

(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)		インスパイラル 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,A T,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,G N,GQ,GW,KM,ML,MR,NE,SN,TD,TG), AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,B	(74)代理人	110003797
	最終頁に続く		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
			セッツ州 ベッドフォード ペイトリオッ
			ツ・パーク 1
		(72)発明者	チャオ, ウェイ
			アメリカ合衆国 02110 マサチュー
			セッツ州 ボストン ハイ・ストリート
			最終頁に続く

(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2A

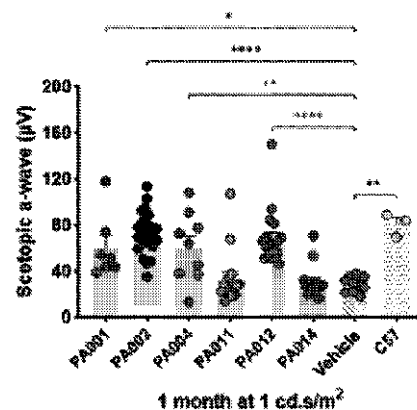


FIG. 2A

**【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 ( 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。

**【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 R P G R O R F 1 5 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 9 0 % 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 9 0 % 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 9 0 % 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 9 0 % 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 9 0 % 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 9 0 % 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 S f 9 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 p 1 0 プロモーターまたは p o l h 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 p 1 0 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 p o l h プロモーターであると言った。

10

20

30

40

50

## 【請求項 14】

請求項 1 の組成物（そこでは R P E 65 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 11 - 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上述の眼に特有のプロモーターは選択される）。

## 【請求項 15】

請求項 14 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 90 % の同一性を持っているシーケンス：7 - 8 .

10

## 【請求項 16】

請求項 15 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 90 % の同一性を持っているシーケンス：7 .

## 【請求項 17】

請求項 15 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 90 % の同一性を持っているシーケンス：8 .

20

## 【請求項 18】

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言いました。

## 【請求項 19】

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言いました。

## 【請求項 20】

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 21】

請求項 20 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 22】

請求項 20 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 23】

請求項 20 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 24】

請求項 23 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 25】

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言いました。

40

## 【請求項 26】

請求項 18、19、または 25 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 - 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 - 12 .

## 【請求項 27】

請求項 26 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 90 % の同一性を持っているシーケンス：9 .

## 【請求項 28】

50

請求項 26 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）：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 。

【請求項 29】

請求項 26 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）：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 。

【請求項 30】

請求項 26 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）：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 。

【請求項 31】

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 32】

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（ITR）シーケンスをさらに含むと言いました。

【請求項 33】

請求項 32 の組成物、そこで、逆方向末端反復（ITR）シーケンスがアデノ随伴ウイルス（AAV）であると言った、2 つの ITR シーケンスをセロタイプで分けます。

【請求項 34】

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 番目のシーケンスをさらに含むと言いました。 20

【請求項 35】

請求項 34 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：RPGRI P 1、RPGRI P 1 L、SMC 1、SMC 3、Whirlin、PDE と RAB 8。

【請求項 36】

請求項 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。

【請求項 37】

請求項 36 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 38】

請求項 36 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 39】

イントロンをさらに含む、請求項 21 に記載の組成物。

【請求項 40】

請求項 39 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）：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 。

【請求項 41】

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（AAV）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 42】

昆虫細胞へ請求項 1 - 41 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（rAAV）粒子。 40

【請求項 43】

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

【請求項 44】

X を処置するためのシステムは、請求項 42 または 43 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（rAAV）粒子を含む色素性網膜炎をリンクしました。

【請求項 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、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。 10

【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。 20

【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。 30

【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レブ・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番目のシーケンス、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。 40

【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 50

つかの実施形態では、CH1配列はSEQ ID NO: 86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、CH1配列はSEQ ID NO: 86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p10プロモーターまたはpolh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p10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polh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、RPE 65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(CRALBP)、ネズミ科の11-cis-レチノール脱水素酵素(RDH)プロモーター、ロドプシン・プロモーター、Rhodopopsin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、卵黄様黄斑ジストロフィ2プロモーターとInterphotoreceptor類網膜の結合蛋白質(IRBP)プロモーターから構成される群から選択されます。

10

#### 【0008】

いくつかの実施形態では、ロドプシン・キナーゼ(GRK1)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(GRK1)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(GRK1)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。

20

#### 【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、2A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ーである。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。

30

#### 【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: 9-12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: 9-12。幾つかの実施形態では、CH1配列はSEQ ID NO: 86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、CH1配列はSEQ ID NO: 86を含む。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。幾つかの実施形態では、CH1配列はSEQ ID NO: 86を含む。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。幾つかの実施形態では、CH1配列はSEQ ID NO: 86を含む。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。

40

#### 【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(ITR)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(ITR)

50

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: RPGRIP1、RPGRIP1L、SMC1、SMC3、Whirlin、PDE と RAB8。

【0012】

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ナーである。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

【0013】

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 SEQ ID NO: 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。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 (AAV) 血清型 5 シーケンスを含みます。

【0014】

本明細書に開示された、組み換えのアデノ随伴ウイルス (rAAV) 粒子です。態様では、組み換えのアデノ随伴ウイルス (rAAV) 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

【0015】

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 (rAAV) 粒子、と薬学的に許容可能な担体も含みます。

【0016】

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。

【0017】

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。

30

【図面の簡単な説明】

【0018】

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实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。

【0019】

【図 1 A】コドンに最適化された RPGR 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 RPGR ORF 15 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 RPGR ORF 15 cDNA から発現された組み換えの RPGR ORF 15 タンパク質の西の汚れの代表的なイメージが HEK293T 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。RPGR ORF 15 (ORF 15) タンパク質は抗 RPGR 抗体を用いて確認されました。glutamylated された RPGR ORF 15 タンパク質 (ORF 15) glutamylation は抗 GT335 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 RPGR ORF 15 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 RP

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。

10

【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ないことを示します。

【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ないことを示します。

20

【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ないことを示します。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 ( ビヒクル ) 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ルに対する一元配置分散分析を用いて行なわれました。\*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.001$ , \*\*\*  $p < 0.0001$ , \*\*\*\*  $p < 0.00001$ 。

30

【発明を実施するための形態】

【0020】

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。

【0021】

他に指示がない限り、本明細書に開示された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 DNA 再結合技術の従来技術を含みます。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 . テーラー 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。

40

【0022】

定義

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ある。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。

10

#### 【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。

20

30

#### 【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peptidomimetics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/または不自然か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。

40

#### 【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

50

こ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えます。

#### 【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えます。

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blosum45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パ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ない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ことが、理解されるに違いありません。

30

40

#### 【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

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」通常の下での自然界、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るか、またはそれを第2に関連が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。

10

20

#### 【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、枝分け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

30

40

#### 【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

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が、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、どれが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ることができます。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、または繊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えます：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。

#### 【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でおよび/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 a d v e r s e 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、霊長類、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。

#### 【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。

#### 【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、雌の生じてそうではありません。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。

#### 【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、研究は細胞の繊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。繊毛は、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。繊毛は聴力、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

おける、網膜における主として示され、繊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DNA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AAVベクター

アデノ随伴ウイルス(AAV)パルボウイルス、単一の鎖DNA(ssDNA)ウイルスに属します。AAVの短縮していないゲノムは、レブおよびキャップと呼ばれる2つの読取枠(ORF)を包含するウイルスの両端で逆方向末端反復(ITR)DNA塩基配列を含んで、およそ4.7キロベース(kb)を含んでいます。

10

【0047】

「AAV逆方向末端反復」(ITR)シーケンスは、自然な単鎖のAAV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。ITRは、対称的なAAV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DNA合成起源として用いることができ、組み換えのAAVベクターの必要な構造の構成要素です。

【0048】

「レブ」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のレブ・タンパク質rep78、rep68、rep52と、AAVの生活環のために必要なrep40のエンコード。「キャップ」遺伝子は、AAVカプシド・タンパク質VP1、VP2とVP3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。AAVカプシド・タンパク質VP1、VP2とVP3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AAVカプシドを形成するのに有能です。

20

【0049】

AAV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。最も重要なことには、AAVは人間の既に存在しますが、現在の調査はAAV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、AAV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】

現在まで、13のAAV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TABLEあるによれば、異なるAAV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AAV血清型中で、血清型2(AAV2)は最も広く研究されて用いられているAAV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

【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

## 【0052】

本明細書に用いられるような用語「組み換えの A A V ベクター ( r A A V 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 A A V から誘導していない核酸配列 ) は 2 つの A A V I T R シーケンスによる側面に位置しました。A A V レブとキャップ・タンパク質を示す宿主細胞においてある時、r A A V ベクターは折れ重なり、A A V ウイルス粒子へパッケージにすることができます。

20

## 【0053】

用語「組み換えの A A V ( r A A V ) ウイルス」または本明細書に用いられるような「r A A V ウイルス粒子」は、A A V ウイルス粒子へ少なくとも 1 つの A A V カプシド・タンパク質によるカプセルに入れられた r A A V ベクターを表します。r A A V ウイルス粒子産生の現在用いられている宿主細胞、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。r A A V ウイルス粒子は哺乳動物細胞に r A A V 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 r A A V 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 A A V を生成するために、A A V 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。

30

## 【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キュラー DNA ウイルスで、90 kb - 230 kb 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、Urabe らが、Sf9 細胞と成功裡に準備した r A A V ウイルス粒子を共同感染させるために A A V のレブ遺伝子、キャップ遺伝子と I T R 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

40

50

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 ウイ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、バキュロウイルス発現システムを用いる r A A V ウイ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 ウイルス粒子を調製された 2 つのバキュロウイルス・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 つのバキュロウイルス・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、別のバキュロウイルス・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イルスは標的遺伝子を運ぶ r A A V ウイルス粒子を生む宿主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 ウイ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、強いバキュロウイ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イ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 ウイルス粒子が生まれます。

10

20

【 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 ウイ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せん、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。

30

【 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、バキュロウイルス・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。

40

【 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、しかしベ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 】

50



## 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えます。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AAV2i8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-R

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 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 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 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 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 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 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 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 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 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 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、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) ヘクロンを作られるかもしれないか、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 ヘクロ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 ヘクロ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 ヘクロ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 ヘクロ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えます。

## 【 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RPGR ORF15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

【 0 0 7 2 】

【 0 0 7 3 】

【 0 0 7 4 】

いくつかの実施形態では、ポリAシーケンスは、ヒトRPGR ORF15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；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 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 .

10

#### 【 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 .

20

30

#### 【 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 ウィルス粒子へ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えます。いくつかの実施形態では、レブ・タンパク質は r e p 7 8、r e p 6 8、r e p 5 2 または r e p 4 0 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 ウィルス粒子へパッケージにされることをそれが可能にすることができる限り、レブ・タンパク質は r e p 7 8、r e p 6 8、r e p 5 2 または r e p 4 0 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、r e p 7 8、レブ 6 8、r e p 5 2 またはレブ 4 0 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、r e p 7 8、レブ 6 8、r e p 5 2 またはレブ 4 0 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 r e p 7 8 または r e p 5 2 を含みます。いくつかの実施形態では、レブ・タンパク質は r e p 7 8 またはレブの 4 0 を含みます。いくつかの実施形態では、レブ・タンパク質は r e p 6 8 または r e p 5 2 を含みます。いくつかの実

40

50

施形態では、レブ・タンパク質はrep 68またはrep 40を含みます。

【0077】

rep 78、rep 68、rep 52またはrep 40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、rep 78はAAV血清型ある(AAV 1)から誘導しているかもしれません、AAV血清型2(AAV 2)、AAV 2変異体(例えばAAV 2.7m8、AAV 2(コッドY-F)またはAAV 2tYF)、AAV血清型3(血清型3Aと3Bを含むAAV 3)、AAVは4(AAV 4)、AAV血清型をセロタイプで分けます。5(AAV 5)、AAV血清型. 6(AAV 6)、AAV血清型. 7(AAV 7)、AAV血清型. 8(AAV 8)、AAV血清型. 9(AAV 9)、AAV血清型10(AAV 10)、AAV血清型11(AAV 11)、AAV血清型12(AAV 12)、AAV血清型13(AAV 13)、AAV-Rh10、AAV-Rh74、AAV-2i8または他の既知のAAV. いくつかの実施形態、rep 78と、AAV 1から誘導した野性型rep 78における、AAV 2、AAV 2変異体(例えばAAV 2.7m8、AAV 2(コッドY-F)またはAAV 2tYF)、AAV 3(AAV 3Aおよび3Bを含む)AAV 4、AAV 5、AAV 6、AAV 7、AAV 8、AAV 9、AAV 10、AAV 11、AAV 12、AAV 13、AAV-Rh10、AAV-Rh74またはAAV 2i8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、AAV 1、AAV 2、AAV 2変異体(例えばAAV 2.7m8、AAV 2(コッドY-F)またはAAV 2tYF)、AAV 3(AAV 3Aおよび3Bを含む)、AAV 4、AAV 5、AAV 6、AAV 7、AAV 9のAAV 8、AAV 10、AAV 11、AAV 12、AAV 13、AAV-Rh10、AAV-Rh74またはAAV-2i8から誘導した野性型rep 78に比較して、rep 78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

【0078】

いくつかの実施形態では、rep 68はAAV血清型ある(AAV 1)から誘導しているかもしれません、AAV血清型2(AAV 2)、AAV 2変異体(例えばAAV 2.7m8、AAV 2(コッドY-F)またはAAV 2tYF)、AAV血清型3(血清型3Aと3Bを含むAAV 3)、AAVは4(AAV 4)、AAV血清型をセロタイプで分けます。5(AAV 5)、AAV血清型. 6(AAV 6)、AAV血清型. 7(AAV 7)、AAV血清型. 8(AAV 8)、AAV血清型. 9(AAV 9)、AAV血清型10(AAV 10)、AAV血清型11(AAV 11)、AAV血清型12(AAV 12)、AAV血清型13(AAV 13)、AAV-Rh10、AAV-Rh74、AAV-2i8または他の既知のAAV. いくつかの実施形態、rep 68と、AAV 1から誘導した野性型rep 68における、AAV 2、AAV 2変異体(例えばAAV 2.7m8、AAV 2(コッドY-F)またはAAV 2tYF)、AAV 3(AAV 3Aおよび3Bを含む)AAV 4、AAV 5、AAV 6、AAV 7、AAV 8、AAV 9、AAV 10、AAV 11、AAV 12、AAV 13、AAV-Rh10、AAV-Rh74またはAAV 2i8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、AAV 1、AAV 2、AAV 2変異体(例えばAAV 2.7m8、AAV 2(コッドY-F)またはAAV 2tYF)、AAV 3(AAV 3Aおよび3Bを含む)、AAV 4、AAV 5、AAV 6、AAV 7、AAV 9のAAV 8、AAV 10、AAV 11、AAV 12、AAV 13、AAV-Rh10、AAV-Rh74またはAAV-2i8から誘導した野性型rep 68に比較して、rep 68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。

30

40

【0079】

いくつかの実施形態では、rep 52はAAV血清型ある(AAV 1)から誘導しているかもしれません、AAV血清型2(AAV 2)、AAV 2変異体(例えばAAV 2.7m8、AAV 2(コッドY-F)またはAAV 2tYF)、AAV血清型3(血清型3A

50

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、rep52と、AAV1から誘導した野性型rep52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。

#### 【0080】

いくつかの実施形態では、レブ・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、レブ・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、レブ・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変異体(例えばAAV2.7m8、AAV2(コッドY-F)またはAAV2tYF)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、レブ・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、レブ・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AAV-2i8。

#### 【0081】

いくつかの実施形態では、レブ・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、レブ・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えます。

#### 【0082】

いくつかの実施形態では、レブ・タンパク質はpUC57(pFastBac1)ヘクロンを作られるかもしれないか、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、レブ・タンパク質はpUC57ヘクロンを作られるかもしれません。いくつかの実施形態では、レブ・タンパク質はpFastBac1ヘクロンを作られるかもしれません。いくつかの実施形態では、レブ・タンパク質

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

10

#### 【 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。

20

#### 【 0 0 8 5 】

いくつかの実施形態では、キャップ・タンパク質とレブ・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・タンパク質とレブ・タンパク質は、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 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・タンパク質とレブ・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・タンパク質とレブ・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 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 、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、レブ・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 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 ) から誘導しているかもしれません。そして、レブ・タンパク質は A A V 5 から誘導しています。

30

40

#### 【 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 】

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 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のプロモーターは p o l h プロモーターです。そして、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。

#### 【 0 0 8 9 】

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 p U C 5 7 ( p F a s t B a c 1 ) ヘクロンを作られるかもしれないか、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、第1または第2プロモーターは p U C 5 7 ヘクロ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 p F a s t B a c 1 ヘクロ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 p U C 5 7 ヘクロ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 p F a s t B a c 1 ヘクロンを作られるかもしれません。

10

#### 【 0 0 9 0 】

いくつかの実施形態では、キャップ・タンパク質、レブ・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、p U C 5 7 ( p F a s t B a c 1 ) ヘクロンを作られるかもしれないか、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、レブ・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、p U C 5 7 ヘクロ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、レブ・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、p F a s t B a c 1 ヘクロ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、レブ・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 p U C 5 7 ヘクロ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、レブ・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 p F a s t B a c 1 ヘクロンを作られるかもしれません。

20

#### 【 0 0 9 1 】

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、切断可能なリンカーは2 A 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、2 A ペプチドは、口蹄疫ウイルス ( F M D V )、ウマの鼻炎 A ウイルス ( E R A V )、T h o s e a a s i g n a ウイルス ( T a V ) またはブタの t e s c h o v i r u s ( P T V - ある ) などの A p h t h o r v i r u s またはカルジオウイルスから誘導した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。

30

#### 【 0 0 9 2 】

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、C M V、C A G、M N D U 3、P G K、E F 1 a 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 R P G R O R F 1 5 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A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Aシーケンスも含むかもしれません。

40

#### 【 0 0 9 3 】

本明細書に記載された R P G R ポリペプチドはあらゆる哺乳動物から誘導した R P G R 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)、齧す、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 R P G R ポリ

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 に少なくとも 9 8 % 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 9 % 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 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、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

#### 【 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 8 % 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 9 % 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。

30

40

#### 【 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

50

10

## 10

20

## 30

40

【 0 0 9 9 】

【 0 1 0 0 】

【 0 1 0 1 】

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：５．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：５．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：５．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：５．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：５．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：５．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

【 0 1 0 2 】

【 0 1 0 3 】

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あらゆるシーケンス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月12日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あらゆるシーケンス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月12日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あらゆるシーケンス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月12日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あらゆるシーケンス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月12日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あらゆるシーケンス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月12日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あらゆるシーケンス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月12日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あらゆるシーケンス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月12日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あらゆるシーケンス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月12日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あらゆるシーケンス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月12日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シーケンスを含

【 0 1 0 4 】

10

## 20

30

## 40

50

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：7. いくつかの実施形態では、ロドプシン・キナーゼ (GRK1) プロモーターは、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：7. いくつかの実施形態では、ロドプシン・キナーゼ (GRK1) プロモーターは、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：7. いくつかの実施形態では、ロドプシン・キナーゼ (GRK1) プロモーターは、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：7. いくつかの実施形態では、ロドプシン・キナーゼ (GRK1) 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 (GRK1) 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

#### 【0107】

いくつかの実施形態では、ロドプシン・キナーゼ (GRK1) プロモーターは、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：8. いくつかの実施形態では、ロドプシン・キナーゼ (GRK1) プロモーターは、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：8. いくつかの実施形態では、ロドプシン・キナーゼ (GRK1) プロモーターは、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：8. いくつかの実施形態では、ロドプシン・キナーゼ (GRK1) プロモーターは、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：8. いくつかの実施形態では、ロドプシン・キナーゼ (GRK1) プロモーターは、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：8. いくつかの実施形態では、ロドプシン・キナーゼ (GRK1) プロモーターは、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：8. いくつかの実施形態では、ロドプシン・キナーゼ (GRK1) プロモーターは、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：8. いくつかの実施形態では、ロドプシン・キナーゼ (GRK1) プロモーターは、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：8. いくつかの実施形態では、ロドプシン・キナーゼ (GRK1) プロモーターは、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：8. いくつかの実施形態では、ロドプシン・キナーゼ (GRK1) 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 (GRK1) 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

30

#### 【0108】

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 (ITR)、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 (IRES) 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。

#### 【0109】

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 40 エンハンサー、即時の初期のサイトメガロウイルス・エンハンサー、IRBP 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 CMV、CAG、MNDU3、PGK、EF1a 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、CMV、CAG、MNDU3、PGK、EF1a 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

#### 【0110】

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 (ITR) 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 (ITR) 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が、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 10、A A V 11、A A V 12、A A V 13、A A V - R h 10、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 10、A A V 11、A A V 12、A A V 13、A A V - R h 10、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が、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・シーケンスの下流に位置します。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の下流に位置します。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

#### 【 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 かもしれませんが、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 )

40

#### 【 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 )、W h i r l i n、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。

【 0 1 1 4 】

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、口蹄疫ウイルス ( F M D V )、ウマの鼻炎 A ウイルス ( E R A V )、T h o s e a a s i g n a ウイルス ( T a V ) またはブタの t e s c h o v i r u s ( P T V - ある ) などの A p h t h o r v i r u s またはカルジオウイルスから誘導した 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。

10

【 0 1 1 5 】

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 7 5 % の同一性があるシーケンスを含みます： 1 3 . 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 8 0 % の同一性があるシーケンスを含みます： 1 3 . 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 8 5 % の同一性があるシーケンスを含みます： 1 3 . 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 9 0 % の同一性があるシーケンスを含みます： 1 3 . 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 9 5 % の同一性があるシーケンスを含みます： 1 3 . 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 9 6 % の同一性があるシーケンスを含みます： 1 3 . 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 9 7 % の同一性があるシーケンスを含みます： 1 3 . 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 9 8 % の同一性があるシーケンスを含みます： 1 3 . 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 9 9 % の同一性があるシーケンスを含みます： 1 3 . いくつかの実施形態では、H S A は S E Q I D N O : 6 8 の配列を有する。1 3 . 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： 1 3 .

20

30

【 0 1 1 6 】

組換え A A V 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 ( r A A V ) 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 H E K 2 9 3 細胞または 2 9 3 T 細胞などのその誘導体です。

【 0 1 1 7 】

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、リボ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 2 9 3 T 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、2 9 3 T 細胞は r A A V ウイルス粒子を生むために用いられます。

40

【 0 1 1 8 】

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 ( r A A V ) 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 ( r A A V ) 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。

【 0 1 1 9 】

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

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/またはバキュロウィ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、バキュロウィ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、バキュロウィ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、バキュロウィ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。

10

20

#### 【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)、バキュロウィルスを生成する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)、バキュロウィルスを生成する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)、バキュロウィルスを生成する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つバキュロウィルスの混合、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。

30

#### 【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/またはバキュロウィ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 O R F 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、バキュロウィ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、バキュロウィルスを生成するためにR P G R O R F 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、バキュロウィ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 O R F 15 - を得るために宿主細胞(S f 9細胞のような)を感

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RPGR ORF15発現シーケンスbacmid DNAを含むかもしれない、(2)生成するrAAVキャップ発現シーケンスbacmid DNA、(3)、バキュロウィルスを生成するbacmid DNAを有する宿主細胞をトランスフェクトすること、(4)、バキュロウィルスを生成するRPGR ORF15発現シーケンスbacmid DNAを有する宿主細胞をトランスフェクトすること、(5)、バキュロウィルスを生成するrAAVキャップ発現シーケンスbacmid 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(Sf9 cell)のような)を感染させる2つのバキュロウィルスの混合。パッケージにされたrAAV/RPGR ORF15 - 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

【0124】

必要ならば、ある場合には、rAAV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、rAAVは、それについて遠心分離、HPLC、疎水性相互作用クロマトグラフィー(HIC)、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、アフィニティー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。

20

【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XLRP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rAAV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rAAV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。

30

【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rAAV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、NaCl)、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THF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、シクナー、乳化剤、スタビライザー、緩衝剤、等張性制御因子、pH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。

40

【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rAAVウ

50

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。

#### 【 0 1 3 0 】

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ترات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 = H C l 緩衝剤（トリス（ヒドロキシメチル）アミノメタンおよび H C l 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。

#### 【 0 1 3 1 】

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れません。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。

#### 【 0 1 3 2 】

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、貧歯類の二ナトリウム、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。

#### 【 0 1 3 3 】

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。

#### 【 0 1 3 4 】

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（B H T ）、ブチルヒドロキシアニソール（B H A ）、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（E D T A ）、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。

#### 【 0 1 3 5 】

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。

#### 【 0 1 3 6 】

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 50、プラスチック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。

#### 【 0 1 3 7 】

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（HPMC）及びヒドロキシプロピルセルロース（HPC）などのセルロース誘導体、ポリ（アクリル酸）（PAA）、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（POE）、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；およびマイ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rAAV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Acular（ketorolactロメタミン点眼剤）0.5%、Acuvail（ketorolactロメタミン）、AKコンカナバリンA（ナファゾリン目薬）、Akten（塩酸リドカイン）、Alamast、Alphagan（brimonidine）、Alrex、Astepro（塩酸アゼラスチン鼻内噴霧）、AzaSite（アジスロマイシン）を含むことができますBepreve（bepotastine besilate点眼剤）、Besivance（besifloxacin眼使用懸濁）、Betaxon、BSSの無菌の洗浄解決、Cosopt、Durezol（ジフルブレドナート）、Eylea（afibercept）、Lotemax、Lucentis（Ranibizumab）、Lumigan（Bimatoprost眼科用液剤）、Macugen（pegantaniab）、Ocuflox（オフロキサシン点眼剤）0.3%、OcuHist、Ozurdex（デキサメタゾン）、Quixin（レボフロキサシン）、レスキュラ（unoprostoneイソプロピル点眼剤）0.15%、Restasis（シクロスポリンの眼のエマルジョン）、Salagenタブレット、Travatan（travoprost点眼剤）、Valcyte（valganciclovir塩酸塩）、トリフルオロサイミジン（Viroptic）、Vistide（Cidofovir）、ビスグイン（注入のVerteporfin）、Vitrasert移植組織、Fomivirson注入、ZADITOR、Zioptan（tafluprost点眼剤）、Zirgan（ガンシクロピルの眼のゲル）、Zymaxid（Gatifloxacin点眼剤）、アトロピン、フルルビプロフェン、Physostigmine、Azopt、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、hypromellose目薬（Goniosol）、ポリミキシンB、ボビドンヨード（ベータグイン）、グラミシジン、ブレドニゾロン、betaolol、Humorsol、プロパラカイン、betalol目薬（ベトプティック）、Hylartin、贈り物、Brinzolamide、高張性のNaCl、Puralube、BSS、Indocyanine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、Celluvise、マンニトール、オキシテトラサイクリン、クロラムフェニコール、Metazolamide、眼球内血圧液圧減退剤、Ciloxan、ミコナゾール、トブラマイシン、Cypro Floxacin、Miostat、トリアムシノロン、Cosopt、Muro 128、Trifluridine、デメカリウム、ネオマイシン、Toppicamide、デキサメサゾン、Metazolamide（ネブタザン）、トルソプト、Dipiforin、Ocuflox、または、Dorzolamide、オフロキサシン、ピラ-A、エピネフリン、Oxotetra

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ン)

【0140】

薬物の例は、血液造成阻害剤、anecort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、aracлонidine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；ムスカリン；acetazolamide、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F<sub>2</sub>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な酸、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、スリダクとトルメチン；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、プロピオン酸ナトリウム、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

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nb、グラミシジン、トリメトプ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、atovaquone、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、リファンピシンとrifabutinなどの抗ミコバクテリウム作用薬；アルベンダゾール、メベンダゾール、thiobendazole、diazotide坐薬、ピラントール、atovaquone、iodoquinol、イベルメクチン、パロモマイシン、ブラジカンテルと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、眼内の投与）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。

#### 【0145】

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

30

#### 【0146】

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-0.5m

40

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 - 0.35 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0.005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。

10

20

#### 【0147】

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。

30

#### 【0148】

キット

別の態様では、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。

#### 【0149】

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。

40

#### 【0150】

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

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。

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 9 0 % 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 9 0 % 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 9 0 % の同一性を持っているシーケンス : 3 .

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 9 0 % 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 9 0 % 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 9 0 % の同一性を持っているシーケンス : 6 .

1 0 . 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。

1 1 . 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 l h プロモーターであると言った。

1 2 . 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。

1 3 . 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 l h プロモーターであると言った。

1 4 . 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。

1 5 . 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 9 0 % の同一性を持っているシーケンス : 7 月 8 日

1 6 . 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 9 0 % の同一性を持っているシーケンス : 7 .

1 7 . 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 9 0 % の同一性を持つ

10

20

30

40

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 2 A 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 F M D V 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 ( f l a v o r a n t ) 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 ( I T R ) 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 ( I T R ) 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 番目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 番目のシーケンスをさらに含むと言いました。 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。

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 2 A 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 ( 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 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。

10

#### 【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る、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、本開示に基づいて、当業者は、本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、同じか同様の結果は今までどおり得ることができます。

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】

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た(RPGR ORF15 co1-co4; 配列番号: 3-6)。構成物は長時間番組ロドプシン・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】

実施例2 - コドン最適化されたRPGR ORF15生体の構築の堅調な発現

## 【0161】

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-Virus GEN(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ブ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

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 g l u t a m y l a t e d 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 ウイルス粒子の調製

【 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。S p e c i f i c a l l y、2つの b a c m i d s の含んでいるレブ・キャップとトランスジーン発現カセットがそれぞれ、g e n r a t e d 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 細胞のレブ・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 ウイ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 ウイ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、 $1 \times 10^9$  ウイ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 ( E R G ) 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 ( C 5 7 マウス ) 陽性対照として用いられまし

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、P A 0 1 4 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 P A 0 0 2 ( P A 0 0 4 ) を注入しました。そして、P A 0 1 2 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、P A 0 0 2 および P A 0 1 2 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。

【 0 1 7 2 】

これらのデータは、A A V ベクターから発現された R P G R O R F 1 5 タンパク質が生体内で機能的なことを示します。

【 0 1 7 3 】

実施例 5 - 組み換え A A V ベクターの設計とクローニング

【 0 1 7 4 】

キャップおよびレブ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、A A V 2 から誘導したキャップおよびレブ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。

【 0 1 7 5 】

緑の蛍光性のタンパク質 ( G F P ) 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 O R F 1 5 ポリペプチドをエンコードするヌクレオチド配列：G F P と R P G R O R F 1 5 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。

【 0 1 7 6 】

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

【 0 1 7 7 】

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 r A A V 2 / G F P ウィルス粒子は実施例 3 を記載しました。そして、P B S 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。

【 0 1 7 8 】

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 r A A V 2 / G F P ウィルス粒子へこの開示の G F P 暗号配列を含んでいる最初のポリヌクレオチドを含む r A A V ベクターを成功裡にパッケージにすることができることを示します。そして、送達された G F P 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。

【 0 1 7 9 】

実施例 7 - マウスへの R P G R O R F 1 5 の送達と発現

【 0 1 8 0 】

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 r A A V 2 / G F P と r A A V 2 / R P G R O R F 1 5 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 O R F 1 5 暗号配列を示すことができることを示して、マウス網膜色素上皮における成功裡に G F P を示すことができることを示します。

【 0 1 8 1 】

実施例 8 - 生体内の適用の組成物の有効性

【 0 1 8 2 】

2 つの腕治療、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 r A A V 2 / R P G R O R F 1 5 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。

【 0 1 8 3 】

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

SEQ ID NO	Sequence	Description
SEQ ID NO: 1	MREPEELMPDSGAVFTFGKSKFAENNPgKFWFKNDVPVH LSCGDEHSavVTGNnKLYMFGSNNWGQLGLGSKSAISKp TCVKALKPEKVKLAACGRNHTLVSTEGGNVYATGGNNEG QLGLGDTEERNTFHVISFFTSEHKIKQLSAGSNTSAALTED GRLFMWGDNSEGQIGLKNSVNCVpQQVTIGKPVSWISCG YYHSAFVTTDgELYVFGEpENgKLGLPNQLLGNHRTPQLV SEIPEKVIQVACGGEHTVVLTENAVYTFGLGQFGQLGLGT FLFETSEPKVIENIRDQTISYISCGENHTALITDIGLMYTFGD GRHGKLGLGLENFTNHFIPITLCSNfLRFIVKLVACGGCHM VVFAAPHRGVAKIEFDEINDTCLSVATFLPYSSLTSGNVL QRTLSARMRRRERERSPDsFSMRRTLPIEGTLGLSACFLP NSVFPRCSERNLQESVLSEQDLMQPEEPDYLLDEMTKEAEI DNSSTVESLGETTDILNMTHIMSLNSNEKSLKLSPVQKQKK QQTIGELTQDTALTENDDSDEYEEMSEMKEGKACKQHVS QGIFMTQPATTIEAFSDEEVEIPEEKEGAEDSKGNGIEEQEV EANEENVKVHGGGRKEKTEILSDDLTDKAEVSEGKAKSVG EAEDGPEGRGDGTCEEGSSGAEHWQDEEREKGEKDKGRG EMERPGEGEKELAEKEEWKKRDGEEQEQKEREQGHQKER NQEMEEGGEEEHGEGEEEEGDREEEEEKEGEGKEEGEGEE VEGEREKEEGERKKEERAGKEEKGEEEGDQGEGEEEEETEG RGEEKEEGGEVEGGEVEEGKGEREEEEEGEGEEEEEGEGE EEEGEGEEEEEGEGKGEEEGEEGEGEEEEEGEGEGEEEEEG EGEGEEEEEGEGEEEEEGEGEEEEEGEGEGEEEEEGEGKGE EGEEGEGEGEEEEEGEGEGEDGEGEGEEEEEGEWEGEEEEEG GEGEEEEEGEGEGEGEGEEEEEGEGEGEEEEEGEEEEEGEG EGEEEEGEGEGEEEEEGEGEGEGEGEGEGEEEEEGEEEEEG EEREKEGEGEENRRNREEEEEEGKYQETGEEENERQDGE EYKKVSKIKGSVKYGKHKTYQKKSVTNTQGNGKEQRSK MPVQSKRLLKNGPSGSKKFWNNVLPHYLELK	Human RPGR ORF15 protein sequence
SEQ ID NO: 2	ATGAGGGAGCCGGAAGAGCTGATGCCCGATTCTGGGTGC TGTGTTTACATTGGGAAAAGTAAATTTGCTGAAAATAA TCCCGGTAAATTCTGGTTTAAAAATGATGTCCCTGTACA	Nucleotide sequence encoding

【 0 1 8 6 】

10

20

30

40



【表 4 - 2】

TCTTTCATGTGGAGATGAACATTCTGCTGTTGTTACCGG	wildtype
AAATAATAAACTTTACATGTTTGGCAGTAACAACCTGGG	human
GTCAGTTAGGATTAGGATCAAAGTCAGCCATCAGCAAG	RPGRORF
CCAACATGTGTCAAAGCTCTAAAACCTGAAAAAGTGAA	15
ATTAGCTGCCTGTGGAAGGAACCACACCCTGGTGTCAA	
CAGAAGGAGGCAATGTATATGCAACTGGTGGAAATAAT	
GAAGGACAGTTGGGGCTTGGTGACACCGAAGAAAGAA	
ACACTTTTCATGTAATTAGCTTTTTTACATCCGAGCATA	10
AGATTAAGCAGCTGTCTGCTGGATCTAATACTTCAGCTG	
CCCTAACTGAGGATGGAAGACTTTTTATGTGGGGTGAC	
AATTCCGAAGGGCAAATTGGTTTAAAAAATGTAAGTAA	
TGTCTGTGTCCCTCAGCAAGTGACCATTGGGAAACCTGT	
CTCCTGGATCTCTTGTGGATATTACCATTGAGCTTTTGTG	
ACAACAGATGGTGAGCTATATGTGTTTGGAGAACCTGA	
GAATGGGAAGTTAGGTCTTCCCAATCAGCTCCTGGGCA	
ATCACAGAACACCCAGCTGGTGTCTGAAATTCCGGAG	20
AAGGTGATCCAAGTAGCCTGTGGTGGAGAGCATACTGT	
GGTTCTCACGGAGAATGCTGTGTATACCTTTGGGCTGGG	
ACAATTTGGTCAGCTGGGTCTTGGCACTTTTCTTTTGA	
AACTTCAGAACCCAAAGTCATTGAGAATATTAGGGATC	
AAACAATAAGTTATATTCTTGTGGAGAAAATCACACA	
GCTTTGATAACAGATATCGGCCTTATGTATACTTTTGA	
GATGGTCGCCACGGAAAATTAGGACTTGGACTGGAGAA	
TTTACCAATCACTTCATTCTACTTTGTGCTCTAATTTT	
TTGAGGTTTATAGTTAAATTGGTTGCTTGTGGTGGATGT	30
CACATGGTAGTTTTTGTGCTCCTCATCGTGGTGTGGCA	
AAAGAAATTGAATTCGATGAAATAAATGATACTTGCTT	
ATCTGTGGCGACTTTTCTGCCGTATAGCAGTTTAACTC	
AGGAAATGTAAGTGCAGAGGACTCTATCAGCACGTATGC	
GGCGAAGAGAGAGGGAGAGGTCTCCAGATTCTTTTCA	
ATGAGGAGAACTACCTCCAATAGAAGGGACTCTTGG	
CCTTTCTGCTTGTCTTCTCCCAATTCAGTCTTTCCACGA	
TGTTCTGAGAGAAACCTCCAAGAGAGTGTCTTATCTGAA	
CAGGACCTCATGCAGCCAGAGGAACCAGATTATTTGCT	40

【 0 1 8 7 】

10

20

30

40

【表 4 - 4】

	GGAGAAGAGGAGGAAGGAGAAGGGGAGGGAGAAGAG GAAGGAGAAGGGGAGGGAGAAGAGGAGGAAGGAGAA GGGAAAGGGGAGGAGGAAGGAGAGGAAGGAGAAGGG GAGGGGGAAGAGGAGGAAGGAGAAGGGGAAGGGGAG GATGGAGAAGGGGAGGGGGAAGAGGAGGAAGGAGAAT GGGAGGGGGAAGAGGAGGAAGGAGAAGGGGAGGGGG AAGAGGAAGGAGAAGGGGAAGGGGAGGAAGGAGAAG GGGAGGGGGAAGAGGAGGAAGGAGAAGGGGAGGGGG AAGAGGAGGAAGGGGAAGAAGAAGGGGAGGAAGAAG GAGAGGGAGAGGAAGAAGGGGAGGGAGAAGGGGAGG AAGAAGAGGAAGGGGAAGTGAAGGGGAGGTGGAAGG GGAGGAAGGAGAGGGGGAAGGAGAGGAAGAGGAAGG AGAGGAGGAAGGAGAAGAAAGGGAAAAGGAGGGGGA AGGAGAAGAAAACAGGAGGAACAGAGAAGAGGAGGA GGAAGAAGAGGGGAAGTATCAGGAGACAGGCGAAGAA GAGAATGAAAGGCAGGATGGAGAGGAGTACAAAAAAG TGAGCAAAATAAAAAGGATCTGTGAAATATGGCAACAT AAAACATATCAAAAAAAGTCAGTTACTAACACACAGGG AAATGGGAAAGAGCAGAGGTCCAAAATGCCAGTCCAGT CAAAACGACTTTTAAAAAACGGGCCATCAGGTTCCAAA AAGTTCTGGAATAATGTATTACCACATTACTTGGAATTG AAGTAA	
SEQ ID NO: 3	ATGAGAGAGCCAGAGGAGCTGATGCCAGACAGTGGAG CAGTGTTTACATTTCGGAAAATCTAAGTTCGCTGAAAATA ACCCAGGAAAGTTCTGGTTTAAAAACGACGTGCCCGTC CACCTGTCTTGTGGCGATGAGCATAGTGCCGTGGTCACT GGGAACAATAAGCTGTACATGTTCGGGTCCAACAACCTG GGGACAGCTGGGGCTGGGATCCAAATCTGCTATCTCTA AGCCAACCTGCGTGAAGGCACTGAAACCCGAGAAGGTC AAACTGGCCGCTTGTGGCAGAAACCACACTCTGGTGAG CACCGAGGGCGGGAATGTCTATGCCACCGGAGGCAACA ATGAGGGACAGCTGGGACTGGGGGACACTGAGGAAAG GAATACCTTTACGTGATCTCCTTCTTTACATCTGAGCA TAAGATCAAGCAGCTGAGCGCTGGCTCCAACACATCTG	Codon- optimized RPGR ORF15 coding sequence #1

【 0 1 8 9 】

10

20

30

40

50

【 0 1 9 0 】

50

10

20

30

40

50

【表 4 - 7】

	GAGGGGGAGGAGGAGGGAGAAGGCGAGGGCGAAGAA GAAGAAGAGGGAGAAGTGGAGGGCGAAGTCGAGGGGG AGGAGGGGAGAAGGGGAAGGGGAGGAAGAAGAGGGCG AAGAAGAAGGCGAGGAAAGAGAAAAAGAGGGAGAAG GCGAGGAAAACCGGAGAAATAGGGAAGAGGAGGAAGA GGAAGAGGGAAAGTACCAGGAGACAGGCGAAGAGGAA AACGAGCGGCAGGATGGCGAGGAATATAAGAAAGTGA GCAAGATCAAAGGATCCGTCAAGTACGGCAAGCACAAA ACCTATCAGAAGAAAAGCGTGACCAACACACAGGGGA ATGGAAGAGCAGAGGAGTAAGATGCCTGTGCAGTCA AAACGGCTGCTGAAGAATGGCCCATCTGGAAGTAAAAA ATTCTGGAACAATGTGCTGCCCCACTATCTGGAAGTAA ATAA	
SEQ ID NO: 4	ATGAGAGAGCCAGAGGAGCTGATGCCAGATAGCGGAG CAGTGTTTACCTTCGGAAAGTCCAAGTTCGCAGAGAAT AACCCAGGAAAGTTCTGGTTTAAAAACGACGTGCCCCGT CCACCTGTCTTGTGGCGATGAGCATAGTGCCGTGGTCAC TGGAACAATAAGCTGTATATGTTTCGGGTCCAACAATT GGGGACAGCTGGGGCTGGGATCCAAATCTGCTATCTCT AAGCCAACCTGCGTGAAGGCACTGAAACCCGAGAAGGT CAAACCTGGCCGCTTGTGGCAGAAACCACACTCTGGTGA GCACCGAGGGCGGGAATGTCTATGCCACCGGAGGCAAC AATGAGGGACAGCTGGGACTGGGGGACACTGAGGAAA GGAATACCTTTCACGTGATCTCCTTCTTTACATCTGAGC ATAAGATCAAGCAGCTGAGCGCCGGCTCCAACACATCT GCAGCCCTGACTGAGGACGGGCGCCTGTTTCATGTGGGG AGATAATTCAGAGGGCCAGATTGGGCTGAAAAACGTGA GCAACGTGTGCGTGCCTCAGCAGGTGACCATCGGAAAG CCAGTCAGTTGGATTTCATGTGGCTACTATCATAGCGCC TTCGTGACCACAGATGGCGAGCTGTACGTCTTTGGGGA GCCCCGAAAACGGAAAACCTGGGCCTGCCTAACCAGCTGC TGGGCAATCACCGGACACCCAGCTGGTGTCCGAGATC CCTGAAAAAGTGATCCAGGTCGCCTGCGGGGGAGAGCA TACAGTGGTCCTGACTGAGAATGCCGTGTACACCTTCGG	Codon- optimized RPGR ORF15 coding sequence #2

10

20

30

40

【 0 1 9 2 】

10

20

30

40

50

10

20

30

40

50



【表 4 - 1 0】

	AATGGAAAAGAGCAGCGAAGTAAAATGCCTGTGCAGTC AAAACGGCTGCTGAAGAATGGCCCAAGCGGGTCTAAAA AATTC TGGAACAATGTCCTGCCACACTATCTGGAAGTGA AGTGA	
SEQ ID NO: 5	ATGAGAGAGCCCGAGGAACTGATGCCC GATAGCGGAGC CGTCTTCACCTTTGGGAAATCTAAATTCGCAGAGAACAA CCCTGGAAAATTCTGGTTTAAGAACGACGTGCCCGTGC ACCTGAGCTGTGGCGATGAGCACTCCGCCGTGGTGACA GGCAACAATAAGCTGTACATGTTCTGGCTCTAACAAATTG GGGACAGCTGGGCCTGGGAAGCAAGTCCGCCATCAGCA AGCCAACCTGCGTGAAGGCCCTGAAGCCCGAGAAGGTG AAGCTGGCCGCTGTGGCAGAAACACACACTGGTGAG CACCGAGGGCGGCAATGTGTATGCCACAGGCGGCAACA ATGAAGGACAGCTGGGCCTGGGCGACACAGAGGAGAG GAATACCTTTCACGTGATCAGCTTCTTTACCTCCGAGCA CAAGATCAAGCAGCTGTCCGCCGGCTCTAACACATCTG CAGCACTGACAGAGGATGGAAGACTGTTTCATGTGGGGC GATAATAGCGAGGGCCAGATCGGCCTGAAGAACGTGTC CAATGTGTGCGTGCCTCAGCAGGTGACCATCGGCAAGC CAGTGTCTTGATCTCTTGTGGCTACTATCACAGCGCCT TCGTGACCACAGATGGCGAGCTGTACGTGTTTGGAGAG CCTGAGAATGGCAAGCTGGGCCTGCCTAACCAAGCTGCT GGGCAATCACCGGACACCCCAAGCTGGTGTCCGAGATCC CTGAGAAAGTGATCCAGGTGGCATGTGGCGGCGAGCAC ACAGTGGTGCTGACCGAGAATGCCGTGTATACCTTTGGC CTGGGACAGTTTGGCCAGCTGGGCCTGGGCACATTCCTG TTTGAGACATCCGAGCCAAAAGTGATCGAGAACATCCG CGACCAGACAATCAGCTACATCTCCTGCGGCGAGAATC ACACAGCCCTGATCACCGACATCGGCCTGATGTATACCT TTGGCGATGGAAGACACGGCAAGCTGGGCCTGGGCCTG GAGAACTTCACAAATCACTTTATCCCCACCCTGTGTTCT AACTTCCTGCGGTTTCATCGTGAAGCTGGTGGCCTGCGGC GGATGTCACATGGTGGTGTGTTGCAGCCCCTCACAGGGG CGTGGCCAAGGAGATCGAGTTTGACGAGATCAACGATA	Codon- optimized RPGR ORF15 coding sequence #3

10

20

30

40

【 0 1 9 5】

50

【表 4 - 1 1】

	<p>           CATGCCTGTCCGTGGCCACCTTCCTGCCATACAGCTCCC            TGACATCCGGCAATGTGCTGCAGAGAACCCTGTCTGCA            AGAATGAGAAGAAGGGAGAGAGAGCGGTCCCCTGACT            CTTTCAGCATGAGAAGAACACTGCCCCCTATTGAGGGA            ACCCTGGGCCTGTCTGCCTGCTTCCTGCCTAACTCTGTG            TTTCCAAGATGTAGCGAGAGGAATCTGCAGGAGTCTGT            GCTGAGCGAGCAGGATCTGATGCAGCCAGAGGAGCCCC            ACTACCTGCTGGATGAGATGACAAAGGAGGCCGAGATC            GACAACTCTAGCACCGTGGAGAGCCTGGGCGAGACAAC            AGATATCCTGAATATGACACACATCATGTCCCTGAACTC            TAATGAGAAGTCTCTGAAGCTGAGCCCAGTGCAGAAGC            AGAAGAAGCAGCAGACCATCGGCGAGCTGACCCAGGA            CACAGCCCTGACCGAGAACGACGATTCTGATGAGTATG            AGGAGATGAGCGAGATGAAGGAGGGCAAGGCCTGTAA            GCAGCACGTGTCCCAGGGCATCTTCATGACCCAGCCAG            CCACCACAATCGAGGCCTTTTCTGACGAGGAGGTGGAG            ATCCCCGAGGAGAAGGAGGGCGCCGAGGATAGCAAGG            GCAATGGCATCGAGGAGCAGGAGGTGGAGGCCAACGA            GGAGAATGTGAAGGTGCACGGCGGAAGAAAGGAGAAG            ACAGAGATCCTGTCCGACGATCTGACCGACAAGGCCGA            GGTGTCCGAGGGCAAGGCCAAGTCTGTGGGAGAGGCAG            AGGATGGACCTGAGGGACGCGGCGATGGAACATGTGAG            GAGGGCTCCTCTGGAGCAGAGCACTGGCAGGATGAGGA            GAGAGAGAAGGGCGAGAAGGATAAGGGCAGAGGCGAG            ATGGAGAGGCCTGGAGAGGGAGAGAAGGAGCTGGCAG            AGAAGGAGGAGTGGAAGAAGAGGGATGGCGAGGAGCA            GGAGCAGAAGGAGAGAGAGCAGGGCCACCAGAAAGAG            AGGAACCAGGAGATGGAAGAGGGCGGCGAGGAGGAGC            ACGGAGAGGGAGAGGAGGAGGAGGGCGATAGAGAAGA            AGAGGAGGAGAAAGAGGGAGAGGGCAAGGAGGAGGG            AGAGGGAGAAGAAGTGGAAGGAGAGAGAGAGAAGGA            GGAAGGAGAGCGCAAGAAGGAAGAAAGAGCAGGCAAG            GAGGAGAAAGGAGAGGAGGAGGGCGATCAGGGAGAAG            GAGAGGAGGAGGAGACAGAAGGACGCGGCGAGGAAAA         </p>	<p>10</p> <p>20</p> <p>30</p> <p>40</p>
--	---	---

【 0 1 9 6 】

【表 4 - 1 2】

	AGAGGAGGGCGGCGAGGTTCGAGGGCGGCGAGGTTCGAA GAGGGCAAGGGCGAAAGAGAAGAAGAGGAGGAGGAA GGCGAGGGCGAAGAAGAGGAGGGCGAGGGCGAGGAAG AAGAGGGCGAGGGCGAAGAGGAAGAAGGAGAGGGCAA GGGCGAGGAGGAGGGCGAAGAAGGCGAAGGGGAGGAG GAGGGCGAAGAGGGAGAGGGCGAGGGCGAGGAGGAAG AAGGCGAAGGAGAAGGCGAAGAAGAAGGAGAAGGAG AGGGAGAAGAGGAGGAAGGCGAAGGAGAGGGGGAAG AGGAAGGAGAAGGGGAGGGCGAAGAGGAGGAGGGAG AAGGCAAGGGAGAGGAGGAGGGCGAGGAAGGAGAAG GCGAAGGCGAGGAGGAGGAAGGAGAGGGAGAAGGAG AAGATGGAGAAGGAGAGGGCGAGGAAGAGGAAGGAGA GTGGGAGGGCGAGGAAGAGGAGGGAGAAGGAGAAGGA GAAGAAGAAGGAGAAGGCGAGGGAGAAGAAGGAGAG GGAGAAGGGGAAGAAGAGGAGGGGGAAGGAGAGGGC GAGGAGGAAGAGGGAGAAGAAGAAGGCGAAGAAGAG GGAGAAGGCGAGGAAGAAGGAGAGGGAGAGGGGGAA GAGGAGGAAGAGGGCGAGGTGGAAGGAGAGGTGAGG GCGAAGAGGGGAAGGGGAAGGAGAAGAAGAAGAAG GAGAGGAGGAGGGAGAGGAGAGAGAGAAAGAAGGCG AGGGCGAGGAGAACAGAAGGAATCGCGAAGAAGAAGA AGAAGAGGAGGGCAAGTACCAGGAGACAGGCGAGGAG GAGAACGAGCGGCAGGATGGCGAGGAGTATAAGAAGG TGTCCAAGATCAAGGGCTCTGTGAAGTACGGCAAGCAC AAGACCTATCAGAAGAAGAGCGTGACCAACACACAGG GCAATGGCAAGGAGCAGCGCAGCAAGATGCCTGTGCAG TCCAAGCGGCTGCTGAAGAATGGCCCAAGCGGGTCTAA AAAATTCTGGAACAATGTCCTGCCACACTATCTGGAAC GAAATAA	
SEQ ID NO: 6	ATGAGAGAACCCGAGGAACTGATGCCTGACTCTGGCGC CGTGTTACCTTCGGCAAGAGCAAGTTCGCCGAGAACA ACCCCGGCAAGTTCTGGTTCAAGAACGACGTGCCAGTG CACCTGAGCTGTGGCGACGAACATTCTGCCGTGGTCACC GGCAACAACAAGCTGTACATGTTTCGGCAGCAACAACCTG	Codon- optimized RPGR ORF15

【 0 1 9 7 】

10

20

30

40

50

【表 4 - 1 3】

GGGCCAGCTCGGCCTGGGATCTAAGAGCGCCATCAGCA AGCCTACCTGCGTGAAGGCCCTGAAGCCTGAGAAAAGTG AAGCTGGCCGCCTGCGGCAGAAATCACACCCTGGTTTCT ACCGAAGGCGGCAACGTGTACGCCACCGGCGGAAACAA TGAAGGACAGCTTGGACTGGGCGACACCGAGGAAAGA AACACCTTCCACGTGATCAGCTTTTTACCAGCGAGCAC AAGATCAAGCAGCTGAGCGCCGGCAGCAATACCTCTGC TGCCCTGACAGAAGATGGCCGGCTGTTTCATGTGGGGCG ACAATTCTGAGGGCCAGATCGGACTGAAGAACGTGTCC AATGTGTGCGTGCCCCAGCAAGTGACAATCGGCAAGCC TGTGTCCTGGATCAGCTGCGGCTACTACCACAGCGCCTT CGTGACAACAGACGGCGAGCTGTATGTGTTGCGCGAGC CCGAGAATGGCAAGCTGGGACTGCCTAATCAGCTGCTG GGCAACCACAGAACCCCTCAGCTGGTGTCTGAGATCCC CGAAAAAGTGATCCAGGTGGCCTGTGGCGGAGAGCACA CAGTGGTGCTGACAGAGAATGCCGTGTACACATTTGGC CTGGGCCAGTTTGGCCAACTCGGACTGGGCACCTTCCTG TTCGAGACAAGCGAGCCCAAAGTGATCGAGAACATCCG GGACCAGACCATCAGCTACATCTCTTGCGGCGAGAACC ACACAGCCCTGATCACAGACATCGGCCTGATGTATACCT TCGGCGACGGCAGACACGGCAAACCTCGGCCTTGGCCTG GAAAACTTCACCAACCACTTCATCCCTACTCTGTGCAGC AACTTCCTGCGGTTTCATCGTGAAACTGGTGGCCTGCGGA GGCTGCCACATGGTGGTTTTTGCCGCTCCTCATAGAGGC GTGGCCAAAGAGATTGAGTTCGACGAGATCAACGATAC CTGCCTGAGCGTGGCCACCTTTCTGCCTTACAGCTCTCT GACCAGCGGCAATGTGCTGCAGAGGACACTGAGCGCCA GAATGCGCAGACGGGAAAGAGAGAGAAGCCCCGACAG CTTCAGCATGCGGAGAACCCTGCCTCCAATCGAGGGAA CACTGGGCCTGAGCGCCTGCTTCCTGCCTAATAGCGTGT TCCCCAGATGCAGCGAGCGGAACCTGCAAGAGTCTGTG CTGAGCGAGCAGGACCTGATGCAGCCTGAGGAACCCGA CTACCTGCTGGACGAGATGACCAAAGAGGCCGAGATCG ACAACAGCAGCACCGTGGAATCTCTGGGCGAGACAACC	coding sequence #4
---	-----------------------

10

20

30

40

【 0 1 9 8 】

50

10

20

30

40

50

【表 4 - 1 5】

	GCAAAGGGGAAGAAGAGGGCGAAGAAGGCGAAGGCGA AGGCGAGGAAGAAGAAGGCGAAGGCGAAGGCGAAGAC GGCGAAGGCGAGGGCGAAGAGGAAGAGGGCGAGTGGG AGGGCGAAGAAGAAGAAGGCGAAGGCGAGGGCGAAGA GGAAGGCGAAGGCGAAGGCGAAGAAGGCGAGGGCGAA GGCGAAGAAGAAGAAGGCGAAGGCGAAGGCGAAGAAG AGGAAGGGGAAGAAGAAGGCGAAGAGGAAGGCGAGG GCGAAGAAGAAGGCGAAGGCGAGGGCGAAGAAGAGGA AGAGGGCGAAGTTGAAGGGGAAGTTGAGGGCGAAGAA GGCGAAGGCGAAGGGGAAGAAGAGGAAGGCGAGGAAG AGGGCGAAGAACGCGAGAAAAGAAGGCGAAGGGGAAGA GAACCGCCGGAACAGAGAAGAGGAAGAAGAAGAGGAA GGCAAGTACCAAGAGACAGGCGAGGAAGAGAACGAGC GGCAGGATGGCGAAGAGTACAAGAAGGTGTCCAAGATC AAGGGCAGCGTGAAGTACGGCAAGCACAAGACCTACCA GAAAAAGTCCGTGACCAACACACAAGGCAATGGCAAA GAACAGCGGAGCAAGATGCCCCTGCAGTCCAAGAGACT GCTGAAGAATGGCCCCAGCGGCAGCAAAAAGTTCTGGA ACAACGTGCTGCCCCACTACCTGGAAGTGA	
SEQ ID NO: 7	GGGCCCCAGAAGCCTGGTGGTTGTTTGTCTTCTCAGGG GAAAAGTGAGGCGGCCCTTGGAGGAAGGGGCCGGGC AGAATGATCTAATCGGATTCCAAGCAGCTCAGGGGATT GTCTTTTCTAGCACCTTCTTGCCACTCCTAAGCGTCCTC CGTGACCCCGGCTGGGATTTAGCCTGGTGCTGTGTCAGC CCCGGGCTCCCAGGGGCTTCCCAGTGGTCCCCAGGGAA CCCTCGACAGGGCCAGGGCGTCTCTCTCGTCCAGCAAG GGCAGGGACGGGCCACAGGCAAGGGC	GRK1 long (GRK1L) sequence
SEQ ID NO: 8	GGGCCCCAGAAGCCTGGTGGTTGTTTGTCTTCTCAGGG GAAAAGTGAGGCGGCCCTTGGAGGAAGGGGCCGGGC AGAATGATCTAATCGGATTCCAAGCAGCTCAGGGGATT GTCTTTTCTAGCACCTTCTTGCCACTCCTAAGCGTCCTC CGTGACCCCGGCTGGGATTTAGCCTGGTGCTGTGTCAGC CCCGGG	GRK1S short (GRK1S) sequence

【 0 2 0 0 】

10

20

30

40

50

【表 4 - 1 6】

SEQ ID NO: 9	CTGTGCCTTCTAGTTGCCAGCCATCTGTTGTTTGCCCCTC CCCCGTGCCTTCCTTGACCCTGGAAGGTGCCACTCCAC TGTCTTTCTAATAAAAATGAGGAAATTGCATCGCATTG TCTGAGTAGGTGTCATTCTATTCTGGGGGGTGGGGTGGG GCAGGACAGCAAGGGGGAGGATTGGGAAGACAATAGC AGGCATGCTGGGGATGCGGTGGGCTCTATGG	bGHpA sequence
SEQ ID NO: 10	GATCCAGACATGATAAGATACATTGATGAGTTTGGACA AACCACAAC TAGAATGCAGTGAAAAAATGCTTTATTT GTGAAATTTGTGATGCTATTGCTTTATTTGTAACCATTAT AAGCTGCAATAACAAGTT	SV40pA sequence
SEQ ID NO: 11	AATAAAGGAAATTTATTTTCATTGCAATAGTGTGTTGGA ATTTTTTGTGTCTCTCA	rbGlobpA sequence
SEQ ID NO: 12	GGGTGGCATCCCTGTGACCCCTCCCCAGTGCCTCTCCTG GCCCTGGAAGTTGCCACTCCAGTGCCACCAGCCTTGTC CTAATAAAATTAAGTTGCATCATTTTGTCTGACTAGGTG TCCTTCTATAATATTATGGGGTGGAGGGGGGTGGTATGG AGCAAGGGGCAAGTTGGGAAGACAACCTGTAGGGCCTG CGGGGTCTATTGGGAACCAAGCTGGAGTGCAGTGGCAC AATCTTGGCTCACTGCAATCTCCGCCTCCTGGGTTC AAG CGATTCTCCTGCCTCAGCCTCCCGAGTTGTTGGGATTCC AGGCATGCATGACCAGGCTCAGCTAATTTTTGTTTTTTT GGTAGAGACGGGGTTTCACCATATTGGCCAGGCTGGTC TCCAACCTCCTAATCTCAGGTGATCTACCCACCTTGGCCT CCCAAATTGCTGGGATTACAGGCGTGAACCACTGCTCCC TTCCCTGTCCTT	hGHpA sequence
SEQ ID NO: 13	GTAAGTTTAGTCTTTTTGTCTTTTATTTACAGGTCCCGGAT CCGGTGGTGGTGCAAATCAAAGAACTGCTCCTCAGTGG ATGTTGCCTTTACTTCTAG	SV40 intron sequence

10

20

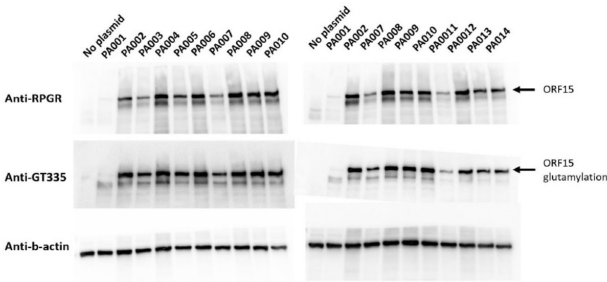
30

40

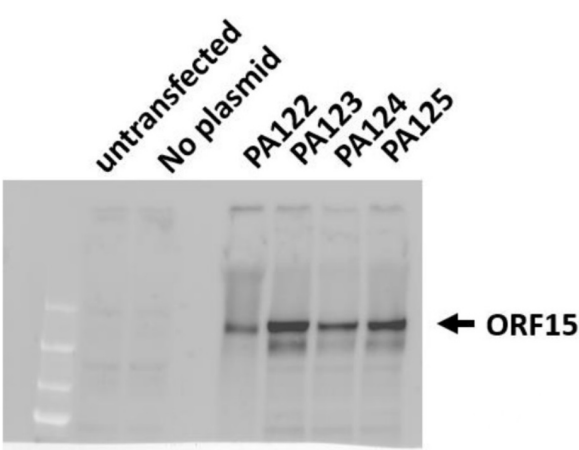
50

【 図 面 】

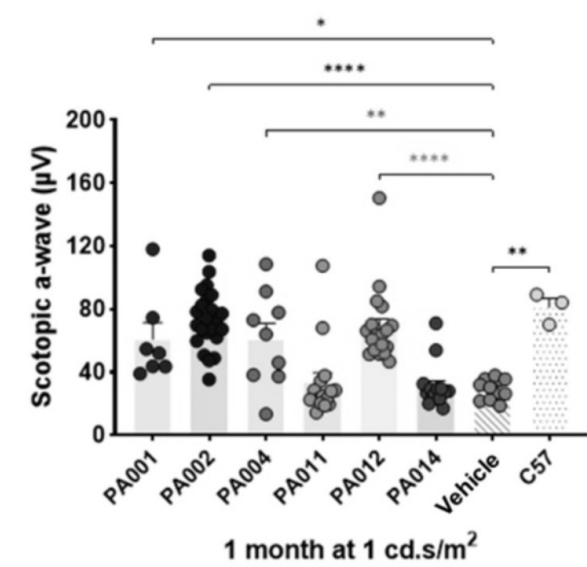
【 図 1 A 】



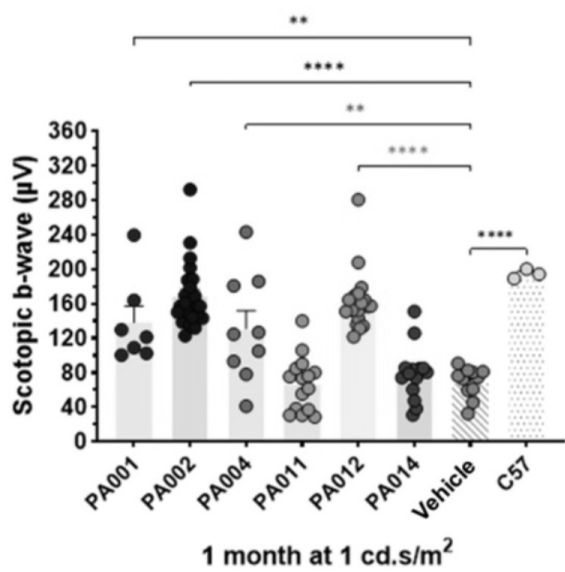
【 図 1 B 】



【 図 2 A 】



【 図 2 B 】



10

20

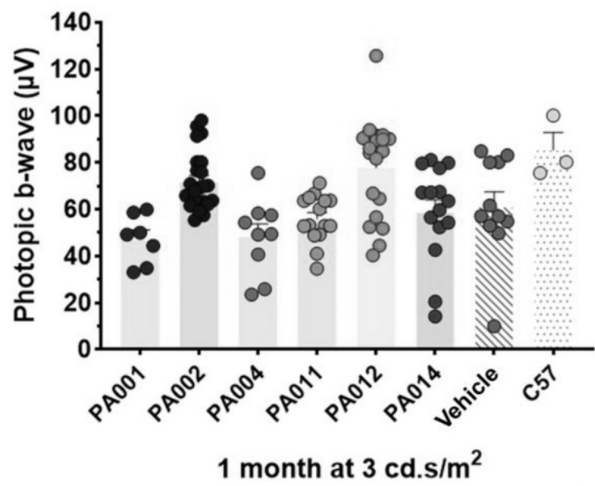
30

40

50



【 図 2 C 】



10

【 配 列 表 】

2023542279000001.app

20

30

40

50

## 【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. <b>PCT/IB2021/000509</b>
<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> 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>B. FIELDS SEARCHED</b> 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		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
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 <b>22 November 2021</b>		Date of mailing of the international search report <b>08 December 2021</b>
Name and mailing address of the ISA/CN <b>National Intellectual Property Administration, PRC 6, Xitucheng Rd., Jimen Bridge, Haidian District, Beijing 100088, China</b>		Authorized officer <b>LI,En</b>
Facsimile No. (86-10)62019451		Telephone No. 86-(10)-53961874

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (January 2015)

10

20

30

40

50

## 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

## 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:

a. ☒ 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.

b. ☐ 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.

c. ☐ 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:

## 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. 10
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). 20

30

40

50

**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
				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
				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
				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
				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)

10

20

30

40

50

**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	

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

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 )
<i>C 1 2 N</i> <i>7/01 (2006.01)</i>	<i>C 1 2 N</i> 7/01	
<i>A 6 1 K</i> <i>38/17 (2006.01)</i>	<i>A 6 1 K</i> 38/17	
<i>A 6 1 P</i> <i>27/02 (2006.01)</i>	<i>A 6 1 P</i> 27/02	
<i>A 6 1 K</i> <i>31/711 (2006.01)</i>	<i>A 6 1 K</i> 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    スイート    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