムで被殻カバレッジを定義した。ガドテリドールシグナルは、MRIを介して、投与直後に被殻において可視化されたが、投与後6か月および18か月でもはや存在しなかった（図20）。

【0550】

追加軌道なしの被殻分布を増加させるための両側前頭オプションは、被殻の長軸に平行に注入液を分布させるための戦略の開発を奨励した。したがって、形状を合わせる注入方法論を発展させた。被殻のような細長い脳標的のために具体的に設計された、随時注入（infuse-as-you-go）法が、2022年に公開された。前臨床および最近の臨床経験は、有意な実質カバレッジが、単一軌道を介して、被殻の尾部に進入し、注入が開始すると、カニューレが吻側極の方に進む前進する間に被殻体積をゆっくりと満たすことが可能であることを示した。この注入方法は、被殻内に送達される一貫した体積（平均して 1500 マイクロリットル）が、臨床安全性を維持しながら、現在のPD臨床試験において $>50\%$ のカバレッジを提供することを可能にする。

【0551】

血管周囲の漏れは、一般に、被殻における随時注入CEDに言及し得るが、しかしながら、そのような漏れは、場所および範囲を術前に予測することが困難である。脳神経外科

10

20

30

40

50

医のための主要な緩和戦略としては、a) 送達カニューレの前進、および b) 注入流速の小さな調整が挙げられる。血管周囲が、血管周囲チャンネルに従って尾状核に伸びることは、潜在的に有利である。

【0552】

結果：注入は、安全に行われ、すべての参加者によって、十分な耐容性を示した。単回の片側の無症候性脳血管事象の証拠が、スケジュールされた6か月のMRIにおいて、被殻に隣接して偶発的に検出された。20の注入からの平均被殻体積カバレッジは、62.5%であり、初期AAV2-GDNF研究における26%の平均カバレッジからの著しい改善であり、>50%のカバレッジの目標を超えた（例えば、図14Aおよび14Bを参照されたい）。予備的な臨床知見は、以前のフェーズ1研究（Heiss 2019）と比較した場合に、より大きい運動の利益およびPD薬物療法の低減を示す。

10

【0553】

結論：本明細書に記載される送達技法は、解剖学的に不均一および可変の被殻体積にかかわらず、高い再現性がある。これらの結果は、後側軌道を利用する被殻注入が、経前頭軌道と比較した場合に、安全であると思われ、十分な耐容性を示し、より大きい体積標的カバレッジを一貫して提供することを示した。このプラットフォームは、治療薬の注入体積の安全で有効な実質内分布を提供するように特異的に設計された方法および技術を利用する。パーキンソン病のための被殻遺伝子治療のために、以下の技法が、現在利用されている：(i) 被殻の長軸に平行の後頭アプローチを利用する被殻ごとの単一の随時注入軌道；(ii) 術中MRスキャナー内での注入液の分布の、直接的なほぼリアルタイムの可視化を可能にするガドテリドール共注入；(iii) 個別化された標的体積内の治療薬の分布を拡大する、対流増強送達法；(iv) 標的内の注入液の分布を最大化する、逆流耐性カニューレ；ならびに(v) 術前の軌道の計画、術中の送達カニューレの配置の確認、および「形状フィッティング」分布を合わせるための注入の間のカニューレの前進の可視化の検証のための、術中磁気共鳴画像法。この技法は、AAV2-GDNFの投薬を増強し、PD患者における有意な臨床改善のためのものである。

20

【0554】

（実施例4）

被殻注入部位に局在化されたAAV2-GDNF発現

フェーズ1安全性試験の参加者の被殻を、投与後3.5年で評価して、GDNF導入遺伝子発現のレベルおよび場所を評価した。

30

【0555】

フェーズ1試験におけるAAV2-GDNFの経前頭投与は、被殻の約23%のカバレッジをもたらした。参加者から得た被殻のパンチ生検は、AAV2-GDNFの局所的発現が、手術の間の被殻へのガドテリドールの局所的投与と相関したことを示した（図19A～19E）。被殻ごとの2回の注入を、手術の間に投与し、パンチ生検番号1および番号5は、2つの被殻注入部位と相関する。GDNFの最も高い発現レベルが、その部位で観察され、GDNFの最も高い導入遺伝子発現が、注入部位で持続することを示した（図19Eおよび19F）。これらのデータは、AAV2-GDNFが、投与後に、組織全体にわたって拡散を受けることを示す。それでも、投与後により高い被殻のカバレッジパーセントを与えるプロトコルが望ましい。これらのデータのさらなるサポートにおいて、GDNF導入遺伝子発現は、白質路における被殻外で行われたパンチ生検番号6で観察されなかった（図19Eおよび19F）。

40

【0556】

観察されたGDNF導入遺伝子レベルがGDNF活性を示したかを評価するために、被殻試料を、ドーパミン作動性線維の存在について評価した。被殻試料のチロシンヒドロキシラーゼ染色は、高いGDNF発現を有する領域におけるドーパミン作動性線維の増強を明らかにし、GDNFが、被殻において活性であることを示した（図19B～19D）。これらのデータは、被殻におけるGDNFのより広い分布が、ドーパミン作動性線維のより大きな増強を提供することを実証する。これらのデータのサポートにおいて、F-D O

50

【図 3】

コホート B

対象	期間	スクリーニング I/PDRS III (オフオン)	スクリーニング I/PDRS III (オフオン)	スクリーニング時のレボドパ換算用量	AE/コメント
B-1	8 年	51→32 (37%)	5	825 mg	AE: HA、RLE痛、肋骨痛
B-2	8 年	45→21 (37%)	4	2505 mg	SLE: 梯子からの落下由来の L2 fx、遅れた大出血/梗塞 AE: なし
B-3	9 年	40→21 (48%)	0	650 mg	AE: 肩痛、悪心、頭痛、肋骨痛
B-4	9 年	35→13 (63%)	23	600 mg	AE: のどのかゆみ、IV部位の変色、疲労

FIG. 3

【図 4】

外科的注入およびカバレッジデータ

対象	左被設			右被設			平均
	被設体積	注入体積	カバレッジ	被設体積	注入体積	カバレッジ	
A-1	3905	1400	66%	3248	1400	70%	63%
A-2	3019	1573	63%	3073	1571	61%	62%
A-3	4159	1530	55%	4060	1800	64%	59%
A-4	4118	1437	59%	4011	1435	53%	55%
A-5	3121	1500	69%	3238	1500	61%	65%
A-6	4170	1140	55%	3970	1286	63%	59%
B-1	3775	1634	53%	3490	1802	40%	47%
B-2	3255	955	60%	3460	1402	81%	70%
B-3	3246	1500	68%	3242	1500	73%	71%
B-4	4356	1797	71%	4461	1797	64%	66%
							平均 63%

FIG. 4

【図 5】

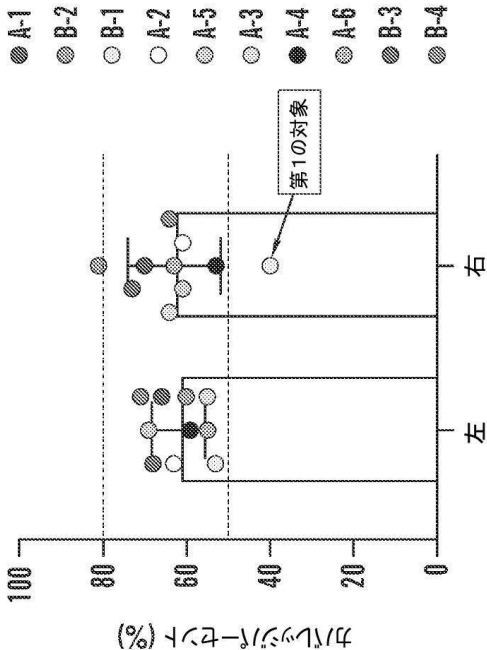


FIG. 5

【図 6 A - B】

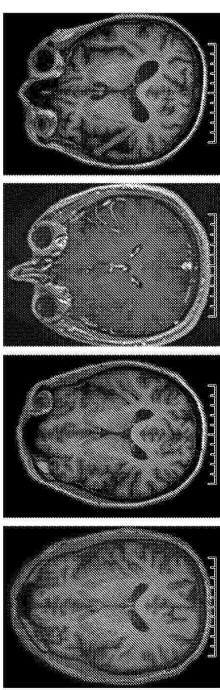


FIG. 6A

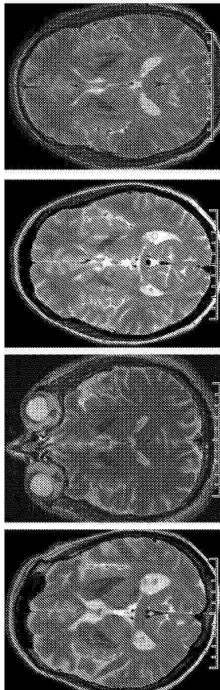
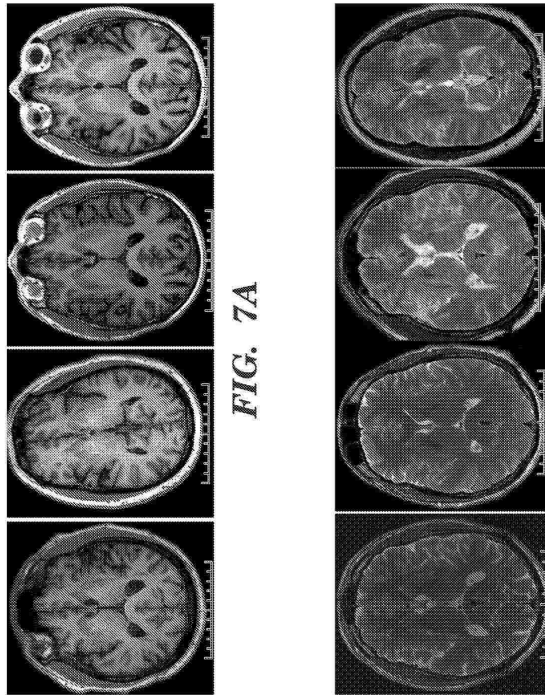
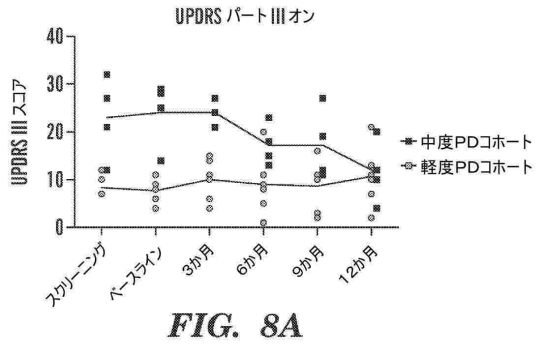


FIG. 6B

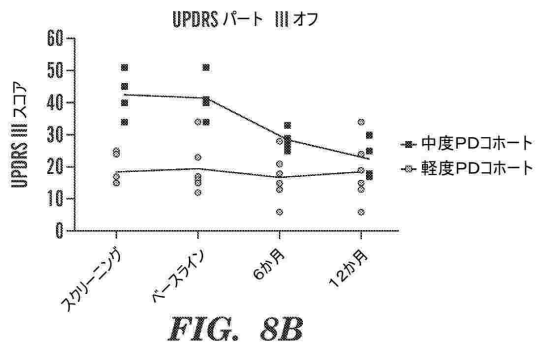
【図 7 A - B】



【図 8 A - B】

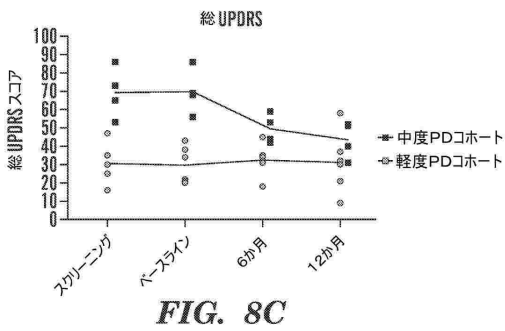


10

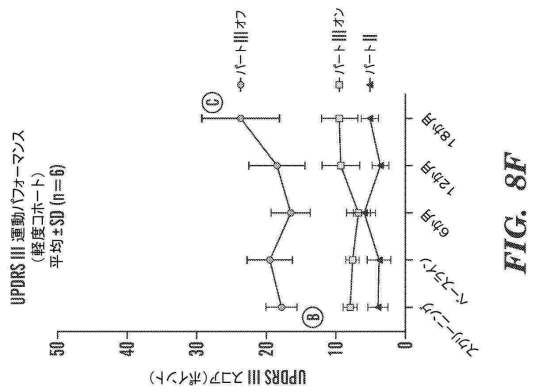


20

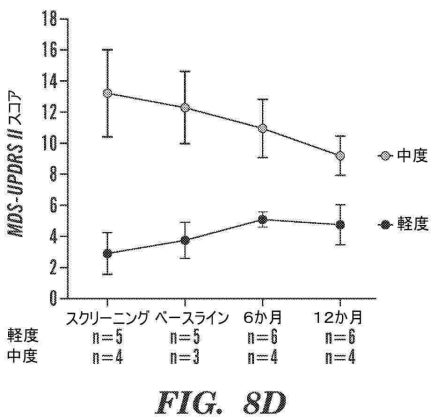
【図 8 C - D】



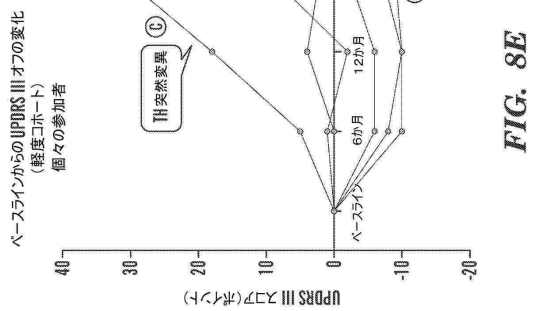
【図 8 E - F】



30



40



50

10

20

30

40

50

【図 8 G - H】

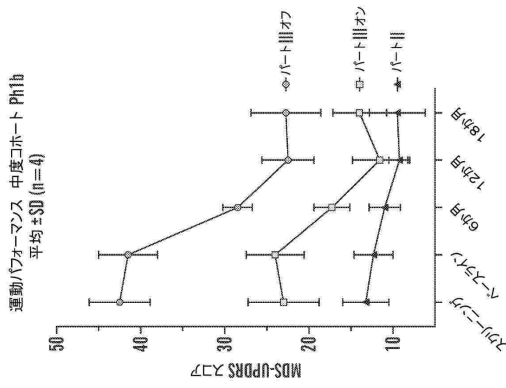


FIG. 8H

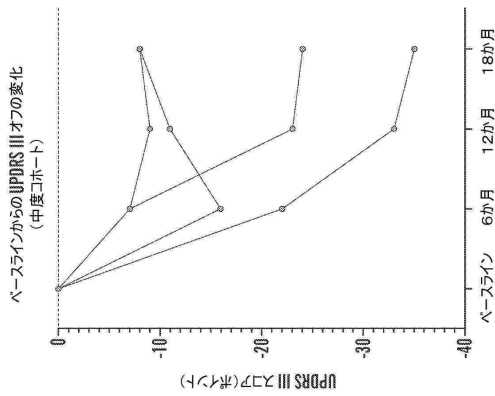


FIG. 8G

【図 9 C】

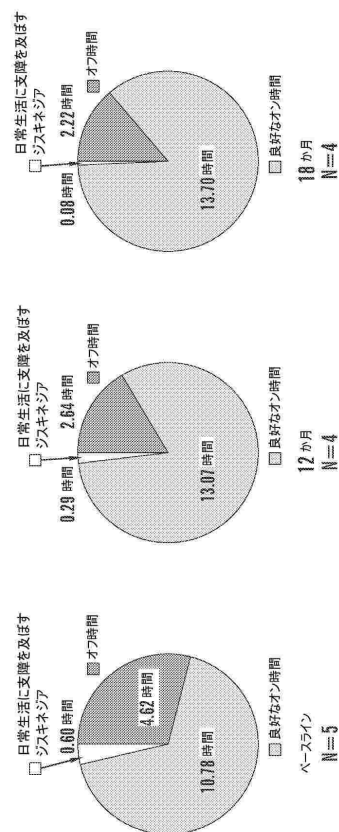


FIG. 9C

【図 9 A - B】

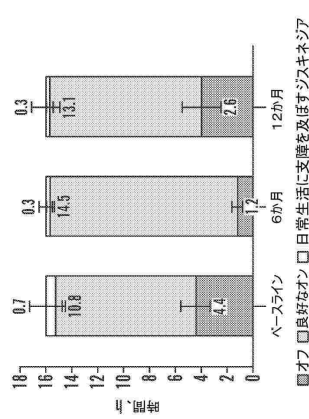


FIG. 9B

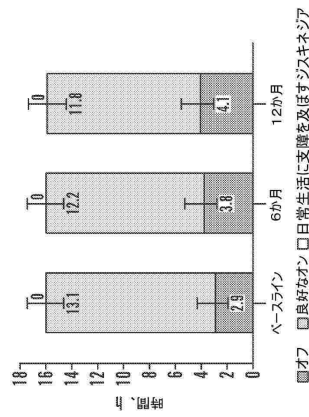


FIG. 9A

【図 9 D】

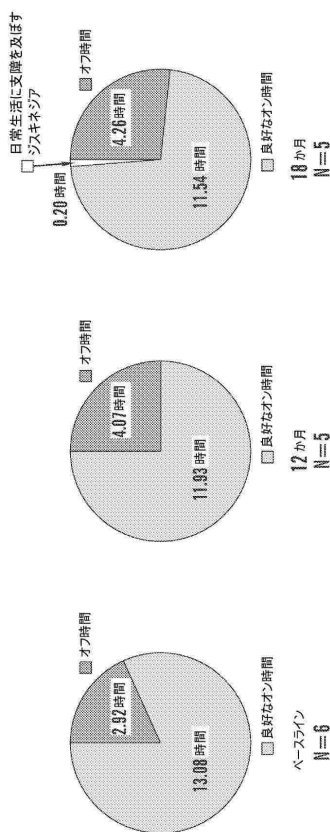
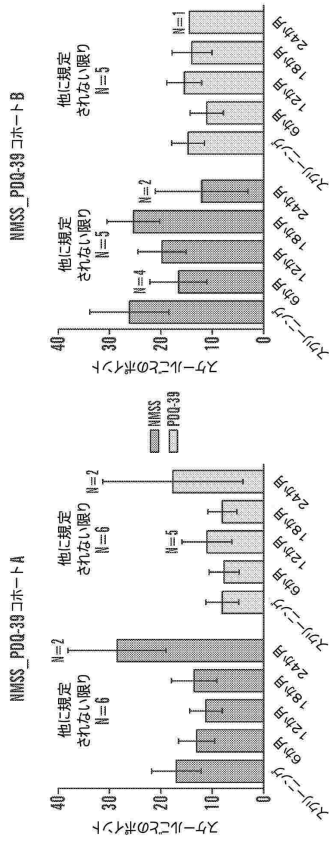
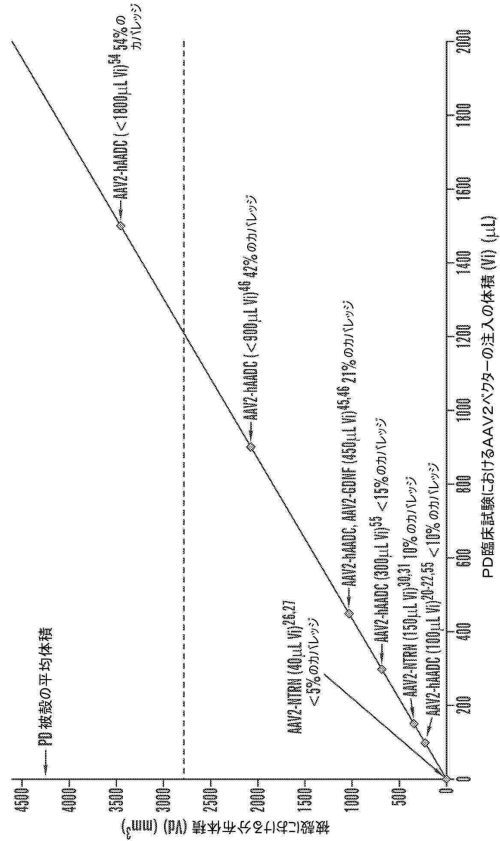


FIG. 9D

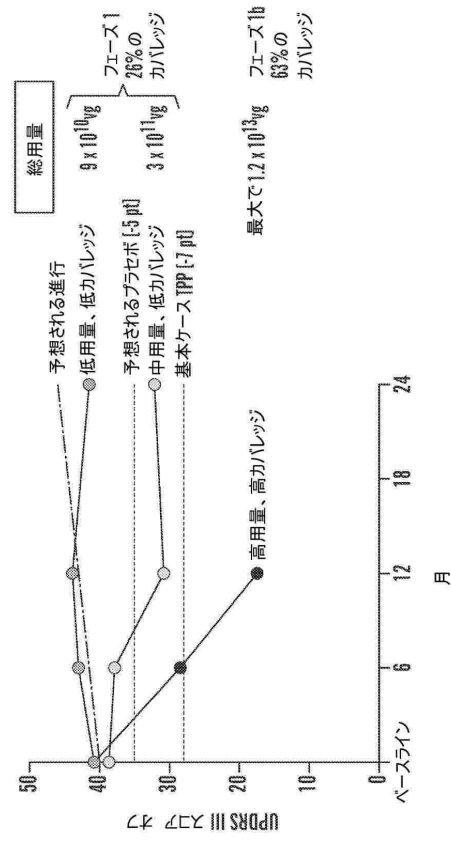
【図 10A - B】



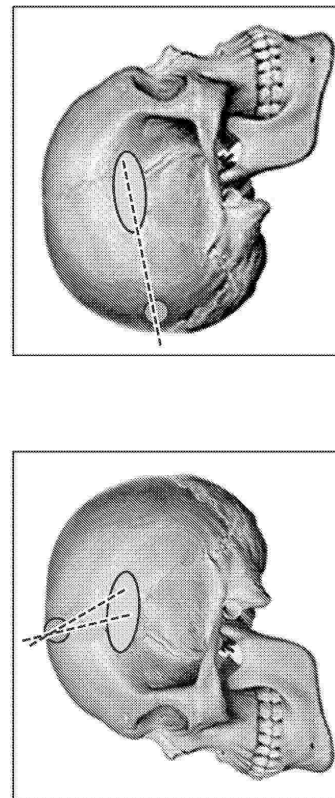
【図 12】



【図 11】



【図 13A - B】



10

20

30

40

50

【図 1 4 A】

フェーズ1 非盲検、用量 漸増安全性治 験	臨床の場所	参加者数および PDのステージ	送達アプローチ	ペンタ用量 (μg/ml)	注入体積 (μL)・投与
	NIH Clinical Center	すべて進行ステージ コホート1・n=6 コホート2・n=6 コホート3・n=1 ^a コホート4・n=0 ^a ^a 、低投与カハレッジに起因して、 これらのコホートを完了する前に、 募集を停止した	・投与あたり2軌道で両側 前頭: ・対流増強送達 (CED): ・所中MRI (IMRI) モニタリ ング; ・ガドリニール未注入	コホート1 - 3E10 コホート2 - 3E11 コホート3 - 3E11 コホート4 - 3E12	合計 - 450 前交通神経 - 300 後交通神経 - 150 平均体積投与 カハレッジ (26投与/ 52注入軌道) 26%
フェーズ1b 非盲検、 単回用量安 全性治験	OSU UCSF UCI [#] [#] 神経学の 場所のみ	初期ステージ・n=6 中期ステージ・n=6 ^a ^a 22 3月末までに5/6を配置	・投与あたり単一軌道で 両側後頭 ・それ以外は、上記と同じ	両コホート - 3E12	合計 ≤ 1800 平均 - 1500 平均体積投与 カハレッジ (20投与/ 20注入軌道) 62.5%

FIG. 14A

【図 1 4 B】

コホートごとのフェーズ1研究において達成された被験カハレッジ			
	低用量コホート n=6	中用量コホート n=6	高用量コホート n=1
平均 (範囲) 被験体積、mm ³	4453 (3310-5247)	4261 (3570-5486)	3463 (3320-3606)
平均 (範囲) 注入体積、μL	900	900	900
平均 (範囲) 被験カハレッジ、%	28 (18-43)	22 (9-48)	38 (37-39)

コホートごとのフェーズ1b研究において達成された被験カハレッジ

	軽度コホート N=6	中度コホート (N=5)
平均 (範囲) 被験体積、mm ³	3670 (3019-4159)	3701 (3242-4461)
平均 (範囲) 注入体積、μL	1464 (1140-1800)	1529 (955-1800)
平均 (範囲) 被験カハレッジ、%	62 (53-70)	64 (40-81)

FIG. 14B

【図 1 5】

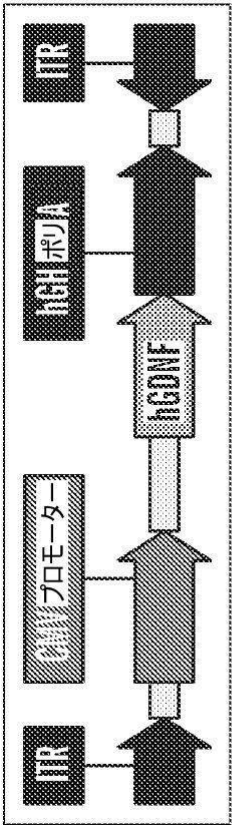


FIG. 15

【図 1 6】

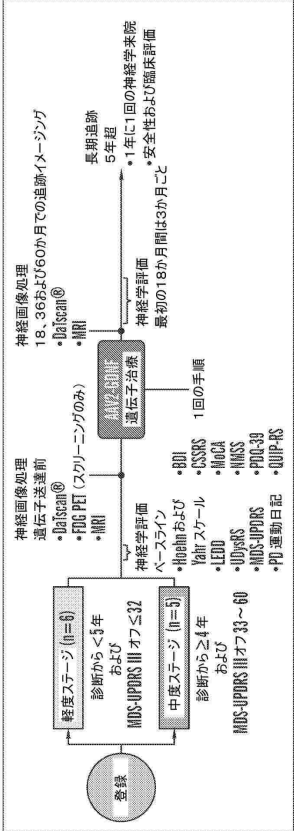


FIG. 16

【図 17-1】

器官別大分類 基本語	周術期 N=11 n (%)	処置後 N=11 n (%)
少なくとも1つのTEAEを有する対象	11 (100)	11 (100)
神経系障害	8 (73)	3 (27)
頭痛	4 (36)	
振戦	2 (18)	
感覚低下	1 (9)	
感覚低下 口腔	1 (9)	
起立性低血圧	1 (9)	
パーキンソニズム	1 (9)	
バランス障害		1 (9)
脳虚血		1 (9)
複視		1 (9)
ジスキネジア		1 (9)
ジストニア		1 (9)
すみ現象		1 (9)
筋骨格および結合組織障害	5 (45)	3 (27)
関節痛	2 (18)	
筋骨格胸痛	2 (18)	
背部痛	1 (9)	
四肢の痛み	1 (9)	
脊椎骨折	1 (9)	1 (9)
筋痙攣		1 (9)
筋硬直		1 (9)
全身障害および投与部位の状態	3 (27)	2 (18)
疲労	3 (27)	
注射部位の皮下出血	1 (9)	
顔のむくみ	1 (9)	
無力症		1 (9)
インフルエンザ様疾病		1 (9)
感染症および寄生	0 (0)	5 (45)
COVID-19		2 (18)
細菌感染症		1 (9)
蜂巣炎		1 (9)
鼻咽頭炎		1 (9)
ウイルス感染症		1 (9)

FIG. 17

【図 17-2】

胃腸障害	2 (18)	1 (9)
悪心	1 (9)	
嘔吐	1 (9)	
腹痛		1 (9)
精神障害	1 (9)	2 (18)
不安	1 (9)	
幻覚		1 (9)
強迫性行動		1 (9)
調査	0 (0)	2 (18)
磁気共鳴画像法の異常		2 (18)
血液およびリンパ系障害	0 (0)	1 (9)
血小板増加症		1 (9)
傷害、中毒および手技上の合併症	1 (9)	0 (0)
切開部位痛	1 (9)	
器官別大分類 基本語	周術期 N=11 n (%)	処置後 N=11 n (%)
良性、悪性および不特定の新生物(嚢胞およびポリープを含む)	0 (0)	1 (9)
扁桃がん		1 (9)
生殖系および乳房疾患	0 (0)	1 (9)
外陰腫の不快感		1 (9)
呼吸器、胸部および縦隔障害	1 (9)	0 (0)
咽喉刺激感	1 (9)	
皮膚および皮下組織障害	1 (9)	0 (0)
顔面浮腫	1 (9)	
血管疾患	1 (9)	0 (0)
レイノー現象	1 (9)	
少なくとも1つのSAEを有する対象	1 (9)	3 (27)
感染症および寄生	0 (0)	1 (9)
蜂巣炎		1 (9)
筋骨格および結合組織障害	1 (9)	0 (0)
脊椎骨折	1 (9)	
良性、悪性および不特定の新生物(嚢胞およびポリープを含む)	0 (0)	1 (9)
扁桃がん		1 (9)
神経系障害	0 (0)	1 (9)
脳虚血		1 (9)

FIG. 17 (続き)

【図 18A】

経皮コホート	参加者	時点	H&Y	MDS-UPDRS				UPDRS	運動日記			LED	非運動／神経精神病学					
				パートⅡ	パートⅢ オフ	パートⅢ オン	パートⅣ		日常生活に支障を 及ぼすジスキネジア	オフ	良質なオン		PQ-36	NMSS	QUIP-RS	BDI	MoCA	CSRS
1	6か月																	
	12か月																	
2	6か月																	
	12か月																	
3	6か月																	
	12か月																	
4	6か月																	
	12か月																	
5	6か月																	
	12か月																	
6	6か月																	
	12か月																	

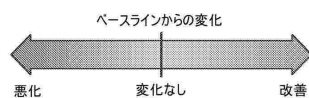


FIG. 18A

【図 18B】

	参加者	時点	H&Y	MDS-UPDRS				UPDRS	運動日記			LEDD	非運動／神経精神病学						
				パートⅡ	パートⅢ オフ	パートⅢ オン	パートⅣ		日常生活に支障を 及ぼすジスキネジア	オフ	良質なオン		PQ-36	MMSS	QUIP-RS	BDI	MoCA	CSRS	
中年度レポート	1	6か月																	
		12か月																	
	2	6か月																	
		12か月																	
	3	6か月																	
		12か月																	
	4	6か月																	
		12か月																	

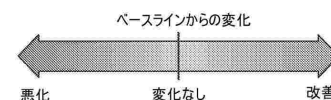


FIG. 18B

10

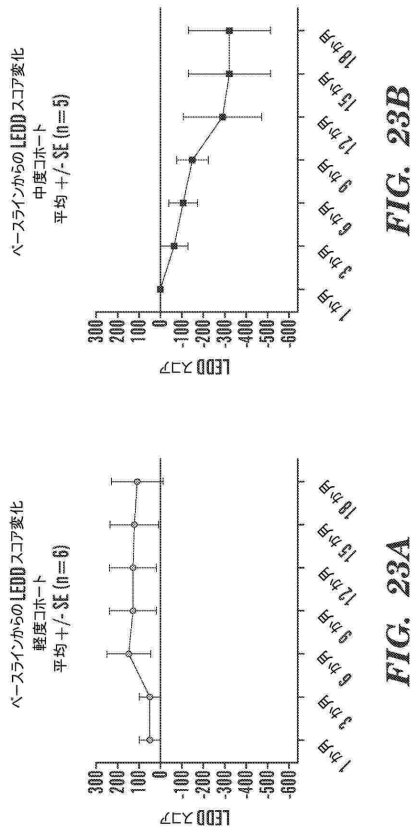
20

30

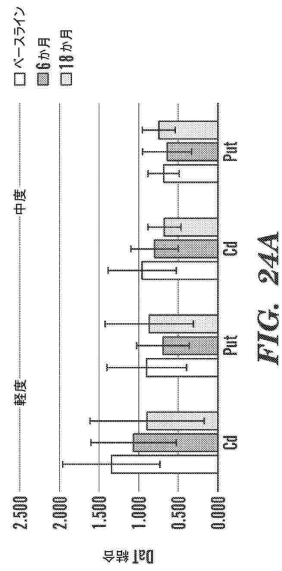
40

50

【図 23 A - B】



【図 24 A - C】



軽度	ベースライン	6か月	18か月
尾状核	0.954 ± 0.401	0.892 ± 0.389	0.677 ± 0.237
被殻	0.877 ± 0.258	0.643 ± 0.169	0.746 ± 0.198

FIG. 24C

軽度	ベースライン	6か月	18か月
尾状核	1.341 ± 0.510	1.066 ± 0.512	0.891 ± 0.545
被殻	0.899 ± 0.407	0.593 ± 0.266	0.864 ± 0.438

FIG. 24B

【図 25 A - D】

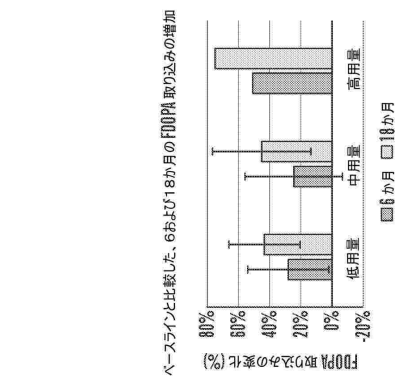
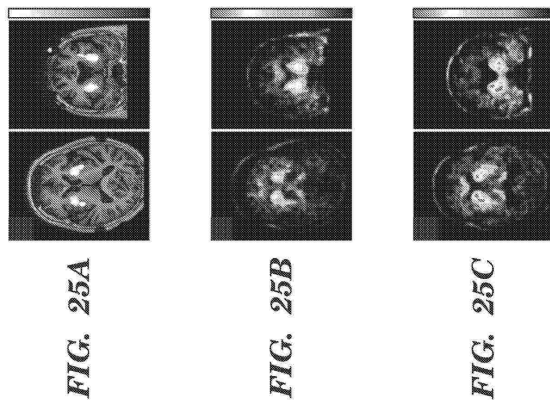


FIG. 25D



【図 26】

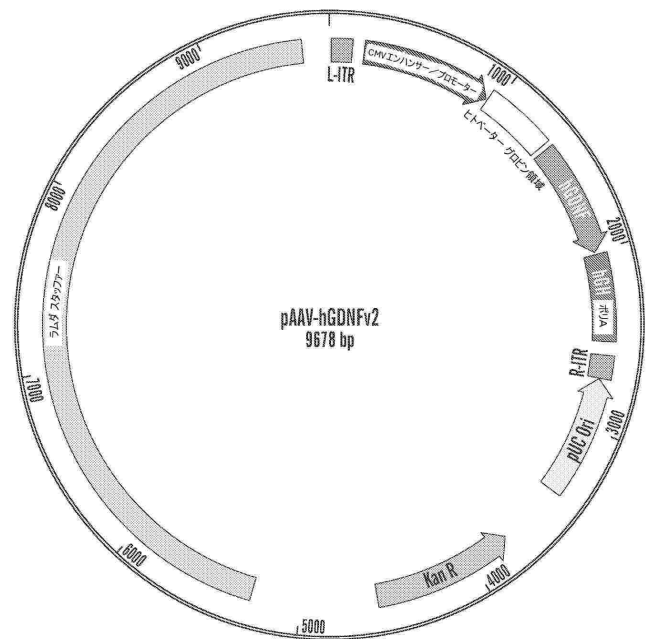


FIG. 26

10

20

30

40

50

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US23/16270

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC - INV. A61K 48/00; A61P 25/16; C12N 15/86 (2023.01) ADD. CPC - INV. A61K 48/0058; A61K 48/0075; A61P 25/16; C12N 15/8645 ADD. According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) See Search History document Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched See Search History document Electronic database consulted during the international search (name of database and, where practicable, search terms used) See Search History document		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X — Y	(HEISS, JD et al.) Trial of Magnetic Resonance-Guided Putaminal Gene Therapy for Advanced Parkinson's Disease. Movement Disorders. July 2019, Epub 30 May 2019, Vol. 34, No. 7; pages 1-17; abstract; page 1, 1st and 2nd paragraphs; page 2, 1st and 2nd paragraphs; page 4, 5th paragraph; page 6, 3rd paragraph; page 11, 1st paragraph; page 14, 1st and 2nd paragraphs; table 1; supplementary table S1; DOI: 10.1002/mds.27724.	1, 3-5, 19-20, 22-24, 26-29, 31-34, 36-38, 40-42, 46-48, 54-55, 57-59, 62-66, 68-69, 71/69, 72-75, 81 — 2, 13, 21, 30, 35, 39, 43-44, 49-53, 56, 67, 70, 71/70
X — Y	(EBERLING, JL et al.) Functional Effects of AAV2-GDNF on the Dopaminergic Nigrostriatal Pathway in Parkinsonian Rhesus Monkeys. Human Gene Therapy. May 2009, Vol. 20, No. 5; pages 511-518; abstract; page 512, 2nd column, 3rd paragraph; DOI: 10.1089/hum.2008.201.	78-79 — 52-53, 56
A —	(STRAUSBERG, RL et al.) Homo sapiens glial cell derived neurotrophic factor, mRNA (cDNA clone MGC:95398 IMAGE:7216973), complete cds. Genbank entry (online). National Institute of Biotechnology Information. 15 July 2006 (Retrieved on 23 October 2023). Retrieved from the Internet: [URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/BC069119.1]; pages 1-2	48
Y	WO 2022/049385 A1 (ASKLEPIOS BIOPHARMACEUTICAL, INC.) 10 March 2022; page 47, lines 30-33; page 49, lines 22-23; page 85, line 27	2, 13, 43-44
Y	(GILL, SS et al.) Direct brain infusion of glial cell line-derived neurotrophic factor in Parkinson disease. Nature Medicine. May 2003, Epub 31 March 2003, Vol. 9, No. 5; pages 589-595; table	21, 30, 67, 70, 71/70
☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "D" document cited by the applicant in the international application "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 23 October 2023 (23.10.2023)		Date of mailing of the international search report DEC 01 2023
Name and mailing address of the ISA/ Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1460, Alexandria, Virginia 22313-1460 Facsimile No. 571-273-8300		Authorized officer Shane Thomas Telephone No. PCT Helpdesk: 571-272-4300

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 2022)

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US23/16270

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:

- a. ☐ forming part of the international application as filed.
- b. ☒ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search (Rule 13ter.1(a)),
☒ accompanied by a statement to the effect that the sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed.

2. ☐ With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, this report has been established to the extent that a meaningful search could be carried out without a WIPO Standard ST.26 compliant sequence listing.

3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US23/16270

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☒ Claims Nos.: 6-12, 14-18, 25, 60-61, 80
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:
-***-Please See Supplemental Page-***-

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:
Groups I+, Claims 1-5, 13, 19-24, 26-59, 62-79, 81, and nervous system specific promoter (tissue-specific GDNF transgene regulating promoter), SEQ ID NO: 3 (NS specific promoter sequence).

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US23/16270

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
	2; DOI: 10.1038/nm850.	
Y	(BRIZARD, M et al.) Functional reinnervation from remaining DA terminals induced by GDNF lentivirus in a rat model of early Parkinson's disease. <i>Neurobiology of Disease</i> . January 2006, Epub 9 August 2005, Vol. 21, No. 1; page 1; abstract; DOI: 10.1016/j.nbd.2005.06.015.	35, 39
Y	(GOERTSEN, D et al.) AAV capsid variants with brain-wide transgene expression and decreased liver targeting after intravenous delivery in mouse and marmoset. <i>Nature Neuroscience</i> . January 2022, Epub 9 December 2021, Vol. 25, No. 1; pages 106-115; abstract; fig. 2a; DOI: 10.1038/s41593-021-00989-4.	49-51

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US23/16270

-Continued From Box No. III: Observations where unity of invention is lacking-

This application contains the following inventions or groups of inventions which are not so linked as to form a single general inventive concept under PCT Rule 13.1. In order for all inventions to be examined, the appropriate additional examination fees must be paid.

Groups I+, Claims 1-5, 13, 19-24, 26-59, 62-79, 81, and nervous system specific promoter (tissue-specific GDNF transgene regulating promoter), SEQ ID NO: 3 (NS specific promoter sequence) are directed towards rAAV-GDNF and methods and compositions associated therewith.

The rAAV-GDNF, methods, and compositions of Claims 1-5, 13, 19-24, 26-42, 43-44 (each in-part), 46-59, 62-79, 81 are believed to encompass the first named invention of Groups I+ and are the claims that will be searched without fee to the extent that they encompass nervous system specific promoter (first exemplary tissue-specific GDNF transgene regulating promoter), SEQ ID NO: 3 (first exemplary NS specific promoter sequence). This first named invention of Group I+ has been selected to encompass the first species of each of the genera found in claims 43-44 based on the guidance set forth in section 10.54 of the PCT International Search and Preliminary Examination Guidelines.

Applicant is invited to elect additional tissue-specific GDNF transgene regulating promoter(s), promoter sequence(s) to be searched. Additional tissue-specific GDNF transgene regulating promoter(s), promoter sequence(s) will be searched upon the payment of additional fees. Applicants must specify the searchable claims that encompass any additionally elected tissue-specific GDNF transgene regulating promoter(s), promoter sequence(s). Applicants must further indicate, if applicable, the claims which encompass the first named invention, if different than what was indicated above for this group. Failure to clearly identify how any paid additional invention fees are to be applied to the "+" group(s) will result in only the first claimed invention to be searched/examined. Exemplary elections would be CNS specific promoter (tissue-specific GDNF transgene regulating promoter), SEQ ID NO: 28 (CNS specific promoter sequence).

Groups I+ share the technical features including: a method of slowing or inhibiting progression of Parkinson's disease (PD) in a subject in need thereof, the method comprising: introducing to the subject a recombinant adeno-associated virus (rAAV) comprising a glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) transgene operably linked to a promoter, wherein at least 30% of the volume of the subject's putamen is transduced with the GDNF transgene, and wherein the subject does not exhibit an increase in PD-associated symptoms for at least 6 months following the introducing as compared to prior to introducing; a method of slowing or inhibiting a progression of Parkinson's disease (PD) in a subject in need thereof, the method comprising: locally introducing to the subject's putamen a recombinant adeno-associated virus (rAAV) vector comprising a glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) transgene operably linked to a promoter, wherein at least 30% of the volume of the subject's putamen is transduced with the GDNF transgene; a method of slowing or inhibiting a progression of PD in a subject in need thereof, the method comprising: transducing greater than or equal to about 30% of the volume of the subject's putamen with a glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) transgene, wherein the subject does not exhibit a substantial increase in PD-associated symptoms for at least 6 months following the transducing; a method of reducing or stabilizing an initial Movement Disorder Society-Unified Parkinson's Disease Rating Scale Part (MDS-UPDRS) score in a subject having Parkinson's disease (PD), the method comprising: administering to the subject's putamen a recombinant adeno-associated virus (rAAV) comprising a glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) transgene operably linked to a promoter, wherein the subject has a second MDS-UPDRS score at 6 months following the administration is decreased or stabilized as compared to the initial MDS-UPDRS score of the subject prior to administering; a method of treating a subject mildly affected by Parkinson's disease (PD), the method comprising: administering to each of the subject's putamen a recombinant adeno-associated virus (rAAV) comprising a glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) transgene operably linked to a promoter, wherein at least 30% of the subject's putamen is transduced with the GDNF transgene, and wherein the subject has a second MDS-UPDRS score at 6 months post-administering that is stabilized as compared to the initial MDS-UPDRS score; a method of treating a subject moderately affected by Parkinson's disease (PD), the method comprising: administering to each of the subject's putamen a recombinant adeno-associated virus (AAV) comprising a glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) transgene operably linked to a promoter, wherein at least 30% of the subject's putamen is transduced with the GDNF transgene, and wherein the subject has a second MDS-UPDRS score at 6 months post-administering that is at least about 20% lower than the initial MDS-UPDRS score; a method of slowing or inhibiting progression of Parkinson's disease (PD) in a subject in need thereof, the method comprising: locally introducing to each of the subject's putamen a recombinant adeno-associated virus (rAAV) vector comprising a glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) transgene operably linked to a promoter; and locally introducing an MRI contrast agent to each of the subject's putamen at substantially the same time as the rAAV, wherein at least 30% of the volume of the subject's putamen is transduced with the transgene, and wherein the subject does not exhibit a substantial increase in PD-associated symptoms for at least 6 months immediately following the introducing as compared to prior to introducing; a method of slowing or inhibiting progression of Parkinson's disease (PD) in a subject in need thereof, the method comprising: introducing to the subject a recombinant adeno-associated virus (rAAV) comprising a glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) transgene operably linked to a promoter, wherein at least 30% of the volume of the subject's putamen is transduced with the GDNF transgene, and wherein the subject does not exhibit a substantial increase in PD-associated symptoms for at least 6 months immediately following the introducing as compared to prior to introducing; a composition for slowing or inhibiting a progression of Parkinson's disease (PD) in a subject, the composition comprising: a recombinant adeno-associated virus (rAAV) comprising a genome comprising a glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) transgene operably linked to a promoter; and a pharmaceutically acceptable carrier; a formulation for slowing or inhibiting a progression of Parkinson's disease (PD) in a subject, the formulation comprising: an adeno-associated virus (AAV) at a concentration of 3×10^{12} vg to 4×10^{12} vg per mL of a pharmaceutically acceptable carrier, wherein the rAAV comprises a genome comprising a glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) transgene operably linked to a promoter; use of recombinant adeno-associated virus (rAAV) comprising a nucleic acid encoding glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF), hereinafter GDNF transgene, operably linked to a promoter in the preparation of a medicament for a method of slowing, inhibiting, or stabilizing progression of Parkinson's disease (PD) in a subject or treating a subject with a mild form of PD, wherein at least 30% of the volume of the putamen is transduced with the GDNF transgene, and wherein the subject does not exhibit an increase in PD-associated symptoms for at least 6 months immediately following the introduction as compared to prior to introduction of the medicament. These shared technical features are previously disclosed by the publication entitled "Trial of Magnetic Resonance-Guided Putaminal Gene Therapy for Advanced Parkinson's Disease" by Heiss, et al. (hereinafter "Heiss").

Heiss discloses a method of slowing or inhibiting progression of Parkinson's disease or PD in a subject in need thereof, the method comprising: introducing to the subject a recombinant adeno-associated virus or rAAV comprising a glial cell line-derived neurotrophic

-Continued Within the Next Supplemental Box-

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US23/16270

---Continued from previous Supplemental Box---

factor or GDNF transgene operably linked to a promoter (gene therapy method for PD comprising convection-enhanced delivery of an AAV2-GDNF into the bilateral putamina of PD patients, wherein the AAV2 vector contains cDNA sequences for human GDNF under control of the CMV promoter, to approach GDNF levels that result in significant restoration of dopamine activity and motor function in parkinsonian subjects (slowing or inhibiting progression of Parkinson's disease or PD in a subject in need thereof); abstract-objective; page 2, 1st and 2nd paragraphs; page 6, 3rd paragraph; page 14, 1st paragraph), wherein at least 30% of the volume of the subject's putamen is transduced with the GDNF transgene (higher doses of AAV2-GDNF and >50% putaminal coverage (wherein at least 30% of the volume of the subject's putamen is transduced with the GDNF); page 6, 3rd paragraph), and wherein the subject does not exhibit an increase in PD-associated symptoms for at least 6 months following the introducing as compared to prior to introducing (patients underwent UPDRS assessment and FDOPA-PET scanning pre-operatively and 6 and 18 months post-operatively, wherein UPDRS scores remained stable (subject does not exhibit an increase in PD-associated symptoms); abstract-objective, methods, results; a method of slowing or inhibiting a progression of PD in a subject in need thereof (gene therapy method for PD wherein pre- and post-operative UPDRS scores remain stable (slowing or inhibiting a progression of PD); abstract-objective, methods, results; page 2, 1st and 2nd paragraphs), the method comprising: locally introducing to the subject's putamen a rAAV vector comprising a GDNF transgene operably linked to a promoter (convection-enhanced delivery of an AAV2-GDNF into the bilateral putamina of PD patients, wherein the AAV2 vector contains cDNA sequences for human GDNF under control of the CMV promoter; abstract-objective; page 2, 1st and 2nd paragraphs; page 14, 1st paragraph), wherein at least 30% of the volume of the subject's putamen is transduced with the GDNF transgene (higher doses of AAV2-GDNF and >50% putaminal coverage (wherein at least 30% of the volume of the subject's putamen is transduced with the GDNF transgene); page 6, 3rd paragraph); a method of slowing or inhibiting a progression of PD in a subject in need thereof (gene therapy method for PD wherein pre- and post-operative UPDRS scores remain stable (slowing or inhibiting a progression of PD); abstract-objective, methods, results; page 2, 1st and 2nd paragraphs), the method comprising: transducing greater than or equal to about 30% of the volume of the subject's putamen with a GDNF transgene (convection-enhanced delivery of an AAV2-GDNF into the bilateral putamina of PD patients, wherein higher doses of AAV2-GDNF and >50% putaminal coverage results in greater putaminal levels of GDNF; abstract-objective; page 2, 1st and 2nd paragraphs; page 6, 3rd paragraph; page 14, 1st paragraph), wherein the subject does not exhibit a substantial increase in PD-associated symptoms for at least 6 months following the transducing (pre- and 6-month post-operative UPDRS scores remain stable; abstract-objective, methods, results; page 2, 1st and 2nd paragraphs); a method of reducing or stabilizing an initial MDS-UPDRS score in a subject having PD (gene therapy method for PD wherein pre- and post-operative UPDRS scores remain stable; abstract-objective, methods, results; page 2, 1st and 2nd paragraphs), the method comprising: administering to the subject's putamen a rAAV comprising a GDNF transgene operably linked to a promoter (convection-enhanced delivery of an AAV2-GDNF into the bilateral putamina of PD patients, wherein the AAV2 vector contains cDNA sequences for human GDNF under control of the CMV promoter; abstract-objective; page 2, 1st and 2nd paragraphs; page 14, 1st paragraph), wherein the subject has a second MDS-UPDRS score at 6 months following the administration is decreased or stabilized as compared to the initial MDS-UPDRS score of the subject prior to administering (gene therapy method for PD wherein pre- and 6-month post-operative UPDRS scores remain stable; abstract-objective, methods, results; page 2, 1st and 2nd paragraphs); a method of treating a subject mildly affected by PD, the method comprising: administering to each of the subject's putamen a rAAV comprising a GDNF transgene operably linked to a promoter (gene therapy method for PD subjects having a UPDRS score of 30 (subject mildly affected by PD) comprising convection-enhanced delivery of an AAV2-GDNF into the bilateral putamina of PD patients, wherein the AAV2 vector contains cDNA sequences for human GDNF under control of the CMV promoter; abstract-objective; page 2, 1st and 2nd paragraphs; page 6, 3rd paragraph; page 11, 1st paragraph; page 14, 1st paragraph), wherein at least 30% of the subject's putamen is transduced with the GDNF transgene (higher doses of AAV2-GDNF and >50% putaminal coverage (wherein at least 30% of the volume of the subject's putamen is transduced with the GDNF); page 6, 3rd paragraph), and wherein the subject has a second MDS-UPDRS score at 6 months post-administering that is stabilized as compared to the initial MDS-UPDRS score (gene therapy method for PD wherein pre- and 6-month post-operative UPDRS scores remain stable; abstract-objective, methods, results; page 2, 1st and 2nd paragraphs); a method of treating a subject moderately affected by PD, the method comprising: administering to each of the subject's putamen a rAAV comprising a GDNF transgene operably linked to a promoter (gene therapy method for PD subjects having a UPDRS score greater than or equal to 30 (subject moderately affected by PD) comprising convection-enhanced delivery of an AAV2-GDNF into the bilateral putamina of PD patients, wherein the AAV2 vector contains cDNA sequences for human GDNF under control of the CMV promoter; abstract-objective; page 2, 1st and 2nd paragraphs; page 6, 3rd paragraph; page 11, 1st paragraph; page 14, 1st paragraph), wherein at least 30% of the subject's putamen is transduced with the GDNF transgene (higher doses of AAV2-GDNF and >50% putaminal coverage (wherein at least 30% of the volume of the subject's putamen is transduced with the GDNF); page 6, 3rd paragraph), and wherein the subject has a second MDS-UPDRS score at 6 months post-administering that is at least about 20% lower than the initial MDS-UPDRS score (gene therapy method for PD wherein pre- and 6-month post-operative UPDRS scores remain stable or decreased by at least 20%; abstract-objective, methods, results; page 2, 1st and 2nd paragraphs; table 1; supplementary table S1); a method of slowing or inhibiting progression of PD in a subject in need thereof, the method comprising: locally introducing to each of the subject's putamen a rAAV vector comprising a GDNF transgene operably linked to a promoter (gene therapy method for PD subjects (slowing or inhibiting progression of PD) comprising convection-enhanced delivery of an AAV2-GDNF into the bilateral putamina of PD patients, wherein the AAV2 vector contains cDNA sequences for human GDNF under control of the CMV promoter; abstract-objective; page 2, 1st and 2nd paragraphs; page 6, 3rd paragraph; page 14, 1st paragraph), and locally introducing an MRI contrast agent to each of the subject's putamen at substantially the same time as the rAAV (Gadoteridol, a gadolinium contrast agent, was co-infused with AAV2-GDNF in the putamen; page 3, 1st paragraph), wherein at least 30% of the volume of the subject's putamen is transduced with the transgene (higher doses of AAV2-GDNF and >50% putaminal coverage (wherein at least 30% of the volume of the subject's putamen is transduced with the GDNF); page 6, 3rd paragraph), and wherein the subject does not exhibit a substantial increase in PD-associated symptoms for at least 6 months immediately following the introducing as compared to prior to introducing (gene therapy method for PD wherein pre- and 6-month post-operative UPDRS scores remain stable or decreased; abstract-objective, methods, results; page 2, 1st and 2nd paragraphs; table 1; supplementary table S1); a method of slowing or inhibiting progression of PD in a subject in need thereof, the method comprising: introducing to the subject a rAAV comprising a GDNF transgene operably linked to a promoter (gene therapy method for PD subjects (slowing or inhibiting progression of PD) comprising convection-enhanced delivery of an AAV2-GDNF into the bilateral putamina of PD patients, wherein the AAV2 vector contains cDNA sequences for human GDNF under control of the CMV promoter; abstract-objective; page 2, 1st and 2nd paragraphs; page 6, 3rd paragraph; page 14, 1st paragraph), wherein at least 30% of the volume of the subject's putamen is transduced with the GDNF transgene (higher doses of AAV2-GDNF and >50% putaminal coverage (wherein at least 30% of the volume of the subject's putamen is transduced with the GDNF); page 6, 3rd paragraph), and wherein the subject does not exhibit a substantial increase in PD-associated symptoms for at least 6 months immediately following the introducing as compared to prior to introducing (gene therapy method for PD wherein pre- and 6-month post-operative UPDRS scores remain stable or decreased; abstract-objective, methods, results; page 2, 1st and 2nd paragraphs; table 1;

---Continued Within the Next Supplemental Box---

Form PCT/ISA/210 (extra sheet) (July 2022)

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US23/16270

Continued from previous Supplemental Box

supplementary table S1); a composition for slowing or inhibiting a progression of PD in a subject, the composition comprising: a rAAV comprising a genome comprising a GDNF transgene operably linked to a promoter; and a pharmaceutically acceptable carrier (gene therapy method for PD using an infusion composition (composition comprising a pharmaceutically acceptable carrier) comprising AAV2-GDNF, wherein the AAV2 vector contains cDNA sequences for human GDNF under control of the CMV promoter; abstract-objective, methods; page 2, 1st and 2nd paragraphs; page 14, 1st and 2nd paragraphs); a formulation for slowing or inhibiting a progression of PD in a subject, the formulation comprising: an AAV at a concentration of 3×10^{12} vg to 4×10^{12} vg per mL of a pharmaceutically acceptable carrier, wherein the rAAV comprises a GDNF transgene operably linked to a promoter (higher doses of AAV2-GDNF giving greater than 50% putaminal coverage, wherein infusion solution at a dose of 9×10^{11} vg per 0.9 mL of pharmaceutically acceptable carrier, which translates to 10^{12} vg/mL, gave putaminal coverage of 26%, thereby indicating an AAV concentration of 3×10^{12} vg to 4×10^{12} vg per mL of a pharmaceutically acceptable carrier; abstract-methods; page 6, 3rd paragraphs; page 14, 1st and 2nd paragraphs); use of rAAV comprising a nucleic acid encoding GDNF, hereinafter GDNF transgene, operably linked to a promoter in the preparation of a medicament for a method of slowing, inhibiting, or stabilizing progression of PD in a subject or treating a subject with a mild form of PD (gene therapy method for PD subjects with UPDRS score of 30 (treating a subject with a mild form of PD) using an infusion composition (preparation of a medicament) comprising AAV2-GDNF, wherein the AAV2 vector contains cDNA sequences for human GDNF under control of the CMV promoter; abstract-objective, methods; page 2, 1st and 2nd paragraphs; page 11, 1st paragraph; page 14, 1st and 2nd paragraphs), wherein at least 30% of the volume of the putamen is transduced with the GDNF transgene (higher doses of AAV2-GDNF and >50% putaminal coverage (wherein at least 30% of the volume of the subject's putamen is transduced with the GDNF); page 6, 3rd paragraph), and wherein the subject does not exhibit an increase in PD-associated symptoms for at least 6 months immediately following the introduction as compared to prior to introduction of the medicament (gene therapy method for PD wherein pre- and 6-month post-operative UPDRS scores remain stable or decreased; abstract-objective, methods, results; page 2, 1st and 2nd paragraphs; table 1; supplementary table S1).

Since none of the special technical features of the Groups I+ inventions are found in more than one of the inventions, and since all of the shared technical features are previously disclosed by the Heiss reference, unity of invention is lacking.

フロントページの続き

(51)国際特許分類	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 51/00 (2006.01)	A 6 1 K 51/00	2 0 0
A 6 1 K 49/00 (2006.01)	A 6 1 K 49/00	
A 6 1 K 45/00 (2006.01)	A 6 1 K 45/00	
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P 43/00	1 2 1
A 6 1 K 31/198 (2006.01)	A 6 1 K 31/198	
A 6 1 K 31/13 (2006.01)	A 6 1 K 31/13	
A 6 1 K 31/428 (2006.01)	A 6 1 K 31/428	
A 6 1 K 31/381 (2006.01)	A 6 1 K 31/381	
A 6 1 K 31/4045 (2006.01)	A 6 1 K 31/4045	
A 6 1 K 31/473 (2006.01)	A 6 1 K 31/473	
A 6 1 K 31/277 (2006.01)	A 6 1 K 31/277	
C 1 2 N 15/864 (2006.01)	C 1 2 N 15/864	1 0 0 Z
C 1 2 N 15/63 (2006.01)	C 1 2 N 15/63	Z
A 6 1 K 38/18 (2006.01)	A 6 1 K 38/18	
C 1 2 N 15/18 (2006.01)	C 1 2 N 15/18	Z N A

(32)優先日 令和4年5月13日(2022.5.13)

(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)

(31)優先権主張番号 63/393,196

(32)優先日 令和4年7月28日(2022.7.28)

(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)

(31)優先権主張番号 63/438,164

(32)優先日 令和5年1月10日(2023.1.10)

(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)

(81)指定国・地域 AP(BW,CV,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,R
U,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,ME,
MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,N
E,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,
CV,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IQ,IR,IS,IT,J
M,JO,JP,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,MG,MK,MN,MU,MW,MX,MY
,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,ST,SV,S
Y,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,ZW
弁護士 山本 健策

(72)発明者 バンキーウィチ, クリストフ エス.

アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 6 1 9, オークランド, バルモラル ドライブ 5 8 1 5

(72)発明者 ケルズ, エイドリアン ピー.

アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 1 5 8, サンフランシスコ, ネルソン ライジング レーン
5 2 5, アpartment 4 0 4

(72)発明者 ヴァン ラー, アンバー

アメリカ合衆国 ノースカロライナ 2 7 7 0 9, リサーチ トライアングル パーク, ティー.
ダブリュー. アレクサンダー ドライブ 2 0, 스위트 1 1 0, アスクレピオス バイオフィ
ーマシューティカル, インコーポレイテッド 気付

(72)発明者 フィアンダカ, マッシモ エス.

アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 5 4 6, カストロ バレー, ブルックデール ブールバード
3 9 1 2

F ターム (参考) 4C084 AA02 AA03 AA13 AA19 BA44 CA01 CA53 DB59 MA02 MA16
MA66 NA05 NA13 NA14 ZA021 ZA022 ZC751
4C085 HH03 HH07 HH09 HH20 KA28 KA29 KB12 KB56 LL13

F ターム (参考)	4C086	AA01 BB02 BC13 BC27 BC84 MA01 MA04 NA05 ZA02 ZC75
	4C087	AA01 AA02 AA03 BC83 CA12 MA02 MA16 MA66 NA05 NA13 NA14 ZA02 ZC75
	4C206	AA01 FA29 FA56 HA03 HA13 KA01 KA09 MA01 MA04 NA05 ZA02 ZC75