(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)公表番号
特表2024-517250
(P2024-517250A)
(43)公表日　令和6年4月19日(2024.4.19)

(51)国際特許分類		FI			テーマコード（参考）
C12N 15/63 (2006.01)		C12N	15/63	Z ZNA	4B065
C12N 15/11 (2006.01)		C12N	15/11	Z	4C084
C12N 15/113 (2010.01)		C12N	15/113	Z	4C087
C12N 15/12 (2006.01)		C12N	15/12		
C12N 15/864 (2006.01)		C12N	15/864	100Z	

審査請求　未請求　予備審査請求　未請求　（全84頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2023-568110(P2023-568110)
(86)(22)出願日　令和4年5月4日(2022.5.4)
(85)翻訳文提出日　令和5年12月1日(2023.12.1)
(86)国際出願番号　PCT/US2022/027679
(87)国際公開番号　WO2022/235805
(87)国際公開日　令和4年11月10日(2022.11.10)
(31)優先権主張番号　63/184,015
(32)優先日　令和3年5月4日(2021.5.4)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(81)指定国・地域　AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,
最終頁に続く

(71)出願人　520299511
デシベル セラピューティクス インコーポレイテッド
DECIBEL THERAPEUTICS, INC.
アメリカ合衆国 02215 マサチューセッツ州 ボストン ボイルストン ストリート 1325 スイート 500
(74)代理人　100105957
弁理士　恩田 誠
(74)代理人　100068755
弁理士　恩田 博宣
(74)代理人　100142907
弁理士　本田 淳
(74)代理人　100152489
最終頁に続く

(54)【発明の名称】　前庭支持細胞プロモーター及びその使用

(57)【要約】
本開示は、ＳＬＣ６Ａ１４プロモーターを含むポリヌクレオチド、及び、それを含むベクターを提供し、これを用いて、前庭支持細胞において導入遺伝子の発現を促進することができる。本明細書に記載のポリヌクレオチドを、導入遺伝子、例えば、目的のタンパク質をコードする導入遺伝子に操作可能に連結し、それにより、導入遺伝子の前庭支持細胞発現を促進することができる。本明細書に記載のポリヌクレオチドを、導入遺伝子に操作可能に連結し、前庭機能障害を有するか、または発症するリスクを有する対象の治療に使用してもよい。

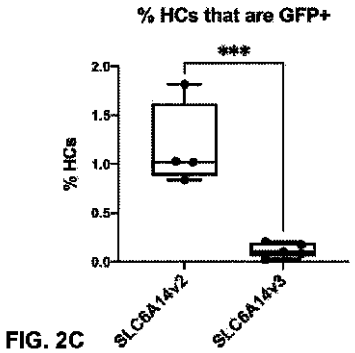


FIG. 2C

【特許請求の範囲】
【請求項１】
核酸ベクターであって、配列番号１に対して少なくとも８５％の配列同一性を有するポリヌクレオチド配列を含む溶質キャリアファミリー６メンバー１４（ＳＬＣ６Ａ１４）プロモーターを含む、前記核酸ベクター。
【請求項２】
前記ＳＬＣ６Ａ１４プロモーターは、配列番号１の配列を有する、請求項１に記載の核酸ベクター。
【請求項３】
前記ＳＬＣ６Ａ１４プロモーターは、導入遺伝子に操作可能に連結される、請求項１または２に記載の核酸ベクター。
【請求項４】
前記導入遺伝子は、異種導入遺伝子である、請求項３に記載の核酸ベクター。
【請求項５】
前記導入遺伝子は、タンパク質、短ヘアピンＲＮＡ（ｓｈＲＮＡ）、アンチセンスオリゴヌクレオチド（ＡＳＯ）、ヌクレアーゼ、またはマイクロＲＮＡをコードする、請求項３または４に記載の核酸ベクター。
【請求項６】
前記導入遺伝子は、タンパク質をコードする、請求項５に記載の核酸ベクター。
【請求項７】
前記タンパク質は、無調（Ａｔｏｎａｌ）ＢＨＬＨ転写因子１（Ａｔｏｈ１）、スパルト（Ｓｐａｌｔ）様転写因子２（Ｓａｌｌ２）、カルモジュリン結合転写活性化因子１（Ｃａｍｔａ１）、ＹＲＰＷモチーフ２を有するＨｅｓ関連ファミリーＢＨＬＨ転写因子（Ｈｅｙ２）、Ｇａｔａ結合タンパク質２（Ｇａｔａ２）、ＹＲＰＷモチーフ１を有するＨｅｓ関連ファミリーＢＨＬＨ転写因子（Ｈｅｙ１）、セラミドシンターゼ２（Ｌａｓｓ２）、ＳＲＹボックス１０（Ｓｏｘ１０）、ＧＡＴＡ結合タンパク質３（Ｇａｔａ３）、Ｃｕｔ様ホメオボックス１（Ｃｕｘ１）、核受容体サブファミリー２群Ｆメンバー（Ｎｒ２ｆ１）、Ｈｅｓ関連ファミリーＢＨＬＨ転写因子（Ｈｅｓ１）、ＲＡＲ関連オーファン受容体Ｂ（Ｒｏｒｂ）、Ｊｕｎがん原遺伝子ＡＰ－１転写因子サブユニット（Ｊｕｎ）、ジンクフィンガータンパク質６６７（Ｚｆｐ６６７）、ＬＩＭホメオボックス３（Ｌｈｘ３）、Ｎｅｓｃｉｅｎｔヘリックス・ループ・ヘリックス１（Ｎｈｌｈ１）、ＭＡＸ二量体化タンパク質４（Ｍｘｄ４）、ジンクフィンガーＭＩＺ－Ｔｙｐｅ含有１（Ｚｍｉｚ１）、ミエリン転写因子１（Ｍｙｔ１）、シグナル伝達兼転写活性化因子３（Ｓｔａｔ３）、ＢａｒＨ様ホメオボックス１（Ｂａｒｈｌ１）、胸腺細胞選択関連高移動度群ボックス（Ｔｏｘ）、プロスペロホメオボックス１（Ｐｒｏｘ１）、核因子ＩＡ（Ｎｆｉａ）、甲状腺ホルモン受容体β（Ｔｈｒｂ）、ＭＹＣＬがん原遺伝子ＢＨＬＨ転写因子（Ｍｙｃｌ１）、リジンデメチラーゼ５Ａ（Ｋｄｍ５ａ）、ＣＡＭＰ応答配列結合タンパク質３様４（Ｃｒｅｂ３Ｉ４）、ＥＴＳ変異体１（Ｅｔｖ１）、父性発現３（Ｐｅｇ３）、ＢＴＢドメイン及びＣＮＣホモログ２（Ｂａｃｈ２）、ＩＳＬ・ＬＩＭホメオボックス１（Ｉｓｌ１）、ジンクフィンガー及びＢＴＢドメイン含有３８（Ｚｂｔｂ３８）、肢芽及び心臓発達（Ｌｂｈ）、Ｔｕｂｂｙ　Ｂｉｐａｒｔｉｔｅ転写因子（Ｔｕｂ）、ユビキチンＣ（Ｈｍｇ２０）、ＲＥ１サイレンシング転写因子（Ｒｅｓｔ）、ジンクフィンガータンパク質８２７（Ｚｆｐ８２７）、ＡＦ４／ＦＭＲ２ファミリーメンバー３（Ａｆｆ３）、ＰＢＸ／結節（Ｋｎｏｔｔｅｄ）１ホメオボックス２（Ｐｋｎｏｘ２）、ＡＴリッチ相互作用ドメイン３Ｂ（Ａｒｉｄ３ｂ）、ＭＬＸ相互作用タンパク質（Ｍｌｘｉｐ）、ジンクフィンガータンパク質（Ｚｆｐ５３２）、ＩＫＡＲＯＳファミリージンクフィンガー２（Ｉｋｚｆ２）、スパルト様転写因子１（Ｓａｌｌ１）、ＳＩＸホメオボックス２（Ｓｉｘ２）、スパルト様転写因子３（Ｓａｌｌ３）、Ｌｉｎ－２８ホモログＢ（Ｌｉｎ２８ｂ）、調節因子Ｘ７（Ｒｆｘ７）、脳由来神経栄養因子（Ｂｄｎｆ）、成長因子非依存性１転写抑制因子（Ｇｆｉ１）、ＰＯＵクラス４ホメオボックス３（Ｐｏｕ４ｆ３）、ＭＹＣがん原遺伝

子ＢＨＬＨ転写因子（Ｍｙｃ）、β－カテニン（Ｃｔｎｎｂ１）、ＳＲＹボックス２（Ｓｏｘ２）、ＳＲＹボックス４（Ｓｏｘ４）、ＳＲＹボックス１１（Ｓｏｘ１１）、ＴＥＡドメイン転写因子２（Ｔｅａｄ２）、またはＡｔｏｈ１変異体である、請求項６に記載の核酸ベクター。

【請求項８】

前記タンパク質は、Ａｔｏｈ１である、請求項７に記載の核酸ベクター。

【請求項９】

前記核酸ベクターは、さらに、前記ＳＬＣ６Ａ１４プロモーターの第１逆位末端反復配列５’、前記導入遺伝子の３’を含み、かつ任意の転写後調節エレメント、ポリアデニル化シグナル、及び第２逆位末端反復配列を５’から３’の順で、含む、請求項３～８のいずれか１項に記載の核酸ベクター。

【請求項１０】

配列番号１０のヌクレオチド２１９～３８３１と、配列番号１０のヌクレオチド２１９～３８３１の第１逆位末端反復配列５’であって、前記５’逆位末端反復配列が配列番号１０のヌクレオチド１～１３０に対して少なくとも８０％の配列同一性を有する前記第１逆位末端反復配列５’と、配列番号１０のヌクレオチド２１９～３８３１の第２逆位末端反復配列３’であって、前記３’逆位末端反復配列が配列番号１０のヌクレオチド３９１９～４０４８に対して少なくとも８０％の配列同一性を有する前記第２逆位末端反復配列３’と、を含む、請求項９に記載の核酸ベクター。

【請求項１１】

配列番号１１のヌクレオチド２１９～３８２２と、配列番号１１のヌクレオチド２１９～３８２２の第１逆位末端反復配列５’であって、前記５’逆位末端反復配列が配列番号１１のヌクレオチド１～１３０に対して少なくとも８０％の配列同一性を有する前記第１逆位末端反復配列５’と、配列番号１１のヌクレオチド２１９～３８２２の第２逆位末端反復配列３’であって、前記３’逆位末端反復配列が配列番号１１のヌクレオチド３９１０～４０３９に対して少なくとも８０％の配列同一性を有する前記第２逆位末端反復配列３’と、を含む、請求項９に記載の核酸ベクター。

【請求項１２】

前記核酸ベクターは、プラスミドである、請求項１～１１のいずれか１項に記載の核酸ベクター。

【請求項１３】

前記核酸ベクターは、アデノ随伴ウイルス（ＡＡＶ）ベクターである、請求項１～１１のいずれか１項に記載の核酸ベクター。

【請求項１４】

前記ＡＡＶベクターは、ＡＡＶ８キャプシドを有する、請求項１３に記載の核酸ベクター。

【請求項１５】

請求項１～１４のいずれか１項に記載の核酸ベクター、及び薬学的に許容される担体、希釈剤または賦形剤を含む、医薬組成物。

【請求項１６】

哺乳類前庭支持細胞（ＶＳＣ）で導入遺伝子を発現させる方法であって、前記哺乳類ＶＳＣを請求項１～１４のいずれか１項に記載の核酸ベクター、または請求項１５に記載の組成物に接触させることを含む、前記方法。

【請求項１７】

前記哺乳類ＶＳＣは、ヒトＶＳＣである、請求項１６に記載の方法。

【請求項１８】

前庭機能障害を有するか、または発症するリスクを有する対象を治療する方法であって、有効量の請求項１～１４のいずれか１項に記載の核酸ベクター、または請求項１５に記載の組成物を前記対象の内耳に投与することを含む、前記方法。

【請求項１９】

前庭有毛細胞再生を誘導または向上させることを必要とする対象においてそれを実施する方法であって、有効量の請求項１～１４のいずれか１項に記載の核酸ベクター、または請求項１５に記載の組成物を前記対象の内耳に投与することを含む、前記方法。
【請求項２０】
両側前庭機能低下を有するか、または発症するリスクを有する対象を治療する方法であって、有効量の請求項１～１４のいずれか１項に記載の核酸ベクター、または請求項１５に記載の組成物を前記対象の内耳に投与することを含む、前記方法。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
本発明は、特定の細胞型において、有毛細胞または支持細胞の機能、再生、成熟、増殖、または生存を促進または向上させる遺伝子として、目的の遺伝子の発現を促進するための組成物及び方法に関する。
【０００２】
配列表
本出願は、ＡＳＣＩＩ形式で電子的に提出された配列表を含み、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。ＡＳＣＩＩのコピーは、２０２２年４月２８日に作成されたものであり、名称は「５１４７１－０１０ＷＯ２＿Ｓｅｑｕｅｎｃｅ＿Ｌｉｓｔｉｎｇ＿４＿２８＿２２＿ＳＴ２５」、サイズは、４１，８０４バイトである。
【背景技術】
【０００３】
前庭機能障害は、生命の質に重大な影響を及ぼす公衆衛生上の重要な問題である。米国における４０歳以上の成人の約３５％に平衡障害が見られ、この割合は年齢とともに劇的に増加し、このことは、日常の活動の崩壊、気分及び認知の低下、ならびに高齢者の有病率の増加をもたらす。前庭機能障害は多くの場合、後天性であり、疾患または感染症、頭部外傷、耳毒性薬、及び老化を含む、様々な原因がある。前庭機能障害の病因の共通因子は、内耳の前庭有毛細胞への損傷である。したがって、有毛細胞機能を回復することを目的とする治療法は、前庭機能障害に罹患している患者に有益である。前庭支持細胞は、損傷後に自発的に有毛細胞に分化することが知られており、したがって、有毛細胞機能を回復するのに適切な治療標的として機能する可能性がある。
【発明の概要】
【０００４】
本発明は、特定の細胞型において、有毛細胞または支持細胞の機能、再生、成熟、増殖、または生存を促進または向上させる遺伝子として、目的の遺伝子の発現を促進するための組成物及び方法を提供する。本明細書に記載の組成物及び方法は、内耳の前庭支持細胞（ＶＳＣ）における導入遺伝子の発現を誘導するのに使用され得る溶質キャリアファミリー６メンバー１４（ＳＬＣ６Ａ１４）プロモーター配列に関する。本明細書に記載のＳＬＣ６Ａ１４プロモーター配列は、導入遺伝子に操作可能に連結され得、かつ前庭機能障害（例えば、眩暈、めまい、平衡失調、両側前庭機能低下、両側前庭機能不全、動揺視、または平衡障害）を治療するために患者に投与することができる。本明細書に記載のＳＬＣ６Ａ１４プロモーター配列は、他の内耳細胞型、例えば、有毛細胞での発現がはるかに低い状態で、前庭支持細胞において操作可能に連結された導入遺伝子の高い発現を誘導することによって高い細胞型特異性を示す。
【０００５】
第１の態様において、本発明は、配列番号１に対して少なくとも８５％の配列同一性（例えば、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％またはそれ以上の配列同一性）を有するポリヌクレオチドを含む核酸ベクターを提供する。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、配列番号１に対して少なくとも９０％の配列を有する。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、配列番号１に対して少なくとも９５％の配列を有する。いく

つかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、配列番号１の配列を有する。
【０００６】
いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、導入遺伝子に操作可能に連結される。いくつかの実施形態では、導入遺伝子は、異種導入遺伝子である。いくつかの実施形態では、導入遺伝子は、タンパク質（例えば、治療用タンパク質、またはレポータータンパク質）、短ヘアピンＲＮＡ（ｓｈＲＮＡ）、アンチセンスオリゴヌクレオチド（ＡＳＯ）、ヌクレアーゼ（例えば、ＣＲＩＳＰＲ関連タンパク質９（Ｃａｓ９）、転写活性化様エフェクターヌクレアーゼ（ＴＡＬＥＮ）、ジンクフィンガーヌクレアーゼ（ＺＦＮ）、またはガイドＲＮＡ（ｇＲＮＡ））、あるいはマイクロＲＮＡをコードする。いくつかの実施形態では、導入遺伝子は、タンパク質をコードする。
【０００７】
いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、哺乳類ＶＳＣにおいて、タンパク質（例えば、治療用タンパク質、またはレポータータンパク質）、ｓｈＲＮＡ、ＡＳＯ、ヌクレアーゼ、またはマイクロＲＮＡの前庭支持細胞（ＶＳＣ）特異的発現を誘導する。いくつかの実施形態では、ＶＳＣは、ヒトＶＳＣである。
【０００８】
いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドに操作可能に連結された導入遺伝子によってコードされるタンパク質は、スパルト様転写因子２（Ｓａｌｌ２）、カルモジュリン結合転写活性化因子１（Ｃａｍｔａ１）、ＹＲＰＷモチーフ２を有するＨｅｓ関連ファミリーＢＨＬＨ転写因子（Ｈｅｙ２）、Ｇａｔａ結合タンパク質２（Ｇａｔａ２）、ＹＲＰＷモチーフ１を有するＨｅｓ関連ファミリーＢＨＬＨ転写因子（Ｈｅｙ１）、セラミドシンターゼ２（Ｌａｓｓ２）、ＳＲＹボックス１０（Ｓｏｘ１０）、ＧＡＴＡ結合タンパク質３（Ｇａｔａ３）、Ｃｕｔ様ホメオボックス１（Ｃｕｘ１）、核受容体サブファミリー２群Ｆメンバー（Ｎｒ２ｆ１）、Ｈｅｓ関連ファミリーＢＨＬＨ転写因子（Ｈｅｓ１）、ＲＡＲ関連オーファン受容体Ｂ（Ｒｏｒｂ）、Ｊｕｎがん原遺伝子ＡＰ－１転写因子サブユニット（Ｊｕｎ）、ジンクフィンガータンパク質６６７（Ｚｆｐ６６７）、ＬＩＭホメオボックス３（Ｌｈｘ３）、Ｎｅｓｃｉｅｎｔヘリックス・ループ・ヘリックス１（Ｎｈｌｈ１）、ＭＡＸ二量体化タンパク質４（Ｍｘｄ４）、ジンクフィンガーＭＩＺ－Ｔｙｐｅ含有１（Ｚｍｉｚ１）、ミエリン転写因子１（Ｍｙｔ１）、シグナル伝達兼転写活性化因子３（Ｓｔａｔ３）、ＢａｒＨ様ホメオボックス１（Ｂａｒｈｌ１）、胸腺細胞選択関連高移動度群ボックス（Ｔｏｘ）、プロスペロホメオボックス１（Ｐｒｏｘ１）、核因子ＩＡ（Ｎｆｉａ）、甲状腺ホルモン受容体β（Ｔｈｒｂ）、ＭＹＣＬがん原遺伝子ＢＨＬＨ転写因子（Ｍｙｃｌ１）、リジンデメチラーゼ５Ａ（Ｋｄｍ５ａ）、ＣＡＭＰ応答配列結合タンパク質３様４（Ｃｒｅｂ３Ｉ４）、ＥＴＳ変異体１（Ｅｔｖ１）、父性発現３（Ｐｅｇ３）、ＢＴＢドメイン及びＣＮＣホモログ２（Ｂａｃｈ２）、ＩＳＬ・ＬＩＭホメオボックス１（Ｉｓｌ１）、ジンクフィンガー及びＢＴＢドメイン含有３８（Ｚｂｔｂ３８）、肢芽及び心臓発達（Ｌｂｈ）、Ｔｕｂｂｙ　Ｂｉｐａｒｔｉｔｅ転写因子（Ｔｕｂ）、ユビキチンＣ（Ｈｍｇ２０）、ＲＥ１サイレンシング転写因子（Ｒｅｓｔ）、ジンクフィンガータンパク質８２７（Ｚｆｐ８２７）、ＡＦ４／ＦＭＲ２ファミリーメンバー３（Ａｆｆ３）、ＰＢＸ／結節（Ｋｎｏｔｔｅｄ）１ホメオボックス２（Ｐｋｎｏｘ２）、ＡＴリッチ相互作用ドメイン３Ｂ（Ａｒｉｄ３ｂ）、ＭＬＸ相互作用タンパク質（Ｍｌｘｉｐ）、ジンクフィンガータンパク質（Ｚｆｐ５３２）、ＩＫＡＲＯＳファミリージンクフィンガー２（Ｉｋｚｆ２）、スパルト様転写因子１（Ｓａｌｌ１）、ＳＩＸホメオボックス２（Ｓｉｘ２）、スパルト様転写因子３（Ｓａｌｌ３）、Ｌｉｎ－２８ホモログＢ（Ｌｉｎ２８ｂ）、調節因子Ｘ７（Ｒｆｘ７）、脳由来神経栄養因子（Ｂｄｎｆ）、成長因子非依存性１転写抑制因子（Ｇｆｉ１）、ＰＯＵクラス４ホメオボックス３（Ｐｏｕ４ｆ３）、ＭＹＣがん原遺伝子ＢＨＬＨ転写因子（Ｍｙｃ）、β－カテニン（Ｃｔｎｎｂ１）、ＳＲＹボックス２（Ｓｏｘ２）、ＳＲＹボックス４（Ｓｏｘ４）、ＳＲＹボックス１１（Ｓｏｘ１１）、ＴＥＡドメイン転写因子２（Ｔｅａｄ２）、無調ＢＨＬＨ転写因子１（Ａｔｏｈ１）、またはＡｔｏｈ１変異体である。

【０００９】
いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドに操作可能に連結された導入遺伝子によってコードされるタンパク質は、Ａｔｏｈ１またはＡｔｏｈ１変異体である。いくつかの実施形態では、Ａｔｏｈ１変異体は、配列番号４と比較してＳ３２８Ａ、Ｓ３３１Ａ、Ｓ３３４Ａ、Ｓ３２８Ａ／Ｓ３３１Ａ、Ｓ３２８Ａ／Ｓ３３４Ａ、Ｓ３３１Ａ／Ｓ３３４Ａ、及びＳ３２８Ａ／Ｓ３３１Ａ／Ｓ３３４からなる群から選択される１つ以上のアミノ酸置換を有する。いくつかの実施形態では、タンパク質は、Ａｔｏｈ１（例えば、ヒトＡｔｏｈ１）である。いくつかの実施形態では、Ａｔｏｈ１タンパク質は、１つ以上（例えば、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０もしくはそれ以上）の保存的アミノ酸置換を有する配列番号４の配列またはその変異体を含む。いくつかの実施形態では、Ａｔｏｈ１タンパク質は、１つ以上（例えば、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０もしくはそれ以上）の保存的アミノ酸置換を有する配列番号６の配列またはその変異体を含む。いくつかの実施形態では、Ａｔｏｈ１タンパク質変異体の１０％以下（１０％、９％、８％、７％、６％、５％、４％、３％、２％、１％、またはそれ以下）のアミノ酸は、保存的アミノ酸置換である。いくつかの実施形態では、Ａｔｏｈ１タンパク質は、配列番号４の配列を有する。いくつかの実施形態では、Ａｔｏｈ１タンパク質は、配列番号５の配列によってコードされる。いくつかの実施形態では、Ａｔｏｈ１タンパク質は、配列番号６の配列を有する。いくつかの実施形態では、Ａｔｏｈ１タンパク質は、配列番号７の配列によってコードされる。

【００１０】
いくつかの実施形態では、核酸ベクターは、さらに、逆位末端反復配列（ＩＴＲ）を含む。導入遺伝子に操作可能に連結された本発明のポリヌクレオチドを核酸ベクターが含む場合の実施形態では、その核酸ベクターは、ポリヌクレオチドの第１ＩＴＲ配列５’及び導入遺伝子の第２ＩＴＲ配列３’を含む。いくつかの実施形態において、ＩＴＲは、ＡＡＶ２　ＩＴＲである。いくつかの実施形態では、ＩＴＲは、ＡＡＶ２　ＩＴＲに対して少なくとも８０％の配列同一性（例えば、少なくとも８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％の配列同一性）を有する。

【００１１】
いくつかの実施形態では、核酸ベクターは、ポリアデニル化（ポリ（Ａ））配列をさらに含む。いくつかの実施形態では、ポリ（Ａ）配列は、ウシ成長ホルモン（ｂＧＨ）ポリ（Ａ）シグナル配列である。導入遺伝子に操作可能に連結された本発明のポリヌクレオチドを核酸ベクターが含む場合の実施形態では、ポリ（Ａ）配列が、導入遺伝子の３’に位置する。第１及び第２ＩＴＲ配列ならびに導入遺伝子に操作可能に連結された本発明のポリヌクレオチドを核酸ベクターが含む場合の実施形態では、ポリ（Ａ）配列は、導入遺伝子の３’、及び第２ＩＴＲ配列の５’に位置する。

【００１２】
いくつかの実施形態では、核酸ベクターは、ウッドチャック転写後調節エレメント（ＷＰＲＥ）をさらに含む。いくつかの実施形態では、ＷＰＲＥは、配列番号８または配列番号９の配列を有する。導入遺伝子に操作可能に連結された本発明のポリヌクレオチドを核酸ベクターが含む場合の実施形態では、ＷＰＲＥが、導入遺伝子の３’に位置する。導入遺伝子に操作可能に連結された本発明のポリヌクレオチド及びポリ（Ａ）配列を核酸ベクターが含む場合の実施形態では、ＷＰＲＥが、導入遺伝子の３’、及びポリ（Ａ）配列の５’に位置する。

【００１３】
いくつかの実施形態では、核酸ベクターは、配列番号１０のヌクレオチド２１９～３８３１の配列を含むポリヌクレオチド配列を含む。
いくつかの実施形態では、核酸ベクターは、配列番号１１のヌクレオチド２１９～３８２２の配列を含むポリヌクレオチド配列を含む。

【００１４】
いくつかの実施形態では、本発明の核酸ベクターは、ヒトＡｔｏｈ１（ヒトＡＴＯＨ１タンパク質＝ＲｅｆＳｅｑ登録番号ＮＰ＿００５１６３（配列番号４）、ｍＲＮＡ配列＝ＲｅｆＳｅｑ登録番号ＮＭ＿００５１７２）をコードするポリヌクレオチド配列に操作可能に連結されたＳＬＣ６Ａ１４プロモーター（例えば、配列番号１のポリヌクレオチド）を含む。さらにいくつかの特定の実施形態では、本発明の核酸ベクターは、ヒトＡｔｏｈ１をコードするポリヌクレオチド配列（例えば、配列番号４をコードするポリヌクレオチド配列、例えば、配列番号５のポリヌクレオチド配列）に操作可能に連結された配列番号１のＳＬＣ６Ａ１４プロモーターを含む。さらにいくつかの特定の実施形態では、核酸ベクターは、第１逆位末端反復配列、配列番号１のＳＬＣ６Ａ１４プロモーター、ＳＬＣ６Ａ１４プロモーターに操作可能に連結されたヒトＡｔｏｈ１をコードするポリヌクレオチド配列、ポリアデニル化配列、及び第２逆位末端反復配列を５’から３’の順で含む。さらにいくつかの特定の実施形態では、核酸ベクターは、第１逆位末端反復配列、配列番号１のＳＬＣ６Ａ１４プロモーター、ＳＬＣ６Ａ１４プロモーターに操作可能に連結されたヒトＡｔｏｈ１をコードするポリヌクレオチド配列、ＷＰＲＥ、ポリアデニル化配列、及び第２逆位末端反復配列を５’から３’の順で含む。さらにいくつかの特定の実施形態では、核酸ベクターは、逆位末端反復配列によって挟まれた配列番号１０のヌクレオチド２１９～３８３１を含む。さらにいくつかの特定の実施形態では、核酸ベクターは、逆位末端反復配列によって挟まれた配列番号１０のヌクレオチド２１９～３８３１を含み、ここで、５’逆位末端反復配列は、配列番号１０のヌクレオチド１～１３０に対して少なくとも８０％の配列同一性（例えば、少なくとも８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％の配列同一性）を有し、かつ、３’逆位末端反復配列は、配列番号１０のヌクレオチド３９１９～４０４８に対して少なくとも８０％の配列同一性（例えば、少なくとも８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％の配列同一性）を有する。

【００１５】
いくつかの実施形態では、本発明の核酸ベクターは、マウスＡｔｏｈ１（マウスＡＴＯＨ１タンパク質＝ＵｎｉＰｒｏｔ　Ｐ４８９８５（配列番号６）、ｍＲＮＡ配列＝ＲｅｆＳｅｑ登録番号ＮＭ＿００７５００．５）をコードするポリヌクレオチド配列に操作可能に連結されたＳＬＣ６Ａ１４プロモーター（例えば、配列番号１のポリヌクレオチド）を含む。さらにいくつかの特定の実施形態では、本発明の核酸ベクターは、マウスＡｔｏｈ１をコードするポリヌクレオチド配列（例えば、配列番号６をコードするポリヌクレオチド配列、例えば、配列番号７のポリヌクレオチド配列）に操作可能に連結された配列番号１のＳＬＣ６Ａ１４プロモーターを含む。さらにいくつかの特定の実施形態では、核酸ベクターは、第１逆位末端反復配列、配列番号１のＳＬＣ６Ａ１４プロモーター、ＳＬＣ６Ａ１４プロモーターに操作可能に連結されたマウスＡｔｏｈ１をコードするポリヌクレオチド配列、ポリアデニル化配列、及び第２逆位末端反復配列を５’から３’の順で含む。さらにいくつかの特定の実施形態では、核酸ベクターは、第１逆位末端反復配列、配列番号１のＳＬＣ６Ａ１４プロモーター、ＳＬＣ６Ａ１４プロモーターに操作可能に連結されたマウスＡｔｏｈ１をコードするポリヌクレオチド配列、ＷＰＲＥ、ポリアデニル化配列、及び第２逆位末端反復配列を５’から３’の順で含む。さらにいくつかの特定の実施形態では、核酸ベクターは、逆位末端反復配列によって挟まれた配列番号１１のヌクレオチド２１９～３８２２を含む。さらにいくつかの特定の実施形態では、核酸ベクターは、逆位末端反復配列によって挟まれた配列番号１１のヌクレオチド２１９～３８２２を含み、ここで、５’逆位末端反復配列は、配列番号１１のヌクレオチド１～１３０に対して少なくとも８０％の配列同一性（例えば、少なくとも８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％の配列同一性）を有し、かつ、３’逆位

末端反復配列は、配列番号１１のヌクレオチド３９１０～４０３９に対して少なくとも８０％の配列同一性（例えば、少なくとも８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％の配列同一性）を有する。

【００１６】

いくつかの実施形態では、核酸ベクターは、ウイルスベクター、プラスミド、コスミド、または人工染色体である。いくつかの実施形態では、核酸ベクターは、アデノ随伴ウイルス（ＡＡＶ）、アデノウイルス、及びレンチウイルスからなる群から選択されるウイルスベクターである。いくつかの実施形態では、ウイルスベクターは、ＡＡＶベクターである。いくつかの実施形態では、ＡＡＶベクターは、ＡＡＶ１、ＡＡＶ２、ＡＡＶ２ｑｕａｄ（Ｙ－Ｆ）、ＡＡＶ３、ＡＡＶ４、ＡＡＶ５、ＡＡＶ６、ＡＡＶ７、ＡＡＶ８、ＡＡＶ９、ＡＡＶ１０、ＡＡＶ１１、ｒｈ１０、ｒｈ３９、ｒｈ４３、ｒｈ７４、Ａｎｃ８０、Ａｎｃ８０Ｌ６５、ＤＪ／８、ＤＪ／９、７ｍ８、ＰＨＰ．Ｂ、ＰＨＰ．ｅＢ、またはＰＨＰ．Ｓキャプシドを有する。いくつかの実施形態では、ＡＡＶベクターは、ＡＡＶ１キャプシドを有する。いくつかの実施形態では、ＡＡＶベクターは、ＡＡＶ９キャプシドを有する。いくつかの実施形態では、ＡＡＶベクターは、ＡＡＶ６キャプシドを有する。いくつかの実施形態では、ＡＡＶベクターは、ＡＡＶ８キャプシドを有する。いくつかの実施形態では、ＡＡＶベクターは、Ａｎｃ８０キャプシドを有する。いくつかの実施形態では、ＡＡＶベクターは、Ａｎｃ８０Ｌ６５キャプシドを有する。いくつかの実施形態では、ＡＡＶベクターは、ＤＪ／９キャプシドを有する。いくつかの実施形態では、ＡＡＶベクターは、７ｍ８キャプシドを有する。いくつかの実施形態では、ＡＡＶベクターは、ＡＡＶ２キャプシドを有する。いくつかの実施形態では、ＡＡＶベクターは、ＰＨＰ．Ｂキャプシドを有する。いくつかの実施形態では、ＡＡＶベクターは、ＡＡＶ２ｑｕａｄ（Ｙ－Ｆ）キャプシドを有する。いくつかの実施形態では、ＡＡＶベクターは、ＰＨＰ．Ｓキャプシドを有する。いくつかの実施形態では、ＡＡＶベクターは、ＰＨＰ．ｅＢキャプシドを有する。いくつかの実施形態では、ＡＡＶベクターは、ＡＡＶ３キャプシドを有する。いくつかの実施形態では、ＡＡＶベクターは、ＡＡＶ４キャプシドを有する。いくつかの実施形態では、ＡＡＶベクターは、ＡＡＶ５キャプシドを有する。いくつかの実施形態では、ＡＡＶベクターは、ＡＡＶ７キャプシドを有する。

【００１７】

本発明のウイルスベクターの作成には、典型的には本発明のプラスミドを、適切なウイルスパッケージング及び生存度のために必要とされるエレメントを提供する補助的なプラスミド（例えば、ＡＡＶの場合、適切なＡＡＶ・ｒｅｐ遺伝子、ｃａｐ遺伝子、及びその他の遺伝子（例えばＥ２Ａ及びＥ４）を提供するプラスミド）と共に使用する必要があることを当業者であれば理解するであろう。産生細胞株におけるこれらのプラスミドの組み合わせにより、ウイルスベクターが作られる。しかし、本発明の移入プラスミドにおいて任意の所与の一対の逆位末端反復配列がウイルスベクターを作成するために使用され、ウイルスベクター内の対応する配列は、遺伝子組換えの間に「フリップ」または「フロップ」方向付けを取り入れるＩＴＲに起因して変更され得ることを、当業者であれば理解されるであろう。したがって、移入プラスミド内のＩＴＲの配列は、必ずしもそれに由来して調製されるウイルスベクターで見られる配列と同じものであるわけではない。

【００１８】

別の態様において、本発明は、本発明の核酸ベクターを含有する組成物を提供する。いくつかの実施形態では、組成物は、薬学的に許容される担体、希釈剤、または賦形剤をさらに含む。

【００１９】

別の態様において、本発明は、導入遺伝子に操作可能に連結された、配列番号１に対して少なくとも８５％の配列同一性（例えば、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％またはそれ以上の配列同一性）を有するポリヌクレオチドを提供する。いくつかの実施形態

では、ポリヌクレオチドは、配列番号１の配列を有する。
【００２０】
いくつかの実施形態では、導入遺伝子は、異種導入遺伝子である。前述の態様のいくつかの実施形態では、導入遺伝子は、タンパク質（例えば、治療用タンパク質、またはレポータータンパク質）、ｓｈＲＮＡ、ＡＳＯ、ヌクレアーゼ（例えば、Ｃａｓ９、ＴＡＬＥＮ、ＺＦＮ、またはｇＲＮＡ）またはマイクロＲＮＡをコードする。いくつかの実施形態では、導入遺伝子は、タンパク質をコードする。
【００２１】
いくつかの実施形態では、タンパク質は、Ｓｏｘ９、Ｓａｌｌ２、Ｃａｍｔａ１、Ｈｅｙ２、Ｇａｔａ２、Ｈｅｙ１、Ｌａｓｓ２、Ｓｏｘ１０、Ｇａｔａ３、Ｃｕｘ１、Ｎｒ２ｆ１、Ｈｅｓ１、Ｒｏｒｂ、Ｊｕｎ、Ｚｆｐ６６７、Ｌｈｘ３、Ｎｈｌｈ１、Ｍｘｄ４、Ｚｍｉｚ１、Ｍｙｔ１、Ｓｔａｔ３、Ｂａｒｈｌ１、Ｔｏｘ、Ｐｒｏｘ１、Ｎｆｉａ、Ｔｈｒｂ、Ｍｙｃｌ１、Ｋｄｍ５ａ、Ｃｒｅｂ３１４、Ｅｔｖ１、Ｐｅｇ３、Ｂａｃｈ２、Ｉｓｌ１、Ｚｂｔｂ３８、Ｌｂｈ、Ｔｕｂ、Ｈｍｇ２０、Ｒｅｓｔ、Ｚｆｐ８２７、Ａｆｆ３、Ｐｋｎｏｘ２、Ａｒｉｄ３ｂ、Ｍｌｘｉｐ、Ｚｆｐ５３２、Ｉｋｚｆ２、Ｓａｌｌ１、Ｓｉｘ２、Ｓａｌｌ３、Ｌｉｎ２８ｂ、Ｒｆｘ７、Ｂｄｎｆ、Ｇｆｉ１、Ｐｏｕ４ｆ３、Ｍｙｃ、Ｃｔｎｎｂ１、Ｓｏｘ２、Ｓｏｘ４、Ｓｏｘ１１、Ｔｅａｄ２、Ａｔｏｈ１、またはＡｔｏｈ１変異体（例えば、Ｓ３２８Ａ、Ｓ３３１Ａ、Ｓ３３４Ａ、Ｓ３２８Ａ／Ｓ３３１Ａ、Ｓ３２８Ａ／Ｓ３３４Ａ、Ｓ３３１Ａ／Ｓ３３４Ａ、及びＳ３２８Ａ／Ｓ３３１Ａ／Ｓ３３４からなる群から選択される１つ以上のアミノ酸置換を有するＡｔｏｈ１変異体）である。いくつかの実施形態では、タンパク質は、Ａｔｏｈ１（例えば、ヒトＡｔｏｈ１）である。いくつかの実施形態では、Ａｔｏｈ１タンパク質は、１つ以上（例えば、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０もしくはそれ以上）の保存的アミノ酸置換を有する配列番号４の配列またはその変異体を含む。いくつかの実施形態では、Ａｔｏｈ１タンパク質変異体の１０％以下（１０％、９％、８％、７％、６％、５％、４％、３％、２％、１％、またはそれ以下）のアミノ酸は、保存的アミノ酸置換である。いくつかの実施形態では、Ａｔｏｈ１タンパク質は、配列番号４の配列を有する。いくつかの実施形態では、Ａｔｏｈ１タンパク質は、配列番号５の配列によってコードされる。
【００２２】
別の態様において、本発明は、前述の態様及び実施形態のいずれかのポリヌクレオチドまたは核酸ベクターを含む細胞（例えば、ＶＳＣなどの、哺乳動物細胞、ヒト細胞）を提供する。いくつかの実施形態では、細胞は、哺乳類ＶＳＣである。いくつかの実施形態では、哺乳類ＶＳＣは、ヒトＶＳＣである。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、配列番号１に対して少なくとも８５％の配列同一性（例えば、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％またはそれ以上の配列同一性）を有する。
【００２３】
別の態様において、本発明は、哺乳類ＶＳＣを前述の態様及び実施形態のいずれかの核酸ベクターまたは組成物と接触させることによって、哺乳類ＶＳＣで導入遺伝子を発現させる方法を提供する。いくつかの実施形態では、導入遺伝子は、ＶＳＣで特異的に発現する（例えば、発現が観察される１つ以上の他の内耳細胞（例えば、有毛細胞）の割合よりも、少なくとも２倍、５倍、１０倍、５０倍、１００倍、２００倍、３００倍、４００倍、５００倍以上のＶＳＣの割合で発現する）。いくつかの実施形態では、哺乳類ＶＳＣは、ヒトＶＳＣである。
【００２４】
別の態様において、本発明は、前述の態様及び実施形態のいずれかの有効量の核酸ベクターまたは組成物を対象の内耳に投与することによって、前庭機能障害を有するか、または発症するリスクを有する対象を治療する方法を提供する。いくつかの実施形態では、前庭機能障害は、眩暈、めまい、平衡失調、両側前庭機能低下（両側前庭機能不全としても

知られている）、動揺視、または平衡障害である。いくつかの実施形態では、前庭機能障害は、加齢性前庭機能障害、頭部外傷性前庭機能障害、疾患もしくは感染関連性前庭機能障害、または耳毒性薬誘発性前庭機能障害である。いくつかの実施形態では、前庭機能障害は、遺伝子変異に関連している。いくつかの実施形態では、前庭機能障害は、特発性前庭機能障害である。

【００２５】

別の態様において、本発明は、前述の態様及び実施形態のいずれかの有効量の核酸ベクターまたは組成物を対象の内耳に投与することによって、それを必要とする対象における前庭有毛細胞の再生を誘導または向上させる方法を提供する。

【００２６】

別の態様において、本発明は、前述の態様及び実施形態のいずれかの有効量の核酸ベクターまたは組成物を対象の内耳に投与することによって、それを必要とする対象におけるＶＳＣの増殖を誘導または向上させる方法を提供する。

【００２７】

別の態様において、本発明は、前述の態様及び実施形態のいずれかの有効量の核酸ベクターまたは組成物を対象の内耳に投与することによって、それを必要とする対象における前庭有毛細胞の増殖を誘導または向上させる方法を提供する。

【００２８】

別の態様において、本発明は、前述の態様及び実施形態のいずれかの有効量の核酸ベクターまたは組成物を対象の内耳に投与することによって、それを必要とする対象における前庭有毛細胞の成熟を誘導または向上させる方法を提供する。いくつかの実施形態では、前庭有毛細胞は、再生された前庭有毛細胞である。

【００２９】

別の態様において、本発明は、前述の態様及び実施形態のいずれかの有効量の核酸ベクターまたは組成物を対象の内耳に投与することによって、それを必要とする対象におけるＶＳＣの生存を増加または向上させる方法を提供する。

【００３０】

別の態様において、本発明は、前述の態様及び実施形態のいずれかの有効量の核酸ベクターまたは組成物を対象の内耳に投与することによって、それを必要とする対象における前庭有毛細胞の生存を増加または向上させる方法を提供する。

【００３１】

別の態様において、本発明は、前述の態様及び実施形態のいずれかの有効量の核酸ベクターまたは組成物を対象の内耳に投与することによって、それを必要とする対象における前庭有毛細胞の神経支配を誘導または向上させる方法を提供する。

【００３２】

前述の態様のうちいずれかのいくつかの実施形態では、対象は、前庭機能障害（例えば、めまい、眩暈、平衡失調、両側前庭機能低下（両側前庭機能不全）、動揺視、または平衡障害）を有するか、または発症するリスクを有する。

【００３３】

別の態様において、本発明は、前述の態様及び実施形態のいずれかの有効量の核酸ベクターまたは組成物を対象の内耳に投与することによって、両側前庭機能低下を有するか、または発症するリスクを有する対象を治療する方法を提供する。いくつかの実施形態では、両側前庭機能低下は、耳毒性薬誘発性両側前庭機能低下である。

【００３４】

前述の態様のうちいずれかのいくつかの実施形態では、耳毒性薬は、アミノグリコシド、抗腫瘍薬、エタクリン酸、フロセミド、サリチル酸塩、及びキニンからなる群から選択される。

【００３５】

別の態様において、本発明は、前述の態様及び実施形態のいずれかの有効量の核酸ベクターまたは組成物を対象の内耳に投与することによって、動揺視を有するか、または発症

するリスクを有する対象を治療する方法を提供する。
【００３６】
別の態様において、本発明は、前述の態様及び実施形態のいずれかの有効量の核酸ベクターまたは組成物を対象の内耳に投与することによって、平衡障害（例えば、平衡失調）を有するか、または発症するリスクを有する対象を治療する方法を提供する。
【００３７】
前述の態様のうちいずれかのいくつかの実施形態では、方法は、核酸ベクターまたは組成物を投与する前に、対象の前庭機能を評価することをさらに含む。前述の態様のうちいずれかのいくつかの実施形態では、方法は、核酸ベクターまたは組成物を投与した後に、対象の前庭機能を評価することをさらに含む。
【００３８】
前述の態様のうちいずれかのいくつかの実施形態では、核酸ベクターまたは組成物は、局所的に投与される。いくつかの実施形態では、核酸ベクターまたは組成物は、半規管に投与される。いくつかの実施形態では、核酸ベクターまたは組成物は、経鼓膜的または鼓室内的に（例えば、経鼓膜注射または鼓室内注射を介して）投与される。いくつかの実施形態では、核酸ベクターまたは組成物は、外リンパまたは内リンパに投与され、例えば、卵円窓、正円窓、または半規管（例えば、水平半規管）を通して、例えば、前庭支持細胞に投与される。いくつかの実施形態では、本発明の核酸ベクターまたは組成物は、外リンパに投与される。いくつかの実施形態では、本発明の核酸ベクターまたは組成物は、内リンパに投与される。いくつかの実施形態では、本発明の核酸ベクターまたは組成物は、卵円窓に、または卵円窓を通して投与される。いくつかの実施形態では、本発明の核酸ベクターまたは組成物は、正円窓に、または正円窓を通して投与される。
【００３９】
前述の態様のうちいずれかのいくつかの実施形態では、核酸ベクターまたは組成物は、前庭機能障害を予防または軽減するか、前庭機能障害の発症を遅らせるか、前庭機能障害の進行を遅らせるか、前庭機能を改善させるか、前庭有毛細胞数を増加させるか、前庭有毛細胞成熟を向上させるか、前庭有毛細胞増殖を増加させるか、前庭有毛細胞再生を向上させるか、前庭有毛細胞神経支配を向上させるか、ＶＳＣ増殖を増加させるか、またはＶＳＣ数を増加させるのに十分な量で投与される。
【００４０】
前述の態様のうちいずれかのいくつかの実施形態では、対象は、ヒトである。
別の態様において、本発明は、本発明の核酸ベクターまたは本発明の組成物を含むキットを提供する。
【００４１】
定義
本明細書中で使用する場合、「投与」とは、任意の有効な経路によって、対象に治療薬（例えば、導入遺伝子に操作可能に連結された溶質キャリアファミリー６メンバー１４（ＳＬＣ６Ａ１４）プロモーターを含む核酸ベクター）を提供するか、または与えることを指す。例示的な投与経路を、本明細書において以下に記載する。
【００４２】
本明細書で使用する場合、語句「内耳に投与する」とは、内耳細胞の導入を可能にする任意の経路によって、対象に本明細書に記載の治療薬を提供するか、または与えることを指す。内耳への例示的な投与経路は、外リンパもしくは内リンパへの投与、例えば、卵円窓、正円窓、もしくは半規管（例えば、水平半規管）への、またはそれらを通した投与、あるいは経鼓膜もしくは鼓室内注射による、例えば、前庭、例えば、前庭支持細胞への投与を含む。
【００４３】
本明細書中で使用する場合、用語「細胞型」とは、遺伝子発現データに基づいて統計的に分離可能な表現型を共有する細胞群を指す。例えば、一般的な細胞型の細胞は、同様の構造的特徴及び／または機能的特徴、例えば、同様の遺伝子活性化パターン及び抗原提示

特性を共有している場合がある。一般的な細胞型の細胞には、生物内の一般的な組織（例えば、上皮組織、神経組織、結合組織、または筋組織）及び／または一般的な臓器、組織系、血管、または他の構造及び／または領域から分離された細胞が含まれ得る。

【００４４】

本明細書中で使用する場合、用語「保存的変異」、「保存的置換」、及び「保存的アミノ酸置換」とは、１つ以上のアミノ酸から、極性、静電荷、及び立体化学的ボリュームなどの同様の物理化学的特性を示す１つ以上の異なるアミノ酸への置換を指す。これらの特性を、天然の２０種のアミノ酸のそれぞれについて、以下の表１に要約する。

【００４５】

【表１－１】

表１．天然アミノ酸の代表的な物理化学的特性

アミノ酸	３文字コード	１文字コード	側鎖の極性	生理学的ｐＨ（７．４）での静電特性	立体化学的ボリューム†
アラニン	Ａｌａ	A	非極性	中性	小
アルギニン	Ａｒｇ	R	極性	カチオン性	大
アスパラギン	Ａｓｎ	N	極性	中性	中
アスパラギン酸	Ａｓｐ	D	極性	アニオン性	中
システイン	Ｃｙｓ	C	非極性	中性	中
グルタミン酸	Ｇｌｕ	E	極性	アニオン性	中
グルタミン	Ｇｌｎ	Q	極性	中性	中
グリシン	Ｇｌｙ	G	非極性	中性	小
ヒスチジン	Ｈｉｓ	H	極性	ｐＨ７．４で平衡状態にある中性及びカチオン性の両方	大
イソロイシン	Ｉｌｅ	I	非極性	中性	大
ロイシン	Ｌｅｕ	L	非極性	中性	大
リジン	Ｌｙｓ	K	極性	カチオン性	大
メチオニン	Ｍｅｔ	M	非極性	中性	大
フェニルアラニン	Ｐｈｅ	F	非極性	中性	大
プロリン	Ｐｒｏ	P	非極性	中性	中
セリン	Ｓｅｒ	S	極性	中性	小
スレオニン	Ｔｈｒ	T	極性	中性	中
トリプトファン	Ｔｒｐ	W	非極性	中性	巨大

【００４６】

【表１－２】

アミノ酸	３文字コード	１文字コード	側鎖の極性	生理学的ｐＨ（７．４）での静電特性	立体化学的ボリューム†
チロシン	Ｔｙｒ	Ｙ	極性	中性	大
バリン	Ｖａｌ	Ｖ	非極性	中性	中
†A^3のボリュームに基づく。５０～１００は小、１００～１５０は中、１５０～２００は大、２００以上 は巨大					

この表によれば、保存的アミノ酸のファミリーには（ｉ）Ｇ、Ａ、Ｖ、Ｌ及びＩ；（ｉｉ）Ｄ及びＥ；（ｉｉｉ）Ｃ、Ｓ及びＴ；（ｉｖ）Ｈ、Ｋ及びＲ；（ｖ）Ｎ及びＱ；ならびに（ｖｉ）Ｆ、Ｙ及びＷが含まれる。したがって、保存的変異または置換とは、あるアミノ酸を、同じアミノ酸ファミリーのメンバーで置換する変異または置換である（例えば、ＴｈｒをＳｅｒに、またはＡｒｇをＬｙｓに置換）。

【００４７】

本明細書中で使用する場合、本明細書に記載の組成物、ベクター構築物、またはウイルスベクターの「有効量」、「治療有効量」、及び「十分な量」という用語は、哺乳類、例えばヒトを含む対象に投与する場合に、臨床結果を含む有益なまたは望ましい結果をもたらすのに十分な量を指し、したがって、その「有効量」またはその同義語は、それが適用されている状況に依存する。例えば、前庭機能障害の治療に関して、それは、組成物、ベクター構築物、またはウイルスベクターを投与せずに得られる応答と比較して、治療応答を実現するのに十分な組成物、ベクター構築物、またはウイルスベクターの量である。そのような量に対応する本明細書に記載の所与の組成物の量は、所与の薬剤、医薬製剤、投与経路、疾患もしくは障害のタイプ、対象の特性（例えば、年齢、性別、体重）または治療対象の宿主などの様々な要因に応じて変化するが、それにもかかわらず、当業者によって日常的に決定することができる。また、本明細書中で使用する場合、本開示の組成物、ベクター構築物、またはウイルスベクターの「治療有効量」は、対照と比較して、対象において有益なまたは所望の結果をもたらす量である。本明細書中で定義するように、本開示の組成物、ベクター構築物、またはウイルスベクターの治療有効量は、当業者であれば、当技術分野で公知の日常的な方法によって容易に決定し得る。投与計画を調整して、最適な治療応答を提供してもよい。

【００４８】

本明細書中で使用する場合、用語「内因性」とは、特定の生物（例えば、ヒト）または生物内の特定の場所（例えば、器官、組織、または細胞、例えば、ヒト細胞、例えば、ヒト前庭支持細胞）に自然に見出される分子（例えば、ポリペプチド、核酸、または補因子）を表す。

【００４９】

本明細書中で使用する場合、用語「発現する」とは、以下の事象、（１）ＤＮＡ配列由来のＲＮＡテンプレートの産生（例えば、転写による）、（２）ＲＮＡ転写物のプロセシング（例えば、スプライシング、編集、５’キャップ形成、及び／または３’末端プロセシング）、（３）ＲＮＡからポリペプチドまたはタンパク質への翻訳、及び（４）ポリペプチドまたはタンパク質の翻訳後修飾、のうち１つ以上を指す。

【００５０】

本明細書中で使用する場合、用語「外来性」とは、特定の生物（例えば、ヒト）または生物内の特定の場所（例えば、器官、組織、または細胞、例えば、ヒト細胞、例えば、ヒト前庭支持細胞）において、天然には見出されない分子（例えば、ポリペプチド、核酸、または補因子）を表す。外来性物質には、生物またはそこから抽出された培養物に対して

、外部供給源から提供される物質が含まれる。
【００５１】
本明細書中で使用する場合、用語「エキソン」とは、そのヌクレオチド配列が、対応するタンパク質のアミノ酸配列を決定する遺伝子のコード領域内の領域を指す。用語エキソンはまた、遺伝子から転写されたＲＮＡの対応する領域を指す。エキソンは、ｍＲＮＡ前駆体に転写され、選択的スプライシングに依存して遺伝子の成熟ｍＲＮＡに含まれる。プロセシング後の成熟ｍＲＮＡに含まれるエキソンは、タンパク質に翻訳されるが、ここで、エキソンの配列がタンパク質のアミノ酸組成を決定する。
【００５２】
本明細書中で使用する場合、用語「異種」とは、天然に存在しないエレメントの組み合わせを指す。例えば、異種導入遺伝子とは、それが操作可能に連結されているプロモーターによって自然に発現されない導入遺伝子を指す。
【００５３】
本明細書中で使用する場合、用語「増加する」及び「減少する」とは、参照と比較して、それぞれ、より多いかまたはより少ない量の、機能、発現、または活性の計量をもたらす調節を指す。例えば、本明細書に記載の方法での組成物の投与に続いて、本明細書に記載の計量マーカー（例えば、導入遺伝子の発現）の量を、対象において、投与前のマーカー量に対して、少なくとも５％、１０％、１５％、２０％、２５％、３０％、３５％、４０％、４５％、５０％、５５％、６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％もしくは９８％またはそれ以上、増加または減少させてもよい。一般的に、計量は、投与によって記載の効果が得られる時点、例えば、治療レジメンを開始してから、少なくとも１週間、１か月、３か月、または６か月後に測定する。
【００５４】
本明細書中で使用する場合、「局所的」または「局所投与」とは、全身的効果ではなく局所的効果を目的とした身体の特定の部位での投与を意味する。局所投与の例は、対象の皮膚上、吸入、関節内、髄腔内、膣内、硝子体内、子宮内、病変内投与、リンパ節投与、腫瘍内投与、中耳もしくは内耳への投与、及び粘膜への投与であり、その場合、投与は、全身的効果ではなく、局所的効果をもたらすことを目的とする。
【００５５】
本明細書中で使用する場合、用語「操作可能に連結された」とは、第１の分子が第２の分子に結合されることを指し、その場合、この第１の分子は、第１の分子が第２の分子の機能に影響を与えるように配置される。２つの分子は、単一の切れ目のない分子の一部であってもよく、そうでなくてもよく、隣接していても、隣接していなくてもよい。例えば、プロモーターが細胞内の目的の転写可能なポリヌクレオチド分子の転写を調節する場合、そのプロモーターは転写可能なポリヌクレオチド分子に操作可能に連結されている。さらに、転写調節エレメントの２つの部分は、一方の部分の転写活性化機能が他方の部分の存在により悪影響を受けないようにそれらが結合している場合、互いに操作可能に連結している。２つの転写調節エレメントは、リンカー核酸（例えば、介在非コード核酸）を介して互いに操作可能に連結されるか、または介在ヌクレオチドが存在せずに互いに操作可能に連結されてもよい。
【００５６】
本明細書中で使用する場合、用語「プラスミド」とは、追加のＤＮＡセグメントをライゲートし得る染色体外環状二本鎖ＤＮＡ分子を指す。プラスミドとは、ベクターのタイプであり、連結している別の核酸を輸送することができる核酸分子である。特定のプラスミドは、それらが導入される宿主細胞において自己複製が可能である（例えば、細菌の複製起点を有する細菌プラスミド及びエピソーム性哺乳類プラスミド）。他のベクター（例えば、非エピソーム性哺乳類ベクター）は、宿主細胞への導入時に宿主細胞のゲノムに組み込まれることが可能であり、それにより、宿主ゲノムとともに複製される。特定のプラスミドは、それらが操作可能に連結された遺伝子の発現を誘導することができる。
【００５７】

本明細書中で使用する場合、用語「ポリヌクレオチド」とは、ヌクレオシドのポリマーを指す。一般的には、ポリヌクレオチドは、ホスホジエステル結合によって結合した、ＤＮＡまたはＲＮＡに天然に見出されるヌクレオシド（例えば、アデノシン、チミジン、グアノシン、シチジン、ウリジン、デオキシアデノシン、デオキシチミジン、デオキシグアノシン、及びデオキシシチジン）から構成される。この用語には、天然の核酸に見出されるかどうかにかかわらず、化学的または生物学的に修飾された塩基、修飾された骨格などを有するヌクレオシドまたはヌクレオシド類似体を含む分子が包含され、そのような分子は特定の用途に好ましい場合がある。本出願がポリヌクレオチドに言及する場合、ＤＮＡ、ＲＮＡの両方と、それぞれの場合における一本鎖及び二本鎖形態の両方（及び各一本鎖分子の相補体）が提供されることが理解される。本明細書中で使用する「ポリヌクレオチド配列」とは、ポリヌクレオチド物質自体及び／または特定の核酸を生化学的に特徴付ける配列情報（すなわち、塩基の略語として使用される一連の文字）を指し得る。本明細書中に提示するポリヌクレオチド配列は、特に明記しない限り、５’から３’の方向で示される。

【００５８】

本明細書で使用する場合、用語「プロモーター」とは、ＲＮＡポリメラーゼが結合するＤＮＡ上の認識部位を指す。ポリメラーゼは、導入遺伝子の転写を促進する。

参照ポリヌクレオチド配列または参照ポリペプチド配列に対する「配列同一性の割合（％）」とは、配列をアラインメントし、必要に応じてギャップを導入して、最大の配列同一性の割合を達成した後、参照ポリヌクレオチド配列または参照ポリペプチド配列内の核酸またはアミノ酸と同一である候補配列内の核酸またはアミノ酸の割合と定義される。核酸またはアミノ酸配列同一性割合を測定する目的のアラインメントは、例えば、ＢＬＡＳＴ、ＢＬＡＳＴ－２、またはＭｅｇａｌｉｇｎソフトウェアなどの、一般に入手可能なコンピュータソフトウェアを使用して、当業者の能力の範囲内の様々な方法で達成することができる。当業者は、比較されている配列の完全長にわたる最大のアラインメントを得るために必要とされる任意のアルゴリズムを含む配列をアラインメントするために適切なパラメータを決定することができる。例えば、配列同一性割合の値は、配列比較コンピュータプログラムＢＬＡＳＴを使用して生成することができる。例として、所与の核酸配列またはアミノ酸配列Ａの、所与の核酸配列またはアミノ酸配列Ｂに対する配列同一性割合（あるいは、所与の核酸配列またはアミノ酸配列Ａは、所与の核酸配列またはアミノ酸配列Ｂに対してある程度の配列同一性割合を有する、と表現することもできる）は、下記のように計算される。

【００５９】

１００×（分数Ｘ／Ｙ）

式中、Ｘは、ＡとＢとのプログラムのアラインメントにおいて、配列アラインメントプログラム（例えば、ＢＬＡＳＴ）によって同一の一致としてスコアリングされたヌクレオチドまたはアミノ酸の数であり、Ｙは、Ｂの核酸の総数である。核酸配列またはアミノ酸配列Ａの長さが核酸配列またはアミノ酸配列Ｂの長さと等しくない場合、Ｂに対するＡの配列同一性割合は、Ａに対するＢの配列同一性割合と等しくないと考えられる。

【００６０】

本明細書中で使用する場合、用語「医薬組成物」とは、対象に影響を与えるか、または対象に影響を与える可能性のある特定の疾患または病態を予防、治療または制御するために、場合により、１つ以上の薬学的に許容される賦形剤、希釈剤、及び／または担体と組み合わせて、哺乳類、例えばヒトなどの対象に投与する治療薬を含む混合物を指す。

【００６１】

本明細書中で使用する場合、用語「薬学的に許容される」とは、過度の毒性、刺激、アレルギー反応及び他の問題となる障害がなく、妥当なベネフィット／リスク比を有し、哺乳類（例えば、ヒト）などの対象の組織との接触に適した化合物、物質、組成物、及び／または剤形を指す。

【００６２】

本明細書中で使用する場合、用語「転写調節エレメント」とは、目的の遺伝子の転写を少なくとも部分的に制御する核酸を指す。転写調節エレメントは、遺伝子転写を制御するか、または制御するのを支援するプロモーター、エンハンサー、及び他の核酸（例えば、ポリアデニル化シグナル）を含み得る。転写調節エレメントの例は、例えば、Ｌｏｒｅｎｃｅ，Ｒｅｃｏｍｂｉｎａｎｔ Ｇｅｎｅ Ｅｘｐｒｅｓｓｉｏｎ：Ｒｅｖｉｅｗｓ ａｎｄ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ（Ｈｕｍａｎａ Ｐｒｅｓｓ，ニューヨーク市，ニューヨーク州，２０１２）に記載されている。

【００６３】

本明細書中で使用する場合、用語「形質移入」とは、原核生物または真核生物の宿主細胞への外来性ＤＮＡの導入に一般的に使用される任意の多種多様な技術、例えば、電気穿孔法、リポフェクション、リン酸カルシウム沈殿、ＤＥＡＥ－デキストラン形質移入法、Ｎｕｃｌｅｏｆｅｃｔｉｏｎ、スクイーズポレーション、ソノポレーション、光学形質移入法、マグネトフェクション、インパレフェクションなどを指す。

【００６４】

本明細書中で使用する場合、用語「対象」及び「患者」とは、動物（例えば、ヒトなどの哺乳動物）を指す。本明細書に記載の方法に従って治療する対象は、前庭機能障害（例えば、めまい、眩暈、または平衡失調）と診断された対象、またはこれらの病態を発症するリスクを有する対象であり得る。診断は、当技術分野で公知の任意の方法または技術によって実施してもよい。当業者であれば、本開示に従って治療する対象が、標準的な検査を受けている可能性があるか、または検査を受けていないが疾患もしくは病態に関連する１つ以上のリスク因子の存在に起因するリスクを有する対象として同定されている可能性があることを理解するであろう。

【００６５】

本明細書中で使用する場合、用語「形質導入」及び「形質導入する」とは、ベクター構築物またはその一部を細胞に導入する方法を指す。ベクター構築物が、例えば、ＡＡＶベクターなどのウイルスベクターに含まれる場合、形質導入とは、細胞のウイルス感染、及びその後のベクター構築物またはその一部の細胞ゲノムへの移入及び組み込みを指す。

【００６６】

本明細書で使用する場合、疾患または病態に言及する「治療」及び「治療すること」とは、有益な、または所望の結果、例えば臨床結果を得るためのアプローチを指す。有益な、または所望の結果としては、検出可能であるか検出不可能であるかにかかわらず、１つ以上の症状または病態の緩和または改善；疾患または病態の程度の減少；疾患、障害、または病態の状態の安定化（すなわち、悪化しないこと）；疾患または病態の拡大の予防；疾患または病態の進行の遅延または減速；疾患または病態の改善または一時的軽減；及び、（部分的または完全）寛解を挙げることができるが、これらに限定されない。疾患または病態を「改善すること」または「一時的に軽減すること」とは、治療がない場合の程度または時間経過と比較して、疾患、障害、または病態の程度及び／または望ましくない臨床発現を減少させ、及び／または進行の時間経過を減速または延長させることを意味する。「治療」はまた、治療を受けていなかった場合に予想される生存期間と比較して、生存期間を延長することも意味し得る。治療を必要とする者としては、病態もしくは障害を既に有する者、及び病態もしくは障害を有する傾向にある者、または病態もしくは障害を予防する必要がある者が挙げられる。

【００６７】

本明細書中で使用する場合、用語「ベクター」としては、核酸ベクター、例えば、プラスミド、コスミド、または人工染色体などのＤＮＡベクター、ＲＮＡベクター、ウイルス、または任意の他の適切なレプリコン（例えば、ウイルスベクター）が挙げられる。外来性タンパク質をコードするポリヌクレオチドを原核細胞または真核細胞に送達するために、様々なベクターが開発されてきた。そのような発現ベクターの例は、例えば、Ｇｅｌｌｉｓｓｅｎ，Ｐｒｏｄｕｃｔｉｏｎ ｏｆ Ｒｅｃｏｍｂｉｎａｎｔ Ｐｒｏｔｅｉｎｓ：Ｎｏｖｅｌ Ｍｉｃｒｏｂｉａｌ ａｎｄ Ｅｕｋａｒｙｏｔｉｃ Ｅｘｐｒｅｓｓｉ

ｏｎ　Ｓｙｓｔｅｍｓ（Ｊｏｈｎ　Ｗｉｌｅｙ　＆　Ｓｏｎｓ，マーブルヘッド，マサチューセッツ州，２００６）に記載されている。本明細書に記載の組成物及び方法での使用に適した発現ベクターは、ポリヌクレオチド配列、及び、例えば、タンパク質の発現及び／または哺乳動物細胞のゲノムへのこれらのポリヌクレオチド配列の組み込みに使用する追加の配列エレメントを含む。本明細書に記載の導入遺伝子の発現に使用することができる特定のベクターには、遺伝子転写を誘導するプロモーター及びエンハンサー領域などの調節配列を含むベクターが含まれる。導入遺伝子の発現のための他の有用なベクターは、導入遺伝子の翻訳速度を増強するか、または遺伝子転写から生じるｍＲＮＡの安定性または核外輸送を向上させるポリヌクレオチド配列を含む。これらの配列エレメントには、例えば、発現ベクター上に組み込まれた遺伝子の効率的な転写を誘導するために、５’及び３’非翻訳領域ならびにポリアデニル化シグナル部位が含まれる。本明細書に記載の組成物及び方法での使用に適した発現ベクターはまた、そのようなベクターを含む細胞を選択するためのマーカーをコードするポリヌクレオチドを含み得る。適切なマーカーの例としては、アンピシリン、クロラムフェニコール、カナマイシン、またはノーセオスリシンなどの抗生物質に対する耐性をコードする遺伝子が挙げられる。

【００６８】

本明細書で使用する場合、用語「前庭支持細胞」及び「ＶＳＣ」とは、前庭有毛細胞の発達、生存、機能、死、及び食作用に関与する、内耳の前庭系における固有の上皮細胞の集団を指す。ＶＳＣは、前庭有毛細胞を感覚上皮に固定し、かつ有毛細胞神経支配に重要な神経栄養因子を放出することによって、前庭有毛細胞の構造を支持している。

【００６９】

本明細書中で使用する場合、用語「前庭支持細胞特異的発現」または「ＶＳＣ特異的発現」とは、主に前庭支持細胞内での、内耳の他の細胞型（例えば、前庭有毛細胞、蝸牛有毛細胞、蝸牛支持細胞、グリア、または他の内耳細胞型）と比較したＲＮＡ転写物またはポリペプチドの産生を指す。導入遺伝子のＶＳＣ発現は、任意の標準的な技術（例えば、定量的ＲＴ　ＰＣＲ、免疫組織化学、ウェスタンブロット分析、またはプロモーターに操作可能に連結されたレポーター（例えば、ＧＦＰ）の蛍光測定）を使用して、内耳の様々な細胞型の間で（例えば、ＶＳＣ対非ＶＳＣで）、導入遺伝子の発現（例えば、ＲＮＡまたはタンパク質の発現）を比較することによって確認することができる。ＶＳＣ特異的発現を誘導するプロモーター（「ＶＳＣ特異的プロモーター」）は、内耳細胞型：前庭神経節細胞、前庭器官の非感覚上皮細胞、前庭器官の暗細胞、前庭器官の間葉細胞、らせん神経節細胞、境界細胞、内指節細胞、内柱細胞、外柱細胞、第１列目のダイテルス細胞、第２列目のダイテルス細胞、第３列目のダイテルス細胞、ヘンゼン細胞、クラウディウス細胞、内溝細胞、外溝細胞、らせん隆起細胞、根細胞、歯間細胞、血管条の基底細胞、血管条の中間細胞、血管条の辺縁細胞、内耳有毛細胞、外有毛細胞、前庭有毛細胞、及びシュワン細胞のうち少なくとも３つ（例えば、３、４、５、６、７、８、９、１０またはそれ以上）と比較して、（ｉ）それが操作可能に連結されている導入遺伝子の発現（例えば、ＲＮＡまたはタンパク質の発現）を誘導し、その誘導される発現が、ＶＳＣにおいて、少なくとも５０％（例えば、５０％、７５％、１００％、１２５％、１５０％、１７５％、２００％以上）大きいか、または（ｉｉ）それが操作可能に連結されている導入遺伝子の発現を誘導し、その誘導される発現が、ＶＳＣにおいて、少なくとも２倍（例えば、５倍、１０倍、５０倍、１００倍、２００倍、３００倍、４００倍、５００倍以上）大きい、プロモーターである。

【００７０】

本明細書中で使用する場合、用語「野生型」とは、所与の生物における特定の遺伝子について最も出現頻度が高い遺伝子型を指す。

【図面の簡単な説明】

【００７１】

【図１Ａ】ＳＬＣ６Ａ１４ｖ２（配列番号３；上の行）プロモーターまたはＳＬＣ６Ａ１４ｖ３（配列番号１；下の行）プロモーターの制御下で核ＧＦＰをコードするウイルスベ

クターで形質導入した成体マウスの卵形嚢における核ＧＦＰ発現と比較した一連の単一平面共焦点蛍光画像である。支持細胞核を、ＳＲＹボックス転写因子２（Ｓｏｘ２）タンパク質に対して産生させた抗体で免疫標識し、かつ有毛細胞核を、ＰＯＵクラス４ホメオボックス３（Ｐｏｕ４ｆ３）タンパク質に対して産生させた抗体で免疫標識した。支持細胞（ＳＣ）の核層を示す。

【図１Ｂ】ＳＬＣ６Ａ１４ｖ２（配列番号３；上の行）プロモーターまたはＳＬＣ６Ａ１４ｖ３（配列番号１；下の行）プロモーターの制御下で核ＧＦＰをコードするウイルスベクターで形質導入した成体マウスの卵形嚢における核ＧＦＰ発現と比較した一連の単一平面共焦点蛍光画像である。支持細胞核を、ＳＲＹボックス転写因子２（Ｓｏｘ２）タンパク質に対して産生させた抗体で免疫標識し、かつ有毛細胞核を、ＰＯＵクラス４ホメオボックス３（Ｐｏｕ４ｆ３）タンパク質に対して産生させた抗体で免疫標識した。有毛細胞（ＨＣ）の核層を示す。

【図１Ｃ】ＳＬＣ６Ａ１４ｖ２（配列番号３；上の行）プロモーターまたはＳＬＣ６Ａ１４ｖ３（配列番号１；下の行）プロモーターの制御下で核ＧＦＰをコードするウイルスベクターで形質導入した成体マウスの卵形嚢における核ＧＦＰ発現と比較した一連の単一平面共焦点蛍光画像である。支持細胞核を、ＳＲＹボックス転写因子２（Ｓｏｘ２）タンパク質に対して産生させた抗体で免疫標識し、かつ有毛細胞核を、ＰＯＵクラス４ホメオボックス３（Ｐｏｕ４ｆ３）タンパク質に対して産生させた抗体で免疫標識した。間葉系の層を示す。

【図２】Ａ～Ｄは、ＳＬＣ６Ａ１４ｖ２（配列番号３）プロモーターまたはＳＬＣ６Ａ１４ｖ３（配列番号１）プロモーターの制御下で核ＧＦＰをコードするウイルスベクターで形質導入した成体マウスの卵形嚢における、支持細胞における核ＧＦＰ発現を定量化したもの（Ａ）、支持細胞における核ＧＦＰ発現の強度（Ｂ）、有毛細胞における核ＧＦＰ発現を定量化したもの（Ｃ）、及び支持細胞以外の全ての細胞において定量化したもの（Ｄ）を示した一連のグラフである。

【図３】プラスミドＰ５３０のマップである。

【図４】プラスミドＰ９１９のマップである。

【図５】プラスミドＰ９９０のマップである。

【図６】プラスミドＰ１０７１のマップである。

【発明を実施するための形態】

【００７２】

内耳の前庭支持細胞（ＶＳＣ）において導入遺伝子の特異的発現を誘導するための組成物及び方法について本明細書に記載する。本発明は、ＶＳＣにおいて導入遺伝子を特異的に発現させることができる溶質キャリアファミリー６メンバー１４（ＳＬＣ６Ａ１４）プロモーターの領域を含むポリヌクレオチドを特徴とする。本発明はまた、ポリペプチドまたはＲＮＡ分子をコードするポリヌクレオチドに操作可能に連結された上記プロモーターを含む核酸ベクターをさらに特徴とする。本明細書に記載の組成物及び方法を使用して、構造的及び栄養作用的支持を前庭有毛細胞に提供し、かつ有毛細胞への分化が可能なＶＳＣでタンパク質（例えば、治療用タンパク質、レポータータンパク質、または他の目的のタンパク質）またはＲＮＡ分子（例えば、阻害性ＲＮＡ分子）をコードするポリヌクレオチドを発現させることができ、その結果、本明細書に記載の組成物は、眩暈、めまい、平衡失調、両側前庭機能低下、動揺視、または平衡障害などの前庭有毛細胞の機能不全が原因の障害を治療するために、対象（哺乳動物対象、例えば、ヒト）に投与することができる。

【００７３】

支持細胞

前庭系の支持細胞は、内耳に存在する固有の上皮細胞である。ＶＳＣは、標準的な前庭機能に必要である重大な構造的、発達的、かつ栄養作用的な活動を媒介する解剖学的かつ形態的に同種の細胞のクラスを構成する。ＶＳＣは、内耳の卵形嚢、球形嚢、及び半規管に存在し、平衡感覚及び空間方向感覚を担う運動感覚に関与する末梢前庭系の原発性感覚

細胞である前庭有毛細胞の構造的アンカーとして機能する。前庭蝸牛神経から有毛細胞へのシナプシスの形式は、ＶＳＣによって分泌される神経栄養因子によって媒介され、それによって適切な前庭機能の確立及び維持が促進される。さらに、ＶＳＣは、細胞外及び細胞内カルシウムシグナル伝達、ならびにファゴソームと呼ばれる食作用多細胞構造体の形成のそれらの制御によって、前庭有毛細胞の生存、死、及び食作用クリアランスの重要な媒介物質として機能し、それにより死んだ有毛細胞また死にかけている有毛細胞を取り除いて感覚上皮の統合性を維持する。前庭有毛細胞の機能を破壊する前庭有毛細胞の損傷及び遺伝子変異は、平衡失調及び眩暈（例えば、めまい）などの前庭機能障害に関係している。近年、前庭機能障害を治療するための魅力的な治療アプローチとして遺伝子治療が注目されているが、この分野には、前庭系の支持細胞に対する遺伝子治療で使用される核酸ベクターに着目した方法が存在しない。

【００７４】

本発明は、ＳＬＣ６Ａ１４が内耳のＶＳＣで特異的に発現するという発見に部分的に基づくものである。ＳＬＣ６Ａ１４は、中性アミノ酸及び正電荷アミノ酸の両方をナトリウム及び塩化物依存的に輸送することができるナトリウム及び塩化物依存性神経伝達物質輸送体をコードする遺伝子であり、これまでに内耳での発現が確認されていなかった。本明細書にて開示するＳＬＣ６Ａ１４プロモーター配列は、内耳におけるＶＳＣ特異的な遺伝子発現を誘導する。したがって、本明細書に記載の組成物及び方法を使用して、ＶＳＣにおいて目的の遺伝子（例えば、前庭有毛細胞発達、前庭有毛細胞運命の特定、前庭有毛細胞再生、前庭有毛細胞及び／またはＶＳＣ増殖、前庭有毛細胞神経支配、または前庭有毛細胞成熟に関与する遺伝子、あるいは前庭機能障害を有する対象において破壊されている、例えば変異していることが知られている遺伝子）を発現させて、前庭機能障害（例えば、眩暈、めまい、平衡失調、両側前庭機能低下（例えば、両側前庭機能不全）、動揺視、または平衡障害）を有するか、または発症するリスクを有する対象を治療することができる。細胞型特異的遺伝子発現により、オフターゲット発現に関連する毒性を低減することによって遺伝子治療の安全性及び有効性を向上させることができる。

【００７５】

本明細書に記載の組成物及び方法は、配列番号１に対して少なくとも８５％の配列同一性（例えば、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％またはそれ以上の配列同一性）を有する核酸配列など、ＶＳＣにおける導入遺伝子、またはその変異体を特異的に発現することができる配列番号１のＳＬＣ６Ａ１４プロモーターを含む。

【００７６】

前述の核酸配列を下記表２に示す。

【００７７】

【表２－１】

表２：ＳＬＣ６Ａ１４プロモーター配列

配列番号	プロモーター配列の説明	プロモーター配列
1	ＳＬＣ６Ａ１４ｖ３（マウスプロモーター）	ＡＴＡＣＡＣＴＴＡＴＧＴＡＴＡＴＧＴＧＣＧＡＴＧＴ ＣＡＧＴＧＴＧＴＧＣＡＴＡＴＡＡＡＧＴＣＣＣＡ ＡＡＣＡＡＧＣＣＴＧＴＡＴＧＡＴＡＴＴＧＡＣＣＡＡ ＣＡＡＧＧＴＣＡＡＧＧＣＡＡＡＧＴＴＴＴＧＡＴＡＣ ＴＴＴＣＡＧＧＴＣＡＣＡＡＣＣＴＣＴＣＣＧＣＡＴＣ ＣＣＴＣＴＣＴＡＣＴＴＴＧＣＴＣＴＡＴＣＴＧＣＣＴ ＧＡＡＣＴＣＣＴＧＡＧＧＡＣＡＴＧＴＴＴＣＴＡＣＴ ＧＣＡＡＡＴＧＧＡＡＡＡＴＣＣＴＴＧＴＣＡＧＣＣＡ ＧＴＧＡＧＧＡＡＣＡＡＡＧＧＧＡＣＴＡＴＡＣＡＴＡ ＧＡＴＧＡＡＡＡＣＴＴＧＧＣＴＣＴＣＴＧＣＴＧＧＴ ＴＣＣＴＴＴＧＴＴＴＧＴＡＴＧＡＡＴＴＴＡＴＡＣＡ ＡＴＴＴＧＧＴＡＡＡＡＣＴＧＣＣＡＣＣＡＴＧＴＣＴ ＴＡＣＡＴＧＧＡＣＡＧＡＴＴＧＡＧＴＧＴＡＧＡＴＴ ＣＴＴＴＧＡＡＴＴＴＴＴＧＡＴＧＡＡＧＡＧＧＣＧＣ ＴＧＣＡＣＴＧＧＴＧＡＴＣＧＧＡＡＴＴＧＣＡＧＴＣ ＴＴＴＣＣＴＣＴＧＴＡＧＧＴＡＡＣＣＴＧＧＣＴＴＧ ＴＴＴＣＣＴＴＡＣＡＧＴＴＴＡＣＴＴＴＣＴＡＧＧＣ ＣＴＣＧＣＣＴＴＴＣＴＣＡＣＡＧＡＧＴＧＡＡＧＴＣ ＣＴＴＴＧＴＴＡＡＧＧＴＴＣＧＡＡＴＴＴＣＣＣＡＴ ＡＡＡＣＣＴＧＣＴＣＡＡＴＡＡＴＴＴＧＴＴＴＧＴＧ ＴＴＴＧＧＣＴＴＣＴＴＴＧＡＡＡＴＡＣＴＡＣＡＣＡ ＡＡＧＣＡＡＴＣＣＴＴＧＴＡＡＡＡＧＧＣＡＡＡＡＣ ＴＡＴＴＣＣＧＡＡＧＧＣＴＧＡＧＡＡＡＧＧＡＧＣＴ ＣＣＡＧＧＡＣＡＴＡＧＡＴＴＣＡＡＡＧＴＣＧＣＴＣ ＴＴＴＴＣＡＧＧＴＡＧＡＧＡＣＡＧＣＴＧＧＧＴＡＡ ＴＣＴＴＡＴＣＴＴＡＡＣＴＧＧＣＴＡＣＡＴＴＴＣＡ ＡＧＧＴＴＣＣＣＡＡＴＴＣＡＧＧＧＧＣＴＴＴＣＣＣ ＣＴＣＴＧＧＧＡＧＣＡＧＣＡＴＴＣＴＣＴＣＣＧＧＧ ＴＧＡＴＧＡＡＧＡＧＣＴＴＴＣＴＡＧＴＧＡＧＧＡＧ ＣＡＡＡＡＣＴＴＴＣＡＧＡＡＡＡＣＣＧＧＡＧＧＧＣ ＣＣＡＧＡＧＣＡＧＴＣＴＧＧＴＣＴＧＴＴＣＡＣＡＡ ＡＡＡＴＴＡＴＡＧＣＡＡＡＣＡＡＡＡＴＡＡＧＣＣＣ ＧＧＣＧＧＡＴＴＧＧＧＴＣＴＣＴＣＣＴＡＣＣＴＣＣ

【００７８】

【表２－２】

配列番号	プロモーター配列の説明	プロモーター配列
		AGCACCAGGGGAGATCAGCACTTGGCC CCAGGACAGAGACCTGAGAAGTGAGGT TTGGAAGAAGCCAGGAATCCAGGAAAG GAGGCAAGATTGCTAAGGCACCGGCAC AGCTCTGAGTCAAAAGTTGTCAGTCTT CTTTGGCTCTGGCTGCGGAGCTCAATT GCTCACAGCCCTGCCCTTTCCTAGGGC TGGGGCAAGGAATTGCTACATTCAGGA TTACCTGGGGGAAAAACCAGAGGCTTG CTTTGGTCCCTTCCGGTAATTGAAAGG ACTGGCCGTCAGCGAGGGGGAGGAGAG AGCTTCCCTCCATAAATGGTCCCACCC CTGGGCAAGGTGGCTCACTTTGGCAGG TAGCAACCGGGGAGTGTGCACCTGCCA CCAGTCAAGCTCAGCCAGACTGTGAGA AGAGGAGAGGCGAGGCACACCAAGGGA TCCAGTGAACCaacGACAGATTGAAGT GCCCGAACTTCTTCAAGTGCAGACAGA AGGAGGTAGGGTTCTGGAAGTTTCTGG TGGTGTAGGGGAGTCAGGAAGGGAAAA CAAGGAGGGAGAGTGAGTCTTAGTTTT TTGCTTTCTGTAGCTGTTCCTTATTTT GCATATTTCTTTCTCTTCAACTCTTTT CAAGTATGCCTGATACGTTGTTCTCAC GAAGTTGACGTGAAAAACAACTTTCCT GCTGGTAGTTAGGAAACTTAGGAGCAC CTCAACCTGTACCTTGAGAACACCCAG AGAATGCTGCTCTTTGTCGTTCTCTAT ACCGTGTTCATATGCTGCAGGGAAATG CAAAGAATGTACTGTCCTTATCTGACC CTGGGAGCATTCCATAGTCAAGCAGCA GCTATCAGGTTGGGAAAGAGCTCCTCT CCAAGGTGTAACAGAAAAGGAAAATGT TGATATTTTTCTTGTTTAGAAAGTGAC AGCTTCATCCGAGAAC

【００７９】

【表２－３】

配列番号	プロモーター配列の説明	プロモーター配列
３	ＳＬＣ６Ａ１４ｖ２（ヒトプロモーター）	ＡＡＧＣＴＧＧＧＡＴＧＴＴＴＣＣＴＣＡＴＡＧＴＴＴＡＣＴＴＴＣＴＡＧＧＣＣＴＣＡＴＣＴＴＴＣＴＴＡＣＡＧＡＧＴＧＴＧＣＴＣＣＴＴＴＧＴＴＡＡＧＧＴＴＡＧＡＡＴＴＴＣＣＣＡＴＡＡＡＣＣＴＧＣＴＣＡＡＴＡＡＴＴＴＧＴＴＴＧＴＧＴＴＴＧＧＣＴＴＣＴＴＴＧＡＡＡＴＡＣＴＡＣＡＣＡＡＡＧＣＡＡＴＣＣＣＴＧＴＡＡＡＡＧＧＣＡＡＡＧＣＴＧＴＣＣＴＧＡＡＧＧＣＴＧＡＧＡＡＡＧＧＡＧＣＣＴＧＡＧＡＣＡＴＡＧＧＣＴＣＣＡＡＧＴＴＧＣＴＣＴＴＴＴＣＡＧＧＣＡＧＡＧＣＣＡＧＣＴＧＧＧＴＡＡＴＣＴＴＡＴＣＴＣＡＧＡＴＧＧＣＴＧＣＴＴＴＴＣＡＡＧＧＴＧＣＣＣＡＡＴＴＣＡＧＧＧＧＣＴＴＴＴＣＣＴＣＴＧＧＧＡＧＣＡＧＣＡＴＴＴＧＣＣＣＣＡＧＧＧＡＡＴＣＡＡＧＴＧＣＴＴＴＣＴＡＧＴＣＡＧＧＧＧＣＡＡＡＡＣＴＴＴＧＧＧＡＡＡＴＣＴＧＡＧＧＡＣＣＣＡＧＧＧＴＧＧＴＡＴＧＧＴＣＴＧＴＴＣＡＧＧＡＧＡＡＴＴＴＴＧＧＧＧＡＡＣＡＧＡＡＴＧＧＣＣＣＣＣＴＴＣＴＣＣＣＴＣＣＡＧＣＡＣＴＴＧＴＡＣＡＧＡＴＣＡＧＣＡＣＴＴＧＧＣＣＣＣＡＧＡＡＣＡＧＡＧＡＣＣＡＧＡＣＴＧＡＧＡＧＧＣＧＡＧＧＴＴＡＧＧＡＧＧＡＡＡＣＡＧＧＧＧＡＣＣＣＡＧＧＡＡＡＧＧＣＧＧＣＴＡＧＡＴＴＧＣＡＡＡＣＧＴＡＣＣＴＡＣＡＣＡＧＣＴＣＴＧＡＧＴＣＡＡＡＧＧＣＴＧＴＣＡＧＴＣＡＴＣＴＣＧＧＣＴＣＡＧＡＣＴＧＣＴＣＴＧＣＴＣＴＣＣＡＧＣＡＧＣＣＣＡＧＣＣＣＴＴＴＣＣＣＡＧＧＧＣＴＧＧＧＧＣＡＧＧＡＧＡＴＴＧＣＴＡＣＡＴＧＴＡＧＧＣＴＴＡＴＣＴＧＧＧＧＡＡＡＡＡＣＣＡＧＡＧＣＣＴＣＡＣＴＴＴＡＧＴＣＣＣＴＴＣＣＧＧＴＡＡＴＴＧＡＣＡＣＴＡＣＴＧＧＡＣＡＣＣＣＡＧＧＡＧＧＧＧＧＡＧＧＡＧＡＧＡＧＣＴＴＣＴＣＴＴＣＡＴＡＡＡＴＧＴＴＣＣＣＡＣＣＣＣＴＧＧＧＣＡＡＧＧＴＧＧＣＴＣＡＣＴＣＴＧＧＣＡＧＧＴＡＧＧＡＡＣＡＧＧＧＧＡＧＡＧＴＧＣＡＣＣＴＧＣＴＡＣＣＡＧＴＣＡＡＧＣＴＣＡＧＣＣＡＧＡＣＴＧＣＡＡＧＡＧＧＡＧＧＣＧＡＧＧＣＧ

【００８０】

哺乳動物細胞における外来性核酸の発現

本明細書に記載の組成物及び方法を使用して、目的のタンパク質をコードする核酸配列に操作可能に連結されたＳＬＣ６Ａ１４プロモーター（例えば、配列番号１に対して少なくとも８５％の配列同一性（例えば、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％またはそれ以上の配列同一性）を有するポリヌクレオチド）を含む核酸ベクターを投与することによって、例えば、ＶＳＣにおいて目的の遺伝子（例えば、前庭機能障害に関与する野生型形態の遺伝子、あるいは前庭有毛細胞発達、前庭有毛細胞運命の特定、前庭有毛細胞再生

、前庭有毛細胞及び／またはＶＳＣ増殖、前庭有毛細胞神経支配、または前庭有毛細胞成熟に関与する遺伝子）によってコードされるタンパク質の発現を誘導または増加させることができる。哺乳動物細胞へのタンパク質の送達、及び哺乳動物細胞におけるタンパク質をコードする遺伝子の安定的な発現のための幅広い方法がこれまでに確立されている。本明細書に記載の組成物に関連して発現される場合があるタンパク質（例えば、タンパク質をコードする導入遺伝子が、ＳＬＣ６Ａ１４プロモーター（例えば、配列番号１に対して少なくとも８５％の配列同一性（例えば、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％またはそれ以上の配列同一性）を有するポリヌクレオチド）に操作可能に連結されている場合）は、健康なＶＳＣに発現しているタンパク質（例えば、前庭有毛細胞発達、前庭有毛細胞運命の特定、前庭有毛細胞再生、前庭有毛細胞及び／またはＶＳＣ増殖、前庭有毛細胞神経支配、または前庭有毛細胞成熟の役割を果たすタンパク質、あるいは前庭機能障害を有する対象において不足しているタンパク質）、あるいは他の目的のタンパク質である。本明細書に記載の組成物及び方法を使用してＶＳＣで発現することができるタンパク質としては、スパルト様転写因子２（Ｓａｌｌ２）、カルモジュリン結合転写活性化因子１（Ｃａｍｔａ１）、ＹＲＰＷモチーフ２を有するＨｅｓ関連ファミリーＢＨＬＨ転写因子（Ｈｅｙ２）、Ｇａｔａ結合タンパク質２（Ｇａｔａ２）、ＹＲＰＷモチーフ１を有するＨｅｓ関連ファミリーＢＨＬＨ転写因子（Ｈｅｙ１）、セラミドシンターゼ２（Ｌａｓｓ２）、ＳＲＹボックス１０（Ｓｏｘ１０）、ＧＡＴＡ結合タンパク質３（Ｇａｔａ３）、Ｃｕｔ様ホメオボックス１（Ｃｕｘ１）、核受容体サブファミリー２群Ｆメンバー（Ｎｒ２ｆ１）、Ｈｅｓ関連ファミリーＢＨＬＨ転写因子（Ｈｅｓ１）、ＲＡＲ関連オーファン受容体Ｂ（Ｒｏｒｂ）、Ｊｕｎがん原遺伝子ＡＰ－１転写因子サブユニット（Ｊｕｎ）、ジンクフィンガータンパク質６６７（Ｚｆｐ６６７）、ＬＩＭホメオボックス３（Ｌｈｘ３）、Ｎｅｓｃｉｅｎｔヘリックス・ループ・ヘリックス１（Ｎｈｌｈ１）、ＭＡＸ二量体化タンパク質４（Ｍｘｄ４）、ジンクフィンガーＭＩＺ－Ｔｙｐｅ含有１（Ｚｍｉｚ１）、ミエリン転写因子１（Ｍｙｔ１）、シグナル伝達兼転写活性化因子３（Ｓｔａｔ３）、ＢａｒＨ様ホメオボックス１（Ｂａｒｈｌ１）、胸腺細胞選択関連高移動度群ボックス（Ｔｏｘ）、プロスペロホメオボックス１（Ｐｒｏｘ１）、核因子ＩＡ（Ｎｆｉａ）、甲状腺ホルモン受容体β（Ｔｈｒｂ）、ＭＹＣＬがん原遺伝子ＢＨＬＨ転写因子（Ｍｙｃｌ１）、リジンデメチラーゼ５Ａ（Ｋｄｍ５ａ）、ＣＡＭＰ応答配列結合タンパク質３様４（Ｃｒｅｂ３Ｉ４）、ＥＴＳ変異体１（Ｅｔｖ１）、父性発現３（Ｐｅｇ３）、ＢＴＢドメイン及びＣＮＣホモログ２（Ｂａｃｈ２）、ＩＳＬ・ＬＩＭホメオボックス１（Ｉｓｌ１）、ジンクフィンガー及びＢＴＢドメイン含有３８（Ｚｂｔｂ３８）、肢芽及び心臓発達（Ｌｂｈ）、Ｔｕｂｂｙ　Ｂｉｐａｒｔｉｔｅ転写因子（Ｔｕｂ）、ユビキチンＣ（Ｈｍｇ２０）、ＲＥ１サイレンシング転写因子（Ｒｅｓｔ）、ジンクフィンガータンパク質８２７（Ｚｆｐ８２７）、ＡＦ４／ＦＭＲ２ファミリーメンバー３（Ａｆｆ３）、ＰＢＸ／結節１ホメオボックス２（Ｐｋｎｏｘ２）、ＡＴリッチ相互作用ドメイン３Ｂ（Ａｒｉｄ３ｂ）、ＭＬＸ相互作用タンパク質（Ｍｌｘｉｐ）、ジンクフィンガータンパク質（Ｚｆｐ５３２）、ＩＫＡＲＯＳファミリージンクフィンガー２（Ｉｋｚｆ２）、スパルト様転写因子１（Ｓａｌｌ１）、ＳＩＸホメオボックス２（Ｓｉｘ２）、スパルト様転写因子３（Ｓａｌｌ３）、Ｌｉｎ－２８ホモログＢ（Ｌｉｎ２８ｂ）、調節因子Ｘ７（Ｒｆｘ７）、脳由来神経栄養因子（Ｂｄｎｆ）、成長因子非依存性１転写抑制因子（Ｇｆｉ１）、ＰＯＵクラス４ホメオボックス３（Ｐｏｕ４ｆ３）、ＭＹＣがん原遺伝子ＢＨＬＨ転写因子（Ｍｙｃ）、β－カテニン（Ｃｔｎｎｂ１）、ＳＲＹボックス２（Ｓｏｘ２）、ＳＲＹボックス４（Ｓｏｘ４）、ＳＲＹボックス１１（Ｓｏｘ１１）、ＴＥＡドメイン転写因子２（Ｔｅａｄ２）、無調ＢＨＬＨ転写因子１（Ａｔｏｈ１）、ならびにアミノ酸３２８、３３１、及び／または３３４位で置換を含むＡｔｏｈ１変異体（例えば、Ｓ３２８Ａ、Ｓ３３１Ａ、Ｓ３３４Ａ、Ｓ３２８Ａ／Ｓ３３１Ａ、Ｓ３２８Ａ／Ｓ３３４Ａ、Ｓ３３１Ａ／Ｓ３３４Ａ、及びＳ３２８Ａ／Ｓ３３１Ａ／Ｓ３３４）が挙げられる。本明細書に記載のポリヌクレオチド（例えば、ＳＬＣ６Ａ１４プロモーター）を使用して、ＶＳＣにおいて

、阻害性ＲＮＡ分子（例えば、短ヘアピンＲＮＡ（ｓｈＲＮＡ）、アンチセンスオリゴヌクレオチド（ＡＳＯ））、ヌクレアーゼ（例えば、ＣＲＩＳＰＲ関連タンパク質９（Ｃａｓ９）、転写活性化様エフェクターヌクレアーゼ（ＴＡＬＥＮ）、ジンクフィンガーヌクレアーゼ（ＺＦＮ）、またはガイドＲＮＡ（ｇＲＮＡ））、あるいはマイクロＲＮＡを発現させることができる。

【００８１】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の組成物及び方法を使用してＶＳＣで発現するタンパク質は、Ａｔｏｈ１である。ＳＬＣ６Ａ１４プロモーター（例えば、配列番号１に対して少なくとも８５％の配列同一性（例えば、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％またはそれ以上の配列同一性）を有するポリヌクレオチド）は、野生型Ａｔｏｈ１、またはその変異体をコードするポリヌクレオチド配列、例えば、野生型哺乳動物（例えば、ヒトまたはマウス）Ａｔｏｈ１（例えば、配列番号４または配列番号６）のアミノ酸配列に対して少なくとも８５％の配列同一性（例えば、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％またはそれ以上の配列同一性）を有するタンパク質をコードするポリヌクレオチド配列に操作可能に連結され得る。例示的なＡｔｏｈ１アミノ酸及びポリヌクレオチド配列を下記表３に列挙する。

【００８２】

いくつかの実施形態では、Ａｔｏｈ１タンパク質をコードするポリヌクレオチド配列は、コードされるＡｔｏｈ１類似体が野生型Ａｔｏｈ１の治療機能（例えば、有毛細胞発達を促進する能力）を維持するという前提で、配列番号４と比較して１つ以上の保存的アミノ酸置換（例えば、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０またはそれ以上の保存的アミノ酸置換）を含むアミノ酸配列をコードする。Ａｔｏｈ１タンパク質内の１０％以下のアミノ酸が、保存的アミノ酸置換で置き換えられる場合がある。いくつかの実施形態では、Ａｔｏｈ１をコードするポリヌクレオチド配列は、遺伝コードの冗長性により配列番号４をコードする任意のポリヌクレオチド配列である。Ａｔｏｈ１をコードするポリヌクレオチド配列は、発現のために（例えば、ヒトＶＳＣで）部分的に、または完全にコドン最適化が行われる場合がある。Ａｔｏｈ１は、配列番号５の配列を有するポリヌクレオチドによってコードされる場合がある。Ａｔｏｈ１タンパク質は、ヒトＡｔｏｈ１であるか、または別の哺乳類種（例えば、マウス、ラット、ウシ、ウマ、ヤギ、ヒツジ、ロバ、ネコ、イヌ、ウサギ、モルモット、または他の哺乳動物）由来のヒトＡｔｏｈ１タンパク質のホモログであってよい。

【００８３】

【表３－１】

表３：Ａｔｏｈ１配列

配列番号	プロモーター配列の説明	配列
４	ヒトＡｔｏｈ１アミノ酸配列、ＲｅｆＳｅｑ登録番号ＮＰ＿００５１６３．１	ＭＳＲＬＬＨＡＥＥＷＡＥＶＫＥＬＧＤＨＨＲＱＰＱＰＨ ＨＬＰＱＰＰＰＰＰＱＰＰＡＴＬＱＡＲＥＨＰＶＹＰＰＥ ＬＳＬＬＤＳＴＤＰＲＡＷＬＡＰＴＬＱＧＩＣＴＡＲＡＡ ＱＹＬＬＨＳＰＥＬＧＡＳＥＡＡＡＰＲＤＥＶＤＧＲＧＥ ＬＶＲＲＳＳＧＧＡＳＳＳＫＳＰＧＰＶＫＶＲＥＱＬＣＫ ＬＫＧＧＶＶＶＤＥＬＧＣＳＲＱＲＡＰＳＳＫＱＶＮＧＶ ＱＫＱＲＲＬＡＡＮＡＲＥＲＲＲＭＨＧＬＮＨＡＦＤＱＬ ＲＮＶＩＰＳＦＮＮＤＫＫＬＳＫＹＥＴＬＱＭＡＱＩＹＩ ＮＡＬＳＥＬＬＱＴＰＳＧＧＥＱＰＰＰＰＰＡＳＣＫＳＤ ＨＨＨＬＲＴＡＡＳＹＥＧＧＡＧＮＡＴＡＡＧＡＱＱＡＳ ＧＧＳＱＲＰＴＰＰＧＳＣＲＴＲＦＳＡＰＡＳＡＧＧＹＳ ＶＱＬＤＡＬＨＦＳＴＦＥＤＳＡＬＴＡＭＭＡＱＫＮＬＳ ＰＳＬＰＧＳＩＬＱＰＶＱＥＥＮＳＫＴＳＰＲＳＨＲＳＤ ＧＥＦＳＰＨＳＨＹＳＤＳＤＥＡＳ

【００８４】

【表３－２】

配列番号	プロモーター配列の説明	配列
５	ヒトＡＴＯＨ１タンパク質コード配列、ＲｅｆＳｅｑ登録番号ＮＭ＿００５１７２．２で記載されている	ＡＴＧＴＣＣＣＧＣＣＴＧＣＴＧＣＡＴＧＣＡＧＡＡＧＡ ＧＴＧＧＧＣＴＧＡＡＧＴＧＡＡＧＧＡＧＴＴＧＧＧＡＧ ＡＣＣＡＣＣＡＴＣＧＣＣＡＧＣＣＣＣＡＧＣＣＧＣＡＴ ＣＡＴＣＴＣＣＣＧＣＡＡＣＣＧＣＣＧＣＣＧＣＣＧＣＣ ＧＣＡＧＣＣＡＣＣＴＧＣＡＡＣＴＴＴＧＣＡＧＧＣＧＡ ＧＡＧＡＧＣＡＴＣＣＣＧＴＣＴＡＣＣＣＧＣＣＴＧＡＧ ＣＴＧＴＣＣＣＴＣＣＴＧＧＡＣＡＧＣＡＣＣＧＡＣＣＣ ＡＣＧＣＧＣＣＴＧＧＣＴＧＧＣＴＣＣＣＡＣＴＴＴＧＣ ＡＧＧＧＣＡＴＣＴＧＣＡＣＧＧＣＡＣＧＣＧＣＣＧＣＣ ＣＡＧＴＡＴＴＴＧＣＴＡＣＡＴＴＣＣＣＣＧＧＡＧＣＴ ＧＧＧＴＧＣＣＴＣＡＧＡＧＧＣＣＧＣＴＧＣＧＣＣＣＣ ＧＧＧＡＣＧＡＧＧＴＧＧＡＣＧＧＣＣＧＧＧＧＧＧＧＡＧ ＣＴＧＧＴＡＡＧＧＡＧＧＡＧＣＡＧＣＧＧＣＧＧＴＧＣ ＣＡＧＣＡＧＣＡＧＣＡＡＧＡＧＣＣＣＣＧＧＧＣＣＧＧ ＴＧＡＡＡＧＴＧＣＧＧＧＡＡＣＡＧＣＴＧＴＧＣＡＡＧ ＣＴＧＡＡＡＧＧＣＧＧＧＧＴＧＧＴＧＧＴＡＧＡＣＧＡ ＧＣＴＧＧＧＣＴＧＣＡＧＣＣＧＣＣＡＡＣＧＧＧＣＣＣ ＣＴＴＣＣＡＧＣＡＡＡＣＡＧＧＴＧＡＡＴＧＧＧＧＴＧ ＣＡＧＡＡＧＣＡＧＡＧＡＣＧＧＣＴＡＧＣＡＧＣＣＡＡ ＣＧＣＣＡＧＧＧＡＧＣＧＧＣＧＣＡＧＧＡＴＧＣＡＴＧ ＧＧＣＴＧＡＡＣＣＡＣＧＣＣＴＴＣＧＡＣＣＡＧＣＴＧ ＣＧＣＡＡＴＧＴＴＡＴＣＣＣＧＴＣＧＴＴＣＡＡＣＡＡ ＣＧＡＣＡＡＧＡＡＧＣＴＧＴＣＣＡＡＡＴＡＴＧＡＧＡ ＣＣＣＴＧＣＡＧＡＴＧＧＣＣＣＡＡＡＴＣＴＡＣＡＴＣ ＡＡＣＧＣＣＴＴＧＴＣＣＧＡＧＣＴＧＣＴＡＣＡＡＡＣ ＧＣＣＣＡＧＣＧＧＡＧＧＧＧＡＡＣＡＧＣＣＡＣＣＧＣ ＣＧＣＣＴＣＣＡＧＣＣＴＣＣＴＧＣＡＡＡＡＧＣＧＡＣ ＣＡＣＣＡＣＣＡＣＣＴＴＣＧＣＡＣＣＧＣＧＧＣＣＴＣ ＣＴＡＴＧＡＡＧＧＧＧＧＣＧＣＧＧＧＣＡＡＣＧＣＧＡ ＣＣＧＣＡＧＣＴＧＧＧＧＣＴＣＡＧＣＡＧＧＣＴＴＣＣ ＧＧＡＧＧＧＡＧＣＣＡＧＣＧＧＣＣＧＡＣＣＣＣＧＣＣ ＣＧＧＧＡＧＴＴＧＣＣＧＧＡＣＴＣＧＣＴＴＣＴＣＡＧ ＣＣＣＣＡＧＣＴＴＣＴＧＣＧＧＧＡＧＧＧＴＡＣＴＣＧ ＧＴＧＣＡＧＣＴＧＧ

【００８５】

【表３－３】

配列番号	プロモーター配列の説明	プロモーター配列
		ＡＣＧＣＴＣＴＧＣＡＣＴＴＣＴＣＧＡＣＴＴＴＣＧＡＧＧ ＡＣＡＧＣＧＣＣＣＴＧＡＣＡＧＣＧＡＴＧＡＴＧＧＣＧＣ ＡＡＡＡＧＡＡＴＴＴＧＴＣＴＣＣＴＴＣＴＣＴＣＣＣＣＧ ＧＧＡＧＣＡＴＣＴＴＧＣＡＧＣＣＡＧＴＧＣＡＧＧＡＧＧ ＡＡＡＡＣＡＧＣＡＡＡＡＣＴＴＣＧＣＣＴＣＧＧＴＣＣＣ ＡＣＡＧＡＡＧＣＧＡＣＧＧＧＧＡＡＴＴＴＴＣＣＣＣＣＣ ＡＴＴＣＣＣＡＴＴＡＣＡＧＴＧＡＣＴＣＧＧＡＴＧＡＧＧ ＣＡＡＧＴ
６	マウスＡｔｏｈ１アミノ酸配列、ＵｎｉＰｒｏｔ　Ｐ４８９８５	ＭＳＲＬＬＨＡＥＥＷＡＥＶＫＥＬＧＤＨＨＲＨＰＱＰＨＨ ＶＰＰＬＴＰＱＰＰＡＴＬＱＡＲＤＬＰＶＹＰＡＥＬＳＬＬ ＤＳＴＤＰＲＡＷＬＴＰＴＬＱＱＧＬＣＴＡＲＡＡＱＹＬＬＨ ＳＰＥＬＧＡＳＥＡＡＡＰＲＤＥＡＤＳＱＧＥＬＶＲＲＳＧ ＣＧＧＬＳＫＳＰＧＰＶＫＶＲＥＱＬＣＫＬＫＧＧＶＶＶＤ ＥＬＧＣＳＲＱＲＡＰＳＳＫＱＶＮＧＶＱＫＱＲＲＬＡＡＮ ＡＲＥＲＲＲＭＨＧＬＮＨＡＦＤＱＬＲＮＶＩＰＳＦＮＮＤ ＫＫＬＳＫＹＥＴＬＱＭＡＱＩＹＩＮＡＬＳＥＬＬＱＴＰＮ ＶＧＥＱＰＰＰＰＴＡＳＣＫＮＤＨＨＨＬＲＴＡＳＳＹＥＧ ＧＡＧＡＳＡＶＡＧＡＱＰＡＰＧＧＧＰＲＰＴＰＰＧＰＣＲ ＴＲＦＳＧＰＡＳＳＧＧＹＳＶＱＬＤＡＬＨＦＰＡＦＥＤＲ ＡＬＴＡＭＭＡＱＫＤＬＳＰＳＬＰＧＧＩＬＱＰＶＱＥＤＮ ＳＫＴＳＰＲＳＨＲＳＤＧＥＦＳＰＨＳＨＹＳＤＳＤＥＡＳ

【００８６】

【表３－４】

配列番号	プロモーター配列の説明	配列
7	マウスＡＴＯＨ１タンパク質コード配列、ＲｅｆＳｅｑ登録番号ＮＭ＿００７５００．５で記載されている	ＡＴＧＴＣＣＣＧＣＣＴＧＣＴＧＣＡＴＧＣＡＧＡＡＧＡＧＴＧ ＧＧＣＴＧＡＧＧＴＡＡＡＡＧＡＧＴＴＧＧＧＧＧＡＣＣＡＣＣ ＡＴＣＧＣＣＡＴＣＣＣＣＡＧＣＣＧＣＡＣＣＡＣＧＴＣＣＣＧ ＣＣＧＣＴＧＡＣＧＣＣＡＣＡＧＣＣＡＣＣＴＧＣＴＡＣＣＣＴ ＧＣＡＧＧＣＧＡＧＡＧＡＣＣＴＴＣＣＣＧＴＣＴＡＣＣＣＧＧ ＣＡＧＡＡＣＴＧＴＣＣＣＴＣＣＴＧＧＡＴＡＧＣＡＣＣＧＡＣ ＣＣＡＣＧＣＧＣＣＴＧＧＣＴＧＡＣＴＣＣＣＡＣＴＴＴＧＣＡ ＧＧＧＣＣＴＣＴＧＣＡＣＧＧＣＡＣＧＣＧＣＣＧＣＣＣＡＧＴ ＡＴＣＴＧＣＴＧＣＡＴＴＣＴＣＣＣＧＡＧＣＴＧＧＧＴＧＣＣ ＴＣＣＧＡＧＧＣＣＧＣＧＧＣＧＣＣＣＣＧＧＧＡＣＧＡＧＧＣ ＴＧＡＣＡＧＣＣＡＧＧＧＴＧＡＧＣＴＧＧＴＡＡＧＧＡＧＡＡ ＧＣＧＧＣＴＧＴＧＧＣＧＧＣＣＴＣＡＧＣＡＡＧＡＧＣＣＣＣ ＧＧＧＣＣＣＧＴＣＡＡＡＧＴＡＣＧＧＧＡＡＣＡＧＣＴＧＴＧ ＣＡＡＧＣＴＧＡＡＧＧＧＴＧＧＧＧＴＴＧＴＡＧＴＧＧＡＣＧ ＡＧＣＴＴＧＧＣＴＧＣＡＧＣＣＧＣＣＡＧＣＧＡＧＣＣＣＣＴ ＴＣＣＡＧＣＡＡＡＣＡＧＧＴＧＡＡＴＧＧＧＧＴＡＣＡＧＡＡ ＧＣＡＡＡＧＧＡＧＧＣＴＧＧＣＡＧＣＡＡＡＣＧＣＡＡＧＧＧ ＡＡＣＧＧＣＧＣＡＧＧＡＴＧＣＡＣＧＧＧＣＴＧＡＡＣＣＡＣ ＧＣＣＴＴＣＧＡＣＣＡＧＣＴＧＣＧＣＡＡＣＧＴＴＡＴＣＣＣ ＧＴＣＣＴＴＣＡＡＣＡＡＣＧＡＣＡＡＧＡＡＧＣＴＧＴＣＣＡ ＡＡＴＡＴＧＡＧＡＣＣＣＴＡＣＡＧＡＴＧＧＣＣＣＡＧＡＴＣ ＴＡＣＡＴＣＡＡＣＧＣＴＣＴＧＴＣＧＧＡＧＴＴＧＣＴＧＣＡ ＧＡＣＴＣＣＣＡＡＴＧＴＣＧＧＡＧＡＧＣＡＡＣＣＧＣＣＧＣ ＣＧＣＣＣＡＣＡＧＣＴＴＣＣＴＧＣＡＡＡＡＡＴＧＡＣＣＡＣ ＣＡＴＣＡＣＣＴＴＣＧＣＡＣＣＧＣＣＴＣＣＴＣＣＴＡＴＧＡ ＡＧＧＡＧＧＴＧＣＧＧＧＣＧＣＣＴＣＴＧＣＧＧＴＡＧＣＴＧ ＧＧＧＣＴＣＡＧＣＣＡＧＣＣＣＣＧＧＧＡＧＧＧＧＧＣＣＣＧ ＡＧＡＣＣＴＡＣＣＣＣＧＣＣＣＧＧＧＣＣＴＴＧＣＣＧＧＡＣ ＴＣＧＣＴＴＣＴＣＡＧＧＣＣＣＡＧＣＴＴＣＣＴＣＴＧＧＧＧ ＧＴＴＡＣＴＣＧＧＴＧＣＡＧＣＴＧＧＡＣＧＣＴＴＴＧＣＡＣ ＴＴＣＣＣＡＧＣＣＴＴＣＧＡＧＧＡＣＡＧＧＧＣＣＣＴＡＡＣ ＡＧＣＧＡＴＧＡＴＧＧＣＡＣＡＧＡＡＧＧＡＣＣＴＧＴＣＧＣ ＣＴＴＣＧＣＴＧＣＣＣＧＧＧＧＧＣＡＴＣＣＴＧＣＡＧＣＣＴ ＧＴＡＣＡＧＧＡＧＧＡＣＡＡＣＡＧＣＡＡＡＡＣＡＴＣＴＣＣ ＣＡＧＡＴＣＣＣＡＣＡＧＡＡＧＴＧＡＣＧＧＡＧＡＧＴＴＴＴ ＣＣＣＣＣＣＡＣＴＣＴＣＡＴＴＡＣＡＧＴＧＡＣＴＣＴＧＡＴ ＧＡＧＧＣＣＡＧＴ

【００８７】

目的のタンパク質をコードするポリヌクレオチド

哺乳動物細胞内で目的のタンパク質を治療上有効な細胞内濃度に到達させるために使用することができる１つのプラットフォームは、目的のタンパク質をコードする遺伝子を安定的に発現させる（例えば、哺乳動物細胞の核ゲノムもしくはミトコンドリアゲノムへの組み込みによって、または哺乳動物細胞の核におけるエピソーム鎖状体形成によって）ことによる。遺伝子は、対応するタンパク質の一次アミノ酸配列をコードするポリヌクレオチドである。外来性遺伝子を哺乳動物細胞に導入するために、遺伝子をベクターに組み込むことができる。ベクターは、形質転換、形質移入、形質導入、直接取り込み、粒子衝撃

法、及びリポソームへのベクターのカプセル化を含む様々な方法によって、細胞に導入することができる。細胞を形質移入または形質転換する適切な方法の例としては、リン酸カルシウム沈殿、電気穿孔法、マイクロインジェクション、感染、リポフェクション、及び直接取り込みが挙げられる。そのような方法は、例えば、Ｇｒｅｅｎ等，Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｃｌｏｎｉｎｇ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ，Ｆｏｕｒｔｈ Ｅｄｉｔｉｏｎ（Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ Ｐｒｅｓｓ，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ ２０１４）；及びＡｕｓｕｂｅｌ等，Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ（Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ ＆ Ｓｏｎｓ，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ ２０１５）にさらに詳細に記載されており、それぞれの開示は参照により本明細書に援用される。

【００８８】

目的のタンパク質をコードする遺伝子を含むベクターを細胞膜リン脂質に標的化することにより、目的のタンパク質を哺乳動物細胞に導入することもできる。例えば、全ての細胞膜リン脂質に親和性を有するウイルスタンパク質であるＶＳＶ－Ｇタンパク質にベクター分子を結合させることにより、ベクターを細胞膜の細胞外表面上のリン脂質に標的化することができる。そのような構築物は、当業者に周知の方法を使用して生成することができる。

【００８９】

目的のタンパク質をコードするポリヌクレオチドが、哺乳類ＲＮＡポリメラーゼによって認識され、結合されることは、遺伝子発現にとって重要である。したがって、ＲＮＡポリメラーゼを動員し、転写開始部位での転写複合体のアセンブリを促進する転写因子に対して高い親和性を示す配列エレメントを、ポリヌクレオチド内に含めてもよい。そのような配列エレメントとしては、例えば、哺乳類プロモーターが挙げられ、その配列は、特定の転写開始因子、そして最終的にはＲＮＡポリメラーゼによって認識され、結合され得る。哺乳類プロモーターの例は、Ｓｍｉｔｈ等，Ｍｏｌ．Ｓｙｓ．Ｂｉｏｌ．，３：７３（オンライン公開）に記載されており、その開示は参照により本明細書に援用される。本明細書に記載の方法及び組成物で使用するプロモーターは、ＳＬＣ６Ａ１４プロモーター（例えば、配列番号１に対して少なくとも８５％の配列同一性（例えば、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％またはそれ以上の配列同一性）を有するポリヌクレオチド）である。

【００９０】

目的のタンパク質をコードするポリヌクレオチドが哺乳動物細胞の核ＤＮＡに組み込まれると、このポリヌクレオチドの転写は、当技術分野において知られている方法によって誘導することができる。例えば、哺乳類プロモーターへの転写因子及び／またはＲＮＡポリメラーゼの結合を調節し、したがって遺伝子発現を調節する薬剤などの外部化学試薬に哺乳動物細胞を曝露することによって、発現を誘導することができる。化学試薬は、例えば、プロモーターに結合したリプレッサータンパク質を除去することによって、哺乳類プロモーターへのＲＮＡポリメラーゼ及び／または転写因子の結合を促進するように機能することができる。あるいは、化学試薬は、ＲＮＡポリメラーゼ及び／または転写因子に対する哺乳類プロモーターの親和性を高め、それによりプロモーターの下流に位置する遺伝子の転写速度を化学試薬の存在下で増加させるように機能することができる。上記のメカニズムによってポリヌクレオチド転写を増強する化学試薬の例としては、テトラサイクリン及びドキシサイクリンが挙げられる。これらの試薬は市販されており（Ｌｉｆｅ Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ，カールスバッド，カリフォルニア州）、確立されたプロトコールに従って遺伝子発現を促進するために哺乳動物細胞に投与することができる。

【００９１】

本明細書に記載の組成物及び方法で使用するためのポリヌクレオチドに含めてもよい他のＤＮＡ配列エレメントとしては、エンハンサー配列が挙げられる。エンハンサーは、ＤＮＡが、転写開始部位での転写因子及びＲＮＡポリメラーゼの結合に有利な三次元配向を

とるように、目的の遺伝子を含むポリヌクレオチドの立体構造変化を誘導する別のクラスの調節エレメントを表す。したがって、本明細書に記載の組成物及び方法で使用するためのポリヌクレオチドには、目的のタンパク質をコードするポリヌクレオチドが含まれ、さらに哺乳類のエンハンサー配列が含まれる。現在、哺乳類遺伝子由来の多くのエンハンサー配列が知られており、例としては、哺乳類のグロビン、エラスターゼ、アルブミン、α－フェトプロテイン、及びインスリンをコードする遺伝子のエンハンサーが挙げられる。本明細書に記載の組成物及び方法で使用するためのエンハンサーには、真核細胞に感染することができるウイルスの遺伝物質に由来するエンハンサーも含まれる。例としては、複製起点の後半側のＳＶ４０エンハンサー（ｂｐ１００～２７０）、サイトメガロウイルス初期プロモーターエンハンサー、複製起点の後半側のポリオーマエンハンサー、及びアデノウイルスエンハンサーが挙げられる。真核生物の遺伝子転写の活性化を誘導するさらなるエンハンサー配列としては、ＣＭＶエンハンサー及びＲＳＶエンハンサーが挙げられる。エンハンサーは、目的のタンパク質をコードするポリヌクレオチドを含むベクター内に、例えば、この遺伝子の５’または３’の位置にスプライシングさせてもよい。好ましい配向では、エンハンサーをプロモーターの５’側に配置し、次いでプロモーターを、目的のタンパク質をコードするポリヌクレオチドに対して５’側に配置する。

【００９２】

本明細書に記載のＳＬＣ６Ａ１４プロモーターを含む核酸ベクターには、ＷＰＲＥを含めてもよい。ＷＰＲＥは、ｍＲＮＡレベルで作用し、転写物の核外輸送を促進することによって、及び／または新生の転写物のポリアデニル化の効率を高めることによって、細胞内のｍＲＮＡの総量を増加させる。ベクターへのＷＰＲＥの付加は、ｉｎ　ｖｉｔｒｏ及びｉｎ　ｖｉｖｏの両方で、いくつかの異なるプロモーターからの導入遺伝子発現のレベルの実質的な改善をもたらし得る。本明細書に記載の組成物及び方法のいくつかの実施形態では、ＷＰＲＥは以下の配列を有する。

【００９３】

ＧＡＴＣＣＡＡＴＣＡＡＣＣＴＣＴＧＧＡＴＴＡＣＡＡＡＡＴＴＴＧＴＧＡＡＡＧＡＴ
ＴＧＡＣＴＧＧＴＡＴＴＣＴＴＡＡＣＴＡＴＧＴＴＧＣＴＣＣＴＴＴＴＡＣＧＣＴＡＴＧ
ＴＧＧＡＴＡＣＧＣＴＧＣＴＴＴＡＡＴＧＣＣＴＴＴＧＴＡＴＣＡＴＧＣＴＡＴＴＧＣＴ
ＴＣＣＣＧＴＡＴＧＧＣＴＴＴＣＡＴＴＴＴＣＴＣＣＴＣＣＴＴＧＴＡＴＡＡＡＴＣＣＴ
ＧＧＴＴＧＣＴＧＴＣＴＣＴＴＴＡＴＧＡＧＧＡＧＴＴＧＴＧＧＣＣＣＧＴＴＧＴＣＡＧ
ＧＣＡＡＣＧＴＧＧＣＧＴＧＧＴＧＴＧＣＡＣＴＧＴＧＴＴＴＧＣＴＧＡＣＧＣＡＡＣＣ
ＣＣＣＡＣＴＧＧＴＴＧＧＧＧＣＡＴＴＧＣＣＡＣＣＡＣＣＴＧＴＣＡＧＣＴＣＣＴＴＴ
ＣＣＧＧＧＡＣＴＴＴＣＧＣＴＴＴＣＣＣＣＣＴＣＣＣＴＡＴＴＧＣＣＡＣＧＧＣＧＧＡ
ＡＣＴＣＡＴＣＧＣＣＧＣＣＴＧＣＣＴＴＧＣＣＣＧＣＴＧＣＴＧＧＡＣＡＧＧＧＧＣＴ
ＣＧＧＣＴＧＴＴＧＧＧＣＡＣＴＧＡＣＡＡＴＴＣＣＧＴＧＧＴＧＴＴＧＴＣＧＧＧＧＡ
ＡＡＴＣＡＴＣＧＴＣＣＴＴＴＣＣＴＴＧＧＣＴＧＣＴＣＧＣＣＴＧＴＧＴＴＧＣＣＡＣ
ＣＴＧＧＡＴＴＣＴＧＣＧＣＧＧＧＡＣＧＴＣＣＴＴＣＴＧＣＴＡＣＧＴＣＣＣＴＴＣＧ
ＧＣＣＣＴＣＡＡＴＣＣＡＧＣＧＧＡＣＣＴＴＣＣＴＴＣＣＣＧＣＧＧＣＣＴＧＣＴＧＣ
ＣＧＧＣＴＣＴＧＣＧＧＣＣＴＣＴＴＣＣＧＣＧＴＣＴＴＣＧＡ　（配列番号８）

その他の実施形態では、ＷＰＲＥは、以下の配列を有する。

【００９４】

ＡＡＴＣＡＡＣＣＴＣＴＧＧＡＴＴＡＣＡＡＡＡＴＴＴＧＴＧＡＡＡＧＡＴＴＧＡＣＴ
ＧＧＴＡＴＴＣＴＴＡＡＣＴＡＴＧＴＴＧＣＴＣＣＴＴＴＴＡＣＧＣＴＡＴＧＴＧＧＡＴ
ＡＣＧＣＴＧＣＴＴＴＡＡＴＧＣＣＴＴＴＧＴＡＴＣＡＴＧＣＴＡＴＴＧＣＴＴＣＣＣＧ
ＴＡＴＧＧＣＴＴＴＣＡＴＴＴＴＣＴＣＣＴＣＣＴＴＧＴＡＴＡＡＡＴＣＣＴＧＧＴＴＡ
ＧＴＴＣＴＴＧＣＣＡＣＧＧＣＧＧＧＡＡＣＴＣＡＴＣＧＣＣＧＣＣＴＧＣＣＴＴＧＣＣＣ
ＧＣＴＧＣＴＧＧＡＣＡＧＧＧＧＣＴＣＧＧＣＴＧＴＴＧＧＧＣＡＣＴＧＡＣＡＡＴＴＣ
ＣＧＴＧＧＴＧＴＴＴＡＴＴＴＧＴＧＡＡＡＴＴＴＧＴＧＡＴＧＣＴＡＴＴＧＣＴＴＴＡ
ＴＴＴＧＴＡＡＣＣＡＴＣＴＡＧＣＴＴＴＡＴＴＴＧＴＧＡＡＡＴＴＴＧＴＧＡＴＧＣＴ
ＡＴＴＧＣＴＴＴＡＴＴＴＧＴＡＡＣＣＡＴＴＡＴＡＡＧＣＴＧＣＡＡＴＡＡＡＣＡＡＧ

ＴＴＡＡＣＡＡＣＡＡＣＡＡＴＴＧＣＡＴＴＣＡＴＴＴＴＡＴＧＴＴＴＣＡＧＧＴＴＣＡＧＧＧＧＧＡＧＡＴＧＴＧＧＧＡＧＧＴＴＴＴＴＴＡＡＡ　（配列番号９）

いくつかの実施形態では、本明細書に記載のＳＬＣ６Ａ１４プロモーターを含む核酸ベクターは、レポーター配列を含み、これはＶＳＣにおいて、ＳＬＣ６Ａ１４プロモーターに操作可能に連結された遺伝子の発現を検証するのに有用である場合があるか、またはプロモーターの前庭支持細胞特異性を決定または確認するために使用される場合がある。導入遺伝子において提供し得るレポーター配列としては、β－ラクタマーゼ、β－ガラクトシダーゼ（ＬａｃＺ）、アルカリホスファターゼ、チミジンキナーゼ、緑色蛍光タンパク質（ＧＦＰ）、クロラムフェニコールアセチルトランスフェラーゼ（ＣＡＴ）、ルシフェラーゼ、及び当技術分野で周知の他のレポーターをコードするＤＮＡ配列が挙げられる。レポーター配列は、それらの発現を駆動するＳＬＣ６Ａ１４プロモーターなどの調節エレメントに関連付けられる場合、酵素アッセイ、放射線アッセイ、比色アッセイ、蛍光アッセイまたは他の分光アッセイ、蛍光活性化細胞選別アッセイ、ならびに酵素結合免疫吸着測定法（ＥＬＩＳＡ）、ラジオイムノアッセイ（ＲＩＡ）、及び免疫組織化学を含む免疫学的アッセイを含む、従来の手段によって検出可能なシグナルを提供する。例えば、マーカー配列がＬａｃＺ遺伝子である場合、シグナルを組み込んだベクターの存在は、β－ガラクトシダーゼ活性のアッセイによって検出される。導入遺伝子が緑色蛍光タンパク質またはルシフェラーゼである場合、シグナルを組み込んだベクターは、照度計での色または光の生成によって視覚的に測定することができる。

【００９５】

本明細書に記載の組成物及び方法での使用の際に核酸ベクター（例えば、ＡＡＶベクター）を作成するために使用することができる移入プラスミドを、表４に記載する。移入プラスミド（例えば、核酸ベクターによって送達される、例えば、ＡＡＶによって送達されるＤＮＡ配列を含むプラスミド）は、投与向けの核酸ベクター（例えば、ＡＡＶベクター）を提供するために、ヘルパープラスミド（例えば、ＡＡＶ製造に必要なタンパク質を提供するプラスミド）、及びｒｅｐ／ｃａｐプラスミド（例えば、ＡＡＶキャプシドタンパク質及び移入プラスミドＤＮＡ配列をキャプシドシェルに挿入するタンパク質を提供するプラスミド）と共に産生細胞に共送達される場合がある。表４に記載する移入プラスミドは、Ａｔｏｈ１（マウス（配列番号１１）もしくはヒト（配列番号１０）Ａｔｏｈ１）をコードするポリヌクレオチド、またはＧＦＰ（配列番号２）をコードするポリヌクレオチドなど、導入遺伝子に操作可能に連結されたＳＬＣ６Ａ１４プロモーターを含む核酸ベクター（例えば、ＡＡＶベクター）を作成するために使用することができる。

【００９６】

【表４－１】

表４：移入プラスミド

配列番号	説明	プラスミド配列
2	プラスミドＰ９１９ １～１３０位の５’ＩＴＲ ２１９～１９７７位のＳＬＣ６Ａ１４ｖ３プロモーター １９９２～２３６９位のＨ２Ｂ配列 ２３８８～３１０７位のｅＧＦＰ配列 ３１１６～３６６３位のＷＰＲＥ ３７４８～３９５５位のｐｏｌｙＡ ４０４３～４１７２位の３’ＩＴＲ	ＣＴＧＣＧＣＧＣＴＣＧＣＴＣＧＣＴＣＡＣＴＧＡＧ ＧＣＣＧＣＣＣＧＧＧＣＡＡＡＧＣＣＣＧＧＧＣＧＴ ＣＧＧＧＣＧＡＣＣＴＴＴＧＧＴＣＧＣＣＣＧＧＣＣ ＴＣＡＧＴＧＡＧＣＧＡＧＣＧＡＧＣＧＣＧＣＡＧＡ ＧＡＧＧＧＡＧＴＧＧＣＣＡＡＣＴＣＣＡＴＣＡＣＴ ＡＧＧＧＧＴＴＣＣＴＴＧＴＡＧＴＴＡＡＴＧＡＴＴ ＡＡＣＣＣＧＣＣＡＴＧＣＴＡＣＴＴＡＴＣＴＡＣＧ ＴＡＧＣＣＡＴＧＣＴＣＴＡＧＧＡＡＧＡＴＣＧＧＡ ＡＴＴＣＧＣＣＣＴＴＡＡＧＣＴＡＧＣＧＧＣＧＣＧ ＣＣＡＴＡＣＡＣＴＴＡＴＧＴＡＴＡＴＧＴＧＣＧＡ ＴＧＴＣＡＧＴＧＴＧＴＧＣＡＴＡＴＡＡＡＧＴ ＣＣＣＡＡＡＣＡＡＧＣＣＴＧＴＡＴＧＡＴＡＴＴＧ ＡＣＣＡＡＣＡＡＧＧＴＣＡＡＧＧＣＡＡＡＧＴＴＴ ＴＧＡＴＡＣＴＴＴＣＡＧＧＴＣＡＣＡＡＣＣＴＣＴ ＣＣＧＣＡＴＣＣＣＴＣＴＣＴＡＣＴＴＴＧＣＴＣＴ ＡＴＣＴＧＣＣＴＧＡＡＣＴＣＣＴＧＡＧＧＡＣＡＴ ＧＴＴＴＣＴＡＣＴＧＣＡＡＡＴＧＧＡＡＡＡＴＣＣ ＴＴＧＴＣＡＧＣＣＡＧＴＧＡＧＧＡＡＣＡＡＡＧＧ ＧＡＣＴＡＴＡＣＡＴＡＧＡＴＧＡＡＡＡＣＴＴＧＧ ＣＴＣＴＣＴＧＣＴＧＧＴＴＣＣＴＴＴＧＴＴＴＧＴ ＡＴＧＡＡＴＴＴＡＴＡＣＡＡＴＴＴＧＧＴＡＡＡＡ ＣＴＧＣＣＡＣＣＡＴＧＴＣＴＴＡＣＡＴＧＧＡＣＡ ＧＡＴＴＧＡＧＴＧＴＡＧＡＴＴＣＴＴＴＧＡＡＴＴ ＴＴＴＧＡＴＧＡＡＧＡＧＧＣＧＣＴＧＣＡＣＴＧＧ ＴＧＡＴＣＧＧＡＡＴＴＧＣＡＧＴＣＴＴＴＣＣＴＣ ＴＧＴＡＧＧＴＡＡＣＣＴＧＧＣＴＴＧＴＴＴＣＣＴ ＴＡＣＡＧＴＴＴＡＣＴＴＴＣＴＡＧＧＣＣＴＣＧＣ ＣＴＴＴＣＴＣＡＣＡＧＡＧＴＧＡＡＧＴＣＣＴＴＴ ＧＴＴＡＡＧＧＴＴＣＧＡＡＴＴＴＣＣＣＡＴＡＡＡ ＣＣＴＧＣＴＣＡＡＴＡＡＴＴＴＧＴ

【００９７】

【表４－２】

配列番号	プロモーター配列の説明	プロモーター配列
		TTGTGTTTGGCTTCTTTGAAATACTA CACAAAGCAATCCTTGTAAAAGGCAA AACTATTCCGAAGGCTGAGAAAGGAG CTCCAGGACATAGATTCAAAGTCGCT CTTTTTCAGGTAGAGACAGCTGGGTAA TCTTATCTTAACTGGCTACATTTCAA GGTTCCCAATTCAGGGGCTTTCCCCT CTGGGAGCAGCATTCTCTCCGGGTGA TGAAGAGCTTTCTAGTGAGGAGCAAA ACTTTCAGAAAACCGGAGGGCCCAGA GCAGTCTGGTCTGTTCACAAAAATTA TAGCAAACAAAATAAGCCCGGCGGAT TGGGTCTCTCCTACCTCCAGCACCAG GGGAGATCAGCACTTGGCCCCAGGAC AGAGACCTGAGAAGTGAGGTTTGGAA GAAGCCAGGAATCCAGGAAAGGAGGC AAGATTGCTAAGGCACCGGCACAGCT CTGAGTCAAAAGTTGTCAGTCTTCTT TGGCTCTGGCTGCGGAGCTCAATTGC TCACAGCCCTGCCCTTTCCTAGGGCT GGGGCAAGGAATTGCTACATTCAGGA TTACCTGGGGGAAAAACCAGAGGCTT GCTTTGGTCCCTTCCGGTAATTGAAA GGACTGGCCGTCAGCGAGGGGGAGGA GAGAGCTTCCCTCCATAAATGGTCCC ACCCCTGGGCAAGGTGGCTCACTTTG GCAGGTAGCAACCGGGGAGTGTGCAC CTGCCACCAGTCAAGCTCAGCCAGAC TGTGAGAAGAGGAGAGGCGAGGCACA CCAAGGGATCCAGTGAACCAACGACA GATTGAAGTGCCCGAACTTCTTCAAG TGCAGACAGAAGGAGGTAGGGTTCTG GAAGTTTCTGGTGGTGTAG

【００９８】

【表４－３】

配列番号	プロモーター配列の説明	プロモーター配列
		GGGAGTCAGGAAGGGAAAACAAGG AGGGAGAGTGAGTCTTAGTTTTTT GCTTTCTGTAGCTGTTCCTTATTT TGCATATTTCTTTCTCTTCAACTC TTTTCAAGTATGCCTGATACGTTG TTCTCACGAAGTTGACGTGAAAAA CAACTTTCCTGCTGGTAGTTAGGA AACTTAGGAGCACCTCAACCTGTA CCTTGAGAACACCCAGAGAATGCT GCTCTTTGTCGTTCTCTATACCGT GTTCATATGCTGCAGGGAAATGCA AAGAATGTACTGTCCTTATCTGAC CCTGGGAGCATTCCATAGTCAAGC AGCAGCTATCAGGTTGGGAAAGAG CTCCTCTCCAAGGTGTAACAGAAA AGGAAAATGTTGATATTTTTCTTG TTTAGAAAGTGACAGCTTCATCCG AGAACGCGGCCGCGCCACCATGCC AGAGCCAGCGAAGTCTGCTCCCGC CCCGAAAAAGGGCTCCAAGAAGGC GGTGACTAAGGCGCAGAAGAAAGG CGGCAAGAAGCGCAAGCGCAGCCG CAAGGAGAGCTATTCCATCTATGT GTACAAGGTTCTGAAGCAGGTCCA CCCTGACACCGGCATTTCGTCCAA GGCCATGGGCATCATGAATTCGTT TGTGAACGACATTTTCGAGCGCAT CGCAGGTGAGGCTTCCCGCCTGGC GCATTACAACAAGCGCTCGACCAT CACCTCCAGGGAGATCCAGACGGC CGTGCGCCTGCTGCTGCCTGGGGA GTTGGCCAAGCACGCCGTGTCCGA GGGTACTAAGGCCATCACCAAGTA CACCAGCGCTAAGGATCCACCGGT CGCCACCATGGT

【００９９】

【表４－４】

配列番号	プロモーター配列の説明	プロモーター配列
		GAGCAAGGGCGAGGAGCTGTTCACC GGGGTGGTGCCCATCCTGGTCGAGC TGGACGGCGACGTAAACGGCCACAA GTTCAGCGTGTCCGGCGAGGGCGAG GGCGATGCCACCTACGGCAAGCTGA CCCTGAAGTTCATCTGCACCACCGG CAAGCTGCCCGTGCCCTGGCCCACC CTCGTGACCACCCTGACCTACGGCG TGCAGTGCTTCAGCCGCTACCCCGA CCACATGAAGCAGCACGACTTCTTC AAGTCCGCCATGCCCGAAGGCTACG TCCAGGAGCGCACCATCTTCTTCAA GGACGACGGCAACTACAAGACCCGC GCCGAGGTGAAGTTCGAGGGCGACA CCCTGGTGAACCGCATCGAGCTGAA GGGCATCGACTTCAAGGAGGACGGC AACATCCTGGGGCACAAGCTGGAGT ACAACTACAACAGCCACAACGTCTA TATCATGGCCGACAAGCAGAAGAAC GGCATCAAGGTGAACTTCAAGATCC GCCACAACATCGAGGACGGCAGCGT GCAGCTCGCCGACCACTACCAGCAG AACACCCCCATCGGCGACGGCCCCG TGCTGCTGCCCGACAACCACTACCT GAGCACCCAGTCCGCCCTGAGCAAA GACCCCAACGAGAAGCGCGATCACA TGGTCCTGCTGGAGTTCGTGACCGC CGCCGGGATCACTCTCGGCATGGAC GAGCTGTACAAGTAATAAGCTTGGA TCCAATCAACCTCTGGATTACAAAA TTTGTGAAAGATTGACTGGTATTCT TAACTATGTTGCTCCTTTTACGCTA TGTGGATACGCTGCTTTAATGCCTT TGT

【０１００】

【表４－５】

配列番号	プロモーター配列の説明	プロモーター配列
		ATCATGCTATTGCTTCCCGTATGGCT TTCATTTTCTCCTCCTTGTATAAATC CTGGTTGCTGTCTCTTTATGAGGAGT TGTGGCCCGTTGTCAGGCAACGTGGC GTGGTGTGCACTGTGTTTGCTGACGC AACCCCCACTGGTTGGGGCATTGCCA CCACCTGTCAGCTCCTTTCCGGGACT TTCGCTTTCCCCCTCCCTATTGCCAC GGCGGAACTCATCGCCGCCTGCCTTG CCCGCTGCTGGACAGGGGCTCGGCTG TTGGGCACTGACAATTCCGTGGTGTT GTCGGGGAAATCATCGTCCTTTCCTT GGCTGCTCGCCTGTGTTGCCACCTGG ATTCTGCGCGGGACGTCCTTCTGCTA CGTCCCTTCGGCCCTCAATCCAGCGG ACCTTCCTTCCCGCGGCCTGCTGCCG GCTCTGCGGCCTCTTCCGCGTCTTCG AACAATTGCATCGGACACATCTTGGC GTTTTACAACGTCGTGACTGGGAAAA CCCTGGCGTTACCCAACTTAAGATCT GCCTCGACTGTGCCTTCTAGTTGCCA GCCATCTGTTGTTTGCCCCTCCCCCG TGCCTTCCTTGACCCTGGAAGGTGCC ACTCCCACTGTCCTTTCCTAATAAAA TGAGGAAATTGCATCGCATTGTCTGA GTAGGTGTCATTCTATTCTGGGGGGT GGGGTGGGGCAGGACAGCAAGGGGGA GGATTGGGAAGACAATAGCAGGCATG CTGGGGACTCGAGTTAAGGGCGAATT CCCGATAAGGATCTTCCTAGAGCATG GCTACGTAGATAAGTAGCATGGCGGG TTAATCATTAACTACAAGGAAC

【０１０１】

【表４－６】

配列番号	プロモーター配列の説明	プロモーター配列
		CCCTAGTGATGGAGTTGGCCACTCCC TCTCTGCGCGCTCGCTCGCTCACTGA GGCCGGGCGACCAAAGGTCGCCCGAC GCCCGGGCTTTGCCCGGGCGGCCTCA GTGAGCGAGCGAGCGCGCAGCCTTAA TTAACCTAATTCACTGGCCGTCGTTT TACAACGTCGTGACTGGGAAAACCCT GGCGTTACCCAACTTAATCGCCTTGC AGCACATCCCCCTTTCGCCAGCTGGC GTAATAGCGAAGAGGCCCGCACCGAT CGCCCTTCCCAACAGTTGCGCAGCCT GAATGGCGAATGGGACGCGCCCTGTA GCGGCGCATTAAGCGCGGCGGGTGTG GTGGTTACGCGCAGCGTGACCGCTAC ACTTGCCAGCGCCCTAGCGCCCGCTC CTTTCGCTTTCTTCCCTTCCTTTCTC GCCACGTTCGCCGGCTTTCCCCGTCA AGCTCTAAATCGGGGGCTCCCTTTAG GGTTCCGATTTAGTGCTTTACGGCAC CTCGACCCCAAAAAACTTGATTAGGG TGATGGTTCACGTAGTGGGCCATCGC CCTGATAGACGGTTTTTCGCCCTTTG ACGTTGGAGTCCACGTTCTTTAATAG TGGACTCTTGTTCCAAACTGGAACAA CACTCAACCCTATCTCGGTCTATTCT TTTGATTTATAAGGGATTTTGCCGAT TTCGGCCTATTGGTTAAAAAATGAGC TGATTTAACAAAAATTTAACGCGAAT TTTAACAAAATATTAACGCTTACAAT TTAGGTGGCACTTTTCGGGGAAATGT GCGCGGAACCCCTATTTGTTTATTTT TCTAAATACATTCAAATATGTA

【０１０２】

【表４－７】

配列番号	プロモーター配列の説明	プロモーター配列
		TCCGCTCATGAGACAATAACCCTG ATAAATGCTTCAATAATATTGAAA AAGGAAGAGTATGAGTATTCAACA TTTCCGTGTCGCCCTTATTCCCTT TTTTGCGGCATTTTGCCTTCCTGT TTTTGCTCACCCAGAAACGCTGGT GAAAGTAAAAGATGCTGAAGATCA GTTGGGTGCACGAGTGGGTTACAT CGAACTGGATCTCAACAGCGGTAA GATCCTTGAGAGTTTTCGCCCCGA AGAACGTTTTCCAATGATGAGCAC TTTTAAAGTTCTGCTATGTGGCGC GGTATTATCCCGTATTGACGCCGG GCAAGAGCAACTCGGTCGCCGCAT ACACTATTCTCAGAATGACTTGGT TGAGTACTCACCAGTCACAGAAAA GCATCTTACGGATGGCATGACAGT AAGAGAATTATGCAGTGCTGCCAT AACCATGAGTGATAACACTGCGGC CAACTTACTTCTGACAACGATCGG AGGACCGAAGGAGCTAACCGCTTT TTTGCACAACATGGGGGATCATGT AACTCGCCTTGATCGTTGGGAACC GGAGCTGAATGAAGCCATACCAAA CGACGAGCGTGACACCACGATGCC TGTAGCAATGGCAACAACGTTGCG CAAACTATTAACTGGCGAACTACT TACTCTAGCTTCCCGGCAACAATT AATAGACTGGATGGAGGCGGATAA AGTTGCAGGACCACTTCTGCGCTC GGCCCTTCCGGCTGGCTGGTTTAT TGCTGATAAATCTGGAGCCGGTGA GCGTGGGTCTCGCGGTATCATTGC AGCACTGGGGCCAGATGGTAAGCC CTCCCGTATCGT

【０１０３】

【表４－８】

配列番号	プロモーター配列の説明	プロモーター配列
		AGTTATCTACACGACGGGGAGTCAG GCAACTATGGATGAACGAAATAGAC AGATCGCTGAGATAGGTGCCTCACT GATTAAGCATTGGTAACTGTCAGAC CAAGTTTACTCATATATACTTTAGA TTGATTTAAAACTTCATTTTTAATT TAAAAGGATCTAGGTGAAGATCCTT TTTGATAATCTCATGACCAAAATCC CTTAACGTGAGTTTTCGTTCCACTG AGCGTCAGACCCCGTAGAAAAGATC AAAGGATCTTCTTGAGATCCTTTTT TTCTGCGCGTAATCTGCTGCTTGCA AACAAAAAAACCACCGCTACCAGCG GTGGTTTGTTTGCCGGATCAAGAGC TACCAACTCTTTTTCCGAAGGTAAC TGGCTTCAGCAGAGCGCAGATACCA AATACTGTTCTTCTAGTGTAGCCGT AGTTAGGCCACCACTTCAAGAACTC TGTAGCACCGCCTACATACCTCGCT CTGCTAATCCTGTTACCAGTGGCTG CTGCCAGTGGCGATAAGTCGTGTCT TACCGGGTTGGACTCAAGACGATAG TTACCGGATAAGGCGCAGCGGTCGG GCTGAACGGGGGGTTCGTGCACACA GCCCAGCTTGGAGCGAACGACCTAC ACCGAACTGAGATACCTACAGCGTG AGCTATGAGAAAGCGCCACGCTTCC CGAAGGGAGAAAGGCGGACAGGTAT CCGGTAAGCGGCAGGGTCGGAACAG GAGAGCGCACGAGGGAGCTTCCAGG GGGAAACGCCTGGTATCTTTATAGT CCTGTCGGGTTTCGCCACCTCTGAC TTGAGCGTCGATTTTTGTGATGCTC GTC

【０１０４】

【表４－９】

配列番号	プロモーター配列の説明	プロモーター配列
		AGGGGGGCGGAGCCTATGGAAAAA CGCCAGCAACGCGGCCTTTTTACG GTTCCTGGCCTTTTGCTGGCCTTT TGCTCACATGTTCTTTCCTGCGTT ATCCCCTGATTCTGTGGATAACCG TATTACCGCCTTTGAGTGAGCTGA TACCGCTCGCCGCAGCCGAACGAC CGAGCGCAGCGAGTCAGTGAGCGA GGAAGCGGAAGAGCGCCCAATACG CAAACCGCCTCTCCCCGCGCGTTG GCCGATTCATTAATGCAGCTGGCA CGACAGGTTTCCCGACTGGAAAGC GGGCAGTGAGCGCAACGCAATTAA TGTGAGTTAGCTCACTCATTAGGC ACCCCAGGCTTTACACTTTATGCT TCCGGCTCGTATGTTGTGTGGAAT TGTGAGCGGATAACAATTTCACAC AGGAAACAGCTATGACCATGATTA CGCCAGATTTAATTAAGGCCTTAA TTAGG

【０１０５】

【表４－１０】

配列番号	説明	プラスミド配列
１０	プラスミドＰ９９０ １～１３０位の５’ＩＴＲ ２１９～１９７７位のＳＬＣ６Ａ１４ｖ３プロモーター １９９２～３０５３位のヒトＡｔｏｈ１配列 ３０６４～３６１１位のＷＰＲＥ ３６２４～３８３１位のｐｏｌｙＡ ３９１９～４０４８位の３’ＩＴＲ	ＣＴＧＣＧＣＧＣＴＣＧＣＴＣＧＣＴＣＡＣＴＧＡＧ ＧＣＣＧＣＣＣＧＧＧＣＡＡＡＧＣＣＣＧＧＧＣＧＴ ＣＧＧＧＣＧＡＣＣＴＴＴＧＧＴＣＧＣＣＣＧＧＣＣ ＴＣＡＧＴＧＡＧＣＧＡＧＣＧＡＧＣＧＣＧＣＡＧＡ ＧＡＧＧＧＡＧＴＧＧＣＣＡＡＣＴＣＣＡＴＣＡＣＴ ＡＧＧＧＧＴＴＣＣＴＴＧＴＡＧＴＴＡＡＴＧＡＴＴ ＡＡＣＣＣＧＣＣＡＴＧＣＴＡＣＴＴＡＴＣＴＡＣＧ ＴＡＧＣＣＡＴＧＣＴＣＴＡＧＧＡＡＧＡＴＣＧＧＡ ＡＴＴＣＧＣＣＣＴＴＡＡＧＣＴＡＧＣＧＧＣＧＣＧ ＣＣＡＴＡＣＡＣＴＴＡＴＧＴＡＴＡＴＧＴＧＣＧＡ ＴＧＴＣＡＧＴＧＴＧＴＧＣＡＴＡＴＡＡＡＧＴ ＣＣＣＡＡＡＣＡＡＧＣＣＴＧＴＡＴＧＡＴＡＴＴＧ ＡＣＣＡＡＣＡＡＧＧＴＣＡＡＧＧＣＡＡＡＧＴＴＴ ＴＧＡＴＡＣＴＴＴＣＡＧＧＴＣＡＣＡＡＣＣＴＣＴ ＣＣＧＣＡＴＣＣＣＴＣＴＣＴＡＣＴＴＴＧＣＴＣＴ ＡＴＣＴＧＣＣＴＧＡＡＣＴＣＣＴＧＡＧＧＡＣＡＴ ＧＴＴＴＣＴＡＣＴＧＣＡＡＡＴＧＧＡＡＡＡＴＣＣ ＴＴＧＴＣＡＧＣＣＡＧＴＧＡＧＧＡＡＣＡＡＡＧＧ ＧＡＣＴＡＴＡＣＡＴＡＧＡＴＧＡＡＡＡＣＴＴＧＧ ＣＴＣＴＣＴＧＣＴＧＧＴＴＣＣＴＴＴＧＴＴＴＧＴ ＡＴＧＡＡＴＴＴＡＴＡＣＡＡＴＴＴＧＧＴＡＡＡＡ ＣＴＧＣＣＡＣＣＡＴＧＴＣＴＴＡＣＡＴＧＧＡＣＡ ＧＡＴＴＧＡＧＴＧＴＡＧＡＴＴＣＴＴＴＧＡＡＴＴ ＴＴＴＧＡＴＧＡＡＧＡＧＧＣＧＣＴＧＣＡＣＴＧＧ ＴＧＡＴＣＧＧＡＡＴＴＧＣＡＧＴＣＴＴＴＣＣＴＣ ＴＧＴＡＧＧＴＡＡＣＣＴＧＧＣＴＴＧＴＴＴＣＣＴ ＴＡＣＡＧＴＴＴＡＣＴＴＴＣＴＡＧＧＣＣＴＣＧＣ ＣＴＴＴＣＴＣＡＣＡＧＡＧＴＧＡＡＧＴＣＣＴＴＴ ＧＴＴＡＡＧＧＴＴＣＧＡＡＴＴＴＣＣＣＡＴＡＡＡ ＣＣＴＧＣＴＣＡＡＴＡＡＴＴＴＧＴＴＴＧＴＧＴＴ ＴＧＧＣＴＴＣＴＴＴＧＡＡＡＴＡＣＴＡＣＡＣＡＡ ＡＧＣＡＡＴＣＣＴＴＧＴＡＡＡＡＧＧＣＡＡＡＡＣ ＴＡＴＴＣＣＧＡＡＧＧＣＴＧ

【０１０６】

【表４－１１】

配列番号	プロモーター配列の説明	プロモーター配列
		AGAAAGGAGCTCCAGGACATAGAT TCAAAGTCGCTCTTTTCAGGTAGA GACAGCTGGGTAATCTTATCTTAA CTGGCTACATTTCAAGGTTCCCAA TTCAGGGGCTTTCCCCTCTGGGAG CAGCATTCTCTCCGGGTGATGAAG AGCTTTCTAGTGAGGAGCAAAACT TTCAGAAAACCGGAGGGCCCAGAG CAGTCTGGTCTGTTCACAAAAATT ATAGCAAACAAAATAAGCCCGGCG GATTGGGTCTCTCCTACCTCCAGC ACCAGGGGAGATCAGCACTTGGCC CCAGGACAGAGACCTGAGAAGTGA GGTTTGGAAGAAGCCAGGAATCCA GGAAAGGAGGCAAGATTGCTAAGG CACCGGCACAGCTCTGAGTCAAAA GTTGTCAGTCTTCTTTGGCTCTGG CTGCGGAGCTCAATTGCTCACAGC CCTGCCCTTTCCTAGGGCTGGGGC AAGGAATTGCTACATTCAGGATTA CCTGGGGGAAAAACCAGAGGCTTG CTTTGGTCCCTTCCGGTAATTGAA AGGACTGGCCGTCAGCGAGGGGGA GGAGAGAGCTTCCCTCCATAAATG GTCCCACCCCTGGGCAAGGTGGCT CACTTTGGCAGGTAGCAACCGGGG AGTGTGCACCTGCCACCAGTCAAG CTCAGCCAGACTGTGAGAAGAGGA GAGGCGAGGCACACCAAGGGATCC AGTGAACCAACGACAGATTGAAGT GCCCGAACTTCTTCAAGTGCAGAC AGAAGGAGGTAGGGTTCTGGAAGT TTCTGGTGGTGTAGGGGAGTCAGG AAGGGAAAACAAGGAGGGAGAGTG AGTCTTAGTTTT

【０１０７】

【表４－１２】

配列番号	プロモーター配列の説明	プロモーター配列
		TTGCTTTCTGTAGCTGTTCCTTATT TTGCATATTTCTTTCTCTTCAACTC TTTTCAAGTATGCCTGATACGTTGT TCTCACGAAGTTGACGTGAAAAACA ACTTTCCTGCTGGTAGTTAGGAAAC TTAGGAGCACCTCAACCTGTACCTT GAGAACACCCAGAGAATGCTGCTCT TTGTCGTTCTCTATACCGTGTTCAT ATGCTGCAGGGAAATGCAAAGAATG TACTGTCCTTATCTGACCCTGGGAG CATTCCATAGTCAAGCAGCAGCTAT CAGGTTGGGAAAGAGCTCCTCTCCA AGGTGTAACAGAAAAGGAAAATGTT GATATTTTTCTTGTTTAGAAAGTGA CAGCTTCATCCGAGAACGCGGCCGC GCCACCATGTCCCGCCTGCTGCATG CAGAAGAGTGGGCTGAAGTGAAGGA GTTGGGAGACCACCATCGCCAGCCC CAGCCGCATCATCTCCCGCAACCGC CGCCGCCGCCGCAGCCACCTGCAAC TTTGCAGGCGAGAGAGCATCCCGTC TACCCGCCTGAGCTGTCCCTCCTGG ACAGCACCGACCCACGCGCCTGGCT GGCTCCCACTTTGCAGGGCATCTGC ACGGCACGCGCCGCCCAGTATTTGC TACATTCCCCGGAGCTGGGTGCCTC AGAGGCCGCTGCGCCCCGGGACGAG GTGGACGGCCGGGGGGAGCTGGTAA GGAGGAGCAGCGGCGGTGCCAGCAG CAGCAAGAGCCCCGGGCCGGTGAAA GTGCGGGAACAGCTGTGCAAGCTGA AAGGCGGGGTGGTGGTAGACGAGCT GGGCTGCAGCCGCCAACGGGCCCCT TCC

【０１０８】

【表４－１３】

配列番号	プロモーター配列の説明	プロモーター配列
		AGCAAACAGGTGAATGGGGTGCAG AAGCAGAGACGGCTAGCAGCCAAC GCCAGGGAGCGGCGCAGGATGCAT GGGCTGAACCACGCCTTCGACCAG CTGCGCAATGTTATCCCGTCGTTC AACAACGACAAGAAGCTGTCCAAA TATGAGACCCTGCAGATGGCCCAA ATCTACATCAACGCCTTGTCCGAG CTGCTACAAACGCCCAGCGGAGGG GAACAGCCACCGCCGCCTCCAGCC TCCTGCAAAAGCGACCACCACCAC CTTCGCACCGCGGCCTCCTATGAA GGGGGCGCGGGCAACGCGACCGCA GCTGGGGCTCAGCAGGCTTCCGGA GGGAGCCAGCGGCCGACCCCGCCC GGGAGTTGCCGGACTCGCTTCTCA GCCCCAGCTTCTGCGGGAGGGTAC TCGGTGCAGCTGGACGCTCTGCAC TTCTCGACTTTCGAGGACAGCGCC CTGACAGCGATGATGGCGCAAAAG AATTTGTCTCCTTCTCTCCCCGGG AGCATCTTGCAGCCAGTGCAGGAG GAAAACAGCAAAACTTCGCCTCGG TCCCACAGAAGCGACGGGGAATTT TCCCCCCATTCCCATTACAGTGAC TCGGATGAGGCAAGTTAGAAGCTT GGATCCAATCAACCTCTGGATTAC AAAATTTGTGAAAGATTGACTGGT ATTCTTAACTATGTTGCTCCTTTT ACGCTATGTGGATACGCTGCTTTA ATGCCTTTGTATCATGCTATTGCT TCCCGTATGGCTTTCATTTTCTCC TCCTTGTATAAATCCTGGTTGCTG TCTCTTTATGAGGAGTTGTGGCCC GTTGTCAGGCAA

【０１０９】

【表４－１４】

配列番号	プロモーター配列の説明	プロモーター配列
		CGTGGCGTGGTGTGCACTGTGTTTGCTG ACGCAACCCCCACTGGTTGGGGCATTGC CACCACCTGTCAGCTCCTTTCCGGGACT TTCGCTTTCCCCCTCCCTATTGCCACGG CGGAACTCATCGCCGCCTGCCTTGCCCG CTGCTGGACAGGGGCTCGGCTGTTGGGC ACTGACAATTCCGTGGTGTTGTCGGGGA AATCATCGTCCTTTCCTTGGCTGCTCGC CTGTGTTGCCACCTGGATTCTGCGCGGG ACGTCCTTCTGCTACGTCCCTTCGGCCC TCAATCCAGCGGACCTTCCTTCCCGCGG CCTGCTGCCGGCTCTGCGGCCTCTTCCG CGTCTTCGAGATCTGCCTCGACTGTGCC TTCTAGTTGCCAGCCATCTGTTGTTTGC CCCTCCCCCCGTGCCTTCCTTGACCCTGG AAGGTGCCACTCCCACTGTCCTTTCCTA ATAAAATGAGGAAATTGCATCGCATTGT CTGAGTAGGTGTCATTCTATTCTGGGGG GTGGGGGTGGGGCAGGACAGCAAGGGGGA GGATTGGGAAGACAATAGCAGGCATGCT GGGGACTCGAGTTAAGGGCGAATTCCCG ATAAGGATCTTCCTAGAGCATGGCTACG TAGATAAGTAGCATGGCGGGTTAATCAT TAACTACAAGGAACCCCTAGTGATGGAG TTGGCCACTCCCTCTCTGCGCGCTCGCT CGCTCACTGAGGCCGGGCGACCAAAGGT CGCCCGACGCCCGGGCTTTGCCCGGGCG GCCTCAGTGAGCGAGCGAGCGCGCAGCC TTAATTAACCTAATTCACTGGCCGTCGT TTTACAACGTCGTGAC

【０１１０】

【表４－１５】

配列番号	プロモーター配列の説明	プロモーター配列
		TGGGAAAACCCTGGCGTTACCCAAC TTAATCGCCTTGCAGCACATCCCCC TTTCGCCAGCTGGCGTAATAGCGAA GAGGCCCGCACCGATCGCCCTTCCC AACAGTTGCGCAGCCTGAATGGCGA ATGGGACGCGCCCTGTAGCGGCGCA TTAAGCGCGGCGGGTGTGGTGGTTA CGCGCAGCGTGACCGCTACACTTGC CAGCGCCCTAGCGCCCGCTCCTTTC GCTTTCTTCCCTTCCTTTCTCGCCA CGTTCGCCGGCTTTCCCCGTCAAGC TCTAAATCGGGGGCTCCCTTTAGGG TTCCGATTTAGTGCTTTACGGCACC TCGACCCCAAAAAACTTGATTAGGG TGATGGTTCACGTAGTGGGCCATCG CCCTGATAGACGGTTTTTCGCCCTT TGACGTTGGAGTCCACGTTCTTTAA TAGTGGACTCTTGTTCCAAACTGGA ACAACACTCAACCCTATCTCGGTCT ATTCTTTTGATTTATAAGGGATTTT GCCGATTTCGGCCTATTGGTTAAAA AATGAGCTGATTTAACAAAAATTTA ACGCGAATTTTAACAAAATATTAAC GCTTACAATTTAGGTGGCACTTTTC GGGGAAATGTGCGCGGAACCCCTAT TTGTTTATTTTTCTAAATACATTCA AATATGTATCCGCTCATGAGACAAT AACCCTGATAAATGCTTCAATAATA TTGAAAAAGGAAGAGTATGAGCCAT ATTCAACGGGAAACGTCGAGGCCGC GATTAAATTCCAACATGGATGCTGA TTTATATGGGTATAAATGGGCTCGC GATAATGTCGGGCAATCAGGTGCGA CAA

【０１１１】

【表４－１６】

配列番号	プロモーター配列の説明	プロモーター配列
		TCTATCGCTTGTATGGGAAGCCCGA TGCGCCAGAGTTGTTTCTGAAACAT GGCAAAGGTAGCGTTGCCAATGATG TTACAGATGAGATGGTCAGACTAAA CTGGCTGACGGAATTTATGCCTCTT CCGACCATCAAGCATTTTATCCGTA CTCCTGATGATGCATGGTTACTCAC CACTGCGATCCCCGGAAAAACAGCA TTCCAGGTATTAGAAGAATATCCTG ATTCAGGTGAAAATATTGTTGATGC GCTGGCAGTGTTCCTGCGCCGGTTG CATTCGATTCCTGTTTGTAATTGTC CTTTTAACAGCGATCGCGTATTTCG TCTTGCTCAGGCGCAATCACGAATG AATAACGGTTTGGTTGATGCGAGTG ATTTTGATGACGAGCGTAATGGCTG GCCTGTTGAACAAGTCTGGAAAGAA ATGCATAAACTTTTGCCATTCTCAC CGGATTCAGTCGTCACTCATGGTGA TTTCTCACTTGATAACCTTATTTTT GACGAGGGGAAATTAATAGGTTGTA TTGATGTTGGACGAGTCGGAATCGC AGACCGATACCAGGATCTTGCCATC CTATGGAACTGCCTCGGTGAGTTTT CTCCTTCATTACAGAAACGGCTTTT TCAAAAATATGGTATTGATAATCCT GATATGAATAAATTGCAGTTTCATT TGATGCTCGATGAGTTTTTCTAACT GTCAGACCAAGTTTACTCATATATA CTTTAGATTGATTTAAAACTTCATT TTTAATTTAAAAGGATCTAGGTGAA GATCCTTTTTGATAATCTCATGACC AAAATCCCTTAACGTGAGTTTTCGT TCC

【０１１２】

【表４－１７】

配列番号	プロモーター配列の説明	プロモーター配列
		ACTGAGCGTCAGACCCCGTAGAAAAGATCAA AGGATCTTCTTGAGATCCTTTTTTTCTGCGC GTAATCTGCTGCTTGCAAACAAAAAAACCCAC CGCTACCAGCGGTGGTTTGTTTGCCGGATCA AGAGCTACCAACTCTTTTTCCGAAGGTAACT GGCTTCAGCAGAGCGCAGATACCAAATACTG TTCTTCTAGTGTAGCCGTAGTTAGGCCACCA CTTCAAGAACTCTGTAGCACCGCCTACATAC CTCGCTCTGCTAATCCTGTTACCAGTGGCTG CTGCCAGTGGCGATAAGTCGTGTCTTACCGG GTTGGACTCAAGACGATAGTTACCGGATAAG GCGCAGCGGTCGGGCTGAACGGGGGGTTCGT GCACACAGCCCAGCTTGGAGCGAACGACCTA CACCGAACTGAGATACCTACAGCGTGAGCTA TGAGAAAGCGCCACGCTTCCCGAAGGGAGAA AGGCGGACAGGTATCCGGTAAGCGGCAGGGT CGGAACAGGAGAGCGCACGAGGGAGCTTCCA GGGGGAAACGCCTGGTATCTTTATAGTCCTG TCGGGTTTCGCCACCTCTGACTTGAGCGTCG ATTTTTGTGATGCTCGTCAGGGGGGCGGAGC CTATGGAAAAACGCCAGCAACGCGGCCTTTT TACGGTTCCTGGCCTTTTGCTGGCCTTTTGC TCACATGTTCTTTCCTGCGTTATCCCCTGAT TCTGTGGATAACCGTATTACCGCCTTTGAGT GAGCTGATACCGCTCGCCGCAGCCGAACGAC CGAGCGCAGCGAGTCAGTGAGCGAGGAAGCG GAAGAGCGCCCAATACGCAAAC CGCCTCTCCCCGCGCGTTGGCCGATTCATTA ATGCAGCTGGCACGACAGGTTTCCCGACTGG AAAGCGGGCAGTGAGCGCAACGCAATTAATG TGAGTTAGCTCACTCATTAGGCACCCCAGGC TTTACACTTTATGCTTCCGGCTCGTATGTTG TGTGGAATTGTGAGCGGATAACAATTTCACA CAGGAAACAGCTATGACCATGATTACGCCAG ATTTAATTAAGGCCTTAATTAGG

【０１１３】

【表４－１８】

配列番号	説明	プラスミド配列
１１	プラスミドＰ１０７１ １～１３０位の５’ＩＴＲ ２１９～１９７７位のＳＬＣ６Ａ１４ｖ３プロモーター １９９２～３０４４位のマウスＡｔｏｈ１配列 ３０５５～３６０２位のＷＰＲＥ ３６１５～３８２２位のｐｏｌｙＡ ３９１０～４０３９位の３’ＩＴＲ	ＣＴＧＣＧＣＧＣＴＣＧＣＴＣＧＣＴＣＡＣＴＧＡＧＧ ＣＣＧＣＣＣＧＧＧＣＡＡＡＧＣＣＣＧＧＧＣＧＴＣＧ ＧＧＣＧＡＣＣＴＴＴＧＧＴＣＧＣＣＣＧＧＣＣＴＣＡ ＧＴＧＡＧＣＧＡＧＣＧＡＧＣＧＣＧＣＡＧＡＧＡＧＧ ＧＡＧＴＧＧＣＣＡＡＣＴＣＣＡＴＣＡＣＴＡＧＧＧＧ ＴＴＣＣＴＴＧＴＡＧＴＴＡＡＴＧＡＴＴＡＡＣＣＣＧ ＣＣＡＴＧＣＴＡＣＴＴＡＴＣＴＡＣＧＴＡＧＣＣＡＴ ＧＣＴＣＴＡＧＧＡＡＧＡＴＣＧＧＡＡＴＴＣＧＣＣＣ ＴＴＡＡＧＣＴＡＧＣＧＧＣＧＣＧＣＣＡＴＡＣＡＣＴ ＴＡＴＧＴＡＴＡＴＧＴＧＣＧＡＴＧＴＣＡＧＴＧＴＧ ＴＧＴＧＣＡＴＡＴＡＡＡＧＴＣＣＣＡＡＡＣＡＡＧＣ ＣＴＧＴＡＴＧＡＴＡＴＴＧＡＣＣＡＡＣＡＡＧＧＴＣ ＡＡＧＧＣＡＡＡＧＴＴＴＴＧＡＴＡＣＴＴＴＣＡＧＧ ＴＣＡＣＡＡＣＣＴＣＴＣＣＧＣＡＴＣＣＣＴＣＴＣＴ ＡＣＴＴＴＧＣＴＣＴＡＴＣＴＧＣＣＴＧＡＡＣＴＣＣ ＴＧＡＧＧＡＣＡＴＧＴＴＴＣＴＡＣＴＧＣＡＡＡＴＧ ＧＡＡＡＡＴＣＣＴＴＧＴＣＡＧＣＣＡＧＴＧＡＧＧＡ ＡＣＡＡＡＧＧＧＡＣＴＡＴＡＣＡＴＡＧＡＴＧＡＡＡ ＡＣＴＴＧＧＣＴＣＴＣＴＧＣＴＧＧＴＴＣＣＴＴＴＧ ＴＴＴＧＴＡＴＧＡＡＴＴＴＡＴＡＣＡＡＴＴＴＧＧＴ ＡＡＡＡＣＴＧＣＣＡＣＣＡＴＧＴＣＴＴＡＣＡＴＧＧ ＡＣＡＧＡＴＴＧＡＧＴＧＴＡＧＡＴＴＣＴＴＴＧＡＡ ＴＴＴＴＴＧＡＴＧＡＡＧＡＧＧＣＧＣＴＧＣＡＣＴＧ ＧＴＧＡＴＣＧＧＡＡＴＴＧＣＡＧＴＣＴＴＴＣＣＴＣ ＴＧＴＡＧＧＴＡＡＣＣＴＧＧＣＴＴＧＴＴＴＣＣＴＴ ＡＣＡＧＴＴＴＡＣＴＴＴＣＴＡＧＧＣＣＴＣＧＣＣＴ ＴＴＣＴＣＡＣＡＧＡＧＴＧＡＡＧＴＣＣＴＴＴＧＴＴ ＡＡＧＧＴＴＣＧＡＡＴＴＴＣＣＣＡＴＡＡＡＣＣＴＧ ＣＴＣＡＡＴＡＡＴＴＴＧＴＴＴＧＴＧＴＴＴＧＧＣＴ ＴＣＴＴＴＧＡＡＡＴＡＣＴＡＣＡＣＡＡＡＧＣＡＡＴ ＣＣＴＴＧＴＡＡＡＡＧＧＣＡＡＡＡＣＴＡＴＴＣＣＧ ＡＡＧＧＣＴＧ

【０１１４】

【表４－１９】

配列番号	プロモーター配列の説明	プロモーター配列
		AGAAAGGAGCTCCAGGACATAGATT CAAAGTCGCTCTTTTCAGGTAGAGA CAGCTGGGTAATCTTATCTTAACTG GCTACATTTCAAGGTTCCCAATTCA GGGGCTTTCCCCTCTGGGAGCAGCA TTCTCTCCGGGTGATGAAGAGCTTT CTAGTGAGGAGCAAAACTTTCAGAA AACCGGAGGGCCCAGAGCAGTCTGG TCTGTTCACAAAAATTATAGCAAAC AAAATAAGCCCGGCGGATTGGGTCT CTCCTACCTCCAGCACCAGGGGAGA TCAGCACTTGGCCCCAGGACAGAGA CCTGAGAAGTGAGGTTTGGAAGAAG CCAGGAATCCAGGAAAGGAGGCAAG ATTGCTAAGGCACCGGCACAGCTCT GAGTCAAAAGTTGTCAGTCTTCTTT GGCTCTGGCTGCGGAGCTCAATTGC TCACAGCCCTGCCCTTTCCTAGGGC TGGGGCAAGGAATTGCTACATTCAG GATTACCTGGGGGAAAAACCAGAGG CTTGCTTTGGTCCCTTCCGGTAATT GAAAGGACTGGCCGTCAGCGAGGGG GAGGAGAGAGCTTCCCTCCATAAAT GGTCCCACCCCTGGGCAAGGTGGCT CACTTTGGCAGGTAGCAACCGGGGA GTGTGCACCTGCCACCAGTCAAGCT CAGCCAGACTGTGAGAAGAGGAGAG GCGAGGCACACCAAGGGATCCAGTG AACCAACGACAGATTGAAGTGCCCG AACTTCTTCAAGTGCAGACAGAAGG AGGTAGGGTTCTGGAAGTTTCTGGT GGTGTAGGGGAGTCAGGAAGGGAAA ACAAGGAGGGAGAGTGAGTCTTAGT TTT

【０１１５】

【表４－２０】

配列番号	プロモーター配列の説明	プロモーター配列
		TTGCTTTCTGTAGCTGTTCCTTAT TTTGCATATTTCTTTCTCTTCAAC TCTTTTCAAGTATGCCTGATACGT TGTTCTCACGAAGTTGACGTGAAA AACAACTTTCCTGCTGGTAGTTAG GAAACTTAGGAGCACCTCAACCTG TACCTTGAGAACACCCAGAGAATG CTGCTCTTTGTCGTTCTCTATACC GTGTTCATATGCTGCAGGGAAATG CAAAGAATGTACTGTCCTTATCTG ACCCTGGGAGCATTCCATAGTCAA GCAGCAGCTATCAGGTTGGGAAAG AGCTCCTCTCCAAGGTGTAACAGA AAAGGAAAATGTTGATATTTTTCT TGTTTAGAAAGTGACAGCTTCATC CGAGAACGCGGCCGCGCCACCATG TCCCGCCTGCTGCATGCAGAAGAG TGGGCTGAGGTAAAAGAGTTGGGG GACCACCATCGCCATCCCCAGCCG CACCACGTCCCGCCGCTGACGCCA CAGCCACCTGCTACCCTGCAGGCG AGAGACCTTCCCGTCTACCCGGCA GAACTGTCCCTCCTGGATAGCACC GACCCACGCGCCTGGCTGACTCCC ACTTTGCAGGGCCTCTGCACGGCA CGCGCCGCCCAGTATCTGCTGCAT TCTCCCGAGCTGGGTGCCTCCGAG GCCGCGGCGCCCCGGGACGAGGCT GACAGCCAGGGTGAGCTGGTAAGG AGAAGCGGCTGTGGCGGCCTCAGC AAGAGCCCCGGGCCCGTCAAAGTA CGGGAACAGCTGTGCAAGCTGAAG GGTGGGGTTGTAGTGGACGAGCTT GGCTGCAGCCGCCAGCGAGCCCCT TCCAGCAAACAG

【０１１６】

【表４－２１】

配列番号	プロモーター配列の説明	プロモーター配列
		GTGAATGGGGTACAGAAGCAAAGGA GGCTGGCAGCAAACGCAAGGGAACG GCGCAGGATGCACGGGCTGAACCAC GCCTTCGACCAGCTGCGCAACGTTA TCCCGTCCTTCAACAACGACAAGAA GCTGTCCAAATATGAGACCCTACAG ATGGCCCAGATCTACATCAACGCTC TGTCGGAGTTGCTGCAGACTCCCAA TGTCGGAGAGCAACCGCCGCCGCCC ACAGCTTCCTGCAAAAATGACCACC ATCACCTTCGCACCGCCTCCTCCTA TGAAGGAGGTGCGGGCGCCTCTGCG GTAGCTGGGGCTCAGCCAGCCCCGG GAGGGGGCCCGAGACCTACCCCGCC CGGGCCTTGCCGGACTCGCTTCTCA GGCCCAGCTTCCTCTGGGGGTTACT CGGTGCAGCTGGACGCTTTGCACTT CCCAGCCTTCGAGGACAGGGCCCTA ACAGCGATGATGGCACAGAAGGACC TGTCGCCTTCGCTGCCCGGGGGCAT CCTGCAGCCTGTACAGGAGGACAAC AGCAAAACATCTCCCAGATCCCACA GAAGTGACGGAGAGTTTTCCCCCCA CTCTCATTACAGTGACTCTGATGAG GCCAGTTAGAAGCTTGGATCCAATC AACCTCTGGATTACAAAATTTGTGA AAGATTGACTGGTATTCTTAACTAT GTTGCTCCTTTTACGCTATGTGGAT ACGCTGCTTTAATGCCTTTGTATCA TGCTATTGCTTCCCGTATGGCTTTC ATTTTCTCCTCCTTGTATAAATCCT GGTTGCTGTCTCTTTATGAGGAGTT GTGGCCCGTTGTCAGGCAACGTGGC GTG

【０１１７】

【表４－２２】

配列番号	プロモーター配列の説明	プロモーター配列
		GTGTGCACTGTGTTTGCTGACGC AACCCCCACTGGTTGGGGCATTG CCACCACCTGTCAGCTCCTTTCC GGGACTTTCGCTTTCCCCCTCCC TATTGCCACGGCGGAACTCATCG CCGCCTGCCTTGCCCCGCTGCTGG ACAGGGGCTCGGCTGTTGGGCAC TGACAATTCCGTGGTGTTGTCGG GGAAATCATCGTCCTTTCCTTGG CTGCTCGCCTGTGTTGCCACCTG GATTCTGCGCGGGACGTCCTTCT GCTACGTCCCTTCGGCCCTCAAT CCAGCGGACCTTCCTTCCCGCGG CCTGCTGCCGGCTCTGCGGCCTC TTCCGCGTCTTCGAGATCTGCCT CGACTGTGCCTTCTAGTTGCCAG CCATCTGTTGTTTGCCCCTCCCC CGTGCCTTCCTTGACCCTGGAAG GTGCCACTCCCACTGTCCTTTCC TAATAAAATGAGGAAATTGCATC GCATTGTCTGAGTAGGTGTCATT CTATTCTGGGGGGGTGGGGTGGGG CAGGACAGCAAGGGGGAGGATTG GGAAGACAATAGCAGGCATGCTG GGGACTCGAGTTAAGGGCGAATT CCCGATAAGGATCTTCCTAGAGC ATGGCTACGTAGATAAGTAGCAT GGCGGGTTAATCATTAACTACAA GGAACCCCTAGTGATGGAGTTGG CCACTCCCTCTCTGCGCGCTCGC TCGCTCACTGAGGCCGGGCGACC AAAGGTCGCCCGACGCCCGGGCT TTGCCCGGGCGGCCTCAGTGAGC GAGCGAGCGCGCAGCCTTAATTA ACCTAATTCACTGGCCGTCGTTT TACAACGTCGTGACTGGGAAAAC

【０１１８】

【表４－２３】

配列番号	プロモーター配列の説明	プロモーター配列
		CCTGGCGTTACCCAACTTAATCGCC TTGCAGCACATCCCCCTTTCGCCAG CTGGCGTAATAGCGAAGAGGCCCGC ACCGATCGCCCTTCCCAACAGTTGC GCAGCCTGAATGGCGAATGGGACGC GCCCTGTAGCGGCGCATTAAGCGCG GCGGGTGTGGTGGTTACGCGCAGCG TGACCGCTACACTTGCCAGCGCCCT AGCGCCCGCTCCTTTCGCTTTCTTC CCTTCCTTTCTCGCCACGTTCGCCG GCTTTCCCCGTCAAGCTCTAAATCG GGGGCTCCCTTTAGGGTTCCGATTT AGTGCTTTACGGCACCTCGACCCCA AAAAACTTGATTAGGGTGATGGTTC ACGTAGTGGGCCATCGCCCTGATAG ACGGTTTTTCGCCCTTTGACGTTGG AGTCCACGTTCTTTAATAGTGGACT CTTGTTCCAAACTGGAACAACACTC AACCCTATCTCGGTCTATTCTTTTG ATTTATAAGGGATTTTGCCGATTTC GGCCTATTGGTTAAAAAATGAGCTG ATTTAACAAAAATTTAACGCGAATT TTAACAAAATATTAACGCTTACAAT TTAGGTGGCACTTTTCGGGGAAATG TGCGCGGAACCCCTATTTGTTTATT TTTCTAAATACATTCAAATATGTAT CCGCTCATGAGACAATAACCCTGAT AAATGCTTCAATAATATTGAAAAAG GAAGAGTATGAGCCATATTCAACGG GAAACGTCGAGGCCGCGATTAAATT CCAACATGGATGCTGATTTATATGG GTATAAATGGGCTCGCGATAATGTC GGGCAATCAGGTGCGACAATCTATC GCT

【０１１９】

【表４－２４】

配列番号	プロモーター配列の説明	プロモーター配列
		TGTATGGGAAGCCCGATGCGCCAGAGT TGTTTCTGAAACATGGCAAAGGTAGCG TTGCCAATGATGTTACAGATGAGATGG TCAGACTAAACTGGCTGACGGAATTTA TGCCTCTTCCGACCATCAAGCATTTTA TCCGTACTCCTGATGATGCATGGTTAC TCACCACTGCGATCCCCGGAAAAACAG CATTCCAGGTATTAGAAGAATATCCTG ATTCAGGTGAAAATATTGTTGATGCGC TGGCAGTGTTCCTGCGCCGGTTGCATT CGATTCCTGTTTGTAATTGTCCTTTTA ACAGCGATCGCGTATTTCGTCTTGCTC AGGCGCAATCACGAATGAATAACGGTT TGGTTGATGCGAGTGATTTTGATGACG AGCGTAATGGCTGGCCTGTTGAACAAG TCTGGAAAGAAATGCATAAACTTTTGC CATTCTCACCGGATTCAGTCGTCACTC ATGGTGATTTCTCACTTGATAACCTTA TTTTTGACGAGGGGAAATTAATAGGTT GTATTGATGTTGGACGAGTCGGAATCG CAGACCGATACCAGGATCTTGCCATCC TATGGAACTGCCTCGGTGAGTTTTCTC CTTCATTACAGAAACGGCTTTTTCAAA AATATGGTATTGATAATCCTGATATGA ATAAATTGCAGTTTCATTTGATGCTCG ATGAGTTTTTCTAACTGTCAGACCAAG TTTACTCATATATACTTTAGATTGATT TAAAACTTCATTTTTAATTTAAAAGGA TCTAGGTGAAGATCCTTTTTGATAATC TCATGACCAAAATCCCTTAACGTGAGT TTTCGTTCCACTGAGCGT

【０１２０】

【表４－２５】

配列番号	プロモーター配列の説明	プロモーター配列
		CAGACCCCGTAGAAAAGATCAA AGGATCTTCTTGAGATCCTTTT TTTCTGCGCGTAATCTGCTGCT TGCAAACAAAAAAACCACCGCT ACCAGCGGTGGTTTGTTTGCCG GATCAAGAGCTACCAACTCTTT TTCCGAAGGTAACTGGCTTCAG CAGAGCGCAGATACCAAATACT GTTCTTCTAGTGTAGCCGTAGT TAGGCCACCACTTCAAGAACTC TGTAGCACCGCCTACATACCTC GCTCTGCTAATCCTGTTACCAG TGGCTGCTGCCCAGTGGCGATAA GTCGTGTCTTACCGGGTTGGAC TCAAGACGATAGTTACCGGATA AGGCGCAGCGGTCGGGCTGAAC GGGGGGTTCGTGCACACAGCCC AGCTTGGAGCGAACGACCTACA CCGAACTGAGATACCTACAGCG TGAGCTATGAGAAAGCGCCACG CTTCCCGAAGGGAGAAAGGCGG ACAGGTATCCGGTAAGCGGCAG GGTCGGAACAGGAGAGCGCACG AGGGAGCTTCCAGGGGGAAACG CCTGGTATCTTTATAGTCCTGT CGGGTTTCGCCACCTCTGACTT GAGCGTCGATTTTTGTGATGCT CGTCAGGGGGGCGGAGCCTATG GAAAAACGCCAGCAACGCGGCC TTTTTACGGTTCCTGGCCTTTT GCTGGCCTTTTGCTCACATGTT CTTTCCTGCGTTATCCCCTGAT TCTGTGGATAACCGTATTACCG CCTTTGAGTGAGCTGATACCGC TCGCCGCAGCCGAACGACCGAG CGCAGCGAGTCAGTGAGCGAGG AAGCGGAAGAGCGCCCAATACG CAAACCGCCTCTCC

【０１２１】

【表４－２６】

配列番号	プロモーター配列の説明	プロモーター配列
		CCGCGCGTTGGCCGATTCATTA ATGCAGCTGGCACGACAGGTTT CCCGACTGGAAAGCGGGCAGTG AGCGCAACGCAATTAATGTGAG TTAGCTCACTCATTAGGCACCC CAGGCTTTACACTTTATGCTTC CGGCTCGTATGTTGTGTGGAAT TGTGAGCGGATAACAATTTCAC ACAGGAAACAGCTATGACCATG ATTACGCCAGATTTAATTAAGG CCTTAATTAGG

【０１２２】

外来性核酸を標的細胞に送達するための方法

導入遺伝子、例えば、本明細書に記載のＳＬＣ６Ａ１４プロモーターに操作可能に連結された導入遺伝子を標的細胞（例えば、哺乳動物細胞）に導入するために使用することができる技術は、当技術分野で周知である。例えば、電気穿孔法を使用して、目的の細胞に静電ポテンシャルを印加することにより、哺乳動物細胞（例えば、ヒト標的細胞）を透過性にすることができる。このようにして外部電場にさらされたヒト細胞などの哺乳動物細胞は、その後、外来性核酸を取り込みやすくなる。哺乳動物細胞の電気穿孔法は、例えば、Ｃｈｕ等，Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓｅａｒｃｈ １５：１３１１（１９８７）に詳細に記載されており、その開示は参照により本明細書に援用される。同様の技術であるＮｕｃｌｅｏｆｅｃｔｉｏｎ（商標）は、真核細胞の核への外来性ポリヌクレオチドの取り込みを刺激するために印加する電場を利用する。Ｎｕｃｌｅｏｆｅｃｔｉｏｎ（商標）及びこの技術を実施するのに有用なプロトコールは、例えば、Ｄｉｓｔｌｅｒ等，Ｅｘｐｅｒｉｍｅｎｔａｌ Ｄｅｒｍａｔｏｌｏｇｙ １４：３１５（２００５）、及びＵＳ２０１０／０３１７１１４に詳細に記載されており、それぞれの開示は、参照により本明細書に援用される。

【０１２３】

標的細胞の形質移入に有用なさらなる技術としては、スクイーズポレーション法が挙げられる。この技術は、加えられたストレスに応答して形成される膜状の細孔を介した外来性ＤＮＡの取り込みを刺激するために、細胞の急速な機械的変形を誘導する。この技術は、ヒト標的細胞などの細胞への核酸の送達にベクターを必要としないという点で有利である。スクイーズポレーションは、例えば、Ｓｈａｒｅｉ等，Ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ Ｖｉｓｕａｌｉｚｅｄ Ｅｘｐｅｒｉｍｅｎｔｓ ８１：ｅ５０９８０ （２０１３）に詳細に記載されており、その開示は参照により本明細書に援用される。

【０１２４】

リポフェクションは、標的細胞の形質移入に有用な別の技術である。この方法は、リポソームへの核酸のローディングを含み、この方法は、多くの場合、第四級アミンまたはプロトン化アミンなどのカチオン性官能基をリポソームの外部に向かって提示する。これにより、細胞膜のアニオン性によってリポソームと細胞との間の静電相互作用が促進され、

最終的に、例えば、リポソームと細胞膜との直接融合によって、または複合体のエンドサイトーシスによって、外来性核酸が取り込まれる。リポフェクションは、例えば、米国特許第７，４４２，３８６号に詳細に記載されており、その開示は、参照により本明細書に援用される。細胞膜とのイオン相互作用を利用して外来性核酸の取り込みを誘導する同様の技術には、細胞をカチオン性ポリマー－核酸複合体と接触させることが含まれる。細胞膜との相互作用に有利な正電荷を与えるようにポリヌクレオチドと会合させる例示的なカチオン性分子としては、活性化デンドリマー（例えば、Ｄｅｎｎｉｇ，Ｔｏｐｉｃｓ ｉｎ Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ ２２８：２２７（２００３）に記載されており、その開示は参照により本明細書に援用される）、ポリエチレンイミン、及びジエチルアミノエチル（ＤＥＡＥ）－デキストランが挙げられ、形質移入剤としてのこれらの使用は、例えば、Ｇｕｌｉｃｋ等，Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ ４０：Ｉ：９．２：９．２．１（１９９７）に詳細に記載されており、その開示は参照により本明細書に援用される。磁気ビーズは、穏やかで効率的な方法で標的細胞を形質移入するために使用することができる別のツールであり、なぜなら、この方法論は、核酸の取り込みを誘導するために磁場の印加を利用するためである。この技術は、例えば、ＵＳ２０１０／０２２７４０６に詳細に記載されており、その開示は参照により本明細書に援用される。

【０１２５】

標的細胞による外来性核酸の取り込みを誘導するための別の有用なツールは、レーザーフェクションであり、これは光学形質移入法とも呼ばれ、細胞を穏やかに透過性にし、ポリヌクレオチドが細胞膜に浸透できるようにするために、細胞を特定の波長の電磁放射に曝露することを含む技術である。この技術の生物活性は、電気穿孔法に類似しており、場合によっては電気穿孔法よりも優れていること見出されている。

【０１２６】

インパレフェクションは、遺伝物質を標的細胞に送達するために使用することができる別の技術である。この技術は、カーボンナノファイバー、カーボンナノチューブ、及びナノワイヤーなどのナノ材料の使用に依存する。針状のナノ構造を、基板の表面に対して垂直に合成する。細胞内送達を目的とした遺伝子を含むＤＮＡを、ナノ構造の表面に付着させる。次に、これらの針のアレイを備えたチップを、細胞または組織に押圧する。ナノ構造によって刺激された細胞は、送達された遺伝子（複数可）を発現することができる。この技術の実施例は、Ｓｈａｌｅｋ等，ＰＮＡＳ １０７：１８７０（２０１０）に記載されており、その開示は参照により本明細書に援用される。

【０１２７】

マグネトフェクションを使用して標的細胞に核酸を送達することもできる。マグネトフェクションの原理は、核酸をカチオン性磁性ナノ粒子と会合させることである。磁性ナノ粒子は、完全に生分解性の酸化鉄でできており、用途に応じて異なる特定の独自のカチオン性分子でコーティングされている。遺伝子ベクター（ＤＮＡ、ＲＮＡ、ウイルスベクターなど）とのそれらの会合は、塩によって誘発されるコロイド凝集及び静電相互作用によって達成される。次いで、磁石によって生成された外部磁場の影響により、磁性粒子が標的細胞上に濃縮される。この技術は、Ｓｃｈｅｒｅｒ等，Ｇｅｎｅ Ｔｈｅｒａｐｙ ９：１０２（２００２）に詳細に記載されており、その開示は参照により本明細書に援用される。

【０１２８】

標的細胞による外来性核酸の取り込みを誘導するための別の有用なツールは、ソノポレーションであり、これは細胞形質膜の透過性を改変するために音波（通常は超音波周波数）を使用することを含む技術であり、細胞を透過性にし、ポリヌクレオチドが細胞膜に浸透することを可能にする。この技術は、例えば、Ｒｈｏｄｅｓ等，Ｍｅｔｈｏｄｓ ｉｎ Ｃｅｌｌ Ｂｉｏｌｏｇｙ ８２：３０９（２００７）に詳細に記載されており、その開示は参照により本明細書に援用される。

【０１２９】

微小胞は、本明細書に記載の方法に従って標的細胞のゲノムを改変するために使用することができる別の潜在的な媒体を表す。例えば、糖タンパク質ＶＳＶ－Ｇと、例えば、ヌクレアーゼなどのゲノム修飾タンパク質との共過剰発現によって誘導した微小胞を使用して、タンパク質を細胞に効率的に送達し、その後、内因性ポリヌクレオチド配列の部位特異的切断を触媒し、それにより、遺伝子または調節配列などの目的のポリヌクレオチドを共有結合によって組み込むために細胞のゲノムを調製することができる。真核細胞を遺伝子改変するためのＧｅｓｉｃｌｅとも呼ばれるそのような小胞の使用は、例えば、Ｑｕｉｎｎ等，Ｇｅｎｅｔｉｃ Ｍｏｄｉｆｉｃａｔｉｏｎ ｏｆ Ｔａｒｇｅｔ Ｃｅｌｌｓ ｂｙ Ｄｉｒｅｃｔ Ｄｅｌｉｖｅｒｙ ｏｆ Ａｃｔｉｖｅ Ｐｒｏｔｅｉｎ［ａｂｓｔｒａｃｔ］ Ｉｎ：Ｍｅｔｈｙｌａｔｉｏｎ ｃｈａｎｇｅｓ ｉｎ ｅａｒｌｙ ｅｍｂｒｙｏｎｉｃ ｇｅｎｅｓ ｉｎ ｃａｎｃｅｒ［ａｂｓｔｒａｃｔ］，ｉｎ：Ｐｒｏｃｅｅｄｉｎｇｓ ｏｆ ｔｈｅ １８ｔｈ Ａｎｎｕａｌ Ｍｅｅｔｉｎｇ ｏｆ ｔｈｅ Ａｍｅｒｉｃａｎ Ｓｏｃｉｅｔｙ ｏｆ Ｇｅｎｅ ａｎｄ Ｃｅｌｌ Ｔｈｅｒａｐｙ；２０１５ Ｍａｙ １３，Ａｂｓｔｒａｃｔ Ｎｏ．１２２に詳細に記載されている。

【０１３０】

外来性核酸を標的細胞に送達するためのベクター

高速の転写及び翻訳を達成することに加えて、哺乳動物細胞における外来性遺伝子の安定した発現を、その遺伝子を含むポリヌクレオチドを哺乳動物細胞の核ゲノムへ組み込むことによって達成することができる。外来性タンパク質をコードするポリヌクレオチドを哺乳動物細胞の核ＤＮＡに送達し、組み込むための様々なベクターが開発されてきた。発現ベクターの例は、例えば、Ｇｅｌｌｉｓｓｅｎ，Ｐｒｏｄｕｃｔｉｏｎ ｏｆ Ｒｅｃｏｍｂｉｎａｎｔ Ｐｒｏｔｅｉｎｓ：Ｎｏｖｅｌ Ｍｉｃｒｏｂｉａｌ ａｎｄ Ｅｕｋａｒｙｏｔｉｃ Ｅｘｐｒｅｓｓｉｏｎ Ｓｙｓｔｅｍｓ（Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ ＆ Ｓｏｎｓ，マーブルヘッド，マサチューセッツ州，２００６）に記載されている。本明細書に記載の組成物及び方法で使用する発現ベクターは、目的のタンパク質、ならびに例えば、これらの作用物質の発現及び／またはこれらのポリヌクレオチド配列の哺乳動物細胞ゲノムへの組み込みに使用される追加の配列エレメントをコードするポリヌクレオチド配列に操作可能に連結された、ＳＬＣ６Ａ１４プロモーター（例えば、配列番号１に対して少なくとも８５％の配列同一性（例えば、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％またはそれ以上の配列同一性）を有するポリヌクレオチド）を含む。目的のタンパク質をコードする導入遺伝子に操作可能に連結されたＳＬＣ６Ａ１４プロモーターを含ませることができるベクターとしては、プラスミド（例えば、細胞内で自律的に複製できる環状ＤＮＡ分子）、コスミド（例えば、ｐＷＥベクターまたはｓＣｏｓベクター）、人工染色体（例えば、ヒト人工染色体（ＨＡＣ）、酵母人工染色体（ＹＡＣ）、細菌人工染色体（ＢＡＣ）、またはＰ１由来人工染色体（ＰＡＣ））、及びウイルスベクターが挙げられる。目的のタンパク質の発現に使用することができる特定のベクターとしては、遺伝子転写を誘導するエンハンサー領域などの調節配列を含むプラスミドが挙げられる。目的のタンパク質の発現に有用な他のベクターは、これらの遺伝子の翻訳速度を高めるか、または遺伝子転写から生じるｍＲＮＡの安定性もしくは核外輸送を向上させるポリヌクレオチド配列を含む。これらの配列エレメントには、例えば、発現ベクターが保有する遺伝子の効率的な転写を誘導するための、５’及び３’非翻訳領域、配列内リボソーム進入部位（ＩＲＥＳ）、及びポリアデニル化シグナル部位が含まれる。本明細書に記載の組成物及び方法での使用に適した発現ベクターはまた、そのようなベクターを含む細胞を選択するためのマーカーをコードするポリヌクレオチドを含み得る。適切なマーカーの例としては、アンピシリン、クロラムフェニコール、カナマイシン、またはノーセオスリシンなどの抗生物質に対する耐性をコードする遺伝子が挙げられる。

【０１３１】

核酸送達用のウイルスベクター

ウイルスゲノムは、目的の遺伝子を標的細胞（例えば、ヒト細胞などの哺乳動物細胞）のゲノムに効率的に送達するために使用することができるベクターの豊富な供給源を提供する。ウイルスゲノムは、そのようなゲノム内に含まれるポリヌクレオチドが、通常、普遍形質導入または特殊形質導入によって哺乳動物細胞の核ゲノムに組み込まれるため、遺伝子送達のための特に有用なベクターである。これらのプロセスは、天然のウイルス複製サイクルの一部として発生し、遺伝子の組み込みを誘導するためにタンパク質や試薬を追加する必要がない。ウイルスベクターの例としては、レトロウイルス（例えば、Ｒｅｔｒｏｖｉｒｉｄａｅ科ウイルスベクター）、アデノウイルス（例えば、Ａｄ５、Ａｄ２６、Ａｄ３４、Ａｄ３５、及びＡｄ４８）、パルボウイルス（例えば、アデノ随伴ウイルス）、コロナウイルス、マイナス鎖ＲＮＡウイルス、例えば、オルソミクソウイルス（例えば、インフルエンザウイルス）、ラブドウイルス（例えば、狂犬病ウイルス及び水疱性口内炎ウイルス）、パラミクソウイルス（例えば、麻疹及びセンダイ）、プラス鎖ＲＮＡウイルス、例えば、ピコルナウイルス及びアルファウイルス、ならびにアデノウイルス、ヘルペスウイルス（例えば、単純ヘルペスウイルス１型及び２型、エプスタイン－バーウイルス、サイトメガロウイルス）、及びポックスウイルス（例えば、ワクシニア、変異ワクシニアアンカラ（ＭＶＡ）、鶏痘及びカナリア痘）を含む二本鎖ＤＮＡウイルスが挙げられる。他のウイルスとしては、例えば、ノーウォークウイルス、トガウイルス、フラビウイルス、レオウイルス、パポーバウイルス、ヘパドナウイルス、ヒトパピローマウイルス、ヒト泡沫状ウイルス、及び肝炎ウイルスが挙げられる。レトロウイルスの例として：トリ白血病肉腫、トリＣ型ウイルス、哺乳類Ｃ型、Ｂ型ウイルス、Ｄ型ウイルス、オンコレトロウイルス、ＨＴＬＶ－ＢＬＶ群、レンチウイルス、アルファレトロウイルス、ガンマレトロウイルス、スプーマウイルスが挙げられる（Ｃｏｆｆｉｎ，Ｊ．Ｍ．，Ｒｅｔｒｏｖｉｒｉｄａｅ：Ｔｈｅ ｖｉｒｕｓｅｓ ａｎｄ ｔｈｅｉｒ ｒｅｐｌｉｃａｔｉｏｎ，Ｖｉｒｏｌｏｇｙ，Ｔｈｉｒｄ Ｅｄｉｔｉｏｎ（Ｌｉｐｐｉｎｃｏｔｔ－Ｒａｖｅｎ，Ｐｈｉｌａｄｅｌｐｈｉａ，１９９６））。他の例としては、マウス白血病ウイルス、マウス肉腫ウイルス、マウス乳腺腫瘍ウイルス、ウシ白血病ウイルス、ネコ白血病ウイルス、ネコ肉腫ウイルス、トリ白血病ウイルス、ヒトＴ細胞白血病ウイルス、ヒヒ内因性ウイルス、テナガザル白血病ウイルス、マソン－ファイザーサルウイルス、サル免疫不全ウイルス、サル肉腫ウイルス、ラウス肉腫ウイルス及びレンチウイルスが挙げられる。ベクターの他の例は、例えば、米国特許第５，８０１，０３０号に記載されており、その開示は、それが遺伝子治療で使用するためのウイルスベクターに属するため、参照により本明細書に援用される。

【０１３２】

核酸送達用のＡＡＶベクター

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の組成物及び方法のポリヌクレオチドを、細胞（例えば、ＶＳＣ）へのそれらの導入を促進するために、ｒＡＡＶベクター及び／またはウイルス粒子に組み込む。本明細書に記載の組成物及び方法に有用なｒＡＡＶベクターは、（１）本明細書に記載のＳＬＣ６Ａ１４プロモーター（例えば、配列番号１に対して少なくとも８５％の配列同一性（例えば、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％またはそれ以上の配列同一性）を有するポリヌクレオチド）、（２）発現させる異種配列、及び（３）異種遺伝子の安定性及び発現を促進するウイルス配列、を含む組み換え核酸構築物である。ウイルス配列は、ＤＮＡの複製及びウイルス粒子へのパッケージング（例えば、機能的ＩＴＲ）のためにシスで必要とされるＡＡＶの配列を含み得る。一般的な応用では、導入遺伝子は、前庭有毛細胞発達、前庭有毛細胞運命の特定、前庭有毛細胞再生、前庭有毛細胞及び／またはＶＳＣ増殖、前庭有毛細胞神経支配、または前庭有毛細胞成熟を促進または向上させることができるタンパク質か、あるいは遺伝性前庭機能障害の形態を有する対象において変異している前庭有毛細胞タンパク質の野生型形態をコードし、これらは、前庭機能障害（例えば、めまい、眩暈、平衡失調、両側前庭機能低下、両側前庭機能不全、動揺視、または平衡障害）に関連している変異を有する対象の前庭機能を改善す

るのに有用であり得る。そのようなｒＡＡＶベクターは、マーカーまたはレポーター遺伝子も含み得る。有用なｒＡＡＶベクターでは、１つ以上のＡＡＶ　ＷＴ遺伝子の全体または一部が削除されているが、機能的な隣接ＩＴＲ配列は保持されている。ＡＡＶ　ＩＴＲは、特定の応用に適した任意の血清型であり得る。本明細書に記載の方法及び組成物で使用するために、ＩＴＲはＡＡＶ２　ＩＴＲであり得る。ｒＡＡＶベクターの使用方法は、例えば、Ｔａｌ等，Ｊ．Ｂｉｏｍｅｄ．Ｓｃｉ．７：２７９（２０００）、及びＭｏｎａｈａｎ及びＳａｍｕｌｓｋｉ，Ｇｅｎｅ　Ｄｅｌｉｖｅｒｙ　７：２４（２０００）に記載されており、それらの各開示は、それらが遺伝子送達用のＡＡＶベクターに属するため、参照により本明細書に援用される。

【０１３３】

細胞（例えば、ＶＳＣ）へのポリヌクレオチドまたはベクターの導入を容易にするために、本明細書に記載のポリヌクレオチド及びベクター（例えば、目的のタンパク質をコードする導入遺伝子に操作可能に連結されたＳＬＣ６Ａ１４プロモーター）をｒＡＡＶウイルス粒子に組み込むことができる。ＡＡＶのキャプシドタンパク質は、ウイルス粒子の外部の非核酸部分を構成し、ＡＡＶ　ｃａｐ遺伝子によってコードされる。ｃａｐ遺伝子は、ウイルス粒子アセンブリに必要な３つのウイルスコートタンパク質ＶＰ１、ＶＰ２、及びＶＰ３をコードする。ｒＡＡＶウイルス粒子の構築は、例えば、ＵＳ５，１７３，４１４；ＵＳ５，１３９，９４１；ＵＳ５，８６３，５４１；ＵＳ５，８６９，３０５；ＵＳ６，０５７，１５２；及びＵＳ６，３７６，２３７；ならびにＲａｂｉｎｏｗｉｔｚ等，Ｊ．Ｖｉｒｏｌ．７６：７９１（２００２）及びＢｏｗｌｅｓ等，Ｊ．Ｖｉｒｏｌ．７７：４２３（２００３）に記載されており、それらの各開示は、それらが遺伝子送達用のＡＡＶベクターに属するため、参照により本明細書に援用される。

【０１３４】

本明細書に記載の組成物及び方法と組み合わせて有用なｒＡＡＶウイルス粒子としては、ＡＡＶ１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、ｒｈ１０、ｒｈ３９、ｒｈ４３、ｒｈ７４、Ａｎｃ８０、Ａｎｃ８０Ｌ６５、ＤＪ／８、ＤＪ／９、７ｍ８、ＰＨＰ．Ｂ、ＰＨＰ．ｅＢ、及びＰＨＰ．Ｓを含む様々なＡＡＶ血清型に由来するウイルス粒子が挙げられる。ＶＳＣを標的とする場合、ＡＡＶ１、ＡＡＶ２、ＡＡＶ２ｑｕａｄ（Ｙ－Ｆ）、ＡＡＶ３、ＡＡＶ４、ＡＡＶ５、ＡＡＶ６、ＡＡＶ７、ＡＡＶ８、ＡＡＶ９、Ａｎｃ８０、Ａｎｃ８０Ｌ６５、７ｍ８、ＰＨＰ．Ｂ、ＰＨＰ．ｅＢ、またはＰＨＰ．Ｓ血清型が特に有用であり得る。網膜の形質導入のために進化させた血清型もまた、本明細書に記載の方法及び組成物において使用してもよい。異なる血清型のＡＡＶベクター及びＡＡＶタンパク質の構築及び使用は、例えば、Ｃｈａｏ等，Ｍｏｌ．Ｔｈｅｒ．２：６１９（２０００）；Ｄａｖｉｄｓｏｎ等，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ　９７：３４２８　（２０００）；Ｘｉａｏ等，Ｊ．Ｖｉｒｏｌ．７２：２２２４（１９９８）；Ｈａｌｂｅｒｔ等，Ｊ．Ｖｉｒｏｌ．７４：１５２４（２０００）；Ｈａｌｂｅｒｔ等，Ｊ．Ｖｉｒｏｌ．７５：６６１５（２００１）；及びＡｕｒｉｃｃｈｉｏ等，Ｈｕｍ．Ｍｏｌｅｃ．Ｇｅｎｅｔ．１０：３０７５（２００１）に記載されており、それらの各開示は、それらが遺伝子送達用のＡＡＶベクターに属するため、参照により本明細書に援用される。

【０１３５】

本明細書に記載の組成物及び方法と組み合わせて有用なものは、偽型ｒＡＡＶベクターである。偽型ベクターには、所与の血清型（例えば、ＡＡＶ９）のＡＡＶベクターが、所与の血清型以外の血清型（例えば、ＡＡＶ１、ＡＡＶ２、ＡＡＶ２ｑｕａｄ（Ｙ－Ｆ）、ＡＡＶ３、ＡＡＶ４、ＡＡＶ５、ＡＡＶ６、ＡＡＶ７、ＡＡＶ８など）に由来するキャプシド遺伝子で偽型化されたものが含まれる。偽型ｒＡＡＶウイルス粒子の構築及び使用を含む技術は当技術分野で公知であり、例えば、Ｄｕａｎ等，Ｊ．Ｖｉｒｏｌ．７５：７６６２（２００１）；Ｈａｌｂｅｒｔ等，Ｊ．Ｖｉｒｏｌ．７４：１５２４（２０００）；Ｚｏｌｏｔｕｋｈｉｎ等，Ｍｅｔｈｏｄｓ，２８：１５８（２００２）；及びＡｕｒｉｃｃｈｉｏ等，Ｈｕｍ．Ｍｏｌｅｃ．Ｇｅｎｅｔ．１０：３０７５（２００１）に記載され

ている。

【０１３６】

ウイルス粒子のキャプシド内に変異を有するＡＡＶウイルス粒子を使用して、変異していないキャプシドウイルス粒子よりも効果的に特定の細胞型に感染させ得る。例えば、適切なＡＡＶ変異体は、ＡＡＶを特定の細胞型に標的化することを容易にするためのリガンド挿入変異を有し得る。挿入変異体、アラニンスクリーニング変異体、及びエピトープタグ変異体を含むＡＡＶキャプシド変異体の構築及び特徴決定は、Ｗｕａ等，Ｊ．Ｖｉｒｏｌ．７４：８６３５（２０００）に記載されている。本明細書に記載の方法で使用することができる他のｒＡＡＶウイルス粒子としては、ウイルスの分子育種によって、及びエキソンシャッフリングによって生成されるキャプシドハイブリッドが挙げられる。例えば、Ｓｏｏｎｇ等，Ｎａｔ．Ｇｅｎｅｔ．，２５：４３６（２０００）及びＫｏｌｍａｎ及びＳｔｅｍｍｅｒ，Ｎａｔ．Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．１９：４２３（２００１）を参照されたい。

【０１３７】

いくつかの実施形態では、核酸ベクター（例えば、ＡＡＶベクター）は、ヒトＡｔｏｈ１（ヒトＡＴＯＨ１タンパク質＝ＲｅｆＳｅｑ登録番号ＮＰ＿００５１６３（配列番号４）、ｍＲＮＡ配列＝ＲｅｆＳｅｑ登録番号ＮＭ＿００５１７２）をコードするポリヌクレオチド配列に操作可能に連結された本明細書に記載のＳＬＣ６Ａ１４プロモーター（例えば、配列番号１に対して少なくとも８５％の配列同一性（例えば、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％またはそれ以上の配列同一性）を有するポリヌクレオチド）を含む。いくつかの実施形態では、ＳＬＣ６Ａ１４プロモーターは、配列番号１のＳＬＣ６Ａ１４プロモーター（配列番号１０のヌクレオチド２１９～１９７７によっても表される）であり、かつヒトＡｔｏｈ１をコードするポリヌクレオチド配列に操作可能に連結されている。いくつかの実施形態では、ヒトＡｔｏｈ１をコードするポリヌクレオチド配列は、配列番号５である。いくつかの実施形態では、ヒトＡｔｏｈ１をコードするポリヌクレオチド配列は、遺伝コードの冗長性により配列番号４をコードする任意のポリヌクレオチド配列である。ヒトＡｔｏｈ１をコードするポリヌクレオチド配列は、発現のために部分的に、または完全にコドン最適化が行われる場合がある。いくつかの実施形態では、ベクターは、第１逆位末端反復配列、配列番号１のＳＬＣ６Ａ１４プロモーター、ＳＬＣ６Ａ１４プロモーターに操作可能に連結されたヒトＡｔｏｈ１をコードするポリヌクレオチド配列、ポリアデニル化配列、及び第２逆位末端反復配列を５’から３’の順で含む。いくつかの実施形態では、核酸ベクターは、第１逆位末端反復配列、配列番号１のＳＬＣ６Ａ１４プロモーター、ＳＬＣ６Ａ１４プロモーターに操作可能に連結されたヒトＡｔｏｈ１をコードするポリヌクレオチド配列、ウッドチャック転写後調節エレメント（ＷＰＲＥ）、ポリアデニル化配列、及び第２逆位末端反復配列を５’から３’の順で含む。いくつかの実施形態では、ＷＰＲＥは、配列番号８または配列番号９の配列を有する。いくつかの実施形態では、ＷＰＲＥは、配列番号８の配列を有する。いくつかの実施形態では、ＷＰＲＥは、配列番号１０のヌクレオチド３０６４～３６１１の配列を有する。いくつかの実施形態では、ポリアデニル化配列は、配列番号１０のヌクレオチド３６２４～３８３１の配列を有する。特定の実施形態では、核酸ベクターは、逆位末端反復配列によって挟まれた配列番号１０のヌクレオチド２１９～３８３１を含む。いくつかの実施形態では、逆位末端反復配列は、ＡＡＶ２逆位末端反復配列である。いくつかの実施形態では、逆位末端反復配列は、ＡＡＶ２逆位末端反復配列の任意の変異体であり、ＡＡＶ２　Ｒｅｐ遺伝子を有するプラスミドによってキャプシド形成することができる。特定の実施形態では、核酸ベクターは、逆位末端反復配列によって挟まれた配列番号１０のヌクレオチド２１９～３８３１を含み、ここで、５’逆位末端反復配列は、配列番号１０のヌクレオチド１～１３０に対して少なくとも８０％の配列同一性（例えば、少なくとも８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％の配列同一性）を有し、かつ

、３’逆位末端反復配列は、配列番号１０のヌクレオチド３９１９～４０４８に対して少なくとも８０％の配列同一性（例えば、少なくとも８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％の配列同一性）を有する。いくつかの実施形態では、核酸ベクターは、ウイルスベクターである。いくつかの実施形態では、ウイルスベクターは、ＡＡＶベクターである。いくつかの実施形態では、ＡＡＶベクターは、ＡＡＶ８キャプシドを有する。

【０１３８】

いくつかの実施形態では、核酸ベクター（例えば、ＡＡＶベクター）は、マウスＡｔｏｈ１（マウスＡＴＯＨ１タンパク質＝ＵｎｉＰｒｏｔ　Ｐ４８９８５（配列番号６）；ｍＲＮＡ配列＝ＲｅｆＳｅｑ登録番号ＮＭ＿００７５００．５）をコードするポリヌクレオチド配列に操作可能に連結された本明細書に記載のＳＬＣ６Ａ１４プロモーター（例えば、配列番号１に対して少なくとも８５％の配列同一性（例えば、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％またはそれ以上の配列同一性）を有するポリヌクレオチド）を含む。いくつかの実施形態では、ＳＬＣ６Ａ１４プロモーターは、配列番号１のＳＬＣ６Ａ１４プロモーター（配列番号１１のヌクレオチド２１９～１９７７によっても表される）であり、かつマウスＡｔｏｈ１をコードするポリヌクレオチド配列に操作可能に連結されている。いくつかの実施形態では、マウスＡｔｏｈ１をコードするポリヌクレオチド配列は、配列番号７である。いくつかの実施形態では、マウスＡｔｏｈ１をコードするポリヌクレオチド配列は、遺伝コードの冗長性により配列番号６をコードする任意のポリヌクレオチド配列である。マウスＡｔｏｈ１をコードするポリヌクレオチド配列は、発現のために部分的に、または完全にコドン最適化が行われる場合がある。いくつかの実施形態では、ベクターは、第１逆位末端反復配列、配列番号１のＳＬＣ６Ａ１４プロモーター、ＳＬＣ６Ａ１４プロモーターに操作可能に連結されたマウスＡｔｏｈ１をコードするポリヌクレオチド配列、ポリアデニル化配列、及び第２逆位末端反復配列を５’から３’の順で含む。いくつかの実施形態では、核酸ベクターは、第１逆位末端反復配列、配列番号１のＳＬＣ６Ａ１４プロモーター、ＳＬＣ６Ａ１４プロモーターに操作可能に連結されたマウスＡｔｏｈ１をコードするポリヌクレオチド配列、ウッドチャック転写後調節エレメント（ＷＰＲＥ）、ポリアデニル化配列、及び第２逆位末端反復配列を５’から３’の順で含む。いくつかの実施形態では、ＷＰＲＥは、配列番号８または配列番号９の配列を有する。いくつかの実施形態では、ＷＰＲＥは、配列番号８の配列を有する。いくつかの実施形態では、ＷＰＲＥは、配列番号１１のヌクレオチド３０５５～３６０２の配列を有する。いくつかの実施形態では、ポリアデニル化配列は、配列番号１１のヌクレオチド３６１５～３８２２の配列を有する。特定の実施形態では、核酸ベクターは、逆位末端反復配列によって挟まれた配列番号１１のヌクレオチド２１９～３８２２を含む。いくつかの実施形態では、逆位末端反復配列は、ＡＡＶ２逆位末端反復配列である。いくつかの実施形態では、逆位末端反復配列は、ＡＡＶ２逆位末端反復配列の任意の変異体であり、ＡＡＶ２　Ｒｅｐ遺伝子を有するプラスミドによってキャプシド形成することができる。特定の実施形態では、核酸ベクターは、逆位末端反復配列によって挟まれた配列番号１１のヌクレオチド２１９～３８２２を含み、ここで、５’逆位末端反復配列は、配列番号１１のヌクレオチド１～１３０に対して少なくとも８０％の配列同一性（例えば、少なくとも８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％の配列同一性）を有し、かつ、３’逆位末端反復配列は、配列番号１１のヌクレオチド３９１０～４０３９に対して少なくとも８０％の配列同一性（例えば、少なくとも８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％の配列同一性）を有する。いくつかの実施形態では、核酸ベクターは、ウイルスベクターである。いくつかの実施形態では、ウイルスベクターは、ＡＡＶベクターである。いくつかの実施形態では、Ａ

ＡＶベクターは、ＡＡＶ８キャプシドを有する。

【０１３９】

本発明のウイルスベクターの作成には、典型的には本発明のプラスミドを、適切なウイルスパッケージング及び生存度のために必要とされるエレメントを提供する補助的なプラスミド（例えば、ＡＡＶの場合、適切なＡＡＶ・ｒｅｐ遺伝子、ｃａｐ遺伝子、及びその他の遺伝子（例えばＥ２Ａ及びＥ４）を提供するプラスミド）と共に使用する必要があることを当業者であれば理解するであろう。産生細胞株におけるこれらのプラスミドの組み合わせにより、ウイルスベクターが作られる。しかし、本発明の移入プラスミドにおいて任意の所与の一対の逆位末端反復配列がウイルスベクターを作成するために使用され、ウイルスベクター内の対応する配列は、遺伝子組換えの間の「フリップ」または「フロップ」方向付けを取り入れるＩＴＲによって変更され得ることを、当業者であれば理解されるであろう。このようにして、移入プラスミド内のＩＴＲの配列は、必ずしもそれに由来して調製されるウイルスベクターで見られる配列と同じものであるわけではない。

【０１４０】

医薬組成物

本明細書に記載のポリヌクレオチド（例えば、配列番号１に対して少なくとも８５％の配列同一性（例えば、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％またはそれ以上の配列同一性）を有するＳＬＣ６Ａ１４プロモーター）は、導入遺伝子（例えば、目的のタンパク質、ｓｈＲＮＡ、ＡＳＯ、またはヌクレアーゼ（例えば、Ｃａｓ９、ＴＡＬＥＮ、ＺＦＮ、もしくはｇＲＮＡ）をコードする導入遺伝子、またはマイクロＲＮＡを作成するために転写され得る導入遺伝子）に操作可能に連結されて、前庭機能障害に罹患しているヒト患者などの患者に投与するための媒体に組み込まれ得る。導入遺伝子に操作可能に連結された本明細書に記載のポリヌクレオチドを含む、ウイルスベクターなどのベクターを含む医薬組成物は、当技術分野で公知の方法を使用して調製することができる。例えば、そのような組成物は、例えば、生理学的に許容される担体、賦形剤または安定剤（Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ：Ｔｈｅ Ｓｃｉｅｎｃｅ ａｎｄ Ｐｒａｃｔｉｃｅ ｏｆ Ｐｈａｒｍａｃｏｌｏｇｙ ２２ｎｄ ｅｄｉｔｉｏｎ，Ａｌｌｅｎ，Ｌ．Ｅｄ．（２０１３）；参照により本明細書に援用される）を使用して、所望の形態、例えば、凍結乾燥製剤または水溶液の形態で調製することができる。

【０１４１】

導入遺伝子に操作可能に連結された本明細書に記載のＳＬＣ６Ａ１４プロモーター（例えば、配列番号１に対して少なくとも８５％の配列同一性（例えば、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％またはそれ以上の配列同一性）を有するポリヌクレオチド）を含む核酸ベクター（例えば、ウイルスベクター）の混合物は、１つ以上の賦形剤、担体、または希釈剤と水中で適切に混合して調製することができる。分散液もまた、グリセロール、液状ポリエチレングリコール、及びこれらの混合物中で、及び油中で調製してもよい。これらの製剤は、通常の保存条件及び使用条件下で、微生物の増殖を阻止するための保存剤を含有してもよい。注射用途に好適な医薬形態としては、注射可能な無菌溶液または無菌分散液を即時調製するための無菌水溶液または無菌分散液及び無菌粉末が挙げられる（ＵＳ５，４６６，４６８に記載されており、その開示は参照により本明細書に援用される）。いずれにしても、製剤は、無菌であってもよく、容易に注射できる程度の流動性を有していてもよい。製剤は、製造及び保管条件下で安定であってもよく、細菌及び真菌などの微生物の混入作用から保護され得る。担体は、例えば、水、エタノール、ポリオール（例えば、グリセロール、プロピレングリコール、及び液状ポリエチレングリコールなど）、その好適な混合物、及び／または植物油を含有する溶媒または分散媒であり得る。適切な流動性は、例えば、レシチンなどのコーティング剤の使用によって、分散液の場合には必要とされる粒径の維持によって、また界面活性剤の使用によって、維持され得る。微生物の作用の抑制は、種々の抗細菌剤及び抗真菌剤、例えば、パラベン、クロロブタノール、

フェノール、ソルビン酸、チメロサールなどによってもたらされ得る。多くの場合、等張剤、例えば、糖または塩化ナトリウムを含むことが好ましいであろう。注射可能な組成物の吸収の延長は、吸収を遅延させる作用物質、例えば、モノステアリン酸アルミニウム及びゼラチンを組成物中で使用することによってもたらされ得る。

【０１４２】

例えば、本明細書に記載の医薬組成物を含有する溶液を必要に応じて適切に緩衝し、液体希釈剤を最初に十分な生理食塩水またはグルコースで等張にしてもよい。これらの特定の水溶液は、静脈内、筋肉内、皮下、及び腹腔内の投与に特に好適である。これに関して、採用することができる無菌水性媒体は、本開示に照らして、当業者に公知である。例えば、１用量を１ｍｌのＮａＣｌ等張液中に溶解し、１０００ｍｌの皮下注射液に加えるか、または注入予定部位に注射してもよい。治療する対象の状態に応じて、用量にはいくらかの変動が必然的に生じる。中耳または内耳への局所投与のために、組成物を、合成外リンパ溶液を含有するように製剤化してもよい。例示的な合成外リンパ溶液は、２０～２００ｍＭ　ＮａＣｌ、１～５ｍＭ　ＫＣｌ、０．１～１０ｍＭ　$CaCl_2$、１～１０ｍＭグルコース、及び２～５０ｍＭ　ＨＥＰＥＳを含有し、ｐＨ約６～９及び重量オスモル濃度約３００ｍＯｓｍ／ｋｇを有する。いずれにしても、投与を担当する者が個々の対象に適切な用量を決定する。さらに、ヒトへの投与の場合、製剤は、ＦＤＡ　Ｏｆｆｉｃｅ　ｏｆ　Ｂｉｏｌｏｇｉｃｓ基準によって要求される無菌性、発熱性、一般的安全性、及び純度の基準を満たしていてもよい。

【０１４３】

治療方法

本明細書に記載の組成物を、前庭機能障害を有するか、または発症するリスクを有する対象に、例えば、中耳もしくは内耳への局所投与（例えば、卵円窓、正円窓、または半規管（例えば、水平半規管）を介した外リンパまたは内リンパへの投与、あるいは経鼓膜注入または鼓室内注入による例えば、前庭支持細胞または有毛細胞への投与）、静脈内、非経口、皮内、経皮、筋肉内、鼻腔内、皮下、経皮、気管内、腹腔内、動脈内、血管内、吸入、灌流、洗浄、及び経口投与などの様々な経路によって、投与してもよい。所与の場合における投与に最も適切な経路は、投与する特定の組成物、患者、医薬製剤化方法、投与方法（例えば、投与時間及び投与経路）、患者の年齢、体重、性別、治療する疾患の重症度、患者の食事、及び患者の排泄率に依存する。組成物は、１回、または２回以上（例えば、年１回、年２回、年３回、隔月、毎月、または隔週）投与してもよい。

【０１４４】

本明細書に記載のように治療される可能性がある対象は、前庭機能障害を有するか、または発症するリスクを有する対象である。本明細書に記載の組成物及び方法を使用して、前庭有毛細胞への損傷（例えば、疾患もしくは感染症、頭部外傷、耳毒性薬（例えば、アミノグリコシド）、または加齢に関連する損傷）を有するか、または発症するリスクを有する対象、前庭機能障害（例えば、めまい、眩暈、平衡失調、両側前庭機能低下（両側前庭機能不全とも呼ばれる）、動揺視、または平衡障害）を有するか、または発症するリスクを有する対象、前庭機能障害に関連する遺伝子変異を有する対象、あるいは遺伝性前庭機能障害の家族歴を有する対象を治療することができる。いくつかの実施形態では、有毛細胞（例えば、前庭有毛細胞）への損傷または有毛細胞の喪失に関連する疾患は、自己免疫反応が有毛細胞損傷または死をもたらす自己免疫疾患または病態である。前庭機能障害に関連する自己免疫疾患としては、自己免疫内耳疾患（ＡＩＥＤ）、結節性多発動脈炎（ＰＡＮ）、コーガン症候群、再発性多発性軟骨炎、全身性紅斑性狼瘡（ＳＬＥ）、ヴェーゲナー肉芽腫症、シェーグレン症候群、及びベーチェット病などが挙げられる。ライム病及び梅毒などの一部の感染性も、前庭機能障害を（例えば、自己抗体産生を誘発することによって）引き起こす場合がある。風疹、サイトメガロウイルス（ＣＭＶ）、リンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス（ＬＣＭＶ）、ＨＳＶタイプ１＆２、西ナイルウイルス（ＷＮＶ）、ヒト免疫不全ウイルス（ＨＩＶ）水痘帯状ヘルペスウイルス（ＶＺＶ）、麻疹、及びおたふく風邪などのウイルス感染も、前庭機能障害を引き起こす可能性がある。いくつかの実

施形態では、対象は、有毛細胞（例えば、前庭有毛細胞）の喪失に関連して、またはその結果として生じる前庭機能障害を有する。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の組成物及び方法を使用して、動揺視を有するか、または発症するリスクを有する対象を治療することができる。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の組成物及び方法を使用して、両側前庭機能低下を有するか、または発症するリスクを有する対象を治療することができる。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の組成物及び方法を使用して、平衡障害（例えば、平衡失調）を有するか、または発症するリスクを有する対象を治療することができる。本明細書に記載の方法は、本明細書に記載の組成物による治療または投与の前に、前庭機能障害に関連することが知られている遺伝子の１つ以上の変異について対象をスクリーニングする工程を含み得る。当業者に公知の標準的な方法（例えば、遺伝子検査）を使用して、対象を遺伝子変異についてスクリーニングすることができる。本明細書に記載の方法はまた、本明細書に記載の組成物による治療または投与の前に、対象の前庭機能を評価する工程を含み得る。眼球運動検査（例えば、電気眼振記録検査（ＥＮＧ）またはビデオ眼振記録法（ＶＮＧ））、前庭眼球反射（ＶＯＲ）の検査（例えば、ベッドサイドで、もしくはビデオヘッド・インパルス検査（ＶＨＩＴ）を用いて実施されることがある頭部インパルス検査（Ｈａｌｍａｇｙｉ－Ｃｕｒｔｈｏｙｓ検査）、または熱反射検査）、姿勢動揺検査、回転椅子検査、ＥＣＯＧ、前庭誘発筋電位（ＶＥＭＰ）、及びＭａｎｃｉｎｉ ａｎｄ Ｈｏｒａｋ，Ｅｕｒ Ｊ Ｐｈｙｓ Ｒｅｈａｂｉｌ Ｍｅｄ，４６：２３９（２０１０）に記載されているような専用の臨床平衡検査などの標準的な検査を使用して、前庭機能を評価することができる。これらの試験を使用して、本明細書に記載の組成物による治療または投与後の対象における前庭機能を評価することもできる。本明細書に記載の組成物及び方法はまた、前庭機能障害を発症するリスクを有する患者、例えば、前庭機能障害の家族歴（例えば、遺伝性前庭機能障害）を有する患者、前庭機能障害に関連する遺伝子変異を有するが、前庭機能障害の症状を未だ示していない患者、または後天性前庭機能障害（例えば、疾患または感染症、頭部外傷、耳毒性薬、または加齢）のリスク因子にさらされている患者への予防的治療として投与してもよい。本明細書に記載の組成物及び方法を使用して、特発性前庭機能障害を有する対象を治療することもできる。

【０１４５】

本明細書に記載の組成物及び方法を使用して、対象の有毛細胞の再生（例えば、前庭有毛細胞再生）を誘導または向上させ、及び／または前庭有毛細胞及び／またはＶＳＣの増殖を誘導または増加させることができる。前庭有毛細胞再生、前庭有毛細胞神経支配、ならびに／または前庭有毛細胞及び／もしくはＶＳＣ増殖を促進または誘導する組成物から利益を得る可能性のある対象には、有毛細胞の喪失（例えば外傷（例えば、頭部外傷）、疾患もしくは感染症、耳毒性薬、または加齢に関連した前庭有毛細胞の喪失）の結果として前庭機能障害を有するか、または発症するリスクを有する対象、ならびに異常な前庭有毛細胞（例えば、正常な前庭有毛細胞と比較して適切に機能しない前庭有毛細胞）、損傷した前庭有毛細胞（例えば、外傷（例えば、頭部外傷）、疾患もしくは感染症、耳毒性薬、または加齢に関連した前庭有毛細胞損傷）を有する対象、または遺伝子変異または先天性異常によって前庭有毛細胞数が減少している対象が含まれる。本明細書に記載の組成物及び方法を使用して、前庭有毛細胞成熟を促進または向上させることができ、これにより、前庭機能の改善をもたらすことができる。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の組成物及び方法は、再生した前庭有毛細胞の成熟を促進または向上させる（例えば、導入遺伝子に操作可能に連結されたＳＬＣ６Ａ１４プロモーターを含む組成物など、ＶＳＣにおける本明細書に記載の組成物の発現に応じて起こった前庭有毛細胞の成熟を促進または向上させる）。本明細書に記載の組成物及び方法はまた、ＶＳＣ及び／もしくは前庭有毛細胞生存を促進または増加させるか、ならびに／またはＶＳＣ機能を改善させることもできる。

【０１４６】

本明細書に記載の組成物及び方法を使用して、耳毒性薬で治療された対象、または耳毒

性薬で現在治療を受けているかもしくは治療を開始する予定の対象における耳毒性薬誘発性有毛細胞損傷または死（例えば、前庭有毛細胞損傷または死）が原因の前庭機能障害を予防または軽減することもできる。耳毒性薬は、内耳細胞に対して毒性を有し、前庭機能障害（例えば、眩暈、めまい、平衡失調、両側前庭機能低下、または動揺視）を引き起こし得る。耳毒性が見出されている薬物としては、アミノグリコシド系抗生物質（例えば、ゲンタマイシン、ネオマイシン、ストレプトマイシン、トブラマイシン、カナマイシン、バンコマイシン、及びアミカシン）、バイオマイシン、抗腫瘍薬（例えば、シスプラチン、カルボプラチン、及びオキサリプラチンなどのプラチナ含有化学療法剤）、ループ利尿薬（例えば、エタクリン酸及びフロセミド）、サリチル酸塩（例えば、特に高用量のアスピリン）、及びキニンが挙げられる。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の方法及び組成物を使用して、両側前庭機能低下を治療することができる。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の方法及び組成物を使用して、両側前庭機能低下またはアミノグリコシド耳毒性に起因する動揺視を治療することができる（例えば、本明細書に記載の方法及び組成物を使用して、アミノグリコシド誘発性両側前庭機能低下または動揺視を有する患者における、アミノグリコシド誘発性前庭有毛細胞損傷または死を軽減するか、あるいは有毛細胞再生及び／または有毛細胞もしくはＶＳＣ増殖を促進または向上させることができる）。

【０１４７】

本明細書に記載のような対象を治療するためのＳＬＣ６Ａ１４プロモーター（例えば、配列番号１に対して少なくとも８５％の配列同一性（例えば、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％またはそれ以上の配列同一性）を有するポリヌクレオチド）に操作可能に連結された導入遺伝子は、健康なＶＳＣで発現しているタンパク質（例えば、前庭有毛細胞発達、前庭有毛細胞運命の特定、前庭有毛細胞再生、前庭有毛細胞及び／またはＶＳＣ増殖、前庭有毛細胞成熟、または前庭有毛細胞神経支配の役割を果たすタンパク質、あるいは前庭機能障害を有する対象において不足しているタンパク質）、別の目的のタンパク質（例えば、蛍光タンパク質、ｌａｃＺ、もしくはルシフェラーゼなどの治療用タンパク質またはレポータータンパク質）、ｓｈＲＮＡ、ＡＳＯ、ヌクレアーゼ、またはマイクロＲＮＡをコードする導入遺伝子であり得る。導入遺伝子は、対象の前庭機能障害の原因（例えば、対象の前庭機能障害が特定の遺伝子変異に関連している場合、導入遺伝子は、対象において変異している遺伝子の野生型形態とすることができ、または対象が有毛細胞の喪失に関連する前庭機能障害を有している場合、導入遺伝子は、前庭有毛細胞再生、前庭有毛細胞神経支配、または前庭有毛細胞及び／またはＶＳＣ増殖を促進するタンパク質をコードし得る）、対象の前庭機能障害の重症度、対象の有毛細胞の健康状態、対象の年齢、対象の前庭機能障害の家族歴、または他の要因に基づいて選択してもよい。本明細書に記載されるような対象の治療用のＳＬＣ６Ａ１４プロモーターに操作可能に連結された導入遺伝子によって発現させることができるタンパク質としては、Ｓｏｘ９、Ｓａｌｌ２、Ｃａｍｔａ１、Ｈｅｙ２、Ｇａｔａ２、Ｈｅｙ１、Ｌａｓｓ２、Ｓｏｘ１０、Ｇａｔａ３、Ｃｕｘ１、Ｎｒ２ｆ１、Ｈｅｓ１、Ｒｏｒｂ、Ｊｕｎ、Ｚｆｐ６６７、Ｌｈｘ３、Ｎｈｌｈ１、Ｍｘｄ４、Ｚｍｉｚ１、Ｍｙｔ１、Ｓｔａｔ３、Ｂａｒｈｌ１、Ｔｏｘ、Ｐｒｏｘ１、Ｎｆｉａ、Ｔｈｒｂ、Ｍｙｃｌ１、Ｋｄｍ５ａ、Ｃｒｅｂ３１４、Ｅｔｖ１、Ｐｅｇ３、Ｂａｃｈ２、Ｉｓｌ１、Ｚｂｔｂ３８、Ｌｂｈ、Ｔｕｂ、Ｈｍｇ２０、Ｒｅｓｔ、Ｚｆｐ８２７、Ａｆｆ３、Ｐｋｎｏｘ２、Ａｒｉｄ３ｂ、Ｍｌｘｉｐ、Ｚｆｐ５３２、Ｉｋｚｆ２、Ｓａｌｌ１、Ｓｉｘ２、Ｓａｌｌ３、Ｌｉｎ２８ｂ、Ｒｆｘ７、Ｂｄｎｆ、Ｇｆｉ１、Ｐｏｕ４ｆ３、Ｍｙｃ、Ｃｔｎｎｂ１、Ｓｏｘ２、Ｓｏｘ４、Ｓｏｘ１１，Ｔｅａｄ２、Ａｔｏｈ１、ならびにアミノ酸位３２８、３３１、及び／または３３４に置換を有するＡｔｏｈ１変異体（例えば、Ｓ３２８Ａ、Ｓ３３１Ａ、Ｓ３３４Ａ、Ｓ３２８Ａ／Ｓ３３１Ａ、Ｓ３２８Ａ／Ｓ３３４Ａ、Ｓ３３１Ａ／Ｓ３３４Ａ、及びＳ３２８Ａ／Ｓ３３１Ａ／Ｓ３３４）が挙げられる。

【０１４８】

治療は、本明細書に記載のＳＬＣ６Ａ１４プロモーター（例えば、配列番号１）を様々な単位用量で含む核酸ベクター（例えば、ＡＡＶウイルスベクター）を含む組成物の投与を含み得る。各単位用量には、通常、所定量の治療用組成物が含まれる。投与する量、ならびに特定の投与経路及び製剤化は、当業者の技術の範囲内である。単位用量は、単回注射として投与する必要はないが、設定された期間にわたる連続注入を含み得る。投与は、内耳（例えば、前庭迷路）への損傷を最小限に抑えるために、シリンジポンプを用いて実施して注入速度を制御してもよい。核酸ベクターがＡＡＶベクターである場合（例えば、ＡＡＶ１、ＡＡＶ２、ＡＡＶ２ｑｕａｄ（Ｙ－Ｆ）、ＡＡＶ３、ＡＡＶ４、ＡＡＶ５、ＡＡＶ６、ＡＡＶ７、ＡＡＶ８、ＡＡＶ９、ＡＡＶ１０、ＡＡＶ１１、ｒｈ１０、ｒｈ３９、ｒｈ４３、ｒｈ７４、Ａｎｃ８０、Ａｎｃ８０Ｌ６５、ＤＪ／８、ＤＪ／９、７ｍ８、ＰＨＰ．Ｂ、ＰＨＰ．ｅＢ、またはＰＨＰ．Ｓベクター）、ウイルスベクターは、例えば、約１ｘ１０^{9}ベクターゲノム（ＶＧ）／ｍＬ～約１ｘ１０^{16}ＶＧ／ｍＬ（例えば、１ｘ１０^{9}ＶＧ／ｍＬ、２ｘ１０^{9}ＶＧ／ｍＬ、３ｘ１０^{9}ＶＧ／ｍＬ、４ｘ１０^{9}ＶＧ／ｍＬ、５ｘ１０^{9}ＶＧ／ｍＬ、６ｘ１０^{9}ＶＧ／ｍＬ、７ｘ１０^{9}ＶＧ／ｍＬ、８ｘ１０^{9}ＶＧ／ｍＬ、９ｘ１０^{9}ＶＧ／ｍＬ、１ｘ１０^{10}ＶＧ／ｍＬ、２ｘ１０^{10}ＶＧ／ｍＬ、３ｘ１０^{10}ＶＧ／ｍＬ、４ｘ１０^{10}ＶＧ／ｍＬ、５ｘ１０^{10}ＶＧ／ｍＬ、６ｘ１０^{10}ＶＧ／ｍＬ、７ｘ１０^{10}ＶＧ／ｍＬ、８ｘ１０^{10}ＶＧ／ｍＬ、９ｘ１０^{10}ＶＧ／ｍＬ、１ｘ１０^{11}ＶＧ／ｍＬ、２ｘ１０^{11}ＶＧ／ｍＬ、３ｘ１０^{11}ＶＧ／ｍＬ、４ｘ１０^{11}ＶＧ／ｍＬ、５ｘ１０^{11}ＶＧ／ｍＬ、６ｘ１０^{11}ＶＧ／ｍＬ、７ｘ１０^{11}ＶＧ／ｍＬ、８ｘ１０^{11}ＶＧ／ｍＬ、９ｘ１０^{11}ＶＧ／ｍＬ、１ｘ１０^{12}ＶＧ／ｍＬ、２ｘ１０^{12}ＶＧ／ｍＬ、３ｘ１０^{12}ＶＧ／ｍＬ、４ｘ１０^{12}ＶＧ／ｍＬ、５ｘ１０^{12}ＶＧ／ｍＬ、６ｘ１０^{12}ＶＧ／ｍＬ、７ｘ１０^{12}ＶＧ／ｍＬ、８ｘ１０^{12}ＶＧ／ｍＬ、９ｘ１０^{12}ＶＧ／ｍＬ、１ｘ１０^{13}ＶＧ／ｍＬ、２ｘ１０^{13}ＶＧ／ｍＬ、３ｘ１０^{13}ＶＧ／ｍＬ、４ｘ１０^{13}ＶＧ／ｍＬ、５ｘ１０^{13}ＶＧ／ｍＬ、６ｘ１０^{13}ＶＧ／ｍＬ、７ｘ１０^{13}ＶＧ／ｍＬ、８ｘ１０^{13}ＶＧ／ｍＬ、９ｘ１０^{13}ＶＧ／ｍＬ、１ｘ１０^{14}ＶＧ／ｍＬ、２ｘ１０^{14}ＶＧ／ｍＬ、３ｘ１０^{14}ＶＧ／ｍＬ、４ｘ１０^{14}ＶＧ／ｍＬ、５ｘ１０^{14}ＶＧ／ｍＬ、６ｘ１０^{14}ＶＧ／ｍＬ、７ｘ１０^{14}ＶＧ／ｍＬ、８ｘ１０^{14}ＶＧ／ｍＬ、９ｘ１０^{14}ＶＧ／ｍＬ、１ｘ１０^{15}ＶＧ／ｍＬ、２ｘ１０^{15}ＶＧ／ｍＬ、３ｘ１０^{15}ＶＧ／ｍＬ、４ｘ１０^{15}ＶＧ／ｍＬ、５ｘ１０^{15}ＶＧ／ｍＬ、６ｘ１０^{15}ＶＧ／ｍＬ、７ｘ１０^{15}ＶＧ／ｍＬ、８ｘ１０^{15}ＶＧ／ｍＬ、９ｘ１０^{15}ＶＧ／ｍＬ、または１ｘ１０^{16}ＶＧ／ｍＬ）を、１μＬ～２００μＬ（例えば、１、２、３、５、６、７、８、９、１０、１５、２０、２５、３０、３５、４０、４５、５０、５５、６０、６５、７０、７５、８０、８５、９０、９５、１００、１１０、１２０、１３０、１４０、１５０、１６０、１７０、１８０、１９０、または２００μＬ）の用量で患者に投与してもよい。ＡＡＶベクターは、約１ｘ１０^{7}ＶＧ／耳～約２ｘ１０^{15}ＶＧ／耳（例えば、１ｘ１０^{7}ＶＧ／耳、２ｘ１０^{7}ＶＧ／耳、３ｘ１０^{7}ＶＧ／耳、４ｘ１０^{7}ＶＧ／耳、５ｘ１０^{7}ＶＧ／耳、６ｘ１０^{7}ＶＧ／耳、７ｘ１０^{7}ＶＧ／耳、８ｘ１０^{7}ＶＧ／耳、９ｘ１０^{7}ＶＧ／耳、１ｘ１０^{8}ＶＧ／耳、２ｘ１０^{8}ＶＧ／耳、３ｘ１０^{8}ＶＧ／耳、４ｘ１０^{8}ＶＧ／耳、５ｘ１０^{8}ＶＧ／耳、６ｘ１０^{8}ＶＧ／耳、７ｘ１０^{8}ＶＧ／耳、８ｘ１０^{8}ＶＧ／耳、９ｘ１０^{8}ＶＧ／耳、１ｘ１０^{9}ＶＧ／耳、２ｘ１０^{9}ＶＧ／耳、３ｘ１０^{9}ＶＧ／耳、４ｘ１０^{9}ＶＧ／耳、５ｘ１０^{9}ＶＧ／耳、６ｘ１０^{9}ＶＧ／耳、７ｘ１０^{9}ＶＧ／耳、８ｘ１０^{9}ＶＧ／耳、９ｘ１０^{9}ＶＧ／耳、１ｘ１０^{10}ＶＧ／耳、２ｘ１０^{10}ＶＧ／耳、３ｘ１０^{10}ＶＧ／耳、４ｘ１０^{10}ＶＧ／耳、５ｘ１０^{10}ＶＧ／耳、６ｘ１０^{10}ＶＧ／耳、７ｘ１０^{10}ＶＧ／耳、８ｘ１０^{10}ＶＧ／耳、９ｘ１０^{10}ＶＧ／耳、１ｘ１０^{11}ＶＧ／耳、２ｘ１０^{11}ＶＧ／耳、３ｘ１０^{11}ＶＧ／耳、４ｘ１０^{11}ＶＧ／耳、５ｘ１０^{11}ＶＧ／耳、６ｘ１０^{11}ＶＧ／耳、７ｘ１０^{11}ＶＧ／耳、８ｘ１０^{11}ＶＧ／耳、９ｘ１０^{11}ＶＧ／耳、１ｘ１０^{12}ＶＧ／耳、２ｘ１０^{12}ＶＧ／耳、３ｘ１０^{12}ＶＧ／耳、４ｘ１０^{12}ＶＧ／耳、５ｘ１０^{12}ＶＧ／耳、６ｘ１０^{12}ＶＧ／耳、７ｘ１０^{12}ＶＧ／耳、８ｘ１０^{12}ＶＧ／耳、９ｘ１０^{12}ＶＧ／耳、１ｘ１０^{13}ＶＧ／耳、２ｘ１０

10^{13}ＶＧ／耳、３ｘ10^{13}ＶＧ／耳、４ｘ10^{13}ＶＧ／耳、５ｘ10^{13}ＶＧ／耳、６ｘ10^{13}ＶＧ／耳、７ｘ10^{13}ＶＧ／耳、８ｘ10^{13}ＶＧ／耳、９ｘ10^{13}ＶＧ／耳、１ｘ10^{14}ＶＧ／耳、２ｘ10^{14}ＶＧ／耳、３ｘ10^{14}ＶＧ／耳、４ｘ10^{14}ＶＧ／耳、５ｘ10^{14}ＶＧ／耳、６ｘ10^{14}ＶＧ／耳、７ｘ10^{14}ＶＧ／耳、８ｘ10^{14}ＶＧ／耳、９ｘ10^{14}ＶＧ／耳、１ｘ10^{15}ＶＧ／耳、または２ｘ10^{15}ＶＧ／耳）の用量で対象に投与してもよい。

【０１４９】

本明細書に記載の組成物は、前庭機能を改善させる（例えば、平衡を改善させるか、またはめまいもしくは眩暈を軽減する）か、両側前庭機能低下を治療するか、動揺視を治療するか、平衡障害を治療するか、ＳＬＣ６Ａ１４プロモーターに操作可能に連結された導入遺伝子によってコードされるタンパク質の発現を増加させるか、ＳＬＣ６Ａ１４プロモーターに操作可能に連結された導入遺伝子によってコードされるタンパク質の機能を改善させるか、有毛細胞発達を促進もしくは向上させるか、細胞数を増加させる（例えば、有毛細胞再生もしくは増殖を促進または誘導する）か、有毛細胞成熟（例えば、再生した有毛細胞の成熟）を向上または誘導するか、有毛細胞機能を改善させるか、ＶＳＣ機能を改善させるか、ＶＳＣ及び／もしくは前庭有毛細胞生存を促進または増加させるか、ならびに／あるいは、ＶＳＣ増殖を促進または増加させるのに十分な量で投与される。前庭機能は、平衡及び眩暈用の標準的な検査（例えば、眼球運動検査（例えば、ＥＮＧまたはＶＮＧ）、ＶＯＲ検査（例えば、頭部インパルス検査（Ｈａｌｍａｇｙｉ－Ｃｕｒｔｈｏｙｓ検査、例えば、ＶＨＩＴ）または熱反射検査）、姿勢動揺検査、回転椅子検査、ＥＣＯＧ、ＶＥＭＰ、及び専用の臨床平衡検査）を使用して評価してもよく、治療前に得られた測定値に比べて５％以上（例えば、５％、１０％、１５％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％、７０％、８０％、９０％、１００％、１２５％、１５０％、２００％またはそれ以上）改善し得る。本明細書に記載の組成物はまた、（例えば、前庭機能障害に関連する遺伝子変異を有し、前庭機能障害の家族歴（例えば、遺伝性前庭機能障害）を有するか、または前庭機能障害に関連するリスク要因（例えば、耳毒性薬、頭部外傷、または疾患もしくは感染）にさらされているが、前庭機能障害（例えば、眩暈、めまい、または平衡失調）を示していない対象、あるいは軽度～中程度の前庭機能障害を示す対象における）前庭機能障害の発症または進行を遅延または予防するのに十分な量で投与してもよい。対象に投与する核酸ベクターでＳＬＣ６Ａ１４プロモーターに操作可能に連結された導入遺伝子によってコードされるタンパク質の発現は、免疫組織化学、ウェスタンブロット分析、定量的リアルタイムＰＣＲ、またはタンパク質もしくはｍＲＮＡを検出するための当技術分野で公知の他の方法を使用して評価してもよく、またその発現は、本明細書に記載の組成物の投与前の発現に比べて５％以上（例えば、５％、１０％、１５％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％、７０％、８０％、９０％、１００％、１２５％、１５０％、２００％またはそれ以上）増加し得る。有毛細胞数、有毛細胞機能、有毛細胞成熟、有毛細胞再生、または対象に投与する核酸ベクターによってコードされるタンパク質の機能は、前庭機能の検査に基づいて間接的に評価してもよく、またそれらは、本明細書に記載の組成物の投与前の有毛細胞数、有毛細胞機能、有毛細胞成熟、有毛細胞再生またはタンパク質の機能と比べて、または治療されていない対象と比べて、５％以上（例えば、５％、１０％、１５％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％、７０％、８０％、９０％、１００％、１２５％、１５０％、２００％またはそれ以上）向上し得る。これらの効果は、本明細書に記載の組成物の投与後、例えば、１週間、２週間、３週間、４週間、５週間、６週間、７週間、８週間、９週間、１０週間、１５週間、２０週間、２５週間以内、またはそれ以上の間に生じ得る。治療に使用する用量及び投与経路に応じて、組成物を投与してから、１か月、２か月、３か月、４か月、５か月、６か月またはそれ以上後に患者を評価してもよい。評価の結果に応じて、患者に追加の治療を受けさせてもよい。

【０１５０】

キット

本明細書に記載の組成物を、前庭機能障害の治療に使用するためのキットで提供するこ

とができる。組成物は、本明細書に記載のＳＬＣ６Ａ１４プロモーター（例えば、配列番号１に対して少なくとも８５％の配列同一性（例えば、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％またはそれ以上の配列同一性）を有するポリヌクレオチド）、そのようなポリヌクレオチドを含む核酸ベクター、及び目的のタンパク質（例えば、前庭機能障害を治療するためにＶＳＣで発現できるタンパク質）をコードする導入遺伝子に操作可能に連結された本明細書に記載のポリヌクレオチドを含む核酸ベクターを含んでいてもよい。核酸ベクターは、ＡＡＶウイルスキャプシド（例えば、ＡＡＶ１、ＡＡＶ２、ＡＡＶ２ｑｕａｄ（Ｙ－Ｆ）、ＡＡＶ３、ＡＡＶ４、ＡＡＶ５、ＡＡＶ６、ＡＡＶ７、ＡＡＶ８、ＡＡＶ９、Ａｎｃ８０、７ｍ８、ＰＨＰ．Ｂ、ＰＨＰ．ｅＢ、またはＰＨＰ．Ｓ）にパッケージングしてもよい。キットには、キットのユーザ、例えば医師に、本明細書に記載の方法を実施するように指示する添付文書をさらに含ませることができる。キットには、場合により、組成物を投与するための注射器または他の器具を含ませてもよい。

【０１５１】

実施例

以下の実施例は、本明細書に記載の組成物及び方法をどのように使用し、製造し、評価し得るかについての説明を当業者に提供するために提示し、純粋に本発明を例示することを意図するものであり、発明者らが自身の発明と見なすもの範囲を限定することを意図しない。

【０１５２】

実施例１．ｉｎ　ｖｉｖｏでのマウス前庭器官におけるＳＬＣ６Ａ１４ｖ２及びＳＬＣ６Ａ１４ｖ３プロモーター活性の測定

ｉｎ　ｖｉｖｏでのＳＬＣ６Ａ１４ｖ２及びＳＬＣ６Ａ１４ｖ３プロモーターの活性を比較するために、核誘導Ｈ２Ｂ－ＧＦＰ融合タンパク質（プラスミドＰ５３０由来；図３）を誘導するヒトＳＬＣ６Ａ１４プロモーター（配列番号３）及び核誘導Ｈ２Ｂ－ＧＦＰ融合タンパク質（プラスミドＰ９１９（配列番号２）由来；図４）を誘導するマウスＳＬＣ６Ａ１４プロモーター（配列番号１）を、別々にＡＡＶ８にパッケージングし、１μＬのウイルスを、オスの８週齢のＣ５７ＢＬ／６マウス（ウイルスごとにｎ＝６マウス）の後骨半規管に、2.0×10^{10}ｖｇ／耳の用量で注射によって投与した。２週間後、動物をCO_2によって安楽死させ、ＰＢＳ、続いて中性緩衝ホルマリン（ＮＢＦ）で潅流した。側頭骨を摘出し、卵形嚢を顕微解剖し、有毛細胞核マーカーＰｏｕ４ｆ３（１：２００，ｓｃ－１９８０，Ｓａｎｔａ　Ｃｒｕｚ　Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ，ダラス，テキサス州，米国）及び支持細胞核マーカーＳｏｘ２（１：２００，ＡＦ２０１８，Ｒ＆ＤＳｙｓｔｅｍｓ，Ｉｎｃ．，ミネアポリス，ミネソタ州，米国）に対する蛍光免疫標識を行った。

【０１５３】

器官をスライドガラス上に全て固定し、Ｚｅｉｓｓ　ＬＳＭ　８００共焦点顕微鏡で画像化した（図１Ａ～１Ｃ）。卵形嚢ごとに、卵形嚢全体を捕らえるのに十分な撮像視野を有する、２０ｘ／０．８ＮＡの対物レンズを用いて共焦点画像のｚスタックを収集した。各ｚスタックは、有毛細胞の核層、支持細胞の核層、及び間葉系の層に及ぶものであり、ｚ方向の厚みをナイキスト基準に設定した。図１Ａ～１Ｃの画像は、指示された深さでｚスタック内の単一のｚ平面の拡大領域を示している。核ＧＦＰ発現は、感覚上皮内部の支持細胞の核層（図１Ａ）、感覚上皮内部の有毛細胞の核層（図１Ｂ）、及び感覚上皮の下の間葉系の層（図１Ｃ）に見られる。両方のプロモーターで支持細胞の核層の全体にわたって核ＧＦＰ発現の比較可能なレベルが検出された。有毛細胞の核層及び間葉では、核ＧＦＰ発現は実質的に少なかったが、ＳＬＣ６Ａ１４ｖ３プロモーター（図１Ｃ、下の行）と比べて、ＳＬＣ６Ａ１４ｖ２プロモーター（図１Ｃ、上の行）によって、間葉においてより多くの標識が確認された。

【０１５４】

ＧＦＰ発現核の定量的測定を、全卵形嚢内のＧＦＰ陽性核の数、ＧＦＰ蛍光の強度、及

びＰｏｕ４ｆ３及び／またはＳｏｘ２免疫標識の共陽性を決定するＩｍａｒｉｓソフトウェアでの３Ｄ計数用の自動化アルゴリズムを使用して行った。ＧｒａｐｈＰａｄ　Ｐｒｉｓｍで統計分析を実施した。

【０１５５】

核ＧＦＰの検出可能なレベルを有する支持細胞の割合は、ＳＬＣ６Ａ１４ｖ２プロモーターとＳＬＣ６Ａ１４ｖ３プロモーターとの間で比較可能であった（図２Ａ；箱ひげ図の点は、個々の卵形嚢を表している）。しかし、バックグラウンドを上回る検出可能レベルを有する支持細胞における核ＧＦＰの平均強度は、ＳＬＣ６Ａ１４ｖ２と比べてＳＬＣ６Ａ１４ｖ３プロモーターで著しく高かった（図２Ｂ；散布図の円は、全てのサンプルにわたる個々の細胞を表しており、黒色の線は、集団の平均である；スチューデントのｔ検定、ｐ＜０．０００１）。加えて、バックグラウンドを上回るＧＦＰの検出可能レベルを有する有毛細胞核の割合は、ＳＬＣ６Ａ１４ｖ３と比べてＳＬＣ６Ａ１４ｖ２プロモーターで著しく高く（図２Ｃ；スチューデントのｔ検定、ｐ＝０．００１）、陽性Ｓｏｘ２免疫標識によって測定した際に、支持細胞でない全てのＧＦＰ＋核の割合も同様に高かった（図２Ｄ；スチューデントのｔ検定、ｐ＝０．０２２）。

【０１５６】

実施例２．ＳＬＣ６Ａ１４プロモーターを含む核酸ベクターを含有する組成物の前庭機能障害を有する対象への投与

本明細書に開示する方法に従って、当技術分野の医師は、患者、例えば、前庭機能障害を有するヒト患者を治療し、それにより前庭機能を改善または回復させることができる。このために、当技術分野の医師は、治療用タンパク質（例えば、無調ＢＨＬＨ転写因子１（Ａｔｏｈ１））をコードする導入遺伝子に操作可能に連結された、ＳＬＣ６Ａ１４プロモーター（例えば、配列番号１に対して、少なくとも８５％の配列同一性（例えば、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％またはそれ以上の配列同一性）を有するポリヌクレオチド）を含むＡＡＶベクター（例えば、ＡＡＶ１、ＡＡＶ２、ＡＡＶ２ｑｕａｄ（Ｙ－Ｆ）、ＡＡＶ３、ＡＡＶ４、ＡＡＶ５、ＡＡＶ６、ＡＡＶ７、ＡＡＶ８、ＡＡＶ９、Ａｎｃ８０、７ｍ８、ＰＨＰ．Ｂ、ＰＨＰ．ｅＢ、またはＰＨＰ．Ｓ）を含む組成物を、ヒト患者に投与することができる。一実施例では、ベクターはＡＡＶ８キャプシドを有し、かつ配列番号１０のヌクレオチド２１９～３８３１を含む。ＡＡＶベクターを含む組成物を、例えば、内耳への局所投与（例えば、半規管への注射）によって患者に投与して、前庭機能障害を治療することができる。

【０１５７】

組成物を患者に投与した後、当技術分野の医師であれば、導入遺伝子によってコードされる治療用タンパク質の発現、及び治療に応答した患者の改善を様々な方法でモニタリングすることができる。例えば、医師は、電気眼振記録検査、ビデオ眼振記録法、ＶＯＲ検査（例えば、頭部インパルス検査（Ｈａｌｍａｇｙｉ－Ｃｕｒｔｈｏｙｓ検査、例えば、ＶＨＩＴ）もしくは熱反射検査）、回転検査、前庭誘発筋電位、またはコンピュータ式動的姿勢動揺検査などの標準的な検査を行うことによって患者の前庭機能をモニタリングすることができる。組成物の投与前に得られた検査結果に比べて、組成物の投与後に１つ以上の検査において患者の前庭機能に改善が見られると判断される場合、それは患者が治療に対して良好に応答していると言える。その後の用量を必要に応じて決定し、投与することができる。

【０１５８】

本発明の代表的実施形態を以下の列挙パラグラフに記載する。

Ｅ１．　核酸ベクターであって、配列番号１に対して少なくとも８５％の配列同一性（例えば、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％またはそれ以上の配列同一性）を有するポリヌクレオチドを含む、前記核酸ベクター。

【０１５９】

Ｅ２．　前記ポリヌクレオチドは、導入遺伝子に操作可能に連結される、Ｅ１のいずれか１項に記載の核酸ベクター。
Ｅ３．　前記導入遺伝子は、異種導入遺伝子である、Ｅ２に記載の核酸ベクター。
【０１６０】
Ｅ４．　前記導入遺伝子は、タンパク質、短ヘアピンＲＮＡ（ｓｈＲＮＡ）、アンチセンスオリゴヌクレオチド（ＡＳＯ）、ヌクレアーゼ、またはマイクロＲＮＡをコードする、Ｅ２またはＥ３に記載の核酸ベクター。
【０１６１】
Ｅ５．　前記ポリヌクレオチドは、哺乳類ＶＳＣにおいて、前記タンパク質、前記ｓｈＲＮＡ、前記ＡＳＯ、前記ヌクレアーゼ、または前記マイクロＲＮＡの前庭支持細胞（ＶＳＣ）特異的発現を誘導することができる、Ｅ４に記載の核酸ベクター。
【０１６２】
Ｅ６．　前記ＶＳＣは、ヒトＶＳＣである、Ｅ５に記載の核酸ベクター。
Ｅ７．　前記タンパク質は、スパルト様転写因子２（Ｓａｌｌ２）、カルモジュリン結合転写活性化因子１（Ｃａｍｔａ１）、ＹＲＰＷモチーフ２を有するＨｅｓ関連ファミリーＢＨＬＨ転写因子（Ｈｅｙ２）、Ｇａｔａ結合タンパク質２（Ｇａｔａ２）、ＹＲＰＷモチーフ１を有するＨｅｓ関連ファミリーＢＨＬＨ転写因子（Ｈｅｙ１）、セラミドシンターゼ２（Ｌａｓｓ２）、ＳＲＹボックス１０（Ｓｏｘ１０）、ＧＡＴＡ結合タンパク質３（Ｇａｔａ３）、Ｃｕｔ様ホメオボックス１（Ｃｕｘ１）、核受容体サブファミリー２群Ｆメンバー（Ｎｒ２ｆ１）、Ｈｅｓ関連ファミリーＢＨＬＨ転写因子（Ｈｅｓ１）、ＲＡＲ関連オーファン受容体Ｂ（Ｒｏｒｂ）、Ｊｕｎがん原遺伝子ＡＰ－１転写因子サブユニット（Ｊｕｎ）、ジンクフィンガータンパク質６６７（Ｚｆｐ６６７）、ＬＩＭホメオボックス３（Ｌｈｘ３）、Ｎｅｓｃｉｅｎｔヘリックス・ループ・ヘリックス１（Ｎｈｌｈ１）、ＭＡＸ二量体化タンパク質４（Ｍｘｄ４）、ジンクフィンガーＭＩＺ－Ｔｙｐｅ含有１（Ｚｍｉｚ１）、ミエリン転写因子１（Ｍｙｔ１）、シグナル伝達兼転写活性化因子３（Ｓｔａｔ３）、ＢａｒＨ様ホメオボックス１（Ｂａｒｈｌ１）、胸腺細胞選択関連高移動度群ボックス（Ｔｏｘ）、プロスペロホメオボックス１（Ｐｒｏｘ１）、核因子ＩＡ（Ｎｆｉａ）、甲状腺ホルモン受容体β（Ｔｈｒｂ）、ＭＹＣＬがん原遺伝子ＢＨＬＨ転写因子（Ｍｙｃｌ１）、リジンデメチラーゼ５Ａ（Ｋｄｍ５ａ）、ＣＡＭＰ応答配列結合タンパク質３様４（Ｃｒｅｂ３Ｉ４）、ＥＴＳ変異体１（Ｅｔｖ１）、父性発現３（Ｐｅｇ３）、ＢＴＢドメイン及びＣＮＣホモログ２（Ｂａｃｈ２）、ＩＳＬ・ＬＩＭホメオボックス１（Ｉｓｌ１）、ジンクフィンガー及びＢＴＢドメイン含有３８（Ｚｂｔｂ３８）、肢芽及び心臓発達（Ｌｂｈ）、Ｔｕｂｂｙ　Ｂｉｐａｒｔｉｔｅ転写因子（Ｔｕｂ）、ユビキチンＣ（Ｈｍｇ２０）、ＲＥ１サイレンシング転写因子（Ｒｅｓｔ）、ジンクフィンガータンパク質８２７（Ｚｆｐ８２７）、ＡＦ４／ＦＭＲ２ファミリーメンバー３（Ａｆｆ３）、ＰＢＸ／結節１ホメオボックス２（Ｐｋｎｏｘ２）、ＡＴリッチ相互作用ドメイン３Ｂ（Ａｒｉｄ３ｂ）、ＭＬＸ相互作用タンパク質（Ｍｌｘｉｐ）、ジンクフィンガータンパク質（Ｚｆｐ５３２）、ＩＫＡＲＯＳファミリージンクフィンガー２（Ｉｋｚｆ２）、スパルト（Ｓｐａｌｔ）様転写因子１（Ｓａｌｌ１）、ＳＩＸホメオボックス２（Ｓｉｘ２）、スパルト様転写因子３（Ｓａｌｌ３）、Ｌｉｎ－２８ホモログＢ（Ｌｉｎ２８ｂ）、調節因子Ｘ７（Ｒｆｘ７）、脳由来神経栄養因子（Ｂｄｎｆ）、成長因子非依存性１転写抑制因子（Ｇｆｉ１）、ＰＯＵクラス４ホメオボックス３（Ｐｏｕ４ｆ３）、ＭＹＣがん原遺伝子ＢＨＬＨ転写因子（Ｍｙｃ）、β－カテニン（Ｃｔｎｎｂ１）、ＳＲＹボックス２（Ｓｏｘ２）、ＳＲＹボックス４（Ｓｏｘ４）、ＳＲＹボックス１１（Ｓｏｘ１１）、ＴＥＡドメイン転写因子２（Ｔｅａｄ２）、無調ＢＨＬＨ転写因子１（Ａｔｏｈ１）、またはＡｔｏｈ１変異体である、Ｅ４～Ｅ６のいずれか１項に記載の核酸ベクター。
【０１６３】
Ｅ８．　前記タンパク質は、Ａｔｏｈ１である、Ｅ７に記載の核酸ベクター。
Ｅ９．　前記Ａｔｏｈ１変異体は、Ｓ３２８Ａ、Ｓ３３１Ａ、Ｓ３３４Ａ、Ｓ３２８Ａ

／Ｓ３３１Ａ、Ｓ３２８Ａ／Ｓ３３４Ａ、Ｓ３３１Ａ／Ｓ３３４Ａ、及びＳ３２８Ａ／Ｓ３３１Ａ／Ｓ３３４からなる群から選択される１つ以上のアミノ酸置換を有する、Ｅ７に記載の核酸ベクター。

【０１６４】

Ｅ１０．　前記核酸ベクターは、さらに、前記ポリヌクレオチドの第１逆位末端反復配列５’、及び前記導入遺伝子の３’を含み、かつ任意の転写後調節エレメント、ポリアデニル化シグナル、及び第２逆位末端反復配列を５’から３’の順で、含む、Ｅ２～Ｅ９のいずれか１項に記載の核酸ベクター。

【０１６５】

Ｅ１１．　配列番号１０のヌクレオチド２１９～３８３１と、配列番号１０のヌクレオチド２１９～３８３１の第１逆位末端反復配列５’であって、前記５’逆位末端反復配列が配列番号１０のヌクレオチド１～１３０に対して少なくとも８０％の配列同一性を有する前記第１逆位末端反復配列５’と、配列番号１０のヌクレオチド２１９～３８３１の第２逆位末端反復配列３’であって、前記３’逆位末端反復配列が配列番号１０のヌクレオチド３９１９～４０４８に対して少なくとも８０％の配列同一性を有する前記第２逆位末端反復配列３’と、を含む、Ｅ１０に記載の核酸ベクター。

【０１６６】

Ｅ１２．　配列番号１１のヌクレオチド２１９～３８２２と、配列番号１１のヌクレオチド２１９～３８２２の第１逆位末端反復配列５’であって、前記５’逆位末端反復配列が配列番号１１のヌクレオチド１～１３０に対して少なくとも８０％の配列同一性を有する前記第１逆位末端反復配列５’と、配列番号１１のヌクレオチド２１９～３８２２の第２逆位末端反復配列３’であって、前記３’逆位末端反復配列が配列番号１１のヌクレオチド３９１０～４０３９に対して少なくとも８０％の配列同一性を有する前記第２逆位末端反復配列３’と、を含む、Ｅ１０に記載の核酸ベクター。

【０１６７】

Ｅ１３．　前記核酸ベクターは、ウイルスベクター、プラスミド、コスミド、または人工染色体である、Ｅ１～Ｅ１２のいずれか１項に記載の核酸ベクター。

Ｅ１４．　前記核酸ベクターは、アデノ随伴ウイルス（ＡＡＶ）、アデノウイルス、及びレンチウイルスからなる群から選択されるウイルスベクターである、Ｅ１３に記載の核酸ベクター。

【０１６８】

Ｅ１５．　前記ウイルスベクターは、ＡＡＶベクターである、Ｅ１４に記載の核酸ベクター。

Ｅ１６．　前記ＡＡＶベクターは、ＡＡＶ１、ＡＡＶ２、ＡＡＶ２ｑｕａｄ（Ｙ－Ｆ）、ＡＡＶ３、ＡＡＶ４、ＡＡＶ５、ＡＡＶ６、ＡＡＶ７、ＡＡＶ８、ＡＡＶ９、ＡＡＶ１０、ＡＡＶ１１、ｒｈ１０、ｒｈ３９、ｒｈ４３、ｒｈ７４、Ａｎｃ８０、Ａｎｃ８０Ｌ６５、ＤＪ／８、ＤＪ／９、７ｍ８、ＰＨＰ．Ｂ、ＰＨＰ．ｅＢ、またはＰＨＰ．Ｓキャプシドを有する、Ｅ１５に記載の核酸ベクター。

【０１６９】

Ｅ１７．　Ｅ１～Ｅ１６のいずれか１項に記載の核酸ベクターを含む、組成物。

Ｅ１８．　薬学的に許容される担体、希釈剤、または賦形剤をさらに含む、Ｅ１７に記載の組成物。

【０１７０】

Ｅ１９．　ポリヌクレオチドであって、導入遺伝子に操作可能に連結された、配列番号１に対して少なくとも８５％の配列同一性（例えば、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％またはそれ以上の配列同一性）を有する、前記ポリヌクレオチド。

【０１７１】

Ｅ２０．　前記導入遺伝子は、異種導入遺伝子である、Ｅ１９に記載のポリヌクレオチド。

Ｅ２１．　前記導入遺伝子は、タンパク質、ｓｈＲＮＡ、ＡＳＯ、ヌクレアーゼ、またはマイクロＲＮＡをコードする、Ｅ２０に記載のポリヌクレオチド。

【０１７２】

Ｅ２２．　前記タンパク質は、Ｓｏｘ９、Ｓａｌｌ２、Ｃａｍｔａ１、Ｈｅｙ２、Ｇａｔａ２、Ｈｅｙ１、Ｌａｓｓ２、Ｓｏｘ１０、Ｇａｔａ３、Ｃｕｘ１、Ｎｒ２ｆ１、Ｈｅｓ１、Ｒｏｒｂ、Ｊｕｎ、Ｚｆｐ６６７、Ｌｈｘ３、Ｎｈｌｈ１、Ｍｘｄ４、Ｚｍｉｚ１、Ｍｙｔ１、Ｓｔａｔ３、Ｂａｒｈｌ１、Ｔｏｘ、Ｐｒｏｘ１、Ｎｆｉａ、Ｔｈｒｂ、Ｍｙｃｌ１、Ｋｄｍ５ａ、Ｃｒｅｂ３１４、Ｅｔｖ１、Ｐｅｇ３、Ｂａｃｈ２、Ｉｓｌ１、Ｚｂｔｂ３８、Ｌｂｈ、Ｔｕｂ、Ｈｍｇ２０、Ｒｅｓｔ、Ｚｆｐ８２７、Ａｆｆ３、Ｐｋｎｏｘ２、Ａｒｉｄ３ｂ、Ｍｌｘｉｐ、Ｚｆｐ５３２、Ｉｋｚｆ２、Ｓａｌｌ１、Ｓｉｘ２、Ｓａｌｌ３、Ｌｉｎ２８ｂ、Ｒｆｘ７、Ｂｄｎｆ、Ｇｆｉ１、Ｐｏｕ４ｆ３、Ｍｙｃ、Ｃｔｎｎｂ１、Ｓｏｘ２、Ｓｏｘ４、Ｓｏｘ１１，Ｔｅａｄ２、Ａｔｏｈ１、またはＡｔｏｈ１変異体である、Ｅ２１に記載のポリヌクレオチド。

【０１７３】

Ｅ２３．　前記タンパク質は、Ａｔｏｈ１である、Ｅ２２に記載のポリヌクレオチド。

Ｅ２４．　Ｅ１９～Ｅ２３のいずれか１項に記載のポリヌクレオチドまたはＥ１～Ｅ１６のいずれか１項に記載の核酸ベクターを含む、細胞。

【０１７４】

Ｅ２５．　前記細胞は、哺乳類ＶＳＣである、Ｅ２４に記載の細胞。

Ｅ２６．　前記哺乳類ＶＳＣは、ヒトＶＳＣである、Ｅ２５に記載の細胞。

Ｅ２７．　哺乳類ＶＳＣで導入遺伝子を発現させる方法であって、前記哺乳類ＶＳＣをＥ１～Ｅ１６のいずれか１項に記載の核酸ベクター、またはＥ１７もしくはＥ１８に記載の組成物に接触させることを含む、前記方法。

【０１７５】

Ｅ２８．　前記導入遺伝子は、ＶＳＣで特異的に発現する、Ｅ２７に記載の方法。

Ｅ２９．前記哺乳類ＶＳＣは、ヒトＶＳＣである、Ｅ２７またはＥ２８に記載の方法。

【０１７６】

Ｅ３０．　前庭機能障害を有するか、または発症するリスクを有する対象を治療する方法であって、有効量のＥ１～Ｅ１６のいずれか１項に記載の核酸ベクター、またはＥ１７もしくはＥ１８に記載の組成物を前記対象に投与することを含む、前記方法。

【０１７７】

Ｅ３１．　前記前庭機能障害は、眩暈、めまい、平衡失調、両側前庭機能低下（両側前庭機能不全としても知られている）、動揺視、または平衡障害を含む、Ｅ３０に記載の方法。

【０１７８】

Ｅ３２．　前記前庭機能障害は、加齢性前庭機能障害、頭部外傷性前庭機能障害、疾患もしくは感染関連性前庭機能障害、または耳毒性薬誘発性前庭機能障害である、Ｅ３０またはＥ３１に記載の方法。

【０１７９】

Ｅ３３．　前記前庭機能障害は、遺伝子変異に関連している、Ｅ３０～Ｅ３２のいずれか１項に記載の方法。

Ｅ３４．　前記前庭機能障害は、特発性前庭機能障害である、Ｅ３０またはＥ３１に記載の方法。

【０１８０】

Ｅ３５．　前庭有毛細胞再生を誘導または向上させることを必要とする対象においてそれを実施する方法であって、有効量のＥ１～Ｅ１６のいずれか１項に記載の核酸ベクター、またはＥ１７もしくはＥ１８に記載の組成物を前記対象に投与することを含む、前記方法。

【０１８１】

Ｅ３６．　ＶＳＣ増殖を誘導または増加させることを必要とする対象においてそれを実

施する方法であって、有効量のＥ１～Ｅ１６のいずれか１項に記載の核酸ベクター、またはＥ１７もしくはＥ１８に記載の組成物を前記対象に投与することを含む、前記方法。

【０１８２】

Ｅ３７．　前庭有毛細胞増殖を誘導または増加させることを必要とする対象においてそれを実施する方法であって、有効量のＥ１～Ｅ１６のいずれか１項に記載の核酸ベクター、またはＥ１７もしくはＥ１８に記載の組成物を前記対象に投与することを含む、前記方法。

【０１８３】

Ｅ３８．　前庭有毛細胞成熟（例えば、再生した有毛細胞の成熟）を誘導または向上させることを必要とする対象においてそれを実施する方法であって、有効量のＥ１～Ｅ１６のいずれか１項に記載の核酸ベクター、またはＥ１７もしくはＥ１８に記載の組成物を前記対象に投与することを含む、前記方法。

【０１８４】

Ｅ３９．　前庭有毛細胞神経支配を誘導または向上させることを必要とする対象においてそれを実施する方法であって、有効量のＥ１～Ｅ１６のいずれか１項に記載の核酸ベクター、またはＥ１７もしくはＥ１８に記載の組成物を前記対象に投与することを含む、前記方法。

【０１８５】

Ｅ４０．　ＶＳＣ及び／または前庭有毛細胞生存を増加させることを必要とする対象においてそれを実施する方法であって、有効量のＥ１～Ｅ１６のいずれか１項に記載の核酸ベクター、またはＥ１７もしくはＥ１８に記載の組成物を前記対象に投与することを含む、前記方法。

【０１８６】

Ｅ４１．　前記対象は、前庭機能障害（例えば、眩暈、めまい、平衡失調、両側前庭機能低下（両側前庭機能不全）、動揺視、または平衡障害）を有するか、または発症するリスクを有する、Ｅ３５～Ｅ４０のいずれか１項に記載の方法。

【０１８７】

Ｅ４２．　両側前庭機能低下（両側前庭機能不全としても知られている）を有するか、または発症するリスクを有する対象を治療する方法であって、有効量のＥ１～Ｅ１６のいずれか１項に記載の核酸ベクター、またはＥ１７もしくはＥ１８に記載の組成物を前記対象に投与することを含む、前記方法。

【０１８８】

Ｅ４３．　動揺視を有するか、または発症するリスクを有する対象を治療する方法であって、有効量のＥ１～Ｅ１６のいずれか１項に記載の核酸ベクター、またはＥ１７もしくはＥ１８に記載の組成物を前記対象に投与することを含む、前記方法。

【０１８９】

Ｅ４４．　前記両側前庭機能低下または前記動揺視は、耳毒性薬誘発性両側前庭機能低下または耳毒性薬誘発性動揺視である、Ｅ４２またはＥ４３に記載の方法。

Ｅ４５．　前記耳毒性薬は、アミノグリコシド、抗腫瘍薬、エタクリン酸、フロセミド、サリチル酸塩、及びキニンからなる群から選択される、Ｅ３２またはＥ４４に記載の方法。

【０１９０】

Ｅ４６．　平衡障害を有するか、または発症するリスクを有する対象を治療する方法であって、有効量のＥ１～Ｅ１６のいずれか１項に記載の核酸ベクター、またはＥ１７もしくはＥ１８に記載の組成物を前記対象に投与することを含む、前記方法。

【０１９１】

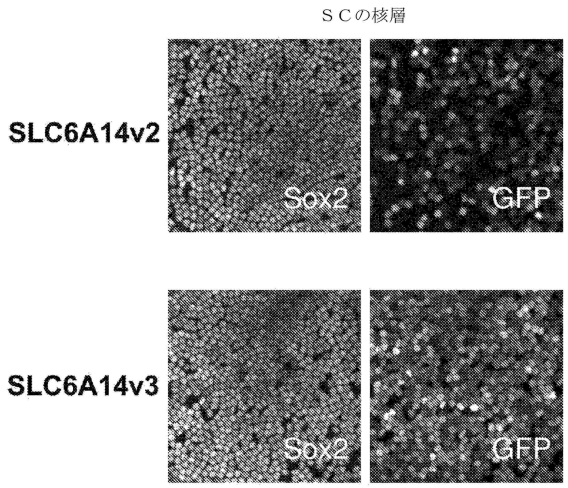
Ｅ４７．　前記方法は、前記核酸ベクターまたは前記組成物を投与する前に、前記対象の前庭機能を評価することをさらに含む、Ｅ３０～Ｅ４６のいずれか１項に記載の方法。

Ｅ４８．　前記方法は、前記核酸ベクターまたは前記組成物を投与した後に、前記対象の前庭機能を評価することをさらに含む、Ｅ３０～Ｅ４７のいずれか１項に記載の方法。

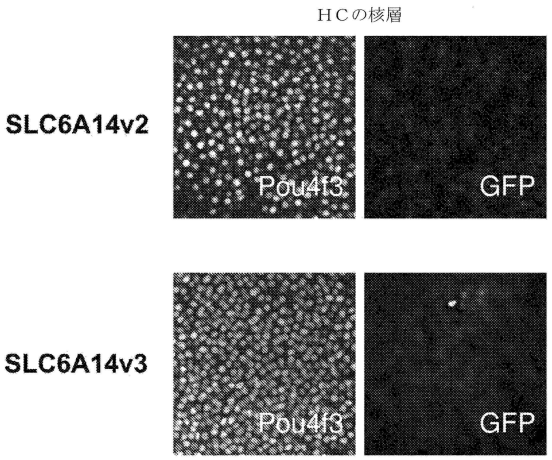
【０１９２】
Ｅ４９．　前記核酸ベクターまたは前記組成物は、局所的に投与される、Ｅ３０～Ｅ４８のいずれか１項に記載の方法。
Ｅ５０．　前記核酸ベクターまたは前記組成物は、半規管に投与される、Ｅ４９に記載の方法。
【０１９３】
Ｅ５１．　前記核酸ベクターまたは前記組成物は、経鼓膜的または鼓室内的に投与される、Ｅ４９に記載の方法。
Ｅ５２．　前記核酸ベクターまたは前記組成物は、外リンパに投与される、Ｅ４９に記載の方法。
【０１９４】
Ｅ５３．　前記核酸ベクターまたは前記組成物は、内リンパに投与される、Ｅ４９に記載の方法。
Ｅ５４．　前記核酸ベクターまたは前記組成物は、卵円窓に、または卵円窓を通して投与される、Ｅ４９に記載の方法。
【０１９５】
Ｅ５５．　前記核酸ベクターまたは前記組成物は、正円窓に、または正円窓を通して投与される、Ｅ４９に記載の方法。
Ｅ５６．　前記核酸ベクターまたは前記組成物は、前庭機能障害を予防または軽減するか、前庭機能障害の発症を遅らせるか、前庭機能障害の進行を遅らせるか、前庭機能を改善させるか、前庭有毛細胞数を増加させるか、前庭有毛細胞成熟（例えば、再生した有毛細胞の成熟）を向上させるか、前庭有毛細胞増殖を増加させるか、前庭有毛細胞再生を向上させるか、前庭有毛細胞神経支配を向上させるか、ＶＳＣ増殖を増加させるか、ＶＳＣ数を増加させるか、ＶＳＣ生存を増加させるか、前庭有毛細胞生存を増加させるか、またはＶＳＣ機能を改善させるのに十分な量で投与される、Ｅ３０～Ｅ５５のいずれか１項に記載の方法。
【０１９６】
Ｅ５７．　前記対象は、ヒトである、Ｅ３０～Ｅ５６のいずれか１項に記載の方法。
Ｅ５８．　Ｅ１～Ｅ１６のいずれか１項に記載の核酸ベクター、またはＥ１７もしくはＥ１８に記載の組成物を含む、キット。
【０１９７】
その他の実施形態
本明細書に記載する本発明の様々な改変及び変形が、本発明の範囲及び精神から逸脱することなく、当業者には明らかであろう。本発明を特定の実施形態に関連して記載したが、請求される本発明は、そのような特定の実施形態に必要以上に限定されるべきではないことを理解すべきである。実際に、当業者には明らかである本発明を実施するために記載する様式の様々な改変は、本発明の範囲内であることが意図される。他の実施形態は、特許請求の範囲に見出される。

【図面】

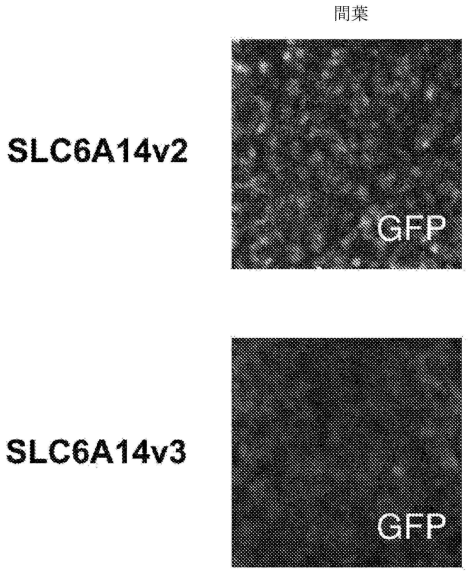
【図１Ａ】



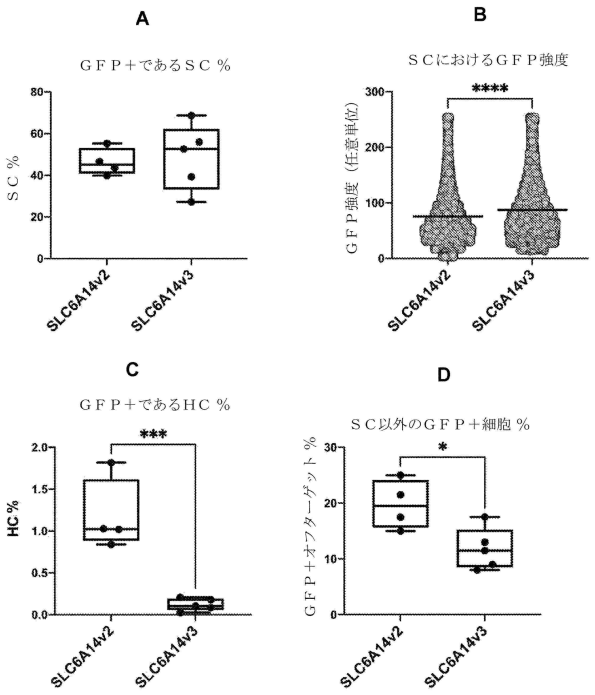
【図１Ｂ】



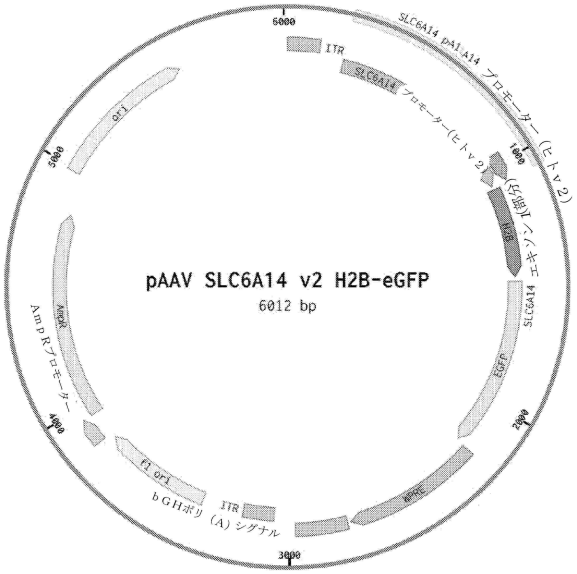
【図１Ｃ】



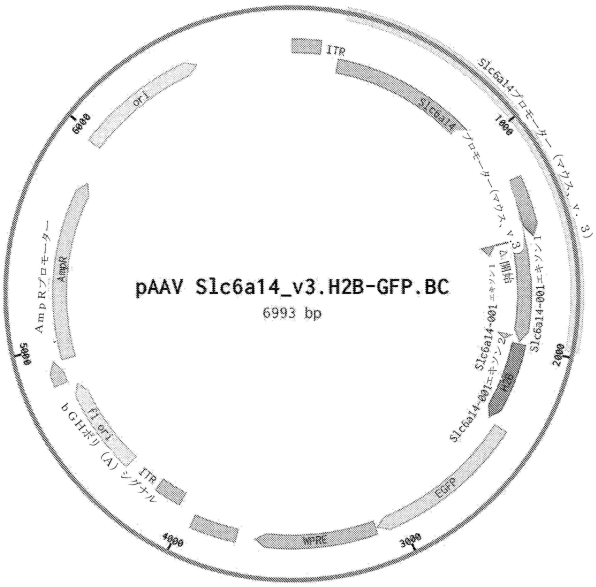
【図２】



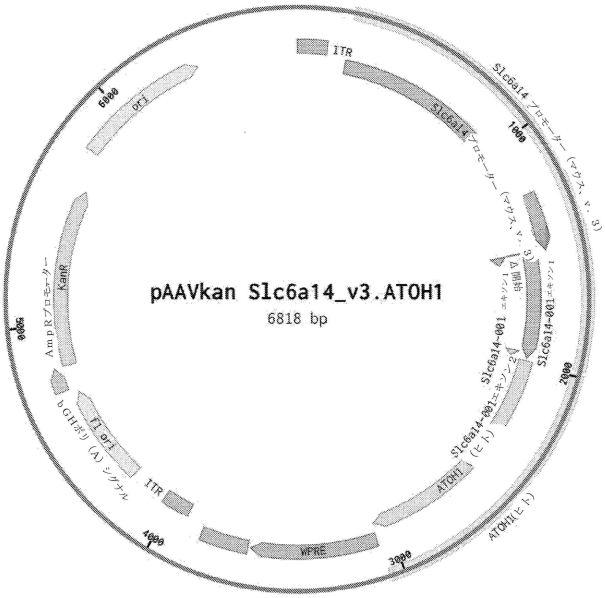
【図３】


pAAV SLC6A14 v2 H2B-eGFP
6012 bp
ITR
SLC6A14 プロモーター（ヒト v 2）
H2B
SLC6A14
EGFP
WPRE
bGH ポリ (A) シグナル
f1 ori
KanR
Amp R プロモーター
ori

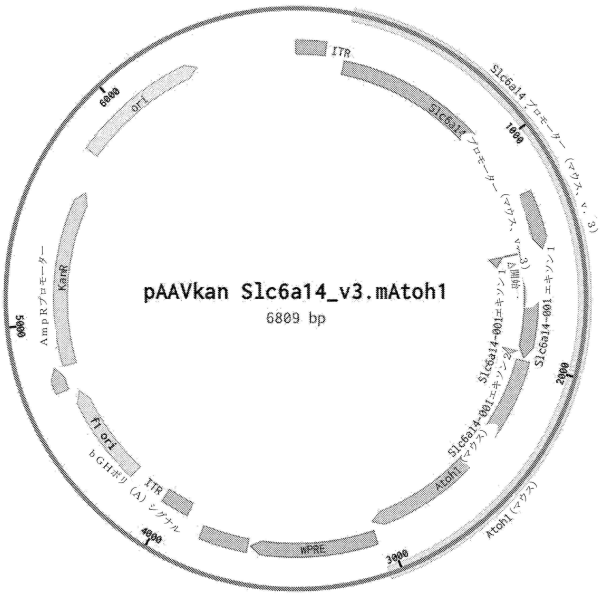
【図４】


pAAV Slc6a14_v3.H2B-GFP.BC
6993 bp
ITR
Slc6a14 プロモーター（マウス、v. 3）
Slc6a14
H2B
Slc6a14-001
EGFP
WPRE
bGH ポリ (A) シグナル
f1 ori
AmpR
Amp R プロモーター
ori

【図５】


pAAVkan Slc6a14_v3.ATOH1
6818 bp
ITR
Slc6a14 プロモーター（マウス、v. 3）
Slc6a14
Slc6a14-001
ATOH1
WPRE
bGH ポリ (A) シグナル
f1 ori
KanR
Amp R プロモーター
ori

【図６】


pAAVkan Slc6a14_v3.mAtoh1
6809 bp
ITR
Slc6a14 プロモーター（マウス、v. 3）
Slc6a14
Slc6a14-001
Atoh1
WPRE
bGH ポリ (A) シグナル
f1 ori
KanR
Amp R プロモーター
ori

【配列表】
20245172500000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US22/27679

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC - INV. C12N 15/64; C12N 15/79; C12N 15/86 (2022.01)
ADD. A61K 35/30; A61P 25/00; C12N 15/85 (2022.01)
CPC - INV. C12N 15/64; C12N 15/79; C12N 15/86
ADD. A61K 35/30; A61P 25/00; C12N 15/85; C12N 2750/14143; C12N 2830/008
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
See Search History document

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched
See Search History document

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
See Search History document

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	US 2014/0024663 A1 (GEORGIA HEALTH SCIENCE UNIV RES INST INC et. al) 23 January 2014; paragraph [0022] [0060] [0112]; FIG. 2C	1-4
Y	GENBANK. "Mus musculus targeted KO-first, conditional ready, lacZ-tagged mutant allele Slc6a14:tm1a(KOMP)Wtsi; transgenic." 1-11. ACCESSION: JN955487. Online. 05 November 2011; [retrieved 04 August 2022]. Retrieved from the Internet: <URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/JN955487.1?report=genbank&log$=nuclalign&blast_rank=1&RID=ESC6FZD9114>; pages 1-11	1-4
Y	GENBANK. "Mouse DNA sequence from clone RP23-99K18 on chromosome X, complete sequence" 1-32. ACCESSION: AL807250. Online. 13 December 2012; [retrieved 04 August 2022]. Retrieved from the Internet: <URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/AL807250.9?report=genbank&log$=nuclalign&blast_rank=1&RID=ESCCVBRR114>; pages 1-32	2, 3/2, 4/3/2
Y	GENBANK. "Mus musculus targeted non-conditional, lacz-tagged mutant allele Slc6a14:tm1e(KOMP)Wtsi; transgenic." 1-11. ACCESSION: JN957494. Online. 05 November 2011; [retrieved 04 August 2022]. Retrieved from the Internet: <URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/JN957494>; pages 1-11	2, 3/2, 4/3/2
A	SIKDER. "SLC6A14, a Na+/Cl−-coupled amino acid transporter, functions as a tumor promoter in colon and is a target for Wnt signaling Mohd O." 1409–1425. Biochemical Journal. Web. 23 April 2020; [retrieved 04 August 2022]. Retrieved from the Internet: <URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/JN957494.1?report=genbank&log$=nuclalign&blast_rank=1&RID=ESC4WPTF114&from=4747&to=6440>; pages 1-11;	1-4

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ 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
"D" document cited by the applicant in the international application
"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	Date of mailing of the international search report
04 August 2022 (04.08.2022)	SEP 29 2022
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. 571-273-8300	Authorized officer Shane Thomas Telephone No. PCT Helpdesk: 571-272-4300

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 2019)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US22/27679

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
	DOI: https://doi.org/10.1042/BCJ20200099	

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (July 2019)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US22/27679

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 13*ter*.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 13*ter*.1(a)).

      ☐ on paper or in the form of an image file (Rule 13*ter*.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/US22/27679

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.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

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.: 5-20
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.

2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.

3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.

☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

フロントページの続き

(51)国際特許分類		FI		テーマコード（参考）
Ｃ１２Ｎ	*5/10 (2006.01)*	Ｃ１２Ｎ	5/10	
Ｃ１２Ｎ	*5/071(2010.01)*	Ｃ１２Ｎ	5/071	
Ａ６１Ｋ	*48/00 (2006.01)*	Ａ６１Ｋ	48/00	
Ａ６１Ｐ	*27/16 (2006.01)*	Ａ６１Ｐ	27/16	
Ａ６１Ｋ	*35/76 (2015.01)*	Ａ６１Ｋ	35/76	
Ａ６１Ｋ	*38/17 (2006.01)*	Ａ６１Ｋ	38/17	

MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,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,IQ,IR,IS,IT,JM,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

弁理士　中村 美樹

(72)発明者　バーンズ、ジョセフ
アメリカ合衆国 ０２２１５ マサチューセッツ州 ボストン ボイルストン ストリート １３２５ スイート ５００

(72)発明者　ギブソン、タイラー
アメリカ合衆国 ０２２１５ マサチューセッツ州 ボストン ボイルストン ストリート １３２５ スイート ５００

(72)発明者　プレーゲルニッヒ、ガブリエラ
アメリカ合衆国 ０２２１５ マサチューセッツ州 ボストン ボイルストン ストリート １３２５ スイート ５００

(72)発明者　ソー、キャシー
アメリカ合衆国 ０２２１５ マサチューセッツ州 ボストン ボイルストン ストリート １３２５ スイート ５００

Ｆターム（参考）　4B065　AA93X AB01 AC14 BA02 CA24 CA44
4C084　AA02 AA13 BA44 CA53 MA66 NA14 ZA341 ZA342
4C087　AA01 AA02 CA12 MA66 NA14 ZA34