(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2025-0052478
(43) 공개일자 2025년04월18일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 14/71 (2006.01) *A61K 48/00* (2006.01)
A61P 27/02 (2006.01) *C07K 14/005* (2006.01)
C12N 15/86 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C07K 14/71 (2013.01)
A61K 48/0008 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2025-7011121(분할)
(22) 출원일자(국제) 2018년11월26일
심사청구일자 2025년04월04일
(62) 원출원 특허 10-2020-7017143
원출원일자(국제) 2018년11월26일
심사청구일자 2021년09월14일
(85) 번역문제출일자 2025년04월04일
(86) 국제출원번호 PCT/US2018/062478
(87) 국제공개번호 WO 2019/104279
국제공개일자 2019년05월31일
(30) 우선권주장
62/590,976 2017년11월27일 미국(US)
62/664,726 2018년04월30일 미국(US)

(71) 출원인
4디 몰레큘러 테라퓨틱스 아이엔씨.
미국, 캘리포니아주 94608, 에머리빌, 스위트 455, 5858 호턴 스트리트
(72) 발명자
크린, 데이비드
미국, 캘리포니아주 94608, 에머리빌, 스위트 460, 5980 호턴 스트리트
코터맨, 멜리사
미국, 캘리포니아주 94608, 에머리빌, 스위트 460, 5980 호턴 스트리트
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
신관호

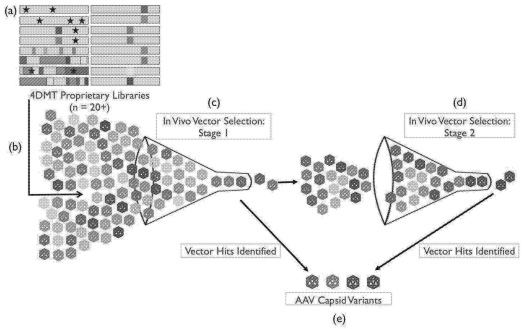
전체 청구항 수 : 총 20 항

(54) 발명의 명칭 **아데노-관련 바이러스 변이체 캡시드 및 혈관 신생을 억제하기 위한 용도**

(57) 요 약

본원에 제공된 변이체 아데노-관련 바이러스(AAV) 캡시드 단백질은 모(Parental) AAV 캡시드 단백질에 비해 아미노산 서열에서 하나 이상의 변형을 가지며, 이는 AAV 비리온에 존재할 때, 변형되지 않은 모 AAV 캡시드 단백질을 포함하는 AAV 비리온에 의한 망막 세포의 감염성과 비교하여 하나 이상의 유형의 망막 세포의 증가된 감염성을 부여한다. 또한, 본원에 기술된 바와 같이, 변이체 AAV 캡시드 단백질을 포함하는 재조합 AAV 비리온 및 이의 약학적 조성물, 이들 rAAV 캡시드 단백질 및 비리온을 제조하는 방법, 및 연구 및 임상 실무에서 이들 rAAV 캡시드 단백질 및 비리온을 사용하는 방법, 예를 들어, 망막 질환 및 질병의 치료를 위한 망막의 하나 이상의 세포로의 핵산 서열의 전달이 제공된다.

대 표 도



(52) CPC특허분류
A61K 48/005 (2013.01)
A61P 27/02 (2018.01)
C07K 14/005 (2013.01)
C12N 15/86 (2013.01)
C07K 2319/30 (2013.01)
C12N 2750/14122 (2013.01)
C12N 2750/14143 (2013.01)
C12N 2750/14145 (2013.01)

(72) 발명자
샤퍼, 데이비드
미국, 캘리포니아주 94608, 에머리빌, 스위트 460, 5980 호턴 스트리트
스지만스키, 폴
미국, 캘리포니아주 94608, 에머리빌, 스위트 460, 5980 호턴 스트리트
프란치스코, 피터
미국, 캘리포니아주 94608, 에머리빌, 스위트 460, 5980 호턴 스트리트

명 세 서

청구범위

청구항 1

(i) 서열 식별 번호 65(aflibercept)로 표시되는 뉴클레오타이드 서열,

(ii) 서열 식별 번호 65(aflibercept)의 뉴클레오타이드 79-1377에 표시되는 뉴클레오타이드 서열,

(iii) (i)에 표시되는 뉴클레오타이드 서열과 적어도 98% 동일한 뉴클레오타이드 서열;

(iv) (ii)에 표시되는 뉴클레오타이드 서열과 적어도 98% 동일한 뉴클레오타이드 서열 중 하나 이상을 포함하며 VEGFa의 억제제를 인코딩하는 핵산.

청구항 2

제 1항에 있어서,

상기 뉴클레오타이드 서열이 (i)에 표시되는 뉴클레오타이드 서열과 적어도 99% 동일하거나 (ii)에 표시되는 뉴클레오타이드 서열과 적어도 99% 동일한, 핵산.

청구항 3

제 1항의 핵산을 포함하며, (i) 내지 (iv) 중 어느 것에 표시되는 뉴클레오타이드 서열은 발현 제어 서열에 작동 가능하게 연결되며, rAAV 벡터는 상응하는 모 AAV 캡시드 단백질에 비해 캡시드 단백질의 GH-루프에 펩타이드 삽입을 포함하는 변이체 아데노 관련 바이러스(AAV) 캡시드 단백질을 포함하고, 삽입 부위는 AAV2의 VP1의 아미노산 587과 588에 상응하는 아미노산 사이 또는 AAV2의 VP1의 아미노산 588과 589에 상응하는 아미노산 또는 다른 AAV 혈청형의 캡시드 단백질에서 상응하는 위치에 상응하는 아미노산 사이이며, 펩타이드 삽입은 아미노산 서열 ISDQTKH(서열 식별 번호 14)를 포함하는, 재조합 아데노-관련 바이러스(rAAV) 벡터.

청구항 4

제 3항에 있어서,

상기 발현 제어 서열은 유비쿼터스 프로모터를 포함하는, 재조합 아데노-관련 바이러스(rAAV) 벡터.

청구항 5

제 4항에 있어서,

상기 유비쿼터스 프로모터는 CMV, CAG 및 CBA 프로모터로부터 선택되는, 재조합 아데노-관련 바이러스(rAAV) 벡터.

청구항 6

제 3항에 있어서,

재조합 아데노-관련 바이러스(rAAV) 벡터는 (a) (i) 또는 (ii)에 표시되는 뉴클레오타이드 서열 또는 (i) 또는 (ii)와 적어도 99% 동일한 뉴클레오타이드 서열을 포함하고, 상기 뉴클레오타이드 서열이 발현 제어 서열에 작동 가능하게 연결되는, 핵산 및

(b) 상응하는 모 AAV 캡시드 단백질에 비해 캡시드 단백질의 GH-루프에 펩타이드 삽입을 포함하고, 상기 펩타이드 삽입은 아미노산 서열 ISDQTKH(서열 식별 번호 14)를 포함하는, 변이체 아데노-관련 바이러스(AAV) 캡시드 단백질을 포함하는, 재조합 아데노-관련 바이러스(rAAV) 벡터.

청구항 7

제 6항에 있어서,

상기 펩타이드 삽입은 길이가 10개의 아미노산이며 아미노산 서열 Y_1Y_2ISDQTKHY_3을 포함하고, 여기서 각각의 Y_1-Y_3은 Ala, Leu, Gly, Ser, Thr 및 Pro로부터 독립적으로 선택되는, 재조합 아데노-관련 바이러스(rAAV) 벡터.

청구항 8

제 7항에 있어서,

상기 펩타이드 삽입은 아미노산 서열 LAISDQTKHA(서열 식별 번호 28)를 포함하는, 재조합 아데노-관련 바이러스(rAAV) 벡터.

청구항 9

제 6항에 있어서,

삽입 부위는 AAV2(서열 식별 번호 2)의 VP1의 아미노산 587과 588에 상응하는 아미노산 또는 다른 AAV 혈청형의 캡시드 단백질에서 상응하는 위치에 상응하는 아미노산 사이인, 재조합 아데노-관련 바이러스(rAAV) 벡터.

청구항 10

제 6항에 있어서,

상기 캡시드 단백질은 AAV2(서열 식별 번호 2)의 VP1 캡시드에 비해 P34A 아미노산 치환 또는 다른 AAV 혈청형에서 상응하는 치환을 포함하는, 재조합 아데노-관련 바이러스(rAAV) 벡터.

청구항 11

제 10항에 있어서,

상기 캡시드 단백질은 (i) 아미노산 서열 ISDQTKH(서열 식별 번호 14) 및 (ii) P34A 아미노산 치환을 포함하고, 서열 식별 번호 42로 표시되는 서열과 적어도 90% 동일한, 재조합 아데노-관련 바이러스(rAAV) 벡터.

청구항 12

제 11항에 있어서,

상기 캡시드 단백질은 서열 식별 번호 42로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는, 재조합 아데노-관련 바이러스(rAAV) 벡터.

청구항 13

제 3항에 있어서,

상기 핵산은 혈관 신생을 억제하는 간섭 RNA를 인코딩하는 뉴클레오타이드 서열을 추가로 포함하는, 재조합 아데노-관련 바이러스(rAAV) 벡터.

청구항 14

제 13항에 있어서,

상기 간섭 RNA는 VEGFa, VEGFb, VEGFc, VEGFd, VEGFR1, VEGFR2, PGF, PDGF 및 안지오포이에틴(angiopoientin)으로부터 선택되는 프로-혈관 신생(pro-angiogenic) 유전자 산물의 발현을 감소시키는, 재조합 아데노-관련 바이러스(rAAV) 벡터.

청구항 15

제 1항 또는 제 2항의 핵산 또는 제 3항 내지 제 14항 중 어느 한 항의 rAAV 및 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는 습식 나이-관련 황반 변성; 당뇨병성 황반 부종; 망막 정맥 폐색 후 황반 부종; 당뇨병성 망막증; 및 근시 맥락막 신생 혈관으로부터 선택되는 VEGFa-관련 안구 질병 치료용 약학적 조성물.

청구항 16

제 1항 또는 제 2항의 핵산 또는 제 3항 내지 제14항 중 어느 한 항의 rAAV을 포함하는 조성물이며, VEGF 억제

제를 망막 세포, 맥락막 세포, 수정체 세포, 모양체 세포, 홍채 세포, 시신경 세포 및/또는 각막 세포에 전달하는 시험관 내(in vitro) 방법용인, 조성물.

청구항 17

제 15항에 있어서,

습식 나이-관련 황반 변성; 망막 정맥 폐색 후 황반 부종; 망막 정맥 폐색 후 망막 신생 혈관; 당뇨병성 황반 부종, 당뇨병성 망막증; 근시 황반 변성; 분지 망막 정맥 폐색, 반-망막 정맥 폐색 및 중앙 망막 정맥 폐색; 미숙아 망막증; 특발성 맥락막 신생 혈관; 근시 황반 변성 및 2차 망막 및 맥락막 신생 혈관; 망막 모세혈관 확장증; 신혈관성 녹내장; 유리체 출혈; 이에 제한되지는 않지만, 포도막염, 외상, 망막 변성 질환, 유전적 망막 및/또는 맥락막 질병, 눈의 종양, 각막 및 홍채 신생 혈관을 포함하는 망막 질병에 대한 2차-망막 및 맥락막 신생 혈관으로부터 선택되는 VEGFa-관련 안구 질병 치료를 필요로 하는 대상에서 치료하는 방법용인, 약학적 조성물.

청구항 18

제 17항에 있어서,

상기 VEGFa-관련 안구 질병은 습식 나이-관련 황반 변성; 당뇨병성 황반 부종; 망막 정맥 폐색 후 황반 부종; 당뇨병성 망막증; 및 근시 맥락막 신생 혈관으로부터 선택되는, 약학적 조성물.

청구항 19

제 17항에 있어서,

VEGFa-관련 안구 질병을 치료하는 방법은 약학적 조성물을 대상에게 안구 내투여를 포함하는, 약학적 조성물.

청구항 20

제 19항에 있어서,

VEGFa-관련 안구 질병을 치료하는 방법은 약학적 조성물을 대상에게 유리체 내 투여를 포함하는, 약학적 조성물.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 출원은 2017년 11월 27일에 출원된 미국 가 특허출원 제62/590,976호 및 2018년 4월 30일에 출원된 미국 가 특허출원 제62/664,726호의 혜택을 주장하며, 이들의 전체 개시 내용은 본원에 참고로 포함된다.

[0002] 텍스트 파일로 제공되는 서열 목록의 참조로 포함

[0003] 서열 목록은 2018년 11월 26일에 작성되고 크기가 238KB인 텍스트 파일, "090400-5010-WO-seq-listing.txt"로서 본원에 제공된다. 텍스트 파일의 내용은 그 전체가 참조로서 본원에 포함된다.

배 경 기 술

[0004] 본원에 개시된 발명은 일반적으로 변이체 캡시드 단백질을 포함하는 아데노-관련 바이러스(AAV) 비리온의 분야 및 유도 진화 기술을 이용한 이 같은 변이체 캡시드의 생성에 관한 것이다.

[0005] 유전성 망막 질환은 3000명 중 1명(전 세계적으로 2백만 명을 초과함)에 영향을 미치고 심각한 시력 상실 또는 실명의 주요 원인인 매우 다양한 이종성 유전 질병을 포함한다. 습식 나이 관련 황반 변성(wAMD)과 당뇨병성 망막증(DR)과 같은 복합 다중 인자성 망막 질병은 더 많은 개인에게 영향을 미치며, 이때 170만명의 미국인이 현재 wAMD와 관련된 심각한 중심 시력 상실을 앓고 있으며, 당뇨병에 걸린 40세 이상의 성인의 거의 1/3이 시각 장애가 갖고 있다. 이 질환은 전형적으로 일부 경우에 핵심 단백질, 예를 들어, LCA2의 RPE65의 발현 또는 기능의 부재로 인해, 다른 경우에는 독성 유전자 산물을 생성하기 위한 유전자 돌연변이, 예를 들어 로돕신 단백질 폴딩(rhodopsin protein folding)에 영향을 미치는 우성 돌연변이로 인해, 또는 또 다른 경우에 wAMD의 VEGF와 같은 단백질의 이소성 발현에 의해 유발된 망막 생리학의 변화로 인한 망막 세포의 하나 이상의 유형의 기능 장애 또는 사망과 관련이 있다.

[0006] 이러한 큰 비의학적 필요성을 해결하기 위한 한 가지 방법은 망막의 하나 이상의 세포 유형에 유전자를 전달하기 위해, 예를 들어 누락 유전자(missing gene)를 대체하거나, 우성 결손 유전자를 보정하거나, 연속 단백질 치료를 위한 주형을 제공기 위해 재조합 아데노-관련 바이러스(rAAV)를 사용하는 유전자 기반 아데노 관련 바이러스(AAV) 매개 치료법이다. AAV 기반 임상 유전자 치료법이 점점 성공적으로 진행되고는 있지만, 바이러스 벡터 특성과 관련하여, 예를 들어, 망막의 원하는 세포를 고효율로 표적화하는 것과 관련하여 여전히 단점이 많다. 예를 들어, 여러 상동성 영장류 AAV 혈청형 및 수많은 비인간 영장류 혈청형이 확인되고 특징 지어졌으며, AAV2가 AAV 혈청형 중에서 가장 잘 특징지어져 있으며, 눈에서의 유전자 전달 비히클로서 최초로 채택되었다. 그러나 이러한 AAV(AAV2를 포함함)는 유리체 내 투여를 통해 전달될 때 망막의 더 깊은 세포 유형을 형질 도입하는데 효과적인 것으로 보고된 바 없다. 따라서, 안구 질병의 치료를 위해 망막 세포에 보다 효과적인 유전자-기반 전달을 제공할, 우수한 형질 도입 능력을 갖는 신규한 AAV 변이체가 당업계에서 필요하다. 당해 분야에 공지된 바와 같은 야생형 AAV 및 AAV 변이체와 비교하여 향상된 망막 형질 도입 프로파일-일부 경우에 광범위하게, 다른 경우에는 특정 망막 세포 유형에 우선적으로-을 나타내는 이 같은 AAV 변이체에 대한 필요성이 당업계에 존재한다.

[0007] 자연적으로 발생하는 AAV는 3개의 오픈 리딩 프레임(open reading frame)인 *rep*, *cap* 및 *aap*를 함유하는 단일 가닥 DNA 바이러스이다. 첫 번째 유전자인 *rep*는 게놈 복제에 필요한 4개의 단백질(Rep78, Rep68, Rep52 및 Rep40)을 인코드하고, 두 번째, *cap*는 바이러스 캡시드를 형성하기 위해 조립되는 3개의 구조 단백질(VP1-3)을 발현하고, 세 번째는 캡시드 조립에 필수적인 조립 활성화 단백질(AAP)을 발현한다. AAV는 활성 복제를 위한 아데노바이러스(adenovirus) 또는 헤르페스바이러스(herpesvirus)와 같은 헬퍼 바이러스(helper virus)의 존재에 의존한다. 헬퍼 바이러스의 부재하에 AAV는 게놈이 에피솜(episome)적으로 유지되거나 AAVS1 유전자좌(locus) 내의 숙주 염색체에 통합되는 잠복 상태를 확립한다.

[0008] *시험관 내(in vitro)* 및 *생체 내(in vivo)* 유도 진화 기술은 현재의 AAV 기반 유전자 전달 벡터보다 개선된 AAV 변이체을 선택하는데 사용될 수 있다. 이 같은 유도 진화 기술은 당해 기술 분야에 공지되어 있으며, *예를 들어,* PCT 공보 WO 2014/194132 및 Kotterman & Schaffer(Nature Review Genetics, AOP, published online 20 May 2014; doi: 10.1038/nrg3742)에 기재되어 있으며, 이의 전체 내용은 본 명세서에 참고로 포함된다. 유도 진화는 반복적인 유전적 다양화 및 선택 과정 라운드를 통해 자연적 진화를 모방하는 캡시드 공학 접근법으로, AAV 기반 비리온과 같은 생체 분자의 기능을 점진적으로 개선시키는 유익한 돌연변이의 축적을 가능하게 한다. 이 접근법에서 야생형 AAV *cap* 유전자는 바이러스 입자의 라이브러리를 생성하기 위해 일괄 처리되는 대형 유전자 라이브러리를 만들기 위해 다양화되고, 유전자 전달 장벽을 극복할 수 있는 우수한 표현형을 가진 독특한 변이체를 분리하기 위해 선택압이 가해진다.

[0009] AAV 변이체는, 예를 들어 미국 특허 제9,193,956호; 제9,186,419호; 제8,632,764호; 제8,663,624호; 제8,927,514호; 제8,628,966호; 제8,263,396호; 제8,734,809호; 제8,889,641호; 제8,632,764호; 제8,691,948호; 제8,299,295호; 제8,802,440호; 제8,445,267호; 제8,906,307호; 제8,574,583호; 제8,067,015호; 제7,588,772호; 제7,867,484호; 제8,163,543호; 제8,283,151호; 제8,999,678호; 제7,892,809호; 제7,906,111호; 제7,259,151호; 제7,629,322호; 제7,220,577호; 제8,802,080호; 제7,198,951호; 제8,318,480호; 제8,962,332호; 제7,790,449호; 제7,282,199호; 제8,906,675호; 제8,524,446호; 제7,712,893호; 제6,491,907호; 제8,637,255호; 제7,186,522호; 제7,105,345호; 제6,759,237호; 제6,984,517호; 제6,962,815호; 제7,749,492호; 제7,259,151호; 및 제6,156,303호; 미국 공개공보 제2013/0295614호; 제2015/0065562호; 제2014/0364338호; 제2013/0323226호; 제2014/0359799호; 제2013/0059732호; 제2014/0037585호; 제2014/0056854호; 제2013/0296409호; 제2014/0335054호; 제2013/0195801호; 제2012/0070899호; 제2011/0275529호; 제2011/0171262호; 제2009/0215879호; 제2010/0297177호; 제2010/0203083호; 제2009/0317417호; 제2009/0202490호; 제2012/0220492호; 제2006/0292117호; 및 제2004/0002159호; 유럽 공개공보 제2692731 A1호; 제2383346 B1호; 제2359865 B1호; 제2359866 B1호; 제2359867 B1호; 및 제2357010 B1호; 제1791858 B1호; 제1668143 B1호; 제1660678 B1호; 제1664314 B1호; 제1496944 B1호; 제1456383 B1호; 제2341068 B1호; 제2338900 B1호; 제1456419 B1호; 제1310571 B1호; 제1456383 B1호; 제1633772 B1호; 및 제1135468 B1호; 및 국제 (PCT) 공개공보 제WO2014/124282호; 제WO2013/170078호; 제WO2014/160092호; 제WO2014/103957호; 제WO2014/052789호; 제WO2013/174760호; 제WO2013/123503호; 제WO2011/038187호; 및 제WO2008/124015호; 제WO2003/054197호에 개시되어 있지만; 이러한 참고 문헌들 중 어느 것도 본원에 개시된 AAV 변이체의 물질 구조의 실시 양태 및/또는 특징 및/또는 조성물이 개시되어 있지 않다.

[0010] 본 명세서 및 인용된 특허 문헌에 인용된 모든 문헌 및 참고 문헌은 본원에 참고로 포함된다.

발명의 내용

과제의 해결 수단

[0011] 본 발명의 요약

[0012] 본원에서는 모 AAV 캡시드 단백질에 비해 아미노산 서열에서 하나 이상의 변형을 갖는 변이체 아데노-관련 바이러스(AAV) 캡시드 단백질이 본원에 제공되며, 이때 상기 변이체 아데노-관련 바이러스(AAV) 캡시드 단백질은 AAV 비리온에 존재할 때 변형되지 않은 모 AAV 캡시드 단백질을 포함하는 AAV 비리온에 의한 막망 세포의 감염성과 비교하여 하나 이상의 유형의 망막 세포의 증가된 감염성을 부여한다. 또한, 재조합 AAV 비리온 및 본원에 개시된 변이체 AAV 캡시드 단백질을 포함하는 이의 약학적 조성물, 변이체 rAAV 캡시드 단백질 및 비리온의 제조 방법, 및 연구 및 임상 실습에서, 예를 들어 망막 질환 및 질병의 치료를 위한 망막의 하나 이상의 세포로의 핵산 서열의 전달에서 이들 rAAV 캡시드 단백질 및 비리온을 사용하는 방법이 제공된다.

[0013] 본원의 일부 양태에서, 변이체 아데노-관련 바이러스(AAV) 캡시드 단백질이 제공되며, 이들 변이체 AAV 캡시드 단백질은 모 AAV 캡시드에 비해 아미노산 서열에서 하나 이상의 변형을 가지며, 이때 상기 변이체 AAV 캡시드 단백질은 AAV 비리온에 존재할 때 아미노산 서열 변형을 포함하지 않는 모 AAV 캡시드 단백질을 포함하는 AAV 비리온에 의한 망막 세포의 감염성과 비교하여 하나 이상의 유형의 망막 세포(예를 들어, 광 수용체 세포(예를 들어, 간상체(rod); 추상체(cone)), 망막 신경절 세포(RGC), 교질 세포(예를 들어, 뮐러 교질 세포(Muller glial cell), 소교 세포(microglial cell)), 양극 세포, 무축삭 세포, 수평 세포 및/또는 망막 색소 상피(RPE) 세포)의 증가된 감염성을 부여한다.

[0014] 본원의 일부 양태에서, 재조합 AAV(rAAV) 비리온이 제공되며, 이들 rAAV 비리온은 본원에 기재된 바와 같은 변이체 캡시드 단백질을 포함하며, 여기서 rAAV 비리온은 상응하는 변형되지 않은 모 AAV 캡시드 단백질을 포함하는 AAV 비리온에 의한 망막 세포의 감염성과 비교하여 하나 이상의 유형의 망막 세포(예를 들어, 광 수용체 세포(예를 들어, 로드형, 원추형), 망막 신경절 세포(RGC), 교질 세포(예를 들어, 뮐러 교질 세포, 소교 세포), 양극 세포, 무축삭 세포, 수평 세포 및/또는 망막 색소 상피(RPE) 세포)의 증가된 감염성을 나타낸다. 일부 실시 양태에서, rAAV 비리온은 모 AAV 캡시드 단백질을 포함하는 AAV 비리온에 비해 모든 망막 세포의 증가된 감염성을 나타낸다. 다른 실시 양태에서, rAAV 비리온은 모 AAV 캡시드 단백질을 포함하는 AAV 비리온에 비해 망막의 특정 세포 유형만의 증가된 감염성을 나타낸다. 달리 말하면, rAAV는 망막의 특정 세포 유형에 대해만 우선적인 증가된 감염성을 나타내지만, 예를 들어 rAAV는 광 수용체 세포, 망막 신경절 세포, 교질 세포, 양극 세포, 무축삭 세포, 수평 세포 및/또는 망막 색소 상피(RPE) 세포로부터 선택되는 하나 이상의 유형의 우선적으로 증가된 감염성을 입증하였지만, 모든 세포 유형의 증가된 감염성을 입증하지 못하였다.

[0015] 일부 실시 양태에서, rAAV 비리온은 이종성 핵산을 포함한다. 일부 이러한 실시 양태에서, 이종성 핵산은 폴리펩타이드를 인코딩하는 RNA를 인코딩한다. 이 같은 다른 실시 양태에서, 이종성 핵산 서열은 폴리펩타이드를 인코딩하지 않는 RNA, 예를 들어, 이종성 핵산 서열이 RNA 간섭제, 핵산 분해 효소에 대한 가이드 RNA 등을 인코딩한다.

[0016] 또한, 본 발명의 감염성 rAAV 비리온 및 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는 약학적 조성물이 제공된다.

[0017] 또한, 표적 세포를 rAAV 비리온과 접촉시킴으로써 이종성 핵산을 표적 세포 (예를 들어 망막 세포)에 전달하는 방법으로 본원에 기재된 바와 같은 변이체 캡시드 단백질을 포함하는 rAAV 비리온의 용도가 제공된다. 일부 실시 양태에서, 표적 세포는 안구 질병 치료를 필요로 하는 개체의 눈에서와같이 *생체 내*에서 존재한다. 다른 실시 양태에서, 표적 세포는 *시험관 내*에 존재한다.

[0018] 또한, 본원에 기재된 바와 같은 변이체 캡시드 단백질을 포함하는 유효량의 rAAV 비리온 또는 유효량의 rAAV 비리온을 포함하는 약학 조성물을 이 같은 치료를 필요로 하는 대상에 투여함으로써 안구 질병을 치료하는 방법이 제공된다.

[0019] 또한, 본원에 기재된 바와 같은 변이체 AAV 캡시드 단백질을 인코딩하는 서열을 포함하는 단리된 핵산, 및 단리된 핵산을 포함하는 숙주 세포가 제공된다. 또 다른 실시 양태에서, 단리된 핵산 및/또는 단리된 숙주 세포는 rAAV를 포함한다.

[0020] 일부 양태에서, 변이체 AAV 캡시드 단백질은 상응하는 모 AAV 캡시드 단백질에 비해 캡시드 단백질의 GH-루프에 약 5개의 아미노산 내지 약 20개의 아미노산("이종성 펩타이드" 또는 "펩타이드 삽입")의 삽입을 포함하며, 여

기서 상기 변이체 캡시드 단백질은 AAV 비리온에 존재하는 경우 상응하는 모 AAV 캡시드 단백질을 포함하는 AAV 비리온에 의한 망막 세포의 감염성과 비교하여 망막 세포의 증가된 감염성을 부여한다. 일부 실시 양태에서, 펩타이드는 QADTTKN(서열 식별 번호 13), ISDQTKH(서열 식별 번호 14), ASDSTKA(서열 식별 번호 15), NQDYTKT(서열 식별 번호 16), HDITKNI(서열 식별 번호 17), HPDTTKN(서열 식별 번호 18), HQDTTKN(서열 식별 번호 19), NKTTNKD(서열 식별 번호 20), ISNENEH(서열 식별 번호 21), QANANEN(서열 식별 번호 22), GKSKVID(서열 식별 번호 23), TNRTSPD(서열 식별 번호 24), PNSTHGS(서열 식별 번호 25), KDRAPST(서열 식별 번호 26), LAQADTTKNA(서열 식별 번호 27), LAISDQTKHA(서열 식별 번호 28), LGISDQTKHA(서열 식별 번호 29), LAASDSTKAA(서열 식별 번호 30), LANQDYTKTA(서열 식별 번호 31), LAHDITKNIA(서열 식별 번호 32), LAHPDTTKNA(서열 식별 번호 : 33), LAHQDTTKNA(서열 식별 번호 34), LANKTTNKDA(서열 식별 번호 35), LPISNENEHA(서열 식별 번호 36), LPQANANENA(서열 식별 번호 37), LAGKSKVIDA(서열 식별 번호 38), LATNRTSPDA(서열 식별 번호 39), LAPNSTHGSA(서열 식별 번호 40) 및 LAKDRAPSTA (서열 식별 번호 41)로 이루어진 군으로부터 선택되는 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 펩타이드는 본질적으로 QADTTKN(서열 식별 번호 13), ISDQTKH(서열 식별 번호 14), ASDSTKA(서열 식별 번호 15), NQDYTKT(서열 식별 번호 16), HDITKNI(서열 식별 번호 17), HPDTTKN(서열 식별 번호 18), HQDTTKN(서열 식별 번호 19), NKTTNKD(서열 식별 번호 20), ISNENEH(서열 식별 번호 21), QANANEN(서열 식별 번호 22), GKSKVID(서열 식별 번호 23), TNRTSPD(서열 식별 번호 24), PNSTHGS(서열 식별 번호 25), KDRAPST(서열 식별 번호 26), LAQADTTKNA(서열 식별 번호 27), LAISDQTKHA(서열 식별 번호 28), LGISDQTKHA(서열 식별 번호 29), LAASDSTKAA(서열 식별 번호 30), LANQDYTKTA(서열 식별 번호 31), LAHDITKNIA(서열 식별 번호 32), LAHPDTTKNA(SEQ (서열 식별 번호 33), LAHQDTTKNA(서열 식별 번호 34), LANKTTNKDA(서열 식별 번호 35), LPISNENEHA(서열 식별 번호 36), LPQANANENA(서열 식별 번호 37), LAGKSKVIDA(서열 식별 번호 38), LATNRTSPDA(서열 식별 번호 39), LAPNSTHGSA(서열 식별 번호 40) 및 LAKDRAPSTA(서열 식별 번호 41)로 이루어진 군으로부터 선택되는 서열로 이루어져 있다. 일부 양태에서, AAV 캡시드 단백질은 상응하는 모 AAV 캡시드 단백질에 비해 하나 이상의 아미노산 치환을 포함하며, 이때 상기 변이체 캡시드 단백질은 AAV 비리온에 존재하는 경우에 상응하는 모 AAV 캡시드 단백질을 포함하는 AAV 비리온에 의한 망막 세포의 감염성과 비교하여 망막 세포의 증가된 감염성을 부여한다.

[0021] 관련 양태에서, 변이체 AAV 캡시드 단백질은 상응하는 모 AAV 캡시드 단백질에 비해 펩타이드 삽입 및 하나 이상의 아미노산 치환을 포함하며, 이때 상기 변이체 캡시드 단백질은 AAV 비리온에 존재하는 경우에 상응하는 모 AAV 캡시드 단백질을 포함하는 AAV 비리온에 의한 망막 세포의 감염성과 비교하여 망막 세포의 증가된 감염성을 부여한다.

[0022] AAV2에 비해 이종 펩타이드 LAISDQTKHA(서열 식별 번호 28) 및 P34A 치환을 포함하는 변이체 AAV 캡시드 단백질이 또한 본원에 개시된다. 관련 실시 양태에서, 서열 식별 번호 42로 표시된 서열과 적어도 90% 동일한 변이체 AAV 캡시드 단백질 및 VEGF 억제제, 바람직하게는 VEGFa 억제제를 인코딩하는 서열을 포함하는 이종성 핵산을 포함하는 감염성 재조합 AAV, 및 이를 포함하는 약학적 조성물이 본원에 개시된다. 일부 실시 양태에서, VEGF 억제제를 인코딩하는 이종성 핵산 서열은 Aflibercept, Ranibizumab, 단일-사슬 버전의 Ranibizumab(sc-Ranibizumab LH 또는 HL), IgG Fc 도메인에 융합된 sc-Ranibizumab(sc-Ranibizumab-Fc), 또는 IgG Fc 도메인에 융합된 Brolucizumab(Brolucizumab-Fc)로부터 선택된다. 관련 실시 양태에서, 재조합 AAV는 2개 이상의 서열을 포함하는 이종성 핵산을 포함하며, 이들 각각은 VEGFa 억제제(예를 들어, Aflibercept를 인코딩하는 제 1 서열 및 Brolucizumab를 코딩하는 제 2 서열)를 인코딩한다. 바람직한 실시 양태에서, 이종 핵산 서열은 서열 식별 번호 65, 67, 69, 70, 72, 74, 76 중 어느 하나의 서열 또는 적어도 90% 동일한 서열을 갖는다. 다른 관련 실시 양태에서, 상승된 안구 내 VEGFa 수준과 관련된 눈 질병을 갖는 환자를 치료하는 방법이 제공되는데, 상기 방법은 바람직하게는 유리체 내 주입을 통해, 서열 식별 번호 42로 표시된 서열과 적어도 90% 동일한 변이체 AAV 캡시드 단백질 및 VEGF 억제제를 인코딩하는 서열을 포함하는 이종성 핵산을 포함하는 감염성 재조합 AAV의 유효량을 환자에게 투여하는 것을 포함한다.

[0023] 또한, AAV2에 비해 이종성 펩타이드 LAISDQTKHA(서열 식별 번호 28) 및 아미노산 치환 N312K, N449D, N551S, I698V 및 L735Q을 포함하는 변이체 AAV 캡시드 단백질이 본원에 개시된다.

[0024] 또한, 본원에 개시된 바와 같은 변이체 AAV 캡시드를 포함하는 rAAV의 제조 및/또는 전달 방법이 본원에 개시되어 있다. 또한, 본원에 개시된 바와 같은 변이체 AAV 캡시드를 포함하는 rAAV를 포함하는, 본원에 기재된 방법에 사용하기 위한 키트가 본원에서 제공된다.

[0025] 다른 실시 양태에서, 이전 단락에서 변이체 캡시드 단백질을 포함하는 AAV 비리온은 이전 또는 이후에 개시된 임의의 실시 양태를 포함할 수 있다. 사실상, 명확한 설명을 위해 별도의 실시 양태들의 문맥에 설명되어 있는

본 발명의 특정 특징부는 단일 실시 양태로 함께 제공될 수도 있다. 반대로, 간략화를 위해, 단일 실시 양태의 문맥에 설명되어 있는 본 발명의 다양한 특징부가 또한 개별적으로 제공되거나, 임의의 적합한 하위 조합으로 제공될 수 있다. 본 발명에 속하는 실시 양태의 모든 조합은 본 발명에 구체적으로 포함되며, 거의 모든 조합이 개별적 및 명시적으로 개시되는 바와 같이 본원에 개시된다. 또한, 다양한 실시 양태의 모든 하위 조합 및 이의 성분은 본 발명에 구체적으로 포함되며, 거의 모든 하위 조합이 본원에서 개별적 및 명시적으로 개시되는 바와 같이 본원에 개시된다.

[0026] 본 발명의 요약은 특허청구범위를 한정하고자 하는 것이 아니며, 임의의 방식으로 본 발명의 범위를 제한하려는 것도 아니다.

[0027] 본원에 개시된 본 발명의 다른 특징 및 이점은 하기 도면, 상세한 설명 및 특허청구범위로부터 명백하게 될 것이다.

[0028] 본 발명의 방법 및 조성물이 개시되기 전에, 본 발명은 개시되고 상이할 수 있는 특정 방법 또는 조성물에 제한되지 않는 것으로 이해되어야 한다. 또한, 본원에서 사용된 용어는 특정 실시 양태만을 설명하기 위한 것이며, 본 발명의 범위가 첨부된 특허청구범위에 의해서만 제한될 것이므로 제한적인 것이 아닌 것으로 이해되어야 한다.

[0029] 본원에 개시된 본 발명은 도면 및 설명에 예시되어 있다. 그러나 특정 실시 양태가 도면에 도시되어 있지만, 본 발명을 도시 및/또는 개시된 특정 실시 양태에 제한하기 위함은 아니다. 오히려, 본원에 개시된 본 발명은 본 발명의 사상 및 범위 내에 속하는 모든 변경, 대안적인 구성 및 등가물을 포함하도록 의도된다. 이와 같이, 도면은 예시적인 것이며 제한적인 것은 아니다.

[0030] 값의 범위가 제공되는 경우, 그 범위의 상한 및 하한 사이의, 문맥상 명확히 달리 지시하지 않는 한 하한의 단위의 십분의 일까지의, 각 중간 값(intervening value)이 구체적으로 개시되는 것으로 이해된다. 명시된 범위 내에서 임의의 명시된 값 또는 중간 값 사이의 보다 작은 범위, 및 그러한 명시된 범위 내의 다른 명시된 중간 값이 본 발명에 포함된다. 이들 작은 범위의 상한 및 하한은 독립적으로 그 범위에 포함 또는 배제될 수 있고, 상한 및 하한 중 어느 하나 또는 둘 모두가 작은 범위에 포함되는 범위 각각이 또한 본 발명에 포함된다. 명시된 범위가 상한 및 하한 중 하나 또는 둘 모두를 포함하는 경우, 이들 포함된 상한 및 하한 중 하나 또는 둘 모두를 제외한 범위도 본 발명에 포함된다.

[0031] 달리 정의되지 않는 한, 본원에서 사용되는 모든 기술 및 과학 용어는 본 발명이 속하는 기술 분야의 당업자에 의해 일반적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 갖는다. 본원에 개시된 것과 유사하거나 동등한 임의의 방법 및 재료가 본 발명의 실시 또는 시험에 사용될 수 있지만, 일부 잠재적이고 바람직한 방법 및 재료가 이하에 개시된다. 본원에 언급된 모든 간행물은 간행물이 인용되는 방법 및/또는 재료를 개시하고 설명하기 위해 본원에 참고로 포함된다. 본 개시내용은 모순이 있는 범위까지 포함된 간행물의 임의의 개시내용을 대체하는 것으로 이해된다.

[0032] 본 개시내용을 읽을 때 당업자에게 명백한 바와 같이, 본원에 개시되고 예시된 개별 실시 양태 각각은 본 발명의 범위 또는 사상에서 벗어나지 않는 한 임의의 다른 몇몇 실시 양태로부터 용이하게 분리되거나 이들 실시 양태와 조합될 수 있는 개별 성분 및 특징을 갖는다. 인용된 모든 방법은 열거된 사건의 순서로 또는 논리적으로 가능한 임의의 다른 순서로 수행될 수 있다.

[0033] 본원 및 첨부된 특허청구범위에서 사용된 바와 같이, 단수 형태 "하나", "일" 및 "그"는 문맥상 명확하게 달리 지시하지 않는 한 복수 대상을 포함한다. 따라서, 예를 들어, "재조합 AAV 비리온"에 대한 인용은 복수의 이 같은 비리온을 포함하고, "광 수용체 세포"에 대한 인용은 하나 이상의 광 수용체 세포 및 당업자에게 공지된 이의 등가물에 대한 인용을 포함한다. 특허청구범위는 임의의 선택적인 성분을 배제하도록 작성될 수 있는 것으로 추가로 주지된다. 이와 같이, 이러한 진술은 특허청구범위의 성분의 인용 또는 "부정적인" 제한의 사용과 관련하여 "단독으로", "오직" 등과 같은 배타적인 용어의 사용을 위한 선행 기준으로서 역할을 하기 위한 것이다.

[0034] 본원에서 논의된 간행물은 본 출원의 출원일 이전에 그들의 공개를 위해서만 제공된다. 본원에서는 어떠한 것도 본 발명이 선행 발명으로 인해 이 같은 간행물보다 시기를 선행할 자격을 갖지 않는다는 인정으로 해석되어서는 안 된다. 또한, 제공된 간행물의 날짜는 실제 공개일과 다를 수 있으며, 이는 독립적으로 확인해야 할 수도 있다.

도면의 간단한 설명

[0035] 본 발명은 첨부된 도면과 함께 해석되는 경우에 하기 상세한 설명으로부터 가장 잘 이해된다. 특허 또는 출원 파일에는 색으로 표시된 하나 이상의 도면이 포함되어 있다. 컬러 도면이 있는 이러한 특허 또는 특허 출원 공개공보의 사본은 요청에 따라 필요한 수수료의 지불과 함께 특허청이 제공할 것이다. 통상적인 실시에 따르면, 도면의 다양한 특징부는 척도에 맞게 도시되지 않는다는 것이 강조된다. 반대로, 다양한 특징부의 치수는 명확성을 위해 임의로 확장되거나 축소된다. 도면에는 하기 도가 포함된다.

도 1은 유도 진화 방법의 실시 양태를 나타낸다. 단계(a)는 DNA 돌연변이 기술과 *cap* 유전자의 조합을 포함하는 바이러스 캡시드 라이브러리의 생성을 나타낸다. 단계(b)는 각 바이러스 입자가 캡시드를 인코딩하는 *cap* 유전자를 둘러싸고 있는 돌연변이 캡시드로 구성되고 정제되도록 바이러스를 패키징하는 것을 나타낸다. 그 후, 캡시드 라이브러리는 *시험관 내* 또는 *생체 내*에서 선택압을 받게 된다. 유도 진화 기술의 이러한 양태에서, 관심있는 조직 또는 세포 물질은 그 표적을 성공적으로 감염시켰던 AAV 변이체의 단리를 위해 수확되고, 바이러스가 성공적으로 회수된다. 단계(c)는 반복 선택을 통한 성공적인 클론의 단계 1 농축(enrichment)을 나타낸다. 단계(d)는 바이러스 적합성을 반복적으로 증가시키기 위해 재다양화 및 추가의 선택 단계를 거치는 선택된 *cap* 유전자의 단계 2 농축을 나타낸다. 단계(e)는 재조합 AAV 벡터로서 제조되고 다양한 세포 유형 및 조직 표적의 형질도입 수준에 대해 특성 분석된 벡터 선별 단계 1 및 2 동안 히트(hit)로 확인된 변이체를 나타낸다. AAV 유도 진화 과정의 본질에 의해, 본원에 개시된 변이체는 선별 과정 도중에 망막 세포를 형질 도입하고 게놈(변이체 *cap* 유전자를 인코딩하는 게놈)을 전달하는 능력이 이미 입증되어 있다.

도 2는 바이러스 게놈이 증폭되는 샘플이 망막의 넓은 영역에 수집되는 위치를 보여주는 망막 평면 마운트(retinal flat mount)의 개략도를 제공한다.

도 3은 대표적인 선택 라운드에서 신경절 세포층(GCL), 내핵층(INL), 광 수용체/외핵층(ONL) 및 망막 색소 상피(RPE)층 망막 조직으로부터 바이러스 게놈의 PCR 증폭을 보여준다. 우안(상단 이미지)과 좌안(하단 이미지)은 둘 모두 라이브러리로 주입되었다. 내측 망막(in), 중앙 망막(mid), 외측/말초(pheripheral) 망막(out)을 채취하였다. 적색 박스 내의 밴드는 바이러스 게놈의 성공적인 증폭을 나타낸다.

도 4A-4D는 서열 분석에서의 모티프의 빈도를 나타낸다. 도 4A는 라운드 3 시퀀싱 분석을 제공한다. 도 4B는 라운드 4 시퀀싱 분석을 제공한다. 도 4C는 라운드 5 시퀀싱 분석을 제공한다. 도 4D는 라운드 6 시퀀싱 분석을 제공한다.

도 5는 587번째 아미노산 다음에 랜덤 햅타머(heptamer)를 함유하는 AAV2의 대표적인 3차원 모델을 제공한다.

도 6A-6W는 야생형(자연 발생) AAV1, AAV2, AAV3A, AAV3B 및 AAV4-10 혈청형 사이 및 그 내부의 아미노산 위치를 나타내는 야생형 AAV의 서열 식별 번호 1-11의 배열을 제공한다.

도 7은 CMV 프로모터(AAV2.CMV.GFP)의 제어하에 GFP 이식 유전자를 전달하는 AAV2의 2×10^{11}개의 벡터 게놈(vg)의 유리체 내 투여 이후에 아프리카 녹색 원숭이의 망막에 대해 하이델베르크 스펙트랄리스™(Heidelberg Spectralis™)로 촬영한 안저 형광 이미지를 제공한다. 주입 후 기준선(A) 및 14일(B), 28일(C) 및 42일 (D)째 날에 이미지를 촬영하였다.

도 8은 CMV 프로모터(LAISDQTKHA+P34A.CMV.GFP)의 제어하에 GFP 이식 유전자를 전달하는 신규한 AAV 변이체 LAISDQTKHA+P34A의 2×10^{11}개의 벡터 게놈(vg)의 유리체 내 투여 이후에 아프리카 녹색 원숭이의 망막에 대해 하이델베르크 스펙트랄리스™로 촬영한 안저 형광 이미지를 제공한다. 주입 후 기준선(A) 및 14일(B), 28일(C) 및 42일(D)째 날에 이미지를 촬영하였다.

도 9는 CAG 프로모터(LAISDQTKHA+P34A.CAG.EGFP)의 제어하에 GFP 이식 유전자를 전달하는 신규한 AAV 변이체 LAISDQTKHA+P34A의 유리체 내 투여 이후에 시노몰구스 원숭이(Cynomolgus monkey)의 망막에 대해 하이델베르크 스펙트랄리스™로 촬영한 안저 형광 이미지를 제공한다. (A) 벡터의 2×10^{11}개의 vg로 유리체 내로 주입된 원숭이의 망막으로서, 주입 후 14일(A1), 21일(A2) 및 28일(A3)째 날에 촬영되었다. (B) 벡터의 1×10^{12}개의 vg로 유리체 내로 주입된 원숭이의 망막으로서, 주입 후 14일(B1) 및 21일(B2)째 날에 촬영되었다.

도 10A-10E는 CAG 프로모터의 제어하에 GFP 이식 유전자를 전달하는 신규한 AAV 변이체 LAISDQTKHA+P34A의 1×10^{12}개의 vg로 유리체 내 주입되고 주입 3주 후에 분석된 원숭이의 망막에 대한 면역 조직화학적 분석 결과를 제공한다. 모든 면역 조직화학법에서는 망막에서 분석이 수행되는 대략적인 위치를 나타내기 위해 상응하는 안저

형광 이미지와 함께 적색 박스가 제공된다. 도 10A: 강력한 망막 색소 상피(RPE) 및 광 수용체의 형질 도입은 GFP 특이적 항체(적색)를 사용하여 관찰되었다. M/L 옵신 항체(M/L opsin antibody)를 사용한 추상체 광 수용체의 면역 염색은 백색으로 나타나 있다. 도 10B 및 도 10C: 직접 EGFP 형광(녹색)에 의해, 그리고 GFP 특이적 항체(적색)를 이용한 면역 조직화학법에 의해 강력한 간추상체(rod and cone) 광 수용체(도 10B) 및 RPE(도 10C) 형질 도입이 관찰되었다. RPE 내의 멜라노솜은 이미지상에서 흑색으로 보인다. 도 10D: 직접 EGFP 형광(녹색)에 의해, 그리고 GFP 특이적 항체(적색)를 사용하는 면역 조직화학법에 의해 중심와 내부 및 주위의 추상체 광 수용체(M/L 옵신에 의해 백색으로 확인됨) 및 망막 신경절 세포(RGC)의 형질 도입. 중앙 패널의 이미지는 좌측 패널에서 백색 박스로 표시된 영역의 배율(63X)이 더 높다. 도 10E: 망막 신경절 세포(RGC) 및 망막 신경절 세포층의 형질 도입은 직접 EGFP 형광에 의해 관찰되었다(우측 패널, 녹색; 하단 우측 패널은 상단 우측 패널의 63배의 배율임); 상단 좌측 패널은 명시야 조명 하의 영역을 나타낸다.

도 11A-11F는 CAG 프로모터의 제어하에 신규한 AAV 변이체 LAISDQTKHA+P34A 캡시드 및 GFP 이식 유전자를 포함하는 재조합 AAV 바이러스에 의한 인간 망막 색소 상피(RPE) 세포의 형질 도입에 대한 데이터를 제공한다. 인간 배아 줄기 세포주(도 11A 및 도 11C) 또는 인간 섬유 모세포 유래 유도 다능성 줄기 세포(FB-iPSC)(도 11B 및 도 11D)로부터 RPE 세포로 분화되는 세포를 신규한 AAV 변이체 LAISDQTKHA+P34A.CAG.GFP 또는 야생형 대조군 AAV2.CAG.GFP로 감염시켰다. 도 11A 및 도 11B: MOI 500으로 감염 7일 후에 세포 배양의 면역 형광 이미징에 따르면 신규한 AAV 변이체 캡시드(좌측 패널)가 야생형 AAV2 캡시드(우측 패널)보다 RPE 세포를 더 잘 형질 도입시킨다는 것이 입증된다. 도 11C 및 도 11D: 유동 세포 분석법에 의한 각각의 배양에서 GFP-양성 RPE 세포의 비율(%)의 정량화에 따르면 신규한 AAV 변이체 캡시드가 세포 공급원과는 무관하게 야생형 AAV2 캡시드에 비해 형질 도입된 세포수에 상당한 용량 의존적 개선을 제공하는 것으로 나타나 있다. 도 11E 및 도 11F: 웨스턴 블롯에 의한 각 배양에서의 GFP 양의 정량화는 신규한 AAV 변이체가 세포 공급원에 관계없이 야생형 캡시드에 비해 이식 유전자의 발현에서 유의한 개선을 제공함을 나타낸다.

도 12A-12F는 항-VEGF 단백질의 실시 양태를 도시한다. 도 12A는 인간 Flt1 신호 펩타이드, VEGFR1 도메인 2 및 인간 IgG1의 Fc 영역에 융합된 VEGFR2 도메인 3으로 이루어진 Aflibercept 설계를 도시한다. 도 12B-12C는 2-쇄 항원-결합 단편(Fab)을 단일-쇄 Fab(scFab)로 전환시키기 위한 가요성 단백질 링커를 포함하는, Ranibizumab 설계를 도시한다. 도 12B는 인간 Ig 카파 경쇄 신호 펩타이드, 가변성 경, 불변성 경, 가변성 중, 및 가요성 펩타이드에 의해 연결된 Ranibizumab의 불변성 중 1 도메인으로 이루어진 경-중(LH) 형태를 도시한다. 도 12C는 신호 펩타이드가 인간 IgG 중쇄로부터 유도되고 중쇄 및 경 도메인이 LH 형태와 비교하여 링커의 반대 측에 있는 것을 제외하고는 유사한 중-경(HL) 형태를 도시한다. 도 12D는 가변성 경 및 가요성 펩타이드에 의해 연결된 가변성 중 도메인을 포함하는 Brolucizumab 설계를 도시한다. 도 12E는 인간 IgG1의 Fc 영역에 융합된 scFab LH 형태로 이루어진 sc-Ranibizumab LH-Fc 설계를 도시한다. 도 12F는 인간 IgG1의 Fc 영역에 융합된 Brolucizumab로 이루어진 Brolucizumab-Fc 설계를 도시한다. 적색 줄무늬는 상보성 결정 영역(CDRs)을 나타낸다. 유전자들은 인간 세포로부터 개선된 발현을 위해 코돈-최적화되었고, GeneArt 또는 GenScript에 의해 합성되고 CAG 프로모터와 SV40 폴리 A 신호 사이의 pAAV-CAG-SV40pA 벡터에 삽입되었다.

도 13A-B는 VEGF에 결합하는 단백질을 검출하기 위한 ELISA의 결과를 나타낸다. 도 13A는 Aflibercept(서열 식별 번호 65) 또는 단일-사슬(sc) Ranibizumab(서열 식별 번호 67, 69 및 70) 발현 플라스미드로 형질 감염된 HEK293T 세포로부터의 배지에서 VEGF-결합 활성을 검출하였지만, GFP 발현 벡터로 모의(mock)-형질 감염되거나 형질 감염된 것들로부터 검출되지 않았음을 보여준다. 도 13B는 Aflibercept(서열 식별 번호 65), sc-Ranibizumab LH1(서열 식별 번호 69), 또는 Brolucizumab(서열 식별 번호 74) 발현 플라스미드로 형질 감염된 HEK293T 세포로부터의 배지에서 VEGF-결합 활성을 검출하였지만, GFP 발현 벡터로 형질 감염된 것들로부터 검출되지 않았음을 보여 준다. Brolucizumab를 갖는 신호는 매우 낮으며, 이는 대부분 검출 항체에 의한 불량한 인식으로 인한 것이다. 에러 바는 사중 형질 감염 웰의 표준 편차를 나타낸다.

도면 14A-B는 항-VEGF 구조체(construct)로 형질 감염된 HEK293T 세포로부터의 배지의 대표적인 웨스턴 블롯을 제공한다. 도 14A는 Aflibercept(서열 식별 번호 65) 또는 sc-Ranibizumab(서열 식별 번호 67, 69 및 70) 발현 플라스미드를 나타낸다. 임상 Eylea 와 Aflibercept 샘플 모두는 58kD의 정확한 분자량(글리코실화를 포함)을 갖는 이량체의 분리된 절반으로 감소된다. 임상 Lucentis는 24kD의 분리된 경쇄 및 중쇄로 감소되는 반면, sc-Ranibizumab 단백질은 분리되지 않고 약 48kD로 이동한다. 단백질의 LH 형태의 더 많은 양이 ELISA를 통해 수득된 단백질 정량화와 일치하는 단백질의 HL 형태와 비교하여 존재한다. 도 14B는 Aflibercept(서열 식별 번호 65), sc-Ranibizumab LH1(서열 식별 번호 69) 또는 Brolucizumab(서열 식별 번호 74) 발현 플라스미드를 나타낸다. Brolucizumab를 갖는 신호는 낮으며, 이는 대부분 검출 항체에 의한 불량한 인식으로 인한 것이다. 단백

질은 정확한 분자량 26kD로 이동한다. 어떠한 모의 형질 감염 또는 GFP 음성 대조군 샘플에는 어떠한 신호도 없었다.

도 15A-15B는 항-VEGF 구조체로 형질 감염된 HEK293T 세포로부터의 배지와 함께 배양 후 프리(free) VEGF를 검출하기 위한 경쟁 ELISA의 결과를 나타낸다. 도 15A는 Aflibercept(서열 식별 번호 65) 또는 sc-Ranibizumab(서열 식별 번호 67, 69 및 70) 발현 플라스미드를 나타낸다. 형질 감염된 샘플로부터의 4개의 항-VEGF 단백질의 억제 곡선은 임상 비교기 단백질 Eylea 및 Lucentis와 매우 유사하였다. Eylea 및 Lucentis는 sc-Ranibizumab 변이체 및 Lucentis보다 더 강하게 VEGF 대해 경쟁하였다. 모든 3가지 형태의 sc-Ranibizumab는 거의 동일하였다. 도 15B는 Aflibercept(서열 식별 번호 65), sc-Ranibizumab LH1(서열 식별 번호 69) 또는 Brolucizumab(서열 식별 번호 74) 발현 플라스미드를 나타낸다. GFP 음성 대조군 샘플로부터 경쟁 활성이 없었다. 에러 바는 이중 형질 감염 웰의 표준 편차를 나타낸다.

도 16은 세포 VEGF 중화 분석 결과를 나타낸다. 분석은 VEGF 결합 시 활성 베타-갈락토시다아제를 생산하는 VEGF 수용체/베타-갈락토시다아제 융합 단백질을 발현하는 HEK293 세포를 사용한다. 세포를 VEGF의 혼합물 및 Aflibercept(서열 식별 번호 65) 또는 sc-Ranibizumab(서열 식별 번호 69) 발현 플라스미드로 형질 감염된 HEK293T 세포로부터의 배지의 다양한 희석액과 함께 배양한다. 형질 감염된 샘플로부터의 항-VEGF 단백질의 억제 곡선은 항-VEGF 단백질이 임상 비교기 단백질과 동일한 수준에서 VEGF 활성을 중화시킴을 입증한다. 에러 바는 이중 분석 웰의 표준 편차를 나타낸다.

도 17A-17B는 항-VEGF 플라스미드로 형질 감염된 HEK293T 세포로부터 동일한 부피의 배지를 사용하여 수행된 세포 VEGF 중화 분석의 결과를 나타낸다. 도 17A는 GFP, Aflibercept(서열 식별 번호 65), sc-Ranibizumab HL(서열 식별 번호 67) 또는 sc-Ranibizumab LH1(서열 식별 번호69) 발현 플라스미드를 나타낸다. 모든 항-VEGF 구조체는 중화된 VEGF를 평가하였다. 도 17B는 GFP, Aflibercept(서열 식별 번호 65), sc-Ranibizumab LH1(서열 식별 번호 69), Brolucizumab(서열 식별 번호 74) 발현 플라스미드를 나타낸다. 모든 항-VEGF 구조체는 중화된 VEGF를 평가하였다. 분석된 희석액에서 GFP 대조군 샘플로부터 약간의 매트릭스 효과가 있었다. 에러 바는 이중 형질 감염 웰의 표준 편차를 나타낸다.

도 18은 Aflibercept(서열 식별 번호 65) 또는 sc-Ranibizumab(서열 식별 번호 67, 69 및 70) 발현 플라스미드로 형질 감염된 RPE 세포로부터의 배지에서 VEGF 를 검출하기 위한 ELISA의 결과를 나타낸다. Aflibercept 발현 및 sc-Ranibizumab 발현에 의한 VEGF 수준의 감소가 관찰되었다. 모든 3개의 sc-Ranibizumab 형태에 의한 VEGF 수준에 대한 효과는 유사하였다. 에러 바는 사중 형질 감염 웰의 표준 편차를 나타낸다.

도 19는 Aflibercept(서열 식별 번호 65), sc-Ranibizumab(서열 식별 번호 67 및 69) 또는 Brolucizumab(서열 식별 번호 74) 이식 유전자를 발현하는 R100 캡시드(서열 식별 번호 42로 표시된 아미노산 서열을 가짐)로 형질 도입 후 6 또는 10일째에 RPE 세포로부터 수집된 배지에서 VEGF를 검출하기 위한 ELISA의 결과를 나타낸다. GFP 대조군 벡터로 형질 도입된 세포에 의해 지시된 바와 같은 VEGF의 내인성 수준은 4,500 내지 8,300pg/ml이었다. 모든 항-VEGF 벡터에 의한 형질 도입은 배지에서 검출 불가능한 수준의 VEGF를 초래하였다. 에러 바는 사중 형질 도입 웰의 표준 편차를 나타낸다.

도 20은 항-VEGF 이식 유전자를 발현하는 R100 캡시드(서열 식별 번호 42로 표시된 아미노산 서열을 가짐)로 형질 도입 후 6 또는 10일째에 RPE 세포로부터 수집된 배지에서 VEGF에 결합하는 단백질을 검출하기 위한 ELISA의 결과를 나타낸다. VEGF-결합 활성은 Aflibercept(서열 식별 번호 65), sc-Ranibizumab(서열 식별 번호 67 및 69) 또는 Brolucizumab(서열 식별 번호 74) 발현 벡터로 형질 도입된 세포로부터의 배지에서 검출되었으나, GFP 발현 벡터로 형질 도입된 것으로부터는 검출되지 않았다. Brolucizumab를 갖는 신호는 매우 낮으며, 이는 대부분 검출 항체에 의한 불량한 인식으로 인한 것이다. 에러 바는 사중 형질 도입 웰의 표준 편차를 나타낸다.

도 21은 항-VEGF 이식 유전자를 발현하는 R100 캡시드(서열 식별 번호 42로 표시된 아미노산 서열을 가짐)로 형질 도입 후 6 또는 10일째에 RPE 세포로부터 수집된 배지의 대표적인 웨스턴 블롯을 제공한다. 임상 Eylea 및 Aflibercept(서열 식별 번호 65) 샘플은 모두, 검은 화살표로 나타낸 바와 같이, 60kD의 정확한 분자량(글리코실화를 포함)을 갖는 이량체의 분리된 절반으로 감소된다. GFP 음성 대조군 샘플에서 정확한 이동성의 밴드가 없었다. 임상 Lucentis는 24kD의 분리된 경쇄 및 중쇄로 감소되는 반면, sc-Ranibizumab HL 및 LH(서열 식별 번호 67 및 69)는 분리되지 않고, 회색 화살표로 나타낸 바와 같이, 58kD의 정확한 분자량으로 이동한다. Brolucizumab(서열 식별 번호 74)를 갖는 신호는 낮으며, 이는 대부분 검출 항체에 의한 불량한 인식으로 인한 것이다. 단백질은 점각(stippled) 화살표에 의해 나타낸 바와 같이, 26kD의 정확한 분자량으로 이동한다.

도 22는 항-VEGF 이식 유전자를 발현하는 R100 캡시드(서열 식별 번호 42로 표시된 아미노산 서열을 가짐)로 형질 도입 후 6 또는 10일째에 RPE 세포로부터 수집된 배지를 사용한 배양 후 유리 VEGF를 검출하기 위한 경쟁 ELISA의 결과를 나타낸다. 모든 항-VEGF 구조체는 VEGF에 대해 경쟁하였다. GFP 음성 대조군 샘플로부터 경쟁 활성이 없었다. 프리 VEGF 수준은 RPE 세포에 의해 생성된 내인성 VEGF로 인해 최저 희석액에서 더 높다. 에러 바는 이중 분석 웰의 표준 편차를 나타낸다.

도 23은 항-VEGF 이식 유전자를 발현하는 R100 캡시드(서열 식별 번호 42로 표시된 아미노산 서열을 가짐)로 형질 도입 후 6일째에 RPE 세포로부터 수집된 배지로 수행되는 세포 VEGF 중화 분석의 결과를 나타낸다. 모든 항-VEGF 구조체는 중화된 VEGF를 평가하였다. GFP 대조군 형질 도입으로부터의 배지에서 VEGF 중화가 관찰되지 않았다. 에러 바는 이중 분석 웰의 표준 편차를 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0036] 정의

[0037] 달리 정의되지 않는 한, 본원에 사용된 모든 과학적 및 기술적 용어는 이 기술이 속하는 기술 분야의 당업자에 의해 일반적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 갖는다.

[0038] 아데노-관련 바이러스는 비-외피성, 20면체 캡시드 내에 4.7kb 길이의 단일 가닥 DNA 게놈으로 구성된 비병원성 파보바이러스(parvovirus)이다. 게놈은 복제 및 패키징(packaging) 신호의 바이러스 기원으로 기능 하는 역위(inverted) 말단 반복(ITR)에 의해 측면에 놓인 3개의 오픈 리딩 프레임(ORF)을 포함한다. *rep* ORF는 바이러스 복제, 전사 조절, 부위 특이적 통합 및 비리온 조립에서 역할을 하는 4개의 비구조적 단백질을 인코딩한다. *cap* ORF는 3개의 구조 단백질(VP1-3)을 인코딩하고, 이들 단백질은 조립되어 60-머(mer)의 바이러스 캡시드를 형성한다. 마지막으로, *cap* 유전자 내에서 대체 리딩 프레임으로서 존재하는 ORF는 AAV 캡시드 단백질을 핵소체(nucleolus)에 국한시키고 캡시드 조립 과정에서 기능을 하는 바이러스 단백질인 조립-활성화 단백질(AAP)을 생성한다.

[0039] 몇몇 자연적으로 발생하는("야생형") 혈청형 및 100종 이상의 공지된 AAV 변이체가 존재하며, 이들 각각은 특히 캡시드 단백질의 초가변 영역 내에서 아미노산 서열이 다르며, 따라서 그들의 유전자 전달 특성이 다르다. 어떠한 AAV도 인간 질병과 관련이 없었으며, 그 결과 재조합 AAV가 임상 적용에 매력적인 것이 되었다.

[0040] 본원에서 개시의 목적상, "AAV"라는 용어는 바이러스 자체 및 그의 유도체를 포함하지만 이에 제한되지 않는 아데노-관련 바이러스의 약어이다. 달리 명시된 경우를 제외하고, 상기 용어는 모든 아형 또는 혈청형 및 복제 가능 형태 및 재조합 형태 모두를 지칭한다. 용어 "AAV"는 AAV 타입 1(AAV-1 또는 AAV1), AAV 타입 2(AAV-2 또는 AAV2), AAV 타입 3A(AAV-3A 또는 AAV3A), AAV 타입 3B(AAV-3B 또는 AAV3B), AAV 타입 4(AAV-4 또는 AAV4), AAV 타입 5(AAV-5 또는 AAV5), AAV 타입 6(AAV-6 또는 AAV6), AAV 타입 7(AAV-7 또는 AAV7), AAV 타입 8(AAV-8 또는 AAV8), AAV 타입 9(AAV-9 또는 AAV9), AAV 타입 10(AAV-10 또는 AAV10 또는 AAVrh10), 조류 AAV, 소 AAV, 개 AAV, 염소 AAV, 말 AAV, 영장류 AAV, 비영장류 AAV 및 양 AAV를 포함하지만 이에 제한되지 않는다. "영장류 AAV"는 영장류를 감염시키는 AAV를 지칭하며, "비영장류 AAV"는 비영장류 포유동물을 감염시키는 AAV를 지칭하며, "소 AAV"는 소 포유동물 등을 감염시키는 AAV를 지칭한다.

[0041] AAV의 다양한 혈청형의 게놈 서열뿐만 아니라 천연 말단 반복(native terminal repeats)(TRs), Rep 단백질 및 캡시드 서브유닛의 서열은 당업계에 공지되어 있다. 이 같은 서열은 문헌 또는 유전자은행(GenBank)과 같은 공공 데이터베이스에서 찾아 볼 수 있다. 예를 들어, 유전자은행(GenBank) 수탁번호: NC_002077.1(AAV1), AF063497.1(AAV1), NC_001401.2(AAV2), AF043303.1(AAV2), J01901.1(AAV2), U48704.1(AAV3A), NC_001729.1(AAV3A), AF028705.1(AAV3B), NC_001829.1(AAV4), U89790.1(AAV4), NC_006152.1(AA5), AF085716.1(AAV-5), AF028704.1(AAV6), NC_006260.1(AAV7), AF513851.1(AAV7), AF513852.1(AAV8), NC_006261.1(AAV-8), AY530579.1(AAV9), AAT46337(AAV10) 및 AAO88208(AAVrh10)을 참고하며, 이의 전문은 AAV 핵산 및 아미노산 서열을 교시하기 위해 본원에 참고로 포함된다. 예를 들어, Srivistava 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; 국제 특허 공보 제WO 00/28061호, 제WO 99/61601호, 제WO 98/11244호; 및 미국 특허 제6,156,303호를 또한 참고한다.

[0042] AAV 혈청형과 관련된 자연적으로 존재하는 cap(캡시드) 단백질의 서열은 당업계에 공지되어 있으며, AAV1(서열

식별 번호 1), AAV2(서열 식별 번호 2), AAV3A(서열 식별 번호 3), AAV3B(서열 식별 번호 4), AAV4(서열 식별 번호 5), AAV5(서열 식별 번호 6), AAV6(서열 식별 번호 7), AAV7(서열 식별 번호 8), AAV8(서열 식별 번호 9), AAV9(서열 식별 번호 10), AAV10(서열 식별 번호 11) 및 AAVrh10(서열 식별 번호 12)으로서 본원에 개시된 것들을 포함한다. 용어 "변이체 AAV 캡시드 단백질" 또는 "AAV 변이체"는 자연적으로 존재하거나 "야생형"의 AAV 캡시드 단백질 서열, 예를 들어, 본원에서 서열 식별 번호 1 내지 서열 식별 번호 12에 표시된 바와 같은 서열에 대해 적어도 하나의 변형 또는 치환(결실, 삽입, 점 돌연변이 등을 포함함)을 포함하는 아미노산 서열을 포함하는 AAV 캡시드 단백질을 지칭한다. 변이체 AAV 캡시드 단백질은 야생형 캡시드 단백질의 아미노산 서열에 대해 약 80% 이상의 동일성, 예를 들어 야생형 캡시드 단백질의 아미노산 서열에 대해 85% 이상의 동일성, 90% 이상의 동일성 또는 95% 이상의 동일성, 예를 들어 야생형 캡시드 단백질에 대해 98% 또는 99%의 동일성을 가질 수 있다. 변이체 AAV 캡시드 단백질은 야생형 캡시드 단백질이 아닐 수 있다.

[0043] 본원에서 개시의 목적상, "AAV 비리온" 또는 "AAV 바이러스 입자"는 적어도 하나의 AAV 캡시드 단백질 및 캡시드화된 AAV 폴리뉴클레오타이드로 구성된 바이러스 입자를 지칭한다.

[0044] 본원에서 개시의 목적상, 용어 "rAAV"는 재조합 아데노-관련 바이러스를 지칭하는 약어이다. 폴리뉴클레오타이드에 적용되는 "재조합"은 클로닝, 제한 또는 연결 단계 및 기타 과정의 다양한 조합 산물을 의미하며, 이때 상기 산물은 폴리뉴클레오타이드가 자연계에서 발견되는 폴리뉴클레오타이드와 구별되는 구조체를 생성한다. 재조합 바이러스는 재조합 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 바이러스 입자이다. 상기 용어는 각각 원래의 폴리뉴클레오타이드 구조체의 복제물 및 원래의 바이러스 구조체의 자손을 포함한다.

[0045] 용어 "rAAV 벡터"는 정의상 rAAV 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 rAAV 비리온(즉, rAAV 바이러스 입자)(예를 들어, 전염성 rAAV 비리온)을 포함하고; 또한 rAAV(예를 들어, rAAV를 인코딩하는 단일 가닥 폴리뉴클레오타이드(ss-rAAV); rAAV를 인코딩하는 이중 가닥 폴리뉴클레오타이드(ds-rAAV), 예를 들어 rAAV를 인코딩하는 플라스미드; 및 기타)를 인코딩하는 폴리뉴클레오타이드를 포함한다.

[0046] AAV 비리온이 이종성 폴리뉴클레오타이드(즉, 야생형 AAV 게놈 이외의 폴리뉴클레오타이드, 예를 들어, 표적 세포로 전달되는 이식 유전자, 표적 세포로 전달되는 RNAi 작용제 또는 CRISPR 작용제 등)를 포함하는 경우, 이는 전형적으로 "재조합 AAV(rAAV) 비리온" 또는 "rAAV 바이러스 입자"로서 지칭된다. 일반적으로, 이종성 폴리뉴클레오타이드는 적어도 하나, 일반적으로 2개의 AAV 역위 말단 반복서열(ITR) 옆에 위치한다.

[0047] 용어 "패키징"은 AAV 입자의 조립 및 캡시드화를 초래하는 일련의 세포 내 사건을 지칭한다. AAV "*rep*" 및 "*cap*" 유전자는 아데노-관련 바이러스의 복제 및 캡시드화 단백질을 인코딩하는 폴리뉴클레오타이드 서열을 지칭한다. AAV *rep* 및 *cap*은 본원에서 AAV "패지징 유전자"로서 지칭된다.

[0048] AAV에 대한 용어 "헬퍼 바이러스"는 AAV(예를 들어, 야생형 AAV)가 포유동물 세포에 의해 복제되고 패키징 될 수 있도록 하는 바이러스를 지칭한다. 아데노바이러스, 헤르페스바이러스, 및 우두 바이러스(vaccinia)와 같은 수두 바이러스를 비롯하여 AAV에 대한 이 같은 다양한 헬퍼 바이러스가 당업계에 공지되어 있다. 하위그룹 C의 아데노바이러스 5형이 가장 보편적으로 사용되지만, 아데노바이러스는 다수의 상이한 하위그룹을 포함한다. 인간, 비인간 포유류 및 조류 기원의 수많은 아데노바이러스가 공지되어 있으며 ATCC와 같은 기탁기관에서 구입 가능하다. 헤르페스 부류의 바이러스에는, 예를 들어 헤르페스 심플렉스 바이러스(HSV) 및 엡스타인-바 바이러스(Epstein-Barr virus; EBV)뿐만아니라, 사이토메갈로바이러스(cytomegalovirus; CMV) 및 슈도레이비스 바이러스(pseudorabies virus; PRV)를 포함하며, 이들은 또한 ATCC와 같은 기탁기관에서 구입 가능하다.

[0049] 용어 "헬퍼 바이러스 기능(들)"은 (본원에서 개시된 복제 및 패키징에 대한 기타 요건과 함께) AAV 복제 및 패키징을 허용하는 헬퍼 바이러스 게놈에서 인코딩된 기능(들)을 지칭한다. 본원에 기재된 바와 같이, "헬퍼 바이러스 기능"은 헬퍼 바이러스를 제공하거나, 예를 들어 필수 기능(들)을 인코딩하는 폴리뉴클레오타이드 서열을 생산자 세포에 트랜스 방식으로 제공하는 것을 포함하는 많은 방법으로 제공될 수 있다. 예를 들어, 하나 이상의 아데노바이러스 단백질을 인코딩하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 플라스미드 또는 다른 발현 벡터는 rAAV 벡터와 함께 생산자 세포 내로 형질 감염된다.

[0050] 용어 "감염성" 바이러스 또는 바이러스 입자는 만능적으로 조립된 바이러스 캡시드를 포함하는 것이며, 바이러스 종이 주성(tropism)이 있는 세포 내로 폴리뉴클레오타이드 성분을 전달할 수 있다. 상기 용어는 반드시 바이러스의 복제 능력을 의미하는 것은 아니다. 감염성 바이러스 입자를 계수하기 위한 분석은 본 개시내용 및 당업계의 다른 부분에서 개시되어 있다. 바이러스 감염성은 전체 바이러스 입자에 대한 감염성 바이러스 입자의 비율로 나타낼 수 있다. 전체 바이러스 입자에 대한 감염성 바이러스 입자의 비율을 측정하는 방법은 당업계에 공

지되어 있다. 예를 들어, Grainger et al. (2005) Mol. Ther. 11:S337(TCID50 전염성 역가 분석이 기술되어 있음); 및 Zolotukhin et al. (1999) Gene Ther. 6:973을 참고한다. 또한, 실시예를 참고한다.

[0051] 본원에 사용된 용어 "주성(Tropism)"은 특정 숙주 종의 세포 또는 숙주 종 내의 특정 세포 유형의 바이러스(예를 들어, AAV)에 의한 우선적 표적화를 의미한다. 예를 들어, 심장, 폐, 간 및 근육의 세포를 감염시킬 수 있는 바이러스는 폐 및 근육 세포만을 감염시킬 수 있는 바이러스에 비해 더 넓은(즉, 증가된) 주성을 갖는다. 주성은 또한, 숙주의 특정 유형 세포 표면 분자에 대한 바이러스의 의존성을 포함할 수 있다. 예를 들어, 일부 바이러스는 표면 글리코스아미노글리칸이 있는 세포만을 감염시킬 수 있는 반면, 다른 바이러스는 시알산이 있는 세포만을 감염시킬 수 있다(이 같은 의존성은 바이러스 감염에 대한 잠재적인 숙주 세포로서 특정 종류의 분자가 결핍된 다양한 세포주를 사용하여 시험할 수 있음). 경우에 따라, 바이러스의 주성은 바이러스의 상대적 선호도를 설명한다. 예를 들어, 첫 번째 바이러스는 모든 세포 유형을 감염시킬 수 있지만 표면 글리코스아미노글리칸으로 이들 세포를 감염시키는데 훨씬 더 성공적이다. 두 번째 바이러스도 동일한 특성을 선호한다면 비록 절대 형질 도입 효율이 유사하지 않을지라도 두 번째 바이러스는 첫 번째 바이러스와 유사(또는 동일)한 주성을 가진 것으로 간주 될 수 있다(예를 들어, 두 번째 바이러스도 표면 글리코스아미노글리칸으로 이들 세포를 감염시키는데 더 성공적임). 예를 들어, 두 번째 바이러스는 테스트한 모든 소정의 세포 유형을 감염시킬 때 첫 번째 바이러스보다 더 효율적일 수 있지만, 상대 선호도가 유사(또는 동일)하면 두 번째 바이러스는 여전히 첫 번째 바이러스와 유사(또는 동일)한 주성을 갖는 것으로 간주 될 수 있다. 일부 실시 양태에서, 대상 변이체 AAV 캡시드 단백질을 포함하는 비리온의 주성은 자연적으로 발생하는 비리온에 비해 변경되지 않는다. 일부 실시 양태에서, 대상 변이체 AAV 캡시드 단백질을 포함하는 비리온의 주성은 자연적으로 발생하는 비리온에 비해 확대된다(즉, 넓어진다). 일부 실시 양태에서, 대상 변이체 AAV 캡시드 단백질을 포함하는 비리온의 주성은 자연적으로 발생하는 비리온에 비해 감소된다.

[0052] 용어 "복제 가능(replication-competent)" 바이러스(예를 들어, 복제 가능 AAV)는 감염성이고 감염 세포에서(즉, 헬퍼 바이러스 또는 헬퍼 바이러스 기능의 존재하에) 복제될 수 있는 표현형적으로 야생형 바이러스를 지칭한다. AAV의 경우, 복제 가능성은 일반적으로 기능적 AAV 패키징 유전자의 존재를 필요로 한다. 일반적으로, 본원에 기재된 바와 같은 rAAV 벡터는 하나 이상의 AAV 패키징 유전자가 없기 때문에 포유동물 세포(특히 인간 세포)에서 복제 불가능하다. 전형적으로, 이 같은 rAAV 벡터에는 AAV 패키징 유전자와 유입되는 rAAV 벡터 사이의 재조합에 의해 복제 가능 AAV가 생성될 가능성을 최소화하기 위해 임의의 AAV 패키징 유전자 서열이 결여되어 있다. 다수의 실시 양태에서, 본원에 기재된 바와 같은 rAAV 벡터 제제는 복제 가능 AAV(rcAAV, RCA로도 지칭됨)를 거의 함유하지 않는 제제(예를 들어, 10^2개의 rAAV 입자당 약 1개 미만의 rcAAV, 10^4개의 rAAV 입자당 약 1개 미만의 rcAAV, 10개의 rAAV 입자당 약 1개 미만의 rcAAV, 10^{12}개의 rAAV 입자당 약 1개 미만의 rcAAV 또는 rcAAV 없음)이다.

[0053] 용어 "폴리뉴클레오타이드"는 데옥시리보뉴클레오타이드 또는 리보뉴클레오타이드 또는 이의 유사체를 비롯하여 임의의 길이를 갖는 중합체 형태의 뉴클레오타이드를 지칭한다. 폴리뉴클레오타이드는 메틸화 뉴클레오타이드 및 뉴클레오타이드 유사체와 같은 변형된 뉴클레오타이드를 포함할 수 있으며, 비뉴클레오타이드 성분에 의해 중단되어 있을 수 있다. 존재하는 경우, 뉴클레오타이드 구조에 대한 변형은 중합체의 조립 이전 또는 이후에 부여될 수 있다. 본원에 사용된 용어 폴리뉴클레오타이드는 이중 가닥 및 단일 가닥 분자를 지칭하며, 이들은 상호 교환 가능하다. 달리 특정되거나 요구되지 않는 한, 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 본원의 임의의 실시 양태는 이중 가닥 형태 및 이중 가닥 형태를 구성하는 것으로 공지되거나 예측되는 2개의 상보적인 단일 가닥 형태의 각각을 둘 모두 포함한다.

[0054] 폴리뉴클레오타이드 또는 폴리펩타이드는 다른 폴리뉴클레오타이드 또는 폴리펩타이드와 일정 비율의 "서열 동일성"을 가지며, 이는 배열 시에 2개의 서열을 비교할 때의 염기 또는 아미노산의 비율이 동일하다는 것을 의미한다. 서열 유사성은 다수의 상이한 방식으로 결정될 수 있다. 서열 동일성을 결정하기 위해, BLAST를 포함한 방법 및 컴퓨터 프로그램을 사용하여 서열을 배열할 수 있으며, 이는 월드와이드웹 ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/에서 구입 가능하다. 또 다른 배열 알고리즘은 옥스포드 몰레큘러 그룹 인코포레이티드(Oxford Molecular Group, Inc)의 자회사인 미국 위스콘신 주 매디슨 소재의 유전학 컴퓨팅 그룹(Genetics Computing Group; GCG) 패키지에서 이용 가능한 FASTA이다. 배열를 위한 기타 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. 특히 흥미로운 것은 서열에서 갭을 허용하는 배열 프로그램이다. 스미스-워터먼(Smith-Waterman)은 서열 배열에서 갭을 허용하는 알고리즘의 한 유

형이다. 문헌[Meth. Mol. Biol. 70:173-187 (1997)]을 참고한다. 또한, 니들맨(Needleman) 및 분쉬(Wunsch) 배열 방법을 사용하는 GAP 프로그램을 이용하여 서열을 배열할 수 있다. 문헌[J. Mol. Biol. 48:443-453 (1970)]을 참고한다.

[0055] 용어 "유전자"는 세포에서 어떤 종류의 기능을 수행하는 폴리뉴클레오타이드를 지칭한다. 예를 들어, 유전자는 유전자 산물을 인코딩할 수 있는 오픈 리딩 프레임을 함유할 수 있다. 유전자 산물의 한 예는 유전자로부터 전사되고 번역되는 단백질이다. 유전자 산물의 다른 예로는 RNA, 예를 들어 기능성 RNA 산물, 예를 들어 앱타머(aptamer), 간섭 RNA, 리보솜 RNA(rRNA), 전달 RNA(tRNA), 비-코팅 RNA(ncRNA), 뉴클레아제용 가이드 RNA 등이 있으며, 전사는 되지만 번역되지는 않는다.

[0056] 용어 "유전자 발현 산물" 또는 "유전자 산물"은 상기에서 정의된 바와 같은 특정 유전자의 발현으로부터 얻어진 분자이다. 유전자 발현 산물은, 예를 들어 폴리펩타이드, 앱타머(aptamer), 간섭 RNA, 메신저 RNA(mRNA), rRNA, tRNA, 비-코딩 RNA(ncRNA) 등을 포함한다.

[0057] 용어 "siRNA 작용제"("소형 간섭" 또는 "짧은 간섭 RNA"(또는 siRNA))는 관심 있는 유전자("표적 유전자")로 표적화하는 뉴클레오타이드의 RNA 이중체(duplex)이다. "RNA 이중체"는 이중 가닥 RNA(dsRNA)의 영역을 형성하는 RNA 분자의 2개의 영역 사이의 상보적인 쌍형성으로 형성된 구조를 지칭한다. siRNA는 siRNA의 이중체 부분의 뉴클레오타이드 서열이 표적 유전자의 뉴클레오타이드 서열에 상보적이라는 점에서 유전자에 "표적화"된다. 일부 실시 양태에서, siRNA의 이중체는 30개 미만의 뉴클레오타이드 서열이다. 일부 실시 양태에서, 이중체는 29개, 28개, 27개, 26개, 25개, 24개, 23개, 22개, 21개, 20개, 19개, 18개, 17개, 16개, 15개, 14개, 13개, 12개, 11개 또는 10개의 뉴클레오타이드 서열일 수 있다. 일부 실시 양태에서, 이중체는 19개 내지 25개의 뉴클레오타이드 서열이다. 일부 실시 양태에서, siRNA는 매개 유전자 표적화는 동물 세포의 내생성 RNA 간섭(RNAi) 경로를 활성화하기 위해 DNA 구조체를 이용하는 유전자 사일런싱 기법(gene-silencing technique)인 DNA-유도 RNA 간섭(ddRNAi)을 사용하여 수행된다. 이 같은 DNA 구조체는 자기-상보적인 이중 가닥 RNA, 전형적으로는 짧은 헤어핀 RNA(short-hairpin RNA)(shRNA)를 발현하기 위해 설계된 것이며, 이는 일단 가공되면 표적 유전자 또는 유전자들의 사일런싱을 초래한다. 내생성 mRNA 또는 바이러스 RNA를 포함하는 임의의 RNA는 목적하는 mRNA 표적에 상보적인 이중 가닥 RNA를 발현하는 구조체를 설계함으로써 사일런싱될 수 있다. 이와 같이, siRNA 작용제의 RNA 이중체 부분은 shRNA로서 지칭되는 짧은 헤어핀 구조의 일부일 수 있다. 이중체 부분 이외에도, 헤어핀 구조는 이중체를 형성하는 2개의 서열 사이에 위치한 루프 부분을 함유할 수 있다. 루프는 길이가 다를 수 있다. 일부 실시 양태에서, 루프는 5개, 6개, 7개, 8개, 9개, 10개, 11개, 12개 또는 13개의 뉴클레오타이드 서열이다. 상기 헤어핀 구조는 또한, 3' 또는 5' 돌출 부분을 함유할 수 있다. 일부 실시 양태에서, 돌출부는 0개, 1개, 2개, 3개, 4개 또는 5개의 뉴클레오타이드 서열을 갖는 3' 또는 5' 돌출부이다. 일반적으로, 표적 유전자의 발현 산물(예를 들어, mRNA, 폴리펩타이드 등)의 수준은 5' 비번역(UT) 영역, ORF 또는 3' UT 영역을 포함하는 표적 유전자 전사체의 적어도 19개 내지 25개의 뉴클레오타이드 서열의 긴 분절(예를 들어, 20개 내지 21개의 뉴클레오타이드 서열)에 대해 상보적인 특정 이중 가닥 뉴클레오타이드 서열을 함유하는 siRNA 작용제(예를 들어, siRNA, shRNA 등)에 의해 감소된다. 일부 실시 양태에서, 짧은 간섭 RNA는 약 19개 내지 25개의 뉴클레오타이드 서열이다. 예를 들어, siRNA 기술의 설명에 대해서는 PCT 출원 제WO 00/44895호, 제WO 99/32619호, 제WO 01/75164호, 제WO 01/92513호, 제WO 01/29058호, 제WO 01/89304호, 제WO 02/16620호 및 제WO 02/29858호; 및 미국 특허 공개공보 제2004/0023390호를 참고한다. siRNA 및/또는 shRNA는 핵산 서열에 의해 인코딩될 수 있고, 핵산 서열은 또한 프로모터를 포함할 수 있다. 핵산 서열은 또한 폴리아데닐화 신호를 포함할 수 있다. 일부 실시 양태에서, 폴리아데닐화 신호는 최소 합성 폴리아데닐화 신호이다.

[0058] 용어 "안티센스(antisense) RNA"는 유전자 발현 산물에 대해 상보적인 RNA를 포함한다. 예를 들어, 특정 mRNA에 표적화되는 안티센스 RNA는 mRNA에 대해 상보적인 RNA 기반 작용제(또는 변형된 RNA 일 수 있음)이며, 여기서 mRNA에 대한 안티센스 RNA의 혼성화는(예를 들어, RNA의 안정성의 변경, RNA의 번역의 변경 등을 통해) mRNA의 발현을 변경시킨다. 또한 "안티센스 RNA"에는 안티센스 RNA를 인코딩하는 핵산이 포함된다.

[0059] "CRISPR/Cas9 작용제"와 관련하여 용어 "CRISPR"은 침입 핵산의 사이런싱을 유도하기 위해 CRISPR RNA(crRNA)를 사용하여 박테리아와 고세균(archaea)에 바이러스 및 플라스미드에 대한 적응성 면역력을 제공하도록 진화한 군집형의 일정하게 분포하는 짧은 회문 구조 반복 서열(clustered regularly interspaced short palindromic repeats)/CRISPR 관련 (Cas) 시스템을 포함한다. Cas9 단백질(또는 이의 기능적 등가물 및/또는 변이체, 즉 Cas9-유사 단백질)은 당연히 crRNA 및 tracrRNA(가이드 RNA로도 지칭됨)로 지칭되는 2개의 자연적으로 발생하거나 합성인 RNA 분자와 단백질의 결합에 의존하는 DNA 엔도뉴클레아제 활성을 포함한다. 일부 경우, 2개의 분자가 공유 결합되어 단일 분자를 형성한다(단일 가이드 RNA("sgRNA")로도 지칭됨). 따라서, Cas9 또는 Cas9-유사

단백질은 DNA-표적화 RNA(이의 용어는 2분자 가이드 RNA 구성 및 단일 분자 가이드 RNA 구성 둘 모두를 포함함)와 결합하며, 이는 Cas9 또는 Cas9-유사 단백질을 활성화시키고, 상기 단백질을 표적 핵산 서열로 유도한다.

[0060] Cas9 또는 Cas9-유사 단백질이 이의 천연 효소 기능을 유지하면, 이는 표적 DNA를 절단하여 이중 가닥 파열을 생성하고, 이는 게놈 변경(즉, 편집: 결실, 삽입(공여체 폴리뉴클레오타이드가 존재하는 경우))을 야기할 수 있으며, 그 결과 유전자 발현을 변경할 수 있다. Cas9의 일부 변이체(이의 변이체는 Cas9-유사라는 용어에 의해 포함됨)는 DNA 절단 활성이 감소하도록 변경되었다(일부 경우에 이들은 표적 DNA의 두 가닥 대신 단일 가닥을 절단하는 반면, 다른 경우에는 DNA 절단 활성이 없을 때까지 심각하게 감소하였다). DNA 절단 활성이 감소된 Cas9-유사 단백질(심지어 DNA 절단 활성이 없음)은 여전히 RNA 중합효소 활성을 차단하기 위해 표적 DNA로 유도될 수 있다. 대안적으로, Cas9 또는 Cas9-유사 단백질은 VP64 전사 활성화 도메인을 Cas9 단백질에 융합시키고 테트라루프(tetraloop) 및 스템-루프(stem-loop)에서 융합 단백질을 MS2 RNA 앱타머를 포함하는 MS2-P65-HSF1 헬퍼 단백질 및 단일 가이드 RNA와 함께 동시 전달하여 전사를 활성화시키는 세포에서 협주적 활성화 매개인자(Synergistic Activation Mediator; Cas9-SAM) 복합체를 형성함으로써 변형될 수 있다. 따라서 효소적 불활성 Cas9-유사 단백질은 표적 DNA의 전사를 차단하거나 활성화하기 위해 DNA-표적화 RNA에 의해 표적 DNA의 특정 위치에 표적화될 수 있다. 본원에 사용된 용어 "CRISPR/Cas9 작용제"는 상기에서 기재된 바와 같거나 당업계에 공지된 모든 형태의 CRISPR/Cas9를 포함한다.

[0061] CRISPR 작용제에 대한 자세한 정보는, 예를 들어 (a) 문헌[Jinek et. al., Science. 2012 Aug 17; 337(6096):816-21:"A programmable dual-RNA-guided DNA endonuclease in adaptive bacterial immunity"]; (b) 문헌[Qi et al., Cell. 2013 Feb 28; 152(5):1173-83:"Repurposing CRISPR as an RNA- guided platform for sequence- specific control of gene expression"], 및 (c) 미국 특허 출원 번호 제13/842,859호 및 PCT 출원 번호 제PCT/US13/32589호에서 찾아볼 수 있으며, 이들 전문은 전체가 본원에 참고로 포함된다. 따라서, 본원에서 사용된 용어 "CRISPR 작용제"는 Cas9-기반 시스템(예를 들어, Cas9 또는 Cas9-유사 단백질; DNA-표적화 RNA, 예를 들어 crRNA-유사 RNA, tracrRNA-유사 RNA, 단일 가이드 RNA 등의 임의의 요소; 공여체 폴리뉴클레오타이드; 및 기타)에서 사용될 수 있는 자연적으로 발생하고/하거나 합성인 서열을 포함하는 임의의 작용제(또는 이 같은 작용제를 인코딩하는 핵산)를 포함한다.

[0062] "아연-핑거 뉴클레아제"(ZFN)는 아연 핑거 DNA 결합 도메인을 DNA 절단 도메인에 융합시킴으로써 생성되는 인공 DNA 엔도뉴클레아제를 의미한다. ZFN은 목적하는 DNA 서열을 표적화하도록 가공될 수 있으며, 이는 아연-핑거 뉴클레아제가 독특한 표적 서열을 절단할 수 있도록 한다. 세포에 도입되면 ZFN은 이중 가닥 파열을 유도함으로써 세포(예를 들어, 세포 게놈) 내의 표적 DNA를 편집(edit)하는 데 사용될 수 있다. ZFN 사용에 대한 추가의 정보를 얻기 위해, 예를 들어 문헌[Asuri et al., Mol Ther. 2012 Feb; 20(2):329-38]; 문헌[Bibikova et al. Science. 2003 May 2; 300(5620):764]; 문헌[Wood et al. Science. 2011 Jul 15; 333(6040):307]; 문헌[Ochiai et al. Genes Cells. 2010 Aug; 15(8):875-85]; 문헌[Takasu et. al., Insect Biochem Mol Biol. 2010 Oct; 40(10):759-65]; 문헌[Ekker et al, Zebrafish 2008 Summer; 5(2):121-3]; 문헌[Young et al, Proc Natl Acad Sci U S A. 2011 Apr 26; 108(17):7052-7]; 문헌[Goldberg et al, Cell. 2010 Mar 5; 140(5):678-91]; 문헌[Geurts et al, Science. 2009 Jul 24; 325(5939):433]; 문헌[Flisikowska et al, PLoS One. 2011; 6(6): e21045. doi: 10.1371/journal.pone.0021045. Epub 2011 Jun 13]; 문헌[Hauschild et al, Proc Natl Acad Sci U S A. 2011 Jul 19; 108(29):12013-7]; 및 문헌[Yu et al, Cell Res. 2011 Nov;21(l 1):1638-40]을 참고하며; 이의 전문은 ZFN에 관한 이들의 교시를 위해 본원에서 참고로 포함된다. 용어 "ZFN 작용제"는 아연 핑커 뉴클레아제 및/또는 아연 핑거 뉴클레아제를 인코딩하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 폴리뉴클레오타이드를 포함한다.

[0063] "전사 활성화제-유사 이펙터 뉴클레아제" 또는 "TALEN" 작용제는 전사 활성화제-유사 이펙터 뉴클레아제(TALEN)를 지칭한다. TALEN은 TAL(전사 활성화제-유사) 이펙터 DNA 결합 도메인을 DNA 절단 도메인에 융합시킴으로써 생성되는 인공 DNA 엔도뉴클레아제이다. TALEN은 임의의 목적하는 DNA 서열에 실질적으로 결합하도록 신속하게 가공될 수 있으며, 세포에 도입되는 경우 TALEN은 이중 가닥 파열을 유도함으로써 세포(예를 들어, 세포 게놈)의 표적 DNA를 편집하기 위해 사용될 수 있다. TALEN 사용에 대한 추가의 정보를 얻기 위해, 예를 들어 문헌[Hockemeyer et al. Nat Biotechnol. 2011 Jul 7; 29(8):731-4]; 문헌[Wood et al. Science. 2011 Jul 15; 333(6040):307]; 문헌[Tesson et al. Nat Biotechnol. 2011 Aug 5; 29(8):695-6]; 및 문헌[Huang et. al., Nat Biotechnol. 2011 Aug 5; 29(8):699-700]을 참고하며; 이의 전문은 TALEN과 관련하여 그들의 교시를 위해 본원에서 참고로 포함된다. 용어 "TALEN 작용제"는 TALEN 및/또는 TALEN을 인코딩하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 폴리뉴클레오타이드를 포함한다.

[0064] 용어 "제어 요소" 또는 "제어 서열"은 폴리뉴클레오타이드의 복제, 복사, 전사, 접합, 번역 또는 분해를 포함하는 폴리뉴클레오타이드의 기능 조절에 기여하는 분자의 상호 작용에 관련된 뉴클레오타이드 서열을 지칭한다. 상기 조절은 과정의 빈도, 속도 또는 특이성에 영향을 미칠 수 있으며, 특성상 강화되거나 억제될 수 있다. 당해 기술분야에 공지된 제어 요소는, 예를 들어 프로모터 및 인핸서(enhancer)와 같은 전사 조절 서열을 포함한다. 프로모터는 RNA 중합효소에 결합하고 일반적으로 프로모터로부터 하류(3' 방향)에 위치하는 코딩 영역의 전사를 개시하는 특정 조건하에서 가능한 DNA 영역이다. 프로모터는 편재적으로 작동할 수 있으며, 예를 들어 CAG 또는 CMV 프로모터와 같이 많은 세포 유형에서 활성이거나; 로(rho) 프로모터(간상체에서 활성임) 또는 옵신 프로모터(추상체에서 활성임)와 같이 조직 또는 세포 특이적이다.

[0065] 용어 "작동 가능하게 연결된" 또는 "작동성으로 연결된"은 유전 요소가 병치(juxtaposition)된 것을 지칭하며, 이때 상기 요소는 이들이 예상되는 방식으로 작동할 수 있도록 하는 관계에 있다. 예를 들어, 프로모터가 코딩 서열의 전사를 개시하는 것을 돕는 경우, 프로모터는 코딩 영역에 작동 가능하게 연결된다. 이러한 기능적 관계가 유지되는 한, 프로모터와 코딩 영역 사이에는 개재 잔기가 존재할 수 있다.

[0066] 용어 "발현 벡터"는 관심 있는 폴리펩타이드를 인코딩하는 폴리뉴클레오타이드 영역을 포함하는 벡터를 포함하고, 의도된 표적 세포에서 단백질의 발현을 수행하는데 사용된다. 발현 벡터는 또한 표적에서 단백질의 발현을 촉진하기 위해 인코딩 영역에 작동 가능하게 연결된 제어 요소를 포함할 수 있다. 제어 요소와 이들이 발현을 위해 작동 가능하게 연결된 유전자 또는 유전자들의 조합은 때때로 "발현 카세트(expression cassette)"로서 지칭되며, 이들 중 다수는 당업계에 공지되어 있고 이용 가능하거나, 당업계에서 이용 가능한 성분으로부터 용이하게 구성될 수 있다.

[0067] 용어 "이종성"은 그것이 비교되는 나머지 독립체(entity)와 유전자형으로 별개인 독립체로부터 유래한다는 것을 의미한다. 예를 들어, 유전 공학 기술에 의해 다른 종에서 유래한 플라스미드 또는 벡터에 도입된 폴리뉴클레오타이드는 이종성 폴리뉴클레오타이드이다. 천연의 코딩 서열로부터 제거되고 그것이 자연적으로 발견되지 않는 코딩 서열에 작동 가능하게 연결된 프로모터는 이종성 프로모터이다. 따라서, 예를 들어 이종성 유전자 산물을 인코딩하는 이종성 핵산 서열을 포함하는 rAAV는 자연적으로 발생하는 야생형 AAV에 정상적으로 포함되지 않는 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 rAAV이고, 인코딩된 이종성 유전자 산물은 정상적으로는 자연적으로 발생하는 야생형 AAV에 의해 정상적으로 인코딩되지 않은 유전자 산물이다.

[0068] 용어 "유전적 변경" 및 "유전적 변형"(및 문법상 이의 변이체)은 유전 요소 (예를 들어, 폴리뉴클레오타이드)가 유사 분열 또는 감수 분열이 아닌 방식으로 세포 내로 도입되는 과정을 지칭하기 위해 상호 교환 가능하게 본원에서 사용된다. 상기 요소는 세포에 대해 이종성일 수도 있고, 이는 세포에 이미 존재하는 요소의 추가 사본 또는 개선된 버전일 수도 있다. 유전적 변경은, 예를 들어 전기 천공(electroporation), 인산칼슘 침전 또는 폴리뉴클레오타이드-리포솜 복합체와의 접촉과 같은 당업계에 공지된 임의의 과정을 통해 세포를 재조합 플라스미드 또는 기타 폴리뉴클레오타이드로 형질 감염시킴으로써 수행될 수 있다. 또한, 유전적 변경은, 예를 들어 DNA 또는 RNA 바이러스 또는 바이러스 벡터에 의한 형질 도입 또는 감염에 의해 수행될 수 있다. 일반적으로, 유전적 요소는 세포 내의 염색체 또는 미니-염색체에 도입되지만; 세포 및 이의 자손의 표현형 및/또는 유전자형을 변화시키는 임의의 변경도 이러한 용어에 포함된다.

[0069] 세포 변형과 관련하여 외생성 DNA(예를 들어, 재조합 바이러스를 통해)에 의해 "유전적으로 변형된" 또는 "형질 전환된" 또는 "형질 감염된" 또는 "형질 도입된"이라는 용어는 이 같은 DNA가 세포 내로 도입되는 경우를 지칭한다. 외생성 DNA가 존재하면 영구적 또는 일시적인 유전적 변화가 일어난다. 형질 전환 DNA는 세포의 게놈 내에 통합(공유 결합)될 수 있거나 통합(공유 결합)되지 않을 수 있다. "클론(clone)"은 유사 분열에 의한 단일 세포 또는 공통 조상으로부터 유래하는 세포 집단이다. "세포주"는 여러 세대 동안 *시험관 내*에서 안정적으로 성장할 수 있는 일차 세포의 클론이다.

[0070] 본원에서 사용된 바와 같이, 서열이 *시험관 내*에서 장기간 세포 배양 도중에 및/또는 *생체 내*에서 장기간 동안 이의 기능을 수행할 수 있다면, 세포는 유전자 서열에 의해 "안정적으로" 변경, 형질 도입, 유전적 변형 또는 형질 전환되는 것으로 간주 된다. 일반적으로, 이 같은 세포는 또한 유전적 변형이 도입되어 변경된 세포의 자손으로 유전될 수도 있다는 점에서 "유전적으로" 변경(유전적으로 변형)된다.

[0071] 용어 "폴리펩타이드", "펩타이드" 및 "단백질"은 임의의 서열의 아미노산의 중합체를 지칭하기 위해 본원에서 상호 교환 가능하게 사용된다. 또한, 상기 용어는, 예를 들어 이황화 결합 형성, 글리코실화, 지질화, 인산화, 또는 표지화(labeling) 성분과의 접합과 같이 변형되어 있는 아미노산 중합체를 포함한다. 포유동물 대상에게 유전자 산물을 전달하는 것과 관련하여 논의되는 경우, 항-혈관 신생 폴리펩타이드, 신경 보호 폴리펩타이드 등

과 같은 폴리펩타이드 및 이에 대한 조성물은 개개의 온전한 폴리펩타이드 또는 이의 임의의 단편 또는 유전적으로 조작된 유도체를 지칭하며, 이때 이들은 온전한 단백질의 목적하는 생화학적 기능을 유지한다. 유사하게, 항-혈관 신생 폴리펩타이드를 인코딩하는 핵산, 신경 보호 폴리펩타이드를 인코딩하는 핵산, 및 포유류 대상에 대한 유전자 산물의 전달에 사용하기 위한 기타 이 같은 핵산(수용체 세포에 전달될 "이식 유전자"로도 지칭될 수 있음)에 대한 인용은 온전한 폴리펩타이드를 인코딩하는 폴리뉴클레오타이드 또는 목적하는 생화학적 기능을 보유하는 임의의 단편 또는 유전적으로 조작된 유도체를 포함한다.

[0072] 본원에서 사용된 바와 같이, "단리된" 플라스미드, 핵산, 벡터, 바이러스, 비리온, 숙주 세포, 단백질 또는 다른 물질은 물질 또는 유사한 물질이 자연적으로 발생하거나 초기에 제조되는 곳에 또한 존재할 수 있는 적어도 일부의 기타 성분이 결여된 물질의 제제를 지칭한다. 따라서, 예를 들어 단리된 물질은 정제 기술을 사용하여 원료 혼합물로부터 농축시킴으로써 제조될 수 있다. 농축은 용액의 부피당 중량과 같은 절대 기준으로 측정될 수 있거나, 원료 혼합물에 존재하는 제2의 잠재적 간섭 물질과 관련하여 측정될 수 있다. 본 개시내용에서 실시 양태의 농축의 증가는 점점 더 단리되게 된다. 단리된 플라스미드, 핵산, 벡터, 바이러스, 숙주 세포 또는 다른 물질은 일부 실시 양태에서, 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.

[0073] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "치료", "치료하기" 등은 목적하는 약리학적 및/또는 생리학적 효과를 얻는 것을 지칭한다. 상기 효과는 질병 또는 이의 증상을 완전히 또는 부분적으로 예방한다는 관점에서 예방적일 수 있고/있거나 질병 및/또는 질병에 기인하는 부작용에 대한 부분적 또는 완전한 치료의 관점에서는 치료적일 수 있다. 본원에서 사용된 바와 같은 "치료"는 포유동물, 특히 인간에서의 질병의 임의의 치료를 포함하며, (a) 질병에 걸리기 쉽거나, 질병에 걸릴 위험이 있지만 아직 질병에 걸린 것으로 진단받은 적이 없는 대상에서 질병(및/또는 질병에 의해 유발된 증상)이 발생하지 않도록 예방하는 단계; (b) 질병(및/또는 질병에 의해 유발된 증상)을 억제하는 단계, 즉 이의 발달을 중지시키는 단계; (c) 질병 (및/또는 질병에 의해 유발된 증상)을 완화시키는 단계, 즉 질병(및/또는 질병에 의해 유발된 증상)의 퇴행을 야기하는 단계, 즉 질병 및/또는 질병의 하나 이상의 증상을 완화시키는 단계를 포함한다. 예를 들어, 대상 조성물 및 방법은 망막 질병의 치료에 관한 것일 수 있다. 망막 질병 및 이의 치료를 평가하기 위한 비제한적인 방법은 망막 기능 및 이의 변화, 즉 시력의 변화(예를 들어, 최대 교정시력[BCVA], 보행, 항법, 대상물 탐지 및 차별), 시야의 변화(예를 들어, 정적 및 운동 시야 측정), 임상적 검사(예를 들어, 눈의 전 안부 및 후 안부의 슬릿 램프 검사), 모든 파장의 명암에 대한 전기 생리학적 반응성(예를 들어, 모든 형태의 망막 전위도 검사(ERG)[전체-시야(full-field), 다초점 및 패턴], 모든 형태의 시각 유발 전위(VEP), 안 전위 검사(EOG), 색각(color vision), 암순응(dark adaptation) 및/또는 대비 민감도(contrast sensitivity)를 측정하는 단계; 해부학적 및/또는 사진 척도, 예를 들어 광 간섭 단층촬영(OCT), 안저 촬영, 적응성 광학 스캐닝 레이저 검안경 검사, 형광 및/또는 자가 형광을 이용하여 해부학상 또는 건강상 변화를 측정하는 단계; 시각 운동성 및 눈 움직임(예를 들어, 안진증(nystagmus), 주시 선호(fixation preference) 및 안정성)을 측정하는 단계; 및 보고 결과(시각 유도 및 비시각적 유도 거동 및 활성에서의 환자-보고 변화, 환자-보고 결과[PRO], 삶의 질, 1일 활동 및 신경 기능의 척도에 대한 설문지 기반 평가(예를 들어, 기능성 자기 공명 영상(MRI))를 평가하는 단계를 포함한다.

[0074] 용어 "개체(individual)", "숙주", "대상" 및 "환자"는 본원에서 상호 교환 가능하게 사용되며, 인간을 포함하지만 이에 제한되지는 않는 포유류; 유인원을 포함한 비인간 영장류; 스포츠 포유동물(예를 들어, 말); 농장 포유동물(예를 들어, 양, 염소 등); 포유류 애완동물(개, 고양이 등); 설치류(예를 들어, 생쥐, 쥐 등)를 지칭한다.

[0075] 일부 실시 양태에서, 개체는 이전에 자연적으로 AAV에 노출되었으며, 그 결과 항-AAV 항체(즉, AAV 중화 항체)를 함유하게 된 인간이다. 일부 실시 양태에서, 개체는 이전에 AAV 벡터가 투여되었던(그 결과, 항-AAV 항체를 함유할 수 있는) 인간이고, 다른 병태의 치료 또는 동일한 병태의 추가적인 치료를 위해 벡터의 재투여가 요구되는 인간이다. 예를 들어, 간, 근육 및 망막-이러한 비히클에 대한 중화 항체에 의해 영향을 받는 모든 조직-에 대한 AAV 유전자의 전달을 포함하는 임상 시험에서의 양성 결과에 기초하여, 다수의 이 같은 치료 응용/질병 표적이 존재한다.

[0076] 본원에 사용된 바와 같은 용어 "유효량"은 유익하거나 목적하는 임상 결과를 달성하기에 충분한 양이다. 유효량은 하나 이상의 투여분으로 투여될 수 있다. 본 개시내용의 목적상, 화합물(예를 들어, 감염성 rAAV 비리온)의 유효량은 특정 질병 상태(예를 들어, 망막 질병) (및/또는 이와 연관된 증상)의 진행을 완화, 개선, 안정화, 반전, 예방, 감속 또는 지연시키기에 충분한 양이다. 따라서, 감염성 rAAV 비리온의 유효량은 개체의 표적 세포(또는 표적 세포들)에 이종성 핵산을 효과적으로 전달할 수 있는 감염성 rAAV 비리온의 양이다. 유효량은, 예를

들어 RT-PCR, 웨스턴 블롯팅(Western blotting), ELISA, 형광 또는 다른 리포터 판독 등과 같은 당업계에 널리 공지된 기술을 사용하여, 예를 들어 이종성 핵산 서열에 의해 인코딩되는 유전자 산물(RNA, 단백질)을 세포 또는 조직에서 검출함으로써 전임상으로 결정될 수 있다. 유효량은, 본원에 기술되고 당업계에 공지된 바와 같이, 당업계에 공지된 방법, 예를 들어, 안저 자기형광, 형광 안저 혈관 조영술, OCT, 미세 시야측정술(microperimetry), 적응성 광학 등을 사용하여 질병의 발병 또는 진행의 변화를 검출함으로써 임상적으로 결정될 수 있다.

[0077] 용어 "망막 세포"는 본원에서 망막 신경절(RG) 세포, 무축삭 세포, 수평 세포, 양극 세포, 광 수용체 세포, 뮐러 교질 세포, 소교 세포 및 망막 색소 상피(retinal pigmented epithelium; RPE) 세포와 같은 망막을 포함하는 임의의 세포 유형을 지칭하지만, 이에 제한되지 않는다. 용어 "광 수용체 세포"는 본원에서 간상체 세포 또는 "간상체" 및 추상체 세포 또는 "추상체"를 지칭하지만, 이에 제한되지 않는다. 용어 "뮐러 세포" 또는 "뮐러 교질 세포"는 척추동물(vertebrate) 망막에서 뉴런을 지지하는 교질 세포를 지칭한다.

[0078] 용어 "유도 진화"는 반복적인 유전적 다양화 및 선택 과정을 통해 자연적 진화를 모방하여 생체 분자의 기능을 점진적으로 개선시키는 유익한 돌연변이를 축적하는 *시험관 내* 및/또는 *생체 내* 캡시드 공학 방법을 지칭한다. 유도 진화는 종종 변이체가 관심 있는 세포 또는 조직 유형의 감염성의 보다 효율적인 수준을 갖는 라이브러리로부터 AAV 변이체의 선택을 위해 "바이오 패닝(biopanning)"으로도 지칭되는 *생체 내* 방법을 포함한다.

[0079] 상세한 설명

[0080] 아데노-관련 바이러스(AAVs)는 비외피성 캡시드 내에 함유된 4.7kb 길이의 단일 가닥 DNA 게놈을 갖는 파보바이러스의 부류이다. 자연적으로 발생하는 AAV의 바이러스 게놈은 2개의 역위 말단 반복서열(ITR)-바이러스 복제 원점(origin of replication) 및 패키징 신호(packaging signal)로 작용을 함-을 가지며, 이는 2개의 일차 오픈 리딩 프레임(ORF), 즉 *rep*(바이러스 복제, 전사 조절, 부위-특이적 통합 및 비리온 조립에 작용하는 단백질을 인코딩함) 및 *cap*에 인접해 있다. *cap* ORF는 3개의 구조 단백질을 코딩하고, 이들 단백질은 조립되어 60-머(mer)의 바이러스 캡시드를 형성한다. 다수의 자연적으로 발생하는 AAV 변이체 및 혈청형이 분리되었으며, 어떠한 것도 인간 질병과 연관되어 있지 않았다.

[0081] AAV의 재조합 버전(recombinant version)은 *rep* 및 *cap* 대신에 ITRs 사이에 관심 있는 마커 또는 치료용 유전자가 삽입되는 유전자 전달 벡터로 사용될 수 있다. 이들 벡터는 *시험관 내* 및 *생체 내* 분열 및 비-분할 세포 모두를 형질 전환하는 것으로 나타났으며, 사후 유사 분열 조직에서 수년간 안정한 이식 유전자의 발현을 초래할 수 있다. *예를 들어*, 문헌[Knipe DM, Howley PM. *Fields' Virology*. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, PA, USA, 2007; Gao G-P, Alvira MR, Wang L, Calcedo R, Johnston J, Wilson JM. 인간 유전자 치료를 위한 벡터로서 붉은털 원숭이에서 유래된 새로운 아데노-관련 바이러스. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; 99:11854-9; Atchison RW, Casto BC, Hammon WM. 아데노바이러스 관련 결함 바이러스 입자. *Science* 1965; 149:754-6; Hoggan MD, Blacklow NR, Rowe WP. 다양한 아데노바이러스 제제에서 발견되는 작은 DNA 바이러스 연구: 물리적, 생물학적 및 면역학적 특성. *Proc Natl Acad Sci USA* 1966; 55:1467-74; Blacklow NR, Hoggan MD, Rowe WP. 사람으로부터 아데노바이러스-관련 바이러스의 분리. *Proc Natl Acad Sci USA* 1967; 58:1410-5; Bantel-Schaal U, zur Hausen H. 생식기 부위로부터 분리된 결함 있는 사람 파보바이러스의 DNA 특성 분석. *Virology* 1984; 134:52-63; Mayor HD, Melnick JL. 작은 데옥시리보핵산 함유 바이러스(피코드나 바이러스 그룹). *Nature* 1966; 210:331-2; Mori S, Wang L, Takeuchi T, Kanda T. 게잡이 원숭이에서 두 개의 새로운 아데노-관련 바이러스: 캡시드 단백질의 위형 특성. *Virology* 2004; 330:375-83; Flotte TR. 유전자 치료 과정 및 전망: 재조합 아데노-관련 바이러스(rAAV) 벡터. *Gene Ther* 2004; 11:805-10]을 참조한다.

[0082] 재조합 AAV(본원에서 간단히 "AAV"로 언급됨)는 증가하는 임상 시험에서 유망한 결과를 가져왔다. 그러나 항-캡시드 면역 반응, 특정 조직의 낮은 형질 도입, 특정 세포 유형에 표적화 전달에 대한 무능력 및 상대적으로 낮은 운반 능력과 같은 AAV의 유용성을 제한할 수 있는 유전자 전달에 장애가 있다. 많은 경우 AAV를 향상시키는 능력을 가진 합리적인 설계에 효과적으로 힘을 실어 줄 수 있는 충분한 기계론적 지식이 부족하다. 대안으로, 유도 진화는 특정 생물의학적 요구를 충족시키는 신규한 AAV 변이체를 만드는 전략으로 부상했다. 유도 진화 전략은 생체 분자의 기능을 점진적으로 향상시키는 유익한 돌연변이의 축적을 가능하게 하는 유전적 다양화 및 선택 과정을 활용한다. 이 과정에서 야생형 AAV *cap* 유전자는 바이러스 입자의 라이브러리를 생성하기 위해 패키징되는 대형 유전자 라이브러리를 만들기 위한 여러 접근법에 의해 다양화되고, 그 후 선택압이 유전자 전달 장벽을 극복할 수 있는 신규한 변이체를 분리하기 위해 적용된다. 중요하게, 유전자 전달 문제의 기초가 되는 기계론적 근거는 기능의 유도 진화에 대해 알려질 필요가 없으므로 향상된 벡터의 개발을 가속화할 수 있다.

[0083] 전형적으로, 본원에 개시된 변이체는 AAV 라이브러리 및/또는 라이브러리들의 사용을 통해 생성되었다. AAV 캡시드의 구조 단백질을 인코드하는 유전자인 *cap* 유전자를 바이러스 게놈 공학 분야에서 숙련된 기술자에 알려지고 쉽게 이용 가능한 일련의 유도 진화 기술에 의해 돌연변이시킴으로써 이러한 AAV 라이브러리 또는 라이브러리들이 생성된다. 예를 들어, Bartel et al. Am. Soc. Gene Cell Ther. 15th Annu. Meet. 20, S140(2012); Bowles, D. et al. J. Virol. 77, 423-432(2003); Gray et al. Mol. Ther. 18, 570-578(2010); Grimm, D. et al. J. Virol. 82, 5887-5911; Koerber, J. T. et al. Mol. Ther. 16, 1703-1709(2008); Li W. et al. Mol. Ther. 16, 1252-1260(2008); Koerber, J. T. et al. Methods Mol. Biol. 434, 161-170(2008); Koerber, J. T. et al. Hum. Gene Ther. 18, 367-378(2007); and Koerber, J. T. et al. Mol. Ther. 17, 2088-2095(2009)를 참고한다. 이 같은 기술은, 제한되지 않지만, 다음과 같다: i) 실수 유발 PCR로 미리 정해진 수정 가능한 속도로 무작위 점돌연변이를 AAV *cap* 오픈 리딩 프레임(ORF)에 도입한다; ii) 다중 AAV 혈청형으로 유전자 라이브러리를 생성하기 위해 AAV *cap* 유전자의 무작위 키메라를 생성하는 *시험관 내* 또는 *생체 내* 바이러스 재조합 또는 "DNA 셔플링(suffling)"; iii) *cap* ORF 내의 퇴화된 올리고뉴클레오타이드의 연결에 의한 캡시드의 한정된 부위에서의 무작위 펩타이드 삽입; iv) 트랜스포존 돌연변이 유발을 이용한 AAV *cap* ORF의 무작위 위치로의 펩타이드-인코딩 서열의 한정된 삽입; v) "루프 스왑(loop-swap)" 라이브러리를 생성하기 위해 천연 AAV 혈청형 및 변이체 중 각 아미노산 위치의 보존 수준에 기초하여 생체 정보로 설계된 펩타이드 서열의 라이브러리로 AAV 캡시드의 표면 루프를 대체; vi) 조상 변이체의 라이브러리를 생성하기 위해 AAV 혈청형 사이의 퇴행성 위치에서 무작위 아미노산 치환(Santiago-Ortiz et al., 2015); 및 이러한 기술들의 조합을 포함한다.

[0084] DNA 셔플링은 키메라를 생성하고, 이 키메라는 부모의 속성을 독특하고 종종 유익한 방식으로 결합한다; 그러나, 일부는 패키징할 수 없으므로 사실상 라이브러리의 다양성을 감소시킬 수 있다. 라이브러리의 다양성 정도는 제한되지 않지만 상기 iii-iv)와 같은 펩타이드 삽입 기술을 통해 달성된다. 라이브러리의 다양성은 상기 v)와 같은 기술에도 집중되어 있으며 이러한 집중은 AAV 캡시드의 표면 노출 루프에 있는 다중 초가변 영역으로 지향된다. 많은 기술이 캡시드의 작은 면적만이 변이되는 변이체 캡시드를 생성하지만, 이들 기술은 추가의 돌연변이 유발 전략과 쌍을 이루어 완전한 캡시드를 변형시킨다.

[0085] 일단 AAV 라이브러리 또는 라이브러리들이 생성되면, 각 AAV 입자가 캡시드를 인코딩하는 *cap* 유전자를 둘러싸는 돌연변이 캡시드로 구성되도록 바이러스는 패키징되고 정제된다. 그런 다음, 라이브러리의 변이체는 AAV 분야에서 숙련된 기술자에 의해 공지되어 쉽게 활용할 수 *있는 시험관 내* 및/또는 *생체 내* 선택압 기술에 적용된다. 예를 들어, Maheshri, N. et al. Nature Biotech. 24, 198-204(2006); Dalkara, D. et al. Sci. Transl. Med. 5, 189ra76(2013); Lisowski, L. et al. Nature. 506, 382-286(2013); Yang, L. et al. PNAS. 106, 3946-3951(2009); Gao, G. et al. Mol. Ther. 13, 77-87(2006); 및 Bell, P. et al. Hum. Gene. Ther. 22, 985-997(2011)를 참고한다. 예를 들어, 제한 없이, AAV 변이체는 i) 상이한 분획의 용출이 변경된 결합 특성을 갖는 변이체를 생성하는 친화성 컬럼; ii) 1차 세포 - 인체 세포의 행동을 모방하는 조직 표본 또는 불멸 세포주로부터 분리된 - 증가 된 효율 및/또는 조직 특이성을 갖는 AAV 변이체를 생산; iii) 동물 모델 - 임상 유전자 치료 환경을 모방한 - 표적 조직을 성공적으로 감염시킨 AAV 변이체를 생산; iv) 이식된 인간 세포를 감염하는 AAV 변이체를 생산하는 인간 이종 이식 모델; 및/또는 이들의 선택 기술의 조합을 사용하여 선택될 수 있다.

[0086] 일단 바이러스가 선택되면, 제한 없이, 아데노바이러스-매개 복제, PCR 증폭, 차세대 시퀀싱 및 클로닝 등과 같은 공지된 기술에 의해 회수될 수 있다. 그런 다음, 선택 기법을 반복하여 바이러스 복제를 풍부하게 하고 AAV DNA를 분리하여 관심 있는 특정 변이체 *cap* 유전자를 회수한다. 이 같은 선택된 변이체는 추가 변형 또는 돌연변이를 받아 AAV 바이러스 적합성을 반복적으로 증가시키기 위한 추가 선별 단계의 새로운 출발점으로 작용할 수 있다. 그러나 어떤 경우에는, 성공적인 캡시드가 추가 돌연변이 없이 생성되었다.

[0087] 본원에 개시된 AAV 변이체는 적어도 부분적으로 *생체 내* 유도 진화 방법론, 예를 들어 유리체 내 투여 후 영장류 망막 스크린의 사용을 포함하는 전술한 기술의 사용을 통해 생성되었다. 이와 같이, 본원에 개시된 AAV 변이체 캡시드는 상응하는 모 AAV 캡시드 단백질보다 영장류 망막 세포의 보다 효율적인 형질 도입을 부여하는 아미노산 서열의 하나 이상의 변형을 포함한다. 본원에 사용된 "상응하는 모 AAV 캡시드 단백질"은 본 발명의 변이체 AAV 캡시드 단백질과 동일한 야생형 또는 변이체 AAV 혈청형의 AAV 캡시드 단백질을 지칭 하나, 본 발명 변이체 AAV 캡시드 단백질의 하나 이상의 아미노산 서열 변형을 포함하지 않는다.

[0088] 일부 실시 양태에서, 본 발명의 변이체 AAV 캡시드 단백질은 상응하는 모 AAV 캡시드 단백질에 비해 AAV 캡시드 단백질 GH 루프 또는 루프 IV에 공유 결합에 의해 삽입된 약 5개 아미노산 내지 약 20개 아미노산의 이종성 펩타이드를 포함한다. AAV 캡시드 단백질의 "GH 루프" 또는 루프 IV는 당업계에서 AAV 캡시드 단백질의 GH 루프

또는 루프 IV로 언급되는 용매-접근 가능한 부분을 의미한다. AAV 캡시드의 GH 루프/루프 IV에 대해서는, 예를 들어, 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 참고한다. 따라서, 예를 들어, 삽입 부위는 AAV VP1 캡시드 단백질의 대략 아미노산 411-650 내에 있을 수 있다. 예를 들어, 삽입 부위는 AAV1 VP1의 아미노산 571-612 내, AAV2 VP1의 아미노산 570-611 내, AAV3A VP1의 아미노산 571-612 내, AAV3B VP1의 아미노산 571-612 내, AAV4 VP1의 아미노산 569-610 내, AAV5 VP1의 아미노산 560-601 내, AAV6 VP1의 아미노산 571 내지 612 내, AAV7 VP1의 아미노산 572 내지 613 내, AAV8 VP1의 아미노산 573 내지 614 내, AAV9 VP1의 571 내지 612 내 또는 AAV10 VP1의 아미노산 573 내지 614 내 또는 그의 임의의 변이체의 상응하는 아미노산 내일 수 있다. 당업자는 다양한 AAV 혈청형의 캡시드 단백질의 아미노산 서열의 비교에 기초하여, "AAV2의 아미노산에 상응하는" 삽입 부위가 임의의 주어진 AAV 혈청형의 캡시드 단백질에 존재할 것이라는 것을 알 것이다. 또한 야생형(자연 발생) 혈청형 AAV1, AAV2, AAV3A, AAV3B 및 AAV4-10 사이의 아미노산 위치를 제공하는 야생형 AAV 서열 식별 번호 1-11의 정렬에 대해서는 도 6을 또한 참조한다.

[0089] 특정 실시 양태에서, 삽입 부위는 임의의 야생형 AAV 혈청형 또는 AAV 변이체의 VP1의 아미노산 570-614 사이에 위치한 2개의 인접한 아미노산 사이의 단일 삽입 부위이며, 예를 들어, 삽입 부위는 임의의 AAV 혈청형 또는 변이체의 VP1의 아미노산 570-610, 아미노산 580-600, 아미노산 570-575, 아미노산 575-580, 아미노산 580-585, 아미노산 585-590, 아미노산 590-600 또는 아미노산 600-614에 위치한 2개의 인접한 아미노산 사이이다. 예를 들어, 삽입 부위는 아미노산 580과 581, 아미노산 581과 582, 아미노산 583과 584, 아미노산 584와 585, 아미노산 585와 586, 아미노산 586과 587, 아미노산 587과 588, 아미노산 588과 589, 또는 아미노산 589와 590 사이일 수 있다. 삽입 부위는 아미노산 575와 576, 아미노산 576과 577, 아미노산 577과 578, 아미노산 578과 579, 또는 아미노산 579와 580 사이일 수 있다. 삽입 부위는 아미노산 590과 591, 아미노산 591과 592, 아미노산 592와 593, 아미노산 593과 594, 아미노산 594와 595, 아미노산 595와 596, 아미노산 596과 597, 아미노산 597과 598, 아미노산 598과 599, 또는 아미노산 599와 600 사이일 수 있다. 예를 들어, 삽입 부위는 AAV2의 아미노산 587과 588 사이, AAV1의 아미노산 590과 591 사이, AAV3A의 아미노산 588과 589 사이, AAV3B의 아미노산 588과 589 사이, AAV4의 아미노산 584와 585 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.

[0090] 일부 실시 양태에서, 본원에 개시된 펩타이드 삽입은 5개의 아미노산, 6개의 아미노산, 7개의 아미노산, 8개의 아미노산, 9개의 아미노산, 10개의 아미노산, 11개의 아미노산, 12개의 아미노산, 13개의 아미노산, 14개의 아미노산, 15개의 아미노산, 16개의 아미노산, 17개의 아미노산, 18개의 아미노산, 19개의 아미노산 또는 20개의 아미노산 서열을 갖는다. 또 다른 실시 양태에서, 본원에 개시된 펩타이드 삽입은 본원에 개시된 펩타이드 삽입 중 어느 하나의 아미노 말단(N-말단) 및/또는 카르복실 말단(C-말단)에서 1 내지 4개의 스페이서 아미노산을 포함한다. 예시적인 스페이서 아미노산은, 제한 없이, 루신(L), 알라닌(A), 글리신(G), 세린(S), 트레오닌(T) 및 프롤린(P)을 포함한다. 특정 실시 양태에서, 펩타이드 삽입은 N-말단에 2개의 스페이서 아미노산 및 C-말단에 2개의 스페이서 아미노산을 포함한다. 다른 실시 양태에서, 펩타이드 삽입은 N-말단에 2개의 스페이서 아미노산 및 C-말단에 1개의 스페이서 아미노산을 포함한다.

[0091] 본원에 개시된 펩타이드 삽입은 이전에 기재되지 않았거나 AAV 캡시드에 삽입되지 않았다. 이론에 구속되기를 바라지 않고, 임의의 개시된 펩타이드 삽입의 존재는 영장류 망막의 전방에서 세포 외 기질에 대한 결합을 감소시키는 헤파린 황산염에 대한 변이체 캡시드의 친화성을 낮추도록 작용할 수 있다. 또한, 본원에 개시된 펩타이드 삽입 모티프는 세포 표면 수용체 결합 도메인의 첨가를 통한 영장류 망막 세포의 향상된 형질 도입을 부여할 수 있다.

[0092] 일부 바람직한 실시 양태에서, 삽입 펩타이드는 하기 화학식의 어느 하나의 아미노산 서열을 포함한다.

[0093] 일부 양태에서, 삽입 펩타이드는 화학식 1a의 7 내지 10개의 아미노산 서열의 펩타이드일 수 있다:

[0094] [화학식 1a]

[0095] $Y_1Y_2X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7Y_3$

[0096] 여기서 각각의 Y_1-Y_3은, 존재하는 경우, 독립적으로 Ala, Leu, Gly, Ser, Thr, Pro로부터 선택되고

[0097] X_1은 Gln, Asn, His, Ile 및 Ala로부터 선택되고

[0098] X_2는 Ala, Gln, Asp, Ser, Lys 및 Pro로부터 선택되고

[0099] X_3은 Asp, Ile, Thr 및 Asn으로부터 선택되고

[0100] X_4는 Thr, Ser, Tyr, Gln, Glu 및 Ala로부터 선택되고

[0101] X_5는 Thr, Lys 및 Asn으로부터 선택되고

[0102] X_6은 Lys, Asn 및 Glu로부터 선택되고

[0103] X_7은 Asn, Thr, Ile, His, Asp 및 Ala로부터 선택된다.

[0104] 특정 실시 양태에서, 화학식 1a의 삽입 펩타이드는 QADTTKN(서열 식별 번호 13), ISDQTKH(서열 식별 번호 14), ASDSTKA(서열 식별 번호 15), NQDYTKT(서열 식별 번호 16), HDITKNI(서열 식별 번호 17), HPDTTKN (서열 식별 번호 18), HQDTTKN(서열 식별 번호 19), NKTTNKD(서열 식별 번호 20), ISNENEH(서열 식별 번호 21) 및 QANANEN(서열 식별 번호 22)으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함한다.

[0105] 다른 양태에서, 삽입 펩타이드는 화학식 1b의 7 내지 10개의 아미노산 서열의 펩타이드일 수 있다:

[0106] [화학식 1b]

[0107] $Y_1Y_2X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7Y_3$

[0108] 여기서 각각의 Y_1-Y_3은, 존재하는 경우, 독립적으로 Ala, Leu, Gly, Ser, Thr, Pro로부터 선택되고

[0109] X_1은 Gln, Asn, His 및 Ile로부터 선택되고

[0110] X_2는 Ala, Gln, Asp 및 Ser로부터 선택되고

[0111] X_3은 Asp 및 Ile로부터 선택되고

[0112] X_4는 Thr, Tyr 및 Gln으로부터 선택되고

[0113] X_5는 Thr 및 Lys로부터 선택되고

[0114] X_6은 Lys 및 Asn으로부터 선택되고

[0115] X_7은 Asn, Thr, Ile 및 His로부터 선택된다.

[0116] 특정 실시 양태에서, 화학식 1b의 삽입 펩타이드는 QADTTKN(서열 식별 번호 13), ISDQTKH(서열 식별 번호 14), NQDYTKT(서열 식별 번호 16), HDITKNI(서열 식별 번호 17) 및 HQDTTKN(서열 식별 번호 19)로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함한다.

[0117] 다른 양태에서, 삽입 펩타이드는 화학식 1c의 7 내지 10개의 아미노산 서열의 펩타이드일 수 있다:

[0118] [화학식 1c]

[0119] $Y_1Y_2X_1X_2AspX_3ThrLysX_4Y_3$

[0120] 여기서 각각의 Y_1-Y_3은, 존재하는 경우, 독립적으로 Ala, Leu, Gly, Ser, Thr, Pro로부터 선택되고

[0121] X_1은 Gln, Asn, His 및 Ile로부터 선택되고

[0122] X_2는 Ala, Gln 및 Ser로부터 선택되고

[0123] X_3은 Thr, Tyr 및 Gln으로부터 선택되고

[0124] X_4는 Asn, Thr 및 His로부터 선택된다.

[0125] 특정 실시 양태에서, 화학식 1c의 삽입 펩타이드는 QADTTKN(서열 식별 번호 13), ISDQTKH(서열 식별 번호 14),

NQDYTKT(서열 식별 번호 16) 및 HQDTTKN(서열 식별 번호 19)로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함한다.

[0126] 다른 양태에서, 삽입 펩타이드는 화학식 1d의 7 내지 10개의 아미노산 서열의 펩타이드일 수 있다:

[0127] [화학식 1d]

[0128] $Y_1Y_2X_1X_2AspX_3ThrThrX_4Y_3$

[0129] 여기서 각각의 Y_1-Y_3은, 존재하는 경우, 독립적으로 Ala, Leu, Gly, Ser, Thr, Pro로부터 선택되고

[0130] X_1은 Gln 및 Ile로부터 선택되고

[0131] X_2는 Ala 및 Ser로부터 선택되고

[0132] X_3은 Thr 및 Gln으로부터 선택되고

[0133] X_4는 Asn 및 His로부터 선택된다.

[0134] 특정 실시 양태에서, 화학식 1d의 삽입 펩타이드는 QADTTKN(서열 식별 번호 13) 및 ISDQTKH(서열 식별 번호 14)로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함한다.

[0135] 다른 양태에서, 삽입 펩타이드는 화학식 1e의 7 내지 11개의 아미노산 서열의 펩타이드일 수 있다:

[0136] [화학식 1e]

[0137] $Y_1Y_2X_1X_2AsnX_3AsnGluX_4Y_3$

[0138] 여기서 각각의 Y_1-Y_3은, 존재하는 경우, 독립적으로 Ala, Leu, Gly, Ser, Thr, Pro로부터 선택되고

[0139] X_1은 Gln 및 Ile로부터 선택되고

[0140] X_2는 Ala 및 Ser로부터 선택되고

[0141] X_3은 Glu 및 Ala로부터 선택되고

[0142] X_4는 Asn 및 His로부터 선택된다.

[0143] 다른 실시 양태에서, 화학식 1e의 삽입 펩타이드는 ISNENEH(서열 식별 번호 21) 및 QANANEN(서열 식별 번호 22)으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함한다.

[0144] 또 다른 실시 양태에서, 삽입 펩타이드는 화학식 IIa의 7 내지 11개의 아미노산 서열의 펩타이드일 수 있다:

[0145] [화학식 IIa]

[0146] $Y_1Y_2X_1X_2DX_3TKX_4Y_3$

[0147] 여기서 각각의 Y_1-Y_3은, 존재하는 경우, 독립적으로 Ala, Leu, Gly, Ser, Thr, Pro로부터 선택되고

[0148] X_1은 Q, N, A, H 및 I로부터 선택되고;

[0149] X_2는 Q, A, P 및 S로부터 선택되고;

[0150] X_3은 T, Y, S 및 Q로부터 선택되고;

[0151] X_4는 T, N, A 및 H로부터 선택된다.

[0152] 화학식 $X_1X_2DX_3TKX_4$인 아미노산 서열의 펩타이드 삽입의 추가의 실시 양태에서, 펩타이드 삽입은 QADTTKN(서열 식별 번호 13), ISDQTKH(서열 식별 번호 14), ASDSTKA(서열 식별 번호 15), NQDYTKT(서열 식별 번호 16), HQDTTKN(서열 식별 번호 19) 및 HPDTTKN(서열 식별 번호 18)로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0153] 일부 이러한 실시 양태에서, 삽입 펩타이드는 화학식 IIb의 길이가 7 내지 11개의 아미노산 서열의 펩타이드일 수 있다:

[0154] [화학식 IIb]

[0155] $Y_1Y_2X_1X_2DX_3TKX_4Y_3$

[0156] 여기서 각각의 Y_1-Y_3은, 존재하는 경우, 독립적으로 Ala, Leu, Gly, Ser, Thr, Pro로부터 선택되고

[0157] X_1은 N, A 및 H로부터 선택되고;

[0158] X_2는 Q, P 및 S로부터 선택되고;

[0159] X_3은 T, Y 및 S로부터 선택되고;

[0160] X_4는 T, N 및 A로부터 선택된다.

[0161] 화학식 $X_1X_2DX_3TKX_4$의 아미노산 서열 펩타이드 삽입의 추가의 실시 양태에서, 펩타이드 삽입은 ASDSTKA(서열 식별 번호 15), NQDYTKT(서열 식별 번호 16), HQDTTKN(서열 식별 번호 19) 및 HPDTTKN(서열 식별 번호 18)으로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0162] 다른 실시 양태에서, 삽입 펩타이드는 KDRAPST(서열 식별 번호 26), TNRTSPD(서열 식별 번호 24), PNSTHGS(서열 식별 번호 25) 및 GKSKVID(서열 식별 번호 23)로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함한다.

[0163] 일부 실시 양태에서, 삽입 펩타이드는 ASDSTKA(서열 식별 번호 15), QANANEN(서열 식별 번호 22), QADTTKN(서열 식별 번호 13), ISDQTKH(서열 식별 번호 14), NQDYTKT(서열 식별 번호 16), HDITKNI(서열 식별 번호 17), HPDTTKN(서열 식별 번호 18), HQDTTKN(서열 식별 번호 19), NKTTNKD(서열 식별 번호 20), ISNENEH(서열 식별 번호 21), GKSKVID(서열 식별 번호 23), TNRTSPD(서열 식별 번호 24), PNSTHGS(서열 식별 번호 25) 및 KDRAPST(서열 식별 번호 26)로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함한다.

[0164] 다른 바람직한 실시 양태에서, 삽입 펩타이드는 QADTTKN(서열 식별 번호 13), ISDQTKH(서열 식별 번호 14), ASDSTKA(서열 식별 번호 15), NQDYTKT(서열 식별 번호 16), HDITKNI(서열 식별 번호 17), HPDTTKN(서열 식별 번호 18), HQDTTKN(서열 식별 번호 19), NKTTNKD(서열 식별 번호 20), ISNENEH(서열 식별 번호 21), QANANEN(서열 식별 번호 22), GKSKVID(서열 식별 번호 23), TNRTSPD(서열 식별 번호 24), PNSTHGS(서열 식별 번호 25) 및 KDRAPST(서열 식별 번호 26)로부터 선택되는 아미노산 서열의 아미노 및/또는 카르복시 말단에 1 내지 3개의 스페이서 아미노산(Y_1-Y_3)을 갖는다. 이러한 특정 실시 양태에서, 삽입 펩타이드는 LAQADTTKNA(서열 식별 번호 27), LAISDQTKHA(서열 식별 번호 28), LGISDQTKHA(서열 식별 번호 29), LAASDSTKAA(서열 식별 번호 30), LANQDYTKTA(서열 식별 번호 31), LAHDITKNIA(서열 식별 번호 32), LAHPDTTKNA(서열 식별 번호 33), LAHQDTTKNA(서열 식별 번호 34), LANKTTNKDA(서열 식별 번호 35), LPISNENEHA(서열 식별 번호 36), LPQANANENA(서열 식별 번호 37), LAGKSKVIDA(서열 식별 번호 38), LATNRTSPDA(서열 식별 번호 39), LAPNSTHGSA(서열 식별 번호 40) 및 LAKDRAPSTA(서열 식별 번호 41)로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0165] 일부 실시 양태에서, 본 발명의 변이체 AAV 캡시드 단백질은 GH 루프 또는 루프 IV에 약 5개 아미노산 내지 약 20개 아미노산의 펩타이드 삽입 이외의 다른 아미노산 서열 변형을 포함하지 않는다. 예를 들어, 일부 실시 양태에서, 본 발명의 변이체 AAV 캡시드 단백질은 QADTTKN(서열 식별 번호 13), ISDQTKH(서열 식별 번호 14), ASDSTKA(서열 식별 번호 15), NQDYTKT(서열 식별 번호 16), HDITKNI(서열 식별 번호 17), HPDTTKN(서열 식별 번호 18), HQDTTKN(서열 식별 번호 19), NKTTNKD(서열 식별 번호 20), ISNENEH(서열 식별 번호 21), QANANEN(서열 식별 번호 22), GKSKVID(서열 식별 번호 23), TNRTSPD(서열 식별 번호 24), PNSTHGS(서열 식별 번호 25), KDRAPST(서열 식별 번호 26), LAQADTTKNA(서열 식별 번호 27), LAISDQTKHA(서열 식별 번호 28), LGISDQTKHA(서열 식별 번호 29), LAASDSTKAA(서열 식별 번호 30), LANQDYTKTA(서열 식별 번호 31), LAHDITKNIA(서열 식별 번호 32), LAHPDTTKNA(서열 식별 번호 33), LAHQDTTKNA(서열 식별 번호 34), LANKTTNKDA(서열 식별 번호 35), LPISNENEHA(서열 식별 번호 36), LPQANANENA(서열 식별 번호 37), LAGKSKVIDA(서열 식별 번호 38), LATNRTSPDA(서열 식별 번호 39), LAPNSTHGSA(서열 식별 번호 40) 및 LAKDRAPSTA(서열 식별 번호 41)로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 펩타이드 삽입을 포함하고, 변이체 AAV 캡시드는 다른 아미노산 치환, 삽입, 또는 결실을 포함하지 않는다(즉, 변이체 AAV 캡시드 단백질은 상기 삽입을 포함하고, 그렇지 않으면 상응하는 AAV 캡시드 단백질과 동일하다). 달리 말하면, 달리 상기 삽입을 포함하는 변이체 AAV 캡시드 단백질은 펩타이드가 삽입된 모 AAV 캡시드 단백질과 동일하다. 또 다른 예로서, 본 발명의 변이체 AAV 캡시드 단백질은 QADTTKN(서열 식별 번호 13), ISDQTKH(서열 식별 번호 14),

ASDSTKA(서열 식별 번호 15), NQDYTKT(서열 식별 번호 16), HDITKNI(서열 식별 번호 17), HPDTTKN(서열 식별 번호 18), HQDTTKN(서열 식별 번호 19), NKTTNKD(서열 식별 번호 20), ISNENEH(서열 식별 번호 21), QANANEN(서열 식별 번호 22), GKSKVID(서열 식별 번호 23), TNRTSPD(서열 식별 번호 24), PNSTHGS(서열 식별 번호 25), KDRAPST(서열 식별 번호 26), LAQADTTKNA(서열 식별 번호 27), LAISDQTKHA(서열 식별 번호 28), LGISDQTKHA(서열 식별 번호 29), LAASDSTKAA(서열 식별 번호 30), LANQDYTKTA(서열 식별 번호 31), LAHDITKNIA(서열 식별 번호 32), LAHPDTTKNA(서열 식별 번호 33), LAHQDTTKNA(서열 식별 번호 34), LANKTTNKDA(서열 식별 번호 35), LPISNENEHA(서열 식별 번호 36), LPQANANENA(서열 식별 번호 37), LAGKSKVIDA(서열 식별 번호 38), LATNRTSPDA(서열 식별 번호 39), LAPNSTHGSA(서열 식별 번호 40) 및 LAKDRAPSTA(서열 식별 번호 41)로부터 선택되는 아미노산 서열을 가지는 펩타이드 삽입을 포함하며, 상기 펩타이드 삽입이 AAV2 캡시드의 VP1의 아미노산 587과 588 또는 다른 모 AAV의 VP1의 상응하는 아미노산들 사이, 예를 들면 AAV1, AAV3A, AAV3B, AAV6 또는 AAV9의 VP1의 아미노산 588과 589 사이, AAV4의 VP1의 아미노산 586과 587 사이, AAV5의 VP1의 아미노산 577과 578 사이, AAV7의 VP1의 아미노산 589와 590 사이, AAV8 또는 AAV10의 VP1의 아미노산 590와 591 사이 등에 위치하고, 달리 변이체 AAV 캡시드 단백질 서열은 상응하는 모 AAV 캡시드 단백질 서열, 예를 들어, 서열 식별 번호 1-12의 임의의 아미노산 서열과 동일하다.

[0166] 다른 실시 양태에서, 예를 들어 본원에 또는 당업계에 공지된 바와 같이 펩타이드 삽입을 GH 루프에 포함하는 것 이외에 본 발명의 변이체 AAV 캡시드 단백질은 약 1 내지 약 100개의 아미노산 치환 또는 결실, 예를 들면 1 내지 약 5, 약 2 내지 약 4, 약 2 내지 약 5, 약 5 내지 약 10, 약 10 내지 약 15, 약 15 내지 약 20, 약 20 내지 약 25, 약 25-50, 약 50-100 아미노산 치환 또는 결실을 포함한다. 따라서, 일부 실시 양태에서, 본 발명의 변이체 캡시드 단백질은 상응하는 모 AAV 캡시드, 예를 들어 서열 식별 번호 1-12에 표시된 바와 같은 야생형 캡시드 단백질과 85% 이상, 90% 이상, 95% 이상, 또는 98% 이상, 예를 들어 또는 99% 동일성을 가지는 아미노산 서열을 포함한다.

[0167] 추가의 실시 양태에서, 하나 이상의 아미노산 치환은 펩타이드 삽입 이전에 번호가 매겨진 AAV2 VP1 캡시드 단백질의 아미노산 잔기 1, 15, 34, 57, 66, 81, 101, 109, 144, 164, 176, 188, 196, 226, 236, 240, 250, 312, 363, 368, 449, 456, 463, 472, 484, 524, 535, 551, 593, 698, 708, 719, 721 및/또는 735, 또는 다른 AAV 캡시드 단백질의 상응하는 아미노산 잔기(들)에 있다. 일부 이러한 실시 양태에서, 하나 이상의 아미노산 치환은 펩타이드 삽입 이전에 번호가 매겨진 AAV2 VP1 캡시드 단백질의 M1L, L15P, P34A, N57D, N66K, R81Q, Q101R, S109T, R144K, R144M, Q164K, T176P, L188I, S196Y, G226E, G236V, I240T, P250S, N312K, P363L, D368H, N449D, T456K, S463Y, D472N, R484C, A524T, P535S, N551S, A593E, I698V, V708I, V719M, S721L 및 L735Q로 이루어진 군으로부터 선택되거나 다른 AAV 캡시드 단백질의 상응하는 아미노산 잔기(들)로부터 선택된다.

[0168] 바람직한 실시 양태에서, 변이체 AAV 캡시드 단백질이 제공되고, 이는 a) 캡시드 단백질의 GH-루프에 있고, ISDQTKH(서열 식별 번호 14), LGISDQTKHA(서열 식별 번호 29) 및 LAISDQTKHA(서열 식별 번호 28)로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 펩타이드 삽입, 및 b) AAV2(서열 식별 번호 2)의 아미노산 서열과 비교하여 다음의 아미노산 치환 또는 다른 AAV 모 혈청형(즉, AAV2 이외)에서 상응하는 치환 중 하나 이상을 포함하고, 치환된 아미노산(들)은 상응하는 위치에 자연적으로 발생되지 않는다: M1L, L15P, P34A, N57D, N66K, R81Q, Q101R, S109T, R144K, R144M, Q164K, T176P, L188I, S196Y, G226E, G236V, I240T, P250S, N312K, P363L, D368H, N449D, T456K, S463Y, D472N, R484C, A524T, P535S, N551S, A593E, I698V, V708I, V719M, S721L, L735Q 및 이들의 조합. 일부 실시 양태에서, 하나 이상의 아미노산 치환은 M1L+L15P+P535S, P34A, P34A+S721L, N57D, N66K, R81Q, Q101R, S109T, R144K, R144M, Q164K, Q164K+V708I, T176P, L188I, S196Y, G226E, G236V, I240T, N312K,N312K+N449D+D472N+N551S+I698V+L735Q, P363L, R484C+V708I, T456K 및 V708I로 이루어진 군으로부터 선택된다. 바람직하게는, 펩타이드 삽입 부위는 AAV2 캡시드의 아미노산 587과 588 또는 다른 AAV 혈청형의 캡시드 단백질에서 상응하는 위치 사이에 위치한다.

[0169] 특히 바람직한 실시 양태에서, 변이체 AAV 캡시드는 AAV2의 VP1의 아미노산 587과 588 또는 다른 AAV 캡시드의 상응하는 아미노산 사이에 아미노산 서열 ISDQTKH(서열 식별 번호 14)를 포함하거나 또는 아미노산 서열 LAISDQTKHA(서열 식별 번호 28) 또는 LGISDQTKHA(서열 식별 번호 29)를 포함하거나, 본질적으로 이루어지거나 또는 이루어지는 펩타이드 삽입을 포함하고, AAV2 캡시드(서열 식별 번호 2)의 아미노산 서열에 대해 잔기 34 또는 다른 AAV 캡시드의 상응하는 잔기에서의 P34A 아미노산 치환을 추가로 포함한다. 변이체 AAV 캡시드는 서열 식별 번호 2에 표시된 아미노산 서열의 전체 서열 또는 상응하는 모 AAV 캡시드와 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 98% 또는 적어도 약 99% 또는 그 이상의 아미노산 서열 동일성을 가질 수 있다.

특히 바람직한 실시 양태에서, 변이체 AAV 캡시드는 하기 아미노산 서열과 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 98%의 서열 동일성 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 갖는다:

[0170] MAADGYLPDWLEDTLSEGIRQWWKLKPGPPPPK**A**AERHKDDSRGLVLPGYKYLGPFNGLDKGEPVNEADAAALEHDKAYDRQLDSGDNPYLKYNHADAEFQE
RLKEDTSFGGNLGRAVFQAKKRVLEPLGLVEEPVKTAPGKKRPVEHSPVEPDSSSGTGKAGQQPARKRLNFGQTGDADSVPDPQPLGQPPAAPSGLGTNTMA
TGSGAPMADNNEGADGVGNSSGNWHCDSTWMGDRVITTSTRTWALPTYNNHLYKQISSQSGASNDNHYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSPRDWQRLINNNWGF
RPKRLNFKLFNIQVKEVTQNDGTTTIANNLTSTVQVFTDSEYQLPYVLGSAHQGCLPPFPADVFMVPQYGYLTLNNGSQAVGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNN
FTFSYTFEDVPFHSSYAHSQSLDRLMNPLIDQYLYYLSRTNTPSGTTTQSRLQFSQAGASDIRDQSRNWLPGPCYRQQRVSKTSADNNNSEYSWTGATKYHL
NGRDSLVNPGPAMASHKDDEEKFFPQSGVLIFGKQGSEKTNVDIEKVMITDEEEIRTTNPVATEQYGSVSTNLQRGN**LAISDQTKHA**RQAATADVNTQGVLP
GMVWQDRDVYLQGPIWAKIPHTDGHFHPSPLMGGFGLKHPPPQILIKNTPVPANPSTTFSAAKFASFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSKRWNPEIQYTSNY
NKSVNVDFTVDTNGVYSEPRPIGTRYLTRNL(서열 식별 번호 42)

[0171] 특히 또 다른 바람직한 실시 양태에서, 변이체 AAV 캡시드는 AAV2 캡시드 단백질의 아미노산 587과 588 또는 다른 AAV 혈청형 캡시드 단백질에 상응하는 위치 사이에 아미노산 서열 ISDQTKH(서열 식별 번호 14)를 포함하거나 또는 아미노산 서열 LAISDQTKHA(서열 식별 번호 28) 또는 LGISDQTKHA(서열 식별 번호 29)을 포함하거나, 본질적으로 이루어지거나 또는 이루어지는 펩타이드 삽입을 포함하고, AAV2 캡시드(서열 식별 번호 2)의 아미노산과 비교하여 N312K 아미노산 치환 또는 다른 AAV 모 혈청형에서 상응하는 치환을 포함하고, AAV2 캡시드의 아미노산 서열과 비교하여 N449D, D472N, N551S, I698V 및/또는 L735Q 아미노산 치환 또는 다른 AAV 모 혈청형에서 상응하는 치환을 선택적으로 더 포함한다. 특히 또 다른 바람직한 실시 양태에서, 변이체 AAV 캡시드는 AAV2 캡시드의 아미노산 587과 588 또는 다른 AAV 혈청형의 캡시드 단백질에 상응하는 위치 사이에 아미노산 서열 ISDQTKH(서열 식별 번호 14)를 포함하거나 또는 아미노산 서열 LAISDQTKHA(서열 식별 번호 28) 또는 LGISDQTKHA(서열 식별 번호 29)를 포함하거나, 본질적으로 이루어지거나 또는 이루어지는 펩타이드 삽입을 포함하고, AAV2 캡시드(서열 식별 번호 2)의 아미노산과 비교하여 N312K, N449D, D472N, N551S, I698V 및 L735Q 아미노산 치환 또는 다른 AAV 모 혈청형에서 상응하는 잔기에서 치환을 포함한다. 변이체 AAV 캡시드는 서열 식별 번호 2에 표시된 아미노산 서열의 전체 서열과 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 98% 또는 그 이상의 아미노산 서열 동일성을 가질 수 있다. 특히 바람직한 실시 양태에서, 변이체 AAV 캡시드는 하기 아미노산 서열과 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 98%의 서열 동일성 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 갖는다:

[0172] MAADGYLPDWLEDTLSEGIRQWWKLKPGPPPPKPAERHKDDSRGLVLPGYKYLGPFNGLDKGEPVNEADAAALEHDKAYDRQLDSGDNPYLKYNHADAEFQE
RLKEDTSFGGNLGRAVFQAKKRVLEPLGLVEEPVKTAPGKKRPVEHSPVEPDSSSGTGKAGQQPARKRLNFGQTGDADSVPDPQPLGQPPAAPSGLGTNTMA
TGSGAPMADNNEGADGVGNSSGNWHCDSTWMGDRVITTSTRTWALPTYNNHLYKQISSQSGASNDNHYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSPRDWQRLINNNWGF
RPKRL**K**FKLFNIQVKEVTQNDGTTTIANNLTSTVQVFTDSEYQLPYVLGSAHQGCLPPFPADVFMVPQYGYLTLNNGSQAVGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNN
FTFSYTFEDVPFHSSYAHSQSLDRLMNPLIDQYLYYLSRT**D**TPSGTTTQSRLQFSQAGASDIR**N**QSRNWLPGPCYRQQRVSKTSADNNNSEYSWTGATKYHL
NGRDSLVNPGPAMASHKDDEEKFFPQSGVLIFGKQGSEKT**S**VDIEKVMITDEEEIRTTNPVATEQYGSVSTNLQRGN**LAISDQTKHA**RQAATADVNTQGVLP
GMVWQDRDVYLQGPIWAKIPHTDGHFHPSPLMGGFGLKHPPPQILIKNTPVPANPSTTFSAAKFASFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSKRWNPE**V**QYTSNY
NKSVNVDFTVDTNGVYSEPRPIGTRYLTRN**Q**(서열 식별 번호 43)

[0173] 또 다른 실시 양태에서, 변이체 AAV 캡시드 단백질이 제공되고, 이는 a) AAV1, AAV3A, AAV3B, AAV6 또는 AAV9의 VP1의 아미노산 588과 589 사이, AAV4의 아미노산 586과 587 사이, AAV5의 아미노산 577과 578 사이, AAV7의 아미노산 589와 590 사이, 또는 AAV8 또는 AAV10의 아미노산 590과 591 사이에 위치하는 펩타이드 삽입을 포함하되, 펩타이드 삽입은 ISDQTKH(서열 식별 번호 14), LGISDQTKHA(서열 식별 번호 29) 및 LAISDQTKHA(서열 식별 번호 28)로부터 선택되는 아미노산을 포함하고, 및 b) AAV3A 또는 AAV3B의 아미노산 709에서의 발린에서 이소류신(isoleusine) 치환, AAV1 또는 AAV6의 709 위치에서의 알라닌에서 이소류신 치환, AAV4의 아미노산 707 또는 AAV9의 아미노산 709에서의 아스파라긴에서 이소류신 치환 또는 AAV7의 아미노산 710 또는 AAV8 또는 AAV10의 아미노산 711에서의 트레오닌에서 이소류신 치환 또는 AAV5의 아미노산 697에서의 글루타민에서 이소류신 치환을 포함하며, 선택적으로 달리 임의의 서열 식별 번호 1 및 3-12와 동일하다. 바람직한 실시 양태에서, 변이체 캡시드 단백질은 a) AAV2 캡시드의 아미노산 587과 588 사이에 아미노산 서열 ISDQTKH(서열 식별 번호 14)를 포함하거나 또는 아미노산 서열 LAISDQTKHA(서열 식별 번호 28) 또는 LGISDQTKHA(서열 식별 번호 29)를 포함하거나, 본질적으로 이루어지거나 또는 이루어지는 펩타이드 삽입을 포함하고, b) AAV2의 아미노산 서열과 비교하여 아미노산 708에서의 발린에서 이소류신 아미노산 치환을 포함하고, 변이체 캡시드 단백질은 2 내지 5, 5 내지 10, 또는 10 내지 15개의 아미노산 치환을 포함한다.

[0174] 또 다른 실시 양태에서, 변이체 캡시드 단백질은 a) AAV2 캡시드의 아미노산 587과 588 사이에 아미노산 서열

ISDQTKH(서열 식별 번호 14)를 포함하거나 또는 아미노산 서열 LAISDQTKHA(서열 식별 번호 28) 또는 LGISDQTKHA(서열 식별 번호 29)를 포함하거나, 본질적으로 이루어지거나 또는 이루어지는 펩타이드 삽입을 포함하고, b) AAV2의 아미노산 서열과 비교하여 아미노산 708에서의 발린에서 이소류신 아미노산 치환을 포함하고, 달리 서열 식별 번호 2의 아미노산 서열과 동일하다.

[0175] 또 다른 실시 양태에서, 변이체 캡시드 단백질은 a) AAV2 캡시드의 아미노산 587과 588 사이에 아미노산 서열 ISDQTKH(서열 식별 번호 14)를 포함하거나 또는 아미노산 서열 LAISDQTKHA(서열 식별 번호 28) 또는 LGISDQTKHA(서열 식별 번호 29)를 포함하거나, 본질적으로 이루어지거나 또는 이루어지는 펩타이드 삽입을 포함하고, 달리 서열 식별 번호 2의 아미노산 서열과 동일하다. 일부 실시 양태에서, 변이체 AAV 캡시드는 하기 아미노산 서열과 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 98%의 서열 동일성 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 갖는다:

[0176] MAADGYLPDWLEDTLSEGIRQWWKLKPGPPPPKPAERHKDDSRGLVLPGYKYLGPFNGLDKGEPVNEADAAALEHDKAYDRQLDSGDNPYLKYNHADAEFQE
RLKEDTSFGGNLGRAVFQAKKRVLEPLGLVEEPVKTAPGKKRPVEHSPVEPDSSSGTGKAGQQPARKRLNFGQTGDADSVPDPQPLGQPPAAPSGLGTNTMA
TGSGAPMADNNEGADGVGNSSGNWHCDSTWMGDRVITTSTRTWALPTYNNHLYKQISSQSGASNDNHYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSPRDWQRLINNNWGF
RPKRLNFKLFNIQVKEVTQNDGTTTIANNLTSTVQVFTDSEYQLPYVLGSAHQGCLPPFPADVFMVPQYGYLTLNNGSQAVGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNN
FTFSYTFEDVPFHSSYAHSQSLDRLMNPLIDQYLYYLSRTNTPSGTTTQSRLQFSQAGASDIRDQSRNWLPGPCYRQQRVSKTSADNNNSEYSWTGATKYHL
NGRDSLVNPGPAMASHKDDEEKFFPQSGVLIFGKQGSEKTNVDIEKVMITDEEEIRTTNPVATEQYGSVSTNLQRGN**LGISDQTKHA**RQAATADVNTQGVLP
GMVWQDRDVYLQGPIWAKIPHTDGHFHPSPLMGGFGLKHPPPQILIKNTPVPANPSTTFSAAKFASFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSKRWNPEIQYTSNY
NKSVNVDFTVDTNGVYSEPRPIGTRYLTRNL(서열 식별 번호 44)

[0177] 바람직한 실시 양태에서, 변이체 AAV 캡시드 단백질이 제공되고, 이는 a) 캡시드 단백질의 GH-루프에 있고, QADTTKN(서열 식별 번호 13) 및 LAQADTTKNA(서열 식별 번호 27)로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 펩타이드 삽입, 및 b) AAV2(서열 식별 번호 2)의 아미노산 서열과 비교하여 다음의 아미노산 치환 또는 다른 AAV 모 혈청형(즉, AAV2 이외)에서 상응하는 치환 중 하나 이상을 포함하고, 치환된 아미노산(들)은 상응하는 위치에 자연적으로 발생되지 않는다: M1L, L15P, P34A, N57D, N66K, R81Q, Q101R, S109T, R144K, R144M, Q164K, T176P, L188I, S196Y, G226E, G236V, I240T, P250S, N312K, P363L, D368H, N449D, T456K, S463Y, D472N, R484C, A524T, P535S, N551S, A593E, I698V, V719M, S721L, L735Q 및 이들의 조합, 바람직하게는 S109T, P250S, A524T, A593E, I698V, V708I 및/또는 V719M으로부터 선택. 펩타이드 삽입 부위는 바람직하게는 AAV2 캡시드 단백질의 아미노산 587과 588 또는 다른 AAV 혈청형의 캡시드 단백질에서 상응하는 위치 사이에 위치한다. 특히 바람직한 실시 양태에서, 변이체 AAV 캡시드는 AAV2 캡시드의 아미노산 587과 588 사이 또는 다른 AAV 혈청형의 캡시드 단백질에서 상응하는 위치 사이에 아미노산 서열 QADTTKN(서열 식별 번호 13)을 포함하거나 또는 아미노산 서열 LAQADTTKNA(서열 식별 번호 27)를 포함하거나, 본질적으로 이루어지거나 또는 이루어지는 펩타이드 삽입을 포함하고, AAV2의 아미노산 서열과 비교하여 I698V 아미노산 치환 또는 다른 AAV 모 혈청형에서 상응하는 치환을 포함하고, 치환된 아미노산(들)은 상응하는 위치에 자연적으로 발생하지 않는다. 변이체 AAV 캡시드는 서열 식별 번호 2에 표시된 아미노산 서열의 전체 서열과 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 98% 또는 그 이상의 아미노산 서열 동일성을 가질 수 있다. 일부 실시 양태에서, 상응하는 아미노산 치환은 AAV3A, AAV3B 또는 AAV9 캡시드의 아미노산 서열과 비교하여 I699V 아미노산 치환, AAV5 캡시드의 아미노산 서열과 비교하여 I687V 치환, AAV7의 아미노산 서열과 비교하여 I700V 치환, AAV8 또는 AAV10의 아미노산 서열과 비교하여 I701V 치환을 포함한다. 특히 바람직한 실시 양태에서, 변이체 AAV 캡시드는 하기 아미노산 서열과 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 98%의 서열 동일성 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 갖는다:

[0178] MAADGYLPDWLEDTLSEGIRQWWKLKPGPPPPKPAERHKDDSRGLVLPGYKYLGPFNGLDKGEPVNEADAAALEHDKAYDRQLDSGDNPYLKYNHADAEFQE
RLKEDTSFGGNLGRAVFQAKKRVLEPLGLVEEPVKTAPGKKRPVEHSPVEPDSSSGTGKAGQQPARKRLNFGQTGDADSVPDPQPLGQPPAAPSGLGTNTMA
TGSGAPMADNNEGADGVGNSSGNWHCDSTWMGDRVITTSTRTWALPTYNNHLYKQISSQSGASNDNHYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSPRDWQRLINNNWGF
RPKRLNFKLFNIQVKEVTQNDGTTTIANNLTSTVQVFTDSEYQLPYVLGSAHQGCLPPFPADVFMVPQYGYLTLNNGSQAVGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNN
FTFSYTFEDVPFHSSYAHSQSLDRLMNPLIDQYLYYLSRTNTPSGTTTQSRLQFSQAGASDIRDQSRNWLPGPCYRQQRVSKTSADNNNSEYSWTGATKYHL
NGRDSLVNPGPAMASHKDDEEKFFPQSGVLIFGKQGSEKTNVDIEKVMITDEEEIRTTNPVATEQYGSVSTNLQRGN**LAQADTTKNA**RQAATADVNTQGVLP
GMVWQDRDVYLQGPIWAKIPHTDGHFHPSPLMGGFGLKHPPPQILIKNTPVPANPSTTFSAAKFASFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSKRWNPE**V**QYTSNY
NKSVNVDFTVDTNGVYSEPRPIGTRYLTRNL(서열 식별 번호 45)

[0179] 다른 바람직한 실시 양태에서, 변이체 AAV 캡시드는 AAV2 캡시드 단백질의 아미노산 587과 588 또는 다른 AAV 혈청형의 캡시드 단백질에서 상응하는 위치 사이에 아미노산 서열 QADTTKN(서열 식별 번호 13)을 포함하거나 또

는 아미노산 서열 LAQADTTKNA(서열 식별 번호 27)를 포함하거나, 본질적으로 이루어지거나 또는 이루어지는 펩타이드 삽입을 포함하고, AAV2의 아미노산 서열과 비교하여 V719M 아미노산 치환 및 선택적으로 V708I 치환 또는 다른 AAV 모 혈청형에서 상응하는 치환을 포함하고, 치환된 아미노산(들)은 상응하는 위치에 자연적으로 발생하지 않는다.

[0180] 또 다른 실시 양태에서, 변이체 AAV 캡시드 단백질이 제공되고, 이는 a) AAV1, AAV3A, AAV3B, AAV6 또는 AAV9의 VP1의 아미노산 588과 589 사이, AAV4의 아미노산 586과 587 사이, AAV5의 아미노산 577과 578 사이, AAV7의 아미노산 589와 590 사이, 또는 AAV8 또는 AAV10의 아미노산 590과 591 사이에 위치하는 펩타이드 삽입을 포함하되, 펩타이드 삽입은 QADTTKN(서열 식별 번호 13) 및 LAQADTTKNA(서열 식별 번호 27)로부터 선택되는 아미노산을 포함하고, 및 b) AAV3A 또는 AAV3B의 아미노산 709에서의 발린에서 이소류신 치환, AAV1 또는 AAV6의 709 위치에서의 알라닌에서 이소류신 치환, AAV4의 아미노산 707 또는 AAV9의 아미노산 709에서의 아스파라긴에서 이소류신 치환 또는 AAV7의 아미노산 710 또는 AAV8 또는 AAV10의 아미노산 711에서의 트레오닌에서 이소류신 치환 또는 AAV5의 아미노산 697에서의 글루타민에서 이소류신 치환을 포함한다. 또 다른 실시 양태에서, 변이체 AAV 캡시드 단백질이 제공되고, 이는 a) AAV1, AAV3A, AAV3B, AAV6 또는 AAV9의 VP1의 아미노산 588과 589 사이, AAV4의 아미노산 586과 587 사이, AAV5의 아미노산 577과 578 사이, AAV7의 아미노산 589와 590 사이, 또는 AAV8 또는 AAV10의 아미노산 590과 591 사이에 위치하는 펩타이드 삽입을 포함하되, 펩타이드 삽입은 QADTTKN(서열 식별 번호 13) 및 LAQADTTKNA(서열 식별 번호 27)로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하고, 및 b) AAV1, AAV3A, AAV3B, AAV4, AAV7, AAV8, AAV9, 또는 AAV10의 아미노산 서열과 비교하여 109 위치에서의 또는 AAV5 또는 AAV6의 아미노산 서열과 비교하여 108 위치에서의 세린에서 트레오닌 아미노산 치환을 포함한다. 바람직한 실시 양태에서, 변이체 AAV 캡시드는 AAV2 캡시드의 아미노산 587과 588 사이에 아미노산 서열 QADTTKN(서열 식별 번호 13)을 포함하거나 또는 아미노산 서열 LAQADTTKNA(서열 식별 번호 27)를 포함하거나, 본질적으로 이루어지거나 또는 이루어지는 펩타이드 삽입을 포함하고, AAV2의 아미노산 서열과 비교하여 아미노산 109(S109T)에서의 세린에서 트레오닌 치환 또는 아미노산 708(V708I)에서의 발린에서 이소류신 아미노산 치환을 포함하며, 변이체 캡시드 단백질은 1 내지 5개, 5 내지 10개 또는 10 내지 15개 아미노산 치환을 포함하며, 바람직하게는 서열 식별 번호 2에 표시된 아미노산 서열의 전체 서열과 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 98%, 또는 그 이상의 아미노산 서열 동일성을 갖는다. 바람직한 다른 실시 양태에서, 변이체 AAV 캡시드는 AAV2 캡시드의 아미노산 587과 588 또는 다른 AAV 혈청형의 캡시드 단백질에서 상응하는 위치 사이에 아미노산 서열 QADTTKN(서열 식별 번호 13)을 포함하거나 또는 아미노산 서열 LAQADTTKNA(서열 식별 번호 27)를 포함하거나, 본질적으로 이루어지거나 또는 이루어지는 펩타이드 삽입을 포함하고, AAV2의 아미노산 서열과 비교하여 아미노산 109에서의 세린에서 트레오닌 치환 및 아미노산 708에서의 발린에서 이소류신 치환을 포함한다.

[0181] 또 다른 실시 양태에서, 변이체 캡시드 단백질은 a) AAV2 캡시드의 아미노산 587과 588 사이에 아미노산 서열 QADTTKN(서열 식별 번호 13)을 포함하거나 또는 아미노산 서열 LAQADTTKNA(서열 식별 번호 27)를 포함하거나, 본질적으로 이루어지거나 또는 이루어지는 펩타이드 삽입을 포함하고, b) 적어도 하나의 아미노산 치환을 포함하고, 변이체 캡시드의 아미노산 서열은 AAV2의 아미노산 서열과 비교하여 아미노산 708에서의 발린에서 이소류신 아미노산 치환을 포함하지 않고, AAV2의 아미노산 서열과 비교하여 아미노산 109에서의 세린에서 트레오닌 치환을 포함하지 않는다.

[0182] 또 다른 실시 양태에서, 변이체 캡시드 단백질은 a) AAV2 캡시드의 아미노산 587과 588 사이에 아미노산 서열 QADTTKN(서열 식별 번호 13)을 포함하거나 또는 아미노산 서열 LAQADTTKNAA(서열 식별 번호 27)를 포함하거나, 본질적으로 이루어지거나 또는 이루어지는 펩타이드 삽입을 포함하고, 달리 서열 식별 번호 2의 아미노산 서열과 동일하다.

[0183] 바람직한 다른 실시 양태에서, 변이체 AAV 캡시드 단백질이 제공되고, 이는 a) 캡시드 단백질의 GH-루프에 있고, HDITKNI(서열 식별 번호 17), IAHDITKNIA(서열 식별 번호 60) 및 LAHDITKNIA(서열 식별 번호 32)로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 펩타이드 삽입, 및 b) AAV2(서열 식별 번호 2)의 아미노산 서열과 비교하여 다음의 아미노산 치환 또는 다른 AAV 모 혈청형(즉, AAV2 이외)에서 상응하는 치환 중 하나 이상을 포함하고, 치환된 아미노산(들)은 상응하는 위치에 자연적으로 발생되지 않는다: M1L, L15P, P34A, N57D, N66K, R81Q, Q101R, S109T, R144K, R144M, Q164K, T176P, L188I, S196Y, G226E, G236V, I240T, P250S, N312K, P363L, D368H, R389S, N449D, T456K, S463Y, D472N, R484C, A524T, P535S, N551S, A593E, I698V, V708I, V719M, S721L, L735Q 및 이들의 조합. 일부 실시 양태에서, AAV 캡시드 단백질은 S109T, R389S, A593E 및/또는 V708I로부터 선택되는 하나 이상의 아미노산 치환을 포함한다. 바람직하게는, 펩타이드 삽입 부위는 AAV2 캡시드의

아미노산 587과 588 또는 다른 AAV 혈청형의 캡시드 단백질 내의 상응하는 위치 사이에 위치한다. 바람직한 실시 양태에서, 변이체 AAV 캡시드는 AAV2 캡시드의 587과 588 사이에 아미노산 서열 HDITKNI(서열 식별 번호 17)를 포함하거나 또는 아미노산 서열 IAHDITKNIA(서열 식별 번호 60) 또는 LAHDITKNIA(서열 식별 번호 32)를 포함하거나, 본질적으로 이루어지거나 또는 이루어지는 펩타이드 삽입을 포함하고, AAV2 캡시드의 아미노산 서열과 비교하여 S109T 아미노산 치환 또는 다른 AAV 모 혈청형에서 상응하는 치환을 포함한다. 변이체 AAV 캡시드는 서열 식별 번호 2에 표시된 아미노산 서열의 전체 서열과 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 98% 또는 그 이상의 아미노산 서열 동일성을 가질 수 있다.

[0184] 또 다른 실시 양태에서, 변이체 캡시드 단백질은 a) AAV2 캡시드의 아미노산 587과 588 사이에 아미노산 서열 HDITKNI(서열 식별 번호 17)를 포함하거나 또는 아미노산 서열 IAHDITKNIA(서열 식별 번호 60) 또는 LAHDITKNIA(서열 식별 번호 32)를 포함하거나, 본질적으로 이루어지거나 또는 이루어지는 펩타이드 삽입을 포함하고, 달리 서열 식별 번호 2에 표시된 아미노산 서열과 동일하다. 일부 실시 양태에서, 변이체 AAV 캡시드는 하기 아미노산 서열과 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 98%의 서열 동일성 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 갖는다:

[0185] MAADGYLPDWLEDTLSEGIRQWWKLKPGPPPPKPAERHKDDSRGLVLPGYKYLGPFNGLDKGEPVNEADAAALEHDKAYDRQLDSGDNPYLKYNHADAEFQE
RLKEDTSFGGNLGRAVFQAKKRVLEPLGLVEEPVKTAPGKKRPVEHSPVEPDSSSGTGKAGQQPARKRLNFGQTGDADSVPDPQPLGQPPAAPSGLGTNTMA
TGSGAPMADNNEGADGVGNSSGNWHCDSTWMGDRVITTSTRTWALPTYNNHLYKQISSQSGASNDNHYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSPRDWQRLINNNWGF
RPKRLNFKLFNIQVKEVTQNDGTTTIANNLTSTVQVFTDSEYQLPYVLGSAHQGCLPPFPADVFMVPQYGYLTLNNGSQAVGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNN
FTFSYTFEDVPFHSSYAHSQSLDRLMNPLIDQYLYYLSRTNTPSGTTTQSRLQFSQAGASDIRDQSRNWLPGPCYRQQRVSKTSADNNNSEYSWTGATKYHL
NGRDSLVNPGPAMASHKDDEEKFFPQSGVLIFGKQGSEKTNVDIEKVMITDEEEIRTTNPVATEQYGSVSTNLQRGN**LAHDITKNIA**RQAATADVNTQGVLP
GMVWQDRDVYLQGPIWAKIPHTDGHFHPSPLMGGFGLKHPPPQILIKNTPVPANPSTTFSAAKFASFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSKRWNPEIQYTSNY
NKSVNVDFTVDTNGVYSEPRPIGTRYLTRNL(서열 식별 번호46)

[0186] 또 다른 실시 양태에서, 변이체 캡시드는 a) AAV2 캡시드의 아미노산 587과 588 사이에 아미노산 서열 LAHDITKNIA을 포함하거나, 본질적으로 이루어지거나 또는 이루어지는 펩타이드 삽입을 포함하고, b) 적어도 하나의 아미노산 치환을 포함하고, 변이체 캡시드의 아미노산 서열은 AAV2의 아미노산 서열과 비교하여 아미노산 708에서의 발린에서 이소류신 아미노산 치환을 포함하지 않는다. 또 다른 실시 양태에서, 변이체 캡시드는 a) AAV2 캡시드의 아미노산 587과 588 사이에 아미노산 서열 DITKNIA(서열 식별 번호 61)를 포함하거나 또는 아미노산 서열 IAHDITKNIA(서열 식별 번호 60) 또는 LAHDITKNIA(서열 식별 번호 32)을 포함하거나, 본질적으로 이루어지거나 또는 이루어지는 펩타이드 삽입을 포함하고, b) AAV2의 아미노산 서열과 비교하여 V708I 치환을 포함한다. 또 다른 실시 양태에서, 변이체 캡시드는 a) AAV2 캡시드의 아미노산 587과 588 사이에 아미노산 서열 LAHDITKNIA(서열 식별 번호 32)를 포함하거나, 본질적으로 이루어지거나 또는 이루어지는 펩타이드 삽입을 포함하고, b) 둘 이상의 아미노산 치환을 포함하고, 변이체 캡시드의 아미노산 서열은 AAV2의 아미노산 서열과 비교하여 아미노산 708에서의 발린에서 이소류신 아미노산 치환을 포함한다.

[0187] 바람직한 다른 실시 양태에서, 변이체 AAV 캡시드 단백질이 제공되고, 이는 a) 캡시드 단백질의 GH-루프에 있고, NQDYTKT(서열 식별 번호 16) 및 LANQDYTKTA(서열 식별 번호 31)로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 펩타이드 삽입, 및 b) AAV2(서열 식별 번호 2)의 아미노산 서열과 비교하여 다음의 아미노산 치환 또는 다른 AAV 모 혈청형(즉, AAV2 이외)에서 상응하는 치환 중 하나 이상을 포함하고, 치환된 아미노산(들)은 상응하는 위치에 자연적으로 발생되지 않는다: M1L, L15P, P34A, N57D, N66K, R81Q, Q101R, S109T, R144K, R144M, Q164K, T176P, L188I, S196Y, G226E, G236V, I240T, P250S, P363L, D368H, N449D, T456K, S463Y, D472N, R484C, A524T, P535S, N551S, A593E, I698V, V708I, V719M, S721L, L735Q 및 이들의 조합. 일부 실시 양태에서, AAV 캡시드 단백질은 S109T, S109T+S463Y, D368H 및 V708I로부터 선택되는 하나 이상의 아미노산 치환을 포함한다. 바람직하게는, 펩타이드 삽입 부위는 AAV2 캡시드의 아미노산 587과 588 또는 다른 AAV 혈청형의 캡시드 단백질에서 상응하는 위치 사이에 위치한다. 하나의 바람직한 실시 양태에서, 변이체 AAV 캡시드는 AAV2 캡시드의 587과 588 사이에 아미노산 서열 NQDYTKT(서열 식별 번호 16)를 포함하거나 또는 아미노산 서열 LANQDYTKTA(서열 식별 번호 31)를 포함하거나, 본질적으로 이루어지거나 또는 이루어지는 펩타이드 삽입을 포함하고, AAV2 캡시드의 아미노산과 비교하여 V708I 아미노산 치환 또는 다른 AAV 모 혈청형에서 상응하는 치환을 포함한다. 변이체 AAV 캡시드는 서열 식별 번호 2에 표시된 아미노산 서열의 전체 서열과 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 98% 또는 그 이상의 아미노산 서열 동일성을 가질 수 있다. 또 다른 실시 양태에서, 변이체 캡시드는 a) AAV2 캡시드의 아미노산 587과 588 사이에 아미노산 서열 NQDYTKT(서열 식별 번호 16)를 포함하거나 또는 아미노산 서열 LANQDYTKTA(서열 식별 번호 31)를 포함하거나, 본질적으로 이루어지거

나 또는 이루어지는 펩타이드 삽입을 포함하고, 달리 서열 식별 번호 2의 아미노산과 동일하다. 일부 실시 양태에서, 변이체 AAV 캡시드는 하기 아미노산 서열과 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 98%의 서열 동일성 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 갖는다:

[0188] MAADGYLPDWLEDTLSEGIRQWWKLKPGPPPPKPAERHKDDSRGLVLPGYKYLGPFNGLDKGEPVNEADAAALEHDKAYDRQLDSGDNPYLKYNHADAEFQE RLKEDTSFGGNLGRAVFQAKKRVLEPLGLVEEPVKTAPGKKRPVEHSPVEPDSSSGTGKAGQQPARKRLNFGQTGDADSVPDPQPLGQPPAAPSGLGTNTMA TGSGAPMADNNEGADGVGNSSGNWHCDSTWMGDRVITTSTRTWALPTYNNHLYKQISSQSGASNDNHYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSPRDWQRLINNNWGF RPKRLNFKLFNIQVKEVTQNDGTTTIANNLTSTVQVFTDSEYQLPYVLGSAHQGCLPPFPADVFMVPQYGYLTLNNGSQAVGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNN FTFSYTFEDVPFHSSYAHSQSLDRLMNPLIDQYLYYLSRTNTPSGTTTQSRLQFSQAGASDIRDQSRNWLPGPCYRQQRVSKTSADNNNSEYSWTGATKYHL NGRDSLVNPGPAMASHKDDEEKFFPQSGVLIFGKQGSEKTNVDIEKVMITDEEEIRTTNPVATEQYGSVSTNLQRGN**LANQDYTKTA**RQAATADVNTQGVLP GMVWQDRDVYLQGPIWAKIPHTDGHFHPSPLMGGFGLKHPPPQILIKNTPVPANPSTTFSAAKFASFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSKRWNPEIQYTSNY NKSVNVDFTVDTNGVYSEPRPIGTRYLTRNL(서열 식별 번호 47)

[0189] 또 다른 실시 양태에서, 변이체 캡시드는 a) AAV2 캡시드의 아미노산 587과 588 사이에 아미노산 서열 NQDYTKT(서열 식별 번호 16)를 포함하거나 또는 아미노산 서열 LANQDYTKTA(서열 식별 번호 31)를 포함하거나, 본질적으로 이루어지거나 또는 이루어지는 펩타이드 삽입을 포함하고, b) 서열 식별 번호 2의 서열과 비교하여 S109T 아미노산 치환을 포함하며 선택적으로 S463Y 아미노산 치환을 포함하고, 변이체 캡시드는 서열 식별 번호 2에 표시된 아미노산 서열의 전체 서열과 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 98% 동일하다. 관련 실시 양태에서, 변이체 캡시드는 a) AAV2 캡시드의 아미노산 587과 588 사이에 아미노산 서열 NQDYTKT(서열 식별 번호 16)를 포함하거나 또는 아미노산 서열 LANQDYTKTA(서열 식별 번호 31)를 포함하거나, 본질적으로 이루어지거나 또는 이루어지는 펩타이드 삽입을 포함하고, b) 서열 식별 번호 2의 아미노산 서열과 비교하여 S109T 아미노산 치환을 포함하고, 달리 서열 식별 번호 2의 아미노산 서열과 동일하다.

[0190] 또 다른 실시 양태에서, 변이체 AAV 캡시드 단백질이 제공되고, 이는 a) AAV1, AAV3A, AAV3B, AAV6 또는 AAV9의 VP1의 아미노산 588과 589 사이, AAV4의 아미노산 586과 587 사이, AAV5의 아미노산 577과 578 사이, AAV7의 아미노산 589와 590 사이, 또는 AAV8 또는 AAV10의 아미노산 590과 591 사이에 위치하는 펩타이드 삽입을 포함하되, 펩타이드 삽입은 NQDYTKT(서열 식별 번호 16) 및 LANQDYTKTA(서열 식별 번호 31)로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하고, 및 b) AAV1 또는 AAV6의 아미노산 서열과 비교하여 위치 313에서, 또는 AAV9의 아미노산 서열과 비교하여 위치 314에서의 아스파라긴에서 리신 아미노산 치환, 또는, AAV3A 또는 AAV3B의 위치 312에서, 또는 AAV8 또는 AAV10의 위치 315에서의 세린에서 리신 치환, 또는, AAV4 또는 AAV5의 위치 303에서, 또는 AAV7의 위치 314에서의 아르기닌에서 리신 치환을 포함한다. 또 다른 실시 양태에서, 변이체 캡시드는 a) AAV2 캡시드의 아미노산 587과 588 사이에 아미노산 서열 NQDYTKT(서열 식별 번호 16)를 포함하거나 또는 아미노산 서열 LANQDYTKTA(서열 식별 번호 31)를 포함하거나, 본질적으로 이루어지거나 또는 이루어지는 펩타이드 삽입을 포함하고, b) N312K 아미노산 치환을 포함하고, 변이체 캡시드 단백질은 1 내지 5, 5 내지 10, 또는 10 내지 15개의 아미노산 치환을 포함한다.

[0191] 다른 실시 양태에서, 변이체 AAV 캡시드 단백질이 제공되고, 이는 a) 캡시드 단백질의 GH-루프에 있고, PNSTHGS(서열 식별 번호 25) 및 LAPNSTHGSA(서열 식별 번호 40)로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 펩타이드 삽입, 및 b) AAV2(서열 식별 번호 2)의 아미노산 서열과 비교하여 다음의 아미노산 치환 또는 다른 AAV 모 혈청형(즉, AAV2 이외)에서 상응하는 치환 중 하나 이상을 포함하고, 치환된 아미노산(들)은 상응하는 위치에 자연적으로 발생되지 않는다: M1L, L15P, P34A, N57D, N66K, R81Q, Q101R, S109T, R144K, R144M, Q164K, T176P, L188I, S196Y, G226E, G236V, I240T, P250S, N312K, P363L, D368H, N449D, T456K, S463Y, D472N, R484C, A524T, P535S, N551S, A593E, I698V, V708I, V719M, S721L, L735Q 및 이들의 조합. 바람직하게는, 펩타이드 삽입 부위는 AAV2 캡시드의 아미노산 587과 588 또는 다른 AAV 혈청형의 캡시드 단백질에서 상응하는 위치 사이에 위치한다. 하나의 바람직한 실시 양태에서, 변이체 AAV 캡시드는 AAV2 캡시드의 587과 588 사이에 아미노산 서열 PNSTHGS(서열 식별 번호 25)를 포함하거나 또는 아미노산 서열 LAPNSTHGSA(서열 식별 번호 40)를 포함하거나, 본질적으로 이루어지거나 또는 이루어지는 펩타이드 삽입을 포함하고, AAV2 캡시드의 아미노산과 비교하여 V708I 아미노산 치환 또는 다른 AAV 모 혈청형에서 상응하는 치환을 포함한다. 변이체 AAV 캡시드는 서열 식별 번호 2에 표시된 아미노산 서열의 전체 서열과 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 98% 또는 그 이상의 아미노산 서열 동일성을 가질 수 있다. 또 다른 실시 양태에서, 변이체 캡시드는 a) AAV2 캡시드의 아미노산 587과 588 사이에 아미노산 서열 PNSTHGS(서열 식별 번호 25)를 포함하거나 또는 아미노산 서열 아미노산 서열 LAPNSTHGSA(서열 식별 번호 40)을 포함하거나, 본질적으로 이루어지거나 또는 이루어지는 펩타이드 삽입을 포함하고, 달리 서열 식별 번호 2에 표시된 아미노산 서열과 동일하다. 일부 실시 양태에

서, 변이체 AAV 캡시드는 하기 아미노산 서열과 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 98%의 서열 동일성 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 갖는다:

[0192] MAADGYLPDWLEDTLSEGIRQWWKLKPGPPPPKPAERHKDDSRGLVLPGYKYLGPFNGLDKGEPVNEADAAALEHDKAYDRQLDSGDNPYLKYNHADAEFQE RLKEDTSFGGNLGRAVFQAKKRVLEPLGLVEEPVKTAPGKKRPVEHSPVEPDSSSGTGKAGQQPARKRLNFGQTGDADSVPDPQPLGQPPAAPSGLGTNTMA TGSGAPMADNNEGADGVGNSSGNWHCDSTWMGDRVITTSTRTWALPTYNNHLYKQISSQSGASNDNHYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSPRDWQRLINNNWGF RPKRLNFKLFNIQVKEVTQNDGTTTIANNLTSTVQVFTDSEYQLPYVLGSAHQGCLPPFPADVFMVPQYGYLTLNNGSQAVGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNN FTFSYTFEDVPFHSSYAHSQSLDRLMNPLIDQYLYYLSRTNTPSGTTTQSRLQFSQAGASDIRDQSRNWLPGPCYRQQRVSKTSADNNNSEYSWTGATKYHL NGRDSLVNPGPAMASHKDDEEKFFPQSGVLIFGKQGSEKTNVDIEKVMITDEEEIRTTNPVATEQYGSVSTNLQRGN**LAPNSTHGSA**RQAATADVNTQGVLP GMVWQDRDVYLQGPIWAKIPHTDGHFHPSPLMGGFGLKHPPPQILIKNTPVPANPSTTFSAAKFASFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSKRWNPEIQYTSNY NKSVNVDFTVDTNGVYSEPRPIGTRYLTRNL(서열 식별 번호 48)

[0193] 다른 실시 양태에서, 변이체 AAV 캡시드 단백질이 제공되고, 이는 a) 캡시드 단백질의 GH-루프에 있고, NKTTNKDA(서열 식별 번호 62) 및 LANKTTNKDA(서열 식별 번호 35)로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 펩타이드 삽입, 및 b) AAV2(서열 식별 번호 2)의 아미노산 서열과 비교하여 다음의 아미노산 치환 또는 다른 AAV 모 혈청형(즉, AAV2 이외)에서 상응하는 치환 중 하나 이상을 포함하고, 치환된 아미노산(들)은 상응하는 위치에 자연적으로 발생되지 않는다: M1L, L15P, P34A, N57D, N66K, R81Q, Q101R, S109T, R144K, R144M, Q164K, T176P, L188I, S196Y, G226E, G236V, I240T, P250S, N312K, P363L, D368H, N449D, T456K, S463Y, D472N, R484C, A524T, P535S, N551S, A593E, I698V, V708I, V719M, S721L, L735Q 및 이들의 조합. 바람직하게는, 펩타이드 삽입 부위는 AAV2 캡시드의 아미노산 587과 588 또는 다른 AAV 혈청형의 캡시드 단백질에서 상응하는 위치 사이에 위치한다. 하나의 바람직한 실시 양태에서, 변이체 AAV 캡시드는 AAV2 캡시드의 587과 588 사이에 아미노산 서열 NKTTNKDA(서열 식별 번호 62)를 포함하거나 또는 아미노산 서열 LANKTTNKDA(서열 식별 번호 35)를 포함하거나, 본질적으로 이루어지거나 또는 이루어지는 펩타이드 삽입을 포함하고, AAV2 캡시드의 아미노산 서열과 비교하여 N449D 아미노산 치환 또는 다른 AAV 모 혈청형에서 상응하는 치환을 포함한다. 변이체 AAV 캡시드는 서열 식별 번호 2에 표시된 아미노산 서열의 전체 서열과 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 98% 또는 그 이상의 아미노산 서열 동일성을 가질 수 있다. 또 다른 실시 양태에서, 변이체 캡시드는 a) AAV2 캡시드의 아미노산 587과 588 사이에 아미노산 서열 NKTTNKDA(서열 식별 번호 62)를 포함하거나 또는 아미노산 서열 아미노산 서열 LANKTTNKDA(서열 식별 번호 35)를 포함하거나, 본질적으로 이루어지거나 또는 이루어지는 펩타이드 삽입을 포함하고, 달리 서열 식별 번호 2에 표시된 아미노산 서열과 동일하다. 일부 실시 양태에서, 변이체 AAV 캡시드는 하기 아미노산 서열과 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 98%의 서열 동일성 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 갖는다:

[0194] MAADGYLPDWLEDTLSEGIRQWWKLKPGPPPPKPAERHKDDSRGLVLPGYKYLGPFNGLDKGEPVNEADAAALEHDKAYDRQLDSGDNPYLKYNHADAEFQE RLKEDTSFGGNLGRAVFQAKKRVLEPLGLVEEPVKTAPGKKRPVEHSPVEPDSSSGTGKAGQQPARKRLNFGQTGDADSVPDPQPLGQPPAAPSGLGTNTMA TGSGAPMADNNEGADGVGNSSGNWHCDSTWMGDRVITTSTRTWALPTYNNHLYKQISSQSGASNDNHYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSPRDWQRLINNNWGF RPKRLNFKLFNIQVKEVTQNDGTTTIANNLTSTVQVFTDSEYQLPYVLGSAHQGCLPPFPADVFMVPQYGYLTLNNGSQAVGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNN FTFSYTFEDVPFHSSYAHSQSLDRLMNPLIDQYLYYLSRTNTPSGTTTQSRLQFSQAGASDIRDQSRNWLPGPCYRQQRVSKTSADNNNSEYSWTGATKYHL NGRDSLVNPGPAMASHKDDEEKFFPQSGVLIFGKQGSEKTNVDIEKVMITDEEEIRTTNPVATEQYGSVSTNLQRGN**LANKTTNKDA**RQAATADVNTQGVLP GMVWQDRDVYLQGPIWAKIPHTDGHFHPSPLMGGFGLKHPPPQILIKNTPVPANPSTTFSAAKFASFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSKRWNPEIQYTSNY NKSVNVDFTVDTNGVYSEPRPIGTRYLTRNL(서열 식별 번호49)

[0195] 다른 실시 양태에서, 변이체 AAV 캡시드 단백질이 제공되고, 이는 a) 캡시드 단백질의 GH-루프에 있고, TNRTSPD(서열 식별 번호 24) 및 LATNRTSPDA(서열 식별 번호 39)로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 펩타이드 삽입, 및 b) AAV2(서열 식별 번호 2)의 아미노산 서열과 비교하여 다음의 아미노산 치환 또는 다른 AAV 모 혈청형(즉, AAV2 이외)에서 상응하는 치환 중 하나 이상을 포함하고, 치환된 아미노산(들)은 상응하는 위치에 자연적으로 발생되지 않는다: M1L, L15P, P34A, N57D, N66K, R81Q, Q101R, S109T, R144K, R144M, Q164K, T176P, L188I, S196Y, G226E, G236V, I240T, P250S, N312K, P363L, D368H, N449D, T456K, S463Y, D472N, R484C, A524T, P535S, N551S, A593E, I698V, V719M, S721L, L735Q 및 이들의 조합. 바람직하게는, 펩타이드 삽입 부위는 AAV2 캡시드의 아미노산 587과 588 또는 다른 AAV 혈청형의 캡시드 단백질에서 상응하는 위치 사이에 위치한다. 관련 실시 양태에서, 변이체 AAV 캡시드 단백질이 제공되고, 이는 a) AAV1, AAV3A, AAV3B, AAV6 또는 AAV9의 VP1의 아미노산 588과 589 사이, AAV4의 아미노산 586과 587 사이, AAV5의 아미노산 577과 578 사이, AAV7의 아미노산 589와 590 사이, 또는 AAV8 또는 AAV10의 아미노산 590과 591 사이에 위치하는 펩타이드 삽입을 포함하되, 펩타이드 삽입은 TNRTSPD(서열 식별 번호 24) 및 LATNRTSPDA(서열 식별 번호 39)로부터 선택되는

아미노산 서열을 포함하고, 및 b) AAV3A 또는 AAV3B의 아미노산 709에서의 발린에서 이소류신 치환, AAV1 또는 AAV6의 위치 709에서의 알라닌에서 이소류신 치환, AAV4의 아미노산 707 또는 AAV9의 아미노산 709에서의 아스파라긴에서 이소류신 치환 또는 AAV7의 아미노산 710 또는 AAV8 또는 AAV10의 아미노산 711에서의 트레오닌에서 이소류신 치환 또는 AAV5의 아미노산 697에서의 글루타민에서 이소류신 치환을 포함한다. 다른 실시 양태에서, 변이체 캡시드 단백질은 a) AAV2 캡시드의 아미노산 587과 588 사이에 아미노산 서열 LATNRTSPDA(서열 식별 번호 39)를 포함하거나, 본질적으로 이루어지거나 또는 이루어지는 펩타이드 삽입을 포함하고, b) AAV2의 아미노산 서열과 비교하여 아미노산 708에서의 발린에서 이소류신 아미노산 치환을 포함하고, 변이체 캡시드 단백질은 1 내지 5, 5 내지 10, 또는 10 내지 15개의 아미노산 치환을 포함한다. 또 다른 실시 양태에서, 변이체 캡시드 단백질은 a) AAV2 캡시드의 아미노산 587과 588 사이에 아미노산 서열 TNRTSPD(서열 식별 번호 24)를 포함하거나, 본질적으로 이루어지거나 또는 이루어지는 펩타이드 삽입을 포함하고, b) AAV2의 아미노산 서열과 비교하여 아미노산 708에서의 발린에서 이소류신 아미노산 치환을 포함한다. 변이체 AAV 캡시드는 서열 식별 번호 2에 표시된 아미노산 서열의 전체 서열과 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 98% 또는 그 이상의 아미노산 서열 동일성을 가질 수 있다.

[0196] 또 다른 실시 양태에서, 변이체 캡시드 단백질은 a) AAV2 캡시드의 아미노산 587과 588 사이에 아미노산 서열 TNRTSPD(서열 식별 번호 24)를 포함하거나 또는 아미노산 서열 LATNRTSPDA(서열 식별 번호 39)를 포함하거나, 본질적으로 이루어지거나 또는 이루어지는 펩타이드 삽입을 포함하고, 달리 서열 식별 번호 2의 아미노산 서열과 동일하다. 일부 실시 양태에서, 변이체 AAV 캡시드는 하기 아미노산 서열과 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 98%의 서열 동일성 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 갖는다:

[0197] MAADGYLPDWLEDTLSEGIRQWWKLKPGPPPPKPAERHKDDSRGLVLPGYKYLGPFNGLDKGEPVNEADAAALEHDKAYDRQLDSGDNPYLKYNHADAEFQE
RLKEDTSFGGNLGRAVFQAKKRVLEPLGLVEEPVKTAPGKKRPVEHSPVEPDSSSGTGKAGQQPARKRLNFGQTGDADSVPDPQPLGQPPAAPSGLGTNTMA
TGSGAPMADNNEGADGVGNSSGNWHCDSTWMGDRVITTSTRTWALPTYNNHLYKQISSQSGASNDNHYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSPRDWQRLINNNWGF
RPKRLNFKLFNIQVKEVTQNDGTTTIANNLTSTVQVFTDSEYQLPYVLGSAHQGCLPPFPADVFMVPQYGYLTLNNGSQAVGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNN
FTFSYTFEDVPFHSSYAHSQSLDRLMNPLIDQYLYYLSRTNTPSGTTTQSRLQFSQAGASDIRDQSRNWLPGPCYRQQRVSKTSADNNNSEYSWTGATKYHL
NGRDSLVNPGPAMASHKDDEEKFFPQSGVLIFGKQGSEKTNVDIEKVMITDEEEIRTTNPVATEQYGSVSTNLQRGN**LATNRTSPDA**RQAATADVNTQGVLP
GMVWQDRDVYLQGPIWAKIPHTDGHFHPSPLMGGFGLKHPPPQILIKNTPVPANPSTTFSAAKFASFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSKRWNPEIQYTSNY
NKSVNVDFTVDTNGVYSEPRPIGTRYLTRNL(서열 식별 번호50)

[0198] 다른 실시 양태에서, 변이체 AAV 캡시드 단백질이 제공되고, 이는 a) 캡시드 단백질의 GH-루프에 있고, TGKSKVID(서열 식별 번호 23) 및 LAGKSKVIDA(서열 식별 번호 38)로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 펩타이드 삽입, 및 b) AAV2(서열 식별 번호 2)의 아미노산 서열과 비교하여 다음의 아미노산 치환 또는 다른 AAV 모 혈청형(즉, AAV2 이외)에서 상응하는 치환 중 하나 이상을 포함하고, 치환된 아미노산(들)은 상응하는 위치에 자연적으로 발생되지 않는다: M1L, L15P, P34A, N57D, N66K, R81Q, Q101R, S109T, R144K, R144M, Q164K, T176P, L188I, S196Y, G226E, G236V, I240T, P250S, N312K, P363L, D368H, N449D, T456K, S463Y, D472N, R484C, A524T, P535S, N551S, A593E, I698V, V708I, V719M, S721L, L735Q 및 이들의 조합. 바람직하게는, 펩타이드 삽입 부위는 AAV2 캡시드의 아미노산 587과 588 또는 다른 AAV 혈청형의 캡시드 단백질에서 상응하는 위치 사이에 위치한다. 변이체 AAV 캡시드는 서열 식별 번호 2에 제시된 아미노산 서열의 전체 서열과 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 98% 또는 그 이상의 아미노산 서열 동일성을 가질 수 있다. 일부 실시 양태에서, 변이체 캡시드는 AAV2 캡시드의 아미노산 587과 588 사이에 위치하며 아미노산 서열 GKSKVID(서열 식별 번호 23)를 포함하거나 또는 아미노산 서열 LAGKSKVIDA(서열 식별 번호 38)를 포함하거나, 본질적으로 이루어지거나 또는 이루어지는 펩타이드 삽입을 포함하고, 달리 서열 식별 번호 2의 아미노산 서열과 동일하다. 일부 실시 양태에서, 변이체 캡시드는 a) AAV2 캡시드의 아미노산 587과 588 사이에 아미노산 서열 LAGKSKVIDA(서열 식별 번호 38)를 포함하거나, 본질적으로 이루어지거나 또는 이루어지는 펩타이드 삽입을 포함하고, 적어도 하나의 아미노산 치환을 포함한다.

[0199] 일부 실시 양태에서, 변이체 AAV 캡시드는 하기 아미노산 서열과 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 98%의 서열 동일성 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 갖는다:

[0200] MAADGYLPDWLEDTLSEGIRQWWKLKPGPPPPKPAERHKDDSRGLVLPGYKYLGPFNGLDKGEPVNEADAAALEHDKAYDRQLDSGDNPYLKYNHADAEFQE
RLKEDTSFGGNLGRAVFQAKKRVLEPLGLVEEPVKTAPGKKRPVEHSPVEPDSSSGTGKAGQQPARKRLNFGQTGDADSVPDPQPLGQPPAAPSGLGTNTMA
TGSGAPMADNNEGADGVGNSSGNWHCDSTWMGDRVITTSTRTWALPTYNNHLYKQISSQSGASNDNHYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSPRDWQRLINNNWGF
RPKRLNFKLFNIQVKEVTQNDGTTTIANNLTSTVQVFTDSEYQLPYVLGSAHQGCLPPFPADVFMVPQYGYLTLNNGSQAVGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNN
FTFSYTFEDVPFHSSYAHSQSLDRLMNPLIDQYLYYLSRTNTPSGTTTQSRLQFSQAGASDIRDQSRNWLPGPCYRQQRVSKTSADNNNSEYSWTGATKYHL

NGRDSLVNPGPAMASHKDDEEKFFPQSGVLIFGKQGSEKTNVDIEKVMITDEEEIRTTNPVATEQYGSVSTNLQRGN**LAGKSKVIDA**RQAATADVNTQGVLP
GMVWQDRDVYLQGPIWAKIPHTDGHFHPSPLMGGFGLKHPPPQILIKNTPVPANPSTTFSAAKFASFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSKRWNPEIQYTSNY
NKSVNVDFTVDTNGVYSEPRPIGTRYLTRNL(서열 식별 번호 51)

[0201] 다른 실시 양태에서, 변이체 AAV 캡시드 단백질이 제공되고, 이는 a) 캡시드 단백질의 GH-루프에 있고, ASDSTKA(서열 식별 번호 15) 및 LAASDSTKAA(서열 식별 번호 30)로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 펩타이드 삽입, 및 b) AAV2(서열 식별 번호 2)의 아미노산 서열과 비교하여 다음의 아미노산 치환 또는 다른 AAV 모혈청형(즉, AAV2 이외)에서 상응하는 치환 중 하나 이상을 포함하고, 치환된 아미노산(들)은 상응하는 위치에 자연적으로 발생되지 않는다: M1L, L15P, P34A, N57D, N66K, R81Q, Q101R, S109T, R144K, R144M, Q164K, T176P, L188I, S196Y, G226E, G236V, I240T, P250S, N312K, P363L, D368H, N449D, T456K, S463Y, D472N, R484C, A524T, P535S, N551S, A593E, I698V, V708I, V719M, S721L, L735Q 및 이들의 조합. 바람직하게는, 펩타이드 삽입 부위는 AAV2 캡시드의 아미노산 587과 588 또는 다른 AAV 혈청형의 캡시드 단백질에서 상응하는 위치 사이에 위치한다. 변이체 AAV 캡시드는 서열 식별 번호 2에 표시된 아미노산 서열의 전체 서열과 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 98% 또는 그 이상의 아미노산 서열 동일성을 가질 수 있다. 또 다른 실시 양태에서, 변이체 캡시드는 a) AAV2 캡시드의 아미노산 587과 588 사이에 아미노산 서열 ASDSTKA(서열 식별 번호 15)를 포함하거나 또는 아미노산 서열 LAASDSTKAA(서열 식별 번호 30)를 포함하거나, 본질적으로 이루어지거나 또는 이루어지는 펩타이드 삽입을 포함하고, 달리 서열 식별 번호 2에 표시된 아미노산 서열과 동일하다. 일부 실시 양태에서, 변이체 AAV 캡시드는 하기 아미노산 서열과 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 98%의 서열 동일성 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 갖는다:

[0202] MAADGYLPDWLEDTLSEGIRQWWKLKPGPPPPKPAERHKDDSRGLVLPGYKYLGPFNGLDKGEPVNEADAAALEHDKAYDRQLDSGDNPYLKYNHADAEFQE
RLKEDTSFGGNLGRAVFQAKKRVLEPLGLVEEPVKTAPGKKRPVEHSPVEPDSSSGTGKAGQQPARKRLNFGQTGDADSVPDPQPLGQPPAAPSGLGTNTMA
TGSGAPMADNNEGADGVGNSSGNWHCDSTWMGDRVITTSTRTWALPTYNNHLYKQISSQSGASNDNHYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSPRDWQRLINNNWGF
RPKRLNFKLFNIQVKEVTQNDGTTTIANNLTSTVQVFTDSEYQLPYVLGSAHQGCLPPFPADVFMVPQYGYLTLNNGSQAVGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNN
FTFSYTFEDVPFHSSYAHSQSLDRLMNPLIDQYLYYLSRTNTPSGTTTQSRLQFSQAGASDIRDQSRNWLPGPCYRQQRVSKTSADNNNSEYSWTGATKYHL
NGRDSLVNPGPAMASHKDDEEKFFPQSGVLIFGKQGSEKTNVDIEKVMITDEEEIRTTNPVATEQYGSVSTNLQRGN**LAASDSTKAA**RQAATADVNTQGVLP
GMVWQDRDVYLQGPIWAKIPHTDGHFHPSPLMGGFGLKHPPPQILIKNTPVPANPSTTFSAAKFASFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSKRWNPEIQYTSNY
NKSVNVDFTVDTNGVYSEPRPIGTRYLTRNL(서열 식별 번호 52)

[0203] 다른 실시 양태에서, 변이체 AAV 캡시드 단백질이 제공되고, 이는 a) 캡시드 단백질의 GH-루프에 있고, KDRAPST(서열 식별 번호 26) 및 LAKDRAPTSA(서열 식별 번호 41)로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 펩타이드 삽입, 및 b) AAV2(서열 식별 번호 2)의 아미노산 서열과 비교하여 다음의 아미노산 치환 또는 다른 AAV 모혈청형(즉, AAV2 이외)에서 상응하는 치환 중 하나 이상을 포함하고, 치환된 아미노산(들)은 상응하는 위치에 자연적으로 발생되지 않는다: M1L, L15P, P34A, N57D, N66K, R81Q, Q101R, S109T, R144K, R144M, Q164K, T176P, L188I, S196Y, G226E, G236V, I240T, P250S, N312K, P363L, D368H, N449D, T456K, S463Y, D472N, R484C, A524T, P535S, N551S, A593E, I698V, V708I, V719M, S721L, L735Q 및 이들의 조합. 바람직하게는, 펩타이드 삽입 부위는 AAV2 캡시드의 아미노산 587과 588 또는 다른 AAV 혈청형의 캡시드 단백질에서 상응하는 위치 사이에 위치한다. 변이체 AAV 캡시드는 서열 식별 번호 2에 표시된 아미노산 서열의 전체 서열과 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 98% 또는 그 이상의 아미노산 서열 동일성을 가질 수 있다. 또 다른 실시 양태에서, 변이체 캡시드는 a) AAV2 캡시드의 아미노산 587과 588 사이에 아미노산 서열 KDRAPST(서열 식별 번호 26)를 포함하거나 또는 아미노산 서열 LAKDRAPTSA(서열 식별 번호 41)를 포함하거나, 본질적으로 이루어지거나 또는 이루어지는 펩타이드 삽입을 포함하고, 달리 서열 식별 번호 2에 표시된 아미노산 서열과 동일하다. 일부 실시 양태에서, 변이체 AAV 캡시드는 하기 아미노산 서열과 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 98%의 서열 동일성 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 갖는다:

[0204] MAADGYLPDWLEDTLSEGIRQWWKLKPGPPPPKPAERHKDDSRGLVLPGYKYLGPFNGLDKGEPVNEADAAALEHDKAYDRQLDSGDNPYLKYNHADAEFQE
RLKEDTSFGGNLGRAVFQAKKRVLEPLGLVEEPVKTAPGKKRPVEHSPVEPDSSSGTGKAGQQPARKRLNFGQTGDADSVPDPQPLGQPPAAPSGLGTNTMA
TGSGAPMADNNEGADGVGNSSGNWHCDSTWMGDRVITTSTRTWALPTYNNHLYKQISSQSGASNDNHYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSPRDWQRLINNNWGF
RPKRLNFKLFNIQVKEVTQNDGTTTIANNLTSTVQVFTDSEYQLPYVLGSAHQGCLPPFPADVFMVPQYGYLTLNNGSQAVGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNN
FTFSYTFEDVPFHSSYAHSQSLDRLMNPLIDQYLYYLSRTNTPSGTTTQSRLQFSQAGASDIRDQSRNWLPGPCYRQQRVSKTSADNNNSEYSWTGATKYHL
NGRDSLVNPGPAMASHKDDEEKFFPQSGVLIFGKQGSEKTNVDIEKVMITDEEEIRTTNPVATEQYGSVSTNLQRGN**LAKDRAPSTA**RQAATADVNTQGVLP
GMVWQDRDVYLQGPIWAKIPHTDGHFHPSPLMGGFGLKHPPPQILIKNTPVPANPSTTFSAAKFASFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSKRWNPEIQYTSNY
NKSVNVDFTVDTNGVYSEPRPIGTRYLTRNL(서열 식별 번호 53)

[0205] 다른 실시 양태에서, 변이체 AAV 캡시드 단백질이 제공되고, 이는 a) 캡시드 단백질의 GH-루프에 있고, HQDTTKN(서열 식별 번호 19) 및 LAHQDTTKNA(서열 식별 번호 34)로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 펩타이드 삽입, 및 b) AAV2(서열 식별 번호 2)의 아미노산 서열과 비교하여 다음의 아미노산 치환 또는 다른 AAV 모혈청형(즉, AAV2 이외)에서 상응하는 치환 중 하나 이상을 포함하고, 치환된 아미노산(들)은 하나 이상의 상응하는 위치에 자연적으로 발생되지 않는다: M1L, L15P, P34A, N57D, N66K, R81Q, Q101R, S109T, R144K, R144M, Q164K, T176P, L188I, S196Y, G226E, G236V, I240T, P250S, N312K, P363L, D368H, N449D, T456K, S463Y, D472N, R484C, A524T, P535S, N551S, A593E, I698V, V708I, V719M, S721L, L735Q 및 이들의 조합. 바람직하게는, 펩타이드 삽입 부위는 AAV2 캡시드의 아미노산 587과 588 또는 다른 AAV 혈청형의 캡시드 단백질에서 상응하는 위치 사이에 위치한다. 변이체 AAV 캡시드는 서열 식별 번호 2에 표시된 아미노산 서열의 전체 서열과 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 98% 또는 그 이상의 아미노산 서열 동일성을 가질 수 있다. 또 다른 실시 양태에서, 변이체 캡시드 AAV2 캡시드의 아미노산 587과 588 사이에 아미노산 서열 HQDTTKN(서열 식별 번호 19)을 포함하거나 또는 아미노산 서열 LAHQDTTKNA(서열 식별 번호 34)를 포함하거나, 본질적으로 이루어지거나 또는 이루어지는 펩타이드 삽입을 포함하고, 달리 서열 식별 번호 2에 표시된 아미노산 서열과 동일하다. 일부 실시 양태에서, 변이체 AAV 캡시드는 하기 아미노산 서열과 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 98%의 서열 동일성 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 갖는다:

[0206] MAADGYLPDWLEDTLSEGIRQWWKLKPGPPPPKPAERHKDDSRGLVLPGYKYLGPFNGLDKGEPVNEADAAALEHDKAYDRQLDSGDNPYLKYNHADAEFQE
RLKEDTSFGGNLGRAVFQAKKRVLEPLGLVEEPVKTAPGKKRPVEHSPVEPDSSSGTGKAGQQPARKRLNFGQTGDADSVPDPQPLGQPPAAPSGLGTNTMA
TGSGAPMADNNEGADGVGNSSGNWHCDSTWMGDRVITTSTRTWALPTYNNHLYKQISSQSGASNDNHYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSPRDWQRLINNNWGF
RPKRLNFKLFNIQVKEVTQNDGTTTIANNLTSTVQVFTDSEYQLPYVLGSAHQGCLPPFPADVFMVPQYGYLTLNNGSQAVGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNN
FTFSYTFEDVPFHSSYAHSQSLDRLMNPLIDQYLYYLSRTNTPSGTTTQSRLQFSQAGASDIRDQSRNWLPGPCYRQQRVSKTSADNNNSEYSWTGATKYHL
NGRDSLVNPGPAMASHKDDEEKFFPQSGVLIFGKQGSEKTNVDIEKVMITDEEEIRTTNPVATEQYGSVSTNLQRGN**LAHQDTTKNA**RQAATADVNTQGVLP
GMVWQDRDVYLQGPIWAKIPHTDGHFHPSPLMGGFGLKHPPPQILIKNTPVPANPSTTFSAAKFASFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSKRWNPEIQYTSNY
NKSVNVDFTVDTNGVYSEPRPIGTRYLTRNL(서열 식별 번호54)

[0207] 다른 실시 양태에서, 변이체 AAV 캡시드 단백질이 제공되고, 이는 a) 캡시드 단백질의 GH-루프에 있고, ISNENEH(서열 식별 번호 21) 및 LPISNENEHA(서열 식별 번호 36)로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 펩타이드 삽입, 및 b) AAV2(서열 식별 번호 2)의 아미노산 서열과 비교하여 다음의 아미노산 치환 또는 다른 AAV 모혈청형(즉, AAV2 이외)에서 상응하는 치환 중 하나 이상을 포함하고, 치환된 아미노산(들)은 하나 이상의 상응하는 위치에 자연적으로 발생되지 않는다: M1L, L15P, P34A, N57D, N66K, R81Q, Q101R, S109T, R144K, R144M, Q164K, T176P, L188I, S196Y, G226E, G236V, I240T, P250S, N312K, P363L, D368H, N449D, T456K, S463Y, D472N, R484C, A524T, P535S, N551S, A593E, I698V, V708I, V719M, S721L, L735Q 및 이들의 조합. 바람직하게는, 펩타이드 삽입 부위는 AAV2 캡시드의 아미노산 587과 588 또는 다른 AAV 혈청형의 캡시드 단백질에서 상응하는 위치 사이에 위치한다. 변이체 AAV 캡시드는 서열 식별 번호 2에 표시된 아미노산 서열의 전체 서열과 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 98% 또는 그 이상의 아미노산 서열 동일성을 가질 수 있다. 또 다른 실시 양태에서, 변이체 캡시드는 AAV2 캡시드의 아미노산 587과 588 사이에 아미노산 서열 ISNENEH(서열 식별 번호 21)를 포함하거나 또는 아미노산 서열 LPISNENEHA(서열 식별 번호 36)를 포함하거나, 본질적으로 이루어지거나 또는 이루어지는 펩타이드 삽입을 포함하고, 달리 서열 식별 번호 2의 아미노산과 동일하다. 일부 실시 양태에서, 변이체 AAV 캡시드는 하기 아미노산 서열과 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 98%의 서열 동일성 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 갖는다:

[0208] MAADGYLPDWLEDTLSEGIRQWWKLKPGPPPPKPAERHKDDSRGLVLPGYKYLGPFNGLDKGEPVNEADAAALEHDKAYDRQLDSGDNPYLKYNHADAEFQE
RLKEDTSFGGNLGRAVFQAKKRVLEPLGLVEEPVKTAPGKKRPVEHSPVEPDSSSGTGKAGQQPARKRLNFGQTGDADSVPDPQPLGQPPAAPSGLGTNTMA
TGSGAPMADNNEGADGVGNSSGNWHCDSTWMGDRVITTSTRTWALPTYNNHLYKQISSQSGASNDNHYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSPRDWQRLINNNWGF
RPKRLNFKLFNIQVKEVTQNDGTTTIANNLTSTVQVFTDSEYQLPYVLGSAHQGCLPPFPADVFMVPQYGYLTLNNGSQAVGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNN
FTFSYTFEDVPFHSSYAHSQSLDRLMNPLIDQYLYYLSRTNTPSGTTTQSRLQFSQAGASDIRDQSRNWLPGPCYRQQRVSKTSADNNNSEYSWTGATKYHL
NGRDSLVNPGPAMASHKDDEEKFFPQSGVLIFGKQGSEKTNVDIEKVMITDEEEIRTTNPVATEQYGSVSTNLQRGN**LPISNENEHA**RQAATADVNTQGVLP
GMVWQDRDVYLQGPIWAKIPHTDGHFHPSPLMGGFGLKHPPPQILIKNTPVPANPSTTFSAAKFASFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSKRWNPEIQYTSNY
NKSVNVDFTVDTNGVYSEPRPIGTRYLTRNL(서열 식별 번호 55)

[0209] 다른 실시 양태에서, 변이체 AAV 캡시드 단백질이 제공되고, 이는 a) 캡시드 단백질의 GH-루프에 있고, QANANEN(서열 식별 번호 22) 및 LPQANANENA(서열 식별 번호 37)로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 펩타이드 삽입, 및 b) AAV2(서열 식별 번호 2)의 아미노산 서열과 비교하여 다음의 아미노산 치환 또는 다른 AAV 모

혈청형(즉, AAV2 이외)에서 상응하는 치환 중 하나 이상을 포함하고, 치환된 아미노산(들)은 상응하는 위치에 자연적으로 발생되지 않는다: M1L, L15P, P34A, N57D, N66K, R81Q, Q101R, S109T, R144K, R144M, Q164K, T176P, L188I, S196Y, G226E, G236V, I240T, P250S, N312K, P363L, D368H, N449D, T456K, S463Y, D472N, R484C, A524T, P535S, N551S, A593E, I698V, V708I, V719M, S721L, L735Q 및 이들의 조합. 바람직하게는, 펩타이드 삽입 부위는 AAV2 캡시드의 아미노산 587과 588 또는 다른 AAV 혈청형의 캡시드 단백질에서 상응하는 위치 사이에 위치한다. 변이체 AAV 캡시드는 서열 식별 번호 2에 표시된 아미노산 서열의 전체 서열과 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 98% 또는 그 이상의 아미노산 서열 동일성을 가질 수 있다. 또 다른 실시 양태에서, 변이체 캡시드는 AAV2 캡시드의 아미노산 587과 588 사이에 아미노산 서열 QANANEN(서열 식별 번호 22)을 포함하거나 또는 아미노산 서열 LPQANANENA(서열 식별 번호 37)를 포함하거나, 본질적으로 이루어지거나 또는 이루어지는 펩타이드 삽입을 포함하고, 달리 서열 식별 번호 2에 표시된 아미노산 서열과 동일하다. 일부 실시 양태에서, 변이체 AAV 캡시드는 하기 아미노산 서열과 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 98%의 서열 동일성 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 갖는다:

[0210] MAADGYLPDWLEDTLSEGIRQWWKLKPGPPPPKPAERHKDDSRGLVLPGYKYLGPFNGLDKGEPVNEADAAALEHDKAYDRQLDSGDNPYLKYNHADAEFQE
RLKEDTSFGGNLGRAVFQAKKRVLEPLGLVEEPVKTAPGKKRPVEHSPVEPDSSSGTGKAGQQPARKRLNFGQTGDADSVPDPQPLGQPPAAPSGLGTNTMA
TGSGAPMADNNEGADGVGNSSGNWHCDSTWMGDRVITTSTRTWALPTYNNHLYKQISSQSGASNDNHYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSPRDWQRLINNNWGF
RPKRLNFKLFNIQVKEVTQNDGTTTIANNLTSTVQVFTDSEYQLPYVLGSAHQGCLPPFPADVFMVPQYGYLTLNNGSQAVGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNN
FTFSYTFEDVPFHSSYAHSQSLDRLMNPLIDQYLYYLSRTNTPSGTTTQSRLQFSQAGASDIRDQSRNWLPGPCYRQQRVSKTSADNNNSEYSWTGATKYHL
NGRDSLVNPGPAMASHKDDEEKFFPQSGVLIFGKQGSEKTNVDIEKVMITDEEEIRTTNPVATEQYGSVSTNLQRGN**LPQANANENA**RQAATADVNTQGVLP
GMVWQDRDVYLQGPIWAKIPHTDGHFHPSPLMGGFGLKHPPPQILIKNTPVPANPSTTFSAAKFASFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSKRWNPEIQYTSNY
NKSVNVDFTVDTNGVYSEPRPIGTRYLTRNL(서열 식별 번호 56)

[0211] 다른 실시 양태에서, 변이체 AAV 캡시드 단백질이 제공되고, 이는 a) 캡시드 단백질의 GH-루프에 있고, HPDTTKN(서열 식별 번호 18) 및 LAHPDTTKNA(서열 식별 번호 33)로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 펩타이드 삽입, 및 b) AAV2(서열 식별 번호 2)의 아미노산 서열과 비교하여 다음의 아미노산 치환 또는 다른 AAV 모혈청형(즉, AAV2 이외)에서 상응하는 치환 중 하나 이상을 포함하고, 치환된 아미노산(들)은 상응하는 위치에 자연적으로 발생되지 않는다: M1L, L15P, P34A, N57D, N66K, R81Q, Q101R, S109T, R144K, R144M, Q164K, T176P, L188I, S196Y, G226E, G236V, I240T, P250S, N312K, P363L, D368H, N449D, T456K, S463Y, D472N, R484C, A524T, P535S, N551S, A593E, I698V, V708I, V719M, S721L, L735Q 및 이들의 조합. 바람직하게는, 펩타이드 삽입 부위는 AAV2 캡시드의 아미노산 587과 588 또는 다른 AAV 혈청형의 캡시드 단백질에서 상응하는 위치 사이에 위치한다. 변이체 AAV 캡시드는 서열 식별 번호 2에 표시된 아미노산 서열의 전체 서열과 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 98% 또는 그 이상의 아미노산 서열 동일성을 가질 수 있다. 또 다른 실시 양태에서, 변이체 캡시드는 AAV2 캡시드의 아미노산 587과 588 사이에 아미노산 서열 HPDTTKN(서열 식별 번호 18)을 포함하거나 또는 아미노산 서열 LAHPDTTKNA(서열 식별 번호 33)를 포함하거나, 본질적으로 이루어지거나 또는 이루어지는 펩타이드 삽입을 포함하고, 달리 서열 식별 번호 2에 표시된 아미노산 서열과 동일하다. 일부 실시 양태에서, 변이체 AAV 캡시드는 하기 아미노산 서열과 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 98%의 서열 동일성 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 갖는다:

[0212] MAADGYLPDWLEDTLSEGIRQWWKLKPGPPPPKPAERHKDDSRGLVLPGYKYLGPFNGLDKGEPVNEADAAALEHDKAYDRQLDSGDNPYLKYNHADAEFQE
RLKEDTSFGGNLGRAVFQAKKRVLEPLGLVEEPVKTAPGKKRPVEHSPVEPDSSSGTGKAGQQPARKRLNFGQTGDADSVPDPQPLGQPPAAPSGLGTNTMA
TGSGAPMADNNEGADGVGNSSGNWHCDSTWMGDRVITTSTRTWALPTYNNHLYKQISSQSGASNDNHYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSPRDWQRLINNNWGF
RPKRLNFKLFNIQVKEVTQNDGTTTIANNLTSTVQVFTDSEYQLPYVLGSAHQGCLPPFPADVFMVPQYGYLTLNNGSQAVGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNN
FTFSYTFEDVPFHSSYAHSQSLDRLMNPLIDQYLYYLSRTNTPSGTTTQSRLQFSQAGASDIRDQSRNWLPGPCYRQQRVSKTSADNNNSEYSWTGATKYHL
NGRDSLVNPGPAMASHKDDEEKFFPQSGVLIFGKQGSEKTNVDIEKVMITDEEEIRTTNPVATEQYGSVSTNLQRGN**LAHPDTTKNA**RQAATADVNTQGVLP
GMVWQDRDVYLQGPIWAKIPHTDGHFHPSPLMGGFGLKHPPPQILIKNTPVPANPSTTFSAAKFASFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSKRWNPEIQYTSNY
NKSVNVDFTVDTNGVYSEPRPIGTRYLTRNL(서열 식별 번호 57).

[0213] 몇몇 양태에서, AAV 캡시드 단백질이 제공되고 이는 상응하는 모 AAV 캡시드 단백질에 비해 하나 이상의 아미노산 치환을 포함하며, 이때 변이체 캡시드 단백질은 AAV 비리온에 존재하는 경우에 상응하는 모 AAV 캡시드 단백질을 포함하는 AAV 비리온에 의한 망막 세포의 감염성과 비교하여 망막 세포의 증가된 감염성을 부여한다.

[0214] 일부 실시 양태에서, 변이체 AAV 캡시드 단백질은 AAV2 캡시드(서열 식별 번호 2)의 아미노산 서열과 비교하여 P34A 아미노산 치환 또는 AAV5 캡시드(서열 식별 번호 6)의 아미노산 서열과 비교하여 P33A 아미노산 치환을 포함한다. 일부 바람직한 실시 양태에서, 변이체 캡시드 단백질은 서열 식별 번호 2 또는 서열 식별 번호 6에 표

시된 아미노산 서열의 전체 서열과 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 98% 또는 적어도 약 99% 또는 그 이상의 아미노산 서열 동일성을 포함하고, AAV2 또는 AAV5 캡시드의 아미노산 서열 각각과 비교하여 P34A 또는 P33A 아미노산 치환을 포함한다. 일부 바람직한 실시 양태에서, 변이체 캡시드 단백질은 서열 식별 번호 2에 표시된 아미노산 서열과 비교하여 P34A 아미노산 치환을 포함하는 아미노산 서열을 포함하고, 달리 서열 식별 번호 2에 표시된 아미노산 서열과 동일하다. 관련 양태에서, 변이체 캡시드 단백질은 서열 식별 번호 2의 아미노산 서열과 비교하여 P34A 아미노산 치환을 포함하며, 변이체 캡시드 단백질은 서열 식별 번호 2에 표시된 AAV2 캡시드 단백질의 아미노산 서열과 비교하여 1 내지 5개, 5 내지 10개 또는 10 내지 15개의 아미노산 치환을 포함한다.

[0215] 다른 실시 양태에서, 변이체 AAV 캡시드 단백질은 AAV2 캡시드(서열 식별 번호 2)의 아미노산 서열과 비교하여 아미노산 164 또는 다른 AAV 모 혈청형(즉, AAV2 이외)에서 상응하는 위치에서 아미노산 치환을 포함하며, 치환된 아미노산은 상응하는 위치에 자연 발생하지 않는다. 일부 바람직한 실시 양태에서, 변이체 캡시드 단백질은 서열 식별 번호 2에 표시된 아미노산 서열의 전체 서열과 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 98% 또는 적어도 약 99% 또는 그 이상의 아미노산 서열 동일성을 가지는 아미노산 서열을 포함하고, AAV2 캡시드(서열 식별 번호 2)의 아미노산 서열과 비교하여 아미노산 164에서 아미노산 치환을 포함한다. 일부 실시 양태에서, rAAV 비리온은 AAV1, AAV2 또는 AAV6의 아미노산 서열과 비교하여 아미노산 164에서 또는 AAV7, AAV8 또는 AAV10의 아미노산 서열과 비교하여 아미노산 165에서의 글루타민에서 리신 아미노산 치환을 포함하고; 또는 AAV5의 아미노산 160에서의 세린에서 리신 치환을 포함하거나 AAV9의 아미노산 164에서의 알라닌에서 리신 치환을 포함한다. 관련 양태에서, 변이체 캡시드 단백질은 AAV2 캡시드(서열 식별 번호 2)의 아미노산 서열과 비교하여 아미노산 164(예를 들면, Q164K)에서 아미노산 치환을 포함하며, 변이체 캡시드 단백질은 서열 식별 번호 2에 표시된 AAV2 캡시드 단백질의 아미노산 서열과 비교하여 1 내지 5개, 5 내지 10개 또는 10 내지 15개의 아미노산 치환을 포함한다. 일부 바람직한 실시 양태에서, 변이체 캡시드 단백질은 서열 식별 번호 2에 표시된 아미노산 서열과 비교하여 Q164K 아미노산 치환을 포함하는 아미노산 서열을 포함하고, 달리 서열 식별 번호 2에 표시된 아미노산 서열과 동일하다. 다른 실시 양태에서, 변이체 캡시드 단백질은 AAV2 캡시드(서열 식별 번호 2)의 아미노산 서열과 비교하여 Q164K 및 V708I 아미노산 치환 또는 다른 AAV 모 혈청형(예를 들면, AAV2 이외)에서 상응하는 치환을 포함하고, 서열 식별 번호 2에 표시된 아미노산 서열의 전체 서열과 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 98% 또는 적어도 약 99% 또는 그 이상의 아미노산 서열 동일성이다.

[0216] 다른 실시 양태에서, 변이체 AAV 캡시드 단백질은 AAV2 캡시드(서열 식별 번호 2)의 아미노산 서열과 비교하여 아미노산 698 또는 다른 AAV 모 혈청형(즉, AAV2 이외)에서 상응하는 위치에서 아미노산 치환을 포함하며, 치환된 아미노산은 상응하는 위치에 자연 발생하지 않는다. 일부 바람직한 실시 양태에서, 변이체 캡시드 단백질은 서열 식별 번호 2에 표시된 아미노산 서열의 전체 서열과 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 98% 또는 적어도 약 99% 또는 그 이상의 아미노산 서열 동일성을 가지는 아미노산 서열을 포함하고, AAV2 캡시드(서열 식별 번호 2)의 아미노산 서열과 비교하여 아미노산 698에서 아미노산 치환을 포함한다. 일부 실시 양태에서, rAAV 비리온은 AAV2의 아미노산 서열과 비교하여 아미노산 698에서, 또는 AAV3A, AAV3B 또는 AAV9의 아미노산 서열과 비교하여 아미노산 699에서, 또는 AAV5의 아미노산 687에서, 또는 AAV7의 아미노산 700에서 또는 AAV8 또는 AAV10의 아미노산 701에서의 이소류신에서 발린 아미노산 치환을 포함한다. 관련 양태에서, 변이체 캡시드 단백질은 AAV2 캡시드(서열 식별 번호 2)의 아미노산 서열과 비교하여 아미노산 699에서 아미노산 치환(예를 들면, I698V)을 포함하며, 변이체 캡시드 단백질은 서열 식별 번호 2에 표시된 AAV2 캡시드 단백질의 아미노산 서열과 비교하여 1 내지 5개, 5 내지 10개 또는 10 내지 15개의 아미노산 치환을 포함한다. 일부 바람직한 실시 양태에서, 변이체 캡시드 단백질은 서열 식별 번호 2에 표시된 아미노산 서열과 비교하여 I698V 아미노산 치환을 포함하는 아미노산 서열을 포함하고, 달리 서열 식별 번호 2에 표시된 아미노산 서열과 동일하다.

[0217] 다른 실시 양태에서, 변이체 AAV 캡시드 단백질은 AAV2 캡시드(서열 식별 번호 2)의 아미노산 서열과 비교하여 아미노산 109 또는 다른 AAV 모 혈청형(즉, AAV2 이외)에서 상응하는 위치에서 아미노산 치환을 포함한다. 일부 바람직한 실시 양태에서, 변이체 캡시드 단백질은 서열 식별 번호 2에 표시된 아미노산 서열의 전체 서열과 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 98% 또는 적어도 약 99% 또는 그 이상의 아미노산 서열 동일성을 가지는 아미노산 서열을 포함하고, AAV2 캡시드(서열 식별 번호 2)의 아미노산 서열과 비교하여 아미노산 109에서 아미노산 치환을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 변이체 캡시드 단백질은 AAV1, AAV3A, AAV3B, AAV4, AAV7, AAV8, AAV9, 또는 AAV10의 아미노산 서열과 비교하여 위치 109 또는 AAV5 또는 AAV6의 아미노산 서열과 비교하여 위치 108에서의 세린에서 트레오닌 아미노산 치환을 포함한다. 관련 양태에서, 변이체 캡시드 단백질은 AAV2의 아미노산 서열과 비교하여 S109T 아미노산 치환을 포함하며, 변이체 캡시드 단백질은 1 내지 5개, 5 내지 10개 또는 10 내지 15개의 아미노산 치환을 포함한다. 다른 관련 실시 양태에서, 변이체 캡시드 단

백질은 AAV2의 아미노산 서열과 비교하여 S109T 아미노산 치환 및 A593E 아미노산 치환을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 변이체 캡시드 단백질은 AAV2 캡시드(서열 식별 번호 2)의 아미노산 서열과 비교하여 S109T 및 A493V 및 선택적으로 A593E 및/또는 V708I 아미노산 치환 또는 다른 AAV 모 혈청형(예를 들면, AAV2 이외)에서 상응하는 치환을 포함하고, 서열 식별 번호 2에 표시된 아미노산 서열의 전체 서열과 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 98% 또는 적어도 약 99% 또는 그 이상의 아미노산 서열 동일성을 가진다. 일부 바람직한 실시 양태에서, 변이체 캡시드 단백질은 AAV2 캡시드의 아미노산 서열과 비교하여 S109T, A493V, A593E 및 V708I 아미노산 치환 또는 다른 AAV 모 혈청형(예를 들면, AAV2 이외)에서 상응하는 치환을 포함하고, 서열 식별 번호 2에 표시된 아미노산 서열의 전체 서열과 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 98% 또는 적어도 약 99% 또는 그 이상의 아미노산 서열 동일성이다. 일부 실시 양태에서, 변이체 캡시드 단백질은 AAV2 캡시드의 아미노산 서열과 비교하여 S109T 및 V708I 아미노산 치환을 포함하고, 서열 식별 번호 2에 표시된 아미노산 서열의 전체 서열과 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 98% 또는 적어도 약 99% 또는 그 이상의 아미노산 서열 동일성을 가지거나 달리 서열 식별 번호 2의 아미노산 서열과 동일하다.

[0218] 다른 실시 양태에서, 변이체 AAV 캡시드 단백질은 AAV2 캡시드(서열 식별 번호 2)와 비교하여 아미노산 593 또는 다른 AAV 모 혈청형(즉, AAV2 이외)에서 상응하는 위치에서 아미노산 치환을 포함한다. 일부 바람직한 실시 양태에서, 변이체 캡시드 단백질은 서열 식별 번호 2에 표기된 아미노산 서열의 전체 서열과 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 98% 또는 적어도 약 99% 또는 그 이상의 아미노산 서열 동일성을 가지는 아미노산 서열을 포함하고, AAV2 캡시드(서열 식별 번호 2)의 아미노산 서열과 비교하여 아미노산 593에서 아미노산 치환을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 변이체 캡시드 단백질은 AAV1, AAV3A, AAV6 또는 AAV9의 아미노산 서열과 비교하여 아미노산 594 또는 AAV5의 아미노산 583 또는 AAV8 또는 AAV10의 아미노산 596에서의 글리신에서 글루탐산 아미노산 치환, 또는 AAV3B의 아미노산 594에서의 아르기닌에서 글루탐산 아미노산 치환, 또는 AAV4의 아미노산 592에서의 아스파르트산염에서 글루탐산 아미노산 치환, 또는 AAV7의 595 위치에서의 글루타민에서 글루탐산 아미노산 치환을 포함한다. 다른 실시 양태에서, 변이체 캡시드 단백질은 AAV2의 아미노산 서열과 비교하여 A593E 아미노산 치환을 포함하고 AAV2의 아미노산 서열과 비교하여 하기 아미노산 치환 중 하나 이상을 포함하지 않는다: I19V, V369A, K26R, N215D, G355S, V46A 및 S196P. 관련 실시 양태에서, 변이체 캡시드 단백질은 AAV2의 아미노산 서열과 비교하여 A593E 및 N596D 아미노산 치환을 포함하고, 서열 식별 번호 2에 표시된 아미노산 서열의 전체 서열과 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 98% 또는 적어도 약 99%의 아미노산 서열 동일성을 가진다. 다른 실시 양태에서, 변이체 캡시드는 AAV2의 아미노산 서열과 비교하여 A593E 및 N596D 아미노산 치환을 포함하고 달리 AAV2의 아미노산 서열과 동일하다. 다른 실시 양태에서, 변이체 캡시드는 AAV2의 아미노산 서열과 비교하여 A593E 및 V708I 아미노산 치환을 포함하고, 서열 식별 번호 2에 표시된 아미노산 서열의 전체 서열과 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 98% 또는 적어도 약 99%의 아미노산 서열 동일성을 가진다. 다른 실시 양태에서, 변이체 캡시드는 AAV2의 아미노산 서열과 비교하여 A593E 및 V708I 아미노산 치환을 포함하고 달리 AAV2의 아미노산 서열과 동일하다.

[0219] 다른 실시 양태에서, 변이체 AAV 캡시드 단백질은 AAV2 캡시드(서열 식별 번호 2)의 아미노산 서열과 비교하여 아미노산 708 또는 다른 AAV 모 혈청형(즉, AAV2 이외)에서 상응하는 위치에서 아미노산 치환을 포함하며, 치환된 아미노산은 상응하는 위치에 자연적으로 발생하지 않는다. 바람직하게는, rAAV 비리온은 AAV2와 비교하여 아미노산 250에서의 프롤린에서 세린 치환 또는 다른 AAV 모 혈청형에서 상응하는 아미노산을 포함하지 않는다. 일부 실시 양태에서, 변이체 캡시드 단백질은 서열 식별 번호 2에 표시된 아미노산 서열의 전체 서열과 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 98% 또는 적어도 약 99% 또는 그 이상의 아미노산 서열 동일성을 가지는 아미노산 서열을 포함하고, AAV2 캡시드(서열 식별 번호 2)의 아미노산 서열과 비교하여 아미노산 708에서 아미노산 치환을 포함한다. 바람직한 실시 양태에서, 변이체 캡시드 단백질은 AAV2 캡시드의 아미노산 서열과 비교하여 아미노산 708에서의 발린에서 이소류신(V708I) 치환을 포함하고, 서열 식별 번호 2에 표시된 아미노산 서열의 전체 서열과 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 98% 또는 적어도 약 99% 또는 그 이상의 아미노산 서열 동일성을 가지거나 달리 서열 식별 번호 2의 아미노산 서열과 동일하고, 변이체 캡시드 단백질은 P250S 아미노산 치환을 포함하지 않는다. 일부 실시 양태에서, 변이체 캡시드 단백질은 AAV3A 또는 AAV3B의 아미노산 709에서의 발린에서 이소류신 치환, AAV1 또는 AAV6의 위치 709에서의 알라닌에서 이소류신 치환, AAV4의 아미노산 707 또는 AAV9의 아미노산 709에서의 아스파라긴에서 이소류신 치환 또는 AAV7의 아미노산 710 또는 AAV8 또는 AAV10의 아미노산 711에서의 트레오닌에서 이소류신 치환 또는 AAV5의 아미노산 697에서의 글루타민에서 이소류신 치환을 포함한다. 관련 실시 양태에서, 변이체 캡시드 단백질은 AAV2의 아미노산 서열과 비교하여 V708I 아미노산 치환을 포함하며, 변이체 캡시드 단백질은 2 내지 5개, 5 내지 10개, 또는 10 내지 15개의 아미노산 치환을 포함하고, 변이체 캡시드 단백질은 P250S 아미노산 치환을 포함하지 않는

다. 다른 실시 양태에서, 변이체 캡시드 단백질은 V708I 아미노산 치환을 포함하고 또한 AAV2의 아미노산 서열과 비교하여 A593E 및/또는 S109T 아미노산 치환을 포함한다. 다른 관련 실시 양태에서, 변이체 캡시드는 AAV2의 아미노산 서열과 비교하여 V708I 및 A593E 아미노산 치환을 포함하며, 변이체 캡시드 단백질은 달리 AAV2의 아미노산 서열과 동일하다. 다른 관련 실시 양태에서, 변이체 캡시드는 AAV2의 아미노산 서열과 비교하여 V708I 및 S109T 아미노산 치환을 포함하며, 변이체 캡시드 단백질은 달리 AAV2의 아미노산 서열과 동일하다. 다른 실시 양태에서, 변이체 캡시드 단백질은 AAV2의 아미노산 서열과 비교하여 V708I 및 V719M 아미노산 치환을 포함하고, 서열 식별 번호 2에 표시된 아미노산 서열의 전체 서열과 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 98% 또는 적어도 약 99% 또는 그 이상의 아미노산 서열 동일성을 가지거나 달리 서열 식별 번호 2의 아미노산 서열과 동일하다. 다른 실시 양태에서, 변이체 캡시드 단백질은 AAV2의 아미노산 서열과 비교하여 V708I 및 R733C 아미노산 치환을 포함하고, 서열 식별 번호 2에 표시된 아미노산 서열의 전체 서열과 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 98% 또는 적어도 약 99% 또는 그 이상의 아미노산 서열 동일성을 가지거나 달리 서열 식별 번호 2의 아미노산 서열과 동일하다. 다른 실시 양태에서, 변이체 캡시드 단백질은 AAV2의 아미노산 서열과 비교하여 V708I 및 G727D 아미노산 치환을 포함하고, 서열 식별 번호 2에 표시된 아미노산 서열의 전체 서열과 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 98% 또는 적어도 약 99% 또는 그 이상의 아미노산 서열 동일성을 가지거나 달리 서열 식별 번호 2의 아미노산 서열과 동일하다.

[0220] 다른 실시 양태에서, 변이체 AAV 캡시드 단백질은 AAV2 캡시드(서열 식별 번호 2)의 아미노산 서열과 비교하여 아미노산 196 또는 다른 AAV 모 혈청형(즉, AAV2 이외)에서 상응하는 위치에서 아미노산 치환을 포함하며, 치환된 아미노산은 상응하는 위치에 자연적으로 발생하지 않으며, 선택적으로 프롤린 이외의 것이다. 일부 바람직한 실시 양태에서, 변이체 캡시드 단백질은 서열 식별 번호 2에 표시된 아미노산 서열의 전체 서열과 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 98% 또는 적어도 약 99% 또는 그 이상의 아미노산 서열 동일성을 가지는 아미노산 서열을 포함하고, AAV2 캡시드(서열 식별 번호 2)의 아미노산 서열과 비교하여 아미노산 196에서 아미노산 치환을 포함하고 선택적으로 S196P 치환 이외의 것이다. 바람직한 실시 양태에서, 변이체 캡시드 단백질은 AAV2 또는 AAV9의 아미노산 196 또는 AAV7, AAV8 또는 AAV10의 아미노산 197 또는 AAV5의 아미노산 186에서의 세린에서 티로신 아미노산 치환; 또는 AAV1 또는 AAV6의 아미노산 196에서의 알라닌에서 티로신 치환; 또는 AAV4의 아미노산 191에서 메티오닌에서 티로신 치환; 또는 AAV3A 또는 AAV3B의 아미노산 196에서의 트레오닌에서 티로신 치환을 포함하다. 관련 실시 양태에서, 변이체 캡시드 단백질은 서열 식별 번호 2에 표시된 아미노산 서열과 비교하여 S196Y 아미노산 치환을 포함하는 아미노산 서열을 포함하고, 달리 서열 식별 번호 2에 표시된 아미노산 서열과 동일하다. 관련 양태에서, 변이체 캡시드 단백질은 AAV2 캡시드(서열 식별 번호 2)의 아미노산 서열과 비교하여 S196P 치환이 아닌 아미노산 196에 치환을 포함하며(예를 들면, S196Y 치환 포함), 변이체 캡시드 단백질은 서열 식별 번호 2에 표시된 AAV2 캡시드 단백질의 아미노산 서열과 비교하여 1 내지 5개, 5 내지 10개 또는 10 내지 15개의 아미노산 치환을 포함한다.

[0221] 다른 실시 양태에서, 변이체 AAV 캡시드 단백질은 AAV2 캡시드(서열 식별 번호 2)와 비교하여 아미노산 175 또는 다른 AAV 모 혈청형(즉, AAV2 이외)에서 상응하는 위치에서 아미노산 치환을 포함하고, 치환된 아미노산은 상응하는 위치에 자연 발생하지 않는다. 일부 바람직한 실시 양태에서, 변이체 캡시드 단백질은 서열 식별 번호 2에 표시된 아미노산 서열의 전체 서열과 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 98% 또는 적어도 약 99% 또는 그 이상의 아미노산 서열 동일성을 가지는 아미노산 서열을 포함하고, AAV2 캡시드(서열 식별 번호 2)의 아미노산 서열과 비교하여 아미노산 175에서 아미노산 치환을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 변이체 캡시드는 서열 식별 번호 2에 표시된 AAV2의 아미노산 서열과 비교하여 Q175H 아미노산 치환 또는 다른 AAV 모 혈청형에서 상응하는 위치에서의 글루타민에서 히스티딘 치환을 포함한다. 관련 양태에서, 변이체 캡시드 단백질은 AAV2 캡시드(서열 식별 번호 2)의 아미노산 서열과 비교하여 아미노산 175에서 아미노산 치환을 포함하며(예를 들면, Q175H), 변이체 캡시드 단백질은 서열 식별 번호 2에 표시된 AAV2 캡시드 단백질의 아미노산 서열과 비교하여 1 내지 5개, 5 내지 10개 또는 10 내지 15개의 아미노산 치환을 포함한다.

[0222] 다른 실시 양태에서, 변이체 AAV 캡시드 단백질은 AAV2 캡시드(서열 식별 번호 2)와 비교하여 아미노산 64 또는 다른 AAV 모 혈청형(즉, AAV2 이외)에서 상응하는 위치에서 아미노산 치환을 포함하고, 치환된 아미노산은 상응하는 위치에 자연 발생하지 않는다. 일부 바람직한 실시 양태에서, 변이체 캡시드 단백질은 서열 식별 번호 2에 표시된 아미노산 서열의 전체 서열과 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 98% 또는 적어도 약 99% 또는 그 이상의 아미노산 서열 동일성을 가지는 아미노산 서열을 포함하고, AAV2 캡시드(서열 식별 번호 2)의 아미노산 서열과 비교하여 아미노산 64에 아미노산 치환을 포함한다. 일부 실시 양태에서, rAAV 비리온은 서열 식별 번호 2에 표시된 AAV2의 아미노산 서열과 비교하여 P64S 아미노산 치환 또는 다른 AAV 모 혈청형에서 상응하는 위치에서의 프롤린에서 세린 치환을 포함한다. 관련 양태에서, 변이체 캡시드 단백질은 AAV2

캡시드(서열 식별 번호 2)의 아미노산 서열과 비교하여 아미노산 64에 치환을 포함하며(예를 들면, P64S), 변이체 캡시드 단백질은 서열 식별 번호 2에 표시된 AAV2 캡시드 단백질의 아미노산 서열과 비교하여 1 내지 5개, 5 내지 10개 또는 10 내지 15개의 아미노산 치환을 포함한다.

[0223] 다른 실시 양태에서, 변이체 AAV 캡시드 단백질은 서열 식별 번호: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 10, 11 및 12로 이루어지는 군으로부터 선택되는 야생형 AAV 캡시드 서열과 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95% 또는 적어도 98% 동일한 아미노산 서열을 포함하고, 또한 i) P34A, S109T+V708I, A593E+N596D, V708I+V719M, V708I+G727D, S109T+A493V+A593E+V708I, V708I+R733C, Q164K 및 I698V로 이루어지는 군으로부터 선택되는 하나 이상의 아미노산 치환 및/또는 (ii) QADTTKN(서열 식별 번호 13), ISDQTKH(서열 식별 번호 14), ASDSTKA(서열 식별 번호 15), NQDYTKT(서열 식별 번호 16), HDITKNI(서열 식별 번호 17), PQANANEN(서열 식별 번호 63), TNRTSPD(서열 식별 번호 24), PNSTHGS(서열 식별 번호 25), KDRAPST(서열 식별 번호 26), HQDTTKN(서열 식별 번호 19), HPDTTKN(서열 식별 번호 18), NKTTNKD(서열 식별 번호 20), GKSKVID(서열 식별 번호 23), PISNENEH(서열 식별 번호 64), LAQADTTKNA(서열 식별 번호 27), LAISDQTKHA(서열 식별 번호 28), LGISDQTKHA(서열 식별 번호 29), LAASDSTKAA(서열 식별 번호 30), LAHDITKNIA(서열 식별 번호 32), LPQANANENA(서열 식별 번호 37), LANQDYTKTA(서열 식별 번호 31), LATNRTSPDA(서열 식별 번호 39), LAPNSTHGSA(서열 식별 번호 40), LAKDRAPSTA(서열 식별 번호 41), LAHQDTTKNA(서열 식별 번호 34), LAHPDTTKNA(서열 식별 번호 33), LANKTTNKDA(서열 식별 번호 35), LAGKSKVIDA(서열 식별 번호 38) 및 LPISNENEHA(서열 식별 번호 36)로 이루어지는 군으로부터 선택되는 펩타이드 삽입을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 변이체 AAV 캡시드는 특정 하나 이상의 아미노산 치환 및/또는 펩타이드 삽입을 포함하고, 달리 서열 식별 번호 1-12로 이루어지는 군으로부터 선택되는 서열과 동일하다.

[0224] 일부 실시 양태에서, 변이체 AAV 캡시드 단백질은 조상(ancestral) 캡시드 단백질이다. 조상 캡시드 단백질은 오늘날 자연에서 발견되는 캡시드 단백질의 진화론적 조상을 의미한다. 예를 들어 AAV1, AAV2, AAV3, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAV9, AAVrh10, AAV11, AAV12, AAV13은 오늘날 자연에서 발견되는 AAV 캡시드 단백질 간의 축중(degeneracy) 위치에서 무작위 아미노산 치환에 의해 실리코 (silico)에서 생성된다. 조상 캡시드의 하나의 비-제한적 예시가 하기에 제공되며, 여기서 축중 위치(잔기 264, 266, 268, 448, 459, 460, 467, 470, 471, 474, 495, 516, 533, 547, 551, 555, 557, 561, 563, 577, 583, 593, 596, 661, 662, 664, 665, 710, 717, 718, 719, 723)는 "X"로 표시된다.

[0225] MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWWDLKPGAPKPKANQQKQDDGRGLVLPGYKYLGPFNGLDKGEPVNAADAAALEHDKAYDQQLKAGDNPYLRYNHADAEFQERLQEDTSFGGNLGRAVFQAKKRVLEPLGLVEEGAKTAPGKKRPVEPSPQRSPDSSTGIGKKGQQPAKKRLNFGQTGDSESVPDPQPLGEPPAGPSGLGSGTMAAGGGAPMADNNEGADGVGNASGNWHCDSTWLGDRVITTSTRTWALPTYNNHLYKQISSXSXGXTNDNHYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSPRDWQRLINNNWGFRPKRLNFKLFNIQVKEVTTNDGVTTIANNLTSTVQVFSDSEYQLPYVLGSAHQGCLPPFPADVFMIPQYGYLTLNNGSQAVGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNFTFSYTFEDVPFHSSYAHSQSLDRLMNPLIDQYLYYLXRTQSTGGTAGXXELLFSQXGPXXMSXQAKNWLPGPCYRQQRVSKTLXQNNNSNFAWTGATKYHLNGRXSLVNPGVAMATHKDDEXRFFPSSGVLIFGKXGAGXNNTXLXNVMXTXEEEIKTTNPVATEXYGVVAXNLQSSNTAPXTGXVNSQGALPGMVWQNRDVYLQGPIWAKIPHTDGNFHPSPLMGGFGLKHPPPQILIKNTPVPANPPXXFXXAKFASFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSKRWNPEIQYTSNYAKSXNVDFAVXXXGVYXEPRPIGTRYLTRNL(서열 식별 번호58)

[0226] 일부 바람직한 실시 양태에서, 조상 캡시드 단백질은 서열 식별 번호 58에 표시된 아미노산 서열의 전체 서열과 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 98% 또는 적어도 약 99% 또는 그 이상의 아미노산 서열 동일성을 가지는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 바람직한 실시 양태에서, 조상 캡시드 단백질은 서열 식별 번호 2에 표시된 AAV2의 아미노산 서열의 전체 서열과 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 98% 또는 적어도 약 99% 또는 그 이상의 아미노산 서열 동일성을 가지는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 조상 캡시드 단백질은 서열 식별 번호 58 또는 서열 식별 번호 2에 개시된 조상 서열의 아미노산 서열의 전체 서열과 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 98% 또는 적어도 약 99% 이상의 아미노산 서열 동일성을 가지는 아미노산 서열을 포함하고, 다음으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 하나 이상의 아미노산 잔기를 포함한다: 264에서 알라닌(A), 266에서 알라닌(A), 268에서 세린(S), 448에서 알라닌(A), 459에서 트레오닌(T), 460에서 아르기닌(R), 467에서 알라닌(A), 470에서 세린(S), 471에서 아스파라긴(N), 474에서 알라닌(A), 495에서 세린(S), 516에서 아스파라긴(D), 533에서 아스파라긴(D), 547에서 글루타민(Q), 551에서 알라닌(A), 555에서 알라닌(A), 557에서 글루탐산(E), 561에서 메티오닌(M), 563에서 세린(S), 577에서 글루타민(Q), 583에서 세린(S), 593에서 발린(V), 596에서 트레오닌(T), 661에서 알라닌(A), 662에서 발린(V), 664에서 트레오닌(T), 665에서 프롤린(P), 710에서 트레오닌(T), 717에서 아스파르트산(D), 718에서 아스파라긴(N), 719에서 글루탐산(E) 및 723에서 세린(S). 일부 바람직한 실시 양태에서, 변이체 캡시드 단백질은

다음의 아미노산 서열의 전체 서열과 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 98% 또는 적어도 약 99%, 일부 경우 100%의 아미노산 서열 동일성을 가지는 아미노산 서열을 포함하고, 다음으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 하나 이상의 아미노산 잔기를 포함한다: 264에서 알라닌(A), 266에서 알라닌(A), 268에서 세린(S), 448의 알라닌(A), 459의 트레오닌(T), 460에서 아르기닌(R), 467에서 알라닌(A), 470에서 세린(S), 471에서 아스파라긴(N), 474에서 알라닌(A), 495에서 세린(S), 516에서 아스파라긴(D), 533에서 아스파라긴(D), 547에서 글루타민(Q), 551에서 알라닌(A), 555에서 알라닌(A), 557에서 글루탐산(E), 561에서 메티오닌(M), 563에서 세린(S), 577에서 글루타민(Q), 583에서 세린(S), 593에서 발린(V), 596에서 트레오닌(T), 661에서 알라닌(A), 662에서 발린(V), 664에서 트레오닌(T), 665에서 프롤린(P), 710에서 트레오닌(T), 717에서 아스파르트산(D), 718에서 아스파라긴(N), 719에서 글루탐산(E) 및 723에서 세린(S):

[0227] MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWWDLKPGAPKPKANQQKQDDGRGLVLPGYKYLGPFNGLDKGEPVNAADAAALEHDKAYDQQLKAGDNPYLRYNHADAEFQE
RLQEDTSFGGNLGRAVFQAKKRVLEPLGLVEEGAKTAPGKKRPVEPSPQRSPDSSTGIGKKGQQPAKKRLNFGQTGDSESVPDPQPLGEPPAGPSGLGSGTM
AAGGGAPMADNNEGADGVGNASGNWHCDSTWLGDRVITTSTRTWALPTYNNHLYKQISSASAGSTNDNHYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSPRDWQRLINNNW
GFRPKRLNFKLFNIQVKEVTTNDGVTTIANNLTSTVQVFSDSEYQLPYVLGSAHQGCLPPFPADVFMIPQYGYLTLNNGSQAVGRSSFYCLEYFPSQMLRTG
NNFTFSYTFEDVPFHSSYAHSQSLDRLMNPLIDQYLYYLARTQSTGGTAGTRELLFSQAGPSNMSAQAKNWLPGPCYRQQRVSKTLSQNNNSNFAWTGATKY
HLNGRDSLVNPGVAMATHKDDEDRFFPSSGVLIFGKQGAGANNTALENVMMTSEEEIKTTNPVATEQYGVVASNLQSSNTAPVTGTVNSQGALPGMVWQNRD
VYLQGPIWAKIPHTDGNFHPSPLMGGFGLKHPPPQILIKNTPVPANPPAVFTPAKFASFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSKRWNPEIQYTSNYAKSTNVDF
AVDNEGVYSEPRPIGTRYLTRNL(서열 식별 번호 59).

[0228] 다른 실시 양태에서, 변이체 AAV 캡시드 단백질은 서열 식별 번호 58로 본원에 개시된 조상 변이체로 이루어지는 군으로부터 선택되는 야생형 AAV 캡시드 서열과 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95% 또는 적어도 98% 동일한 아미노산 서열을 포함하고, 다음으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 하나 이상의 아미노산 잔기를 포함하고: 264에서 알라닌(A), 266에서 알라닌(A), 268에서 세린(S), 448의 알라닌(A), 459의 트레오닌(T), 460에서 아르기닌(R), 467에서 알라닌(A), 470에서 세린(S), 471에서 아스파라긴(N), 474에서 알라닌(A), 495에서 세린(S), 516에서 아스파라긴(D), 533에서 아스파라긴(D), 547에서 글루타민(Q), 551에서 알라닌(A), 555에서 알라닌(A), 557에서 글루탐산(E), 561에서 메티오닌(M), 563에서 세린(S), 577에서 글루타민(Q), 583에서 세린(S), 593에서 발린(V), 596에서 트레오닌(T), 661에서 알라닌(A), 662에서 발린(V), 664에서 트레오닌(T), 665에서 프롤린(P), 710에서 트레오닌(T), 717에서 아스파르트산(D), 718에서 아스파라긴(N), 719에서 글루탐산(E) 및 723에서 세린(S); 또한 i) P34A, S109T+V708I, A593E+N596D, V708I+V719M, V708I+G727D, S109T+A493V+A593E+V708I, V708I+R733C, Q164K 및 I698V로 이루어지는 군으로부터 선택되는 하나 이상의 아미노산 치환 및/또는 (ii) 다음으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 펩타이드 삽입을 포함한다: QADTTKN(서열 식별 번호 13), ISDQTKH(서열 식별 번호 14), ASDSTKA(서열 식별 번호 15), NQDYTKT(서열 식별 번호 16), HDITKNI(서열 식별 번호 17), PQANANEN(서열 식별 번호 63), TNRTSPD(서열 식별 번호 24), PNSTHGS(서열 식별 번호 25), KDRAPST(서열 식별 번호 26), HQDTTKN(서열 식별 번호 19), HPDTTKN(서열 식별 번호 18), NKTTNKD(서열 식별 번호 20), GKSKVID(서열 식별 번호 23), PISNENEH(서열 식별 번호 64), LAQADTTKNA(서열 식별 번호 27), LAISDQTKHA(서열 식별 번호 28), LGISDQTKHA(서열 식별 번호 29), LAASDSTKAA(서열 식별 번호 30), LAHDITKNIA(서열 식별 번호 32), LPQANANENA(서열 식별 번호 37), LANQDYTKTA(서열 식별 번호 31), LATNRTSPDA(서열 식별 번호 39), LAPNSTHGSA(서열 식별 번호 40), LAKDRAPSTA(서열 식별 번호 41), LAHQDTTKNA(서열 식별 번호 34), LAHPDTTKNA(서열 식별 번호 33), LANKTTNKDA(서열 식별 번호 35), LAGKSKVIDA(서열 식별 번호 38) 및 LPISNENEHA(서열 식별 번호 36). 일부 실시 양태에서, 변이체 AAV 캡시드는 특정 하나 이상의 아미노산 치환 및/또는 펩타이드 삽입을 포함하고, 달리 서열 식별 번호 59와 동일하다.

[0229] 본원에 개시된 AAV 변이체는 유리체 내 투여 후 영장류 망막 스크린의 사용을 포함하는 *생체 내* 유도 진화의 사용을 통해 생성되었다. 일부 실시 양태에서, 본원에 개시된 변이체 캡시드 단백질은 AAV 비리온에 존재할 때 상응하는 모 AAV 캡시드 단백질 또는 야생형 AAV를 포함하는 AAV 비리온에 의한 망막 세포의 형질 도입과 비교하여 망막 세포의 증가된 형질 도입을 부여하고, 예를 들어, 일부 실시 양태에서, 본원에 개시된 변이체 캡시드 단백질은 AAV 비리온에 존재할 때 상응하는 모 AAV 캡시드 단백질 또는 야생형 AAV 캡시드 단백질을 포함하는 AAV 비리온보다 더욱 효과적인 영장류 망막 세포의 형질 도입을 부여한다. 예를 들어 망막 세포는 모 AAV 캡시드 단백질 또는 야생형 AAV를 포함하는 AAV 비리온보다 본 발명의 변이체 AAV 캡시드 단백질을 포함하는 AAV 비리온을 더 많이 취한다. 일부 이러한 실시 양태에서, AAV 변이체 비리온 또는 변이체 rAAV는 야생형 AAV 비리온 또는 상응하는 모 AAV 캡시드 단백질을 포함하는 rAAV에 의한 망막 세포의 형질 도입과 비교하여, 망막 세포의 형질 도입이 적어도 2배, 적어도 5배, 적어도 10배, 적어도 15배, 적어도 20배, 적어도 25배, 적어도 50배, 또는 50배 이상의 증가를 보인다. 이러한 특정 양태에서, 본원에 개시된 변이체 캡시드 단백질은 AAV 비리온에 존

재할 때, 상응하는 모 AAV 캡시드 단백질 또는 야생형 AAV 캡시드 단백질을 포함하는 AAV 비리온보다 광범위한 영장류 망막 세포의 형질 도입을 부여한다. 즉, 변이체 AAV 비리온은 상응하는 모 AAV 캡시드 단백질을 포함하는 비리온에 의해 형질 도입되지 않는 세포 유형을 형질 도입시키고, 이에 따라 상응하는 모 AAV 비리온보다 망막에서 더 많은 유형의 세포를 형질 도입시킨다. 일부 실시 양태에서, AAV 변이체 비리온은 우선적으로 망막 세포를 형질 도입시키고, 예를 들어 본 발명의 rAAV 비리온은 다른 망막 세포 또는 비 망막 세포, 예를 들어 눈 밖에 있는 세포보다 망막 세포를 2배, 5배, 10배, 15배, 20배, 25배, 50배, 또는 50배 이상 특이적으로 감염시킨다. 일부 실시 양태에서, 형질 도입된 망막 세포는 광 수용체 세포(예를 들어, 간상체, 추상체)이다. 일부 실시 양태에서, 망막 세포는 망막 신경절 세포(RGC)이다. 일부 실시 양태에서, 망막 세포는 망막 상피세포(RPE 세포)이다. 일부 실시 양태에서, 망막 세포는 뮐러(Muller) 교질 세포이다. 일부 실시 양태에서, 망막 세포는 소교 세포이다. 일부 실시 양태에서, 망막 세포는 무축삭 세포이다. 일부 실시 양태에서, 망막 세포는 양극성 세포이다. 일부 실시 양태에서, 망막 세포는 수평 세포이다. 망막 세포의 형질 도입의 증가, 예를 들어, 형질 도입의 증가된 효율, 보다 광범위한 형질 도입, 보다 우선적인 형질 도입 등은 유전자 발현 측정 기술의 임의의 수의 방법에 의해 시험관 내 또는 생체 내에서 용이하게 평가될 수 있다. 예를 들어, AAV는 유비쿼터스 또는 조직 특이적 프로모터의 제어하에 리포터 유전자, 예를 들어 형광 단백질을 포함하는 발현 카세트를 포함하는 게놈으로 패키징될 수 있으며, 형질 도입의 정도는 예를 들어 형광 현미경 검사에 의한 형광 단백질을 검출함으로써 평가된다. 또 다른 예로서, AAV는 바 코딩된 핵산 서열을 포함하는 게놈으로 패키징 될 수 있고, 형질 도입의 정도는 예를 들어 PCR에 의해 핵산 서열을 검출함으로써 평가될 수 있다. 또 다른 예로서, AAV는 망막 질병의 치료를 위한 치료학적 유전자를 포함하는 발현 카세트를 포함하는 게놈으로 패키징 될 수 있고, 형질 도입의 정도는 AAV가 투여되는 고통을 받는 환자의 망막 질병의 치료를 검출함으로써 평가될 수 있다.

[0230] 본원에 개시된 변이체 rAAV 벡터 또는 비리온 및/또는 방법을 사용하여 치료할 수 있는 안구 질병은 단발성 질병, 복합 유전 질병, 후천성 질병 및 외상성 상해를 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 단발성 질병의 예로는 Bardet-Biedl 증후군; Batten 질병; Bieti의 결정 이영양증(Crystalline Dystrophy); 범맥락막위축(choroideremia); 맥락 망막 위축; 맥락 망막 변성; 추상체(cone) 또는 간상체(cone-rod) 이영양증(상 염색체 우성, 상 염색체 열성 및 X-연관); 선천성 고정 야간 실명(상 염색체 우성, 상 염색체 열성 및 X-연관); 색맹(ACHM2, ACHM3, ACHM4 및 ACHM5 포함), 제1색맹, 제2색맹 및 제3색맹을 포함한 색각 장애; 프리드리히 운동 실조증; LCA1, LCA2, LCA3, LCA4, LCA6, LCA7, LCA8, LCA12 및 LCA15를 포함하되 이에 제한되지 않는 Leber의 선천적 흑암시(amaurosis)(상 염색체 우성 및 상 염색체 열성); Leber의 유전성 시신경 병증; 급성 황반 변성, 베스트 노른자모양 황반 이영양증(Best vitelliform macular dystrophy), 패턴 이영양증, 노스캐롤라이나 황반 이영양증, 유전적 드루젠(drusen), Sorsby의 안저 이영양증, 말라티아 레반타네제(malattia levantanese) 및 유전적으로 결정된 미숙아 망막증을 포함하나 이에 제한되지는 않는 황반 이영양증(상 염색체 우성 및 상 염색체 열성); 안구 망막 발달 질병; 눈 백색증; 시신경 위축(상 염색체 우성, 상 염색체 열성 및 X-연관); RP1, RP2, RP3, RP10, RP20, RP38, RP40 및 RP43을 포함하는 망막염 색소 상피(상 염색체 우성, 상 염색체 열성, X-연관 및 미토콘드리아적으로 선천적인 특성); X-연관 망막층간분리증; 스타가르트(Stargardt) 질병; USH1B, USH1C, USH1D, USH1F, USH1G, USH2A, USH2C, USH2D 및 USH3를 포함하지만 이에 한정되지 않는 어셔 증후군을 포함한다. 복합 유전 질병의 예로는 제한되지는 않지만 녹내장(개방각, 폐쇄각, 저-장력, 정상-장력, 선천성, 신생 혈관, 색소성, 거짓 비늘); 급성 황반 변성, 노른자모양 황반 변성과 같은 나이 관련 및 기타 형태의 황반 변성, 둘 모두 삼출성 및 비-삼출성 형태(상 염색체 우성 및 상 염색체 열성); 미숙아 망막증; 및 Vogh Koyanagi-Harada(VKH) 증후군을 포함한다. 후천성 질병의 예로는 제한되지는 않지만 급성 황반 시신경 망막 병증; 전 허혈성 시신경 병증 및 후 허혈성 시신경 병증; 베체트 질병; 분지 망막 정맥 폐색; 맥락막 신생 혈관; 증식성 당뇨병성 망막증 및 관련 합병증을 포함하는 당뇨병성 망막증; 당뇨병성 포도막염; 부종, 예컨대 황반 부종, 낭포성 황반 부종 및 당뇨병성 황반 부종; 망막 전막 질환; 황반 모세 혈관 확장증; 다병소성 맥락막염; 비 망막증 당뇨병성 망막 기능 장애; 안구 종양; 시신경 위축; 망막 박리; 중심 망막 정맥 폐색, 증식성 유리체 망막 병증(PVR), 망막 동맥 및 정맥 폐색 질환, 혈관 폐색, 포도막염 망막 질병과 같은 망막 장애; 포도막 삼출; 망막 감염 및 침윤성 질병; 후천성 시신경 위축과 같은 시신경 질병을 포함한다. 외상성 상해의 예로는 이에 한정되는 것은 아니지만 히스토플라스마증; 시신경 외상; 후 안구 부위 또는 위치에 영향을 미치는 안구 외상; 망막 외상; 눈의 바이러스 감염; 시신경의 바이러스 감염; 안구 레이저 치료에 의해 유발되거나 영향을 받은 후 안구 질환; 광 에너지 요법에 의해 유발되거나 영향을 받은 후 안과 질환; 광응고법, 방사선 망막증; 및 교감성 안염을 포함한다.

[0231] 다른 실시 양태에서, 본원에 개시된 변이체 캡시드는 유전자 산물, 예를 들어, 제한 없이, 간섭 RNA, 긴 비-코딩 RNA, 짧은 비-코딩 RNA, 안티센스 RNA, 앱타머, 폴리펩타이드, 분비된 항체, 단일 사슬 항체, V_{HH} 도메인,

가용성 수용체, 어피바디(affibody), 노틴(knottin), DARPin, 센투린(centurin), 샤페론(chaperone), 유전자 기능의 부위 특이적 녹-다운(knock-down)을 제공하는 부위 특이적 뉴클레아제 또는 전사의 유전자 특이적 활성화를 제공하는 변형된 부위 특이적 뉴클레아제를 인코딩하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 이종성 핵산을 포함한다.

[0232] 본원에 개시된 rAAV 변이체는 유전자 산물을 코딩하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 이종성 핵산을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 유전자 산물은 간섭 RNA이다. 일부 실시 양태에서, 유전자 산물은 긴 비-코딩 RNA이다. 일부 실시 양태에서, 유전자 산물은 짧은 비-코딩 RNA이다. 일부 실시 양태에서, 유전자 산물은 안티센스 RNA이다. 일부 실시 양태에서, 유전자 산물은 앱타머이다. 일부 실시 양태에서, 유전자 산물은 폴리펩타이드이다. 일부 실시 양태에서, 유전자 산물은 분비된 항체이다. 일부 실시 양태에서, 유전자 산물은 단일 사슬 항체이다. 일부 실시 양태에서, 유전자 산물은 V_{HH} 도메인이다. 일부 실시 양태에서, 유전자 산물은 가용성 수용체이다. 일부 실시 양태에서, 유전자 산물은 어피바디이다. 일부 실시 양태에서, 유전자 산물은 노틴이다. 일부 실시 양태에서, 유전자 산물은 DARPin이다. 일부 실시 양태에서, 유전자 산물은 센투린이다. 일부 실시 양태에서, 유전자 산물은 샤페론이다. 일부 실시 양태에서, 유전자 산물은 부위 특이적 뉴클레오타이드로서 유전자 기능의 부위 특이적 녹-다운을 제공한다.

[0233] 유전자 산물의 용도는 세포에서 인자(factor)의 수준을 높이는 것, 인자의 분비를 통해 이웃 세포에서 인자의 수준을 높이는 것, 세포에서 인자의 수준을 줄이는 것, 또는 인자의 분비를 통해 이웃 세포에서 인자의 레벨을 감소시키는 것을 포함하나 이에 제한되지 않는다. 유전자 산물은 누락 유전자 산물의 결함 수준을 보충하고, 누락 유전자 산물의 결함 수준을 감소시키며, 새로운 지지 유전자 산물을 도입하고, 지지 유전자 산물의 수준을 보충하고, 방해 유전자 산물의 수준을 감소시키고, 지지 유전자 산물의 수준을 도입하거나 보충한다.

[0234] 본 발명의 AAV 변이체에 의해 전달된 유전자 산물은 망막 질병 및 외상에 직접 또는 간접적으로 연결된 유전자 산물 또는 유전자 산물의 활성의 수준을 변화시키는데 사용될 수 있다. 유전자 생성물이 유전적 질병과 직접 또는 간접적으로 연관되어 있는 유전자는 예를 들어, ADP-리보실화 인자-유사 6(ARL6); BBSome 상호 작용 단백질 1(BBIP1); BBSome 단백질 1(BBS1); BBSome 단백질 2(BBS2); BBSome 단백질 4(BBS4); BBSome 단백질 5(BBS5); BBSome 단백질 7(BBS7); BBSome 단백질 9(BBS9); BBSome 단백질 10(BBS10); BBSome 단백질 12(BBS12); 중심체(centrosomal) 단백질 290kDa(CEP290); 편모 내(intraflagellar) 수송 단백질 172(IFT172); 편모 내 수송 단백질 27 (IFT27); 이노시톨 폴리포스페이트-5-포스파타아제 E(INPP5E); 내향 정류형 칼륨 채널 서브 패밀리 J 멤버 13(KCNJ13); 류신 지퍼 전사 인자 유사-1(LZTFL1); McKusick-Kaufman 증후군 단백질(MKKS); 메켈 증후군 유형 1 단백질(MKS1); 네프로노프티시스(nephronophthisis) 3 단백질(NPHP1); 혈청학적으로 정의된 결장암 항원 8(SDCCAG8); 삼중 구조(tripartite) 모티프-함유 단백질 32(TRIM32); 테트라트리코펩타이드 반복 도메인 8(TTC8); 배튼 질병 단백질(CLN3); 랩 호위(Rab escort) 단백질 1(CHM); (PRDM13); (RGR; (TEAD1); 아릴 탄화수소-상호 작용 수용체 단백질-유사 1(AIPL1); 추간체(cone-rod) otx-유사 광 수용체 호메오박스(homeobox) 전사 인자(CRX); 구아닐산 시클라제 활성화 단백질 1A(GUCA1A); 망막-특이적 구아닐레이트 사이클라제(GUCY2D); 포스파티딜 이노시톨 전달 막-관련 패밀리 멤버 3(PITPNM3); 프로미닌(prominin) 1(PROM1); 페리페린(PRPH); 페리페린 2(PRPH2); 시냅스 막 엑소사이토시스 조절 단백질 1(RIMS1); 세마포린 4A(SEMA4A); C. 엘레강스(elegans) unc119 단백질(UNC119)의 인간 상동체; ATP-결합 카세트 운반자-망막(ABCA4); ADAM 메탈로펩티다아제(metallopeptidase) 도메인 9(ADAM9); 활성화 전사 인자 6(ATF6); 21번 염색체 오픈 리딩 프레임 2(C21orf2); 8번 염색체 오픈 리딩 프레임 37(C8orf37); 칼슘 채널; 전압 의존; 알파 2/델타 서브 유닛 4(CACNA2D4); 카데린(cadherin)-관련 패밀리 멤버 1(프로토 카데린 21)(CDHR1); 세라미드 키나아제-유사 단백질(CERKL); 콘 광 수용체 cGMP-게이티드 양이온 채널 알파 서브 유닛(CNGA3); 원뿔 고리형 뉴클레오타이드-게이티드 양이온 채널 베타 3 서브 유니트(CNGB3); 사이클린 M4(CNNM4); 구아닌 뉴클레오타이드 결합 단백질(G 단백질); α 형질 전환 활성 폴리펩타이드 2(GNAT2); 포타슘 채널 서브 패밀리 V 멤버 2(KCNV2); 포스포 디에스테라아제 6C(PDE6C); 포스포 디에스테라아제 6H(PDE6H); 중심 소체 1 중심 소체 단백질 B(POC1B)의 프로테옴; RAB 암 유전자 패밀리(RAB28)의 RAB28 멤버; 망막 및 전방 신경 주름 호메오박스 2 전사 인자(RAX2); 11-시스 레티놀 탈수소효소 5(RDH5); RP GTPase 조절자-상호 작용 단백질 1(RPGRIP1); 튜불린 티로신 리가아제-유사 패밀리 멤버 5(TTLL5); L형 전압 의존 칼슘 채널 알파-1 서브 유닛(CACNA1F); 색소성 망막염 GTPase 조절자(RPGR); (GNAT1); (PDE6B); (RHO); CABP4); GPR179); (GRK1); GRM6); LRIT3); SLC24A1); TRPM1); NYX); OPN1LW); OPN1MW); 블루 콘 옵신(OPN1SW); 프라탁신(FXN); (IMPDH1); (OTX2); CRB1); DTHD1GDF6); IFT140); IQCB1); LCA5); LRAT); NMNAT1); RD3); RDH12); RPE65); SPATA7); TULP1); 미토콘드리아 유전자(KSS, LHON, MT-ATP6, MT-TH, MT-TL1, MT-TP, MT-TS2, 미토콘드리아적으로 인코드된 NADH 탈수소효소[MT-ND]); (BEST1);

C1QTNF5EFEMP1); ELOVL4); FSCN2); GUCA1B); HMCN1); IMPG1); RP1L1); TIMP3); DRAM2); MFN2); NR2F1); 시신경 위축 1(OPA1); TMEM126A); TIMM8A); CA4); HK1); KLHL7); NR2E3); NRL); OR2W3); PRPF3); PRPF4); PRPF6); PRPF8); PRPF31); ROM1); 색소성 망막염 단백질 1(RP1); RP9); SNRNP200); SPP2); TOPORS); ARL2BP); C2orf71); CLRN1); CNGA1); CNGB1); CYP4V2); DHDDS); DHX38); EMC1); EYS); FAM161A); GPR125); HGSNAT); IDH3B); IMPG2); KIAA1549); KIZ); MAK); MERTK); MVK); NEK2); NEUROD1); PDE6A); PDE6G); PRCD); RBP3); RLBP1); SLC7A14); USH2A); ZNF408); ZNF513); OFD1); RP2); 레티노시신(retinoschisin)(RS1); ABHD12); CDH23); CEP250); CIB2); DFNB31); GPR98); HARS); MYO7A); PCDH15); USH1C); USH1G); NDP); PGK1); CAPN5); FZD4); ITM2B); LRP5); MIR204); RB1); TSPAN12); C12orf65); CDH3); MFRP); OAT); PLA2G5); RBP4); RGS9); RGS9BP); ARMS2; ERCC6); FBLN5); HTRA1); TLR3); 및 TLR4).

[0235] 유전자 산물이 세포 사멸을 유도하거나 촉진시키는 유전자는 본원에서 "프로-아폽토시스(pro-apoptotic) 유전자"로 지칭되고, 이들 유전자(mRNA; 단백질)의 산물은 "프로-아폽토시스 유전자 산물"로 지칭된다. 프로-아폽토시스 타깃은 예를 들어 백스(Bax) 유전자 산물; 비드(Bid) 유전자 산물; 박(Bak) 유전자 산물; 바드(Bad) 유전자 산물; Bcl-2; Bcl-X1을 포함한다. 항-세포 사멸 유전자 산물은 X-연관 아폽토시스 억제제를 포함한다.

[0236] 유전자 산물이 혈관 신생을 유도하거나 촉진시키는 유전자는 본원에서 "프로-혈관 신생(pro-angiogenic) 유전자"로 지칭되고, 이들 유전자(mRNA의 단백질)의 유전자의 산물은 "프로-혈관 신생(pro-angiogenic) 유전자 산물"로 지칭된다. 프로-혈관 신생 타깃은 예를 들어, 혈관 내피 성장 인자(VEGFa, VEGFb, VEGFc, VEGFd); 혈관 내피 성장 인자 수용체 1(VEGFR1); 혈관 내피 성장 인자 수용체 2(VEGFR2); Fms-관련 티로신 키나아제 1(Flt1); 태반 성장 인자(PGF); 혈소판-유래 성장 인자(PDGF); 안지오포이에틴(angiopoientin); 소닉 헤지호그를 포함한다. 유전자 산물이 혈관 신생을 억제하는 유전자는 본원에서 "항-혈관 신생 유전자"로 지칭되고, 이들 유전자(mRNA; 단백질)의 산물은 "항-혈관 신생 유전자 산물"로 지칭된다. 항-혈관 신생 유전자 산물은 엔도스타틴; 텀스타틴; 안지오스타틴; 색소 상피-유래 인자(PEDF) 및 항-VEGF 융합 단백질 sFLT1 또는 Eylea, VEGF 특이적 항체 Lucentis™ 및 Avastin™ 등과 같은 프로-혈관 신생 타깃 및/또는 그들의 수용체에 특이적인 융합 단백질 또는 항체를 포함한다.

[0237] 일부 실시 양태에서, 본 발명의 AAV 변이체에 의해 전달된 유전자 산물(들)은 혈관 신생을 억제하는 작용을 한다. 특정 바람직한 실시 양태에서, 본 발명의 AAV 변이체에 의해 전달된 유전자 산물(들)은 VEGFa, VEGFb, VEGFc, VEGFd 및 PGF로 이루어지는 군으로부터 선택되는 하나 이상의 포유동물 VEGF 단백질의 활성을 억제하는 작용을 한다. 특히 바람직한 실시 양태에서, 본 발명의 AAV 변이체에 의해 전달된 유전자 산물(들)은 VEGFa의 활성을 억제한다. VEGFa는 대안적인 접합(slicing)에 의해 생성된 9개의 이소형(isoform)을 가지며, 가장 생리학적으로 관련된 것은 VEGF165 이다. VEGFa 수준은 습식 나이-관련 황반 변성, 당뇨병성 황반 부종 및 망막 정맥 폐색을 갖는 환자의 유리체에서 상승된 것으로 밝혀졌다. VEGFa의 활성을 억제하고 이에 따라, 상승된 유리체 VEGFa를 갖는 환자를 치료하는데 효과적인 유전자 산물(들)은, 이에 한정되는 것은 아니지만, Aflibercept, Ranibizumab, Brolucizumab, Bevacizumab 및 가용성 fms-유사 티로신 키나제1(sFLT1)(유전자은행 수탁번호 U01134)을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 감염성 재조합 AAV(rAAV) 비리온은 (i) 본원에 기재된 바와 같은 변이체 AAV 캡시드 단백질 및 (ii) 다수의 서열을 포함하는 이종성 핵산을 포함하며, 이들 각각은 별개의 VEGFa 억제제를 인코드한다.

[0238] 바람직한 일 실시 양태에서, 유전자 산물은 Aflibercept이다. Aflibercept(EYLEA®)는 인간 IgG1의 Fc 부분에 융합된 인간 VEGF 수용체 1 및 2의 세포외 도메인을 포함하는 재조합 융합 단백질이다. Aflibercept는 천연(native) 수용체보다 더 큰 친화도로 VEGFa 및 PGF를 결합하는 가용성 디코이(decoy) 수용체로서 작용한다. 유리체 내 Aflibercept 주입의 승인된 투여량은 2.0mg이며, 이의 투여량은 징후에 따라 다양하다. Aflibercept는 신혈관성 (습식) 나이-관련 황반 변성, 망막 정맥 폐색 후 황반 부종, 당뇨병성 황반 부종 및 당뇨병성 망막증의 치료를 위해 권고된다. 특히 바람직한 실시 양태에서, Aflibercept(도 12A에 상응함)를 인코딩하는 신규한 코돈-최적화된 핵산 서열이 제공되며, 다음의 서열을 포함하거나 또는 이들로 이루어진다:

[0239] ATGGTTTCTTACTGGGACACCGGCGTGCTGCTGTGTGCCCTGCTTTCTTGTCTGCTGCTGACCGGCTCTAGCAGCGGCTCTGATACCGGCAGACCCTTCGTG
GAAATGTACAGCGAGATCCCCGAGATCATCCACATGACCGAGGGCAGAGAGCTGGTCATCCCTTGCAGAGTGACAAGCCCCAACATCACCGTGACTCTGAAG
AAGTTCCCTCTGGACACACTGATCCCCGACGGCAAGAGAATCATCTGGGACAGCCGGAAGGGCTTCATCATCAGCAACGCCACCTACAAAGAGATCGGCCTG
CTGACCTGTGAAGCCACCGTGAATGGCCACCTGTACAAGACCAACTACCTGACACACAGACAGACCAACACCATCATCGACGTGGTGCTGAGCCCTAGCCAC
GGCATTGAACTGTCTGTGGGCGAGAAGCTGGTGCTGAACTGTACCGCCAGAACCGAGCTGAACGTGGGCATCGACTTCAACTGGGAGTACCCCAGCAGCAAG
CACCAGCACAAGAAACTGGTCAACCGGGACCTGAAAACCCAGAGCGGCAGCGAGATGAAGAAATTCCTGAGCACCCTGACCATCGACGGCGTGACCAGAAGT

GACCAGGGCCTGTACACATGTGCCGCCAGCTCTGGCCTGATGACCAAGAAAAACAGCACCTTCGTGCGGGTGCACGAGAAGGACAAGACCCACACCTGTCCT
CCATGTCCTGCTCCAGAACTGCTCGGCGGACCTTCCGTGTTCCTGTTTCCTCCAAAGCCTAAGGACACCCTGATGATCAGCAGAACCCCTGAAGTGACCTGC
GTGGTGGTGGATGTGTCCCACGAGGATCCCGAAGTGAAGTTCAATTGGTACGTGGACGGCGTGGAAGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCTAGAGAGGAACAG
TACAATAGCACCTACAGAGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGCTGCACCAGGATTGGCTGAACGGCAAAGAGTACAAGTGCAAGGTGTCCAACAAGGCCCTGCCT
GCTCCTATCGAGAAAACCATCTCCAAGGCCAAGGGCCAGCCTAGGGAACCCCAGGTTTACACACTGCCTCCAAGCAGGGACGAGCTGACAAAGAACCAGGTG
TCCCTGACCTGCCTGGTCAAGGGCTTCTACCCTTCCGATATCGCCGTGGAATGGGAGAGCAATGGCCAGCCTGAGAACAACTACAAGACAACCCCTCCTGTG
CTGGACAGCGACGGCTCATTCTTCCTGTACAGCAAGCTGACAGTGGACAAGAGCAGATGGCAGCAGGGCAACGTGTTCAGCTGCTCCGTGATGCACGAGGCC
CTGCACAACCACTACACCCAGAAGTCCCTGAGCCTGTCTCCTGGCAAATGA(서열 식별 번호 65).

[0240] 일부 실시 양태에서, Aflibercept를 인코딩하는 핵산 서열이 제공되며, 서열 식별 번호 65에 표시된 핵산 서열의 전체 서열 또는 서열 식별 번호 65의 뉴클레오타이드 79-1377(Flt1 신호 서열을 인코딩하는 밑줄친 뉴클레오타이드 없이)과 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 또는 그 이상의 핵산 동일성을 가지는 핵산 서열을 포함한다. 관련 실시 양태에서, 본 발명의 AAV 변이체(들)에 의해 전달된 유전자 산물(들)은 서열 식별 번호 65의 핵산 서열 또는 그것과 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 동일한 핵산으로 이루어지는 또는 이들을 포함하는 핵산 서열에 의해 인코딩된다. 다른 관련 실시 양태에서, 본 발명의 AAV 변이체(들)에 의해 전달된 유전자 산물(들)은 다음의 아미노산 서열과 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99% 동일하거나 100% 동일한 아미노산 서열을 포함한다:

[0241] MVSYWDTGVLLCALLSCLLLTGSSSGSDTGRPFVEMYSEIPEIIHMTEGRELVIPCRVTSPNITVTLKKFPLDTLIPDGKRIIWDSRKGFIISNATYKEIGL
LTCEATVNGHLYKTNYLTHRQTNTIIDVVLSPSHGIELSVGEKLVLNCTARTELNVGIDFNWEYPSSKHQHKKLVNRDLKTQSGSEMKKFLSTLTIDGVTRS
DQGLYTCAASSGLMTKKNSTFVRVHEKDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ
YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPV
LDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK(서열 식별 번호 66)

[0242] 다른 관련 실시 양태에서, AAV 변이체(들)은 서열 식별 번호 66의 아미노산 27-458(밑줄친 신호 펩타이드 서열 없이 Aflibercept의 아미노산 서열에 상응함)과 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99% 동일하거나 100% 동일한 아미노산 서열을 인코딩하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 이종성 핵산을 포함한다.

[0243] 또 다른 바람직한 실시 양태에서, 유전자 산물은 Ranibizumab(sc-Ranibizumab)의 단일-사슬 버전이다. Ranibizumab(LUCENTIS®)는 VEGFa의 모든 이소형을 결합하고 차단하는 단일 클론 IgG1 항체 단편(Fab)이다. LUCENTIS®는 불변성 경(CL)와 불변성 중(heavy) 1(CH1) 도메인 사이의 디술피드 결합에 의해 결합되는 2개의 별개의 사슬(경쇄 및 중쇄)로서 세균에서 발현된다. 유리체 내 Ranibizumab의 승인된 투여량은 징후에 따라 0.05mL에 0.3 또는 0.5mg이다. Ranibizumab는 습식 나이-관련 황반 변성, 망막 정맥 폐색 후 황반 부종, 당뇨병성 황반 부종 및 당뇨병성 망막증의 치료를 위해 승인된다. 특히 바람직한 실시 양태에서, 도 12C에 상응하는 Ranibizumab(sc-Ranibizumab HL)의 단일 사슬 중-경(Heavy-Light)(HL) 형태를 인코딩하는 신규한 코돈-최적화된 핵산 서열이 제공되며, 상기 핵산 서열은 다음을 포함하거나 또는 이들로 이루어진다:

[0244] ATGGACTGGACCTGGTCCATCCTGTTTCTGGTGGCTGCCGCCACAGGCACATACTCTGAAGTGCAGCTGGTGGAATCTGGCGGCGGACTTGTTCAACCTGGC
GGCTCTCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCTCTGGCTACGACTTTACCCACTACGGCATGAACTGGGTCCGACAGGCCCCTGGCAAAGGCCTTGAATGGGTCGGA
TGGATCAACACCTACACCGGCGAGCCAACATACGCCGCCGACTTCAAGCGGAGATTCACCTTCAGCCTGGACACCAGCAAGAGCACCGCCTACCTCCAGATG
AACAGCCTGAGAGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAAGTATCCCTACTACTACGGCACCAGCCACTGGTACTTCGACGTGTGGGGACAGGGCACA
CTGGTCACAGTGTCTAGCGCCTCTACAAAGGGCCCCAGCGTTTTCCCACTGGCTCCTAGCAGCAAGTCTACCTCCGGTGGAACAGCCGCTCTGGGCTGTCTG
GTCAAGGACTACTTTCCCGAGCCTGTGACCGTGTCCTGGAATAGCGGAGCACTGACAAGCGGCGTGCACACCTTTCCAGCCGTGCTGCAAAGCAGCGGCCTG
TACTCTCTGAGCAGCGTCGTGACAGTGCCAAGCAGCTCTCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAATGTGAACCACAAGCCTAGCAACACCAAGGTGGACAAG
AAGGTGGAACCCAAGAGCTGCGACAAGACACACCTCGGCGGAAGCTCTGGAAGCGGCTCTGGATCTACCGGCACAAGCTCTAGCGGAACAGGCACAAGCGCT
GGCACAACCGGAACAAGCGCTTCTACATCTGGCTCTGGTTCTGGCGGAGGCGGAGGATCAGGTGGTGGTGGATCTGCTGGCGGAACAGCTACAGCTGGCGCC
TCTTCTGGCAGCGACATTCAGCTGACACAGAGCCCTTCTAGCCTGAGCGCCTCTGTGGGCGACAGAGTGACCATCACATGTAGCGCCAGCCAGGACATCTCC
AACTACCTGAACTGGTATCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCTAAGGTGCTGATCTACTTTACCAGCAGCCTGCACTCCGGCGTGCCCAGCAGATTTTCTGGA
TCTGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACAATATCTAGCCTCCAGCCTGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGTACAGCACCGTGCCTTGGACATTT
GGCCAGGGCACAAAGGTGGAAATCAAGCGGACAGTGGCCGCTCCTAGCGTGTTCATCTTTCCACCTAGCGACGAGCAGCTGAAGTCTGGCACAGCCTCTGTC
GTGTGCCTGCTGAACAACTTCTACCCCAGAGAAGCCAAGGTGCAGTGGAAAGTGGACAACGCCCTCCAGTCCGGCAACAGCCAAGAGTCTGTGACCGAGCAG
GACAGCAAGGACTCCACCTACAGCCTGTCCAGCACACTGACACTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAAGTGTACGCCTGCGAAGTGACCCACCAGGGC

CTTTCTAGCCCTGTGACCAAGAGCTTCAACCGGGGCGAGTGTTGA(서열 식별 번호 67)

[0245] 일부 실시 양태에서, Ranibizumab HL을 인코딩하는 핵산 서열이 제공되며, 서열 식별 번호 67에 표시된 핵산 서열의 전체 서열 또는 서열 식별 번호 67의 뉴클레오타이드 58-1575(인간 IGHV7-8 신호 서열을 인코딩하는 밑줄친 뉴클레오타이드 없이)와 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 또는 그 이상의 핵산 동일성을 가지는 핵산 서열을 포함한다. 관련 실시 양태에서, 본 발명의 AAV 변이체(들)에 의해 전달된 유전자 산물(들)은 서열 식별 번호 67의 핵산 서열 또는 그것과 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 동일한 핵산으로 이루어지는 또는 이들을 포함하는 핵산 서열에 의해 인코딩된다. 다른 관련 실시 양태에서, 본 발명의 AAV 변이체(들)에 의해 전달된 유전자 산물(들)은 다음의 아미노산 서열과 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99% 동일하거나 100% 동일한 아미노산 서열을 포함한다:

[0246] MDWTWSILFLVAAATGTYSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYDFTHYGMNWVRQAPGKGLEWVGWINTYTGEPTYAADFKRRFTFSLDTSKSTAYLQM
NSLRAEDTAVYYCAKYPYYYGTSHWYFDVWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL
YSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHLGGSSGSGSGSTGTSSSGTGTSAGTTGTSASTSGSGSGGGGGSGGGGSAGGTATAGA
SSGSDIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCSASQDISNYLNWYQQKPGKAPKVLIYFTSSLHSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYSTVPWTF
GQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQG
LSSPVTKSFNRGEC(서열 식별 번호 68).

[0247] 다른 관련 실시 양태에서, AAV 변이체(들)은 서열 식별 번호 68의 아미노산 20-524(밑줄친 신호 펩타이드 서열 없이 sc-Ranibizumab HL의 아미노산 서열에 상응함)와 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99% 동일하거나 100% 동일한 아미노산 서열을 인코딩하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 이종성 핵산을 포함한다.

[0248] 다른 특히 바람직한 실시 양태에서, 도 12B에 상응하는 Ranibizumab(sc-Ranibizumab LH)의 단일 사슬 경-중(LH) 형태를 인코딩하는 신규한 코돈-최적화된 핵산 서열이 제공되며, 상기 핵산 서열은 다음을 포함하거나 또는 이들로 이루어진다:

[0249] ATGGTCCTCCAGACACAGGTGTTCATCAGCCTGCTGCTGTGGATCTCTGGCGCCTACGGCGATATCCAGCTGACACAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCTCT
GTGGGCGACAGAGTGACCATCACATGTAGCGCCAGCCAGGACATCAGCAACTACCTGAACTGGTATCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCTAAGGTGCTGATC
TACTTTACCAGCAGCCTGCACAGCGGCGTGCCCAGCAGATTTTCTGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACAATATCTAGCCTCCAGCCTGAGGAC
TTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGTACAGCACCGTGCCTTGGACATTTGGCCAGGGCACCAAGGTGGAAATCAAGCGGACAGTGGCCGCTCCTAGCGTGTTC
ATCTTTCCACCTAGCGACGAGCAGCTGAAGTCTGGCACAGCCTCTGTCGTGTGCCTGCTGAACAACTTCTACCCCAGAGAAGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTG
GACAACGCCCTCCAGAGCGGCAATAGCCAAGAGAGCGTGACCGAGCAGGACAGCAAGGACTCTACCTACTCTCTGAGCAGCACACTGACCCTGAGCAAGGCC
GACTACGAGAAGCACAAAGTGTACGCCTGCGAAGTGACCCACCAGGGCCTTTCTAGCCCTGTGACCAAGAGCTTCAACAGAGGCGAGTGTGGCGGCAGCTCT
GGAAGCGGATCTGGAAGCACAGGCACAAGCTCTAGCGGAACCGGAACAAGCGCTGGCACAACAGGCACATCTGCCAGCACAAGCGGTTCTGGTTCTGGCGGA
GGCGGAGGATCTGGTGGTGGCGGATCTGCTGGCGGAACAGCTACAGCTGGTGCCTCTTCTGGATCCGAGGTGCAGCTGGTTGAATCTGGCGGTGGACTGGTT
CAGCCAGGCGGATCTCTGAGACTGTCTTGTGCCGCCAGCGGCTACGATTTCACCCACTACGGCATGAACTGGGTCCGACAGGCCCCTGGCAAAGGCCTTGAA
TGGGTCGGATGGATCAACACCTACACCGGCGAGCCAACATACGCCGCCGACTTCAAGCGGAGATTCACCTTCAGCCTGGACACCTCCAAGAGCACCGCCTAC
CTCCAGATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAAGTATCCCTACTACTACGGCACCAGCCACTGGTACTTCGACGTGTGGGGA
CAGGGCACACTGGTCACAGTGTCTAGCGCCTCTACAAAGGGCCCCAGCGTTTTCCCACTGGCTCCTAGCAGCAAGAGCACATCAGGCGGAACTGCTGCCCTG
GGCTGTCTGGTCAAGGACTACTTTCCTGAGCCTGTGACCGTGTCCTGGAACAGCGGAGCACTGACATCTGGCGTGCACACCTTTCCAGCCGTGCTCCAAAGC
AGCGGCCTGTATTCTCTGTCCAGCGTCGTGACAGTGCCTAGCAGCTCTCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAATGTGAACCACAAGCCTAGCAACACCAAG
GTCGACAAGAAGGTGGAACCCAAGAGCTGCGACAAGACCCACCTCTGA(서열 식별 번호 69)

[0250] 다른 특히 바람직한 실시 양태에서, 도 12B에 상응하는 Ranibizumab(sc-Ranibizumab LH)의 단일 사슬 경-중(LH) 형태를 인코딩하는 신규한 코돈-최적화된 핵산 서열이 제공되며, 상기 핵산 서열은 다음을 포함하거나 또는 이들로 이루어진다:

[0251] ATGGTGCTCCAGACCCAGGTGTTTATTTCACTGCTGCTGTGGATTAGCGGGGCTTACGGAGACATTCAGCTGACCCAGAGTCCTTCATCTCTGAGCGCCTCC
GTGGGCGACAGGGTGACCATCACATGCTCTGCCAGCCAGGATATCTCCAACTATCTGAATTGGTACCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCTAAGGTGCTGATC
TATTTCACCAGCTCCCTGCACAGCGGAGTGCCATCCCGCTTCTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTTACCCTGACAATCTCTAGCCTCCAGCCAGAGGAT
TTCGCCACATACTATTGCCAGCAGTACAGCACCGTGCCCTGGACATTTGGCCAGGGCACCAAGGTGGAGATCAAGCGGACAGTGGCCGCCCCAAGCGTGTTC
ATCTTTCCCCCTAGCGACGAGCAGCTGAAGTCTGGCACCGCCAGCGTGGTGTGCCTGCTGAACAATTTCTATCCCAGAGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTG
GATAACGCCCTCCAGTCCGGCAATTCTCAGGAGAGCGTGACCGAGCAGGACTCCAAGGATTCTACATACAGCCTGTCCTCTACCCTGACACTGTCCAAGGCC

GACTATGAGAAGCACAAGGTGTACGCATGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGAGCTCCCCAGTGACAAAGAGCTTTAACAGGGGAGAGTGTGGAGGATCTAGC
GGATCCGGATCTGGAAGCACCGGCACATCCTCTAGCGGAACCGGCACAAGCGCCGGCACCACAGGCACCTCCGCCTCTACAAGCGGCAGCGGATCTGGCGGA
GGAGGAGGATCCGGAGGAGGAGGATCTGCCGGCGGCACCGCCACAGCCGGCGCCTCCTCTGGCTCCGAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGAGGAGGCCTGGTG
CAGCCTGGAGGCTCCCTGAGGCTGTCTTGCGCAGCAAGCGGCTATGATTTCACCCACTACGGAATGAACTGGGTGCGCCAGGCACCTGGCAAGGGCCTGGAG
TGGGTGGGCTGGATCAATACCTATACAGGCGAGCCAACCTACGCCGCCGACTTTAAGCGGAGATTCACATTTTCCCTGGATACCAGCAAGTCCACAGCCTAC
CTCCAGATGAACAGCCTGAGGGCAGAGGACACCGCCGTGTACTATTGCGCCAAGTATCCTTACTATTACGGCACAAGCCACTGGTACTTCGACGTGTGGGGA
CAGGGCACCCTGGTGACAGTGAGCTCCGCCAGCACCAAGGGCCCATCCGTGTTTCCTCTGGCCCCATCTAGCAAGTCTACCAGCGGAGGAACAGCCGCCCTG
GGATGTCTGGTGAAGGACTACTTCCCAGAGCCCGTGACCGTGTCCTGGAATTCTGGCGCCCTGACCTCCGGCGTGCACACATTTCCCGCCGTGCTCCAGTCC
TCTGGCCTGTATAGCCTGAGCTCCGTGGTGACCGTGCCTTCTAGCTCCCTGGGCACCCAGACATACATCTGTAACGTGAATCACAAGCCTTCAAATACCAAA
GTCGATAAAAAAGTGGAACCAAAATCCTGTGATAAAACCCATCTGTGA(서열 식별 번호 70).

[0252] 일부 실시 양태에서, Ranibizumab LH를 인코딩하는 핵산 서열이 제공되며, 서열 식별 번호 69 또는 서열 식별 번호 70에 표시된 핵산 서열의 전체 서열 또는 서열 식별 번호 69 또는 서열 식별 번호 70의 뉴클레오타이드 61-1578(Ig 카파 신호 서열을 인코딩하는 밑줄친 뉴클레오타이드 없이)과 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 또는 그 이상의 핵산 동일성을 가지는 핵산 서열을 포함한다. 관련 실시 양태에서, 본 발명의 AAV 변이체(들)에 의해 전달된 유전자 산물(들)은 서열 식별 번호 69 또는 서열 식별 번호 70의 핵산 서열 또는 그것과 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 동일한 핵산으로 이루어지는 또는 이들을 포함하는 핵산 서열에 의해 인코딩된다. 다른 관련 실시 양태에서, 본 발명의 AAV 변이체(들)에 의해 전달된 유전자 산물(들)은 다음의 아미노산 서열과 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99% 동일하거나 100% 동일한 아미노산 서열을 포함한다:

[0253] MVLQTQVFISLLLWISGAYGDIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCSASQDISNYLNWYQQKPGKAPKVLIYFTSSLHSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPED
FATYYCQQYSTVPWTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKA
DYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGECGGSSGSGSGSTGTSSSGTGTSAGTTGTSASTSGSGSGGGGGSGGGGSAGGTATAGASSGSEVQLVESGGGLV
QPGGSLRLSCAASGYDFTHYGMNWVRQAPGKGLEWVGWINTYTGEPTYAADFKRRFTFSLDTSKSTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAKYPYYYGTSHWYFDVWG
QGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTK
VDKKVEPKSCDKTHL(서열 식별 번호 71)

[0254] 다른 관련 실시 양태에서, AAV 변이체(들)은 서열 식별 번호 71의 아미노산 21-525(밑줄친 신호 펩타이드 서열 없이 sc-Ranibizumab LH의 아미노산 서열에 상응함)와 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99% 동일하거나 100% 동일한 아미노산 서열을 인코딩하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 이종성 핵산을 포함한다.

[0255] 다른 바람직한 실시 양태에서, 도 12E에 상응하는 인간 IgG1의 Fc 영역에 융합된 Ranibizumab의 단일 사슬 경-중(LH) 형태(sc-Ranibizumab-Fc)를 인코딩하는 신규한 핵산 서열이 제공되며, 상기 핵산 서열은 다음을 포함하거나 또는 이들로 이루어진다:

[0256] ATGGTCCTCCAGACACAGGTGTTCATCAGCCTGCTGCTGTGGATCTCTGGCGCCTACGGCGATATCCAGCTGACACAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCTCT
GTGGGCGACAGAGTGACCATCACATGTAGCGCCAGCCAGGACATCAGCAACTACCTGAACTGGTATCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCTAAGGTGCTGATC
TACTTTACCAGCAGCCTGCACAGCGGCGTGCCCAGCAGATTTTCTGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACAATATCTAGCCTCCAGCCTGAGGAC
TTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGTACAGCACCGTGCCTTGGACATTTGGCCAGGGCACCAAGGTGGAAATCAAGCGGACAGTGGCCGCTCCTAGCGTGTTC
ATCTTTCCACCTAGCGACGAGCAGCTGAAGTCTGGCACAGCCTCTGTCGTGTGCCTGCTGAACAACTTCTACCCCAGAGAAGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTG
GACAACGCCCTCCAGAGCGGCAATAGCCAAGAGAGCGTGACCGAGCAGGACAGCAAGGACTCTACCTACTCTCTGAGCAGCACACTGACCCTGAGCAAGGCC
GACTACGAGAAGCACAAAGTGTACGCCTGCGAAGTGACCCACCAGGGCCTTTCTAGCCCTGTGACCAAGAGCTTCAACAGAGGCGAGTGTGGCGGCAGCTCT
GGAAGCGGATCTGGAAGCACAGGCACAAGCTCTAGCGGAACCGGAACAAGCGCTGGCACAACAGGCACATCTGCCAGCACAAGCGGTTCTGGTTCTGGCGGA
GGCGGAGGATCTGGTGGTGGCGGATCTGCTGGCGGAACAGCTACAGCTGGTGCCTCTTCTGGATCCGAGGTGCAGCTGGTTGAATCTGGCGGTGGACTGGTT
CAGCCAGGCGGATCTCTGAGACTGTCTTGTGCCGCCAGCGGCTACGATTTCACCCACTACGGCATGAACTGGGTCCGACAGGCCCCTGGCAAAGGCCTTGAA
TGGGTCGGATGGATCAACACCTACACCGGCGAGCCAACATACGCCGCCGACTTCAAGCGGAGATTCACCTTCAGCCTGGACACCTCCAAGAGCACCGCCTAC
CTCCAGATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAAGTATCCCTACTACTACGGCACCAGCCACTGGTACTTCGACGTGTGGGGA
CAGGGCACACTGGTCACAGTGTCTAGCGCCTCTACAAAGGGCCCCAGCGTTTTCCCACTGGCTCCTAGCAGCAAGAGCACATCAGGCGGAACTGCTGCCCTG
GGCTGTCTGGTCAAGGACTACTTTCCTGAGCCTGTGACCGTGTCCTGGAACAGCGGAGCACTGACATCTGGCGTGCACACCTTTCCAGCCGTGCTCCAAAGC
AGCGGCCTGTATTCTCTGTCCAGCGTCGTGACAGTGCCTAGCAGCTCTCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAATGTGAACCACAAGCCTAGCAACACCAAG
GTCGACAAGAAGGTGGAACCCAAGAGCTGCGACAAGACCCACACCTGTCCTCCATGTCCTGCTCCAGAACTGCTCGGCGGACCTTCCGTGTTCCTGTTTCCT

CCAAAGCCTAAGGACACCCTGATGATCAGCAGAACCCCTGAAGTGACCTGCGTGGTGGTGGATGTGTCCCACGAGGATCCCGAAGTGAAGTTCAATTGGTAC
GTGGACGGCGTGGAAGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCTAGAGAGGAACAGTACAATAGCACCTACAGAGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGCTGCACCAGGAT
TGGCTGAACGGCAAAGAGTACAAGTGCAAGGTGTCCAACAAGGCCCTGCCTGCTCCTATCGAGAAAACCATCTCCAAGGCCAAGGGCCAGCCTAGGGAACCC
CAGGTTTACACACTGCCTCCAAGCAGGGACGAGCTGACAAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGCCTGGTCAAGGGCTTCTACCCTTCCGATATCGCCGTGGAA
TGGGAGAGCAATGGCCAGCCTGAGAACAACTACAAGACAACCCCTCCTGTGCTGGACAGCGACGGCTCATTCTTCCTGTACAGCAAGCTGACAGTGGACAAG
AGCAGATGGCAGCAGGGCAACGTGTTCAGCTGCTCCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGTCCCTGAGCCTGTCTCCTGGCAAATGA
GCCACGCGTAACACGTGCATGCGAGAGATCTGA(서열 식별 번호 72).

[0257] 일부 실시 양태에서, sc-Ranibizumab-Fc를 인코딩하는 핵산 서열이 제공되며, 서열 식별 번호 72에 표시된 핵산 서열의 전체 서열 또는 서열 식별 번호 72의 뉴클레오타이드 61-2277(Ig 카파 신호 서열을 인코딩하는 밑줄친 뉴클레오타이드 없이)과 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 또는 그 이상의 핵산 동일성을 가지는 핵산 서열을 포함한다. 관련 실시 양태에서, 본 발명의 AAV 변이체(들)에 의해 전달된 유전자 산물(들)은 서열 식별 번호 72의 핵산 서열 또는 그것과 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 동일한 핵산으로 이루어지는 또는 이들을 포함하는 핵산 서열에 의해 인코딩된다. 다른 관련 실시 양태에서, 본 발명의 AAV 변이체(들)에 의해 전달된 유전자 산물(들)은 다음의 아미노산 서열과 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99% 동일하거나 100% 동일한 아미노산 서열을 포함한다:

[0258] MVLQTQVFISLLLWISGAYGDIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCSASQDISNYLNWYQQKPGKAPKVLIYFTSSLHSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPED
FATYYCQQYSTVPWTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKA
DYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGECGGSSGSGSGSTGTSSSGTGTSAGTTGTSASTSGSGSGGGGGSGGGGSAGGTATAGASSGSEVQLVESGGGLV
QPGGSLRLSCAASGYDFTHYGMNWVRQAPGKGLEWVGWINTYTGEPTYAADFKRRFTFSLDTSKSTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAKYPYYYGTSHWYFDVWG
QGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTK
VDKKVEPKSCDKTHLDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT
VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSK
LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK(서열 식별 번호 73)

[0259] 다른 관련 실시 양태에서, AAV 변이체(들)은 서열 식별 번호 73의 아미노산 21-752(밑줄친 신호 펩타이드 서열 없이 sc-Ranibizumab-Fc의 아미노산 서열에 상응함)와 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99% 동일하거나 100% 동일한 아미노산 서열을 인코딩하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 이종성 핵산을 포함한다.

[0260] 다른 바람직한 실시 양태에서, 유전자 산물은 Brolucizumab이다. Brolucizumab(RTH258)는 VEGFa의 모든 이소형을 결합하고 차단하는 단일 사슬 가변 단편(scFv)이다. Brolucizumab는 현재 습식 나이-관련 황반 변성의 치료를 위해 3mg 및 6mg 투여량을 평가하는 3 상 임상 연구중에 있다. 특히 바람직한 실시 양태에서, Brolucizumab(도 12D에 상응함)를 인코딩하는 신규한 코돈-최적화된 핵산 서열이 제공되며, 상기 핵산 서열은 다음을 포함하거나 또는 이들로 이루어진다:

[0261] ATGGTCCTCCAGACACAGGTGTTCATCAGCCTGCTGCTGTGGATCTCTGGCGCCTATGGCGAGATCGTGATGACACAGAGCCCCAGCACACTGTCTGCCAGC
GTGGGAGACAGAGTGATCATCACATGCCAGGCCAGCGAGATCATCCACAGCTGGCTGGCTTGGTATCAGCAGAAGCCTGGCAAGGCCCCTAAGCTGCTGATC
TACCTGGCCTCTACACTGGCCAGCGGAGTGCCTAGCAGATTTTCTGGCTCTGGATCTGGCGCCGAGTTCACCCTGACAATCTCTAGCCTCCAGCCTGACGAC
TTCGCCACCTACTACTGCCAGAACGTGTACCTGGCCAGCACCAACGGCGCCAATTTTGGCCAGGGCACCAAGCTGACAGTGCTTGGCGGAGGCGGAGGTTCT
GGTGGCGGAGGAAGTGGCGGCGGAGGATCAGGCGGTGGTGGATCTGAAGTGCAGCTGGTGGAATCAGGCGGAGGACTGGTTCAACCTGGCGGCTCTCTGAGA
CTGAGCTGTACCGCCTCTGGCTTCTCCCTGACCGACTACTACTACATGACCTGGGTCCGACAGGCCCCTGGCAAAGGACTTGAGTGGGTCGGATTCATCGAC
CCCGACGACGATCCTTACTACGCCACATGGGCCAAGGGCAGATTCACCATCAGCCGGGACAACAGCAAGAACACCCTGTACCTCCAGATGAACAGCCTGAGA
GCCGAGGACACCGCCGTGTACTATTGTGCCGGCGGAGATCACAATAGCGGCTGGGGACTCGATATCTGGGGCCAGGGAACACTGGTCACCGTGTCTAGTTGA
(서열 식별 번호 74).

[0262] 일부 실시 양태에서, Brolucizumab를 인코딩하는 핵산 서열이 제공되며, 서열 식별 번호 74에 표시된 핵산 서열의 전체 서열 또는 서열 식별 번호 74의 뉴클레오타이드 61-816(Ig 카파 신호 서열을 인코딩하는 밑줄친 뉴클레오타이드 없이)과 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 또는 그 이상의 핵산 동일성을 가지는 핵산 서열을 포함한다. 관련 실시 양태에서, 본 발명의 AAV 변이체들에 의해 전달된 유전자 산물(들)은 서열 식별 번호 74의 핵산 서열 또는 그것과 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 동일한 핵산으로 이루어지는 또는 이

들을 포함하는 핵산 서열에 의해 인코딩된다. 다른 관련 실시 양태에서, 본 발명의 AAV 변이체들에 의해 전달된 유전자 산물(들)은 다음의 아미노산 서열과 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99% 동일하거나 100% 동일한 아미노산 서열을 포함한다:

[0263] MVLQTQVFISLLLWISGAYGEIVMTQSPSTLSASVGDRVIITCQASEIIHSWLAWYQQKPGKAPKLLIYLASTLASGVPSRFSGSGSGAEFTLTISSLQPDD FATYYCQNVYLASTNGANFGQGTKLTVLGGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTASGFSLTDYYYMTWVRQAPGKGLEWVGFID PDDDPYYATWAKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAGGDHNSGWGLDIWGQGTLVTVSS(서열 식별 번호 75)

[0264] 다른 관련 실시 양태에서, AAV 변이체(들)은 서열 식별 번호 75의 아미노산 21-271(밑줄친 신호 펩타이드 서열 없이 Brolucizumab의 아미노산 서열에 상응함)과 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99% 동일하거나 100% 동일한 아미노산 서열을 인코딩하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 이종성 핵산을 포함한다.

[0265] 다른 바람직한 실시 양태에서, 도 12F에 상응하는 인간 IgG1의 Fc 영역에 융합된 Brolucizumab(Brolucizumab-Fc)를 인코딩하는 신규한 핵산 서열이 제공되며, 상기 핵산 서열은 다음을 포함하거나 또는 이들로 이루어진다:

[0266] ATGGTCCTCCAGACACAGGTGTTCATCAGCCTGCTGCTGTGGATCTCTGGCGCCTATGGCGAGATCGTGATGACACAGAGCCCCAGCACACTGTCTGCCAGC GTGGGAGACAGAGTGATCATCACATGCCAGGCCAGCGAGATCATCCACAGCTGGCTGGCTTGGTATCAGCAGAAGCCTGGCAAGGCCCCTAAGCTGCTGATC TACCTGGCCTCTACACTGGCCAGCGGAGTGCCTAGCAGATTTTCTGGCTCTGGATCTGGCGCCGAGTTCACCCTGACAATCTCTAGCCTCCAGCCTGACGAC TTCGCCACCTACTACTGCCAGAACGTGTACCTGGCCAGCACCAACGGCGCCAATTTTGGCCAGGGCACCAAGCTGACAGTGCTTGGCGGAGGCGGAGGTTCT GGTGGCGGAGGAAGTGGCGGCGGAGGATCAGGCGGTGGTGGATCTGAAGTGCAGCTGGTGGAATCAGGCGGAGGACTGGTTCAACCTGGCGGCTCTCTGAGA CTGAGCTGTACCGCCTCTGGCTTCTCCCTGACCGACTACTACTACATGACCTGGGTCCGACAGGCCCCTGGCAAAGGACTTGAGTGGGTCGGATTCATCGAC CCCGACGACGATCCTTACTACGCCACATGGGCCAAGGGCAGATTCACCATCAGCCGGGACAACAGCAAGAACACCCTGTACCTCCAGATGAACAGCCTGAGA GCCGAGGACACCGCCGTGTACTATTGTGCCGGCGGAGATCACAATAGCGGCTGGGGACTCGATATCTGGGGCCAGGGAACACTGGTCACCGTGTCTAGTGAC AAGACCCACACCTGTCCTCCATGTCCTGCTCCAGAACTGCTCGGCGGACCTTCCGTGTTCCTGTTTCCTCCAAAGCCTAAGGACACCCTGATGATCAGCAGA ACCCCTGAAGTGACCTGCGTGGTGGTGGATGTGTCCCACGAGGATCCCGAAGTGAAGTTCAATTGGTACGTGGACGGCGTGGAAGTGCACAACGCCAAGACC AAGCCTAGAGAGGAACAGTACAATAGCACCTACAGAGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGCTGCACCAGGATTGGCTGAACGGCAAAGAGTACAAGTGCAAGGTG TCCAACAAGGCCCTGCCTGCTCCTATCGAGAAAACCATCTCCAAGGCCAAGGGCCAGCCTAGGGAACCCCAGGTTTACACACTGCCTCCAAGCAGGGACGAG CTGACAAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGCCTGGTCAAGGGCTTCTACCCTTCCGATATCGCCGTGGAATGGGAGAGCAATGGCCAGCCTGAGAACAACTAC AAGACAACCCCTCCTGTGCTGGACAGCGACGGCTCATTCTTCCTGTACAGCAAGCTGACAGTGGACAAGAGCAGATGGCAGCAGGGCAACGTGTTCAGCTGC TCCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGTCCCTGAGCCTGTCTCCTGGCAAATGAGCCACGCGTAACACGTGCATGCGAGAGATCTGA (서열 식별 번호 76).

[0267] 일부 실시 양태에서, Brolucizumab-Fc를 인코딩하는 핵산 서열이 제공되며, 서열 식별 번호 76에 표시된 핵산 서열의 전체 서열 또는 서열 식별 번호 76의 뉴클레오타이드 61-1530(Ig 카파 신호 서열을 인코딩하는 밑줄친 뉴클레오타이드 없이)과 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 또는 그 이상의 핵산 동일성을 가지는 핵산 서열을 포함한다. 관련 실시 양태에서, 본 발명의 AAV 변이체들에 의해 전달된 유전자 산물(들)은 서열 식별 번호 76의 핵산 서열 또는 그것과 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 동일한 핵산으로 이루어지는 또는 이들을 포함하는 핵산 서열에 의해 인코딩된다. 다른 관련 실시 양태에서, 본 발명의 AAV 변이체(들)에 의해 전달된 유전자 산물(들)은 다음의 아미노산 서열과 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99% 동일하거나 100% 동일한 아미노산 서열을 포함한다:

[0268] MVLQTQVFISLLLWISGAYGEIVMTQSPSTLSASVGDRVIITCQASEIIHSWLAWYQQKPGKAPKLLIYLASTLASGVPSRFSGSGSGAEFTLTISSLQPDD FATYYCQNVYLASTNGANFGQGTKLTVLGGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTASGFSLTDYYYMTWVRQAPGKGLEWVGFID PDDDPYYATWAKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAGGDHNSGWGLDIWGQGTLVTVSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDE LTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK(서열 식별 번호 77).

[0269] 다른 관련 실시 양태에서, AAV 변이체(들)은 서열 식별 번호 77의 아미노산 21-498(밑줄친 신호 펩타이드 서열 없이 Brolucizumab-Fc의 아미노산 서열에 상응함)과 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99% 동일하거나 100% 동일한 아미노산 서열을 인코딩하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 이종성 핵산을 포함한다.

[0270] 특히 바람직한 실시 양태에서, 감염성 재조합 AAV(rAAV) 비리온이 제공되고, 이는 상응하는 모 AAV 캡시드 단백질에 비해 캡시드 단백질의 GH-루프에 펩타이드 삽입을 포함하는 변이체 AAV 캡시드 단백질을 포함하며, 여기서 펩타이드 삽입은 아미노산 서열 ISDQTKH(서열 식별 번호 14) 또는 LAISDQTKHA(서열 식별 번호 28) 및 VEGF, 바람직하게는 VEGFa의 활성을 억제하는 폴리펩타이드를 인코딩하는 이종성 핵산을 포함하고, 여기서 변이체 캡시드 단백질은 망막 세포에 대한 상응하는 모 AAV 캡시드 단백질의 감염성과 비교하여 망막 세포의 증가된 감염성을 부여한다. 일부 실시 양태에서, 삽입 부위는 AAV2(서열 식별 번호 2)의 VP1의 아미노산 587과 588 또는 다른 AAV 혈청형의 캡시드 단백질에서 상응하는 위치에 상응하는 아미노산 사이에 있다. 바람직하게는, 변이체 AAV 캡시드 단백질은 또한 AAV2(서열 식별 번호 2)의 VP1 캡시드에 비해 P34A 아미노산 치환 또는 다른 AAV 혈청형의 상응하는 치환을 포함한다.

[0271] 일부 실시 양태에서, rAAV 비리온이 제공되고, 이는 (i) AAV2(서열 식별 번호 2)의 VP1의 아미노산 587과 588 또는 상응하는 모 AAV 캡시드 단백질에 비해 캡시드 단백질의 다른 AAV 혈청형의 캡시드 단백질에서 상응하는 위치에 상응하는 아미노산 사이의 펩타이드 삽입, 및 (ii) AAV2(서열 식별 번호 2)의 VP1 캡시드에 비해 P34A 아미노산 치환 또는 다른 AAV 혈청형에서 상응하는 치환, 및 Aflibercept를 인코딩하는 서열을 포함하는 이종성 핵산을 포함한다. 바람직한 실시 양태에서, Aflibercept를 인코딩하는 핵산 서열은 서열 식별 번호 65의 핵산 서열 또는 그것과 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 동일한 핵산으로 이루어지거나 또는 이들을 포함한다. 특히 바람직한 실시 양태에서, rAAV 비리온은 서열 식별 번호 42에 표시된 서열과 적어도 90% 동일하거나, 적어도 95% 동일하거나, 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 가지는 변이체 AAV 캡시드 단백질 및 서열 식별 번호 65의 핵산 서열을 포함하는 이종성 핵산을 포함하며, 여기서 변이체 캡시드 단백질은 망막 세포에 대한 상응하는 모 AAV 캡시드 단백질의 감염성과 비교하여 망막 세포의 증가된 감염성을 부여한다. 다른 관련 실시 양태에서, 이종성 핵산은 바람직하게는 Ranibizuma, sc-Ranibizumab HL, sc-Ranibizumab LH, sc-Ranibizumab-Fc, Brolucizumab 및 Brolucizumab-Fc로부터 선택되는 추가의 VEGFa 억제제를 인코딩하는 하나 이상의 서열 각각을 더 포함한다. 관련 실시 양태에서, 이러한 rAAV를 포함하는 약학적 조성물이 제공된다. 다른 관련 실시 양태에서, VEGFa-관련 안구 질병을 치료하는 방법이 제공되며, 이를 필요로 하는 대상에게 서열 식별 번호 42로 표시된 서열과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 가지는 변이체 AAV 캡시드 단백질 및 서열 식별 번호 65의 핵산 서열 및 선택적으로 각각이 별개의 VEGFa 억제제를 인코딩하는 하나 이상의 추가의 핵산 서열을 포함하는 이종성 핵산을 포함하는 유효량의 rAAV 비리온을 투여하는 것을 포함한다. rAAV는 망막 하, 맥락막 위, 국소, 전안방 내 또는 유리체 내 주입에 의해 투여될 수 있지만, 바람직하게는 유리체 내 주입을 통해 투여된다. 일부 실시 양태에서, VEGFa-관련 안구 질병은 습식(신혈관성, 삼출성) 나이-관련 황반 변성; 망막 정맥 폐색 후 황반 부종; 망막 정맥 폐색으로부터 생성된 망막 신생 혈관; 당뇨병성 황반 부종, 당뇨병성 망막증(비-증식성 당뇨병성 망막증 및 증식성 당뇨병성 망막증의 모든 단계를 포함함), 근시 황반 변성, 분지 망막 정맥 폐색, 반구-망막 정맥 폐색 및 중앙 망막 폐색; 미숙아 망막증; 특발성 맥락막 신생 혈관; 근시 황반 변성 및 2차 망막 및 맥락막 신생 혈관; 망막 모세혈관 확장증; 신혈관성 녹내장; 유리체 출혈; 이에 제한되지는 않지만, 포도막염, 외상, 망막 변성 질환, 유전적 망막 및/또는 맥락막 질병, 눈의 종양, 각막 및 홍채 신생 혈관을 포함하는 망막 질병에 대한 2차-망막 및 맥락막 신생 혈관으로부터 선택된다. 일부 바람직한 실시 양태에서, VEGFa-관련 안구 질병은 습식(신혈관성, 삼출성) 나이-관련 황반 변성; 당뇨병성 황반 부종; 망막 정맥 폐색 후 황반 부종; 당뇨병성 망막증; 및 근시 맥락막 신생 혈관으로부터 선택된다.

[0272] 일부 실시 양태에서, rAAV 비리온이 제공되고, 이는 (i) AAV2(서열 식별 번호 2)의 VP1의 아미노산 587과 588 또는 상응하는 모 AAV 캡시드 단백질에 비해 캡시드 단백질의 다른 AAV 혈청형의 캡시드 단백질에서 상응하는 위치에 상응하는 아미노산 사이의 펩타이드 삽입, 및 (ii) AAV2(서열 식별 번호 2)의 VP1 캡시드에 비해 P34A 아미노산 치환 또는 다른 AAV 혈청형의 상응하는 치환을 포함하는 변이체 AAV 캡시드 단백질 및 Ranibizumab, sc-Ranibizumab HL, sc-Ranibizumab LH 또는 sc-Ranibizumab-Fc를 인코딩하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 이종성 핵산을 포함한다. 바람직한 실시 양태에서, sc-Ranibizumab를 인코딩하는 핵산 서열은 서열 식별 번호 67, 69, 70 및 72 중 어느 하나에 표시된 핵산 서열로 구성되거나 이를 포함하거나, 그것과 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 동일하다. 특히 바람직한 실시 양태에서, rAAV 비리온이 제공되고, 이는 서열 식별 번호 42로 표시된 서열과 적어도 90% 동일하거나, 적어도 95% 동일하거나 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 가지는 변이체 AAV 캡시드 단백질 및 서열 식별 번호 67, 69, 70 및 72 중 어느 하나의 핵산 서열을 포함하는 이종성 핵산을 포함하며, 여기서 변이체 캡시드 단백질은 망막 세포에 대한 상응하는 모 AAV 캡시드 단백질의 감염성과 비교하여 망막 세포의 증가된 감염성을 부여한다. 다른 관련 실시 양태에서, 이종성 핵산은 바람직하게는 Aflibercept, Brolucizumab 및 Brolucizumab-

Fc로부터 선택되는 별개의 VEGFa 억제제를 각각 인코딩하는 하나 이상의 추가의 핵산 서열을 더 포함한다. 관련 실시 양태에서, 이러한 rAAV를 포함하는 약학적 조성물이 제공된다. 다른 관련 실시 양태에서, 상승된 안구 내 VEGFa와 관련된 눈 질병을 치료하는 방법이 제공되고, 이를 필요로 하는 대상에게 서열 식별 번호 42로 표시된 서열과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 가지는 변이체 AAV 캡시드 단백질 및 서열 식별 번호 67, 69, 70 및 72 중 어느 하나의 핵산 서열을 포함하는 이종성 핵산 서열을 포함하는 유효량의 rAAV 비리온을 투여하는 것을 포함한다. 바람직하게는, rAAV는 유리체 내 주입을 통해 투여된다. 일부 실시 양태에서, VEGFa-관련 안구 질병은 습식(신혈관성, 삼출성) 나이-관련 황반 변성; 망막 정맥 폐색 후 황반 부종; 망막 정맥 폐색으로부터 생성된 망막 신생 혈관; 당뇨병성 황반 부종, 당뇨병성 망막증(비-증식성 당뇨병성 망막증 및 증식성 당뇨병성 망막증의 모든 단계 포함), 근시 황반 변성, 분지 망막 정맥 폐색, 반구-망막 정맥 폐색 및 중앙 망막 정맥 폐색; 미숙아 망막증; 특발성 맥락막 신생 혈관; 근시 황반 변성 및 2차 망막 및 맥락막 신생 혈관; 망막 모세혈관 확장증; 신혈관성 녹내장; 유리체 출혈; 이에 제한되지는 않지만, 포도막염, 외상, 망막 변성 질환, 유전적 망막 및/또는 맥락막 질병, 눈의 종양, 각막 및 홍채 신생 혈관을 포함하는 망막 질병에 대한 2차-망막 및 맥락막 신생 혈관으로부터 선택된다. 일부 바람직한 실시 양태에서, VEGFa-관련 안구 질병은 습식(신혈관성, 삼출성) 나이-관련 황반 변성; 당뇨병성 황반 부종; 망막 정맥 폐색 후 황반 부종; 당뇨병성 망막증; 및 근시 맥락막 신생 혈관으로부터 선택된다.

[0273] 일부 실시 양태에서, rAAV 비리온이 제공되고, 이는 (i) AAV2(서열 식별 번호 2)의 VP1의 아미노산 587과 588 또는 상응하는 모 AAV 캡시드 단백질에 비해 캡시드 단백질의 다른 AAV 혈청형의 캡시드 단백질에서 상응하는 위치에 상응하는 아미노산 사이의 펩타이드 삽입, 및 (ii) AAV2(서열 식별 번호 2)의 VP1 캡시드에 비해 P34A 아미노산 치환 또는 다른 AAV 혈청형에서 상응하는 치환을 포함하는 변이체 AAV 캡시드 단백질 및 Brolucizumab 또는 Brolucizumab-Fc를 인코딩하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 이종성 핵산을 포함한다. 바람직한 실시 양태에서, Brolucizumab 또는 Brolucizumab-Fc를 인코딩하는 뉴클레오타이드 서열은 서열 식별 번호 64 또는 서열 식별 번호 76에 표시된 핵산 서열로 구성되거나 이를 포함하거나, 그것과 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 동일하다. 특히 바람직한 실시 양태에서, rAAV 비리온이 제공되고, 이는 서열 식별 번호 42로 표시된 서열과 적어도 90% 동일하거나, 적어도 95% 동일하거나 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 가지는 변이체 AAV 캡시드 단백질 및 서열 식별 번호 74 또는 74의 핵산 서열을 포함하는 이종성 핵산을 포함하며, 여기서 변이체 캡시드 단백질은 망막 세포에 대한 상응하는 모 AAV 캡시드 단백질의 감염성과 비교하여 망막 세포의 증가된 감염성을 부여한다. 다른 관련 실시 양태에서, 이종성 핵산은 바람직하게는 Aflibercept, Ranibizumab, sc-Ranibizumab HL, sc-Ranibizumab LH 및 sc-Ranibizumab-Fc로부터 선택되는 별개의 VEGFa 억제제를 각각 인코딩하는 하나 이상의 뉴클레오타이드 서열을 더 포함한다. 관련 실시 양태에서, 이러한 rAAV를 포함하는 약학적 조성물이 제공된다. 다른 관련 실시 양태에서, 상승된 안구 내 VEGFa와 관련된 눈 질병을 치료하는 방법이 제공되고, 이를 필요로 하는 대상에게 서열 식별 번호 42로 표시된 서열과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 가지는 변이체 AAV 캡시드 단백질 및 서열 식별 번호 74 또는 서열 식별 번호 76의 핵산 서열을 포함하는 이종성 핵산 서열을 포함하는 유효량의 rAAV 비리온을 투여하는 것을 포함한다. 바람직하게는, rAAV는 유리체 내 주입을 통해 투여된다. 일부 실시 양태에서, VEGFa-관련 안구 질병은 습식(신혈관성, 삼출성) 나이-관련 황반 변성; 망막 정맥 폐색 후 황반 부종; 망막 정맥 폐색으로부터 생성된 망막 신생 혈관; 당뇨병성 황반 부종, 당뇨병성 망막증(비-증식성 당뇨병성 망막증 및 증식성 당뇨병성 망막증의 모든 단계 포함), 근시 황반 변성, 분지 망막 정맥 폐색, 반구-망막 정맥 폐색 및 중앙 망막 정맥 폐색; 미숙아 망막증; 특발성 맥락막 신생 혈관; 근시 황반 변성 및 2차 망막 및 맥락막 신생 혈관; 망막 모세혈관 확장증; 신혈관성 녹내장; 유리체 출혈; 이에 제한되지는 않지만, 포도막염, 외상, 망막 변성 질환, 유전적 망막 및/또는 맥락막 질병, 눈의 종양, 각막 및 홍채 신생 혈관을 포함하는 망막 질병에 대한 2차-망막 및 맥락막 신생 혈관으로부터 선택된다. 일부 바람직한 실시 양태에서, VEGFa-관련 안구 질병은 습식(신혈관성, 삼출성) 나이-관련 황반 변성; 당뇨병성 황반 부종; 망막 정맥 폐색 후 황반 부종; 당뇨병성 망막증; 및 근시 맥락막 신생 혈관으로부터 선택된다.

[0274] 유전자 산물이 면역 조절제, 예를 들어 보체 인자, 톨-유사 수용체(toll-like receptors)로서 기능 하는 유전자를 "면역 조절 유전자(immunomodulatory genes)"라고 부른다. 예시적인 면역 조절 유전자는 사이토카인, 케모카인, 및 이들 및/또는 이들의 수용체에 대해 특이적인, 예를 들면 항 IL-6 융합 단백질 Rilonacept™, 보체 인자 H 특이 항체 람파미주맙(lampamizumab) 등과 같은 융합 단백질 또는 항체를 포함한다. 유전자 산물이 신경 보호 인자로서 기능 하는 유전자, 예를 들어 혈소판 유래 성장 인자 수용체(PDGFR); 교질 세포 유래 신경 영양 인자(GDNF); 간상체 유래 추상체 생존 능력 인자(rod-derived cone viability factor)(RdCVF); 섬유 모세포 성장 인자(FGF); 뉴투린(neurturin(NTN); 모양체 신경 영양 인자(ciliary neurotrophic factor)(CNTF); 신경 성

장 인자(NGF); 뉴로트로핀-4(NT4); 뇌 유래 신경 영양 인자(BDNF); 표피 성장 인자를 포함한다. 유전자 산물이 광 반응 옵신으로서 기능 하는 유전자, 예를 들면, 옵신; 로돕신; 채널 로돕신; 할로 로돕신을 포함한다.

[0275] 몇몇 경우, 목적 유전자 산물은 부위 특이적 엔도뉴클레아제이며, 예를 들어, 엔도뉴클레아제가 망막 질병과 관련된 대립 유전자를 녹아웃 하는 경우와 같이, 유전자 기능의 부위 특이적 녹-다운을 제공한다. 예를 들어, 지배적인 대립 유전자가 야생형일 때 망막 구조 단백질이거나 정상 망막 기능을 제공하는 유전자의 결함 있는 복제를 인코드하는 경우, 부위 특이적 엔도뉴클레아제가 결함 있는 대립 유전자를 표적으로 삼아 녹-아웃 할 수 있다.

[0276] 결함 있는 대립 유전자를 녹아웃 하는 것 이외에도, 부위 특이적 뉴클레아제를 사용하여 결함 있는 대립 유전자에 의해 인코드되는 단백질의 기능적 복제를 인코드하는 공여자 DNA와 동종 재조합을 자극할 수 있다. 따라서, 예를 들어, 본 발명의 rAAV 비리온은 결함 있는 대립 유전자를 녹아웃 하는 부위 특이적 엔도뉴클레아제를 전달하는 데 사용될 수 있으며, 결함 있는 대립 유전자의 기능적 복제를 전달하는데 사용하여 결함 있는 대립 유전자의 수리를 유도함으로써, 기능성 망막 단백질(예를 들어, 기능성 레티노시신(retinoschisin), 기능성 RPE65, 기능성 페리페린(peripherin) 등)의 생산을 제공한다. 예를 들어, Li et al. (2011) *Nature* 475:217 참고. 일부 실시 양태에서, 본원에 개시된 rAAV 비리온은 부위 특이적 엔도뉴클레아제를 인코드하는 이종 뉴클레오타이드 서열; 및 기능적 복제가 기능성 망막 단백질을 인코드하는 경우, 결함 있는 대립 유전자의 기능적 복제를 인코드하는 이종 뉴클레오타이드 서열을 포함한다. 기능성 망막 단백질은 예를 들어, 레티노시신, RPE65, 색소성 망막염 GTPase 조절 인자(RGPR)-상호 작용 단백질-1, 페리페린, 페리페린-2 등을 포함한다.

[0277] 사용에 적합한 부위 특이적 엔도뉴클레아제는, 예를 들어, 메가뉴클레아제; 아연 핑커 뉴클레아제(ZFN); 전사 활성제-유사체 뉴클레아제(TALEN); 이러한 부위 특이적 엔도뉴클레아제가 자연 발생적이지 않고 특정 유전자를 표적으로 하도록 변형된, 일정한 간격으로 분포하는 짧은 DNA 염기 반복 서열(Clusterd regularly interspaced short palindromic repeats)/CRISPR-연관(Cas)을 포함한다. 이러한 부위 특이적 뉴클레아제는 게놈 내의 특정 부위를 절단하도록 조작될 수 있으며, 비-동종 말단 결합은 몇몇 뉴클레오타이드를 삽입 또는 삭제하는 동안 파손(break)을 수리할 수 있다. 그런 다음 해당 부위 특이적 엔도뉴클레아제("INDEL"이라고도 함)는 단백질을 프레임 밖으로 던져 효과적으로 유전자를 녹아웃 시킨다. 예를 들어, 미국 특허 공개 번호 제2011/0301073호를 참고.

[0278] 본원에 개시된 변이체 rAAV 벡터의 일부 실시 양태에서, 관심 있는 유전자 산물을 인코딩하는 뉴클레오타이드 서열이 구조 프로모터에 작동 가능하게 연결된다. 적절한 구조 프로모터는 예를 들어, 거대 세포 바이러스 프로모터(CMV)(Stinski et al. (1985) *Journal of Virology* 55(2):431-441), CMV 조기 인핸서(enhancer)/ 닭 β-액틴(CBA) 프로모터/토끼 β-글로빈 인트론(CAG)(Miyazaki et al. (1989) *Gene* 79(2): 269-277, CB^{SB}(Jacobson et al. (2006) *Molecular Therapy* 13(6):1074-1084), 인간 신장 인자 1α 프로모터(EF1α)(Kim et al. (1990) *Gene* 91(2):217-223), 인간 포스포글리세르산 키나아제 프로모터(PGK)(Singer-Sam et al. (1984) *Gene* 32(3):409-417, 미토콘드리아 중쇄 가닥 프로모터(Loderio et al. (2012) *PNAS* 109(17):6513-6518), 유비퀴틴 프로모터(Wulff et al. (1990) *FEBS Letters* 261:101-105) 참고. 다른 실시 양태에서, 관심 있는 유전자 산물을 인코딩하는 뉴클레오타이드 서열은 유도성 프로모터에 작동 가능하게 연결된다. 일부 예에서, 관심 있는 유전자 산물을 인코딩하는 뉴클레오타이드 서열은 조직-특이적 또는 세포 유형-특이적 조절 요소에 작동 가능하게 연결된다. 예를 들어, 일부 예에서, 관심 있는 유전자 산물을 인코딩하는 뉴클레오타이드 서열은 광 수용체-특이적 조절 요소(예를 들어, 광 수용체-특이적 프로모터), 예를 들어, 광 수용체 세포에 작동 가능하게 연결된 유전자의 선택적 발현을 부여하는 조절 요소에 작동 가능하게 연결된다. 적합한 광 수용체-특이적 조절 요소는 예를 들어, 로돕신 프로모터; 로돕신 키나아제 프로모터(Young et al. (2003) *Ophthalmol. Vis. Sci.*44:4076); 베타 포스포디에스테라제 유전자 프로모터(Nicoud et al. (2007) *J. Gene Med.* 9:1015); 색소성 망막염 유전자 프로모터(Nicoud et al. (2007) 앞에(supra) 참조); 광 수용체 간(interphotoreceptor) 레티노이드-결합 단백질(IRBP) 유전자 인핸서(Nicoud et al. (2007) 앞에 참조); IRBP 유전자 프로모터(Yokoyama et al. (1992) *Exp Eye Res.*55:225), 옵신 유전자 프로모터(Tucker et al. (1994) *PNAS* 91:2611-2615), 레티노시신 유전자 프로모터(Park et al. (2009) *Gene Therapy* 16(7):916-926), CRX 호메오도메인 단백질 유전자 프로모터(Furukawa et al. (2002) *The Journal of Neuroscience* 22(5):1640-1647), 구아닌 뉴클레오타이드 결합 단백질 알파 형질 도입 활성 폴리펩타이드 1(GNAT1) 유전자 프로모터(Lee et al. (2010) *Gene Therapy* 17:1390-1399), 신경 망막-특이적 루신 지퍼 단백질(NRL) 유전자 프로모터(Akimoto et al. (2006) *PNAS* 103(10):3890-3895), 인간 콘 아레스틴(arrestin)(hCAR) 프로모터(Li et al. (2002) *Biochemistry and Molecular Biology* 43:1375-1383) 및 PR2.1, PR1.7, PR1.5 및 PR1.1 프로모터(Ye et al. (2016) *Human Gene Therapy* 27(1):72-82)) 참고. 일부 경우

에서, 관심 있는 유전자 산물을 인코딩하는 뉴클레오타이드 서열은 망막 색소 상피(RPE) 세포-특이적 조절 요소(예를 들어, RPE-특이적 프로모터), 예를 들어, RPE 세포에 작동 가능하게 연결된 유전자의 선택적 발현을 부여하는 조절 요소에 작동 가능하게 연결된다. 적합한 RPE-특이적 조절 요소는 예를 들어, RPE65 유전자 프로모터(Meur et al. (2007) *Gene Therapy* 14:292-303), 세포 레틴알데히드-결합 단백질(CRALBP) 유전자 프로모터(Kennedy et al. (1998) *Journal of Biological Chemistry* 273:5591-5598), 색소 상피-유도 인자(PEDF 일명, 세르핀 F1) 유전자 프로모터(Kojima et al. (2006) *Molecular and Cellular Biochemistry* 293(1-2):63-69) 및 노른자 모양 황반 이영양증(VMD2) 프로모터(Esumi et al. (2004) *The Journal of Biological Chemistry* 279(18):19064-19073)를 포함한다. 일부 예에서, 관심 있는 유전자 산물을 인코딩하는 뉴클레오타이드 서열은 뮐러 교질 세포-특이적 조절 요소(예를 들어, 교질 세포-특이적 프로모터), 예를 들어, 망막 교질 세포에 작동 가능하게 연결된 유전자의 선택적 발현을 부여하는 조절 요소에 작동 가능하게 연결된다. 적절한 교질 세포-특이적 조절 요소는 예를 들어, 교질 세포 섬유질 산성 단백질(GFAP) 프로모터(Besnard et al. (1991) *Journal of Biological Chemistry* 266(28):18877-18883)을 포함한다. 일부 예에서, 관심 있는 유전자 산물을 인코딩하는 뉴클레오타이드 서열은 양극성 세포-특이적 조절 요소(예를 들어, 양극성-특이적 프로모터), 예를 들어, 양극성 세포에 작동 가능하게 연결된 유전자의 선택적 발현을 부여하는 조절 요소에 작동 가능하게 연결된다. 적합한 양극-특이적 조절 요소는 예를 들어, GRM6 프로모터(Cronin et al. (2014) *EMBO Molecular Medicine* 6(9):1175-1190)를 포함한다.

[0279] 본 발명의 목적을 위해, 본원의 개시는 전술한 바와 같은 변이체 AAV 캡시드 단백질을 인코드하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 단리된 핵산을 제공한다. 단리된 핵산은 AAV 벡터, 예를 들어, 재조합 AAV 벡터일 수 있다.

[0280] 본원의 개시는 또한 망막 질병을 치료하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 본원에 기술되고 개시된 바와 같은 관심 있는 이식 유전자를 포함하는 유효량의 rAAV 변이 비리온을 그것을 필요로 하는 개체에게 투여하는 것을 포함한다. 당업자는 본 발명의 rAAV 비리온의 유효량을 용이하게 결정할 수 있고, 하나 이상의 기능적 또는 해부학적 파라미터, 예를 들어 시력, 시야, 전기 생리학적 명암 반응성, 색각, 대비 민감도, 해부학, 망막 건강 및 혈관 계통, 안구 운동성, 주시 선호 및 안정성의 변화를 시험함으로써 질병이 치료된다.

[0281] 망막 기능과 그 변화를 평가하기 위한 비 제한적인 방법은 시력 평가(예를 들어, 최대 교정시력[BCVA], 보행, 항법, 대상물 탐지 및 차별), 시야 평가(예를 들어, 정적 및 운동 시야 측정), 임상 검사 수행(예를 들어, 전안부 및 후 안부의 슬릿 램프 검사), 모든 파장의 명암에 대한 전기 생리학적 반응성 평가(예를 들어, 모든 형태의 망막 전위도 검사(ERG)[전체-시야, 다초점 및 패턴], 모든 형태의 시각 유발 전위(VEP), 안 전위 검사(EOG), 색각, 암순응 및/또는 대비 민감도를 포함한다. 해부학 및 망막 건강 및 그 변화를 평가하기 위한 비 제한적인 방법으로는 광 간섭 단층촬영(OCT), 안저 촬영, 적응성 광학 스캐닝 레이저 검안경 검사(AO-SLO), 형광 및/또는 자가 형광; 시각 운동성 및 눈 움직임(예를 들어, 안진증(nystagmus), 주시 선호) 및 안정성)을 측정, 보고 결과(시각 유도 및 비시각적 유도 거동 및 활성에서의 환자-보고 변화, 환자-보고 결과[PRO], 삶의 질, 1일 활동 및 신경 기능의 척도에 대한 설문지 기반 평가(예를 들어, 기능성 자기 공명 영상(MRI))를 평가하는 것을 포함한다.

[0282] 일부 실시 양태에서, 유효량의 본 발명의 rAAV 비리온은 망막 기능, 해부학적 완전성 또는 망막 건강의 손실률을, 예를 들어 손실률의 감소, 따라서 질병의 진행의 감소를 2배, 3배, 4배 또는 5배 줄이고, 예를 들어, 손실률의 감소 및 따라서 질병의 진행 속도의 10배 이상 줄일 수 있다. 일부 실시 양태에서, 본 발명의 rAAV 비리온의 유효량은 시각 기능, 망막 기능, 망막 해부학 또는 건강의 개선, 및/또는 안구 운동성 및/또는 신경 기능의 개선을, 예를 들어 망막 기능, 망막 해부학 또는 건강 및/또는 안구 운동성의 개선에서 2배, 3배, 4배 또는 5배 개선 이상, 예를 들어, 망막 기능, 망막 해부학 또는 건강에서 및/또는 안구 운동성의 개선에서 10배 이상의 개선을 얻게 한다. 당업자가 용이하게 이해할 수 있는 바와 같이, 요망한 치료 효과를 달성하기 위해 요구되는 투여량은 전형적으로 $1x10^{8}$ 내지 약 $1x10^{15}$ 재조합 비리온의 범위일 것이며, 전형적으로 당업자에 의해 $1x10^{8}$ 내지 약 $1x10^{15}$ "벡터 게놈"으로 지칭된다.

[0283] 본 발명의 rAAV 비리온은 예를 들어, 유리체 내 주입, 망막 하 주입, 맥락막 위 주입에 의한 안구 내 주입 또는 rAAV 비리온의 눈으로의 전달을 초래할 임의의 다른 편리한 모드 또는 투여 경로에 의해 투여될 수 있다. 다른 편리한 맨세스토드(mancestode) 또는 투여 경로로는 정맥 내, 동맥 내, 안구 주위, 전 안방 내, 결막 하 및 테논 하(sub-tenons) 주입 및 국소 투여 및 비강 내 투여가 포함되지만, 이에 제한되는 것은 아니다. 유리체 내 주입을 통해 투여될 때, 본 발명의 rAAV 비리온은 유리체를 통해 이동할 수 있고, 내부 한계막(본원에서는 내부 한계막, 또는 "ILM"으로 지칭되고; 망막과 유리체 사이에 경계를 형성한 망막 표면상의 얇고 투명한 무 세포

(acellular)막으로, 성상 세포 및 뮐러 세포 엔드-피트(end-feet)로 형성)을 통과하고, 및/또는 상응하는 모 AAV 캡시드 단백질을 포함하는 AAV 비리온의 능력과 비교하여 보다 효율적으로 망막 층을 통과하여 이동한다.

[0284] 본원에 개시된 변이체 캡시드 단백질은 단리, 예를 들어, 정제된다. 일부 실시 양태에서, 본원에 개시된 변이체 캡시드 단백질은 AAV 벡터 또는 재조합 AAV(rAAV) 비리온에 포함된다. 다른 실시 양태에서, 이러한 AAV 변이체 벡터 및/또는 AAV 변이체 비리온은 영장류 망막에서 안구 질병을 치료하는 *생체내* 또는 *생체 외* 방법에 사용된다.

[0285] 본원의 개시는 추가로, 제한 없이, 대상 핵산을 포함하는 단리된(유전적으로 변형된) 숙주 세포와 같은 숙주 세포를 제공한다. 본원에 개시된 본 발명에 따른 숙주 세포는 *시험관 내* 세포 배양으로부터의 세포와 같은 단리된 세포 일 수 있다. 이러한 숙주 세포는 본원에 기술된 바와 같이 본 발명의 rAAV 변이체 비리온을 생산하는데 유용하다. 일 실시 양태에서, 이러한 숙주 세포는 핵산으로 안정적으로 유전적으로 변형된다. 다른 실시 양태에서, 숙주 세포는 핵산으로 일시적으로 유전적으로 변형된다. 이러한 핵산은 제한 없이, 전기 천공법, 인산칼슘 침전법, 리포솜-매개 형질 주입 등을 포함하는 확립된 기술을 사용하여 숙주 세포 내로 안정적으로 또는 일시적으로 도입된다. 안정한 형질 전환을 위해, 핵산은 일반적으로 선별 마커, 예를 들어, 네오마이신 내성과 같은 몇몇 잘 알려진 선별 마커 중 임의의 것을 포함할 것이다. 이러한 숙주 세포는 임의의 다양한 세포, 예를 들어, 쥐 세포 및 영장류 세포(예를 들어, 인간 세포)를 비롯한 포유류 세포 중 임의의 세포에 핵산을 도입함으로써 생성된다. 예시적인 포유류 세포는 1차 세포 및 세포주를 포함하지만 이에 제한되지 않고, 예시적 세포주는 293 세포, COS 세포, HeLa 세포, Vero 세포, 3T3 마우스 섬유 모세포, C3H10T1/2 섬유 모세포, CHO 세포 등을 포함하지만 이에 제한되지는 않는다. 예시적인 숙주 세포로는, 제한적이지 않지만, HeLa 세포(예를 들어, American Type Culture Collection (ATCC) No. CCL-2), CHO 세포(예를 들어, ATCC Nos. 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. CCLI.3), 인간 배아 신장(HEK) 세포(ATCC No. CRL1573), HLHepG2 세포 등을 포함한다. 숙주 세포는 AAV를 생성하는 Sf9 세포와 같은 곤충 세포를 감염시키기 위해 바큘로 바이러스(baculovirus)를 사용하여 제조될 수 있다(예를 들어, 미국 특허 제7,271,002호; 미국 특허 출원 제12/297,958호). 일부 실시 양태에서, 유전자적으로 변형된 숙주 세포는 전술한 바와 같은 변이체 AAV 캡시드 단백질을 인코딩하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 핵산 이외에, 하나 이상의 AAV rep 단백질을 인코딩하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 핵산을 포함한다. 다른 실시 양태에서, 숙주 세포는 rAAV 변이체 벡터를 더 포함한다. 이러한 숙주 세포를 사용하여 rAAV 변이체 바이러스를 생성할 수 있다. rAAV 비리온을 생성하는 방법은 예를 들어, 미국 특허 공개 제2005/0053922호 및 미국 특허 공개 제2009/0202490호에 기재되어 있다.

[0286] 본원의 개시는 추가로 a) 상기에서 기술되고 본원에 개시된 바와 같은, rAAV 변이체 비리온, 및 b) 약학적으로 허용 가능한 담체, 희석제, 부형제 또는 완충제를 포함하는 약학적 조성물을 제공한다. 일부 실시 양태에서, 약학적으로 허용 가능한 담체, 희석제, 부형제 또는 완충제는 인간 또는 비인간 환자에서의 사용에 적합하다. 이러한 부형제, 담체, 희석제 및 완충제는 과도한 독성 없이 투여될 수 있는 임의의 약제를 포함한다. 약학적으로 허용 가능한 부형제는 물, 식염수, 글리세롤 및 에탄올과 같은 액체를 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 약학적으로 허용되는 염, 예를 들어 염산염, 브롬산염, 인산염, 황산염 등과 같은 광물산염; 및 아세트산염, 프로피온산염, 말론산염, 벤조산염 등과 같은 유기산의 염이 포함될 수 있다. 부가적으로, 습윤제 또는 유화제, 계면활성제, pH 완충 물질 등과 같은 보조 물질이 이러한 비히클에 존재할 수 있다. 매우 다양한 약학적으로 허용 가능한 부형제가 당업계에 공지되어 있으며 본원에서 상세히 논의할 필요는 없다. 약학적으로 허용 가능한 부형제는 예를 들어, 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., 7^{th} ed., Lippincott, Williams, & Wilkins; 및 Handbook of Pharmaceutical Excipients(2000) A. H. Kibbe et al., eds., 3^{rd} ed. Amer. Pharmaceutical Assoc.를 포함하는 다양한 출판물에 충분하게 기술되어 있다. 본 발명의 일부 양태에서, 본 발명은 약 $1x10^{8}$ 내지 약 $1x10^{15}$ 재조합 바이러스 또는 $1x10^{8}$ 내지 약 $1x10^{15}$ 벡터 게놈을 포함하는 약학적 조성물을 제공하고, 여기서 각각의 상기 재조합 바이러스는 하나 이상의 유전자 산물을 인코딩하는 게놈을 포함한다.

[0287] 본 발명의 일부 실시 양태는 하기 항목 1 내지 36에 예시된다:

[0288] 1. 상응하는 모 AAV 캡시드 단백질에 비해 캡시드 단백질의 GH-루프에 펩타이드 삽입을 포함하는 변이체 AAV 캡

시드 단백질이며, 상기 펩타이드 삽입은 아미노산 서열 ISDQTKH(서열 식별 번호 14)을 포함하며, 상기 변이체 캡시드 단백질은 망막 세포에 대한 상응하는 모 AAV 캡시드 단백질의 감염성과 비교하여 망막 세포의 증가된 감염성 부여한다.

[0289] 2. 항목 1의 변이체 AAV 캡시드 단백질이며, 상기 펩타이드 삽입은 아미노산 서열 Y_1Y_2ISDQTKHY_3을 포함하며, 각각의 Y_1-Y_3은 독립적으로 Ala, Leu, Gly, Ser, Thr 및 Pro로부터 선택된다.

[0290] 3. 항목 2의 변이체 AAV 캡시드 단백질이며, 상기 펩타이드 삽입은 아미노산 서열 LAISDQTKHA(서열 식별 번호 28)를 포함한다.

[0291] 4. 항목 1 내지 항목 3 중 어느 한 항목의 변이체 AAV 캡시드 단백질이며, 삽입 부위가 AAV2(서열 식별 번호 2)의 VP1의 아미노산 587과 588 또는 다른 AAV 혈청형의 캡시드 단백질에서 상응하는 위치에 상응하는 아미노산 사이에 있다.

[0292] 5. 항목 1 내지 항목 4 중 어느 한 항목의 변이체 AAV 캡시드 단백질이며, 상기 캡시드 단백질은 AAV2(서열 식별 번호 2)의 VP1 캡시드에 비해 하나 이상의 아미노산 치환 또는 다른 AAV 혈청형의 하나 이상의 상응하는 치환을 포함한다.

[0293] 6. 항목 1 내지 항목 5 중 어느 한 항목의 변이체 AAV 캡시드 단백질이며, 상기 캡시드 단백질은 AAV2(서열 식별 번호 2)의 VP1 캡시드에 비해 P34A 아미노산 치환 또는 다른 AAV 혈청형의 상응하는 치환을 포함한다.

[0294] 7. 항목 1 내지 항목 6 중 어느 한 항목의 변이체 AAV 캡시드 단백질이며, 상기 캡시드 단백질은 (i) 아미노산 서열 ISDQTKH(서열 식별 번호 14) 및 (ii) P34A 아미노산 치환을 포함하며, 서열 식별 번호 42로 표시된 서열과 적어도 90% 동일하거나, 적어도 95% 동일하거나, 적어도 99% 동일하다.

[0295] 8. 항목 7의 변이체 AAV 캡시드 단백질이며, 상기 캡시드 단백질은 서열 식별 번호 42로 표시된 아미노산 서열로 본질적으로 구성된다.

[0296] 9. 항목 1 내지 8 중 어느 하나의 변이체 AAV 캡시드 단백질 및 유전자 산물을 인코딩하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 이종성 핵산을 포함하는 재조합 AAV(rAAV)비리온이다.

[0297] 10. 항목 9의 rAAV이며, 상기 유전자 산물은 폴리펩타이드이다.

[0298] 11. 항목 10의 rAAV이며, 상기 이종성 핵산은 혈관 내피 성장 인자(VEGF)의 활성을 억제하는 폴리펩타이드를 인코딩하는 뉴클레오타이드 서열을 포함한다.

[0299] 12. 항목 11의 rAAV이며, 상기 뉴클레오타이드 서열은 융합 단백질을 인코드한다.

[0300] 13. 항목 12의 rAAV이며, 상기 뉴클레오타이드 서열은 Aflibercept(Eylea)를 인코드한다.

[0301] 14. 항목 13의 rAAV이며, 상기 뉴클레오타이드 서열은 서열 식별 번호 65로 표시된 핵산 또는 서열 식별 번호 65의 뉴클레오타이드 79-1377과 적어도 90% 동일하거나, 적어도 95% 동일하거나, 적어도 99% 동일하며, 바람직하게는 서열 식별 번호 66으로 표시된 아미노산 서열 또는 서열 식별 번호 66의 아미노산 27-458을 인코드한다.

[0302] 15. 항목 11의 rAAV이며, 상기 뉴클레오타이드 서열은 단일 클론 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 인코드한다.

[0303] 16. 항목 15의 rAAV이며, 상기 뉴클레오타이드 서열은 Ranibizumab (Lucentis)를 인코드한다.

[0304] 17. 항목 15의 rAAV이며, 상기 뉴클레오타이드 서열은 (i) 서열 식별 번호 67(sc-Ranibizumab HL) 또는 서열 식별 번호 67의 뉴클레오타이드 58-1575과 적어도 90% 동일하거나, 적어도 95% 동일하거나, 적어도 99% 동일한 서열을 포함하고 서열 식별 번호 68로 표시된 아미노산 서열을 인코드하고, 또는 (ii) 서열 식별 번호 68의 아미노산 20-524의 아미노산 서열을 인코드한다.

[0305] 18. 항목 15의 rAAV이며, 상기 뉴클레오타이드 서열은 (i) 서열 식별 번호 69(sc-Ranibizumab LH1) 또는 서열 식별 번호 70(sc-Ranibizumab LH2)의 서열 또는 서열 식별 번호 69 또는 서열 식별 번호 70의 뉴클레오타이드 61-1578과 적어도 90% 동일하거나, 적어도 95% 동일하거나, 적어도 99% 동일한 서열을 가지며 서열 식별 번호 71로 표시된 아미노산 서열을 인코드하고, 또는 (ii) 서열 식별 번호 71의 아미노산 21-525의 아미노산 서열을 인코드한다.

[0306] 19. 항목 15의 rAAV이며, 상기 뉴클레오타이드 서열은 (i) 서열 식별 번호 72(sc-Ranibizumab-Fc) 또는 서열 식별 번호 72의 뉴클레오타이드 61-2277과 적어도 90% 동일하거나, 적어도 95% 동일하거나, 적어도 99% 동일한

서열을 가지며 서열 식별 번호 73으로 표시된 아미노산 서열을 인코드하고, 또는 (ii) 서열 식별 번호 73의 아미노산 21-752의 아미노산 서열을 인코드한다.

[0307] 20. 항목 15의 rAAV이며, 상기 뉴클레오타이드 서열은 Brolucizumab를 인코드한다.

[0308] 21. 항목 20의 rAAV이며, 상기 뉴클레오타이드 서열은 서열 식별 번호 74로 표시된 핵산 서열 또는 서열 식별 번호 74의 뉴클레오타이드 61-816과 적어도 90% 동일하거나, 적어도 95% 동일하거나, 적어도 99% 동일한 서열을 가지며, 바람직하게는 서열 식별 번호 75로 표시된 아미노산 서열 또는 서열 식별 번호 75의 아미노산 서열 21-271의 아미노산 서열을 인코드한다.

[0309] 22. 항목 15의 rAAV이며, 상기 뉴클레오타이드 서열은 (i) 서열 식별 번호 76(Brolucizumab-Fc) 또는 서열 식별 번호 76의 서열 또는 서열 식별 번호 76의 뉴클레오타이드 61-1530과 적어도 90% 동일하거나, 적어도 95% 동일하거나, 적어도 99% 동일한 서열을 가지며 서열 식별 번호 77로 표시된 아미노산 서열을 인코드하고, 또는 (ii) 서열 식별 번호 77의 아미노산 21-498의 아미노산 서열을 인코드한다.

[0310] 23. 항목 15의 rAAV이며, 상기 이종성 핵산은 (i) Aflibercept를 인코딩하는 서열을 포함하고, 바람직하게는, 상기 Aflibercept를 인코딩하는 서열은 서열 식별 번호 65로 표시된 핵산 서열과 적어도 90% 동일하거나, 적어도 95% 동일하거나, 적어도 99% 동일하며 서열 식별 번호 66으로 표시된 아미노산 서열을 인코드하며, (ii) Brolucizumab를 인코딩하는 서열을 포함하고, 바람직하게는, 상기 Brolucizumab를 인코딩하는 서열은 서열 식별 번호 74 또는 서열 식별 번호 76으로 표시된 핵산 서열과 적어도 90% 동일하거나, 적어도 95% 동일하거나, 적어도 99% 동일하며 바람직하게는, 서열 식별 번호 75 또는 서열 식별 번호 77로 표시된 아미노산 서열을 인코드한다.

[0311] 24. 항목 9 내지 항목 23 중 어느 한 항목의 rAAV이며, 유전자 산물을 인코딩하는 뉴클레오타이드 서열은 발현 제어 서열에 작동 가능하게 연결된다.

[0312] 25. 항목 11 내지 항목 24 중 어느 하나의 rAAV 및 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는 약학적 조성물.

[0313] 26. 항목 11 내지 항목 24 중 어느 하나의 rAAV 비리온 또는 항목 24의 약학적 조성물을 대상에게 투여하는 것을 포함하는, 대상의 망막 세포, 맥락막 세포, 수정체 세포, 모양체 세포, 홍채 세포, 시신경 세포 및/또는 각막 세포에 VEGF 억제제를 전달하기 위한 방법.

[0314] 27. 항목 26의 방법이며, rAAV 비리온 또는 약학적 조성물은 대상에게 유리체 내 투여된다.

[0315] 28. 항목 11 내지 항목 24 중 어느 하나의 rAAV 또는 항목 25의 약학적 조성물의 유효량을 대상에게 투여함으로써 VEGFa-관련 안구 질병을 치료하는 방법이며, 상기 VEGFa-관련 안구 질병은 이러한 치료를 필요로 하는 대상에서 습식(신혈관성, 삼출성) 나이-관련 황반 변성; 망막 정맥 폐색 후 황반 부종; 망막 정맥 폐색으로부터 생성된 망막 신생 혈관; 당뇨병성 황반 부종, 당뇨병성 망막증(비-증식성 당뇨병성 망막증 및 증식성 당뇨병성 망막증의 모든 단계를 포함함); 근시 황반 변성; 분지 망막 정맥 폐색, 반-망막 정맥 폐색 및 중앙 망막 정맥 폐색; 미숙아 망막증; 특발성 맥락막 신생 혈관; 근시 황반 변성 및 2차 망막 및 맥락막 신생 혈관; 망막 모세 혈관 확장증; 신혈관성 녹내장; 유리체 출혈; 이에 제한되지는 않지만, 포도막염, 외상, 망막 변성 질환, 유전적 망막 및/또는 맥락막 질병, 눈의 종양, 각막 및 홍채 신생 혈관을 포함하는 망막 질병에 대한 2차-망막 및 맥락막 신생 혈관으로부터 선택된다.

[0316] 29. 항목 28의 방법이며, VEGFa-관련 안구 질병은 습식(신혈관성, 삼출성) 나이-관련 황반 변성; 당뇨병성 황반 부종; 망막 정맥 폐색 후 황반 부종; 당뇨병성 망막증; 및 근시 맥락막 신생 혈관으로부터 선택된다.

[0317] 30. 항목 26 내지 항목 29 중 어느 한 항목의 방법이며, rAAV는 서열 식별 번호 42로 표시된 아미노산 서열로 본질적으로 이루어지는 캡시드 단백질 및 Aflibercept를 인코딩하는 서열을 포함하는 이종성 핵산을 포함하며, 바람직하게는 상기 Aflibercept를 인코딩하는 서열은 서열 식별 번호 65에 표시된 서열을 갖는다.

[0318] 31. 항목 26 내지 항목 29 중 어느 한 항목의 방법이며, rAAV는 서열 식별 번호 42로 표시된 아미노산 서열로 본질적으로 이루어지는 캡시드 단백질 및 Ranibizumab, sc-Ranibizumab HL, sc-Ranibizumab LH 또는 sc-Ranibizumab-Fc를 인코딩하는 서열을 포함하는 이종성 핵산을 포함하며, 바람직하게는 상기 Ranibizumab, sc-Ranibizumab HL, sc-Ranibizumab LH 또는 sc-Ranibizumab-Fc를 인코딩하는 서열은 서열 식별 번호 67, 69, 70 및 72 중 어느 하나에 표시된 서열을 갖는다.

[0319] 32. 항목 26 내지 항목 29 중 어느 한 항목의 방법이며, rAAV는 서열 식별 번호 42로 표시된 아미노산 서열로

본질적으로 이루어지는 캡시드 단백질 및 Brolicizumab 또는 Brolicizumab-Fc를 인코딩하는 서열을 포함하는 이종성 핵산을 포함하며, 바람직하게는 상기 Brolicizumab 또는 Brolicizumab-Fc를 인코딩하는 서열은 서열 식별 번호 74 또는 서열 식별 번호 76에 표시된 서열을 갖는다.

[0320] 33. 항목 28 내지 항목 32 중 어느 한 항목의 방법이며, rAAV 또는 약학적 조성물이 대상에게 유리체 내 투여된다.

[0321] 34. 항목 26 내지 33 중 어느 하나의 방법이며, 상기 대상은 인간이다.

[0322] 35. 항목 1 내지 항목 8 중 어느 하나의 변이체 AAV 캡시드 단백질을 인코드는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 단리된 핵산.

[0323] 36. 항목 35의 핵산을 포함하는 단리된, 유전적으로 변형된 숙주 세포.

[0324] 실시예

[0325] 하기 실시예들은 본 발명을 구성하고 이용하는 방법에 대한 완전한 개시 및 설명을 당업자에게 제공하기 위해 개시되며, 본 발명자가 이러한 발명으로 간주하는 범위를 제한하기 위한 것이 아니며, 하기 실험이 전부이거나 수행된 유일한 실험임을 나타내기 위한 것도 아니다. 사용된 숫자(예를 들어, 양, 온도 등)와 관련하여 정확성을 보장하려고 노력하였지만, 일부 실험적 오류 및 편차는 고려되어야 한다. 달리 언급되지 않는 한, 부(part)는 중량부(part by weight)이고, 분자량은 중량 평균 분자량이고, 온도는 섭씨온도이고, 압력은 대기압 또는 거의 대기압이다.

[0326] 분자 및 세포 생화학의 일반적인 방법은 문헌[Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 3rd Ed.(Sambrook et al., Harbor Laboratory Press 2001)]; 문헌[Short Protocols in Molecular Biology, 4th Ed.(Ausubel et al. eds., John Wiley & Sons 1999)]; 문헌[Protein Methods(Bollag et al., John Wiley & Sons 1996)]; 문헌[Nonviral Vectors for Gene Therapy(Wagner et al. eds., Academic Press 1999)]; 문헌[Viral Vectors(Kaplift & Loewy eds., Academic Press 1995)]; 문헌[Immunology Methods Manual(I. Lefkovits ed., Academic Press 1997)]; 및 문헌[Cell and Tissue Culture: Laboratory Procedures in Biotechnology (Doyle & Griffiths, John Wiley & Sons 1998)]과 같은 표준 교제에서 찾아볼 수 있으며, 이의 개시 내용은 본원에 참고로 포함된다. 이 개시 내용에서 언급된 유전자 조작을 위한 시약, 클로닝 벡터 및 키트는 BioRad, Stratagene, Invitrogen, Sigma-Aldrich 및 ClonTech와 같은 상업적 공급자로부터 입수 가능하다.

[0327] 실시예 1

[0328] 유리체 내 주입 및 조직 수확. 체중이 4kg 이상인 4세 내지 10세의 단일 시노몰구스 마카크(cynomolgus macaque)(*macaca fascicularis*)를 공막을 통한 유리체 내 주입(인체 사용에 적합한 절차 및 전달 장치를 사용하여 연곽(limbus) 후방 약 3mm)을 통해 투여하였다. 동물에 국소 마취제를 투입하여 마취시키고, 100μL의 라이브러리를 각 눈에 투여하였다.

[0329] 안락사는 14±3일째에 3mg/kg의 펜토바르비탈 나트륨(pentobarbital sodium) 정맥 주입을 사용하여 숙련된 수의사가 수행하였다. 눈은 응집(nucleated)되고, 해부할 때까지 4℃에 보관되었다.

[0330] 조직 해부. 메스(scalpel)로 망막 거상연(ora serrata)을 따라 눈을 절개하고, 전 안부(anterior segment)를 제거했다. 망막이 편평하게 장착될 수 있도록 중심와(fovea) 주위의 망막에 릴리프 컷(relief cut)을 실시하고 유리체를 제거하였다. 도 2에 도시된 바와 같이, 각 사분면(상부, 하부, 비강 및 측두)으로부터 6개의 망막 샘플을 수집하고, RPE 세포, 광 수용체, 양극 세포, 무축삭 세포, 수평 세포 및/또는 신경절 세포에 상응하는 세포 물질을 단리하였다.

[0331] 유도 진화. 유도 진화 과정은 도 1A-1E에 나타나 있다. 간단히 말해, DNA 돌연변이 기법과 *cap* 유전자의 20개 이상(20+)의 독점적인 조합을 포함하는 바이러스성 캡시드 라이브러리가 생성된다(도 1A). 이어서, 이 같은 입자가 이러한 캡시드를 인코딩하는 *cap* 유전자를 둘러싸고 있는 돌연변이 캡시드로 구성되도록 바이러스를 패키징하고(도 1B) 정제한다. 캡시드 라이브러리는 *생체 내*에서 선택압을 받게 한다. 관심 있는 조직 또는 세포 물질을 그 표적을 성공적으로 감염시켰던 AAV 변이체를 단리하기 위해 수확하고, 바이러스를 성공적으로 회수한다. 성공적인 클론은 반복된 선택을 통해 농축된다(단계 1 - 도 1D). 이어서, 선택된 *cap* 유전자는 독점적인 재다양화를 거치게 되고, 바이러스 적합성을 반복적으로 증가시키기 위해 추가의 선택 단계를 통해 농축된다(단계 2 - 도 1D). 벡터 선택 단계 1 및 2 도중에 확인된 변이체는 영장류 망막 세포를 형질 도입시키는 능력

을 입증한다(도 1E).

[0332] AAV 캡시드 게놈의 성공적인 회수: 라운드 1 내지 6. 각 선택 라운드로부터 회수된 캡시드를 사용하여 후속적인 선택 라운드를 개시하기 위해 주입되는 라이브러리를 패키징하였다. 조직으로부터의 캡시드 유전자의 회수는 관심 있는 조직 내로의 라이브러리 벡터의 성공적인 내재화를 나타낸다. 라운드 4 이후, 라운드 5를 위한 라이브러리 패키징 및 주입 이전에 라이브러리의 부가적인 재다양화가 혼입되었다. 대표적인 선택 라운드에서 RPE, PR, 내핵층(INL) 및 신경절 세포층(GCL) 망막 조직으로부터의 바이러스 게놈의 회수가 도 3에 나타나 있다. 박스 내의 밴드는 바이러스 게놈의 성공적인 회수를 나타낸다.

[0333] 서열 분석: 라운드 3 내지 6. 라운드 3 내지 6 도중에 라이브러리 내의 개별 클론에 대해 서열화를 수행하여 개체군(population) 내의 변이체의 빈도를 결정하였다. 서열화 데이터 내에 모티프의 존재에 대해 변이체를 평가하였다. 변이체는 다중 서열에서 발생하는 통합 변이(unifying variation)(예를 들어, 캡시드 내의 일정한 위치에 있는 특정 점 돌연변이 또는 특정 펩타이드 삽입 서열)의 존재에 기초하여 모티프로 분류되었다. 2회 이상의 선택 라운드에서 서열화된 개체군의 적어도 5% 또는 1회 이상의 선택 라운드에서 서열화된 개체군의 적어도 10%를 나타내는 모티프가 도 4A(라운드 3 서열 분석), 도 4B(라운드 4 서열 분석), 도 4C(라운드 5 서열 분석) 및 도 4D (라운드 6 서열 분석)에 나타나 있다.

[0334] 망막 세포의 증가된 감염성을 부여하는 것으로 확인된 몇몇 대표적인 클론은 하기 표 1에 나타나 있다(각 클론은 확인된 치환(들) 및/또는 펩타이드 삽입을 함유하고, 달리 서열 식별 번호 2와 동일하고; 선택 라운드, 서열 및 빈도의 수(괄호 안)가 각 클론에 대해 나열되어 있다.

[0335] 표 1. 망막의 하나 이상의 세포의 증가된 감염성을 부여하는 AAV VP1 캡시드 단백질에 대한 아미노산 서열 변형. 컬럼 2에 나열된 치환은 야생형 AAV2에 대한 아미노산 서열, 즉 삽입된 펩타이드의 부재하의 아미노산 서열에 기초한 것이다.

표 1

[0336]

삽입	치환	범망막성	RPE	광 수용체
588~LAISDQTKHA~ (서열 식별 번호 28)	없음	라운드 4, 5, 6	라운드 3, 5, 6	라운드 4, 5
588~LAISDQTKHA~ (서열 식별 번호 28)	+M1L+L15P+P535S	라운드 6 1 (1.61%)		
588~LAISDQTKHA~ (서열 식별 번호 28)	+P34A	라운드 5 1 (1.89%)		
588~LAISDQTKHA~ (서열 식별 번호 28)	+P34A+S731L			라운드 5 1 (1.82%)
588~LAISDQTKHA~ (서열 식별 번호 28)	+N57D	라운드 4 1 (1.33%)		
588~LAISDQTKHA~ (서열 식별 번호 28)	+N66K			라운드 5 1 (1.82%)
588~LAISDQTKHA~ (서열 식별 번호 28)	+R81Q	라운드 6 1 (1.61%)		
588~LAISDQTKHA~ (서열 식별 번호 28)	+Q101R			라운드 4 1 (2.27%)
588~LAISDQTKHA~ (서열 식별 번호 28)	+S109T	라운드 3 1 (1.85%)		
588~LAISDQTKHA~ (서열 식별 번호 28)	+R144K			라운드 5 1 (1.82%)
588~LAISDQTKHA~ (서열 식별 번호 28)	+R144M			라운드 5 1 (1.82%)
588~LAISDQTKHA~ (서열 식별 번호 28)	+Q164K			라운드 4 1 (2.27%)
588~LAISDQTKHA~ (서열 식별 번호 28)	+Q164K+V708I	라운드 3 및 4 2 (3.7%) 1 (1.33%)		
588~LAISDQTKHA~ (서열 식별 번호 28)	+T176P	라운드 4 1 (1.33%)		

588~LAISDQTKHA~ (서열 식별 번호 28)	+L188I		라운드 5 1 (2.27%)	
588~LAISDQTKHA~ (서열 식별 번호 28)	+S196Y	라운드 4 1 (1.33%)		
588~LAISDQTKHA~ (서열 식별 번호 28)	+G226E			라운드 4 1 (2.27%)
588~LAISDQTKHA~ (서열 식별 번호 28)	+G236V	라운드 4 1 (1.33%)		
588~LAISDQTKHA~ (서열 식별 번호 28)	+I240T	라운드 3 1 (1.85%)		
588~LAISDQTKHA~ (서열 식별 번호 28)	+N312K	라운드 4 1 (1.33%)		
588~LAISDQTKHA~ (서열 식별 번호 28)	+P363L	라운드 6 1 (1.61%)		
588~LAISDQTKHA~ (서열 식별 번호 28)	+T456K	라운드 6 1 (1.61%)		
588~LAISDQTKHA~ (서열 식별 번호 28)	+I698V	라운드 5 1 (1.89%)		
588~LAISDQTKHA~ (서열 식별 번호 28)	+V708I	라운드 4, 5, 6	라운드 3, 4, 5	라운드 4, 5
588~LAISDQTKHA~ (서열 식별 번호 28)	+V708I+R484C		라운드 5 1 (2.27%)	
588~LAISDQTKHA~ (서열 식별 번호 28)	N312K+N449D+N551S+I698V+L735Q	조작됨		조작됨
588~LGISDQTKHA~ (서열 식별 번호 29)	없음	라운드 5 1 (1.89%)		
588~LAQADTTKNA~ (서열 식별 번호 27)	없음	라운드 3, 4, 5, 6	라운드 3, 4, 5	라운드 4, 5
588~LAQADTTKNA~ (서열 식별 번호 27)	+E36D		라운드 5 1 (2.27%)	
588~LAQADTTKNA~ (서열 식별 번호 27)	+P250S	라운드 6 1 (1.61%)		
588~LAQADTTKNA~ (서열 식별 번호 27)	+A524T	라운드 3 1 (1.85%)		
588~LAQADTTKNA~ (서열 식별 번호 27)	+A593E	라운드 4 1 (1.33%)		
588~LAQADTTKNA~ (서열 식별 번호 27)	+I698V	라운드 5 및 6 1 (1.61%) 1 (1.89%)		
588~LAQADTTKNA~ (서열 식별 번호 27)	+V708I	라운드 3, 4, 5, 6	라운드 3, 4, 5	
588~LAQADTTKNA~ (서열 식별 번호 27)	+V708I+V719M		라운드 3 및 4 1 (2.08%) 2 (4.55%)	
588~LAQADTTKNA~ (서열 식별 번호 27)	+V719M		라운드 4 1 (2.27%)	
588~LAHQDTTKNA~ (서열 식별 번호 34)	없음	라운드 5 2 (3.77%)		
588~LANQDYTKTA~ (서열 식별 번호 31)	없음	라운드 3, 4 및 5 5 (9.26%) 1 (1.33%) 3 (5.66%)	라운드 3, 4 및 5 2 (4.17%) 2 (4.55%) 2 (2.27%)	라운드 5 1 (1.82%)
588~LANQDYTKTA~ (서열 식별 번호 31)	+S109T+S463Y	라운드 3 1 (1.85%)		

588~LANQDYTKTA~ (서열 식별 번호 31)	+D368H	라운드 3 1 (1.85%)		
588~LANQDYTKTA~ (서열 식별 번호 31)	+V708I	라운드 4 1 (1.33%)	라운드 3 1 (2.08%)	
588~LAHDITKNIA~ (서열 식별 번호 32)	없음	라운드 3, 4 5 및 6 1 (1.85%) 1 (1.33%) 1 (1.89%) 2 (3.23%)		
588~LAHDITKNIA~ (서열 식별 번호 32)	+S109T	라운드 4 1 (1.33%)		
588~LAHDITKNIA~ (서열 식별 번호 32)	+R389S	라운드 5 1 (1.89%)		
588~LAHDITKNIA~ (서열 식별 번호 32)	+A593E	라운드 3 1 (1.85%)		
588~LAHDITKNIA~ (서열 식별 번호 32)	+V708I	라운드 4, 5		
588~IAHDITKNIA~ (서열 식별 번호 60)	+V708I		라운드 3 1 (2.08%)	
588~LAPNSTHGSA~ (서열 식별 번호 40)	+V708I	라운드 3 1 (1.85%)		
588~LANKTTNKDA~ (서열 식별 번호 35)	없음		라운드 5 1 (2.27%)	
588~LANKTTNKDA~ (서열 식별 번호 35)	+N449D			라운드 4 1 (2.17%)
588~LAHPDTTKNA~ (서열 식별 번호 33)		라운드 6 1 (1.61%)		
588~LATNRTSPDA~ (서열 식별 번호 39)		라운드 6 1 (1.61%)		
588~LPQANANENA~ (서열 식별 번호 37)		라운드 5 1 (1.89%)		
588~LAASDSTKAA~ (서열 식별 번호 30)		라운드 3 및 4 1 (1.85%) 1 (1.33%)		
588~LAKDRAPSTA~ (서열 식별 번호 41)		라운드 3 1 (1.85%)		
588~LPISNENEHA~ (서열 식별 번호 36)				라운드 4 1 (2.17%)
588~LAGKSKVIDA~ (서열 식별 번호 38)				라운드 5 1 (1.82%)
없음	P34A	라운드 5 1 (1.89%)	라운드 4, 5 3 (6.82%) 1 (2.27%)	라운드 4 1 (2.17%)
없음	P64S	라운드 3 1 (1.85%)	라운드 4 1 (2.27%)	
없음	S109T	라운드 4 2 (2.67%)	라운드s 3, 4, 5 4 (8.33%) 1 (2.27%) 1 (2.27%)	
없음	S109T+P8L		라운드 3 1 (2.08%)	
없음	S109T+Q120R		라운드 3 1 (2.08%)	

없음	S109T+A493V+A593E+V708I	라운드 3 1 (1.85%)		
없음	Q164K	라운드 4 및 5 2 (2.67%) 1 (1.89%)	라운드 4 1 (2.27%)	
없음	Q175H	라운드 3 1 (1.85%)		라운드 4 1 (2.17%)
없음	S196Y	라운드 3 1 (1.85%)	라운드 4 1 (2.27%)	
없음	A593E	라운드 3, 4, 5 3 (5.56%) 7 (9.33%) 1 (1.89%)	라운드 3, 4, 5 12 (25%) 7 (15.9%) 14(31.8%)	라운드 4 1 (2.17%)
없음	A593E+Q464R		라운드 3 1 (2.08%)	
없음	A593E+N596D		라운드 4 1 (2.27%)	
없음	A593E+N596D+T491A		라운드 3 2 (4.17%)	
없음	A593E+V708I	라운드 3, 4 2 (3.7%) 2 (2.67%)	라운드 3, 4, 5 4 (8.33%) 1 (2.27%) 1 (2.27%)	
없음	I698V	라운드 5 1 (1.89%)	라운드 5 1 (2.27%)	
없음	V708I	라운드 3, 4, 2 (3.7%) 5 (6.67%)	라운드 3, 4, 5 1 (2.08%) 4 (9.09%) 4 (9.09%)	
없음	V708I+V719M		라운드 4 2 (4.55%)	
없음	V708I+G727D		라운드 5 1 (2.27%)	
없음	V708I+R733C			라운드 4 1 (2.17%)

[0337] 또한, 망막의 하나 이상의 세포의 증가된 감염성을 가지는 캡시드로 확인된 것은 다음의 조상 VP1 캡시드 서열을 가지는 클론이었다:

[0338] MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWWDLKPGAPKPKANQQKQDDGRGLVLPGYKYLGPFNGLDKGEPVNAADAAALEHDKAYDQQLKAGDNPYLRYNHADAEFQERLQEDTSFGGNLGRAVFQAKKRVLEPLGLVEEGAKTAPGKKRPVEPSPQRSPDSSTGIGKKGQQPAKKRLNFGQTGDSESVPDPQPLGEPPAGPSGLGSGTMAAGGGAPMADNNEGADGVGNASGNWHCDSTWLGDRVITTSTRTWALPTYNNHLYKQISSASAGSTNDNHYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSPRDWQRLINNNWGFRPKRLNFKLFNIQVKEVTTNDGVTTIANNLTSTVQVFSDSEYQLPYVLGSAHQGCLPPFPADVFMIPQYGYLTLNNGSQAVGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNFTFSYTFEDVPFHSSYAHSQSLDRLMNPLIDQYLYYLARTQSTGGTAGTRELLFSQAGPSNMSAQAKNWLPGPCYRQQRVSKTLSQNNNSNFAWTGATKYHLNGRDSLVNPGVAMATHKDDEDRFFPSSGVLIFGKQGAGANNTALENVMMTSEEEIKTTNPVATEQYGVVASNLQSSNTAPVTGTVNSQGALPGMVWQNRDVYLQGPIWAKIPHTDGNFHPSPLMGGFGLKHPPPQILIKNTPVPANPPAVFTPAKFASFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSKRWNPEIQYTSNYAKSTNVDFAVDNEGVYSEPRPIGTRYLTRNL.(서열 식별 번호 59)

[0339] 이러한 조상 캡시드 변이체는 조상 캡시드 서열 번호 58로부터 진화한 것이며, 여기서 축중(degeneracy)의 위치(264번, 266번, 268번, 448번, 459번, 460번, 467번, 470번, 471번, 474번, 495번, 516번, 533번, 547번, 551번, 555번, 557번, 561번, 563번, 577번, 583번, 593번, 596번, 661번, 662번, 664번, 665번, 710번, 717번, 718번, 719번, 723번째 잔기)는 264번에 알라닌(A), 266번에 알라닌(A), 268번에 세린(S), 448번에 알라닌(A),

459번에 트레오닌(T), 460번에 아르기닌(R), 467번에 알라닌(A), 470번에 세린(S), 471번에 아스파라긴(N), 474번에 알라닌(A), 495번에 세린(S), 516번에 아스파라긴(D), 533번에 아스파라긴(D), 547번에 글루타민(Q), 551번에 알라닌(A), 555번에 알라닌(A), 557번에 글루탐산(E), 561번에 메티오닌(M), 563번에 세린(S), 577번에 글루타민(Q), 583번에 세린(S), 593번에 발린(V), 596번에 트레오닌(T), 661번에 알라닌(A), 662번에 발린(V), 664번에 트레오닌(T), 665번에 프롤린(P), 710번에 트레오닌(T), 717번에 아스파르트산(D), 718번에 아스파라긴(N), 719번에 글루탐산(E) 및 723번에 세린(S)을 포함하도록 진화하였다.

[0340] 본원에 개시된 AAV 변이체 비리온은 유전 공학적 AAV 바이러스 벡터 분야에서 당업자에게 매우 자명한, 이성적이고 합리적인 설계 매개 변수, 특징, 변형, 이점 및 변이를 포함할 수 있다.

[0341] 실시예 2

[0342] 유도 진화는 인간의 눈에 대한 다른 유전자 전달 방법에 비해 현저한 이점을 가진 투여 경로인 유리체 내(IVT) 투여 이후에 망막 세포에 대한 유전자 전달이 우수한 신규한 아데노-관련 바이러스(AAV) 변이체를 발견하는데 사용되었다(실시예 1). 아미노산 588(LAISDQTKHA+P34A; 서열 식별 번호 42)에 삽입되는 P34A 치환 및 펩타이드 LAISDQTKHA(서열 식별 번호 28)를 포함하는 신규한 AAV 변이체의 유리체 내 투여 이후의 세포 주성은 망막 세포를 형질 도입하기 위한 ISDQTKH(서열 식별 번호 14)-함유 AAV 변이체의 능력의 대표적인 예로서 비인간 영장류(NHP)에서 *생체 내*에서 평가되었다.

[0343] AAV2 캡시드 또는 신규한 변이체 캡시드 LAISDQTKHA+P34A(서열 식별 번호 42)를 포함하는 재조합 AAV 비리온 및 CMV 프로모터(AAV2.CMV.GFP 및 LAISDQTKHA+P34A.CMV.GFP, 각각) 또는 CAG 프로모터(AAV2.CAG.EGFP 및 LAISDQTKHA+P34A.CAG.EGFP, 각각)에 작동 가능하게 연결된 녹색 형광 단백질(GFP) 이식 유전자를 포함하는 게놈을 표준 방법을 사용하여 제조하였다. 아프리카 녹색 원숭이(도 7, 도 8) 또는 시노몰거스 마카크(도 9)는 한쪽 눈 당 4×10^{10}vg 내지 1×10^{12}vg의 범위에 이르는 다양한 투여량의 벡터로 유리체 내 주입하고(상세에 대해도면의 범례를 참조) 망막 세포의 형질 도입은 하이델베르크 스펙트랄리스(Heidelberg Spectralis™)를 이용한 안저 형광 이미징에 의해 일생 동안 평가하였다.

[0344] 신규한 변이체 LAISDQTKHA+P34A(서열 식별 번호 42)를 포함하는 AAV의 유리체 내 전달은 AAV2보다 NHP 망막에 걸쳐 보다 광범위하고 보다 강력한 이식 유전자 발현을 초래하였다(도 7-9). 이미지에 따르면 신규한 AAV 변이체 캡시드는 중심와(추상체가 풍부한 영역)의 중심; 중심와 주변 고리(parafoveal ring)(망막 신경절 세포가 풍부한 영역), 및 주변부(간상체, 뮐러 교질 세포, 무축삭 세포, 양극 세포를 포함한 여러 유형의 세포가 풍부한 영역)에서 주입 후 2주 만큼 조기에 강력한 발현을 제공하는 것으로 나타났다. 대조적으로, 다른 사람들에 의해 보고된 결과와 일치하게도, 야생형 AAV2는 주로 중심와 주변 고리에 있고 추후 시점에만 검출될 수 있는 보다 약한 발현을 제공한다. 주입 3주 후에 수행된 망막의 다양한 부위에 대한 면역 조직화학적 분석에 따르면 망막 색소 상피세포, 간상체 및 추상체 광 수용체 및 망막 신경절 세포를 포함하는 다수 유형의 망막 세포가 망막 전체에 성공적으로 형질 도입되는 것으로 확인되었다(도 10A-10E).

[0345] 이 연구에 따르면 임상적으로 관련된 AAV2와 비교하여 임상적으로 바람직한 투여 경로를 따라 ISDQTKH-포함 변이체에 의한 유전자 전달이 우수한 것으로 나타났다. 유사한 효능이 이러한 펩타이드 삽입 모티프를 포함하는 기타 변이체에 의해 달성 가능하다. 유사하게, 유사한 효능은 동일한 유도 진화 접근법을 사용하여 확인된 본원에 개시된 기타 변이체에 의해 달성 가능하다.

[0346] 실시예 3

[0347] 망막 색소 상피(RPE) 세포 및 광 수용체(PR) 세포에 대한 신규한 AAV 변이체 LAISDQTKHA+P34A(서열 식별 번호 42)의 세포 주성은 섬유 모세포 유래 인간 유도 다능성 줄기 세포(FB-iPSC) 또는 인간 배아 줄기 세포(ESC)에서 생성된 RPE 세포 및 PR 세포의 사용 시에 시험관 내에서 평가되었다.

[0348] AAV2 캡시드 또는 신규한 변이체 캡시드 LAISDQTKHA+P34A를 포함하는 AAV 비리온 및 CAG 프로모터(AAV2.CAG.EGFP 및 LAISDQTKHA+P34A.CAG.EGFP, 각각)에 작동 가능하게 연결된 녹색 형광 단백질(EGFP) 이식 유전자를 포함하는 게놈을 표준 방법을 사용하여 제조하였다. 45일간 분화 프로토콜을 사용하여 인간 배아 줄기 세포주 ESI-017 또는 인간 섬유 모세포 유래 유도 다능성 줄기 세포("FB-iPSC")로부터 인간 RPE 세포 배양액을 생성하였다. RPE 세포로의 성숙은 RPE65 및 BEST1을 포함하는 성숙한 RPE 마커의 발현; VEGF 및 PEDF의 합성; 및 간상체 외부 세그먼트를 식균하는 능력을 검출함으로써 확인되었다. PR 배양액은 다단계 세안컵 형성 패러다임에 의해 생성되었으며, 배양 179일 이후에 리코베린(Recoverin) 및 에스 옵신(S Opsin)의 발현을 검출함으로

써 PR를 포함하는 것으로 확인되었다.

[0349] AAV2에 비해 LAISDQTKHA+P34A(서열 식별 번호 42)는 면역 형광법(도 11A-11B), 유동 세포 분석법(2.7배 증가, 도 11C-11D) 및 웨스턴 블롯 분석(도 11E-11F)에 의해 결정할 때 감염 후 7일 동안 인간 RPE 배양액에서 상당히 높은 형질 도입 및 이식 유전자 발현 효율을 제공하였다. 강력한 형질 도입 및 발현은 감염 후 32일 정도에 인간 PR 배양액에서 LAISDQTKHA+P34A.CAG.EGFP를 사용하여 유사하게 달성되었다. 이러한 연구에 따르면 망막 세포에 유전자를 전달하는 ISDQTKH(서열 번호 14)-포함 변이체의 우수한 능력이 나타났다.

[0350] 실시예 4

[0351] 항-VEGF 발현 벡터의 설계 및 구조. Aflibercept의 아미노산 서열은 인간 Flt1 신호 펩타이드, VEGFR1 도메인 2 및 인간 IgG1의 Fc 영역에 융합된 VEGFR2 도메인 3으로 이루어진다(도 12A; 서열 식별 번호 66). 2-사슬 항원-결합 단편(Fab)을 단일-사슬 Fab(scFab)로 전환시키기 위해, Ranibizumab의 경쇄 및 중쇄의 아미노산 서열을 가요성 단백질 링커에 의해 결합시켰다. 경-중(LH) 형태는 인간 Ig 카파 경쇄 신호 펩타이드, 가변성 경, 불변성 경, 가변성 중 및 가요성 펩타이드에 의해 연결된 Ranibizumab의 불변성 중 1 도메인으로 이루어진다(도면 12B; 서열 식별 번호 71). 중-경(HL) 형태는 신호 펩타이드가 인간 IgG 중쇄로부터 유도되고 중쇄 및 경쇄 도메인이 LH 형태와 비교하여 링커의 반대쪽에 있는 것을 제외하고는 유사하다(도 12C; 서열 식별 번호 68). Brolucizumab 설계는 포유동물 세포로부터의 분비를 위한 인간 Ig 카파 경쇄 신호 펩타이드와 함께, 가요성 펩타이드에 의해 연결된 가변성 경 및 가변성 중 도메인을 포함한다(도면 12D; 서열 식별 번호 75). 오픈 리딩 프레임은 인간 세포로부터의 개선된 발현에 대해 코돈-최적화되었고, GeneArt 또는 GenScript에 의해 합성되고 표준 플라스미드 클로닝 벡터에 제공되었다. 관심 있는 DNA를 제한 효소 PstI 및 BglII를 사용하여 이 플라스미드로부터 절제하고 CAG 프로모터와 SV40 폴리 A 신호 사이의 pAVV-CAG-SV40 pA 플라스미드에 삽입하였다. sc-Ranibizumab-Fc 설계는 Aflibercept 설계로부터 인간 IgG1의 Fc 영역에 융합된 sc-Ranibizumab의 LH 형태로 이루어진다(도면 12E; 서열 식별 번호 73). Brolucizumab-Fc 설계는 Aflibercept 설계로부터 인간 IgG1의 Fc 영역에 융합된 Brolucizumab로 이루어진다(도 12F; 서열 식별 번호 77). 3'말단(sc-Ranibizumab LH 및 Brolucizumab) 또는 5'말단(Fc)에서 TypeIIS 제한 효소에 대한 부위를 함유하는 연장을 갖는 초기 클로닝 벡터로부터의 PCR에 의해 sc-Ranibizumab LH, Brolucizumab 및 Fc 영역을 증폭시켰다. 그 결과의 PCR 산물을 제한 효소 PstI 및 BsmBI(sc-Ranibizumab LH 및 Brolucizumab) 또는 BsmBI 및 BglII(Fc)로 분해하고 CAG 프로모터와 SV40 폴리 A 신호 사이의 PAAV-CAG-SV40 pA 플라스미드에 삽입하였다. 결찰 반응은 대장균(E.coli)을 형질 전환시키는데 사용되었고, 양성 클론은 제한 다이제스트(restriction digest)에 의해 확인되었다. 이어서, 클론을 더 큰 규모로 성장시키고 Qiagen Endo-Free Maxiprep 키트를 이용하여 플라스미드 DNA를 정제하였다. 플라스미드의 동일성은 제한 다이제스트 및 서열화에 의해 확인되었다. pAAV-CAG-SV40 폴리 A 플라스미드는 AAV2 역위 말단 반복(ITRs)을 함유하며, 이는 항-VEGF 서열이 AAV 캡시드에 패키징되어 유리체 내 투여를 통해 망막 내의 관심 있는 세포로 전달되게 한다.

[0352] HEK293T 세포는 2개의 별도의 실험에서 FuGene6 형질 감염 시약을 사용하여 CAG 프로모터의 조절하에 GFP 또는 항-VEGF 이식 유전자(sc-RNBZ HL(서열 식별 번호 67), sc-RNBZ LH1(서열 식별 번호 69) 및 sc-RNBZ-LH2(서열 식별 번호 70), AFLB(서열 식별 번호 65), BRO(서열 식별 번호 74))중 어느 하나를 함유하는 플라스미드로 모의 형질 감염되거나 형질 감염되었다. 배지를 48시간 형질 감염 후 수집하고, Aflibercept ELISA 키트(이글 바이오사이언시즈, 면역가이드 IG-AA115; Eagle Biosciences, Immunoguide IG-AA115)로 분석하였다. 항-VEGF 단백질은 키트(모의(mock), GFP 및 AFLB) 또는 HRP-항-IgG H+L(sc-RNBZ HL, sc-RNBZ LH1 및 sc-RNBZ LH2)에서 시약으로서 제공된 HRP-항-IgG Fc에 의해 검출되었다. 농도는 임상 Eylea(mock, GFP 및 AFLB) 또는 Lucentis(sc-RNBZ HL,sc-RNBZ LH1, sc-RNBZ LH2 및 BRO)에 대해 계산하였다. 두 실험 중 첫 번째 실험에서, Aflibercept 발현은 약 15ug/ml이었고, sc-Ranibizumab 발현은 1.6 내지 2.8ug/ml 범위이고, LH 형태는 유사한 농도를 나타내고, HL 형태는 대략 2배 낮은 농도(도 13A)를 갖는다. 두 번째 실험에서, Aflibercept 발현은 약 50ug/ml이었고, sc-Ranibizumab LH1 발현은 약 4.0ug/ml이었다(도 13B). Brolucizumab를 갖는 신호는 매우 낮았으며, 이는 대부분 검출 항체에 의한 불량한 인식으로 인한 것이다. 모의(mock) 또는 GFP 형질 감염으로부터 배지에서 어떠한 VEGF 결합 활성도 검출되지 않았다.

[0353] 실시예 5

[0354] 항-VEGF 단백질을 직접 가시화하여 단백질의 크기를 확인하기 위해, GFP, Aflibercept(서열 식별 번호 65), sc-Ranibizumab(서열 식별 번호 67, 69 및 70), 또는 Brolucizumab(서열 식별 번호 74) 발현 플라스미드로 형질 감염된 세포로부터 배지의 웨스턴 블롯 분석을 수행하였다(도 14). 형질 감염된 HEK293T 세포로부터의 배지를

볼트 4-12% 비스-트리스 플러스 겔(Invitrogen Cat# NW04122BOX)상에서 작동시키고, 분리된 단백질을 iBlot2 장치를 사용하여 니트로셀룰로오스로 옮겼다. 블롯을 iBind Flex 장치를 사용하여 HRP-접합된 염소 항-인간 IgG Fc(Thermo Cat# 31413, 좌측 패널) 또는 염소 항-인간 IgG Fab(Thermo Cat# 31482, 우측 패널)을 가지고 탐침하고, 초신호 웨스트 듀라 화학발광 기질(SuperSignal West Dura Chemiluminescent Substrate)(Thermo Cat# 34076)을 가지고 가시화했다. 이미지는 iBright FL1000 이미저(imager)로 캡처되었다.

[0355] Aflibercept 샘플은 임상 비교기 단백질 Eylea와 유사하게 나타난다. 음성 대조군 샘플에는 신호가 없었다. 임상 비교기 단백질 Lucentis는 24kD의 분리된 경쇄 및 중쇄로 감소되는 반면, sc-Ranibizumab 단백질은 경쇄 및 중쇄를 단일 단백질로 결합시키는 폴리펩타이드 링커의 존재로 인해 약 48kD로 작동한다. ELISA를 통해 수득된 단백질 정량화와 일치하는, 단백질의 HL 형태와 비교하여 단백질의 LH 형태의 더 많은 양이 존재한다(도 13A). Brolucizumab 신호는 낮으며, 이는 대부분 검출 항체에 의한 불량한 인식으로 인한 것이다. 단백질은 24kD의 정확한 분자량으로 이동한다.

[0356] 실시예 6

[0357] VEGF-결합 활성을 결정하기 위한 추가적인 방법으로서, VEGF 경쟁 ELISA를 수행하였다(도 15). 형질 감염된 HEK293T 세포로부터의 임상 비교기 단백질 Eylea 또는 Lucentis 및 배지를 실온에서 밤새 13pM VEGF와 배양하였다. 샘플을 Quantikine VEGF ELISA 키트(R&D Systems Cat# DVE00)를 사용하여 프리 VEGF에 대해 분석하였다. 두 실험 중 첫 번째에서, 형질 감염된 샘플로부터의 4개의 항-VEGF 단백질의 억제 곡선은 임상 Eylea 및 Lucentis와 매우 유사하였다. Aflibercept 및 Eylea는 sc-Ranibizumab 변이체 및 Lucentis보다 더 강하게 VEGF에 대해 경쟁 하였다(도 15A). 모든 3가지 형태의 sc-Ranibizumab(서열 식별 번호 67, 69 및 70)는 거의 동일하였다. 두 번째 실험에서, 모든 항-VEGF 구조체는 VEGF에 대해 경쟁 하였다(Figure15B) GFP 음성 대조군 샘플로부터 경쟁 활성(competence activity)이 없었다.

[0358] 실시예 7

[0359] 형질 감염된 세포로부터 발현된 항-VEGF 단백질이 VEGF의 수용체에 대한 결합을 차단하여 이의 기능을 차단한다는 것을 확인하기 위해, 형질 감염된 HEK293T 세포로부터의 임상 비교기 단백질 및 배지의 동일한 농도를 20ng/ml VEGF와 혼합하고 PathHunter KDR 세포(DiscoverX 93-0996 Y1)상에 위치시켰다. 이들 세포는 VEGF 결합 시 활성 베타-갈락토시다아제를 생성하는 VEGF 수용체/베타-갈락토시다아제 융합 단백질을 발현한다. 세포를 22시간 후에 용해 시키고 베타-갈락토시다아제 활성에 대해 분석하였다. 형질 감염된 샘플로부터의 항-VEGF 단백질의 억제 곡선은 임상 비교기 단백질과 동일하며, 이는 발현된 단백질이 세포-기반 분석에서 VEGF 기능을 차단한다는 것을 입증한다(도 16). 2개의 후속 실험에서, 세포 VEGF 중화 분석은 또한, 항-VEGF 구조체로 형질 감염된 HEK293T 세포로부터 동일한 부피의 배지를 사용하여 수행하였다. 이들 실험 중 첫 번째에서, GFP, Aflibercept(서열 식별 번호 65), sc-Ranibizumab HL(서열 식별 번호 67), 또는 sc-Ranibizumab LH1(서열 식별 번호 69) 발현 플라스미드를 평가하였다. 모든 항-VEGF 구조체는 중화된 VEGF를 평가하였다(도 17A). sc-Ranibizumab LH는 sc-Ranibizumab HL 형태보다 더 강하게 중화된 VEGF를 형성한다. 두 번째 실험에서, GFP, Aflibercept(서열 식별 번호 65), sc-Ranibizumab LH1(서열 식별 번호 69), 또는 Brolucizumab(서열 식별 번호 74) 발현 플라스미드를 8ng/ml VEGF와 혼합하고 PathHunter KDR 세포(DiscoverX 93-0996 Y1)상에 위치시켰다. 세포를 18시간 후에 용해 시키고 베타-갈락토시다아제 활성에 대해 분석하였다. 다시, 모든 항-VEGF 구조체는 중화된 VEGF를 평가하였다(도 17B). 분석된 희석액에서 GFP 대조군 샘플로부터 약간의 매트릭스 효과가 있었다.

[0360] 실시예 8

[0361] 망막 색소 상피(RPE) 세포는 FuGeneHD 형질 감염 시약을 사용하여 CAG 프로모터의 조절하에 GFP 또는 항-VEGF 이식 유전자 중 어느 하나를 함유하는 플라스미드로 모의 형질 감염되거나 형질 감염되었다. 배지는 형질 감염 후 48시간에 수집하였다. RPE 세포의 형질 감염 효율은 GFP-발현 세포의 수(도시하지 않은 데이터)에 의해 입증되는 바와 같이, 극히 낮았고, 따라서 VEGF-결합 활성은 이러한 형질 감염으로부터 배지에서 검출되지 않았다. 배지에서 VEGF의 총 농도는 항-VEGF 제제의 낮은 농도가 VEGF의 RPE 분비를 감소시킬 수 있는지를 결정하기 위해 평가되었다. 배지를 48시간 후-형질 감염시키고, Quantikine VEGF ELISA 키트(R&D Systems Cat# DVE00)로 분석하였다. Aflibercept(서열 식별 번호 65) 발현 후 VEGF 수준의 큰 감소 및 sc-Ranibizumab(서열 식별 번호 67, 69 및 70) 발현 후 VEGF 수준의 약간의 감소가 관찰되었다(도 18). 3개의 sc-Ranibizumab 형태 모두에 의한 VEGF 수준에 대한 효과는 유사하였다. 더 효율적인 AAV 형질 도입에 의해 전달되면, 항-VEGF 이식 유전자는 Aflibercept ELISA 키트에 의해 정량화된 더 높은 농도의 항-VEGF 단백질의 생산을 야기시켰다.

[0362] 실시예 9

[0363] Aflibercept(서열 식별 번호 65), sc-Ranibizumab(서열 식별 번호 67 및 69), 또는 Brolucizumab(서열 식별 번호 65)에 대한 유전자를 운반하는 AAV 발현 플라스미드를 R100 변이체 캡시드(서열 식별 번호 42로 표시된 아미노산 서열을 가짐)에 바이러스 DNA를 패키지 하는데 사용하였다. 성숙한 RPE 세포를 1.0ml X-Vivo10 배지 부피로 이들 벡터를 사용하여 MOI 5,000으로 12-웰 플레이트에서 씨딩(seeding) 한 후 30일 형질 도입하였다. 형질 도입 3일 후 배지를 교체하고, 형질 도입 6일 후 수집하여 교체하고, 형질 도입 10일 후 다시 수집하여 교체하였다.

[0364] 배지에서 VEGF의 총 농도를 Quantikine VEGF ELISA 키트(R&D Systems Cat# DVE00)로 분석하여, RPE 세포에 의해 배지 내로 분비된 자유 검출 가능한 내인성 VEGF 수준의 항-VEGF 벡터와의 형질 도입 효과를 확인하였다(도 19). GFP 대조군 벡터로 형질 도입된 세포에 의해 나타난 바와 같이, VEGF의 내인성 수준은 6일째 샘플에서 4,500pg/㎖ 이였고, 10일째 샘플에서 8,300pg/㎖ 이였다. 모든 항-VEGF 벡터에 의한 형질 도입은 배지에서 검출 가능한 VEGF를 거의 나타내지 않았다. RPE 세포에 의해 분비되는 VEGF의 양은 변화되지 않고, 오히려 배지 중의 VEGF가 항-VEGF 단백질에 의해 결합되어 ELISA에 의해 검출 불가능했을지 모른다. 웨스턴 블롯을 포함하는 추가의 실험을 수행하여 결합 및 비결합 VEGF의 총량을 결정할 수 있다.

[0365] RPE 형질 도입으로부터의 배지를 또한 Aflibercept ELISA 키트(Eagle Biosciences, Immunoguide IG-AA115)로 분석하였다. 항-VEGF 단백질을 HRP-항-IgG H+L 항체(ThermoFisher Cat# 31410)로 검출하였다. 농도는 임상 Eylea(AFLB 및 GFP) 또는 Lucentis(sc-RNBZ HL, sc-RNBZ LH1 및 BRO)에 대해 계산하였다. Aflibercept(서열 식별 번호 65) 발현은 6일째 샘플에서 약 1,800ng/㎖ 이였고, 10일째 샘플에서 2,800ng/㎖ 이었다. sc-Ranibizumab의 발현은 HL(서열 식별 번호 67) 6일째 샘플에서 700ng/ml 내지 LH(서열 식별 번호 69) 10일째 샘플에서 1,700ng/ml의 범위였다(도 20). Brolucizumab(서열 식별 번호 74)를 갖는 신호는 매우 낮았으며, 이는 대부분 검출 항체에 의한 불량한 인식으로 인한 것이다. GFP 형질 도입으로부터 배지에서 어떠한 VEGF 결합 활성도 검출되지 않았다.

[0366] 실시예 10

[0367] 항-VEGF 단백질을 직접적으로 가시화하고 단백질의 크기를 확인하기 위해, 형질 도입된 RPE 세포로부터 배지의 웨스턴 블롯 분석을 수행하였다(도 21). 동일한 부피의 6일 및 10일 배지를 볼트 4-12% 비스-트리스 플러스 겔(Invitrogen Cat# NW04122BOX)상에서 작동시키고, 분리된 단백질을 iBlot2 장치를 사용하여 니트로셀룰로오스로 옮겼다. 블롯을 iBind Flex 장치를 사용하여 HRP-접합된 염소 항-인간 IgG Fc(Thermo Cat# 31413, 좌측 패널) 또는 염소 항-인간 IgG Fab(Thermo Cat# 31482, 우측 패널)을 가지고 탐침하고, 초신호 웨스트 듀라 화학발광 기질(SuperSignal West Dura Chemiluminescent Substrate)(Thermo Cat# 34076)을 가지고 가시화했다. 이미지는 ChemiDoc MP 이미저(imager)로 캡쳐되었다.

[0368] Aflibercept(서열 식별 번호 65) 샘플은 임상 비교기 단백질 Eylea와 유사하게 나타난다(흑색 화살표). GFP 음성 대조군 샘플에서 정확한 이동성의 밴드가 없었다. 임상 Lucentis는 24kD의 분리된 경쇄 및 중쇄로 감소되는 반면, sc-Ranibizumab HL(서열 식별 번호 67) 및 LH(서열 식별 번호 69)는 분리되지 않고, 회색 화살표로 나타낸 바와 같이, 58kD의 명확한 분자량으로 이동한다. Brolucizumab(서열 식별 번호 74)를 갖는 신호는 낮으며, 이는 대부분 검출 항체에 의한 불량한 인식으로 인한 것이다. 단백질은 점각 화살표로 나타낸 바와 같이, 26kD의 정확한 분자량으로 이동한다. 단백질 수준은 6일 및 10일째 샘플과 상당히 유사하다.

[0369] 실시예 11

[0370] VEGF-결합 활성을 결정하기 위한 추가적인 방법으로서, VEGF 경쟁 ELISA를 수행하였다(도 22). 형질 도입된 RPE 세포로부터 동일한 부피의 배지를 실온에서 밤새 13pM VEGF와 배양하였다. 샘플을 Quantikine VEGF ELISA 키트(R&D Systems Cat# DVE00)를 사용하여 프리 VEGF에 대해 분석하였다. 모든 항-VEGF 구조체로 형질 도입된 세포로부터의 배지는 VEGF에 대해 경쟁하였다. 결과는 6일 및 10일째 동안에 유사하였다. GFP 음성 대조군 샘플로부터 경쟁 활성이 없었다. 프리 VEGF 수준은 RPE 세포에 의해 생성된 내인성 VEGF로 인해 최저 희석액에서 더 높다.

[0371] 실시예 12

[0372] 바이러스 벡터로부터 RPE 세포에서 발현된 항-VEGF 단백질의 VEGF 중화 활성을 비교하기 위해, 형질 도입된 RPE 세포로부터 동일한 부피의 배지를 8ng/ml VEGF와 혼합하고, PathHunter KDR 세포(DiscoverX 93-0996 Y1)상에

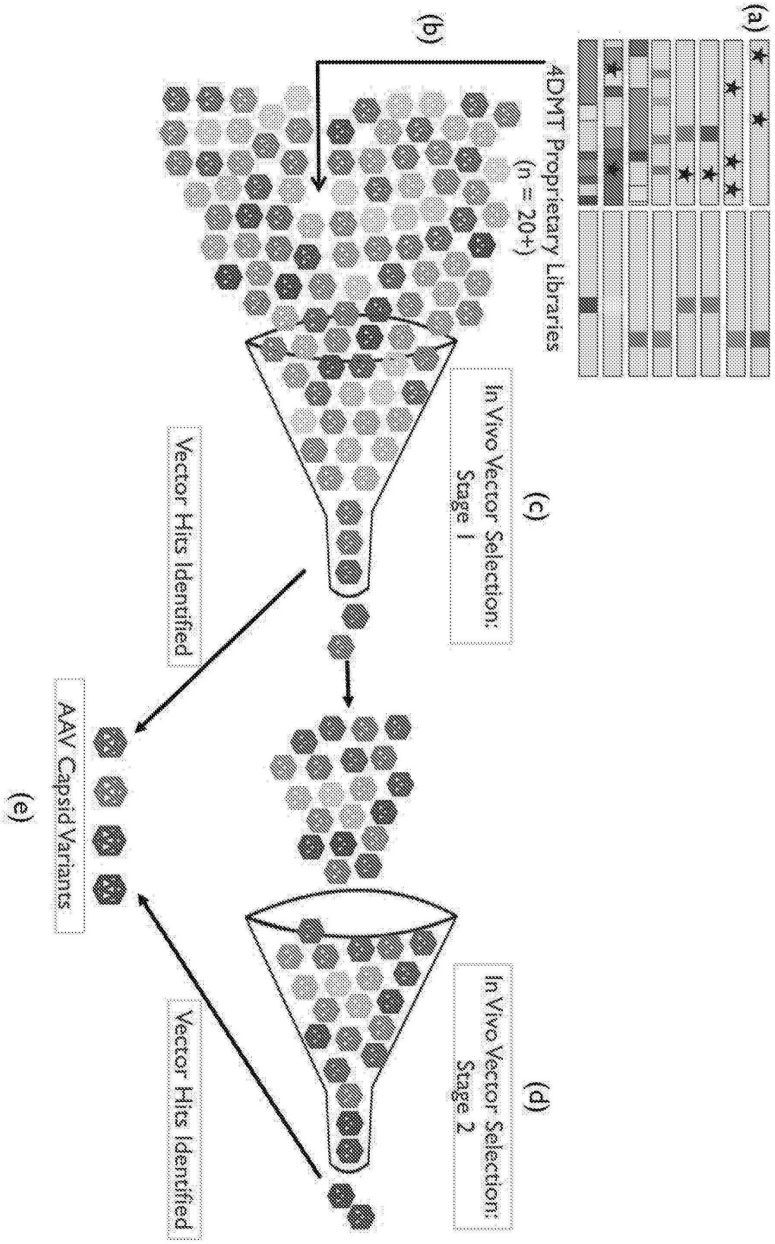
위치시켰다(도 23). 세포를 18시간 후에 용해 시키고, 베타-갈락토시다아제 활성에 대해 분석하였다. 모든 항-VEGF 구조체로 형질 도입된 세포로부터의 배지는 VEGF를 중화시켰다. GFP 대조군 형질 도입으로부터의 배지에서 어떠한 VEGF 중화도 관찰되지 않았다.

[0373] 전술한 내용은 단지 본 발명의 원리를 예시한다. 당업자는 본원에 명시적으로 기재되거나 도시되지는 않았지만, 본 발명의 원리를 구현하고 본 발명의 사상 및 범위 내에 포함되는 다양한 배치를 고안할 수 있는 것을 이해할 될 것이다. 또한, 본원에 인용된 모든 실시예 및 조건 언어는 원칙적으로 독자에게 본 발명의 원리 및 발명자에 의해 제공된 개념을 이해하는데 있어서 독자에게 도움을 주도록 의도되며, 이러한 구체적으로 인용된 실시예 및 조건에 제한되지 않는 것으로 해석되어야 한다.

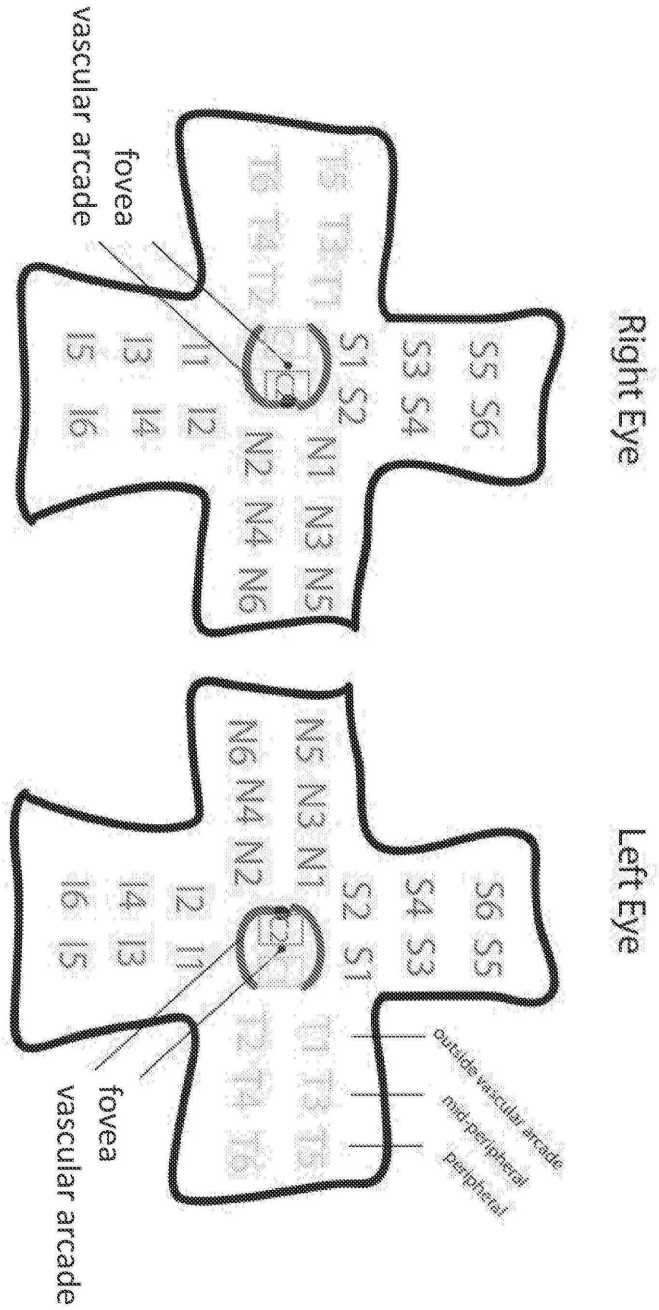
[0374] 또한, 본 발명의 원리, 양태 및 실시 양태뿐만 아니라 그의 구체적인 실시예를 언급하는 모든 설명은 이의 구조적 및 기능적 균등물을 포함하는 것으로 의도된다. 또한, 이 같은 등가물은 현재 공지된 등가물 및 미래 개발되는 등가물, 즉 구조와 관계없이 동일한 기능을 수행하는 개발된 임의의 요소 모두를 포함하는 것으로 의도된다. 따라서, 본 발명의 범위는 본원에 도시되고 설명된 예시적인 실시예들로 제한되도록 의도되지 않는다. 오히려, 본 발명의 범위 및 사상은 첨부된 청구 범위에 의해 구현된다.

도면

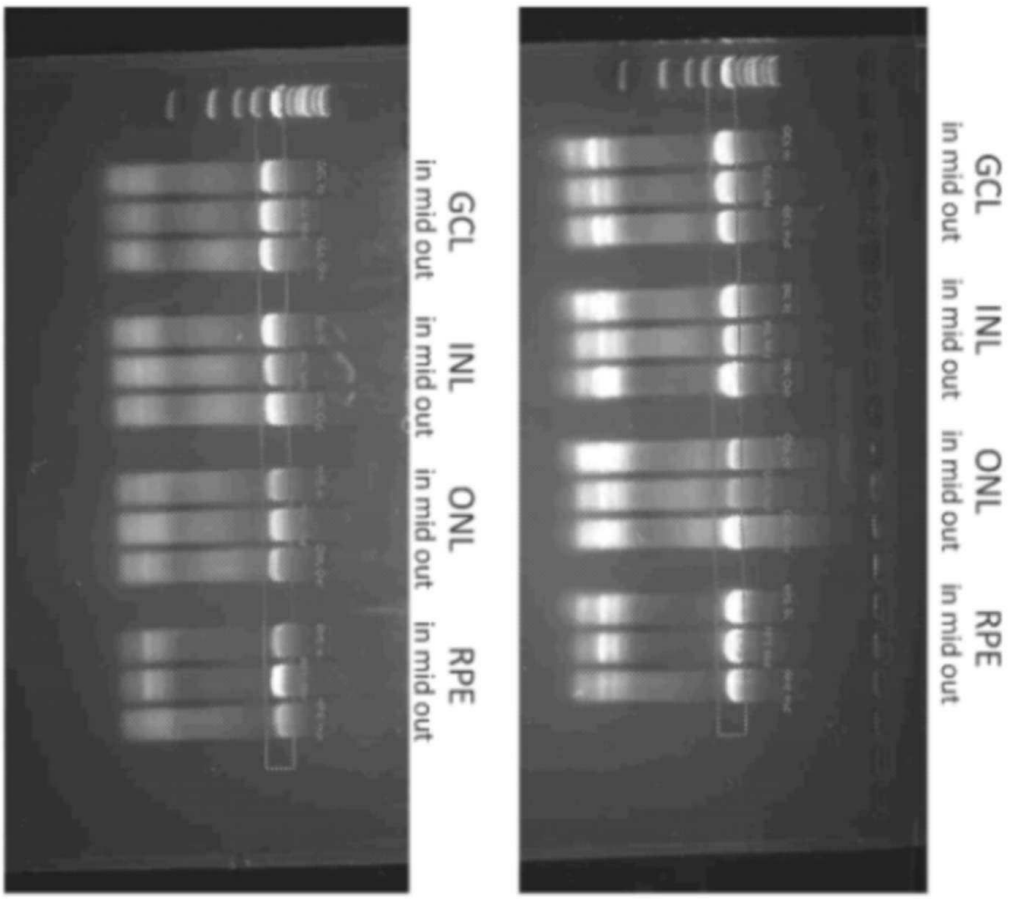
도면1


(a)
(b)
4DMT Proprietary Libraries
(n = 20+)
(c)
In Vivo Vector Selection:
Stage 1
Vector Hits Identified
(d)
In Vivo Vector Selection:
Stage 2
Vector Hits Identified
(e)
AAV Capsid Variants

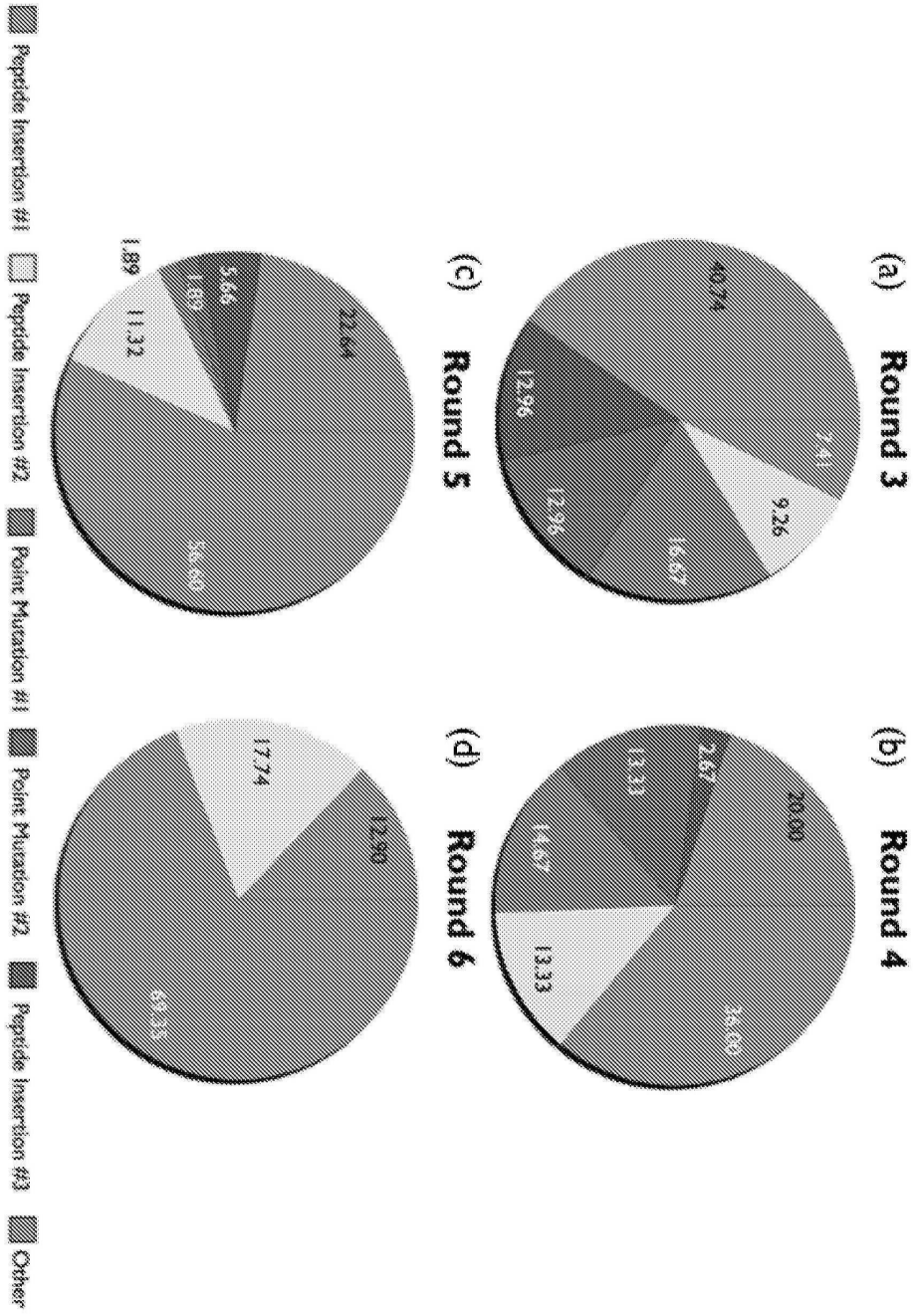
도면2


Right Eye
Left Eye
fovea
vascular arcade
fovea
vascular arcade
outside vascular arcade
mid-peripheral
Peripheral

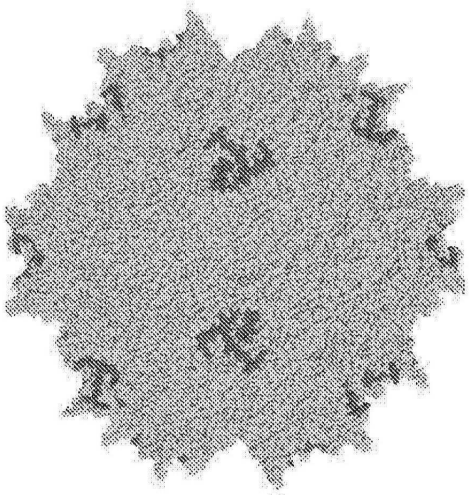
도면3


GCL
in mid out
INL
in mid out
ONL
in mid out
RPE
in mid out
GCL
in mid out
INL
in mid out
ONL
in mid out
RPE
in mid out

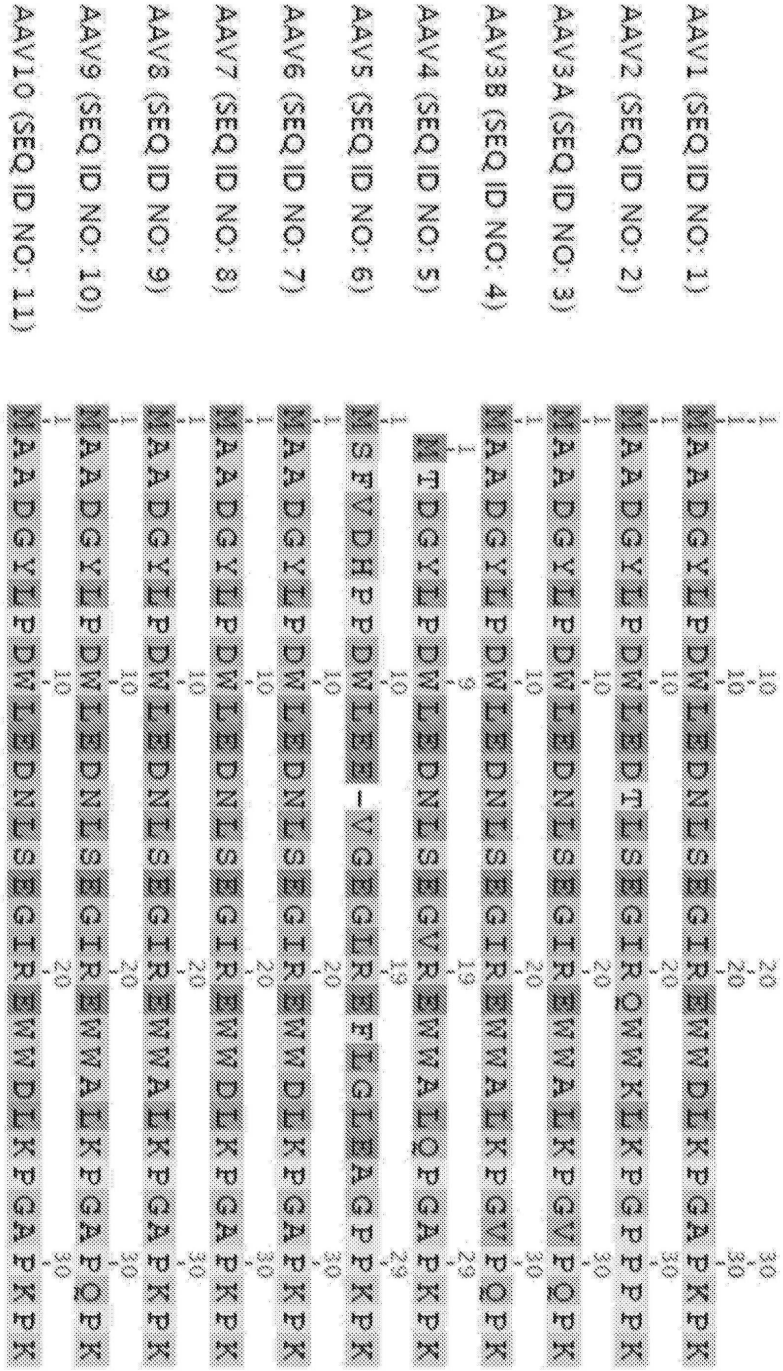
도면4


(a) Round 3
40.74
7.41
9.26
14.69
12.96
12.95
(b) Round 4
20.00
2.67
12.33
14.67
13.33
36.00
(c) Round 5
22.64
5.66
1.89
11.32
50.00
(d) Round 6
17.74
12.90
69.35
Peptide Insertion #1
Peptide Insertion #2
Point Mutation #1
Point Mutation #2
Peptide Insertion #3
Other

도면5



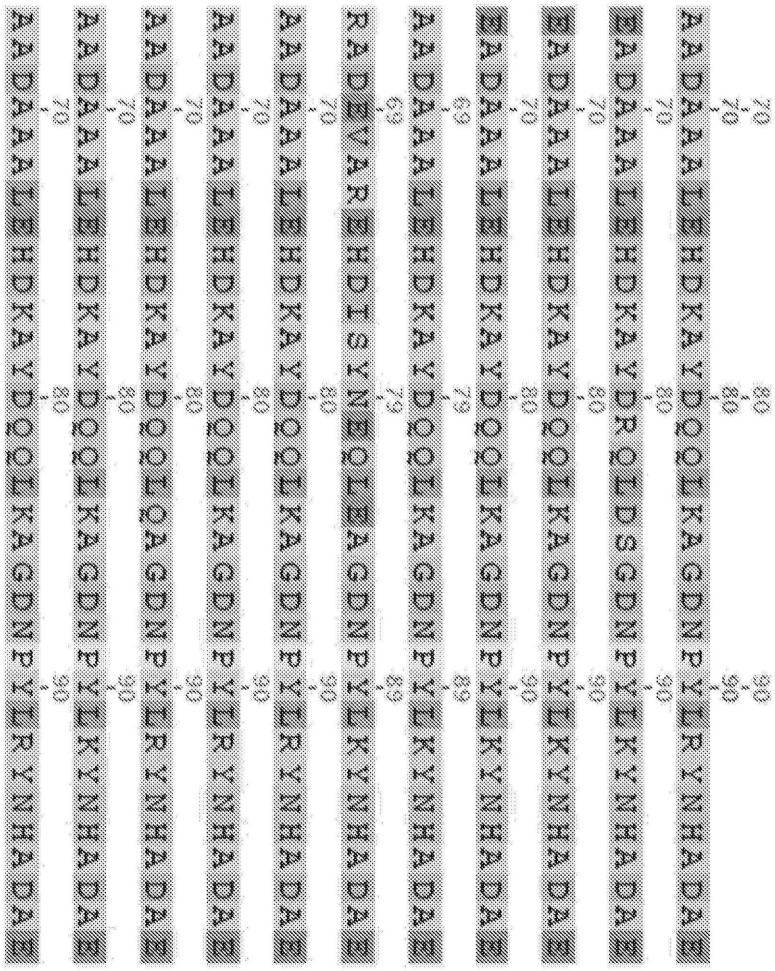
도면6a


AAV1 (SEQ ID NO: 1)
AAV2 (SEQ ID NO: 2)
AAV3A (SEQ ID NO: 3)
AAV3B (SEQ ID NO: 4)
AAV4 (SEQ ID NO: 5)
AAV5 (SEQ ID NO: 6)
AAV6 (SEQ ID NO: 7)
AAV7 (SEQ ID NO: 8)
AAV8 (SEQ ID NO: 9)
AAV9 (SEQ ID NO: 10)
AAV10 (SEQ ID NO: 11)

도면6b

AAV1 (SEQ ID NO: 1)
AAV2 (SEQ ID NO: 2)
AAV3A (SEQ ID NO: 3)
AAV3B (SEQ ID NO: 4)
AAV4 (SEQ ID NO: 5)
AAV5 (SEQ ID NO: 6)
AAV6 (SEQ ID NO: 7)
AAV7 (SEQ ID NO: 8)
AAV8 (SEQ ID NO: 9)
AAV9 (SEQ ID NO: 10)
AAV10 (SEQ ID NO: 11)

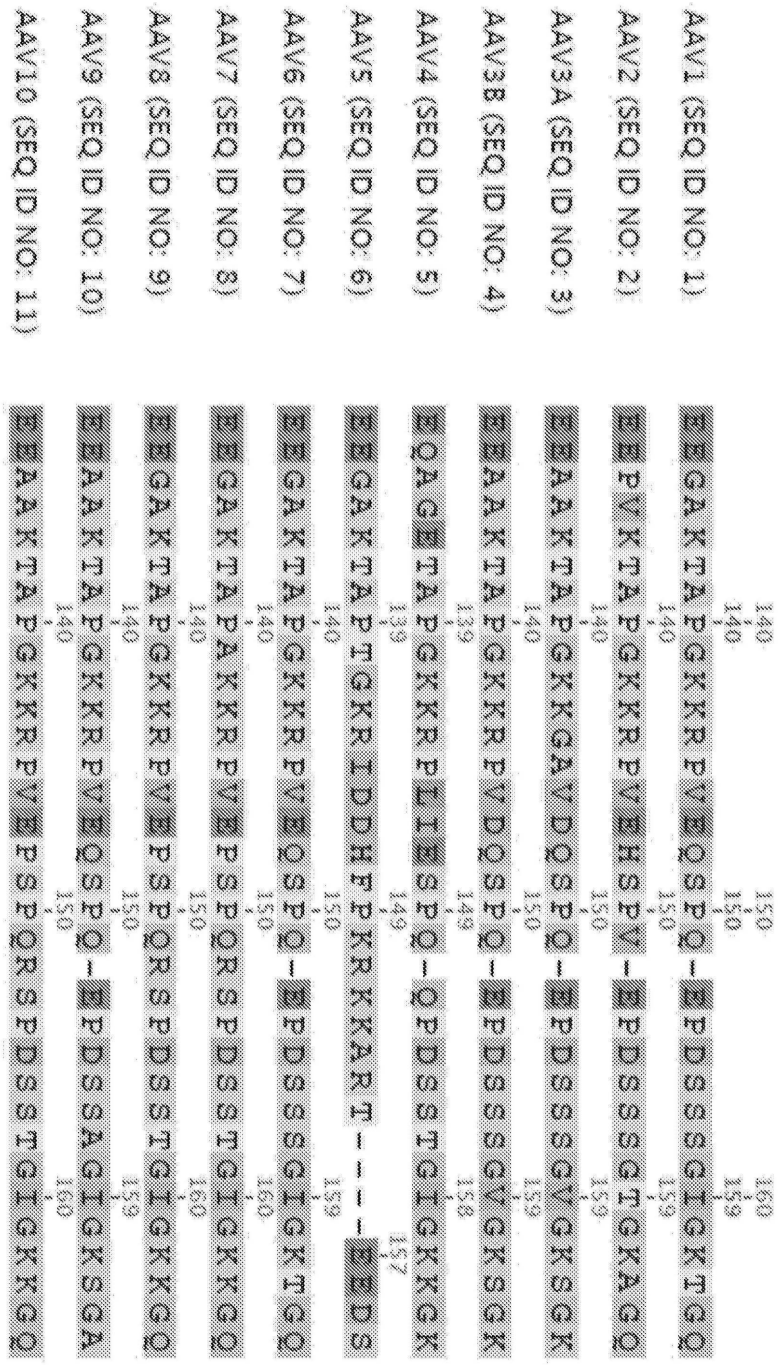
도면6c


AAV1 (SEQ ID NO: 1)
AAV2 (SEQ ID NO: 2)
AAV3A (SEQ ID NO: 3)
AAV3B (SEQ ID NO: 4)
AAV4 (SEQ ID NO: 5)
AAV5 (SEQ ID NO: 6)
AAV6 (SEQ ID NO: 7)
AAV7 (SEQ ID NO: 8)
AAV8 (SEQ ID NO: 9)
AAV9 (SEQ ID NO: 10)
AAV10 (SEQ ID NO: 11)

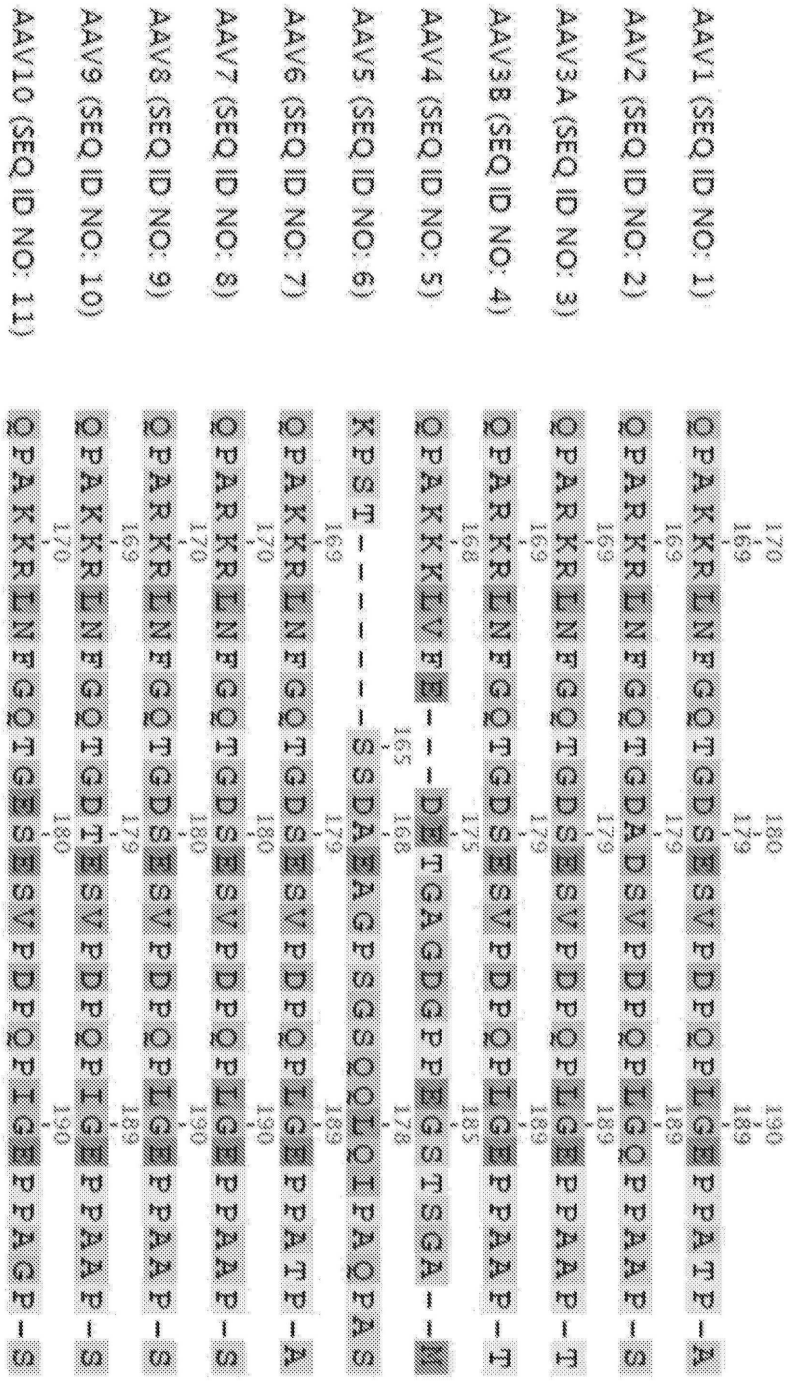
도면6d

AAV1 (SEQ ID NO: 1)
AAV2 (SEQ ID NO: 2)
AAV3A (SEQ ID NO: 3)
AAV3B (SEQ ID NO: 4)
AAV4 (SEQ ID NO: 5)
AAV5 (SEQ ID NO: 6)
AAV6 (SEQ ID NO: 7)
AAV7 (SEQ ID NO: 8)
AAV8 (SEQ ID NO: 9)
AAV9 (SEQ ID NO: 10)
AAV10 (SEQ ID NO: 11)

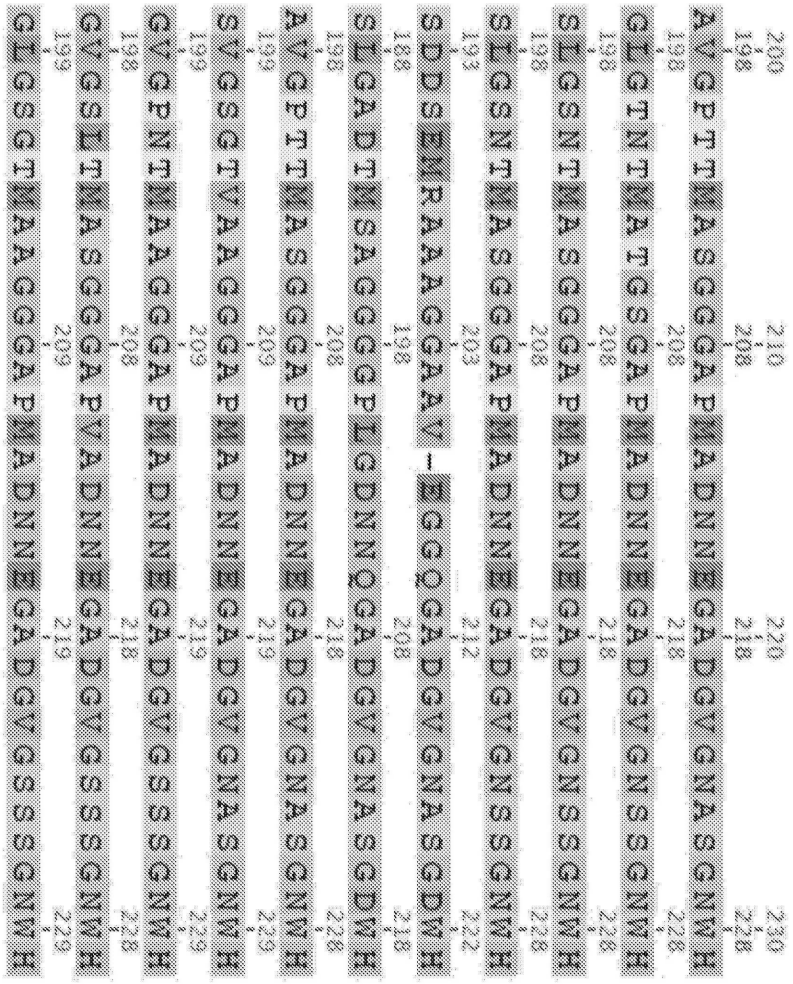
도면6e


AAV1 (SEQ ID NO: 1)
AAV2 (SEQ ID NO: 2)
AAV3A (SEQ ID NO: 3)
AAV3B (SEQ ID NO: 4)
AAV4 (SEQ ID NO: 5)
AAV5 (SEQ ID NO: 6)
AAV6 (SEQ ID NO: 7)
AAV7 (SEQ ID NO: 8)
AAV8 (SEQ ID NO: 9)
AAV9 (SEQ ID NO: 10)
AAV10 (SEQ ID NO: 11)

도면6f


AAV1 (SEQ ID NO: 1)
AAV2 (SEQ ID NO: 2)
AAV3A (SEQ ID NO: 3)
AAV3B (SEQ ID NO: 4)
AAV4 (SEQ ID NO: 5)
AAV5 (SEQ ID NO: 6)
AAV6 (SEQ ID NO: 7)
AAV7 (SEQ ID NO: 8)
AAV8 (SEQ ID NO: 9)
AAV9 (SEQ ID NO: 10)
AAV10 (SEQ ID NO: 11)

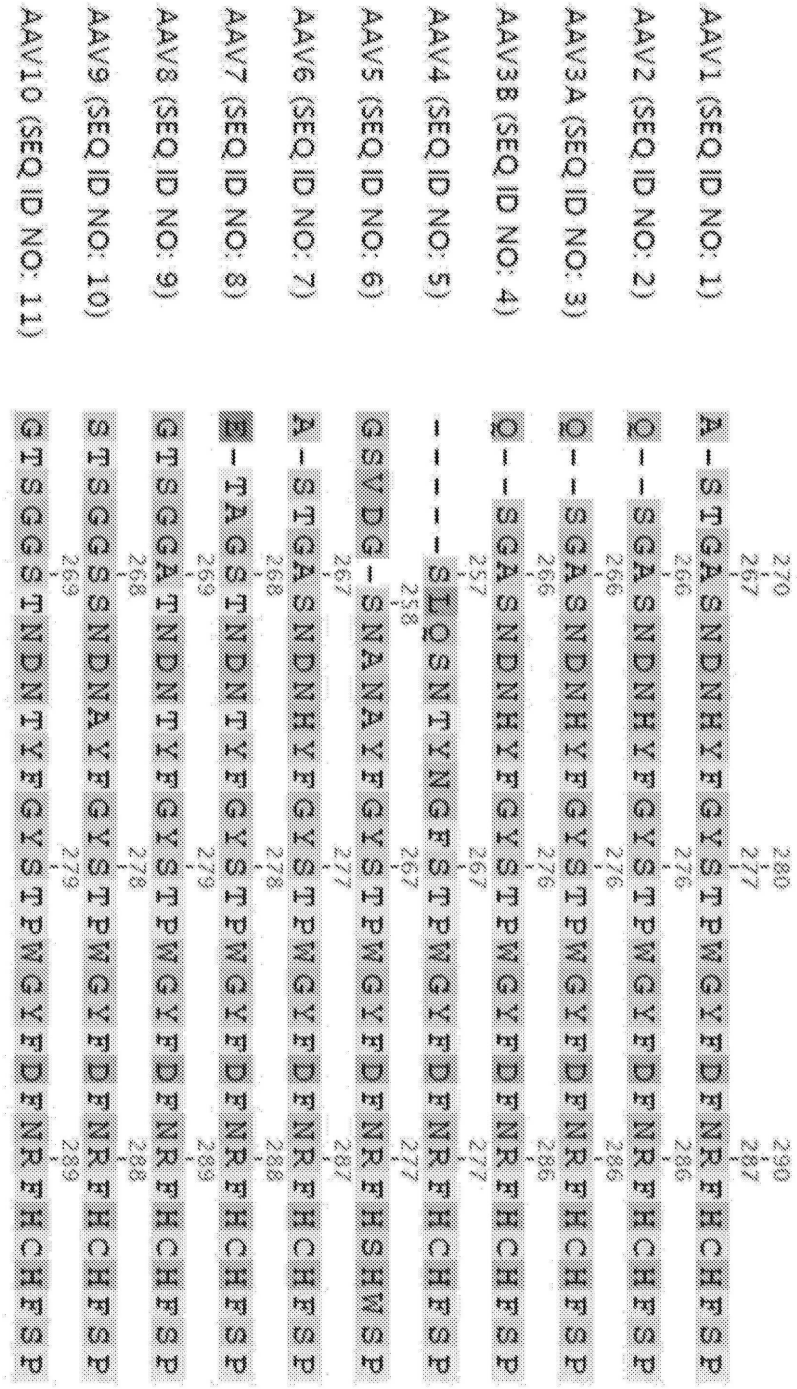
도면6g


AAV1 (SEQ ID NO: 1)
AAV2 (SEQ ID NO: 2)
AAV3A (SEQ ID NO: 3)
AAV3B (SEQ ID NO: 4)
AAV4 (SEQ ID NO: 5)
AAV5 (SEQ ID NO: 6)
AAV6 (SEQ ID NO: 7)
AAV7 (SEQ ID NO: 8)
AAV8 (SEQ ID NO: 9)
AAV9 (SEQ ID NO: 10)
AAV10 (SEQ ID NO: 11)

도면6h

AAV1 (SEQ ID NO: 1)
AAV2 (SEQ ID NO: 2)
AAV3A (SEQ ID NO: 3)
AAV3B (SEQ ID NO: 4)
AAV4 (SEQ ID NO: 5)
AAV5 (SEQ ID NO: 6)
AAV6 (SEQ ID NO: 7)
AAV7 (SEQ ID NO: 8)
AAV8 (SEQ ID NO: 9)
AAV9 (SEQ ID NO: 10)
AAV10 (SEQ ID NO: 11)
CDSTWLGDRVITTSTRTWALPTYNNHLYKQISS
CDSTWMGDRVITTSTRTWALPTYNNHLYKQISS
CDSQWLGDRVITTSTRTWALPTYNNHLYKQISS
CDSTWSEGHVTTTSTRTWVLPTYNNHLYKRLGE
CDSTWMGDRVVTKSTRTWVLPSYNNHQYREIKS
CDSTWLGDRVITTSTRTWALPTYNNHLYKQISS
CDSTWLGDRVITTSTRTWALPTYNNHLYKQISS
CDSTWLGDRVITTSTRTWALPTYNNHLYKQISN
CDSQWLGDRVITTSTRTWALPTYNNHLYKQISN
CDSTWLGDRVITTSTRTWALPTYNNHLYKQISN

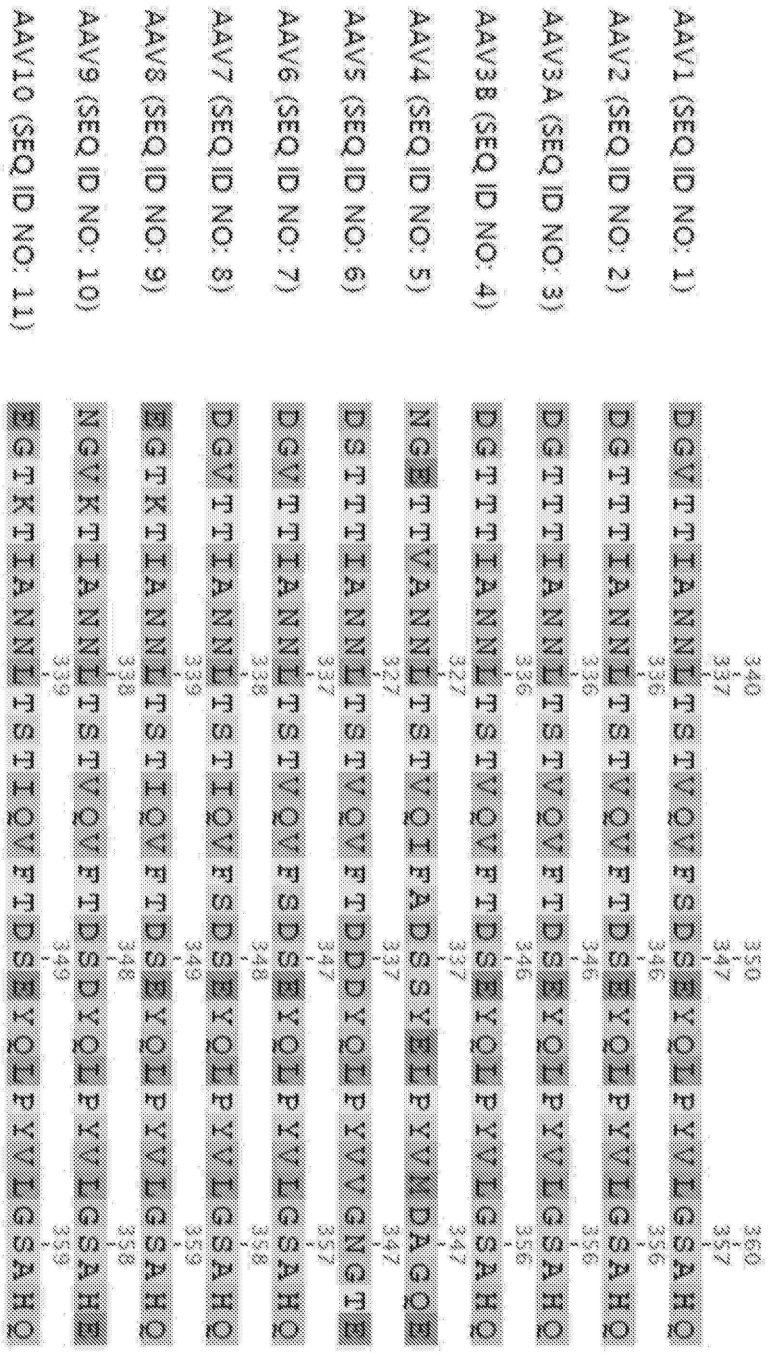
도면6i


AAV1 (SEQ ID NO: 1)
AAV2 (SEQ ID NO: 2)
AAV3A (SEQ ID NO: 3)
AAV3B (SEQ ID NO: 4)
AAV4 (SEQ ID NO: 5)
AAV5 (SEQ ID NO: 6)
AAV6 (SEQ ID NO: 7)
AAV7 (SEQ ID NO: 8)
AAV8 (SEQ ID NO: 9)
AAV9 (SEQ ID NO: 10)
AAV10 (SEQ ID NO: 11)

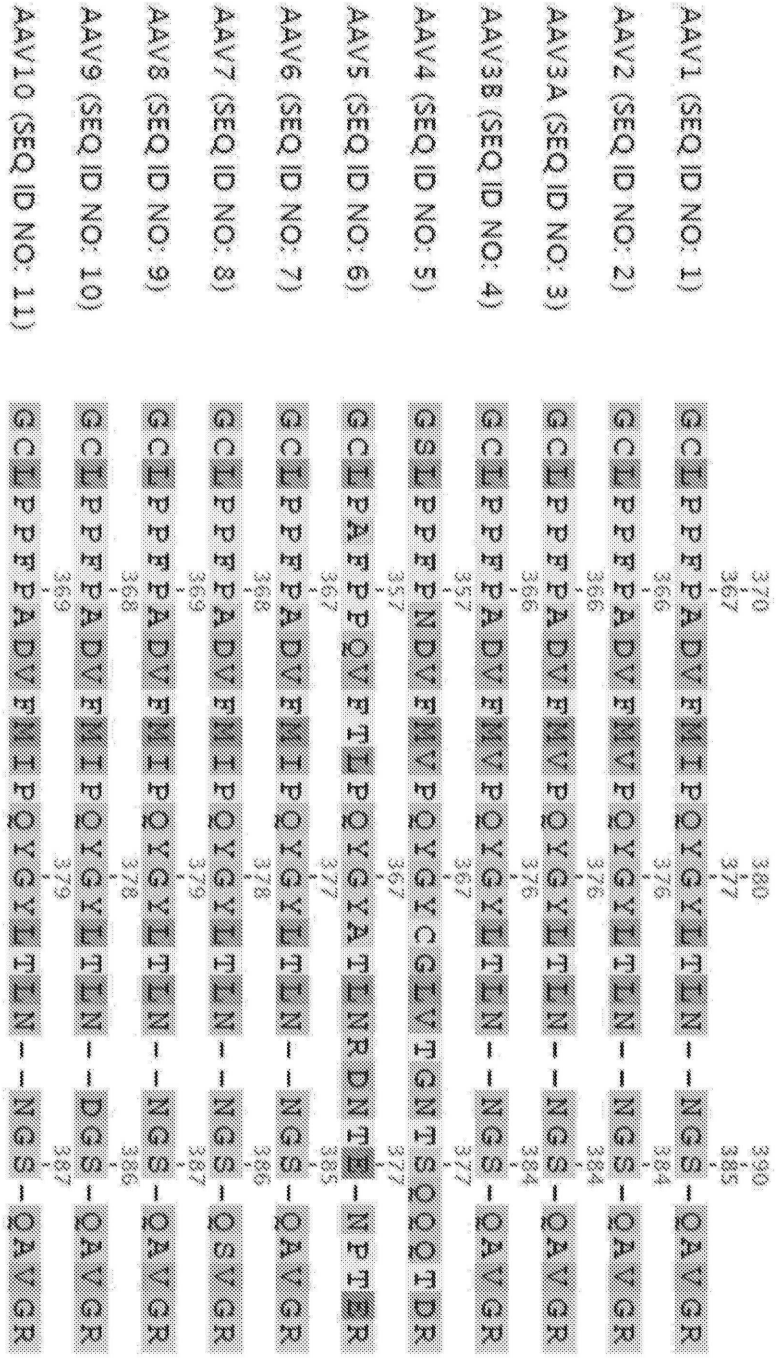
도면6j

AAV1 (SEQ ID NO: 1)
AAV2 (SEQ ID NO: 2)
AAV3A (SEQ ID NO: 3)
AAV3B (SEQ ID NO: 4)
AAV4 (SEQ ID NO: 5)
AAV5 (SEQ ID NO: 6)
AAV6 (SEQ ID NO: 7)
AAV7 (SEQ ID NO: 8)
AAV8 (SEQ ID NO: 9)
AAV9 (SEQ ID NO: 10)
AAV10 (SEQ ID NO: 11)

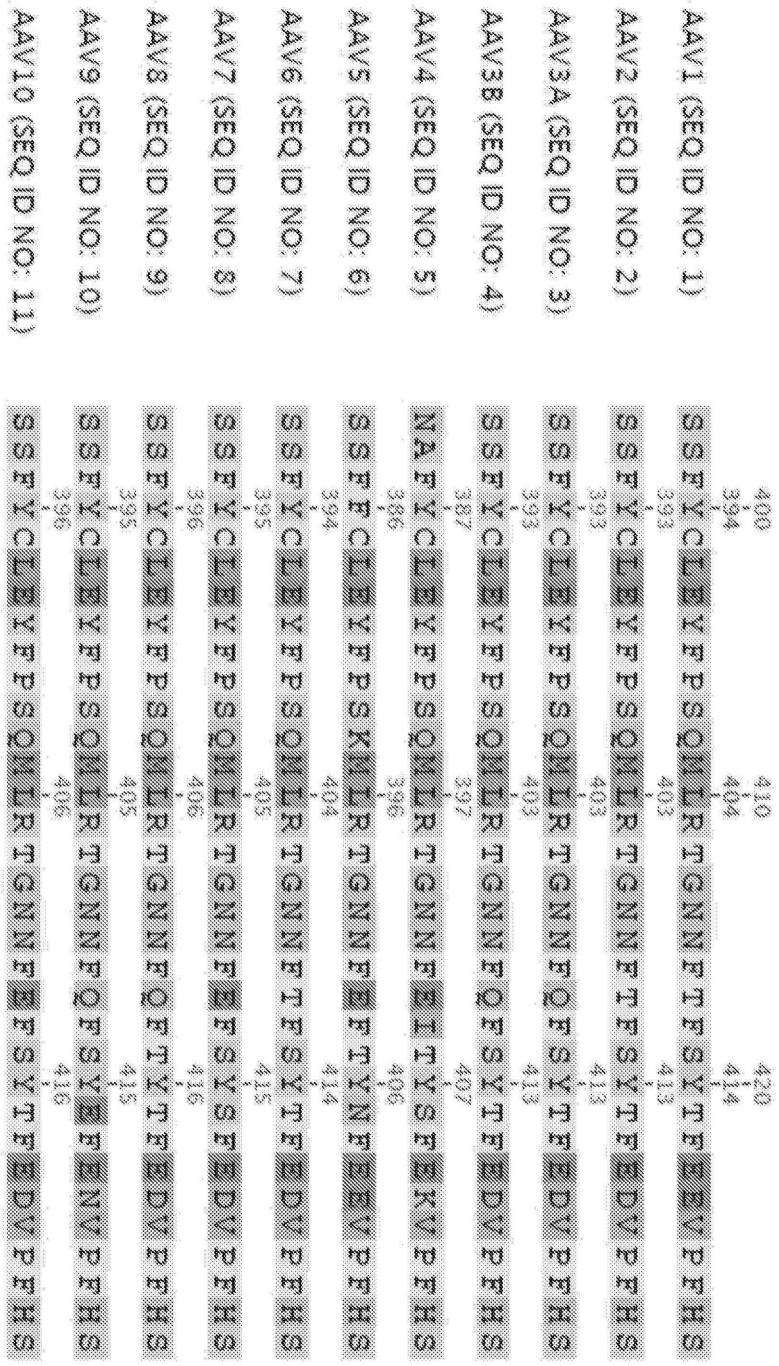
도면6k


AAV1 (SEQ ID NO: 1)
AAV2 (SEQ ID NO: 2)
AAV3A (SEQ ID NO: 3)
AAV3B (SEQ ID NO: 4)
AAV4 (SEQ ID NO: 5)
AAV5 (SEQ ID NO: 6)
AAV6 (SEQ ID NO: 7)
AAV7 (SEQ ID NO: 8)
AAV8 (SEQ ID NO: 9)
AAV9 (SEQ ID NO: 10)
AAV10 (SEQ ID NO: 11)

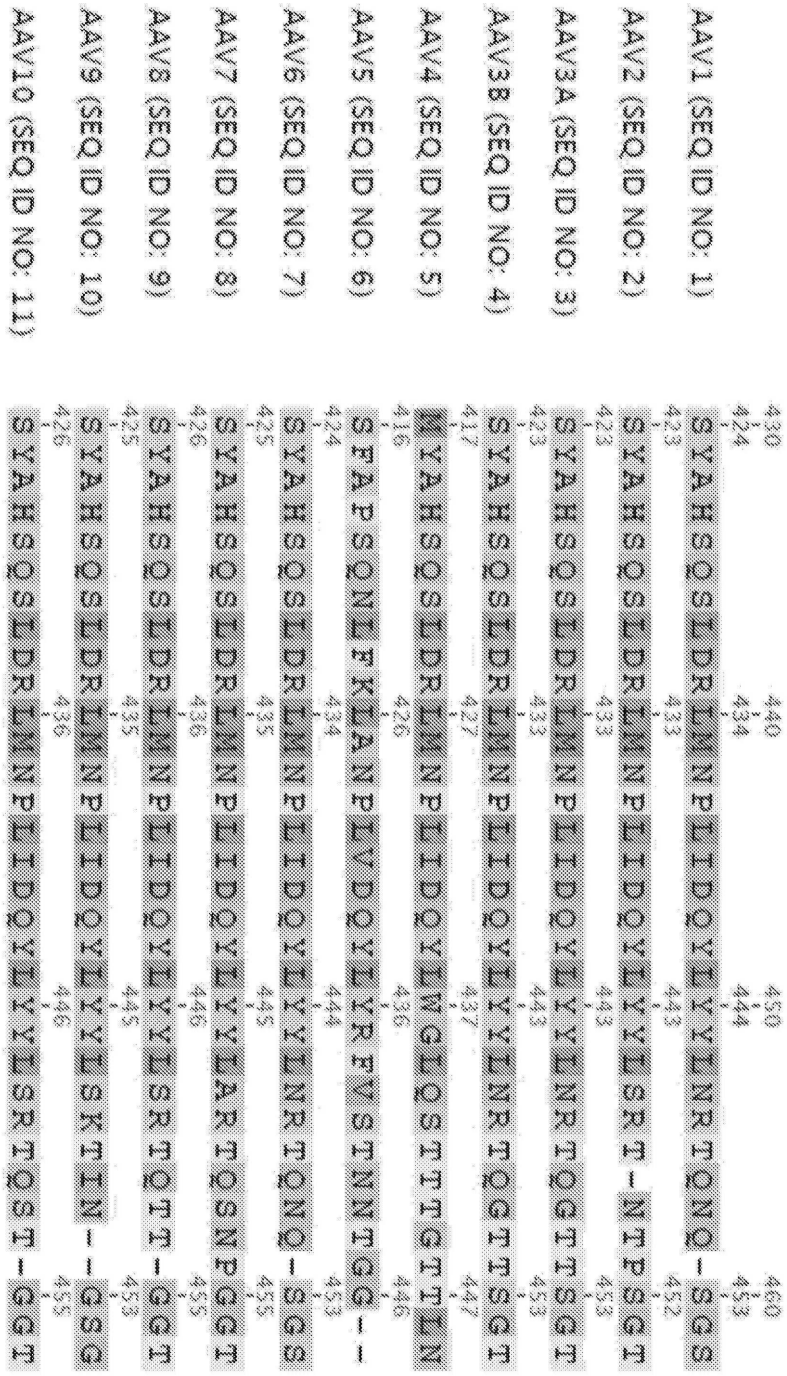
도면61


AAV1 (SEQ ID NO: 1)
AAV2 (SEQ ID NO: 2)
AAV3A (SEQ ID NO: 3)
AAV3B (SEQ ID NO: 4)
AAV4 (SEQ ID NO: 5)
AAV5 (SEQ ID NO: 6)
AAV6 (SEQ ID NO: 7)
AAV7 (SEQ ID NO: 8)
AAV8 (SEQ ID NO: 9)
AAV9 (SEQ ID NO: 10)
AAV10 (SEQ ID NO: 11)

도면6m


AAV1 (SEQ ID NO: 1)
AAV2 (SEQ ID NO: 2)
AAV3A (SEQ ID NO: 3)
AAV3B (SEQ ID NO: 4)
AAV4 (SEQ ID NO: 5)
AAV5 (SEQ ID NO: 6)
AAV6 (SEQ ID NO: 7)
AAV7 (SEQ ID NO: 8)
AAV8 (SEQ ID NO: 9)
AAV9 (SEQ ID NO: 10)
AAV10 (SEQ ID NO: 11)
SSEYCLEYEPSQMLRTGNNFEFSYTFEDVPFHS
SSEYCLEYEPSQMLRTGNNFTFSYTFEEVPFHS
SSEYCLEYEPSQMLRTGNNFQFSYTFEDVPFHS
SSEYCLEYEPSKMLRTGNNFEFTYNFEEVPFHS
NPEYCLEYEPSQMLRTGNNFELTYSFEKVPFHS
SSEYCLEYEPSQMLRTGNNFTFSYTFEDVPFHS
SSEYCLEYEPSQMLRTGNNFTFSYTFEDVPFHS
SSEYCLEYEPSQMLRTGNNFEFSYSFEDVPFHS
SSEYCLEYEPSQMLRTGNNFQFEYTFEDVPFHS
SSEYCLEYEPSQMLRTGNNFEFSYEFENVPFHS
SSEYCLEYEPSQMLRTGNNFEFSYTFEDVPFHS
393
394
400
403
404
410
413
414
420
406
416

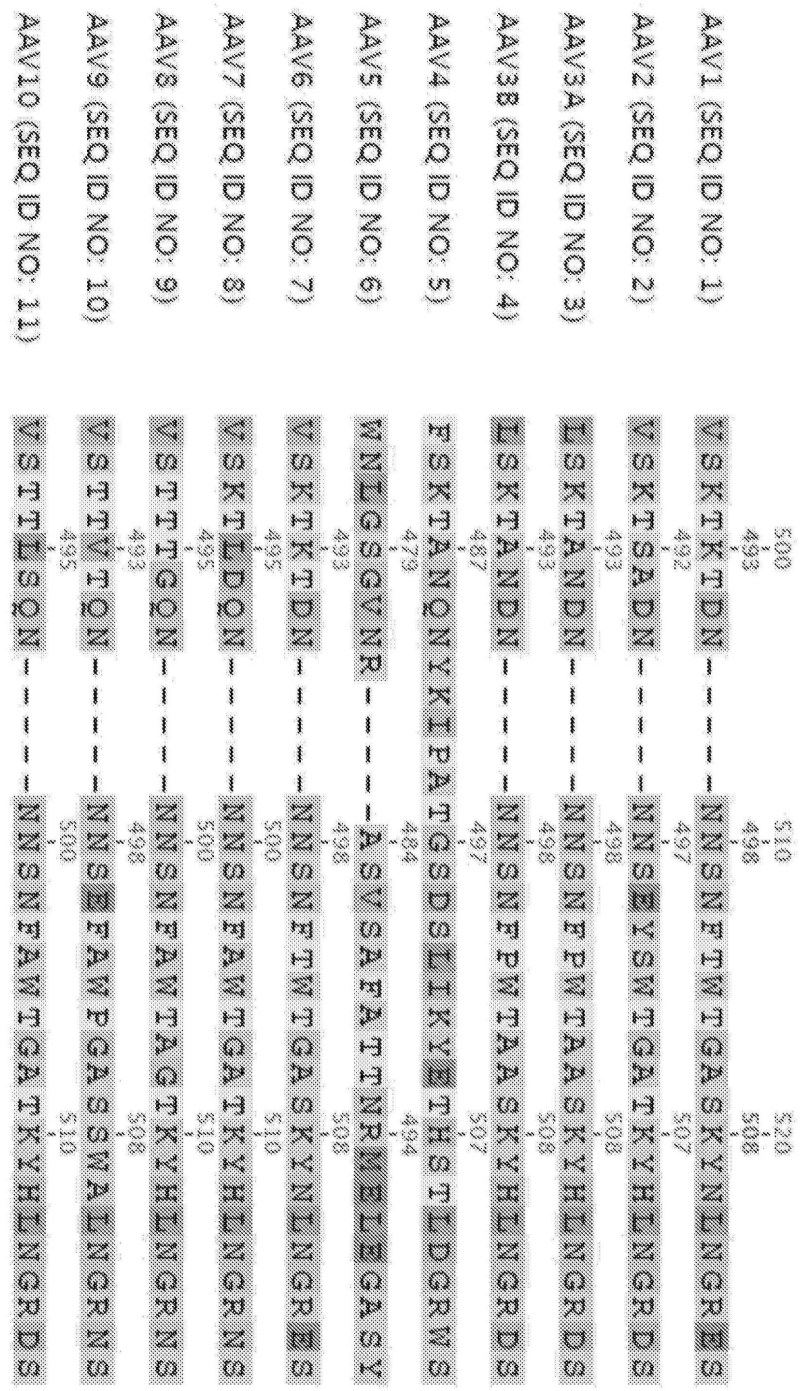
도면6n


AAV1 (SEQ ID NO: 1)
AAV2 (SEQ ID NO: 2)
AAV3A (SEQ ID NO: 3)
AAV3B (SEQ ID NO: 4)
AAV4 (SEQ ID NO: 5)
AAV5 (SEQ ID NO: 6)
AAV6 (SEQ ID NO: 7)
AAV7 (SEQ ID NO: 8)
AAV8 (SEQ ID NO: 9)
AAV9 (SEQ ID NO: 10)
AAV10 (SEQ ID NO: 11)

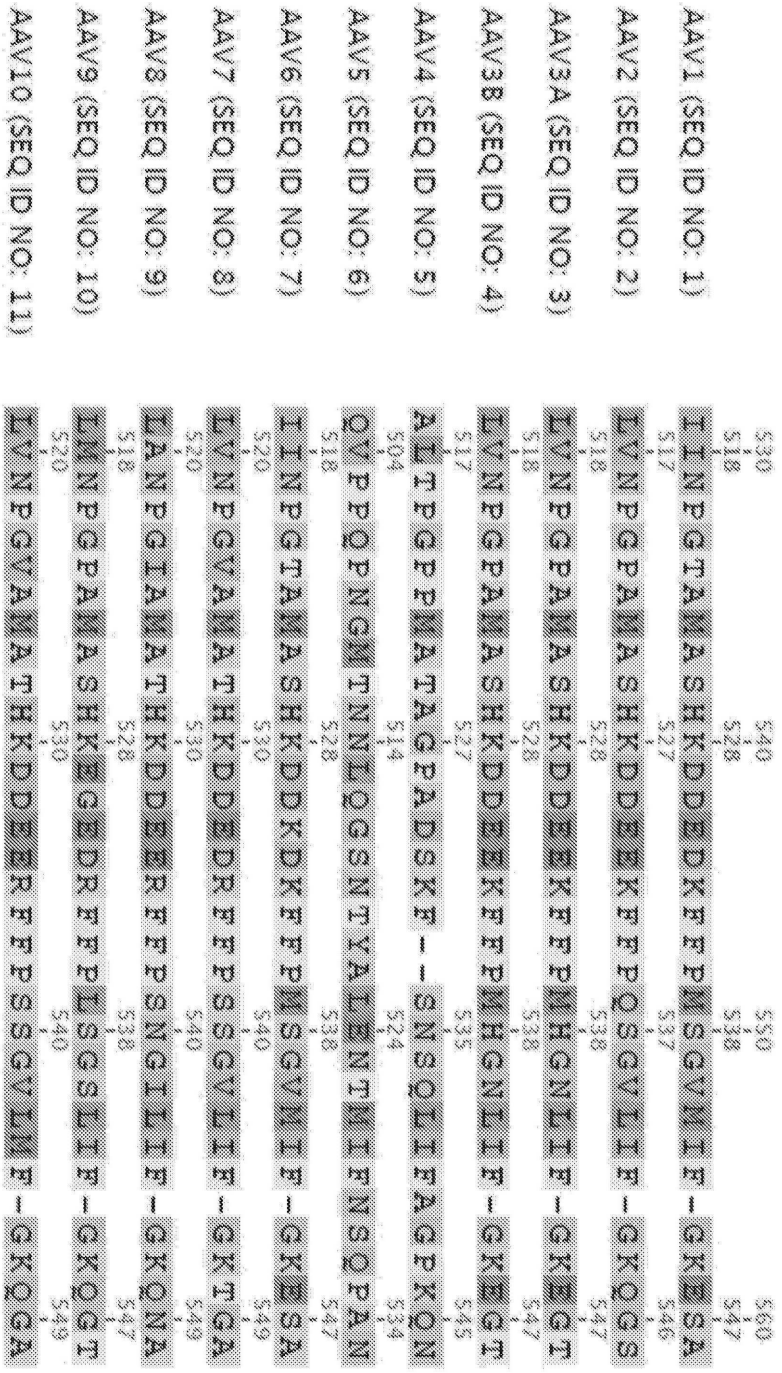
도면60

AAV1 (SEQ ID NO: 1)
AAV2 (SEQ ID NO: 2)
AAV3A (SEQ ID NO: 3)
AAV3B (SEQ ID NO: 4)
AAV4 (SEQ ID NO: 5)
AAV5 (SEQ ID NO: 6)
AAV6 (SEQ ID NO: 7)
AAV7 (SEQ ID NO: 8)
AAV8 (SEQ ID NO: 9)
AAV9 (SEQ ID NO: 10)
AAV10 (SEQ ID NO: 11)

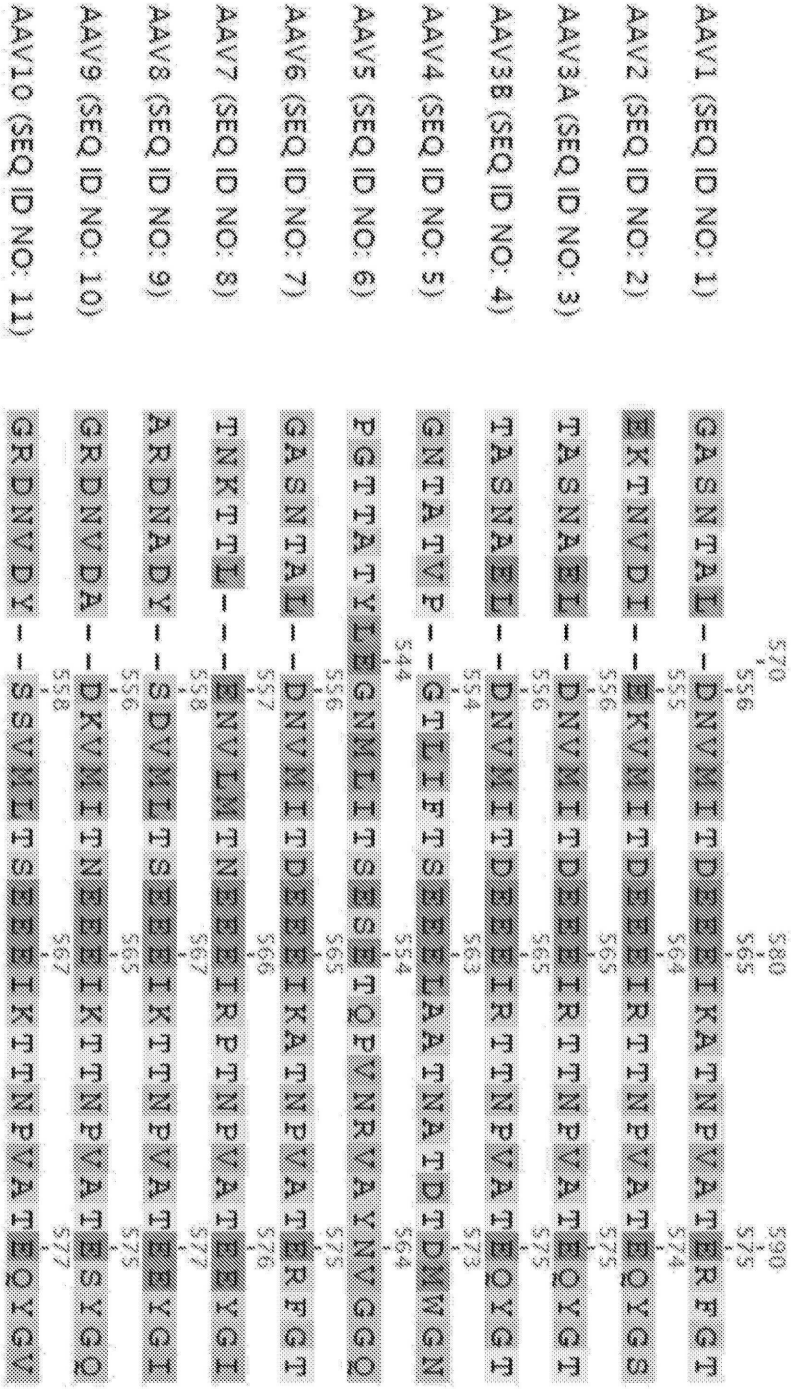
도면6p


AAV1 (SEQ ID NO: 1)
AAV2 (SEQ ID NO: 2)
AAV3A (SEQ ID NO: 3)
AAV3B (SEQ ID NO: 4)
AAV4 (SEQ ID NO: 5)
AAV5 (SEQ ID NO: 6)
AAV6 (SEQ ID NO: 7)
AAV7 (SEQ ID NO: 8)
AAV8 (SEQ ID NO: 9)
AAV9 (SEQ ID NO: 10)
AAV10 (SEQ ID NO: 11)

도면6q


AAV1 (SEQ ID NO: 1)
AAV2 (SEQ ID NO: 2)
AAV3A (SEQ ID NO: 3)
AAV3B (SEQ ID NO: 4)
AAV4 (SEQ ID NO: 5)
AAV5 (SEQ ID NO: 6)
AAV6 (SEQ ID NO: 7)
AAV7 (SEQ ID NO: 8)
AAV8 (SEQ ID NO: 9)
AAV9 (SEQ ID NO: 10)
AAV10 (SEQ ID NO: 11)

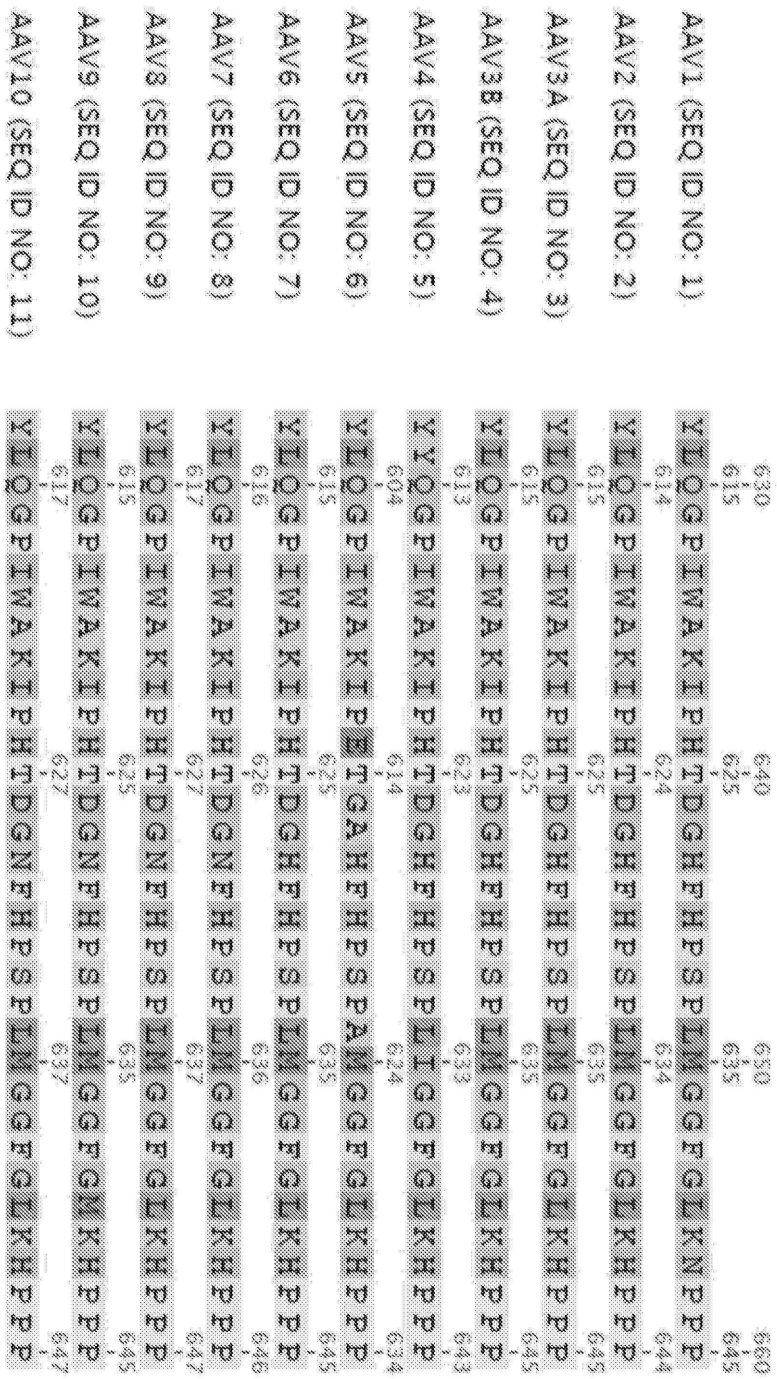
도면6r


AAV1 (SEQ ID NO: 1)
AAV2 (SEQ ID NO: 2)
AAV3A (SEQ ID NO: 3)
AAV3B (SEQ ID NO: 4)
AAV4 (SEQ ID NO: 5)
AAV5 (SEQ ID NO: 6)
AAV6 (SEQ ID NO: 7)
AAV7 (SEQ ID NO: 8)
AAV8 (SEQ ID NO: 9)
AAV9 (SEQ ID NO: 10)
AAV10 (SEQ ID NO: 11)

도면6s

AAV1 (SEQ ID NO: 1)
AAV2 (SEQ ID NO: 2)
AAV3A (SEQ ID NO: 3)
AAV3B (SEQ ID NO: 4)
AAV4 (SEQ ID NO: 5)
AAV5 (SEQ ID NO: 6)
AAV6 (SEQ ID NO: 7)
AAV7 (SEQ ID NO: 8)
AAV8 (SEQ ID NO: 9)
AAV9 (SEQ ID NO: 10)
AAV10 (SEQ ID NO: 11)

도면6t


AAV1 (SEQ ID NO: 1)
AAV2 (SEQ ID NO: 2)
AAV3A (SEQ ID NO: 3)
AAV3B (SEQ ID NO: 4)
AAV4 (SEQ ID NO: 5)
AAV5 (SEQ ID NO: 6)
AAV6 (SEQ ID NO: 7)
AAV7 (SEQ ID NO: 8)
AAV8 (SEQ ID NO: 9)
AAV9 (SEQ ID NO: 10)
AAV10 (SEQ ID NO: 11)

도면6u

AAV1 (SEQ ID NO: 1)
AAV2 (SEQ ID NO: 2)
AAV3A (SEQ ID NO: 3)
AAV3B (SEQ ID NO: 4)
AAV4 (SEQ ID NO: 5)
AAV5 (SEQ ID NO: 6)
AAV6 (SEQ ID NO: 7)
AAV7 (SEQ ID NO: 8)
AAV8 (SEQ ID NO: 9)
AAV9 (SEQ ID NO: 10)
AAV10 (SEQ ID NO: 11)

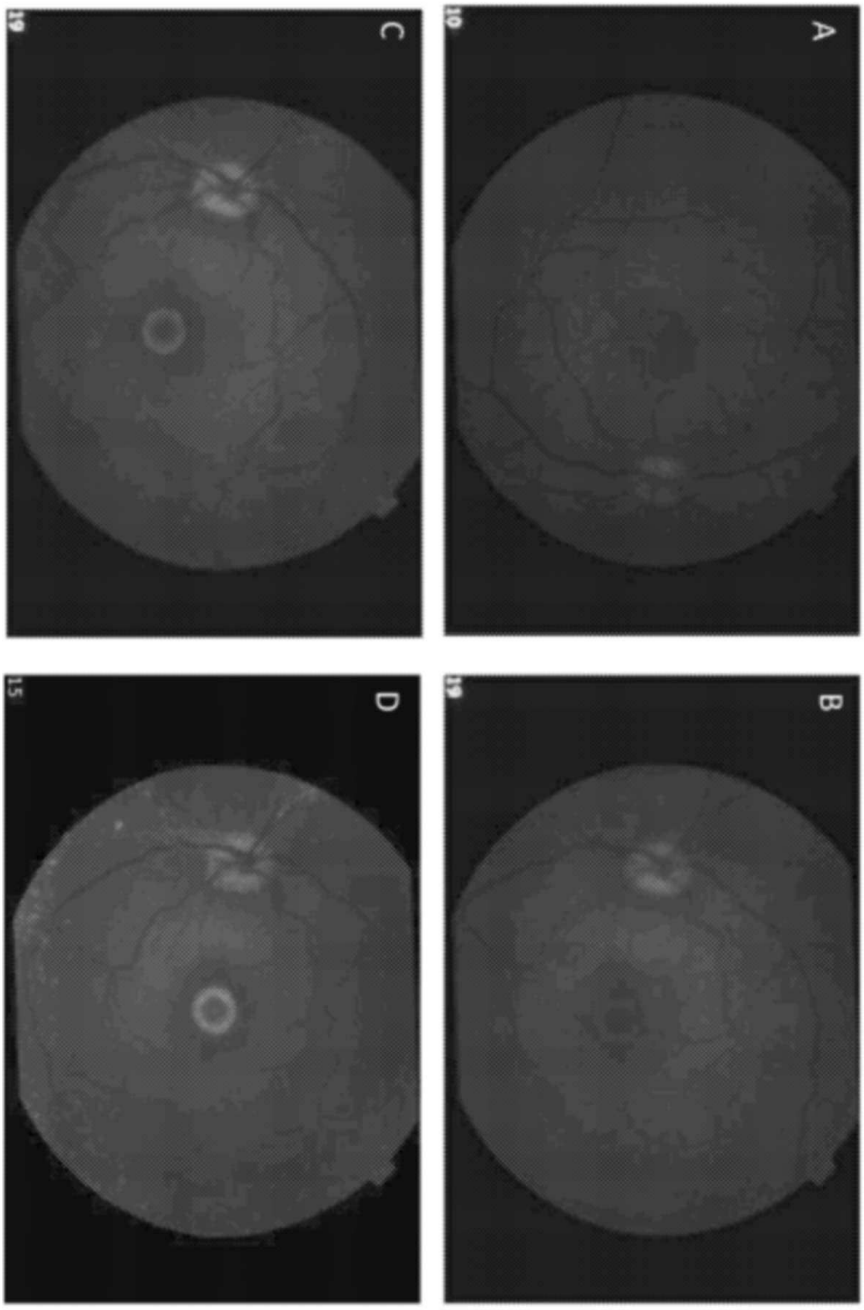
도면6v

AAV1 (SEQ ID NO: 1)
AAV2 (SEQ ID NO: 2)
AAV3A (SEQ ID NO: 3)
AAV3B (SEQ ID NO: 4)
AAV4 (SEQ ID NO: 5)
AAV5 (SEQ ID NO: 6)
AAV6 (SEQ ID NO: 7)
AAV7 (SEQ ID NO: 8)
AAV8 (SEQ ID NO: 9)
AAV9 (SEQ ID NO: 10)
AAV10 (SEQ ID NO: 11)
VSVEIEWELQKENSKRWNPEIQYTSNYNKSVNV
VSVEIEWELQKENSKRWNPEVQYTSNYAKSANV
VSVEIEWELQKENSKRWNPEIQYTSNYNKSVNV
VSVEIEWELQKENSKRWNPEIQYTSNYNKSVNV
VSVQIDWELQKERSKRWNPEVQFTSNYGQQNSL
VTVEMEWELKKENSKRWNPEIQYTNNYNDPQFV
VSVEIEWELQKENSKRWNPEVQYTSNYAKSANV
VSVEIEWELQKENSKRWNPEIQYTSNFEKQTGV
VSVEIEWELQKENSKRWNPEIQYTSNYYKSTSV
VSVEIEWELQKENSKRWNPEIQYTSNYYKSNNV
VSVEIEWELQKENSKRWNPEIQYTSNYYKSTNV

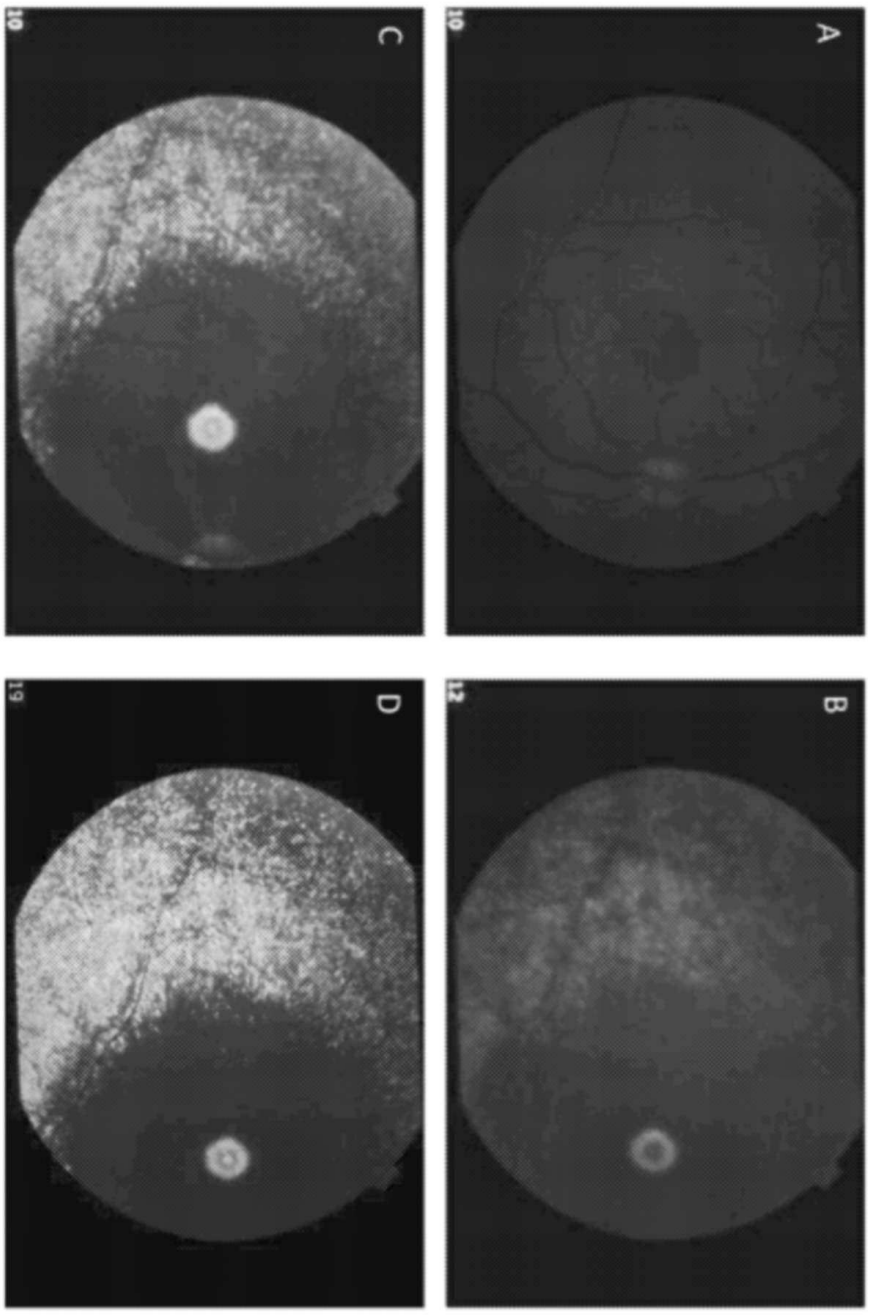
도면6w

AAV1 (SEQ ID NO: 1)
AAV2 (SEQ ID NO: 2)
AAV3A (SEQ ID NO: 3)
AAV3B (SEQ ID NO: 4)
AAV4 (SEQ ID NO: 5)
AAV5 (SEQ ID NO: 6)
AAV6 (SEQ ID NO: 7)
AAV7 (SEQ ID NO: 8)
AAV8 (SEQ ID NO: 9)
AAV9 (SEQ ID NO: 10)
AAV10 (SEQ ID NO: 11)

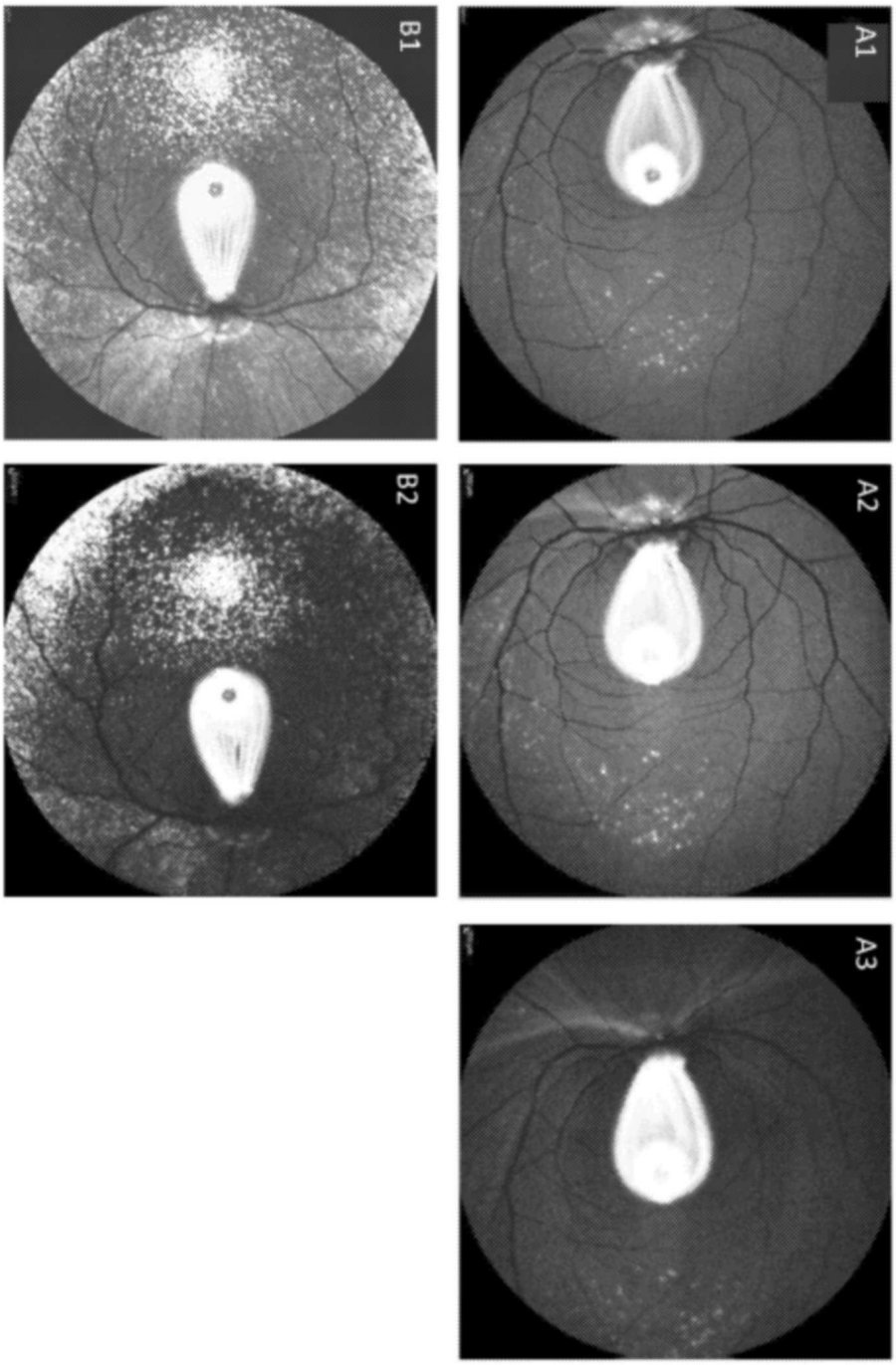
도면7



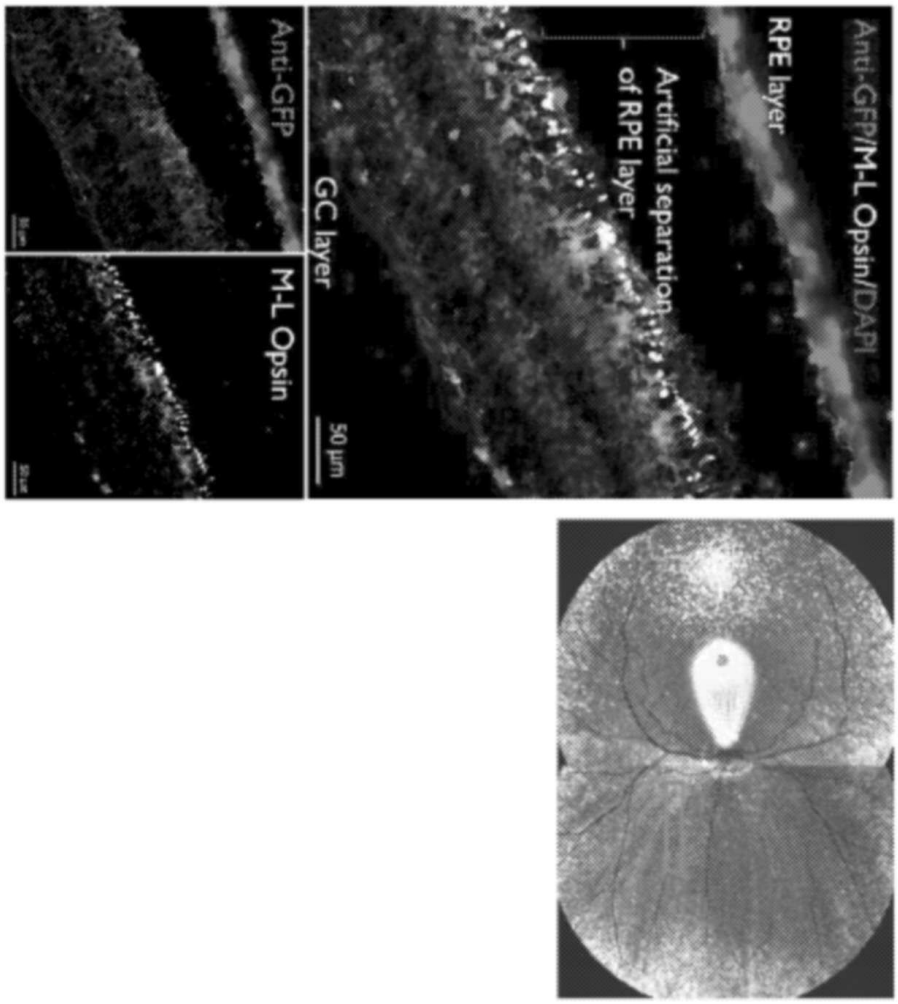
도면8



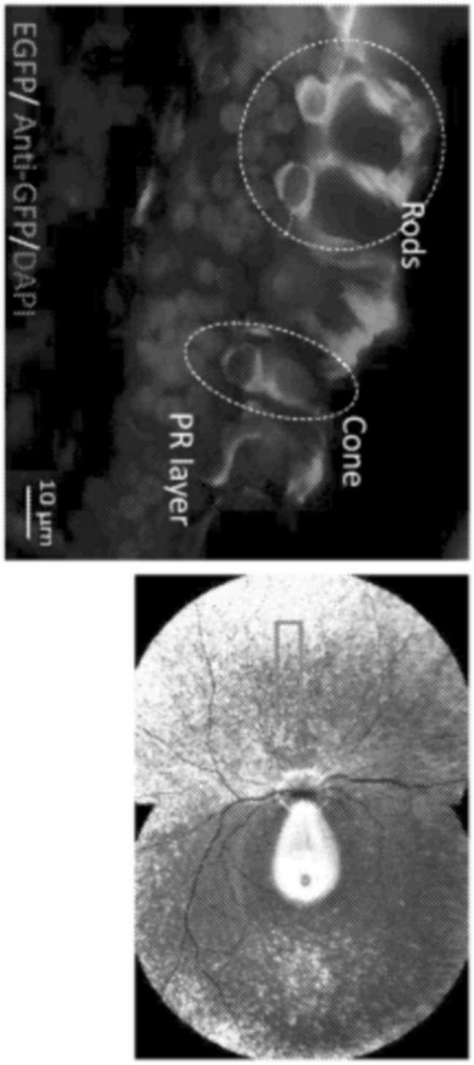
도면9



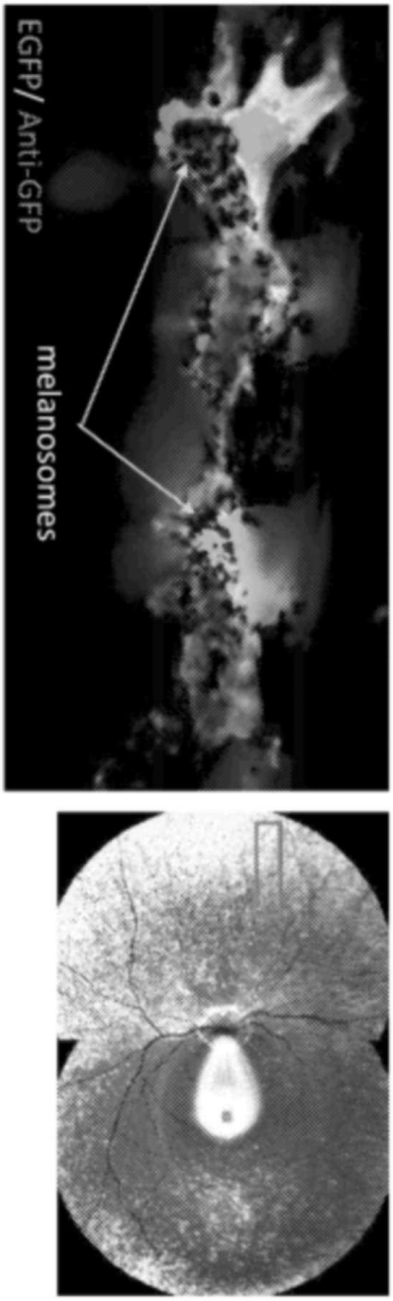
도면10a


Anti-GFP/M-L Opsin/DAPI
RPE layer
Artificial separation of RPE layer
GC layer
50 μm
Anti-GFP
M-L Opsin

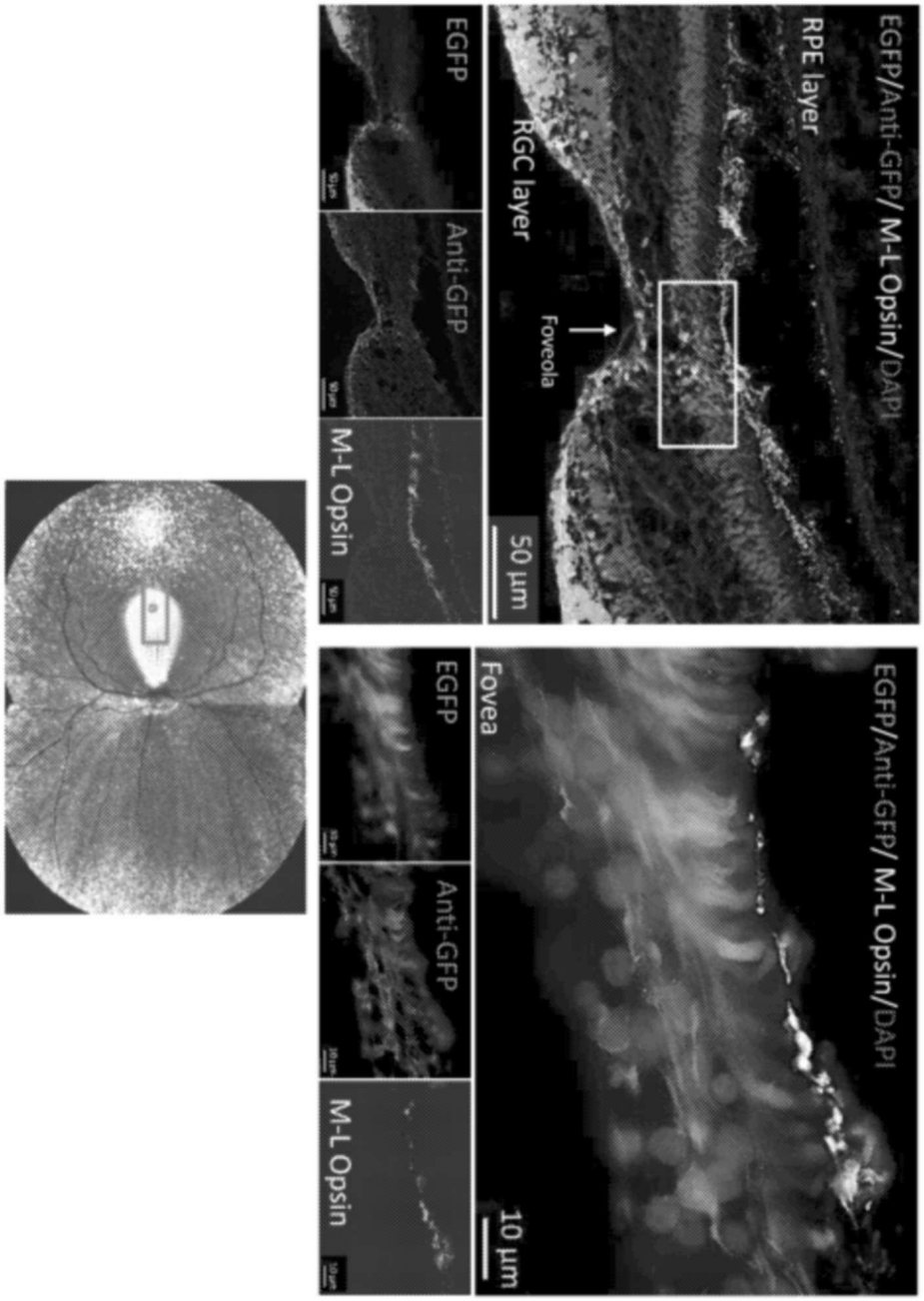
도면10b



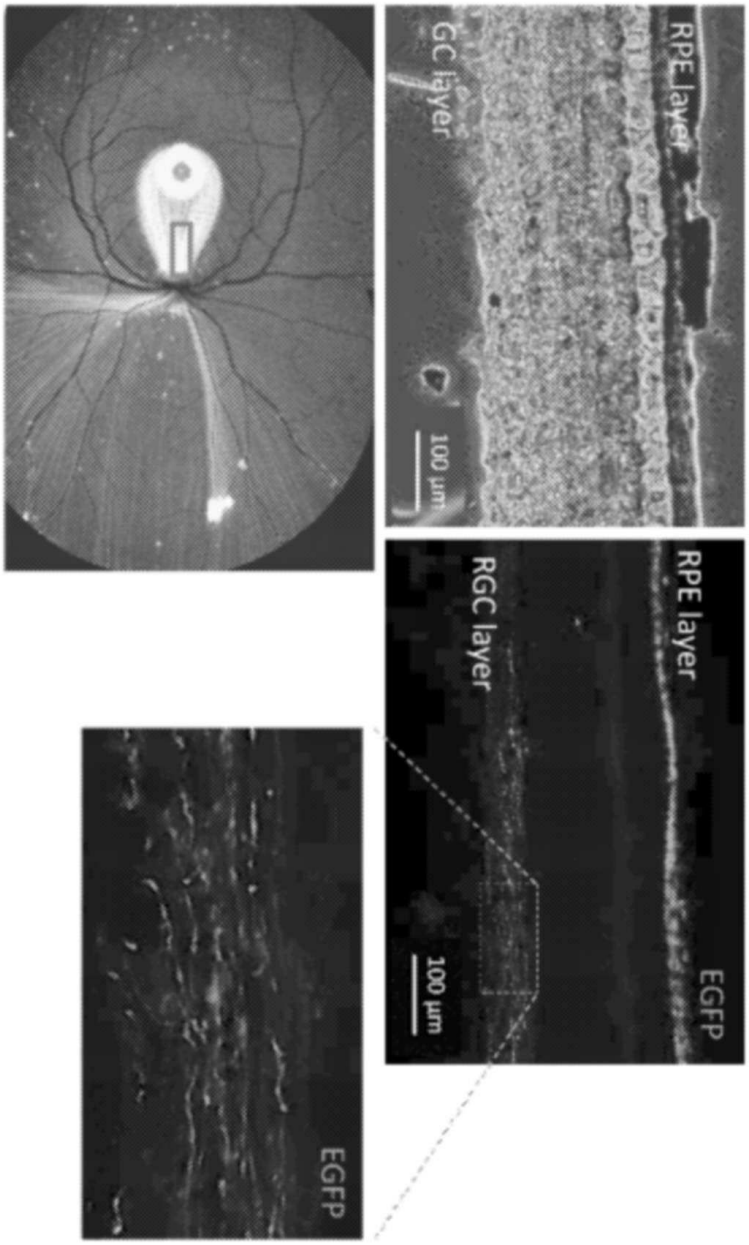
도면10c



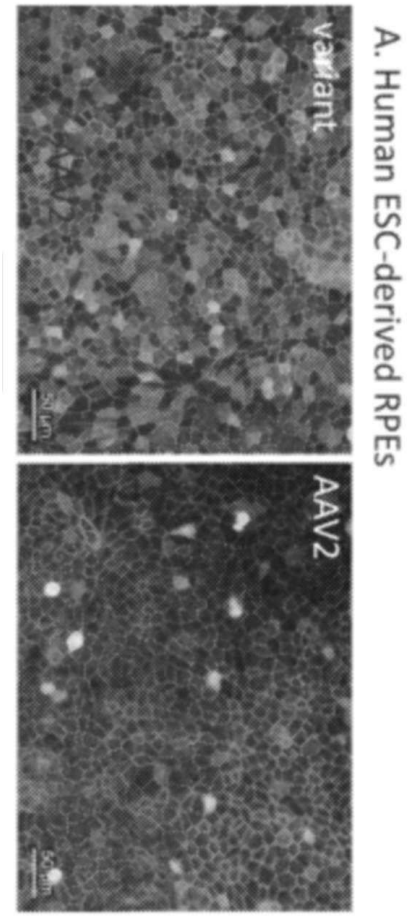
도면10d


EGFP/Anti-GFP/ M-L Opsin/DAPI
RPE layer
RGC layer
Fovcola
50 μm
EGFP
Anti-GFP
M-L Opsin
EGFP/Anti-GFP/ M-L Opsin/DAPI
Fovea
10 μm
EGFP
Anti-GFP
M-L Opsin

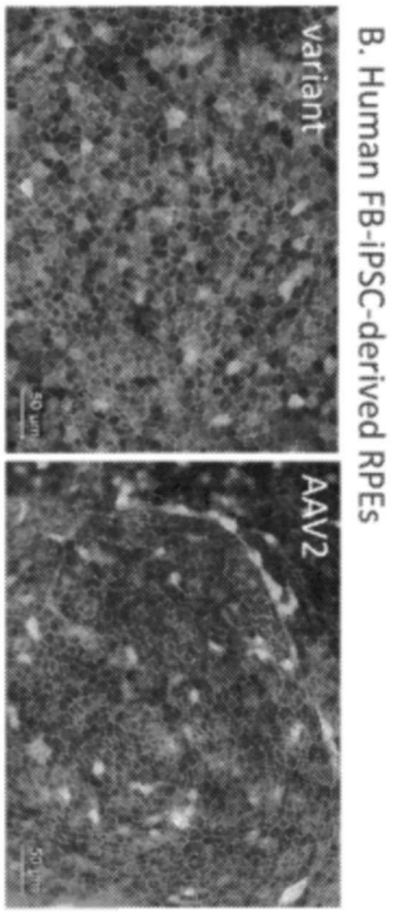
도면10e



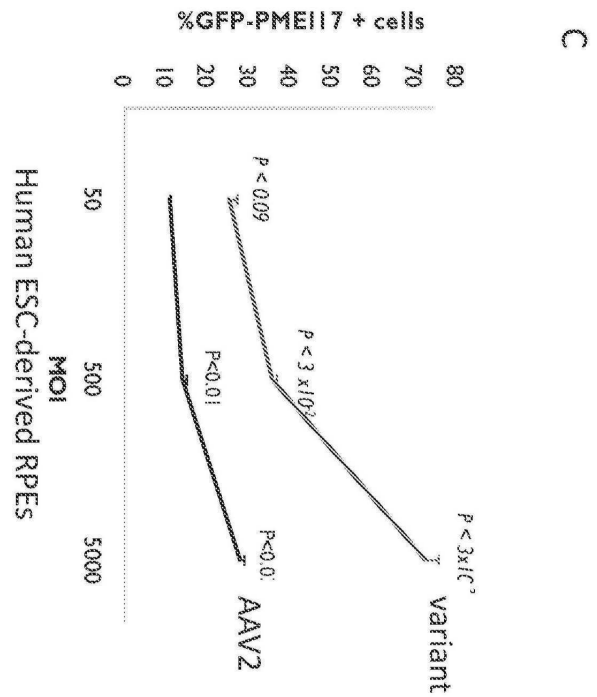
도면11a



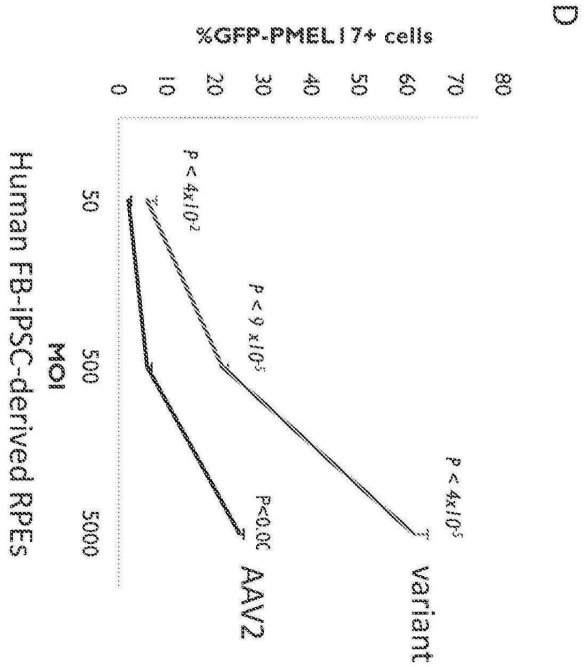
도면11b



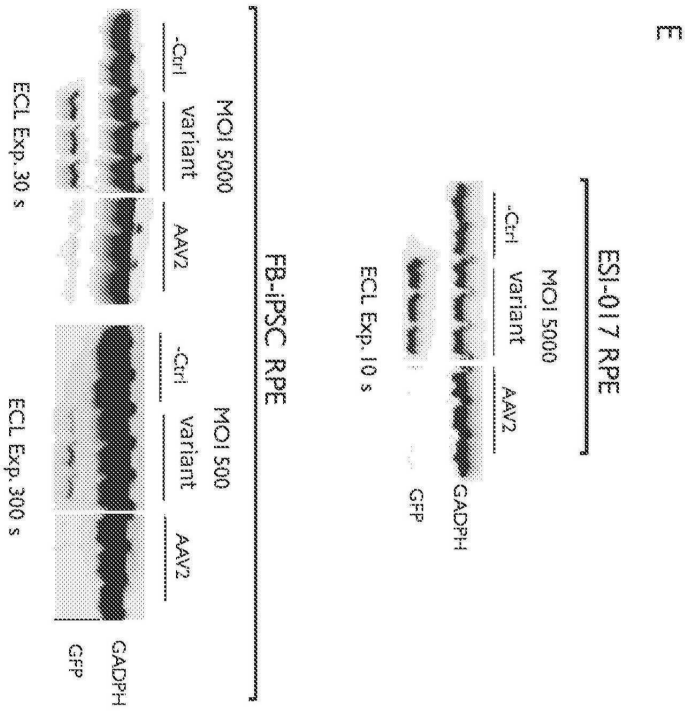
도면11c


C
%GFP-PMEl17 + cells
0
10
20
30
40
50
60
70
80
P < 0.09
P < 3 x10
P<0.01
P<0.0
P < 3x10
50
500
5000
MOI
Human ESC-derived RPEs
AAV2
variant

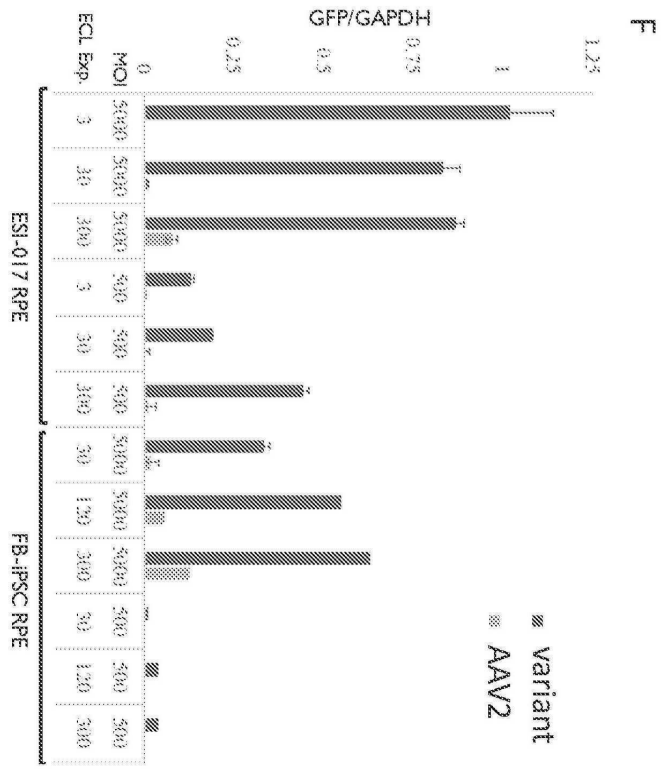
도면11d


D
%GFP-PMEL17+ cells
0
10
20
30
40
50
60
70
80
P < 4x10
P < 9 x10
P<0.00
P < 4x10
50
500
5000
MOI
Human FB-iPSC-derived RPEs
AAV2
variant

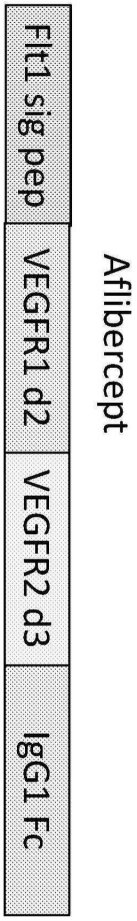
도면11e


E
ESI-017 RPE
MOI 5000
-Ctrl
variant
AAV2
GADPH
GFP
ECL Exp. 10 s
FB-iPSC RPE
MOI 5000
MOI 500
-Ctrl
variant
AAV2
ECL Exp. 30 s
ECL Exp. 300 s
GFP
GADPH

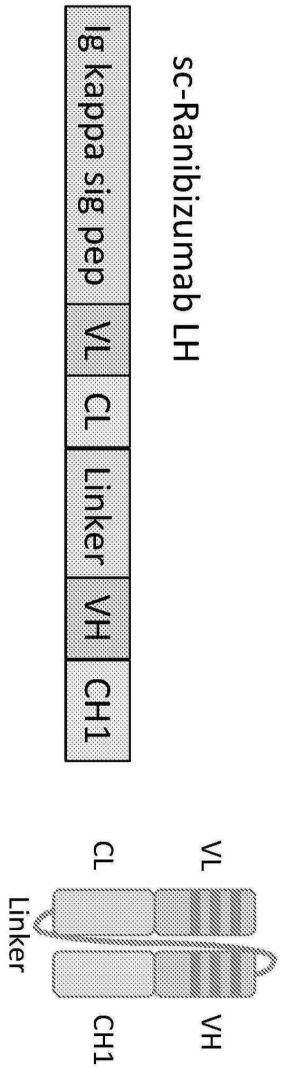
도면11f


F
GFP/GAPDH
0
0.25
0.5
0.75
1
1.25
variant
AAV2
MOI
ECL Exp.
ESI-017 RPE
FB-iPSC RPE

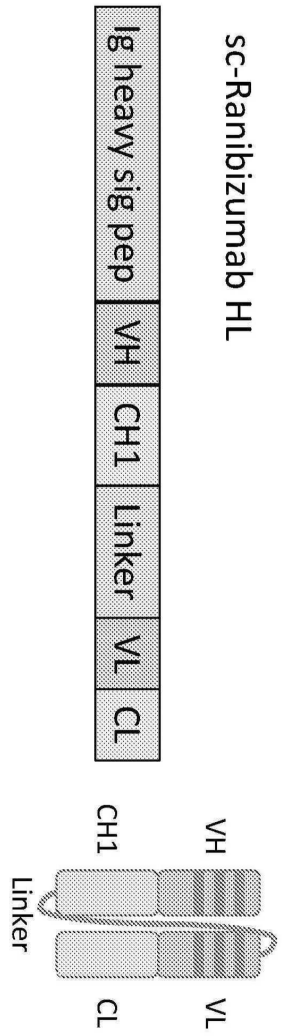
도면12a



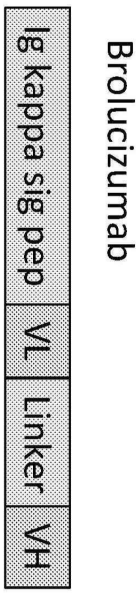
도면12b

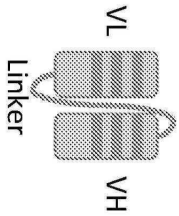

sc-Ranibizumab LH
Ig kappa sig pep
VL
CL
Linker
VH
CH1
CL
VL
Linker
CH1
VH

도면12c

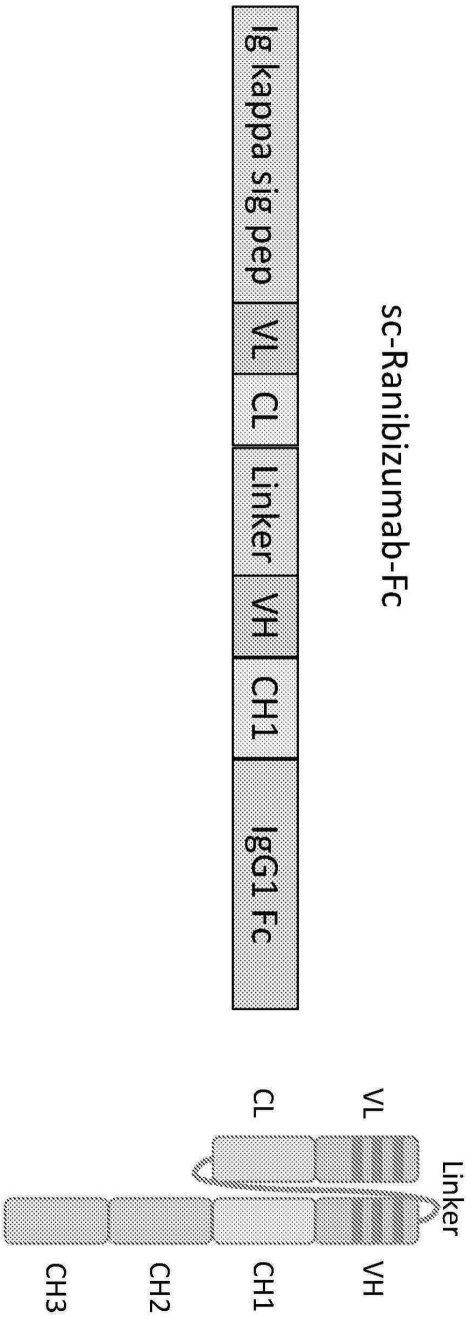

sc-Ranibizumab HL
Ig heavy sig pep
VH
CH1
Linker
VL
CL
CH1
VH
Linker
CL
VL

도면12d

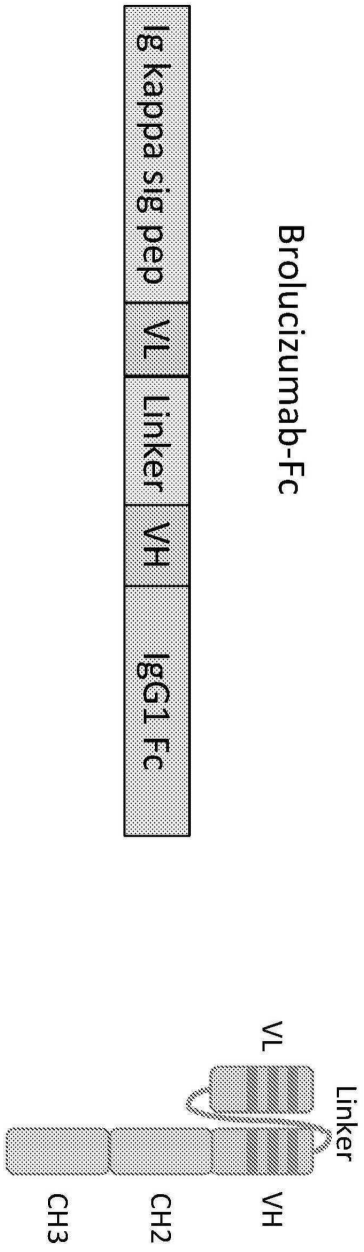




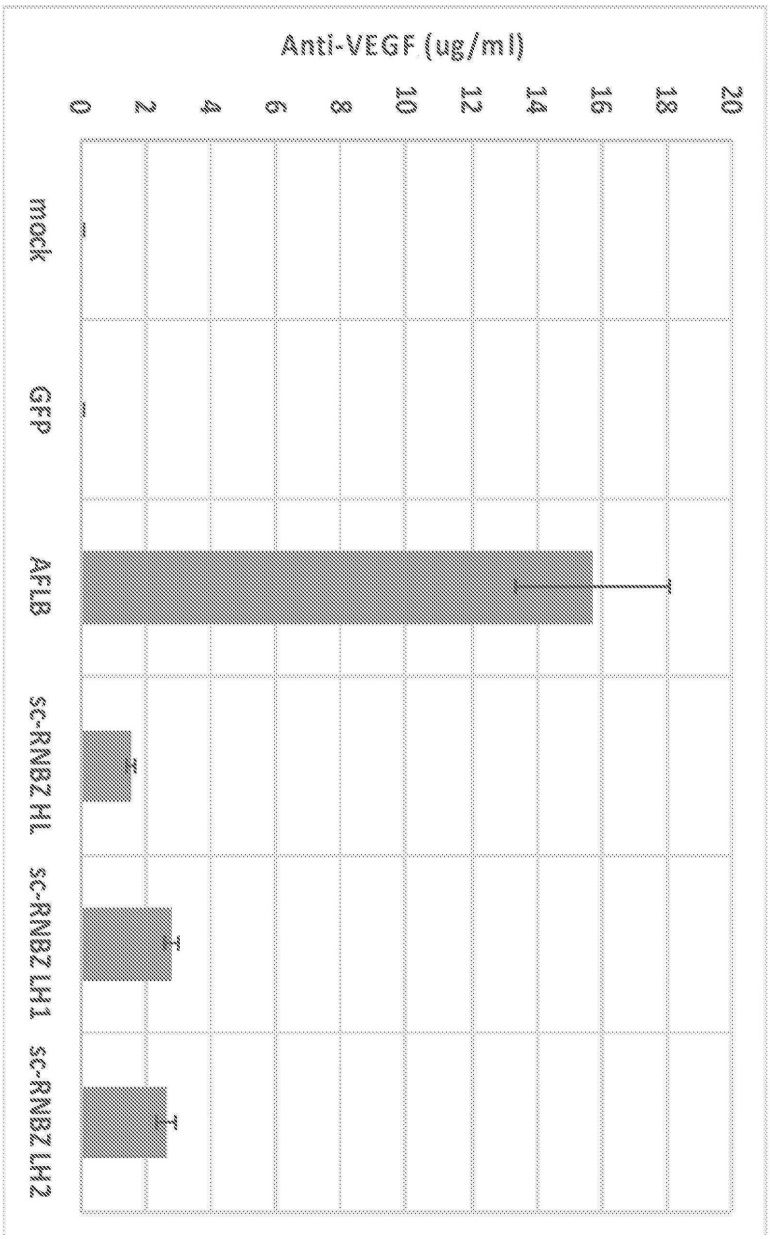
도면12e


sc-Ranibizumab-Fc
Ig kappa sig pep
VL
CL
Linker
VH
CH1
IgG1 Fc
VL
CL
Linker
VH
CH1
CH2
CH3

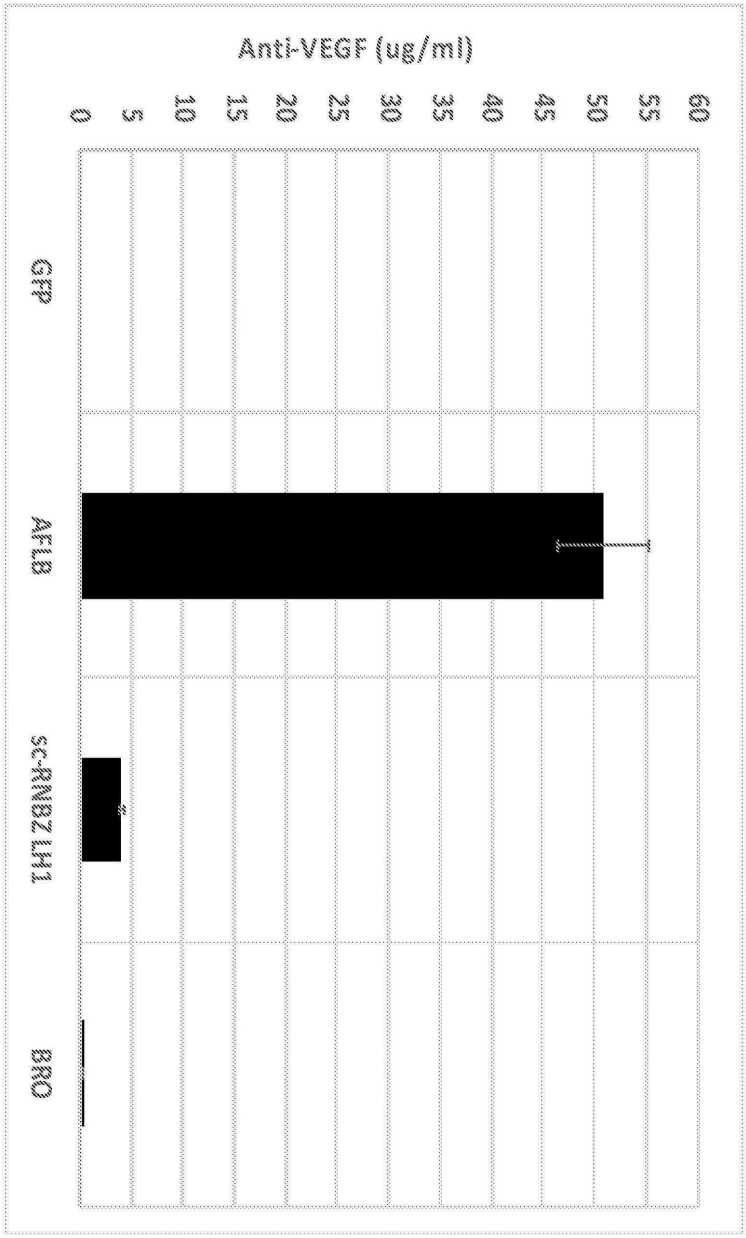
도면12f


Brolucizumab-Fc
Ig kappa sig pep
VL
Linker
VH
IgG1 Fc
VL
Linker
CH3
CH2
VH

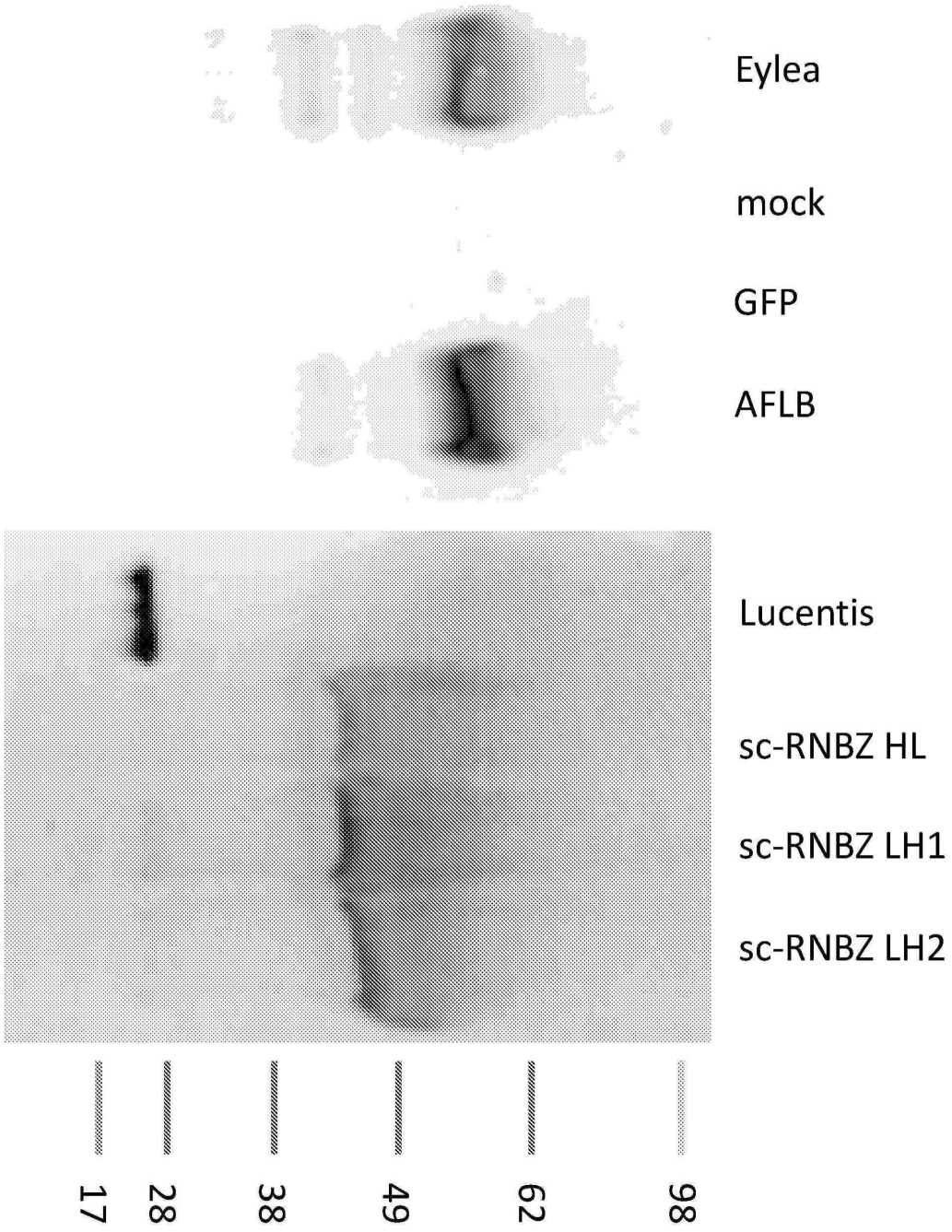
도면13a


Anti-VEGF (ug/ml)
0
2
4
6
8
10
12
14
16
18
20
mock
GFP
AFLB
sc-RNBZ.HL
sc-RNBZ.LH1
sc-RNBZ.LH2

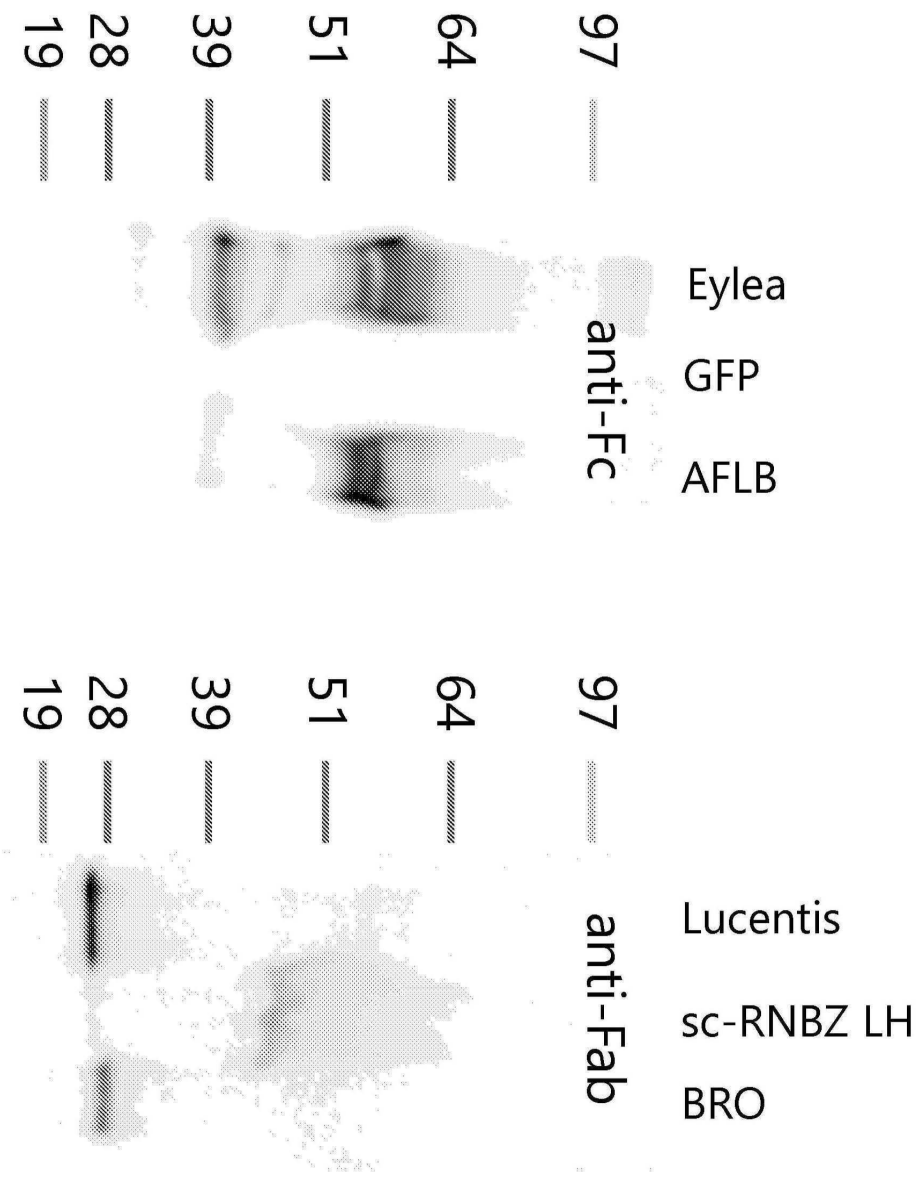
도면13b


Anti-VEGF (ug/ml)
0
5
10
15
20
25
30
35
40
45
50
55
60
GRP
AFLB
SC-RMBZ1H1
BRO

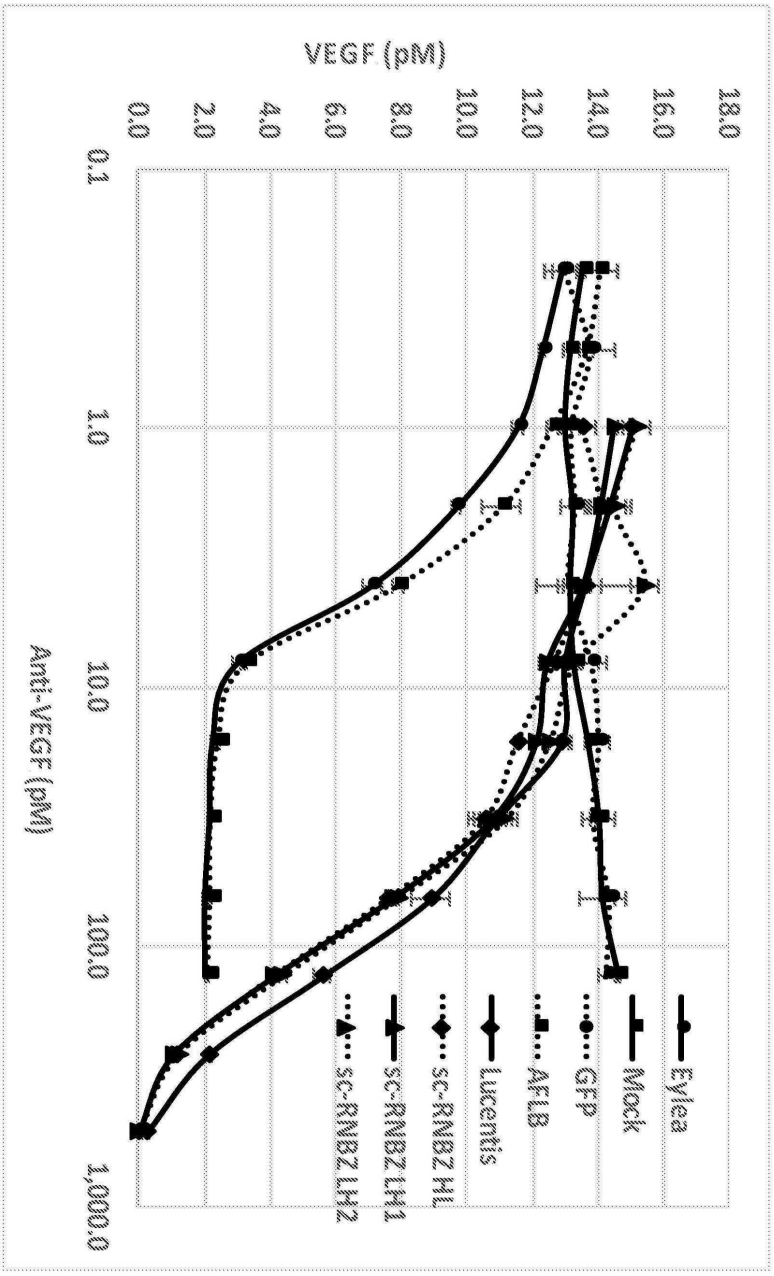
도면14a


Eylea
mock
GFP
AFLB
Lucentis
sc-RNBZ HL
sc-RNBZ LH1
sc-RNBZ LH2
17
28
38
49
62
98

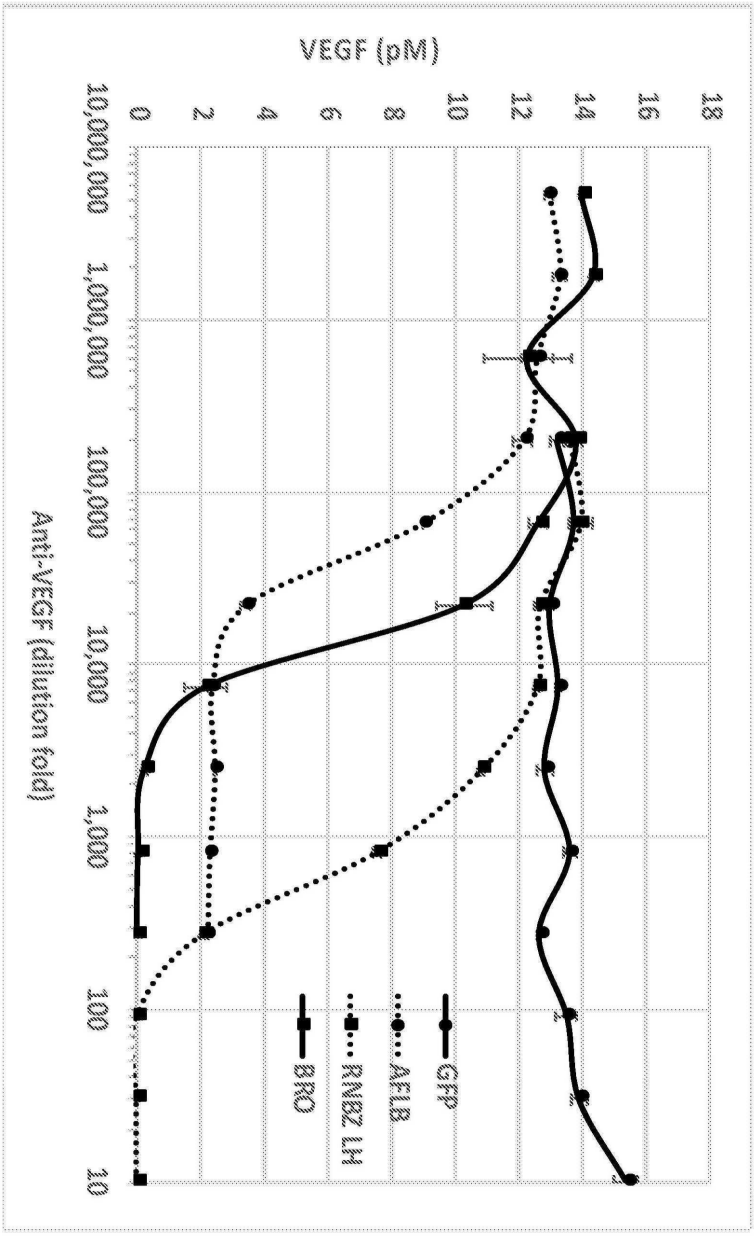
도면14b


97
64
51
39
28
19
anti-Fc
Eylea
GFP
AFLB
97
64
51
39
28
19
anti-Fab
Lucentis
sc-RNBZ LH
BRO

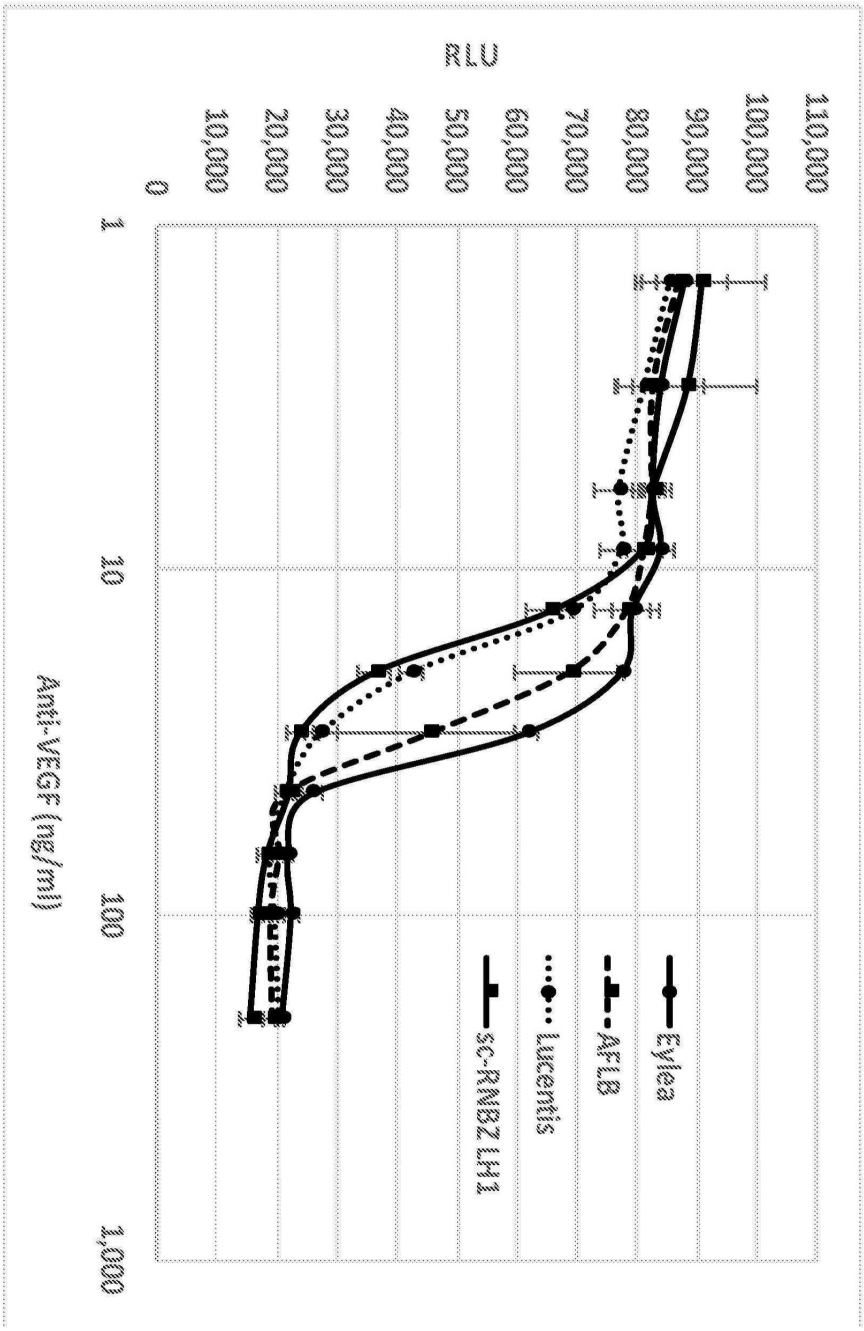
도면15a


VEGF (pM)
0.0
2.0
4.0
6.0
8.0
10.0
12.0
14.0
16.0
18.0
Anti-VEGF (pM)
0.1
1.0
10.0
100.0
1,000.0
Eylea
Mock
GFP
AFLB
Lucentis
sc-RNBZ HL
sc-RNBZ LH1
sc-RNBZ LH2

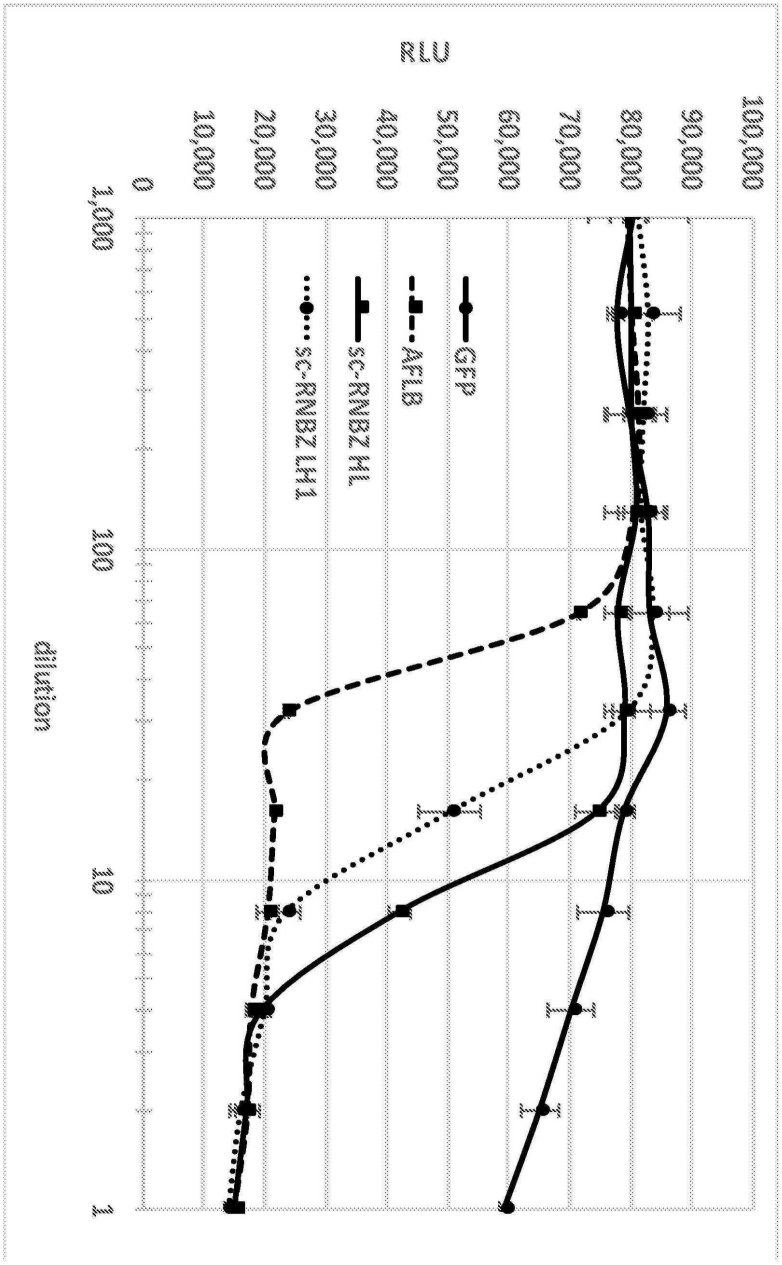
도면15b


VEGF (pM)
0
2
4
6
8
10
12
14
16
18
Anti-VEGF (dilution fold)
10,000,000,000
1,000,000,000
100,000,000
10,000,000
1,000,000
100,000
10,000
1,000
100
10
BRO
RNBZ LH
AF1B
GFP

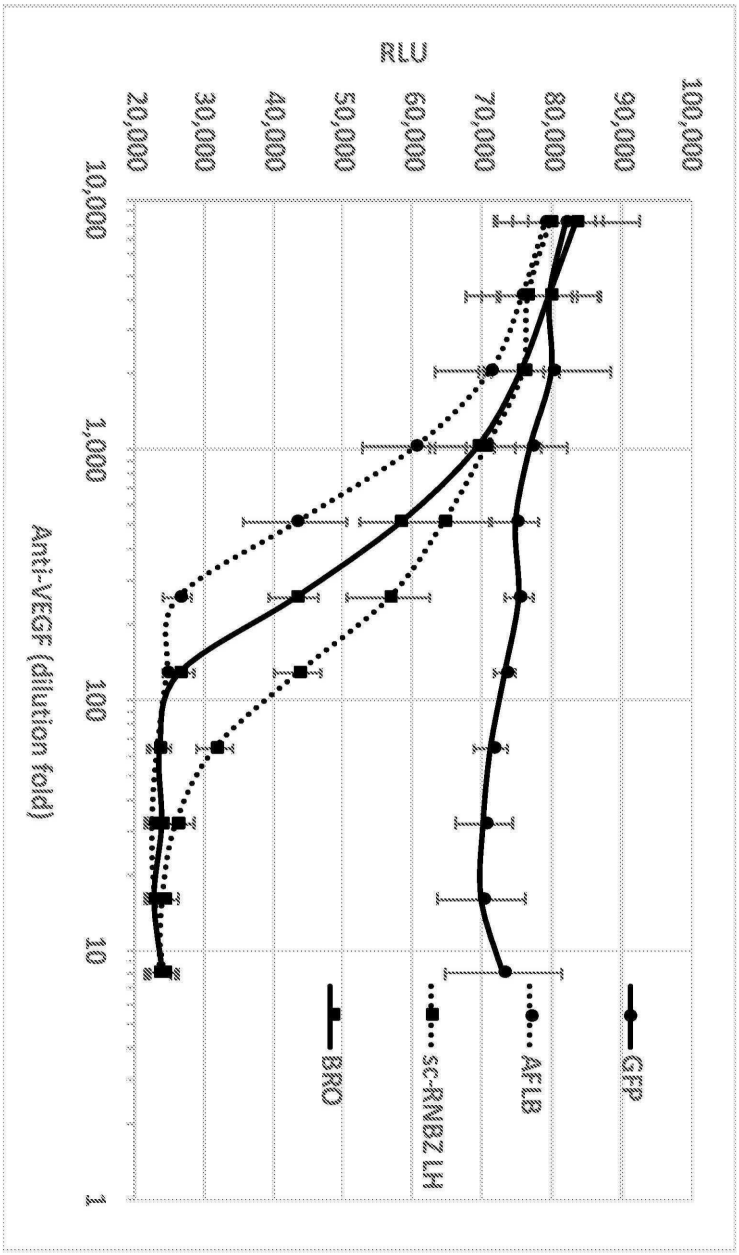
도면16


RLU
0
10,000
20,000
30,000
40,000
50,000
60,000
70,000
80,000
90,000
100,000
110,000
1
10
100
1,000
Anti-VEGF (ng/ml)
Eylea
AFLB
Lucentis
sc-RNBZ LH1

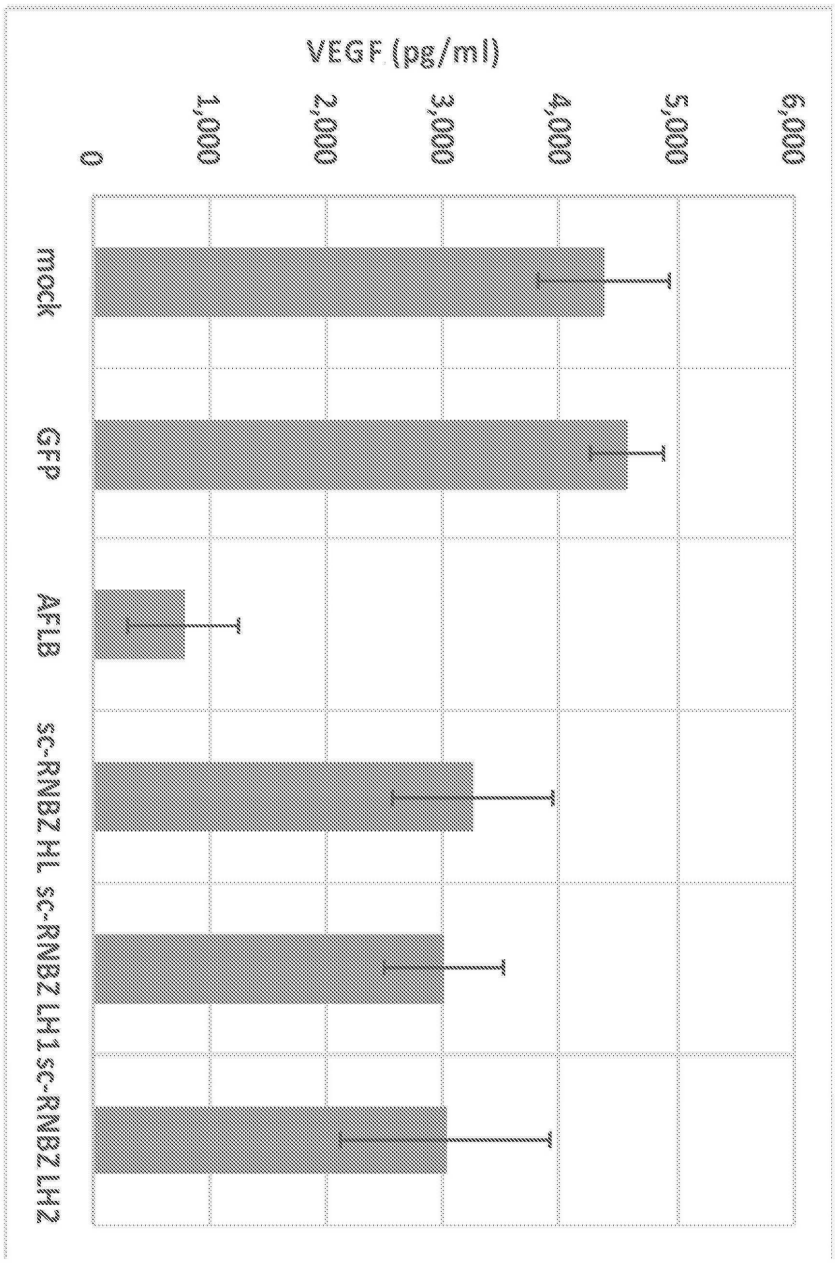
도면17a


RLU
0
10,000
20,000
30,000
40,000
50,000
60,000
70,000
80,000
90,000
100,000
dilution
1,000
100
10
1
sc-RNBZ LH1
sc-RNBZ HL
AFLB
GFP

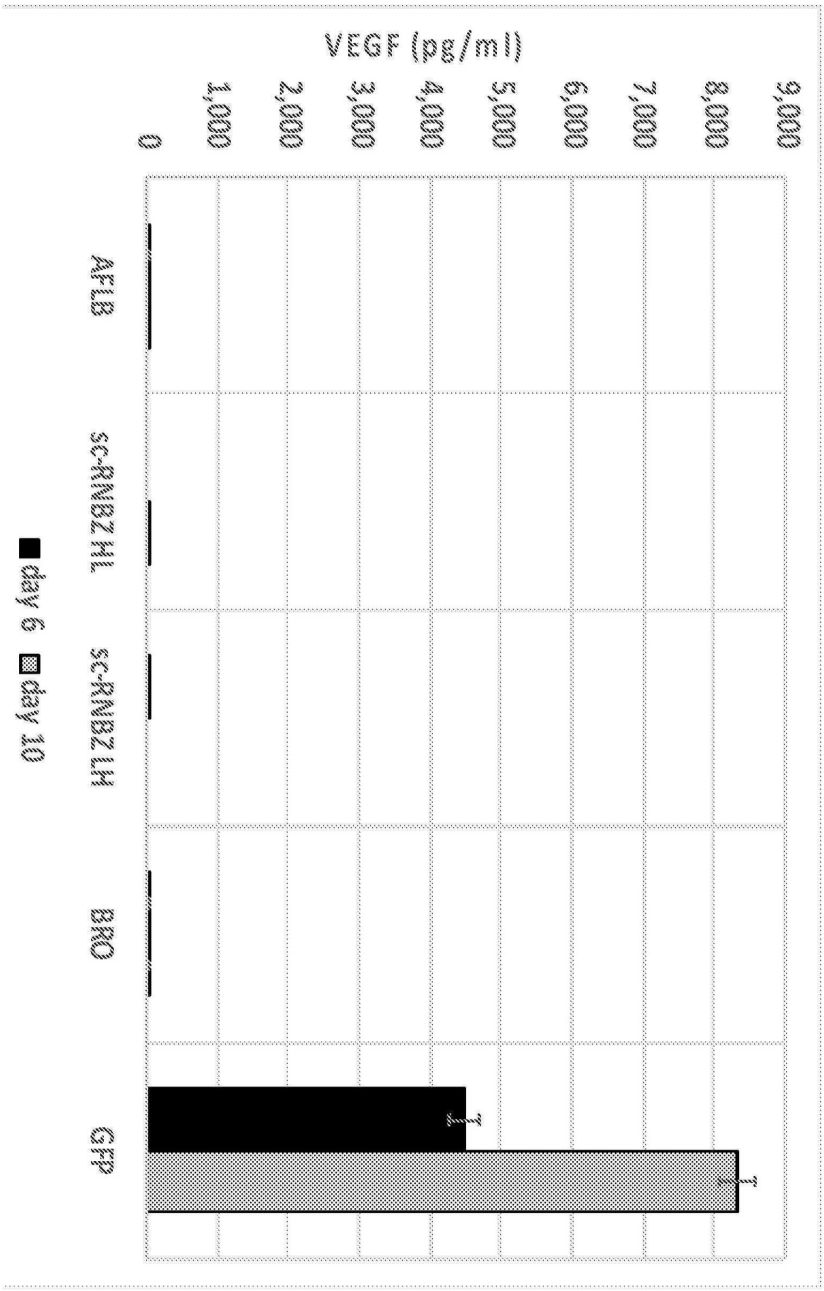
도면17b


RLU
20,000
30,000
40,000
50,000
60,000
70,000
80,000
90,000
100,000
Anti-VEGF (dilution fold)
10,000
1,000
100
10
1
BRO
SCRIBZ LH
AFLB
CTP

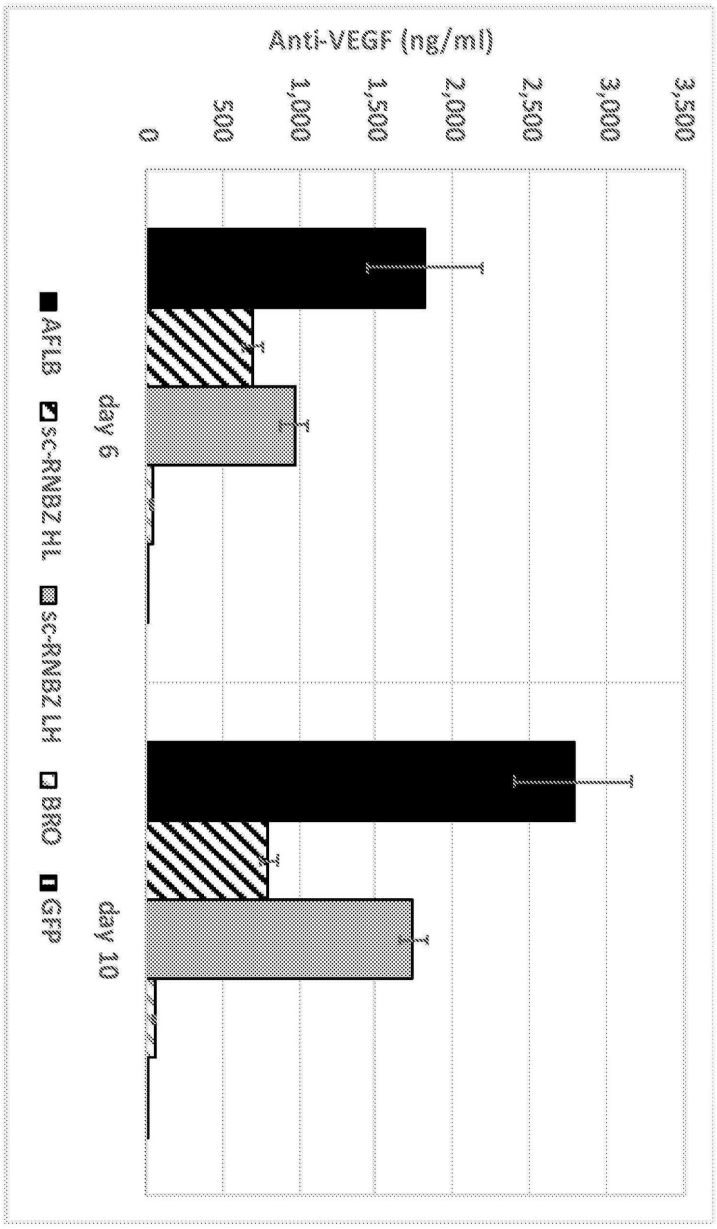
도면18


VEGF (pg/ml)
0
1,000
2,000
3,000
4,000
5,000
6,000
mock
GFP
AF1LB
sc-RNBZ HL
sc-RNBZ LH1
sc-RNBZ LH2

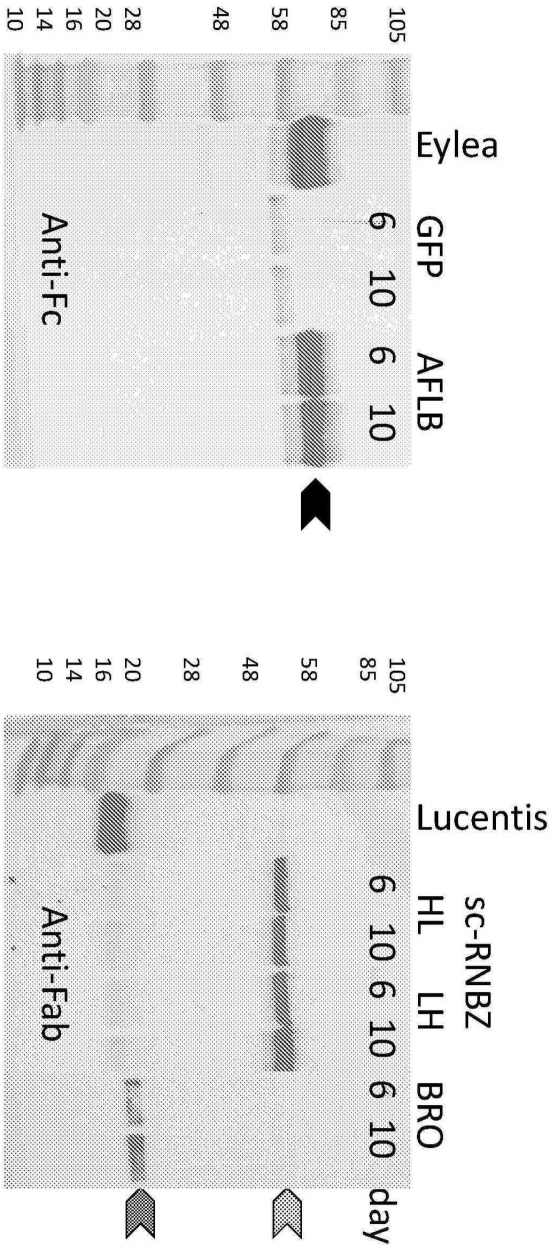
도면19


VEGF (pg/ml)
0
1,000
2,000
3,000
4,000
5,000
6,000
7,000
8,000
9,000
AFLB
SC-RNBZ1HL
SC-RNBZ1LH
BRO
GFP
day 6
day 10

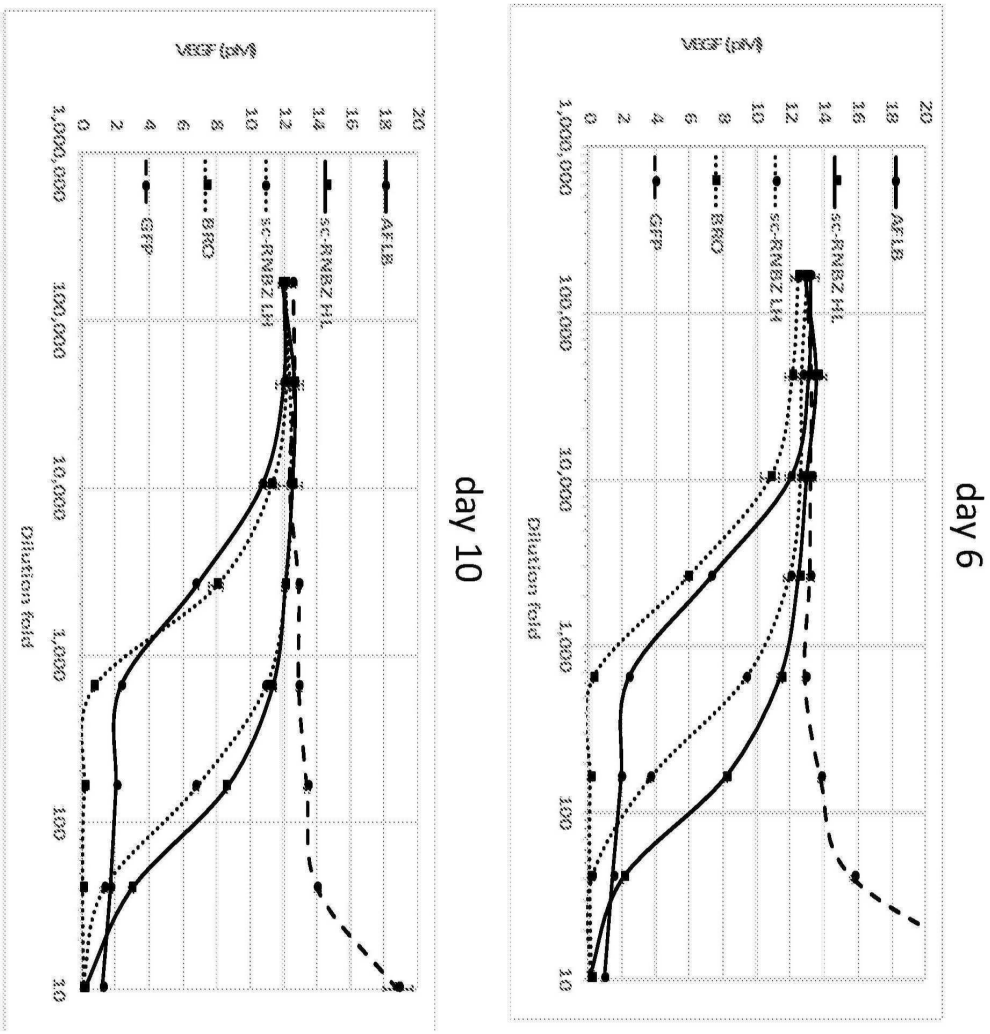
도면20


Anti-VEGF (ng/ml)
0
500
1,000
1,500
2,000
2,500
3,000
3,500
AFLB
sc-RNBZ HL
sc-RNBZ LH
BRO
GFP
day 6
day 10

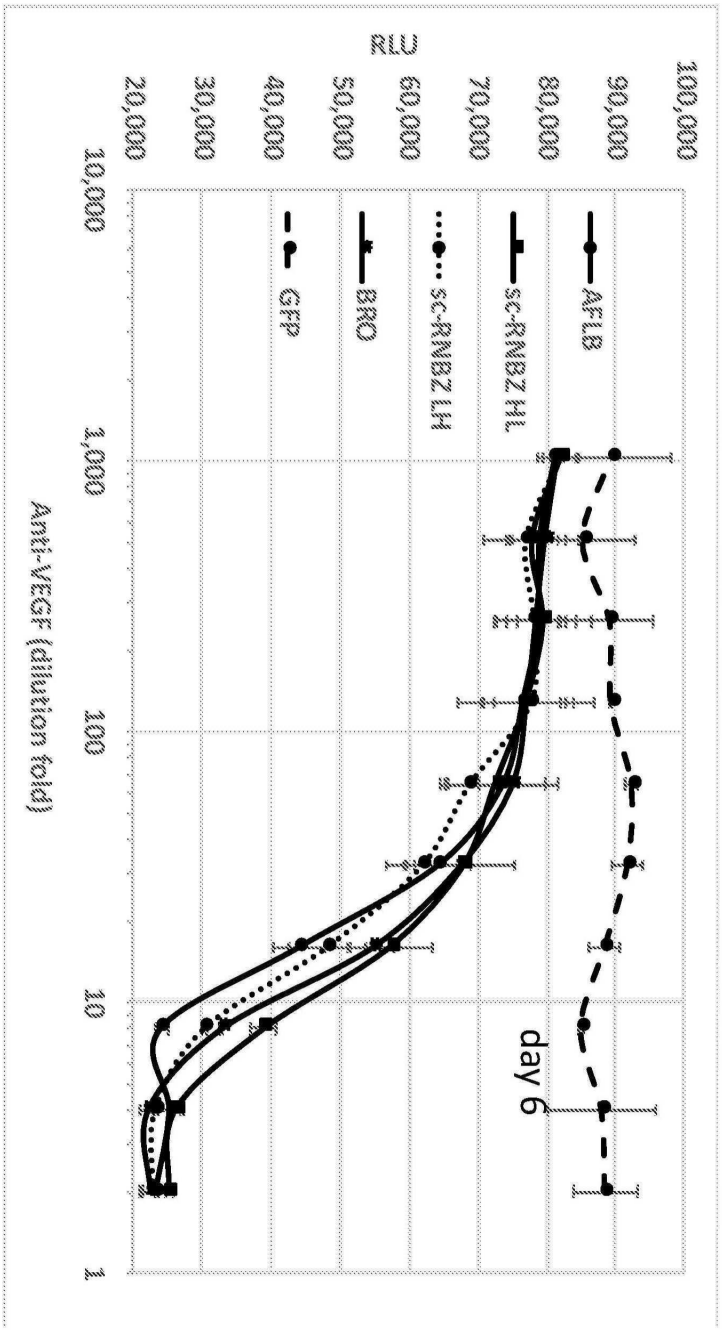
도면21


105
85
58
48
28
20
16
14
10
Eylea
GFP
AFLB
6
10
6
10
Anti-Fc
105
85
58
48
28
20
16
14
10
Lucentis
sc-RNBZ
HL
LH
BRO
6
10
6
10
6
10
day
Anti-Fab

도면22


day 10
day 6
VEGF (pM)
Dilution fold
AFLB
sc-RNBZ HL
sc-RNBZ LH
BRC
GFP
0
2
4
6
8
10
12
14
16
18
20
3.0
10
100
1,000
10,000
100,000
1,000,000

도면23



서 열 목 록

SEQUENCE LISTING

<110> 4D Molecular Therapeutics Inc.

<120> ADENO-ASSOCIATED VIRUS VARIANT CAPSIDS AND USE FOR INHIBITING ANGIOGENESIS

<130> 090400-5010 WO

<150> US 62/590,976

<151> 2017-11-27

<150> US 62/664,726

<151> 2018-04-30

<160> 77

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 736

<212> PRT

<213> Adeno-associated virus 1

<400> 1

Met Ala Ala Asp Gly Tyr Leu Pro Asp Trp Leu Glu Asp Asn Leu Ser
1 5 10 15

Glu Gly Ile Arg Glu Trp Trp Asp Leu Lys Pro Gly Ala Pro Lys Pro
20 25 30

Lys Ala Asn Gln Gln Lys Gln Asp Asp Gly 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 Ala Ala Asp Ala Ala Ala Leu Glu His Asp Lys Ala Tyr Asp
65 70 75 80

Gln Gln Leu Lys Ala Gly Asp Asn Pro Tyr Leu Arg Tyr Asn His Ala
85 90 95

Asp Ala Glu Phe Gln Glu Arg Leu Gln 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 Gly Ala Lys Thr Ala Pro Gly Lys Lys Arg
130 135 140

Pro Val Glu Gln Ser Pro Gln Glu Pro Asp Ser Ser Ser Gly Ile Gly
145 150 155 160

Lys Thr Gly Gln Gln Pro Ala Lys Lys Arg Leu Asn Phe Gly Gln Thr
165 170 175

Gly Asp Ser Glu Ser Val Pro Asp Pro Gln Pro Leu Gly Glu Pro Pro
180 185 190
Ala Thr Pro Ala Ala Val Gly Pro Thr Thr Met Ala Ser Gly Gly Gly
195 200 205

Ala Pro Met Ala Asp Asn Asn Glu Gly Ala Asp Gly Val Gly Asn Ala
210 215 220
Ser Gly Asn Trp His Cys Asp Ser Thr Trp Leu 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 Ala Ser Thr Gly Ala Ser Asn Asp Asn His
260 265 270

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

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

Ser Gln Met Leu Arg Thr Gly Asn Asn Phe Thr Phe Ser Tyr Thr Phe
405 410 415
Glu Glu Val Pro Phe His Ser Ser Tyr Ala His Ser Gln Ser Leu Asp

420 425 430

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

435 440 445

Thr Gln Asn Gln Ser Gly Ser Ala Gln Asn Lys Asp Leu Leu Phe Ser

450 455 460

Arg Gly Ser Pro Ala Gly Met Ser Val Gln Pro Lys Asn Trp Leu Pro

465 470 475 480

Gly Pro Cys Tyr Arg Gln Gln Arg Val Ser Lys Thr Lys Thr Asp Asn

485 490 495

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

500 505 510

Gly Arg Glu Ser Ile Ile Asn Pro Gly Thr Ala Met Ala Ser His Lys

515 520 525

Asp Asp Glu Asp Lys Phe Phe Pro Met Ser Gly Val Met Ile Phe Gly

530 535 540

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

545 550 555 560

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

565 570 575

Phe Gly Thr Val Ala Val Asn Phe Gln Ser Ser Ser Thr Asp Pro Ala

580 585 590

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

595 600 605

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

610 615 620

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

625 630 635 640

Lys Asn Pro Pro Pro Gln Ile Leu Ile Lys Asn Thr Pro Val Pro Ala

645 650 655

Asn Pro Pro Ala Glu Phe Ser Ala Thr Lys Phe Ala Ser Phe Ile Thr

660 665 670

Gln Tyr Ser Thr Gly Gln Val Ser Val Glu Ile Glu Trp Glu Leu Gln

675 680 685

Lys Glu Asn Ser Lys Arg Trp Asn Pro Glu Val Gln Tyr Thr Ser Asn

690 695 700

Tyr Ala Lys Ser Ala Asn Val Asp Phe Thr Val Asp Asn Asn Gly Leu

705 710 715 720

Tyr Thr Glu Pro Arg Pro Ile Gly Thr Arg Tyr Leu Thr Arg Pro Leu

725 730 735

<210> 2

<211> 735

<212> PRT

<213> Adeno-associated virus 2

<400> 2

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 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 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 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 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
465 470 475 480
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 Asn Leu

725 730 735

<210> 3

<211> 736

<212> PRT

<213> Adeno-associated virus 3A

<400> 3

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Lys Ala Asn Gln Gln His Gln Asp Asn Arg Arg Gly Leu Val Leu Pro

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

Ala Ala Pro Thr Ser Leu Gly Ser Asn Thr Met Ala Ser Gly Gly 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 Gln Trp Leu 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 Lys Leu Ser Phe Lys Leu Phe Asn Ile Gln Val
305 310 315 320

Arg Gly Val Thr Gln Asn Asp Gly Thr 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 Gln 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 Asn Arg Thr
435 440 445

Gln Gly Thr Thr Ser Gly Thr Thr Asn Gln Ser Arg Leu Leu Phe Ser
450 455 460
Gln Ala Gly Pro Gln Ser Met Ser Leu Gln Ala Arg Asn Trp Leu Pro
465 470 475 480
Gly Pro Cys Tyr Arg Gln Gln Arg Leu Ser Lys Thr Ala Asn Asp Asn
485 490 495
Asn Asn Ser Asn Phe Pro Trp Thr Ala Ala Ser Lys Tyr His Leu Asn
500 505 510

Gly Arg Asp Ser Leu Val Asn Pro Gly Pro Ala Met Ala Ser His Lys
515 520 525
Asp Asp Glu Glu Lys Phe Phe Pro Met His Gly Asn Leu Ile Phe Gly
530 535 540
Lys Glu Gly Thr Thr Ala Ser Asn Ala Glu Leu Asp Asn Val Met Ile
545 550 555 560
Thr Asp Glu Glu Glu Ile Arg Thr Thr Asn Pro Val Ala Thr Glu Gln
565 570 575

Tyr Gly Thr Val Ala Asn Asn Leu Gln Ser Ser Asn Thr Ala Pro Thr
580 585 590
Thr Gly Thr Val Asn His Gln Gly Ala Leu Pro Gly Met Val Trp Gln
595 600 605
Asp Arg Asp Val Tyr Leu Gln Gly Pro Ile Trp Ala Lys Ile Pro His

610 615 620

Thr Asp Gly His Phe His Pro Ser Pro Leu Met Gly Gly Phe Gly Leu
625 630 635 640

Lys His Pro Pro Pro Gln Ile Met Ile Lys Asn Thr Pro Val Pro Ala
645 650 655

Asn Pro Pro Thr Thr Phe Ser Pro Ala Lys Phe Ala Ser Phe Ile Thr
660 665 670

Gln Tyr Ser Thr Gly Gln Val Ser Val Glu Ile Glu Trp Glu Leu Gln
675 680 685

Lys Glu Asn Ser Lys Arg Trp Asn Pro Glu Ile Gln Tyr Thr Ser Asn
690 695 700

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

Tyr Ser Glu Pro Arg Pro Ile Gly Thr Arg Tyr Leu Thr Arg Asn Leu
725 730 735

<210> 4

<211> 736

<212> PRT

<213> Adeno-associated virus 3B

<400> 4

Met Ala Ala Asp Gly Tyr Leu Pro Asp Trp Leu Glu Asp Asn Leu Ser
1 5 10 15

Glu Gly Ile Arg Glu Trp Trp Ala Leu Lys Pro Gly Val Pro Gln Pro
20 25 30

Lys Ala Asn Gln Gln His Gln Asp Asn Arg Arg Gly Leu Val Leu Pro
35 40 45

Gly Tyr Lys Tyr Leu Gly Pro Gly Asn Gly Leu Asp Lys Gly Glu Pro
50 55 60

Val Asn Glu Ala Asp Ala Ala Ala Leu Glu His Asp Lys Ala Tyr Asp
65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

Pro Val Asp Gln Ser Pro Gln Glu Pro Asp Ser Ser Ser Gly Val Gly

145 150 155 160

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

165 170 175

Gly Asp Ser Glu Ser Val Pro Asp Pro Gln Pro Leu Gly Glu Pro Pro

180 185 190

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

305 310 315 320

Lys Glu Val Thr Gln Asn Asp Gly Thr 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 Gln 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 Asn Arg Thr

435 440 445

Gln Gly Thr Thr Ser Gly Thr Thr Asn Gln Ser Arg Leu Leu Phe Ser

450 455 460

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

465 470 475 480

Gly Pro Cys Tyr Arg Gln Gln Arg Leu Ser Lys Thr Ala Asn Asp Asn

485 490 495

Asn Asn Ser Asn Phe Pro Trp Thr Ala Ala Ser Lys Tyr His Leu Asn

500 505 510

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

515 520 525

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

530 535 540

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

545 550 555 560

Thr Asp Glu Glu Glu Ile Arg Thr Thr Asn Pro Val Ala Thr Glu Gln

565 570 575

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

580 585 590

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

595 600 605

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

610 615 620

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

625 630 635 640

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

645 650 655

Asn Pro Pro Thr Thr Phe Ser Pro Ala Lys Phe Ala Ser Phe Ile Thr

660 665 670

Gln Tyr Ser Thr Gly Gln Val Ser Val Glu Ile Glu Trp Glu Leu Gln

675 680 685

Lys Glu Asn Ser Lys Arg Trp Asn Pro Glu Ile Gln Tyr Thr Ser Asn

690 695 700

Tyr Asn Lys Ser Val Asn Val Asp Phe Thr Val Asp Thr Asn Gly Val

705 710 715 720

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

725 730 735

<210> 5

<211> 734

<212> PRT

<213> Adeno-associated virus 4

<400> 5

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

1 5 10 15

Gly Val Arg Glu Trp Trp Ala Leu Gln Pro Gly Ala Pro Lys Pro Lys

20 25 30

Ala Asn Gln Gln His Gln Asp Asn Ala Arg Gly Leu Val Leu Pro Gly

35 40 45

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

50 55 60

Asn Ala Ala Asp Ala Ala Ala Leu Glu His Asp Lys Ala Tyr Asp Gln
65 70 75 80
Gln Leu Lys Ala Gly Asp Asn Pro Tyr Leu Lys Tyr Asn His Ala Asp
85 90 95
Ala Glu Phe Gln Gln Arg Leu Gln Gly Asp Thr Ser Phe Gly Gly Asn
100 105 110

Leu Gly Arg Ala Val Phe Gln Ala Lys Lys Arg Val Leu Glu Pro Leu
115 120 125
Gly Leu Val Glu Gln Ala Gly Glu Thr Ala Pro Gly Lys Lys Arg Pro
130 135 140
Leu Ile Glu Ser Pro Gln Gln Pro Asp Ser Ser Thr Gly Ile Gly Lys
145 150 155 160
Lys Gly Lys Gln Pro Ala Lys Lys Lys Leu Val Phe Glu Asp Glu Thr
165 170 175

Gly Ala Gly Asp Gly Pro Pro Glu Gly Ser Thr Ser Gly Ala Met Ser
180 185 190
Asp Asp Ser Glu Met Arg Ala Ala Ala Gly Gly Ala Ala Val Glu Gly
195 200 205
Gly Gln Gly Ala Asp Gly Val Gly Asn Ala Ser Gly Asp Trp His Cys
210 215 220
Asp Ser Thr Trp Ser Glu Gly His Val Thr Thr Thr Ser Thr Arg Thr
225 230 235 240

Trp Val Leu Pro Thr Tyr Asn Asn His Leu Tyr Lys Arg Leu Gly Glu
245 250 255
Ser Leu Gln Ser Asn Thr Tyr Asn Gly Phe Ser Thr Pro Trp Gly Tyr
260 265 270
Phe Asp Phe Asn Arg Phe His Cys His Phe Ser Pro Arg Asp Trp Gln
275 280 285
Arg Leu Ile Asn Asn Asn Trp Gly Met Arg Pro Lys Ala Met Arg Val
290 295 300

Lys Ile Phe Asn Ile Gln Val Lys Glu Val Thr Thr Ser Asn Gly Glu
305 310 315 320
Thr Thr Val Ala Asn Asn Leu Thr Ser Thr Val Gln Ile Phe Ala Asp
325 330 335
Ser Ser Tyr Glu Leu Pro Tyr Val Met Asp Ala Gly Gln Glu Gly Ser
340 345 350
Leu Pro Pro Phe Pro Asn Asp Val Phe Met Val Pro Gln Tyr Gly Tyr
355 360 365

Cys Gly Leu Val Thr Gly Asn Thr Ser Gln Gln Gln Thr Asp Arg Asn
370 375 380
Ala Phe Tyr Cys Leu Glu Tyr Phe Pro Ser Gln Met Leu Arg Thr Gly
385 390 395 400
Asn Asn Phe Glu Ile Thr Tyr Ser Phe Glu Lys Val Pro Phe His Ser
405 410 415
Met Tyr Ala His Ser Gln Ser Leu Asp Arg Leu Met Asn Pro Leu Ile
420 425 430

Asp Gln Tyr Leu Trp Gly Leu Gln Ser Thr Thr Thr Gly Thr Thr Leu
435 440 445
Asn Ala Gly Thr Ala Thr Thr Asn Phe Thr Lys Leu Arg Pro Thr Asn
450 455 460
Phe Ser Asn Phe Lys Lys Asn Trp Leu Pro Gly Pro Ser Ile Lys Gln
465 470 475 480
Gln Gly Phe Ser Lys Thr Ala Asn Gln Asn Tyr Lys Ile Pro Ala Thr
485 490 495

Gly Ser Asp Ser Leu Ile Lys Tyr Glu Thr His Ser Thr Leu Asp Gly
500 505 510
Arg Trp Ser Ala Leu Thr Pro Gly Pro Pro Met Ala Thr Ala Gly Pro
515 520 525
Ala Asp Ser Lys Phe Ser Asn Ser Gln Leu Ile Phe Ala Gly Pro Lys
530 535 540
Gln Asn Gly Asn Thr Ala Thr Val Pro Gly Thr Leu Ile Phe Thr Ser

545 550 555 560

Glu Glu Glu Leu Ala Ala Thr Asn Ala Thr Asp Thr Asp Met Trp Gly
565 570 575
Asn Leu Pro Gly Gly Asp Gln Ser Asn Ser Asn Leu Pro Thr Val Asp
580 585 590
Arg Leu Thr Ala Leu Gly Ala Val Pro Gly Met Val Trp Gln Asn Arg
595 600 605
Asp Ile Tyr Tyr Gln Gly Pro Ile Trp Ala Lys Ile Pro His Thr Asp
610 615 620

Gly His Phe His Pro Ser Pro Leu Ile Gly Gly Phe Gly Leu Lys His
625 630 635 640
Pro Pro Pro Gln Ile Phe Ile Lys Asn Thr Pro Val Pro Ala Asn Pro
645 650 655
Ala Thr Thr Phe Ser Ser Thr Pro Val Asn Ser Phe Ile Thr Gln Tyr
660 665 670
Ser Thr Gly Gln Val Ser Val Gln Ile Asp Trp Glu Ile Gln Lys Glu
675 680 685

Arg Ser Lys Arg Trp Asn Pro Glu Val Gln Phe Thr Ser Asn Tyr Gly
690 695 700
Gln Gln Asn Ser Leu Leu Trp Ala Pro Asp Ala Ala Gly Lys Tyr Thr
705 710 715 720
Glu Pro Arg Ala Ile Gly Thr Arg Tyr Leu Thr His His Leu
725 730

<210> 6
<211> 724
<212> PRT
<213> Adeno-associated virus 5
<400> 6
Met Ser Phe Val Asp His Pro Pro Asp Trp Leu Glu Glu Val Gly Glu

1 5 10 15
Gly Leu Arg Glu Phe Leu Gly Leu Glu Ala Gly Pro Pro Lys Pro Lys

20 25 30

Pro Asn Gln Gln His Gln Asp Gln Ala Arg Gly Leu Val Leu Pro Gly

35 40 45

Tyr Asn Tyr Leu Gly Pro Gly Asn Gly Leu Asp Arg Gly Glu Pro Val

50 55 60

Asn Arg Ala Asp Glu Val Ala Arg Glu His Asp Ile Ser Tyr Asn Glu

65 70 75 80

Gln Leu Glu Ala Gly Asp Asn Pro Tyr Leu Lys Tyr Asn His Ala Asp

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

Asp Asp His Phe Pro Lys Arg Lys Lys Ala Arg Thr Glu Glu Asp Ser

145 150 155 160

Lys Pro Ser Thr Ser Ser Asp Ala Glu Ala Gly Pro Ser Gly Ser Gln

165 170 175

Gln Leu Gln Ile Pro Ala Gln Pro Ala Ser Ser Leu Gly Ala Asp Thr

180 185 190

Met Ser Ala Gly Gly Gly Gly Pro Leu Gly Asp Asn Asn Gln Gly Ala

195 200 205

Asp Gly Val Gly Asn Ala Ser Gly Asp Trp His Cys Asp Ser Thr Trp

210 215 220

Met Gly Asp Arg Val Val Thr Lys Ser Thr Arg Thr Trp Val Leu Pro

225 230 235 240

Ser Tyr Asn Asn His Gln Tyr Arg Glu Ile Lys Ser Gly Ser Val Asp

245 250 255

Gly Ser Asn Ala Asn Ala Tyr Phe Gly Tyr Ser Thr Pro Trp Gly Tyr

260 265 270

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

325 330 335
Asp Asp Tyr Gln Leu Pro Tyr Val Val Gly Asn Gly Thr Glu Gly Cys
340 345 350
Leu Pro Ala Phe Pro Pro Gln Val Phe Thr Leu Pro Gln Tyr Gly Tyr
355 360 365
Ala Thr Leu Asn Arg Asp Asn Thr Glu Asn Pro Thr Glu Arg Ser Ser
370 375 380
Phe Phe Cys Leu Glu Tyr Phe Pro Ser Lys Met Leu Arg Thr Gly Asn

385 390 395 400
Asn Phe Glu Phe Thr Tyr Asn Phe Glu Glu Val Pro Phe His Ser Ser
405 410 415
Phe Ala Pro Ser Gln Asn Leu Phe Lys Leu Ala Asn Pro Leu Val Asp
420 425 430
Gln Tyr Leu Tyr Arg Phe Val Ser Thr Asn Asn Thr Gly Gly Val Gln
435 440 445
Phe Asn Lys Asn Leu Ala Gly Arg Tyr Ala Asn Thr Tyr Lys Asn Trp

450 455 460
Phe Pro Gly Pro Met Gly Arg Thr Gln Gly Trp Asn Leu Gly Ser Gly
465 470 475 480
Val Asn Arg Ala Ser Val Ser Ala Phe Ala Thr Thr Asn Arg Met Glu
485 490 495
Leu Glu Gly Ala Ser Tyr Gln Val Pro Pro Gln Pro Asn Gly Met Thr
500 505 510
Asn Asn Leu Gln Gly Ser Asn Thr Tyr Ala Leu Glu Asn Thr Met Ile

515 520 525

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

530 535 540

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

545 550 555 560

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

565 570 575

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

580 585 590

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

595 600 605

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

610 615 620

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

625 630 635 640

Thr Pro Val Pro Gly Asn Ile Thr Ser Phe Ser Asp Val Pro Val Ser

645 650 655

Ser Phe Ile Thr Gln Tyr Ser Thr Gly Gln Val Thr Val Glu Met Glu

660 665 670

Trp Glu Leu Lys Lys Glu Asn Ser Lys Arg Trp Asn Pro Glu Ile Gln

675 680 685

Tyr Thr Asn Asn Tyr Asn Asp Pro Gln Phe Val Asp Phe Ala Pro Asp

690 695 700

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

705 710 715 720

Thr Arg Pro Leu

<210> 7

<211> 736

<212> PRT

<213> Adeno-associated virus 6

<400> 7

Met Ala Ala Asp Gly Tyr Leu Pro Asp Trp Leu Glu Asp Asn Leu Ser
1 5 10 15
Glu Gly Ile Arg Glu Trp Trp Asp Leu Lys Pro Gly Ala Pro Lys Pro
20 25 30
Lys Ala Asn Gln Gln Lys Gln Asp Asp Gly 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 Ala Ala Asp Ala Ala Ala Leu Glu His Asp Lys Ala Tyr Asp
65 70 75 80
Gln Gln Leu Lys Ala Gly Asp Asn Pro Tyr Leu Arg Tyr Asn His Ala
85 90 95
Asp Ala Glu Phe Gln Glu Arg Leu Gln 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
Phe Gly Leu Val Glu Glu Gly Ala Lys Thr Ala Pro Gly Lys Lys Arg
130 135 140
Pro Val Glu Gln Ser Pro Gln Glu Pro Asp Ser Ser Ser Gly Ile Gly
145 150 155 160
Lys Thr Gly Gln Gln Pro Ala Lys Lys Arg Leu Asn Phe Gly Gln Thr

165 170 175
Gly Asp Ser Glu Ser Val Pro Asp Pro Gln Pro Leu Gly Glu Pro Pro
180 185 190
Ala Thr Pro Ala Ala Val Gly Pro Thr Thr Met Ala Ser Gly Gly Gly
195 200 205
Ala Pro Met Ala Asp Asn Asn Glu Gly Ala Asp Gly Val Gly Asn Ala
210 215 220
Ser Gly Asn Trp His Cys Asp Ser Thr Trp Leu 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 Ala Ser Thr Gly Ala Ser Asn Asp Asn His

260 265 270

Tyr Phe Gly Tyr Ser Thr Pro Trp Gly Tyr Phe Asp Phe Asn Arg Phe

275 280 285

His Cys His Phe Ser Pro Arg Asp Trp Gln Arg Leu Ile Asn Asn Asn

290 295 300

Trp Gly Phe Arg Pro Lys Arg Leu Asn Phe Lys Leu Phe Asn Ile Gln

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

Tyr Val Leu Gly Ser Ala His Gln Gly Cys Leu Pro Pro Phe Pro Ala

355 360 365

Asp Val Phe Met Ile Pro Gln Tyr Gly Tyr Leu Thr Leu Asn Asn Gly

370 375 380

Ser Gln Ala Val Gly Arg Ser Ser Phe Tyr Cys Leu Glu Tyr Phe Pro

385 390 395 400

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

405 410 415

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

420 425 430

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

435 440 445

Thr Gln Asn Gln Ser Gly Ser Ala Gln Asn Lys Asp Leu Leu Phe Ser

450 455 460

Arg Gly Ser Pro Ala Gly Met Ser Val Gln Pro Lys Asn Trp Leu Pro

465 470 475 480

Gly Pro Cys Tyr Arg Gln Gln Arg Val Ser Lys Thr Lys Thr Asp Asn

485 490 495

Asn Asn Ser Asn Phe Thr Trp Thr Gly Ala Ser Lys Tyr Asn Leu Asn
500 505 510

Gly Arg Glu Ser Ile Ile Asn Pro Gly Thr Ala Met Ala Ser His Lys
515 520 525

Asp Asp Lys Asp Lys Phe Phe Pro Met Ser Gly Val Met Ile Phe Gly
530 535 540

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

545 550 555 560

Thr Asp Glu Glu Glu Ile Lys Ala Thr Asn Pro Val Ala Thr Glu Arg
565 570 575

Phe Gly Thr Val Ala Val Asn Leu Gln Ser Ser Ser Thr Asp Pro Ala
580 585 590

Thr Gly Asp Val His Val Met Gly Ala Leu Pro Gly Met Val Trp Gln
595 600 605

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

610 615 620

Thr Asp Gly His Phe His Pro Ser Pro Leu Met Gly Gly Phe Gly Leu
625 630 635 640

Lys His Pro Pro Pro Gln Ile Leu Ile Lys Asn Thr Pro Val Pro Ala
645 650 655

Asn Pro Pro Ala Glu Phe Ser Ala Thr Lys Phe Ala Ser Phe Ile Thr
660 665 670

Gln Tyr Ser Thr Gly Gln Val Ser Val Glu Ile Glu Trp Glu Leu Gln

675 680 685

Lys Glu Asn Ser Lys Arg Trp Asn Pro Glu Val Gln Tyr Thr Ser Asn
690 695 700

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

Tyr Thr Glu Pro Arg Pro Ile Gly Thr Arg Tyr Leu Thr Arg Pro Leu
725 730 735

<210> 8

<211> 737

<212> PRT

<213> Adeno-associated virus 7

<400> 8

Met Ala Ala Asp Gly Tyr Leu Pro Asp Trp Leu Glu Asp Asn Leu Ser
1 5 10 15

Glu Gly Ile Arg Glu Trp Trp Asp Leu Lys Pro Gly Ala Pro Lys Pro
20 25 30

Lys Ala Asn Gln Gln Lys Gln Asp Asn Gly 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 Ala Ala Asp Ala Ala Ala Leu Glu His Asp Lys Ala Tyr Asp
65 70 75 80

Gln Gln Leu Lys Ala Gly Asp Asn Pro Tyr Leu Arg Tyr Asn His Ala
85 90 95

Asp Ala Glu Phe Gln Glu Arg Leu Gln 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 Gly Ala Lys Thr Ala Pro Ala Lys Lys Arg
130 135 140

Pro Val Glu Pro Ser Pro Gln Arg Ser Pro Asp Ser Ser Thr Gly Ile
145 150 155 160

Gly Lys Lys Gly Gln Gln Pro Ala Arg Lys Arg Leu Asn Phe Gly Gln
165 170 175

Thr Gly Asp Ser Glu Ser Val Pro Asp Pro Gln Pro Leu Gly Glu Pro
180 185 190

Pro Ala Ala Pro Ser Ser Val Gly Ser Gly Thr Val Ala Ala Gly Gly
195 200 205

Gly Ala Pro Met Ala Asp Asn Asn Glu Gly Ala Asp Gly Val Gly Asn
210 215 220

Ala Ser Gly Asn Trp His Cys Asp Ser Thr Trp Leu Gly Asp Arg Val
225 230 235 240
Ile Thr Thr Ser Thr Arg Thr Trp Ala Leu Pro Thr Tyr Asn Asn His
245 250 255

Leu Tyr Lys Gln Ile Ser Ser Glu Thr Ala Gly Ser Thr Asn Asp Asn
260 265 270
Thr Tyr Phe Gly Tyr Ser Thr Pro Trp Gly Tyr Phe Asp Phe Asn Arg
275 280 285
Phe His Cys His Phe Ser Pro Arg Asp Trp Gln Arg Leu Ile Asn Asn
290 295 300
Asn Trp Gly Phe Arg Pro Lys Lys Leu Arg Phe Lys Leu Phe Asn Ile
305 310 315 320

Gln Val Lys Glu Val Thr Thr Asn Asp Gly Val Thr Thr Ile Ala Asn
325 330 335
Asn Leu Thr Ser Thr Ile Gln Val Phe Ser Asp Ser Glu Tyr Gln Leu
340 345 350
Pro Tyr Val Leu Gly Ser Ala His Gln Gly Cys Leu Pro Pro Phe Pro
355 360 365
Ala Asp Val Phe Met Ile Pro Gln Tyr Gly Tyr Leu Thr Leu Asn Asn
370 375 380

Gly Ser Gln Ser Val Gly Arg Ser Ser Phe Tyr Cys Leu Glu Tyr Phe
385 390 395 400
Pro Ser Gln Met Leu Arg Thr Gly Asn Asn Phe Glu Phe Ser Tyr Ser
405 410 415
Phe Glu Asp Val Pro Phe His Ser Ser Tyr Ala His Ser Gln Ser Leu
420 425 430
Asp Arg Leu Met Asn Pro Leu Ile Asp Gln Tyr Leu Tyr Tyr Leu Ala
435 440 445

Arg Thr Gln Ser Asn Pro Gly Gly Thr Ala Gly Asn Arg Glu Leu Gln
450 455 460
Phe Tyr Gln Gly Gly Pro Ser Thr Met Ala Glu Gln Ala Lys Asn Trp

465 470 475 480

Leu Pro Gly Pro Cys Phe Arg Gln Gln Arg Val Ser Lys Thr Leu Asp

485 490 495

Gln Asn Asn Asn Ser Asn Phe Ala Trp Thr Gly Ala Thr Lys Tyr His

500 505 510

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

515 520 525

His Lys Asp Asp Glu Asp Arg Phe Phe Pro Ser Ser Gly Val Leu Ile

530 535 540

Phe Gly Lys Thr Gly Ala Thr Asn Lys Thr Thr Leu Glu Asn Val Leu

545 550 555 560

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

565 570 575

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

580 585 590

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

595 600 605

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

610 615 620

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

625 630 635 640

Leu Lys His Pro Pro Pro Gln Ile Leu Ile Lys Asn Thr Pro Val Pro

645 650 655

Ala Asn Pro Pro Glu Val Phe Thr Pro Ala Lys Phe Ala Ser Phe Ile

660 665 670

Thr Gln Tyr Ser Thr Gly Gln Val Ser Val Glu Ile Glu Trp Glu Leu

675 680 685

Gln Lys Glu Asn Ser Lys Arg Trp Asn Pro Glu Ile Gln Tyr Thr Ser

690 695 700

Asn Phe Glu Lys Gln Thr Gly Val Asp Phe Ala Val Asp Ser Gln Gly

705 710 715 720

Val Tyr Ser Glu Pro Arg Pro Ile Gly Thr Arg Tyr Leu Thr Arg Asn
725 730 735
Leu

<210> 9
<211> 738
<212> PRT
<213> Adeno-associated virus 8
<400> 9
Met Ala Ala Asp Gly Tyr Leu Pro Asp Trp Leu Glu Asp Asn Leu Ser
1 5 10 15
Glu Gly Ile Arg Glu Trp Trp Ala Leu Lys Pro Gly Ala Pro Lys Pro

20 25 30
Lys Ala Asn Gln Gln Lys Gln Asp Asp Gly 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 Ala Ala Asp Ala Ala Ala Leu Glu His Asp Lys Ala Tyr Asp
65 70 75 80
Gln Gln Leu Gln Ala Gly Asp Asn Pro Tyr Leu Arg Tyr Asn His Ala

85 90 95
Asp Ala Glu Phe Gln Glu Arg Leu Gln 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 Gly Ala Lys Thr Ala Pro Gly Lys Lys Arg
130 135 140
Pro Val Glu Pro Ser Pro Gln Arg Ser Pro Asp Ser Ser Thr Gly Ile

145 150 155 160
Gly Lys Lys Gly Gln Gln Pro Ala Arg Lys Arg Leu Asn Phe Gly Gln
165 170 175
Thr Gly Asp Ser Glu Ser Val Pro Asp Pro Gln Pro Leu Gly Glu Pro

180 185 190

Pro Ala Ala Pro Ser Gly Val Gly Pro Asn Thr Met Ala Ala Gly Gly

195 200 205

Gly Ala Pro Met Ala Asp Asn Asn Glu Gly Ala Asp Gly Val Gly Ser

210 215 220

Ser Ser Gly Asn Trp His Cys Asp Ser Thr Trp Leu Gly Asp Arg Val

225 230 235 240

Ile Thr Thr Ser Thr Arg Thr Trp Ala Leu Pro Thr Tyr Asn Asn His

245 250 255

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

260 265 270

Asn Thr Tyr Phe Gly Tyr Ser Thr Pro Trp Gly Tyr Phe Asp Phe Asn

275 280 285

Arg Phe His Cys His Phe Ser Pro Arg Asp Trp Gln Arg Leu Ile Asn

290 295 300

Asn Asn Trp Gly Phe Arg Pro Lys Arg Leu Ser Phe Lys Leu Phe Asn

305 310 315 320

Ile Gln Val Lys Glu Val Thr Gln Asn Glu Gly Thr Lys Thr Ile Ala

325 330 335

Asn Asn Leu Thr Ser Thr Ile Gln Val Phe Thr Asp Ser Glu Tyr Gln

340 345 350

Leu Pro Tyr Val Leu Gly Ser Ala His Gln Gly Cys Leu Pro Pro Phe

355 360 365

Pro Ala Asp Val Phe Met Ile Pro Gln Tyr Gly Tyr Leu Thr Leu Asn

370 375 380

Asn Gly Ser Gln Ala Val Gly Arg Ser Ser Phe Tyr Cys Leu Glu Tyr

385 390 395 400

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

405 410 415

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

420 425 430

Leu Asp Arg Leu Met Asn Pro Leu Ile Asp Gln Tyr Leu Tyr Tyr Leu
435 440 445
Ser Arg Thr Gln Thr Thr Gly Gly Thr Ala Asn Thr Gln Thr Leu Gly
450 455 460
Phe Ser Gln Gly Gly Pro Asn Thr Met Ala Asn Gln Ala Lys Asn Trp

465 470 475 480
Leu Pro Gly Pro Cys Tyr Arg Gln Gln Arg Val Ser Thr Thr Thr Gly
485 490 495
Gln Asn Asn Asn Ser Asn Phe Ala Trp Thr Ala Gly Thr Lys Tyr His
500 505 510
Leu Asn Gly Arg Asn Ser Leu Ala Asn Pro Gly Ile Ala Met Ala Thr
515 520 525
His Lys Asp Asp Glu Glu Arg Phe Phe Pro Ser Asn Gly Ile Leu Ile

530 535 540
Phe Gly Lys Gln Asn Ala Ala Arg Asp Asn Ala Asp Tyr Ser Asp Val
545 550 555 560
Met Leu Thr Ser Glu Glu Glu Ile Lys Thr Thr Asn Pro Val Ala Thr
565 570 575
Glu Glu Tyr Gly Ile Val Ala Asp Asn Leu Gln Gln Gln Asn Thr Ala
580 585 590
Pro Gln Ile Gly Thr Val Asn Ser Gln Gly Ala Leu Pro Gly Met Val

595 600 605
Trp Gln Asn Arg Asp Val Tyr Leu Gln Gly Pro Ile Trp Ala Lys Ile
610 615 620
Pro His Thr Asp Gly Asn Phe His Pro Ser Pro Leu Met Gly Gly Phe
625 630 635 640
Gly Leu Lys His Pro Pro Pro Gln Ile Leu Ile Lys Asn Thr Pro Val
645 650 655
Pro Ala Asp Pro Pro Thr Thr Phe Asn Gln Ser Lys Leu Asn Ser Phe

660 665 670
Ile Thr Gln Tyr Ser Thr Gly Gln Val Ser Val Glu Ile Glu Trp Glu

675 680 685

Leu Gln Lys Glu Asn Ser Lys Arg Trp Asn Pro Glu Ile Gln Tyr Thr

690 695 700

Ser Asn Tyr Tyr Lys Ser Thr Ser Val Asp Phe Ala Val Asn Thr Glu

705 710 715 720

Gly Val Tyr Ser Glu Pro Arg Pro Ile Gly Thr Arg Tyr Leu Thr Arg

725 730 735

Asn Leu

<210> 10

<211> 736

<212> PRT

<213> Adeno-associated virus 9

<400> 10

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Lys Ala Asn Gln Gln His Gln Asp Asn Ala Arg Gly Leu Val Leu Pro

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Gln Gln Leu Lys Ala 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 Leu Leu Glu Pro

115 120 125

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

130 135 140

Pro Val Glu Gln Ser Pro Gln Glu Pro Asp Ser Ser Ala Gly Ile Gly
145 150 155 160
Lys Ser Gly Ala Gln Pro Ala Lys Lys Arg Leu Asn Phe Gly Gln Thr
165 170 175

Gly Asp Thr Glu Ser Val Pro Asp Pro Gln Pro Ile Gly Glu Pro Pro
180 185 190
Ala Ala Pro Ser Gly Val Gly Ser Leu Thr Met Ala Ser Gly Gly Gly
195 200 205
Ala Pro Val Ala Asp Asn Asn Glu Gly Ala Asp Gly Val Gly Ser Ser
210 215 220
Ser Gly Asn Trp His Cys Asp Ser Gln Trp Leu 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 Asn Ser Thr Ser Gly Gly Ser Ser Asn Asp Asn
260 265 270
Ala Tyr Phe Gly Tyr Ser Thr Pro Trp Gly Tyr Phe Asp Phe Asn Arg
275 280 285
Phe His Cys His Phe Ser Pro Arg Asp Trp Gln Arg Leu Ile Asn Asn
290 295 300

Asn Trp Gly Phe Arg Pro Lys Arg Leu Asn Phe Lys Leu Phe Asn Ile
305 310 315 320
Gln Val Lys Glu Val Thr Asp Asn Asn Gly Val Lys Thr Ile Ala Asn
325 330 335
Asn Leu Thr Ser Thr Val Gln Val Phe Thr Asp Ser Asp Tyr Gln Leu
340 345 350
Pro Tyr Val Leu Gly Ser Ala His Glu Gly Cys Leu Pro Pro Phe Pro
355 360 365

Ala Asp Val Phe Met Ile Pro Gln Tyr Gly Tyr Leu Thr Leu Asn Asp
370 375 380
Gly Ser Gln Ala Val Gly Arg Ser Ser Phe Tyr Cys Leu Glu Tyr Phe

385 390 395 400

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

405 410 415

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

420 425 430

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

435 440 445

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

450 455 460

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

465 470 475 480

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

485 490 495

Asn Asn Ser Glu Phe Ala Trp Pro Gly Ala Ser Ser Trp Ala Leu Asn

500 505 510

Gly Arg Asn Ser Leu Met Asn Pro Gly Pro Ala Met Ala Ser His Lys

515 520 525

Glu Gly Glu Asp Arg Phe Phe Pro Leu Ser Gly Ser Leu Ile Phe Gly

530 535 540

Lys Gln Gly Thr Gly Arg Asp Asn Val Asp Ala Asp Lys Val Met Ile

545 550 555 560

Thr Asn Glu Glu Glu Ile Lys Thr Thr Asn Pro Val Ala Thr Glu Ser

565 570 575

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

580 585 590

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

595 600 605

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

610 615 620

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

625 630 635 640

Lys His Pro Pro Pro Gln Ile Leu Ile Lys Asn Thr Pro Val Pro Ala
645 650 655
Asp Pro Pro Thr Ala Phe Asn Lys Asp Lys Leu Asn Ser Phe Ile Thr
660 665 670
Gln Tyr Ser Thr Gly Gln Val Ser Val Glu Ile Glu Trp Glu Leu Gln
675 680 685

Lys Glu Asn Ser Lys Arg Trp Asn Pro Glu Ile Gln Tyr Thr Ser Asn
690 695 700
Tyr Tyr Lys Ser Asn Asn Val Glu Phe Ala Val Asn Thr Glu Gly Val
705 710 715 720
Tyr Ser Glu Pro Arg Pro Ile Gly Thr Arg Tyr Leu Thr Arg Asn Leu
725 730 735

<210> 11
<211> 738
<212> PRT
<213> Adeno-associated virus 10
<400> 11

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

1 5 10 15
Glu Gly Ile Arg Glu Trp Trp Asp Leu Lys Pro Gly Ala Pro Lys Pro
20 25 30
Lys Ala Asn Gln Gln Lys Gln Asp Asp Gly 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 Ala Ala Asp Ala Ala Ala Leu Glu His Asp Lys Ala Tyr Asp

65 70 75 80
Gln Gln Leu Lys Ala Gly Asp Asn Pro Tyr Leu Arg Tyr Asn His Ala
85 90 95
Asp Ala Glu Phe Gln Glu Arg Leu Gln 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 Ala Ala Lys Thr Ala Pro Gly Lys Lys Arg

130 135 140

Pro Val Glu Pro Ser Pro Gln Arg Ser Pro Asp Ser Ser Thr Gly Ile

145 150 155 160

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

165 170 175

Thr Gly Glu Ser Glu Ser Val Pro Asp Pro Gln Pro Ile Gly Glu Pro

180 185 190

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

195 200 205

Gly Ala Pro Met Ala Asp Asn Asn Glu Gly Ala Asp Gly Val Gly Ser

210 215 220

Ser Ser Gly Asn Trp His Cys Asp Ser Thr Trp Leu Gly Asp Arg Val

225 230 235 240

Ile Thr Thr Ser Thr Arg Thr Trp Ala Leu Pro Thr Tyr Asn Asn His

245 250 255

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

260 265 270

Asn Thr Tyr Phe Gly Tyr Ser Thr Pro Trp Gly Tyr Phe Asp Phe Asn

275 280 285

Arg Phe His Cys His Phe Ser Pro Arg Asp Trp Gln Arg Leu Ile Asn

290 295 300

Asn Asn Trp Gly Phe Arg Pro Lys Arg Leu Ser Phe Lys Leu Phe Asn

305 310 315 320

Ile Gln Val Lys Glu Val Thr Gln Asn Glu Gly Thr Lys Thr Ile Ala

325 330 335

Asn Asn Leu Thr Ser Thr Ile Gln Val Phe Thr Asp Ser Glu Tyr Gln

340 345 350

Leu Pro Tyr Val Leu Gly Ser Ala His Gln Gly Cys Leu Pro Pro Phe

355 360 365

Pro Ala Asp Val Phe Met Ile Pro Gln Tyr Gly Tyr Leu Thr Leu Asn

370 375 380

Asn Gly Ser Gln Ala Val Gly Arg Ser Ser Phe Tyr Cys Leu Glu Tyr

385 390 395 400

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

405 410 415

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

420 425 430

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

435 440 445

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

450 455 460

Phe Ser Gln Ala Gly Pro Ala Asn Met Ser Ala Gln Ala Lys Asn Trp

465 470 475 480

Leu Pro Gly Pro Cys Tyr Arg Gln Gln Arg Val Ser Thr Thr Leu Ser

485 490 495

Gln Asn Asn Asn Ser Asn Phe Ala Trp Thr Gly Ala Thr Lys Tyr His

500 505 510

Leu Asn Gly Arg Asp Ser Leu Val Asn Pro Gly Val Ala Met Ala Thr

515 520 525

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

530 535 540

Phe Gly Lys Gln Gly Ala Gly Arg Asp Asn Val Asp Tyr Ser Ser Val

545 550 555 560

Met Leu Thr Ser Glu Glu Glu Ile Lys Thr Thr Asn Pro Val Ala Thr

565 570 575

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

580 585 590

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

595 600 605

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

610 615 620

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

625 630 635 640

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

645 650 655

Pro Ala Asp Pro Pro Thr Thr Phe Ser Gln Ala Lys Leu Ala Ser Phe

660 665 670

Ile Thr Gln Tyr Ser Thr Gly Gln Val Ser Val Glu Ile Glu Trp Glu

675 680 685

Leu Gln Lys Glu Asn Ser Lys Arg Trp Asn Pro Glu Ile Gln Tyr Thr

690 695 700

Ser Asn Tyr Tyr Lys Ser Thr Asn Val Asp Phe Ala Val Asn Thr Glu

705 710 715 720

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

725 730 735

Asn Leu

<210> 12

<211> 738

<212> PRT

<213> Adeno-associated virus rh10

<400> 12

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Lys Ala Asn Gln Gln Lys Gln Asp Asp Gly 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 Ala Ala Asp Ala Ala Ala Leu Glu His Asp Lys Ala Tyr Asp

65 70 75 80

Gln Gln Leu Lys Ala Gly Asp Asn Pro Tyr Leu Arg Tyr Asn His Ala
85 90 95

Asp Ala Glu Phe Gln Glu Arg Leu Gln 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 Gly Ala Lys Thr Ala Pro Gly Lys Lys Arg
130 135 140
Pro Val Glu Pro Ser Pro Gln Arg Ser Pro Asp Ser Ser Thr Gly Ile
145 150 155 160

Gly Lys Lys Gly Gln Gln Pro Ala Lys Lys Arg Leu Asn Phe Gly Gln
165 170 175
Thr Gly Asp Ser Glu Ser Val Pro Asp Pro Gln Pro Ile Gly Glu Pro
180 185 190
Pro Ala Gly Pro Ser Gly Leu Gly Ser Gly Thr Met Ala Ala Gly Gly
195 200 205
Gly Ala Pro Met Ala Asp Asn Asn Glu Gly Ala Asp Gly Val Gly Ser
210 215 220

Ser Ser Gly Asn Trp His Cys Asp Ser Thr Trp Leu Gly Asp Gly Val
225 230 235 240
Ile Thr Thr Ser Thr Arg Thr Trp Ala Leu Pro Thr Tyr Asn Asn His
245 250 255
Leu Tyr Lys Gln Ile Ser Asn Gly Thr Ser Gly Gly Ser Thr Asn Asp
260 265 270
Asn Thr Tyr Phe Gly Tyr Ser Thr Pro Trp Gly Tyr Phe Asp Phe Asn
275 280 285

Arg Phe His Cys His Phe Ser Pro Arg Asp Trp Gln Arg Leu Ile Asn
290 295 300
Asn Asn Trp Gly Phe Arg Pro Lys Ser Leu Asn Phe Lys Leu Phe Asn
305 310 315 320
Ile Gln Val Lys Glu Val Thr Gln Asn Glu Gly Thr Lys Thr Ile Ala

325 330 335

Asn Asn Leu Thr Ser Thr Ile Gln Val Phe Thr Asp Ser Glu Tyr Gln

340 345 350

Leu Pro Tyr Val Leu Gly Ser Ala His Gln Gly Cys Leu Pro Pro Phe

355 360 365

Pro Ala Asp Val Phe Met Ile Pro Gln Tyr Gly Tyr Leu Thr Leu Asn

370 375 380

Asn Gly Ser Gln Ala Val Gly Arg Ser Ser Phe Tyr Cys Leu Glu Tyr

385 390 395 400

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

405 410 415

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

420 425 430

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

435 440 445

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

450 455 460

Phe Ser Gln Ala Gly Pro Asn Asn Met Ser Ala Gln Ala Lys Asn Trp

465 470 475 480

Leu Pro Gly Pro Cys Tyr Arg Gln Gln Arg Val Ser Thr Thr Leu Ser

485 490 495

Gln Asn Asp Asn Ser Asn Phe Ala Trp Thr Gly Ala Thr Lys Tyr His

500 505 510

Leu Asn Gly Arg Asp Ser Leu Val Asn Pro Gly Val Ala Met Ala Thr

515 520 525

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

530 535 540

Phe Gly Lys Gln Gly Ala Gly Lys Asp Asn Val Asp Tyr Ser Ser Val

545 550 555 560

Met Leu Thr Ser Glu Glu Glu Ile Lys Thr Thr Asn Pro Val Ala Thr

565 570 575

Glu Gln Tyr Gly Val Val Ala Asp Asn Leu Gln Gln Gln Asn Ala Ala
580 585 590
Pro Ile Val Gly Ala Val Asn Ser Gln Gly Ala Leu Pro Gly Met Val
595 600 605

Trp Gln Asn Arg Asp Val Tyr Leu Gln Gly Pro Ile Trp Ala Lys Ile
610 615 620
Pro His Thr Asp Gly Asn Phe His Pro Ser Pro Leu Met Gly Gly Phe
625 630 635 640
Gly Leu Lys His Pro Pro Pro Gln Ile Leu Ile Lys Asn Thr Pro Val
645 650 655
Pro Ala Asp Pro Pro Thr Thr Phe Ser Gln Ala Lys Leu Ala Ser Phe
660 665 670

Ile Thr Gln Tyr Ser Thr Gly Gln Val Ser Val Glu Ile Glu Trp Glu
675 680 685
Leu Gln Lys Glu Asn Ser Lys Arg Trp Asn Pro Glu Ile Gln Tyr Thr
690 695 700
Ser Asn Tyr Tyr Lys Ser Thr Asn Val Asp Phe Ala Val Asn Thr Asp
705 710 715 720
Gly Thr Tyr Ser Glu Pro Arg Pro Ile Gly Thr Arg Tyr Leu Thr Arg
725 730 735

Asn Leu

<210> 13
<211> 7
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> heterologous peptide insertion
<400> 13
Gln Ala Asp Thr Thr Lys Asn
1 5
<210> 14
<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> heterologous peptide insertion

<400> 14

Ile Ser Asp Gln Thr Lys His

1 5

<210> 15

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> heterologous peptide insertion

<400> 15

Ala Ser Asp Ser Thr Lys Ala

1 5

<210> 16

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> heterologous peptide insertion

<400> 16

Asn Gln Asp Tyr Thr Lys Thr

1 5

<210> 17

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> heterologous peptide insertion

<400> 17

His Asp Ile Thr Lys Asn Ile

1 5

<210> 18

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> heterologous peptide insertion

<400> 18

His Pro Asp Thr Thr Lys Asn
1 5

<210> 19

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> heterologous peptide insertion

<400> 19

His Gln Asp Thr Thr Lys Asn
1 5

<210> 20

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> heterologous peptide insertion

<400> 20

Asn Lys Thr Thr Asn Lys Asp
1 5

<210> 21

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> heterologous peptide insertion

<400> 21

Ile Ser Asn Glu Asn Glu His
1 5

<210> 22

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> heterologous peptide insertion

<400> 22

Gln Ala Asn Ala Asn Glu Asn

1 5

<210> 23

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> heterologous peptide insertion

<400> 23

Gly Lys Ser Lys Val Ile Asp

1 5

<210> 24

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223

> heterologous peptide insertion

<400> 24

Thr Asn Arg Thr Ser Pro Asp

1 5

<210> 25

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> heterologous peptide insertion

<400> 25

Pro Asn Ser Thr His Gly Ser

1 5

<210> 26

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> heterologous peptide insertion

<400> 26

Lys Asp Arg Ala Pro Ser Thr

1 5

<210> 27

<211> 10

<212> PRT

<

213> Artificial Sequence

<220><223> heterologous peptide insertion

<400> 27

Leu Ala Gln Ala Asp Thr Thr Lys Asn Ala

1 5 10

<210> 28

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> heterologous peptide insertion

<400> 28

Leu Ala Ile Ser Asp Gln Thr Lys His Ala

1 5 10

<210> 29

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> heterologous peptide insertion

<400> 29

Leu Gly Ile Ser Asp Gln Thr Lys His Ala

1 5 10

<210> 30

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> heterologous peptide insertion

<400> 30

Leu Ala Ala Ser Asp Ser Thr Lys Ala Ala

1 5 10

<210> 31

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> heterologous peptide insertion

<400> 31

Leu Ala Asn Gln Asp Tyr Thr Lys Thr Ala

1 5 10

<210> 32

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> heterologous peptide insertion

<400> 32

Leu Ala His Asp Ile Thr Lys Asn Ile Ala

1 5 10

<210> 33

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> heterologous peptide insertion

<400> 33

Leu Ala His Pro Asp Thr Thr Lys Asn Ala

1 5 10

<210> 34

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> heterologous peptide insertion

<400> 34

Leu Ala His Gln Asp Thr Thr Lys Asn Ala

1 5 10

<210> 35

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> heterologous peptide insertion

<400> 35

Leu Ala Asn Lys Thr Thr Asn Lys Asp Ala

1 5 10

<210> 36

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> heterologous peptide insertion

<400> 36

Leu Pro Ile Ser Asn Glu Asn Glu His Ala

1 5 10

<210> 37

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> heterologous peptide insertion

<400> 37

Leu Pro Gln Ala Asn Ala Asn Glu Asn Ala

1 5 10

<210> 38

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> heterologous peptide insertion

<400> 38

Leu Ala Gly Lys Ser Lys Val Ile Asp Ala

1 5 10

<210> 39

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> heterologous peptide insertion

<400> 39

Leu Ala Thr Asn Arg Thr Ser Pro Asp Ala

1 5 10

<210> 40

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> heterologous peptide insertion

<400> 40

Leu Ala Pro Asn Ser Thr His Gly Ser Ala

1 5 10

<210> 41

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> heterologous peptide insertion

<400> 41

Leu Ala Lys Asp Arg Ala Pro Ser Thr Ala

1 5 10

<210> 42

<211> 745

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Variant AAV capsid

<400> 42

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 Pro

20 25 30

Lys Ala 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 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 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 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
465 470 475 480

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 Leu Ala Ile Ser Asp
580 585 590
Gln Thr Lys His Ala Arg Gln Ala Ala Thr Ala Asp Val Asn Thr Gln
595 600 605
Gly Val Leu Pro Gly Met Val Trp Gln Asp Arg Asp Val Tyr Leu Gln
610 615 620
Gly Pro Ile Trp Ala Lys Ile Pro His Thr Asp Gly His Phe His Pro
625 630 635 640

Ser Pro Leu Met Gly Gly Phe Gly Leu Lys His Pro Pro Pro Gln Ile
645 650 655
Leu Ile Lys Asn Thr Pro Val Pro Ala Asn Pro Ser Thr Thr Phe Ser
660 665 670
Ala Ala Lys Phe Ala Ser Phe Ile Thr Gln Tyr Ser Thr Gly Gln Val
675 680 685
Ser Val Glu Ile Glu Trp Glu Leu Gln Lys Glu Asn Ser Lys Arg Trp
690 695 700

Asn Pro Glu Ile Gln Tyr Thr Ser Asn Tyr Asn Lys Ser Val Asn Val
705 710 715 720
Asp Phe Thr Val Asp Thr Asn Gly Val Tyr Ser Glu Pro Arg Pro Ile
725 730 735
Gly Thr Arg Tyr Leu Thr Arg Asn Leu
740 745

<210> 43
<211> 745
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> AAV capsid variant
<400> 43

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 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 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 Lys Phe Lys Leu Phe Asn Ile Gln Val

305 310 315 320

Lys Glu Val Thr Gln Asn Asp Gly Thr 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

Asp Thr Pro Ser Gly Thr Thr Thr Gln Ser Arg Leu Gln Phe Ser Gln

450 455 460

Ala Gly Ala Ser Asp Ile Arg Asn Gln Ser Arg Asn Trp Leu Pro Gly

465 470 475 480

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 Ser 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 Leu Ala Ile Ser Asp

580 585 590

Gln Thr Lys His Ala Arg Gln Ala Ala Thr Ala Asp Val Asn Thr Gln

595 600 605

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

610 615 620

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

625 630 635 640

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

645 650 655

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

660 665 670

Ala Ala Lys Phe Ala Ser Phe Ile Thr Gln Tyr Ser Thr Gly Gln Val

675 680 685

Ser Val Glu Ile Glu Trp Glu Leu Gln Lys Glu Asn Ser Lys Arg Trp

690 695 700

Asn Pro Glu Val Gln Tyr Thr Ser Asn Tyr Asn Lys Ser Val Asn Val

705 710 715 720

Asp Phe Thr Val Asp Thr Asn Gly Val Tyr Ser Glu Pro Arg Pro Ile

725 730 735

Gly Thr Arg Tyr Leu Thr Arg Asn Gln

740 745

<210> 44

<211> 745

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> AAV capsid variant

<400> 44

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 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 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 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 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
465 470 475 480
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 Leu Gly Ile Ser Asp
580 585 590

Gln Thr Lys His Ala Arg Gln Ala Ala Thr Ala Asp Val Asn Thr Gln
595 600 605
Gly Val Leu Pro Gly Met Val Trp Gln Asp Arg Asp Val Tyr Leu Gln
610 615 620
Gly Pro Ile Trp Ala Lys Ile Pro His Thr Asp Gly His Phe His Pro
625 630 635 640
Ser Pro Leu Met Gly Gly Phe Gly Leu Lys His Pro Pro Pro Gln Ile
645 650 655

Leu Ile Lys Asn Thr Pro Val Pro Ala Asn Pro Ser Thr Thr Phe Ser
660 665 670
Ala Ala Lys Phe Ala Ser Phe Ile Thr Gln Tyr Ser Thr Gly Gln Val
675 680 685
Ser Val Glu Ile Glu Trp Glu Leu Gln Lys Glu Asn Ser Lys Arg Trp

690 695 700

Asn Pro Glu Ile Gln Tyr Thr Ser Asn Tyr Asn Lys Ser Val Asn Val

705 710 715 720

Asp Phe Thr Val Asp Thr Asn Gly Val Tyr Ser Glu Pro Arg Pro Ile

725 730 735

Gly Thr Arg Tyr Leu Thr Arg Asn Leu

740 745

<210> 45

<211> 745

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> AAV capsid variant

<400> 45

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 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 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 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 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

465 470 475 480

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 Leu Ala Gln Ala Asp

580 585 590

Thr Thr Lys Asn Ala Arg Gln Ala Ala Thr Ala Asp Val Asn Thr Gln

595 600 605

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

610 615 620

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

625 630 635 640

Ser Pro Leu Met Gly Gly Phe Gly Leu Lys His Pro Pro Pro Gln Ile
645 650 655
Leu Ile Lys Asn Thr Pro Val Pro Ala Asn Pro Ser Thr Thr Phe Ser

660 665 670
Ala Ala Lys Phe Ala Ser Phe Ile Thr Gln Tyr Ser Thr Gly Gln Val
675 680 685
Ser Val Glu Ile Glu Trp Glu Leu Gln Lys Glu Asn Ser Lys Arg Trp
690 695 700
Asn Pro Glu Val Gln Tyr Thr Ser Asn Tyr Asn Lys Ser Val Asn Val
705 710 715 720
Asp Phe Thr Val Asp Thr Asn Gly Val Tyr Ser Glu Pro Arg Pro Ile

725 730 735
Gly Thr Arg Tyr Leu Thr Arg Asn Leu
740 745

<210> 46
<211> 745
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> AAV capsid variant
<400> 46
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 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 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 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 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
465 470 475 480

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 Leu Ala His Asp Ile

580 585 590

Thr Lys Asn Ile Ala Arg Gln Ala Ala Thr Ala Asp Val Asn Thr Gln

595 600 605

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

610 615 620

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

625 630 635 640

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

645 650 655

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

660 665 670

Ala Ala Lys Phe Ala Ser Phe Ile Thr Gln Tyr Ser Thr Gly Gln Val

675 680 685

Ser Val Glu Ile Glu Trp Glu Leu Gln Lys Glu Asn Ser Lys Arg Trp

690 695 700

Asn Pro Glu Ile Gln Tyr Thr Ser Asn Tyr Asn Lys Ser Val Asn Val

705 710 715 720

Asp Phe Thr Val Asp Thr Asn Gly Val Tyr Ser Glu Pro Arg Pro Ile

725 730 735

Gly Thr Arg Tyr Leu Thr Arg Asn Leu

740 745

<210> 47

<211> 745

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> AAV capsid variant

<400> 47

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 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 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 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 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

465 470 475 480

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 Leu Ala Asn Gln Asp
580 585 590
Tyr Thr Lys Thr Ala Arg Gln Ala Ala Thr Ala Asp Val Asn Thr Gln
595 600 605
Gly Val Leu Pro Gly Met Val Trp Gln Asp Arg Asp Val Tyr Leu Gln

610 615 620
Gly Pro Ile Trp Ala Lys Ile Pro His Thr Asp Gly His Phe His Pro
625 630 635 640
Ser Pro Leu Met Gly Gly Phe Gly Leu Lys His Pro Pro Pro Gln Ile
645 650 655
Leu Ile Lys Asn Thr Pro Val Pro Ala Asn Pro Ser Thr Thr Phe Ser
660 665 670
Ala Ala Lys Phe Ala Ser Phe Ile Thr Gln Tyr Ser Thr Gly Gln Val

675 680 685
Ser Val Glu Ile Glu Trp Glu Leu Gln Lys Glu Asn Ser Lys Arg Trp
690 695 700
Asn Pro Glu Ile Gln Tyr Thr Ser Asn Tyr Asn Lys Ser Val Asn Val
705 710 715 720
Asp Phe Thr Val Asp Thr Asn Gly Val Tyr Ser Glu Pro Arg Pro Ile
725 730 735
Gly Thr Arg Tyr Leu Thr Arg Asn Leu
740 745

<210> 48
<211> 745
<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> AAV capsid variant

<400> 48

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 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 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 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 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

465 470 475 480

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 Leu Ala Pro Asn Ser
580 585 590
Thr His Gly Ser Ala Arg Gln Ala Ala Thr Ala Asp Val Asn Thr Gln
595 600 605
Gly Val Leu Pro Gly Met Val Trp Gln Asp Arg Asp Val Tyr Leu Gln
610 615 620
Gly Pro Ile Trp Ala Lys Ile Pro His Thr Asp Gly His Phe His Pro

625 630 635 640
Ser Pro Leu Met Gly Gly Phe Gly Leu Lys His Pro Pro Pro Gln Ile
645 650 655
Leu Ile Lys Asn Thr Pro Val Pro Ala Asn Pro Ser Thr Thr Phe Ser
660 665 670
Ala Ala Lys Phe Ala Ser Phe Ile Thr Gln Tyr Ser Thr Gly Gln Val
675 680 685
Ser Val Glu Ile Glu Trp Glu Leu Gln Lys Glu Asn Ser Lys Arg Trp

690 695 700
Asn Pro Glu Ile Gln Tyr Thr Ser Asn Tyr Asn Lys Ser Val Asn Val
705 710 715 720
Asp Phe Thr Val Asp Thr Asn Gly Val Tyr Ser Glu Pro Arg Pro Ile

725 730 735

Gly Thr Arg Tyr Leu Thr Arg Asn Leu

740 745

<210> 49

<211> 745

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> AAV capsid variant

<400>

49

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 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 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 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 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
465 470 475 480
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 Leu Ala Asn Lys Thr
580 585 590
Thr Asn Lys Asp Ala Arg Gln Ala Ala Thr Ala Asp Val Asn Thr Gln
595 600 605
Gly Val Leu Pro Gly Met Val Trp Gln Asp Arg Asp Val Tyr Leu Gln
610 615 620
Gly Pro Ile Trp Ala Lys Ile Pro His Thr Asp Gly His Phe His Pro
625 630 635 640

Ser Pro Leu Met Gly Gly Phe Gly Leu Lys His Pro Pro Pro Gln Ile
645 650 655
Leu Ile Lys Asn Thr Pro Val Pro Ala Asn Pro Ser Thr Thr Phe Ser
660 665 670
Ala Ala Lys Phe Ala Ser Phe Ile Thr Gln Tyr Ser Thr Gly Gln Val

675 680 685

Ser Val Glu Ile Glu Trp Glu Leu Gln Lys Glu Asn Ser Lys Arg Trp

690 695 700

Asn Pro Glu Ile Gln Tyr Thr Ser Asn Tyr Asn Lys Ser Val Asn Val

705 710 715 720

Asp Phe Thr Val Asp Thr Asn Gly Val Tyr Ser Glu Pro Arg Pro Ile

725 730 735

Gly Thr Arg Tyr Leu Thr Arg Asn Leu

740 745

<210> 50

<211> 745

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> AAV capsid variant

<400> 50

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 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 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 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 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

465 470 475 480

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 Leu Ala Thr Asn Arg

580 585 590

Thr Ser Pro Asp Ala Arg Gln Ala Ala Thr Ala Asp Val Asn Thr Gln

595 600 605

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

610 615 620

Gly Pro Ile Trp Ala Lys Ile Pro His Thr Asp Gly His Phe His Pro
625 630 635 640
Ser Pro Leu Met Gly Gly Phe Gly Leu Lys His Pro Pro Pro Gln Ile

645 650 655
Leu Ile Lys Asn Thr Pro Val Pro Ala Asn Pro Ser Thr Thr Phe Ser
660 665 670
Ala Ala Lys Phe Ala Ser Phe Ile Thr Gln Tyr Ser Thr Gly Gln Val
675 680 685
Ser Val Glu Ile Glu Trp Glu Leu Gln Lys Glu Asn Ser Lys Arg Trp
690 695 700
Asn Pro Glu Ile Gln Tyr Thr Ser Asn Tyr Asn Lys Ser Val Asn Val

705 710 715 720
Asp Phe Thr Val Asp Thr Asn Gly Val Tyr Ser Glu Pro Arg Pro Ile
725 730 735
Gly Thr Arg Tyr Leu Thr Arg Asn Leu
740 745

<210> 51
<211> 745
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> AAV capsid variant
<400> 51
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 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 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 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 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
465 470 475 480

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 Leu Ala Gly Lys Ser

580 585 590

Lys Val Ile Asp Ala Arg Gln Ala Ala Thr Ala Asp Val Asn Thr Gln

595 600 605

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

610 615 620

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

625 630 635 640

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

645 650 655

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

660 665 670

Ala Ala Lys Phe Ala Ser Phe Ile Thr Gln Tyr Ser Thr Gly Gln Val

675 680 685

Ser Val Glu Ile Glu Trp Glu Leu Gln Lys Glu Asn Ser Lys Arg Trp

690 695 700

Asn Pro Glu Ile Gln Tyr Thr Ser Asn Tyr Asn Lys Ser Val Asn Val

705 710 715 720

Asp Phe Thr Val Asp Thr Asn Gly Val Tyr Ser Glu Pro Arg Pro Ile

725 730 735

Gly Thr Arg Tyr Leu Thr Arg Asn Leu

740 745

<210> 52

<211> 745

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> AAV capsid variant

<400> 52

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 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 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 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 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

465 470 475 480

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 Leu Ala Ala Ser Asp
580 585 590
Ser Thr Lys Ala Ala Arg Gln Ala Ala Thr Ala Asp Val Asn Thr Gln

595 600 605
Gly Val Leu Pro Gly Met Val Trp Gln Asp Arg Asp Val Tyr Leu Gln
610 615 620
Gly Pro Ile Trp Ala Lys Ile Pro His Thr Asp Gly His Phe His Pro
625 630 635 640
Ser Pro Leu Met Gly Gly Phe Gly Leu Lys His Pro Pro Pro Gln Ile
645 650 655
Leu Ile Lys Asn Thr Pro Val Pro Ala Asn Pro Ser Thr Thr Phe Ser

660 665 670
Ala Ala Lys Phe Ala Ser Phe Ile Thr Gln Tyr Ser Thr Gly Gln Val
675 680 685
Ser Val Glu Ile Glu Trp Glu Leu Gln Lys Glu Asn Ser Lys Arg Trp
690 695 700
Asn Pro Glu Ile Gln Tyr Thr Ser Asn Tyr Asn Lys Ser Val Asn Val
705 710 715 720
Asp Phe Thr Val Asp Thr Asn Gly Val Tyr Ser Glu Pro Arg Pro Ile

725 730 735
Gly Thr Arg Tyr Leu Thr Arg Asn Leu
740 745

<210> 53

<211> 745

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> AAV capsid variant

<400> 53

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 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 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 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 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
465 470 475 480

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 Leu Ala Lys Asp Arg
580 585 590
Ala Pro Ser Thr Ala Arg Gln Ala Ala Thr Ala Asp Val Asn Thr Gln
595 600 605

Gly Val Leu Pro Gly Met Val Trp Gln Asp Arg Asp Val Tyr Leu Gln
610 615 620
Gly Pro Ile Trp Ala Lys Ile Pro His Thr Asp Gly His Phe His Pro
625 630 635 640
Ser Pro Leu Met Gly Gly Phe Gly Leu Lys His Pro Pro Pro Gln Ile
645 650 655
Leu Ile Lys Asn Thr Pro Val Pro Ala Asn Pro Ser Thr Thr Phe Ser
660 665 670

Ala Ala Lys Phe Ala Ser Phe Ile Thr Gln Tyr Ser Thr Gly Gln Val
675 680 685
Ser Val Glu Ile Glu Trp Glu Leu Gln Lys Glu Asn Ser Lys Arg Trp
690 695 700
Asn Pro Glu Ile Gln Tyr Thr Ser Asn Tyr Asn Lys Ser Val Asn Val

705 710 715 720

Asp Phe Thr Val Asp Thr Asn Gly Val Tyr Ser Glu Pro Arg Pro Ile

725 730 735

Gly Thr Arg Tyr Leu Thr Arg Asn Leu

740 745

<210> 54

<211> 745

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> AAV capsid variant

<400> 54

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 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 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 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 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

465 470 475 480

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 Leu Ala His Gln Asp

580 585 590

Thr Thr Lys Asn Ala Arg Gln Ala Ala Thr Ala Asp Val Asn Thr Gln

595 600 605

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

610 615 620

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

625 630 635 640

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

645 650 655

Leu Ile Lys Asn Thr Pro Val Pro Ala Asn Pro Ser Thr Thr Phe Ser
660 665 670
Ala Ala Lys Phe Ala Ser Phe Ile Thr Gln Tyr Ser Thr Gly Gln Val

675 680 685
Ser Val Glu Ile Glu Trp Glu Leu Gln Lys Glu Asn Ser Lys Arg Trp
690 695 700
Asn Pro Glu Ile Gln Tyr Thr Ser Asn Tyr Asn Lys Ser Val Asn Val
705 710 715 720
Asp Phe Thr Val Asp Thr Asn Gly Val Tyr Ser Glu Pro Arg Pro Ile
725 730 735
Gly Thr Arg Tyr Leu Thr Arg Asn Leu
740 745

<210> 55
<211> 745
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> AAV capsid variant
<400> 55
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 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 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 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 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

465 470 475 480

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 Leu Pro Ile Ser Asn

580 585 590

Glu Asn Glu His Ala Arg Gln Ala Ala Thr Ala Asp Val Asn Thr Gln

595 600 605

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

610 615 620

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

625 630 635 640

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

645 650 655

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

660 665 670

Ala Ala Lys Phe Ala Ser Phe Ile Thr Gln Tyr Ser Thr Gly Gln Val

675 680 685

Ser Val Glu Ile Glu Trp Glu Leu Gln Lys Glu Asn Ser Lys Arg Trp

690 695 700

Asn Pro Glu Ile Gln Tyr Thr Ser Asn Tyr Asn Lys Ser Val Asn Val

705 710 715 720

Asp Phe Thr Val Asp Thr Asn Gly Val Tyr Ser Glu Pro Arg Pro Ile

725 730 735

Gly Thr Arg Tyr Leu Thr Arg Asn Leu

740 745

<210> 56

<211> 745

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> AAV capsid variant

<400>

56

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 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 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 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 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
465 470 475 480
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 Leu Pro Gln Ala Asn

580 585 590

Ala Asn Glu Asn Ala Arg Gln Ala Ala Thr Ala Asp Val Asn Thr Gln

595 600 605

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

610 615 620

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

625 630 635 640

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

645 650 655

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

660 665 670

Ala Ala Lys Phe Ala Ser Phe Ile Thr Gln Tyr Ser Thr Gly Gln Val

675 680 685

Ser Val Glu Ile Glu Trp Glu Leu Gln Lys Glu Asn Ser Lys Arg Trp

690 695 700

Asn Pro Glu Ile Gln Tyr Thr Ser Asn Tyr Asn Lys Ser Val Asn Val

705 710 715 720

Asp Phe Thr Val Asp Thr Asn Gly Val Tyr Ser Glu Pro Arg Pro Ile

725 730 735

Gly Thr Arg Tyr Leu Thr Arg Asn Leu

740 745

<210> 57

<211> 745

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> AAV capsid variant

<400> 57

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 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 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 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 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

465 470 475 480

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 Leu Ala His Pro Asp

580 585 590
Thr Thr Lys Asn Ala Arg Gln Ala Ala Thr Ala Asp Val Asn Thr Gln
595 600 605
Gly Val Leu Pro Gly Met Val Trp Gln Asp Arg Asp Val Tyr Leu Gln
610 615 620
Gly Pro Ile Trp Ala Lys Ile Pro His Thr Asp Gly His Phe His Pro
625 630 635 640
Ser Pro Leu Met Gly Gly Phe Gly Leu Lys His Pro Pro Pro Gln Ile

645 650 655
Leu Ile Lys Asn Thr Pro Val Pro Ala Asn Pro Ser Thr Thr Phe Ser
660 665 670
Ala Ala Lys Phe Ala Ser Phe Ile Thr Gln Tyr Ser Thr Gly Gln Val
675 680 685
Ser Val Glu Ile Glu Trp Glu Leu Gln Lys Glu Asn Ser Lys Arg Trp
690 695 700
Asn Pro Glu Ile Gln Tyr Thr Ser Asn Tyr Asn Lys Ser Val Asn Val

705 710 715 720
Asp Phe Thr Val Asp Thr Asn Gly Val Tyr Ser Glu Pro Arg Pro Ile
725 730 735
Gly Thr Arg Tyr Leu Thr Arg Asn Leu

740 745

<210> 58

<211> 737

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Ancestral capsid protein

<220><221> misc_feature

<222> (264)..(264)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220><221> misc_feature

<

222> (266)..(266)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220><221> misc_feature

<222> (268)..(268)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220><221> misc_feature

<222> (448)..(448)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220><221> misc_feature

<222> (459)..(460)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220><221> misc_feature

<222> (467)..(467)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220><221> misc_feature

<222> (470)..(471)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220><221> misc_feature

<222> (474)..(474)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220><221> misc_feature

<222> (495)..(495)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220><221> misc_feature

<222> (516)..(516)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220><221> misc_feature

<222> (533)..(533)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220><221> misc_feature

<222> (547)..(547)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220><221> misc_feature

<222> (551)..(551)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220><221> misc_feature

<222> (555)..(555)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220><221> misc_feature

<222> (557)..(557)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220><221> misc_feature

<222> (561)..(561)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220><221> misc_feature

<222> (563)..(563)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220><221> misc_feature

<222> (577)..(577)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220><221> misc_feature

<222> (583)..(583)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220><221> misc_feature

<222> (593)..(593)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220><221> misc_feature

<222> (596)..(596)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220><221> misc_feature

<222> (661)..(662)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220><221> misc_feature

<222> (664)..(665)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220><221> misc_feature

<222> (710)..(710)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220><221> misc_feature

<222> (717)..(719)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220><221> misc_feature

<222> (723)..(723)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<400> 58

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

1 5 10 15

Glu Gly Ile Arg Glu Trp Trp Asp Leu Lys Pro Gly Ala Pro Lys Pro

20 25 30

Lys Ala Asn Gln Gln Lys Gln Asp Asp Gly 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 Ala Ala Asp Ala Ala Ala Leu Glu His Asp Lys Ala Tyr Asp

65 70 75 80

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

85 90 95

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

130 135 140

Pro Val Glu Pro Ser Pro Gln Arg Ser Pro Asp Ser Ser Thr Gly Ile

145 150 155 160

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

165 170 175

Thr Gly Asp Ser Glu Ser Val Pro Asp Pro Gln Pro Leu Gly Glu Pro

180 185 190

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

195 200 205

Gly Ala Pro Met Ala Asp Asn Asn Glu Gly Ala Asp Gly Val Gly Asn

210 215 220

Ala Ser Gly Asn Trp His Cys Asp Ser Thr Trp Leu Gly Asp Arg Val

225 230 235 240

Ile Thr Thr Ser Thr Arg Thr Trp Ala Leu Pro Thr Tyr Asn Asn His

245 250 255

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

260 265 270

His Tyr Phe Gly Tyr Ser Thr Pro Trp Gly Tyr Phe Asp Phe Asn Arg

275 280 285

Phe His Cys His Phe Ser Pro Arg Asp Trp Gln Arg Leu Ile Asn Asn

290 295 300

Asn Trp Gly Phe Arg Pro Lys Arg Leu Asn Phe Lys Leu Phe Asn Ile

305 310 315 320

Gln Val Lys Glu Val Thr Thr Asn Asp Gly Val Thr Thr Ile Ala Asn

325 330 335

Asn Leu Thr Ser Thr Val Gln Val Phe Ser Asp Ser Glu Tyr Gln Leu

340 345 350

Pro Tyr Val Leu Gly Ser Ala His Gln Gly Cys Leu Pro Pro Phe Pro
355 360 365
Ala Asp Val Phe Met Ile Pro Gln Tyr Gly Tyr Leu Thr Leu Asn Asn
370 375 380
Gly Ser Gln Ala Val Gly Arg Ser Ser Phe Tyr Cys Leu Glu Tyr Phe

385 390 395 400
Pro Ser Gln Met Leu Arg Thr Gly Asn Asn Phe Thr Phe Ser Tyr Thr
405 410 415
Phe Glu Asp Val Pro Phe His Ser Ser Tyr Ala His Ser Gln Ser Leu
420 425 430
Asp Arg Leu Met Asn Pro Leu Ile Asp Gln Tyr Leu Tyr Tyr Leu Xaa
435 440 445
Arg Thr Gln Ser Thr Gly Gly Thr Ala Gly Xaa Xaa Glu Leu Leu Phe

450 455 460
Ser Gln Xaa Gly Pro Xaa Xaa Met Ser Xaa Gln Ala Lys Asn Trp Leu
465 470 475 480
Pro Gly Pro Cys Tyr Arg Gln Gln Arg Val Ser Lys Thr Leu Xaa Gln
485 490 495
Asn Asn Asn Ser Asn Phe Ala Trp Thr Gly Ala Thr Lys Tyr His Leu
500 505 510
Asn Gly Arg Xaa Ser Leu Val Asn Pro Gly Val Ala Met Ala Thr His

515 520 525
Lys Asp Asp Glu Xaa Arg Phe Phe Pro Ser Ser Gly Val Leu Ile Phe
530 535 540
Gly Lys Xaa Gly Ala Gly Xaa Asn Asn Thr Xaa Leu Xaa Asn Val Met
545 550 555 560
Xaa Thr Xaa Glu Glu Glu Ile Lys Thr Thr Asn Pro Val Ala Thr Glu
565 570 575
Xaa Tyr Gly Val Val Ala Xaa Asn Leu Gln Ser Ser Asn Thr Ala Pro

580 585 590
Xaa Thr Gly Xaa Val Asn Ser Gln Gly Ala Leu Pro Gly Met Val Trp

595 600 605

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

610 615 620

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

625 630 635 640

Leu Lys His Pro Pro Pro Gln Ile Leu Ile Lys Asn Thr Pro Val Pro

645 650 655

Ala Asn Pro Pro Xaa Xaa Phe Xaa Xaa Ala Lys Phe Ala Ser Phe Ile

660 665 670

Thr Gln Tyr Ser Thr Gly Gln Val Ser Val Glu Ile Glu Trp Glu Leu

675 680 685

Gln Lys Glu Asn Ser Lys Arg Trp Asn Pro Glu Ile Gln Tyr Thr Ser

690 695 700

Asn Tyr Ala Lys Ser Xaa Asn Val Asp Phe Ala Val Xaa Xaa Xaa Gly

705 710 715 720

Val Tyr Xaa Glu Pro Arg Pro Ile Gly Thr Arg Tyr Leu Thr Arg Asn

725 730 735

Leu

<210> 59

<211> 737

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Ancestral variant capsid

<400> 59

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

1 5 10 15

Glu Gly Ile Arg Glu Trp Trp Asp Leu Lys Pro Gly Ala Pro Lys Pro

20 25 30

Lys Ala Asn Gln Gln Lys Gln Asp Asp Gly 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 Ala Ala Asp Ala Ala Ala Leu Glu His Asp Lys Ala Tyr Asp

65 70 75 80

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

85 90 95

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

130 135 140

Pro Val Glu Pro Ser Pro Gln Arg Ser Pro Asp Ser Ser Thr Gly Ile

145 150 155 160

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

165 170 175

Thr Gly Asp Ser Glu Ser Val Pro Asp Pro Gln Pro Leu Gly Glu Pro

180 185 190

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

195 200 205

Gly Ala Pro Met Ala Asp Asn Asn Glu Gly Ala Asp Gly Val Gly Asn

210 215 220

Ala Ser Gly Asn Trp His Cys Asp Ser Thr Trp Leu Gly Asp Arg Val

225 230 235 240

Ile Thr Thr Ser Thr Arg Thr Trp Ala Leu Pro Thr Tyr Asn Asn His

245 250 255

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

260 265 270

His Tyr Phe Gly Tyr Ser Thr Pro Trp Gly Tyr Phe Asp Phe Asn Arg

275 280 285

Phe His Cys His Phe Ser Pro Arg Asp Trp Gln Arg Leu Ile Asn Asn

290 295 300

Asn Trp Gly Phe Arg Pro Lys Arg Leu Asn Phe Lys Leu Phe Asn Ile
305 310 315 320
Gln Val Lys Glu Val Thr Thr Asn Asp Gly Val Thr Thr Ile Ala Asn
325 330 335
Asn Leu Thr Ser Thr Val Gln Val Phe Ser Asp Ser Glu Tyr Gln Leu

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

405 410 415
Phe Glu Asp Val Pro Phe His Ser Ser Tyr Ala His Ser Gln Ser Leu
420 425 430
Asp Arg Leu Met Asn Pro Leu Ile Asp Gln Tyr Leu Tyr Tyr Leu Ala
435 440 445
Arg Thr Gln Ser Thr Gly Gly Thr Ala Gly Thr Arg Glu Leu Leu Phe
450 455 460
Ser Gln Ala Gly Pro Ser Asn Met Ser Ala Gln Ala Lys Asn Trp Leu

465 470 475 480
Pro Gly Pro Cys Tyr Arg Gln Gln Arg Val Ser Lys Thr Leu Ser Gln
485 490 495
Asn Asn Asn Ser Asn Phe Ala Trp Thr Gly Ala Thr Lys Tyr His Leu
500 505 510
Asn Gly Arg Asp Ser Leu Val Asn Pro Gly Val Ala Met Ala Thr His
515 520 525
Lys Asp Asp Glu Asp Arg Phe Phe Pro Ser Ser Gly Val Leu Ile Phe

530 535 540
Gly Lys Gln Gly Ala Gly Ala Asn Asn Thr Ala Leu Glu Asn Val Met

545 550 555 560

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

565 570 575

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

580 585 590

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

595 600 605

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

610 615 620

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

625 630 635 640

Leu Lys His Pro Pro Pro Gln Ile Leu Ile Lys Asn Thr Pro Val Pro

645 650 655

Ala Asn Pro Pro Ala Val Phe Thr Pro Ala Lys Phe Ala Ser Phe Ile

660 665 670

Thr Gln Tyr Ser Thr Gly Gln Val Ser Val Glu Ile Glu Trp Glu Leu

675 680 685

Gln Lys Glu Asn Ser Lys Arg Trp Asn Pro Glu Ile Gln Tyr Thr Ser

690 695 700

Asn Tyr Ala Lys Ser Thr Asn Val Asp Phe Ala Val Asp Asn Glu Gly

705 710 715 720

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

725 730 735

Leu

<210> 60

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Heterologous peptide insertion

<400> 60

Ile Ala His Asp Ile Thr Lys Asn Ile Ala

1 5 10

<210> 61

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Heterologous peptide insertion

<400> 61

Asp Ile Thr Lys Asn Ile Ala

1 5

<210> 62

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Heterologous peptide insertion

<400> 62

Asn Lys Thr Thr Asn Lys Asp Ala

1 5

<210> 63

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Heterologous peptide insertion

<400> 63

Pro Gln Ala Asn Ala Asn Glu Asn

1 5

<210> 64

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Heterologous peptide insertion

<400> 64

Pro Ile Ser Asn Glu Asn Glu His

1 5

<210>

65

<211> 1377

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> codon-optimized sequence encoding Aflibercept

<400> 65

atggtttctt actgggacac cggcgtgctg ctgtgtgccc tgctttcttg tctgctgctg 60

accggctcta gcagcggctc tgataccggc agacccttcg tggaaatgta cagcgagatc 120

cccgagatca tccacatgac cgagggcaga gagctggtca tcccttgcag agtgacaagc 180

cccaacatca ccgtgactct gaagaagttc cctctggaca cactgatccc cgacggcaag 240

agaatcatct gggacagccg gaagggcttc atcatcagca acgccaccta caaagagatc 300

ggcctgctga cctgtgaagc caccgtgaat ggccacctgt acaagaccaa ctacctgaca 360

cacagacaga ccaacaccat catcgacgtg gtgctgagcc ctagccacgg cattgaactg 420

tctgtgggcg agaagctggt gctgaactgt accgccagaa ccgagctgaa cgtgggcatc 480

gacttcaact gggagtaccc cagcagcaag caccagcaca agaaactggt caaccgggac 540

ctgaaaaccc agagcggcag cgagatgaag aaattcctga gcaccctgac catcgacggc 600

gtgaccagaa gtgaccaggg cctgtacaca tgtgccgcca gctctggcct gatgaccaag 660

aaaaacagca ccttcgtgcg ggtgcacgag aaggacaaga cccacacctg tcctccatgt 720

cctgctccag aactgctcgg cggaccttcc gtgttcctgt ttcctccaaa gcctaaggac 780

accctgatga tcagcagaac ccctgaagtg acctgcgtgg tggtggatgt gtcccacgag 840

gatcccgaag tgaagttcaa ttggtacgtg gacggcgtgg aagtgcacaa cgccaagacc 900

aagcctagag aggaacagta caatagcacc tacagagtgg tgtccgtgct gaccgtgctg 960

caccaggatt ggctgaacgg caaagagtac aagtgcaagg tgtccaacaa ggccctgcct 1020

gctcctatcg agaaaaccat ctccaaggcc aagggccagc ctagggaacc ccaggtttac 1080

acactgcctc caagcaggga cgagctgaca aagaaccagg tgtccctgac ctgcctggtc 1140

aagggcttct acccttccga tatcgccgtg gaatgggaga gcaatggcca gcctgagaac 1200

aactacaaga caacccctcc tgtgctggac agcgacggct cattcttcct gtacagcaag 1260

ctgacagtgg acaagagcag atggcagcag ggcaacgtgt tcagctgctc cgtgatgcac 1320

gaggccctgc acaaccacta cacccagaag tccctgagcc tgtctcctgg caaatga 1377

<210> 66

<211> 458

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Aflibercept

<400> 66

Met Val Ser Tyr Trp Asp Thr Gly Val Leu Leu Cys Ala Leu Leu Ser
1 5 10 15

Cys Leu Leu Leu Thr Gly Ser Ser Ser Gly Ser Asp Thr Gly Arg Pro
20 25 30

Phe Val Glu Met Tyr Ser Glu Ile Pro Glu Ile Ile His Met Thr Glu
35 40 45

Gly Arg Glu Leu Val Ile Pro Cys Arg Val Thr Ser Pro Asn Ile Thr
50 55 60

Val Thr Leu Lys Lys Phe Pro Leu Asp Thr Leu Ile Pro Asp Gly Lys
65 70 75 80

Arg Ile Ile Trp Asp Ser Arg Lys Gly Phe Ile Ile Ser Asn Ala Thr
85 90 95

Tyr Lys Glu Ile Gly Leu Leu Thr Cys Glu Ala Thr Val Asn Gly His
100 105 110

Leu Tyr Lys Thr Asn Tyr Leu Thr His Arg Gln Thr Asn Thr Ile Ile
115 120 125

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

Lys Leu Val Leu Asn Cys Thr Ala Arg Thr Glu Leu Asn Val Gly Ile
145 150 155 160

Asp Phe Asn Trp Glu Tyr Pro Ser Ser Lys His Gln His Lys Lys Leu
165 170 175

Val Asn Arg Asp Leu Lys Thr Gln Ser Gly Ser Glu Met Lys Lys Phe
180 185 190

Leu Ser Thr Leu Thr Ile Asp Gly Val Thr Arg Ser Asp Gln Gly Leu
195 200 205

Tyr Thr Cys Ala Ala Ser Ser Gly Leu Met Thr Lys Lys Asn Ser Thr
210 215 220

Phe Val Arg Val His Glu Lys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
225 230 235 240
Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
245 250 255
Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
260 265 270

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

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

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
405 410 415
Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
420 425 430
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
435 440 445
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
450 455

<210> 67

<211> 1575

<212

> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> codon optimized sequence encoding single chain Heavy-Light Ranibizumab

<400> 67

atggactgga cctggtccat cctgtttctg gtggctgccg ccacaggcac atactctgaa 60

gtgcagctgg tggaatctgg cggcggactt gttcaacctg gcggctctct gagactgagc 120

tgtgccgcct ctggctacga ctttacccac tacggcatga actgggtccg acaggcccct 180

ggcaaaggcc ttgaatgggt cggatggatc aacacctaca ccggcgagcc aacatacgcc 240

gccgacttca agcggagatt caccttcagc ctggacacca gcaagagcac cgcctacctc 300

cagatgaaca gcctgagagc cgaggacacc gccgtgtact actgcgccaa gtatccctac 360

tactacggca ccagccactg gtacttcgac gtgtggggac agggcacact ggtcacagtg 420

tctagcgcct ctacaaaggg ccccagcgtt ttcccactgg ctcctagcag caagtctacc 480

tccggtggaa cagccgctct gggctgtctg gtcaaggact actttcccga gcctgtgacc 540

gtgtcctgga atagcggagc actgacaagc ggcgtgcaca cctttccagc cgtgctgcaa 600

agcagcggcc tgtactctct gagcagcgtc gtgacagtgc caagcagctc tctgggcacc 660

cagacctaca tctgcaatgt gaaccacaag cctagcaaca ccaaggtgga caagaaggtg 720

gaacccaaga gctgcgacaa gacacacctc ggcggaagct ctggaagcgg ctctggatct 780

accggcacaa gctctagcgg aacaggcaca agcgctggca caaccggaac aagcgcttct 840

acatctggct ctggttctgg cggaggcgga ggatcaggtg gtggtggatc tgctggcgga 900

acagctacag ctggcgcctc ttctggcagc gacattcagc tgacacagag cccttctagc 960

ctgagcgcct ctgtgggcga cagagtgacc atcacatgta gcgccagcca ggacatctcc 1020

aactacctga actggtatca gcagaagccc ggcaaggccc ctaaggtgct gatctacttt 1080

accagcagcc tgcactccgg cgtgcccagc agattttctg gatctggctc cggcaccgac 1140

ttcaccctga caatatctag cctccagcct gaggacttcg ccacctacta ctgccagcag 1200

tacagcaccg tgccttggac atttggccag ggcacaaagg tggaaatcaa gcggacagtg 1260

gccgctccta gcgtgttcat ctttccacct agcgacgagc agctgaagtc tggcacagcc 1320

tctgtcgtgt gcctgctgaa caacttctac cccagagaag ccaaggtgca gtggaaagtg 1380

gacaacgccc tccagtccgg caacagccaa gagtctgtga ccgagcagga cagcaaggac 1440

tccacctaca gcctgtccag cacactgaca ctgagcaagg ccgactacga gaagcacaaa 1500

gtgtacgcct gcgaagtgac ccaccagggc ctttctagcc ctgtgaccaa gagcttcaac 1560

cggggcgagt gttga 1575

<210> 68

<211> 524

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> single chain Heavy-Light Ranibizumab

<400> 68

Met Asp Trp Thr Trp Ser Ile Leu Phe Leu Val Ala Ala Ala Thr Gly
1 5 10 15

Thr Tyr Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln
20 25 30

Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Asp Phe
35 40 45

Thr His Tyr Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
50 55 60

Glu Trp Val Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala
65 70 75 80

Ala Asp Phe Lys Arg Arg Phe Thr Phe Ser Leu Asp Thr Ser Lys Ser
85 90 95

Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val
100 105 110

Tyr Tyr Cys Ala Lys Tyr Pro Tyr Tyr Tyr Gly Thr Ser His Trp Tyr
115 120 125

Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser
130 135 140

Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr
145 150 155 160

Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro
165 170 175

Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val

180 185 190

His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser

195 200 205

Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile

210 215 220

Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val

225 230 235 240

Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Leu Gly Gly Ser Ser Gly Ser

245 250 255

Gly Ser Gly Ser Thr Gly Thr Ser Ser Ser Gly Thr Gly Thr Ser Ala

260 265 270

Gly Thr Thr Gly Thr Ser Ala Ser Thr Ser Gly Ser Gly Ser Gly Gly

275 280 285

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala Gly Gly Thr Ala Thr Ala

290 295 300

Gly Ala Ser Ser Gly Ser Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser

305 310 315 320

Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser

325 330 335

Gln Asp Ile Ser Asn Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys

340 345 350

Ala Pro Lys Val Leu Ile Tyr Phe Thr Ser Ser Leu His Ser Gly Val

355 360 365

Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr

370 375 380

Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln

385 390 395 400

Tyr Ser Thr Val Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile

405 410 415

Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp

420 425 430

Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn

435 440 445

Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu

450 455 460

Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp

465 470 475 480

Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr

485 490 495

Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser

500 505 510

Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

515 520

<210> 69

<211> 1578

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> codon optimized sequence encoding single chain Light-Heavy Ranibizumab

<400> 69

atggtcctcc agacacaggt gttcatcagc ctgctgctgt ggatctctgg cgcctacggc 60

gatatccagc tgacacagag ccctagcagc ctgtctgcct ctgtgggcga cagagtgacc 120

atcacatgta gcgccagcca ggacatcagc aactacctga actggtatca gcagaagccc 180

ggcaaggccc ctaaggtgct gatctacttt accagcagcc tgcacagcgg cgtgcccagc 240

agattttctg gctctggcag cggcaccgac ttcaccctga caatatctag cctccagcct 300

gaggacttcg ccacctacta ctgccagcag tacagcaccg tgccttggac atttggccag 360

ggcaccaagg tggaaatcaa gcggacagtg gccgctccta gcgtgttcat ctttccacct 420

agcgacgagc agctgaagtc tggcacagcc tctgtcgtgt gcctgctgaa caacttctac 480

cccagagaag ccaaggtgca gtggaaggtg gacaacgccc tccagagcgg caatagccaa 540

gagagcgtga ccgagcagga cagcaaggac tctacctact ctctgagcag cacactgacc 600

ctgagcaagg ccgactacga gaagcacaaa gtgtacgcct gcgaagtgac ccaccagggc 660

ctttctagcc ctgtgaccaa gagcttcaac agaggcgagt gtggcggcag ctctggaagc 720

ggatctggaa gcacaggcac aagctctagc ggaaccggaa caagcgctgg cacaacaggc 780

acatctgcca gcacaagcgg ttctggttct ggcggaggcg gaggatctgg tggtggcgga 840

tctgctggcg gaacagctac agctggtgcc tcttctggat ccgaggtgca gctggttgaa 900

tctggcggtg gactggttca gccaggcgga tctctgagac tgtcttgtgc cgccagcggc 960

tacgatttca cccactacgg catgaactgg gtccgacagg cccctggcaa aggccttgaa 1020

tgggtcggat ggatcaacac ctacaccggc gagccaacat acgccgccga cttcaagcgg 1080

agattcacct tcagcctgga cacctccaag agcaccgcct acctccagat gaacagcctg 1140

agagccgagg acaccgccgt gtactactgc gccaagtatc cctactacta cggcaccagc 1200

cactggtact tcgacgtgtg gggacagggc acactggtca cagtgtctag cgcctctaca 1260

aagggcccca gcgttttccc actggctcct agcagcaaga gcacatcagg cggaactgct 1320

gccctgggct gtctggtcaa ggactacttt cctgagcctg tgaccgtgtc ctggaacagc 1380

ggagcactga catctggcgt gcacaccttt ccagccgtgc tccaaagcag cggcctgtat 1440

tctctgtcca gcgtcgtgac agtgcctagc agctctctgg gcacccagac ctacatctgc 1500

aatgtgaacc acaagcctag caacaccaag gtcgacaaga aggtggaacc caagagctgc 1560

gacaagaccc acctctga 1578

<210> 70

<211> 1578

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> codon optimized single chain Light-Heavy Ranibizumab

<400> 70

atggtgctcc agacccaggt gtttatttca ctgctgctgt ggattagcgg ggcttacgga 60

gacattcagc tgacccagag tccttcatct ctgagcgcct ccgtgggcga cagggtgacc 120

atcacatgct ctgccagcca ggatatctcc aactatctga attggtacca gcagaagccc 180

ggcaaggccc ctaaggtgct gatctatttc accagctccc tgcacagcgg agtgccatcc 240

cgcttctccg gctctggcag cggcaccgac tttaccctga caatctctag cctccagcca 300

gaggatttcg ccacatacta ttgccagcag tacagcaccg tgccctggac atttggccag 360

ggcaccaagg tggagatcaa gcggacagtg gccgccccaa gcgtgttcat ctttccccct 420

agcgacgagc agctgaagtc tggcaccgcc agcgtggtgt gcctgctgaa caatttctat 480

cccagagagg ccaaggtgca gtggaaggtg gataacgccc tccagtccgg caattctcag 540

gagagcgtga ccgagcagga ctccaaggat tctacataca gcctgtcctc taccctgaca 600

ctgtccaagg ccgactatga gaagcacaag gtgtacgcat gcgaggtgac ccaccagggc 660

ctgagctccc cagtgacaaa gagctttaac aggggagagt gtggaggatc tagcggatcc 720

ggatctggaa gcaccggcac atcctctagc ggaaccggca caagcgccgg caccacaggc 780

acctccgcct ctacaagcgg cagcggatct ggcggaggag gaggatccgg aggaggagga 840

tctgccggcg gcaccgccac agccggcgcc tcctctggct ccgaggtgca gctggtggag 900

tctggaggag gcctggtgca gcctggaggc tccctgaggc tgtcttgcgc agcaagcggc 960

tatgatttca cccactacgg aatgaactgg gtgcgccagg cacctggcaa gggcctggag 1020

tgggtgggct ggatcaatac ctatacaggc gagccaacct acgccgccga ctttaagcgg 1080

agattcacat tttccctgga taccagcaag tccacagcct acctccagat gaacagcctg 1140

agggcagagg acaccgccgt gtactattgc gccaagtatc cttactatta cggcacaagc 1200

cactggtact tcgacgtgtg gggacagggc accctggtga cagtgagctc cgccagcacc 1260

aagggcccat ccgtgtttcc tctggcccca tctagcaagt ctaccagcgg aggaacagcc 1320

gccctgggat gtctggtgaa ggactacttc ccagagcccg tgaccgtgtc ctggaattct 1380

ggcgccctga cctccggcgt gcacacattt cccgccgtgc tccagtcctc tggcctgtat 1440

agcctgagct ccgtggtgac cgtgccttct agctccctgg gcacccagac atacatctgt 1500

aacgtgaatc acaagccttc aaataccaaa gtcgataaaa aagtggaacc aaaatcctgt 1560

gataaaaccc atctgtga 1578

<210> 71

<211> 525

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> single chain Light-Heavy Ranibizumab

<400> 71

Met Val Leu Gln Thr Gln Val Phe Ile Ser Leu Leu Leu Trp Ile Ser

1 5 10 15

Gly Ala Tyr Gly Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser

20 25 30

Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Gln Asp

35 40 45

Ile Ser Asn Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro

50 55 60

Lys Val Leu Ile Tyr Phe Thr Ser Ser Leu His Ser Gly Val Pro Ser

65 70 75 80

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser

85 90 95

Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Ser

100 105 110

Thr Val Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg

115 120 125

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln

130 135 140

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr

145 150 155 160

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser

165 170 175

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr

180 185 190

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys

195 200 205

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro

210 215 220

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys Gly Gly Ser Ser Gly Ser

225 230 235 240

Gly Ser Gly Ser Thr Gly Thr Ser Ser Ser Gly Thr Gly Thr Ser Ala

245 250 255

Gly Thr Thr Gly Thr Ser Ala Ser Thr Ser Gly Ser Gly Ser Gly Gly

260 265 270

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala Gly Gly Thr Ala Thr Ala

275 280 285

Gly Ala Ser Ser Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly

290 295 300

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

305 310 315 320

Tyr Asp Phe Thr His Tyr Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly

325 330 335

Lys Gly Leu Glu Trp Val Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro

340 345 350

Thr Tyr Ala Ala Asp Phe Lys Arg Arg Phe Thr Phe Ser Leu Asp Thr

355 360 365

Ser Lys Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp

370 375 380

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Lys Tyr Pro Tyr Tyr Tyr Gly Thr Ser

385 390 395 400

His Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser

405 410 415

Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser

420 425 430

Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp

435 440 445

Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr

450 455 460

Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr

465 470 475 480

Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln

485 490 495

Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp

500 505 510

Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Leu

515 520 525

<210> 72

<211> 2277

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> sequence encoding single chain Light-Heavy Ranibizumab-Fc

<400> 72

atggtcctcc agacacaggt gttcatcagc ctgctgctgt ggatctctgg cgcctacggc 60

gatatccagc tgacacagag ccctagcagc ctgtctgcct ctgtgggcga cagagtgacc 120

atcacatgta gcgccagcca ggacatcagc aactacctga actggtatca gcagaagccc 180

ggcaaggccc ctaaggtgct gatctacttt accagcagcc tgcacagcgg cgtgcccagc 240

agattttctg gctctggcag cggcaccgac ttcaccctga caatatctag cctccagcct 300

gaggacttcg ccacctacta ctgccagcag tacagcaccg tgccttggac atttggccag 360

ggcaccaagg tggaaatcaa gcggacagtg gccgctccta gcgtgttcat ctttccacct 420

agcgacgagc agctgaagtc tggcacagcc tctgtcgtgt gcctgctgaa caacttctac 480

cccagagaag ccaaggtgca gtggaaggtg gacaacgccc tccagagcgg caatagccaa 540

gagagcgtga ccgagcagga cagcaaggac tctacctact ctctgagcag cacactgacc 600

ctgagcaagg ccgactacga gaagcacaaa gtgtacgcct gcgaagtgac ccaccagggc 660

ctttctagcc ctgtgaccaa gagcttcaac agaggcgagt gtggcggcag ctctggaagc 720

ggatctggaa gcacaggcac aagctctagc ggaaccggaa caagcgctgg cacaacaggc 780

acatctgcca gcacaagcgg ttctggttct ggcggaggcg gaggatctgg tggtggcgga 840

tctgctggcg gaacagctac agctggtgcc tcttctggat ccgaggtgca gctggttgaa 900

tctggcggtg gactggttca gccaggcgga tctctgagac tgtcttgtgc cgccagcggc 960

tacgatttca cccactacgg catgaactgg gtccgacagg cccctggcaa aggccttgaa 1020

tgggtcggat ggatcaacac ctacaccggc gagccaacat acgccgccga cttcaagcgg 1080

agattcacct tcagcctgga cacctccaag agcaccgcct acctccagat gaacagcctg 1140

agagccgagg acaccgccgt gtactactgc gccaagtatc cctactacta cggcaccagc 1200

cactggtact tcgacgtgtg gggacagggc acactggtca cagtgtctag cgcctctaca 1260

aagggcccca gcgttttccc actggctcct agcagcaaga gcacatcagg cggaactgct 1320

gccctgggct gtctggtcaa ggactacttt cctgagcctg tgaccgtgtc ctggaacagc 1380

ggagcactga catctggcgt gcacaccttt ccagccgtgc tccaaagcag cggcctgtat 1440

tctctgtcca gcgtcgtgac agtgcctagc agctctctgg gcacccagac ctacatctgc 1500

aatgtgaacc acaagcctag caacaccaag gtcgacaaga aggtggaacc caagagctgc 1560

gacaagaccc acacctgtcc tccatgtcct gctccagaac tgctcggcgg accttccgtg 1620

ttcctgtttc ctccaaagcc taaggacacc ctgatgatca gcagaacccc tgaagtgacc 1680

tgcgtggtgg tggatgtgtc ccacgaggat cccgaagtga agttcaattg gtacgtggac 1740

ggcgtggaag tgcacaacgc caagaccaag cctagagagg aacagtacaa tagcacctac 1800

agagtggtgt ccgtgctgac cgtgctgcac caggattggc tgaacggcaa agagtacaag 1860

tgcaaggtgt ccaacaaggc cctgcctgct cctatcgaga aaaccatctc caaggccaag 1920
ggccagccta gggaacccca ggtttacaca ctgcctccaa gcagggacga gctgacaaag 1980
aaccaggtgt ccctgacctg cctggtcaag ggcttctacc cttccgatat cgccgtggaa 2040
tgggagagca atggccagcc tgagaacaac tacaagacaa cccctcctgt gctggacagc 2100
gacggctcat tcttcctgta cagcaagctg acagtggaca agagcagatg gcagcagggc 2160
aacgtgttca gctgctccgt gatgcacgag gccctgcaca accactacac ccagaagtcc 2220
ctgagcctgt ctcctggcaa atgagccacg cgtaacacgt gcatgcgaga gatctga 2277

<210> 73
<211> 752
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> single chain Light-Heavy Ranibizumab fused to Fc
<400> 73

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

Ile Ser Asn Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
50 55 60
Lys Val Leu Ile Tyr Phe Thr Ser Ser Leu His Ser Gly Val Pro Ser
65 70 75 80
Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
85 90 95
Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Ser
100 105 110

Thr Val Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
115 120 125
Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln

130 135 140

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
145 150 155 160
Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
165 170 175

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
180 185 190
Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
195 200 205
His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
210 215 220
Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys Gly Gly Ser Ser Gly Ser
225 230 235 240

Gly Ser Gly Ser Thr Gly Thr Ser Ser Ser Gly Thr Gly Thr Ser Ala
245 250 255
Gly Thr Thr Gly Thr Ser Ala Ser Thr Ser Gly Ser Gly Ser Gly Gly
260 265 270
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala Gly Gly Thr Ala Thr Ala
275 280 285
Gly Ala Ser Ser Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly
290 295 300

Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
305 310 315 320
Tyr Asp Phe Thr His Tyr Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly
325 330 335
Lys Gly Leu Glu Trp Val Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro
340 345 350
Thr Tyr Ala Ala Asp Phe Lys Arg Arg Phe Thr Phe Ser Leu Asp Thr
355 360 365

Ser Lys Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp
370 375 380

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Lys Tyr Pro Tyr Tyr Tyr Gly Thr Ser
385 390 395 400
His Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
405 410 415
Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser
420 425 430

Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp
435 440 445
Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr
450 455 460
Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr
465 470 475 480
Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln
485 490 495

Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp
500 505 510
Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Leu Asp Lys Thr
515 520 525
His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser
530 535 540
Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
545 550 555 560

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
565 570 575
Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
580 585 590
Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
595 600 605
Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
610 615 620

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr

625 630 635 640

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

645 650 655

Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys

660 665 670

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser

675 680 685

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

690 695 700

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser

705 710 715 720

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala

725 730 735

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

740 745 750

<210> 74

<211> 816

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> codon optimized Brolucizumab coding sequence

<400> 74

atggtcctcc agacacaggt gttcatcagc ctgctgctgt ggatctctgg cgcctatggc 60

gagatcgtga tgacacagag ccccagcaca ctgtctgcca gcgtgggaga cagagtgatc 120

atcacatgcc aggccagcga gatcatccac agctggctgg cttggtatca gcagaagcct 180

ggcaaggccc ctaagctgct gatctacctg gcctctacac tggccagcgg agtgcctagc 240

agattttctg gctctggatc tggcgccgag ttcaccctga caatctctag cctccagcct 300

gacgacttcg ccacctacta ctgccagaac gtgtacctgg ccagcaccaa cggcgccaat 360

tttggccagg gcaccaagct gacagtgctt ggcggaggcg gaggttctgg tggcggagga 420

agtggcggcg gaggatcagg cggtggtgga tctgaagtgc agctggtgga atcaggcgga 480

ggactggttc aacctggcgg ctctctgaga ctgagctgta ccgcctctgg cttctccctg 540

accgactact actacatgac ctgggtccga caggcccctg gcaaaggact tgagtgggtc 600

ggattcatcg accccgacga cgatccttac tacgccacat gggccaaggg cagattcacc 660

atcagccggg acaacagcaa gaacaccctg tacctccaga tgaacagcct gagagccgag 720

gacaccgccg tgtactattg tgccggcgga gatcacaata gcggctgggg actcgatatc 780

tggggccagg gaacactggt caccgtgtct agttga 816

<210> 75

<211> 271

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Brolucizumab

<400> 75

Met Val Leu Gln Thr Gln Val Phe Ile Ser Leu Leu Leu Trp Ile Ser
1 5 10 15

Gly Ala Tyr Gly Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser
20 25 30

Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Ile Ile Thr Cys Gln Ala Ser Glu Ile
35 40 45

Ile His Ser Trp Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
50 55 60

Lys Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser
65 70 75 80

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ala Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser
85 90 95

Ser Leu Gln Pro Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Asn Val Tyr
100 105 110

Leu Ala Ser Thr Asn Gly Ala Asn Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Thr
115 120 125

Val Leu Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
130 135 140

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly
145 150 155 160

Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Ala Ser
165 170 175

Gly Phe Ser Leu Thr Asp Tyr Tyr Tyr Met Thr Trp Val Arg Gln Ala
180 185 190
Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Gly Phe Ile Asp Pro Asp Asp Asp
195 200 205
Pro Tyr Tyr Ala Thr Trp Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp
210 215 220

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

<210> 76

<211> 1530

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Brolucizumab fused to Fc

<400> 76

atggtcctcc agacacaggt gttcatcagc ctgctgctgt ggatctctgg cgcctatggc 60

gagatcgtga tgacacagag ccccagcaca ctgtctgcca gcgtgggaga cagagtgatc 120
atcacatgcc aggccagcga gatcatccac agctggctgg cttggtatca gcagaagcct 180
ggcaaggccc ctaagctgct gatctacctg gcctctacac tggccagcgg agtgcctagc 240
agattttctg gctctggatc tggcgccgag ttcaccctga caatctctag cctccagcct 300
gacgacttcg ccacctacta ctgccagaac gtgtacctgg ccagcaccaa cggcgccaat 360
tttggccagg gcaccaagct gacagtgctt ggcggaggcg gaggttctgg tggcggagga 420
agtggcggcg gaggatcagg cggtggtgga tctgaagtgc agctggtgga atcaggcgga 480

ggactggttc aacctggcgg ctctctgaga ctgagctgta ccgcctctgg cttctccctg 540
accgactact actacatgac ctgggtccga caggcccctg gcaaaggact tgagtgggtc 600
ggattcatcg accccgacga cgatccttac tacgccacat gggccaaggg cagattcacc 660
atcagccggg acaacagcaa gaacaccctg tacctccaga tgaacagcct gagagccgag 720
gacaccgccg tgtactattg tgccggcgga gatcacaata gcggctgggg actcgatatc 780
tggggccagg gaacactggt caccgtgtct agtgacaaga cccacacctg tcctccatgt 840

cctgctccag aactgctcgg cggaccttcc gtgttcctgt ttcctccaaa gcctaaggac 900

accctgatga tcagcagaac ccctgaagtg acctgcgtgg tggtggatgt gtcccacgag 960

gatcccgaag tgaagttcaa ttggtacgtg gacggcgtgg aagtgcacaa cgccaagacc 1020

aagcctagag aggaacagta caatagcacc tacagagtgg tgtccgtgct gaccgtgctg 1080

caccaggatt ggctgaacgg caaagagtac aagtgcaagg tgtccaacaa ggccctgcct 1140

gctcctatcg agaaaaccat ctccaaggcc aagggccagc ctagggaacc ccaggtttac 1200

acactgcctc caagcaggga cgagctgaca aagaaccagg tgtccctgac ctgcctggtc 1260

aagggcttct acccttccga tatcgccgtg gaatgggaga gcaatggcca gcctgagaac 1320

aactacaaga caacccctcc tgtgctggac agcgacggct cattcttcct gtacagcaag 1380

ctgacagtgg acaagagcag atggcagcag ggcaacgtgt tcagctgctc cgtgatgcac 1440

gaggccctgc acaaccacta cacccagaag tccctgagcc tgtctcctgg caaatgagcc 1500

acgcgtaaca cgtgcatgcg agagatctga 1530

<210> 77

<211> 498

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Brolucizumab fused to Fc

<400> 77

Met Val Leu Gln Thr Gln Val Phe Ile Ser Leu Leu Leu Trp Ile Ser
1 5 10 15

Gly Ala Tyr Gly Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser
20 25 30

Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Ile Ile Thr Cys Gln Ala Ser Glu Ile
35 40 45

Ile His Ser Trp Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
50 55 60

Lys Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser
65 70 75 80

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ala Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser
85 90 95

Ser Leu Gln Pro Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Asn Val Tyr

100 105 110

Leu Ala Ser Thr Asn Gly Ala Asn Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Thr

115 120 125

Val Leu Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly

130 135 140

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly

145 150 155 160

Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Ala Ser

165 170 175

Gly Phe Ser Leu Thr Asp Tyr Tyr Tyr Met Thr Trp Val Arg Gln Ala

180 185 190

Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Gly Phe Ile Asp Pro Asp Asp Asp

195 200 205

Pro Tyr Tyr Ala Thr Trp Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp

210 215 220

Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu

225 230 235 240

Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Gly Gly Asp His Asn Ser Gly Trp

245 250 255

Gly Leu Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Asp

260 265 270

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly

275 280 285

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile

290 295 300

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu

305 310 315 320

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His

325 330 335

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg

340 345 350

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
355 360 365
Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
370 375 380
Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
385 390 395 400

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
405 410 415
Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
420 425 430
Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
435 440 445
Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
450 455 460

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
465 470 475 480
Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
485 490 495
Gly Lys