



공개특허 10-2022-0056884



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2022-0056884
(43) 공개일자 2022년05월06일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C12N 7/00 (2006.01) *A61K 48/00* (2006.01)
A61K 9/00 (2006.01) *A61P 27/02* (2006.01)
C07K 14/005 (2006.01) *C12N 15/86* (2006.01)
- (52) CPC특허분류
C12N 7/00 (2013.01)
A61K 48/0008 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2022-7013781(분할)
- (22) 출원일자(국제) 2012년04월20일
심사청구일자 없음
- (62) 원출원 특허 10-2021-7000600
원출원일자(국제) 2012년04월20일
심사청구일자 2021년02월04일
- (85) 번역문제출일자 2022년04월25일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2012/034413
- (87) 국제공개번호 WO 2012/145601
국제공개일자 2012년10월26일
- (30) 우선권주장
61/478,355 2011년04월22일 미국(US)

- (71) 출원인
더 리젠크스 오브 더 유니버시티 오브 캘리포니아
미국 캘리포니아주 94607-5200 오크랜드 5층 프랭
클린 스트리트 1111
- (72) 발명자
스캐퍼 테이빗 브이.
미국 캘리포니아 94526 댄빌 리마 코트 19
클럽잭 라얀 알.
미국 캘리포니아 94114 샌프란시스코 클라렌돈 애
비뉴 53
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인
특허법인와이에스장

전체 청구항 수 : 총 27 항

(54) 발명의 명칭 **변이체 캡시드를 지니는 아데노-관련 바이러스 및 이의 사용 방법**

(57) 요 약

본 개시내용은 변성된 캡시드 단백질을 지니는 아데노-관련 바이러스(AAV) 비리온을 제공하되, AAV 비리온은 유리체내 주사를 통해 투여될 때, 야생형 AAV에 비해 더 큰 감염성의 망막 세포를 나타낸다. 본 개시내용은 개체에
서 망막 세포에 유전자 산물을 전달하는 방법 및 안질환을 치료하는 방법을 추가로 제공한다.

(52) CPC특허분류

A61K 48/0075 (2013.01)

A61K 9/0019 (2013.01)

A61K 9/0048 (2013.01)

A61P 27/02 (2018.01)

C07K 14/005 (2013.01)

C12N 15/86 (2013.01)

C12N 2750/14143 (2013.01)

C12N 2810/40 (2013.01)

(72) 발명자

코에르버 제임스 티.

미국 캘리포니아 94610 오클랜드 레녹스 애비뉴

#402 325

플랜너리 존 지.

미국 캘리포니아 94708-1434 버클리 크래그몬트 애

비뉴 1054

달카라 무롯 데니즈

프랑스 에프-54110 파리 둠바슬 쉬르 모르테 뤼 모

리스 바레 30

비겔 마이크

미국 캘리포니아 94530 엘 세리토 노트 애비뉴
6532

번 레아 씨.티.

미국 캘리포니아 94720 버클리 유니버시티 오브 캘
리포니아 바커 훌 112

명세서

청구범위

청구항 1

재조합 아데노-관련 바이러스(adeno-associated virus: rAAV) 비리온으로서,

- a) 변이체 AAV 캡시드 단백질; 및
- b) 유전자 산물을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 이종성 핵산을 포함하되,

상기 변이체 AAV 캡시드 단백질은 대응되는 모(parental) AAV 캡시드 단백질에 대해 캡시드 단백질 GH 루프에서 약 5개 아미노산 내지 약 11개 아미노산의 삽입물 포함하며, 상기 변이체 캡시드 단백질은 상기 대응되는 모 AAV 캡시드 단백질을 포함하는 AAV 비리온에 의한 망막 세포의 감염성에 비해 증가된 망막 세포의 감염성을 부여하는 것인 재조합 아데노-관련 바이러스(rAAV) 비리온.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 삽입물은 식 I, 식 IIa, 식 III 또는 식 IV의 웨타이드인 것인, rAAV 비리온.

청구항 3

제2항에 있어서, 상기 삽입물은 LGETTRP(서열번호 13), NETITRP(서열번호 14), KAGQANN(서열번호 15), KDPKTTN(서열번호 16), KDTDTTR(서열번호 57), RAGGSVG(서열번호 58), AVDTTKF(서열번호 59) 및 STGKVPN(서열번호 60)으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 것인, rAAV 비리온.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 망막 세포는 광수용체, 망막 신경절 세포, 뮐러 세포, 양극 세포, 아마크린 세포, 수평 세포 또는 망막 색소성 상피세포인 것인, rAAV 비리온.

청구항 5

제1항에 있어서, 상기 삽입 부위는 AAV2의 아미노산 587과 588 사이, AAV1의 아미노산 590과 591 사이, AAV5의 아미노산 575와 576 사이, AAV6의 아미노산 590과 591 사이, AAV7의 아미노산 589와 590 사이, AAV8의 아미노산 590과 591 사이, AAV9의 아미노산 588과 589 사이 또는 AAV10의 아미노산 588과 589 사이인 것인, rAAV 비리온.

청구항 6

제1항에 있어서, 상기 rAAV 비리온은 상기 대응되는 모 AAV 캡시드 단백질을 포함하는 AAV 비리온에 의한 상기 망막 세포의 상기 감염성에 비해 적어도 10배 증가된 망막 세포의 감염성을 나타내는 것인, rAAV 비리온.

청구항 7

제1항에 있어서, 상기 rAAV 비리온은 상기 대응되는 모 AAV 캡시드 단백질을 포함하는 AAV 비리온에 의한 상기 망막 세포의 감염성에 비해 적어도 50배 증가된 망막 세포의 감염성을 나타내는 것인, rAAV 비리온.

청구항 8

제1항에 있어서, 유전자 산물은 간접 RNA 또는 앱타머인 것인, rAAV 비리온.

청구항 9

제1항에 있어서, 상기 유전자 산물은 폴리펩타이드인 것인, rAAV 비리온.

청구항 10

제7항에 있어서, 상기 폴리펩타이드는 신경보호 폴리펩타이드, 항혈관신생 폴리펩타이드, 또는 망막 세포의 기능을 향상시키는 폴리펩타이드인 것인 rAAV 비리온.

청구항 11

약제학적 조성물로서,

- a) 제1항의 재조합 아데노-관련 바이러스 비리온; 및
- b) 약제학적으로 허용가능한 부형제를 포함하는 약제학적 조성물.

청구항 12

개체에서 망막 세포에 유전자 산물을 전달하는 방법으로서, 상기 방법은 제1항에 따른 재조합 아데노-관련 바이러스(rAAV) 비리온을 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 망막 세포에의 유전자 산물의 전달방법.

청구항 13

제11항에 있어서, 상기 유전자 산물은 폴리펩타이드인 것인, 망막 세포에의 유전자 산물의 전달방법.

청구항 14

제11항에 있어서, 상기 유전자 산물은 짧은 간섭 RNA 또는 앱타머인 것인, 망막 세포에의 유전자 산물의 전달방법.

청구항 15

제13항에 있어서, 상기 폴리펩타이드는 신경보호 인자, 항혈관신생 폴리펩타이드, 항-아포토시스 인자, 또는 망막 세포의 기능을 향상시키는 폴리펩타이드인 것인, 망막 세포에의 유전자 산물의 전달방법.

청구항 16

제13항에 있어서, 상기 폴리펩타이드는 신경교 유래 신경영양 인자, 섬유아세포 성장인자 2, 뉴트린(neurturin), 섬모 신경영양 인자, 신경 성장 인자, 뇌 유래 신경영양 인자, 표피성장인자, 로돕신, 아포토시스의 X-연결된 억제제, 망막층간 단백질, RPE65, 망막 색소 변성증 GTPase-상호작용 단백질-1, 페리페린, 페리페린-2, 로돕신 또는 소닉 헤지호그(Sonic hedgehog)인 것인, 망막 세포에의 유전자 산물의 전달방법.

청구항 17

망막질병을 치료하는 방법으로서, 상기 방법은 제1항에 따른 재조합 아데노-관련 바이러스(rAAV)의 유효량을 치료가 필요한 개체에게 투여하는 단계를 포함하는, 망막질병의 치료방법.

청구항 18

제17항에 있어서, 상기 투여는 안구내 주사에 의한 것인, 망막질병의 치료방법.

청구항 19

제17항에 있어서, 상기 투여는 유리체 내 주사에 의한 것인, 망막질병의 치료방법.

청구항 20

제17항에 있어서, 상기 안질환은 뉴내장, 망막 색소 변성증, 황반변성, 망막층간분리, 레버 선천성 흑암시, 당뇨 망막병증, 색맹 또는 색각이상인 것인, 망막질병의 치료방법.

청구항 21

변이체 아데노-관련 바이러스(AAV) 캡시드 단백질을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 단리된 핵산으로서, 상기 변이체 AAV 캡시드 단백질은 대응되는 모 AAV 캡시드 단백질에 대해 캡시드 단백질 GH 루프에서 약 5개 아미노산 내지 약 11개 아미노산의 삽입을 포함하며, 상기 변이체 캡시드 단백질은, AAV 비리온에 존재할 때, 망막 세포의 상기 AAV 비리온의 증가된 감염성을 제공하는 것인, 단리된 핵산.

청구항 22

제21항에 있어서, 상기 삽입 부위는 AAV2의 아미노산 587과 588 사이, AAV1의 아미노산 590과 591 사이, AAV5의

아미노산 575와 576 사이, AAV6의 아미노산 590과 591 사이, AAV7의 아미노산 589와 590 사이, AAV8의 아미노산 590과 591 사이, AAV9의 아미노산 588과 589 사이 또는 AAV10의 아미노산 588과 589 사이인 것인, 단리된 핵산.

청구항 23

제21항의 핵산을 포함하는 단리되고, 유전적으로 변형된 숙주 세포.

청구항 24

변이체 아데노-관련 바이러스(AAV) 캡시드 단백질로서, 상기 변이체 AAV 캡시드 단백질은 약 5개 아미노산 내지 약 11개 아미노산의 삽입물을 포함하되, 상기 아미노산 삽입물은 천연 AAV 캡시드의 GH 루프이며, 상기 삽입물은 식 I, 식 IIa, 식 III 또는 식 IV의 펩타이드인 것인, 변이체 아데노-관련 바이러스(AAV) 캡시드 단백질.

청구항 25

제24항에 있어서, 상기 삽입물은 LGETTRP(서열번호 13), NETITRP(서열번호 14), KAGQANN(서열번호 15), KDPKTTN(서열번호 16), KDTDTTR(서열번호 57), RAGGSVG(서열번호 58), AVDTTKF(서열번호 59) 및 STGKVPN(서열번호 60)으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 것인, 변이체 AAV 캡시드 단백질.

청구항 26

제24항에 있어서, 상기 삽입 부위는 AAV2의 아미노산 587과 588 사이, AAV1의 아미노산 590과 591 사이, AAV5의 아미노산 575와 576 사이, AAV6의 아미노산 590과 591 사이, AAV7의 아미노산 589와 590 사이, AAV8의 아미노산 590과 591 사이, AAV9의 아미노산 588과 589 사이 또는 AAV10의 아미노산 588과 589 사이인 것인, 변이체 AAV 캡시드 단백질.

청구항 27

제24항의 변이체 AAV 캡시드 단백질을 암호화하는 뉴클레오파이드 서열을 포함하는 핵산.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 관련참조

본 출원은 2011년 4월 22일 출원된 미국 가특허 출원 제61/478,355호의 우선권을 주장하며, 이 기초출원은 본 명세서에 전문이 참조로서 포함된다.

[0003] 연방정부 지원된 연구에 대한 언급

본 발명은 미국 국립보건원의 국립안연구소에 의해 부여된 등록번호 EY016994-02호 및 EY1018241호 하에서 정부 지원에 의해 이루어졌다.

배경 기술

[0005] 광수용체는 시각적 정보를 수용하고 처리하기 위한 망막 내 제1 뉴런인데, 이는 광전환(phototransduction)을 통해 시각적 전자기파 방사선을 과분극화된 반응으로 전환시킨다. 암도적인 대다수의 유전성 망막질병은 직접적으로, 예컨대 로돕신 단백질 풀딩에 영향을 미치는 우성 돌연변이에 또는 간접적으로, 예컨대 망막 색소 상피층 (retinal pigment epithelium: RPE) 내 망막의 재사용 경로에 영향을 미치는 이들 세포의 손실을 초래한다.

[0006] AAV는 파보비리다에(*Parvoviridae*)과 및 데펜도바이러스(*Dependovirus*) 속에 속하는데, 이것의 구성원은 복제를 촉진하기 위해 아데노바이러스와 같은 헬퍼 바이러스와 공동-감염을 필요로 하며, AAV는 헬퍼 없이 잠재적 감염을 확립한다. 비리온은 2개의 오픈 리딩 프레임: *rep* 및 *cap*을 지니는 4.9 kb 단일 가닥 DNA 게놈을 포함하는 25nm 20면체 캡시드로 구성된다. 비구조적 *rep* 유전자는 바이러스 복제를 위해 필수적인 4개의 조절 단백질을 암호화하는 반면, *cap*은 60-량체 캡시드 껍질로 조립되는 3개의 구조적 단백질(VP1 내지 3)을 암호화할 수 있다. 이 바이러스 캡시드는 세포 표면 수용체 결합, 엔도사이토시스, 세포내 교환 및 핵 내 언팩키징 (unpackaging)을 포함하는 바이러스 형질도입의 다수의 생물학적 장벽을 극복하는 AAV 벡터의 능력을 매개한다.

선행기술문헌

특허문헌

[0007]

(특허문헌 0001) 미국 특허 공개 제2005/0053922호

(특허문헌 0002) 미국 특허 공개 제2009/0202490호

비특허문헌

[0008]

(비특허문헌 0001) Allocca et al. (2007) J. Virol. 81:11372

(비특허문헌 0002) Boucas et al. (2009) J. Gene Med. 11:1103

발명의 내용

[0009]

본 개시내용은 변성된 캡시드 단백질을 지니는 아데노-관련 바이러스(adeno-associated virus: AAV)를 제공하되, 야생형 AAV에 비해 유리체내 주사를 통해 투여될 때, AAV 비리온은 망막 세포의 더 큰 감염성을 나타낸다. 본 발명의 개시내용은 추가로 개체의 망막 세포에 유전자 산물을 전달하는 방법 및 안질환의 치료방법을 제공한다.

도면의 간단한 설명

[0010]

도 1은 아미노산 587 다음에 무작위 헵타미를 함유하는 대표적인 AAV2의 3차원 모델을 도시한 도면;

도 2는 AAV2(좌)에 대해 AAV2 7M8 변이체(우)에 의한 유리체내 더 큰 수준의 형질도입을 도시한 도면;

도 3은 혼한 CAG 프로모터(좌) 또는 광수용체-특이적 Rho 프로모터(우)의 제어하에 GFP 유전자를 운반하는 7M8로부터 초래되는 녹색 형광 단백질(green fluorescent protein: GFP) 발현을 나타내는 망막 냉동슬라이스의 대표적인 형광 이미지를 도시한 도면;

도 4는 7M8에 의해 또는 4개의 티로신 돌연변이를 함유하는 7M8(7m8.4YF)에 의해 형질도입 후, 유세포 분석기에 의해 계측되는 바와 같은 백만 개의 망막세포 당 GFP^+ 광수용체 세포를 도시한 도면;

도 5는 AAV2 VP1의 아미노산 서열(서열번호 1)을 도시한 도면;

도 6은 다양한 AAV 혈청형의 AAV 캡시드 단백질 VP1의 AAV2(도 5)의 아미노산 570 내지 610에 대응되는 아미노산 서열을 도시한 도면;

도 7a 내지 도 7i는 유전자 전달 후 *Rs1h* /- 마우스 망막에서 구조적 개선을 도시한 도면;

도 8a 내지 도 8d는 RS1 유전자 전달 후 망막전도(electroretinogram) A 및 B 웨이브의 기능적 구제(functional rescue)를 도시한 도면;

도 9a 내지 도 9e는 7m8-rho-RS1 처리 후 10개월에 측정된 망막 두께에서 지속적인 개선을 도시한 도면;

도 10은 망막층간 단백질(retinoschisin)의 아미노산 서열을 도시한 도면;

도 11은 뇌 유래 신경영양 인자의 아미노산 서열을 도시한 도면;

도 12는 RPE65의 아미노산 서열을 도시한 도면;

도 13a 내지 도 13c는 7m8-rho-RS1 작제물의 뉴클레오타이드 서열을 도시한 도면;

도 14는 폐리페린-2의 아미노산 서열을 도시한 도면;

도 15는 폐리페린의 아미노산 서열을 도시한 도면;

도 16은 망막 색소 변성증 GTPase 조절자-상호작용 단백질-1의 아미노산 서열을 도시한 도면;

도 17a 내지 도 17c는 AAV 캡시드 단백질 루프 IV(GH 루프) 영역의 아미노산 서열의 정렬을 도시한 도면. 삽입

부위는 볼드체 및 밑줄로 나타낸다;

도 18a 내지 도 18c는 이종성 펩타이드 삽입을 지니는 AAV 캡시드 단백질 GH 루프 영역의 아미노산 서열의 정렬을 도시한 도면;

도 19는 커넥신36(connexin36) 프로모터의 제어 하에 7m8 운반 GFP의 투여 9주 후, 중추 영장류 망막에서 GFP 발현을 나타내는 형광 안저 영상을 도시한 도면.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0011]

정의

용어 "망막 세포"는 본 명세서에서 망막을 포함하는 임의의 세포 유형, 예컨대 망막 신경절세포, 아마크린 세포, 수평세포, 양극 세포 및 간체(rod) 및 추체(cone)를 포함하는 광수용체 세포, 뮬러 신경교세포(Muller glial cell) 및 망막 색소성 상피세포를 지칭할 수 있다.

"AAV"는 아데노-관련 바이러스에 대한 약어이며, 바이러스 그 자체 또는 이의 유도체를 지칭하기 위해 사용될 수 있다. 해당 용어는 그 밖에 필요한 경우를 제외하고, 모든 하위유형 및 자연적으로 발생하는 형태와 재조합 형태를 둘 다 다룬다. 약어 "rAAV"는 재조합 아데노-관련 바이러스를 지칭하며, 또한 재조합 AAV 벡터(또는 "rAAV 벡터")로서 지칭된다. 용어 "AAV"는 AAV 1형(AAV-1), AAV 2형(AAV-2), AAV 3형(AAV-3), AAV 4형(AAV-4), AAV 5형(AAV-5), AAV 6형(AAV-6), AAV 7형(AAV-7), AAV 8형(AAV-8), 조류 AAV, 소 AAV, 개 AAV, 말 AAV, 영장류 AAV, 비-영장류 AAV 및 양 AAV을 포함한다. "영장류 AAV"는 영장류를 감염시키는 AAV를 지칭하며, "비-영장류 AAV"는 비-영장류 포유류를 감염시키는 AAV를 지칭하고, "소 AAV"는 소 포유류 등을 감염시키는 AAV를 지칭한다.

AAV의 다양한 혈청형의 계놈 서열뿐만 아니라 천연 말단 반복체(terminal repeat: TR)의 서열, Rep 단백질 및 캡시드 서브유닛은 당업계에 공지되어 있다. 이러한 서열은 문헌에서 또는 젠뱅크(GenBank)와 같은 공용 데이터 베이스에서 찾을 수 있다. 예를 들어, 젠뱅크(GenBank) 등록번호 NC_002077(AAV-1), AF063497(AAV-1), NC_001401(AAV-2), AF043303(AAV-2), NC_001729(AAV-3), NC_001829(AAV-4), U89790(AAV-4), NC_006152(AAV-5), AF513851(AAV-7), AF513852(AAV-8) 및 NC_006261(AAV-8)을 참조하며; 이것의 개시내용은 AAV 핵산 및 아미노산 서열을 교시하기 위해 본 명세서에 참조로서 포함된다. 또한 예를 들어 문헌[Srivastava et al. (1983) *J. Virology* 45:555; Chiorini et al. (1998) *J. Virology* 71:6823; Chiorini et al. (1999) *J. Virology* 73:1309; Bantel-Schaal et al. (1999) *J. Virology* 73:939; Xiao et al. (1999) *J. Virology* 73:3994; Muramatsu et al. (1996) *Virology* 221:208; Shade et al.,(1986) *J. Virol.* 58:921; Gao et al. (2002) *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 99:11854; Moris et al. (2004) *Virology* 33:375-383]; 국제특허 공개 WO 00/28061호, WO 99/61601호, WO 98/11244호; 및 미국 특허 제6,156,303호를 참조한다.

본 명세서에 사용되는 바와 같은 "rAAV 벡터"는 AAV 유래가 아닌 폴리뉴클레오타이드 서열(즉, AAV에 대해 이종성인 폴리뉴클레오타이드), 전형적으로는 세포의 유전적 형질전환을 위한 관심의 서열을 포함하는 AAV 벡터를 지칭한다. 일반적으로, 이종성 폴리뉴클레오타이드는 적어도 하나, 및 일반적으로는 2개의 AAV 역위 말단 반복 서열(inverted terminal repeat sequence: ITR)에 측첩된다. 용어 rAAV 벡터는 rAAV 벡터 입자와 rAAV 벡터 폴라스미드를 둘 다 포함한다. rAAV 벡터는 단일 가닥(single-stranded: ssAAV) 또는 자기-상보적(self-complementary: scAAV)일 수 있다.

"AAV 바이러스" 또는 "AAV 바이러스 입자" 또는 "rAAV 벡터 입자"는 적어도 하나의 AAV 캡시드 단백질(야생형 AAV의 모든 캡시드 단백질에 포함) 및 캡시드 내 이입된(encapsidated) 폴리뉴클레오타이드 rAAV 벡터로 구성되는 바이러스 입자를 지칭한다. 입자가 이종성 폴리뉴클레오타이드(즉, 야생형 AAV 계놈 이외의 폴리뉴클레오타이드, 예컨대 포유류 세포에 전달되는 이식유전자)를 포함한다면, 이는 전형적으로 "rAAV 벡터 입자" 또는 간단하게 "rAAV 벡터"로서 지칭된다. 따라서, rAAV 입자의 생성은 필연적으로 rAAV의 생성을 포함하는데, 이러한 벡터가 rAAV 입자 내에 함유되기 때문이다.

"패키징"은 AAV 입자의 조립체 및 캡시드 내 이입을 야기하는 일련의 세포내 사건을 지칭한다.

AAV "rep" 및 "cap" 유전자는 아데노-관련 바이러스의 복제 및 캡시드 내 이입 단백질을 암호화하는 폴리뉴클레오타이드 서열을 지칭한다. AAV rep 및 cap은 본 명세서에서 AAV "패키징 유전자"로서 지칭된다.

AAV에 대한 "헬퍼 바이러스"는 AAV(예를 들어, 야생형 AAV)가 포유류 세포에 의해 복제되고, 패키징되게 하는

바이러스를 지칭한다. 아데노바이러스, 헤르페스바이러스, 및 백시니아와 같은 폭스바이러스를 포함하는, AAV에 대한 다양한 이러한 헬퍼 바이러스는 당업계에 공지되어 있다. 서브그룹 C의 아데노바이러스 5형이 가장 흔히 사용되지만, 아데노바이러스는 다수의 상이한 서브그룹을 포함한다. 인간, 비인간 포유류 및 조류 유래의 수많은 아데노바이러스는 공지되어 있고, ATCC와 같은 기탁기관으로부터 입수가능하다. 헤르페스과의 바이러스는, 예를 들어 헤르페스 심플렉스 바이러스(herpes simplex viruses: HSV) 및 앱스타인-바르 바이러스(Epstein-Barr viruses: EBV)뿐만 아니라 사이토메갈로바이러스(cytomegaloviruses: CMV) 및 가성광견병 바이러스(pseudorabies viruses: PRV)를 포함하는데; 이들은 또한 ATCC와 같은 기탁기관으로부터 입수가능하다.

[0020] "헬퍼 바이러스 기능(들)"은 AAV 복제 및 패키징(본 명세서에 기재된 복제 및 패키징을 위한 다른 요구사항과 함께)을 허용하는 헬퍼 바이러스 계놈에서 암호화된 기능(들)을 지칭한다. 본 명세서에 기재된 바와 같이, "헬퍼 바이러스 기능"은 헬퍼 바이러스를 제공하거나 또는, 예를 들어 트랜스로 생산자 세포에 필수 기능(들)을 암호화하는 폴리뉴클레오타이드 서열을 제공함으로써 포함되는, 다양한 방법으로 제공될 수 있다. 예를 들어, 하나 이상의 아데노바이러스 단백질을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 플라스미드 또는 다른 발현 벡터는 rAAV 벡터와 함께 생산자 세포로 형질감염된다.

[0021] "감염성" 바이러스 또는 바이러스 입자는 적격성 있게(competently) 조립된 바이러스 캡시드를 포함하는 것이며, 바이러스 종이 열대성인 세포에 폴리뉴클레오타이드 성분을 전달할 수 있다. 용어는 바이러스의 임의의 복제 능력을 필연적으로 나타내지 않는다. 감염성 바이러스 입자를 계측하기 위한 분석은 본 개시내용 및 당업계 어디에서나 기재되어 있다. 바이러스 감염성은 감염성 바이러스 입자 대 전체 바이러스 감염의 비로서 표현될 수 있다. 감염성 바이러스 입자 대 전체 바이러스 입자 비의 결정 방법은 당업계에 공지되어 있다. 예를 들어, 문헌[Grainger et al. (2005) *Mol. Ther.* 11:S337(TCID50 감염성 역가 분석을 기재함); 및 Zolotukhin et al. (1999) *Gene Ther.* 6:973]을 참조한다. 또한 실시예를 참조한다.

[0022] "복제-적격(replication-competent)" 바이러스(예를 들어, 복제-적격 AAV)는 감염성이며, 또한 감염된 세포에서 (즉, 헬퍼 바이러스 또는 헬퍼 바이러스 기능의 존재에서) 복제될 수 있는 표현형으로 야생형인 바이러스를 지칭한다. AAV의 경우에, 복제 적격성은 일반적으로 기능적 AAV 패키징 유전자의 존재를 필요로 한다. 일반적으로, 본 명세서에 기재된 rAAV 벡터는 하나 이상의 AAV 패키징 유전자의 결여 때문에 포유류 세포에서 (특히, 인간 세포에서) 복제-부적격이다. 전형적으로는, 이러한 rAAV 벡터는 복제 적격 AAV가 AAV 패키징 유전자와 유입 rAAV 벡터 사이의 재조합에 의해 만들어지는 가능성을 최소화하기 위해 임의의 AAV 패키징 유전자 서열을 결여한다. 다수의 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 바와 같은 rAAV 벡터 제제는 임의의 복제 적격 AAV(rcAAV, 또한 RCA로서 지칭됨)(예를 들어, 10^2 rAAV 입자 당 약 1 미만의 rcAAV, 10^4 rAAV 입자 당 약 1 미만의 rcAAV, 10^8 rAAV 입자 당 약 1 미만의 rcAAV, 10^{12} rAAV 입자 당 약 1 미만의 rcAAV 또는 rcAAV 없음)가 있다고 해도 거의 없는 것이다.

[0023] 용어 "폴리뉴클레오타이드"는 데옥시리보뉴클레오타이드 또는 리보뉴클레오타이드 또는 이들의 유사체를 포함하는, 임의의 길이의 뉴클레오타이드의 중합체 형태를 지칭한다. 폴리뉴클레오타이드는 변형된 뉴클레오타이드, 예컨대 메틸화된 뉴클레오타이드 및 뉴클레오타이드 유사체를 포함할 수 있고, 비뉴클레오타이드 성분에 의해 방해될 수 있다. 존재한다면, 뉴클레오타이드 구조에 대한 변형은 중합체의 조립 전 또는 후에 전해질 수 있다. 본 명세서에서 사용되는 용어 폴리뉴클레오타이드는 상호호환적으로 이중- 및 단일-가닥 분자를 지칭한다. 달리 특정되거나 또는 필요로 되지 않는다면, 폴리뉴클레오타이드인 본 발명에 기재된 본 발명의 임의의 실시형태는 이중 가닥 형태를 구성하는 것으로 공지되거나 또는 예측된 이중-가닥 형태와 각각의 2개의 상보적 단일-가닥 형태를 포함한다.

[0024] 핵산 혼성화 반응은 상이한 "염격" 조건 하에 수행될 수 있다. 염격한 혼성화 반응을 증가시키는 조건은 당업계에 널리 공지되고, 공개되어 있다. 예를 들어, 본 명세서에 참조로서 포함된 문헌[Sambrook et al. *Molecular Cloning, A Laboratory Manual*, 2nd Ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., 1989]을 참조한다. 예를 들어, 문헌[Sambrook et al]의 7.52 페이지를 참조한다. 적절한 조건의 예는(염격함을 증가시키기 위해) 25°C, 37°C, 50°C 및 68°C의 인큐베이션 온도; 10 × SSC, 6 × SSC, 1 × SSC, 0.1 × SSC의 완충제 농도(1 × SSC는 0.15 M NaCl 및 15mM 시트레이트 완충제임) 및 다른 완충제 시스템을 사용하는 이들의 등가물; 0%, 25%, 50% 및 75%의 포름아마이드 농도; 5분 내지 24시간의 인큐베이션 시간; 1, 2 이상의 세척 단계; 1, 2 또는 15분의 세척 인큐베이션 시간; 및 6 × SSC, 1 × SSC, 0.1 × SSC의 세척 용액 또는 탈이온수를 포함한다. 염격한 혼성화 조건의 예는 50°C 이상 및 0.1×SSC에서 혼성화이다(15mM 염화나트륨/1.5mM 시트르산나트륨). 염격한 혼성화 조건의 다른 예는 42°C에서 용액: 50% 포름아마이드, 1 × SSC (150mM NaCl, 15mM 시

트로산나트륨), 50mM 인산나트륨(pH 7.6), 5 × 텐하르트 용액(텐하르트 용액), 10% 텍스트란 설레이트 및 20 μ g/ml 변성되고, 전단된 염색체 DNA 중에서 밤새 인큐베이션시킨 후, 약 65°C에서 0.1 × SSC 중에서 필터를 세척한다. 다른 예로서, 염격한 혼성화 조건은 65°C에서 6X 착즙 그대로의 시트레이트(single strength citrate: SSC)(1X SSC는 0.15 M NaCl, 0.015 M Na 시트레이트임; pH 7.0), 5X 텐하르트 용액, 0.05% 파이로인산나트륨 및 100 μ g/ml 청어 정자 DNA를 포함하는 용액 중에서 8시간 내지 밤새 예비혼성화 단계; 65°C에서 18시간 내지 20시간 동안 6X SSC, 1X 텐하르트 용액, 100 μ g/ml 효모 tRNA 및 0.05% 파이로인산나트륨을 함유하는 용액 중에서 혼성화 단계; 및 0.2X SSC 및 0.1% SDS(도데실 황산 나트륨)을 함유하는 용액 중에서 65°C에서 1시간 동안 충전제의 세척 단계를 포함한다.

[0025] 염격한 혼성화 조건은 적어도 상기 대표적인 조건만큼 염격한 혼성화 조건이다. 다른 염격한 혼성화 조건은 당업계에 공지되어 있고, 본 발명의 이 특정 실시형태의 핵산을 확인하기 위해 사용될 수 있다.

[0026] "T_m"은 왓슨-크릭 염기쌍에 의해 역평행 방향으로 결합된 상보적 가닥 수소로 만들어진 폴리뉴클레오타이드 듀플렉스의 50%가 실험 조건 하에 단일 가닥으로 해리되는 섭씨의 온도이다. T_m은 하기와 같은 표준식에 따라 예측될 수 있다:

$$T_m = 81.5 + 16.6 \log[X^+] + 0.41 (\%G/C) - 0.61 (\%F) - 600/L$$

[0028] 상기 식에서 [X⁺]는 mol/l로 양이온 농도(보통 나트륨 이온, Na⁺)이고; (%G/C)는 듀플렉스 내 전체 잔기의 백분율로서 G 및 C 잔기의 수이며; (%F)는 용액 내 포름아마이드의 백분율(중량/용적)이고; L은 듀플렉스의 각 가닥에서 뉴클레오타이드의 수이다.

[0029] 폴리뉴클레오타이드 또는 폴리펩타이드는 다른 폴리뉴클레오타이드 또는 폴리펩타이드에 대해 특정 백분율의 "서열 동일성"을 가지는데, 이는 정렬될 때 염기 또는 아미노산의 백분율이 두 서열을 비교할 때 동일하다는 것을 의미한다. 서열 유사성은 다수의 상이한 방법으로 결정될 수 있다. 서열 동일성을 결정하기 위해, 서열은 월드 와이드 웹 ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/을 거쳐 입수 가능한 BLAST를 포함하는 방법 및 컴퓨터 프로그램을 사용하여 정렬될 수 있다. 다른 정렬 알고리즘은 옥스포드 몰레큘러 그룹 인코포레이티드(Oxford Molecular Group, Inc.)의 전액 출자 자회사인 미국 위스콘신주 매디슨에 소재한 제네틱 컴퓨팅 그룹(Genetics Computing Group: GCG) 패키지에서 입수 가능한 FASTA이다. 정렬을 위한 다른 기법은 문헌[Methods in Enzymology, vol. 266: Computer Methods for Macromolecular Sequence Analysis (1996), ed. Doolittle, Academic Press, Inc., a division of Harcourt Brace & Co., San Diego, California, USA]에 기재되어 있다. 서열에서 캡을 허용하는 정렬 프로그램에 특히 관심이 있다. 스미스-워터만(Smith-Waterman)은 서열 정렬에서 캡을 허용하는 일 유형의 알고리즘이다. 문헌[Meth. Mol. Biol. 70: 173-187 (1997)]을 참조한다. 또한, 서열을 정렬시키기 위해 니들만(Needleman) 및 분쉬(Wunsch)를 사용하는 GAP 프로그램이 이용될 수 있다. 문헌[J. Mol. Biol. 48: 443-453 (1970)]을 참조한다.

[0030] 서열 동일성을 결정하기 위해 스미스 및 워터만의 국소 상동성 알고리즘(Advances in Applied Mathematics 2: 482-489 (1981))을 사용하는 베스트핏(BestFit) 프로그램에 특정 관심이 있다. 캡 발생 폐널티는 일반적으로 1 내지 5, 보통 2 내지 4의 범위에 있을 것이고, 다수의 실시형태에서 3일 것이다. 캡 확장 폐널티는 일반적으로 약 0.01 내지 0.20의 범위일 것이고, 다수의 예에서 0.10일 것이다. 프로그램은 비교되는 입력된 서열에 의해 결정된 디폴트 변수를 가진다. 바람직하게는, 서열 동일성은 프로그램에 의해 결정된 디폴트 변수를 사용하여 결정된다. 이 프로그램은 또한 미국 위스콘신주 매디슨에 소재한 제네틱 컴퓨팅 그룹(Genetics Computing Group: GCG) 패키지로부터 입수 가능하다.

[0031] 관심의 다른 프로그램은 FastDB 알고리즘이다. FastDB는 문헌[Current Methods in Sequence Comparison and Analysis, Macromolecule Sequencing and Synthesis, Selected Methods and Applications, pp. 127-149, 1988, Alan R. Liss, Inc]에 기재되어 있다. 서열 동일성 백분율은 다음의 변수를 기준으로 FastDB에 의해 계산된다:

[0032] 미스매치 폐널티: 1.00;

[0033] 캡 폐널티: 1.00;

[0034] 캡 크기 폐널티: 0.33; 및

- [0035] 결합 폐널티: 30.0.
- [0036] "유전자"는 전사되고 번역된 후 특정 단백질을 암호화할 수 있는 적어도 하나의 오픈 리딩 프레임을 함유하는 폴리뉴클레오타이드를 지칭한다.
- [0037] "유전자 산물"은 특정 유전자의 발현으로부터 초래되는 분자이다. 유전자 산물은, 예를 들어 폴리펩타이드, 앰타미, 간섭 RNA, mRNA 등을 포함한다.
- [0038] "짧은 간섭" 또는 "짧은 간섭 RNA" 또는 siRNA는 관심의 유전자("표적 유전자")에 표적화된 뉴클레오타이드의 RNA 듀플렉스이다. "RNA 듀플렉스"는 RNA 분자의 두 영역 사이의 상보적 쌍에 의해 형성된 구조를 지칭한다. siRNA는 siRNA의 듀플렉스 부분의 뉴클레오타이드 서열이 표적화된 유전자의 뉴클레오타이드 서열에 상보적인 유전자에 "표적화된다". 일부 실시형태에서, siRNA의 듀플렉스 길이는 30개 미만의 뉴클레오타이드이다. 일부 실시형태에서, 듀플렉스는 길이로 29, 28, 27, 26, 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11 또는 10개 뉴클레오타이드일 수 있다. 일부 실시형태에서, 듀플렉스의 길이는 길이로 19 내지 25개의 뉴클레오타이드이다. siRNA의 RNA 듀플렉스 부분은 헤어핀 구조의 부분일 수 있다. 듀플렉스 부분에 추가로, 헤어핀 구조는 듀플렉스를 형성하는 두 서열 사이에 위치된 루프 부분을 함유할 수 있다. 루프는 길이가 다를 수 있다. 일부 실시형태에서, 루프는 길이로 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 또는 13개 뉴클레오타이드이다. 헤어핀 구조는 또한 3' 또는 5' 돌출부 부분을 함유할 수 있다. 일부 실시형태에서, 돌출부는 길이로 0, 1, 2, 3, 4 또는 5개 뉴클레오타이드의 3' 또는 5' 돌출부이다.
- [0039] "짧은 헤어핀 RNA" 또는 shRNA는 siRNA와 같은 간섭 RNA를 발현시키기 위해 만들어질 수 있는 폴리뉴클레오타이드 작제물이다.
- [0040] 폴리뉴클레오타이드에 적용되는 "재조합체"는 클로닝, 제한 또는 결찰 단계 및 천연에서 발견되는 폴리뉴클레오타이드와 별개인 작제물을 만드는 다른 과정의 다양한 조합의 산물이다. 재조합 바이러스는 재조합 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 바이러스 입자이다. 해당 용어는 각각 본래의 폴리뉴클레오타이드 작제물의 복제물 및 바이러스 작제물의 후손을 포함한다.
- [0041] "제어 구성요소" 또는 "제어 서열"은 폴리뉴클레오타이드의 복제, 중복, 전사, 스플라이싱, 번역 또는 분해를 포함하는, 폴리뉴클레오타이드의 기능 조절에 기여하는 분자의 상호작용에 수반되는 뉴클레오타이드 서열이다. 조절은 처리의 빈도, 속도 또는 특이성에 영향을 미칠 수 있고, 사실상 항상성이거나 또는 억제성일 수 있다. 당업계에 공지된 제어 구성요소는, 예를 들어 프로모터 및 인핸서와 같은 전사 조절 서열을 포함한다. 프로모터는 RNA 중합효소에 결합되고, 프로모터로부터 보통 하류에 위치된(3' 방향으로) 암호 영역의 전사를 개시하는 특정 조건 하에서 가능한 DNA 영역이다.
- [0042] "작동가능하게(operatively) 연결된" 또는 "조작가능하게(operably) 연결된"은 유전자 구성요소의 병치를 지칭하되, 구성요소는 그것을 예상된 방식으로 작동되게 하는 관계에 있다. 예를 들어, 프로모터는 프로모터가 암호 서열의 전사를 개시하게 한다면, 암호 영역에 작동가능하게 연결된다. 이 작용 관계가 유지되는 한, 프로모터와 암호 영역 사이에 잔기가 개입될 수 있다.
- [0043] "발현 벡터"는 관심의 폴리펩타이드를 암호화하는 영역을 포함하는 벡터이며, 의도된 표적 세포에서 단백질의 발현을 달성하기 위해 사용된다. 발현 벡터는 또한 표적에서 단백질의 발현을 가능하게 하는 암호화 영역에 작동가능하게 연결된 제어 구성요소를 포함한다. 발현을 위해 조작가능하게 연결된 제어 구성요소 및 유전자 또는 유전자들의 조합은 때때로 "발현 카세트"로서 지칭되는데, 이중 대다수는 당업계에 공지되어 있고, 입수가능하거나, 또는 당업계에서 입수가능한 성분으로부터 용이하게 구성될 수 있다.
- [0044] "이종성"은 비교되는 나머지 독립체와 기하학적으로 별개인 독립체로부터 유래되었음을 의미한다. 예를 들어, 상이한 종으로부터 유래된 플라스미드 또는 벡터 내로 유전자 조작 기법에 의해 도입된 폴리뉴클레오타이드는 이종성 폴리뉴클레오타이드이다. 본래의 암호 서열로부터 제거되고 연결이 자연적으로 발견되지 않은 암호 서열에 작동가능하게 연결된 프로모터는 이종성 프로모터이다. 따라서, 예를 들어, 이종성 유전자 산물을 암호화하는 이종성 핵산을 포함하는 rAAV는 자연적으로-발생되는 야생형 AAV에 보통 포함되지 않는 핵산을 포함하는 rAAV이며, 암호화된 이종성 유전자 산물은 보통 자연적으로-발생되는 야생형 AAV에 의해 암호화되지 않는 유전자 산물이다.
- [0045] 용어 "유전자 변성(alteration)" 및 "유전자 변형"(및 이들의 문법적 변형)은 유전적 구성요소(예를 들어, 폴리뉴클레오타이드)가 유사분열 또는 감수분열 이외의 세포에 도입되는 방법을 지칭하기 위해 본 명세서에서 상호

호환적으로 사용된다. 구성요소는 세포에 대해 이종성일 수 있거나, 또는 세포에 이미 존재하는 구성요소의 추가적인 복제물 또는 개선된 형태일 수 있다. 유전적 변성은, 당업계에 공지된 임의의 방법, 예컨대 전기천공법, 인산칼슘 침전법 또는 폴리뉴클레오타이드-리포좀 복합체와 접촉을 통해 재조합 플라스미드 또는 다른 폴리뉴클레오타이드로 세포를 형질감염시킴으로써 달성될 수 있다. 유전적 변성은 또한, 예를 들어 DNA 또는 RNA 바이러스 또는 바이러스 벡터에 의한 형질도입 또는 감염에 의해 달성될 수 있다. 일반적으로, 유전적 구성요소는 세포 내 염색체 또는 미니-염색체 내로 도입되지만; 세포 및 그것의 자손의 표현형 및/또는 유전자형을 변화시키는 임의의 변성이 이 용어에 포함된다.

[0046] 시험관내 세포의 장기간 배양 동안 서열이 그것의 기능을 수행하도록 이용가능하다면, 세포는 "안정하게" 변성되고, 형질도입되며, 유전적으로 변형되거나 또는 형질전환되는 것으로 언급된다. 일반적으로, 이러한 세포는 "유전가능하게" 변성되며(유전적으로 변형됨), 즉, 유전적 변성은 또한 변성된 세포의 후손에 의해 유전가능하게 도입된다.

[0047] 용어 "폴리펩타이드", "펩타이드" 및 "단백질"은 임의의 길이의 아미노산의 중합체를 지칭하기 위해 본 명세서에서 상호호환적으로 사용된다. 해당 용어는 또한 변형된, 예를 들어 이황화 결합 형성, 글라이코실화, 지질화, 포스포릴화 또는 표지 성분과 컨쥬게이션된 아미노산 중합체를 포함한다. 포유류 대상에 유전자 산물 및 그에 대한 조성물을 전달하기 위한 내용으로 논의될 때, 항혈관신생 폴리펩타이드, 신경보호작용 폴리펩타이드 등과 같은 폴리펩타이드는 무결합 단백질의 원하는 생화학적 기능 보유하는 각각의 무결합 폴리펩타이드 또는 이것의 임의의 단편 또는 이들의 유전적으로 조작된 유도체를 지칭한다. 유사하게, 항혈관신생 폴리펩타이드를 암호화하는 핵산, 신경보호작용 폴리펩타이드를 암호화하는 핵산, 및 포유류 피험체에 유전자 산물의 전달에서 사용을 위한 다른 이러한 핵산(이는 수용 세포에 전달되는 "이식유전자"로서 지칭될 수 있음)에 대한 언급은 무결합 폴리펩타이드를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드 또는 원하는 생화학적 작용을 소유하는 임의의 단편 또는 유전적으로 유전자 조작된 유도체를 포함한다.

[0048] "단리된" 플라스미드, 핵산, 벡터, 바이러스, 비리온, 숙주 세포, 또는 다른 물질은, 물질 또는 유사한 물질이 자연적으로 생기거나 또는 이들로부터 처음에 제조된 경우, 또한 존재할 수 있는 적어도 일부의 다른 성분이 없는 물질의 제조를 지칭한다. 따라서, 예를 들어, 단리된 물질은 공급 혼합물로부터 그것을 풍부하게 하는 정제 기법을 사용하여 제조될 수 있다. 풍부도는 절대적 기준, 예컨대 용액의 용적 당 중량에 대해 측정될 수 있거나, 또는 공급 혼합물에 존재하는 제2의, 잠재적 간접 물질에 대해 측정될 수 있다. 본 개시내용의 실시형태의 풍부도가 증가되면, 단리물도 더 증가된다. 단리된 플라스미드, 핵산, 벡터, 바이러스, 숙주 세포, 또는 다른 물질은 일부 실시형태에서, 예를 들어 약 80% 내지 약 90% 순도, 적어도 약 90% 순도, 적어도 약 95% 순도, 적어도 약 98% 순도, 또는 적어도 약 99% 이상의 순도로 정제된다.

[0049] 본 명세서에 사용된 바와 같이, 용어 "치료", "치료하는" 등은 원하는 약학적 및/또는 생리적 효과를 얻는 것을 지칭한다. 효과는 질병 또는 이것의 증상을 완전히 또는 부분적으로 예방하는 면에서 예방적일 수 있고/있거나 질병 및/또는 질병에 기인하는 부작용에 대한 부분적 또는 완전한 치료의 면에서 치료적일 수 있다. 본 명세서에 사용된 바와 같은 "치료"는 포유류, 특히 인간에서 질병의 어떤 치료를 포괄하며, (a) 질병을 획득할 위험에 있거나 또는 질병의 성향이 있지만 아직 질병이 있는 것으로 진단되지 않은 피험체에서 질병이 생기는 것을 예방하는 것; (b) 질병을 억제하는 것, 즉, 그것의 발생을 막는 것; 및 (c) 질병을 완화시키는 것, 즉 질병의 퇴보를 야기하는 것을 포함한다.

[0050] 용어 "개체", "숙주", "피험체" 및 "환자"는 본 명세서에서 상호 호환적으로 사용되며, 인간 및 유인원을 포함하는 비인간 영장류 및 인간들을 포함하지만, 이들에 제한되지 않는 포유류; 포유류 스포츠 동물(예를 들어, 말); 포유류 농장 동물(예를 들어, 양, 염소 등); 포유류 애완동물(개, 고양이 등); 및 설치류(예를 들어, 마우스, 래트 등)를 지칭한다.

[0051] 본 발명을 추가로 기재하기 전, 본 발명은 기재되는 특정 실시형태로 제한되지 않으며, 물론 다를 수 있다는 것이 이해되어야 한다. 또한 본 명세서에 사용된 전문용어는 단지 특정 실시형태를 설명하는 목적을 위한 것이며, 제한하는 것으로 의도되지 않는다는 것이 이해되어야 하는데, 본 발명의 범주는 단지 첨부되는 특허청구범위에 의해서만 제한될 것이기 때문이다.

[0052] 값의 범위가 제공되는 경우, 달리 명확하게 지시되지 않는다면, 해당 범위 및 어떤 다른 언급되거나 또는 그 언급된 범위에서 사이에 있는 값 사이의 상한과 하한 사이에서 하한 단위의 10분의 1까지의 각각의 사이에 있는 값은 본 발명 내에 포함되는 것으로 이해된다. 이를 더 작은 범위의 상한 및 하한은 더 작은 범위에 독립적으로 포함될 수 있으며, 또한 언급된 범위에서 어떤 구체적으로 제외된 경계의 대상으로 본 발명 내에 포함될 수 있

다. 언급된 범위가 경계 중 하나 또는 둘 다를 포함하는 경우, 이들 포함된 경계 중 하나 또는 둘 다를 제외하는 범위는 또한 본 발명에 포함된다.

[0053] 달리 정의되지 않는다면, 본 명세서에서 사용된 모든 기술적 및 과학적 용어는 본 발명이 속하는 당업자에 의해 보통 이해되는 것과 동일한 의미를 가진다. 본 명세서에 기재된 것과 유사하거나 또는 동일한 임의의 방법 및 물질이 또한 본 발명의 실행 또는 시험에서 사용될 수 있지만, 바람직한 방법 및 물질이 이제 기재된다. 본 명세서에서 언급된 모든 간행물은 간행물이 인용되는 것과 관련하여 방법 및/또는 물질을 개시하고 기재하기 위해 본 명세서에 참조로서 포함된다.

[0054] 본 명세서 및 첨부되는 특허청구범위에서 사용되는 바와 같은 단수 형태는 달리 명확하게 지시되지 않는다면 복수의 대상을 포함하는 것으로 이해되어야 한다. 따라서, 예를 들어, "재조합 AAV 비리온"에 대한 언급은 복수의 이러한 비리온을 포함하며, "광수용체 세포"에 대한 언급은 하나 이상의 광수용체 세포 및 당업자에게 공지된 이것의 동등물 등을 포함한다. 추가로 특허청구범위는 임의의 선택적 구성요소를 제외하도록 초안이 작성될 수 있다는 것을 주의한다. 이와 같이, 이런 언급은 특허청구범위 구성요소의 인용 또는 "부정적" 제한의 사용과 함께 "단독으로", "단지" 등으로서 이러한 제외 용어의 사용을 위한 선행 근거의 역할을 하는 것으로 의도된다.

[0055] 명확성을 위해 별개의 실시형태의 내용으로 기재된 본 발명의 어떤 특징은 단일 실시형태와 조합으로 제공될 수 있다는 것이 인식된다. 반대로, 간결성을 위해 단일 실시형태의 내용으로 기재된 본 발명의 다양한 특징은 또한 별개로 또는 임의의 적합한 하위-조합으로 제공될 수 있다. 본 발명에 속하는 실시형태의 모든 조합은 본 발명에 의해 구체적으로 포함되며, 각각 및 모든 조합이 개별적이고 명확하게 개시되는 것과 같이 본 명세서에 개시된다. 추가로, 다양한 실시형태 및 이들의 구성요소의 모든 하위-조합은 본 발명에 의해 구체적으로 포함되며, 각각 및 모든 이러한 하위-조합은 본 명세서에서 개별적이고 명확하게 개시되는 것과 같이 본 명세서에 개시된다.

[0056] 본 명세서에 논의된 간행물은 본 출원의 출원일 전에 그것의 개시내용에 대해서만 제공된다. 본 명세서의 어떤 것도 본 발명이 이러한 간행물을 선행 발명이라는 이유로 선행하는 것으로 자격을 부여하지 않는다는 용인으로서 해석되어서는 안 된다. 추가로, 제공된 공개일은 독립적으로 확인될 필요가 있을 수 있는 실제 공개일과 상이할 수 있다.

상세한 설명

[0058] 본 개시내용은 변성된 캡시드 단백질을 지니는 아데노-관련 바이러스(AAV) 비리온을 제공하며, 여기서 야생형 AAV가 유리체내 주사를 통해 투여될 때에 비해 AAV 비리온이 유리체내 주사를 통해 투여될 때 망막 세포의 더 큰 감염성을 나타낸다. 본 개시내용은 개체에서 망막 세포에 유전자 산물을 전달하는 방법 및 안질환을 치료하는 방법을 추가로 제공한다.

[0059] 망막 세포는 광수용체(예를 들어, 간체; 추체)일 수 있고, 망막 신경절 세포(retinal ganglion cell: RGC), 렐리 세포(렐리 신경교세포), 양극 세포, 아마크린 세포, 수평 세포 또는 망막 색소성 상피(RPE) 세포일 수 있다.

변이체 AAV 캡시드 폴리펩타이드

[0061] 본 개시내용은 변이체 AAV 캡시드 단백질을 제공하며, 변이체 AAV 캡시드 단백질은 대응되는 모(parental) AAV 캡시드 단백질에 대해 캡시드 단백질 GH 루프 또는 루프 IV 내 삽입 부위에서 약 5개 아미노산 내지 약 11개 아미노산의 삽입을 포함하고, AAV 비리온에 존재할 때, 변이체 캡시드 단백질은 대응되는 모 AAV 캡시드 단백질을 포함하는 AAV 비리온에 의한 망막 세포의 감염성에 비해 망막 세포의 증가된 감염성을 부여한다. 일부 경우에, 망막 세포는 광수용체 세포(예를 들어, 간체; 추체)이다. 다른 경우에, 망막 세포는 RGC이다. 다른 경우에, 망막 세포는 RPE 세포이다. 다른 경우에, 망막 세포는 렐리 세포이다. 다른 망막 세포는 아마크린 세포, 양극 세포 및 수평 세포를 포함한다. "약 5개 아미노산 내지 약 11개 아미노산의 삽입"은 또한 본 명세서에서 "펩타이드 삽입"(예를 들어, 이종성 펩타이드 삽입)으로서 지칭된다. "대응되는 모 AAV 캡시드 단백질"은 펩타이드 삽입이 없는 동일한 AAV 혈청형의 AAV 캡시드 단백질을 지칭한다.

[0062] 삽입 부위는 AAV 캡시드 단백질의 AAV 캡시드 단백질에, 예를 들어 AAV 캡시드 단백질의 GH 루프 또는 루프 IV의 용매-접근 가능 부분에 있다. AAV 캡시드의 GH 루프/루프 IV에 대해, 예를 들어, 문헌[van Vliet et al. (2006) *Mol. Ther.* 14:809; Padron et al. (2005) *J. Virol.* 79:5047; 및 Shen et al. (2007) *Mol. Ther.* 15:1955]을 참조한다. 예를 들어, 삽입 부위는 도 17a 및 17b에 도시된 바와 같은 AAV 캡시드 단백질의 아미노산 411 내지 650 내에 있을 수 있다. 예를 들어, 삽입 부위는 도 6에서 도시하는 바와 같이 AAV2의 아미노산 570 내지 611 내에, AAV1의 아미노산 571 내지 612 내에, AAV5의 아미노산 560 내지 601 내에, AAV6의 아미노

산 571 내지 612 내에, AAV7의 아미노산 572 내지 613 내에, AAV8의 아미노산 573 내지 614 내에, AAV9의 아미노산 571 내지 612 내에, 또는 AAV10의 아미노산 573 내지 614 내에 있을 수 있다.

[0063] 일부 경우에, 약 5개 아미노산 내지 약 11개 아미노산이 대응되는 모 AAV 캡시드 단백질에 대해 캡시드 단백질의 GH 루프 또는 루프 IV 내 삽입 부위에 삽입된다. 예를 들어, 삽입 부위는 AAV2의 아미노산 587와 588 사이 또는 다른 AAV 혈청형의 캡시드 서브유닛의 대응되는 위치에 있을 수 있다. 삽입 부위 587/588은 AAV2 캡시드 단백질에 기반한다는 것을 주목하여야 한다. 약 5개 아미노산 내지 약 11개 아미노산이 AAV2 이외의 AAV 혈청형 (예를 들어, AAV8, AAV9 등) 내 대응되는 부위에 삽입될 수 있다. 당업자는 다양한 AAV 혈청형의 캡시드 단백질의 아미노산 서열의 비교를 기반으로, "AAV2의 아미노산 587 내지 588에 대응되는" 삽입 부위가 임의의 주어진 AAV 혈청형의 캡시드 단백질에 있다는 것을 알 것이다. 다양한 AAV 혈청형 내 AAV2의 캡시드 단백질 VP1(도 5 참조)의 아미노산 570 내지 611에 대응되는 서열은 도 6에 나타낸다. 예를 들어 AV1에 대해 젠뱅크(GenBank) 등록번호 NP_049542; AAV5에 대해 젠뱅크(GenBank) 등록번호 AAD13756; AAV6에 대해 젠뱅크(GenBank) 등록번호 AAB95459; AAV7에 대해 젠뱅크(GenBank) 등록번호 YP_077178; AAV8에 대해 젠뱅크(GenBank) 등록번호 YP_077180; AAV9에 대해 젠뱅크(GenBank) 등록번호 AAS99264 및 AAV10에 대해 젠뱅크(GenBank) 등록번호 AAT46337을 참조한다.

[0064] 일부 실시형태에서, 삽입 부위는 임의의 AAV 혈청형의 VP1의 아미노산 570 내지 614 사이에 위치된 두 인접한 아미노산 사이의 단일 삽입 부위이며, 예를 들어 삽입 부위는 어떤 AAV 혈청형 또는 변이체의 VP1의 아미노산 570 내지 610, 아미노산 580 내지 600, 아미노산 570 내지 575, 아미노산 575 내지 580, 아미노산 580 내지 585, 아미노산 585 내지 590, 아미노산 590 내지 600 또는 아미노산 600 내지 614에 위치된 두 인접한 아미노산 사이에 있다. 예를 들어, 삽입 부위는 아미노산 580 내지 581, 아미노산 581 내지 582, 아미노산 583 내지 584, 아미노산 584 내지 585, 아미노산 585 내지 586, 아미노산 586 내지 587, 아미노산 587 내지 588, 아미노산 588 내지 589 또는 아미노산 589 내지 590 사이에 있을 수 있다. 삽입 부위는 아미노산 575 내지 576, 아미노산 576 내지 577, 아미노산 577 내지 578, 아미노산 578 내지 579 또는 아미노산 579 내지 580 사이에 있을 수 있다. 삽입 부위는 아미노산 590과 591 사이, 아미노산 591과 592 사이, 아미노산 592와 593 사이, 아미노산 593과 594 사이, 아미노산 594와 595 사이, 아미노산 595와 596 사이, 아미노산 596 내지 597 사이, 아미노산 597과 598 사이, 아미노산 598과 599 사이 또는 아미노산 599와 600 사이에 있을 수 있다.

[0065] 예를 들어, 삽입 부위는 AAV2의 아미노산 587과 588 사이, AAV1의 아미노산 590과 591 사이, AAV5의 아미노산 575와 576 사이, AAV6의 아미노산 590과 591 사이, AAV7의 아미노산 589와 590 사이, AAV8의 아미노산 590과 591 사이, AAV9의 아미노산 588과 589 사이 또는 AAV10의 아미노산 588과 589 사이일 수 있다.

[0066] 다른 예로서, 삽입 부위는 도 17a에서 나타내는 바와 같이 AAV 캡시드 단백질의 아미노산 450 내지 460에 있을 수 있다. 예를 들어, 삽입 부위는 도 17a에서 나타내는 바와 같이 AAV2의 아미노산 453에(예를 들어 바로 N-말단), AAV1의 아미노산 454에, AAV6의 아미노산 454에, AAV7의 아미노산 456에, AAV8의 아미노산 456에, AAV9의 아미노산 454에 또는 AAV10의 아미노산 456에 있을 수 있다.

[0067] 일부 실시형태에서, 대상 캡시드 단백질은 도 18a 내지 c에 제시된 아미노산에 대해 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99% 또는 100%의 아미노산 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 GH 루프를 포함한다.

삽입 웨타이드

[0069] 상기 논의한 바와 같이, 길이로 약 5개 아미노산 내지 약 11개 아미노산의 웨타이드는 AAV 캡시드의 GH 루프 내로 삽입된다. 삽입 웨타이드는 5개 아미노산, 6개 아미노산, 7개 아미노산, 8개 아미노산, 9개 아미노산, 10개 아미노산 또는 11개 아미노산의 길이를 가진다.

[0070] 삽입 웨타이드는 이하에 제시되는 식 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함할 수 있다.

[0071] 예를 들어, 삽입 웨타이드는 길이로 5 내지 11개의 아미노산의 웨타이드일 수 있으며, 여기서 삽입 웨타이드는 하기 식 I을 갖는다:

[식 I]

$Y_1 Y_2 X_1 X_2 X_3 X_4 X_5 X_6 X_7 Y_3 Y_4$

[0074] 상기 식에서:

- [0075] 각각의 Y_1 내지 Y_4 는, 존재한다면 Ala, Leu, Gly, Ser 및 Thr으로부터 독립적으로 선택되고;
- [0076] X_1 은, 존재한다면, Leu, Asn 및 Lys으로부터 선택되며;
- [0077] X_2 는 Gly, Glu, Ala 및 Asp으로부터 선택되고;
- [0078] X_3 은 Glu, Thr, Gly 및 Pro으로부터 선택되며;
- [0079] X_4 는 Thr, Ile, Gln 및 Lys으로부터 선택되고;
- [0080] X_5 는 Thr 및 Ala으로부터 선택되며;
- [0081] X_6 은 Arg, Asn 및 Thr으로부터 선택되고;
- [0082] X_7 은, 존재한다면, Pro 및 Asn으로부터 선택된다.
- [0083] 다른 예로서, 삽입 웨타이드는 길이로 5 내지 11개의 아미노산의 웨타이드일 수 있으며, 여기서 삽입 웨타이드는 하기 식 IIa를 갖는다:
- [0084] [식 IIa]
- [0085] $Y_1Y_2X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7Y_3Y_4$
- [0086] 상기 식에서:
- [0087] 각각의 Y_1 내지 Y_4 는, 존재한다면, Ala, Leu, Gly, Ser 및 Thr으로부터 독립적으로 선택되고;
- [0088] 각각의 X_1 내지 X_4 는 임의의 아미노산이며;
- [0089] X_5 는 Thr이고;
- [0090] X_6 은 Arg이며;
- [0091] X_7 은 Pro이다.
- [0092] 다른 예로서, 삽입 웨타이드는 길이로 5 내지 11개의 아미노산의 웨타이드일 수 있으며, 여기서 삽입 웨타이드는 식 IIb를 갖는다:
- [0093] [식 IIb]
- [0094] $Y_1Y_2X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7Y_3Y_4$
- [0095] 상기 식에서:
- [0096] 각각의 Y_1 내지 Y_4 는, 존재한다면, Ala, Leu, Gly, Ser 및 Thr으로부터 독립적으로 선택되고;
- [0097] X_1 은, 존재한다면, Leu 및 Asn으로부터 선택되며;
- [0098] X_2 는, 존재한다면, Gly 및 Glu으로부터 선택되고;
- [0099] X_3 은 Glu 및 Thr으로부터 선택되며;
- [0100] X_4 는 Thr 및 Ile으로부터 선택되고;
- [0101] X_5 는 Thr이며;
- [0102] X_6 은 Arg이고;
- [0103] X_7 은 Pro이다.
- [0104] 다른 예로서, 삽입 웨타이드는 길이로 5 내지 11개 아미노산의 웨타이드이며, 여기서 삽입 웨타이드는 하기 식

III을 갖는다:

[0105] [식 III]

[0106] $Y_1Y_2X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7Y_3Y_4$

[0107] 상기 식에서:

[0108] 각각의 Y_1 내지 Y_4 는, 존재한다면, Ala, Leu, Gly, Ser 및 Thr으로부터 독립적으로 선택되고;

[0109] X_1 은, 존재한다면, Lys이며;

[0110] X_2 는 Ala 및 Asp으로부터 선택되며;

[0111] X_3 은 Gly 및 Pro으로부터 선택되고;

[0112] X_4 는 Gln 및 Lys으로부터 선택되며;

[0113] X_5 는 Thr 및 Ala로부터 선택되고;

[0114] X_6 은 Asn 및 Thr으로부터 선택되며;

[0115] X_7 은, 존재한다면, Asn이다.

[0116] 다른 예로서, 삽입 웹타이드는 길이로 5 내지 11개 아미노산의 웹타이드 일 수 있으며, 여기서 삽입 웹타이드는 하기 식 IV를 갖는다:

[식 IV]

[0118] $Y_1Y_2X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7Y_3Y_4$

[0119] 상기 식에서:

[0120] 각각의 Y_1 내지 Y_4 는, 존재한다면, Ala, Leu, Gly, Ser 및 Thr으로부터 독립적으로 선택되고;

[0121] X_1 은, 존재한다면, 양으로 하전된 아미노산 또는 비하전된 아미노산이거나; 또는 Leu, Asn, Arg, Ala, Ser 및 Lys으로부터 선택되고;

[0122] X_2 는 음으로 하전된 아미노산 또는 비하전된 아미노산이거나; 또는 Gly, Glu, Ala, Val, Thr 및 Asp로부터 선택되며;

[0123] X_3 은 음으로 하전된 아미노산 또는 비하전된 아미노산이거나; 또는 Glu, Thr, Gly, Asp 또는 Pro로부터 선택되고;

[0124] X_4 는 Thr, Ile, Gly, Lys, Asp 및 Gln로부터 선택되며;

[0125] X_5 는 극성 아미노산, 알코올(유리 하이드록실 기를 갖는 아미노산) 또는 소수성 아미노산이거나; 또는 Thr, Ser, Val 및 Ala로부터 선택되고;

[0126] X_6 은 양으로 하전된 아미노산 또는 비하전된 아미노산이거나; 또는 Arg, Val, Lys, Pro, Thr 및 Asn으로부터 선택되며;

[0127] X_7 은, 존재한다면, 양으로 하전된 아미노산 또는 비하전된 아미노산이거나; 또는 Pro, Gly, Phe, Asn 및 Arg으로부터 선택된다.

[0128] 비체한적인 예로서, 삽입 웹타이드는 LGETTRP(서열번호 13), NETITRP(서열번호 14), KAGQANN(서열번호 15), KDPKTTN(서열번호 16), KDTDTTR(서열번호 57), RAGGSVG(서열번호 58), AVDTTKF(서열번호 59) 및 STGKVPN(서열번호 60)으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함할 수 있다.

[0129] 일부 경우에, 삽입 웹타이드는 LGETTRP(서열번호 13), NETITRP(서열번호 14), KAGQANN(서열번호 15), KDPKTTN

(서열번호 16), KDTDTTR(서열번호 57), RAGGSVG(서열번호 58), AVDTTKF(서열번호 59) 및 STGKVPN(서열번호 60) 중 어느 하나의 아미노 말단 및/또는 카복시 말단에서 1 내지 4개의 스페이서 아미노산(Y₁ 내지 Y₄)를 가진다. 적합한 스페이서 아미노산은 류신, 알기닌, 글라이신 및 세린을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.

[0130] 예를 들어, 일부 경우에, 삽입 웨타이드는 다음의 아미노산 서열: LALGETTRPA(서열번호 45); LANETITRPA(서열번호 46), LAKAGQANNA(서열번호 47), LAKDPKTTNA(서열번호 48), LAKDTDTTRA(서열번호 61), LARAGGSVGA(서열번호 62), LAAVDTTKFA(서열번호 63) 및 LASTGKVPNA(서열번호 64) 중 하나를 가진다. 다른 예로서, 일부 경우에, 삽입 웨타이드는 다음의 아미노산 서열: AALGETTRPA(서열번호 49); AANETITRPA(서열번호 50), AAKAGQANNA(서열번호 51) 및 AAKDPKTTNA(서열번호 52) 중 하나를 가진다. 또한 다른 예로서, 일부 경우에, 삽입 웨타이드는 다음의 아미노산 서열: GLGETTRPA(서열번호 53); GNETITRPA(서열번호 54), GKAGQANNA(서열번호 55) 및 GKDPKTTNA(서열번호 56) 중 하나를 가진다. 다른 예로서, 일부 경우에, 삽입 웨타이드는 AA에 의해 C-말단에 그리고 A에 의해 N-말단에 측접한 KDTDTTR(서열번호 57), RAGGSVG(서열번호 58), AVDTTKF(서열번호 59) 및 STGKVPN(서열번호 60) 중 하나를 포함하거나; 또는 G에 의해 C-말단에 그리고 A에 의해 N-말단에 측접한 KDTDTTR(서열번호 57), RAGGSVG(서열번호 58), AVDTTKF(서열번호 59) 및 STGKVPN(서열번호 60) 중 하나를 포함한다.

[0131] 일부 실시형태에서, 대상 변이체 AAV 캡시드는 대응되는 모 AAV 캡시드 단백질에 대해 GH 루프 또는 루프 IV에서 약 5개 아미노산 내지 약 11개 아미노산의 삽입 이외의 임의의 다른 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 포함하지 않는다. 다른 실시형태에서, 대상 변이체 AAV 캡시드는 대응되는 모 AAV 캡시드 단백질에 대해 GH 루프 또는 루프 IV 내 약 5개 아미노산 내지 약 11개 아미노산의 삽입에 추가로, 모 AAV 캡시드 단백질에 비해 1 내지 약 25개 아미노산의 삽입, 결실 또는 치환을 포함한다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 대상 변이체 AAV 캡시드는 대응되는 모 AAV 캡시드 단백질에 대해 GH 루프 또는 루프 IV에서 약 5개 아미노산 내지 약 11개 아미노산의 삽입에 추가로, 모 AAV 캡시드 단백질에 비해 1 내지 약 5, 약 5 내지 약 10, 약 10 내지 약 15, 약 15 내지 약 20, 또는 약 20 내지 약 25개 아미노산 삽입, 결실 또는 치환을 포함한다.

[0132] 일부 실시형태에서, 대상 변이체 캡시드 폴리웨타이드는 다음의 아미노산 치환: Y273F, Y444F, Y500F 및 Y730F 중 1, 2, 3 또는 4가지를 포함하지 않는다.

[0133] 일부 실시형태에서, 대상 변이체 캡시드 폴리웨타이드는 상기 기재한 바와 같이 삽입 웨타이드에 추가로 다음의 아미노산 치환: Y273F, Y444F, Y500F 및 Y730F 중 1, 2, 3 또는 4가지를 포함한다.

[0134] 일부 실시형태에서, 변이체 AAV 캡시드 폴리웨타이드는 키메라 캡시드이며, 예를 들어, 캡시드는 제1 AAV 혈청 형의 AAV 캡시드 부분 및 제2 혈청 형의 AAV 캡시드 부분을 포함하고; 대응되는 모 AAV 캡시드 단백질에 대해 GH 루프 또는 루프 IV에서 약 5개 아미노산 내지 약 11개 아미노산의 삽입을 포함한다.

[0135] 일부 실시형태에서, 대상 변이체 캡시드 단백질은 도 5에 제공된 아미노산 서열에 대해 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 98% 또는 적어도 약 99%, 아미노산 서열 동일성; 및 대응되는 모 AAV 캡시드 단백질에 대해 GH 루프 또는 루프 IV에서 약 5개 아미노산 내지 약 11개 아미노산의 삽입을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.

[0136] 일부 실시형태에서, 대상 변이체 캡시드 단백질은 단리, 예를 들어 정제된다. 일부 경우에, 대상 변이체 캡시드 단백질은 또한 제공되는 AAV 백터에 포함된다. 이하에 상세하게 기재되는 바와 같이, 대상 변이체 캡시드 단백질은 재조합 AAV 비리온에 포함될 수 있다.

재조합 AAV 비리온

[0138] 본 개시내용은 a) 변이체 AAV 캡시드 단백질; 및 b) 유전자 산물을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 이종성 핵산을 포함하는 재조합 아데노-관련 바이러스(rAAV) 비리온을 제공하되, 변이체 AAV 캡시드 단백질은 대응되는 모 AAV 캡시드 단백질에 대해 캡시드 단백질 GH 루프 또는 루프 IV 내 삽입 부위에서 약 5개 아미노산 내지 약 11개 아미노산의 삽입을 포함하고, 변이체 캡시드 단백질은 대응되는 모 AAV 캡시드 단백질을 포함하는 AAV 비리온에 의한 망막 세포의 감염성에 비해 망막 세포의 증가된 감염성을 부여한다. 일부 경우에, 망막 세포는 광수용체 세포(예를 들어, 간체 및/또는 주체)이다. 다른 경우에, 망막 세포는 RGC 세포이다. 다른 경우에, 망막 세포는 RPE 세포이다. 다른 경우에, 망막 세포는 릴러 세포이다. 다른 경우에, 망막 세포는 아마크린 세포, 양극 세포 및 수평 세포를 포함할 수 있다. "약 5개 아미노산 내지 약 11개 아미노산의 삽입"은 또한 본 명세서에서 "웨타이드 삽입"(예를 들어, 이종성 웨타이드 삽입)으로서 지칭된다. "대응되는 모 AAV 캡시드 단백질"은 웨타이드 삽입 없이 동일 AAV 혈청 형의 AAV 캡시드 단백질을 지칭한다.

[0139] 삽입 부위는 AAV 캡시드 단백질의 GH 루프, 또는 루프 IV에, 예를 들어 AAV 캡시드 단백질의 GH 루프, 또는 루프 IV의 용매-접근 가능한 부분에 있다. GH 루프에 대해, 예를 들어, 문현[van Vliet et al. (2006) *Mol. Ther.* 14:809; Padron et al. (2005) *J. Virol.* 79:5047; 및 Shen et al. (2007) *Mol. Ther.* 15:1955]을 참조한다. 예를 들어, 삽입 부위는 AAV2의 아미노산 570 내지 611 내에, AAV1의 아미노산 571 내지 612 내에, AAV5의 아미노산 560 내지 601 내에, AAV6의 아미노산 571 내지 612 내에, AAV7의 아미노산 572 내지 613 내에, AAV8의 아미노산 573 내지 614 내에, AAV9의 아미노산 571 내지 612 내에 또는 AAV10의 아미노산 573 내지 614 내에 있다.

[0140] 약 5개 아미노산 내지 약 11개 아미노산은 대응되는 모 AAV 캡시드 단백질에 대해 캡시드 단백질의 GH 루프 또는 루프 IV 내 삽입 부위에 삽입된다. 예를 들어, 삽입 부위는 AAV2의 아미노산 587과 588 사이, 또는 다른 AAV 혈청형의 캡시드 서브유닛의 대응되는 위치일 수 있다. 삽입 부위 587/588은 AAV2 캡시드 단백질에 기반한다는 것을 주의하여야 한다. 약 5개 아미노산 내지 약 11개 아미노산은 AAV2 이외의 AAV 혈청형(예를 들어, AAV8, AAV9 등)에서 대응되는 부위에 삽입될 수 있다. 당업자는 다양한 AAV 혈청형의 캡시드 단백질의 아미노산 서열과 비교에 기반하여, "AAV2의 아미노산 587 내지 588에 대응되는" 삽입 부위가 어떤 주어진 AAV 혈청형의 캡시드 단백질에 있다는 것을 알 것이다. 다양한 AAV 혈청형에서 AAV2의 캡시드 단백질 VP1(도 5)의 아미노산 570 내지 611에 대응되는 서열은 도 6에 나타낸다.

[0141] 일부 실시형태에서, 삽입 부위는 어떤 AAV 혈청형의 VP1의 아미노산 570 내지 614 사이에 위치된 두 인접한 아미노산 사이의 단일 삽입 부위이며, 예를 들어 삽입 부위는 어떤 AAV 혈청형 또는 변이체의 VP1의 아미노산 570 내지 614, 아미노산 580 내지 600, 아미노산 570 내지 575, 아미노산 575 내지 580, 아미노산 580 내지 585, 아미노산 585 내지 590, 아미노산 590 내지 600 또는 아미노산 600 내지 610에 위치된 두 인접한 아미노산 사이에 있다. 예를 들어, 삽입 부위는 아미노산 580 내지 581, 아미노산 581 내지 582, 아미노산 583 내지 584, 아미노산 584 내지 585, 아미노산 585 내지 586, 아미노산 586 내지 587, 아미노산 587 내지 588, 아미노산 588 내지 589 또는 아미노산 589 내지 590에 있을 수 있다. 삽입 부위는 아미노산 575 내지 576, 아미노산 576 내지 577, 아미노산 577 내지 578, 아미노산 578 내지 579 또는 아미노산 579 내지 580에 있을 수 있다. 삽입 부위는 아미노산 590과 591 사이, 아미노산 591과 592 사이, 아미노산 592와 593 사이, 아미노산 593과 594 사이, 아미노산 594와 595 사이, 아미노산 595와 596 사이, 아미노산 596과 597 사이, 아미노산 597과 598 사이, 아미노산 598과 599 사이 또는 아미노산 599와 600 사이에 있을 수 있다.

[0142] 예를 들어, 삽입 부위는 AAV2의 아미노산 587과 588 사이, AAV1의 아미노산 590과 591 사이, AAV5의 아미노산 575와 576 사이, AAV6의 아미노산 590과 591 사이, AAV7의 아미노산 589와 590 사이, AAV8의 아미노산 590과 591 사이, AAV9의 아미노산 588과 589 사이 또는 AAV10의 아미노산 589 내지 590 사이에 있을 수 있다.

삽입 펩타이드

[0144] 상기 논의한 바와 같이, 대상 rAAV 비리온은 AAV 캡시드의 GH 루프 내로 삽입된 길이로 약 5개 아미노산 내지 약 11개 아미노산의 펩타이드를 포함한다. 삽입 펩타이드는 5개 아미노산, 6 아미노산, 7 아미노산, 8 아미노산, 9 아미노산, 10 아미노산 또는 11 아미노산의 길이를 가진다.

[0145] 삽입 펩타이드는 이하에 제시된 식 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함할 수 있다.

[0146] 예를 들어, 삽입 펩타이드는 길이로 5 내지 11개 아미노산의 펩타이드일 수 있으며, 여기서 삽입 펩타이드는 식 I을 갖는다:

[식 I]

Y₁Y₂X₁X₂X₃X₄X₅X₆X₇Y₃Y₄

[0149] 상기 식에서:

[0150] 각각의 Y₁ 내지 Y₄는, 존재한다면 Ala, Leu, Gly, Ser 및 Thr으로부터 독립적으로 선택되고;

[0151] X₁은, 존재한다면, Leu, Asn 및 Lys으로부터 선택되며;

[0152] X₂는 Gly, Glu, Ala 및 Asp으로부터 선택되고;

[0153] X₃은 Glu, Thr, Gly 및 Pro으로부터 선택되며;

- [0154] X_4 는 Thr, Ile, Gln 및 Lys으로부터 선택되고;
- [0155] X_5 는 Thr 및 Ala으로부터 선택되며;
- [0156] X_6 은 Arg, Asn 및 Thr으로부터 선택되고;
- [0157] X_7 은, 존재한다면, Pro 및 Asn으로부터 선택된다.
- [0158] 다른 예로서, 삽입 펩타이드는 길이로 5 내지 11개의 아미노산의 펩타이드일 수 있으며, 여기서 삽입 펩타이드는 하기 식 IIa를 갖는다:
- [0159] [식 IIa]
- [0160] $Y_1Y_2X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7Y_3Y_4$
- [0161] 상기 식에서:
- [0162] 각각의 Y_1 내지 Y_4 는, 존재한다면, Ala, Leu, Gly, Ser 및 Thr으로부터 독립적으로 선택되고;
- [0163] 각각의 X_1 내지 X_4 는 임의의 아미노산이며;
- [0164] X_5 는 Thr° 이고;
- [0165] X_6 은 Arg° 며;
- [0166] X_7 은 Pro° 이다.
- [0167] 다른 예로서, 삽입 펩타이드는 길이로 5 내지 11개의 아미노산의 펩타이드일 수 있으며, 여기서 삽입 펩타이드는 식 IIb를 갖는다:
- [0168] [식 IIb]
- [0169] $Y_1Y_2X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7Y_3Y_4$
- [0170] 상기 식에서:
- [0171] 각각의 Y_1 내지 Y_4 는, 존재한다면, Ala, Leu, Gly, Ser 및 Thr으로부터 독립적으로 선택되고;
- [0172] X_1 는, 존재한다면, Leu 및 Asn으로부터 선택되며;
- [0173] X_2 는, 존재한다면, Gly 및 Glu으로부터 선택되고;
- [0174] X_3 은 Glu 및 Thr으로부터 선택되며;
- [0175] X_4 는 Thr 및 Ile으로부터 선택되고;
- [0176] X_5 는 Thr° 이며;
- [0177] X_6 은 Arg° 이고;
- [0178] X_7 은 Pro° 이다.
- [0179] 다른 예로서, 삽입 펩타이드는 길이로 5 내지 11개 아미노산의 펩타이드이며, 여기서 삽입 펩타이드는 하기 식 III을 갖는다:
- [0180] [식 III]
- [0181] $Y_1Y_2X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7Y_3Y_4$
- [0182] 상기 식에서:

- [0183] 각각의 Y_1 내지 Y_4 는, 존재한다면, Ala, Leu, Gly, Ser 및 Thr으로부터 독립적으로 선택되고;
- [0184] X_1 은, 존재한다면, Lys이며;
- [0185] X_2 는 Ala 및 Asp으로부터 선택되며;
- [0186] X_3 은 Gly 및 Pro으로부터 선택되고;
- [0187] X_4 는 Gln 및 Lys으로부터 선택되며;
- [0188] X_5 는 Thr 및 Ala로부터 선택되고;
- [0189] X_6 은 Asn 및 Thr으로부터 선택되며;
- [0190] X_7 은, 존재한다면, Asn이다.
- [0191] 다른 예로서, 삽입 웨타이드는 길이로 5 내지 11개 아미노산의 웨타이드 일 수 있으며, 여기서 삽입 웨타이드는 하기 식 IV를 갖는다:
- [식 IV]
- [0193] $Y_1Y_2X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7Y_3Y_4$
- [0194] 상기 식에서:
- [0195] 각각의 Y_1 내지 Y_4 는, 존재한다면, Ala, Leu, Gly, Ser 및 Thr으로부터 독립적으로 선택되고;
- [0196] X_1 은, 존재한다면, 양으로 하전된 아미노산 또는 비하전된 아미노산이거나; 또는 Leu, Asn, Arg, Ala, Ser 및 Lys으로부터 선택되고;
- [0197] X_2 는 음으로 하전된 아미노산 또는 비하전된 아미노산이거나; 또는 Gly, Glu, Ala, Val, Thr 및 Asp로부터 선택되며;
- [0198] X_3 은 음으로 하전된 아미노산 또는 비하전된 아미노산이거나; 또는 Glu, Thr, Gly, Asp 또는 Pro로부터 선택되고;
- [0199] X_4 는 Thr, Ile, Gly, Lys, Asp 및 Gln로부터 선택되며;
- [0200] X_5 는 극성 아미노산, 알코올(유리 하이드록실 기를 갖는 아미노산) 또는 소수성 아미노산이거나; 또는 Thr, Ser, Val 및 Ala로부터 선택되고;
- [0201] X_6 은 양으로 하전된 아미노산 또는 비하전된 아미노산이거나; 또는 Arg, Val, Lys, Pro, Thr 및 Asn으로부터 선택되며;
- [0202] X_7 은, 존재한다면, 양으로 하전된 아미노산 또는 비하전된 아미노산이거나; 또는 Pro, Gly, Phe, Asn 및 Arg으로부터 선택된다.
- [0203] 비제한적인 예로서, 삽입 웨타이드는 LGETTRP(서열번호 13), NETITRP(서열번호 14), KAGQANN(서열번호 15), KDPKTTN(서열번호 16), KDTDTTR(서열번호 57), RAGGSVG(서열번호 58), AVDTTKF(서열번호 59) 및 STGKVPN(서열번호 60)으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함할 수 있다.
- [0204] 일부 경우에, 삽입 웨타이드는 LGETTRP(서열번호 13), NETITRP(서열번호 14), KAGQANN(서열번호 15), KDPKTTN(서열번호 16), KDTDTTR(서열번호 57), RAGGSVG(서열번호 58), AVDTTKF(서열번호 59) 및 STGKVPN(서열번호 60) 중 어느 하나의 아미노 말단 및/또는 카복시 말단에서 1 내지 4개의 스페이서 아미노산(Y_1 내지 Y_4)를 가진다. 적합한 스페이서 아미노산은 류신, 알기닌, 글라이신 및 세린을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.
- [0205] 예를 들어, 일부 경우에, 삽입 웨타이드는 다음의 아미노산 서열: LALGETTRPA(서열번호 45); LANETITRPA(서열번호 46), LAKAGQANNA(서열번호 47), LAKDPKTTNA(서열번호 48), LAKDTDTTRA(서열번호 61), LARAGGSVGA(서열번호

62), LAAVDTTKFA(서열번호 63) 및 LASTGKVPNA(서열번호 64) 중 하나를 가진다. 다른 예로서, 일부 경우에, 삽입 웨타이드는 다음의 아미노산 서열: AALGETTRPA(서열번호 49); AANETITRPA(서열번호 50), AAKAGQANNA(서열번호 51) 및 AAKDPKTTNA(서열번호 52) 중 하나를 가진다. 또한 다른 예로서, 일부 경우에, 삽입 웨타이드는 다음의 아미노산 서열: GLGETTRPA(서열번호 53); GNETITRPA(서열번호 54), GKAGQANNA(서열번호 55) 및 GKDPKTTNA(서열번호 56) 중 하나를 가진다. 다른 예로서, 일부 경우에, 삽입 웨타이드는 AA에 의해 C-말단에 그리고 A에 의해 N-말단에 측접한 KDTDTTR(서열번호 57), RAGGSVG(서열번호 58), AVDTTKF(서열번호 59) 및 STGKVPN(서열번호 60) 중 하나를 포함하거나; 또는 G에 의해 C-말단에 그리고 A에 의해 N-말단에 측접한 KDTDTTR(서열번호 57), RAGGSVG(서열번호 58), AVDTTKF(서열번호 59) 및 STGKVPN(서열번호 60) 중 하나를 포함한다.

[0206] 일부 실시형태에서, 대상 rAAV 비리온은 대응되는 모 AAV 캡시드 단백질에 대해 GH 루프 또는 루프 IV에서 약 7개 아미노산 내지 약 10개 아미노산의 삽입 이외의 임의의 다른 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 포함하지 않는다. 다른 실시형태에서, 대상 rAAV 비리온 캡시드는 대응되는 모 AAV 캡시드 단백질에 대해 GH 루프 또는 루프 IV 내 약 7개 아미노산 내지 약 10개 아미노산의 삽입에 추가로, 모 AAV 캡시드 단백질에 비해 1 내지 약 25개 아미노산의 삽입, 결실 또는 치환을 포함한다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 대상 변이체 rAAV 캡시드는 대응되는 모 AAV 캡시드 단백질에 대해 GH 루프 또는 루프 IV에서 약 7개 아미노산 내지 약 10개 아미노산의 삽입에 추가로, 모 AAV 캡시드 단백질에 비해 1 내지 약 5, 약 5 내지 약 10, 약 10 내지 약 15, 약 15 내지 약 20, 또는 약 20 내지 약 25개 아미노산 삽입, 결실 또는 치환을 포함한다.

[0207] 일부 실시형태에서, 대상 rAAV 비리온 캡시드는 다음의 아미노산 치환: Y273F, Y444F, Y500F 및 Y730F 중 1, 2, 3 또는 4가지를 포함하지 않는다.

[0208] 일부 실시형태에서, 대상 변이체 캡시드 폴리웨타이드는 상기 기재한 바와 같이 삽입 웨타이드에 추가로 다음의 아미노산 치환: Y273F, Y444F, Y500F 및 Y730F 중 1, 2, 3 또는 4가지를 포함한다.

[0209] 일부 실시형태에서, 대상 rAAV 비리온 캡시드는 키메라 캡시드이며, 예를 들어, 캡시드는 제1 AAV 혈청형의 AAV 캡시드 부분 및 제2 혈청형의 AAV 캡시드 부분을 포함하고; 대응되는 모 AAV 캡시드 단백질에 대해 GH 루프 또는 루프 IV에서 약 5개 아미노산 내지 약 11개 아미노산의 삽입을 포함한다.

[0210] 일부 실시형태에서, 대상 rAAV 비리온은 도 5에 제공된 아미노산 서열에 대해 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 98% 또는 적어도 약 99%, 아미노산 서열 동일성; 및 대응되는 모 AAV 캡시드 단백질에 대해 GH 루프 또는 루프 IV에서 약 5개 아미노산 내지 약 11개 아미노산의 삽입을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.

[0211] 일부 실시형태에서, 대상 rAAV 비리온은 도 18a 내지 c에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99% 또는 100%, 아미노산 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 GH 루프를 포함하는 캡시드 단백질을 포함한다.

[0212] 대상 rAAV 비리온은 대응되는 모 AAV 캡시드 단백질을 포함하는 AAV 비리온에 의한 망막 세포의 감염성에 비해 망막 세포의 적어도 10배, 적어도 15배, 적어도 20배, 적어도 25배, 적어도 50배, 또는 50배 초과의 증가된 감염성을 나타낸다.

[0213] 일부 경우에, 대상 rAAV 비리온은 유리체내 주사를 통해 투여될 때 대응되는 모 AAV 캡시드 단백질을 포함하는 AAV 비리온에 의한 망막 세포의 감염성에 비해, 유리체내 주사를 통해 투여될 때, 망막세포의 적어도 10배, 적어도 15배, 적어도 20배, 적어도 25배, 적어도 50배, 또는 50배 초과의 증가된 감염성을 나타낸다.

[0214] 일부 실시형태에서, 대상 rAAV 비리온은 대응되는 모 AAV 캡시드 단백질을 포함하는 AAV 비리온에 의한 광수용체 세포의 감염성에 비해 광수용체(간체 또는 추체) 세포의 적어도 10배, 적어도 15배, 적어도 20배, 적어도 25배, 적어도 50배, 또는 50배 이상의 증가된 감염성을 나타낸다.

[0215] 일부 실시형태에서, 대상 rAAV 비리온은 유리체내 주사를 통해 투여될 때, 대응되는 모 AAV 캡시드 단백질을 포함하는 AAV 비리온에 의한 광수용체 세포의 감염성에 비해, 유리체내 주사를 통해 투여될 때, 적어도 10배, 적어도 15배, 적어도 20배, 적어도 25배, 적어도 50배 또는 50배 이상의 증가된 광수용체(간체 또는 추체) 세포의 감염성을 나타낸다.

[0216] 일부 실시형태에서, 대상 rAAV 비리온은 대응되는 모 AAV 캡시드 단백질을 포함하는 AAV 비리온에 의한 RGC의 감염성에 비해, RGC의 적어도 10배, 적어도 15배, 적어도 20배, 적어도 25배, 적어도 50배 또는 50배 초과의 증가된 감염성을 나타낸다.

- [0217] 일부 실시형태에서, 대상 rAAV 비리온은 유리체내 주사를 통해 투여될 때, 대응되는 모 AAV 캡시드 단백질을 포함하는 AAV 비리온에 의한 RGC의 감염성에 비해, 유리체내 주사를 통해 투여될 때, RGC의 적어도 10배, 적어도 15배, 적어도 20배, 적어도 25배, 적어도 50배 또는 50배 초과의 증가된 감염성을 나타낸다.
- [0218] 일부 실시형태에서, 대상 rAAV 비리온은 대응되는 모 AAV 캡시드 단백질을 포함하는 AAV 비리온에 의한 RPE 세포의 감염성에 비해 RPE 세포의 적어도 10배, 적어도 15배, 적어도 20배, 적어도 25배, 적어도 50배 또는 50배 초과의 증가된 감염성을 나타낸다.
- [0219] 일부 실시형태에서, 대상 rAAV 비리온은 유리체내 주사를 통해 투여될 때, 대응되는 모 AAV 캡시드 단백질을 포함하는 AAV 비리온에 의한 RPE 세포의 감염성에 비해 유리체내 주사를 통해 투여될 때, RPE 세포의 적어도 10배, 적어도 15배, 적어도 20배, 적어도 25배, 적어도 50배 또는 50배 초과의 증가된 감염성을 나타낸다.
- [0220] 일부 실시형태에서, 대상 rAAV 비리온은 대응되는 모 AAV 캡시드 단백질을 포함하는 AAV 비리온에 의한 뮬러 세포의 감염성에 비해 뮬러 세포의 적어도 10배, 적어도 15배, 적어도 20배, 적어도 25배, 적어도 50배 또는 50배 초과의 증가된 감염성을 나타낸다.
- [0221] 일부 실시형태에서, 대상 rAAV 비리온은 유리체내 주사를 통해 투여될 때, 대응되는 모 AAV 캡시드 단백질을 포함하는 AAV 비리온에 의한 뮬러 세포의 감염성에 비해 유리체내 주사를 통해 투여될 때, 뮬러 세포의 적어도 10배, 적어도 15배, 적어도 20배, 적어도 25배, 적어도 50배 또는 50배 초과의 증가된 감염성을 나타낸다.
- [0222] 일부 실시형태에서, 대상 rAAV 비리온은 대응되는 모 AAV 캡시드 단백질을 포함하는 AAV 비리온에 의한 양극 세포의 감염성에 비해, 양극 세포의 적어도 10배, 적어도 15배, 적어도 20배, 적어도 25배, 적어도 50배, 또는 50배 초과의 증가된 감염성을 나타낸다.
- [0223] 일부 실시형태에서, 대상 rAAV 비리온은 유리체내 주사를 통해 투여될 때, 대응되는 모 AAV 캡시드 단백질을 포함하는 AAV 비리온에 의한 양극 세포의 감염성에 비해 유리체내 주사를 통해 투여될 때, 양극 세포의 적어도 10배, 적어도 15배, 적어도 20배, 적어도 25배, 적어도 50배, 또는 50배 초과의 증가된 감염성을 나타낸다.
- [0224] 일부 실시형태에서, 대상 rAAV 비리온은 대응되는 모 AAV 캡시드 단백질을 포함하는 AAV 비리온에 의한 아마크린 세포의 감염성에 비해 아마크린 세포의 적어도 10배, 적어도 15배, 적어도 20배, 적어도 25배, 적어도 50배, 또는 50배 초과의 증가된 감염성을 나타낸다.
- [0225] 일부 실시형태에서, 대상 rAAV 비리온은 유리체내 주사를 통해 투여될 때, 대응되는 모 AAV 캡시드 단백질을 포함하는 AAV 비리온에 의한 아마크린 세포의 감염성에 비해 유리체내 주사를 통해 투여될 때, 아마크린 세포의 적어도 10배, 적어도 15배, 적어도 20배, 적어도 25배, 적어도 50배, 또는 50배 초과의 증가된 감염성을 나타낸다.
- [0226] 일부 실시형태에서, 대상 rAAV 비리온은 대응되는 모 AAV 캡시드 단백질을 포함하는 AAV 비리온에 의한 수평 세포의 감염성에 비해 수평 세포의 적어도 10배, 적어도 15배, 적어도 20배, 적어도 25배, 적어도 50배, 또는 50배 초과의 증가된 감염성을 나타낸다.
- [0227] 일부 실시형태에서, 대상 rAAV 비리온은 유리체내 주사를 통해 투여될 때, 대응되는 모 AAV 캡시드 단백질을 포함하는 AAV 비리온에 의한 수평 세포의 감염성에 비해 유리체내 주사를 통해 투여될 때, 수평 세포의 적어도 10배, 적어도 15배, 적어도 20배, 적어도 25배, 적어도 50배, 또는 50배 초과의 증가된 감염성을 나타낸다.
- [0228] 일부 경우에, 대상 rAAV 비리온은 ILM을 가로지르는 대응되는 모 AAV 캡시드 단백질을 포함하는 AAV 비리온의 능력에 비해 내경계막(internal limiting membrane: ILM)을 가로지르는 적어도 10배, 적어도 15배, 적어도 20배, 적어도 25배, 적어도 50배, 또는 50배 초과의 증가된 능력을 나타낸다.
- [0229] 일부 경우에, 대상 rAAV 비리온은 유리체내 주사를 통해 투여될 때 ILM을 가로지르는 대응되는 모 AAV 캡시드 단백질을 포함하는 AAV 비리온의 능력에 비해 유리체내 주사를 통해 투여될 때 내경계막(ILM)을 가로지르는 적어도 10배, 적어도 15배, 적어도 20배, 적어도 25배, 적어도 50배, 또는 50배 초과의 증가된 능력을 나타낸다.
- [0230] 대상 rAAV 비리온은 ILM을 가로지를 수 있고, 또한 뮬러 세포, 아마크린 세포 등을 포함하는 세포층을 횡단하여 광수용체 세포 또는 RPE 세포에 도달될 수 있다. 예를 들어, 유리체내 주사를 통해 투여될 때, 대상 rAAV 비리온은 ILM을 가로지를 수 있고, 또한 뮬러 세포, 아마크린 세포 등을 포함하는 세포층을 횡단하여 광수용체 세포 및 또는 RPE 세포에 도달될 수 있다.
- [0231] 일부 실시형태에서, 대상 rAAV 비리온은 망막세포를 선택적으로 감염시키며, 예를 들어, 대상 rAAV 비리온은 비

망막 세포, 예를 들어 눈 바깥쪽의 세포보다 10배, 15배, 20배, 25배, 50배 또는 50배 초과의 특이성으로 망막 세포를 감염시킨다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 대상 rAAV 비리온은 망막 세포를 선택적으로 감염시키며, 예를 들어 대상 rAAV 비리온은 비망막 세포, 예를 들어 눈 바깥쪽의 세포보다 10배, 15배, 20배, 25배, 50배 또는 50배 초과의 특이성으로 광수용체 세포를 감염시킨다.

[0232] 일부 실시형태에서, 대상 rAAV 비리온은 광수용체 세포를 선택적으로 감염시키며, 예를 들어, 대상 rAAV 비리온은 눈에 존재하는 비망막 세포, 예를 들어 망막 신경절 세포, 뿐만 세포 등보다 10배, 15배, 20배, 25배, 50배 또는 50배 초과의 특이성으로 광수용체 세포를 감염시킨다.

[0233] 일부 실시형태에서, 대상 rAAV 비리온은 유리체내 주사를 통해 투여될 때 대응되는 모 AAV 캡시드 단백질을 포함하는 AAV 비리온에 의한 광수용체 세포의 감염성에 비해 유리체내 주사를 통해 투여될 때, 광수용체 세포의 적어도 10배, 적어도 15배, 적어도 20배, 적어도 25배, 적어도 50배, 또는 50배 초과의 증가된 감염성을 나타낸다.

유전자 산물

[0234] 대상 rAAV 비리온은 유전자 산물을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 이종성 핵산을 포함한다. 일부 실시형태에서, 유전자 산물은 간접 RNA이다. 일부 실시형태에서, 유전자 산물은 앱타머이다. 일부 실시형태에서, 유전자 산물은 폴리펩타이드이다. 일부 실시형태에서, 유전자 산물은 유전자 기능의 부위-특이적 녹다운을 제공하는 부위-특이적 뉴클레아제이다.

간접 RNA

[0235] 유전자 산물이 간접 RNA(RNAi)인 경우, 적합한 RNAi는 세포에서 아포토시스(apoptosis) 또는 혈관형성 수준을 감소시키는 RNAi를 포함한다. 예를 들어, RNAi는 세포에서 아포토시스를 유발하거나 또는 촉진하는 유전자 산물의 수준을 감소시키는 shRNA 또는 siRNA일 수 있다. 유전자 산물이 아포토시스를 유발하거나 또는 촉진하는 유전자는 본 명세서에서 "프로-아포토시스 유전자"로서 지칭되며, 해당 유전자의 산물(mRNA; 단백질)은 "프로-아포토시스 유전자 산물"로서 지칭된다. 프로-아포토시스 유전자 산물은, 예를 들어, *Bax*, *Bid*, *Bak* 및 *Bad* 유전자 산물을 포함한다. 예를 들어, 미국 특허 제7,846,730호를 참조한다.

[0236] 간접 RNA는 또한 혈관형성 산물, 예를 들어 VEGF(예를 들어, *Cand5*; 예를 들어, 미국 특허 공개 제2011/0143400호; 미국 특허 공개 제2008/0188437호; 및 문헌[Reich et al. (2003) *Mol. Vis.* 9:210] 참조), VEGFR1(예를 들어, *Sirna-027*; 예를 들어, 문헌[Kaiser et al. (2010) *Am. J. Ophthalmol.* 150:33; 및 Shen et al. (2006) *Gene Ther.* 13:225] 참조), 또는 VEGFR2(Kou et al. (2005) *Biochem.* 44:15064)에 대한 것일 수 있다. 또한, 미국 특허 제6,649,596호, 제6,399,586호, 제5,661,135호, 제5,639,872호 및 제5,639,736호; 및 미국 특허 제7,947,659호 및 제7,919,473호를 참조한다.

애타머

[0237] 유전자 산물이 애타머인 경우, 관심의 대표적인 애타머는 혈관내피세포 성장인자(vascular endothelial growth factor: VEGF)에 대해 애타머를 포함한다. 예를 들어, 문헌[Ng et al. (2006) *Nat. Rev. Drug Discovery* 5:123; 및 Lee et al. (2005) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 102:18902]을 포함한다. 예를 들어, VEGF 애타머는 뉴클레오타이드 서열 5'-cgcaaucagugaaugcuauacauccg-3'(서열번호 17)을 포함할 수 있다. 또한 PDGF-특이적 애타머, 예를 들어, E10030가 사용에 적합하며; 예를 들어, 문헌[Ni and Hui (2009) *Ophthalmologica* 223:401; 및 Akiyama et al. (2006) *J. Cell Physiol.* 207:407]을 참조한다.

폴리펩타이드

[0238] 유전자 산물이 폴리펩타이드인 경우, 폴리펩타이드는 일반적으로 망막 세포의 기능, 예를 들어 간체 또는 추체 광수용체 세포, 망막 신경절 세포, 뿐만 세포, 양극 세포, 아마크린 세포, 수평 세포 또는 망막 색소성 상피 세포의 기능을 향상시키는 폴리펩타이드이다. 대표적인 폴리펩타이드는 신경보호 폴리펩타이드(예를 들어, GDNF, CNTF, NT4, NGF 및 NTN); 항혈관신생 폴리펩타이드(예를 들어, 가용성 혈관내피세포 성장인자 (VEGF) 수용체; VEGF-결합 항체; VEGF-결합 항체 단편(예를 들어, 단일 쇄 항-VEGF 항체); 엔도스타틴; 투스테린(tumstatin); 앤지오스타틴; 가용성 F1t 폴리펩타이드(Lai et al. (2005) *Mol. Ther.* 12:659); 가용성 F1t 폴리펩타이드를 포함하는 Fc 융합 단백질(예를 들어, 문헌[Pechan et al. (2009) *Gene Ther.* 16:10] 참조); 안료 상피세포-유래 인자(pigment epithelium-derived factor: PEDF); 가용성 Tie-2 수용체 등); 메탈로프로테이나제-3(metalloproteinases-3: TIMP-3)의 조직 억제제; 광-반응성 옵신, 예를 들어, 로돕신; 항-아포토시스 폴리펩

타이드(예를 들어, Bcl-2, Bcl-X1) 등을 포함한다. 적합한 폴리펩타이드는, 신경교 유래 신경영양 인자(glial derived neurotrophic factor: GDNF); 섬유아세포 성장인자 2; 뉴트린(neurturin: NTN); 섬모 신경영양 인자(ciliary neurotrophic factor: CNTF); 신경 성장 인자(nerve growth factor: NGF); 뉴로트로핀-4(neurotrophin-4: NT4); 뇌 유래 신경영양 인자(brain derived neurotrophic factor: BDNF; 예를 들어, 도 11에 도시된 아미노산 서열(서열번호 11)의 약 200 아미노산으로부터 247 아미노산까지의 연속적 신축에 대해 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99% 또는 100%의 아미노산 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩타이드; 표피성장인자; 로돕신; 아포토시스의 X-연결된 억제제; 및 소닉 헤지호그(Sonic hedgehog)를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.

[0243] 적합한 광-반응성 옵신은, 예를 들어 미국 특허 공개 제2007/0261127호(예를 들어, ChR2; Chop2); 미국 특허 공개 제2001/0086421호; 미국 특허 공개 제2010/0015095호; 및 문헌[Diester et al. (2011) *Nat. Neurosci.* 14:387]에 기재된 바와 같은 광-반응성 옵신을 포함한다

[0244] 적합한 폴리펩타이드는 또한 망막충간 단백질(예를 들어, 도 10에 도시된 아미노산 서열(서열번호 10)의 약 200 아미노산 내지 224 아미노산의 연속적 신장에 대해 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99% 또는 100%, 아미노산 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩타이드)을 포함한다. 적합한 폴리펩타이드는, 예를 들어 망막 색소 변성증(retinitis pigmentosa GTPase regulator: RGPR)-상호작용 단백질-1(예를 들어, 젠뱅크(GenBank) 등록번호 Q96KN7, Q9EPQ2, 및 Q9GLM3을 참조)(예를 들어, 도 16에 도시된 아미노산 서열(서열번호 21)의 약 1150 아미노산 내지 약 1200 아미노산, 또는 약 1200 아미노산 내지 1286 아미노산의 연속적 신장에 대해 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99% 또는 100%, 아미노산 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩타이드; 페리페린-2(Prph2)(예를 들어, 젠뱅크(GenBank) 등록번호 NP_000313(예를 들어, 도 14에 도시된 아미노산 서열(서열번호 19)의 약 300 아미노산 내지 346 아미노산의 연속적 신장에 대해 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99% 또는 100%, 아미노산 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩타이드; 및 문헌[Travis et al. (1991) *Genomics* 10:733] 참조); 페리페린(예를 들어, 도 15에 도시된 아미노산 서열(서열번호 20)의 약 400 아미노산 내지 약 470 아미노산의 연속적 신장에 대해 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99% 또는 100% 아미노산 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩타이드; 망막 색소 상피세포-특이적 단백질(RPE65), (예를 들어, 도 12에 도시된 아미노산 서열(서열번호 12)의 약 200 아미노산 내지 247 아미노산의 연속적 신장에 대해 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99% 또는 100%, 아미노산 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩타이드)(예를 들어, 젠뱅크(GenBank) AAC39660; 및 문헌[Morimura et al. (1998) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95:3088] 참조) 등을 포함한다.

[0245] 적합한 폴리펩타이드는 또한 CHM(맥락막 결여(Rab 에스코트 단백질 1)), 결함이 있거나 또는 빠져있을 때, 맥락막 결여를 야기하는 폴리펩타이드(예를 들어, 문헌[Donnelly et al. (1994) *Hum. Mol. Genet.* 3:1017; 및 van Bokhoven et al. (1994) *Hum. Mol. Genet.* 3:1041] 참조); 및 크럼스(Crumbs) 상동체 1(CRB1), 결함이 있거나 또는 빠져있을 때, 레베르 선천성 흑암시(Leber congenital amaurosis) 및 망막 색소 변성증을 야기하는 폴리펩타이드(예를 들어, 문헌[den Hollander et al. (1999) *Nat. Genet.* 23:217]; 및 젠뱅크(GenBank) 등록번호 CAM23328)를 포함한다.

[0246] 적합한 폴리펩타이드는 결함이 있거나 또는 빠져있을 때, 이러한 폴리펩타이드가, 예를 들어 추체 광수용체 cGMP-개폐형 통로 서브유닛 알파(CNGA3)(예를 들어, 젠뱅크(GenBank) 등록번호 NP_001289; 및 문헌[Booij et al. (2011) *Ophthalmology* 118:160-167]); 추체 광수용체 cGMP-개폐형 양이온 통로 베타-서브유닛(CNGB3)(예를 들어, 문헌[Kohl et al. (2005) *Eur J Hum Genet.* 13(3):302] 참조); 구아닌 뉴클레오타이드 결합 단백질(G 단백질), 알파 형질도입 활성 폴리펩타이드 2(GNAT2)(ACHM4); 및 ACHM5를 포함하는 경우 색맹을 유발하는 폴리펩타이드; 및 결함이 있거나 결여되었을 때, 다양한 형태의 색각이상을 야기하는 폴리펩타이드(예를 들어, L-옵신, M-옵신 및 S-옵신)를 포함한다. 문헌[Mancuso et al. (2009) *Nature* 461(7265):784-787]을 참조한다.

부위-특이적 엔도뉴클레아제

[0248] 일부 경우에, 관심의 유전자 산물은, 예를 들어 엔도뉴클레아제가 망막질병과 관련된 대립유전자를 녹아웃하는 경우, 유전자 기능의 부위-특이적 녹다운을 제공하는 부위-특이적 엔도뉴클레아제이다. 예를 들어, 야생형일 때 대립유전자가 망막 구조 단백질이고/이거나 정상 망막 기능을 제공하는 유전자의 결함있는 복제물을 암호화하는 경우, 부위-특이적 엔도뉴클레아제는 결함있는 대립유전자에 대해 표적화될 수 있고, 결함있는 대립유전자를 녹아웃시킬 수 있다.

[0249]

결합있는 대립유전자를 녹아웃시키는 것에 추가로, 부위-특이적 뉴클레아제는 또한 결합있는 대립유전자에 의해 암호화된 단백질의 기능적 복제물을 암호화하는 공여체 DNA에 의한 상동성 재조합을 자극하기 위해 사용될 수 있다. 따라서, 예를 들어, 대상 rAAV 비리온은 결합있는 대립유전자를 녹아웃시키고, 결합있는 대립유전자의 기능적 복제물을 전달하기 위해 사용될 수 있는 부위-특이적 엔도뉴클레아제를 둘 다 전달하기 위해 사용될 수 있는데, 이는 결합있는 대립유전자의 복구를 초래하고, 이에 의해 기능성 망막 단백질(예를 들어, 기능성 망막충간 단백질, 기능성 RPE65, 기능성 페리페린 등)의 생성을 제공한다. 예를 들어, 문헌[Li et al. (2011) *Nature* 475:217]을 참조한다. 일부 실시형태에서, 대상 rAAV 비리온은 기능성 복제물이 기능성 망막 단백질을 암호화하는 경우, 부위-특이적 엔도뉴클레아제를 암호화하는 이종성 뉴클레오타이드 서열; 및 결합있는 대립유전자의 기능적 복제물을 암호화하는 이종성 뉴클레오타이드 서열을 포함한다. 기능성 망막 단백질은, 예를 들어 망막충간 단백질, RPE65, 망막 색소 변성증 GTPase 조절제(RGPR)-상호작용 단백질-1, 페리페린, 페리페린-2 등을 포함한다.

[0250]

사용에 적합한 부위-특이적 엔도뉴클레아제는, 이러한 부위-특이적 엔도뉴클레아제가 비자연적으로 생기고, 특이적 유전자를 표적화하도록 변형되는 경우, 예를 들어, 아연 링거 뉴클레아제(zinc finger nucleases: ZFN); 및 전사 활성제-유사 효과기 뉴클레아제(transcription activator-like effector nucleases: TALEN)를 포함한다. 이러한 부위-특이적 뉴클레아제는 게놈 내 특이적 위치를 절단하도록 유전자조작될 수 있고, 그 다음에 비-상동성 말단 결합은 몇몇 뉴클레오타이드가 삽입되거나 또는 결실되는 동안 파손을 복구할 수 있다. 그 다음에 이러한 부위-특이적 엔도뉴클레아제(또한 "INDEL"로서 지칭됨)는 프레임 바깥으로 단백질을 던지며, 유전자를 효과적으로 녹아웃시킨다. 예를 들어, 미국 특허 공개 제2011/0301073호를 참조한다.

[0251]

조절 서열

[0252]

일부 실시형태에서, 관심의 유전자 산물을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열은 구성 프로모터에 조작가능하게 연결된다. 다른 실시형태에서, 관심의 유전자 산물을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열은 유도성 프로모터에 조작가능하게 연결된다. 일부 예에서, 관심의 유전자 산물을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열은 조직-특이적 또는 세포 유형-특이적 조절 구성요소에 조작가능하게 연결된다. 예를 들어, 일부 예에서, 관심의 유전자 산물을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열은 광수용체-특이적 조절 구성요소(예를 들어, 광수용체-특이적 프로모터), 예를 들어, 광수용체 세포에서 조작가능하게 연결된 유전자의 선택적 발현을 부여하는 조절 구성요소에 조작가능하게 연결된다. 적합한 광수용체-특이적 조절 구성요소는, 예를 들어 로돕신 프로모터; 로돕신 키나제 프로모터 (Young et al. (2003) *Ophthalmol. Vis. Sci.* 44:4076); 베타 포스포다이에스터라제 유전자 프로모터(Nicoud et al. (2007) *J. Gene Med.* 9:1015); 망막 색소 변성증 유전자 프로모터(Nicoud et al. (2007) 상기 참조); 광수용체간 레티노이드-결합 단백질(interphotoreceptor retinoid-binding protein: IRBP) 유전자 인핸서 (Nicoud et al. (2007) 상기 참조); IRBP 유전자 프로모터(Yokoyama et al. (1992) *Exp Eye Res.* 55:225)를 포함한다.

[0253]

약제학적 조성물

[0254]

본 발명은 a) 상기 기재한 바와 같은 대상 rAAV 비리온; 및 b) 약제학적으로 허용가능한 담체, 희석제, 부형제 또는 완충제를 포함하는 약제학적 조성물을 제공한다. 일부 실시형태에서, 약제학적으로 허용가능한 담체, 희석제, 부형제 또는 완충제는 인간에서 사용에 적합하다.

[0255]

이러한 부형제, 담체, 희석제 및 완충제는 과도한 독성 없이 투여될 수 있는 임의의 약제학적 작용제를 포함한다. 약제학적으로 허용가능한 부형제는, 물, 식염수, 글라이세롤 및 에탄올과 같은 액체를 포함하지만, 이들로 제한되지는 않는다. 약제학적으로 허용가능한 염은 그것에, 예를 들어 무기산염, 예컨대 하이드로클로라이드, 하이드로브로마이드, 포스페이트, 설페이트 등; 및 유기산의 염, 예컨대 아세테이트, 프로페오네이트, 말로네이트, 벤조에이트 등이 포함될 수 있다. 추가적으로, 보조 물질, 예컨대 습윤제 또는 에멀젼화제, pH 완충 물질 등이 이러한 비히클에 존재할 수 있다. 매우 다양한 약제학적으로 허용가능한 부형제는 당업계에 공지되어 있고, 본 명세서에서 상세하게 논의될 필요가 없다. 약제학적으로 허용가능한 부형제는, 예를 들어 문헌[A. Gennaro (2000) "Remington: The Science and Practice of Pharmacy," 20th edition, Lippincott, Williams, & Wilkins; *Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems* (1999) H.C. Ansel et al., eds., 7th ed., Lippincott, Williams, & Wilkins; 및 *Handbook of Pharmaceutical Excipients* (2000) A.H. Kibbe et al., eds., 3rd ed. Amer. Pharmaceutical Assoc]을 포함하는 다양한 간행물에 상세하게 기재되어 있다.

[0256]

망막 세포에의 유전자 산물의 전달 방법 및 치료 방법

- [0257] 본 개시내용은 개체에서 망막 세포에 유전자 산물을 전달하는 방법을 제공하며, 해당 방법은 상기 기재한 바와 같은 대상 rAAV 비리온을 개체에 투여하는 단계를 포함한다. 유전자 산물을 상기 기재한 바와 같은 폴리펩타이드 또는 간섭 RNA(예를 들어, shRNA, siRNA 등), 앱타미 또는 부위-특이적 엔도뉴클레아제일 수 있다. 망막 세포에 유전자 산물을 전달하는 것은 망막질병의 치료를 제공할 수 있다. 망막 세포는 광수용체, 망막 신경절 세포, 뭄러 세포, 양극 세포, 아마크린 세포, 수평 세포 또는 망막 색소성 상피 세포일 수 있다. 일부 경우에, 망막 세포는 광수용체 세포, 예를 들어 간체 또는 추체 세포이다.
- [0258] 본 개시내용은 망막 질병의 치료방법을 제공하며, 해당 방법은 상기 기재한 바와 같은 대상 rAAV 비리온의 유효량을 치료가 필요한 개체에게 투여하는 단계를 포함한다. 대상 rAAV 비리온은 안구내 주사를 통해, 유리체내 주사에 의해 또는 임의의 다른 편리한 투여 방식 또는 경로에 의해 투여될 수 있다. 다른 편리한 투여 방식 또는 경로는, 예를 들어 정맥내, 비강내 등을 포함한다.
- [0259] "치료적 유효량"은 실험 및/또는 임상 시험을 통해 결정될 수 있는 상대적으로 넓은 범위에 속할 것이다. 예를 들어, 생체내 주사, 즉, 눈에 직접적으로 주사를 위해, 치료적 유효량은 rAAV 비리온의 약 10^6 내지 약 10^{15} , 예를 들어 약 10^8 내지 10^{12} rAAV 비리온의 규모일 것이다. 시험관내 형질도입을 위해, 세포에 전달되는 rAAV 비리온의 유효량은 rAAV 비리온의 약 10^8 내지 약 10^{13} 의 규모일 것이다. 다른 효과적인 투약량은 용량 반응 곡선을 확립하는 일상적인 시도를 통해 당업자에 의해 용이하게 확립될 수 있다.
- [0260] 일부 실시형태에서, 다양한 간격의 기간, 예를 들어 매일, 매주, 매달, 매년 등에 걸쳐 유전자 발현의 원하는 수준을 달성하기 위해 1회 이상의 투여(예를 들어, 2, 3, 4회 이상의 투여)가 사용될 수 있다.
- [0261] 대상 방법을 사용하여 치료될 수 있는 안질환은 급성 황반 신경망막병증; 베체트병; 맥락막 혈관신생; 당뇨병성 포도막염; 히스토플라즈마증; 황반변성, 예컨대 급성 황반변성, 비삼출성 노인성 황반변성 및 삼출성 노인성 황반변성; 부종, 예컨대 황반 부종, 낭포 황반 부종 및 당뇨병성 황반 부종; 다소성 맥락막염; 안후부 부위 또는 위치에 영향을 미치는 안구 외상; 안구 종양; 망막 장애, 예컨대 중심성 망막 정맥 폐색, 당뇨 망막병증(증식성 당뇨 망막병증을 포함), 증식 유리체 망막병증(proliferative vitreoretinopathy: PVR), 망막 동맥 폐쇄증, 망막 박리, 포도막 망막질병; 교감성 안염; 보그트 코야나기-하라다(Vogt Koyanagi-Harada: VKH) 증후군; 포도막 확산; 눈의 레이처 치료에 의해 야기되거나 또는 영향받는 안후부 질환; 광역동요법에 의해 야기되거나 또는 영향받는 안후부 질환; 광응고법, 방사선 망막증; 망막전막 장애; 분지 망막 정맥 폐쇄; 앞허혈 시신경병증; 비망막병증 당뇨병증성 망막 기능장애; 망막층간분리; 망막 색소 변성증; 녹내장; 어셔 증후군, 추체-간체 이영양증; 스타가르트병(노란점 안저); 유전성 황반변성; 맥락망막 변성; 레버 선천성 흑암시; 선천성 정지형 야맹증; 맥락막 결여; 바르데-비들 증후군; 황반 모세혈관확장증; 레버 시신경위축증; 미숙아망막증; 및 색맹, 제1색맹, 제2색맹 및 제3색맹을 포함하는 색각 장애를 포함하지만, 이들로 제한되지는 않는다.
- [0262] **핵산 및 숙주 세포**
- [0263] 본 개시내용은 상기 기재한 바와 같이 대상 변이체 아데노-관련 바이러스(AAV) 캡시드 단백질을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 단리된 핵산을 제공하되, 변이체 AAV 캡시드 단백질은 대응되는 모 AAV 캡시드 단백질에 대해 GH 루프 또는 루프 IV 내 약 5개 아미노산 내지 약 11개 아미노산의 삽입을 포함하며, AAV 비리온에 존재할 때, 변이체 캡시드 단백질은 대응되는 모 AAV 캡시드 단백질을 포함하는 AAV 비리온에 의한 망막 세포의 감염성에 비해 망막 세포의 증가된 감염성을 제공한다. 대상의 단리된 핵산은 AAV 벡터, 예를 들어 재조합 AAV 벡터일 수 있다.
- [0264] **삽입 펩타이드**
- [0265] 대상 핵산에 의해 암호화된 변이체 AAV 캡시드 단백질은 길이로 약 5개 아미노산 내지 약 11개 아미노산의 삽입 펩타이드를 가지며, AAV 캡시드의 GH 루프 내로 삽입된다. 삽입 펩타이드는 5개 아미노산, 6개 아미노산, 7개 아미노산, 8개 아미노산, 9개 아미노산, 10개 아미노산 또는 11개 아미노산의 길이를 가진다.
- [0266] 삽입 펩타이드는 이하에 제시되는 식 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함할 수 있다.
- [0267] 예를 들어, 삽입 펩타이드는 길이로 5 내지 11개의 아미노산의 펩타이드일 수 있으며, 여기서 삽입 펩타이드는 하기 식 I을 갖는다:
- [0268] [식 I]

[0269] $Y_1Y_2X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7Y_3Y_4$

[0270] 상기 식에서:

[0271] 각각의 Y_1 내지 Y_4 는, 존재한다면 Ala, Leu, Gly, Ser 및 Thr으로부터 독립적으로 선택되고;

[0272] X_1 은, 존재한다면, Leu, Asn 및 Lys으로부터 선택되며;

[0273] X_2 는 Gly, Glu, Ala 및 Asp으로부터 선택되고;

[0274] X_3 은 Glu, Thr, Gly 및 Pro으로부터 선택되며;

[0275] X_4 는 Thr, Ile, Gln 및 Lys으로부터 선택되고;

[0276] X_5 는 Thr 및 Ala으로부터 선택되며;

[0277] X_6 은 Arg, Asn 및 Thr으로부터 선택되고;

[0278] X_7 은, 존재한다면, Pro 및 Asn으로부터 선택된다.

[0279] 다른 예로서, 삽입 웨타이드는 길이로 5 내지 11개의 아미노산의 웨타이드일 수 있으며, 여기서 삽입 웨타이드는 하기 식 IIa를 갖는다:

[식 IIa]

[0281] $Y_1Y_2X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7Y_3Y_4$

[0282] 상기 식에서:

[0283] 각각의 Y_1 내지 Y_4 는, 존재한다면, Ala, Leu, Gly, Ser 및 Thr으로부터 독립적으로 선택되고;

[0284] 각각의 X_1 내지 X_4 는 임의의 아미노산이며;

[0285] X_5 는 Thr° 고;

[0286] X_6 은 Arg° 며;

[0287] X_7 은 Pro° 다.

[0288] 다른 예로서, 삽입 웨타이드는 길이로 5 내지 11개의 아미노산의 웨타이드일 수 있으며, 여기서 삽입 웨타이드는 식 IIb를 갖는다:

[식 IIb]

[0290] $Y_1Y_2X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7Y_3Y_4$

[0291] 상기 식에서:

[0292] 각각의 Y_1 내지 Y_4 는, 존재한다면, Ala, Leu, Gly, Ser 및 Thr으로부터 독립적으로 선택되고;

[0293] X_1 은, 존재한다면, Leu 및 Asn으로부터 선택되며;

[0294] X_2 는, 존재한다면, Gly 및 Glu으로부터 선택되고;

[0295] X_3 은 Glu 및 Thr으로부터 선택되며;

[0296] X_4 는 Thr 및 Ile으로부터 선택되고;

[0297] X_5 는 Thr° 며;

[0298] X_6 은 Arg° 고;

- [0299] X_7 은 Pro이다.
- [0300] 다른 예로서, 삼입 웨타이드는 길이로 5 내지 11개 아미노산의 웨타이드이며, 여기서 삼입 웨타이드는 하기 식 III을 갖는다:
- [0301] [식 III]
- [0302] $Y_1Y_2X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7Y_3Y_4$
- [0303] 상기 식에서:
- [0304] 각각의 Y_1 내지 Y_4 는, 존재한다면, Ala, Leu, Gly, Ser 및 Thr으로부터 독립적으로 선택되고;
- [0305] X_1 은, 존재한다면, Lys이며;
- [0306] X_2 는 Ala 및 Asp으로부터 선택되며;
- [0307] X_3 은 Gly 및 Pro으로부터 선택되고;
- [0308] X_4 는 Gln 및 Lys으로부터 선택되며;
- [0309] X_5 는 Thr 및 Ala로부터 선택되고;
- [0310] X_6 은 Asn 및 Thr으로부터 선택되며;
- [0311] X_7 은, 존재한다면, Asn이다.
- [0312] 다른 예로서, 삼입 웨타이드는 길이로 5 내지 11개 아미노산의 웨타이드 일 수 있으며, 여기서 삼입 웨타이드는 하기 식 IV를 갖는다:
- [0313] [식 IV]
- [0314] $Y_1Y_2X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7Y_3Y_4$
- [0315] 상기 식에서:
- [0316] 각각의 Y_1 내지 Y_4 는, 존재한다면, Ala, Leu, Gly, Ser 및 Thr으로부터 독립적으로 선택되고;
- [0317] X_1 은, 존재한다면, 양으로 하전된 아미노산 또는 비하전된 아미노산이거나; 또는 Leu, Asn, Arg, Ala, Ser 및 Lys으로부터 선택되고;
- [0318] X_2 는 음으로 하전된 아미노산 또는 비하전된 아미노산이거나; 또는 Gly, Glu, Ala, Val, Thr 및 Asp로부터 선택되며;
- [0319] X_3 은 음으로 하전된 아미노산 또는 비하전된 아미노산이거나; 또는 Glu, Thr, Gly, Asp 또는 Pro로부터 선택되고;
- [0320] X_4 는 Thr, Ile, Gly, Lys, Asp 및 Gln로부터 선택되며;
- [0321] X_5 는 극성 아미노산, 알코올(유리 하이드록실 기를 갖는 아미노산) 또는 소수성 아미노산이거나; 또는 Thr, Ser, Val 및 Ala로부터 선택되고;
- [0322] X_6 은 양으로 하전된 아미노산 또는 비하전된 아미노산이거나; 또는 Arg, Val, Lys, Pro, Thr 및 Asn으로부터 선택되며;
- [0323] X_7 은, 존재한다면, 양으로 하전된 아미노산 또는 비하전된 아미노산이거나; 또는 Pro, Gly, Phe, Asn 및 Arg으로부터 선택된다.
- [0324] 비제한적인 예로서, 삼입 웨타이드는 LGETTRP(서열번호 13), NETITRP(서열번호 14), KAGQANN(서열번호 15), KDPKTTN(서열번호 16), KDTDTTR(서열번호 57), RAGGSVG(서열번호 58), AVDTTKF(서열번호 59) 및 STGKVPN(서열

번호 60)으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함할 수 있다.

[0325] 일부 경우에, 삽입 웨타이드는 LGETTRP(서열번호 13), NETITRP(서열번호 14), KAGQANN(서열번호 15), KDPKTTN(서열번호 16), KDTDTTR(서열번호 57), RAGGSVG(서열번호 58), AVDTTKF(서열번호 59) 및 STGKVPN(서열번호 60) 중 어느 하나의 아미노 말단 및/또는 카복시 말단에서 1 내지 4개의 스페이서 아미노산(Y₁ 내지 Y₄)를 가진다. 적합한 스페이서 아미노산은 류신, 알기닌, 글라이신 및 세린을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.

[0326] 예를 들어, 일부 경우에, 삽입 웨타이드는 다음의 아미노산 서열: LALGETTRPA(서열번호 45); LANETITRPA(서열번호 46), LAKAGQANNA(서열번호 47), LAKDPKTTNA(서열번호 48), LAKDTDTTRA(서열번호 61), LARAGGSVGA(서열번호 62), LAAVDTTKFA(서열번호 63) 및 LASTGKVPNA(서열번호 64) 중 하나를 가진다. 다른 예로서, 일부 경우에, 삽입 웨타이드는 다음의 아미노산 서열: AALGETTRPA(서열번호 49); AANETITRPA(서열번호 50), AAKAGQANNA(서열번호 51) 및 AAKDPKTTNA(서열번호 52) 중 하나를 가진다. 또한 다른 예로서, 일부 경우에, 삽입 웨타이드는 다음의 아미노산 서열: GLGETTRPA(서열번호 53); GNETITRPA(서열번호 54), GKAGQANNA(서열번호 55) 및 GKDPKTTNA(서열번호 56) 중 하나를 가진다. 다른 예로서, 일부 경우에, 삽입 웨타이드는 AA에 의해 C-말단에 그리고 A에 의해 N-말단에 측접한 KDTDTTR(서열번호 57), RAGGSVG(서열번호 58), AVDTTKF(서열번호 59) 및 STGKVPN(서열번호 60) 중 하나를 포함하거나; 또는 G에 의해 C-말단에 그리고 A에 의해 N-말단에 측접한 KDTDTTR(서열번호 57), RAGGSVG(서열번호 58), AVDTTKF(서열번호 59) 및 STGKVPN(서열번호 60) 중 하나를 포함한다.

[0327] 대상 재조합 AAV 백터는 상기 기재한 바와 같이 대상 재조합 AAV 비리온을 만들기 위해 사용될 수 있다. 따라서, 본 개시내용은, 적합한 세포 내로 도입되었을 때, 대상 재조합 AAV 비리온의 생성을 제공할 수 있는 재조합 AAV 백터를 제공한다.

[0328] 본 발명은 대상 핵산을 포함하는 숙주 세포, 예를 들어, 단리된(유전적으로 변형된) 숙주 세포를 추가로 제공한다. 대상 숙주 세포는 단리된 세포, 예를 들어 시험관내 배양물 내 세포일 수 있다. 대상 숙주 세포는 이하에 기재되는 바와 같이 대상 rAAV 비리온을 생성하는데 유용하다. 대상 rAAV 비리온을 생성하기 위해 대상 숙주 세포가 사용되는 경우, 이는 "패키징 세포"로서 지칭된다. 일부 실시형태에서, 대상 숙주 세포는 대상 핵산으로 안정하게 유전적으로 변형된다. 다른 실시형태에서, 대상 숙주 세포는 대상 핵산으로 일시적으로 유전적으로 변형된다.

[0329] 대상 핵산은 전기천공법, 인산칼슘 침전법, 리포좀-매개 형질감염 등을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 확립된 기법을 사용하여 안정하게 또는 일시적으로 숙주 세포 내로 도입된다. 안정한 형질전환을 위해, 대상 핵산은 일반적으로 선별가능한 마커, 예를 들어 네오마이신 저항 등과 같은 몇몇 잘-공지된 선별가능한 마커 중 어떤 것을 추가로 포함할 것이다.

[0330] 대상 숙주 세포는 임의의 다양한 세포, 예를 들어 뮤린 세포 및 영장류 세포(예를 들어, 인간 세포)를 포함하는, 예를 들어 포유류 세포 내로 대상 핵산을 도입함으로써 만들어진다. 적합한 세포주가, 이하에 제한되는 것은 아니지만, 293 세포, COS 세포, HeLa 세포, Vero 세포, 3T3 마우스 섬유아세포, C3H10T1/2 섬유아세포, CHO 세포 등을 포함하는 경우, 적합한 포유류 세포는 1차 세포 및 세포주를 포함하지만, 이들로 제한되는 것은 아니다. 적합한 숙주 세포의 비제한적인 예는, 예를 들어 HeLa 세포(예를 들어, American Type Culture Collection (ATCC) No. CCL-2), CHO 세포(예를 들어, ATCC No. CRL9618, CCL61, CRL9096), 293 세포(예를 들어, ATCC No. CRL-1573), Vero 세포, NIH 3T3 세포(예를 들어, ATCC No. CRL-1658), Huh-7 세포, BHK 세포(예를 들어, ATCC No. CCL10), PC12 세포(ATCC No. CRL1721), COS 세포, COS-7 세포(ATCC No. CRL1651), RAT1 세포, 마우스 L 세포(ATCC No. CCL1.3), 인간 배아 신장(human embryonic kidney: HEK) 세포(ATCC No. CRL1573), HLHepG2 세포 등을 포함한다. 대상 숙주 세포는 AAV를 생성하는 Sf9 세포와 같은 곤충 세포를 감염시키기 위해 바클로바이러스를 사용하여 만들어질 수 있다(예를 들어, 미국 특허 제7,271,002호; 미국 특허 출원 제12/297,958호)

[0331] 일부 실시형태에서, 대상인 유전적으로 변형된 숙주 세포는 상기 기재된 바와 같은 변이체 AAV 캡시드 단백질을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 핵산에 추가적으로 하나 이상의 AAV rep 단백질을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 핵산을 포함한다. 다른 실시형태에서, 대상 숙주 세포는 rAAV 백터를 추가로 포함한다. rAAV 비리온은 대상 숙주 세포를 사용하여 만들어질 수 있다. rAAV 비리온의 생성 방법은, 예를 들어 미국 특허 공개 제2005/0053922호 및 미국 특허 공개 제2009/0202490호에 기재된다.

실시예

[0333] 다음의 실시예는 본 발명의 제조 및 사용 방법의 완전한 개시 및 설명을 당업자에게 제공하기 위해 제공되며,

본 발명자들이 그들의 발명으로 간주하는 것의 범위를 제한하는 것으로 의도되지 않으며, 이하의 실험이 모든 또는 유일한 수행되는 실험이라는 것을 나타내는 것으로 의도되지 않는다. 사용한 숫자(예를 들어, 양, 온도 등)에 대한 정확성을 보장하기 위한 노력을 하였지만, 일부 실험적 오차 및 편차를 고려하여야 한다. 달리 표시되지 않는다면, 부분은 중량부이며, 분자량은 평균분자량이고, 온도는 섭씨 온도이며, 압력은 대기압이거나 대기압 근처이다. 표준 약어, 예를 들어 bp, 염기쌍(들); kb, 킬로베이스(들); pl, 피코리터(들); s 또는 sec, 초(들); 분, 분(들); h 또는 hr, 시간(들); aa, 아미노산(들); kb, 킬로베이스(들); bp, 염기쌍(들); nt, 뉴클레오타이드(들); i.m., 근육내(로); i.p., 복강내(로); s.c., 피하(로); 등을 사용할 수 있다.

[0334] 실시예 1: 망막 세포의 향상된 형질도입을 지니는 AAV 변이체

[0335] 중합효소 연쇄 반응(polymerase chain reaction: PCR) 돌연변이유발에 의해 아미노산 587 내지 588의 야생형 AAV2 게놈 내로 독특한 AvrII 부위를 도입함으로써 웨بت아이드 디스플레이 라이브러리를 만드는 접근을 사용하였다. 무작위 21 뉴클레오타이드 삽입물인 7량체 For을 사용하여 안티센스 프라이머 7량체 Rev와 함께 dsDNA 삽입물을 합성하였다. 얻어진 dsDNA 삽입물을 *NheI*로 분해 후 게놈의 AvrII 부위 내로 클로닝시켰고, 그 다음에 패키징된 다양한 7량체 디스플레이 라이브러리를 생성하였다(Perabo et al., 2003; Muller et al., 2003). 해당 게놈이 암호화된 캡시드 단백질 내에서 각 바이러스 게놈이 패키징되거나 캡시드 내에 이입되도록 바이러스를 만들었다. 이에 대해, 선별을 통해 확인한 추가적인 개선은 바이러스 캡시드 내에 함유된 이런 개선된 기능을 암호화하는 게놈 서열과 연관될 수 있다.

[0336] 이 라이브러리에 rho-GFP 마우스 내 양성 선별을 실시하였다(Wensel et al. (2005) *Vision Res.* 45:3445). 간단하게, 선별의 1 라운드에서, 성체 rho-GFP 마우스를 대략 1×10^{12} 바이러스 게놈(vg)/ μl 의 게놈 역가에 의해 $2 \mu\text{l}$ 의 인산염 완충 식염수(phosphate buffered saline: PBS)-투석되고, 이오디사놀-정제된 라이브러리로 유리체 내로 주사하였다. 초미세 30 1/2-게이지 일회용 바늘을 유리체강 내로 적도에서 그리고 가장자리 옆에서 동물 눈의 공막을 통해 통과시켰다. 유리체강의 중심에서 바늘의 직접 관찰에 의해 $2 \mu\text{l}$ 의 바이러스를 주사하였다. 주사 1주 후, 눈에서 세포핵을 제거하였고, 빛, 파파인 프로테아제 처리를 사용하여 망막을 해리시킨 다음, 광수용체 집단을 형광 활성화 세포 분리기(fluorescence activated cell sorter: FACS)로 단리시켰다. 그 다음에 후속 게놈 추출물로부터 성공적인 비리온을 PCR 증폭시켰고, 추가로 클로닝시켰으며, 주사를 위해 재패키징하였다.

[0337] 이 선별의 추가 반복을 수행하였고, 가장 허용되는 돌연변이를 지니는 서브세트로 변이체의 폴(pool)을 좁혔다. 3회 반복한 후, 실수유발 PCR의 라운드를 수행하여 선별을 위한 변이체의 추가 산물을 만들었다. 전체적으로, 2회 발생을 위해 이 과정을 반복하였다. 이에 대해, 관련 진화의 이런 과정은 천연 진화 과정과 유사한 양성 선별 및 유도된 돌연변이유발의 적용을 통해 광수용체-허용성 AAV 변이체를 만들었다.

[0338] 후속적으로, 대부분의 우세하고 성공적인 변이체가 유리체내 광수용체 형질도입에 대해 허용적인 돌연변이를 갖는지를 결정하기 위해 50개 변이체의 캡(cap) 유전자를 시퀀싱하였다. 50개의 클론 중에서, 46개에 7량체 삽입물의 판독가능한 서열을 제공하였다. 현저하게, 클론의 거의 2/3는 동일한 별개의 7량체 모티프를 함유하였다 (~⁵⁸⁸LGETTRP~; 서열번호 13). 흥미롭게도, 다음의 대부분의 우세한 변이체(~⁵⁸⁸NETITRP~; 서열번호 14)는 또한 극성 트레오닌과 비극성 프롤린 잔기(TRP) 사이의 양으로-하전된 아르기닌으로 이루어진 유사한 측접 모티프를 함유하였다.

표 1

클론	대략의 빈도 (%)	빈도
~ ⁵⁸⁸ LGETTRP~ (서열번호 13)	64	31
~ ⁵⁸⁸ NETITRP~ (서열번호 14)	12	5
~ ⁵⁸⁸ KAGQANN~ (서열번호 15)	6	3
~ ⁵⁸⁸ KDPKTTN~ (서열번호 16)	4	2
~ ⁵⁸⁸ KDTDTTR (서열번호 57)		2
~ ⁵⁸⁸ RAGGSVG (서열번호 58)		1
~ ⁵⁸⁸ AVDTTKF (서열번호 59)		1
~ ⁵⁸⁸ STGKVPN (서열번호 60)		1

[0339]

[0340] 표 1 관련된 진화로부터 단리된 변이체의 시퀀싱은 바이러스 라이브러리에서 높은 수렴도를 나타낸다. 모든 변이체는 AAV2 7량체로부터 유래되었고, 대략 64%의 변이체는 동일한 7량체 모티프(~⁵⁸⁸LGETTRP~ (서열번호 13))를 함유하였다.

[0341] 7량체 삽입 서열 중에서, 특정 위치에서 보통의 선호도, 예를 들어 위치 1에서 양으로 하전된 아미노산; 위치 2에서 음으로 하전된 아미노산; 위치 5에서 알코올(예를 들어, 알코올 기를 갖는 아미노산(유리 하이드록실 기), 예컨대 Thr 또는 Ser)이 있었다.

[0342] 7량체 삽입물은 표 2에 나타내는 바와 같이 스페이서에 측정하였다:

표 2

클론	빈도
~ ⁵⁸⁸ LALGETTRPA~ (서열번호 45)	31
~ ⁵⁸⁸ LANETITRPA~ (서열번호 46)	5
~ ⁵⁸⁸ LAKAGQANNA~ (서열번호 47)	3
~ ⁵⁸⁸ LAKDPKTTNA~ (서열번호 48)	2
~ ⁵⁸⁸ LAKDTDTTRA~ (서열번호 61)	2
~ ⁵⁸⁸ LARAGGSVGA~ (서열번호 62)	1
~ ⁵⁸⁸ LAAVDTTKFA~ (서열번호 63)	1
~ ⁵⁸⁸ LASTGKVPNA~ (서열번호 64)	1

[0343]

[0344] 도 1. 아미노산 587 다음에 무작위 헵타머(오렌지 색으로 나타냄)를 함유하는 AAV2의 대표적인 3차원 캡시드 모델. AAV2 캡시드의 이런 영역은 세포-표면 수용체 결합에 참여할 가능성이 있다.

[0345] 상기-기재한 선별로부터 높은 라이브러리 수렴도에 비추어, AAV2 ~⁵⁸⁸LGETTRP~(서열번호 13; 별칭 7M8)의 재조합 형태를 클로닝하였고, scCAG-GFP 이식유전자와 함께 벡터를 패키징하여 그것의 형질도입 프로파일을 시작화하였다. 성체 마우스에서 유리체내 주사의 3주 후, 망막 신경절 세포(RGC) 및 뮐러 세포를 포함하는 수많은 세포 유형에서 강한 발현을 관찰하였다. 중요하게는, 외곽 핵층(outer nuclear layer: ONL) 핵(적색 화살표)에서 및 외곽 절편(도 2, 청색 화살표)에서 GFP 발현에 의해 알 수 있는 바와 같이 7M8을 주사한 망막 내 광수용체의 형질도입을 관찰한 반면, AAV2는 인식가능한 광수용체 발현을 나타내지 않았다.

[0346] 도 2 AAV2 7M8 변이체(우)는 AAV2(좌)에 비해 더 큰 수준의 유리체내 광수용체 형질도입을 증명한다. 성체 마우스에서 1×10^{12} vg/ml의 AAV2 7M8 및 AAV2 scCAG GFP의 $2 \mu\text{l}$ 의 유리체내 주사 3주 후 횡단 망막 부분의 공초점 현미경 관찰. 적색 화살표(상부)는 광수용체 핵을 의미하며, 청색 화살표(상부)는 광수용체 외곽 절편을 의미한다.

[0347] 망막 세포 형질도입에서 이런 이득에 비추어, 구체적으로는 광수용체에서 형질도입 효율을 더 양호하게 결정하기 위해 광수용체-특이적 로돕신 프로모터를 함유하는 ssRho-eGFP 이식유전자의 사용을 통한 발현에서 특이성을 증가시키는 시도를 하였다(도 3). 사실, 광수용체 특이적 Rho 프로모터의 사용은 광수용체에 대한 GFP 발현을 제한하였다. 이전의 관련된 진화 접근에 대한 합리적 설계와 조합에 의해 7M8 형질도입 효율을 개선시키는 시도를 하였다. 따라서, 티로신 잔기가 노출된 4개의 표면을 앞서 광수용체 감염성이 증가된 것으로 나타난 7M8 캡시드 상의 페닐알라닌으로 돌연변이유발시켰다(Y273F, Y444F, Y500F 및 Y730F)(Petrus-Silva et al., 2009). 흥미롭게도, 돌연변이의 첨가는 7M8 또는 7M8-4YF 감염된 망막으로부터 GFP(+) 광수용체의 FAC 분류에 의해 나타나는 바와 같이 본래 바이러스에 비해 형질도입된 광수용체의 수를 감소시켰다(도 4).

[0348] 도 3. 혼합 CAG 프로모터(좌) 또는 광수용체 특이적 Rho 프로모터(우)의 제어 하에서 GFP 유전자를 운반하는 7M8로부터 초래된 GFP 발현을 나타내는 망막 냉동 슬라이스의 대표적인 형광 이미지.

[0349] 도 4. 유세포분석기에 의해 계측되는 바와 같은 백만개의 망막 세포 당 GFP(+) 광수용체 세포. 7M8은 4개의 티로신 돌연변이를 함유하는 7M8(상부)에 비해 광수용체의 양을 2x 초과로 형질도입한다.

- [0350] 실시예 2: 망막층간분리의 처리
- [0351] 발현 자체물을 7m8-rho-RS1을 사용하여, 기능성 망막층간분리(RS1) 단백질을 망막층간분리-결합 마우스(Rs1h-결합 마우스; Rs1h는 인간 RS1의 마우스 상동체임)에 전달하였다. 벡터는 로돕신 프로모터의 전사 제어 하에 기능성 망막층간분리 단백질을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함한다. 도 13a 내지 c에서, 볼드체 및 밑줄친 뉴클레오타이드 서열(뉴클레오타이드 4013 내지 4851)은 로돕신 프로모터이며; 뉴클레오타이드 4866 내지 5540(볼드체로 나타낸 시작 atg 및 정지 tga 서열을 지님)은 인간 RS1 단백질을 암호화한다.
- [0352] 7m8-rho-RS1 자체물을 P15에서 Rs1h-/- 마우스에 유리체내로 투여하였다. (Weber et al. (2002) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 99:6222)에 기재된 바와 같이 Rs1h 유전자의 엑손 3의 표적화된 파괴를 통해 Rs1h-/- 마우스를 만들었다. Rs1h-/- 마우스는 Rs1h 단백질 산물이 결여되어 있고, 음전성 ERG(예를 들어 a-웨이브의 상대적 보존에 의해 감소된 b-웨이브)를 가지며, 인간 망막층간분리 환자에서 보이는 것과 유사한 망막층의 분할이 있다. Rs1h-/- 내로 7m8-rho-RS1 벡터의 주사는 망막 내 광수용체로부터 고수준의 범망막성(panretinal) RS1 발현을 야기하였다. RS1 발현은 스펙트럼-도메인 빛 간섭 단층촬영(spectral-domain optical coherence tomography: SD-OCT) 영상(도 7A 내지 I), ERG b-웨이브의 구제(도 8A 내지 D) 및 망막의 장기간 구조적 보존(도 9A 내지 E)에서 알 수 있는 바와 같이 망막 내 구멍의 수 및 크기의 감소와 함께 개선된 망막 형태를 야기하였다.
- [0353] 도 7A 내지 I. 7m8-rho-GFP(왼쪽 컬럼), 7m8-rho-RS1(중간 컬럼)으로 주사하거나, 또는 주사하지 않은 WT 동물(오른쪽 컬럼)의 망막의 대표적인 고해상도 SD-OCT 영상. 상부 망막의 내부 핵층을 통해 안저 영상을 촬영하였고, 다른 층(a 내지 c)을 제외한다. 망막의 상부(d 내지 f) 및 하부(g 내지 i)의 횡단 이미지를 표지점으로서 시신경두(optic nerve head)를 사용하여 촬영하였다.
- [0354] 내부 망막의 층간 분리에 기인하여 병리가 진행됨에 따라, 미처리 RS1 망막은 내경계막(inner limiting membrane: ILM)으로부터 광수용체까지 측정될 때 전반적인 두께를 증가시켰다. 이 과정은 층간분리를 형성하지 않지만, INL에서 진행성 광수용체 세포 사멸 및 부수적인 망막의 얇아짐 및 ERG 진폭의 손실을 나타내는, 대부분의 망막 퇴행 질환(retinal degenerative diseases: RDD)에서 관찰된 것과 완전히 다르다. RS1에서, 광수용체가 질병으로 사멸됨에 따라 ONL은 얇아지지만, 이는 전반적인 망막 두께 변화와는 완전히 다르다. 이는 일반적으로 RS1에 대한 성공적인 요법이 전반적인 망막 두께를 야생형으로 되돌리고, ONL에서 광수용체 손실을 개선시키는 것으로 생각된다. Rs1 이외의 대부분의 RDD에서, ONL 얇아짐에 의해 표시되는 광수용체의 손실은 ERG 진폭에 의해 측정되는 바와 같이 망막의 생리적 출력의 감소와 유사하다. RS1은 병적 측면이 망막 두께를 증가시키며 부수적인 erg 진폭이 손실되는 매우 소수의 망막질병의 예 중 하나이다. 요약하면, RS1 유전자 산물을 회복하면, 세포밖 망막의 "신경교"는 망막을 다시 야생형 두께로 얇아지게 하며, erg 진폭은 층간분리가 해결된다면, 거의 정상 수준으로 되돌아온다.
- [0355] 도 8a는 주사 후 1개월(좌)과 4개월(우) 둘 다에서 AAV2-rho-RS1, 7m8-rho-GFP 및 7m8-rho-RS1이 주사된 눈에 대해 미처리 Rs1-/- 눈의 기능적 구제의 비교를 나타낸다. 주사 1개월 후, 7m8-rho-RS1은 ERG b-웨이브 진폭의 상당한 구제를 야기한 반면, AAV2-rho.RS1은 미처리 눈과 통계적으로 구별가능하지 않았다.
- [0356] 4개월 후, 7m8-rho-RS1 진폭은 야생형 진폭(우)에 대해 추가로 증가된다. 도 8b는 7m8-rho-RS1-주사된 눈으로부터 대표적인 ERG 추적을 나타내며, 7m8-rho-GFP-주사된 눈에 비해 a-웨이브 및 b-웨이브 및 야생형 눈에 대해 더 가까운 웨이브형태의 개선된 진폭을 나타낸다. 도 8c는 고강도(1 log cd x s/m²)로부터 초래된 전계 암소시(full-field scotopi) b-웨이브의 진폭을 나타내며, 각 조건에 대해 P15에서 주사 1개월 후 시작된 매달의 기준에 대해 기록하였다. 3회 반응을 기록하였고, 각 시점에 각 눈에 대해 평균을 내었다.
- [0357] 평균 ERG b-웨이브 진폭을 주사 후 시간의 함수로서 플롯팅하였다. 조건 둘 다에 대해 n=7을 사용하였다. 도 8d는 암소시(-3 내지 1 log cd x s/m² 범위의 상부 추적, 자국) 및 주간시(-0.9 내지 1.4 log cd x s/m² 범위의 하부 자국) 조건 하에서 ERG 반응의 분석을 나타내며, 자국 강도의 범위에 걸쳐 개선된 간체 및 추체 함수를 표시한다.
- [0358] 도 9A 내지 E. 7m8-rho-RS1 처리 후 10개월에 측정한 망막 두께의 지속적인 개선. 시신경두에 집중된 주사 10개월 후 a) 7m8-rho-RS1 또는 b) 7m8-rho-GFP 처리된 망막의 대표적인 횡단 SD-OCT 영상. c) 망막 두께, d) ONL 두께, 및 e) 내부 및 외부 절편 두께의 측정을 시신경두로부터의 거리의 함수로서 플롯팅한다.
- [0359] 실시예 3: 마카크(macaque)에서 망막 세포에 단백질을 전달하기 위해 사용한 AAV 변이체
- [0360] 재조합 AAV2 비리온(커넥신36 프로모터의 제어 하에 GFP를 운반하는 7m8)을 만들었다. 재조합 AAV2 비리온은

AAV2 캡시드의 아미노산 587과 588 사이에 LALGETTRPA 웨타이드의 삽입을 지니는 AAV2 캡시드 변이체 및 개재뉴런(interneuron)에서 발현되는 커넥신36 프로모터의 전사 제어 하에 GFP를 포함하였다. rAAV2 비리온을 마카크의 눈에 유리체내로 주사하였다. 데이터를 도 18에 나타낸다.

[0361] 도 18은 커넥신36 프로모터의 제어 하에 GFP를 운반하는 7m8의 투여 9주 후 망막위 뒤쪽에서 GFP 발현을 나타내는 형광 안저 영상을 제공한다. 모 AAV2 혈청형에 비해(Yin et al, IOVS 52(5); 2775), 중심와 고리(fovea ring)에서 고수준의 발현이 보였고, 중심와 바깥의 중심 망막에서 가시적인 형광이 보였다.

[0362] 참고문헌

- Daiger SP, Bowne SJ, Sullivan LS (2007) Perspective on genes and mutations causing retinitis pigmentosa. *Arch Ophthalmol* 125: 151-158.
- Dalkara D, Kolstad KD, Caporale N, Visel M, Klimczak RR, et al. (2009) Inner Limiting Membrane Barriers to AAV Mediated Retinal Transduction from the Vitreous. *Mol Ther*.
- den Hollander AJ, Roepman R, Koenekoop RK, Cremers FP (2008) Leber congenital amaurosis: genes, proteins and disease mechanisms. *Prog Retin Eye Res* 27: 391-419.
- Gruter O, Kostic C, Crippa SV, Perez MT, Zografos L, et al. (2005) Lentiviral vector-mediated gene transfer in adult mouse photoreceptors is impaired by the presence of a physical barrier. *Gene Ther* 12: 942-947.
- Maguire AM, Simonelli F, Pierce EA, Pugh EN, Jr., Mingozzi F, et al. (2008) Safety and efficacy of gene transfer for Leber's congenital amaurosis. *N Engl J Med* 358: 2240-2248.
- Mancuso K, Hauswirth WW, Li Q, Connor TB, Kuchenbecker JA, et al. (2009) Gene therapy for red-green colour blindness in adult primates. *Nature* 461: 784-787.
- McGee Sanftner LH, Abel H, Hauswirth WW, Flannery JG (2001) Glial cell line derived neurotrophic factor delays photoreceptor degeneration in a transgenic rat model of retinitis pigmentosa. *Mol Ther* 4: 622-629.
- Muller OJ, Kaul F, Weitzman MD, Pasqualini R, Arap W, et al. (2003) Random peptide libraries displayed on adeno-associated virus to select for targeted gene therapy vectors. *Nat Biotechnol* 21: 1040-1046.

[0363]

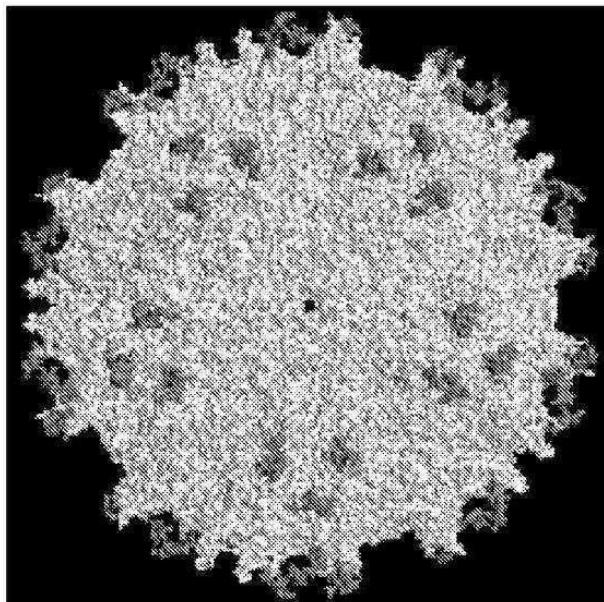
- Nakazawa T, et al. (2007) Attenuated glial reactions and photoreceptor degeneration after retinal detachment in mice deficient in glial fibrillary acidic protein and vimentin. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 48: 2760-8.
- Nakazawa T, et al. (2006) Characterization of cytokine responses to retinal detachment in rats. *Mol Vis* 12: 867-78.
- Perabo L, Buning H, Kofler DM, Ried MU, Girod A, et al. (2003) In vitro selection of viral vectors with modified tropism: the adeno-associated virus display. *Mol Ther* 8: 151-157.
- Petrs-Silva H, Dinculescu A, Li Q, Min SH, Chiodo V, et al. (2009) High-efficiency transduction of the mouse retina by tyrosine-mutant AAV serotype vectors. *Mol Ther* 17: 463-471.
- Reme CE, Grimm C, Hafezi F, Wenzel A, Williams TP (2000) Apoptosis in the Retina: The Silent Death of Vision. *News Physiol Sci* 15: 120-124.
- Rolling F (2004) Recombinant AAV-mediated gene transfer to the retina: gene therapy perspectives. *Gene Ther* 11 Suppl 1: S26-32.
- Wensel TG, Gross AK, Chan F, Sykoudis K, Wilson JH (2005) Rhodopsin-EGFP knock-ins for imaging quantal gene alterations. *Vision Res* 45: 3445-3453.
- Zhong L, Li B, Mah CS, Govindasamy L, Agbandje-McKenna M, et al. (2008) Next generation of adeno-associated virus 2 vectors: point mutations in tyrosines lead to high-efficiency transduction at lower doses. *Proc Natl Acad Sci U S A* 105: 7827-7832.

[0364]

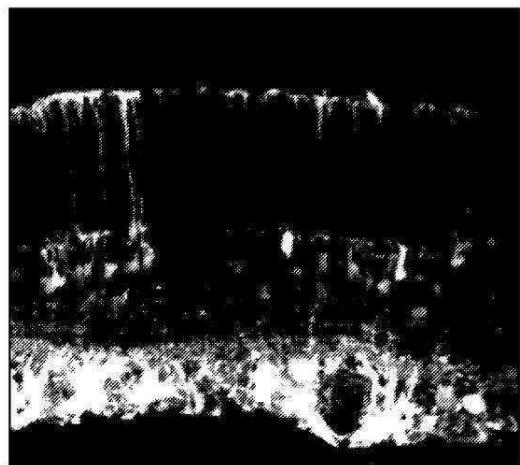
본 발명을 그의 구체적 실시형태를 참조하여 기재하였지만, 당업자라면 본 발명의 진정한 정신과 범주로부터 벗어나는 일 없이 다양한 변화가 이루어질 수 있고 동등물로 치환될 수 있다는 것을 이해하여야 한다. 추가로, 본 발명의 객관적인 정신과 범주에 대해 사안, 처리, 처리 단계 또는 단계들의 특별한 상황, 물질, 조성물을 적용하기 위해 다수의 변형이 이루어질 수 있다. 모든 이러한 변형은 본 명세서에 첨부된 특허청구범위의 범주 내인 것으로 의도된다.

도면

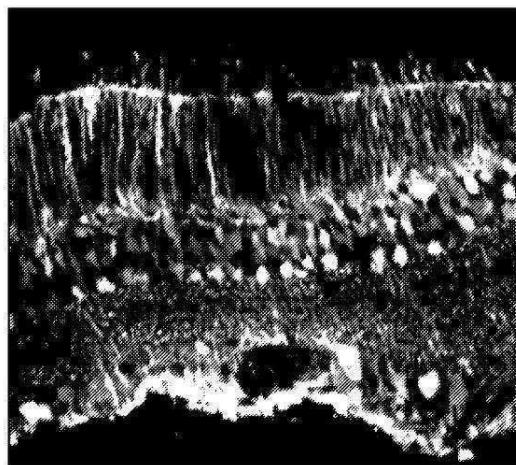
도면1



도면2

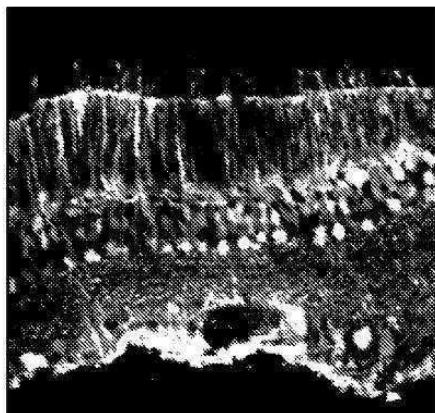


AAV2.CAG.GFP
(모 혈청형)



7m8.CAG.GFP
(지시된 진화에 의해
PR 형질 도입에 대해 향상된 변이체)

도면3

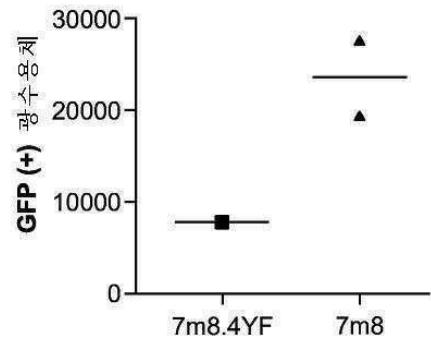


7m8.CAG.GFP



7m8.Rho.GFP

도면4



도면5

AAV2 VP1 1 MAADGYLPDWEDTLSEGIRQWWKLKPGPPPKPAERHKDDSRGLVLPGYKYLGPFGNGLD

AAV2 VP1 61 KGEPVNEADAAALEHDKAYDRQLDSGDNPYLKYNHADAEFQERLKEDTSFGGNLGRAVFQ

AAV2 VP1 121 AKKRVLEPLGLVEEPVKTAPGKKRPVEHSPVEPDSSSGTAKAGQQPARKRLNFGQTGDAD

AAV2 VP1 181 SVPDPQPLGQPPAAPSGLGTNTMATGSGAPMADNNNEGADGVGNSSGNWHCDSTWMGDRV

AAV2 VP1 241 TTSTRTWALPTYNHHLYKQISSQSGASNDNHYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSPRDWQR

AAV2 VP1 301 NNNWGFPRPKRLNFKLFNIQVKEVTQNDTTIANNLTSTVQVFTDSEYQLPYVLGSAHQ

AAV2 VP1 361 CLPPFPADVFMVPQYGYLTLNNGSQAVGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNFTFSYTFEDV

AAV2 VP1 421 HSSYAHQSLDRLMNPLIDQYLYYLSRTNTPSGTTTQSRLQFSQAGASDIRDQSRNWLP

AAV2 VP1 481 PCYRQQRVSKTSADNNNSEYSWTGATKYHNGRDSLNVNPGPAMASHKDDEEKFFPQSGVL

AAV2 VP1 541 IFGKQGSEKTNVDIEKVMITDEEEIRTTNPVATEQYGSVSTNLQRG**NR**QAAATADVNTQGV

AAV2 VP1 601 LPGMVWQDRDVYLOQPIWAKIPTDGHFHPSPLMGGFGLKHPPPQILIKNTPVPANPST

AAV2 VP1 661 FSAAKFASFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSKRWNPEIQYTSYNKSVNVDFTVDTNGVY

AAV2 VP1 721 SEPRPIGTRYLTR (서열번호 1)

도면6

AAV-2 570 PVATEQYGSVSTNLQRG**NR**QAAATADVNTQGVLPGMVWQDRDV 611 (서열번호 2)

AAV-1 571 PVATERFGTVAVNFQSSST**DP**ATGDVHAMGALPGMVWQDRDV 612 (서열번호 3)

AAV-5 560 RVAYNVGGQMATNNQ**SS**TTAPATGTYNLQEIVPGSVWMMRDV 601 (서열번호 4)

AAV-6 571 PVATERFGTVAVNLQSSST**DP**ATGDVHVMGALPGMVWQDRDV 612 (서열번호 5)

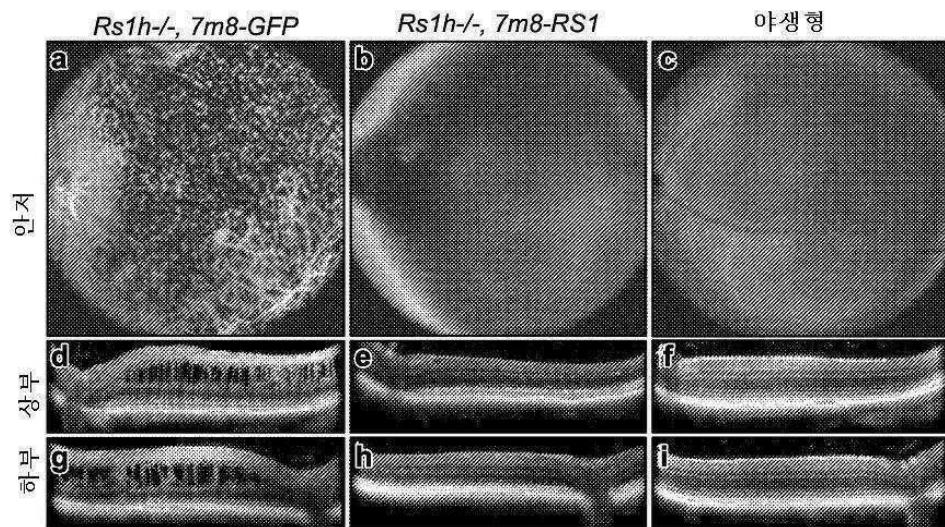
AAV-7 572 PVATEEYGIVSSNLQAA**NT**AAQTQVNNQGALPGMVWQNRDV 613 (서열번호 6)

AAV-8 573 PVATEEYGIVADNL**QQ****NT**APQIGTVNSQGALPGMVWQNRDV 614 (서열번호 7)

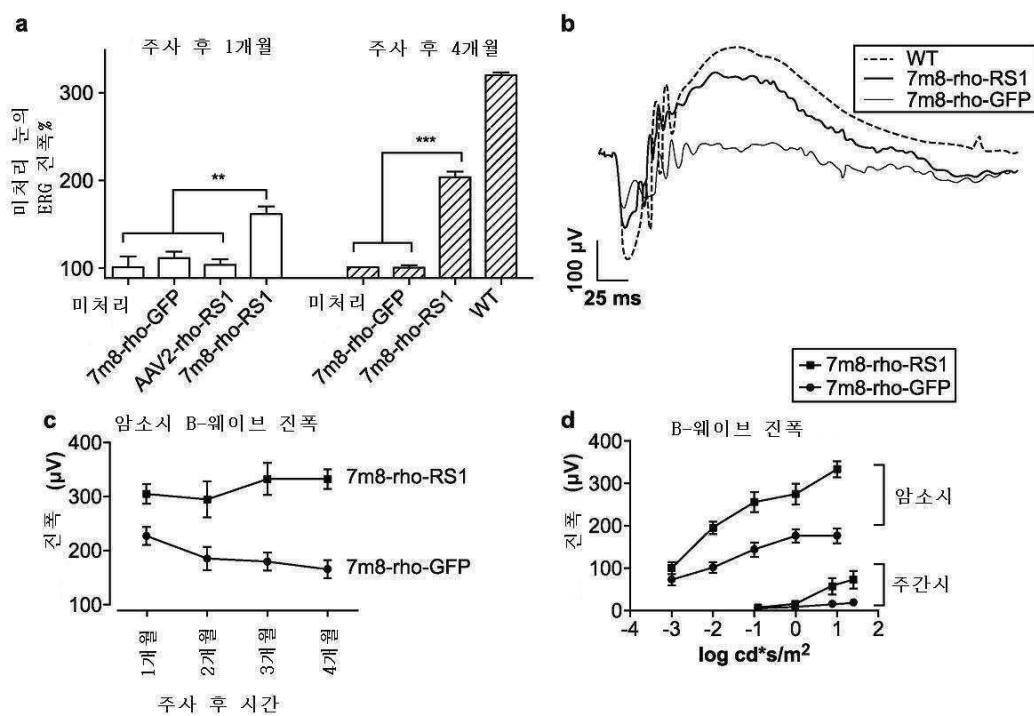
AAV-9 571 PVATESYGVATNHQSA**QA**QAQTGQVQNGILPGMVWQDRDV 612 (서열번호 8)

AAV-10 573 PVATEQYGVVADNL**QA****NT**GPIVGNVNSQGALPGMVWQNRDV 614 (서열번호 9)

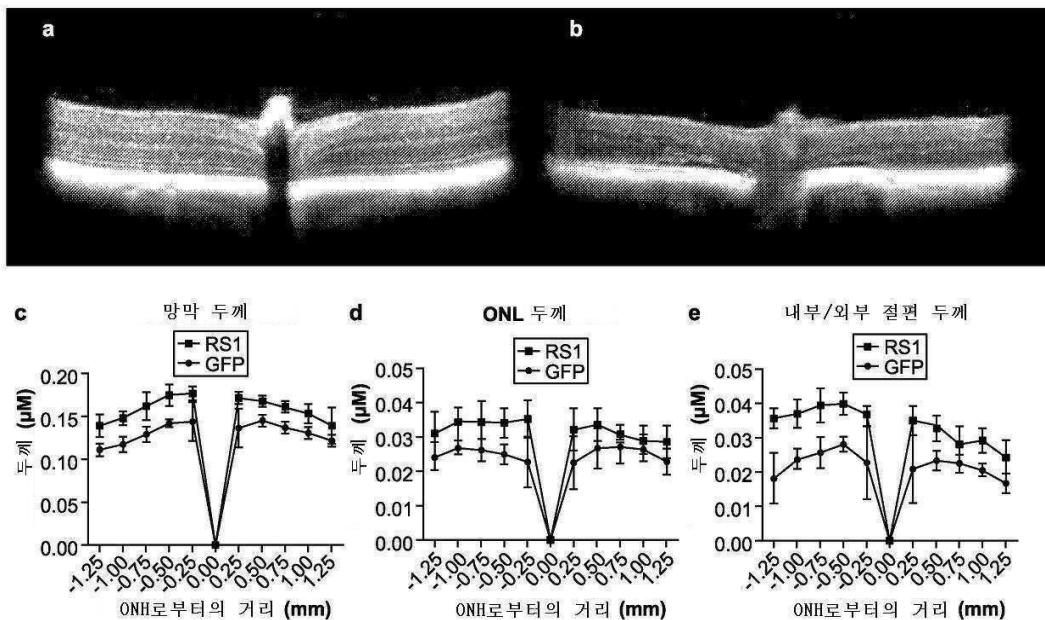
도면7



도면8



도면9



도면10

망막층간백질-1

호모사피엔스 (*Homo sapiens*)

젠행크 (GenBank) CAI42483

```

1 msrkiegfll lllfgyeatl gssstedege dpwyqkackc dcqggpnalw sagatsldci
61 pecpyhkplg fesgevtpdq itcsnpeqyv gwysswtank arlnsqgfgc awlskfqdss
121 qwlqidlkei kvvisgiltqg rcdidewmtk ysvqyrtder lnwiyykdqt gnnrvfygns
181 drtstvqnll rppiisrfir liplgwhvri airmellecv skca (서열번호 10)

```

도면11

뇌 유래 신경영양 인자

호모 사피엔스

젠행크 (GenBank) CAA62632

```

1 mtilfltmvi syfgcmkaap mkeanirgqq glaypgvrth gtlesvngpk agsrgltsla
61 dtfehvieel ldedhkvrpn eenkndadly tsrvmlssqv pleppllfll eeyknyldaa
121 nmsmmvrlhs dparrgelsv cdsisewvta adkktavdms ggtvtvlekv pvskgqlkqy
181 fyetkcnpmg ytkegcrqid krhwnsqcrt tqsyvraltm dskkrigwrf iridtscvct
241 ltikrgr (서열번호 11)

```

도면12

RPE65

호모 사파에스

젠뱅크 (GenBank) AAC39660

```

1 msiqvehpag gykklfetve elssplatah tgriplwlg sllrcpgplf evgsepfyhl
61 fdgqallhkf dfkeghvtyh rrfirtdayv ramtekrivi tefgtcafpd pcknifsrf
121 syfrgvevtal nalvnvypvg edyyactetn fitkinpetl etikqvdlcn yvsngatah
181 phiendgtvy nigncfgknf siaynivkip plqadkedpi skseivvqfp csdrfkpsv
241 hsfgltpnyi vfvetpvkin lfkflsswsl wganymdcfe snetmgvwlh iadkkkrkyl
301 nnkyrtpfn lfhhintyed ngflivdlcc wkgfefvyny lylanlrenw eevkknarka
361 pqpevrryvl plnidkadtg knlvtlpntt atailcsdet iidlepevlfs gprqafefpq
421 inyqkycgkp ytyayglgln hfvpdrlckl nvktketwwq qepdsypsep ifvshpdale
481 eddgvvlsvv vspgaggkpa yllinakdl sevaraevi nipvtfhglf kks (서열번호 12)

```

도면13a

```

1 agcttggatc caatcaacctt ctggattaca aaatttgtga aagattgact ggtattctta
61 actatgttgc tccttttacg ctatgtggat acgctgcttt aatgcctttg tattcatgcta
121 ttgctcccg tatggctttc attttcttct cttgtataa atcctgttg ctgtctttt
181 atgaggagtt gtggcccggt gtcaggcaac gtggcgtgggt gtgcactgtg tttgctgacg
241 caaccccccac tgggtggggc attgccccca cctgtcagct ctttccggg actttcgctt
301 tccccctcccc tattgccacg gcggaaactca tcggccctg cttgtccccc tgcggacacg
361 gggctccggct gttggggcact gacaattccg tgggtttgtc gggaaagctg acgtcccttc
421 catggctgtc cgcctgtgtt gcccacccggg ttctgcggg gacgtccttc tgcgtacgtcc
481 cttcggccctt caatccagcg gacccctt cccggggctt gtcggccgtt ctgcggccctc
541 ttccggcttct tcgagatctg cctcgactgt gccttcttagt tgcaggccat ctgttgggg
601 cccctcccccgtgccttcct tgaccctggaa aggtggccact cccactgtcc tttcctaata
661 aaatgaggaa attgcatttcg attgtctgat taggtgtcat tctattctgg ggggtgggggt
721 ggggcaggac agcaaggggg aggattggga agacaatagc aggcattgtc gggactcgg
781 ttaaggcgaa attcccgatt aggatcttcc tagagcatgg ctacgttagat aagtagcatg
841 gcgggtaat cattaactac aagggaaaaacttggaa tagtgtatggaa gttggccact ccctctctgc
901 gcgctcgctc gctcaactggaa gcccggccgac caaagggtcgc cccacgggggg ggtttggcc
961 gggcggccctc agtgagcgag cgagcgcgcga gccttaatttta acctaatttca ctggccgtcg
1021 ttttacaacg tcgtgactgg gaaaacccctg gcgttacccca acttaatcgc ctgcagcac
1081 atccccctttt cgccttgcgtgg cgtatagcg aagaggcccg caccgatcgc ctttcccaac
1141 agttgcgcag cctgaatggc gaatgggacg cgcctgttag cggcgcatttta agcgcggccgg
1201 gtgtgggtgt tacgcgcagc gtgaccggctt cacttgcggcag cgccttagcg cccgcttctt
1261 tcgcttctt cccttcctt ctcgcacatgt tcggccggctt tccccgtcaa gctctaaatc
1321 gggggctccc tttaggggttc cgatttagt ctttacggca cctcgacccccc aaaaaacttg
1381 attaggggtga tgggttacatgtt gacgggtttt cgccttttgc
1441 cgctggagtt cacgttccctt aatagttggac tcttggatccaa aactggaaaca acactcaacc
1501 ctatctcggtt ctattttttt gatttataag ggattttcc gatttccggcc tattgggttaa
1561 aaaaatggact gatttataaca aaatttacg cgaattttaa caaaatatttta acgtttataaa
1621 tttcagggtgg catctttcgg ggaaatgtgc gggaaacccctt tatttgggttta tttttctaa
1681 tacattcaaa tatgtatccg ctcatgagac aataaccctg ataaatgtt caataatatt
1741 gaaaaaggaa gagttagttagt attcaacat tccgtgtcgc ctttattttcc ttttttgcgg
1801 cattttgcctt tcctgtttt gctcaccctg aaacgctgggt gaaagtaaaa gatgctgaag

```

도면13b

1861 atcagttggg tgcacgagtg ggttacatcg aactggatct caatagtgg aagatccttg
 1921 agagtttcg cccccgaagaa cgttttccaa tggatgagcac tttaaaagtt ctgtatgtg
 1981 ggcgcgtatt atcccgatt gacgccccggc aagagcaact cgggtccgc atacactatt
 2041 ctcagaatga cttgggttag tactcaccag tcacagaaaa gcatcttacg gatggcatga
 2101 cagtaagaga attatgcagt gctgcoataa ccatgagtga taacactgctg gccaacttac
 2161 ttctgacaac gatcgaggaga cccgaaggagc taaccgctt ttgcacaac atgggggatc
 2221 atgtaactcg ctttgcgtg tgggaaccgg agctgaatga agccatacca aacgacgagc
 2281 gtgacaccac gatgcctgtt gtaatggtaa caacgttgcg caaactatta actggcgaac
 2341 tacttactct agttcccg caacaattaa tagactggat ggaggcggat aaagttgcag
 2401 gaccacttct ggcgtccggc cttccggctg gctggttat tgctgataaaa tctggagccg
 2461 gtgagcgtgg gtctcggtt atcattgcag cactggggcc agatggtaag ccctcccgta
 2521 tcgttagttt ctacacgcac gggagtcagg caactatggta tgaacgaaat agacagatcg
 2581 ctgagatagg tgcctcactg attaagcatt ggttaactgtc agaccaagtt tactcatata
 2641 tacttttagat tgatttaaaa cttcattttt aatttaaaag gatcttaggtg aagatccctt
 2701 ttgataatct catgaccaaa atcccttaac gtgagtttc gttccactga gcgtcagacc
 2761 ccgtagaaaaa gatcaaaaggta tcttcttgag atcctttttt tctgcgcgtt atctgctgt
 2821 tgcaaacaaa aaaaccaccg ctaccagcgg tggtttgttt gccggatcaa gagctaccaa
 2881 ctcttttcc gaaggtaact ggcttcagca gagcgcagat accaaataact gtccttctag
 2941 tttttttttt gtttgcgtt gtttgcgtt gtttgcgtt gtttgcgtt gtttgcgtt
 3001 tgtaatctt gtttgcgtt gtttgcgtt gtttgcgtt gtttgcgtt gtttgcgtt
 3061 actcaagacg atagttaccg gataaggcgc agcggtcggg ctgaacgggg ggttcgtgca
 3121 cacagcccg ctggagcga acgaccatata cccaaactgag atacctacag cgtgagctat
 3181 gagaagcgc cacgcttccc gaagggagaa agggggacag gtatccggta agccggcaggg
 3241 tcggaaacagg agagcgcacg agggagctt caggggaaaa cgcctgttat ctttatagtc
 3301 ctgtcgggtt tggccaccc tggatgtt gtcgatgtt gtatgttgc tcaggggggg
 3361 ggagcctatg gaaaaacgccc agcaacgcgg ctttttacg gtttgcgtt gtttgcgtt
 3421 gtttgcgtt catgttctt cctgcgtt cccctgtt gtttgcgtt gtttgcgtt
 3481 cctttgcgtt agctgataacc gtcgcgcgc gccgaacgc acgacgcac ggttgcgtt
 3541 gcgaggaaagc ggaagagcgc ccaatacgca aaccgcctt cccgcgcgt tggccgattc
 3601 attaatgcag ctggcacgac aggtttcccg actggaaagc gggcagttag cgcacacgca
 3661 ttaatgttag ttagctcact cattaggcac cccaggctt acactttatg cttccggctc

도면13c

3721 gtatgttgc tggaaattgtg agcggataac aatttcacac agggaaacacg tattgaccatg
 3781 attacgcag attaaattaa ggctgcgcgc tcgctcgctc actgaggccg cccgggcaaa
 3841 gcccggcgt cgggcgacot tgggtcgccc ggctcagtg agcgagcgag cgccgagaga
 3901 gggagtggcc aactccatca cttagggggtc cttgttagtta atgattaacc cgccatgcta
 3961 cttatctacg tagccatgtc cttaggaagat cggaaattcgc ccttaagcta gcagatcttc
 4021 cccacccatgc cacctggcaa actgctccctt ctctcaaagg cccaaacatg qcctcccaaga
 4081 ctgcaacccc caggcagtca ggccctgtctt ccacaaacctc acagccaccc tggacggaat
 4141 ctgtttttcc ccacatgtga gtcctctca gcccctgago teectctggc agggctgttt
 4201 ctttccatct ttgttattccc aggggcctgc aaataaaatgt ttaatgaacg aacaagagag
 4261 tgaattccaa ttccatgcaa caaggattgg gtcctggc cctaggttat gtgtctggca
 4321 ccagaaacgg aagctgcagg ttgcagcccc tggccctcatg gagctctcc tgcagagga
 4381 gtgtggggac tggatgactc cagaggttac ttgtggggga acgaacaggt aagggggctgt
 4441 gtgacgagat gagagactgg gagaataaaac cagaaagtct cttagcttcc agaggacata
 4501 gcacagaggc ccatggtccc tatttccaaac ccaggccacc agactgagct gggaccttgg
 4561 gacagacaag teatgcagaa gtttagggac ctcttcctcc cttttcttgg atggatectg
 4621 agtaccccttcc ctcaggcttc ctcttagtgt caccttggcc cctcttagaa
 4681 gccaatttagg ccctcagttt ctgcagcggg gattaatatg attatgaaca ccccaatct
 4741 cccagatgtc gattcagcca ggagcttagg agggggaggt cactttataa gggcttgggg
 4801 gggtcagaac ccagagtcat cccctgaattt ctgcagatata ccatcacact ggccggccgc
 4861 ccaccatgtc acgcaagata gaaggctttt ttttattact tctcttggc tatgaagcca
 4921 cattgggatt atcgtctacc gaggatgaag gcgaggaccc ctggatccaa aaagcatgca
 4981 agtgcgattt ccaaggagga cccaatgtc tgggtctgc aggtgccacc tccttggact
 5041 gtataccaga atgcccatac cacaaggctc tgggtttcga gtcagggag gtacacaccgg
 5101 accagatcac ctgctctaaac ccggagcagt atgtgggctg gtattcttcg tggactgca
 5161 acaaggcccg gctcaacagttt caaggcttgc ggtgtgcctg gctctccaag ttccaggaca
 5221 gtagccagtg gttacagata gatctgaagg agatcaaagt gatttcaggg atccctaccc
 5281 aggggcgctg tgacatcgat gaggatgaa ccaagttacag cgtcagttac aggaccgtat
 5341 agcgcctgaa ctggatttac tacaaggacc agactggaaa caaccgggtc ttctatggca
 5401 actcggaccg cacctccacg gttcagaacc tgctgcggcc ccccatcatac tcccgcttca
 5461 tccgcctcat cccgctggc tggcacgtcc gcatgtccat ccggatggag ctgttggagt
 5521 gcgtcagcaa gtgtgcctga a (서열번호 18)

도면14

폐리폐린-2

1 mallkvkfdq kkrvklaqgl wlmnwfsvla giiifslglf lkielkrksd vmnnseshfv
 61 pnsligmgv1 scvfnslagk icydaldpk yarwkpwlkp ylaicvlfn1 ilflvalccf
 121 llrgslen1l gqglknmgky yrddtpgrc fmkktdm1q iefkccgnng frdwfeiqwi
 181 snryldfssk evkdriksnv dgrylvdgvp fsccnppsspr pciqyqitnn sahysydhqt
 241 eelnlwvrgc raallsyss lmnsmgvv1 liwlfevit igrlylqts1 dgvsnpeese
 301 sesqgwller svpetwkaf1 esvkklgkgn qveaegadag qapeag (서열번호 19)

도면15

폐리폐린

1 mshhpsglra gfsstsyrrt fgpppslspg afsyssssrf sssrllgsas psssvrlgsf
 61 rspragagal lrlpser1df smaealnqef latrsnekqe lqelndrfan fiekvrfleq
 121 qnaalrgels qargqepara dqlcqqlre lrrelellgr erdrvqverd glaedlaalk
 181 qrleeeetrkr edaehnlvlf rkdvddatls rlelerkies lmdeief1kk lheee1rd1q
 241 vsvesqqvqq veveatvkpe ltaalrdira qyesiaaknl qeaeewyksk yadlsdaanr
 301 nhealrqakq emnesrrqiq sltcevdg1r gtneallrql releeqfale aggyqagaar
 361 leeelrqlke emarhlreyq ellnvkmald ieiatyrl1 egeesrisvp vhsfaslnik
 421 ttvpeveppq dshsrktvli ktietrngev vtesqkeqrs eldkssahsy (서열번호 20)

도면16

RPGR- 상호작용 단백질-1

```

1 mshlvdpstg dlpvrdidai plvlpaskgk nmktqpplsr mnreeledsf frlredhmlv
61 kelswkqqde ikrlrttllr ltaagrdlrv aeeeaplset arrgqkagwr qrlsmhqrpq
121 mhrlqghfhc vgpasprraq prvqvghrql httagapvpek pkrgprdrils ytappsfkeh
181 atnenrgeva skpselvsgs nsisfssvi smakpiglcm pnsahimasn tmqveeppks
241 pekmwpkden peqrssleca qkaelrasl kekvelirlk kllhernasl vmtkaqltev
301 qeayetllqk nqgilsaahe allkqvneler aelkeeskka vslksqledv silqmtlcef
361 qervedleke rklldndydk llesmldssd sssqphwsne liaeqlqqqv sqlqdqldae
421 ledkrkvllle lsrekaqned lklevtnilq khkqevellq naatisqppd rqsepathpa
481 vlqgentqiep sepkngeekk lsqylnelqv shaettlele ktrdmilqr kinvcyqeel
541 eammtkadnd nrhdkekler ltrlldlknn rikqlegilr shdlptseql kdvaygtrpl
601 sicletlpah gdedkvdisl lhqgenlfel hihqafitsa alaqagdtqp ttfctysfyd
661 fethctplsv gpqplydfts qyvmetdlsf lhylqeasar ldihqamase hstlaagwic
721 fdrvletvek vhglatliga ggeefgvley wmrllrfpikp slqacnkrkk aqyvilstdvl
781 grkaqeeef rseswepqne lwieitkccg lrsrwlgtqp spyavryfft fsdhdtaip
841 asnnpyfrdq arfpvlvtsd ldyhylreal sihvfddedl epgsylgrar vpliplakne
901 sikgdfnltd paekpngsiq vqlwdkfpyp i ppesflkpea qtkgkdtkds skisseeeka
961 sfpsqdqmas pevpieagqy rskrkpphgg erkekehqvv sysrrkhgkr igtvqgknrme
1021 ylslnilngn tpeqvnnytew kfsetnsfig dgfklnqheee emtlshsalk qkeplhpvnd
1081 kesseqgsev seaqtdsdd vivppmsqky pkadsekmc eivsلاف aevmsdenik
1141 qvyveykfyd lplsetetpv slrkpragee ihfhfskvid ldpqeqqgrr rflfdmlngq
1201 dpdqghlkft vvsdpldeek keceevgyay lqlwqilesq rdileqeldi vspedlatpi
1261 grlkvslqaa avlhaiykm tedlfs (서열번호 21)

```

도면17a

AAV1	--TSYTFEEVPFHSSYAHQSQSLDRLMNPLIDQYLYYLNRTO-NQS	GSAQNKDLLFSRGS	467
AAV6	--TSYTFEDVPFHSSYAHQSQSLDRLMNPLIDQYLYYLNRTO-NQS	GSAQNKDLLFSRGS	467
AAV3	--FSYTFEDVPFHSSYAHQSQSLDRLMNPLIDQYLYYLNRTO-NQS	GTTNQSRLLFSQAG	467
AAV2	--FSYTFEDVPFHSSYAHQSQSLDRLMNPLIDQYLYYLNRTO-NQS	GTTTQSRLQFSQAG	466
AAV8	NFQFTYTFEDVPFHSSYAHQSQSLDRLMNPLIDQYLYYLNRTO-NQS	GTTANTQTLGFSQGG	469
AAV8.1	NFQFTYTFEDVPFHSSYAHQSQSLDRLMNPLIDQYLYYLNRTO-NQS	GTTANTQTLGFSQGG	469
AAV8 rh8	FQFSYTFEDVPFHSSYAHQSQSLDRLMNPLIDQYLYYLNRTO-NQS	GTTQGTQQLLFSQAG	469
AAV10	NFEFSYTFEDVPFHSSYAHQSQSLDRLMNPLIDQYLYYLNRTO-NQS	GTTQGTQQLLFSQAG	469
AAV7	-FEFSYTFEDVPFHSSYAHQSQSLDRLMNPLIDQYLYYLNRTO-NQS	GTTAGNRELQFYQGG	469
AAV9	-FQFSYEFENVVPFHSSYAHQSQSLDRLMNPLIDQYLYYLNRTO-NQS	GSGQNQQTLKFSVAG	467
AAV9.1	-FQFSYEFENVVPFHSSYAHQSQSLDRLMNPLIDQYLYYLNRTO-NQS	GSGQNQQTLKFSVAG	467
AAV5	NFEFTYNFEEVPFHSSFAPSQNLFKLANPLVDQYLYRFVSTN-----	NTGGVQFNKNL	453
*: * * : * * * : * * . : * * * : * * : * :			
AAV1	PAGMSVQPKNWLPGPCYRQQRVSKT	KTDNNNSNFTWTGASKYNLNGRESI	INPGTAMASH 527
AAV6	PAGMSVQPKNWLPGPCYRQQRVSKT	KTDNNNSNFTWTGASKYNLNGRESI	INPGTAMASH 527
AAV3	PQMSLQARNWLPGPCYRQQRVSKT	TANDNNNSNFPWTAASKYHNGRDSL	VNPAGPAMASH 527
AAV2	ASDIRDQSRNWLPGPCYRQQRVSKT	TSADNNNSNFPWTAASKYHNGRDSL	VNPAGPAMASH 526
AAV8	PNTMANQAKNWLPGPCYRQQRVSKT	STTTGQNNNSNFAWTAGTKYHNGRNSLANPGIATH	529
AAV8.1	PNTMANQAKNWLPGPCYRQQRVSKT	STTTGQNNNSNFAWTAGTKYHNGRNSLANPGIATH	529
AAV8 rh8	S--MANQARNWVPGPCYRQQRVSKT	TTTNQNNNSNFAWTAGTKYHNGRNSLANPGIATH	527
AAV10	PANMSAQAKNWLPGPCYRQQRVSKT	TTTNQNNNSNFAWTAGTKYHNGRNSLANPGIATH	529
AAV7	PSTMAEQAKNWLPGPCFRQQRVSKT	LDQNNNSNFAWTAGTKYHNGRNSLANPGIATH	529
AAV9	PSNMAVQGRNYIPGPSYRQQRVSSTTV	TQNNNSNFAWTAGTKYHNGRNSLANPGIATH	527
AAV9.1	PSNMAVQGRNYIPGPSYRQQRVSSTTV	TQNNNSNFAWTAGTKYHNGRNSLANPGIATH	527
AAV5	AGRYANTYKNWFPGPMRTQGWNLGSGVNRASVSAFATTNRMELEGASYQVPPQPNGMTN		513
* : * : * * * * . * . * : * . * : * . * : * :			

도면 17b

도면 17c

AAV1	PQILIK-	650	(서열번호	22)
AAV6	PQILIK-	650	(서열번호	23)
AAV3	PQIMIK-	650	(서열번호	24)
AAV2	PQILIKN	650	(서열번호	25)
AAV8	PQILIKN	653	(서열번호	26)
AAV8.1	PQILIKN	653	(서열번호	27)
AAV8 rh8	PQILIKN	651	(서열번호	28)
AAV10	PQILIKN	653	(서열번호	29)
AAV7	PQILIKN	652	(서열번호	30)
AAV9	PQILIK-	650	(서열번호	31)
AAV9.1	PQILIK-	650	(서열번호	32)
AAV5	PMMLIKN	640	(서열번호	33)

도면 18a

AAV1	--TSYTFEEVFPFHSSYAHQSLSRDLMNPLIDQYLYYLNRTO-NQS <u>GSAQN</u> KDLLFSRGS	467
AAV6	--TSYTFEDVFPFHSSYAHQSLSRDLMNPLIDQYLYYLNRTO-NQS <u>GSAQN</u> KDLLFSRGS	467
AAV3	---FSYTFEDVFPFHSSYAHQSLSRDLMNPLIDQYLYYLNRTO-QGTTSGTTNQSRLLFSQAG	467
AAV2	---FSYTFEDVFPFHSSYAHQSLSRDLMNPLIDQYLYYLRSRTN-TPSGTTTQSRLQFSQAG	466
AAV8	NFQFTYTFEDVFPFHSSYAHQSLSRDLMNPLIDQYLYYLRSRTQTT-GGTANTQTLGFSQGG	469
AAV8.1	NFQFTYTFEDVFPFHSSYAHQSLSRDLMNPLIDQYLYYLRSRTQTT-GGTANTQTLGFSQGG	469
AAV8 rh8	FQFSYTFEDVFPFHSSYAHQSLSRDLMNPLIDQYLYYLVRRTQTTGTTQTLAFSQAGPS	469
AAV10	NFEEFSYTFEDVFPFHSSYAHQSLSRDLMNPLIDQYLYYLRSRTQST-GGTQGTQQLLFSQAG	469
AAV7	-FEFSYSFEDVFPFHSSYAHQSLSRDLMNPLIDQYLYYLARTQSNPGTAGNRELQFYQGG	469
AAV9	-FQFSYEFENVFPFHSSYAHQSLSRDLMNPLIDQYLYYLRSKTI--NG <u>S</u> QNQQT _L KFSVAG	467
AAV9.1	-FQFSYEFENVFPFHSSYAHQSLSRDLMNPLIDQYLYYLRSKTI--NG <u>S</u> QNQQT _L KFSVAG	467
AAV5	NFEFTYNFEEVFPFHSSFAPSQNLFKLANPLVDQYLYRFVSTN-----NTGGVQFNKNL	453

AAV1	PAGMSVQPKNWLPGPCYRQQRVS _K T _K T _D NNNSNFTWTGASKYNLNGRESIINPGTAMASH	527
AAV6	PAGMSVQPKNWLPGPCYRQQRVS _K T _K T _D NNNSNFTWTGASKYNLNGRESIINPGTAMASH	527
AAV3	PQMSLQARNWLPGPCYRQQR _L SKT _A NNNSNFPWTA _A SKYH _L NGRDS _L VNP _P GA _M ASH	527
AAV2	ASDIRDQS _R NWLPGPCYRQQR _V SKTSADNNN _S EYSW _T GAT _K YH _L NGRDS _L VNP _P GA _M ASH	526
AAV8	PNTMANQAKNWLPGPCYRQQR _V ST _T TG _Q NNNSNFAWTAG _T KYH _L NGRNS _L ANPGIA _M ATH	529
AAV8.1	PNTMANQAKNWLPGPCYRQQR _V ST _T TG _Q NNNSNFAWTAG _T KYH _L NGRNS _L ANPGIA _M ATH	529
AAV8 rh8	S--MANQARNWVPGPCYRQQR _V ST _T TG _Q NNNSNFAWTGA _K FKLNGRDS _L MNPGVAMASH	527
AAV10	PANMSAQAKNWLPGPCYRQQR _V ST _T TG _Q NNNSNFAWTGA _K YH _L NGRDS _L VNP _P GA _M ASH	529
AAV7	PSTMAEQAKNWLPGPCFRQQR _V SKTLDQ _N NNNSNFAWTGAT _K YH _L NGRNS _L VNP _P GA _M ATH	529
AAV9	PSNMAVQGRNYI _P GP _S YRQQR _V ST _T TG _Q NNNS _E FAWP _G ASS _W ALNGRNS _L MNPGPAMASH	527
AAV9.1	PSNMAVQGRNYI _P GP _S YRQQR _V ST _T TG _Q NNNS _E FAWP _G ASS _W ALNGRNS _L MNPGPAMASH	527
AAV5	AGRYANTYKNWFPGP _M GR _T QGWNLGS _V NRA _S FA _T NR _M ELEGAS _Y QVPPQPNGMTN	513

도면 18b

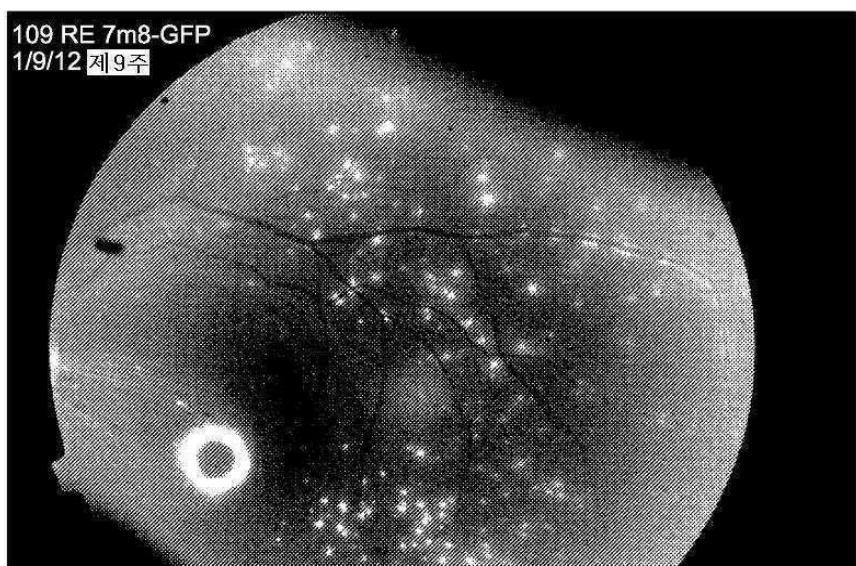
AAV1	KDDEDKFFPMGVMIFGK--ESAGASNTALD-NV _M ITDEEEIKATNPVATERFGTVAVNF	584
AAV6	KDDKDKFFPMGVMIFGK--ESAGASNTALD-NV _M ITDEEEIKATNPVATERFGTVAVNL	584
AAV3	KDDEEKKFFPMHGNLIFGK--EGTTASNAELD-NV _M ITDEEEIRTTNPVATEQYGTVANNL	584
AAV2	KDDEEKKFFPMHGNLIFGK--QGSEKTNVDIE-KV _M ITDEEEIRTTNPVATEQYGSVSTNL	583
AAV8	KDDEERFFPSNGILIFGK--QNAARDNADYS-DVMLTSEEEIKTTNPVATEEYGIVADNL	586
AAV8.1	KDDEERFFPSNGILIFGK--QNAARDNADYS-DVMLTSEEEIKTTNPVATEEYGIVADNL	586
AAV8 rh8	KDDDRFFPSNGILIFGK--QGAGNDGV _D YS-QVLITDEEEIKATNPVATEEYGA _V AINN	584
AAV10	KDDEERFFPSNGILIFGK--QGAGRD _N VD _D YS-SVMLTSEEEIKTTNPVATEQYGVVADNL	586
AAV7	KDDEDRFFPS _S SGVLIFGK--TGAT-NKTTLE-NVLM _T NEEEIRPTNPVATEEYGIVSSNL	585
AAV9	KEGEDRFFPS _S SGVLIFGK--QGTGRDN _V D _D AD-KV _M ITNEEEIKTTNPVATESYGVATNH	584
AAV9.1	KEGEDRFFPS _S SGVLIFGK--QGTGRDN _V D _D AD-KV _M ITNEEEIKTTNPVATESYGVATNH	584
AAV5	NLQGSNTYALENTMIFNSQPANPGTTATYLEGNMLITSESETQPVNRVAYNVGGQMATNN	573

AAV1	QSSST <u>DIALGETTRPA</u> ATGDVH _M AGALPGMVWQDRDVY _L Q _G PIWAKI _P HTDGHFHP _S PLMGGFGLKNPP	
AAV6	QSSST <u>DIALGETTRPA</u> ATGDVH _M AGALPGMVWQDRDVY _L Q _G PIWAKI _P HTDGHFHP _S PLMGGFGLKHPP	
AAV3	QSSNTAP _T GT _V NHQ _G ALPGMVWQDRDVY _L Q _G PIWAKI _P HTDGHFHP _S PLMGGFGLKHPP	644
AAV2	QRG <u>NLALGETTRPAR</u> QAATAD _V N _T Q _G V _L PGMVWQ _N RD _V _L Q _G PIWAKI _P HTDGHFHP _S PLMGGFGLKHPP	
AAV8	QQQ <u>NLALGETTRPA</u> TA _Q IG _T V _N SQ _G ALPGMVWQ _N RD _V _L Q _G PIWAKI _P HTDGHFHP _S PLMGGFGLKHPP	
AAV8.1	QGQR <u>GLGETTRPA</u> QAQ _I GT _V N _S Q _G ALPGMVWQ _N RD _V _L Q _G PIWAKI _P HTDGNFHP _S PLMGGFGLKHPP	
AAV8 rh8	QAAN <u>NLALGETTRPA</u> TAQ _T GT _G LV _H Q _G VI _P GMVWQ _N RD _V _L Q _G PIWAKI _P HTDGNFHP _S PLMGGFGLKHPP	
AAV10	Q <u>QALGETTRPA</u> AT _G IV _V N _S Q _G ALPGMVWQ _N RD _V _L Q _G PIWAKI _P HTDGNFHP _S PLMGGFGLKHPP	
AAV7	QAAN <u>NLALGETTRPA</u> TAQ _T Q _V V _N N _S Q _G ALPGMVWQ _N RD _V _L Q _G PIWAKI _P HTDGNFHP _S PLMGGFGLKHPP	
AAV9	QSA <u>QALGETTRPA</u> QAQ _T GW _V Q _N Q _G ILPGMVWQ _D RD _V _L Q _G PIWAKI _P HTDGNFHP _S PLMGGFGLKHPP	
AAV9.1	QSG <u>QALGETTRPA</u> QAATGW _V Q _N Q _G ILPGMVWQ _D RD _V _L Q _G PIWAKI _P HTDGNFHP _S PLMGGFGLKHPP	
AAV5	<u>QSLALGETTRPAS</u> TTA _P AT _G T _Y N _L Q _E I _V PG _S V _W ERD _V _L Q _G PIWAKI _P ETGA _H FHP _S PLMGGFGLKHPP	

도면18c

AAV1	PQILIK-	(서열번호	34)
AAV6	PQILIK-	(서열번호	35)
AAV3	PQIMIK-	(서열번호	24)
AAV2	PQILIKN	(서열번호	36)
AAV8	PQILIKN	(서열번호	37)
AAV8.1	PQILIKN	(서열번호	38)
AAV8 rh8	PQILIKN	(서열번호	39)
AAV10	PQILIKN	(서열번호	40)
AAV7	PQILIKN	(서열번호	41)
AAV9	PQILIK-	(서열번호	42)
AAV9.1	PQILIK-	(서열번호	43)
AAV5	PMMLIKN	(서열번호	44)

도면19



서 열 목 록

SEQUENCE LISTING

<110> THE REGENTS OF THE UNIVERSITY OF CALIFORNIA

<120> Adeno-Associated Virus Virions with Variant Capsid and Methods of
Use Thereof

<130> WO/2012/145601

<140> PCT/US2012/034413

<141> 2012-04-20

<150> 61/478,355

<151> 2011-04-22

<160> 64

<170> PatentIn version 2.0

<210> 1

<211> 733

<212> PRT

<213> Adeno-associated virus-2

<400> 1

Met Ala Ala Asp Gly Tyr Leu Pro Asp Trp Leu Glu Asp Thr Leu Ser

1 5 10 15

Glu Gly Ile Arg Gln Trp Trp Lys Leu Lys Pro Gly Pro Pro Pro

20 25 30

Lys Pro Ala Glu Arg His Lys Asp Asp Ser Arg Gly Leu Val Leu Pro

35 40 45

Gly Tyr Lys Tyr Leu Gly Pro Phe Asn Gly Leu Asp Lys Gly Glu Pro

50 55 60

Val Asn Glu Ala Asp Ala Ala Leu Glu His Asp Lys Ala Tyr Asp

65 70 75 80

Arg Gln Leu Asp Ser Gly Asp Asn Pro Tyr Leu Lys Tyr Asn His Ala

85 90 95

Asp Ala Glu Phe Gln Glu Arg Leu Lys Glu Asp Thr Ser Phe Gly Gly

100 105 110

Asn Leu Gly Arg Ala Val Phe Gln Ala Lys Lys Arg Val Leu Glu Pro

115 120 125

Leu Gly Leu Val Glu Glu Pro Val Lys Thr Ala Pro Gly Lys Lys Arg

130 135 140

Pro Val Glu His Ser Pro Val Glu Pro Asp Ser Ser Ser Gly Thr Gly

145 150 155 160

Lys Ala Gly Gln Gln Pro Ala Arg Lys Arg Leu Asn Phe Gly Gln Thr

165 170 175

Gly Asp Ala Asp Ser Val Pro Asp Pro Gln Pro Leu Gly Gln Pro Pro

180 185 190

Ala Ala Pro Ser Gly Leu Gly Thr Asn Thr Met Ala Thr Gly Ser Gly

195 200 205

Ala Pro Met Ala Asp Asn Asn Glu Gly Ala Asp Gly Val Gly Asn Ser
 210 215 220
 Ser Gly Asn Trp His Cys Asp Ser Thr Trp Met Gly Asp Arg Val Ile
 225 230 235 240
 Thr Thr Ser Thr Arg Thr Trp Ala Leu Pro Thr Tyr Asn Asn His Leu
 245 250 255
 Tyr Lys Gln Ile Ser Ser Gln Ser Gly Ala Ser Asn Asp Asn His Tyr
 260 265 270

Phe Gly Tyr Ser Thr Pro Trp Gly Tyr Phe Asp Phe Asn Arg Phe His
 275 280 285
 Cys His Phe Ser Pro Arg Asp Trp Gln Arg Leu Ile Asn Asn Asn Trp
 290 295 300
 Gly Phe Arg Pro Lys Arg Leu Asn Phe Lys Leu Phe Asn Ile Gln Val
 305 310 315 320
 Lys Glu Val Thr Gln Asn Asp Gly Thr Thr Ile Ala Asn Asn Leu
 325 330 335

Thr Ser Thr Val Gln Val Phe Thr Asp Ser Glu Tyr Gln Leu Pro Tyr
 340 345 350
 Val Leu Gly Ser Ala His Gln Gly Cys Leu Pro Pro Phe Pro Ala Asp
 355 360 365
 Val Phe Met Val Pro Gln Tyr Gly Tyr Leu Thr Leu Asn Asn Gly Ser
 370 375 380
 Gln Ala Val Gly Arg Ser Ser Phe Tyr Cys Leu Glu Tyr Phe Pro Ser
 385 390 395 400

Gln Met Leu Arg Thr Gly Asn Asn Phe Thr Phe Ser Tyr Thr Phe Glu
 405 410 415
 Asp Val Pro Phe His Ser Ser Tyr Ala His Ser Gln Ser Leu Asp Arg
 420 425 430
 Leu Met Asn Pro Leu Ile Asp Gln Tyr Leu Tyr Tyr Leu Ser Arg Thr
 435 440 445
 Asn Thr Pro Ser Gly Thr Thr Gln Ser Arg Leu Gln Phe Ser Gln

450	455	460
Ala Gly Ala Ser Asp Ile Arg Asp Gln Ser Arg Asn Trp Leu Pro Gly		
465	470	475
Pro Cys Tyr Arg Gln Gln Arg Val Ser Lys Thr Ser Ala Asp Asn Asn		
485	490	495
Asn Ser Glu Tyr Ser Trp Thr Gly Ala Thr Lys Tyr His Leu Asn Gly		
500	505	510
Arg Asp Ser Leu Val Asn Pro Gly Pro Ala Met Ala Ser His Lys Asp		
515	520	525
Asp Glu Glu Lys Phe Phe Pro Gln Ser Gly Val Leu Ile Phe Gly Lys		
530	535	540
Gln Gly Ser Glu Lys Thr Asn Val Asp Ile Glu Lys Val Met Ile Thr		
545	550	555
560		
Asp Glu Glu Glu Ile Arg Thr Thr Asn Pro Val Ala Thr Glu Gln Tyr		
565	570	575
Gly Ser Val Ser Thr Asn Leu Gln Arg Gly Asn Arg Gln Ala Ala Thr		
580	585	590
Ala Asp Val Asn Thr Gln Gly Val Leu Pro Gly Met Val Trp Gln Asp		
595	600	605
Arg Asp Val Tyr Leu Gln Gly Pro Ile Trp Ala Lys Ile Pro His Thr		
610	615	620
Asp Gly His Phe His Pro Ser Pro Leu Met Gly Gly Phe Gly Leu Lys		
625	630	635
640		
His Pro Pro Pro Gln Ile Leu Ile Lys Asn Thr Pro Val Pro Ala Asn		
645	650	655
Pro Ser Thr Thr Phe Ser Ala Ala Lys Phe Ala Ser Phe Ile Thr Gln		
660	665	670
Tyr Ser Thr Gly Gln Val Ser Val Glu Ile Glu Trp Glu Leu Gln Lys		
675	680	685
Glu Asn Ser Lys Arg Trp Asn Pro Glu Ile Gln Tyr Thr Ser Asn Tyr		
690	695	700

Asn Lys Ser Val Asn Val Asp Phe Thr Val Asp Thr Asn Gly Val Tyr
 705 710 715 720

Ser Glu Pro Arg Pro Ile Gly Thr Arg Tyr Leu Thr Arg
 725 730

<210> 2
 <211> 42
 <212> PRT
 <213> Adeno-associated virus-2
 <400> 2

Pro Val Ala Thr Glu Gln Tyr Gly Ser Val Ser Thr Asn Leu Gln Arg
 1 5 10 15
 Gly Asn Arg Gln Ala Ala Thr Ala Asp Val Asn Thr Gln Gly Val Leu
 20 25 30
 Pro Gly Met Val Trp Gln Asp Arg Asp Val
 35 40

<210> 3
 <211> 42
 <212> PRT
 <213> Adeno-associated virus-AAV-1
 <400> 3

Pro Val Ala Thr Glu Arg Phe Gly Thr Val Ala Val Asn Phe Gln Ser
 1 5 10 15
 Ser Ser Thr Asp Pro Ala Thr Gly Asp Val His Ala Met Gly Ala Leu
 20 25 30

Pro Gly Met Val Trp Gln Asp Arg Asp Val
 35 40
 <210> 4
 <211> 42
 <212> PRT
 <213> Adeno-associated virus-5
 <400> 4

Arg Val Ala Tyr Asn Val Gly Gly Gln Met Ala Thr Asn Asn Gln Ser

1 5 10 15
 Ser Thr Thr Ala Pro Ala Thr Gly Thr Tyr Asn Leu Gln Glu Ile Val

20 25 30
 Pro Gly Ser Val Trp Met Glu Arg Asp Val
 35 40

<210> 5

<211> 42

<212> PRT

<213> Adeno-associated virus-AAV-6

<400> 5

Pro Val Ala Thr Glu Arg Phe Gly Thr Val Ala Val Asn Leu Gln Ser

1 5 10 15

Ser Ser Thr Asp Pro Ala Thr Gly Asp Val His Val Met Gly Ala Leu
 20 25 30

Pro Gly Met Val Trp Gln Asp Arg Asp Val

35 40

<210> 6

<211> 42

<212> PRT

<213> Adeno-associated virus-AAV-

<400> 6

Pro Val Ala Thr Glu Glu Tyr Gly Ile Val Ser Ser Asn Leu Gln Ala

1 5 10 15

Ala Asn Thr Ala Ala Gln Thr Gln Val Val Asn Asn Gln Gly Ala Leu

20 25 30

Pro Gly Met Val Trp Gln Asn Arg Asp Val

35 40

<210> 7

<211> 42

<212> PRT

<213> Adeno-associated virus-AAV-8

<400> 7

Pro Val Ala Thr Glu Glu Tyr Gly Ile Val Ala Asp Asn Leu Gln Gln

1	5	10	15
Gln Asn Thr Ala Pro Gln Ile Gly Thr Val Asn Ser Gln Gly Ala Leu			
20	25	30	
Pro Gly Met Val Trp Gln Asn Arg Asp Val			
35	40		

<210> 8			
<211> 42			
<212> PRT			
<213> Adeno-associated virus-AAV-9			
<400> 8			
Pro Val Ala Thr Glu Ser Tyr Gly Gln Val Ala Thr Asn His Gln Ser			
1	5	10	15
Ala Gln Ala Gln Ala Gln Thr Gly Trp Val Gln Asn Gln Gly Ile Leu			
20	25	30	
Pro Gly Met Val Trp Gln Asp Arg Asp Val			

35	40		
<210> 9			
<211> 42			
<212> PRT			
<213> Adeno-associated virus-AAV-10			
<400>			
> 9			

Pro Val Ala Thr Glu Gln Tyr Gly Val Val Ala Asp Asn Leu Gln Gln			
1	5	10	15
Ala Asn Thr Gly Pro Ile Val Gly Asn Val Asn Ser Gln Gly Ala Leu			
20	25	30	
Pro Gly Met Val Trp Gln Asn Arg Asp Val			

35	40		
<210> 10			
<211> 224			
<212> PRT			
<213> Homo sapiens			
<400> 10			
Met Ser Arg Lys Ile Glu Gly Phe Leu Leu Leu Leu Phe Gly Tyr			

1	5	10	15
Glu Ala Thr Leu Gly Leu Ser Ser Thr Glu Asp Glu Gly Glu Asp Pro			
20	25	30	
Trp Tyr Gln Lys Ala Cys Lys Cys Asp Cys Gln Gly Gly Pro Asn Ala			
35	40	45	
Leu Trp Ser Ala Gly Ala Thr Ser Leu Asp Cys Ile Pro Glu Cys Pro			
50	55	60	
Tyr His Lys Pro Leu Gly Phe Glu Ser Gly Glu Val Thr Pro Asp Gln			
65	70	75	80
Ile Thr Cys Ser Asn Pro Glu Gln Tyr Val Gly Trp Tyr Ser Ser Trp			
85	90	95	
Thr Ala Asn Lys Ala Arg Leu Asn Ser Gln Gly Phe Gly Cys Ala Trp			
100	105	110	
Leu Ser Lys Phe Gln Asp Ser Ser Gln Trp Leu Gln Ile Asp Leu Lys			
115	120	125	
Glu Ile Lys Val Ile Ser Gly Ile Leu Thr Gln Gly Arg Cys Asp Ile			
130	135	140	
Asp Glu Trp Met Thr Lys Tyr Ser Val Gln Tyr Arg Thr Asp Glu Arg			
145	150	155	160
Leu Asn Trp Ile Tyr Tyr Lys Asp Gln Thr Gly Asn Asn Arg Val Phe			
165	170	175	
Tyr Gly Asn Ser Asp Arg Thr Ser Thr Val Gln Asn Leu Leu Arg Pro			
180	185	190	
Pro Ile Ile Ser Arg Phe Ile Arg Leu Ile Pro Leu Gly Trp His Val			
195	200	205	
Arg Ile Ala Ile Arg Met Glu Leu Leu Glu Cys Val Ser Lys Cys Ala			
210	215	220	
<210> 11			
<211> 247			
<212> PRT			
<213> Homo sapiens			

<400> 11

Met Thr Ile Leu Phe Leu Thr Met Val Ile Ser Tyr Phe Gly Cys Met
 1 5 10 15

Lys Ala Ala Pro Met Lys Glu Ala Asn Ile Arg Gly Gln Gly Gly Leu
 20 25 30

Ala Tyr Pro Gly Val Arg Thr His Gly Thr Leu Glu Ser Val Asn Gly
 35 40 45

Pro Lys Ala Gly Ser Arg Gly Leu Thr Ser Leu Ala Asp Thr Phe Glu
 50 55 60

His Val Ile Glu Glu Leu Leu Asp Glu Asp His Lys Val Arg Pro Asn
 65 70 75 80

Glu Glu Asn Asn Lys Asp Ala Asp Leu Tyr Thr Ser Arg Val Met Leu
 85 90 95

Ser Ser Gln Val Pro Leu Glu Pro Pro Leu Leu Phe Leu Leu Glu Glu
 100 105 110

Tyr Lys Asn Tyr Leu Asp Ala Ala Asn Met Ser Met Met Val Leu Arg
 115 120 125

His Ser Asp Pro Ala Arg Arg Gly Glu Leu Ser Val Cys Asp Ser Ile
 130 135 140

Ser Glu Trp Val Thr Ala Ala Asp Lys Lys Thr Ala Val Asp Met Ser
 145 150 155 160

Gly Gly Thr Val Thr Val Leu Glu Lys Val Pro Val Ser Lys Gly Gln
 165 170 175

Leu Lys Gln Tyr Phe Tyr Glu Thr Lys Cys Asn Pro Met Gly Tyr Thr
 180 185 190

Lys Glu Gly Cys Arg Gly Ile Asp Lys Arg His Trp Asn Ser Gln Cys
 195 200 205

Arg Thr Thr Gln Ser Tyr Val Arg Ala Leu Thr Met Asp Ser Lys Lys
 210 215 220

Arg Ile Gly Trp Arg Phe Ile Arg Ile Asp Thr Ser Cys Val Cys Thr
 225 230 235 240

Leu Thr Ile Lys Arg Gly Arg

245

<210> 12

<211> 533

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 12

Met Ser Ile Gln Val Glu His Pro Ala Gly Gly Tyr Lys Leu Phe

1 5 10 15

Glu Thr Val Glu Glu Leu Ser Ser Pro Leu Thr Ala His Val Thr Gly

20 25 30

Arg Ile Pro Leu Trp Leu Thr Gly Ser Leu Leu Arg Cys Gly Pro Gly

35 40 45

Leu Phe Glu Val Gly Ser Glu Pro Phe Tyr His Leu Phe Asp Gly Gln

50 55 60

Ala Leu Leu His Lys Phe Asp Phe Lys Glu Gly His Val Thr Tyr His

65 70 75 80

Arg Arg Phe Ile Arg Thr Asp Ala Tyr Val Arg Ala Met Thr Glu Lys

85 90 95

Arg Ile Val Ile Thr Glu Phe Gly Thr Cys Ala Phe Pro Asp Pro Cys

100 105 110

Lys Asn Ile Phe Ser Arg Phe Phe Ser Tyr Phe Arg Gly Val Glu Val

115 120 125

Thr Asp Asn Ala Leu Val Asn Val Tyr Pro Val Gly Glu Asp Tyr Tyr

130 135 140

Ala Cys Thr Glu Thr Asn Phe Ile Thr Lys Ile Asn Pro Glu Thr Leu

145 150 155 160

Glu Thr Ile Lys Gln Val Asp Leu Cys Asn Tyr Val Ser Val Asn Gly

165 170 175

Ala Thr Ala His Pro His Ile Glu Asn Asp Gly Thr Val Tyr Asn Ile

180 185 190

Gly Asn Cys Phe Gly Lys Asn Phe Ser Ile Ala Tyr Asn Ile Val Lys

195	200	205
Ile Pro Pro Leu Gln Ala Asp Lys Glu Asp Pro Ile Ser Lys Ser Glu		
210	215	220
Ile Val Val Gln Phe Pro Cys Ser Asp Arg Phe Lys Pro Ser Tyr Val		
225	230	235
His Ser Phe Gly Leu Thr Pro Asn Tyr Ile Val Phe Val Glu Thr Pro		
245	250	255
Val Lys Ile Asn Leu Phe Lys Phe Leu Ser Ser Trp Ser Leu Trp Gly		
260	265	270
Ala Asn Tyr Met Asp Cys Phe Glu Ser Asn Glu Thr Met Gly Val Trp		
275	280	285
Leu His Ile Ala Asp Lys Arg Lys Tyr Leu Asn Asn Lys Tyr		
290	295	300
Arg Thr Ser Pro Phe Asn Leu Phe His His Ile Asn Thr Tyr Glu Asp		
305	310	315
Asn Gly Phe Leu Ile Val Asp Leu Cys Cys Trp Lys Gly Phe Glu Phe		
325	330	335
Val Tyr Asn Tyr Leu Tyr Leu Ala Asn Leu Arg Glu Asn Trp Glu Glu		
340	345	350
Val Lys Lys Asn Ala Arg Lys Ala Pro Gln Pro Glu Val Arg Arg Tyr		
355	360	365
Val Leu Pro Leu Asn Ile Asp Lys Ala Asp Thr Gly Lys Asn Leu Val		
370	375	380
Thr Leu Pro Asn Thr Thr Ala Thr Ala Ile Leu Cys Ser Asp Glu Thr		
385	390	395
Ile Trp Leu Glu Pro Glu Val Leu Phe Ser Gly Pro Arg Gln Ala Phe		
405	410	415
Glu Phe Pro Gln Ile Asn Tyr Gln Lys Tyr Cys Gly Lys Pro Tyr Thr		
420	425	430
Tyr Ala Tyr Gly Leu Gly Leu Asn His Phe Val Pro Asp Arg Leu Cys		
435	440	445

Lys Leu Asn Val Lys Thr Lys Glu Thr Trp Val Trp Gln Glu Pro Asp

450 455 460

Ser Tyr Pro Ser Glu Pro Ile Phe Val Ser His Pro Asp Ala Leu Glu

465 470 475 480

Glu Asp Asp Gly Val Val Leu Ser Val Val Val Ser Pro Gly Ala Gly

485 490 495

Gln Lys Pro Ala Tyr Leu Leu Ile Leu Asn Ala Lys Asp Leu Ser Glu

500 505 510

Val Ala Arg Ala Glu Val Glu Ile Asn Ile Pro Val Thr Phe His Gly

515 520 525

Leu Phe Lys Lys Ser

530

<210> 13

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 13

Leu Gly Glu Thr Thr Arg Pro

1 5

<210> 14

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 14

Asn Glu Thr Ile Thr Arg Pro

1 5

<210> 15

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 15

Lys Ala Gly Gln Ala Asn Asn

1 5

<210> 16

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 16

Lys Asp Pro Lys Thr Thr Asn

1 5

<210> 17

<211> 27

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 17

cgcaaucagu gaaugcuuau acauccg 27

<210> 18

<211> 5541

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic construct

<400> 18

agcttggatc caatcaacct ctggattaca aaatttgta aagattgact ggtattctta 60

actatgttgc tcctttacg ctatgtggat acgctgcttt aatgccttgc tatcatgcta 120

ttgcctcccg tatggctttc atttctcct ccttgtataa atcctggttt ctgtctttt 180

atgaggagtt gtggcccggtt gtcaggcaac gtggcgtggt gtgcactgtt tttgctgacg 240

caaccccccac tggggggc attgccacca cctgtcagct ccttcggg actttcgctt 300

tccccctccc tattgccacg gcggaactca tcggccctg cttggccgc tgctggacag 360

gggcctggct gtgggcact gacaattccg tgggtgttc gggaaagctg acgtcccttc 420

catggctgtc cgcctgtgtt gccacctgga ttctgcggg gacgtccttc tgctacgtcc 480

cttcggccct caatccagcg gaccccttccc cccggccct gctggccgtt ctggccctc 540

ttccgcgtct tcgagatctg cctcgactgt gccttctagt tgccagccat ctgttgttg	600
cccccccccc gtgccttcct tgaccctgga aggtgccact cccactgtcc tttcctaata aatgaggaa attgcattcgc attgtctgag taggtgtcat tctattctgg ggggtgggt gggcaggac agcaaggggg aggattggga agacaatagc aggcatgctg gggactcgag ttaagggcga attcccgatt aggatcttcc tagagcatgg ctacgttagat aagtagcatg gcgggttaat cattaactac aaggaacccc tagtgtatgga gttggccact ccctctcgc gcgcctcgctc gctactgag gccggcgac caaaggctcgcc cgacgcccc ggctttgccc ggcggccctc agtgagcgag cgagcgcgca gccttaattta acctaattca ctggccgtcg	660 720 780 840 900 960 1020
ttttacaacg tcgtgactgg gaaaaccctg gcgttaccca acttaatcgc cttgcagcac atccccctt cgcgcgtgg cgtaatagcg aagaggcccc caccgatcgc cttcccaac agttgcgcag cctgaatggc gaatgggacg cgcctgttag cgccgcattt agcgcggcg gtgtgggtgt tacgcgcagc gtgaccgcta cacttgccag cgcctagcg cccgcctt tcgccttctt ccctccctt ctcgcacgt tcgcggctt tccccgtcaa gctctaaatc gggggctccc tttagggttc cgattttagtg cttaacggca cctcgacccc aaaaaacttg attagggtga tggttcacgt agtggccat cgcccgata gacggttttt cgcccttga	1080 1140 1200 1260 1320 1380 1440
cgctggagtt cacgttcctc aatagtggac tcttggcca aactggaaaca acactcaacc ctatctcggt ctattctttt gatttataag ggattttcc gatttggcc tattggtaa aaaatgagct gattnaaca aaatttaacg cgaattttaa caaaatatta acgttataa tttcagggtgg catcttcgg gaaaaatgtgc gcggaaacccc tatttggtaa ttttctaaa tacattcaaa tatgtatccg ctcatgagac aataaccctg ataaatgctt caataatatt aaaaaaaggaa gagtatgagt attcaacatt tccgtgtcgc ctttatccc tttttgg cattttgcct tcctgtttt gtcacccag aaacgctggt gaaagtaaaa gatgctgaag	1500 1560 1620 1680 1740 1800 1860
atcagttggg tgcacgagtg ggttacatcg aactggatct caatagtggt aagatccttg agagtttcg ccccgaaagaa cgaaaaatccaa tgatgagcac ttttaaagtt ctgtatgt gcgcggatt atcccgatt gacgcccggc aagagcaact cggtcggcgc atacactatt ctcagaatga ctgggttag tactcaccag tcacagaaaa gcatcttacg gatggcatga cagtaagaga attatgcagt gctgccataa ccatgagtga taacactgctg gccaacttac ttctgacaac gatcgagga ccgaaggagc taaccgctt tttgcacaac atggggatc atgtaactcg cttgtatgt tggtggacccgg agctgaatga agccataccca aacgacgagc	1920 1980 2040 2100 2160 2220 2280

gtgacaccac gatgcgtgt aataatggtaa caacgttgca caaactatta actggcgaac	2340
tacttactct agcttcccg caacaattaa tagactggat ggaggccgat aaagtgcag	2400
gaccacttct gcgcgtggcc cttccggctg gctggtttat tgctgataaa tctggagccg	2460
gtgagcgtgg gctcgcggat atcattgcag cactggggcc agatggtaag ccctccgt	2520
tcgtagttat ctacacgacg gggagtcagg caactatgga tgaacgaaat agacagatcg	2580
ctgagatagg tgccctactg attaagcatt ggtaactgtc agaccaagtt tactcatata	2640
tacttttagat tgatTTaaaa cttcattttt aattttaaag gatctaggtg aagatcctt	2700
ttgataatct catgaccaaa atcccttaac gtgagtttc gttccactga gcgtcagacc	2760
ccgtagaaaa gatcaaagga tcttctttag atccctttt tctgcgcgtat atctgcgtct	2820
tgcaaaacaaa aaaaccacccg ctaccagcgg tggttggtt gccggatcaa gagctacca	2880
ctcttttcc gaaggttaact ggcttcagea gagcgcagat accaaatact gtccttctag	2940
tgtagccgtat gtttaggccac cacttcaaga actctgttagc accgcctaca tacctcgctc	3000
tgctaattcct gttaccagtg gctgctgcca gtggcgataa gtctgtctt accgggttgg	3060
actcaagacg atagttaccg gataaggcgc agcggtcggtt ctgaacgggg gttcgtgca	3120
cacagcccag ctggagcga acgacctaca ccgaactgag atacctacag cgtgagctat	3180
gagaaaggcgc cacgcttccc gaagggagaa aggccggacag gtatccggta agcggcagg	3240
tcggaacagg agagcgcacg agggagcttc cagggggaaa cgcctggat ctttatagtc	3300
ctgtcgggtt tcgccccctc tgacttgagc gtctttttt gtatgtctg tcagggggc	3360
ggagccatgt gaaaaacgcgca agcaacgcgg ccttttacg gttcctggcc ttttgctg	3420
gttttgctca catgttctt cctgcgttat cccctgatc tggataac cgtattaccg	3480
cctttgagtg agctgataacc gctgcccga gccgaacgac cgagcgcagc gagtcagtga	3540
gcgaggaagc ggaagagcgc ccaatacgca aaccgcctt cccgcgcgt tggccgattc	3600
attaatcgag ctggcacgac aggtttcccg actggaaagc gggcagttag cgcaacgca	3660
ttaatgttag ttagctact cattaggcac cccaggctt acactttatg cttccggctc	3720
gtatgttggtt tggaaattgtg agcggataac aatttcacac agaaacagc tatgaccatg	3780
attacgccag attaattaa ggctgcgcgc tcgctcgctc actgaggccg cccggcaaa	3840
gcccggcgt cgggcaccc ttggcgcccc ggcctcagtg agcgagcgcg cgcgcagaga	3900
gggagtgccca aactccatca ctagggttt cttgttagta atgattaacc cgccatgcta	3960
cttatctacg tagccatgct ctaggaagat cgaaattcgc ctttaagcta gcagatctt	4020
cccacctagc cacctggcaaa actgctcctt ctctcaaagg cccaaacatg gcctccaga	4080
ctgcaaccccc caggcagtca ggcctgtct ccacaaccc acagccaccc tggacggat	4140

ctgcttcttc ccacatttga gtcctcctca gcccctgagc tcctctggc agggctgtt	4200
ctttccatct ttgtattccc aggggcctgc aaataaatgt ttaatgaacg aacaagagag	4260
tgaattccaa ttccatgcaa caaggattgg gtcctggc cctaggctat gtgtctggca	4320
ccagaaacgg aagctgcagg ttgcagcccc tgccctcatg gagctcctcc tgtcagagga	4380

gtgtggggac tggatgactc cagaggtaac ttgtgggga acgaacaggt aagggcgtgt	4440
gtgacgagat gagagactgg gagaataaac cagaaagtct ctagctgtcc agaggacata	4500
gcacagaggc ccatggtccc tatttcaaac ccagggcacc agactgagct gggaccttgg	4560
gacagacaag tcatgcagaa gttagggac cttctctcc ctttcctgg atggatctg	4620
agtaccttct ctccttgcac ctcaggcttc ctccatgtt caccctggcc cctcttagaa	4680
gcctcaatttgc ccctcagttt ctgcagcggg gattaatatg attatgaaca ccccaatct	4740
ccctcaggatgtt gattcagcca ggagctttagg agggggaggt cactttataa gggctctgggg	4800

gggtcagaac ccagagtcat cccctgaatt ctgcagatccat ccatcacact ggcggccgc	4860
ccaccatgtc acgcaagata gaaggcttt tgttattact tctcttggc tatgaagcca	4920
cattggatt atcgtctacc gaggatgaag gcgaggaccc ctggtaccaa aaagcatgca	4980
agtgcgattt ccaaggagga ccaatgctc tgtggtctgc aggtgccacc tccttgact	5040
gtataccaga atgcccatac cacaaggctc tgggttcga gtcaggggag gtcacaccgg	5100
accagatcac ctgctctaacc cggagcagt atgtggctg gtattttcg tggactgcaa	5160
acaaggcccg gctcaacagt caaggcttg ggtgtgcctg gctctccaag ttccaggaca	5220

gtagccagtg gttacagata gatctgaagg agatcaaagt gatttcaggg atcctcaccc	5280
aggggcgtg tgacatcgat gagtgatga ccaagtacag cgtgcagtac aggaccgatg	5340
agcgcctgaa ctggatttac tacaaggacc agactggaaa caaccgggtc ttctatggca	5400
actcggaccg cacccacg gttcagaacc tgctgcggcc ccccatcatc tcccgcttca	5460
tccgcctcat cccgcgtggc tggcacgtcc gcattgccc ccggatggag ctgctggagt	5520
gcgtcagcaa gtgtgcctga a	5541

<210> 19

<211> 346

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 19

Met Ala Leu Leu Lys Val Lys Phe Asp Gln Lys Lys Arg Val Lys Leu

1

5

10

15

Ala Gln Gly Leu Trp Leu Met Asn Trp Phe Ser Val Leu Ala Gly Ile
 20 25 30
 Ile Ile Phe Ser Leu Gly Leu Phe Leu Lys Ile Glu Leu Arg Lys Arg
 35 40 45
 Ser Asp Val Met Asn Asn Ser Glu Ser His Phe Val Pro Asn Ser Leu
 50 55 60

Ile Gly Met Gly Val Leu Ser Cys Val Phe Asn Ser Leu Ala Gly Lys
 65 70 75 80
 Ile Cys Tyr Asp Ala Leu Asp Pro Ala Lys Tyr Ala Arg Trp Lys Pro
 85 90 95
 Trp Leu Lys Pro Tyr Leu Ala Ile Cys Val Leu Phe Asn Ile Ile Leu
 100 105 110
 Phe Leu Val Ala Leu Cys Cys Phe Leu Leu Arg Gly Ser Leu Glu Asn
 115 120 125

Thr Leu Gly Gln Gly Leu Lys Asn Gly Met Lys Tyr Tyr Arg Asp Thr
 130 135 140
 Asp Thr Pro Gly Arg Cys Phe Met Lys Lys Thr Ile Asp Met Leu Gln
 145 150 155 160
 Ile Glu Phe Lys Cys Cys Gly Asn Asn Gly Phe Arg Asp Trp Phe Glu
 165 170 175
 Ile Gln Trp Ile Ser Asn Arg Tyr Leu Asp Phe Ser Ser Lys Glu Val
 180 185 190

Lys Asp Arg Ile Lys Ser Asn Val Asp Gly Arg Tyr Leu Val Asp Gly
 195 200 205
 Val Pro Phe Ser Cys Cys Asn Pro Ser Ser Pro Arg Pro Cys Ile Gln
 210 215 220
 Tyr Gln Ile Thr Asn Asn Ser Ala His Tyr Ser Tyr Asp His Gln Thr
 225 230 235 240
 Glu Glu Leu Asn Leu Trp Val Arg Gly Cys Arg Ala Ala Leu Leu Ser
 245 250 255

Tyr Tyr Ser Ser Leu Met Asn Ser Met Gly Val Val Thr Leu Leu Ile

260	265	270
Trp Leu Phe Glu Val Thr Ile Thr Ile Gly Leu Arg Tyr Leu Gln Thr		
275	280	285
Ser Leu Asp Gly Val Ser Asn Pro Glu Glu Ser Glu Ser Glu Ser Gln		
290	295	300
Gly Trp Leu Leu Glu Arg Ser Val Pro Glu Thr Trp Lys Ala Phe Leu		
305	310	315
Glu Ser Val Lys Lys Leu Gly Lys Gly Asn Gln Val Glu Ala Glu Gly		
325	330	335
Ala Asp Ala Gly Gln Ala Pro Glu Ala Gly		
340	345	
<210> 20		
<211> 470		
<212> PRT		
<213> Homo sapiens		
<400> 20		
Met Ser His His Pro Ser Gly Leu Arg Ala Gly Phe Ser Ser Thr Ser		
1	5	10
Tyr Arg Arg Thr Phe Gly Pro Pro Pro Ser Leu Ser Pro Gly Ala Phe		
20	25	30
Ser Tyr Ser Ser Ser Ser Arg Phe Ser Ser Ser Arg Leu Leu Gly Ser		
35	40	45
Ala Ser Pro Ser Ser Ser Val Arg Leu Gly Ser Phe Arg Ser Pro Arg		
50	55	60
Ala Gly Ala Gly Ala Leu Leu Arg Leu Pro Ser Glu Arg Leu Asp Phe		
65	70	75
Ser Met Ala Glu Ala Leu Asn Gln Glu Phe Leu Ala Thr Arg Ser Asn		
85	90	95
Glu Lys Gln Glu Leu Gln Glu Leu Asn Asp Arg Phe Ala Asn Phe Ile		
100	105	110
Glu Lys Val Arg Phe Leu Glu Gln Gln Asn Ala Ala Leu Arg Gly Glu		
115	120	125

Leu Ser Gln Ala Arg Gly Gln Glu Pro Ala Arg Ala Asp Gln Leu Cys

130 135 140

Gln Gln Glu Leu Arg Glu Leu Arg Arg Glu Leu Leu Leu Gly Arg

145 150 155 160

Glu Arg Asp Arg Val Gln Val Glu Arg Asp Gly Leu Ala Glu Asp Leu

165 170 175

Ala Ala Leu Lys Gln Arg Leu Glu Glu Glu Thr Arg Lys Arg Glu Asp

180 185 190

Ala Glu His Asn Leu Val Leu Phe Arg Lys Asp Val Asp Asp Ala Thr

195 200 205

Leu Ser Arg Leu Glu Leu Glu Arg Lys Ile Glu Ser Leu Met Asp Glu

210 215 220

Ile Glu Phe Leu Lys Lys Leu His Glu Glu Glu Leu Arg Asp Leu Gln

225 230 235 240

Val Ser Val Glu Ser Gln Gln Val Gln Gln Val Glu Val Glu Ala Thr

245 250 255

Val Lys Pro Glu Leu Thr Ala Ala Leu Arg Asp Ile Arg Ala Gln Tyr

260 265 270

Glu Ser Ile Ala Ala Lys Asn Leu Gln Glu Ala Glu Glu Trp Tyr Lys

275 280 285

Ser Lys Tyr Ala Asp Leu Ser Asp Ala Ala Asn Arg Asn His Glu Ala

290 295 300

Leu Arg Gln Ala Lys Gln Glu Met Asn Glu Ser Arg Arg Gln Ile Gln

305 310 315 320

Ser Leu Thr Cys Glu Val Asp Gly Leu Arg Gly Thr Asn Glu Ala Leu

325 330 335

Leu Arg Gln Leu Arg Glu Glu Gln Phe Ala Leu Glu Ala Gly

340 345 350

Gly Tyr Gln Ala Gly Ala Ala Arg Leu Glu Glu Leu Arg Gln Leu

355 360 365

Lys Glu Glu Met Ala Arg His Leu Arg Glu Tyr Gln Glu Leu Leu Asn

370	375	380	
Val Lys Met Ala Leu Asp Ile Glu Ile Ala Thr Tyr Arg Lys Leu Leu			
385	390	395	400
Glu Gly Glu Glu Ser Arg Ile Ser Val Pro Val His Ser Phe Ala Ser			
405	410	415	
Leu Asn Ile Lys Thr Thr Val Pro Glu Val Glu Pro Pro Gln Asp Ser			
420	425	430	
His Ser Arg Lys Thr Val Leu Ile Lys Thr Ile Glu Thr Arg Asn Gly			
435	440	445	
Glu Val Val Thr Glu Ser Gln Lys Glu Gln Arg Ser Glu Leu Asp Lys			
450	455	460	
Ser Ser Ala His Ser Tyr			
465	470		
<210> 21			
<211> 1286			
<212> PRT			
<213> Homo sapiens			
<			
400> 21			
Met Ser His Leu Val Asp Pro Thr Ser Gly Asp Leu Pro Val Arg Asp			
1	5	10	15
Ile Asp Ala Ile Pro Leu Val Leu Pro Ala Ser Lys Gly Lys Asn Met			
20	25	30	
Lys Thr Gln Pro Pro Leu Ser Arg Met Asn Arg Glu Glu Leu Glu Asp			
35	40	45	
Ser Phe Phe Arg Leu Arg Glu Asp His Met Leu Val Lys Glu Leu Ser			
50	55	60	
Trp Lys Gln Gln Asp Glu Ile Lys Arg Leu Arg Thr Thr Leu Leu Arg			
65	70	75	80
Leu Thr Ala Ala Gly Arg Asp Leu Arg Val Ala Glu Glu Ala Ala Pro			
85	90	95	
Leu Ser Glu Thr Ala Arg Arg Gly Gln Lys Ala Gly Trp Arg Gln Arg			
100	105	110	

Leu Ser Met His Gln Arg Pro Gln Met His Arg Leu Gln Gly His Phe

115 120 125

His Cys Val Gly Pro Ala Ser Pro Arg Arg Ala Gln Pro Arg Val Gln

130 135 140

Val Gly His Arg Gln Leu His Thr Ala Gly Ala Pro Val Pro Glu Lys

145 150 155 160

Pro Lys Arg Gly Pro Arg Asp Arg Leu Ser Tyr Thr Ala Pro Pro Ser

165 170 175

Phe Lys Glu His Ala Thr Asn Glu Asn Arg Gly Glu Val Ala Ser Lys

180 185 190

Pro Ser Glu Leu Val Ser Gly Ser Asn Ser Ile Ile Ser Phe Ser Ser

195 200 205

Val Ile Ser Met Ala Lys Pro Ile Gly Leu Cys Met Pro Asn Ser Ala

210 215 220

His Ile Met Ala Ser Asn Thr Met Gln Val Glu Glu Pro Pro Lys Ser

225 230 235 240

Pro Glu Lys Met Trp Pro Lys Asp Glu Asn Phe Glu Gln Arg Ser Ser

245 250 255

Leu Glu Cys Ala Gln Lys Ala Ala Glu Leu Arg Ala Ser Ile Lys Glu

260 265 270

Lys Val Glu Leu Ile Arg Leu Lys Lys Leu Leu His Glu Arg Asn Ala

275 280 285

Ser Leu Val Met Thr Lys Ala Gln Leu Thr Glu Val Gln Glu Ala Tyr

290 295 300

Glu Thr Leu Leu Gln Lys Asn Gln Gly Ile Leu Ser Ala Ala His Glu

305 310 315 320

Ala Leu Leu Lys Gln Val Asn Glu Leu Arg Ala Glu Leu Lys Glu Glu

325 330 335

Ser Lys Lys Ala Val Ser Leu Lys Ser Gln Leu Glu Asp Val Ser Ile

340 345 350

Leu Gln Met Thr Leu Lys Glu Phe Gln Glu Arg Val Glu Asp Leu Glu

355	360	365
Lys Glu Arg Lys Leu Leu Asn Asp Asn Tyr Asp Lys Leu Leu Glu Ser		
370	375	380
Met Leu Asp Ser Ser Asp Ser Ser Ser Gln Pro His Trp Ser Asn Glu		
385	390	395
Leu Ile Ala Glu Gln Leu Gln Gln Val Ser Gln Leu Gln Asp Gln		
405	410	415
Leu Asp Ala Glu Leu Glu Asp Lys Arg Lys Val Leu Leu Glu Leu Ser		
420	425	430
Arg Glu Lys Ala Gln Asn Glu Asp Leu Lys Leu Glu Val Thr Asn Ile		
435	440	445
Leu Gln Lys His Lys Gln Glu Val Glu Leu Leu Gln Asn Ala Ala Thr		
450	455	460
Ile Ser Gln Pro Pro Asp Arg Gln Ser Glu Pro Ala Thr His Pro Ala		
465	470	475
Val Leu Gln Glu Asn Thr Gln Ile Glu Pro Ser Glu Pro Lys Asn Gln		
485	490	495
Glu Glu Lys Lys Leu Ser Gln Val Leu Asn Glu Leu Gln Val Ser His		
500	505	510
Ala Glu Thr Thr Leu Glu Leu Glu Lys Thr Arg Asp Met Leu Ile Leu		
515	520	525
Gln Arg Lys Ile Asn Val Cys Tyr Gln Glu Glu Leu Glu Ala Met Met		
530	535	540
Thr Lys Ala Asp Asn Asp Asn Arg Asp His Lys Glu Lys Leu Glu Arg		
545	550	555
Leu Thr Arg Leu Leu Asp Leu Lys Asn Asn Arg Ile Lys Gln Leu Glu		
565	570	575
Gly Ile Leu Arg Ser His Asp Leu Pro Thr Ser Glu Gln Leu Lys Asp		
580	585	590
Val Ala Tyr Gly Thr Arg Pro Leu Ser Leu Cys Leu Glu Thr Leu Pro		
595	600	605

Ala His Gly Asp Glu Asp Lys Val Asp Ile Ser Leu Leu His Gln Gly

610 615 620

Glu Asn Leu Phe Glu Leu His Ile His Gln Ala Phe Leu Thr Ser Ala

625 630 635 640

Ala Leu Ala Gln Ala Gly Asp Thr Gln Pro Thr Thr Phe Cys Thr Tyr

645 650 655

Ser Phe Tyr Asp Phe Glu Thr His Cys Thr Pro Leu Ser Val Gly Pro

660 665 670

Gln Pro Leu Tyr Asp Phe Thr Ser Gln Tyr Val Met Glu Thr Asp Ser

675 680 685

Leu Phe Leu His Tyr Leu Gln Glu Ala Ser Ala Arg Leu Asp Ile His

690 695 700

Gln Ala Met Ala Ser Glu His Ser Thr Leu Ala Ala Gly Trp Ile Cys

705 710 715 720

Phe Asp Arg Val Leu Glu Thr Val Glu Lys Val His Gly Leu Ala Thr

725 730 735

Leu Ile Gly Ala Gly Glu Glu Phe Gly Val Leu Glu Tyr Trp Met

740 745 750

Arg Leu Arg Phe Pro Ile Lys Pro Ser Leu Gln Ala Cys Asn Lys Arg

755 760 765

Lys Lys Ala Gln Val Tyr Leu Ser Thr Asp Val Leu Gly Gly Arg Lys

770 775 780

Ala Gln Glu Glu Glu Phe Arg Ser Glu Ser Trp Glu Pro Gln Asn Glu

785 790 795 800

Leu Trp Ile Glu Ile Thr Lys Cys Cys Gly Leu Arg Ser Arg Trp Leu

805 810 815

Gly Thr Gln Pro Ser Pro Tyr Ala Val Tyr Arg Phe Phe Thr Phe Ser

820 825 830

Asp His Asp Thr Ala Ile Ile Pro Ala Ser Asn Asn Pro Tyr Phe Arg

835 840 845

Asp Gln Ala Arg Phe Pro Val Leu Val Thr Ser Asp Leu Asp His Tyr

850	855	860
Leu Arg Arg Glu Ala Leu Ser Ile His Val Phe Asp Asp Glu Asp Leu		
865	870	875
Glu Pro Gly Ser Tyr Leu Gly Arg Ala Arg Val Pro Leu Leu Pro Leu		
885	890	895
Ala Lys Asn Glu Ser Ile Lys Gly Asp Phe Asn Leu Thr Asp Pro Ala		
900	905	910
Glu Lys Pro Asn Gly Ser Ile Gln Val Gln Leu Asp Trp Lys Phe Pro		
915	920	925
Tyr Ile Pro Pro Glu Ser Phe Leu Lys Pro Glu Ala Gln Thr Lys Gly		
930	935	940
Lys Asp Thr Lys Asp Ser Ser Lys Ile Ser Ser Glu Glu Glu Lys Ala		
945	950	955
960		
Ser Phe Pro Ser Gln Asp Gln Met Ala Ser Pro Glu Val Pro Ile Glu		
965	970	975
Ala Gly Gln Tyr Arg Ser Lys Arg Lys Pro Pro His Gly Glu Arg		
980	985	990
Lys Glu Lys Glu His Gln Val Val Ser Tyr Ser Arg Arg Lys His Gly		
995	1000	1005
Lys Arg Ile Gly Val Gln Gly Lys Asn Arg Met Glu Tyr Leu Ser		
1010	1015	1020
Leu Asn Ile Leu Asn Gly Asn Thr Pro Glu Gln Val Asn Tyr Thr		
1025	1030	1035
Glu Trp Lys Phe Ser Glu Thr Asn Ser Phe Ile Gly Asp Gly Phe		
1040	1045	1050
Lys Asn Gln His Glu Glu Glu Met Thr Leu Ser His Ser Ala		
1055	1060	1065
Leu Lys Gln Lys Glu Pro Leu His Pro Val Asn Asp Lys Glu Ser		
1070	1075	1080
Ser Glu Gln Gly Ser Glu Val Ser Glu Ala Gln Thr Thr Asp Ser		
1085	1090	1095

Asp Asp Val Ile Val Pro Pro Met Ser Gln Lys Tyr Pro Lys Ala
 1100 1105 1110
 Asp Ser Glu Lys Met Cys Ile Glu Ile Val Ser Leu Ala Phe Tyr
 1115 1120 1125
 Pro Glu Ala Glu Val Met Ser Asp Glu Asn Ile Lys Gln Val Tyr
 1130 1135 1140

Val Glu Tyr Lys Phe Tyr Asp Leu Pro Leu Ser Glu Thr Glu Thr
 1145 1150 1155
 Pro Val Ser Leu Arg Lys Pro Arg Ala Gly Glu Glu Ile His Phe
 1160 1165 1170
 His Phe Ser Lys Val Ile Asp Leu Asp Pro Gln Glu Gln Gln Gly
 1175 1180 1185
 Arg Arg Arg Phe Leu Phe Asp Met Leu Asn Gly Gln Asp Pro Asp
 1190 1195 1200

Gln Gly His Leu Lys Phe Thr Val Val Ser Asp Pro Leu Asp Glu
 1205 1210 1215
 Glu Lys Lys Glu Cys Glu Glu Val Gly Tyr Ala Tyr Leu Gln Leu
 1220 1225 1230
 Trp Gln Ile Leu Glu Ser Gly Arg Asp Ile Leu Glu Gln Glu Leu
 1235 1240 1245
 Asp Ile Val Ser Pro Glu Asp Leu Ala Thr Pro Ile Gly Arg Leu
 1250 1255 1260

Lys Val Ser Leu Gln Ala Ala Ala Val Leu His Ala Ile Tyr Lys
 1265 1270 1275
 Glu Met Thr Glu Asp Leu Phe Ser
 1280 1285

<210> 22

<211> 240

<212> PRT

<213> Adeno-associated virus-1

<400> 22

Thr Phe Ser Tyr Thr Phe Glu Glu Val Pro Phe His Ser Ser Tyr Ala

1	5	10	15
His Ser Gln Ser Leu Asp Arg Leu Met Asn Pro Leu Ile Asp Gln Tyr			
20	25	30	
Leu Tyr Tyr Leu Asn Arg Thr Gln Asn Gln Ser Gly Ser Ala Gln Asn			
35	40	45	
Lys Asp Leu Leu Phe Ser Arg Gly Ser Pro Ala Gly Met Ser Val Gln			
50	55	60	
Pro Lys Asn Trp Leu Pro Gly Pro Cys Tyr Arg Gln Gln Arg Val Ser			
65	70	75	80
Lys Thr Lys Thr Asp Asn Asn Ser Asn Phe Thr Trp Thr Gly Ala			
85	90	95	
Ser Lys Tyr Asn Leu Asn Gly Arg Glu Ser Ile Ile Asn Pro Gly Thr			
100	105	110	
Ala Met Ala Ser His Lys Asp Asp Glu Asp Lys Phe Phe Pro Met Ser			
115	120	125	
Gly Val Met Ile Phe Gly Lys Glu Ser Ala Gly Ala Ser Asn Thr Ala			
130	135	140	
Leu Asp Asn Val Met Ile Thr Asp Glu Glu Glu Ile Lys Ala Thr Asn			
145	150	155	160
Pro Val Ala Thr Glu Arg Phe Gly Thr Val Ala Val Asn Phe Gln Ser			
165	170	175	
Ser Ser Thr Asp Pro Ala Thr Gly Asp Val His Ala Met Gly Ala Leu			
180	185	190	
Pro Gly Met Val Trp Gln Asp Arg Asp Val Tyr Leu Gln Gly Pro Ile			
195	200	205	
Trp Ala Lys Ile Pro His Thr Asp Gly His Phe His Pro Ser Pro Leu			
210	215	220	
Met Gly Gly Phe Gly Leu Lys Asn Pro Pro Gln Ile Leu Ile Lys			
225	230	235	240
<210> 23			
<211> 240			

<212> PRT

<213> Adeno-associated virus-6

<400> 23

Thr Phe Ser Tyr Thr Phe Glu Asp Val Pro Phe His Ser Ser Tyr Ala

1 5 10 15

His Ser Gln Ser Leu Asp Arg Leu Met Asn Pro Leu Ile Asp Gln Tyr

20 25 30

Leu Tyr Tyr Leu Asn Arg Thr Gln Asn Gln Ser Gly Ser Ala Gln Asn

35 40 45

Lys Asp Leu Leu Phe Ser Arg Gly Ser Pro Ala Gly Met Ser Val Gln

50 55 60

Pro Lys Asn Trp Leu Pro Gly Pro Cys Tyr Arg Gln Gln Arg Val Ser

65 70 75 80

Lys Thr Lys Thr Asp Asn Asn Ser Asn Phe Thr Trp Thr Gly Ala

85 90 95

Ser Lys Tyr Asn Leu Asn Gly Arg Glu Ser Ile Ile Asn Pro Gly Thr

100 105 110

Ala Met Ala Ser His Lys Asp Asp Lys Asp Lys Phe Phe Pro Met Ser

115 120 125

Gly Val Met Ile Phe Gly Lys Glu Ser Ala Gly Ala Ser Asn Thr Ala

130 135 140

Leu Asp Asn Val Met Ile Thr Asp Glu Glu Glu Ile Lys Ala Thr Asn

145 150 155 160

Pro Val Ala Thr Glu Arg Phe Gly Thr Val Ala Val Asn Leu Gln Ser

165 170 175

Ser Ser Thr Asp Pro Ala Thr Gly Asp Val His Val Met Gly Ala Leu

180 185 190

Pro Gly Met Val Trp Gln Asp Arg Asp Val Tyr Leu Gln Gly Pro Ile

195 200 205

Trp Ala Lys Ile Pro His Thr Asp Gly His Phe His Pro Ser Pro Leu

210 215 220

Met Gly Gly Phe Gly Leu Lys His Pro Pro Pro Gln Ile Leu Ile Lys

225 230 235 240

<210> 24

<211> 240

<212> PRT

<213> Adeno-associated virus-3

<400> 24

Phe Ser Tyr Thr Phe Glu Asp Val Pro Phe His Ser Ser Tyr Ala His

1 5 10 15

Ser Gln Ser Leu Asp Arg Leu Met Asn Pro Leu Ile Asp Gln Tyr Leu

20 25 30

Tyr Tyr Leu Asn Arg Thr Gln Gly Thr Thr Ser Gly Thr Thr Asn Gln

35 40 45

Ser Arg Leu Leu Phe Ser Gln Ala Gly Pro Gln Ser Met Ser Leu Gln

50 55 60

Ala Arg Asn Trp Leu Pro Gly Pro Cys Tyr Arg Gln Gln Arg Leu Ser

65 70 75 80

Lys Thr Ala Asn Asp Asn Asn Ser Asn Phe Pro Trp Thr Ala Ala

85 90 95

Ser Lys Tyr His Leu Asn Gly Arg Asp Ser Leu Val Asn Pro Gly Pro

100 105 110

Ala Met Ala Ser His Lys Asp Asp Glu Glu Lys Phe Phe Pro Met His

115 120 125

Gly Asn Leu Ile Phe Gly Lys Glu Gly Thr Thr Ala Ser Asn Ala Glu

130 135 140

Leu Asp Asn Val Met Ile Thr Asp Glu Glu Glu Ile Arg Thr Thr Asn

145 150 155 160

Pro Val Ala Thr Glu Gln Tyr Gly Thr Val Ala Asn Asn Leu Gln Ser

165 170 175

Ser Asn Thr Ala Pro Thr Thr Gly Thr Val Asn His Gln Gly Ala Leu

180 185 190

Pro Gly Met Val Trp Gln Asp Arg Asp Val Tyr Leu Gln Gly Pro Ile
 195 200 205

Trp Ala Lys Ile Pro His Thr Asp Gly His Phe His Pro Ser Pro Leu
 210 215 220

Met Gly Gly Phe Gly Leu Lys His Pro Pro Pro Gln Ile Met Ile Lys
 225 230 235 240

<210> 25

<211> 240

<212> PRT

<213> Adeno-associated virus-2

<400> 25

Phe Ser Tyr Thr Phe Glu Asp Val Pro Phe His Ser Ser Tyr Ala His

1 5 10 15

Ser Gln Ser Leu Asp Arg Leu Met Asn Pro Leu Ile Asp Gln Tyr Leu
 20 25 30

Tyr Tyr Leu Ser Arg Thr Asn Thr Pro Ser Gly Thr Thr Gln Ser
 35 40 45

Arg Leu Gln Phe Ser Gln Ala Gly Ala Ser Asp Ile Arg Asp Gln Ser

50 55 60

Arg Asn Trp Leu Pro Gly Pro Cys Tyr Arg Gln Gln Arg Val Ser Lys
 65 70 75 80

Thr Ser Ala Asp Asn Asn Ser Glu Tyr Ser Trp Thr Gly Ala Thr
 85 90 95

Lys Tyr His Leu Asn Gly Arg Asp Ser Leu Val Asn Pro Gly Pro Ala
 100 105 110

Met Ala Ser His Lys Asp Asp Glu Glu Lys Phe Phe Pro Gln Ser Gly

115 120 125

Val Leu Ile Phe Gly Lys Gln Gly Ser Glu Lys Thr Asn Val Asp Ile
 130 135 140

Glu Lys Val Met Ile Thr Asp Glu Glu Glu Ile Arg Thr Thr Asn Pro
 145 150 155 160

Val Ala Thr Glu Gln Tyr Gly Ser Val Ser Thr Asn Leu Gln Arg Gly

165	170	175
Asn Arg Gln Ala Ala Thr Ala Asp Val Asn Thr Gln Gly Val Leu Pro		
180	185	190
Gly Met Val Trp Gln Asp Arg Asp Val Tyr Leu Gln Gly Pro Ile Trp		
195	200	205
Ala Lys Ile Pro His Thr Asp Gly His Phe His Pro Ser Pro Leu Met		
210	215	220
Gly Gly Phe Gly Leu Lys His Pro Pro Pro Gln Ile Leu Ile Lys Asn		
225	230	235
240		
<210> 26		
<211> 243		
<212> PRT		
<213> Adeno-associated virus-8		
<400> 26		
Asn Phe Gln Phe Thr Tyr Thr Phe Glu Asp Val Pro Phe His Ser Ser		
1	5	10
15		
Tyr Ala His Ser Gln Ser Leu Asp Arg Leu Met Asn Pro Leu Ile Asp		
20	25	30
Gln Tyr Leu Tyr Tyr Leu Ser Arg Thr Gln Thr Thr Gly Gly Thr Ala		
35	40	45
Asn Thr Gln Thr Leu Gly Phe Ser Gln Gly Gly Pro Asn Thr Met Ala		
50	55	60
Asn Gln Ala Lys Asn Trp Leu Pro Gly Pro Cys Tyr Arg Gln Gln Arg		
65	70	75
80		
Val Ser Thr Thr Thr Gly Gln Asn Asn Ser Asn Phe Ala Trp Thr		
85	90	95
Ala Gly Thr Lys Tyr His Leu Asn Gly Arg Asn Ser Leu Ala Asn Pro		
100	105	110
Gly Ile Ala Met Ala Thr His Lys Asp Asp Glu Glu Arg Phe Phe Pro		
115	120	125
Ser Asn Gly Ile Leu Ile Phe Gly Lys Gln Asn Ala Ala Arg Asp Asn		

130	135	140	
Ala Asp Tyr Ser Asp Val Met Leu Thr Ser Glu Glu Glu Ile Lys Thr			
145	150	155	160
Thr Asn Pro Val Ala Thr Glu Glu Tyr Gly Ile Val Ala Asp Asn Leu			
165	170	175	
Gln Gln Gln Asn Thr Ala Pro Gln Ile Gly Thr Val Asn Ser Gln Gly			
180	185	190	

Ala Leu Pro Gly Met Val Trp Gln Asn Arg Asp Val Tyr Leu Gln Gly			
195	200	205	
Pro Ile Trp Ala Lys Ile Pro His Thr Asp Gly Asn Phe His Pro Ser			
210	215	220	
Pro Leu Met Gly Gly Phe Gly Leu Lys His Pro Pro Pro Gln Ile Leu			
225	230	235	240
Ile Lys Asn			

<210> 27
 <211> 243
 <212> PRT
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic polypeptide

<400> 27			
Asn Phe Gln Phe Thr Tyr Thr Phe Glu Asp Val Pro Phe His Ser Ser			
1	5	10	15
Tyr Ala His Ser Gln Ser Leu Asp Arg Leu Met Asn Pro Leu Ile Asp			
20	25	30	
Gln Tyr Leu Tyr Tyr Leu Ser Arg Thr Gln Thr Thr Gly Gly Thr Ala			
35	40	45	
Asn Thr Gln Thr Leu Gly Phe Ser Gln Gly Gly Pro Asn Thr Met Ala			
50	55	60	

Asn Gln Ala Lys Asn Trp Leu Pro Gly Pro Cys Tyr Arg Gln Gln Arg			
65	70	75	80
Val Ser Thr Thr Thr Gly Gln Asn Asn Ser Asn Phe Ala Trp Thr			

85	90	95
Ala Gly Thr Lys Tyr His Leu Asn Gly Arg Asn Ser Leu Ala Asn Pro		
100	105	110
Gly Ile Ala Met Ala Thr His Lys Asp Asp Glu Glu Arg Phe Phe Pro		
115	120	125

Ser Asn Gly Ile Leu Ile Phe Gly Lys Gln Asn Ala Ala Arg Asp Asn			
130	135	140	
Ala Asp Tyr Ser Asp Val Met Leu Thr Ser Glu Glu Glu Ile Lys Thr			
145	150	155	160
Thr Asn Pro Val Ala Thr Glu Glu Tyr Gly Ile Val Ala Asp Asn Leu			
165	170	175	
Gln Gly Gln Arg Gln Ala Ala Gln Ile Gly Thr Val Asn Ser Gln Gly			
180	185	190	

Ala Leu Pro Gly Met Val Trp Gln Asn Arg Asp Val Tyr Leu Gln Gly			
195	200	205	
Pro Ile Trp Ala Lys Ile Pro His Thr Asp Gly Asn Phe His Pro Ser			
210	215	220	
Pro Leu Met Gly Gly Phe Gly Leu Lys His Pro Pro Pro Gln Ile Leu			
225	230	235	240
Ile Lys Asn			

<210> 28		
<211> 241		
<212> PRT		
<213> Adeno-associated virus-rh8		
<400> 28		

Phe Gln Phe Ser Tyr Thr Phe Glu Asp Val Pro Phe His Ser Ser Tyr			
1	5	10	15
Ala His Ser Gln Ser Leu Asp Arg Leu Met Asn Pro Leu Ile Asp Gln			
20	25	30	
Tyr Leu Tyr Tyr Leu Val Arg Thr Gln Thr Thr Gly Thr Gly Thr			
35	40	45	

Gln Thr Leu Ala Phe Ser Gln Ala Gly Pro Ser Ser Met Ala Asn Gln

50 55 60

Ala Arg Asn Trp Val Pro Gly Pro Cys Tyr Arg Gln Gln Arg Val Ser

65 70 75 80

Thr Thr Thr Asn Gln Asn Asn Ser Asn Phe Ala Trp Thr Gly Ala

85 90 95

Ala Lys Phe Lys Leu Asn Gly Arg Asp Ser Leu Met Asn Pro Gly Val

100 105 110

Ala Met Ala Ser His Lys Asp Asp Asp Arg Phe Phe Pro Ser Ser

115 120 125

Gly Val Leu Ile Phe Gly Lys Gln Gly Ala Gly Asn Asp Gly Val Asp

130 135 140

Tyr Ser Gln Val Leu Ile Thr Asp Glu Glu Glu Ile Lys Ala Thr Asn

145 150 155 160

Pro Val Ala Thr Glu Glu Tyr Gly Ala Val Ala Ile Asn Asn Gln Ala

165 170 175

Ala Asn Thr Gln Ala Gln Thr Gly Leu Val His Asn Gln Gly Val Ile

180 185 190

Pro Gly Met Val Trp Gln Asn Arg Asp Val Tyr Leu Gln Gly Pro Ile

195 200 205

Trp Ala Lys Ile Pro His Thr Asp Gly Asn Phe His Pro Ser Pro Leu

210 215 220

Met Gly Gly Phe Gly Leu Lys His Pro Pro Pro Gln Ile Leu Ile Lys

225 230 235 240

Asn

<210> 29

<211> 243

<212> PRT

<213> Adeno-associated virus-10

<400> 29

Asn Phe Glu Phe Ser Tyr Thr Phe Glu Asp Val Pro Phe His Ser Ser

1 5 10 15

Tyr Ala His Ser Gln Ser Leu Asp Arg Leu Met Asn Pro Leu Ile Asp

20 25 30

Gln Tyr Leu Tyr Tyr Leu Ser Arg Thr Gln Ser Thr Gly Gly Thr Gln

35 40 45

Gly Thr Gln Gln Leu Leu Phe Ser Gln Ala Gly Pro Ala Asn Met Ser

50 55 60

Ala Gln Ala Lys Asn Trp Leu Pro Gly Pro Cys Tyr Arg Gln Gln Arg

65 70 75 80

Val Ser Thr Thr Leu Ser Gln Asn Asn Asn Ser Asn Phe Ala Trp Thr

85 90 95

Gly Ala Thr Lys Tyr His Leu Asn Gly Arg Asp Ser Leu Val Asn Pro

100 105 110

Gly Val Ala Met Ala Thr His Lys Asp Asp Glu Glu Arg Phe Phe Pro

115 120 125

Ser Ser Gly Val Leu Met Phe Gly Lys Gln Gly Ala Gly Arg Asp Asn

130 135 140

Val Asp Tyr Ser Ser Val Met Leu Thr Ser Glu Glu Glu Ile Lys Thr

145 150 155 160

Thr Asn Pro Val Ala Thr Glu Gln Tyr Gly Val Val Ala Asp Asn Leu

165 170 175

Gln Gln Ala Asn Thr Gly Pro Ile Val Gly Asn Val Asn Ser Gln Gly

180 185 190

Ala Leu Pro Gly Met Val Trp Gln Asn Arg Asp Val Tyr Leu Gln Gly

195 200 205

Pro Ile Trp Ala Lys Ile Pro His Thr Asp Gly Asn Phe His Pro Ser

210 215 220

Pro Leu Met Gly Gly Phe Gly Leu Lys His Pro Pro Pro Gln Ile Leu

225 230 235 240

Ile Lys Asn

<210> 30

<211> 242

<212> PRT

<213> Adeno-associated virus-7

<400> 30

Phe Glu Phe Ser Tyr Ser Phe Glu Asp Val Pro Phe His Ser Ser Tyr

1 5 10 15

Ala His Ser Gln Ser Leu Asp Arg Leu Met Asn Pro Leu Ile Asp Gln

20 25 30

Tyr Leu Tyr Tyr Leu Ala Arg Thr Gln Ser Asn Pro Gly Gly Thr Ala

35 40 45

Gly Asn Arg Glu Leu Gln Phe Tyr Gln Gly Gly Pro Ser Thr Met Ala

50 55 60

Glu Gln Ala Lys Asn Trp Leu Pro Gly Pro Cys Phe Arg Gln Gln Arg

65 70 75 80

Val Ser Lys Thr Leu Asp Gln Asn Asn Ser Asn Phe Ala Trp Thr

85 90 95

Gly Ala Thr Lys Tyr His Leu Asn Gly Arg Asn Ser Leu Val Asn Pro

100 105 110

Gly Val Ala Met Ala Thr His Lys Asp Asp Glu Asp Arg Phe Phe Pro

115 120 125

Ser Ser Gly Val Leu Ile Phe Gly Lys Thr Gly Ala Thr Asn Lys Thr

130 135 140

Thr Leu Glu Asn Val Leu Met Thr Asn Glu Glu Glu Ile Arg Pro Thr

145 150 155 160

Asn Pro Val Ala Thr Glu Glu Tyr Gly Ile Val Ser Ser Asn Leu Gln

165 170 175

Ala Ala Asn Thr Ala Ala Gln Thr Gln Val Val Asn Asn Gln Gly Ala

180 185 190

Leu Pro Gly Met Val Trp Gln Asn Arg Asp Val Tyr Leu Gln Gly Pro

195

200

205

Ile Trp Ala Lys Ile Pro His Thr Asp Gly Asn Phe His Pro Ser Pro

210

215

220

Leu Met Gly Gly Phe Gly Leu Lys His Pro Pro Pro Gln Ile Leu Ile

225

230

235

240

Lys Asn

<210> 31

<211> 240

<212> PRT

<213> Adeno-associated virus-9

<400> 31

Phe Gln Phe Ser Tyr Glu Phe Glu Asn Val Pro Phe His Ser Ser Tyr

1 5 10 15

Ala His Ser Gln Ser Leu Asp Arg Leu Met Asn Pro Leu Ile Asp Gln

20

25

30

Tyr Leu Tyr Tyr Leu Ser Lys Thr Ile Asn Gly Ser Gly Gln Asn Gln

35

40

45

Gln Thr Leu Lys Phe Ser Val Ala Gly Pro Ser Asn Met Ala Val Gln

50

55

60

Gly Arg Asn Tyr Ile Pro Gly Pro Ser Tyr Arg Gln Gln Arg Val Ser

65 70 75 80

Thr Thr Val Thr Gln Asn Asn Ser Glu Phe Ala Trp Pro Gly Ala

85

90

95

Ser Ser Trp Ala Leu Asn Gly Arg Asn Ser Leu Met Asn Pro Gly Pro

100

105

110

Ala Met Ala Ser His Lys Glu Gly Glu Asp Arg Phe Phe Pro Leu Ser

115

120

125

Gly Ser Leu Ile Phe Gly Lys Gln Gly Thr Gly Arg Asp Asn Val Asp

130

135

140

Ala Asp Lys Val Met Ile Thr Asn Glu Glu Glu Ile Lys Thr Thr Asn

145 150 155 160
 Pro Val Ala Thr Glu Ser Tyr Gly Gln Val Ala Thr Asn His Gln Ser
 165 170 175
 Ala Gln Ala Gln Ala Gln Thr Gly Trp Val Gln Asn Gln Gly Ile Leu
 180 185 190
 Pro Gly Met Val Trp Gln Asp Arg Asp Val Tyr Leu Gln Gly Pro Ile
 195 200 205
 Trp Ala Lys Ile Pro His Thr Asp Gly Asn Phe His Pro Ser Pro Leu

 210 215 220
 Met Gly Gly Phe Gly Met Lys His Pro Pro Pro Gln Ile Leu Ile Lys
 225 230 235 240
 <210> 32
 <211> 239
 <212> PRT
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic polypeptide
 <400> 32
 Gln Phe Ser Tyr Glu Phe Glu Asn Val Pro Phe His Ser Ser Tyr Ala
 1 5 10 15
 His Ser Gln Ser Leu Asp Arg Leu Met Asn Pro Leu Ile Asp Gln Tyr

 20 25 30
 Leu Tyr Tyr Leu Ser Lys Thr Ile Asn Gly Ser Gly Gln Asn Gln Gln
 35 40 45
 Thr Leu Lys Phe Ser Val Ala Gly Pro Ser Asn Met Ala Val Gln Gly
 50 55 60
 Arg Asn Tyr Ile Pro Gly Pro Ser Tyr Arg Gln Gln Arg Val Ser Thr
 65 70 75 80
 Thr Val Thr Gln Asn Asn Ser Glu Phe Ala Trp Pro Gly Ala Ser

 85 90 95
 Ser Trp Ala Leu Asn Gly Arg Asn Ser Leu Met Asn Pro Gly Pro Ala
 100 105 110
 Met Ala Ser His Lys Glu Gly Glu Asp Arg Phe Phe Pro Leu Ser Gly

115	120	125	
Ser Leu Ile Phe Gly Lys Gln Gly Thr Gly Arg Asp Asn Val Asp Ala			
130	135	140	
Asp Lys Val Met Ile Thr Asn Glu Glu Glu Ile Lys Thr Thr Asn Pro			
145	150	155	160
Val Ala Thr Glu Ser Tyr Gln Val Ala Thr Asn His Gln Ser Gly			
165	170	175	
Gln Ala Gln Ala Ala Thr Gly Trp Val Gln Asn Gln Gly Ile Leu Pro			
180	185	190	
Gly Met Val Trp Gln Asp Arg Asp Val Tyr Leu Gln Gly Pro Ile Trp			
195	200	205	
Ala Lys Ile Pro His Thr Asp Gly Asn Phe His Pro Ser Pro Leu Met			
210	215	220	
Gly Gly Phe Gly Met Lys His Pro Pro Pro Gln Ile Leu Ile Lys			
225	230	235	
<210> 33			
<211> 240			
<212> PRT			
<213> Adeno-associated virus-5			
<400> 33			
Asn Phe Glu Phe Thr Tyr Asn Phe Glu Glu Val Pro Phe His Ser Ser			
1	5	10	15
Phe Ala Pro Ser Gln Asn Leu Phe Lys Leu Ala Asn Pro Leu Val Asp			
20	25	30	
Gln Tyr Leu Tyr Arg Phe Val Ser Thr Asn Asn Thr Gly Gly Val Gln			
35	40	45	
Phe Asn Lys Asn Leu Ala Gly Arg Tyr Ala Asn Thr Tyr Lys Asn Trp			
50	55	60	
Phe Pro Gly Pro Met Gly Arg Thr Gln Gly Trp Asn Leu Gly Ser Gly			
65	70	75	80
Val Asn Arg Ala Ser Val Ser Ala Phe Ala Thr Thr Asn Arg Met Glu			

85 90 95

Leu Glu Gly Ala Ser Tyr Gln Val Pro Pro Gln Pro Asn Gly Met Thr

100 105 110

Asn Asn Leu Gln Gly Ser Asn Thr Tyr Ala Leu Glu Asn Thr Met Ile

115 120 125

Phe Asn Ser Gln Pro Ala Asn Pro Gly Thr Thr Ala Thr Tyr Leu Glu

130 135 140

Gly Asn Met Leu Ile Thr Ser Glu Ser Glu Thr Gln Pro Val Asn Arg

145 150 155 160

Val Ala Tyr Asn Val Gly Gln Met Ala Thr Asn Asn Gln Ser Ser

165 170 175

Thr Thr Ala Pro Ala Thr Gly Thr Tyr Asn Leu Gln Glu Ile Val Pro

180 185 190

Gly Ser Val Trp Met Glu Arg Asp Val Tyr Leu Gln Gly Pro Ile Trp

195 200 205

Ala Lys Ile Pro Glu Thr Gly Ala His Phe His Pro Ser Pro Ala Met

210 215 220

Gly Gly Phe Gly Leu Lys His Pro Pro Pro Met Met Leu Ile Lys Asn

225 230 235 240

<210> 34

<211> 250

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 34

Thr Phe Ser Tyr Thr Phe Glu Glu Val Pro Phe His Ser Ser Tyr Ala

1 5 10 15

His Ser Gln Ser Leu Asp Arg Leu Met Asn Pro Leu Ile Asp Gln Tyr

20 25 30

Leu Tyr Tyr Leu Asn Arg Thr Gln Asn Gln Ser Gly Ser Ala Gln Asn

35 40 45

Lys Asp Leu Leu Phe Ser Arg Gly Ser Pro Ala Gly Met Ser Val Gln

50 55 60

Pro Lys Asn Trp Leu Pro Gly Pro Cys Tyr Arg Gln Gln Arg Val Ser

65 70 75 80

Lys Thr Lys Thr Asp Asn Asn Ser Asn Phe Thr Trp Thr Gly Ala

85 90 95

Ser Lys Tyr Asn Leu Asn Gly Arg Glu Ser Ile Ile Asn Pro Gly Thr

100 105 110

Ala Met Ala Ser His Lys Asp Asp Glu Asp Lys Phe Phe Pro Met Ser

115 120 125

Gly Val Met Ile Phe Gly Lys Glu Ser Ala Gly Ala Ser Asn Thr Ala

130 135 140

Leu Asp Asn Val Met Ile Thr Asp Glu Glu Glu Ile Lys Ala Thr Asn

145 150 155 160

Pro Val Ala Thr Glu Arg Phe Gly Thr Val Ala Val Asn Phe Gln Ser

165 170 175

Ser Ser Thr Asp Leu Ala Leu Gly Glu Thr Thr Arg Pro Ala Pro Ala

180 185 190

Thr Gly Asp Val His Ala Met Gly Ala Leu Pro Gly Met Val Trp Gln

195 200 205

Asp Arg Asp Val Tyr Leu Gln Gly Pro Ile Trp Ala Lys Ile Pro His

210 215 220

Thr Asp Gly His Phe His Pro Ser Pro Leu Met Gly Gly Phe Gly Leu

225 230 235 240

Lys Asn Pro Pro Pro Gln Ile Leu Ile Lys

245 250

<210> 35

<211> 250

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 35

Thr Phe Ser Tyr Thr Phe Glu Asp Val Pro Phe His Ser Ser Tyr Ala
 1 5 10 15
 His Ser Gln Ser Leu Asp Arg Leu Met Asn Pro Leu Ile Asp Gln Tyr
 20 25 30
 Leu Tyr Tyr Leu Asn Arg Thr Gln Asn Gln Ser Gly Ser Ala Gln Asn
 35 40 45
 Lys Asp Leu Leu Phe Ser Arg Gly Ser Pro Ala Gly Met Ser Val Gln
 50 55 60
 Pro Lys Asn Trp Leu Pro Gly Pro Cys Tyr Arg Gln Gln Arg Val Ser
 65 70 75 80
 Lys Thr Lys Thr Asp Asn Asn Ser Asn Phe Thr Trp Thr Gly Ala
 85 90 95
 Ser Lys Tyr Asn Leu Asn Gly Arg Glu Ser Ile Ile Asn Pro Gly Thr
 100 105 110
 Ala Met Ala Ser His Lys Asp Asp Lys Asp Lys Phe Phe Pro Met Ser
 115 120 125
 Gly Val Met Ile Phe Gly Lys Glu Ser Ala Gly Ala Ser Asn Thr Ala
 130 135 140
 Leu Asp Asn Val Met Ile Thr Asp Glu Glu Glu Ile Lys Ala Thr Asn
 145 150 155 160
 Pro Val Ala Thr Glu Arg Phe Gly Thr Val Ala Val Asn Leu Gln Ser
 165 170 175
 Ser Ser Thr Asp Leu Ala Leu Gly Glu Thr Thr Arg Pro Ala Pro Ala
 180 185 190
 Thr Gly Asp Val His Val Met Gly Ala Leu Pro Gly Met Val Trp Gln
 195 200 205
 Asp Arg Asp Val Tyr Leu Gln Gly Pro Ile Trp Ala Lys Ile Pro His
 210 215 220
 Thr Asp Gly His Phe His Pro Ser Pro Leu Met Gly Gly Phe Gly Leu
 225 230 235 240
 Lys His Pro Pro Pro Gln Ile Leu Ile Lys

245 250

<210> 36

<211> 250

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 36

Phe Ser Tyr Thr Phe Glu Asp Val Pro Phe His Ser Ser Tyr Ala His

1 5 10 15

Ser Gln Ser Leu Asp Arg Leu Met Asn Pro Leu Ile Asp Gln Tyr Leu

20 25 30

Tyr Tyr Leu Ser Arg Thr Asn Thr Pro Ser Gly Thr Thr Thr Gln Ser

35 40 45

Arg Leu Gln Phe Ser Gln Ala Gly Ala Ser Asp Ile Arg Asp Gln Ser

50 55 60

Arg Asn Trp Leu Pro Gly Pro Cys Tyr Arg Gln Gln Arg Val Ser Lys

65 70 75 80

Thr Ser Ala Asp Asn Asn Ser Glu Tyr Ser Trp Thr Gly Ala Thr

85 90 95

Lys Tyr His Leu Asn Gly Arg Asp Ser Leu Val Asn Pro Gly Pro Ala

100 105 110

Met Ala Ser His Lys Asp Asp Glu Glu Lys Phe Phe Pro Gln Ser Gly

115 120 125

Val Leu Ile Phe Gly Lys Gln Gly Ser Glu Lys Thr Asn Val Asp Ile

130 135 140

Glu Lys Val Met Ile Thr Asp Glu Glu Glu Ile Arg Thr Thr Asn Pro

145 150 155 160

Val Ala Thr Glu Gln Tyr Gly Ser Val Ser Thr Asn Leu Gln Arg Gly

165 170 175

Asn Leu Ala Leu Gly Glu Thr Thr Arg Pro Ala Arg Gln Ala Ala Thr

180 185 190

Ala Asp Val Asn Thr Gln Gly Val Leu Pro Gly Met Val Trp Gln Asp

195

200

205

Arg Asp Val Tyr Leu Gln Gly Pro Ile Trp Ala Lys Ile Pro His Thr

210

215

220

Asp Gly His Phe His Pro Ser Pro Leu Met Gly Gly Phe Gly Leu Lys

225 230 235 240

His Pro Pro Pro Gln Ile Leu Ile Lys Asn

245

250

<210> 37

<211> 253

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 37

Asn Phe Gln Phe Thr Tyr Thr Phe Glu Asp Val Pro Phe His Ser Ser

1 5 10 15

Tyr Ala His Ser Gln Ser Leu Asp Arg Leu Met Asn Pro Leu Ile Asp

20 25 30

Gln Tyr Leu Tyr Tyr Leu Ser Arg Thr Gln Thr Thr Gly Gly Thr Ala

35 40 45

Asn Thr Gln Thr Leu Gly Phe Ser Gln Gly Gly Pro Asn Thr Met Ala

50 55 60

Asn Gln Ala Lys Asn Trp Leu Pro Gly Pro Cys Tyr Arg Gln Gln Arg

65 70 75 80

Val Ser Thr Thr Thr Gly Gln Asn Asn Asn Ser Asn Phe Ala Trp Thr

85 90 95

Ala Gly Thr Lys Tyr His Leu Asn Gly Arg Asn Ser Leu Ala Asn Pro

100 105 110

Gly Ile Ala Met Ala Thr His Lys Asp Asp Glu Glu Arg Phe Phe Pro

115 120 125

Ser Asn Gly Ile Leu Ile Phe Gly Lys Gln Asn Ala Ala Arg Asp Asn

130

135

140

Ala Asp Tyr Ser Asp Val Met Leu Thr Ser Glu Glu Glu Ile Lys Thr
 145 150 155 160
 Thr Asn Pro Val Ala Thr Glu Glu Tyr Gly Ile Val Ala Asn Asn Leu
 165 170 175
 Gln Gln Gln Asn Leu Ala Leu Gly Glu Thr Thr Arg Pro Ala Thr Ala
 180 185 190
 Pro Gln Ile Gly Thr Val Asn Ser Gln Gly Ala Leu Pro Gly Met Val

195 200 205
 Trp Gln Asn Arg Asp Val Tyr Leu Gln Gly Pro Ile Trp Ala Lys Ile
 210 215 220
 Pro His Thr Asp Gly Asn Phe His Pro Ser Pro Leu Met Gly Gly Phe
 225 230 235 240
 Gly Leu Lys His Pro Pro Pro Gln Ile Leu Ile Lys Asn
 245 250

<210> 38

<211> 252

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Synthetic polypeptide

<400> 38

Asn Phe Gln Phe Thr Tyr Thr Phe Glu Asp Val Pro Phe His Ser Ser
 1 5 10 15

Tyr Ala His Ser Gln Ser Leu Asp Arg Leu Met Asn Pro Leu Ile Asp
 20 25 30

Gln Tyr Leu Tyr Tyr Leu Ser Arg Thr Gln Thr Thr Gly Gly Thr Ala
 35 40 45

Asn Thr Gln Thr Leu Gly Phe Ser Gln Gly Gly Pro Asn Thr Met Ala
 50 55 60

Asn Gln Ala Lys Asn Trp Leu Pro Gly Pro Cys Tyr Arg Gln Gln Arg
 65 70 75 80

Val Ser Thr Thr Thr Gly Gln Asn Asn Ser Asn Phe Ala Trp Thr
 85 90 95

Ala Gly Thr Lys Tyr His Leu Asn Gly Arg Asn Ser Leu Ala Asn Pro

100 105 110

Gly Ile Ala Met Ala Thr His Lys Asp Asp Glu Glu Arg Phe Phe Pro

115 120 125

Ser Asn Gly Ile Leu Ile Phe Gly Lys Gln Asn Ala Ala Arg Asp Asn

130 135 140

Ala Asp Tyr Ser Asp Val Met Leu Thr Ser Glu Glu Glu Ile Lys Thr

145 150 155 160

Thr Asn Pro Val Ala Thr Glu Glu Tyr Gly Ile Val Ala Asp Asn Leu

165 170 175

Gln Gly Gln Arg Gly Leu Gly Glu Thr Thr Arg Pro Ala Gln Ala Ala

180 185 190

Gln Ile Gly Thr Val Asn Ser Gln Gly Ala Leu Pro Gly Met Val Trp

195 200 205

Gln Asn Arg Asp Val Tyr Leu Gln Gly Pro Ile Trp Ala Lys Ile Pro

210 215 220

His Thr Asp Gly Asn Phe His Pro Ser Pro Leu Met Gly Gly Phe Gly

225 230 235 240

Leu Lys His Pro Pro Pro Gln Ile Leu Ile Lys Asn

245 250

<210> 39

<211

> 251

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 39

Phe Gln Phe Ser Tyr Thr Phe Glu Asp Val Pro Phe His Ser Ser Tyr

1 5 10 15

Ala His Ser Gln Ser Leu Asp Arg Leu Met Asn Pro Leu Ile Asp Gln

20 25 30

Tyr Leu Tyr Tyr Leu Val Arg Thr Gln Thr Thr Gly Thr Gly Thr

35 40 45

Gln Thr Leu Ala Phe Ser Gln Ala Gly Pro Ser Ser Met Ala Asn Gln

50	55	60
Ala Arg Asn Trp Val Pro Gly Pro Cys Tyr Arg Gln Gln Arg Val Ser		
65	70	75
Thr Thr Thr Asn Gln Asn Asn Ser Asn Phe Ala Trp Thr Gly Ala		
85	90	95
Ala Lys Phe Lys Leu Asn Gly Arg Asp Ser Leu Met Asn Pro Gly Val		
100	105	110
Ala Met Ala Ser His Lys Asp Asp Asp Arg Phe Phe Pro Ser Ser		
115	120	125
Gly Val Leu Ile Phe Gly Lys Gln Gly Ala Gly Asn Asp Gly Val Asp		
130	135	140
Tyr Ser Gln Val Leu Ile Thr Asp Glu Glu Glu Ile Lys Ala Thr Asn		
145	150	155
160		
Pro Val Ala Thr Glu Glu Tyr Gly Ala Val Ala Ile Asn Asn Gln Ala		
165	170	175
Ala Asn Leu Ala Leu Gly Glu Thr Thr Arg Pro Ala Thr Gln Ala Gln		
180	185	190
Thr Gly Leu Val His Asn Gln Gly Val Ile Pro Gly Met Val Trp Gln		
195	200	205
Asn Arg Asp Val Tyr Leu Gln Gly Pro Ile Trp Ala Lys Ile Pro His		
210	215	220
Thr Asp Gly Asn Phe His Pro Ser Pro Leu Met Gly Gly Phe Gly Leu		
225	230	235
240		
Lys His Pro Pro Pro Gln Ile Leu Ile Lys Asn		
245	250	

<210> 40

<211> 253

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 40

Asn Phe Glu Phe Ser Tyr Thr Phe Glu Asp Val Pro Phe His Ser Ser

1 5 10 15

Tyr Ala His Ser Gln Ser Leu Asp Arg Leu Met Asn Pro Leu Ile Asp

20 25 30

Gln Tyr Leu Tyr Tyr Leu Ser Arg Thr Gln Ser Thr Gly Gly Thr Gln

35 40 45

Gly Thr Gln Gln Leu Leu Phe Ser Gln Ala Gly Pro Ala Asn Met Ser

50 55 60

Ala Gln Ala Lys Asn Trp Leu Pro Gly Pro Cys Tyr Arg Gln Gln Arg

65 70 75 80

Val Ser Thr Thr Leu Ser Gln Asn Asn Ser Asn Phe Ala Trp Thr

85 90 95

Gly Ala Thr Lys Tyr His Leu Asn Gly Arg Asp Ser Leu Val Asn Pro

100 105 110

Gly Val Ala Met Ala Thr His Lys Asp Asp Glu Glu Arg Phe Pro

115 120 125

Ser Ser Gly Val Leu Met Phe Gly Lys Gln Gly Ala Gly Arg Asp Asn

130 135 140

Val Asp Tyr Ser Ser Val Met Leu Thr Ser Glu Glu Glu Ile Lys Thr

145 150 155 160

Thr Asn Pro Val Ala Thr Glu Gln Tyr Gly Val Val Ala Asp Asn Leu

165 170 175

Gln Gln Leu Ala Leu Gly Glu Thr Thr Arg Pro Ala Ala Asn Thr Gly

180 185 190

Pro Ile Val Gly Asn Val Asn Ser Gln Gly Ala Leu Pro Gly Met Val

195 200 205

Trp Gln Asn Arg Asp Val Tyr Leu Gln Gly Pro Ile Trp Ala Lys Ile

210 215 220

Pro His Thr Asp Gly Asn Phe His Pro Ser Pro Leu Met Gly Gly Phe

225 230 235 240

Gly Leu Lys His Pro Pro Pro Gln Ile Leu Ile Lys Asn

245 250

<210> 41

<211> 252

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 41

Phe Glu Phe Ser Tyr Ser Phe Glu Asp Val Pro Phe His Ser Ser Tyr

1 5 10 15

Ala His Ser Gln Ser Leu Asp Arg Leu Met Asn Pro Leu Ile Asp Gln

20 25 30

Tyr Leu Tyr Tyr Leu Ala Arg Thr Gln Ser Asn Pro Gly Gly Thr Ala

35 40 45

Gly Asn Arg Glu Leu Gln Phe Tyr Gln Gly Gly Pro Ser Thr Met Ala

50 55 60

Glu Gln Ala Lys Asn Trp Leu Pro Gly Pro Cys Phe Arg Gln Gln Arg

65 70 75 80

Val Ser Lys Thr Leu Asp Gln Asn Asn Ser Asn Phe Ala Trp Thr

85 90 95

Gly Ala Thr Lys Tyr His Leu Asn Gly Arg Asn Ser Leu Val Asn Pro

100 105 110

Gly Val Ala Met Ala Thr His Lys Asp Asp Glu Asp Arg Phe Pro

115 120 125

Ser Ser Gly Val Leu Ile Phe Gly Lys Thr Gly Ala Thr Asn Lys Thr

130 135 140

Thr Leu Glu Asn Val Leu Met Thr Asn Glu Glu Glu Ile Arg Pro Thr

145 150 155 160

Asn Pro Val Ala Thr Glu Glu Tyr Gly Ile Val Ser Ser Asn Leu Gln

165 170 175

Ala Ala Asn Leu Ala Leu Gly Glu Thr Thr Arg Pro Ala Thr Ala Ala

180 185 190

Gln Thr Gln Val Val Asn Asn Gln Gly Ala Leu Pro Gly Met Val Trp

195 200 205

Gln Asn Arg Asp Val Tyr Leu Gln Gly Pro Ile Trp Ala Lys Ile Pro

210 215 220

His Thr Asp Gly Asn Phe His Pro Ser Pro Leu Met Gly Gly Phe Gly

225 230 235 240

Leu Lys His Pro Pro Gln Ile Leu Ile Lys Asn

245 250

<210> 42

<211> 249

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 42

Phe Gln Phe Ser Tyr Glu Phe Glu Asn Val Pro Phe His Ser Ser Tyr

1 5 10 15

Ala His Ser Gln Ser Leu Asp Arg Leu Met Asn Pro Leu Ile Asp Gln

20 25 30

Tyr Leu Tyr Tyr Leu Ser Lys Thr Ile Asn Gly Ser Gly Gln Asn Gln

35 40 45

Gln Thr Leu Lys Phe Ser Val Ala Gly Pro Ser Asn Met Ala Val Gln

50 55 60

Gly Arg Asn Tyr Ile Pro Gly Pro Ser Tyr Arg Gln Gln Arg Val Ser

65 70 75 80

Thr Thr Val Thr Gln Asn Asn Ser Glu Phe Ala Trp Pro Gly Ala

85 90 95

Ser Ser Trp Ala Leu Asn Gly Arg Asn Ser Leu Met Asn Pro Gly Pro

100 105 110

Ala Met Ala Ser His Lys Glu Gly Glu Asp Arg Phe Phe Pro Leu Ser

115 120 125

Gly Ser Leu Ile Phe Gly Lys Gln Gly Thr Gly Arg Asp Asn Val Asp

130 135 140

Ala Asp Lys Val Met Ile Thr Asn Glu Glu Glu Ile Lys Thr Thr Asn
 145 150 155 160

Pro Val Ala Thr Glu Ser Tyr Gly Gln Val Ala Thr Asn His Gln Ser
 165 170 175

Ala Gln Leu Ala Leu Gly Glu Thr Thr Arg Pro Ala Gln Ala Gln Thr
 180 185 190

Gly Trp Val Gln Asn Gln Gly Ile Leu Pro Gly Met Val Trp Gln Asp
 195 200 205

Arg Asp Val Tyr Leu Gln Gly Pro Ile Trp Ala Lys Ile Pro His Thr
 210 215 220

Asp Gly Asn Phe His Pro Ser Pro Leu Met Gly Gly Phe Gly Met Lys
 225 230 235 240

His Pro Pro Pro Gln Ile Leu Ile Lys
 245

<210> 43

<211> 248

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 43

Gln Phe Ser Tyr Glu Phe Glu Asn Val Pro Phe His Ser Ser Tyr Ala
 1 5 10 15

His Ser Gln Ser Leu Asp Arg Leu Met Asn Pro Leu Ile Asp Gln Tyr

20 25 30

Leu Tyr Tyr Leu Ser Lys Thr Ile Asn Gly Ser Gly Gln Asn Gln Gln
 35 40 45

Thr Leu Lys Phe Ser Val Ala Gly Pro Ser Asn Met Ala Val Gln Gly
 50 55 60

Arg Asn Tyr Ile Pro Gly Pro Ser Tyr Arg Gln Gln Arg Val Ser Thr
 65 70 75 80

Thr Val Thr Gln Asn Asn Ser Glu Phe Ala Trp Pro Gly Ala Ser

85	90	95	
Ser Trp Ala Leu Asn Gly Arg Asn Ser Leu Met Asn Pro Gly Pro Ala			
100	105	110	
Met Ala Ser His Lys Glu Gly Glu Asp Arg Phe Phe Pro Leu Ser Gly			
115	120	125	
Ser Leu Ile Phe Gly Lys Gln Gly Thr Gly Arg Asp Asn Val Asp Ala			
130	135	140	
Asp Lys Val Met Ile Thr Asn Glu Glu Glu Ile Lys Thr Thr Asn Pro			
145	150	155	160
Val Ala Thr Glu Ser Tyr Gln Val Ala Thr Asn His Gln Ser Gly			
165	170	175	
Gln Ala Ala Leu Gly Glu Thr Thr Arg Pro Ala Gln Ala Ala Thr Gly			
180	185	190	
Trp Val Gln Asn Gln Gly Ile Leu Pro Gly Met Val Trp Gln Asp Arg			
195	200	205	
Asp Val Tyr Leu Gln Gly Pro Ile Trp Ala Lys Ile Pro His Thr Asp			
210	215	220	
Gly Asn Phe His Pro Ser Pro Leu Met Gly Gly Phe Gly Met Lys His			
225	230	235	240
Pro Pro Pro Gln Ile Leu Ile Lys			
245			
<210> 44			
<211> 250			
<212> PRT			
<213> Artificial sequence			
<220><223> Synthetic peptide			
<400> 44			
Asn Phe Glu Phe Thr Tyr Asn Phe Glu Glu Val Pro Phe His Ser Ser			
1	5	10	15
Phe Ala Pro Ser Gln Asn Leu Phe Lys Leu Ala Asn Pro Leu Val Asp			
20	25	30	
Gln Tyr Leu Tyr Arg Phe Val Ser Thr Asn Asn Thr Gly Gly Val Gln			

35 40 45

Phe Asn Lys Asn Leu Ala Gly Arg Tyr Ala Asn Thr Tyr Lys Asn Trp

50 55 60

Phe Pro Gly Pro Met Gly Arg Thr Gln Gly Trp Asn Leu Gly Ser Gly

65 70 75 80

Val Asn Arg Ala Ser Val Ser Ala Phe Ala Thr Thr Asn Arg Met Glu

85 90 95

Leu Glu Gly Ala Ser Tyr Gln Val Pro Pro Gln Pro Asn Gly Met Thr

100 105 110

Asn Asn Leu Gln Gly Ser Asn Thr Tyr Ala Leu Glu Asn Thr Met Ile

115 120 125

Phe Asn Ser Gln Pro Ala Asn Pro Gly Thr Thr Ala Thr Tyr Leu Glu

130 135 140

Gly Asn Met Leu Ile Thr Ser Glu Ser Glu Thr Gln Pro Val Asn Arg

145 150 155 160

Val Ala Tyr Asn Val Gly Gly Gln Met Ala Thr Asn Asn Gln Ser Leu

165 170 175

Ala Leu Gly Glu Thr Thr Arg Pro Ala Ser Thr Thr Ala Pro Ala Thr

180 185 190

Gly Thr Tyr Asn Leu Gln Glu Ile Val Pro Gly Ser Val Trp Met Glu

195 200 205

Arg Asp Val Tyr Leu Gln Gly Pro Ile Trp Ala Lys Ile Pro Glu Thr

210 215 220

Gly Ala His Phe His Pro Ser Pro Ala Met Gly Gly Phe Gly Leu Lys

225 230 235 240

His Pro Pro Pro Met Met Leu Ile Lys Asn

245 250

<210> 45

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 45

Leu Ala Leu Gly Glu Thr Thr Arg Pro Ala

1 5 10

<210> 46

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 46

Leu Ala Asn Glu Thr Ile Thr Arg Pro Ala

1 5 10

<210> 47

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 47

Leu Ala Lys Ala Gly Gln Ala Asn Asn Ala

1 5 10

<210> 48

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 48

Leu Ala Lys Asp Pro Lys Thr Thr Asn Ala

1 5 10

<210> 49

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 49

Ala Ala Leu Gly Glu Thr Thr Arg Pro Ala

1 5 10

<210> 50

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 50

Ala Ala Asn Glu Thr Ile Thr Arg Pro Ala

1 5 10

<210> 51

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223>

Synthetic polypeptide

<400> 51

Ala Ala Lys Ala Gly Gln Ala Asn Asn Ala

1 5 10

<210> 52

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 52

Ala Ala Lys Asp Pro Lys Thr Thr Asn Ala

1 5 10

<210> 53

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 53

Gly Leu Gly Glu Thr Thr Arg Pro Ala

1 5

<

<210> 54

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 54

Gly Asn Glu Thr Ile Thr Arg Pro Ala

1 5

<210> 55

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 55

Gly Lys Ala Gly Gln Ala Asn Asn Ala

1 5

<210> 56

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 56

Gly Lys Asp Pro Lys Thr Thr Asn Ala

1 5

<210> 57

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 57

Lys Asp Thr Asp Thr Thr Arg

1 5

<210> 58

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 58

Arg Ala Gly Gly Ser Val Gly

1 5

<210> 59

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 59

Ala Val Asp Thr Thr Lys Phe

1 5

<210> 60

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 60

Ser Thr Gly Lys Val Pro Asn

1 5

<210> 61

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 61

Leu Ala Lys Asp Thr Asp Thr Thr Arg Ala

1 5 10

<210> 62

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 62

Leu Ala Arg Ala Gly Gly Ser Val Gly Ala

1 5 10

<210> 63

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 63

Leu Ala Ala Val Asp Thr Thr Lys Phe Ala

1 5 10

<210> 64

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 64

Leu Ala Ser Thr Gly Lys Val Pro Asn Ala

1 5 10