

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号
特表2023-542279
(P2023-542279A)

(43)公表日 令和5年10月6日(2023.10.6)

(51)国際特許分類		F I	テーマコード(参考)	
A 6 1 K	48/00 (2006.01)	A 6 1 K	48/00	4 B 0 6 5
C 1 2 N	15/35 (2006.01)	C 1 2 N	15/35	Z N A 4 C 0 8 4
C 1 2 N	15/12 (2006.01)	C 1 2 N	15/12	4 C 0 8 6
C 0 7 K	14/015 (2006.01)	C 0 7 K	14/015	4 H 0 4 5
C 0 7 K	14/47 (2006.01)	C 0 7 K	14/47	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全72頁) 最終頁に続く

(21)出願番号	特願2023-512665(P2023-512665)	(71)出願人	523058788
(86)(22)出願日	令和3年7月20日(2021.7.20)		インスピラール リミテッド
(85)翻訳文提出日	令和5年2月17日(2023.2.17)		中華人民共和国 ホンコン アドミラルテ
(86)国際出願番号	PCT/IB2021/000509		ィ クイーンズウェイ ナンバー 89 リ
(87)国際公開番号	WO2022/018518		ッポー・センター・タワー・ツー 4階
(87)国際公開日	令和4年1月27日(2022.1.27)		ユニット 417
(81)指定国・地域	AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), EP(AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, B 最終頁に続く	(74)代理人	110003797 弁理士法人清原国際特許事務所
		(72)発明者	シー, ジョンドン アメリカ合衆国 01730 マサチュー セツツ州 ベッドフォード ベイトリオッ ツ・パーク 1 チャオ, ウェイ アメリカ合衆国 02110 マサチュー セツツ州 ボストン ハイ・ストリート. 最終頁に続く
		(72)発明者	

(54)【発明の名称】 眼疾患の処置のための組成物および方法

(57)【要約】

網膜色素変性症を処置または予防するための組成物が、本明細書に提供される。組成物は、第1のポリヌクレオチドおよび第2のポリヌクレオチドを含む。組成物は、更に第3の配列および第4の配列をさらに含んでもよい。組換えアデノ随伴ウイルス粒子、システム、方法、およびこれらを実施または使用するためのキットも本明細書に提供される。

【選択図】図2 A

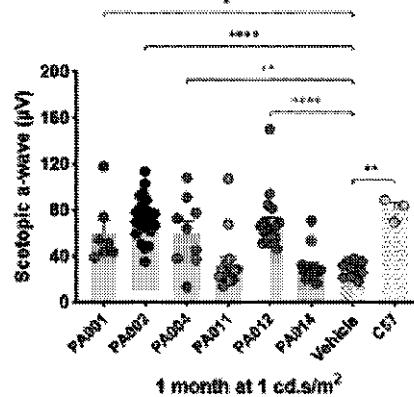


FIG. 2A

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

医薬組成物であって、前記医薬組成物は、

(i) 第1のポリヌクレオチド、そこで、第1のポリヌクレオチドは言った、第1のシーケンスを操作しやすく含む、第1のプロモーターと別のシーケンスにリンクされた、操作しやすく、別のプロモーターにリンクされた、第1のシーケンスは言った、アデノ随伴ウイルス(AAV)カプシド・タンパク質のエンコード、第2のシーケンスは言った、AAVレープ・タンパク質のエンコード、第1のプロモーターは言った、および第2のプロモーター言った、昆虫細胞の発現のために適している、および

(ii) 別のポリヌクレオチド、そこで、第2のポリヌクレオチドは言った、3番めのシーケンスを操作しやすく含む、CMVプロモーターにリンクされた、CAGプロモーター、MNDU3プロモーター、PGKプロモーター、EF1aプロモーターまたは眼に特有のプロモーター、およびそこで、3番目のシーケンスが色素性網膜炎GTPアーゼ制御因子(RPGR)ポリペプチドをエンコードする。

【請求項 2】

請求項1の組成物(そこでは上述の3番目のシーケンスはRPGR ORF15ポリペプチドをエンコードする)。

【請求項 3】

請求項1または2の組成物(そこでは上述の3番目のシーケンスは最適化されたコドンである)。

【請求項 4】

請求項1の組成物(そこでは上述の3番目のシーケンスは配列番号を含む):2または配列番号に対して少なくとも90%の同一性を持っているシーケンス:2.

【請求項 5】

請求項1の組成物(そこでは上述の3番目のシーケンスは配列番号のうちのいずれか1つを含む):3-6または配列番号のうちのいずれか1つに対して少なくとも90%の同一性を持っているシーケンス:3-6.

【請求項 6】

請求項5の組成物(そこでは上述の3番目のシーケンスは配列番号を含む):3または配列番号に対して少なくとも90%の同一性を持っているシーケンス:3.

【請求項 7】

請求項5の組成物(そこでは上述の3番目のシーケンスは配列番号を含む):4または配列番号に対して少なくとも90%の同一性を持っているシーケンス:4.

【請求項 8】

請求項5の組成物(そこでは上述の3番目のシーケンスは配列番号を含む):5または配列番号に対して少なくとも90%の同一性を持っているシーケンス:5.

【請求項 9】

請求項5の組成物(そこでは上述の3番目のシーケンスは配列番号を含む):6または配列番号に対して少なくとも90%の同一性を持っているシーケンス:6.

【請求項 10】

請求項1の組成物(そこでは上述の昆虫細胞はSf9細胞である)。

【請求項 11】

請求項1の組成物、そこで、第1のプロモーターは言ったか、第2のプロモーターがp10プロモーターまたはpolhプロモーターであると言った。

【請求項 12】

請求項11の組成物、そこで、第1のプロモーターは言ったか、第2のプロモーターが上述のp10プロモーターであると言った。

【請求項 13】

請求項11の組成物、そこで、第1のプロモーターは言ったか、第2のプロモーターが上述のpolhプロモーターであると言った。

10

20

30

40

50

【請求項 1 4】

請求項 1 の組成物（そこでは R P E 6 5 遺伝子プロモーター、細胞のレチナールデヒド結合蛋白質（C R A L B P）、ネズミ科の 1 1 - c i s - レチノール脱水素酵素（R D H）プロモーター、ロドプシン・プロモーター、ロドプシン・キナーゼ（G R K 1）プロモーター、コラーゲン分解酵素阻害 - 3（T I M P 3）プロモーター、光受容体レチノール結合蛋白質プロモーター、卵黄様黃斑ジストロフィ 2 プロモーターと I n t e r p h o t o r e c e p t o r 類網膜の結合蛋白質（I R B P）プロモーターから構成される群から上述の眼に特有のプロモーターは選択される）。

【請求項 1 5】

請求項 1 4 の組成物（そこでは上述のロドプシン・キナーゼ（G R K 1）プロモーターは配列番号のうちのいずれか 1 つを含む）：7 - 8 または配列番号のうちのいずれか 1 つに対して少なくとも 9 0 % の同一性を持っているシーケンス：7 - 8 . 10

【請求項 1 6】

請求項 1 5 の組成物（そこでは上述のロドプシン・キナーゼ（G R K 1）プロモーターは配列番号を含む）：7 または配列番号に対して少なくとも 9 0 % の同一性を持っているシーケンス：7 .

【請求項 1 7】

請求項 1 5 の組成物（そこでは上述のロドプシン・キナーゼ（G R K 1）プロモーターは配列番号を含む）：8 または配列番号に対して少なくとも 9 0 % の同一性を持っているシーケンス：8 . 20

【請求項 1 8】

請求項 1 の組成物、そこで、3' 終了、第 1 のシーケンスがさらにポリ A シーケンスを含むとしました。

【請求項 1 9】

請求項 1 の組成物、そこで、3' 終了、第 2 のシーケンスがさらにポリ A シーケンスを含むとしました。

【請求項 2 0】

請求項 1 の組成物、そこで、第 1 のシーケンスは言い、第 2 のシーケンスを言った、リンカーをエンコードするシーケンスによる接続されます。

【請求項 2 1】

請求項 2 0 の組成物（そこでは上述のリンカーは切断可能なリンカーである）。 30

【請求項 2 2】

請求項 2 0 の組成物（そこでは上述のリンカーは 2 A ペプチドをエンコードするシーケンスを含む）。

【請求項 2 3】

請求項 2 0 の組成物（そこでは上述のシーケンス・コード化はリンカーがさらにプロモーターを含むと言った）。

【請求項 2 4】

請求項 2 3 の組成物（そこでは上述のプロモーターは F M D V プロモーターである）。

【請求項 2 5】

請求項 1 の組成物、そこで、3' 終了は言った、3 番目のシーケンスがさらにポリ A シーケンスを含むとしました。 40

【請求項 2 6】

請求項 1 8 、 1 9 、または 2 5 の組成物（そこでは上述のポリ A シーケンスは配列番号のうちのいずれか 1 つを含む）：9 - 1 2 または配列番号のうちのいずれか 1 つに対して少なくとも 9 0 % の同一性を持っているシーケンス：9 - 1 2 .

【請求項 2 7】

請求項 2 6 の組成物（そこでは上述のポリ A シーケンスは配列番号を含む）：9 または配列番号に対して少なくとも 9 0 % の同一性を持っているシーケンス：9 .

【請求項 2 8】

請求項 2 6 の組成物（そこでは上述のポリ A シーケンスは配列番号を含む）：1 0 または配列番号に対して少なくとも 9 0 % の同一性を持っているシーケンス：1 0 。

【請求項 2 9】

請求項 2 6 の組成物（そこでは上述のポリ A シーケンスは配列番号を含む）：1 1 または配列番号に対して少なくとも 9 0 % の同一性を持っているシーケンス：1 1 。

【請求項 3 0】

請求項 2 6 の組成物（そこでは上述のポリ A シーケンスは配列番号を含む）：1 2 または配列番号に対して少なくとも 9 0 % の同一性を持っているシーケンス：1 2 。

【請求項 3 1】

請求項 1 の組成物（そこでは上述の第 2 のポリヌクレオチドはさらに詰め物をする人シーケンスを含む）。 10

【請求項 3 2】

請求項 1 の組成物、そこで、第 2 のポリヌクレオチドが逆方向末端反復（I T R）シーケンスをさらに含むと言いました。

【請求項 3 3】

請求項 3 2 の組成物、そこで、逆方向末端反復（I T R）シーケンスがアデノ随伴ウイルス（A A V）であると言った、2 つの I T R シーケンスをセロタイプで分けます。

【請求項 3 4】

請求項 1 の組成物、そこで、第 2 のポリヌクレオチドが治療のタンパク質をエンコードする 4 番めのシーケンスをさらに含むと言いました。 20

【請求項 3 5】

請求項 3 4 の組成物、前記治療用タンパク質は以下の群から選択される：R P G R I P 1、R P G R I P 1 L、S M C 1、S M C 3、Whirlin、P D E と R A B 8。

【請求項 3 6】

請求項 3 4 の組成物、そこで、3 番目のシーケンスは言い、4 番目のシーケンスを言った、リンカーをエンコードするシーケンスによる接続されます。

【請求項 3 7】

請求項 3 6 の組成物（そこでは上述のリンカーは切断可能なリンカーである）。

【請求項 3 8】

請求項 3 6 の組成物（そこでは上述のリンカーは 2 A ペプチドをエンコードするシーケンスを含む）。 30

【請求項 3 9】

イントロンをさらに含む、請求項 2 1 に記載の組成物。

【請求項 4 0】

請求項 3 9 の組成物（そこでは上述のイントロン・シーケンスは配列番号を含む）：1 3 または配列番号に対して少なくとも 9 0 % の同一性を持っているシーケンス：1 3 。

【請求項 4 1】

請求項 1 の組成物、そこで、第 1 のポリヌクレオチドがアデノ随伴ウイルス（A A V）を含むと言った、5 つのシーケンスをセロタイプで分けます。

【請求項 4 2】

昆虫細胞へ請求項 1 - 4 1 のうちのいずれか 1 つの組成物を導入することにより調製された組み換えのアデノ随伴ウイルス（r A A V）粒子。 40

【請求項 4 3】

請求項 4 2 の組み換えのアデノ随伴ウイルス（r A A V）粒子（そこでは上述の昆虫細胞は S f 9 細胞である）。

【請求項 4 4】

X を処置するためのシステムは、請求項 4 2 または 4 3 と薬学的に許容可能な担体の上述の組み換えのアデノ随伴ウイルス（r A A V）粒子を含む色素性網膜炎をリンクしました。

【請求項 4 5】

Xを処置する方法は色素性網膜炎をリンクしました、その必要性のある上述の対象に投与することを含むこと、請求項44のシステム。

【請求項46】

請求項44と指示の上述のシステムを含むキット。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

相互参照

本出願は、2020年7月21日に出願された中国特許出願公開第202010705069.X号の利益を主張するものであり、その内容はすべて参照によって本明細書に援用される。

【背景技術】

【0002】

色素性網膜炎（RP）は、夜間視力の障害を含み、周辺視力（側面図）の損失を含む症状を備えた、ビジョン損失に至ることができる遺伝的な眼疾患です。幼年期の通常現われますが、症状は徐々に悪化します。Xをリンクした色素性網膜炎（XLRP）は、X染色体に置かれた色素性網膜炎GTPアーゼ制御因子（RPGR）における変異による引き起こされた一種のRPです。疾患患者は、夜盲症、次に視覚の徐々の低減と結局完成した盲目から始めます。

【0003】

配列表

本出願は配列表を包含しており、これは、ASCIIフォーマットで電子的に提出され、その全体を引用することで本明細書に組み込まれる。2021年7月19日に作成されたASCIIのコピーは、57837-708_601_SLという名称であり、36,512バイトのサイズである。

【発明の概要】

【0004】

現在、XLRPの処置において、有効な薬物の開発においてニーズと方法があります。本の開示の組成物、組み換えのアデノ随伴ウイルス（rAAV）粒子、システム、方法とキットは、それについてニーズを解決する。

【0005】

組成物が本明細書に開示される。態様における、組成物は（i）第1のポリヌクレオチドを含む、そこでは最初のポリヌクレオチドは、第1のプロモーターに操作しやすくリンクされた第1のシーケンス、別のプロモーターに操作しやすくリンクされた別のシーケンス、アデノ随伴ウイルス（AAV）カプシド・タンパク質をエンコードする最初のシーケンス、AAVレプ・タンパク質をエンコードする第2のシーケンス、第1のプロモーターと第2のプロモーターを含みます、昆虫細胞の発現のために適している、および（ii）別のポリヌクレオチド、そこでは、第2のポリヌクレオチドは、CMVプロモーター、CAGプロモーター、MNDU3プロモーター、PGKプロモーター、EF1aプロモーターまたは眼に特有のプロモーターに操作しやすくリンクされた3番めのシーケンス、と3番目のシーケンスが色素性網膜炎GTPアーゼ制御因子（RPGR）ポリペプチドをどこでエンコードするかを含みます。

【0006】

いくつかの実施形態では、3番目のシーケンスはRPGR ORF15ポリペプチドをエンコードします。幾つかの実施形態において、第2のペプチドはヘプタペプチドである。幾つかの実施形態では、CH1配列はSEQ ID NO:86を含む。2または配列番号への少なくとも90%の同一性を含むシーケンス：2。幾つかの実施形態では、CH1配列はSEQ ID NO:86を含む。3または配列番号への少なくとも90%の同一性を含むシーケンス：3。幾つかの実施形態では、CH1配列はSEQ ID NO:86を含む。4または配列番号への少なくとも90%の同一性を含むシーケンス：4。幾

10

20

30

40

50

つかの実施形態では、C H 1配列はS E Q I D N O : 8 6を含む。5または配列番号への少なくとも90%の同一性を含むシーケンス：5。幾つかの実施形態では、C H 1配列はS E Q I D N O : 8 6を含む。6または配列番号への少なくとも90%の同一性を含むシーケンス：6。

【0007】

いくつかの実施形態では、上皮細胞はヒト上皮細胞である。いくつかの実施形態では、第1のプロモーターまたは第2のプロモーターはp 1 0プロモーターまたはp o 1 hプロモーターです。いくつかの実施形態では、第1のプロモーターまたは第2のプロモーターはp 1 0プロモーターです。いくつかの実施形態では、第1のプロモーターまたは第2のプロモーターはp o 1 hプロモーターです。いくつかの実施形態では、眼に特有のプロモーターは、R P E 6 5遺伝子プロモーター、細胞のレチナールデヒド結合蛋白質(C R A L B P)、ネズミ科の1 1 - c i s - レチノール脱水素酵素(R D H)プロモーター、ロドプシン・プロモーター、R h o d o p o s i nキナーゼ(G R K 1)プロモーター、コラーゲン分解酵素阻害-3(T I M P 3)プロモーター、光受容体レチノール結合蛋白質プロモーター、卵黄様黄斑ジストロフィ2プロモーターとI n t e r p h o t o r e c e p t o r類網膜の結合蛋白質(I R B P)プロモーターから構成される群から選択されます。

【0008】

いくつかの実施形態では、ロドプシン・キナーゼ(G R K 1)プロモーターは、配列番号のうちのいずれか1つを含みます：7 - 8または配列番号のうちのいずれか1つに対して少なくとも90%の同一性を持っているシーケンス：7 - 8。いくつかの実施形態では、ロドプシン・キナーゼ(G R K 1)プロモーターは配列番号を含みます：7または配列番号に対して少なくとも90%の同一性を持っているシーケンス：7。いくつかの実施形態では、ロドプシン・キナーゼ(G R K 1)プロモーターは配列番号を含みます：8または配列番号に対して少なくとも90%の同一性を持っているシーケンス：8。

【0009】

いくつかの実施形態では、最初のシーケンスの3'終了はさらにポリAシーケンスを含みます。いくつかの実施形態では、第2のシーケンスの3'終了はさらにポリAシーケンスを含みます。いくつかの実施形態では、最初のシーケンスと第2のシーケンスはリンカーをエンコードするシーケンスによる接続されます。幾つかの実施形態において、リンカーはペプチドリンカーである。いくつかの実施形態では、リンカーは、2 Aペプチドをエンコードするシーケンスを含みます。いくつかの実施形態では、リンカーをエンコードするシーケンスはさらにプロモーターを含みます。幾つかの実施形態において、プロモーターは構成型プロモータである。いくつかの実施形態では、3番目のシーケンスの3'終了はさらにポリAシーケンスを含みます。

【0010】

いくつかの実施形態では、ポリAシーケンスは、配列番号のうちのいずれか1つを含みます：9 - 1 2または配列番号のうちのいずれか1つに対して少なくとも90%の同一性を持っているシーケンス：9 - 1 2。幾つかの実施形態では、C H 1配列はS E Q I D N O : 8 6を含む。9または配列番号に対して少なくとも90%の同一性を持っているシーケンス：9。幾つかの実施形態では、C H 1配列はS E Q I D N O : 8 6を含む。1 0または配列番号に対して少なくとも90%の同一性を持っているシーケンス：1 0。幾つかの実施形態では、C H 1配列はS E Q I D N O : 8 6を含む。1 1または配列番号に対して少なくとも90%の同一性を持っているシーケンス：1 1。幾つかの実施形態では、C H 1配列はS E Q I D N O : 8 6を含む。1 2または配列番号に対して少なくとも90%の同一性を持っているシーケンス：1 2。

【0011】

いくつかの実施形態では、第2のポリヌクレオチドはさらに詰め物をする人シーケンスを含みます。いくつかの実施形態では、第2のポリヌクレオチドはさらに逆方向末端反復(I T R)シーケンスを含みます。いくつかの実施形態では、逆方向末端反復(I T R)

10

20

30

40

50

シーケンスはアデノ随伴ウイルス(A A V) 血清型 2 I T R シーケンスです。いくつかの実施形態では、第 2 のポリヌクレオチドは、治療のタンパク質をエンコードする 4 番めのシーケンスをさらに含みます。いくつかの実施形態では、環境パラメータは、以下からなる群から選択される: R P G R I P 1 、 R P G R I P 1 L 、 S M C 1 、 S M C 3 、 W h i r l i n 、 P D E と R A B 8 。

【 0 0 1 2 】

いくつかの実施形態では、3 番目のシーケンスと 4 番目のシーケンスはリンカーをエンコードするシーケンスによる接続されます。幾つかの実施形態において、リンカーはペプチドリンカーである。いくつかの実施形態では、リンカーは、2 A ペプチドをエンコードするシーケンスを含みます。

10

【 0 0 1 3 】

ある場合には、組成物がさらにイントロン・シーケンスを含みます。場合によっては、結合ペプチドは S E Q I D N O : 1 3 または配列番号に対して少なくとも 9 0 % の同一性を持っているシーケンス: 1 3 。ある場合には、最初のポリヌクレオチドがアデノ随伴ウイルス(A A V) 血清型 5 シーケンスを含みます。

【 0 0 1 4 】

本明細書に開示された、組み換えのアデノ随伴ウイルス(r A A V) 粒子です。態様では、組み換えのアデノ随伴ウイルス(r A A V) 粒子はそれについて昆虫細胞へ記載されたいかなる組成物の導入により調製されています。幾つかの実施形態において、細胞は分裂細胞である。

20

【 0 0 1 5 】

本明細書に開示された、X を処置するためのシステムである、色素性網膜炎をリンクしました。態様では、X をリンクした色素性網膜炎を処置するためのシステムは、それについて記載されたいかなる組み換えのアデノ随伴ウイルス(r A A V) 粒子、と薬学的に許容可能な担体も含みます。

【 0 0 1 6 】

本明細書に開示された、X を処置する方法である、色素性網膜炎をリンクしました。態様では、X を処置する方法は色素性網膜炎をリンクしました、その必要性のある対象に投与することを含む、それについて記載されたあらゆるシステム。

30

【 0 0 1 7 】

本明細書に開示された、キットです。態様では、キットは、それについて記載されたいかなるシステムと指示も含みます。

【 図面の簡単な説明 】

【 0 0 1 8 】

開示の特徴は、特に、添付の特許請求の範囲内に明記される。本発明の特徴および利点のより良い理解は、本発明の原理が利用される例示的実施形態を示す以下の詳細な説明、および添付の図面(本明細書では「図面」および「図」ともいう) を参照することによって得られるだろう。

【 0 0 1 9 】

【 図 1 A 】 コドンに最適化された R P G R ポリヌクレオチド・シーケンスが示すことができる図 1 A - B ショー、ハイ・レベルへの組み換えの R P G R O R F 1 5 タンパク質、生体外で。図 1 A は、様々なコドンに最適化された R P G R O R F 1 5 c D N A から発現された組み換えの R P G R O R F 1 5 タンパク質の西の汚れの代表的なイメージが H E K 2 9 3 T 細胞を中へ構築することを示します。細胞は、表 2 のリストされた 1 セットの発現構成物を運ぶプラスミドを有するトランスフェクトされました。トランスフェクトされた細胞の溶解産物は西の汚れによる分析されました。 R P G R O R F 1 5 (O R F 1 5) タンパク質は抗 R P G R 抗体を用いて確認されました。 g l u t a m y l a t e d された R P G R O R F 1 5 タンパク質(O R F 1 5) g l u t a m y l a t i o n は抗 G T 3 3 5 抗体を用いて確認されました。すべては構築します、それに関する R P G R O R F 1 5 タンパク質の高位レベルを示した、プラスミド対照群はない。組み換えの R P

40

50

G R O R F 1 5 タンパク質は発現しました、また彼らが野生型のタンパク質の通常の翻訳後修飾を持っていたことを示唆して g l u t a m y l a t e d されました。

【図 1 B】図 1 B は、様々なコドンに最適化された R P G R O R F 1 5 c D N A から発現された組み換えの R P G R O R F 1 5 タンパク質の西の汚れの代表的なイメージが H E K 2 9 3 T 細胞を中へ構築することを示します。細胞は、表 2 のリストされた構成物の別のセットを運ぶ組み換えの A A V (r A A V) 粒子を有するトランスフェクトされました。トランスフェクトされた細胞の溶解産物は西の汚れによる分析されました。R P G R タンパク質 O R F 1 5 (O R F 1 5) タンパク質は抗 R P G R 抗体を用いて確認されました。構成物はすべて、抑制細胞のそれに相関する R P G R O R F 1 5 の高位レベルを示しました。図 1 A - B では、アクチンは抑制 (抗 - b - アクチン) タンパク質として用いられました。発現分析のために、u n t r a n s f e c t e d 細胞 (プラスミドはない) は負の調節として用いられました。

【図 2 A】図 2 A ~ C コドンを最適化されたことから発現された組み換えの R P G R O R F 1 5 タンパク質が構築するショー、機能的である、眼において生体内。図 2 A は、組み換えの R P G R 組み換えタンパクを示す様々な組み換えの A A V (r A A V) 粒子を注入された時、R P G R ノックアウトマウスの暗順応の A 波欠損を統計的に著しく救うことができるかもしれませんことを示します。

【図 2 B】図 2 B は、組み換えの R P G R 組み換えタンパクを示す様々な組み換えの A A V (r A A V) 粒子を注入された時、R P G R ノックアウトマウスの暗順応の B 波欠損を統計的に著しく救うことができるかもしれませんことを示します。

【図 2 C】図 2 C は、組み換えの R P G R 組み換えタンパクを示すいくつかの組み換えの A A V (r A A V) 粒子を注入された時、R P G R ノックアウトマウスの明所視の B 波欠損を救うことができるかもしれませんことを示します。F I G 2 A - C の中で、マウスはコドンに最適化された R P G R 構成物を含んでいる同数のウィルス粒子を注入されました。製剤緩衝剤 (ビヒクリ) を注入された野性型マウス (C 5 7) と R P G R ノックアウトマウスは、陽性と負の調節としてそれぞれ用いられました。その注入は両側性の網膜下の注入を用いて実行されました。注入された眼の数、表 3 の要約されます。暗順応の A 波、暗順応の B 波と明所視の B 波は、網膜電図記録法 (E R G) 注射後のあるか月までに測定されました。統計分析は、ボンフェローニの多重比較検定が後続するビヒクリに対する一元配置分散分析を用いて行なわれました。 * p < 0 . 0 5 , ** p < 0 . 0 0 1 , *** p < 0 . 0 0 0 1 , **** p < 0 . 0 0 0 0 1 。

【発明を実施するための形態】

【 0 0 2 0 】

本開示のさらなる態様と利点は、本開示の例示的な実施形態だけが示され記載される以下の詳細な説明から当業者には容易に明白になるだろう。以下の記載から分かるように、本開示は他の実施形態および異なる実施形態であってもよく、そのいくつかの詳細は、本開示から逸脱することなく、様々な明白な点においてすべて修正が可能である。したがって、図面と記述は、本質的に例示的とみなされ、限定的とは見なされない。

【 0 0 2 1 】

他に指示がない限り、本明細書に開示されたいいくつかの実施形態の実行は、免疫学、生化学、化学、分子生物学、微生物学、細胞生物学、ゲノミクスと D N A 再結合技術の従来の技術を含みます。見る、例えば S a m b r o o k 、緑、分子クローニング：実験手引き書 (4 番目の版 (2 0 1 2)) ；分子生物学シリーズ (F . M . A u s u b e l ら、編集者) への現在のプロトコル；酵素学シリーズ (アカデミックプレス社) への方法；P C R 2 : 実際的なアプローチ (M . J . マックファーソン、B . D . くびきと G . R . テーラ - e d s (1 9 9 5)) 、ハーローとレーン、編集者 (1 9 8 8) 抗体、実験手引き書；および動物細胞の培養：基本技術と専門の適用 (6 番目の版 (R . I . F r e s h n e y 、 e d (2 0 1 0))) のマニュアル。

【 0 0 2 2 】

定義

10

20

30

40

50

本明細書及び特許請求の範囲で使用されるように、「a」、「an」、及び「the」は、内容が他に明確に示していない限り、複数の参照を含む。例えば、用語「r A A V 粒子」は1つ以上のr A A V 粒子を含みます。

【0023】

用語「約 (about)」または「およそ (approximately)」は、当業者によって決定されるような特定の値の許容可能な誤差範囲内であることを意味し、これは、その値がどのように測定または決定されるか、例えば測定システムの限界に部分的に左右される。芸術の実行に応じて、例えば、「に関して」1つの標準偏差よりある以上の内に意味することができます。代替的に、「約」とは所定の値の最大で20%、最大で10%、最大で5%、または最大で1%の範囲内を意味し得る。代替的に、とりわけ生体系または生物学的プロセスに関して、この用語は1桁以内、好ましくはある値の5倍、より好ましくは2倍以内を意味することができる。特定の値が本出願と請求項に記載されている場合、特段の定めのない限り、特定の値の許容可能な誤差範囲内を意味する「約」との用語が仮定されなければならない。

【0024】

用語「ポリペプチド」、「ペプチド」、および「タンパク質」は、あらゆる長さのアミノ酸のポリマーを指すために本明細書で交換可能に使用される。環状で、ポリマーは線状かもしれないしまたは分岐したかもしれません。ポリマーは修正済のアミノ酸を含むことができ、非アミノ酸による中断することができます。用語は、また硫酸化によるような、修飾されたアミノ酸ポリマーを含みます、グリコシレーション、lipidation、アセチル化、リン酸化、ヨウ素化、メチル化、酸化、タンパク質分解の治療、リン酸化、isoprenylation、ラセミ化、セレン化、転移RNA - は、ラベルを付ける構成要素を有する接合などのタンパク質 (arginylationのような)、ubiquitinationまたは他の動作へのアミノ酸の付加を調停しました。所与のタンパク質から「誘導した」ポリペプチドまたはアミノ酸配列順序は、ポリペプチドの起源を表します。むしろ、ポリペプチドは、実質的にシーケンスの中でエンコードされたポリペプチドのアミノ酸配列順序と同じであるアミノ酸配列順序をしています。または、その一部分 (そこでその部分は少なくとも10 - 20のアミノ酸から構成される)、少なくとも20 - 30のアミノ酸、少なくとも30 - 50のアミノ酸またはそれは、シーケンスの中でエンコードされたポリペプチドに免疫学的に同一視することができます。用語は、また指定の核酸配列から発現されたポリペプチドを含みます。本明細書に用いられるように、用語「領域」はタンパク質またはペプチドの他の部分と物理的にまたは機能的に識別されるタンパク質の一部を表します。物理的に定義された領域は、非常に疎水性か親水性の膜 - 境界または細胞質の境界であるものなどのアミノ酸配列順序を含みます。例えば、領域も遺伝子複製による引き起こされた内部相同による定義することができます。機能的に定義された領域には異なる生物学的機能があります。例えば、タンパク結合の領域は、タンパク質に結合するタンパク結合の単位の部分を表します。連続的なアミノ酸配列順序による機能的に定義された領域をエンコードする必要はありません。そして、機能的に定義された領域は1つ以上の物理的に定義された領域を含んでいるかもしれません。

【0025】

本明細書に用いられるように、用語「アミノ酸」は、アミノ酸類似体およびpeptidesを含み、これらに限定されずにもDまたはLの光学異性体を含み、これらに限定されずにも、生まれつきの名人および/または不自然な合成アミノ酸を表します。標準の1つのレターまたは3 - レター・コードはアミノ酸を指定するために用いられます。このコンテキストでは、アミノ酸は、当技術においてよく知られているあるレターと3レターの略語による通常表わされます。例えば、アラニンはAまたはアラバマによる表わすことができます。

【0026】

ポリペプチドの場合には、本明細書に用いられるように、「シーケンス」はアミノ末端基からカルボキシ・ターミナルへ方角のポリペプチドへのアミノ酸のシーケンスです。そ

こでは互いに隣接している残基はシーケンスの中でポリペプチドのあります。それは一次構造において連続的です。シーケンスは、また1つまたは2つの方角の追加の残基を含むと知られていたポリペプチドの一部の線状のシーケンスになります。

【0027】

ポリヌクレオチドの場合には、本明細書に用いられるように、「シーケンス」は5'終了から3'終了へ方角のポリヌクレオチドへのヌクレオチドのシーケンスです。そこでは互いに隣接しているヌクレオチドはシーケンスの中でポリヌクレオチドのあります。それは一次構造において連続的です。シーケンスは、また1つまたは2つの方角の追加のヌクレオチドを含むと知られていたポリヌクレオチドの一部の線状のシーケンスになります。

10

【0028】

本明細書に用いられるように、「同一性」、「相同」または「シーケンス同一性」は、2つ以上のポリヌクレオチド・シーケンス、または2つ以上のポリペプチド配列間の類似点または互換性を表します。プログラムを用いる時、のような、シーケンス同一性、相同または2つの異なるアミノ酸配列順序間の類似点を測定するために針またはBestFitを浮き彫りにする、デフォルト設定は用いられてもよい。または、適切な得点するマトリックスは、同一性、類似点または相同性のスコアを最適化するためにb10sum45またはBLOSUM80のような選択されてもよい。むしろ、同族のポリヌクレオチドは、より好ましくは少なくとも90%より好ましくはむしろ、本明細書に定義されるような厳格な条件の下で交雑し、少なくとも70%が少なくとも80%あるものです（少なくとも95%、より好ましくは）少なくとも97%、より好ましくは少なくとも98%、およびより好ましくは少なくとも99%のシーケンス同一性さえ。比較可能な長さのシーケンスが最適に整列する時、同族のポリペプチドには少なくとも80%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも97%、少なくとも98%のシーケンス同一性または少なくとも99%のシーケンス同一性がむしろあります。

20

【0029】

ポリペプチドまたはポリヌクレオチドに関して、本明細書に、「パーセント・シーケンス同一性(%)」は、シーケンスを整列させて、最大のシーケンス同一性パーセンテージを得るのに必要な場合ギャップを導入し、シーケンスの一部と見なされるいかなる保存的置換も除去していなかった後に計算されて、第2、参照ポリペプチド/ポリヌクレオチド・シーケンスのアミノ酸残基またはヌクレオチドに同一か、それについて分かれる、質問シーケンスのアミノ酸残基またはヌクレオチドのパーセンテージとして定義されます。アミノ酸配列順序同一性のパーセンテージの測定を目指した配列は、BLAST、BLAST-2、ALIGN、NEEDLEまたはMegalign(DNASTAR)ソフトウェアなどの公に有効なコンピューター・ソフトウェアを用いるような芸術の技術内の様々な面の中で達成することができます。当業者は、比較されているシーケンスの短縮していないものを含む配列の測定のための適切なバラメータを測定することができます、最大の配列を得るために必要とされるあらゆるアルゴリズムのために資格を有します。パーセント同一性は、定義されたポリペプチド/ポリヌクレオチド・シーケンス全体の長さの間測定することができるか、またはより短い長さ（例えば少なくとも5つ、10（少なくとも）の、少なくとも15、少なくとも20、少なくとも50、少なくとも100、または少なくとも200連続する残基/ヌクレオチドのA破片などのより大きく、定義されたポリペプチド/ポリヌクレオチド・シーケンスから得られた破片の長さ）の間測定することができます。これらの長さは典型的です、だけ、および、その上のいかなる破片長さも長さの割合を有する測定されるかもしれませんことを説明するために図面で本明細書に示される形、またはシーケンス・リストの中で支持されたシーケンスを用いることができるが、理解されるに違いありません。

30

【0030】

本明細書に記載されたタンパク質は、参照シーケンスに関する1つ以上の変異をしているかもしれません。その変異は、欠失、挿入または、付加、またはアミノ酸残基の置換ま

40

50

たは、置換かもしれません。「欠失」は、1つ以上のアミノ酸残基の不足によりアミノ酸配列順序の変化を表します。「挿入」または「付加」は、基準シーケンスに比較して、1つ以上のアミノ酸残基の付加の帰着するアミノ酸配列順序変化を表します。「置換」または「置換」は、異なるアミノ酸を有する1つ以上のアミノ酸の置換を表します。本の開示では、参照シーケンスに関するポリペプチドの変異はポリペプチドを参照シーケンスに比較することにより測定することができます。比較のシーケンスの最適な配列は、芸術のあらゆる既知の方法に応じて果たすことができます。

【0031】

本明細書に用いられたように、用語「抽出された」通常の状況の下の自然界、ポリヌクレオチド、ペプチド、ポリペプチド、タンパク質、抗体またはその破片において、関連される細胞か他の構成要素の絶縁および/または分離を参照します。当業者は、それらの自然発生の相当物と識別されるためには、非自然発生のポリヌクレオチド、ペプチド、ポリペプチド、タンパク質、抗体またはその破片が「分離される必要はない」と理解するべきです。加えて、「濃縮」ポリヌクレオチド、「分離された」ポリヌクレオチドまたは「希釈された」ポリヌクレオチド、またはペプチド、ポリペプチド、タンパク質、抗体またはその破片は、それらの濃縮のためにそれらの自然発生の相当物から識別可能です。または、1つの単位体積当たりの分子の数は、その自然発生の相当物（「分離する」）より、またはその相当物未満で（「集中する」）大きい。豊富化は1つの単位体積当たりの解決の重量などの絶対量に基づいて、測定することができます、またはそれを第2に関連があって測定することができます、潜在的に出所混合物においてある種類を参考文献として載せます。

【0032】

用語「ポリヌクレオチド」、「核酸」、「ヌクレオチド」と「オリゴヌクレオチド」は、交換可能に用いられます。彼らは、あらゆる長さ（かどうか、彼ら、a e デオキシリボヌクレオチドまたはリボヌクレオチド）またはアナログのヌクレオチドの重合体の形を表します。ポリヌクレオチドはいかなる三次元構造も持つことができ、いかなる既知か未知の作用も果たすことができます。以下はポリヌクレオチドの制限しない例です：遺伝子または遺伝子破片のコーディングまたは非コードの領域、座、連鎖解析から測定された、エキソン、イントロン、メッセンジャーRNA (mRNA)、転移RNA、リボソームRNA、リボザイム、cDNA、組み換えのポリヌクレオチド、枝分かれさせられたポリヌクレオチド、分離されたプラスミド、ベクター、あらゆるDNAはシーケンスを分離した、あらゆるRNAシーケンス、核酸プローブ、入門書、または合成オリゴヌクレオチドDNA。ポリヌクレオチドは、メチル化されたヌクレオチドおよびヌクレオチドアナログなど修飾されたヌクレオチドを含むかもしれない。存在するとき、ヌクレオチド構造に対する修飾は、ポリマーのアセンブリーの前または後で与えられ得る。ヌクレオチドの配列は、非ヌクレオチド構成要素によって阻止され得る。ポリヌクレオチドは、標識化構成要素との抱合によってなど、重合の後にさらに修飾され得る。DNA / RNAを参照する時、Aはアデニンを意味する場合があります、Cはシトシンを意味する場合があります、Gはグアニンを意味する場合があります、Tはチミンを意味する場合があります、Uはウラシルを意味する場合があります。DNAまたはRNAを参照する時UおよびTは交換可能に用いることができます。

【0033】

ポリヌクレオチドに適用された時、「組み換えである」ことはポリヌクレオチドがクローニングの生成物であることを意味します、制限消化、連結反応、他の手順、それは生産する、構築する、自然界の中で発見されたものと異なる、またはあらゆる組み合わせ、それの。ポリペプチドに適用された時、「組み換えである」ことはポリペプチドが組み換えのポリヌクレオチドの示されたかまたは翻訳された生成物であることを意味します。

【0034】

「遺伝子」、「遺伝子破片」という用語は交換可能に本明細書に用いられます。彼らは、少なくとも1つの読取枠、転写の後に特定のタンパク質をエンコードすることができる

10

20

30

40

50

読取枠、と翻訳を含んでいるポリヌクレオチドを表します。遺伝子または遺伝子破片は遺伝子群かもしれません、cDNA、または多核性のヌクレオチドが少なくとも1つの読取枠を含む限り、合成、読取枠は全コード領域またはその切開を覆うかもしれません。

【0035】

「操作しやすく接続しているか」、「有効に接続している」用語は、それらがそれらの意図した方法の中で機能することを可能にするために構成要素の並置を表します。例えば、プロモーター・シーケンスが暗号配列の転写を促進する場合、プロモーター・シーケンスは暗号配列に操作しやすくリンクされます。

【0036】

本明細書に用いられるように、「発現」はポリヌクレオチドがmRNAへ転写される手順および/または手順をそばに表します、それがmRNA（また「転写」と呼ばれた）を転写したかは、ペプチド、ポリペプチドまたはタンパク質へ次に変換されます。転写とエンコードされたポリペプチドは総体として遺伝子産物と呼ばれます。ポリヌクレオチドがゲノムDNAから誘導した場合、発現は真核細胞のmRNAのスプライシングを含むかもしれません。

【0037】

本明細書に用いられるように、用語「ベクター」はポリヌクレオチドが挿入することができる核酸伝達手段を表します。ベクターが挿入されたポリヌクレオチドによるエンコードされたタンパク質を示すことができる時、ベクターは発現ベクトルと呼ばれます。ベクターは変態、形質導入またはトランスフェクションを介して宿主細胞へ導入することができます。その結果、それが運ぶ遺伝物質は宿主細胞で示すことができます。ベクターは以下を含み、これらに限定されずに当業者によく知られています：プラスミド；ファージミド；P1から誘導した酵母人工染色体（YAC）、バクテリア人工染色体（BAC）または人工染色体（PAC）などの人工染色体；ファージまたはM13ファージ身体と、動物ウイルスなどのバクテリオファージ。ベクターとして用いることができる動物ウイルス、含む、しかし制限されない、レトロウイルス（レンチウイルスを含む）、アデノウイルス、アデノ随伴ウイルス、ヘルペスウイルス（単純疱疹ウイルスのような）、ポックスウイルス、バキュロウイルス、乳頭腫ウイルス、および乳頭突起ポリオーマウイルス液胞ウイルス（シミアンウイルス40のような）。ベクターは、プロモーター・シーケンス、転写開始シーケンス、エンハンサー配列、選択要素とレポーター遺伝子を含み、これらに限定されずに、発現をコントロールする様々な要素を含むことができます。加えて、ベクターは、また複製部位の起源を含んでいるかもしれません。

【0038】

本明細書に用いられるような用語「コドン最適化」は、それがエンコードするのと同じタンパク質シーケンスを維持する一方でヌクレオチド配列を変更するために遺伝子コードへの余剰の使用を表します。ある場合には、コドン最適化がエンコードされたタンパク質の発現を促進するために増加されるか減少するかもしれません。これは、細胞型への転移リボ核酸の相対存在量などの特有の細胞型のためにコドン利用に対する好みを選択することにより行われます。ある場合には、まれな転移リボ核酸コドンが特定の細胞型への発現を低減するために選択されるかもしれません。ある場合には、コドン最適化が、またシーケンス複製の適合度を増加する場合があります。すなわち、より少ない変異がクローニング中のようなポリヌクレオチド複製サイクル中に生じます。

【0039】

本明細書に用いられるように、用語「宿主細胞」はベクター（それは含む）を有する導入されるために用いることができるが、制限されない細胞、大腸菌または枯草菌などの原核細胞またはアスペルギルス属などのイーストまたは、菌による細胞を表します、またはショウジョウバエS2細胞またはSf9細胞などの昆虫細胞、または纖維芽細胞などの動物細胞、CHO細胞、コス細胞、NSO細胞、HeLa細胞、BHK細胞、HEK293細胞またはヒト細胞。

【0040】

10

20

30

40

50

本明細書に用いられるような「有効な量」は、少なくとも特定の条件の測定可能な改善または予防を達成するのに必要な最低額を表します。この有効な量は、患者の疾患状態、年齢、性、重量と他の要素によって変化することができます。有効な量は、また治療の利益が治療のいかなる有毒または悪影響にもまさる量です。癌または腫瘍の処置では、薬物の有効量は次の効果があります：癌細胞の数を減らす、腫瘍サイズを低減する、周辺の器官へ癌細胞の浸潤を阻害する、腫瘍転移を阻害する、ある程度まで腫瘍の増殖を阻害する、その疾患に関連する1つ以上の症状、またはそのいかなる組み合わせも緩和します。有効な量は1つ以上の適用または用量の中で投与することができます。

【0041】

本明細書に用いられたとき、用語「受容者」、「個体」、「対象」、「宿主」、および「患者」は交換可能に本明細書に用いられる、および分析されるか、薬で治療されるか、処置されることが従属するあらゆる哺乳類を参照する、特にヒト。 10

【0042】

本明細書に用いられるように、「治療」、「薬物」という用語は希望の薬学および/または生理的な効果を得ることを表します。効力は、完全にまたは部分的に疾患またはその症状を予防する点では予防的かもしれないし、および/またはその疾患に起因する疾患と/or adverse反応を部分的にまたは完全に安定させるか直す点では治療かもしれません。本明細書に用いられるような「処置」は、マウス、ラット、ウサギ、ブタ、靈長類、人間を含むこと他の類人猿などの哺乳動物への疾患のいかなる処置（特に人間）も包含します。そして、用語は次のものを含みます：(a) 対象の生じることから、疾患または症状の予防、疾患または症状に弱いかもしれないが、まだではなく分析されるかもしれない；(b) 病徴を阻害すること；(c) その疾患の発現を防ぐこと；(d) その疾患の症状を和らげること；(e) 疾患または症状をおさまらせること；または、これらの組み合わせである。本明細書に用いられるような用語「キット」は、共通の使用のための、または営利上パッケージにされた組み合わせを表します、有効。例えば、本の開示のキットは、本の開示の組成物と組成物またはキットを用いるための指示を含むかもしれません。用語「指示」は、治療薬のコマーシャル・パッケージの通常含まれている説明の挿入物を表します。それは、適応症、使用、量、投与、併用、禁忌、そのような治療薬の使用に関する警告またはそのあらゆる組み合わせに関する情報を含んでいます。 20

【0043】

本開示の好ましい実施形態が、本明細書に示され且つ記載されている一方で、このような実施形態が、ほんの一例として提供されることは当業者に明白であろう。多くの変更、変化、および置換が、本発明から逸脱することなく当業者に想到されることもある。本明細書に記載される本発明の実施形態の様々な代案が、利用されることもあることを理解されたい。 30

【0044】

X連鎖性色素性網膜炎（XLRP）

Xをリンクした色素性網膜炎（XLRP）は網膜の変性の最も重大な形です。その疾患は生命の最初の10年の現われて、初期の発症を持っており、迅速に後で進行します。その疾患がXリンクされるので、その疾患は主として雄に影響し、雌の生じてそうありません。しかしながら、ある場合には、網膜の変性の酵素がヘテロ接合の変異遺伝子を運ぶ雌の明示されるかもしれません。 40

【0045】

色素性網膜炎GTP酵素制御因子（RPGR）は人間におけるRPGR遺伝子によるエンコードされたGTPアーゼ結合蛋白質です。このタンパク質の作用はよく理解されませんが、研究は細胞の纖毛の構造のそれが重要な役割を果たすことを示しました。纖毛は、多くの細胞型の表面から出て、細胞運動と様々なシグナル経路の参加する、小さく指のような突出です。纖毛は聴力、匂いと視覚のために必要です。RPGR遺伝子はいくつかのRPGRアイソフォームを生成することができます。そのうちの1つはRPGR ORF 15（1152のアミノ酸）と呼ばれます。RPGR ORF 15は、特に光受容細胞に 50

おける、網膜における主として示され、纖毛の作用の規制により光受容の手順の参加してもよい。R P G R O R F 1 5 は持っています、1つの、高度に反復、C末端におけるグリシン／グルタミン酸豊富な領域をエンコードするプリン豊かな領域。コドン最適化は、遺伝子治療の安定したD N A 塩基配列コード化O R F 1 5 を生成するのにふさわしいかもしれません。R P G R の機能不良はX L R P 患者の70%以上の中で観測されます。

【0046】

組換えA A Vベクター

アデノ随伴ウイルス(A A V)パルボウイルス、単一の鎖D N A (s s D N A)ウイルスに属します。A A Vの短縮していないゲノムは、レプおよびキャップと呼ばれる2つの読取枠(O R F)を包含するウイルスの両端で逆方向末端反復(I T R)D N A 塩基配列を含んで、およそ4.7キロベース(k b)を含んでいます。

10

【0047】

「A A V逆方向末端反復」(I T R)シーケンスは、自然な単鎖のA A Vゲノムの両端で存在する、約145のヌクレオチドのシーケンスです。I T Rは、対称的なA A V粒子のゲノム核酸配列の効率的な複製のために必要です。それは複製のウイルスD N A合成起源として用いることができ、組み換えのA A Vベクターの必要な構造の構成要素です。

【0048】

「レプ」遺伝子はポリヌクレオチドを含んでいます、順番に並べる、4のレプ・タンパク質r e p 7 8、r e p 6 8、r e p 5 2と、A A Vの生活環のために必要なr e p 4 0のエンコード。「キャップ」遺伝子は、A A Vカプシド・タンパク質V P 1、V P 2とV P 3タンパク質をエンコードするポリヌクレオチド・シーケンスを含んでいます。A A Vカプシド・タンパク質V P 1、V P 2とV P 3はそれらの間の相互作用を介して24のサブユニットの対称的なA A Vカプシドを形成するのに有能です。

20

【0049】

A A Vは分割し無分裂のヒト細胞を有効に感染させる場合があります。そして、そのゲノムは、宿主ゲノムへの1回の染色体のサイトへ統合することができます。最も重要なことは、A A Vは人間の既に存在しますが、現在の調査はA A Vがいかなる疾患にも関連しないと信じます。その高い安全性に基づいた、低い免疫原性、広い宿主領域、外因性の遺伝子の安定した長期的な発現を生体内で調停する能力、A A Vは遺伝子治療の中で最も有望なベクターシステムになりました。

30

【0050】

今まで、13のA A V血清型、彼らが感染させる組織または異なる細胞型に応じて確認されました。さらに、下記のT A B L E あるによれば、異なるA A Vは特有の細胞型のトランスフェクションの有利なベクターシステムとして開発されています。多くのA A V血清型中で、血清型2(A A V 2)は最も広く研究されて用いられているA A Vです。それは、網膜の上皮を含み、これらに限定されずに、光受容細胞、骨格筋、中枢神経系と肝細胞を感染させる場合があります；および、進行における担体として多くの臨床の尾のために用いられました。

【0051】

40

50

【表1】

TABLE 1: AAV Serotypes and the Target Tissues Used in Gene Therapy

AAV Serotype	Target tissue
AAV1, AAV2, AAV4, AAV5, AAV8, AAV9	Central nervous system
AAV1, AAV8, AAV9	Heart
AAV2	Kidney
AAV7, AAV8, AAV9	Liver
AAV4, AAV5, AAV6, AAV9	Lung
AAV8	Pancreas
AAV2, AAV5, AAV8	Photoreceptors
AAV1, AAV2, AAV4, AAV5, AAV8	Retinal epithelium
AAV1, AAV6, AAV7, AAV8, AAV9	Skeletal muscle

10

20

30

40

50

【0052】

本明細書に用いられるような用語「組み換えのAAVベクター（rAAVベクター）」は、1つ含んでいるポリヌクレオチド・ベクターを表します。または、より異種のシーケンス（すなわちAAVから誘導していない核酸配列）は2つのAAV-ITRシーケンスによる側面に位置しました。AAVレプとキャップ・タンパク質を示すホスト細胞においてある時、rAAVベクターは折れ重なり、AAVウイルス粒子へパッケージすることができます。

【0053】

用語「組み換えのAAV（rAAV）ウイルス」または本明細書に用いられるような「rAAVウイルス粒子」は、AAVウイルス粒子へ少なくとも1つのAAVカプシド・タンパク質によるカプセルに入れられたrAAVベクターを表します。rAAVウイルス粒子産生の現在用いられているホスト細胞、293個の細胞、コス細胞、HeLa細胞、KB細胞と他の哺乳動物細胞株などの哺乳動物細胞型から誘導しています。rAAVウイルス粒子は哺乳動物細胞にrAAVプラスミドを提供することにより哺乳動物細胞培養系の中で生むことができます。しかしながら、ほとんどの上記の哺乳動物細胞培養系のウイルスの生産性は、治験と工業規模産生の必要条件を満たすことにおいて不十分です。この目的のために、Sf9細胞などの昆虫細胞を用いるrAAVウイルス粒子プロダクション・システムは、最近開発されています。しかしながら、昆虫細胞のAAVを生成するために、AAVカプシド・タンパク質の正しい理論混合比を得るためにいくつかの変異をなさなければなりません。

【0054】

バキュロウイルスはバキュロウイルス科ウイルス・ファミリーが所有して、二重らせん構造のサーチュラ-DNAウイルスで、90kb-230kbのゲノム・サイズを持っています。バキュロウイルスは、節足動物以外には排他的で、昆虫の600を超える種類を感染させると知られていた寄生虫です。Autographa californica多重カプシド核多角体ウイルス（AcMNPV）、スミスらを成功裡に用いることは、第一のバキュロウイルス発現システム（mol.細胞生物学者、1983年、3: 2156-2165）を開発して、1983年のSf9細胞系統へのヒト・ベータ・インターフェロンを示しました。その時以来、バキュロウイルス発現システムは継続的に改善され開発されています。そして、それは広く非常に用いられている真核生物の発現システムになりました。2002年には、Urabéらが、Sf9細胞と成功裡に準備したrAAVウイルス粒子を共同感染させるためにAAVのレプ遺伝子、キャップ遺伝子とITRコア発現要素を運ぶ3つの組み換えのバキュロウイルスを用いて、バキュロウイルスに感染した

S f 9 昆虫細胞が A A V 複製を支持することができることを示しました。この根拠の上で、研究者は、r A A V ウィルス粒子の大規模調製のために、より適しているシステムを連続的に開発しました。

【 0 0 5 5 】

現在、バキュロウィルス発現システムを用いる r A A V ウィルス粒子の大規模調製の 2 つの方法が主としてあります：2 つの B a c システムと 1 つの B a c システム。r A A V ウィルス粒子を調製された 2 つのバキュロウィルス・システムの主な手順は、レブ遺伝子と A A V のキャップ遺伝子が 1 つのバキュロウィルス・ゲノムへ統合されるということです。そして、興味のある遺伝子を発現する I T R コアエレメントは、別のバキュロウィルス・ゲノムへ統合されます。その後、上記の 2 つの組み換えのバキュロウィルスは標的遺伝子を運ぶ r A A V ウィルス粒子を生むホスト細胞を共同感染させるために用いられます。1 つの B a c システムを用いる主な過程は、r A A V ウィルス粒子を調製するために細胞系統をパッケージにすることに依存します。レブ遺伝子とキャップ遺伝子の発現を引き起こすことができるパッケージング細胞系統は、最初に確立されます。このパッケージング細胞系統はレブ遺伝子とキャップ遺伝子発現要素に統合されます。レブ遺伝子とキャップ遺伝子は両方とも、強いバキュロウィルス後期遺伝子発現プロモーター p o l y h e d r i n (p o l h) の管理下に配置されます。h r 2 エンハンサー配列と A A V レブ・タンパク結合シーケンスは、p o l h プロモーターの上流にさらに挿入されます。A A V I T R と標的遺伝子を含んでいる組み換えのバキュロウィルスに感染した後に、パッケージング細胞系統へのレブ遺伝子とキャップ遺伝子は引き起こされます。そして、標的遺伝子挿入物を含んでいる r A A V ウィルス粒子が生まれます。

10

20

30

40

50

【 0 0 5 6 】

いくつかの実施形態では、r A A V ベクターはかつては r A A V ウィルス粒子の興味のある遺伝子を運びました、また本明細書に用いられるような用語「発現調節要素」が、異種のポリヌクレオチドの転写と翻訳を促進するポリヌクレオチド・シーケンスを含む操作しやすくリンクしたポリヌクレオチドの発現に影響する核酸配列を表す 1 つ以上の「発現調節要素」を含んでもよい。本の開示における用いることができる発現調節要素は含みます、しかし制限されない、プロモーター、エンハンサー、信号、ポリ A シーケンスまたは逆方向末端反復 (I T R) を結合するイントロン。

【 0 0 5 7 】

「プロモーター」は、標的生成物をエンコードする異種のポリヌクレオチド・シーケンスに隣接した位置にあった D N A 塩基配列です。それは、通常異種のポリヌクレオチドなどの隣接したシーケンスに操作しやすくリンクされます。プロモーターの不在中に示された量に比較して、プロモーターは、一般に異種のポリヌクレオチド発現の量を増加します。

【 0 0 5 8 】

「エンハンサー」はプロモーターの活動を増強するシーケンスです。プロモーターと異なるので、エンハンサーはプロモーター作用をしておらず、プロモーター（すなわち上流にまたは下流にプロモーターの）に関するその位置に一般に左右されてもよい。本の開示における用いることができるエンハンサーエレメント（またはその部分）の制限しない例は、バキュロウィルス・エンハンサーと、昆虫細胞の中で見つけられたエンハンサーエレメントを含みます。

【 0 0 5 9 】

「詰め物をする人シーケンス」は、より大きな核酸分子（のような、しかしへクターに限定的でなかった）のヌクレオチド配列を表し、通常 2 つの核酸形質（のような、しかしプロモーターおよび暗号配列の間で限定的でなかった）間の希望のギャップまたは分離を作出するか、核酸分子を拡張することです、希望の長さ。詰め物をする人シーケンスはタンパク質暗号情報を含んでおらず、未知か合成起源（より大きな核酸分子内の他の核酸配列に関連していなかった）またはそのいかなる組み合わせがあってもよい。

【 0 0 6 0 】

組成物

1つの態様では、本の開示は、その第1のポリヌクレオチドと別のポリヌクレオチドを含む組み合わせを提供します、そこで、第1のポリヌクレオチドが第1のシーケンスに操作しやすくリンクされた第1のプロモーター、と別のシーケンスに操作しやすくリンクされた別のプロモーターを含むと言いました。

【0061】

いくつかの実施形態では、最初のシーケンスはアデノ随伴ウイルス (AAV) キャップ・タンパク質をエンコードします。キャップ・タンパク質は、機能的な AAV カプシド (すなわちパッケージング DNA と感染させる標的細胞) を形成することができる技術における既知のあらゆる構造タンパク質になります。いくつかの実施形態では、キャップ・タンパク質は VP1、VP2 と VP3 を含みます。いくつかの実施形態では、それが機能的な AAV カプシドを生成することができる限り、キャップ・タンパク質は VP1、VP2 と VP3 をすべて含む必要はありません。いくつかの実施形態では、キャップ・タンパク質は VP1 および VP2 を含みます。いくつかの実施形態では、キャップ・タンパク質は VP1 および VP3 を含みます。いくつかの実施形態では、キャップ・タンパク質は VP2 および VP3 を含みます。いくつかの実施形態における、その場合、キャップ・タンパク質は VP1 を含みます。幾つかの実施形態では、RNA は、された核酸塩基を含まない。幾つかの実施形態では、RNA は、された核酸塩基を含まない。

10

【0062】

VP1、VP2 または VP3 はあらゆる AAV 血清型から誘導しているかもしれません。いくつかの実施形態では、VP1 は AAV 血清型ある (AAV1) から誘導しているかもしれません、AAV 血清型 2 (AAV2)、AAV2 変異体 (例えば AAV2.7m8、AAV2 (コッド Y-F) または AAV2tYF)、AAV 血清型 3 (血清型 3A と 3B を含む AAV3)、AAV は 4 (AAV4)、AAV 血清型をセロタイプで分けます。5 (AAV5)、AAV 血清型 .6 (AAV6)、AAV 血清型 .7 (AAV7)、AAV 血清型 .8 (AAV8)、AAV 血清型 .9 (AAV9)、AAV 血清型 10 (AAV10)、AAV 血清型 11 (AAV11)、AAV 血清型 12 (AAV12)、AAV 血清型 13 (AAV13)、AAV-Rh10、AAV-Rh74、AAV-2i8 または他の既知の AAV。いくつかの実施形態では、AAV1、AAV2 (AAV3) (AAV3A および 3B を含む)、AAV4、AAV5、AAV6、AAV7、AAV8、AAV9、AAV10、AAV11、AAV12、AAV13、AAV-Rh10、AAV-Rh74 または AAV-2i8 から誘導した VP1 と野性型 VP1 には少なくとも 75%、80%、85%、90%、95% またはより多くのシーケンス同一性があるかもしれません。いくつかの実施形態事例では、AAV1、AAV2、AAV3 (AAV3A および 3B を含む)、AAV4、AAV5、AAV6、AAV7、AAV9 の AAV8、AAV10、AAV11、AAV12、AAV13、AAV-Rh10、AAV-Rh74 または AAV-2i8 から誘導した野性型 VP1 に比較して、VP1 には 1 つ以上のアミノ酸置換、欠失、付加またはそのあらゆる組み合わせがあります。

20

30

【0063】

いくつかの実施形態では、VP2 は AAV 血清型ある (AAV1) から誘導しているかもしれません、AAV 血清型 2 (AAV2)、AAV2 変異体 (例えば AAV2.7m8、AAV2 (コッド Y-F) または AAV2tYF)、AAV 血清型 3 (血清型 3A と 3B を含む AAV3)、AAV は 4 (AAV4)、AAV 血清型をセロタイプで分けます。5 (AAV5)、AAV 血清型 .6 (AAV6)、AAV 血清型 .7 (AAV7)、AAV 血清型 .8 (AAV8)、AAV 血清型 .9 (AAV9)、AAV 血清型 10 (AAV10)、AAV 血清型 11 (AAV11)、AAV 血清型 12 (AAV12)、AAV 血清型 13 (AAV13)、AAV-Rh10、AAV-Rh74、AAV-2i8 または他の既知の AAV。いくつかの実施形態では、AAV1、AAV2 (AAV3) (AAV3A および 3B を含む)、AAV4、AAV5、AAV6、AAV7、AAV8、AAV9、AAV10、AAV11、AAV12、AAV13、AAV-Rh10、AAV-Rh74、AAV-2i8 または AAV-2i8 から誘導した野性型 VP1 に比較して、VP1 には 1 つ以上のアミノ酸置換、欠失、付加またはそのあらゆる組み合わせがあります。

40

50

h 7 4 または A A V 2 i 8 から誘導した V P 2 と野性型 V P 2 には少なくとも 7 5 %、8 0 %、8 5 %、9 0 %、9 5 % またはより多くのシーケンス同一性があるかもしれません。いくつかの実施形態事例では、A A V 1、A A V 2、A A V 3 (A A V 3 A および 3 B を含む)、A A V 4、A A V 5、A A V 6、A A V 7、A A V 9 の A A V 8、A A V 1 0、A A V 1 1、A A V 1 2、A A V 1 3、A A V - R h 1 0、A A V - R h 7 4 または A A V - 2 i 8 から誘導した野性型 V P 2 に比較して、V P 2 には 1 つ以上のアミノ酸置換、欠失、付加またはそのあらゆる組み合わせがあります。

【 0 0 6 4 】

V P 3 は A A V 血清型ある (A A V 1) から誘導しているかもしれません、A A V 血清型 2 (A A V 2)、A A V 2 变異体 (例えば A A V 2 . 7 m 8、A A V 2 (コッド Y - F) または A A V 2 t Y F)、A A V 血清型 3 (血清型 3 A と 3 B を含む A A V 3)、A A V は 4 (A A V 4)、A A V 血清型をセロタイプで分けます。5 (A A V 5)、A A V 血清型 . 6 (A A V 6)、A A V 血清型 . 7 (A A V 7)、A A V 血清型 . 8 (A A V 8)、A A V 血清型 . 9 (A A V 9)、A A V 血清型 1 0 (A A V 1 0)、A A V 血清型 1 1 (A A V 1 1)、A A V 血清型 1 2 (A A V 1 2)、A A V 血清型 1 3 (A A V 1 3)、A A V - R h 1 0、A A V - R h 7 4、A A V - 2 i 8 または他の既知の A A V . いくつかの実施形態、V P 3 と、A A V 1 から誘導した野性型 V P 3 における、A A V 2、A A V 2 变異体 (例えば A A V 2 . 7 m 8、A A V 2 (コッド Y - F) または A A V 2 t Y F)、A A V 3 (A A V 3 A および 3 B を含む) A A V 4、A A V 5、A A V 6、A A V 7、A A V 8、A A V 9、A A V 1 0、A A V 1 1、A A V 1 2、A A V 1 3、A A V - R h 1 0、A A V - R h 7 4 または A A V 2 i 8 には少なくとも 7 5 %、8 0 %、8 5 %、9 0 %、9 5 % またはより多くのシーケンス同一性があるかもしれません。いくつかの実施形態事例では、A A V 1、A A V 2、A A V 2 变異体 (例えば A A V 2 . 7 m 8、A A V 2 (コッド Y - F) または A A V 2 t Y F)、A A V 3 (A A V 3 A および 3 B を含む)、A A V 4、A A V 5、A A V 6、A A V 7、A A V 8、A A V 9、A A V 1 0、A A V 1 1、A A V 1 2、A A V 1 3、A A V - R h 1 0、A A V - R h 7 4 または A A V - 2 i 8 から誘導した野性型 V P 3 に比較して、V P 3 には 1 つ以上のアミノ酸置換、欠失、付加またはそのあらゆる組み合わせがあります。

【 0 0 6 5 】

いくつかの実施形態では、キャップ・タンパク質は V P 1、V P 2、V P 3 またはその同じ血清型の A A V から誘導したあらゆる組み合わせを含みます；例えば、キャップ・タンパク質は V P 1、V P 2、V P 3 またはその A A V 2、A A V 2 变異体 (例えば A A V 2 . 7 m 8、A A V 2 (コッド Y - F) または A A V 2 t Y F)、A A V 5 または A A V 8 から誘導したあらゆる組み合わせを含むかもしれません。いくつかの実施形態では、キャップは V P 1、V P 2、V P 3 またはその A A V の異なる血清型から誘導したあらゆる組み合わせを含みます；例えば、キャップ・タンパク質は、V P 1、V P 2、V P 3 またはその A A V 1 のあらゆる組み合わせのうちのいずれか 1 つ以上を含むかもしれません、A A V 2、A A V 2 变異体 (例えば A A V 2 . 7 m 8、A A V 2 (コッド Y - F) または A A V 2 t Y F)、A A V 3 (A A V 3 A および 3 B を含む)、A A V 4、A A V 5、A A V 6、A A V 7、A A V 8、A A V 9、A A V 1 0、A A V 1 1、A A V 1 2、A A V 1 3、A A V - R h 1 0、A A V - R h 7 4、または A A V - 2 i 8 。

【 0 0 6 6 】

いくつかの実施形態では、キャップ・タンパク質は p U C 5 7 (p F a s t B a c 1) へクローンを作られるかもしれませんか、または p U C 5 7 を修飾したか、p F a s t B a c 1 を修飾しました。いくつかの実施形態では、キャップ・タンパク質は p U C 5 7 へクローンを作られるかもしれません。いくつかの実施形態では、キャップ・タンパク質は p F a s t B a c 1 へクローンを作られるかもしれません。いくつかの実施形態では、キャップ・タンパク質は修正済の p U C 5 7 へクローンを作られるかもしれません。いくつかの実施形態では、キャップ・タンパク質は修正済の p F a s t B a c 1 へクローンを作られるかもしれません。

10

20

30

40

50

【 0 0 6 7 】

いくつかの実施形態では、キャップ・タンパク質をエンコードする最初のシーケンスは、第1のプロモーターに操作しやすくリンクされます。第1のプロモーターは、キャップ・タンパク質の発現を駆り立てることができる技術における既知のあらゆる適切なプロモーターかもしれません。いくつかの実施形態では、第1のプロモーターは、組織特異的プロモーター、構成するプロモーターまたは取り締まれるプロモーターかもしれません。例えばいくつかの実施形態では、第1のプロモーターは異なる出所から選択することができます、第1のプロモーターは、ウイルスのプロモーター、プラント・プロモーターまたは哺乳類のプロモーターになります。

【 0 0 6 8 】

第1のプロモーターは含めることができます、しかし制限されない、ヒト・サイトメガロウイルス(CMV)の即時の初期のエンハンサー、シミアンウイルス40の初期のエンハンサー、JCポリオーマウイルス・プロモーターまたはプロモーターまたはプロモーター、ミエリン塩基性蛋白質(MBP)または神経膠線維酸性蛋白質(GFAP)プロモーター、単純疱疹ウイルス(HSV-ある)の潜伏期関連のプロモーター(LAP)、ラウス肉腫ウイルス(RSV)末端反復配列(LTR)プロモーター、ニューロンの特有のプロモーター(NSE)、血小板由来増殖因子(PDGF)プロモーター、hSYN、メラニン凝集ホルモン(MCH)プロモーター、CBA、マトリックス金属タンパク質プロモーター(MPP)、鶏-アクチン・プロモーター、CAG、MNDU3、PGKとEF1aプロモーター。

【 0 0 6 9 】

いくつかの実施形態では、第1のプロモーターは昆虫細胞の発現のために適しているプロモーターです。いくつかの実施形態における、昆虫細胞の発現のために適しているプロモーター、含む、しかしpolhプロモーター、p10プロモーター、基礎的なプロモーター、誘導可能なプロモーター、E1プロモーターまたはE1プロモーターに限定的ではありません。幾つかの実施形態において、プロモータは構成型プロモータである。幾つかの実施形態において、プロモータは構成型プロモータである。

【 0 0 7 0 】

いくつかの実施形態では、第1のシーケンスの3'終了はさらにポリアデニル化シーケンスまたは「ポリAシーケンス」を含みます。いくつかの実施形態では、別のシーケンスの3'終了はさらにポリアデニル化シーケンスまたは「ポリAシーケンス」を含みます。いくつかの実施形態では、ポリアデニル化シーケンスまたは「ポリAシーケンス」は及ぶかもしれません、から、1-500塩基対(bp)に関して。いくつかの実施形態では、ポリアデニル化シーケンスまたは「ポリAシーケンス」はそうかもしれません、しかし制限されない、ある、2、3、4、5、6、7、8、9、10、20の、30、50、100、200、または500ヌクレオチド。

【 0 0 7 1 】

いくつかの実施形態では、ポリAシーケンスは、ヒトRPGRORF15ポリペプチドをエンコードするシーケンスを含みます。いくつかの実施形態では、ポリAシーケンスは、配列番号のうちのいずれか1つを有する少なくとも75%の同一性があるシーケンスを含みます：9-12。いくつかの実施形態では、ポリAシーケンスは、配列番号のうちのいずれか1つを有する少なくとも80%の同一性があるシーケンスを含みます：9-12。いくつかの実施形態では、ポリAシーケンスは、配列番号のうちのいずれか1つを有する少なくとも85%の同一性があるシーケンスを含みます：9-12。いくつかの実施形態では、ポリAシーケンスは、配列番号のうちのいずれか1つを有する少なくとも90%の同一性があるシーケンスを含みます：9-12。いくつかの実施形態では、ポリAシーケンスは、配列番号のうちのいずれか1つを有する少なくとも95%の同一性があるシーケンスを含みます：9-12。いくつかの実施形態では、ポリAシーケンスは、配列番号のうちのいずれか1つを有する少なくとも96%の同一性があるシーケンスを含みます：9-12。いくつかの実施形態では、ポリAシーケンスは、配列番号のうちのいずれか

10

20

30

40

50

くつかの実施形態では、ポリAシーケンスは、配列番号を有する少なくとも80%の同一性があるシーケンスを含みます：11. いくつかの実施形態では、ポリAシーケンスは、配列番号を有する少なくとも85%の同一性があるシーケンスを含みます：11. いくつかの実施形態では、ポリAシーケンスは、配列番号を有する少なくとも90%の同一性があるシーケンスを含みます：11. いくつかの実施形態では、ポリAシーケンスは、配列番号を有する少なくとも95%の同一性があるシーケンスを含みます：11. いくつかの実施形態では、ポリAシーケンスは、配列番号を有する少なくとも96%の同一性があるシーケンスを含みます：11. いくつかの実施形態では、ポリAシーケンスは、配列番号を有する少なくとも97%の同一性があるシーケンスを含みます：11. いくつかの実施形態では、ポリAシーケンスは、配列番号を有する少なくとも98%の同一性があるシーケンスを含みます：11. いくつかの実施形態では、ポリAシーケンスは、配列番号を有する少なくとも99%の同一性があるシーケンスを含みます：11. いくつかの実施形態では、ポリAシーケンスは、配列番号のシーケンスを含みます：11. いくつかの実施形態では、ポリAシーケンスは、1つ以上のヌクレオチド変異、置換、欠失または付加を配列番号に比較するシーケンスを含みます：11.

【0075】

いくつかの実施形態では、ポリAシーケンスは、ヒトR P G R O R F 15ポリペプチドをエンコードするシーケンスを含みます。いくつかの実施形態では、ポリAシーケンスは、配列番号を有する少なくとも75%の同一性があるシーケンスを含みます：12. いくつかの実施形態では、ポリAシーケンスは、配列番号を有する少なくとも80%の同一性があるシーケンスを含みます：12. いくつかの実施形態では、ポリAシーケンスは、配列番号を有する少なくとも85%の同一性があるシーケンスを含みます：12. いくつかの実施形態では、ポリAシーケンスは、配列番号を有する少なくとも90%の同一性があるシーケンスを含みます：12. いくつかの実施形態では、ポリAシーケンスは、配列番号を有する少なくとも95%の同一性があるシーケンスを含みます：12. いくつかの実施形態では、ポリAシーケンスは、配列番号を有する少なくとも96%の同一性があるシーケンスを含みます：12. いくつかの実施形態では、ポリAシーケンスは、配列番号を有する少なくとも97%の同一性があるシーケンスを含みます：12. いくつかの実施形態では、ポリAシーケンスは、配列番号を有する少なくとも98%の同一性があるシーケンスを含みます：12. いくつかの実施形態では、ポリAシーケンスは、配列番号を有する少なくとも99%の同一性があるシーケンスを含みます：12. いくつかの実施形態では、ポリAシーケンスは、配列番号のシーケンスを含みます：12. いくつかの実施形態では、ポリAシーケンスは、1つ以上のヌクレオチド変異、置換、欠失または付加を配列番号に比較するシーケンスを含みます：12.

【0076】

いくつかの実施形態では、第2のシーケンスはA A Vレブ・タンパク質をエンコードします。そこでは、レブ・タンパク質は、折れ重なり、かつr A A Vウィルス粒子ヘパッケージにされるあらゆるr A A Vベクターのために必要な複製タンパク質になります。いくつかの実施形態では、レブ・タンパク質はrep 78、rep 68、rep 52またはrep 40を含みます。いくつかの実施形態では、r A A Vベクターが折れ重なるかr A A Vウィルス粒子ヘパッケージにされることをそれが可能にできる限り、レブ・タンパク質はrep 78、rep 68、rep 52またはrep 40のすべてを含むとは限らないかもしれません。いくつかの実施形態では、レブ・タンパク質は、rep 78、rep 68、rep 52またはrep 40のうちのいかなる3も含みます。いくつかの実施形態では、レブ・タンパク質は、rep 78、rep 68、rep 52またはrep 40のうちのいかなる2も含みます。いくつかの実施形態では、レブ・タンパク質は、rep 78、rep 68、rep 52またはrep 40のうちのいずれか1つを含みます。いくつかの実施形態では、レブ・タンパク質はrep 78またはrep 52を含みます。いくつかの実施形態では、レブ・タンパク質はrep 78またはrep 40を含みます。いくつかの実施形態では、レブ・タンパク質はrep 68またはrep 52を含みます。いくつかの実

10

20

30

40

50

施形態では、レプ・タンパク質はrep68またはrep40を含みます。

【0077】

rep78、rep68、rep52またはrep40はあらゆるAAV血清型から誘導しているかもしれません。いくつかの実施形態では、rep78はAAV血清型ある(AAV1)から誘導しているかもしれません、AAV血清型2(AAV2)、AAV2変異体(例えばAAV2.7m8、AAV2(コッドY-F)またはAAV2tYF)、AAV血清型3(血清型3Aと3Bを含むAAV3)、AAVは4(AAV4)、AAV血清型をセロタイプで分けます。5(AAV5)、AAV血清型.6(AAV6)、AAV血清型.7(AAV7)、AAV血清型.8(AAV8)、AAV血清型.9(AAV9)、AAV血清型10(AAV10)、AAV血清型11(AAV11)、AAV血清型12(AAV12)、AAV血清型13(AAV13)、AAV-Rh10、AAV-Rh74、AAV-2i8または他の既知のAAV。いくつかの実施形態、rep78と、AAV1から誘導した野性型rep78における、AAV2、AAV2変異体(例えばAAV2.7m8、AAV2(コッドY-F)またはAAV2tYF)、AAV3(AAV3Aおよび3Bを含む)AAV4、AAV5、AAV6、AAV7、AAV8、AAV9、AAV10、AAV11、AAV12、AAV13、AAV-Rh10、AAV-Rh74またはAAV2i8には少なくとも75%、80%、85%、90%、95%またはより多くのシーケンス同一性があるかもしれません。いくつかの実施形態事例では、AAV1、AAV2、AAV2変異体(例えばAAV2.7m8、AAV2(コッドY-F)またはAAV2tYF)、AAV3(AAV3Aおよび3Bを含む)、AAV4、AAV5、AAV6、AAV7、AAV9のAAV8、AAV10、AAV11、AAV12、AAV13、AAV-Rh10、AAV-Rh74またはAAV-2i8から誘導した野性型rep78に比較して、rep78には1つ以上のアミノ酸置換、欠失、付加またはそのあらゆる組み合わせがあります。

【0078】

いくつかの実施形態では、rep68はAAV血清型ある(AAV1)から誘導しているかもしれません、AAV血清型2(AAV2)、AAV2変異体(例えばAAV2.7m8、AAV2(コッドY-F)またはAAV2tYF)、AAV血清型3(血清型3Aと3Bを含むAAV3)、AAVは4(AAV4)、AAV血清型をセロタイプで分けます。5(AAV5)、AAV血清型.6(AAV6)、AAV血清型.7(AAV7)、AAV血清型.8(AAV8)、AAV血清型.9(AAV9)、AAV血清型10(AAV10)、AAV血清型11(AAV11)、AAV血清型12(AAV12)、AAV血清型13(AAV13)、AAV-Rh10、AAV-Rh74、AAV-2i8または他の既知のAAV。いくつかの実施形態、rep68と、AAV1から誘導した野性型rep68における、AAV2、AAV2変異体(例えばAAV2.7m8、AAV2(コッドY-F)またはAAV2tYF)、AAV3(AAV3Aおよび3Bを含む)AAV4、AAV5、AAV6、AAV7、AAV8、AAV9、AAV10、AAV11、AAV12、AAV13、AAV-Rh10、AAV-Rh74またはAAV2i8には少なくとも75%、80%、85%、90%、95%またはより多くのシーケンス同一性があるかもしれません。いくつかの実施形態事例では、AAV1、AAV2、AAV2変異体(例えばAAV2.7m8、AAV2(コッドY-F)またはAAV2tYF)、AAV3(AAV3Aおよび3Bを含む)、AAV4、AAV5、AAV6、AAV7、AAV9のAAV8、AAV10、AAV11、AAV12、AAV13、AAV-Rh10、AAV-Rh74またはAAV-2i8から誘導した野性型rep68に比較して、rep68には1つ以上のアミノ酸置換、欠失、付加またはそのあらゆる組み合わせがあります。

【0079】

いくつかの実施形態では、rep52はAAV血清型ある(AAV1)から誘導しているかもしれません、AAV血清型2(AAV2)、AAV2変異体(例えばAAV2.7m8、AAV2(コッドY-F)またはAAV2tYF)、AAV血清型3(血清型3A

10

20

30

40

50

と 3 B を含む AAV3)、AAV は 4 (AAV4)、AAV 血清型をセロタイプで分けます。5 (AAV5)、AAV 血清型 . 6 (AAV6)、AAV 血清型 . 7 (AAV7)、AAV 血清型 . 8 (AAV8)、AAV 血清型 . 9 (AAV9)、AAV 血清型 10 (AAV10)、AAV 血清型 11 (AAV11)、AAV 血清型 12 (AAV12)、AAV 血清型 13 (AAV13)、AAV - Rh10、AAV - Rh74、AAV - 2i8 または他の既知の AAV. いくつかの実施形態、rep52 と、AAV1 から誘導した野性型 rep52 における、AAV2、AAV2 变異体 (例えば AAV2 . 7m8、AAV2 (コッドY - F) または AAV2 t YF)、AAV3 (AAV3A および 3B を含む) AAV4、AAV5、AAV6、AAV7、AAV8、AAV9、AAV10、AAV11、AAV12、AAV13、AAV - Rh10、AAV - Rh74 または AAV2i8 には少なくとも 75%、80%、85%、90%、95% またはより多くのシーケンス同一性があるかもしれません。いくつかの実施形態事例では、AAV1、AAV2、AAV2 变異体 (例えば AAV2 . 7m8、AAV2 (コッドY - F) または AAV2 t YF)、AAV3 (AAV3A および 3B を含む)、AAV4、AAV5、AAV6、AAV7、AAV9 の AAV8、AAV10、AAV11、AAV12、AAV13、AAV - Rh10、AAV - Rh74 または AAV - 2i8 から誘導した野性型 rep52 に比較して、rep52 には 1 つ以上のアミノ酸置換、欠失、付加またはそのあらゆる組み合わせがあります。

10

20

【0080】

いくつかの実施形態では、レプ・タンパク質は rep78、rep68、rep52 または rep40 を含みます。または、そのいかなる組み合わせも同じ血清型の AAV から誘導していました; 例えば、レプ・タンパク質は rep78 を含むかもしれません、rep68 する、rep52 する、rep40、またはその AAV2 から誘導したあらゆる組み合わせ。いくつかの実施形態では、レプ・タンパク質はまた rep78 を含むかもしれません、rep68 する、rep52 する、rep40、またはその AAV2 变異体 (例えば AAV2 . 7m8、AAV2 (コッドY - F) または AAV2 t YF) から誘導したあらゆる組み合わせ。いくつかの実施形態では、レプ・タンパク質は rep78 を含みます、rep68 する、rep52 する、rep40、またはその AAV の異なる血清型から誘導したあらゆる組み合わせ; 例えば、レプ・タンパク質は、rep78 のうちのいずれか 1 つ以上を含むかもしれません、rep68 する、rep52 する、rep40、またはその AAV1 のあらゆる組み合わせ、AAV2、AAV2 变異体 (例えば AAV2 . 7m8、AAV2 (コッドY - F) または AAV2 t YF)、AAV3 (AAV3A および 3B を含む)、AAV4、AAV5、AAV6、AAV7、AAV8、AAV9、AAV10、AAV11、AAV12、AAV13、AAV - Rh10、AAV - Rh74、または AAV - 2i8。

30

40

【0081】

いくつかの実施形態では、レプ・タンパク質をエンコードする第 2 のシーケンスは、別のプロモーターに操作しやすくリンクされます。第 2 のプロモーターは、レプ・タンパク質の発現を駆り立てることができる技術における既知のあらゆる適切なプロモーターかもしれません。いくつかの実施形態では、第 2 のプロモーターは、組織特異的プロモーター、構成するプロモーターまたは取り締まれるプロモーターかもしれません。例えばいくつかの実施形態では、第 2 のプロモーターは異なる出所から選択することができます、第 2 のプロモーターは、ウイルスのプロモーター、プラント・プロモーターまたは哺乳類のプロモーターになります。

【0082】

いくつかの実施形態では、レプ・タンパク質は pUC57 (pFastBac1) へクローンを作られるかもしれませんか、または pUC57 を修飾したか、pFastBac1 を修飾しました。いくつかの実施形態では、レプ・タンパク質は pUC57 へクローンを作られるかもしれません。いくつかの実施形態では、レプ・タンパク質は pFastBac1 へクローンを作られるかもしれません。いくつかの実施形態では、レプ・タンパク質

50

は修正済の p U C 5 7 へクローンを作られるかもしれません。いくつかの実施形態では、レプ・タンパク質は修正済の p F a s t B a c 1 へクローンを作られるかもしれません。

【 0 0 8 3 】

第 2 のプロモーターは含めることができます、しかし制限されない、ヒト - サイトメガロウイルス (C M V) の即時の初期のエンハンサー、シミアンウイルス 4 0 の初期のエンハンサー、 J C ポリオーマウイルス・プロモーターまたはプロモーターまたはプロモーター、ミエリン塩基性蛋白質 (M B P) または神経膠線維酸性蛋白質 (G F A P) プロモーター、単純疱疹ウイルス (H S V - ある) の潜伏期関連のプロモーター (L A P) 、ラウス肉腫ウイルス (R S V) 末端反復配列 (L T R) プロモーター、ニューロンの特有のプロモーター (N S E) 、血小板由来増殖因子 (P D G F) プロモーター、 h S Y N 、メラニン凝集ホルモン (M C H) プロモーター、 C B A 、マトリックス金属タンパク質プロモーター (M P P) 、鶏 - アクチン・プロモーター、 C A G 、 M N D U 3 、 P G K と E F 1 a プロモーター。

【 0 0 8 4 】

いくつかの実施形態では、第 2 のプロモーターは昆虫細胞の発現のために適しているプロモーターです。いくつかの実施形態における、昆虫細胞の発現のために適しているプロモーター、含む、しかし p o l h プロモーター、 p 1 0 プロモーター、基礎的なプロモーター、誘導可能なプロモーター、 E 1 プロモーターまたは E 1 プロモーターに限定的ではありません。幾つかの実施形態において、プロモータは構成型プロモータである。幾つかの実施形態において、プロモータは構成型プロモータである。

【 0 0 8 5 】

いくつかの実施形態では、キャップ・タンパク質とレプ・タンパク質は同じ血清型の A A V から誘導しています；例えば、キャップ・タンパク質とレプ・タンパク質は、 A A V 1 、 A A V 2 、 A A V 2 变異体 (例えば A A V 2 . 7 m 8 、 A A V 2 (コッド Y - F) または A A V 2 t Y F) 、 A A V 3 (A A V 3 A および 3 B を含む) 、 A A V 4 、 A A V 5 、 A A V 6 、 A A V 7 、 A A V 9 の A A V 8 、 A A V 1 0 、 A A V 1 1 、 A A V 1 2 、 A A V 1 3 、 A A V - R h 1 0 、 A A V - R h 7 4 、 A A V - 2 i 8 または他の既知の A A V から誘導しているかもしれません。

【 0 0 8 6 】

いくつかの実施形態では、キャップ・タンパク質とレプ・タンパク質は A A V の異なる血清型から誘導しています；例えば、キャップ・タンパク質とレプ・タンパク質は A A V 1 から誘導しているかもしれません、 A A V 2 、 A A V 2 变異体 (例えば A A V 2 . 7 m 8 、 A A V 2 (コッド Y - F) または A A V 2 t Y F) 、 A A V 3 (A A V 3 A および 3 B を含む) 、 A A V 4 、 A A V 5 、 A A V 6 、 A A V 7 、 A A V 8 、 A A V 9 、 A A V 1 0 、 A A V 1 1 、 A A V 1 2 、 A A V 1 3 、 A A V - R h 1 0 、 A A V - R h 7 4 、 A A V - 2 i 8 、または他の既知の A A V 。例えば、いくつかの実施形態では、キャップ・タンパク質は A A V 2 から誘導しているかもしれません。そして、レプ・タンパク質は A A V 5 から誘導しています。いくつかの実施形態では、キャップ・タンパク質は、 A A V 2 变異体 (例えば A A V 2 . 7 m 8 、 A A V 2 (コッド Y - F) または A A V 2 t Y F) から誘導しているかもしれません。そして、レプ・タンパク質は A A V 5 から誘導しています。

【 0 0 8 7 】

いくつかの実施形態では、第 1 のプロモーターと第 2 のプロモーターは同じプロモーターかもしれません。例えば、第 1 のプロモーターと第 2 のプロモーターは、 p o l h プロモーター (p 1 0 プロモーター) から構成される群から選択されるかもしれません、基礎的なプロモーター、誘導可能なプロモーター、 E 1 、プロモーター、および E 1 プロモーター。例えば、いくつかの実施形態では、第 1 のプロモーターと第 2 のプロモーターは両方とも p o l h プロモーターです。いくつかの実施形態では、第 1 のプロモーターと第 2 のプロモーターは両方とも p 1 0 プロモーターです。

【 0 0 8 8 】

10

20

30

40

50

いくつかの実施形態では、第1のプロモーターと第2のプロモーターは異なるプロモーターを含んでもよい。例えば、第1のプロモーターと第2のプロモーターは、p_o1hプロモーター（p₁₀プロモーター）から構成される群からかもしれません、基礎的なプロモーター、誘導可能なプロモーター、E1、プロモーター、およびE1プロモーター。例えば、いくつかの実施形態では、第1のプロモーターはp_o1hプロモーターです。そして、第2のプロモーターはp₁₀プロモーターです。いくつかの実施形態では、第1のノズルは内側ノズルであり、および第2のノズルは外側ノズルである。

【0089】

いくつかの実施形態では、第1または第2プロモーターはpUC57（pFastBac1）へクローンを作られるかもしれませんか、またはpUC57を修飾したか、pFastBac1を修飾しました。いくつかの実施形態では、第1または第2プロモーターはpUC57へクローンを作られるかもしれません。いくつかの実施形態では、第1または第2プロモーターはpFastBac1へクローンを作られるかもしれません。いくつかの実施形態では、第1または第2プロモーターは修正済のpUC57へクローンを作られるかもしれません。いくつかの実施形態では、第1または第2プロモーターは修正済のpFastBac1へクローンを作られるかもしれません。

【0090】

いくつかの実施形態では、キャップ・タンパク質、レプ・タンパク質、第1のプロモーターと第2のプロモーターは、pUC57（pFastBac1）へクローンを作られるかもしれませんか、またはpUC57を修飾したか、pFastBac1を修飾しました。いくつかの実施形態では、キャップ・タンパク質、レプ・タンパク質、第1のプロモーターと第2のプロモーターは、pUC57へクローンを作られるかもしれません。いくつかの実施形態では、キャップ・タンパク質、レプ・タンパク質、第1のプロモーターと第2のプロモーターは、pFastBac1へクローンを作られるかもしれません。いくつかの実施形態では、キャップ・タンパク質、レプ・タンパク質、第1のプロモーターと第2のプロモーターは、修正済のpUC57へクローンを作られるかもしれません。いくつかの実施形態では、キャップ・タンパク質、レプ・タンパク質、第1のプロモーターと第2のプロモーターは、修正済のpFastBac1へクローンを作られるかもしれません。

【0091】

いくつかの実施形態では、最初のシーケンスと第2のシーケンスはリンクをエンコードするシーケンスによるリンクされます。いくつかの実施形態では、切断可能なリンクは2Aペプチドを含むシーケンスです。いくつかの実施形態では、2Aペプチドは、口蹄疫ウィルス（FMDV）、ウマの鼻炎Aウィルス（ERAV）、Thoseaasingnaウィルス（TaV）またはブタのteschovirus（PTV-ある）などのAphtorvirusまたはカルジオウィルスから誘導した2Aペプチドから選択されるかもしれません。いくつかの実施形態では、リンクをエンコードするシーケンスはさらにプロモーター・シーケンスを含みます。幾つかの実施形態において、プロモータは誘導プロモータである。

【0092】

いくつかの実施形態では、本の開示の組成物への第2のポリヌクレオチドは、CMV、CAG、MNDU3、PGK、EF1aプロモーターまたは眼に特有のプロモーターに操作しやすくリンクされた3番めのポリヌクレオチドを含みます。そこでは3番目のシーケンスはRPGR ORF15ポリペプチドをエンコードします。いくつかの実施形態における、3番めのシーケンスの3'終了、さらにポリアシーケンスを含みます。シーケンスは、この開示の別記されていたいかなるポリアシーケンスも含むかもしれません。

【0093】

本明細書に記載されたRPGRポリペプチドはあらゆる哺乳動物から誘導したRPGRとその変異体かもしれません。いくつかの実施形態では、哺乳動物は含みます、しかし制限されない、霊長類（例えば人間）、脅す、犬、猫またはげっ歯動物（例えばモルモット、ラットまたはマウス）。いくつかの実施形態では、本明細書に記載されたRPGRポリ

10

20

30

40

50

ペプチドはヒト派生した R P G R またはその変異体です。いくつかの実施形態では、本明細書に記載された R P G R ポリペプチドは R P G R O R F 1 5 またはその変異体です。いくつかの実施形態では、本明細書に記載された R P G R O R F 1 5 ポリペプチドはヒト派生した R P G R O R F 1 5 またはその変異体です。

【 0 0 9 4 】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載された R P G R ポリペプチドは、ヒト R P G R に少なくとも 7 5 % 同一のシーケンスを含みます。いくつかの実施形態では、本明細書に記載された R P G R ポリペプチドは、ヒト R P G R に少なくとも 8 0 % 同一のシーケンスを含みます。いくつかの実施形態では、本明細書に記載された R P G R ポリペプチドは、ヒト R P G R に少なくとも 8 5 % 同一のシーケンスを含みます。いくつかの実施形態では、本明細書に記載された R P G R ポリペプチドは、ヒト R P G R に少なくとも 9 0 % 同一のシーケンスを含みます。いくつかの実施形態では、本明細書に記載された R P G R ポリペプチドは、ヒト R P G R に少なくとも 9 5 % 同一のシーケンスを含みます。いくつかの実施形態では、本明細書に記載された R P G R ポリペプチドは、ヒト R P G R に少なくとも 9 6 % 同一のシーケンスを含みます。いくつかの実施形態では、本明細書に記載された R P G R ポリペプチドは、ヒト R P G R に少なくとも 9 7 % 同一のシーケンスを含みます。いくつかの実施形態では、本明細書に記載された R P G R ポリペプチドは、ヒト R P G R に比較して、1 つ以上のアミノ酸変異、置換、欠失または付加があるシーケンスを含みます。

10

20

30

40

50

【 0 0 9 5 】

いくつかの実施形態における、本明細書に記載された R P G R ポリペプチド、ヒト R P G R O R F 1 5 に少なくとも 7 5 % 同一のシーケンスを含みます。いくつかの実施形態における、本明細書に記載された R P G R ポリペプチド、ヒト R P G R O R F 1 5 に少なくとも 8 0 % 同一のシーケンスを含みます。いくつかの実施形態における、本明細書に記載された R P G R ポリペプチド、ヒト R P G R O R F 1 5 に少なくとも 8 5 % 同一のシーケンスを含みます。いくつかの実施形態における、本明細書に記載された R P G R ポリペプチド、ヒト R P G R O R F 1 5 に少なくとも 9 0 % 同一のシーケンスを含みます。いくつかの実施形態における、本明細書に記載された R P G R ポリペプチド、ヒト R P G R O R F 1 5 に少なくとも 9 5 % 同一のシーケンスを含みます。いくつかの実施形態における、本明細書に記載された R P G R ポリペプチド、ヒト R P G R O R F 1 5 に少なくとも 9 6 % 同一のシーケンスを含みます。いくつかの実施形態における、本明細書に記載された R P G R ポリペプチド、ヒト R P G R O R F 1 5 に少なくとも 9 7 % 同一のシーケンスを含みます。いくつかの実施形態では、本明細書に記載された R P G R ポリペプチドは、ヒト R P G R O R F 1 5 のシーケンスを含みます。いくつかの実施形態では、本明細書に記載された R P G R O R F 1 5 ポリペプチドは、ヒト R P G R O R F 1 5 に比較して、1 つ以上のアミノ酸変異、置換、欠失または付加があるシーケンスを含みます。

【 0 0 9 6 】

いくつかの実施形態では、R P G R O R F 1 5 ポリペプチドは、配列番号のシーケンスを含みます：1. いくつかの実施形態では、R P G R O R F 1 5 ポリペプチドは、配列番号に少なくとも 7 5 % 同一のシーケンスを含みます：1. いくつかの実施形態では、R P G R O R F 1 5 ポリペプチドは、配列番号に少なくとも 8 0 % 同一のシーケンスを含みます：1. いくつかの実施形態では、R P G R O R F 1 5 ポリペプチドは、配列番

号に少なくとも 85% 同一のシーケンスを含みます： 1. いくつかの実施形態では、 R P G R O R F 1 5 ポリペプチドは、配列番号に少なくとも 90% 同一のシーケンスを含みます： 1. いくつかの実施形態では、 R P G R O R F 1 5 ポリペプチドは、配列番号に少なくとも 95% 同一のシーケンスを含みます： 1. いくつかの実施形態では、 R P G R O R F 1 5 ポリペプチドは、配列番号に少なくとも 96% 同一のシーケンスを含みます： 1. いくつかの実施形態では、 R P G R O R F 1 5 ポリペプチドは、配列番号に少なくとも 97% 同一のシーケンスを含みます： 1. いくつかの実施形態では、 R P G R O R F 1 5 ポリペプチドは、配列番号に比較された 1 つ以上のアミノ酸変異、置換、欠失または付加を有するシーケンスを含みます： 1.

【 0 0 9 7 】

いくつかの実施形態では、 3 番目のシーケンスは、ヒト R P G R O R F 1 5 ポリペプチドをエンコードするシーケンスを含みます。いくつかの実施形態では、 3 番目のシーケンスは、配列番号を有する少なくとも 75% の同一性があるシーケンスを含みます： 2. いくつかの実施形態では、 3 番目のシーケンスは、配列番号を有する少なくとも 80% の同一性があるシーケンスを含みます： 2. いくつかの実施形態では、 3 番目のシーケンスは、配列番号を有する少なくとも 85% の同一性があるシーケンスを含みます： 2. いくつかの実施形態では、 3 番目のシーケンスは、配列番号を有する少なくとも 90% の同一性があるシーケンスを含みます： 2. いくつかの実施形態では、 3 番目のシーケンスは、配列番号を有する少なくとも 95% の同一性があるシーケンスを含みます： 2. いくつかの実施形態では、 3 番目のシーケンスは、配列番号を有する少なくとも 96% の同一性があるシーケンスを含みます： 2. いくつかの実施形態では、 3 番目のシーケンスは、配列番号を有する少なくとも 97% の同一性があるシーケンスを含みます： 2. いくつかの実施形態では、 3 番目のシーケンスは、配列番号を有する少なくとも 98% の同一性があるシーケンスを含みます： 2. いくつかの実施形態では、 3 番目のシーケンスは、配列番号を有する少なくとも 99% の同一性があるシーケンスを含みます： 2. いくつかの実施形態では、 3 番目のシーケンスは、 1 つ以上のヌクレオチド変異、置換、欠失または付加を配列番号に比較するシーケンスを含みます： 2.

【 0 0 9 8 】

いくつかの実施形態では、 3 番目のシーケンスは、ヒト R P G R O R F 1 5 ポリペプチドをエンコードするシーケンスを含み、最適化されたコドンです。いくつかの実施形態では、 3 番目のシーケンスは、配列番号のうちのいずれか 1 つを有する少なくとも 75% の同一性があるシーケンスを含みます： 3 - 6. いくつかの実施形態では、 3 番目のシーケンスは、配列番号のうちのいずれか 1 つを有する少なくとも 80% の同一性があるシーケンスを含みます： 3 - 6. いくつかの実施形態では、 3 番目のシーケンスは、配列番号のうちのいずれか 1 つを有する少なくとも 85% の同一性があるシーケンスを含みます： 3 - 6. いくつかの実施形態では、 3 番目のシーケンスは、配列番号のうちのいずれか 1 つを有する少なくとも 90% の同一性があるシーケンスを含みます： 3 - 6. いくつかの実施形態では、 3 番目のシーケンスは、配列番号のうちのいずれか 1 つを有する少なくとも 95% の同一性があるシーケンスを含みます： 3 - 6. いくつかの実施形態では、 3 番目のシーケンスは、配列番号のうちのいずれか 1 つを有する少なくとも 96% の同一性があるシーケンスを含みます： 3 - 6. いくつかの実施形態では、 3 番目のシーケンスは、配列番号のうちのいずれか 1 つを有する少なくとも 97% の同一性があるシーケンスを含みます： 3 - 6. いくつかの実施形態では、 3 番目のシーケンスは、配列番号のうちのいずれか 1 つを有する少なくとも 98% の同一性があるシーケンスを含みます： 3 - 6. いくつかの実施形態では、 3 番目のシーケンスは、配列番号のうちのいずれか 1 つを有する少なくとも 99% の同一性があるシーケンスを含みます： 3 - 6. いくつかの実施形態で

10

20

30

40

50

みます：2月12日いくつかの実施形態では、3番目のシーケンスは、1つ以上のヌクレオチド変異、置換、欠失または付加を配列番号の表2およびあらゆるシーケンスのいかなる構成物設計も含むシーケンスに比較するシーケンスを含みます：2月12日

【 0 1 0 4 】

いくつかの実施形態では、3番目のシーケンスは、CMV、CAG、MNDU3、PGK、EF1aプロモーターまたは眼に特有のプロモーターに操作しやすくリンクされます。いくつかの実施形態では、眼に特有のプロモーターは網膜色素です、上皮組織の(RPE)細胞特異的なプロモーター。RPEの細胞特異的なプロモーターは含めます、しかし制限されない、RPE65遺伝子プロモーター、ヒト網膜の結合蛋白質(CRALBP)プロモーター、ネズミ科の11-cisレチノールデヒドロゲナーゼ(RDH)プロモーター、ロドプシン・プロモーター、ロドプシン・キナーゼ(GRK1)プロモーター、コラーゲン分解酵素阻害3(Timp3)プロモーター、光受容体レチノール結合蛋白質プロモーターと卵黄様黄斑ジストロフィ2プロモーター、または光受容体間類網膜の結合蛋白質(IRBP)プロモーター。

【 0 1 0 5 】

いくつかの実施形態では、3番目のシーケンスは、ロドプシン・キナーゼ（G R K 1）プロモーターに操作しやすくリンクされます。いくつかの実施形態では、ロドプシン・キナーゼ（G R K 1）プロモーターは、配列番号のうちのいずれか1つを有する少なくとも75%の同一性があるシーケンスを含みます：7月8日いくつかの実施形態では、ロドプシン・キナーゼ（G R K 1）プロモーターは、配列番号のうちのいずれか1つを有する少なくとも80%の同一性があるシーケンスを含みます：7月8日いくつかの実施形態では、ロドプシン・キナーゼ（G R K 1）プロモーターは、配列番号のうちのいずれか1つを有する少なくとも85%の同一性があるシーケンスを含みます：7月8日いくつかの実施形態では、ロドプシン・キナーゼ（G R K 1）プロモーターは、配列番号のうちのいずれか1つを有する少なくとも90%の同一性があるシーケンスを含みます：7月8日いくつかの実施形態では、ロドプシン・キナーゼ（G R K 1）プロモーターは、配列番号のうちのいずれか1つを有する少なくとも95%の同一性があるシーケンスを含みます：7月8日いくつかの実施形態では、ロドプシン・キナーゼ（G R K 1）プロモーターは、配列番号のうちのいずれか1つを有する少なくとも96%の同一性があるシーケンスを含みます：7月8日いくつかの実施形態では、ロドプシン・キナーゼ（G R K 1）プロモーターは、配列番号のうちのいずれか1つを有する少なくとも97%の同一性があるシーケンスを含みます：7月8日いくつかの実施形態では、ロドプシン・キナーゼ（G R K 1）プロモーターは、配列番号のうちのいずれか1つを有する少なくとも99%の同一性があるシーケンスを含みます：7月8日いくつかの実施形態では、ロドプシン・キナーゼ（G R K 1）プロモーターは、配列番号のシーケンスを含みます：7月8日いくつかの実施形態では、ロドプシン・キナーゼ（G R K 1）プロモーターは、1つ以上のヌクレオチド変異、置換、欠失または付加を配列番号に比較するシーケンスを含みます：7月8日

【 0 1 0 6 】

いくつかの実施形態では、ロドプシン・キナーゼ (G R K 1) プロモーターは、配列番号を有する少なくとも 7 5 % の同一性があるシーケンスを含みます： 7 . いくつかの実施形態では、ロドプシン・キナーゼ (G R K 1) プロモーターは、配列番号を有する少なくとも 8 0 % の同一性があるシーケンスを含みます： 7 . いくつかの実施形態では、ロドプシン・キナーゼ (G R K 1) プロモーターは、配列番号を有する少なくとも 8 5 % の同一性があるシーケンスを含みます： 7 . いくつかの実施形態では、ロドプシン・キナーゼ (G R K 1) プロモーターは、配列番号を有する少なくとも 9 0 % の同一性があるシーケンスを含みます： 7 . いくつかの実施形態では、ロドプシン・キナーゼ (G R K 1) プロモーターは、配列番号を有する少なくとも 9 5 % の同一性があるシーケンスを含みます： 7 . いくつかの実施形態では、ロドプシン・キナーゼ (G R K 1) プロモーターは、配列番

号を有する少なくとも 9 6 % の同一性があるシーケンスを含みます： 7 . いくつかの実施形態では、ロドプシン・キナーゼ (G R K 1) プロモーターは、配列番号を有する少なくとも 9 7 % の同一性があるシーケンスを含みます： 7 . いくつかの実施形態では、ロドプシン・キナーゼ (G R K 1) プロモーターは、配列番号を有する少なくとも 9 8 % の同一性があるシーケンスを含みます： 7 . いくつかの実施形態では、ロドプシン・キナーゼ (G R K 1) プロモーターは、配列番号を有する少なくとも 9 9 % の同一性があるシーケンスを含みます： 7 . いくつかの実施形態では、ロドプシン・キナーゼ (G R K 1) プロモーターは、配列番号のシーケンスを含みます： 7 . いくつかの実施形態では、ロドプシン・キナーゼ (G R K 1) プロモーターは、1つ以上のヌクレオチド変異、置換、欠失または付加を配列番号に比較するシーケンスを含みます： 7 .

10

【 0 1 0 7 】

いくつかの実施形態では、ロドプシン・キナーゼ (G R K 1) プロモーターは、配列番号を有する少なくとも 7 5 % の同一性があるシーケンスを含みます： 8 . いくつかの実施形態では、ロドプシン・キナーゼ (G R K 1) プロモーターは、配列番号を有する少なくとも 8 0 % の同一性があるシーケンスを含みます： 8 . いくつかの実施形態では、ロドプシン・キナーゼ (G R K 1) プロモーターは、配列番号を有する少なくとも 8 5 % の同一性があるシーケンスを含みます： 8 . いくつかの実施形態では、ロドプシン・キナーゼ (G R K 1) プロモーターは、配列番号を有する少なくとも 9 0 % の同一性があるシーケンスを含みます： 8 . いくつかの実施形態では、ロドプシン・キナーゼ (G R K 1) プロモーターは、配列番号を有する少なくとも 9 5 % の同一性があるシーケンスを含みます： 8 . いくつかの実施形態では、ロドプシン・キナーゼ (G R K 1) プロモーターは、配列番号を有する少なくとも 9 6 % の同一性があるシーケンスを含みます： 8 . いくつかの実施形態では、ロドプシン・キナーゼ (G R K 1) プロモーターは、配列番号を有する少なくとも 9 7 % の同一性があるシーケンスを含みます： 8 . いくつかの実施形態では、ロドプシン・キナーゼ (G R K 1) プロモーターは、配列番号を有する少なくとも 9 8 % の同一性があるシーケンスを含みます： 8 . いくつかの実施形態では、ロドプシン・キナーゼ (G R K 1) プロモーターは、配列番号を有する少なくとも 9 9 % の同一性があるシーケンスを含みます： 8 . いくつかの実施形態では、ロドプシン・キナーゼ (G R K 1) プロモーターは、配列番号のシーケンスを含みます： 8 . いくつかの実施形態では、ロドプシン・キナーゼ (G R K 1) プロモーターは、1つ以上のヌクレオチド変異、置換、欠失または付加を配列番号に比較するシーケンスを含みます： 8 .

20

【 0 1 0 8 】

いくつかの実施形態では、第 2 のポリヌクレオチドは、さらに逆方向末端反復 (I T R) 、エンハンサー、結合する信号、ポリアデニル化信号、詰め物をする人シーケンス、終端装置、タンパク質低下信号、内部リボソーム・エントリー要素 (I R E S) または 2 A シーケンスを含み、これらに限定されずに、他の調節配列を含みます。

【 0 1 0 9 】

いくつかの実施形態では、第 2 のポリヌクレオチドはさらにエンハンサー領域を含みます。いくつかの実施形態では、エンハンサー領域はシミアンウイルス 4 0 エンハンサー、即時の初期のサイトメガロウィルス・エンハンサー、I R B P エンハンサーと、免疫グロブリン遺伝子から誘導したエンハンサーを含みます。いくつかの実施形態では、エンハンサー領域は C M V 、 C A G 、 M N D U 3 、 P G K 、 E F 1 a プロモーターの上流に位置します。いくつかの実施形態では、エンハンサーは眼に特有のプロモーターの上流に位置します。いくつかの実施形態では、エンハンサー領域は、 C M V 、 C A G 、 M N D U 3 、 P G K 、 E F 1 a プロモーターに下流に位置します。いくつかの実施形態では、エンハンサーは、眼に特有のプロモーターに下流に位置します。

40

【 0 1 1 0 】

いくつかの実施形態では、第 2 のポリヌクレオチドはさらに逆方向末端反復 (I T R) を含みます。いくつかの実施形態では、第 2 のポリヌクレオチドは少なくとも 1 つの逆方向末端反復 (I T R) を含みます。いくつかの実施形態では、第 2 のポリヌクレオチドは

50

2つの逆方向末端反復（I T R）を含みます。いくつかの実施形態では、第1および第2の経路は同じである。いくつかの実施形態では、第1および第2の経路は異なる。いくつかの実施形態では、逆方向末端反復（I T R）は A A V から誘導した I T R です。いくつかの実施形態では、I T R は A A V 1 から誘導しているかもしれません、A A V 2、A A V 2 変異体（例えば A A V 2 . 7 m 8、A A V 2（コッド Y - F）または A A V 2 t Y F）、A A V 3（A A V 3 A および 3 B を含む）、A A V 4、A A V 5、A A V 6、A A V 7、A A V 8、A A V 9、A A V 1 0、A A V 1 1、A A V 1 2、A A V 1 3、A A V - R h 1 0、A A V（R h 7 4（-）、A A V - 2 i 8 と A A V の他の既知の I T R）。いくつかの実施形態では、A A V 1、A A V 2、A A V 2 変異体（例えば A A V 2 . 7 m 8、A A V 2（コッド Y - F）または A A V 2 t Y F）、A A V 3（A A V 3 A および 3 B を含む）、A A V 4、A A V 5、A A V 6、A A V 7、A A V 8、A A V 9、A A V 1 0、A A V 1 1、A A V 1 2、A A V 1 3、A A V - R h 1 0、A A V - R h 7 4 から誘導したものに比較して、I T R には 1 つ以上の塩基変異、挿入または欠失があるかもしれません、A A V - 2 i 8 と、A A V（そこでは I T R は標的遺伝子複製、ウィルス・パッケージング、ウィルス・ゲノム統合またはそのあらゆる組み合わせなどの希望のターミナル・リピート機能を保持する）の他の既知の野生型の I T R。ある場合には、I T R シーケンスが A A V 2 シーケンスです。ある場合には、I T R シーケンスが、A A V 2 変異体（例えば A A V 2 . 7 m 8、A A V 2（コッド Y - F）または A A V 2 t Y F）シーケンスです。ある場合には、最初のポリペプチドが A A V 5 シーケンスを含みます。

10

20

【0 1 1 1】

幾つかの実施形態において、第2モノマー単位は更に、1以上のポリエチレングリコール・セクションを含む。いくつかの実施形態では、詰め物をする人シーケンスは C M V、C A G、M N D U 3、P G K、E F 1 a プロモーター・シーケンスの上流に位置します。いくつかの実施形態では、詰め物をする人シーケンスは、C M V、C A G、M N D U 3、P G K、E F 1 a プロモーター・シーケンスに下流に位置します。いくつかの実施形態では、詰め物をする人シーケンスは眼に特有のプロモーターの上流に位置します。いくつかの実施形態では、詰め物をする人シーケンスは、眼に特有のプロモーターに下流に位置します。いくつかの実施形態では、詰め物をする人シーケンスは、5' I T R シーケンスの 5' 終わりに位置します。いくつかの実施形態では、詰め物をする人シーケンスは、5' I T R シーケンスの 3' 終わりに位置します。いくつかの実施形態では、詰め物をする人シーケンスは、3' I T R シーケンスの 5' 終わりに位置します。いくつかの実施形態では、詰め物をする人シーケンスは、3' I T R シーケンスの 5' 終わりに位置します。いくつかの実施形態では、詰め物をする人シーケンスは 3' I T R シーケンスの 3' e n d に位置します。

30

40

【0 1 1 2】

いくつかの実施形態では、詰めるシーケンスの長さは - 5 k b 約 0 . 1 k b かもしれません、のような、しかし、0 . 1 k b に限定的でなかった、0 . 2 k b、0 . 3 k b、0 . 4 k b、0 . 5 k b、0 . 6 k b、0 . 7 k b、0 . 8 k b、0 . 9 k b、ある k b、1 . 1 k b、1 . 2 k b、1 . 3 k b、1 . 4 k b、1 . 5 k b、1 . 6 k b、1 . 7 k b、1 . 8 k b、1 . 9 k b、2 k b、2 . 1 k b、2 . 2 k b、2 . 3 k b、2 . 4 k b、2 . 5 k b、2 . 6 k b、2 . 7 k b、2 . 8 k b、2 . 9 k b、3 k b、3 . 1 k b、3 . 2 k b、3 . 3 k b、3 . 4 k b、3 . 5 k b、3 . 6 k b、3 . 7 k b、3 . 8 k b、3 . 9 k b、4 . 0 k b、4 . 1 k b、4 . 2 k b、4 . 3 k b、4 . 4 k b、4 . 5 k b、4 . 6 k b、4 . 7 k b、k b (4 . 8)、または、または。（4 . 9）(5 . 0 k b)

【0 1 1 3】

いくつかの実施形態では、第2のポリヌクレオチドは、別の治療のタンパク質をエンコードする4番めのシーケンスをさらに含みます。いくつかの実施形態では、治療のタンパク質は、脳 8（R A B 8）における、R P G R の対話するタンパク質ある（R P G R I P 1）、R P G R の対話するタンパク質のある - 類似のタンパク質（R P G R I P 1 L）、

50

構造維持タンパク質ある（S M C 1）、構造維持タンパク質3（S M C 3）、Whirlin、ホスホジエステラーゼ（P D E）とラー関連のタンパク質から構成される群から選択されます。

【0114】

いくつかの実施形態では、4番目のシーケンスと3番目のシーケンスはリンカーをエンコードするシーケンスによる接続されます。幾つかの実施形態において、リンカーはペプチドリンカーである。いくつかの実施形態では、切断可能なリンカーは、2 Aペプチドのシーケンスを含みます。いくつかの実施形態では、2 Aペプチドは、口蹄疫ウィルス（FMDV）、ウマの鼻炎Aウィルス（ERAV）、Thosea asignaウィルス（TaV）またはブタのteschovirus（PTV-ある）などのAphthorvirusまたはカルジオウィルスから誘導した2 Aペプチドから選択されるかもしれません。いくつかの実施形態では、リンカーをエンコードするシーケンスはさらにプロモーター・シーケンスを含みます。幾つかの実施形態において、プロモータは誘導プロモータである。

【0115】

いくつかの実施形態では、組成物は開口部を含む。いくつかの実施形態では、イントロンは、配列番号を有する少なくとも75%の同一性があるシーケンスを含みます：13。いくつかの実施形態では、イントロンは、配列番号を有する少なくとも80%の同一性があるシーケンスを含みます：13。いくつかの実施形態では、イントロンは、配列番号を有する少なくとも85%の同一性があるシーケンスを含みます：13。いくつかの実施形態では、イントロンは、配列番号を有する少なくとも90%の同一性があるシーケンスを含みます：13。いくつかの実施形態では、イントロンは、配列番号を有する少なくとも95%の同一性があるシーケンスを含みます：13。いくつかの実施形態では、イントロンは、配列番号を有する少なくとも96%の同一性があるシーケンスを含みます：13。いくつかの実施形態では、イントロンは、配列番号を有する少なくとも97%の同一性があるシーケンスを含みます：13。いくつかの実施形態では、イントロンは、配列番号を有する少なくとも98%の同一性があるシーケンスを含みます：13。いくつかの実施形態では、イントロンは、配列番号を有する少なくとも99%の同一性があるシーケンスを含みます：13。いくつかの実施形態では、イントロンは、SEQ ID NO：68の配列を有する。13。いくつかの実施形態では、イントロンは、1つ以上のヌクレオチド変異、置換、欠失または付加を配列番号に比較するシーケンスを含みます：13。

【0116】

組換えAAVウイルス粒子

別の態様では、本の開示は、哺乳動物細胞へ本の開示の組成物を導入することにより調製された組み換えのアデノ随伴ウイルス（rAAV）粒子を提供します。いくつかの実施形態では、哺乳動物細胞はHEK293細胞または293T細胞などのその誘導体です。

【0117】

いくつかの実施形態では、方法は含みます、しかし制限されない、エレクトロポレーション、リン酸カルシウム沈澱反応、リポソームを媒介としたトランスフェクション。いくつかの実施形態では、組成物は助手プラスミドを有する293T細胞へトランスフェクトされます。いくつかの実施形態では、293T細胞はrAAVウイルス粒子を生むために用いられます。

【0118】

別の態様では、本の開示は、昆虫細胞へ本の開示の組成物を導入することにより調製された組み換えのアデノ随伴ウイルス（rAAV）粒子、と昆虫細胞へ本の開示の組成物を導入することにより、組み換えのアデノ随伴ウイルス（rAAV）粒子を調製する方法を提供します。いくつかの実施形態では、細胞は癌細胞である。

【0119】

いくつかの実施形態では、本の開示の組成物は当技術における既知のあらゆる方法による昆虫細胞へ送達されるかもしれません。いくつかの実施形態では、方法は含みます、し

10

20

30

40

50

かし制限されない、エレクトロポレーション、リン酸カルシウム沈澱反応、リポソームを媒介としたトランスフェクション、および／または感染症。いくつかの実施形態では、組成物は昆虫細胞へ感染します。いくつかの実施形態では、組成物は、昆虫細胞へ安定してトランスフェクトされます。

【0120】

いくつかの実施形態では、組み換えのAAVウイルス粒子を調製する方法はb a c m i d DNAおよび／またはバキュロウイルスを生成することを含むかもしれません。いくつかの実施形態では、組み換えのAAVウイルス粒子を調製する方法はR P G R発現シーケンスb a c m i d DNAを生成することを含むかもしれません。いくつかの実施形態では、組み換えのAAVウイルス粒子を調製する方法はr A A Vキャップ発現シーケンスb a c m i d DNAを生成することを含むかもしれません。いくつかの実施形態では、組み換えのAAVウイルス粒子を調製する方法は、バキュロウイルスを生成するためにb a c m i d DNAを有する宿主細胞をトランスフェクトすることを含むかもしれません。いくつかの実施形態では、組み換えのAAVウイルス粒子を調製する方法は、バキュロウイルスを生成するためにR P G R発現シーケンスb a c m i d DNAを有する宿主細胞をトランスフェクトすることを含むかもしれません。いくつかの実施形態では、組み換えのAAVウイルス粒子を調製する方法は、バキュロウイルスを生成するためにr A A Vキャップ発現シーケンスb a c m i d DNAを有する宿主細胞をトランスフェクトすることを含むかもしれません。いくつかの実施形態では、組み換えのAAVウイルス粒子を調製する方法は促進するかもしれません、パッケージにされたr A A V / R P G R -を得るために宿主細胞(S f 9細胞のような)を感染させるために2つのバキュロウイルスを混合することを含む、本の開示のウイルス粒子を最適化しました。

【0121】

いくつかの実施形態における、準備をする組み換えのAAVウイルス粒子の方法は(1)生成するR P G R発現シーケンスb a c m i d DNAを含むかもしれない、(2)生成するr A A Vキャップ発現シーケンスb a c m i d DNA、(3)、バキュロウイルスを生成するb a c m i d DNAを有する宿主細胞をトランスフェクトすること、(4)、バキュロウイルスを生成するR P G R発現シーケンスb a c m i d DNAを有する宿主細胞をトランスフェクトすること、(5)、バキュロウイルスを生成するr A A Vキャップ発現シーケンスb a c m i d DNAを有する宿主細胞をトランスフェクトすること、そして(6)、宿主細胞(S f 9細胞のような)を感染させる2つバキュロウイルスの混合、にパッケージにされたr A A V / R P G R -を得てください。本の開示のウイルス粒子を最適化しました。

【0122】

いくつかの実施形態では、組み換えのAAVウイルス粒子を調製する方法はb a c m i d DNAおよび／またはバキュロウイルスを生成することを含むかもしれません。いくつかの実施形態では、組み換えのAAVウイルス粒子を調製する方法はR P G R ORF 15発現シーケンスb a c m i d DNAを生成することを含むかもしれません。いくつかの実施形態では、組み換えのAAVウイルス粒子を調製する方法はr A A Vキャップ発現シーケンスb a c m i d DNAを生成することを含むかもしれません。いくつかの実施形態では、組み換えのAAVウイルス粒子を調製する方法は、バキュロウイルスを生成するためにb a c m i d DNAを有する宿主細胞をトランスフェクトすることを含むかもしれません。いくつかの実施形態では、組み換えのAAVウイルス粒子を調製する方法は、バキュロウイルスを生成するためにR P G R ORF 15発現シーケンスb a c m i d DNAを有する宿主細胞をトランスフェクトすることを含むかもしれません。いくつかの実施形態では、組み換えのAAVウイルス粒子を調製する方法は、バキュロウイルスを生成するためにr A A Vキャップ発現シーケンスb a c m i d DNAを有する宿主細胞をトランスフェクトすることを含むかもしれません。いくつかの実施形態では、組み換えのAAVウイルス粒子を調製する方法は促進するかもしれません、パッケージにされたr A A V / R P G R ORF 15 -を得るために宿主細胞(S f 9細胞のような)を感

10

20

30

40

50

染させるために2つのバキュロウィルスを混合することを含む、本の開示のウイルス粒子を最適化しました。

【0123】

いくつかの実施形態における、準備をする組み換えのAAVウイルス粒子の方法は(1)生成するR P G R O R F 1 5 発現シーケンス b a c m i d D N Aを含むかもしれない、(2)生成するr A A V キャップ発現シーケンス b a c m i d D N A、(3)、バキュロウイルスを生成するb a c m i d D N Aを有する宿主細胞をトランスフェクトすること、(4)、バキュロウイルスを生成するR P G R O R F 1 5 発現シーケンス b a c m i d D N Aを有する宿主細胞をトランスフェクトすること、(5)、バキュロウイルスを生成するr A A V キャップ発現シーケンス b a c m i d D N Aを有する宿主細胞をトランスフェクトすること、そして(6)、宿主細胞(S f 9 c e l l)のような)を感染させる2つのバキュロウイルスの混合。パッケージにされたr A A V / R P G R O R F 1 5 -を得ることは、本の開示のウイルス粒子を最適化しました。

10

20

30

40

50

【0124】

必要ならば、ある場合には、r A A Vウイルス粒子は、当業者に知られていた従来方式による昆虫細胞から分離し精製することができます。例えば、r A A Vは、それについて遠心分離、H P L C、疎水性相互作用クロマトグラフィー(H I C)、陰イオン交換クロマトグラフィー、陽イオン交換クロマトグラフィー、サイズ排除クロマトグラフィー、限外濾過、ゲル電気泳動、アフィニティクロマトグラフィー、他の浄化技術またはあらゆる組み合わせを用いて精製することができます。

【0125】

システム

別の態様では、本の開示はその必要性のある対象のX L R Pを処置するためにシステムを提供します。それは、本の開示、薬学的に許容可能な担体または賦形剤のr A A V粒子を含みます。

【0126】

本明細書で使用されるように、「薬学的にまたは治療的に許容可能な担体」とは、活性成分の生物学的活性の有効性に干渉せず、宿主または患者に毒性ではない担体媒体を指す。医薬製剤における用いられる担体の型は、治療の化合物の投与の方法に左右されるでしょう。様々な投与経路のために医薬組成物を調製する多くの方法が当該技術分野で周知である。「薬学的に許容可能な眼の担体」は、眼の上で、またはその眼の近くで、直接にまたは間接的に眼に本の開示のr A A Vウイルス粒子を送達するために用いることができる、薬学的に許容可能な担体または賦形剤を表します。

【0127】

本の開示のいくつかの実施形態では、システムは、適切な溶媒への本の開示のr A A Vウイルス粒子を溶かすことにより調製されています。適切な溶媒としては、限定されないが、水、食塩水(例えば、N a C l)、緩衝液、軟膏剤、ゲル、または他の溶媒が挙げられる。特定の実施形態において、溶媒はT H Fである。

【0128】

目薬の調製における用いられる懸濁の水溶液と希釈剤は、蒸留水または生理的塩類を含むかもしれません。様々な添加物は、目薬、眼のゲル剤および/または眼軟膏剤の含まれているかもしれません。これらの添加物は過度の毒性、不適合性、不安定性、刺激またはアレルギーを伴わない眼で、またはその眼のまわりの接触のために適している追加の成分、添加物または担体を含むかもしれません。溶媒、塩基、共同溶媒、懸濁化剤、シックナー、乳化剤、スタビライザー、緩衝剤、等張性制御因子、p H制御因子、キレート剤、無痛化剤、保存剤、香料、香料、着色料、賦形剤、結合剤、潤滑剤、界面活性剤、吸収プロモーター、分散剤または可溶化剤などの添加物。

【0129】

例えば、目薬は溶かされた界面活性剤と、保存剤、スタビライザー、緩衝剤、抗酸化剤と粘性変更遺伝子などの任意に加える適切な医薬品添加物を有する滅菌水へのr A A Vウ

イルス粒子を溶かすことにより処方することができます。

【0130】

例えば、緩衝剤は緩衝剤の一定のpHを維持するために付け加えられます。そして、緩衝剤は、ホウ酸塩緩衝剤、シトラート緩衝剤、酒石酸塩緩衝剤、リン酸塩緩衝液、緩衝酢酸溶液またはトリス=HCl緩衝剤（トリス（ヒドロキシメチル）アミノメタンおよびHClを含んで）などの薬学的に許容可能な緩衝剤を含むかもしれません。

【0131】

緩衝剤に加えて、涙液に等張の等張の作用薬は眼に付加かもしません。等張化剤としては、限定されないが、デキストロース、グルコース、スクロース、およびフルクトースなどの糖；マンニトールとソルビトールなどの糖アルコール；グリセロール、ポリエチレングリコール、およびプロピレングリコールなどの多価アルコール；ならびに、塩化ナトリウム、クエン酸ナトリウム、塩化ベンザルコニウム、塩化エフェドリン（p h e d r i n e）、塩化カリウム、塩化プロカイン、クロラムフェニコール、およびコハク酸ナトリウムなどの塩が挙げられる。等張の作用薬は、目薬の浸透圧が涙液の浸透圧に等しい量における付加です。

【0132】

保存剤は点眼薬および/または眼軟膏剤の完全性を維持するために加えられ得る。保存剤の例としては、限定されないが、ソルビン酸、塩化ベンザルコニウム、臭化ベンゾドデシニウム、パラベン、クロロブタノール、ベンジル型アルコール、フェニルエチルアルコール、貧歯類のニナトリウム、ソルビン酸、ポリクオタニウム-1、または当業者に知られている他の薬剤が挙げられる。

【0133】

いくつかの実施形態では、増粘剤は、目薬、点眼用ゲル剤、および/または眼軟膏剤などの点眼用調製物の粘性を増加させるために使用される。使用可能な増粘剤としては、限定されないが、グリセロール、ポリエチレングリコール、カルボキシメチルセルロース、およびカルボキシビニルポリマーが挙げられ得る。

【0134】

上記のものに加えて、いくつかの実施形態では、限定されないが以下を含む追加薬剤を使用することが望ましい：亜硫酸ナトリウム、安定化剤、炭酸ナトリウム、およびプロピレングリコールなどの安定化剤；アスコルビン酸、アスコルビン酸ナトリウム、ブチルヒドロキシトルエン（BHT）、ブチルヒドロキシアニソール（BHA）、トコフェロール、チオ硫酸ナトリウムなどの抗酸化剤；および/または、エチレンジアミン四酢酸（EDTA）、エチレングリコール-ビス-（2-アミノエチル）-N，N，N，N-四酢酸、およびクエン酸ナトリウムなどのキレート剤。

【0135】

目薬、眼のゲル剤、眼軟膏剤またはそのあらゆる組み合わせは、無菌の動作による調製されているか、またはあるいは、調製の適切な病期で殺菌されるかもしれません。例えば、滅菌医薬組成物は、滅菌材料を無菌で混合することにより調製され得る。代替的に、滅菌医薬組成物は、最初に材料を混合し、次いで最終的な調製物を滅菌することにより調製され得る。滅菌方法は、限定されないが、加熱滅菌、照射、及び濾過を含む。

【0136】

眼軟膏剤（眼軟膏剤）は、眼軟膏剤を調製し、次に、当技術における既知のあらゆる方法による医薬品製剤へそれを処方することのための塩基へ有効成分を混合することにより無菌的に調製することができます。眼軟膏剤のために用いられた典型的な塩基の例はワセリン、j e l e n e 5 0、プラスチベースとポリエチレングリコールです。加えて、界面活性物質を加えて吸水性を増加させてもよい。

【0137】

活動的な作用薬の制御放出の様々な有効な方法は用いることができます。例えば、眼の剤形及び薬物送達システムに使用される、W a g h V . D . , I n a m d a r B . , S a m a n t a M . K . , P o l y m e r s を参照。A s i a n J P h

10

20

30

40

50

arm 2, 2008, 12-17、及びその中で引用される参考文献については、その内容が参照により本明細書に組み込まれている。ポリマー（例えば、ヒドロキシプロピルメチルセルロース（H P M C）及びヒドロキシプロピルセルロース（H P C）などのセルロース誘導体、ポリ（アクリル酸）（P A A）、ポリアクリル酸塩、シクロデキストリン、及び天然のゴム、ポリオルソエステル（P O E）、及び粘膜付着性ポリマー）；ゲル剤、膜と他の挿入物などの半固体；イオン交換樹脂などの樹脂；イオントフォレーシス送達；およびミクロスフェアおよびナノ粒子などのコロイド粒子。

【0138】

本の開示の r A A V ウイルス粒子も他の治療剤と結合して提供することができます。いくつかの実施形態では、本の開示の薬物または組成物は、抗感染症薬、抗生物質、抗ウイルス物質、抗真菌物質、抗原生動物薬、抗炎症薬、アレルギー治療薬（抗ヒスタミン薬を含む）、人工涙血管収縮剤、血管拡張剤、局所麻酔薬、鎮痛剤、作用薬、免疫調節薬、抗酸化剤、ビタミンと無機質、酵素抑制因子または代替プロテアーゼとペプチダーゼを低下させる眼内圧またはサイトカイン阻害剤を含み、これらに限定されずに、他の活動的な作用薬に共同処方されるかもしれません。

【0139】

様々な実施形態では、本の開示の薬物または組成物も目の療法と結合して提供されるかもしれません。そこでは目の療法は A c u l a r (k e t o r o l a c トロメタミン点眼剤) 0.5%、A c u v a i l (k e t o r o l a c トロメタミン)、A K コンカナバリン A（ナファゾリン目薬）、A k t e n（塩酸リドカイン）、A l a m a s t、A l p h a g a n（b r i m o n i d i n e）、A l r e x、A s t e p r o（塩酸アゼラスチン鼻内噴霧）、A z a S i t e（アジスロマイシン）を含むことができます B e p r e v e (b e p o t a s t i n e b e s i l a t e 点眼剤)、B e s i v a n c e (b e s i f l o x a c i n 眼使用懸濁)、B e t a x o n、B S S の無菌の洗浄解決、C o s o p t、D u r e z o l（ジフルプレドナート）、E y l e a (a f i b e r c e p t)、L o t e m a x、L u c e n t i s (R a n i b i z u m a b)、L u m i g a n (B i m a t o p r o s t 眼科用液剤)、M a c u g e n (p e g a n t a n i b)、O c u f l o x（オフロキサシン点眼剤）0.3%、O c u H i s t、O z u r d e x（デキサメタゾン）、Q u i x i n（レボフロキサシン）、レスキュラ（u n o p r o s t o n e イソプロピル点眼剤）0.15%、R e s t a s i s（シクロスボリンの眼のエマルジョン）、S a l a g e n タブレット、T r a v a t a n (t r a v o p r o s t 点眼剤)、V a l c y t e (v a l g a n c i c l o v i r 塩酸塩)、トリフルオロサイミジン（V i r o p t i c）、V i s t i d e (C i d o f o v i r)、ビスマイン（注入のV e r t e p o r f i n）、V i t r a s e r t 移植組織、F o m i v i r s o n 注入、Z A D I T O R、Z i o p t a n (t a f l u p r o s t 点眼剤)、Z i r g a n（ガンシクロビルの眼のゲル）、Z y m a x i d (G a t i f l o x a c i n 点眼剤）、アトロピン、フルルビプロフェン、P h y s o s t i m i n e、A z o p t、ゲンタミシン、ピロカルピン（プロパラカイン）、バシトラシン、h y p r o m e l l o s e 目薬（G o n i o s o l）、ポリミキシン B、ポビドンヨード（ベータダイン）、グラミシジン、ブレドニゾロン、b e t a o l o l、H u m o r s o l、プロパラカイン、b e t a l o l 目薬（ベトブティック）、H y l a r t i n、贈り物、B r i n z o l a m i d e、高張性のN a C l、P u r a l u b e、B S S、I n d o c y c a n i n e グリーン、ローズベンガル、カルバコール、イトラコナゾール、ヒアルロン酸ナトリウム、セファゾリン、ラタノプロスト、スプロフェン、C e l l u v i s c、マンニットール、オキシテトラサイクリン、クロラムフェニコール、M e t a z o l a m i d e、眼球内血圧液圧減退剤、C i l o x a n、ミコナゾール、トブラマイシン、C y p r o F l o x a c i n、M i o s t a t、トリアムシノロン、C o s o p t、M u r o 1 2 8、T r i f l u r i d i n e、デメカリウム、ネオマイシン、T o p p i c a m i d e、デキサメサゾン、M e t a z o l a m i d e（ネブタザン）、トルソプト、D i p i f o r i n、O c u f l o x、または、D o r z o l a m i d e、オフロキサシン、ビラ - A、エピネフリン、O x o t e t r a

10

20

30

40

50

cycline、トリフルオロサイミジン、フルオレセイン、フェニレフリンまたはキサラタン）

【0140】

薬物の例は、血液造成阻害剤、ane cort 酢酸塩、トロンボスポンジン、VEGF レセプタ・チロシンキナーゼ阻害剤と、ranibizumab とベバシズマブ、pegaptanib、sunitinib とsorafenib などの抗血管内皮細胞増殖因子（抗 VEGF）薬物などの抗血管原性の作用薬と既知の抗菌薬のいかなる数も含むかもしれません。血管形成の小さな分子と転写阻害剤；次のものを含む様々な既知の眼科用薬：例えば、acetbutolol、atenolol、bisoprolol、カルベジロール、asmolol、ラベタロール、ナドロール、pembrolol、ピンドロール、プロプラノロール、metenolol、betaxolol、カルテオロール、levobetaxolol、levobunolol と眼球内血圧液圧減退剤などの遮断剤を含むアドレナリン作動性拮抗薬などの緑内障作用薬；アドレナリン作用のアゴニストまたは交感神経興奮性の神経は、エピネフリン、dipivefrin、クロニジン、araclonidine とbrimonidine のような麻薬を常用します；副交感神経薬またはピロカルピン、カルバコール、ホスホリン・ヨウ素、フィゾスチグミン、サリチル酸、塩化アセチルコリン、エゼリン、ジイソ・プロピル基フルオロホスファート、臭化デメカリウムなどのコリン作用性リセプタ・アゴニスト；ムスカリーン；acetozolamide、brinzolamide、dorzolamide とメタゾルアミドなどの局所および/または全身の作用薬、ethoxzolamide、ダイアモックスとジクロルフェナミドを含む炭酸脱水酵素阻害薬作用薬；アトロピン、シクロペントレート、サクシニルコリン、ホマトロピン、フェニレフリン、スコポラミンとトロピカミドなどの瞳孔拡大の毛様体筋麻痺の作用薬；プロスタグランジンF2 などのプロスタグランジン、抗プロスタグランジン、プロスタグランジン前駆体またはbimatoprost、ラタノプロスト、travoprost とunoprostone などのプロスタグランジン・アナログ作用薬

【0141】

追加の薬物実施例は、また例えば、ベタメタゾン、コルチゾン、デキサメサゾン、デキサメサゾン21 のリン酸塩、メチルプレドニゾロン、プレドニゾロン21 のリン酸塩、酢酸プレドニゾロン、プレドニゾロン、フルオロメトロン、loteprednol、metoxysone、フルオシノロン酢酸塩、トリアムシノロンアセトニド、トリアムシノロン、トリアムシノロン酢酸塩、ベクロメタゾン、ブデソニド、フルニソリド、フルオロメトロン、fluticasone、フルドロコルチゾン、ヒドロコルチゾン、酢酸ヒドロコルチゾンなどのグルココルチコイドとコルチコステロイドを含む抗炎症薬を含むかもしれません。例えば、炎症性の薬物が含むloteprednol、rimexolone と非ステロイド性の抗生物質、アスピリン、ジクロフェナク（ジクロフェナク）、フルルビプロフェン、イブプロフェン、bromfenac (bromfenac)、nepafenac、およびketorolac、サリチラート、インドメタシン、naxopren、ピロキシカムとナブメトン・ジフルニサル、エトドラク、フェノプロフェン、フルルビプロフェン、インドメタシン、ケトプロフェン、clofenamic 酸、メフェナム酸、メロキシカム、ナブメトン、oxaprazine (オキサプロジン)、ピロキシカム、サリチラート、スリンダクとトルメチジン；celecoxib、ロフェコキシブとvaldecoxib などのCOX-2 インヒビター；抗生物質などの抗感染性または抗微生物薬は例えば、テトラサイクリン、クロールテトラサイクリン、バシトラシン、ネオマイシン、ポリミキシン、グラミシジン、セファレキシン、オキシテトラサイクリン、クロラムフェニコール、リファンピシン、シプロフロキサシン、トブラマイシン、ゲンタミシン、エリスロマイシン、ペニシリン、サルファ剤、スルファダイアジン、スルファセタミド、スルファメチゾール、スルフイソキサゾール、ニトロフラゾン、プロピオニ酸ナトリウム、ゲンタミシンなどのアミノグリコシド、トブラマイシン、アミカシンとストレプトマイシンを含みます；シプロフロキサシン、gatifloxacin、レボフロ

10

20

30

40

50

キサシン、moxifloxacin、ノルフロキサシン、オフロキサシンなどのフルオロキノロン；バシトラシン、赤芽細胞要素、フシジン酸、ネオマイシン、ポリミキシンb、グラミシジン、トリメトブリムとスルファセタミド；アムホテリシンb、caspofungin、クロトリマゾール、フルコナゾール、イトラコナゾール、ケトコナゾール、voriconazole、テルビナフィン、ナイスタチンとミコナゾールなどの抗真菌物質；クロロキン、atovaquione、メフロキン、プリマキン、キニジンとキニーネなどの抗マラリア熱の作用薬；エタンブトール、イソニアジド、ピラジン・アミド、リファンビシンとrifabutinなどの抗ミコバクテリウムの作用薬；アルベンダゾール、メベンダゾール、thiobendazole、diazotide坐薬、ピランテル、atovaquone、iodoquinol、イベルメクチン、パロモマイシン、プラジカンテルとtrimatrexateなどの駆虫剤。

10

【0142】

方法

別の態様では、本の適用は、Xをリンクした色素性網膜炎（XLRP）を処置する方法を提供します。それはその必要性のある対象への本の開示の治療上有効な量のシステムを投与することを含みます。

【0143】

いくつかの実施形態では、システムは当技術で既知のあらゆる適切な方法による対象に投与することができます。いくつかの実施形態では、システムは、眼（例えば結膜下か、眼球後か、periocular、網膜下か、suprachoroidalか、眼内投与）にローカルに投与されるかもしれません。

20

【0144】

いくつかの実施形態では、rAAVウイルス粒子を含むシステムは、医学的に毒性の合格水準で希望の生物学的作用を達成する、治療上有効な量における提供されます。組成物の量は、投与経路とその病気の重症度に依存して変動することもある。量も体重、年齢、性、処置される各患者の症状の程度またはそのあらゆる組み合わせに応じて調節することができます。正確な量と投与経路は、処置する医者または獣医による結局測定されるでしょう。当然、量は、患者の年齢と重量と、処置される条件の厳しさに応じて慣例的に変更される必要があるかもしれません。

30

【0145】

いくつかの実施形態では、治療上有効な量が、 1×10^{13} rAAVウイルス粒子への 1×10^5 に一般に関係しています。いくつかの実施形態では、治療上有効な量が、 1×10^{12} rAAVウイルス粒子への 1×10^6 に一般に関係しています。いくつかの実施形態では、治療上有効な量が、 1×10^{12} rAAVウイルス粒子への 1×10^7 に一般に関係しています。いくつかの実施形態では、治療上有効な量が、 1×10^{12} rAAVウイルス粒子への 1×10^8 に一般に関係しています。いくつかの実施形態では、治療上有効な量が、 1×10^{12} rAAVウイルス粒子への 1×10^9 に一般に関係しています。いくつかの実施形態では、治療上有効な量が、 1×10^{12} rAAVウイルス粒子への 1×10^{10} に一般に関係しています。

【0146】

40

いくつかの実施形態では、送達された体積は1つの眼当たり約0.005ミリメートル（mL）の-0.5mLです。いくつかの実施形態では、送達された体積は1つの眼当たり約0.05のmL-0.5mLです。いくつかの実施形態では、送達された体積は1つの眼当たり約0.1のmL-0.5mLです。いくつかの実施形態では、送達された体積は1つの眼当たり約0.2のmL-0.5mLです。いくつかの実施形態では、送達された体積は1つの眼当たり約0.01のmL-あるmLからです。いくつかの実施形態では、送達された体積は1つの眼当たり約0.15のmL-0.5mLです。いくつかの実施形態では、送達された体積は1つの眼当たり約0.25のmL-0.5mLです。いくつかの実施形態では、送達された体積は1つの眼当たり約0.3のmL-0.5mLです。いくつかの実施形態では、送達された体積は1つの眼当たり約0.35のmL-0.5mLです。

50

L です。いくつかの実施形態では、送達された体積は 1 つの眼当たり約 0 . 4 の mL - 0 . 5 mL です。いくつかの実施形態では、送達された体積は 1 つの眼当たり約 0 . 45 の mL - 0 . 5 mL です。いくつかの実施形態では、送達された体積は 1 つの眼当たり約 0 . 005 mL です。いくつかの実施形態では、送達された体積は 1 つの眼当たり約 0 . 05 mL です。いくつかの実施形態では、送達された体積は 1 つの眼当たり約 0 . 1 mL です。いくつかの実施形態では、送達された体積は 1 つの眼当たり約 0 . 15 mL です。いくつかの実施形態では、送達された体積は 1 つの眼当たり約 0 . 2 mL です。いくつかの実施形態では、送達された体積は 1 つの眼当たり約 0 . 25 mL です。いくつかの実施形態では、送達された体積は 1 つの眼当たり約 0 . 3 mL です。いくつかの実施形態では、送達された体積は 1 つの眼当たり約 0 . 35 mL です。いくつかの実施形態では、送達された体積は 1 つの眼当たり約 0 . 4 mL です。いくつかの実施形態では、送達された体積は 1 つの眼当たり約 0 . 45 mL です。いくつかの実施形態では、送達された体積は 1 つの眼当たり約 0 . 5 mL です。いくつかの実施形態では、送達された体積は 1 つの眼当たり約 0 . 005 の mL - 0 . 05 mL です。いくつかの実施形態では、送達された体積は 1 つの眼当たり約 0 . 005 の mL - 0 . 1 mL です。いくつかの実施形態では、送達された体積は 1 つの眼当たり約 0 . 005 の mL - 0 . 15 mL です。いくつかの実施形態では、送達された体積は 1 つの眼当たり約 0 . 005 の mL - 0 . 2 mL です。いくつかの実施形態では、送達された体積は 1 つの眼当たり約 0 . 005 の mL - 0 . 25 mL です。いくつかの実施形態では、送達された体積は 1 つの眼当たり約 0 . 005 の mL - 0 . 3 mL です。いくつかの実施形態では、送達された体積は 1 つの眼当たり約 0 . 005 の mL - 0 . 4 mL です。いくつかの実施形態では、送達された体積は 1 つの眼当たり約 0 . 005 の mL - 0 . 45 mL です。

【 0 1 4 7 】

いくつかの実施形態では、投与の度数は、少なくとも 1 日当たり 2 、 3 、 4 、または 5 倍を含む 1 日に一度適用されるかもしれません。代替的に、処置レジメンは、 1 日、 2 日、 3 日、 4 日、 5 日、 6 日、 7 日、 8 日、 9 日、 10 日、 11 日、 12 日、 13 日、 14 日、 15 日、 16 日、 17 日、 18 日、 19 日、 20 日、 21 日、 22 日、 23 日、 24 日、 25 日、 26 日、 27 日、 28 日、 29 日、 30 日、 31 日、 32 日、 33 日、 34 日、 35 日、 36 日、 37 日、 38 日、 39 日、 40 日、 41 日、 42 日、 43 日、 44 日、 45 日、 46 日、 47 日、 48 日、 49 日、 50 日、 60 日、 70 日、 80 日、 90 日、 100 日、 150 日、 200 日、 250 日、 300 日、 400 日、 500 日、 750 日、 1000 日、または 1000 日以上にわたって続くことがある。

【 0 1 4 8 】

キット

別の様態では、本の開示は XLRP を処置するためにキットを提供します。それは、本の開示のシステムと指示を含みます。いくつかの実施形態では、指示は XLRP を処置するシステムを投与する方法を教えるために用いられます。

【 0 1 4 9 】

いくつかの実施形態では、装置はさらに制御装置を含む。いくつかの実施形態では、包装容器は本明細書に記載されたシステムを送達するように構成されます。いくつかの実施形態では、包装容器はバイアル、滴瓶、ボトル、チューブと注射器を含みます。いくつかの実施形態では、包装容器はシステムを適用するために用いられる滴瓶です。いくつかの実施形態では、包装容器はシステムを投与するために用いられる注射器です。

【 0 1 5 0 】

実施形態

組成物であって、該組成物は：

(i) 第 1 のポリヌクレオチド、そこで、第 1 のポリヌクレオチドは言った、第 1 のシーケンスを操作しやすく含む、第 1 のプロモーターと別のシーケンスにリンクされた、操作しやすく、別のプロモーターにリンクされた、第 1 のシーケンスは言った、アデノ随伴ウ

10

20

30

40

50

イルス (A A V) カプシド・タンパク質のエンコード、第 2 のシーケンスは言った、 A A V レブ・タンパク質のエンコード、第 1 のプロモーターは言った、および第 2 のプロモーター言った、昆虫細胞の発現のために適している、および

(i i) 別のポリヌクレオチド、そこで、第 2 のポリヌクレオチドは言った、3 番めのシーケンスを操作しやすく含む、 C M V プロモーターにリンクされた、 C A G プロモーター、 M N D U 3 プロモーター、 P G K プロモーター、 E F 1 a プロモーターまたは眼に特有のプロモーター、およびそこで、3 番目のシーケンスが色素性網膜炎 G T P アーゼ制御因子 (R P G R) ポリペプチドをエンコードすると言いました。

2 . 実施形態ある (そこでは上述の 3 番目のシーケンスは R P G R O R F 1 5 ポリペプチドをエンコードする) の組成物。

10

3 . 実施形態あるまたは 2 の組成物 (そこでは上述の 3 番目のシーケンスは最適化されたコドンである) 。

4 . 実施形態 1 - 3 (そこでは上述の 3 番目のシーケンスは配列番号を含む) のうちのいずれか 1 つの組成物 : 2 または配列番号に対して少なくとも 90 % の同一性を持っているシーケンス : 2 .

5 . 実施形態 1 - 3 (そこでは上述の 3 番目のシーケンスは配列番号のうちのいずれか 1 つを含む) のうちのいずれか 1 つの組成物 : 3 - 6 または配列番号のうちのいずれか 1 つに対して少なくとも 90 % の同一性を持っているシーケンス : 3 月 6 日

6 . 実施形態 5 (そこでは上述の 3 番目のシーケンスは配列番号を含む) の組成物 : 3 または配列番号に対して少なくとも 90 % の同一性を持っているシーケンス : 3 .

20

7 . 実施形態 5 (そこでは上述の 3 番目のシーケンスは配列番号を含む) の組成物 : 4 または配列番号に対して少なくとも 90 % の同一性を持っているシーケンス : 4 .

8 . 実施形態 5 (そこでは上述の 3 番目のシーケンスは配列番号を含む) の組成物 : 5 または配列番号に対して少なくとも 90 % の同一性を持っているシーケンス : 5 .

9 . 実施形態 5 (そこでは上述の 3 番目のシーケンスは配列番号を含む) の組成物 : 6 または配列番号に対して少なくとも 90 % の同一性を持っているシーケンス : 6 .

10 . 実施形態 1 - 9 (そこでは上述の昆虫細胞は S f 9 細胞である) のうちのいずれか 1 つの組成物。

11 . 実施形態 1 - 1 0 のうちのいずれか 1 つの組成物、そこで、第 1 のプロモーターは言ったか、第 2 のプロモーターが p 1 0 プロモーターまたは p o 1 h プロモーターであると言った。

30

12 . 実施形態 1 1 の組成物、そこで、第 1 のプロモーターは言ったか、第 2 のプロモーターが上述の p 1 0 プロモーターであると言った。

13 . 実施形態 1 1 の組成物、そこで、第 1 のプロモーターは言ったか、第 2 のプロモーターが上述の p o 1 h プロモーターであると言った。

14 . 実施形態 1 - 1 3 (そこでは R P E 6 5 遺伝子プロモーター、細胞のレチナールデヒド結合蛋白質 (C R A L B P) 、ネズミ科の 1 1 - c i s - レチノール脱水素酵素 (R D H) プロモーター、ロドプシン・プロモーター、ロドプシン・キナーゼ (G R K 1) プロモーター、コラーゲン分解酵素阻害 - 3 (T I M P 3) プロモーター、光受容体レチノール結合蛋白質プロモーター、卵黄様黃斑ジストロフィ 2 プロモーターと I n t e r p h o t o r e c e p t o r 類網膜の結合蛋白質 (I R B P) プロモーターから構成される群から上述の眼に特有のプロモーターは選択される) のうちのいずれか 1 つの組成物。

40

15 . 実施形態 1 4 (そこでは上述のロドプシン・キナーゼ (G R K 1) プロモーターは配列番号のうちのいずれか 1 つを含む) の組成物 : 7 - 8 または配列番号のうちのいずれか 1 つに対して少なくとも 90 % の同一性を持っているシーケンス : 7 月 8 日

16 . 実施形態 1 5 (そこでは上述のロドプシン・キナーゼ (G R K 1) プロモーターは配列番号を含む) の組成物 : 7 または配列番号に対して少なくとも 90 % の同一性を持っているシーケンス : 7 .

17 . 実施形態 1 5 (そこでは上述のロドプシン・キナーゼ (G R K 1) プロモーターは配列番号を含む) の組成物 : 8 または配列番号に対して少なくとも 90 % の同一性を持つ

50

ているシーケンス：8.

18. 実施形態1-17のうちのいずれか1つの組成物、そこで、3'終了、第1のシーケンスがさらにポリAシーケンスを含むと言いました。

19. 実施形態1-18のうちのいずれか1つの組成物、そこで、3'終了、第2のシーケンスがさらにポリAシーケンスを含むと言いました。

20. 実施形態1-19のうちのいずれか1つの組成物、そこで、第1のシーケンスは言い、第2のシーケンスを言った、リンカーをエンコードするシーケンスによる接続されます。

21. 実施形態20（そこでは上述のリンカーは切断可能なリンカーである）の組成物。

22. 実施形態20（そこでは上述のリンカーは2Aペプチドをエンコードするシーケンスを含む）の組成物。 10

23. 実施形態20（そこでは上述のシーケンス・コード化はリンカーがさらにプロモーターを含むと言った）の組成物。

24. 実施形態23（そこでは上述のプロモーターはFMDVプロモーターである）の組成物。

25. 実施形態1-24のうちのいずれか1つの組成物、そこで、3'終了は言った、3番目のシーケンスがさらにポリAシーケンスを含むと言いました。

26. 実施形態18-25（そこでは上述のポリAシーケンスは配列番号のうちのいずれか1つを含む）のうちのいずれか1つの組成物：9-12または配列番号のうちのいずれか1つに対して少なくとも90%の同一性を持っているシーケンス：9月12日 20

27. 実施形態26（そこでは上述のポリAシーケンスは配列番号を含む）の組成物：9または配列番号に対して少なくとも90%の同一性を持っているシーケンス：9.

28. 実施形態26（そこでは上述のポリAシーケンスは配列番号を含む）の組成物：10または配列番号に対して少なくとも90%の同一性を持っているシーケンス：10.

29. 実施形態26（そこでは上述のポリAシーケンスは配列番号を含む）の組成物：11または配列番号に対して少なくとも90%の同一性を持っているシーケンス：11.

30. 実施形態26（そこでは上述のポリAシーケンスは配列番号を含む）の組成物：12または配列番号に対して少なくとも90%の同一性を持っているシーケンス：12.

31. 実施形態1-47のいずれか1つに係る方法は、製剤が風味材料（flavorant）をさらに含むことを特徴とする。 30

32. 実施形態1-31のうちのいずれか1つの組成物、そこで、第2のポリヌクレオチドが逆方向末端反復（ITR）シーケンスをさらに含むと言いました。

33. 実施形態32（そこでは上述の逆方向末端反復（ITR）シーケンスはアデノ随伴ウイルス（AAV）血清型2 ITRシーケンスである）の組成物。

34. 実施形態1-33のうちのいずれか1つの組成物、そこで、第2のポリヌクレオチドが治療のタンパク質をエンコードする4番めのシーケンスをさらに含むと言いました。

35. 実施形態34の組成物、そこで、第2のポリヌクレオチドが治療のタンパク質をエンコードする4番めのシーケンスをさらに含むと言いました。RPGRIP1、RPGRIP1L、SMC1、SMC3、Whirlin、PDEとRAB8.

36. 実施形態34の組成物、そこで、3番目のシーケンスは言い、4番目のシーケンスを言った、リンカーをエンコードするシーケンスによる接続されます。 40

37. 実施形態36（そこでは上述のリンカーは切断可能なリンカーである）の組成物。

38. 実施形態36（そこでは上述のリンカーは2Aペプチドをエンコードするシーケンスを含む）の組成物。

39. トロメタミンを更に含む、実施形態1-38の何れか1つに記載の組成物。

40. 実施形態39（そこでは上述のイントロン・シーケンスは配列番号を含む）の組成物：13または配列番号に対して少なくとも90%の同一性を持っているシーケンス：13.

41. 実施形態1-40のうちのいずれか1つの組成物、そこで、第1のポリヌクレオチドがアデノ随伴ウイルス（AAV）を含むと言った、5つのシーケンスをセロタイプで分 50

けます。

42. 昆虫細胞へ実施形態1-41のうちのいずれか1つの組成物をトランスフェクトすることにより調製された組み換えのアデノ随伴ウイルス(rAAV)粒子。

43. 実施形態42(そこでは上述の昆虫細胞はSf9細胞である)の組み換えのアデノ随伴ウイルス(rAAV)粒子。

44. Xを処置するためのシステムは、実施形態42または43、ならびに薬学的に許容可能な担体の上述の組み換えのアデノ随伴ウイルス(rAAV)粒子を含む色素性網膜炎をリンクしました。

45. Xを処置する方法は色素性網膜炎をリンクしました、その必要性のある上述の対象に投与することを含むこと、実施形態44のシステム。

46. 実施形態44と指示の上述のシステムを含むキット。

【0151】

本開示のいくつかの実施形態は、次の実施例によるさらに説明されます。それは制限として解釈されるべきではありません。当業者は、本の開示の実施形態のインプリメンテーションの中でうまくいくために、発明者が見つけた技術が本明細書に記述し従って、これらの実施形態をインプリメントするための有益な手法を構成すると考えることができます、と次の実施例において開示された技術が相当すると理解するでしょう。好ましい面。しかしながら、本の開示に基づいて、当業者は、本の開示の蒸留酒と範囲から外れないと、本明細書に開示された特有の実施形態における多くの変化を行なうことができると理解するでしょう。そして、同じく同様の結果は今までどおり得ることができます。

10

20

【実施例】

【0152】

これらの実施例は説明目的のために提供されるにすぎず、請求項の範囲を制限するものではない。

【0153】

実施例1-組換えAAV構成物の設計

【0154】

キャップおよびレブのタンパク質の暗号配列を含む最初のポリヌクレオチドを得るために、AAV5およびAAV2から誘導したキャップおよびレブの暗号配列は、それぞれ、それらの対応するプロモーターと共に修正済のpFastBac1へ合成されクローンを作られました。

30

【0155】

配列番号における示されるRPGR ORF15ポリペプチドをエンコードするヌクレオチド配列: RPGR ORF15の暗号配列を含む第2のポリヌクレオチドを得るの、あるとそれらの対応するプロモーターは修正済のpFastBac1へクローンを作られました。

【0156】

コドン最適化はRPGR ORF15の発現を最適化するために用いられました。

【0157】

コドンに、RPGR ORF15シーケンスを最適化する、様々な発現は構築します、表2のリストされた、作出されました。

40

【0158】

【表2】

TABLE 2: Designs of Codon-optimized RPGR ORF15 Expression Constructs

ID	Construct design
PA001	5'-GRK1S-RPGR ORF15 co1-bGHpA-3'
PA002	5'-GRK1L-SV40 intron-RPGR ORF15 co2-SV40pA-3'
PA003	5'-GRK1S-RPGR ORF15 co3-bGHpA-3'
PA004	5'-GRK1S-SV40 intron-RPGR ORF15 co3-SV40pA-3'
PA005	5'-GRK1S-SV40 intron-RPGR ORF15 co3-rbGlobpA-3'
PA006	5'-GRK1S-SV40 intron-RPGR ORF15 co3-hGHpA-3'
PA007	5'-GRK1L-RPGR ORF15 co3-bGHpA-3'
PA008	5'-GRK1L-SV40 intron-RPGR ORF15 co3-SV40pA-3'
PA009	5'-GRK1L-SV40 intron-RPGR ORF15 co3-rbGlobpA-3'
PA010	5'-GRK1L-SV40 intron-RPGR ORF15 co3-hGHpA-3'
PA011	5'-GRK1S-RPGR ORF15 co4-bGHpA-3'
PA012	5'-GRK1S-SV40 intron-RPGR ORF15 co4-SV40pA-3'
PA013	5'-GRK1S-SV40 intron-RPGR ORF15 co4-rbGlobpA-3'
PA014	5'-GRK1S-SV40 intron-RPGR ORF15 co4-hGHpA-3'
PA122	5'-GRK1L-RPGR ORF15 co4-bGHpA-3'
PA123	5'-GRK1L-SV40 intron-RPGR ORF15 co4-SV40pA-3'
PA124	5'-GRK1L-SV40 intron-RPGR ORF15 co4-rbGlobpA-3'
PA125	5'-GRK1L-SV40 intron-RPGR ORF15 co4-hGHpA-3'

co: codon-optimized; GRK1S: GRK1 short promoter; GRK1L: GRK1 long promoter.

【0159】

30

4つのコドンに最適化されたRPGR ORF15 cDNAシーケンスが作出されました (RPGR ORF15 co1-co4; 配列番号: 3-6)。構成物は長時間番組ロードシン・キナーゼある (GRK1L; 配列番号: 7) プロモーターまたは簡易型GRK1プロモーター (GRK1S; 配列番号: 8) のいずれかを牽制しました。様々な構成物はまた異なるポリAシーケンス - bGHpA (配列番号: 9)、SV40pA (配列番号: 10)、rbGlobpA (配列番号: 11) と hGHpA (配列番号: 12) - を含んでいました - およびシミアンウイルス40イントロン・シーケンス (配列番号: 13)。

【0160】

40

実施例2 - コドン最適化されたRPGR ORF15生体外の構築の堅調な発現

【0161】

40

発現激しさを測定するために、設計された、構築する、2個の×105 HEK293T細胞が接種されました、1つの、24-よく、プレート、および培養した、夜通し。0.5マイクログラムの各発現 (μg) プラスミドを構築する、1.5マイクロリットル (μL) のMirus TransT-VirusGEN (r) トランスフェクション試薬に混合された、につき、50のμL Opti-Mem媒体 (DNA: Mirus試薬 (μl) = 1:3 (μg)) におけるよく。48時間の後、RPGR ORF15タンパク質の発現はウェスタンプロッティングによる検出されました。図1A-Bの示されるように、構成物はすべてハイ・レベルへの組み換えのRPGR ORF15タンパク質を示しました。これらのタンパク質も、彼らが内因性の翻訳後修飾 (野性型RPGR OR

50

F 1 5 タンパク質のそれに似ている)を受けたことを示唆して glutamylated されました。

【 0 1 6 2 】

コドンに最適化された c D N A 構成物から組み換えの R P G R O R F 1 5 タンパク質の発現は分析されました。

【 0 1 6 3 】

これらのデータは、コドンに最適化された R P G R O R F 1 5 c D N A が構築することを示唆します、ハイ・レベルの機能的な組み換えタンパクを生体外で示すことができます。

【 0 1 6 4 】

実施例 3 - 組換え A A V ウィルス粒子の調製

【 0 1 6 5 】

A A V 粒子は A A V 技術への b a c による生成されました。 Specifically、2つの b a c m i d s の含んでいるレプ・キャップとトランスジーン発現カセットがそれぞれ、 generated されました。そして、これらの 2 b a c m i d s のバキュロウイルスは次に生成されました。 r A A V は、 S f 9 細胞のレプ・キャップとトランスジーン・バキュロウイルスの両方を感染させることにより生成されました。組み換えの A A V 2 / 5 / R P G R O R F 1 5 ウィルス粒子は勾配超遠心分離またはアフィニティカムを用いて、分離され精製されました。

【 0 1 6 6 】

実施例 4 - 眼における機能的な R P G R O R F 1 5 タンパク質

【 0 1 6 7 】

眼における表 2 における構成物から発現された R P G R O R F 1 5 タンパク質の機能特性は R P G R ノックアウトマウス・モデルを用いて評価されました。

【 0 1 6 8 】

マウスは、両側性の網膜下の注入を用いて、表 3 のリストされたスケジュールによる実施例 3 の選択された r A A V 5 ウィルス粒子を注入されました。

【 0 1 6 9 】

【 表 3 】

TABLE 3: Injection Schedule of the RPGR knockout mice

Construct injected	Number of eyes injected
PA001	10
PA002	26
PA004	14
PA011	22
PA012	22
PA014	22
Vehicle: formulation buffer (PBS + 0.001% F-68)	14

【 0 1 7 0 】

負の調節(ビヒクル)以外の各注入のために、 1×10^8 ウィルス粒子は各眼へ注入されました。

【 0 1 7 1 】

マウスが繁殖から有効になったように、注射剤の回転は実行されました。組み換えの R P G R O R F 1 5 タンパク質の機能特性は網膜電図記録法(ERG)を用いて、外観検査の中でテストされました。野性型マウス(C57マウス)陽性対照として用いられまし

10

20

30

40

50

た。最初の分析は注入のあるか月後に行なわれました。図 2 A - 2 B における示されるように、PA014 を除いて構成物はすべて R P G R ノックアウトマウスの暗順応の A 波および B 波欠損を著しく救うことができました。マウスの表現型は PA002 (PA004) を注入しました。そして、PA012 は陽性対照マウスのそれに似ていました。さらに、図における 2 C 示されるように、PA002 および PA012 を注入されたマウスはまた R P G R ノックアウトマウスの明所視の B 波表現型を救いました。

【0172】

これらのデータは、AAVベクターから発現された R P G R ORF15 タンパク質が生体内で機能的なことを示します。

【0173】

実施例 5 - 組み換え AAVベクターの設計とクローニング

【0174】

キャップおよびレープのタンパク質の暗号配列を含む本の開示の最初のポリヌクレオチドを得るの、AAV2 から誘導したキャップおよびレープの暗号配列とそれらの対応するプロモーターは、バキュロウィルス・プラスミドベクトルへクローンを作られます。

【0175】

緑の蛍光性のタンパク質 (GFP) をエンコードするヌクレオチド配列、と配列番号における示される R P G R ORF15 ポリペプチドをエンコードするヌクレオチド配列 : GFP と R P G R ORF15 の暗号配列を含む第 2 のポリヌクレオチドを得るの、あるとそれらの対応するプロモーターはバキュロウィルス・プラスミドベクトルへクローンを作られます。

【0176】

実施例 6 - マウスの眼におけるレポーター遺伝子の送達と発現

【0177】

この実施形態では、マウスは目標実験群および対照群へ分割されます。方法による得られた、精製された rAAV2 / GFP ウィルス粒子は実施例 3 を記載しました。そして、PBS は、目標実験群および対照群の眼へそれぞれ注入されます。期間の後、マウス網膜色素上皮細胞への蛍光発現は評価されます。

【0178】

対照群に比較して、緑の蛍光は、目標実験群へのマウスの網膜色素における観測されます。この結果は、送達の rAAV2 / GFP ウィルス粒子へこの開示の GFP 暗号配列を含んでいる最初のポリヌクレオチドを含む rAAV ベクターを成功裡にパッケージにすることができます。そして、送達された GFP 暗号配列は、マウス網膜色素上皮における成功裡に示すことができます。

【0179】

実施例 7 - マウスへの R P G R ORF15 の送達と発現

【0180】

マウスは 2 つの群 (抑制および実験) へ分割されます。そこでは対照群および目標実験群は、実施例 3 の記載された方法による精製された rAAV2 / GFP と rAAV2 / R P G R ORF15 ウィルス粒子を眼内で注入されます。マウスの眼は注入の後に評価されます。結果は、網膜の上で組み換えの R P G R ORF15 暗号配列を示すことができるることを示して、マウス網膜色素上皮における成功裡に GFP を示すことができることを示します。

【0181】

実施例 8 - 生体内の適用の組成物の有効性

【0182】

2 つの腕治験、この適用の記載されたシステムの有効性をテストするためにこの開示の記載された rAAV2 / R P G R ORF15 ウィルス粒子を含んでいる抑制とシステムを用いて実行されます。

【0183】

10

20

30

40

50

他のウイルス粒子の有効性もこの実施例を用いてテストすることができます。

【 0 1 8 4 】

本開示の好ましい実施形態が、本明細書に示され且つ記載されている一方で、このような実施形態が、ほんの一例として提供されることは当業者に明白であろう。本教示が明細書内で提供される特定の例によって制限されることを意図しない。本発明は前述の明細書を参照して記載されている一方、本明細書における実施形態の記載および例示は限定的な意味で解釈されることは意図されていない。多数の変形、変化、及び置換は、本開示から逸脱することなく、当業者によって現在想到されるものである。さらに、本発明の全ての態様は、様々な条件および変数に依存する、本明細書で述べられた特定の描写、構成、または相対的比率に限定されないことが理解されるだろう。本明細書に記載される開示の実施形態の様々な代案が、本開示の実施において利用されるかもしれないことを理解されたい。したがって、本発明は、任意のそのような代替案、修正、変形、または同等物にも及ぶことが考えられる。以下の特許請求の範囲は本開示の範囲を定義するものであり、この特許請求の範囲及びそれらの同等物の範囲内の方法及び構成は、それによって包含されることが、意図される。

10

【 0 1 8 5 】

20

30

40

50

【表 4 - 1】

SEQUENCE LISTING

【 0 1 8 6 】

【表4-2】

	TCTTCATGTGGAGATGAACATTCTGCTGTTACCGG AAATAATAAACTTACATGTTGGCAGTAACAACTGGG GTCAGTTAGGATTAGGATCAAAGTCAGCCATCAGCAAG CCAACATGTGTCAAAGCTCTAAAACCTGAAAAAGTGA ATTAGCTGCCTGTGGAAGGAACCACACCCTGGTGTCAA CAGAAGGAGGCAATGTATATGCAACTGGTGGAAATAAT GAAGGACAGTTGGGGCTTGGTACACCGAAGAAAGAA ACACTTTCATGTAATTAGCTTTTACATCCGAGCATA AGATTAAGCAGCTGCTGCTGGATCTAATACCTCAGCTG CCCTAACTGAGGATGGAAGACTTTTATGTGGGGTGAC AATTCCGAAGGGCAAATTGGTTAAAAAAATGTAAGTAA TGTCTGTGTCCTCAGCAAGTGACCATTGGAAACCTGT CTCCTGGATCTTGTGGATATTACCAATTAGCTTTGTA ACAACAGATGGTGAGCTATATGTGTTGGAGAACCTGA GAATGGGAAGTTAGGTCTCCCAATCAGCTCTGGCA ATCACAGAACACCCCCAGCTGGTGTCTGAAATTCCGGAG AAGGTGATCCAAGTAGCCTGTGGTGGAGAGCATACTGT GGTCTCACGGAGAATGCTGTGTACCTTGGCTGG ACAATTGGTCAGCTGGTCTTGGCAGCTTCTTGT AACTTCAGAACCCAAAGTCATTGAGAATATTAGGGATC AAACAATAAGTTATTTCTGTGGAGAAAATCACACA GCTTGATAACAGATATCGGCCTATGTATACTTTGGA GATGGTCGCCACGGAAAATTAGGACTTGGACTGGAGAA TTTACCAATCACTCATTCTACTTGTGCTCTAATT TTGAGGTTATAGTAAATTGGTGCTTGTGGATGT CACATGGTAGTTTGCTGCTCCTCATGTGGTGTGGCA AAAGAAATTGAATTGATGAAATAATGATACTGCTT ATCTGTGGCGACTTTCTGCCGTATAGCAGTTAACCTC AGGAAATGTACTGCAGAGGACTCTACGACACGTATGC GGCGAAGAGAGAGGGAGAGGTCTCCAGATTCTTCA ATGAGGAGAACACTACCTCCAATAGAAGGGACTCTGG CCTTCTGCTGTTCTCCCAATTAGCTTCCACGA TGTTCTGAGAGAAACCTCCAAGAGAGTGTCTTATCTGAA CAGGACCTCATGCAGCCAGAGGAACCAGATTATTGCT	wildtype human RPGRORF 15
		10
		20
		30
		40

【0187】

【表4-3】

	AGATGAAATGACCAAAAGAAGCAGAGATAGATAATTCTT CAACTGTAGAAAGCCTTGGAGAAACTACTGATATCTTA AACATGACACACATCATGAGCCTGAATTCCAATGAAAA GTCATTAAAATTATCACCAGTTAGAAACAAAGAAC AACAAACAATTGGGAACTGACGCAGGATACAGCTTT ACTGAAAACGATGATAGTGATGAATATGAAGAAATGTC AGAAATGAAAGAAGGGAAAGCATGTAAACAAACATGTG TCACAAGGGATTTCATGACGCAGCCAGCTACGACTATC GAAGCATTTCAGATGAGGAAGTAGAGATCCCAGAGGA GAAGGAAGGAGCAGAGGATTCAAAAGGAAATGGAATA GAGGAGCAAGAGGTAGAAGCAAATGAGGAAAATGTGA AGGTGCATGGAGGAAGAAAGGAGAAAACAGAGATCCT ATCAGATGACCTTACAGACAAAGCAGAGGTGAGTGAAG GCAAGGCAAAATCAGTGGAGAAGCAGAGGATGGGCC TGAAGGTAGAGGGATGGAACCTGTGAGGAAGGTAGTT CAGGAGCAGAACACTGGCAAGATGAGGAGAGGGAGAA GGGGGAGAAAGACAAGGGTAGAGGGAGAAATGGAGAGG CCAGGAGAGGGAGAGAAGGAACTAGCAGAGAAGGAAG AATGGAAGAAGAGGGATGGGAAGAGCAGGAGCAAAA GGAGAGGGAGCAGGCCATCAGAAGGAAAGAAACCAA GAGATGGAGGAGGGAGGGGAGGAGGAGCATGGAGAAG GAGAAGAAGAGGAGGGAGACAGAGAAGAGGAAGAAG AGAAGGAGGGAGAAGGAAAGAGGAAGGGAGAGGGAG AAGAAGTGGAGGGAGAACGTGAAAAGGAGGAAGGAGA GAGGAAAAGGAGGAAAGAGCAGGGAGGGAGGAGGAGAA AGGAGAGGAAGAAGGAGACCAAGGAGAGGGGAAGA GGAGGAAACAGAGGGAGAGGGAGGGAGGAAAAAGAGGA GGGAGGGGAAGTAGAGGGAGGGGAAGTAGAGGGAGGG AAAGGGAGAGAGGGAAAGAGGAAGAGGAGGAGGGTGAG GGGAAGAGGAGGAAGGGGAGGGGAGGGAGGAGGAGGAA GGGGAGGGGGAAAGAGGAGGAAGGGAGAAGGGAAAGGG GAGGAAGAAGGGGAAGAAGGAGAAGGGGAGGAAGAA GGGGAGGAAGGAGAAGGGGAGGGGAGGGGAAGAGGGAGGAA GGAGAAGGGAGGGAGGAAGAGGAAGGGAGAGGGAG	10 20 30 40
--	---	----------------------

【0188】

【表4-4】

	GGAGAAGAGGAGGAAGGAGAAGGGGAGGGAGAAGAG GAAGGAGAAGGGGAGGGAGAAGAGGGAGGAAGGGAGAA GGGAAAGGGAGGAGGAAGGAGAGAGAAGGGAGAAGGG GAGGGGGAGAGGGAGGAAGGAGAAGGGGAGGGAG GATGGAGAAGGGAGGGAGGGAGAAGGGAGGAAGGAGAAT GGGAGGGGAAGAGGAGGAAGGAGAAGGGGAGGGAG AAGAGGAAGGAGAAGGGAGGGAGGAAGGGAGGAAGGAGAAG GGGAGGGGAAGAGGAGGAAGGAGAAGGGGAGGGAG AAGAGGAGGAAGGGAGAAGAAGAAGGGAGGAAGGAGAAG GAGAGGGAGAGGAAGAAGGGAGGGAGAAGGGGAG AAGAAGAGGAAGGGAGTGGAGGGAGGTGGAGG GGAGGAAGGAGGGAGGGAGGAGAGGAAGGAGAAG AGAGGAGGAAGGAGAAGAAAGGAAAAGGAGGGAG AGGAGAAGAAAACAGGAGGAACAGAGAAGAGGAGGA GGAAGAAGAGGGAGTATCAGGAGACAGGCGAAGAA GAGAATGAAAGGCAGGATGGAGAGGTACAAAAAAG TGAGCAAAATAAAAGGATCTGTGAAATATGGCAAACAT AAAACATATCAAAAAAAGTCAGTTACTAACACACAGGG AAATGGGAAAGAGCAGAGGTCCAAATGCCAGTCCAGT CAAAACGACTTTAAAAAACGGGCCATCAGGTTCCAAA AAGTTCTGGAATAATGTATTACACATTACTTGGAAATTG AAGTAA	10
SEQ ID NO: 3	ATGAGAGAGGCCAGAGGAGCTGATGCCAGACAGTGGAG CAGTGTTCACATTGGAAAATCTAAGTTGCGTGAAAATA ACCCAGGAAAGTTCTGGTTAAAAACGACGTGCCGTC CACCTGTCTTGCGATGAGCATAGTGCCGTGGTCACT GGGAACAATAAGCTGTACATGTTGGGTCCAACAACTG GGGACAGCTGGGCTGGATCCAATCTGCTATCTCTA AGCCAACCTGCGTGAAGGCAGTCAAACCCGAGAAGGTC AAACTGGCCGCTTGTGGCAGAAACCAACTCTGGTGAG CACCGAGGGCGGGAAATGTCTATGCCACCGGAGGCAACA ATGAGGGACAGCTGGGACTGGGGACACTGAGGAAAG GAATACCTTACGTGATCTCCTTCTTACATCTGAGCA TAAGATCAAGCAGCTGAGCGCTGGCTCCAACACATCTG	Codon- optimized RPGR ORF15 coding sequence #1

【0189】

【表4-5】

	CAGCCCTGACTGAGGACGGGCGCCTGTTCATGTGGGG GATAATT CAGAGGGCCAGATTGGCTGAAAAACGTGAG CAATGTGTGCGTCCCTCAGCAGGTGACCATCGGAAAGC CAGTCAGTTGGATTTCATGTGGCTACTATCATAGCGCCT TCGTGACCACAGATGGCGAGCTGTACGTCTTGGGGAG CCCGAAAACGAAAACCTGGGCCTGCCTAACCGAGCTGCT GGGCAATCACCGGACACCCCAGCTGGTGTCCGAGATCC CTGAAAAAGT GATCCAGGTGCCTGCAGGGGAGAGCAT ACAGTGGTCTGACTGAGAATGCTGTATACCTCGGA CTGGGCCAGTTGCCAGCTGGGCTGGAACCTCCTG TTT GAGACATCCGAACCAAAAGT GATCGAGAACATTG CGACCA GACTATCAGCTACATTCCCTGCGGAGAGAAC ACACCGCACTGATCACAGACATTGGCCTGATGTATACCT TTGGCGATGGACGACACGGGAAGCTGGACTGGACTG GAGAACTTCACTAATCATTTATCCCCACCCCTGTGTTCT AACTCCTGCGGTTCATCGT GAAACTGGTCGCTGC GGGTGTCACATGGTGGCTTCGCTGCACCTCATAGGGC GTGGCTAAGGAGATCGAATTGACGAGATTAACGATAC ATGCCTGAGCGTGGCAACTTCCCTGCCATACAGCTCCCT GA CTTGGCAATGTGCTGCAGAGAACCTGAGTGCAA GGATGCGGAGAAGGGAGAGGGAACGCTCTCCTGACAGT TTCTCAATGCGACGAACCTGCCACCTATCGAGGGAAC ACTGGGACTGAGTGCCTGCTTCCCTGCCTAACTCAGTGT TCCACGATGTAGCGAGCGGAATCTGCAGGAGTCTGTCC TGAGTGAGCAGGATCTGATGCAGCCAGAGGAACCCGAC TACCTGCTGGATGAGATGACCAAGGAGGCCGAAATCGA CAACTCTAGTACAGTGGAGTCCCTGGCGAGACTACCG ATATCCTGAATATGACACACATTATGTCAGAACAGCA ATGAGAAGAGTCTGAAACTGTCACCAGTGCAGAAGCAG AAGAAACAGCAGACTATTGGCGAGCTGACTCAGGACAC CGCCCTGACAGAGAACGACGATAGCGATGAGTATGAGG AAATGTCCGAGATGAAGGAAGGCAAAGCTTGTAAAGCAG CATGTCAGTCAGGGATCTTCATGACACAGGCCAGCCAC AACTATTGAGGCTTTCA GACGAGGAAGTGGAGATCC	
		10
		20
		30
		40

【0190】

【表4-6】

CCGAGGAAAAAGAGGGCGCAGAAGATTCCAAGGGAA TCCAATTGAGGAACAGGAGGTGGAAGCCAACGAGGAA AATGTGAAAGTCCACGGAGGCAGGAAGGAGAAAACAG AAATCCTGTCTGACGATCTGACTGACAAGGCCGAGGTG TCCGAAGGCAAGGCAAATCTGTCGGAGAGGCAGAAG ACGGACCAGAGGGACGAGGGATGGAACCTGCGAGGA AGGCTCAAGCGGGCTGAGCATTGGCAGGACGAGGAAC GAGAGAAGGGCGAAAAGGATAAAGGCCGCGGGGAGAT GGAACGACCTGGAGAGGGCGAAAAAGAGCTGGCAGAG AAGGAGGAATGGAAGAAAAGGGACGGCGAGGAACAGG AGCAGAAAGAAAGGGAGCAGGCCACCAGAAGGAGCG CAACCAGGAGATGGAAGAGGGCGCGAGGAAGAGCAT GGCGAGGGAGAAGAGGAAGAGGGCGATAGAGAAGAGG AAGAGGAAAAAGAAGCGAAGGGAGGAGGAAGGAG AGGGCGAGGAAGTGGAAGGCGAGAGGGAAAAGGAGGA AGGAGAACGGAAGAAAGAGGAAGAGCCGCAAAGAG GAAAAGGGCGAGGAAGAGGGCGATCAGGGCGAAGGCG AGGAGGAAGAGACCGAGGGCGCGGGGAAGAGAAAGA GGAGGGAGGAGAGGTGGAGGGCGAGAGGTCGAAGAG GGAAAGGGCGAGCGCGAAGAGGAAGAGGAAGAGGGCG AGGGCGAGGAAGAAGAGGGCGAGGGGGAAAGAAGAGG AGGGAGAGGGCGAAGAGGAAGAGGGAGGGAGGGAAAGG GCGAAGAGGAAGGAGAGGAAGGGAGGGAGAGGAAG AGGGGGAGGAGGGCGAGGGGGAAAGGCGAGGGAGGAAG AAGGAGAGGGGGAAAGCGAAGAGGAAGGCGAGGGGG AAGGAGAGGAAGAAGGGGAAGGCGAAGGGCGAAG AGGAGGGAGAAGGAGAGGGAGGGAGGAAGAGGAAGGAG AAGGGAAGGGCGAGGAGGAAGGCGAAGAGGGAGAGG GGGAAGGCAGGAGGAAGAGGAAGGCGAGGGCGAAGGAGA GGACGGCGAGGGCGAGGGAGAAGAGGAGGAAGGGAA TGGGAAGGCAGAAGAAGAGGAAGGCGAAGGCGAAGGCG AAGAAGAGGGCGAAGGGGAGGGCGAGGAGGGCGAAGG CGAAGGGGAGGAAGAGGAAGGCGAAGGAGAAGGCGAG GAAGAAGAGGGAGAGGAAGGCGAGGAGGAAGGAG	10 20 30 40
--	----------------------

【0191】

【表4-7】

	GAGGGGGAGGGAGGGAGAAGGCAGGGCGAAGAA GAAGAAGAGGGAGAAGTGGAGGGCGAAGTCGAGGGGG AGGAGGGAGAAGGGAAAGGGAGGAAGAAGAGGGCG AAGAAGAAGGCAGGAAAGAGAAAAAGAGGGAGAAG GCGAGGAAAACCGGAGAAATAGGGAGAGAGGAGGAAGA GGAAGAGGGAAAGTACCAAGGAGACAGGCAGAGGAA AACGAGCGGCAGGATGGCGAGGAATATAAGAAAGTGA GCAAGATCAAAGGATCCGTCAAGTACGGCAAGCACAAA ACCTATCAGAAGAAAAGCGTGACCAACACACAGGGGA ATGGAAAAGAGCAGAGGAGTAAGATGCCTGTGCAGTCA AAACGGCTGCTGAAGAATGCCCATCTGGAAGTAAAAA ATTCTGGAACAATGTGCTGCCCACTATCTGGAACTGAA ATAA		10
SEQ ID NO: 4	ATGAGAGAGCCAGAGGAGCTGATGCCAGATAGCGGAG CAGTGTTCACCTCGGAAAGTCCAAGTTCGAGAGAAT AACCCAGGAAAGTTCTGGTTAAAAACGACGTGCCGT CCACCTGTCTGTGGCGATGAGCATACTGCGTGGTCAC TGGGAACAATAAGCTGTATATGTTGGGTCCAACAATT GGGGACAGCTGGGCTGGGATCCAATCTGCTATCTCT AAGCCAACCTCGGTGAAGGCAGTGAACACCGAGAAGGT CAAACCTGGCGCTGTGGCAGAAACCAACTCTGGTGA GCACCGAGGGCGGGAAATGTCTATGCCACCGAGGCAAC AATGAGGGACAGCTGGACTGGGGACACTGAGGAAA GGAATACCTTCACGTGATCTCCTTACATCTGAGC ATAAGATCAAGCAGCTGAGCGCCGGCTCAAACACATCT GCAGCCCTGACTGAGGACGGCGCCTGTTCATGTGGGG AGATAATTAGAGGGCCAGATTGGCTGAAAAACGTGA GCAACGTGTGCGTGCCTCAGCAGGTGACCATCGGAAAG CCAGTCAGTTGGATTTCATGTGGCTACTATCATAGCGCC TTCGTGACCACAGATGGCGAGCTGTACGTCTTGGGG GCCGAAAACGGAAAAGTGGCCTGCCTAACCGAGCTGC TGGGCAATCACCGGACACCCAGCTGGTGTCCGAGATC CCTGAAAAAGTGTCCAGGTGCCTGCAGGGGGAGAGCA TACAGTGGTCCCTGACTGAGAATGCCGTGTACACCTCGG	Codon- optimized RPGR ORF15 coding sequence #2	20 30 40

【0 1 9 2】

【表4-8】

ACTGGGCCAGTTGCCAGCTGGGCTGGAACCTCCT GTTGAGACATCCGAACCAAAAGTATCGAGAACATT GCGACCAGACTATCAGCTACATTCCTGCGGAGAGAAT CACACCGCACTGATCACAGACATTGGCCTGATGTATACC TTTGGCGATGGCGGCACGGGAAGCTGGACTGGCCT GGAGAACCTCACTAATCACTCATCCCCACCCGTGCTC TAACCTCCTGCGGTTCATCGTAAACTGGTCGCTTGC CGGGTGTACATGGTGGCTTCGCTGCACCTCATAGGGG CGTGGCTAAGGAGATCGAATTGACGAGATTAACGATA CATGCCTGAGCGTGGCAACTTCCTGCCATACAGCTCCC TGACTTCTGGCAATGTGCTGCAGAGAACCTGAGTGCA AGGATGCGGAGAAGGGAGAGGGAACGCTCTCCTGACA GTTTCTCAATGCGACGAACCCCTGCCACCTATCGAGGGG ACACTGGGACTGAGTGCTGCTGCCTGCCTAAGTGCA TTTCCACGATGTAGCGAGCGGAATCTGCAGGAGTCTGTC CTGAGTGAGCAGGATCTGATGCAGCCAGAGGAACCCGA CTACCTGCTGGATGAGATGACCAAGGAGGCCGAAATCG ACAACACTAGTACAGTGGAGTCCCTGGCGAGACTACC GATATCCTGAATATGACACACATTATGTCACTGAACAGC AATGAGAAGAGTCTGAAACTGTCACCAGTGAGAAGCA GAAGAAACAGCAGACTATTGGCGAGCTGACTCAGGACA CCGCCCTGACAGAGAACGACGATAGCGATGAGTATGAG GAAATGTCCGAGATGAAGGAAGGCAAAGCTTGTAAAGCA GCATGTGAGTCAGGGATCTTCATGACACAGCCAGCCA CAACTATTGAGGCTTTTCAGACGAGGAAGTGGAGATC CCCGAGGAAAAAGAGGGCGAGAACGATTCAGGGAA ATGGAATTGAGGAACAGGGAGGTGGAAGGCCAACGAGGA AAATGTGAAAGTCCACGGAGGCAGGAAGGAGAAAACA GAAATCCTGTCTGACGATCTGACTGACAAGGCCGAGGT GTCCGAAGGCAAGGCAAAATCTGCGGAGAGGCAGAA GACGGACCAGAGGGACGAGGGATGGAACCTGCGAGG AAGGCTCAAGCGGGCTGAGCATTGGCAGGACGAGGA ACGAGAGAAGGGCGAAAAGGATAAAAGGCCGCGGGAG ATGGAACGACCTGGAGAGGGCGAAAAGAGCTGGCAG	10 20 30 40
---	----------------------

【0193】

【表4-9】

AGAAGGGAGGAATGGAAGAAAAGGGACGGCGAGGAACA GGAGCAGAAAGAAAGGGAGCAGGCCACCAGAAGGAG CGCAACCAGGAGATGGAAGAGGGCGCGAGGAAGAGC ATGGCGAGGGAGAAGAGGAAGAGGGCGATAGAGAAGA GGAAGAGGAAAAAGAAGGCAGAGGAAGGGAGGAAGGAG AGAGGGCGAGGAAGTGGAAGGCGAGAGGGAAAGGAG GAAGGAGAACGGAAGAAAGAGGAAGAGCCGGCAAAG AGGAAAAGGGCGAGGAAGAGGGCGATCAGGGCGAAGG CGAGGAGGAAGAGACCGAGGCCCGGGAAAGAGAAA GAGGAGGGAGGAGAGGTGGAGGGCGAGAGGTCGAAG AGGGAAAGGGCGAGCGCGAAGAGGAAGAGGAAGAGGG CGAGGGCGAGGAAGAAGAGGGCGAGGGGGAAAGAGAG GAGGGAGAGGGCGAAGAGGAAGAGGGAGGGAGGGAAAG GGCGAAGAGGAAGGAGAGGAAGGGGAGGGAGAGGAA GAGGGGGAGGAGGGCGAGGGGGAAAGCGAGGAGGAGGAA GAAGGAGAGGGGGAAAGGCGAAGAGGAAGGGCGAGGG GAAGGAGAGGAAGAAGGGGAAGGCGAAGAGGCGAA GAGGAGGGAGAAGGGAGAGGGAGGAAGGCGAGGGCGAA GAAGGGAAGGGCGAGGAGGAAGGCGAAGAGGGAGAG GGGGAAAGGCGAGGAAGAGGAAGGCGAGGGCGAAGGAG AGGACGGCGAGGGCGAGGGAGAAGAGGAGGAAGGG ATGGGAAGGCGAAGAAGAGGAAGGCGAAGGCGAAGGC GAAGAAGAGGGCGAAGGGGAGGGCGAGGAGGGCGAAG GCGAAGGGAGGAAGAGGAAGGCGAAGGAGGAAGGCGA GGAAGAAGAGGGAGGAGGAAGGCGAGGAGGAAGGAG AGAGGGGGAGGAGGAGGGAGAAGGCGAGGGCGAAGA AGAAGAAGAGGGAGAAGTGGAGGGCGAAGTCGAGGG GAGGAGGGAGAAGGGGAAGGGAGGAAGAAGAGGG GAAGAAGAAGGGCGAGGAAAGAGAAAAAGAGGGAGA GGCGAGGAAAACGGAGAAATAGGGAAGAGGGAGGAAG AGGAAGAGGGAAAGTACCAAGGAGACAGGCGAAGGAG AACGAGCGGCAGGATGGCGAGGAATATAAGAAAGTG AGCAAGATCAAAGGATCCGTCAAGTACGGCAAGCACAA AACCTATCAGAAGAAAAGCGTGACCAACACACAGGG	10 20 30 40
--	----------------------

【0194】

【表4-10】

	AATGGAAAAGAGCAGCGAAGTAAAATGCCGTGCAGTC AAAACGGCTGCTGAAGAATGGCCAAGCGGGCTAAAA AATTCTGGAACAATGTCCTGCCACACTATCTGGAACGTGA AGTGA	
SEQ ID NO: 5	ATGAGAGAGCCGAGGAACGTGATGCCGATAGCGGAGC CGTCTCACCTTGGAAATCTAAATTGAGAGAACAA CCCTGGAAAATTCTGGTTAAGAACGACGTGCCGTGC ACCTGAGCTGTGGCGATGAGCACTCCGCCGTGGTACA GGCAACAATAAGCTGTACATGTTGGCTCTAACATTG GGGACAGCTGGCCTGGGAAGCAAGTCCGCCATCAGCA AGCCAACCTGCGTGAAGGCCCTGAAGCCCAGAGGTG AAGCTGGCCGCCTGTGGCAGAAACACACACTGGTGAG CACCGAGGGCGGCAATGTATGCCACAGGCCGGCAACA ATGAAGGACAGCTGGCCTGGCGACACAGAGGAGAG GAATACCTTCACGTGATCAGCTTCTTACCTCCGAGCA CAAGATCAAGCAGCTGTCCGCCGGCTAACACATCTG CAGCACTGACAGAGGATGGAAGACTGTTATGTGGGGC GATAATAGCGAGGGCCAGATCGGCCTGAAGAACGTGTC CAATGTGTGCGTGCCTCAGCAGGTGACCATCGGCAAGC CAGTGCCTGGATCTCTGTGGCTACTATCACAGGCC TCGTGACCACAGATGGCGAGCTGTACGTGTTGGAGAG CCTGAGAATGGAAGACTGGCCTGCCAACCAAGCTGCT GGGCAATCACCGGACACCCAGCTGGTGTCCGAGATCC CTGAGAAAGTGTACCGAGGTGGCATGTGGCGGCGAGCAC ACAGTGGTGCTGACCGAGAATGCCGTATACCTTGGC CTGGGACAGTTGCCAGCTGGCCTGGCACATTCTG TTTGAGACATCCGAGCCAAAGTGTACGAGAACATCCG CGACCAAGACAATCAGCTACATCTCTGCCGGAGAAC ACACAGCCCTGATCACCGACATGCCGTGATGTATACCT TTGGCGATGGAAGACACGGCAAGCTGGCCTGGCCTG GAGAACTTCACAAATCACTTATCCCCACCCGTGTTCT AACTTCCTGCGGTTACCGTGAAGCTGGTGGCCTGCC GGATGTCACATGGTGGTGGTGCAGCCCTCACAGGGG CGTGGCCAAGGAGATCGAGTTGACGAGATCAACGATA	Codon- optimized RPGR ORF15 coding sequence #3

10

20

30

40

【0195】

50

【表4-11】

	CATGCCCTGTCCGTGGCCACCTCCTGCCATACAGCTCCC TGACATCCGGCAATGTGCTGCAGAGAACCTGTCTGCA AGAATGAGAAGAAGGGAGAGAGAGCGGTCCCCTGACT CTTCAGCATGAGAAGAACACTGCCCTATTGAGGGA ACCCTGGGCCTGTCTGCCTGCTTCCTGCCTAACTCTGTG TTTCCAAGATGTAGCGAGAGGAATCTGCAGGAGTCTGT GCTGAGCGAGCAGGATCTGATGCAGCCAGAGGAGCCCG ACTACCTGCTGGATGAGATGACAAGGAGGCCGAGATC GACAACCTAGCACCGTGGAGAGCCTGGCGAGAAC AGATATCCTGAATATGACACACATCATGTCCCTGAAC TAATGAGAAGTCTCTGAAGCTGAGCCCAGTGCAGAAC AGAAGAAGCAGCAGACCATCGGCGAGCTGACCCAGGA CACAGCCCTGACCGAGAACGACGATTCTGATGAGTATG AGGAGATGAGCGAGATGAAGGAGGGCAAGGCCTGTAA GCAGCACGTGTCCCAGGGCATCTCATGACCCAGGCCAG CCACCACAATCGAGGCCTTCTGACGAGGAGGTGGAG ATCCCCGAGGAGAACGGAGGGCGCCGAGGATAGCAAGG GCAATGGCATCGAGGAGCAGGAGGTGGAGGCCAACGA GGAGAATGTGAAGGTGCACGGCGGAAGAAAGGAGAAC ACAGAGATCCTGTCCGACGATCTGACCGACAAGGCCGA GGTGTCCGAGGGCAAGGCCAAGTCTGTGGAGAGGCAG AGGATGGACCTGAGGGACGCGCGATGGAACATGTGAG GAGGGCTCTGGAGCAGAGCACTGGCAGGATGAGGA GAGAGAGAACGGCGAGAACGGATAAGGGCAGAGGCGAG ATGGAGAGGCCTGGAGAGGGAGAGAACGGAGCTGGCAG AGAAGGAGGAGTGGAGAACAGAGGGATGGCGAGGAGCA GGAGCAGAACGGAGAGAGCAGGGCACCAGAAAGAG AGGAACCAGGAGATGGAAGAGGGCGAGGAGGAG ACGGAGAGGGAGAGGAGGAGGAGGGCGATAGAGAAC AGAGGGAGAACGGAGAGGAGGAGGGCAAGGAGGAGGG AGAGGGAGAACAGTGGAGAGGAGAGAACGGAGAAC GGAAGGAGAGCGCAAGAACGGAGAACAGAGCAGGCAAG GAGGAGAACGGAGAGGAGGAGGGCGATCAGGGAGAAC GAGAGGAGGAGGAGAACAGAACGGAGCGCGAGGAAAAA	10 20 30 40
--	--	----------------------

【0196】

【表4-12】

	AGAGGAGGGCGGCAGGTCGAGGGCGGCAGGTCGAA GAGGGCAAGGGCGAAAGAGAAGAAGAGGAGGAGGAA GGCGAGGGCGAAGAACAGAGGAGGGCGAGGGCGAGGAAG AAGAGGGCGAGGGCGAAGAGGAAGAACAGGAGAGGGCAA GGCGAGGAGGAGGGCGAAGAACAGGCGAAGGGGAGGAG GAGGGCGAAGAGGGAGAGGGCGAGGGCGAGGAGGAAG AAGCGAAGGAGAACAGCGAAGAACAGGAGAAGGAG AGGGAGAACAGGAGGAGGCGAACAGGAGAGGGAGGAG AGGAAGGAGAACAGGGAGGGCGAACAGGAGGAGGAG AAGGCAAGGGAGAGGAGGGCGAGGAAGGAGAACAGGAG GCGAACAGCGAGGAGGAGGAAGGAGAGGGAGAACAGGAG AAGATGGAGAACAGGAGAGGGCGAGGAAGAACAGGAGAACAGGAG GTGGGAGGGCGAGGAAGAGGAGGGAGAACAGGAGAACAGGAG GAAGAACAGGAGAACAGGCGAGGGAGAACAGGAGAACAGGAG GGAGAACAGGGAGAACAGGAGGGAGAACAGGAGAACAGGAG GAGGAGGAAGAGGGAGAACAGAACAGGCGAACAGGAGAACAGGAG GGAGAACAGCGAGGAAGAACAGGAGAGGGAGAACAGGGAG GAGGAGGAAGAGGGCGAGGTGGAAGGAGAGGTGGAGG GCGAACAGGGAGAACAGGAGAACAGGAGAACAGGAGAACAGGAG GAGAGGAGGAGGGAGAACAGGAGAACAGGAGAACAGGAG AGGGCGAGGAGAACAGAACAGGAGAACAGGAGAACAGGAG AGAACAGGAGGGCAAGTACCGAGAACAGGCGAGGAG GAGAACAGCGGCAGGATGGCGAGGAGTATAAGAACAGG TGTCCAAGATCAAGGGCTCTGTGAAGTACGGCAAGCAC AAGACCTATCAGAACAGAACAGGAGAACAGGAGAACAGGAG GCAATGGCAAGGAGCAGCGCAGAACAGATGCCGTGCAAG TCCAAGCGGCTGCTGAAGAACATGCCAACACTATCTGAACT AAAATTCTGAAACAATGTCCTGCCACACTATCTGAACT GAAATAA	10 20 30
SEQ ID NO: 6	ATGAGAGAACCCGAGGAACGTGATGCCGTACTCTGGCGC CGTGTTCACCTTCGGCAAGAGCAAGTTCGCCGAGAAC ACCCCGGCAAGTCTGGTCAAGAACAGCAGCTGCCAGTG CACCTGAGCTGTGGCGACGAACATTCTGCCGTGGTCACC GGCAACACAACAGCTGTACATGTTGGCAGCAACAACTG	Codon- optimized RPGR ORF15

40

20

30

40

【0197】

50

【表4-13】

	GGGCCAGCTGGCCTGGATCTAAGAGGCCATCAGCA AGCCTACCTCGGTGAAGGCCCTGAAGCCTGAGAAAGTG AAGCTGGCCGCCCTCGGGCAGAAATCACACCCCTGGTTCT ACCGAAGGCAGCAACGTGTACGCCACCGGGCGAAACAA TGAAGGACAGCTGGACTGGCGACACCGAGGAAAGA AACACCTTCCACGTGATCAGCTTTTACCAAGCGAGCAC AAGATCAAGCAGCTGAGGCCGGCAGCAATACCTCTGC TGCCCTGACAGAAGATGGCCGGCTGTTATGTGGGGCG ACAATTCTGAGGGCCAGATCGGACTGAAGAACGTGTCC AATGTGTGCGTGCAGCAAGTGACAATCGGCAAGCC TGTGTCCTGGATCAGCTGGCTACTACCAACAGCGCCTT CGTGACAACAGACGGCGAGCTGTATGTGTCGGCGAGC CCGAGAATGGCAAGCTGGACTGCCAATCAGCTGCTG GGCAACCACAGAACCCCTCAGCTGGTGTGAGATCCC CGAAAAAAGTGATCCAGGTGGCCTGTGGCGAGAGCACA CAGTGGTGTGACAGAGAATGCCGTGTACACATTGGC CTGGGCCAGTTGGCAACTCGGACTGGCACCTCCTG TTCGAGACAAGCGAGCCAAAGTGTGAGAACATCCG GGACCCAGACCATCAGCTACATCTTGGCGAGAAC ACACAGCCCTGATCACAGACATCGGCTGATGTATA TCGGCGACGGCAGACACGGCAAACCTGGCCTGGCCTG GAAAACCTCACCAACCACCTCATCCCTACTCTGTGCAGC AACTTCCATGGTGGTTTCAGCTGAAACTGGTGGCCTGCG GGCTGCCACATGGTGGTTTGCCGCTCCTCATAGAGGC GTGGCCAAAGAGATTGAGTTGACGAGATCAACGATAC CTGCCTGAGCGTGGCACCTTCTGCCTACAGCTCT GACCAGCGGCAATGTGCTGCAGAGGACACTGAGCGCCA GAATGCGCAGACGGAAAGAGAGAGAAGCCCCGACAG CTTCAGCATGCGGAGAACCCCTGCCCTCAATCGAGGGAA CACTGGCCTGAGCGCCTGCTTCTGCCTAATAGCGTGT TCCCCAGATGCAGCGAGCGGAACCTGCAAGAGTCTGTG CTGAGCGAGCAGGACCTGATGCAGCCTGAGGAACCCGA CTACCTGCTGGACGAGATGACCAAAGAGGGCGAGATCG ACAAACAGCAGCACCGTGAATCTGGCGAGACAACC	coding sequence #4
		10
		20
		30
		40

【0198】

【表4-14】

	GACATCCTGAACATGACCCACATCATGAGCCTGAACAG CAACGAGAAGTCTCTGAAGCTGAGCCCCGTGCAGAACG AGAAGAAGCAGCAGACCATCGGAGAGCTGACCCAGGA TACCGCTCTGACCGAGAACGACGACAGCGACGAGTACG AAGAGATGAGCGAGATGAAGGAAGGCAAGGCCTGCAA GCAGCACGTGTCCCAGGGCATCTTATGACCCAGCCTGC CACCACCATCGAGGCCTTCCGACGAGGAAGTGGAAA TCCCCGAGGAAAAAGAGGGCGCCGAGGACAGCAAAGG CAACGGCATTGAGGAACAAGAGGTGGAAGCCAACGAA GAGAACGTGAAGGTGCACGGCGACGGAAAGAGAAAA CAGAGATCCTGAGCGACGACCTGACCGACAAGGCCGAA GTGTCTGAGGGCAAAGCCAAGTCTGTGGGCGAAGCCGA GGACGGCCCAGAAGGCAGAGGCACGGAACATGTGAA GAGGGATCTAGCGGAGCCGAGCAGTGGCAGGACGAAG AGAGAGAGAAAGGCAGAGAAGGACAAAGGCAGGGCGA GATGGAAAGACCTGGCGAGGGCGAAAAAGAGCTGGCC GAGAAAGAGGAGTGGAAAGAACCGCACGGCGAAGAAC AAGAGCAGAAAGAACCGAGCAGGGCCACCAGAAAGA AAGAAATCAAGAGATGGAAGAACAGGCAGGCGAGGAAGAA CACGGCGAAGGGGAAGAACAGAGGAAGGCACCGAGAGG AAGAAGAAGAAAAAGAACCGAAGGCAAAGAGGAAG GCGAGGGCGAAGAGGTGGAAGGGCGAGCGGGAAAAAGA AGAGGGCGAGCGCAAGAAAGAACAGAACAGGCCGGCAAA GAAGAGAAGGGCGAAGAACAGAACAGGCGATCAAGGCGAAG GCGAGGAAGAACCGAACGGCCCGGAGAACAGAGAA AGAGGAAGGCCCGAAGTTGAAGGCAGGCGAGGTGGAA GAAGGCAGGGCGAGAGAACAGAACAGGAGAACAGGAA GGCGAAGGGGAAGAACAGAACAGGCGAGGGCGAAGAGG AAGAACCGAAGGCAGGAGAACAGAACAGGCGAAGGCAA GGCGAAGAGGAAGGCAGAACAGAACAGGCGAGGGCGAAGAAC GAGGGAGAACAGGCAGGGCGAGAACAGAACAGGCGAAGGAGG AAGGCAGAACCGAAGGCAGGAGAACAGAACAGGCGAAGGCGA AGGCAGAACAGAACAGAACAGAACAGGCGAAGGGGAAGAAC GAAGGCAGAACCGAAGGCAGGGAGAACAGAACAGGCGAAG	10 20 30 40
--	---	----------------------

【0199】

【表4-15】

	GCAAAGGGAAAGAAGAGGGCGAAGAAGGGCGAAGGC AGGCAGGAAGAAGAAGAAGGCAGAGCGAAGGCAGAAC GGCGAAGGCAGGGCGAAGAGGAAGAGGGCGAGTGGG AGGGCGAAGAAGAAGAAGGCAGAGCGAAGGCAGGGCGAAGA GGAAGGCAGAGCGAAGGCAGAGAAGGCAGGGCGAA GGCGAAGAAGAAGAAGGCAGAGCGAAGGCAGAGAAG AGGAAGGGAAAGAAGAAGGCAGAGAGGAAGGCAGGG GCGAAGAAGAAGGCAGAGCGAGGGCGAAGAAGAGGA AGAGGGCGAAGTGAAGGGAAAGTGAAGGGCGAAGAAG GGCGAAGGCAGGGGAAGAAGAGGAAGGCAGGGAG AGGGCGAAGAACCGAGAAAGAAGGCAGGGGAAGA GAACCGCCGGAACAGAGAAGAGGAAGAAGAGGAA GGCAAGTACCAAGAGACAGGCAGGAAGAGAACGAGC GGCAGGATGGCGAAGAGTACAAGAAGGTGTCCAAGATC AAGGGCAGCGTGAAGTACGGCAAGCACAAGACCTACCA GAAAAAGTCCGTGACCAACACACAAGGCAATGGCAAA GAACAGCGGAGCAAGATGCCGTGCAGTCCAAGAGACT GCTGAAGAATGGCCCCAGCGGCAGCAAAAGTTCTGGA ACAACGTGCTGCCCACTACCTGGAACGTGAAGTGA	
SEQ ID NO: 7	GGGCCCCAGAACCTGGTGGTTGTTGTCCTTCTCAGGG GAAAAGTGAGGCAGGCCCTGGAGGAAGGGGCCGGC AGAATGATCTAACGGATTCCAAGCAGCTCAGGGATT GTCTTTCTAGCACCTCTGCCACTCCTAACGCGTCCTC CGTGACCCCGGCTGGATTAGCCTGGTGCTGTCA CCCCGGCTCCAGGGCTCCAGTGGTCCCCAGGGAA CCCTCGACAGGGCCAGGGCGTCTCTCGTCCAGCAAG GGCAGGGACGGGCCACAGGCAAGGGC	GRK1 long (GRK1L) sequence
SEQ ID NO: 8	GGGCCCCAGAACCTGGTGGTTGTTGTCCTTCTCAGGG GAAAAGTGAGGCAGGCCCTGGAGGAAGGGGCCGGC AGAATGATCTAACGGATTCCAAGCAGCTCAGGGATT GTCTTTCTAGCACCTCTGCCACTCCTAACGCGTCCTC CGTGACCCCGGCTGGATTAGCCTGGTGCTGTCA CCCCGG	GRK1S short (GRK1S) sequence

10

20

30

40

【0200】

50

【表4-16】

SEQ ID NO: 9	CTGTGCCTCTAGTTGCCAGCCATCTGTTGTTGCCCTC CCCCGTGCCTCCTGACCTGGAAAGGTGCCACTCCCAC TGTCCCTTCCAATAAAAATGAGGAAATTGCATCGCATTG TCTGAGTAGGTGTCATTCTATTCTGGGGGGTGGGTGGG GCAGGACAGCAAGGGGGAGGATTGGGAAGACAATAGC AGGCATGCTGGGATCGGGTGGCTATGG	bGHpA sequence
SEQ ID NO: 10	GATCCAGACATGATAAGATACATTGATGAGTTGGACA AACCACAACATAGAATGCAGTGAAAAAAATGCTTATT GTGAAATTGTGATGCTATTGCTTATTGTAACCATTAT AAGCTGCAATAAACAAAGTT	SV40pA sequence
SEQ ID NO: 11	AATAAAGGAAATTATTCATTGCAATAGTGTGTTGGA ATTTTTGTGTCTCTCA	rbGlobpA sequence
SEQ ID NO: 12	GGGTGGCATCCCTGTGACCCCTCCCCAGTGCCTCTCCTG GCCCTGGAAGTTGCCACTCCAGTGCCACCAGCCTTGTC CTAATAAAATTAAAGTTGCATCATTGTCTGACTAGGTG TCCTCTATAATATTATGGGTGGAGGGGGTGGTATGG AGCAAGGGGCAAGTTGGGAAGACAACCTGTAGGGCCTG CGGGGTCTATTGGGAACCAAGCTGGAGTGCAGTGGCAC AATCTTGGCTCACTGCAATCTCCGCCTCTGGGTCAAG CGATTCTCCTGCCTCAGCCTCCCGAGTTGTTGGGATTCC AGGCATGCATGACCAGGCTCAGCTAATTTGTTTTTT GGTAGAGACGGGGTTTACCCATATTGCCAGGCTGGTC TCCAACCTCTAACTCAGGTGATCTACCCACCTTGGCCT CCCAAATTGCTGGGATTACAGGCGTGAACCACGTCTCCC TTCCCTGTCTT	hGHpA sequence
SEQ ID NO: 13	GTAAGTTAGTCTTTGTCTTTATTCAGGTCCCAGGAT CCGGTGGTGGTGCAAATCAAAGAACTGCTCCTCAGTGG ATGTTGCCTTACTTCTAG	SV40 intron sequence

10

20

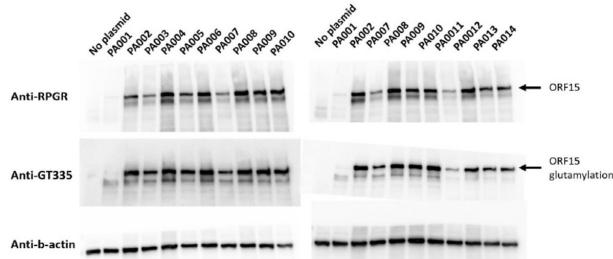
30

40

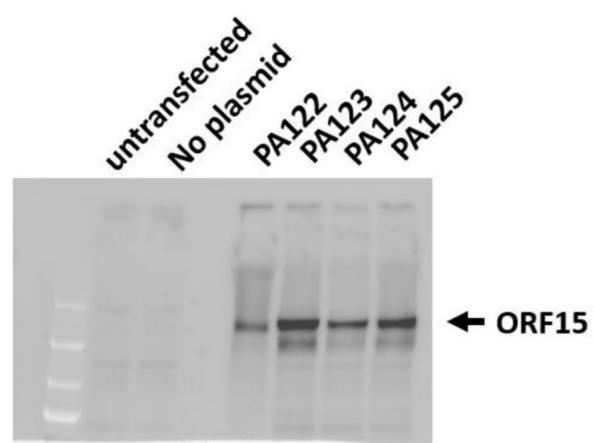
50

【図面】

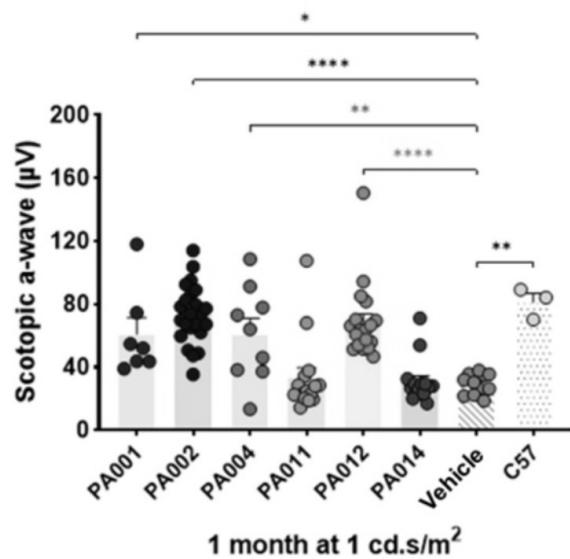
【図 1 A】



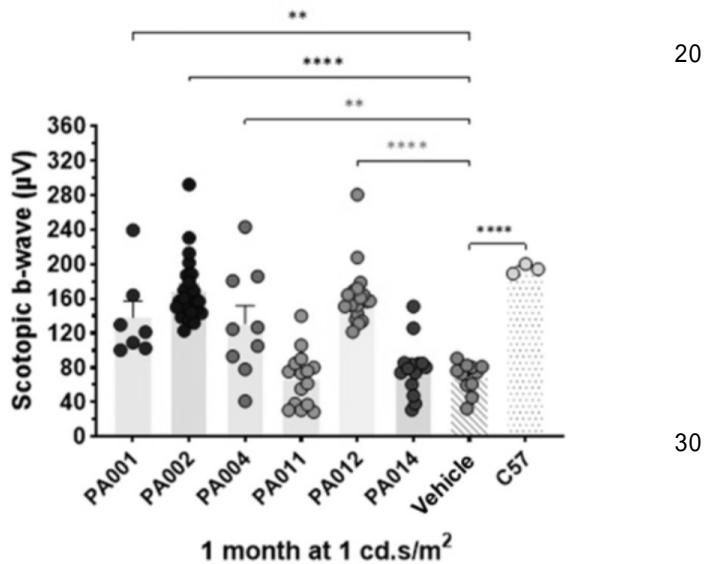
【図 1 B】



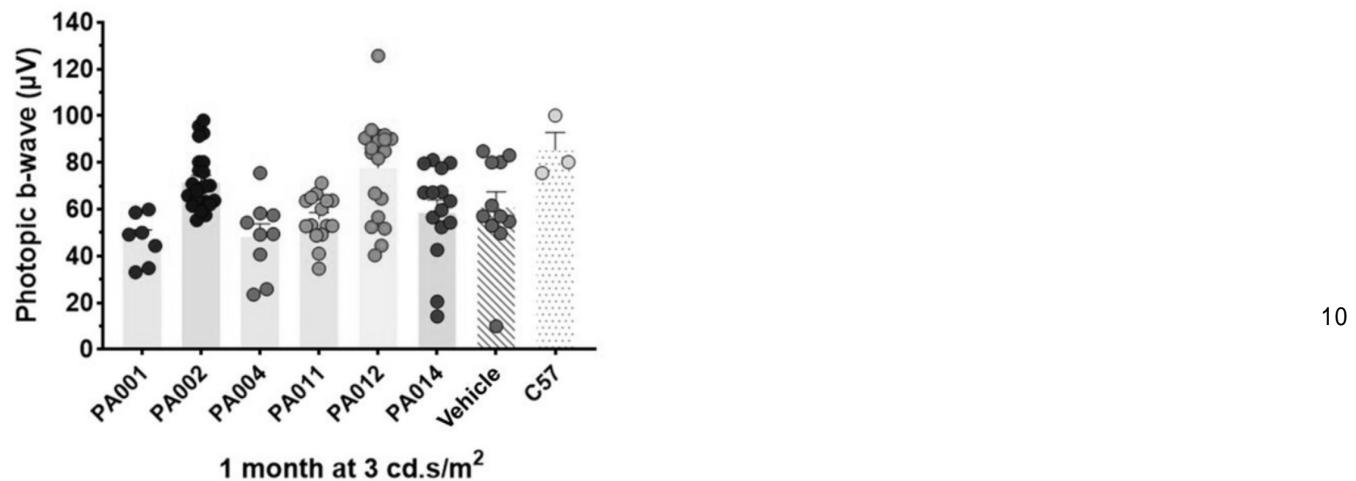
【図 2 A】



【図 2 B】



【図2C】



【配列表】

20235422790000001.app

10

20

30

40

50

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/IB2021/000509
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER A61K 38/46(2006.01)i; C12N 15/86(2006.01)i; C07K 14/47(2006.01)i		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) A61K; C12N; C07K		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) DWPI; VEN; CNABS; USTXT; WOTXT; CNKI; ISI WEB OF SCIENCE; STN; PUBMED; GENBANK; X-linked retinitis pigmentosa, XLRP, RPGR, ORF15, AAV, rep, insect, capsid, promoter, CMV, CAG, PGK, EF1, IRBP, GRK, poly A, inverted terminal repeat, ITR, RPGRIP1, SEQ ID NO:1-13		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 2018036385 A1 (THE TRUSTEES OF THE UNIVERSITY OF PENNSYLVANIA et al.) 08 February 2018 (2018-02-08) claims 1-2, description paragraphs 32-55, figures 1-5, SEQ ID NO:2-4	1-46
X	WO 2015168666 A2 (GENZYME CORPORATION) 23 December 2015 (2015-12-23) claims 1-547	1, 3, 10-46
Y	WO 2015168666 A2 (GENZYME CORPORATION) 23 December 2015 (2015-12-23) claims 1-547	2, 4-9
X	WO 2018022905 A2 (THE REGENTS OF THE UNIVERSITY OF CALIFORNIA et al.) 01 February 2018 (2018-02-01) claims 1-33, description paragraphs 54-147	1, 3, 10-46
Y	WO 2018022905 A2 (THE REGENTS OF THE UNIVERSITY OF CALIFORNIA et al.) 01 February 2018 (2018-02-01) claims 1-33, description paragraphs 54-147	2, 4-9
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: “A” document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance “E” earlier application or patent but published on or after the international filing date “L” document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) “O” document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means “P” document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		
“T” later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention “X” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone “Y” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art “&” document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 22 November 2021		Date of mailing of the international search report 08 December 2021
Name and mailing address of the ISA/CN National Intellectual Property Administration, PRC 6, Xitucheng Rd., Jimen Bridge, Haidian District, Beijing 100088, China		Authorized officer LI,En
Facsimile No. (86-10)62019451		Telephone No. 86-(10)-53961874

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/IB2021/000509

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	DENG, W.T. et al. "Stability and Safety of an AAV Vector for Treating RPGR-ORF15 X-Linked Retinitis Pigmentosa" <i>HUMAN GENE THERAPY</i> , Vol. 26, No. 9, 15 June 2015 (2015-06-15), pages 593-602	2, 4-9
Y	GIACALONE, J.C. et al. "Development of a Molecularly Stable Gene Therapy Vector for the Treatment of RPGR-Associated X-Linked Retinitis Pigmentosa" <i>HUMAN GENE THERAPY</i> , Vol. 30, No. 8, 18 May 2019 (2019-05-18), pages 967-974	2, 4-9
A	CN 110461368 A (THE REGENTS OF THE UNIVERSITY OF CALIFORNIA) 15 November 2019 (2019-11-15) the whole document	1-46
A	OU, C. et al. "Research progress in the treatment of retinitis pigmentosa" <i>INTERNATIONAL EYE SCIENCE</i> , Vol. 18, No. 9, 30 September 2018 (2018-09-30), pages 1608-1611	1-46

10

20

30

40

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/IB2021/000509

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:
- forming part of the international application as filed:
 - in the form of an Annex C/ST.25 text file.
 - on paper or in the form of an image file.
 - furnished together with the international application under PCT Rule 13ter.1(a) for the purposes of international search only in the form of an Annex C/ST.25 text file.
 - furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search only:
 - in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13ter.1(a)).
 - on paper or in the form of an image file (Rule 13ter.1(b) and Administrative Instructions, Section 713).
2. In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that forming part of the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.
3. Additional comments:

10

20

30

40

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/IB2021/000509

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. Claims Nos.: **45**
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
 - [1] Claim 45 relates to a method of treating X-linked retinitis pigmentosa, and therefore it does not warrant an international search according to the criteria set out in PCT Rule 39.1(iv). An international search is still carried out on the basis of the use of the pharmaceutical composition of any one of claim 45 for the manufacturing of a medicament.
2. Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

10

20

30

40

INTERNATIONAL SEARCH REPORT Information on patent family members				International application No. PCT/IB2021/000509		
Patent document cited in search report		Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)		Publication date (day/month/year)	
US	2018036385	A1	08 February 2018	NZ 704275 A	30 September 2016	
				EP 2872183 A4	09 December 2015	10
				AU 2013287281 B2	26 April 2018	
				EP 2872183 A1	20 May 2015	
				CA 2878171 A1	16 January 2014	
				AU 2013287281 A1	19 February 2015	
				WO 2014011210 A1	16 January 2014	
				US 10383922 B2	20 August 2019	
				JP 6199965 B2	20 September 2017	
				CN 105120901 A	02 December 2015	
				EP 2872183 B1	26 September 2018	
				US 9770491 B2	26 September 2017	
				JP 2015523379 A	13 August 2015	
				CA 2878171 C	27 April 2021	
				US 2015202269 A1	23 July 2015	
WO	2015168666	A2	23 December 2015	IL 248102 D0	30 November 2016	20
				EP 3137497 B1	07 April 2021	
				BR 112016025263 A2	20 February 2018	
				SG 10201809739Q A	28 December 2018	
				UY 36106 A	30 November 2015	
				CR 20160555 A	27 January 2017	
				WO 2015168666 A2	05 November 2015	
				GT 201600227 A	22 January 2018	
				JP 2017518271 A	06 July 2017	
				EA 034355 B1	30 January 2020	
				CA 2946593 A1	05 November 2015	
				AU 2015252797 B2	15 October 2020	
				CL 2018000170 A1	29 June 2018	
				EA 201692206 A1	31 March 2017	30
				JP 2020164540 A	08 October 2020	
				JP 6741591 B2	19 August 2020	
				AU 2021200242 A1	18 March 2021	
				MX 2016014220 A	06 February 2017	
				EP 3137497 A2	08 March 2017	
				US 2017096683 A1	06 April 2017	
				US 2021189430 A1	24 June 2021	
				KR 20160147974 A	23 December 2016	
				PE 20170260 A1	12 April 2017	
				DO P2016000280 A	30 November 2016	
				AU 2015252797 A1	17 November 2016	
				CN 106661591 A	10 May 2017	
				SG 11201607991W A	28 October 2016	40
				TW 201625792 A	16 July 2016	
				AU 2015252797 C1	22 April 2021	
				SG 10201912977R A	27 February 2020	
				US 10982228 B2	20 April 2021	
				CL 2016002713 A1	11 August 2017	
				TW I686476 B	01 March 2020	
				PH 12016502046 A1	06 February 2017	
WO	2018022905	A2	01 February 2018	EP 3827812 A1	02 June 2021	

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (January 2015)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT Information on patent family members				International application No. PCT/IB2021/000509	
Patent document cited in search report	Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)		Publication date (day/month/year)	
		MX	2019001276	A	13 June 2019
		EP	3490531	A2	05 June 2019
		BR	112019001815	A2	07 May 2019
		EP	3490531	A4	03 June 2020
		WO	2018022905	A3	15 March 2018
		KR	20190034239	A	01 April 2019
		CA	3029833	A1	01 February 2018
		JP	2019521696	A	08 August 2019
		CN	109640949	A	16 April 2019
		AU	2017302013	A1	07 February 2019
CN 110461368 A 15 November 2019		JP	2020528734	A	01 October 2020
		WO	2019006182	A1	03 January 2019
		AU	2018290954	A1	29 August 2019
		EP	3645052	A1	06 May 2020
		KR	20200022372	A	03 March 2020
		MX	2019010910	A	07 November 2019
		US	2020121746	A1	23 April 2020
		BR	112019019015	A2	14 April 2020
		CA	3053154	A1	03 January 2019

フロントページの続き

(51)国際特許分類 F I テーマコード(参考)

C 1 2 N	7/01 (2006.01)	C 1 2 N	7/01
A 6 1 K	38/17 (2006.01)	A 6 1 K	38/17
A 6 1 P	27/02 (2006.01)	A 6 1 P	27/02
A 6 1 K	31/711 (2006.01)	A 6 1 K	31/711

G,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,
,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IR,IS,IT,JO,JP,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,
MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,
RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,ZW

1 2 5 シート 2 3 0 3

F ターム(参考) 4B065 AA93X AB01 AC14 BA02 CA24 CA44 CA46
4C084 AA13 BA01 BA08 BA22 BA23 CA18 CA53 DC50 MA58 NA14
ZA331
4C086 AA01 AA02 EA17 EA18 MA02 MA04 NA14 ZA33
4H045 AA10 AA20 AA30 BA10 CA01 CA40 EA20 FA74