



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 111107879 A

(43)申请公布日 2020.05.05

(21)申请号 201880052382.9

(74)专利代理机构 北京市柳沈律师事务所
11105

(22)申请日 2018.06.14

代理人 张晓飞

(30)优先权数据

62/520,084 2017.06.15 US

62/554,155 2017.09.05 US

(51)Int.Cl.

A61K 48/00(2006.01)

C12N 15/86(2006.01)

(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2020.02.12

(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/US2018/037437 2018.06.14

(87)PCT国际申请的公布数据
W02018/232055 EN 2018.12.20

(71)申请人 沃雅戈治疗公司
地址 美国马萨诸塞州

(72)发明人 M.谢尔 B.拉维纳

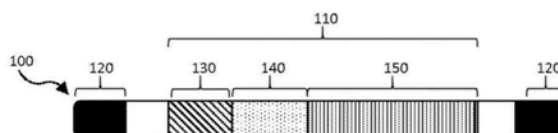
权利要求书4页 说明书169页
序列表(电子公布) 附图1页

(54)发明名称

用于治疗帕金森氏病的AADC多核苷酸

(57)摘要

本发明涉及用于制备、制造和治疗性使用编码AADC的多核苷酸以治疗帕金森氏病的组合物和方法。



1. 芳香族L-氨基酸脱羧酶 (AADC) 多核苷酸, 其包含与SEQ ID NO:979具有至少95%同一性的AADC序列区。

2. 权利要求1的AADC多核苷酸, 其中所述AADC序列区包含启动子区、增强子区、多克隆位点 (MCS) 区和聚腺苷酸化 (聚 (A)) 信号区。

3. 权利要求2的AADC多核苷酸, 其中所述AADC序列区包含至少一个5' 反向末端重复 (ITR) 区和一个3' ITR区。

4. 权利要求3的AADC多核苷酸, 其中所述5' ITR中的一个或多个位于所述MCS区的5', 并且所述3' ITR中的一个或多个位于所述聚 (A) 信号的3'。

5. 权利要求3的AADC多核苷酸, 其中所述AADC序列区包含第一外显子区、第一内含子区、第二内含子区和第二外显子区。

6. 权利要求5的AADC多核苷酸, 其中所述增强子区和启动子区源自CMV。

7. 权利要求6的AADC多核苷酸, 其中所述第一外显子区是立即早期1 (ie1) 外显子1或其片段, 所述第一内含子区是ie1内含子1或其片段, 所述第二内含子区是人 β -珠蛋白 (hB珠蛋白) 内含子2或其片段, 并且所述第二外显子区是hB珠蛋白外显子3或其片段。

8. 权利要求2的AADC多核苷酸, 其中所述聚 (A) 信号源自人生长激素。

9. 编码权利要求1-8中任一项的AADC多核苷酸的质粒或载体。

10. 权利要求9的质粒或载体, 其是或源自腺伴随病毒 (AAV)。

11. 重组AAV病毒, 其包含权利要求10的AAV质粒或载体。

12. 权利要求11的重组AAV病毒, 其包含选自下组的壳体血清型: AAV2、PHP.B、PHP.A、AAV1、AAV2G9、AAV3、AAV3a、AAV3b、AAV3-3、AAV4、AAV4-4、AAV5、AAV6、AAV6.1、AAV6.2、AAV6.1.2、AAV7、AAV7.2、AAV8、AAV9、AAV9.11、AAV9.13、AAV9.16、AAV9.24、AAV9.45、AAV9.47、AAV9.61、AAV9.68、AAV9.84、AAV9.9、AAV10、AAV11、AAV12、AAV16.3、AAV24.1、AAV27.3、AAV42.12、AAV42-1b、AAV42-2、AAV42-3a、AAV42-3b、AAV42-4、AAV42-5a、AAV42-5b、AAV42-6b、AAV42-8、AAV42-10、AAV42-11、AAV42-12、AAV42-13、AAV42-15、AAV42-aa、AAV43-1、AAV43-12、AAV43-20、AAV43-21、AAV43-23、AAV43-25、AAV43-5、AAV44.1、AAV44.2、AAV44.5、AAV223.1、AAV223.2、AAV223.4、AAV223.5、AAV223.6、AAV223.7、AAV1-7/rh.48、AAV1-8/rh.49、AAV2-15/rh.62、AAV2-3/rh.61、AAV2-4/rh.50、AAV2-5/rh.51、AAV3.1/hu.6、AAV3.1/hu.9、AAV3-9/rh.52、AAV3-11/rh.53、AAV4-8/rh.64、AAV4-9/rh.54、AAV4-19/rh.55、AAV5-3/rh.57、AAV5-22/rh.58、AAV7.3/hu.7、AAV16.8/hu.10、AAV16.12/hu.11、AAV29.3/bb.1、AAV29.5/bb.2、AAV106.1/hu.37、AAV114.3/hu.40、AAV127.2/hu.41、AAV127.5/hu.42、AAV128.3/hu.44、AAV130.4/hu.48、AAV145.1/hu.53、AAV145.5/hu.54、AAV145.6/hu.55、AAV161.10/hu.60、AAV161.6/hu.61、AAV33.12/hu.17、AAV33.4/hu.15、AAV33.8/hu.16、AAV52/hu.19、AAV52.1/hu.20、AAV58.2/hu.25、AAVA3.3、AAVA3.4、AAVA3.5、AAVA3.7、AAVC1、AAVC2、AAVC5、AAV-DJ、AAV-DJ8、AAVF3、AAVF5、AAVH2、AAVrh.72、AAVhu.8、AAVrh.68、AAVrh.70、AAVpi.1、AAVpi.3、AAVpi.2、AAVrh.60、AAVrh.44、AAVrh.65、AAVrh.55、AAVrh.47、AAVrh.69、AAVrh.45、AAVrh.59、AAVhu.12、AAVH6、AAVLK03、AAVH-1/hu.1、AAVH-5/hu.3、AAVLG-10/rh.40、AAVLG-4/rh.38、AAVLG-9/hu.39、AAVN721-8/rh.43、AAVCh.5、AAVCh.5R1、AAVcy.2、AAVcy.3、AAVcy.4、AAVcy.5、AAVCy.5R1、AAVCy.5R2、AAVCy.5R3、AAVCy.5R4、AAVcy.6、AAVhu.1、AAVhu.2、AAVhu.3、AAVhu.4、AAVhu.5、AAVhu.6、

AAVhu.7、AAVhu.9、AAVhu.10、AAVhu.11、AAVhu.13、AAVhu.15、AAVhu.16、AAVhu.17、AAVhu.18、AAVhu.20、AAVhu.21、AAVhu.22、AAVhu.23.2、AAVhu.24、AAVhu.25、AAVhu.27、AAVhu.28、AAVhu.29、AAVhu.29R、AAVhu.31、AAVhu.32、AAVhu.34、AAVhu.35、AAVhu.37、AAVhu.39、AAVhu.40、AAVhu.41、AAVhu.42、AAVhu.43、AAVhu.44、AAVhu.44R1、AAVhu.44R2、AAVhu.44R3、AAVhu.45、AAVhu.46、AAVhu.47、AAVhu.48、AAVhu.48R1、AAVhu.48R2、AAVhu.48R3、AAVhu.49、AAVhu.51、AAVhu.52、AAVhu.54、AAVhu.55、AAVhu.56、AAVhu.57、AAVhu.58、AAVhu.60、AAVhu.61、AAVhu.63、AAVhu.64、AAVhu.66、AAVhu.67、AAVhu.14/9、AAVhu.t 19、AAVrh.2、AAVrh.2R、AAVrh.8、AAVrh.8R、AAVrh.10、AAVrh.12、AAVrh.13、AAVrh.13R、AAVrh.14、AAVrh.17、AAVrh.18、AAVrh.19、AAVrh.20、AAVrh.21、AAVrh.22、AAVrh.23、AAVrh.24、AAVrh.25、AAVrh.31、AAVrh.32、AAVrh.33、AAVrh.34、AAVrh.35、AAVrh.36、AAVrh.37、AAVrh.37R2、AAVrh.38、AAVrh.39、AAVrh.40、AAVrh.46、AAVrh.48、AAVrh.48.1、AAVrh.48.1.2、AAVrh.48.2、AAVrh.49、AAVrh.51、AAVrh.52、AAVrh.53、AAVrh.54、AAVrh.56、AAVrh.57、AAVrh.58、AAVrh.61、AAVrh.64、AAVrh.64R1、AAVrh.64R2、AAVrh.67、AAVrh.73、AAVrh.74、AAVrh8R、AAVrh8R A586R突变体、AAVrh8R R533A突变体、AAAV、BAAV、山羊AAV、牛AAV、AAVhE1.1、AAVhEr1.5、AAVhEr1.14、AAVhEr1.8、AAVhEr1.16、AAVhEr1.18、AAVhEr1.35、AAVhEr1.7、AAVhEr1.36、AAVhEr2.29、AAVhEr2.4、AAVhEr2.16、AAVhEr2.30、AAVhEr2.31、AAVhEr2.36、AAVhEr1.23、AAVhEr3.1、AAV2.5T、AAV-PAEC、AAV-LK01、AAV-LK02、AAV-LK03、AAV-LK04、AAV-LK05、AAV-LK06、AAV-LK07、AAV-LK08、AAV-LK09、AAV-LK10、AAV-LK11、AAV-LK12、AAV-LK13、AAV-LK14、AAV-LK15、AAV-LK16、AAV-LK17、AAV-LK18、AAV-LK19、AAV-PAEC2、AAV-PAEC4、AAV-PAEC6、AAV-PAEC7、AAV-PAEC8、AAV-PAEC11、AAV-PAEC12、AAV-2-pre-miRNA-101、AAV-8h、AAV-8b、AAV-h、AAV-b、AAV SM 10-2、AAV Shuffle 100-1、AAV Shuffle 100-3、AAV Shuffle 100-7、AAV Shuffle 10-2、AAV Shuffle 10-6、AAV Shuffle 10-8、AAV Shuffle 100-2、AAV SM 10-1、AAV SM 10-8、AAV SM 100-3、AAV SM100-10、BNP61 AAV、BNP62 AAV、BNP63 AAV、AAVrh.50、AAVrh.43、AAVrh.62、AAVrh.48、AAVhu.19、AAVhu.11、AAVhu.53、AAV4-8/rh.64、AAVLG-9/hu.39、AAV54.5/hu.23、AAV54.2/hu.22、AAV54.7/hu.24、AAV54.1/hu.21、AAV54.4R/hu.27、AAV46.2/hu.28、AAV46.6/hu.29、AAV128.1/hu.43、真型AAV(ttAAV)、UPENN AAV 10、日本AAV 10血清型、AAV CBr-7.1、AAV CBr-7.10、AAV CBr-7.2、AAV CBr-7.3、AAV CBr-7.4、AAV CBr-7.5、AAV CBr-7.7、AAV CBr-7.8、AAV CBr-B7.3、AAV CBr-B7.4、AAV CBr-E1、AAV CBr-E2、AAV CBr-E3、AAV CBr-E4、AAV CBr-E5、AAV CBr-e5、AAV CBr-E6、AAV CBr-E7、AAV CBr-E8、AAV CHt-1、AAV CHt-2、AAV CHt-3、AAV CHt-6.1、AAV CHt-6.10、AAV CHt-6.5、AAV CHt-6.6、AAV CHt-6.7、AAV CHt-6.8、AAV CHt-P1、AAV CHt-P2、AAV CHt-P5、AAV CHt-P6、AAV CHt-P8、AAV CHt-P9、AAV CKd-1、AAV CKd-10、AAV CKd-2、AAV CKd-3、AAV CKd-4、AAV CKd-6、AAV CKd-7、AAV CKd-8、AAV CKd-B1、AAV CKd-B2、AAV CKd-B3、AAV CKd-B4、AAV CKd-B5、AAV CKd-B6、AAV CKd-B7、AAV CKd-B8、AAV CKd-H1、AAV CKd-H2、AAV CKd-H3、AAV CKd-H4、AAV CKd-H5、AAV CKd-H6、AAV CKd-N3、AAV CKd-N4、AAV CKd-N9、AAV CLg-F1、AAV CLg-F2、AAV CLg-F3、AAV CLg-F4、AAV CLg-F5、AAV CLg-F6、AAV CLg-F7、AAV CLg-F8、AAV CLv-1、AAV CLv1-1、AAV Clv1-10、AAV CLv1-2、AAV CLv-12、AAV CLv1-3、AAV CLv-13、AAV CLv1-4、AAV Clv1-7、AAV Clv1-8、AAV Clv1-9、AAV CLv-2、AAV CLv-3、AAV CLv-4、AAV

CLv-6、AAV CLv-8、AAV CLv-D1、AAV CLv-D2、AAV CLv-D3、AAV CLv-D4、AAV CLv-D5、AAV CLv-D6、AAV CLv-D7、AAV CLv-D8、AAV CLv-E1、AAV CLv-K1、AAV CLv-K3、AAV CLv-K6、AAV CLv-L4、AAV CLv-L5、AAV CLv-L6、AAV CLv-M1、AAV CLv-M11、AAV CLv-M2、AAV CLv-M5、AAV CLv-M6、AAV CLv-M7、AAV CLv-M8、AAV CLv-M9、AAV CLv-R1、AAV CLv-R2、AAV CLv-R3、AAV CLv-R4、AAV CLv-R5、AAV CLv-R6、AAV CLv-R7、AAV CLv-R8、AAV CLv-R9、AAV CSp-1、AAV CSp-10、AAV CSp-11、AAV CSp-2、AAV CSp-3、AAV CSp-4、AAV CSp-6、AAV CSp-7、AAV CSp-8、AAV CSp-8.10、AAV CSp-8.2、AAV CSp-8.4、AAV CSp-8.5、AAV CSp-8.6、AAV CSp-8.7、AAV CSp-8.8、AAV CSp-8.9、AAV CSp-9、AAV.hu.48R3、AAV.VR-355、AAV3B、AAV4、AAV5、AAVF1/HSC1、AAVF11/HSC11、AAVF12/HSC12、AAVF13/HSC13、AAVF14/HSC14、AAVF15/HSC15、AAVF16/HSC16、AAVF17/HSC17、AAVF2/HSC2、AAVF3/HSC3、AAVF4/HSC4、AAVF5/HSC5、AAVF6/HSC6、AAVF7/HSC7、AAVF8/HSC8、AAVF9/HSC9、PHP.B (AAV-PHP.B)、PHP.A (AAV.PHP.A)、G2B-26、G2B-13、TH1.1-32、TH1.1-35、AAVPHP.B2、AAVPHP.B3、AAVPHP.N/PHP.B-DGT、AAVPHP.B-EST、AAVPHP.B-GGT、AAVPHP.B-ATP、AAVPHP.B-ATT-T、AAVPHP.B-DGT-T、AAVPHP.B-GGT-T、AAVPHP.B-SGS、AAVPHP.B-AQP、AAVPHP.B-QQP、AAVPHP.B-SNP (3)、AAVPHP.B-SNP、AAVPHP.B-QGT、AAVPHP.B-NQT、AAVPHP.B-EGS、AAVPHP.B-SGN、AAVPHP.B-EGT、AAVPHP.B-DST、AAVPHP.B-DST、AAVPHP.B-STP、AAVPHP.B-PQP、AAVPHP.B-SQP、AAVPHP.B-QLP、AAVPHP.B-TMP、AAVPHP.B-TTP、AAVPHP.S/G2A12、AAVG2A15/G2A3、AAVG2B4、和/或AAVG2B5,及其变体。

13. 权利要求12的重组AAV病毒,其中所述壳体血清型是AAV2。

14. 权利要求12的重组AAV病毒,其中所述壳体血清型是AAVrh10。

15. 权利要求12的重组AAV病毒,其中所述壳体血清型是AAV9 (hu14)。

16. 权利要求12的重组AAV病毒,其中所述壳体血清型是AAV-DJ。

17. 权利要求12的重组AAV病毒,其中所述壳体血清型是AAV9.47。

18. 权利要求12的重组AAV病毒,其中所述壳体血清型是AAV-DJ8。

19. 权利要求1的AADC多核苷酸,其中所述AADC序列区与SEQ ID NO:979具有至少99%的同一性。

20. 药物组合物,其包含腺伴随病毒 (AAV) 颗粒,所述AAV颗粒包含AAV壳体和载体基因组,所述载体基因组包含与SEQ ID NO:900具有至少95%同一性的至少一个AADC序列区。

21. 权利要求20的药物组合物,其中所述AADC序列区与SEQ ID NO:979具有至少99%的同一性。

22. 权利要求20的药物组合物,其中至少70%的所述AAV颗粒含有载体基因组。

23. 减少受试者中的运动障碍时段的方法,其包括对所述受试者施用权利要求20-22的药物组合物。

24. 权利要求23的方法,其中通过关闭时间和运动波动的至少30%改善来显示运动障碍时段的减少。

25. 权利要求24的方法,其中所述改善持续至少6小时。

26. 权利要求23-26中任一项的方法,其中所述受试者患有帕金森氏病。

27. 改善受试者的睡眠-觉醒周期的方法,其包括对所述受试者施用权利要求20-22的药物组合物。

28. 权利要求27的方法,其中与施用所述药物组合物之前所述受试者的快速眼动 (REM)

睡眠量相比,所述受试者的REM睡眠量减少。

29. 权利要求27的方法,其中与施用所述药物组合物之前所述受试者的REM睡眠量相比,所述受试者的非REM (NREM) 睡眠量增加。

30. 权利要求27-29中任一项的方法,其中所述受试者患有帕金森氏病。

31. 治疗受试者的睡眠障碍的方法,其包括对所述受试者施用权利要求20-22的药物组合物。

32. 权利要求31的方法,其中所述睡眠障碍是失眠。

33. 权利要求31或32的方法,其中所述受试者患有帕金森氏病。

34. 增加受试者中AADC蛋白水平的方法,其包括施用权利要求20-22的药物组合物。

用于治疗帕金森氏病的AADC多核苷酸

[0001] 参考序列表

[0002] 本申请与电子格式的序列表一起提交。名称为14482-022-228_Sequence_Listing.txt的序列表文件创建于2018年6月10日,并且大小为6,461,106字节。序列表的电子格式信息通过引用完整并入本文。

发明领域

[0003] 本发明涉及用于治疗帕金森氏病的组合物,特别是核酸分子,例如编码AADC的多核苷酸。在一些实施方案中,此类AADC多核苷酸可以由重组腺伴随病毒(AAV)编码或在重组腺伴随病毒(adeno-associated virus)(AAV)内编码。

[0004] 发明背景

[0005] 芳香族L-氨基酸脱羧酶(AADC)是负责磷酸多巴胺和血清素合成的同二聚体吡哆醛磷酸依赖性酶。编码的蛋白质催化L-3,4-二羟基苯丙氨酸(L-DOPA或左旋多巴)脱羧成多巴胺;L-5-羟色氨酸脱羧成血清素;以及L-色氨酸脱羧成色胺。此基因中的缺陷是芳香族L-氨基酸脱羧酶缺乏症(AADC D)的原因,所述芳香族L-氨基酸脱羧酶缺乏症是神经递质代谢中的先天性错误,导致组合的血清素和儿茶酚胺缺乏症,其导致严重的运动和自主神经功能障碍。

[0006] 帕金森氏病(PD)是产生感觉和运动症状的中枢神经系统(CNS)的进行性神经变性疾病。多巴胺替代(即左旋多巴)已成为PD中运动损伤的标准药物治疗法。然而,多巴胺疗法的益处随着时间的流逝变得越来越不明显,部分原因是多巴胺生成细胞的逐步死亡和相应的AADC活性丧失。此外,高剂量多巴胺的系统性施用由于源自中脑边缘系统的多巴胺能刺激的副作用,如运动性能的波动、运动障碍和幻觉而变得复杂。恢复多巴胺能功能并使副作用最小化的一种策略是使用基因疗法将AADC直接递送至CNS的靶定的区域。

[0007] 腺伴随病毒(AAV)由于其长期的基因表达、在没有辅助病毒的情况下无法自主复制、转导分裂细胞和非分裂细胞的能力以及缺乏来自野生型感染的病原性而成为一种有吸引力的基因疗法载体(参见例如Hadaczek等人Mol. Ther. 18 (8), 1458-1461, Aug. 2010)。AAV是一种依赖于辅助物的DNA细小病毒,其属于依赖病毒属。

[0008] 本发明提供了此类改进的核酸构建体,例如多核苷酸,用于与包含编码全长AADC蛋白的多巴胺化酶(“DDC”)基因序列的AAV衍生的载体一起使用,以用于帕金森氏病的治疗中的基因疗法的目的。

[0009] 本文所述的核酸构建体至少包含位于DDC基因序列周围的5'-ITR和3'-ITR(其各自或两者均可以源自AAV)以及基因表达和克隆选择所需要的其它组分。

[0010] 发明概述

[0011] 本文描述了用于AADC多核苷酸的设计、制备、制造和/或配制的组合物、方法、过程、试剂盒和装置。

[0012] 在一些实施方案中,此类AADC多核苷酸可以由质粒或载体或重组腺伴随病毒(AAV)编码或包含在质粒或载体或重组腺伴随病毒(AAV)内。

[0013] 在下面的描述中阐述了本发明的各种实施方案的细节。通过说明书和权利要求书,本发明的其他特征、目的和优点将是明显的。

[0014] 附图简述

[0015] 通过以下对本发明的具体实施方案的描述,如附图所示,前述和其他目的、特征和优点将是明显的。附图不一定按比例绘制,而是将重点放在说明本发明的各种实施方案的原理上。

[0016] 图1是本发明的病毒基因组的示意图。

[0017] 发明详述

[0018] I. 本发明的组合物

[0019] 腺伴随病毒 (AAV) 和 AAV 颗粒

[0020] 细小病毒科的病毒是特征在于单链DNA基因组的小的非包膜的二十面体壳体病毒。细小病毒科病毒由两个亚科组成:感染脊椎动物的细小病毒亚科和感染无脊椎动物的浓核病毒亚科。由于其相对简单的结构,易于使用标准分子生物学进行操作技术,此病毒科可用作生物学工具。可以修饰病毒的基因组以含有用于组装功能重组病毒或病毒颗粒的最少成分,所述功能性重组病毒或病毒颗粒装有或经过工程化以表达或递送期望的有效负载,该有效负载可以递送至靶细胞、组织、器官或生物体。

[0021] 细小病毒和细小病毒科的其他成员通常在Kenneth I. Berns, "Parvoviridae: The Viruses and Their Replication," 第69章于FIELDS VIROLOGY (第3版1996) 中进行描述,其内容通过引用完整并入。

[0022] 细小病毒科包含依赖病毒属,其包括能够在脊椎动物宿主中复制的腺伴随病毒 (AAV),所述宿主包括但不限于人、灵长类、牛、犬、马和绵羊物种。

[0023] 载体基因组是长度为约5,000个核苷酸(nt)的线性单链DNA(ssDNA)分子。AAV病毒基因组可包含有效负载区和至少一个反向末端重复(ITR)或ITR区。传统上,ITR位于非结构蛋白(由Rep基因编码)和结构蛋白(由壳体基因或Cap基因编码)的编码核苷酸序列的侧翼。尽管不希望受到理论的束缚,但AAV病毒基因组通常包含两个ITR序列。载体基因组包含由ssDNA的5'和3'端的自身互补末端145nt限定的特征性的T形发夹结构,该结构形成了能量稳定的双链区。双链发夹结构包含多种功能,包括但不限于通过充当宿主病毒复制细胞的内源DNA聚合酶复合物的引物来起到DNA复制起点的作用。

[0024] 除编码的异源有效负载外,AAV颗粒可以包含任何天然存在的和/或重组的AAV血清型核苷酸序列或变体的全部或部分病毒基因组。AAV变体可以在核酸(基因组或壳体)和氨基酸水平(壳体)上具有显著同源性的序列,以产生构建体,该构建体通常为物理和功能等同物,通过相似的机制复制,并通过相似的机制组装。Chiarini等人,J.Vir.71:6823-33(1997);Srivastava等人,J.Vir.45:555-64(1983);Chiarini等人,J.Vir.73:1309-1319(1999);Rutledge等人,J.Vir.72:309-319(1998);和Wu等人,J.Vir.74:8635-47(2000),每篇的内容通过引用完整并入本文。

[0025] 在一个实施方案中,本发明的AAV颗粒是重组AAV颗粒,其是复制缺陷的,在其病毒基因组中缺乏编码功能性Rep和Cap蛋白的序列。这些缺陷性AAV颗粒可以缺乏大多数或全部亲本编码序列,并且基本上仅携带一个或两个AAV ITR序列以及用于递送至细胞、组织、器官或生物体的感兴趣的核酸。

[0026] 在一个实施方案中,本发明的AAV颗粒的病毒基因组包含至少一种控制元件,该控制元件提供了其中编码的编码序列的复制、转录和翻译。并非所有控制元件需要始终存在,只要编码序列能够在合适的宿主细胞中复制、转录和/或翻译。表达控制元件的非限制性实例包括用于转录起始和/或终止的序列、启动子和/或增强子序列、有效的RNA处理信号(例如剪接和聚腺苷酸化信号)、稳定细胞质mRNA的序列、增强翻译效率的序列(例如,Kozak共有序列)、增强蛋白质稳定性的序列和/或增强蛋白质加工和/或分泌的序列。

[0027] 根据本发明,用于治疗学和/或诊断学的AAV颗粒包含已经蒸馏或减少至转导感兴趣的核酸有效负载或货物必需的最小组分的病毒。以此种方式,AAV颗粒经工程化改造为用于特异性递送,而缺乏在野生型病毒中发现的有害复制和/或整合特征的载体。

[0028] 本发明的AAV颗粒可以重组产生,并且可以基于腺伴随病毒(AAV)亲本或参考序列。如本文所用,“载体”是转运、转导或以其他方式充当异源分子,如本文所述的核酸的载体的任何分子或部分。

[0029] 除单链AAV颗粒(例如ssAAV)外,本发明还提供了自身互补AAV(scAAV)颗粒。scAAV颗粒含有DNA链,它们退火在一起以形成双链DNA。通过跳过第二链合成,scAAV允许在细胞中快速表达。

[0030] 在一个实施方案中,本发明的AAV颗粒是scAAV。

[0031] 在一个实施方案中,本发明的AAV颗粒是ssAAV。

[0032] 用于生产和/或修饰AAV颗粒的方法是本领域中公开的,如假型化AAV颗粒(PCT专利公开文本No.WO200028004;WO200123001;WO2004112727;WO 2005005610和WO 2005072364,每篇的内容通过引用完整并入本文。

[0033] 可以修饰AAV颗粒以增强递送效率。此类经修饰的AAV颗粒可以进行有效包装,并用于以高频率和最小的毒性成功地感染靶细胞。在一些实施方案中,根据美国公开号US 20130195801(其内容通过引用完整并入本文)中描述的方法工程化改造AAV颗粒的壳体。

[0034] 在一个实施方案中,可以将包含编码本发明多肽的有效负载区的AAV颗粒导入哺乳动物细胞中。

[0035] AAV血清型

[0036] 本发明的AAV颗粒可以包含或源自任何天然或重组AAV血清型。根据本发明,AAV颗粒可以利用或基于选自以下任一种的血清型:PHP.B、PHP.A、AAV1、AAV2、AAV2G9、AAV3、AAV3a、AAV3b、AAV3-3、AAV4、AAV4-4、AAV5、AAV6、AAV6.1、AAV6.2、AAV6.1.2、AAV7、AAV7.2、AAV8、AAV9、AAV9.11、AAV9.13、AAV9.16、AAV9.24、AAV9.45、AAV9.47、AAV9.61、AAV9.68、AAV9.84、AAV9.9、AAV10、AAV11、AAV12、AAV16.3、AAV24.1、AAV27.3、AAV42.12、AAV42-1b、AAV42-2、AAV42-3a、AAV42-3b、AAV42-4、AAV42-5a、AAV42-5b、AAV42-6b、AAV42-8、AAV42-10、AAV42-11、AAV42-12、AAV42-13、AAV42-15、AAV42-aa、AAV43-1、AAV43-12、AAV43-20、AAV43-21、AAV43-23、AAV43-25、AAV43-5、AAV44.1、AAV44.2、AAV44.5、AAV223.1、AAV223.2、AAV223.4、AAV223.5、AAV223.6、AAV223.7、AAV1-7/rh.48、AAV1-8/rh.49、AAV2-15/rh.62、AAV2-3/rh.61、AAV2-4/rh.50、AAV2-5/rh.51、AAV3.1/hu.6、AAV3.1/hu.9、AAV3-9/rh.52、AAV3-11/rh.53、AAV4-8/rh.64、AAV4-9/rh.54、AAV4-19/rh.55、AAV5-3/rh.57、AAV5-22/rh.58、AAV7.3/hu.7、AAV16.8/hu.10、AAV16.12/hu.11、AAV29.3/bb.1、AAV29.5/bb.2、AAV106.1/hu.37、AAV114.3/hu.40、AAV127.2/hu.41、AAV127.5/hu.42、AAV128.3/hu.44、

AAV130.4/hu.48、AAV145.1/hu.53、AAV145.5/hu.54、AAV145.6/hu.55、AAV161.10/hu.60、AAV161.6/hu.61、AAV33.12/hu.17、AAV33.4/hu.15、AAV33.8/hu.16、AAV52/hu.19、AAV52.1/hu.20、AAV58.2/hu.25、AAVA3.3、AAVA3.4、AAVA3.5、AAVA3.7、AAVC1、AAVC2、AAVC5、AAV-DJ、AAV-DJ8、AAVF3、AAVF5、AAVH2、AAVrh.72、AAVhu.8、AAVrh.68、AAVrh.70、AAVpi.1、AAVpi.3、AAVpi.2、AAVrh.60、AAVrh.44、AAVrh.65、AAVrh.55、AAVrh.47、AAVrh.69、AAVrh.45、AAVrh.59、AAVhu.12、AAVH6、AAVLK03、AAVH-1/hu.1、AAVH-5/hu.3、AAVLG-10/rh.40、AAVLG-4/rh.38、AAVLG-9/hu.39、AAVN721-8/rh.43、AAVCh.5、AAVCh.5R1、AAVcy.2、AAVcy.3、AAVcy.4、AAVcy.5、AAVCy.5R1、AAVCy.5R2、AAVCy.5R3、AAVCy.5R4、AAVcy.6、AAVhu.1、AAVhu.2、AAVhu.3、AAVhu.4、AAVhu.5、AAVhu.6、AAVhu.7、AAVhu.9、AAVhu.10、AAVhu.11、AAVhu.13、AAVhu.15、AAVhu.16、AAVhu.17、AAVhu.18、AAVhu.20、AAVhu.21、AAVhu.22、AAVhu.23.2、AAVhu.24、AAVhu.25、AAVhu.27、AAVhu.28、AAVhu.29、AAVhu.29R、AAVhu.31、AAVhu.32、AAVhu.34、AAVhu.35、AAVhu.37、AAVhu.39、AAVhu.40、AAVhu.41、AAVhu.42、AAVhu.43、AAVhu.44、AAVhu.44R1、AAVhu.44R2、AAVhu.44R3、AAVhu.45、AAVhu.46、AAVhu.47、AAVhu.48、AAVhu.48R1、AAVhu.48R2、AAVhu.48R3、AAVhu.49、AAVhu.51、AAVhu.52、AAVhu.54、AAVhu.55、AAVhu.56、AAVhu.57、AAVhu.58、AAVhu.60、AAVhu.61、AAVhu.63、AAVhu.64、AAVhu.66、AAVhu.67、AAVhu.14/9、AAVhu.t19、AAVrh.2、AAVrh.2R、AAVrh.8、AAVrh.8R、AAVrh.10、AAVrh.12、AAVrh.13、AAVrh.13R、AAVrh.14、AAVrh.17、AAVrh.18、AAVrh.19、AAVrh.20、AAVrh.21、AAVrh.22、AAVrh.23、AAVrh.24、AAVrh.25、AAVrh.31、AAVrh.32、AAVrh.33、AAVrh.34、AAVrh.35、AAVrh.36、AAVrh.37、AAVrh.37R2、AAVrh.38、AAVrh.39、AAVrh.40、AAVrh.46、AAVrh.48、AAVrh.48.1、AAVrh.48.1.2、AAVrh.48.2、AAVrh.49、AAVrh.51、AAVrh.52、AAVrh.53、AAVrh.54、AAVrh.56、AAVrh.57、AAVrh.58、AAVrh.61、AAVrh.64、AAVrh.64R1、AAVrh.64R2、AAVrh.67、AAVrh.73、AAVrh.74、AAVrh8R、AAVrh8R A586R突变体、AAVrh8R R533A突变体、AAAV、BAAV、山羊AAV、牛AAV、绵羊AAV、AAVhE1.1、AAVhEr1.5、AAVhEr1.14、AAVhEr1.8、AAVhEr1.16、AAVhEr1.18、AAVhEr1.35、AAVhEr1.7、AAVhEr1.36、AAVhEr2.29、AAVhEr2.4、AAVhEr2.16、AAVhEr2.30、AAVhEr2.31、AAVhEr2.36、AAVhEr1.23、AAVhEr3.1、AAV2.5T、AAV-PAEC、AAV-LK01、AAV-LK02、AAV-LK03、AAV-LK04、AAV-LK05、AAV-LK06、AAV-LK07、AAV-LK08、AAV-LK09、AAV-LK10、AAV-LK11、AAV-LK12、AAV-LK13、AAV-LK14、AAV-LK15、AAV-LK16、AAV-LK17、AAV-LK18、AAV-LK19、AAV-PAEC2、AAV-PAEC4、AAV-PAEC6、AAV-PAEC7、AAV-PAEC8、AAV-PAEC11、AAV-PAEC12、AAV-2-pre-miRNA-101、AAV-8h、AAV-8b、AAV-h、AAV-b、AAV SM 10-2、AAV Shuffle 100-1、AAV Shuffle 100-3、AAV Shuffle 100-7、AAV Shuffle 10-2、AAV Shuffle 10-6、AAV Shuffle 10-8、AAV Shuffle 100-2、AAV SM 10-1、AAV SM 10-8、AAV SM 100-3、AAV SM 100-10、BNP61 AAV、BNP62 AAV、BNP63 AAV、AAVrh.50、AAVrh.43、AAVrh.62、AAVrh.48、AAVhu.19、AAVhu.11、AAVhu.53、AAV4-8/rh.64、AAVLG-9/hu.39、AAV54.5/hu.23、AAV54.2/hu.22、AAV54.7/hu.24、AAV54.1/hu.21、AAV54.4R/hu.27、AAV46.2/hu.28、AAV46.6/hu.29、AAV128.1/hu.43、真型(true type) AAV(ttAAV)、UPENN AAV 10、日本AAV 10血清型、AAV CBr-7.1、AAV CBr-7.10、AAV CBr-7.2、AAV CBr-7.3、AAV CBr-7.4、AAV CBr-7.5、AAV CBr-7.7、AAV CBr-7.8、AAV CBr-B7.3、AAV CBr-B7.4、AAV CBr-E1、AAV CBr-E2、AAV CBr-E3、AAV CBr-E4、AAV CBr-E5、AAV CBr-e5、AAV CBr-E6、AAV

CBr-E7、AAV CBr-E8、AAV CHt-1、AAV CHt-2、AAV CHt-3、AAV CHt-6.1、AAV CHt-6.10、AAV CHt-6.5、AAV CHt-6.6、AAV CHt-6.7、AAV CHt-6.8、AAV CHt-P1、AAV CHt-P2、AAV CHt-P5、AAV CHt-P6、AAV CHt-P8、AAV CHt-P9、AAV CKd-1、AAV CKd-10、AAV CKd-2、AAV CKd-3、AAV CKd-4、AAV CKd-6、AAV CKd-7、AAV CKd-8、AAV CKd-B1、AAV CKd-B2、AAV CKd-B3、AAV CKd-B4、AAV CKd-B5、AAV CKd-B6、AAV CKd-B7、AAV CKd-B8、AAV CKd-H1、AAV CKd-H2、AAV CKd-H3、AAV CKd-H4、AAV CKd-H5、AAV CKd-H6、AAV CKd-N3、AAV CKd-N4、AAV CKd-N9、AAV CLg-F1、AAV CLg-F2、AAV CLg-F3、AAV CLg-F4、AAV CLg-F5、AAV CLg-F6、AAV CLg-F7、AAV CLg-F8、AAV CLv-1、AAV CLv1-1、AAV Clv1-10、AAV CLv1-2、AAV CLv-12、AAV CLv1-3、AAV CLv-13、AAV CLv1-4、AAV Clv1-7、AAV Clv1-8、AAV Clv1-9、AAV CLv-2、AAV CLv-3、AAV CLv-4、AAV CLv-6、AAV CLv-8、AAV CLv-D1、AAV CLv-D2、AAV CLv-D3、AAV CLv-D4、AAV CLv-D5、AAV CLv-D6、AAV CLv-D7、AAV CLv-D8、AAV CLv-E1、AAV CLv-K1、AAV CLv-K3、AAV CLv-K6、AAV CLv-L4、AAV CLv-L5、AAV CLv-L6、AAV CLv-M1、AAV CLv-M11、AAV CLv-M2、AAV CLv-M5、AAV CLv-M6、AAV CLv-M7、AAV CLv-M8、AAV CLv-M9、AAV CLv-R1、AAV CLv-R2、AAV CLv-R3、AAV CLv-R4、AAV CLv-R5、AAV CLv-R6、AAV CLv-R7、AAV CLv-R8、AAV CLv-R9、AAV CSp-1、AAV CSp-10、AAV CSp-11、AAV CSp-2、AAV CSp-3、AAV CSp-4、AAV CSp-6、AAV CSp-7、AAV CSp-8、AAV CSp-8.10、AAV CSp-8.2、AAV CSp-8.4、AAV CSp-8.5、AAV CSp-8.6、AAV CSp-8.7、AAV CSp-8.8、AAV CSp-8.9、AAV CSp-9、AAV.hu.48R3、AAV.VR-355、AAV3B、AAV4、AAV5、AAVF1/HSC1、AAVF11/HSC11、AAVF12/HSC12、AAVF13/HSC13、AAVF14/HSC14、AAVF15/HSC15、AAVF16/HSC16、AAVF17/HSC17、AAVF2/HSC2、AAVF3/HSC3、AAVF4/HSC4、AAVF5/HSC5、AAVF6/HSC6、AAVF7/HSC7、AAVF8/HSC8、AAVF9/HSC9、PHP.B (AAV-PHP.B)、PHP.A (AAV.PHP.A)、G2B-26、G2B-13、TH1.1-32、TH1.1-35、AAVPHP.B2、AAVPHP.B3、AAVPHP.N/PHP.B-DGT、AAVPHP.B-EST、AAVPHP.B-GGT、AAVPHP.B-ATP、AAVPHP.B-ATT-T、AAVPHP.B-DGT-T、AAVPHP.B-GGT-T、AAVPHP.B-SGS、AAVPHP.B-AQP、AAVPHP.B-QQP、AAVPHP.B-SNP (3)、AAVPHP.B-SNP、AAVPHP.B-QGT、AAVPHP.B-NQT、AAVPHP.B-EGS、AAVPHP.B-SGN、AAVPHP.B-EGT、AAVPHP.B-DST、AAVPHP.B-DST、AAVPHP.B-STP、AAVPHP.B-PQP、AAVPHP.B-SQP、AAVPHP.B-QLP、AAVPHP.B-TMP、AAVPHP.B-TTP、AAVPHP.S/G2A12、AAVG2A15/G2A3、AAVG2B4、和/或AAVG2B5以及其变体。

[0037] 在一些实施方案中, AAV血清型可以是或具有如美国公开No. US 20160361439 (其内容通过引用完整并入本文) 中所述的修饰, 例如但不限于野生型AAV1、AAV2、AAV3、AAV4、AAV5、AAV6、AAV7、AAV8、AAV9、AAV10、AAV11、AAV12的Y252F、Y272F、Y444F、Y500F、Y700F、Y704F、Y730F、Y275F、Y281F、Y508F、Y576F、Y612G、Y673F、和Y720, 及其杂合物。

[0038] 在一些实施方案中, AAV血清型可以是或具有如美国专利号US 9546112 (其内容通过引用完整并入本文) 中所述的突变, 例如但不限于的至少两种, 但非全部: AAV6 (US 9546112的SEQ ID NO:4)、AAV1 (US 9546112的SEQ ID NO:6)、AAV2、AAV3、AAV4、AAV5、AAV7、AAV9、AAV10或AAV11或其衍生物的序列中F129L、D418E、K531E、L584F、V598A和H642N突变。在又一个实施方案中, AAV血清型可以是或具有包含K531E突变的AAV6序列 (US 9546112的SEQ ID NO:5)。

[0039] 在一些实施方案中, AAV血清型可以是或具有AAV1序列中的突变, 如美国公开号US 20130224836中所述, 其内容通过引用完整并入本文, 例如但不限于表面暴露的酪氨酸残基中的至少一个, 优选在AAV1 (US 20130224836的SEQ ID NO:2) 的252、273、445、701、705和

731位处的表面暴露的酪氨酸残基中的至少一个,用另一种氨基酸取代,优选用苯丙氨酸残基取代。在一个实施方案中,AAV血清型可以是或具有AAV9序列中的突变,例如但不限于表面暴露的酪氨酸残基中的至少一个,优选地在AAV2 (US 20130224836的SEQ ID NO:4)的252、272、444、500、700、704和730位处的表面暴露的酪氨酸残基中的至少一个被另一种氨基酸,优选用苯丙氨酸残基取代。在一个实施方案中,在AAV9 (SEQ ID NO:6US 20130224836)的446位处的酪氨酸残基用苯丙氨酸残基取代。

[0040] 在一些实施方案中,血清型可以是AAV2或其变体,如国际公开号W02016130589中所述,其通过引用完整并入本文。AAV2的氨基酸序列可以包含N587A、E548A或N708A突变。在一个实施方案中,任何AAV的氨基酸序列可包含V708K突变。

[0041] 在一些实施方案中,AAV血清型可以是或具有如美国公开号US20030138772 (其内容通过引用完整并入本文)中所述的序列,例如但不限于AAV1 (US20030138772的SEQ ID NO:6和64)、AAV2 (US20030138772的SEQ ID NO:7和70)、AAV3 (US20030138772的SEQ ID NO:8和71)、AAV4 (US20030138772的SEQ ID NO:63)、AAV5 (US20030138772的SEQ ID NO:114)、AAV6 (US20030138772的SEQ ID NO:65)、AAV7 (US20030138772的SEQ ID NO:1-3)、AAV8 (US20030138772的SEQ ID NO:4和95)、AAV9 (US20030138772的SEQ ID NO:5和100)、AAV10 (US20030138772的SEQ ID NO:117)、AAV11 (US20030138772的SEQ ID NO:118)、AAV12 (US20030138772的SEQ ID NO:119)、AAVrh10 (US20030138772的SEQ ID NO:81的氨基酸1至738)、AAV16.3 (US20030138772SEQ ID NO:10)、AAV29.3/bb.1 (US20030138772SEQ ID NO:11)、AAV29.4 (US20030138772SEQ ID NO:12)、AAV29.5/bb.2 (US20030138772SEQ ID NO:13)、AAV1.3 (US20030138772SEQ ID NO:14)、AAV13.3 (US20030138772SEQ ID NO:15)、AAV24.1 (US20030138772SEQ ID NO:16)、AAV27.3 (US20030138772SEQ ID NO:17)、AAV7.2 (US20030138772SEQ ID NO:18)、AAVC1 (US20030138772SEQ ID NO:19)、AAVC3 (US20030138772SEQ ID NO:20)、AAVC5 (US20030138772SEQ ID NO:21)、AAVF1 (US20030138772SEQ ID NO:22)、AAVF3 (US20030138772SEQ ID NO:23)、AAVF5 (US20030138772SEQ ID NO:24)、AAVH6 (US20030138772SEQ ID NO:25)、AAVH2 (US20030138772SEQ ID NO:26)、AAV42-8 (US20030138772SEQ ID NO:27)、AAV42-15 (US20030138772SEQ ID NO:28)、AAV42-5b (US20030138772SEQ ID NO:29)、AAV42-1b (US20030138772SEQ ID NO:30)、AAV42-13 (US20030138772SEQ ID NO:31)、AAV42-3a (US20030138772SEQ ID NO:32)、AAV42-4 (US20030138772SEQ ID NO:33)、AAV42-5a (US20030138772SEQ ID NO:34)、AAV42-10 (US20030138772SEQ ID NO:35)、AAV42-3b (US20030138772SEQ ID NO:36)、AAV42-11 (US20030138772SEQ ID NO:37)、AAV42-6b (US20030138772SEQ ID NO:38)、AAV43-1 (US20030138772SEQ ID NO:39)、AAV43-5 (US20030138772SEQ ID NO:40)、AAV43-12 (US20030138772SEQ ID NO:41)、AAV43-20 (US20030138772SEQ ID NO:42)、AAV43-21 (US20030138772SEQ ID NO:43)、AAV43-23 (US20030138772SEQ ID NO:44)、AAV43-25 (US20030138772SEQ ID NO:45)、AAV44.1 (US20030138772SEQ ID NO:46)、AAV44.5 (US20030138772SEQ ID NO:47)、AAV223.1 (US20030138772SEQ ID NO:48)、AAV223.2 (US20030138772SEQ ID NO:49)、AAV223.4 (US20030138772SEQ ID NO:50)、AAV223.5 (US20030138772SEQ ID NO:51)、AAV223.6 (US20030138772SEQ ID NO:52)、AAV223.7 (US20030138772SEQ ID NO:53)、AAVA3.4

(US20030138772SEQ ID NO:54)、AAVA3.5 (US20030138772SEQ ID NO:55)、AAVA3.7 (US20030138772SEQ ID NO:56)、AAVA3.3 (US20030138772SEQ ID NO:57)、AAV42.12 (US20030138772SEQ ID NO:58)、AAV44.2 (US20030138772SEQ ID NO:59)、AAV42-2 (US20030138772SEQ ID NO:9) 或其变体。

[0042] 在一些实施方案中, AAV血清型可以是或具有如美国公开号US20150159173 (其内容通过引用完整并入本文) 中所述的序列, 例如但不限于AAV2 (US20150159173的SEQ ID NO:7和23)、rh20 (US20150159173的SEQ ID NO:1)、rh32/33 (US20150159173的SEQ ID NO:2)、rh39 (US20150159173的SEQ ID NO:3、20和36)、rh46 (US20150159173的SEQ ID NO:4和22)、rh73 (US20150159173的SEQ ID NO:5)、rh74 (US20150159173的SEQ ID NO:6)、AAV6.1 (US20150159173的SEQ ID NO:29)、rh.8 (US20150159173的SEQ ID NO:41)、rh.48.1 (US20150159173的SEQ ID NO:44)、hu.44 (US20150159173的SEQ ID NO:45)、hu.29 (US20150159173的SEQ ID NO:42)、hu.48 (US20150159173的SEQ ID NO:38)、rh54 (US20150159173的SEQ ID NO:49)、AAV2 (US20150159173的SEQ ID NO:7)、cy.5 (US20150159173的SEQ ID NO:8和24)、rh.10 (US20150159173的SEQ ID NO:9和25)、rh.13 (US20150159173的SEQ ID NO:10和26)、AAV1 (US20150159173的SEQ ID NO:11和27)、AAV3 (US20150159173的SEQ ID NO:12和28)、AAV6 (US20150159173的SEQ ID NO:13和29)、AAV7 (US20150159173的SEQ ID NO:14和30)、AAV8 (US20150159173的SEQ ID NO:15和31)、hu.13 (US20150159173的SEQ ID NO:16和32)、hu.26 (US20150159173的SEQ ID NO:17和33)、hu.37 (US20150159173的SEQ ID NO:18和34)、hu.53 (US20150159173的SEQ ID NO:19和35)、rh.43 (US20150159173的SEQ ID NO:21和37)、rh2 (US20150159173的SEQ ID NO:39)、rh.37 (US20150159173的SEQ ID NO:40)、rh.64 (US20150159173的SEQ ID NO:43)、rh.48 (US20150159173的SEQ ID NO:44)、ch.5 (SEQ ID NO 46)、rh.67 (US20150159173的SEQ ID NO:47)、rh.58 (US20150159173的SEQ ID NO:48)、或其变体, 包括但不限于Cy5R1、Cy5R2、Cy5R3、Cy5R4、rh.13R、rh.37R2、rh.2R、rh.8R、rh.48.1、rh.48.2、rh.48.1.2、hu.44R1、hu.44R2、hu.44R3、hu.29R、ch.5R1、rh64R1、rh64R2、AAV6.2、AAV6.1、AAV6.12、hu.48R1、hu.48R2和hu.48R3。

[0043] 在一些实施方案中, AAV血清型可以是或具有如美国专利号US 7198951 (其内容通过引用完整并入本文) 中所述的序列, 例如但不限于AAV9 (US 7198951的SEQ ID NO:1-3)、AAV2 (US 7198951的SEQ ID NO:4)、AAV1 (US 7198951的SEQ ID NO:5)、AAV3 (US 7198951的SEQ ID NO:6)、AAV8 (US 7198951的SEQ ID NO:7)。

[0044] 在一些实施方案中, AAV血清型可以是或具有如由N Pulicherla等人 (Molecular Therapy 19 (6):1070-1078 (2011), 其通过引用完整并入本文) 所述的AAV9序列中的突变, 例如但不限于AAV9.9、AAV9.11、AAV9.13、AAV9.16、AAV9.24、AAV9.45、AAV9.47、AAV9.61、AAV9.68、AAV9.84。

[0045] 在一些实施方案中, AAV血清型可以是或具有如美国专利号US 6156303 (其内容通过引用完整并入本文) 中所述的序列, 例如但不限于AAV3B (US 6156303的SEQ ID NO:1和10)、AAV6 (US 6156303的SEQ ID NO:2、7和11)、AAV2 (US 6156303的SEQ ID NO:3和8)、AAV3A (US 6156303的SEQ ID NO:4和9) 或其衍生物。

[0046] 在一些实施方案中, AAV血清型可以是或具有如美国公开号US20140359799 (其内

容通过引用完整并入本文)中所述的序列,例如但不限于AAV8 (US20140359799的SEQ ID NO:1)、AAVDJ (US20140359799的SEQ ID NO:2和3)或其变体。

[0047] 在一些实施方案中,血清型可以是AAVDJ或其变体,例如AAVDJ8 (或AAV-DJ8),如由Grimm等人(Journal of Virology 82(12):5887-5911 (2008),其通过引用完整并入本文)所述。AAVDJ8的氨基酸序列可以包含两个或更多个突变以除去肝素结合域(HBD)。作为非限制性实例,在美国专利号7,588,772 (其内容通过引用完整并入本文)中描述为SEQ ID NO:1的AAV-DJ序列可以包含两个突变:(1) R587Q,其中氨基酸587处的精氨酸(R;Arg)变为谷氨酰胺(Q;Gln)和(2) R590T,其中氨基酸590处的精氨酸(R;Arg)变为苏氨酸(T;Thr)。作为另一个非限制性实例,可包含三个突变:(1) K406R,其中氨基酸406处的赖氨酸(K;Lys)变为精氨酸(R;Arg), (2) R587Q,其中氨基酸587处的精氨酸(R;Arg)变为谷氨酰胺(Q;Gln)和(3) R590T,其中氨基酸590处的精氨酸(R;Arg)变为苏氨酸(T;Thr)。

[0048] 在一些实施方案中,AAV血清型可以是或具有如国际公开号W01998011244 (其内容通过引用完整并入本文)中所述的AAV4序列,例如但不限于AAV4 (W01998011244的SEQ ID NO:1-20)。

[0049] 在一些实施方案中,AAV血清型可以是或具有AAV2序列中的突变以产生如国际公开号W02014144229中所述的AAV2G9,其通过引用完整并入本文。

[0050] 在一些实施方案中,AAV血清型可以是或具有如国际公开号W02005033321 (其内容通过引用完整并入本文)中所述的序列,例如但不限于AAV3-3 (W02005033321的SEQ ID NO:217)、AAV1 (W02005033321的SEQ ID NO:219和202)、AAV106.1/hu.37 (W02005033321的SEQ ID NO:10)、AAV114.3/hu.40 (W02005033321的SEQ ID NO:11)、AAV127.2/hu.41 (W02005033321的SEQ ID NO:6和8)、AAV128.3/hu.44 (W02005033321的SEQ ID NO:81)、AAV130.4/hu.48 (W02005033321的SEQ ID NO:78)、AAV145.1/hu.53 (W02005033321的SEQ ID NO:176和177)、AAV145.6/hu.56 (W02005033321的SEQ ID NO:168和192)、AAV16.12/hu.11 (W02005033321的SEQ ID NO:153和57)、AAV16.8/hu.10 (W02005033321的SEQ ID NO:156和56)、AAV161.10/hu.60 (W02005033321的SEQ ID NO:170)、AAV161.6/hu.61 (W02005033321的SEQ ID NO:174)、AAV1-7/rh.48 (W02005033321的SEQ ID NO:32)、AAV1-8/rh.49 (SEQ ID NOs:103和25)、AAV2 (W02005033321的SEQ ID NO:211和221)、AAV2-15/rh.62 (W02005033321的SEQ ID NO:33和114)、AAV2-3/rh.61 (W02005033321的SEQ ID NO:21)、AAV2-4/rh.50 (W02005033321的SEQ ID NO:23和108)、AAV2-5/rh.51 (W02005033321的SEQ ID NO:104和22)、AAV3.1/hu.6 (W02005033321的SEQ ID NO:5和84)、AAV3.1/hu.9 (W02005033321的SEQ ID NO:155和58)、AAV3-11/rh.53 (W02005033321的SEQ ID NO:186和176)、AAV3-3 (W02005033321的SEQ ID NO:200)、AAV33.12/hu.17 (W02005033321的SEQ ID NO:4)、AAV33.4/hu.15 (W02005033321的SEQ ID NO:50)、AAV33.8/hu.16 (W02005033321的SEQ ID NO:51)、AAV3-9/rh.52 (W02005033321的SEQ ID NO:96和18)、AAV4-19/rh.55 (W02005033321的SEQ ID NO:117)、AAV4-4 (W02005033321的SEQ ID NO:201和218)、AAV4-9/rh.54 (W02005033321的SEQ ID NO:116)、AAV5 (W02005033321的SEQ ID NO:199和216)、AAV52.1/hu.20 (W02005033321的SEQ ID NO:63)、AAV52/hu.19 (W02005033321的SEQ ID NO:133)、AAV5-22/rh.58 (W02005033321的SEQ ID NO:27)、AAV5-3/rh.57 (W02005033321的SEQ ID NO:105)、AAV5-3/rh.57 (W02005033321的SEQ ID NO:26)、AAV58.2/hu.25

(W02005033321的SEQ ID NO:49)、AAV6 (W02005033321的SEQ ID NO:203和220)、AAV7 (W02005033321的SEQ ID NO:222和213)、AAV7.3/hu.7 (W02005033321的SEQ ID NO:55)、AAV8 (W02005033321的SEQ ID NO:223和214)、AAVH-1/hu.1 (W02005033321的SEQ ID NO:46)、AAVH-5/hu.3 (W02005033321的SEQ ID NO:44)、AAVhu.1 (W02005033321的SEQ ID NO:144)、AAVhu.10 (W02005033321的SEQ ID NO:156)、AAVhu.11 (W02005033321的SEQ ID NO:153)、AAVhu.12 (W02005033321SEQ ID NO:59)、AAVhu.13 (W02005033321的SEQ ID NO:129)、AAVhu.14/AAV9 (W02005033321的SEQ ID NO:123和3)、AAVhu.15 (W02005033321的SEQ ID NO:147)、AAVhu.16 (W02005033321的SEQ ID NO:148)、AAVhu.17 (W02005033321的SEQ ID NO:83)、AAVhu.18 (W02005033321的SEQ ID NO:149)、AAVhu.19 (W02005033321的SEQ ID NO:133)、AAVhu.2 (W02005033321的SEQ ID NO:143)、AAVhu.20 (W02005033321的SEQ ID NO:134)、AAVhu.21 (W02005033321的SEQ ID NO:135)、AAVhu.22 (W02005033321的SEQ ID NO:138)、AAVhu.23.2 (W02005033321的SEQ ID NO:137)、AAVhu.24 (W02005033321的SEQ ID NO:136)、AAVhu.25 (W02005033321的SEQ ID NO:146)、AAVhu.27 (W02005033321的SEQ ID NO:140)、AAVhu.29 (W02005033321的SEQ ID NO:132)、AAVhu.3 (W02005033321的SEQ ID NO:145)、AAVhu.31 (W02005033321的SEQ ID NO:121)、AAVhu.32 (W02005033321的SEQ ID NO:122)、AAVhu.34 (W02005033321的SEQ ID NO:125)、AAVhu.35 (W02005033321的SEQ ID NO:164)、AAVhu.37 (W02005033321的SEQ ID NO:88)、AAVhu.39 (W02005033321的SEQ ID NO:102)、AAVhu.4 (W02005033321的SEQ ID NO:141)、AAVhu.40 (W02005033321的SEQ ID NO:87)、AAVhu.41 (W02005033321的SEQ ID NO:91)、AAVhu.42 (W02005033321的SEQ ID NO:85)、AAVhu.43 (W02005033321的SEQ ID NO:160)、AAVhu.44 (W02005033321的SEQ ID NO:144)、AAVhu.45 (W02005033321的SEQ ID NO:127)、AAVhu.46 (W02005033321的SEQ ID NO:159)、AAVhu.47 (W02005033321的SEQ ID NO:128)、AAVhu.48 (W02005033321的SEQ ID NO:157)、AAVhu.49 (W02005033321的SEQ ID NO:189)、AAVhu.51 (W02005033321的SEQ ID NO:190)、AAVhu.52 (W02005033321的SEQ ID NO:191)、AAVhu.53 (W02005033321的SEQ ID NO:186)、AAVhu.54 (W02005033321的SEQ ID NO:188)、AAVhu.55 (W02005033321的SEQ ID NO:187)、AAVhu.56 (W02005033321的SEQ ID NO:192)、AAVhu.57 (W02005033321的SEQ ID NO:193)、AAVhu.58 (W02005033321的SEQ ID NO:194)、AAVhu.6 (W02005033321的SEQ ID NO:84)、AAVhu.60 (W02005033321的SEQ ID NO:184)、AAVhu.61 (W02005033321的SEQ ID NO:185)、AAVhu.63 (W02005033321的SEQ ID NO:195)、AAVhu.64 (W02005033321的SEQ ID NO:196)、AAVhu.66 (W02005033321的SEQ ID NO:197)、AAVhu.67 (W02005033321的SEQ ID NO:198)、AAVhu.7 (W02005033321的SEQ ID NO:150)、AAVhu.8 (W02005033321SEQ ID NO:12)、AAVhu.9 (W02005033321的SEQ ID NO:155)、AAVLG-10/rh.40 (W02005033321的SEQ ID NO:14)、AAVLG-4/rh.38 (W02005033321的SEQ ID NO:86)、AAVLG-4/rh.38 (W02005033321的SEQ ID NO:7)、AAVN721-8/rh.43 (W02005033321的SEQ ID NO:163)、AAVN721-8/rh.43 (W02005033321的SEQ ID NO:43)、AAVpi.1 (W02005033321SEQ ID NO:28)、AAVpi.2 (W02005033321SEQ ID NO:30)、AAVpi.3 (W02005033321SEQ ID NO:29)、AAVrh.38 (W02005033321的SEQ ID NO:86)、AAVrh.40 (W02005033321的SEQ ID NO:92)、AAVrh.43 (W02005033321的SEQ ID NO:163)、AAVrh.44 (W02005033321SEQ ID NO:34)、AAVrh.45 (W02005033321SEQ ID NO:41)、AAVrh.47 (W02005033321SEQ ID NO:38)、AAVrh.48

(WO2005033321的SEQ ID NO:115)、AAVrh.49 (WO2005033321的SEQ ID NO:103)、AAVrh.50 (WO2005033321的SEQ ID NO:108)、AAVrh.51 (WO2005033321的SEQ ID NO:104)、AAVrh.52 (WO2005033321的SEQ ID NO:96)、AAVrh.53 (WO2005033321的SEQ ID NO:97)、AAVrh.55 (WO2005033321SEQ ID NO:37)、AAVrh.56 (WO2005033321的SEQ ID NO:152)、AAVrh.57 (WO2005033321的SEQ ID NO:105)、AAVrh.58 (WO2005033321的SEQ ID NO:106)、AAVrh.59 (WO2005033321SEQ ID NO:42)、AAVrh.60 (WO2005033321SEQ ID NO:31)、AAVrh.61 (WO2005033321的SEQ ID NO:107)、AAVrh.62 (WO2005033321的SEQ ID NO:114)、AAVrh.64 (WO2005033321的SEQ ID NO:99)、AAVrh.65 (WO2005033321SEQ ID NO:35)、AAVrh.68 (WO2005033321SEQ ID NO:16)、AAVrh.69 (WO2005033321SEQ ID NO:39)、AAVrh.70 (WO2005033321SEQ ID NO:20)、AAVrh.72 (WO2005033321SEQ ID NO:9)、或其变体,包括但不限于AAVcy.2、AAVcy.3、AAVcy.4、AAVcy.5、AAVcy.6、AAVrh.12、AAVrh.17、AAVrh.18、AAVrh.19、AAVrh.21、AAVrh.22、AAVrh.23、AAVrh.24、AAVrh.25、AAVrh.25/42 15、AAVrh.31、AAVrh.32、AAVrh.33、AAVrh.34、AAVrh.35、AAVrh.36、AAVrh.37、AAVrh14。变体的非限制性实例包括WO2005033321 (其内容通过引用完整并入本文)的SEQ ID NO:13、15、17、19、24、36、40、45、47、48、51-54、60-62、64-77、79、80、82、89、90、93-95、98、100、101、109-113、118-120、124、126、131、139、142、151、154、158、161、162、165-183、202、204-212、215、219、224-236。

[0051] 在一些实施方案中,AAV血清型可以是或具有如国际公开号WO2015168666 (其内容通过引用完整并入本文)中所述的序列,例如但不限于AAVrh8R (WO2015168666的SEQ ID NO:9)、AAVrh8R A586R突变体 (WO2015168666的SEQ ID NO:10)、AAVrh8R R533A突变体 (WO2015168666的SEQ ID NO:11)或其变体。

[0052] 在一些实施方案中,AAV血清型可以是或具有如美国专利号US9233131 (其内容通过引用完整并入本文)中所述的序列,例如但不限于AAVhE1.1 (US9233131的SEQ ID NO:44)、AAVhEr1.5 (US9233131的SEQ ID NO:45)、AAVhEr1.14 (US9233131的SEQ ID NO:46)、AAVhEr1.8 (US9233131的SEQ ID NO:47)、AAVhEr1.16 (US9233131的SEQ ID NO:48)、AAVhEr1.18 (US9233131的SEQ ID NO:49)、AAVhEr1.35 (US9233131的SEQ ID NO:50)、AAVhEr1.7 (US9233131的SEQ ID NO:51)、AAVhEr1.36 (US9233131的SEQ ID NO:52)、AAVhEr2.29 (US9233131的SEQ ID NO:53)、AAVhEr2.4 (US9233131的SEQ ID NO:54)、AAVhEr2.16 (US9233131的SEQ ID NO:55)、AAVhEr2.30 (US9233131的SEQ ID NO:56)、AAVhEr2.31 (US9233131的SEQ ID NO:58)、AAVhEr2.36 (US9233131的SEQ ID NO:57)、AAVhEr1.23 (US9233131的SEQ ID NO:53)、AAVhEr3.1 (US9233131的SEQ ID NO:59)、AAV2.5T (US9233131的SEQ ID NO:42)或其变体。

[0053] 在一些实施方案中,AAV血清型可以是或具有如美国专利公开号US20150376607 (其内容通过引用完整并入本文)中所述的序列,例如但不限于AAV-PAEC (US20150376607的SEQ ID NO:1)、AAV-LK01 (US20150376607的SEQ ID NO:2)、AAV-LK02 (US20150376607的SEQ ID NO:3)、AAV-LK03 (US20150376607的SEQ ID NO:4)、AAV-LK04 (US20150376607的SEQ ID NO:5)、AAV-LK05 (US20150376607的SEQ ID NO:6)、AAV-LK06 (US20150376607的SEQ ID NO:7)、AAV-LK07 (US20150376607的SEQ ID NO:8)、AAV-LK08 (US20150376607的SEQ ID NO:9)、AAV-LK09 (US20150376607的SEQ ID NO:10)、AAV-LK10 (US20150376607的SEQ ID NO:11)、

AAV-LK11 (US20150376607的SEQ ID NO:12)、AAV-LK12 (US20150376607的SEQ ID NO:13)、AAV-LK13 (US20150376607的SEQ ID NO:14)、AAV-LK14 (US20150376607的SEQ ID NO:15)、AAV-LK15 (US20150376607的SEQ ID NO:16)、AAV-LK16 (US20150376607的SEQ ID NO:17)、AAV-LK17 (US20150376607的SEQ ID NO:18)、AAV-LK18 (US20150376607的SEQ ID NO:19)、AAV-LK19 (US20150376607的SEQ ID NO:20)、AAV-PAEC2 (US20150376607的SEQ ID NO:21)、AAV-PAEC4 (US20150376607的SEQ ID NO:22)、AAV-PAEC6 (US20150376607的SEQ ID NO:23)、AAV-PAEC7 (US20150376607的SEQ ID NO:24)、AAV-PAEC8 (US20150376607的SEQ ID NO:25)、AAV-PAEC11 (US20150376607的SEQ ID NO:26)、AAV-PAEC12 (US20150376607的SEQ ID NO:27) 或其变体。

[0054] 在一些实施方案中, AAV血清型可以是或具有如美国专利号US9163261 (其内容通过引用完整并入本文) 中所述的序列, 例如但不限于AAV-2-pre-miRNA-101 (SEQ ID NO: 1US9163261) 或其变体。

[0055] 在一些实施方案中, AAV血清型可以是或具有如美国专利公开号US20150376240 (其内容通过引用完整并入本文) 中所述的序列, 例如但不限于AAV-8h (US20150376240的SEQ ID NO:6)、AAV-8b (US20150376240的SEQ ID NO:5)、AAV-h (US20150376240的SEQ ID NO:2)、AAV-b (US20150376240的SEQ ID NO:1) 或其变体。

[0056] 在一些实施方案中, AAV血清型可以是或具有如美国专利公开号US20160017295 (其内容通过引用完整并入本文) 中所述的序列, 例如但不限于AAV SM 10-2 (US20160017295的SEQ ID NO:22)、AAV Shuffle 100-1 (US20160017295的SEQ ID NO:23)、AAV Shuffle 100-3 (US20160017295的SEQ ID NO:24)、AAV Shuffle 100-7 (US20160017295的SEQ ID NO:25)、AAV Shuffle 10-2 (US20160017295的SEQ ID NO:34)、AAV Shuffle 10-6 (US20160017295的SEQ ID NO:35)、AAV Shuffle 10-8 (US20160017295的SEQ ID NO:36)、AAV Shuffle 100-2 (US20160017295的SEQ ID NO:37)、AAV SM 10-1 (US20160017295的SEQ ID NO:38)、AAV SM 10-8 (US20160017295的SEQ ID NO:39)、AAV SM 100-3 (US20160017295的SEQ ID NO:40)、AAV SM 100-10 (US20160017295的SEQ ID NO:41) 或其变体。

[0057] 在一些实施方案中, AAV血清型可以是或具有如美国专利公开号US20150238550 (其内容通过引用完整并入本文) 中所述的序列, 例如但不限于BNP61 AAV (US20150238550的SEQ ID NO:1)、BNP62 AAV (US20150238550的SEQ ID NO:3)、BNP63 AAV (US20150238550的SEQ ID NO:4) 或其变体。

[0058] 在一些实施方案中, AAV血清型可以是或可以具有如美国专利公开号US20150315612 (其内容通过引用完整并入本文) 中所述的序列, 例如但不限于AAVrh.50 (US20150315612的SEQ ID NO:108)、AAVrh.43 (US20150315612的SEQ ID NO:163)、AAVrh.62 (US20150315612的SEQ ID NO:114)、AAVrh.48 (US20150315612的SEQ ID NO:115)、AAVhu.19 (US20150315612的SEQ ID NO:133)、AAVhu.11 (US20150315612的SEQ ID NO:153)、AAVhu.53 (US20150315612的SEQ ID NO:186)、AAV4-8/rh.64 (US20150315612的SEQ ID NO:15)、AAVLG-9/hu.39 (US20150315612的SEQ ID NO:24)、AAV54.5/hu.23 (US20150315612的SEQ ID NO:60)、AAV54.2/hu.22 (US20150315612的SEQ ID NO:67)、AAV54.7/hu.24 (US20150315612的SEQ ID NO:66)、AAV54.1/hu.21 (US20150315612的SEQ

ID NO:65)、AAV54.4R/hu.27 (US20150315612的SEQ ID NO:64)、AAV46.2/hu.28 (US20150315612的SEQ ID NO:68)、AAV46.6/hu.29 (US20150315612的SEQ ID NO:69)、AAV128.1/hu.43 (US20150315612的SEQ ID NO:80) 或其变体。

[0059] 在一些实施方案中, AAV血清型可以是或具有如国际公开号W02015121501 (其内容通过引用完整并入本文) 中所述的序列, 例如但不限于真型AAV (ttAAV) (W02015121501的SEQ ID NO:2)、“UPenn AAV10” (W02015121501的SEQ ID NO:8)、“日本AAV10” (W02015121501的SEQ ID NO:9) 或其变体。

[0060] 根据本发明, AAV壳体血清型选择或用途可以来自多种物种。在一个实施方案中, AAV可以是禽类AAV (AAAV)。AAAV血清型可以是或具有如美国专利号US 9,238,800 (其内容通过引用完整并入本文) 中所述的序列, 例如但不限于AAAV (US 9,238,800的SEQ ID NO:1、2、4、6、8、10、12和14) 或其变体。

[0061] 在一个实施方案中, AAV可以是牛AAV (BAAV)。BAAV血清型可以是或具有如美国专利号US 9,193,769 (其内容通过引用完整并入本文) 中所述的序列, 例如但不限于BAAV (US 9193769的SEQ ID NO:1和6) 或其变体。BAAV血清型可以是或具有如美国专利号US7427396 (其内容通过引用完整并入本文) 中所述的序列, 例如但不限于BAAV (US7427396的SEQ ID NO:5和6的序列) 或其变体。

[0062] 在一个实施方案中, AAV可以是山羊AAV。山羊AAV血清型可以是或具有如美国专利号US7427396 (其内容通过引用完整并入本文) 中所述的序列, 例如但不限于山羊AAV (US7427396的SEQ ID NO:3) 或其变体。

[0063] 在其他实施方案中, AAV可以工程化改造为来自两种或更多种亲本血清型的杂合AAV。在一个实施方案中, AAV可以是AAV2G9, 其包含来自AAV2和AAV9的序列。AAV2G9 AAV血清型可以是或具有如美国专利公开号US20160017005 (其内容通过引用完整并入本文) 中所述的序列。

[0064] 在一个实施方案中, AAV可以由氨基酸390-627 (VP1编号) 中具有突变的AAV9壳体文库产生的血清型, 如Pulicherla等人 (Molecular Therapy19 (6):1070-1078 (2011) (其内容通过引用完整并入本文) 中所述。血清型以及相应的核苷酸和氨基酸取代可以是但不限于AAV9.1 (G1594C;D532H)、AAV6.2 (T1418A和T1436X;V473D和I479K)、AAV9.3 (T1238A;F413Y)、AAV9.4 (T1250C和A1617T;F417S)、AAV9.5 (A1235G、A1314T、A1642G、C1760T;Q412R、T548A、A587V)、AAV9.6 (T1231A;F411I)、AAV9.9 (G1203A、G1785T;W595C)、AAV9.10 (A1500G、T1676C;M559T)、AAV9.11 (A1425T、A1702C、A1769T;T568P、Q590L)、AAV9.13 (A1369C、A1720T;N457H、T574S)、AAV9.14 (T1340A、T1362C、T1560C、G1713A;L447H)、AAV9.16 (A1775T;Q592L)、AAV9.24 (T1507C、T1521G;W503R)、AAV9.26 (A1337G、A1769C;Y446C、Q590P)、AAV9.33 (A1667C;D556A)、AAV9.34 (A1534G、C1794T;N512D)、AAV9.35 (A1289T、T1450A、C1494T、A1515T、C1794A、G1816A;Q430L、Y484N、N98K、V606I)、AAV9.40 (A1694T、E565V)、AAV9.41 (A1348T、T1362C;T450S)、AAV9.44 (A1684C、A1701T、A1737G;N562H、K567N)、AAV9.45 (A1492T、C1804T;N498Y、L602F)、AAV9.46 (G1441C、T1525C、T1549G;G481R、W509R、L517V)、9.47 (G1241A、G1358A、A1669G、C1745T;S414N、G453D、K557E、T582I)、AAV9.48 (C1445T、A1736T;P482L、Q579L)、AAV9.50 (A1638T、C1683T、T1805A;Q546H、L602H)、AAV9.53 (G1301A、A1405C、C1664T、G1811T;R134Q、S469R、A555V、G604V)、AAV9.54 (C1531A、

T1609A;L511I、L537M)、AAV9.55 (T1605A;F535L)、AAV9.58 (C1475T、C1579A;T492I、H527N)、AAV.59 (T1336C;Y446H)、AAV9.61 (A1493T;N498I)、AAV9.64 (C1531A、A1617T;L511I)、AAV9.65 (C1335T、T1530C、C1568A;A523D)、AAV9.68 (C1510A;P504T)、AAV9.80 (G1441A;G481R)、AAV9.83 (C1402A、A1500T;P468T、E500D)、AAV9.87 (T1464C、T1468C;S490P)、AAV9.90 (A1196T;Y399F)、AAV9.91 (T1316G、A1583T、C1782G、T1806C;L439R、K528I)、AAV9.93 (A1273G、A1421G、A1638C、C1712T、G1732A、A1744T、A1832T;S425G、Q474R、Q546H、P571L、G578R、T582S、D611V)、AAV9.94 (A1675T;M559L) 和 AAV9.95 (T1605A;F535L)。

[0065] 在一些实施方案中, AAV血清型可以是或具有如国际公开号W02016049230 (其内容通过引用完整并入本文) 中所述的序列, 例如但不限于AAVF1/HSC1 (W02016049230的SEQ ID NO:2和20)、AAVF2/HSC2 (W02016049230的SEQ ID NO:3和21)、AAVF3/HSC3 (W02016049230的SEQ ID NO:5和22)、AAVF4/HSC4 (W02016049230的SEQ ID NO:6和23)、AAVF5/HSC5 (W02016049230的SEQ ID NO:11和25)、AAVF6/HSC6 (W02016049230的SEQ ID NO:7和24)、AAVF7/HSC7 (W02016049230的SEQ ID NO:8和27)、AAVF8/HSC8 (W02016049230的SEQ ID NO:9和28)、AAVF9/HSC9 (W02016049230的SEQ ID NO:10和29)、AAVF11/HSC11 (W02016049230的SEQ ID NO:4和26)、AAVF12/HSC12 (W02016049230的SEQ ID NO:12和30)、AAVF13/HSC13 (W02016049230的SEQ ID NO:14和31)、AAVF14/HSC14 (W02016049230的SEQ ID NO:15和32)、AAVF15/HSC15 (W02016049230的SEQ ID NO:16和33)、AAVF16/HSC16 (W02016049230的SEQ ID NO:17和34)、AAVF17/HSC17 (W02016049230的SEQ ID NO:13和35) 或其变体。

[0066] 在一些实施方案中, AAV血清型可以是或具有如美国专利号US 8734809 (其内容通过引用完整并入本文) 中所述的序列, 例如但不限于AAV CBr-E1 (US8734809的SEQ ID NO:13和87)、AAV CBr-E2 (US8734809的SEQ ID NO:14和88)、AAV CBr-E3 (US8734809的SEQ ID NO:15和89)、AAV CBr-E4 (US8734809的SEQ ID NO:16和90)、AAV CBr-E5 (US8734809的SEQ ID NO:17和91)、AAV CBr-e5 (US8734809的SEQ ID NO:18和92)、AAV CBr-E6 (US8734809的SEQ ID NO:19和93)、AAV CBr-E7 (US8734809的SEQ ID NO:20和94)、AAV CBr-E8 (US8734809的SEQ ID NO:21和95)、AAV CLv-D1 (US8734809的SEQ ID NO:22和96)、AAV CLv-D2 (US8734809的SEQ ID NO:23和97)、AAV CLv-D3 (US8734809的SEQ ID NO:24和98)、AAV CLv-D4 (US8734809的SEQ ID NO:25和99)、AAV CLv-D5 (US8734809的SEQ ID NO:26和100)、AAV CLv-D6 (US8734809的SEQ ID NO:27和101)、AAV CLv-D7 (US8734809的SEQ ID NO:28和102)、AAV CLv-D8 (US8734809的SEQ ID NO:29和103)、AAV CLv-E1 (US8734809的SEQ ID NO:13和87)、AAV CLv-R1 (US8734809的SEQ ID NO:30和104)、AAV CLv-R2 (US8734809的SEQ ID NO:31和105)、AAV CLv-R3 (US8734809的SEQ ID NO:32和106)、AAV CLv-R4 (US8734809的SEQ ID NO:33和107)、AAV CLv-R5 (US8734809的SEQ ID NO:34和108)、AAV CLv-R6 (US8734809的SEQ ID NO:35和109)、AAV CLv-R7 (US8734809的SEQ ID NO:36和110)、AAV CLv-R8 (US8734809的SEQ ID NO:X和X)、AAV CLv-R9 (US8734809的SEQ ID NO:X和X)、AAV CLg-F1 (US8734809的SEQ ID NO:39和113)、AAV CLg-F2 (US8734809的SEQ ID NO:40和114)、AAV CLg-F3 (US8734809的SEQ ID NO:41和115)、AAV CLg-F4 (US8734809的SEQ ID NO:42和116)、AAV CLg-F5 (US8734809的SEQ ID NO:43和117)、AAV CLg-F6 (US8734809的SEQ ID NO:43和117)、AAV CLg-F7 (US8734809的SEQ ID NO:44和118)、AAV CLg-F8 (US8734809的SEQ ID NO:43和117)、AAV CSp-1 (US8734809的SEQ ID NO:

45和119)、AAV CSp-10 (US8734809的SEQ ID NO:46和120)、AAV CSp-11 (US8734809的SEQ ID NO:47和121)、AAV CSp-2 (US8734809的SEQ ID NO:48和122)、AAV CSp-3 (US8734809的SEQ ID NO:49和123)、AAV CSp-4 (US8734809的SEQ ID NO:50和124)、AAV CSp-6 (US8734809的SEQ ID NO:51和125)、AAV CSp-7 (US8734809的SEQ ID NO:52和126)、AAV CSp-8 (US8734809的SEQ ID NO:53和127)、AAV CSp-9 (US8734809的SEQ ID NO:54和128)、AAV CHt-2 (US8734809的SEQ ID NO:55和129)、AAV CHt-3 (US8734809的SEQ ID NO:56和130)、AAV CKd-1 (US8734809的SEQ ID NO:57和131)、AAV CKd-10 (US8734809的SEQ ID NO:58和132)、AAV CKd-2 (US8734809的SEQ ID NO:59和133)、AAV CKd-3 (US8734809的SEQ ID NO:60和134)、AAV CKd-4 (US8734809的SEQ ID NO:61和135)、AAV CKd-6 (US8734809的SEQ ID NO:62和136)、AAV CKd-7 (US8734809的SEQ ID NO:63和137)、AAV CKd-8 (US8734809的SEQ ID NO:64和138)、AAV CLv-1 (US8734809的SEQ ID NO:35和139)、AAV CLv-12 (US8734809的SEQ ID NO:66和140)、AAV CLv-13 (US8734809的SEQ ID NO:67和141)、AAV CLv-2 (US8734809的SEQ ID NO:68和142)、AAV CLv-3 (US8734809的SEQ ID NO:69和143)、AAV CLv-4 (US8734809的SEQ ID NO:70和144)、AAV CLv-6 (US8734809的SEQ ID NO:71和145)、AAV CLv-8 (US8734809的SEQ ID NO:72和146)、AAV CKd-B1 (US8734809的SEQ ID NO:73和147)、AAV CKd-B2 (US8734809的SEQ ID NO:74和148)、AAV CKd-B3 (US8734809的SEQ ID NO:75和149)、AAV CKd-B4 (US8734809的SEQ ID NO:76和150)、AAV CKd-B5 (US8734809的SEQ ID NO:77和151)、AAV CKd-B6 (US8734809的SEQ ID NO:78和152)、AAV CKd-B7 (US8734809的SEQ ID NO:79和153)、AAV CKd-B8 (US8734809的SEQ ID NO:80和154)、AAV CKd-H1 (US8734809的SEQ ID NO:81和155)、AAV CKd-H2 (US8734809的SEQ ID NO:82和156)、AAV CKd-H3 (US8734809的SEQ ID NO:83和157)、AAV CKd-H4 (US8734809的SEQ ID NO:84和158)、AAV CKd-H5 (US8734809的SEQ ID NO:85和159)、AAV CKd-H6 (US8734809的SEQ ID NO:77和151)、AAV CHt-1 (US8734809的SEQ ID NO:86和160)、AAV CLv1-1 (US8734809的SEQ ID NO:171)、AAV CLv1-2 (US8734809的SEQ ID NO:172)、AAV CLv1-3 (US8734809的SEQ ID NO:173)、AAV CLv1-4 (US8734809的SEQ ID NO:174)、AAV CLv1-7 (US8734809的SEQ ID NO:175)、AAV CLv1-8 (US8734809的SEQ ID NO:176)、AAV CLv1-9 (US8734809的SEQ ID NO:177)、AAV CLv1-10 (US8734809的SEQ ID NO:178)、AAV.VR-355 (US8734809的SEQ ID NO:181)、AAV.hu.48R3 (US8734809的SEQ ID NO:183)或其变体或衍生物。

[0067] 在一些实施方案中,AAV血清型可以是或具有如国际公开号W02016065001 (其内容通过引用完整并入本文)中所述的序列,例如但不限于AAV CHt-P2 (W02016065001的SEQ ID NO:1和51)、AAV CHt-P5 (W02016065001的SEQ ID NO:2和52)、AAV CHt-P9 (W02016065001的SEQ ID NO:3和53)、AAV CBr-7.1 (W02016065001的SEQ ID NO:4和54)、AAV CBr-7.2 (W02016065001的SEQ ID NO:5和55)、AAV CBr-7.3 (W02016065001的SEQ ID NO:6和56)、AAV CBr-7.4 (W02016065001的SEQ ID NO:7和57)、AAV CBr-7.5 (W02016065001的SEQ ID NO:8和58)、AAV CBr-7.7 (W02016065001的SEQ ID NO:9和59)、AAV CBr-7.8 (W02016065001的SEQ ID NO:10和60)、AAV CBr-7.10 (W02016065001的SEQ ID NO:11和61)、AAV CKd-N3 (W02016065001的SEQ ID NO:12和62)、AAV CKd-N4 (W02016065001的SEQ ID NO:13和63)、AAV CKd-N9 (W02016065001的SEQ ID NO:14和64)、AAV CLv-L4 (W02016065001的SEQ ID

NO:15和65)、AAV CLv-L5(WO2016065001的SEQ ID NO:16和66)、AAV CLv-L6(WO2016065001的SEQ ID NO:17和67)、AAV CLv-K1(WO2016065001的SEQ ID NO:18和68)、AAV CLv-K3(WO2016065001的SEQ ID NO:19和69)、AAV CLv-K6(WO2016065001的SEQ ID NO:20和70)、AAV CLv-M1(WO2016065001的SEQ ID NO:21和71)、AAV CLv-M11(WO2016065001的SEQ ID NO:22和72)、AAV CLv-M2(WO2016065001的SEQ ID NO:23和73)、AAV CLv-M5(WO2016065001的SEQ ID NO:24和74)、AAV CLv-M6(WO2016065001的SEQ ID NO:25和75)、AAV CLv-M7(WO2016065001的SEQ ID NO:26和76)、AAV CLv-M8(WO2016065001的SEQ ID NO:27和77)、AAV CLv-M9(WO2016065001的SEQ ID NO:28和78)、AAV CHt-P1(WO2016065001的SEQ ID NO:29和79)、AAV CHt-P6(WO2016065001的SEQ ID NO:30和80)、AAV CHt-P8(WO2016065001的SEQ ID NO:31和81)、AAV CHt-6.1(WO2016065001的SEQ ID NO:32和82)、AAV CHt-6.10(WO2016065001的SEQ ID NO:33和83)、AAV CHt-6.5(WO2016065001的SEQ ID NO:34和84)、AAV CHt-6.6(WO2016065001的SEQ ID NO:35和85)、AAV CHt-6.7(WO2016065001的SEQ ID NO:36和86)、AAV CHt-6.8(WO2016065001的SEQ ID NO:37和87)、AAV CSp-8.10(WO2016065001的SEQ ID NO:38和88)、AAV CSp-8.2(WO2016065001的SEQ ID NO:39和89)、AAV CSp-8.4(WO2016065001的SEQ ID NO:40和90)、AAV CSp-8.5(WO2016065001的SEQ ID NO:41和91)、AAV CSp-8.6(WO2016065001的SEQ ID NO:42和92)、AAV CSp-8.7(WO2016065001的SEQ ID NO:43和93)、AAV CSp-8.8(WO2016065001的SEQ ID NO:44和94)、AAV CSp-8.9(WO2016065001的SEQ ID NO:45和95)、AAV CBr-B7.3(WO2016065001的SEQ ID NO:46和96)、AAV CBr-B7.4(WO2016065001的SEQ ID NO:47和97)、AAV3B(WO2016065001的SEQ ID NO:48和98)、AAV4(WO2016065001的SEQ ID NO:49和99)、AAV5(WO2016065001的SEQ ID NO:50和100)或其变体或衍生物。

[0068] 在一些实施方案中,AAV血清型可以是或具有如美国公开号US20160361439(其内容通过引用完整并入本文)中所述的修饰,例如但不限于野生型AAV1、AAV2、AAV3、AAV4、AAV5、AAV6、AAV7、AAV8、AAV9、AAV10、AAV11、AAV12的Y252F、Y272F、Y444F、Y500F、Y700F、Y704F、Y730F、Y275F、Y281F、Y508F、Y576F、Y612G、Y673F、和Y720F及其杂合物。

[0069] 在一些实施方案中,AAV血清型可以是或具有如美国专利号US9546112(其内容通过引用完整并入本文)中所述的突变,例如但不限于至少两个但非所有:AAV6(US 9546112的SEQ ID NO:4)、AAV1(US 9546112的SEQ ID NO:6)的序列中的至少两个但不是全部:AAV6(US 9546112的SEQ ID NO:4)、AAV1(US 9546112的SEQ ID NO:6)、AAV2、AAV3、AAV4、AAV5、AAV7、AAV9、AAV10或AAV11的序列中的F129L、D418E、K531E、L584F、V598A和H642N突变或其衍生物。在另一个实施方案中,AAV血清型可以是或具有包含K531E突变的AAV6序列(US 9546112的SEQ ID NO:5)。

[0070] 在一些实施方案中,AAV血清型可以是或具有如美国公开号US 20130224836(其内容通过引用完整并入本文)中所述的AAV1序列中的突变,例如但不限于表面暴露的酪氨酸残基中的至少一个,优选AAV1(US 20130224836的SEQ ID NO:2)的252、273、445、701、705和731位处表面暴露的酪氨酸残基中的至少一个用另一种氨基酸,优选苯丙氨酸残基取代。在一个实施方案中,AAV血清型可以是或具有AAV9序列中的突变,例如但不限于表面暴露的酪氨酸残基中的至少一个,优选地在AAV2(US 20130224836的SEQ ID NO:4)的252、272、444、500、700、704和730位处的表面暴露的酪氨酸残基中的至少一个用另一种氨基酸,优选

用苯丙氨酸残基取代。在一个实施方案中,在AAV9 (SEQ ID NO:6US 20130224836) 的446位处的酪氨酸残基用苯丙氨酸残基取代。

[0071] 在一些实施方案中,血清型可以是AAV2或其变体,如国际公开号W02016130589 (其通过引用完整并入本文) 中所述。AAV2的氨基酸序列可以包含N587A、E548A或N708A突变。在一个实施方案中,任何AAV的氨基酸序列可包含V708K突变。

[0072] 在一个实施方案中,AAV可以是选自表1中找到的任何血清型。

[0073] 在一个实施方案中,AAV可以包含表1中的序列的序列、片段或变体。

[0074] 在一个实施方案中,AAV可以由如表1中所述的序列、片段或变体编码。

[0075] 表1.AAV血清型

[0076]

血清型	SEQ ID NO	参考信息
AAVPHP.B 或 G2B-26	1	WO2015038958 SEQ ID NO: 8 和 13
AAVPHP.B	2	WO2015038958 SEQ ID NO: 9
AAVG2B-13	3	WO2015038958 SEQ ID NO: 12
AAVTH1.1-32	4	WO2015038958 SEQ ID NO: 14
AAVTH1.1-35	5	WO2015038958 SEQ ID NO: 15
AAV1	6	US20150159173 SEQ ID NO: 11, US20150315612 SEQ ID NO: 202
AAV1	7	US20160017295 SEQ ID NO: 1 US20030138772 SEQ ID NO: 64, US20150159173 SEQ ID NO: 27,

[0077]

		US20150315612 SEQ ID NO: 219, US7198951 SEQ ID NO: 5
AAV1	8	US20030138772 SEQ ID NO: 6
AAV1.3	9	US20030138772 SEQ ID NO: 14
AAV10	10	US20030138772 SEQ ID NO: 117
AAV10	11	WO2015121501 SEQ ID NO: 9
AAV10	12	WO2015121501 SEQ ID NO: 8
AAV11	13	US20030138772 SEQ ID NO: 118
AAV12	14	US20030138772 SEQ ID NO: 119
AAV2	15	US20150159173 SEQ ID NO: 7, US20150315612 SEQ ID NO: 211
AAV2	16	US20030138772 SEQ ID NO: 70, US20150159173 SEQ ID NO: 23, US20150315612 SEQ ID NO: 221, US20160017295 SEQ ID NO: 2, US6156303 SEQ ID NO: 4, US7198951 SEQ ID NO: 4, WO2015121501 SEQ ID NO: 1
AAV2	17	US6156303 SEQ ID NO: 8
AAV2	18	US20030138772 SEQ ID NO: 7
AAV2	19	US6156303 SEQ ID NO: 3
AAV2.5T	20	US9233131 SEQ ID NO: 42
AAV223.10	21	US20030138772 SEQ ID NO: 75
AAV223.2	22	US20030138772 SEQ ID NO: 49
AAV223.2	23	US20030138772 SEQ ID NO: 76
AAV223.4	24	US20030138772 SEQ ID NO: 50
AAV223.4	25	US20030138772 SEQ ID NO: 73
AAV223.5	26	US20030138772 SEQ ID NO: 51
AAV223.5	27	US20030138772 SEQ ID NO: 74
AAV223.6	28	US20030138772 SEQ ID NO: 52
AAV223.6	29	US20030138772 SEQ ID NO: 78
AAV223.7	30	US20030138772 SEQ ID NO: 53
AAV223.7	31	US20030138772 SEQ ID NO: 77
AAV29.3	32	US20030138772 SEQ ID NO: 82
AAV29.4	33	US20030138772 SEQ ID NO: 12
AAV29.5	34	US20030138772 SEQ ID NO: 83
AAV29.5 (AAVbb.2)	35	US20030138772 SEQ ID NO: 13
AAV3	36	US20150159173 SEQ ID NO: 12
AAV3	37	US20030138772 SEQ ID NO: 71, US20150159173 SEQ ID NO: 28, US20160017295 SEQ ID NO: 3, US7198951 SEQ ID NO: 6
AAV3	38	US20030138772 SEQ ID NO: 8
AAV3.3b	39	US20030138772 SEQ ID NO: 72
AAV3-3	40	US20150315612 SEQ ID NO: 200
AAV3-3	41	US20150315612 SEQ ID NO: 217
AAV3a	42	US6156303 SEQ ID NO: 5

[0078]

AAV3a	43	US6156303 SEQ ID NO: 9
AAV3b	44	US6156303 SEQ ID NO: 6
AAV3b	45	US6156303 SEQ ID NO: 10
AAV3b	46	US6156303 SEQ ID NO: 1
AAV4	47	US20140348794 SEQ ID NO: 17
AAV4	48	US20140348794 SEQ ID NO: 5
AAV4	49	US20140348794 SEQ ID NO: 3
AAV4	50	US20140348794 SEQ ID NO: 14
AAV4	51	US20140348794 SEQ ID NO: 15
AAV4	52	US20140348794 SEQ ID NO: 19
AAV4	53	US20140348794 SEQ ID NO: 12
AAV4	54	US20140348794 SEQ ID NO: 13
AAV4	55	US20140348794 SEQ ID NO: 7
AAV4	56	US20140348794 SEQ ID NO: 8
AAV4	57	US20140348794 SEQ ID NO: 9
AAV4	58	US20140348794 SEQ ID NO: 2
AAV4	59	US20140348794 SEQ ID NO: 10
AAV4	60	US20140348794 SEQ ID NO: 11
AAV4	61	US20140348794 SEQ ID NO: 18
AAV4	62	US20030138772 SEQ ID NO: 63, US20160017295 SEQ ID NO: 4, US20140348794 SEQ ID NO: 4
AAV4	63	US20140348794 SEQ ID NO: 16
AAV4	64	US20140348794 SEQ ID NO: 20
AAV4	65	US20140348794 SEQ ID NO: 6
AAV4	66	US20140348794 SEQ ID NO: 1
AAV42.2	67	US20030138772 SEQ ID NO: 9
AAV42.2	68	US20030138772 SEQ ID NO: 102
AAV42.3b	69	US20030138772 SEQ ID NO: 36
AAV42.3B	70	US20030138772 SEQ ID NO: 107
AAV42.4	71	US20030138772 SEQ ID NO: 33
AAV42.4	72	US20030138772 SEQ ID NO: 88
AAV42.8	73	US20030138772 SEQ ID NO: 27
AAV42.8	74	US20030138772 SEQ ID NO: 85
AAV43.1	75	US20030138772 SEQ ID NO: 39
AAV43.1	76	US20030138772 SEQ ID NO: 92
AAV43.12	77	US20030138772 SEQ ID NO: 41
AAV43.12	78	US20030138772 SEQ ID NO: 93
AAV43.20	79	US20030138772 SEQ ID NO: 42
AAV43.20	80	US20030138772 SEQ ID NO: 99
AAV43.21	81	US20030138772 SEQ ID NO: 43
AAV43.21	82	US20030138772 SEQ ID NO: 96
AAV43.23	83	US20030138772 SEQ ID NO: 44
AAV43.23	84	US20030138772 SEQ ID NO: 98
AAV43.25	85	US20030138772 SEQ ID NO: 45

[0079]

AAV43.25	86	US20030138772 SEQ ID NO: 97
AAV43.5	87	US20030138772 SEQ ID NO: 40
AAV43.5	88	US20030138772 SEQ ID NO: 94
AAV4-4	89	US20150315612 SEQ ID NO: 201
AAV4-4	90	US20150315612 SEQ ID NO: 218
AAV44.1	91	US20030138772 SEQ ID NO: 46
AAV44.1	92	US20030138772 SEQ ID NO: 79
AAV44.5	93	US20030138772 SEQ ID NO: 47
AAV44.5	94	US20030138772 SEQ ID NO: 80
AAV4407	95	US20150315612 SEQ ID NO: 90
AAV5	96	US7427396 SEQ ID NO: 1
AAV5	97	US20030138772 SEQ ID NO: 114
AAV5	98	US20160017295 SEQ ID NO: 5, US7427396 SEQ ID NO: 2, US20150315612 SEQ ID NO: 216
AAV5	99	US20150315612 SEQ ID NO: 199
AAV6	100	US20150159173 SEQ ID NO: 13
AAV6	101	US20030138772 SEQ ID NO: 65, US20150159173 SEQ ID NO: 29, US20160017295 SEQ ID NO: 6, US6156303 SEQ ID NO: 7
AAV6	102	US6156303 SEQ ID NO: 11
AAV6	103	US6156303 SEQ ID NO: 2
AAV6	104	US20150315612 SEQ ID NO: 203
AAV6	105	US20150315612 SEQ ID NO: 220
AAV6.1	106	US20150159173
AAV6.12	107	US20150159173
AAV6.2	108	US20150159173
AAV7	109	US20150159173 SEQ ID NO: 14
AAV7	110	US20150315612 SEQ ID NO: 183
AAV7	111	US20030138772 SEQ ID NO: 2, US20150159173 SEQ ID NO: 30, US20150315612 SEQ ID NO: 181, US20160017295 SEQ ID NO: 7
AAV7	112	US20030138772 SEQ ID NO: 3
AAV7	113	US20030138772 SEQ ID NO: 1, US20150315612 SEQ ID NO: 180
AAV7	114	US20150315612 SEQ ID NO: 213
AAV7	115	US20150315612 SEQ ID NO: 222
AAV8	116	US20150159173 SEQ ID NO: 15
AAV8	117	US20150376240 SEQ ID NO: 7
AAV8	118	US20030138772 SEQ ID NO: 4, US20150315612 SEQ ID NO: 182
AAV8	119	US20030138772 SEQ ID NO: 95, US20140359799 SEQ ID NO: 1, US20150159173 SEQ ID NO: 31, US20160017295 SEQ ID NO: 8, US7198951

[0080]

		SEQ ID NO: 7, US20150315612 SEQ ID NO: 223
AAV8	120	US20150376240 SEQ ID NO: 8
AAV8	121	US20150315612 SEQ ID NO: 214
AAV-8b	122	US20150376240 SEQ ID NO: 5
AAV-8b	123	US20150376240 SEQ ID NO: 3
AAV-8h	124	US20150376240 SEQ ID NO: 6
AAV-8h	125	US20150376240 SEQ ID NO: 4
AAV9	126	US20030138772 SEQ ID NO: 5
AAV9	127	US7198951 SEQ ID NO: 1
AAV9	128	US20160017295 SEQ ID NO: 9
AAV9	129	US20030138772 SEQ ID NO: 100, US7198951 SEQ ID NO: 2
AAV9	130	US7198951 SEQ ID NO: 3
AAV9 (AAVhu.14)	131	US7906111 SEQ ID NO: 3; WO2015038958 SEQ ID NO: 11
AAV9 (AAVhu.14)	132	US7906111 SEQ ID NO: 123; WO2015038958 SEQ ID NO: 2
AAVA3.1	133	US20030138772 SEQ ID NO: 120
AAVA3.3	134	US20030138772 SEQ ID NO: 57
AAVA3.3	135	US20030138772 SEQ ID NO: 66
AAVA3.4	136	US20030138772 SEQ ID NO: 54
AAVA3.4	137	US20030138772 SEQ ID NO: 68
AAVA3.5	138	US20030138772 SEQ ID NO: 55
AAVA3.5	139	US20030138772 SEQ ID NO: 69
AAVA3.7	140	US20030138772 SEQ ID NO: 56
AAVA3.7	141	US20030138772 SEQ ID NO: 67
AAV29.3 (AAVbb.1)	142	US20030138772 SEQ ID NO: 11
AAVC2	143	US20030138772 SEQ ID NO: 61
AAVCh.5	144	US20150159173 SEQ ID NO: 46, US20150315612 SEQ ID NO: 234
AAVcy.2 (AAV13.3)	145	US20030138772 SEQ ID NO: 15
AAV24.1	146	US20030138772 SEQ ID NO: 101
AAVcy.3 (AAV24.1)	147	US20030138772 SEQ ID NO: 16
AAV27.3	148	US20030138772 SEQ ID NO: 104
AAVcy.4 (AAV27.3)	149	US20030138772 SEQ ID NO: 17
AAVcy.5	150	US20150315612 SEQ ID NO: 227
AAV7.2	151	US20030138772 SEQ ID NO: 103
AAVcy.5 (AAV7.2)	152	US20030138772 SEQ ID NO: 18
AAV16.3	153	US20030138772 SEQ ID NO: 105
AAVcy.6 (AAV16.3)	154	US20030138772 SEQ ID NO: 10
AAVcy.5	155	US20150159173 SEQ ID NO: 8
AAVcy.5	156	US20150159173 SEQ ID NO: 24
AAVCy.5R1	157	US20150159173
AAVCy.5R2	158	US20150159173
AAVCy.5R3	159	US20150159173

[0081]

AAVCy.5R4	160	US20150159173
AAVDJ	161	US20140359799 SEQ ID NO: 3, US7588772 SEQ ID NO: 2
AAVDJ	162	US20140359799 SEQ ID NO: 2, US7588772 SEQ ID NO: 1
AAVDJ-8	163	US7588772; Grimm et al 2008
AAVDJ-8	164	US7588772; Grimm et al 2008
AAVF5	165	US20030138772 SEQ ID NO: 110
AAVH2	166	US20030138772 SEQ ID NO: 26
AAVH6	167	US20030138772 SEQ ID NO: 25
AAVhE1.1	168	US9233131 SEQ ID NO: 44
AAVhEr1.14	169	US9233131 SEQ ID NO: 46
AAVhEr1.16	170	US9233131 SEQ ID NO: 48
AAVhEr1.18	171	US9233131 SEQ ID NO: 49
AAVhEr1.23 (AAVhEr2.29)	172	US9233131 SEQ ID NO: 53
AAVhEr1.35	173	US9233131 SEQ ID NO: 50
AAVhEr1.36	174	US9233131 SEQ ID NO: 52
AAVhEr1.5	175	US9233131 SEQ ID NO: 45
AAVhEr1.7	176	US9233131 SEQ ID NO: 51
AAVhEr1.8	177	US9233131 SEQ ID NO: 47
AAVhEr2.16	178	US9233131 SEQ ID NO: 55
AAVhEr2.30	179	US9233131 SEQ ID NO: 56
AAVhEr2.31	180	US9233131 SEQ ID NO: 58
AAVhEr2.36	181	US9233131 SEQ ID NO: 57
AAVhEr2.4	182	US9233131 SEQ ID NO: 54
AAVhEr3.1	183	US9233131 SEQ ID NO: 59
AAVhu.1	184	US20150315612 SEQ ID NO: 46
AAVhu.1	185	US20150315612 SEQ ID NO: 144
AAVhu.10 (AAV16.8)	186	US20150315612 SEQ ID NO: 56
AAVhu.10 (AAV16.8)	187	US20150315612 SEQ ID NO: 156
AAVhu.11 (AAV16.12)	188	US20150315612 SEQ ID NO: 57
AAVhu.11 (AAV16.12)	189	US20150315612 SEQ ID NO: 153
AAVhu.12	190	US20150315612 SEQ ID NO: 59
AAVhu.12	191	US20150315612 SEQ ID NO: 154
AAVhu.13	192	US20150159173 SEQ ID NO: 16, US20150315612 SEQ ID NO: 71
AAVhu.13	193	US20150159173 SEQ ID NO: 32, US20150315612 SEQ ID NO: 129
AAVhu.136.1	194	US20150315612 SEQ ID NO: 165
AAVhu.140.1	195	US20150315612 SEQ ID NO: 166
AAVhu.140.2	196	US20150315612 SEQ ID NO: 167
AAVhu.145.6	197	US20150315612 SEQ ID No: 178
AAVhu.15	198	US20150315612 SEQ ID NO: 147
AAVhu.15 (AAV33.4)	199	US20150315612 SEQ ID NO: 50
AAVhu.156.1	200	US20150315612 SEQ ID No: 179

[0082]

AAVhu.16	201	US20150315612 SEQ ID NO: 148
AAVhu.16 (AAV33.8)	202	US20150315612 SEQ ID NO: 51
AAVhu.17	203	US20150315612 SEQ ID NO: 83
AAVhu.17 (AAV33.12)	204	US20150315612 SEQ ID NO: 4
AAVhu.172.1	205	US20150315612 SEQ ID NO: 171
AAVhu.172.2	206	US20150315612 SEQ ID NO: 172
AAVhu.173.4	207	US20150315612 SEQ ID NO: 173
AAVhu.173.8	208	US20150315612 SEQ ID NO: 175
AAVhu.18	209	US20150315612 SEQ ID NO: 52
AAVhu.18	210	US20150315612 SEQ ID NO: 149
AAVhu.19	211	US20150315612 SEQ ID NO: 62
AAVhu.19	212	US20150315612 SEQ ID NO: 133
AAVhu.2	213	US20150315612 SEQ ID NO: 48
AAVhu.2	214	US20150315612 SEQ ID NO: 143
AAVhu.20	215	US20150315612 SEQ ID NO: 63
AAVhu.20	216	US20150315612 SEQ ID NO: 134
AAVhu.21	217	US20150315612 SEQ ID NO: 65
AAVhu.21	218	US20150315612 SEQ ID NO: 135
AAVhu.22	219	US20150315612 SEQ ID NO: 67
AAVhu.22	220	US20150315612 SEQ ID NO: 138
AAVhu.23	221	US20150315612 SEQ ID NO: 60
AAVhu.23.2	222	US20150315612 SEQ ID NO: 137
AAVhu.24	223	US20150315612 SEQ ID NO: 66
AAVhu.24	224	US20150315612 SEQ ID NO: 136
AAVhu.25	225	US20150315612 SEQ ID NO: 49
AAVhu.25	226	US20150315612 SEQ ID NO: 146
AAVhu.26	227	US20150159173 SEQ ID NO: 17, US20150315612 SEQ ID NO: 61
AAVhu.26	228	US20150159173 SEQ ID NO: 33, US20150315612 SEQ ID NO: 139
AAVhu.27	229	US20150315612 SEQ ID NO: 64
AAVhu.27	230	US20150315612 SEQ ID NO: 140
AAVhu.28	231	US20150315612 SEQ ID NO: 68
AAVhu.28	232	US20150315612 SEQ ID NO: 130
AAVhu.29	233	US20150315612 SEQ ID NO: 69
AAVhu.29	234	US20150159173 SEQ ID NO: 42, US20150315612 SEQ ID NO: 132
AAVhu.29	235	US20150315612 SEQ ID NO: 225
AAVhu.29R	236	US20150159173
AAVhu.3	237	US20150315612 SEQ ID NO: 44
AAVhu.3	238	US20150315612 SEQ ID NO: 145
AAVhu.30	239	US20150315612 SEQ ID NO: 70
AAVhu.30	240	US20150315612 SEQ ID NO: 131
AAVhu.31	241	US20150315612 SEQ ID NO: 1
AAVhu.31	242	US20150315612 SEQ ID NO: 121

[0083]

AAVhu.32	243	US20150315612 SEQ ID NO: 2
AAVhu.32	244	US20150315612 SEQ ID NO: 122
AAVhu.33	245	US20150315612 SEQ ID NO: 75
AAVhu.33	246	US20150315612 SEQ ID NO: 124
AAVhu.34	247	US20150315612 SEQ ID NO: 72
AAVhu.34	248	US20150315612 SEQ ID NO: 125
AAVhu.35	249	US20150315612 SEQ ID NO: 73
AAVhu.35	250	US20150315612 SEQ ID NO: 164
AAVhu.36	251	US20150315612 SEQ ID NO: 74
AAVhu.36	252	US20150315612 SEQ ID NO: 126
AAVhu.37	253	US20150159173 SEQ ID NO: 34, US20150315612 SEQ ID NO: 88
AAVhu.37 (AAV106.1)	254	US20150315612 SEQ ID NO: 10, US20150159173 SEQ ID NO: 18
AAVhu.38	255	US20150315612 SEQ ID NO: 161
AAVhu.39	256	US20150315612 SEQ ID NO: 102
AAVhu.39 (AAVLG-9)	257	US20150315612 SEQ ID NO: 24
AAVhu.4	258	US20150315612 SEQ ID NO: 47
AAVhu.4	259	US20150315612 SEQ ID NO: 141
AAVhu.40	260	US20150315612 SEQ ID NO: 87
AAVhu.40 (AAV114.3)	261	US20150315612 SEQ ID NO: 11
AAVhu.41	262	US20150315612 SEQ ID NO: 91
AAVhu.41 (AAV127.2)	263	US20150315612 SEQ ID NO: 6
AAVhu.42	264	US20150315612 SEQ ID NO: 85
AAVhu.42 (AAV127.5)	265	US20150315612 SEQ ID NO: 8
AAVhu.43	266	US20150315612 SEQ ID NO: 160
AAVhu.43	267	US20150315612 SEQ ID NO: 236
AAVhu.43 (AAV128.1)	268	US20150315612 SEQ ID NO: 80
AAVhu.44	269	US20150159173 SEQ ID NO: 45, US20150315612 SEQ ID NO: 158
AAVhu.44 (AAV128.3)	270	US20150315612 SEQ ID NO: 81
AAVhu.44R1	271	US20150159173
AAVhu.44R2	272	US20150159173
AAVhu.44R3	273	US20150159173
AAVhu.45	274	US20150315612 SEQ ID NO: 76
AAVhu.45	275	US20150315612 SEQ ID NO: 127
AAVhu.46	276	US20150315612 SEQ ID NO: 82
AAVhu.46	277	US20150315612 SEQ ID NO: 159
AAVhu.46	278	US20150315612 SEQ ID NO: 224
AAVhu.47	279	US20150315612 SEQ ID NO: 77
AAVhu.47	280	US20150315612 SEQ ID NO: 128
AAVhu.48	281	US20150159173 SEQ ID NO: 38
AAVhu.48	282	US20150315612 SEQ ID NO: 157
AAVhu.48 (AAV130.4)	283	US20150315612 SEQ ID NO: 78
AAVhu.48R1	284	US20150159173

[0084]

AAVhu.48R2	285	US20150159173
AAVhu.48R3	286	US20150159173
AAVhu.49	287	US20150315612 SEQ ID NO: 209
AAVhu.49	288	US20150315612 SEQ ID NO: 189
AAVhu.5	289	US20150315612 SEQ ID NO: 45
AAVhu.5	290	US20150315612 SEQ ID NO: 142
AAVhu.51	291	US20150315612 SEQ ID NO: 208
AAVhu.51	292	US20150315612 SEQ ID NO: 190
AAVhu.52	293	US20150315612 SEQ ID NO: 210
AAVhu.52	294	US20150315612 SEQ ID NO: 191
AAVhu.53	295	US20150159173 SEQ ID NO: 19
AAVhu.53	296	US20150159173 SEQ ID NO: 35
AAVhu.53 (AAV145.1)	297	US20150315612 SEQ ID NO: 176
AAVhu.54	298	US20150315612 SEQ ID NO: 188
AAVhu.54 (AAV145.5)	299	US20150315612 SEQ ID NO: 177
AAVhu.55	300	US20150315612 SEQ ID NO: 187
AAVhu.56	301	US20150315612 SEQ ID NO: 205
AAVhu.56 (AAV145.6)	302	US20150315612 SEQ ID NO: 168
AAVhu.56 (AAV145.6)	303	US20150315612 SEQ ID NO: 192
AAVhu.57	304	US20150315612 SEQ ID NO: 206
AAVhu.57	305	US20150315612 SEQ ID NO: 169
AAVhu.57	306	US20150315612 SEQ ID NO: 193
AAVhu.58	307	US20150315612 SEQ ID NO: 207
AAVhu.58	308	US20150315612 SEQ ID NO: 194
AAVhu.6 (AAV3.1)	309	US20150315612 SEQ ID NO: 5
AAVhu.6 (AAV3.1)	310	US20150315612 SEQ ID NO: 84
AAVhu.60	311	US20150315612 SEQ ID NO: 184
AAVhu.60 (AAV161.10)	312	US20150315612 SEQ ID NO: 170
AAVhu.61	313	US20150315612 SEQ ID NO: 185
AAVhu.61 (AAV161.6)	314	US20150315612 SEQ ID NO: 174
AAVhu.63	315	US20150315612 SEQ ID NO: 204
AAVhu.63	316	US20150315612 SEQ ID NO: 195
AAVhu.64	317	US20150315612 SEQ ID NO: 212
AAVhu.64	318	US20150315612 SEQ ID NO: 196
AAVhu.66	319	US20150315612 SEQ ID NO: 197
AAVhu.67	320	US20150315612 SEQ ID NO: 215
AAVhu.67	321	US20150315612 SEQ ID NO: 198
AAVhu.7	322	US20150315612 SEQ ID NO: 226
AAVhu.7	323	US20150315612 SEQ ID NO: 150
AAVhu.7 (AAV7.3)	324	US20150315612 SEQ ID NO: 55
AAVhu.71	325	US20150315612 SEQ ID NO: 79
AAVhu.8	326	US20150315612 SEQ ID NO: 53
AAVhu.8	327	US20150315612 SEQ ID NO: 12
AAVhu.8	328	US20150315612 SEQ ID NO: 151
AAVhu.9 (AAV3.1)	329	US20150315612 SEQ ID NO: 58

[0085]

AAVhu.9 (AAV3.1)	330	US20150315612 SEQ ID NO: 155
AAV-LK01	331	US20150376607 SEQ ID NO: 2
AAV-LK01	332	US20150376607 SEQ ID NO: 29
AAV-LK02	333	US20150376607 SEQ ID NO: 3
AAV-LK02	334	US20150376607 SEQ ID NO: 30
AAV-LK03	335	US20150376607 SEQ ID NO: 4
AAV-LK03	336	WO2015121501 SEQ ID NO: 12, US20150376607 SEQ ID NO: 31
AAV-LK04	337	US20150376607 SEQ ID NO: 5
AAV-LK04	338	US20150376607 SEQ ID NO: 32
AAV-LK05	339	US20150376607 SEQ ID NO: 6
AAV-LK05	340	US20150376607 SEQ ID NO: 33
AAV-LK06	341	US20150376607 SEQ ID NO: 7
AAV-LK06	342	US20150376607 SEQ ID NO: 34
AAV-LK07	343	US20150376607 SEQ ID NO: 8
AAV-LK07	344	US20150376607 SEQ ID NO: 35
AAV-LK08	345	US20150376607 SEQ ID NO: 9
AAV-LK08	346	US20150376607 SEQ ID NO: 36
AAV-LK09	347	US20150376607 SEQ ID NO: 10
AAV-LK09	348	US20150376607 SEQ ID NO: 37
AAV-LK10	349	US20150376607 SEQ ID NO: 11
AAV-LK10	350	US20150376607 SEQ ID NO: 38
AAV-LK11	351	US20150376607 SEQ ID NO: 12
AAV-LK11	352	US20150376607 SEQ ID NO: 39
AAV-LK12	353	US20150376607 SEQ ID NO: 13
AAV-LK12	354	US20150376607 SEQ ID NO: 40
AAV-LK13	355	US20150376607 SEQ ID NO: 14
AAV-LK13	356	US20150376607 SEQ ID NO: 41
AAV-LK14	357	US20150376607 SEQ ID NO: 15
AAV-LK14	358	US20150376607 SEQ ID NO: 42
AAV-LK15	359	US20150376607 SEQ ID NO: 16
AAV-LK15	360	US20150376607 SEQ ID NO: 43
AAV-LK16	361	US20150376607 SEQ ID NO: 17
AAV-LK16	362	US20150376607 SEQ ID NO: 44
AAV-LK17	363	US20150376607 SEQ ID NO: 18
AAV-LK17	364	US20150376607 SEQ ID NO: 45
AAV-LK18	365	US20150376607 SEQ ID NO: 19
AAV-LK18	366	US20150376607 SEQ ID NO: 46
AAV-LK19	367	US20150376607 SEQ ID NO: 20
AAV-LK19	368	US20150376607 SEQ ID NO: 47
AAV-PAEC	369	US20150376607 SEQ ID NO: 1
AAV-PAEC	370	US20150376607 SEQ ID NO: 48
AAV-PAEC11	371	US20150376607 SEQ ID NO: 26
AAV-PAEC11	372	US20150376607 SEQ ID NO: 54
AAV-PAEC12	373	US20150376607 SEQ ID NO: 27

[0086]

AAV-PAEC12	374	US20150376607 SEQ ID NO: 51
AAV-PAEC13	375	US20150376607 SEQ ID NO: 28
AAV-PAEC13	376	US20150376607 SEQ ID NO: 49
AAV-PAEC2	377	US20150376607 SEQ ID NO: 21
AAV-PAEC2	378	US20150376607 SEQ ID NO: 56
AAV-PAEC4	379	US20150376607 SEQ ID NO: 22
AAV-PAEC4	380	US20150376607 SEQ ID NO: 55
AAV-PAEC6	381	US20150376607 SEQ ID NO: 23
AAV-PAEC6	382	US20150376607 SEQ ID NO: 52
AAV-PAEC7	383	US20150376607 SEQ ID NO: 24
AAV-PAEC7	384	US20150376607 SEQ ID NO: 53
AAV-PAEC8	385	US20150376607 SEQ ID NO: 25
AAV-PAEC8	386	US20150376607 SEQ ID NO: 50
AAVpi.1	387	US20150315612 SEQ ID NO: 28
AAVpi.1	388	US20150315612 SEQ ID NO: 93
AAVpi.2	389	US20150315612 SEQ ID NO: 30
AAVpi.2	390	US20150315612 SEQ ID NO: 95
AAVpi.3	391	US20150315612 SEQ ID NO: 29
AAVpi.3	392	US20150315612 SEQ ID NO: 94
AAVrh.10	393	US20150159173 SEQ ID NO: 9
AAVrh.10	394	US20150159173 SEQ ID NO: 25
AAV44.2	395	US20030138772 SEQ ID NO: 59
AAVrh.10 (AAV44.2)	396	US20030138772 SEQ ID NO: 81
AAV42.1B	397	US20030138772 SEQ ID NO: 90
AAVrh.12 (AAV42.1b)	398	US20030138772 SEQ ID NO: 30
AAVrh.13	399	US20150159173 SEQ ID NO: 10
AAVrh.13	400	US20150159173 SEQ ID NO: 26
AAVrh.13	401	US20150315612 SEQ ID NO: 228
AAVrh.13R	402	US20150159173
AAV42.3A	403	US20030138772 SEQ ID NO: 87
AAVrh.14 (AAV42.3a)	404	US20030138772 SEQ ID NO: 32
AAV42.5A	405	US20030138772 SEQ ID NO: 89
AAVrh.17 (AAV42.5a)	406	US20030138772 SEQ ID NO: 34
AAV42.5B	407	US20030138772 SEQ ID NO: 91
AAVrh.18 (AAV42.5b)	408	US20030138772 SEQ ID NO: 29
AAV42.6B	409	US20030138772 SEQ ID NO: 112
AAVrh.19 (AAV42.6b)	410	US20030138772 SEQ ID NO: 38
AAVrh.2	411	US20150159173 SEQ ID NO: 39
AAVrh.2	412	US20150315612 SEQ ID NO: 231
AAVrh.20	413	US20150159173 SEQ ID NO: 1
AAV42.10	414	US20030138772 SEQ ID NO: 106
AAVrh.21 (AAV42.10)	415	US20030138772 SEQ ID NO: 35
AAV42.11	416	US20030138772 SEQ ID NO: 108
AAVrh.22 (AAV42.11)	417	US20030138772 SEQ ID NO: 37
AAV42.12	418	US20030138772 SEQ ID NO: 113

[0087]

AAVrh.23 (AAV42.12)	419	US20030138772 SEQ ID NO: 58
AAV42.13	420	US20030138772 SEQ ID NO: 86
AAVrh.24 (AAV42.13)	421	US20030138772 SEQ ID NO: 31
AAV42.15	422	US20030138772 SEQ ID NO: 84
AAVrh.25 (AAV42.15)	423	US20030138772 SEQ ID NO: 28
AAVrh.2R	424	US20150159173
AAVrh.31 (AAV223.1)	425	US20030138772 SEQ ID NO: 48
AAVC1	426	US20030138772 SEQ ID NO: 60
AAVrh.32 (AAVC1)	427	US20030138772 SEQ ID NO: 19
AAVrh.32/33	428	US20150159173 SEQ ID NO: 2
AAVrh.33 (AAVC3)	429	US20030138772 SEQ ID NO: 20
AAVC5	430	US20030138772 SEQ ID NO: 62
AAVrh.34 (AAVC5)	431	US20030138772 SEQ ID NO: 21
AAVF1	432	US20030138772 SEQ ID NO: 109
AAVrh.35 (AAVF1)	433	US20030138772 SEQ ID NO: 22
AAVF3	434	US20030138772 SEQ ID NO: 111
AAVrh.36 (AAVF3)	435	US20030138772 SEQ ID NO: 23
AAVrh.37	436	US20030138772 SEQ ID NO: 24
AAVrh.37	437	US20150159173 SEQ ID NO: 40
AAVrh.37	438	US20150315612 SEQ ID NO: 229
AAVrh.37R2	439	US20150159173
AAVrh.38 (AAVLG-4)	440	US20150315612 SEQ ID NO: 7
AAVrh.38 (AAVLG-4)	441	US20150315612 SEQ ID NO: 86
AAVrh.39	442	US20150159173 SEQ ID NO: 20, US20150315612 SEQ ID NO: 13
AAVrh.39	443	US20150159173 SEQ ID NO: 3, US20150159173 SEQ ID NO: 36, US20150315612 SEQ ID NO: 89
AAVrh.40	444	US20150315612 SEQ ID NO: 92
AAVrh.40 (AAVLG-10)	445	US20150315612 SEQ ID NO: 14
AAVrh.43 (AAVN721-8)	446	US20150315612 SEQ ID NO: 43, US20150159173 SEQ ID NO: 21
AAVrh.43 (AAVN721-8)	447	US20150315612 SEQ ID NO: 163, US20150159173 SEQ ID NO: 37
AAVrh.44	448	US20150315612 SEQ ID NO: 34
AAVrh.44	449	US20150315612 SEQ ID NO: 111
AAVrh.45	450	US20150315612 SEQ ID NO: 41
AAVrh.45	451	US20150315612 SEQ ID NO: 109
AAVrh.46	452	US20150159173 SEQ ID NO: 22, US20150315612 SEQ ID NO: 19
AAVrh.46	453	US20150159173 SEQ ID NO: 4, US20150315612 SEQ ID NO: 101
AAVrh.47	454	US20150315612 SEQ ID NO: 38
AAVrh.47	455	US20150315612 SEQ ID NO: 118
AAVrh.48	456	US20150159173 SEQ ID NO: 44, US20150315612 SEQ ID NO: 115

[0088]

AAVrh.48.1	457	US20150159173
AAVrh.48.1.2	458	US20150159173
AAVrh.48.2	459	US20150159173
AAVrh.48 (AAV1-7)	460	US20150315612 SEQ ID NO: 32
AAVrh.49 (AAV1-8)	461	US20150315612 SEQ ID NO: 25
AAVrh.49 (AAV1-8)	462	US20150315612 SEQ ID NO: 103
AAVrh.50 (AAV2-4)	463	US20150315612 SEQ ID NO: 23
AAVrh.50 (AAV2-4)	464	US20150315612 SEQ ID NO: 108
AAVrh.51 (AAV2-5)	465	US20150315612 SEQ ID No: 22
AAVrh.51 (AAV2-5)	466	US20150315612 SEQ ID NO: 104
AAVrh.52 (AAV3-9)	467	US20150315612 SEQ ID NO: 18
AAVrh.52 (AAV3-9)	468	US20150315612 SEQ ID NO: 96
AAVrh.53	469	US20150315612 SEQ ID NO: 97
AAVrh.53 (AAV3-11)	470	US20150315612 SEQ ID NO: 17
AAVrh.53 (AAV3-11)	471	US20150315612 SEQ ID NO: 186
AAVrh.54	472	US20150315612 SEQ ID NO: 40
AAVrh.54	473	US20150159173 SEQ ID NO: 49, US20150315612 SEQ ID NO: 116
AAVrh.55	474	US20150315612 SEQ ID NO: 37
AAVrh.55 (AAV4-19)	475	US20150315612 SEQ ID NO: 117
AAVrh.56	476	US20150315612 SEQ ID NO: 54
AAVrh.56	477	US20150315612 SEQ ID NO: 152
AAVrh.57	478	US20150315612 SEQ ID NO: 26
AAVrh.57	479	US20150315612 SEQ ID NO: 105
AAVrh.58	480	US20150315612 SEQ ID NO: 27
AAVrh.58	481	US20150159173 SEQ ID NO: 48, US20150315612 SEQ ID NO: 106
AAVrh.58	482	US20150315612 SEQ ID NO: 232
AAVrh.59	483	US20150315612 SEQ ID NO: 42
AAVrh.59	484	US20150315612 SEQ ID NO: 110
AAVrh.60	485	US20150315612 SEQ ID NO: 31
AAVrh.60	486	US20150315612 SEQ ID NO: 120
AAVrh.61	487	US20150315612 SEQ ID NO: 107
AAVrh.61 (AAV2-3)	488	US20150315612 SEQ ID NO: 21
AAVrh.62 (AAV2-15)	489	US20150315612 SEQ ID No: 33
AAVrh.62 (AAV2-15)	490	US20150315612 SEQ ID NO: 114
AAVrh.64	491	US20150315612 SEQ ID No: 15
AAVrh.64	492	US20150159173 SEQ ID NO: 43, US20150315612 SEQ ID NO: 99
AAVrh.64	493	US20150315612 SEQ ID NO: 233
AAVRh.64R1	494	US20150159173
AAVRh.64R2	495	US20150159173
AAVrh.65	496	US20150315612 SEQ ID NO: 35
AAVrh.65	497	US20150315612 SEQ ID NO: 112
AAVrh.67	498	US20150315612 SEQ ID NO: 36

[0089]

AAVrh.67	499	US20150315612 SEQ ID NO: 230
AAVrh.67	500	US20150159173 SEQ ID NO: 47, US20150315612 SEQ ID NO: 113
AAVrh.68	501	US20150315612 SEQ ID NO: 16
AAVrh.68	502	US20150315612 SEQ ID NO: 100
AAVrh.69	503	US20150315612 SEQ ID NO: 39
AAVrh.69	504	US20150315612 SEQ ID NO: 119
AAVrh.70	505	US20150315612 SEQ ID NO: 20
AAVrh.70	506	US20150315612 SEQ ID NO: 98
AAVrh.71	507	US20150315612 SEQ ID NO: 162
AAVrh.72	508	US20150315612 SEQ ID NO: 9
AAVrh.73	509	US20150159173 SEQ ID NO: 5
AAVrh.74	510	US20150159173 SEQ ID NO: 6
AAVrh.8	511	US20150159173 SEQ ID NO: 41
AAVrh.8	512	US20150315612 SEQ ID NO: 235
AAVrh.8R	513	US20150159173, WO2015168666 SEQ ID NO: 9
AAVrh.8R A586R 突变体	514	WO2015168666 SEQ ID NO: 10
AAVrh.8R R533A 突变体	515	WO2015168666 SEQ ID NO: 11
BAAV (牛 AAV)	516	US9193769 SEQ ID NO: 8
BAAV (牛 AAV)	517	US9193769 SEQ ID NO: 10
BAAV (牛 AAV)	518	US9193769 SEQ ID NO: 4
BAAV (牛 AAV)	519	US9193769 SEQ ID NO: 2
BAAV (牛 AAV)	520	US9193769 SEQ ID NO: 6
BAAV (牛 AAV)	521	US9193769 SEQ ID NO: 1
BAAV (牛 AAV)	522	US9193769 SEQ ID NO: 5
BAAV (牛 AAV)	523	US9193769 SEQ ID NO: 3
BAAV (牛 AAV)	524	US9193769 SEQ ID NO: 11
BAAV (牛 AAV)	525	US7427396 SEQ ID NO: 5
BAAV (牛 AAV)	526	US7427396 SEQ ID NO: 6
BAAV (牛 AAV)	527	US9193769 SEQ ID NO: 7
BAAV (牛 AAV)	528	US9193769 SEQ ID NO: 9
BNP61 AAV	529	US20150238550 SEQ ID NO: 1
BNP61 AAV	530	US20150238550 SEQ ID NO: 2
BNP62 AAV	531	US20150238550 SEQ ID NO: 3
BNP63 AAV	532	US20150238550 SEQ ID NO: 4
山羊 AAV	533	US7427396 SEQ ID NO: 3
山羊 AAV	534	US7427396 SEQ ID NO: 4
真型 AAV (ttAAV)	535	WO2015121501 SEQ ID NO: 2
AAAV (禽类 AAV)	536	US9238800 SEQ ID NO: 12
AAAV (禽类 AAV)	537	US9238800 SEQ ID NO: 2
AAAV (禽类 AAV)	538	US9238800 SEQ ID NO: 6
AAAV (禽类 AAV)	539	US9238800 SEQ ID NO: 4
AAAV (禽类 AAV)	540	US9238800 SEQ ID NO: 8
AAAV (禽类 AAV)	541	US9238800 SEQ ID NO: 14

[0090]

AAAV (禽类 AAV)	542	US9238800 SEQ ID NO: 10
AAAV (禽类 AAV)	543	US9238800 SEQ ID NO: 15
AAAV (禽类 AAV)	544	US9238800 SEQ ID NO: 5
AAAV (禽类 AAV)	545	US9238800 SEQ ID NO: 9
AAAV (禽类 AAV)	546	US9238800 SEQ ID NO: 3
AAAV (禽类 AAV)	547	US9238800 SEQ ID NO: 7
AAAV (禽类 AAV)	548	US9238800 SEQ ID NO: 11
AAAV (禽类 AAV)	549	US9238800 SEQ ID NO: 13
AAAV (禽类 AAV)	550	US9238800 SEQ ID NO: 1
AAV Shuffle 100-1	551	US20160017295 SEQ ID NO: 23
AAV Shuffle 100-1	552	US20160017295 SEQ ID NO: 11
AAV Shuffle 100-2	553	US20160017295 SEQ ID NO: 37
AAV Shuffle 100-2	554	US20160017295 SEQ ID NO: 29
AAV Shuffle 100-3	555	US20160017295 SEQ ID NO: 24
AAV Shuffle 100-3	556	US20160017295 SEQ ID NO: 12
AAV Shuffle 100-7	557	US20160017295 SEQ ID NO: 25
AAV Shuffle 100-7	558	US20160017295 SEQ ID NO: 13
AAV Shuffle 10-2	559	US20160017295 SEQ ID NO: 34
AAV Shuffle 10-2	560	US20160017295 SEQ ID NO: 26
AAV Shuffle 10-6	561	US20160017295 SEQ ID NO: 35
AAV Shuffle 10-6	562	US20160017295 SEQ ID NO: 27
AAV Shuffle 10-8	563	US20160017295 SEQ ID NO: 36
AAV Shuffle 10-8	564	US20160017295 SEQ ID NO: 28
AAV SM 100-10	565	US20160017295 SEQ ID NO: 41
AAV SM 100-10	566	US20160017295 SEQ ID NO: 33
AAV SM 100-3	567	US20160017295 SEQ ID NO: 40
AAV SM 100-3	568	US20160017295 SEQ ID NO: 32
AAV SM 10-1	569	US20160017295 SEQ ID NO: 38
AAV SM 10-1	570	US20160017295 SEQ ID NO: 30
AAV SM 10-2	571	US20160017295 SEQ ID NO: 10
AAV SM 10-2	572	US20160017295 SEQ ID NO: 22
AAV SM 10-8	573	US20160017295 SEQ ID NO: 39
AAV SM 10-8	574	US20160017295 SEQ ID NO: 31
AAVF1/HSC1	575	WO2016049230 SEQ ID NO: 20
AAVF2/HSC2	576	WO2016049230 SEQ ID NO: 21
AAVF3/HSC3	577	WO2016049230 SEQ ID NO: 22
AAVF4/HSC4	578	WO2016049230 SEQ ID NO: 23
AAVF5/HSC5	579	WO2016049230 SEQ ID NO: 25
AAVF6/HSC6	580	WO2016049230 SEQ ID NO: 24
AAVF7/HSC7	581	WO2016049230 SEQ ID NO: 27
AAVF8/HSC8	582	WO2016049230 SEQ ID NO: 28
AAVF9/HSC9	583	WO2016049230 SEQ ID NO: 29
AAVF11/HSC11	584	WO2016049230 SEQ ID NO: 26
AAVF12/HSC12	585	WO2016049230 SEQ ID NO: 30

[0091]

AAVF13/HSC13	586	WO2016049230 SEQ ID NO: 31
AAVF14/HSC14	587	WO2016049230 SEQ ID NO: 32
AAVF15/HSC15	588	WO2016049230 SEQ ID NO: 33
AAVF16/HSC16	589	WO2016049230 SEQ ID NO: 34
AAVF17/HSC17	590	WO2016049230 SEQ ID NO: 35
AAVF1/HSC1	591	WO2016049230 SEQ ID NO: 2
AAVF2/HSC2	592	WO2016049230 SEQ ID NO: 3
AAVF3/HSC3	593	WO2016049230 SEQ ID NO: 5
AAVF4/HSC4	594	WO2016049230 SEQ ID NO: 6
AAVF5/HSC5	595	WO2016049230 SEQ ID NO: 11
AAVF6/HSC6	596	WO2016049230 SEQ ID NO: 7
AAVF7/HSC7	597	WO2016049230 SEQ ID NO: 8
AAVF8/HSC8	598	WO2016049230 SEQ ID NO: 9
AAVF9/HSC9	599	WO2016049230 SEQ ID NO: 10
AAVF11/HSC11	600	WO2016049230 SEQ ID NO: 4
AAVF12/HSC12	601	WO2016049230 SEQ ID NO: 12
AAVF13/HSC13	602	WO2016049230 SEQ ID NO: 14
AAVF14/HSC14	603	WO2016049230 SEQ ID NO: 15
AAVF15/HSC15	604	WO2016049230 SEQ ID NO: 16
AAVF16/HSC16	605	WO2016049230 SEQ ID NO: 17
AAVF17/HSC17	606	WO2016049230 SEQ ID NO: 13
AAV CBr-E1	607	US8734809 SEQ ID NO: 13
AAV CBr-E2	608	US8734809 SEQ ID NO: 14
AAV CBr-E3	609	US8734809 SEQ ID NO: 15
AAV CBr-E4	610	US8734809 SEQ ID NO: 16
AAV CBr-E5	611	US8734809 SEQ ID NO: 17
AAV CBr-e5	612	US8734809 SEQ ID NO: 18
AAV CBr-E6	613	US8734809 SEQ ID NO: 19
AAV CBr-E7	614	US8734809 SEQ ID NO: 20
AAV CBr-E8	615	US8734809 SEQ ID NO: 21
AAV CLv-D1	616	US8734809 SEQ ID NO: 22
AAV CLv-D2	617	US8734809 SEQ ID NO: 23
AAV CLv-D3	618	US8734809 SEQ ID NO: 24
AAV CLv-D4	619	US8734809 SEQ ID NO: 25
AAV CLv-D5	620	US8734809 SEQ ID NO: 26
AAV CLv-D6	621	US8734809 SEQ ID NO: 27
AAV CLv-D7	622	US8734809 SEQ ID NO: 28
AAV CLv-D8	623	US8734809 SEQ ID NO: 29
AAV CLv-E1	624	US8734809 SEQ ID NO: 13
AAV CLv-R1	625	US8734809 SEQ ID NO: 30
AAV CLv-R2	626	US8734809 SEQ ID NO: 31
AAV CLv-R3	627	US8734809 SEQ ID NO: 32
AAV CLv-R4	628	US8734809 SEQ ID NO: 33
AAV CLv-R5	629	US8734809 SEQ ID NO: 34
AAV CLv-R6	630	US8734809 SEQ ID NO: 35

[0092]

AAV CLv-R7	631	US8734809 SEQ ID NO: 36
AAV CLv-R8	632	US8734809 SEQ ID NO: 37
AAV CLv-R9	633	US8734809 SEQ ID NO: 38
AAV CLg-F1	634	US8734809 SEQ ID NO: 39
AAV CLg-F2	635	US8734809 SEQ ID NO: 40
AAV CLg-F3	636	US8734809 SEQ ID NO: 41
AAV CLg-F4	637	US8734809 SEQ ID NO: 42
AAV CLg-F5	638	US8734809 SEQ ID NO: 43
AAV CLg-F6	639	US8734809 SEQ ID NO: 43
AAV CLg-F7	640	US8734809 SEQ ID NO: 44
AAV CLg-F8	641	US8734809 SEQ ID NO: 43
AAV CSp-1	642	US8734809 SEQ ID NO: 45
AAV CSp-10	643	US8734809 SEQ ID NO: 46
AAV CSp-11	644	US8734809 SEQ ID NO: 47
AAV CSp-2	645	US8734809 SEQ ID NO: 48
AAV CSp-3	646	US8734809 SEQ ID NO: 49
AAV CSp-4	647	US8734809 SEQ ID NO: 50
AAV CSp-6	648	US8734809 SEQ ID NO: 51
AAV CSp-7	649	US8734809 SEQ ID NO: 52
AAV CSp-8	650	US8734809 SEQ ID NO: 53
AAV CSp-9	651	US8734809 SEQ ID NO: 54
AAV CHt-2	652	US8734809 SEQ ID NO: 55
AAV CHt-3	653	US8734809 SEQ ID NO: 56
AAV CKd-1	654	US8734809 SEQ ID NO: 57
AAV CKd-10	655	US8734809 SEQ ID NO: 58
AAV CKd-2	656	US8734809 SEQ ID NO: 59
AAV CKd-3	657	US8734809 SEQ ID NO: 60
AAV CKd-4	658	US8734809 SEQ ID NO: 61
AAV CKd-6	659	US8734809 SEQ ID NO: 62
AAV CKd-7	660	US8734809 SEQ ID NO: 63
AAV CKd-8	661	US8734809 SEQ ID NO: 64
AAV CLv-1	662	US8734809 SEQ ID NO: 65
AAV CLv-12	663	US8734809 SEQ ID NO: 66
AAV CLv-13	664	US8734809 SEQ ID NO: 67
AAV CLv-2	665	US8734809 SEQ ID NO: 68
AAV CLv-3	666	US8734809 SEQ ID NO: 69
AAV CLv-4	667	US8734809 SEQ ID NO: 70
AAV CLv-6	668	US8734809 SEQ ID NO: 71
AAV CLv-8	669	US8734809 SEQ ID NO: 72
AAV CKd-B1	670	US8734809 SEQ ID NO: 73
AAV CKd-B2	671	US8734809 SEQ ID NO: 74
AAV CKd-B3	672	US8734809 SEQ ID NO: 75
AAV CKd-B4	673	US8734809 SEQ ID NO: 76
AAV CKd-B5	674	US8734809 SEQ ID NO: 77
AAV CKd-B6	675	US8734809 SEQ ID NO: 78

[0093]

AAV CKd-B7	676	US8734809 SEQ ID NO: 79
AAV CKd-B8	677	US8734809 SEQ ID NO: 80
AAV CKd-H1	678	US8734809 SEQ ID NO: 81
AAV CKd-H2	679	US8734809 SEQ ID NO: 82
AAV CKd-H3	680	US8734809 SEQ ID NO: 83
AAV CKd-H4	681	US8734809 SEQ ID NO: 84
AAV CKd-H5	682	US8734809 SEQ ID NO: 85
AAV CKd-H6	683	US8734809 SEQ ID NO: 77
AAV CHt-1	684	US8734809 SEQ ID NO: 86
AAV CLv1-1	685	US8734809 SEQ ID NO: 171
AAV CLv1-2	686	US8734809 SEQ ID NO: 172
AAV CLv1-3	687	US8734809 SEQ ID NO: 173
AAV CLv1-4	688	US8734809 SEQ ID NO: 174
AAV Clv1-7	689	US8734809 SEQ ID NO: 175
AAV Clv1-8	690	US8734809 SEQ ID NO: 176
AAV Clv1-9	691	US8734809 SEQ ID NO: 177
AAV Clv1-10	692	US8734809 SEQ ID NO: 178
AAV.VR-355	693	US8734809 SEQ ID NO: 181
AAV.hu.48R3	694	US8734809 SEQ ID NO: 183
AAV CBr-E1	695	US8734809 SEQ ID NO: 87
AAV CBr-E2	696	US8734809 SEQ ID NO: 88
AAV CBr-E3	697	US8734809 SEQ ID NO: 89
AAV CBr-E4	698	US8734809 SEQ ID NO: 90
AAV CBr-E5	699	US8734809 SEQ ID NO: 91
AAV CBr-e5	700	US8734809 SEQ ID NO: 92
AAV CBr-E6	701	US8734809 SEQ ID NO: 93
AAV CBr-E7	702	US8734809 SEQ ID NO: 94
AAV CBr-E8	703	US8734809 SEQ ID NO: 95
AAV CLv-D1	704	US8734809 SEQ ID NO: 96
AAV CLv-D2	705	US8734809 SEQ ID NO: 97
AAV CLv-D3	706	US8734809 SEQ ID NO: 98
AAV CLv-D4	707	US8734809 SEQ ID NO: 99
AAV CLv-D5	708	US8734809 SEQ ID NO: 100
AAV CLv-D6	709	US8734809 SEQ ID NO: 101
AAV CLv-D7	710	US8734809 SEQ ID NO: 102
AAV CLv-D8	711	US8734809 SEQ ID NO: 103
AAV CLv-E1	712	US8734809 SEQ ID NO: 87
AAV CLv-R1	713	US8734809 SEQ ID NO: 104
AAV CLv-R2	714	US8734809 SEQ ID NO: 105
AAV CLv-R3	715	US8734809 SEQ ID NO: 106
AAV CLv-R4	716	US8734809 SEQ ID NO: 107
AAV CLv-R5	717	US8734809 SEQ ID NO: 108
AAV CLv-R6	718	US8734809 SEQ ID NO: 109
AAV CLv-R7	719	US8734809 SEQ ID NO: 110
AAV CLv-R8	720	US8734809 SEQ ID NO: 111

[0094]

AAV CLv-R9	721	US8734809 SEQ ID NO: 112
AAV CLg-F1	722	US8734809 SEQ ID NO: 113
AAV CLg-F2	723	US8734809 SEQ ID NO: 114
AAV CLg-F3	724	US8734809 SEQ ID NO: 115
AAV CLg-F4	725	US8734809 SEQ ID NO: 116
AAV CLg-F5	726	US8734809 SEQ ID NO: 117
AAV CLg-F6	727	US8734809 SEQ ID NO: 117
AAV CLg-F7	728	US8734809 SEQ ID NO: 118
AAV CLg-F8	729	US8734809 SEQ ID NO: 117
AAV CSp-1	730	US8734809 SEQ ID NO: 119
AAV CSp-10	731	US8734809 SEQ ID NO: 120
AAV CSp-11	732	US8734809 SEQ ID NO: 121
AAV CSp-2	733	US8734809 SEQ ID NO: 122
AAV CSp-3	734	US8734809 SEQ ID NO: 123
AAV CSp-4	735	US8734809 SEQ ID NO: 124
AAV CSp-6	736	US8734809 SEQ ID NO: 125
AAV CSp-7	737	US8734809 SEQ ID NO: 126
AAV CSp-8	738	US8734809 SEQ ID NO: 127
AAV CSp-9	739	US8734809 SEQ ID NO: 128
AAV CHt-2	740	US8734809 SEQ ID NO: 129
AAV CHt-3	741	US8734809 SEQ ID NO: 130
AAV CKd-1	742	US8734809 SEQ ID NO: 131
AAV CKd-10	743	US8734809 SEQ ID NO: 132
AAV CKd-2	744	US8734809 SEQ ID NO: 133
AAV CKd-3	745	US8734809 SEQ ID NO: 134
AAV CKd-4	746	US8734809 SEQ ID NO: 135
AAV CKd-6	747	US8734809 SEQ ID NO: 136
AAV CKd-7	748	US8734809 SEQ ID NO: 137
AAV CKd-8	749	US8734809 SEQ ID NO: 138
AAV CLv-1	750	US8734809 SEQ ID NO: 139
AAV CLv-12	751	US8734809 SEQ ID NO: 140
AAV CLv-13	752	US8734809 SEQ ID NO: 141
AAV CLv-2	753	US8734809 SEQ ID NO: 142
AAV CLv-3	754	US8734809 SEQ ID NO: 143
AAV CLv-4	755	US8734809 SEQ ID NO: 144
AAV CLv-6	756	US8734809 SEQ ID NO: 145
AAV CLv-8	757	US8734809 SEQ ID NO: 146
AAV CKd-B1	758	US8734809 SEQ ID NO: 147
AAV CKd-B2	759	US8734809 SEQ ID NO: 148
AAV CKd-B3	760	US8734809 SEQ ID NO: 149
AAV CKd-B4	761	US8734809 SEQ ID NO: 150
AAV CKd-B5	762	US8734809 SEQ ID NO: 151
AAV CKd-B6	763	US8734809 SEQ ID NO: 152
AAV CKd-B7	764	US8734809 SEQ ID NO: 153
AAV CKd-B8	765	US8734809 SEQ ID NO: 154

[0095]

AAV CKd-H1	766	US8734809 SEQ ID NO: 155
AAV CKd-H2	767	US8734809 SEQ ID NO: 156
AAV CKd-H3	768	US8734809 SEQ ID NO: 157
AAV CKd-H4	769	US8734809 SEQ ID NO: 158
AAV CKd-H5	770	US8734809 SEQ ID NO: 159
AAV CKd-H6	771	US8734809 SEQ ID NO: 151
AAV CHt-1	772	US8734809 SEQ ID NO: 160
AAV CHt-P2	773	WO2016065001 SEQ ID NO: 1
AAV CHt-P5	774	WO2016065001 SEQ ID NO: 2
AAV CHt-P9	775	WO2016065001 SEQ ID NO: 3
AAV CBr-7.1	776	WO2016065001 SEQ ID NO: 4
AAV CBr-7.2	777	WO2016065001 SEQ ID NO: 5
AAV CBr-7.3	778	WO2016065001 SEQ ID NO: 6
AAV CBr-7.4	779	WO2016065001 SEQ ID NO: 7
AAV CBr-7.5	780	WO2016065001 SEQ ID NO: 8
AAV CBr-7.7	781	WO2016065001 SEQ ID NO: 9
AAV CBr-7.8	782	WO2016065001 SEQ ID NO: 10
AAV CBr-7.10	783	WO2016065001 SEQ ID NO: 11
AAV CKd-N3	784	WO2016065001 SEQ ID NO: 12
AAV CKd-N4	785	WO2016065001 SEQ ID NO: 13
AAV CKd-N9	786	WO2016065001 SEQ ID NO: 14
AAV CLv-L4	787	WO2016065001 SEQ ID NO: 15
AAV CLv-L5	788	WO2016065001 SEQ ID NO: 16
AAV CLv-L6	789	WO2016065001 SEQ ID NO: 17
AAV CLv-K1	790	WO2016065001 SEQ ID NO: 18
AAV CLv-K3	791	WO2016065001 SEQ ID NO: 19
AAV CLv-K6	792	WO2016065001 SEQ ID NO: 20
AAV CLv-M1	793	WO2016065001 SEQ ID NO: 21
AAV CLv-M11	794	WO2016065001 SEQ ID NO: 22
AAV CLv-M2	795	WO2016065001 SEQ ID NO: 23
AAV CLv-M5	796	WO2016065001 SEQ ID NO: 24
AAV CLv-M6	797	WO2016065001 SEQ ID NO: 25
AAV CLv-M7	798	WO2016065001 SEQ ID NO: 26
AAV CLv-M8	799	WO2016065001 SEQ ID NO: 27
AAV CLv-M9	800	WO2016065001 SEQ ID NO: 28
AAV CHt-P1	801	WO2016065001 SEQ ID NO: 29
AAV CHt-P6	802	WO2016065001 SEQ ID NO: 30
AAV CHt-P8	803	WO2016065001 SEQ ID NO: 31
AAV CHt-6.1	804	WO2016065001 SEQ ID NO: 32
AAV CHt-6.10	805	WO2016065001 SEQ ID NO: 33
AAV CHt-6.5	806	WO2016065001 SEQ ID NO: 34
AAV CHt-6.6	807	WO2016065001 SEQ ID NO: 35
AAV CHt-6.7	808	WO2016065001 SEQ ID NO: 36
AAV CHt-6.8	809	WO2016065001 SEQ ID NO: 37
AAV CSp-8.10	810	WO2016065001 SEQ ID NO: 38

[0096]

AAV CSp-8.2	811	WO2016065001 SEQ ID NO: 39
AAV CSp-8.4	812	WO2016065001 SEQ ID NO: 40
AAV CSp-8.5	813	WO2016065001 SEQ ID NO: 41
AAV CSp-8.6	814	WO2016065001 SEQ ID NO: 42
AAV CSp-8.7	815	WO2016065001 SEQ ID NO: 43
AAV CSp-8.8	816	WO2016065001 SEQ ID NO: 44
AAV CSp-8.9	817	WO2016065001 SEQ ID NO: 45
AAV CBr-B7.3	818	WO2016065001 SEQ ID NO: 46
AAV CBr-B7.4	819	WO2016065001 SEQ ID NO: 47
AAV3B	820	WO2016065001 SEQ ID NO: 48
AAV4	821	WO2016065001 SEQ ID NO: 49
AAV5	822	WO2016065001 SEQ ID NO: 50
AAV CHt-P2	823	WO2016065001 SEQ ID NO: 51
AAV CHt-P5	824	WO2016065001 SEQ ID NO: 52
AAV CHt-P9	825	WO2016065001 SEQ ID NO: 53
AAV CBr-7.1	826	WO2016065001 SEQ ID NO: 54
AAV CBr-7.2	827	WO2016065001 SEQ ID NO: 55
AAV CBr-7.3	828	WO2016065001 SEQ ID NO: 56
AAV CBr-7.4	829	WO2016065001 SEQ ID NO: 57
AAV CBr-7.5	830	WO2016065001 SEQ ID NO: 58
AAV CBr-7.7	831	WO2016065001 SEQ ID NO: 59
AAV CBr-7.8	832	WO2016065001 SEQ ID NO: 60
AAV CBr-7.10	833	WO2016065001 SEQ ID NO: 61
AAV CKd-N3	834	WO2016065001 SEQ ID NO: 62
AAV CKd-N4	835	WO2016065001 SEQ ID NO: 63
AAV CKd-N9	836	WO2016065001 SEQ ID NO: 64
AAV CLv-L4	837	WO2016065001 SEQ ID NO: 65
AAV CLv-L5	838	WO2016065001 SEQ ID NO: 66
AAV CLv-L6	839	WO2016065001 SEQ ID NO: 67
AAV CLv-K1	840	WO2016065001 SEQ ID NO: 68
AAV CLv-K3	841	WO2016065001 SEQ ID NO: 69
AAV CLv-K6	842	WO2016065001 SEQ ID NO: 70
AAV CLv-M1	843	WO2016065001 SEQ ID NO: 71
AAV CLv-M11	844	WO2016065001 SEQ ID NO: 72
AAV CLv-M2	845	WO2016065001 SEQ ID NO: 73
AAV CLv-M5	846	WO2016065001 SEQ ID NO: 74
AAV CLv-M6	847	WO2016065001 SEQ ID NO: 75
AAV CLv-M7	848	WO2016065001 SEQ ID NO: 76
AAV CLv-M8	849	WO2016065001 SEQ ID NO: 77
AAV CLv-M9	850	WO2016065001 SEQ ID NO: 78
AAV CHt-P1	851	WO2016065001 SEQ ID NO: 79
AAV CHt-P6	852	WO2016065001 SEQ ID NO: 80
AAV CHt-P8	853	WO2016065001 SEQ ID NO: 81
AAV CHt-6.1	854	WO2016065001 SEQ ID NO: 82
AAV CHt-6.10	855	WO2016065001 SEQ ID NO: 83

[0097]

AAV CHt-6.5	856	WO2016065001 SEQ ID NO: 84
AAV CHt-6.6	857	WO2016065001 SEQ ID NO: 85
AAV CHt-6.7	858	WO2016065001 SEQ ID NO: 86
AAV CHt-6.8	859	WO2016065001 SEQ ID NO: 87
AAV CSp-8.10	860	WO2016065001 SEQ ID NO: 88
AAV CSp-8.2	861	WO2016065001 SEQ ID NO: 89
AAV CSp-8.4	862	WO2016065001 SEQ ID NO: 90
AAV CSp-8.5	863	WO2016065001 SEQ ID NO: 91
AAV CSp-8.6	864	WO2016065001 SEQ ID NO: 92
AAV CSp-8.7	865	WO2016065001 SEQ ID NO: 93
AAV CSp-8.8	866	WO2016065001 SEQ ID NO: 94
AAV CSp-8.9	867	WO2016065001 SEQ ID NO: 95
AAV CBr-B7.3	868	WO2016065001 SEQ ID NO: 96
AAV CBr-B7.4	869	WO2016065001 SEQ ID NO: 97
AAV3B	870	WO2016065001 SEQ ID NO: 98
AAV4	871	WO2016065001 SEQ ID NO: 99
AAV5	872	WO2016065001 SEQ ID NO: 100
PHP.N/PHP.B-DGT	873	WO2017100671 SEQ ID NO: 46
PHP.S/G2A12	874	WO2017100671 SEQ ID NO: 47
AAV9/hu.14 K449R	875	WO2017100671 SEQ ID NO: 45
GPV	992	US9624274B2 SEQ ID NO: 192
B19	993	US9624274B2 SEQ ID NO: 193
MVM	994	US9624274B2 SEQ ID NO: 194
FPV	995	US9624274B2 SEQ ID NO: 195
CPV	996	US9624274B2 SEQ ID NO: 196
AAV6	997	US9546112B2 SEQ ID NO: 5
AAV6	998	US9457103B2 SEQ ID NO: 1
AAV2	999	US9457103B2 SEQ ID NO: 2
ShH10	1000	US9457103B2 SEQ ID NO: 3
ShH13	1001	US9457103B2 SEQ ID NO: 4
ShH10	1002	US9457103B2 SEQ ID NO: 5
ShH10	1003	US9457103B2 SEQ ID NO: 6
ShH10	1004	US9457103B2 SEQ ID NO: 7
ShH10	1005	US9457103B2 SEQ ID NO: 8
ShH10	1006	US9457103B2 SEQ ID NO: 9
rh74	1007	US9434928B2 SEQ ID NO: 1, US2015023924A1 SEQ ID NO: 2
rh74	1008	US9434928B2 SEQ ID NO: 2, US2015023924A1 SEQ ID NO: 1
AAV8	1009	US9434928B2 SEQ ID NO: 4
rh74	1010	US9434928B2 SEQ ID NO: 5
rh74 (RHM4-1)	1011	US2015023924A1 SEQ ID NO: 5, US20160375110A1 SEQ ID NO: 4
		US2015023924A1 SEQ ID NO: 6,

[0098]

rh74 (RHM15-1)	1012	US20160375110A1 SEQ ID NO: 5
rh74 (RHM15-2)	1013	US2015023924A1 SEQ ID NO: 7, US20160375110A1 SEQ ID NO: 6
rh74 (RHM15-3/RHM15-5)	1014	US2015023924A1 SEQ ID NO: 8, US20160375110A1 SEQ ID NO: 7
rh74 (RHM15-4)	1015	US2015023924A1 SEQ ID NO: 9, US20160375110A1 SEQ ID NO: 8
rh74 (RHM15-6)	1016	US2015023924A1 SEQ ID NO: 10, US20160375110A1 SEQ ID NO: 9
rh74 (RHM4-1)	1017	US2015023924A1 SEQ ID NO: 11
rh74 (RHM15-1)	1018	US2015023924A1 SEQ ID NO: 12
rh74 (RHM15-2)	1019	US2015023924A1 SEQ ID NO: 13
rh74 (RHM15-3/RHM15-5)	1020	US2015023924A1 SEQ ID NO: 14
rh74 (RHM15-4)	1021	US2015023924A1 SEQ ID NO: 15
rh74 (RHM15-6)	1022	US2015023924A1 SEQ ID NO: 16
AAV2 (包含肺特异性多肽)	1023	US20160175389A1 SEQ ID NO: 9
AAV2(包含肺特异性多肽)	1024	US20160175389A1 SEQ ID NO: 10
Anc80	1025	US20170051257A1 SEQ ID NO: 1
Anc80	1026	US20170051257A1 SEQ ID NO: 2
Anc81	1027	US20170051257A1 SEQ ID NO: 3
Anc80	1028	US20170051257A1 SEQ ID NO: 4
Anc82	1029	US20170051257A1 SEQ ID NO: 5
Anc82	1030	US20170051257A1 SEQ ID NO: 6
Anc83	1031	US20170051257A1 SEQ ID NO: 7
Anc83	1032	US20170051257A1 SEQ ID NO: 8
Anc84	1033	US20170051257A1 SEQ ID NO: 9
Anc84	1034	US20170051257A1 SEQ ID NO: 10
Anc94	1035	US20170051257A1 SEQ ID NO: 11
Anc94	1036	US20170051257A1 SEQ ID NO: 12
Anc113	1037	US20170051257A1 SEQ ID NO: 13
Anc113	1038	US20170051257A1 SEQ ID NO: 14
Anc126	1039	US20170051257A1 SEQ ID NO: 15
Anc126	1040	US20170051257A1 SEQ ID NO: 16
Anc127	1041	US20170051257A1 SEQ ID NO: 17
Anc127	1042	US20170051257A1 SEQ ID NO: 18
Anc80L27	1043	US20170051257A1 SEQ ID NO: 19
Anc80L59	1044	US20170051257A1 SEQ ID NO: 20
Anc80L60	1045	US20170051257A1 SEQ ID NO: 21
Anc80L62	1046	US20170051257A1 SEQ ID NO: 22
Anc80L65	1047	US20170051257A1 SEQ ID NO: 23
Anc80L33	1048	US20170051257A1 SEQ ID NO: 24

[0099]

Anc80L36	1049	US20170051257A1 SEQ ID NO: 25
Anc80L44	1050	US20170051257A1 SEQ ID NO: 26
Anc80L1	1051	US20170051257A1 SEQ ID NO: 35
Anc80L1	1052	US20170051257A1 SEQ ID NO: 36
AAV-X1	1053	US8283151B2 SEQ ID NO: 11
AAV-X1b	1054	US8283151B2 SEQ ID NO: 12
AAV-X5	1055	US8283151B2 SEQ ID NO: 13
AAV-X19	1056	US8283151B2 SEQ ID NO: 14
AAV-X21	1057	US8283151B2 SEQ ID NO: 15
AAV-X22	1058	US8283151B2 SEQ ID NO: 16
AAV-X23	1059	US8283151B2 SEQ ID NO: 17
AAV-X24	1060	US8283151B2 SEQ ID NO: 18
AAV-X25	1061	US8283151B2 SEQ ID NO: 19
AAV-X26	1062	US8283151B2 SEQ ID NO: 20
AAV-X1	1063	US8283151B2 SEQ ID NO: 21
AAV-X1b	1064	US8283151B2 SEQ ID NO: 22
AAV-X5	1065	US8283151B2 SEQ ID NO: 23
AAV-X19	1066	US8283151B2 SEQ ID NO: 24
AAV-X21	1067	US8283151B2 SEQ ID NO: 25
AAV-X22	1068	US8283151B2 SEQ ID NO: 26
AAV-X23	1069	US8283151B2 SEQ ID NO: 27
AAV-X24	1070	US8283151B2 SEQ ID NO: 28
AAV-X25	1071	US8283151B2 SEQ ID NO: 29
AAV-X26	1072	US8283151B2 SEQ ID NO: 30
AAVrh8	1073	WO2016054554A1 SEQ ID NO: 8
AAVrh8VP2FC5	1074	WO2016054554A1 SEQ ID NO: 9
AAVrh8VP2FC44	1075	WO2016054554A1 SEQ ID NO: 10
AAVrh8VP2ApoB100	1076	WO2016054554A1 SEQ ID NO: 11
AAVrh8VP2RVG	1077	WO2016054554A1 SEQ ID NO: 12
AAVrh8VP2Angiopep-2 VP2	1078	WO2016054554A1 SEQ ID NO: 13
AAV9.47VP1.3	1079	WO2016054554A1 SEQ ID NO: 14
AAV9.47VP2ICAMg3	1080	WO2016054554A1 SEQ ID NO: 15
AAV9.47VP2RVG	1081	WO2016054554A1 SEQ ID NO: 16
AAV9.47VP2Angiopep-2	1082	WO2016054554A1 SEQ ID NO: 17
AAV9.47VP2A-string	1083	WO2016054554A1 SEQ ID NO: 18
AAVrh8VP2FC5 VP2	1084	WO2016054554A1 SEQ ID NO: 19
AAVrh8VP2FC44 VP2	1085	WO2016054554A1 SEQ ID NO: 20
AAVrh8VP2ApoB100 VP2	1086	WO2016054554A1 SEQ ID NO: 21
AAVrh8VP2RVG VP2	1087	WO2016054554A1 SEQ ID NO: 22
AAVrh8VP2Angiopep-2		

[0100]

VP2	1088	WO2016054554A1 SEQ ID NO: 23
AAV9.47VP2ICAMg3 VP2	1089	WO2016054554A1 SEQ ID NO: 24
AAV9.47VP2RVG VP2	1090	WO2016054554A1 SEQ ID NO: 25
AAV9.47VP2Angiopep-2 VP2	1091	WO2016054554A1 SEQ ID NO: 26
AAV9.47VP2A-string VP2	1092	WO2016054554A1 SEQ ID NO: 27
rAAV-B1	1093	WO2016054557A1 SEQ ID NO: 1
rAAV-B2	1094	WO2016054557A1 SEQ ID NO: 2
rAAV-B3	1095	WO2016054557A1 SEQ ID NO: 3
rAAV-B4	1096	WO2016054557A1 SEQ ID NO: 4
rAAV-B1	1097	WO2016054557A1 SEQ ID NO: 5
rAAV-B2	1098	WO2016054557A1 SEQ ID NO: 6
rAAV-B3	1099	WO2016054557A1 SEQ ID NO: 7
rAAV-B4	1100	WO2016054557A1 SEQ ID NO: 8
rAAV-L1	1101	WO2016054557A1 SEQ ID NO: 9
rAAV-L2	1102	WO2016054557A1 SEQ ID NO: 10
rAAV-L3	1103	WO2016054557A1 SEQ ID NO: 11
rAAV-L4	1104	WO2016054557A1 SEQ ID NO: 12
rAAV-L1	1105	WO2016054557A1 SEQ ID NO: 13
rAAV-L2	1106	WO2016054557A1 SEQ ID NO: 14
rAAV-L3	1107	WO2016054557A1 SEQ ID NO: 15
rAAV-L4	1108	WO2016054557A1 SEQ ID NO: 16
AAV9	1109	WO2016073739A1 SEQ ID NO: 3
rAAV	1110	WO2016081811A1 SEQ ID NO: 1
rAAV	1111	WO2016081811A1 SEQ ID NO: 2
rAAV	1112	WO2016081811A1 SEQ ID NO: 3
rAAV	1113	WO2016081811A1 SEQ ID NO: 4
rAAV	1114	WO2016081811A1 SEQ ID NO: 5
rAAV	1115	WO2016081811A1 SEQ ID NO: 6
rAAV	1116	WO2016081811A1 SEQ ID NO: 7
rAAV	1117	WO2016081811A1 SEQ ID NO: 8
rAAV	1118	WO2016081811A1 SEQ ID NO: 9
rAAV	1119	WO2016081811A1 SEQ ID NO: 10
rAAV	1120	WO2016081811A1 SEQ ID NO: 11
rAAV	1121	WO2016081811A1 SEQ ID NO: 12
rAAV	1122	WO2016081811A1 SEQ ID NO: 13
rAAV	1123	WO2016081811A1 SEQ ID NO: 14
rAAV	1124	WO2016081811A1 SEQ ID NO: 15
rAAV	1125	WO2016081811A1 SEQ ID NO: 16
rAAV	1126	WO2016081811A1 SEQ ID NO: 17
rAAV	1127	WO2016081811A1 SEQ ID NO: 18

[0101]

rAAV	1128	WO2016081811A1 SEQ ID NO: 19
rAAV	1129	WO2016081811A1 SEQ ID NO: 20
rAAV	1130	WO2016081811A1 SEQ ID NO: 21
rAAV	1131	WO2016081811A1 SEQ ID NO: 22
rAAV	1132	WO2016081811A1 SEQ ID NO: 23
rAAV	1133	WO2016081811A1 SEQ ID NO: 24
rAAV	1134	WO2016081811A1 SEQ ID NO: 25
rAAV	1135	WO2016081811A1 SEQ ID NO: 26
rAAV	1136	WO2016081811A1 SEQ ID NO: 27
rAAV	1137	WO2016081811A1 SEQ ID NO: 28
rAAV	1138	WO2016081811A1 SEQ ID NO: 29
rAAV	1139	WO2016081811A1 SEQ ID NO: 30
rAAV	1140	WO2016081811A1 SEQ ID NO: 31
rAAV	1141	WO2016081811A1 SEQ ID NO: 32
rAAV	1142	WO2016081811A1 SEQ ID NO: 33
rAAV	1143	WO2016081811A1 SEQ ID NO: 34
rAAV	1144	WO2016081811A1 SEQ ID NO: 35
rAAV	1145	WO2016081811A1 SEQ ID NO: 36
rAAV	1146	WO2016081811A1 SEQ ID NO: 37
rAAV	1147	WO2016081811A1 SEQ ID NO: 38
rAAV	1148	WO2016081811A1 SEQ ID NO: 39
rAAV	1149	WO2016081811A1 SEQ ID NO: 40
rAAV	1150	WO2016081811A1 SEQ ID NO: 41
rAAV	1151	WO2016081811A1 SEQ ID NO: 42
rAAV	1152	WO2016081811A1 SEQ ID NO: 43
rAAV	1153	WO2016081811A1 SEQ ID NO: 44
rAAV	1154	WO2016081811A1 SEQ ID NO: 45
rAAV	1155	WO2016081811A1 SEQ ID NO: 46
rAAV	1156	WO2016081811A1 SEQ ID NO: 47
rAAV	1157	WO2016081811A1 SEQ ID NO: 48
rAAV	1158	WO2016081811A1 SEQ ID NO: 49
rAAV	1159	WO2016081811A1 SEQ ID NO: 50
rAAV	1160	WO2016081811A1 SEQ ID NO: 51
rAAV	1161	WO2016081811A1 SEQ ID NO: 52
rAAV	1162	WO2016081811A1 SEQ ID NO: 53
rAAV	1163	WO2016081811A1 SEQ ID NO: 54
rAAV	1164	WO2016081811A1 SEQ ID NO: 55
rAAV	1165	WO2016081811A1 SEQ ID NO: 56
rAAV	1166	WO2016081811A1 SEQ ID NO: 57
rAAV	1167	WO2016081811A1 SEQ ID NO: 58
rAAV	1168	WO2016081811A1 SEQ ID NO: 59
rAAV	1169	WO2016081811A1 SEQ ID NO: 60

[0102]

rAAV	1170	WO2016081811A1 SEQ ID NO: 61
rAAV	1171	WO2016081811A1 SEQ ID NO: 62
rAAV	1172	WO2016081811A1 SEQ ID NO: 63
rAAV	1173	WO2016081811A1 SEQ ID NO: 64
rAAV	1174	WO2016081811A1 SEQ ID NO: 65
rAAV	1175	WO2016081811A1 SEQ ID NO: 66
rAAV	1176	WO2016081811A1 SEQ ID NO: 67
rAAV	1177	WO2016081811A1 SEQ ID NO: 68
rAAV	1178	WO2016081811A1 SEQ ID NO: 69
rAAV	1179	WO2016081811A1 SEQ ID NO: 70
rAAV	1180	WO2016081811A1 SEQ ID NO: 71
rAAV	1181	WO2016081811A1 SEQ ID NO: 72
rAAV	1182	WO2016081811A1 SEQ ID NO: 73
rAAV	1183	WO2016081811A1 SEQ ID NO: 74
rAAV	1184	WO2016081811A1 SEQ ID NO: 75
rAAV	1185	WO2016081811A1 SEQ ID NO: 76
rAAV	1186	WO2016081811A1 SEQ ID NO: 77
rAAV	1187	WO2016081811A1 SEQ ID NO: 78
rAAV	1188	WO2016081811A1 SEQ ID NO: 79
rAAV	1189	WO2016081811A1 SEQ ID NO: 80
rAAV	1190	WO2016081811A1 SEQ ID NO: 81
rAAV	1191	WO2016081811A1 SEQ ID NO: 82
rAAV	1192	WO2016081811A1 SEQ ID NO: 83
rAAV	1193	WO2016081811A1 SEQ ID NO: 84
rAAV	1194	WO2016081811A1 SEQ ID NO: 85
rAAV	1195	WO2016081811A1 SEQ ID NO: 86
rAAV	1196	WO2016081811A1 SEQ ID NO: 87
rAAV	1197	WO2016081811A1 SEQ ID NO: 88
rAAV	1198	WO2016081811A1 SEQ ID NO: 89
rAAV	1199	WO2016081811A1 SEQ ID NO: 90
rAAV	1200	WO2016081811A1 SEQ ID NO: 91
rAAV	1201	WO2016081811A1 SEQ ID NO: 92
rAAV	1202	WO2016081811A1 SEQ ID NO: 93
rAAV	1203	WO2016081811A1 SEQ ID NO: 94
rAAV	1204	WO2016081811A1 SEQ ID NO: 95
rAAV	1205	WO2016081811A1 SEQ ID NO: 96
rAAV	1206	WO2016081811A1 SEQ ID NO: 97
rAAV	1207	WO2016081811A1 SEQ ID NO: 98
rAAV	1208	WO2016081811A1 SEQ ID NO: 99
rAAV	1209	WO2016081811A1 SEQ ID NO: 100

[0103]

rAAV	1210	WO2016081811A1 SEQ ID NO: 101
rAAV	1211	WO2016081811A1 SEQ ID NO: 102
rAAV	1212	WO2016081811A1 SEQ ID NO: 103
rAAV	1213	WO2016081811A1 SEQ ID NO: 104
rAAV	1214	WO2016081811A1 SEQ ID NO: 105
rAAV	1215	WO2016081811A1 SEQ ID NO: 106
rAAV	1216	WO2016081811A1 SEQ ID NO: 107
rAAV	1217	WO2016081811A1 SEQ ID NO: 108
rAAV	1218	WO2016081811A1 SEQ ID NO: 109
rAAV	1219	WO2016081811A1 SEQ ID NO: 110
rAAV	1220	WO2016081811A1 SEQ ID NO: 111
rAAV	1221	WO2016081811A1 SEQ ID NO: 112
rAAV	1222	WO2016081811A1 SEQ ID NO: 113
rAAV	1223	WO2016081811A1 SEQ ID NO: 114
rAAV	1224	WO2016081811A1 SEQ ID NO: 115
rAAV	1225	WO2016081811A1 SEQ ID NO: 116
rAAV	1226	WO2016081811A1 SEQ ID NO: 117
rAAV	1227	WO2016081811A1 SEQ ID NO: 118
rAAV	1228	WO2016081811A1 SEQ ID NO: 119
rAAV	1229	WO2016081811A1 SEQ ID NO: 120
rAAV	1230	WO2016081811A1 SEQ ID NO: 121
rAAV	1231	WO2016081811A1 SEQ ID NO: 122
rAAV	1232	WO2016081811A1 SEQ ID NO: 123
rAAV	1233	WO2016081811A1 SEQ ID NO: 124
rAAV	1234	WO2016081811A1 SEQ ID NO: 125
rAAV	1235	WO2016081811A1 SEQ ID NO: 126
rAAV	1236	WO2016081811A1 SEQ ID NO: 127
rAAV	1237	WO2016081811A1 SEQ ID NO: 128
AAV8 E532K	1238	WO2016081811A1 SEQ ID NO: 133
AAV8 E532K	1239	WO2016081811A1 SEQ ID NO: 134
rAAV4	1240	WO2016115382A1 SEQ ID NO: 2
rAAV4	1241	WO2016115382A1 SEQ ID NO: 3
rAAV4	1242	WO2016115382A1 SEQ ID NO: 4
rAAV4	1243	WO2016115382A1 SEQ ID NO: 5
rAAV4	1244	WO2016115382A1 SEQ ID NO: 6
rAAV4	1245	WO2016115382A1 SEQ ID NO: 7
rAAV4	1246	WO2016115382A1 SEQ ID NO: 8
rAAV4	1247	WO2016115382A1 SEQ ID NO: 9
rAAV4	1248	WO2016115382A1 SEQ ID NO: 10
rAAV4	1249	WO2016115382A1 SEQ ID NO: 11

[0104]

rAAV4	1250	WO2016115382A1 SEQ ID NO: 12
rAAV4	1251	WO2016115382A1 SEQ ID NO: 13
rAAV4	1252	WO2016115382A1 SEQ ID NO: 14
rAAV4	1253	WO2016115382A1 SEQ ID NO: 15
rAAV4	1254	WO2016115382A1 SEQ ID NO: 16
rAAV4	1255	WO2016115382A1 SEQ ID NO: 17
rAAV4	1256	WO2016115382A1 SEQ ID NO: 18
rAAV4	1257	WO2016115382A1 SEQ ID NO: 19
rAAV4	1258	WO2016115382A1 SEQ ID NO: 20
rAAV4	1259	WO2016115382A1 SEQ ID NO: 21
AAV11	1260	WO2016115382A1 SEQ ID NO: 22
AAV12	1261	WO2016115382A1 SEQ ID NO: 23
rh32	1262	WO2016115382A1 SEQ ID NO: 25
rh33	1263	WO2016115382A1 SEQ ID NO: 26
rh34	1264	WO2016115382A1 SEQ ID NO: 27
rAAV4	1265	WO2016115382A1 SEQ ID NO: 28
rAAV4	1266	WO2016115382A1 SEQ ID NO: 29
rAAV4	1267	WO2016115382A1 SEQ ID NO: 30
rAAV4	1268	WO2016115382A1 SEQ ID NO: 31
rAAV4	1269	WO2016115382A1 SEQ ID NO: 32
rAAV4	1270	WO2016115382A1 SEQ ID NO: 33
AAV2/8	1271	WO2016131981A1 SEQ ID NO: 47
AAV2/8	1272	WO2016131981A1 SEQ ID NO: 48
祖先 AAV	1273	WO2016154344A1 SEQ ID NO: 7
祖先 AAV 变体 C4	1274	WO2016154344A1 SEQ ID NO: 13
祖先 AAV 变体 C7	1275	WO2016154344A1 SEQ ID NO: 14
祖先 AAV 变体 G4	1276	WO2016154344A1 SEQ ID NO: 15
祖先 AAV 的共有氨基酸序列 变体, C4、C7 和 G4	1277	WO2016154344A1 SEQ ID NO: 16
祖先 AAV 变体 C4 和 C7 的共 有氨基酸序列	1278	WO2016154344A1 SEQ ID NO: 17
AAV8 (具有 AAV2 磷脂酶域)	1279	WO2016150403A1 SEQ ID NO: 13
AAV VR-942n	1280	US20160289275A1 SEQ ID NO: 10
AAV5-A (M569V)	1281	US20160289275A1 SEQ ID NO: 13
AAV5-A (M569V)	1282	US20160289275A1 SEQ ID NO: 14
AAV5-A (Y585V)	1283	US20160289275A1 SEQ ID NO: 16
AAV5-A (Y585V)	1284	US20160289275A1 SEQ ID NO: 17
AAV5-A (L587T)	1285	US20160289275A1 SEQ ID NO: 19
AAV5-A (L587T)	1286	US20160289275A1 SEQ ID NO: 20
AAV5-A (Y585V/L587T)	1287	US20160289275A1 SEQ ID NO: 22

[0105]

AAV5-A (Y585V/L587T)	1288	US20160289275A1 SEQ ID NO: 23
AAV5-B (D652A)	1289	US20160289275A1 SEQ ID NO: 25
AAV5-B (D652A)	1290	US20160289275A1 SEQ ID NO: 26
AAV5-B (T362M)	1291	US20160289275A1 SEQ ID NO: 28
AAV5-B (T362M)	1292	US20160289275A1 SEQ ID NO: 29
AAV5-B (Q359D)	1293	US20160289275A1 SEQ ID NO: 31
AAV5-B (Q359D)	1294	US20160289275A1 SEQ ID NO: 32
AAV5-B (E350Q)	1295	US20160289275A1 SEQ ID NO: 34
AAV5-B (E350Q)	1296	US20160289275A1 SEQ ID NO: 35
AAV5-B (P533S)	1297	US20160289275A1 SEQ ID NO: 37
AAV5-B (P533S)	1298	US20160289275A1 SEQ ID NO: 38
AAV5-B (P533G)	1299	US20160289275A1 SEQ ID NO: 40
AAV5-B (P533G)	1300	US20160289275A1 SEQ ID NO: 41
环 VII 中的 AAV5 突变	1301	US20160289275A1 SEQ ID NO: 43
环 VII 中的 AAV5 突变	1302	US20160289275A1 SEQ ID NO: 44
AAV8	1303	US20160289275A1 SEQ ID NO: 47
Mut A (LK03/AAV8)	1304	WO2016181123A1 SEQ ID NO: 1
Mut B (LK03/AAV5)	1305	WO2016181123A1 SEQ ID NO: 2
Mut C (AAV8/AAV3B)	1306	WO2016181123A1 SEQ ID NO: 3
Mut D (AAV5/AAV3B)	1307	WO2016181123A1 SEQ ID NO: 4
Mut E (AAV8/AAV3B)	1308	WO2016181123A1 SEQ ID NO: 5
Mut F (AAV3B/AAV8)	1309	WO2016181123A1 SEQ ID NO: 6
AAV44.9	1310	WO2016183297A1 SEQ ID NO: 4
AAV44.9	1311	WO2016183297A1 SEQ ID NO: 5
AAVrh8	1312	WO2016183297A1 SEQ ID NO: 6
AAV44.9 (S470N)	1313	WO2016183297A1 SEQ ID NO: 9
rh74 VP1	1314	US20160375110A1 SEQ ID NO: 1
AAV-LK03 (L125I)	1315	WO2017015102A1 SEQ ID NO: 5
AAV3B (S663V+T492V)	1316	WO2017015102A1 SEQ ID NO: 6
Anc80	1317	WO2017019994A2 SEQ ID NO: 1
Anc80	1318	WO2017019994A2 SEQ ID NO: 2
Anc81	1319	WO2017019994A2 SEQ ID NO: 3
Anc81	1320	WO2017019994A2 SEQ ID NO: 4
Anc82	1321	WO2017019994A2 SEQ ID NO: 5
Anc82	1322	WO2017019994A2 SEQ ID NO: 6
Anc83	1323	WO2017019994A2 SEQ ID NO: 7
Anc83	1324	WO2017019994A2 SEQ ID NO: 8
Anc84	1325	WO2017019994A2 SEQ ID NO: 9
Anc84	1326	WO2017019994A2 SEQ ID NO: 10
Anc94	1327	WO2017019994A2 SEQ ID NO: 11

[0106]

Anc94	1328	WO2017019994A2 SEQ ID NO: 12
Anc113	1329	WO2017019994A2 SEQ ID NO: 13
Anc113	1330	WO2017019994A2 SEQ ID NO: 14
Anc126	1331	WO2017019994A2 SEQ ID NO: 15
Anc126	1332	WO2017019994A2 SEQ ID NO: 16
Anc127	1333	WO2017019994A2 SEQ ID NO: 17
Anc127	1334	WO2017019994A2 SEQ ID NO: 18
Anc80L27	1335	WO2017019994A2 SEQ ID NO: 19
Anc80L59	1336	WO2017019994A2 SEQ ID NO: 20
Anc80L60	1337	WO2017019994A2 SEQ ID NO: 21
Anc80L62	1338	WO2017019994A2 SEQ ID NO: 22
Anc80L65	1339	WO2017019994A2 SEQ ID NO: 23
Anc80L33	1340	WO2017019994A2 SEQ ID NO: 24
Anc80L36	1341	WO2017019994A2 SEQ ID NO: 25
Anc80L44	1342	WO2017019994A2 SEQ ID NO: 26
Anc80L1	1343	WO2017019994A2 SEQ ID NO: 35
Anc80L1	1344	WO2017019994A2 SEQ ID NO: 36
AAVrh10	1345	WO2017019994A2 SEQ ID NO: 41
Anc110	1346	WO2017019994A2 SEQ ID NO: 42
Anc110	1347	WO2017019994A2 SEQ ID NO: 43
AAVrh32.33	1348	WO2017019994A2 SEQ ID NO: 45
AAVrh74	1349	WO2017049031A1 SEQ ID NO: 1
AAV2	1350	WO2017053629A2 SEQ ID NO: 49
AAV2	1351	WO2017053629A2 SEQ ID NO: 50
AAV2	1352	WO2017053629A2 SEQ ID NO: 82
细小样病毒	1353	WO2017070476A2 SEQ ID NO: 1
细小样病毒	1354	WO2017070476A2 SEQ ID NO: 2
细小样病毒	1355	WO2017070476A2 SEQ ID NO: 3
细小样病毒	1356	WO2017070476A2 SEQ ID NO: 4
细小样病毒	1357	WO2017070476A2 SEQ ID NO: 5
细小样病毒	1358	WO2017070476A2 SEQ ID NO: 6
AAVrh.10	1359	WO2017070516A1 SEQ ID NO: 7
AAVrh.10	1360	WO2017070516A1 SEQ ID NO: 14
AAV2tYF	1361	WO2017070491A1 SEQ ID NO: 1
AAV-SPK	1362	WO2017075619A1 SEQ ID NO:28
AAV2.5	1363	US20170128528A1 SEQ ID NO: 13
AAV1.1	1364	US20170128528A1 SEQ ID NO: 15
AAV6.1	1365	US20170128528A1 SEQ ID NO: 17
AAV6.3.1	1366	US20170128528A1 SEQ ID NO: 18
AAV2i8	1367	US20170128528A1 SEQ ID NO: 28

[0107]

AAV2i8	1368	US20170128528A1 SEQ ID NO: 29
ttAAV	1369	US20170128528A1 SEQ ID NO: 30
ttAAV-S312N	1370	US20170128528A1 SEQ ID NO: 32
ttAAV-S312N	1371	US20170128528A1 SEQ ID NO: 33
AAV6 (Y705、Y731 和 T492)	1372	WO2016134337A1 SEQ ID NO: 24
AAV2	1373	WO2016134375A1 SEQ ID NO: 9
AAV2	1374	WO2016134375A1 SEQ ID NO: 10

[0108] 在一个实施方案中, AAV血清型可以是或可以具有如国际专利公开W02015038958 (其内容通过引用完整并入本文) 中所述的序列, 例如但不限于AAV9 (W02015038958的SEQ ID NO:2和11或本文中分别为SEQ ID NO:132和131)、PHP.B (W02015038958的SEQ ID NO:8和9或本文中SEQ ID NO:1和2)、G2B-13 (W02015038958的SEQ ID NO:12或本文中SEQ ID NO:3)、G2B-26 (W02015038958的SEQ ID NO:13或本文中SEQ ID NO:1)、TH1.1-32 (W02015038958的SEQ ID NO:14或本文中SEQ ID NO:4)、TH1.1-35 (W02015038958的SEQ ID NO:15或本文中SEQ ID NO:5) 或其变体。此外, W02015038958中所述的任何靶向肽或氨基酸插入物可以插入任何亲本AAV血清型中, 例如但不限于AAV9 (对于DNA序列, W02015038958的SEQ ID NO:131和对于氨基酸序列, SEQ ID NO:132)。在一个实施方案中, 氨基酸插入物插入亲本AAV (例如AAV9) 的氨基酸586-592中。在另一个实施方案中, 氨基酸插入物插入亲本AAV序列的氨基酸588-589中。氨基酸插入物可以是但不限于任何以下氨基酸序列: TLAVPFK (W02015038958的SEQ ID NO:1; 本文中SEQ ID NO:876)、KFPVALT (W02015038958的SEQ ID NO:3; 本文中SEQ ID NO:877)、LAVPFK (W02015038958的SEQ ID NO:31; 本文中SEQ ID NO:878)、AVPFK (W02015038958的SEQ ID NO:32; 本文中SEQ ID NO:879)、VPFK (W02015038958的SEQ ID NO:33; 本文中SEQ ID NO:880)、TLAVPF (W02015038958的SEQ ID NO:34; 本文中SEQ ID NO:881)、TLAVP (W02015038958的SEQ ID NO:35; 本文中SEQ ID NO:882)、TLAV (W02015038958的SEQ ID NO:36; 本文中SEQ ID NO:883)、SVSKPFL (W02015038958的SEQ ID NO:28; 本文中SEQ ID NO:884)、FTLTTPK (W02015038958的SEQ ID NO:29; 本文中SEQ ID NO:885)、MNATKNV (W02015038958的SEQ ID NO:30; 本文中SEQ ID NO:886)、QSSQTPR (W02015038958的SEQ ID NO:54; 本文中SEQ ID NO:887)、ILGTGTS (W02015038958的SEQ ID NO:55; 本文中SEQ ID NO:888)、TRTNPEA (W02015038958的SEQ ID NO:56; 本文中SEQ ID NO:889)、NGGTSSS (W02015038958的SEQ ID NO:58; 本文中SEQ ID NO:890)、或YTLSQGW (W02015038958的SEQ ID NO:60; 本文中SEQ ID NO:891)。可以编码氨基酸插入物的核苷酸序列的非限制性实例包括以下: AAGTTTCCTGTGGCGTTGACT (对于SEQ ID NO:3; 本文中SEQ ID NO:892)、ACTTTGGCGGTGCCTTTTAAG (W02015038958的SEQ ID NO:24和49; 本文中SEQ ID NO:893)、AGTGTGAGTAAGCCTTTTTTG (W02015038958的SEQ ID NO:25; 本文中SEQ ID NO:894)、TTTACGTTGACGACGCCTAAG (W02015038958的SEQ ID NO:26; 本文中SEQ ID NO:895)、ATGAATGCTACGAAGAATGTG (W02015038958的SEQ ID NO:27; 本文中SEQ ID NO:896)、CAGTCGTCGCAGACGCCTAGG (W02015038958的SEQ ID NO:48; 本文中SEQ ID NO:897)、ATTCTGGGGACTGGTACTTCG (W02015038958的SEQ ID NO:50和52; 本文中SEQ ID NO:898)、ACGCGGACTAATCCTGAGGCT (W02015038958的SEQ ID NO:51; 本文中SEQ ID NO:899)、AATGGGGGGACTAGTAGTTCT (W02015038958的SEQ ID NO:53; 本文中SEQ ID NO:900)、或

TATACTTTGTCGCAGGGTTGG (W02015038958的SEQ ID NO:59;本文中SEQ ID NO:901)。

[0109] 在一个实施方案中, AAV血清型可以是或可以具有如国际专利公开W02017100671 (其内容通过引用完整并入本文) 中所述的序列, 例如但不限于AAV9 (W02017100671的SEQ ID NO:45, 本文中SEQ ID NO:875)、PHP.N (W02017100671的SEQ ID NO:46, 本文中SEQ ID NO:873)、PHP.S (W02017100671的SEQ ID NO:47, 本文中SEQ ID NO:874) 或其变体。此外, W02017100671中所述的任何靶向肽或氨基酸插入物可以插入任何亲本AAV血清型中, 例如但不限于AAV9 (W02017100671的SEQ ID NO:127或SEQ ID NO:875)。在一个实施方案中, 氨基酸插入物插入亲本AAV (例如AAV9) 的氨基酸586-592之间。在另一个实施方案中, 氨基酸插入物插入亲本AAV序列的氨基酸588-589之间。氨基酸插入物可以是但不限于任何以下氨基酸序列: AQT LAVPFKAQ (W02017100671的SEQ ID NO:1;本文中SEQ ID NO:902)、AQS VSKPFLAQ (W02017100671的SEQ ID NO:2;本文中SEQ ID NO:903)、AQFTLTTPKAQ (W02017100671序列列表中的SEQ ID NO:3;本文中SEQ ID NO:904)、DGT LAVPFKAQ (W02017100671序列列表中的SEQ ID NO:4;本文中SEQ ID NO:905)、EST LAVPFKAQ (W02017100671的SEQ ID NO:5;本文中SEQ ID NO:906)、GGT LAVPFKAQ (W02017100671的SEQ ID NO:6;本文中SEQ ID NO:907)、AQT LATPFKAQ (W02017100671的SEQ ID NO:7和33;本文中SEQ ID NO:908)、ATT LATPFKAQ (W02017100671的SEQ ID NO:8;本文中SEQ ID NO:909)、DGT LATPFKAQ (W02017100671的SEQ ID NO:9;本文中SEQ ID NO:910)、GGT LATPFKAQ (W02017100671的SEQ ID NO:10;本文中SEQ ID NO:911)、SGS LAVPFKAQ (W02017100671的SEQ ID NO:11;本文中SEQ ID NO:912)、AQT LAQPFKAQ (W02017100671的SEQ ID NO:12;本文中SEQ ID NO:913)、AQT LQQPFKAQ (W02017100671的SEQ ID NO:13;本文中SEQ ID NO:914)、AQT LSNPFKAQ (W02017100671的SEQ ID NO:14;本文中SEQ ID NO:915)、AQT LAVPFSNP (W02017100671的SEQ ID NO:15;本文中SEQ ID NO:916)、QGT LAVPFKAQ (W02017100671的SEQ ID NO:16;本文中SEQ ID NO:917)、NQT LAVPFKAQ (W02017100671的SEQ ID NO:17;本文中SEQ ID NO:918)、EGS LAVPFKAQ (W02017100671的SEQ ID NO:18;本文中SEQ ID NO:919)、SGN LAVPFKAQ (W02017100671的SEQ ID NO:19;本文中SEQ ID NO:920)、EGT LAVPFKAQ (W02017100671的SEQ ID NO:20;本文中SEQ ID NO:921)、DST LAVPFKAQ (W02017100671的表1中的SEQ ID NO:21;本文中SEQ ID NO:922)、AVT LAVPFKAQ (W02017100671的SEQ ID NO:22;本文中SEQ ID NO:923)、AQT LSTPFKAQ (W02017100671的SEQ ID NO:23;本文中SEQ ID NO:924)、AQT LPQPFKAQ (W02017100671的SEQ ID NO:24和32;本文中SEQ ID NO:925)、AQT LSQPFKAQ (W02017100671的SEQ ID NO:25;本文中SEQ ID NO:926)、AQT LQLPFKAQ (W02017100671的SEQ ID NO:26;本文中SEQ ID NO:927)、AQT LTMPFKAQ (W02017100671的SEQ ID NO:27和34和W02017100671的序列列表中SEQ ID NO:35;本文中SEQ ID NO:928)、AQT LTTPFKAQ (W02017100671的SEQ ID NO:28;本文中SEQ ID NO:929)、AQY TLSQGWAQ (W02017100671的SEQ ID NO:29;本文中SEQ ID NO:930)、AQMNATKNVAQ (W02017100671的SEQ ID NO:30;本文中SEQ ID NO:931)、AQVSGGHSAQ (W02017100671的SEQ ID NO:31;本文中SEQ ID NO:932)、AQT LTAPFKAQ (W02017100671的表1中的SEQ ID NO:35;本文中SEQ ID NO:933)、AQT LSKPFKAQ (W02017100671的SEQ ID NO:36;本文中SEQ ID NO:934)、QAVRTSL (W02017100671的SEQ ID NO:37;本文中SEQ ID NO:935)、YTLSQGW (W02017100671的SEQ ID NO:38;本文中SEQ ID NO:891)、LAKERLS (W02017100671的SEQ ID NO:39;本文中SEQ ID

NO:936)、TLAVPFK(W02017100671的序列表中的SEQ ID NO:40;本文中SEQ ID NO:876)、SVSKPFL(W02017100671的SEQ ID NO:41;本文中SEQ ID NO:884)、FTLTTPK(W02017100671的SEQ ID NO:42;本文中SEQ ID NO:885)、MNSTKNV(W02017100671的SEQ ID NO:43;本文中SEQ ID NO:937)、VSGGHHS(W02017100671的SEQ ID NO:44;本文中SEQ ID NO:938)、SAQTLAVPFKAQAQ(W02017100671的SEQ ID NO:48;本文中SEQ ID NO:939)、SXXXLAVPFKAQAQ(W02017100671的SEQ ID NO:49,其中X可以是任何氨基酸;本文中SEQ ID NO:940)、SAQXXXVPFKAQAQ(W02017100671的SEQ ID NO:50,其中X可以是任何氨基酸;本文中SEQ ID NO:941)、SAQTLXXXFKAQAQ(W02017100671的SEQ ID NO:51,其中X可以是任何氨基酸;本文中SEQ ID NO:942)、SAQTLAVXXXAQAQ(W02017100671的SEQ ID NO:52,其中X可以是任何氨基酸;本文中SEQ ID NO:943)、SAQTLAVPFXXXAQ(W02017100671的SEQ ID NO:53,其中X可以是任何氨基酸;本文中SEQ ID NO:944)、TNHQAQ(W02017100671的SEQ ID NO:65;本文中SEQ ID NO:945)、AQAQTGW(W02017100671的SEQ ID NO:66;本文中SEQ ID NO:946)、DGTLATPFK(W02017100671的SEQ ID NO:67;本文中SEQ ID NO:947)、DGTLATPFKXX(W02017100671的SEQ ID NO:68,其中X可以是任何氨基酸;本文中SEQ ID NO:948)、LAVPFKAQ(W02017100671的SEQ ID NO:80;本文中SEQ ID NO:949)、VPFKAQ(W02017100671的SEQ ID NO:81;本文中SEQ ID NO:950)、FKAQ(W02017100671的SEQ ID NO:82;本文中SEQ ID NO:951)、AQTLAV(W02017100671的SEQ ID NO:83;本文中SEQ ID NO:952)、AQTLAVPF(W02017100671的SEQ ID NO:84;本文中SEQ ID NO:953)、QAVR(W02017100671的SEQ ID NO:85;本文中SEQ ID NO:954)、AVRT(W02017100671的SEQ ID NO:86;本文中SEQ ID NO:955)、VRTS(W02017100671的SEQ ID NO:87;本文中SEQ ID NO:956)、RTSL(W02017100671的SEQ ID NO:88;本文中SEQ ID NO:957)、QAVRT(W02017100671的SEQ ID NO:89;本文中SEQ ID NO:958)、AVRTS(W02017100671的SEQ ID NO:90;本文中SEQ ID NO:959)、VRTSL(W02017100671的SEQ ID NO:91;本文中SEQ ID NO:960)、QAVRTS(W02017100671的SEQ ID NO:92;本文中SEQ ID NO:961)、或AVRTSL(W02017100671的SEQ ID NO:93;本文中SEQ ID NO:962)。

[0110] 可以编码氨基酸插入物的核苷酸序列的非限制性实例包括以下:GATGGGACTTTGGCGGTGCCTTTTAAGGCACAG(W02017100671的SEQ ID NO:54;本文中SEQ ID NO:963)、GATGGGACGTTGGCGGTGCCTTTTAAGGCACAG(W02017100671的SEQ ID NO:55;本文中SEQ ID NO:964)、CAGGCGGTTAGGACGTCTTTG(W02017100671的SEQ ID NO:56;本文中SEQ ID NO:965)、CAGGTCTTCAGGACTCAGACTATCAG(W02017100671的SEQ ID NO:57and 78;本文中SEQ ID NO:966)、CAAGTAAACCTCTACAAATGTGGTAAATCG(W02017100671的SEQ ID NO:58;本文中SEQ ID NO:967)、

[0111] ACTCATCGACCAATACTTGTAATCTCTCTAGAAC(W02017100671的SEQ ID NO:59;本文中SEQ ID NO:968)、GGAAGTATTCCTTGTTTGAACCCA(W02017100671的SEQ ID NO:60;本文中SEQ ID NO:969)、GGTCGCGTTCTTGTTTGTGGAT(W02017100671的SEQ ID NO:61;本文中SEQ ID NO:970)、CGACCTTGAAGCGCATGAACCTCCT(W02017100671的SEQ ID NO:62;本文中SEQ ID NO:971)、GTATTCCTTGTTTGAACCCAACCGGTCTGCGCCTGTGCMNNMNNMNNMNNMNNMNNMNTTGGGCACTCTGGTGGTTTGTG(W02017100671的SEQ ID NO:63,其中N可以是A、C、T或G;本文中SEQ ID NO:972)、GTATTCCTTGTTTGAACCCAACCGGTCTGCGCMNNMNNMNNAAAAGGCACCGCCA

AAGTTTG (W02017100671的SEQ ID NO:69,其中N可以是A、C、T或G;本文中SEQ ID NO:973)、GTATTCCTTGGTTTTGAACCCAACCGGTCTGCGCCTGTGCMNNMNNMNNCACCGCCAAAGTTTGGGCACT (W02017100671的SEQ ID NO:70,其中N可以是A、C、T或G;本文中SEQ ID NO:974)、GTATTCCTTGGTTTTGAACCCAACCGGTCTGCGCCTGTGCCTTAAAMNNMNNMNNCAAAGTTTGGGCACTCTGGTGG (W02017100671的SEQ ID NO:71,其中N可以是A、C、T或G;本文中SEQ ID NO:975)、GTATTCCTTGGTTTTGAACCCAACCGGTCTGCGCCTGTGCCTTAAAGGCACMNNMNN MNNTTGGGCACTCTGGTGGTTTGTG (W02017100671的SEQ ID NO:72,其中N可以是A、C、T或G;本文中SEQ ID NO:976)、ACTTTGGCGGTGCCTTTTAAAG (W02017100671的SEQ ID NO:74;本文中SEQ ID NO:893)、AGTGTGAGTAAGCCTTTTTT (W02017100671的SEQ ID NO:75;本文中SEQ ID NO:894)、TTTACGTTGACGACGCTAAG (W02017100671的SEQ ID NO:76;本文中SEQ ID NO:895)、TATACTTTGTGCGAGGGTTGG (W02017100671的SEQ ID NO:77;本文中SEQ ID NO:901)、或CTTGCGAAGGAGCGGCTTTTCG (W02017100671的SEQ ID NO:79;本文中SEQ ID NO:977)。

[0112] 在一个实施方案中,AAV血清型可以是或可以具有如美国专利号US 9624274(其内容通过引用完整并入本文)中所述的序列,例如但不限于AAV1 (US9624274的SEQ ID NO:181)、AAV6 (US9624274的SEQ ID NO:182)、AAV2 (US9624274的SEQ ID NO:183)、AAV3b (US9624274的SEQ ID NO:184)、AAV7 (US9624274的SEQ ID NO:185)、AAV8 (US9624274的SEQ ID NO:186)、AAV10 (US9624274的SEQ ID NO:187)、AAV4 (US9624274的SEQ ID NO:188)、AAV11 (US9624274的SEQ ID NO:189)、bAAV (US9624274的SEQ ID NO:190)、AAV5 (US9624274的SEQ ID NO:191)、GPV (US9624274的SEQ ID NO:192;本文中SEQ ID NO:992)、B19 (US9624274的SEQ ID NO:193;本文中SEQ ID NO:993)、MVM (US9624274的SEQ ID NO:194;本文中SEQ ID NO:994)、FPV (US9624274的SEQ ID NO:195;本文中SEQ ID NO:995)、CPV (US9624274的SEQ ID NO:196;本文中SEQ ID NO:996)或其变体。此外,US 9624274中所述的任何结构蛋白插入物可以插入但不限于任何亲本AAV血清型的I-453和I-587,例如但不限于AAV2 (US9624274的SEQ ID NO:183)。

[0113] 氨基酸插入物可以是但不限于任何以下氨基酸序列:VNLTWSRASG (US9624274的SEQ ID NO:50;本文中SEQ ID NO:1375)、EFCINHRGYWVCGD (US9624274的SEQ ID NO:55;本文中SEQ ID NO:1376)、EDGQVMDVDLS (US9624274的SEQ ID NO:85;本文中SEQ ID NO:1377)、EKQRNGTLT (US9624274的SEQ ID NO:86;本文中SEQ ID NO:1378)、TYQCRVTHPHLPRALMR (US9624274的SEQ ID NO:87;本文中SEQ ID NO:1379)、RHSTTQPRKTKGSG (US9624274的SEQ ID NO:88;本文中SEQ ID NO:1380)、DSNPRGVSAYLSR (US9624274的SEQ ID NO:89;本文中SEQ ID NO:1381)、TITCLWDLAPSK (US9624274的SEQ ID NO:90;本文中SEQ ID NO:1382)、KTKGSGFFVF (US9624274的SEQ ID NO:91;本文中SEQ ID NO:1383)、THPHLPRALMRS (US9624274的SEQ ID NO:92;本文中SEQ ID NO:1384)、GETYQCRVTHPHLPRALMRSTTK (US9624274的SEQ ID NO:93;本文中SEQ ID NO:1385)、LPRALMRS (US9624274的SEQ ID NO:94;本文中SEQ ID NO:1386)、INHRGYWV (US9624274的SEQ ID NO:95;本文中SEQ ID NO:1387)、CDAGSVRTNAPD (US9624274的SEQ ID NO:60;本文中SEQ ID NO:1388)、AKAVSNLTESRSESLQS (US9624274的SEQ ID NO:96;本文中SEQ ID NO:1389)、SLTGDEFKKVLET (US9624274的SEQ ID NO:97;本文中SEQ ID NO:1390)、REAVAYRFEED (US9624274的SEQ ID NO:98;本文中SEQ ID NO:1391)、INPEIITLDG (US9624274的SEQ ID

NO:99;本文中SEQ ID NO:1392)、DISVTGAPVITATYL(US9624274的SEQ ID NO:100;本文中SEQ ID NO:1393)、DISVTGAPVITA(US9624274的SEQ ID NO:101;本文中SEQ ID NO:1394)、PKTVSNLTSSSESVQS(US9624274的SEQ ID NO:102;本文中SEQ ID NO:1395)、SLMGDEFKAVLET(US9624274的SEQ ID NO:103;本文中SEQ ID NO:1396)、QHSVAYTFEED(US9624274的SEQ ID NO:104;本文中SEQ ID NO:1397)、INPEIITRDG(US9624274的SEQ ID NO:105;本文中SEQ ID NO:1398)、DISLTGDPVITASYL(US9624274的SEQ ID NO:106;本文中SEQ ID NO:1399)、DISLTGDPVITA(US9624274的SEQ ID NO:107;本文中SEQ ID NO:1400)、DQSIDFEIDSA(US9624274的SEQ ID NO:108;本文中SEQ ID NO:1401)、KNVSEDLPLPTFSPTLLGDS(US9624274的SEQ ID NO:109;本文中SEQ ID NO:1402)、KNVSEDLPLPT(US9624274的SEQ ID NO:110;本文中SEQ ID NO:1403)、CDSGRVRTDAPD(US9624274的SEQ ID NO:111;本文中SEQ ID NO:1404)、FPEHLLVDFLQSLS(US9624274的SEQ ID NO:112;本文中SEQ ID NO:1405)、DAEFRHDSG(US9624274的SEQ ID NO:65;本文中SEQ ID NO:1406)、HYAAQWDFGNTMCQL(US9624274的SEQ ID NO:113;本文中SEQ ID NO:1407)、YAAQWDFGNTMCQ(US9624274的SEQ ID NO:114;本文中SEQ ID NO:1408)、RSQKEGLHYT(US9624274的SEQ ID NO:115;本文中SEQ ID NO:1409)、SSRTPSDKPVAHWANPQAE(US9624274的SEQ ID NO:116;本文中SEQ ID NO:1410)、SRTPSDKPVAHWANP(US9624274的SEQ ID NO:117;本文中SEQ ID NO:1411)、SSRTPSDKP(US9624274的SEQ ID NO:118;本文中SEQ ID NO:1412)、NADGNVDYHMNSVP(US9624274的SEQ ID NO:119;本文中SEQ ID NO:1413)、DGNVDYHMNSV(US9624274的SEQ ID NO:120;本文中SEQ ID NO:1414)、RSFKEFLQSSRLALRQ(US9624274的SEQ ID NO:121;本文中SEQ ID NO:1415)、FKEFLQSSLRA(US9624274的SEQ ID NO:122;本文中SEQ ID NO:1416)、或QMWAQWGP(US9624274的SEQ ID NO:123;本文中SEQ ID NO:1417)。

[0114] 在一个实施方案中, AAV血清型可以是或可以具有如美国专利号US9475845(其内容通过引用完整并入本文)中所述的序列, 例如但不限于AAV壳体蛋白, 其包含天然AAV2壳体蛋白的氨基酸位置585至590处的一个或多个氨基酸的修饰。此外, 修饰可以导致但不限于氨基酸序列RGNRQA(US9475845的SEQ ID NO:3;本文中SEQ ID NO:1418)、SSSTDP(US9475845的SEQ ID NO:4;本文中SEQ ID NO:1419)、SSNTAP(US9475845的SEQ ID NO:5;本文中SEQ ID NO:1420)、SNSNLP(US9475845的SEQ ID NO:6;本文中SEQ ID NO:1421)、SSTTAP(US9475845的SEQ ID NO:7;本文中SEQ ID NO:1422)、AANTAA(US9475845的SEQ ID NO:8;本文中SEQ ID NO:1423)、QQNTAP(US9475845的SEQ ID NO:9;本文中SEQ ID NO:1424)、SAQAQA(US9475845的SEQ ID NO:10;本文中SEQ ID NO:1425)、QANTGP(US9475845的SEQ ID NO:11;本文中SEQ ID NO:1426)、NATTAP(US9475845的SEQ ID NO:12;本文中SEQ ID NO:1427)、SSTAGP(US9475845的SEQ ID NO:13和20;本文中SEQ ID NO:1428)、QQNTAA(US9475845的SEQ ID NO:14;本文中SEQ ID NO:1429)、PSTAGP(US9475845的SEQ ID NO:15;本文中SEQ ID NO:1430)、NQNTAP(US9475845的SEQ ID NO:16;本文中SEQ ID NO:1431)、QAANAP(US9475845的SEQ ID NO:17;本文中SEQ ID NO:1432)、SIVGLP(US9475845的SEQ ID NO:18;本文中SEQ ID NO:1433)、AASTAA(US9475845的SEQ ID NO:19和27;本文中SEQ ID NO:1434)、SQNTTA(US9475845的SEQ ID NO:21;本文中SEQ ID NO:1435)、QQDTAP(US9475845的SEQ ID NO:22;本文中SEQ ID NO:1436)、QTNTGP(US9475845的SEQ ID NO:

23;本文中SEQ ID NO:1437)、QTNGAP (US9475845的SEQ ID NO:24;本文中SEQ ID NO:1438)、QQNAAP (US9475845的SEQ ID NO:25;本文中SEQ ID NO:1439)、或AANTQA (US9475845的SEQ ID NO:26;本文中SEQ ID NO:1440)。在一个实施方案中,氨基酸修饰是天然AAV2壳体蛋白中的氨基酸位置262到265或另一种AAV的壳体蛋白中的相应位置处用靶向序列的取代。靶向序列可以是但不限于任何氨基酸序列:NGRAHA (US9475845的SEQ ID NO:38;本文中SEQ ID NO:1441)、QPEHSST (US9475845的SEQ ID NO:39和50;本文中SEQ ID NO:1442)、VNTANST (US9475845的SEQ ID NO:40;本文中SEQ ID NO:1443)、HGPMQKS (US9475845的SEQ ID NO:41;本文中SEQ ID NO:1444)、PHKPPLA (US9475845的SEQ ID NO:42;本文中SEQ ID NO:1445)、IKNNEMW (US9475845的SEQ ID NO:43;本文中SEQ ID NO:1446)、RNLDTPM (US9475845的SEQ ID NO:44;本文中SEQ ID NO:1447)、VDSHRQS (US9475845的SEQ ID NO:45;本文中SEQ ID NO:1448)、YDSKTKT (US9475845的SEQ ID NO:46;本文中SEQ ID NO:1449)、SQLPHQK (US9475845的SEQ ID NO:47;本文中SEQ ID NO:1450)、STMQQNT (US9475845的SEQ ID NO:48;本文中SEQ ID NO:1451)、TERYMTQ (US9475845的SEQ ID NO:49;本文中SEQ ID NO:1452)、DASLSTS (US9475845的SEQ ID NO:51;本文中SEQ ID NO:1453)、DLPNKKT (US9475845的SEQ ID NO:52;本文中SEQ ID NO:1454)、DLTAARL (US9475845的SEQ ID NO:53;本文中SEQ ID NO:1455)、EPHQFNY (US9475845的SEQ ID NO:54;本文中SEQ ID NO:1456)、EPQSNHT (US9475845的SEQ ID NO:55;本文中SEQ ID NO:1457)、MSSWPSQ (US9475845的SEQ ID NO:56;本文中SEQ ID NO:1458)、NPKHNAT (US9475845的SEQ ID NO:57;本文中SEQ ID NO:1459)、PDGMRTT (US9475845的SEQ ID NO:58;本文中SEQ ID NO:1460)、PNNNKT (US9475845的SEQ ID NO:59;本文中SEQ ID NO:1461)、QSTTHDS (US9475845的SEQ ID NO:60;本文中SEQ ID NO:1462)、TGSKQKQ (US9475845的SEQ ID NO:61;本文中SEQ ID NO:1463)、SLKHQAL (US9475845的SEQ ID NO:62;本文中SEQ ID NO:1464)、SPIDGEQ (US9475845的SEQ ID NO:63;本文中SEQ ID NO:1465)、WIFPWIQL (US9475845的SEQ ID NO:64和112;本文中SEQ ID NO:1466)、CDCRGDCFC (US9475845的SEQ ID NO:65;本文中SEQ ID NO:1467)、CNGRC (US9475845的SEQ ID NO:66;本文中SEQ ID NO:1468)、CPRECES (US9475845的SEQ ID NO:67;本文中SEQ ID NO:1469)、CTTHWGFTLC (US9475845的SEQ ID NO:68和123;本文中SEQ ID NO:1470)、CGRRAGGSC (US9475845的SEQ ID NO:69;本文中SEQ ID NO:1471)、CKGGRKDC (US9475845的SEQ ID NO:70;本文中SEQ ID NO:1472)、CVPELGHEC (US9475845的SEQ ID NO:71和115;本文中SEQ ID NO:1473)、CRRETAWAK (US9475845的SEQ ID NO:72;本文中SEQ ID NO:1474)、VSWFSHRYSPFAVS (US9475845的SEQ ID NO:73;本文中SEQ ID NO:1475)、GYRDGYAGPILYN (US9475845的SEQ ID NO:74;本文中SEQ ID NO:1476)、XXXYYYY (US9475845的SEQ ID NO:75;本文中SEQ ID NO:1477)、YXNW (US9475845的SEQ ID NO:76;本文中SEQ ID NO:1478)、RPLPPLP (US9475845的SEQ ID NO:77;本文中SEQ ID NO:1479)、APPLPPR (US9475845的SEQ ID NO:78;本文中SEQ ID NO:1480)、DVFYPYPYASGS (US9475845的SEQ ID NO:79;本文中SEQ ID NO:1481)、MYWYPY (US9475845的SEQ ID NO:80;本文中SEQ ID NO:1482)、DITWDQLWDLMK (US9475845的SEQ ID NO:81;本文中SEQ ID NO:1483)、CWDDXWLC (US9475845的SEQ ID NO:82;本文中SEQ ID NO:1484)、EWCEYLGGYLRCA (US9475845的SEQ ID NO:83;本文中SEQ ID NO:1485)、YXCXXGPXTWXCXP (US9475845的SEQ ID NO:84;本文中SEQ ID NO:1486)、IEGPTLRQWLAARA (US9475845的SEQ ID NO:85;本文中SEQ ID NO:1487)、

LWXXX (US9475845的SEQ ID NO:86;本文中SEQ ID NO:1488)、XFXXYLW (US9475845的SEQ ID NO:87;本文中SEQ ID NO:1489)、SSIISHFRWGLCD (US9475845的SEQ ID NO:88;本文中SEQ ID NO:1490)、MSRPACPPNDKYE (US9475845的SEQ ID NO:89;本文中SEQ ID NO:1491)、CLRSGRGC (US9475845的SEQ ID NO:90;本文中SEQ ID NO:1492)、CHWMFSPWC (US9475845的SEQ ID NO:91;本文中SEQ ID NO:1493)、WXXF (US9475845的SEQ ID NO:92;本文中SEQ ID NO:1494)、CSSRLDAC (US9475845的SEQ ID NO:93;本文中SEQ ID NO:1495)、CLPVASC (US9475845的SEQ ID NO:94;本文中SEQ ID NO:1496)、CGFECVRQCPERC (US9475845的SEQ ID NO:95;本文中SEQ ID NO:1497)、CVALCREACGEGC (US9475845的SEQ ID NO:96;本文中SEQ ID NO:1498)、SWCEPGWCR (US9475845的SEQ ID NO:97;本文中SEQ ID NO:1499)、YSGKWGW (US9475845的SEQ ID NO:98;本文中SEQ ID NO:1500)、GLSGGRS (US9475845的SEQ ID NO:99;本文中SEQ ID NO:1501)、LMLPRAD (US9475845的SEQ ID NO:100;本文中SEQ ID NO:1502)、CSCFRDVCC (US9475845的SEQ ID NO:101;本文中SEQ ID NO:1503)、CRDVVSVIC (US9475845的SEQ ID NO:102;本文中SEQ ID NO:1504)、MARSGL (US9475845的SEQ ID NO:103;本文中SEQ ID NO:1505)、MARAKE (US9475845的SEQ ID NO:104;本文中SEQ ID NO:1506)、MSRTMS (US9475845的SEQ ID NO:105;本文中SEQ ID NO:1507)、KCCYSL (US9475845的SEQ ID NO:106;本文中SEQ ID NO:1508)、MYWGDSHWLQYWYE (US9475845的SEQ ID NO:107;本文中SEQ ID NO:1509)、MQLPLAT (US9475845的SEQ ID NO:108;本文中SEQ ID NO:1510)、EWLS (US9475845的SEQ ID NO:109;本文中SEQ ID NO:1511)、SNEW (US9475845的SEQ ID NO:110;本文中SEQ ID NO:1512)、TNYL (US9475845的SEQ ID NO:111;本文中SEQ ID NO:1513)、WDLAWMFRLPVG (US9475845的SEQ ID NO:113;本文中SEQ ID NO:1514)、CTVALPGGYVRVC (US9475845的SEQ ID NO:114;本文中SEQ ID NO:1515)、CVAYCIEHHCWTC (US9475845的SEQ ID NO:116;本文中SEQ ID NO:1516)、CVFAHNYDYLVC (US9475845的SEQ ID NO:117;本文中SEQ ID NO:1517)、CVFTSNYAFC (US9475845的SEQ ID NO:118;本文中SEQ ID NO:1518)、VHSPNKK (US9475845的SEQ ID NO:119;本文中SEQ ID NO:1519)、CRGDGWC (US9475845的SEQ ID NO:120;本文中SEQ ID NO:1520)、XRGCDX (US9475845的SEQ ID NO:121;本文中SEQ ID NO:1521)、PXXX (US9475845的SEQ ID NO:122;本文中SEQ ID NO:1522)、SGKGPRQITAL (US9475845的SEQ ID NO:124;本文中SEQ ID NO:1523)、AAAAAAAAAXXXXX (US9475845的SEQ ID NO:125;本文中SEQ ID NO:1524)、VYMSPF (US9475845的SEQ ID NO:126;本文中SEQ ID NO:1525)、ATWLPPR (US9475845的SEQ ID NO:127;本文中SEQ ID NO:1526)、HTMYHHYQHHL (US9475845的SEQ ID NO:128;本文中SEQ ID NO:1527)、SEVGCRAGPLQWLCEKYFG (US9475845的SEQ ID NO:129;本文中SEQ ID NO:1528)、CGLLPVGRPDRNVWRWLC (US9475845的SEQ ID NO:130;本文中SEQ ID NO:1529)、CKGQCDRFKGLPWEC (US9475845的SEQ ID NO:131;本文中SEQ ID NO:1530)、SGRSA (US9475845的SEQ ID NO:132;本文中SEQ ID NO:1531)、WGFP (US9475845的SEQ ID NO:133;本文中SEQ ID NO:1532)、AEPMPHSLNFSQYLWYT (US9475845的SEQ ID NO:134;本文中SEQ ID NO:1533)、WAYXSP (US9475845的SEQ ID NO:135;本文中SEQ ID NO:1534)、IELLQAR (US9475845的SEQ ID NO:136;本文中SEQ ID NO:1535)、AYTKCSRQWRTCMTH (US9475845的SEQ ID NO:137;本文中SEQ ID NO:1536)、PQNSKIPGPTFLDPH (US9475845的SEQ ID NO:138;本文中SEQ ID NO:1537)、SMEPALPDWWKMKF (US9475845的SEQ ID NO:139;本文中SEQ ID

NO:1538)、ANTPCGPYTHDCPVKR (US9475845的SEQ ID NO:140;本文中SEQ ID NO:1539)、TACHQHVRMVRP (US9475845的SEQ ID NO:141;本文中SEQ ID NO:1540)、VPWMEPAYQRFL (US9475845的SEQ ID NO:142;本文中SEQ ID NO:1541)、DPRATPGS (US9475845的SEQ ID NO:143;本文中SEQ ID NO:1542)、FRPNRAQDYNTN (US9475845的SEQ ID NO:144;本文中SEQ ID NO:1543)、CTKNSYLMC (US9475845的SEQ ID NO:145;本文中SEQ ID NO:1544)、CXXTXXXGXGC (US9475845的SEQ ID NO:146;本文中SEQ ID NO:1545)、CPIEDRPMC (US9475845的SEQ ID NO:147;本文中SEQ ID NO:1546)、HEWSYLAPYPWF (US9475845的SEQ ID NO:148;本文中SEQ ID NO:1547)、MCPKHPLGC (US9475845的SEQ ID NO:149;本文中SEQ ID NO:1548)、RMWPSSTVNLSAGR (US9475845的SEQ ID NO:150;本文中SEQ ID NO:1549)、SAKTAVSQRVWLPSHRGGEP (US9475845的SEQ ID NO:151;本文中SEQ ID NO:1550)、KSREHVNSACPSKRITAAL (US9475845的SEQ ID NO:152;本文中SEQ ID NO:1551)、EGFR (US9475845的SEQ ID NO:153;本文中SEQ ID NO:1552)、AGLGVR (US9475845的SEQ ID NO:154;本文中SEQ ID NO:1553)、GTRQGHTMRLGVSDG (US9475845的SEQ ID NO:155;本文中SEQ ID NO:1554)、IAGLATPGWSHWLAL (US9475845的SEQ ID NO:156;本文中SEQ ID NO:1555)、SMSIARL (US9475845的SEQ ID NO:157;本文中SEQ ID NO:1556)、HTFEPGV (US9475845的SEQ ID NO:158;本文中SEQ ID NO:1557)、NTSLKRISNKRIRRK (US9475845的SEQ ID NO:159;本文中SEQ ID NO:1558)、LRIKRKRKRKKTRK (US9475845的SEQ ID NO:160;本文中SEQ ID NO:1559)、GGG、GFS、LWS、EGG、LLV、LSP、LBS、AGG、GRR、GGH和GTV。

[0115] 在一个实施方案中,AAV血清型可以是或可以具有如美国公开号US20160369298 (其内容通过引用完整并入本文)中所述的序列,例如但不限于AAV2的位点特异性突变的壳体蛋白 (US 20160369298的SEQ ID NO:97;本文为SEQ ID NO:1560)或其变体,其中特异性位点是选自VP1或其片段的位点R447、G453、S578、N587、N587+1、S662中的至少一个位点。

[0116] 此外,US 20160369298中所述的任何突变序列可以是或者可以具有但不限于以下序列:SDSGASN (US20160369298的SEQ ID NO:1和SEQ ID NO:231;本文中SEQ ID NO:1561)、SPSGASN (US20160369298的SEQ ID NO:2;本文中SEQ ID NO:1562)、SHSGASN (US20160369298的SEQ ID NO:3;本文中SEQ ID NO:1563)、SRSGASN (US20160369298的SEQ ID NO:4;本文中SEQ ID NO:1564)、SKSGASN (US20160369298的SEQ ID NO:5;本文中SEQ ID NO:1565)、SNSGASN (US20160369298的SEQ ID NO:6;本文中SEQ ID NO:1566)、SGSGASN (US20160369298的SEQ ID NO:7;本文中SEQ ID NO:1567)、SASGASN (US20160369298的SEQ ID NO:8、175、和221;本文中SEQ ID NO:1568)、SESGTSN (US20160369298的SEQ ID NO:9;本文中SEQ ID NO:1569)、STTGGSN (US20160369298的SEQ ID NO:10;本文中SEQ ID NO:1570)、SSAGSTN (US20160369298的SEQ ID NO:11;本文中SEQ ID NO:1571)、NNDSQA (US20160369298的SEQ ID NO:12;本文中SEQ ID NO:1572)、NNRNQA (US20160369298的SEQ ID NO:13;本文中SEQ ID NO:1573)、NNNKQA (US20160369298的SEQ ID NO:14;本文中SEQ ID NO:1574)、NAKRQA (US20160369298的SEQ ID NO:15;本文中SEQ ID NO:1575)、NDEHQA (US20160369298的SEQ ID NO:16;本文中SEQ ID NO:1576)、NTSQKA (US20160369298的SEQ ID NO:17;本文中SEQ ID NO:1577)、YYLSRTNTPSGTDTQSRLVFSQAGA (US20160369298的SEQ ID NO:18;本文中SEQ ID NO:1578)、YYLSRTNTDSGTETQSGLDFSQAGA (US20160369298的SEQ ID NO:19;本文中SEQ ID NO:1579)、YYLSRTNTESGTPTQSALEFSQAGA (US20160369298的SEQ

ID NO:20;本文中SEQ ID NO:1580)、YYLSRTNTHSGTHTQSPLHFSQAGA (US20160369298的SEQ ID NO:21;本文中SEQ ID NO:1581)、YYLSRTNTSSGTITISHLIFSQAGA (US20160369298的SEQ ID NO:22;本文中SEQ ID NO:1582)、YYLSRTNTRSGIMTKSSLMFSQAGA (US20160369298的SEQ ID NO:23;本文中SEQ ID NO:1583)、YYLSRTNTKSGRKTLSNLSFSQAGA (US20160369298的SEQ ID NO:24;本文中SEQ ID NO:1584)、YYLSRTNDGSGPVTPSKLRFSQRGA (US20160369298的SEQ ID NO:25;本文中SEQ ID NO:1585)、YYLSRTNAAASGHATHSDLKFSQPGA (US20160369298的SEQ ID NO:26;本文中SEQ ID NO:1586)、YYLSRTNGQAGSLTMSELGFSQVGA (US20160369298的SEQ ID NO:27;本文中SEQ ID NO:1587)、YYLSRTNSTGGNQTTSQLLFSQLSA (US20160369298的SEQ ID NO:28;本文中SEQ ID NO:1588)、YFLSRTNNNTGLNTNSTLNFSQGRA (US20160369298的SEQ ID NO:29;本文中SEQ ID NO:1589)、SKTGADNNNSEYSWTG (US20160369298的SEQ ID NO:30;本文中SEQ ID NO:1590)、SKTDADNNNSEYSWTG (US20160369298的SEQ ID NO:31;本文中SEQ ID NO:1591)、SKTEADNNNSEYSWTG (US20160369298的SEQ ID NO:32;本文中SEQ ID NO:1592)、SKTPADNNNSEYSWTG (US20160369298的SEQ ID NO:33;本文中SEQ ID NO:1593)、SKTHADNNNSEYSWTG (US20160369298的SEQ ID NO:34;本文中SEQ ID NO:1594)、SKTQADNNNSEYSWTG (US20160369298的SEQ ID NO:35;本文中SEQ ID NO:1595)、SKTIADNNNSEYSWTG (US20160369298的SEQ ID NO:36;本文中SEQ ID NO:1596)、SKTMADNNNSEYSWTG (US20160369298的SEQ ID NO:37;本文中SEQ ID NO:1597)、SKTRADNNNSEYSWTG (US20160369298的SEQ ID NO:38;本文中SEQ ID NO:1598)、SKTNADNNNSEYSWTG (US20160369298的SEQ ID NO:39;本文中SEQ ID NO:1599)、SKTVGRNNNSEYSWTG (US20160369298的SEQ ID NO:40;本文中SEQ ID NO:1600)、SKTADRNNNSEYSWTG (US20160369298的SEQ ID NO:41;本文中SEQ ID NO:1601)、SKKLSQNNNSKYSWQG (US20160369298的SEQ ID NO:42;本文中SEQ ID NO:1602)、SKPTTGNNNSDYSWPG (US20160369298的SEQ ID NO:43;本文中SEQ ID NO:1603)、STQKNENNNSNYSWPG (US20160369298的SEQ ID NO:44;本文中SEQ ID NO:1604)、HKDDEGKF (US20160369298的SEQ ID NO:45;本文中SEQ ID NO:1605)、HKDDNRKF (US20160369298的SEQ ID NO:46;本文中SEQ ID NO:1606)、HKDDTNKF (US20160369298的SEQ ID NO:47;本文中SEQ ID NO:1607)、HEDSDKNF (US20160369298的SEQ ID NO:48;本文中SEQ ID NO:1608)、HRDGADSF (US20160369298的SEQ ID NO:49;本文中SEQ ID NO:1609)、HGDNKS RF (US20160369298的SEQ ID NO:50;本文中SEQ ID NO:1610)、KQGSEKTNVDFEEV (US20160369298的SEQ ID NO:51;本文中SEQ ID NO:1611)、KQGSEKTNVDSEEV (US20160369298的SEQ ID NO:52;本文中SEQ ID NO:1612)、KQGSEKTNVDVEEV (US20160369298的SEQ ID NO:53;本文中SEQ ID NO:1613)、KQGS DKTNVDDAGV (US20160369298的SEQ ID NO:54;本文中SEQ ID NO:1614)、KQGSSKTNVDPREV (US20160369298的SEQ ID NO:55;本文中SEQ ID NO:1615)、KQGS RKTNVDHKQV (US20160369298的SEQ ID NO:56;本文中SEQ ID NO:1616)、KQGS KGGNVDTNRV (US20160369298的SEQ ID NO:57;本文中SEQ ID NO:1617)、KQGS GEANVDNGDV (US20160369298的SEQ ID NO:58;本文中SEQ ID NO:1618)、KQDAAADNIDYDHV (US20160369298的SEQ ID NO:59;本文中SEQ ID NO:1619)、KQSG TRSNAAASSV (US20160369298的SEQ ID NO:60;本文中SEQ ID NO:1620)、KENTNTNDEL TNV

(US20160369298的SEQ ID NO:61;本文中SEQ ID NO:1621)、QRGNNVAATADVNT
(US20160369298的SEQ ID NO:62;本文中SEQ ID NO:1622)、QRGNNEAATADVNT
(US20160369298的SEQ ID NO:63;本文中SEQ ID NO:1623)、QRGNNPAATADVNT
(US20160369298的SEQ ID NO:64;本文中SEQ ID NO:1624)、QRGNNHAATADVNT
(US20160369298的SEQ ID NO:65;本文中SEQ ID NO:1625)、QEENNIAATPGVNT
(US20160369298的SEQ ID NO:66;本文中SEQ ID NO:1626)、QPPNNMAATHEVNT
(US20160369298的SEQ ID NO:67;本文中SEQ ID NO:1627)、QHHNNSAATTIVNT
(US20160369298的SEQ ID NO:68;本文中SEQ ID NO:1628)、QTTNNRAAFNMVET
(US20160369298的SEQ ID NO:69;本文中SEQ ID NO:1629)、QKKNNNAASKKVAT
(US20160369298的SEQ ID NO:70;本文中SEQ ID NO:1630)、QGGNNKAADDAVKT
(US20160369298的SEQ ID NO:71;本文中SEQ ID NO:1631)、QAAKGGAADDAVKT
(US20160369298的SEQ ID NO:72;本文中SEQ ID NO:1632)、QDDRAAAANESVDT
(US20160369298的SEQ ID NO:73;本文中SEQ ID NO:1633)、QQQHDDAAYQRVHT
(US20160369298的SEQ ID NO:74;本文中SEQ ID NO:1634)、QSSSSLAAVSTVQT
(US20160369298的SEQ ID NO:75;本文中SEQ ID NO:1635)、QNNQTAAIRNVTT
(US20160369298的SEQ ID NO:76;本文中SEQ ID NO:1636)、NYNKKSDNVDF (US20160369298
的SEQ ID NO:77;本文中SEQ ID NO:1637)、NYNKKSENVDF (US20160369298的SEQ ID NO:
78;本文中SEQ ID NO:1638)、NYNKKSLNVDF (US20160369298的SEQ ID NO:79;本文中SEQ
ID NO:1639)、NYNKKSPNVDF (US20160369298的SEQ ID NO:80;本文中SEQ ID NO:1640)、
NYSKSHCVDF (US20160369298的SEQ ID NO:81;本文中SEQ ID NO:1641)、NYRKTIYVDF
(US20160369298的SEQ ID NO:82;本文中SEQ ID NO:1642)、NYKEKKDVHFT (US20160369298
的SEQ ID NO:83;本文中SEQ ID NO:1643)、NYGHRAIVQFT (US20160369298的SEQ ID NO:84;
本文中SEQ ID NO:1644)、NYANHQFVVCT (US20160369298的SEQ ID NO:85;本文中SEQ ID
NO:1645)、NYDDPTGVLLT (US20160369298的SEQ ID NO:86;本文中SEQ ID NO:1646)、
NYDDPTGVLLT (US20160369298的SEQ ID NO:87;本文中SEQ ID NO:1647)、NFEQQNSVEWT
(US20160369298的SEQ ID NO:88;本文中SEQ ID NO:1648)、SQSGASN (US20160369298的SEQ
ID NO:89和SEQ ID NO:241;本文中SEQ ID NO:1649)、NNGSQA (US20160369298的SEQ ID
NO:90;本文中SEQ ID NO:1650)、YYLSRTNTPSGTTTWSRLQFSQAGA (US20160369298的SEQ ID
NO:91;本文中SEQ ID NO:1651)、SKTSADNNSEYSWTG (US20160369298的SEQ ID NO:92;本文
中SEQ ID NO:1652)、HKDDEEKF (US20160369298的SEQ ID NO:93、209、214、219、224、234、
239、和244;本文中SEQ ID NO:1653)、KQGSEKTNDIEEV (US20160369298的SEQ ID NO:94;本
文中SEQ ID NO:1654)、QRGNNQAATADVNT (US20160369298的SEQ ID NO:95;本文中SEQ ID
NO:1655)、NYNKKSVNVDF (US20160369298的SEQ ID NO:96;本文中SEQ ID NO:1656)、SQSG
ASNYNTPSGTTTQSRQLFSTADNNSEYSWTGATKYH (US20160369298的SEQ ID NO:106;本文中SEQ
ID NO:1657)、SASGASNFNSEGGSLTQSSLGFSTDGENNNSDFSWTGATKYH (US20160369298的SEQ ID
NO:107;本文中SEQ ID NO:1658)、SQSGASNYNTPSGTTTQSRQLFSTDGENNNSDFSWTGATKYH
(US20160369298的SEQ ID NO:108;本文中SEQ ID NO:1659)、SASGASNYNTPSGTTTQSRQLFST
SADNNSEFSWPGATTYH (US20160369298的SEQ ID NO:109;本文中SEQ ID NO:1660)、SQSGAS
NFNSEGGSLTQSSLGFSTDGENNNSDFSWTGATKYH (US20160369298的SEQ ID NO:110;本文中SEQ

ID NO:1661)、SASGASNYNTPSGSLTQSSLGFSTDGENNNSDFSWTGATKYH (US20160369298的SEQ ID NO:111;本文中SEQ ID NO:1662)、SQSGASNYNTPSGTTTQSRLQFSTADNNNSDFSWTGATKYH (US20160369298的SEQ ID NO:112;本文中SEQ ID NO:1663)、SGAGASNFNSEGGSLTQSSLGFSTDGENNNSDFSWTGATKYH (US20160369298的SEQ ID NO:113;本文中SEQ ID NO:1664)、SGAGASN (US20160369298的SEQ ID NO:176;本文中SEQ ID NO:1665)、NSEGGSLTQSSLGFS (US20160369298的SEQ ID NO:177、185、193和202;本文中SEQ ID NO:1666)、TDGENNNSDFS (US20160369298的SEQ ID NO:178;本文中SEQ ID NO:1667)、SEFSWPGATT (US20160369298的SEQ ID NO:179;本文中SEQ ID NO:1668)、TSADNNNSDFS (US20160369298的SEQ ID NO:180;本文中SEQ ID NO:1669)、SQSGASNY (US20160369298的SEQ ID NO:181、187、和198;本文中SEQ ID NO:1670)、NTPSGTTTQSRLQFS (US20160369298的SEQ ID NO:182、188、191、和199;本文中SEQ ID NO:1671)、TSADNNNSEYSWTGATKYH (US20160369298的SEQ ID NO:183;本文中SEQ ID NO:1672)、SASGASNF (US20160369298的SEQ ID NO:184;本文中SEQ ID NO:1673)、TDGENNNSDFSWTGATKYH (US20160369298的SEQ ID NO:186、189、194、197、和203;本文中SEQ ID NO:1674)、SASGASNY (US20160369298的SEQ ID NO:190和SEQ ID NO:195;本文中SEQ ID NO:1675)、TSADNNSEFSWPGATTYH (US20160369298的SEQ ID NO:192;本文中SEQ ID NO:1676)、NTPSGSLTQSSLGFS (US20160369298的SEQ ID NO:196 of 20160369298;本文中SEQ ID NO:1677)、TSADNNNSDFSWTGATKYH (US20160369298的SEQ ID NO:200;本文中SEQ ID NO:1678)、SGAGASNF (US20160369298的SEQ ID NO:201;本文中SEQ ID NO:1679)、CTCCAGVVSV VSMRSRVCVNSGCAGCTDHCVVSRNSGTCVMSACACAA (US20160369298的SEQ ID NO:204;本文中SEQ ID NO:1680)、CTCCAGAGAGGCAACAGACAAGCAGCTACCGCAGATGTCAACACACAA (US20160369298的SEQ ID NO:205;本文中SEQ ID NO:1681)、SAAGASN (US20160369298的SEQ ID NO:206;本文中SEQ ID NO:1682)、YFLSRTNTESGSTTQSTLRFSQAG (US20160369298的SEQ ID NO:207;本文中SEQ ID NO:1683)、SKTSADNNNSDFS (US20160369298的SEQ ID NO:208、228、和253;本文中SEQ ID NO:1684)、KQGSEKTDVDIDKV (US20160369298的SEQ ID NO:210;本文中SEQ ID NO:1685)、STAGASN (US20160369298的SEQ ID NO:211;本文中SEQ ID NO:1686)、YFLSRTNTTSGIETQSTLRFSQAG (US20160369298的SEQ ID NO:212和SEQ ID NO:247;本文中SEQ ID NO:1687)、SKTDGENNNSDFS (US20160369298的SEQ ID NO:213和SEQ ID NO:248;本文中SEQ ID NO:1688)、KQGAAADDVEIDGV (US20160369298的SEQ ID NO:215和SEQ ID NO:250;本文中SEQ ID NO:1689)、SEAGASN (US20160369298的SEQ ID NO:216;本文中SEQ ID NO:1690)、YYLSRTNTPSGTTTQSRLQFSQAG (US20160369298的SEQ ID NO:217、232和242;本文中SEQ ID NO:1691)、SKTSADNNNSEYS (US20160369298的SEQ ID NO:218、233、238、和243;本文中SEQ ID NO:1692)、KQGSEKTNVDIEKV (US20160369298的SEQ ID NO:220、225和245;本文中SEQ ID NO:1693)、YFLSRTNDASGSDTKSTLLFSQAG (US20160369298的SEQ ID NO:222;本文中SEQ ID NO:1694)、STTPSENNNSEYS (US20160369298的SEQ ID NO:223;本文中SEQ ID NO:1695)、SAAGATN (US20160369298的SEQ ID NO:226和SEQ ID NO:251;本文中SEQ ID NO:1696)、YFLSRTNGEAGSATLSELRFQAG (US20160369298的SEQ ID NO:227;本文中SEQ ID NO:1697)、HGDDADRF (US20160369298的SEQ ID NO:229和SEQ ID NO:254;本文中SEQ ID NO:1698)、KQGAEKSDVEVDRV (US20160369298的SEQ ID NO:230和SEQ ID NO:255;本文中SEQ ID NO:1699)、KQDSGGDNIDIDQV (US20160369298的SEQ ID NO:235;本文中SEQ ID NO:1700)、

SDAGASN (US20160369298的SEQ ID NO:236;本文中SEQ ID NO:1701)、YFLSRTNTEGGHDTQSTLRFSQAG (US20160369298的SEQ ID NO:237;本文中SEQ ID NO:1702)、KEDGGGSDVAIDEV (US20160369298的SEQ ID NO:240;本文中SEQ ID NO:1703)、SNAGASN (US20160369298的SEQ ID NO:246;本文中SEQ ID NO:1704)、和YFLSRTNGEAGSATLSELRFSQPG (US20160369298的SEQ ID NO:252;本文中SEQ ID NO:1705)。

可以编码氨基酸突变位点的核苷酸序列的非限制性实例包括以下序列: AGCVVMDCAGGARSCASCAAC (US20160369298的SEQ ID NO:97;本文中SEQ ID NO:1706)、AACRACRRSMRSMAGGCA (US20160369298的SEQ ID NO:98;本文中SEQ ID NO:1707)、CACRRGGACRRCRMSRRSARSTTT (US20160369298的SEQ ID NO:99;本文中SEQ ID NO:1708)、TATTTCTTGAGCAGAACAAACRVCVVSRS CGGAMNCVHSACGMHSTCAVVSCTTV DSTT TTCTCAGSBCRGSGCG (US20160369298的SEQ ID NO:100;本文中SEQ ID NO:1709)、TCAAMAMMAVNSRVCSRSAACAAC AACAGTRASTTCTCGTGMMAGGA (US20160369298的SEQ ID NO:101;本文中SEQ ID NO:1710)、AAGSAARRCRSCRVS RVARVCRATRYCGMSNHCRVMVRSGTC (US20160369298的SEQ ID NO:102;本文中SEQ ID NO:1711)、CAGVSVSMRSRVCVNSGCAGCTDHCVVSRNSGTCVMSACA (US20160369298的SEQ ID NO:103;本文中SEQ ID NO:1712)、AACTWCRVSVASMVS VHSDDTGTG SWSTKSACT (US20160369298的SEQ ID NO:104;本文中SEQ ID NO:1713)、TTGTTGAACATCACCACGTGACGCACGTTT (US20160369298的SEQ ID NO:256;本文中SEQ ID NO:1714)、TCCCCGTGGTTCTACTACATAATGTGGCCG (US20160369298的SEQ ID NO:257;本文中SEQ ID NO:1715)、TTCCACACTCCGTTTGGATAATGTTGAAC (US20160369298的SEQ ID NO:258;本文中SEQ ID NO:1716)、AGGGACATCCCCAGCTCCATGCTGTGGTCG (US20160369298的SEQ ID NO:259;本文中SEQ ID NO:1717)、AGGGACAACCCCTCCGACTCGCCCTAATCC (US20160369298的SEQ ID NO:260;本文中SEQ ID NO:1718)、TCCTAGTAGAAGACACCCCTCTCACTGCCCCG (US20160369298的SEQ ID NO:261;本文中SEQ ID NO:1719)、AGTACCATGTACACCCACTCTCCCAGTGCC (US20160369298的SEQ ID NO:262;本文中SEQ ID NO:1720)、ATATGGACGTT CATGCTGATCACCATACCG (US20160369298的SEQ ID NO:263;本文中SEQ ID NO:1721)、AGCAGGAGCTCCTTGGCCTCAGCGTGCGAG (US20160369298的SEQ ID NO:264;本文中SEQ ID NO:1722)、ACAAGCAGCTTCACTATGACAACCACTGAC (US20160369298的SEQ ID NO:265;本文中SEQ ID NO:1723)、CAGCCTAGGAAGTGGCTTCTGACCCTGTTACCGCCAGCAGAGAGTCTCAAMAMMAV NSRVCSRSAACAACAACAGTRASTTCTCCTGGMMAGGAGCTACCAAGTACCACCTCAATGGCAGAGACTCTCTGGT GAATCCCGGACCAGCTATGGCAAGCCACRRGGACRRCRMSRRSARSTTTTTCTCAGAGCGGGGTTCTCATCTTT GGGGAAGSAARRCRSCRVS RVARVCRATRYCGMSNHCRVMVRSGTCATGATTACAGACGAAGAGGAGATCTGGAC (US20160369298的SEQ ID NO:266;本文中SEQ ID NO:1724)、TGGGACAATGGCGTCGTCTCTCA GAGTTKTKKT (US20160369298的SEQ ID NO:267;本文中SEQ ID NO:1725)、AGAGGACCKKTCCT CGATGGTTCATGGTGGAGTTA (US20160369298的SEQ ID NO:268;本文中SEQ ID NO:1726)、CCACTTAGGGCCTGGTCGATACCGTTCGGTG (US20160369298的SEQ ID NO:269;本文中SEQ ID NO:1727)、和TCTCGCCCCAAGAGTAGAAACCCTTCSTTYG (US20160369298的SEQ ID NO:270;本文中SEQ ID NO:1728)。

[0117] 在一些实施方案中, AAV血清型可以包含如国际专利公开W02016134375 (其内容通过引用完整并入本文) 中所述的眼细胞靶向肽, 例如但不限于W02016134375的SEQ ID NO:9

和SEQ ID NO:10。此外,W02016134375中所述的任何眼细胞靶向肽或氨基酸可以插入任何亲本AAV血清型中,例如但不限于AAV2(W02016134375的SEQ ID NO:8;本文中SEQ ID NO:1729)、或AAV9(W02016134375的SEQ ID NO:11;本文中SEQ ID NO:1730)。在一些实施方案中,在AAV2蛋白中在P34-A35、T138-A139、A139-P140、G453-T454、N587-R588、和/或R588-Q589处进行修饰,诸如插入。在某些实施方案中,在AAV9的D384、G385、1560、T561、N562、E563、E564、E565、N704、和/或Y705处进行插入。眼细胞靶向肽可以是但不限于任何以下氨基酸序列:GSTPPPM(W02016134375的SEQ ID NO:1;本文中SEQ ID NO:1731)、或GETRAPL(W02016134375的SEQ ID NO:4;本文中SEQ ID NO:1732)。

[0118] 在一些实施方案中,AAV血清型可以进行修饰,如美国公开US 20170145405(其内容通过引用完整并入本文)中所述。AAV血清型可以包括经修饰的AAV2(例如Y444F、Y500F、Y730F和/或S662V处的修饰)、经修饰的AAV3(例如Y705F、Y731F和/或T492V处的修饰)、和经修饰的AAV6(例如S663V和/或T492V处的修饰)。

[0119] 在一些实施方案中,AAV血清型可以进行修饰,如国际公开W02017083722(其内容通过引用完整并入本文)中所述。AAV血清型可以包括AAV1(Y705+731F+T492V)、AAV2(Y444+500+730F+T491V)、AAV3(Y705+731F)、AAV5、AAV 5(Y436+693+719F)、AAV6(VP3变体Y705F/Y731F/T492V)、AAV8(Y733F)、AAV9、AAV9(VP3变体Y731F)和AAV10(Y733F)。

[0120] 在一些实施方案中,如国际专利公开W02017015102(其内容通过引用完整并入本文)中所述,AAV血清型可以包含工程化表位,其包含氨基酸SPAKFA(W02017015102的SEQ ID NO:24;本文中SEQ ID NO:1733)或NKDKLN(W02017015102的SEQ ID NO:2;本文中SEQ ID NO:1734)。表位可以插入基于AAV8的VP1壳体编号(W02017015102的SEQ ID NO:3)的氨基酸665至670和/或AAV3B(SEQ ID NO:3)的残基664至668的区域中。

[0121] 在一个实施方案中,AAV血清型可以是或者可以具有如国际专利公开W02017058892(其内容通过引用完整并入本文)中所述的序列,例如但不限于具有壳体蛋白的AAV变体,所述壳体蛋白可以包含AAV1的氨基酸残基262-268、370-379、451-459、472-473、493-500、528-534、547-552、588-597、709-710、716-722(以任何组合)或AAV2、AAV3、AAV4、AAV5、AAV6、AAV7、AAV8、AAV9、AAV10、AAV11、AAV12、AAVrh8、AAVrh10、AAVrh32.33、牛AAV或禽类AAV中的等同氨基酸残基中的一处或多处(例如2、3、4、5、6或7)的取代。氨基酸取代可以是但不限于W02017058892中所述的任何氨基酸序列。在一个实施方案中,AAV可以包含AAV1(W02017058892的SEQ ID NO:1)的残基256L、258K、259Q、261S、263A、264S、265T、266G、272H、385S、386Q、S472R、V473D、N500E 547S、709A、710N、716D、717N、718N、720L、A456T、Q457T、N458Q、K459S、T492S、K493A、S586R、S587G、S588N、T589R和/或722T(以任何组合)处的氨基酸取代、AAV5(W02017058892的SEQ ID NO:5)的244N、246Q、248R、249E、250I、251K、252S、253G、254S、255V、256D、263Y、377E、378N、453L、456R、532Q、533P、535N、536P、537G、538T、539T、540A、541T、542Y、543L、546N、653V、654P、656S、697Q、698F、704D、705S、706T、707G、708E、709Y和/或710R(以任何组合)处的氨基酸取代、AAV5(W02017058892的SEQ ID NO:5)的248R、316V、317Q、318D、319S、443N、530N、531S、532Q 533P、534A、535N、540A、541T、542Y、543L、545G、546N、697Q、704D、706T、708E、709Y和/或710R(以任何组合)处的氨基酸取代、AAV6(SEQ ID NO:6W02017058892)的264S、266G、269N、272H、457Q、588S和/或589I(以任何组合)处的氨基酸取代、AAV8(W02017058892的SEQ ID NO:8)处的457T、459N、

496G、499N、500N、589Q、590N和/或592A(以任何组合)处的氨基酸取代、AAV9(SEQ ID NO: 9W02017058892)的451I、452N、453G、454S、455G、456Q、457N和/或458Q(以任何组合)处的氨基酸取代。

[0122] 在一些实施方案中, AAV可以包含VP1的位置155、156和157处或VP2的位置17、18、19和20处的氨基酸序列, 如国际公开号W0 2017066764(其内容通过引用完整并入本文)中所述。氨基酸序列可以是但不限于N-S-S、S-X-S、S-S-Y、N-X-S、N-S-Y、S-X-Y和N-X-Y, 其中N、X和Y是但不限于独立地非丝氨酸或非苏氨酸, 其中AAV可以是但不限于AAV1、AAV2、AAV3、AAV4、AAV5、AAV6、AAV7、AAV8、AAV9、AAV10、AAV11和AAV12。在一些实施方案中, AAV可以包含VP1的位置156、157或158处或VP2的位置19、20或21处的至少一个氨基酸的取代, 其中AAV可以是但不限于AAV1、AAV2、AAV3、AAV4、AAV5、AAV6、AAV7、AAV8、AAV9、AAV10、AAV11和AAV12。

[0123] 病毒基因组组分: 反向末端重复 (ITR)

[0124] 本发明的AAV颗粒包含具有至少一个ITR区和有效负载区的病毒基因组。在一个实施方案中, 病毒基因组具有两个ITR。这两个ITR位于5' 和3' 端的有效负载区的侧翼。ITR发挥包含复制识别位点的复制起点功能。ITR包含可以互补和对称排列的序列区。掺入本发明的病毒基因组中的ITR可以由天然存在的多核苷酸序列或重组衍生的多核苷酸序列组成。

[0125] ITR可以源自与壳体相同的血清型, 选自表1中列出的任何血清型或其衍生物。ITR可以具有与壳体不同的血清型。在一个实施方案中, AAV颗粒具有超过一个ITR。在非限制性实例中, AAV颗粒具有包含两个ITR的病毒基因组。在一个实施方案中, ITR具有彼此相同的血清型。在另一个实施方案中, ITR具有不同的血清型。非限制性实例包括具有与壳体相同血清型的ITR中的0、1或2个。在一个实施方案中, AAV颗粒的病毒基因组的两个ITR均为AAV2ITR。

[0126] 独立地, 每个ITR的长度可以是约100至约150个核苷酸。ITR的长度可以是100-105个核苷酸、长度为106-110个核苷酸、长度为111-115个核苷酸、长度为116-120个核苷酸、长度为121-125个核苷酸、长度为126-130个核苷酸, 131-135个核苷酸核苷酸、长度为136-140个核苷酸、长度为141-145个核苷酸或长度为146-150个核苷酸。在一个实施方案中, ITR的长度为140-142个核苷酸。ITR长度的非限制性实例是长度为102、140、141、142、145个核苷酸, 以及与它们具有至少95%同一性的核苷酸。

[0127] 病毒基因组成分: 启动子

[0128] 在一个实施方案中, 病毒基因组的有效负载区包含至少一种增强转基因靶物特异性和表达的元件(参见例如Powell等人Viral Expression Cassette Elements to Enhance Transgene Target Specificity and Expression in Gene Therapy, 2015;其内容通过引用完整并入本文)。增强转基因靶物特异性和表达的元件的非限制性实例包括启动子、内源性miRNA、转录后调控元件(PRE)、聚腺苷酸化(PolyA)信号序列和上游增强子(USE)、CMV增强子和内含子。

[0129] 本领域技术人员可以认识到, 靶细胞中本发明的多肽的表达可以需要特异性启动子, 包括但不限于物种特异性、诱导型、组织特异性或细胞周期特异性的启动子(Parr等人, Nat. Med. 3:1145-9 (1997);其内容通过引用完整并入本文)。

[0130] 在一个实施方案中, 当启动子驱动在AAV颗粒的病毒基因组的有效负载区中编码的多肽的表达时, 认为该启动子是有效的。作为非限制性实例, 该多肽是AADC。

[0131] 在一个实施方案中,当启动子驱动靶向的细胞中的表达时该启动子是认为有效的启动子。

[0132] 在一个实施方案中,启动子是对靶向的细胞具有向性的启动子。

[0133] 在一个实施方案中,启动子驱动有效负载在靶向的组织中表达一段时间。由启动子驱动的表达可以持续1小时、2小时、3小时、4小时、5小时、6小时、7小时、8小时、9小时、10小时、11小时、12小时、13小时、14小时、15小时、16小时、17小时、18小时、19小时、20小时、21小时、22小时、23小时、1天、2天、3天、4天、5天、6天、1周、8天、9天、10天、11天、12天、13天、2周、15天、16天、17天、18天、19天、20天、3周、22天、23天、24天、25天、26天、27天、28天、29天、30天、31天、1个月、2个月、3个月、4个月、5个月、6个月、7个月、8个月、9个月、10个月、11个月、1年、13个月、14个月、15个月、16个月、17个月、18个月、19个月、20个月、21个月、22个月、23个月、2年、3年、4年、5年、6年、7年、8年、9年、10年或超过10年。表达可以持续1-5小时、1-12小时、1-2天、1-5天、1-2周、1-3周、1-4周、1-2个月、1-4个月、1-6个月、2-6个月、3-6个月、3-9个月、4-8个月、6-12个月、1-2年、1-5年、2-5年、3-6年、3-8年、4-8年或5-10年。作为非限制性实例,启动子是用于在神经组织中持续表达有效负载的弱启动子。

[0134] 在一个实施方案中,启动子驱动本发明的多肽表达至少1个月、2个月、3个月、4个月、5个月、6个月、7个月、8个月、9个月、10个月、11个月、1年、2年、3年、4年、5年、6年、7年、8年、9年、10年、11年、12年、13年、14年、15年、16年、17年、18年、19年、20年、21年、22年、23年、24年、25年、26年、27年、28年、29年、30年、31年、32年、33年、34年、35年、36年、37年、38年、39年、40年、41年、42年、43年、44年、45年、46年、47年、48年、49年、50年、55年、60年、65年、或超过65年。

[0135] 启动子可以是天然存在的或非天然存在的。启动子的非限制性实例包括病毒启动子、植物启动子和哺乳动物启动子。在一些实施方案中,启动子可以是人启动子。在一些实施方案中,启动子可以是截短的。

[0136] 在大多数组织中驱动或促进表达的启动子包括但不限于人延伸因子1 α 亚基(EF1 α)、巨细胞病毒(CMV)立即早期增强子和/或启动子、鸡 β -肌动蛋白(CBA)及其衍生物CAG、 β 葡萄糖醛酸糖苷酶(GUSB)或泛素C(UBC)。组织特异性表达元件可用于将表达限制于某些细胞类型,例如但不限于肌肉特异性启动子、B细胞启动子、单核细胞启动子、白细胞启动子、巨噬细胞启动子、胰腺腺泡细胞启动子、内皮细胞启动子、肺组织启动子、星形胶质细胞启动子或神经系统启动子,其可用于将表达限于神经元、星形胶质细胞或少突胶质细胞。

[0137] 肌肉特异性启动子的非限制性实例包括哺乳动物肌肉肌酸激酶(MCK)启动子、哺乳动物结蛋白(DES)启动子、哺乳动物肌钙蛋白I(TNNI2)启动子和哺乳动物骨骼 α -肌动蛋白(ASKA)启动子(例如,美国专利公开US 20110212529,其内容通过引用完整并入本文)。

[0138] 神经元的组织特异性表达元件的非限制性实例包括神经元特异性烯醇化酶(NSE)、血小板衍生的生长因子(PDGF)、血小板衍生的生长因子B链(PDGF- β)、突触蛋白(Syn)、甲基CpG结合蛋白2(MeCP2)、Ca²⁺/钙调蛋白依赖性蛋白激酶II(CaMKII)、促代谢性谷氨酸受体2(mGluR2)、神经丝轻(NFL)或重(NFH)、 β -珠蛋白小基因n β 2、前脑啡肽原(PPE)、脑啡肽(Enk)和兴奋性氨基酸转运蛋白2(EAAT2)启动子。星形胶质细胞的组织特异性表达元件的非限制性实例包括神经胶质原纤维酸性蛋白(GFAP)和EAAT2启动子。少突胶质细胞的组织特异性表达元件的非限制性实例包括髓磷脂碱性蛋白(MBP)启动子。

[0139] 在一个实施方案中,启动子可以小于1kb。启动子的长度可以为200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、310、320、330、340、350、360、370、380、390、400、410、420、430、440、450、460、470、480、490、500、510、520、530、540、550、560、570、580、590、600、610、620、630、640、650、660、670、680、690、700、710、720、730、740、750、760、770、780、790、800或超过800多个核苷酸。启动子的长度可以在200-300、200-400、200-500、200-600、200-700、200-800、300-400、300-500、300-600、300-700、300-800、400-500、400-600、400-700、400-800、500-600、500-700、500-800、600-700、600-800或700-800之间。

[0140] 在一个实施方案中,启动子可以是相同或不同的起始或亲本启动子的两种或更多种组分的组合,例如但不限于CMV和CBA。每个组分的长度可以为200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、310、320、330、340、350、360、370、380、381、382、383、384、385、386、387、388、389、390、400、410、420、430、440、450、460、470、480、490、500、510、520、530、540、550、560、570、580、590、600、610、620、630、640、650、660、670、680、690、700、710、720、730、740、750、760、770、780、790、800或超过800。每个组分的长度可以在200-300、200-400、200-500、200-600、200-700、200-800、300-400、300-500、300-600、300-700、300-800、400-500、400-600、400-700、400-800、500-600、500-700、500-800、600-700、600-800或700-800之间。在一个实施方案中,启动子是382个核苷酸的CMV-增强子序列和260个核苷酸的CBA-启动子序列的组合。

[0141] 在一个实施方案中,病毒基因组包含遍在启动子。遍在启动子的非限制性实例包括CMV、CBA(包括衍生物CAG,CBh等)、EF-1 α 、PGK、UBC、GUSB(hGBp)和UCOE(HNRPA2B1-CBX3的启动子)。

[0142] Yu等人(Molecular Pain 2011,7:63;其内容通过引用完整并入本文)使用慢病毒载体评估大鼠DRG细胞和原代DRG细胞中在CAG、EF1 α 、PGK和UBC启动子下eGFP的表达并发现UBC的表达显示比其他3个启动子弱的表达,并且对于所有启动子看到仅10-12%胶质细胞表达。Soderblom等人(E.Neuro2015;其内容通过引用完整并入本文)评估了在运动皮层中注射后在具有CMV和UBC启动子的AAV8中和在具有CMV启动子的AAV2中的eGFP表达。鼻内施用含有UBC或EF1 α 启动子的质粒显示大于CMV启动子的表达的持续气道表达(参见例如Gill等人,Gene Therapy 2001,Vol.8,1539-1546;其内容通过引用完整并入本文)。Husain等人(Gene Therapy 2009;其内容通过引用完整并入本文)评估了具有hGUSB启动子、HSV-1LAT启动子和NSE启动子的H β H构建体,并且发现H β H构建体在小鼠脑中显示出比NSE弱的表达。Passini和Wolfe(J.Virol.2001,12382-12392,其内容通过引用完整并入本文)评估了新生小鼠中脑室内注射后的H β H载体的长期作用,并发现表达持续至少1年。Xu等人(Gene Therapy 2001,8,1323-1332;其内容通过引用完整并入本文)发现当与CMV-lacZ、CMV-luc、EF、GFAP、hENK、nAChR、PPE、PPE+wpre、NSE(0.3kb)、NSE(1.8kb)和NSE(1.8kb+wpre)相比使用NFL and NFH启动子时在所有脑区域中的低表达。Xu等人发现启动子活性的降序是NSE(1.8kb)、EF、NSE(0.3kb)、GFAP、CMV、hENK、PPE、NFL和NFH。NFL是650个核苷酸的启动子,并且NFH是920个核苷酸的启动子,两者在肝脏中都不存在,但NFH在感觉本体感受神经元、脑和脊髓中是丰富的,并且NFH存在于心脏中。SCN8A是470个核苷酸的启动子,其在整个DRG、脊髓和脑中表达,在海马神经元和小脑浦肯野细胞、皮质、丘脑和下丘脑中看到特别高的表达(参见例如Drews et al. Identification of evolutionary conserved, functional

noncoding elements in the promoter region of the sodium channel gene SCN8A, Mamm Genome (2007) 18:723-731; and Raymond et al. Expression of Alternatively Spliced Sodium Channel α -subunit genes, Journal of Biological Chemistry (2004) 279 (44) 46234-46241; 每篇的内容通过引用完整并入本文)。

[0143] 由前述的 Yu、Soderblom、Gill、Husain、Passini、Xu、Drews 或 Raymond 教导的任何启动子都可以用于本发明。

[0144] 在一个实施方案中,启动子不是细胞特异性的。

[0145] 在一个实施方案中,启动子是泛素c (UBC) 启动子。UBC启动子可以具有300-350个核苷酸的大小。作为非限制性实例,UBC启动子是332个核苷酸。

[0146] 在一个实施方案中,启动子是 β -葡糖醛酸糖苷酶 (GUSB) 启动子。GUSB启动子可以具有350-400个核苷酸的大小。作为非限制性实例,GUSB启动子是378个核苷酸。

[0147] 在一个实施方案中,启动子是神经丝轻 (NFL) 启动子。NFL启动子可以具有600-700个核苷酸的大小。作为非限制性实例,NFL启动子是650个核苷酸。

[0148] 在一个实施方案中,启动子是神经丝重 (NFH) 启动子。NFH启动子可以具有900-950个核苷酸的大小。作为非限制性实例,NFH启动子是920个核苷酸。

[0149] 在一个实施方案中,启动子是SCN8A启动子。SCN8A启动子可以具有450-500个核苷酸的大小。作为非限制性实例,SCN8A启动子是470个核苷酸。

[0150] 在一个实施方案中,启动子是共济蛋白 (FXN) 启动子。FXN启动子也可以称为FRDA启动子。

[0151] 在一个实施方案中,启动子是磷酸甘油酸激酶1 (PGK) 启动子。

[0152] 在一个实施方案中,启动子是鸡 β -肌动蛋白 (CBA) 启动子。

[0153] 在一个实施方案中,启动子是巨细胞病毒 (CMV) 启动子。

[0154] 在一个实施方案中,启动子是H1启动子。

[0155] 在一个实施方案中,启动子是工程化启动子。

[0156] 在一个实施方案中,启动子是肝脏或骨骼肌启动子。肝启动子的非限制性实例包括 α -1-抗胰蛋白酶 (hAAT) 和甲状腺素结合球蛋白 (TBG)。骨骼肌启动子的非限制性实例包括结蛋白、MCK或合成的C5-12。

[0157] 在一个实施方案中,启动子是RNA pol III启动子。作为非限制性实例,RNA pol III启动子是U6。作为非限制性实例,RNA pol III启动子是H1。

[0158] 在一个实施方案中,病毒基因组包含两个启动子。作为非限制性实例,启动子是EF1 α 启动子和CMV启动子。

[0159] 在一个实施方案中,病毒基因组包含增强子元件、启动子和/或5' UTR内含子。增强子元件(在本文中也称为“增强子”)可以是但不限于CMV增强子,启动子可以是但不限于CMV、CBA、UBC、GUSB、NSE、Synapsin、MeCP2和GFAP启动子,并且5' UTR/内含子可以是但不限于SV40和CBA-MVM。作为非限制性实例,组合使用的增强子、启动子和/或内含子可以是:(1) CMV增强子、CMV启动子、SV40 5' UTR内含子;(2) CMV增强子、CBA启动子、SV 40 5' UTR内含子;(3) CMV增强子、CBA启动子、CBA-MVM 5' UTR内含子;(4) UBC启动子;(5) GUSB启动子;(6) NSE启动子;(7) 突触蛋白启动子;(8) MeCP2启动子和(9) GFAP启动子。

[0160] 在一个实施方案中,病毒基因组包含工程化启动子。

[0161] 在另一个实施方案中,病毒基因组包含来自天然表达的蛋白质的启动子。

[0162] 在一个实施方案中,区域位于有效负载的第一外显子上游大致约5kb,以允许用启动子表达有效负载。(参见例如Puspasari et al.Long Range Regulation of Human FXN Gene Expression,PLOS ONE,2011;其内容通过引用完整并入本文;17bp区域位于共济蛋白基因的第一外显子上游的大致约4.9kb以允许用FRDA启动子表达)。

[0163] 在一个实施方案中,载体基因组可包含启动子,例如但不限于CMV或U6。作为非限制性实例,用于包含本发明的有效负载的AAV颗粒的启动子是CMV启动子。作为另一个非限制性实例,用于包含本发明的有效负载的AAV颗粒的启动子是U6启动子。

[0164] 在一个实施方案中,载体基因组可包含CMV和U6启动子。

[0165] 在一个实施方案中,载体基因组可包含CBA启动子。

[0166] 病毒基因组组分:非翻译区(UTR)

[0167] 根据定义,基因的野生型非翻译区(UTR)被转录但不翻译。通常,5' UTR在转录起始位点开始并在起始密码子处终止,而3' UTR在终止密码子后立即开始并一直持续到转录终止信号为止。

[0168] 通常在特定靶器官的大量表达的基因中发现的特征可以被工程化改造为UTR以增强稳定性和蛋白质产生。作为非限制性实例,来自肝脏中正常表达的mRNA(例如白蛋白、血清淀粉样蛋白A、载脂蛋白A/B/E、转铁蛋白、甲胎蛋白、促红细胞生成素或因子VIII)的5' UTR可用于本发明的AAV颗粒的病毒基因组以增强在肝细胞系或肝脏中的表达。

[0169] 尽管不希望受到理论的束缚,野生型5' 非翻译区(UTR)包括在翻译起始中起作用的特征。通常已知参与核糖体启动许多基因翻译的过程的Kozak序列通常包含在5' UTR中。Kozak序列具有共有CCR(A/G)CCAUGG,其中R是起始密码子(ATG)上游三个碱基的嘌呤(腺嘌呤或鸟嘌呤),其后是另一个“G”。

[0170] 在一个实施方案中,病毒基因组中的5' UTR包括Kozak序列。

[0171] 在一个实施方案中,病毒基因组中的5' UTR不包含Kozak序列。

[0172] 尽管不希望受到理论的束缚,但是已知野生型3' UTR具有在其中嵌入的腺苷和尿苷区段。这些富含AU的标签在具有高周转率的基因中特别普遍。基于其序列特征和功能特性,可将富含AU的元件(ARE)分为三类(Chen等人,1995,其内容通过引用完整并入本文):I类ARE,例如但不限于c-Myc和MyoD,在富含U的区域内包含数个AUUUA基序的分散拷贝。II类ARE,例如但不限于GM-CSF和TNF- α ,拥有两个或多个重叠的UUAUUUA(U/A)(U/A)九聚体。III类ARE的定义不太明确,例如但不限于c-Jun和肌形成蛋白。这些富含U的区域不含AUUUA基序。已知大多数与ARE结合的蛋白质都会使信使脱稳定化,而ELAV家族的成员(最特别是HuR)已被证明增加mRNA的稳定性。HuR结合到所有三个类别的ARE。将HuR特异性结合位点工程化改造到核酸分子的3' UTR中将导致HuR结合,从而使体内信息稳定化。

[0173] 引入、除去或修饰3' UTR的富含AU的元件(ARE)可用于调节多核苷酸的稳定性。当工程化改造特定的多核苷酸,例如病毒基因组的有效负载区时,可以引入一个或多个拷贝的ARE,以使多核苷酸的稳定性降低,从而消除翻译并降低所得蛋白质的产量。类似地,可以鉴定并除去或突变ARE,以增加细胞内稳定性,从而增加所得蛋白质的翻译和产量。

[0174] 在一个实施方案中,病毒基因组的3' UTR可以包括寡聚(dT)序列,用于模板化添加多聚-A尾。

[0175] 在一个实施方案中,病毒基因组可以包括至少一个miRNA种子、结合位点或全序列。微小RNA(或miRNA或miR)是19-25个核苷酸的非编码RNA,其结合核酸靶物的位点并通过降低核酸分子的稳定性或通过抑制翻译来下调基因表达。微小RNA序列包含“种子”区域,即成熟微小RNA的2-8位区域中的序列,该序列与核酸的miRNA靶序列具有完美的Watson-Crick互补性。

[0176] 在一个实施方案中,可以对病毒基因组进行工程化改造以包括、改变或去除至少一个miRNA结合位点、序列或种子区。

[0177] 可以将来自本领域已知的任何基因的任何UTR掺入AAV颗粒的病毒基因组中。这些UTR或其部分可以以与选择它们的基因中相同的方向放置,或者可以改变方向或位置。在一个实施方案中,可以将AAV颗粒的病毒基因组中使用的UTR倒置、缩短、延长,用本领域已知的一种或多种其他5' UTR或3' UTR制备。如本文所用,术语“改变的”在它涉及UTR时表示相对于参考序列已经以某种方式改变UTR。例如,3' 或5' UTR可以通过如上所教导的方向或位置的改变相对于野生型或天然UTR改变,或者可以通过包含额外的核苷酸、核苷酸的缺失、交换或转座来改变。

[0178] 在一个实施方案中,AAV颗粒的病毒基因组包含至少一种人工UTR,其不是野生型UTR的变体。

[0179] 在一个实施方案中,AAV颗粒的病毒基因组包含UTR,其已经从转录物家族选择,所述转录物的蛋白质共享共同的功能、结构、特征或特性。

[0180] 病毒基因组组分:聚腺苷酸化序列

[0181] 在一个实施方案中,本发明的AAV颗粒的病毒基因组包含至少一个聚腺苷酸化序列。AAV颗粒的病毒基因组可以在有效负载编码序列的3' 端与3' ITR的5' 端之间包含聚腺苷酸化序列。

[0182] 在一个实施方案中,聚腺苷酸化序列或“多聚A序列”的长度范围可以从不存在到约500个核苷酸。聚腺苷酸化序列的长度可以是但不限于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、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、141、142、143、144、145、146、147、148、149、150、151、152、153、154、155、156、157、158、159、160、161、162、163、164、165、166、167、168、169、170、171、172、173、174、175、176、177、178、179、180、181、182、183、184、185、186、187、188、189、190、191、192、193、194、195、196、197、198、199、200、201、202、203、204、205、206、207、208、209、210、211、212、213、214、215、216、217、218、219、220、221、222、223、224、225、226、227、228、229、230、231、232、233、234、235、236、237、238、239、240、241、242、243、244、245、246、247、248、249、250、251、252、253、254、255、256、257、258、259、260、261、262、263、264、265、266、267、268、269、270、271、272、273、274、275、276、277、278、279、280、281、282、283、284、285、286、287、288、289、290、291、292、293、294、295、296、297、298、299、300、301、302、303、304、305、306、307、308、309、310、311、312、313、314、315、316、317、318、

319、320、321、322、323、324、325、326、327、328、329、330、331、332、333、334、335、336、337、338、339、340、341、342、343、344、345、346、347、348、349、350、351、352、353、354、355、356、357、358、359、360、361、362、363、364、365、366、367、368、369、370、371、372、373、374、375、376、377、378、379、380、381、382、383、384、385、386、387、388、389、390、391、392、393、394、395、396、397、398、399、400、401、402、403、404、405、406、407、408、409、410、411、412、413、414、415、416、417、418、419、420、421、422、423、424、425、426、427、428、429、430、431、432、433、434、435、436、437、438、439、440、441、442、443、444、445、446、447、448、449、450、451、452、453、454、455、456、457、458、459、460、461、462、463、464、465、466、467、468、469、470、471、472、473、474、475、476、477、478、479、480、481、482、483、484、485、486、487、488、489、490、491、492、493、494、495、496、497、498、499、和500个核苷酸。

[0183] 在一个实施方案中,聚腺苷酸化序列的长度是50-100个核苷酸。

[0184] 在一个实施方案中,聚腺苷酸化序列的长度为50-150个核苷酸。

[0185] 在一个实施方案中,聚腺苷酸化序列的长度为50-160个核苷酸。

[0186] 在一个实施方案中,聚腺苷酸化序列的长度为50-200个核苷酸。

[0187] 在一个实施方案中,聚腺苷酸化序列的长度为60-100个核苷酸。

[0188] 在一个实施方案中,聚腺苷酸化序列的长度为60-150个核苷酸。

[0189] 在一个实施方案中,聚腺苷酸化序列的长度为60-160个核苷酸。

[0190] 在一个实施方案中,聚腺苷酸化序列的长度为60-200个核苷酸。

[0191] 在一个实施方案中,聚腺苷酸化序列的长度是70-100个核苷酸。

[0192] 在一个实施方案中,聚腺苷酸化序列的长度为70-150个核苷酸。

[0193] 在一个实施方案中,聚腺苷酸化序列的长度为70-160个核苷酸。

[0194] 在一个实施方案中,聚腺苷酸化序列的长度为70-200个核苷酸。

[0195] 在一个实施方案中,聚腺苷酸化序列的长度是80-100个核苷酸。

[0196] 在一个实施方案中,聚腺苷酸化序列的长度为80-150个核苷酸。

[0197] 在一个实施方案中,聚腺苷酸化序列的长度为80-160个核苷酸。

[0198] 在一个实施方案中,聚腺苷酸化序列的长度为80-200个核苷酸。

[0199] 在一个实施方案中,聚腺苷酸化序列的长度是90-100个核苷酸。

[0200] 在一个实施方案中,聚腺苷酸化序列的长度为90-150个核苷酸。

[0201] 在一个实施方案中,聚腺苷酸化序列的长度为90-160个核苷酸。

[0202] 在一个实施方案中,聚腺苷酸化序列的长度为90-200个核苷酸。

[0203] 病毒基因组组分:内含子

[0204] 在一个实施方案中,有效负载区包括至少一种增强表达的元件,例如一个或多个内含子或其部分。内含子的非限制性实例包括MVM (67-97bp)、F. IX截短的内含子1 (300bp)、 β -球蛋白SD/免疫球蛋白重链剪接受体 (250bp)、腺病毒剪接供体/免疫球蛋白剪接受体 (500bp)、SV40晚期剪接供体/剪接受体 (19S/16S) (180bp) 和杂合腺病毒剪接供体/IgG剪接受体 (230bp)。

[0205] 在一个实施方案中,内含子或内含子部分的长度可以是100-500个核苷酸。内含子的长度可以为80、90、100、110、120、130、140、150、160、170、171、172、173、174、175、176、177、178、179、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、310、320、330、

340、350、360、370、380、390、400、410、420、430、440、450、460、470、480、490或500。内含子的长度可以在80-100、80-120、80-140、80-160、80-180、80-200、80-250、80-300、80-350、80-400、80-450、80-500、200-300、200-400、200-500、300-400、300-500或400-500。

[0206] 在一个实施方案中,载体基因组包含至少一种增强转基因靶物特异性和表达的元件(参见例如Powell et al. *Viral Expression Cassette Elements to Enhance Transgene Target Specificity and Expression in Gene Therapy*, 2015;其通过引用完整并入本文),例如内含子。内含子的非限制性实例包括MVM(67-97bp)、F. IX截短的内含子1(300bp)、 β -球蛋白SD/免疫球蛋白重链剪接受体(250bp)、腺病毒剪接供体/免疫球蛋白剪接受体(500bp)、SV40晚期剪接供体/剪接受体(19S/16S)(180bp)和杂交腺病毒剪接供体/IgG剪接受体(230bp)。

[0207] 在一个实施方案中,内含子的长度可以是100-500个核苷酸。内含子的长度可以为80、90、100、110、120、130、140、150、160、170、171、172、173、174、175、176、177、178、179、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、310、320、330、340、350、360、370、380、390、400、410、420、430、440、450、460、470、480、490或500。内含子的长度可以在80-100、80-120、80-140、80-160、80-180、80-200、80-250、80-300、80-350、80-400、80-450、80-500、200-300、200-400、200-500、300-400、300-500、或400-500之间。

[0208] 病毒基因组成分:填充序列

[0209] 在一个实施方案中,病毒基因组包含一个或多个填充序列。

[0210] 在一个实施方案中,病毒基因组包含一个或多个填充序列以使病毒基因组的长度为包装的最佳大小。作为非限制性实例,病毒基因组包含至少一个填充序列以使病毒基因组的长度为约2.3kb。作为非限制性实例,病毒基因组包含至少一个填充序列以使病毒基因组的长度为约4.6kb。

[0211] 在一个实施方案中,病毒基因组是单链(ss)病毒基因组,并包含一个或多个填充序列,其具有约0.1kb-3.8kb之间,例如但不限于0.1kb、0.2kb、0.3kb、0.4kb、0.5kb、0.6kb、0.7kb、0.8kb、0.9kb、1kb、1.1kb、1.2kb、1.3kb、1.4kb、1.5kb、1.6kb、1.7kb、1.8kb、1.9kb、2kb、2.1kb、2.2kb、2.3kb、2.4kb、2.5kb、2.6kb、2.7kb、2.8kb、2.9kb、3kb、3.1kb、3.2kb、3.3kb、3.4kb、3.5kb、3.6kb、3.7kb、或3.8kb的长度。作为非限制性实例,载体基因组中的全长填充序列为3.1kb。作为非限制性实例,载体基因组中的全长填充序列为2.7kb。作为非限制性实例,载体基因组中的全长填充序列为0.8kb。作为非限制性实例,载体基因组中的全长填充序列为0.4kb。作为非限制性实例,载体基因组中每个填充序列的长度为0.8kb。作为非限制性实例,载体基因组中每个填充序列的长度为0.4kb。

[0212] 在一个实施方案中,病毒基因组是一种自身互补(sc)病毒基因组,并包含一个或多个填充序列,其具有0.1kb-1.5kb之间,例如但不限于0.1kb、0.2kb、0.3kb、0.4kb、0.5kb、0.6kb、0.7kb、0.8kb、0.9kb、1kb、1.1kb、1.2kb、1.3kb、1.4kb或1.5kb的长度。作为非限制性实例,载体基因组中的全长填充序列为0.8kb。作为非限制性实例,载体基因组中的全长填充序列为0.4kb。作为非限制性实例,载体基因组中每个填充序列的长度为0.8kb。作为非限制性实例,载体基因组中每个填充序列的长度为0.4kb。

[0213] 在一个实施方案中,病毒基因组包含填充序列的任何部分。病毒基因组可包含填充序列的1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、

40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、或99%。

[0214] 在一个实施方案中,病毒基因组是单链(ss)病毒基因组,并包含一个或多个填充序列以使病毒基因组的长度约为4.6kb。作为非限制性实例,病毒基因组包含至少一个填充序列,并且填充序列位于5' ITR序列的3'。作为非限制性实例,病毒基因组包含至少一个填充序列,并且该填充序列位于启动子序列的5'。作为非限制性实例,病毒基因组包含至少一个填充序列,并且该填充序列位于聚腺苷酸化信号序列的3'。作为非限制性实例,病毒基因组包含至少一个填充序列,并且该填充序列位于3' ITR序列的5'。作为非限制性实例,病毒基因组包含至少一个填充序列,并且该填充序列位于两个内含子序列之间。作为非限制性实例,病毒基因组包含至少一个填充序列,并且该填充序列位于内含子序列内。作为非限制性实例,病毒基因组包含两个填充序列,并且第一填充序列位于5' ITR序列的3',并且第二填充序列位于聚腺苷酸化信号序列的3'。作为非限制性实例,病毒基因组包含两个填充序列,并且第一填充序列位于启动子序列的5',而第二填充序列位于聚腺苷酸化信号序列的3'。作为非限制性实例,病毒基因组包含两个填充序列,并且第一填充序列位于5' ITR序列的3',并且第二填充序列位于5' ITR序列的5'。

[0215] 在一个实施方案中,病毒基因组是自身互补(sc)病毒基因组,并包含一个或多个填充序列以使病毒基因组的长度约为2.3kb。作为非限制性实例,病毒基因组包含至少一个填充序列,并且该填充序列位于5' ITR序列的3'。作为非限制性实例,病毒基因组包含至少一个填充序列,并且该填充序列位于启动子序列的5'。作为非限制性实例,病毒基因组包含至少一个填充序列,并且该填充序列位于聚腺苷酸化信号序列的3'。作为非限制性实例,病毒基因组包含至少一个填充序列,并且该填充序列位于3' ITR序列的5'。作为非限制性实例,病毒基因组包含至少一个填充序列,并且该填充序列位于两个内含子序列之间。作为非限制性实例,病毒基因组包含至少一个填充序列,并且该填充序列位于内含子序列内。作为非限制性实例,病毒基因组包含两个填充序列,第一填充序列位于5' ITR序列的3'处,并且第二填充序列位于聚腺苷酸化信号序列的3'。作为非限制性实例,病毒基因组包含两个填充序列,并且第一填充序列位于启动子序列的5',并且第二填充序列位于聚腺苷酸化信号序列的3'。作为非限制性实例,病毒基因组包含两个填充序列,并且第一填充序列位于5' ITR序列的3',并且第二填充序列位于5' ITR序列的5'。

[0216] 在一个实施方案中,病毒基因组可以在病毒基因组的多个区域之一之间包含一个或多个填充序列。在一个实施方案中,填充区可以位于诸如但不限于有效负载区、反向末端重复(ITR)、启动子区、内含子区、增强子区、聚腺苷酸化信号序列区、多克隆位点(MCS)区和/或外显子区等区域之前。在一个实施方案中,填充区可以位于诸如但不限于有效负载区、反向末端重复(ITR)、启动子区、内含子区、增强子区、聚腺苷酸化信号序列区、多克隆位点(MCS)区和/或外显子区等区域之后。在一个实施方案中,填充区可以位于诸如但不限于有效负载区、反向末端重复(ITR)、启动子区、内含子区、增强子区、聚腺苷酸化信号序列区、多克隆位点(MCS)区和/或外显子区等区域之前和之后。

[0217] 在一个实施方案中,病毒基因组可包含一个或多个将病毒基因组的至少一个区域分叉的填充序列。病毒基因组的分叉区域可包含填充序列区5'的区域的1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、或99%。作为非限制性实例,填充序列可以分叉至

少一个区域,使得该区域的10%位于填充序列的5' 并且该区域的90%位于填充序列的3'。作为非限制性实例,填充序列可以分叉至少一个区域,使得该区域的20%位于填充序列的5' 并且该区域的80%位于填充序列的3'。作为非限制性实例,填充序列可以分叉至少一个区域,使得该区域的30%位于填充序列的5' 并且该区域的70%位于填充序列的3'。作为非限制性实例,填充序列可以分叉至少一个区域,使得该区域的40%位于填充序列的5' 并且该区域的60%位于填充序列的3'。作为非限制性实例,填充序列可以分叉至少一个区域,使得该区域的50%位于填充序列的5' 并且该区域的50%位于填充序列的3'。作为非限制性实例,填充序列可以分叉至少一个区域,使得该区域的60%位于填充序列的5' 并且该区域的40%位于填充序列的3'。作为非限制性实例,填充序列可以分叉至少一个区域,使得该区域的70%位于填充序列的5' 并且该区域的30%位于填充序列的3'。作为非限制性实例,填充序列可以分叉至少一个区域,使得该区域的80%位于填充序列的5' 并且该区域的20%位于填充序列的3'。作为非限制性实例,填充序列可以分叉至少一个区域,使得该区域的90%位于填充序列的5' 并且该区域的10%位于填充序列的3'。

[0218] 在一个实施方案中,病毒基因组在5' ITR之后包含填充序列。

[0219] 在一个实施方案中,病毒基因组在启动子区之后包含填充序列。在一个实施方案中,病毒基因组在有效负载区之后包含填充序列。在一个实施方案中,病毒基因组在内含子区之后包含填充序列。在一个实施方案中,病毒基因组在增强子区之后包含填充序列。在一个实施方案中,病毒基因组在聚腺苷酸化信号序列区之后包含填充序列。在一个实施方案中,病毒基因组在MCS区域之后包含填充序列。在一个实施方案中,病毒基因组在外显子区之后包含填充序列。

[0220] 在一个实施方案中,病毒基因组在启动子区之前包含填充序列。在一个实施方案中,病毒基因组在有效负载区之前包含一个填充序列。在一个实施方案中,病毒基因组在内含子区之前包含填充序列。在一个实施方案中,病毒基因组在增强子区之前包含填充序列。在一个实施方案中,病毒基因组在聚腺苷酸化信号序列区之前包含填充序列。在一个实施方案中,病毒基因组在MCS区域之前包含填充序列。在一个实施方案中,病毒基因组在外显子区之前包含填充序列。

[0221] 在一个实施方案中,病毒基因组在3' ITR之前包含填充序列。

[0222] 在一个实施方案中,填充序列可以位于两个区域之间,例如但不限于5' ITR和启动子区。在一个实施方案中,填充序列可以位于两个区域之间,例如但不限于5' ITR和有效负载区。在一个实施方案中,填充序列可以位于两个区域之间,例如但不限于5' ITR和内含子区。在一个实施方案中,填充序列可以位于两个区域之间,例如但不限于5' ITR和增强子区。在一个实施方案中,填充序列可以位于两个区域之间,例如但不限于5' ITR和聚腺苷酸化信号序列区。在一个实施方案中,填充序列可以位于两个区域之间,例如但不限于5' ITR和MCS区域。

[0223] 在一个实施方案中,填充序列可以位于两个区域之间,例如但不限于5' ITR和外显子区。

[0224] 在一个实施方案中,填充序列可以位于两个区域之间,例如但不限于启动子区和有效负载区。在一个实施方案中,填充序列可以位于两个区域之间,例如但不限于启动子区和内含子区。在一个实施方案中,填充序列可以位于两个区域之间,例如但不限于启动子区

和增强子区。在一个实施方案中,填充序列可以位于两个区域之间,例如但不限于启动子区和聚腺苷酸化信号序列区。在一个实施方案中,填充序列可以位于两个区域之间,例如但不限于启动子区和MCS区域。在一个实施方案中,填充序列可以位于两个区域之间,例如但不限于启动子区和外显子区。在一个实施方案中,填充序列可以位于两个区域之间,例如但不限于启动子区和3' ITR。

[0225] 在一个实施方案中,填充序列可以位于两个区域之间,例如但不限于有效负载区和内含子区。在一个实施方案中,填充序列可以位于两个区域之间,例如但不限于有效负载区和增强子区。在一个实施方案中,填充序列可以位于两个区域之间,例如但不限于有效负载区和聚腺苷酸化信号序列区。在一个实施方案中,填充序列可以位于两个区域之间,例如但不限于有效负载区和MCS区域。在一个实施方案中,填充序列可以位于两个区域之间,例如但不限于有效负载区和外显子区。

[0226] 在一个实施方案中,填充序列可以位于两个区域之间,例如但不限于有效负载区和3' ITR。

[0227] 在一个实施方案中,填充序列可以位于两个区域之间,例如但不限于内含子区和增强子区。在一个实施方案中,填充序列可以位于两个区域之间,例如但不限于内含子区和聚腺苷酸化信号序列区。在一个实施方案中,填充序列可以位于两个区域之间,例如但不限于内含子区和MCS区域。在一个实施方案中,填充序列可以位于两个区域之间,例如但不限于内含子区和外显子区。在一个实施方案中,填充序列可以位于两个区域之间,例如但不限于内含子区和3' ITR。在一个实施方案中,填充序列可以位于两个区域之间,例如但不限于增强子区和聚腺苷酸化信号序列区。在一个实施方案中,填充序列可以位于两个区域之间,例如但不限于增强子区和MCS区域。在一个实施方案中,填充序列可以位于两个区域之间,例如但不限于增强子区和外显子区。在一个实施方案中,填充序列可以位于两个区域之间,例如但不限于增强子区和3' ITR。

[0228] 在一个实施方案中,填充序列可以位于两个区域之间,例如但不限于聚腺苷酸化信号序列区和MCS区域。在一个实施方案中,填充序列可以位于两个区域之间,例如但不限于聚腺苷酸化信号序列区和外显子区。在一个实施方案中,填充序列可以位于两个区域之间,例如但不限于聚腺苷酸化信号序列区和3' ITR。

[0229] 在一个实施方案中,填充序列可以位于两个区域之间,例如但不限于MCS区域和外显子区。在一个实施方案中,填充序列可以位于两个区域之间,例如但不限于MCS区域和3' ITR。

[0230] 在一个实施方案中,填充序列可以位于两个区域之间,例如但不限于外显子区和3' ITR。

[0231] 在一个实施方案中,病毒基因组可以包含两个填充序列,第一填充序列可以位于5' ITR和启动子区之间,并且第二填充序列可以位于启动子区和有效负载区之间。在一个实施方案中,病毒基因组可以包含两个填充序列,第一填充序列可以位于5' ITR和启动子区之间,并且第二填充序列可以位于启动子区和内含子区之间。在一个实施方案中,病毒基因组可以包含两个填充序列,第一填充序列可以位于5' ITR和启动子区之间,并且第二填充序列可以位于启动子区和增强子区之间。在一个实施方案中,病毒基因组可以包含两个填充序列,第一填充序列可以位于5' ITR和启动子区之间,并且第二填充序列可以位于启动子区和

[illegible]

于5' ITR和启动子区之间,并且第二填充序列可以位于MCS区和外显子区之间。在一个实施方案中,病毒基因组可以包含两个填充序列,第一填充序列可以位于5' ITR和启动子区之间,并且第二填充序列可以位于MCS区和3' ITR之间。在一个实施方案中,病毒基因组可以包含两个填充序列,第一填充序列可以位于5' ITR和启动子区之间,并且第二填充序列可以位于外显子区和3' ITR之间。

[illegible]

[illegible]

间,并且第二填充序列可以位于MCS区和3' ITR之间。在一个实施方案中,病毒基因组可以包含两个填充序列,第一填充序列可以位于5' ITR和增强子区之间,并且第二填充序列可以位于外显子区和3' ITR之间。

[illegible]

[illegible]

[0237] 在一个实施方案中,病毒基因组可以包含两个填充序列,第一填充序列可以位于5' ITR和外显子区之间,并且第二填充序列可以位于启动子区和有效负载区之间。在一个实施方案中,病毒基因组可以包含两个填充序列,第一填充序列可以位于5' ITR和外显子区之间,并且第二填充序列可以位于启动子区和内含子区之间。在一个实施方案中,病毒基因组可以包含两个填充序列,第一填充序列可以位于5' ITR和外显子区之间,并且第二填充序列可以位于启动子区和增强子区之间。在一个实施方案中,病毒基因组可以包含两个填充序列,第一填充序列可以位于5' ITR和外显子区之间,并且第二填充序列可以位于启动子区和聚腺苷酸化信号序列区之间。在一个实施方案中,病毒基因组可以包含两个填充序列,第一填充序列可以位于5' ITR和外显子区之间,并且第二填充序列可以位于启动子区和MCS区之

[illegible]

间,并且第二填充序列可以位于MCS区和3' ITR之间。在一个实施方案中,病毒基因组可以包含两个填充序列,第一填充序列可以位于5' ITR和外显子区之间,并且第二填充序列可以位于外显子区和3' ITR之间。

[illegible]

毒基因组可以包含两个填充序列,第一填充序列可以位于启动子区和有效负载区之间,并且第二填充序列可以位于MCS区和3' ITR之间。在一个实施方案中,病毒基因组可以包含两个填充序列,第一填充序列可以位于启动子区和有效负载区之间,并且第二填充序列可以位于外显子区和3' ITR之间。

[illegible]

MCS区和外显子区之间。在一个实施方案中,病毒基因组可以包含两个填充序列,第一填充序列可以位于启动子区和内含子区之间,并且第二填充序列可以位于MCS区和3' ITR之间。在一个实施方案中,病毒基因组可以包含两个填充序列,第一填充序列可以位于启动子区和内含子区之间,并且第二填充序列可以位于外显子区和3' ITR之间。

[illegible]

MCS区和外显子区之间。在一个实施方案中,病毒基因组可以包含两个填充序列,第一填充序列可以位于启动子区和增强子区之间,并且第二填充序列可以位于MCS区和3' ITR之间。在一个实施方案中,病毒基因组可以包含两个填充序列,第一填充序列可以位于启动子区和增强子区之间,并且第二填充序列可以位于外显子区和3' ITR之间。

[illegible]

子区和聚腺苷酸化信号序列区之间,并且第二填充序列可以位于聚腺苷酸化信号序列区和3' ITR之间。在一个实施方案中,病毒基因组可以包含两个填充序列,第一填充序列可以位于启动子区和聚腺苷酸化信号序列区之间,并且第二填充序列可以位于MCS区和外显子区之间。在一个实施方案中,病毒基因组可以包含两个填充序列,第一填充序列可以位于启动子区和聚腺苷酸化信号序列区之间,并且第二填充序列可以位于MCS区和3' ITR之间。在一个实施方案中,病毒基因组可以包含两个填充序列,第一填充序列可以位于启动子区和聚腺苷酸化信号序列区之间,并且第二填充序列可以位于外显子区和3' ITR之间。

[illegible]

含两个填充序列,第一填充序列可以位于启动子区和外显子区之间,并且第二填充序列可以位于聚腺苷酸化信号序列区和3' ITR之间。在一个实施方案中,病毒基因组可以包含两个填充序列,第一填充序列可以位于启动子区和外显子区之间,并且第二填充序列可以位于MCS区和外显子区之间。在一个实施方案中,病毒基因组可以包含两个填充序列,第一填充序列可以位于启动子区和外显子区之间,并且第二填充序列可以位于MCS区和3' ITR之间。在一个实施方案中,病毒基因组可以包含两个填充序列,第一填充序列可以位于启动子区和外显子区之间,并且第二填充序列可以位于外显子区和3' ITR之间。

[illegible]

填充序列可以位于聚腺苷酸化信号序列区和3' ITR之间。在一个实施方案中,病毒基因组可以包含两个填充序列,第一填充序列可以位于启动子区和MCS区之间,并且第二填充序列可以位于MCS区和外显子区之间。在一个实施方案中,病毒基因组可以包含两个填充序列,第一填充序列可以位于启动子区和MCS区之间,并且第二填充序列可以位于MCS区和3' ITR之间。在一个实施方案中,病毒基因组可以包含两个填充序列,第一填充序列可以位于启动子区和MCS区之间,并且第二填充序列可以位于外显子区和3' ITR之间。

[illegible]

可以包含两个填充序列,第一填充序列可以位于启动子区和3' ITR之间,并且第二填充序列可以位于MCS区和外显子区之间。在一个实施方案中,病毒基因组可以包含两个填充序列,第一填充序列可以位于启动子区和3' ITR之间,并且第二填充序列可以位于MCS区和3' ITR之间。在一个实施方案中,病毒基因组可以包含两个填充序列,第一填充序列可以位于启动子区和3' ITR之间,并且第二填充序列可以位于外显子区和3' ITR之间。

[illegible]

[0246] 在一个实施方案中,病毒基因组可以包含两个填充序列,第一填充序列可以位于有效负载区和增强子区之间,并且第二填充序列可以位于内含子区和增强子区之间。在一个实施方案中,病毒基因组可以包含两个填充序列,第一填充序列可以位于有效负载区和增强子区之间,并且第二填充序列可以位于内含子区和聚腺苷酸化信号序列区之间。在一个实施方案中,病毒基因组可以包含两个填充序列,第一填充序列可以位于有效负载区和

以位于有效负载区和MCS区之间,并且第二填充序列可以位于MCS区和外显子区之间。在一个实施方案中,病毒基因组可以包含两个填充序列,第一填充序列可以位于有效负载区和MCS区之间,并且第二填充序列可以位于MCS区和3' ITR之间。在一个实施方案中,病毒基因组可以包含两个填充序列,第一填充序列可以位于有效负载区和MCS区之间,并且第二填充序列可以位于外显子区和3' ITR之间。

[illegible]

[0250] 在一个实施方案中,病毒基因组可以包含两个填充序列,第一填充序列可以位于有效负载区和3' ITR区之间,并且第二填充序列可以位于内含子区和增强子区之间。在一个实施方案中,病毒基因组可以包含两个填充序列,第一填充序列可以位于有效负载区和3' ITR区之间,并且第二填充序列可以位于内含子区和聚腺苷酸化信号序列区之间。在一个实施方案中,病毒基因组可以包含两个填充序列,第一填充序列可以位于有效负载区和3' ITR

增强子区和3' ITR之间,并且第二填充序列可以位于聚腺苷酸化信号序列区和MCS区之间。在一个实施方案中,病毒基因组可以包含两个填充序列,第一填充序列可以位于增强子区和3' ITR之间,并且第二填充序列可以位于聚腺苷酸化信号序列区和外显子区之间。在一个实施方案中,病毒基因组可以包含两个填充序列,第一填充序列可以位于增强子区和3' ITR之间,并且第二填充序列可以位于聚腺苷酸化信号序列区和3' ITR之间。在一个实施方案中,病毒基因组可以包含两个填充序列,第一填充序列可以位于增强子区和3' ITR之间,并且第二填充序列可以位于MCS区和外显子区之间。在一个实施方案中,病毒基因组可以包含两个填充序列,第一填充序列可以位于增强子区和3' ITR之间,并且第二填充序列可以位于MCS区和3' ITR之间。在一个实施方案中,病毒基因组可以包含两个填充序列,第一填充序列可以位于增强子区和3' ITR之间,并且第二填充序列可以位于外显子区和3' ITR之间。

[0260] 在一个实施方案中,病毒基因组可以包含两个填充序列,第一填充序列可以位于聚腺苷酸化信号序列区和MCS区之间,并且第二填充序列可以位于MCS区和外显子区之间。在一个实施方案中,病毒基因组可以包含两个填充序列,第一填充序列可以位于聚腺苷酸化信号序列区和MCS区之间,并且第二填充序列可以位于MCS区和3' ITR之间。在一个实施方案中,病毒基因组可以包含两个填充序列,第一填充序列可以位于聚腺苷酸化信号序列区和MCS区之间,并且第二填充序列可以位于外显子区和3' ITR之间。

[0261] 在一个实施方案中,病毒基因组可以包含两个填充序列,第一填充序列可以位于聚腺苷酸化信号序列区和外显子区之间,并且第二填充序列可以位于MCS区和外显子区之间。在一个实施方案中,病毒基因组可以包含两个填充序列,第一填充序列可以位于聚腺苷酸化信号序列区和外显子区之间,并且第二填充序列可以位于MCS区和3' ITR之间。在一个实施方案中,病毒基因组可以包含两个填充序列,第一填充序列可以位于聚腺苷酸化信号序列区和外显子区之间,并且第二填充序列可以位于外显子区和3' ITR之间。

[0262] 在一个实施方案中,病毒基因组可以包含两个填充序列,第一填充序列可以位于聚腺苷酸化信号序列区和3' ITR之间,并且第二填充序列可以位于MCS区和外显子区之间。在一个实施方案中,病毒基因组可以包含两个填充序列,第一填充序列可以位于聚腺苷酸化信号序列区和3' ITR之间,并且第二填充序列可以位于MCS区和3' ITR之间。在一个实施方案中,病毒基因组可以包含两个填充序列,第一填充序列可以位于聚腺苷酸化信号序列区和3' ITR之间,并且第二填充序列可以位于外显子区和3' ITR之间。

[0263] 在一个实施方案中,病毒基因组可以包含两个填充序列,第一填充序列可以位于MCS区和外显子区之间,并且第二填充序列可以位于外显子区和3' ITR之间。

[0264] AAV生成

[0265] 本发明提供了通过在病毒复制细胞中的病毒基因组复制生成细小病毒颗粒,例如AAV颗粒的方法。

[0266] 根据本发明,包含有效负载的病毒基因组将掺入病毒复制细胞中产生的AAV颗粒中。制备AAV颗粒的方法是本领域中公知的,并且记载于例如美国专利No.US6204059,US5756283,US6258595,US6261551,US6270996,US6281010,US6365394,US6475769,US6482634,US6485966,US6943019,US6953690,US7022519,US7238526,US7291498andUS7491508,US5064764,US6194191,US6566118,US8137948;或国际公开No.W01996039530,W01998010088,W01999014354,W01999015685,W01999047691,W02000055342,W02000075353

和W02001023597;Methods In Molecular Biology,Richard,Humana Press,NJ (1995);O'Reilly等人,Baculovirus Expression Vectors,A Laboratory Manual,Oxford Univ.Press (1994);Samulski等人,J.Vir.63:3822-8 (1989);Kajigaya等人,Proc.Nat'l.Acad.Sci.USA 88:4646-50 (1991);Ruffing等人,J.Vir.66:6922-30 (1992);Kimbauer等人,Vir.,219:37-44 (1996);Zhao等人,Vir.272:382-93 (2000);每篇的内容通过引用完整并入本文。在一个实施方案中,使用W02015191508 (其内容通过引用完整并入本文)中所述的方法制备AAV颗粒。

[0267] 通常用于生产重组AAV颗粒的病毒复制细胞包括但不限于293细胞,COS细胞,HeLa细胞,KB细胞和其他哺乳动物细胞系,如美国专利4US6156303,US5387484,US5741683,US5691176和US5688676号;美国专利公开号2002/0081721和国际专利公开号No.WO 00/47757,WO 00/24916和WO 96/17947,其每一个的内容通过引用整体并入本文。

[0268] 在一些实施方案中,本发明提供了生产具有增强的(增加的,改善的)转导效率的AAV颗粒的方法,该方法包括以下步骤:1)用杆状病毒载体和病毒构建体载体和/或AAV有效负载构建体载体共转染感受态细菌细胞,2)分离所得的病毒构建体表达载体和AAV有效负载构建体表达载体并分别转染病毒复制细胞,3)分离并纯化所得的有效负载和包含病毒构建体表达载体或AAV有效负载构建体表达载体的病毒构建体颗粒,4)用AAV有效负载和包含病毒构建体表达载体或AAV有效负载构建体表达载体的病毒构建体颗粒两者共感染病毒复制细胞,以及5)收获和纯化包含病毒基因组的AAV颗粒。

[0269] 在一些实施方案中,本发明提供了用于生产AAV颗粒的方法,其包括以下步骤:1)用有效负载区、表达rep和cap基因的构建体以及辅助构建体同时共转染哺乳动物细胞(例如但不限于HEK293细胞),2)收获并纯化包含病毒基因组的AAV颗粒。

[0270] 在一些实施方案中,本发明的AAV颗粒的病毒基因组任选地编码选择标志物。选择标志物可以包括细胞表面标志物,例如在细胞表面上表达的任何蛋白质,包括但不限于受体CD标志物、凝集素、整联蛋白或其截短形式。

[0271] 在一些实施方案中,选择标志物如记载于国际申请号WO 96/23810;Heim等人,Current Biology 2:178-182 (1996);Heim等人,Proc.Natl.Acad.Sci.USA (1995);或Heim等人,Science 373:663-664 (1995);WO 96/30540,每篇的内容通过引用整体并入本文。

[0272] 基因组大小

[0273] 在一个实施方案中,包含本文描述的有效负载的AAV颗粒可以是单链或双链载体基因组。载体基因组的大小可以是小、中、大或最大大小。另外,载体基因组可包含启动子和聚A尾。

[0274] 在一个实施方案中,包含本文描述的有效负载的载体基因组可以是小的单链载体基因组。小的单链载体基因组的大小可以为2.7至3.5kb,例如约2.7、2.8、2.9、3.0、3.1、3.2、3.3、3.4和3.5kb。作为非限制性实例,小的单链载体基因组的大小可以是3.2kb。另外,载体基因组可包含启动子和聚A尾。

[0275] 在一个实施方案中,包含本文描述的有效负载的载体基因组可以是小的双链载体基因组。小的双链载体基因组的大小可以是1.3至1.7kb,例如大小为1.3、1.4、1.5、1.6和1.7kb。作为非限制性实例,小的双链载体基因组的大小可以为1.6kb。另外,载体基因组可包含启动子和聚A尾。

[0276] 在一个实施方案中,包含本文描述的有效负载的载体基因组可以是中等单链载体基因组。中等单链载体基因组的大小可以为3.6至4.3kb,例如约3.6、3.7、3.8、3.9、4.0、4.1、4.2和4.3kb。作为非限制性实例,中等单链载体基因组的大小可以为4.0kb。另外,载体基因组可包含启动子和聚A尾。

[0277] 在一个实施方案中,包含本文描述的有效负载的载体基因组可以是中等双链载体基因组。中等双链载体基因组的大小可以为1.8至2.1kb,例如约1.8、1.9、2.0和2.1kb。作为非限制性实例,中等双链载体基因组的大小可以为2.0kb。另外,载体基因组可包含启动子和聚A尾。

[0278] 在一个实施方案中,包含本文描述的有效负载的载体基因组可以是大的单链载体基因组。大的单链载体基因组的大小可以为4.4至6.0kb,例如约4.4、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和6.0kb。作为非限制性实例,大单链载体基因组的大小可以是4.7kb。作为另一个非限制性实例,大单链载体基因组的大小可以是4.8kb。作为又一个非限制性实例,大单链载体基因组的大小可以是6.0kb。另外,载体基因组可包含启动子和聚A尾。

[0279] 在一个实施方案中,包含本文描述的有效负载的载体基因组可以是大的双链载体基因组。大的双链载体基因组的大小可以为2.2至3.0kb,例如约2.2、2.3、2.4、2.5、2.6、2.7、2.8、2.9和3.0kb。作为非限制性实例,大的双链载体基因组的大小可以是2.4kb。另外,载体基因组可包含启动子和聚A尾。

[0280] 发明的有效负载

[0281] 本公开内容的AAV颗粒包括至少一个有效负载区。如本文所用,“有效负载”或“有效负载区”是指由病毒基因组或病毒基因组内编码的一个或多个多核苷酸或多核苷酸区,例如转基因、编码多肽或多-多肽的多核苷酸或调控性核酸或调节性核酸。本发明的有效负载通常编码多肽或其片段或变体。

[0282] 有效负载区可以以反映类似于或反映mRNA的自然构造的区域的方式构建。

[0283] 有效负载区可以包含编码和非编码核酸序列的组合。

[0284] 在一些实施方案中,AAV有效负载区可以编码编码或非编码RNA。

[0285] 在一个实施方案中,AAV颗粒包含具有有效负载区的病毒基因组,该有效负载区包含编码超过一种感兴趣的多肽的核酸序列。在此类实施方案中,可以复制编码超过一种多肽的病毒基因组,并将其包装到病毒颗粒中。用包含超过一种多肽的病毒颗粒转导的靶细胞可以在单个细胞中表达每种多肽。

[0286] 在一个实施方案中,有效负载区可以包括如图1所示的组分。有效负载区110位于病毒基因组100内。在有效负载区110的5' 和/或3' 端可以有至少一个反向末端重复 (ITR) 120。在有效负载区内,存在启动子区130、内含子区140和编码区150。

[0287] 在AAV颗粒有效负载区编码多肽的情况下,多肽可以是肽或蛋白质。编码本文所述的多肽的病毒基因组可用于人类疾病、病毒、兽医感染应用和多种体内和体外背景领域。

[0288] 在一些实施方案中,AAV颗粒可用于医学领域中以治疗、预防、减轻或改善神经学疾病和/或病症。

[0289] 在一些实施方案中,AAV颗粒可用于医学领域中以治疗、预防、减轻或改善帕金森氏病。

[0290] 在一些实施方案中, AAV颗粒可用于医学领域中以治疗、预防、减轻或改善中枢神经学疾病。

[0291] 多肽和变体的性质

[0292] 由本发明的病毒基因组的有效负载区编码的氨基酸序列可以翻译为完整的多肽、多个多肽或多肽片段, 其可以独立地由一个或多个核酸、核酸片段或上述任何形式的变体编码。如本文所用, “多肽”是指最常通过肽键连接在一起的氨基酸残基(天然或非天然)的聚合物。如本文所用, 该术语是指任何大小、结构或功能的蛋白质、多肽和肽。在某些情况下, 编码的多肽小于约50个氨基酸, 然后将该多肽称为肽。如果多肽是肽, 则其长度将至少约2、3、4或至少5个氨基酸残基。因此, 多肽包括基因产物、天然存在的多肽、合成多肽、同源物、直系同源物、旁系同源物、片段和前述的其他等同物、变体和类似物。多肽可以是单分子或者可以是多分子复合物, 例如二聚体、三聚体或四聚体。它们还可以包含单链或多链多肽, 并且可以缔合或连接。术语多肽还可以应用于氨基酸聚合物, 其中一个或多个氨基酸残基是相应的天然存在的氨基酸的人工化学类似物。

[0293] 术语“多肽变体”是指其氨基酸序列不同于天然序列或参考序列的分子。与天然或参考序列相比, 氨基酸序列变体可在氨基酸序列内的某些位置具有取代、缺失和/或插入。通常, 变体与天然或参考序列具有至少约50%的同一性(同源性), 优选地, 它们与天然或参考序列具有至少约80%, 更优选至少约90%的同一性(同源)。

[0294] 在一些实施方案中, 提供“变体模拟物”。如本文所用, 术语“变体模拟物”是含有一个或多个模拟激活序列的氨基酸的变体。例如, 谷氨酸可以充当磷酸苏氨酸和/或磷酸丝氨酸的模拟物。或者, 变体模拟物可导致失活或含有该模拟物的失活产物, 例如苯丙氨酸可作为酪氨酸的失活替代物; 或丙氨酸可作为丝氨酸的失活替代物。

[0295] 术语“氨基酸序列变体”是指与天然或起始序列相比其氨基酸序列具有一些差异的分子。氨基酸序列变体可以在氨基酸序列内的某些位置具有取代、缺失和/或插入。“天然”或“起始”序列不应与野生型序列混淆。如本文所用, 天然或起始序列是相对术语, 是指可以与之进行比较的原始分子。“天然”或“起始”序列或分子可以代表野生型(在自然界中发现的序列), 但不必是野生型序列。

[0296] 通常, 变体与天然序列具有至少约70%的同源性, 优选地, 它们与天然序列具有至少约80%, 更优选至少约90%的同源性。“同源性”在其应用于氨基酸序列时定义为当比对序列并在必要时引入缺口达到最大的同源性百分比时候选氨基酸序列中与第二序列的氨基酸序列中的残基相同的残基所占的百分比。用于比对的方法和计算机程序在本领域中是公知的。应当理解, 同源性取决于同一性百分比的计算, 但是由于计算中引入的缺口和罚分, 其值可能不同。

[0297] “同源物”在它应用于氨基酸序列时是指与第二物种的第二序列具有实质同一性的其他物种的相应序列。

[0298] “类似物”是指包括相差一个或多个氨基酸改变(例如, 氨基酸残基的取代、添加或缺失), 且仍保持亲本多肽的性质的多肽变体。

[0299] 可以将序列标签或氨基酸(例如一种或多种赖氨酸)添加至本发明的肽序列(例如, 在N端或C端)。序列标签可用于肽纯化或定位。赖氨酸可用于增加肽溶解度或进行生物素化。或者, 可以任选地缺失位于肽或蛋白质的氨基酸序列的羧基和氨基端区域的氨基酸

残基,以提供截短的序列。或者,取决于序列的用途,可以缺失某些氨基酸(例如,C端或N端残基),例如将该序列表达为可溶的或连接至固体支持物的较大序列的一部分。

[0300] 当涉及蛋白质时,“取代变体”是指那些在天然或起始序列中至少一个氨基酸残基被除去并且其在相同位置处的空间插入不同氨基酸的蛋白质。取代可以是单个的,其中分子中仅一个氨基酸被取代,或者它们可以是多个,其中两个或多个氨基酸已在同一分子中取代。

[0301] 如本文所用,术语“保守氨基酸取代”是指序列中通常存在的氨基酸被具有相似大小、电荷或极性的不同氨基酸取代。保守取代的实例包括将非极性(疏水)残基如异亮氨酸、缬氨酸和亮氨酸取代为另一个非极性残基。同样,保守取代的例子包括一个极性(亲水)残基被另一个取代,例如在精氨酸和赖氨酸之间,在谷氨酰胺和天冬酰胺之间以及在甘氨酸和丝氨酸之间。另外,保守取代的另外实例是用碱性残基例如赖氨酸,精氨酸或组氨酸取代另一种,或用一个酸性残基例如天冬氨酸或谷氨酸取代另一种酸性残基。非保守取代的实例包括用非极性(疏水)氨基酸残基例如异亮氨酸,缬氨酸,亮氨酸,丙氨酸,甲硫氨酸取代极性(亲水)残基例如半胱氨酸,谷氨酰胺,谷氨酸或赖氨酸和/或用极性残基取代非极性残基。

[0302] 当涉及蛋白质时,“插入变体”是具有紧邻天然或起始序列中的特定位置处的氨基酸插入的一个或多个氨基酸的蛋白质。“紧邻”氨基酸是指连接至氨基酸的 α -羧基或 α -氨基官能团。

[0303] 当涉及蛋白质时,“缺失变体”是在天然或起始氨基酸序列中去除了一个或多个氨基酸的那些。通常,缺失变体将在分子的特定区域中缺失一个或多个氨基酸。

[0304] 如本文所用,术语“衍生物”与术语“变体”同义使用,并且是指相对于参考分子或起始分子以任何方式被修饰或改变的分子。在一些实施方案中,衍生物包括已被有机蛋白质或非蛋白质衍生剂,以及翻译后修饰进行修饰的天然或起始蛋白质。传统上,共价修饰是通过使蛋白质的目标氨基酸残基与能够与选定的侧链或末端残基反应的有机衍生剂反应,或通过利用在选定的重组宿主细胞中起作用的翻译后修饰机制来引入的。所得的共价衍生物可用于针对鉴定对生物学活性,免疫测定或制备用于重组糖蛋白的免疫亲和纯化的抗蛋白抗体重要的残基的程序。此类修饰在本领域普通技术人员范围内,并且无需过多的实验即可进行。

[0305] 某些翻译后修饰是重组宿主细胞对表达的多肽的作用的结果。谷氨酰胺基和天冬酰胺基残基经常被翻译后脱酰胺基化为相应的谷氨酰胺基和天冬氨酰胺残基。或者,这些残基在弱酸性条件下脱酰胺。这些残基的任何一种形式都可以存在于根据本发明使用的蛋白质中。

[0306] 其他翻译后修饰包括脯氨酸和赖氨酸的羟基化,丝氨酸或苏氨酸残基的羟基的磷酸化,赖氨酸,精氨酸和组氨酸侧链的 α -氨基的甲基化(T.E.Creighton,Proteins:Structure and Molecular Properties,W.H.Freeman&Co.,San Francisco,pp.79-86(1983))。

[0307] 当提及蛋白质时,“特征”定义为分子的不同基于氨基酸序列的组分。本发明蛋白质的特征包括表面表现、局部构象形状、折叠、环、半环、域、半域、位点,末端或其任何组合。

[0308] 如本文所用,当提及蛋白质时,术语“表面表现”是指出现在最外表面上的蛋白质的基于多肽的成分。

[0309] 如本文所用,当提及蛋白质时,术语“局部构象形状”是指位于蛋白质的可定义空间内的蛋白质的基于多肽的结构表现。

[0310] 如本文所用,当提及蛋白质时,术语“折叠”是指在能量最小化时所得的氨基酸序列的构象。折叠可发生在折叠过程的二级或三级水平。二级折叠的例子包括 β 折叠和 α 螺旋。三级折叠的例子包括由于能量力的聚集或分离而形成的域和区域。以这种方式形成的区域包括疏水袋和亲水袋等。

[0311] 如本文所用,术语“折叠”当它涉及蛋白质构象时是指改变肽或多肽的主链方向并可涉及一个,两个,三个或更多个氨基酸残基的弯曲。

[0312] 如本文所用,当提及蛋白质时,术语“环”是指肽或多肽的结构特征,其反转肽或多肽的主链的方向并包含四个或更多个氨基酸残基。Oliva等人已经鉴定出至少5类蛋白质环(J.Mol Biol 266(4):814-830;1997)。

[0313] 如本文所用,当提及蛋白质时,术语“半环”是指已鉴定的环的一部分,其具有氨基酸残基数目的至少一半作为其来源的环。应当理解,环可以并不总是函数偶数个氨基酸残基。因此,在环含有或被鉴定为包含奇数个氨基酸的那些情况下,奇数编号环的半环将包含该环的整数部分或下一个整数部分(环的氨基酸数目/2+/-0.5个氨基酸)。例如,鉴定为7个氨基酸的环的环可以产生3个氨基酸或4个氨基酸的半环($7/2=3.5\pm 0.5$ 为3或4)。

[0314] 如本文所用,当提及蛋白质时,术语“域”是指具有一个或多个可鉴定的结构或功能特征或性质(例如,结合能力,用作蛋白质-蛋白质相互作用的位点)的多肽的基序。

[0315] 如本文所用,当提及蛋白质时,术语“半域”是指所鉴定的域的一部分,其具有氨基酸残基数目的至少一半作为其来源的域。应当理解,域可以并不总是包含偶数个氨基酸残基。因此,在域含有或被鉴定为包含奇数个氨基酸的那些情况下,奇数编号域的半域将包含域的整数部分或下一个整数部分(域的氨基酸数/2+/-0.5个氨基酸)。例如,鉴定为7个氨基酸的域的域可产生3个氨基酸或4个氨基酸的半域($7/2=3.5\pm 0.5$ 为3或4)。还应理解,可以在域或半域内鉴定亚域,这些亚域具有小于在其衍生自的域或半域中鉴定的所有结构或功能性质。还应理解,包含本文任何域类型的氨基酸不必沿着多肽的主链是连续的(即,不相邻的氨基酸可以在结构上折叠以产生域,半域或亚域)。

[0316] 如本文所用,当提及蛋白质时,术语“位点”当它与基于氨基酸的实施方案有关时与“氨基酸残基”和“氨基酸侧链”同义使用。位点代表可以在本发明的基于多肽的分子内被修饰,操作,改变,衍生化或变化的肽或多肽内的位置。

[0317] 如本文所用,当提及蛋白质时,术语“端”是指肽或多肽的末端。此类末端不仅限于肽或多肽的第一个或最后一个位点,还可以在末端区域包括其他氨基酸。本发明的基于多肽的分子可以被表征为具有N端(被具有游离氨基(NH₂)的氨基酸终止)和C端(被具有游离羧基(COOH)的氨基酸所终止)。在某些情况下,本发明的蛋白质由通过二硫键或通过非共价力结合在一起的多条多肽链组成(多聚体,寡聚体)。这些蛋白质将具有多个N和C端。或者,可以修饰多肽的末端,以使得它们可以视情况以基于非多肽的部分例如有机缀合物开始或终止。

[0318] 一旦任何特征已经被鉴定或定义为本发明分子的成分,则可以通过移动,交换,倒

置,删除,随机化或复制来进行这些特征的几种操作和/或修饰中的任何一种。此外,应理解,特征的操作可导致与对本发明分子的修饰相同的结果。例如,涉及删除域的操作将导致分子长度的改变,就像修饰核酸以编码小于全长分子那样。

[0319] 修饰和操作可以通过本领域已知的方法例如定点诱变来完成。然后可以使用体外或体内测定法,例如本文所述的测定法或本领域已知的任何其他合适的筛选测定法,测试所得修饰分子的活性。

[0320] 有效负载:AADC多核苷酸构建体

[0321] 根据本发明,提供了芳香族L-氨基酸脱羧酶(AADC;也称为多巴脱羧酶和DDC)多核苷酸,其单独起作用或与另外的核酸序列组合起作用以编码AADC蛋白。如本文所用,“AADC多核苷酸”是编码AADC蛋白并且当存在于载体,质粒或可翻译的构建体中时在细胞,组织,器官或生物体中表达此类AADC蛋白的任何核酸聚合物。

[0322] AADC多核苷酸包括在细胞内部加工的前体分子。可以在质粒,载体,基因组或其他核酸表达载体中编码AADC多核苷酸或其加工形式以递送至细胞。

[0323] 在一些实施方案中,将AADC多核苷酸设计为AAV病毒基因组的组分,并包装在AAV颗粒中,所述AAV颗粒在细胞内加工以产生野生型AADC蛋白。

[0324] 在一些实施方案中,AADC多核苷酸可以是AAV颗粒的有效负载。

[0325] 如本文所用,野生型AADC蛋白可以是来自DDC基因的任何天然存在的同种型或变体。已经鉴定出编码AADC的不同同种型的多个可变剪接的转录变体。具体来说,DDC基因产生七个转录物变体,其编码六个不同的同等型。DDC转录物变体1和2均编码AADC同等型1。在一些实施方案中,AADC多核苷酸编码DDC转录物变体2,从而编码天然AADC同等型1(NCBI参考序列:NP_000781.1)。在此给出此序列:

MNASEFRRRGKEMVDYVANYMEGIEGRQVYPDVEPGYLRPLIPAAAPQEPDTFEDIINDVE
KIIMPGVTHWHSPYFFAYFPTASSYPAMLADMLCGAIGCIGFSWAASPACTELETVMMDW
LGKMLELPKAFLNEKAGEGGGVIQGSASEATLVALLAARTKVIHRLQAASPELTQAAIMEK
LVAYSSDQAHSSVERAGLIGGVKLKAIPSDGNFAMRASALQEALERDKAAGLIPFFMVATL
[0326] GTTTCCSFDNLLEVGPICNKEDIWLHVDAAYAGSAFICPEFRHLLNGVEFADSFNFNPHKWL
LVNFDCSAMWVKKRTDLTGAFRLDPTYLKSHQDSGLITDYRHWQIPLGRRFRSLKMWFV
FRMYGVKGLQAYIRKHVQLSHEFESLVRQDPRFEICVEVILGLVCFRLKGSNKVNEALLQRI
NSAKKIHLVPCHLRDKFVLRFAICSRVESAHVQRAWHEHIKELAADVLRARE (SEQ ID
NO: 978)

[0327] 本发明的AADC多核苷酸可以被工程化改造为包含组装以创建AADC多核苷酸构建体的模块元件和/或序列基序。

[0328] 根据本发明,提供了AADC多核苷酸。此类多核苷酸包含核酸聚合物,其包含编码AADC蛋白的一种或多种同等型或变体的连接的核苷区域。

[0329] 在一些实施方案中,AADC多核苷酸包含编码AADC蛋白的密码子优化的转录物。

[0330] 在一些实施方案中,AADC多核苷酸包含编码AADC蛋白的一种或多种野生型同等型或变体的序列区。此类多核苷酸还可以包含编码以下任何一个或多个的序列区:5' ITR,巨细胞病毒(CMV)增强子,CMV启动子,ie1外显子1,ie1内含子1,hbB珠蛋白内含子2,hbB珠蛋白外显子3,5'UTR,3'UTR,hGH聚(A)信号和/或3' ITR。此类序列区在本文中教导或可以是本领域

域已知的任何序列区。

[0331] 在一些实施方案中,AADC多核苷酸包含SEQ ID NO:979或其片段或变体。

[0332] 在一个实施方案中,AADC多核苷酸包含与SEQ ID NO:979或其片段或变体具有百分比同一性的序列。AADC多核苷酸可与SEQ ID NO:979或其片段或变体具有1%,2%,3%,4%,5%,6%,7%,8%,9%,10%,15%,20%,25%,30%,35%,40%,45%,50%,55%,60%,65%,70%,75%,80%,85%,90%,95%,99%或100%的同一性。AADC多核苷酸可与SEQ ID NO:979或其片段或变体具有1-10%,10-20%,30-40%,50-60%,50-70%,50-80%,50-90%,50-99%,50-100%,60-70%,60-80%,60-90%,60-99%,60-100%,70-80%,70-90%,70-99%,70-100%,80-85%,80-90%,80-95%,80-99%,80-100%,90-95%,90-99%,或90-100%。作为非限制性实例,AADC多核苷酸包含与SEQ ID NO:979或其片段或变体具有80%同一性的序列。作为另一个非限制性实例,AADC多核苷酸包含与SEQ ID NO:979或其片段或变体具有85%同一性的序列。作为另一个非限制性实例,AADC多核苷酸包含与SEQ ID NO:979或其片段或变体具有90%同一性的序列。作为另一个非限制性实例,AADC多核苷酸包含与SEQ ID NO:979或其片段或变体具有95%同一性的序列。作为另一个非限制性实例,AADC多核苷酸包含与SEQ ID NO:979或其片段或变体具有99%同一性的序列。

[0333] 在一些实施方案中,AADC多核苷酸的编码区的长度为1440个核苷酸。可以在全部或部分多核苷酸上对此类AADC多核苷酸进行密码子优化。

[0334] 在一些实施方案中,AADC多核苷酸包含SEQ ID NO:979或其片段或变体中的任何一个,但缺少5'和/或3' ITR。可以将此类多核苷酸掺入质粒或载体中并用于表达编码的AADC蛋白。

[0335] 在一个实施方案中,可以在昆虫细胞(例如,Sf9细胞)中产生AADC多核苷酸。

[0336] 在一个实施方案中,可以使用三重转染产生AADC多核苷酸。

[0337] 在一个实施方案中,AADC多核苷酸可包含AADC mRNA的密码子优化的可读框,至少一个5' ITR和至少一个3' UTR,其中一个或多个5' ITR可位于启动子区域的5'末端,一个或多个3' ITR可位于聚(A)信号的3'末端。AADC mRNA可以包含启动子区域,5'非翻译区(UTR),3' UTR和聚(A)信号。启动子区域可以包括但不限于增强子元件,启动子元件,第一外显子区域,第一内含子区域,第二内含子区域和第二外显子区域。作为非限制性实例,增强子元件和启动子元件源自CMV。作为另一个非限制性实例,第一外显子区域是ie1外显子1或其片段,第一内含子区域是ie1内含子1或其片段,第二内含子区域是hbB珠蛋白内含子2或其片段,第二外显子区域是hbB珠蛋白3外显子或其片段。作为另一个非限制性实例,聚(A)信号源自人生长激素。

[0338] 在一个实施方案中,至少一种元件可以与本文所述的AADC多核苷酸一起使用以增强转基因靶的特异性和表达(参见例如Powell等人Viral Expression Cassette Elements to Enhance Transgene Target Specificity and Expression in Gene Therapy,2015;其内容通过引用整体并入本文)。增强转基因靶特异性和表达的元件的非限制性实例包括启动子,内源性miRNA,转录后调控元件(PRE),聚腺苷酸化(PolyA)信号序列和上游增强子(USE),CMV增强子和内含子。

[0339] 在一个实施方案中,至少一种元件可以与本文所述的AADC多核苷酸一起使用以增

强转基因靶的特异性和表达(参见例如Powell等人Viral Expression Cassette Elements to Enhance Transgene Target Specificity and Expression in Gene Therapy,2015;其内容通过引用整体并入本文,例如启动子。

[0340] 在一个实施方案中,AADC多核苷酸在质粒或载体中编码,该质粒或载体可以源自腺相关病毒(AAV)。AAV可包含壳体血清型例如但不限于PHP.B,PHP.A,AAV1,AAV2,AAV2G9,AAV3,AAV3a,AAV3b,AAV3-3,AAV4,AAV4-4,AAV5,AAV6,AAV6.1,AAV6.2,AAV6.1.2,AAV7,AAV7.2,AAV8,AAV9,AAV9.11,AAV9.13,AAV9.16,AAV9.24,AAV9.45,AAV9.47,AAV9.61,AAV9.68,AAV9.84,AAV9.9,AAV10,AAV11,AAV12,AAV16.3,AAV24.1,AAV27.3,AAV42.12,AAV42-1b,AAV42-2,AAV42-3a,AAV42-3b,AAV42-4,AAV42-5a,AAV42-5b,AAV42-6b,AAV42-8,AAV42-10,AAV42-11,AAV42-12,AAV42-13,AAV42-15,AAV42-aa,AAV43-1,AAV43-12,AAV43-20,AAV43-21,AAV43-23,AAV43-25,AAV43-5,AAV44.1,AAV44.2,AAV44.5,AAV223.1,AAV223.2,AAV223.4,AAV223.5,AAV223.6,AAV223.7,AAV1-7/rh.48,AAV1-8/rh.49,AAV2-15/rh.62,AAV2-3/rh.61,AAV2-4/rh.50,AAV2-5/rh.51,AAV3.1/hu.6,AAV3.1/hu.9,AAV3-9/rh.52,AAV3-11/rh.53,AAV4-8/rh.64,AAV4-9/rh.54,AAV4-19/rh.55,AAV5-3/rh.57,AAV5-22/rh.58,AAV7.3/hu.7,AAV16.8/hu.10,AAV16.12/hu.11,AAV29.3/bb.1,AAV29.5/bb.2,AAV106.1/hu.37,AAV114.3/hu.40,AAV127.2/hu.41,AAV127.5/hu.42,AAV128.3/hu.44,AAV130.4/hu.48,AAV145.1/hu.53,AAV145.5/hu.54,AAV145.6/hu.55,AAV161.10/hu.60,AAV161.6/hu.61,AAV33.12/hu.17,AAV33.4/hu.15,AAV33.8/hu.16,AAV52/hu.19,AAV52.1/hu.20,AAV58.2/hu.25,AAVA3.3,AAVA3.4,AAVA3.5,AAVA3.7,AAVC1,AAVC2,AAVC5,AAV-DJ,AAV-DJ8,AAVF3,AAVF5,AAVH2,AAVrh.72,AAVhu.8,AAVrh.68,AAVrh.70,AAVpi.1,AAVpi.3,AAVpi.2,AAVrh.60,AAVrh.44,AAVrh.65,AAVrh.55,AAVrh.47,AAVrh.69,AAVrh.45,AAVrh.59,AAVhu.12,AAVH6,AAVLK03,AAVH-1/hu.1,AAVH-5/hu.3,AAVLG-10/rh.40,AAVLG-4/rh.38,AAVLG-9/hu.39,AAVN721-8/rh.43,AAVCh.5,AAVCh.5R1,AAVcy.2,AAVcy.3,AAVcy.4,AAVcy.5,AAVCy.5R1,AAVCy.5R2,AAVCy.5R3,AAVCy.5R4,AAVcy.6,AAVhu.1,AAVhu.2,AAVhu.3,AAVhu.4,AAVhu.5,AAVhu.6,AAVhu.7,AAVhu.9,AAVhu.10,AAVhu.11,AAVhu.13,AAVhu.15,AAVhu.16,AAVhu.17,AAVhu.18,AAVhu.20,AAVhu.21,AAVhu.22,AAVhu.23.2,AAVhu.24,AAVhu.25,AAVhu.27,AAVhu.28,AAVhu.29,AAVhu.29R,AAVhu.31,AAVhu.32,AAVhu.34,AAVhu.35,AAVhu.37,AAVhu.39,AAVhu.40,AAVhu.41,AAVhu.42,AAVhu.43,AAVhu.44,AAVhu.44R1,AAVhu.44R2,AAVhu.44R3,AAVhu.45,AAVhu.46,AAVhu.47,AAVhu.48,AAVhu.48R1,AAVhu.48R2,AAVhu.48R3,AAVhu.49,AAVhu.51,AAVhu.52,AAVhu.54,AAVhu.55,AAVhu.56,AAVhu.57,AAVhu.58,AAVhu.60,AAVhu.61,AAVhu.63,AAVhu.64,AAVhu.66,AAVhu.67,AAVhu.14/9,AAVhu.t19,AAVrh.2,AAVrh.2R,AAVrh.8,AAVrh.8R,AAVrh.10,AAVrh.12,AAVrh.13,AAVrh.13R,AAVrh.14,AAVrh.17,AAVrh.18,AAVrh.19,AAVrh.20,AAVrh.21,AAVrh.22,AAVrh.23,AAVrh.24,AAVrh.25,AAVrh.31,AAVrh.32,AAVrh.33,AAVrh.34,AAVrh.35,AAVrh.36,AAVrh.37,AAVrh.37R2,AAVrh.38,AAVrh.39,AAVrh.40,AAVrh.46,AAVrh.48,AAVrh.48.1,AAVrh.48.1.2,AAVrh.48.2,AAVrh.49,AAVrh.51,AAVrh.52,AAVrh.53,AAVrh.54,AAVrh.56,AAVrh.57,AAVrh.58,AAVrh.61,AAVrh.64,AAVrh.64R1,AAVrh.64R2,AAVrh.67,AAVrh.73,AAVrh.74,AAVrh8R,AAVrh8R A586R突变体,AAVrh8R R533A突变体,AAAV,BAAV,

山羊AAV,牛AAV,AAVhE1.1,AAVhEr1.5,AAVhEr1.14,AAVhEr1.8,AAVhEr1.16,AAVhEr1.18,AAVhEr1.35,AAVhEr1.7,AAVhEr1.36,AAVhEr2.29,AAVhEr2.4,AAVhEr2.16,AAVhEr2.30,AAVhEr2.31,AAVhEr2.36,AAVhEr1.23,AAVhEr3.1,AAV2.5T,AAV-PAEC,AAV-LK01,AAV-LK02,AAV-LK03,AAV-LK04,AAV-LK05,AAV-LK06,AAV-LK07,AAV-LK08,AAV-LK09,AAV-LK10,AAV-LK11,AAV-LK12,AAV-LK13,AAV-LK14,AAV-LK15,AAV-LK16,AAV-LK17,AAV-LK18,AAV-LK19,AAV-PAEC2,AAV-PAEC4,AAV-PAEC6,AAV-PAEC7,AAV-PAEC8,AAV-PAEC11,AAV-PAEC12,AAV-2-pre-miRNA-101,AAV-8h,AAV-8b,AAV-h,AAV-b,AAV SM 10-2,AAV Shuffle 100-1,AAV Shuffle 100-3,AAV Shuffle 100-7,AAV Shuffle 10-2,AAV Shuffle 10-6,AAV Shuffle 10-8,AAV Shuffle 100-2,AAV SM 10-1,AAV SM 10-8,AAV SM 100-3,AAV SM 100-10,BNP61 AAV,BNP62 AAV,BNP63 AAV,AAVrh.50,AAVrh.43,AAVrh.62,AAVrh.48,AAVhu.19,AAVhu.11,AAVhu.53,AAV4-8/rh.64,AAVLG-9/hu.39,AAV54.5/hu.23,AAV54.2/hu.22,AAV54.7/hu.24,AAV54.1/hu.21,AAV54.4R/hu.27,AAV46.2/hu.28,AAV46.6/hu.29,AAV128.1/hu.43,真型AAV(ttAAV),UPENN AAV 10,日本AAV 10血清型,AAV CBr-7.1,AAV CBr-7.10,AAV CBr-7.2,AAV CBr-7.3,AAV CBr-7.4,AAV CBr-7.5,AAV CBr-7.7,AAV CBr-7.8,AAV CBr-B7.3,AAV CBr-B7.4,AAV CBr-E1,AAV CBr-E2,AAV CBr-E3,AAV CBr-E4,AAV CBr-E5,AAV CBr-e5,AAV CBr-E6,AAV CBr-E7,AAV CBr-E8,AAV CHt-1,AAV CHt-2,AAV CHt-3,AAV CHt-6.1,AAV CHt-6.10,AAV CHt-6.5,AAV CHt-6.6,AAV CHt-6.7,AAV CHt-6.8,AAV CHt-P1,AAV CHt-P2,AAV CHt-P5,AAV CHt-P6,AAV CHt-P8,AAV CHt-P9,AAV CKd-1,AAV CKd-10,AAV CKd-2,AAV CKd-3,AAV CKd-4,AAV CKd-6,AAV CKd-7,AAV CKd-8,AAV CKd-B1,AAV CKd-B2,AAV CKd-B3,AAV CKd-B4,AAV CKd-B5,AAV CKd-B6,AAV CKd-B7,AAV CKd-B8,AAV CKd-H1,AAV CKd-H2,AAV CKd-H3,AAV CKd-H4,AAV CKd-H5,AAV CKd-H6,AAV CKd-N3,AAV CKd-N4,AAV CKd-N9,AAV CLg-F1,AAV CLg-F2,AAV CLg-F3,AAV CLg-F4,AAV CLg-F5,AAV CLg-F6,AAV CLg-F7,AAV CLg-F8,AAV CLv-1,AAV CLv1-1,AAV Clv1-10,AAV CLv1-2,AAV CLv-12,AAV CLv1-3,AAV CLv-13,AAV CLv1-4,AAV Clv1-7,AAV Clv1-8,AAV Clv1-9,AAV CLv-2,AAV CLv-3,AAV CLv-4,AAV CLv-6,AAV CLv-8,AAV CLv-D1,AAV CLv-D2,AAV CLv-D3,AAV CLv-D4,AAV CLv-D5,AAV CLv-D6,AAV CLv-D7,AAV CLv-D8,AAV CLv-E1,AAV CLv-K1,AAV CLv-K3,AAV CLv-K6,AAV CLv-L4,AAV CLv-L5,AAV CLv-L6,AAV CLv-M1,AAV CLv-M11,AAV CLv-M2,AAV CLv-M5,AAV CLv-M6,AAV CLv-M7,AAV CLv-M8,AAV CLv-M9,AAV CLv-R1,AAV CLv-R2,AAV CLv-R3,AAV CLv-R4,AAV CLv-R5,AAV CLv-R6,AAV CLv-R7,AAV CLv-R8,AAV CLv-R9,AAV CSp-1,AAV CSp-10,AAV CSp-11,AAV CSp-2,AAV CSp-3,AAV CSp-4,AAV CSp-6,AAV CSp-7,AAV CSp-8,AAV CSp-8.10,AAV CSp-8.2,AAV CSp-8.4,AAV CSp-8.5,AAV CSp-8.6,AAV CSp-8.7,AAV CSp-8.8,AAV CSp-8.9,AAV CSp-9,AAV.hu.48R3,AAV.VR-355,AAV3B,AAV4,AAV5,AAVF1/HSC1,AAVF11/HSC11,AAVF12/HSC12,AAVF13/HSC13,AAVF14/HSC14,AAVF15/HSC15,AAVF16/HSC16,AAVF17/HSC17,AAVF2/HSC2,AAVF3/HSC3,AAVF4/HSC4,AAVF5/HSC5,AAVF6/HSC6,AAVF7/HSC7,AAVF8/HSC8,AAVF9/HSC9,PHP.B(AAV-PHP.B),PHP.A(AAV.PHP.A),G2B-26,G2B-13,TH1.1-32,TH1.1-35,AAVPHP.B2,AAVPHP.B3,AAVPHP.N/PHP.B-DGT,AAVPHP.B-EST,AAVPHP.B-GGT,AAVPHP.B-ATP,AAVPHP.B-ATT-T,AAVPHP.B-DGT-T,AAVPHP.B-GGT-T,AAVPHP.B-SGS,AAVPHP.B-AQP,AAVPHP.B-QQP,AAVPHP.B-SNP(3),AAVPHP.B-SNP,AAVPHP.B-QGT,AAVPHP.B-NQT,AAVPHP.B-

EGS, AAVPHP.B-SGN, AAVPHP.B-EGT, AAVPHP.B-DST, AAVPHP.B-DST, AAVPHP.B-STP, AAVPHP.B-PQP, AAVPHP.B-SQP, AAVPHP.B-QLP, AAVPHP.B-TMP, AAVPHP.B-TTP, AAVPHP.S/G2A12, AAVG2A15/G2A3, AAVG2B4, 和/或AAVG2B5及其变体。

[0341] II. 配制剂和递送

[0342] 药物组合物

[0343] 根据本发明, 可以将AAV颗粒制备为药物组合物。应当理解的是, 此类组合物必须包含一种或多种活性成分, 和最通常地药学上可接受的赋形剂。

[0344] 根据本公开内容的药物组合物中的活性成分(例如, AAV颗粒), 药学上可接受的赋形剂和/或任何其他成分的相对量可以变化, 这取决于身份, 大小和/或接受治疗的受试者的状况, 并且进一步取决于组合物的施用途径。例如, 组合物可包含0.1%至99% (w/w) 的活性成分。举例来说, 该组合物可包含0.1%至100%, 例如0.5至50%, 1-30%, 5-80%, 至少80% (w/w) 的活性成分。

[0345] 在一些实施方案中, 本文所述的AAV颗粒药物组合物可包含至少一种有效负载。作为非限制性实例, 药物组合物可包含具有1、2、3、4或5个有效负载的AAV颗粒。

[0346] 尽管本文提供的药物组合物的描述主要针对适合于对人施用的药物组合物, 但是熟练技术人员应理解, 此类组合物通常适合于对任何其他动物, 例如对非人动物, 例如非人类哺乳动物施用。为了使组合物适合于向各种动物施用, 适合于对人施用的药物组合物的修饰是公知的, 并且普通技术的兽医药理师可以仅通过普通的(若有的话)实验来设计和/或进行此类修饰。预期接受药物组合物施用的受试者包括但不限于人和/或其他灵长类; 哺乳动物, 包括与商业有关的哺乳动物, 例如牛, 猪, 马, 绵羊, 猫, 狗, 小鼠, 大鼠, 鸟类, 包括与商业有关的鸟类, 例如家禽, 鸡, 鸭, 鹅和/或火鸡。

[0347] 在一些实施方案中, 将组合物施用于人, 人类患者或受试者。

[0348] 配制剂

[0349] 本发明的配制剂可以包括但不限于盐水, 脂质体, 脂质纳米颗粒, 聚合物, 肽, 蛋白质, 用AAV颗粒转染的细胞(例如, 用于转移或移植入受试者)及其组合。

[0350] 本文描述的药物组合物的配制剂可以通过药理学领域中已知的或以后开发的任何方法来制备。如本文所用, 术语“药物组合物”是指包含至少一种活性成分和任选地一种或多种药学上可接受的赋形剂的组合物。

[0351] 通常, 此类制备方法包括将活性成分与赋形剂和/或一种或多种其他辅助成分相关联的步骤。如本文所用, 短语“活性成分”通常是指带有编码本发明的多肽的有效负载区的AAV颗粒, 或指由本文所述的AAV颗粒的病毒基因组编码的终产物。

[0352] 本文所述的AAV颗粒和药物组合物的配制剂可以通过药理学领域中已知的或以后开发的任何方法来制备。通常, 此类制备方法包括以下步骤: 使活性成分与赋形剂和/或一种或多种其他辅助成分结合, 然后, 如果必要和/或期望的话, 将产品分成, 成型和/或包装成期望的单剂量或多剂量单位。

[0353] 根据本公开的药物组合物可以作为单个单位剂量和/或作为多个单个单位剂量散装制备, 包装和/或出售。如本文所用, “单位剂量”是指包含预定量的活性成分的药物组合物的离散量。活性成分的量通常等于将施用于受试者的活性成分的剂量和/或该剂量的方便分数, 例如该剂量的一半或三分之一。

[0354] 在一个实施方案中,本发明的AAV颗粒可以在pH为约7.0的具有0.001%的 pluronic 酸(F-68)的PBS中配制。

[0355] 在一些实施方案中,本文所述的AAV制剂可包含足够的AAV颗粒,用于表达至少一种表达的功能性有效负载。作为非限制性实例,AAV颗粒可包含编码1、2、3、4或5个功能性有效负载的病毒基因组。

[0356] 根据本发明,可以配制AAV颗粒用于CNS递送。可以使用穿过脑血屏障的药物。例如,可以将可将分子靶向到脑血屏障内皮的分子的一些细胞穿透肽用于配制(例如 Mathupala, Expert Opin Ther Pat., 2009, 19, 137-140; 其内容通过引用完整并入本文)。

[0357] 赋形剂和稀释剂

[0358] 可以使用一种或多种赋形剂或稀释剂配制本发明的AAV颗粒,以(1)增加稳定性;(2)增加细胞转染或转导;(3)允许持续或延迟释放有效负载;(4)改变生物分布(例如,将病毒颗粒靶向特定的组织或细胞类型);(5)增加编码蛋白的翻译;(6)改变编码蛋白的释放概况和/或(7)允许可调节性表达本发明的有效负载。

[0359] 在一些实施方案中,药学上可接受的赋形剂可以是至少95%,至少96%,至少97%,至少98%,至少99%或100%纯。在一些实施方案中,赋形剂被批准用于人类和兽医用途。在一些实施方案中,赋形剂可以由美国食品和药物管理局批准。在一些实施方案中,赋形剂可以是药物级的。在一些实施方案中,赋形剂可以满足美国药典(USP),欧洲药典(EP),英国药典和/或国际药典的标准。

[0360] 如本文所用的赋形剂包括但不限于任何和所有溶剂,分散介质,稀释剂或其他液体载体,分散或悬浮助剂,表面活性剂,等渗剂,增稠剂或乳化剂,防腐剂等等,以适合所需的特定剂型。用于配制药组合物和各种赋形剂和制备该组合物的技术是本领域已知的(参见 Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 第21版, A.R. Gennaro, Lippincott, Williams & Wilkins, Baltimore, MD, 2006; 其通过引用完整并入本文)。可以考虑在本公开内容的范围内使用常规的赋形剂介质,除非任何常规的赋形剂介质可与物质或其衍生物不相容,例如通过产生任何不希望的生物学作用或在其它情况下以有害的方式与药物组合物的任何其他成分相互作用。

[0361] 示例性稀释剂包括但不限于碳酸钙,碳酸钠,磷酸钙,磷酸二钙,硫酸钙,磷酸氢钙,磷酸钠乳糖,蔗糖,纤维素,微晶纤维素,高岭土,甘露醇,山梨糖醇,肌醇,氯化钠,干淀粉,玉米淀粉,糖粉等,和/或其组合。

[0362] 在一个实施方案中,可以在施用前将AAV颗粒配制在水凝胶中。水凝胶由于其大量的水含量而具有与天然组织相似的柔韧性。

[0363] 在另一个实施方案中,可在施用AAV颗粒制剂之前将水凝胶施用于受试者。作为非限制性实例,水凝胶的施用部位可以在3英寸之内(例如,在AAV颗粒配制剂施用部位的2.9, 2.8, 2.7, 2.6, 2.5, 2.4, 2.3, 2.2, 2.1, 2.0, 1.9, 1.8, 1.7, 1.6, 1.5, 1.4, 1.3, 1.2, 1.1, 1.0, 0.9, 0.8, 0.7, 0.6, 0.5, 0.4, 0.3, 0.2, 0.1或小于0.1英寸内)。

[0364] 非活性成分

[0365] 在一些实施方案中,AAV颗粒制剂可包含至少一种非活性成分。如本文所用,术语“非活性成分”是指不有助于配制剂中包括的药物组合物的活性成分的活性的一种或多种试剂。在一些实施方案中,可用于本发明配制剂中的所有非活性成分、无一非活性成分或一

些非活性成分可通过美国食品和药物管理局 (FDA) 批准。

[0366] 在一个实施方案中, AAV颗粒药物组合物包含至少一种非活性成分, 例如但不限于 1,2,6-己三醇; 1,2-二肉豆蔻酰基-Sn-甘油-3-(磷酸-S-(1-甘油)); 1,2-二肉豆蔻酰基-Sn-甘油-3-磷酸胆碱; 1,2-二油酰基-Sn-甘油-3-磷酸胆碱; 1,2-二棕榈酰基-Sn-甘油-3-(磷酸-Rac-(1-甘油)); 1,2-二硬脂酰基-Sn-甘油-3-(磷酸-Rac-(1-甘油)); 1,2-二硬脂酰基-Sn-甘油-3-磷酸胆碱; 1-O-甲苯基双胍; 2-乙基-1,6-己二醇; 乙酸; 冰醋酸; 乙酸酐; 丙酮; 丙酮亚硫酸氢钠; 乙酰化羊毛脂醇; 乙酰化甘油单酸酯; 乙酰半胱氨酸; 乙酰色氨酸, DL-; 丙烯酸酯共聚物; 丙烯酸-丙烯酸异辛酯共聚物; 丙烯酸粘合剂788; 活性炭; Adcote72A103; 粘合带; 己二酸; Aerotex树脂3730; 丙氨酸; 白蛋白聚集; 白蛋白胶体; 人白蛋白; 醇; 脱水醇; 变性醇; 稀释醇; Alfadex; 海藻酸; 烷基铵磺酸甜菜碱; 烷基芳基磺酸钠; 尿囊素; 烯丙基 α -紫罗兰酮 (Allyl. Alpha.-Ionone); 杏仁油; α -松油醇 (Terpineol); α -生育酚; 乙酸 α -生育酚, D1-; α -生育酚, D1-; 乙酸铝; 氯羟基尿囊素铝 (Aluminum Chlorhydroxy Allantoinate); 氢氧化铝; 氢氧化铝-蔗糖, 水合; 氢氧化铝胶; 氢氧化铝凝胶F 500; 氢氧化铝胶F 5000; 单硬脂酸铝; 氧化铝; 铝聚酯; 硅酸铝; 淀粉辛烯基琥珀酸铝; 硬脂酸铝; 亚乙酸铝; 无水硫酸铝; Amerchol C; Amerchol-Cab; 氨基甲基丙醇; 氨; 氨溶液; 氨溶液, 浓; 乙酸铵; 氢氧化铵; 月桂基硫酸铵; Nonoxynol-4硫酸铵; C-12-C-15线性伯醇乙氧基化物的铵盐; 硫酸铵; Ammonyx; Amphoteric-2; Amphoteric-9; 茴香烯; 无水柠檬酸; 无水葡萄糖; 无水乳糖; 无水柠檬酸三钠; 茴香油; 抗氧化剂Sbn; 消泡剂; 安替比林; 阿帕氟烷; 杏桃仁油Peg-6酯; Aquaphor; 精氨酸; Arlacel; 抗坏血酸; 棕榈酸抗坏血酸酯; 天冬氨酸; 秘鲁香脂 (Balsam Peru); 硫酸钡; 蜂蜡; 蜂蜡, 合成的; Beheneth-10; 膨润土; 苯扎氯铵; 苯磺酸; 苜蓿素氯铵; 苯扎溴铵; 苯甲酸; 苯甲醇; 苯甲酸苄酯; 氯化苄; Betadex; 二聚阿帕西肽 (Bibapcitide); 没食子酸铋 (Bismuth Subgallate); 硼酸; Brocrinat; 丁烷; 丁基醇; 乙烯基甲基醚的丁基酯/马来酸酐共聚物 (125000Mw); 硬脂酸丁酯; 丁基羟基茴香醚; 丁羟甲苯; 丁二醇; 对羟基苯甲酸丁酯; 丁酸; C20-40Pareth-24; 咖啡因; 钙; 碳酸钙; 氯化钙; 葡庚糖酸钙; 氢氧化钙; 乳酸钙; 考布曲钙 (Calcobutrol); 卡地胺钠; 钙塞酸三钠; 卡特利多钙; 加拿大香胶 (Canada Balsam); 辛酸/癸酸甘油三酯; 辛酸/癸酸/硬脂酸甘油三酯; 卡普坦; Captisol; Caramel; 卡波姆1342; 卡波姆1382; 卡波姆934; 卡波姆934p; 卡波姆940; 卡波姆941; 卡波姆980; 卡波姆981; B型卡波姆均聚物 (烯丙基季戊四醇交联); C型卡波姆均聚物 (烯丙基季戊四醇交联); 二氧化碳; 羧基乙烯基共聚物; 羧甲基纤维素; 羧甲基纤维素钠; 羧基聚亚甲基; 角叉菜胶; 角叉菜胶盐; 蓖麻油; 雪松叶油; 纤维素; 纤维素, 微晶的; Cerasynt-Se; 地蜡 (Ceresin); Ceteareth-12; Ceteareth-15; Ceteareth-30; 鲸蜡硬脂醇 (Cetearyl Alcohol)/Ceteareth-20; 鲸蜡硬脂基辛酸酯 (Cetearyl Ethylhexanoate); Ceteth-10; Ceteth-2; Ceteth-20; Ceteth-23; 鲸蜡硬脂醇; 西曲氯铵; 鲸蜡醇; 十六烷基酯蜡 (Cetyl Esters Wax); 棕榈酸十六烷基酯; 氯化十六烷基吡啶; 氯丁醇; 氯丁醇半水合物; 无水氯丁醇; 氯甲酚; 氯二甲酚; 胆固醇; Choleth; Choleth-24; 柠檬酸盐; 柠檬酸; 一水柠檬酸; 含水柠檬酸; 椰酰胺醚硫酸盐 (Cocamide Ether Sulfate); 椰油胺氧化物 (Cocamine Oxide); 可可甜菜碱; 可可二乙醇酰胺; 可可单乙醇酰胺; 可可脂; 可可甘油酯; 椰子油; 氢化椰子油; 氢化椰子油/棕榈仁油甘油酯; 椰油酰基辛酸癸酸酯 (Cocoyl Caprylocaprate); 光亮可乐果 (Cola Nitida) 种子提取物; 胶原; 着色悬浮液; 玉米油; 棉籽油; 膏基 (Cream Base); 肌酸;

肌酸酐;甲酚;交联羧甲基纤维素钠;交聚维酮;硫酸铜;无水硫酸铜;环甲硅油(Cyclomethicone);环甲硅油/二甲硅油共聚多元醇(Copolyol);半胱氨酸;盐酸半胱氨酸;无水半胱氨酸盐酸盐;半胱氨酸D1-;D&C Red No.28;D&C Red No.33;D&C Red No.36;D&C Red No.39;D&C Yellow No.10;达伐吡啶(Dalfampridine);Daubert1-5Pestr(Matte) 164z;癸基甲基亚砷;Dehydag Wax Sx;脱氢乙酸;Dehymuls E;苯甲地那铵;脱氧胆酸;葡聚糖;葡聚糖40;糊精;右旋糖;一水右旋糖;右旋糖溶液;泛影酸(Diatrizoic Acid);双咪唑烷基脲(Diazolidinyl Urea);二氯苄醇;二氯二氟甲烷;二氯四氟乙烷;二乙醇胺;焦碳酸二乙酯;癸二酸二乙酯;二乙二醇单乙基醚;邻苯二甲酸二乙基己酯;氨基乙酸二羟基铝;二异丙醇胺;己二酸二异丙酯;二亚油酸二异丙酯;二甲硅油350;二甲硅油共聚醇;二甲硅油Mdx4-4210;二甲硅油药液360;二甲基异山梨醇;二甲基亚砷;甲基丙烯酸二甲氨基乙酯-甲基丙烯酸丁酯-甲基丙烯酸甲酯共聚物;二甲基双十八烷基铵膨润土;二甲基硅氧烷/甲基乙烯基硅氧烷共聚物;Dinoseb铵盐;二棕榈酰磷脂酰甘油,D1-;二丙二醇;椰油酰两性基二乙酸二钠(Cocoamphodiacetate);月桂基磺基琥珀酸二钠;月桂基磺基琥珀酸二钠;磺基水杨酸二钠;地索苯宁;二乙烯基苯苯乙烯共聚物;Dmdm Hydantoin;二十二醇(Docosanol);多库酯钠;Duro-Tak 280-2516;Duro-Tak 387-2516;Duro-Tak 80-1196;Duro-Tak 87-2070年;Duro-Tak 87-2194;Duro-Tak 87-2287;Duro-Tak 87-2296;Duro-Tak 87-2888;Duro-Tak 87-2979;依地酸钙二钠(Edetate Calcium Disodium);依地酸二钠;无水依地酸二钠;依地酸钠;依地酸;卵磷脂;Entsufon;Entsufon钠;表乳糖;盐酸表四环素;Essence Bouquet9200;乙醇胺盐酸盐;乙酸乙酯;油酸乙酯;乙基纤维素;乙二醇;乙烯乙酸乙烯酯共聚物;乙二胺;乙二胺二盐酸盐;乙烯-丙烯共聚物;乙烯-乙酸乙烯酯共聚物(28%乙酸乙烯酯);乙烯-乙酸乙烯酯共聚物(9%乙酸乙烯酯);羟基硬脂酸乙基己酯;对羟基苯甲酸乙酯;桉叶脑(Eucalyptol);依沙美肟;可食用脂肪;硬脂肪;脂肪酸酯;脂肪酸季戊四醇酯;脂肪酸;脂肪醇柠檬酸盐;脂肪醇;Fd&C Blue No.1;Fd&C Green No.3;Fd&C Red No.4;Fd&C Red No.40;Fd&C Yellow No.10(退市);Fd&C Yellow No.5;Fd&C Yellow No.6;氯化铁;氧化铁;Flavor 89-186;Flavor 89-259;Flavor Df-119;Flavor Df-1530;风味增强剂(Flavor Enhancer);Flavor Fig 827118;Flavor Raspberry Pfc-8407;Flavor Rhodia Pharmaceutical No.Rf 451;氟氯烃;甲醛;甲醛溶液分馏椰子油;Fragrance 3949-5;Fragrance 520a;Fragrance 6.007;Fragrance 91-122;Fragrance 9128-Y;Fragrance 93498g;Fragrance Balsam Pine No.5124;Fragrance Bouquet 10328;Fragrance Chemoderm 6401-B;Fragrance Chemoderm 6411;Fragrance Cream No.73457;Fragrance Cs-28197;Fragrance Felton 066m;Fragrance Firmenich 47373;Fragrance Givaudan Ess 9090/1c;Fragrance H-6540;Fragrance Herbal 10396;Fragrance Nj-1085;Fragrance P O Fl-147;Fragrance Pa 52805;Fragrance Pera Derm D;Fragrance Rbd-9819;Fragrance Shaw Mudge U-7776;Fragrance Tf 044078;Fragrance Ungerer Honeysuckle K 2771;Fragrance Ungerer N5195;果糖;氧化钆;半乳糖; γ 环糊精;明胶;交联明胶;明胶海绵(Gelfoam Sponge);结冷胶(低酰基);Gelva737;龙胆酸;龙胆酸乙醇酰胺;葡庚糖酸钠;葡萄糖酸钠二水合物;葡萄糖酸内酯;葡萄糖醛酸;谷氨酸,D1-;谷胱甘肽;甘油;氢化松香甘油酯;柠檬酸甘油酯;异硬脂酸甘油酯;月桂酸甘油酯;单硬脂酸甘油酯;甘油油酸酯;油酸甘油酯/丙二醇;棕榈酸甘油酯;甘油蓖麻油酸酯;硬脂酸甘油酯;甘油硬

脂酸酯-Laureth-23;甘油硬脂酸酯/聚乙二醇硬脂酸酯;甘油硬脂酸酯/Peg-100硬脂酸酯;甘油硬脂酸酯/Peg-40硬脂酸酯;硬脂酸甘油酯-硬脂酰胺乙基二乙胺;甘油三油酸酯;甘氨酸;盐酸甘氨酸;二硬脂酸乙二醇酯;硬脂酸乙二醇酯;盐酸胍;瓜尔胶;护发素(18n195-1m);庚烷;羟乙基淀粉;己二醇;高密度聚乙烯;组氨酸;人白蛋白微球;透明质酸钠;烃;增塑的烃凝胶;盐酸;稀盐酸;氢化可的松;水凝胶聚合物;过氧化氢;氢化蓖麻油;氢化棕榈油;氢化棕榈/棕榈仁油Peg-6酯;氢化聚丁烯635-690;氢氧根离子;羟乙基纤维素;羟乙基哌嗪乙烷磺酸;羟甲基纤维素;羟二十八醇羟基硬脂酸酯(Hydroxyoctacosanyl Hydroxystearate);羟丙基纤维素;羟丙基甲基纤维素2906;羟丙基- β -环糊精;羟丙甲纤维素2208(15000Mpa.S);羟丙甲纤维素2910(15000Mpa.S);羟丙甲纤维素;咪脲;碘;碘沙酸;盐酸碘丙胺;爱尔兰苔藓提取物(Irish Moss Extract);异丁烷;Isoceteth-20;异亮氨酸;丙烯酸异辛酯;异丙醇;异硬脂酸异丙酯;肉豆蔻酸异丙酯;肉豆蔻酸异丙酯-肉豆蔻醇;棕榈酸异丙酯;硬脂酸异丙酯;异硬脂酸;异硬脂醇;等渗氯化钠溶液;Jelene;高岭土;Kathon Cg;Kathon Cg II;乳酸盐;乳酸;乳酸,Dl-;乳酸L-;乳糖酸;乳糖;一水乳糖;含水乳糖;Laneth;羊毛脂;羊毛脂醇-矿物油;羊毛脂醇;无水羊毛脂;羊毛脂胆固醇;羊毛脂非离子衍生物;羊毛脂,乙氧基化;氢化羊毛脂;劳拉氯铵;月桂基胺氧化物;Laurdimonium水解动物胶原;Laureth硫酸酯;Laureth-2;Laureth-23;Laureth-4;月桂酸二乙醇酰胺;月桂酸肉豆蔻二乙醇酰胺;月桂酰肌氨酸;乳酸月桂酯;十二烷基硫酸盐;Lavandula Angustifolia Flowering Top;卵磷脂;卵磷脂未漂白;卵磷脂,蛋;氢化卵磷脂;卵磷脂,氢化大豆;卵磷脂,大豆;柠檬油;亮氨酸;乙酰丙酸;利多芬宁;轻质矿物油;轻质矿物油(85Ssu);柠檬烯,(+/-)-;Lipocol Sc-15;赖氨酸;乙酸赖氨酸;一水赖氨酸;硅酸铝镁;硅酸铝镁水合物;氯化镁;硝酸镁;硬脂酸镁;马来酸;甘露醇;Maprofix;甲溴菲宁;医用粘合剂改性S-15;医用 Antiform A-F乳液;甲磺酸二钠;亚甲磷酸;葡甲胺;薄荷脑;间甲酚;偏磷酸;甲磺酸;甲硫氨酸;甲醇;甲基Gluceth-10;甲基Gluceth-20;甲基Gluceth-20半硬脂酸酯(Sesquistearate);甲基葡萄糖半硬脂酸酯;月桂酸甲酯;甲基吡咯烷酮;水杨酸甲酯;硬脂酸甲酯;甲基硼酸;甲基纤维素(4000Mpa.S);甲基纤维素;甲基氯异噻唑啉酮;亚甲蓝;甲基异噻唑啉酮;对羟基苯甲酸甲酯;微晶蜡;矿物油;甘油单和二酯;柠檬酸单硬脂酯;一硫代甘油;多固醇提取物;肉豆蔻醇;乳酸肉豆蔻酯;肉豆蔻基- γ -氯化吡啶鎓(Myristyl-.Gamma.-Picolinium Chloride);N-(氨基甲酰基-甲氧基Peg-40)-1,2-二硬脂酰基-脑磷脂钠;N,N-二甲基乙酰胺;烟酰胺;Nioxime;硝酸;氮;壬醇碘;壬苯醇醚(Nonoxynol)-15;壬苯醇醚-9;诺氟烷(Norflurane);Oatmeal;十八碳烯-1/马来酸共聚物;辛酸;水杨酸辛酯;辛苯昔醇-1;辛苯昔醇-40;辛苯昔醇-9;辛基十二烷醇;辛基酚聚亚甲基;油酸;Oleth-10/Oleth-5;Oleth-2;Oleth-20;油醇;油酸油酯;橄榄油;羟亚甲基二膦酸二钠(Oxidronate Disodium);羟喹;棕榈仁油;Palmitamine Oxide;对羟基苯甲酸酯;石蜡;石蜡,白色柔和;Parfum Creme 45/3;花生油;精制花生油;果胶;Peg 6-32硬脂酸酯/乙二醇硬脂酸酯;Peg植物油;Peg-100硬脂酸酯;Peg-12月桂酸甘油酯;PEG-120硬脂酸甘油酯;Peg-120甲基葡萄糖二油酸酯;Peg-15 Cocamine;Peg-150二硬脂酸酯;Peg-2硬脂酸酯;Peg-20去水山梨糖醇异硬脂酸酯;Peg-22甲醚/十二烷基乙二醇共聚物;Peg-25丙二醇硬脂酸酯;Peg-4二月桂酸酯;Peg-4月桂酸酯;Peg-40蓖麻油;Peg-40去水山梨聚糖二异硬脂酸酯;Peg-45/十二烷基乙二醇共聚物;Peg-5油酸酯;Peg-50硬脂酸酯;Peg-54氢化蓖麻油;Peg-6异硬脂酸酯;Peg-

60蓖麻油;Peg-60氢化蓖麻油;PEG-7甲醚;Peg-75羊毛脂;Peg-8月桂酸酯;Peg-8硬脂酸酯;Pegoxol 7硬脂酸酯;十五内酯;可可酸季戊四醇酯;戊酸五钠;三胺五乙酸钙三钠(Pentetate Calcium Trisodium);戊酸;薄荷素油;Perflutren;Perfume 25677;Perfume Bouquet;Perfume E-1991;Perfume Gd 5604;Perfume Tana 90/42Scba;Perfume W-1952-1;矿脂;矿脂,白色;石油馏分;酚;酚,液化;Phenonip;苯氧乙醇;苯丙氨酸;苯乙醇;乙酸苯汞;硝酸苯汞;磷脂酰甘油,蛋;磷脂;磷脂,鸡蛋;Phospholipon 90g;磷酸;松针油(Pinus Sylvestris);六水合哌嗪;Plastibase-50w;Polacrilin;泊利氯铵;Poloxamer 124;Poloxamer 181;Poloxamer 182;Poloxamer 188;Poloxamer 237;Poloxamer 407;聚(双(P-羧苯氧基)丙烷酐):癸二酸;聚(二甲基硅氧烷/甲基乙烯基硅氧烷/甲基氢硅氧烷)二甲基乙烯基或二甲基羟基或三甲基封端;聚(DL-乳酸-乙醇酸共聚物), (50:50;聚(DL-乳酸-乙醇酸共聚物),乙基酯终止, (50:50;聚丙烯酸(250000Mw);聚丁烯(1400Mw);聚卡波非;聚酯;聚酯多胺共聚物;聚酯Rayon;聚乙二醇1000;聚乙二醇1450;聚乙二醇1500;聚乙二醇1540;聚乙二醇200;聚乙二醇300;聚乙二醇300-1600;聚乙二醇3350;聚乙二醇400;聚乙二醇4000;聚乙二醇540;聚乙二醇600;聚乙二醇6000;聚乙二醇8000;聚乙二醇900;聚乙烯高密度含氧化铁黑(<1%);聚乙烯低密度含硫酸钡(20-24%);聚乙烯T;聚对苯二甲酸乙酯;Polyglactin;聚甘油3油酸酯;聚甘油4油酸酯;聚甲基丙烯酸羟乙酯;聚异丁烯;聚异丁烯(1100000Mw);聚异丁烯(35000Mw);聚异丁烯178-236;聚异丁烯24 1-294;聚异丁烯35-39;聚异丁烯低分子量;聚异丁烯中等分子量;聚异丁烯/聚丁烯粘合剂;聚丙交酯;多元醇;聚氧乙烯-聚氧丙烯1800;聚氧乙烯醇;聚氧乙烯脂肪酸酯;聚氧乙烯丙烯;Polyoxyl 20十八硬脂基醚;Polyoxyl 35蓖麻油;Polyoxyl 40氢化蓖麻油;Polyoxyl 40硬脂酸酯;Polyoxyl400硬脂酸酯;Polyoxyl 6和Polyoxyl 32硬脂酸棕榈酸酯;Polyoxyl聚二硬脂酸酯;Polyoxyl甘油硬脂酸酯;Polyoxyl羊毛脂;Polyoxyl棕榈酸酯;Polyoxyl硬脂酸酯;聚丙烯;丙二醇;聚季铵盐(Polyquaternium)-10;聚季铵盐-7(70/30丙烯酰胺/Dadmac;聚硅氧烷;Polysorbate 20;Polysorbate 40;Polysorbate 60;Polysorbate 65;Polysorbate 80;聚氨酯(Polyurethane);聚乙酸乙烯酯;聚乙烯醇;聚氯乙烯;聚氯乙烯-聚乙酸乙烯酯共聚物;聚乙烯吡啶;罂粟籽油;钾碱;乙酸钾;钾明矾;碳酸氢钾;亚硫酸氢钾;氯化钾;柠檬酸钾;氢氧化钾;焦亚硫酸钾;磷酸氢二钾;磷酸二氢钾;钾皂;山梨酸钾;聚维酮丙烯酸酯共聚物;聚维酮水凝胶;聚维酮K17;聚维酮K25;聚维酮K29/32;聚维酮K30;聚维酮K90;聚维酮K90f;聚维酮/Eicosene共聚物;聚维酮;Ppg-12/Smdi共聚物;Ppg-15硬脂基醚;Ppg-20甲基葡萄糖醚二硬脂酸酯;Ppg-26油酸盐;Product Wat;脯氨酸;Promulgen D;Promulgen G;丙烷;推进剂(Propellant) A-46;没食子酸丙酯;碳酸丙烯酯;丙二醇;丙二醇二乙酸酯;丙二醇二辛酸酯;丙二醇单月桂酸酯;丙二醇单棕榈硬脂酸酯;丙二醇棕榈硬脂酸酯;丙二醇蓖麻油酸酯;丙二醇/尿素醛/对羟基苯甲酸甲酯/对羟基苯甲酸丙酯;对羟基苯甲酸丙酯;硫酸鱼精蛋白;蛋白质水解物;Pvm/Ma共聚物;Quaternium-15;Quaternium-15顺式;Quaternium-52;Ra-2397;Ra-3011;糖精;糖精钠;糖精无水钠;红花油;Sd醇3a;Sd醇40;Sd醇40-2;Sd醇40b;Sepineo P 600;丝氨酸;芝麻油;Shea Butter;Silastic牌医用级管;Silastic医用粘合剂,A型硅胶;二氧化硅,牙科;硅;二氧化硅;二氧化硅,胶体;硅酮;硅酮粘合剂4102;硅酮粘合剂4502;硅酮粘合剂Bio-Psa Q7-4201;硅酮粘合剂Bio-Psa Q7-4301;硅乳液;硅酮/聚酯薄膜带;西甲硅油;西甲硅油乳液;Sipon Ls 20np;苏打粉;乙酸

钠;无水乙酸钠;烷基硫酸钠;抗坏血酸钠;苯甲酸钠;碳酸氢钠;硫酸氢钠;亚硫酸氢钠;硼酸钠;十水合硼酸钠;碳酸钠;十水合碳酸钠;一水碳酸钠;鲸蜡硬脂基硫酸钠;氯酸钠;氯化钠;氯化钠注射液;氯化钠注射液,抑菌;胆固醇硫酸钠;柠檬酸钠;椰油酰肌氨酸钠;脱氧胆酸钠;连二亚硫酸钠;十二烷基苯磺酸钠;甲醛次硫酸钠;葡萄糖酸钠;氢氧化钠;次氯酸钠;碘化钠;乳酸钠;乳酸钠,L-;Laureth-2硫酸钠;Laureth-2硫酸钠;Laureth-2硫酸钠;月桂酰肌氨酸钠;月桂基硫酸钠;月桂基磺基乙酸钠;焦亚硫酸钠;硝酸钠;磷酸钠;二水合磷酸钠;磷酸氢二钠;磷酸氢二钠无水;磷酸氢二钠,二水合物;磷酸氢二钠,十二水合物;磷酸氢二钠,七水合物;磷酸二氢钠,无水磷酸二氢钠;磷酸二氢钠,二水合物;磷酸二氢钠,一水合物;聚丙烯酸钠(2500000Mw);焦磷酸钠;吡咯烷酮羧酸钠;羟甲基淀粉钠(Sodium Starch Glycolate);六水合琥珀酸钠;硫酸钠;无水硫酸钠;无水亚硫酸钠;十水合硫酸钠;亚硫酸钠;磺基琥珀酸化十一烯单烷醇酰胺钠(Sodium Sulfosuccinated Undecylenic Monoalkylolamide);酒石酸钠;硫代乙醇酸钠;硫代马来酸钠;硫代硫酸钠;无水硫代硫酸钠;三偏磷酸钠;二甲苯磺酸钠;Somay 44;山梨酸;脱水山梨聚糖;脱水山梨糖醇异硬脂酸酯;脱水山梨酸单月桂酸酯;脱水山梨醇单油酸酯;脱水山梨糖单棕榈酸酯;脱水山梨糖醇单硬脂酸酯;山梨醇倍半油酸酯;脱水山梨酸三油酸酯;山梨酸三硬脂酸酯;山梨醇;山梨醇溶液;大豆粉;豆油;荷兰薄荷油(Spearmint Oil);鲸蜡;角鲨烷;稳定的氧氯配合物(Oxychloro Complex);2-乙基己酸亚锡;氯化亚锡;无水氯化亚锡;氟化亚锡;酒石酸亚锡;淀粉;淀粉1500,已预胶化;玉米淀粉;司拉氯铵(Stearalkonium Chloride);司拉氯铵水辉石/碳酸丙烯酯;硬脂酰胺基乙基二乙胺;Steareth-10;Steareth-100;Steareth-2;Steareth-20;Steareth-21;Steareth-40;硬脂酸;硬脂酸二乙醇酰胺;硬脂氧基三甲基硅烷;硬脂基三甲基铵(Steartrimonium)水解动物胶原;硬脂醇;吸入无菌水;苯乙烯/异戊二烯/苯乙烯嵌段共聚物;琥珀酸;琥珀酸;三氯蔗糖;蔗糖;蔗糖二硬脂酸酯;蔗糖聚酯;磺胺醋酐钠;磺丁基醚 β -环糊精;二氧化硫;硫酸;亚硫酸;Surfactol Qs;塔格糖,D-;滑石;Tall油;牛油甘油酯;酒石酸;酒石酸,Dl-;Tenox;Tenox-2;叔丁基醇;叔丁基过氧化氢;叔丁基氢醌;四(2-甲氧基异丁基异氰化物)铜(I)四氟硼酸酯;四丙基原硅酸盐;Tetrofosmin;茶碱;硫柳汞;苏氨酸;百里酚;锡;二氧化钛;生育酚;托可索仑;全胃肠外营养,脂乳剂;三醋汀;甘油三辛酸酯;三氯一氟甲烷;Trideceth-10;三乙醇胺硫酸月桂酯;三氟乙酸;甘油三酯,中链;三羟基硬脂;Trilane-4磷酸盐;Trilaureth-4磷酸盐;柠檬酸三钠二水合物;Hedta三钠;Triton 720;Triton X-200;三乙醇胺;曲金刚胺;氨丁三醇(TRIS);色氨酸;泰洛沙泊;酪氨酸;十一烯酸;Union 76Amsco-Res 6038;尿素;缬氨酸;植物油;氢化植物油甘油酯;氢化植物油;Versetamide;Viscarin;粘胶/棉;维生素E;蜡,乳化;Wecobee Fs;白地蜡(White Ceresin Wax);白蜡;黄原胶;锌;乙酸锌;碳酸锌;氯化锌;和氧化锌。

[0367] 本文公开的AAV颗粒的药物组合物制剂可包含阳离子或阴离子。在一个实施方案中,制剂包含金属阳离子,例如但不限于 Zn^{2+} 、 Ca^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Mn^{2+} 、 Mg^{+} 及其组合。作为非限制性实例,制剂可包括具有金属阳离子的聚合物和络合物(参见例如美国专利号6,265,389和6,555,525,其各自通过引用完整并入本文)。

[0368] 本发明的制剂还可以包括一种或多种药学上可接受的盐。如本文所用,“药学上可接受的盐”是指所公开化合物的衍生物,其中通过将现有的酸或碱部分转化为其盐形式(例如,通过使游离碱基团与合适的有机酸反应)来修饰母体化合物。药学上可接受的盐的实例

包括但不限于碱性残基如胺的无机或有机酸盐;酸性残基的碱金属或有机盐,例如羧酸;等等。代表性的酸加成盐包括乙酸盐,乙酸,己二酸盐,藻酸盐,抗坏血酸盐,天冬氨酸盐,苯磺酸盐,苯磺酸盐,苯甲酸盐,硫酸氢盐,硼酸盐,丁酸盐,樟脑酸盐,樟脑磺酸盐,柠檬酸盐,环戊烷丙酸盐,二葡萄糖酸盐,十二烷基硫酸盐,乙磺酸盐,延胡索酸,葡庚糖酸盐,甘油磷酸盐,半硫酸盐,庚糖酸盐,己酸盐,氢溴酸盐,盐酸盐,氢碘酸盐,2-羟基-乙磺酸盐,乳糖醛酸盐,乳酸盐,月桂酸盐,月桂基硫酸盐,苹果酸盐,马来酸盐,丙二酸盐,甲磺酸盐,2-萘磺酸盐,烟酸盐,硝酸盐,油酸盐,草酸盐,棕榈酸盐,扑酸盐,果胶酸盐,过硫酸盐,3-苯基丙酸盐,磷酸盐,苦味酸盐,新戊酸酯,丙酸盐,硬脂酸盐,琥珀酸盐,硫酸盐,酒石酸盐,硫氰酸盐,甲苯磺酸盐,十一酸盐,戊酸盐等。代表性的碱金属或碱土金属盐包括钠,锂,钾,钙,镁等,以及无毒铵,季铵和胺阳离子,包括但不限于铵,四甲基铵,四乙铵,甲胺,二甲胺,三甲胺,三乙胺,乙胺等。本公开的药学上可接受的盐包括例如由无毒的无机或有机酸形成的母体化合物的常规无毒的盐。

[0369] 本公开的药学上可接受的盐可以通过常规化学方法由含有碱性或酸性部分的母体化合物合成。通常,可以通过在水中或在有机溶剂中,或在两者的混合物中使这些化合物的游离酸或碱形式与化学计算量的合适的碱或酸反应来制备这些盐;通常,非水介质如醚,乙酸乙酯,乙醇,异丙醇或乙腈是优选的。合适的盐的列表参见Remington's Pharmaceutical Sciences,第17版,Mack Publishing Company,Easton,Pa.,1985,第1418页,Pharmaceutical Salts:Properties,Selection,and Use,P.H.Stahl and C.G.Wermuth(编),Wiley-VCH,2008和Berge et al.,Journal of Pharmaceutical Science,66,1-19(1977);其每一个的内容通过引用完整并入本文。

[0370] 如本文所用,术语“药学上可接受的溶剂化物”是指本发明的化合物,其中合适的溶剂的分子被掺入晶格中。合适的溶剂在所施用的剂量下是生理上可耐受的。溶剂化物可通过从包含有机溶剂,水或其混合物的溶液中结晶,重结晶或沉淀来制备。合适溶剂的例子是乙醇,水(例如一水,二水和三水合物),N-甲基吡咯烷酮(NMP),二甲亚砜(DMSO),N,N'-二甲基甲酰胺(DMF),N,N'-二甲基乙酰胺(DMAC),1,3-二甲基-2-咪唑啉酮(DMEU),1,3-二甲基-3,4,5,6-四氢-2-(1H)-嘧啶酮(DMPU),乙腈(ACN),丙二醇,乙酸乙酯,苯甲醇,2-吡咯烷酮,苯甲酸苄酯等。当水为溶剂时,溶剂化物称为“水合物”。

[0371] III. 施用和给药

[0372] 施用

[0373] 在一个实施方案中,可以以治疗有效量将AAV颗粒施用于受试者(例如,施用于受试者的CNS),以减轻受试者的中枢神经学疾病(例如帕金森氏病)的症状(例如,使用已知的评估方法确定)。可以通过任何导致治疗有效结果的递送途径施用本发明的AAV颗粒。这些包括但不限于肠(进入肠)、肠胃、硬膜外(进入硬脑膜)、口服(通过口)、透皮、脑内(进入脑)、脑室内(进入脑室)、表皮(应用于皮肤)、皮内(进入皮肤自身)、皮下(在皮肤下)、鼻施用(通过鼻)、静脉内(进入静脉)、静脉内推注、静脉内滴注、动脉内(进入动脉)、肌肉内(进入肌肉)、心脏内(进入心脏)、骨内输注(进入骨髓)、鞘内(进入椎管)、实质内(进入脑组织)、腹膜内(输注或注射入腹膜)、膀胱内输注、玻璃体内(通过眼睛)、海绵窦内注射(进入病理腔)、腔内注射(进入阴茎底部)、阴道内施用、子宫内、羊膜外施用、经皮(扩散通过完整的皮肤、用于系统性分布)、透粘膜(扩散通过粘膜)、经阴道、吹入(嗅吸)、舌下、唇下、灌肠、

滴眼液(到结膜上)或在滴耳液中、耳(在耳中或者通过耳)、含服(指向颊)、结膜、皮肤、牙(到一个或多个齿)、电渗、宫颈内、窦内、气管内、体外、血液透析、浸润、间质、腹腔内、羊膜内、关节内、胆道内、支气管内、囊内(intrabursal)、软骨内(软骨内)、尾内(马尾内)、脑池内(在小脑延髓池(cisterna magna cerebellomedullaris)内)、角膜内(在角膜内)、牙冠内、冠状动脉内(在冠状动脉内)、海绵体内(intracorporus cavernosum)(在阴茎海绵体的可扩张空间内)、椎间盘内(椎间盘内)、导管内(腺管内)、十二指肠内(在十二指肠内)、硬膜内(在硬膜内或硬膜下)、表皮内(到表皮)、食道内(到食道)、胃内(在胃内)、牙龈内(在牙龈内)、回肠内(在小肠远端内)、病变内(在局部病变内或直接引入局部病变)、腔内(在管腔内)、淋巴内(在淋巴内)、髓内(在骨的骨髓腔内)、脑膜内(在脑膜内)、心肌内(在心肌内)、眼内(在眼内)、卵巢内(在卵巢内)、心包内(在心包内)、胸膜内(在胸膜内)、前列腺内(在前列腺内)、肺内(肺或其支气管内)、窦内(鼻或眼窝窦内)、脊髓内(在椎骨内)、滑膜内(在关节的滑膜腔内)、腱内(在肌腱内)、睾丸内(在睾丸内)、鞘内(在脑脊髓轴的任何水平的脑脊液内)、胸腔内(在胸腔内)、小管内(器官小管内)、肿瘤内(在肿瘤内)、鼓膜内(在aurus media内)、血管内(一个或多个血管内)、心室内(在心室内)、离子电渗疗法(通过电流、其中可溶性盐离子迁移到身体组织中)、冲洗(以浸泡或冲洗开放性伤口或体腔)、喉(直接在喉上)、鼻胃(通过鼻子并进入胃)、闭塞包扎技术(局部途径施用、然后用封闭该区域的敷料覆盖)、眼科(到外眼)、口咽(直接到口和咽)、肠胃外、经皮、关节周、硬膜外、神经周、牙周、直肠、呼吸(通过口或鼻吸入在呼吸道内、用于局部或系统性作用)、球后(在脑桥后或眼球后)、软组织、蛛网膜下腔、结膜下、粘膜下、局部、经胎盘(通过或穿过胎盘)、经气管(通过气管壁)、经鼓膜(transtympanic)(跨鼓膜或通过鼓膜腔)、输尿管(到输尿管)、输尿管(到尿道)、阴道、骶管阻滞、诊断、神经阻滞、胆道灌注、心脏灌注、光分离置换法(photopheresis)和脊柱。

[0374] 在一些实施方案中,组合物可以以允许它们穿过血脑屏障,血管屏障或其他上皮屏障的方式施用。可以以任何合适的形式,以液体溶液或悬浮液的形式,以适合于液体溶液或在液体溶液中的悬浮液的固体形式施用本发明的AAV颗粒。可以将AAV颗粒与任何适当的和药学上可接受的赋形剂一起配制。

[0375] 在一个实施方案中,可以通过单途径施用将本发明的AAV颗粒递送至受试者。

[0376] 在一个实施方案中,可以通过多部位施用途径递送至受试者。可以在2、3、4、5或超过5个部位处对受试者施用本发明的AAV颗粒。

[0377] 在一个实施方案中,可以使用推注输注对受试者施用本发明的AAV颗粒。

[0378] 在一个实施方案中,可以在几分钟,几小时或几天的时间段内使用持续递送对受试者施用本发明的AAV颗粒。输注速率可以随受试者,分布,制剂或其他递送参数而改变。

[0379] 在一个实施方案中,可以通过肌肉递送途径来递送本发明的AAV颗粒。(参见例如美国专利号6506379;其内容通过引用完整并入本文)。肌肉施用的非限制性实例包括静脉内注射或皮下注射。

[0380] 在一个实施方案中,可以通过口服施用来递送本发明的AAV颗粒。口服施用的非限制性实例包括消化道施用和含服施用。

[0381] 在一个实施方案中,可以通过眼内递送途径来递送本发明的AAV颗粒。眼内施用的非限制性实例包括玻璃体内注射。

[0382] 在一个实施方案中,可以通过鼻内递送途径来递送本发明的AAV颗粒。鼻内递送的非限制性实例包括鼻滴剂或鼻喷雾剂的施用。

[0383] 在一些实施方案中,可以通过外周注射将AAV颗粒施用于受试者。外周注射的非限制性实例包括腹膜内,肌内,静脉内,结膜或关节注射。在本领域中公开了,AAV颗粒的外周施用可以转运至中枢神经系统,例如,转运至运动神经元(例如,美国专利公开号20100240739;和20100130594;其各自的内容通过引用完整并入本文)。

[0384] 在一个实施方案中,可以通过注射到CSF途径中来递送AAV颗粒。递送到CSF途径的非限制性实例包括鞘内和脑室内施用。

[0385] 在一个实施方案中,可以通过系统性递送来递送AAV颗粒。作为非限制性实例,系统性递送可以通过血管内施用。

[0386] 在一个实施方案中,可以通过颅内递送将本发明的AAV颗粒施用于受试者(参见例如美国专利号8,119,611;其内容通过引用完整并入本文)。

[0387] 在一些实施方案中,可以通过注射施用本发明的AAV颗粒。作为非限制性实例,可以通过注射将本发明的AAV颗粒施用于受试者。

[0388] 在一些实施方案中,可以通过肌肉注射施用本发明的AAV颗粒。作为非限制性实例,可以通过肌肉将本发明的AAV颗粒施用来施用于受试者。

[0389] 在一些实施方案中,可以通过肌内施用来施用本发明的AAV颗粒。作为非限制性实例,可以通过肌内施用来将本发明的AAV颗粒施用于受试者。

[0390] 在一个实施方案中,将本发明的AAV颗粒施用于受试者并转导受试者的肌肉。作为非限制性实例,通过肌肉内施用来施用AAV颗粒。

[0391] 在一些实施方案中,可以通过实质内注射施用本发明的AAV颗粒。作为非限制性实例,可以通过实质内施用来将本发明的AAV颗粒施用于受试者。

[0392] 在一些实施方案中,可以通过静脉内施用来施用本发明的AAV颗粒。作为非限制性实例,可以通过静脉内施用来将本发明的AAV颗粒施用于受试者。

[0393] 在一个实施方案中,可以通过静脉内施用来施用本发明的AAV颗粒。

[0394] 在一个实施方案中,可以通过单剂量静脉内施用来施用本发明的AAV颗粒。作为非限制性实例,单剂量静脉内递送可以是一次性治疗。在中枢神经学疾病(例如帕金森氏病)的背景下,单剂量静脉内递送可为患有中枢神经系统(例如帕金森氏病)和/或相关症状的受试者提供持久的缓解。缓解可以持续数分钟,例如但不限于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分钟或超过59分钟;几小时,例如但不限于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、或超过48小时;几天,例如但不限于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、或超过31天;几周,例如但不限于1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、或超过16周;几个月,例如但不限于1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、或超过24个月;几年,例如但不限于1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、或超过15年。

[0395] 在一个实施方案中,可以通过静脉内递送将本发明的AAV颗粒施用于DRG伤害感受

神经元。

[0396] 在一个实施方案中,可以通过单剂量静脉内递送将本发明的AAV颗粒施用于DRG伤害感受神经元。作为非限制性实例,单剂量静脉内递送可以是一次性治疗。在中枢神经学疾病(例如帕金森氏病)的情况下,单剂量静脉内给药可为患有中枢神经学疾病(例如帕金森氏病)和/或相关症状的受试者提供持久的缓解。缓解可以持续数分钟,例如但不限于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分钟或超过59分钟;几小时,例如但不限于1、2、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或超过48小时;几天,例如但不限于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或超过31天;几周,例如但不限于1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16或超过16周;几个月,例如但不限于1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24或超过24个月;几年,例如但不限于1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15或超过15年。

[0397] 在一些实施方案中,可以通过鞘内注射施用本发明的AAV颗粒。作为非限制性实例,可以通过鞘内注射施用本发明的AAV颗粒。

[0398] 在一个实施方案中,可以以治疗有效量将AAV颗粒施用于小脑延髓池以转导脊髓运动神经元和/或星形胶质细胞。作为非限制性实例,可以在鞘内施用AAV颗粒。

[0399] 在一个实施方案中,可以使用鞘内输注以治疗有效量施用AAV颗粒以转导脊髓运动神经元和/或星形胶质细胞。

[0400] 在一些实施方案中,可以通过单剂量鞘内注射施用本发明的AAV颗粒。作为非限制性实例,单剂量鞘内注射可以是一次性治疗。在中枢神经学疾病(例如帕金森氏病)的情况下,单次鞘内注射可以使患有中枢神经学疾病(例如帕金森氏病)和/或相关症状的受试者持久缓解。缓解可以持续数分钟,例如但不限于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分钟或超过59分钟;几小时,例如但不限于1、2、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或超过48小时;几天,例如但不限于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或超过31天;几周,例如但不限于1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16或超过16周;几个月,例如但不限于1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24或超过24个月;几年,例如但不限于1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15或超过15年。

[0401] 在一些实施方案中,可以通过鞘内注射将本发明的AAV颗粒施用于DRG伤害感受神经元。

[0402] 在一些实施方案中,可通过单剂量鞘内注射将本发明的AAV颗粒施用于DRG伤害感受神经元。作为非限制性实例,单剂量鞘内注射可以是一次性治疗。在中枢神经学疾病(例如帕金森氏病)的情况下,单次鞘内注射可以为患有中枢神经学疾病(例如帕金森氏病)和/或相关症状的受试者持久缓解。缓解可以持续数分钟,例如但不限于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分钟或超过59分钟；几小时，例如但不限于1、2、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或超过48小时；几天，例如但不限于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或超过31天；几周，例如但不限于1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16或超过16周；几个月，例如但不限于1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24或超过24个月；几年，例如但不限于1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15或超过15年。

[0403] 在一个实施方案中，通过在C1处鞘内 (IT) 输注施用本文所述的AAV颗粒。输注可以持续1、2、3、4、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15或超过15小时。

[0404] 在一些实施方案中，可以通过实质内注射施用本发明的AAV颗粒。作为非限制性实例，可以通过实质内注射将本发明的AAV颗粒施用于受试者。

[0405] 在一个实施方案中，可以以治疗有效量将AAV颗粒施用于小脑延髓池以转导脊髓运动神经元和/或星形胶质细胞。作为非限制性实例，可以实质内注射施用AAV颗粒。

[0406] 在一些实施方案中，可以通过实质内注射和鞘内注射来施用本发明的AAV颗粒。作为非限制性实例，可以通过实质内注射和鞘内注射来施用本发明的AAV颗粒。

[0407] 在一些实施方案中，可以通过皮下注射施用本发明的AAV颗粒。作为非限制性实例，在一个实施方案中，可以通过皮下注射将本发明的AAV颗粒施用于受试者。

[0408] 在一些实施方案中，可以局部施用本发明的AAV颗粒。作为非限制性实例，可以将本发明的AAV颗粒局部施用于受试者。

[0409] 在一个实施方案中，可以通过直接注射到脑中来递送AAV颗粒。作为非限制性实例，脑传递可以通过纹状体内施用。

[0410] 在一个实施方案中，可以通过纹状体内注射施用本发明的AAV颗粒。

[0411] 在一个实施方案中，可以通过纹状体内注射和本文所述的另一种施用途径来施用本发明的AAV颗粒。

[0412] 在一个实施方案中，可以通过超过一种施用途径来递送AAV颗粒。作为组合施用的非限制性实例，可以通过鞘内和脑室内或通过静脉内和实质内施用来递送AAV颗粒。

[0413] 在一个实施方案中，可以以治疗有效量对CNS施用AAV颗粒，以改善患有中枢神经学疾病(例如帕金森氏病)的受试者的功能和/或存活。作为非限制性实例，可以通过直接输注到纹状体中来施用载体。

[0414] 可以以“治疗有效”的量，即足以减轻和/或预防与疾病有关的至少一种症状，或提供受试者状况改善的量来施用AAV颗粒。

[0415] 在一个实施方案中，导管可以位于脊柱中的超过一个部位，以进行多部位递送。AAV颗粒可以以连续和/或推注输注的方式递送。每个递送部位可以是不同的给药方案，或者相同的给药方案可以用于每个递送部位。作为非限制性实例，递送部位可以在颈和腰区域中。作为另一个非限制性实例，递送部位可以在颈区域中。作为另一个非限制性实例，递送部位可以在腰区域中。

[0416] 在一个实施方案中，可以在递送本文所述的AAV颗粒之前分析受试者的脊柱解剖

结构和病理学。作为非限制性实例,与没有脊柱侧凸的受试者相比,患有脊柱侧凸的受试者可以具有不同的给药方案和/或导管位置。

[0417] 在一个实施方案中,在AAV颗粒的递送期间受试者的脊柱的取向可以垂直于地面。

[0418] 在另一个实施方案中,在递送AAV颗粒期间受试者的脊柱的方向可以与地面水平。

[0419] 在一个实施方案中,在递送AAV颗粒期间,受试者的脊柱与地面相比可以成一定角度。与地面相比,受试者的脊柱角度可以是至少10、20、30、40、50、60、70、80、90、100、110、120、130、140、150或180度。

[0420] 在一个实施方案中,选择递送方法和持续时间以在脊髓中提供广泛的转导。作为非限制性实例,使用鞘内递送沿着脊髓的喙-状长度提供广泛的转导。作为另一个非限制性实例,多部位输注沿着脊髓的喙-状长度提供更均匀的转导。作为又一个非限制性实例,延长的输注沿着脊髓的喙-状长度提供了均匀的转导。

[0421] 在一个实施方案中,通过后(例如,头后部)手术递送对壳进行施用。作为非限制性实例,平均壳核覆盖率在后递送的情况下为50%,且手术时间小于10小时。

[0422] 在一个实施方案中,通过经额(例如,头顶)的外科递送方法对壳核进行施用。作为非限制性实例,平均壳核覆盖率在后递送的情况下小于50%,并且手术时间超过10小时。

[0423] 肠胃外和可注射施用

[0424] 在一些实施方案中,可以肠胃外施用本发明的药物组合物,AAV颗粒。用于口服和肠胃外施用的液体剂型包括但不限于药学上可接受的乳剂,微乳剂,溶液,混悬剂,糖浆剂和/或酞剂。除了活性成分外,液体剂型还可以包含本领域常用的惰性稀释剂,例如水或其他溶剂,增溶剂和乳化剂,例如乙醇,异丙醇,碳酸乙酯,乙酸乙酯,苄醇,苯甲酸苄酯,丙二醇,1,3-丁二醇,二甲基甲酰胺,油类(特别是棉籽,花生,玉米,胚芽,橄榄,蓖麻和芝麻油),甘油,四氢糠醇,聚乙二醇和脱水山梨糖醇的脂肪酸酯,及其混合物。除惰性稀释剂外,口服组合物还可包含佐剂,例如湿润剂,乳化和悬浮剂,甜味剂,调味剂和/或芳香剂。在用于肠胃外施用的某些实施方案中,将组合物与增溶剂例如**CREMOPHOR®**,醇,油,改性油,二醇,聚山梨酯,环糊精,聚合物和/或其组合混合。在其他实施方案中,包括表面活性剂,例如羟丙基纤维素。

[0425] 可根据已知技术,使用合适的分散剂,湿润剂和/或悬浮剂来配制可注射制剂,例如无菌可注射水性或油质悬浮液。无菌注射制剂可以是在无毒的肠胃外可接受的稀释剂和/或溶剂中的无菌注射溶液,悬浮液和/或乳剂,例如在1,3-丁二醇中的溶液。可以使用的可接受的媒介物和溶剂是水,林格溶液,U.S.P.和等渗氯化钠溶液。无菌不挥发性油通常用作溶剂或悬浮介质。为此,可以使用任何温和的不挥发性油,包括合成的甘油单酯或甘油二酯。脂肪酸如油酸可用于注射剂的制备中。

[0426] 例如可以如下对可注射制剂灭菌:通过过滤流过细菌保留滤器,和/或通过掺入无菌固体组合物形式的灭菌剂,其可以在使用前溶解或分散在无菌水或其他无菌可注射介质中。

[0427] 为了延长活性成分的作用,通常需要减慢皮下或肌肉注射液的活性成分的吸收。这可以通过使用水溶性差的结晶或无定形物质的液体悬浮液来实现。活性成分的吸收速率取决于溶解速率,所述溶解速率继而可以取决于晶体尺寸和晶体形式。或者,通过将药物溶解或悬浮在油载体中来实现肠胃外施用的药物形式的延迟吸收。通过在可生物降解的聚合

物,例如聚丙交酯-聚乙交酯中形成药物的微胶囊基质来制备可注射的储库形式。根据药物与聚合物的比率和所用特定聚合物的性质,可以控制药物的释放速率。其他可生物降解的聚合物的实例包括聚(原酸酯)和聚(酸酐)。通过将药物包埋在与身体组织相容的脂质体或微乳剂中来制备可注射储库的制剂。

[0428] 储库施用

[0429] 如本文所述,在一些实施方案中,将本发明的药物组合物,AAV颗粒配制在储库中以延长释放。通常,将特定器官或组织(“靶组织”)靶向用于施用。

[0430] 在本发明的一些方面,本发明的药物组合物,AAV颗粒在空间上保留在靶组织内或靶组织附近。提供了对哺乳动物受试者的靶组织提供药物组合物,AAV颗粒的方法,通过在如下条件下使靶组织(其包含一个或多个靶细胞)与药物组合物,AAV颗粒,所述条件使得它们基本上保留在靶组织中,意味着在靶组织中保留至少10、20、30、40、50、60、70、80、85、90、95、96、97、98、99、99.9、99.99或大于99.99%的组合物。有利地,通过测量进入一个或多个靶细胞的药物组合物,AAV颗粒的量来测定保留。例如,对受试者施用的至少1%、5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、99.9%、99.99%或大于99.99%的药物组合物,AAV颗粒在施用后一段时间细胞内存在。例如,可以使用包含本发明的药物组合物,AAV颗粒和一种或多种转染试剂的水性组合物对哺乳动物受试者进行肌内注射,并且通过测量肌肉细胞中存在的药物组合物,AAV颗粒的量来测定保留。

[0431] 本发明的某些方面涉及对哺乳动物受试者的靶组织提供本发明的药物组合物,AAV颗粒的方法,通过在如下条件下使靶组织(包含一个或多个靶细胞)与药物组合物,AAV颗粒接触,所述条件使得它们基本上保留在此类靶组织中。药物组合物,AAV颗粒包含足够的活性成分,从而在至少一个靶细胞中产生感兴趣的作用。在一些实施方案中,药物组合物,AAV颗粒通常包含一种或多种细胞渗透剂,尽管也考虑了具有或不具有药学上可接受的载体的“裸”制剂(例如没有细胞渗透剂或其他试剂)。

[0432] 递送到中枢神经系统

[0433] 在一个实施方案中,将包含AAV颗粒的药物组合物递送至中枢神经系统(例如实质)的细胞包括至多1mL的输注。在一个实施方案中,将包含AAV颗粒的药物组合物递送至中枢神经系统(例如实质)的细胞可包括输注0.001、0.002、0.003、0.004、0.005、0.010、0.015、0.020、0.025、0.030、0.040、0.050、0.060、0.070、0.080、0.090、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8,或0.9mL。

[0434] 在一个实施方案中,将包含AAV颗粒的药物组合物递送至中枢神经系统(例如实质)的细胞包括约1mL至约120mL之间的输注。在一个实施方案中,将包含AAV颗粒的药物组合物递送至中枢神经系统(例如实质)的细胞可包括输注0.1、1、1.1、1.2、1.3、1.4、1.5、1.6、1.7、1.8、1.9、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、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、或120mL。在一个实施方案中,将AAV颗粒递送至中枢神经系统(例如实质)的细胞包括

输注至少3mL。在一个实施方案中,将AAV颗粒递送至中枢神经系统(例如实质)的细胞包括输注3mL。在一个实施方案中,将AAV颗粒递送至中枢神经系统(例如实质)的细胞包括输注至少10mL。在一个实施方案中,将AAV颗粒递送至中枢神经系统(例如实质)的细胞包括输注10mL。

[0435] 在一个实施方案中,对受试者的中枢神经系统(例如实质)细胞递送的包含AAV颗粒的药物组合物的体积为50uL、100uL、200uL、300uL、400uL、500uL、600uL、700uL、800uL、900uL、1000uL、1100uL、1200uL、1300uL、1400uL、1500uL、1600uL、1700uL、1800uL、1900uL、2000uL或超过2000uL。

[0436] 在一个实施方案中,对受试者脑的两个半球中的区域递送的包含AAV颗粒的药物组合物的体积为50uL、100uL、200uL、300uL、400uL、500uL、600uL、700uL、800uL、900uL、1000uL、1100uL、1200uL、1300uL、1400uL、1500uL、1600uL、1700uL、1800uL、1900uL、2000uL或超过2000uL。作为非限制性实例,对两个半球中的区域递送的体积为200uL。作为另一个非限制性实例,对两个半球中的区域递送的体积为900uL。作为又一个非限制性实例,对两个半球中的区域递送的体积为1800uL。

[0437] 在一个实施方案中,对受试者脑的两个半球中的壳递送的包含AAV颗粒的药物组合物的体积为50uL、100uL、200uL、300uL、400uL、500uL、600uL、700uL、800uL、900uL、1000uL、1100uL、1200uL、1300uL、1400uL、1500uL、1600uL、1700uL、1800uL、1900uL、2000uL或超过2000uL。作为非限制性实例,对两个半球中的壳递送的体积为100uL。作为另一个非限制性实例,对两个半球中的壳递送的体积为200uL。作为非限制性实例,对两个半球中的壳递送的体积为300uL。作为另一个非限制性实例,对两个半球中的壳递送的体积为450uL。作为另一个非限制性实例,对两个半球中的壳递送的体积为900uL。作为另一个非限制性实例,对两个半球中的壳递送的体积为1800uL。

[0438] 在一个实施方案中,对受试者递送的包含AAV颗粒的药物组合物的体积为对每个壳的900uL。

[0439] 在一个实施方案中,对受试者递送的包含AAV颗粒的药物组合物的体积为对每个壳的450uL。

[0440] 在一个实施方案中,可以在一个或多个施用部位,例如1、2、3、4、5或超过5个部位之间分开对受试者递送的总体积。作为非限制性实例,在左壳和右壳的施用之间分开总体积。作为另一个非限制性实例,在对左壳和右壳的每个的两个施用部位之间分开总体积。

[0441] 在一个实施方案中,使用开窗针施用包含AAV颗粒的药物组合物。开窗针的非限制性实例记载于美国专利号8,333,734,7,135,010,7,575,572,7,699,852,4,411,657,6,890,319,6,613,026,6,726,659,6,565,572,6,520,949,6,382,212,5,848,996,5,759,179,5 674,267,5,588,960,5,484,401,5,199,441,5,012,818,4,474,569,3,766,907,3,552,394,每篇的内容通过引用完整并入本文。

[0442] 在一个实施方案中,组合物包含至少一种本文所述的有效负载,并且有效负载是包装在AAV颗粒中的病毒基因组的组分。组合物中包含有效负载的AAV颗粒与没有有效负载的AAV颗粒(在本文中也称为空壳体)的百分比(%)比率可以是0:100、1:99、0:90、15:85、25:75、30:70、50:50、70:30、85:15、90:10、99:1或100:0。作为非限制性实例,包括有效负载的AAV颗粒与空壳体的百分比比率为50:50。作为另一个非限制性实例,包括有效负载的AAV

颗粒与空壳体的百分比比率为70:30。作为另一个非限制性实例,包括有效负载的AAV颗粒与空壳体的百分比比率为85:15。作为另一个非限制性实例,包括有效负载的AAV颗粒与空壳体的百分比比率为100:0。

[0443] 在一个实施方案中,本文所述的组合物包含至少1、5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、51、52、53、54、55、60、65、70、75、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99或大于99%的包括有效负载的AAV颗粒。作为非限制性实例,组合物包含至少50%的包含有效负载的AAV颗粒。作为另一个非限制性实例,组合物包含至少52%的包含有效负载的AAV颗粒。作为另一个非限制性实例,组合物包含至少58%的包含有效负载的AAV颗粒。作为另一个非限制性实例,组合物包含至少70%的包含有效负载的AAV颗粒。作为另一个非限制性实例,组合物包含至少83%的包含有效负载的AAV颗粒。作为另一个非限制性实例,组合物包含至少85%的包含有效负载的AAV颗粒。作为另一个非限制性实例,组合物包含至少99%的包含有效负载的AAV颗粒。作为另一个非限制性实例,组合物包含100%的包含有效负载的AAV颗粒。

[0444] 在一个实施方案中,本文所述的组合物包含1-10%、10-20%、30-40%、50-60%、50-70%、50-80%、50-90%、50-99%、50-100%、60-70%、60-80%、60-90%、60-99%、60-100%、70-80%、70-90%、70-99%、70-100%、80-85%、80-90%、80-95%、80-99%、80-100%、90-95%、90-99%、或90-100%包含有效负载的AAV颗粒。作为非限制性实例,本文所述的组合物包含50-100%的包含有效负载的AAV颗粒。作为另一个非限制性实例,本文所述的组合物包含50-60%的包含有效负载的AAV颗粒。作为另一个非限制性实例,本文所述的组合物包含80-99%的包含有效负载的AAV颗粒。作为另一个非限制性实例,本文所述的组合物包含80-90%的包含有效负载的AAV颗粒。作为非限制性实例,本文所述的组合物包含包含有效负载的80-95%的AAV颗粒。作为非限制性实例,本文所述的组合物包含包含有效负载的80-85%的AAV颗粒。

[0445] 在一个实施方案中,本文所述的组合物包含小于1、5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、51、52、53、54、55、60、65、70、75、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99或100%空颗粒。作为非限制性实例,组合物包含小于50%的空颗粒。作为非限制性实例,组合物包含小于45%的空颗粒。作为非限制性实例,组合物包含小于40%的空颗粒。作为非限制性实例,组合物包含小于35%的空颗粒。作为非限制性实例,组合物包含小于30%的空颗粒。作为非限制性实例,该组合物包含小于25%的空颗粒。作为非限制性实例,组合物包含小于20%的空颗粒。作为非限制性实例,组合物包含小于15%的空颗粒。作为非限制性实例,组合物包含小于10%的空颗粒。作为非限制性实例,组合物包含小于5%的空颗粒。作为非限制性实例,组合物包含小于1%的空颗粒。

[0446] 在本文所述的组合物中包含1-10%、10-20%、30-40%、50-60%、50-70%、50-80%、50-90%、50-99%、50-100%、60-70%、60-80%、60-90%、60-99%、60-100%、70-80%、70-90%、70-99%、70-100%、80-85%、80-90%、80-95%、80-99%、80-100%、90-95%、90-99%、或90-100%的空颗粒。作为非限制性实例,本文所述的组合物包含30-40%的空颗粒。作为另一个非限制性实例,本文所述的组合物包含30-50%的空颗粒。作为另一个非限制性实例,本文所述的组合物包含30-60%的空颗粒。作为另一个非限制性实例,本文所述的组合物包含30-70%的空颗粒。作为非限制性实例,本文所述的组合物包含30-

80%的空颗粒。作为非限制性实例,本文所述的组合物包含30-90%的空颗粒。

[0447] 在一个实施方案中,受试者区域的实质中的分布体积与受试者区域的输注体积的比率可以是0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、1.0、1.1、1.2、1.3、1.4、1.5、1.6、1.7、1.8、1.9、2.0、2.1、2.2、2.3、2.4、2.5、2.6、2.7、2.8、2.9、3.0、3.1、3.2、3.3、3.4、3.5、3.6、3.7、3.8、3.9、4.0、4.1、4.2、4.3、4.4、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或超过6.0。作为非限制性实例,实质中的分布体积与输注体积的比率在尾状核中为1.6。作为非限制性实例,实质中的分布体积与输注体积的比率在壳中为3.1。作为非限制性实例,AAV颗粒在壳中的分布可以是输注的体积的2-3倍。

[0448] 在一个实施方案中,可以使用本文所述的各种方法来评估剂量、施用途和/或施用体积的有效性,例如但不限于PET成像,L-DOPA攻击试验(例如参见Forsayeth et al.2006,Mol.Ther.14(4):571-577),UPDRS评分和患者日记(例如,Hauser日记)。作为非限制性实例,在施用包含AAV颗粒的药物组合物后,受试者可具有减少的运动障碍(dyskinesia)或减少的运动障碍的时段。作为另一个非限制性实例,受试者可具有与帕金森氏病有关的症状减轻,包括受限的活动和运动障碍。作为又一个非限制性实例,受试者可以显示出关闭时间(off time)和运动波动(motor fluctuation)的改善。改善可以为至少10%,至少20%,至少30%,至少40%,至少50%,至少60%,至少70%,至少80%,至少90%或超过90%。改善可以持续数分钟(例如,1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,15,20,25,30,35,40,45,50,55或超过55),几小时(例如1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17,18,19,20,21,22,23或超过24),几天(例如1、2、3、4、5、6或超过7),几周(1、2、3、4、5、6、7或超过7),几个月(1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11或超过11)或几年(例如1、2、3、4、5、6、7、8、9或超过9)。

[0449] 在一个实施方案中,可以使用血管周空间(PVS)的成像来评估用于施用本文所述的AAV颗粒的受试者的选择和/或剂量,施用途和/或施用体积的有效性,所述血管周空间也称为Virchow-Robin空间。当它们穿透脑实质时,PVS围绕着小动脉和小静脉,并充满了脑脊液(CSF)/间质液。PVS在中脑,BG和半卵圆中心中是常见的。尽管不希望受到理论的束缚,但PVS可在代谢产物的正常清除中起作用,并且与恶化的认知和包括帕金森氏病在内的几种疾病相关。PVS在大小上通常是正常的,但在许多疾病状态下它们的大小可增加。Potter et al.(Cerebrovasc Dis.2015Jan;39(4):224-231;其内容通过引用完整并入本文)开发了一种分级方法,在该方法中,他们研究了完整范围的PVS和评定的基底神经节,半卵圆中心和中脑PVS。他们使用了Mac和Lullich等人(J Neurol Neurosurg Psychiatry.2004Nov;75(11):1519-23;其内容通过引用完整并入本文)使用的PVS的频率和范围,并且Potter等对基底神经节和半卵圆中心PVS给予5个评级:0(无),1(1-10),2(11-20),3(21-40)和4(>40),并且对中脑PVS给予2个评级:0(不可见)或1(可见)。Potter等人的评级系统用户指南可以参见:www.sbirc.ed.ac.uk/documents/epvs-rating-scale-user-guide.pdf。

[0450] 在一个实施方案中,可以使用神经成像生物标志物,例如但不限于 $[^{18}\text{F}]$ FDOPA的正电子发射断层摄影术(PET)测量来评估用于施用本文所述的AAV颗粒的受试者的选择和/或剂量,施用途和/或施用体积的有效性。可以使用神经成像生物标志物,例如但不限于 $[^{18}\text{F}]$ FDOPA来鉴定受影响的个体和/或可用于在临床表现发作之前检测黑质纹状体缺陷。此外,基于PET的标准可用于基于受试者的黑质纹状体神经元完整性(例如异常,正常或不确定的黑质纹状体神经元完整性)对受试者进行分类(Rachette et al.Am J Med Genet B

Neuropsychiatr Genet.2006Apr 5;141B(3):245-249;其内容通过引用完整并入本文)。

[0451] 在一个实施方案中,可以施用一定剂量的本文所述的AAV颗粒的受试者可以患有晚期PD并且仍然响应左旋多巴疗法,但是该受试者还经历了医学上难治性运动并发症(例如,严重的运动波动和/或运动障碍,其在左旋多巴和其他多巴胺能疗法期间发生,尽管有药物调整和优化)。受试者可以足够健康以进行神经手术程序,其可以通过本领域已知的方法来确定。作为非限制性实例,受试者可以满足用于深部脑刺激(DBS)的选择标准。受试者可以患有特发性PD,小于69岁龄,对左旋多巴具有明显的响应,具有药物难治性症状(例如,运动波动和/或运动障碍)和/或具有很少的认知功能障碍或没有认知功能障碍。

[0452] 在一个实施方案中,可以施用一定剂量的本文所述的AAV颗粒的受试者也可患有痴呆或认知损伤。

[0453] 在一个实施方案中,可以施用一定剂量的本文所述的AAV颗粒的受试者先前可以已经用相同或相似的治疗剂治疗。在另一个实施方案中,可以用已显示减轻帕金森氏病症状的治疗剂治疗受试者。

[0454] 在一个实施方案中,可以施用一定剂量的本文所述的AAV颗粒的受试者可以无法从标准药物治疗中获得足够的益处。作为非限制性实例,受试者可以尚未响应治疗。作为另一个非限制性实例,尽管治疗,受试者仍可具有残余的失能。

[0455] 在一个实施方案中,可以施用一定剂量的本文所述的AAV颗粒的受试者可以进行测试以评估神经递质分析物的水平,以确定该剂量的有效性。作为非限制性实例,可以分析CSF神经递质,血浆AADC活性和/或尿液VLA。

[0456] 在一个实施方案中,可以对可施用一定剂量的本文所述的AAV颗粒的受试者进行录像或记录,以便在治疗过程期间监测受试者的进程。

[0457] 对壳递送

[0458] 在一个实施方案中,可以将AAV颗粒施用于右壳和/或左壳。施用可以在壳中的一个或多个部位处,例如但不限于2个部位,3个部位,4个部位或超过4个部位。作为非限制性实例,将AAV颗粒递送至左壳的2个部位和右壳的2个部位。

[0459] 在一个实施方案中,将AAV颗粒的制剂施用于受试者提供了受试者的壳(例如左壳和/或右壳)的覆盖。一方面,AAV颗粒的施用可提供对受试者的左壳和/或右壳的至少8%、9%、10%、13%、14%、15%、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%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或超过95%。作为非限制性实例,覆盖为至少20%。作为非限制性实例,覆盖为至少40%。在另一方面,AAV颗粒的施用可提供对受试者的左壳和/或右壳表面积的至少8%、9%、10%、13%、14%、15%、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%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或超过95%覆盖。作为非限制性实例,总覆盖为至少20%。作为非限制性实例,总覆盖为至少40%。在另一方面,AAV颗粒的施用可以提供对受试者的左和/或右壳或受试者的左和/或右核的总表面积的10-40%,20-40%,20-30%,20-35%,20-50%,30-40%,35-40%,30-60%,40-70%,50-80%或60-90%覆盖。

[0460] 在一个实施方案中,将AAV颗粒的制剂施用于受试者提供受试者的后壳(例如,左和/或右后壳)的覆盖。一方面,AAV颗粒的施用可提供对受试者的左和/或右后壳的至少10%、15%、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%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或超过95%。作为非限制性实例,覆盖为至少20%。作为非限制性实例,覆盖为至少40%。在另一方面,AAV颗粒的施用可提供对受试者的左和/或右后壳表面积的至少10%、15%、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%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或超过95%覆盖。作为非限制性实例,总覆盖为至少20%。作为非限制性实例,总覆盖为至少40%。在另一方面,AAV颗粒的施用可以提供对受试者的左和/或右后壳或受试者的左和/或右核的总表面积的10-40%、20-40%、20-30%、20-35%、20-50%、30-40%、35-40%、30-60%、40-70%、50-80%或60-90%覆盖。

[0461] 在一个实施方案中,可以使用导管对每个壳的短期双侧放置来施用本文所述的AAV颗粒。该放置可以使用本领域已知或本文描述的磁共振图像(MRI)引导的立体定向神经手术技术。另外,在制剂中可以使用造影剂诸如但不限于基于钆的造影剂(例如PROHANCE®),以监测和确认制剂的分布。

[0462] 在一个实施方案中,可以在对壳(例如连合后壳)的双侧体立体定向CED辅助步骤输注中对受试者施用AAV颗粒。

[0463] 在一个实施方案中,可以以 4.5×10^{12} 个载体基因组的剂量以每壳900 μ l的体积对受试者施用本发明的AAV颗粒。

[0464] 在一个实施方案中,可以以 1.5×10^{12} 个载体基因组的剂量以每壳900 μ l的体积对受试者施用本发明的AAV颗粒。

[0465] 在一个实施方案中,可以以 7.5×10^{11} 个载体基因组的剂量以每壳450 μ l的体积对受试者施用本发明的AAV颗粒。

[0466] 在一个实施方案中,可以使用后(即,头后部)手术递送方法,通过对至少一个壳进行双侧手术输注来对受试者施用AAV颗粒。双侧后手术输注的数目可以是一次或多次,例如但不限于1次输注,2次输注,3次输注,4次输注或超过4次输注。作为非限制性实例,通过一次后双侧手术输注将AAV颗粒递送到左壳中。作为非限制性实例,通过一次后双侧手术输注将AAV颗粒递送到右壳中。作为非限制性实例,通过两次后双侧手术输注将AAV颗粒递送到左壳中。作为非限制性实例,通过两次后双侧手术输注将AAV颗粒递送到右壳中。作为非限制性实例,通过两次后双侧手术输注将AAV颗粒递送到右和左壳中。作为非限制性实例,通过三次后双侧手术输注将AAV颗粒递送到左壳中。作为非限制性实例,通过三次后双侧手术输注将AAV颗粒递送到右壳中。作为非限制性实例,通过三次后双侧手术输注将AAV颗粒递送到右和左壳中。作为非限制性实例,通过四次后双侧手术输注将AAV颗粒递送到左壳中。作为非限制性实例,通过四次后双侧手术输注将AAV颗粒递送到右壳中。作为非限制性实例,通过四次后双侧手术输注将AAV颗粒递送到右和左壳中。

[0467] 在一个实施方案中,可以使用经额(即,头部的顶部)手术递送方法,通过对至少一

个壳进行双侧手术输注来对受试者施用AAV颗粒。双侧手术输注的数目可以是两次或更多次,例如但不限于2次输注,3次输注,4次输注或超过4次输注。作为非限制性实例,通过2次后双侧手术输注将AAV颗粒递送到左壳中。作为非限制性实例,通过2次后双侧手术输注将AAV颗粒递送到右壳中。作为非限制性实例,通过2次后双侧手术输注将AAV颗粒递送到左和右壳中。

[0468] 递送到SNpc和VTA或STN

[0469] 在一个实施方案中,可以对受试者施用本发明的AAV颗粒,其通过双侧输注安全地递送至黑质致密部(SNpc)和腹侧被盖区(VTA),或者可选地,纹状体内(进入尾状核和壳)或进入丘脑下核(STN)。

[0470] 递送、剂量和方案

[0471] 本发明提供了向有此需要的受试者施用根据本发明的AAV颗粒的方法。本发明的药物、诊断或预防性AAV颗粒和组合物可以使用有效预防,治疗,控制或诊断疾病,病症和/或状况的任何量和任何施用途对受试者施用。所需的确切量因受试者而异,这取决于受试者的种类,年龄和一般状况,疾病的严重程度,特定的组成,其施用模式,其活动模式等。受试者可以是人,哺乳动物或动物。为了易于施用和剂量均匀,通常将根据本发明的组合物配制成单位剂型。然而,应当理解,本发明的组合物的每日总用量可以由主治内科医师在合理的医学判断范围内决定。对于任何特定个体而言,特定的治疗有效,预防有效或适当的诊断剂量水平将取决于多种因素,包括正在治疗的病症和病症的严重程度;所使用的特定有效负载的活性;使用的具体组成;患者的年龄,体重,总体健康,性别和饮食;施用时间,施用途和所用特定AAV颗粒的排泄速率;治疗的持续时间;与使用的特定AAV颗粒组合使用或合用的药物;以及医学领域公知的类似因素。

[0472] 在一个实施方案中,本发明的AAV颗粒的递送由于AAV颗粒的递送而导致最小的严重不良事件(SAE)。

[0473] 在一个实施方案中,可以在多剂量方案中递送AAV颗粒。多剂量方案可以是2、3、4、5、6、7、8、9、10或超过10剂。

[0474] 在一个实施方案中,可以通过多部位施用途将AAV颗粒递送至受试者。可以在2、3、4、5或超过5个部位向受试者施用AAV颗粒。

[0475] 剂量水平

[0476] 在某些实施方案中,根据本发明的AAV颗粒药物组合物可以以足以递送约0.0001mg/kg至约100mg/kg,约0.001mg/kg至约0.05mg/kg,约0.005mg/kg至约0.05mg/kg,约0.001mg/kg至约0.005mg/kg,约0.05mg/kg至约0.5mg/kg,约0.01mg/kg至约50mg/kg,约0.1mg/kg至约40mg/kg,约0.5mg/kg至约30mg/kg,约0.01mg/kg至约10mg/kg,约0.1mg/kg至约10mg/kg或约1mg/kg至约25mg/kg受试者体重/天的剂量水平一天施用一次或多次,以获得所需的治疗,诊断或预防效果。应当理解,本领域技术人员可以将上述给药浓度转化为每kg的vg或病毒基因组,或转化为施用的总病毒基因组。

[0477] 在某些实施方案中,根据本公开的AAV颗粒药物组合物可以以约10至约600 μ l/部位,50至约500 μ l/部位,100至约400 μ l/部位,120至约300 μ l/部位,140至约200 μ l/部位,约160 μ l/部位施用。作为非限制性实例,AAV颗粒可以以50 μ l/部位和/或150 μ l/部位施用。

[0478] 在一个实施方案中,根据本发明的组合物向细胞的递送包括由[VG/小时=mL/小

时*VG/mL]定义的递送速率,其中VG是病毒基因组,VG/mL是组合物浓度,并且mL/小时是延长递送的速率。

[0479] 在一个实施方案中,根据本发明的组合物向细胞的递送可包括每个受试者的总浓度约 1×10^6 VG至约 1×10^{16} VG。在一些实施方案中,递送可包含约 1×10^6 、 2×10^6 、 3×10^6 、 4×10^6 、 5×10^6 、 6×10^6 、 7×10^6 、 8×10^6 、 9×10^6 、 1×10^7 、 2×10^7 、 3×10^7 、 4×10^7 、 5×10^7 、 6×10^7 、 7×10^7 、 8×10^7 、 9×10^7 、 1×10^8 、 2×10^8 、 3×10^8 、 4×10^8 、 5×10^8 、 6×10^8 、 7×10^8 、 8×10^8 、 9×10^8 、 1×10^9 、 2×10^9 、 3×10^9 、 4×10^9 、 5×10^9 、 6×10^9 、 7×10^9 、 8×10^9 、 9×10^9 、 1×10^{10} 、 2×10^{10} 、 3×10^{10} 、 4×10^{10} 、 5×10^{10} 、 6×10^{10} 、 7×10^{10} 、 8×10^{10} 、 9×10^{10} 、 1×10^{11} 、 2×10^{11} 、 2.1×10^{11} 、 2.2×10^{11} 、 2.3×10^{11} 、 2.4×10^{11} 、 2.5×10^{11} 、 2.6×10^{11} 、 2.7×10^{11} 、 2.8×10^{11} 、 2.9×10^{11} 、 3×10^{11} 、 4×10^{11} 、 5×10^{11} 、 6×10^{11} 、 7×10^{11} 、 7.1×10^{11} 、 7.2×10^{11} 、 7.3×10^{11} 、 7.4×10^{11} 、 7.5×10^{11} 、 7.6×10^{11} 、 7.7×10^{11} 、 7.8×10^{11} 、 7.9×10^{11} 、 8×10^{11} 、 9×10^{11} 、 1×10^{12} 、 1.1×10^{12} 、 1.2×10^{12} 、 1.3×10^{12} 、 1.4×10^{12} 、 1.5×10^{12} 、 1.6×10^{12} 、 1.7×10^{12} 、 1.8×10^{12} 、 1.9×10^{12} 、 2×10^{12} 、 3×10^{12} 、 4×10^{12} 、 4.1×10^{12} 、 4.2×10^{12} 、 4.3×10^{12} 、 4.4×10^{12} 、 4.5×10^{12} 、 4.6×10^{12} 、 4.7×10^{12} 、 4.8×10^{12} 、 4.9×10^{12} 、 5×10^{12} 、 6×10^{12} 、 7×10^{12} 、 8×10^{12} 、 8.1×10^{12} 、 8.2×10^{12} 、 8.3×10^{12} 、 8.4×10^{12} 、 8.5×10^{12} 、 8.6×10^{12} 、 8.7×10^{12} 、 8.8×10^{12} 、 8.9×10^{12} 、 9×10^{12} 、 1×10^{13} 、 2×10^{13} 、 3×10^{13} 、 4×10^{13} 、 5×10^{13} 、 6×10^{13} 、 6.7×10^{13} 、 7×10^{13} 、 8×10^{13} 、 9×10^{13} 、 1×10^{14} 、 2×10^{14} 、 3×10^{14} 、 4×10^{14} 、 5×10^{14} 、 6×10^{14} 、 7×10^{14} 、 8×10^{14} 、 9×10^{14} 、 1×10^{15} 、 2×10^{15} 、 3×10^{15} 、 4×10^{15} 、 5×10^{15} 、 6×10^{15} 、 7×10^{15} 、 8×10^{15} 、 9×10^{15} 、或 1×10^{16} VG/受试者的组合物浓度。在一个实施方案中,组合物中的AAV颗粒的浓度是 1×10^{13} VG/受试者。在一个实施方案中,组合物中的AAV颗粒的浓度是 3×10^{12} VG/受试者。作为非限制性实例,对受试者施用的组合物具有浓度约 3×10^{11} VG/受试者。作为非限制性实例,对受试者施用的组合物具有浓度约 9×10^{11} VG/受试者。在一个实施方案中,组合物中的AAV颗粒的浓度是 2.3×10^{11} VG/受试者。在一个实施方案中,组合物中的AAV颗粒的浓度是 7.2×10^{11} VG/受试者。在一个实施方案中,组合物中的AAV颗粒的浓度是 7.5×10^{11} VG/受试者。在一个实施方案中,组合物中的AAV颗粒的浓度是 1.4×10^{12} VG/受试者。在一个实施方案中,组合物中的AAV颗粒的浓度是 4.8×10^{12} VG/受试者。在一个实施方案中,组合物中的AAV颗粒的浓度是 8.8×10^{12} VG/受试者。在一个实施方案中,组合物中的AAV颗粒的浓度是 2.3×10^{12} VG/受试者。

[0480] 在一个实施方案中,将根据本发明的组合物递送到细胞可以包括约 1×10^6 VG/kg—约 1×10^{16} VG/kg的每受试者的总浓度。在一些实施方案中,递送可以包括约 1×10^6 、 2×10^6 、 3×10^6 、 4×10^6 、 5×10^6 、 6×10^6 、 7×10^6 、 8×10^6 、 9×10^6 、 1×10^7 、 2×10^7 、 3×10^7 、 4×10^7 、 5×10^7 、 6×10^7 、 7×10^7 、 8×10^7 、 9×10^7 、 1×10^8 、 2×10^8 、 3×10^8 、 4×10^8 、 5×10^8 、 6×10^8 、 7×10^8 、 8×10^8 、 9×10^8 、 1×10^9 、 2×10^9 、 3×10^9 、 4×10^9 、 5×10^9 、 6×10^9 、 7×10^9 、 8×10^9 、 9×10^9 、 1×10^{10} 、 2×10^{10} 、 3×10^{10} 、 4×10^{10} 、 5×10^{10} 、 6×10^{10} 、 7×10^{10} 、 8×10^{10} 、 9×10^{10} 、 1×10^{11} 、 2×10^{11} 、 2.1×10^{11} 、 2.2×10^{11} 、 2.3×10^{11} 、 2.4×10^{11} 、 2.5×10^{11} 、 2.6×10^{11} 、 2.7×10^{11} 、 2.8×10^{11} 、 2.9×10^{11} 、 3×10^{11} 、 4×10^{11} 、 5×10^{11} 、 6×10^{11} 、 7×10^{11} 、 7.1×10^{11} 、 7.2×10^{11} 、 7.3×10^{11} 、 7.4×10^{11} 、 7.5×10^{11} 、 7.6×10^{11} 、 7.7×10^{11} 、 7.8×10^{11} 、 7.9×10^{11} 、 8×10^{11} 、 9×10^{11} 、 1×10^{12} 、 1.1×10^{12} 、 1.2×10^{12} 、 1.3×10^{12} 、 1.4×10^{12} 、 1.5×10^{12} 、 1.6×10^{12} 、 1.7×10^{12} 、 1.8×10^{12} 、 1.9×10^{12} 、 2×10^{12} 、 3×10^{12} 、 4×10^{12} 、 4.1×10^{12} 、 4.2×10^{12} 、 4.3×10^{12} 、 4.4×10^{12} 、 4.5×10^{12} 、 4.6×10^{12} 、 4.7×10^{12} 、 4.8×10^{12} 、 4.9×10^{12} 、 5×10^{12} 、 6×10^{12} 、 7×10^{12} 、 8×10^{12} 、 8.1×10^{12} 、 8.2×10^{12} 、 8.3×10^{12} 、 8.4×10^{12} 、 8.5×10^{12} 、 8.6×10^{12} 、 8.7×10^{12} 、 8.8×10^{12} 、 8.9×10^{12} 、 9×10^{12} 、 1×10^{13} 、 2×10^{13} 、 3×10^{13} 、 4×10^{13} 、 5×10^{13} 、 6×10^{13} 、 6.7×10^{13} 、 7×10^{13} 、 8×10^{13} 、 9×10^{13} 、 1×10^{14} 、 2×10^{14} 、 3×10^{14} 、

4×10^{14} 、 5×10^{14} 、 6×10^{14} 、 7×10^{14} 、 8×10^{14} 、 9×10^{14} 、 1×10^{15} 、 2×10^{15} 、 3×10^{15} 、 4×10^{15} 、 5×10^{15} 、 6×10^{15} 、 7×10^{15} 、 8×10^{15} 、 9×10^{15} 、或 1×10^{16} VG/kg的组合物浓度。

[0481] 在一个实施方案中,将AAV颗粒递送到中枢神经细胞(例如实质)细胞可以包括约 1×10^6 VG-约 1×10^{16} VG的总剂量。在一些实施方案中,递送可以包括约 1×10^6 、 2×10^6 、 3×10^6 、 4×10^6 、 5×10^6 、 6×10^6 、 7×10^6 、 8×10^6 、 9×10^6 、 1×10^7 、 2×10^7 、 3×10^7 、 4×10^7 、 5×10^7 、 6×10^7 、 7×10^7 、 8×10^7 、 9×10^7 、 1×10^8 、 2×10^8 、 3×10^8 、 4×10^8 、 5×10^8 、 6×10^8 、 7×10^8 、 8×10^8 、 9×10^8 、 1×10^9 、 2×10^9 、 3×10^9 、 4×10^9 、 5×10^9 、 6×10^9 、 7×10^9 、 8×10^9 、 9×10^9 、 1×10^{10} 、 1.9×10^{10} 、 2×10^{10} 、 3×10^{10} 、 3.73×10^{10} 、 4×10^{10} 、 5×10^{10} 、 6×10^{10} 、 7×10^{10} 、 8×10^{10} 、 9×10^{10} 、 1×10^{11} 、 2×10^{11} 、 2.5×10^{11} 、 3×10^{11} 、 4×10^{11} 、 5×10^{11} 、 6×10^{11} 、 7×10^{11} 、 8×10^{11} 、 9×10^{11} 、 1×10^{12} 、 2×10^{12} 、 3×10^{12} 、 4×10^{12} 、 5×10^{12} 、 6×10^{12} 、 7×10^{12} 、 8×10^{12} 、 9×10^{12} 、 1×10^{13} 、 2×10^{13} 、 3×10^{13} 、 4×10^{13} 、 5×10^{13} 、 6×10^{13} 、 7×10^{13} 、 8×10^{13} 、 9×10^{13} 、 1×10^{14} 、 2×10^{14} 、 3×10^{14} 、 4×10^{14} 、 5×10^{14} 、 6×10^{14} 、 7×10^{14} 、 8×10^{14} 、 9×10^{14} 、 1×10^{15} 、 2×10^{15} 、 3×10^{15} 、 4×10^{15} 、 5×10^{15} 、 6×10^{15} 、 7×10^{15} 、 8×10^{15} 、 9×10^{15} 、或 1×10^{16} VG的总剂量。作为非限制性实例,总剂量是 1×10^{13} VG。作为另一个非限制性实例,总剂量是 2.1×10^{12} VG。

[0482] 在一个实施方案中,每剂施用约 10^5 至 10^6 病毒基因组(单位)。

[0483] 在一个实施方案中,将根据本发明的组合物递送到细胞可以包括约 1×10^6 VG/mL-约 1×10^{16} VG/mL的总剂量。在一些实施方案中,递送可以包括约 1×10^6 、 2×10^6 、 3×10^6 、 4×10^6 、 5×10^6 、 6×10^6 、 7×10^6 、 8×10^6 、 9×10^6 、 1×10^7 、 2×10^7 、 3×10^7 、 4×10^7 、 5×10^7 、 6×10^7 、 7×10^7 、 8×10^7 、 9×10^7 、 1×10^8 、 2×10^8 、 3×10^8 、 4×10^8 、 5×10^8 、 6×10^8 、 7×10^8 、 8×10^8 、 9×10^8 、 1×10^9 、 2×10^9 、 3×10^9 、 4×10^9 、 5×10^9 、 6×10^9 、 7×10^9 、 8×10^9 、 9×10^9 、 1×10^{10} 、 2×10^{10} 、 3×10^{10} 、 4×10^{10} 、 5×10^{10} 、 6×10^{10} 、 7×10^{10} 、 8×10^{10} 、 9×10^{10} 、 1×10^{11} 、 2×10^{11} 、 3×10^{11} 、 4×10^{11} 、 5×10^{11} 、 6×10^{11} 、 7×10^{11} 、 8×10^{11} 、 9×10^{11} 、 1×10^{12} 、 1.1×10^{12} 、 1.2×10^{12} 、 1.3×10^{12} 、 1.4×10^{12} 、 1.5×10^{12} 、 1.6×10^{12} 、 1.7×10^{12} 、 1.8×10^{12} 、 1.9×10^{12} 、 2×10^{12} 、 2.1×10^{12} 、 2.2×10^{12} 、 2.3×10^{12} 、 2.4×10^{12} 、 2.5×10^{12} 、 2.6×10^{12} 、 2.7×10^{12} 、 2.8×10^{12} 、 2.9×10^{12} 、 3×10^{12} 、 3.1×10^{12} 、 3.2×10^{12} 、 3.3×10^{12} 、 3.4×10^{12} 、 3.5×10^{12} 、 3.6×10^{12} 、 3.7×10^{12} 、 3.8×10^{12} 、 3.9×10^{12} 、 4×10^{12} 、 4.1×10^{12} 、 4.2×10^{12} 、 4.3×10^{12} 、 4.4×10^{12} 、 4.5×10^{12} 、 4.6×10^{12} 、 4.7×10^{12} 、 4.8×10^{12} 、 4.9×10^{12} 、 5×10^{12} 、 6×10^{12} 、 7×10^{12} 、 8×10^{12} 、 9×10^{12} 、 1×10^{13} 、 2×10^{13} 、 3×10^{13} 、 4×10^{13} 、 5×10^{13} 、 6×10^{13} 、 6.7×10^{13} 、 7×10^{13} 、 8×10^{13} 、 9×10^{13} 、 1×10^{14} 、 2×10^{14} 、 3×10^{14} 、 4×10^{14} 、 5×10^{14} 、 6×10^{14} 、 7×10^{14} 、 8×10^{14} 、 9×10^{14} 、 1×10^{15} 、 2×10^{15} 、 3×10^{15} 、 4×10^{15} 、 5×10^{15} 、 6×10^{15} 、 7×10^{15} 、 8×10^{15} 、 9×10^{15} 、或 1×10^{16} VG/mL的组合物浓度。在一个实施方案中,组合物中的AAV颗粒的浓度是 1×10^{13} VG/mL。在一个实施方案中,组合物中的AAV颗粒的浓度是 3×10^{12} VG/mL。在一个实施方案中,组合物中的AAV颗粒的浓度是 1.1×10^{12} VG/mL。在一个实施方案中,组合物中的AAV颗粒的浓度是 3.7×10^{12} VG/mL。在一个实施方案中,组合物中的AAV颗粒的浓度是 8×10^{11} VG/mL。在一个实施方案中,组合物中的AAV颗粒的浓度是 2.6×10^{12} VG/mL。在一个实施方案中,组合物中的AAV颗粒的浓度是 4.9×10^{12} VG/mL。在一个实施方案中,组合物中的AAV颗粒的浓度是 0.8×10^{12} VG/mL。在一个实施方案中,组合物中的AAV颗粒的浓度是 0.83×10^{12} VG/mL。在一个实施方案中,组合物中的AAV颗粒的浓度是最大终剂量,其可以在小瓶中容纳。

[0484] 在一个实施方案中,将AAV颗粒递送到中枢神经细胞(例如实质)细胞可以包括约 1×10^6 VG/mL-约 1×10^{16} VG/mL的组合物浓度。在一些实施方案中,递送可以包括约 1×10^6 、 2×10^6 、 3×10^6 、 4×10^6 、 5×10^6 、 6×10^6 、 7×10^6 、 8×10^6 、 9×10^6 、 1×10^7 、 2×10^7 、 3×10^7 、 4×10^7 、 5×10^7 、

6×10^7 、 7×10^7 、 8×10^7 、 9×10^7 、 1×10^8 、 2×10^8 、 3×10^8 、 4×10^8 、 5×10^8 、 6×10^8 、 7×10^8 、 8×10^8 、 9×10^8 、 1×10^9 、 2×10^9 、 3×10^9 、 4×10^9 、 5×10^9 、 6×10^9 、 7×10^9 、 8×10^9 、 9×10^9 、 1×10^{10} 、 2×10^{10} 、 3×10^{10} 、 4×10^{10} 、 5×10^{10} 、 6×10^{10} 、 7×10^{10} 、 8×10^{10} 、 9×10^{10} 、 1×10^{11} 、 2×10^{11} 、 3×10^{11} 、 4×10^{11} 、 5×10^{11} 、 6×10^{11} 、 7×10^{11} 、 8×10^{11} 、 9×10^{11} 、 1×10^{12} 、 2×10^{12} 、 3×10^{12} 、 4×10^{12} 、 5×10^{12} 、 6×10^{12} 、 7×10^{12} 、 8×10^{12} 、 9×10^{12} 、 1×10^{13} 、 2×10^{13} 、 3×10^{13} 、 4×10^{13} 、 5×10^{13} 、 6×10^{13} 、 7×10^{13} 、 8×10^{13} 、 9×10^{13} 、 1×10^{14} 、 2×10^{14} 、 3×10^{14} 、 4×10^{14} 、 5×10^{14} 、 6×10^{14} 、 7×10^{14} 、 8×10^{14} 、 9×10^{14} 、 1×10^{15} 、 2×10^{15} 、 3×10^{15} 、 4×10^{15} 、 5×10^{15} 、 6×10^{15} 、 7×10^{15} 、 8×10^{15} 、 9×10^{15} 、或 1×10^{16} VG/mL的组合物浓度。在一个实施方案中，递送包括 1×10^{13} VG/mL的组合物浓度。在一个实施方案中，递送包括 2.1×10^{12} VG/mL的组合物浓度。

[0485] 方案

[0486] 本发明的AAV颗粒的期望剂量可以仅一次、每天三次、每天两次、每天一次、每隔一天、每三天、每周、每两周、每三周或每四周递送。在某些实施方案中，可以使用多次施用(例如，两次、三次、四次、五次、六次、七次、八次、九次、十次、十一次、十二次、十三次、十四次或更多次施用)来递送所需剂量。当采用多次施用时，可以使用分开的给药方案，例如本文所述的那些。如本文所用，“分剂量”是“单一单位剂量”或每日总剂量分成两剂或多剂，例如“单一单位剂量”的两次或多次施用。如本文所用，“单一单位剂量”是以一剂/一次/单一途径/单接触点，即单次施用事件中施用的任何治疗剂的剂量。

[0487] 本发明的AAV颗粒的期望剂量可以作为“脉冲剂量”或作为“连续流”施用。如本文所用，“脉冲剂量”是在一段时间内以设定的频率施用的任何治疗剂的一系列单一单位剂量。如本文所用，“连续流”是在单一途径/单接触点即连续给药事件中连续一段时间连续施用的治疗剂的剂量。每日总剂量(24小时时段内给定或规定的剂量)可以通过这些中任一种方法或以这些方法的组合，或通过适用于药物施用的任何其他方法施用。

[0488] 在一个实施方案中，将本发明的AAV颗粒递送至受试者提供了调节受试者中AADC的活性。调节活性可以是受试者中AADC产生的增加。调节活性可以持续至少1个月、2个月、3个月、4个月、5个月、6个月、7个月、8个月、9个月、10个月、11个月、1年、13个月、14个月、15个月、16个月、17个月、18个月、19个月、20个月、21个月、22个月、23个月、2年、3年、4年、5年、6年、7年、8年、9年、10年或超过10年。

[0489] 在一些实施方案中，可以使用单剂量一次性治疗对受试者施用本发明的AAV颗粒。一次性治疗的剂量可以通过本领域已知和/或本文描述的任何方法来施用。如本文所用，“一次性治疗”是指仅施用一次的组合物。如果需要，可以对受试者施用加强剂量以确保达到适当的功效。可以在一次性治疗后1个月、2个月、3个月、4个月、5个月、6个月、7个月、8个月、9个月、10个月、11个月、12个月、1年、13个月、14个月、15个月、16个月、17个月、18个月、19个月、20个月、21个月、22个月、23个月、24个月、2年、3年、4年、5年、6年、7年、8年、9年、10年或超过10年施用加强剂量。

[0490] 递送方法

[0491] 在一个实施方案中，可以使用美国专利号8,999,948或国际公开号W02014178863(其内容通过引用完整并入本文)中描述的治疗疾病的方法来施用或递送本发明的AAV颗粒或药物组合物。

[0492] 在一个实施方案中，可以使用如美国申请号20150126590(其内容通过引用完整并入本文)中所述的在阿尔茨海默氏病或其他神经变性疾病中递送基因疗法的方法来施用

或递送本发明的AAV颗粒或药物组合物。

[0493] 在一个实施方案中,可以使用如美国专利号6,436,708和8,946,152以及国际公开号W02015168666(其内容通过引用完整并入本文)中所述的递送CNS基因疗法的方法来施用或递送本发明的AAV颗粒或药物组合物。

[0494] 在一个实施方案中,可以使用欧洲专利申请号EP1857552(其内容通过引用完整并入本文)中描述的递送AAV病毒体的方法来施用或递送包含AADC多核苷酸的AAV颗粒。

[0495] 在一个实施方案中,可以使用欧洲专利申请EP2678433(其内容通过引用完整并入本文)中描述的使用AAV颗粒递送蛋白质的方法来施用或递送本发明的AAV颗粒或药物组合物。

[0496] 在一个实施方案中,可以使用美国专利号US 5,858,351(其内容通过引用完整并入本文)中描述的使用AAV颗粒递送DNA分子的方法来施用或递送包含AADC多核苷酸的AAV颗粒。

[0497] 在一个实施方案中,可以使用美国专利号US 6,211,163(其内容通过引用完整并入本文)中描述的将DNA递送到血流中的方法来施用或递送本发明的AAV颗粒或药物组合物。

[0498] 在一个实施方案中,可以使用美国专利号US 7,588,757(其内容通过引用完整并入本文)中描述的将有效负载递送到中枢神经系统的方法来施用或递送本发明的AAV颗粒或药物组合物。

[0499] 在一个实施方案中,可以使用美国专利号US 6,325,998(其内容通过引用完整并入本文)中描述的用于递送AAV病毒体的方法来施用或递送AAV颗粒。

[0500] 在一个实施方案中,可以使用美国专利号US 8,283,151(其内容通过引用完整并入本文)中描述的用于递送有效负载的方法来施用或递送本发明的AAV颗粒或药物组合物。

[0501] 在一个实施方案中,可以使用国际专利公开号W02001089583(其内容通过引用完整并入本文)中描述的使用谷氨酸脱羧酶(GAD)递送载体递送有效负载的方法来施用或递送本发明的AAV颗粒或药物组合物。

[0502] 在一个实施方案中,可以使用国际专利公开号W02012057363(其内容通过引用完整并入本文)中描述的用于将有效负载递送至神经细胞的方法来施用或递送本发明的AAV颗粒或药物组合物。

[0503] 递送到细胞

[0504] 本公开提供了将任何上述AAV颗粒递送至细胞或组织的方法,其包括使细胞或组织与所述AAV颗粒接触或使细胞或组织与包含所述AAV颗粒的制剂接触,或使细胞或组织与任何所述组合物,包括药物组合物接触。将AAV颗粒递送至细胞或组织的方法可以在体外,离体或体内完成。

[0505] 递送到受试者

[0506] 本公开内容另外提供了向受试者(包括哺乳动物受试者)递送任何上述AAV颗粒的方法,包括向受试者施用所述AAV颗粒,或向受试者施用包含所述AAV颗粒的制剂,或向受试者施用任何所述组合物,包括药物组合物。

[0507] 组合

[0508] AAV颗粒可以与一种或多种其他治疗剂,预防剂,研究剂或诊断剂组合使用。

“与……组合”并不意味着必须同时施用和/或配制试剂以便一起递送,尽管这些递送方法在本发明的范围内。组合物可以与一种或多种其他所需的治疗或医学程序同时,在此之前或之后施用。通常,每种药剂将以针对该药剂确定的剂量和/或时间表来施用。在一些实施方案中,本公开内容包括与可改善其生物利用度,减少和/或改变其代谢,抑制其排泄和/或改变其在身体内的分布的药剂组合的药物,预防,研究或诊断组合物的递送。

[0509] 在一个实施方案中,可以将本文所述的AAV颗粒施用于也正在接受左旋多巴治疗的受试者。作为非限制性实例,受试者可对左旋多巴疗法具有阳性响应并且PD的至少一种症状得到减轻。作为另一个非限制性实例,受试者可以对左旋多巴疗法具有响应,其中受试者经历的PD的症状是稳定的。作为又一个非限制性实例,受试者可以对左旋多巴疗法具有阴性响应,其中受试者所经历的PD的症状正在增加。

[0510] 在一个实施方案中,在AAV制品之前对受试者施用的左旋多巴的剂量为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或超过25mg/kg。作为非限制性实例,剂量是3mg/kg。作为另一个非限制性实例,剂量是10mg/kg。作为另一个非限制性实例,剂量是20mg/kg。可以在施用AAV颗粒之前评估受试者对左旋多巴的响应(例如行为响应)。另外,可以在施用AADC多核苷酸后再次对受试者施用左旋多巴(例如AAV颗粒施用后1周、2周、3周、1个月、2个月、3个月、4个月、5个月、6个月、7个月、8个月、9个月、10个月、11个月、1年或超过1年)。可以对行为响应进行重新评估,并将其与初始响应进行比较,以确定AAV颗粒的作用。受试者可以具有1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、99%或100%的行为改善。

[0511] 在一个实施方案中,可以在AAV颗粒施用后多次施用左旋多巴。可以按重复日程表(例如,每5天、每周、每10天、每15天、每30天、每月、每两个月、每3个月、每4个月、每5个月、每6个月、每7个月、8个月、9个月、10个月、11个月或每年)或出现症状时施用左旋多巴。作为非限制性实例,在施用AADC多核苷酸后3年,受试者可以具有要呈AADC免疫反应性的壳的输注区内纹状体神经元的1-10%、5-15%、10-20%、15-30%、20-40%、25-50%、30-50%、40-50%、40-60%、50-70%、50-80%、60-70%、60-75%、60-80%、60-90%、70-80%、70-90%、75-90%、80-90%、90-100%。作为非限制性实例,在施用AAV颗粒后6年,受试者可以具有要呈AADC免疫反应性的壳的输注区内纹状体神经元的1-10%、5-15%、10-20%、15-30%、20-40%、25-50%、30-50%、40-50%、40-60%、50-70%、50-80%、60-70%、60-75%、60-80%、60-90%、70-80%、70-90%、75-90%、80-90%、90-100%。作为非限制性实例,在施用AADC多核苷酸后9年,受试者可以具有要呈AADC免疫反应性的壳的输注区内纹状体神经元的1-10%、5-15%、10-20%、15-30%、20-40%、25-50%、30-50%、40-50%、40-60%、50-70%、50-80%、60-70%、60-75%、60-80%、60-90%、70-80%、70-90%、75-90%、80-90%、90-100%。

[0512] 在一个实施方案中,可以施用本文所述的AAV颗粒的受试者具有对左旋多巴疗法的已记录的响应,但是具有医学上的难治性波动并且被认为是良好的手术候选者。考虑用于递送AAV颗粒需要的手术干预的患者的总体风险与益处比率的治疗PD受试者的内科医生或施用AAV颗粒的内科医生可以确定受试者是否为良好的手术候选者。

[0513] 表达测量

[0514] 可以使用本领域已知的各种方法来确定来自病毒基因组的有效负载的表达,例如但不限于免疫化学(例如,IHC),原位杂交(ISH),酶联免疫吸附测定(ELISA),亲和力ELISA,ELISPOT,流式细胞术,免疫细胞学,表面等离子共振分析,动力学排斥测定法,液相层析-质谱法(LCMS),高效液相层析(HPLC),BCA测定法,免疫电泳,蛋白质印迹,SDS-PAGE,蛋白质免疫沉淀和/或PCR。

[0515] 可以通过生物利用度,治疗窗和/或分布体积中的一种或多种来表征本文所述的AAV颗粒的药物组合物。

[0516] 生物利用度

[0517] AAV颗粒当与如本文所述的递送剂配制成组合物时与缺乏如本文所述的递送剂的组合物相比可以表现出生物利用度的增加。如本文所用,术语“生物利用度”是指对哺乳动物施用的给定量的AAV颗粒或表达的有效负载的系统利用度。可以通过测量曲线下面积(AUC)或以下组合物的最大血清或血浆浓度($C_{\max}$)来评估生物利用度。AUC是曲线下面积的确定,其相对于沿横坐标(X轴)的时间沿纵坐标(Y轴)绘制化合物(例如,AAV颗粒或表达的有效负载)的血清或血浆浓度。通常,特定化合物的AUC可以使用本领域普通技术人员已知的方法进行计算,如G.S.Banker, Modern Pharmaceutics, Drugs and the Pharmaceutical Sciences, v.72, Marcel Dekker, New York, Inc., 1996(其全部内容通过引用并入本文)中手术。

[0518] $C_{\max}$ 值是在将AAV颗粒施用于哺乳动物之后在哺乳动物的血清或血浆中实现的AAV颗粒或表达的有效负载的最大浓度。可以使用本领域普通技术人员已知的方法来测量 $C_{\max}$ 值。如本文所用,短语“增加生物利用度”或“改善药代动力学”指在哺乳动物中以AUC, $C_{\max}$ 或 $C_{\min}$ 测量的第一AAV颗粒或表达的有效负载的系统性可用性在与如本文中所述的递送剂共施用大于不发生此类共施用。在一些实施方案中,生物利用度可增加至少约2%、至少约5%、至少约10%、至少约15%、至少约20%、至少约25%、至少约30%、至少约35%、至少约40%、至少约45%、至少约50%、至少约55%、至少约60%、至少约65%、至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%或约100%。

[0519] 治疗窗

[0520] 如本文所用,“治疗窗”是指具有引起治疗效果的高概率的血浆浓度的范围或作用部位处的治疗活性物质的水平范围。在一些实施方案中,如本文所述的AAV颗粒的治疗窗可增加至少约2%、至少约5%、至少约10%、至少约15%、至少约20%、至少约25%、至少约30%、至少约35%、至少约40%、至少约45%、至少约50%、至少约55%、至少约60%、至少约65%、至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、或约100%。

[0521] 分布体积

[0522] 如本文所用,术语“分布体积”是指在身体内包含与血液或血浆中相同浓度的药物总量所需要的流体体积: V_{dist} 等于身体内的药物量/血液或血浆中药物的浓度。例如,对于10mg剂量和10mg/L的血浆浓度,分布体积将为1升。分布体积反映了药物在血管外组织中的存在程度。大的分布体积反映与血浆蛋白结合相比,化合物结合组织成分的趋势。在临床环境中, V_{dist} 可用于确定达到稳态浓度的负荷剂量。在一些实施方案中,如本文所述的AAV颗粒的分布体积可减少至少约2%,至少约5%,至少约10%,至少约15%,至少约20%,至少约

25%，至少约30%，至少约35%，至少约40%，至少约45%，至少约50%，至少约55%，至少约60%，至少约65%，至少约70%。

[0523] 生物效应

[0524] 在一个实施方案中，可以通过分析动物中的有效负载表达来对递送至动物的AAV颗粒的生物学作用进行分类。可以通过分析从施用本发明的AAV颗粒的哺乳动物收集的生物学样品来确定有效负载表达。例如，由递送至哺乳动物的AAV颗粒编码的蛋白质的50-200pg/ml的蛋白质表达可以视为哺乳动物中蛋白质的治疗有效量。

[0525] IV. 本发明组合物的方法和用途

[0526] CNS疾病

[0527] 本发明的多核苷酸可以用于治疗，预防或改善以异常或不期望的靶物表达为特征的任何疾病或病症。在一个实施方案中，本发明涉及用于治疗帕金森氏病的AAV颗粒。

[0528] 在一些实施方案中，AAV颗粒可以用于治疗，预防或改善以异常或不期望的靶物表达为特征的任何疾病或病症，其中有效负载即AADC被替换为替代有效负载。

[0529] 本公开内容提供了用于治疗包括人受试者在内的哺乳动物受试者中的疾病，病症和/或状况的方法，该方法包括向受试者施用本文所述的AAV颗粒。

[0530] 在一个实施方案中，疾病，病症和/或状况是神经学疾病，病症和/或状况。CNS疾病可以是影响脑的任何部分（包括脑半球，间脑，脑干和小脑）或脊髓的疾病。

[0531] 在一些实施方案中，通过递送作为可调节CNS中基因产物的水平或功能的治疗产物的功能性有效负载，本发明的病毒颗粒可用于治疗神经变性疾病和/或以神经变性疾病，神经肌肉疾病，溶酶体疾病，创伤，骨髓损伤，疼痛（包括神经性疼痛），神经系统癌症，脱髓鞘疾病，神经系统自身免疫性疾病，神经毒性综合征，睡眠病症，遗传性脑疾病和发育CNS病症为特征的疾病或病症。功能性有效负载可以缓解或减轻由有需要的受试者中的基因产物的水平和/或功能异常（例如，蛋白质的缺乏或缺陷）引起的症状，或以其他方式对有需要的受试者中的CNS病症赋予益处。

[0532] 作为非限制性实例，由本发明的AAV颗粒递送的治疗产品可包括但不限于生长和营养因子，细胞因子，激素，神经递质，酶，抗凋亡因子，血管生成因子和已知在病理性病症中发生突变的任何蛋白质，例如“运动神经元的存活”蛋白质（SMN）；靶向信使RNA的反义RNA或RNAi，所述信使RNA编码对本文讨论的任何CNS疾病具有治疗意义的蛋白质；或在CNS中的基因沉默和转录后调控基因表达中发挥功能的microRNA（例如，脑特异性Mir-128a，参见Adlakha and Saini, Molecular cancer, 2014, 13:33）。例如，靶向超氧化物歧化酶的RNAi可以被本发明的病毒颗粒包装，用于治疗ALS。

[0533] 生长和营养因子可包括但不限于脑源性生长因子（BDNF），表皮生长因子（EGF），碱性成纤维细胞生长因子（bFGF），睫状神经营养因子（CNTF），促皮质素释放因子（CRF），胶质细胞系衍生的生长因子（GDNF），胰岛素样生长因子1（IGF-1），神经生长因子（NGF），神经营养蛋白3（NT-3），神经营养蛋白4（NT-4）和血管内皮生长因子（VEGF）。细胞因子可以包括白介素10（IL-10），白介素6，白介素8，趋化因子CXCL12（SDF-1），TGF- β 和生长和分化因子（GDF-1/10）。

[0534] 在一些实施方案中，神经学疾病可以是神经变性疾病，包括但不限于阿尔茨海默氏病（AD）；肌萎缩性侧索硬化症（ALS）；克雅氏病（Creutzfeldt-Jakob Disease, CJD）；亨

廷顿氏病 (HD) ; 弗里德赖希共济失调 (FA) ; 帕金森病 (PD) ; 多系统萎缩症 (MSA) ; 脊髓性肌萎缩症 (SMA) , 多发性硬化症 (MS) ; 原发性进行性失语 ; 进行性核上性麻痹 (PSP) ; 痴呆 ; 脑癌 , 变性性神经病症 , 脑炎 , 癫痫 , 导致神经变性的遗传性脑病症 , 色素性视网膜炎 (RP) , 头和脑畸形 , 脑积水 , 中风 , 朊病毒病 , 婴儿神经元蜡样质脂褐质沉积症 (INCL) (由溶酶体酶棕榈酰蛋白硫酯酶-1 (PPT1) 的缺乏引起的儿童神经变性性疾病等) 。

[0535] 在一些实施方案中, 本发明的病毒颗粒可用于治疗与CNS的生长和发育受损有关的疾病, 即神经发育病症。在某些方面, 此类神经发育病症可以是由遗传突变引起的, 包括但不限于脆性X综合征 (由FMR1基因突变引起) , 唐氏综合征 (由21号染色体三体性引起) , Rett综合征, 威廉姆斯 (Williams) 综合征, 安格尔曼 (Angelman) 综合征, Smith-Magenis综合征, ATR-X综合征, Barth综合征, 婴儿时期的免疫功能障碍和/或传染病, 例如Sydenham舞蹈病, 精神分裂症, 先天性弓形虫病, 先天性风疹综合症, 代谢性病症, 例如糖尿病和苯丙酮尿; 营养缺陷和/或脑外伤, 自闭症和自闭症谱。

[0536] 在一些实施方案中, 本发明的病毒颗粒可用于治疗CNS中的肿瘤, 包括但不限于听神经瘤, 星形细胞瘤 (I, II, III和IV级) , 脊索瘤, CNS淋巴瘤, 颅咽管瘤, 神经胶质瘤 (例如, 脑干神经胶质瘤, 室管膜瘤, 视神经神经胶质瘤, 室管膜下瘤) , 髓母细胞瘤, 脑膜瘤, 转移性脑瘤, 少突胶质细胞瘤, 垂体瘤, 原始神经外胚层 (PNET) 和许旺细胞瘤。

[0537] 在一些实施方案中, 神经学病症可以是具有运动和/或感觉症状的功能性神经学病症, 其在CNS中具有神经系统起源。作为非限制性实例, 功能神经学病症可以是慢性疼痛, 癫痫发作, 语言问题, 不自主运动和睡眠障碍 (sleep disorder) 。

[0538] 在一些实施方案中, 神经学病症可以是白质病症 (影响CNS中神经纤维的一组疾病) , 包括但不限于Pelizaeus-Merzbacher病, 低髓鞘化伴有基底神经节和小脑萎缩, Aicardi-Goutières综合征, 巨脑性白质脑病 (Megalencephalic leukoencephalopathy) 伴皮层下囊肿, 先天性肌营养不良, 肌强直性营养不良, Wilson病, Lowe综合征, **Sjögren-Larsson**综合征, PIBD或Tay综合征, Cockayne病, 脑腱黄瘤病, Zellweger综合征, 新生儿肾上腺脑白质营养不良, 婴儿雷夫叙姆病, Zellweger样综合征, 假Zellweger样综合征, 假新生儿肾上腺脑白质营养不良, 双功能蛋白缺乏症, X连锁肾上腺脑白质营养不良和肾上腺脊髓神经病和Refsum病。

[0539] 在一些实施方案中, 神经学病症可以由CNS中的细胞不能分解代谢终产物而引起的溶酶体贮积症 (LSD) , 包括但不限于尼曼-皮克 (Niemann-Pick) 病 (源自酸性鞘磷脂酶 (ASM) 的遗传性缺陷的LSD; 异染性脑白质营养不良 (MLD) (以神经胶质细胞和神经元中的硫苷脂积累为特征的LSD, 芳基硫酸酯酶A (ARSA) 遗传性缺乏的结果) ; 球状细胞脑白质营养不良症 (Globoid-cell leukodystrophy, GLD) (一种由半乳糖苷神经酰胺酶的突变引起的LSD) ; 法布里病 (由 α -半乳糖苷酶A (GLA) 基因的突变引起的LSD) ; 戈谢病 (由 β -葡糖脑苷脂酶 (GBA) 基因突变引起) ; GM1/GM2神经节苷脂贮积病; 粘多糖累积病病症; 庞佩 (Pompe) 病; 神经元蜡样脂褐质沉积症。

[0540] 在另一个实施方案中, 神经学疾病, 病症和/或状况是弗里德赖希共济失调。在一个实施方案中, 用于治疗弗里德赖希共济失调的AAV颗粒包含核酸序列, 例如但不限于SEQ ID NO: 979或其片段或变体, 其中有效负载被Frataxin或本领域已知的用于治疗弗里德赖希共济失调的任何其他有效负载替代。

[0541] 在另一个实施方案中,神经学疾病,病症和/或状况是肌萎缩性侧索硬化(ALS)。在一个实施方案中,用于治疗ALS的AAV颗粒包含核酸序列,例如但不限于SEQ ID NO:979或其片段或变体,其中有效负载被用于SOD1的shRNA,miRNA,siRNA,RNAi或本领域已知的用于治疗ALS的任何其他有效负载替代。

[0542] 在另一个实施方案中,神经学疾病,病症和/或状况是亨廷顿氏病。在一个实施方案中,用于治疗亨廷顿氏病的AAV颗粒包含核酸序列,例如但不限于SEQ ID NO:979或其片段或变体,其中有效负载被用于Htt的shRNA,miRNA,siRNA,RNAi或本领域已知的用于治疗亨廷顿氏病的任何其他有效负载替代。

[0543] 在另一个实施方案中,神经疾病,病症或状况是脊髓性肌萎缩(SMA)。在另一个实施方案中,神经疾病,病症和/或状况是弗里德赖希共济失调。在一个实施方案中,用于治疗SMN的AAV颗粒包含核酸序列,例如但不限于SEQ ID NO:979或其片段或变体,其中有效负载被Fratatin或本领域已知的用于治疗SMA的任何其他有效负载替代。

[0544] 帕金森氏病

[0545] 在一个实施方案中,神经学疾病,病症和/或状况是帕金森氏病。在一个实施方案中,用于治疗帕金森氏病的AAV颗粒包含有效负载,例如但不限于SEQ ID NO:979或其片段或变体。

[0546] 在一个实施方案中,受试者是人患者,其在帕金森氏病统一评分量表(Unified Parkinson's Disease Rating Scale)中具有约30的最小运动得分至约100的最大得分,约10的最小运动得分至约100的最大得分,约20的最小运动得分至约100的最大运动得分。

[0547] 在一个实施方案中,在用本文所述的组合物治疗之前的过去5年内,已经将受试者诊断为帕金森氏病。作为非限制性实例,可以已经在用本文所述的组合物治疗前1周、2周、3周、4周、5周、6周、7周、8周、1个月、2个月、3个月、4个月、5个月、6月、7个月、8个月、9个月、10个月、11个月、12个月、13个月、14个月、15个月、16个月、17个月、18个月、1年、2年、3年、4年或小于5年将受试者诊断为帕金森氏病。

[0548] 在一个实施方案中,在用本文所述的组合物治疗之前5-10年已经将受试者诊断为帕金森氏病。作为非限制性实例,可以在用本文所述的组合物治疗之前5、5.5、6、6.5、7、7.5、8、8.5、9、9.5或10年已经将受试者诊断为帕金森氏病。

[0549] 在一个实施方案中,在用本文所述的组合物治疗之前超过10年已经将受试者诊断为帕金森氏病。作为非限制性实例,可以在用本文所述的组合物治疗之前10.5、11、11.5、12、12.5、13、13.5、14、14.5、15、15.5、16、16.5、17、17.5、18、18.5、19、19.5、20、20.5、21、21.5、22、22.5、23、23.5、24或超过24年已经将受试者诊断为帕金森氏病。

[0550] 在一个实施方案中,受试者为50-65岁龄。作为非限制性实例,受试者是50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64或65岁龄。作为非限制性实例,受试者是50岁龄。作为非限制性实例,受试者为51岁龄。作为非限制性实例,该受试者为52岁龄。作为非限制性实例,受试者为53岁龄。作为非限制性实例,该受试者为54岁龄。作为非限制性实例,受试者为55岁龄。作为非限制性实例,受试者是56岁龄。作为非限制性实例,受试者为57岁龄。作为非限制性实例,受试者是58岁龄。作为非限制性实例,受试者为59岁龄。作为非限制性实例,受试者为60岁龄。作为非限制性实例,该受试者为61岁龄。作为非限制性实例,受试者为62岁龄。作为非限制性实例,受试者为63岁龄。作为非限制性实例,受试者是64岁龄。作为非

限制性实例,受试者为65岁龄。

[0551] 在一个实施方案中,受试者为30to 50岁龄。作为非限制性实例,受试者为30岁龄。作为非限制性实例,受试者为31岁龄。作为非限制性实例,受试者为32岁龄。作为非限制性实例,受试者为33岁龄。作为非限制性实例,受试者为34岁龄。作为非限制性实例,受试者为35岁龄。作为非限制性实例,受试者为36岁龄。作为非限制性实例,受试者为37岁龄。作为非限制性实例,受试者为38岁龄。作为非限制性实例,受试者为39岁龄。作为非限制性实例,受试者为40岁龄。作为非限制性实例,受试者为41岁龄。作为非限制性实例,受试者为42岁龄。作为非限制性实例,受试者为43岁龄。作为非限制性实例,受试者为44岁龄。作为非限制性实例,受试者为45岁龄。作为非限制性实例,受试者为46岁龄。作为非限制性实例,受试者为47岁龄。作为非限制性实例,受试者为48岁龄。作为非限制性实例,受试者为49岁龄。作为非限制性实例,受试者为50岁龄。

[0552] 在一个实施方案中,受试者为65to 85岁龄。作为非限制性实例,受试者为65岁龄。作为非限制性实例,受试者为66岁龄。作为非限制性实例,受试者为67岁龄。作为非限制性实例,受试者为68岁龄。作为非限制性实例,受试者为69岁龄。作为非限制性实例,受试者为70岁龄。作为非限制性实例,受试者为71岁龄。作为非限制性实例,受试者为72岁龄。作为非限制性实例,受试者为73岁龄。作为非限制性实例,受试者为74岁龄。作为非限制性实例,受试者为75岁龄。作为非限制性实例,受试者为76岁龄。作为非限制性实例,受试者为77岁龄。作为非限制性实例,受试者为78岁龄。作为非限制性实例,受试者为79岁龄。作为非限制性实例,受试者为80岁龄。作为非限制性实例,受试者为81岁龄。作为非限制性实例,受试者为82岁龄。作为非限制性实例,受试者为83岁龄。作为非限制性实例,受试者为84岁龄。作为非限制性实例,受试者为85岁龄。

[0553] 在一个实施方案中,在施用本文所述的组合物之前,受试者已经观察到运动症状例如震颤和运动的改变。震颤的非限制性实例包括单侧或双侧轻度震颤,双侧或中线中度震颤或顽固性震颤。运动的非限制性实例包括轻度运动迟缓,中度运动迟缓,重度运动迟缓和早晨运动迟缓。

[0554] 在一个实施方案中,受试者可以具有平衡的改变,例如但不限于平衡受损,翻正反射受损,明显的平衡病症或摔倒。

[0555] 在一个实施方案中,受试者可以具有降低的生活质量。作为非限制性实例,受试者可以对其生活质量具有中等影响,例如对日常生活活动经历一些限制。作为另一个非限制性实例,受试者可以具有因疾病而降低的生活质量。

[0556] 在一个实施方案中,在施用本文所述的组合物之前,受试者已经观察到非运动症状的改变。作为非限制性实例,在施用本文所述的组合物之前,受试者可以患有轻度至中度的认知障碍。作为另一个非限制性实例,受试者可以具有明显的认知障碍,例如痴呆,其也可以包括行为障碍,例如幻觉。

[0557] 在一个实施方案中,在施用本文所述的组合物之前,受试者可以对一种或多种多巴胺能药物具有有限波动的令人满意的响应。

[0558] 在一个实施方案中,在施用本文所述的组合物之前,受试者可以具有运动波动,引起对一种或多种多巴胺能药物的轻度至中度失能。

[0559] 在一个实施方案中,在施用本文所述的组合物之前,受试者可以具有由“逐渐减弱

(wearing off)”和/或左旋多巴诱导的运动失调组成的医学上难治性运动波动,其引起明显的失能。

[0560] 在一个实施方案中,受试者可以具有与帕金森氏病相关的轻度症状,例如但不限于无认知损伤(在过去5年内诊断),对一种或多种多巴胺能药物具有有限波动的令人满意的响应,单侧或双侧轻度震颤,对生活质量具有很少的影响或无影响,和/或无平衡损伤。

[0561] 在一个实施方案中,受试者可以具有与帕金森氏病有关的中度症状,例如但不限于轻度至中度认知障碍,平衡受损和翻正反射的初步体征,对一种或多种多巴胺能药物引起轻度-中度失能的运动波动(在过去5到10年内诊断),双侧或中线中度震颤,中度运动迟缓和/或日常生活活动经历一定限制的受试者。

[0562] 在一个实施方案中,受试者可以具有与帕金森氏病相关的晚期症状,例如但不限于诊断患有帕金森氏病超过10年,中等难治性运动波动逐渐消失和/或左旋多巴诱导的运动障碍,引起重大失能,顽固性震颤,明显的平衡病症和/或摔倒,明显的认知障碍(例如患有或不患有行为障碍的痴呆),严重的运动迟缓,生活质量因疾病和/或早晨运动障碍而明显降低。

[0563] 在一个实施方案中,受试者已经称为运动病症专家(movement disorder specialist,MDS),但是尚未经历深部脑刺激。

[0564] 在一个实施方案中,受试者在与本文所述的组合物组合使用DUOPA™。作为非限制性实例,受试者可以通过单独使用DUOPA™获得成功。作为非限制性实例,单独使用DUOPA™,受试者可以尚未获得任何成功或获得有限的成功。

[0565] 在一个实施方案中,受试者是作为手术干预的候选者的,包括但不限于深脑刺激。作为非限制性实例,尽管使用最佳抗帕金森病药物进行治疗,但由于致残性运动并发症,提示深脑刺激。

[0566] 在一个实施方案中,基于受试者的日记,受试者具有7.5-14小时的平均工作时间(on-time)。作为非限制性实例,平均工作时间是7.5、7.6、7.7、7.8、7.9、8、8.1、8.2、8.3、8.4、8.5、8.6、8.7、8.8、8.9、9、9.1、9.2、9.3、9.4、9.5、9.6、9.7、9.8、9.9、10、10.1、10.2、10.3、10.4、10.5、10.6、10.7、10.8、10.9、11、11.1、11.2、11.3、11.4、11.5、11.6、11.7、11.8、11.9、12、12.1、12.2、12.3、12.4、12.5、12.6、12.7、12.8、12.9、13、13.1、13.2、13.3、13.4、13.5、13.6、13.7、13.8、13.9或14小时。在一个实施方案中,基于受试者的日记,受试者具有10.5小时的平均工作时间。

[0567] 在一个实施方案中,与基线相比,受试者在施用本发明后6个月经历多约1.5小时的日记工作时间(没有麻烦的运动障碍)。作为一个非限制性实例,受试者在以每壳多达900uL的剂量体积和 4.5×10^{12} 个载体基因组的总剂量施用本发明后6个月经历多约1.5小时的日记工作时间。

[0568] 在一个实施方案中,与基线相比,受试者在施用本发明后6个月经历多约2.2小时的日记工作时间(没有麻烦的运动障碍)。作为一个非限制性实例,受试者在以每壳多达900uL的剂量体积和 1.5×10^{12} 个载体基因组的总剂量施用本发明后6个月经历多约2.2小时的日记工作时间。

[0569] 在一个实施方案中,与基线相比,受试者在施用本发明后6个月经历多约4小时的日记工作时间(没有麻烦的运动障碍)。作为一个非限制性实例,受试者在以每壳多达900uL

的剂量体积和 1.5×10^{12} 个载体基因组的总剂量施用本发明后6个月经历多约4小时的日记工作时间。

[0570] 在一个实施方案中,与基线相比,受试者在施用本发明后12个月经历多约1.6小时的日记工作时间(没有麻烦的运动障碍)。作为一个非限制性实例,受试者在以每壳多达450uL的剂量体积和 7.5×10^{11} 个载体基因组的总剂量施用本发明后12个月经历多约1.6小时的日记工作时间。

[0571] 在一个实施方案中,与基线相比,受试者在施用本发明后12个月经历多约3.3小时的日记工作时间(没有麻烦的运动障碍)。作为一个非限制性实例,受试者在以每壳多达900uL的剂量体积和 1.5×10^{12} 个载体基因组的总剂量施用本发明后12个月经历多约3.3小时的日记工作时间。

[0572] 在一个实施方案中,与基线相比,受试者在施用本发明后12个月经历多约4小时的日记工作时间(没有麻烦的运动障碍)。作为一个非限制性实例,受试者在以每壳多达900uL的剂量体积和 1.5×10^{12} 个载体基因组的总剂量施用本发明后12个月经历多约4小时的日记工作时间。

[0573] 在一个实施方案中,与基线相比,受试者在施用本发明后24个月经历多约2.3小时的日记工作时间(没有麻烦的运动障碍)。作为一个非限制性实例,受试者在以每壳多达450uL的剂量体积和 7.5×10^{11} 个载体基因组的总剂量施用本发明后12个月经历多约2.3小时的日记工作时间。

[0574] 在一个实施方案中,基于受试者的日记,受试者具有2-7小时的平均停歇时间。作为非限制性实例,平均停歇时间为2、2.1、2.2、2.3、2.4、2.5、2.6、2.7、2.8、2.9、3、3.1、3.2、3.3、3.4、3.5、3.6、3.7、3.8、3.9、4、4.1、4.2、4.3、4.4、4.5、4.6、4.7、4.8、4.9、5、5.1、5.2、5.3、5.4、5.5、5.6、5.7、5.8、5.9、6、6.1、6.2、6.3、6.4、6.5、6.6、6.7、6.8、6.9或7。在一个实施方案中,根据受试者的日记,受试者具有4.6小时的平均停歇时间。

[0575] 在一个实施方案中,与基线相比,在施用本发明后6个月,受试者经历少约1.3小时的日记停歇时间。作为非限制性实例,受试者在以每壳多达900uL的剂量体积和 4.5×10^{12} 个载体基因组的总剂量施用本发明后6个月经历少约1.3小时的日记停歇时间。

[0576] 在一个实施方案中,与基线相比,在施用本发明后6个月,受试者经历少约1.1小时的日记停歇时间。作为非限制性实例,受试者在以每壳多达900uL的剂量体积和 1.5×10^{12} 个载体基因组的总剂量施用本发明后6个月经历少约1.1小时的日记停歇时间。

[0577] 在一个实施方案中,与基线相比,在施用本发明后6个月,受试者经历少约0.8小时的日记停歇时间。作为非限制性实例,受试者在以每壳多达450uL的剂量体积和 7.5×10^{11} 个载体基因组的总剂量施用本发明后6个月经历少约0.8小时的日记停歇时间。

[0578] 在一个实施方案中,与基线相比,在施用本发明后12个月,受试者经历少约2.3小时的日记停歇时间。作为非限制性实例,受试者在以每壳多达900uL的剂量体积和 1.5×10^{12} 个载体基因组的总剂量施用本发明后12个月经历少约2.3小时的日记停歇时间。

[0579] 在一个实施方案中,与基线相比,在施用本发明后12个月,受试者经历少约1.4小时的日记停歇时间。作为非限制性实例,受试者在以每壳多达450uL的剂量体积和 7.5×10^{11} 个载体基因组的总剂量施用本发明后12个月经历少约1.4小时的日记停歇时间。

[0580] 在一个实施方案中,与基线相比,在施用本发明后24个月,受试者经历少约1.8小

时的日记停歇时间。作为非限制性实例,受试者在以每壳多达450uL的剂量体积和 7.5×10^{11} 个载体基因组的总剂量施用本发明后24个月经历少约1.8小时的日记停歇时间。

[0581] 在一个实施方案中,受试者在施用本发明后6个月经历少10%的日记停歇时间。在一个实施方案中,受试者在施用本发明后12个月经历少10%的日记停歇时间。

[0582] 在一个实施方案中,受试者在施用本发明后6个月经历少20%的日记停歇时间。在一个实施方案中,受试者在施用本发明后12个月经历少20%的日记停歇时间。

[0583] 在一个实施方案中,受试者在施用本发明后6个月经历少30%的日记停歇时间。在一个实施方案中,受试者在施用本发明后12个月经历少30%的日记停歇时间。

[0584] 在一个实施方案中,受试者在施用本发明后6个月经历少40%的日记停歇时间。在一个实施方案中,受试者在施用本发明后12个月经历少40%的日记停歇时间。

[0585] 在一个实施方案中,受试者在施用本发明后6个月经历少50%的日记停歇时间。在一个实施方案中,受试者在施用本发明后12个月经历少50%的日记停歇时间。

[0586] 在一个实施方案中,受试者在施用本发明后6个月经历少60%的日记停歇时间。在一个实施方案中,受试者在施用本发明后12个月经历少60%的日记停歇时间。

[0587] 在一个实施方案中,受试者在施用本发明后6个月经历少70%的日记停歇时间。在一个实施方案中,受试者在施用本发明后12个月经历少70%的日记停歇时间。

[0588] 在一个实施方案中,受试者在施用本发明后6个月经历少80%的日记停歇时间。在一个实施方案中,受试者在施用本发明后12个月经历少80%的日记停歇时间。

[0589] 在一个实施方案中,受试者在施用本发明后6个月经历少90%的日记停歇时间。在一个实施方案中,受试者在施用本发明后12个月经历少90%的日记停歇时间。

[0590] 在一个实施方案中,受试者在施用本发明后6个月经历少95%的日记停歇时间。在一个实施方案中,受试者在施用本发明后12个月经历少95%的日记停歇时间。

[0591] 在一个实施方案中,在施用本发明之前评估受试者的UPDRS-3 (或UPDRS-III) 药物得分。作为非限制性实例,在施用本发明之前受试者的UPDRS-3 (或UPDRS-III) 药物得分在1-40、1-10、1-15、1-20、1-25、1-30、1-35、1-40、5-10、5-15、5-20、5-25、5-30、5-35、5-40、10-15、10-20、10-25、10-30、10-35、10-40、15-20、15-25、15-30、15-35、15-40、20-25、20-30、20-35、20-40、25-30、25-35、25-40、30-35、30-40或35-40。作为非限制性实例,在施用本发明之前受试者的UPDRS-3 (或UPDRS-III) 药物得分是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或40。作为非限制性实例,在施用本发明之前受试者的UPDRS-3 (或UPDRS-III) 药物得分为10.1、10.2、10.3、10.4、10.5、10.6、10.7、10.8、10.9、11、11.1、11.2、11.3、11.4、11.5、11.6、11.7、11.8、11.9、12、12.1、12.2、12.3、12.4、12.5、12.6、12.7、12.8、12.9、13、13.1、13.2、13.3、13.4、13.5、13.6、13.7、13.8、13.9、14、14.1、14.2、14.3、14.4、14.5、14.6、14.7、14.8、14.9或15。作为非限制性实例,在施用本发明之前受试者UPDRS-3药物评分为13.5。

[0592] 在一个实施方案中,在施用本发明后,受试者的UPDRS-3 (或UPDRS-III) 药物得分降低。

[0593] 受试者的UPDRS-3 (或UPDRS-III) 药物得分可以降低一定百分比,例如但不限于10%,15%,20%,25%,30%,35%,40%,45%,50%,55%,60%,65%,70%,75%,80%,

85%，90%，95%或超过95%。作为非限制性实例，在施用本发明后，受试者的UPDRS-3评分降低10%。作为非限制性实例，在施用本发明后，受试者的UPDRS-3评分降低20%。作为非限制性实例，在施用本发明后，受试者的UPDRS-3评分降低30%。作为非限制性实例，在施用本发明后，受试者的UPDRS-3评分降低40%。作为非限制性实例，在施用本发明后，受试者的UPDRS-3评分降低50%。作为非限制性实例，在施用本发明后，受试者的UPDRS-3评分降低60%。作为非限制性实例，在施用本发明后，受试者的UPDRS-3评分降低70%。作为非限制性实例，在施用本发明后，受试者的UPDRS-3评分降低80%。作为非限制性实例，在施用本发明后，受试者的UPDRS-3评分降低90%。

[0594] 受试者的UPDRS-3 (或UPDRS-III) 药物评分可以改变0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、1、1.1、1.2、1.3、1.4、1.5、1.6、1.7、1.8、1.9、2、2.1、2.2、2.3、2.4、2.5、2.6、2.7、2.8、2.9、3、3.1、3.2、3.3、3.4、3.5、3.6、3.7、3.8、3.9、4、4.1、4.2、4.3、4.4、4.5、4.6、4.7、4.8、4.9、5、5.1、5.2、5.3、5.4、5.5、5.6、5.7、5.8、5.9、6、6.1、6.2、6.3、6.4、6.5、6.6、6.7、6.8、6.9、7、7.1、7.2、7.3、7.4、7.5、7.6、7.7、7.8、7.9、8、8.1、8.2、8.3、8.4、8.5、8.6、8.7、8.8、8.9、9、9.1、9.2、9.3、9.4、9.5、9.6、9.7、9.8、9.9、10、10.1、10.2、10.3、10.4、10.5、10.6、10.7、10.8、10.9、11、11.1、11.2、11.3、11.4、11.5、11.6、11.7、11.8、11.9、12、12.1、12.2、12.3、12.4、12.5、12.6、12.7、12.8、12.9、13、13.1、13.2、13.3、13.4、13.5、13.6、13.7、13.8、13.9、14、14.1、14.2、14.3、14.4、14.5、14.6、14.7、14.8、14.9或15分。作为非限制性实例，受试者的UPDRS-3得分改变0.4分。作为非限制性实例，受试者的UPDRS-3得分改变1.6分。作为非限制性实例，受试者的UPDRS-3分数改变1.8分。作为非限制性实例，受试者的UPDRS-3分数改变8.6分。作为非限制性实例，受试者的UPDRS-3得分改变9.6分。

[0595] 受试者的UPDRS-3 (或UPDRS-III) 药物得分可以增加0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、1、1.1、1.2、1.3、1.4、1.5、1.6、1.7、1.8、1.9、2、2.1、2.2、2.3、2.4、2.5、2.6、2.7、2.8、2.9、3、3.1、3.2、3.3、3.4、3.5、3.6、3.7、3.8、3.9、4、4.1、4.2、4.3、4.4、4.5、4.6、4.7、4.8、4.9、5、5.1、5.2、5.3、5.4、5.5、5.6、5.7、5.8、5.9、6、6.1、6.2、6.3、6.4、6.5、6.6、6.7、6.8、6.9、7、7.1、7.2、7.3、7.4、7.5、7.6、7.7、7.8、7.9、8、8.1、8.2、8.3、8.4、8.5、8.6、8.7、8.8、8.9、9、9.1、9.2、9.3、9.4、9.5、9.6、9.7、9.8、9.9、10、10.1、10.2、10.3、10.4、10.5、10.6、10.7、10.8、10.9、11、11.1、11.2、11.3、11.4、11.5、11.6、11.7、11.8、11.9、12、12.1、12.2、12.3、12.4、12.5、12.6、12.7、12.8、12.9、13、13.1、13.2、13.3、13.4、13.5、13.6、13.7、13.8、13.9、14、14.1、14.2、14.3、14.4、14.5、14.6、14.7、14.8、14.9或15分。作为非限制性实例，受试者的UPDRS-3得分增加0.4分。作为非限制性实例，受试者的UPDRS-3得分增加1.6分。作为非限制性实例，受试者的UPDRS-3得分增加1.8分。作为非限制性实例，受试者的UPDRS-3得分增加8.6分。作为非限制性实例，受试者的UPDRS-3得分增加9.6分。

[0596] 受试者的UPDRS-3 (或UPDRS-III) 药物得分可以减少0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、1、1.1、1.2、1.3、1.4、1.5、1.6、1.7、1.8、1.9、2、2.1、2.2、2.3、2.4、2.5、2.6、2.7、2.8、2.9、3、3.1、3.2、3.3、3.4、3.5、3.6、3.7、3.8、3.9、4、4.1、4.2、4.3、4.4、4.5、4.6、4.7、4.8、4.9、5、5.1、5.2、5.3、5.4、5.5、5.6、5.7、5.8、5.9、6、6.1、6.2、6.3、6.4、6.5、6.6、6.7、6.8、6.9、7、7.1、7.2、7.3、7.4、7.5、7.6、7.7、7.8、7.9、8、8.1、8.2、8.3、8.4、8.5、8.6、8.7、8.8、8.9、9、9.1、9.2、9.3、9.4、9.5、9.6、9.7、9.8、9.9、10、10.1、10.2、10.3、10.4、10.5、10.6、10.7、10.8、10.9、11、11.1、11.2、11.3、11.4、11.5、11.6、11.7、11.8、11.9、12、

12.1、12.2、12.3、12.4、12.5、12.6、12.7、12.8、12.9、13、13.1、13.2、13.3、13.4、13.5、13.6、13.7、13.8、13.9、14、14.1、14.2、14.3、14.4、14.5、14.6、14.7、14.8、14.9或15分。作为非限制性实例，受试者的UPDRS-3得分减少0.4分。作为非限制性实例，受试者的UPDRS-3得分减少1.6分。作为非限制性实例，受试者的UPDRS-3得分减少1.8分。作为非限制性实例，受试者的UPDRS-3分数减少8.6点。作为非限制性实例，受试者的UPDRS-3得分减少9.6分。

[0597] 在一个实施方案中，在以每壳多达900uL的剂量体积和 4.5×10^{12} 个载体基因组的总剂量施用本发明后6个月时，受试者的UPDRS-3 (或UPDRS-III) 药物得分减少8.6分。

[0598] 在一个实施方案中，在以每壳多达900uL的剂量体积和 1.5×10^{12} 个载体基因组的总剂量施用本发明后6个月时，受试者的UPDRS-3 (或UPDRS-III) 药物得分减少9.6分。

[0599] 在一个实施方案中，在以每壳多达900uL的剂量体积和 1.5×10^{12} 个载体基因组的总剂量施用本发明后12个月时，受试者的UPDRS-3 (或UPDRS-III) 药物得分减少9.6分。

[0600] 在一个实施方案中，在施用本发明之前，受试者的帕金森氏病药物的平均量为每天约1500mg。作为非限制性实例，帕金森氏病药物为左旋多巴。

[0601] 在一个实施方案中，在施用本发明之前评估受试者的UPDRS-II评分。在施用本发明之前受试者的UPDRS-II得分在20至50之间，例如但不限于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和50。

[0602] 受试者的UPDRS-2 (或UPDRS-II) 得分可以改变0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、1、1.1、1.2、1.3、1.4、1.5、1.6、1.7、1.8、1.9、2、2.1、2.2、2.3、2.4、2.5、2.6、2.7、2.8、2.9、3、3.1、3.2、3.3、3.4、3.5、3.6、3.7、3.8、3.9、4、4.1、4.2、4.3、4.4、4.5、4.6、4.7、4.8、4.9、5、5.1、5.2、5.3、5.4、5.5、5.6、5.7、5.8、5.9、6、6.1、6.2、6.3、6.4、6.5、6.6、6.7、6.8、6.9、7、7.1、7.2、7.3、7.4、7.5、7.6、7.7、7.8、7.9、8、8.1、8.2、8.3、8.4、8.5、8.6、8.7、8.8、8.9、9、9.1、9.2、9.3、9.4、9.5、9.6、9.7、9.8、9.9、10、10.1、10.2、10.3、10.4、10.5、10.6、10.7、10.8、10.9、11、11.1、11.2、11.3、11.4、11.5、11.6、11.7、11.8、11.9、12、12.1、12.2、12.3、12.4、12.5、12.6、12.7、12.8、12.9、13、13.1、13.2、13.3、13.4、13.5、13.6、13.7、13.8、13.9、14、14.1、14.2、14.3、14.4、14.5、14.6、14.7、14.8、14.9、或15分。

[0603] 受试者的UPDRS-2 (或UPDRS-II) 得分可以增加0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、1、1.1、1.2、1.3、1.4、1.5、1.6、1.7、1.8、1.9、2、2.1、2.2、2.3、2.4、2.5、2.6、2.7、2.8、2.9、3、3.1、3.2、3.3、3.4、3.5、3.6、3.7、3.8、3.9、4、4.1、4.2、4.3、4.4、4.5、4.6、4.7、4.8、4.9、5、5.1、5.2、5.3、5.4、5.5、5.6、5.7、5.8、5.9、6、6.1、6.2、6.3、6.4、6.5、6.6、6.7、6.8、6.9、7、7.1、7.2、7.3、7.4、7.5、7.6、7.7、7.8、7.9、8、8.1、8.2、8.3、8.4、8.5、8.6、8.7、8.8、8.9、9、9.1、9.2、9.3、9.4、9.5、9.6、9.7、9.8、9.9、10、10.1、10.2、10.3、10.4、10.5、10.6、10.7、10.8、10.9、11、11.1、11.2、11.3、11.4、11.5、11.6、11.7、11.8、11.9、12、12.1、12.2、12.3、12.4、12.5、12.6、12.7、12.8、12.9、13、13.1、13.2、13.3、13.4、13.5、13.6、13.7、13.8、13.9、14、14.1、14.2、14.3、14.4、14.5、14.6、14.7、14.8、14.9、或15分。

[0604] 受试者的UPDRS-2 (或UPDRS-II) 得分可以减少0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、1、1.1、1.2、1.3、1.4、1.5、1.6、1.7、1.8、1.9、2、2.1、2.2、2.3、2.4、2.5、2.6、2.7、2.8、2.9、3、3.1、3.2、3.3、3.4、3.5、3.6、3.7、3.8、3.9、4、4.1、4.2、4.3、4.4、4.5、4.6、4.7、4.8、4.9、5、5.1、5.2、5.3、5.4、5.5、5.6、5.7、5.8、5.9、6、6.1、6.2、6.3、6.4、6.5、6.6、6.7、6.8、6.9、7、7.1、7.2、7.3、7.4、7.5、7.6、7.7、7.8、7.9、8、8.1、8.2、8.3、8.4、8.5、8.6、8.7、

8.8、8.9、9、9.1、9.2、9.3、9.4、9.5、9.6、9.7、9.8、9.9、10、10.1、10.2、10.3、10.4、10.5、10.6、10.7、10.8、10.9、11、11.1、11.2、11.3、11.4、11.5、11.6、11.7、11.8、11.9、12、12.1、12.2、12.3、12.4、12.5、12.6、12.7、12.8、12.9、13、13.1、13.2、13.3、13.4、13.5、13.6、13.7、13.8、13.9、14、14.1、14.2、14.3、14.4、14.5、14.6、14.7、14.8、14.9、或15分。作为非限制性实例，在施用本发明后12个月观察到3.6分减少。作为非限制性实例，在施用本发明后6个月观察到3.6点减少。

[0605] 在一个实施方案中，与施用前的UPDRS-II得分相比，受试者的UPDRS-II得分在本发明的施用后减少2-4分。

[0606] 在一个实施方案中，与施用前的UPDRS-II药物得分相比，在以每壳多至900uL的剂量体积和 1.5×10^{12} 个载体基因组的总剂量施用本发明后6个月，受试者的UPDRS-II评分减少2-3分。

[0607] 在一个实施方案中，与施用前的UPDRS-II药物得分相比，在以每壳多至900uL的剂量体积和 1.5×10^{12} 个载体基因组的总剂量施用本发明后12个月，受试者的UPDRS-II评分减少2-3分。

[0608] 在一个实施方案中，与施用前的UPDRS-II药物得分相比，在以每壳多至900uL的剂量体积和 4.5×10^{12} 个载体基因组的总剂量施用本发明后6个月，受试者的UPDRS-II评分减少3-4分。

[0609] 在一个实施方案中，本发明用于改善受试者的运动功能。

[0610] 在一个实施方案中，本发明用于控制受试者的运动功能并改善其生活质量。

[0611] 在一个实施方案中，本发明用于减少受试者为了改善受试者的运动功能而需要服用的帕金森氏药物的剂量。

[0612] 在一个实施方案中，与治疗之前的运动功能相比，将本发明单次施用于受试者的壳中提供了改善的运动功能。

[0613] 在一个实施方案中，将本发明单次施用于受试者的壳中提供了改善的运动功能和受试者管理症状所需要的左旋多巴药物量的减少。

[0614] 在一个实施方案中，将本发明单次施用于受试者的壳核提供了改善的运动功能和受试者管理症状所需要的多巴胺能药物量的减少。

[0615] 在一个实施方案中，在施用本发明后，帕金森氏药物(例如，左旋多巴)的日剂量的量减少10-50%。作为非限制性实例，在施用本发明后6个月可见减少。作为非限制性实例，在施用本发明后12个月可见减少。

[0616] 在一个实施方案中，在施用本发明后，帕金森氏药物(例如，左旋多巴)的日剂量的量减少10-20%。作为非限制性实例，帕金森氏症药物(例如左旋多巴)的减少为10%。作为非限制性实例，帕金森氏症药物(例如左旋多巴)的减少为11%。作为非限制性实例，帕金森氏症药物(例如左旋多巴)的减少为12%。作为非限制性实例，帕金森氏症药物(例如左旋多巴)的减少为13%。作为非限制性实例，帕金森氏症药物(例如左旋多巴)的减少为14%。作为非限制性实例，帕金森氏症药物(例如左旋多巴)的减少为15%。作为非限制性实例，帕金森氏症药物(例如左旋多巴)的减少为16%。作为非限制性实例，帕金森氏症药物(例如左旋多巴)的减少为17%。作为非限制性实例，帕金森氏症药物(例如左旋多巴)的减少为18%。作为非限制性实例，帕金森氏症药物(例如左旋多巴)的减少为19%。作为非限制性实例，帕

金森氏症药物(例如左旋多巴)的减少为20%。

[0617] 在一个实施方案中,在以每壳多至450uL的剂量体积和 7.5×10^{11} 个载体基因组的总剂量施用本发明后6个月,受试者为了管理症状所需要的帕金森氏病药物(例如,左旋多巴)的日剂量的量减少14%。

[0618] 在一个实施方案中,在以每壳多至450uL的剂量体积和 7.5×10^{11} 个载体基因组的总剂量施用本发明后12个月,受试者为了管理症状所需要的帕金森氏病药物(例如,左旋多巴)的日剂量的量减少10%。

[0619] 在一个实施方案中,在施用本发明后,帕金森氏药物(例如,左旋多巴)的日剂量的量减少20-30%。作为非限制性实例,帕金森氏症药物(例如左旋多巴)的减少为20%。作为非限制性实例,帕金森氏症药物(例如左旋多巴)的减少为21%。作为非限制性实例,帕金森氏症药物(例如左旋多巴)的减少为22%。作为非限制性实例,帕金森氏症药物(例如左旋多巴)的减少为23%。作为非限制性实例,帕金森氏症药物(例如左旋多巴)的减少为24%。作为非限制性实例,帕金森氏症药物(例如左旋多巴)的减少为25%。作为非限制性实例,帕金森氏症药物(例如左旋多巴)的减少为26%。作为非限制性实例,帕金森氏症药物(例如左旋多巴)的减少为27%。作为非限制性实例,帕金森氏症药物(例如左旋多巴)的减少为28%。作为非限制性实例,帕金森氏症药物(例如左旋多巴)的减少为29%。作为非限制性实例,帕金森氏症药物(例如左旋多巴)的减少为30%。

[0620] 在一个实施方案中,在以每壳多至900uL的剂量体积和 1.5×10^{12} 个载体基因组的总剂量施用本发明后12个月,受试者为了管理症状所需要的帕金森氏病药物(例如,左旋多巴)的日剂量的量减少27%。

[0621] 在一个实施方案中,在以每壳多至900uL的剂量体积和 1.5×10^{12} 个载体基因组的总剂量施用本发明后12个月,受试者为了管理症状所需要的帕金森氏病药物(例如,左旋多巴)的日剂量的量减少28%。

[0622] 在一个实施方案中,在以每壳多至900uL的剂量体积和 1.5×10^{12} 个载体基因组的总剂量施用本发明后12个月,受试者为了管理症状所需要的帕金森氏病药物(例如,左旋多巴)的日剂量的量减少29%。

[0623] 在一个实施方案中,在施用本发明后,帕金森氏药物(例如,左旋多巴)的日剂量的量减少30-40%。作为非限制性的例如,帕金森氏症的药物(例如左旋多巴)减少为30%。作为非限制性实例,帕金森氏症药物(例如左旋多巴)的减少为31%。作为非限制性实例,帕金森氏症药物(例如左旋多巴)的减少为32%。作为非限制性实例,帕金森氏症药物(例如左旋多巴)的减少为33%。作为非限制性实例,帕金森氏症药物(例如左旋多巴)的减少为34%。作为非限制性实例,帕金森氏症药物(例如左旋多巴)的减少为35%。作为非限制性实例,帕金森氏症药物(例如左旋多巴)的减少为36%。作为非限制性实例,帕金森氏症药物(例如左旋多巴)的减少为37%。作为非限制性实例,帕金森氏症药物(例如左旋多巴)的减少为38%。作为非限制性实例,帕金森氏症药物(例如左旋多巴)的减少为39%。作为非限制性实例,帕金森氏症药物(例如左旋多巴)的减少为40%。

[0624] 在一个实施方案中,在以每壳多至900uL的剂量体积和 1.5×10^{12} 个载体基因组的总剂量施用本发明后6个月,受试者为了管理症状所需要的帕金森氏病药物(例如,左旋多巴)的日剂量的量减少34%。

[0625] 在一个实施方案中,在施用本发明后,帕金森氏病药物(例如左旋多巴)的日剂量的量减少40-50%。作为非限制性实例,帕金森氏症药物(例如左旋多巴)的减少为40%。作为非限制性实例,帕金森氏症药物(例如左旋多巴)的减少为41%。作为非限制性实例,帕金森氏症药物(例如左旋多巴)的减少为42%。作为非限制性实例,帕金森氏症药物(例如左旋多巴)的减少为43%。作为非限制性实例,帕金森氏症药物(例如左旋多巴)的减少为44%。作为非限制性实例,帕金森氏症药物(例如左旋多巴)的减少为45%。作为非限制性实例,帕金森氏症药物(例如左旋多巴)的减少为46%。作为非限制性实例,帕金森氏症药物(例如左旋多巴)的减少为47%。作为非限制性实例,帕金森氏症药物(例如左旋多巴)的减少为48%。作为非限制性实例,帕金森氏症药物(例如左旋多巴)的减少为49%。作为非限制性实例,帕金森氏症药物(例如左旋多巴)的减少为50%。

[0626] 在一个实施方案中,在以每壳多至900uL的剂量体积和 1.5×10^{12} 个载体基因组的总剂量施用本发明后6个月,受试者为了管理症状所需要的帕金森氏病药物(例如,左旋多巴)的日剂量的量减少34%。

[0627] 在一个实施方案中,在施用本发明后,帕金森氏药物(例如,左旋多巴)的日剂量的量减少108-641mg。作为非限制性实例,在施用本发明6个月后可见减少。作为非限制性实例,在施用本发明后12个月可见减少。

[0628] 在一个实施方案中,在施用本发明后,帕金森氏药物(例如左旋多巴)的日剂量的量减少108-339mg。作为非限制性实例,帕金森氏症药物(例如左旋多巴)的减少为108mg。作为非限制性实例,帕金森氏症药物(例如左旋多巴)的减少为134mg。作为非限制性实例,帕金森氏症药物(例如左旋多巴)的减少为159mg。作为非限制性实例,帕金森氏症药物(例如左旋多巴)的减少为154mg。作为非限制性实例,帕金森氏症药物(例如左旋多巴)的减少为208mg。作为非限制性实例,帕金森氏症药物(例如左旋多巴)的减少为231mg。作为非限制性实例,帕金森氏症药物(例如左旋多巴)的减少为254mg。作为非限制性实例,帕金森氏症药物(例如左旋多巴)的减少为276mg。作为非限制性实例,帕金森氏症药物(例如左旋多巴)的减少为298mg。作为非限制性实例,帕金森氏症药物(例如左旋多巴)的减少为319mg。作为非限制性实例,帕金森氏症药物(例如左旋多巴)的减少为339mg。

[0629] 在以每壳多至450uL的剂量体积和 7.5×10^{11} 个载体基因组的总剂量施用本发明后6个月,受试者为了管理症状所需要的帕金森氏病药物(例如,左旋多巴)的日剂量的量减少208mg。

[0630] 在以每壳多至450uL的剂量体积和 7.5×10^{11} 个载体基因组的总剂量施用本发明后12个月,受试者为了管理症状所需要的帕金森氏病药物(例如,左旋多巴)的日剂量的量减少108mg。

[0631] 在一个实施方案中,在施用本发明后,帕金森氏药物(例如,左旋多巴)的日剂量的量减少339-505mg。作为非限制性实例,帕金森氏症药物(例如左旋多巴)的减少为339mg。作为非限制性实例,帕金森氏症药物(例如左旋多巴)的减少为358mg。作为非限制性实例,帕金森氏症药物(例如左旋多巴)的减少为377mg。作为非限制性实例,帕金森氏症药物(例如左旋多巴)的减少为396mg。作为非限制性实例,帕金森氏症药物(例如左旋多巴)的减少为413mg。作为非限制性实例,帕金森氏症药物(例如左旋多巴)的减少为430mg。作为非限制性实例,帕金森氏症药物(例如左旋多巴)的减少为446mg。作为非限制性实例,帕金森氏症药

物(例如左旋多巴)的减少为462mg。作为非限制性实例,帕金森氏症药物(例如左旋多巴)的减少为477mg。作为非限制性实例,帕金森氏症药物(例如左旋多巴)的减少为491mg。作为非限制性实例,帕金森氏症药物(例如左旋多巴)的减少为505mg。

[0632] 在以每壳多至900uL的剂量体积和 1.5×10^{12} 个载体基因组的总剂量施用本发明后12个月,受试者为了管理症状所需要的帕金森氏病药物(例如,左旋多巴)的日剂量的量减少462mg。

[0633] 在以每壳多至900uL的剂量体积和 1.5×10^{12} 个载体基因组的总剂量施用本发明后12个月,受试者为了管理症状所需要的帕金森氏病药物(例如,左旋多巴)的日剂量的量减少477mg。

[0634] 在以每壳多至900uL的剂量体积和 1.5×10^{12} 个载体基因组的总剂量施用本发明后12个月,受试者为了管理症状所需要的帕金森氏病药物(例如,左旋多巴)的日剂量的量减少491mg。

[0635] 在一个实施方案中,在施用本发明后,帕金森氏药物(例如,左旋多巴)的日剂量的量减少505-606mg。作为非限制性实例,帕金森氏症药物(例如左旋多巴)的减少为505mg。作为非限制性实例,帕金森氏症药物(例如左旋多巴)的减少为518mg。作为非限制性实例,帕金森氏症药物(例如左旋多巴)的减少为530mg。作为非限制性实例,帕金森氏症药物(例如左旋多巴)的减少为542mg。作为非限制性实例,帕金森氏症药物(例如左旋多巴)的减少为553mg。作为非限制性实例,帕金森氏症药物(例如左旋多巴)的减少为563mg。作为非限制性实例,帕金森氏症药物(例如左旋多巴)的减少为573mg。作为非限制性实例,帕金森氏症药物(例如左旋多巴)的减少为582mg。作为非限制性实例,帕金森氏症药物(例如左旋多巴)的减少为591mg。作为非限制性实例,帕金森氏症药物(例如左旋多巴)的减少为599mg。作为非限制性实例,帕金森氏症药物(例如左旋多巴)的减少为606mg。

[0636] 在以每壳多至900uL的剂量体积和 1.5×10^{12} 个载体基因组的总剂量施用本发明后6个月,受试者为了管理症状所需要的帕金森氏病药物(例如,左旋多巴)的日剂量的量减少553mg。

[0637] 在一个实施方案中,在施用本发明后,帕金森氏药物(例如,左旋多巴)的日剂量的量减少606-641mg。作为非限制性实例,帕金森氏症药物(例如左旋多巴)的减少为606mg。作为非限制性实例,帕金森氏症药物(例如左旋多巴)的减少为612mg。作为非限制性实例,帕金森氏症药物(例如左旋多巴)的减少为618mg。作为非限制性实例,帕金森氏症药物(例如左旋多巴)的减少量623mg。作为非限制性实例,帕金森氏症药物(例如左旋多巴)的减少为628mg。作为非限制性实例,帕金森氏症药物(例如左旋多巴)的减少为632mg。作为非限制性实例,帕金森氏症药物(例如左旋多巴)的减少为635mg。作为非限制性实例,帕金森氏症药物(例如左旋多巴)的减少为637mg。作为非限制性实例,帕金森氏症药物(例如左旋多巴)的减少为639mg。作为非限制性实例,帕金森氏症药物(例如左旋多巴)的减少为641mg。

[0638] 在以每壳多至900uL的剂量体积和 4.5×10^{12} 个载体基因组的总剂量施用本发明后6个月,受试者为了管理症状所需要的帕金森氏病药物(例如,左旋多巴)的日剂量的量减少553mg。

[0639] 在一个实施方案中,在施用本发明后,受试者中的壳核AADC酶活性增加10-20%。作为一个非限制性实例,壳核AADC酶活性的增加为约10%。作为一个非限制性实例,壳核

AADC酶活性的增加为约11%。作为一个非限制性实例,壳核AADC酶活性的增加为约12%。作为一个非限制性实例,壳核AADC酶活性的增加为约13%。作为非限制性实例,壳核AADC酶活性的增加约为14%。作为非限制性实例,壳核AADC酶活性的增加为约15%。作为一个非限制性实例,壳核AADC酶活性的增加为约16%。作为一个非限制性实例,壳核AADC酶活性的增加为约17%。作为一个非限制性实例,壳核AADC酶活性的增加为约18%。作为非限制性实例,壳核AADC酶活性的增加为约19%。作为一个非限制性实例,壳核AADC酶活性的增加为约20%。

[0640] 在一个实施方案中,在以每壳多至450uL的剂量体积和 7.5×10^{11} 个载体基因组的总剂量施用本发明后,受试者中的壳核AADC酶活性增加约13%。

[0641] 在一个实施方案中,在施用本发明后,受试者中的壳核AADC酶活性增加50-60%。作为非限制性实例,壳核AADC酶活性的增加为约50%。作为一个非限制性实例,壳核AADC酶活性的增加为约51%。作为一个非限制性实例,壳核AADC酶活性的增加为约52%。作为非限制性实例,壳核AADC酶活性的增加约为53%。作为一个非限制性实例,壳核AADC酶活性的增加为约54%。作为一个非限制性实例,壳核AADC酶活性的增加为约55%。作为一个非限制性实例,壳核AADC酶活性的增加为约56%。作为一个非限制性实例,壳核AADC酶活性的增加为约57%。作为一个非限制性实例,壳核AADC酶活性的增加为约58%。作为非限制性实例,壳核AADC酶活性的增加约为59%。作为一个非限制性实例,壳核AADC酶活性的增加为约60%。

[0642] 在一个实施方案中,在以每壳多至900uL的剂量体积和 1.5×10^{12} 个载体基因组的总剂量施用本发明后,受试者中的壳核AADC酶活性增加约56%。

[0643] 在一个实施方案中,在施用本发明后,受试者中的壳核AADC酶活性增加70-85%。作为一个非限制性实例,壳核AADC酶活性的增加为约70%。作为一个非限制性实例,壳核AADC酶活性的增加为约71%。作为一个非限制性实例,壳核AADC酶活性的增加为约72%。作为一个非限制性实例,壳核AADC酶活性的增加为约73%。作为一个非限制性实例,壳核AADC酶活性的增加为约74%。作为一个非限制性实例,壳核AADC酶活性的增加为约75%。作为非限制性实例,壳核AADC酶活性的增加为约76%。作为一个非限制性实例,壳核AADC酶活性的增加为约77%。作为非限制性实例,壳核AADC酶活性的增加约为78%。作为一个非限制性实例,壳核AADC酶活性的增加为约79%。作为非限制性实例,壳核AADC酶活性的增加约为80%。作为非限制性实例,壳核AADC酶活性的增加约为81%。作为非限制性实例,壳核AADC酶活性的增加约为82%。作为非限制性实例,壳核AADC酶活性的增加约为83%。作为一个非限制性实例,壳核AADC酶活性的增加为约84%。作为一个非限制性实例,壳核AADC酶活性的增加为约85%。

[0644] 在一个实施方案中,在以每壳多至900uL的剂量体积和 4.5×10^{12} 个载体基因组的总剂量施用本发明后,受试者中的壳核AADC酶活性增加约79%。

[0645] 在一个实施方案中,受试者的多巴胺水平在施用本发明后增加。作为非限制性实例,多巴胺的量增加10-20%,15-25%,20-30%,25-35%,30-40%,35-45%,40-50%,45-55%,50-60%,55-65%,60-70%,65-75%,70-80%,75-85%,80-90%,85-95%,90-100%或95-100%。

[0646] 昼夜节律和觉醒周期

[0647] 昼夜节律是趋于遵循24小时周期的身体、精神和行为变化。昼夜节律可以影响睡

眠-觉醒周期(sleep-wake cycle)、激素释放、体温和其他身体功能。昼夜节律的改变可引起状况和/或病症,例如但不限于睡眠病症(例如失眠)、抑郁、双相型障碍、季节性情感障碍、肥胖和糖尿病。

[0648] 在一个实施方案中,本文所述的AAV颗粒可用于治疗失眠。

[0649] 睡眠-觉醒周期包括睡眠时段和觉醒时段。通常,在24小时时段内,睡眠的总时间小于清醒的总时间。作为非限制性实例,睡眠-觉醒周期包括7-9小时的睡眠和15-17小时的清醒。作为非限制性实例,睡眠-觉醒循环包括8小时的睡眠和16小时的清醒。作为非限制性实例,睡眠-觉醒周期包括8-10小时的睡眠和14-16小时的清醒。

[0650] 在一个实施方案中,通过向受试者施用本文所述的AAV颗粒来改善受试者的睡眠-觉醒周期。

[0651] 在一个实施方案中,通过向受试者施用本文所述的AAV颗粒来调节受试者的睡眠-觉醒周期。作为非限制性实例,调节可以是夜间发生的较多睡眠时间段和发生的较少睡眠时间段的校正。

[0652] 在一个实施方案中,与施用AAV颗粒之前的受试者的睡眠-觉醒周期相比,施用本文所述的AAV颗粒的受试者的睡眠-觉醒周期得到改善。作为非限制性实例,受试者具有增加的睡眠时间段和减少的清醒时间段。作为另一个非限制性实例,受试者具有减少的睡眠时间段和增加的清醒时间段。

[0653] 在一个实施方案中,与施用AAV颗粒之前的受试者的睡眠-觉醒周期相比,调节施用本文所述的AAV颗粒的受试者的睡眠-觉醒周期。作为非限制性实例,睡眠时间段和清醒时间段的长度可以大致相同(例如,+/-1小时),持续至少2天。作为另一个非限制性实例,睡眠时间段和清醒时间段的长度(若24小时时间段)可以在前24小时时间段的10分钟、15分钟、20分钟、25分钟、30分钟、35分钟、40分钟、45分钟、50分钟、55分钟、1小时、1.5小时或2小时内。

[0654] 在一个实施方案中,在向受试者施用本文所述的AAV颗粒后,改变受试者在24小时时间段内经历的快速眼动(rapid eye movement) (REM) 睡眠的量。REM睡眠通常认为是以剧烈的脑部活动标记的活跃睡眠时间段,其中脑电波是快速且去同步化的。成年人平均在REM睡眠中花费其总每天睡眠时间段的约20-25%。作为非限制性实例,REM睡眠量减少1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%或超过65%。作为非限制性实例,REM睡眠量减少1-10%、5-10%、5-15%、10-15%、15-20%、15-25%、20-25%、20-30%、25-30%、25-35%、30-35%、30-40%、35-40%、40-50%或40-60%。作为非限制性实例,REM睡眠量增加1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%或超过65%。作为非限制性实例、REM睡眠的量增加1-5%、1-10%、5-10%、5-15%、10-15%、15-20%、15-25%、20-25%、20-30%、25-30%、25-35%、30-35%、30-40%、35-40%、40-50%或40-60%。

[0655] 在一个实施方案中,在向受试者施用本文所述的AAV颗粒后,改变受试者在24小时内经历的非REM(NREM)睡眠的量。NREM睡眠通常以生理活动减少为特征,因为通过EEG测量的脑电波变得更慢且具有更大的振幅。NREM具有四个阶段:阶段1是瞌睡时间或从清醒到入睡的转变,其中脑电波和肌肉活动开始减慢;阶段2是轻度睡眠的阶段,在该阶段期间,眼动

停止,并且脑电波变得更慢,偶有爆发快速波(有时称为睡眠梭状波);阶段3和阶段4(统称为慢波睡眠)的特征在于存在慢脑波(δ 波),散布着无眼运动的较小的较快波。成年人平均在NREM睡眠中花费约75-80%的其总每天睡眠时间段,在NREM阶段2睡眠中具有约一半的其总每日睡眠时间。

[0656] 在一个实施方案中,在向受试者施用本文所述的AAV颗粒后,改变受试者经历的NREM睡眠的量。作为非限制性实例,NREM睡眠量减少1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%或超过65%。作为非限制性实例,NREM睡眠量减少1-10%、5-10%、5-15%、10-15%、15-20%、15-25%、20-25%、20-30%、25-30%、25-35%、30-35%、30-40%、35-40%、40-50%或40-60%。作为非限制性实例,NREM睡眠量增加1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%或超过65%。作为非限制性实例,NREM睡眠量增加1-5%、1-10%、5-10%、5-15%、10-15%、15-20%、15-25%、20-25%、20-30%、25-30%、25-35%、30-35%、30-40%、35-40%、40-50%或40-60%。

[0657] 在一个实施方案中,在向受试者施用本文所述的AAV颗粒之后,改变受试者经历的NREM阶段1睡眠的量。作为非限制性实例,NREM阶段1睡眠量减少1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%或超过65%。作为非限制性实例,NREM阶段1睡眠量减少1-10%、5-10%、5-15%、10-15%、15-20%、15-25%、20-25%、20-30%、25-30%、25-35%、30-35%、30-40%、35-40%、40-50%或40-60%。作为非限制性实例,NREM阶段1睡眠量增加1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%或超过65%。作为非限制性实例,NREM阶段1睡眠量增加1-5%、1-10%、5-10%、5-15%、10-15%、15-20%、15-25%、20-25%、20-30%、25-30%、25-35%、30-35%、30-40%、35-40%、40-50%或40-60%。

[0658] 在一个实施方案中,在向受试者施用本文所述的AAV颗粒之后,改变受试者经历的NREM阶段2睡眠的量。作为非限制性实例,NREM阶段2睡眠的量减少1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%或超过65%。作为非限制性实例,NREM阶段2睡眠的量减少1-10%、5-10%、5-15%、10-15%、15-20%、15-25%、20-25%、20-30%、25-30%、25-35%、30-35%、30-40%、35-40%、40-50%或40-60%。作为非限制性实例,NREM阶段2睡眠的量增加1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%或超过65%。作为非限制性实例,NREM阶段2睡眠的量增加1-5%、1-10%、5-10%、5-15%、10-15%、15-20%、15-25%、20-25%、20-30%、25-30%、25-35%、30-35%、30-40%、35-40%、40-50%或40-60%。

[0659] 在一个实施方案中,在向受试者施用本文所述的AAV颗粒之后,改变受试者经历的NREM阶段3和4睡眠的量。作为非限制性实例,NREM阶段3和4睡眠的量减少1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%或超过65%。作为非限制性实例,NREM阶段3和4睡眠的量减少1-10%、5-10%、5-15%、10-15%、15-20%、15-25%、20-25%、20-30%、25-30%、25-

35%、30-35%、30-40%、35-40%、40-50%或40-60%。作为非限制性实例，NREM阶段3和4睡眠的量增加1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%或超过65%。作为非限制性实例，NREM阶段3和4睡眠的量增加1-5%、1-10%、5-10%、5-15%、10-15%、15-20%、15-25%、20-25%、20-30%、25-30%、25-35%、30-35%、30-40%、35-40%、40-50%或40-60%。

[0660] 在一个实施方案中，在向受试者施用本文所述的AAV颗粒之后，在受试者中NREM和REM周期的时间段更加一致。通常，NREM和REM周期每晚每90至110分钟交替四至六次。

[0661] V. 试剂盒和装置

[0662] 试剂盒

[0663] 在一个实施方案中，本发明提供了用于方便和/或有效地实施本发明方法的多种试剂盒。通常，试剂盒将包含足够量和/或数量的组分，以允许使用者对受试者进行多种治疗和/或进行多种实验。

[0664] 本发明的任何AAV颗粒可以包含在试剂盒中。在一些实施方案中，试剂盒可进一步包括用于产生和/或合成本发明的化合物和/或组合物的试剂和/或说明书。在一些实施方案中，试剂盒还可包含一种或多种缓冲液。在一些实施方案中，本发明的试剂盒可包括用于制备蛋白质或核酸阵列或文库的组分，因此可包括例如固体支持物。

[0665] 在一些实施方案中，试剂盒组分可以在水性介质中或以冻干形式包装。试剂盒的容器装置通常将包括至少一个小瓶、试管、烧瓶、瓶、注射器或其他容器装置，其中可以放置组分，并且优选适当等分取样。在存在有超过一种试剂盒组分(标记试剂和标签可以包装在一起)的情况下，试剂盒通常还可以含有可以分开放置另外的组分的第二、第三或其他另外的容器。在一些实施方案中，试剂盒还可包含第二容器装置，用于容纳无菌的药理学上可接受的缓冲液和/或其他稀释剂。在一些实施方案中，组分的各种组合可以包含在一个或多个小瓶中。本发明的试剂盒通常还可以包含用于容纳本发明的化合物和/或组合物，例如蛋白质，核酸的装置和紧密封闭的任何其他试剂容器，以用于商业销售。此类容器可以包括保留有期望的小瓶的注射或吹塑塑料容器。

[0666] 在一些实施方案中，以一种和/或多种液体溶液提供试剂盒组分。在一些实施方案中，液体溶液是水溶液，尤其优选无菌水溶液。在一些实施方案中，试剂盒组分可以以干燥粉末的形式提供。当试剂和/或组分以干粉形式提供时，可以通过添加适当体积的溶剂来重构此类粉末。在一些实施方案中，可以设想，也可以在另一个容器装置中提供溶剂。在一些实施方案中，标记染料以干粉形式提供。在一些实施方案中，可以设想在本发明的试剂盒中提供10、20、30、40、50、60、70、80、90、100、120、130、140、150、160、170、180、190、200、300、400、500、600、700、800、900、1000微克或至少或至多那些量的干燥染料。在此类实施方案中，然后将染料重悬浮在任何合适的溶剂例如DMSO中。

[0667] 在一些实施方案中，试剂盒可包括使用试剂盒组分以及使用试剂盒中未包括的任何其他试剂的说明书。说明书可以包括可以实现的变型。

[0668] 装置

[0669] 在一些实施方案中，本发明的AAV颗粒可以与装置组合，涂布到装置上或在装置中包埋。装置可以包括但不限于支架、泵和/或其他可植入治疗装置。另外，当受试者使用压缩装置，例如但不限于压缩装置以减少受试者中深静脉血栓形成(DVT)的机会时，可以将AAV

颗粒递送至受试者。

[0670] 本发明提供了可以掺入AAV颗粒的装置。这些装置在稳定的制剂中含有AAV颗粒，其可以立即递送至有此需要的受试者，例如人患者。

[0671] 根据本文教导的单次、多次或分开给药方案，可以采用用于施用的装置来递送本发明的AAV颗粒。

[0672] 考虑将本领域已知的用于对细胞、器官和组织进行多次施用的方法和装置与本文公开的方法和组合物一起用作本发明的实施方案。这些包括例如具有多个针的那些方法和装置、采用例如腔或导管的混合装置以及利用热量、电流或辐射驱动机构的装置。

[0673] 在一些实施方案中，可以使用装置，例如但不限于支架、管、导管、管道、吸管、针和/或管道递送本发明的AAV颗粒。使用这些装置的方法在本文中描述并且是本领域已知的。

[0674] 在一个实施方案中，可以使用递送系统将本发明的AAV颗粒施用于受试者，所述递送系统整合图像引导疗法并整合成像，例如但不限于激光、MRgFUS、内窥镜和机器人手术装置。

[0675] 在一个实施方案中，可以使用MRI Interventions, Inc的**CLEARPOINT®**神经干预系统将本发明的AAV颗粒施用于受试者。**CLEARPOINT®**神经干预系统可以单独使用或与本文所述的任何其他施用方法和装置组合使用。**CLEARPOINT®**神经干预系统有助于在神经程序的计划和操作过程中为器械或装置的放置和操作提供立体定向指导。

[0676] 在一个实施方案中，可以使用Renishaw PLC的**NEUROMATE®**立体定向机器人系统将本发明的AAV颗粒施用于受试者。**NEUROMATE®**系统可以单独使用或与本文所述的任何其他施用方法和装置组合使用。作为非限制性实例，**NEUROMATE®**系统可与头部支架、CT图像定位器、框架附着物、遥控器和软件一起使用。

[0677] 在一个实施方案中，可以使用Elekta AB的Elekta MICRODRIVE™装置将本发明的AAV颗粒施用于受试者。MICRODRIVE™装置可以单独使用或者与本文所述的其他任何施用方法和装置组合使用。作为非限制性实例，MICRODRIVE™装置可用于定位电极（例如，用于微电极记录（MER）、宏观刺激和深部脑刺激（DBS）电极植入），使用瞄准线（cross-hair）和AP支持架植入导管、管或DBS电极以验证位置、活组织检查、注射和抽吸、脑损伤、内窥镜引导和**GAMMAKNIFE®**放射外科学。

[0678] 在一个实施方案中，可以使用**MONTERIS®** Medical, Inc的**AXIIS®**立体定向微型框架将本发明的AAV颗粒施用于受试者。**AXIIS®**立体定向微型框架可以单独使用或与本文所述的任何其他施用方法和装置组合使用。**AXIIS®**立体定向微型框架是一种轨迹对准装置，其可以用于激光凝固、活组织检查、导管放置、电极植入、内镜检查术和凝块排空。微型框架允许360度接口，并通过简单调节提供对多个颅内靶标的访问。此外，微型框架与MRI相容。

[0679] 在一个实施方案中，可以使用Integra LifeSciences Corporation的**INTEGRA™ CRW®**系统将本发明的AAV颗粒施用于受试者。**INTEGRA™ CRW®**系统可以单独使用或者与本文所述的任何其他施用方法和装置组合使用。**CRW®**系统可用于各种应用，例如但不

限于立体定向手术、显微外科手术、导管插入术和活组织检查。**CRW®**系统设计用于为使用该系统(例如,拇指锁紧螺钉、游标尺标度、双螺栓固定和坚固框架)的人员提供准确性。

[0680] 在一个实施方案中,可以使用Stereotaxis, Inc的**EPOCH®**解决方案系统将本发明的AAV颗粒施用于受试者,该解决方案系统可以包括**NIOBE®**ES磁导航系统、**VDRIVE®**机器人导航系统和/或**ODYSSEY®**信息解决方案(均为Stereotaxis, Inc.)。**EPOCH®**解决方案系统可以单独使用或者与本文所述的任何其他施用方法和装置组合使用。作为非限制性实例,**NIOBE®**ES磁导航系统可以用于精确接触受试者。作为另一个非限制性实例,**NIOBE®**ES磁系统可以与**VDRIVE®**机器人导航系统一起使用,以提供精确的运动和稳定性。

[0681] 在一个实施方案中,可以使用NeuroStation工作站将本发明的AAV颗粒施用于受试者,该NeuroStation工作站使用无框立体定向方法为应用提供图像引导,例如但不限于手术计划、活组织检查、颅骨切开术、内镜检查术、术中超声和放射疗法。

[0682] 在一个实施方案中,可以使用机器人趋实体性系统,例如但不限于美国专利号5,078,140(其内容通过引用完整并入本文)中描述的装置将本发明的AAV颗粒施用于受试者。装置的机械臂可以用于精确地定向用于进行程序的外科工具或其他仪器。

[0683] 在一个实施方案中,可以使用自动递送系统将本发明的AAV颗粒施用于受试者,所述自动递送系统例如但不限于美国专利号5,865,744(其内容通过引用完整并入本文)中描述的装置。根据递送系统收集的图像,计算机将针施用调节为特定受试者的合适的深度。

[0684] 在一个实施方案中,可以将本发明的AAV颗粒施用于受试者,所述受试者在施用期间使用压缩装置和/或在施用之前和/或之后使用一段时间,所述压缩装置例如但不限于减少受试者中的深静脉血栓形成(DVT)机会的压缩装置。可以在向受试者施用AAV颗粒之前使用压缩装置达至少5分钟、15分钟、30分钟、45分钟、1小时、2小时、3小时、4小时、5小时、6小时、7小时、8小时或超过8小时。可以在施用AAV颗粒后使用压缩装置达至少5分钟、15分钟、30分钟、45分钟、1小时、2小时、3小时、4小时、5小时、6小时、7小时、8小时、9小时、10小时、11小时、12小时、13小时、14小时、15小时、16小时、17小时、18小时、19小时、20小时、21小时、22小时、23小时、1天、2天、3天、4天、5天、6天、1周、2周、3周或1个月。作为非限制性实例,在递送AAV颗粒的程序期间同时使用压缩装置。作为另一个非限制性实例,在施用AAV颗粒之前使用压缩装置。作为另一个非限制性实例,在施用AAV颗粒之后使用压缩装置。作为另一个非限制性实例,在施用AAV颗粒之前、期间和之后使用压缩装置。

[0685] 压缩设备的非限制性实例包括ActiveCare+S.F.T.间歇性压缩装置、ActiveCare+S.F.T.气动压缩装置、DVTlite的Venowave、KCI系统压缩泵、Aircast VenaFlow系统、SCD Express压缩系统或Bio Compression Systems, Inc.气动压缩治疗设备(例如,泵可以选自SC-2004型、SC-2004-FC型、SC-3004型、SC-3004-FC型、SC-2008型、SC-2008-DL型、SC-3008-T型、BioCryo系统、IC-BAP-DL型或multi-flo DVT组合IC_1545-DL,并且与泵一起使用的衣服可以是4室、8室、BioCryo、Multi-Flo或BioArterial服。

[0686] 在一个实施方案中,可以使用递送AAV颗粒的装置和头部固定组件向受试者递送AAV颗粒。头部固定组件可以是但不限于通过MRI干预出售的任何头部固定组件。作为非限制性实例,头部固定组件可以是在美国专利号8,099,150、8,548,569和9,031,636和国际专

利公开号W0201108495和W02014014585中描述的任何组件,其内容通过引用整体并入本文。头部固定组件可与MRI相容的钻头组合使用,例如但不限于国际专利公开号W02013181008和美国专利公开号US20130325012(其内容通过引用整体并入本文)中所述的MRI相容的钻头。

[0687] 在一个实施方案中,可以使用用于将设备定位到受试者上的目标点以递送AAV颗粒的方法、系统和/或计算机程序来递送AAV颗粒。作为非限制性实例,该方法,系统和/或计算机程序可以是美国专利号8,340,743(其内容通过引用完整并入本文)中描述的方法、系统和/或计算机程序。该方法可以包括:测定身体中的目标点和参考点,其中目标点和参考点定义延伸穿过各自的计划轨迹线(PTL);以及测定可视化平面,其中PTL在照准点处与可视化平面相交;相对于身体安装引导装置以相对于PTL移动,其中引导装置不与可视化平面相交;测定引导轴和可视化平面之间的相交点(GPP);并且将GPP与可视化平面中的照准点对齐。

[0688] 在一个实施方案中,可以使用常规增强的递送装置将AAV颗粒递送至受试者。使用对流靶向递送药物的非限制性实例记载于美国专利公开号US20100217228、US20130035574和US20130035660以及国际专利公开号W02013019830和W02008144585中,每篇的内容通过引用完整并入本文。

[0689] 在一个实施方案中,可以在递送AAV颗粒之前、期间和/或之后对受试者成像。成像方法可以是本领域已知和/或本文描述的方法,例如但不限于磁共振成像(MRI)。作为非限制性实例,可以将成像用于评估治疗效果。作为另一个非限制性实例,可以将成像用于AAV颗粒的辅助递送。

[0690] 在一个实施方案中,可以使用MRI引导的装置来递送AAV颗粒。MRI引导装置的非限制性实例记载于美国专利号9,055,884、9,042,958、8,886,288、8,768,433、8,396,532、8,369,930、8,374,677和8,175,677和美国申请号US20140024927,每篇的内容通过引用完整并入本文。作为非限制性实例,MRI引导的装置可以能够实时提供数据,例如美国专利号8,886,288和8,768,433(每篇的内容通过引用完整并入本文)中描述的那些。作为另一个非限制性实例,MRI引导的装置或系统可以与靶向插管,诸如美国专利号8,175,677和8,374,677(每篇的内容通过引用完整并入本文)中描述的系统一起使用。作为又一个非限制性实例,MRI引导装置包括用于引导介入装置的轨迹引导框架,如例如在美国专利号9,055,884和美国专利申请号US20140024927(每篇的内容通过引用完整并入本文)中所述。

[0691] 在一个实施方案中,可以使用MRI相容的尖端组件来递送AAV颗粒。在美国专利公开号US20140275980(其内容通过引用完整并入本文)中描述了MRI相容的尖端组件的非限制性实例。

[0692] 在一个实施方案中,可以使用MRI相容的插管来递送AAV颗粒。MRI相容插管的非限制性实例包括国际专利公开号W02011130107(其内容通过引用完整并入本文)中教导的那些。

[0693] 在一个实施方案中,可以使用与MRI相容的导管来递送AAV颗粒。MRI相容导管的非限制性实例包括在国际专利公开号W02012116265,美国专利公开号8,825,133和美国专利公开号US20140024909(每篇的内容通过引用完整并入本文)中教导的那些。

[0694] 在一个实施方案中,可以使用具有细长管状主体和隔膜的装置递送AAV颗粒,如美

国专利公开号US20140276582和US20140276614 (每篇的内容通过引用完整并入本文) 中所述。

[0695] 在一个实施方案中, 可以使用MRI相容的定位和/或引导系统递送AAV颗粒, 例如但不限于美国专利公开号US20150223905和US20150230871 (每篇的内容通过引用完整并入本文) 中描述的那些。作为非限制性实例, MRI相容的定位和/或引导系统可包括适于固定到患者的支架 (mount)、具有配置成附接到支架, 从而能够至少在三个维度上可控平移的腔的靶向插管和配置成通过滑道紧贴行进并且在靶向插管腔中缩回的细长探针, 该细长探针包括刺激或记录电极中的至少一个。

[0696] 在一个实施方案中, 可以使用轨迹框架将AAV颗粒递送至受试者, 如美国专利公开号US20150031982和US20140066750以及国际专利公开号W02015057807和W02014039481 (每篇的内容通过引用完整并入本文) 中所述。

[0697] 在一个实施方案中, 可以使用基因枪将AAV颗粒递送至受试者。

[0698] 定义

[0699] 在本说明书的各个地方, 以组或范围公开了本公开内容的化合物的取代基。特别意图本公开内容包括此类组和范围的成员的每个单独的子组合。

[0700] 约: 如本文中所用, 术语“约”是指所述值的 $\pm 10\%$ 。

[0701] 活性: 如本文中所用, 术语“活性”是指事物正在发生或正在完成的条件。本文所述的组合物可具有活性, 并且该活性可涉及一种或多种生物学事件。

[0702] 腺伴随病毒: 如本文所用, 术语“腺伴随病毒”或“AAV”是指依赖病毒属的成员, 其包含任何颗粒、序列、基因、蛋白质或其衍生的组分。如本文中所用, 术语“AAV颗粒”包括壳体和多核苷酸。AAV颗粒可以源自本文所述或本领域已知的任何血清型, 包括血清型的组合 (即“假型化”AAV) 或各种基因组 (例如单链或自身互补)。另外, AAV颗粒可以是复制缺陷的和/或靶向的。

[0703] 组合施用: 如本文中所用, 术语“组合施用的”或“组合施用”是指将两种或更多种药剂 (例如, AAV) 同时或在一定间隔内施用于受试者, 使得可以有每种药物对患者和/或受试者在某个时间点同时暴露于两者的作用的重叠。在一些实施方案中, 它们在彼此约60、30、15、10、5或1分钟内或在至少一剂一种或多种其他药剂的约24小时, 12小时, 6小时, 3小时内施用。

[0704] 在一些实施方案中, 施用以重叠的剂量方案进行。如本文所用, 术语“剂量方案”是指在时间上间隔开的多个剂量。此类剂量可以以规定的间隔发生, 或者可以包括一个或多个施用空隙。在一些实施方案中, 药剂的施用足够紧密间隔开, 从而实现组合 (例如, 协同) 作用。

[0705] 改善: 如本文所用, 术语“改善”指减轻状况或疾病的至少一种指标的严重性。例如, 在神经变性疾病的背景下, 改善包括减少神经元损失。

[0706] 动物: 如本文所用, 术语“动物”是指动物界的任何成员。在一些实施方案中, “动物”是指处于任何发育阶段的人。在一些实施方案中, “动物”是指处于任何发育阶段的非人动物。在某些实施方案中, 非人动物是哺乳动物 (例如, 啮齿类、小鼠、大鼠、兔、猴、狗、猫、绵羊、牛、灵长类或猪)。在一些实施方案中, 动物包括但不限于哺乳动物、禽类、爬行类、两栖类、鱼和蠕虫。在某些实施方案中, 动物是转基因动物、遗传工程化动物或克隆。

[0707] 反义链:如本文所用,术语siRNA分子的“反义链”或“第一链”或“引导链”是指与约10-50个核苷酸的区段基本互补的链,例如靶向沉默的基因的mRNA的约15-30、16-25、18-23或19-22个核苷酸。反义链或第一链具有与所需靶mRNA序列充分互补以指导靶特异性沉默的序列,例如,足以触发RNAi机制或过程破坏所需靶mRNA的互补性。

[0708] 近似地:如本文所用,术语“近似地”或“约”,如应用于一个或多个感兴趣的值,是指类似于所述的参考值的值。在某些实施方案中,术语“近似地”或“约”是指落入所述参考值的任一方向(大于或小于)的25%、20%、19%、18%、17%、16%、15%、14%、13%、12%、11%、10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1%或更小内的数值范围,除非另有说明或从上下文中明显(除非在此类数字将超过可能值的100%的情况下)。

[0709] 与...缔合:如本文所用,术语“与...缔合”、“缀合”,“联系”、“附着”和“栓系”当就两个或多个部分而言使用时,是指该部分直接或经由充当连接剂的一个或多个另外的部分在物理上彼此缔合或连接,以形成足够稳定的结构,使得部分在使用结构的条件,例如生理条件下保持物理缔合。“缔合”不必严格地通过直接共价化学键键合来实现。也可以暗示离子或氢键键合或基于杂交的连接性足够稳定,以使“缔合”实体保持物理缔合。

[0710] 双功能性:如本文所用,术语“双功能性”是指能够或维持至少两种功能的任何物质、分子或部分。功能可影响相同或不同的结果。产生功能的结构可以相同或不同。

[0711] 生物活性:如本文所用,短语“生物活性”是指在生物系统和/或生物体中具有活性的任何物质(例如,AAV)的特征。例如,当施用于生物体时对所述生物体具有生物学效果的物质认为具有生物活性。在特定的实施方案中,若甚至多核苷酸的一部分具有生物活性或模拟认为生物学相关的活性,则可以认为本发明的多核苷酸是生物活性的。

[0712] 生物系统:如本文所用,术语“生物系统”是指一起发挥功能以进行细胞膜、细胞室、细胞、组织、器官、器官系统、多细胞生物体或任何生物实体内的某些生物学任务的一组器官、组织、细胞、细胞内组分、蛋白质、核酸、分子(包括但不限于生物分子)。在一些实施方案中,生物学系统是包含细胞内和/或细胞外细胞信号传导生物分子的细胞信号传导途径。在一些实施方案中,生物系统包含细胞外/细胞基质和/或细胞小生境内的生长因子信号转导事件。

[0713] 生物分子:如本文所用,术语“生物分子”是基于氨基酸、基于核酸、基于碳水化合物或基于脂质等的任何天然分子。

[0714] 互补的和基本上互补的:如本文所用,术语“互补的”是指多核苷酸彼此形成碱基对的能力。碱基对通常由反平行多核苷酸链中核苷酸单元之间的氢键形成。互补的多核苷酸链可以以Watson-Crick方式(例如A到T、A到U、C到G)或任何其他允许形成双链体的方式形成碱基对。如本领域技术人员所知,当与DNA形成对比使用RNA时,尿嘧啶而不是胸腺嘧啶是认为与腺苷互补的碱基。然而,当在本发明的上下文中表示U时,除非另有说明,暗示了替代T的能力。完全互补性或100%互补性指如下的情况,其中一个多核苷酸链的每个核苷酸单元可以与第二多核苷酸链的核苷酸单元形成氢键。小于完全互补性是指如下的情况,其中两条链的某些但不是全部核苷酸单元可以彼此形成氢键。例如,对于两个20聚体,如果每条链上只有两个碱基对可以彼此形成氢键,则多核苷酸链表现出10%的互补性。在相同实例中,如果每条链上的18个碱基对可以彼此形成氢键,则多核苷酸链表现出90%的互补性。如本文所用,术语“基本上互补”是指siRNA具有足以结合所需靶mRNA并触发靶mRNA的RNA沉

默的序列(例如,在反义链中)。

[0715] 化合物:如本文所用,术语“化合物”是指不同的化学实体。在一些实施方案中,特定化合物可以以一种或多种异构体或同位素形式(包括但不限于立体异构体、几何异构体和同位素)存在。在一些实施方案中,仅以单一此类形式提供或利用化合物。在一些实施方案中,化合物以两种或更多种此类形式的混合物(包括但不限于立体异构体的外消旋混合物)提供或利用。本领域技术人员理解某些化合物以不同的此类形式存在,显示出不同的性质和/或活性(包括但不限于生物活性)。在此类情况下,选择或避免根据本发明使用的化合物的特定形式在本领域技术人员的普通技能范围内。例如,可以以光学活性或外消旋形式分离含有不对称取代的碳原子的化合物。关于如何从光学活性起始材料制备光学活性形式的方法是本领域已知的,例如通过解析外消旋混合物或通过立体选择性合成。烯烃、C=N双键等的许多几何异构体也可以存在于本文所述的化合物中,并且在本公开内容中考虑所有此类稳定的异构体。描述了本公开内容的化合物的顺式和反式几何异构体,并且可以作为异构体的混合物或作为分离的异构体形式分离。

[0716] 本公开内容的化合物还包括互变异构形式。互变异构形式是由单键与相邻双键的交换以及质子的伴随迁移引起的。互变异构形式包括质子互变异构体,其是具有相同经验式和总电荷的异构质子化状态。

[0717] 本公开内容的化合物还包括存在于中间体或最终化合物中的原子的所有同位素。“同位素”是指由于原子核中的不同中子数而具有相同原子数但不同质量数的原子。例如,氢的同位素包括氕和氘。

[0718] 可以通过常规方法与溶剂或水分子组合制备本公开内容的化合物和盐以形成溶剂化物和水合物。

[0719] 保守的:如本文所用,术语“保守的”分别指多核苷酸序列或多肽序列的核苷酸或氨基酸残基,其是在比较的两个或多个序列的相同位置中不变存在的那些。相对保守的核苷酸或氨基酸是与序列中其他位置出现的核苷酸或氨基酸相比更相关序列中保守的核苷酸或氨基酸。

[0720] 在一些实施方案中,如果两个或多个序列彼此100%相同,则它们称为“完全保守的”。在一些实施方案中,如果两个或多个序列彼此至少70%相同,至少80%相同,至少90%相同,或至少95%相同,则认为它们是“高度保守的”。在一些实施方案中,如果两个或多个序列彼此约70%相同,约80%相同,约90%相同,约95%,约98%或约99%相同,则它们称为“高度保守”。在一些实施方案中,如果两个或多个序列彼此至少30%相同,至少40%相同,至少50%相同,至少60%相同,至少70%相同,至少80%相同,至少90%,或至少95%相同,则它们称为“保守”。在一些实施方案中,如果两个或多个序列彼此是约30%相同,约40%相同,约50%相同,约60%相同,约70%相同,约80%相同,约90%相同,约95%相同,约98%相同或约99%相同,则它们称为“保守”。序列的保守性可以应用于寡核苷酸、多核苷酸或多肽的全长,或者可以应用于其一部分、区域或特征。

[0721] 在一个实施方案中,保守序列不连续。本领域技术人员能够理解当序列之间存在连续比对中的缺口时如何实现比对,以及如何在不容忍存在的插入或缺失的情况下比对相应的残基。

[0722] 在一个实施方案中,保守序列不连续。本领域技术人员能够理解当序列之间存在

连续比对中的缺口时如何实现比对,以及如何在不容忍存在的插入或缺失的情况下比对相应的残基。

[0723] 递送:如本文所用,“递送”是指对靶物递送化合物,诸如细小病毒、例如AAV和/或AAV化合物、物质、实体、部分、货物或有效负载的动作或方式。此类靶物可以是细胞、组织、器官、生物体或系统(无论是生物学还是生产)。

[0724] 递送剂:如本文所用,“递送剂”是指至少部分促进多核苷酸和/或一种或多种物质(包括但不限于本发明的化合物和/或组合物,例如病毒颗粒或表达载体)对靶定细胞的体内和/或体外递送的任何药剂或物质。

[0725] 脱稳定化:如本文所用,术语“脱稳定”、“脱稳定化”或“脱稳定化区域”是指比相同区域或分子的起始、参考、野生型或天然形式的稳定性小的区域或分子。

[0726] 可检测标记物:如本文所用,“可检测标记物”是指一种或多种与另一实体连接、掺入或缔合的标志物、信号或部分,所述另一实体容易通过本领域已知的方法检测,包括放射摄影术、荧光、化学发光、酶活性、吸光度免疫学检测等。可检测标记物可以包括放射性同位素、荧光团、发色团、酶、染料、金属离子、配体诸如生物素、亲合素、链霉亲合素和半抗原、量子点等。可检测标记物可以位于它们所附着、掺入或缔合的实体中的任何位置处。例如,当与肽或蛋白质附着、掺入肽或蛋白质或与肽或蛋白质缔合时,它们可以在氨基酸、肽或蛋白质内,或位于N或C端。

[0727] 给药方案:如本文所用,“给药方案”是施用日程表或内科医生确定的治疗、预防或姑息治疗方案。

[0728] 有效量:如本文所用,药剂的术语“有效量”是足以例如在向受试细胞单剂或多剂施用后在治愈、缓解、改善病症的一种或多种症状,临床结果中实现有益或期望结果的量,因此,“有效量”取决于其应用的环境。例如,在施用治疗帕金森氏病的药剂的情况下,与未施用该药剂的情况下获得的响应相比,药剂的有效量是例如足以实现如本文所定义的帕金森氏病治疗的量。

[0729] 包囊:如本文所用,术语“包囊”是指包封、围绕或包围。

[0730] 工程化:如本文所用,当实施方案设计为具有从起点、野生型或天然分子变化的特征或特性(无论是结构或化学的)时,它们是“工程化的”。因此,工程药剂或实体是指其设计和/或生产包括人为行为的药剂或实体。

[0731] 表位:如本文所用,“表位”是指分子上能够与生物分子相互作用的表面或区域。例如,蛋白质可以含有一个或多个氨基酸,例如与抗体例如生物分子相互作用的表位。在某些实施方案中,当涉及蛋白质或蛋白质模块时,表位可以包含氨基酸的线性延伸或由折叠的氨基酸链形成的三维结构。

[0732] 表达:如本文所用,核酸序列的“表达”是指以下事件中的一个或多个:(1)从DNA序列产生RNA模板(例如,通过转录);(2)RNA转录物的加工(例如,通过剪接、编辑、5'帽形成和/或3'末端加工);(3)将RNA翻译成多肽或蛋白质;(4)折叠多肽或蛋白质;和(5)多肽或蛋白质的翻译后修饰。

[0733] 特征:如本文所用,“特征”是指特征、特性或独特元素。

[0734] 制剂:如本文所用,“制剂”包括至少一种本公开内容的多核苷酸和/或化合物和/或组合物(例如,载体,AAV颗粒等)和递送剂。

[0735] 片段:如本文所用,“片段”是指整体的连续部分。例如,蛋白质的片段可以包含通过消化从培养的细胞分离的全长蛋白质而获得的多肽。在一些实施方案中,蛋白质的片段包括至少3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、150、200、250或更多个氨基酸。在一些实施方案中,抗体的片段包括进行酶消化或原样合成的抗体的部分。

[0736] 功能性:如本文所用,“功能性”生物分子是具有下述结构和呈下述形式的生物分子和/或实体,在所述结构和形式中它表现出表征其的性质和/或活性。

[0737] 基因表达:术语“基因表达”是指核酸序列经历成功转录并且在大多数情况下翻译以产生蛋白质或肽的过程。为了清楚起见,当提及“基因表达”的测量时,这应理解为意指测量可以是转录的核酸产物,例如RNA或mRNA,或翻译的氨基酸产物,例如多肽或肽。测量RNA、mRNA、多肽和肽的量或水平的方法是本领域公知的。

[0738] 同源性:如本文所用,术语“同源性”是指聚合物分子之间,例如在核酸分子(例如DNA分子和/或RNA分子)之间和/或在多肽分子之间的整体相关性。在一些实施方案中,若聚合物分子的序列为至少25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或99%相同或相似,则认为它们彼此“同源”。术语“同源”必然是指至少两个序列(多核苷酸或多肽序列)之间的比较。根据本发明,如果两个多核苷酸序列编码的多肽是至少约20个氨基酸的至少一个区段的至少约50%、60%、70%、80%、90%、95%或甚至99%,则认为它们是同源的。在一些实施方案中,同源多核苷酸序列的特征在于编码至少4-5个独特指定氨基酸的区段的能力。对于长度小于60个核苷酸的多核苷酸序列,同源性通常取决于编码至少4-5个独特指定氨基酸的片段的能力。根据本发明,如果蛋白质对于至少约20个氨基酸的至少一个区段是至少约50%、60%、70%、80%或90%相同,则认为两个蛋白质序列是同源的。在许多实施方案中,同源蛋白质可以在至少3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、25、30、35、40、45、50个或更多氨基酸的至少一个短区段上显示较大的整体同源性程度和较高的同源性程度。在许多实施方案中,同源蛋白质共享一种或多种特征序列元件。如本文所用,术语“特征序列元件”是指存在于相关蛋白质中的基序。在一些实施方案中,此类基序的存在与特定活性(例如生物学活性)相关。

[0739] 同一性:如本文所用,术语“同一性”是指聚合物分子之间,例如寡核苷酸和/或多核苷酸分子(例如DNA分子和/或RNA分子)之间和/或多肽分子之间的整体相关性。例如,可以通过比对两个序列以达到最佳比较目的来对两个多核苷酸序列的同一性百分比进行计算(例如,可以在第一和第二核酸序列中的一个或两个中引入缺口以实现最佳比对,并且可以忽略不同的序列以用于比较目的)。在某些实施方案中,为了比较目的而比对的序列的长度为参考序列长度的至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%、至少95%或100%。然后比较相应核苷酸位置处的核苷酸。当第一序列中的位置被与第二序列中的相应位置相同的核苷酸占据时,则分子在该位置处是相同的。两个序列之间的同一性百分比为考虑到缺口的数量和每个缺口的长度,序列共享的相同位置的数目的函数,所述缺口需要被引入以实现两个序列的最佳比对。序列的比较和两个序列之间同一性百分比的确定可以使用数学算法来完成。例如,两个核苷酸序列之间的同一性百分数可以使用方法,诸如以下中描述的那些方法测定:Computational Molecular Biology, Lesk, A.M. 编, Oxford University Press, New York, 1988; Biocomputing: Informatics and

Genome Projects, Smith, D.W. 编, Academic Press, New York, 1993; Sequence Analysis in Molecular Biology, von Heinje, G., Academic Press, 1987; Computer Analysis of Sequence Data, Part I, Griffin, A.M., and Griffin, H.G. 编, Humana Press, New Jersey, 1994; 和 Sequence Analysis Primer, Gribskov, M. and Devereux, J. 编, M Stockton Press, New York, 1991 (每篇通过引用并入本文)。例如, 可以使用已经并入ALIGN程序(2.0版)的Meyers和Miller (CABIOS, 1989, 4:11-17) 算法, 使用PAM120权重残基表、缺口长度罚分12和缺口罚分4, 测定两个核苷酸序列之间的同一性百分比。或者, 可以使用NWSgapdna.CMP矩阵, 使用GCG软件包中的GAP程序测定两个核苷酸序列之间的同一性百分比。通常用于测定序列之间的同一性百分比的方法包括但不限于Carillo, H., and Lipman, D., SIAM J Applied Math., 48:1073

[0740] (1988) (其通过引用完整并入本文) 中公开的那些方法。测定同一性的技术已编入公共可用的计算机程序中。用于测定两个序列之间的同源性的示例性计算机软件包括但不限于GCG程序包, Devereux, J., et al., Nucleic Acids Research, 12(1), 387 (1984)), BLASTP, BLASTN, 和FASTA Altschul, S.F. et al., J. Molec. Biol., 215, 403 (1990))。

[0741] 抑制基因的表达: 如本文所用, 短语“抑制基因的表达”是指引起基因表达产物量的减少。表达产物可以是来自基因转录的RNA (例如mRNA) 或从自基因转录的mRNA翻译的多肽。通常, mRNA水平的降低导致从其翻译的多肽水平的降低。表达水平可以使用用于测量mRNA或蛋白质的标准技术来测定。

[0742] 体外: 如本文所用, 术语“体外”是指在人工环境, 例如在试管或反应容器中, 在细胞培养物中, 在培养皿等中, 而不是在生物体 (例如动物、植物或微生物) 中发生的事件。

[0743] 体内: 如本文所用, 术语“体内”是指在生物体 (例如, 动物、植物或微生物或其细胞或组织) 内发生的事件。

[0744] 分离的: 如本文所用, 术语“分离的”与“分开的”同义, 但是带有推论分离是通过人工进行的。在一个实施方案中, 分离的物质或实体是已经与先前与它相关 (无论是在自然界还是在实验环境中) 的组分中的至少一些分离的物质或实体。分离的物质可以具有参照与它们相关的物质的不同纯度水平。分离的物质和/或实体可以与至少约10%、约20%、约30%、约40%、约50%、约60%、约70%、约80%、约90%或更多的最初与它们相关的其他组分分开。在一些实施方案中, 分离的药剂是大于约80%、约85%、约90%、约91%、约92%、约93%、约94%、约95%、约96%、约97%、约98%、约99%或超过约99%纯的。如本文所用, 如果物质基本上不含其他组分, 则该物质是“纯的”。

[0745] 基本上分离的: “基本上分离的”是指化合物与形成或检测到该化合物的环境基本分离。部分分离可以包括例如富含本发明内容的化合物的组合物。实质性分离可包括含有按重量计至少约50%、至少约60%、至少约70%、至少约80%、至少约90%、至少约95%、至少约97%或至少约99%的本公开内容的化合物或其盐的组合物。分离化合物及其盐的方法是本领域常规的。在一些实施方案中, 物质或实体的分离包括化学缔合和/或键的破坏。在一些实施方案中, 分离仅包括与先前与分离的物质或实体组合的组分分离, 并且不包括此类破坏。

[0746] 修饰的: 如本文所用, 术语“修饰的”是指与亲本或参照分子或实体相比, 本发明的分子或实体的改变的状态或结构。分子可以以多种方式, 包括在化学、结构和功能上修饰。

在一些实施方案中,通过引入非天然氨基酸或非天然核苷酸来修饰本公开内容的化合物和/或组合物。

[0747] 突变:如本文所用,术语“突变”是指变化和/或改变。在一些实施方案中,突变可以是对蛋白质(包括肽和多肽)和/或核酸(包括多核酸)的变化和/或改变。在一些实施方案中,突变包括对蛋白质和/或核酸序列的变化和/或改变。此类变化和/或改变可以包括一种或多种氨基酸(在蛋白质和/或肽的情况下)和/或核苷酸(在核酸和/或多核酸的情况下)的添加、取代和/或缺失。在突变包含氨基酸和/或核苷酸的添加和/或取代的实施方案中,此类添加和/或取代可以包含1个或多个氨基酸和/或核苷酸残基,并且可以包括修饰的氨基酸和/或核苷酸。

[0748] 天然存在的:如本文所用,“天然存在的”是指自然存在而没有人工帮助或人为干预的情况。

[0749] 非人脊椎动物:如本文所用,“非人脊椎动物”包括除智人以外的所有脊椎动物,包括野生和驯养物种。非人脊椎动物的实例包括但不限于哺乳动物,例如羊驼、白臀野牛(banteng)、野牛、骆驼、猫、牛、鹿、狗、驴、大额牛、山羊、豚鼠、马、美洲驼羊(llama)、骡、猪、兔、驯鹿、绵羊、水牛和牦牛。

[0750] 核酸:如本文所用,术语“核酸”、“多核苷酸”和“寡核苷酸”是指由多脱氧核糖核苷酸(含有2-脱氧-D-核糖)或多核糖核苷酸(含有D-核糖)构成的任何核酸聚合物,或作为嘌呤或嘧啶碱基或修饰的嘌呤或嘧啶碱基的N糖苷的任何其他类型的多核苷酸。术语“核酸”、“多核苷酸”和“寡核苷酸”之间在长度上没有意图的区别,并且这些术语可以互换使用。这些术语仅指分子的一级结构。因此,这些术语包括双链和单链DNA以及双链和单链RNA。

[0751] 脱靶:如本文所用,“脱靶”是指对任何一个或多个靶物、基因和/或细胞转录物的任何非意图影响。

[0752] 可读框:如本文所用,“可读框”或“ORF”是指在给定阅读框中不含终止密码子的序列。

[0753] 可操作地连接:如本文所用,短语“可操作地连接”是指两个或更多个分子、构建体、转录物、实体,部分等之间的功能连接。

[0754] 颗粒:如本文所用,“颗粒”是由至少两种组分,蛋白质壳体和壳体内包封的多核苷酸序列构成的病毒。

[0755] 患者:如本文所用,“患者”是指可以寻求或需要治疗,要求治疗,正在接受治疗,将接受治疗的受试者,或由受过训练的专业人员针对特定疾病或状况,诸如例如帕金森氏病进行护理的受试者。

[0756] 有效负载:如本文所用,“有效负载”是指由病毒基因组编码或在病毒基因组内编码的一种或多种多核苷酸或多核苷酸区域或者此类多核苷酸或多核苷酸区域的表达产物,例如转基因、编码多肽或多-多肽的多核苷酸或调控核酸或调节核酸。

[0757] 有效负载构建体:如本文所用,“有效负载构建体”是编码或包含在一侧或两侧侧翼有反向末端重复(ITR)序列的有效负载的一个或多个多核苷酸区域。有效负载构建体是在病毒生产细胞中复制以产生病毒基因组的模板。

[0758] 有效负载构建体载体:如本文所用,“有效负载构建体载体”是编码或包含有效负载构建体以及用于在细菌细胞中复制和表达的调节区的载体。

[0759] 有效负载构建体表达载体:如本文所用,“有效负载构建体表达载体”是编码或包含有效负载构建体,并且还包含一个或多个编码或包含用于病毒复制细胞中病毒表达的组分的多核苷酸区域的载体。

[0760] 肽:如本文所用,“肽”小于或等于50个氨基酸长,例如约5、10、15、20、25、30、35、40、45或50个氨基酸长。

[0761] 药学上可接受的:在本文中使用短语“药学上可接受的”来指在合理的医学判断范围内适合与人和动物组织接触使用而没有过度毒性、刺激、变应性应答或其他问题或并发症,与合理的益处/风险比相称的那些化合物、材料、组合物和/或剂型。

[0762] 药学上可接受的赋形剂:如本文所用,短语“药学上可接受的赋形剂”是指药物组合物中存在并且具有基本上无毒并且在诸如患者的受试者中非炎性的特性的除化合物和/或活性剂(例如如本文所述)以外的任何成分。在一些实施方案中,药学上可接受的赋形剂是能够悬浮和/或溶解活性剂的媒介物。赋形剂可包括例如:抗粘剂、抗氧化剂、粘合剂、涂层材料、压缩助剂、崩解剂、染料(着色剂)、软化剂、乳化剂、填充剂(稀释剂)、成膜剂或涂层材料、调味剂、香料、助流剂(流动增强剂)、润滑剂、防腐剂、印刷油墨、吸附剂、悬浮剂或分散剂、甜味剂和水合水。示例性的赋形剂包括但不限于:丁基羟基甲苯(BHT)、碳酸钙、磷酸钙(二元)、硬脂酸钙、交联羧甲基纤维素、交联的聚乙烯吡咯烷酮、柠檬酸、交聚维酮、半胱氨酸、乙基纤维素、明胶、羟丙基纤维素、羟丙基甲基纤维素、乳糖、硬脂酸镁、麦芽糖醇、甘露醇、甲硫氨酸、甲基纤维素、对羟基苯甲酸甲酯、微晶纤维素、聚乙二醇、聚乙烯吡咯烷酮、聚维酮、预胶化淀粉、对羟基苯甲酸丙酯、棕榈酸视黄酯、虫胶、二氧化硅、羧甲基纤维素钠、柠檬酸钠、淀粉羟乙酸钠、山梨糖醇、淀粉(玉米)、硬脂酸、蔗糖、滑石粉、二氧化钛、维生素A、维生素E、维生素C和木糖醇。

[0763] 药学上可接受的盐:本文描述了化合物的药学上可接受的盐。如本文所用,“药学上可接受的盐”是指所公开化合物的衍生物或形式,其中母体化合物通过将现有的酸或碱部分转化成其盐形式而修饰(例如,如通过使游离碱基团与合适的有机酸反应产生的)。药学上可接受的盐的实例包括但不限于碱性残基如胺的无机或有机酸盐;酸性残基如羧酸的碱金属或有机盐;等等。代表性的酸加成盐包括乙酸盐、乙酸、己二酸盐、藻酸盐、抗坏血酸盐、天冬氨酸盐、苯磺酸盐、苯磺酸、苯甲酸盐、硫酸氢盐、硼酸盐、丁酸盐、樟脑酸盐、樟脑磺酸盐、柠檬酸盐、环戊烷丙酸盐、二葡萄糖酸盐、十二烷基硫酸盐、乙磺酸盐、延胡索酸、葡庚糖酸盐、甘油磷酸盐、半硫酸盐、庚糖酸盐、己酸盐、氢溴酸盐、盐酸盐、氢碘酸盐、2-羟基-乙磺酸盐、乳糖酸盐、乳酸盐、月桂酸盐、月桂基硫酸盐、苹果酸盐、马来酸盐、丙二酸盐、甲磺酸盐、2-萘磺酸盐、烟酸盐、硝酸盐、油酸盐、草酸盐、棕榈酸盐、双羟萘酸盐、果胶酸盐、过硫酸盐、3-苯基丙酸盐、磷酸盐、苦味酸盐、新戊酸盐、丙酸盐、硬脂酸盐、琥珀酸盐、硫酸盐、酒石酸盐、硫氰酸盐、甲苯磺酸盐、十一酸盐、戊酸盐等。代表性的碱金属或碱土金属盐包括钠、锂、钾、钙、镁等,以及无毒铵、季铵和胺阳离子,包括但不限于铵、四甲基铵、四乙基铵、甲胺、二甲胺、三甲胺、三乙胺、乙胺等。本公开内容的药学上可接受的盐包括例如由无毒的无机或有机酸形成的母体化合物的常规无毒盐。在一些实施方案中,本公开内容的药学上可接受的盐可以通过常规化学方法由含有碱性或酸性部分的母体化合物制备的合成盐。通常,可以通过使这些化合物的游离酸或碱形式与化学计算量的水中或在有机溶剂中,或在两者的混合物中的合适的碱或酸反应来制备这些盐。通常,非水介质如醚、乙酸乙酯、乙

醇、异丙醇或乙腈是优选的。合适的盐的列表参见Remington's Pharmaceutical Sciences, 第17版, Mack Publishing Company, Easton, Pa., 1985, p.1418, Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use, P.H. Stahl and C.G. Wermuth (编), Wiley-VCH, 2008, 和 Berge et al., Journal of Pharmaceutical Science, 66, 1-19 (1977), 每篇通过引用完整并入本文。

[0764] 药学上可接受的溶剂化物: 如本文所用, 术语“药学上可接受的溶剂化物”是指本发明化合物的结晶形式, 其中合适溶剂的分子掺入晶格中。合适的溶剂在所施用的剂量下是生理上可耐受的。例如, 可以通过从包含有机溶剂、水或其混合物的溶液中结晶、重结晶或沉淀来制备溶剂化物。合适的溶剂的实例是乙醇、水(例如单、二和三水合物)、N-甲基吡咯烷酮(NMP)、二甲基亚砜(DMSO)、N,N'-二甲基甲酰胺(DMF)、N,N'-二甲基乙酰胺(DMAC)、1,3-二甲基-2-咪唑啉酮(DMEU)、1,3-二甲基-3,4,5,6-四氢-2-(1H)-嘧啶酮(DMPU)、乙腈(ACN)、丙二醇、乙酸乙酯、苯甲醇、2-吡咯烷酮、苯甲酸苄酯等。当水是溶剂时, 该溶剂化物称为“水合物”。在一些实施方案中, 掺入溶剂化物中的溶剂的类型或水平对施用该溶剂化物的生物体是生理上可耐受的(例如以药物组合物的单位剂型)。

[0765] 药代动力学: 如本文所用, “药代动力学”是指分子或化合物当它涉及测定对活生物体施用的物质的命运时的任何一种或多种性质。药代动力学分为几个方面, 包括吸收、分布、代谢和排泄的程度和速率。这通常称为ADME, 其中: (A) 吸收是物质进入血液循环的过程; (D) 分布是指物质在身体的所有液体和组织中的分散或扩散; (M) 代谢(或生物转化)是母体化合物不可逆地转化为子代代谢物; 和(E) 排泄(或消除)是指从身体消除物质。在极少数情况下, 某些药物不可逆在身体组织中积累。

[0766] 物理化学: 如本文所用, “物理化学”是指物理或化学性质。

[0767] 预防: 如本文所用, 术语“预防”是指部分或完全延迟感染、疾病、病症和/或状况的发作; 部分或完全延迟特定感染、疾病、病症和/或状况的一种或多种症状、特征或临床表现的发作; 部分或完全延迟特定感染、疾病、病症和/或状况的一种或多种症状、特征或表现的发作; 部分或完全延迟感染、特定疾病、病症和/或状况的进展; 和/或降低形成与感染、疾病、病症和/或状况(如例如帕金森氏病)相关的病理学的风险。

[0768] 前药: 本公开内容还包括本文所述的化合物的前药。如本文所用, “前药”是指如下的任何物质、分子或实体, 其在形式上是该物质、分子或实体的谓语以在化学或物理变化后用作治疗剂。前药可以以某种方式共价键合或螯合, 并且在哺乳动物受试者施用之前, 之时或之后释放活性药物部分或转化成活性药物部分。T.Higuchi and V.Stella, “Pro-drugs as Novel Delivery Systems,” A.C.S. Symposium Series 的第14卷和 Bioreversible Carriers in Drug Design, Edward B.Roche编, American Pharmaceutical Association and Pergamon Press, 1987(两者在此通过引用完整并入)中讨论了前药的制备和使用。

[0769] 增殖: 如本文所用, 术语“增殖”是指生长、扩充、复制或增加或引起生长、扩充、复制或增加。“增殖”是指具有增殖的能力。“抗增殖”是指具有与增殖特性相对或相反的特性。

[0770] 预防性: 如本文所用, “预防性”是指用于预防疾病传播的治疗剂或作用过程。

[0771] 防范: 如本文所用, “防范”是指为维持健康和预防疾病的传播而采取的措施。

[0772] 感兴趣的蛋白质: 如本文所用, 术语“感兴趣的蛋白质”或“期望的蛋白质”包括本

文提供的那些蛋白质及其片段、突变体、变体和改变。

[0773] 纯化:如本文所用,“纯化的”是指自不需要的组分、材料变质(defilement)、混合物或缺陷变得基本上纯或澄清。“纯化的”是指纯的状态。“纯化”是指变得纯的过程。

[0774] 区域:如本文所用,术语“区域”是指区域或一般区域。在一些实施方案中,当提及蛋白质或蛋白质模块时,区域可包含沿着蛋白质或蛋白质模块的氨基酸的线性序列或可包含三维区域、表位和/或表位簇。在一些实施方案中,区域包括末端区域。如本文所用,术语“端区域”是指位于给定药剂的末端或端的区域。当提及蛋白质时,端区域可包含N端和/或C端。N端是指包含具有游离氨基的氨基酸的蛋白质的末端。C端是指包含具有游离羧基的氨基酸的蛋白质的末端。因此,N和/或C端区域可以包含N和/或C端以及周围的氨基酸。在一些实施方案中,N端和/或C端区域包含约3个氨基酸至约30个氨基酸,约5个氨基酸至约40个氨基酸,约10个氨基酸至约50个氨基酸,约20个氨基酸至约100个氨基酸和/或至少100个氨基酸。在一些实施方案中,N端区域可包含任何长度的氨基酸,其包含N端但是不包含C端。在一些实施方案中,C端区域可包含任何长度的氨基酸,其包括C端,但不包含N端。

[0775] 在一些实施方案中,当提及多核苷酸时,区域可以包括沿着多核苷酸的核酸的线性序列,或者可以包括三维区域、二级结构或三级结构。在一些实施例中,区域包括端区域。如本文所用,术语“端区域”是指位于给定试剂的末端或端的区域。当涉及多核苷酸时,端区域可以包含5'和3'端。5'端是指包含具有游离磷酸基团的核酸的多核苷酸的末端。3'末端是指包含具有游离羟基的核酸的多核苷酸的末端。因此,5'和3'区域可以包含5'和3'端以及周围的核酸。在一些实施方案中,5'和3'端区域包含约9个核酸至约90个核酸,约15个核酸至约120个核酸,约30个核酸至约150个核酸,约60个核酸至约300个核酸和/或至少300个核酸。在一些实施方案中,5'区域可以包含任何长度的核酸,其包括5'端,但不包括3'端。在一些实施方案中,3'区域可包含任何长度的核酸,其包括3'端,但不包含5'端。

[0776] RNA或RNA分子:如本文所用,术语“RNA”或“RNA分子”或“核糖核酸分子”是指核糖核苷酸的聚合物;术语“DNA”或“DNA分子”或“脱氧核糖核酸分子”是指脱氧核糖核苷酸的聚合物。DNA和RNA可以天然地合成,例如分别通过DNA复制和DNA转录;或化学合成。DNA和RNA可以是单链的(即,分别为ssRNA或ssDNA)或多链的(例如,双链,即分别为dsRNA和dsDNA)。如本文所用,术语“mRNA”或“信使RNA”是指编码一条或多条多肽链的氨基酸序列的单链RNA。

[0777] RNA干扰:如本文所用,术语“RNA干扰”或“RNAi”是指由RNA分子介导的序列特异性调节机制,所述RNA分子导致抑制或干扰或“沉默”相应蛋白质编码基因的表达。

[0778] 样品:如本文所用,术语“样品”是指取自来源和/或提供用于分析或处理的等分试样、子集或部分。在一些实施方案中,样品来自生物来源,例如组织、细胞或组成部分(例如,体液,包括但不限于血液、粘液、淋巴液、滑液、脑脊髓液、唾液、羊水、脐带血、尿液、阴道液和精液)。在一些实施方案中,样品可以是或包括从整个生物体或其组织、细胞或组分部分的子集、或其级份或部分(包括但不限于例如血浆、血清、脊髓液、淋巴液、皮肤、呼吸道、肠道和泌尿生殖道的外部部分、泪、唾液、乳、血细胞、肿瘤或器官)制备的匀浆物、裂解物或提取物。在一些实施方案中,样品是或包含可以含有细胞组分,例如蛋白质或核酸分子的培养基,例如营养肉汤或凝胶。在一些实施方案中,“主要”样品是来源的等分试样。在一些实施方案中,对原代样品进行一个或多个处理(例如,分离,纯化等)步骤以制备用于分析或其他

用途的样品。

[0779] 自身互补病毒颗粒:如本文所用,“自身互补病毒颗粒”是由至少两种组分,蛋白质壳体和编码壳体内包封的自身互补基因组的多核苷酸序列构成的颗粒。

[0780] 有义链:如本文所用,siRNA分子的术语“有义链”或“第二链”或“过客链”是指与反义链或第一链互补的链。siRNA分子的反义链和有义链杂交形成双链体结构。如本文所用,“siRNA双链体”包括与靶向沉默的基因的mRNA的约10-50个核苷酸的区段具有足够互补性的siRNA链和具有足够的互补性以与siRNA链形成双链体的siRNA链。

[0781] 信号序列:如本文所用,短语“信号序列”是指可以指导运输或定位的序列。

[0782] 单一单位剂量:如本文所用,“单一单位剂量”是以一剂/一次/单一途径/单一接触点,即单一施用事件施用的任何治疗剂的剂量。在一些实施方案中,提供单一单位剂量作为离散剂型(例如,片剂、胶囊、贴剂、加载注射器、小瓶等)。

[0783] 相似性:如本文所用,术语“相似性”是指聚合物分子之间,例如在多核苷酸分子(例如DNA分子和/或RNA分子)之间和/或在多肽分子之间的整体相关性。聚合物分子彼此的相似性百分比的计算可以与计算同一性百分比相同的方式进行,指示相似性百分比的计算考虑了本领域已知的保守取代。

[0784] 小/短干扰RNA:如本文所用,术语“小/短干扰RNA”或“siRNA”是指能够指导或介导RNAi的包含约5-60个核苷酸(或核苷酸类似物)的RNA分子(或RNA类似物)。优选地,siRNA分子包含约15-30个核苷酸或核苷酸类似物,更优选地约16-25个核苷酸(或核苷酸类似物),甚至更优选地约18-23个核苷酸(或核苷酸类似物),甚至更优选地约19-22个核苷酸(或核苷酸类似物)(例如19、20、21或22个核苷酸或核苷酸类似物)。术语“短”siRNA是指包含5-23个核苷酸,优选21个核苷酸(或核苷酸类似物),例如19、20、21或22个核苷酸的siRNA。术语“长”siRNA是指包含24-60个核苷酸,优选约24-25个核苷酸,例如23、24、25或26个核苷酸的siRNA。在某些情况下,短的siRNA可包含小于19个核苷酸,例如16、17或18个核苷酸,或少至5个核苷酸,条件是较短的siRNA保留介导RNAi的能力。同样,长siRNA在某些情况下可以包含超过26个的核苷酸,例如27、28、29、30、35、40、45、50、55或甚至60个核苷酸,条件是较长的siRNA保留介导RNAi或翻译抑制的能力,而没有进一步加工(例如酶促加工)成短siRNA。siRNA可以是单链RNA分子(ss-siRNA)或双链RNA分子(ds-siRNA),其包含杂交形成称为siRNA双链体的双链体结构的有义链和反义链。

[0785] 分开剂量:如本文所用,“分开剂量”是将单一单位剂量或每日总剂量分成两个或更多个剂量。

[0786] 稳定的:如本文所用,“稳定的”是指化合物或实体足够稳健,以从反应混合物中分离到有用的纯度,并且优选能够配制成有效的治疗剂。

[0787] 稳定化的:如本文所用,术语“稳定化”、“稳定化的”,“稳定化区域”是指使得或变得稳定。在一些实施方案中,相对于绝对值测量稳定性。在一些实施方案中,相对于参考化合物或实体测量稳定性。

[0788] 受试者:如本文所用,术语“受试者”或“患者”是指可以例如根据实验、诊断、预防和/或治疗目的可以接受根据本发明的组合物的施用的任何生物体。典型的受试者包括动物(例如哺乳动物,例如小鼠、大鼠、兔、非人灵长类和人)和/或植物。在一些实施方案中,受试者可以是婴儿、新生儿或12岁龄以下的儿童。在一些实施方案中,受试者可以在子宫内。

[0789] 基本上:如本文所用,术语“基本上”是指表现出感兴趣的特征或特性的全部或近全部限度或程度的定性条件。生物学领域的普通技术人员将理解,生物学和化学现象很少(如果有的话)进入完成和/或进展成完整性或达到或避免绝对结果。因此,在本文中使用术语“基本上”来捕获许多生物学和化学现象中固有的潜在的完整性缺乏。

[0790] 基本上相等:如本文所用,当其涉及剂量之间的时间差时,术语是指正/负2%。

[0791] 基本上同时:如本文所使用且当它涉及多个剂量时,该术语通常是指在约2秒内。

[0792] 患有:“患有”疾病、病症和/或状况的个体已被诊断出患有或表现出疾病、病症或病症诸如例如帕金森氏病的一种或多种症状。

[0793] 对…易感:对疾病、病症和/或状况“易感”的个体尚未诊断为患者或者可以未表现出疾病、病症和/或状况的症状,但含有形成疾病或其症状的倾向的个体。在一些实施方案中,对疾病、病症和/或状况(例如,癌症)易感的个体可以通过以下一种或多种来表征:(1)与疾病、病症和/或状况的形成相关的遗传突变;(2)与疾病、病症和/或状况的形成有关的遗传多态性;(3)与疾病、病症和/或状况相关的蛋白质和/或核酸的表达和/或活性的增加和/或降低;(4)与疾病、病症和/或状况的形成相关的习惯和/或生活方式;(5)疾病、病症和/或状况的家族史;和(6)暴露于和/或感染与疾病、病症和/或状况形成相关的微生物。在一些实施方案中,对疾病、病症和/或状况易感的个体将形成疾病、病症和/或状况。在一些实施方案中,对疾病、病症和/或状况易感的个体将不会形成疾病、病症和/或状况。

[0794] 持续释放:如本文所用,术语“持续释放”是指符合特定时间段内的释放速率的药物组合物或化合物释放曲线。

[0795] 合成的:术语“合成的”是指人工生产、制备和/或制造。本发明的多核苷酸或多肽或其他分子的合成可以是化学的或酶促的。

[0796] 靶向:如本文所用,“靶向”是指设计和选择将与靶核酸杂交并诱导所需作用的核酸序列的过程。

[0797] 靶定细胞:如本文所用,“靶定细胞”是指任何一个或多个感兴趣的细胞。可以在体外、体内、原位或生物体的组织或器官中发现细胞。生物体可以是动物,优选为哺乳动物,更优选为人,最优选为患者。

[0798] 治疗剂:术语“治疗剂”是指当施用于受试者时具有治疗、诊断和/或预防作用和/或引起期望的生物学和/或药理学作用的任何药剂。

[0799] 治疗有效量:如本文所用,术语“治疗有效量”是指当施用于患有感染、疾病、病症和/或状况或者对感染、疾病、病症和/或状况易感的受试者时足以治疗感染、疾病、病症和/或状况(帕金森氏病),改善感染、疾病、病症和/或状况(帕金森氏病)的症状,诊断,预防感染、疾病、病症和/或状况(帕金森氏病)和/或延迟感染、疾病、病症和/或状况(帕金森氏病)的发作的要递送的药剂(例如,核酸、药物、治疗剂、诊断剂、预防剂等)的量。在一些实施方案中,以单剂量提供治疗有效量。在一些实施方案中,以包括多个剂量的剂量方案施用治疗有效量。本领域技术人员将理解,在一些实施方案中,若单位剂型包含当作为此类剂量方案的一部分施用时有有效的量,则可以认为该单位剂型包含治疗有效量的特定试剂或实体。

[0800] 治疗有效结果:如本文所用,术语“治疗有效结果”是指患有感染、疾病、病症和/或状况或者对感染、疾病、病症和/或状况易感的受试者中足以治疗感染、疾病、病症和/或状况或改善感染、疾病、病症和/或状况的症状,诊断,预防感染、疾病、病症和/或状况,和/或

延迟感染、疾病、病症和/或状况的发作的结果。

[0801] 日总剂量:如本文所用,“日总剂量”是在24小时时段内给予或规定的量。它可以以单一单位剂量施用。

[0802] 转染:如本文所用,术语“转染”是指将外源核酸导入细胞中的方法。转染的方法包括但不限于化学方法、物理处理和阳离子脂质或混合物。

[0803] 治疗:如本文所用,术语“治疗”是指部分或完全缓解、改善、改进、减轻特定感染、疾病、病症和/或状况、延迟特定感染、疾病、病症和/或状况的发作,抑制特定感染、疾病、病症和/或状况的进展,降低特定感染、疾病、病症和/或状况严重性和/或降低特定感染、疾病、病症和/或状况的一种或多种症状或特征的发生率。例如,“治疗”癌症可以指抑制肿瘤的存活,生长和/或扩散。为了降低形成与疾病、病症和/或状况(诸如例如帕金森氏病)有关的病理学的风险,可以对不表现出疾病、病症和/或状况的体征的受试者和/或对仅表现出疾病、病症和/或状况的早期体征的受试者进行治疗。

[0804] 未修饰的:如本文所用,“未修饰的”是指在以任何方式改变之前的任何物质、化合物或分子。未修饰的可以但不总是指生物分子或实体的野生型或天然形式。分子或实体可以经历一系列修饰,从而每个修饰的物质、化合物、分子或实体可以充当“未修饰的”起始分子,用于后续修饰。

[0805] 载体:如本文所用,“载体”是运输、转导或以其他方式用作异源分子的载体的任何分子或部分。本公开内容的载体可以重组产生,并且可以基于和/或可以包含腺伴随病毒(AAV)亲本或参考序列。此类亲本或参考AAV序列可以充当工程化改造载体的原始、第二、第三或后续序列。在非限制性实例中,此类亲本或参考AAV序列可包含以下序列中的任何一个或多个:编码多肽或多-多肽的多核苷酸序列,该序列可以是野生型的或由野生型修饰的,并且该序列可以编码蛋白质、蛋白质域或蛋白质的一个或多个亚基的全长或部分序列;包含调控性或调节性核酸的多核苷酸,所述序列可以是野生型或从野生型修饰的;以及可以自野生型序列修饰或可以不自野生型序列修饰的转基因。这些AAV序列可以充当一个或多个密码子(在核酸水平)或氨基酸(在多肽水平)的“供体”序列或一个或多个密码子(在核酸水平)或氨基酸(在多肽水平上)的“受体”序列。

[0806] 病毒构建体载体:如本文所用,“病毒构建体载体”是包含一个或多个编码或包含Rep和/或Cap蛋白的多核苷酸区域的载体。

[0807] 病毒构建体表达载体:如本文所用,“病毒构建体表达载体”是包含一个或多个编码或包含Rep和或Cap的多核苷酸区域的载体,其还包含一个或多个编码或包含用于在病毒复制细胞中病毒表达的组分的多核苷酸区域。

[0808] 病毒基因组:如本文所用,“病毒基因组”是编码至少一个反向末端重复(ITR)、至少一个调控序列和至少一个有效负载的多核苷酸。通过从有效负载构建体表达载体复制有效负载构建体来衍生病毒基因组。病毒基因组编码有效负载构建体的至少一个拷贝。

[0809] 等同方案和范围

[0810] 本领域技术人员将认识到或仅使用常规实验就能够确定根据本文所述发明的特定实施方案的许多等同方案。本发明的范围不旨在限于以上描述,而是如所附权利要求书中所述。

[0811] 在权利要求书中,诸如“一”、“一个/种”和“该”的冠词可以表示一个或超过多个,

除非相反指出或从上下文中另外明显看出。若在给定的产品或过程中存在或采用一个或超过一个或所有组成员或者在其它情况下一个或超过一个或所有组成员与给定的产品或过程相关,则在组的一个或多个成员之间包含“或”的要求或描述将认为得到满意,除非相反指出或从上下文中另外明显看出。本发明包括如下的实施方案,其中给定的产品或过程中存在或采用刚好一个组成员或者在其它情况下刚好一个组成员与给定的产品或过程相关。本发明包括如下的实施方案,其中给定的产品或过程中存在或采用超过一个或所有组成员或者在其它情况下超过一个或所有组成员与给定的产品或过程相关。

[0812] 还应注意,术语“包括”旨在是开放的并且允许但不要求包括附加的元件或步骤。当在本文中使用术语“包括”时,因此也包含和公开了术语“由...组成”。

[0813] 除非另有定义,否则本文中使用的所有技术和科学术语具有与本发明所属领域的普通技术人员通常的理解相同的含义。本文描述了用于本公开内容的方法和材料;也可以使用本领域已知的其他合适方法和材料。

[0814] 在给出范围的情况下,包括端点。此外,应当理解,除非另外指出或从上下文和本领域普通技术人员的理解中另外明显看出,否则在本发明的不同实施方案中,表示为范围的值可以假定所述范围内的任何特定值或子范围,至范围的下限单位的十分之一,除非上下文另有明确规定。

[0815] 另外,应当理解,落入现有技术范围内的本发明的任何特定实施方案可以明确地从任何一个或多个权利要求中排除。由于此类实施方案视为本领域普通技术人员已知的,因此即使本文未明确提出排除,也可以将它们排除。出于何种原因(无论是否与现有技术存在相关),本发明的组合物的任何特定实施方案(例如,任何核酸或由其编码的蛋白质;任何生产方法;任何使用方法;等等)都可以从任何一项或多项权利要求中排除。

[0816] 所有引用的来源(例如本文引用的参考文献、出版物、数据库、数据库条目和技术)通过引用并入本申请,即使在引用中没有明确说明。在引用的来源与本申请的声明存在冲突,则以本申请中的声明为准。

[0817] 节和表的标题不是限制性的。

实施例

[0818] 实施例1.有效负载的设计:AADC多核苷酸

[0819] 设计AADC多核苷酸以至少包含编码AADC蛋白的核酸序列。

[0820] 一旦设计,将序列工程化改造或合成或插入质粒或载体中,并施用于细胞或生物体。合适的质粒或载体是转导或转染靶细胞的任何质粒或载体。

[0821] 可以使用腺伴随病毒(AAV)颗粒。

[0822] 施用导致AADC多核苷酸的加工以产生AADC蛋白,该AADC蛋白改变疾病(在此情况下为帕金森氏病)的病因学。

[0823] 在一个非限制性实例中,含有本发明的AADC多核苷酸的质粒具有CMV启动子并编码AADC。在一些实施方案中,AADC蛋白mRNA的可读框是经密码子优化的。

[0824] 适用于AAV颗粒的ITR至ITR列出的AADC多核苷酸包括表2中的那些。

[0825] 表2. ITR至ITR AADC多核苷酸

[0826]	构建体	SEQ ID NO
--------	-----	-----------

AADC多核苷酸	979
----------	-----

[0827] 相对于表2中描述的ITR至ITR AADC多核苷酸给出AADC多核苷酸的各个区域的起始和终止位置。在表3中,ITR是反向末端重复,MCS是多克隆位点,CMV是巨细胞病毒,Ie1是立即早期1,hB珠蛋白是人beta-珠蛋白,AADC是编码AADC多肽的区域,并且聚(A)是聚腺苷酸化信号。

[0828] 表3.AADC多核苷酸的组分区域

[0829]	AADC 多核苷酸(SEQ ID NO: 979)			
	区域	开始	终止	区域 SEQ ID NO
	5' ITR	1	141	980
	MCS	189	206	981
	CMV 增强子	213	515	982
	CMV 增强子	516	719	983
	Ie1 外显子 1	734	867	984
	Ie1 内含子部分	868	899	985
	hB 珠蛋白内含子 2	900	1246	986
	hB 珠蛋白内含子 3	1247	1299	987
	AADC	1338	2777	988
	MCS	2820	2837	989
	Poly(A)	2838	3314	990
	3' ITR	3386	3526	991

[0830] 实施例2.设计AADC多核苷酸以治疗帕金森氏病

[0831] 设计AADC多核苷酸以至少包含编码AADC蛋白的核酸序列。

[0832] 一旦设计,将序列工程化改造或合成或插入质粒或载体中,并施用于细胞或生物体。合适的质粒或载体是转导或转染靶细胞的任何质粒或载体。

[0833] 可以使用腺伴随病毒(AAV)颗粒。

[0834] 施用导致AADC多核苷酸的加工以产生AADC蛋白,该AADC蛋白改变疾病(在此情况下为帕金森氏病)的病因学。

[0835] 实施例3.AAV颗粒的施用

[0836] 将AAV颗粒输注到患有帕金森氏病的患者的黑质,特别是黑质致密部(SNpc)和腹侧被盖区(VTA),并根据本领域已知的方法鉴定为具有治疗资格。

[0837] 涵盖用于本文所述方法的施用方法之一是通过共输注钆特醇(磁共振(MR)造影剂)和T1或T2磁共振成像(MRI)(其可以预测后续AADC基因表达的区域)的AAV颗粒组合物的实时对流增强递送(RCD)。如Richardson等人(2011年)所述,可以通过盐水注入安全测定插管放置和初始输注物分布的准确性,而不显著改变随后的示踪剂分布(Richardson, et al., 2011, Neurosurgery, 69 (1) :154-163)。T2 RCD提供未损伤的脑中实质内对流增强递送的检测,并且可以预测AAV颗粒输注后转基因的后续分布。受试者经历盐水输注/T2采集,然后立即在壳和脑干中进行钆特醇输注/T1采集。分析了分布体积和空间模式。在丘脑中在交

替T2/T1获取下共输注钆特醇和AAV编码的AADC,并将高强度区域与后续转基因表达区域进行比较。分布体积与输注体积之比在盐水和钆特醇RCD之间是相似的。空间重叠应当在T2和T1图像之间很好地相关。第二种输注物将遵循与第一种相似的时空模式,填充形成靶物外分布之前的靶区域。AADC表达的区域应与RCD期间观察到的T1和T2两者高强度的区域充分相关(Richardson,et al.,2011,Neurosurgery,69(1):154-163)。

[0838] 二十多年来已知大分子直接对脑实质的对流增强递送(CED)。CED是一个术语,表示使用压力梯度在脑实质内产生大量流动,即通过经由直接放置在靶定的结构中的插管输注溶液而驱动的间隙液内的大分子对流。该方法允许通过绕过血脑屏障并超越简单扩散将治疗剂均匀分布在大体积脑组织中(Richardson,et al.,2011,Stereotact.Funct.Neurosurg.89:141-151)。Salegio等人最近证明在啮齿类和NHP的CNS内不同大小的纳米颗粒的分布,包括胶束(大小约15nm)、AAV(约20-25nm)和脂质体(约65nm)(Salegioet al.,2014,Frontiers in Neuroanatomy,第8卷,文章9:第1-8页)。简单的注射不能接合血管周围系统,并且需要专用的输注插管,从而能够在插管的尖端处施加恒定的压力,从而超过间质流体静力压,并且输注物可以流出到组织中。简单的针产生大量回流;因此,已经开发出逆流抗性插管以克服此种趋势。MRI引导的对流增强输注平台的出现进一步加深了对血管周流动的力学的理解,并证明脂质体的血管周分布相对于时间呈线性,在髓鞘区域中的曲线斜率增加,并且停止输注阻止分布体积的进一步扩大。(Richardson,et al.,2011,Stereotact.Funct.Neurosurg.89:141-151;Salegioet al.,2014,Frontiers in Neuroanatomy,第8卷,文章9:第1-8页)。

[0839] 已知实质内rAAV注射导致稳健但相对局部的转导。当尝试用于神经学病症的基因疗法时,此类局部递送方法是有利的,所述神经学病症源自局限于特定解剖区域或解剖回路,诸如在帕金森氏病的情况下的神经病理学。然而,在需要更广泛的CNS转导的治疗中,实质内注射是不切实际的。归因于先天性代谢错误和/或单基因缺陷或影响脊髓运动神经元的神经学病症的治疗可以分别需要转导大比例的脑或脊髓。用于载体的侵入性较小的跨BBB传递方法的开发是一项极为重要的工作。使用已知与各种主动转运机制(可能是受体介导的)相互作用的分子以跨BBB运送蛋白质的各种尝试已经以不同的结果得到报告。鉴于可用的AAV血清型数量众多,一种或多种血清型可结合能够将AAV壳体跨BBB转运的细胞进入受体(Manfredsson,et al.,2009,“AAV9:a potential blood-brain barrier buster.”Molecular Therapy17(3):403-405)。

[0840] 载体和趋实体输注

[0841] 立体定向方法可用于手术递送AADC多核苷酸。尽管患有AADC缺乏的人缺乏肾上腺素和去甲肾上腺素,但这些患者在手术期间应维持稳定的血压和心率。术后计算机断层摄影术(CT)或MRI扫描中不应出现明显的脑出血。如MRI扫描上显示,针束应显示准确注射到黑质致密部(SNpc)和腹侧被盖区(VTA)中。手术后约一周,患者将出院(Hwu,W.L.,et al.,2012.Gene therapy for aromatic L-amino acid decarboxylase deficiency.Sci.Transl.Med.Vol.4,134ra61)。

[0842] 治疗受试者接受AAV-载体组合物载体,其通过双侧输注或备选纹状体内(进入尾状核和壳)安全地递送至黑质致密部(SNpc)和腹侧被盖区(VTA),或者输注到底丘脑核(STN),例如任选地使用经FDA批准的SMARTFLOW®神经室插管(SurgiVision,Inc.),

其专门为临床应用而设计,借助或不借助**CLEARPOINT®**系统来帮助治疗神经外科医生靶向并观察脑中治疗剂的递送(例如参见San Sebastian,et al.,2014,Mol.Ther.MethodsClin.Dev.3:14049;参见例如Feng and Maguire-Zeiss,2010,CNS Drugs24(3):177-192)。

[0843] 例如,在手术期间,在黑质致密部(SNpc)和腹侧被盖区域(VTA)中确定两个靶点,它们在背外侧方向上彼此充分分离并在磁共振图像上被鉴定。在颅骨的每侧中环钻一个钻孔,通过该钻孔,通过双轨插入路径将载体注射入两个靶点中。将含AAV载体的溶液制备为 1.5×10^{12} 个载体基因组/ml的浓度,并且以 $1 \mu\text{l}/\text{min}$ 注射每点 $50 \mu\text{l}$ 溶液;每个患者接受AAV载体构建体的 3×10^{11} 个载体基因组。

[0844] 通过以各种血清稀释度测量用 5×10^3 个载体基因组/细胞的表达 β -半乳糖苷酶的AAV2载体转导的HEK293细胞中的 β -半乳糖苷酶活性测定针对AAV2的中和抗体滴度。

[0845] PET

[0846] 在手术前6天以及基因转移后1和6个月用FMT对PET成像评估黑质中AADC表达水平。所有患者在PET前18小时停止服用多巴胺能药物,并且在FMT注射前1小时口服 $2.5 \text{mg}/\text{kg}$ 卡比多巴。随后,将盐水中的 $0.12 \text{mCi}/\text{kg}$ FMT输注入肘前静脉中,并获得90分钟的动态采集序列。PET和磁共振成像数据与融合处理程序(Syntegra;Philips,Amsterdam,The Netherlands)共登记以生成融合图像。在示踪剂注射后80到90分钟之间,计算在黑质纹状体途径中抽取的感兴趣体积内的放射性。使用黑质与纹状体的放射性比率评估从基线到24周的黑质纹状体途径FMT摄取的变化。

[0847] 统计分析

[0848] 使用Student's t检验(配对分析)比较基线和基因转移后6个月的值。双因素P值 < 0.05 认为指示显著差异。通过对P值进行Bonferroni校正进行方差的双因素分析用于对左旋多巴的短期响应。(例如参见Muramatsu,et al.,2010,“A phase I study of aromatic L-amino acid decarboxylase gene therapy for Parkinson's disease.”Mol.Ther.18:1731-1735)。

[0849] 可以到手术后9个月为止或手术后9个月之后监测对帕金森氏病受试者的脑使用实时图像引导输注进行的AAV-载体组合物的双侧施用的安全性和可耐受性。应当在不诱导任何不利效果的情况下实现靶定区域(黑质致密部(SNpc)和腹侧被膜区域(VTA))的广泛覆盖以及纹状体中广泛的AADC蛋白分布。

[0850] 生长和运动技能的变化:在治疗后一年内,基因转移后,患者应增加体重并表现出运动评分的改善。在基因转移后3至6个月测量体重。最初,所有患者在Alberta婴儿运动量表(AIMS)上具有零的原始得分,并且具有Peabody发育运动量表第二版(PDMS-II)的非常低的原始得分。基因转移后,所有患者均应在这两个量表上显示其原始评分连续增加,这表明他们的运动功能得到了改善。婴幼儿综合发展量表(Comprehensive Developmental Inventory for Infants and Toddlers,CDIIT)涵盖了认知和运动发育两者。所有患者在基因转移前应显示出较低的原始CDIIT评分,并且随后评分的增加表明运动功能和认知功能两者的改善。

[0851] 基因转移后的主观改善

[0852] 为了记录更难以量化的症状,在研究结束时要求患者的配偶、监护人或看护人填

写问卷。眼动危象的症状应减轻,并且例如眼偏斜和睡眠中断是基因治疗后可以保留的眼动危象的一些轻微症状。受试者可以经历增加的情绪稳定性,和/或出汗和过热(炎热天气中体温不稳定的常见表现)的一些改善。在基因转移之前或之后如通过24小时Holter监测评估的心率变异性应没有可检测到的异常。在进行基因治疗之前,卧床不起并且自发活动很少的患者在基因转移后1到2周可表现出严重的上睑下垂(上眼睑下垂)。根据以前的研究,运动障碍可在基因转移后1个月发生,但是一旦观察到运动障碍减少,应开始运动形成(Hwu,W.L.,et al.,2012.Gene therapy for aromatic L-amino acid decarboxylase deficiency.Sci.Transl.Med.Vol.4,134ra61)。三个月后,受试者可以表现出增加的头部控制,例如在六到九个月后在支持物下坐下,在13个月后从俯卧位坐起来,在基因转移后16个月内抱着玩具并在支持物下站立。基因治疗前患者的抗AAV2抗体应为阴性,并且基因转移后效价可以略有增加。

[0853] PET扫描和CSF分析

[0854] 对所治疗的患者完成PET扫描和CSF分析。基因转移后六个月,PET扫描应揭示从组合(右和左)治疗部位中的基线的6-[18F]氟多巴(FDOPA)的摄取增加。CSF分析应揭示高香草酸(HVA,多巴胺的代谢物)和5-羟基吲哚乙酸(HIAA,5-羟色胺的代谢物)水平增加。但是,L-DOPA和3-O-甲基多巴的水平可以保持升高(Hwu,W.L.,et al.,2012.Gene therapy for aromatic L-amino acid decarboxylase deficiency.Sci.Transl.Med.Vol.4,134ra61)。

[0855] 实施例4:施用AADC多核苷酸

[0856] 使用实施例3中描述的施用方法将AAV颗粒组合物输注到具有帕金森氏病的患者的壳中。表4中概述了剂量、患者数目和体积。

[0857] 表4.研究设计

研究No.	患者数目	剂量	体积
1	6	$3 \times 10^{11} \text{vg}$	每壳100ul
2	6	$9 \times 10^{11} \text{vg}$	每壳300ul
3	10	$2.3 \times 10^{11} \text{vg}$	每壳100ul
4	10	$7.5 \times 10^{11} \text{vg}$	每壳100ul
5	5	$7.5 \times 10^{11} \text{vg}$	每壳450ul
6	多至20	$1.4 \times 10^{12} \text{vg}$	每壳多至900ul
7	多至20	$4.8 \times 10^{12} \text{vg}$	每壳多至900ul
8	多至20	$8.8 \times 10^{12} \text{vg}$	每壳多至900ul

[0859] 在研究过程期间,评估了在诊断为帕金森氏病的人患者中输注含AADC多核苷酸的重组腺伴随病毒(AAV)载体组合物的安全性和可耐受性。使用多种测量方法在术前和术后每月评估患者达6个月,包括全局Sytonia量表(GDS)(参见Comella,et al.,2003,Movement Disorders,18(3):303-312)、L-DOPA攻击测试、UPDRS评分、运动状态日记和实验室测试。使用将一天分为半小时部分的日记,患者的护理人员将记录收治前四天期间记录他们的运动性并且在收治到研究地点后六个月时再记录四天。训练患者的护理人员以将受试者的状况评定为睡眠、不动、活动不伴有麻烦的运动障碍或活动伴有麻烦的运动障碍。计算在这些中每个类别中花费的总小时数,并在组间比较基线和六个月得分之间的差异。在基线和基因转移后6个月时评估对左旋多巴的短期响应;受试者在不用多巴胺能药物的情

况下在20小时后与25mg苄丝肼一起口服100mg左旋多巴。在基线和摄入左旋多巴后30分钟、1、2、3和4小时处,评估基于GDS的运动症状和血浆左旋多巴浓度(参见例如Muramatsu, et al., 2010, “Aphase I study of aromatic L-amino acid decarboxylase gene therapy for Parkinson’s disease.” Mol. Ther. 18:1731-1735)。

[0860] 尽管已经就几个所描述的实施方案而言以某种长度略微具体描述了本发明,但是并不意图它应当限于任何此类细节或实施方案或者任何具体的实施方案,并且它应当参照所附权利要求书来解释,以鉴于现有技术提供对此权利要求书的最广泛的解释,并因此有效地涵盖本发明的意图范围。

[0861] 本文提及的所有出版物、专利申请、专利和其他参考文献均通过引用完整并入本文。在冲突的情况下,以本说明书(包括定义)为准。另外,章节标题、材料、方法和实施例仅是说明性的,而不意图为限制性的。

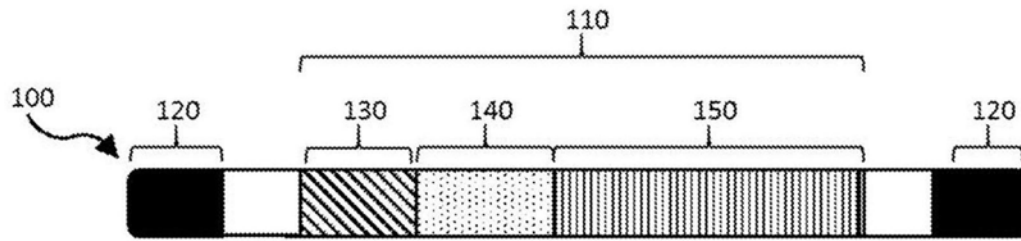


图1