

(19)日本国特許庁(JP)

## (12)特許公報(B2)

(11)特許番号

特許第7066635号

(P7066635)

(45)発行日 令和4年5月13日(2022.5.13)

(24)登録日 令和4年5月2日(2022.5.2)

(51)国際特許分類

F I

C 1 2 N 15/113(2010.01)

C 1 2 N 15/113

Z Z N A

C 1 2 N 15/864(2006.01)

C 1 2 N 15/864

1 0 0 Z

C 1 2 N 5/10(2006.01)

C 1 2 N 5/10

C 1 2 N 7/01(2006.01)

C 1 2 N 7/01

A 6 1 K 31/7088(2006.01)

A 6 1 K 31/7088

請求項の数 25 (全187頁) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2018-560625(P2018-560625)

(86)(22)出願日 平成29年5月18日(2017.5.18)

(65)公表番号 特表2019-519218(P2019-519218  
A)

(43)公表日 令和1年7月11日(2019.7.11)

(86)国際出願番号 PCT/US2017/033268

(87)国際公開番号 WO2017/201248

(87)国際公開日 平成29年11月23日(2017.11.23)

審査請求日 令和2年5月14日(2020.5.14)

(31)優先権主張番号 62/338,137

(32)優先日 平成28年5月18日(2016.5.18)

(33)優先権主張国・地域又は機関

米国(US)

(31)優先権主張番号 62/485,050

(32)優先日 平成29年4月13日(2017.4.13)

最終頁に続く

(73)特許権者 517157204

バイジャー セラピューティクス インコ

ーポレイテッド

VOYAGER THERAPEUTI

CS, INC.

アメリカ合衆国 0 2 1 3 9 マサチュー

セッツ州 ケンブリッジ シドニー スト

リート 7 5

(74)代理人 100105957

弁理士 恩田 誠

(74)代理人 100068755

弁理士 恩田 博宣

(74)代理人 100142907

弁理士 本田 淳

(74)代理人 100152489

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 調節性ポリヌクレオチド

(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】

遺伝子発現を調節するための調節性ポリヌクレオチドであって、パッセンジャー鎖及びガイド鎖を含み、前記調節性ポリヌクレオチドが、(a) 配列番号5のヌクレオチド配列を含む5'フランキング領域；(b) 配列番号16のヌクレオチド配列を含むループ領域；及び(c) 配列番号21のヌクレオチド配列を含む3'フランキング領域をさらに含み、

前記パッセンジャー鎖が、前記5'フランキング領域と前記ループ領域との間に位置し

前記ガイド鎖が、前記ループ領域と前記3'フランキング領域との間に位置する調節性ポリヌクレオチド。

【請求項2】

遺伝子発現を調節するための調節性ポリヌクレオチドであって、パッセンジャー鎖及びガイド鎖を含み、前記調節性ポリヌクレオチドが、(a) 配列番号5のヌクレオチド配列を含む5'フランキング領域；(b) 配列番号16のヌクレオチド配列を含むループ領域；及び(c) 配列番号21のヌクレオチド配列を含む3'フランキング領域をさらに含み、

前記ガイド鎖が、前記5'フランキング領域と前記ループ領域との間に位置し

前記パッセンジャー鎖が、前記ループ領域と前記3'フランキング領域との間に位置する

調節性ポリヌクレオチド。

【請求項 3】

前記ガイド鎖が、位置 2 ~ 7, 2 ~ 8, または 2 ~ 9 を含むマイクロ RNA シード配列を含む、請求項 1 または 2 に記載の調節性ポリヌクレオチド。

【請求項 4】

前記ガイド鎖、前記パッセンジャー鎖、又は、前記ガイド鎖及び前記パッセンジャー鎖の両方が、それぞれ 15 ~ 22 ヌクレオチド長である、請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の調節性ポリヌクレオチド。

【請求項 5】

前記ガイド鎖及び前記パッセンジャー鎖がそれぞれ 21 又は 22 ヌクレオチド長である、請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の調節性ポリヌクレオチド。 10

【請求項 6】

前記パッセンジャー鎖が前記ガイド鎖と少なくとも 70 % 相補的である、請求項 1 ~ 5 のいずれか一項に記載の調節性ポリヌクレオチド。

【請求項 7】

前記ガイド鎖が標的 RNA と少なくとも 60 % 相補的であり、前記標的 RNA が、中枢神経系の細胞内で発現される哺乳類コード mRNA である、請求項 1 ~ 6 のいずれか一項に記載の調節性ポリヌクレオチド。

【請求項 8】

前記調節性ポリヌクレオチドが pri-miRNA である、請求項 1 ~ 7 のいずれか一項に記載の調節性ポリヌクレオチド。 20

【請求項 9】

前記調節性ポリヌクレオチドが Htt 遺伝子を標的化する、請求項 1 ~ 8 のいずれか一項に記載の調節性ポリヌクレオチド。

【請求項 10】

前記調節性ポリヌクレオチドが SOD1 遺伝子を標的化する、請求項 1 ~ 8 のいずれか一項に記載の調節性ポリヌクレオチド。

【請求項 11】

2 つの末端逆位配列 (ITR) の間に位置する核酸配列を含むウイルスゲノムであって、前記核酸配列が、請求項 1 ~ 10 のいずれか一項に記載の調節性ポリヌクレオチドをコードする、ウイルスゲノム。 30

【請求項 12】

(i) 前記調節性ポリヌクレオチドをコードするヌクレオチド配列に作動可能に連結されたプロモータ;

(ii) エンハンサー;

(iii) イントロン領域; 及び / 又は

(iv) ポリ A シグナル領域

をさらに含む、請求項 11 に記載のウイルスゲノム。

【請求項 13】

(i) 前記プロモータが CBA プロモータ又は H1 プロモータであり;

(ii) 前記エンハンサーが CMV エンハンサーであり; 及び / 又は

(iii) 前記イントロンが SV40 イントロンである、

請求項 12 に記載のウイルスゲノム。 40

【請求項 14】

前記ウイルスゲノムが、一本鎖又は自己相補的である、請求項 11 ~ 13 のいずれか一項に記載のウイルスゲノム。

【請求項 15】

請求項 11 ~ 14 のいずれか一項に記載のウイルスゲノムを含む組換えアデノ随伴ウイルス (rAAV)。

【請求項 16】

AAV1、AAV9、AAV5、AAVrh10カプシド、又はそのバリエーションを含む、請求項15に記載のrAAV。

【請求項17】

請求項1～10のいずれか一項に記載の調節性ポリヌクレオチド、又は請求項11～14のいずれか一項に記載のウイルスゲノムを含むベクター。

【請求項18】

請求項1～10のいずれか一項に記載の調節性ポリヌクレオチド、請求項11～14のいずれか一項に記載のウイルスゲノム、請求項15もしくは16に記載のrAAV、又は請求項17に記載のベクターを含む、細胞。

【請求項19】

哺乳類細胞、HEK293細胞、昆虫細胞、Sf9細胞、中枢神経系の細胞、ニューロン、中型有棘ニューロン、運動ニューロン、又はアストロサイトである、請求項18に記載の細胞。

【請求項20】

請求項1～10のいずれか一項に記載の調節性ポリヌクレオチド、請求項11～14のいずれか一項に記載のウイルスゲノム、又は請求項15もしくは16に記載のrAAV、及び薬学的に許容可能な賦形剤を含む、医薬組成物。

【請求項21】

疾患の治療に使用するための、請求項1～10のいずれか一項に記載の調節性ポリヌクレオチド、請求項11～14のいずれか一項に記載のウイルスゲノム、請求項15もしくは16に記載のrAAV、又は請求項20に記載の医薬組成物を含む、組成物。

【請求項22】

前記組成物が、静脈内投与又は大槽内投与によって投与される、請求項21に記載の組成物。

【請求項23】

疾患の治療用医薬の製造における、請求項1～10のいずれか一項に記載の調節性ポリヌクレオチド、請求項11～14のいずれか一項に記載のウイルスゲノム、請求項15もしくは16に記載のrAAV、又は請求項20に記載の医薬組成物の使用。

【請求項24】

請求項15または16に記載の組換えAAVの作製方法であって、請求項11～14のいずれか一項に記載のウイルスゲノムを含むポリヌクレオチド、AAVrep遺伝子をコードする少なくとも1つのポリヌクレオチド、及びAAVcap遺伝子をコードする少なくとも1つのポリヌクレオチドを有する細胞を提供することと、前記細胞由来の組換えAAVを回収すること、を含む、方法。

【請求項25】

前記細胞が、細菌細胞、哺乳類細胞、又は昆虫細胞である、請求項24に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、調節性ポリヌクレオチドを設計、調製、製造及び/又は製剤化するための組成物、方法、プロセス、キット及び装置に関する。一部の実施形態において、かかる調節性ポリヌクレオチドは組換えアデノ随伴ウイルス(AAV)によってコードされるか、又はその中であってもよく、人工マイクロRNA、人工プレマイクロRNA及び/又は人工プリマイクロRNAを含み得る。

【背景技術】

【0002】

マイクロRNA(又はmiRNA又はmiR)は、小型の非コード一本鎖リボ核酸分子(RNA)であり、通常19～25ヌクレオチド長である。哺乳類ゲノムでは1000を上回るマイクロRNAが同定されている。成熟マイクロRNAは、主として標的mRNAの

10

20

30

40

50

相補配列との部分的又は完全な対合によって標的メッセンジャーRNA ( mRNA ) の3'非翻訳領域 ( 3' - UTR ) に結合して、転写後レベルで標的mRNAの分解を促進し、場合によっては翻訳開始を阻害する。マイクロRNAは、細胞周期及び成長の調節、アポトーシス、細胞増殖及び組織発達など、多くの重要な生物学的過程において決定的な役割を果たす。

【0003】

miRNA遺伝子は、概してmiRNAの長い一次転写物 ( 即ちpri-miRNA ) として転写される。pri-miRNAは、miRNAの前駆体 ( 即ちpre-miRNA ) に切断され、これが更にプロセシングされて、成熟した機能性のmiRNAが生じる。

【0004】

多くの標的発現戦略で核酸ベースのモダリティが利用されるが、より高い特異性を有し、且つオフターゲット効果が少ない、改良された核酸モダリティが依然として必要とされている。

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0005】

本発明は、人工プリマイクロ ( pri-micro ) RNA、プレマイクロ ( pre-micro ) RNA及び成熟マイクロ ( mature micro ) RNAコンストラクトの形態のかかる改良されたモダリティ及びその設計方法を提供する。これらの新規コンストラクトは合成のスタンドアロン分子であってもよく、又は細胞への送達のためプラスミド又は発現ベクターにコードされてもよい。かかるベクターとしては、限定はされないが、任意のAAV血清型のベクターゲノムなど、アデノ随伴ウイルスベクター、又はレンチウイルスなどの他のウイルス送達媒体等が挙げられる。

【課題を解決するための手段】

【0006】

本明細書には、調節性ポリヌクレオチドを設計、調製、製造及び/又は製剤化するための組成物、方法、プロセス、キット及び装置が記載される。

一部の実施形態において、かかる調節性ポリヌクレオチドは、プラスミド又はベクター又は組換えアデノ随伴ウイルス ( AAV ) によってコードされるか、又はその中に含まれてもよく、人工マイクロRNA、人工プレマイクロRNA及び/又は人工プリマイクロRNAを含み得る。

【0007】

本発明の様々な実施形態の詳細が以下の説明に示される。本発明の他の特徴、目的、及び利点は、この説明及び図面から、及び特許請求の範囲から明らかになるであろう。

前述及び他の目的、特徴及び利点は、添付の図面に示されるとおりの、本発明の特定の実施形態の以下の説明から明らかになるであろう。図面では、異なる図を通じて同様の参照符号は同じ部分を指す。図面は必ずしも一定の縮尺とは限らず、代わりに本発明の様々な実施形態の原理の説明が強調される。

【図面の簡単な説明】

【0008】

【図1】本発明に係るAAVベクターにパッケージングされたウイルスゲノムの一部である人工プリマイクロRNAの概略図。図1は配列番号943を開示する。

【図2】ITR、イントロン ( I ) 及びポリA ( P ) に対する調節性ポリヌクレオチド ( MP ) の位置を示す図。

【発明を実施するための形態】

【0009】

I. 本発明の組成物

調節性ポリヌクレオチド

本発明によれば、人工マイクロRNAとして機能する調節性ポリヌクレオチドが提供される。本明細書で使用される時、「調節性ポリヌクレオチド」は、標的遺伝子のレベル又

10

20

30

40

50

は量を調節する（増加させるか又は減少させるかのいずれか）働きをする任意の核酸ポリマーである。調節性ポリヌクレオチドには、調節前に細胞の内部でプロセシングされる前駆体分子が含まれる。調節性ポリヌクレオチド又はそのプロセシングされた形態は、細胞への送達のためプラスミド、ベクター、ゲノム又は他の核酸発現ベクターにコードされてもよい。

#### 【0010】

一実施形態において、調節性ポリヌクレオチドは、少なくとも1つの*s i R N A*分子をコードする少なくとも1つの核酸配列を含み得る。核酸は、2つ以上ある場合には独立して、1、2、3、4、5、6、7、8、9個、又は9個超の*s i R N A*分子をコードし得る。

#### 【0011】

一部の実施形態において、調節性ポリヌクレオチドは、細胞内でプロセシングされて高度に特異的な人工マイクロRNAを生じるプライマリーマイクロRNA (*p r i - m i R*) 又は前駆体マイクロRNA (*p r e - m i R*) として設計される。

#### 【0012】

本発明の調節性ポリヌクレオチド、特に人工マイクロRNAは、カノニカルな又は既知のマイクロRNA、プライマイクロRNA又はプレマイクロRNAの配列又は構造足場をベースとして設計されてもよい。かかる配列は、米国特許出願公開第2005/0261218号明細書及び米国特許出願公開第2005/0059005号明細書（これらの内容は全体として参照により本明細書に援用される）に教示されるものなど、任意の公知のマイクロRNA又はその前駆体に対応し得る。

#### 【0013】

マイクロRNA（又は*m i R N A*又は*m i R*）は19～25ヌクレオチド長の非コードRNAであり、核酸分子の3'UTRに結合して、核酸分子の安定性を低下させることによるか、又は翻訳を阻害することにより遺伝子発現を下方制御する。本発明の調節性ポリヌクレオチドは、1つ以上のマイクロRNA配列、マイクロRNAシード又は人工マイクロRNA、例えばマイクロRNAとして機能する配列を含み得る。

#### 【0014】

マイクロRNA配列は、「シード」領域、即ち成熟マイクロRNAの位置2～9の領域にある配列を含み、この配列は*m i R N A*標的配列と完全なワトソン・クリック相補性を有する。マイクロRNAシードは成熟マイクロRNAの位置2～8又は2～7又は2～9を含み得る。一部の実施形態において、マイクロRNAシードは7ヌクレオチド（例えば、成熟マイクロRNAのヌクレオチド2～8）を含んでもよく、ここで対応する*m i R N A*標的のシード相補部位には、マイクロRNA位置1に対向するアデニン（A）が隣接する。一部の実施形態において、マイクロRNAシードは6ヌクレオチド（例えば、成熟マイクロRNAのヌクレオチド2～7）を含んでもよく、ここで対応する*m i R N A*標的のシード相補部位には、マイクロRNA位置1に対向するアデニン（A）が隣接する。例えば、グリムソン・A（Grimson A）、ファー・KK（Farh KK）、ジョンストン・WK（Johnston WK）、ガレット＝エンゲル・P（Garrett-Engel P）、リム・LP（Lim LP）、バーテル・DP（Bartel DP）著、モレキュラー・セル（Mol Cell.）、2007年7月6日、第27巻、第1号、p. 91～105を参照のこと；これらの各々は、本明細書において全体として参照により援用される。天然に存在するマイクロRNAでは、マイクロRNAシードの塩基は標的配列と完全な相補性を有する。

#### 【0015】

本明細書に教示されるとおり、優れた標的遺伝子調節特性を有し、オフターゲット効果が限られている調節性ポリヌクレオチド（例えば、人工マイクロRNA）の設計に設計パラメータ、又は規則が同定され、適用された。

#### 【0016】

一実施形態において、本明細書に記載される調節性ポリヌクレオチドの分子足場は、所望の標的遺伝子調節特性を有する調節性ポリヌクレオチドを作り出すように設計及び最適化

10

20

30

40

50

されてもよい。非限定的な例として、調節性ポリヌクレオチドは、優れた標的遺伝子調節特性を有し、オフターゲット効果が限られたものであり得る。

【0017】

一実施形態において、人工miRなど、本発明の調節性ポリヌクレオチドは、高度に特異的な標的認識及び低いガイド/パッセンジャー比をもたらず一連の規則に従いアセンブルされたモジュラーエレメント又は配列モチーフで構成される。かかるモジュール又は配列モチーフとしては、限定はされないが、二本鎖領域、フランキング領域、ループ、最適化ループ、UGUGループ、GUドメイン、スパーサ（近位及び遠位モチーフ又はモジュール間隔を制御する、又はターン、ループ又はバルジなどの構造エレメントを導入する）、CNNCモチーフ、及びループ、バルジ、ミスマッチ、ゆらぎ、及び/又はこれらの組み合わせを包含し得る熱力学的非対称領域が挙げられる。人工miRの構築時に単独又は組み合わせで適用し得る規則の非限定的な例としては、サイト（Seitz）ら著、サイレンス（Silence）、2011年、第2巻、p. 4；グ（Gu）ら著、セル（Cell）、第151巻、p. 900~911、2012年11月9日；シュワルツ（Schwartz）ら著、セル（Cell）、第115巻、p. 199~208、2003年10月17日；パーク（Park）ら著、ネイチャー（Nature）、第475巻、p. 101、2011年7月14日；ケトラー（Ketley）ら著、2013年、プロス・ワン（PLOS ONE）、第8巻、第6号；リユー（Liu）ら著、ヌクレック・アシッド・リサーチ（Nucleic Acids Research）、2008年、第36巻、第9号、p. 2811~2824；ダウ（Dow）ら著、2013年、ネイチャー・プロトコルズ（Nat Protoc.）、第7巻、第2号、p. 374~393、doi: 10.1038/nprot.2011.446；オーヤン（Auyeung）ら著、セル（Cell）、第152巻、p. 844~858、2013年2月14日；グ（Gu）ら著、セル（Cell）、2012年11月9日、第151巻、第4号、p. 900~11；フェルマン（Fellmann）ら著、モレキュラー・セル（Molecular Cell）、第41巻、p. 733~746、2011年；ハン（Han）ら著、セル（Cell）、第125巻、p. 887~907、2006年；ベタンクール（Betancur）ら著、フロンティアズ・イン・ジェネティクス（Frontiers in Genetics）、第3巻、アーティクル127、p. 1~6、2012年7月；シュワルツ（Schwarz）ら著、セル（Cell）、第115巻、p. 199~208、2003年に教示されるものが挙げられる；これらの各々の内容は本明細書において全体として参照により援用される。

【0018】

一実施形態において、本発明の調節性ポリヌクレオチド又は人工マイクロRNAのパッセンジャー鎖及び/又はガイド鎖の設計には、公知のRNAiコンストラクト又はRNAi剤の任意のものが出発コンストラクトとなり得る。これには、カノニカルなsiRNA、低分子干渉RNA（siRNA）、二本鎖RNA（dsRNA）、逆方向反復配列、短鎖ヘアピンRNA（shRNA）、低分子の時間的に制御されたRNA（stRNA）、クラスター化した阻害性RNA（cRNA）、例えば、放射状にクラスター化した阻害性RNA、非対称にクラスター化した阻害性RNA、線状にクラスター化した阻害性RNA、及び複合体又は化合物のクラスター化した阻害性RNA、ダイサー基質、DNA指向性RNAi（ddRNAi）、一本鎖RNAi（ssRNAi）、マイクロRNA（miRNA）アンタゴニスト、マイクロRNA模倣体、マイクロRNAアゴニスト、ブロックmiR（別名Xmir）、マイクロRNAミメティクス、マイクロRNAアドバック、スーパーmiR、国際公開第2005/013901号パンフレット（この内容は全体として本明細書に援用される）に開示されるオリゴマーコンストラクト、米国特許出願公開第20090131360号明細書（この内容は全体として本明細書に援用される）に開示されるものなどのトリパータイトRNAiコンストラクト、国際公開第2010/011346号パンフレット（この内容は全体として参照により本明細書に援用される）に開示されるsolo-rxRNAコンストラクト；国際公開第2010/033247号パンフレ

10

20

30

40

50

ット（この内容は全体として参照により本明細書に援用される）に開示される s d - r x RNA コンストラクト、国際公開第 2 0 1 0 / 0 0 2 8 5 1 号パンフレット及び同第 2 0 0 9 / 1 4 1 1 4 6 号パンフレット（これらの内容は全体として参照により本明細書に援用される）に開示されるとおりの RNA レベルを低下させるとともに免疫応答を調節する二重作用性 RNA i コンストラクト及び国際公開第 2 0 0 6 / 1 3 0 2 0 1 号パンフレット、同第 2 0 0 7 / 0 8 6 9 9 0 号パンフレット、同第 2 0 0 9 / 0 4 6 3 9 7 号パンフレット、同第 2 0 0 9 / 1 4 9 1 8 2 号パンフレット、同第 2 0 0 9 / 0 8 6 4 2 8 号パンフレット（これらの内容は全体として参照により本明細書に援用される）に開示される、その設計対象である標的の発現を増加させるアンチジーン RNA ( a g RNA ) 又は低分子活性化 RNA ( s a RNA ) が含まれる。

10

## 【 0 0 1 9 】

同様に、上記に挙げたマイクロ RNA の任意のプリマイクロ又はプレマイクロ RNA 前駆体もまた、本発明の調節性ポリヌクレオチドの分子足場となり得る。

一実施形態において、出発コンストラクトは、限定はされないが、マウス、ラット、イヌ、サル又はヒトなど、任意の関連性のある種に由来してもよい。

## 【 0 0 2 0 】

一実施形態において、調節性ポリヌクレオチドは、限定はされないが、CMV、U6、H1、CBA、又はSV40若しくはヒト グロビンイントロンを伴うCBAプロモータなど、発現ベクターにおいてプロモータの下流に位置してもよい。更に、調節性ポリヌクレオチドはまた、発現ベクターにおいてポリアデニル化配列の上流に位置してもよい。非限定的な例として、調節性ポリヌクレオチドは、発現ベクターにおいてプロモータから下流及び/又はポリアデニル化配列の上流に1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30ヌクレオチド又は30ヌクレオチド超以内に位置してもよい。別の非限定的な例として、調節性ポリヌクレオチドは、発現ベクターにおいてプロモータから下流及び/又はポリアデニル化配列の上流に1~5、1~10、1~15、1~20、1~25、1~30、5~10、5~15、5~20、5~25、5~30、10~15、10~20、10~25、10~30、15~20、15~25、15~30、20~25、20~30又は25~30ヌクレオチド以内に位置してもよい。非限定的な例として、調節性ポリヌクレオチドは、発現ベクターにおいてプロモータから下流及び/又はポリアデニル化配列の上流にあるヌクレオチドの最初の1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、15%、20%、25%又は25%超以内に位置してもよい。別の非限定的な例として、調節性ポリヌクレオチドは、発現ベクターにおいてプロモータから下流及び/又はポリアデニル化配列の上流に最初の1~5%、1~10%、1~15%、1~20%、1~25%、5~10%、5~15%、5~20%、5~25%、10~15%、10~20%、10~25%、15~20%、15~25%、又は20~25%で位置してもよい。

20

30

## 【 0 0 2 1 】

一実施形態において、調節性ポリヌクレオチドは、発現ベクターにおいてポリアデニル化配列の上流に位置してもよい。更に、調節性ポリヌクレオチドは、発現ベクターにおいて、限定はされないが、CMV、U6、H1、CBA、又はSV40若しくはヒト グロビンイントロンを伴うCBAプロモータなど、プロモータの下流に位置してもよい。非限定的な例として、調節性ポリヌクレオチドは、発現ベクターにおいてプロモータから下流及び/又はポリアデニル化配列の上流に1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30ヌクレオチド又は30ヌクレオチド超以内に位置してもよい。別の非限定的な例として、調節性ポリヌクレオチドは、発現ベクターにおいてプロモータから下流及び/又はポリアデニル化配列の上流に1~5、1~10、1~15、1~20、1~25、1~30、5~10、5~15、5~20、5~25、5~30、10~15、10~20、10~25、10~30、15~20、15~25、15~

40

50

30、20～25、20～30又は25～30ヌクレオチド以内に位置してもよい。非限定的な例として、調節性ポリヌクレオチドは、発現ベクターにおいてプロモータから下流及び/又はポリアデニル化配列の上流にあるヌクレオチドの最初の1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、15%、20%、25%又は25%超以内に位置してもよい。別の非限定的な例として、調節性ポリヌクレオチドは、発現ベクターにおいてプロモータから下流及び/又はポリアデニル化配列の上流に最初の1～5%、1～10%、1～15%、1～20%、1～25%、5～10%、5～15%、5～20%、5～25%、10～15%、10～20%、10～25%、15～20%、15～25%、又は20～25%で位置してもよい。

【0022】

一実施形態において、調節性ポリヌクレオチドはs c A A Vに位置してもよい。  
 一実施形態において、調節性ポリヌクレオチドはs s A A Vに位置してもよい。  
 一実施形態において、調節性ポリヌクレオチドは、発現ベクターにおいてフリップI T Rの5'末端の近傍に位置してもよい。別の実施形態において、調節性ポリヌクレオチドは、発現ベクターにおいてフリップI T Rの3'末端の近傍に位置してもよい。更に別の実施形態において、調節性ポリヌクレオチドは、発現ベクターにおいてフロップI T Rの5'末端の近傍に位置してもよい。更に別の実施形態において、調節性ポリヌクレオチドは、発現ベクターにおいてフロップI T Rの3'末端の近傍に位置してもよい。一実施形態において、調節性ポリヌクレオチドは、発現ベクターにおいてフリップI T Rの5'末端とフロップI T Rの3'末端との間に位置してもよい。一実施形態において、調節性ポリヌクレオチドは、発現ベクターにおいてフリップI T Rの3'末端とフリップI T Rの5'末端との間に(例えば、フリップI T Rの5'末端とフロップI T Rの3'末端との間又はフロップI T Rの3'末端とフリップI T Rの5'末端との間の中間に)位置してもよい。非限定的な例として、調節性ポリヌクレオチドは、発現ベクターにおいてI T R(例えばフリップ又はフロップI T R)の5'又は3'末端から下流に1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30ヌクレオチド又は30ヌクレオチド超以内に位置してもよい。非限定的な例として、調節性ポリヌクレオチドは、発現ベクターにおいてI T R(例えばフリップ又はフロップI T R)の5'又は3'末端から上流に1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30ヌクレオチド又は30ヌクレオチド超以内に位置してもよい。別の非限定的な例として、調節性ポリヌクレオチドは、発現ベクターにおいてI T R(例えばフリップ又はフロップI T R)の5'又は3'末端から下流に1～5、1～10、1～15、1～20、1～25、1～30、5～10、5～15、5～20、5～25、5～30、10～15、10～20、10～25、10～30、15～20、15～25、15～30、20～25、20～30又は25～30ヌクレオチド以内に位置してもよい。別の非限定的な例として、調節性ポリヌクレオチドは、発現ベクターにおいてI T R(例えばフリップ又はフロップI T R)の5'又は3'末端から上流に1～5、1～10、1～15、1～20、1～25、1～30、5～10、5～15、5～20、5～25、5～30、10～15、10～20、10～25、10～30、15～20、15～25、15～30、20～25、20～30又は25～30以内に位置してもよい。非限定的な例として、調節性ポリヌクレオチドは、発現ベクターにおいてI T R(例えばフリップ又はフロップI T R)の5'又は3'末端から上流にあるヌクレオチドの最初の1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、15%、20%、25%又は25%超以内に位置してもよい。別の非限定的な例として、調節性ポリヌクレオチドは、発現ベクターにおいてI T R(例えばフリップ又はフロップI T R)の5'又は3'末端から下流に最初の1～5%、1～10%、1～15%、1～20%、1～25%、5～10%、5～15%、5～20%、5～25%、10～15%、10～20%、10～25%、15～20%、15～25%、又は20～25%で位置してもよい。

10

20

30

40

50

## 【 0 0 2 3 】

モジュール又は配列モチーフに加えて、調節性ポリヌクレオチドは、パッセンジャー鎖及びガイド鎖のうちの少なくとも一方又は両方を含む。パッセンジャー鎖及びガイド鎖は調節性ポリヌクレオチドのステムループ構造の5'アーム又は3'アームに配置されてもよく、又はそこに位置してもよい。

## 【 0 0 2 4 】

一実施形態において、調節性ポリヌクレオチドの3'ステムアームは、5'ステムアームにおけるパッセンジャー鎖の5'末端から上流13ヌクレオチドのうち11ヌクレオチドと相補性を有するガイド鎖の3'末端から下流11ヌクレオチドを有し得る。

## 【 0 0 2 5 】

一実施形態において、調節性ポリヌクレオチドは、調節性ポリヌクレオチドの3'ステムアームの3'末端から下流6ヌクレオチドであるシステインを有し得る。

一実施形態において、調節性ポリヌクレオチドはガイド鎖についてmiRNAシードマッチを含む。別の実施形態において、調節性ポリヌクレオチドはパッセンジャー鎖についてmiRNAシードマッチを含む。更に別の実施形態において、調節性ポリヌクレオチドはガイド鎖又はパッセンジャー鎖についてシードマッチを含まない。

## 【 0 0 2 6 】

一実施形態において、調節性ポリヌクレオチドは、ガイド鎖について有意な完全長オフターゲットをほぼ有しないものであり得る。別の実施形態において、調節性ポリヌクレオチドは、パッセンジャー鎖について有意な完全長オフターゲットをほぼ有しないものであり得る。更に別の実施形態において、調節性ポリヌクレオチドは、ガイド鎖又はパッセンジャー鎖について有意な完全長オフターゲットをほぼ有しないものであり得る。

## 【 0 0 2 7 】

一実施形態において、調節性ポリヌクレオチドはインビトロで高い活性を有し得る。別の実施形態において、調節性ポリヌクレオチドはインビトロで低い活性を有し得る。更に別の実施形態において、調節性ポリヌクレオチドはインビトロで高いガイド鎖活性及び低いパッセンジャー鎖活性を有し得る。

## 【 0 0 2 8 】

一実施形態において、調節性ポリヌクレオチドはインビトロで高いガイド鎖活性及び低いパッセンジャー鎖活性を有する。ガイド鎖による標的ノックダウン(KD)は少なくとも60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、99%、99.5%又は100%であり得る。ガイド鎖による標的ノックダウンは60~65%、60~70%、60~75%、60~80%、60~85%、60~90%、60~95%、60~99%、60~99.5%、60~100%、65~70%、65~75%、65~80%、65~85%、65~90%、65~95%、65~99%、65~99.5%、65~100%、70~75%、70~80%、70~85%、70~90%、70~95%、70~99%、70~99.5%、70~100%、75~80%、75~85%、75~90%、75~95%、75~99%、75~99.5%、75~100%、80~85%、80~90%、80~95%、80~99%、80~99.5%、80~100%、85~90%、85~95%、85~99%、85~99.5%、85~100%、90~95%、90~99%、90~99.5%、90~100%、95~99%、95~99.5%、95~100%、99~99.5%、99~100%又は99.5~100%であり得る。非限定的な例として、ガイド鎖による標的ノックダウン(KD)は70%より高い。

## 【 0 0 2 9 】

一実施形態において、最も近いオフターゲットに対するパッセンジャー鎖のIC50は、その標的に対するガイド鎖のIC50の100倍よりも高い。非限定的な例として、最も近いオフターゲットに対するパッセンジャー鎖のIC50がその標的に対するガイド鎖のIC50の100倍よりも高い場合、その調節性ポリヌクレオチドは、インビトロで高いガイド鎖活性及び低いパッセンジャー鎖活性を有すると言われる。

10

20

30

40

50

【 0 0 3 0 】

一実施形態において、ガイド鎖の5'プロセッシングは、インビトロ又はインビボで少なくとも75%、80%、85%、90%、95%、99%又は100%の確率で5'末端に正しい開始(n)を有する。非限定的な例として、ガイド鎖の5'プロセッシングは正確であり、インビトロで少なくとも99%の確率で5'末端に正しい開始(n)を有する。非限定的な例として、ガイド鎖の5'プロセッシングは正確であり、インビボで少なくとも99%の確率で5'末端に正しい開始(n)を有する。

【 0 0 3 1 】

一実施形態において、ガイド鎖対パッセンジャー鎖(G:P)の発現比は、インビトロ又はインビボで1:10、1:9、1:8、1:7、1:6、1:5、1:4、1:3、1:2、1:1、2:10、2:9、2:8、2:7、2:6、2:5、2:4、2:3、2:2、2:1、3:10、3:9、3:8、3:7、3:6、3:5、3:4、3:3、3:2、3:1、4:10、4:9、4:8、4:7、4:6、4:5、4:4、4:3、4:2、4:1、5:10、5:9、5:8、5:7、5:6、5:5、5:4、5:3、5:2、5:1、6:10、6:9、6:8、6:7、6:6、6:5、6:4、6:3、6:2、6:1、7:10、7:9、7:8、7:7、7:6、7:5、7:4、7:3、7:2、7:1、8:10、8:9、8:8、8:7、8:6、8:5、8:4、8:3、8:2、8:1、9:10、9:9、9:8、9:7、9:6、9:5、9:4、9:3、9:2、9:1、10:10、10:9、10:8、10:7、10:6、10:5、10:4、10:3、10:2、10:1、1:99、5:95、10:90、15:85、20:80、25:75、30:70、35:65、40:60、45:55、50:50、55:45、60:40、65:35、70:30、75:25、80:20、85:15、90:10、95:5、又は99:1である。

10

20

【 0 0 3 2 】

ガイド対パッセンジャー比とは、ガイド鎖の切断後のガイド鎖対パッセンジャー鎖の比を指す。例えば、80:20のガイド対パッセンジャー比であれば、前駆体から切り抜かれるパッセンジャー鎖2つにつき8つのガイド鎖を有し得る。非限定的な例として、ガイド鎖対パッセンジャー鎖比はインビトロで8:2である。非限定的な例として、ガイド鎖対パッセンジャー鎖比はインビボで8:2である。非限定的な例として、ガイド鎖対パッセンジャー鎖比はインビトロで9:1である。非限定的な例として、ガイド鎖対パッセンジャー鎖比はインビボで9:1である。

30

【 0 0 3 3 】

一実施形態において、ガイド鎖対パッセンジャー鎖(G:P)(アンチセンス鎖対センス鎖とも称される)の発現比は1より大きい。

一実施形態において、ガイド鎖対パッセンジャー鎖(G:P)(アンチセンス鎖対センス鎖とも称される)の発現比は2より大きい。

【 0 0 3 4 】

一実施形態において、ガイド鎖対パッセンジャー鎖(G:P)(アンチセンス鎖対センス鎖とも称される)の発現比は5より大きい。

一実施形態において、ガイド鎖対パッセンジャー鎖(G:P)(アンチセンス鎖対センス鎖とも称される)の発現比は10より大きい。

40

【 0 0 3 5 】

一実施形態において、ガイド鎖対パッセンジャー鎖(G:P)(アンチセンス鎖対センス鎖とも称される)の発現比は20より大きい。

一実施形態において、ガイド鎖対パッセンジャー鎖(G:P)(アンチセンス鎖対センス鎖とも称される)の発現比は50より大きい。

【 0 0 3 6 】

一実施形態において、ガイド鎖対パッセンジャー鎖(G:P)(アンチセンス鎖対センス鎖とも称される)の発現比は少なくとも3:1である。

一実施形態において、ガイド鎖対パッセンジャー鎖(G:P)(アンチセンス鎖対センス

50

鎖とも称される)の発現比は少なくとも5:1である。

【0037】

一実施形態において、ガイド鎖対パッセンジャー鎖(G:P)(アンチセンス鎖対センス鎖とも称される)の発現比は少なくとも10:1である。

一実施形態において、ガイド鎖対パッセンジャー鎖(G:P)(アンチセンス鎖対センス鎖とも称される)の発現比は少なくとも20:1である。

【0038】

一実施形態において、ガイド鎖対パッセンジャー鎖(G:P)(アンチセンス鎖対センス鎖とも称される)の発現比は少なくとも50:1である。

一実施形態において、パッセンジャー鎖対ガイド鎖(P:G)(センス鎖対アンチセンス鎖とも称される)の発現比は、インピトロ又はインピボで1:10、1:9、1:8、1:7、1:6、1:5、1:4、1:3、1:2、1;1、2:10、2:9、2:8、2:7、2:6、2:5、2:4、2:3、2:2、2:1、3:10、3:9、3:8、3:7、3:6、3:5、3:4、3:3、3:2、3:1、4:10、4:9、4:8、4:7、4:6、4:5、4:4、4:3、4:2、4:1、5:10、5:9、5:8、5:7、5:6、5:5、5:4、5:3、5:2、5:1、6:10、6:9、6:8、6:7、6:6、6:5、6:4、6:3、6:2、6:1、7:10、7:9、7:8、7:7、7:6、7:5、7:4、7:3、7:2、7:1、8:10、8:9、8:8、8:7、8:6、8:5、8:4、8:3、8:2、8:1、9:10、9:9、9:8、9:7、9:6、9:5、9:4、9:3、9:2、9:1、10:10、10:9、10:8、10:7、10:6、10:5、10:4、10:3、10:2、10:1、1:99、5:95、10:90、15:85、20:80、25:75、30:70、35:65、40:60、45:55、50:50、55:45、60:40、65:35、70:30、75:25、80:20、85:15、90:10、95:5、又は99:1である。パッセンジャー対ガイド比とは、ガイド鎖切断後のパッセンジャー鎖対ガイド鎖の比を指す。例えば、80:20のパッセンジャー対ガイド比であれば、前駆体から切り抜かれるガイド鎖2つにつき8つのパッセンジャー鎖を有し得る。非限定的な例として、パッセンジャー鎖対ガイド鎖比はインピトロで80:20である。非限定的な例として、パッセンジャー鎖対ガイド鎖比はインピボで80:20である。非限定的な例として、パッセンジャー鎖対ガイド鎖比はインピトロで8:2である。非限定的な例として、パッセンジャー鎖対ガイド鎖比はインピボで8:2である。非限定的な例として、パッセンジャー鎖対ガイド鎖比はインピトロで9:1である。非限定的な例として、パッセンジャー鎖対ガイド鎖比はインピボで9:1である。

10

20

30

【0039】

一実施形態において、パッセンジャー鎖対ガイド鎖(P:G)(センス鎖対アンチセンス鎖とも称される)の発現比は1より大きい。

一実施形態において、パッセンジャー鎖対ガイド鎖(P:G)(センス鎖対アンチセンス鎖とも称される)の発現比は2より大きい。

【0040】

一実施形態において、パッセンジャー鎖対ガイド鎖(P:G)(センス鎖対アンチセンス鎖とも称される)の発現比は5より大きい。

一実施形態において、パッセンジャー鎖対ガイド鎖(P:G)(センス鎖対アンチセンス鎖とも称される)の発現比は10より大きい。

【0041】

一実施形態において、パッセンジャー鎖対ガイド鎖(P:G)(センス鎖対アンチセンス鎖とも称される)の発現比は20より大きい。

一実施形態において、パッセンジャー鎖対ガイド鎖(P:G)(センス鎖対アンチセンス鎖とも称される)の発現比は50より大きい。

【0042】

一実施形態において、パッセンジャー鎖対ガイド鎖(P:G)(センス鎖対アンチセンス

40

50

鎖とも称される)の発現比は少なくとも3:1である。

一実施形態において、パッセンジャー鎖対ガイド鎖(P:G)(センス鎖対アンチセンス鎖とも称される)の発現比は少なくとも5:1である。

【0043】

一実施形態において、パッセンジャー鎖対ガイド鎖(P:G)(センス鎖対アンチセンス鎖とも称される)の発現比は少なくとも10:1である。

一実施形態において、パッセンジャー鎖対ガイド鎖(P:G)(センス鎖対アンチセンス鎖とも称される)の発現比は少なくとも20:1である。

【0044】

一実施形態において、パッセンジャー鎖対ガイド鎖(P:G)(センス鎖対アンチセンス鎖とも称される)の発現比は少なくとも50:1である。

一実施形態において、パッセンジャー鎖-ガイド鎖二重鎖は、プライマイクロ又はプレマイクロRNAが、しかし当該技術分野において公知の及び本明細書に記載される方法、プロセシングを測定したとき2倍より高いガイド鎖対パッセンジャー鎖比を示す場合に有効と見なされる。非限定的な例として、プライマイクロ又はプレマイクロRNAは、プロセシングを測定したとき、2倍、3倍、4倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、11倍、12倍、13倍、14倍、15倍より高い、又は2~5倍、2~10倍、2~15倍、3~5倍、3~10倍、3~15倍、4~5倍、4~10倍、4~15倍、5~10倍、5~15倍、6~10倍、6~15倍、7~10倍、7~15倍、8~10倍、8~15倍、9~10倍、9~15倍、10~15倍、11~15倍、12~15倍、13~15倍、又は14~15倍のガイド鎖対パッセンジャー鎖比を示す。

【0045】

一実施形態において、ベクターゲノムの完全性は、コンストラクトの完全長の少なくとも60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、99%又は99%超である。非限定的な例として、ベクターゲノムは、コンストラクトの完全長配列の少なくとも80%である配列を含む。

【0046】

標的核酸

本発明の調節性ポリヌクレオチドは、コード及び非コード遺伝子を含め、任意の遺伝子又は核酸コンストラクトに標的化され得る。ヒト又は霊長類タンパク質をコードする遺伝子(DNA又はmRNA)が標的にされてもよい。更に、非コード遺伝子、例えば長鎖非コードRNA(lncRNA)がまた標的にされてもよい。

【0047】

かかるlncRNA分子及びかかるlncRNAを標的とするように設計されたRNAiコンストラクト(それぞれ、その任意のものが本調節性ポリヌクレオチドによって標的とされ得る又はそれにコードされ得る)の例は、国際公開第2012/018881 A2号パンフレット(この内容は全体として参照により本明細書に援用される)に教示されている。

【0048】

一実施形態において、本発明の調節性ポリヌクレオチドは、当該技術分野において公知の任意の遺伝子を標的とし得る。非限定的な例として、この遺伝子はSOD1である。

一実施形態において、本発明の調節性ポリヌクレオチドは、当該技術分野において公知の任意の遺伝子を標的とし得る。非限定的な例として、この遺伝子はHttである。

【0049】

一実施形態において、調節性ポリヌクレオチドは、ヒトゲノムの任意の遺伝子又はmRNA、例えば、限定はされないが、ハンチントン病、ALSなどのCNS障害に関連する遺伝子を標的とするように設計され得る。

【0050】

分子足場

一部の実施形態において、調節性ポリヌクレオチドの出発分子足場は公知の又は野生型の

10

20

30

40

50

プライマイクロ又はプレマイクロRNAである。他の実施形態において、調節性ポリヌクレオチドの分子足場はアプイニシオで設計される。(カレン(Cullen)著、ジーン・セラピー(Gene Therapy)、2006年、第13巻、p.503~508、miR30に関する研究;チャン(Chung)ら著、ヌクレイック・アシッド・リサーチ(Nucleic Acids Research)、2006年、第34巻、第7号、miR-155に関する研究を参照のこと;この内容は本明細書において全体として参照により援用される)。

【0051】

本明細書で使用されるとき「分子足場」は、それに対して後続の分子を設計又は作製する配列又は構造基盤を形成するフレームワーク又は出発分子である。

10

本発明の調節性ポリヌクレオチドは、図1に示されるとおりのpri-miRとして設計されてもよい。この図にはpri-miR分子足場が示される。ペイロード(例えば、siRNA、miRNA又は本明細書に記載される他のRNAi剤)を含む調節性ポリヌクレオチドは、任意の長さであってよい、且つ全体又は一部が野生型マイクロRNA配列に由来し得るか、又は完全に人工的な配列であり得る先行する5'フランキンク配列を含む。

【0052】

一実施形態において、分子足場は少なくとも1つの5'フランキンク領域を含む。非限定的な例として、5'フランキンク領域は、任意の長さであってよい、且つ全体又は一部が野生型マイクロRNA配列に由来し得るか、又は完全に人工的な配列であり得る5'フランキンク配列を含み得る。

20

【0053】

一実施形態において、分子足場は少なくとも1つの3'フランキンク領域を含む。非限定的な例として、3'フランキンク領域は、任意の長さであってよい、且つ全体又は一部が野生型マイクロRNA配列に由来し得るか、又は完全に人工的な配列であり得る3'フランキンク配列を含み得る。

【0054】

一実施形態において、分子足場は少なくとも1つのループモチーフ領域を含む。非限定的な例として、ループモチーフ領域は、任意の長さであってよい配列を含み得る。

一実施形態において、分子足場は、5'フランキンク領域、ループモチーフ領域及び/又は3'フランキンク領域を含む。

30

【0055】

一実施形態において、少なくとも1つのペイロード(例えば、本明細書に記載されるsiRNA、miRNA又は他のRNAi剤)は、少なくとも1つの分子足場もまた含む調節性ポリヌクレオチドによってコードされてもよい。分子足場は、任意の長さであってよい、且つ全体又は一部が野生型マイクロRNA配列に由来し得るか、又は完全に人工的な配列であり得る5'フランキンク配列及び/又はある3'フランキンク配列を含み得る。3'フランキンク配列はサイズ及び由来の点で5'フランキンク配列を反映し得る。いずれのフランキンク配列も存在しないこともある。3'フランキンク配列は任意選択で1つ以上のCNNCモチーフ(式中、「N」は任意のヌクレオチドを表す)を含有し得る。

【0056】

示されるステムループ構造のステムを形成することが、少なくとも1つのペイロード配列をコードする最小限の調節性ポリヌクレオチドである。一部の実施形態においてペイロード配列は、一部が標的配列に相補性であるか、又はハイブリダイズすることになる少なくとも1つの核酸配列を含む。一部の実施形態において、ペイロードは野生型マイクロRNAである。一部の実施形態において、ペイロードはsiRNA分子又はsiRNA分子の断片である。一部の実施形態において、ペイロードは、1つ以上のマイクロRNA、人工マイクロRNA又はsiRNAを含み得る実質的に二本鎖のコンストラクトである。

40

【0057】

一部の実施形態において、調節性ポリヌクレオチドのステムループの5'アームは、パッセンジャー鎖をコードする核酸配列を含む。この鎖は、それが標的との同一性を反映する点

50

でセンス鎖としても知られる。パッセンジャー鎖は15～30ヌクレオチド長であってもよい。パッセンジャー鎖は15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29又は30ヌクレオチド長であってもよい。

【0058】

一部の実施形態において、調節性ポリヌクレオチドのステムループの3'アームは、ガイド鎖をコードする核酸配列を含む。この鎖は、それが標的との相同性を反映する点でアンチセンス鎖としても知られる。ガイド鎖は15～30ヌクレオチド長、21～25ヌクレオチド又は22ヌクレオチド長であってもよい。ガイド鎖は15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29又は30ヌクレオチド長であってもよい。ガイド鎖は、一部の例では、最も5'側の末端に「G」ヌクレオチドを含む。

10

【0059】

一部の実施形態において、ガイド鎖がマイクロRNA、又は人工マイクロRNAを含む場合、ガイド鎖は1つ以上のマイクロRNAシード配列を含み得る。シード配列は、ガイド鎖の1番目の5'ヌクレオチドに対して、又はダイサー切断部位に対して、ガイド鎖の位置2～7、2～8又は2～9に位置してもよい。

【0060】

他の実施形態において、パッセンジャー鎖が調節性ポリヌクレオチドのステムループ構造のステムの3'アームに存在し得る一方、ガイド鎖が5'アームに存在し得る。

パッセンジャー鎖とガイド鎖とは、それらの長さの実質的な部分にわたって完全に相補的であってもよい。他の実施形態においてパッセンジャー鎖とガイド鎖とは、独立にそれらの鎖の長さの少なくとも50、60、70、80、85、90、95、又は99%にわたって少なくとも70、80、90、95又は99%相補的であってもよい。

20

【0061】

パッセンジャー鎖の同一性も、ガイド鎖の相同性も、標的配列と100%相補的である必要はない。

一実施形態において、調節性ポリヌクレオチドのステムループ構造のパッセンジャー鎖とガイド鎖とをループ配列（ループモチーフ、リンカー又はリンカーモチーフとしても知られる）が分離している。ループ配列は、任意の長さ、4～30ヌクレオチド、4～20ヌクレオチド、4～15ヌクレオチド、5～15ヌクレオチド、6～12ヌクレオチド、6ヌクレオチド、7ヌクレオチド、8ヌクレオチド、9ヌクレオチド、10ヌクレオチド、11ヌクレオチド、12ヌクレオチド、13ヌクレオチド、14ヌクレオチド、及び/又は15ヌクレオチドであってもよい。

30

【0062】

一部の実施形態において、ループ配列は、少なくとも1つのUGUGモチーフをコードする核酸配列を含む。一部の実施形態において、UGUGモチーフをコードする核酸配列は、ループ配列の5'末端に位置する。

【0063】

一実施形態において、調節性ポリヌクレオチドには、1つ以上のモジュール（例えば、5'フランキング領域、ループモチーフ領域、3'フランキング領域、センス配列、アンチセンス配列）を互いに分離するスペーサ領域が存在してもよい。かかるスペーサ領域は1つ以上存在してもよい。

40

【0064】

一実施形態において、パッセンジャー鎖とフランキング領域配列との間には、8～20、即ち、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、又は20ヌクレオチドのスペーサ領域が存在してもよい。

【0065】

一実施形態において、スペーサ領域の長さは13ヌクレオチドであり、パッセンジャー鎖の5'末端とフランキング配列の3'末端との間に位置する。一実施形態において、スペーサは配列の約1ヘリカルターンを形成するのに十分な長さである。

50

## 【 0 0 6 6 】

一実施形態において、ガイド鎖とフランキング配列との間には、8 ~ 20、即ち、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、又は20ヌクレオチドのスペーサ領域が存在してもよい。

## 【 0 0 6 7 】

一実施形態において、スペーサ配列は10 ~ 13、即ち、10、11、12又は13ヌクレオチドであり、ガイド鎖の3'末端とフランキング配列の5'末端との間に位置する。一実施形態において、スペーサは配列の約1ヘリカルターンを形成するのに十分な長さである。

## 【 0 0 6 8 】

一実施形態において、調節性ポリヌクレオチドはステムの基部に少なくとも1つのUGモチーフを含み、それによりGヌクレオチドが対を成し、及びUヌクレオチドが対を成さない。一部の実施形態において、対を成さないUヌクレオチドはフランキング配列に位置する。

10

## 【 0 0 6 9 】

一実施形態において、調節性ポリヌクレオチドは、5'から3'方向に、5'フランキング配列、5'アーム、ループモチーフ、3'アーム及び3'フランキング配列を含む。非限定的な例として、5'アームがパッセンジャー鎖を含んでもよく、3'アームがガイド鎖を含む。別の非限定的な例では、5'アームがガイド鎖を含み、3'アームがパッセンジャー鎖を含む。

20

## 【 0 0 7 0 】

一実施形態において、5'アーム、ペイロード（例えば、パッセンジャー鎖及び/又はガイド鎖）、ループモチーフ及び/又は3'アーム配列は改変されてもよい（例えば、1ヌクレオチド以上の置換、ヌクレオチドの付加及び/又はヌクレオチドの欠失）。改変はコンストラクトの機能に有益な変化を生じさせ得る（例えば、標的配列のロックダウンを増加させ、コンストラクトの分解を低減し、オフターゲット効果を低減し、ペイロードの効率を増加させ、及びペイロードの分解を低減し得る）。

## 【 0 0 7 1 】

一実施形態において、パッセンジャー鎖配列は改変されてもよい（例えば、1ヌクレオチド以上の置換、ヌクレオチドの付加及び/又はヌクレオチドの欠失）。非限定的な例として、パッセンジャー鎖配列は、配列の最後の4ヌクレオチド以内に1又は2個の置換（例えば、Gに代えてC）を含み得る。別の非限定的な例として、パッセンジャー鎖配列は、配列の5'末端から7 ~ 15ヌクレオチド以内に1又は2個の置換（例えば、Aに代えてU、又はGに代えてC）を含み得る。

30

## 【 0 0 7 2 】

一実施形態において、3'アーム鎖配列は改変されてもよい（例えば、1ヌクレオチド以上の置換、ヌクレオチドの付加及び/又はヌクレオチドの欠失）。非限定的な例として、3'アームの配列は配列の最初の4ヌクレオチド以内に1又は2個の置換（例えば、Aに代えてU）を含み得る。

## 【 0 0 7 3 】

一実施形態において、ペイロードコンストラクトの分子足場は、5'フランキング領域、ループモチーフ及び3'フランキング領域を含み得る。5'フランキング領域とループモチーフとの間に第1のペイロード領域があり、ループモチーフと3'フランキング領域との間に第2のペイロード領域がある。第1及び第2のペイロード領域は、本明細書に記載される*s i R N A*、*m i R N A*又は他のRNA i 剤、断片又は変異体を含み得る。第1及び第2のペイロード領域はまた、互いに同じ、異なる又は相補的な配列も含み得る。非限定的な例として、第1のペイロード領域配列が*s i R N A*コンストラクトのパッセンジャー鎖であってもよく、第2のペイロード領域配列が*s i R N A*コンストラクトのガイド鎖であってもよい。パッセンジャー配列とガイド配列とは互いに実質的に相補的であってもよい。別の非限定的な例として、第1のペイロード領域配列が*s i R N A*コンストラクトのガイ

40

50

ド鎖であってもよく、第2のペイロード領域配列が s i R N A コンストラクトのパスセンジャー鎖であってもよい。パスセンジャー配列とガイド配列とは互いに実質的に相補的であってもよい。

【0074】

一実施形態において、本明細書に記載される調節性ポリヌクレオチドの分子足場は、5'フランキンク領域、ループモチーフ領域及び3'フランキンク領域を含み得る。本明細書に記載される調節性ポリヌクレオチドによってコードされ得る5'フランキンク領域、ループモチーフ領域及び3'フランキンク領域の配列の非限定的な例は、表1～表3に示される。

【0075】

【表1】

10

表1. 分子足場の5'フランキンク領域

| 5'フランキンク領域名 | 5'フランキンク領域配列   | 5'フランキンク領域配列番号 |
|-------------|--|----------------|
| 5F1         | UUUAUGCCUCAUCCUCUGAGUGCU<br>GAAGGCUUGCUGUAGGCUGUAUGC<br>UG   | 1              |
| 5F2         | GUGCUGGGCGGGGGCGGCGGGCC<br>CUCCCGCAGAACACCAUGCGCUCUU<br>CGGAA  | 2              |
| 5F3         | GAAGCAAAGAAGGGGCAGAGGGAG<br>CCCGUGAGCUGAGUGGGCCAGGGA<br>CUGGGAGAAGGAGUGAGGAGGCAG<br>GGCCGGCAUGCCUCUGCUGCUGGC<br>CAGA | 3              |
| 5F4         | GUGCUGGGCGGGGGCGGCGGGCC<br>CUCCCGCAGAACACCAUGCGCUCUU<br>CGGGA  | 4              |
| 5F5         | GUGCUGGGCGGGGGCGGCGGGCC<br>CUCCCGCAGAACACCAUGCGCUCCA<br>CGGAA  | 5              |
| 5F6         | GGGCCUCCCGCAGAACACCAUGCG<br>CUCCACGGAA   | 6              |
| 5F7         | CUCCCGCAGAACACCAUGCGCUCCA<br>CGGAA   | 7              |
| 5F8         | GUGCUGGGCGGGGGCGGCGGGCC<br>CUCCCGCAGAACACCAUGCGCUCCA<br>CGGAAG   | 8              |
| 5F9         | GUGCUGGGCGGGGGCGGCGGGCC<br>CUCCCGCAGAACACCAUGCGCUCCU<br>CGGAA  | 9              |

20

30

【0076】

40

50

## 【表 2】

表 2. 分子足場のループモチーフ領域

| ループモチーフ領域名 | ループモチーフ領域配列        | ループモチーフ領域配列番号 |
|------------|--------------------|---------------|
| L1         | UGUGACCUGG         | 10            |
| L2         | UGUGAUUUGG         | 11            |
| L3         | UAUAAUUUGG         | 12            |
| L4         | CCUGACCCAGU        | 13            |
| L5         | GUCUGCACCUGUCACUAG | 14            |
| L6         | GUGACCCAAG         | 15            |
| L7         | GUGGCCACUGAGAAG    | 16            |
| L8         | GUGACCCA AU        | 17            |
| L9         | GUGACCCAAC         | 18            |
| L10        | GUGGCCACUGAGAAA    | 19            |

10

## 【0077】

## 【表 3】

表 3. 分子足場の 3'フランキング領域

| 3'フランキング領域名 | 3'フランキング領域配列   | 3'フランキング領域配列番号 |
|-------------|--|----------------|
| 3F1         | AGUGUAUGAUGCCUGUUACUAGCA<br>UUCACAUGGAACAAAUUGCUGCCG<br>UG   | 20             |
| 3F2         | CUGAGGAGCGCCUUGACAGCAGCC<br>AUGGGAGGGCCGCCCCUACCUCA<br>GUGA  | 21             |
| 3F3         | CUGUGGAGCGCCUUGACAGCAGCC<br>AUGGGAGGGCCGCCCCUACCUCA<br>GUGA  | 22             |
| 3F4         | UGGCCGUGUAGUGCUACCCAGCGC<br>UGGCUGCCUCCUCAGCAUUGCAAU<br>UCCUCUCCCAUCUGGGCACCAGUCA<br>GCUACCCUGGUGGGAAUCUGGGUA<br>GCC | 23             |
| 3F5         | GGCCGUGUAGUGCUACCCAGCGCU<br>GGCUGCCUCCUCAGCAUUGCAAU<br>CCUCUCCCAUCUGGGCACCAGUCAG<br>CUACCCUGGUGGGAAUCUGGGUAG<br>CC   | 24             |
| 3F6         | UCCUGAGGAGCGCCUUGACAGCAG<br>CCAUGGGAGGGCCGCCCCUACCUCA<br>GUGA  | 25             |
| 3F7         | CUGAGGAGCGCCUUGACAGCAGCC<br>AUGGGAGGGCC  | 26             |
| 3F8         | CUGC GGAGCGCCUUGACAGCAGCC<br>AUGGGAGGGCCGCCCCUACCUCA<br>GUGA   | 27             |

20

30

40

表 1 ~ 表 3 に記載される領域のいずれも（式中、UはTである）、本明細書に記載される分子足場におけるモジュールとして使用し得る。

50

## 【 0 0 7 8 】

一実施形態において、分子足場は、表 1 に挙げられる少なくとも 1 つの 5' フランキング領域をコードする少なくとも 1 つの核酸配列を含み得る。非限定的な例として、5' フランキング領域は、5 F 1、5 F 2、5 F 3、5 F 4、5 F 5、5 F 6、5 F 7、5 F 8 又は 5 F 9 であってもよい。

## 【 0 0 7 9 】

一実施形態において、分子足場は、少なくとも 1 つの 5 F 1 フランキング領域をコードする少なくとも 1 つの核酸配列を含み得る。

一実施形態において、分子足場は、少なくとも 1 つの 5 F 2 フランキング領域をコードする少なくとも 1 つの核酸配列を含み得る。

10

## 【 0 0 8 0 】

一実施形態において、分子足場は、少なくとも 1 つの 5 F 3 フランキング領域をコードする少なくとも 1 つの核酸配列を含み得る。

一実施形態において、分子足場は、少なくとも 1 つの 5 F 4 フランキング領域をコードする少なくとも 1 つの核酸配列を含み得る。

## 【 0 0 8 1 】

一実施形態において、分子足場は、少なくとも 1 つの 5 F 5 フランキング領域をコードする少なくとも 1 つの核酸配列を含み得る。

一実施形態において、分子足場は、少なくとも 1 つの 5 F 6 フランキング領域をコードする少なくとも 1 つの核酸配列を含み得る。

20

## 【 0 0 8 2 】

一実施形態において、分子足場は、少なくとも 1 つの 5 F 7 フランキング領域をコードする少なくとも 1 つの核酸配列を含み得る。

一実施形態において、分子足場は、少なくとも 1 つの 5 F 8 フランキング領域をコードする少なくとも 1 つの核酸配列を含み得る。

## 【 0 0 8 3 】

一実施形態において、分子足場は、少なくとも 1 つの 5 F 9 フランキング領域をコードする少なくとも 1 つの核酸配列を含み得る。

一実施形態において、分子足場は、表 2 に挙げられる少なくとも 1 つのループモチーフ領域をコードする少なくとも 1 つの核酸配列を含み得る。非限定的な例として、ループモチーフ領域は、L 1、L 2、L 3、L 4、L 5、L 6、L 7、L 8、L 9、又は L 10 であってもよい。

30

## 【 0 0 8 4 】

一実施形態において、分子足場は、少なくとも 1 つの L 1 ループモチーフ領域をコードする少なくとも 1 つの核酸配列を含み得る。

一実施形態において、分子足場は、少なくとも 1 つの L 2 ループモチーフ領域をコードする少なくとも 1 つの核酸配列を含み得る。

## 【 0 0 8 5 】

一実施形態において、分子足場は、少なくとも 1 つの L 3 ループモチーフ領域をコードする少なくとも 1 つの核酸配列を含み得る。

一実施形態において、分子足場は、少なくとも 1 つの L 4 ループモチーフ領域をコードする少なくとも 1 つの核酸配列を含み得る。

40

## 【 0 0 8 6 】

一実施形態において、分子足場は、少なくとも 1 つの L 5 ループモチーフ領域をコードする少なくとも 1 つの核酸配列を含み得る。

一実施形態において、分子足場は、少なくとも 1 つの L 6 ループモチーフ領域をコードする少なくとも 1 つの核酸配列を含み得る。

## 【 0 0 8 7 】

一実施形態において、分子足場は、少なくとも 1 つの L 7 ループモチーフ領域をコードする少なくとも 1 つの核酸配列を含み得る。

50

一実施形態において、分子足場は、少なくとも1つのL8ループモチーフ領域をコードする少なくとも1つの核酸配列を含み得る。

【0088】

一実施形態において、分子足場は、少なくとも1つのL9ループモチーフ領域をコードする少なくとも1つの核酸配列を含み得る。

一実施形態において、分子足場は、少なくとも1つのL10ループモチーフ領域をコードする少なくとも1つの核酸配列を含み得る。

【0089】

一実施形態において、分子足場は、表3に挙げられる少なくとも1つの3'フランキンク領域をコードする少なくとも1つの核酸配列を含み得る。非限定的な例として、分子足場は、3'フランキンク領域3F1、3F2、3F3、3F4、3F5、3F6、3F7又は3F8を含み得る。

10

【0090】

一実施形態において、分子足場は、少なくとも1つの3F1フランキンク領域をコードする少なくとも1つの核酸配列を含み得る。

一実施形態において、分子足場は、少なくとも1つの3F2フランキンク領域をコードする少なくとも1つの核酸配列を含み得る。

【0091】

一実施形態において、分子足場は、少なくとも1つの3F3フランキンク領域をコードする少なくとも1つの核酸配列を含み得る。

20

一実施形態において、分子足場は、少なくとも1つの3F4フランキンク領域をコードする少なくとも1つの核酸配列を含み得る。

【0092】

一実施形態において、分子足場は、少なくとも1つの3F5フランキンク領域をコードする少なくとも1つの核酸配列を含み得る。

一実施形態において、分子足場は、少なくとも1つの3F6フランキンク領域をコードする少なくとも1つの核酸配列を含み得る。

【0093】

一実施形態において、分子足場は、少なくとも1つの3F7フランキンク領域をコードする少なくとも1つの核酸配列を含み得る。

30

一実施形態において、分子足場は、少なくとも1つの3F8フランキンク領域をコードする少なくとも1つの核酸配列を含み得る。

【0094】

一実施形態において、分子足場は、表1及び表2に記載されるとおりの少なくとも1つの5'フランキンク領域及び少なくとも1つのループモチーフ領域をコードする少なくとも1つの核酸配列を含み得る。非限定的な例として、5'フランキンク領域及びループモチーフ領域は、5F1及びL1、5F1及びL2、5F1及びL3、5F1及びL4、5F1及びL5、5F1及びL6、5F1及びL7、5F1及びL8、5F1及びL9、5F1及びL10、5F1及びL11、5F2及びL1、5F2及びL2、5F2及びL3、5F2及びL4、5F2及びL5、5F2及びL6、5F2及びL7、5F2及びL8、5F2及びL9、5F2及びL10、5F2及びL11、5F3及びL1、5F3及びL2、5F3及びL3、5F3及びL4、5F3及びL5、5F3及びL6、5F3及びL7、5F3及びL8、5F3及びL9、5F3及びL10、5F3及びL11、5F4及びL1、5F4及びL2、5F4及びL3、5F4及びL4、5F4及びL5、5F4及びL6、5F4及びL7、5F4及びL8、5F4及びL9、5F4及びL10、5F4及びL11、5F5及びL1、5F5及びL2、5F5及びL3、5F5及びL4、5F5及びL5、5F5及びL6、5F5及びL7、5F5及びL8、5F5及びL9、5F5及びL10、5F5及びL11、5F6及びL1、5F6及びL2、5F6及びL3、5F6及びL4、5F6及びL5、5F6及びL6、5F6及びL7、5F6及びL8、5F6及びL9、5F6及びL10、5F6及びL11、5F7及びL1、5F7及びL2、

40

50

5 F 7 及び L 3、5 F 7 及び L 4、5 F 7 及び L 5、5 F 7 及び L 6、5 F 7 及び L 7、5 F 7 及び L 8、5 F 7 及び L 9、5 F 7 及び L 10、5 F 7 及び L 11、5 F 8 及び L 1、5 F 8 及び L 2、5 F 8 及び L 3、5 F 8 及び L 4、5 F 8 及び L 5、5 F 8 及び L 6、5 F 8 及び L 7、5 F 8 及び L 8、5 F 8 及び L 9、5 F 8 及び L 10、5 F 8 及び L 11、5 F 9 及び L 1、5 F 9 及び L 2、5 F 9 及び L 3、5 F 9 及び L 4、5 F 9 及び L 5、5 F 9 及び L 6、5 F 9 及び L 7、5 F 9 及び L 8、5 F 9 及び L 9、5 F 9 及び L 10、又は 5 F 9 及び L 11 であってもよい。

【0095】

一実施形態において、分子足場は、表2及び表3に記載されるとおりの少なくとも1つの3'フランキンク領域及び少なくとも1つのループモチーフ領域を含み得る。非限定的な例として、分子足場は、3 F 1 及び L 1、3 F 1 及び L 2、3 F 1 及び L 3、3 F 1 及び L 4、3 F 1 及び L 5、3 F 1 及び L 6、3 F 1 及び L 7、3 F 1 及び L 8、3 F 1 及び L 9、3 F 1 及び L 10、3 F 1 及び L 11、3 F 2 及び L 1、3 F 2 及び L 2、3 F 2 及び L 3、3 F 2 及び L 4、3 F 2 及び L 5、3 F 2 及び L 6、3 F 2 及び L 7、3 F 2 及び L 8、3 F 2 及び L 9、3 F 2 及び L 10、3 F 2 及び L 11、3 F 3 及び L 1、3 F 3 及び L 2、3 F 3 及び L 3、3 F 3 及び L 4、3 F 3 及び L 5、3 F 3 及び L 6、3 F 3 及び L 7、3 F 3 及び L 8、3 F 3 及び L 9、3 F 3 及び L 10、3 F 3 及び L 11、3 F 4 及び L 1、3 F 4 及び L 2、3 F 4 及び L 3、3 F 4 及び L 4、3 F 4 及び L 5、3 F 4 及び L 6、3 F 4 及び L 7、3 F 4 及び L 8、3 F 4 及び L 9、3 F 4 及び L 10、3 F 4 及び L 11、3 F 5 及び L 1、3 F 5 及び L 2、3 F 5 及び L 3、3 F 5 及び L 4、3 F 5 及び L 5、3 F 5 及び L 6、3 F 5 及び L 7、3 F 5 及び L 8、3 F 5 及び L 9、3 F 5 及び L 10、3 F 5 及び L 11、3 F 6 及び L 1、3 F 6 及び L 2、3 F 6 及び L 3、3 F 6 及び L 4、3 F 6 及び L 5、3 F 6 及び L 6、3 F 6 及び L 7、3 F 6 及び L 8、3 F 6 及び L 9、3 F 6 及び L 10、3 F 6 及び L 11、3 F 7 及び L 1、3 F 7 及び L 2、3 F 7 及び L 3、3 F 7 及び L 4、3 F 7 及び L 5、3 F 7 及び L 6、3 F 7 及び L 7、3 F 7 及び L 8、3 F 7 及び L 9、3 F 7 及び L 10、3 F 7 及び L 11、3 F 8 及び L 1、3 F 8 及び L 2、3 F 8 及び L 3、3 F 8 及び L 4、3 F 8 及び L 5、3 F 8 及び L 6、3 F 8 及び L 7、3 F 8 及び L 8、3 F 8 及び L 9、3 F 8 及び L 10、又は 3 F 8 及び L 11 を含み得る。

【0096】

一実施形態において、分子足場は、少なくとも1つの5 F 1 フランキンク領域をコードする少なくとも1つの核酸配列及び少なくとも1つのL 1 ループモチーフ領域をコードする少なくとも1つの核酸配列を含み得る。

【0097】

一実施形態において、分子足場は、少なくとも1つの5 F 1 フランキンク領域をコードする少なくとも1つの核酸配列及び少なくとも1つのL 2 ループモチーフ領域をコードする少なくとも1つの核酸配列を含み得る。

【0098】

一実施形態において、分子足場は、少なくとも1つの5 F 1 フランキンク領域をコードする少なくとも1つの核酸配列及び少なくとも1つのL 3 ループモチーフ領域をコードする少なくとも1つの核酸配列を含み得る。

【0099】

一実施形態において、分子足場は、少なくとも1つの5 F 1 フランキンク領域をコードする少なくとも1つの核酸配列及び少なくとも1つのL 4 ループモチーフ領域をコードする少なくとも1つの核酸配列を含み得る。

【0100】

一実施形態において、分子足場は、少なくとも1つの5 F 1 フランキンク領域をコードする少なくとも1つの核酸配列及び少なくとも1つのL 5 ループモチーフ領域をコードする少なくとも1つの核酸配列を含み得る。

【0101】

10

20

30

40

50















少なくとも1つの核酸配列を含み得る。

【0189】

一実施形態において、分子足場は、少なくとも1つの5'フランキング領域をコードする少なくとも1つの核酸配列及び少なくとも1つのL6ループモチーフ領域をコードする少なくとも1つの核酸配列を含み得る。

【0190】

一実施形態において、分子足場は、少なくとも1つの5'フランキング領域をコードする少なくとも1つの核酸配列及び少なくとも1つのL7ループモチーフ領域をコードする少なくとも1つの核酸配列を含み得る。

【0191】

一実施形態において、分子足場は、少なくとも1つの5'フランキング領域をコードする少なくとも1つの核酸配列及び少なくとも1つのL8ループモチーフ領域をコードする少なくとも1つの核酸配列を含み得る。

【0192】

一実施形態において、分子足場は、少なくとも1つの5'フランキング領域をコードする少なくとも1つの核酸配列及び少なくとも1つのL9ループモチーフ領域をコードする少なくとも1つの核酸配列を含み得る。

【0193】

一実施形態において、分子足場は、少なくとも1つの5'フランキング領域をコードする少なくとも1つの核酸配列及び少なくとも1つのL10ループモチーフ領域をコードする少なくとも1つの核酸配列を含み得る。

【0194】

一実施形態において、分子足場は、少なくとも1つの5'フランキング領域をコードする少なくとも1つの核酸配列及び少なくとも1つのL11ループモチーフ領域をコードする少なくとも1つの核酸配列を含み得る。

【0195】

一実施形態において、分子足場は、表1及び表3に記載されるとおりの少なくとも1つの5'フランキング領域をコードする少なくとも1つの核酸配列及び少なくとも3'フランキング領域をコードする少なくとも1つの核酸配列を含み得る。非限定的な例として、分子足場は、5'F1及び3'F1、5'F1及び3'F2、5'F1及び3'F3、5'F1及び3'F4、5'F1及び3'F5、5'F1及び3'F6、5'F1及び3'F7、5'F1及び3'F8、5'F2及び3'F1、5'F2及び3'F2、5'F2及び3'F3、5'F2及び3'F4、5'F2及び3'F5、5'F2及び3'F6、5'F2及び3'F7、5'F2及び3'F8、5'F3及び3'F1、5'F3及び3'F2、5'F3及び3'F3、5'F3及び3'F4、5'F3及び3'F5、5'F3及び3'F6、5'F3及び3'F7、5'F3及び3'F8、5'F4及び3'F1、5'F4及び3'F2、5'F4及び3'F3、5'F4及び3'F4、5'F4及び3'F5、5'F4及び3'F6、5'F4及び3'F7、5'F4及び3'F8、5'F5及び3'F1、5'F5及び3'F2、5'F5及び3'F3、5'F5及び3'F4、5'F5及び3'F5、5'F5及び3'F6、5'F5及び3'F7、5'F5及び3'F8、5'F6及び3'F1、5'F6及び3'F2、5'F6及び3'F3、5'F6及び3'F4、5'F6及び3'F5、5'F6及び3'F6、5'F6及び3'F7、5'F6及び3'F8、5'F7及び3'F1、5'F7及び3'F2、5'F7及び3'F3、5'F7及び3'F4、5'F7及び3'F5、5'F7及び3'F6、5'F7及び3'F7、5'F7及び3'F8、5'F8及び3'F1、5'F8及び3'F2、5'F8及び3'F3、5'F8及び3'F4、5'F8及び3'F5、5'F8及び3'F6、5'F8及び3'F7、5'F8及び3'F8、5'F9及び3'F1、5'F9及び3'F2、5'F9及び3'F3、5'F9及び3'F4、5'F9及び3'F5、5'F9及び3'F6、5'F9及び3'F7、又は5'F9及び3'F8を含み得る。

【0196】

一実施形態において、分子足場は、少なくとも1つの5'F1 5'フランキング領域をコードする少なくとも1つの核酸配列及び少なくとも1つの3'F1 3'フランキング領域をコードする少なくとも1つの核酸配列を含み得る。

10

20

30

40

50











ドする少なくとも1つの核酸配列及び少なくとも1つの3 F 8 3'フランキンク領域をコードする少なくとも1つの核酸配列を含み得る。

【0260】

一実施形態において、分子足場は、少なくとも1つの5 F 9 5'フランキンク領域をコードする少なくとも1つの核酸配列及び少なくとも1つの3 F 1 3'フランキンク領域をコードする少なくとも1つの核酸配列を含み得る。

【0261】

一実施形態において、分子足場は、少なくとも1つの5 F 9 5'フランキンク領域をコードする少なくとも1つの核酸配列及び少なくとも1つの3 F 2 3'フランキンク領域をコードする少なくとも1つの核酸配列を含み得る。

10

【0262】

一実施形態において、分子足場は、少なくとも1つの5 F 9 5'フランキンク領域をコードする少なくとも1つの核酸配列及び少なくとも1つの3 F 3 3'フランキンク領域をコードする少なくとも1つの核酸配列を含み得る。

【0263】

一実施形態において、分子足場は、少なくとも1つの5 F 9 5'フランキンク領域をコードする少なくとも1つの核酸配列及び少なくとも1つの3 F 4 3'フランキンク領域をコードする少なくとも1つの核酸配列を含み得る。

【0264】

一実施形態において、分子足場は、少なくとも1つの5 F 9 5'フランキンク領域をコードする少なくとも1つの核酸配列及び少なくとも1つの3 F 5 3'フランキンク領域をコードする少なくとも1つの核酸配列を含み得る。

20

【0265】

一実施形態において、分子足場は、少なくとも1つの5 F 9 5'フランキンク領域をコードする少なくとも1つの核酸配列及び少なくとも1つの3 F 6 3'フランキンク領域をコードする少なくとも1つの核酸配列を含み得る。

【0266】

一実施形態において、分子足場は、少なくとも1つの5 F 9 5'フランキンク領域をコードする少なくとも1つの核酸配列及び少なくとも1つの3 F 7 3'フランキンク領域をコードする少なくとも1つの核酸配列を含み得る。

30

【0267】

一実施形態において、分子足場は、少なくとも1つの5 F 9 5'フランキンク領域をコードする少なくとも1つの核酸配列及び少なくとも1つの3 F 8 3'フランキンク領域をコードする少なくとも1つの核酸配列を含み得る。

【0268】

一実施形態において、分子足場は、少なくとも1つの5'フランキンク領域、少なくとも1つのループモチーフ領域及び少なくとも1つの3'フランキンク領域を含み得る。非限定的な例として、分子足場は、5 F 1、L 1及び3 F 1；5 F 1、L 1及び3 F 2；5 F 1、L 1及び3 F 3；5 F 1、L 1及び3 F 4；5 F 1、L 1及び3 F 5；5 F 1、L 1及び3 F 6；5 F 1、L 1及び3 F 7；5 F 1、L 1及び3 F 8；5 F 2、L 1及び3 F 1；5 F 2、L 1及び3 F 2；5 F 2、L 1及び3 F 3；5 F 2、L 1及び3 F 4；5 F 2、L 1及び3 F 5；5 F 2、L 1及び3 F 6；5 F 2、L 1及び3 F 7；5 F 2、L 1及び3 F 8；5 F 3、L 1及び3 F 1；5 F 3、L 1及び3 F 2；5 F 3、L 1及び3 F 3；5 F 3、L 1及び3 F 4；5 F 3、L 1及び3 F 5；5 F 3、L 1及び3 F 6；5 F 3、L 1及び3 F 7；5 F 3、L 1及び3 F 8；5 F 4、L 1及び3 F 1；5 F 4、L 1及び3 F 2；5 F 4、L 1及び3 F 3；5 F 4、L 1及び3 F 4；5 F 4、L 1及び3 F 5；5 F 4、L 1及び3 F 6；5 F 4、L 1及び3 F 7；5 F 4、L 1及び3 F 8；5 F 5、L 1及び3 F 1；5 F 5、L 1及び3 F 2；5 F 5、L 1及び3 F 3；5 F 5、L 1及び3 F 4；5 F 5、L 1及び3 F 5；5 F 5、L 1及び3 F 6；5 F 5、L 1及び3 F 7；5 F 5、L 1及び3 F 8；5 F 6、L 1及び3 F 1；5 F 6、L 1及び3 F 2；5 F 6、

40

50



5 F 9、L 3 及び 3 F 2 ; 5 F 9、L 3 及び 3 F 3 ; 5 F 9、L 3 及び 3 F 4 ; 5 F 9、  
 L 3 及び 3 F 5 ; 5 F 9、L 3 及び 3 F 6 ; 5 F 9、L 3 及び 3 F 7 ; 5 F 9、L 3 及び  
 3 F 8 ; 5 F 1、L 4 及び 3 F 1 ; 5 F 1、L 4 及び 3 F 2 ; 5 F 1、L 4 及び 3 F 3 ;  
 5 F 1、L 4 及び 3 F 4 ; 5 F 1、L 4 及び 3 F 5 ; 5 F 1、L 4 及び 3 F 6 ; 5 F 1、  
 L 4 及び 3 F 7 ; 5 F 1、L 4 及び 3 F 8 ; 5 F 2、L 4 及び 3 F 1 ; 5 F 2、L 4 及び  
 3 F 2 ; 5 F 2、L 4 及び 3 F 3 ; 5 F 2、L 4 及び 3 F 4 ; 5 F 2、L 4 及び 3 F 5 ;  
 5 F 2、L 4 及び 3 F 6 ; 5 F 2、L 4 及び 3 F 7 ; 5 F 2、L 4 及び 3 F 8 ; 5 F 3、  
 L 4 及び 3 F 1 ; 5 F 3、L 4 及び 3 F 2 ; 5 F 3、L 4 及び 3 F 3 ; 5 F 3、L 4 及び  
 3 F 4 ; 5 F 3、L 4 及び 3 F 5 ; 5 F 3、L 4 及び 3 F 6 ; 5 F 3、L 4 及び 3 F 7 ;  
 5 F 3、L 4 及び 3 F 8 ; 5 F 4、L 4 及び 3 F 1 ; 5 F 4、L 4 及び 3 F 2 ; 5 F 4、  
 L 4 及び 3 F 3 ; 5 F 4、L 4 及び 3 F 4 ; 5 F 4、L 4 及び 3 F 5 ; 5 F 4、L 4 及び  
 3 F 6 ; 5 F 4、L 4 及び 3 F 7 ; 5 F 4、L 4 及び 3 F 8 ; 5 F 5、L 4 及び 3 F 1 ;  
 5 F 5、L 4 及び 3 F 2 ; 5 F 5、L 4 及び 3 F 3 ; 5 F 5、L 4 及び 3 F 4 ; 5 F 5、  
 L 4 及び 3 F 5 ; 5 F 5、L 4 及び 3 F 6 ; 5 F 5、L 4 及び 3 F 7 ; 5 F 5、L 4 及び  
 3 F 8 ; 5 F 6、L 4 及び 3 F 1 ; 5 F 6、L 4 及び 3 F 2 ; 5 F 6、L 4 及び 3 F 3 ;  
 5 F 6、L 4 及び 3 F 4 ; 5 F 6、L 4 及び 3 F 5 ; 5 F 6、L 4 及び 3 F 6 ; 5 F 6、  
 L 4 及び 3 F 7 ; 5 F 6、L 4 及び 3 F 8 ; 5 F 7、L 4 及び 3 F 1 ; 5 F 7、L 4 及び  
 3 F 2 ; 5 F 7、L 4 及び 3 F 3 ; 5 F 7、L 4 及び 3 F 4 ; 5 F 7、L 4 及び 3 F 5 ;  
 5 F 7、L 4 及び 3 F 6 ; 5 F 7、L 4 及び 3 F 7 ; 5 F 7、L 4 及び 3 F 8 ; 5 F 8、  
 L 4 及び 3 F 1 ; 5 F 8、L 4 及び 3 F 2 ; 5 F 8、L 4 及び 3 F 3 ; 5 F 8、L 4 及び  
 3 F 4 ; 5 F 8、L 4 及び 3 F 5 ; 5 F 8、L 4 及び 3 F 6 ; 5 F 8、L 4 及び 3 F 7 ;  
 5 F 8、L 4 及び 3 F 8 ; 5 F 9、L 4 及び 3 F 1 ; 5 F 9、L 4 及び 3 F 2 ; 5 F 9、  
 L 4 及び 3 F 3 ; 5 F 9、L 4 及び 3 F 4 ; 5 F 9、L 4 及び 3 F 5 ; 5 F 9、L 4 及び  
 3 F 6 ; 5 F 9、L 4 及び 3 F 7 ; 5 F 9、L 4 及び 3 F 8 ; 5 F 1、L 5 及び 3 F 1 ;  
 5 F 1、L 5 及び 3 F 2 ; 5 F 1、L 5 及び 3 F 3 ; 5 F 1、L 5 及び 3 F 4 ; 5 F 1、  
 L 5 及び 3 F 5 ; 5 F 1、L 5 及び 3 F 6 ; 5 F 1、L 5 及び 3 F 7 ; 5 F 1、L 5 及び  
 3 F 8 ; 5 F 2、L 5 及び 3 F 1 ; 5 F 2、L 5 及び 3 F 2 ; 5 F 2、L 5 及び 3 F 3 ;  
 5 F 2、L 5 及び 3 F 4 ; 5 F 2、L 5 及び 3 F 5 ; 5 F 2、L 5 及び 3 F 6 ; 5 F 2、  
 L 5 及び 3 F 7 ; 5 F 2、L 5 及び 3 F 8 ; 5 F 3、L 5 及び 3 F 1 ; 5 F 3、L 5 及び  
 3 F 2 ; 5 F 3、L 5 及び 3 F 3 ; 5 F 3、L 5 及び 3 F 4 ; 5 F 3、L 5 及び 3 F 5 ;  
 5 F 3、L 5 及び 3 F 6 ; 5 F 3、L 5 及び 3 F 7 ; 5 F 3、L 5 及び 3 F 8 ; 5 F 4、  
 L 5 及び 3 F 1 ; 5 F 4、L 5 及び 3 F 2 ; 5 F 4、L 5 及び 3 F 3 ; 5 F 4、L 5 及び  
 3 F 4 ; 5 F 4、L 5 及び 3 F 5 ; 5 F 4、L 5 及び 3 F 6 ; 5 F 4、L 5 及び 3 F 7 ;  
 5 F 4、L 5 及び 3 F 8 ; 5 F 5、L 5 及び 3 F 1 ; 5 F 5、L 5 及び 3 F 2 ; 5 F 5、  
 L 5 及び 3 F 3 ; 5 F 5、L 5 及び 3 F 4 ; 5 F 5、L 5 及び 3 F 5 ; 5 F 5、L 5 及び  
 3 F 6 ; 5 F 5、L 5 及び 3 F 7 ; 5 F 5、L 5 及び 3 F 8 ; 5 F 6、L 5 及び 3 F 1 ;  
 5 F 6、L 5 及び 3 F 2 ; 5 F 6、L 5 及び 3 F 3 ; 5 F 6、L 5 及び 3 F 4 ; 5 F 6、  
 L 5 及び 3 F 5 ; 5 F 6、L 5 及び 3 F 6 ; 5 F 6、L 5 及び 3 F 7 ; 5 F 6、L 5 及び  
 3 F 8 ; 5 F 7、L 5 及び 3 F 1 ; 5 F 7、L 5 及び 3 F 2 ; 5 F 7、L 5 及び 3 F 3 ;  
 5 F 7、L 5 及び 3 F 4 ; 5 F 7、L 5 及び 3 F 5 ; 5 F 7、L 5 及び 3 F 6 ; 5 F 7、  
 L 5 及び 3 F 7 ; 5 F 7、L 5 及び 3 F 8 ; 5 F 8、L 5 及び 3 F 1 ; 5 F 8、L 5 及び  
 3 F 2 ; 5 F 8、L 5 及び 3 F 3 ; 5 F 8、L 5 及び 3 F 4 ; 5 F 8、L 5 及び 3 F 5 ;  
 5 F 8、L 5 及び 3 F 6 ; 5 F 8、L 5 及び 3 F 7 ; 5 F 8、L 5 及び 3 F 8 ; 5 F 9、  
 L 5 及び 3 F 1 ; 5 F 9、L 5 及び 3 F 2 ; 5 F 9、L 5 及び 3 F 3 ; 5 F 9、L 5 及び  
 3 F 4 ; 5 F 9、L 5 及び 3 F 5 ; 5 F 9、L 5 及び 3 F 6 ; 5 F 9、L 5 及び 3 F 7 ;  
 又は 5 F 9、L 5 及び 3 F 8 を含み得る。

## 【 0 2 6 9 】

一実施形態において、分子足場は、少なくとも1つの5 F 1 5 ' フランキング領域をコー  
 ドする少なくとも1つの核酸配列、少なくとも1つのL 1 ループモチーフ領域をコードす  
 る少なくとも1つの核酸配列、及び少なくとも1つの3 F 1 3 ' フランキング領域をコー

10

20

30

40

50







































































ドする少なくとも1つの核酸配列を含み得る。

【0620】

一実施形態において、分子足場は、少なくとも1つの5 F 8 5'フランキング領域をコードする少なくとも1つの核酸配列、少なくとも1つのL 5ループモチーフ領域をコードする少なくとも1つの核酸配列、及び少なくとも1つの3 F 8 3'フランキング領域をコードする少なくとも1つの核酸配列を含み得る。

【0621】

一実施形態において、分子足場は、少なくとも1つの5 F 9 5'フランキング領域をコードする少なくとも1つの核酸配列、少なくとも1つのL 5ループモチーフ領域をコードする少なくとも1つの核酸配列、及び少なくとも1つの3 F 1 3'フランキング領域をコードする少なくとも1つの核酸配列を含み得る。

10

【0622】

一実施形態において、分子足場は、少なくとも1つの5 F 9 5'フランキング領域をコードする少なくとも1つの核酸配列、少なくとも1つのL 5ループモチーフ領域をコードする少なくとも1つの核酸配列、及び少なくとも1つの3 F 2 3'フランキング領域をコードする少なくとも1つの核酸配列を含み得る。

【0623】

一実施形態において、分子足場は、少なくとも1つの5 F 9 5'フランキング領域をコードする少なくとも1つの核酸配列、少なくとも1つのL 5ループモチーフ領域をコードする少なくとも1つの核酸配列、及び少なくとも1つの3 F 3 3'フランキング領域をコードする少なくとも1つの核酸配列を含み得る。

20

【0624】

一実施形態において、分子足場は、少なくとも1つの5 F 9 5'フランキング領域をコードする少なくとも1つの核酸配列、少なくとも1つのL 5ループモチーフ領域をコードする少なくとも1つの核酸配列、及び少なくとも1つの3 F 4 3'フランキング領域をコードする少なくとも1つの核酸配列を含み得る。

【0625】

一実施形態において、分子足場は、少なくとも1つの5 F 9 5'フランキング領域をコードする少なくとも1つの核酸配列、少なくとも1つのL 5ループモチーフ領域をコードする少なくとも1つの核酸配列、及び少なくとも1つの3 F 5 3'フランキング領域をコードする少なくとも1つの核酸配列を含み得る。

30

【0626】

一実施形態において、分子足場は、少なくとも1つの5 F 9 5'フランキング領域をコードする少なくとも1つの核酸配列、少なくとも1つのL 5ループモチーフ領域をコードする少なくとも1つの核酸配列、及び少なくとも1つの3 F 6 3'フランキング領域をコードする少なくとも1つの核酸配列を含み得る。

【0627】

一実施形態において、分子足場は、少なくとも1つの5 F 9 5'フランキング領域をコードする少なくとも1つの核酸配列、少なくとも1つのL 5ループモチーフ領域をコードする少なくとも1つの核酸配列、及び少なくとも1つの3 F 7 3'フランキング領域をコードする少なくとも1つの核酸配列を含み得る。

40

【0628】

一実施形態において、分子足場は、少なくとも1つの5 F 9 5'フランキング領域をコードする少なくとも1つの核酸配列、少なくとも1つのL 5ループモチーフ領域をコードする少なくとも1つの核酸配列、及び少なくとも1つの3 F 8 3'フランキング領域をコードする少なくとも1つの核酸配列を含み得る。

【0629】

一実施形態において、分子足場は当該技術分野において公知の1つ以上のリンカーを含み得る。リンカーは、領域間を、又は1つの分子足場を別の分子足場と分離し得る。非限定的な例として、分子足場はポリシストロン性であってもよい。

50

## 【0630】

一実施形態において、調節性ポリヌクレオチドは以下の特性のうちの少なくとも1つを用いて設計される：ループ変異体、シードミスマッチ/バルジ/ゆらぎ変異体、ステムミスマッチ、ループ変異体及びヴァッサルステム(vassal stem)ミスマッチ変異体、シードミスマッチ及びベーサルステム(basal stem)ミスマッチ変異体、ステムミスマッチ及びベーサルステム(basal stem)ミスマッチ変異体、シードゆらぎ及びベーサルステム(basal stem)ゆらぎ変異体、又はステム配列変異体。

## 【0631】

一実施形態において、分子足場は発現ベクターの2つのITRの間に位置してもよい。非限定的な例として、分子足場は図2に示されるとおりの6つの異なる位置のうちの少なくとも1つで発現ベクターに挿入されてもよい。図2では、「ITR」は末端逆位配列であり、「I」はイントロンを表し、「P」はポリAであり、及び「MP」は調節性ポリヌクレオチドである。

10

## 【0632】

一実施形態において、分子足場は、限定はされないが、CMV、U6、H1、CBA、又はSV40若しくはヒトグロビンイントロンを伴うCBAプロモータなど、プロモータの下流に位置してもよい。更に、分子足場はまたポリアデニル化配列の上流に位置してもよい。非限定的な例として、分子足場は、プロモータから下流及び/又はポリアデニル化配列の上流に1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30ヌクレオチド又は30ヌクレオチド超以内に位置してもよい。別の非限定的な例として、分子足場は、プロモータから下流及び/又はポリアデニル化配列の上流に1~5、1~10、1~15、1~20、1~25、1~30、5~10、5~15、5~20、5~25、5~30、10~15、10~20、10~25、10~30、15~20、15~25、15~30、20~25、20~30又は25~30ヌクレオチド以内に位置してもよい。非限定的な例として、分子足場は、プロモータから下流及び/又はポリアデニル化配列の上流にあるヌクレオチドの最初の1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、15%、20%、25%又は25%超以内に位置してもよい。別の非限定的な例として、分子足場は、プロモータから下流及び/又はポリアデニル化配列の上流に最初の1~5%、1~10%、1~15%、1~20%、1~25%、5~10%、5~15%、5~20%、5~25%、10~15%、10~20%、10~25%、15~20%、15~25%、又は20~25%で位置してもよい。

20

30

## 【0633】

一実施形態において、分子足場はポリアデニル化配列の上流に位置してもよい。更に、分子足場は、限定はされないが、CMV、U6、H1、CBA、又はSV40若しくはヒトグロビンイントロンを伴うCBAプロモータなど、プロモータの下流に位置してもよい。非限定的な例として、分子足場は、プロモータから下流及び/又はポリアデニル化配列の上流に1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30ヌクレオチド又は30ヌクレオチド超以内に位置してもよい。別の非限定的な例として、分子足場は、プロモータから下流及び/又はポリアデニル化配列の上流に1~5、1~10、1~15、1~20、1~25、1~30、5~10、5~15、5~20、5~25、5~30、10~15、10~20、10~25、10~30、15~20、15~25、15~30、20~25、20~30又は25~30ヌクレオチド以内に位置してもよい。非限定的な例として、分子足場は、プロモータから下流及び/又はポリアデニル化配列の上流にあるヌクレオチドの最初の1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、15%、20%、25%又は25%超以内に位置してもよい。別の非限定的な例として、分子足場は、プロモータから下流及び/又はポリアデニル化配列の上流に最初の1~5%、1~10%、1~15%、1~20%、1~25%、5

40

50

～ 10%、5～15%、5～20%、5～25%、10～15%、10～20%、10～25%、15～20%、15～25%、又は20～25%で位置してもよい。

【0634】

一実施形態において、分子足場は s c A A V に位置してもよい。  
 一実施形態において、分子足場は s s A A V に位置してもよい。  
 一実施形態において、分子足場はフリップ I T R の 5' 末端の近傍に位置してもよい。別の実施形態において、分子足場はフリップ I T R の 3' 末端の近傍に位置してもよい。更に別の実施形態において、分子足場はフロップ I T R の 5' 末端の近傍に位置してもよい。更に別の実施形態において、分子足場はフロップ I T R の 3' 末端の近傍に位置してもよい。一実施形態において、分子足場はフリップ I T R の 5' 末端とフロップ I T R の 3' 末端との間に位置してもよい。一実施形態において、分子足場は、フリップ I T R の 3' 末端とフリップ I T R の 5' 末端との間に（例えば、フリップ I T R の 5' 末端とフロップ I T R の 3' 末端との間又はフロップ I T R の 3' 末端とフリップ I T R の 5' 末端との間の中間に）位置してもよい。非限定的な例として、分子足場は、I T R（例えばフリップ又はフロップ I T R）の 5' 又は 3' 末端から下流に 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30ヌクレオチド又は30ヌクレオチド超以内に位置してもよい。非限定的な例として、分子足場は、I T R（例えばフリップ又はフロップ I T R）の 5' 又は 3' 末端から上流に 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30ヌクレオチド又は30ヌクレオチド超以内に位置してもよい。別の非限定的な例として、分子足場は、I T R（例えばフリップ又はフロップ I T R）の 5' 又は 3' 末端から下流に 1～5、1～10、1～15、1～20、1～25、1～30、5～10、5～15、5～20、5～25、5～30、10～15、10～20、10～25、10～30、15～20、15～25、15～30、20～25、20～30又は25～30ヌクレオチド以内に位置してもよい。別の非限定的な例として、分子足場は、I T R（例えばフリップ又はフロップ I T R）の 5' 又は 3' 末端から上流に 1～5、1～10、1～15、1～20、1～25、1～30、5～10、5～15、5～20、5～25、5～30、10～15、10～20、10～25、10～30、15～20、15～25、15～30、20～25、20～30又は25～30以内に位置してもよい。非限定的な例として、分子足場は、I T R（例えばフリップ又はフロップ I T R）の 5' 又は 3' 末端から上流にあるヌクレオチドの最初の 1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、15%、20%、25%又は25%超以内に位置してもよい。別の非限定的な例として、分子足場は、I T R（例えばフリップ又はフロップ I T R）の 5' 又は 3' 末端から下流に最初の 1～5%、1～10%、1～15%、1～20%、1～25%、5～10%、5～15%、5～20%、5～25%、10～15%、10～20%、10～25%、15～20%、15～25%、又は20～25%で位置してもよい。

【0635】

ベクター  
 一部の実施形態において、本明細書に記載される s i R N A 分子はプラスミド又はウイルスベクターなどのベクターによってコードされ得る。一実施形態において、s i R N A 分子はウイルスベクターによってコードされる。ウイルスベクターは、限定はされないが、ヘルペスウイルス（H S V）ベクター、レトロウイルスベクター、アデノウイルスベクター、アデノ随伴ウイルスベクター、レンチウイルスベクターなどであってもよい。一部の具体的な実施形態において、ウイルスベクターは A A V ベクターである。

【0636】

レトロウイルスベクター  
 一部の実施形態において、S O D I または H T T を標的とする s i R N A 二重鎖はレトロウイルスベクターによってコードされてもよい（例えば、米国特許第 5,399,346

号明細書；同第5, 124, 263号明細書；同第4, 650, 764号明細書及び同第4, 980, 289号明細書を参照のこと；これらの各々の内容は全体として参照により本明細書に援用される）。

【0637】

アデノウイルスベクター

アデノウイルスは、インビボで核酸が種々の細胞型に効率的に送達されるように修飾することのできる真核生物DNAウイルスであり、神経細胞への遺伝子のターゲティングを含め、遺伝子療法プロトコルにおいて広範に用いられている。核酸療法薬向けに様々な複製欠損アデノウイルス及び最小アデノウイルスベクターが記載されている（例えば、国際公開第199426914号パンフレット、同第199502697号パンフレット、同第199428152号パンフレット、同第199412649号パンフレット、同第199502697号パンフレット及び同第199622378号パンフレットを参照のこと；これらの各々の内容は全体として参照により援用される）。かかるアデノウイルスベクターはまた、細胞への本発明のsiRNA分子の送達にも使用することができる。

10

【0638】

アデノ随伴ウイルス(AAV)ベクター

アデノ随伴ウイルス(AAV)は、(他のパルボウイルスと同様に)依存性パルボウイルスであって、約5000ヌクレオチド長のゲノムを有する一本鎖非エンベロープDNAウイルスであり、且つ複製に關与するタンパク質(Rep)及びカプシドの構造タンパク質(Cap)をコードする2つのオープンリーディングフレームを含むものである。これらのオープンリーディングフレームには、ウイルスゲノムの複製起点として働く2つの末端逆位配列(ITR)配列が隣接する。更に、AAVゲノムはパッケージング配列を含み、ウイルスゲノムをAAVカプシドにパッケージングすることが可能である。AAVベクターは、感染細胞において増殖性感染を起こすのにコヘルパー(例えばアデノウイルス)を必要とする。かかるヘルパー機能がないとき、AAVビリオンは本質的に宿主細胞に侵入するものの、細胞のゲノムに組み込まれない。

20

【0639】

AAVベクターは、幾つかのユニークな特徴から、siRNA送達に關して研究されている。そうした特徴の非限定的な例としては、(i)分裂細胞及び非分裂細胞の両方への感染能力；(ii)ヒト細胞を含めた、広域の感染宿主範囲；(iii)野生型AAVはいかなる疾患とも関連付けられておらず、及び感染細胞で複製することが示されていない；(iv)ベクターに対する細胞媒介性免疫応答の欠如、及び(v)宿主染色体に組み込まれない性質、それにより長期遺伝子変化の可能性が低減されることが挙げられる。更に、AAVベクターによる感染は細胞遺伝子発現パターンの変化に最小限の影響しか及ぼさない(スティルウェル(Stilwell)及びサムルスキ(Samulski)ら著、バイオテクニクス(Biotechniques)、2003年、第34巻、p.148)。

30

【0640】

典型的には、siRNA送達用のAAVベクターは、ウイルスゲノム内に機能性Rep及びCapタンパク質をコードする配列を欠くため複製欠損である組換えウイルスベクターであってもよい。ある場合には、欠損AAVベクターはコード配列のほとんど又は全てを欠いていることもあり、本質的に1つ又は2つのAAV ITR配列及びパッケージング配列を含むのみである。

40

【0641】

一実施形態において、本発明のsiRNA分子をコードする核酸配列を含むAAVベクターは、哺乳類細胞に導入されてもよい。

AAVベクターは、送達効率が增強されるように修飾されてもよい。本発明のsiRNA分子をコードする核酸配列を含むかかる修飾AAVベクターは、効率的にパッケージングされることができ、及び標的細胞を高頻度且つ最小限の毒性で首尾よく感染させるために使用することができる。

【0642】

50

一部の実施形態において、本発明の *siRNA* 分子をコードする核酸配列を含む *AAV* ベクターは、ヒト血清型 *AAV* ベクターであってもよい。かかるヒト *AAV* ベクターは、任意の既知の血清型、例えば血清型 *AAV* 1 ~ *AAV* 11 のいずれか 1 つに由来し得る。非限定的な例として、*AAV* ベクターは、*AAV* 1 由来カプシドに *AAV* 1 由来ゲノムを含むベクター；*AAV* 2 由来カプシドに *AAV* 2 由来ゲノムを含むベクター；*AAV* 4 由来カプシドに *AAV* 4 由来ゲノムを含むベクター；*AAV* 6 由来カプシドに *AAV* 6 由来ゲノムを含むベクター又は *AAV* 9 由来カプシドに *AAV* 9 由来ゲノムを含むベクターであってもよい。

【0643】

他の実施形態において、本発明の *siRNA* 分子をコードする核酸配列を含む *AAV* ベクターは、少なくとも 2 つの異なる *AAV* 血清型を起源とする配列及び/又は成分を含むシュードタイプハイブリッド又はキメラ *AAV* ベクターであってもよい。シュードタイプ *AAV* ベクターは、ある *AAV* 血清型に由来する *AAV* ゲノムと、少なくとも一部が異なる *AAV* 血清型に由来するカプシドタンパク質とを含むベクターであってもよい。非限定的な例として、かかるシュードタイプ *AAV* ベクターは、*AAV* 1 由来カプシドに *AAV* 2 由来ゲノムを含むベクター；又は *AAV* 6 由来カプシドに *AAV* 2 由来ゲノムを含むベクター；又は *AAV* 4 由来カプシドに *AAV* 2 由来ゲノム；又は *AAV* 9 由来カプシドに *AAV* 2 由来ゲノムを含むベクターであってもよい。同様に、本発明は、任意のハイブリッド又はキメラ *AAV* ベクターを企図する。

【0644】

他の実施形態において、本発明の *siRNA* 分子をコードする核酸配列を含む *AAV* ベクターは、中枢神経系への *siRNA* 分子の送達に使用されてもよい（例えば、米国特許第 6,180,613 号明細書；この内容は本明細書において全体として参照により援用される）。

【0645】

一部の態様において、本発明の *siRNA* 分子をコードする核酸配列を含む *AAV* ベクターは、非ウイルス起源のペプチドを含む修飾カプシドを更に含み得る。他の態様において、コード化 *siRNA* 二重鎖の脳及び脊髄への送達を促進するため、*AAV* ベクターは CNS 特異的キメラカプシドを含んでもよい。例えば、CNS 向性を呈する *AAV* バリエーションからの *cap* ヌクレオチド配列のアラインメントを作成することにより可変領域 (*VR*) 配列及び構造を同定してもよい。

【0646】

一実施形態において、本発明の *siRNA* 分子をコードする核酸配列を含む *AAV* ベクターは、ポリシストロン性分子である *siRNA* 分子をコードし得る。加えて *siRNA* 分子は *siRNA* 分子の領域間に 1 つ以上のリンカーを含んでもよい。

【0647】

自己相補的及び一本鎖ベクター

一実施形態において、本発明に使用される *AAV* ベクターは一本鎖ベクター (*ssAAV*) である。

【0648】

別の実施形態において、*AAV* ベクターは自己相補的 *AAV* ベクター (*scAAV*) である。*scAAV* ベクターは、共にアニーリングして二本鎖 DNA を形成する両方の DNA 鎖を含む。第 2 鎖の合成をスキップすることにより、*scAAV* は細胞において迅速に発現することが可能である。

【0649】

一実施形態において、本発明に使用される *AAV* ベクターは *scAAV* である。

*AAV* ベクターを作製及び/又は修飾する方法は、シュードタイプ *AAV* ベクターなど、当該技術分野において開示されている（国際公開第 200028004 号パンフレット；同第 200123001 号パンフレット；同第 2004112727 号パンフレット；同第 2005005610 号パンフレット及び同第 2005072364 号パンフレット、

10

20

30

40

50

これらの各々の内容は全体として参照により本明細書に援用される)。

【0650】

AAV血清型

本発明のAAV粒子は任意の天然又は組換えAAV血清型を含んでもよく、又はそれに由来してもよい。本発明によれば、AAV粒子は以下のいずれか、AAV1、AAV2、AAV2G9、AAV3、AAV3a、AAV3b、AAV3-3、AAV4、AAV4-4、AAV5、AAV6、AAV6.1、AAV6.2、AAV6.1.2、AAV7、AAV7.2、AAV8、AAV9、AAV9.11、AAV9.13、AAV9.16、AAV9.24、AAV9.45、AAV9.47、AAV9.61、AAV9.68、AAV9.84、AAV9.9、AAV10、AAV11、AAV12、AAV16.3、AAV24.1、AAV27.3、AAV42.12、AAV42-1b、AAV42-2、AAV42-3a、AAV42-3b、AAV42-4、AAV42-5a、AAV42-5b、AAV42-6b、AAV42-8、AAV42-10、AAV42-11、AAV42-12、AAV42-13、AAV42-15、AAV42-aa、AAV43-1、AAV43-12、AAV43-20、AAV43-21、AAV43-23、AAV43-25、AAV43-5、AAV44.1、AAV44.2、AAV44.5、AAV223.1、AAV223.2、AAV223.4、AAV223.5、AAV223.6、AAV223.7、AAV1-7/rh.48、AAV1-8/rh.49、AAV2-15/rh.62、AAV2-3/rh.61、AAV2-4/rh.50、AAV2-5/rh.51、AAV3.1/hu.6、AAV3.1/hu.9、AAV3-9/rh.52、AAV3-11/rh.53、AAV4-8/r11.64、AAV4-9/rh.54、AAV4-19/rh.55、AAV5-3/rh.57、AAV5-22/rh.58、AAV7.3/hu.7、AAV16.8/hu.10、AAV16.12/hu.11、AAV29.3/bb.1、AAV29.5/bb.2、AAV106.1/hu.37、AAV114.3/hu.40、AAV127.2/hu.41、AAV127.5/hu.42、AAV128.3/hu.44、AAV130.4/hu.48、AAV145.1/hu.53、AAV145.5/hu.54、AAV145.6/hu.55、AAV161.10/hu.60、AAV161.6/hu.61、AAV33.12/hu.17、AAV33.4/hu.15、AAV33.8/hu.16、AAV52/hu.19、AAV52.1/hu.20、AAV58.2/hu.25、AAVA3.3、AAVA3.4、AAVA3.5、AAVA3.7、AAVC1、AAVC2、AAVC5、AAV-DJ、AAV-DJ8、AAVF3、AAVF5、AAVH2、AAVrh.72、AAVhu.8、AAVrh.68、AAVrh.70、AAVpi.1、AAVpi.3、AAVpi.2、AAVrh.60、AAVrh.44、AAVrh.65、AAVrh.55、AAVrh.47、AAVrh.69、AAVrh.45、AAVrh.59、AAVhu.12、AAVH6、AAVLK03、AAVH-1/hu.1、AAVH-5/hu.3、AAVLG-10/rh.40、AAVLG-4/rh.38、AAVLG-9/hu.39、AAVN721-8/rh.43、AAVCh.5、AAVCh.5R1、AAVcy.2、AAVcy.3、AAVcy.4、AAVcy.5、AAVCy.5R1、AAVCy.5R2、AAVCy.5R3、AAVCy.5R4、AAVcy.6、AAVhu.1、AAVhu.2、AAVhu.3、AAVhu.4、AAVhu.5、AAVhu.6、AAVhu.7、AAVhu.9、AAVhu.10、AAVhu.11、AAVhu.13、AAVhu.15、AAVhu.16、AAVhu.17、AAVhu.18、AAVhu.20、AAVhu.21、AAVhu.22、AAVhu.23.2、AAVhu.24、AAVhu.25、AAVhu.27、AAVhu.28、AAVhu.29、AAVhu.29R、AAVhu.31、AAVhu.32、AAVhu.34、AAVhu.35、AAVhu.37、AAVhu.39、AAVhu.40、AAVhu.41、AAVhu.42、AAVhu.43、AAVhu.44、AAVhu.44R1、AAVhu.44R2、AAVhu.44R3、AAVhu.45、AAVhu.46、

10

20

30

40

50

AAVhu.47、AAVhu.48、AAVhu.48R1、AAVhu.48R2、  
 AAVhu.48R3、AAVhu.49、AAVhu.51、AAVhu.52、AA  
 Vhu.54、AAVhu.55、AAVhu.56、AAVhu.57、AAVhu.  
 58、AAVhu.60、AAVhu.61、AAVhu.63、AAVhu.64、A  
 AVhu.66、AAVhu.67、AAVhu.14/9、AAVhu.t 19、A  
 AVrh.2、AAVrh.2R、AAVrh.8、AAVrh.8R、AAVrh.1  
 0、AAVrh.12、AAVrh.13、AAVrh.13R、AAVrh.14、A  
 AVrh.17、AAVrh.18、AAVrh.19、AAVrh.20、AAVrh  
 .21、AAVrh.22、AAVrh.23、AAVrh.24、AAVrh.25、  
 AAVrh.31、AAVrh.32、AAVrh.33、AAVrh.34、AAVr  
 h.35、AAVrh.36、AAVrh.37、AAVrh.37R2、AAVrh.  
 38、AAVrh.39、AAVrh.40、AAVrh.46、AAVrh.48、A  
 AVrh.48.1、AAVrh.48.1.2、AAVrh.48.2、AAVrh.  
 49、AAVrh.51、AAVrh.52、AAVrh.53、AAVrh.54、A  
 AVrh.56、AAVrh.57、AAVrh.58、AAVrh.61、AAVrh  
 .64、AAVrh.64R1、AAVrh.64R2、AAVrh.67、AAVrh  
 .73、AAVrh.74、AAVrh8R、AAVrh8R A586R突然変異体、  
 AAVrh8R R533A突然変異体、AAAV、BAAV、ヤギAAV、ウシAAV  
 、AAVhE1.1、AAVhEr1.5、AAVhEr1.14、AAVhEr1.8  
 、AAVhEr1.16、AAVhEr1.18、AAVhEr1.35、AAVhEr  
 1.7、AAVhEr1.36、AAVhEr2.29、AAVhEr2.4、AAVh  
 Er2.16、AAVhEr2.30、AAVhEr2.31、AAVhEr2.36、  
 AAVhEr1.23、AAVhEr3.1、AAV2.5T、AAV-PAEC、AA  
 V-LK01、AAV-LK02、AAV-LK03、AAV-LK04、AAV-LK  
 05、AAV-LK06、AAV-LK07、AAV-LK08、AAV-LK09、A  
 AV-LK10、AAV-LK11、AAV-LK12、AAV-LK13、AAV-L  
 K14、AAV-LK15、AAV-LK16、AAV-LK17、AAV-LK18、  
 AAV-LK19、AAV-PAEC2、AAV-PAEC4、AAV-PAEC6、A  
 AV-PAEC7、AAV-PAEC8、AAV-PAEC11、AAV-PAEC12  
 、AAV-2-pre-miRNA-101、AAV-8h、AAV-8b、AAV-h  
 、AAV-b、AAV SM 10-2、AAVシャッフル100-1、AAVシャッフル  
 100-3、AAVシャッフル100-7、AAVシャッフル10-2、AAVシャッフ  
 ル10-6、AAVシャッフル10-8、AAVシャッフル100-2、AAV SM 1  
 0-1、AAV SM 10-8、AAV SM 100-3、AAV SM 100-10  
 、BNP61 AAV、BNP62 AAV、BNP63 AAV、AAVrh.50、A  
 AVrh.43、AAVrh.62、AAVrh.48、AAVhu.19、AAVhu  
 .11、AAVhu.53、AAV4-8/rh.64、AAV LG-9/hu.39、  
 AAV54.5/hu.23、AAV54.2/hu.22、AAV54.7/hu.2  
 4、AAV54.1/hu.21、AAV54.4R/hu.27、AAV46.2/h  
 u.28、AAV46.6/hu.29、AAV128.1/hu.43、ツールタイ  
 プAAV(ttAAV)、UPENN AAV10、ジャパニーズAAV10血清型、A  
 AV CBr-7.1、AAV CBr-7.10、AAV CBr-7.2、AAV C  
 Br-7.3、AAV CBr-7.4、AAV CBr-7.5、AAV CBr-7.  
 7、AAV CBr-7.8、AAV CBr-B7.3、AAV CBr-B7.4、A  
 AV CBr-E1、AAV CBr-E2、AAV CBr-E3、AAV CBr-E  
 4、AAV CBr-E5、AAV CBr-e5、AAV CBr-E6、AAV CB  
 r-E7、AAV CBr-E8、AAV CHt-1、AAV CHt-2、AAV C  
 Ht-3、AAV CHt-6.1、AAV CHt-6.10、AAV CHt-6.5  
 、AAV CHt-6.6、AAV CHt-6.7、AAV CHt-6.8、AAV  
 CHt-P1、AAV CHt-P2、AAV CHt-P5、AAV CHt-P6、A

10

20

30

40

50

AV CHt - P 8、AAV CHt - P 9、AAV CKd - 1、AAV CKd - 10  
 、AAV CKd - 2、AAV CKd - 3、AAV CKd - 4、AAV CKd - 6、  
 AAV CKd - 7、AAV CKd - 8、AAV CKd - B1、AAV CKd - B2  
 、AAV CKd - B3、AAV CKd - B4、AAV CKd - B5、AAV CKd  
 - B6、AAV CKd - B7、AAV CKd - B8、AAV CKd - H1、AAV  
 CKd - H2、AAV CKd - H3、AAV CKd - H4、AAV CKd - H5、A  
 AV CKd - H6、AAV CKd - N3、AAV CKd - N4、AAV CKd - N  
 9、AAV CLg - F1、AAV CLg - F2、AAV CLg - F3、AAV CL  
 g - F4、AAV CLg - F5、AAV CLg - F6、AAV CLg - F7、AAV  
 CLg - F8、AAV CLv - 1、AAV CLv1 - 1、AAV CLv1 - 10、A  
 AV CLv1 - 2、AAV CLv - 12、AAV CLv1 - 3、AAV CLv - 1  
 3、AAV CLv1 - 4、AAV CLv1 - 7、AAV CLv1 - 8、AAV CL  
 v1 - 9、AAV CLv - 2、AAV CLv - 3、AAV CLv - 4、AAV CL  
 v - 6、AAV CLv - 8、AAV CLv - D1、AAV CLv - D2、AAV C  
 Lv - D3、AAV CLv - D4、AAV CLv - D5、AAV CLv - D6、AA  
 V CLv - D7、AAV CLv - D8、AAV CLv - E1、AAV CLv - K1  
 、AAV CLv - K3、AAV CLv - K6、AAV CLv - L4、AAV CLv  
 - L5、AAV CLv - L6、AAV CLv - M1、AAV CLv - M11、AAV  
 CLv - M2、AAV CLv - M5、AAV CLv - M6、AAV CLv - M7、A  
 AV CLv - M8、AAV CLv - M9、AAV CLv - R1、AAV CLv - R  
 2、AAV CLv - R3、AAV CLv - R4、AAV CLv - R5、AAV CL  
 v - R6、AAV CLv - R7、AAV CLv - R8、AAV CLv - R9、AAV  
 CSp - 1、AAV CSp - 10、AAV CSp - 11、AAV CSp - 2、AAV  
 CSp - 3、AAV CSp - 4、AAV CSp - 6、AAV CSp - 7、AAV C  
 Sp - 8、AAV CSp - 8 . 10、AAV CSp - 8 . 2、AAV CSp - 8 . 4  
 、AAV CSp - 8 . 5、AAV CSp - 8 . 6、AAV CSp - 8 . 7、AAV  
 CSp - 8 . 8、AAV CSp - 8 . 9、AAV CSp - 9、AAV . hu . 48R3  
 、AAV . VR - 355、AAV3B、AAV4、AAV5、AAVF1 / HSC1、A  
 AVF11 / HSC11、AAVF12 / HSC12、AAVF13 / HSC13、AA  
 VF14 / HSC14、AAVF15 / HSC15、AAVF16 / HSC1  
 6、AAVF17 / HSC17、AAVF2 / HSC2、AAVF3 / HSC3、AAV  
 F4 / HSC4、AAVF5 / HSC5、AAVF6 / HSC6、AAVF7 / HSC7  
 、AAVF8 / HSC8、AAVF9 / HSC9、AAV - PHP . B ( PHP . B )、  
 AAV - PHP . A ( PHP . A )、G2B - 26、G2B - 13、TH1 . 1 - 32 及  
 び / 又は TH1 . 1 - 35、及びこれらのバリエーションから選択される血清型を利用して  
 もよく、又はそれをベースとしてもよい。非限定的な例として、組換え AAV ウイルスのカ  
 プシドは AAV2 である。非限定的な例として、組換え AAV ウイルスのカプシドは AAV  
 Vrh10 である。非限定的な例として、組換え AAV ウイルスのカプシドは AAV9 ( hu14 )  
 である。非限定的な例として、組換え AAV ウイルスのカプシドは AAV-D  
 J である。非限定的な例として、組換え AAV ウイルスのカプシドは AAV9 . 47 であ  
 る。非限定的な例として、組換え AAV ウイルスのカプシドは AAV-DJ8 である。非  
 限定的な例として、組換え AAV ウイルスのカプシドは AAV - PHP . B である。非限  
 定的な例として、組換え AAV ウイルスのカプシドは AAV - PHP . A である。

10

20

30

40

#### 【0651】

一部の実施形態において、AAV 血清型は、限定はされないが、AAV1 ( 米国特許出願  
 公開第 20030138772 号明細書の配列番号 6 及び 64 )、AAV2 ( 米国特許出  
 願公開第 20030138772 号明細書の配列番号 7 及び 70 )、AAV3 ( 米国特許  
 出願公開第 20030138772 号明細書の配列番号 8 及び 71 )、AAV4 ( 米国特  
 許出願公開第 20030138772 号明細書の配列番号 63 )、AAV5 ( 米国特許出  
 願公開第 20030138772 号明細書の配列番号 114 )、AAV6 ( 米国特許出願

50

公開第20030138772号明細書の配列番号65)、AAV7(米国特許出願公開第20030138772号明細書の配列番号1~3)、AAV8(米国特許出願公開第20030138772号明細書の配列番号4及び95)、AAV9(米国特許出願公開第20030138772号明細書の配列番号5及び100)、AAV10(米国特許出願公開第20030138772号明細書の配列番号117)、AAV11(米国特許出願公開第20030138772号明細書の配列番号118)、AAV12(米国特許出願公開第20030138772号明細書の配列番号119)、AAVrh10(米国特許出願公開第20030138772号明細書の配列番号81のアミノ酸1~738)、AAV16.3(米国特許出願公開第20030138772号明細書配列番号10)、AAV29.3/bb.1(米国特許出願公開第20030138772号明細書配列番号11)、AAV29.4(米国特許出願公開第20030138772号明細書配列番号12)、AAV29.5/bb.2(米国特許出願公開第20030138772号明細書配列番号13)、AAV1.3(米国特許出願公開第20030138772号明細書配列番号14)、AAV13.3(米国特許出願公開第20030138772号明細書配列番号15)、AAV24.1(米国特許出願公開第20030138772号明細書配列番号16)、AAV27.3(米国特許出願公開第20030138772号明細書配列番号17)、AAV7.2(米国特許出願公開第20030138772号明細書配列番号18)、AAVC1(米国特許出願公開第20030138772号明細書配列番号19)、AAVC3(米国特許出願公開第20030138772号明細書配列番号20)、AAVC5(米国特許出願公開第20030138772号明細書配列番号21)、AAVF1(米国特許出願公開第20030138772号明細書配列番号22)、AAVF3(米国特許出願公開第20030138772号明細書配列番号23)、AAVF5(米国特許出願公開第20030138772号明細書配列番号24)、AAVH6(米国特許出願公開第20030138772号明細書配列番号25)、AAVH2(米国特許出願公開第20030138772号明細書配列番号26)、AAV42-8(米国特許出願公開第20030138772号明細書配列番号27)、AAV42-15(米国特許出願公開第20030138772号明細書配列番号28)、AAV42-5b(米国特許出願公開第20030138772号明細書配列番号29)、AAV42-1b(米国特許出願公開第20030138772号明細書配列番号30)、AAV42-13(米国特許出願公開第20030138772号明細書配列番号31)、AAV42-3a(米国特許出願公開第20030138772号明細書配列番号32)、AAV42-4(米国特許出願公開第20030138772号明細書配列番号33)、AAV42-5a(米国特許出願公開第20030138772号明細書配列番号34)、AAV42-10(米国特許出願公開第20030138772号明細書配列番号35)、AAV42-3b(米国特許出願公開第20030138772号明細書配列番号36)、AAV42-11(米国特許出願公開第20030138772号明細書配列番号37)、AAV42-6b(米国特許出願公開第20030138772号明細書配列番号38)、AAV43-1(米国特許出願公開第20030138772号明細書配列番号39)、AAV43-5(米国特許出願公開第20030138772号明細書配列番号40)、AAV43-12(米国特許出願公開第20030138772号明細書配列番号41)、AAV43-20(米国特許出願公開第20030138772号明細書配列番号42)、AAV43-21(米国特許出願公開第20030138772号明細書配列番号43)、AAV43-23(米国特許出願公開第20030138772号明細書配列番号44)、AAV43-25(米国特許出願公開第20030138772号明細書配列番号45)、AAV44.1(米国特許出願公開第20030138772号明細書配列番号46)、AAV44.5(米国特許出願公開第20030138772号明細書配列番号47)、AAV223.1(米国特許出願公開第20030138772号明細書配列番号48)、AAV223.2(米国特許出願公開第20030138772号明細書配列番号49)、AAV223.4(米国特許出願公開第20030138772号明細書配列番号50)、AAV223.5(米国特許出願公開第20030138772号

10

20

30

40

50

明細書配列番号 5 1 )、A A V 2 2 3 . 6 ( 米国特許出願公開第 2 0 0 3 0 1 3 8 7 7 2 号明細書配列番号 5 2 )、A A V 2 2 3 . 7 ( 米国特許出願公開第 2 0 0 3 0 1 3 8 7 7 2 号明細書配列番号 5 3 )、A A V A 3 . 4 ( 米国特許出願公開第 2 0 0 3 0 1 3 8 7 7 2 号明細書配列番号 5 4 )、A A V A 3 . 5 ( 米国特許出願公開第 2 0 0 3 0 1 3 8 7 7 2 号明細書配列番号 5 5 )、A A V A 3 . 7 ( 米国特許出願公開第 2 0 0 3 0 1 3 8 7 7 2 号明細書配列番号 5 6 )、A A V A 3 . 3 ( 米国特許出願公開第 2 0 0 3 0 1 3 8 7 7 2 号明細書配列番号 5 7 )、A A V 4 2 . 1 2 ( 米国特許出願公開第 2 0 0 3 0 1 3 8 7 7 2 号明細書配列番号 5 8 )、A A V 4 4 . 2 ( 米国特許出願公開第 2 0 0 3 0 1 3 8 7 7 2 号明細書配列番号 5 9 )、A A V 4 2 - 2 ( 米国特許出願公開第 2 0 0 3 0 1 3 8 7 7 2 号明細書配列番号 9 )、又はこれらのバリエーションなど、米国特許出願公開第 2 0 0 3 0 1 3 8 7 7 2 号明細書 ( この内容は本明細書において全体として参照により援用される ) に記載されるとおりの配列であってもよく、又はそれを有してもよい。

10

## 【 0 6 5 2 】

一部の実施形態において、A A V 血清型は、限定はされないが、A A V 2 ( 米国特許出願公開第 2 0 1 5 0 1 5 9 1 7 3 号明細書の配列番号 7 及び 2 3 )、r h 2 0 ( 米国特許出願公開第 2 0 1 5 0 1 5 9 1 7 3 号明細書の配列番号 1 )、r h 3 2 / 3 3 ( 米国特許出願公開第 2 0 1 5 0 1 5 9 1 7 3 号明細書の配列番号 2 )、r h 3 9 ( 米国特許出願公開第 2 0 1 5 0 1 5 9 1 7 3 号明細書の配列番号 3、2 0 及び 3 6 )、r h 4 6 ( 米国特許出願公開第 2 0 1 5 0 1 5 9 1 7 3 号明細書の配列番号 4 及び 2 2 )、r h 7 3 ( 米国特許出願公開第 2 0 1 5 0 1 5 9 1 7 3 号明細書の配列番号 5 )、r h 7 4 ( 米国特許出願公開第 2 0 1 5 0 1 5 9 1 7 3 号明細書の配列番号 6 )、A A V 6 . 1 ( 米国特許出願公開第 2 0 1 5 0 1 5 9 1 7 3 号明細書の配列番号 2 9 )、r h . 8 ( 米国特許出願公開第 2 0 1 5 0 1 5 9 1 7 3 号明細書の配列番号 4 1 )、r h . 4 8 . 1 ( 米国特許出願公開第 2 0 1 5 0 1 5 9 1 7 3 号明細書の配列番号 4 4 )、h u . 4 4 ( 米国特許出願公開第 2 0 1 5 0 1 5 9 1 7 3 号明細書の配列番号 4 5 )、h u . 2 9 ( 米国特許出願公開第 2 0 1 5 0 1 5 9 1 7 3 号明細書の配列番号 4 2 )、h u . 4 8 ( 米国特許出願公開第 2 0 1 5 0 1 5 9 1 7 3 号明細書の配列番号 3 8 )、r h 5 4 ( 米国特許出願公開第 2 0 1 5 0 1 5 9 1 7 3 号明細書の配列番号 4 9 )、A A V 2 ( 米国特許出願公開第 2 0 1 5 0 1 5 9 1 7 3 号明細書の配列番号 7 )、c y . 5 ( 米国特許出願公開第 2 0 1 5 0 1 5 9 1 7 3 号明細書の配列番号 8 及び 2 4 )、r h . 1 0 ( 米国特許出願公開第 2 0 1 5 0 1 5 9 1 7 3 号明細書の配列番号 9 及び 2 5 )、r h . 1 3 ( 米国特許出願公開第 2 0 1 5 0 1 5 9 1 7 3 号明細書の配列番号 1 0 及び 2 6 )、A A V 1 ( 米国特許出願公開第 2 0 1 5 0 1 5 9 1 7 3 号明細書の配列番号 1 1 及び 2 7 )、A A V 3 ( 米国特許出願公開第 2 0 1 5 0 1 5 9 1 7 3 号明細書の配列番号 1 2 及び 2 8 )、A A V 6 ( 米国特許出願公開第 2 0 1 5 0 1 5 9 1 7 3 号明細書の配列番号 1 3 及び 2 9 )、A A V 7 ( 米国特許出願公開第 2 0 1 5 0 1 5 9 1 7 3 号明細書の配列番号 1 4 及び 3 0 )、A A V 8 ( 米国特許出願公開第 2 0 1 5 0 1 5 9 1 7 3 号明細書の配列番号 1 5 及び 3 1 )、h u . 1 3 ( 米国特許出願公開第 2 0 1 5 0 1 5 9 1 7 3 号明細書の配列番号 1 6 及び 3 2 )、h u . 2 6 ( 米国特許出願公開第 2 0 1 5 0 1 5 9 1 7 3 号明細書の配列番号 1 7 及び 3 3 )、h u . 3 7 ( 米国特許出願公開第 2 0 1 5 0 1 5 9 1 7 3 号明細書の配列番号 1 8 及び 3 4 )、h u . 5 3 ( 米国特許出願公開第 2 0 1 5 0 1 5 9 1 7 3 号明細書の配列番号 1 9 及び 3 5 )、r h . 4 3 ( 米国特許出願公開第 2 0 1 5 0 1 5 9 1 7 3 号明細書の配列番号 2 1 及び 3 7 )、r h 2 ( 米国特許出願公開第 2 0 1 5 0 1 5 9 1 7 3 号明細書の配列番号 3 9 )、r h . 3 7 ( 米国特許出願公開第 2 0 1 5 0 1 5 9 1 7 3 号明細書の配列番号 4 0 )、r h . 6 4 ( 米国特許出願公開第 2 0 1 5 0 1 5 9 1 7 3 号明細書の配列番号 4 3 )、r h . 4 8 ( 米国特許出願公開第 2 0 1 5 0 1 5 9 1 7 3 号明細書の配列番号 4 4 )、c h . 5 ( 米国特許出願公開第 2 0 1 5 0 1 5 9 1 7 3 号明細書の配列番号 4 6 )、r h . 6 7 ( 米国特許出願公開第 2 0 1 5 0 1 5 9 1 7 3 号明細書の配列番号 4 7 )、r h . 5 8 ( 米国特許出願公開第 2 0 1 5 0 1 5 9 1 7 3 号明細書の配列番号 4 8 )、又はこれらのバリエーションなど、限定はされないが、C y 5 R 1、C y 5 R 2、C y 5 R 3、C

20

30

40

50

y 5 R 4、r h . 1 3 R、r h . 3 7 R 2、r h . 2 R、r h . 8 R、r h . 4 8 . 1、r h . 4 8 . 2、r h . 4 8 . 1 . 2、h u . 4 4 R 1、h u . 4 4 R 2、h u . 4 4 R 3、h u . 2 9 R、c h . 5 R 1、r h 6 4 R 1、r h 6 4 R 2、A A V 6 . 2、A A V 6 . 1、A A V 6 . 1 2、h u . 4 8 R 1、h u . 4 8 R 2、及び h u . 4 8 R 3 を含め、米国特許出願公開第 2 0 1 5 0 1 5 9 1 7 3 号明細書（この内容は本明細書において全体として参照により援用される）に記載されるとおりの配列であってもよく、又はそれを有してもよい。

【 0 6 5 3 】

一部の実施形態において、A A V 血清型は、限定はされないが、A A V 9（米国特許第 7 1 9 8 9 5 1 号明細書の配列番号 1 ~ 3）、A A V 2（米国特許第 7 1 9 8 9 5 1 号明細書の配列番号 4）、A A V 1（米国特許第 7 1 9 8 9 5 1 号明細書の配列番号 5）、A A V 3（米国特許第 7 1 9 8 9 5 1 号明細書の配列番号 6）、及び A A V 8（米国特許第 7 1 9 8 9 5 1 号明細書の配列番号 7）など、米国特許第 7 1 9 8 9 5 1 号明細書（この内容は本明細書において全体として参照により援用される）に記載されるとおりの配列であってもよく、又はそれを有してもよい。

10

【 0 6 5 4 】

一部の実施形態において、A A V 血清型は、限定はされないが、A A V 9 . 9、A A V 9 . 1 1、A A V 9 . 1 3、A A V 9 . 1 6、A A V 9 . 2 4、A A V 9 . 4 5、A A V 9 . 4 7、A A V 9 . 6 1、A A V 9 . 6 8、A A V 9 . 8 4 など、N・プリチャーラ（N P u l i c h e r l a）ら（モレキュラー・セラピー（M o l e c u l a r T h e r a p y）、第 1 9 巻、第 6 号、p . 1 0 7 0 ~ 1 0 7 8、2 0 1 1 年、本明細書において全体として参照により援用される）により記載されるとおりの A A V 9 配列における突然変異であってもよく、又はそれを有してもよい。

20

【 0 6 5 5 】

一部の実施形態において、A A V 血清型は、限定はされないが、A A V 3 B（米国特許第 6 1 5 6 3 0 3 号明細書の配列番号 1 及び 1 0）、A A V 6（米国特許第 6 1 5 6 3 0 3 号明細書の配列番号 2、7 及び 1 1）、A A V 2（米国特許第 6 1 5 6 3 0 3 号明細書の配列番号 3 及び 8）、A A V 3 A（米国特許第 6 1 5 6 3 0 3 号明細書の配列番号 4 及び 9）、又はこれらの誘導体など、米国特許第 6 1 5 6 3 0 3 号明細書（この内容は本明細書において全体として参照により援用される）に記載されるとおりの配列であってもよく、又はそれを有してもよい。

30

【 0 6 5 6 】

一部の実施形態において、A A V 血清型は、限定はされないが、A A V 8（米国特許出願公開第 2 0 1 4 0 3 5 9 7 9 9 号明細書の配列番号 1）、A A V D J（米国特許出願公開第 2 0 1 4 0 3 5 9 7 9 9 号明細書の配列番号 2 及び 3）、又はこれらのバリエーションなど、米国特許出願公開第 2 0 1 4 0 3 5 9 7 9 9 号明細書（この内容は本明細書において全体として参照により援用される）に記載されるとおりの配列であってもよく、又はそれを有してもよい。

【 0 6 5 7 】

一部の実施形態において、血清型は、グリム（G r i m m）ら（ジャーナル・オブ・バイロロジー（J o u r n a l o f V i r o l o g y）、第 8 2 巻、第 1 2 号、p . 5 8 8 7 ~ 5 9 1 1、2 0 0 8 年、本明細書において全体として参照により援用される）により記載されるとおり、A A V D J 又はそのバリエーション、例えば A A V D J 8（又は A A V - D J 8）などであってもよい。A A V D J 8 のアミノ酸配列は、ヘパリン結合ドメイン（H B D）を除去するため 2 つ以上の突然変異を含み得る。非限定的な例として、米国特許第 7, 5 8 8, 7 7 2 号明細書（この内容は本明細書において全体として参照により援用される）に配列番号 1 として記載される A A V - D J 配列は、2 つの突然変異：（1）R 5 8 7 Q [アミノ酸 5 8 7 のアルギニン（R ; A r g）がグルタミン（Q ; G l n）に変更される] 及び（2）R 5 9 0 T [アミノ酸 5 9 0 のアルギニン（R ; A r g）がスレオニン（T ; T h r）に変更される] を含み得る。別の非限定的な例として、3 つの突然

40

50

変異：(1) K406R [アミノ酸406のリジン(K; Lys)がアルギニン(R; Arg)に変更される]、(2) R587Q [アミノ酸587のアルギニン(R; Arg)がグルタミン(Q; Gln)に変更される]及び(3) R590T [アミノ酸590のアルギニン(R; Arg)がスレオニン(T; Thr)に変更される]を含み得る。

【0658】

一部の実施形態において、AAV血清型は、限定はされないが、AAV4(国際公開第1998011244号パンフレットの配列番号1~20)など、国際公開第1998011244号パンフレット(この内容は本明細書において全体として参照により援用される)に記載されるとおりのAAV4の配列であってもよく、又はそれを有してもよい。

【0659】

一部の実施形態において、AAV血清型は、国際公開第2014144229号パンフレットに記載され及び本明細書において全体として参照により援用されるとおりのAAV2G9を生じさせるAAV2配列における突然変異であってもよく、又はそれを有してもよい。

【0660】

一部の実施形態において、AAV血清型は、限定はされないが、AAV3-3(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号217)、AAV1(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号219及び202)、AAV106.1/hu.37(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号10)、AAV114.3/hu.40(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号11)、AAV127.2/hu.41(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号6及び8)、AAV128.3/hu.44(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号81)、AAV130.4/hu.48(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号78)、AAV145.1/hu.53(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号176及び177)、AAV145.6/hu.56(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号168及び192)、AAV16.12/hu.11(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号153及び57)、AAV16.8/hu.10(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号156及び56)、AAV161.10/hu.60(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号170)、AAV161.6/hu.61(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号174)、AAV1-7/rh.48(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号32)、AAV1-8/rh.49(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号103及び25)、AAV2(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号211及び221)、AAV2-15/rh.62(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号33及び114)、AAV2-3/rh.61(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号21)、AAV2-4/rh.50(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号23及び108)、AAV2-5/rh.51(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号104及び22)、AAV3.1/hu.6(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号5及び84)、AAV3.1/hu.9(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号155及び58)、AAV3-11/rh.53(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号186及び176)、AAV3-3(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号200)、AAV33.12/hu.17(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号4)、AAV33.4/hu.15(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号50)、AAV33.8/hu.16(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号51)、AAV3-9/rh.52(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号96及び18)、AAV4-19/rh.55(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号117)、AAV4-4(国際公開第200503

10

20

30

40

50

3321号パンフレットの配列番号201及び218)、AAV4-9/rh.54(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号116)、AAV5(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号199及び216)、AAV52.1/hu.20(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号63)、AAV52/hu.19(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号133)、AAV5-22/rh.58(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号27)、AAV5-3/rh.57(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号105)、AAV5-3/rh.57(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号26)、AAV58.2/hu.25(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号49)、AAV6(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号203及び220)、AAV7(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号222及び213)、AAV7.3/hu.7(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号55)、AAV8(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号223及び214)、AAVH-1/hu.1(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号46)、AAVH-5/hu.3(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号44)、AAVhu.1(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号144)、AAVhu.10(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号156)、AAVhu.11(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号153)、AAVhu.12(国際公開第2005033321号パンフレット配列番号59)、AAVhu.13(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号129)、AAVhu.14/AAV9(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号123及び3)、AAVhu.15(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号147)、AAVhu.16(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号148)、AAVhu.17(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号83)、AAVhu.18(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号149)、AAVhu.19(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号133)、AAVhu.2(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号143)、AAVhu.20(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号134)、AAVhu.21(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号135)、AAVhu.22(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号138)、AAVhu.23.2(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号137)、AAVhu.24(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号136)、AAVhu.25(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号146)、AAVhu.27(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号140)、AAVhu.29(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号132)、AAVhu.3(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号145)、AAVhu.31(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号121)、AAVhu.32(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号122)、AAVhu.34(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号125)、AAVhu.35(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号164)、AAVhu.37(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号88)、AAVhu.39(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号102)、AAVhu.4(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号141)、AAVhu.40(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号87)、AAVhu.41(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号91)、AAVhu.42(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号85)、AAVhu.43(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号160)、AAVhu.44(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号144)、AAVhu.45(国際公

10

20

30

40

50

開第2005033321号パンフレットの配列番号127)、AAVhu.46(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号159)、AAVhu.47(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号128)、AAVhu.48(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号157)、AAVhu.49(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号189)、AAVhu.51(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号190)、AAVhu.52(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号191)、AAVhu.53(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号186)、AAVhu.54(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号188)、AAVhu.55(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号187)、AAVhu.56(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号192)、AAVhu.57(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号193)、AAVhu.58(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号194)、AAVhu.6(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号84)、AAVhu.60(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号184)、AAVhu.61(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号185)、AAVhu.63(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号195)、AAVhu.64(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号196)、AAVhu.66(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号197)、AAVhu.67(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号198)、AAVhu.7(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号150)、AAVhu.8(国際公開第2005033321号パンフレット配列番号12)、AAVhu.9(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号155)、AAVLG-10/rh.40(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号14)、AAVLG-4/rh.38(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号86)、AAVLG-4/rh.38(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号7)、AAVN721-8/rh.43(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号163)、AAVN721-8/rh.43(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号43)、AAVpi.1(国際公開第2005033321号パンフレット配列番号28)、AAVpi.2(国際公開第2005033321号パンフレット配列番号30)、AAVpi.3(国際公開第2005033321号パンフレット配列番号29)、AAVrh.38(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号86)、AAVrh.40(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号92)、AAVrh.43(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号163)、AAVrh.44(国際公開第2005033321号パンフレット配列番号34)、AAVrh.45(国際公開第2005033321号パンフレット配列番号41)、AAVrh.47(国際公開第2005033321号パンフレット配列番号38)、AAVrh.48(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号115)、AAVrh.49(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号103)、AAVrh.50(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号108)、AAVrh.51(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号104)、AAVrh.52(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号96)、AAVrh.53(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号97)、AAVrh.55(国際公開第2005033321号パンフレット配列番号37)、AAVrh.56(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号152)、AAVrh.57(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号105)、AAVrh.58(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号106)、AAVrh.59(国際公開第2005033321号パンフレット配列番号42)、AAVrh.60(国際公開第2005033321号パンフレット配列番号31)、AAVrh.61(国

10

20

30

40

50

際公開第2005033321号パンフレットの配列番号107)、AAVrh.62(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号114)、AAVrh.64(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号99)、AAVrh.65(国際公開第2005033321号パンフレット配列番号35)、AAVrh.68(国際公開第2005033321号パンフレット配列番号16)、AAVrh.69(国際公開第2005033321号パンフレット配列番号39)、AAVrh.70(国際公開第2005033321号パンフレット配列番号20)、AAVrh.72(国際公開第2005033321号パンフレット配列番号9)、又はこれらのバリエーションなど、限定はされないが、AAVcy.2、AAVcy.3、AAVcy.4、AAVcy.5、AAVcy.6、AAVrh.12、AAVrh.17、AAVrh.18、AAVrh.19、AAVrh.21、AAVrh.22、AAVrh.23、AAVrh.24、AAVrh.25、AAVrh.25/42 15、AAVrh.31、AAVrh.32、AAVrh.33、AAVrh.34、AAVrh.35、AAVrh.36、AAVrh.37、AAVrh.14を含め、国際公開第2005033321号パンフレット(この内容は本明細書において全体として参照により援用される)に記載されるとおりの配列であってもよく、又はそれを有してもよい。バリエーションの非限定的な例としては、国際公開第2005033321号パンフレット(この内容は本明細書において全体として参照により援用される)の配列番号13、15、17、19、24、36、40、45、47、48、51~54、60~62、64~77、79、80、82、89、90、93~95、98、100、101、109~113、118~120、124、126、131、139、142、151、154、158、161、162、165~183、202、204~212、215、219、224~236が挙げられる。

【0661】

一部の実施形態において、AAV血清型は、限定はされないが、AAVrh8R(国際公開第2015168666号パンフレットの配列番号9)、AAVrh8R A586R突然変異体(国際公開第2015168666号パンフレットの配列番号10)、AAVrh8R R533A突然変異体(国際公開第2015168666号パンフレットの配列番号11)、又はこれらのバリエーションなど、国際公開第2015168666号パンフレット(この内容は本明細書において全体として参照により援用される)に記載されるとおりの配列であってもよく、又はそれを有してもよい。

【0662】

一部の実施形態において、AAV血清型は、限定はされないが、AAVhE1.1(米国特許第9233131号明細書の配列番号44)、AAVhEr1.5(米国特許第9233131号明細書の配列番号45)、AAVhEr1.14(米国特許第9233131号明細書の配列番号46)、AAVhEr1.8(米国特許第9233131号明細書の配列番号47)、AAVhEr1.16(米国特許第9233131号明細書の配列番号48)、AAVhEr1.18(米国特許第9233131号明細書の配列番号49)、AAVhEr1.35(米国特許第9233131号明細書の配列番号50)、AAVhEr1.7(米国特許第9233131号明細書の配列番号51)、AAVhEr1.36(米国特許第9233131号明細書の配列番号52)、AAVhEr2.29(米国特許第9233131号明細書の配列番号53)、AAVhEr2.4(米国特許第9233131号明細書の配列番号54)、AAVhEr2.16(米国特許第9233131号明細書の配列番号55)、AAVhEr2.30(米国特許第9233131号明細書の配列番号56)、AAVhEr2.31(米国特許第9233131号明細書の配列番号58)、AAVhEr2.36(米国特許第9233131号明細書の配列番号57)、AAVhEr1.23(米国特許第9233131号明細書の配列番号53)、AAVhEr3.1(米国特許第9233131号明細書の配列番号59)、AAV2.5T(米国特許第9233131号明細書の配列番号42)、又はこれらのバリエーションなど、米国特許第9233131号明細書(この内容は本明細書において全体として参照により援用される)に記載されるとおりの配列であってもよく、又はそれを有してもよい。

10

20

30

40

50

## 【0663】

一部の実施形態において、AAV血清型は、限定はされないが、AAV-PAEC（米国特許出願公開第20150376607号明細書の配列番号1）、AAV-LK01（米国特許出願公開第20150376607号明細書の配列番号2）、AAV-LK02（米国特許出願公開第20150376607号明細書の配列番号3）、AAV-LK03（米国特許出願公開第20150376607号明細書の配列番号4）、AAV-LK04（米国特許出願公開第20150376607号明細書の配列番号5）、AAV-LK05（米国特許出願公開第20150376607号明細書の配列番号6）、AAV-LK06（米国特許出願公開第20150376607号明細書の配列番号7）、AAV-LK07（米国特許出願公開第20150376607号明細書の配列番号8）、AAV-LK08（米国特許出願公開第20150376607号明細書の配列番号9）、AAV-LK09（米国特許出願公開第20150376607号明細書の配列番号10）、AAV-LK10（米国特許出願公開第20150376607号明細書の配列番号11）、AAV-LK11（米国特許出願公開第20150376607号明細書の配列番号12）、AAV-LK12（米国特許出願公開第20150376607号明細書の配列番号13）、AAV-LK13（米国特許出願公開第20150376607号明細書の配列番号14）、AAV-LK14（米国特許出願公開第20150376607号明細書の配列番号15）、AAV-LK15（米国特許出願公開第20150376607号明細書の配列番号16）、AAV-LK16（米国特許出願公開第20150376607号明細書の配列番号17）、AAV-LK17（米国特許出願公開第20150376607号明細書の配列番号18）、AAV-LK18（米国特許出願公開第20150376607号明細書の配列番号19）、AAV-LK19（米国特許出願公開第20150376607号明細書の配列番号20）、AAV-PAEC2（米国特許出願公開第20150376607号明細書の配列番号21）、AAV-PAEC4（米国特許出願公開第20150376607号明細書の配列番号22）、AAV-PAEC6（米国特許出願公開第20150376607号明細書の配列番号23）、AAV-PAEC7（米国特許出願公開第20150376607号明細書の配列番号24）、AAV-PAEC8（米国特許出願公開第20150376607号明細書の配列番号25）、AAV-PAEC11（米国特許出願公開第20150376607号明細書の配列番号26）、AAV-PAEC12（米国特許出願公開第20150376607号明細書の配列番号27）、又はこれらのバリエーションなど、米国特許出願公開第20150376607号明細書（この内容は本明細書において全体として参照により援用される）に記載されるとおりの配列であってもよく、又はそれを有してもよい。

## 【0664】

一部の実施形態において、AAV血清型は、限定はされないが、AAV-2-pre-miRNA-101（配列番号1 米国特許第9163261号明細書）、又はそのバリエーションなど、米国特許第9163261号明細書（この内容は本明細書において全体として参照により援用される）に記載されるとおりの配列であってもよく、又はそれを有してもよい。

## 【0665】

一部の実施形態において、AAV血清型は、限定はされないが、AAV-8h（米国特許出願公開第20150376240号明細書の配列番号6）、AAV-8b（米国特許出願公開第20150376240号明細書の配列番号5）、AAV-h（米国特許出願公開第20150376240号明細書の配列番号2）、AAV-b（米国特許出願公開第20150376240号明細書の配列番号1）、又はこれらのバリエーションなど、米国特許出願公開第20150376240号明細書（この内容は本明細書において全体として参照により援用される）に記載されるとおりの配列であってもよく、又はそれを有してもよい。

## 【0666】

一部の実施形態において、AAV血清型は、限定はされないが、AAV SM 10-2（

10

20

30

40

50

米国特許出願公開第20160017295号明細書の配列番号22)、AAVシャッフル100-1(米国特許出願公開第20160017295号明細書の配列番号23)、AAVシャッフル100-3(米国特許出願公開第20160017295号明細書の配列番号24)、AAVシャッフル100-7(米国特許出願公開第20160017295号明細書の配列番号25)、AAVシャッフル10-2(米国特許出願公開第20160017295号明細書の配列番号34)、AAVシャッフル10-6(米国特許出願公開第20160017295号明細書の配列番号35)、AAVシャッフル10-8(米国特許出願公開第20160017295号明細書の配列番号36)、AAVシャッフル100-2(米国特許出願公開第20160017295号明細書の配列番号37)、AAV SM 10-1(米国特許出願公開第20160017295号明細書の配列番号38)、AAV SM 10-8(米国特許出願公開第20160017295号明細書の配列番号39)、AAV SM 100-3(米国特許出願公開第20160017295号明細書の配列番号40)、AAV SM 100-10(米国特許出願公開第20160017295号明細書の配列番号41)、又はこれらのバリエーションなど、米国特許出願公開第20160017295号明細書(この内容は本明細書において全体として参照により援用される)に記載されるとおりの配列であってもよく、又はそれを有してもよい。

10

## 【0667】

一部の実施形態において、AAV血清型は、限定はされないが、BNP61 AAV(米国特許出願公開第20150238550号明細書の配列番号1)、BNP62 AAV(米国特許出願公開第20150238550号明細書の配列番号3)、BNP63 AAV(米国特許出願公開第20150238550号明細書の配列番号4)、又はこれらのバリエーションなど、米国特許出願公開第20150238550号明細書(この内容は本明細書において全体として参照により援用される)に記載されるとおりの配列であってもよく、又はそれを有してもよい。

20

## 【0668】

一部の実施形態において、AAV血清型は、限定はされないが、AAVrh.50(米国特許出願公開第20150315612号明細書の配列番号108)、AAVrh.43(米国特許出願公開第20150315612号明細書の配列番号163)、AAVrh.62(米国特許出願公開第20150315612号明細書の配列番号114)、AAVrh.48(米国特許出願公開第20150315612号明細書の配列番号115)、AAVhu.19(米国特許出願公開第20150315612号明細書の配列番号133)、AAVhu.11(米国特許出願公開第20150315612号明細書の配列番号153)、AAVhu.53(米国特許出願公開第20150315612号明細書の配列番号186)、AAV4-8/rh.64(米国特許出願公開第20150315612号明細書の配列番号15)、AAVLG-9/hu.39(米国特許出願公開第20150315612号明細書の配列番号24)、AAV54.5/hu.23(米国特許出願公開第20150315612号明細書の配列番号60)、AAV54.2/hu.22(米国特許出願公開第20150315612号明細書の配列番号67)、AAV54.7/hu.24(米国特許出願公開第20150315612号明細書の配列番号66)、AAV54.1/hu.21(米国特許出願公開第20150315612号明細書の配列番号65)、AAV54.4R/hu.27(米国特許出願公開第20150315612号明細書の配列番号64)、AAV46.2/hu.28(米国特許出願公開第20150315612号明細書の配列番号68)、AAV46.6/hu.29(米国特許出願公開第20150315612号明細書の配列番号69)、AAV128.1/hu.43(米国特許出願公開第20150315612号明細書の配列番号80)、又はこれらのバリエーションなど、米国特許出願公開第20150315612号明細書(この内容は本明細書において全体として参照により援用される)に記載されるとおりの配列であってもよく、又はそれを有してもよい。

30

40

## 【0669】

一部の実施形態において、AAV血清型は、限定はされないが、トゥルータイプAAV(

50

t t A A V ) ( 国際公開第 2 0 1 5 1 2 1 5 0 1 号パンフレットの配列番号 2 )、 「ユー  
ペン A A V 1 0 」 ( 国際公開第 2 0 1 5 1 2 1 5 0 1 号パンフレットの配列番号 8 )、 「  
ジャパニーズ A A V 1 0 」 ( 国際公開第 2 0 1 5 1 2 1 5 0 1 号パンフレットの配列番号  
9 )、又はこれらのバリエーションなど、国際公開第 2 0 1 5 1 2 1 5 0 1 号パンフレット (   
この内容は本明細書において全体として参照により援用される ) に記載されるとおりの配  
列であってもよく、又はそれを有してもよい。

【 0 6 7 0 】

本発明によれば、 A A V カプシド血清型の選択又は使用は様々な種からであってよい。一  
実施形態において、 A A V は鳥類 A A V ( A A A V ) であってもよい。 A A A V 血清型は  
、限定はされないが、 A A A V ( 米国特許第 9 , 2 3 8 , 8 0 0 号明細書の配列番号 1、  
2、4、6、8、10、12、及び 14 )、又はそのバリエーションなど、米国特許第 9 2 3  
8 8 0 0 号明細書 ( この内容は本明細書において全体として参照により援用される ) に記  
載されるとおりの配列であってもよく、又はそれを有してもよい。

10

【 0 6 7 1 】

一実施形態において、 A A V はウシ A A V ( B A A V ) であってもよい。 B A A V 血清型  
は、限定はされないが、 B A A V ( 米国特許第 9 1 9 3 7 6 9 号明細書の配列番号 1 及び  
6 )、又はそのバリエーションなど、米国特許第 9 , 1 9 3 , 7 6 9 号明細書 ( この内容は本  
明細書において全体として参照により援用される ) に記載されるとおりの配列であって  
もよく、又はそれを有してもよい。 B A A V 血清型は、限定はされないが、 B A A V ( 米  
国特許第 7 4 2 7 3 9 6 号明細書の配列番号 5 及び 6 )、又はそのバリエーションなど、米  
国特許第 7 4 2 7 3 9 6 号明細書 ( この内容は本明細書において全体として参照により援用  
される ) に記載されるとおりの配列であってもよく、又はそれを有してもよい。

20

【 0 6 7 2 】

一実施形態において、 A A V はヤギ A A V であってもよい。ヤギ A A V 血清型は、限定は  
されないが、ヤギ A A V ( 米国特許第 7 4 2 7 3 9 6 号明細書の配列番号 3 )、又はその  
バリエーションなど、米国特許第 7 4 2 7 3 9 6 号明細書 ( この内容は本明細書において全  
体として参照により援用される ) に記載されるとおりの配列であってもよく、又はそれを  
有してもよい。

【 0 6 7 3 】

他の実施形態において、 A A V は 2 つ以上の親血清型からハイブリッド A A V として操作  
されてもよい。一実施形態において、この A A V は、 A A V 2 及び A A V 9 からの配列を  
含む A A V 2 G 9 であってもよい。 A A V 2 G 9 A A V 血清型は、米国特許出願公開第  
2 0 1 6 0 0 1 7 0 0 5 号明細書 ( この内容は本明細書において全体として参照により援  
用される ) に記載されるとおりの配列であってもよく、又はそれを有してもよい。

30

【 0 6 7 4 】

一実施形態において、 A A V は、プリチャーラ ( P u l i c h e r l a ) ら ( モレキュ  
ー・セラピー ( M o l e c u l a r T h e r a p y )、第 1 9 巻、第 6 号、 p . 1 0 7  
0 ~ 1 0 7 8、2 0 1 1 年 ( この内容は本明細書において全体として参照により援用され  
る ) により記載されるとおりのアミノ酸 3 9 0 ~ 6 2 7 ( V P 1 付番 ) に突然変異を有す  
る A A V 9 カプシドライブラリによって生成された血清型であってもよい。血清型並びに  
対応するヌクレオチド及びアミノ酸置換は、限定はされないが、 A A V 9 . 1 ( G 1 5 9  
4 C ; D 5 3 2 H )、 A A V 6 . 2 ( T 1 4 1 8 A 及び T 1 4 3 6 X ; V 4 7 3 D 及び I  
4 7 9 K )、 A A V 9 . 3 ( T 1 2 3 8 A ; F 4 1 3 Y )、 A A V 9 . 4 ( T 1 2 5 0 C  
及び A 1 6 1 7 T ; F 4 1 7 S )、 A A V 9 . 5 ( A 1 2 3 5 G、 A 1 3 1 4 T、 A 1 6  
4 2 G、 C 1 7 6 0 T ; Q 4 1 2 R、 T 5 4 8 A、 A 5 8 7 V )、 A A V 9 . 6 ( T 1 2  
3 1 A ; F 4 1 1 I )、 A A V 9 . 9 ( G 1 2 0 3 A、 G 1 7 8 5 T ; W 5 9 5 C )、 A  
A V 9 . 1 0 ( A 1 5 0 0 G、 T 1 6 7 6 C ; M 5 5 9 T )、 A A V 9 . 1 1 ( A 1 4 2  
5 T、 A 1 7 0 2 C、 A 1 7 6 9 T ; T 5 6 8 P、 Q 5 9 0 L )、 A A V 9 . 1 3 ( A 1  
3 6 9 C、 A 1 7 2 0 T ; N 4 5 7 H、 T 5 7 4 S )、 A A V 9 . 1 4 ( T 1 3 4 0 A、  
T 1 3 6 2 C、 T 1 5 6 0 C、 G 1 7 1 3 A ; L 4 4 7 H )、 A A V 9 . 1 6 ( A 1 7 7

40

50

5 T ; Q 5 9 2 L ) 、 A A V 9 . 2 4 ( T 1 5 0 7 C 、 T 1 5 2 1 G ; W 5 0 3 R ) 、 A A V 9 . 2 6 ( A 1 3 3 7 G 、 A 1 7 6 9 C ; Y 4 4 6 C 、 Q 5 9 0 P ) 、 A A V 9 . 3 3 ( A 1 6 6 7 C ; D 5 5 6 A ) 、 A A V 9 . 3 4 ( A 1 5 3 4 G 、 C 1 7 9 4 T ; N 5 1 2 D ) 、 A A V 9 . 3 5 ( A 1 2 8 9 T 、 T 1 4 5 0 A 、 C 1 4 9 4 T 、 A 1 5 1 5 T 、 C 1 7 9 4 A 、 G 1 8 1 6 A ; Q 4 3 0 L 、 Y 4 8 4 N 、 N 9 8 K 、 V 6 0 6 I ) 、 A A V 9 . 4 0 ( A 1 6 9 4 T 、 E 5 6 5 V ) 、 A A V 9 . 4 1 ( A 1 3 4 8 T 、 T 1 3 6 2 C ; T 4 5 0 S ) 、 A A V 9 . 4 4 ( A 1 6 8 4 C 、 A 1 7 0 1 T 、 A 1 7 3 7 G ; N 5 6 2 H 、 K 5 6 7 N ) 、 A A V 9 . 4 5 ( A 1 4 9 2 T 、 C 1 8 0 4 T ; N 4 9 8 Y 、 L 6 0 2 F ) 、 A A V 9 . 4 6 ( G 1 4 4 1 C 、 T 1 5 2 5 C 、 T 1 5 4 9 G ; G 4 8 1 R 、 W 5 0 9 R 、 L 5 1 7 V ) 、 9 . 4 7 ( G 1 2 4 1 A 、 G 1 3 5 8 A 、 A 1 6 6 9 G 、 C 1 7 4 5 T ; S 4 1 4 N 、 G 4 5 3 D 、 K 5 5 7 E 、 T 5 8 2 I ) 、 A A V 9 . 4 8 ( C 1 4 4 5 T 、 A 1 7 3 6 T ; P 4 8 2 L 、 Q 5 7 9 L ) 、 A A V 9 . 5 0 ( A 1 6 3 8 T 、 C 1 6 8 3 T 、 T 1 8 0 5 A ; Q 5 4 6 H 、 L 6 0 2 H ) 、 A A V 9 . 5 3 ( G 1 3 0 1 A 、 A 1 4 0 5 C 、 C 1 6 6 4 T 、 G 1 8 1 1 T ; R 1 3 4 Q 、 S 4 6 9 R 、 A 5 5 5 V 、 G 6 0 4 V ) 、 A A V 9 . 5 4 ( C 1 5 3 1 A 、 T 1 6 0 9 A ; L 5 1 1 I 、 L 5 3 7 M ) 、 A A V 9 . 5 5 ( T 1 6 0 5 A ; F 5 3 5 L ) 、 A A V 9 . 5 8 ( C 1 4 7 5 T 、 C 1 5 7 9 A ; T 4 9 2 I 、 H 5 2 7 N ) 、 A A V . 5 9 ( T 1 3 3 6 C ; Y 4 4 6 H ) 、 A A V 9 . 6 1 ( A 1 4 9 3 T ; N 4 9 8 I ) 、 A A V 9 . 6 4 ( C 1 5 3 1 A 、 A 1 6 1 7 T ; L 5 1 1 I ) 、 A A V 9 . 6 5 ( C 1 3 3 5 T 、 T 1 5 3 0 C 、 C 1 5 6 8 A ; A 5 2 3 D ) 、 A A V 9 . 6 8 ( C 1 5 1 0 A ; P 5 0 4 T ) 、 A A V 9 . 8 0 ( G 1 4 4 1 A 、 ; G 4 8 1 R ) 、 A A V 9 . 8 3 ( C 1 4 0 2 A 、 A 1 5 0 0 T ; P 4 6 8 T 、 E 5 0 0 D ) 、 A A V 9 . 8 7 ( T 1 4 6 4 C 、 T 1 4 6 8 C ; S 4 9 0 P ) 、 A A V 9 . 9 0 ( A 1 1 9 6 T ; Y 3 9 9 F ) 、 A A V 9 . 9 1 ( T 1 3 1 6 G 、 A 1 5 8 3 T 、 C 1 7 8 2 G 、 T 1 8 0 6 C ; L 4 3 9 R 、 K 5 2 8 I ) 、 A A V 9 . 9 3 ( A 1 2 7 3 G 、 A 1 4 2 1 G 、 A 1 6 3 8 C 、 C 1 7 1 2 T 、 G 1 7 3 2 A 、 A 1 7 4 4 T 、 A 1 8 3 2 T ; S 4 2 5 G 、 Q 4 7 4 R 、 Q 5 4 6 H 、 P 5 7 1 L 、 G 5 7 8 R 、 T 5 8 2 S 、 D 6 1 1 V ) 、 A A V 9 . 9 4 ( A 1 6 7 5 T ; M 5 5 9 L ) 及び A A V 9 . 9 5 ( T 1 6 0 5 A ; F 5 3 5 L ) であってもよい。

10

20

【 0 6 7 5 】

一部の実施形態において、A A V 血清型は、限定はされないが、A A V F 1 / H S C 1 ( 国際公開第 2 0 1 6 0 4 9 2 3 0 号パンフレットの配列番号 2 及び 2 0 ) 、 A A V F 2 / H S C 2 ( 国際公開第 2 0 1 6 0 4 9 2 3 0 号パンフレットの配列番号 3 及び 2 1 ) 、 A A V F 3 / H S C 3 ( 国際公開第 2 0 1 6 0 4 9 2 3 0 号パンフレットの配列番号 5 及び 2 2 ) 、 A A V F 4 / H S C 4 ( 国際公開第 2 0 1 6 0 4 9 2 3 0 号パンフレットの配列番号 6 及び 2 3 ) 、 A A V F 5 / H S C 5 ( 国際公開第 2 0 1 6 0 4 9 2 3 0 号パンフレットの配列番号 1 1 及び 2 5 ) 、 A A V F 6 / H S C 6 ( 国際公開第 2 0 1 6 0 4 9 2 3 0 号パンフレットの配列番号 7 及び 2 4 ) 、 A A V F 7 / H S C 7 ( 国際公開第 2 0 1 6 0 4 9 2 3 0 号パンフレットの配列番号 8 及び 2 7 ) 、 A A V F 8 / H S C 8 ( 国際公開第 2 0 1 6 0 4 9 2 3 0 号パンフレットの配列番号 9 及び 2 8 ) 、 A A V F 9 / H S C 9 ( 国際公開第 2 0 1 6 0 4 9 2 3 0 号パンフレットの配列番号 1 0 及び 2 9 ) 、 A A V F 1 1 / H S C 1 1 ( 国際公開第 2 0 1 6 0 4 9 2 3 0 号パンフレットの配列番号 4 及び 2 6 ) 、 A A V F 1 2 / H S C 1 2 ( 国際公開第 2 0 1 6 0 4 9 2 3 0 号パンフレットの配列番号 1 2 及び 3 0 ) 、 A A V F 1 3 / H S C 1 3 ( 国際公開第 2 0 1 6 0 4 9 2 3 0 号パンフレットの配列番号 1 4 及び 3 1 ) 、 A A V F 1 4 / H S C 1 4 ( 国際公開第 2 0 1 6 0 4 9 2 3 0 号パンフレットの配列番号 1 5 及び 3 2 ) 、 A A V F 1 5 / H S C 1 5 ( 国際公開第 2 0 1 6 0 4 9 2 3 0 号パンフレットの配列番号 1 6 及び 3 3 ) 、 A A V F 1 6 / H S C 1 6 ( 国際公開第 2 0 1 6 0 4 9 2 3 0 号パンフレットの配列番号 1 7 及び 3 4 ) 、 A A V F 1 7 / H S C 1 7 ( 国際公開第 2 0 1 6 0 4 9 2 3 0 号パンフレットの配列番号 1 3 及び 3 5 ) 、 又はこれらのバリエーション若しくは誘導体など、国際公開第 2 0 1 6 0 4 9 2 3 0 号パンフレット ( この内容は本明細書において全体として参照により援用

30

40

50

される)に記載されるとおりの配列であってもよく、又はそれを有してもよい。

【0676】

一部の実施形態において、AAV血清型は、限定はされないが、AAV CBr - E 1 (米国特許第8734809号明細書の配列番号13及び87)、AAV CBr - E 2 (米国特許第8734809号明細書の配列番号14及び88)、AAV CBr - E 3 (米国特許第8734809号明細書の配列番号15及び89)、AAV CBr - E 4 (米国特許第8734809号明細書の配列番号16及び90)、AAV CBr - E 5 (米国特許第8734809号明細書の配列番号17及び91)、AAV CBr - e 5 (米国特許第8734809号明細書の配列番号18及び92)、AAV CBr - E 6 (米国特許第8734809号明細書の配列番号19及び93)、AAV CBr - E 7 (米国特許第8734809号明細書の配列番号20及び94)、AAV CBr - E 8 (米国特許第8734809号明細書の配列番号21及び95)、AAV CLv - D 1 (米国特許第8734809号明細書の配列番号22及び96)、AAV CLv - D 2 (米国特許第8734809号明細書の配列番号23及び97)、AAV CLv - D 3 (米国特許第8734809号明細書の配列番号24及び98)、AAV CLv - D 4 (米国特許第8734809号明細書の配列番号25及び99)、AAV CLv - D 5 (米国特許第8734809号明細書の配列番号26及び100)、AAV CLv - D 6 (米国特許第8734809号明細書の配列番号27及び101)、AAV CLv - D 7 (米国特許第8734809号明細書の配列番号28及び102)、AAV CLv - D 8 (米国特許第8734809号明細書の配列番号29及び103)、AAV CLv - E 1 (米国特許第8734809号明細書の配列番号13及び87)、AAV CLv - R 1 (米国特許第8734809号明細書の配列番号30及び104)、AAV CLv - R 2 (米国特許第8734809号明細書の配列番号31及び105)、AAV CLv - R 3 (米国特許第8734809号明細書の配列番号32及び106)、AAV CLv - R 4 (米国特許第8734809号明細書の配列番号33及び107)、AAV CLv - R 5 (米国特許第8734809号明細書の配列番号34及び108)、AAV CLv - R 6 (米国特許第8734809号明細書の配列番号35及び109)、AAV CLv - R 7 (米国特許第8734809号明細書の配列番号36及び110)、AAV CLv - R 8 (米国特許第8734809号明細書の配列番号37及び111)、AAV CLv - R 9 (米国特許第8734809号明細書の配列番号38及び112)、AAV CLg - F 1 (米国特許第8734809号明細書の配列番号39及び113)、AAV CLg - F 2 (米国特許第8734809号明細書の配列番号40及び114)、AAV CLg - F 3 (米国特許第8734809号明細書の配列番号41及び115)、AAV CLg - F 4 (米国特許第8734809号明細書の配列番号42及び116)、AAV CLg - F 5 (米国特許第8734809号明細書の配列番号43及び117)、AAV CLg - F 6 (米国特許第8734809号明細書の配列番号43及び117)、AAV CLg - F 7 (米国特許第8734809号明細書の配列番号44及び118)、AAV CLg - F 8 (米国特許第8734809号明細書の配列番号43及び117)、AAV CSp - 1 (米国特許第8734809号明細書の配列番号45及び119)、AAV CSp - 10 (米国特許第8734809号明細書の配列番号46及び120)、AAV CSp - 11 (米国特許第8734809号明細書の配列番号47及び121)、AAV CSp - 2 (米国特許第8734809号明細書の配列番号48及び122)、AAV CSp - 3 (米国特許第8734809号明細書の配列番号49及び123)、AAV CSp - 4 (米国特許第8734809号明細書の配列番号50及び124)、AAV CSp - 6 (米国特許第8734809号明細書の配列番号51及び125)、AAV CSp - 7 (米国特許第8734809号明細書の配列番号52及び126)、AAV CSp - 8 (米国特許第8734809号明細書の配列番号53及び127)、AAV CSp - 9 (米国特許第8734809号明細書の配列番号54及び128)、AAV CHt - 2 (米国特許第8734809号明細書の配列番号55及び129)、AAV CHt - 3 (米国特許第8734809号明細書の配列番号56及び130)、AAV

10

20

30

40

50

C K d - 1 ( 米国特許第 8 7 3 4 8 0 9 号明細書の配列番号 5 7 及び 1 3 1 )、 A A V  
 C K d - 1 0 ( 米国特許第 8 7 3 4 8 0 9 号明細書の配列番号 5 8 及び 1 3 2 )、 A A V  
 C K d - 2 ( 米国特許第 8 7 3 4 8 0 9 号明細書の配列番号 5 9 及び 1 3 3 )、 A A V  
 C K d - 3 ( 米国特許第 8 7 3 4 8 0 9 号明細書の配列番号 6 0 及び 1 3 4 )、 A A V  
 C K d - 4 ( 米国特許第 8 7 3 4 8 0 9 号明細書の配列番号 6 1 及び 1 3 5 )、 A A V  
 C K d - 6 ( 米国特許第 8 7 3 4 8 0 9 号明細書の配列番号 6 2 及び 1 3 6 )、 A A V  
 C K d - 7 ( 米国特許第 8 7 3 4 8 0 9 号明細書の配列番号 6 3 及び 1 3 7 )、 A A V  
 C K d - 8 ( 米国特許第 8 7 3 4 8 0 9 号明細書の配列番号 6 4 及び 1 3 8 )、 A A V  
 C L v - 1 ( 米国特許第 8 7 3 4 8 0 9 号明細書の配列番号 3 5 及び 1 3 9 )、 A A V  
 C L v - 1 2 ( 米国特許第 8 7 3 4 8 0 9 号明細書の配列番号 6 6 及び 1 4 0 )、 A A V 10  
 C L v - 1 3 ( 米国特許第 8 7 3 4 8 0 9 号明細書の配列番号 6 7 及び 1 4 1 )、 A A V  
 C L v - 2 ( 米国特許第 8 7 3 4 8 0 9 号明細書の配列番号 6 8 及び 1 4 2 )、 A A V  
 C L v - 3 ( 米国特許第 8 7 3 4 8 0 9 号明細書の配列番号 6 9 及び 1 4 3 )、 A A V  
 C L v - 4 ( 米国特許第 8 7 3 4 8 0 9 号明細書の配列番号 7 0 及び 1 4 4 )、 A A V  
 C L v - 6 ( 米国特許第 8 7 3 4 8 0 9 号明細書の配列番号 7 1 及び 1 4 5 )、 A A V  
 C L v - 8 ( 米国特許第 8 7 3 4 8 0 9 号明細書の配列番号 7 2 及び 1 4 6 )、 A A V  
 C K d - B 1 ( 米国特許第 8 7 3 4 8 0 9 号明細書の配列番号 7 3 及び 1 4 7 )、 A A V  
 C K d - B 2 ( 米国特許第 8 7 3 4 8 0 9 号明細書の配列番号 7 4 及び 1 4 8 )、 A A V  
 C K d - B 3 ( 米国特許第 8 7 3 4 8 0 9 号明細書の配列番号 7 5 及び 1 4 9 )、 A A V  
 C K d - B 4 ( 米国特許第 8 7 3 4 8 0 9 号明細書の配列番号 7 6 及び 1 5 0 )、 A A V 20  
 C K d - B 5 ( 米国特許第 8 7 3 4 8 0 9 号明細書の配列番号 7 7 及び 1 5 1 )、 A A V  
 C K d - B 6 ( 米国特許第 8 7 3 4 8 0 9 号明細書の配列番号 7 8 及び 1 5 2 )、 A A V  
 C K d - B 7 ( 米国特許第 8 7 3 4 8 0 9 号明細書の配列番号 7 9 及び 1 5 3 )、 A A V  
 C K d - B 8 ( 米国特許第 8 7 3 4 8 0 9 号明細書の配列番号 8 0 及び 1 5 4 )、 A A V  
 C K d - H 1 ( 米国特許第 8 7 3 4 8 0 9 号明細書の配列番号 8 1 及び 1 5 5 )、 A A V  
 C K d - H 2 ( 米国特許第 8 7 3 4 8 0 9 号明細書の配列番号 8 2 及び 1 5 6 )、 A A V  
 C K d - H 3 ( 米国特許第 8 7 3 4 8 0 9 号明細書の配列番号 8 3 及び 1 5 7 )、 A A V  
 C K d - H 4 ( 米国特許第 8 7 3 4 8 0 9 号明細書の配列番号 8 4 及び 1 5 8 )、 A A V  
 C K d - H 5 ( 米国特許第 8 7 3 4 8 0 9 号明細書の配列番号 8 5 及び 1 5 9 )、 A A V  
 C K d - H 6 ( 米国特許第 8 7 3 4 8 0 9 号明細書の配列番号 7 7 及び 1 5 1 )、 A A V 30  
 C H t - 1 ( 米国特許第 8 7 3 4 8 0 9 号明細書の配列番号 8 6 及び 1 6 0 )、 A A V  
 C L v 1 - 1 ( 米国特許第 8 7 3 4 8 0 9 号明細書の配列番号 1 7 1 )、 A A V C L v  
 1 - 2 ( 米国特許第 8 7 3 4 8 0 9 号明細書の配列番号 1 7 2 )、 A A V C L v 1 - 3  
 ( 米国特許第 8 7 3 4 8 0 9 号明細書の配列番号 1 7 3 )、 A A V C L v 1 - 4 ( 米国  
 特許第 8 7 3 4 8 0 9 号明細書の配列番号 1 7 4 )、 A A V C l v 1 - 7 ( 米国特許第  
 8 7 3 4 8 0 9 号明細書の配列番号 1 7 5 )、 A A V C l v 1 - 8 ( 米国特許第 8 7 3  
 4 8 0 9 号明細書の配列番号 1 7 6 )、 A A V C l v 1 - 9 ( 米国特許第 8 7 3 4 8 0  
 9 号明細書の配列番号 1 7 7 )、 A A V C l v 1 - 1 0 ( 米国特許第 8 7 3 4 8 0 9 号  
 明細書の配列番号 1 7 8 )、 A A V . V R - 3 5 5 ( 米国特許第 8 7 3 4 8 0 9 号明細書  
 の配列番号 1 8 1 )、 A A V . h u . 4 8 R 3 ( 米国特許第 8 7 3 4 8 0 9 号明細書の配  
 列番号 1 8 3 )、又はこれらのバリエーション若しくは誘導体など、米国特許第 8 7 3 4 8 0  
 9 号明細書 ( この内容は本明細書において全体として参照により援用される ) に記載され  
 るとおりの配列であってもよく、又はそれを有してもよい。

【 0 6 7 7 】

一部の実施形態において、 A A V 血清型は、限定はされないが、 A A V C H t - P 2 ( 国際公開第 2 0 1 6 0 6 5 0 0 1 号パンフレットの配列番号 1 及び 5 1 )、 A A V C H t - P 5 ( 国際公開第 2 0 1 6 0 6 5 0 0 1 号パンフレットの配列番号 2 及び 5 2 )、 A A V C H t - P 9 ( 国際公開第 2 0 1 6 0 6 5 0 0 1 号パンフレットの配列番号 3 及び 5 3 )、 A A V C B r - 7 . 1 ( 国際公開第 2 0 1 6 0 6 5 0 0 1 号パンフレットの配列番号 4 及び 5 4 )、 A A V C B r - 7 . 2 ( 国際公開第 2 0 1 6 0 6 5 0 0 1 号パン

フレットの配列番号5及び55)、AAV CBr - 7.3 (国際公開第2016065001号パンフレットの配列番号6及び56)、AAV CBr - 7.4 (国際公開第2016065001号パンフレットの配列番号7及び57)、AAV CBr - 7.5 (国際公開第2016065001号パンフレットの配列番号8及び58)、AAV CBr - 7.7 (国際公開第2016065001号パンフレットの配列番号9及び59)、AAV CBr - 7.8 (国際公開第2016065001号パンフレットの配列番号10及び60)、AAV CBr - 7.10 (国際公開第2016065001号パンフレットの配列番号11及び61)、AAV CKd - N3 (国際公開第2016065001号パンフレットの配列番号12及び62)、AAV CKd - N4 (国際公開第2016065001号パンフレットの配列番号13及び63)、AAV CKd - N9 (国際公開第2016065001号パンフレットの配列番号14及び64)、AAV CLv - L4 (国際公開第2016065001号パンフレットの配列番号15及び65)、AAV CLv - L5 (国際公開第2016065001号パンフレットの配列番号16及び66)、AAV CLv - L6 (国際公開第2016065001号パンフレットの配列番号17及び67)、AAV CLv - K1 (国際公開第2016065001号パンフレットの配列番号18及び68)、AAV CLv - K3 (国際公開第2016065001号パンフレットの配列番号19及び69)、AAV CLv - K6 (国際公開第2016065001号パンフレットの配列番号20及び70)、AAV CLv - M1 (国際公開第2016065001号パンフレットの配列番号21及び71)、AAV CLv - M11 (国際公開第2016065001号パンフレットの配列番号22及び72)、AAV CLv - M2 (国際公開第2016065001号パンフレットの配列番号23及び73)、AAV CLv - M5 (国際公開第2016065001号パンフレットの配列番号24及び74)、AAV CLv - M6 (国際公開第2016065001号パンフレットの配列番号25及び75)、AAV CLv - M7 (国際公開第2016065001号パンフレットの配列番号26及び76)、AAV CLv - M8 (国際公開第2016065001号パンフレットの配列番号27及び77)、AAV CLv - M9 (国際公開第2016065001号パンフレットの配列番号28及び78)、AAV CHt - P1 (国際公開第2016065001号パンフレットの配列番号29及び79)、AAV CHt - P6 (国際公開第2016065001号パンフレットの配列番号30及び80)、AAV CHt - P8 (国際公開第2016065001号パンフレットの配列番号31及び81)、AAV CHt - 6.1 (国際公開第2016065001号パンフレットの配列番号32及び82)、AAV CHt - 6.10 (国際公開第2016065001号パンフレットの配列番号33及び83)、AAV CHt - 6.5 (国際公開第2016065001号パンフレットの配列番号34及び84)、AAV CHt - 6.6 (国際公開第2016065001号パンフレットの配列番号35及び85)、AAV CHt - 6.7 (国際公開第2016065001号パンフレットの配列番号36及び86)、AAV CHt - 6.8 (国際公開第2016065001号パンフレットの配列番号37及び87)、AAV CSp - 8.10 (国際公開第2016065001号パンフレットの配列番号38及び88)、AAV CSp - 8.2 (国際公開第2016065001号パンフレットの配列番号39及び89)、AAV CSp - 8.4 (国際公開第2016065001号パンフレットの配列番号40及び90)、AAV CSp - 8.5 (国際公開第2016065001号パンフレットの配列番号41及び91)、AAV CSp - 8.6 (国際公開第2016065001号パンフレットの配列番号42及び92)、AAV CSp - 8.7 (国際公開第2016065001号パンフレットの配列番号43及び93)、AAV CSp - 8.8 (国際公開第2016065001号パンフレットの配列番号44及び94)、AAV CSp - 8.9 (国際公開第2016065001号パンフレットの配列番号45及び95)、AAV CBr - B7.3 (国際公開第2016065001号パンフレットの配列番号46及び96)、AAV CBr - B7.4 (国際公開第2016065001号パンフレットの配列番号47及び97)、AAV 3B (国際公開第2016065001号パンフレット

10

20

30

40

50

の配列番号48及び98)、AAV4(国際公開第2016065001号パンフレットの配列番号49及び99)、AAV5(国際公開第2016065001号パンフレットの配列番号50及び100)、又はこれらのバリエーション若しくは誘導体など、国際公開第2016065001号パンフレット(この内容は本明細書において全体として参照により援用される)に記載されるとおりの配列であってもよく、又はそれを有してもよい。

【0678】

一実施形態において、AAVは、少なくとも1つのAAVカプシドCD8+ T細胞エпитープを含む血清型であってもよい。非限定的な例として、血清型は、AAV1、AAV2又はAAV8であってもよい。

【0679】

一実施形態において、AAVは、表4に挙げられるもののいずれかから選択される血清型であってもよい。

一実施形態において、AAVは、表4にある配列の配列、その断片又は変異体を含んでもよい。

【0680】

一実施形態において、AAVは、表4に記載されるとおりの配列、断片又は変異体によってコードされてもよい。

【0681】

10

20

30

40

50

## 【表 4 - 1】

表 4. AAV 血清型

| 血清型               | 配列番号 | 参考情報  |
|-------------------|------|---|
| AAV1              | 28   | US20150159173 配列番号 11, US20150315612 配列番号 202   |
| AAV1              | 29   | US20160017295 配列番号 1, US20030138772 配列番号 64, US20150159173 配列番号 27, US20150315612 配列番号 219, US7198951 配列番号 5  |
| AAV1              | 30   | US20030138772 配列番号 6  |
| AAV1.3            | 31   | US20030138772 配列番号 14   |
| AAV10             | 32   | US20030138772 配列番号 117  |
| AAV10             | 33   | WO2015121501 配列番号 9   |
| AAV10             | 34   | WO2015121501 配列番号 8   |
| AAV11             | 35   | US20030138772 配列番号 118  |
| AAV12             | 36   | US20030138772 配列番号 119  |
| AAV2              | 37   | US20150159173 配列番号 7, US20150315612 配列番号 211  |
| AAV2              | 38   | US20030138772 配列番号 70, US20150159173 配列番号 23, US20150315612 配列番号 221, US20160017295 配列番号 2, US6156303 配列番号 4, US7198951 配列番号 4, WO2015121501 配列番号 1 |
| AAV2              | 39   | US6156303 配列番号 8  |
| AAV2              | 40   | US20030138772 配列番号 7  |
| AAV2              | 41   | US6156303 配列番号 3  |
| AAV2.5T           | 42   | US9233131 配列番号 42   |
| AAV223.10         | 43   | US20030138772 配列番号 75   |
| AAV223.2          | 44   | US20030138772 配列番号 49   |
| AAV223.2          | 45   | US20030138772 配列番号 76   |
| AAV223.4          | 46   | US20030138772 配列番号 50   |
| AAV223.4          | 47   | US20030138772 配列番号 73   |
| AAV223.5          | 48   | US20030138772 配列番号 51   |
| AAV223.5          | 49   | US20030138772 配列番号 74   |
| AAV223.6          | 50   | US20030138772 配列番号 52   |
| AAV223.6          | 51   | US20030138772 配列番号 78   |
| AAV223.7          | 52   | US20030138772 配列番号 53   |
| AAV223.7          | 53   | US20030138772 配列番号 77   |
| AAV29.3           | 54   | US20030138772 配列番号 82   |
| AAV29.4           | 55   | US20030138772 配列番号 12   |
| AAV29.5           | 56   | US20030138772 配列番号 83   |
| AAV29.5 (AAVbb.2) | 57   | US20030138772 配列番号 13   |
| AAV3              | 58   | US20150159173 配列番号 12   |
| AAV3              | 59   | US20030138772 配列番号 71, US20150159173 配列番号 28, US20160017295 配列番号 3, US7198951 配列番号 6  |

10

20

30

40

## 【 0 6 8 2 】

50

【表 4 - 2】

|          |     |   |
|----------|-----|---|
| AAV3     | 60  | US20030138772 配列番号 8  |
| AAV3.3b  | 61  | US20030138772 配列番号 72   |
| AAV3-3   | 62  | US20150315612 配列番号 200  |
| AAV3-3   | 63  | US20150315612 配列番号 217  |
| AAV3a    | 64  | US6156303 配列番号 5  |
| AAV3a    | 65  | US6156303 配列番号 9  |
| AAV3b    | 66  | US6156303 配列番号 6  |
| AAV3b    | 67  | US6156303 配列番号 10   |
| AAV3b    | 68  | US6156303 配列番号 1  |
| AAV4     | 69  | US20140348794 配列番号 17   |
| AAV4     | 70  | US20140348794 配列番号 5  |
| AAV4     | 71  | US20140348794 配列番号 3  |
| AAV4     | 72  | US20140348794 配列番号 14   |
| AAV4     | 73  | US20140348794 配列番号 15   |
| AAV4     | 74  | US20140348794 配列番号 19   |
| AAV4     | 75  | US20140348794 配列番号 12   |
| AAV4     | 76  | US20140348794 配列番号 13   |
| AAV4     | 77  | US20140348794 配列番号 7  |
| AAV4     | 78  | US20140348794 配列番号 8  |
| AAV4     | 79  | US20140348794 配列番号 9  |
| AAV4     | 80  | US20140348794 配列番号 2  |
| AAV4     | 81  | US20140348794 配列番号 10   |
| AAV4     | 82  | US20140348794 配列番号 11   |
| AAV4     | 83  | US20140348794 配列番号 18   |
| AAV4     | 84  | US20030138772 配列番号 63, US20160017295 配列番号 4, US20140348794 配列番号 4 |
| AAV4     | 85  | US20140348794 配列番号 16   |
| AAV4     | 86  | US20140348794 配列番号 20   |
| AAV4     | 87  | US20140348794 配列番号 6  |
| AAV4     | 88  | US20140348794 配列番号 1  |
| AAV42.2  | 89  | US20030138772 配列番号 9  |
| AAV42.2  | 90  | US20030138772 配列番号 102  |
| AAV42.3b | 91  | US20030138772 配列番号 36   |
| AAV42.3B | 92  | US20030138772 配列番号 107  |
| AAV42.4  | 93  | US20030138772 配列番号 33   |
| AAV42.4  | 94  | US20030138772 配列番号 88   |
| AAV42.8  | 95  | US20030138772 配列番号 27   |
| AAV42.8  | 96  | US20030138772 配列番号 85   |
| AAV43.1  | 97  | US20030138772 配列番号 39   |
| AAV43.1  | 98  | US20030138772 配列番号 92   |
| AAV43.12 | 99  | US20030138772 配列番号 41   |
| AAV43.12 | 100 | US20030138772 配列番号 93   |
| AAV43.20 | 101 | US20030138772 配列番号 42   |
| AAV43.20 | 102 | US20030138772 配列番号 99   |
| AAV43.21 | 103 | US20030138772 配列番号 43   |
| AAV43.21 | 104 | US20030138772 配列番号 96   |

10

20

30

40

【 0 6 8 3 】

50

【表 4 - 3】

|          |     |  |
|----------|-----|--|
| AAV43.23 | 105 | US20030138772 配列番号 44  |
| AAV43.23 | 106 | US20030138772 配列番号 98  |
| AAV43.25 | 107 | US20030138772 配列番号 45  |
| AAV43.25 | 108 | US20030138772 配列番号 97  |
| AAV43.5  | 109 | US20030138772 配列番号 40  |
| AAV43.5  | 110 | US20030138772 配列番号 94  |
| AAV4-4   | 111 | US20150315612 配列番号 201   |
| AAV4-4   | 112 | US20150315612 配列番号 218   |
| AAV44.1  | 113 | US20030138772 配列番号 46  |
| AAV44.1  | 114 | US20030138772 配列番号 79  |
| AAV44.5  | 115 | US20030138772 配列番号 47  |
| AAV44.5  | 116 | US20030138772 配列番号 80  |
| AAV4407  | 117 | US20150315612 配列番号 90  |
| AAV5     | 118 | US7427396 配列番号 1   |
| AAV5     | 119 | US20030138772 配列番号 114   |
| AAV5     | 120 | US20160017295 配列番号 5, US7427396 配列番号 2,<br>US20150315612 配列番号 216  |
| AAV5     | 121 | US20150315612 配列番号 199   |
| AAV6     | 122 | US20150159173 配列番号 13  |
| AAV6     | 123 | US20030138772 配列番号 65, US20150159173 配列番号 29,<br>US20160017295 配列番号 6, US6156303 配列番号 7  |
| AAV6     | 124 | US6156303 配列番号 11  |
| AAV6     | 125 | US6156303 配列番号 2   |
| AAV6     | 126 | US20150315612 配列番号 203   |
| AAV6     | 127 | US20150315612 配列番号 220   |
| AAV6.1   | 128 | US20150159173  |
| AAV6.12  | 129 | US20150159173  |
| AAV6.2   | 130 | US20150159173  |
| AAV7     | 131 | US20150159173 配列番号 14  |
| AAV7     | 132 | US20150315612 配列番号 183   |
| AAV7     | 133 | US20030138772 配列番号 2, US20150159173 配列番号 30,<br>US20150315612 配列番号 181, US20160017295 配列番号 7   |
| AAV7     | 134 | US20030138772 配列番号 3   |
| AAV7     | 135 | US20030138772 配列番号 1, US20150315612 配列番号 180   |
| AAV7     | 136 | US20150315612 配列番号 213   |
| AAV7     | 137 | US20150315612 配列番号 222   |
| AAV8     | 138 | US20150159173 配列番号 15  |
| AAV8     | 139 | US20150376240 配列番号 7   |
| AAV8     | 140 | US20030138772 配列番号 4, US20150315612 配列番号 182   |
| AAV8     | 141 | US20030138772 配列番号 95, US20140359799 配列番号 1,<br>US20150159173 配列番号 31, US20160017295 配列番号 8,<br>US7198951 配列番号 7, US20150315612 配列番号 223 |
| AAV8     | 142 | US20150376240 配列番号 8   |
| AAV8     | 143 | US20150315612 配列番号 214   |
| AAV-8b   | 144 | US20150376240 配列番号 5   |
| AAV-8b   | 145 | US20150376240 配列番号 3   |
| AAV-8h   | 146 | US20150376240 配列番号 6   |

10

20

30

40

【 0 6 8 4 】

50

【表 4 - 4】

|                      |     |   |
|----------------------|-----|---|
| AAV-8h               | 147 | US20150376240 配列番号 4                          |
| AAV9                 | 148 | US20030138772 配列番号 5                          |
| AAV9                 | 149 | US7198951 配列番号 1                              |
| AAV9                 | 150 | US20160017295 配列番号 9                          |
| AAV9                 | 151 | US20030138772 配列番号 100, US7198951 配列番号 2      |
| AAV9                 | 152 | US7198951 配列番号 3                              |
| AAV9 (AAVhu.14)      | 153 | US7906111 配列番号 3; WO2015038958 配列番号 11        |
| AAV9 (AAVhu.14)      | 154 | US7906111 配列番号 123; WO2015038958 配列番号 2       |
| AAVA3.1              | 155 | US20030138772 配列番号 120                        |
| AAVA3.3              | 156 | US20030138772 配列番号 57                         |
| AAVA3.3              | 157 | US20030138772 配列番号 66                         |
| AAVA3.4              | 158 | US20030138772 配列番号 54                         |
| AAVA3.4              | 159 | US20030138772 配列番号 68                         |
| AAVA3.5              | 160 | US20030138772 配列番号 55                         |
| AAVA3.5              | 161 | US20030138772 配列番号 69                         |
| AAVA3.7              | 162 | US20030138772 配列番号 56                         |
| AAVA3.7              | 163 | US20030138772 配列番号 67                         |
| AAV29.3<br>(AAVbb.1) | 164 | US20030138772 配列番号 11                         |
| AAVC2                | 165 | US20030138772 配列番号 61                         |
| AAVCh.5              | 166 | US20150159173 配列番号 46, US20150315612 配列番号 234 |
| AAVcy.2<br>(AAV13.3) | 167 | US20030138772 配列番号 15                         |
| AAV24.1              | 168 | US20030138772 配列番号 101                        |
| AAVcy.3<br>(AAV24.1) | 169 | US20030138772 配列番号 16                         |
| AAV27.3              | 170 | US20030138772 配列番号 104                        |
| AAVcy.4<br>(AAV27.3) | 171 | US20030138772 配列番号 17                         |
| AAVcy.5              | 172 | US20150315612 配列番号 227                        |
| AAV7.2               | 173 | US20030138772 配列番号 103                        |
| AAVcy.5<br>(AAV7.2)  | 174 | US20030138772 配列番号 18                         |
| AAV16.3              | 175 | US20030138772 配列番号 105                        |
| AAVcy.6<br>(AAV16.3) | 176 | US20030138772 配列番号 10                         |
| AAVcy.5              | 177 | US20150159173 配列番号 8                          |
| AAVcy.5              | 178 | US20150159173 配列番号 24                         |
| AAVCy.5R1            | 179 | US20150159173                                 |
| AAVCy.5R2            | 180 | US20150159173                                 |
| AAVCy.5R3            | 181 | US20150159173                                 |
| AAVCy.5R4            | 182 | US20150159173                                 |
| AAVDJ                | 183 | US20140359799 配列番号 3, US7588772 配列番号 2        |
| AAVDJ                | 184 | US20140359799 配列番号 2, US7588772 配列番号 1        |
| AAVDJ-8              | 185 | US7588772; Grimm et al 2008                   |
| AAVDJ-8              | 186 | US7588772; Grimm et al 2008                   |
| AAVF5                | 187 | US20030138772 配列番号 110                        |

10

20

30

40

【 0 6 8 5 】

50

【表 4 - 5】

|                            |     |   |
|----------------------------|-----|---|
| AAVH2                      | 188 | US20030138772 配列番号 26                         |
| AAVH6                      | 189 | US20030138772 配列番号 25                         |
| AAVhE1.1                   | 190 | US9233131 配列番号 44                             |
| AAVhEr1.14                 | 191 | US9233131 配列番号 46                             |
| AAVhEr1.16                 | 192 | US9233131 配列番号 48                             |
| AAVhEr1.18                 | 193 | US9233131 配列番号 49                             |
| AAVhEr1.23<br>(AAVhEr2.29) | 194 | US9233131 配列番号 53                             |
| AAVhEr1.35                 | 195 | US9233131 配列番号 50                             |
| AAVhEr1.36                 | 196 | US9233131 配列番号 52                             |
| AAVhEr1.5                  | 197 | US9233131 配列番号 45                             |
| AAVhEr1.7                  | 198 | US9233131 配列番号 51                             |
| AAVhEr1.8                  | 199 | US9233131 配列番号 47                             |
| AAVhEr2.16                 | 200 | US9233131 配列番号 55                             |
| AAVhEr2.30                 | 201 | US9233131 配列番号 56                             |
| AAVhEr2.31                 | 202 | US9233131 配列番号 58                             |
| AAVhEr2.36                 | 203 | US9233131 配列番号 57                             |
| AAVhEr2.4                  | 204 | US9233131 配列番号 54                             |
| AAVhEr3.1                  | 205 | US9233131 配列番号 59                             |
| AAVhu.1                    | 206 | US20150315612 配列番号 46                         |
| AAVhu.1                    | 207 | US20150315612 配列番号 144                        |
| AAVhu.10<br>(AAV16.8)      | 208 | US20150315612 配列番号 56                         |
| AAVhu.10<br>(AAV16.8)      | 209 | US20150315612 配列番号 156                        |
| AAVhu.11<br>(AAV16.12)     | 210 | US20150315612 配列番号 57                         |
| AAVhu.11<br>(AAV16.12)     | 211 | US20150315612 配列番号 153                        |
| AAVhu.12                   | 212 | US20150315612 配列番号 59                         |
| AAVhu.12                   | 213 | US20150315612 配列番号 154                        |
| AAVhu.13                   | 214 | US20150159173 配列番号 16, US20150315612 配列番号 71  |
| AAVhu.13                   | 215 | US20150159173 配列番号 32, US20150315612 配列番号 129 |
| AAVhu.136.1                | 216 | US20150315612 配列番号 165                        |
| AAVhu.140.1                | 217 | US20150315612 配列番号 166                        |
| AAVhu.140.2                | 218 | US20150315612 配列番号 167                        |
| AAVhu.145.6                | 219 | US20150315612 配列番号 178                        |
| AAVhu.15                   | 220 | US20150315612 配列番号 147                        |
| AAVhu.15<br>(AAV33.4)      | 221 | US20150315612 配列番号 50                         |
| AAVhu.156.1                | 222 | US20150315612 配列番号 179                        |
| AAVhu.16                   | 223 | US20150315612 配列番号 148                        |
| AAVhu.16<br>(AAV33.8)      | 224 | US20150315612 配列番号 51                         |
| AAVhu.17                   | 225 | US20150315612 配列番号 83                         |
| AAVhu.17<br>(AAV33.12)     | 226 | US20150315612 配列番号 4                          |

10

20

30

40

【 0 6 8 6 】

50

【表 4 - 6】

|             |     |   |
|-------------|-----|---|
| AAVhu.172.1 | 227 | US20150315612 配列番号 171                        |
| AAVhu.172.2 | 228 | US20150315612 配列番号 172                        |
| AAVhu.173.4 | 229 | US20150315612 配列番号 173                        |
| AAVhu.173.8 | 230 | US20150315612 配列番号 175                        |
| AAVhu.18    | 231 | US20150315612 配列番号 52                         |
| AAVhu.18    | 232 | US20150315612 配列番号 149                        |
| AAVhu.19    | 233 | US20150315612 配列番号 62                         |
| AAVhu.19    | 234 | US20150315612 配列番号 133                        |
| AAVhu.2     | 235 | US20150315612 配列番号 48                         |
| AAVhu.2     | 236 | US20150315612 配列番号 143                        |
| AAVhu.20    | 237 | US20150315612 配列番号 63                         |
| AAVhu.20    | 238 | US20150315612 配列番号 134                        |
| AAVhu.21    | 239 | US20150315612 配列番号 65                         |
| AAVhu.21    | 240 | US20150315612 配列番号 135                        |
| AAVhu.22    | 241 | US20150315612 配列番号 67                         |
| AAVhu.22    | 242 | US20150315612 配列番号 138                        |
| AAVhu.23    | 243 | US20150315612 配列番号 60                         |
| AAVhu.23.2  | 244 | US20150315612 配列番号 137                        |
| AAVhu.24    | 245 | US20150315612 配列番号 66                         |
| AAVhu.24    | 246 | US20150315612 配列番号 136                        |
| AAVhu.25    | 247 | US20150315612 配列番号 49                         |
| AAVhu.25    | 248 | US20150315612 配列番号 146                        |
| AAVhu.26    | 249 | US20150159173 配列番号 17, US20150315612 配列番号 61  |
| AAVhu.26    | 250 | US20150159173 配列番号 33, US20150315612 配列番号 139 |
| AAVhu.27    | 251 | US20150315612 配列番号 64                         |
| AAVhu.27    | 252 | US20150315612 配列番号 140                        |
| AAVhu.28    | 253 | US20150315612 配列番号 68                         |
| AAVhu.28    | 254 | US20150315612 配列番号 130                        |
| AAVhu.29    | 255 | US20150315612 配列番号 69                         |
| AAVhu.29    | 256 | US20150159173 配列番号 42, US20150315612 配列番号 132 |
| AAVhu.29    | 257 | US20150315612 配列番号 225                        |
| AAVhu.29R   | 258 | US20150159173                                 |
| AAVhu.3     | 259 | US20150315612 配列番号 44                         |
| AAVhu.3     | 260 | US20150315612 配列番号 145                        |
| AAVhu.30    | 261 | US20150315612 配列番号 70                         |
| AAVhu.30    | 262 | US20150315612 配列番号 131                        |
| AAVhu.31    | 263 | US20150315612 配列番号 1                          |
| AAVhu.31    | 264 | US20150315612 配列番号 121                        |
| AAVhu.32    | 265 | US20150315612 配列番号 2                          |
| AAVhu.32    | 266 | US20150315612 配列番号 122                        |
| AAVhu.33    | 267 | US20150315612 配列番号 75                         |
| AAVhu.33    | 268 | US20150315612 配列番号 124                        |
| AAVhu.34    | 269 | US20150315612 配列番号 72                         |
| AAVhu.34    | 270 | US20150315612 配列番号 125                        |
| AAVhu.35    | 271 | US20150315612 配列番号 73                         |
| AAVhu.35    | 272 | US20150315612 配列番号 164                        |

10

20

30

40

【 0 6 8 7 】

50

【表 4 - 7】

|                        |     |   |
|------------------------|-----|---|
| AAVhu.36               | 273 | US20150315612 配列番号 74                         |
| AAVhu.36               | 274 | US20150315612 配列番号 126                        |
| AAVhu.37               | 275 | US20150159173 配列番号 34, US20150315612 配列番号 88  |
| AAVhu.37<br>(AAV106.1) | 276 | US20150315612 配列番号 10, US20150159173 配列番号 18  |
| AAVhu.38               | 277 | US20150315612 配列番号 161                        |
| AAVhu.39               | 278 | US20150315612 配列番号 102                        |
| AAVhu.39<br>(AAVLG-9)  | 279 | US20150315612 配列番号 24                         |
| AAVhu.4                | 280 | US20150315612 配列番号 47                         |
| AAVhu.4                | 281 | US20150315612 配列番号 141                        |
| AAVhu.40               | 282 | US20150315612 配列番号 87                         |
| AAVhu.40<br>(AAV114.3) | 283 | US20150315612 配列番号 11                         |
| AAVhu.41               | 284 | US20150315612 配列番号 91                         |
| AAVhu.41<br>(AAV127.2) | 285 | US20150315612 配列番号 6                          |
| AAVhu.42               | 286 | US20150315612 配列番号 85                         |
| AAVhu.42<br>(AAV127.5) | 287 | US20150315612 配列番号 8                          |
| AAVhu.43               | 288 | US20150315612 配列番号 160                        |
| AAVhu.43               | 289 | US20150315612 配列番号 236                        |
| AAVhu.43<br>(AAV128.1) | 290 | US20150315612 配列番号 80                         |
| AAVhu.44               | 291 | US20150159173 配列番号 45, US20150315612 配列番号 158 |
| AAVhu.44<br>(AAV128.3) | 292 | US20150315612 配列番号 81                         |
| AAVhu.44R1             | 293 | US20150159173                                 |
| AAVhu.44R2             | 294 | US20150159173                                 |
| AAVhu.44R3             | 295 | US20150159173                                 |
| AAVhu.45               | 296 | US20150315612 配列番号 76                         |
| AAVhu.45               | 297 | US20150315612 配列番号 127                        |
| AAVhu.46               | 298 | US20150315612 配列番号 82                         |
| AAVhu.46               | 299 | US20150315612 配列番号 159                        |
| AAVhu.46               | 300 | US20150315612 配列番号 224                        |
| AAVhu.47               | 301 | US20150315612 配列番号 77                         |
| AAVhu.47               | 302 | US20150315612 配列番号 128                        |
| AAVhu.48               | 303 | US20150159173 配列番号 38                         |
| AAVhu.48               | 304 | US20150315612 配列番号 157                        |
| AAVhu.48<br>(AAV130.4) | 305 | US20150315612 配列番号 78                         |
| AAVhu.48R1             | 306 | US20150159173                                 |
| AAVhu.48R2             | 307 | US20150159173                                 |
| AAVhu.48R3             | 308 | US20150159173                                 |
| AAVhu.49               | 309 | US20150315612 配列番号 209                        |
| AAVhu.49               | 310 | US20150315612 配列番号 189                        |
| AAVhu.5                | 311 | US20150315612 配列番号 45                         |

10

20

30

40

【 0 6 8 8 】

50

【表 4 - 8】

|                         |     |                        |
|-------------------------|-----|------------------------|
| AAVhu.5                 | 312 | US20150315612 配列番号 142 |
| AAVhu.51                | 313 | US20150315612 配列番号 208 |
| AAVhu.51                | 314 | US20150315612 配列番号 190 |
| AAVhu.52                | 315 | US20150315612 配列番号 210 |
| AAVhu.52                | 316 | US20150315612 配列番号 191 |
| AAVhu.53                | 317 | US20150159173 配列番号 19  |
| AAVhu.53                | 318 | US20150159173 配列番号 35  |
| AAVhu.53<br>(AAV145.1)  | 319 | US20150315612 配列番号 176 |
| AAVhu.54                | 320 | US20150315612 配列番号 188 |
| AAVhu.54<br>(AAV145.5)  | 321 | US20150315612 配列番号 177 |
| AAVhu.55                | 322 | US20150315612 配列番号 187 |
| AAVhu.56                | 323 | US20150315612 配列番号 205 |
| AAVhu.56<br>(AAV145.6)  | 324 | US20150315612 配列番号 168 |
| AAVhu.56<br>(AAV145.6)  | 325 | US20150315612 配列番号 192 |
| AAVhu.57                | 326 | US20150315612 配列番号 206 |
| AAVhu.57                | 327 | US20150315612 配列番号 169 |
| AAVhu.57                | 328 | US20150315612 配列番号 193 |
| AAVhu.58                | 329 | US20150315612 配列番号 207 |
| AAVhu.58                | 330 | US20150315612 配列番号 194 |
| AAVhu.6<br>(AAV3.1)     | 331 | US20150315612 配列番号 5   |
| AAVhu.6<br>(AAV3.1)     | 332 | US20150315612 配列番号 84  |
| AAVhu.60                | 333 | US20150315612 配列番号 184 |
| AAVhu.60<br>(AAV161.10) | 334 | US20150315612 配列番号 170 |
| AAVhu.61                | 335 | US20150315612 配列番号 185 |
| AAVhu.61<br>(AAV161.6)  | 336 | US20150315612 配列番号 174 |
| AAVhu.63                | 337 | US20150315612 配列番号 204 |
| AAVhu.63                | 338 | US20150315612 配列番号 195 |
| AAVhu.64                | 339 | US20150315612 配列番号 212 |
| AAVhu.64                | 340 | US20150315612 配列番号 196 |
| AAVhu.66                | 341 | US20150315612 配列番号 197 |
| AAVhu.67                | 342 | US20150315612 配列番号 215 |
| AAVhu.67                | 343 | US20150315612 配列番号 198 |
| AAVhu.7                 | 344 | US20150315612 配列番号 226 |
| AAVhu.7                 | 345 | US20150315612 配列番号 150 |
| AAVhu.7<br>(AAV7.3)     | 346 | US20150315612 配列番号 55  |
| AAVhu.71                | 347 | US20150315612 配列番号 79  |
| AAVhu.8                 | 348 | US20150315612 配列番号 53  |
| AAVhu.8                 | 349 | US20150315612 配列番号 12  |

10

20

30

40

【 0 6 8 9 】

50

【表 4 - 9】

|                     |     |   |
|---------------------|-----|---|
| AAVhu.8             | 350 | US20150315612 配列番号 151                      |
| AAVhu.9<br>(AAV3.1) | 351 | US20150315612 配列番号 58                       |
| AAVhu.9<br>(AAV3.1) | 352 | US20150315612 配列番号 155                      |
| AAV-LK01            | 353 | US20150376607 配列番号 2                        |
| AAV-LK01            | 354 | US20150376607 配列番号 29                       |
| AAV-LK02            | 355 | US20150376607 配列番号 3                        |
| AAV-LK02            | 356 | US20150376607 配列番号 30                       |
| AAV-LK03            | 357 | US20150376607 配列番号 4                        |
| AAV-LK03            | 358 | WO2015121501 配列番号 12, US20150376607 配列番号 31 |
| AAV-LK04            | 359 | US20150376607 配列番号 5                        |
| AAV-LK04            | 360 | US20150376607 配列番号 32                       |
| AAV-LK05            | 361 | US20150376607 配列番号 6                        |
| AAV-LK05            | 362 | US20150376607 配列番号 33                       |
| AAV-LK06            | 363 | US20150376607 配列番号 7                        |
| AAV-LK06            | 364 | US20150376607 配列番号 34                       |
| AAV-LK07            | 365 | US20150376607 配列番号 8                        |
| AAV-LK07            | 366 | US20150376607 配列番号 35                       |
| AAV-LK08            | 367 | US20150376607 配列番号 9                        |
| AAV-LK08            | 368 | US20150376607 配列番号 36                       |
| AAV-LK09            | 369 | US20150376607 配列番号 10                       |
| AAV-LK09            | 370 | US20150376607 配列番号 37                       |
| AAV-LK10            | 371 | US20150376607 配列番号 11                       |
| AAV-LK10            | 372 | US20150376607 配列番号 38                       |
| AAV-LK11            | 373 | US20150376607 配列番号 12                       |
| AAV-LK11            | 374 | US20150376607 配列番号 39                       |
| AAV-LK12            | 375 | US20150376607 配列番号 13                       |
| AAV-LK12            | 376 | US20150376607 配列番号 40                       |
| AAV-LK13            | 377 | US20150376607 配列番号 14                       |
| AAV-LK13            | 378 | US20150376607 配列番号 41                       |
| AAV-LK14            | 379 | US20150376607 配列番号 15                       |
| AAV-LK14            | 380 | US20150376607 配列番号 42                       |
| AAV-LK15            | 381 | US20150376607 配列番号 16                       |
| AAV-LK15            | 382 | US20150376607 配列番号 43                       |
| AAV-LK16            | 383 | US20150376607 配列番号 17                       |
| AAV-LK16            | 384 | US20150376607 配列番号 44                       |
| AAV-LK17            | 385 | US20150376607 配列番号 18                       |
| AAV-LK17            | 386 | US20150376607 配列番号 45                       |
| AAV-LK18            | 387 | US20150376607 配列番号 19                       |
| AAV-LK18            | 388 | US20150376607 配列番号 46                       |
| AAV-LK19            | 389 | US20150376607 配列番号 20                       |
| AAV-LK19            | 390 | US20150376607 配列番号 47                       |
| AAV-PAEC            | 391 | US20150376607 配列番号 1                        |
| AAV-PAEC            | 392 | US20150376607 配列番号 48                       |
| AAV-PAEC11          | 393 | US20150376607 配列番号 26                       |
| AAV-PAEC11          | 394 | US20150376607 配列番号 54                       |

10

20

30

40

【 0 6 9 0 】

50

【表 4 - 1 0】

|                        |     |                        |
|------------------------|-----|------------------------|
| AAV-PAEC12             | 395 | US20150376607 配列番号 27  |
| AAV-PAEC12             | 396 | US20150376607 配列番号 51  |
| AAV-PAEC13             | 397 | US20150376607 配列番号 28  |
| AAV-PAEC13             | 398 | US20150376607 配列番号 49  |
| AAV-PAEC2              | 399 | US20150376607 配列番号 21  |
| AAV-PAEC2              | 400 | US20150376607 配列番号 56  |
| AAV-PAEC4              | 401 | US20150376607 配列番号 22  |
| AAV-PAEC4              | 402 | US20150376607 配列番号 55  |
| AAV-PAEC6              | 403 | US20150376607 配列番号 23  |
| AAV-PAEC6              | 404 | US20150376607 配列番号 52  |
| AAV-PAEC7              | 405 | US20150376607 配列番号 24  |
| AAV-PAEC7              | 406 | US20150376607 配列番号 53  |
| AAV-PAEC8              | 407 | US20150376607 配列番号 25  |
| AAV-PAEC8              | 408 | US20150376607 配列番号 50  |
| AAVpi.1                | 409 | US20150315612 配列番号 28  |
| AAVpi.1                | 410 | US20150315612 配列番号 93  |
| AAVpi.2                | 411 | US20150315612 配列番号 30  |
| AAVpi.2                | 412 | US20150315612 配列番号 95  |
| AAVpi.3                | 413 | US20150315612 配列番号 29  |
| AAVpi.3                | 414 | US20150315612 配列番号 94  |
| AAVrh.10               | 415 | US20150159173 配列番号 9   |
| AAVrh.10               | 416 | US20150159173 配列番号 25  |
| AAV44.2                | 417 | US20030138772 配列番号 59  |
| AAVrh.10<br>(AAV44.2)  | 418 | US20030138772 配列番号 81  |
| AAV42.1B               | 419 | US20030138772 配列番号 90  |
| AAVrh.12<br>(AAV42.1b) | 420 | US20030138772 配列番号 30  |
| AAVrh.13               | 421 | US20150159173 配列番号 10  |
| AAVrh.13               | 422 | US20150159173 配列番号 26  |
| AAVrh.13               | 423 | US20150315612 配列番号 228 |
| AAVrh.13R              | 424 | US20150159173          |
| AAV42.3A               | 425 | US20030138772 配列番号 87  |
| AAVrh.14<br>(AAV42.3a) | 426 | US20030138772 配列番号 32  |
| AAV42.5A               | 427 | US20030138772 配列番号 89  |
| AAVrh.17<br>(AAV42.5a) | 428 | US20030138772 配列番号 34  |
| AAV42.5B               | 429 | US20030138772 配列番号 91  |
| AAVrh.18<br>(AAV42.5b) | 430 | US20030138772 配列番号 29  |
| AAV42.6B               | 431 | US20030138772 配列番号 112 |
| AAVrh.19<br>(AAV42.6b) | 432 | US20030138772 配列番号 38  |
| AAVrh.2                | 433 | US20150159173 配列番号 39  |
| AAVrh.2                | 434 | US20150315612 配列番号 231 |
| AAVrh.20               | 435 | US20150159173 配列番号 1   |

10

20

30

40

【 0 6 9 1】

50

【表 4 - 1 1】

|                        |     |   |
|------------------------|-----|---|
| AAV42.10               | 436 | US20030138772 配列番号 106  |
| AAVrh.21<br>(AAV42.10) | 437 | US20030138772 配列番号 35   |
| AAV42.11               | 438 | US20030138772 配列番号 108  |
| AAVrh.22<br>(AAV42.11) | 439 | US20030138772 配列番号 37   |
| AAV42.12               | 440 | US20030138772 配列番号 113  |
| AAVrh.23<br>(AAV42.12) | 441 | US20030138772 配列番号 58   |
| AAV42.13               | 442 | US20030138772 配列番号 86   |
| AAVrh.24<br>(AAV42.13) | 443 | US20030138772 配列番号 31   |
| AAV42.15               | 444 | US20030138772 配列番号 84   |
| AAVrh.25<br>(AAV42.15) | 445 | US20030138772 配列番号 28   |
| AAVrh.2R               | 446 | US20150159173   |
| AAVrh.31<br>(AAV223.1) | 447 | US20030138772 配列番号 48   |
| AAVC1                  | 448 | US20030138772 配列番号 60   |
| AAVrh.32<br>(AAVC1)    | 449 | US20030138772 配列番号 19   |
| AAVrh.32/33            | 450 | US20150159173 配列番号 2  |
| AAVrh.33<br>(AAVC3)    | 451 | US20030138772 配列番号 20   |
| AAVC5                  | 452 | US20030138772 配列番号 62   |
| AAVrh.34<br>(AAVC5)    | 453 | US20030138772 配列番号 21   |
| AAVF1                  | 454 | US20030138772 配列番号 109  |
| AAVrh.35<br>(AAVF1)    | 455 | US20030138772 配列番号 22   |
| AAVF3                  | 456 | US20030138772 配列番号 111  |
| AAVrh.36<br>(AAVF3)    | 457 | US20030138772 配列番号 23   |
| AAVrh.37               | 458 | US20030138772 配列番号 24   |
| AAVrh.37               | 459 | US20150159173 配列番号 40   |
| AAVrh.37               | 460 | US20150315612 配列番号 229  |
| AAVrh.37R2             | 461 | US20150159173   |
| AAVrh.38<br>(AAVLG-4)  | 462 | US20150315612 配列番号 7  |
| AAVrh.38<br>(AAVLG-4)  | 463 | US20150315612 配列番号 86   |
| AAVrh.39               | 464 | US20150159173 配列番号 20, US20150315612 配列番号 13                          |
| AAVrh.39               | 465 | US20150159173 配列番号 3, US20150159173 配列番号 36,<br>US20150315612 配列番号 89 |
| AAVrh.40               | 466 | US20150315612 配列番号 92   |
| AAVrh.40<br>(AAVLG-10) | 467 | US20150315612 配列番号 14   |

10

20

30

40

【 0 6 9 2】

50

【表 4 - 1 2】

|                         |     |   |
|-------------------------|-----|---|
| AAVrh.43<br>(AAVN721-8) | 468 | US20150315612 配列番号 43, US20150159173 配列番号 21  |
| AAVrh.43<br>(AAVN721-8) | 469 | US20150315612 配列番号 163, US20150159173 配列番号 37 |
| AAVrh.44                | 470 | US20150315612 配列番号 34                         |
| AAVrh.44                | 471 | US20150315612 配列番号 111                        |
| AAVrh.45                | 472 | US20150315612 配列番号 41                         |
| AAVrh.45                | 473 | US20150315612 配列番号 109                        |
| AAVrh.46                | 474 | US20150159173 配列番号 22, US20150315612 配列番号 19  |
| AAVrh.46                | 475 | US20150159173 配列番号 4, US20150315612 配列番号 101  |
| AAVrh.47                | 476 | US20150315612 配列番号 38                         |
| AAVrh.47                | 477 | US20150315612 配列番号 118                        |
| AAVrh.48                | 478 | US20150159173 配列番号 44, US20150315612 配列番号 115 |
| AAVrh.48.1              | 479 | US20150159173                                 |
| AAVrh.48.1.2            | 480 | US20150159173                                 |
| AAVrh.48.2              | 481 | US20150159173                                 |
| AAVrh.48 (AAV1-7)       | 482 | US20150315612 配列番号 32                         |
| AAVrh.49 (AAV1-8)       | 483 | US20150315612 配列番号 25                         |
| AAVrh.49 (AAV1-8)       | 484 | US20150315612 配列番号 103                        |
| AAVrh.50 (AAV2-4)       | 485 | US20150315612 配列番号 23                         |
| AAVrh.50 (AAV2-4)       | 486 | US20150315612 配列番号 108                        |
| AAVrh.51 (AAV2-5)       | 487 | US20150315612 配列番号 22                         |
| AAVrh.51 (AAV2-5)       | 488 | US20150315612 配列番号 104                        |
| AAVrh.52 (AAV3-9)       | 489 | US20150315612 配列番号 18                         |
| AAVrh.52 (AAV3-9)       | 490 | US20150315612 配列番号 96                         |
| AAVrh.53                | 491 | US20150315612 配列番号 97                         |
| AAVrh.53 (AAV3-11)      | 492 | US20150315612 配列番号 17                         |
| AAVrh.53 (AAV3-11)      | 493 | US20150315612 配列番号 186                        |
| AAVrh.54                | 494 | US20150315612 配列番号 40                         |
| AAVrh.54                | 495 | US20150159173 配列番号 49, US20150315612 配列番号 116 |
| AAVrh.55                | 496 | US20150315612 配列番号 37                         |
| AAVrh.55 (AAV4-19)      | 497 | US20150315612 配列番号 117                        |
| AAVrh.56                | 498 | US20150315612 配列番号 54                         |
| AAVrh.56                | 499 | US20150315612 配列番号 152                        |
| AAVrh.57                | 500 | US20150315612 配列番号 26                         |
| AAVrh.57                | 501 | US20150315612 配列番号 105                        |

10

20

30

40

【 0 6 9 3】

50

【表 4 - 1 3】

|                         |     |   |
|-------------------------|-----|---|
| AAVrh.58                | 502 | US20150315612 配列番号 27                         |
| AAVrh.58                | 503 | US20150159173 配列番号 48, US20150315612 配列番号 106 |
| AAVrh.58                | 504 | US20150315612 配列番号 232                        |
| AAVrh.59                | 505 | US20150315612 配列番号 42                         |
| AAVrh.59                | 506 | US20150315612 配列番号 110                        |
| AAVrh.60                | 507 | US20150315612 配列番号 31                         |
| AAVrh.60                | 508 | US20150315612 配列番号 120                        |
| AAVrh.61                | 509 | US20150315612 配列番号 107                        |
| AAVrh.61 (AAV2-3)       | 510 | US20150315612 配列番号 21                         |
| AAVrh.62 (AAV2-15)      | 511 | US20150315612 配列番号 33                         |
| AAVrh.62 (AAV2-15)      | 512 | US20150315612 配列番号 114                        |
| AAVrh.64                | 513 | US20150315612 配列番号 15                         |
| AAVrh.64                | 514 | US20150159173 配列番号 43, US20150315612 配列番号 99  |
| AAVrh.64                | 515 | US20150315612 配列番号 233                        |
| AAVRh.64R1              | 516 | US20150159173                                 |
| AAVRh.64R2              | 517 | US20150159173                                 |
| AAVrh.65                | 518 | US20150315612 配列番号 35                         |
| AAVrh.65                | 519 | US20150315612 配列番号 112                        |
| AAVrh.67                | 520 | US20150315612 配列番号 36                         |
| AAVrh.67                | 521 | US20150315612 配列番号 230                        |
| AAVrh.67                | 522 | US20150159173 配列番号 47, US20150315612 配列番号 113 |
| AAVrh.68                | 523 | US20150315612 配列番号 16                         |
| AAVrh.68                | 524 | US20150315612 配列番号 100                        |
| AAVrh.69                | 525 | US20150315612 配列番号 39                         |
| AAVrh.69                | 526 | US20150315612 配列番号 119                        |
| AAVrh.70                | 527 | US20150315612 配列番号 20                         |
| AAVrh.70                | 528 | US20150315612 配列番号 98                         |
| AAVrh.71                | 529 | US20150315612 配列番号 162                        |
| AAVrh.72                | 530 | US20150315612 配列番号 9                          |
| AAVrh.73                | 531 | US20150159173 配列番号 5                          |
| AAVrh.74                | 532 | US20150159173 配列番号 6                          |
| AAVrh.8                 | 533 | US20150159173 配列番号 41                         |
| AAVrh.8                 | 534 | US20150315612 配列番号 235                        |
| AAVrh.8R                | 535 | US20150159173, WO2015168666 配列番号 9            |
| AAVrh.8R A586R<br>突然変異体 | 536 | WO2015168666 配列番号 10                          |
| AAVrh.8R R533A<br>突然変異体 | 537 | WO2015168666 配列番号 11                          |
| BAAV (ウシ AAV)           | 538 | US9193769 配列番号 8                              |
| BAAV (ウシ AAV)           | 539 | US9193769 配列番号 10                             |
| BAAV (ウシ AAV)           | 540 | US9193769 配列番号 4                              |
| BAAV (ウシ AAV)           | 541 | US9193769 配列番号 2                              |
| BAAV (ウシ AAV)           | 542 | US9193769 配列番号 6                              |
| BAAV (ウシ AAV)           | 543 | US9193769 配列番号 1                              |

10

20

30

40

【 0 6 9 4】

50

【表 4 - 1 4】

|                        |     |                      |
|------------------------|-----|----------------------|
| BAAV (ウシ AAV)          | 544 | US9193769 配列番号 5     |
| BAAV (ウシ AAV)          | 545 | US9193769 配列番号 3     |
| BAAV (ウシ AAV)          | 546 | US9193769 配列番号 11    |
| BAAV (ウシ AAV)          | 547 | US7427396 配列番号 5     |
| BAAV (ウシ AAV)          | 548 | US7427396 配列番号 6     |
| BAAV (ウシ AAV)          | 549 | US9193769 配列番号 7     |
| BAAV (ウシ AAV)          | 550 | US9193769 配列番号 9     |
| BNP61 AAV              | 551 | US20150238550 配列番号 1 |
| BNP61 AAV              | 552 | US20150238550 配列番号 2 |
| BNP62 AAV              | 553 | US20150238550 配列番号 3 |
| BNP63 AAV              | 554 | US20150238550 配列番号 4 |
| ヤギ AAV                 | 555 | US7427396 配列番号 3     |
| ヤギ AAV                 | 556 | US7427396 配列番号 4     |
| トゥルータイプ<br>AAV (ttAAV) | 557 | WO2015121501 配列番号 2  |
| AAAV (鳥類 AAV)          | 558 | US9238800 配列番号 12    |
| AAAV (鳥類 AAV)          | 559 | US9238800 配列番号 2     |
| AAAV (鳥類 AAV)          | 560 | US9238800 配列番号 6     |
| AAAV (鳥類 AAV)          | 561 | US9238800 配列番号 4     |
| AAAV (鳥類 AAV)          | 562 | US9238800 配列番号 8     |
| AAAV (鳥類 AAV)          | 563 | US9238800 配列番号 14    |
| AAAV (鳥類 AAV)          | 564 | US9238800 配列番号 10    |
| AAAV (鳥類 AAV)          | 565 | US9238800 配列番号 15    |
| AAAV (鳥類 AAV)          | 566 | US9238800 配列番号 5     |
| AAAV (鳥類 AAV)          | 567 | US9238800 配列番号 9     |

10

20

【 0 6 9 5】

30

40

50

【表 4 - 1 5】

|                    |     |                       |
|--------------------|-----|-----------------------|
| AAV (鳥類 AAV)       | 568 | US9238800 配列番号 3      |
| AAV (鳥類 AAV)       | 569 | US9238800 配列番号 7      |
| AAV (鳥類 AAV)       | 570 | US9238800 配列番号 11     |
| AAV (鳥類 AAV)       | 571 | US9238800 配列番号 13     |
| AAV (鳥類 AAV)       | 572 | US9238800 配列番号 1      |
| AAV シャッフル<br>100-1 | 573 | US20160017295 配列番号 23 |
| AAV シャッフル<br>100-1 | 574 | US20160017295 配列番号 11 |
| AAV シャッフル<br>100-2 | 575 | US20160017295 配列番号 37 |
| AAV シャッフル<br>100-2 | 576 | US20160017295 配列番号 29 |
| AAV シャッフル<br>100-3 | 577 | US20160017295 配列番号 24 |
| AAV シャッフル<br>100-3 | 578 | US20160017295 配列番号 12 |
| AAV シャッフル<br>100-7 | 579 | US20160017295 配列番号 25 |
| AAV シャッフル<br>100-7 | 580 | US20160017295 配列番号 13 |
| AAV シャッフル<br>10-2  | 581 | US20160017295 配列番号 34 |
| AAV シャッフル<br>10-2  | 582 | US20160017295 配列番号 26 |
| AAV シャッフル<br>10-6  | 583 | US20160017295 配列番号 35 |
| AAV シャッフル<br>10-6  | 584 | US20160017295 配列番号 27 |
| AAV シャッフル<br>10-8  | 585 | US20160017295 配列番号 36 |
| AAV シャッフル<br>10-8  | 586 | US20160017295 配列番号 28 |
| AAV SM 100-10      | 587 | US20160017295 配列番号 41 |
| AAV SM 100-10      | 588 | US20160017295 配列番号 33 |
| AAV SM 100-3       | 589 | US20160017295 配列番号 40 |
| AAV SM 100-3       | 590 | US20160017295 配列番号 32 |
| AAV SM 10-1        | 591 | US20160017295 配列番号 38 |
| AAV SM 10-1        | 592 | US20160017295 配列番号 30 |
| AAV SM 10-2        | 593 | US20160017295 配列番号 10 |
| AAV SM 10-2        | 594 | US20160017295 配列番号 22 |
| AAV SM 10-8        | 595 | US20160017295 配列番号 39 |
| AAV SM 10-8        | 596 | US20160017295 配列番号 31 |
| AAV SM 100-10      | 587 | US20160017295 配列番号 41 |
| AAV SM 100-10      | 588 | US20160017295 配列番号 33 |

10

20

30

40

【 0 6 9 6 】

50

【表 4 - 1 6】

|              |     |                       |
|--------------|-----|-----------------------|
| AAV SM 100-3 | 589 | US20160017295 配列番号 40 |
| AAV SM 100-3 | 590 | US20160017295 配列番号 32 |
| AAV SM 10-1  | 591 | US20160017295 配列番号 38 |
| AAV SM 10-1  | 592 | US20160017295 配列番号 30 |
| AAV SM 10-2  | 593 | US20160017295 配列番号 10 |
| AAV SM 10-2  | 594 | US20160017295 配列番号 22 |
| AAV SM 10-8  | 595 | US20160017295 配列番号 39 |
| AAV SM 10-8  | 596 | US20160017295 配列番号 31 |
| AAVF1/HSC1   | 597 | WO2016049230 配列番号 20  |
| AAVF2/HSC2   | 598 | WO2016049230 配列番号 21  |
| AAVF3/HSC3   | 599 | WO2016049230 配列番号 22  |
| AAVF4/HSC4   | 600 | WO2016049230 配列番号 23  |
| AAVF5/HSC5   | 601 | WO2016049230 配列番号 25  |
| AAVF6/HSC6   | 602 | WO2016049230 配列番号 24  |
| AAVF7/HSC7   | 603 | WO2016049230 配列番号 27  |
| AAVF8/HSC8   | 604 | WO2016049230 配列番号 28  |
| AAVF9/HSC9   | 605 | WO2016049230 配列番号 29  |
| AAVF11/HSC11 | 606 | WO2016049230 配列番号 26  |
| AAVF12/HSC12 | 607 | WO2016049230 配列番号 30  |
| AAVF13/HSC13 | 608 | WO2016049230 配列番号 31  |
| AAVF14/HSC14 | 609 | WO2016049230 配列番号 32  |
| AAVF15/HSC15 | 610 | WO2016049230 配列番号 33  |
| AAVF16/HSC16 | 611 | WO2016049230 配列番号 34  |
| AAVF17/HSC17 | 612 | WO2016049230 配列番号 35  |
| AAVF1/HSC1   | 613 | WO2016049230 配列番号 2   |
| AAVF2/HSC2   | 614 | WO2016049230 配列番号 3   |
| AAVF3/HSC3   | 615 | WO2016049230 配列番号 5   |
| AAVF4/HSC4   | 616 | WO2016049230 配列番号 6   |
| AAVF5/HSC5   | 617 | WO2016049230 配列番号 11  |
| AAVF6/HSC6   | 618 | WO2016049230 配列番号 7   |
| AAVF7/HSC7   | 619 | WO2016049230 配列番号 8   |
| AAVF8/HSC8   | 620 | WO2016049230 配列番号 9   |
| AAVF9/HSC9   | 621 | WO2016049230 配列番号 10  |
| AAVF11/HSC11 | 622 | WO2016049230 配列番号 4   |
| AAVF12/HSC12 | 623 | WO2016049230 配列番号 12  |
| AAVF13/HSC13 | 624 | WO2016049230 配列番号 14  |
| AAVF14/HSC14 | 625 | WO2016049230 配列番号 15  |
| AAVF15/HSC15 | 626 | WO2016049230 配列番号 16  |
| AAVF16/HSC16 | 627 | WO2016049230 配列番号 17  |
| AAVF17/HSC17 | 628 | WO2016049230 配列番号 13  |
| AAV CBr-E1   | 629 | US8734809 配列番号 13     |
| AAV CBr-E2   | 630 | US8734809 配列番号 14     |
| AAV CBr-E3   | 631 | US8734809 配列番号 15     |
| AAV CBr-E4   | 632 | US8734809 配列番号 16     |
| AAV CBr-E5   | 633 | US8734809 配列番号 17     |
| AAV CBr-e5   | 634 | US8734809 配列番号 18     |

10

20

30

40

【 0 6 9 7 】

50

【表 4 - 1 7】

|            |     |                   |
|------------|-----|-------------------|
| AAV CBr-E6 | 635 | US8734809 配列番号 19 |
| AAV CBr-E7 | 636 | US8734809 配列番号 20 |
| AAV CBr-E8 | 637 | US8734809 配列番号 21 |
| AAV CLv-D1 | 638 | US8734809 配列番号 22 |
| AAV CLv-D2 | 639 | US8734809 配列番号 23 |
| AAV CLv-D3 | 640 | US8734809 配列番号 24 |
| AAV CLv-D4 | 641 | US8734809 配列番号 25 |
| AAV CLv-D5 | 642 | US8734809 配列番号 26 |
| AAV CLv-D6 | 643 | US8734809 配列番号 27 |
| AAV CLv-D7 | 644 | US8734809 配列番号 28 |
| AAV CLv-D8 | 645 | US8734809 配列番号 29 |
| AAV CLv-E1 | 646 | US8734809 配列番号 13 |
| AAV CLv-R1 | 647 | US8734809 配列番号 30 |
| AAV CLv-R2 | 648 | US8734809 配列番号 31 |
| AAV CLv-R3 | 649 | US8734809 配列番号 32 |
| AAV CLv-R4 | 650 | US8734809 配列番号 33 |
| AAV CLv-R5 | 651 | US8734809 配列番号 34 |
| AAV CLv-R6 | 652 | US8734809 配列番号 35 |
| AAV CLv-R7 | 653 | US8734809 配列番号 36 |
| AAV CLv-R8 | 654 | US8734809 配列番号 37 |
| AAV CLv-R9 | 655 | US8734809 配列番号 38 |
| AAV CLg-F1 | 656 | US8734809 配列番号 39 |
| AAV CLg-F2 | 657 | US8734809 配列番号 40 |
| AAV CLg-F3 | 658 | US8734809 配列番号 41 |
| AAV CLg-F4 | 659 | US8734809 配列番号 42 |
| AAV CLg-F5 | 660 | US8734809 配列番号 43 |
| AAV CLg-F6 | 661 | US8734809 配列番号 43 |
| AAV CLg-F7 | 662 | US8734809 配列番号 44 |
| AAV CLg-F8 | 663 | US8734809 配列番号 43 |
| AAV CSp-1  | 664 | US8734809 配列番号 45 |
| AAV CSp-10 | 665 | US8734809 配列番号 46 |
| AAV CSp-11 | 666 | US8734809 配列番号 47 |
| AAV CSp-2  | 667 | US8734809 配列番号 48 |
| AAV CSp-3  | 668 | US8734809 配列番号 49 |
| AAV CSp-4  | 669 | US8734809 配列番号 50 |
| AAV CSp-6  | 670 | US8734809 配列番号 51 |
| AAV CSp-7  | 671 | US8734809 配列番号 52 |
| AAV CSp-8  | 672 | US8734809 配列番号 53 |
| AAV CSp-9  | 673 | US8734809 配列番号 54 |
| AAV CHt-2  | 674 | US8734809 配列番号 55 |
| AAV CHt-3  | 675 | US8734809 配列番号 56 |
| AAV CKd-1  | 676 | US8734809 配列番号 57 |
| AAV CKd-10 | 677 | US8734809 配列番号 58 |
| AAV CKd-2  | 678 | US8734809 配列番号 59 |
| AAV CKd-3  | 679 | US8734809 配列番号 60 |
| AAV CKd-4  | 680 | US8734809 配列番号 61 |

10

20

30

40

【 0 6 9 8 】

50

【表 4 - 1 8】

|             |     |                    |
|-------------|-----|--------------------|
| AAV CKd-6   | 681 | US8734809 配列番号 62  |
| AAV CKd-7   | 682 | US8734809 配列番号 63  |
| AAV CKd-8   | 683 | US8734809 配列番号 64  |
| AAV CLv-1   | 684 | US8734809 配列番号 65  |
| AAV CLv-12  | 685 | US8734809 配列番号 66  |
| AAV CLv-13  | 686 | US8734809 配列番号 67  |
| AAV CLv-2   | 687 | US8734809 配列番号 68  |
| AAV CLv-3   | 688 | US8734809 配列番号 69  |
| AAV CLv-4   | 689 | US8734809 配列番号 70  |
| AAV CLv-6   | 690 | US8734809 配列番号 71  |
| AAV CLv-8   | 691 | US8734809 配列番号 72  |
| AAV CKd-B1  | 692 | US8734809 配列番号 73  |
| AAV CKd-B2  | 693 | US8734809 配列番号 74  |
| AAV CKd-B3  | 694 | US8734809 配列番号 75  |
| AAV CKd-B4  | 695 | US8734809 配列番号 76  |
| AAV CKd-B5  | 696 | US8734809 配列番号 77  |
| AAV CKd-B6  | 697 | US8734809 配列番号 78  |
| AAV CKd-B7  | 698 | US8734809 配列番号 79  |
| AAV CKd-B8  | 699 | US8734809 配列番号 80  |
| AAV CKd-H1  | 700 | US8734809 配列番号 81  |
| AAV CKd-H2  | 701 | US8734809 配列番号 82  |
| AAV CKd-H3  | 702 | US8734809 配列番号 83  |
| AAV CKd-H4  | 703 | US8734809 配列番号 84  |
| AAV CKd-H5  | 704 | US8734809 配列番号 85  |
| AAV CKd-H6  | 705 | US8734809 配列番号 77  |
| AAV CHt-1   | 706 | US8734809 配列番号 86  |
| AAV CLv1-1  | 707 | US8734809 配列番号 171 |
| AAV CLv1-2  | 708 | US8734809 配列番号 172 |
| AAV CLv1-3  | 709 | US8734809 配列番号 173 |
| AAV CLv1-4  | 710 | US8734809 配列番号 174 |
| AAV Clv1-7  | 711 | US8734809 配列番号 175 |
| AAV Clv1-8  | 712 | US8734809 配列番号 176 |
| AAV Clv1-9  | 713 | US8734809 配列番号 177 |
| AAV Clv1-10 | 714 | US8734809 配列番号 178 |
| AAV.VR-355  | 715 | US8734809 配列番号 181 |
| AAV.hu.48R3 | 716 | US8734809 配列番号 183 |
| AAV CBr-E1  | 717 | US8734809 配列番号 87  |
| AAV CBr-E2  | 718 | US8734809 配列番号 88  |
| AAV CBr-E3  | 719 | US8734809 配列番号 89  |
| AAV CBr-E4  | 720 | US8734809 配列番号 90  |
| AAV CBr-E5  | 721 | US8734809 配列番号 91  |
| AAV CBr-e5  | 722 | US8734809 配列番号 92  |
| AAV CBr-E6  | 723 | US8734809 配列番号 93  |
| AAV CBr-E7  | 724 | US8734809 配列番号 94  |
| AAV CBr-E8  | 725 | US8734809 配列番号 95  |
| AAV CLv-D1  | 726 | US8734809 配列番号 96  |

10

20

30

40

【 0 6 9 9 】

50

【表 4 - 1 9】

|            |     |                    |
|------------|-----|--------------------|
| AAV CLv-D2 | 727 | US8734809 配列番号 97  |
| AAV CLv-D3 | 728 | US8734809 配列番号 98  |
| AAV CLv-D4 | 729 | US8734809 配列番号 99  |
| AAV CLv-D5 | 730 | US8734809 配列番号 100 |
| AAV CLv-D6 | 731 | US8734809 配列番号 101 |
| AAV CLv-D7 | 732 | US8734809 配列番号 102 |
| AAV CLv-D8 | 733 | US8734809 配列番号 103 |
| AAV CLv-E1 | 734 | US8734809 配列番号 87  |
| AAV CLv-R1 | 735 | US8734809 配列番号 104 |
| AAV CLv-R2 | 736 | US8734809 配列番号 105 |
| AAV CLv-R3 | 737 | US8734809 配列番号 106 |
| AAV CLv-R4 | 738 | US8734809 配列番号 107 |
| AAV CLv-R5 | 739 | US8734809 配列番号 108 |
| AAV CLv-R6 | 740 | US8734809 配列番号 109 |
| AAV CLv-R7 | 741 | US8734809 配列番号 110 |
| AAV CLv-R8 | 742 | US8734809 配列番号 111 |
| AAV CLv-R9 | 743 | US8734809 配列番号 112 |
| AAV CLg-F1 | 744 | US8734809 配列番号 113 |
| AAV CLg-F2 | 745 | US8734809 配列番号 114 |
| AAV CLg-F3 | 746 | US8734809 配列番号 115 |
| AAV CLg-F4 | 747 | US8734809 配列番号 116 |
| AAV CLg-F5 | 748 | US8734809 配列番号 117 |
| AAV CLg-F6 | 749 | US8734809 配列番号 117 |
| AAV CLg-F7 | 750 | US8734809 配列番号 118 |
| AAV CLg-F8 | 751 | US8734809 配列番号 117 |
| AAV CSp-1  | 752 | US8734809 配列番号 119 |
| AAV CSp-10 | 753 | US8734809 配列番号 120 |
| AAV CSp-11 | 754 | US8734809 配列番号 121 |
| AAV CSp-2  | 755 | US8734809 配列番号 122 |
| AAV CSp-3  | 756 | US8734809 配列番号 123 |
| AAV CSp-4  | 757 | US8734809 配列番号 124 |
| AAV CSp-6  | 758 | US8734809 配列番号 125 |
| AAV CSp-7  | 759 | US8734809 配列番号 126 |
| AAV CSp-8  | 760 | US8734809 配列番号 127 |
| AAV CSp-9  | 761 | US8734809 配列番号 128 |
| AAV CHt-2  | 762 | US8734809 配列番号 129 |
| AAV CHt-3  | 763 | US8734809 配列番号 130 |
| AAV CKd-1  | 764 | US8734809 配列番号 131 |
| AAV CKd-10 | 765 | US8734809 配列番号 132 |
| AAV CKd-2  | 766 | US8734809 配列番号 133 |
| AAV CKd-3  | 767 | US8734809 配列番号 134 |
| AAV CKd-4  | 768 | US8734809 配列番号 135 |
| AAV CKd-6  | 769 | US8734809 配列番号 136 |
| AAV CKd-7  | 770 | US8734809 配列番号 137 |
| AAV CKd-8  | 771 | US8734809 配列番号 138 |
| AAV CLv-1  | 772 | US8734809 配列番号 139 |

10

20

30

40

【 0 7 0 0】

50

【表 4 - 2 0】

|              |     |                      |
|--------------|-----|----------------------|
| AAV CLv-12   | 773 | US8734809 配列番号 140   |
| AAV CLv-13   | 774 | US8734809 配列番号 141   |
| AAV CLv-2    | 775 | US8734809 配列番号 142   |
| AAV CLv-3    | 776 | US8734809 配列番号 143   |
| AAV CLv-4    | 777 | US8734809 配列番号 144   |
| AAV CLv-6    | 778 | US8734809 配列番号 145   |
| AAV CLv-8    | 779 | US8734809 配列番号 146   |
| AAV CKd-B1   | 780 | US8734809 配列番号 147   |
| AAV CKd-B2   | 781 | US8734809 配列番号 148   |
| AAV CKd-B3   | 782 | US8734809 配列番号 149   |
| AAV CKd-B4   | 783 | US8734809 配列番号 150   |
| AAV CKd-B5   | 784 | US8734809 配列番号 151   |
| AAV CKd-B6   | 785 | US8734809 配列番号 152   |
| AAV CKd-B7   | 786 | US8734809 配列番号 153   |
| AAV CKd-B8   | 787 | US8734809 配列番号 154   |
| AAV CKd-H1   | 788 | US8734809 配列番号 155   |
| AAV CKd-H2   | 789 | US8734809 配列番号 156   |
| AAV CKd-H3   | 790 | US8734809 配列番号 157   |
| AAV CKd-H4   | 791 | US8734809 配列番号 158   |
| AAV CKd-H5   | 792 | US8734809 配列番号 159   |
| AAV CKd-H6   | 793 | US8734809 配列番号 151   |
| AAV CHt-1    | 794 | US8734809 配列番号 160   |
| AAV CHt-P2   | 795 | WO2016065001 配列番号 1  |
| AAV CHt-P5   | 796 | WO2016065001 配列番号 2  |
| AAV CHt-P9   | 797 | WO2016065001 配列番号 3  |
| AAV CBr-7.1  | 798 | WO2016065001 配列番号 4  |
| AAV CBr-7.2  | 799 | WO2016065001 配列番号 5  |
| AAV CBr-7.3  | 800 | WO2016065001 配列番号 6  |
| AAV CBr-7.4  | 801 | WO2016065001 配列番号 7  |
| AAV CBr-7.5  | 802 | WO2016065001 配列番号 8  |
| AAV CBr-7.7  | 803 | WO2016065001 配列番号 9  |
| AAV CBr-7.8  | 804 | WO2016065001 配列番号 10 |
| AAV CBr-7.10 | 805 | WO2016065001 配列番号 11 |
| AAV CKd-N3   | 806 | WO2016065001 配列番号 12 |
| AAV CKd-N4   | 807 | WO2016065001 配列番号 13 |
| AAV CKd-N9   | 808 | WO2016065001 配列番号 14 |
| AAV CLv-L4   | 809 | WO2016065001 配列番号 15 |
| AAV CLv-L5   | 810 | WO2016065001 配列番号 16 |
| AAV CLv-L6   | 811 | WO2016065001 配列番号 17 |
| AAV CLv-K1   | 812 | WO2016065001 配列番号 18 |
| AAV CLv-K3   | 813 | WO2016065001 配列番号 19 |
| AAV CLv-K6   | 814 | WO2016065001 配列番号 20 |
| AAV CLv-M1   | 815 | WO2016065001 配列番号 21 |
| AAV CLv-M11  | 816 | WO2016065001 配列番号 22 |
| AAV CLv-M2   | 817 | WO2016065001 配列番号 23 |
| AAV CLv-M5   | 818 | WO2016065001 配列番号 24 |

10

20

30

40

【 0 7 0 1】

50

【表 4 - 2 1】

|              |     |                      |
|--------------|-----|----------------------|
| AAV CLv-M6   | 819 | WO2016065001 配列番号 25 |
| AAV CLv-M7   | 820 | WO2016065001 配列番号 26 |
| AAV CLv-M8   | 821 | WO2016065001 配列番号 27 |
| AAV CLv-M9   | 822 | WO2016065001 配列番号 28 |
| AAV CHt-P1   | 823 | WO2016065001 配列番号 29 |
| AAV CHt-P6   | 824 | WO2016065001 配列番号 30 |
| AAV CHt-P8   | 825 | WO2016065001 配列番号 31 |
| AAV CHt-6.1  | 826 | WO2016065001 配列番号 32 |
| AAV CHt-6.10 | 827 | WO2016065001 配列番号 33 |
| AAV CHt-6.5  | 828 | WO2016065001 配列番号 34 |
| AAV CHt-6.6  | 829 | WO2016065001 配列番号 35 |
| AAV CHt-6.7  | 830 | WO2016065001 配列番号 36 |
| AAV CHt-6.8  | 831 | WO2016065001 配列番号 37 |
| AAV CSp-8.10 | 832 | WO2016065001 配列番号 38 |
| AAV CSp-8.2  | 833 | WO2016065001 配列番号 39 |
| AAV CSp-8.4  | 834 | WO2016065001 配列番号 40 |
| AAV CSp-8.5  | 835 | WO2016065001 配列番号 41 |
| AAV CSp-8.6  | 836 | WO2016065001 配列番号 42 |
| AAV CSp-8.7  | 837 | WO2016065001 配列番号 43 |
| AAV CSp-8.8  | 838 | WO2016065001 配列番号 44 |
| AAV CSp-8.9  | 839 | WO2016065001 配列番号 45 |
| AAV CBr-B7.3 | 840 | WO2016065001 配列番号 46 |
| AAV CBr-B7.4 | 841 | WO2016065001 配列番号 47 |
| AAV3B        | 842 | WO2016065001 配列番号 48 |
| AAV4         | 843 | WO2016065001 配列番号 49 |
| AAV5         | 844 | WO2016065001 配列番号 50 |
| AAV CHt-P2   | 845 | WO2016065001 配列番号 51 |
| AAV CHt-P5   | 846 | WO2016065001 配列番号 52 |
| AAV CHt-P9   | 847 | WO2016065001 配列番号 53 |
| AAV CBr-7.1  | 848 | WO2016065001 配列番号 54 |
| AAV CBr-7.2  | 849 | WO2016065001 配列番号 55 |
| AAV CBr-7.3  | 850 | WO2016065001 配列番号 56 |
| AAV CBr-7.4  | 851 | WO2016065001 配列番号 57 |
| AAV CBr-7.5  | 852 | WO2016065001 配列番号 58 |
| AAV CBr-7.7  | 853 | WO2016065001 配列番号 59 |
| AAV CBr-7.8  | 854 | WO2016065001 配列番号 60 |
| AAV CBr-7.10 | 855 | WO2016065001 配列番号 61 |
| AAV CKd-N3   | 856 | WO2016065001 配列番号 62 |
| AAV CKd-N4   | 857 | WO2016065001 配列番号 63 |
| AAV CKd-N9   | 858 | WO2016065001 配列番号 64 |
| AAV CLv-L4   | 859 | WO2016065001 配列番号 65 |
| AAV CLv-L5   | 860 | WO2016065001 配列番号 66 |
| AAV CLv-L6   | 861 | WO2016065001 配列番号 67 |
| AAV CLv-K1   | 862 | WO2016065001 配列番号 68 |
| AAV CLv-K3   | 863 | WO2016065001 配列番号 69 |
| AAV CLv-K6   | 864 | WO2016065001 配列番号 70 |

10

20

30

40

【 0 7 0 2 】

50

【表 4 - 2 2】

|                       |     |  |
|-----------------------|-----|--|
| AAV CLv-M1            | 865 | WO2016065001 配列番号 71                         |
| AAV CLv-M11           | 866 | WO2016065001 配列番号 72                         |
| AAV CLv-M2            | 867 | WO2016065001 配列番号 73                         |
| AAV CLv-M5            | 868 | WO2016065001 配列番号 74                         |
| AAV CLv-M6            | 869 | WO2016065001 配列番号 75                         |
| AAV CLv-M7            | 870 | WO2016065001 配列番号 76                         |
| AAV CLv-M8            | 871 | WO2016065001 配列番号 77                         |
| AAV CLv-M9            | 872 | WO2016065001 配列番号 78                         |
| AAV CHt-P1            | 873 | WO2016065001 配列番号 79                         |
| AAV CHt-P6            | 874 | WO2016065001 配列番号 80                         |
| AAV CHt-P8            | 875 | WO2016065001 配列番号 81                         |
| AAV CHt-6.1           | 876 | WO2016065001 配列番号 82                         |
| AAV CHt-6.10          | 877 | WO2016065001 配列番号 83                         |
| AAV CHt-6.5           | 878 | WO2016065001 配列番号 84                         |
| AAV CHt-6.6           | 879 | WO2016065001 配列番号 85                         |
| AAV CHt-6.7           | 880 | WO2016065001 配列番号 86                         |
| AAV CHt-6.8           | 881 | WO2016065001 配列番号 87                         |
| AAV CSp-8.10          | 882 | WO2016065001 配列番号 88                         |
| AAV CSp-8.2           | 883 | WO2016065001 配列番号 89                         |
| AAV CSp-8.4           | 884 | WO2016065001 配列番号 90                         |
| AAV CSp-8.5           | 885 | WO2016065001 配列番号 91                         |
| AAV CSp-8.6           | 886 | WO2016065001 配列番号 92                         |
| AAV CSp-8.7           | 887 | WO2016065001 配列番号 93                         |
| AAV CSp-8.8           | 888 | WO2016065001 配列番号 94                         |
| AAV CSp-8.9           | 889 | WO2016065001 配列番号 95                         |
| AAV CBr-B7.3          | 890 | WO2016065001 配列番号 96                         |
| AAV CBr-B7.4          | 891 | WO2016065001 配列番号 97                         |
| AAV3B                 | 892 | WO2016065001 配列番号 98                         |
| AAV4                  | 893 | WO2016065001 配列番号 99                         |
| AAV5                  | 894 | WO2016065001 配列番号 100                        |
| AAVPHP.B 又は<br>G2B-26 | 895 | WO2015038958 配列番号 8 及び 13; GenBankALU85156.1 |
| AAVPHP.B              | 896 | WO2015038958 配列番号 9                          |
| AAVG2B-13             | 897 | WO2015038958 配列番号 12                         |
| AAVTH1.1-32           | 898 | WO2015038958 配列番号 14                         |
| AAVTH1.1-35           | 899 | WO2015038958 配列番号 15                         |

10

20

30

表 4 に挙げられる特許、出願及び/又は公報の各々は、本明細書によって全体として参照により援用される。

## 【 0 7 0 3 】

一実施形態において、AAV血清型は、限定はされないが、AAV9（国際公開第2015038958号パンフレットの配列番号2及び11又は本明細書におけるそれぞれ配列番号153及び154）、PHP.B（国際公開第2015038958号パンフレットの配列番号8及び9、本明細書における配列番号895及び896）、G2B-13（国際公開第2015038958号パンフレットの配列番号12、本明細書における配列番号897）、G2B-26（国際公開第2015038958号パンフレットの配列番号13、本明細書における配列番号895及び896）、TH1.1-32（国際公開第2015038958号パンフレットの配列番号14、本明細書における配列番号898）、TH1.1-35（国際公開第2015038958号パンフレットの配列番号15、本明細書における配列番号899）又はこれらのバリエーションなど、国際公開第2015038958号パンフレット（この内容は本明細書において全体として参照により援用され

40

50

る)に記載されるとおりの配列であってもよく、又はそれを有してもよい。更に、国際公開第2015038958号パンフレットに記載されるターゲティングペプチド又はアミノ酸インサートのいずれかが、限定はされないが、AAV9(DNA配列について配列番号153及びアミノ酸配列について配列番号154)など、任意の親AAV血清型に挿入されてもよい。一実施形態において、アミノ酸インサートは親AAV(例えばAAV9)のアミノ酸586~592に挿入される。別の実施形態において、アミノ酸インサートは親AAV配列のアミノ酸588~589に挿入される。アミノ酸インサートは、限定はされないが、以下のアミノ酸配列、TLAVPFK(国際公開第2015038958号パンフレットの配列番号1;本明細書における配列番号900)、KFPVALT(国際公開第2015038958号パンフレットの配列番号3;本明細書における配列番号901)、LAVPFK(国際公開第2015038958号パンフレットの配列番号31;本明細書における配列番号902)、AVPFK(国際公開第2015038958号パンフレットの配列番号32;本明細書における配列番号903)、VPFK(国際公開第2015038958号パンフレットの配列番号33;本明細書における配列番号904)、TLAVPF(国際公開第2015038958号パンフレットの配列番号34;本明細書における配列番号905)、TLAVP(国際公開第2015038958号パンフレットの配列番号35;本明細書における配列番号906)、TLAV(国際公開第2015038958号パンフレットの配列番号36;本明細書における配列番号907)、SVSKPFL(国際公開第2015038958号パンフレットの配列番号28;本明細書における配列番号908)、FTLTTPK(国際公開第2015038958号パンフレットの配列番号29;本明細書における配列番号909)、MNATKNV(国際公開第2015038958号パンフレットの配列番号30;本明細書における配列番号910)、QSSQTPR(国際公開第2015038958号パンフレットの配列番号54;本明細書における配列番号911)、ILGTGTS(国際公開第2015038958号パンフレットの配列番号55;本明細書における配列番号912)、TRTNPEA(国際公開第2015038958号パンフレットの配列番号56;本明細書における配列番号913)、NGGTSSS(国際公開第2015038958号パンフレットの配列番号58;本明細書における配列番号914)、又はYTLSQGW(国際公開第2015038958号パンフレットの配列番号60;本明細書における配列番号915)のいずれかであってもよい。アミノ酸インサートをコードし得るヌクレオチド配列の非限定的な例としては、以下、AAGTTTCCTGTGGCGTTGACT(国際公開第2015038958号パンフレットの配列番号3について;本明細書における配列番号916)、ACTTTGGCGGTGCCCTTTTAAAG(国際公開第2015038958号パンフレットの配列番号24及び49;本明細書における配列番号917)、AGTGTGAGTAAAGCCTTTTTTG(国際公開第2015038958号パンフレットの配列番号25;本明細書における配列番号918)、TTTACGTTGACGACGCCCTAAG(国際公開第2015038958号パンフレットの配列番号26;本明細書における配列番号919)、ATGAATGCTACGAAGAAATGTG(国際公開第2015038958号パンフレットの配列番号27;本明細書における配列番号920)、CAGTCGTCGCAGACGCCCTAGG(国際公開第2015038958号パンフレットの配列番号48;本明細書における配列番号921)、ATTCCTGGGGACTGGTACTTCG(国際公開第2015038958号パンフレットの配列番号50及び52;本明細書における配列番号922)、ACGCGGACTAATCCTGAGGCT(国際公開第2015038958号パンフレットの配列番号51;本明細書における配列番号923)、AATGGGGGGACTAGTAGTTCCT(国際公開第2015038958号パンフレットの配列番号53;本明細書における配列番号924)、又はTATACTTTGTCGCAGGGTTGG(国際公開第2015038958号パンフレットの配列番号59;本明細書における配列番号925)が挙げられる。

【0704】

10

20

30

40

50

一実施形態において、AAV血清型は、少なくとも1つのAAVカプシドCD8+ T細胞エピトープを含むように操作されてもよい。ホイ(Hui)ら(モレキュラー・セラピー・メソッド・アンド・クリニカル・デベロップメント(Molecular Therapy - Methods & Clinical Development)、2015年、第2巻、p.15029、doi:10.1038/mtm.2015.29;これらの内容は本明細書において全体として参照により援用される)は、AAV1及びAAV2についてAAVカプシド特異的CD8+ T細胞エピトープを同定した(例えば、この公報の表2を参照のこと)。非限定的な例として、カプシド特異的CD8+ T細胞エピトープはAAV2血清型のものであってもよい。非限定的な例として、カプシド特異的CD8+ T細胞エピトープはAAV1血清型のものであってもよい。

10

## 【0705】

一実施形態において、AAV血清型は、限定はされないが、SADNNNSEY(配列番号926)、LIDQYLYYL(配列番号927)、VPQYGYLTL(配列番号928)、TTSTRTWAL(配列番号929)、YHLNGRDSL(配列番号930)、SQAVGRSSF(配列番号931)、VPANPSTTF(配列番号932)、FPQSGVLIF(配列番号933)、YDFDNRFHCHFSPRD(配列番号934)、VGNSSGNWHCDSTWM(配列番号935)、QFSQAGASDIRDQSR(配列番号936)、GASDIRQSRNWL(配列番号937)及びGNRQAATADVNTQGV(配列番号938)など、AAV2の少なくとも1つのAAVカプシドCD8+ T細胞エピトープを含むように操作されてもよい。

20

## 【0706】

一実施形態において、AAV血清型は、限定はされないが、LDRLMNPLI(配列番号939)、TTSTRTWAL(配列番号929)、及びQPAKKRLNF(配列番号940)など、AAV1の少なくとも1つのAAVカプシドCD8+ T細胞エピトープを含むように操作されてもよい。

## 【0707】

一実施形態において、AAV血清型に含めるペプチドは、ホイ(Hui)ら(モレキュラー・セラピー・メソッド・アンド・クリニカル・デベロップメント(Molecular Therapy - Methods & Clinical Development)、2015年、第2巻、p.15029、doi:10.1038/mtm.2015.29;これらの内容は本明細書において全体として参照により援用される)により記載される方法を用いて同定されてもよい。非限定的な例として、手順には、ヒト脾細胞を単離すること、インビトロでAAVカプシドタンパク質のアミノ酸配列にわたって個々のペプチドを用いて脾細胞を再刺激すること、インビトロ再刺激に使用した個々のペプチドによるIFN-ELISpot、バイオインフォマティクス解析によるIFN-ELISpotによって同定された15merのHLA拘束性の決定、所与のHLA対立遺伝子に対する候補反応性9merエピトープの同定、候補9merの合成、同定されたAAVエピトープが結合すると予測されるHLA対立遺伝子を有する対象からの脾細胞の第2のIFN-ELISpotスクリーニング、AAVカプシド反応性CD8+ T細胞エピトープを決定すること、及び所与のAAVエピトープに反応する対象の頻度を決定することが含まれる。

30

40

## 【0708】

一実施形態において、AAVは、デバーマン(Deverman)ら(ネイチャー・バイオテクノロジー(Nature Biotechnology)、第34巻、第2号、p.204~209、2016年)(この内容は本明細書において全体として参照により援用される)により記載されるとおりのCre組換えに基づくAAVターゲット進化(CREATE: Cre-recombination-based AAV targeted evolution)によって生成された血清型であってよい。一実施形態において、このように作成されたAAV血清型は、他のAAV血清型と比較したとき向上したCNS形質導入及び/又はニューロン及びアストロサイト向性を有する。非限定的な例として、

50

AAV血清型は、PHP.B、PHP.B2、PHP.B3、PHP.A、G2A12、G2A15であってもよい。一実施形態において、これらのAAV血清型は、アミノ酸588~589に7アミノ酸インサートを有するAAV9（配列番号153及び154）誘導体であってもよい。これらの7アミノ酸インサートの非限定的な例としては、TLAVPFK（配列番号900）、SVSKPFL（配列番号908）、FTLTTPK（配列番号909）、YTLSQGW（配列番号915）、QAVRTSL（配列番号941）及び/又はLAKERLS（配列番号942）が挙げられる。

【0709】

一実施形態において、AAV血清型は、ジャクソン（Jackson）ら（フロンティア・イン・モレキュラー・ニューロサイエンス（Frontiers in Molecular Neuroscience）、第9巻、p.154、2016年）（この内容は本明細書において全体として参照により援用される）に記載されるとおりであってもよい。一部の実施形態において、AAV血清型はPHP.B又はAAV9である。一部の実施形態において、AAV血清型はシナプシンプロモータと対を成すことにより、遍在性の高いプロモータを使用する場合（即ち、CBA又はCMV）と比較したときニューロン形質導入を増強する。

10

【0710】

一実施形態において、AAV血清型に含めるペプチドは、ヒト脾細胞を単離すること、インビトロでAAVカプシドタンパク質のアミノ酸配列にわたって個々のペプチドを用いて脾細胞を再刺激すること、インビトロ再刺激に使用した個々のペプチドによるIFN-ELISpot、バイオインフォマティクス解析によるIFN-ELISpotによって同定された15merの所与の対立遺伝子拘束性の決定、所与の対立遺伝子に対する候補反応性9merエピトープの同定、候補9merの合成、同定されたAAVエピトープが結合すると予測される特異的対立遺伝子を有する対象からの脾細胞の第2のIFN-ELISpotスクリーニング、AAVカプシド反応性CD8+ T細胞エピトープを決定すること、及び所与のAAVエピトープに反応する対象の頻度を決定することにより同定されてもよい。

20

【0711】

siRNA分子の核酸配列を含むAAVベクターは、限定はされないが、AAV1、AAV2、AAV3、AAV4、AAV5、AAV6、AAV7、AAV8、AAV9、AAV9.47、AAV9(hu14)、AAV10、AAV11、AAV12、AAVrh8、AAVrh10、AAV-DJ8、AAV-DJ、AAV-PHP.A、及び/又はAAV-PHP.Bを含め、様々なAAV血清型から調製されてもよく、又はそれに由来してもよい。ある場合には、異なるAAV血清型が共に、又は他のタイプのウイルスと混合されることによりキメラAAVベクターが作製されてもよい。非限定的な例として、AAVベクターはAAV9血清型に由来する。

30

【0712】

ウイルスゲノム成分：末端逆位配列（ITR）

本発明のAAV粒子は、少なくとも1つのITR領域とペイロード領域とを有するウイルスゲノムを含む。一実施形態において、ウイルスゲノムは2つのITRを有する。これらの2つのITRは5'末端及び3'末端でペイロード領域に隣接する。ITRは、複製のための認識部位を含む複製起点として働く。ITRは、相補的で且つ対称に配置され得る配列領域を含む。本発明のウイルスゲノムに組み込まれるITRは、天然に存在するポリヌクレオチド配列又は組換え的に誘導されたポリヌクレオチド配列を含み得る。

40

【0713】

ITRは、表6に挙げられる血清型のいずれか、又はその誘導体から選択される、カプシドと同じ血清型に由来してもよい。ITRはカプシドと異なる血清型であってもよい。一実施形態において、AAV粒子は2つ以上のITRを有する。非限定的な例では、AAV粒子は、2つのITRを含むウイルスゲノムを有する。一実施形態において、ITRは互いに同じ血清型である。別の実施形態において、ITRは異なる血清型である。非限定的

50

な例としては、ITRのうちゼロ個、一方又は両方がカプシドと同じ血清型を有することが挙げられる。一実施形態において、AAV粒子のウイルスゲノムの両方のITRがAAV2 ITRである。

【0714】

独立に、各ITRは約100~約150ヌクレオチド長であってもよい。ITRは、約100~105ヌクレオチド長、106~110ヌクレオチド長、111~115ヌクレオチド長、116~120ヌクレオチド長、121~125ヌクレオチド長、126~130ヌクレオチド長、131~135ヌクレオチド長、136~140ヌクレオチド長、141~145ヌクレオチド長又は146~150ヌクレオチド長であってもよい。一実施形態において、ITRは140~142ヌクレオチド長である。ITR長さの非限定的な例は、102、140、141、142、145ヌクレオチド長、及びそれと少なくとも95%の同一性を有するものである。

10

【0715】

一実施形態において、コード化siRNA分子は、発現ベクターにおいてフリップITRの5'末端の近傍に位置してもよい。別の実施形態において、コード化siRNA分子は、発現ベクターにおいてフリップITRの3'末端の近傍に位置してもよい。更に別の実施形態において、コード化siRNA分子は、発現ベクターにおいてフロップITRの5'末端の近傍に位置してもよい。更に別の実施形態において、コード化siRNA分子は、発現ベクターにおいてフロップITRの3'末端の近傍に位置してもよい。一実施形態において、コード化siRNA分子は、発現ベクターにおいてフリップITRの5'末端とフロップITRの3'末端との間に位置してもよい。一実施形態において、コード化siRNA分子は、発現ベクターにおいてフリップITRの3'末端とフリップITRの5'末端との間に(例えば、フリップITRの5'末端とフロップITRの3'末端との間又はフロップITRの3'末端とフリップITRの5'末端との間の中に)位置してもよい。非限定的な例として、コード化siRNA分子は、発現ベクターにおいてITR(例えばフリップ又はフロップITR)の5'又は3'末端から下流に1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30ヌクレオチド又は30ヌクレオチド超以内に位置してもよい。非限定的な例として、コード化siRNA分子は、発現ベクターにおいてITR(例えばフリップ又はフロップITR)の5'又は3'末端から上流に1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30ヌクレオチド又は30ヌクレオチド超以内に位置してもよい。別の非限定的な例として、コード化siRNA分子は、発現ベクターにおいてITR(例えばフリップ又はフロップITR)の5'又は3'末端から下流に1~5、1~10、1~15、1~20、1~25、1~30、5~10、5~15、5~20、5~25、5~30、10~15、10~20、10~25、10~30、15~20、15~25、15~30、20~25、20~30又は25~30ヌクレオチド以内に位置してもよい。別の非限定的な例として、コード化siRNA分子は、発現ベクターにおいてITR(例えばフリップ又はフロップITR)の5'又は3'末端から上流に1~5、1~10、1~15、1~20、1~25、1~30、5~10、5~15、5~20、5~25、5~30、10~15、10~20、10~25、10~30、15~20、15~25、15~30、20~25、20~30又は25~30以内に位置してもよい。非限定的な例として、コード化siRNA分子は、発現ベクターにおいてITR(例えばフリップ又はフロップITR)の5'又は3'末端から上流にあるヌクレオチドの最初の1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、15%、20%、25%又は25%超以内に位置してもよい。別の非限定的な例として、コード化siRNA分子は、発現ベクターにおいてITR(例えばフリップ又はフロップITR)の5'又は3'末端から下流に最初の1~5%、1~10%、1~15%、1~20%、1~25%、5~10%、5~15%、5~20%、5~25%、10~15%、10~20%、10~25%、15~20%、15~25%、又は20

20

30

40

50

～ 25%で位置してもよい。

【0716】

ウイルスゲノム成分：プロモータ

当業者は、標的細胞が、限定はされないが、種特異的、誘導性、組織特異的、又は細胞周期特異的であるプロモータを含め、特異的プロモータを必要とし得ることを認識し得る（パー（Parr）ら著、ネイチャー・メディシン（Nat. Med.）、第3巻、p. 1145～9、1997年；これらの内容は本明細書において全体として参照により援用される）。

【0717】

一実施形態において、プロモータは、調節性ポリヌクレオチドの発現をドライブするのに有効と見なされるプロモータである。

10

一実施形態において、プロモータは、標的とする細胞に向性を有するプロモータである。

【0718】

一実施形態において、プロモータは、限定はされないが神経系組織など、標的組織においてペイロード、例えば調節性ポリヌクレオチド、例えば siRNA 又は dsRNA の発現をある期間もたらず弱いプロモータである。発現は、1時間、2時間、3時間、4時間、5時間、6時間、7時間、8時間、9時間、10時間、11時間、12時間、13時間、14時間、15時間、16時間、17時間、18時間、19時間、20時間、21時間、22時間、23時間、1日、2日、3日、4日、5日、6日、1週間、8日、9日、10日、11日、12日、13日、2週間、15日、16日、17日、18日、19日、20日、3週間、22日、23日、24日、25日、26日、27日、28日、29日、30日、31日、1ヵ月、2ヵ月、3ヵ月、4ヵ月、5ヵ月、6ヵ月、7ヵ月、8ヵ月、9ヵ月、10ヵ月、11ヵ月、1年、13ヵ月、14ヵ月、15ヵ月、16ヵ月、17ヵ月、18ヵ月、19ヵ月、20ヵ月、21ヵ月、22ヵ月、23ヵ月、2年、3年、4年、5年、6年、7年、8年、9年、10年又は10年超の期間であってよい。発現は、1～5時間、1～12時間、1～2日、1～5日、1～2週間、1～3週間、1～4週間、1～2ヵ月、1～4ヵ月、1～6ヵ月、2～6ヵ月、3～6ヵ月、3～9ヵ月、4～8ヵ月、6～12ヵ月、1～2年、1～5年、2～5年、3～6年、3～8年、4～8年又は5～10年であってよい。非限定的な例として、プロモータは、神経組織においてペイロードを持続的に発現させる弱いプロモータである。

20

30

【0719】

一実施形態において、プロモータは、1 kb未満のプロモータであってよい。プロモータは、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、310、320、330、340、350、360、370、380、390、400、410、420、430、440、450、460、470、480、490、500、510、520、530、540、550、560、570、580、590、600、610、620、630、640、650、660、670、680、690、700、710、720、730、740、750、760、770、780、790、800又は800超の長さを有してもよい。プロモータは、200～300、200～400、200～500、200～600、200～700、200～800、300～400、300～500、300～600、300～700、300～800、400～500、400～600、400～700、400～800、500～600、500～700、500～800、600～700、600～800又は700～800の長さを有してもよい。

40

【0720】

一実施形態において、プロモータは、限定はされないがCMV及びCBAなど、2つ以上の成分の組み合わせであってよい。各成分は、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、310、320、330、340、350、360、370、380、381、382、383、384、385、386、387、388、389、390、400、410、420、430、440、45

50

0、460、470、480、490、500、510、520、530、540、550、560、570、580、590、600、610、620、630、640、650、660、670、680、690、700、710、720、730、740、750、760、770、780、790、800又は800超の長さを有してもよい。各成分は、200～300、200～400、200～500、200～600、200～700、200～800、300～400、300～500、300～600、300～700、300～800、400～500、400～600、400～700、400～800、500～600、500～700、500～800、600～700、600～800又は700～800の長さを有してもよい。非限定的な例として、プロモータは、382ヌクレオチドCMVエンハンサー配列と260ヌクレオチドCBAプロモータ配列との組み合わせである。

10

#### 【0721】

一実施形態において、ベクターゲノムは、標的特異性及び発現を増強する少なくとも1つのエレメントを含む(例えば、パウエル(Powell)ら著、「遺伝子療法におけるトランス遺伝子標的特異性及び発現を増強するウイルス発現カセットエレメント(Viral Expression Cassette Elements to Enhance Transgene Target Specificity and Expression in Gene Therapy)」、2015年を参照のこと;この内容は本明細書において全体として参照により援用される)。トランス遺伝子標的特異性及び発現を増強するエレメントの非限定的な例としては、プロモータ、内因性miRNA、転写後調節エレメント(PRE)、ポリアデニル化(ポリA)シグナル配列及び上流エンハンサー(USE)、CMVエンハンサー及びイントロンが挙げられる。

20

#### 【0722】

一実施形態において、ベクターゲノムは、プロモータなど、標的特異性及び発現を増強する少なくとも1つのエレメントを含む(例えば、パウエル(Powell)ら著、「遺伝子療法におけるトランス遺伝子標的特異性及び発現を増強するウイルス発現カセットエレメント(Viral Expression Cassette Elements to Enhance Transgene Target Specificity and Expression in Gene Therapy)」、2015年を参照のこと;この内容は本明細書において全体として参照により援用される)。

30

#### 【0723】

ほとんどの組織において発現を促進するプロモータとしては、限定はされないが、ヒト伸長因子1-サブユニット(EF1)、前初期サイトメガロウイルス(CMV)、ニワトリ-アクチン(CBA)及びその誘導体CAG、グルクロニダーゼ(GUSB)、又はユビキチンC(UBC)が挙げられる。組織特異的発現エレメントは、限定はされないが、発現をニューロン、アストロサイト、又はオリゴデンドロサイトに制限するために使用することができる神経系プロモータなど、発現を特定の細胞型に制限するために使用することができる。ニューロンに対する組織特異的発現エレメントの非限定的な例としては、ニューロン特異的エノラーゼ(NSE)、血小板由来成長因子(PDGF)、血小板由来成長因子B鎖(PDGF-β)、シナプシン(Syn)、メチル-CpG結合タンパク質2(MeCP2)、CaMKII、mGluR2、NFL、NFH、n2、PPE、Enk及びEAAAT2プロモータが挙げられる。アストロサイトに対する組織特異的発現エレメントの非限定的な例としては、グリア線維性酸性タンパク質(GFAP)及びEAAAT2プロモータが挙げられる。オリゴデンドロサイトに対する組織特異的発現エレメントの非限定的な例としては、ミエリン塩基性タンパク質(MBP)プロモータが挙げられる。

40

#### 【0724】

一実施形態において、ベクターゲノムはユビキタスプロモータを含む。ユビキタスプロモータの非限定的な例としては、H1、U6、CMV、CBA(誘導体CAG、CBh等を含む)、EF-1、PGK、UBC、GUSB(hGBp)、及びUCOE(HNRP

50

A 2 B 1 - C B X 3のプロモータ)が挙げられる。ユー(Yu)ら(モレキュラー・ペイン(Molecular Pain)、2011年、第7巻、p.63;これらの内容は本明細書において全体として参照により援用される)は、レンチウイルスベクターを使用してラットDRG細胞及び初代DRG細胞におけるCAG、EFI、PGK及びUBCプロモータ下のeGFPの発現を評価し、UBCが他の3つのプロモータよりも弱い発現を示し、全てのプロモータについて僅か10~12%のグリア細胞発現しか見られなかったことを見出した。セーデルブロム(Soderblom)ら(イー・ニューロ(E.Neuro)、2015年;これらの内容は本明細書において全体として参照により援用される)、運動皮質における注射後のCMV及びUBCプロモータを含むAAV8及びCMVプロモータを含むAAV2におけるeGFPの発現。UBC又はEFIプロモータを含むプラスミドの鼻腔内投与は、CMVプロモータによる発現よりも高い持続的気道発現を示した(例えば、ギル(Gill)ら著、ジーン・セラピー(Gene Therapy)、2001年、第8巻、p.1539~1546(この内容は本明細書において全体として参照により援用される)を参照のこと)。フセイン(Husain)ら(ジーン・セラピー(Gene Therapy)、2009年;これらの内容は本明細書において全体として参照により援用される)は、hGUSBプロモータ、HSV-1LATプロモータ及びNSEプロモータを含むH<sub>2</sub>Hコンストラクトを評価し、このH<sub>2</sub>Hコンストラクトがマウス脳においてNSEよりも弱い発現を示したことを見出した。パッシーニ(Passini)及びウォルフ(Wolfe)(ジャーナル・オブ・バイロロジー(J.Virology)、2001年、p.12382~12392、これらの内容は本明細書において全体として参照により援用される)は、新生仔マウスにおける脳室内注射後のH<sub>2</sub>Hベクターの長期効果を評価し、少なくとも1年間にわたり持続的発現があったことを見出した。スー(Xu)ら(ジーン・セラピー(Gene Therapy)、2001年、第8巻、p.1323~1332;これらの内容は本明細書において全体として参照により援用される)により、NF-L及びNF-Hプロモータを使用したとき、CMV-lacZ、CMV-luc、EF、GFAP、hENK、nAChR、PPE、PPE+wpre、NSE(0.3kb)、NSE(1.8kb)及びNSE(1.8kb+wpre)と比較して全ての脳領域で低発現が見出された。スー(Xu)らは、プロモータ活性が、降順に、NSE(1.8kb)、EF、NSE(0.3kb)、GFAP、CMV、hENK、PPE、NFL及びNFHであることを見出した。NFLは650ヌクレオチドプロモータであり、NFHは920ヌクレオチドプロモータであり、両方とも肝臓には存在しないが、NFHは固有受容感覚ニューロン、脳及び脊髄に豊富にあり、NFHは心臓に存在する。Scn8aは、DRG、脊髄及び脳全体にわたって発現する470ヌクレオチドプロモータであり、特に海馬ニューロン及び小脳プルキンエ細胞、皮質、視床及び視床下部に高発現が見られる(例えば、ドレウス(Drews)ら著、2007年及びレイモンド(Raymond)ら著、2004年を参照のこと;この各々の内容は本明細書において全体として参照により援用される)。

#### 【0725】

一実施形態において、ベクターゲノムはUBCプロモータを含む。UBCプロモータはサイズが300~350ヌクレオチドであり得る。非限定的な例として、UBCプロモータは332ヌクレオチドである。

#### 【0726】

一実施形態において、ベクターゲノムはGUSBプロモータを含む。GUSBプロモータはサイズが350~400ヌクレオチドであり得る。非限定的な例として、GUSBプロモータは378ヌクレオチドである。非限定的な例として、コンストラクトは、AAV-プロモータ-CMV/グロビンイントロン-調節性ポリヌクレオチド-RBGであってもよく、ここでAAVは自己相補的であってもよく、及びAAVはDJ血清型であってもよい。

#### 【0727】

一実施形態において、ベクターゲノムはNFLプロモータを含む。NFLプロモータはサ

10

20

30

40

50

イズが600~700ヌクレオチドであり得る。非限定的な例として、NFLプロモータは650ヌクレオチドである。非限定的な例として、コンストラクトはAAV-プロモータ-CMV/グロビンイントロン-調節性ポリヌクレオチド-RBGであってもよく、ここでAAVは自己相補的であってもよく、及びAAVはDJ血清型であってもよい。

【0728】

一実施形態において、ベクターゲノムはNFHプロモータを含む。NFHプロモータはサイズが900~950ヌクレオチドであり得る。非限定的な例として、NFHプロモータは920ヌクレオチドである。非限定的な例として、コンストラクトはAAV-プロモータ-CMV/グロビンイントロン-調節性ポリヌクレオチド-RBGであってもよく、ここでAAVは自己相補的であってもよく、及びAAVはDJ血清型であってもよい。

10

【0729】

一実施形態において、ベクターゲノムはscn8aプロモータを含む。scn8aプロモータはサイズが450~500ヌクレオチドであり得る。非限定的な例として、scn8aプロモータは470ヌクレオチドである。非限定的な例として、コンストラクトはAAV-プロモータ-CMV/グロビンイントロン-調節性ポリヌクレオチド-RBGであってもよく、ここでAAVは自己相補的であってもよく、及びAAVはDJ血清型であってもよい。

【0730】

一実施形態において、ベクターゲノムはFXNプロモータを含む。  
一実施形態において、ベクターゲノムはPGKプロモータを含む。  
一実施形態において、ベクターゲノムはCBAプロモータを含む。

20

【0731】

一実施形態において、ベクターゲノムはCMVプロモータを含む。  
一実施形態において、ベクターゲノムはH1プロモータを含む。  
一実施形態において、ベクターゲノムはU6プロモータを含む。

【0732】

一実施形態において、ベクターゲノムは肝又は骨格筋プロモータを含む。肝プロモータの非限定的な例としては、hAAT及びTBGが挙げられる。骨格筋プロモータの非限定的な例としては、デスミン、MCK及びC5-12が挙げられる。

【0733】

一実施形態において、AAVベクターは、エンハンサーエレメント、プロモータ及び/又は5'UTRイントロンを含む。エンハンサーは、限定はされないが、CMVエンハンサーであってもよく、プロモータは、限定はされないが、CMV、CBA、UBC、GUSB、NSE、シナプシン、MeCP2、及びGFAPプロモータであってもよく、及び5'UTR/イントロンは、限定はされないが、SV40、及びCBA-MVMであってもよい。非限定的な例として、組み合わせで使用されるエンハンサー、プロモータ及び/又はイントロンは、(1)CMVエンハンサー、CMVプロモータ、SV40 5'UTRイントロン；(2)CMVエンハンサー、CBAプロモータ、SV40 5'UTRイントロン；(3)CMVエンハンサー、CBAプロモータ、CBA-MVM 5'UTRイントロン；(4)UBCプロモータ；(5)GUSBプロモータ；(6)NSEプロモータ；(7)シナプシンプロモータ；(8)MeCP2プロモータ；(9)GFAPプロモータ、(10)H1プロモータ；及び(11)U6プロモータであってもよい。

30

40

【0734】

一実施形態において、AAVベクターは操作されたプロモータを有する。

ウイルスゲノム成分：イントロン

一実施形態において、ベクターゲノムは、イントロンなど、トランス遺伝子標的特異性及び発現を増強する少なくとも1つのエレメントを含む(例えば、パウエル(Powell)ら著、「遺伝子療法におけるトランス遺伝子標的特異性及び発現を増強するウイルス発現カセットエレメント(Viral Expression Cassette Elements to Enhance Transgene Target Specific

50

ity and Expression in Gene Therapy)」、2015年を参照のこと；この内容は本明細書において全体として参照により援用される）。イントロンの非限定的な例としては、MVM(67~97bps)、F.IXトランケート型イントロン1(300bp)、 $\beta$ -グロビンSD/免疫グロブリン重鎖スプライスアクセプター(250bp)、アデノウイルススプライドナー/イムノグロビンスプライスアクセプター(500bp)、SV40後期スプライドナー/スプライスアクセプター(19S/16S)(180bp)及びハイブリッドアデノウイルススプライドナー/IgGスプライスアクセプター(230bp)が挙げられる。

#### 【0735】

一実施形態において、イントロンは100~500ヌクレオチド長であってもよい。イントロンは、80、90、100、110、120、130、140、150、160、170、171、172、173、174、175、176、177、178、179、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、310、320、330、340、350、360、370、380、390、400、410、420、430、440、450、460、470、480、490又は500の長さを有してもよい。プロモータは、80~100、80~120、80~140、80~160、80~180、80~200、80~250、80~300、80~350、80~400、80~450、80~500、200~300、200~400、200~500、300~400、300~500、又は400~500の長さを有してもよい。

#### 【0736】

一実施形態において、AAVベクターはSV40イントロン又はその断片若しくは変異体を含み得る。非限定的な例として、プロモータはCMVであってもよい。別の非限定的な例として、プロモータはCBAであってもよい。更に別の非限定的な例として、プロモータはH1であってもよい。

#### 【0737】

一実施形態において、AAVベクターは $\beta$ -グロビンイントロン又はその断片(fragment)又は変異体を含み得る。非限定的な例として、プロモータはCMVであってもよい。別の非限定的な例として、プロモータはCBAであってもよい。更に別の非限定的な例として、プロモータはH1であってもよい。

#### 【0738】

一実施形態において、コード化siRNA分子は、限定はされないが、SV40イントロンまたは $\beta$ -グロビンイントロン若しくは当該技術分野において公知の他のものなど、発現ベクターにおいてイントロンの下流に位置してもよい。更に、コード化siRNA分子はまた、発現ベクターにおいてポリアデニル化配列の上流に位置してもよい。非限定的な例として、コード化siRNA分子は、発現ベクターにおいてイントロンから下流及び/又はポリアデニル化配列の上流に1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30ヌクレオチド又は30ヌクレオチド超以内に位置してもよい。別の非限定的な例として、コード化siRNA分子は、発現ベクターにおいてイントロンを含むプロモータから下流及び/又はポリアデニル化配列の上流に1~5、1~10、1~15、1~20、1~25、1~30、5~10、5~15、5~20、5~25、5~30、10~15、10~20、10~25、10~30、15~20、15~25、15~30、20~25、20~30又は25~30ヌクレオチド以内に位置してもよい。非限定的な例として、コード化siRNA分子は、発現ベクターにおいてイントロンから下流及び/又はポリアデニル化配列の上流にあるヌクレオチドの最初の1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、15%、20%、25%又は25%超以内に位置してもよい。別の非限定的な例として、コード化siRNA分子は、発現ベクターにおいてイントロンから下流及び/又はポリアデニル化配列の上流の配列に最初の1~5%、1~10%、1~15%、1~20%、1~25%、5~10%、5~1

10

20

30

40

50

5%、5～20%、5～25%、10～15%、10～20%、10～25%、15～20%、15～25%、又は20～25%で位置してもよい。

【0739】

ウイルスゲノム成分：ポリアデニル化配列

一実施形態において、本発明のAAV粒子のウイルスゲノムは少なくとも1つのポリアデニル化配列を含む。AAV粒子のウイルスゲノムは、ペイロードコード配列の3'末端と3' ITRの5'末端との間にポリアデニル化配列を含み得る。

【0740】

一実施形態において、ポリアデニル化配列又は「ポリA配列」は、存在しない～約500ヌクレオチド長の範囲であってもよい。ポリアデニル化配列は、限定はされないが、1、

- 2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、
- 18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、
- 45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、
- 85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、141、142、143、144、145、146、147、148、149、150、151、152、153、154、155、156、157、158、159、160、161、162、163、164、165、166、167、168、169、170、171、172、173、174、175、176、177、178、179、180、181、182、183、184、185、186、187、188、189、190、191、192、193、194、195、196、197、198、199、200、201、202、203、204、205、206、207、208、209、210、211、212、213、214、215、216、217、218、219、220、221、222、223、224、225、226、227、228、229、230、231、232、233、234、235、236、237、238、239、240、241、242、243、244、245、246、247、248、249、250、251、252、253、254、255、256、257、258、259、260、261、262、263、264、265、266、267、268、269、270、271、272、273、274、275、276、277、278、279、280、281、282、283、284、285、286、287、288、289、290、291、292、293、294、295、296、297、298、299、300、301、302、303、304、305、306、307、308、309、310、311、312、313、314、315、316、317、318、319、320、321、322、323、324、325、326、327、328、329、330、331、332、333、334、335、336、337、338、339、340、341、342、343、344、345、346、347、348、349、350、351、352、353、354、355、356、357、358、359、360、361、362、363、364、365、366、367、368、369、370、371、372、373、374、375、376、377、378、379、380、381、382、383、384、385、386、387、388、389、390、391、392、393、394、395、396、397、398、399、400、401、402、403、404、405、406、407、408、409、410、411、412、413、414、415、416、417、418、419、420、421、422、423、424、425、426、427、428

10

20

30

40

50

8、429、430、431、432、433、434、435、436、437、438、439、440、441、442、443、444、445、446、447、448、449、450、451、452、453、454、455、456、457、458、459、460、461、462、463、464、465、466、467、468、469、470、471、472、473、474、475、476、477、478、479、480、481、482、483、484、485、486、487、488、489、490、491、492、493、494、495、496、497、498、499、及び500ヌクレオチド長であつてもよい。

【0741】

一実施形態において、ポリアデニル化配列は50～100ヌクレオチド長である。  
 一実施形態において、ポリアデニル化配列は50～150ヌクレオチド長である。  
 一実施形態において、ポリアデニル化配列は50～160ヌクレオチド長である。

10

【0742】

一実施形態において、ポリアデニル化配列は50～200ヌクレオチド長である。  
 一実施形態において、ポリアデニル化配列は60～100ヌクレオチド長である。  
 一実施形態において、ポリアデニル化配列は60～150ヌクレオチド長である。

【0743】

一実施形態において、ポリアデニル化配列は60～160ヌクレオチド長である。  
 一実施形態において、ポリアデニル化配列は60～200ヌクレオチド長である。  
 一実施形態において、ポリアデニル化配列は70～100ヌクレオチド長である。

20

【0744】

一実施形態において、ポリアデニル化配列は70～150ヌクレオチド長である。  
 一実施形態において、ポリアデニル化配列は70～160ヌクレオチド長である。  
 一実施形態において、ポリアデニル化配列は70～200ヌクレオチド長である。

【0745】

一実施形態において、ポリアデニル化配列は80～100ヌクレオチド長である。  
 一実施形態において、ポリアデニル化配列は80～150ヌクレオチド長である。  
 一実施形態において、ポリアデニル化配列は80～160ヌクレオチド長である。

【0746】

一実施形態において、ポリアデニル化配列は80～200ヌクレオチド長である。  
 一実施形態において、ポリアデニル化配列は90～100ヌクレオチド長である。  
 一実施形態において、ポリアデニル化配列は90～150ヌクレオチド長である。

30

【0747】

一実施形態において、ポリアデニル化配列は90～160ヌクレオチド長である。  
 一実施形態において、ポリアデニル化配列は90～200ヌクレオチド長である。  
 一実施形態において、コード化*siRNA*分子は発現ベクターにおいてポリアデニル化配列の上流に位置してもよい。更に、コード化*siRNA*分子は、限定はされないが、CMV、U6、H1、CBA、又はSV40若しくはヒトグロビンイントロンを伴うCBAプロモータなど、発現ベクターにおいてプロモータの下流に位置してもよい。非限定的な例として、コード化*siRNA*分子は、発現ベクターにおいてプロモータから下流及び/又はポリアデニル化配列の上流に1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30ヌクレオチド又は30ヌクレオチド超以内に位置してもよい。別の非限定的な例として、コード化*siRNA*分子は、発現ベクターにおいてプロモータから下流及び/又はポリアデニル化配列の上流に1～5、1～10、1～15、1～20、1～25、1～30、5～10、5～15、5～20、5～25、5～30、10～15、10～20、10～25、10～30、15～20、15～25、15～30、20～25、20～30又は25～30ヌクレオチド以内に位置してもよい。非限定的な例として、コード化*siRNA*分子は、発現ベクターにおいてプロモータから下流及び/又はポリアデニル化配列の上流にあるヌクレオチドの最初の1%、2%、3%、4%、

40

50

5%、6%、7%、8%、9%、10%、15%、20%、25%又は25%超以内に位置してもよい。別の非限定的な例として、コード化 *siRNA* 分子は、発現ベクターにおいてプロモータから下流及び/又はポリアデニル化配列の上流に最初の1~5%、1~10%、1~15%、1~20%、1~25%、5~10%、5~15%、5~20%、5~25%、10~15%、10~20%、10~25%、15~20%、15~25%、又は20~25%で位置してもよい。

【0748】

発現ベクター

一実施形態において、発現ベクター（例えばAAVベクター）は、本明細書に記載される *siRNA* 配列又は二重鎖のうちの少なくとも1つをコードする調節性ポリヌクレオチドの少なくとも1つを含み得る。

10

【0749】

一実施形態において、発現ベクターは、ITRからITRまで5'から3'に挙げて、ITR、プロモータ、イントロン、調節性ポリヌクレオチド、ポリA配列及びITRを含み得る。

【0750】

ゲノムサイズ

一実施形態において、本明細書に記載される調節性ポリヌクレオチドをコードする核酸配列を含むベクターゲノムは、一本鎖又は二本鎖ベクターゲノムであってもよい。ベクターゲノムのサイズは、小型、中型、大型又は最大サイズであってもよい。加えて、ベクターゲノムはプロモータ及びポリAテールを含み得る。

20

【0751】

一実施形態において、本明細書に記載される調節性ポリヌクレオチドをコードする核酸配列を含むベクターゲノムは小型一本鎖ベクターゲノムであってもよい。小型一本鎖ベクターゲノムは、2.7~3.5 kbサイズ、例えば約2.7、2.8、2.9、3.0、3.1、3.2、3.3、3.4、及び3.5 kbサイズであってもよい。非限定的な例として、小型一本鎖ベクターゲノムは3.2 kbサイズであってもよい。加えて、ベクターゲノムはプロモータ及びポリAテールを含み得る。

【0752】

一実施形態において、本明細書に記載される調節性ポリヌクレオチドをコードする核酸配列を含むベクターゲノムは小型二本鎖ベクターゲノムであってもよい。小型二本鎖ベクターゲノムは、1.3~1.7 kbサイズ、例えば約1.3、1.4、1.5、1.6、及び1.7 kbサイズであってもよい。非限定的な例として、小型二本鎖ベクターゲノムは1.6 kbサイズであってもよい。加えて、ベクターゲノムはプロモータ及びポリAテールを含み得る。

30

【0753】

一実施形態において、本明細書に記載される調節性ポリヌクレオチド、例えば *siRNA* 又は *dsRNA* をコードする核酸配列を含むベクターゲノムは、中型一本鎖ベクターゲノムであってもよい。中型一本鎖ベクターゲノムは、3.6~4.3 kbサイズ、例えば約3.6、3.7、3.8、3.9、4.0、4.1、4.2及び4.3 kbサイズであってもよい。非限定的な例として、中型一本鎖ベクターゲノムは4.0 kbサイズであってもよい。加えて、ベクターゲノムはプロモータ及びポリAテールを含み得る。

40

【0754】

一実施形態において、本明細書に記載される調節性ポリヌクレオチドをコードする核酸配列を含むベクターゲノムは、中型二本鎖ベクターゲノムであってもよい。中型二本鎖ベクターゲノムは、1.8~2.1 kbサイズ、例えば約1.8、1.9、2.0、及び2.1 kbサイズであってもよい。非限定的な例として、中型二本鎖ベクターゲノムは2.0 kbサイズであってもよい。加えて、ベクターゲノムはプロモータ及びポリAテールを含み得る。

【0755】

50

一実施形態において、本明細書に記載される調節性ポリヌクレオチドをコードする核酸配列を含むベクターゲノムは、大型一本鎖ベクターゲノムであってもよい。大型一本鎖ベクターゲノムは、4.4~6.0 kb サイズ、例えば約4.4、4.5、4.6、4.7、4.8、4.9、5.0、5.1、5.2、5.3、5.4、5.5、5.6、5.7、5.8、5.9及び6.0 kb サイズであってもよい。非限定的な例として、大型一本鎖ベクターゲノムは4.7 kb サイズであってもよい。別の非限定的な例として、大型一本鎖ベクターゲノムは4.8 kb サイズであってもよい。更に別の非限定的な例として、大型一本鎖ベクターゲノムは6.0 kb サイズであってもよい。加えて、ベクターゲノムはプロモータ及びポリAテールを含み得る。

#### 【0756】

一実施形態において、本明細書に記載される調節性ポリヌクレオチドをコードする核酸配列を含むベクターゲノムは、大型二本鎖ベクターゲノムであってもよい。大型二本鎖ベクターゲノムは、2.2~3.0 kb サイズ、例えば約2.2、2.3、2.4、2.5、2.6、2.7、2.8、2.9及び3.0 kb サイズであってもよい。非限定的な例として、大型二本鎖ベクターゲノムは2.4 kb サイズであってもよい。加えて、ベクターゲノムはプロモータ及びポリAテールを含み得る。

#### 【0757】

##### ウイルス作製

本開示は、ウイルス複製細胞をAAVポリヌクレオチド又はAAVゲノムに接触させることを含む、ウイルス複製細胞におけるウイルスゲノム複製によるパルボウイルス粒子、例えばAAV粒子の作成方法を提供する。

#### 【0758】

本開示は、1) コンピテント細菌細胞にバクミドベクター及びウイルスコンストラクトベクター及び/又はAAVペイロードコンストラクトベクターのいずれかをコトランスフェクトするステップ、2) 得られたウイルスコンストラクト発現ベクター及びAAVペイロードコンストラクト発現ベクターを単離し、ウイルス複製細胞を個別にトランスフェクトするステップ、3) ウイルスコンストラクト発現ベクター又はAAVペイロードコンストラクト発現ベクターを含む得られたペイロード及びウイルスコンストラクト粒子を単離及び精製するステップ、4) ウイルス複製細胞に、ウイルスコンストラクト発現ベクター又はAAVペイロードコンストラクト発現ベクターを含むAAVペイロード及びウイルスコンストラクト粒子の両方を共感染させるステップ、5) パルボウイルスゲノムを含むウイルス粒子を回収及び精製するステップを含む、形質導入効率が增強された(増加した、向上した) AAV粒子の作製方法を提供する。

#### 【0759】

一実施形態において、本発明は、1) 限定はされないがHEK293細胞などの哺乳類細胞にペイロード領域、rep及びcap遺伝子を発現するコンストラクト並びにヘルパーコンストラクトを同時にコトランスフェクトするステップ、2) ウイルスゲノムを含むAAV粒子を回収及び精製するステップを含む、AAV粒子の作製方法を提供する。

#### 【0760】

##### 細胞

本開示は、AAVポリヌクレオチド及び/又はAAVゲノムを含む細胞を提供する。

本明細書に開示されるウイルス作製は、ペイロード分子をコードするヌクレオチドを含むペイロードコンストラクト、例えば組換えウイルスコンストラクトを送達するため標的細胞に接触するAAV粒子の作製プロセス及び方法を記載する。

#### 【0761】

一実施形態において、AAV粒子は、昆虫細胞を含むウイルス複製細胞で作製されてもよい。

培養下の昆虫細胞の成長条件、及び培養下の昆虫細胞における異種産物の産生は当該技術分野において周知であり、米国特許第6,204,059号明細書(この内容は本明細書において全体として参照により援用される)を参照されたい。

10

20

30

40

50

## 【0762】

本発明においては、パルボウイルスの複製を可能にする、且つ培養下に維持することのできる任意の昆虫細胞を使用することができる。細胞株は、限定はされないが Sf9 又は Sf21 細胞株を含めたスポドプテラ・フルギペルダ (*Spodoptera frugiperda*) からの細胞株、ショウジョウバエ属 (*Drosophila*) 細胞株、又はヒトスジシマカ (*Aedes albopictus*) 由来細胞株などの蚊細胞株が用いられてもよい。異種タンパク質を発現させるための昆虫細胞の使用については、ベクター、例えば昆虫細胞適合性ベクターなどの核酸をかかると細胞に導入する方法、及び培養下のかかる細胞を維持する方法と同様に、十分に実証されている。例えば、「分子生物学の方法 (*Methods in Molecular Biology*)」、リチャード (Richard) 編、ヒューマナ・プレス (Humana Press)、ニュージャージー州、1995年；オライリー (O'Reilly) ら著、「バキュロウイルス発現ベクター、実験マニュアル (*Baculovirus Expression Vectors, A Laboratory Manual*)」、オックスフォード大学出版局 (Oxford Univ. Press)、1994年；サムルスキ (Samulski) ら著、*ジャーナル・オブ・バイロロジー (J. Vir.)*、第63巻、p. 3822~8、1989年；カジガヤ (Kajigaya) ら著、*米国科学アカデミー紀要 (Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA)*、第88巻、p. 4646~50、1991年；ラフィング (Ruffing) ら著、*ジャーナル・オブ・バイロロジー (J. Vir.)*、第66巻、p. 6922~30、1992年；キムバウアー (Kimbauer) ら著、*バイロロジー (Vir.)*、第219巻、p. 37~44、1996年；チャオ (Zhao) ら著、*バイロロジー (Vir.)*、第272巻、p. 382~93、2000年；及びサムルスキ (Samulski) ら著、*米国特許第6,204,059号明細書*を参照されたく、これらの各々の内容は本明細書において全体として参照により援用される。

10

20

## 【0763】

ウイルス複製細胞は、原核生物 (例えば細菌) 細胞、並びに昆虫細胞、酵母細胞及び哺乳類細胞を含めた真核細胞を含め、任意の生物学的有機体から選択されてもよい。ウイルス複製細胞には、A549、WEH1、3T3、10T1/2、BHK、MDCK、COS1、COS7、BSC1、BSC40、BMT10、VERO、W138、HeLa、HEK293、Saos、C2C12、L細胞、HT1080、HepG2並びに哺乳類に由来する初代線維芽細胞、ヘパトサイト及び筋芽細胞など、哺乳類細胞が含まれる。ウイルス複製細胞には、限定はされないが、ヒト、サル、マウス、ラット、ウサギ、及びハムスターを含めた哺乳類種、又は限定はされないが、線維芽細胞、ヘパトサイト、腫瘍細胞、細胞株形質転換細胞等を含めた細胞型に由来する細胞が含まれる。

30

## 【0764】

## AAV粒子の小規模作製

本明細書に開示されるウイルス作製は、ペイロードをコードするヌクレオチドを含むペイロード、例えば組換えウイルスコンストラクトを送達するため標的細胞に接触するAAV粒子の作製プロセス及び方法を記載する。

## 【0765】

一実施形態において、AAV粒子は、哺乳類細胞を含むウイルス複製細胞で作製されてもよい。

40

組換えAAV粒子の作製に一般的に使用されるウイルス複製細胞としては、限定はされないが、*米国特許第6,156,303号明細書*、*同第5,387,484号明細書*、*同第5,741,683号明細書*、*同第5,691,176号明細書*、及び*同第5,688,676号明細書*；*米国特許出願公開第2002/0081721号明細書*、及び*国際公開第00/47757号パンフレット*、*同第00/24916号パンフレット*、及び*同第96/17947号パンフレット* (これらの各々の内容は本明細書において全体として参照により援用される) に記載されるとおりの、293細胞、COS細胞、HeLa細胞、KB細胞、及び他の哺乳類細胞株が挙げられる。

50

## 【0766】

一実施形態において、AAV粒子は哺乳類細胞で作製され、ここでは3つ全てのVPタンパク質が1:1:10(VP1:VP2:VP3)に近い化学量論で発現する。この制御された発現レベルを実現する調節機構には、差次的スプライシングによって作製される、一方がVP1用、及び他方がVP2及びVP3用の2つのmRNAの作製が含まれる。

## 【0767】

別の実施形態において、AAV粒子はトリプルトランスフェクション方法を用いて哺乳類細胞で作製され、ここではペイロードコンストラクトとパルボウイルスRep及びパルボウイルスCapとヘルパーコンストラクトとが3つの異なるコンストラクト内に含まれる。AAV粒子作製の3成分のトリプルトランスフェクション方法を利用して、形質導入効率、標的組織(向性)評価、及び安定性を含めたアッセイ用の小規模ロットのウイルスを作製し得る。

10

## 【0768】

## バキュロウイルス

本明細書に開示される粒子作製は、ペイロードをコードするヌクレオチドを含むペイロードコンストラクトを送達するため標的細胞に接触するAAV粒子の作製プロセス及び方法を記載する。

## 【0769】

簡潔に言えば、ウイルスコンストラクトベクター及びAAVペイロードコンストラクトベクターが、各々、公知の、当業者によって実施されている標準的な分子生物学的技術により、トランスポゾンドナー/アクセプターシステムによってバキュロウイルスプラスミドとしても知られるバクミドに取り込まれる。別個のウイルス複製細胞集団のトランスフェクションにより2つのバキュロウイルスが生じ、一方はウイルスコンストラクト発現ベクターを含み、もう一方はAAVペイロードコンストラクト発現ベクターを含む。これらの2つのバキュロウイルスを使用して単一のウイルス複製細胞集団を感染させて、AAV粒子を作製し得る。

20

## 【0770】

限定はされないが、スポドプテラ・フルギベルダ(*Spodoptera frugiperda*)(Sf9)細胞を含め、昆虫細胞においてウイルス粒子を作製するためのバキュロウイルス発現ベクターは、高力価のウイルス粒子産物を提供する。ウイルスコンストラクト発現ベクター及びAAVペイロードコンストラクト発現ベクターをコードする組換えバキュロウイルスは、ウイルス複製細胞の増殖性感染を惹起する。初感染から放出された感染性バキュロウイルス粒子は培養物中の更なる細胞に二次感染し、初期感染多重度の関数である所定回数の感染サイクルで細胞培養物集団全体に指数関数的に感染する。ウラベ・M(Urabe, M.)ら著、ジャーナル・オブ・バイロロジー(*J Virol.*)、2006年2月、第80巻、第4号、p.1874~85(この内容は本明細書において全体として参照により援用される)を参照されたい。

30

## 【0771】

昆虫細胞系におけるバキュロウイルスによるAAV粒子の作製は、公知のバキュロウイルスの遺伝的及び物理的不安定性に対処し得る。一実施形態において、この作製システムは、タイターレス感染細胞保存及びスケールアップシステムを利用することにより複数継代をかけてバキュロウイルスの不安定性に対処する。ウイルス作製細胞の小規模シード培養物に、ウイルス粒子の構造、非構造成分をコードするウイルス発現コンストラクトがトランスフェクトされる。バキュロウイルス感染ウイルス作製細胞がアリコートに回収され、それが液体窒素で凍結保存され得る;アリコートは、大規模ウイルス作製細胞培養物の感染のための生存能力及び感染力を維持している。ワシルコ・DJ(Wasilko DJ)ら著、プロテイン・エクスペリメンテーション・アンド・ピュリフィケーション(*Protein Expr Purif.*)、2009年6月、第65巻、第2号、p.122~32、この内容は本明細書において全体として参照により援用される。

40

## 【0772】

50

遺伝的に安定したバキュロウイルスを使用して、無脊椎動物細胞においてAAV粒子を作製するための成分のうちの1つ以上の供給源を作製してもよい。一実施形態において、欠損バキュロウイルス発現ベクターが昆虫細胞のエピソームに保持されてもよい。かかる実施形態においてバクミドベクターは、限定はされないが、プロモータ、エンハンサー、及び/又は細胞周期調節性複製エレメントを含め、複製制御エレメントで操作される。

【0773】

一実施形態において、バキュロウイルスは、キチナーゼ/カテプシン遺伝子座への組換えのため(非)選択可能マーカで操作されてもよい。組織培養におけるバキュロウイルスの増殖にchialv-cath遺伝子座は非必須であり、V-cath(EC3.4.22.50)は、Arg-Argジペプチド含有基質上で最も活性が高いシステインエンドプロテアーゼである。Arg-Argジペプチドはデンスウイルス及びパルボウイルスカプシド構造タンパク質に存在するが、ディペンドウイルスVP1にはまれにしか見られない。

10

【0774】

一実施形態において、バキュロウイルス感染に許容的な安定ウイルス複製細胞は、限定はされないが、AAVゲノム全体、Rep及びCap遺伝子、Rep遺伝子、Cap遺伝子、別個の転写カセットとしての各Repタンパク質、別個の転写カセットとしての各VPタンパク質、AAP(アセンブリ活性化タンパク質)、又は天然若しくは非天然プロモータを有するバキュロウイルスヘルパー遺伝子のうちの少なくとも1つを含め、AAV複製及びウイルス粒子産生に必要なエレメントのいずれかの少なくとも1つの安定に組み込まれたコピーで操作される。

20

【0775】

大規模作製

一実施形態において、AAV粒子作製は、作製規模を増加させるように改良されてもよい。本開示に係る大規模ウイルス作製方法には、米国特許第5,756,283号明細書、同第6,258,595号明細書、同第6,261,551号明細書、同第6,270,996号明細書、同第6,281,010号明細書、同第6,365,394号明細書、同第6,475,769号明細書、同第6,482,634号明細書、同第6,485,966号明細書、同第6,943,019号明細書、同第6,953,690号明細書、同第7,022,519号明細書、同第7,238,526号明細書、同第7,291,498号明細書及び同第7,491,508号明細書又は国際公開第1996039530号パンフレット、同第1998010088号パンフレット、同第1999014354号パンフレット、同第1999015685号パンフレット、同第1999047691号パンフレット、同第2000055342号パンフレット、同第2000075353号パンフレット及び同第2001023597号パンフレット(これらの各々の内容は本明細書において全体として参照により援用される)に教示されるもののいずれかが含まれてもよい。ウイルス粒子作製規模を増加させる方法は、典型的には、ウイルス複製細胞の数を増加させることを含む。一実施形態において、ウイルス複製細胞は接着細胞を含む。接着ウイルス複製細胞によるウイルス粒子作製規模の増加には、より大きい細胞培養表面が必要である。ある場合には、大規模作製方法は、細胞培養表面を増加させるためのローラボトルの使用を含む。表面積が増加した他の細胞培養基材が当該技術分野において公知である。表面積が増加した更なる接着細胞培養製品の例としては、限定はされないが、セルスタック(登録商標)(CELLSTACK(登録商標))、セルキューブ(登録商標)(CELLCUBE(登録商標))(コーニング社(Corning Corp.))、ニューヨーク州コーニング(Corning)及びヌンク(商標)(NUNC(商標))セル・ファクトリー(商標)(CELLFACTORY(商標))(サーモ・サイエンティフィック(Thermo Scientific))、マサチューセッツ州ウォルサム(Waltham)が挙げられる。ある場合には、大規模接着細胞表面は約1,000cm<sup>2</sup>~約100,000cm<sup>2</sup>を含み得る。ある場合には、大規模接着細胞培養物は、約10<sup>7</sup>~約10<sup>9</sup>細胞、約10<sup>8</sup>~約10<sup>10</sup>細胞、約10<sup>9</sup>~約10<sup>1</sup>

30

40

50

2細胞又は少なくとも $10^{12}$ 細胞を含み得る。ある場合には、大規模接着培養物は、約 $10^9$ ～約 $10^{12}$ 、約 $10^{10}$ ～約 $10^{13}$ 、約 $10^{11}$ ～約 $10^{14}$ 、約 $10^{12}$ ～約 $10^{15}$ 又は少なくとも $10^{15}$ ウイルス粒子を作製し得る。

【0776】

一部の実施形態において、本開示の大規模ウイルス作製方法は浮遊細胞培養の使用を含み得る。浮遊細胞培養は細胞数の大幅な増加を可能にする。典型的には、約 $10$ ～ $50\text{ cm}^2$ の表面積で成長させることのできる接着細胞数を懸濁液中では約 $1\text{ cm}^3$ の体積で成長させることができる。

【0777】

大規模培養フォーマットでの複製細胞のトランスフェクションは、当該技術分野において公知の任意の方法により行われてもよい。大規模接着細胞培養には、トランスフェクション方法として、限定はされないが、無機化合物（例えばリン酸カルシウム）、有機化合物〔例えばポリエチレンイミン（PEI）〕の使用又は非化学的方法（例えば電気穿孔）の使用を挙げることができる。懸濁液中で成長させる細胞では、トランスフェクション方法として、限定はされないが、リン酸カルシウムの使用及びPEIの使用を挙げることができる。ある場合には、大規模浮遊培養物のトランスフェクションは、Feng, L.ら2008年、バイオテクノロジー・アンド・アプライド・バイオケミストリー（Biotechnol Appl. Biochem.）、第50巻、p. 121～32（この内容は本明細書において全体として参照により援用される）に記載される「トランスフェクション手順（Transfection Procedure）」と題される節に従い行われてもよい。かかる実施形態によれば、トランスフェクトしようとするプラスミドの導入用にPEI-DNA複合体が形成され得る。ある場合には、PEI-DNA複合体をトランスフェクトされる細胞に、トランスフェクション前に「ショック」が与えられてもよい。これは、細胞培養物温度を約1時間にわたって4℃に下げることを含む。ある場合には、約10分～約5時間の時間にわたって細胞培養物にショックが与えられてもよい。ある場合には、約0℃～約20℃の温度で細胞培養物にショックが与えられてもよい。

【0778】

ある場合には、トランスフェクションは、1つ以上のAAVペイロードコンストラクトからの核酸の発現を低下させるため1つ以上のRNAエフェクター分子発現ベクターを含み得る。かかる方法は、ペイロードコンストラクトの発現に浪費される細胞リソースを減少させることによりウイルス粒子の産生を増強し得る。ある場合には、かかる方法は、米国特許出願公開第2014/0099666号明細書（この内容は本明細書において全体として参照により援用される）に教示されるものに従い行われてもよい。

【0779】

バイオリアクター

一部の実施形態において、大規模ウイルス作製には細胞培養バイオリアクターが用いられ得る。ある場合には、バイオリアクターは攪拌槽型リアクターを含む。かかるリアクターは、概して、典型的には円筒形状の、攪拌機（例えばインペラ）を備えたベッセルを含む。一部の実施形態において、かかるバイオリアクターベッセルは、ベッセル温度を制御し、及び/又は周囲温度の変化による影響を最小限に抑えるため、ウォータジャケット内に置かれ得る。バイオリアクターベッセル容積は、サイズが約 $500\text{ ml}$ ～約 $2\text{ L}$ 、約 $1\text{ L}$ ～約 $5\text{ L}$ 、約 $2.5\text{ L}$ ～約 $20\text{ L}$ 、約 $10\text{ L}$ ～約 $50\text{ L}$ 、約 $25\text{ L}$ ～約 $100\text{ L}$ 、約 $75\text{ L}$ ～約 $500\text{ L}$ 、約 $250\text{ L}$ ～約 $2,000\text{ L}$ 、約 $1,000\text{ L}$ ～約 $10,000\text{ L}$ 、約 $5,000\text{ L}$ ～約 $50,000\text{ L}$ 又は少なくとも $50,000\text{ L}$ の範囲であり得る。ベッセルの底は丸底又は平底であり得る。ある場合には、動物細胞培養物が丸底ベッセルのバイオリアクターに維持され得る。

【0780】

ある場合には、バイオリアクターベッセルはサーモサーキュレータを用いて温められてもよい。サーモサーキュレータは熱水をウォータジャケットの周りに圧送する。ある場合には、熱水は、バイオリアクターベッセル内に存在する管（例えばコイル管）を通じて圧送

10

20

30

40

50

されてもよい。ある場合には、限定はされないが、培養培地の真上にある空気層を含め、バイオリクターの周りに温風が循環してもよい。加えて、細胞生存が最適となるように pH 及び CO<sub>2</sub> レベルが維持され得る。

【0781】

ある場合には、バイオリクターは中空系リアクターを含み得る。中空系バイオリクターは、足場依存性及び足場非依存性の両方の細胞の培養を支持し得る。更なるバイオリクターとしては、限定はされないが、充填床又は固定床バイオリクターを挙げることができる。かかるバイオリクターは、接着細胞の付着用ガラスビーズを有するベッセルを含み得る。更なる充填床リアクターはセラミックビーズを含み得る。

【0782】

ある場合には、ウイルス粒子は使い捨てバイオリクターを用いて作製される。一部の実施形態において、かかるバイオリクターとしては、ウェーブ（商標）（WAVE（商標））使い捨てバイオリクターを挙げることができる。

【0783】

一部の実施形態において、動物細胞バイオリクター培養物における AAV 粒子作製は、米国特許第 5,064,764 号明細書、同第 6,194,191 号明細書、同第 6,566,118 号明細書、同第 8,137,948 号明細書又は米国特許出願公開第 2011/0229971 号明細書（これらの各々の内容は本明細書において全体として参照により援用される）に教示される方法により行われてもよい。

【0784】

細胞溶解

本発明の細胞は、限定はされないがウイルス作製細胞を含め、当該技術分野において公知の任意の方法により細胞溶解に供されてもよい。細胞溶解は、本発明の任意の細胞内に存在する 1 つ以上の薬剤（例えばウイルス粒子）を入手するために行われ得る。一部の実施形態において、細胞溶解は、米国特許第 7,326,555 号明細書、同第 7,579,181 号明細書、同第 7,048,920 号明細書、同第 6,410,300 号明細書、同第 6,436,394 号明細書、同第 7,732,129 号明細書、同第 7,510,875 号明細書、同第 7,445,930 号明細書、同第 6,726,907 号明細書、同第 6,194,191 号明細書、同第 7,125,706 号明細書、同第 6,995,006 号明細書、同第 6,676,935 号明細書、同第 7,968,333 号明細書、同第 5,756,283 号明細書、同第 6,258,595 号明細書、同第 6,261,551 号明細書、同第 6,270,996 号明細書、同第 6,281,010 号明細書、同第 6,365,394 号明細書、同第 6,475,769 号明細書、同第 6,482,634 号明細書、同第 6,485,966 号明細書、同第 6,943,019 号明細書、同第 6,953,690 号明細書、同第 7,022,519 号明細書、同第 7,238,526 号明細書、同第 7,291,498 号明細書及び同第 7,491,508 号明細書又は国際公開第 1996039530 号パンフレット、同第 1998010088 号パンフレット、同第 1999014354 号パンフレット、同第 1999015685 号パンフレット、同第 1999047691 号パンフレット、同第 2000055342 号パンフレット、同第 2000075353 号パンフレット及び同第 2001023597 号パンフレット（これらの各々の内容は本明細書において全体として参照により援用される）に挙げられる方法のいずれかにより行われてもよい。細胞溶解方法は化学的又は機械的であってもよい。化学的細胞溶解は、典型的には、1 つ以上の細胞を 1 つ以上の溶解剤と接触させることを含む。機械的溶解は、典型的には、1 つ以上の細胞を 1 つ以上の溶解条件及び/又は 1 つ以上の溶解力に供することを含む。

【0785】

一部の実施形態では、化学的溶解を用いて細胞が溶解されてもよい。本明細書で使用されるとき、用語「溶解剤」は、細胞の破壊を助け得る任意の薬剤を指す。ある場合には、溶解剤は溶液中に導入され、溶解溶液又は溶解緩衝液と呼ばれる。本明細書で使用されるとき、用語「溶解溶液」は、1 つ以上の溶解剤を含む溶液（典型的には水性）を指す。溶解

10

20

30

40

50

剤に加えて、溶解溶液は、1つ以上の緩衝剤、可溶化剤、界面活性剤、保存剤、凍結保護物質、酵素、酵素阻害薬及び/又はキレータを含み得る。溶解緩衝液は、1つ以上の緩衝剤を含む溶解溶液である。溶解溶液の更なる成分としては、1つ以上の可溶化剤を挙げることができる。本明細書で使用されるとき、用語「可溶化剤」は、溶液の1つ以上の成分の溶解度及び/又は溶液が適用される1つ以上の実体の溶解度を増強する化合物を指す。ある場合には、可溶化剤はタンパク質溶解度を増強する。ある場合には、可溶化剤は、タンパク質のコンホメーション及び/又は活性を維持しながらもタンパク質溶解度を増強するその能力に基づき選択される。

#### 【0786】

例示的溶解剤としては、米国特許第8,685,734号明細書、同第7,901,921号明細書、同第7,732,129号明細書、同第7,223,585号明細書、同第7,125,706号明細書、同第8,236,495号明細書、同第8,110,351号明細書、同第7,419,956号明細書、同第7,300,797号明細書、同第6,699,706号明細書及び同第6,143,567号明細書（これらの各々の内容は本明細書において全体として参照により援用される）に記載されるもののいずれかを挙げることができる。ある場合には、溶解剤は、溶解塩、両性薬剤、カチオン性薬剤、イオン性界面活性剤及び非イオン性界面活性剤から選択され得る。溶解塩としては、限定はされないが、塩化ナトリウム（NaCl）及び塩化カリウム（KCl）を挙げることができる。更なる溶解塩としては、米国特許第8,614,101号明細書、同第7,326,555号明細書、同第7,579,181号明細書、同第7,048,920号明細書、同第6,410,300号明細書、同第6,436,394号明細書、同第7,732,129号明細書、同第7,510,875号明細書、同第7,445,930号明細書、同第6,726,907号明細書、同第6,194,191号明細書、同第7,125,706号明細書、同第6,995,006号明細書、同第6,676,935号明細書及び同第7,968,333号明細書（これらの各々の内容は本明細書において全体として参照により援用される）に記載されるもののいずれかを挙げることができる。塩の濃度は、細胞膜を破裂させる有効濃度が得られるように増加又は減少させてもよい。両性薬剤とは、本明細書において参照されるとき、酸又は塩基として反応する能力を有する化合物である。両性薬剤としては、限定はされないが、リゾホスファチジルコリン、3-（（3-コラミドプロピル）ジメチルアンモニウム）-1-プロパンスルホネート（CHAPS）、ツウィッタージェント（登録商標）（ZWITTERGENT（登録商標））などを挙げることができる。カチオン性薬剤としては、限定はされないが、臭化セチルトリメチルアンモニウム（C(16)TAB）及び塩化ベンザルコニウムを挙げることができる。界面活性剤を含む溶解剤には、イオン性界面活性剤又は非イオン性界面活性剤が含まれ得る。界面活性剤は、限定はされないが、細胞膜、細胞壁、脂質、炭水化物、リポタンパク質及び糖タンパク質を含めた細胞構造を分解する又は溶解させる働きをし得る。例示的イオン性界面活性剤としては、米国特許第7,625,570号明細書及び同第6,593,123号明細書又は米国特許出願公開第2014/0087361号明細書（これらの各々の内容は本明細書において全体として参照により援用される）に教示されるもののいずれかが挙げられる。幾つかのイオン性界面活性剤としては、限定はされないが、ドデシル硫酸ナトリウム（SDS）、コール酸塩及びデオキシコール酸塩を挙げることができる。ある場合には、イオン性界面活性剤は溶解溶液中に可溶化剤として含まれてもよい。非イオン性界面活性剤としては、限定はされないが、オクチルグルコシド、ジギトニン、ルプロール、C12E8、ツイーン（登録商標）-20（TWEEN（登録商標）-20）、ツイーン（登録商標）-80（TWEEN（登録商標）-80）、トリトンX-100（Triton X-100）及びノニデットP-40（Nonidet P-40）を挙げることができる。非イオン性界面活性剤は、典型的には弱溶解剤であるが、細胞性及び/又はウイルス性タンパク質を可溶化するための可溶化剤として含まれてもよい。更なる溶解剤としては、酵素及び尿素を挙げることができる。ある場合には、細胞溶解及びタンパク質溶解度のうちの1つ以上を増強するため、1つ以上の溶解剤が溶解溶液中に組み合

10

20

30

40

50

わされてもよい。ある場合には、細胞膜破壊によって引き起こされ得るタンパク質分解を防ぐため、酵素阻害薬が溶解溶液中に含まれてもよい。

【0787】

一部の実施形態において、機械的細胞溶解が行われる。機械的細胞溶解方法としては、1つ以上の溶解条件及び/又は1つ以上の溶解力の使用を挙げることができる。本明細書で使用されるとき、用語「溶解条件」とは、細胞破壊を促進する状態又は状況を指す。溶解条件には、特定の温度、圧力、浸透圧純度、塩分などが含まれ得る。ある場合には、溶解条件には温度の増加又は低下が含まれる。一部の実施形態によれば、溶解条件には、細胞破壊を促進する温度の変化が含まれる。かかる実施形態により行われる細胞溶解には、凍結融解溶解が含まれ得る。本明細書で使用されるとき、用語「凍結融解溶解」とは、細胞溶液が1回以上の凍結融解サイクルに供される細胞溶解を指す。凍結融解溶解方法によれば、溶液中の細胞が凍結されて、氷の結晶の形成及び拡大によって引き起こされる細胞膜の機械的破壊が誘導される。凍結融解溶解方法により用いられる細胞溶液としては、1つ以上の溶解剤、可溶化剤、緩衝剤、凍結保護物質、界面活性剤、保存剤、酵素、酵素阻害薬及び/又はキレータを更に挙げることができる。凍結に供した細胞溶液を解凍すると、かかる成分が所望の細胞産物の回収を増強し得る。ある場合には、凍結融解溶解を受ける細胞溶液中に1つ以上の凍結保護物質が含まれる。本明細書で使用されるとき、用語「凍結保護物質」は、1つ以上の物質を凍結に起因する損傷から保護するために使用される薬剤を指す。凍結保護物質としては、米国特許出願公開第2013/0323302号明細書又は米国特許第6,503,888号明細書、同第6,180,613号明細書、同第7,888,096号明細書、同第7,091,030号明細書（これらの各々の内容は本明細書において全体として参照により援用される）に教示されるもののいずれかを挙げることができる。ある場合には、凍結保護物質としては、限定はされないが、ジメチルスルホキシド、1,2-プロパンジオール、2,3-ブタンジオール、ホルムアミド、グリセロール、エチレングリコール、1,3-プロパンジオール及びn-ジメチルホルムアミド、ポリビニルピロリドン、ヒドロキシエチルデンプン、アガロース、デキストラン類、イノシトール、グルコース、ヒドロキシエチルデンプン、ラクトース、ソルビトール、メチルグルコース、スクロース及び尿素を挙げることができる。一部の実施形態において、凍結融解溶解は、米国特許第7,704,721号明細書（この内容は本明細書において全体として参照により援用される）に記載される方法のいずれかにより行われてもよい。

【0788】

本明細書で使用されるとき、用語「溶解力」は、細胞を破壊するために用いられる物理的活性を指す。溶解力としては、限定はされないが、機械的力、音波的力、重力、光学的力、電気的力などを挙げることができる。機械的力によって行われる細胞溶解は、本明細書では「機械的溶解」と称される。機械的溶解により用いられ得る機械的力としては、高剪断流体力を挙げることができる。かかる機械的溶解方法によれば、マイクロフルイダイザーが使用されてもよい。マイクロフルイダイザーは、典型的には、細胞溶液が適用され得る入力リザーバを含む。次に細胞溶液がポンプ（例えば高圧ポンプ）によって高速及び/又は高圧で相互作用チャンバに圧送されることにより剪断流体力が生じ得る。次に得られたライセートが1つ以上の出力リザーバに収集され得る。ポンプ速度及び/又は圧力を調整することにより、細胞溶解を調節し、及び産物（例えばウイルス粒子）の回収を増強し得る。他の機械的溶解方法としては、スクレイピングすることによる細胞の物理的破壊を挙げることができる。

【0789】

細胞溶解方法は、溶解させる細胞の細胞培養フォーマットに基づき選択されてもよい。例えば、接着細胞培養物では、幾つかの化学的及び機械的溶解方法が用いられてもよい。かかる機械的溶解方法としては、凍結融解溶解又はスクレイピングを挙げることができる。別の例では、トリトンX-100（Triton-X-100）などの界面活性剤を含む溶解溶液とのインキュベーションによって接着細胞培養物の化学的溶解が行われてもよい。ある場合には、遊離DNAによって生じるライセートの粘度を低下させるため、接着細

10

20

30

40

50

胞培養物から生成された細胞ライセートがもう一つのヌクレアーゼで処理されてもよい。

【0790】

一実施形態において、効率的で規模を調整可能なAAV粒子作製に、溶解のないAAV粒子の回収方法が用いられてもよい。非限定的な例では、AAV粒子は、米国特許出願公開第20090275107号明細書（この内容は全体として参照により本明細書に援用される）に記載されるとおり、ヘパリン結合部位を欠くAAV粒子を培養し、それによりAAV粒子を細胞培養物の上清中に移らせて、培養物から上清を収集し；及び上清からAAV粒子を単離することにより作製されてもよい。

【0791】

清澄化

ウイルス粒子を含む細胞ライセートは清澄化に供され得る。清澄化とは、細胞ライセートからのウイルス粒子の精製において行われる最初のステップを指す。清澄化は、より大きい不溶性のデブリを除去することにより更なる精製にかけるためのライセートを調製する働きをする。清澄化ステップとしては、限定はされないが、遠心及びろ過を挙げることができる。清澄化において、遠心は、より大きいデブリのみを除去するため低速で行われてもよい。同様に、ろ過は、より大きいデブリのみが除去されるように、より大きい孔径のフィルタを使用して行われてもよい。ある場合には、清澄化の間にタンジェンシャルフローろ過が用いられてもよい。ウイルス清澄化の目的には、細胞ライセートのハイスループット処理及び最終的なウイルス回収率の最適化が含まれる。清澄化ステップを含める利点には、更に大容積のライセートを処理するため規模を調整可能であることが含まれる。一部の実施形態において、清澄化は、米国特許第8,524,446号明細書、同第5,756,283号明細書、同第6,258,595号明細書、同第6,261,551号明細書、同第6,270,996号明細書、同第6,281,010号明細書、同第6,365,394号明細書、同第6,475,769号明細書、同第6,482,634号明細書、同第6,485,966号明細書、同第6,943,019号明細書、同第6,953,690号明細書、同第7,022,519号明細書、同第7,238,526号明細書、同第7,291,498号明細書、同第7,491,508号明細書、米国特許出願公開第2013/0045186号明細書、同第2011/0263027号明細書、同第2011/0151434号明細書、同第2003/0138772号明細書、及び国際公開第2002012455号パンフレット、同第1996039530号パンフレット、同第1998010088号パンフレット、同第1999014354号パンフレット、同第1999015685号パンフレット、同第1999047691号パンフレット、同第2000055342号パンフレット、同第2000075353号パンフレット及び同第2001023597号パンフレット（これらの各々の内容は本明細書において全体として参照により援用される）に提示される方法のいずれかにより行われてもよい。

【0792】

ろ過による細胞ライセート清澄化方法は当該技術分野において十分に理解されており、限定はされないが、受動ろ過及びフローろ過を含め、種々の利用可能な方法により行われてもよい。使用されるフィルタは種々の材料及び孔径を含み得る。例えば、細胞ライセートフィルタは、約1µM~約5µM、約0.5µM~約2µM、約0.1µM~約1µM、約0.05µM~約0.05µM及び約0.001µM~約0.1µMの孔径を含み得る。細胞ライセートフィルタの例示的孔径としては、限定はされないが、2.0、1.9、1.8、1.7、1.6、1.5、1.4、1.3、1.2、1.1、1、0.9、0.8、0.7、0.6、0.5、0.4、0.3、0.2、0.1、0.95、0.9、0.85、0.8、0.75、0.7、0.65、0.6、0.55、0.5、0.45、0.4、0.35、0.3、0.25、0.2、0.15、0.1、0.05、0.22、0.21、0.20、0.19、0.18、0.17、0.16、0.15、0.14、0.13、0.12、0.11、0.1、0.09、0.08、0.07、0.06、0.05、0.04、0.03、0.02、0.01、0.02、0.019、0.01

10

20

30

40

50

8、0.017、0.016、0.015、0.014、0.013、0.012、0.011、0.01、0.009、0.008、0.007、0.006、0.005、0.004、0.003、0.002、0.001及び0.001 $\mu$ Mを挙げることができる。一実施形態において、清澄化は、大きいデブリを除去するための2.0 $\mu$ M孔径のフィルタによるろ過と、続くインタクトな細胞を除去するための0.45 $\mu$ M孔径のフィルタへの通過を含み得る。

#### 【0793】

フィルタ材料は種々の材料を含み得る。かかる材料としては、限定はされないが、ポリマー材料及び金属材料（例えば焼結金属及び有孔アルミニウム）を挙げることができる。例示的材料としては、限定はされないが、ナイロン、セルロース材料（例えば酢酸セルロース）、ポリフッ化ビニリデン（PVDF）、ポリエーテルスルホン、ポリアミド、ポリスルホン、ポリプロピレン、及びポリエチレンテレフタレートを挙げることができる。ある場合には、細胞ライセートの清澄化に有用なフィルタとしては、限定はされないが、ウルチプリーツ・プロフィール（商標）（ULTIPLEAT PROFILE（商標））フィルタ（ポール・コーポレーション（Pall Corporation）、ニューヨーク州ポートワシントン）、スポー（商標）（SUPOR（商標））メンブレンフィルタ（ポール・コーポレーション（Pall Corporation）、ニューヨーク州ポートワシントン）を挙げることができる。

10

#### 【0794】

ある場合には、ろ過速度及び/又は有効性を増加させるためフローろ過が行われてもよい。ある場合には、フローろ過は真空ろ過を含み得る。かかる方法によれば、フィルタのうちろ過される細胞ライセートと反対側に真空が作り出される。ある場合には、細胞ライセートを遠心力によってフィルタに通過させてもよい。ある場合には、ポンプを使用して細胞ライセートが清澄化フィルタに押し通される。1つ以上のフィルタを通る細胞ライセートのフロー速度は、チャンネルサイズ及び/又は流圧の一方を調整することにより調節し得る。

20

#### 【0795】

一部の実施形態によれば、細胞ライセートは遠心によって清澄化されてもよい。遠心を用いると、ライセート中の不溶性粒子をペレット化し得る。清澄化の間、遠心強度〔標準重力の倍数を表す重力単位（g）で表される〕は続く精製ステップよりも低くてよい。ある場合には、遠心は細胞ライセートに対して約200g～約800g、約500g～約1500g、約1000g～約5000g、約1200g～約10000g又は約8000g～約15000gで行われてもよい。一部の実施形態において、細胞ライセートの遠心は8000gで15分間行われる。ある場合には、細胞ライセート中の粒子状物質を沈降速度によって分配するため密度勾配遠心法が行われてもよい。本開示の方法により用いられる勾配としては、限定はされないが、塩化セシウム勾配及びイオジキサノール段階勾配を挙げることができる。

30

#### 【0796】

精製：クロマトグラフィー

ある場合には、AAV粒子は、清澄化細胞ライセートから1つ以上のクロマトグラフィー方法によって精製されてもよい。クロマトグラフィーとは、混合物から1つ以上の要素を取り分けるための当該技術分野において公知のあらゆる方法を指す。かかる方法としては、限定はされないが、イオン交換クロマトグラフィー（例えば陽イオン交換クロマトグラフィー及び陰イオン交換クロマトグラフィー）、イムノアフィニティークロマトグラフィー及びサイズ排除クロマトグラフィーを挙げることができる。一部の実施形態において、ウイルスクロマトグラフィー方法としては、米国特許第5,756,283号明細書、同第6,258,595号明細書、同第6,261,551号明細書、同第6,270,996号明細書、同第6,281,010号明細書、同第6,365,394号明細書、同第6,475,769号明細書、同第6,482,634号明細書、同第6,485,966号明細書、同第6,943,019号明細書、同第6,953,690号明細書、同

40

50

第7, 022, 519号明細書、同第7, 238, 526号明細書、同第7, 291, 498号明細書及び同第7, 491, 508号明細書又は国際公開第1996039530号パンフレット、同第1998010088号パンフレット、同第1999014354号パンフレット、同第1999015685号パンフレット、同第1999047691号パンフレット、同第2000055342号パンフレット、同第2000075353号パンフレット及び同第2001023597号パンフレット（これらの各々の内容は本明細書において全体として参照により援用される）に教示されるもののいずれかを挙げる  
ことができる。

【0797】

一部の実施形態では、イオン交換クロマトグラフィーを用いてウイルス粒子が単離されてもよい。イオン交換クロマトグラフィーを用いると、カプシドタンパク質と、固定相、典型的にはウイルス調製物（例えば清澄化ライセート）を通過させるカラムに存在する荷電部位との間の電荷間相互作用に基づきウイルス粒子が結合する。ウイルス調製物を加えた後、次に溶出溶液を加えることにより電荷間相互作用が破壊されて、結合したウイルス粒子が溶出し得る。溶出溶液は、結合したウイルス粒子の回収が促進されるように塩濃度及び/又はpHを調整することにより最適化されてもよい。単離されるウイルスカプシドの電荷に応じて、陽イオン又は陰イオン交換クロマトグラフィー方法が選択され得る。イオン交換クロマトグラフィー方法としては、限定はされないが、米国特許第7, 419, 817号明細書、同第6, 143, 548号明細書、同第7, 094, 604号明細書、同第6, 593, 123号明細書、同第7, 015, 026号明細書及び同第8, 137, 948号明細書（これらの各々の内容は本明細書において全体として参照により援用される）に教示されるもののいずれかを挙げる  
ことができる。

【0798】

一部の実施形態において、イムノアフィニティークロマトグラフィーが用いられてもよい。イムノアフィニティークロマトグラフィーは、1つ以上の免疫化合物（例えば抗体又は抗体関連構造）を利用してウイルス粒子を保持するクロマトグラフィーの一形態である。免疫化合物は、限定はされないが、1つ以上のウイルスコートタンパク質を含め、ウイルス粒子表面上の1つ以上の構造に特異的に結合し得る。ある場合には、免疫化合物は特定のウイルス変種に特異的であってもよい。ある場合には、免疫化合物は複数のウイルス変種に結合してもよい。一部の実施形態において、免疫化合物は組換え一本鎖抗体を含んでもよい。かかる組換え一本鎖抗体としては、スミス・R・H（Smith, R. H.）ら著、2009年、モレキュラー・セラピー（Mol. Ther.）、第17巻、第11号、p. 1888~96（この内容は本明細書において全体として参照により援用される）に記載されるものを挙げる  
ことができる。かかる免疫化合物は、限定はされないが、AAV1、AAV2、AAV6及びAAV8を含め、幾つかのAAVカプシド変種への結合能を有する。

【0799】

一部の実施形態において、サイズ排除クロマトグラフィー（SEC）が用いられてもよい。SECは、ゲルを使用したサイズによる粒子の分離を含み得る。ウイルス粒子精製では、SECろ過は時に「ポリッシング」と称されることもある。ある場合には、SECは、ほぼ均一な最終産物を生じさせるために行われ得る。かかる最終産物は、ある場合には、前臨床試験及び/又は臨床試験で使用され得る（コーチン・R・M（Kotkin, R. M.）、2011年、ヒューマン・モレキュラー・ジェネティクス（Human Molecular Genetics）、第20巻、第1号、p. R2~R6、この内容は本明細書において全体として参照により援用される）。ある場合には、SECは、米国特許第6, 143, 548号明細書、同第7, 015, 026号明細書、同第8, 476, 418号明細書、同第6, 410, 300号明細書、同第8, 476, 418号明細書、同第7, 419, 817号明細書、同第7, 094, 604号明細書、同第6, 593, 123号明細書、及び同第8, 137, 948号明細書（これらの各々の内容は本明細書において全体として参照により援用される）に教示される方法のいずれかにより行われてもよ

10

20

30

40

50

い。

【0800】

一実施形態において、少なくとも1つのAAV粒子を含む組成物は、米国特許第6146874号明細書（この内容は本明細書において全体として参照により援用される）に記載される方法を用いて単離又は精製されてもよい。

【0801】

一実施形態において、少なくとも1つのAAV粒子を含む組成物は、米国特許第6660514号明細書（この内容は本明細書において全体として参照により援用される）に記載される方法を用いて単離又は精製されてもよい。

【0802】

一実施形態において、少なくとも1つのAAV粒子を含む組成物は、米国特許第8283151号明細書（この内容は本明細書において全体として参照により援用される）に記載される方法を用いて単離又は精製されてもよい。

【0803】

一実施形態において、少なくとも1つのAAV粒子を含む組成物は、米国特許第8524446号明細書（この内容は本明細書において全体として参照により援用される）に記載される方法を用いて単離又は精製されてもよい。

【0804】

II. 製剤及び送達

医薬組成物及び製剤

本明細書に提供される医薬組成物、例えば、送達しようとするペイロードを含む調節性ポリヌクレオチド（ウイルス、例えばAAVなど、コードプラスミド又は発現ベクターを含む）の記載は、主としてヒトへの投与に好適な医薬組成物に向けられているが、当業者は、かかる組成物が概して任意の他の動物、例えば、非ヒト動物、例えば非ヒト哺乳類への投与に好適であることを理解するであろう。組成物を種々の動物への投与に好適にするための、ヒトへの投与に好適な医薬組成物の修飾については十分に理解されており、獣医薬理学の当業者は、あったとしても通常どおりに過ぎない実験をもって、かかる修飾を設計及び/又は実施することができる。医薬組成物の投与が企図される対象としては、限定はされないが、ヒト及び/又は他の霊長類；ウシ、ブタ、ウマ、ヒツジ、ネコ、イヌ、マウス、及び/又はラットなど、商業的に関連性のある哺乳類を含めた哺乳類；及び/又は、家禽、ニワトリ、アヒル、ガチョウ、及び/又はシチメンチョウなど、商業的に関連性のある鳥類を含めた鳥類が挙げられる。

【0805】

一部の実施形態において、組成物はヒト、ヒト患者又は対象に投与される。本開示の目的上、語句「活性成分」は、概して、ペイロードを運ぶウイルスベクター、又は本明細書に記載されるとおりのウイルスベクターによって送達される調節性ポリヌクレオチドペイロード分子のいずれかを指す。

【0806】

本明細書に記載される医薬組成物の製剤は、薬理学の技術分野において公知の又は今後開発される任意の方法によって調製されてもよい。一般に、かかる調製方法は、活性成分を賦形剤及び/又は1つ以上の他の補助成分と合わせるステップ、及び次に、必要であれば及び/又は望ましい場合には、生成物を所望の単回又は複数回用量単位に分割、付形及び/又は包装するステップを含む。

【0807】

本発明に係る医薬組成物中の活性成分、薬学的に許容可能な賦形剤、及び/又は任意の追加成分の相対量は、治療対象のアイデンティティ、サイズ、及び/又は状態に応じて、更には組成物が投与される経路に応じて異なることになる。

【0808】

調節性ポリヌクレオチド又はそれをコードするウイルスベクターは、1つ以上の賦形剤を使用して製剤化することにより、（1）安定性を増加させる；（2）細胞トランスフェク

10

20

30

40

50

ション又は形質導入を増加させる；(3) 持続又は遅延放出を可能にする；又は(4) 体内分布を変化させる（例えば、ウイルスベクターを特定の組織又は細胞型に標的化すること）ができる。

【0809】

本発明の製剤は、限定なしに、生理食塩水、リポイド、リポソーム、脂質ナノ粒子、ポリマー、リポブックス、コア-シェルナノ粒子、ペプチド、タンパク質、ウイルスベクターをトランスフェクトした細胞（例えば、対象への移植用）、ナノ粒子模倣体及びこれらの組み合わせを含むことができる。更に、本発明のウイルスベクターは、自己集合性核酸ナノ粒子を使用して製剤化されてもよい。

【0810】

本明細書に記載される医薬組成物の製剤は、薬理学の技術分野において公知の又は今後開発される任意の方法によって調製されてもよい。一般に、かかる調製方法は、活性成分を賦形剤及び/又は1つ以上の他の補助成分と合わせるステップを含む。

【0811】

本開示に係る医薬組成物は、バルクで、単回単位用量として、及び/又は複数の単回単位用量として調製、包装、及び/又は販売されてもよい。本明細書で使用されるとき、「単位用量」は、所定量の活性成分を含む医薬組成物の個別的な量を指す。活性成分の量は、概して対象に投与されるであろう活性成分の投薬量に等しく、及び/又はかかる投薬量の好都合な一部、例えばかかる投薬量の2分の1又は3分の1である。

【0812】

本開示に係る医薬組成物中の活性成分、薬学的に許容可能な賦形剤、及び/又は任意の追加成分の相対量は、治療下の対象のアイデンティティ、サイズ、及び/又は状態に応じて、更には組成物が投与される経路に応じて異なり得る。例えば、組成物は、0.1%~99% (w/w) の活性成分を含み得る。例として、組成物は、0.1%~100%、例えば0.5~50%、1~30%、5~80%、少なくとも80% (w/w) の活性成分を含み得る。

【0813】

一部の実施形態において、本明細書に記載される製剤は少なくとも1つのペイロード分子を含有してもよい。非限定的な例として、製剤は、1、2、3、4又は5つの調節性ポリヌクレオチドペイロード分子を含有してもよい。一実施形態において、製剤は、限定はされないが、ヒトタンパク質、動物用タンパク質、細菌タンパク質、生物学的タンパク質、抗体、免疫原性タンパク質、治療用ペプチド及びタンパク質、分泌タンパク質、原形質膜タンパク質、細胞質及び細胞骨格タンパク質、細胞内膜結合タンパク質、核タンパク質、ヒト疾患に関連するタンパク質及び/又は非ヒト疾患に関連するタンパク質などのカテゴリから選択される調節性ポリヌクレオチドペイロードコンストラクターゲティングタンパク質を含有してもよい。一実施形態において、製剤は少なくとも3つのペイロードコンストラクターゲティングタンパク質を含有する。

【0814】

一部の実施形態において、薬学的に許容可能な賦形剤は、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、又は100%の純度であってもよい。一部の実施形態において、賦形剤はヒトへの使用及び動物への使用が承認されている。一部の実施形態において、賦形剤は米国食品医薬品局によって承認されていてもよい。一部の実施形態において、賦形剤は医薬品グレードであってもよい。一部の実施形態において、賦形剤は、米国薬局方 (USP)、欧州薬局方 (EP)、英国薬局方、及び/又は国際薬局方の規格に適合し得る。

【0815】

賦形剤には、本明細書で使用されるとき、限定はされないが、所望の特定の剤形に適するとおりのあらゆる溶媒、分散媒、希釈剤、又は他の液体媒体、分散液又は懸濁液助剤、表面活性剤、等張剤、増粘剤又は乳化剤、保存剤などが含まれる。医薬組成物を製剤化するための種々の賦形剤及び組成物の調製技法は当該技術分野において公知である（「レミン

10

20

30

40

50

トン：薬学の科学と実践 (Remington: The Science and Practice of Pharmacy)」、第21版、A・R・ジェンナロ (A・R・Gennaro) 著、リップニコット・ウィリアムズ・アンド・ウィルキンス (Lippincott, Williams & Wilkins)、メリーランド州ボルチモア (Baltimore)、2006年を参照のこと；全体として参照により本明細書に援用される)。従来の賦形剤媒体の使用は本開示の範囲内に企図され得るが、但し、任意の望ましくない生物学的効果を生じたり、又はその他、医薬組成物の任意の他の1つ又は複数の成分と有害な形で相互作用したりするなどにより、任意の従来の賦形剤媒体が物質又はその誘導体と不適合である場合は除く。

【0816】

例示的希釈剤としては、限定はされないが、炭酸カルシウム、炭酸ナトリウム、リン酸カルシウム、リン酸二カルシウム、硫酸カルシウム、リン酸水素カルシウム、リン酸ナトリウム、ラクトース、スクロース、セルロース、微結晶性セルロース、カオリン、マンニトール、ソルビトール、イノシトール、塩化ナトリウム、乾燥デンプン、コーンスターチ、粉末糖等、及び/又はこれらの組み合わせが挙げられる。

【0817】

非活性成分

一部の実施形態において、調節性ポリヌクレオチド製剤は、非活性成分である少なくとも1つの賦形剤を含み得る。本明細書で使用されるとき、用語「非活性成分」は、製剤中に含まれる1つ以上の非活性薬剤を指す。一部の実施形態において、本発明の製剤に使用し得る非活性成分は、全てが米国食品医薬品局 (FDA) によって承認されているか、いずれも承認されていないか、又は一部が承認されているものであり得る。

【0818】

本明細書に開示される調節性ポリヌクレオチドを運ぶウイルスベクターの製剤は、カチオン又はアニオンを含み得る。一実施形態において、製剤は、限定はされないが、 $Zn^{2+}$ 、 $Ca^{2+}$ 、 $Cu^{2+}$ 、 $Mg^{+}$  及びこれらの組み合わせなど、金属カチオンを含む。非限定的な例として、製剤は、ポリマー及び金属カチオンと錯体化した調節性ポリヌクレオチドを含み得る (例えば、米国特許第6,265,389号明細書及び同第6,555,525号明細書を参照のこと、これらの各々は、全体として参照により本明細書に援用される)。

【0819】

送達

一実施形態において、調節性ポリヌクレオチドを含むウイルスベクターは、欧州特許出願第1857552号明細書 (この内容は本明細書において全体として参照により援用される) に記載されるAAVピリオンの送達方法を用いて投与又は送達されてもよい。

【0820】

一実施形態において、調節性ポリヌクレオチドを含むウイルスベクターは、欧州特許出願第2678433号明細書 (この内容は本明細書において全体として参照により援用される) に記載されるAAVベクターを用いたタンパク質の送達方法を用いて投与又は送達されてもよい。

【0821】

一実施形態において、調節性ポリヌクレオチドを含むウイルスベクターは、米国特許第5858351号明細書 (この内容は本明細書において全体として参照により援用される) に記載されるAAVベクターを用いたDNA分子の送達方法を用いて投与又は送達されてもよい。

【0822】

一実施形態において、調節性ポリヌクレオチドを含むウイルスベクターは、米国特許第6211163号明細書 (この内容は本明細書において全体として参照により援用される) に記載される血流へのDNAの送達方法を用いて投与又は送達されてもよい。

【0823】

10

20

30

40

50

一実施形態において、調節性ポリヌクレオチドを含むウイルスベクターは、米国特許第6325998号明細書（この内容は本明細書において全体として参照により援用される）に記載されるAAVビリオンの送達方法を用いて投与又は送達されてもよい。

【0824】

一実施形態において、調節性ポリヌクレオチドを含むウイルスベクターは、米国特許第6335011号明細書（この内容は本明細書において全体として参照により援用される）に記載される筋細胞へのDNAの送達方法を用いて投与又は送達されてもよい。

【0825】

一実施形態において、調節性ポリヌクレオチドを含むウイルスベクターは、米国特許第6610290号明細書（この内容は本明細書において全体として参照により援用される）に記載される筋細胞及び組織へのDNAの送達方法を用いて投与又は送達されてもよい。

10

【0826】

一実施形態において、調節性ポリヌクレオチドを含むウイルスベクターは、米国特許第7704492号明細書（この内容は本明細書において全体として参照により援用される）に記載される筋細胞へのDNAの送達方法を用いて投与又は送達されてもよい。

【0827】

一実施形態において、調節性ポリヌクレオチドを含むウイルスベクターは、米国特許第7112321号明細書（この内容は本明細書において全体として参照により援用される）に記載される骨格筋へのペイロードの送達方法を用いて投与又は送達されてもよい。

【0828】

一実施形態において、ウイルスベクターは、米国特許第7588757号明細書（この内容は本明細書において全体として参照により援用される）に記載される中枢神経系へのペイロードの送達方法を用いて投与又は送達されてもよい。

20

【0829】

一実施形態において、調節性ポリヌクレオチドを含むウイルスベクターは、米国特許第8283151号明細書（この内容は本明細書において全体として参照により援用される）に記載されるペイロードの送達方法を用いて投与又は送達されてもよい。

【0830】

一実施形態において、調節性ポリヌクレオチドを含むウイルスベクターは、米国特許第8318687号明細書（この内容は本明細書において全体として参照により援用される）に記載されるアルツハイマー病の治療用ペイロードの送達方法を用いて投与又は送達されてもよい。

30

【0831】

一実施形態において、調節性ポリヌクレオチドを含むウイルスベクターは、国際公開第201214446号パンフレット（この内容は本明細書において全体として参照により援用される）に記載されるペイロードの送達方法を用いて投与又は送達されてもよい。

【0832】

一実施形態において、調節性ポリヌクレオチドを含むウイルスベクターは、国際公開第2001089583号パンフレット（この内容は本明細書において全体として参照により援用される）に記載されるグルタミン酸デカルボキシラーゼ（GAD）送達ベクターを用いたペイロードの送達方法を用いて投与又は送達されてもよい。

40

【0833】

一実施形態において、調節性ポリヌクレオチドを含むウイルスベクターは、国際公開第2001096587号パンフレット（この内容は本明細書において全体として参照により援用される）に記載されるペイロードの送達方法を用いて投与又は送達されてもよい。

【0834】

一実施形態において、調節性ポリヌクレオチドを含むウイルスベクターは、国際公開第2002014487号パンフレット（この内容は本明細書において全体として参照により援用される）に記載される筋組織へのペイロードの送達方法を用いて投与又は送達されてもよい。

50

## 【 0 8 3 5 】

一実施形態において、調節性ポリヌクレオチドを含むウイルスベクターは、国際公開第2012057363号パンフレット（この内容は本明細書において全体として参照により援用される）に記載される神経細胞へのペイロードの送達方法を用いて投与又は送達されてもよい。

## 【 0 8 3 6 】

本明細書に記載されるウイルスベクターの医薬組成物は、バイオアベイラビリティ、治療ウィンドウ及び/又は分布容積のうちの一つ以上によって特徴付けることができる。

一実施形態において、調節性ポリヌクレオチドを含むウイルスベクターは製剤化されてもよい。非限定的な例として、中枢神経系又は中枢神経系の一領域若しくは構成要素における最適な薬物分布が確保されるように、製剤のバリシティ及び/又はオスモル濃度が最適化されてもよい。

10

## 【 0 8 3 7 】

一実施形態において、調節性ポリヌクレオチドを含むウイルスベクターは単一経路投与によって対象に送達されてもよい。

一実施形態において、調節性ポリヌクレオチドを含むウイルスベクターは多部位投与経路によって対象に送達されてもよい。対象には、調節性ポリヌクレオチドを含むウイルスベクターが2、3、4、5又は5より多い部位に投与されてもよい。

## 【 0 8 3 8 】

一実施形態において、対象には、本明細書に記載される調節性ポリヌクレオチドを含むウイルスベクターがボラス注入を用いて投与されてもよい。

20

一実施形態において、対象には、本明細書に記載される調節性ポリヌクレオチドを含むウイルスベクターが、数分間、数時間又は数日間の時間をかけた徐放送達を用いて投与されてもよい。注入速度は、対象、分布、製剤又は別の送達パラメータに応じて変更されてもよい。

## 【 0 8 3 9 】

一実施形態において、多部位送達のため脊椎の2つ以上の部位にカテーテルが位置してもよい。調節性ポリヌクレオチドを含むウイルスベクターは持続注入及び/又はボラス注入で送達されてもよい。各送達部位が異なる投与レジメンであってもよく、又は各送達部位に同じ投与レジメンが用いられてもよい。非限定的な例として、送達部位は頸部及び腰部にあってもよい。別の非限定的な例として、送達部位は頸部にあってもよい。別の非限定的な例として、送達部位は腰部にあってもよい。

30

## 【 0 8 4 0 】

一実施形態において、対象は、本明細書に記載される調節性ポリヌクレオチドを含むウイルスベクターの送達前に脊椎の解剖学的構造及び病変に関して分析されてもよい。非限定的な例として、脊柱側彎症の対象は、脊柱側彎症のない対象と比較して異なる投与レジメン及び/又はカテーテル位置を有し得る。

## 【 0 8 4 1 】

一実施形態において、調節性ポリヌクレオチドを含むウイルスベクターの送達時における脊椎対象の向きは、地面に対して垂直であってもよい。

40

別の実施形態において、調節性ポリヌクレオチドを含むウイルスベクターの送達時における対象の脊椎の向きは、地面に対して水平であってもよい。

## 【 0 8 4 2 】

一実施形態において、調節性ポリヌクレオチド対象を含むウイルスベクターの送達時に、対象の脊椎は地面と比較して角度をなしていてもよい。地面と比較した対象の脊椎の角度は、少なくとも10、20、30、40、50、60、70、80、90、100、110、120、130、140、150又は180度であってもよい。

## 【 0 8 4 3 】

一実施形態において、送達方法及び期間は、脊髄に広範囲にわたる形質導入をもたらすように選択される。非限定的な例として、脊髄の吻尾方向長さに沿って広範囲にわたる形質

50

導入をもたらすため髄腔内送達が用いられる。別の非限定的な例として、多部位注入が脊髄の吻尾方向長さに沿ったより一様な形質導入をもたらす。更に別の非限定的な例として、長時間注入が脊髄の吻尾方向長さに沿ったより一様な形質導入をもたらす。

【0844】

細胞への導入

本発明の調節性ポリヌクレオチドは、種々の手法のいずれを用いて宿主細胞に導入してもよい。調節性ポリヌクレオチドを含むウイルスベクターによる感染が作用されてもよい。好適なウイルスベクターの例としては、複製欠損レトロウイルスベクター、アデノウイルスベクター、アデノ随伴ベクター及びレンチウイルスベクターが挙げられる。

【0845】

本発明によれば、治療法及び/又は診断法における使用のためのウイルスベクターには、目的の核酸ペイロード又はカーゴの形質導入に必要な最小限の成分になるまで抜き出された又は削減されたウイルスが含まれる。

【0846】

このように、ウイルスベクターは、野生型ウイルスに見られる有害な複製及び/又は組込み特徴を持たないながら、特異的送達用の媒体として操作される。

本明細書で使用されるとき、「ベクター」は、本発明の調節性ポリヌクレオチドなどの異種分子を輸送し、形質導入し、又はその他その担体として働く任意の分子又は部分である。「ウイルスベクター」は、目的のペイロード分子、例えばトランス遺伝子、ポリペプチド若しくはマルチポリペプチドをコードするポリヌクレオチド又は調節性核酸をコードする又は含む1つ以上のポリヌクレオチド領域を含むベクターである。本発明のウイルスベクターは、組換え産生されてもよく、アデノ随伴ウイルス(AAV)親配列又は参照配列をベースとしてもよい。本発明において有用であり得る血清型としては、AAV1、AAV2、AAV3、AAV4、AAV5、AAV6、AAV7、AAV8、AAV9、AAV9.47、AAV9(hu14)、AAV10、AAV11、AAV12、AAVrh8、AAVrh10、AAV-DJ、AAV-DJ8、AAV-PHP.A及び/又はAAV-PHP.Bから生じるもののいずれかが挙げられる。

【0847】

一実施形態において、本発明において有用であり得る血清型はAAV-DJ8であってもよい。AAV-DJ8のアミノ酸配列は、ヘパリン結合ドメイン(HBD)を除去するため2つ以上の突然変異を含んでもよい。非限定的な例として、米国特許第7,588,772号明細書(この内容は本明細書において全体として参照により援用される)に配列番号1として記載されるAAV-DJ配列は、2つの突然変異:(1)R587Q[アミノ酸587のアルギニン(R;Arg)がグルタミン(Q;Gln)に変更される]、及び(2)R590T[アミノ酸590のアルギニン(R;Arg)がスレオニン(T;Thr)に変更される]を含み得る。別の非限定的な例としては、3つの突然変異:(1)K406R[アミノ酸406のリジン(K;Lys)がアルギニン(R;Arg)に変更される]、(2)R587Q[アミノ酸587のアルギニン(R;Arg)がグルタミン(Q;Gln)に変更される]及び(3)R590T[アミノ酸590のアルギニン(R;Arg)がスレオニン(T;Thr)に変更される]を含み得る。

【0848】

AAVベクターは自己相補的AAVベクター(scAAV)もまた含み得る。scAAVベクターは、共にアニーリングして二本鎖DNAを形成する両方のDNA鎖を含む。第2鎖の合成をスキップすることにより、scAAVは細胞において迅速に発現することが可能である。

【0849】

一実施形態において、本発明に使用されるAAVベクターはscAAVである。

一実施形態において、調節性ポリヌクレオチドは、限定はされないが、ヒト、イヌ、マウス、ラット又はサルなど、任意の関連性のある種からの細胞に導入されてもよい。

【0850】

10

20

30

40

50

一実施形態において、調節性ポリヌクレオチドは、治療しようとする疾患に関連性のある細胞に導入されてもよい。非限定的な例として、疾患はALSであり、且つ標的細胞は運動ニューロン及びアストロサイトである。

【0851】

一実施形態において、調節性ポリヌクレオチドは、標的配列の内因性発現レベルが高い細胞に導入されてもよい。

別の実施形態において、調節性ポリヌクレオチドは、標的配列の内因性発現レベルが低い細胞に導入されてもよい。

【0852】

一実施形態において、細胞は、高いAAV形質導入効率を有するものであってもよい。

一実施形態において、調節性ポリヌクレオチドのインビトロ分析に用いられ得る細胞としては、限定はされないが、HEK293、HeLa、ヒト初代アストロサイト、ヒトアストロサイト細胞株(U251MG)、SH-SY5Y-ニューロン及びヒトiPSC由来運動ニューロン前駆細胞が挙げられる。

【0853】

III. 投与及び用量設定

投与

本発明の調節性ポリヌクレオチドを含むウイルスベクターは、治療上有効な結果をもたらす任意の経路によって投与されてもよい。それらとしては、限定はされないが、経腸（腸の中）、胃腸、硬膜上（硬膜の中）、経口（口を介して）、経皮、硬膜外、大脳内（大脳の中）、脳室内（脳室の中）、皮膚上（皮膚への塗布）、皮内（皮膚それ自体の中）、皮下（皮膚の下）、鼻腔投与（鼻を通じて）、静脈内（静脈の中）、静脈内ポータス、静脈内点滴、動脈内（動脈の中）、筋肉内（筋肉の中）、心臓内（心臓の中）、骨内注入（骨髄の中）、髄腔内（脊柱管の中）、軟膜下（軟膜と下層組織との間）、腹腔内（腹膜への注入又は注射）、膀胱内注入、硝子体内（眼を通じて）、海綿体内注射（病的腔の中）、腔内（陰茎の基部の中）、腔内投与、子宮内、羊膜外投与、経皮（全身分布のためのインタクトな皮膚を通じた拡散）、経粘膜（粘膜を通じた拡散）、経腔、インサフレーション（鼻から吸い込む）、舌下、唇下、浣腸、点眼薬（結膜上）、点耳薬で、耳介（耳又は耳を介して）、頬側（頬の方に向けて）、結膜、皮膚、歯（1本又は複数の歯に対して）、電気浸透、子宮頸管内、副鼻腔内、気管内、体外、血液透析、浸潤、間質内、腹腔内、羊膜内、関節内、胆管内、気管支内、嚢内、軟骨内（軟骨の範囲内）、仙骨内（馬尾（cauda equine）の範囲内）、大槽内（大槽小脳延髄槽の範囲内）、角膜内（角膜の範囲内）、歯冠内、冠内（冠動脈の範囲内）、海綿体内（intracorporus cavernosum）（陰茎海綿体（corpus cavernosa）の可膨張性腔の範囲内）、椎間板内（椎間板の範囲内）、管内（腺管の範囲内）、十二指腸内（十二指腸の範囲内）、硬膜内（硬膜の範囲内又は真下）、表皮内（表皮に対して）、食道内（食道に対して）、胃内（胃の範囲内）、歯肉内（歯肉の範囲内）、回腸内（小腸の遠位部分の範囲内）、病巣内（局所病変の範囲内、又はそこに直接導入される）、管腔内（管の管腔の範囲内）、リンパ内（リンパの範囲内）、髄内（骨の髄腔の範囲内）、髄膜内（髄膜の範囲内）、眼内（眼の範囲内）、卵巣内（卵巣の範囲内）、心膜内（心膜の範囲内）、胸膜内（胸膜の範囲内）、前立腺内（前立腺の範囲内）、肺内（肺、又はその気管支の範囲内）、洞内（鼻洞又は眼窩周囲洞の範囲内）、脊髄内（脊柱の範囲内）、滑液嚢内（関節の滑液嚢の範囲内）、腱内（腱の範囲内）、精巣内（精巣の範囲内）、髄腔内（脳脊髄軸の任意のレベルにおける脳脊髄液の範囲内）、胸腔内（胸郭の範囲内）、細管内（臓器の細管の範囲内）、腫瘍内（腫瘍の範囲内）、鼓室内（中耳（auris media）の範囲内）、血管内（1つ又は複数の血管の範囲内）、脳室内（脳室の範囲内）、イオントフォoresis（電流を用いるもので、可溶性塩のイオンが体の組織に移動する）、灌注（開放創又は体腔を浸す又はフラッシュする）、喉頭（喉頭に対して直接）、経鼻胃（鼻を通じて胃の中に）、密封包帯療法（局所経路投与、これは次に包帯で覆われ、包帯がその範囲を閉塞する）、眼（外眼部に対して）、中咽頭（口及び咽頭に対して直接）

10

20

30

40

50

、非経口、経皮、関節周囲、硬膜外、神経周囲、歯周、直腸、呼吸器（局所又は全身作用のため経口的又は鼻腔的に吸入することにより気道の範囲内に）、球後（橋の後ろ又は眼球の後ろ）、軟部組織、くも膜下、結膜下、粘膜下、局所、経胎盤（胎盤を通じて又は越えて）、経気管（気管の壁を通じて）、経鼓室（鼓室を越えて又は通じて）、尿管（尿管に対して）、尿道（尿道に対して）、腔、仙骨ブロック、診断的、神経ブロック、胆管灌流、心灌流、フォトフェーシス又は脊髄が挙げられる。具体的な実施形態において、組成物は、それが血液脳関門、血管関門、又は他の上皮性関門を通過可能となる方法で投与されてもよい。一実施形態において、投与経路用の製剤は少なくとも1つの非活性成分を含み得る。

#### 【0854】

##### 用量設定

本発明は、本発明に係るウイルスベクター及びその調節性ポリヌクレオチドペイロード又は複合体をそれを必要としている対象に投与することを含む方法を提供する。そのウイルスベクター医薬組成物、イメージング組成物、診断組成物、又は予防組成物は、疾患、障害、及び/又は病態（例えば、作業記憶欠損に関する疾患、障害、及び/又は病態）の予防、治療、診断、又はイメージングに有効な任意の量及び任意の投与経路を用いて対象に投与されてもよい。必要となる正確な量は、対象の種、年齢、及び全身状態、疾患の重症度、詳細な組成物、その投与様式、その活性様式などに応じて対象毎に異なることになる。本発明に係る組成物は典型的には、投与の簡便性及び投薬量の均一性のため、単位剤形で製剤化される。しかしながら、本発明の組成物の1日の総使用量は主治医が妥当な医学的判断の範囲内で決定し得ることは理解されるであろう。任意の特定の患者に対する具体的な治療上有効な、予防上有効な、又は適切なイメージング用量レベルは、治療下の障害及び障害の重症度；用いられる具体的な化合物の活性；用いられる具体的な組成物；患者の年齢、体重、全般的な健康、性別及び食事；投与時間、投与経路、及び用いられる具体的な調節性ポリヌクレオチドペイロードの排泄速度；治療継続期間；用いられる具体的な化合物と併用して又は同時に使用される薬物；及び医学分野で周知の同様の要因を含めた種々の要因に依存することになる。

#### 【0855】

特定の実施形態において、本発明に係るウイルスベクター医薬組成物は、所望の治療、診断、予防、又はイメージング効果を達成するため、1日に約0.0001mg/kg～約100mg/kg、約0.001mg/kg～約0.05mg/kg、約0.005mg/kg～約0.05mg/kg、約0.001mg/kg～約0.005mg/kg、約0.05mg/kg～約0.5mg/kg、約0.01mg/kg～約50mg/kg、約0.1mg/kg～約40mg/kg、約0.5mg/kg～約30mg/kg、約0.01mg/kg～約10mg/kg、約0.1mg/kg～約10mg/kg、又は約1mg/kg～約25mg/kg対象体重を送達するのに十分な調節性ポリヌクレオチド投薬量レベルで、1日1回以上投与されてもよい（例えば、国際公開第2013078199号パンフレット（本明細書において全体として参照により援用される）に記載される単位用量範囲を参照のこと）。所望の調節性ポリヌクレオチド投薬量は、2回以上送達されてもよい（例えば、1日2回以上の投与）。特定の実施形態において、所望の調節性ポリヌクレオチド投薬量は、複数回の投与（例えば、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14回、又はそれ以上の投与）を用いて送達されてもよい。複数回の投与が利用される場合、本明細書に記載されるような分割用量投与レジメンが用いられてもよい。本明細書で使用されるとき、「分割用量」は、単一単位用量又は総1日用量を2つ以上の用量に分割するもの、例えば単一単位用量の2回以上の投与である。本明細書で使用されるとき、「単一単位用量」は、1用量/1回/単一の経路/単一の接触点、即ち単一の投与イベントで投与される任意の調節性ポリヌクレオチド治療薬の用量である。本明細書で使用されるとき、「総1日用量」は、24時間に与えられる又は処方される量である。これは単一単位用量として投与されてもよい。一実施形態において、本発明の調節性ポリヌクレオチドを含むウイルスベクターは分割用量で対象に投与される。それら

10

20

30

40

50

の用量は、緩衝液のみに、又は本明細書に記載される製剤に製剤化されてもよい。

【0856】

一実施形態において、本発明に係る組成物の細胞への送達は、 $[VG / \text{時間} = mL / \text{時間} \times VG / mL]$  (式中、VGはウイルスゲノムであり、VG/mLは組成物濃度であり、及びmL/時間は持続送達速度である)によって定義される送達速度を含む。

【0857】

一実施形態において、本発明に係る組成物の細胞への送達は、対象当たり約  $1 \times 10^6$  VG ~ 約  $1 \times 10^{16}$  VG の総濃度を含み得る。一部の実施形態において、送達は、約  $1 \times 10^6$ 、 $2 \times 10^6$ 、 $3 \times 10^6$ 、 $4 \times 10^6$ 、 $5 \times 10^6$ 、 $6 \times 10^6$ 、 $7 \times 10^6$ 、 $8 \times 10^6$ 、 $9 \times 10^6$ 、 $1 \times 10^7$ 、 $2 \times 10^7$ 、 $3 \times 10^7$ 、 $4 \times 10^7$ 、 $5 \times 10^7$ 、 $6 \times 10^7$ 、 $7 \times 10^7$ 、 $8 \times 10^7$ 、 $9 \times 10^7$ 、 $1 \times 10^8$ 、 $2 \times 10^8$ 、 $3 \times 10^8$ 、 $4 \times 10^8$ 、 $5 \times 10^8$ 、 $6 \times 10^8$ 、 $7 \times 10^8$ 、 $8 \times 10^8$ 、 $9 \times 10^8$ 、 $1 \times 10^9$ 、 $2 \times 10^9$ 、 $3 \times 10^9$ 、 $4 \times 10^9$ 、 $5 \times 10^9$ 、 $6 \times 10^9$ 、 $7 \times 10^9$ 、 $8 \times 10^9$ 、 $9 \times 10^9$ 、 $1 \times 10^{10}$ 、 $2 \times 10^{10}$ 、 $3 \times 10^{10}$ 、 $4 \times 10^{10}$ 、 $5 \times 10^{10}$ 、 $6 \times 10^{10}$ 、 $7 \times 10^{10}$ 、 $8 \times 10^{10}$ 、 $9 \times 10^{10}$ 、 $1 \times 10^{11}$ 、 $1.1 \times 10^{11}$ 、 $1.2 \times 10^{11}$ 、 $1.3 \times 10^{11}$ 、 $1.4 \times 10^{11}$ 、 $1.5 \times 10^{11}$ 、 $1.6 \times 10^{11}$ 、 $1.7 \times 10^{11}$ 、 $1.8 \times 10^{11}$ 、 $1.9 \times 10^{11}$ 、 $2 \times 10^{11}$ 、 $2.1 \times 10^{11}$ 、 $2.2 \times 10^{11}$ 、 $2.3 \times 10^{11}$ 、 $2.4 \times 10^{11}$ 、 $2.5 \times 10^{11}$ 、 $2.6 \times 10^{11}$ 、 $2.7 \times 10^{11}$ 、 $2.8 \times 10^{11}$ 、 $2.9 \times 10^{11}$ 、 $3 \times 10^{11}$ 、 $4 \times 10^{11}$ 、 $5 \times 10^{11}$ 、 $6 \times 10^{11}$ 、 $7 \times 10^{11}$ 、 $7.1 \times 10^{11}$ 、 $7.2 \times 10^{11}$ 、 $7.3 \times 10^{11}$ 、 $7.4 \times 10^{11}$ 、 $7.5 \times 10^{11}$ 、 $7.6 \times 10^{11}$ 、 $7.7 \times 10^{11}$ 、 $7.8 \times 10^{11}$ 、 $7.9 \times 10^{11}$ 、 $8 \times 10^{11}$ 、 $9 \times 10^{11}$ 、 $1 \times 10^{12}$ 、 $1.1 \times 10^{12}$ 、 $1.2 \times 10^{12}$ 、 $1.3 \times 10^{12}$ 、 $1.4 \times 10^{12}$ 、 $1.5 \times 10^{12}$ 、 $1.6 \times 10^{12}$ 、 $1.7 \times 10^{12}$ 、 $1.8 \times 10^{12}$ 、 $1.9 \times 10^{12}$ 、 $2 \times 10^{12}$ 、 $2.1 \times 10^{12}$ 、 $2.2 \times 10^{12}$ 、 $2.3 \times 10^{12}$ 、 $2.4 \times 10^{12}$ 、 $2.5 \times 10^{12}$ 、 $2.6 \times 10^{12}$ 、 $2.7 \times 10^{12}$ 、 $2.8 \times 10^{12}$ 、 $2.9 \times 10^{12}$ 、 $3 \times 10^{12}$ 、 $3.1 \times 10^{12}$ 、 $3.2 \times 10^{12}$ 、 $3.3 \times 10^{12}$ 、 $3.4 \times 10^{12}$ 、 $3.5 \times 10^{12}$ 、 $3.6 \times 10^{12}$ 、 $3.7 \times 10^{12}$ 、 $3.8 \times 10^{12}$ 、 $3.9 \times 10^{12}$ 、 $4 \times 10^{12}$ 、 $4.1 \times 10^{12}$ 、 $4.2 \times 10^{12}$ 、 $4.3 \times 10^{12}$ 、 $4.4 \times 10^{12}$ 、 $4.5 \times 10^{12}$ 、 $4.6 \times 10^{12}$ 、 $4.7 \times 10^{12}$ 、 $4.8 \times 10^{12}$ 、 $4.9 \times 10^{12}$ 、 $5 \times 10^{12}$ 、 $6 \times 10^{12}$ 、 $6.1 \times 10^{12}$ 、 $6.2 \times 10^{12}$ 、 $6.3 \times 10^{12}$ 、 $6.4 \times 10^{12}$ 、 $6.5 \times 10^{12}$ 、 $6.6 \times 10^{12}$ 、 $6.7 \times 10^{12}$ 、 $6.8 \times 10^{12}$ 、 $6.9 \times 10^{12}$ 、 $7 \times 10^{12}$ 、 $8 \times 10^{12}$ 、 $8.1 \times 10^{12}$ 、 $8.2 \times 10^{12}$ 、 $8.3 \times 10^{12}$ 、 $8.4 \times 10^{12}$ 、 $8.5 \times 10^{12}$ 、 $8.6 \times 10^{12}$ 、 $8.7 \times 10^{12}$ 、 $8.8 \times 10^{12}$ 、 $8.9 \times 10^{12}$ 、 $9 \times 10^{12}$ 、 $1 \times 10^{13}$ 、 $1.1 \times 10^{13}$ 、 $1.2 \times 10^{13}$ 、 $1.3 \times 10^{13}$ 、 $1.4 \times 10^{13}$ 、 $1.5 \times 10^{13}$ 、 $1.6 \times 10^{13}$ 、 $1.7 \times 10^{13}$ 、 $1.8 \times 10^{13}$ 、 $1.9 \times 10^{13}$ 、 $2 \times 10^{13}$ 、 $3 \times 10^{13}$ 、 $4 \times 10^{13}$ 、 $5 \times 10^{13}$ 、 $6 \times 10^{13}$ 、 $6.7 \times 10^{13}$ 、 $7 \times 10^{13}$ 、 $8 \times 10^{13}$ 、 $9 \times 10^{13}$ 、 $1 \times 10^{14}$ 、 $2 \times 10^{14}$ 、 $3 \times 10^{14}$ 、 $4 \times 10^{14}$ 、 $5 \times 10^{14}$ 、 $6 \times 10^{14}$ 、 $7 \times 10^{14}$ 、 $8 \times 10^{14}$ 、 $9 \times 10^{14}$ 、 $1 \times 10^{15}$ 、 $2 \times 10^{15}$ 、 $3 \times 10^{15}$ 、 $4 \times 10^{15}$ 、 $5 \times 10^{15}$ 、 $6 \times 10^{15}$ 、 $7 \times 10^{15}$ 、 $8 \times 10^{15}$ 、 $9 \times 10^{15}$ 、又は  $1 \times 10^{16}$  VG / 対象の組成物濃度を含み得る。

【0858】

一実施形態において、本発明に係る組成物の細胞への送達は、対象当たり約  $1 \times 10^6$  VG / kg ~ 約  $1 \times 10^{16}$  VG / kg の総濃度を含み得る。一部の実施形態において、送達は、約  $1 \times 10^6$ 、 $2 \times 10^6$ 、 $3 \times 10^6$ 、 $4 \times 10^6$ 、 $5 \times 10^6$ 、 $6 \times 10^6$ 、 $7 \times 10^6$ 、 $8 \times 10^6$ 、 $9 \times 10^6$ 、 $1 \times 10^7$ 、 $2 \times 10^7$ 、 $3 \times 10^7$ 、 $4 \times 10^7$ 、 $5 \times 10^7$ 、 $6 \times 10^7$ 、 $7 \times 10^7$ 、 $8 \times 10^7$ 、 $9 \times 10^7$ 、 $1 \times 10^8$ 、 $2 \times$

10

20

30

40

50



$2 \times 10^{12}$ 、 $1.3 \times 10^{12}$ 、 $1.4 \times 10^{12}$ 、 $1.5 \times 10^{12}$ 、 $1.6 \times 10^{12}$ 、 $1.7 \times 10^{12}$ 、 $1.8 \times 10^{12}$ 、 $1.9 \times 10^{12}$ 、 $2 \times 10^{12}$ 、 $2.1 \times 10^{12}$ 、 $2.2 \times 10^{12}$ 、 $2.3 \times 10^{12}$ 、 $2.4 \times 10^{12}$ 、 $2.5 \times 10^{12}$ 、 $2.6 \times 10^{12}$ 、 $2.7 \times 10^{12}$ 、 $2.8 \times 10^{12}$ 、 $2.9 \times 10^{12}$ 、 $3 \times 10^{12}$ 、 $3.1 \times 10^{12}$ 、 $3.2 \times 10^{12}$ 、 $3.3 \times 10^{12}$ 、 $3.4 \times 10^{12}$ 、 $3.5 \times 10^{12}$ 、 $3.6 \times 10^{12}$ 、 $3.7 \times 10^{12}$ 、 $3.8 \times 10^{12}$ 、 $3.9 \times 10^{12}$ 、 $4 \times 10^{12}$ 、 $4.1 \times 10^{12}$ 、 $4.2 \times 10^{12}$ 、 $4.3 \times 10^{12}$ 、 $4.4 \times 10^{12}$ 、 $4.5 \times 10^{12}$ 、 $4.6 \times 10^{12}$ 、 $4.7 \times 10^{12}$ 、 $4.8 \times 10^{12}$ 、 $4.9 \times 10^{12}$ 、 $5 \times 10^{12}$ 、 $6 \times 10^{12}$ 、 $6.1 \times 10^{12}$ 、 $6.2 \times 10^{12}$ 、 $6.3 \times 10^{12}$ 、 $6.4 \times 10^{12}$ 、 $6.5 \times 10^{12}$ 、 $6.6 \times 10^{12}$ 、 $6.7 \times 10^{12}$ 、 $6.8 \times 10^{12}$ 、 $6.9 \times 10^{12}$ 、 $7 \times 10^{12}$ 、 $8 \times 10^{12}$ 、 $9 \times 10^{12}$ 、 $1 \times 10^{13}$ 、 $1.1 \times 10^{13}$ 、 $1.2 \times 10^{13}$ 、 $1.3 \times 10^{13}$ 、 $1.4 \times 10^{13}$ 、 $1.5 \times 10^{13}$ 、 $1.6 \times 10^{13}$ 、 $1.7 \times 10^{13}$ 、 $1.8 \times 10^{13}$ 、 $1.9 \times 10^{13}$ 、 $2 \times 10^{13}$ 、 $3 \times 10^{13}$ 、 $4 \times 10^{13}$ 、 $5 \times 10^{13}$ 、 $6 \times 10^{13}$ 、 $6.7 \times 10^{13}$ 、 $7 \times 10^{13}$ 、 $8 \times 10^{13}$ 、 $9 \times 10^{13}$ 、 $1 \times 10^{14}$ 、 $2 \times 10^{14}$ 、 $3 \times 10^{14}$ 、 $4 \times 10^{14}$ 、 $5 \times 10^{14}$ 、 $6 \times 10^{14}$ 、 $7 \times 10^{14}$ 、 $8 \times 10^{14}$ 、 $9 \times 10^{14}$ 、 $1 \times 10^{15}$ 、 $2 \times 10^{15}$ 、 $3 \times 10^{15}$ 、 $4 \times 10^{15}$ 、 $5 \times 10^{15}$ 、 $6 \times 10^{15}$ 、 $7 \times 10^{15}$ 、 $8 \times 10^{15}$ 、 $9 \times 10^{15}$ 、又は $1 \times 10^{16}$  V G / m L の組成物濃度を含み得る。

【0860】

#### バイオアベイラビリティ

本発明の調節性ポリヌクレオチドを含むウイルスベクターは、本明細書に記載されるとおりのデリバリー剤 / 製剤化剤又は媒体と共に組成物に製剤化されたとき、本明細書に記載されるとおりのデリバリー剤を含まない組成物と比較してバイオアベイラビリティの増加を呈し得る。本明細書で使用される時、用語「バイオアベイラビリティ」は、対象に投与される特定の薬剤の所与の量の全身アベイラビリティを指す。バイオアベイラビリティは、哺乳類への化合物の投与後に変化していない形態の化合物の曲線下面積 (AUC) 又は最高血清若しくは血漿濃度 (C<sub>max</sub>) を測定することにより評価し得る。AUCは、横座標 (X軸) に沿った時間に対して縦座標 (Y軸) に沿って化合物の血清又は血漿濃度をプロットした曲線の下にある面積の決定である。概して、特定の化合物のAUCは、当業者に公知の、及びG・S・バンカー (G・S・Banker) 著、「現代薬剤学、薬物及び薬科学 (Modern Pharmaceutics, Drugs and the Pharmaceutical Sciences)」、第72巻、マルセル・デッカー・ニューヨーク・インコーポレイテッド (Marcel Dekker, New York, Inc.)、1996年 (この内容は本明細書において全体として参照により援用される) に記載されるとおりの方法を用いて計算し得る。

【0861】

C<sub>max</sub> 値は、対象への化合物の投与後に対象の血清又は血漿中で達する化合物の最高濃度である。特定の化合物のC<sub>max</sub> 値は、当業者に公知の方法を用いて測定し得る。本明細書で使用される時、語句「バイオアベイラビリティを増加させる」又は「薬物動態を向上させる」は、対象における本発明のウイルスベクターの全身アベイラビリティ (AUC、C<sub>max</sub>、又はC<sub>min</sub>によって測定されるとおりの) を増加させ得る行為を指す。一部の実施形態において、かかる行為には、本明細書に記載されるとおりの1つ以上のデリバリー剤との共投与が含まれ得る。一部の実施形態において、ウイルスベクターのバイオアベイラビリティは少なくとも約2%、少なくとも約5%、少なくとも約10%、少なくとも約15%、少なくとも約20%、少なくとも約25%、少なくとも約30%、少なくとも約35%、少なくとも約40%、少なくとも約45%、少なくとも約50%、少なくとも約55%、少なくとも約60%、少なくとも約65%、少なくとも約70%、少なくとも約75%、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%又は約100%増加し得る。

## 【 0 8 6 2 】

## 治療ウィンドウ

本発明の調節性ポリヌクレオチドを含むウイルスベクターは、本明細書に記載されるとおりの1つ以上のデリバリー剤と製剤化したとき、本明細書に記載されるとおりの1つ以上のデリバリー剤なしに投与されるウイルスベクターの治療ウィンドウと比較して化合物及び/又は組成物投与の治療ウィンドウの増加を呈し得る。本明細書で使用されるとき、用語「治療ウィンドウ」は、治療効果を誘発する可能性が高い血漿濃度の範囲、又は作用部位における治療上有効な物質のレベルの範囲を指す。一部の実施形態において、製剤で投与したときのウイルスベクターの治療ウィンドウは少なくとも約2%、少なくとも約5%、少なくとも約10%、少なくとも約15%、少なくとも約20%、少なくとも約25%、少なくとも約30%、少なくとも約35%、少なくとも約40%、少なくとも約45%、少なくとも約50%、少なくとも約55%、少なくとも約60%、少なくとも約65%、少なくとも約70%、少なくとも約75%、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%又は約100%増加し得る。

10

## 【 0 8 6 3 】

## 分布容積

本発明の調節性ポリヌクレオチドを含むウイルスベクターは、本明細書に記載されるとおりの1つ以上のデリバリー剤と製剤化したとき、本明細書に記載されるとおりの1つ以上のデリバリー剤を含まない製剤と比べて分布容積 ( $V_{dist}$ ) の向上、例えば低下又は標的化を呈し得る。 $V_{dist}$  は、体内の薬剤の量を血中又は血漿中の同じ薬剤の濃度と関係付ける。本明細書で使用されるとき、用語「分布容積」は、体内の薬剤総量を血中又は血漿中と同じ濃度で含むのに必要となり得る体液量を指す： $V_{dist}$  は、体内の薬剤量 / 血中又は血漿中の薬剤濃度に等しい。例えば、10 mg 用量の所与の薬剤及び10 mg / L の血漿濃度であれば、分布容積は1リットルとなる。分布容積は、薬剤が血管外組織に存在する程度を反映する。高い分布容積は、薬剤が血漿タンパク質と比較して組織成分に結合する傾向を反映する。臨床セッティングでは、 $V_{dist}$  は、定常状態濃度を達成するための負荷用量の決定に用いられ得る。一部の実施形態において、本明細書に記載されるとおりの1つ以上のデリバリー剤と共投与したときの本発明のウイルスベクター組成物の分布容積は、少なくとも約2%、少なくとも約5%、少なくとも約10%、少なくとも約15%、少なくとも約20%、少なくとも約25%、少なくとも約30%、少なくとも約35%、少なくとも約40%、少なくとも約45%、少なくとも約50%、少なくとも約55%、少なくとも約60%、少なくとも約65%、少なくとも約70%低下し得る。

20

30

## 【 0 8 6 4 】

## 併用

調節性ポリヌクレオチドを含むウイルスベクターは、1つ以上の他の治療用、予防用、診断用、又はイメージング用薬剤と併用して使用されてもよい。「~と併用して」とは、その薬剤が同じ時点で投与されなければならない、及び/又は一緒に送達されるように製剤化されなければならないことを含意するよう意図するものではなく、しかしながらこれらの送達方法は本開示の範囲内にある。組成物は、1つ以上の他の所望の治療薬又は医療手技と同時に、その前に、又はその後に投与することができる。一般に、各薬剤は、当該の薬剤について決定された用量及び/又はタイムスケジュールで投与されることになる。一部の実施形態において、本開示は、そのバイオアベイラビリティを向上させ、その代謝を低下させ及び/又は修飾し、その排泄を阻害し、及び/又は体内におけるその分布を修飾し得る薬剤と併用した医薬組成物、予防組成物、診断組成物、又はイメージング組成物の送達を包含する。

40

## 【 0 8 6 5 】

## I V . 使用方法

## 標的遺伝子の発現を低下させる

一部の実施形態において、本発明は、細胞における遺伝子発現を阻害 / サイレンシングす

50



0%、85%、90%、95%及び100%、又は少なくとも15~20%、15~30%、15~40%、15~50%、15~60%、15~70%、15~80%、15~90%、15~95%、20~30%、20~40%、20~50%、20~60%、20~70%、20~80%、20~90%、20~95%、20~100%、30~40%、30~50%、30~60%、30~70%、30~80%、30~90%、30~95%、30~100%、40~50%、40~60%、40~70%、40~80%、40~90%、40~95%、40~100%、50~60%、50~70%、50~80%、50~90%、50~95%、50~100%、55~60%、55~70%、55~80%、55~90%、55~95%、55~100%、60~70%、60~80%、60~90%、60~95%、60~100%、70~80%、70~90%、70~95%、70~100%、80~90%、80~95%、80~100%、90~95%、90~100%又は95~100%の阻害を指す。従って、標的遺伝子のタンパク質産物が、少なくとも約15%、好ましくは少なくとも約16%、17%、18%、19%、20%、21%、22%、23%、24%、25%、26%、27%、28%、29%、30%、31%、32%、33%、34%、35%、36%、37%、38%、39%、40%、41%、42%、43%、44%、45%、46%、47%、48%、49%、50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、85%、90%、95%及び100%、又は少なくとも15~20%、15~30%、15~40%、15~50%、15~60%、15~70%、15~80%、15~90%、15~95%、20~30%、20~40%、20~50%、20~60%、20~70%、20~80%、20~90%、20~95%、20~100%、30~40%、30~50%、30~60%、30~70%、30~80%、30~90%、30~95%、30~100%、40~50%、40~60%、40~70%、40~80%、40~90%、40~95%、40~100%、50~60%、50~70%、50~80%、50~90%、50~95%、50~100%、55~60%、55~70%、55~80%、55~90%、55~95%、55~100%、60~70%、60~80%、60~90%、60~95%、60~100%、70~80%、70~90%、70~95%、70~100%、80~90%、80~95%、80~100%、90~95%、90~100%又は95~100%阻害され得る。

10

20

30

【0867】

一部の実施形態において、本発明は、細胞、詳細には運動ニューロンにおける遺伝子発現を阻害/サイレンシングする方法を提供する。一部の態様において、遺伝子発現の阻害とは、少なくとも約15%、例えば少なくとも約16%、17%、18%、19%、20%、21%、22%、23%、24%、25%、26%、27%、28%、29%、30%、31%、32%、33%、34%、35%、36%、37%、38%、39%、40%、41%、42%、43%、44%、45%、46%、47%、48%、49%、50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、85%、90%、95%及び100%、又は少なくとも15~20%、15~30%、15~40%、15~50%、15~60%、15~70%、15~80%、15~90%、15~95%、20~30%、20~40%、20~50%、20~60%、20~70%、20~80%、20~90%、20~95%、20~100%、30~40%、30~50%、30~60%、30~70%、30~80%、30~90%、30~95%、30~100%、40~50%、40~60%、40~70%、40~80%、40~90%、40~95%、40~100%、50~60%、50~70%、50~80%、50~90%、50~95%、50~100%、55~60%、55~70%、55~80%、55~90%、55~95%、55~100%、60~70%、60~80%、

40

50



0%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、85%、90%、95%及び100%、又は少なくとも15~20%、15~30%、15~40%、15~50%、15~60%、15~70%、15~80%、15~90%、15~95%、20~30%、20~40%、20~50%、20~60%、20~70%、20~80%、20~90%、20~95%、20~100%、30~40%、30~50%、30~60%、30~70%、30~80%、30~90%、30~95%、30~100%、40~50%、40~60%、40~70%、40~80%、40~90%、40~95%、40~100%、50~60%、50~70%、50~80%、50~90%、50~95%、50~100%、55~60%、55~70%、55~80%、55~90%、55~95%、55~100%、60~70%、60~80%、60~90%、60~95%、60~100%、70~80%、70~90%、70~95%、70~100%、80~90%、80~95%、80~100%、90~95%、90~100%又は95~100%阻害され得る。

【0869】

一実施形態では、siRNA二重鎖又はコード化dsRNAを使用してタンパク質の発現を少なくとも約15%、16%、17%、18%、19%、20%、21%、22%、23%、24%、25%、26%、27%、28%、29%、30%、31%、32%、33%、34%、35%、36%、37%、38%、39%、40%、41%、42%、43%、44%、45%、46%、47%、48%、49%、50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、85%、90%、95%及び100%、又は少なくとも15~20%、15~30%、15~40%、15~50%、15~60%、15~70%、15~80%、15~90%、15~95%、20~30%、20~40%、20~50%、20~60%、20~70%、20~80%、20~90%、20~95%、20~100%、30~40%、30~50%、30~60%、30~70%、30~80%、30~90%、30~95%、30~100%、40~50%、40~60%、40~70%、40~80%、40~90%、40~95%、40~100%、50~60%、50~70%、50~80%、50~90%、50~95%、50~100%、55~60%、55~70%、55~80%、55~90%、55~95%、55~100%、60~70%、60~80%、60~90%、60~95%、60~100%、70~80%、70~90%、70~95%、70~100%、80~90%、80~95%、80~100%、90~95%、90~100%又は95~100%低下させてもよい。非限定的な例として、タンパク質発現の発現は50~90%低下し得る。非限定的な例として、タンパク質発現の発現は30~70%低下し得る。非限定的な例として、タンパク質発現の発現は20~70%低下し得る。非限定的な例として、タンパク質発現の発現は15~30%低下し得る。

【0870】

一実施形態において、siRNA二重鎖又はコード化dsRNAをコードする調節性ポリヌクレオチドを使用してmRNAの発現を少なくとも約15%、16%、17%、18%、19%、20%、21%、22%、23%、24%、25%、26%、27%、28%、29%、30%、31%、32%、33%、34%、35%、36%、37%、38%、39%、40%、41%、42%、43%、44%、45%、46%、47%、48%、49%、50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、85%、90%、95%及び100%、又は少なくとも15~20%、15~30%、15~40%、15~50%、15~60%、15~70%、15~80%、15~90%、15~95%、20~30%、20~40%、20~50%、20~60%、20~70%、20~80%、20~90%、20~95%、20~100%

、 30 ~ 40 %、 30 ~ 50 %、 30 ~ 60 %、 30 ~ 70 %、 30 ~ 80 %、 30 ~ 90 %、 30 ~ 95 %、 30 ~ 100 %、 40 ~ 50 %、 40 ~ 60 %、 40 ~ 70 %、 40 ~ 80 %、 40 ~ 90 %、 40 ~ 95 %、 40 ~ 100 %、 50 ~ 60 %、 50 ~ 70 %、 50 ~ 80 %、 50 ~ 90 %、 50 ~ 95 %、 50 ~ 100 %、 55 ~ 60 %、 55 ~ 70 %、 55 ~ 80 %、 55 ~ 90 %、 55 ~ 95 %、 55 ~ 100 %、 60 ~ 70 %、 60 ~ 80 %、 60 ~ 90 %、 60 ~ 95 %、 60 ~ 100 %、 70 ~ 80 %、 70 ~ 90 %、 70 ~ 95 %、 70 ~ 100 %、 80 ~ 90 %、 80 ~ 95 %、 80 ~ 100 %、 90 ~ 95 %、 90 ~ 100 %又は95 ~ 100 %低下させてもよい。非限定的な例として、mRNA発現の発現は50 ~ 90 %低下し得る。非限定的な例として、mRNA発現の発現は30 ~ 70 %低下し得る。非限定的な例として、mRNA発現の発現は20 ~ 70 %低下し得る。非限定的な例として、mRNA発現の発現は15 ~ 30 %低下し得る。

10

【0871】

一実施形態では、siRNA二重鎖又はコード化dsRNAを使用して、限定はされないが中脳など、CNSの少なくとも1つの領域におけるタンパク質及び/又はmRNAの発現を低下させてもよい。タンパク質及び/又はmRNAの発現はCNSの少なくとも1つの領域において少なくとも約15 %、 16 %、 17 %、 18 %、 19 %、 20 %、 21 %、 22 %、 23 %、 24 %、 25 %、 26 %、 27 %、 28 %、 29 %、 30 %、 31 %、 32 %、 33 %、 34 %、 35 %、 36 %、 37 %、 38 %、 39 %、 40 %、 41 %、 42 %、 43 %、 44 %、 45 %、 46 %、 47 %、 48 %、 49 %、 50 %、 51 %、 52 %、 53 %、 54 %、 55 %、 56 %、 57 %、 58 %、 59 %、 60 %、 61 %、 62 %、 63 %、 64 %、 65 %、 66 %、 67 %、 68 %、 69 %、 70 %、 71 %、 72 %、 73 %、 74 %、 75 %、 76 %、 77 %、 78 %、 79 %、 80 %、 85 %、 90 %、 95 %及び100 %、又は少なくとも15 ~ 20 %、 15 ~ 30 %、 15 ~ 40 %、 15 ~ 50 %、 15 ~ 60 %、 15 ~ 70 %、 15 ~ 80 %、 15 ~ 90 %、 15 ~ 95 %、 20 ~ 30 %、 20 ~ 40 %、 20 ~ 50 %、 20 ~ 60 %、 20 ~ 70 %、 20 ~ 80 %、 20 ~ 90 %、 20 ~ 95 %、 20 ~ 100 %、 30 ~ 40 %、 30 ~ 50 %、 30 ~ 60 %、 30 ~ 70 %、 30 ~ 80 %、 30 ~ 90 %、 30 ~ 95 %、 30 ~ 100 %、 40 ~ 50 %、 40 ~ 60 %、 40 ~ 70 %、 40 ~ 80 %、 40 ~ 90 %、 40 ~ 95 %、 40 ~ 100 %、 50 ~ 60 %、 50 ~ 70 %、 50 ~ 80 %、 50 ~ 90 %、 50 ~ 95 %、 50 ~ 100 %、 55 ~ 60 %、 55 ~ 70 %、 55 ~ 80 %、 55 ~ 90 %、 55 ~ 95 %、 55 ~ 100 %、 60 ~ 70 %、 60 ~ 80 %、 60 ~ 90 %、 60 ~ 95 %、 60 ~ 100 %、 70 ~ 80 %、 70 ~ 90 %、 70 ~ 95 %、 70 ~ 100 %、 80 ~ 90 %、 80 ~ 95 %、 80 ~ 100 %、 90 ~ 95 %、 90 ~ 100 %又は95 ~ 100 %低下する。非限定的な例として、線条体及び/又は皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現が50 ~ 90 %低下する。非限定的な例として、線条体におけるタンパク質及びmRNAの発現が40 ~ 50 %低下する。非限定的な例として、線条体におけるタンパク質及びmRNAの発現が20 ~ 50 %低下する。非限定的な例として、線条体におけるタンパク質及びmRNAの発現が15 ~ 50 %低下する。非限定的な例として、皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現が40 ~ 50 %低下する。非限定的な例として、皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現が30 ~ 70 %低下する。非限定的な例として、皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現が20 ~ 70 %低下する。非限定的な例として、皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現が15 ~ 70 %低下する。非限定的な例として、線条体及び/又は皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現が20 ~ 70 %低下する。非限定的な例として、線条体及び/又は皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現が15 ~ 70 %低下する。非限定的な例として、線条体及び/又は皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現が40 ~ 70 %低下する。非限定的な例として、線条体及び/又は皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現が40 ~ 50 %低下する。非限定的な例として、線条体及び/又は皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現が50 ~ 70 %低下する。非限定的な例として、線条体及び/

20

30

40

50

又は皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現が50～60%低下する。非限定的な例として、線条体及び/又は皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現が50%低下する。非限定的な例として、線条体及び/又は皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現が51%低下する。非限定的な例として、線条体及び/又は皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現が52%低下する。非限定的な例として、線条体及び/又は皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現が53%低下する。非限定的な例として、線条体及び/又は皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現が54%低下する。非限定的な例として、線条体及び/又は皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現が55%低下する。非限定的な例として、線条体及び/又は皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現が56%低下する。非限定的な例として、線条体及び/又は皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現が57%低下する。非限定的な例として、線条体及び/又は皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現が58%低下する。非限定的な例として、線条体及び/又は皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現が59%低下する。非限定的な例として、線条体及び/又は皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現が60%低下する。

10

【0872】

一実施形態において、siRNA二重鎖又はコード化dsRNAをコードする調節性ポリヌクレオチドを使用して、限定はされないが前脳など、CNSの少なくとも1つの領域におけるタンパク質及び/又はmRNAの発現を低下させてもよい。タンパク質及び/又はmRNAの発現はCNSの少なくとも1つの領域において少なくとも約15%、16%、17%、18%、19%、20%、21%、22%、23%、24%、25%、26%、27%、28%、29%、30%、31%、32%、33%、34%、35%、36%、37%、38%、39%、40%、41%、42%、43%、44%、45%、46%、47%、48%、49%、50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、85%、90%、95%及び100%、又は少なくとも15～20%、15～30%、15～40%、15～50%、15～60%、15～70%、15～80%、15～90%、15～95%、20～30%、20～40%、20～50%、20～60%、20～70%、20～80%、20～90%、20～95%、20～100%、30～40%、30～50%、30～60%、30～70%、30～80%、30～90%、30～95%、30～100%、40～50%、40～60%、40～70%、40～80%、40～90%、40～95%、40～100%、50～60%、50～70%、50～80%、50～90%、50～95%、50～100%、55～60%、55～70%、55～80%、55～90%、55～95%、55～100%、60～70%、60～80%、60～90%、60～95%、60～100%、70～80%、70～90%、70～95%、70～100%、80～90%、80～95%、80～100%、90～95%、90～100%又は95～100%低下する。非限定的な例として、被殻におけるタンパク質及びmRNAの発現が50～90%低下する。非限定的な例として、線条体におけるタンパク質及びmRNAの発現が40～50%低下する。非限定的な例として、皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現が40～50%低下する。非限定的な例として、皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現が30～70%低下する。非限定的な例として、皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現が20～70%低下する。非限定的な例として、皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現が15～70%低下する。非限定的な例として、線条体及び/又は皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現が20～70%低下する。非限定的な例として、線条体及び/又は皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現が15～70%低下する。非限定的な例として、線条体及び/又は皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現が40～70%低下する。非限定的な例として、線条体及び/又は皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現が40～50%低下する。非限定的な例として、線条体及び/又は皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現が50～70%低下する。非限定的な例として、線条体及び/又は皮質に

20

30

40

50

おけるタンパク質及びmRNAの発現が50～60%低下する。非限定的な例として、線条体及び/又は皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現が50%低下する。非限定的な例として、線条体及び/又は皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現が51%低下する。非限定的な例として、線条体及び/又は皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現が52%低下する。非限定的な例として、線条体及び/又は皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現が53%低下する。非限定的な例として、線条体及び/又は皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現が54%低下する。非限定的な例として、線条体及び/又は皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現が55%低下する。非限定的な例として、線条体及び/又は皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現が56%低下する。非限定的な例として、線条体及び/又は皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現が57%低下する。非限定的な例として、線条体及び/又は皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現が58%低下する。非限定的な例として、線条体及び/又は皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現が59%低下する。非限定的な例として、線条体及び/又は皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現が60%低下する。非限定的な例として、線条体及び/又は皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現が61%低下する。非限定的な例として、線条体及び/又は皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現が62%低下する。非限定的な例として、線条体及び/又は皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現が63%低下する。非限定的な例として、線条体及び/又は皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現が64%低下する。非限定的な例として、線条体及び/又は皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現が65%低下する。非限定的な例として、線条体及び/又は皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現が66%低下する。非限定的な例として、線条体及び/又は皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現が67%低下する。非限定的な例として、線条体及び/又は皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現が68%低下する。非限定的な例として、線条体及び/又は皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現が69%低下する。非限定的な例として、線条体及び/又は皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現が70%低下する。

10

20

【0873】

一実施形態において、siRNA二重鎖又はコード化dsRNAをコードする調節性ポリヌクレオチドを使用して被殻におけるタンパク質及び/又はmRNAの発現を低下させてもよい。タンパク質及び/又はmRNAの発現はCNSの少なくとも1つの領域において少なくとも約15%、16%、17%、18%、19%、20%、21%、22%、23%、24%、25%、26%、27%、28%、29%、30%、31%、32%、33%、34%、35%、36%、37%、38%、39%、40%、41%、42%、43%、44%、45%、46%、47%、48%、49%、50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、85%、90%、95%及び100%、又は少なくとも15～20%、15～30%、15～40%、15～50%、15～60%、15～70%、15～80%、15～90%、15～95%、20～30%、20～40%、20～50%、20～60%、20～70%、20～80%、20～90%、20～95%、20～100%、30～40%、30～50%、30～60%、30～70%、30～80%、30～90%、30～95%、30～100%、40～50%、40～60%、40～70%、40～80%、40～90%、40～95%、40～100%、50～60%、50～70%、50～80%、50～90%、50～95%、50～100%、55～60%、55～70%、55～80%、55～90%、55～95%、55～100%、60～70%、60～80%、60～90%、60～95%、60～100%、70～80%、70～90%、70～95%、70～100%、80～90%、80～95%、80～100%、90～95%、90～100%又は95～100%低下する。非限定的な例として、被殻におけるタンパク質及びmRNAの発現は40～70%低下する。非限定的な例として、被殻におけるタンパク質及びmRNAの

30

40

50

発現は40～50%低下する。非限定的な例として、被殻におけるタンパク質及びmRNAの発現は50～70%低下する。非限定的な例として、被殻におけるタンパク質及びmRNAの発現は50～60%低下する。非限定的な例として、被殻におけるタンパク質及びmRNAの発現は50%低下する。非限定的な例として、被殻におけるタンパク質及びmRNAの発現は51%低下する。非限定的な例として、被殻におけるタンパク質及びmRNAの発現は52%低下する。非限定的な例として、被殻におけるタンパク質及びmRNAの発現は53%低下する。非限定的な例として、被殻におけるタンパク質及びmRNAの発現は54%低下する。非限定的な例として、被殻におけるタンパク質及びmRNAの発現は55%低下する。非限定的な例として、被殻におけるタンパク質及びmRNAの発現は56%低下する。非限定的な例として、被殻におけるタンパク質及びmRNAの発現は57%低下する。非限定的な例として、被殻におけるタンパク質及びmRNAの発現は58%低下する。非限定的な例として、被殻におけるタンパク質及びmRNAの発現は59%低下する。非限定的な例として、被殻におけるタンパク質及びmRNAの発現は60%低下する。非限定的な例として、被殻におけるタンパク質及びmRNAの発現は61%低下する。非限定的な例として、被殻におけるタンパク質及びmRNAの発現は62%低下する。非限定的な例として、被殻におけるタンパク質及びmRNAの発現は63%低下する。非限定的な例として、被殻におけるタンパク質及びmRNAの発現は64%低下する。非限定的な例として、被殻におけるタンパク質及びmRNAの発現は65%低下する。非限定的な例として、被殻におけるタンパク質及びmRNAの発現は66%低下する。非限定的な例として、被殻におけるタンパク質及びmRNAの発現は67%低下する。非限定的な例として、被殻におけるタンパク質及びmRNAの発現は68%低下する。非限定的な例として、被殻におけるタンパク質及びmRNAの発現は69%低下する。非限定的な例として、被殻におけるタンパク質及びmRNAの発現は70%低下する。

10

20

【0874】

一実施形態において、siRNA二重鎖又はコード化dsRNAをコードする調節性ポリヌクレオチドを使用して皮質におけるタンパク質及び/又はmRNAの発現を低下させてもよい。タンパク質及び/又はmRNAの発現は少なくとも約15%、16%、17%、18%、19%、20%、21%、22%、23%、24%、25%、26%、27%、28%、29%、30%、31%、32%、33%、34%、35%、36%、37%、38%、39%、40%、41%、42%、43%、44%、45%、46%、47%、48%、49%、50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、85%、90%、95%及び100%、又は少なくとも15～20%、15～30%、15～40%、15～50%、15～60%、15～70%、15～80%、15～90%、15～95%、20～30%、20～40%、20～50%、20～60%、20～70%、20～80%、20～90%、20～95%、20～100%、30～40%、30～50%、30～60%、30～70%、30～80%、30～90%、30～95%、30～100%、40～50%、40～60%、40～70%、40～80%、40～90%、40～95%、40～100%、50～60%、50～70%、50～80%、50～90%、50～95%、50～100%、60～70%、60～80%、60～90%、60～95%、60～100%、70～80%、70～90%、70～95%、70～100%、80～90%、80～95%、80～100%、90～95%、90～100%又は95～100%低下する。非限定的な例として、皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現は40～50%低下する。非限定的な例として、皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現は30～70%低下する。非限定的な例として、皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現は少なくとも30%低下する。非限定的な例として、皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現は40～70%低下する。非限定的な例として、皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現は40～50%低下する。非限定的な例として、皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現は50～70%低下

30

40

50

する。非限定的な例として、皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現は50～60%低下する。非限定的な例として、皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現は50%低下する。非限定的な例として、皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現は51%低下する。非限定的な例として、皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現は52%低下する。非限定的な例として、皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現は53%低下する。非限定的な例として、皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現は54%低下する。非限定的な例として、皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現は55%低下する。非限定的な例として、皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現は56%低下する。非限定的な例として、皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現は57%低下する。非限定的な例として、皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現は58%低下する。非限定的な例として、皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現は59%低下する。非限定的な例として、皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現は60%低下する。非限定的な例として、皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現は61%低下する。非限定的な例として、皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現は62%低下する。非限定的な例として、皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現は63%低下する。非限定的な例として、皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現は64%低下する。非限定的な例として、皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現は65%低下する。非限定的な例として、皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現は66%低下する。非限定的な例として、皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現は67%低下する。非限定的な例として、皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現は68%低下する。非限定的な例として、皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現は69%低下する。非限定的な例として、皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現は70%低下する。

10

20

【0875】

一実施形態において、siRNA二重鎖又はコード化dsRNAをコードする調節性ポリヌクレオチドを使用して運動皮質におけるタンパク質及び/又はmRNAの発現を低下させてもよい。タンパク質及び/又はmRNAの発現は少なくとも約15%、16%、17%、18%、19%、20%、21%、22%、23%、24%、25%、26%、27%、28%、29%、30%、31%、32%、33%、34%、35%、36%、37%、38%、39%、40%、41%、42%、43%、44%、45%、46%、47%、48%、49%、50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、85%、90%、95%及び100%、又は少なくとも15～20%、15～30%、15～40%、15～50%、15～60%、15～70%、15～80%、15～90%、15～95%、20～30%、20～40%、20～50%、20～60%、20～70%、20～80%、20～90%、20～95%、20～100%、30～40%、30～50%、30～60%、30～70%、30～80%、30～90%、30～95%、30～100%、40～50%、40～60%、40～70%、40～80%、40～90%、40～95%、40～100%、50～60%、50～70%、50～80%、50～90%、50～95%、50～100%、60～70%、60～80%、60～90%、60～95%、60～100%、70～80%、70～90%、70～95%、70～100%、80～90%、80～95%、80～100%、90～95%、90～100%又は95～100%低下する。非限定的な例として、運動皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現は40～50%低下する。非限定的な例として、運動皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現は30～70%低下する。非限定的な例として、運動皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現は20～70%低下する。非限定的な例として、運動皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現は15～70%低下する。非限定的な例として、運動皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現は少なくとも30%低下する。非限定的な例として、運動皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現は40～70%低下する。非限定的な例として、運動皮質におけるタンパク質

30

40

50

及びmRNAの発現は50～70%低下する。非限定的な例として、運動皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現は50～60%低下する。非限定的な例として、運動皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現は50%低下する。非限定的な例として、運動皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現は51%低下する。非限定的な例として、運動皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現は52%低下する。非限定的な例として、運動皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現は53%低下する。非限定的な例として、運動皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現は54%低下する。非限定的な例として、運動皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現は55%低下する。非限定的な例として、運動皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現は56%低下する。非限定的な例として、運動皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現は57%低下する。非限定的な例として、運動皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現は58%低下する。非限定的な例として、運動皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現は59%低下する。非限定的な例として、運動皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現は60%低下する。非限定的な例として、運動皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現は61%低下する。非限定的な例として、運動皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現は62%低下する。非限定的な例として、運動皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現は63%低下する。非限定的な例として、運動皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現は64%低下する。非限定的な例として、運動皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現は65%低下する。非限定的な例として、運動皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現は66%低下する。非限定的な例として、運動皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現は67%低下する。非限定的な例として、運動皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現は68%低下する。非限定的な例として、運動皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現は69%低下する。非限定的な例として、運動皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現は70%低下する。

10

20

【0876】

一実施形態において、siRNA二重鎖又はコード化dsRNAをコードする調節性ポリヌクレオチドを使用して体性感覚皮質におけるタンパク質及び/又はmRNAの発現を低下させてもよい。タンパク質及び/又はmRNAの発現は少なくとも約15%、16%、17%、18%、19%、20%、21%、22%、23%、24%、25%、26%、27%、28%、29%、30%、31%、32%、33%、34%、35%、36%、37%、38%、39%、40%、41%、42%、43%、44%、45%、46%、47%、48%、49%、50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、85%、90%、95%及び100%、又は少なくとも15～20%、15～30%、15～40%、15～50%、15～60%、15～70%、15～80%、15～90%、15～95%、20～30%、20～40%、20～50%、20～60%、20～70%、20～80%、20～90%、20～95%、20～100%、30～40%、30～50%、30～60%、30～70%、30～80%、30～90%、30～95%、30～100%、40～50%、40～60%、40～70%、40～80%、40～90%、40～95%、40～100%、50～60%、50～70%、50～80%、50～90%、50～95%、50～100%、60～70%、60～80%、60～90%、60～95%、60～100%、70～80%、70～90%、70～95%、70～100%、80～90%、80～95%、80～100%、90～95%、90～100%又は95～100%低下する。非限定的な例として、体性感覚皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現は40～50%低下する。非限定的な例として、体性感覚皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現は30～70%低下する。非限定的な例として、体性感覚皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現は20～70%低下する。非限定的な例として、体性感覚皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現は15～70%低下する。非限定的な例として、体性感覚皮質におけるタンパ

30

40

50

ク質及びmRNAの発現は少なくとも30%低下する。非限定的な例として、体性感覚皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現は40~70%低下する。非限定的な例として、体性感覚皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現は50~70%低下する。非限定的な例として、体性感覚皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現は50~60%低下する。非限定的な例として、体性感覚皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現は50%低下する。非限定的な例として、体性感覚皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現は51%低下する。非限定的な例として、体性感覚皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現は52%低下する。非限定的な例として、体性感覚皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現は53%低下する。非限定的な例として、体性感覚皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現は54%低下する。非限定的な例として、体性感覚皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現は55%低下する。非限定的な例として、体性感覚皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現は56%低下する。非限定的な例として、体性感覚皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現は57%低下する。非限定的な例として、体性感覚皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現は58%低下する。非限定的な例として、体性感覚皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現は59%低下する。非限定的な例として、体性感覚皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現は60%低下する。非限定的な例として、体性感覚皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現は61%低下する。非限定的な例として、体性感覚皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現は62%低下する。非限定的な例として、体性感覚皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現は63%低下する。非限定的な例として、体性感覚皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現は64%低下する。非限定的な例として、体性感覚皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現は65%低下する。非限定的な例として、体性感覚皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現は66%低下する。非限定的な例として、体性感覚皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現は67%低下する。非限定的な例として、体性感覚皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現は68%低下する。非限定的な例として、体性感覚皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現は69%低下する。非限定的な例として、体性感覚皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現は70%低下する。

10

20

【0877】

一実施形態において、siRNA二重鎖又はコード化dsRNAをコードする調節性ポリヌクレオチドを使用して側頭皮質におけるタンパク質及び/又はmRNAの発現を低下させてもよい。タンパク質及び/又はmRNAの発現は少なくとも約15%、16%、17%、18%、19%、20%、21%、22%、23%、24%、25%、26%、27%、28%、29%、30%、31%、32%、33%、34%、35%、36%、37%、38%、39%、40%、41%、42%、43%、44%、45%、46%、47%、48%、49%、50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、85%、90%、95%及び100%、又は少なくとも15~20%、15~30%、15~40%、15~50%、15~60%、15~70%、15~80%、15~90%、15~95%、20~30%、20~40%、20~50%、20~60%、20~70%、20~80%、20~90%、20~95%、20~100%、30~40%、30~50%、30~60%、30~70%、30~80%、30~90%、30~95%、30~100%、40~50%、40~60%、40~70%、40~80%、40~90%、40~95%、40~100%、50~60%、50~70%、50~80%、50~90%、50~95%、50~100%、60~70%、60~80%、60~90%、60~95%、60~100%、70~80%、70~90%、70~95%、70~100%、80~90%、80~95%、80~100%、90~95%、90~100%又は95~100%低下する。非限定的な例として、側頭皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現は40~50%低下する。非限定的な例として、側頭皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現は30~70%低下する。非

30

40

50

限定的な例として、側頭皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現は20～70%低下する。非限定的な例として、側頭皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現は15～70%低下する。非限定的な例として、側頭皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現は少なくとも30%低下する。非限定的な例として、側頭皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現は40～70%低下する。非限定的な例として、側頭皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現は50～70%低下する。非限定的な例として、側頭皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現は50～60%低下する。非限定的な例として、側頭皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現は50%低下する。非限定的な例として、側頭皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現は51%低下する。非限定的な例として、側頭皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現は52%低下する。非限定的な例として、側頭皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現は53%低下する。非限定的な例として、側頭皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現は54%低下する。非限定的な例として、側頭皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現は55%低下する。非限定的な例として、側頭皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現は56%低下する。非限定的な例として、側頭皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現は57%低下する。非限定的な例として、側頭皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現は58%低下する。非限定的な例として、側頭皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現は59%低下する。非限定的な例として、側頭皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現は60%低下する。非限定的な例として、側頭皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現は61%低下する。非限定的な例として、側頭皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現は62%低下する。非限定的な例として、側頭皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現は63%低下する。非限定的な例として、側頭皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現は64%低下する。非限定的な例として、側頭皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現は65%低下する。非限定的な例として、側頭皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現は66%低下する。非限定的な例として、側頭皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現は67%低下する。非限定的な例として、側頭皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現は68%低下する。非限定的な例として、側頭皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現は69%低下する。非限定的な例として、側頭皮質におけるタンパク質及びmRNAの発現は70%低下する。

10

20

【0878】

30

一部の実施形態において、本発明は、治療を必要としている対象の遺伝子及び/又はタンパク質の発現を阻害することにより中枢神経系の疾患及び/又は障害を治療する、又は改善する方法を提供し、この方法は、その遺伝子を標的とするsiRNA二重鎖又はsiRNA二重鎖をコードする核酸をコードする少なくとも1つの調節性ポリヌクレオチドの薬学的に有効な量を対象に投与すること、siRNA二重鎖(又はコード化二重鎖)をコードする調節性ポリヌクレオチドを標的細胞に送達すること、遺伝子発現及びタンパク質産生を阻害すること、及び対象における中枢神経系の疾患及び/又は障害の症状を改善することを含む。

【0879】

V. キット及び装置  
キット

40

本発明は、本発明の方法を簡便に及び/又は有効に実施するための種々のキットを提供する。典型的にはキットは、使用者が対象の複数回の治療を実施する及び/又は複数回の実験を実施することを可能にするのに十分な量及び/又は数の構成材料を含むことになる。

【0880】

本発明のベクター、コンストラクト、調節性ポリヌクレオチド、ポリヌクレオチド又はポリペプチドのいずれかがキットに含まれ得る。一部の実施形態において、キットは、本発明の化合物及び/又は組成物を作成及び/又は合成するための試薬及び/又は説明書を更に含み得る。一部の実施形態において、キットはまた、1つ以上の緩衝液も含み得る。一部の実施形態において、本発明のキットは、タンパク質又は核酸アレイ又はライブラリを

50

作製するための構成材料を含んでもよく、従って、例えば固体支持体を含み得る。

【0881】

一部の実施形態において、キット構成材料は水性媒体又は凍結乾燥形態のいずれかで包装されてもよい。キットの収容手段には、概して、そこに構成材料を入れ得る、且つ好ましくは好適にアリコートに分け得る少なくとも1つのバイアル、試験管、フラスコ、ボトル、シリンジ又は他の収容手段が含まれることになる。2つ以上のキット構成材料がある場合、(標識試薬及び標識は一緒に包装されてもよい)、キットはまた、概して、そこに追加的な構成材料を別途入れ得る第2、第3又は他の追加的な容器も含み得る。一部の実施形態において、キットはまた、薬学的に許容可能な滅菌緩衝液及び/又は他の希釈剤を入れる第2の収容手段も含み得る。一部の実施形態において、様々に組み合わせられた構成材料が1つ以上のバイアルに含まれてもよい。本発明のキットはまた、典型的には、商業的に販売するため嚴重に密閉された、本発明の化合物及び/又は組成物、例えば、タンパク質、核酸を入れるための手段、及び任意の他の試薬容器も含み得る。かかる容器には、そこに所望のバイアルを保持する射出成形又は吹込成形されたプラスチック容器が含まれ得る。

10

【0882】

一部の実施形態において、キット構成材料は1つ及び/又は複数の液体溶液中に提供される。一部の実施形態において、液体溶液は水溶液であり、滅菌水溶液が特に好ましい。一部の実施形態において、キット構成材料は乾燥粉末として提供されてもよい。試薬及び/又は構成材料が乾燥粉末として提供される場合、かかる粉末は、好適な容積の溶媒を加えることにより再構成され得る。一部の実施形態において、溶媒はまた、別の収容手段に提供されてもよいことが想定される。一部の実施形態において、標識色素が乾燥粉末として提供される。一部の実施形態において、10、20、30、40、50、60、70、80、90、100、120、120、130、140、150、160、170、180、190、200、300、400、500、600、700、800、900、1000マイクログラム又はこれらの量以上又は以下の乾燥色素が本発明のキットに提供されることが企図される。かかる実施形態において、色素は次にはDMSOなどの任意の好適な溶媒中に再懸濁され得る。

20

【0883】

一部の実施形態において、キットは、キット構成材料の利用、並びにキットに含まれない任意の他の試薬の使用に関する説明書を含み得る。説明書には、実施し得る変法が含まれ得る。

30

【0884】

装置

一部の実施形態において、本発明の化合物及び/又は組成物は、装置と組み合わせられてもよく、その上にコーティングされてもよく、又はそれに埋め込まれてもよい。装置としては、限定はされないが、歯科インプラント、ステント、代用骨、人工関節、弁、ペースメーカー及び/又は他の植込み型治療用装置を挙げることができる。

【0885】

本発明は、1つ以上の調節性ポリヌクレオチドペイロード分子をコードするウイルスベクターを取り入れ得る装置を提供する。こうした装置は、ヒト患者など、それを必要としている対象に直ちに送達され得るウイルスベクターを安定した製剤中に含む。

40

【0886】

投与装置を利用して、本明細書に教示される単回、複数回又は分割投与レジメンに従い本発明の調節性ポリヌクレオチドを含むウイルスベクターを送達し得る。

細胞、器官及び組織への複数回投与用の当該技術分野において公知の方法及び装置は、本発明の実施形態として本明細書に開示される方法及び組成物と併せた使用が企図される。これには、例えば、複数の針を有する方法及び装置、例えばルーメン又はカテーテルを用いるハイブリッド装置並びに熱、電流又は放射駆動機構を利用する装置が含まれる。

【0887】

本発明の調節性ポリヌクレオチドは、異常な又は望ましくない標的発現によって特徴付け

50

られる任意の疾患又は障害の治療、予防又は改善において使用されてもよい。

#### VI. 定義

本明細書の様々な箇所に、本開示の化合物の置換基が群又は範囲で開示される。本開示はかかる群又は範囲のメンバーのあらゆる個別の部分的組み合わせを包含することが特に意図される。

##### 【0888】

約：本明細書で使用されるとき、用語「約」は記載される値の $\pm 10\%$ を意味する。

併用して投与される：本明細書で使用されるとき、用語「併用して投与される」又は「併用投与」は、2つ以上の薬剤が対象に同じ時点で、又は患者に対する各薬剤の効果の重複があり得るような間隔の範囲内で投与されることを意味する。一部の実施形態において、薬剤は互いから約60、30、15、10、5、又は1分以内に投与される。一部の実施形態において、薬剤の投与は、併用効果（例えば相乗効果）が実現するように互いに十分に近い間隔が置かれる。

10

##### 【0889】

動物：本明細書で使用されるとき、用語「動物」は、動物界の任意のメンバーを指す。一部の実施形態において、「動物」は、任意の発生段階にあるヒトを指す。一部の実施形態において、「動物」は、任意の発生段階にある非ヒト動物を指す。特定の実施形態において、非ヒト動物は哺乳類（例えば、げっ歯類、マウス、ラット、ウサギ、サル、イヌ、ネコ、ヒツジ、ウシ、霊長類、又はブタ）である。一部の実施形態において、動物としては、限定はされないが、哺乳類、鳥類、爬虫類、両生類、魚類、及び虫類が挙げられる。一部の実施形態において、動物はトランスジェニック動物、遺伝子操作された動物、又はクローンである。

20

##### 【0890】

近似：本明細書で使用されるとき、用語「近似」又は「約」は、1つ以上の目的の値に適用されるとき、明示される参照値と同様の値を指す。特定の実施形態において、用語「近似」又は「約」は、特に指定されない限り、又はその他文脈上明らかでない限り、明示される参照値の両方向に（それよりも大きい又は小さい）25%、20%、19%、18%、17%、16%、15%、14%、13%、12%、11%、10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1%、又はそれ未満の範囲内に入る値の範囲を指す（かかる数値が可能な値の100%を超える場合を除く）。

30

##### 【0891】

～と会合した：本明細書で使用されるとき、用語「～と会合した」、「コンジュゲートした」、「連結した」、「付加された」、及び「係留された」は、2つ以上の部分に関して使用されるとき、それらの部分が直接か、又は連結剤として働く1つ以上の追加の部分を介するかのいずれかで互いに物理的に結び付く、又はつながることにより、構造が用いられる条件下、例えば生理条件下でそれらの部分が物理的に結び付いたままであるのに十分に安定した構造を形成していることを意味する。「会合」は、厳密に直接的な共有結合性の化学結合を介する必要はない。それはまた、「会合した」実体が物理的に結び付いたままであるのに十分に安定したイオン結合又は水素結合又はハイブリダイゼーションに基づく結合性も示唆し得る。

40

##### 【0892】

二機能性：本明細書で使用されるとき、用語「二機能性」は、少なくとも2つの機能の能力を有する又はそれを維持している任意の物質、分子又は部分を指す。それらの機能は同じ結果又は異なる結果に影響を及ぼし得る。機能を生じさせる構造は同じであっても、又は異なってもよい。

##### 【0893】

生体適合性：本明細書で使用されるとき、用語「生体適合性」は、免疫系による傷害、毒性又は拒絶のリスクをもたらすことがほとんど乃至全くない生細胞、組織、器官又は系との適合性を意味する。

##### 【0894】

50

生分解性：本明細書で使用されるとき、用語「生分解性」は、生きているものの作用によって無害の産物に分解される能力を意味する。

生物学的に活性：本明細書で使用されるとき、語句「生物学的に活性」は、生体系及び/又は生物において活性を有する任意の物質の特性を指す。例えば、生物への投与時に当該生物に生物学的効果を及ぼす物質は、生物学的に活性であると見なされる。詳細な実施形態において、本発明の調節性ポリヌクレオチドは、ポリヌクレオチドの一部であっても生物学的に活性である、又は生物学的に関連性があると見なされる活性を模倣する場合、生物学的に活性であると見なすことができる。

【0895】

人工多能性幹細胞：本明細書で使用されるとき、「人工多能性幹細胞」は、幾つかの異なる細胞型のいずれかを形成するように誘導し得る細胞である。

10

化合物：本明細書で使用されるとき、用語「化合物」は、示される構造のあらゆる立体異性体、幾何異性体、互変異性体、及び同位体を含むことが意図される。

【0896】

本明細書に記載される化合物は不斉であってもよい（例えば、1つ以上の立体中心を有する）。特に指示されない限り、鏡像異性体及びジアステレオマーなど、あらゆる立体異性体が意図される。非対称に置換された炭素原子を含む本開示の化合物は、光学活性型又はラセミ型で分離することができる。光学活性出発物質から光学活性型を調製する方法は、ラセミ混合物の分割によるか、又は立体選択的合成によるなど、当該技術分野において公知である。本明細書に記載される化合物には、オレフィン、C=N二重結合などの多くの幾何異性体もまた存在してよく、かかる安定異性体の全てが本開示において企図される。本開示の化合物のシス及びトランス幾何異性体が記載され、異性体の混合物として、又は別個の異性体形態として分離され得る。

20

【0897】

本開示の化合物はまた、互変異性型も含む。互変異性型は、単結合の隣接する二重結合との交換及び同時に起こるプロトンの移動によって生じる。互変異性型は、同じ実験式及び総電荷を有する異性体プロトン化状態であるプロトン互変異性体を含む。

【0898】

本開示の化合物はまた、中間体又は最終化合物に存在する原子のあらゆる同位体も含む。「同位体」は、同じ原子番号を有するが、核内の中性子の数が異なる結果として質量数が異なる原子を指す。例えば、水素の同位体にはトリチウム及び重水素が含まれる。

30

【0899】

本開示の化合物及び塩は、溶媒又は水分子と組み合わせて調製することにより常法によって溶媒和物及び水和物を形成し得る。

保存されている：本明細書で使用されるとき、用語「保存されている」は、比較されている2つ以上の配列の同じ位置に変化なく存在するものである、ポリヌクレオチド配列又はポリペプチド配列のそれぞれヌクレオチド又はアミノ酸残基を指す。比較的保存されているヌクレオチド又はアミノ酸は、配列の他の部分に現れるヌクレオチド又はアミノ酸と比べてより関連性の高い配列の間で保存されているものである。

【0900】

一部の実施形態において、2つ以上の配列は、それらが互いに100%同一である場合に「完全に保存されている」と言われる。一部の実施形態において、2つ以上の配列は、それらが互いに少なくとも70%同一、少なくとも80%同一、少なくとも90%同一、又は少なくとも95%同一である場合に「高度に保存されている」と言われる。一部の実施形態において、2つ以上の配列は、それらが互いに約70%同一、約80%同一、約90%同一、約95%、約98%、又は約99%同一である場合に「高度に保存されている」と言われる。一部の実施形態において、2つ以上の配列は、それらが互いに少なくとも30%同一、少なくとも40%同一、少なくとも50%同一、少なくとも60%同一、少なくとも70%同一、少なくとも80%同一、少なくとも90%同一、又は少なくとも95%同一である場合に「保存されている」と言われる。一部の実施形態において、2つ以上

40

50

の配列は、それらが互いに約30%同一、約40%同一、約50%同一、約60%同一、約70%同一、約80%同一、約90%同一、約95%同一、約98%同一、又は約99%同一である場合に「保存されている」と言われる。配列の保存はポリヌクレオチド又はポリペプチドの全長に適用されてもよく、又はその一部分、一領域又は一特徴に適用されてもよい。

【0901】

制御放出：本明細書で使用されるとき、用語「制御放出」は、治療結果を生じさせるのに特定の放出パターンに従う医薬組成物又は化合物放出プロファイルを指す。

環状又は環化：本明細書で使用されるとき、用語「環状」は、連続したループの存在を指す。環状分子が円状である必要はなく、サブユニットがつながって切れ目のない鎖を形成しているだけでよい。

10

【0902】

細胞分裂抑制性：本明細書で使用されるとき、「細胞分裂抑制性」は、細胞（例えば哺乳類細胞（例えばヒト細胞））、細菌、ウイルス、真菌、原虫、寄生虫、プリオン、又はこれらの組み合わせの成長、分裂、又は増殖を阻害、低減、抑制することを指す。

【0903】

細胞傷害性：本明細書で使用されるとき、「細胞傷害性」は、細胞（例えば哺乳類細胞（例えばヒト細胞））、細菌、ウイルス、真菌、原虫、寄生虫、プリオン、又はこれらの組み合わせを死滅させること、又はそれに対して傷害性、毒性、若しくは致命的効果を引き起こすことを指す。

20

【0904】

送達：本明細書で使用されるとき、「送達」は、化合物、物質、実体、部分、カーゴ又はペイロードを送達する行為又は方法を指す。

デリバリー剤：本明細書で使用されるとき、「デリバリー剤」は、少なくとも一部には、標的細胞への調節性ポリヌクレオチドのインビボ送達を促進する任意の物質を指す。

【0905】

不安定化した：本明細書で使用されるとき、用語「不安定」、「不安定化する」、又は「不安定化領域」は、出発、野生型又は天然形態の同じ領域又は分子と比べて安定性が低い領域又は分子を意味する。

【0906】

検出可能標識：本明細書で使用されるとき、「検出可能標識」は、X線撮影、蛍光、化学発光、酵素活性、吸光度などを含めた、当該技術分野において公知の方法により容易に検出される別の実体に付加された、取り込まれた、又は結び付いた1つ以上のマーカ、シグナル、又は部分を指す。検出可能標識としては、放射性同位体、フルオロフォア、発色団、酵素、色素、金属イオン、リガンド、例えば、ピオチン、アビジン、ストレプトアビジン及びハプテン、量子ドットなどが挙げられる。検出可能標識は、本明細書に開示されるペプチド又はタンパク質においていずれの位置に位置してもよい。検出可能標識はアミノ酸、ペプチド、若しくはタンパク質の中にあってもよく、又はN末端若しくはC末端に位置してもよい。

30

【0907】

ジアステレオマー：本明細書で使用されるとき、用語「ジアステレオマー」は、互いに鏡像でない、且つ互いに重ね合わせることができない立体異性体を意味する。

消化する：本明細書で使用されるとき、用語「消化する」は、より小さい断片又は成分に壊れることを意味する。ポリペプチド又はタンパク質に関連するとき、消化はペプチドの産生をもたらす。

40

【0908】

遠位：本明細書で使用されるとき、用語「遠位」は、中心から離れて位置している、又は目的の地点若しくは領域から離れて位置していることを意味する。

投与レジメン：本明細書で使用されるとき、「投与レジメン」は、治療、予防、又は緩和ケアの投与スケジュール又は医師が決定したレジメンである。

50

## 【0909】

鏡像異性体：本明細書で使用されるとき、用語「鏡像異性体」は、少なくとも80%（即ち、少なくとも90%が一方の鏡像異性体及び高々10%が他方の鏡像異性体）、好ましくは少なくとも90%及びより好ましくは少なくとも98%の光学純度又は鏡像体過剰率（当該技術分野において標準的な方法によって決定されるとおり）を有する、本発明の化合物の各個別の光学活性型を意味する。

## 【0910】

カプセル化する：本明細書で使用されるとき、用語「カプセル化する」は、封入する、囲い込む又は包むことを意味する。

操作されている：本明細書で使用されるとき、本発明の実施形態は、構造的であれ、又は化学的であれ、出発点、野生型又は天然分子と異なる特徴又は特性を有するように設計されているとき、「操作されている」。

10

## 【0911】

有効量：本明細書で使用されるとき、薬剤（agentis）の「有効量」という用語、有益な又は所望の結果、例えば臨床結果を生じさせるのに十分な量、及び、従って、「有効量」はそれが適用されるコンテキストに依存する。例えば、癌を治療する薬剤を投与するコンテキストでは、薬剤の有効量は、例えば、その薬剤の投与なしに達成される応答と比較したとき、癌の治療（本明細書に定義するとおりの）を実現するのに十分な量である。

## 【0912】

エキソソーム：本明細書で使用されるとき、「エキソソーム」は、哺乳類細胞によって分泌される小胞又はRNA分解に関与する複合体である。

20

発現：本明細書で使用されるとき、核酸配列の「発現」は、以下のイベント：（1）DNA配列からのRNA鋳型の（例えば、転写による）産生；（2）RNA転写物の（例えば、スプライシング、編集、5'キャップ形成、及び/又は3'末端プロセッシングによる）プロセッシング；（3）RNAからポリペプチド又はタンパク質への翻訳；及び（4）ポリペプチド又はタンパク質の翻訳後修飾のうちの1つ以上を指す。

## 【0913】

特徴：本明細書で使用されるとき、「特徴」は、特質、特性、又は特有の要素を指す。

製剤：本明細書で使用されるとき、「製剤」には、少なくとも1つの調節性ポリヌクレオチド及びデリバリー剤が含まれる。

30

## 【0914】

断片：「断片」は、本明細書で使用されるとき、一部分を指す。例えば、タンパク質の断片は、培養細胞から単離された完全長タンパク質の消化によって得られるポリペプチドを含み得る。

## 【0915】

機能性：本明細書で使用されるとき、「機能性」生体分子は、それを特徴付ける特性及び/又は活性を呈している形態の生体分子である。

相同性：本明細書で使用されるとき、用語「相同性」は、ポリマー分子間、例えば核酸分子間（例えばDNA分子及び/又はRNA分子間）及び/又はポリペプチド分子間の全体的な関連性を指す。一部の実施形態において、ポリマー分子は、それらの配列が少なくとも25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、又は99%同一又は同様である場合に互いに「相同」であると見なされる。用語「相同」は、必然的に、少なくとも2つの配列（ポリヌクレオチド又はポリペプチド配列）の間の比較に関する。本発明において、2つのポリヌクレオチド配列は、それらがコードするポリペプチドが少なくとも約20アミノ酸の少なくとも1つのストレッチについて少なくとも約50%、60%、70%、80%、90%、95%、又は更には99%である場合に相同であると見なされる。一部の実施形態において、相同ポリヌクレオチド配列は、少なくとも4～5個の一意に特定されるアミノ酸のストレッチをコードする能力によって特徴付けられる。60ヌクレオチド長未満のポリヌクレオチド配列については、相同性は、少なくとも4～5個の一意に特定されるアミ

40

50

ノ酸のストレッチをコードする能力によって決まる。本発明において、2つのタンパク質配列は、それらのタンパク質が少なくとも約20アミノ酸の少なくとも1つのストレッチについて少なくとも約50%、60%、70%、80%、又は90%同一である場合に相同であると見なされる。

【0916】

同一性：本明細書で使用されるとき、用語「同一性」は、ポリマー分子間、例えば、ポリヌクレオチド分子間（例えばDNA分子及び/又はRNA分子間）及び/又はポリペプチド分子間の全体的な関連性を指す。例えば2つのポリヌクレオチド配列のパーセント同一性の計算は、2つの配列を最適比較のためアラインメントすることにより実施し得る（例えば、最適アラインメントに際して第1及び第2の核酸配列の一方又は両方にギャップが導入されてもよく、及び比較に際して同一でない配列が無視されてもよい）。特定の実施形態において、比較のためアラインメントされる配列の長さは、参照配列の長さの少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%、少なくとも95%、又は100%である。次に、対応するヌクレオチド位置のヌクレオチドが比較される。第1の配列における位置が第2の配列における対応する位置と同じヌクレオチドによって占められているとき、それらの分子は当該位置において同一である。2つの配列間のパーセント同一性は、2つの配列の最適アラインメントのため導入される必要があるギャップの数、及び各ギャップの長さを考慮した、それらの配列が共有する同一の位置の数の関数である。2つの配列間の配列比較及びパーセント同一性の決定は、数学的アルゴリズムを用いて達成することができる。例えば、2つのヌクレオチド配列間のパーセント同一性は、「計算分子生物学（Computational Molecular Biology）」、レスク・A・M（Lesk, A. M.）編、オクスフォード大学出版局（Oxford University Press）、ニューヨーク州、1988年；「バイオコンピューティング：インフォマティクス及びゲノムプロジェクト（Biocomputing: Informatics and Genome Projects）」、スミス・D・W（Smith, D. W.）編、アカデミックプレス（Academic Press）、ニューヨーク州、1993年；「分子生物学における配列解析（Sequence Analysis in Molecular Biology）」、フォン・ハインジェ・G（von Heinje, G.）著、アカデミックプレス（Academic Press）、1987年；「配列データのコンピュータ解析、パートI（Computer Analysis of Sequence Data, Part I）」、グリフィン・A・M（Griffin, A. M.）及びグリフィン・H・G（Griffin, H. G.）編、ヒューマナ・プレス（Humana Press）、ニュージャージー州、1994年；及び「配列解析プライマー（Sequence Analysis Primer）」、グリブスコフ・M（Gribskov, M.）及びデベロー・J（Devereux, J.）編、エム・ストックトン・プレス（M Stockton Press）、ニューヨーク州、1991年（この各々が参照により本明細書に援用される）に記載されるものなどの方法を用いて決定することができる。例えば、2つのヌクレオチド配列間のパーセント同一性は、マイヤー（Meyers）及びミラー（Miller）のアルゴリズム（コンピュータ・アプリケーションズ・イン・ザ・バイオサイエンス（CABIOS）、1989年、第4巻、p. 11~17）を用いて決定することができ、このアルゴリズムは、PAM120重み付け残基テーブル、ギャップ長ペナルティ12及びギャップペナルティ4を用いるALIGNプログラム（バージョン2.0）に組み込まれている。2つのヌクレオチド配列間のパーセント同一性は、或いは、NWSgapdna.CMP行列を使用したGC GソフトウェアパッケージのGAPプログラムを用いて決定されてもよい。配列間のパーセント同一性の決定に一般的に用いられる方法としては、限定はされないが、カリロ・H（Carillo, H.）、及びリップマン・D（Lipman, D.）、工業・応用数学会ジャーナル・オン・アプライド・マセマティクス（SIAM J Applied Math.）、第48巻、p. 1073、1988年（参照により本明細書に援用される）に記載されるもの

10

20

30

40

50

が挙げられる。同一性の決定技法は、公的に利用可能なコンピュータプログラムに符号化されている。2つの配列間の相同性を決定する例示的なコンピュータソフトウェアとしては、限定はされないが、GCGプログラムパッケージ、デベロー・J (Devereux, J.)ら著、ヌクレック・アシッド・リサーチ (Nucleic Acids Research)、第12巻、第1号、p. 387、1984年)、BLASTP、BLASTN、及びFASTA アルツシュール・S・F (Altschul, S.F.)ら著、ジャーナル・オブ・モレキュラー・バイオロジー (J. Molec. Biol.)、第215巻、p. 403、1990年)が挙げられる。

【0917】

遺伝子の発現を阻害する：本明細書で使用されるとき、語句「遺伝子の発現を阻害する」は、遺伝子の発現産物の量の減少を生じさせることを意味する。発現産物は、遺伝子から転写されるRNA (例えばmRNA) 又は遺伝子から転写されたmRNAから翻訳されるポリペプチドであってもよい。典型的には、mRNAレベルの減少は、それから転写されるポリペプチドレベルの減少をもたらす。発現レベルは標準的なmRNA又はタンパク質測定技法を用いて決定し得る。

10

【0918】

異性体：本明細書で使用されるとき、用語「異性体」は、本発明の任意の化合物の任意の互変異性体、立体異性体、鏡像異性体、又はジアステレオマーを意味する。本発明の化合物は1つ以上のキラル中心及び/又は二重結合を有し得るため、二重結合異性体 (即ち、幾何E/Z異性体) 又はジアステレオマー (例えば、鏡像異性体 (即ち、(+)) 又は(-)) 又はシス/トランス異性体) など、立体異性体として存在し得ることが認識される。本発明によれば、本明細書に示される化学構造、従って本発明の化合物は、対応するあらゆる立体異性体、即ち、立体異性的に純粋な形態 (例えば、幾何学的に純粋、鏡像異性的に純粋、又はジアステレオ異性的に純粋) 並びに鏡像異性体及び立体異性体の混合物、例えばラセミ化合物の両方を包含する。本発明の化合物の鏡像異性体及び立体異性体の混合物は、典型的には、キラル相ガスクロマトグラフィー、キラル相高速液体クロマトグラフィー、キラル塩錯体としての化合物の結晶化、又はキラル溶媒中での化合物の結晶化など、周知の方法によってその構成鏡像異性体又は立体異性体に分割することができる。鏡像異性体及び立体異性体はまた、周知の不斉合成方法により、立体異性的又は鏡像異性的に純粋な中間体、試薬、及び触媒からも得ることもできる。

20

30

【0919】

インビトロ：本明細書で使用されるとき、用語「インビトロ」は、生物 (例えば、動物、植物、又は微生物) の中でなく、むしろ人工環境、例えば試験管又は反応槽、細胞培養物、ペトリ皿等で起こるイベントを指す。

【0920】

インピボ：本明細書で使用されるとき、用語「インピボ」は、生物 (例えば、動物、植物、又は微生物又はその細胞若しくは組織) の中で起こるイベントを指す。

単離された：本明細書で使用されるとき、用語「単離された」は、それと (天然にであれ、又は実験セッティングにおいてであれ) 結び付いていた成分の少なくとも一部と分離されている物質又は実体を指す。単離された物質は、それが結び付いていた物質と比べて様々なレベルの純度を有し得る。単離された物質及び/又は実体は、それが当初結び付いていた他の成分の少なくとも約10%、約20%、約30%、約40%、約50%、約60%、約70%、約80%、約90%、又はそれ以上と分離されてもよい。一部の実施形態において、単離された作用物質は、約80%超、約85%、約90%、約91%、約92%、約93%、約94%、約95%、約96%、約97%、約98%、約99%、又は約99%超純粋である。本明細書で使用されるとき、物質は、それが他の成分を実質的に含まない場合に「純粋」である。

40

【0921】

実質的に単離された：「実質的に単離された」とは、化合物が、その形成又は検出が行われた環境と実質的に分離されていることを意味する。部分的な分離には、例えば、本開示

50

の化合物が濃縮された組成物が含まれ得る。実質的な分離には、重量基準で少なくとも約 50%、少なくとも約 60%、少なくとも約 70%、少なくとも約 80%、少なくとも約 90%、少なくとも約 95%、少なくとも約 97%、又は少なくとも約 99%の本開示の化合物、又はその塩を含む組成物が含まれ得る。化合物及びその塩の単離方法は当該技術分野においてルーチンである。

【0922】

リンカー：本明細書で使用されるとき、リンカーとは、原子団、例えば 10 ~ 1,000 個の原子を指し、限定はされないが、炭素、アミノ、アルキルアミノ、酸素、硫黄、スルホキシド、スルホニル、カルボニル、及びイミンなどの原子又は原子団を含み得る。リンカーは、第 1 の端部で核酸塩基又は糖部分上の修飾ヌクレオシド又はヌクレオチドに、及び第 2 の端部でペイロード、例えば検出可能な又は治療用の薬剤に付加することができる。リンカーは、核酸配列への取込みを妨げないような十分な長さであり得る。リンカーは、調節性ポリヌクレオチド多量体（例えば、2 つ以上の調節性ポリヌクレオチド分子の連結による）又は調節性ポリヌクレオチドコンジュゲートの形成、並びに本明細書に記載されるとおりのペイロードの投与など、任意の有用な目的に使用することができる。リンカーに取り込み得る化学基の例としては、限定はされないが、アルキル、アルケニル、アルキニル、アミド、アミノ、エーテル、チオエーテル、エステル、アルキレン、ヘテロアルキレン、アリール、又はヘテロシクリルが挙げられ、これらの各々は任意選択で本明細書に記載されるとおり置換されていてもよい。リンカーの例としては、限定はされないが、不飽和アルカン類、ポリエチレングリコール類（例えば、エチレン又はプロピレングリコールモノマー単位、例えば、ジエチレングリコール、ジプロピレングリコール、トリエチレングリコール、トリプロピレングリコール、テトラエチレングリコール、又はテトラエチレングリコール）、及びデキストランポリマー類及びこれらの誘導体が挙げられる。他の例としては、限定はされないが、還元剤又は光分解を用いて切断することのできるリンカー内の切断可能部分、例えば、ジスルフィド結合（-S-S-）又はアゾ結合（-N=N-）などが挙げられる。選択的に切断可能な結合の非限定的な例としては、例えばトリス（2-カルボキシエチル）ホスフィン（TCPEP）、又は他の還元剤、及び/又は光分解を用いることにより切断できるアミド結合、並びに例えば酸又は塩基加水分解により切断できるエステル結合が挙げられる。

【0923】

マイクロRNA (miRNA) 結合部位：本明細書で使用されるとき、マイクロRNA (miRNA) 結合部位は、核酸転写物のなかでmiRNAの少なくとも「シード」領域が結合するヌクレオチド位置又は領域に相当する。

【0924】

修飾された：本明細書で使用されるとき「修飾された」は、本発明の分子の変化した状態又は構造を指す。分子は、化学的、構造的、及び機能的を含め、多くの方法で修飾することができる。

【0925】

天然に存在する：本明細書で使用されるとき、「天然に存在する」は、人工的な補助なしに自然中にあることを意味する。

中和抗体：本明細書で使用されるとき、「中和抗体」は、その抗原に結合して、抗原又は感染病原体が有する任意の生物学的活性を中和し、又は無効にすることにより細胞をそれから防御する抗体を指す。

【0926】

非ヒト脊椎動物：本明細書で使用されるとき、「非ヒト脊椎動物」には、野生種及び家畜化された種を含め、ヒト (Homo sapiens) を除くあらゆる脊椎動物が含まれる。非ヒト脊椎動物の例としては、限定はされないが、アルパカ、バンテン、バイソン、ラクダ、ネコ、ウシ、シカ、イヌ、ロバ、ガヤル、ヤギ、モルモット、ウマ、ラマ、ラバ、ブタ、ウサギ、トナカイ、ヒツジ、スイギュウ、及びヤクなどの哺乳類が挙げられる。

【0927】

オフターゲット：本明細書で使用されるとき、「オフターゲット」は、任意の1つ以上の標的、遺伝子、又は細胞転写物に対する任意の意図しない効果を指す。

オープンリーディングフレーム：本明細書で使用されるとき、「オープンリーディングフレーム」又は「ORF」は、所与のリーディングフレームにおける終止コドンを含まない配列を指す。

【0928】

作動可能に連結された：本明細書で使用されるとき、語句「作動可能に連結された」は、2つ以上の分子、コンストラクト、転写物、実体、部分などの間の機能的つながりを指す。

【0929】

任意選択で置換されている：本明細書では、「任意選択で置換されているX」（例えば、任意選択で置換されているアルキル）という形式の語句は、「X、ここでXは任意選択で置換されている」（例えば、「アルキル、ここでアルキルは任意選択で置換されている」）と等価であることが意図される。特徴「X」（例えばアルキル）それ自体が任意選択であることを意味する意図はない。

10

【0930】

ペプチド：本明細書で使用されるとき、「ペプチド」は50アミノ酸長以下、例えば、約5、10、15、20、25、30、35、40、45、又は50アミノ酸長である。

患者：本明細書で使用されるとき、「患者」は、治療を求め得る又は治療を必要とし得る、治療を要求する、治療を受けている、治療を受けることになる対象、又は特定の疾患又は病態に関して訓練を受けた専門家によるケア中である対象を指す。

20

【0931】

薬学的に許容可能：語句「薬学的に許容可能」は、本明細書では、妥当な医学的判断の範囲内で、過度の毒性、刺激作用、アレルギー反応、又は他の問題若しくは合併症のない、妥当なリスク対効果比に相応の、ヒト及び動物の組織との接触における使用に好適な化合物、材料、組成物、及び/又は剤形を指して用いられる。

【0932】

薬学的に許容可能な賦形剤：語句「薬学的に許容可能な賦形剤」は、本明細書で使用されるとき、本明細書に記載される化合物以外の任意の成分（例えば、活性化合物を懸濁又は溶解させることが可能な媒体）であって、患者において実質的に非毒性及び非炎症性の特性を有するものを指す。賦形剤としては、例えば、付着防止剤、抗酸化剤、結合剤、コーティング、圧縮助剤、崩壊剤、色素（着色剤）、皮膚軟化剤、乳化剤、充填剤（希釈剤）、塗膜形成剤又はコーティング、香味、芳香剤、滑剤（流動促進剤）、滑沢剤、保存剤、印刷インク、吸着剤、懸濁剤又は分散剤、甘味料、及び水和水を挙げることができる。例示的賦形剤としては、限定はされないが、ブチル化ヒドロキシトルエン（BHT）、炭酸カルシウム、リン酸カルシウム（二塩基性）、ステアリン酸カルシウム、クロスカルメロース、架橋ポリビニルピロリドン、クエン酸、クロスポビドン、システイン、エチルセルロース、ゼラチン、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、ラクトース、ステアリン酸マグネシウム、マルチトール、マンニトール、メチオニン、メチルセルロース、メチルパラベン、微結晶性セルロース、ポリエチレングリコール、ポリビニルピロリドン、ポビドン、アルファ化デンプン、プロピルパラベン、パルミチン酸レチニル、シェラック、二酸化ケイ素、カルボキシメチルセルロースナトリウム、クエン酸ナトリウム、デンプングリコール酸ナトリウム、ソルビトール、デンプン（トウモロコシ）、ステアリン酸、スクロース、タルク、二酸化チタン、ビタミンA、ビタミンE、ビタミンC、及びキシリトールが挙げられる。

30

40

【0933】

薬学的に許容可能な塩：本開示はまた、本明細書に記載される化合物の薬学的に許容可能な塩も含む。本明細書で使用されるとき、「薬学的に許容可能な塩」は、開示される化合物の誘導体を指し、ここで親化合物は、既存の酸又は塩基部分からその塩形態への変換（例えば、遊離塩基を好適な有機酸と反応させることによる）によって修飾される。薬学的に許容可能な塩の例としては、限定はされないが、アミン類などの塩基性残基の鉱酸塩

50

又は有機酸塩；カルボン酸などの酸性残基のアルカリ塩又は有機塩などが挙げられる。代表的な酸付加塩としては、酢酸塩、酢酸、アジピン酸塩、アルギン酸塩、アスコルビン酸塩、アスパラギン酸塩、ベンゼンスルホン酸塩、ベンゼンスルホン酸、安息香酸塩、重硫酸塩、ホウ酸塩、酪酸塩、カンファー酸塩、カンファースルホン酸塩、クエン酸塩、シクロペンタンプロピオン酸塩、ジグルコン酸塩、ドデシル硫酸塩、エタンスルホン酸塩、フマル酸塩、グルコヘプトン酸塩、グリセロリン酸塩、ヘミ硫酸塩、ヘプトン酸塩、ヘキサ酸塩、臭化水素酸塩、塩酸塩、ヨウ化水素酸塩、2 - ヒドロキシエタンスルホン酸塩、ラクトビオン酸塩、乳酸塩、ラウリン酸塩、ラウリル硫酸塩、リンゴ酸塩、マレイン酸塩、マロン酸塩、メタンスルホン酸塩、2 - ナフタレンスルホン酸塩、ニコチン酸塩、硝酸塩、オレイン酸塩、シュウ酸塩、パルミチン酸塩、パモ酸塩、ペクチン酸塩、過硫酸塩、3 - フェニルプロピオン酸塩、リン酸塩、ピクリン酸塩、ピバル酸塩、プロピオン酸塩、ステアリン酸塩、コハク酸塩、硫酸塩、酒石酸塩、チオシアン酸塩、トルエンスルホン酸塩、ウンデカン酸塩、吉草酸塩などが挙げられる。代表的なアルカリ又はアルカリ土類金属塩としては、ナトリウム、リチウム、カリウム、カルシウム、マグネシウムなど、並びに非毒性アンモニウム、第四級アンモニウム、及びアミン陽イオン、例えば、限定はされないが、アンモニウム、テトラメチルアンモニウム、テトラエチルアンモニウム、メチルアミン、ジメチルアミン、トリメチルアミン、トリエチルアミン、エチルアミンなどが挙げられる。本開示の薬学的に許容可能な塩には、例えば非毒性無機酸又は有機酸から形成される親化合物の従来の非毒性塩が含まれる。本開示の薬学的に許容可能な塩は、従来の化学的方法により塩基又は酸部分を含有する親化合物から合成することができる。概して、かかる塩は、遊離酸又は塩基形態のこれらの化合物と、水中又は有機溶媒中、又はこれら2つの混合物中（概して、エーテル、酢酸エチル、エタノール、イソプロパノール、又はアセトニトリルなどの非水性媒体が好ましい）にある化学量論量の適切な塩基又は酸とを反応させることにより調製し得る。好適な塩の一覧については、「レミントンの薬学科学 (Remington's Pharmaceutical Sciences)」、第17版、マック・パブリッシング・カンパニー (Mack Publishing Company)、ペンシルベニア州イーストン (Easton)、1985年、p. 1418、「薬学的塩：特性、選択、及び使用 (Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use)」、P・H・シュタール (P. H. Stahl) 及びC・G・ウェルムス (C. G. Wermuth) 編、ワイリー・ブイシーエイチ (Wiley-VCH)、2008年、及びベルジュ (Berger) 著、ジャーナル・オブ・ファーマシューティカル・サイエンス (Journal of Pharmaceutical Science)、第66巻、p. 1~19、1977年

10

20

30

#### 【0934】

薬学的に許容可能な溶媒和物：用語「薬学的に許容可能な溶媒和物」は、本明細書で使用されるとき、好適な溶媒の分子が結晶格子に取り込まれている本発明の化合物を意味する。好適な溶媒は、投与される投薬量で生理学的に忍容可能である。例えば、溶媒和物は、有機溶媒、水、又はこれらの混合物を含む溶液から結晶化、再結晶化、又は沈殿によって調製されてもよい。好適な溶媒の例は、エタノール、水（例えば、一水和物、二水和物、及び三水和物）、N - メチルピロリジノン (NMP)、ジメチルスルホキシド (DMSO)、N, N' - ジメチルホルムアミド (DMF)、N, N' - ジメチルアセトアミド (DMAc)、1, 3 - ジメチル - 2 - イミダゾリジノン (DMEU)、1, 3 - ジメチル - 3, 4, 5, 6 - テトラヒドロ - 2 - (1H) - ピリミジノン (DMPU)、アセトニトリル (ACN)、プロピレングリコール、酢酸エチル、ベンジルアルコール、2 - ピロリドン、安息香酸ベンジルなどである。水が溶媒であるとき、その溶媒和物は「水和物」と称される。

40

#### 【0935】

薬物動態：本明細書で使用されるとき、「薬物動態」は、それが生きている生物に投与される物質の運命の決定に関するときの、分子又は化合物の任意の1つ以上の特性を指す。

50

薬物動態は、吸収、分布、代謝及び排泄の程度及び速度を含む幾つかの範囲に分けられる。これは通常、ADMEと称され、ここで：(A)吸収(Absorption)は、血液循環中に入る物質のプロセスであり；(D)分布(Distribution)は、体の体液及び組織全体にわたる物質の分散又は散在であり；(M)代謝(Metabolism)(又は生体内変化)は、親化合物から娘代謝産物への不可逆的な変換であり；及び(E)排泄(Excretion)(又は排出)は、体からの物質の排出を指す。まれに、一部の薬物は生体組織に不可逆的に蓄積する。

【0936】

物理化学的：本明細書で使用されるとき、「物理化学的」は、物理的及び/又は化学的特性を意味する、又はそれに関する。

10

予防する：本明細書で使用されるとき、用語「予防する」は、感染、疾患、障害及び/又は病態の発生を部分的又は完全に遅らせること；特定の感染、疾患、障害、及び/又は病態の1つ以上の症状、特徴、又は臨床徴候の発生を部分的又は完全に遅らせること；特定の感染、疾患、障害、及び/又は病態の1つ以上の症状、特徴、又は徴候の発生を部分的又は完全に遅らせること；感染、特定の疾患、障害及び/又は病態からの進行を部分的又は完全に遅らせること；及び/又は感染、疾患、障害、及び/又は病態に関連する病変の発症リスクを低下させることを指す。

【0937】

プロドラッグ：本開示はまた、本明細書に記載される化合物のプロドラッグも含む。本明細書で使用されるとき、「プロドラッグ」は、当該の物質、分子又は実体が化学的又は物理的に変化したとき治療薬として作用することを前提とする形態の任意の物質、分子又は実体を指す。プロドラッグは共有結合的に結合しているか、又は何らかの形で隔絶されていてもよく、哺乳類対象への投与前に、投与時に、又は投与後にそれが活性薬物部分を放出し、又はそれへと変換される。プロドラッグは、化合物中に存在する官能基を、親化合物に対してルーチンの操作又はインピボのいずれかで修飾が切断されるような方法で修飾することにより調製し得る。プロドラッグは、哺乳類対象への投与時に切断されて、それぞれ遊離ヒドロキシル、アミノ、スルフヒドリル、又はカルボキシル基を形成する任意の基にヒドロキシル、アミノ、スルフヒドリル、又はカルボキシル基が結合している化合物を含む。プロドラッグの調製及び使用については、T・ヒグチ(T. Higuchi)及びV・ステラ(V. Stella)、「新規デリバリーシステムとしてのプロドラッグ(Pro-drugs as Novel Delivery Systems)」、米国化学会シンポジウムシリーズ(A.C.S. Symposium Series)の第14巻、及び「ドラッグデザインにおけるバイオリバーシブルキャリア(Bioreversible Carriers in Drug Design)」、エドワード・B・ロシュ(Edward B. Roche)編、米国薬剤師会及びペルガモン出版(American Pharmaceutical Association and Pergamon Press)、1987年(両方ともに本明細書によって全体として参照により援用される)に考察されている。一部の実施形態において、本発明のpri-miRはpre-miRのプロドラッグであり得る。同様にpri-miR又はpre-miRのいずれも、これらからプロセッシングされる人工miRのプロドラッグであり得る。

20

30

40

【0938】

増殖する：本明細書で使用されるとき、用語「増殖する」は、成長する、拡大する又は増加する又は成長、拡大若しくは増加を急速に引き起こすことを意味する。「増殖性」は、増殖する能力を有することを意味する。「抗増殖性」は、増殖特性に対抗する又は増殖特性に不適切な特性を有することを意味する。

【0939】

予防的：本明細書で使用されるとき、「予防的」は、疾患の広がりを防ぐために用いられる治療薬又は一連の行為を指す。

予防：本明細書で使用されるとき、「予防」は、健康を維持し、且つ疾患の広がりを防ぐために取られる措置を指す。

50

## 【0940】

タンパク質切断部位：本明細書で使用されるとき、「タンパク質切断部位」は、化学的、酵素的又は光化学的手段によってアミノ酸鎖の制御された切断を達成し得る部位を指す。

## 【0941】

タンパク質切断シグナル：本明細書で使用されるとき「タンパク質切断シグナル」は、ポリペプチドに切断のフラグを出す又は印を付ける少なくとも1つのアミノ酸を指す。

目的のタンパク質：本明細書で使用されるとき、用語「目的のタンパク質」又は「所望のタンパク質」は、本明細書に提供されるもの及びその断片、突然変異体、変異体、及び改変を含む。

## 【0942】

近位：本明細書で使用されるとき、用語「近位」は、中心又は目的の地点若しくは領域のより近くに位置していることを意味する。

精製された：本明細書で使用されるとき、「精製する」、「精製された」、「精製」は、望ましくない成分、材料汚れ、混合又は不完全から実質的に純粋又は清澄にすることを意味する。

## 【0943】

試料：本明細書で使用されるとき、用語「試料」又は「生体試料」は、その組織、細胞又は構成部分の一部（例えば、限定はされないが、血液、粘液、リンパ液、滑液、脳脊髄液、唾液、羊水、羊膜臍帯血、尿、腔液及び精液を含めた体液）を指す。試料には、更に、全生物又はその組織、細胞若しくは構成部分の一部、又は限定はされないが、例えば、血漿、血清、髄液、リンパ液、皮膚の外分泌物（external secretion）、呼吸器、腸管、及び尿生殖路、涙、唾液、乳、血球細胞、腫瘍、臓器を含めたその画分若しくは一部分から調製されたホモジネート、ライセート又は抽出物が含まれ得る。試料は、更に、タンパク質又は核酸分子などの細胞成分を含有し得る栄養ブロス又はゲルなどの培地を指す。

## 【0944】

シグナル配列：本明細書で使用されるとき、語句「シグナル配列」は、タンパク質の輸送又は局在を指図することができる配列を指す。

単一単位用量：本明細書で使用されるとき、「単一単位用量」は、1用量/1回/単一の経路/単一の接点、即ち単一の投与イベントで投与される任意の治療薬の用量である。

## 【0945】

類似度：本明細書で使用されるとき、用語「類似度」は、ポリマー分子間、例えばポリヌクレオチド分子間（例えばDNA分子及び/又はRNA分子間）及び/又はポリペプチド分子間の全体的な関連性を指す。ポリマー分子の互いのパーセント類似度の計算は、パーセント同一性の計算と同じように実施することができ、但し、パーセント類似度の計算では、当該技術分野で理解されているとおりの保存的置換が考慮される。

## 【0946】

分割用量：本明細書で使用されるとき、「分割用量」は、単一単位用量又は総1日用量を2つ以上の用量に分割するものである。

安定：本明細書で使用されるとき「安定」は、反応混合物から有用な程度の純度への単離を生き残るのに十分にロバストな、且つ好ましくは効果的な治療剤へと製剤化可能な化合物を指す。

## 【0947】

安定化した：本明細書で使用されるとき、用語「安定化させる」、「安定化した」、「安定化領域」は、安定にする、又は安定になることを意味する。

立体異性体：本明細書で使用されるとき、用語「立体異性体」は、化合物が持ち得る可能な全ての異なる異性体形態並びに配座形態（例えば、本明細書に記載される任意の式の化合物）、詳細には可能な全ての立体異性的及び配座異性的形態、全てのジアステレオマー、基礎分子構造の鏡像異性体及び/又は配座異性体を指す。本発明の一部の化合物は異なる互変異性体形態で存在してもよく、後者の全てが本発明の範囲内に含まれる。

10

20

30

40

50

## 【0948】

対象：本明細書で使用されるとき、用語「対象」又は「患者」は、例えば実験的、診断的、予防的、及び／又は治療的目的で本発明に係る組成物を投与し得る任意の生物を指す。典型的な対象としては、動物（例えば、マウス、ラット、ウサギ、非ヒト霊長類、及びヒトなど、哺乳類）及び／又は植物が挙げられる。

## 【0949】

実質的に：本明細書で使用されるとき、用語「実質的に」は、目的の特徴又は特性の全面的な又はほぼ全面的な範囲又は程度を呈するという定性的条件を指す。生物学分野の当業者は、生物学的及び化学的事象が完了までいく及び／又は完成まで進む又は絶対的な結果を実現若しくは回避することは、あったとしてもまれであることを理解するであろう。従って、用語「実質的に」は、本明細書では、多くの生物学的及び化学的事象に固有の完全性の潜在的な欠如を捉えて使用される。

10

## 【0950】

実質的に等しい：本明細書で使用されるとき、それが投与間の時間差に関するとき、この用語は±2%を意味する。

実質的に同時に：本明細書で使用されるとき、及びそれが複数の投与に関するとき、この用語は2秒以内を意味する。

## 【0951】

～に罹患している：疾患、障害、及び／又は病態「に罹患している」個体は、疾患、障害、及び／又は病態と診断されているか又はその1つ以上の症状を示す。

20

～に罹り易い：疾患、障害、及び／又は病態「に罹り易い」個体は、疾患、障害、及び／又は病態と診断されていないか及び／又はその症状を呈しないこともあるが、疾患又はその症状を発症する傾向を抱えている。一部の実施形態において、疾患、障害、及び／又は病態（例えば癌）に罹り易い個体は、以下のうちの1つ以上によって特徴付けられ得る：（1）疾患、障害、及び／又は病態の発症に関連する遺伝子突然変異；（2）疾患、障害、及び／又は病態の発症に関連する遺伝子多型；（3）疾患、障害、及び／又は病態に関連するタンパク質及び／又は核酸の発現及び／又は活性の増加及び／又は低下；（4）疾患、障害、及び／又は病態の発症に関連する習慣及び／又は生活様式；（5）疾患、障害、及び／又は病態の家族歴；及び（6）疾患、障害、及び／又は病態の発症に関連する微生物への曝露及び／又は感染。一部の実施形態において、疾患、障害、及び／又は病態に罹り易い個体は、疾患、障害、及び／又は病態を発症することになる。一部の実施形態において、疾患、障害、及び／又は病態に罹り易い個体は疾患、障害、及び／又は病態を発症することにはならない。

30

## 【0952】

徐放：本明細書で使用されるとき、用語「徐放」は、特定の期間にわたってある放出速度に従う医薬組成物又は化合物放出プロファイルを指す。

合成：用語「合成」は、人間の手で作製、調製、及び／又は製造されることを意味する。本発明のポリヌクレオチド又はポリペプチド又は他の分子の合成は化学的又は酵素的であってもよい。

## 【0953】

標的細胞：本明細書で使用されるとき、「標的細胞」は、任意の1つ以上の目的の細胞を指す。細胞は、インビトロ、インビボ、インサイチューで、又は生物の組織若しくは器官に見られ得る。生物は、動物、好ましくは哺乳類、より好ましくはヒト及び最も好ましくは患者であってもよい。

40

## 【0954】

治療剤：用語「治療剤」は、対象への投与時に治療的、診断的、及び／又は予防的効果を及ぼし、及び／又は所望の生物学的及び／又は薬理学的効果を誘発する任意の薬剤を指す。

## 【0955】

治療有効量：本明細書で使用されるとき、用語「治療有効量」は、送達される薬剤（例えば、核酸、薬物、治療用薬剤、診断用薬剤、予防用薬剤等）についての、感染、疾患、障

50

害、及び／又は病態に罹患している又はそれに罹り易い対象に投与したときその感染、疾患、障害、及び／又は病態を治療し、その症状を改善し、それを診断し、予防し、及び／又はその発生を遅らせるのに十分な量を意味する。

【0956】

治療上有効な結果：本明細書で使用されるとき、用語「治療上有効な結果」は、感染、疾患、障害、及び／又は病態に罹患している又はそれに罹り易い対象において、その感染、疾患、障害、及び／又は病態を治療し、その症状を改善し、それを診断し、予防し、及び／又はその発生を遅らせるのに十分な結果を意味する。

【0957】

総1日用量：本明細書で使用されるとき、「総1日用量」は、24時間に与えられる又は処方される量である。これは単一単位用量として投与されてもよい。

10

トランスフェクション：本明細書で使用されるとき、用語「トランスフェクション」は、外因性核酸を細胞に導入する方法を指す。トランスフェクション方法としては、限定はされないが、化学的方法、物理的处理及びカチオン性脂質又は混合が挙げられる。

【0958】

治療する：本明細書で使用されるとき、用語「治療する」は、特定の感染、疾患、障害、及び／又は病態の1つ以上の症状又は特徴を部分的又は完全に軽減し、改善し、向上させ、緩和し、その発生を遅らせ、その進行を阻害し、その重症度を低下させ、及び／又はその発生率を減少させることを指す。例えば、癌を「治療する」とは、腫瘍の生存、成長、及び／又は広がりを阻害することを指し得る。治療は、疾患、障害、及び／又は病態の徴候を呈していない対象、及び／又は疾患、障害、及び／又は病態の初期徴候を呈するに過ぎない対象に、その疾患、障害、及び／又は病態に関連する病変の発症リスクを低下させる標的で投与されてもよい。

20

【0959】

非修飾：本明細書で使用されるとき、「非修飾」は、何らかの形で変化する前の任意の物質、化合物又は分子を指す。非修飾は、必ずというわけではないが、野生型又は天然形態の生体分子を指し得る。分子は一連の修飾を受けることができ、それにより各修飾された分子が、後続の修飾の「非修飾」出発分子となり得る。

【0960】

VII. 均等物及び範囲

30

当業者は、本明細書に記載される本発明に係る具体的な実施形態の多くの均等物を認識し、又はルーチンに過ぎない実験を用いて確かめることが可能であろう。本発明の範囲が上記の説明に限定されることは意図されず、それはむしろ添付の特許請求の範囲に示されるとおりである。

【0961】

特許請求の範囲では、「a」、「an」、及び「the」などの冠詞は、反する旨が示されない限り、又は文脈上特に明らかでない限り、1つ又は2つ以上を意味し得る。ある群の1つ以上のメンバーの間に「又は」を含むクレーム又は説明は、反する旨が示されない限り、又は文脈上特に明らかでない限り、その群メンバーの1つ、2つ以上、又は全てが所与の製品又は方法に存在する、それに用いられる、又は他の形でそれに関連する場合に満たされるものと見なされる。本発明は、群の正確に1つのメンバーが所与の製品又は方法に存在する、それに用いられる、又は他の形でそれに関連する実施形態を含む。本発明は、2つ以上の、又は全部の群メンバーが所与の製品又は方法に存在する、それに用いられる、又は他の形でそれに関連する実施形態を含む。

40

【0962】

また、用語「～を含んでいる (comprising)」は非限定的 (open) であることが意図され、追加の要素又は工程の包含を許容するが必須ではないことも注記される。用語「～を含んでいる (comprising)」が本明細書で使用されるとき、従って用語「～からなる (consisting of)」もまた包含され、開示される。

【0963】

50

特に定義しない限り、本明細書で使用される全ての科学技術用語は、本発明が属する技術分野の当業者が一般的に理解するのと同じ意味を有する。本開示における使用のための方法及び材料が本明細書に記載される；当該技術分野において公知の他の好適な方法及び材料もまた使用することができる。

【0964】

範囲が提供されるとき、端点は含まれる。更に、特に指示されない限り、又は文脈及び当業者の理解から特に明らかでない限り、範囲として表される値は、文脈上特に明確に指示されない限り、その範囲の下限の単位の10分の1に至るまでの、本発明の種々の実施形態において明示される範囲内にある任意の具体的な値又は部分的範囲を想定し得ることが理解されるべきである。

10

【0965】

加えて、先行技術に含まれる本発明の任意の特定の実施形態は、クレームの任意の1つ以上から明示的に除外され得ることが理解されるべきである。かかる実施形態は当業者に公知であると見なされるため、除外が本明細書に明示的に示されないとしても、それらは除外され得る。本発明の組成物の任意の詳細な実施形態（例えば、任意の核酸又はそれにコードされたタンパク質；任意の作製方法；任意の使用方法等）が、先行技術の存在に関係するか否かに関わらず、何らかの理由で任意の1つ以上のクレームから除外されることがある。

【0966】

全ての引用資料、例えば、本明細書に引用される参考文献、刊行物、データベース、データベースエントリ、及び技術は、引用に明示的に示されていない場合であっても、参照により本願に援用される。引用資料と本願の記載が矛盾する場合、本願の記載が優先するものとする。

20

【0967】

節及び表の見出しは限定を意図するものではない。

（実施例）

V I I I . 実施例

実施例1．調節性ポリヌクレオチド（人工プリマイクロ又はプレマイクロRNA）の設計人工プリマイクロ又はプレマイクロRNAは、標的核酸、例えばRNA又はDNAと少なくとも部分的にハイブリダイズすることのできる少なくとも1つの鎖と、以下の特徴、（a）基底ステムの基部にあるUGモチーフ、（b）miRNAループの5'末端にあるUGUGモチーフ、（c）ガイド鎖の5'末端にあるウリジン、（d）miR-22などのカノニカルなマイクロRNAに由来するループ構造、（e）3'フランキンク配列にあるCNNC、（f）let-7bなどのカノニカルなマイクロRNAからのフランキンク領域、（g）ガイド鎖及びパッセンジャー鎖の後のステムにおける1つ以上のゆらぎ塩基対、バルジ及びミスマッチ、及び/又は（h）パッセンジャー鎖とガイド鎖との間にある1つ以上のゆらぎ塩基対、バルジ及びミスマッチのうち1つ以上とを有する人工miR（又は人工siRNA又は成熟miRNA）をコードするshRNA又はステムループ構造を含むように設計する。

30

【0968】

設計し終わったら、配列をプラスミド又はベクターに操作又は合成又は挿入し、細胞又は生物に投与する。好適なプラスミド又はベクターは、標的細胞をトランスフェクト又は形質導入する任意のものである。

40

【0969】

アデノ随伴ウイルスベクター(AAV)、ウイルス粒子又はウイルス全体を使用し得る。投与すると、調節性ポリヌクレオチドのプロセッシングが起こり人工マイクロRNAが作成され、これが標的核酸の発現レベルを変化させる。

【0970】

標的の有効なノックダウンは当該技術分野の方法によって決定することができ、オフターゲット効果は、あったとしても僅かしか示されないであろう。

50

調節性ポリヌクレオチドの有効なパッセンジャー鎖 - ガイド鎖二重鎖、例えば、プライマイクロ又はプレマイクロRNAは、プロセッシングを測定したとき8 ~ 10倍より高いガイド鎖対パッセンジャー鎖比を実証する。

【0971】

実施例2 . パッセンジャー鎖 - ガイド鎖の最適化

特異的で強力な標的発現の標的ノックダウン又は調節を実現するため、本発明のプライマイクロ又はプレマイクロRNAのステム - ループ構造の二重鎖ステムを形成することになるパッセンジャー鎖及びガイド鎖を例えばsiRNA（低分子干渉RNA）として個別に最適化し得る。

【0972】

siRNAは、二重鎖の3'末端にジヌクレオチドオーバーハングがある19塩基対中心二重鎖を有するカノニカルなsiRNAとしての選択の標的核酸に対して設計し、ここでアンチセンス鎖（ガイド鎖）はこの19ヌクレオチド領域にわたって標的核酸と完全な相補性を有する。

【0973】

或いは、センス鎖（パッセンジャー鎖）が標的核酸と19ヌクレオチド未満の同一性を含むsiRNAを設計する。

センス - アンチセンス（パッセンジャー - ガイド）鎖の二重鎖塩基対合に対して修飾を行い、ゆらぎ、バルジ又はミスマッチを導入する。挿入又は欠失又はミスマッチはセンス鎖（パッセンジャー鎖（passenger strand））の5'又は3'末端に取り込まれてもよく、これらの挿入又は欠失はアンチセンス鎖（ガイド鎖）に反映されても又は反映されなくてもよい。

【0974】

得られたsiRNAは、標的ノックダウン及び他の関連性のある生理学的及び薬物動態学的特性に関して、及びオフターゲット効果の程度に関して、当該技術分野において公知の標準方法によって試験する。

【0975】

次に、十分な標的ノックダウンを呈し、オフターゲット効果が少ないsiRNAを本発明のプライマイクロ又はプレマイクロRNAのパッセンジャー鎖及びガイド鎖として更なる修飾を伴い又は伴わず操作する。

【0976】

実施例3 . HTTを標的とするプライマイクロ及びプレマイクロRNA

有効であることが分かったパッセンジャー鎖 - ガイド鎖二重鎖を発現ベクターに操作し、中枢神経系の細胞又はニューロン細胞株又は他の起源の不死化細胞株にトランスフェクトする。siRNAノックダウン試験に利用されるオーバーハングがsiRNAにカノニカルなdTdTであったとしても、合成pri-又はpre-miRのオーバーハングは任意のジヌクレオチドオーバーハングを含んでもよい。

【0977】

使用される細胞は初代細胞であってもよく、又は人工多能性幹細胞（iPS細胞）に由来してもよい。

次に標的のノックダウンを測定し、ディープシーケンシングを実施して、発現ベクターで投与された各プライマイクロ又はプレマイクロRNAからプロセッシングされた正確なパッセンジャー鎖及びガイド鎖を決定する。

【0978】

ガイド鎖対パッセンジャー鎖比を計算して、アセンブリ効率、例えばRNA誘導サイレンシング複合体（RISC）へのアセンブリ効率を決定する。

ガイド鎖及びパッセンジャー鎖の5'末端をシーケンシングすることにより切断部位を決定し、及び5'末端プロセッシング精度を決定する。プロセッシング精度は85パーセントより高いであろうことが予想される。

【0979】

10

20

30

40

50

並行試験でHeLa細胞をコトランスフェクトして標的のインビトロノックダウンを分析する。並行して、細胞ベースのルシフェラーゼレポーターアッセイを確立する；ガイド鎖標的部位を含むルシフェラーゼコンストラクトを使用してオンターゲット効果を評価し、及びパッセンジャー鎖標的部位を含むコンストラクトを使用してオフターゲット（パッセンジャー鎖）効果を決定する。

【0980】

再びディープシーケンシングを実施する。

実施例4．AAV-miRNAベクターにおけるpri-miRNAコンストラクト設計したsiRNAのパッセンジャー鎖-ガイド鎖二重鎖をAAV-miRNA発現ベクターに操作する。コンストラクトは、ITRからITRまで、5'から3'に挙げて、突然変異体又は野生型ITR、プロモータ（CMV、H1、U6又はCBAプロモータ（CMV、ViEエンハンサー、CBプロモータ及びSV40又はヒトグロビンイントロンを含む）のいずれか）、標的に対するpri-miRNAコンストラクト、ウサギグロビン又はヒト成長ホルモンポリA及び野生型ITRを含む。インビトロ及びインビボ試験を実施してAAV-miRNA発現ベクターの有効性を試験する。

【0981】

本発明をかなり詳しく、幾つかの説明される実施形態に関するある具体性をもって説明したが、それが任意のかかる具体例若しくは実施形態又は任意の具体的な実施形態に限定されるべきであることを意図するものではなく、しかし先行技術を考慮してかかる特許請求の範囲の最も広義の可能な解釈を提供し、従って本発明の意図される範囲を有効に包含するように添付の特許請求の範囲を参照して解釈されるべきである。

【0982】

本明細書において言及される刊行物、特許出願、特許、及び他の参考文献は全て、全体として参照により援用される。矛盾が生じる場合、定義を含め、本明細書が優先するものとする。加えて、節の見出し、材料、方法、及び例は例示に過ぎず、限定を意図するものではない。

（付記）

好ましい実施形態として、上記実施形態から把握できる技術的思想について、以下に記載する。

〔項目1〕

（a）ステム-ループ構造を形成するステム及びループであって、前記ステム-ループ構造の配列が、5'から3'に、

（i）パッセンジャー鎖を含む5'ステムアーム；

（ii）ループ領域であって、配列番号16、10、11、12、13、14、15、17、18、及び19からなる群から選択される配列を含むループ領域；

（iii）ガイド鎖を含む3'ステムアームであって、前記ガイド鎖の5'末端にウリジンが存在する、3'ステムアーム

を含む、ステム及びループ；

（b）前記ステム-ループ構造の5'側に位置する第1のフランキング領域であって、配列番号5、1、2、3、4、6、7、8、及び9からなる群から選択される配列を含む第1のフランキング領域；及び

（c）前記ステム-ループ構造の3'側に位置する第2のフランキング領域であって、配列番号21、20、22、23、24、25、26及び27からなる群から選択される配列を含む第2のフランキング領域

を含む、調節性ポリヌクレオチド。

〔項目2〕

（a）ステム-ループ構造を形成するステム及びループであって、前記ステム-ループ構造の配列が、5'から3'に、

（i）ガイド鎖を含む5'ステムアームであって、前記ガイド鎖の5'末端にウリジンが存在する、5'ステムアーム；

10

20

30

40

50

( i i ) ループ領域であって、配列番号 1 6、1 0、1 1、1 2、1 3、1 4、1 5、1 7、1 8、及び 1 9 からなる群から選択される配列を含むループ領域；

( i i i ) パッセンジャー鎖を含む 3 ' ステムアームを含む、ステム及びループ；

( b ) 前記ステム - ループ構造の 5 ' 側に位置する第 1 のフランキング領域であって、配列番号 5、1、2、3、4、6、7、8、及び 9 からなる群から選択される配列を含む第 1 のフランキング領域；及び

( c ) 前記ステム - ループ構造の 3 ' 側に位置する第 2 のフランキング領域であって、配列番号 2 1、2 0、2 2、2 3、2 4、2 5、2 6 及び 2 7 からなる群から選択される配列を含む第 2 のフランキング領域

を含む調節性ポリヌクレオチド。

[ 項目 3 ]

前記ステム - ループ構造の前記ループ領域がカノニカルなマイクロ RNA に由来する、項目 1 又は 2 に記載の調節性ポリヌクレオチド。

[ 項目 4 ]

前記カノニカルなマイクロ RNA が mi R - 2 2 である、項目 3 に記載の調節性ポリヌクレオチド。

[ 項目 5 ]

前記第 1 又は第 2 のフランキング領域の少なくとも一方が let - 7 b に由来する、項目 4 に記載の調節性ポリヌクレオチド。

[ 項目 6 ]

前記ループ領域が配列番号 1 6 を含む、項目 1 又は 2 に記載の調節性ポリヌクレオチド。

[ 項目 7 ]

前記第 1 のフランキング領域が配列番号 5 を含む、項目 1 又は 2 に記載の調節性ポリヌクレオチド。

[ 項目 8 ]

前記第 2 のフランキング領域が配列番号 2 1 を含む、項目 1 又は 2 に記載の調節性ポリヌクレオチド ( modulatory polynucleotide ) 。

[ 項目 9 ]

前記ステム - ループ構造が前記ステム - ループ構造の 5 ' ステムの基部又はその近傍に U G モチーフを含む、項目 1 又は 2 に記載の調節性ポリヌクレオチド。

[ 項目 1 0 ]

前記ループ領域が前記ループ領域の 5 ' 末端に U G U G モチーフを含む、項目 1 又は 2 に記載の調節性ポリヌクレオチド。

[ 項目 1 1 ]

前記第 2 の領域が C N N C モチーフを含む、項目 1 又は 2 に記載の調節性ポリヌクレオチド。

[ 項目 1 2 ]

前記 5 ' ステムアームが、前記 U G モチーフと前記パッセンジャー鎖又は前記ガイド鎖との間に位置する 5 ' スペース領域を含む、項目 9 に記載の調節性ポリヌクレオチド。

[ 項目 1 3 ]

前記 3 ' ステムアームが 3 ' スペース領域を含み、及び前記 3 ' スペース領域が、1 ヘリカルターンを形成するのに十分な長さを有する、項目 1 又は 2 に記載の調節性ポリヌクレオチド。

[ 項目 1 4 ]

前記ガイド鎖が位置 2 ~ 9 の間にマイクロ RNA シード配列を含む、項目 1 又は 2 に記載の調節性ポリヌクレオチド。

[ 項目 1 5 ]

前記ガイド鎖が位置 2 ~ 8 の間にマイクロ RNA シード配列を含む、項目 1 又は 2 に記載の調節性ポリヌクレオチド。

10

20

30

40

50

[ 項目 1 6 ]

前記ガイド鎖が位置 2 ~ 7 の間にマイクロRNAシード配列を含む、項目 1 又は 2 に記載の調節性ポリヌクレオチド。

[ 項目 1 7 ]

前記ガイド鎖が 1 5 ~ 3 0 ヌクレオチド長である、項目 1 又は 2 に記載の調節性ポリヌクレオチド。

[ 項目 1 8 ]

前記ガイド鎖が 2 1 ~ 2 5 ヌクレオチド長である、項目 1 7 に記載の調節性ポリヌクレオチド。

[ 項目 1 9 ]

前記ガイド鎖が 2 2 ヌクレオチド長である、項目 1 8 に記載の調節性ポリヌクレオチド。

10

[ 項目 2 0 ]

前記ガイド鎖が 2 1 ヌクレオチド長である、項目 1 8 に記載の調節性ポリヌクレオチド。

[ 項目 2 1 ]

前記パッセンジャー鎖が前記ガイド鎖と少なくとも 7 0 % 相補的である、項目 1 7 に記載の調節性ポリヌクレオチド。

[ 項目 2 2 ]

前記ガイド鎖が標的RNAと少なくとも 6 0 % 相補的であり、前記標的RNAが、哺乳類コードmRNA及び哺乳類非コードRNAからなる群から選択される、項目 1 7 に記載の調節性ポリヌクレオチド。

20

[ 項目 2 3 ]

前記標的RNAが哺乳類コードmRNAである、項目 2 2 に記載の調節性ポリヌクレオチド。

[ 項目 2 4 ]

前記コードmRNAが神経系細胞、組織又は器官に発現する、項目 2 3 に記載の調節性ポリヌクレオチド。

[ 項目 2 5 ]

項目 1 ~ 2 4 のいずれか一項に記載の調節性ポリヌクレオチドをコードするプラスミド又はベクター。

[ 項目 2 6 ]

組換えアデノ随伴ウイルス(AAV)コンストラクトを含む、項目 2 5 に記載のベクター。

30

[ 項目 2 7 ]

項目 2 6 に記載のAAVコンストラクトを含む組換えAAVウイルス。

[ 項目 2 8 ]

AAV 1、AAV 2、AAV 2 G 9、AAV 3、AAV 3 a、AAV 3 b、AAV 3 - 3、AAV 4、AAV 4 - 4、AAV 5、AAV 6、AAV 6 . 1、AAV 6 . 2、AAV 6 . 1 . 2、AAV 7、AAV 7 . 2、AAV 8、AAV 9、AAV 9 . 1 1、AAV 9 . 1 3、AAV 9 . 1 6、AAV 9 . 2 4、AAV 9 . 4 5、AAV 9 . 4 7、AAV 9 . 6 1、AAV 9 . 6 8、AAV 9 . 8 4、AAV 9 . 9、AAV 1 0、AAV 1 1、AAV 1 2、AAV 1 6 . 3、AAV 2 4 . 1、AAV 2 7 . 3、AAV 4 2 . 1 2、AAV 4 2 - 1 b、AAV 4 2 - 2、AAV 4 2 - 3 a、AAV 4 2 - 3 b、AAV 4 2 - 4、AAV 4 2 - 5 a、AAV 4 2 - 5 b、AAV 4 2 - 6 b、AAV 4 2 - 8、AAV 4 2 - 1 0、AAV 4 2 - 1 1、AAV 4 2 - 1 2、AAV 4 2 - 1 3、AAV 4 2 - 1 5、AAV 4 2 - a a、AAV 4 3 - 1、AAV 4 3 - 1 2、AAV 4 3 - 2 0、AAV 4 3 - 2 1、AAV 4 3 - 2 3、AAV 4 3 - 2 5、AAV 4 3 - 5、AAV 4 4 . 1、AAV 4 4 . 2、AAV 4 4 . 5、AAV 2 2 3 . 1、AAV 2 2 3 . 2、AAV 2 2 3 . 4、AAV 2 2 3 . 5、AAV 2 2 3 . 6、AAV 2 2 3 . 7、AAV 1 - 7 / r h . 4 8、AAV 1 - 8 / r h . 4 9、AAV 2 - 1 5 / r h . 6 2、AAV 2 - 3 / r h . 6 1、AAV 2 - 4 / r h . 5 0、AAV 2 - 5 / r h . 5 1、AAV 3 . 1 / h u . 6

40

50

AAV3.1/hu.9、AAV3-9/rh.52、AAV3-11/rh.53、  
AAV4-8/r11.64、AAV4-9/rh.54、AAV4-19/rh.55、  
AAV5-3/rh.57、AAV5-22/rh.58、AAV7.3/hu.7、  
AAV16.8/hu.10、AAV16.12/hu.11、AAV29.3/bb.1、  
AAV29.5/bb.2、AAV106.1/hu.37、AAV114.3/hu.40、  
AAV127.2/hu.41、AAV127.5/hu.42、AAV128.3/hu.44、  
AAV130.4/hu.48、AAV145.1/hu.53、AAV145.5/hu.54、  
AAV145.6/hu.55、AAV161.10/hu.60、AAV161.6/hu.61、  
AAV33.12/hu.17、AAV33.4/hu.15、AAV33.8/hu.16、AAV52/hu.19、  
AAV52.1/hu.20、AAV58.2/hu.25、AAVA3.3、AAVA3.4、  
AAVA3.5、AAVA3.7、AAVC1、AAVC2、AAVC5、AAV-DJ、  
AAV-DJ8、AAVF3、AAVF5、AAVH2、AAVrh.72、AAVhu.8、  
AAVrh.68、AAVrh.70、AAVpi.1、AAVpi.3、AAVpi.2、  
AAVrh.60、AAVrh.44、AAVrh.65、AAVrh.55、  
AAVrh.47、AAVrh.69、AAVrh.45、AAVrh.59、AAVhu.12、  
AAVH6、AAVLK03、AAVH-1/hu.1、AAVH-5/hu.3、  
AAVLG-10/rh.40、AAVLG-4/rh.38、AAVLG-9/hu.39、  
AAVN721-8/rh.43、AAVCh.5、AAVCh.5R1、AAVcy.2、  
AAVcy.3、AAVcy.4、AAVcy.5、AAVCy.5R1、  
AAVCy.5R2、AAVCy.5R3、AAVCy.5R4、AAVcy.6、  
AAVhu.1、AAVhu.2、AAVhu.3、AAVhu.4、AAVhu.5、  
AAVhu.6、AAVhu.7、AAVhu.9、AAVhu.10、AAVhu.11、  
AAVhu.13、AAVhu.15、AAVhu.16、AAVhu.17、  
AAVhu.18、AAVhu.20、AAVhu.21、AAVhu.22、AAVhu.23.2、  
AAVhu.24、AAVhu.25、AAVhu.27、AAVhu.28、  
AAVhu.29、AAVhu.29R、AAVhu.31、AAVhu.32、  
AAVhu.34、AAVhu.35、AAVhu.37、AAVhu.39、AAVhu.40、  
AAVhu.41、AAVhu.42、AAVhu.43、AAVhu.44、  
AAVhu.44R1、AAVhu.44R2、AAVhu.44R3、AAVhu.45、  
AAVhu.46、AAVhu.47、AAVhu.48、AAVhu.48R1、  
AAVhu.48R2、AAVhu.48R3、AAVhu.49、AAVhu.51、  
AAVhu.52、AAVhu.54、AAVhu.55、AAVhu.56、AAVhu.57、  
AAVhu.58、AAVhu.60、AAVhu.61、AAVhu.63、  
AAVhu.64、AAVhu.66、AAVhu.67、AAVhu.14/9、  
AAVhu.t 19、AAVrh.2、AAVrh.2R、AAVrh.8、AAVrh.8R、  
AAVrh.10、AAVrh.12、AAVrh.13、AAVrh.13R、  
AAVrh.14、AAVrh.17、AAVrh.18、AAVrh.19、AAVrh.20、  
AAVrh.21、AAVrh.22、AAVrh.23、AAVrh.24、  
AAVrh.25、AAVrh.31、AAVrh.32、AAVrh.33、  
AAVrh.34、AAVrh.35、AAVrh.36、AAVrh.37、AAVrh.37R2、  
AAVrh.38、AAVrh.39、AAVrh.40、AAVrh.46、  
AAVrh.48、AAVrh.48.1、AAVrh.48.1.2、AAVrh.48.2、  
AAVrh.49、AAVrh.51、AAVrh.52、AAVrh.53、  
AAVrh.54、AAVrh.56、AAVrh.57、AAVrh.58、AAVrh.61、  
AAVrh.64、AAVrh.64R1、AAVrh.64R2、AAVrh.67、  
AAVrh.73、AAVrh.74、AAVrh8R、AAVrh8R A586R突然変異体、  
AAVrh8R R533A突然変異体、AAAV、BAAV、ヤギAAV、  
ウシAAV、AAVhE1.1、AAVhEr1.5、AAVhEr1.14、  
AAVhEr1.8、AAVhEr1.16、AAVhEr1.18、AAVhEr

10

20

30

40

50

1.35、AAVhEr1.7、AAVhEr1.36、AAVhEr2.29、AAVhEr2.4、AAVhEr2.16、AAVhEr2.30、AAVhEr2.31、AAVhEr2.36、AAVhEr1.23、AAVhEr3.1、AAV2.5T、AAV-PAEC、AAV-LK01、AAV-LK02、AAV-LK03、AAV-LK04、AAV-LK05、AAV-LK06、AAV-LK07、AAV-LK08、AAV-LK09、AAV-LK10、AAV-LK11、AAV-LK12、AAV-LK13、AAV-LK14、AAV-LK15、AAV-LK16、AAV-LK17、AAV-LK18、AAV-LK19、AAV-PAEC2、AAV-PAEC4、AAV-PAEC6、AAV-PAEC7、AAV-PAEC8、AAV-PAEC11、AAV-PAEC12、AAV-2-pre-miRNA-101、AAV-8h、AAV-8b、AAV-h、AAV-b、AAV SM 10-2、AAVシャッフル100-1、AAVシャッフル100-3、AAVシャッフル100-7、AAVシャッフル100-2、AAVシャッフル10-6、AAVシャッフル10-8、AAVシャッフル100-2、AAV SM 10-1、AAV SM 10-8、AAV SM 100-3、AAV SM 100-10、BNP61 AAV、BNP62 AAV、BNP63 AAV、AAVrh.50、AAVrh.43、AAVrh.62、AAVrh.48、AAVhu.19、AAVhu.11、AAVhu.53、AAV4-8/rh.64、AAV LG-9/hu.39、AAV54.5/hu.23、AAV54.2/hu.22、AAV54.7/hu.24、AAV54.1/hu.21、AAV54.4R/hu.27、AAV46.2/hu.28、AAV46.6/hu.29、AAV128.1/hu.43、トウルータイプAAV(ttAAV)、UPENN AAV10、ジャパニーズAAV10、AAV CBr-7.1、AAV CBr-7.10、AAV CBr-7.2、AAV CBr-7.3、AAV CBr-7.4、AAV CBr-7.5、AAV CBr-7.7、AAV CBr-7.8、AAV CBr-B7.3、AAV CBr-B7.4、AAV CBr-E1、AAV CBr-E2、AAV CBr-E3、AAV CBr-E4、AAV CBr-E5、AAV CBr-e5、AAV CBr-E6、AAV CBr-E7、AAV CBr-E8、AAV CHt-1、AAV CHt-2、AAV CHt-3、AAV CHt-6.1、AAV CHt-6.10、AAV CHt-6.5、AAV CHt-6.6、AAV CHt-6.7、AAV CHt-6.8、AAV CHt-P1、AAV CHt-P2、AAV CHt-P5、AAV CHt-P6、AAV CHt-P8、AAV CHt-P9、AAV CKd-1、AAV CKd-10、AAV CKd-2、AAV CKd-3、AAV CKd-4、AAV CKd-6、AAV CKd-7、AAV CKd-8、AAV CKd-B1、AAV CKd-B2、AAV CKd-B3、AAV CKd-B4、AAV CKd-B5、AAV CKd-B6、AAV CKd-B7、AAV CKd-B8、AAV CKd-H1、AAV CKd-H2、AAV CKd-H3、AAV CKd-H4、AAV CKd-H5、AAV CKd-H6、AAV CKd-N3、AAV CKd-N4、AAV CKd-N9、AAV CLg-F1、AAV CLg-F2、AAV CLg-F3、AAV CLg-F4、AAV CLg-F5、AAV CLg-F6、AAV CLg-F7、AAV CLg-F8、AAV CLv-1、AAV CLv1-1、AAV CLv1-10、AAV CLv1-2、AAV CLv-12、AAV CLv1-3、AAV CLv-13、AAV CLv1-4、AAV CLv1-7、AAV CLv1-8、AAV CLv1-9、AAV CLv-2、AAV CLv-3、AAV CLv-4、AAV CLv-6、AAV CLv-8、AAV CLv-D1、AAV CLv-D2、AAV CLv-D3、AAV CLv-D4、AAV CLv-D5、AAV CLv-D6、AAV CLv-D7、AAV CLv-D8、AAV CLv-E1、AAV CLv-K1、AAV CLv-K3、AAV CLv-K6、AAV CLv-L4、AAV CLv-L5、AAV CLv-L6、AAV CLv-M1、AAV CLv-M11、AAV CLv-M2、AAV CLv-M5、AAV CLv-M6、AAV CLv-M7、AAV CLv-M8、AAV CLv-M9、AAV CLv-R1

10

20

30

40

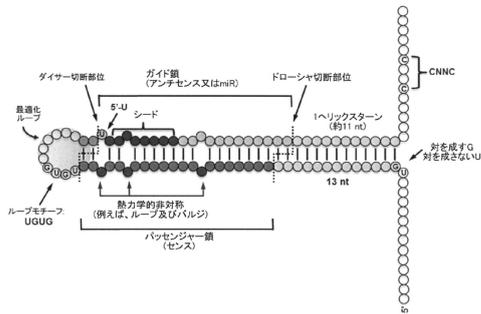
50

、 AAV CLv - R2、 AAV CLv - R3、 AAV CLv - R4、 AAV CLv - R5、 AAV CLv - R6、 AAV CLv - R7、 AAV CLv - R8、 AAV CLv - R9、 AAV CSp - 1、 AAV CSp - 10、 AAV CSp - 11、 AAV CSp - 2、 AAV CSp - 3、 AAV CSp - 4、 AAV CSp - 6、 AAV CSp - 7、 AAV CSp - 8、 AAV CSp - 8.10、 AAV CSp - 8.2、 AAV CSp - 8.4、 AAV CSp - 8.5、 AAV CSp - 8.6、 AAV CSp - 8.7、 AAV CSp - 8.8、 AAV CSp - 8.9、 AAV CSp - 9、 AAV. hu. 48R3、 AAV. VR - 355、 AAV3B、 AAV4、 AAV5、 AAVF1 / HSC1、 AAVF11 / HSC11、 AAVF12 / HSC12、 AAVF13 / HSC13、 AAVF14 / HSC14、 AAVF15 / HSC15、 AAVF16 / HSC16、 AAVF17 / HSC17、 AAVF2 / HSC2、 AAVF3 / HSC3、 AAVF4 / HSC4、 AAVF5 / HSC5、 AAVF6 / HSC6、 AAVF7 / HSC7、 AAVF8 / HSC8、 AAVF9 / HSC9、 AAVDJ、 AAVDJ - 8 PHP. B、 PHP. A、 G2B - 26、 G2B - 13、 TH1. 1 - 32 及び / 又は TH1. 1 - 35 からなる群から選択されるカプシド血清型を含む、項目 27 に記載の組換え AAV ウイルス。

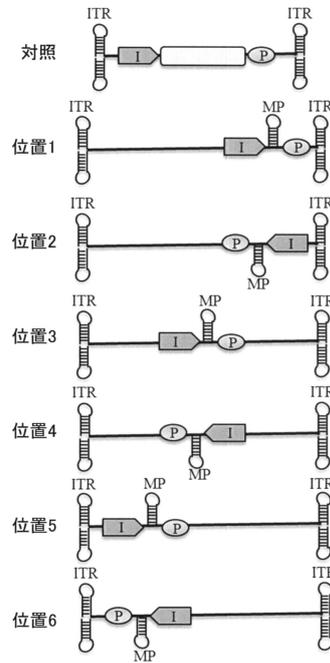
10

【図面】

【図 1】



【図 2】



20

30

40

50

【配列表】

0007066635000001.app

10

20

30

40

50

## フロントページの続き

(51)国際特許分類

A 6 1 K 35/76 (2015.01)

F I

A 6 1 K 35/76

(33)優先権主張国・地域又は機関

米国(US)

弁理士 中村 美樹

(72)発明者 サー、ディナー ウェン - イー

アメリカ合衆国 0 2 1 3 9 マサチューセッツ州 ケンブリッジ シドニー ストリート 7 5 ボイ  
ジャー セラピューティクス インコーポレイテッド内

(72)発明者 ホウ、ジンジャオ

アメリカ合衆国 0 2 1 3 9 マサチューセッツ州 ケンブリッジ シドニー ストリート 7 5 ボイ  
ジャー セラピューティクス インコーポレイテッド内

(72)発明者 ノンネンマッチャー、マシュー

アメリカ合衆国 0 2 1 3 9 マサチューセッツ州 ケンブリッジ シドニー ストリート 7 5 ボイ  
ジャー セラピューティクス インコーポレイテッド内

審査官 小林 薫

(56)参考文献

国際公開第 2 0 1 3 / 1 2 6 6 0 5 ( W O , A 1 )

国際公開第 2 0 1 4 / 0 1 6 8 1 7 ( W O , A 2 )

米国特許出願公開第 2 0 1 1 / 0 0 2 0 8 1 6 ( U S , A 1 )

PLOS ONE, 2014, Vol.9, Issue 3, e92188 (pp.1-13)

Methods, Available online 2016.04.12, Vol.103, pp.157-166

(58)調査した分野 (Int.Cl., D B 名)

C 1 2 N 1 5 / 0 0 - 1 5 / 9 0

C A p l u s / R E G I S T R Y ( S T N )