(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)公表番号
特表2025-507958
(P2025-507958A)
(43)公表日　令和7年3月21日(2025.3.21)

(51)国際特許分類		FI			テーマコード（参考）
Ｃ１２Ｎ	*15/113 (2010.01)*	Ｃ１２Ｎ	15/113	Ｚ ＺＮＡ	４Ｂ０６５
Ｃ１２Ｎ	*15/63 (2006.01)*	Ｃ１２Ｎ	15/63	Ｚ	４Ｃ０８４
Ｃ１２Ｎ	*15/864 (2006.01)*	Ｃ１２Ｎ	15/864	１００Ｚ	４Ｃ０８６
Ｃ１２Ｎ	*1/15 (2006.01)*	Ｃ１２Ｎ	1/15		４Ｃ０８７
Ｃ１２Ｎ	*1/13 (2006.01)*	Ｃ１２Ｎ	1/13		

審査請求　未請求　予備審査請求　未請求　（全118頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2024-552401(P2024-552401)
(86)(22)出願日　令和5年3月6日(2023.3.6)
(85)翻訳文提出日　令和6年11月1日(2024.11.1)
(86)国際出願番号　PCT/US2023/063798
(87)国際公開番号　WO2023/168458
(87)国際公開日　令和5年9月7日(2023.9.7)
(31)優先権主張番号　63/316,659
(32)優先日　令和4年3月4日(2022.3.4)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(31)優先権主張番号　63/379,983
(32)優先日　令和4年10月18日(2022.10.18)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(81)指定国・地域　AP(BW,CV,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ
最終頁に続く

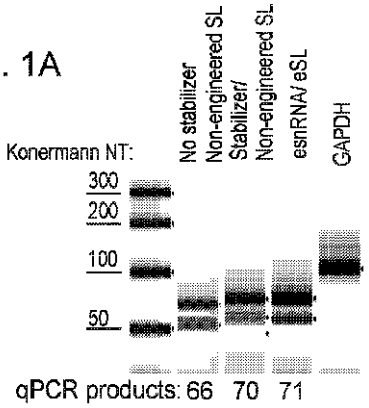
(71)出願人　520481046
ロックアネイビオ， インコーポレイテッド
アメリカ合衆国 カリフォルニア ９２１２１， サンディエゴ， ジョン ホプキンズ コート ３５４５， スイート ２００
(74)代理人　100078282
弁理士　山本 秀策
(74)代理人　100113413
弁理士　森下 夏樹
(74)代理人　100181674
弁理士　飯田 貴敏
(74)代理人　100181641
弁理士　石川 大輔
(74)代理人　230113332

最終頁に続く

(54)【発明の名称】　操作された核内低分子ＲＮＡ（ｓｎＲＮＡ）を含む組成物および方法

(57)【要約】
操作されたステムループを含むｓｎＲＮＡ系が本明細書に開示される。本開示は、操作されたｓｎＲＮＡステムループ（ｅＳＬ）を含む操作されたｓｎＲＮＡ（ｅｓｎＲＮＡ）で構成される新たな治療用ＲＮＡ標的化プラットフォームを含む遺伝子治療用組成物を提供する。核酸分子を含む組成物、および操作されたｓｎＲＮＡ（ｅｓｎＲＮＡ）を含むベクターが、本明細書に開示される。操作されたｓｎＲＮＡ（ｅｓｎＲＮＡ）系を含むＲＮＡ標的化核酸分子であって、ｅｓｎＲＮＡ系が、操作されたステムループ（ｅＳＬ）を含む、ＲＮＡ標的化核酸分子が、本明細書に開示される。

FIG. 1A



【特許請求の範囲】
【請求項１】
操作されたｓｎＲＮＡ　ｅｓｎＲＮＡを含むＲＮＡ標的化核酸分子であって、前記ｅｓｎＲＮＡ系が、配列番号１～配列番号１１、配列番号１４６～配列番号１４８、配列番号１６３、または配列番号１８６～２０５から選択される１つまたは複数の核酸配列を含む操作されたステムループ（ｅＳＬ）を含む、ＲＮＡ標的化核酸分子。
【請求項２】
前記ｅｓｎＲＮＡが、目的の標的ＲＮＡを標的とする標的化配列（ＴＳ）を含む、請求項１に記載のＲＮＡ標的化核酸分子。
【請求項３】
前記標的ＲＮＡが、プレｍＲＮＡまたはｍＲＮＡ配列である、請求項２に記載のＲＮＡ標的化核酸分子。
【請求項４】
目的の前記標的ＲＮＡが、マイクロサテライトリピートＲＮＡである、請求項２に記載のＲＮＡ標的化核酸分子。
【請求項５】
前記マイクロサテライトリピートＲＮＡが、ＣＵＧ、ＣＡＧ、およびＧＧＧＧＣＣ＋ＣＣＣＧＧからなる群から選択される、請求項４に記載のＲＮＡ標的化核酸分子。
【請求項６】
前記標的ＲＮＡが、ＤＭＤをコードする配列である、請求項２に記載のＲＮＡ標的化核酸分子。
【請求項７】
前記標的化配列が、配列番号２０６または配列番号２０７から選択される、請求項６に記載のＲＮＡ標的化核酸分子。
【請求項８】
前記標的化配列が、配列番号２０８～配列番号２２７で示される１つまたは複数の核酸配列を含む、請求項６に記載のＲＮＡ標的化核酸分子。
【請求項９】
前記ｅｓｎＲＮＡが、目的の２つのＲＮＡを標的とする２つの標的化配列を含む、請求項１に記載のＲＮＡ標的化核酸分子。
【請求項１０】
前記２つのＴＳが、融合配列である、請求項９に記載のＲＮＡ標的化核酸分子。
【請求項１１】
前記ｅｓｎＲＮＡが、Ｕ１、Ｕ２、Ｕ４およびＵ５　ＳｍＢＤからなる群から選択されるＳｍ結合ドメイン（ＳｍＢＤ）を含む、請求項１に記載のＲＮＡ標的化核酸分子。
【請求項１２】
前記ＳｍＢＤが、配列番号３１～配列番号３８、または配列番号１６４のいずれか１つで示される核酸配列を含む、請求項１１に記載のＲＮＡ標的化核酸分子。
【請求項１３】
前記ｅｓｎＲＮＡが、配列番号１２～配列番号２３のいずれか１つから選択されるヌクレオチド配列を含む５’相互作用スタビライザードメイン（５’ＩＳＤ）を含む、請求項１に記載のＲＮＡ標的化核酸分子。
【請求項１４】
前記ｅｓｎＲＮＡが、配列番号６５～配列番号１１９または配列番号１７９～配列番号１８５のいずれか１つで示される核酸配列を含む、請求項１に記載のＲＮＡ標的化核酸。
【請求項１５】
請求項１に記載の１つまたは複数のｅｓｎＲＮＡを含むベクター。
【請求項１６】
前記ウイルスベクターが、ＡＡＶベクターである、請求項１５に記載のベクター。
【請求項１７】

前記ｓｎＲＮＡが、プロモーターに作動可能に連結されている、請求項１６に記載のＡＡＶベクター。
【請求項１８】
前記ｓｎＲＮＡが、Ｕ７プロモーターまたは Ｕ１プロモーターに作動可能に連結されている、請求項１６に記載のＡＡＶベクター。
【請求項１９】
前記ｓｎＲＮＡが、下流ターミネーター（ＤＴ）に作動可能に連結されている、請求項６に記載のＡＡＶベクター。
【請求項２０】
前記ｓｎＲＮＡが、Ｕ７下流ターミネーターまたはＵ１下流ターミネーターに作動可能に連結されている、請求項１６に記載のＡＡＶベクター。
【請求項２１】
前記ベクターが、少なくとも１つ、少なくとも２つ、少なくとも３つ、少なくとも４つ、または少なくとも５つのｅｓｎＲＮＡを含む、請求項１６に記載のＡＡＶベクター。
【請求項２２】
前記少なくとも１つ、少なくとも２つ、少なくとも３つ、少なくとも４つ、または少なくとも５つのｅｓｎＲＮＡ各々が、同じ標的ＲＮＡ配列を標的とする、請求項２１に記載のＡＡＶベクター。
【請求項２３】
前記少なくとも１つ、少なくとも２つ、少なくとも３つ、少なくとも４つ、または少なくとも５つのｅｓｎＲＮＡが、２つまたはそれより多くの標的ＲＮＡ配列を標的とする、請求項２１に記載のＡＡＶベクター。
【請求項２４】
各ｅｓｎＲＮＡが、バッファー配列によって分離されている、請求項２１に記載のＡＡＶベクター。
【請求項２５】
前記バッファー配列が、配列番号２４～配列番号３０のいずれか１つで示される核酸配列を含む、請求項２４に記載のＡＡＶベクター。
【請求項２６】
前記ベクターが、配列番号１２３～配列番号１４３、配列番号１６８～配列番号１７８、または配列番号２３１～配列番号２３３のいずれか１つで示される核酸配列を含む、請求項２０に記載のＡＡＶベクター。
【請求項２７】
目的の１つまたは複数の標的ＲＮＡを標的とし、前記１つまたは複数の標的ＲＮＡを遮断、ノックダウン、編集、エクソンスキッピングまたはスプライシングする方法であって、請求項１に記載のｅｓｎＲＮＡを、前記１つまたは複数の標的ＲＮＡを含む細胞と接触させるステップを含む方法。
【請求項２８】
配列番号２０６～配列番号２３０のいずれか１つで示されるスペーサー配列を含む、ＤＭＤエクソン５１ＲＮＡ標的化核酸分子。
【請求項２９】
対象における疾患または障害を処置する方法であって、請求項１に記載のＲＮＡ標的化核酸分子または請求項１５に記載のＡＡＶベクターを投与するステップを含む方法。
【請求項３０】
前記疾患または障害が、毒性リピートＲＮＡ配列に関連する、請求項２９に記載の方法。
【請求項３１】
前記毒性リピートＲＮＡ配列が、ＣＡＧ、ＣＵＧ、ＧＧＣＣＣＣ、ＣＣＧＧＧ、またはＧＧＣＣＣ＋ＣＣＧＧＧＧ　ＲＮＡリピートである、請求項２９に記載の方法。
【請求項３２】

前記疾患または障害が、筋強直性ジストロフィー（ＤＭ１）またはハンチントン病（ＨＤ）である、請求項２９に記載の方法。
【請求項３３】
前記疾患または障害が、デュシェンヌ型筋ジストロフィーである、請求項２９に記載の方法。
【請求項３４】
前記ＲＮＡ標的化核酸分子またはＡＡＶベクターが、ジストロフィン（ＤＭＤ）をコードするＲＮＡ配列を標的とする、請求項３３に記載の方法。
【請求項３５】
ＤＭＤをコードする前記ＲＮＡ配列が、イントロンまたはエクソン配列を含む、請求項３４に記載の方法。
【請求項３６】
前記エクソン配列が、ＤＭＤのエクソン５１またはそのフランキング領域を含む、請求項３５に記載の方法。
【請求項３７】
前記投与が、静脈内、筋肉内、軟膜下、髄腔内、実質内、髄腔内、線条体内、皮下、皮内、腹腔内、腫瘍内、静脈内、眼内および／または非経口投与である、請求項２９に記載の方法。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
電子形式の配列表への言及
電子形式の配列表（ＬＯＣＮ＿０２０＿００１ＷＯ＿ＳｅｑＬｉｓｔ＿ＳＴ２６．ｘｍｌ；サイズ：２８９，７７６バイト；および作成日：２０２３年３月６日）の内容は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。
【０００２】
関連出願
本出願は、２０２２年３月４日に出願した米国特許仮出願第６３／３１６，６５９号および２０２２年１０月１８日に出願した米国特許仮出願第６３／３７９，９８３号の優先権および利益を主張するものである。これらの出願の各々の内容は、それら全体が参照により本明細書に組み込まれる。
【０００３】
開示の分野
本開示は、分子生物学、遺伝子治療、ならびにＲＮＡ分子の発現および活性を改変するための組成物および方法を対象とする。
【背景技術】
【０００４】
背景
機能不全のメッセンジャーＲＮＡを修正するための有効な治療を提供することについて長年にわたるが満たされていない必要性が当技術分野において存在する。
【０００５】
核内低分子ＲＮＡ（ｓｎＲＮＡ）は、平均サイズが約１５０ヌクレオチドであるＲＮＡの最小タイプの１つである。ｓｎＲＮＡは、機能性非コードＲＮＡである。真核生物のゲノムは、核内に局在してイントロンスプライシングおよびＲＮＡプロセシングにおいて重要な機能を果たす非常に存在量の多いＲＮＡの１クラスであるｓｎＲＮＡなどの、様々な非コードＲＮＡをコードする。ｓｎＲＮＡは、プレｍＲＮＡスプライシングプロセスにおいて、他のタンパク質とともにリボ核タンパク質粒子（ｓｎＲＮＰ）を形成することができる。これらのｓｎＲＮＰと追加のタンパク質は、スプライシングされていないプレｍＲＮＡ転写物に結合された大きい粒子状複合体（スプライソソーム）を形成する。スプライシングに加えて、ｓｎＲＮＡは、新生転写物の核成熟、遺伝子発現調節において、非標準

系においてスプライスドナーとして、および複製依存性ヒストンｍＲＮＡの３’末端プロセシングにおいて機能する。外因性タンパク質発現なしにｍＲＮＡに結合してそれをモジュレートするようにＵ７　ｓｎＲＮＡをプログラムすることができるが、免疫原性リスクを最小限に抑える高特異的なｍＲＮＡ標的化治療薬を開発する必要性が依然として存在する。さらに、これらのプログラムされたｓｎＲＮＡの小さいサイズは、単一ベクター、高特異的（対立遺伝子特異的）、単一標的および多標的化遺伝子治療アプローチを開発する機会を生み出す。

【０００６】

それに基づいて、本開示は、操作されたｓｎＲＮＡで構成される新たな治療用ＲＮＡ標的化プラットフォームを含む組成物および方法を提供する。

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【０００７】

概要

本開示は、操作されたｓｎＲＮＡステムループ（ｅＳＬ）を含む操作されたｓｎＲＮＡ（ｅｓｎＲＮＡ）で構成される新たな治療用ＲＮＡ標的化プラットフォームを含む遺伝子治療用組成物を提供する。

【０００８】

核酸分子を含む組成物、および操作されたｓｎＲＮＡ（ｅｓｎＲＮＡ）を含むベクターが、本明細書に開示される。

【０００９】

操作されたｓｎＲＮＡ（ｅｓｎＲＮＡ）系を含むＲＮＡ標的化核酸分子であって、ｅｓｎＲＮＡ系が、操作されたステムループ（ｅＳＬ）を含む、ＲＮＡ標的化核酸分子が、本明細書に開示される。

【００１０】

一実施形態では、ｅｓｎＲＮＡは、５’相互作用スタビライザードメイン（５’ＩＳＤ）を含む。

【００１１】

一実施形態では、ｅｓｎＲＮＡは、目的のＲＮＡを標的とする標的化配列（ＴＳ）（またはスペーサー）を含む。別の実施形態では、目的の標的ＲＮＡは、マイクロサテライトリピートＲＮＡまたは非リピートＲＮＡである。別の実施形態では、目的のマイクロサテライトリピートＲＮＡは、ＣＵＧ、ＣＡＧ、ＧＧＧＧＣＣ、およびＣＣＣＣＧＧからなる群から選択される。一実施形態では、ｅｓｎＲＮＡは、ＧＧＧＧＣＣおよびＣＣＣＣＧＧである目的の２つの標的ＲＮＡを標的とする標的化配列（ＴＳ）を含む。別の実施形態では、目的の２つの標的ＲＮＡは、マイクロサテライトリピートＲＮＡおよび非リピートＲＮＡである。別の実施形態では、非リピートＲＮＡは、マイクロサテライトリピートＲＮＡのフランキング配列である。別の実施形態では、ｅｓｎＲＮＡは、目的の２つまたはそれより多くのＲＮＡを標的とする標的化配列（ＴＳ）を含む。別の実施形態では、ｅｓｎＲＮＡは、目的の２つまたはそれより多くのＲＮＡを標的とする２つまたはそれより多くの標的化配列（ＴＳ）を含む。別の実施形態では、ｅｓｎＲＮＡは、２つまたはそれより多くのＴＳの融合体を含む。

【００１２】

一実施形態では、ｅｓｎＲＮＡは、Ｓｍ結合ドメイン（ＳｍＢＤ）を含む。一実施形態では、ＳｍＢＤは、Ｕ１、Ｕ２、Ｕ４およびＵ５　ＳｎＲＮＡからなる群から選択される。別の実施形態では、ＳｍＢＤは、シュードｓｎＲＮＡに由来する。

【００１３】

一実施形態では、ｅｓｎＲＮＡは、ｓｎＲＮＡプロモーターに作動可能に連結されている。別の実施形態では、ｓｎＲＮＡプロモーターは、Ｕ７プロモーターである。別の実施形態では、Ｕ７プロモーターは、内在性Ｕ７プロモーターである。別の実施形態では、Ｕ７プロモーターは、ヒトＵ７プロモーター（ｈＵ７）またはマウスＵ７プロモーター（ｍ

Ｕ７）である。別の実施形態では、Ｕ７プロモーターは、配列番号４３の内在性ヒトＵ７プロモーターである。一実施形態では、ｓｎＲＮＡプロモーターは、Ｕ１プロモーターである。別の実施形態では、Ｕ１プロモーターは、ヒトＵ１プロモーターまたはマウスＵ１プロモーターである。別の実施形態では、ｓｎＲＮＡプロモーターは、ヒトＵ７プロモーター、ヒトＵ１プロモーター、ヒトＵ２プロモーター、ヒトＵ４プロモーター、ヒトＵ５プロモーター、ヒトＵ６プロモーター、ヒト７ｓｋプロモーター、ｔＲＮＡ（Ｖａｌ）プロモーター、マウスＵ１プロモーター、およびマウスＵ７プロモーターからなる群から選択される。別の実施形態では、ベクターは、１つもしくは複数のｅｓｎＲＮＡ、または１つもしくは複数のｓｎＲＮＡプロモーターにより駆動されるｅｓｎＲＮＡの１つもしくは複数のコピーを含む。一実施形態では、ベクターは、ｅｓｎＲＮＡの２つのコピー（２×）を含む。一実施形態では、ベクターは、２つのｓｎＲＮＡプロモーターを含み、各プロモーターは、２×ｅｓｎＲＮＡのコピーを駆動する。別の実施形態では、２つのｓｎＲＮＡプロモーターは、Ｕ７プロモーターおよびプロモーターである。別の実施形態では、２つのｓｎＲＮＡプロモーターは、ヒトＵ７プロモーター、ヒトＵ１プロモーター、ヒトＵ２プロモーター、ヒトＵ４プロモーター、ヒトＵ５プロモーター、ヒトＵ６プロモーター、ヒト７ｓｋプロモーター、ｔＲＮＡ（Ｖａｌ）プロモーター、マウスＵ１プロモーター、マウスＵ２プロモーター、マウスＵ５プロモーター、マウスＵ６プロモーター、マウスＵ７プロモーター、およびマウスＨ１プロモーターからなる群から選択される。別の実施形態では、２つのｓｎＲＮＡプロモーターは、マウスＵ７プロモーターおよびマウスＵ１プロモーターである。

【００１４】

一実施形態では、ｅｓｎＲＮＡは、ｓｎＲＮＡ下流ターミネーター（ＤＴ）に作動可能に連結されている。別の実施形態では、ｓｎＲＮＡ　ＤＴは、Ｕ７　ＤＴである。

【００１５】

一実施形態では、ｅｓｎＲＮＡは、ｅＳＬ、Ｕ７プロモーター、ＴＳ、ＳｍＢＤ、５’ＩＳＤ、およびＤＴを含む。別の実施形態では、ｅｓｎＲＮＡは、ｅＳＬ、Ｕ７プロモーター、Ｕ１プロモーター、ＴＳ、ＳｍＢＤ、５’ＩＳＤ、およびＤＴを含む。

【００１６】

【００１７】

一実施形態では、ｅｓｎＲＮＡは、ｅＳＬ、Ｕ７プロモーター、ＴＳ、ＳｍＢＤ、５’ＩＳＤ、およびＤＴを含む。別の実施形態では、ｅｓｎＲＮＡは、ｅＳＬ、Ｕ７プロモーター、Ｕ１プロモーター、ＴＳ、ＳｍＢＤ、５’ＩＳＤ、およびＤＴを含む。

【００１８】

ｅｓｎＲＮＡを含むベクターも、本明細書に開示される。一部の実施形態では、ベクターは、ｅｓｎＲＮＡの複数のコピーを含む。一部の実施形態では、ｅｓｎＲＮＡの複数のコピーは、ｅｓｎＲＮＡの２つ、３つまたは４つのコピー（２×、３×または４×）である。一部の実施形態では、ｅｓｎＲＮＡの複数のコピーは、ｅｓｎＲＮＡの４つまたはそれより多くのコピー（４×またはそれより多い）である。一部の実施形態では、ｅｓｎＲＮＡの複数のコピーの各ｅｓｎＲＮＡは、ｓｎＲＮＡの下流のヒト非コードゲノム配列に由来する核酸バッファー配列によって分離されている。一実施形態では、バッファー配列は、Ｕ７の下流のヒトゲノム配列に由来する。一実施形態では、バッファー配列は、バッファー１（３０ｂｐ、１００ｂｐ、または５００ｂｐ）、バッファー２（３０ｂｐ、１００ｂｐ、または５００ｂｐ）、バッファー３（３０ｂｐ、１００ｂｐ、または５００ｂｐ）、およびこれらの組合せからなる群から選択される。一実施形態では、ベクターは、ウイルスベクターまたは非ウイルスベクターである。別の実施形態では、ウイルスベクターは、ＡＡＶベクターである。別の実施形態では、ＡＡＶベクターは、ｓｃＡＡＶベクターまたはｓｓＡＡＶベクターである。別の実施形態では、ＡＡＶベクターは、ＡＡＶ９ベクターである。別の実施形態では、ＡＡＶ９ベクターは、ｓｓＡＡＶ９ベクターまたはｓｃＡＡＶ９ベクターである。

【００１９】

目的の１つまたは複数の標的ＲＮＡを標的とし、１つもしくは複数の標的ＲＮＡを遮断する、ノックダウンする、編集する、エクソンスキッピングする、エクソン包含またはスプライシングする方法であって、本開示のｅｓｎＲＮＡを、１つまたは複数の標的ＲＮＡを含む細胞と接触させるステップを含む方法も、本明細書に開示される。

【００２０】

本開示は、操作されたｓｎＲＮＡ　ｅｓｎＲＮＡを含むＲＮＡ標的化核酸分子であって、ｅｓｎＲＮＡ系は、配列番号１～配列番号１１、配列番号１４６～配列番号１４８、配列番号１６３、または配列番号１８６～２０５から選択される１つまたは複数の核酸配列を含む操作されたステムループ（ｅＳＬ）を含む、ＲＮＡ標的化核酸分子を提供する。

【００２１】

一部の実施形態では、ｅｓｎＲＮＡは、目的の標的ＲＮＡを標的とする標的化配列（ＴＳ）を含む。

【００２２】

一部の実施形態では、標的ＲＮＡは、プレｍＲＮＡまたはｍＲＮＡ配列である。一部の実施形態では、目的の標的ＲＮＡは、マイクロサテライトリピートＲＮＡである。一部の実施形態では、マイクロサテライトリピートＲＮＡは、ＣＵＧ、ＣＡＧ、およびＧＧＧＧＣＣ＋ＣＣＣＣＧＧからなる群から選択される。

【００２３】

一部の実施形態では、標的ＲＮＡは、ＤＭＤをコードする配列である。一部の実施形態では、標的化配列は、配列番号２０６または配列番号２０７から選択される。一部の実施形態では、標的化配列は、配列番号２０８～配列番号２２７で示される１つまたは複数の核酸配列を含む。

【００２４】

一部の実施形態では、ｅｓｎＲＮＡは、目的の２つのＲＮＡを標的とする２つの標的化配列を含む。一部の実施形態では、２つのＴＳは、融合配列である。

【００２５】

一部の実施形態では、ｅｓｎＲＮＡは、Ｕ１、Ｕ２、Ｕ４およびＵ５　ＳｍＢＤからなる群から選択されるＳｍ結合ドメイン（ＳｍＢＤ）を含む。

【００２６】

一部の実施形態では、ＳｍＢＤは、配列番号３１～配列番号３８、または配列番号１６４のいずれか１つで示される核酸配列を含む。

【００２７】

一部の実施形態では、ｅｓｎＲＮＡは、配列番号１２～配列番号２３のいずれか１つから選択されるヌクレオチド配列を含む５’相互作用スタビライザードメイン（５’ＩＳＤ）を含む。

【００２８】

一部の実施形態では、ｅｓｎＲＮＡは、配列番号６５～配列番号１１９または配列番号１７９～配列番号１８５のいずれか１つで示される核酸配列を含む。

【００２９】

本開示は、本開示の１つまたは複数のｅｓｎＲＮＡを含むベクターを提供する。一部の実施形態では、ウイルスベクターは、ＡＡＶベクターである。一部の実施形態では、ｅｓｎＲＮＡは、プロモーターに作動可能に連結されている。

【００３０】

一部の実施形態では、ｅｓｎＲＮＡは、Ｕ７プロモーターまたはＵ１プロモーターに作動可能に連結されている。

【００３１】

一部の実施形態では、ｅｓｎＲＮＡは、下流ターミネーター（ＤＴ）に作動可能に連結されている。一部の実施形態では、ｅｓｎＲＮＡは、Ｕ７下流ターミネーターまたはＵ１下流ターミネーターに作動可能に連結されている。

【００３２】

一部の実施形態では、ベクターは、少なくとも１つ、少なくとも２つ、少なくとも３つ、少なくとも４つ、または少なくとも５つのｅｓｎＲＮＡを含む。一部の実施形態では、少なくとも１つ、少なくとも２つ、少なくとも３つ、少なくとも４つ、または少なくとも５つのｅｓｎＲＮＡ各々は、同じ標的ＲＮＡ配列を標的とする。

【００３３】

一部の実施形態では、少なくとも１つ、少なくとも２つ、少なくとも３つ、少なくとも４つ、または少なくとも５つのｅｓｎＲＮＡは、２つまたはそれより多くの標的ＲＮＡ配列を標的とする。一部の実施形態では、各ｅｓｎＲＮＡは、バッファー配列によって分離されている。一部の実施形態では、バッファー配列は、配列番号２４～配列番号３０のいずれか１つで示される核酸配列を含む。

【００３４】

一部の実施形態では、ベクターは、配列番号１２３～配列番号１４３、配列番号１６８～配列番号１７８、または配列番号２３１～配列番号２３３のいずれか１つで示される核酸配列を含む。

【００３５】

配列番号２０６～配列番号２３０のいずれか１つで示されるスペーサー配列を含む、ＤＭＤエクソン５１ＲＮＡ標的化核酸分子。

【００３６】

本開示は、対象における疾患または障害を処置する方法であって、本開示のＲＮＡ標的化核酸分子または本開示のＡＡＶベクターを投与するステップを含む方法を提供する。

【００３７】

一部の実施形態では、疾患または障害は、毒性リピートＲＮＡ配列に関連する。一部の実施形態では、毒性リピートＲＮＡ配列は、ＣＡＧ、ＣＵＧ、ＧＧＣＣＣＣ、ＣＣＧＧＧ、またはＧＧＣＣＣ＋ＣＣＧＧＧＧ　ＲＮＡリピートである。

【００３８】

一部の実施形態では、疾患または障害は、筋強直性ジストロフィー（ＤＭ１）またはハンチントン病（ＨＤ）である。

【００３９】

一部の実施形態では、疾患または障害は、デュシェンヌ型筋ジストロフィーである。一部の実施形態では、ＲＮＡ標的化核酸分子またはＡＡＶベクターは、ジストロフィン（ＤＭＤ）をコードするＲＮＡ配列を標的とする。

【００４０】

一部の実施形態では、ＤＭＤをコードするＲＮＡ配列は、イントロンまたはエクソン配列を含む。一部の実施形態では、エクソン配列は、ＤＭＤのエクソン５１またはそのフランキング領域を含む。一部の実施形態では、投与は、投与は、静脈内、筋肉内、軟膜下、髄腔内、実質内、髄腔内、線条体内、皮下、皮内、腹腔内、腫瘍内、静脈内、眼内および／または非経口投与である。

【００４１】

本特許または出願ファイルは、カラーで作製された少なくとも１つの図面を含む。カラーの図面（複数可）を伴う本特許または特許出願公開のコピーは、要請し、必要な料金を支払えば、特許庁により提供される。

【図面の簡単な説明】

【００４２】

【図１】図１Ａは、本明細書に開示されるｅｓｎＲＮＡの安定性の増加を示す操作されたＳＬについての存在量が増加するＰＣＲ産物のテープステーション画像を示す。予測ＰＣＲ産物サイズが画像の下に示されている。図１Ｂは、操作されていないステムループとともに本明細書に開示される操作されたステムループ（ｅＳＬ）を含む操作されたｓｎＲＮＡ（ｅｓｎＲＮＡ）の概略図を例示する。図１Ｃは、相互作用スタビライザードメイン（ＩＳＤ）の使用に先行するｓｎＲＮＡの５’末端を保護するための代替機構を示す。図１Ｄは、ｓｎＲＮＡカセットのおおよそのサイズを示す。

【００４３】
【図２Ａ】図２Ａ～２Ｂは、ＮＴ（非標的化）ｅｓｎＲＮＡと比較して本明細書に開示されるＣＵＧを標的とするｅｓｎＲＮＡのＣＵＧ　ＲＮＡフォーカスのＦＩＳＨ定量および画像を示す。ｙ軸は、ＮＴに対して正規化された１細胞当たりの平均フォーカスパーセンテージを描示し、ｘ軸は、処理を描示する。細胞核をＤＡＰＩで染色し、ＣＵＧ　ＲＮＡフォーカスを特定の標識プローブで標識した。図２Ｃは、ＭＢＬＮを放出するＣＵＧリピート伸長を標的とし、阻止し、ＤＭ１疾患に特有のスプライシング異常を修復する、ｅｓｎＲＮＡ　ＭＯＡの概略図を示す。
【図２Ｂ】図２Ａ～２Ｂは、ＮＴ（非標的化）ｅｓｎＲＮＡと比較して本明細書に開示されるＣＵＧを標的とするｅｓｎＲＮＡのＣＵＧ　ＲＮＡフォーカスのＦＩＳＨ定量および画像を示す。ｙ軸は、ＮＴに対して正規化された１細胞当たりの平均フォーカスパーセンテージを描示し、ｘ軸は、処理を描示する。細胞核をＤＡＰＩで染色し、ＣＵＧ　ＲＮＡフォーカスを特定の標識プローブで標識した。図２Ｃは、ＭＢＬＮを放出するＣＵＧリピート伸長を標的とし、阻止し、ＤＭ１疾患に特有のスプライシング異常を修復する、ｅｓｎＲＮＡ　ＭＯＡの概略図を示す。
【図２Ｃ】図２Ａ～２Ｂは、ＮＴ（非標的化）ｅｓｎＲＮＡと比較して本明細書に開示されるＣＵＧを標的とするｅｓｎＲＮＡのＣＵＧ　ＲＮＡフォーカスのＦＩＳＨ定量および画像を示す。ｙ軸は、ＮＴに対して正規化された１細胞当たりの平均フォーカスパーセンテージを描示し、ｘ軸は、処理を描示する。細胞核をＤＡＰＩで染色し、ＣＵＧ　ＲＮＡフォーカスを特定の標識プローブで標識した。図２Ｃは、ＭＢＬＮを放出するＣＵＧリピート伸長を標的とし、阻止し、ＤＭ１疾患に特有のスプライシング異常を修復する、ｅｓｎＲＮＡ　ＭＯＡの概略図を示す。
【００４４】
【図３】図３Ａは、ベースラインレベルへのＣＡＧ８０レポーターｍＲＮＡの用量依存的ノックダウンのｑＰＣＲ結果を示す。ｙ軸は、参照遺伝子ＧＡＰＤＨと比べたＣＡＧリピートＲＮＡ発現レベルを描示し、ｘ軸は、ＣＡＧを標的とする（ＣＵＧ１５）または標的としない（ｎｔ）ｓｎＲＮＡ処理（異なる用量２５０ｎｇ、５００ｎｇまたは１０００ｎｇを使用する）を描示する。図３Ｂは、ＣＡＧ８０レポーターポリＱタンパク質発現についてのウェスタンブロットを示す。上のレーンは、ＣＡＧレポーターポリＱ発現を示し、下のレーンは、ＧＡＰＤＨ負荷対照を示す。図３Ｃは、ハンチントン病の変異体ＨＴＴにおけるＣＡＧリピート伸長、およびＣＡＧリピートを遮断するｅｓｎＲＮＡ　ＭＯＡを示す。
【００４５】
【図４】図４Ａは、ｅｓｎＲＮＡでの処理後のＵＳＨ２Ａエクソン１３包含（上のバンド）または排除（下のバンド）を検出するためのＰＣＲ産物のテープステーション画像を示す。図４Ｃは、ＮＴ　ｅｓｎＲＮＡ対照（Ａに示されている）と比較してｅｓｎＲＮＡ処理後のエクソン１３排除のパーセンテージの定量を示す。図４Ｂは、操作されていないｓｎＲＮＡと比較してｅＳＬを含む操作されたｓｎＲＮＡの概略図を示す。図４Ｄは、アッシャー症候群およびＤＭＤ（デュシェンヌ型筋ジストロフィー）におけるスプライシングモジュレーションの概略図を示す。
【００４６】
【図５】図５Ａ～Ｆは、ＤＭ１患者由来の筋管におけるＣＵＧリピートを標的とするｅｓｎＲＮＡでの処理後のＢＩＮ１、ＤＭＤおよびＬＢＤ３のスプライシングアイソフォーム（ＤＭ１患者細胞においてミススプライスされた）の修復についてのＰＣＲ結果を示す。図Ａ～Ｃは、図Ｄ～Ｆに示されているテープステーション画像からの健康なスプライスアイソフォームへの修復パーセンテージの定量を示す。ｙ軸は、修正パーセンテージを描示し、ｘ軸は、処理を描示する（ｋｎｔは、非標的化陰性対照を指し；ＣＡＧｘ１５は、ＣＵＧ標的化ｅｓｎＲＮＡを指し；ｕｎｔは、未処理を指す）。
【００４７】
【図６】図６Ａ～６Ｂは、ＣＵＧ　ＲＮＡフォーカスのノックダウン、ＣＴＧ４８０　Ｈ

ｅＬａ細胞への合成ｓｎＲＮＡのトランスフェクション、続いてのＣＵＧ　ＲＮＡフォーカスについての蛍光ｉｎ　ｓｉｔｕハイブリダイゼーションにおける、代替５’相互作用安定化ドメイン（ＩＳＤ）を有するｅｓｎＲＮＡの有効性の定量を示す。（淡青色＝対応する５’ＩＳＤを有する代替の操作されたステムループ。濃青色＝選択された操作されたステムループおよび対応する５’ＩＳＤ。ｓＲ２２００４＝非標的化ｓｎＲＮＡ）。合成ｓｎＲＮＡを３３ｎＭ（Ａ）または１１ｎＭ（Ｂ）用量でトランスフェクトした。

【００４８】

【図７】図７Ａ～７Ｂは、異なるＩＳＤが様々なレベルの安定性を経時的にもたらすことを示す。図７ＡおよびＢは、代替５’安定化ドメインを有する合成の操作されたｓｎＲＮＡの相対的な存在量を経時的に示す。様々な安定化ドメインを有する合成ｓｎＲＮＡのトランスフェクション後２４時間、４８時間および７２時間の時点でＲＮＡを収集してｓｎＲＮＡの相対的な安定性を決定した。

【００４９】

【図８】図８は、ｓｎＲＮＡが別個のＰｏｌＩＩＩおよびＰｏｌＩＩプロモーターのもとで発現されたときのＣＴＧ４８０　ＨｅＬａ細胞におけるｑＰＣＲによるｓｎＲＮＡ発現レベルを示す。ｙ軸は、ＧＡＰＤＨ参照遺伝子と比べたｓｎＲＮＡ発現レベルを描示し、ｘ軸は、ｓｎＲＮＡを発現させるために使用した異なるｓｎＲＮＡプロモーター（ＰｏｌＩＩ　Ｕ１およびＵ７プロモーターまたはＰｏｌＩＩＩ：Ｕ６、ｔＲＮＡおよび７ＳＫ）を描示する。様々なプロモーターを有するプラスミドを２つの異なる用量（２５０および５００ｎｇ）でトランスフェクトした。

【００５０】

【図９】図９Ａ～９Ｂは、様々なＰｏｌ　ＩＩＩおよびＰｏｌ　ＩＩプロモーターおよびそれぞれのＤＴ配列を有する５００ｎｇ（Ａ）または２５０ｎｇ（Ｂ）の操作されたｓｎＲＮＡ構築物のトランスフェクション後のＣＴＧ４８０　ＨｅＬａ細胞におけるＲＮＡ　ＦＩＳＨによるＣＵＧフォーカスの定量を示す。操作されたｓｎＲＮＡの発現を駆動するＰｏｌ　ＩＩプロモーター（Ｐ０２２２５およびＰ０３５５７）を有する構築物は、マイクロサテライトリピート含有フォーカスを枯渇させる点で、ｓｎＲＮＡを駆動するＰｏｌＩＩＩプロモーターを有する構築物よりも有効である。灰色の棒は、ＮＴ　ｅｓｎＲＮＡを表し、青色の棒は、ＣＵＧ標的化ｅｓｎＲＮＡを表す。

【００５１】

【図１０】図１０は、ｓｎＲＮＡが、ＰｏｌＩＩＩ（Ｕ６、ｔＲＮＡおよび７ＳＫ）またはＰｏｌＩＩプロモーター（Ｕ７およびＵ１）のもとで発現され、ＳｍＯｐｔまたはＵ１Ｓｍ結合部位を含有するときの、ＨＥＫ２９３Ｔ細胞におけるｑＰＣＲによるｓｎＲＮＡ発現レベルを示す。

【００５２】

【図１１】図１１Ａ～１１Ｂは、ＨＥＫ２９３細胞へのトランスフェクション後のＧＡＰＤＨ参照遺伝子と比べたｓｎＲＮＡ発現レベルを示す。各々のｓｎＲＮＡ（ｚ）に対して特異的なプライマーをｑＰＣＲに使用して、相対プロモーター強度を決定した。ｙ軸は、ＧＡＰＤＨと比べたｓｎＲＮＡ発現レベルを描示し、ｘ軸は、ｓｎＲＮＡの別個のプロモーター（Ｕ１、Ｕ２、Ｕ４、Ｕ５およびＵ７；ｕｎｔは、未処理を指す）のもとで発現されたときのｓｎＲＮＡスペーサーｚｎｔ（非標的化対照、Ａの場合）およびｚ３８（標的化スペーサー、Ｂ）を描示する。ｚ－ｎｔ（図Ａ）またはｚ－３８（図Ｂ）に特異的なプライマーセットを使用した。

【００５３】

【図１２Ａ】図１２Ａ～１２Ｂは、本明細書に開示されるｓｎＲＮＡ（Ａ０３９８０：２×ｚ３８／４２融合ｓｎＲＮＡカセット；Ａ０３９８１：一方がｚ４２　ＴＳを有し、他方がｚ３８　ＴＳを有する、２つのｓｎＲＮＡカセット）によるヒトデルタエクソン５２筋管の形質導入後のエクソン５１スキッピングについての結果を示す。図１２Ａは、エクソン５１包含および排除アイソフォームを代表するＰＣＲ産物のテープステーション画像、ならびに予測断片サイズを示す概略図を示す。図１２Ｂは、半定量的ＰＣＲによる図１

２Ａにおけるバンド強度の定量を示す。ｙ軸は、エクソン５１スキッピングのパーセンテージを描示し、ｘ軸は、処理（合成ｓｎＲＮＡ、またはＡ０３９８０もしくは（ｏｆ）Ａ０３９８１について異なるＭＯＩで形質導入されたＡＡＶのいずれか）を描示する。

【図１２Ｂ】図１２Ａ～１２Ｂは、本明細書に開示されるｓｎＲＮＡ（Ａ０３９８０：２×ｚ３８／４２融合ｓｎＲＮＡカセット；Ａ０３９８１：一方がｚ４２　ＴＳを有し、他方がｚ３８　ＴＳを有する、２つのｓｎＲＮＡカセット）によるヒトデルタエクソン５２筋管の形質導入後のエクソン５１スキッピングについての結果を示す。図１２Ａは、エクソン５１包含および排除アイソフォームを代表するＰＣＲ産物のテープステーション画像、ならびに予測断片サイズを示す概略図を示す。図１２Ｂは、半定量的ＰＣＲによる図１２Ａにおけるバンド強度の定量を示す。ｙ軸は、エクソン５１スキッピングのパーセンテージを描示し、ｘ軸は、処理（合成ｓｎＲＮＡ、またはＡ０３９８０もしくは（ｏｆ）Ａ０３９８１について異なるＭＯＩで形質導入されたＡＡＶのいずれか）を描示する。

【００５４】

【図１３】図１３Ａ～１３Ｂは、ヒトデルタエクソン５２筋管のジストロフィン染色およびエクソン５１スキッピングについてのｓｎＲＮＡでの処理後の修復を示す。図１３Ａは、未処理筋管、合成ｓｎＲＮＡで処理された筋管、またはＡ０３９８０（２×ｚ３８／ｚ４２融合ｓｎＲＮＡカセット）の１ｅ６もしくは５ｅ６のＭＯＩで処理された筋管におけるデスミンまたはジストロフィンについての免疫蛍光を示す。図１３Ｂは、Ａ０３９８１（ｚ４２　ＴＳおよびｚ３８　ＴＳを有する２つのｓｎＲＮＡカセット）の１ｅ６または５ｅ６のＭＯＩで形質導入された筋管におけるデスミンまたはジストロフィンについての免疫蛍光を示す。

【００５５】

【図１４ＡＢ】図１４Ａは、図１４Ｂに描示されているのと同一の配列の２つの融合ｓｎＲＮＡを発現する、Ａ０４５６９ベクターゲノムを例示する。図１４Ｃは、ｚ３８標的化配列が、ｚ３８配列の下流にｚ４２標的化配列を有する（ｚ７３）、または逆の配向で最も５’側の位置にｚ４２標的化配列を有し、下流にｚ３８を有する（ｚ１８７）、アンチセンス配列の最も５’側の位置に存在するように、エクソン５１エクソンスプライシングエンハンサー（ＥＳＥ）標的化融合ｓｎＲＮＡを構築することができることを示す。両方の場合、ｓｎＲＮＡのアンチセンス配列は、２つの標的化配列で構成され、これらの各々が、エクソン５１における別々のかつ固有のＥＳＥを標的とする（図１４Ｃ、下部の図）。

【図１４Ｃ】図１４Ａは、図１４Ｂに描示されているのと同一の配列の２つの融合ｓｎＲＮＡを発現する、Ａ０４５６９ベクターゲノムを例示する。図１４Ｃは、ｚ３８標的化配列が、ｚ３８配列の下流にｚ４２標的化配列を有する（ｚ７３）、または逆の配向で最も５’側の位置にｚ４２標的化配列を有し、下流にｚ３８を有する（ｚ１８７）、アンチセンス配列の最も５’側の位置に存在するように、エクソン５１エクソンスプライシングエンハンサー（ＥＳＥ）標的化融合ｓｎＲＮＡを構築することができることを示す。両方の場合、ｓｎＲＮＡのアンチセンス配列は、２つの標的化配列で構成され、これらの各々が、エクソン５１における別々のかつ固有のＥＳＥを標的とする（図１４Ｃ、下部の図）。

【００５６】

【図１５ＡＢ】図１５Ａ～Ｄは、エクソン５２が欠失しているヒト骨格筋管およびｄｅｌ５２ｈＤＭＤ／ｍｄｘマウスにおけるエクソン５１　ＥＳＥ標的化融合ｓｎＲＮＡの活性を示す。（Ａ）融合アンチセンス配列ｚ７３（ｚ３８／ｚ４２）およびｚ１８７（ｚ４２／ｚ３８）を有する低用量の合成ｓｎＲＮＡのトランスフェクションの２４時間後の、ＤＭＤエクソン５２が欠失しているヒト骨格筋管におけるエクソン５１スキッピングのテープステーション画像および定量。低用量で、合成ｓｎＲＮＡ　ｚ１８７のトランスフェクションは、ｚ７３より高レベルのエクソン５１スキッピングを誘導する。（図１５Ｂ）は、ＡＡＶ９－Ａ０４５２６（各々がｚ７３を発現する、２つのｅｓｎＲＮＡカセットを有する）およびＡ０４５６９（各々がｚ１８７を発現する、２つのカセットを有する）による７日間の２．５ｅ４、１ｅ５および５ｅ５のＭＯＩでの形質導入後の、ＤＭＤエクソン

５２が欠失しているヒト骨格筋管におけるエクソン５１スキッピングの定量を示す。（図１５Ｃ）は、ヒト化エクソン５２欠失ＤＭＤ（ｄｅｌ５２ｈＤＭＤ／ｍｄｘ）マウスモデルにおけるエクソン５１スキッピングの定量を示す。マウスにＡ０４５２６およびＡ０４５６９の３ｅ１２ベクターゲノムを後眼窩注射した（ｗｅ　ｉｎｊｅｃｔｅｄ　ｒｅｔｒｏ－ｏｒｂｉｔａｌｌｙ）。３週間生存後、ＲＮＡを前脛骨筋（ＴＡ）、腓腹筋（Ｇｃ）および心臓から抽出した。半定量的ＲＴ－ＰＣＲを行って、エクソン５１包含および排除バンドを検出した。（図１５Ｄ）は、ｄｅｌ５２ｈＤＭＤ／ｍｄｘマウスの腓腹筋への３ｅ１１ｖｇ／筋肉用量のＡ０４５２６またはＥＳＥ標的化Ｖｉｖｏ－モルフォリノ（ＶｉＭ）の筋肉内送達の４週間後のジストロフィン陽性線維の定量を示す。野生型ヒトジストロフィンを発現するｈＤＭＤ／ｍｄｘマウス（灰色の棒）は、ジストロフィン発現の陽性対照としての役割を果たす。Ｕ＝未処置。

【図１５ＣＤ】同上。

【００５７】

【図１６Ａ】図１６Ａ～Ｄは、患者由来の筋管（１７００のＣＵＧリピートを含有する）におけるＣＵＧリピートを標的とするｓｎＲＮＡでの処理後のＤＭＤおよびＬＢＤ３スプライスアイソフォームのスプライシング逆転ならびにＤＭＰＫのノックダウンを示す。ＤＭ１患者線維芽細胞をｍｙｏＤアデノウイルスベクターによる形質導入によって筋管に分化させた（５日間）。次いで、細胞にＡ０４２３３およびＡ０４２３４（ＣＵＧリピートを標的とするｓｃＡＡＶ９二重ｓｎＲＮＡ）の複数のＭＯＩで形質導入し、形質導入の７日後に細胞を回収した。図１６Ａは、特定のプライマーを使用して、正常なＷＴ細胞に見られるスプライシング修正のマーカーであるＤＭＤエクソン７８包含（上のバンド）およびＬＢＤ３エクソン１１排除（下のバンド）を検出する、ＲＴ－ＰＣＲ産物のテープステーション画像を示す。ＤＭＤエクソン７８包含（図１６Ｂ）およびＬＢＤ３エクソン１１排除（図１６Ｃ）の定量。ｘ軸は、処理（ベクターおよびＭＯＩ）を描示する。ｙ軸は、スプライス修正、ＤＭＤエクソン７８についてのエクソン包含またはＬＢＤ３エクソン１１についての排除のどちらか、のパーセンテージを描示する。図１６Ｄは、異なるＭＯＩでのｓｎＲＮＡ（ＡＡＶ９　Ａ０４２３３およびＡＡＶ９　Ａ０４２３４）での処理後のｄｄＰＣＲによるＤＭＰＫ　ＲＮＡ発現レベルを示す。ｘ軸は、処理を描示する。ｙ軸は、ＵＮＴ（未処理細胞）に対して正規化されたＧＡＰＤＨ参照遺伝子１０００コピー当たりのＤＭＰＫコピーを描示する。

【図１６ＢＣＤ】同上。

【００５８】

【図１７】図１７Ａ～Ｂは、ＡＡＶ９　Ａ０４２３３およびＡＡＶ９　Ａ０４２３４の異なるＭＯＩで形質導入された患者由来の筋管からの核内ＲＮＡフォーカスの画像および定量を示す。ＤＭ１患者線維芽細胞をｍｙｏＤアデノウイルスベクターによる形質導入によって筋管に分化させた（５日間）。次いで、細胞にＡ０４２３３およびＡ０４２３４（ＣＵＧリピートを標的とするｓｃＡＡＶ９二重ｓｎＲＮＡ）の複数のＭＯＩで形質導入し、形質導入の７日後にＲＮＡ　ＦＩＳＨ（ＣＵＧフォーカスを検出するための）のために細胞を回収した。図１７Ａは、未処理の筋管ならびにＡＡＶ９　ｓｎＲＮＡベクターＡ０４２３３およびＡ０４２３４で処理された筋管から得られたＣＵＧ　ＲＮＡフォーカスの画像を示す。細胞核をＤＡＰＩで染色し、ＣＵＧ標識プローブを用いてＣＵＧ　ＦＩＳＨを行った。細胞を形質導入の７日後に処理した。図１７Ｂは、１細胞当たりのＣＵＧフォーカスの平均数についての定量を示す。ｘ軸は、使用された処理およびＭＯＩを描示する。ｙ軸は、ＵＮＴ（未処理細胞）に対して正規化された１細胞当たりのＣＵＧフォーカスの平均を描示する。

【００５９】

【図１８】図１８Ａ～Ｃは、ＣＡＧリピートを標的とするＡＡＶ－ｓｎＲＮＡでのＨＴＴ変異型可溶性タンパク質の処理、タイムラインおよび処理後の定量を描示する。図１８Ａは、使用されたベクターＡＡＶ－Ａ０４３９０（ＣＡＧリピートを標的とする２×ｈＵ７／ｈＵ１　ｓｎＲＮＡ）、２つのＭＯＩ、および変異型（ｍｕｔ）ＨＴＴ可溶性タンパク

質を検出するための終点アッセイについての実験計画を示す。図１８Ｂは、この実験についてのタイムラインを描示する。ＨＤ患者ｉＰＳｃ（６６のＣＡＧリピートを含有する）を、２週間、皮質ニューロンに分化させ、次いでさらに２週間、ＡＡＶ－Ａ０４３９０ｓｎＲＮＡベクターによって形質導入した。次いで、皮質ニューロンを回収し、変異型可溶性ＨＴＴタンパク質をＭｅｓｏ　ｓｃａｌｅ　ｄｉｓｃｏｖｅｒｙイムノアッセイ（ＭＳＤ；図１８Ｃに示されている）によって定量した。ｙ軸は、タンパク質溶解物のｍｇ当たりの変異型可溶性ＨＴＴのｆｍｏｌを描示し、ｘ軸は、処理およびＭＯＩを描示する。

【００６０】

【図１９】図１９Ａ～Ｂは、Ｒ６／２　ＨＤマウスモデルに関するＣＡＧリピートを標的とするｉｎ　ｖｉｖｏ研究計画、およびＣＡＧリピートを標的とするＡＡＶ－ｓｎＲＮＡ（Ａ０３０８１）での処置後の変異型ＨＴＴ可溶性タンパク質の定量を描示する。図１９Ａの図は、線条体内注射によって投与されたＡＡＶｒｈ１０－ｓｎＲＮＡ（４×ＣＡＧｘ１５標的化ｓｎＲＮＡベクター）の投与量（２ｅ１０ベクターゲノム）を示す。未処置または未注射の対側線条体側を対照として使用した。（図１９Ｂ）は、未処置およびｓｎＲＮＡ処置マウス（ｎ＝１０）に関するＭｅｓｏ　ｓｃａｌｅ　ｄｉｓｃｏｖｅｒｙイムノアッセイ（ＭＳＤ）による変異型可溶性ＨＴＴタンパク質の定量を示す。ｙ軸は、全タンパク質溶解物のｍｇ当たりの変異型可溶性ＨＴＴのｆｍｏｌを描示し、ｘ軸は、処置を描示する。

【００６１】

【図２０】図２０Ａは、Ａ０４５２７から発現されるｓｎＲＮＡとＡ０４５２６から発現されるｓｎＲＮＡとの相違を描示し、Ａ０４５２６は、５’ＩＳＤと操作されたマウスＳＬとを有する操作されたｓｎＲＮＡを発現し、Ａ０４５２７は、５’ＩＳＤを有さず、マウスのネイティブなＳＬを有するものを発現する。図２０Ｂは、ＡＡＶ９－Ａ０４５２７またはＡ０４５２６ウイルスによる１ｅ６のＭＯＩでのＣＨＯ－Ｌｅｃ２細胞の形質導入の２日後のｚ３８／４２の発現（ｓｎＲＮＡコピー／ナノグラムでの）の棒グラフを示す。

【発明を実施するための形態】

【００６２】

詳細な説明

本開示は、操作されたｓｎＲＮＡステムループ（ｅＳＬ）を含む操作されたｓｎＲＮＡ（ｅｓｎＲＮＡ）で構成される新たな治療用ＲＮＡ標的化プラットフォームを含む遺伝子治療用組成物を提供する。

【００６３】

核酸分子を含む組成物、および操作されたｓｎＲＮＡ（ｅｓｎＲＮＡ）を含むベクターが、本明細書に開示される。

【００６４】

核内低分子リボ核酸（ｓｎＲＮＡ）は、追加のタンパク質とアセンブルされたとき、ｍＲＮＡ成熟プロセス全体を媒介するように指定された細胞内機構であるスプライソソームとして公知の大きいリボ核タンパク質複合体を形成する、核内低分子リボ核タンパク質複合体（ｓｎＲＮＰ）の必須成分である。スプライソソームは、タンパク質産生の前にＲＮＡ転写物からイントロンを除去するプロセスである前駆体ｍＲＮＡスプライシングに関与する。個々のｓｎＲＮＡは、一般に、サイズ約２５０ヌクレオチドまたはそれ未満である。例えば、Ｕ１　ｓｎＲＮＡは、長さ１６４ヌクレオチドであり、ヒトゲノム内のいくつかのコピーに存在する遺伝子によってコードされる。Ｕ１　ｓｎＲＮＡは、核粒子Ｕ１　ｓｎＲＮＰのリボ核酸成分に相当する。Ｕ１　ｓｎＲＮＡは、ステムおよびループ三次元構造を有し、５’領域内には、相補的塩基対合によってプレｍＲＮＡ分子上のスプライシングドナー部位に結合することができる、一般に長さ約９ヌクレオチドの、一本鎖配列がある。（Ｈｏｒｏｗｉｔｚ　ｅｔ　ａｌ．，　１９９４，　Ｔｒｅｎｄｓ　Ｇｅｎｅｔ．，　１０（３）：１００－６）。様々なスプライソソームｓｎＲＮＡは、それらが含有する大量のウリジル酸に起因して、Ｕ１、Ｕ２、Ｕ４、Ｕ５、Ｕ６、Ｕ４ＡＴＡＣ、Ｕ６Ａ

ＴＡＣ、Ｕ７、Ｕ１１およびＵ１２と名付けられている。（Ｍａｔｔａｊ　ｅｔ　ａｌ．，　１９９３，　ＦＡＳＥＢ　Ｊ，　１５，　７：４７－５３）。

【００６５】

ｓｎＲＮＡ系を、毒性変異を処置するために使用することができる。例えば、毒性変異を含有するエクソン内のスプライス部位および調節エレメントに干渉するアンチセンスオリゴヌクレオチドは、特定のエクソンのスキッピングをＲＮＡ前駆体レベルで誘導することができる。そのようなアンチセンス配列を、ｓｎＲＮＡを転写することができる核酸配列を有するウイルスベクターを使用して送達されるｓｎＲＮＡ配列に、パッケージングすることができる。Ｕ７　ｓｎＲＮＡは、ヒストンプレｍＲＮＡ３’末端プロセシングに内因的に関与するが、Ｕ７　ｓｎＲＮＡを、Ｓｍ／Ｌｓｍタンパク質の結合部位の小さな変化によるスプライシングモジュレーションのための多用途ツールに変換することができる。デュシェンヌ型筋ジストロフィーを処置するための１つのそのような治療戦略は、改変Ｕ７　ｓｎＲＮＡを使用してアウトオブフレーム変異を、内部欠失毒性ＲＮＡだが依然として機能性のジストロフィンを生じさせるインフレーム変異に変換している。（Ｇｏｙｅｎｖａｌｌｅ　ｅｔ　ａｌ．，　２００９，　１７（７）：　１２３４－１２４０）。

【００６６】

大部分のＵリッチｓｎＲＮＰは、プレｍＲＮＡのスプライシングを媒介する複合体である。Ｕ７　ｓｎＲＮＰは、例外である。Ｕ７は、スプライシングに関与せず、むしろ、複製依存性ヒストンｍＲＮＡの独特の３’末端プロセシングにおける肝要な因子である。Ｕ７　ｓｎＲＮＡヒストン結合配列およびＳｍモチーフを改変することにより、Ｕ７は、ヒストンプレｍＲＮＡのプロセシングにもはや関与することができず、その代わりに、プレｍＲＮＡまたはｓｍＲＮＡを遮断またはスプライシングモジュレーションの標的にする。このようにして、Ｕ７　ｓｎＲＮＡを有効な遺伝子治療プラットフォームとして使用することができる。Ｕ７　ｓｎＲＮＡプラットフォームはまた、細胞毒性を引き起こすことなく核内に蓄積する能力がある、小型であることの追加の利点を有し、免疫反応性をほとんどまたは全く有さない。（Ｇａｄｇｉｌ　ｅｔ　ａｌ．，　２０２１，　Ｊ　Ｇｅｎｅ　Ｍｅｄ，　２３（４）：　ｅ３３２１）。

【００６７】

新たに操作され、再設計されたｓｎＲＮＡプラットフォーム（またはｅｓｎＲＮＡプラットフォームとして本明細書で知られる）であって、１）操作されたステムループ（ｅＳＬ）を含むｓｎＲＮＡプラットフォームが、本明細書に開示される。ネイティブなステムループ配列に加えられた代償的改変は、ｓｎＲＮＡ相互作用安定化ドメイン（ＩＳＤ）とより有効に連絡する（フォールディングおよびアニーリングしている）操作されたステムループ（ｅＳＬ）を作出し、その結果として、安定性が増加したｓｎＲＮＡプラットフォームを作出する。図１を参照されたい。Ｕ７　ｓｎＲＮＡは、ｍＲＮＡをモジュレートするようにプログラム可能であることが以前に示されている。遺伝子治療ツールとして使用することができる、プログラムされた操作されたｓｎＲＮＡの改善が、本明細書に開示される。これらの操作されたｓｎＲＮＡ系は、マイクロサテライトリピート伸長の遮断（筋強直性ジストロフィー（ＤＭ１）またはハンチントン病（ＨＤ）を処置するために本明細書に示される）、エクソンスキッピング（ＤＭＤを処置するために）およびスプライシングモジュレーション（ＵＳＨ２Ａ（アッシャー症候群２型）を処置するために本明細書に示される）をもたらすことが本明細書に示される。一実施形態では、これらのｓｎＲＮＡは、ヒトｓｎＲＮＡである。別の実施形態では、これらのｓｎＲＮＡは、マウスｓｎＲＮＡである。別の実施形態では、ｓｎＲＮＡは、ヒトｓｎＲＮＡとマウスｓｎＲＮＡの組合せである。一実施形態では、Ｕ７は、ヒトＵ７またはマウスＵ７である。本明細書に開示される別の実施形態では、操作されたｓｎＲＮＡは、プラットフォームの安定化を微調整するためにおよび／またはオフターゲット効果を低減させるために内在性ｓｎＲＮＡのドメインを組み合わせることにより様々なタイプのｓｎＲＮＡ（Ｕ１～Ｕ１２など）を含む。例えば、一実施形態では、操作されたｓｎＲＮＡ系は、ヒトまたはマウスＵ７　ｓｎＲＮＡ成分とヒトまたはマウスＵ１　ｓｎＲＮＡ成分の組合せを含む。

【００６８】
ＲＮＡのプロセシングおよび存在量を調整することができる追加のエレメントをさらなる操作によってｅＳＬを含むｅｓｎＲＮＡに導入することができる。図１Ｃを参照されたい。一実施形態では、ｅｓｎＲＮＡのプロセシング、安定性および存在量を調整することができる追加のエレメントをさらなる操作によってｅｓｎＲＮＡの５’または３’末端に導入することができる。別の実施形態では、そのようなエレメントは、ステムループ、ヘアピン、Ｇ－Ｃクランプ、キッシングループ、三重鎖、四重鎖、およびタンパク質結合部位を含み得るが、これらに限定されない。
【００６９】
本明細書に開示されるｅｓｎＲＮＡプラットフォームおよびその部分は、安定なスペーサー（複数可）（またはＴＳ（複数可））がｅｓｎＲＮＡ治療用組成物の設計に含まれている限り、任意の治療環境および状況で使用することができる。ある特定の実施形態では、治療用ｅｓｎＲＮＡ組成物は、デュシェンヌ型筋ジストロフィー、ＤＭ１、およびＨＤからなる群から選択される疾患を処置するために使用される。別の実施形態では、ｅｓｎＲＮＡ組成物は、エクソン５１変異により引き起こされるＤＭＤを処置するために使用される。
操作されたステムループ
【００７０】
本明細書に開示される操作されたｓｎＲＮＡ（ｅｓｎＲＮＡ）系は、ネイティブなｓｎＲＮＡステムループの代償的改変を含む操作されたステムループ（ｅＳＬ）を含む。これらの改変は、未改変ステムループを含むｓｎＲＮＰと比較してｅｓｎＲＮＰの安定性の増加をもたらす。本明細書に開示されるｅＳＬは、Ｕ１～Ｕ１２などの任意のｓｎＲＮＰに由来し得る。一実施形態では、ｅＳＬは、ヒトまたはマウスＵ７　ｅＳＬである。一実施形態では、ｅＳＬは、ヒトまたはマウスｅＳＬである。一部の実施形態では、ｅＳＬは、ヒトおよびマウスｅＳＬである。一部の実施形態では、ｅＳＬは、マウス、ブタ、ヒツジ、ヤギ、ウシ、イヌ、ネコ、ウマまたはこれらの組合せからなる群から選択される非ヒトｅＳＬである。一部の実施形態では、ｅＳＬは、ヒト、マウス、ブタ、ヒツジ、ヤギ、ウシ、イヌ、ネコ、ウマまたはこれらの組合せからなる群から選択されるｅＳＬである。一部の実施形態では、ｅＳＬ配列は、ネイティブなステムループ配列ではない。一部の実施形態では、ｅＳＬの核酸配列は、少なくとも６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％または１００％（またはその間の任意のパーセンテージ）がネイティブなステムループ配列ではない。
【００７１】
一部の実施形態では、ヒトｅＳＬは、以下のヌクレオチド配列：
ｇｇｃｔｔｔｃｔｇｇｃｔｃｃｔｔａｃｃｇｇａａａｇｃｃ（配列番号１））、
ｇｇｃｔｔｔｃｔｇｇｇａｇｇｔｔａｃｃｇｇａａａｇｃｃ（配列番号２）、
ｇｇｃｔｔｔｃｔｇｇｃｃｔｃｃｔｔａｃｃｇｇａａａｇｃｃ（配列番号３）、
ｇｇｃｔｔｔｃｔｇｇｇｇａｇｇｔｔａｃｃｇｇａａａｇｃｃ（配列番号４）、
ｇｇｃｔｔｔｃｔｇｇｃｔｇｇｃｔａｃｃｇｇａａａｇｃｃ（配列番号５）、
ｇｇｃｔｔｔｃｔｇｇｃｔｔｃｃｃｃｇｇａａａｇｃｃ（配列番号６）、
ｇｇｃｔｔｔｃｔｇｇｃｔｔｃｔｔｃｃｃｇｇａａａｇｃｃ（配列番号７）、
ｇｇｃｔｔｔｃｔｇｇｃａａｃｔｔａｃｃｇｇａａａｇｃｃ（配列番号８）、
ｇｇｃｔｔｔｃｔｇｇｔｔｃｇｇｔａｃｃｇｇａａａｇｃｃ（配列番号９）、
ｇｇｃｔｔｔｃｔｇｇａａｇｃｃｔｔａｃｃｇｇａａａｇｃｃ（配列番号１０）、
ｇｇｃｔｔｔｃｔｇｇｃｔｔｃｔｔａｃｃｇｇａａａｇｃｃ（配列番号１１）、または
ＧＧＣＴＴＴＣＴＧＧＣＣＴＣＣＧＣＣＧＧＡＡＡＧＣＣＣＣＴ（配列番号１８６）
のうちの１つまたは複数に少なくとも６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％または１００％（または間の任意のパーセント）同一である核酸配列を含む、本質的にそれからなる、またはそれからなる。
【００７２】

一部の実施形態では、マウスｅＳＬは、以下のヌクレオチド配列：
ｇｇｃｔｔｔｃｔｇｇｃｔｃｃｔｔａｃｃｇｇａａａｇｃｃｃｃｔ（配列番号１６３）
Ｇｇｔｔｔｔｃｔｇａｃｃｔｃｃｇｔｃｇｇａａａａｃｃｃｃｔ（配列番号１４６）、
ｇｇｔｔｔｔｃｔｇａｃｃｔｃｃｔｔｃｇｇｔｃｇｇａａａａｃｃｃｃｔ（配列番号１４７）、
Ｇｇｔｔｔｔｃｔｇａｃｃｔｃｃｇｔｃｇｇａａａａｃｃ（配列番号１４８）、
ＧＧＴＴＴＴＣＴＧＡＣＡＣＴＣＣＧＴＣＧＧＡＡＡＡＣＣＣＣＴ（配列番号２２８）、
ＧＧＴＴＴＴＣＴＧＡＴＣＴＣＣＡＴＣＧＧＡＡＡＡＣＣＣＣＴ（配列番号２２９）、または
ＧＧＴＴＴＴＣＣＧＡＣＣＴＣＣＧＴＣＧＧＡＡＡＡＣＣＣＣＴ（配列番号２３０）
のうちの１つまたは複数に少なくとも６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％または１００％（または間の任意のパーセント）同一である核酸配列を含む、本質的にそれからなる、またはそれからなる。

【００７３】

一部の実施形態では、ヒトまたはマウスｅＳＬは、以下のヌクレオチド配列：
ＧＧＣＴＴＴＣＴＧＧＣＡＣＴＣＣＡＣＣＧＧＡＡＡＧＣＣＣＣＴ（配列番号１９０）、
ＧＧＣＴＴＴＣＴＧＧＣＡＣＴＣＣＧＣＣＧＧＡＡＡＧＣＣＣＣＴ（配列番号１９１）、
または
ＧＧＣＴＴＴＣＴＧＧＣＣＴＣＣＡＣＣＧＧＡＡＡＧＣＣＣＣＴ（配列番号１９２）
のうちの１つまたは複数に少なくとも６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％または１００％（または間の任意のパーセント）同一である核酸配列を含む、本質的にそれからなる、またはそれからなる。

【００７４】

一部の実施形態では、イヌまたはネコｅＳＬは、以下のヌクレオチド配列：
ＧＧＴＴＴＴＣＣＧＧＴＣＴＣＣＡＣＣＧＧＡＡＡＧＣＣＣＣＣ（配列番号１９３）
のうちの１つまたは複数に少なくとも６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％または１００％（または間の任意のパーセント）同一である核酸配列を含む、本質的にそれからなる、またはそれからなる。

【００７５】

一部の実施形態では、ウシ、ヒツジまたはヤギｅＳＬは、以下のヌクレオチド配列：
ＧＧＣＴＴＴＣＣＧＧＴＣＴＣＣＡＣＣＧＧＡＡＡＧＣＣＣＣＴ（配列番号１９４）、または
ＧＧＣＴＴＴＣＣＧＧＣＣＴＣＣＧＣＣＧＧＡＡＡＧＣＣＣＣＴ（配列番号１９５）
のうちの１つまたは複数に少なくとも６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％または１００％（または間の任意のパーセント）同一である核酸配列を含む、本質的にそれからなる、またはそれからなる。

【００７６】

一部の実施形態では、ブタｅＳＬは、以下のヌクレオチド配列：
ＧＧＴＴＴＴＣＣＧＧＴＣＴＣＣＡＣＣＧＧＡＡＡＡＣＣＣＴＴ（配列番号１９６）、
ＧＧＴＴＴＴＣＣＧＴＧＣＴＣＣＣＡＣＧＧＡＡＡＡＣＣＣＴＴ（配列番号１９７）、
ＧＧＴＴＴＴＣＣＧＧＣＣＴＣＣＧＣＣＧＧＡＡＡＡＣＣＣＴＴ（配列番号１９８）、
ＧＧＴＴＴＴＣＣＧＴＧＡＣＴＣＣＣＡＣＧＧＡＡＡＡＣＣＣＴＴ（配列番号１９９）、
または
ＧＧＴＴＴＴＣＣＧＧＣＡＣＴＣＣＧＣＣＧＧＡＡＡＡＣＣＣＴＴ（配列番号２００）
のうちの１つまたは複数に少なくとも６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％または１００％（または間の任意のパーセント）同一である核酸配列を含む、本質的にそれからなる、またはそれからなる。

【００７７】

一部の実施形態では、ウマｅＳＬは、以下のヌクレオチド配列：
ＧＧＴＣＴＴＣＣＧＧＴＣＴＣＣＴＣＣＧＧＡＡＧＧＣＣＣＣＣ（配列番号２０１）、ま

たは
ＧＧＴＣＴＴＣＣＧＧＣＴＣＣＣＣＧＧＡＡＧＧＣＣＣＣＣ（配列番号２０２）
のうちの１つまたは複数に少なくとも６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％または１００％（または間の任意のパーセント）同一である核酸配列を含む、本質的にそれからなる、またはそれからなる。
【００７８】
一部の実施形態では、ヒツジｅＳＬは、以下のヌクレオチド配列：
ＧＧＣＴＴＴＣＣＧＴＧＣＴＣＣＣＡＣＧＧＡＡＡＧＣＣＣＣＴ（配列番号２０３）、
ＧＧＣＴＴＴＣＣＧＴＧＡＣＴＣＣＣＡＣＧＧＡＡＡＧＣＣＣＣＴ（配列番号２０４）、
または
ＧＧＣＴＴＴＣＣＧＧＣＡＣＴＣＣＧＣＣＧＧＡＡＡＧＣＣＣＣＴ（配列番号２０５）
のうちの１つまたは複数に少なくとも６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％または１００％（または間の任意のパーセント）同一である核酸配列を含む、本質的にそれからなる、またはそれからなる。
【００７９】
一部の実施形態では、操作されたステムループは、ネイティブなステムループを含むｓｎＲＮＡと比べてｓｎＲＮＡの安定性の増強を提供する。一部の実施形態ではネイティブなｓｎＲＮＡステムループは、以下のヌクレオチド配列：
Ｇｇｔｔｔｔｃｔｇａｃｔｔｃｇｇｔｃｇｇａａａａｃｃｃｃｔ（配列番号１４５）、
ｇｇｔｔｔｔｃｔｇａｃｔｔｃｇｇｔｃｇｇａａａａｃｃ（配列番号２０６）、
Ｇｇｃｔｔｔｃｔｇｇｃｔｔｔｔｔａｃｃｇｇａａａｇｃｃ（配列番号２３５）、または
ｇｇｃｔｔｔｃｔｇｇｃｔｔｔｔｔａｃｃｇｇａａａｇｃｃＣＣＴ（配列番号２３６）のうちの１つまたは複数に少なくとも６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％または１００％（または間の任意のパーセント）同一である核酸配列を含む、本質的にそれからなる、またはそれからなる。
５’相互作用安定性ドメイン
【００８０】
本明細書に開示されるｅＳＬは、５’相互作用安定性ドメイン（５’ＩＳＤ）によってより有効なフォールディングおよびアニーリング特性を有し、そしてまたこの結果として、操作されていないｓｎＲＮＡと比較してｅｓｎＲＮＡの安定性が高まる。５’ＩＳＤは、操作されたＳＬ内のヌクレオチドに相補的であるヌクレオチドを有し、理論により拘束されることを望まないが、５’ＩＳＤとｅＳＬとの間の相互作用は、ｓｎＲＮＡの５’末端を保護する二次構造を形成すると予測される。一部の態様では、５’ＩＳＤは、本開示のｅＳＬにアニーリングおよび／またはハイブリダイズする。一部の態様では、５’ＩＳＤは、本開示のｅＳＬに存在する配列に対して相補性および／または逆相補性を有する配列である。一部の態様では、本明細書に開示される５’ＩＳＤは、以下のヌクレオチド配列から選択される５’ＩＳＤのうちの１つであり得る：
ｇｇａｇｔ（配列番号１２）、
ｃｃｔｃｔ（配列番号１３）、
ｇｇａｇｇｔ（配列番号１４）、
ｃｃｔｃｃｔ（配列番号１５）、
ａｇｃｃａｇ（配列番号１６）、
ｇｇａａｇ（配列番号１７）、
ｇａａｇａａｇ（配列番号１８）、
ｇｔｔｇ（配列番号１９）、
ｃｃｇａａ（配列番号２０）、
ｔａａｇｇａｇ（配列番号２１）、
ｇａａｇ（配列番号２２）、または
ｇｇｃｔｔ（配列番号２３）。
標的化配列

【００８１】
ｅｓｎＲＮＡ系を、標的化配列（ＴＳ）（スペーサーとも称される）を含むようにプログラムすることができる。一部の態様では、標的化配列は、目的の１つまたは複数のＲＮＡを標的とする５’標的化配列（５’ＴＳ）（スペーサーとも称される）である。この文脈において、５’は、ｓｎＲＮＡインサートの５’末端に関し、必ずしも、ｓｎＲＮＡインサート（単数または複数）を含むベクター構成全体に関してではない。またＴＳは、ｓｎＲＮＡの５’末端にまたはその付近に位置することができる。代替実施形態では、標的化配列（複数可）（ＴＳ）は、ｓｎＲＮＡ構築物の３’位置にまたはその付近に位置することができ、それによって、特に、ｓｎＲＮＡ構築物がＵ７に基づくｓｎＲＮＡでない場合、３’標的化配列（３’ＴＳ）が生成される。

【００８２】
５’ＴＳおよび３’ＴＳを含む、本開示の標的化配列は、長さ約１～約２００ヌクレオチドの間であり得る。一部の態様では、本開示の標的化配列は、長さ約１０～約１５０ヌクレオチドの間である。一部の態様では、本開示の標的化配列は、長さ約１０～約１００ヌクレオチドの間である。一部の態様では、本開示の標的化配列は、長さ約２０～約６０ヌクレオチドの間である。一部の態様では、本開示の標的化配列は、長さ少なくとも約１０、２０、３０、４０、５０、６０または約７０ヌクレオチドである。

【００８３】
一例では、ヒストンｍＲＮＡ結合配列を、目的の標的に相補的な配列に置き換えることにより、Ｕ７　ｓｎＲＮＡをプログラムすることができる。一部の態様では、本開示のｅｓｎＲＮＡ系は、目的の標的ｍＲＮＡまたはプレｍＲＮＡ配列に結合する。本明細書に示される例示的なｅｓｎＲＮＡ系は、マイクロサテライトリピート伸長の遮断もしくはノックダウン（筋強直性ジストロフィー（ＤＭ１）もしくはハンチントン病（ＨＤ）を処置するために）、ヘキサヌクレオチドリピート伸長（Ｃ９／ＡＬＳを処置するために）、スプライシングモジュレーション（ＵＳＨ２Ａ（アッシャー症候群２型）を処置するために）、またはエクソンスキッピングを誘導するための１つもしくは複数のエクソンスプライシングエンハンサー（ＥＳＥ）の標的化（ＤＭＤ、例えば、ＤＭＤエクソン５１スキッピングを処置するために）をもたらす。一実施形態では、目的の標的ＲＮＡは、マイクロサテライトもしくはヘキサヌクレオチドリピートＲＮＡまたは非リピートＲＮＡである。別の実施形態では、目的のリピートＲＮＡは、ＣＵＧ、ＣＡＧ、ＧＧＧＧＣＣ、およびＣＣＣＣＧＧからなる群から選択される。一実施形態では、ｅｓｎＲＮＡは、ＧＧＧＧＣＣおよびＣＣＣＣＧＧである目的の２つの標的ＲＮＡを標的とする標的化配列（ＴＳ）を含む。別の実施形態では、目的の２つの標的ＲＮＡは、マイクロサテライトリピートＲＮＡおよび非リピートＲＮＡである。別の実施形態では、非リピートＲＮＡは、リピートＲＮＡのフランキング配列である。

【００８４】
一部の実施形態では、本開示のｅｓｎＲＮＡは、ＤＭＤ遺伝子をコードするプレｍＲＮＡまたはｍＲＮＡ配列を標的とする。ＤＭＤは、タンパク質ジストロフィンをコードする遺伝子である。ＤＭＤの変異は、デュシェンヌ型筋ジストロフィーに関連する。一部の実施形態では、本開示のｅｓｎＲＮＡ組成物の標的となるＤＭＤ　ＲＮＡ配列は、エクソン５１　ＤＭＤ　ＲＮＡ配列である。

【００８５】
ＤＭＤに結合する標的配列は、下記の表に示される下記のヌクレオチド配列の１つまたは複数と少なくとも６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％または１００％（またはその間の任意のパーセンテージ）同一の核酸配列を含み得る、それから本質的になり得るまたはそれからなり得る：

【表１－１】

UID	標的化配列	配列番号
z38	TACCTCCAACATCAAGGAAGATGGCA	206
z42	GTAACCACAGGTTGTGTCACCAGAGTAACA	207
融合配列		
z70	catacCTTCTGCTTGATGATCATCTCGCACCAGAGTAACAGTCTGAGTAGGAGctaaa	208
z71	catacCTTCTGCTTGATGATCATCTCGTGCCGCTGCCCAATGCCATCCTGGAG	209
z72	catacCTTCTGCTTGATGATCATCTCGGCCCAATGCCATCCTGGAGTTCctg	210
z73(z38/z42)	TACCTCCAACATCAAGGAAGATGGCAGTAACCACAGGTTGTGTCACCAGAGTAACA	211
z74	AACATCAAGGAAGATGGCATTTCTAGGTAACCACAGGTTGTGTCACCAGAGTAACA	212
z75	AACATCAAGGAAGATGGCATTTCTAGTGCCGCTGCCCAATGCCATCCTGGAG	213
z76	TTTTTCTCATACCTTCTGCTTGATGTCTGAGTAGGAGCTAAAATATTTTGGG	214
Z187 (z42/z38)	GTAACCACAGGTTGTGTCACCAGAGTAACATACCTCCAACATCAAGGAAGATGGCA	215
z230	CGAGATGATCATCAAGCAGAAGgtatgCACCAGAGTAACAGTCTGAGTAGGAGctaaa	216
z231	CACCAGAGTAACAGTCTGAGTAGGAGctaaaTACCTCCAACATCAAGGAAGATGGCA	217
z232	TACCTCCAACATCAAGGAAGATGGCACACCAGAGTAACAGTCTGAGTAGGAGctaaa	218
z233	GTCTGAGTAGGAGctaaaatattttgggTACCTCCAACATCAAGGAAGATGGCA	219
z234	TACCTCCAACATCAAGGAAGATGGCAGTCTGAGTAGGAGctaaaatattttggg	220

【表１－２】

z235	GTCTGAGTAGGAGctaaaatattttgggtttttctcatacCTTCTGCTTGAT	221
z237	cCTTCTGCTTGATGATCATCTCGGAGTAACAGTCTGAGTAGGAGc	222
z238	cCTTCTGCTTGATGATCATCTCGCCAGAGTAACAGTCTGAGTAGGAGc	223
z239	cCTTCTGCTTGATGATCATCTCGCAGTCTGAGTAGGAGctaaa	224
z240	ctcatacCTTCTGCTTGATGGAGTAACAGTCTGAGTAGGAGc	225
z241	ctcatacCTTCTGCTTGATGCCAGAGTAACAGTCTGAGTAGGAGc	226
z242	ctcatacCTTCTGCTTGATGCAGTCTGAGTAGGAGctaaa	227

【００８６】

一実施形態では、上の表におけるような融合体であるＴＳは、融合配列内に含まれる単一ＴＳ配列であり得る。

【００８７】

別の実施形態では、目的の２つまたはそれより多くのＲＮＡを標的とする標的化配列（ＴＳ）。別の実施形態では、目的の２つまたはそれより多くのＲＮＡを標的とするＴＳは、同じプレｍＲＮＡ分子を標的とする異なる配列である。一実施形態では、スペーサーまたはＴＳは、融合配列である。別の実施形態では、融合配列は、ＤＭＤエクソン５１を標的とするスペーサーであり、その融合配列は、上の表に示されている。

【００８８】

一部の実施形態では、ＣＵＧリピート標的化配列は、核酸配列：ＣＡＧＣＡＧＣＡＧＣＡＧＣＡＧＣＡＧＣＡＧＣＡＧＣＡＧＣＡＧＣＡＧＣＡＧＣＡＧ（配列番号１６５）を含む。

【００８９】

一部の実施形態では、ＣＡＧリピート標的化配列は、核酸配列：ＣＴＧＣＴＧＣＴＧＣＴＧＣＴＧＣＴＧＣＴＧＣＴＧＣＴＧＣＴＧＣＴＧＣＴＧＣＴＧＣＴＧ（配列番号１６７）を含む。

Ｓｍ結合ドメイン

【００９０】

本明細書に開示されるｅｓｎＲＮＡ系は、Ｓｍ結合ドメイン（ＳｍＢＤ）を利用する。Ｓｍ結合ドメイン（ＳｍＢＤ）の周囲にアセンブルしてｓｎＲＮＰを形成するＳｍタンパク質環は、ＳｍＢ／Ｂ’、ＳｍＤ１、ＳｍＤ２、ＳｍＤ３、ＳｍＥ、ＳｍＦ、およびＳｍＧを含む。Ｕ７　Ｓｍ結合部位は、内在性ＲＮＡ結合因子を動員し、非Ｕ７　ｓｎＲＮＡに置き換えられてｅｓｎＲＮＡをより安定なものにすることができる。一実施形態では、ＳｍＢＤは、Ｕ１、Ｕ２、Ｕ４およびＵ５　ｓｎＲＮＡからなる群から選択される。別の実施形態では、ＳｍＢＤは、シュードｓｎＲＮＡに由来する。別の実施形態では、ＳｍＢＤは、配列番号３１（ＡＴＴＴＴＴ）を含むヌクレオチド配列である。別の実施形態では、ＳｍＢＤは、配列番号３２（ＡＡＴＴＴＴＴＧＧ）、配列番号３３（ＡＡＴＴＴＧＴＧＧ）、配列番号３４（ＡＡＴＴＴＧＴＧＧ）、配列番号３５（ＡＡＴＴＴＣＴＧＧ）、配列番号３６（ＧＡＴＴＴＴＴＧＧ）、配列番号３７（ＡＡＴＴＴＴＴＧＡ）、配列番号３８（ＡＡＴＴＴＴＴＴＧ）、配列番号１６１（ＡＡＴＴＴＴＴＧＧＡＧＣＡ）、および配列番号１６３（ＡＡＴＴＴＴＴＧＧＡＧＴＡ）からなる群から選択されるヌクレオチド配列を含む。

プロモーター配列

【００９１】

本明細書に開示されるｅｓｎＲＮＡ系は、Ｕ１～Ｕ１２のいずれかからのｓｎＲＮＡプロモーターを含む。一実施形態では、ｓｎＲＮＡプロモーターは、Ｕ７プロモーターである。別の実施形態では、Ｕ７プロモーターは、ヒトＵ７プロモーター（ｈＵ７）またはマウスＵ７プロモーター（ｍＵ７）である。別の実施形態では、Ｕ７プロモーターは、配列番号３９：

【化１】

TACTGCCGAATCCAGGTCTCCGGGCTTAACAACAACGAAGGGGCTGTGACTGGC
TGCTTTCTCAACCAATCAGCACCGAACTCATTTGCATGGGCTGAGAACAAATGTT
CGCGAACTCTAGAAATGAATGACTTAAGTAAGTTCCTTAGAATATTATTTTTCCT
ACTGAAAGTTACCACATGCGTCGTTGTTTATACAGTAATAGGAACAAGAAAAAA
GTCACCTAAGCTCACCCTCATCAATTGTGGAGTTCCTTTATATCCCATCTTCTCTC
CAAACACATACGCA

を含む内在性ヒトＵ７プロモーターである。

【００９２】

一実施形態では、ｓｎＲＮＡプロモーターは、Ｕ１プロモーターである。別の実施形態では、Ｕ１プロモーターは、ヒトＵ１プロモーターまたはマウスＵ１プロモーターである。

【００９３】

別の実施形態では、ｓｎＲＮＡプロモーターは、ｓｎＲＮＡインサートのコピーを駆動する。別の実施形態では、ｓｎＲＮＡインサートの各コピーは、同じである。別の実施形態では、異なるｓｎＲＮＡプロモーターがｓｎＲＮＡインサートの各コピーを駆動する。一実施形態では、２ｘｓｎＲＮＡは、ｓｎＲＮＡインサートの１つのコピーを駆動するマウスＵ７プロモーターを含み、マウスＵ１プロモーターは、ｓｎＲＮＡインサートの他のコピーを駆動する。

【００９４】

他の態様では、ｓｎＲＮＡプロモーターは、ＰｏｌＩＩプロモーターまたはＰｏｌＩＩ

Ｉプロモーターである。他の態様では、ｓｎＲＮＡプロモーターは、下記の例示的なプロモーターの表に列挙されるプロモーターおよび／またはプロモーター配列と少なくとも６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％または１００％（またはその間の任意のパーセンテージ）同一の核酸配列を含む、それから本質的になる、またはそれからなる：

【表２－１】

例示的なプロモーター	プロモーター配列
hU1	AAGGACCAGCTTCTTTGGGAGAGAACAGACGCAGGGGCGGGAGGGA AAAAGGGAGAGGCAGACGTCACTTCCCCTTGGCGGCTCTGGCAGCAG ATTGGTCGGTTGAGTGGCAGAAAGGCAGACGGGGACTGGGCAAGGC ACTGTCGGTGACATCACGGACAGGGCGACTTCTATGTAGATGAGGCA GCGCAGAGGCTGACGTCTTCGCCACTTGCTGCTTCACCACGAAGGAG TTCCCGTGCCCTGGGAGCGGGTTCAGGACCGCTGATCGGAAGTGAGA ATCCCAGCTGTGTGTCAGGGCTGGAAAGGGCTCGGGAGTGCGCGGGG

【表２－２】

	CAAGTGACCGTGTGTGTAAAGAGTGAGGCGTATGAGGCTGTGTCGGG GCAGAGGCacaacgtttc (配列番号 40)
hU2	CCACGCCCTCTGTGAAAGGGCGGGGCATGCAAATTCGAAATGAAAGC CCGGGAACGCCGGAAGAAGCACGGGTGTAAGATTTCCCTTTTCAAAG GCAGAGAATAAGAAATCAGCCCGAGAGTGTAAGGGCGTCAATAGCG CTGTGGACGAGACAGAGGGAATGGGGCAAGGAGCGAGGCTGGGGCT CTCACCGCGACTTGAATGTGGATGAGAGTGGGACGGTGACGGCGGGC GCGAAGGCGAGCGC (配列番号 41)
hU4	TTCGCAGTCTCTGAATTAAGTCTATTAGCATGTTCCTCCCATAGTGCT TTGCTTCATATCAACAAAAACCTAGCTAAGTGAAATCAGCAACGATA TGCAGAAACCACCTACGCAGGTCACAAACATCTTTCTATGATTGTATA ATTTTCAAGCAAGCAATAAGTGAAGATTTTTCCATAGGCCCTAAACTC ACCTTTGCGAAATAGGAAGCTGGTTTATTGGGAGTGATGAGCAGGGG GCGTAACAAATT (配列番号 42)
hU5	GCAGCAAGGCCTCCACTTCACCCCCTAAAGGTTGCCCCAAGAGCACC GTGTGACTGCTAAGGTATTTCCGGAGTCTAAAGACGATTATTCAGGTC TCATTTGCATACCCATAATACACTGCAAACAGTATTTTTTTCGGAAAA ACATTTATATATTGCTTGACATTTTTAAGTATGAGAATTTTGCATGCA GAATTTTTTTGTATAAACTTTCTCAGGTAGTAACCCTTGGGATTAGTA GACACCATCAGTGTACTAGGAATTGCAGTTACCCGAAAATTGAGTTA CAGAAGTAACTGGT (配列番号 43)
hU6	Gtttattacagggacagcagagatccagtttggttaattaaggtaccgagggcctatttcccatgattccttcatatttg catatacgatacaaggctgttagagagataattagaattaatttgactgtaaacacaaagatattagtacaaaatacgt gacgtagaaagtaataatttcttgggtagtttgcagttttaaaattatgttttaaaatggactatcatatgcttaccgtaact tgaaagtatttcgatttcttggctttatatatcttgtggaaaggacgaaacacc (配列番号 44)
h7sk	CTGCAGTATTTAGCATGCCCCACCCATCTGCAAGGCATTCTGGATAGT GTCAAAACAGCCGGAAATCAAGTCCGTTTATCTCAAACTTTAGCATTT TGGGAATAAATGATATTTGCTATGCTGGTTAAATTAGATTTTAGTTAA ATTTCCTGCTGAAGCTCTAGTACGATAAGTAACTTGACCTAAGTGTAA AGTTGAGATTTCCTTCAGGTTTATATAGCTTGTGCGCCGCCTGGGTAC CTC (配列番号 45)
tRNA(Val)	CAGGACTAGTCTTTTAGGTCAAAAAGAAGAAGCTTTGTAACCGTTGG TTTCCGTAGTGTAGTGGTTATCACGTTCGCCTAACACGCGAAAGGTCC CCGGTTCGAAG (配列番号 46)
mU1	TTGTTCCTCTTAGTGTTAATTCACACTAAAGACTGTGCATCCGACTCC TACATTTATGAAAGTAAATGCCTGTTGTTAGAACAAAAAAGGCTACA GAACAAAAAACAAAGCGAAATACCATCTGCTTTAGGTTCAGTGTGGT ATTTTCCCGCTGACAGGGAGGCGGGTTTTTGGGTACAGGAAACGAGT CACTATGGAGGCGGTACTATGTAGATGAGAATTCAGGTGCAAACTGG GAAAAGCAACTGCTTCCAAATATTTGTGATTTTTACAGTGTAGTTTTG GAAAAACTCTTAGCCTACCAATTCTTCTAAGTGTTTTAAAATGTGGGA

【表２－３】

	GCCAGTACACATGAAGTTATAGAGTGTTTTAATGAGGCTTAAATATTT ACCGTAACTATGAAATGCTACGCATATCATGCTGTTCAGGCTCCGTGG CCACGCAACTC (配列番号 47)
mU7+ extra 3'	TaacaacataggagctgtgattggctgttttcagccaatcagcactgActcatttgcatagcctttacaagcggtcac aaactcaagaaacgagcggttttaatagtcttttagaatattgtttatcgaaccgaataaggaactgtgctttgtgattca catatcagtggaggggtgtggaaatggcaccttgatctcaccctcatcgaaagtggagttgatgtcctTccctggct cgctacagacgcacttccgcaa (配列番号 48)
mU7	taacaacataggagctgtgattggctgttttcagccaatcagcactgActcatttgcatagcctttacaagcggtcac aaactcaagaaacgagcggttttaatagtcttttagaatattgtttatcgaaccgaataaggaactgtgctttgtgattca catatcagtggaggggtgtggaaatggcaccttgatctcaccctcatcgaaagtggagttgatgtcctTccctggct cgctacagacgcacttccgc (配列番号 151)
hU7	TACTGCCGAATCCAGGTCTCCGGGCTTAACAACAACGAAGGGGCTGT GACTGGCTGCTTTCTCAACCAATCAGCACCGAACTCATTTGCATGGGC TGAGAACAAATGTTCGCGAACTCTAGAAATGAATGACTTAAGTAAGT TCCTTAGAATATTATTTTTCCTACTGAAAGTTACCACATGCGTCGTTG TTTATACAGTAATAGGAACAAGAAAAAAGTCACCTAAGCTCACCCTC ATCAATTGTGGAGTTCCTTTATATCCCATCTTCTCTCCAAACACATAC GCA (配列番号 39)
mU5	TGCCAACAGCTTTGAAATCCTCTGTGCTCTTGTGCCAATCCCACCCTC AGAACAGGGAGTCTGTCGGTTATGTTTTCGTCCTTTACAGTTCTTCGC CGTCTAATCCATTGGAAACCTCCTTTATTTAAAGGAAACCGTGTCCAA ATTCAGTGTACAGAGGTGCAAACCTCCGCCCCGCTCCTTGTAGGAAG CCCACGGGAACTGGGCCAATCGGACGGCGCTTACTCGGCTCATTTAC ATACCCATAACACACCGCGGCTAATGCAAATATTTTCGTGAAAAGAT CTTCCATTACTCGAAGTTTTAAAACTAAAAACAAAATATTATTTCAAA AGATCATGAAGAAATTTCTGTCGGTAACAGCAGTTTCAATTGATAAA TCACCATCACTTATCTAGGAGGTTCTGTTACTCTAGAAGTGAATTAAG CAGGACAGCTGT (配列番号 152)
mU2	Gggcggggcatgcaaataactgctctgtggaactctgggagcaaaaacaaaaaactgcaaccaaaacttctcggc ctccttgaatcttacaggcttttcgtggcgtaaaggtggtgtactcaatgaagaggagagtctgtgttggctgcatgttt gagtcggttggttggtgactgtgaatTAAAGGTGTGGtcggtgttgagtgtatggggcgtgtgggcgtagt tcggt (配列番号 153)
mU6	cgacgccgccatctctaggcccgcgccggccccctcgcacagacttgtgggagaagctcggctactcccctgccc cggttaatttgcatataatatttcctagtaactatagaggcttaatgtgcgataaaagacagataatctgttctttttaatac tagctacattttacatgataggcttggatttctataagagatacaaatactaaattattattttaaaaaacagcacaaaag gaaactcaccctaactgtaaagtaattgtgtgttttgagactataaatatcccttggagaaaagccttgttt (配列番号 154)
mH1	CATgCAAATTACGCGCTgTGCTTTGTGGGAAATCACCCTAAACGTAAA ATTTATTCCTCTTTcGAGCCTTATAGTGGcGGCCGGTCTACACCCTAAA (配列番号 155)

ターミネーター配列

【００９５】

本明細書に開示されるｅｓｎＲＮＡ系は、ｓｎＲＮＡ下流ターミネーター（ＤＴ）を含む。下流ターミネーターは、ｅｓｎＲＮＡまたはｓｎＲＮＡなどの転写単位の末端を規定する。別の実施形態では、ｓｎＲＮＡ　ＤＴは、ＣＣＴＣＴＴＡＴＧＡＴＧＴＴＴＧＴＴＧＣＣＡＡＴＧＡＴＡＧＡＴＴＧＴＴＴＴＣＡＣＴＧＴＧＣＡＡＡＡＡＴＴＡＴＧＧＧＴＡＧＴＴＴＴＧＧＴＧＧＴＣＴＴＧＡＴＧＣＡＧＴＴＧＴＡＡＧＣＴＴＧＧＡＧ（配列番号４９）を含むＵ７　ＤＴである。

【００９６】

一実施形態では、ｅｓｎＲＮＡは、ｅＳＬ、１つまたは複数のプロモーター、ＴＳ、ＳｍＢＤ、５’ＩＳＤ、およびＤＴを含む。一態様では、プロモーターとＤＴの組合せは、混合されたおよびマッチした組合せである。

【００９７】

別の実施形態では、ＤＴは、下の例示的なＤＴ表に列挙されている例示的なＤＴおよび／またはＤＴ配列から選択される：

【表３－１】

例示的なDT	DT配列
hU1	ACTTTCTGGAGTTTCAAAAACAGACTGTACGCCAAGGGTCATATCTTTTT (配列番号 50)
hU2	CCGGGGATACAACGTGTTTCCTAAAAGTAGAGGGAGGTAAGAGACGGTAG (配列番号 51)
hU4	CTGAATTTTCTTGCAGTTGAACAACAGAGGCTTTTTTTGTGTGTGTGGGG (配列番号 52)
hU5	ATATGTGGTAATCCAACAATAGAAATTATTTTTAAGTTTGTGTGTTCCTT (配列番号 53)
hU6	TTTTTT (配列番号 54)
h7sk	TTTTTT 配列番号 55)
tRNA(Val)	TTTTTT (配列番号 56)
mU1	GTTTACTTGGTTTTAAAAATAGCTTGCACTAGCGATACGGAATATGGTTATTAGGTTTGTTAGGCATCATGTCGTGTCTTACTATAGAAAAATAACGTAGTGTTCATTTTAGCCTGCCTGTATGTGTTAATTTGTCCTTATTGCGCATTGTTCTTGTTAAGTCTTCTGTAAGGAGTTGCGGGTTTCAAACTGTCAGTCTGAGAGCA (配列番号 57)
mU7+	Cccaatttcactggtctacaatgaaagcaaaacagttctcttccccgctccccggtgtgtgagaggggctttgatccttctctggtttcctaggaaacgcgtatgtgtac (配列番号 58)
mU7	Cccaatttcactggtctacaatgaaagcaaaacagttctcttccccgctccccggtgtgtgagaggggctttgatccttctctggtttcctaggaaacgcgtatgtg (配列番号 156)
hU7	CCTCTTATGATGTTTGTTGCCAATGATAGATTGTTTTCACTGTGCAAAAATTATGGGTAGTTTTGGTGGTCTTGATGCAGTTGTAAGCTTGGAG (配列番号 49)
hU7	CTTATGATGTTTGTTGCCAATGATAGATTGTTTTCACTGTGCAAAAATTATGGGTAGTTTTGGTGGTCTTGATGCAGTTGTAAGCTTGGAG (配列番号 234)

【表３－２】

mU5	CCACATTTTGTGTTTAAAAATAGAAATATTTAAGTGAGATCAGTTTA AATCTGCTTTATCTAGGGTGTCTAACTGCTTGCATCTTTTTAACTTTT CCTTATTTGTGAGAAGGTCTGTAAAACTTATTATATGTTAGTACACT GTAGCTGTCTTCAGACACTCCAGAAGAGGGATTCAGATCACCTTACA GATGGTTTTGA (配列番号 157)
mU2	CCCTCTGGGGAgtaaagttggttttaaagtcagagcatggtgattgtagggcagtccaacttttttaaatat gctgtg (配列番号 158)
mU6	TTTTTT (配列番号 XX)
mH1	TTTTTT (配列番号 XX)

【００９８】
一実施形態では、ｅｓｎＲＮＡは、ＡＡＶベクターで送達される。
【００９９】
一部の実施形態では、ＡＡＶベクターは、ｅｓｎＲＮＡの複数のコピーを含む。一部の実施形態では、ｅｓｎＲＮＡの複数のコピーは、ｅｓｎＲＮＡの２つ、３つまたは４つのコピー（２×、３×または４×）である。一部の実施形態では、ｅｓｎＲＮＡの複数のコピーは、ｅｓｎＲＮＡの４つまたはそれより多くのコピーである。
【０１００】
一部の実施形態では、ｅｓｎＲＮＡの複数のコピーの各ｅｓｎＲＮＡは、ｓｎＲＮＡの下流のヒト非コードゲノム配列に由来する核酸バッファー配列によって分離されている。一実施形態では、バッファー配列は、Ｕ７の下流のヒトゲノム配列に由来する。
【０１０１】
一実施形態では、バッファー配列は、以下の核酸配列からなる群から選択される：
バッファー１（３０ｂｐ）ＣＡＡＡＣＴＡＣＡＧＡＧＣＣＡＡＧＴＧＣＴＡＴＣＣＡＣＡＧＡ（配列番号２４）、
バッファー２（３０ｂｐ）ＧＡＧＣＴＴＴＣＴＧＧＧＴＴＧＣＣＡＴＣＴＣＡＡＧＣＡＧＡＣ（配列番号２５）、
バッファー３（３０ｂｐ）ＴＡＣＡＡＧＧＣＣＡＴＣＡＧＣＴＣＡＴＡＣＴＣＡＣＡＡＴＴＧ（配列番号２６）、およびこれらの組合せ。
【０１０２】
別の実施形態では、バッファー配列は、以下の核酸配列からなる群から選択される：
バッファー１（１００ｂｐ）ＣＡＡＡＣＴＡＣＡＧＡＧＣＣＡＡＧＴＧＣＴＡＴＣＣＡＣＡＧＡＧＡＧＣＴＴＴＣＴＧＧＧＴＴＧＣＣＡＴＣＴＣＡＡＧＣＡＧＡＣＴＡＣＡＡＧＧＣＣＡＴＣＡＧＣＴＣＡＴＡＣＴＣＡＣＡＡＴＴＧＡＣＴＴＴＧＡＧＡＧ（配列番号２７）、
バッファー２（１００ｂｐ）ＴＴＧＡＣＣＡＣＡＴＡＣＧＴＧＣＴＣＴＴＴＣＡＡＡＧＴＴＣＴＧＴＧＴＴＴＧＡＡＧＴＴＡＴＧＴＴＡＧＴＡＡＣＡＡＣＴＧＡＴＧＣＣＣＡＴＣＣＴＧＣＡＡＴＧＡＣＡＡＡＴＣＣＡＡＴＴＣＴＣＡＧＴＧＣＡＧＣＴＣ（配列番号２８）、およびこれらの組合せ。
【０１０３】
別の実施形態では、バッファー配列は、以下の核酸配列からなる群から選択される：
バッファー１（５００ｂｐ）

【化２】

CAAACTACAGAGCCAAGTGCTATCCACAGAGAGCTTTCTGGGTTGCCATCTCAAG
CAGACTACAAGGCCATCAGCTCATACTCACAATTGACTTTGAGAGTCATTTTCCA
ATGCTCCTACACACCCCTTCTTCACAATCCCCAACAAATCTGAGGCTGGAACTTG
GTACCATAACAATCATTACATTATTTCACCAGAAGTACACCTTGCCTGGAAGATT
GGCATTATAGCATCTTCTAACATTGTGAAAGTTAGTGACCAATGAGGAGATCCAA
GTCAGTTCCAGTTGGATTTCTCTATACTCTATAATAAATATATATGGTGTCTTCAA
CAATAGGACTTTGCCATCCAGTGATGCTAAAAATCAATAACAATGGCAATAACC
TGCCCTGTTTGGAAAGCCTCTGGCTTCCATGACTAACAATTCAAGGCAGGTCTCC
TATACCTAGTACTGAGATTTTTATTTGATAAACTATATCTTCTGGGAGGAGAAGC
ATTGT(配列番号 29)

バッファー２（５００ｂｐ）

【化３】

TTGACCACATACGTGCTCTTTCAAAGTTCTGTGTTTGAAGTTATGTTAGTAACAAC
TGATGCCCATCCTGCAATGACAAATCCAATTCTCAGTGCAGCTCTCTGAAATAGT
TTTGCTTTCTCTCTCTAGGTCTGTTCTATACTCCTAACTCTCCAGGAGTTTACAAG
GAATAAAATCTCTTCCAAATGCTTTCTGTTGCAACAACTGGACCATACTGAAAGC
TGAGGCCCACAATTGCAATCTAGGTTAGCAGGTAATCATTGTTGGTGAGGTCCTC
CCTTTCCCCAGGCTCGTGTTTGTATTGGGGAGCAGGAAATTTTTGCTAGAGCAGC
ACTGCCATCTCTCTACACTCCACCTGATTGGTGGGATGGACCAGAGAAATGGACA
TTCCCAACACAGTCCCTCCTTTCACATCTGCTCACCTGCCCACAGGATACTTTCCA
CCATGCATACTGGGCTCTGCACCAACCATTCAGCAGTGATGAAGAGGAAACTTG
AAC(配列番号 30)

、および／またはこれらの組合せ。

【０１０４】

１００ｂｐおよび５００ｂｐのバッファー１配列は、ｍｕｓ ｍｕｓｃｕｌｕｓ Ｕ７偽遺伝子８（位置第１４染色体：４，４０９，３５９～４，４０９，４２１ 逆鎖。ＧＲＣｍ３９：ＣＭ００１００７．３）の１００ｂｐ下流から出発する配列に由来する。１００ｂｐおよび５００ｂｐのバッファー２配列は、ヒトＵ７偽遺伝子５（Ｘ染色体：１４０，４５１，１４８～１４０，４５１，２０８ 順鎖。ＧＲＣｈ３８：ＣＭ０００６８５．２）の１３０ｂｐ下流から出発する配列に由来する。両方の１００ｂｐバッファーは、対応する５００ｂｐバッファーの最初の１００ｂｐである。３０ｂｐのバッファー１、２および３は、ｍｕｓ ｍｕｓｃｕｌｕｓ Ｕ７偽遺伝子８の下流の「１００ｂｐバッファー１」内の連続した３０ｂｐ配列である。これらの下流の配列は、反復配列の欠如、全バッファーについて４０～６０％ＧＣ含量、バッファーの両端の２０ｂｐ領域における４０～６０％ＧＣ含量、および配列の複雑さが最小限であること（ｍｉｎｉｍａｌ ｓｅｑｕｅｎｃｅ ｃｏｍｐｌｅｘｉｔｙ）に加えて、配列内またはその付近におけるいずれかの既知の調節部位または遺伝子の欠如に起因して、（Ｇｅｎｃｏｄｅ／Ｅｎｓｅｍｂｌを使用して）選択された。

ｅｓｎＲＮＡ配列

【０１０５】

本開示の例示的なｅｓｎＲＮＡ配列は、本明細書に記載されるｅｓｎＲＮＡ特徴の任意の組合せを含み得る。一部の態様では、ｅｓｎＲＮＡは、下記のｅｓｎＲＮＡの表に列挙されるｅｓｎＲＮＡと少なくとも６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％または１００％（またはその間の任意のパーセンテージ）同一の核酸配列を含む、それから本質的になるまたはそれからなる：

【表４－１】

ID	説明	標的リピートまたは遺伝子記号	配列番号	配列
	u7 snRNA CUG	CUG	65	ggagtCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc
	u7 snRNA NT	非標的化	66	ggagtTCACCAGAAGCGTACCATACTCACGAAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc
	u7 snRNA CAG	CAG	67	ggagtCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc
	z38/42 esnRNA ジストロフィン エクソン51を標的化	DMD エクソン51	68	ggagtTACCTCCAACATCAAGGAAGATGGCAGTAACCACAGGTTGTGTCACCAGAGTAACAAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc
	z42 esnRNA	DMD エクソン51	69	ggagtGTAACCACAGGTTGTGTCACCAGAGTAACAAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc
	z38 esnRNA	DMD エクソン51	70	ggagtTACCTCCAACATCAAGGAAGATGGCAAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc
sR2200031	U7CUGx15-U1 Sm site_U7 term opt sl	CUG	71	ggagtCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGAATTTGTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc
sR2200032	U7CUGx15-Sm mut 1_U7 term opt sl	CUG	72	ggagtCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGTCGAGTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc
sR2200033	U7CAGx15-no Sm_U7 term opt sl	CUG	73	ggagtCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc
sR2200034	U7knt-U1 Sm site_U7 term opt sl	非標的化	74	ggagtTCACCAGAAGCGTACCATACTCACGAAATTTGTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc
sR2200035	U7knt-Sm mut 1_U7 term opt sl	非標的化	75	ggagtTCACCAGAAGCGTACCATACTCACGATCGAGTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc
sR2200036	U7knt-no Sm_U7 term opt sl	非標的化	76	ggagtTCACCAGAAGCGTACCATACTCACGAAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc

【表４－２】

sR2 20037	U7CAGx15-U1 Sm site_U7 term opt sl	CAG	77	ggagtCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCT GCTGCTGCTGCTGAATTTGTGGAGTAggctttctggctcctta ccggaaagcc
sR2 20038	U7CAGx15-Sm mut 1_U7 term opt sl	CAG	78	ggagtCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCT GCTGCTGCTGCTGTCGAGTTGGAGTAggctttctggctcctt accggaaagcc
sR2 20039	U7CAGx15-no Sm_U7 term opt sl	CAG	79	ggagtCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCT GCTGCTGCTGCTGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc
sR2 20040	U7CAGx5-U1 Sm site_U7 term opt sl	CAG	80	ggagtCTGCTGCTGCTGCTGAATTTGTGGAGTAggctttct ggctccttaccggaaagcc
sR2 20041	U7CAGx5-Sm mut 1_U7 term opt sl	CAG	81	ggagtCTGCTGCTGCTGCTGTCGAGTTGGAGTAggctttct ggctccttaccggaaagcc
sR2 20042	U7CAGx5-no Sm_U7 term opt sl	CAG	82	ggagtCTGCTGCTGCTGCTGAGTAggctttctggctccttaccgga aagcc
sR2 20056	U7-z38-delSm	DMD	83	ggagtTACCTCCAACATCAAGGAAGATGGCAggctttctg gctccttaccggaaagcc
sR2 20087	U7 5'SL ISDを伴う; 非標的化 NT (作製せず)	非標的化	84	GTTCCCGAAGTAACCCTTCGGGAACggagtTCACCAG AAGCGTACCATACTCACGAAATTTTTGGAGTAggcttt ctggctccttaccggaaagcc
sR2 20088	U7 5'SL ISDなし; 非標的化 NT (作製せず)	非標的化	85	GTTCCCGAAGTAACCCTTCGGGAACTCACCAGAAG CGTACCATACTCACGAAATTTTTGGAGTAggctttctggc tccttaccggaaagcc
sR2 20089	U7 5'キッシングSL ISDなし; 非標的化 NT (作製せず)	非標的化	86	GTTCCCGAAGggagtCTTCGGGAACTCACCAGAAGC GTACCATACTCACGAAATTTTTGGAGTAggctttctggctc cttaccggaaagcc
sR2 20090	U7 5'GC クランプ ISDなし; 非標的化 NT (作製せず)	非標的化	87	GGGCCCTCACCAGAAGCGTACCATACTCACGAAAT TTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc
sR2 20091	U7 5'三重らせん ISDなし; 非標的化 NT (作製せず)	非標的化	88	GAGAAGATTCGTCTTCTCTCTCTCTCTTCTTCACCA GAAGCGTACCATACTCACGAAATTTTTGGAGTAggc tttctggctccttaccggaaagcc
sR2 20092	U7 5'SL ISDを伴う; CUGx15	CUG	89	GTTCCCGAAGTAACCCTTCGGGAACggagtCAGCAG CAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGC AGCAGAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc
sR2 20093	U7 5'SL ISDなし ; CUGx15	CUG	90	GTTCCCGAAGTAACCCTTCGGGAACCAGCAGCAGC AGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCA GAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc
sR2 20094	U7 5'キッシングSL ISDなし; CUGx15	CUG	91	GTTCCCGAAGggagtCTTCGGGAACCAGCAGCAGCA GCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAG AATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc
sR2 20095	U7 5'GC クランプ ISDなし; CUGx15	CUG	92	GGGCCCCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGC AGCAGCAGCAGCAGAATTTTTGGAGTAggctttct ggctccttaccggaaagcc
sR2 20096	U7 5'三重らせん ISDなし; CUGx15	CUG	93	GAGAAGATTCGTCTTCTCTCTCTCTTCTCAGCAG CAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGC AGCAGAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc

【表４－３】

sR200204	U7-nt	非標的化	94	ggagtTCACCAGAAGCGTACCATACTCACGAAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc
sR200297	U7 alt ISD SEQID16 非標的化nt1	非標的化	95	cctctTCACCAGAAGCGTACCATACTCACGAAATTTTTGGAGTAggctttctgggaggttaccggaaagcc
sR200298	U7 alt ISD SEQID17 非標的化nt1	非標的化	96	ggaggtTCACCAGAAGCGTACCATACTCACGAAATTTTTGGAGTAggctttctggcctccttaccggaaagcc
sR200299	U7 alt ISD SEQID18 非標的化nt1	非標的化	97	cctcctTCACCAGAAGCGTACCATACTCACGAAATTTTTGGAGTAggctttctggggaggttaccggaaagcc
sR201300	U7 alt ISD SEQID19 非標的化nt1	非標的化	98	agccagTCACCAGAAGCGTACCATACTCACGAAATTTTTGGAGTAggctttctggctggctaccggaaagcc
sR201301	U7 alt ISD SEQID20 非標的化nt1	非標的化	99	ggaagTCACCAGAAGCGTACCATACTCACGAAATTTTTGGAGTAggctttctggcttccccggaaagcc
sR201302	U7 alt ISD SEQID21 非標的化nt1	非標的化	100	gaagaagTCACCAGAAGCGTACCATACTCACGAAATTTTTGGAGTAggctttctggcttcttcccggaaagcc
sR201303	U7 alt ISD SEQID22 非標的化nt1	非標的化	101	gttgTCACCAGAAGCGTACCATACTCACGAAATTTTTTGGAGTAggctttctggcaacttaccggaaagcc
sR201304	U7 alt ISD SEQID23 非標的化nt1	非標的化	102	ccgaaTCACCAGAAGCGTACCATACTCACGAAATTTTTGGAGTAggctttctggttcggtaccggaaagcc
sR201305	U7 alt ISD SEQID24 非標的化nt1	非標的化	103	taaggagTCACCAGAAGCGTACCATACTCACGAAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc
sR201306	U7 alt ISD SEQID25 非標的化nt1	非標的化	104	gaagTCACCAGAAGCGTACCATACTCACGAAATTTTTGGAGTAggctttctggcttcttcccggaaagcc
sR201307	U7 alt ISD SEQID26 非標的化nt1	非標的化	105	ggcttTCACCAGAAGCGTACCATACTCACGAAATTTTTGGAGTAggctttctggaagccttaccggaaagcc
sR201308	U7 alt ISD SEQID27 非標的化nt1	非標的化	106	gaagTCACCAGAAGCGTACCATACTCACGAAATTTTTGGAGTAggctttctggcttcttaccggaaagcc
sR20010	U7-CUGx15	CUG	107	ggagtCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc
sR201309	U7 alt ISD SEQID16 CUGx15	CUG	108	cctctCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGAATTTTTGGAGTAggctttctgggaggttaccggaaagcc
sR201310	U7 alt ISD SEQID17 CUGx15	CUG	109	ggaggtCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGAATTTTTGGAGTAggctttctggcctccttaccggaaagcc
sR201311	U7 alt ISD SEQID18 CUGx15	CUG	110	cctcctCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGAATTTTTGGAGTAggctttctgggaggttaccggaaagcc
sR201312	U7 alt ISD SEQID19 CUGx15	CUG	111	agccagCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGAATTTTTGGAGTAggctttctggctggctaccggaaagcc
sR201313	U7 alt ISD SEQID20 CUGx15	CUG	112	ggaagCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGAATTTTTGGAGTAggctttctggcttccccggaaagcc

【表４－４】

sR2201 14	U7 alt ISD SEQID21 CUGx15	CUG	113	gaagaagCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGAATTTTTGGAGTAggctttctggcttcttcccggaaagcc
sR2201 15	U7 alt ISD SEQID22 CUGx15	CUG	114	gttgCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGAATTTTTGGAGTAggctttctggcaactaccggaaagcc
sR2201 16	U7 alt ISD SEQID23 CUGx15	CUG	115	ccgaaCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGAATTTTTGGAGTAggctttctggttcggtaccggaaagcc
sR2201 17	U7 alt ISD SEQID24 CUGx15	CUG	116	taaggagCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc
sR2201 18	U7 alt ISD SEQID25 CUGx15	CUG	117	gaagCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGAATTTTTGGAGTAggctttctggcttcttcccggaaagcc
sR2201 19	U7 alt ISD SEQID26 CUGx15	CUG	118	ggcttCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGAATTTTTGGAGTAggctttctggaagccttaccggaaagcc
sR2201 20	U7 alt ISD SEQID27 CUGx15	CUG	119	gaagCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGAATTTTTGGAGTAggctttctggcttcttaccggaaagcc
	DMD z42/38 逆融合	DMD エクソン51	179	ggagtGTAACCACAGGTTGTGTCACCAGAGTAACATACCTCCAACATCAAGGAAGATGGCAaATTTTTGGAGcaggttttctgacctccgtcggaaaaccccct
	DMD z38/42 順融合	DMD エクソン51	180	ggagtTACCTCCAACATCAAGGAAGATGGCAGTAACCACAGGTTGTGTCACCAGAGTAACAaATTTTTGGAGcaggttttctgacctccgtcggaaaaccccct
	z42/38 逆融合 CCUテールなし	DMD エクソン51	181	ggagtGTAACCACAGGTTGTGTCACCAGAGTAACATACCTCCAACATCAAGGAAGATGGCAaATTTTTGGAGcaggttttctgacctccgtcggaaaacc
	z38/42 ISDなしeSLなしの融合のための	DMD エクソン51	182	TACCTCCAACATCAAGGAAGATGGCAGTAACCACAGGTTGTGTCACCAGAGTAACAaATTTTTGGAGcaggttttctgacttcggtcggaaaaccccct
	z38/42 順融合 ヒトループ ISDおよびeSLを伴う	DMD エクソン51	183	ggagtTACCTCCAACATCAAGGAAGATGGCAGTAACCACAGGTTGTGTCACCAGAGTAACAAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc
	z38/42 順融合 ヒトループ ISDおよびeSLを伴い、CCUテール付加	DMD エクソン51	184	ggagtTACCTCCAACATCAAGGAAGATGGCAGTAACCACAGGTTGTGTCACCAGAGTAACAAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagccccct
	Z38/z42 順融合 ロングマウスループ 5' ISDおよびeSLを伴う	DMD エクソン51	185	ggagtTACCTCCAACATCAAGGAAGATGGCAGTAACCACAGGTTGTGTCACCAGAGTAACAaATTTTTGGAGcaGgttttctgacctccttcggtcggaaaaccccct

ベクター

【０１０６】

組換え発現ベクターの文脈の中で、「作動可能に連結されている」という用語法は、ハイブリッドプロモーターが、例えば宿主細胞において、ベクターが宿主細胞に導入された（または宿主細胞と接触している）ときに、ヌクレオチド配列の発現を可能にする様式でＮＯＩに連結されていることを意味するように意図されている。

【０１０７】

本開示の組成物および方法の一部の実施形態では、ベクターは、操作されたｓｎＲＮＡを含む。一部の実施形態では、治療用ｓｎＲＮＡは、単一またはユニタリーベクター内に

ある。
【０１０８】
本開示の組成物および方法の一部の実施形態では、ＲＮＡ結合ｓｎＲＮＡ系は、毒性ＣＡＧ、ＣＵＧ、ＧＧＣＣＣＣ、ＣＣＧＧＧ、またはＧＧＣＣＣ＋ＣＣＧＧＧＧ　ＲＮＡリピート（またはそのフランキング配列）を標的とすることができ、単一ベクター内にある。本開示の組成物および方法の一部の実施形態では、ＲＮＡ標的化系は、目的の非リピートＲＮＡを標的とすることができる。本開示の組成物および方法の一部の実施形態では、ＲＮＡ標的化系は、ＤＭＤの１つまたは複数の配列を標的とすることができる。一部の態様では、ｓｎＲＮＡ系は、目的の複数の（すなわち、２つまたはそれより多くの）ＲＮＡを標的とすることができる。一部の実施形態では、目的の２つまたはそれより多くのＲＮＡは、同じプレｍＲＮＡ分子であり得るが、プレｍＲＮＡ分子内の異なる配列であり得る。
【０１０９】
１つのタイプのベクターは、「プラスミド」であり、プラスミドは、追加のＤＮＡセグメントが、例えば標準的な分子クローニング技法により、挿入され得る、環状二本鎖ＤＮＡループを指す。別のタイプのベクターは、ウイルス由来のＤＮＡまたはＲＮＡ配列が、ウイルス（例えば、レトロウイルス、複製欠損型レトロウイルス、アデノウイルス、複製欠損型アデノウイルス、およびアデノ随伴ウイルス）へのパッケージングのためのベクター内に存在する、ウイルスベクターである。ウイルスベクターは、宿主細胞へのトランスフェクションのためにウイルスによって運ばれるポリヌクレオチドも含む。一部の実施形態では、ベクターは、レンチウイルス（例えば、組込み欠損型レンチウイルスベクター）またはアデノ随伴ウイルス（ＡＡＶ）ベクターである。ベクター、例えば、細菌複製起点を有する細菌ベクターなどは、それらが導入される宿主細胞において自己複製することができ、エピソーム哺乳動物ベクター、および他のベクター、例えば非エピソーム哺乳動物ベクターなどは、宿主細胞に導入されると宿主細胞のゲノムに組み込まれ、それによって宿主ゲノムとともに複製される。
【０１１０】
一部の実施形態では、ベクター、例えば、発現ベクターなどは、それらが機能的に連結されている遺伝子の発現を指示することができる。一般的な発現ベクターは、多くの場合、プラスミドの形態である。一部の実施形態では、組換え発現ベクターは、本明細書において提供される核酸、例えば、宿主細胞におけるタンパク質発現に好適な形態のｅｓｎＲＮＡなどを含む。組換え発現ベクターは、発現に使用される宿主細胞に基づいて選択され得る１つまたは複数の調節エレメントであって、発現される核酸配列に機能的に連結されている調節エレメントを含む。組換え発現ベクター内で、「作動可能に連結されている」は、目的のヌクレオチド配列が、例えば、ｉｎ　ｖｉｔｒｏ転写／翻訳系において、またはベクターが宿主細胞に導入されたときに宿主細胞においてなど、ヌクレオチド配列の発現を可能にする様式で、調節エレメント（複数可）に連結されていることを意味するように意図されている。ベクターのある特定の実施形態は、形質転換される宿主細胞の選択、および所望される発現レベルなどの、因子に依存する。ベクターを宿主細胞に導入して、それによって、例えば、ｓｎＲＮＡ、ＣＲＩＳＰＲ転写物、タンパク質、酵素、その変異体形態、その融合タンパク質などのような、本明細書に記載の核酸によりコードされる融合タンパク質またはペプチドを含む、転写物、タンパク質、またはペプチドを産生することができる。
ウイルスベクター
【０１１１】
本開示の組成物および方法の一部の実施形態では、本開示のベクターは、ウイルスベクターである。一部の実施形態では、ウイルスベクターは、レトロウイルスから単離されたまたはそれに由来する配列を含む。一部の実施形態では、ウイルスベクターは、レンチウイルスから単離されたまたはそれに由来する配列を含む。一部の実施形態では、ウイルスベクターは、アデノウイルスから単離されたまたはそれに由来する配列を含む。一部の実

施形態では、ウイルスベクターは、アデノ随伴ウイルス（ＡＡＶ）から単離されたまたはそれに由来する配列を含む。一部の実施形態では、ウイルスベクターは、複製能力がない。一部の実施形態では、ウイルスベクターは、単離されたものまたは組み換えられたものである。一部の実施形態では、ウイルスベクターは、自己相補的である。

アデノ随伴ウイルスベクター

【０１１２】

「ＡＡＶベクター」は、本明細書で使用される場合、１つまたは複数の核酸分子および１つまたは複数のＡＡＶ末端逆位反復配列（ＩＴＲ）を含む、それらから本質的になる、またはそれからなる、ベクターを指す。一部の態様では、核酸分子は、本開示のｅｓｎＲＮＡをコードする。そのようなＡＡＶベクターは、例えば宿主細胞へのトランスフェクションにより、ｒｅｐおよびｃａｐ遺伝子産物の機能性を提供する宿主細胞に存在する場合、複製され、感染性ウイルス粒子にパッケージングされ得る。一部の態様では、ＡＡＶベクターは、プロモーター、少なくとも１つのタンパク質もしくはＲＮＡをコードし得る少なくとも１つの核酸、および／または感染性ＡＡＶ粒子にパッケージングされるフランキングＩＴＲ内のエンハンサーおよび／もしくはターミネーターを含有する。カプシドに封入された核酸部分は、ＡＡＶベクターゲノムと呼ばれ得る。ＡＡＶベクターを含有するプラスミドは、製造のためのエレメント、例えば、抗生物質耐性遺伝子、複製起点配列なども含有し得るが、これらは、カプシドに封入されず、したがって、ＡＡＶ粒子の一部を形成しない。

【０１１３】

一部の態様では、ＡＡＶベクターは、本開示のｅｓｎＲＮＡ組成物をコードする少なくとも１つの核酸を含み得る。一部の態様では、ＡＡＶベクターは、少なくとも１つの調節配列を含み得る。一部の態様では、ＡＡＶベクターは、少なくとも１つのＡＡＶ末端逆位（ＩＴＲ）配列を含み得る。一部の態様では、ＡＡＶベクターは、第１のＩＴＲ配列および第２のＩＴＲ配列を含み得る。一部の態様では、ＡＡＶベクターは、少なくとも１つのプロモーター配列を含み得る。一部の態様では、ＡＡＶベクターは、少なくとも１つのエンハンサー配列を含み得る。一部の態様では、ＡＡＶベクターは、少なくとも１つのターミネーター配列を含み得る。一部の態様では、ＡＡＶベクターは、少なくとも１つのポリＡ配列を含み得る。一部の態様では、ＡＡＶベクターは、少なくとも１つのリンカー配列を含み得る。一部の態様では、ＡＡＶベクターは、少なくとも１つのバッファー配列を含み得る。一部の態様では、本開示のＡＡＶベクターは、少なくとも１つの核局在化シグナル、または核外輸送シグナル、および／または両方を含み得る。

【０１１４】

一部の態様では、ＡＡＶベクターは、第１のＡＡＶ　ＩＴＲ配列、プロモーター配列、ｅｓｎＲＮＡ配列、ターミネーター配列、および第２のＡＡＶ　ＩＴＲ配列を含み得る。一部の態様では、ＡＡＶベクターは、５’から３’に、第１のＡＡＶ　ＩＴＲ配列、プロモーター配列、ｅｓｎＲＮＡ配列、ターミネーター配列、および第２のＡＡＶ　ＩＴＲ配列を含み得る。

【０１１５】

一部の態様では、ＡＡＶベクターは、第１のＡＡＶ　ＩＴＲ配列、第１のプロモーター配列、第１のｅｓｎＲＮＡ配列、第２のプロモーター配列、第２のｅｓｎＲＮＡ配列、および第２のＡＡＶ　ＩＴＲ配列を含み得る。一部の態様では、ＡＡＶベクターは、第１のＡＡＶ　ＩＴＲ配列、第１のプロモーター配列、第１のｅｓｎＲＮＡ配列、第２のプロモーター配列、第２のｅｓｎＲＮＡ配列、第３のプロモーター配列、第３のｅｓｎＲＮＡ配列、および第２のＡＡＶ　ＩＴＲ配列を含み得る。一部の態様では、ＡＡＶベクターは、第１のＡＡＶ　ＩＴＲ配列、第１のプロモーター配列、第１のｅｓｎＲＮＡ配列、第２のプロモーター配列、第２のｅｓｎＲＮＡ配列、および第２のＡＡＶ　ＩＴＲ配列を含み得る。一部の態様では、ＡＡＶベクターは、第１のＡＡＶ　ＩＴＲ配列、第１のプロモーター配列、第１のｅｓｎＲＮＡ配列、第２のプロモーター配列、第２のｅｓｎＲＮＡ配列、第３のプロモーター配列、第３のｅｓｎＲＮＡ配列、第４のプロモーター配列、第４のｅ

ｓｎＲＮＡ配列、および第２のＡＡＶ　ＩＴＲ配列を含み得る。

【０１１６】

用語「アデノ随伴ウイルス」または「ＡＡＶ」は、本明細書で使用される場合、この名前に関連するウイルスの綱のメンバーであって、Ｐａｒｖｏｖｉｒｉｄａｅ科、Ｄｅｐｅｎｄｏｐａｒｖｏｖｉｒｕｓ属に属するメンバーを指す。アデノ随伴ウイルスは、ある特定の機能がヘルパーウイルスの同時感染により提供される細胞において成長する一本鎖ＤＮＡウイルスである。ＡＡＶの一般的な情報および総説は、例えば、Ｃａｒｔｅｒ，１９８９，Ｈａｎｄｂｏｏｋ ｏｆ Ｐａｒｖｏｖｉｒｕｓｅｓ，Ｖｏｌ．１，ｐｐ．１６９－２２８、およびＢｅｒｎｓ，１９９０，Ｖｉｒｏｌｏｇｙ，ｐｐ．１７４３－１７６４，Ｒａｖｅｎ Ｐｒｅｓｓ，（Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ）において見つけることができる。これらの総説に記載されている同じ原理が、これらの総説の発表日後に特徴付けられた追加のＡＡＶ血清型に適用可能であることは、十分に予想される。なぜなら、多様な血清型が、構造的にも機能的にも、さらには遺伝子レベルで、非常に密接に関連していることは周知であるからである。（例えば、Ｂｌａｃｋｌｏｗｅ，１９８８，ｐｐ．１６５－１７４ ｏｆ Ｐａｒｖｏｖｉｒｕｓｅｓ ａｎｄ Ｈｕｍａｎ Ｄｉｓｅａｓｅ，Ｊ．Ｒ．Ｐａｔｔｉｓｏｎ，ｅｄ．；およびＲｏｓｅ，Ｃｏｍｐｒｅｈｅｎｓｉｖｅ Ｖｉｒｏｌｏｇｙ ３：１－６１（１９７４）を参照されたい）。例えば、全てのＡＡＶ血清型は、相同ｒｅｐ遺伝子により媒介される非常に類似した複製特性を示すようであり、全てが、３つの関連カプシドタンパク質、例えば、ＡＡＶ２に発現されるものを有する。この類似度は、ゲノムの長さに沿った血清型間の過度の交差ハイブリダイゼーションを明示するヘテロ二本鎖解析；および「末端逆位反復配列」（ＩＴＲ）に対応する末端における類似の自己アニーリングセグメントの存在によってさらに示唆される。類似した感染力パターンも、各血清型における複製機能が、類似した調節制御下にあることを示唆する。このウイルスの複数の血清型は、遺伝子送達に好適であることが公知であり、あらゆる公知血清型が、種々の組織型からの細胞に感染し得る。

【０１１７】

ＡＡＶは、そのＡＡＶを、例えば遺伝子治療において、外来ＤＮＡを細胞に送達するベクターとして魅力的なものにする、独特の特徴を有する。培養下の細胞のＡＡＶ感染は、非細胞変性性であり、ヒトおよび他の動物の自然感染は、無症状および無症候性である。さらに、ＡＡＶは、多くの哺乳動物細胞に感染し、それによって、ｉｎ ｖｉｖｏで多くの異なる組織を標的とする可能性が認められる。さらに、ＡＡＶは、分裂および非分裂細胞に緩徐に形質導入し、本質的にこれらの細胞の寿命にわたって転写活性核エピソーム（染色体外エレメント）として存続することができる。ＡＡＶプロウイルスゲノムは、プラスミド内にクローン化ＤＮＡとして挿入され、そのため組換えゲノムの構築が実現可能になる。さらに、ＡＡＶの複製およびゲノムカプシド封入を指示するシグナルがＡＡＶゲノムのＩＴＲ内に含有されているため、ＡＡＶベクターを生成するために内部のおおよそ４．３ｋｂのゲノム（複製および構造カプシドタンパク質、ｒｅｐ－ｃａｐ、をコードする）の一部または全てを外来ＤＮＡに置き換えることができる。ｒｅｐおよびｃａｐタンパク質をｉｎ ｔｒａｎｓで提供することができる。ＡＡＶのもう１つの有意な特徴は、極めて安定している丈夫なウイルスであることである。ＡＡＶは、アデノウイルスを不活性化するために使用される条件（５６℃～６５℃、数時間）にたやすく耐え、そのためＡＡＶの低温保存があまり重要でなくなる。ＡＡＶを凍結乾燥させることさえできる。最終的に、ＡＡＶ感染細胞は、重複感染に対して耐性がない。

【０１１８】

本発明の組換えＡＡＶ（ｒＡＡＶ）ゲノムは、少なくとも１つのｅｓｎＲＮＡをコードする核酸分子、およびその核酸分子に隣接している１つまたは複数のＡＡＶ　ＩＴＲを含む、それらから本質的になる、またはそれらからなる。偽型ｒＡＡＶの産生は、例えば、ＷＯ２００１０８３６９２において開示されている。他のタイプのｒＡＡＶバリアント、例えば、カプシド変異を有するｒＡＡＶも、企図される。例えば、Ｍａｒｓｉｃ ｅｔ ａｌ．，Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｔｈｅｒａｐｙ，２２（１１）：１９００－１９０

９　（２０１４）を参照されたい。多様なＡＡＶ血清型のゲノムのヌクレオチド配列が、当技術分野において公知である。

【０１１９】

本開示の組成物および方法の一部の実施形態では、ウイルスベクターは、アデノ随伴ウイルス（ＡＡＶ）から単離されたまたはそれに由来する配列を含む。一部の実施形態では、ウイルスベクターは、血清型ＡＡＶ１、ＡＡＶ２、ＡＡＶ３、ＡＡＶ４、ＡＡＶ５、ＡＡＶ６、ＡＡＶ７、ＡＡＶ８、ＡＡＶ９、ＡＡＶ１０、ＡＡＶｒｈ１０、ＡＡＶ１１またはＡＡＶ１２のＡＡＶから単離されたまたはそれに由来する、末端逆位反復配列またはカプシド配列を含む。一部の実施形態では、ＡＡＶ血清型は、ＡＡＶｒｈ．７４である。一実施形態では、ＡＡＶベクターは、改変されたカプシドを含む。一実施形態では、ＡＡＶベクターは、ＡＡＶ２－Ｔｙｒ変異体ベクターである。一実施形態では、ＡＡＶベクターは、非チロシンアミノ酸が、野生型ＡＡＶ２の位置Ｔｙｒ２５２、Ｔｙｒ２７２、Ｔｙｒ２７５、Ｔｙｒ２８１、Ｔｙｒ５０８、Ｔｙｒ６１２、Ｔｙｒ７０４、Ｔｙｒ７２０、Ｔｙｒ７３０またはＴｙｒ６７３の表面露出チロシン残基に対応する位置にある、カプシドを含む。その全体が本明細書に組み込まれるＷＯ２００８／１２４７２４も参照されたい。一部の実施形態では、ＡＡＶベクターは、操作されたカプシドを含む。操作されたカプシドを含むＡＡＶベクターとしては、限定することなく、ＡＡＶ２．７ｍ８、ＡＡＶ９．７ｍ８、ＡＡＶ２　２ｔＹＦ、およびＡＡＶ８　Ｙ７３３Ｆ）が挙げられる。一部の実施形態では、カプシドは、ユビキチン化耐性カプシドである。別の実施形態では、ユビキチン化カプシドは、チロシン（Ｙ）およびセリン（Ｓ）変異を含むＡＡＶ２カプシドである。別の実施形態では、ＡＡＶ２カプシドは、Ｙ、Ｓおよびトレオニン（Ｔ）変異を含む。別の実施形態では、ＡＡＶ２カプシドは、限定することなく、ＡＡＶ２カプシド変異体、例えば、Ｔ４５５Ｖ、Ｔ４９１Ｖ、Ｔ５５０Ｖ、Ｔ６５９Ｖ、Ｙ４４４＋５００＋７３０Ｆ、およびＹ４４４＋５００＋７３０Ｆ＋Ｔ４９１Ｖを含む。一部の実施形態では、ウイルスベクターは、複製能力がない。一部の実施形態では、ウイルスベクターは、単離されたものまたは組み換えられたもの（ｒＡＡＶ）である。一部の実施形態では、ウイルスベクターは、自己相補的（ｓｃＡＡＶ）である。一部の実施形態では、ウイルスベクターは、一本鎖（ｓｓＡＡＶ）である。

ＡＡＶ　ＩＴＲ配列

【０１２０】

本開示の組成物および方法の一部の実施形態では、ＡＡＶ末端逆位反復配列は、当技術分野において公知の任意のＡＡＶ　ＩＴＲ配列を含み得る。一部の態様では、ＡＡＶ　ＩＴＲ配列は、ＡＡＶ１　ＩＴＲ配列、ＡＡＶ２　ＩＴＲ配列、ＡＡＶ３　ＩＴＲ配列、ＡＡＶ４　ＩＴＲ配列、ＡＡＶ５　ＩＴＲ配列、ＡＡＶ６　ＩＴＲ配列、ＡＡＶ７　ＩＴＲ配列、ＡＡＶ８　ＩＴＲ配列、ＡＡＶ９　ＩＴＲ配列、ＡＡＶ１０　ＩＴＲ配列、ＡＡＶｒｈ１０　ＩＴＲ配列、ＡＡＶ１１　ＩＴＲ配列、ＡＡＶ１２　ＩＴＲ配列、ＡＡＶ１３　ＩＴＲ配列、またはＡＡＶｒｈ７４　ＩＴＲ配列を含み得るまたはそれからなり得る。

【０１２１】

一部の態様では、ＩＴＲ配列は、改変ＡＡＶ　ＩＴＲ配列を含み得る。

【０１２２】

一部の態様では、ＡＡＶ　ＩＴＲ配列は、配列番号５９、配列番号６０、配列番号６１、配列番号１６２、または配列番号１６６と少なくとも６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％または１００％（またはその間の任意のパーセンテージ）同一の核酸配列を含み得る、それから本質的になり得るまたはそれからなり得る。

【０１２３】

一部の態様では、第１のＡＡＶ　ＩＴＲ配列は、配列番号５９、配列番号６０、配列番号６１、配列番号１６２、もしくは配列番号１６６と少なくとも６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％もしくは１００％（もしくはその間の任意のパーセンテージ）同一の核酸配列を含み得、それから本質的に

なり得、もしくはそれからなり得、第２のＡＡＶ　ＩＴＲ配列は、配列番号５９、配列番号６０、配列番号６１、配列番号１６２、もしくは配列番号１６６と少なくとも６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％もしくは１００％（もしくはその間の任意のパーセンテージ）同一の核酸配列を含み得る、それから本質的になり得るもしくはそれからなり得る。一部の態様では、第１のＡＡＶ　ＩＴＲ配列は、ＡＡＶベクターの５’に位置する。一部の態様では、第２のＡＡＶ　ＩＴＲ配列は、ＡＡＶベクターの３’に位置する。

【０１２４】

本開示の組成物および方法の一部の実施形態では、ウイルスベクターは、アデノ随伴ウイルス（ＡＡＶ）から単離されたまたはそれに由来する配列を含む。

【０１２５】

本開示の組成物および方法の一部の実施形態では、本開示のベクターは、非ウイルスベクターである。一部の実施形態では、ベクターは、ナノ粒子、ミセル、リポソームもしくはリポプレックス、ポリマーソーム、ポリプレックスまたはデンドリマーを含むまたはそれからなる。一部の実施形態では、ベクターは、発現ベクターまたは組換え発現系である。本明細書で使用される場合、「組換え発現系」という用語は、組換えによって形成されたある特定の遺伝子材料を発現させるための遺伝子構築物を指す。

ｅｓｎＲＮＡベクター構築物

【０１２６】

本開示の例示的なｅｓｎＲＮＡ　ＡＡＶベクターは、本開示の１つまたは複数のｅｓｎＲＮＡ配列を含み得る。一部の態様では、ｅｓｎＲＮＡ　ＡＡＶベクターは、下記のｅｓｎＲＮＡ　ＡＡＶベクターの表に収載されるｅｓｎＲＮＡ　ＡＡＶベクターと少なくとも６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％または１００％（またはその間の任意のパーセンテージ）同一の核酸配列を含む、それから本質的になるまたはそれからなる：

【表５－１】

ID	説明	配列番号
A02962	ss pAAV-4X U7(15XCUG) (P00369の誘導体)CUGリピートを標的化	120
A02963	ss pAAV-4X U7(NT1) (P00369の誘導体)	121
A02967	ss pAAV-4X U7(15XCUG) CUGリピートを標的化	122
A03079	sc pAAV-4X U7(15XCUG) (P00369の誘導体) CAGリピートを標的化	123
A03080	sc pAAV-4X U7(NT1) (P00369の誘導体)	124
A03081	sc pAAV-4X U7(15XCTG) CUGリピートを標的化	125
A02888	pAAV_1xU7(15xCUG)_CMV_GFP (バッファーなし) CUGリピートを標的化	126
A02889	pAAV_1xU7(NT1)_CMV_GFP (バッファーなし)	127
A02925	pAAV_1xU7(15xCAG)_CMV_GFP (バッファーなし) CAGリピートを標的化	128
A02894	pAAV_3xU7(15xCUG)_CMV_GFP (100bp バッファー) CUGリピートを標的化	129
A02895	pAAV_3xU7(NT1)_CMV_GFP (100bp バッファー)	130
A02968	pAAV_3xU7(15XCAG)_CMV_GFP (100bp バッファー)CAGリピートを標的化	131
A02896	pAAV_3xU7(15xCUG)_CMV_GFP (500bp バッファー)	132
A02897	pAAV_3xU7(NT1)_CMV_GFP (500bp バッファー)	133
A02969	pAAV_3xU7(15xCAG)_CMV_GFP (500bp バッファー)CAGリピートを標的化	134
A03980	pAAV(ssAAV) U7プロモーター -esnRNA-z38/42-U7 ターミネーション-U1プロモーター-esnRNAz38/z42-U1 ターミネーション	135
A03981	pAAV(ssAAV)_U7プロモーター-esnRNA-z42-U7ターミネーション-U1プロモーター-esnRNA-z38-U1ターミネーション	136
A04229	pAAV(scAAV) U7プロモーター-esnRNA-z38/42-U7 ターミネーション-U1プロモーター-esnRNAz38/z42-U1 ターミネーション-mut ITR	137
A04184	pAAV(ssAAV)-U7プロモーター-z38/42-U7term_U1プロモーター-z38/42-U1term_バッファー組合せ配列スタッファー	138
A03681	pAAV(ssAAV)-U7プロモーター-zCUGx15-U7 term_U1プロモーター-zCUGx15-U1 term-eCMV-eGFP	139
A03682	pAAV(ssAAV)-U1プロモーター-zCUGx15-U1 term_U7プロモーター-zCUGx15-U7 term-eCMV-eGFP	140
A03683	pAAV(ssAAV)-U7プロモーター -znt-U7 term_U1プロモーター-ter-znt-U1 term-eCMV-eGFP	141
A03864	pAAV(ssAAV)-U7プロモーター-zCUGx15-U7 term_U1プロモーター-zCUGx15-U1 term (マイナスGFP - 3681の誘導体)	142
A04233	pAAV(scAAV)-U7プロモーター-zCUGx15-U7ターミネーション-U1プロモーター-zCUGx15-U1ターミネーション (A03681の誘導体 scAAVにおいてGFPなし)	143
A04569	scAAVmU7p-z42/38 rev fus-mU7term_mU1p-z42/38 rev fus-mU1term; マウスループ、5' ISDおよびeSLを伴う	168
A04526	scAAVmU7p-z38/42 順 fus-mU7term_mU1p-z38/42 順 fus-mU1term;マウスループ、5' ISDおよびeSLを伴う	169
A04771	scAAVmU7p-z42/38 逆 fus-mU7term_mU1p-z42/38 逆 fus-mU1term; マウスループ、5' ISDおよびeSL、CCUテールなし	170
A04525	scAAV-mU7p-z38/42-mU7term_mU7p-z38/42-mU7term;マウスループ、ISDなしeSLなし	171

【表５－２】

A04527	scAAV-mU7p-z38/42-mU7term_mU1p-z38/42-mU1term; マウスループ、ISDなしeSLなし	172
A04528	scAAV-mU7p-z38/42-mU7term_mU1p-z38/42-mU1term; ヒトループ、ISD およびeSLを伴う	173
A04529	scAAV-mU7p-z38/42-mU7term_mU1p-z38/42-mU1term; ヒトループ、ISD およびeSLを伴う、CCUテール付加	174
A04537	scAAV-mU7p-z38/42-mU7term_mU1prom- p-z38/42-mU1term; ロングマウスループ、5' ISD およびeSLを伴う	175
A04233	scAAV- hU7-CUGx15-hU1-CUGx15 (3`mut ITR)	176
A04234	scAAV- hU7-CUGx15-hU1-CUGx15 (5' mut ITR)	177
A04390	scAAV 5'mITR hU7-CAG15X-hU1-CAGx15	178
A04530	scAAV- mU7p-CUGx15-mU1p-CUGx15;マウスループ、ISD およびeSLを伴う	231
A04940	scAAV- mU7p-CUGx10-mU1p-CUGx10;マウスループ、ISD およびeSLを伴う、CCUなし	232
A04533	scAAV- mU7p-CAGx15-mU1p-CAGx15;マウスループ、ISD およびeSLを伴う	233

【０１２７】

本開示の例示的なＡＡＶベクターは、５’から３’へと：第１の末端逆位反復配列（ＩＴＲ）配列、Ｕ７プロモーター配列、ＤＭＤエクソン５１標的化Ｕ７　ｅｓｎＲＮＡ配列、Ｕ７下流ターミネーター配列、Ｕ１プロモーター配列、ＤＭＤエクソン５１標的化Ｕ７ｅｓｎＲＮＡ配列、Ｕ１下流ターミネーター配列、および第２のＩＴＲ配列を含む。一部の態様では、ＤＭＤエクソン５１標的化ｓｎＲＮＡ配列をコードするＡＡＶベクターＡ０４５６９をコードする核酸配列は、配列番号１６８を含む。

Ａ０４５６９：　ｓｃＡＡＶｍＵ７ｐ－ｚ４２／３８　ｒｅｖ　ｆｕｓ－ｍＵ７ｔｅｒｍ＿ｍＵ１ｐ－ｚ４２／３８　ｒｅｖ　ｆｕｓ－ｍＵ１ｔｅｒｍ；マウスループ、５’ＩＳＤおよびｅＳＬを伴う

【表６－１】

プラスミドエレメント	ヌクレオチド配列、5' から3' にかけて
5' ITR	ctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgcccgggcaaagcccgggcgtcgggcgacctttggtcgcccggcctcagtgagcgagcgagcgcgcagagagggagtggggtt (配列番号 162)
マウス U7 プロモーター	taacaacataggagctgtgattggctgttttcagccaatcagcactgActcatttgcatagcctttacaagcggtcacaaactcaagaaacgagcggttttaatagtcttttagaatattgtttatcgaaccgaataaggaactgtgctttgtgattcacatatcagtggaggggtgtggaaatggcaccttgatctcaccctcatcgaaagtggagttgatgtcctTccctggctcgctacagacgcacttccgcaa (配列番号 48)
ISD	ggagt (配列番号 12)
Z42/z38 逆融合スペーサー	GTAACCACAGGTTGTGTCACCAGAGTAACATACCTCCAACATCAAGGAAGATGGCA (配列番号 149)
SMOPT	aATTTTTGGAGca (配列番号 161)
マウスステムループ(eSL) ショートループ	ggttttctgacctccgtcggaaaaccect (配列番号 146)
マウス U7ターミネーター	cccaatttcactggtctacaatgaaagcaaaacagttctcttccccgctccccggtgtgtgagaggggctttgatccttctctggtttcctaggaaacgcgtatgtg (配列番号 156)
マウス U1 プロモーター	TTGTTCCTCTTAGTGTTAATTCACACTAAAGACTGTGCATCCGACTCCTACATTTATGAAAGTAAATGCCTGTTGTTAGAACAAAAAAGGCTACAGAACAAAAAACAAAGCGAAATACCATCTGCTTTAGGTTCAGTGTGGTATTTTCCCGCTGACAGGGAGGCGGGTTTTTGGGTACAGGAAACGAGTCACTATGGAGGCGGTACTATGTAGATGAGAATTCAGGTGCAAACTGGGAAAAGCAACTGCTTCCAAATATTTGTGATTTTTACAGTGTAGTTTTGGAAAAACTCTTAGCCTACCAATTCTTCTAAGTGTTTTAAAATGTGGGAGCCAGTACACATGAAGTTATAGAGTGTTTTAATGAGGCTTAAATATTTACC

【表６－２】

	GTAACTATGAAATGCTACGCATATCATGCTGTTCAGGCTCCGTGGCCACGCAACTC（配列番号47）
ISD	ggagt（配列番号12）
Z42/z38 逆融合スペーサー	GTAACCACAGGTTGTGTCACCAGAGTAACATACCTCCAACATCAAGGAAGATGGCA（配列番号149）
SMOPT	aATTTTTGGAGca（配列番号161）
マウスステムループ(eSL)ショートループ	ggttttctgacctccgtcggaaaaccccct（配列番号146）
マウスU1ターミネーター	GTTTACTTGGTTTTAAAAATAGCTTGCACTAGCGATACGGAATATGGTTATTAGGTTTGTTAGGCATCATGTCGTGTCTTACTATAGAAAAATAACGTAGTGTTCATTTTAGCCTGCCTGTATGTGTTAATTTGTCCTTATTGCGCATTGTTCTTGTTAAGTCTTCTGTAAGGAGTTGCGGGTTTCAAACTGTCAGTCTGAGAGCA（配列番号57）
3’ ITR	Aggaaccccctagtgatggagttggccactccctctctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgggcgaccaaaggtcgcccgacgcccgggctttgcccgggcggcctcagtgagcgagcgagcgcgcagctgcctgcagg（配列番号60）

【０１２８】

本開示の例示的なＡＡＶベクターは、５’から３’へと：第１の末端逆位反復配列（ＩＴＲ）配列、Ｕ７プロモーター配列、ＤＭＤエクソン５１標的化Ｕ７　ｅｓｎＲＮＡ配列、Ｕ７下流ターミネーター配列、Ｕ１プロモーター配列、ＤＭＤエクソン５１標的化Ｕ７ｅｓｎＲＮＡ配列、Ｕ１下流ターミネーター配列、および第２のＩＴＲ配列を含む。一部の態様では、ＤＭＤエクソン５１標的化ｓｎＲＮＡ配列をコードするＡＡＶベクターＡ０４５２６をコードする核酸配列は、配列番号１６９を含む。

【表７－１】

プラスミドエレメント	ヌクレオチド配列、5’から3’にかけて
5’ ITR	ctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgcccgggcaaagcccgggcgtcgggcgacctttggtcgcccggcctcagtgagcgagcgagcgcgcagagagggagtgggggtt（配列番号162）
マウスU7プロモーター	taacaacataggagctgtgattggctgttttcagccaatcagcactgActcatttgcatagcctttacaagcggtcacaaactcaagaaacgagcggttttaatagtcttttagaatattgtttatcgaaccgaataaggaactgtgctttgtgattcacatatcagtggaggggtgtggaaatggcaccttgatctcaccctcatcgaaagtggagttgatgtcctTccctggctcgctacagacgcacttccgcaa（配列番号48）
ISD	ggagt（配列番号12）
Z38/z42 順融合スペーサー	TACCTCCAACATCAAGGAAGATGGCAGTAACCACAGGTTGTGTCACCAGAGTAACA（配列番号150）
SMOPT	aATTTTTGGAGca（配列番号161）
マウスステムループ(eSL)ショートループ	ggttttctgacctccgtcggaaaaccccct（配列番号146）
マウスU7ターミネーター	cccaatttcactggtctacaatgaaagcaaaacagttctcttccccgctccccggtgtgtgagaggggctttgatccttctctggtttcctaggaaacgcgtatgtg（配列番号156）
マウスU1プロモーター	TTGTTCCTCTTAGTGTTAATTCACACTAAAGACTGTGCATCCGACTCCTACATTTATGAAAGTAAATGCCTGTTGTTAGAACAAAAAAGGCTACAGAACAAAAAACAAAGCGAAATACCATCTGCTTTAGGTTCAGTGTGGTATTTTCCCGCTGACAGGGAGGCGGGTTTTTGGGTACAGGAAACGAGTCACTATGGAGGCGGTACTATGTAGATGAGAATTCAGGTGCAAACTGGGAAAAGCAACTGCTTCCAAATATTTGTGATTTTTACAGTGTAGTTTTGGAAAAACTCTTAGCCTACCAATTCTTCTAAGTGTTTTAAAATGTGGGAGCCAGTACACATGAAGTTATAGAGTGTTTTAATGAGGCTTAAATATTTACCGTAACTATGAAATGCTACGCATATCATGCTGTTCAGGCTCCGTGGCCACGCAACTC（配列番号47）
ISD	ggagt（配列番号12）

【表７－２】

Z38/z42 順融合スペーサー	TACCTCCAACATCAAGGAAGATGGCAGTAACCACAGGTTGTGTCACCAGAGTAACA (配列番号150)
SMOPT	aATTTTTGGAGca (配列番号 161)
マウスステムループ(eSL)ショートループ	ggttttctgacctccgtcggaaaaccct (配列番号 146)
マウス U1ターミネーター	GTTTACTTGGTTTTAAAAATAGCTTGCACTAGCGATACGGAATATGGTTATTAGGTTTGTTAGGCATCATGTCGTGTCTTACTATAGAAAAATAACGTAGTGTTCATTTTAGCCTGCCTGTATGTGTTAATTTGTCCTTATTGCGCATTGTTCTTGTTAAGTCTTCTGTAAGGAGTTGCGGGTTTCAAACTGTCAGTCTGAGAGCA (配列番号 57)
3' ITR	aggaacccctagtgatggagttggccactccctctctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgggcgaccaaaggtcgcccgacgccccgggctttgcccgggcggcctcagtgagcgagcgagcgcgcagctgcctgcagg (配列番号 60)

【０１２９】

本開示の例示的なＡＡＶベクターは、５’から３’へと：第１の末端逆位反復配列（ＩＴＲ）配列、Ｕ７プロモーター配列、ＤＭＤエクソン５１標的化Ｕ７　ｅｓｎＲＮＡ配列、Ｕ７下流ターミネーター配列、Ｕ１プロモーター配列、ＤＭＤエクソン５１標的化Ｕ７ｅｓｎＲＮＡ配列、Ｕ１下流ターミネーター配列、および第２のＩＴＲ配列を含む。一部の態様では、ＤＭＤエクソン５１標的化ｓｎＲＮＡ配列をコードするＡＡＶベクターＡ０４７７１をコードする核酸配列は、配列番号１７０を含む。

Ａ０４７７１：　ｓｃＡＡＶｍＵ７ｐ－ｚ４２／３８　ｒｅｖｅｒｓｅ　ｆｕｓ－ｍＵ７ｔｅｒｍ＿ｍＵ１ｐ－ｚ４２／３８　ｒｅｖｅｒｓｅ　ｆｕｓ－ｍＵ１ｔｅｒｍ；マウスループ、５’ＩＳＤおよびｅＳＬを伴う、ＣＣＵテールなし

【表８－１】

プラスミドエレメント	ヌクレオチド配列、5' から3' にかけて
5' ITR	ctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgcccgggcaaagcccgggcgtcgggcgacctttggtcgcccggcctcagtgagcgagcgagcgcgcagagagggagtggggtt (配列番号 162)
マウス U7 プロモーター	laacaacataggagctgtgattggctgttttcagccaatcagcactgActcatttgcatagcctttacaagcggtcacaaactcaagaaacgagcggttttaatagtcttttagaatattgtttatcgaaccgaataaggaactgtgctttgtgattcacatatcagtggaggggtgtggaaatggcaccttgatctcaccctcatcgaaagtggagttgatgtcctTcctggctcgctacagacgcacttccgcaa (配列番号 48)
ISD	ggagt (配列番号 12)
Z42/z38 逆融合スペーサー	GTAACCACAGGTTGTGTCACCAGAGTAACATACCTCCAACATCAAGGAAGATGGCA (配列番号 149)
SMOPT	aATTTTTGGAGca (配列番号 161)
マウスステムループ(eSL)ショートループ CCUなし	ggttttctgacctccgtcggaaaacc (配列番号 148)
マウス U7ターミネーター	cccaatttcactggtctacaatgaaagcaaaacagttctcttccccgctccccggtgtgtgagaggggctttgatccttctctggtttcctaggaaacgcgtatgtg (配列番号 156)
マウス U1 プロモーター	TTGTTCCTCTTAGTGTTAATTCACACTAAAGACTGTGCATCCGACTCCTACATTTATGAAAGTAAATGCCTGTTGTTAGAACAAAAAAGGCTACAGAACAAAAAACAAAGCGAAATACCATCTGCTTTAGGTTCAGTGTGGTATTTTCCCGCTGACAGGGAGGCGGGTTTTTGGGTACAGGAAACGAGTCACTATGGAGGCGGTACTATGTAGATGAGAATTCAGGTGCAAACTGGGAAAAGCAACTGCTTCCAAATATTTGTGATTTTTACAGTGTAGTTTTGGAAAAACTCTTAGCCTACCAATTCTTCTAAGTGTTTTAAAATGTGGGAGCCAGTACACATGAAGTTATAGAGTGTTTTAATGAGGCTTAAATATTTACCGTAACTATGAAATGCTACGCATATCATGCTGTTCAGGCTCCGTGGCCACGCAACTC (配列番号 47)
ISD	ggagt (配列番号 12)
Z42/z38 逆融合スペーサー	GTAACCACAGGTTGTGTCACCAGAGTAACATACCTCCAACATCAAGGAAGATGGCA (配列番号 149)
SMOPT	aATTTTTGGAGca (配列番号 161)

【表８－２】

マウスステムループ(eSL) ショートループCCUなし	ggttttctgacctccgtcggaaaacc (配列番号 148)
マウス U1ターミネーター	GTTTACTTGGTTTTAAAAATAGCTTGCACTAGCGATACGGAATATGGTTATTAGGT TTGTTAGGCATCATGTCGTGTCTTACTATAGAAAAATAACGTAGTGTTCATTTTAG CCTGCCTGTATGTGTTAATTTGTCCTTATTGCGCATTGTTCTTGTTAAGTCTTCTGT AAGGAGTTGCGGGTTTCAAACTGTCAGTCTGAGAGCA (配列番号 57)
3' ITR	aggaacccctagtgatggagttggccactccctctctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgggcgaccaaaggtcgcccgacgcc cgggctttgcccgggcggcctcagtgagcgagcgagcgcgcagctgcctgcagg (配列番号 60)

【０１３０】

本開示の例示的なＡＡＶベクターは、５’から３’へと：第１の末端逆位反復配列（ＩＴＲ）配列、Ｕ７プロモーター配列、ＤＭＤエクソン５１標的化Ｕ７　ｅｓｎＲＮＡ配列、Ｕ７下流ターミネーター配列、Ｕ７プロモーター配列、ＤＭＤエクソン５１標的化Ｕ７　ｅｓｎＲＮＡ配列、Ｕ７下流ターミネーター配列、および第２のＩＴＲ配列を含む。一部の態様では、ＤＭＤエクソン５１標的化ｓｎＲＮＡ配列をコードするＡＡＶベクターＡ０４５２５をコードする核酸配列は、配列番号１７１を含む。

Ａ０４５２５：　ｓｃＡＡＶ－ｍＵ７ｐ－ｚ３８／４２－ｍＵ７ｔｅｒｍ＿ｍＵ７ｐ－ｚ３８／４２－ｍＵ７ｔｅｒｍ；マウスループ、ＩＳＤなし、ｅＳＬなし

【表９】

プラスミドエレメント	ヌクレオチド配列、5' から3' にかけて
5' ITR	ctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgcccgggcaaagcccgggcgtcgggcgacctttggtcgcccggcctcagtgagcgagc gagcgcgcagagagggagtggggtt (配列番号 162)
マウス U7 プロモーター	taacaacataggagctgtgattggctgttttcagccaatcagcactgActcatttgcatagcctttacaagcggtcacaaactcaagaaac gagcggttttaatagtcttttagaatattgtttatcgaaccgaataaggaactgtgctttgtgattcacatatcagtggaggggtgtggaaatg gcaccttgatctcaccctcatcgaaagtggagttgatgtcctTccctggctcgctacagacgcacttccgcaa (配列番号 48)
Z38/z42 順融合スペーサー	TACCTCCAACATCAAGGAAGATGGCAGTAACCACAGGTTGTGTCACCAGAGTAAC A (配列番号 150)
SMOPT	aATTTTTGGAGca (配列番号 161)
マウスステムループ (WT) ショートループ	ggttttctgacttcggtcggaaaacccct (配列番号 145)
マウス U7ターミネーター	cccaatttcactggtctacaatgaaagcaaaacagttctcttccccgctccccggtgtgtgagaggggctttgatccttctctggtttcctag gaaacgcgtatgtg (配列番号 156)
マウス U7 プロモーター	taacaacataggagctgtgattggctgttttcagccaatcagcactgActcatttgcatagcctttacaagcggtcacaaactcaagaaac gagcggttttaatagtcttttagaatattgtttatcgaaccgaataaggaactgtgctttgtgattcacatatcagtggaggggtgtggaaatg gcaccttgatctcaccctcatcgaaagtggagttgatgtcctTccctggctcgctacagacgcacttccgcaa (配列番号 48)
Z38/z42 順融合スペーサー	TACCTCCAACATCAAGGAAGATGGCAGTAACCACAGGTTGTGTCACCAGAGTAAC A (配列番号 150)
SMOPT	aATTTTTGGAGca (配列番号 161)
マウスステムループ (WT) ショートループ	ggttttctgacttcggtcggaaaacccct (配列番号 145)
マウス U7ターミネーター	cccaatttcactggtctacaatgaaagcaaaacagttctcttccccgctccccggtgtgtgagaggggctttgatccttctctggtttcctag gaaacgcgtatgtg (配列番号 156)
3' ITR	aggaacccctagtgatggagttggccactccctctctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgggcgaccaaaggtcgcccgacgcc cgggctttgcccgggcggcctcagtgagcgagcgagcgcgcagctgcctgcagg (配列番号 60)

【０１３１】

本開示の例示的なＡＡＶベクターは、５’から３’へと：第１の末端逆位反復配列（ＩＴＲ）配列、Ｕ７プロモーター配列、ＤＭＤエクソン５１標的化Ｕ７　ｅｓｎＲＮＡ配列、Ｕ７下流ターミネーター配列、Ｕ１プロモーター配列、ＤＭＤエクソン５１標的化Ｕ７　ｅｓｎＲＮＡ配列、Ｕ１下流ターミネーター配列、および第２のＩＴＲ配列を含む。一部の態様では、ＤＭＤエクソン５１標的化ｓｎＲＮＡ配列をコードするＡＡＶベクターＡ０４５２７をコードする核酸配列は、配列番号１７２を含む。

Ａ０４５２７：　ｓｃＡＡＶ－ｍＵ７ｐ－ｚ３８／４２－ｍＵ７ｔｅｒｍ＿ｍＵ１ｐ－ｚ

３８／４２－ｍＵ１ｔｅｒｍ；マウスループ、ＩＳＤなし、ｅＳＬなし

【表１０】

プラスミドエレメント	ヌクレオチド配列、5’から3’にかけて
5’ ITR	ctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgcccgggcaaagcccgggcgtcgggcgacctttggtcgcccggcctcagtgagcgagc gagcgcgcagagagggagtggggtt（配列番号 162）
マウス U7 プロモーター	taacaacataggagctgtgattggctgttttcagccaatcagcactgActcatttgcatagcctttacaagcggtcacaaactcaagaaac gagcggttttaatagtcttttagaatattgtttatcgaaccgaataaggaactgtgctttgtgattcacatatcagtggaggggtgtggaaatg gcaccttgatctcaccctcatcgaaagtggagttgatgtcctTccctggctcgctacagacgcacttccgcaa（配列番号 48）
Z38/z42 順融合スペーサー	TACCTCCAACATCAAGGAAGATGGCAGTAACCACAGGTTGTGTCACCAGAGTAAC A（配列番号 150）
SMOPT	aATTTTTGGAGca（配列番号 161）
マウスステムループ (WT) ショートループ	ggttttctgacttcggtcggaaaaccect（配列番号 145）
マウス U7 ターミネーター	cccaatttcactggtctacaatgaaagcaaaacagttctcttccccgctccccggtgtgtgagaggggctttgatccttctctggtttcctag gaaacgcgtatgtg（配列番号 156）
マウス U1 プロモーター	TTGTTCCTCTTAGTGTTAATTCACACTAAAGACTGTGCATCCGACTCCTACATTTAT GAAAGTAAATGCCTGTTGTTAGAACAAAAAAGGCTACAGAACAAAAAACAAAGC GAAATACCATCTGCTTTAGGTTCAGTGTGGTATTTTCCCGCTGACAGGGAGGCGG GTTTTTGGGTACAGGAAACGAGTCACTATGGAGGCGGTACTATGTAGATGAGAAT TCAGGTGCAAACTGGGAAAAGCAACTGCTTCCAAATATTTGTGATTTTTACAGTGT AGTTTTGGAAAAACTCTTAGCCTACCAATTCTTCTAAGTGTTTTAAAATGTGGGAG CCAGTACACATGAAGTTATAGAGTGTTTTAATGAGGCTTAAATATTTACCGTAACT ATGAAATGCTACGCATATCATGCTGTTCAGGCTCCGTGGCCACGCAACTC（配列番号 47）
Z38/z42 順融合スペーサー	TACCTCCAACATCAAGGAAGATGGCAGTAACCACAGGTTGTGTCACCAGAGTAAC A（配列番号 150）
SMOPT	aATTTTTGGAGca（配列番号 161）
マウスステムループ (WT) ショートループ	ggttttctgacttcggtcggaaaaccect（配列番号 145）
マウス U1 ターミネーター	GTTTACTTGGTTTTAAAAATAGCTTGCACTAGCGATACGGAATATGGTTATTAGGT TTGTTAGGCATCATGTCGTGTCTTACTATAGAAAAATAACGTAGTGTTCATTTTAG CCTGCCTGTATGTGTTAATTTGTCCTTATTGCGCATTGTTCTTGTTAAGTCTTCTGT AAGGAGTTGCGGGTTTCAAACTGTCAGTCTGAGAGCA（配列番号 57）
3’ ITR	aggaacccctagtgatggagttggccactccctctctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgggcgaccaaaggtcgcccgacgcc cgggctttgcccgggcggcctcagtgagcgagcgagcgcgcagctgcctgcagg（配列番号 60）

【０１３２】

本開示の例示的なＡＡＶベクターは、５’から３’へと：第１の末端逆位反復配列（ＩＴＲ）配列、Ｕ７プロモーター配列、ＤＭＤエクソン５１標的化Ｕ７　ｅｓｎＲＮＡ配列、Ｕ７下流ターミネーター配列、Ｕ１プロモーター配列、ＤＭＤエクソン５１標的化Ｕ７ｅｓｎＲＮＡ配列、Ｕ１下流ターミネーター配列、および第２のＩＴＲ配列を含む。一部の態様では、ＤＭＤエクソン５１標的化ｓｎＲＮＡ配列をコードするＡＡＶベクターＡ０４５２８をコードする核酸配列は、配列番号１７３を含む。

Ａ０４５２８：　ｓｃＡＡＶ－ｍＵ７ｐ－ｚ３８／４２－ｍＵ７ｔｅｒｍ＿ｍＵ１ｐ－ｚ３８／４２－ｍＵ１ｔｅｒｍ；ヒトループ、ＩＳＤおよびｅＳＬを伴う

【表１１】

プラスミドエレメント	ヌクレオチド配列、5’から3’にかけて
5’ ITR	ctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgcccgggcaaagcccgggcgtcgggcgacctttggtcgcccggcctcagtgagcgag cgagcgcgcagagagggagtggggtt (配列番号 162)
マウス U7 プロモーター	taacaacataggagctgtgattggctgttttcagccaatcagcactgActcatttgcatagcctttacaagcggtcacaaactcaagaaa cgagcggttttaatagtctttagaatattgtttatcgaaccgaataaggaactgtgctttgtgattcacatatcagtggaggggtgtggaa atggcaccttgatctcaccctcatcgaaagtggagttgatgtcctTccctggctcgctacagacgcacttccgcaa (配列番号 48)
ISD	ggagt (配列番号 12)
Z38/z42 順融合スペーサー	TACCTCCAACATCAAGGAAGATGGCAGTAACCACAGGTTGTGTCACCAGAGTAA CA (配列番号 150)
SMOPT	AATTTTTGGAGTA (配列番号 164)
ヒトステムループ (eSL)	ggctttctggctccttaccggaaagcc (配列番号 1)
マウス U7ターミネーター	cccaatttcactggtctacaatgaaagcaaaacagttctcttccccgctccccggtgtgtgagaggggctttgatccttctctggtttccta ggaaacgcgtatgtg (配列番号 156)
マウス U1 プロモーター	TTGTTCCTCTTAGTGTTAATTCACACTAAAGACTGTGCATCCGACTCCTACATTTA TGAAAGTAAATGCCTGTTGTTAGAACAAAAAAGGCTACAGAACAAAAAACAAA GCGAAATACCATCTGCTTTAGGTTCAGTGTGGTATTTTCCCGCTGACAGGGAGGC GGGTTTTTGGGTACAGGAAACGAGTCACTATGGAGGCGGTACTATGTAGATGAG AATTCAGGTGCAAACTGGGAAAAGCAACTGCTTCCAAATATTTGTGATTTTTACA GTGTAGTTTTGGAAAAACTCTTAGCCTACCAATTCTTCTAAGTGTTTTAAAATGT GGGAGCCAGTACACATGAAGTTATAGAGTGTTTTAATGAGGCTTAAATATTTACC GTAACTATGAAATGCTACGCATATCATGCTGTTCAGGCTCCGTGGCCACGCAACT C (配列番号 47)
ISD	ggagt (配列番号 12)
Z38/z42 順融合スペーサー	TACCTCCAACATCAAGGAAGATGGCAGTAACCACAGGTTGTGTCACCAGAGTAA CA (配列番号 150)
SMOPT	AATTTTTGGAGTA (配列番号 164)
ヒトステムループ (eSL)	ggctttctggctccttaccggaaagcc (配列番号 1)
マウス U1ターミネーター	GTTTACTTGGTTTTAAAAATAGCTTGCACTAGCGATACGGAATATGGTTATTAGG TTTGTTAGGCATCATGTCGTGTCTTACTATAGAAAAATAACGTAGTGTTCATTTT AGCCTGCCTGTATGTGTTAATTTGTCCTTATTGCGCATTGTTCTTGTTAAGTCTTC TGTAAGGAGTTGCGGGTTTCAAACTGTCAGTCTGAGAGCA (配列番号 57)
3’ ITR	aggaacccctagtgatggagttggccactccctctctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgggcgaccaaaggtcgcccgacgc ccgggctttgcccgggcggcctcagtgagcgagcgagcgcgcagctgcctgcagg (配列番号 60)

【０１３３】

本開示の例示的なＡＡＶベクターは、５’から３’へと：第１の末端逆位反復配列（ＩＴＲ）配列、Ｕ７プロモーター配列、ＤＭＤエクソン５１標的化Ｕ７　ｅｓｎＲＮＡ配列、Ｕ７下流ターミネーター配列、Ｕ１プロモーター配列、ＤＭＤエクソン５１標的化Ｕ７ｅｓｎＲＮＡ配列、Ｕ１下流ターミネーター配列、および第２のＩＴＲ配列を含む。一部の態様では、ＤＭＤエクソン５１標的化ｓｎＲＮＡ配列をコードするＡＡＶベクターＡ０４５２９をコードする核酸配列は、配列番号１７４を含む。

Ａ０４５２９：　ｓｃＡＡＶ－ｍＵ７ｐ－ｚ３８／４２－ｍＵ７ｔｅｒｍ＿ｍＵ１ｐ－ｚ３８／４２－ｍＵ１ｔｅｒｍ；ヒトループ、ＩＳＤおよびｅＳＬを伴う、ＣＣＵテール追加

【表１２】

プラスミドエレメント	ヌクレオチド配列、5’から3’にかけて
5’ ITR	ctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgcccgggcaaagcccgggcgtcgggcgaccttggtcgcccggcctcagtgagcgag cgagcgcgcagagagggagtggggtt (配列番号 162)
マウス U7 プロモーター	taacaacataggagctgtgattggctgttttcagccaatcagcactgActcatttgcatagcctttacaagcggtcacaaactcaagaaa cgagcggttttaatagtcttttagaatattgtttatcgaaccgaataaggaactgtgctttgtgattcacatatcagtggaggggtgtggaa atggcaccttgatctcaccctcatcgaaagtggagttgatgtcctTccctggctcgctacagacgcacttccgcaa (配列番号 48)
ISD	ggagt (配列番号 12)
Z38/z42 順融合スペーサー	TACCTCCAACATCAAGGAAGATGGCAGTAACCACAGGTTGTGTCACCAGAGTAA CA (配列番号 150)
SMOPT	AATTTTTGGAGTA (配列番号 164)
ヒトステムループ (eSL) CCU テールを伴う	ggctttctggctccttaccggaaagcccct (配列番号 163)
マウス U7ターミネーター	cccaatttcactggtctacaatgaaagcaaaacagttctcttccccgctccccggtgtgtgagaggggctttgatccttctctggtttccta ggaaacgcgtatgtg (配列番号 156)
マウス U1 プロモーター	TTGTTCCTCTTAGTGTTAATTCACACTAAAGACTGTGCATCCGACTCCTACATTTA TGAAAGTAAATGCCTGTTGTTAGAACAAAAAAGGCTACAGAACAAAAAACAAA GCGAAATACCATCTGCTTTAGGTTCAGTGTGGTATTTTCCCGCTGACAGGGAGGC GGGTTTTTGGGTACAGGAAACGAGTCACTATGGAGGCGGTACTATGTAGATGAG AATTCAGGTGCAAACTGGGAAAAGCAACTGCTTCCAAATATTTGTGATTTTTACA GTGTAGTTTTGGAAAAACTCTTAGCCTACCAATTCTTCTAAGTGTTTTAAAATGT GGGAGCCAGTACACATGAAGTTATAGAGTGTTTTAATGAGGCTTAAATATTTACC GTAACTATGAAATGCTACGCATATCATGCTGTTCAGGCTCCGTGGCCACGCAACT C (配列番号 47)
ISD	ggagt (配列番号 12)
Z38/z42 順融合スペーサー	TACCTCCAACATCAAGGAAGATGGCAGTAACCACAGGTTGTGTCACCAGAGTAA CA (配列番号 150)
SMOPT	AATTTTTGGAGTA (配列番号 164)
ヒトステムループ (eSL) CCU テールを伴う	ggctttctggctccttaccggaaagcccct (配列番号 163)
マウス U1ターミネーター	GTTTACTTGGTTTTAAAAATAGCTTGCACTAGCGATACGGAATATGGTTATTAGG TTTGTTAGGCATCATGTCGTGTCTTACTATAGAAAAATAACGTAGTGTTCATTTT AGCCTGCCTGTATGTGTTAATTTGTCCTTATTGCGCATTGTTCTTGTTAAGTCTTC TGTAAGGAGTTGCGGGTTTCAAACTGTCAGTCTGAGAGCA (配列番号 57)
3’ ITR	aggaacccctagtgatggagttggccactccctctctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgggcgaccaaaggtcgcccgacgc ccgggcttgcccgggcggcctcagtgagcgagcgagcgcgcagctgcctgcagg (配列番号 60)

【０１３４】

本開示の例示的なＡＡＶベクターは、５’から３’へと：第１の末端逆位反復配列（ＩＴＲ）配列、Ｕ７プロモーター配列、ＤＭＤエクソン５１標的化Ｕ７　ｅｓｎＲＮＡ配列、Ｕ７下流ターミネーター配列、Ｕ１プロモーター配列、ＤＭＤエクソン５１標的化Ｕ７　ｅｓｎＲＮＡ配列、Ｕ１下流ターミネーター配列、および第２のＩＴＲ配列を含む。一部の態様では、ＤＭＤエクソン５１標的化ｓｎＲＮＡ配列をコードするＡＡＶベクターＡ０４５３７をコードする核酸配列は、配列番号１７５を含む。

Ａ０４５３７：　ｓｃＡＡＶ－ｍＵ７ｐ－ｚ３８／４２－ｍＵ７ｔｅｒｍ＿ｍＵ１ｐｒｏｍ－　ｐ－ｚ３８／４２－ｍＵ１ｔｅｒｍ；ロングマウスループ、５’ＩＳＤおよびｅＳＬを伴う

【表１３】

プラスミドエレメント	ヌクレオチド配列、5’から3’にかけて
5’ ITR	ctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgcccgggcaaagcccgggcgtcgggcgacctttggtcgcccggcctcagtgagcgag cgagcgcgcagagagggagtggggtt (配列番号 162)
マウス U7 プロモーター	taacaacataggagctgtgattggctgttttcagccaatcagcactgActcatttgcatagcctttacaagcggtcacaaactcaagaaa cgagcggttttaatagtctttagaatattgtttatcgaaccgaataaggaactgtgctttgtgattcacatatcagtggaggggtgtggaa atggcaccttgatctcaccctcatcgaaagtggagttgatgtcctTccctggctcgctacagacgcacttccgcaa (配列番号 48)
ISD	ggagt (配列番号 12)
Z38/z42順融合スペーサー	TACCTCCAACATCAAGGAAGATGGCAGTAACCACAGGTTGTGTCACCAGAGTAA CA (配列番号 150)
SMOPT	aATTTTTGGAGca (配列番号 161)
マウスステムループ(eSL) CCU テールを伴う (長い延長されたループ)	Ggttttctgacctccttcggtcggaaaacccct (配列番号 147)
マウス U7 ターミネーター	Cccaatttcactggtctacaatgaaagcaaaacagttctcttccccgctcccggtgtgtgagaggggctttgatccttctctggtttcct aggaaacgcgtatgtg (配列番号 156)
マウス U1 プロモーター	TTGTTCCTCTTAGTGTTAATTCACACTAAAGACTGTGCATCCGACTCCTACATTTA TGAAAGTAAATGCCTGTTGTTAGAACAAAAAAGGCTACAGAACAAAAAACAAA GCGAAATACCATCTGCTTTAGGTTCAGTGTGGTATTTTCCCGCTGACAGGGAGGC GGGTTTTTGGGTACAGGAAACGAGTCACTATGGAGGCGGTACTATGTAGATGAG AATTCAGGTGCAAACTGGGAAAAGCAACTGCTTCCAAATATTTGTGATTTTTACA GTGTAGTTTTGGAAAAACTCTTAGCCTACCAATTCTTCTAAGTGTTTTAAAATGT GGGAGCCAGTACACATGAAGTTATAGAGTGTTTTAATGAGGCTTAAATATTTACC GTAACTATGAAATGCTACGCATATCATGCTGTTCAGGCTCCGTGGCCACGCAACT C (配列番号 47)
ISD	ggagt (配列番号 12)
Z38/z42 順融合スペーサー	TACCTCCAACATCAAGGAAGATGGCAGTAACCACAGGTTGTGTCACCAGAGTAA CA (配列番号 150)
SMOPT	aATTTTTGGAGca (配列番号 161)
マウスステムループ(eSL) CCU テールを伴う (長い延長されたループ)	ggttttctgacctccttcggtcggaaaacccct (配列番号 147)
マウス U1ターミネーター	GTTTACTTGGTTTTAAAAATAGCTTGCACTAGCGATACGGAATATGGTTATTAGG TTTGTTAGGCATCATGTCGTGTCTTACTATAGAAAAATAACGTAGTGTTCATTTT AGCCTGCCTGTATGTGTTAATTTGTCCTTATTGCGCATTGTTCTTGTTAAGTCTTC TGTAAGGAGTTGCGGGTTTCAAACTGTCAGTCTGAGAGCA (配列番号 57)
3’ ITR	aggaacccctagtgatggagttggccactccctctctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgggcgaccaaaggtcgcccgacgc ccgggctttgcccgggcggcctcagtgagcgagcgagcgcgcagctgcctgcagg (配列番号 60)

【０１３５】

本開示の例示的なＡＡＶベクターは、５’から３’へと：第１の末端逆位反復配列（ＩＴＲ）配列、Ｕ７プロモーター配列、ＣＵＧリピート標的化Ｕ７　ｅｓｎＲＮＡ配列、Ｕ７下流ターミネーター配列、Ｕ１プロモーター配列、ＣＵＧリピート標的化Ｕ７　ｅｓｎＲＮＡ配列、Ｕ１下流ターミネーター配列、および第２のＩＴＲ配列を含む。一部の態様では、ＣＵＧリピート標的化ｓｎＲＮＡ配列をコードするＡＡＶベクターＡ０４２３３をコードする核酸配列は、配列番号１７６を含む。

Ａ０４２３３：　ｓｃＡＡＶ－　ｈＵ７－ＣＵＧｘ１５－ｈＵ１－ＣＵＧｘ１５　（３’ｍｕｔ　ＩＴＲ）

【表１４－１】

プラスミドエレメント	ヌクレオチド配列、5’から3’にかけて
5’ ITR	cctgcaggcagctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgcccgggcgtcgggcgacctttggtcgcccggcctcagtgagcgagc gagcgcgcagagagggagtggccaactccatcactaggggttcct (配列番号 59)
ヒトU7 プロモーター	TACTGCCGAATCCAGGTCTCCGGGCTTAACAACAACGAAGGGGCTGTGACTGGC TGCTTTCTCAACCAATCAGCACCGAACTCATTTGCATGGGCTGAGAACAAATGTT

【表１４－２】

	CGCGAACTCTAGAAATGAATGACTTAAGTAAGTTCCTTAGAATATTATTTTTCCT ACTGAAAGTTACCACATGCGTCGTTGTTTATACAGTAATAGGAACAAGAAAAAA GTCACCTAAGCTCACCCTCATCAATTGTGGAGTTCCTTTATATCCCATCTTCTCTC CAAACACATACGCA（配列番号 39）
ISD	ggagt（配列番号 12）
CUG リピート 標的化配列	CAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAG（配列番号 165）
SMOPT	AATTTTTGGAGTA（配列番号 164）
ヒトステムループ（eSL）	ggctttctggctccttaccggaaagcc（配列番号 1）
ヒト U7 ターミネーター	CCTCTTATGATGTTTGTTGCCAATGATAGATTGTTTTCACTGTGCAAAAATTATGG GTAGTTTTGGTGGTCTTGATGCAGTTGTAAGCTTGGAG（配列番号 49）
ヒト U1 プロモーター	TAAGGACCAGCTTCTTTGGGAGAGAACAGACGCAGGGGCGGGAGGGAAAAAGG GAGAGGCAGACGTCACTTCCCCTTGGCGGCTCTGGCAGCAGATTGGTCGGTTGA GTGGCAGAAAGGCAGACGGGGACTGGGCAAGGCACTGTCGGTGACATCACGGA CAGGGCGACTTCTATGTAGATGAGGCAGCGCAGAGGCTGACGTCTTCGCCACTT GCTGCTTCACCACGAAGGAGTTCCCGTGCCCTGGGAGCGGGTTCAGGACCGCTG ATCGGAAGTGAGAATCCCAGCTGTGTGTCAGGGCTGGAAAGGGCTCGGGAGTGC GCGGGGCAAGTGACCGTGTGTGTAAAGAGTGAGGCGTATGAGGCTGTGTCGGGG CAGAGGCacaacgtttc（配列番号 40）
ISD	ggagt（配列番号 12）
スペーサー	CAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAG（配列番号 165）
SMOPT	AATTTTTGGAGTA（配列番号 164）
ヒトステムループ（eSL）	ggctttctggctccttaccggaaagcc（配列番号 1）
ヒトU1ターミネーター	ACTTTCTGGAGTTTCAAAAACAGACTGTACGCCAAGGGTCATATCTTTTT（配列番号 50）
3'mut ITR	CCACTCCCTCTCTGCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGGCCGGGCGACCAAAGGTCGC CCGACGCCCGGGCTTTGCCCGGGCGGCCTCAGTGAGCGAGCGAGCGCGCAGAGA GGGA（配列番号 61）

【０１３６】

本開示の例示的なＡＡＶベクターは、５’から３’へと：第１の末端逆位反復配列（ＩＴＲ）配列、Ｕ７プロモーター配列、ＣＵＧリピート標的化Ｕ７　ｅｓｎＲＮＡ配列、Ｕ７下流ターミネーター配列、Ｕ１プロモーター配列、ＣＵＧリピート標的化Ｕ７　ｅｓｎＲＮＡ配列、Ｕ１下流ターミネーター配列、および第２のＩＴＲ配列を含む。一部の態様では、ＣＵＧリピート標的化ｓｎＲＮＡ配列をコードするＡＡＶベクターＡ０４２３４をコードする核酸配列は、配列番号１７７を含む。

Ａ０４２３４：　ｓｃＡＡＶ－　ｈＵ７－ＣＵＧｘ１５－ｈＵ１－ＣＵＧｘ１５　（５’ｍｕｔ　ＩＴＲ）

【表１５－１】

プラスミドエレメント	ヌクレオチド配列、5’から3’にかけて
5’ mut ITR	ctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgcccgggcaaagcccgggcgtcgggcgacctttggtcgcccggcctcagtgagcgag cgagcgcgcagagagggagtggggtt（配列番号 162）
ヒトU7 プロモーター	TACTGCCGAATCCAGGTCTCCGGGCTTAACAACAACGAAGGGGCTGTGACTGGC TGCTTTCTCAACCAATCAGCACCGAACTCATTTGCATGGGCTGAGAACAAATGTT CGCGAACTCTAGAAATGAATGACTTAAGTAAGTTCCTTAGAATATTATTTTTCCT ACTGAAAGTTACCACATGCGTCGTTGTTTATACAGTAATAGGAACAAGAAAAAA GTCACCTAAGCTCACCCTCATCAATTGTGGAGTTCCTTTATATCCCATCTTCTCTC CAAACACATACGCA（配列番号 39）

【表１５－２】

ISD	ggagt (配列番号 12)
スペーサー	CAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAG (配列番号 165)
SMOPT	AATTTTTGGAGTA (配列番号 164)
ヒトステムループ (eSL)	ggctttctggctccttaccggaaagcc (配列番号 1)
ヒト U7ターミネーター	CCTCTTATGATGTTTGTTGCCAATGATAGATTGTTTTCACTGTGCAAAAATTATGG GTAGTTTTGGTGGTCTTGATGCAGTTGTAAGCTTGGAG (配列番号 49)
ヒト U1 プロモーター	TAAGGACCAGCTTCTTTGGGAGAGAACAGACGCAGGGGCGGGAGGGAAAAAGG GAGAGGCAGACGTCACTTCCCCTTGGCGGCTCTGGCAGCAGATTGGTCGGTTGA GTGGCAGAAAGGCAGACGGGGACTGGGCAAGGCACTGTCGGTGACATCACGGA CAGGGCGACTTCTATGTAGATGAGGCAGCGCAGAGGCTGACGTCTTCGCCACTT GCTGCTTCACCACGAAGGAGTTCCCGTGCCCTGGGAGCGGGTTCAGGACCGCTG ATCGGAAGTGAGAATCCCAGCTGTGTGTCAGGGCTGGAAAGGGCTCGGGAGTGC GCGGGGCAAGTGACCGTGTGTGTAAAGAGTGAGGCGTATGAGGCTGTGTCGGGG CAGAGGCacaacgtttc (配列番号 40)
ISD	ggagt (配列番号 12)
スペーサー	CAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAG (配列番号 165)
SMOPT	AATTTTTGGAGTA (配列番号 164)
ヒトステムループ (eSL)	ggctttctggctccttaccggaaagcc (配列番号 1)
ヒトU1ターミネーター	ACTTTCTGGAGTTTCAAAAACAGACTGTACGCCAAGGGTCATATCTTTTT (配列番号 50)
3'ITR	aaggaaccccctagtgatggagttggccactccctctctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgggcgaccaaaggtcgcccgacg cccgggctttgcccgggcggcctcagtgagcgagcgagcgcgccagc (配列番号 166)

【０１３７】

本開示の例示的なＡＡＶベクターは、５’から３’へと：第１の末端逆位反復配列（ＩＴＲ）配列、Ｕ７プロモーター配列、ＣＡＧリピート標的化Ｕ７　ｅｓｎＲＮＡ配列、Ｕ７下流ターミネーター配列、Ｕ１プロモーター配列、ＣＡＧリピート標的化Ｕ７　ｅｓｎＲＮＡ配列、Ｕ１下流ターミネーター配列、および第２のＩＴＲ配列を含む。一部の態様では、ＣＡＧリピート標的化ｓｎＲＮＡ配列をコードするＡＡＶベクターＡ０４３９０をコードする核酸配列は、配列番号１７８を含む。

Ａ０４３９０：　ｓｃＡＡＶ　５’ｍＩＴＲ　ｈＵ７－ＣＡＧ１５Ｘ－ｈＵ１－ＣＡＧｘ１５

【表１６－１】

プラスミドエレメント	ヌクレオチド配列、5’から3’にかけて
5’ mut ITR	ctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgcccgggcaaagcccgggcgtcgggcgacctttggtcgcccggcctcagtgagcgag cgagcgcgcagagagggagtggggtt (配列番号 162)
ヒトU7プロモーター	TACTGCCGAATCCAGGTCTCCGGGCTTAACAACAACGAAGGGGCTGTGACTGGC TGCTTTCTCAACCAATCAGCACCGAACTCATTTGCATGGGCTGAGAACAAATGTT CGCGAACTCTAGAAATGAATGACTTAAGTAAGTTCCTTAGAATATTATTTTTCCT ACTGAAAGTTACCACATGCGTCGTTGTTTATACAGTAATAGGAACAAGAAAAAA GTCACCTAAGCTCACCCTCATCAATTGTGGAGTTCCTTTATATCCCATCTTCTCTC CAAACACATACGCA (配列番号 39)
ISD	ggagt (配列番号 12)
CAG 標的化配列	CTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTG (配列番号 167)
SMOPT	AATTTTTGGAGTA (配列番号 164)

【表１６－２】

ヒトステムループ (eSL)	ggctttctggctccttaccggaaagcc（配列番号 1)
ヒト U7 ターミネーター	CCTCTTATGATGTTTGTTGCCAATGATAGATTGTTTTCACTGTGCAAAAATTATGG GTAGTTTTGGTGGTCTTGATGCAGTTGTAAGCTTGGAG (配列番号 49)
ヒト U1 プロモーター	TAAGGACCAGCTTCTTTGGGAGAGAACAGACGCAGGGGCGGGAGGGAAAAAGG GAGAGGCAGACGTCACTTCCCCTTGGCGGCTCTGGCAGCAGATTGGTCGGTTGA GTGGCAGAAAGGCAGACGGGGACTGGGCAAGGCACTGTCGGTGACATCACGGA CAGGGCGACTTCTATGTAGATGAGGCAGCGCAGAGGCTGACGTCTTCGCCACTT GCTGCTTCACCACGAAGGAGTTCCCGTGCCCTGGGAGCGGGTTCAGGACCGCTG ATCGGAAGTGAGAATCCCAGCTGTGTGTCAGGGCTGGAAAGGGCTCGGGAGTGC GCGGGGCAAGTGACCGTGTGTGTAAAGAGTGAGGCGTATGAGGCTGTGTCGGGG CAGAGGCacaacgtttc (配列番号 40)
ISD	ggagt (配列番号 12)
CAG 標的化配列	CTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTG (配列番号 167)
SMOPT	AATTTTTGGAGTA (配列番号 164)
ヒトステムループ (eSL)	ggctttctggctccttaccggaaagcc（配列番号 1)
ヒトU1ターミネーター	ACTTTCTGGAGTTTCAAAAACAGACTGTACGCCAAGGGTCATATCTTTTT (配列番号 50)
3'ITR	aaggaaccccctagtgatggagttggccactccctctctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgggcgaccaaaggtcgcccgacg cccgggctttgcccgggcggcctcagtgagcgagcgagcgcgccagc (配列番号 166)

【０１３８】

本開示の例示的なＡＡＶベクターは、５’から３’へと：第１の末端逆位反復配列（ＩＴＲ）配列、Ｕ７プロモーター配列、ＣＵＧリピート標的化Ｕ７　ｅｓｎＲＮＡ配列、Ｕ７下流ターミネーター配列、Ｕ１プロモーター配列、ＣＵＧリピート標的化Ｕ７　ｅｓｎＲＮＡ配列、Ｕ１下流ターミネーター配列、および第２のＩＴＲ配列を含む。一部の態様では、ＣＵＧリピート標的化ｓｎＲＮＡ配列をコードするＡＡＶベクターＡ０４５３０をコードする核酸配列は、配列番号２３１を含む。

Ａ０４５３０：　ｓｃＡＡＶ－　ｍＵ７ｐ－ＣＵＧｘ１５－ｍＵ１ｐ－ＣＵＧｘ１５；マウスループ、ＩＳＤおよびｅＳＬを伴う

【表１７－１】

プラスミドエレメント	ヌクレオチド配列、5’から3’にかけて
5’ mut ITR	ctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgcccgggcaaagcccgggcgtcgggcgacctttggtc gcccggcctcagtgagcgagcgagcgcgcagagagggagtggggtt (配列番号 162)
マウス U7プロモーター	taacaacataggagctgtgattggctgttttcagccaatcagcactgActcatttgcatagcctttac aagcggtcacaaactcaagaaacgagcggttttaatagtcttttagaatattgtttatcgaaccgaata aggaactgtgctttgtgattcacatatcagtggaggggtgtggaaatggcaccttgatctcaccctc atcgaaagtggagttgatgtcctTccctggctcgctacagacgcacttccgcaa(配列番号 48)
ISD	ggagt (配列番号 12)
スペーサー	CAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAG CAGCAG (配列番号 165)
SMOPT	aATTTTTGGAGca (配列番号 161)
マウスステムループ (eSL)	ggttttctgacctccgtcggaaaaccccct (配列番号 12)
マウス U7 ターミネーター	cccaatttcactggtctacaatgaaagcaaaacagttctcttccccgctccccggtgtgtgagaggg gctttgatccttctctggtttcctaggaaacgcgtatgtg (配列番号 156)

【表１７－２】

マウスU1プロモーター	TTGTTCCTCTTAGTGTTAATTCACACTAAAGACTGTGCATCC GACTCCTACATTTATGAAAGTAAATGCCTGTTGTTAGAACA AAAAAGGCTACAGAACAAAAAACAAAGCGAAATACCATCT GCTTTAGGTTCAGTGTGGTATTTTCCCGCTGACAGGGAGGC GGGTTTTTGGGTACAGGAAACGAGTCACTATGGAGGCGGT ACTATGTAGATGAGAATTCAGGTGCAAACTGGGAAAAGCA ACTGCTTCCAAATATTTGTGATTTTTACAGTGTAGTTTTGGA AAAACTCTTAGCCTACCAATTCTTCTAAGTGTTTTAAAATG TGGGAGCCAGTACACATGAAGTTATAGAGTGTTTTAATGAG GCTTAAATATTTACCGTAACTATGAAATGCTACGCATATCA TGCTGTTCAGGCTCCGTGGCCACGCAACTC (配列番号 47)
ISD	ggagt (配列番号 12)
スペーサー	CAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAG CAGCAG (配列番号 165)
SMOPT	aATTTTTGGAGca (配列番号 161)
マウスステムループ (eSL)	ggttttctgacctccgtcggaaaaccccct (配列番号 12)
マウスU1ターミネーター	GTTTACTTGGTTTTAAAAATAGCTTGCACTAGCGATACGGA ATATGGTTATTAGGTTTGTTAGGCATCATGTCGTGTCTTACT ATAGAAAAATAACGTAGTGTTCATTTTAGCCTGCCTGTATG TGTTAATTTGTCCTTATTGCGCATTGTTCTTGTTAAGTCTTC TGTAAGGAGTTGCGGGTTTCAAACTGTCAGTCTGAGAGCA (配列番号 57)
3'ITR	aggaacccctagtgatggagttggccactccctctctgcgcgctcgctcgctcactgaggccggg cgaccaaaggtcgcccgacgcccgggctttgcccgggcggcctcagtgagcgagcgagcgcg cagctgcctgcagg (配列番号 60)

【０１３９】

本開示の例示的なＡＡＶベクターは、５’から３’へと：第１の末端逆位反復配列（ＩＴＲ）配列、Ｕ７プロモーター配列、ＣＵＧリピート標的化Ｕ７　ｅｓｎＲＮＡ配列、Ｕ７下流ターミネーター配列、Ｕ１プロモーター配列、ＣＵＧリピート標的化Ｕ７　ｅｓｎＲＮＡ配列、Ｕ１下流ターミネーター配列、および第２のＩＴＲ配列を含む。一部の態様では、ＣＵＧリピート標的化ｓｎＲＮＡ配列をコードするＡＡＶベクターＡ０４９４０をコードする核酸配列は、配列番号２３２を含む。

Ａ０４９４０：　ｓｃＡＡＶ－　ｍＵ７ｐ－ＣＵＧｘ１０－ｍＵ１ｐ－ＣＵＧｘ１０；マウスループ、ＩＳＤおよびｅＳＬを伴う、ＣＣＵなし

【表１８－１】

プラスミドエレメント	ヌクレオチド配列、5’から3’にかけて
5’ mut ITR	ctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgcccgggcaaagcccgggcgtcgggcgacctttggtc gcccggcctcagtgagcgagcgagcgcgcagagagggagtggggtt (配列番号 162)
マウスU7プロモーター	taacaacataggagctgtgattggctgttttcagccaatcagcactgActcatttgcatagcctttac aagcggtcacaaactcaagaaacgagcggttttaatagtcttttagaatattgtttatcgaaccgaata aggaactgtgctttgtgattcacatatcagtggaggggtgtggaaatggcaccttgatctcaccctc

【表１８－２】

	atcgaaagtggagttgatgtcctTccctggctcgctacagacgcacttccgcaa (配列番号 48)
ISD	ggagt (配列番号 12)
スペーサー	CAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAG (配列番号 165)
SMOPT	aATTTTTGGAGca (配列番号161)
マウスステムループ (eSL)	ggttttctgacctccgtcggaaaacc (配列番号 148)
マウス U7 ターミネーター	cccaatttcactggtctacaatgaaagcaaaacagttctcttccccgctccccggtgtgtgagaggg gctttgatccttctctggtttcctaggaaacgcgtatgtg (配列番号 156)
マウス U1 プロモーター	TTGTTCCTCTTAGTGTTAATTCACACTAAAGACTGTGCATCC GACTCCTACATTTATGAAAGTAAATGCCTGTTGTTAGAACA AAAAAGGCTACAGAACAAAAAACAAAGCGAAATACCATCT GCTTTAGGTTCAGTGTGGTATTTTCCCGCTGACAGGGAGGC GGGTTTTTGGGTACAGGAAACGAGTCACTATGGAGGCGGT ACTATGTAGATGAGAATTCAGGTGCAAACTGGGAAAAGCA ACTGCTTCCAAATATTTGTGATTTTTACAGTGTAGTTTTGGA AAAACTCTTAGCCTACCAATTCTTCTAAGTGTTTTAAAATG TGGGAGCCAGTACACATGAAGTTATAGAGTGTTTTAATGAG GCTTAAATATTTACCGTAACTATGAAATGCTACGCATATCA TGCTGTTCAGGCTCCGTGGCCACGCAACTC (配列番号 47)
ISD	ggagt (配列番号 12)
スペーサー	CAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAG (配列番号 165)
SMOPT	aATTTTTGGAGca (配列番号161)
マウスステムループ (eSL)	ggttttctgacctccgtcggaaaaccccct (配列番号 12)
マウス U1 ターミネーター	GTTTACTTGGTTTTAAAAATAGCTTGCACTAGCGATACGGA ATATGGTTATTAGGTTTGTTAGGCATCATGTCGTGTCTTACT ATAGAAAAATAACGTAGTGTTCATTTTAGCCTGCCTGTATG TGTTAATTTGTCCTTATTGCGCATTGTTCTTGTTAAGTCTTC TGTAAGGAGTTGCGGGTTTCAAACTGTCAGTCTGAGAGCA (配列番号 57)
3'ITR	aggaacccctagtgatggagttggccactccctctctgcgcgctcgctcgctcactgaggccggg cgaccaaaggtcgcccgacgcccgggctttgcccgggcggcctcagtgagcgagcgagcgcg cagctgcctgcagg (配列番号 60)

【０１４０】

本開示の例示的なＡＡＶベクターは、５’から３’へと：第１の末端逆位反復配列（ＩＴＲ）配列、Ｕ７プロモーター配列、ＣＡＧリピート標的化Ｕ７　ｅｓｎＲＮＡ配列、Ｕ７下流ターミネーター配列、Ｕ１プロモーター配列、ＣＡＧリピート標的化Ｕ７　ｅｓｎＲＮＡ配列、Ｕ１下流ターミネーター配列、および第２のＩＴＲ配列を含む。一部の態様では、ＣＡＧリピート標的化ｓｎＲＮＡ配列をコードするＡＡＶベクターＡ０４５３３をコードする核酸配列は、配列番号２３３を含む。

Ａ０４５３３：　ｓｃＡＡＶ－　ｍＵ７ｐ－ＣＡＧｘ１５－ｍＵ１ｐ－ＣＡＧｘ１５；マウスループ、ＩＳＤおよびｅＳＬを伴う

【表１９－１】

プラスミドエレメント	ヌクレオチド配列、5’から3’にかけて
5’ mut ITR	ctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgcccgggcaaagcccgggcgtcgggcgacctttggtc gcccggcctcagtgagcgagcgagcgcgcagagagggagtggggtt（配列番号 162）
マウス U7 プロモーター	taacaacataggagctgtgattggctgttttcagccaatcagcactgActcatttgcatagcctttac aagcggtcacaaactcaagaaacgagcggttttaatagtcttttagaatattgtttatcgaaccgaata aggaactgtgctttgtgattcacatatcagtggaggggtgtggaaatggcaccttgatctcaccctc atcgaaagtggagttgatgtcctTccctggctcgctacagacgcacttccgcaa（配列番号 48）
ISD	ggagt（配列番号 12）
スペーサー	CTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTG CTG（配列番号 167）
SMOPT	aATTTTTGGAGca（配列番号161）
マウスステムループ (eSL)	ggttttctgacctccgtcggaaaacccct（配列番号 12）
マウス U7 ターミネーター	cccaatttcactggtctacaatgaaagcaaaacagttctcttccccgctccccggtgtgtgagaggg gctttgatccttctctggtttcctaggaaacgcgtatgtg（配列番号 156）
マウス U1 プロモーター	TTGTTCCTCTTAGTGTTAATTCACACTAAAGACTGTGCATCC GACTCCTACATTTATGAAAGTAAATGCCTGTTGTTAGAACA AAAAAGGCTACAGAACAAAAAACAAAGCGAAATACCATCT GCTTTAGGTTCAGTGTGGTATTTTCCCGCTGACAGGGAGGC GGGTTTTTGGGTACAGGAAACGAGTCACTATGGAGGCGGT ACTATGTAGATGAGAATTCAGGTGCAAACTGGGAAAAGCA ACTGCTTCCAAATATTTGTGATTTTTACAGTGTAGTTTTGGA AAAACTCTTAGCCTACCAATTCTTCTAAGTGTTTTAAAATG TGGGAGCCAGTACACATGAAGTTATAGAGTGTTTTAATGAG GCTTAAATATTTACCGTAACTATGAAATGCTACGCATATCA TGCTGTTCAGGCTCCGTGGCCACGCAACTC（配列番号47）
ISD	ggagt（配列番号 12）
スペーサー	CTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTG CTG（配列番号 167）
SMOPT	aATTTTTGGAGca（配列番号 161）
マウスステムループ (eSL)	ggttttctgacctccgtcggaaaacccct（配列番号12）
マウスU1ターミネーター	GTTTACTTGGTTTTAAAAATAGCTTGCACTAGCGATACGGA ATATGGTTATTAGGTTTGTTAGGCATCATGTCGTGTCTTACT ATAGAAAAATAACGTAGTGTTCATTTTAGCCTGCCTGTATG TGTTAATTTGTCCTTATTGCGCATTGTTCTTGTTAAGTCTTC

【表１９－２】

	TGTAAGGAGTTGCGGGTTTCAAACTGTCAGTCTGAGAGCA（配列番号 57）
3’ ITR	Aggaacccctagtgatggagttggccactccctctctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgg gcgaccaaaggtcgcccgacgcccgggctttgcccgggcggcctcagtgagcgagcgagcgc gcagctgcctgcagg（配列番号 60）

【０１４１】

本開示の例示的なＡＡＶベクターは、５’から３’へと：第１の末端逆位反復配列（ＩＴ

Ｒ）配列、Ｕ７プロモーター配列、ＣＵＧリピート標的化Ｕ７　ｅｓｎＲＮＡ配列、Ｕ７下流ターミネーター配列、バッファー配列、Ｕ７プロモーター配列、ＣＵＧリピート標的化Ｕ７　ｅｓｎＲＮＡ配列、Ｕ７下流ターミネーター配列、バッファー配列、Ｕ７プロモーター配列、ＣＵＧリピート標的化Ｕ７　ｅｓｎＲＮＡ配列、Ｕ７下流ターミネーター配列、バッファー配列、Ｕ７プロモーター配列、ＣＵＧリピート標的化Ｕ７　ｅｓｎＲＮＡ配列、Ｕ７下流ターミネーター配列、バッファー配列、および第２のＩＴＲ配列を含む。一部の態様では、ＣＵＧリピート標的化ｓｎＲＮＡ配列をコードするＡＡＶベクターＡ０２９６２をコードする核酸配列は、配列番号１２０を含む。

Ａ０２９６２　ｓｓ　ｐＡＡＶ－４Ｘ　Ｕ７（１５ＸＣＵＧ）（Ｐ００３６９の誘導体）ＣＵＧリピートを標的化

【表２０－１】

ITR	Cctgcaggcagctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgcccgggcgtcgggcgacctttggtcgccccggcctcagtgagcgagcgagcgcgcagagagggagtggccaactccatcactagggttcct (配列番号 59)
U7プロモーター	TACTGCCGAATCCAGGTCTCCGGGCTTAACAACAACGAAGGGGCTGTGACTGGCTGCTTTCTCAACCAATCAGCACCGAACTCATTTGCATGGGCTGAGAACAAATGTTCGCGAACTCTAGAAATGAATGACTTAAGTAAGTTCCTTAGAATATTATTTTTCCTACTGAAAGTTACCACATGCGTCGTTGTTTATACAGTAATAGGAACAAGAAAAAAGTCACCTAAGCTCACCCTCATCAATTGTGGAGTTCCTTTATATCCCATCTTCTCTCCAAACACATACGCA (配列番号 39)
U7 snRNA	ggagtCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc (配列番号 65)
U7 下流 (ターミネーター)	CCTCTTATGATGTTTGTTGCCAATGATAGATTGTTTTCACTGTGCAAAAATTATGGGTAGTTTTGGTGGTCTTGATGCAGTTGTAAGCTTGGAG (配列番号 49)
30bpバッファー1	CAAACTACAGAGCCAAGTGCTATCCACAGA (配列番号 24)
U7プロモーター	TACTGCCGAATCCAGGTCTCCGGGCTTAACAACAACGAAGGGGCTGTGACTGGCTGCTTTCTCAACCAATCAGCACCGAACTCATTTGCATGGGCTGAGAACAAATGTTCGCGAACTCTAGAAATGAATGACTTAAGTAAGTTCCTTAGAATATTATTTTTCCTACTGAAAGTTACCACATGCGTCGTTGTTTATACAGTAATAGGAACAAGAAAAAAGTCACCTAAGCTCACCCTCATCAATTGTGGAGTTCC

【表２０－２】

	TTTATATCCCATCTTCTCTCCAAACACATACGCA (配列番号 39)
U7 snRNA	ggagtCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCA GCAGCAGAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc (配列番号 65)
U7 下流 (ターミネーター)	CCTCTTATGATGTTTGTTGCCAATGATAGATTGTTTTCACTGT GCAAAAATTATGGGTAGTTTTGGTGGTCTTGATGCAGTTGTA AGCTTGGAG (配列番号 49)
30bpバッファー2	GAGCTTTCTGGGTTGCCATCTCAAGCAGAC (配列番号 25)
U7 プロモーター	TACTGCCGAATCCAGGTCTCCGGGCTTAACAACAACGAAGGG GCTGTGACTGGCTGCTTTCTCAACCAATCAGCACCGAACTCAT TTGCATGGGCTGAGAACAAATGTTCGCGAACTCTAGAAATGA ATGACTTAAGTAAGTTCCTTAGAATATTATTTTTCCTACTGAA AGTTACCACATGCGTCGTTGTTTATACAGTAATAGGAACAAG AAAAAAGTCACCTAAGCTCACCCTCATCAATTGTGGAGTTCC TTTATATCCCATCTTCTCTCCAAACACATACGCA (配列番号 39)
U7 snRNA	ggagtCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCA GCAGCAGAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc (配列番号 65)
U7 下流 (ターミネーター)	CCTCTTATGATGTTTGTTGCCAATGATAGATTGTTTTCACTGT GCAAAAATTATGGGTAGTTTTGGTGGTCTTGATGCAGTTGTA AGCTTGGAG (配列番号 49)
30bpバッファー3	TACAAGGCCATCAGCTCATACTCACAATTG (配列番号 26)
U7 プロモーター	TACTGCCGAATCCAGGTCTCCGGGCTTAACAACAACGAAGGG GCTGTGACTGGCTGCTTTCTCAACCAATCAGCACCGAACTCAT TTGCATGGGCTGAGAACAAATGTTCGCGAACTCTAGAAATGA ATGACTTAAGTAAGTTCCTTAGAATATTATTTTTCCTACTGAA AGTTACCACATGCGTCGTTGTTTATACAGTAATAGGAACAAG AAAAAAGTCACCTAAGCTCACCCTCATCAATTGTGGAGTTCC TTTATATCCCATCTTCTCTCCAAACACATACGCA (配列番号 39)
U7 snRNA	ggagtCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCA GCAGCAGAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc (配列番号 65)
U7 下流 (ターミネーター)	CCTCTTATGATGTTTGTTGCCAATGATAGATTGTTTTCACTGT GCAAAAATTATGGGTAGTTTTGGTGGTCTTGATGCAGTTGTA AGCTTGGAG (配列番号 49)
ITR	Aggaacccctagtgatggagttggccactccctctctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgggcg accaaaggtcgcccgacgcccgggctttgcccgggcggcctcagtgagcgagcgagcgcgcagct gcctgcagg (配列番号 60)

【０１４２】

本開示の例示的なＡＡＶベクターは、５’から３’へと：第１の末端逆位反復配列（ＩＴＲ）配列、Ｕ７プロモーター配列、非標的化Ｕ７　ｅｓｎＲＮＡ配列、Ｕ７下流ターミネーター配列、バッファー配列、Ｕ７プロモーター配列、非標的化Ｕ７　ｅｓｎＲＮＡ配列、Ｕ７下流ターミネーター配列、バッファー配列、Ｕ７プロモーター配列、非標的化Ｕ７　ｅｓｎＲＮＡ配列、Ｕ７下流ターミネーター配列、バッファー配列、Ｕ７プロモーター配列、非標的化Ｕ７　ｅｓｎＲＮＡ配列、Ｕ７下流ターミネーター配列、バッファー配列、および第２のＩＴＲ配列を含む。一部の態様では、非標的化ｓｎＲＮＡ配列をコードするＡＡＶベクターＡ０２９６３をコードする核酸配列は、配列番号１２１を含む。

Ａ０２９６３　ｓｓ　ｐＡＡＶ－４ＸＵ７（ＮＴ１）（Ｐ００３６９の誘導体）

【表２１－１】

ITR	Cctgcaggcagctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgcccgggcgtcgggcgacctttggtcgcc cggcctcagtgagcgagcgagcgcgcagagagggagtggccaactccatcactaggggttcct (配列番号 59)
U7 プロモーター	TACTGCCGAATCCAGGTCTCCGGGCTTAACAACAACGAAGGGG CTGTGACTGGCTGCTTTCTCAACCAATCAGCACCGAACTCATTT GCATGGGCTGAGAACAAATGTTCGCGAACTCTAGAAATGAATG ACTTAAGTAAGTTCCTTAGAATATTATTTTTCCTACTGAAAGTT ACCACATGCGTCGTTGTTTATACAGTAATAGGAACAAGAAAAA AGTCACCTAAGCTCACCCTCATCAATTGTGGAGTTCCTTTATAT CCCATCTTCTCTCCAAACACATACGCA (配列番号 39)
U7 snRNA	ggagtTCACCAGAAGCGTACCATACTCACGAAATTTTTGGAGTAgg ctttctggctccttaccggaaagcc (配列番号 66)
U7 下流 (ターミネーター)	CCTCTTATGATGTTTGTTGCCAATGATAGATTGTTTTCACTGTG CAAAAATTATGGGTAGTTTTGGTGGTCTTGATGCAGTTGTAAGC TTGGAG (配列番号 49)
30bp バッファー 1	CAAACTACAGAGCCAAGTGCTATCCACAGA (配列番号 24)
U7 プロモーター	TACTGCCGAATCCAGGTCTCCGGGCTTAACAACAACGAAGGGG CTGTGACTGGCTGCTTTCTCAACCAATCAGCACCGAACTCATTT GCATGGGCTGAGAACAAATGTTCGCGAACTCTAGAAATGAATG ACTTAAGTAAGTTCCTTAGAATATTATTTTTCCTACTGAAAGTT ACCACATGCGTCGTTGTTTATACAGTAATAGGAACAAGAAAAA AGTCACCTAAGCTCACCCTCATCAATTGTGGAGTTCCTTTATAT CCCATCTTCTCTCCAAACACATACGCA (配列番号 39)
U7 snRNA	ggagtTCACCAGAAGCGTACCATACTCACGAAATTTTTGGAGTAgg ctttctggctccttaccggaaagcc (配列番号 66)
U7 下流 (ターミネーター)	CCTCTTATGATGTTTGTTGCCAATGATAGATTGTTTTCACTGTG CAAAAATTATGGGTAGTTTTGGTGGTCTTGATGCAGTTGTAAGC TTGGAG (配列番号 49)
30bp バッファー 2	GAGCTTTCTGGGTTGCCATCTCAAGCAGAC (配列番号 25)
U7 プロモーター	TACTGCCGAATCCAGGTCTCCGGGCTTAACAACAACGAAGGGG CTGTGACTGGCTGCTTTCTCAACCAATCAGCACCGAACTCATTT GCATGGGCTGAGAACAAATGTTCGCGAACTCTAGAAATGAATG ACTTAAGTAAGTTCCTTAGAATATTATTTTTCCTACTGAAAGTT ACCACATGCGTCGTTGTTTATACAGTAATAGGAACAAGAAAAA

【表２１－２】

	AGTCACCTAAGCTCACCCTCATCAATTGTGGAGTTCCTTTATAT CCCATCTTCTCTCCAAACACATACGCA (配列番号 39)
U7 snRNA	ggagtTCACCAGAAGCGTACCATACTCACGAAATTTTTGGAGTAgg ctttctggctccttaccggaaagcc (配列番号 66)
U7 下流 (ターミネーター)	CCTCTTATGATGTTTGTTGCCAATGATAGATTGTTTTCACTGTG CAAAAATTATGGGTAGTTTTGGTGGTCTTGATGCAGTTGTAAGC TTGGAG (配列番号 49)
30bp バッファー 3	TACAAGGCCATCAGCTCATACTCACAATTG (配列番号 26)
U7 プロモーター	TACTGCCGAATCCAGGTCTCCGGGCTTAACAACAACGAAGGGG CTGTGACTGGCTGCTTTCTCAACCAATCAGCACCGAACTCATTT GCATGGGCTGAGAACAAATGTTCGCGAACTCTAGAAATGAATG ACTTAAGTAAGTTCCTTAGAATATTATTTTTCCTACTGAAAGTT ACCACATGCGTCGTTGTTTATACAGTAATAGGAACAAGAAAAA AGTCACCTAAGCTCACCCTCATCAATTGTGGAGTTCCTTTATAT CCCATCTTCTCTCCAAACACATACGCA (配列番号 39)
U7 snRNA	ggagtTCACCAGAAGCGTACCATACTCACGAAATTTTTGGAGTAgg ctttctggctccttaccggaaagcc (配列番号 66)
U7 下流 (ターミネーター)	CCTCTTATGATGTTTGTTGCCAATGATAGATTGTTTTCACTGTG CAAAAATTATGGGTAGTTTTGGTGGTCTTGATGCAGTTGTAAGC TTGGAG (配列番号 49)
ITR	Aggaacccctagtgatggagttggccactccctctctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgggcga ccaaaggtcgcccgacgcccgggctttgcccgggcggcctcagtgagcgagcgagcgcgcagctgc ctgcagg (配列番号 60)

【０１４３】

本開示の例示的なＡＡＶベクターは、５’から３’へと：第１の末端逆位反復配列（ＩＴＲ）配列、Ｕ７プロモーター配列、ＣＡＧリピート標的化Ｕ７　ｅｓｎＲＮＡ配列、Ｕ７下流ターミネーター配列、バッファー配列、Ｕ７プロモーター配列、ＣＡＧリピート標的化Ｕ７　ｅｓｎＲＮＡ配列、Ｕ７下流ターミネーター配列、バッファー配列、Ｕ７プロモーター配列、ＣＡＧリピート標的化Ｕ７　ｅｓｎＲＮＡ配列、Ｕ７下流ターミネーター配列、バッファー配列、Ｕ７プロモーター配列、ＣＡＧリピート標的化Ｕ７　ｅｓｎＲＮＡ配列、Ｕ７下流ターミネーター配列、バッファー配列、および第２のＩＴＲ配列を含む。一部の態様では、ＣＡＧリピート標的化ｓｎＲＮＡ配列をコードするＡＡＶベクターＡ０２９６７をコードする核酸配列は、配列番号１２２を含む。

【０１４４】

Ａ０２９６７　ｓｓ　ｐＡＡＶ－４ＸＵ７（１５ＸＣＡＧ）ＣＡＧリピートを標的化

【表２２－１】

ITR	Cctgcaggcagctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgcccgggcgtcgggcgacctttggtcgc ccggcctcagtgagcgagcgagcgcgcagagagggagtggccaactccatcactagggttcct (配列番号 59)

【表２２－２】

U7プロモーター	TACTGCCGAATCCAGGTCTCCGGGCTTAACAACAACGAAGGG GCTGTGACTGGCTGCTTTCTCAACCAATCAGCACCGAACTCAT TTGCATGGGCTGAGAACAAATGTTCGCGAACTCTAGAAATGA ATGACTTAAGTAAGTTCCTTAGAATATTATTTTTCCTACTGAAA GTTACCACATGCGTCGTTGTTTATACAGTAATAGGAACAAGAA AAAAGTCACCTAAGCTCACCCTCATCAATTGTGGAGTTCCTTT ATATCCCATCTTCTCTCCAAACACATACGCA (配列番号 39)
U7 snRNA	ggagtCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGC TGCTGAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc (配列番号 67)
U7 下流 (ターミネーター)	CCTCTTATGATGTTTGTTGCCAATGATAGATTGTTTTCACTGTG CAAAAATTATGGGTAGTTTTGGTGGTCTTGATGCAGTTGTAAG CTTGGAG (配列番号 49)
30bpバッファー1	CAAACTACAGAGCCAAGTGCTATCCACAGA (配列番号 24)
U7プロモーター	TACTGCCGAATCCAGGTCTCCGGGCTTAACAACAACGAAGGG GCTGTGACTGGCTGCTTTCTCAACCAATCAGCACCGAACTCAT TTGCATGGGCTGAGAACAAATGTTCGCGAACTCTAGAAATGA ATGACTTAAGTAAGTTCCTTAGAATATTATTTTTCCTACTGAAA GTTACCACATGCGTCGTTGTTTATACAGTAATAGGAACAAGAA AAAAGTCACCTAAGCTCACCCTCATCAATTGTGGAGTTCCTTT ATATCCCATCTTCTCTCCAAACACATACGCA (配列番号 39)
U7 snRNA	ggagtCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGC TGCTGAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc (配列番号 67)
U7 下流 (ターミネーター)	CCTCTTATGATGTTTGTTGCCAATGATAGATTGTTTTCACTGTG CAAAAATTATGGGTAGTTTTGGTGGTCTTGATGCAGTTGTAAG CTTGGAG (配列番号 49)
30bpバッファー2	GAGCTTTCTGGGTTGCCATCTCAAGCAGAC (配列番号 25)
U7プロモーター	TACTGCCGAATCCAGGTCTCCGGGCTTAACAACAACGAAGGG GCTGTGACTGGCTGCTTTCTCAACCAATCAGCACCGAACTCAT TTGCATGGGCTGAGAACAAATGTTCGCGAACTCTAGAAATGA ATGACTTAAGTAAGTTCCTTAGAATATTATTTTTCCTACTGAAA GTTACCACATGCGTCGTTGTTTATACAGTAATAGGAACAAGAA AAAAGTCACCTAAGCTCACCCTCATCAATTGTGGAGTTCCTTT ATATCCCATCTTCTCTCCAAACACATACGCA (配列番号 39)
U7 snRNA	ggagtCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGC TGCTGAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc (配列番号 67)
U7 下流 (ターミネーター)	CCTCTTATGATGTTTGTTGCCAATGATAGATTGTTTTCACTGTG CAAAAATTATGGGTAGTTTTGGTGGTCTTGATGCAGTTGTAAG CTTGGAG (配列番号 49)
30bpバッファー3	TACAAGGCCATCAGCTCATACTCACAATTG (配列番号 26)
U7プロモーター	TACTGCCGAATCCAGGTCTCCGGGCTTAACAACAACGAAGGG GCTGTGACTGGCTGCTTTCTCAACCAATCAGCACCGAACTCAT TTGCATGGGCTGAGAACAAATGTTCGCGAACTCTAGAAATGA ATGACTTAAGTAAGTTCCTTAGAATATTATTTTTCCTACTGAAA GTTACCACATGCGTCGTTGTTTATACAGTAATAGGAACAAGAA

【表２２－３】

	AAAAGTCACCTAAGCTCACCCTCATCAATTGTGGAGTTCCTTT ATATCCCATCTTCTCTCCAAACACATACGCA (配列番号 39)
U7 snRNA	ggagtCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGC TGCTGAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc (配列番号 67)
U7 下流 (ターミネーター)	CCTCTTATGATGTTTGTTGCCAATGATAGATTGTTTTCACTGTG CAAAAATTATGGGTAGTTTTGGTGGTCTTGATGCAGTTGTAAG CTTGGAG (配列番号 49)
ITR	Aggaacccctagtgatggagttggccactccctctctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgggcg accaaaggtcgcccgacgcccgggctttgcccgggcggcctcagtgagcgagcgagcgcgcagct gcctgcagg (配列番号 60)

【０１４５】

本開示の例示的なＡＡＶベクターは、５’から３’へと：第１の末端逆位反復配列（ＩＴＲ）配列、Ｕ７プロモーター配列、ＣＵＧリピート標的化Ｕ７　ｅｓｎＲＮＡ配列、Ｕ７下流ターミネーター配列、バッファー配列、Ｕ７プロモーター配列、ＣＵＧリピート標的化Ｕ７　ｅｓｎＲＮＡ配列、Ｕ７下流ターミネーター配列、バッファー配列、Ｕ７プロモーター配列、ＣＵＧリピート標的化Ｕ７　ｅｓｎＲＮＡ配列、Ｕ７下流ターミネーター配列、バッファー配列、Ｕ７プロモーター配列、ＣＵＧリピート標的化Ｕ７　ｅｓｎＲＮＡ配列、Ｕ７下流ターミネーター配列、バッファー配列、および第２のＩＴＲ配列を含む。一部の態様では、ＣＵＧリピート標的化ｓｎＲＮＡ配列をコードするＡＡＶベクターＡ０３０７９をコードする核酸配列は、配列番号１２３を含む。

Ａ０３０７９　ｓｃ　ｐＡＡＶ－４ＸＵ７（１５ＸＣＵＧ）（Ｐ００３６９の誘導体）ＣＵＧリピートを標的化

【表２３－１】

ITR	Cctgcaggcagctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgcccgggcgtcgggcgacctttggtcgcc cggcctcagtgagcgagcgagcgcgcagagagggagtggccaactccatcactaggggttcct (配列番号 59)
U7 プロモーター	TACTGCCGAATCCAGGTCTCCGGGCTTAACAACAACGAAGGGG CTGTGACTGGCTGCTTTCTCAACCAATCAGCACCGAACTCATTT GCATGGGCTGAGAACAAATGTTCGCGAACTCTAGAAATGAATG ACTTAAGTAAGTTCCTTAGAATATTATTTTTCCTACTGAAAGTT ACCACATGCGTCGTTGTTTATACAGTAATAGGAACAAGAAAAA AGTCACCTAAGCTCACCCTCATCAATTGTGGAGTTCCTTTATAT CCCATCTTCTCTCCAAACACATACGCA (配列番号 39)
U7 snRNA	ggagtCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAG CAGCAGAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc (配列番号 65)
U7 下流 (ターミネーター)	CCTCTTATGATGTTTGTTGCCAATGATAGATTGTTTTCACTGTGC AAAAATTATGGGTAGTTTTGGTGGTCTTGATGCAGTTGTAAGCT TGGAG (配列番号 49)
30bpバッファー1	CAAACTACAGAGCCAAGTGCTATCCACAGA (配列番号 24)

【表２３－２】

U7 プロモーター	TACTGCCGAATCCAGGTCTCCGGGCTTAACAACAACGAAGGGG CTGTGACTGGCTGCTTTCTCAACCAATCAGCACCGAACTCATTT GCATGGGCTGAGAACAAATGTTCGCGAACTCTAGAAATGAATG ACTTAAGTAAGTTCCTTAGAATATTATTTTTCCTACTGAAAGTT ACCACATGCGTCGTTGTTTATACAGTAATAGGAACAAGAAAAA AGTCACCTAAGCTCACCCTCATCAATTGTGGAGTTCCTTTATAT CCCATCTTCTCTCCAAACACATACGCA (配列番号 39)
U7 snRNA	ggagtCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAG CAGCAGAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc (配列番号 65)
U7 下流 (ターミネーター)	CCTCTTATGATGTTTGTTGCCAATGATAGATTGTTTTCACTGTGC AAAAATTATGGGTAGTTTTGGTGGTCTTGATGCAGTTGTAAGCT TGGAG (配列番号 49)
30bpバッファー2	GAGCTTTCTGGGTTGCCATCTCAAGCAGAC (配列番号 25)
U7 プロモーター	TACTGCCGAATCCAGGTCTCCGGGCTTAACAACAACGAAGGGG CTGTGACTGGCTGCTTTCTCAACCAATCAGCACCGAACTCATTT GCATGGGCTGAGAACAAATGTTCGCGAACTCTAGAAATGAATG ACTTAAGTAAGTTCCTTAGAATATTATTTTTCCTACTGAAAGTT ACCACATGCGTCGTTGTTTATACAGTAATAGGAACAAGAAAAA AGTCACCTAAGCTCACCCTCATCAATTGTGGAGTTCCTTTATAT CCCATCTTCTCTCCAAACACATACGCA (配列番号 39)
U7 snRNA	ggagtCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAG CAGCAGAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc (配列番号 65)
U7 下流 (ターミネーター)	CCTCTTATGATGTTTGTTGCCAATGATAGATTGTTTTCACTGTGC AAAAATTATGGGTAGTTTTGGTGGTCTTGATGCAGTTGTAAGCT TGGAG (配列番号 49)
30bpバッファー3	TACAAGGCCATCAGCTCATACTCACAATTG (配列番号 26)
U7 プロモーター	TACTGCCGAATCCAGGTCTCCGGGCTTAACAACAACGAAGGGG CTGTGACTGGCTGCTTTCTCAACCAATCAGCACCGAACTCATTT GCATGGGCTGAGAACAAATGTTCGCGAACTCTAGAAATGAATG ACTTAAGTAAGTTCCTTAGAATATTATTTTTCCTACTGAAAGTT ACCACATGCGTCGTTGTTTATACAGTAATAGGAACAAGAAAAA AGTCACCTAAGCTCACCCTCATCAATTGTGGAGTTCCTTTATAT CCCATCTTCTCTCCAAACACATACGCA (配列番号 39)
U7 snRNA	ggagtCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAG CAGCAGAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc (配列番号 65)
U7 下流 (ターミネーター)	CCTCTTATGATGTTTGTTGCCAATGATAGATTGTTTTCACTGTGC AAAAATTATGGGTAGTTTTGGTGGTCTTGATGCAGTTGTAAGCT TGGAG (配列番号 49)
ITR	CCACTCCCTCTCTGCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGGCCGGGCGA CCAAAGGTCGCCCGACGCCCGGGCTTTGCCCGGGCGGCCTCAG TGAGCGAGCGAGCGCGCAGAGAGGGA (配列番号 61)

【０１４６】

本開示の例示的なＡＡＶベクターは、５’から３’へと：第１の末端逆位反復配列（ＩＴＲ）配列、Ｕ７プロモーター配列、非標的化Ｕ７　ｅｓｎＲＮＡ配列、Ｕ７下流ターミネーター配列、バッファー配列、Ｕ７プロモーター配列、非標的化Ｕ７　ｅｓｎＲＮＡ配列、Ｕ７下流ターミネーター配列、バッファー配列、Ｕ７プロモーター配列、非標的化Ｕ７　ｅｓｎＲＮＡ配列、Ｕ７下流ターミネーター配列、バッファー配列、Ｕ７プロモーター配列、非標的化Ｕ７　ｅｓｎＲＮＡ配列、Ｕ７下流ターミネーター配列、バッファー配列、および第２のＩＴＲ配列を含む。一部の態様では、非リピート標的化ｓｎＲＮＡ配列をコードするＡＡＶベクターＡ０３０８０をコードする核酸配列は、配列番号１２４を含む。

Ａ０３０８０ｓｃ　ｐＡＡＶ－４ＸＵ７（ＮＴ１）（Ｐ００３６９の誘導体）

【表２４－１】

ITR	Cctgcaggcagctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgcccgggcgtcgggcgacctttggtcgccc ggcctcagtgagcgagcgagcgcgcagagagggagtggccaactccatcactaggggttcct (配列番号 59)
U7 プロモーター	TACTGCCGAATCCAGGTCTCCGGGCTTAACAACAACGAAGGGG CTGTGACTGGCTGCTTTCTCAACCAATCAGCACCGAACTCATTT GCATGGGCTGAGAACAAATGTTCGCGAACTCTAGAAATGAATG ACTTAAGTAAGTTCCTTAGAATATTATTTTTCCTACTGAAAGTTA CCACATGCGTCGTTGTTTATACAGTAATAGGAACAAGAAAAAA GTCACCTAAGCTCACCCTCATCAATTGTGGAGTTCCTTTATATCC CATCTTCTCTCCAAACACATACGCA (配列番号 39)
U7 snRNA	ggagtTCACCAGAAGCGTACCATACTCACGAAATTTTTGGAGTAggc tttctggctccttaccggaaagcc (配列番号 66)
U7 下流 (ターミネーター)	CCTCTTATGATGTTTGTTGCCAATGATAGATTGTTTTCACTGTGC AAAAATTATGGGTAGTTTTGGTGGTCTTGATGCAGTTGTAAGCT TGGAG (配列番号 49)
30bpバッファー1	CAAACTACAGAGCCAAGTGCTATCCACAGA (配列番号 24)
U7 プロモーター	TACTGCCGAATCCAGGTCTCCGGGCTTAACAACAACGAAGGGG CTGTGACTGGCTGCTTTCTCAACCAATCAGCACCGAACTCATTT GCATGGGCTGAGAACAAATGTTCGCGAACTCTAGAAATGAATG ACTTAAGTAAGTTCCTTAGAATATTATTTTTCCTACTGAAAGTTA CCACATGCGTCGTTGTTTATACAGTAATAGGAACAAGAAAAAA GTCACCTAAGCTCACCCTCATCAATTGTGGAGTTCCTTTATATCC CATCTTCTCTCCAAACACATACGCA (配列番号 39)
U7 snRNA	ggagtTCACCAGAAGCGTACCATACTCACGAAATTTTTGGAGTAggc tttctggctccttaccggaaagcc (配列番号 66)
U7 下流 (ターミネーター)	CCTCTTATGATGTTTGTTGCCAATGATAGATTGTTTTCACTGTGC AAAAATTATGGGTAGTTTTGGTGGTCTTGATGCAGTTGTAAGCT TGGAG (配列番号 49)
30bpバッファー2	GAGCTTTCTGGGTTGCCATCTCAAGCAGAC (配列番号 25)
U7 プロモーター	TACTGCCGAATCCAGGTCTCCGGGCTTAACAACAACGAAGGGG CTGTGACTGGCTGCTTTCTCAACCAATCAGCACCGAACTCATTT GCATGGGCTGAGAACAAATGTTCGCGAACTCTAGAAATGAATG ACTTAAGTAAGTTCCTTAGAATATTATTTTTCCTACTGAAAGTTA CCACATGCGTCGTTGTTTATACAGTAATAGGAACAAGAAAAAA

【表２４－２】

	GTCACCTAAGCTCACCCTCATCAATTGTGGAGTTCCTTTATATCC CATCTTCTCTCCAAACACATACGCA (配列番号 39)
U7 snRNA	ggagtTCACCAGAAGCGTACCATACTCACGAAATTTTTGGAGTAggc tttctggctccttaccggaaagcc (配列番号 66)
U7 下流 (ターミネーター)	CCTCTTATGATGTTTGTTGCCAATGATAGATTGTTTTCACTGTGC AAAAATTATGGGTAGTTTTGGTGGTCTTGATGCAGTTGTAAGCT TGGAG (配列番号 49)
30bpバッファー3	TACAAGGCCATCAGCTCATACTCACAATTG (配列番号 26)
U7 プロモーター	TACTGCCGAATCCAGGTCTCCGGGCTTAACAACAACGAAGGGG CTGTGACTGGCTGCTTTCTCAACCAATCAGCACCGAACTCATTT GCATGGGCTGAGAACAAATGTTCGCGAACTCTAGAAATGAATG ACTTAAGTAAGTTCCTTAGAATATTATTTTTCCTACTGAAAGTTA CCACATGCGTCGTTGTTTATACAGTAATAGGAACAAGAAAAAA GTCACCTAAGCTCACCCTCATCAATTGTGGAGTTCCTTTATATCC CATCTTCTCTCCAAACACATACGCA (配列番号 39)
U7 snRNA	ggagtTCACCAGAAGCGTACCATACTCACGAAATTTTTGGAGTAggc tttctggctccttaccggaaagcc (配列番号 66)
U7 下流 (ターミネーター)	CCTCTTATGATGTTTGTTGCCAATGATAGATTGTTTTCACTGTGC AAAAATTATGGGTAGTTTTGGTGGTCTTGATGCAGTTGTAAGCT TGGAG (配列番号 49)
ITR	CCACTCCCTCTCTGCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGGCCGGGCGA CCAAAGGTCGCCCGACGCCCGGGCTTTGCCCGGGCGGCCTCAGT GAGCGAGCGAGCGCGCAGAGAGGGA (配列番号 61)

【０１４７】

本開示の例示的なＡＡＶベクターは、５’から３’へと：第１の末端逆位反復配列（ＩＴＲ）配列、Ｕ７プロモーター配列、ＣＡＧリピート標的化Ｕ７　ｅｓｎＲＮＡ配列、Ｕ７下流ターミネーター配列、バッファー配列、Ｕ７プロモーター配列、ＣＡＧリピート標的化Ｕ７　ｅｓｎＲＮＡ配列、Ｕ７下流ターミネーター配列、バッファー配列、Ｕ７プロモーター配列、ＣＡＧリピート標的化Ｕ７　ｅｓｎＲＮＡ配列、Ｕ７下流ターミネーター配列、バッファー配列、Ｕ７プロモーター配列、ＣＡＧリピート標的化Ｕ７　ｅｓｎＲＮＡ配列、Ｕ７下流ターミネーター配列、バッファー配列、および第２のＩＴＲ配列を含む。一部の態様では、ＣＡＧリピート標的化ｓｎＲＮＡ配列をコードするＡＡＶベクターＡ０３０８１をコードする核酸配列は、配列番号１２５を含む。

Ａ０３０８１　ｓｃ　ｐＡＡＶ－４ＸＵ７（１５ＸＣＡＧ）ＣＡＧリピートを標的化

【表２５－１】

ITR	Cctgcaggcagctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgcccgggcgtcgggcgacctttggtcgccc ggcctcagtgagcgagcgagcgcgcagagagggagtggccaactccatcactaggggttcct (配列番号 59)
U7プロモーター	TACTGCCGAATCCAGGTCTCCGGGCTTAACAACAACGAAGGGG CTGTGACTGGCTGCTTTCTCAACCAATCAGCACCGAACTCATTT GCATGGGCTGAGAACAAATGTTCGCGAACTCTAGAAATGAATG ACTTAAGTAAGTTCCTTAGAATATTATTTTTCCTACTGAAAGTTA CCACATGCGTCGTTGTTTATACAGTAATAGGAACAAGAAAAAA

【表２５－２】

	GTCACCTAAGCTCACCCTCATCAATTGTGGAGTTCCTTTATATCC CATCTTCTCTCCAAACACATACGCA (配列番号 39)
U7 snRNA	ggagtCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTG CTGAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc (配列番号 67)
U7 下流 (ターミネーター)	CCTCTTATGATGTTTGTTGCCAATGATAGATTGTTTTCACTGTGC AAAAATTATGGGTAGTTTTGGTGGTCTTGATGCAGTTGTAAGCT TGGAG (配列番号 49)
30bpバッファー1	CAAACTACAGAGCCAAGTGCTATCCACAGA (配列番号 24)
U7 プロモーター	TACTGCCGAATCCAGGTCTCCGGGCTTAACAACAACGAAGGGG CTGTGACTGGCTGCTTTCTCAACCAATCAGCACCGAACTCATTT GCATGGGCTGAGAACAAATGTTCGCGAACTCTAGAAATGAATG ACTTAAGTAAGTTCCTTAGAATATTATTTTTCCTACTGAAAGTTA CCACATGCGTCGTTGTTTATACAGTAATAGGAACAAGAAAAAA GTCACCTAAGCTCACCCTCATCAATTGTGGAGTTCCTTTATATCC CATCTTCTCTCCAAACACATACGCA (配列番号 39)
U7 snRNA	ggagtCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTG CTGAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc (配列番号 67)
U7 下流 (ターミネーター)	CCTCTTATGATGTTTGTTGCCAATGATAGATTGTTTTCACTGTGC AAAAATTATGGGTAGTTTTGGTGGTCTTGATGCAGTTGTAAGCT TGGAG (配列番号 49)
30bpバッファー2	GAGCTTTCTGGGTTGCCATCTCAAGCAGAC (配列番号 25)
U7 プロモーター	TACTGCCGAATCCAGGTCTCCGGGCTTAACAACAACGAAGGGG CTGTGACTGGCTGCTTTCTCAACCAATCAGCACCGAACTCATTT GCATGGGCTGAGAACAAATGTTCGCGAACTCTAGAAATGAATG ACTTAAGTAAGTTCCTTAGAATATTATTTTTCCTACTGAAAGTTA CCACATGCGTCGTTGTTTATACAGTAATAGGAACAAGAAAAAA GTCACCTAAGCTCACCCTCATCAATTGTGGAGTTCCTTTATATCC CATCTTCTCTCCAAACACATACGCA (配列番号 39)
U7 snRNA	ggagtCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTG CTGAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc (配列番号 67)
U7 下流 (ターミネーター)	CCTCTTATGATGTTTGTTGCCAATGATAGATTGTTTTCACTGTGC AAAAATTATGGGTAGTTTTGGTGGTCTTGATGCAGTTGTAAGCT TGGAG (配列番号 49)
30bpバッファー3	TACAAGGCCATCAGCTCATACTCACAATTG (配列番号 26)
U7 プロモーター	TACTGCCGAATCCAGGTCTCCGGGCTTAACAACAACGAAGGGG CTGTGACTGGCTGCTTTCTCAACCAATCAGCACCGAACTCATTT GCATGGGCTGAGAACAAATGTTCGCGAACTCTAGAAATGAATG ACTTAAGTAAGTTCCTTAGAATATTATTTTTCCTACTGAAAGTTA CCACATGCGTCGTTGTTTATACAGTAATAGGAACAAGAAAAAA GTCACCTAAGCTCACCCTCATCAATTGTGGAGTTCCTTTATATCC CATCTTCTCTCCAAACACATACGCA (配列番号 39)
U7 snRNA	ggagtCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTG CTGAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc (配列番号 67)
U7 下流 (ターミネーター)	CCTCTTATGATGTTTGTTGCCAATGATAGATTGTTTTCACTGTGC AAAAATTATGGGTAGTTTTGGTGGTCTTGATGCAGTTGTAAGCT TGGAG (配列番号 49)

【表２５－３】

ITR	CCACTCCCTCTCTGCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGGCCGGGCGA CCAAAGGTCGCCCGACGCCCGGGCTTTGCCCGGGCGGCCTCAGT GAGCGAGCGAGCGCGCAGAGAGGGA (配列番号 61)

【０１４８】

本開示の例示的なＡＡＶベクターは、５’から３’へと：第１の末端逆位反復配列（ＩＴＲ）配列、Ｕ７プロモーター配列、ＣＵＧリピート標的化Ｕ７　ｅｓｎＲＮＡ配列、Ｕ７下流ターミネーター配列、ＣＭＶプロモーター配列、緑色蛍光タンパク質（ＧＦＰ）をコ

ードする配列、ｓｖ４０ポリＡ配列、および第２のＩＴＲ配列を含む。一部の態様では、ＣＵＧリピート標的化ｓｎＲＮＡ配列をコードするＡＡＶベクターＡ０２８８８をコードする核酸配列は、配列番号１２６を含む。

Ａ０２８８８　ｐＡＡＶ＿１ｘＵ７（１５ｘＣＵＧ）＿ＣＭＶ＿ＧＦＰ（バッファーなし）ＣＵＧリピートを標的化

【表２６－１】

ITR	Cctgcaggcagctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgcccgggcgtcgggcgacctttggtcgcccggcctcagtgagcgagcgagcgcgcagagagggagtggccaactccatcactagggttcct（配列番号 59）
U7 プロモーター	TACTGCCGAATCCAGGTCTCCGGGCTTAACAACAACGAAGGGGCTGTGACTGGCTGCTTTCTCAACCAATCAGCACCGAACTCATTTGCATGGGCTGAGAACAAATGTTCGCGAACTCTAGAAATGAATGACTTAAGTAAGTTCCTTAGAATATTATTTTTCCTACTGAAAGTTACCACATGCGTCGTTGTTTATACAGTAATAGGAACAAGAAAAAAGTCACCTAAGCTCACCCTCATCAATTGTGGAGTTCCTTTATATCCCATCTTCTCTCCAAACACATACGCA（配列番号 39）
U7 snRNA	ggagtCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc（配列番号 65）
U7 下流（ターミネーター）	CCTCTTATGATGTTTGTTGCCAATGATAGATTGTTTTCACTGTGCAAAAATTATGGGTAGTTTTGGTGGTCTTGATGCAGTTGTAAGCTTGGAG（配列番号 49）
CMV プロモーター	Cgttacataacttacggtaaatggcccgcctggctgaccgcccaacgacccccgcccattgacgtcaataatgacgtatgttcccatagtaacgccaatagggactttccattgacgtcaatgggtggagtatttacggtaaactgcccacttggcagtacatcaagtgtatcatatgccaagtacgccccctattgacgtcaatgacggtaaatggcccgcctggcattatgcccagtacatgaccttatgggactttcctacttggcagtacatctacgtattagtcatcgctattaccatggtgatgcggttttggcagtacatcaatgggcgtggatagcggtttgactcacggggatttccaagtctccaccccattgacgtcaatgggagtttgttttggcaccaaaatcaacgggactttccaaaatgtcgtaacaactccgccccattgacgcaaatgggcggtaggcgtgtacggtgggaggtctatataagcagagct（配列番号 62）
eGFP	ATGgtgagcaagggcgaggagctgttcaccggggtggtgcccatcctggtcgagctggacggcgacgtaaacggccacaagttcagcgtgtccggcgagggcgagggcgatgccacctacggcaagctgaccctgaagttcatctgcaccaccggcaagctgcccgtgccctggcccaccctcgtgaccaccctgacctacggcgtgcagtgcttcagccgctaccccgaccacatgaagcagcacgacttcttcaagtccgccatgcccgaaggctacgtccaggagcgcaccatcttcttcaaggacgacggcaactacaagacccgcgccgaggtgaagttcgagggcgacaccctggtgaaccgcatcgagctgaagggcatcgacttcaaggaggacggcaacatcctggggcacaagctggagtacaactacaacagccacaacgtctatatcatggccgacaagcagaagaacggcatcaaggtgaacttcaagatccgccacaacatcgaggacggcagcgtgcagctcgccgaccactac

【表２６－２】

	cagcagaacacccccatcggcgacggccccgtgctgctgcccgacaaccactacctgagcacccagtccgccctgagcaaagaccccaacgagaagcgcgatcacatggtcctgctggagttcgtgaccgccgccgggatcactctcggcatggacgagctgtacaagTAA（配列番号 63）
SV40 ポリA	Aacttgtttattgcagcttataatggttacaaataaagcaatagcatcacaaatttcacaaataaagcatttttttcactgcattctagttgtggtttgtccaaactcatcaatgtatctta（配列番号 64）
ITR	Aggaacccctagtgatggagttggccactccctctctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgggcgaccaaaggtcgcccgacgcccgggctttgcccgggcggcctcagtgagcgagcgagcgcgcagctgcctgcagg（配列番号 60）

【０１４９】

本開示の例示的なＡＡＶベクターは、５’から３’へと：第１の末端逆位反復配列（ＩＴ

Ｒ）配列、Ｕ７プロモーター配列、非標的化Ｕ７　ｅｓｎＲＮＡ配列、Ｕ７下流ターミネーター配列、ＣＭＶプロモーター配列、緑色蛍光タンパク質（ＧＦＰ）をコードする配列、ｓｖ４０ポリＡ配列、および第２のＩＴＲ配列を含む。一部の態様では、非標的化リピート標的化ｓｎＲＮＡ配列をコードするＡＡＶベクターＡ０２８８９をコードする核酸配列は、配列番号１２７を含む。

Ａ０２８８９　ｐＡＡＶ＿１ｘＵ７（ＮＴ１）＿ＣＭＶ＿ＧＦＰ（バッファーなし）

【表２７－１】

ITR	Cctgcaggcagctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgcccgggcgtcgggcgacctttggtcgcccggcctcagtgagcgagcgagcgcgcagagagggagtggccaactccatcactagggttcct (配列番号 59)
U7 プロモーター	TACTGCCGAATCCAGGTCTCCGGGCTTAACAACAACGAAGGGGCTGTGACTGGCTGCTTTCTCAACCAATCAGCACCGAACTCATTTGCATGGGCTGAGAACAAATGTTCGCGAACTCTAGAAATGAATGACTTAAGTAAGTTCCTTAGAATATTATTTTTCCTACTGAAAGTTACCACATGCGTCGTTGTTTATACAGTAATAGGAACAAGAAAAAAGTCACCTAAGCTCACCCTCATCAATTGTGGAGTTCCTTTATATCCCATCTTCTCTCCAAACACATACGCA (配列番号 39)
U7 snRNA	ggagtTCACCAGAAGCGTACCATACTCACGAAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc (配列番号 66)
U7 下流 (ターミネーター)	CCTCTTATGATGTTTGTTGCCAATGATAGATTGTTTTCACTGTGCAAAAATTATGGGTAGTTTTGGTGGTCTTGATGCAGTTGTAAGCTTGGAG (配列番号 49)
CMV プロモーター	Cgttacataacttacggtaaatggcccgcctggctgaccgcccaacgacccccgcccattgacgtcaataatgacgtatgttcccatagtaacgccaatagggactttccattgacgtcaatgggtggagtatttacggtaaactgcccacttggcagtacatcaagtgtatcatatgccaagtacgccccctattgacgtcaatgacggtaaatggcccgcctggcattatgcccagtacatgaccttatgggactttcctacttggcagtacatctacgtattagtcatcgctattaccatggtgatgcggttttggcagtacatcaatgggcgtggatagcggtttgactcacggggatttccaagtctccaccccattgacgtcaatgggagtttgttttggcaccaaaatcaacgggactttccaaaatgtcgtaacaactccgccccattgacgcaaatgggcggtaggcgtgtacggtgggaggtctatataagcagagct (配列番号 62)
eGFP	ATGgtgagcaagggcgaggagctgttcaccggggtggtgcccatcctggtcgagctggacggcgacgtaaacggccacaagttcagcgtgtccggcgagggcgagggcgatgccacctacggcaagctgaccctgaagttcatctgcaccaccggcaagctgcccgtgccctggcccaccctcgtgaccaccctgacctacggcgtgcagtgcttcagccgctaccccgaccacatgaagcagcacgacttcttcaagtccgccatgcccgaag

【表２７－２】

	gctacgtccaggagcgcaccatcttcttcaaggacgacggcaactacaagacccgcgccgaggtgaagttcgagggcgacaccctggtgaaccgcatcgagctgaagggcatcgacttcaaggaggacggcaacatcctggggcacaagctggagtacaactacaacagccacaacgtctatatcatggccgacaagcagaagaacggcatcaaggtgaacttcaagatccgccacaacatcgaggacggcagcgtgcagctcgccgaccactaccagcagaacaccccatcggcgacggccccgtgctgctgcccgacaaccactacctgagcacccagtccgccctgagcaaagaccccaacgagaagcgcgatcacatggtcctgctggagttcgtgaccgccgccgggatcactctcggcatggacgagctgtacaagTAA (配列番号 63)
SV40 ポリA	Aacttgtttattgcagcttataatggttacaaataaagcaatagcatcacaaatttcacaaataaagcatttttttcactgcattctagttgtggtttgtccaaactcatcaatgtatctta (配列番号 64)
ITR	Aggaacccctagtgatggagttggccactccctctctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgggcgaccaaaggtcgcccgacgcccgggctttgcccgggcggcctcagtgagcgagcgagcgcgcagctgcctgcagg (配列番号 60)

【０１５０】

本開示の例示的なＡＡＶベクターは、５’から３’へと：第１の末端逆位反復配列（ＩＴ

Ｒ）配列、Ｕ７プロモーター配列、ＣＡＧリピート標的化Ｕ７　ｅｓｎＲＮＡ配列、Ｕ７下流ターミネーター配列、ＣＭＶプロモーター配列、緑色蛍光タンパク質（ＧＦＰ）をコードする配列、ｓｖ４０ポリＡ配列、および第２のＩＴＲ配列を含む。一部の態様では、ＣＡＧリピート標的化リピート標的化ｓｎＲＮＡ配列をコードするＡＡＶベクターＡ０２９２５をコードする核酸配列は、配列番号１２８を含む。

Ａ０２９２５　ｐＡＡＶ＿１ｘＵ７（１５ｘＣＡＧ）＿ＣＭＶ＿ＧＦＰ（バッファーなし）ＣＡＧリピートを標的化

【表２８－１】

ITR	Cctgcaggcagctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgcccgggcgtcgggcgacctttggtcgcccggcctcagtgagcgagcgagcgcgcagagagggagtggccaactccatcactaggggttcct (配列番号 59)
U7 プロモーター	TACTGCCGAATCCAGGTCTCCGGGCTTAACAACAACGAAGGGGCTGTGACTGGCTGCTTTCTCAACCAATCAGCACCGAACTCATTTGCATGGGCTGAGAACAAATGTTCGCGAACTCTAGAAATGAATGACTTAAGTAAGTTCCTTAGAATATTATTTTTCCTACTGAAAGTTACCACATGCGTCGTTGTTTATACAGTAATAGGAACAAGAAAAAAGTCACCTAAGCTCACCCTCATCAATTGTGGAGTTCCTTTATATCCCATCTTCTCTCCAAACACATACGCA (配列番号 39)
U7 snRNA	ggagtCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc (配列番号 67)
U7 下流 (ターミネーター)	CCTCTTATGATGTTTGTTGCCAATGATAGATTGTTTTCACTGTGCAAAAATTATGGGTAGTTTTGGTGGTCTTGATGCAGTTGTAAGCTTGGAG (配列番号 49)

【表２８－２】

CMV プロモーター	Cgttacataacttacggtaaatggcccgcctggctgaccgcccaacgacccccgcccattgacgtcaataatgacgtatgttcccatagtaacgccaatagggactttccattgacgtcaatgggtggagtatttacggtaaactgcccacttggcagtacatcaagtgtatcatatgccaagtacgccccctattgacgtcaatgacggtaaatggcccgcctggcattatgcccagtacatgaccttatgggactttcctacttggcagtacatctacgtattagtcatcgctattaccatggtgatgcggttttggcagtacatcaatgggcgtggatagcggtttgactcacggggatttccaagtctccaccccattgacgtcaatgggagtttgttttggcaccaaaatcaacgggactttccaaaatgtcgtaacaactccgccccattgacgcaaatgggcggtaggcgtgtacggtgggaggtctatataagcagagct (配列番号 62)
eGFP	ATGgtgagcaagggcgaggagctgttcaccggggtggtgcccatcctggtcgagctggacggcgacgtaaacggccacaagttcagcgtgtccggcgagggcgagggcgatgccacctacggcaagctgaccctgaagttcatctgcaccaccggcaagctgcccgtgccctggcccaccctcgtgaccaccctgacctacggcgtgcagtgcttcagccgctaccccgaccacatgaagcagcacgacttcttcaagtccgccatgcccgaaggctacgtccaggagcgcaccatcttcttcaaggacgacggcaactacaagacccgcgccgaggtgaagttcgagggcgacaccctggtgaaccgcatcgagctgaagggcatcgacttcaaggaggacggcaacatcctggggcacaagctggagtacaactacaacagccacaacgtctatatcatggccgacaagcagaagaacggcatcaaggtgaacttcaagatccgccacaacatcgaggacggcagcgtgcagctcgccgaccactaccagcagaacaccccatcggcgacggccccgtgctgctgcccgacaaccactacctgagcacccagtccgccctgagcaaagaccccaacgagaagcgcgatcacatggtcctgctggagttcgtgaccgccgccgggatcactctcggcatggacgagctgtacaagTAA (配列番号 63)
SV40 ポリA	Aacttgtttattgcagcttataatggttacaaataaagcaatagcatcacaaatttcacaaataaagcatttttttcactgcattctagttgtggtttgtccaaactcatcaatgtatctta (配列番号 64)
ITR	Aggaacccctagtgatggagttggccactccctctctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgggcgaccaaaggtcgcccgacgcccgggctttgcccgggcggcctcagtgagcgagcgagcgcgcagctgcctgcagg (配列番号 60)

【０１５１】

本開示の例示的なＡＡＶベクターは、５’から３’へと：第１の末端逆位反復配列（ＩＴＲ）配列、Ｕ７プロモーター配列、ＣＵＧリピート標的化Ｕ７　ｅｓｎＲＮＡ配列、Ｕ７下流ターミネーター配列、バッファー配列、Ｕ７プロモーター配列、ＣＵＧリピート標的化Ｕ７　ｅｓｎＲＮＡ配列、Ｕ７下流ターミネーター配列、バッファー配列、Ｕ７プロモーター配列、ＣＵＧリピート標的化Ｕ７　ｅｓｎＲＮＡ配列、Ｕ７下流ターミネーター配列、ＣＭＶプロモーター配列、緑色蛍光タンパク質（ＧＦＰ）をコードする配列、ｓｖ４０ポリＡ配列、および第２のＩＴＲ配列を含む。一部の態様では、ＣＵＧリピート標的化リピート標的化ｓｎＲＮＡ配列をコードするＡＡＶベクターＡ０２８９４をコードする核酸配列は、配列番号１２９を含む。

Ａ０２８９４　ｐＡＡＶ＿３ｘＵ７（１５ｘＣＵＧ）＿ＣＭＶ＿ＧＦＰ（１００ｂｐバッファー）ＣＵＧリピートを標的化

【表２９－１】

ITR	Cctgcaggcagctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgcccgggcgtcgggcgacctttggtcgcccggcctcagtgagcgagcgagcgcgcagagagggagtggccaactccatcactagggttcct (配列番号 59)
U7 プロモーター	TACTGCCGAATCCAGGTCTCCGGGCTTAACAACAACGAAGGGGCTGTGACTGGCTGCTTTCTCAACCAATCAGCACCGAACTCATTTGCATGGGCTGAGAACAAATGTTCGCGAACTCTAGAAATGAATG

【表２９－２】

	ACTTAAGTAAGTTCCTTAGAATATTATTTTTCCTACTGAAAGTTA CCACATGCGTCGTTGTTTATACAGTAATAGGAACAAGAAAAAA GTCACCTAAGCTCACCCTCATCAATTGTGGAGTTCCTTTATATCC CATCTTCTCTCCAAACACATACGCA (配列番号39)
U7 snRNA	ggagtCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAG CAGCAGAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc (配列番号65)
U7 下流 (ターミネーター)	CCTCTTATGATGTTTGTTGCCAATGATAGATTGTTTTCACTGTGC AAAAATTATGGGTAGTTTTGGTGGTCTTGATGCAGTTGTAAGCT TGGAG (配列番号49)
100bpバッファー1	CAAACTACAGAGCCAAGTGCTATCCACAGAGAGCTTTCTGGGTT GCCATCTCAAGCAGACTACAAGGCCATCAGCTCATACTCACAAT TGACTTTGAGAG (配列番号31)
U7プロモーター	TACTGCCGAATCCAGGTCTCCGGGCTTAACAACAACGAAGGGG CTGTGACTGGCTGCTTTCTCAACCAATCAGCACCGAACTCATTT GCATGGGCTGAGAACAAATGTTCGCGAACTCTAGAAATGAATG ACTTAAGTAAGTTCCTTAGAATATTATTTTTCCTACTGAAAGTTA CCACATGCGTCGTTGTTTATACAGTAATAGGAACAAGAAAAAA GTCACCTAAGCTCACCCTCATCAATTGTGGAGTTCCTTTATATCC CATCTTCTCTCCAAACACATACGCA (配列番号39)
U7 snRNA	ggagtCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAG CAGCAGAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc (配列番号65)
U7 下流 (ターミネーター)	CCTCTTATGATGTTTGTTGCCAATGATAGATTGTTTTCACTGTGC AAAAATTATGGGTAGTTTTGGTGGTCTTGATGCAGTTGTAAGCT TGGAG (配列番号49)
100bpバッファー2	TTGACCACATACGTGCTCTTTCAAAGTTCTGTGTTTGAAGTTATG TTAGTAACAACTGATGCCCATCCTGCAATGACAAATCCAATTCT CAGTGCAGCTC (配列番号28)
U7プロモーター	TACTGCCGAATCCAGGTCTCCGGGCTTAACAACAACGAAGGGG CTGTGACTGGCTGCTTTCTCAACCAATCAGCACCGAACTCATTT GCATGGGCTGAGAACAAATGTTCGCGAACTCTAGAAATGAATG ACTTAAGTAAGTTCCTTAGAATATTATTTTTCCTACTGAAAGTTA CCACATGCGTCGTTGTTTATACAGTAATAGGAACAAGAAAAAA GTCACCTAAGCTCACCCTCATCAATTGTGGAGTTCCTTTATATCC CATCTTCTCTCCAAACACATACGCA (配列番号39)
U7 snRNA	ggagtCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAG CAGCAGAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc (配列番号65)
U7 下流 (ターミネーター)	CCTCTTATGATGTTTGTTGCCAATGATAGATTGTTTTCACTGTGC AAAAATTATGGGTAGTTTTGGTGGTCTTGATGCAGTTGTAAGCT TGGAG (配列番号49)

【表２９－３】

CMV プロモーター	Cgttacataacttacggtaaatggcccgcctggctgaccgcccaacgacccccgcccattgacgtcaataatgacgtatgttcccatagtaacgccaatagggactttccattgacgtcaatgggtggagtatttacggtaaactgcccacttggcagtacatcaagtgtatcatatgccaagtacgccccctattgacgtcaatgacggtaaatggcccgcctggcattatgcccagtacatgaccttatgggactttcctacttggcagtacatctacgtattagtcatcgctattaccatggtgatgcggttttggcagtacatcaatgggcgtggatagcggtttgactcacggggatttccaagtctccaccccattgacgtcaatgggagtttgttttggcaccaaaatcaacgggactttccaaaatgtcgtaacaactccgccccattgacgcaaatgggcggtaggcgtgtacggtgggaggtctatataagcagagct (配列番号 62)
eGFP	ATGgtgagcaagggcgaggagctgttcaccggggtggtgcccatcctggtcgagctggacggcgacgtaaacggccacaagttcagcgtgtccggcgagggcgagggcgatgccacctacggcaagctgaccctgaagttcatctgcaccaccggcaagctgcccgtgccctggcccaccctcgtgaccaccctgacctacggcgtgcagtgcttcagccgctaccccgaccacatgaagcagcacgacttcttcaagtccgccatgcccgaaggctacgtccaggagcgcaccatcttcttcaaggacgacggcaactacaagacccgcgccgaggtgaagttcgagggcgacaccctggtgaaccgcatcgagctgaagggcatcgacttcaaggaggacggcaacatcctggggcacaagctggagtacaactacaacagccacaacgtctatatcatggccgacaagcagaagaacggcatcaaggtgaacttcaagatccgccacaacatcgaggacggcagcgtgcagctcgccgaccactaccagcagaacaccccatcggcgacggccccgtgctgctgcccgacaaccactacctgagcacccagtccgccctgagcaaagaccccaacgagaagcgcgatcacatggtcctgctggagttcgtgaccgccgccgggatcactctcggcatggacgagctgtacaagTAA (配列番号 63)
SV40 ポリA	Aacttgtttattgcagcttataatggttacaaataaagcaatagcatcacaaatttcacaaataaagcatttttttcactgcattctagttgtggtttgtccaaactcatcaatgtatctta (配列番号 64)
ITR	Aggaacccctagtgatggagttggccactccctctctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgggcgaccaaaggtcgcccgacgcccgggctttgcccgggcggcctcagtgagcgagcgagcgcgcagctgcctgcagg (配列番号 60)

【０１５２】

本開示の例示的なＡＡＶベクターは、５’から３’へと：第１の末端逆位反復配列（ＩＴＲ）配列、Ｕ７プロモーター配列、非標的化Ｕ７　ｅｓｎＲＮＡ配列、Ｕ７下流ターミネーター配列、バッファー配列、Ｕ７プロモーター配列、非標的化Ｕ７　ｅｓｎＲＮＡ配列、Ｕ７下流ターミネーター配列、バッファー配列、Ｕ７プロモーター配列、非標的化Ｕ７ｅｓｎＲＮＡ配列、Ｕ７下流ターミネーター配列、ＣＭＶプロモーター配列、緑色蛍光タンパク質（ＧＦＰ）をコードする配列、ｓｖ４０ポリＡ配列、および第２のＩＴＲ配列を含む。一部の態様では、非標的化ｓｎＲＮＡ配列をコードするＡＡＶベクターＡ０２８９５をコードする核酸配列は、配列番号１３０を含む。

Ａ０２８９５　ｐＡＡＶ＿３ｘＵ７（ＮＴ１）＿ＣＭＶ＿ＧＦＰ（１００ｂｐバッファー）

【表３０－１】

ITR	Cctgcaggcagctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgcccgggcgtcgggcgacctttggtcgcccggcctcagtgagcgagcgagcgcgcagagagggagtggccaactccatcactagggggttcct (配列番号 59)
U7 プロモーター	TACTGCCGAATCCAGGTCTCCGGGCTTAACAACAACGAAGGGGCTGTGACTGGCTGCTTTCTCAACCAATCAGCACCGAACTCATTTGCATGGGCTGAGAACAAATGTTCGCGAACTCTAGAAATGAATGACTTAAGTAAGTTCCTTAGAATATTATTTTTCCTACTGAAAGTTA

【表３０－２】

	CCACATGCGTCGTTGTTTATACAGTAATAGGAACAAGAAAAAA GTCACCTAAGCTCACCCTCATCAATTGTGGAGTTCCTTTATATCC CATCTTCTCTCCAAACACATACGCA (配列番号 39)
U7 snRNA	ggagtTCACCAGAAGCGTACCATACTCACGAAATTTTTGGAGTAggc tttctggctccttaccggaaagcc (配列番号66)
U7 下流 (ターミネーター)	CCTCTTATGATGTTTGTTGCCAATGATAGATTGTTTTCACTGTGC AAAAATTATGGGTAGTTTTGGTGGTCTTGATGCAGTTGTAAGCT TGGAG (配列番号 49)
100bp バッファー1	CAAACTACAGAGCCAAGTGCTATCCACAGAGAGCTTTCTGGGTT GCCATCTCAAGCAGACTACAAGGCCATCAGCTCATACTCACAAT TGACTTTGAGAG (配列番号 27)
U7 プロモーター	TACTGCCGAATCCAGGTCTCCGGGCTTAACAACAACGAAGGGG CTGTGACTGGCTGCTTTCTCAACCAATCAGCACCGAACTCATTT GCATGGGCTGAGAACAAATGTTCGCGAACTCTAGAAATGAATG ACTTAAGTAAGTTCCTTAGAATATTATTTTTCCTACTGAAAGTTA CCACATGCGTCGTTGTTTATACAGTAATAGGAACAAGAAAAAA GTCACCTAAGCTCACCCTCATCAATTGTGGAGTTCCTTTATATCC CATCTTCTCTCCAAACACATACGCA (配列番号 39)
U7 snRNA	ggagtTCACCAGAAGCGTACCATACTCACGAAATTTTTGGAGTAggc tttctggctccttaccggaaagcc (配列番号 66)
U7 下流 (ターミネーター)	CCTCTTATGATGTTTGTTGCCAATGATAGATTGTTTTCACTGTGC AAAAATTATGGGTAGTTTTGGTGGTCTTGATGCAGTTGTAAGCT TGGAG (配列番号 49)
100bp バッファー2	TTGACCACATACGTGCTCTTTCAAAGTTCTGTGTTTGAAGTTATG TTAGTAACAACTGATGCCCATCCTGCAATGACAAATCCAATTCT CAGTGCAGCTC (配列番号 28)
U7 プロモーター	TACTGCCGAATCCAGGTCTCCGGGCTTAACAACAACGAAGGGG CTGTGACTGGCTGCTTTCTCAACCAATCAGCACCGAACTCATTT GCATGGGCTGAGAACAAATGTTCGCGAACTCTAGAAATGAATG ACTTAAGTAAGTTCCTTAGAATATTATTTTTCCTACTGAAAGTTA CCACATGCGTCGTTGTTTATACAGTAATAGGAACAAGAAAAAA GTCACCTAAGCTCACCCTCATCAATTGTGGAGTTCCTTTATATCC CATCTTCTCTCCAAACACATACGCA (配列番号 39)
U7 snRNA	ggagtTCACCAGAAGCGTACCATACTCACGAAATTTTTGGAGTAggc tttctggctccttaccggaaagcc (配列番号 66)
U7 下流 (ターミネーター)	CCTCTTATGATGTTTGTTGCCAATGATAGATTGTTTTCACTGTGC AAAAATTATGGGTAGTTTTGGTGGTCTTGATGCAGTTGTAAGCT TGGAG (配列番号 49)
CMV プロモーター	Cgttacataacttacggtaaatggcccgcctggctgaccgcccaacgacccccgcccattgacgtcaata atgacgtatgttcccatagtaacgccaatagggactttccattgacgtcaatgggtggagtatttacggtaaa ctgcccacttggcagtacatcaagtgtatcatatgccaagtacgccccctattgacgtcaatgacggtaaat ggcccgcctggcattatgcccagtacatgaccttatgggactttcctacttggcagtacatctacgtattagtc atcgctattaccatggtgatgcggttttggcagtacatcaatgggcgtggatagcggtttgactcacgggga tttccaagtctccaccccattgacgtcaatgggagtttgttttggcaccaaaatcaacgggactttccaaaatg tcgtaacaactccgccccattgacgcaaatgggcggtaggcgtgtacggtgggaggtctatataagcaga gct (配列番号 62)
eGFP	ATGgtgagcaagggcgaggagctgttcaccggggtggtgcccatcctggtcgagctggacggcgac gtaaacggccacaagttcagcgtgtccggcgagggcgagggcgatgccacctacggcaagctgaccct

【表３０－３】

	gaagttcatctgcaccaccggcaagctgcccgtgccctggcccaccctcgtgaccaccctgacctacggc gtgcagtgcttcagccgctaccccgaccacatgaagcagcacgacttcttcaagtccgccatgcccgaag gctacgtccaggagcgcaccatcttcttcaaggacgacggcaactacaagacccgcgccgaggtgaagt tcgagggcgacaccctggtgaaccgcatcgagctgaagggcatcgacttcaaggaggacggcaacatc ctggggcacaagctggagtacaactacaacagccacaacgtctatatcatggccgacaagcagaagaac ggcatcaaggtgaacttcaagatccgccacaacatcgaggacggcagcgtgcagctcgccgaccactac cagcagaacaccccccatcggcgacggccccgtgctgctgcccgacaaccactacctgagcacccagtc cgccctgagcaaagaccccaacgagaagcgcgatcacatggtcctgctggagttcgtgaccgccgccg ggatcactctcggcatggacgagctgtacaagTAA (配列番号 63)
SV40 ポリA	Aacttgtttattgcagcttataatggttacaaataaagcaatagcatcacaaatttcacaaataaagcatttttttt cactgcattctagttgtggtttgtccaaactcatcaatgtatctta (配列番号 64)
ITR	Aggaacccctagtgatggagttggccactccctctctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgggcgac caaaggtcgcccgacgcccgggctttgcccgggcggcctcagtgagcgagcgagcgcgcagctgcct gcagg (配列番号 60)

【０１５３】

本開示の例示的なＡＡＶベクターは、５’から３’へと：第１の末端逆位反復配列（ＩＴＲ）配列、Ｕ７プロモーター配列、ＣＡＧリピート標的化Ｕ７　ｅｓｎＲＮＡ配列、Ｕ７下流ターミネーター配列、バッファー配列、Ｕ７プロモーター配列、ＣＡＧリピート標的化Ｕ７　ｅｓｎＲＮＡ配列、Ｕ７下流ターミネーター配列、バッファー配列、Ｕ７プロモーター配列、ＣＡＧリピート標的化Ｕ７　ｅｓｎＲＮＡ配列、Ｕ７下流ターミネーター配列、ＣＭＶプロモーター配列、緑色蛍光タンパク質（ＧＦＰ）をコードする配列、ｓｖ４０ポリＡ配列、および第２のＩＴＲ配列を含む。一部の態様では、ＣＡＧリピート標的化リピート標的化ｓｎＲＮＡ配列をコードするＡＡＶベクターＡ０２９６８をコードする核酸配列は、配列番号１３１を含む。

Ａ０２９６８　ｐＡＡＶ＿３ｘＵ７（１５ＸＣＡＧ）＿ＣＭＶ＿ＧＦＰ（１００ｂｐバッファー）ＣＡＧリピートを標的化

【表３１－１】

ITR	Cctgcaggcagctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgcccgggcgtcgggcgacctttggtcgcc cggcctcagtgagcgagcgagcgcgcagagagggagtggccaactccatcactaggggttcct (配列番号 59)
U7 プロモーター	TACTGCCGAATCCAGGTCTCCGGGCTTAACAACAACGAAGGGG CTGTGACTGGCTGCTTTCTCAACCAATCAGCACCGAACTCATTT GCATGGGCTGAGAACAAATGTTCGCGAACTCTAGAAATGAATG ACTTAAGTAAGTTCCTTAGAATATTATTTTTCCTACTGAAAGTT ACCACATGCGTCGTTGTTTATACAGTAATAGGAACAAGAAAAA AGTCACCTAAGCTCACCCTCATCAATTGTGGAGTTCCTTTATAT CCCATCTTCTCTCCAAACACATACGCA (配列番号 39)
U7 snRNA	ggagtCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCT GCTGAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc (配列番号 67)
U7 下流 (ターミネーター)	CCTCTTATGATGTTTGTTGCCAATGATAGATTGTTTTCACTGTGC AAAAATTATGGGTAGTTTTGGTGGTCTTGATGCAGTTGTAAGCT TGGAG (配列番号 49)

【表３１－２】

100bp バッファー1	CAAACTACAGAGCCAAGTGCTATCCACAGAGAGCTTTCTGGGTTGCCATCTCAAGCAGACTACAAGGCCATCAGCTCATACTCACAATTGACTTTGAGAG (配列番号 27)
U7 プロモーター	TACTGCCGAATCCAGGTCTCCGGGCTTAACAACAACGAAGGGGCTGTGACTGGCTGCTTTCTCAACCAATCAGCACCGAACTCATTTGCATGGGCTGAGAACAAATGTTCGCGAACTCTAGAAATGAATGACTTAAGTAAGTTCCTTAGAATATTATTTTTCCTACTGAAAGTTACCACATGCGTCGTTGTTTATACAGTAATAGGAACAAGAAAAAAGTCACCTAAGCTCACCCTCATCAATTGTGGAGTTCCTTTATATCCCATCTTCTCTCCAAACACATACGCA (配列番号 39)
U7 snRNA	ggagtCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc (配列番号 67)
U7 下流 (ターミネーター)	CCTCTTATGATGTTTGTTGCCAATGATAGATTGTTTTCACTGTGCAAAAATTATGGGTAGTTTTGGTGGTCTTGATGCAGTTGTAAGCTTGGAG (配列番号 49)
100bp バッファー2	TTGACCACATACGTGCTCTTTCAAAGTTCTGTGTTTGAAGTTATGTTAGTAACAACTGATGCCCATCCTGCAATGACAAATCCAATTCTCAGTGCAGCTC (配列番号 28)
U7 プロモーター	TACTGCCGAATCCAGGTCTCCGGGCTTAACAACAACGAAGGGGCTGTGACTGGCTGCTTTCTCAACCAATCAGCACCGAACTCATTTGCATGGGCTGAGAACAAATGTTCGCGAACTCTAGAAATGAATGACTTAAGTAAGTTCCTTAGAATATTATTTTTCCTACTGAAAGTTACCACATGCGTCGTTGTTTATACAGTAATAGGAACAAGAAAAAAGTCACCTAAGCTCACCCTCATCAATTGTGGAGTTCCTTTATATCCCATCTTCTCTCCAAACACATACGCA (配列番号 39)
U7 snRNA	ggagtCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc (配列番号 67)
U7 下流 (ターミネーター)	CCTCTTATGATGTTTGTTGCCAATGATAGATTGTTTTCACTGTGCAAAAATTATGGGTAGTTTTGGTGGTCTTGATGCAGTTGTAAGCTTGGAG (配列番号 49)
CMV プロモーター	Cgttacataacttacggtaaatggcccgcctggctgaccgcccaacgacccccgcccattgacgtcaataatgacgtatgttcccatagtaacgccaatagggactttccattgacgtcaatgggtggagtatttacggtaaactgcccacttggcagtacatcaagtgtatcatatgccaagtacgccccctattgacgtcaatgacggtaaatggcccgcctggcattatgcccagtacatgaccttatgggactttcctacttggcagtacatctacgtattagtcatcgctattaccatggtgatgcggttttggcagtacatcaatgggcgtggatagcggtttgactcacgggatttccaagtctccaccccattgacgtcaatgggagtttgttttggcaccaaaatcaacgggactttccaaaatgtcgtaacaactccgccccattgacgcaaatgggcggtaggcgtgtacggtgggaggtctatataagcagagct (配列番号 62)
eGFP	ATGgtgagcaagggcgaggagctgttcaccggggtggtgcccatcctggtcgagctggacggcgacgtaaacggccacaagttcagcgtgtccggcgagggcgagggcgatgccacctacggcaagctgaccctgaagttcatctgcaccaccggcaagctgcccgtgccctggcccaccctcgtgaccaccctgacctacggcgtgcagtgcttcagccgctaccccgaccacatgaagcagcacgacttcttcaagtccgccatgcccgaaggctacgtccaggagcgcaccatcttcttcaaggacgacggcaactacaagacccgcgccgaggtgaagttcgagggcgacaccctggtgaaccgcatcgagctgaagggcatcgacttcaaggaggacggcaacatcctggggcacaagctggagtacaactacaacagccacaacgtctatatcatggccgacaagcagaagaacggcatcaaggtgaacttcaagatccgccacaacatcgaggacggcagcgtgcagctcgccg

【表３１－３】

	accactaccagcagaacaccccatcggcgacggccccgtgctgctgcccgacaaccactacctgagc acccagtccgccctgagcaaagaccccaacgagaagcgcgatcacatggtcctgctggagttcgtgac cgccgccgggatcactctcggcatggacgagctgtacaagTAA (配列番号 63)
SV40 ポリA	Aacttgtttattgcagcttataatggttacaaataaagcaatagcatcacaaatttcacaaataaagcatttttt tcactgcattctagttgtggtttgtccaaactcatcaatgtatctta (配列番号 64)
ITR	Aggaacccctagtgatggagttggccactccctctctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgggcga ccaaaggtcgcccgacgcccgggctttgcccgggcggcctcagtgagcgagcgagcgcgcagctgc ctgcagg (配列番号 60)

【０１５４】

本開示の例示的なＡＡＶベクターは、５’から３’へと：第１の末端逆位反復配列（ＩＴＲ）配列、Ｕ７プロモーター配列、ＣＵＧリピート標的化Ｕ７　ｅｓｎＲＮＡ配列、Ｕ７下流ターミネーター配列、バッファー配列、Ｕ７プロモーター配列、ＣＵＧリピート標的化Ｕ７　ｅｓｎＲＮＡ配列、Ｕ７下流ターミネーター配列、バッファー配列、Ｕ７プロモーター配列、ＣＵＧリピート標的化Ｕ７　ｅｓｎＲＮＡ配列、Ｕ７下流ターミネーター配列、ＣＭＶプロモーター配列、緑色蛍光タンパク質（ＧＦＰ）をコードする配列、ｓｖ４０ポリＡ配列、および第２のＩＴＲ配列を含む。一部の態様では、ＣＵＧリピート標的化リピート標的化ｓｎＲＮＡ配列をコードするＡＡＶベクターＡ０２８９６をコードする核酸配列は、配列番号１３２を含む。

Ａ０２８９６　ｐＡＡＶ＿３ｘＵ７（１５ｘＣＵＧ）＿ＣＭＶ＿ＧＦＰ（５００ｂｐバッファー）

【表３２－１】

ITR	Cctgcaggcagctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgcccgggcgtcgggcgacctttggtcgccc ggcctcagtgagcgagcgagcgcgcagagagggagtggccaactccatcactaggggttcct (配列番号 59)
U7 プロモーター	TACTGCCGAATCCAGGTCTCCGGGCTTAACAACAACGAAGGGG CTGTGACTGGCTGCTTTCTCAACCAATCAGCACCGAACTCATTT GCATGGGCTGAGAACAAATGTTCGCGAACTCTAGAAATGAATG ACTTAAGTAAGTTCCTTAGAATATTATTTTTCCTACTGAAAGTTA CCACATGCGTCGTTGTTTATACAGTAATAGGAACAAGAAAAAA GTCACCTAAGCTCACCCTCATCAATTGTGGAGTTCCTTTATATCC CATCTTCTCTCCAAACACATACGCA (配列番号 39)
U7 snRNA	ggagtCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAG CAGCAGAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc (配列番号 65)
U7 下流 (ターミネーター)	CCTCTTATGATGTTTGTTGCCAATGATAGATTGTTTTCACTGTGC AAAAATTATGGGTAGTTTTGGTGGTCTTGATGCAGTTGTAAGCT TGGAG (配列番号 49)
500bpバッファー 1	CAAACTACAGAGCCAAGTGCTATCCACAGAGAGCTTTCTGGGTT GCCATCTCAAGCAGACTACAAGGCCATCAGCTCATACTCACAAT TGACTTTGAGAGTCATTTTCCAATGCTCCTACACACCCCTTCTTC ACAATCCCCAACAAATCTGAGGCTGGAACTTGGTACCATAACAA TCATTACATTATTTCACCAGAAGTACACCTTGCCTGGAAGATTG GCATTATAGCATCTTCTAACATTGTGAAAGTTAGTGACCAATGA GGAGATCCAAGTCAGTTCCAGTTGGATTTCTCTATACTCTATAAT

【表３２－２】

	AAATATATATGGTGTCTTCAACAATAGGACTTTGCCATCCAGTG ATGCTAAAAATCAATAACAATGGCAATAACCTGCCCTGTTTGGA AAGCCTCTGGCTTCCATGACTAACAATTCAAGGCAGGTCTCCTA TACCTAGTACTGAGATTTTTATTTGATAAACTATATCTTCTGGGA GGAGAAGCATTGT (配列番号 29)
U7 プロモーター	TACTGCCGAATCCAGGTCTCCGGGCTTAACAACAACGAAGGGG CTGTGACTGGCTGCTTTCTCAACCAATCAGCACCGAACTCATTT GCATGGGCTGAGAACAAATGTTCGCGAACTCTAGAAATGAATG ACTTAAGTAAGTTCCTTAGAATATTATTTTTCCTACTGAAAGTTA CCACATGCGTCGTTGTTTATACAGTAATAGGAACAAGAAAAAA GTCACCTAAGCTCACCCTCATCAATTGTGGAGTTCCTTTATATCC CATCTTCTCTCCAAACACATACGCA (配列番号 39)
U7 snRNA	ggagtCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAG CAGCAGAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc (配列番号 65)
U7 下流 （ターミネーター）	CCTCTTATGATGTTTGTTGCCAATGATAGATTGTTTTCACTGTGC AAAAATTATGGGTAGTTTTGGTGGTCTTGATGCAGTTGTAAGCT TGGAG (配列番号 49)
500bpバッファー2	TTGACCACATACGTGCTCTTTCAAAGTTCTGTGTTTGAAGTTATG TTAGTAACAACTGATGCCCATCCTGCAATGACAAATCCAATTCT CAGTGCAGCTCTCTGAAATAGTTTTGCTTTCTCTCTCTAGGTCTG TTCTATACTCCTAACTCTCCAGGAGTTTACAAGGAATAAAATCT CTTCCAAATGCTTTCTGTTGCAACAACTGGACCATACTGAAAGC TGAGGCCCACAATTGCAATCTAGGTTAGCAGGTAATCATTGTTG GTGAGGTCCTCCCTTTCCCCAGGCTCGTGTTTGTATTGGGGAGC AGGAAATTTTTGCTAGAGCAGCACTGCCATCTCTCTACACTCCA CCTGATTGGTGGGATGGACCAGAGAAATGGACATTCCCAACAC AGTCCCTCCTTTCACATCTGCTCACCTGCCCACAGGATACTTTCC ACCATGCATACTGGGCTCTGCACCAACCATTCAGCAGTGATGAA GAGGAAACTTGAAC (配列番号 30)
U7 プロモーター	TACTGCCGAATCCAGGTCTCCGGGCTTAACAACAACGAAGGGG CTGTGACTGGCTGCTTTCTCAACCAATCAGCACCGAACTCATTT GCATGGGCTGAGAACAAATGTTCGCGAACTCTAGAAATGAATG ACTTAAGTAAGTTCCTTAGAATATTATTTTTCCTACTGAAAGTTA CCACATGCGTCGTTGTTTATACAGTAATAGGAACAAGAAAAAA GTCACCTAAGCTCACCCTCATCAATTGTGGAGTTCCTTTATATCC CATCTTCTCTCCAAACACATACGCA (配列番号 39)
U7 snRNA	ggagtCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAG CAGCAGAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc (配列番号 65)
U7 下流 （ターミネーター）	CCTCTTATGATGTTTGTTGCCAATGATAGATTGTTTTCACTGTGC AAAAATTATGGGTAGTTTTGGTGGTCTTGATGCAGTTGTAAGCT TGGAG (配列番号 49)

【表３２－３】

CMV プロモーター	Cgttacataacttacggtaaatggcccgcctggctgaccgcccaacgacccccgcccattgacgtcaata atgacgtatgttcccatagtaacgccaatagggactttccattgacgtcaatgggtggagtatttacggtaaa ctgcccacttggcagtacatcaagtgtatcatatgccaagtacgccccctattgacgtcaatgacggtaaat ggcccgcctggcattatgcccagtacatgaccttatgggactttcctacttggcagtacatctacgtattagtc atcgctattaccatggtgatgcggttttggcagtacatcaatgggcgtggatagcggtttgactcacgggga tttccaagtctccaccccattgacgtcaatgggagtttgttttggcaccaaaatcaacgggactttccaaaatg tcgtaacaactccgccccattgacgcaaatgggcggtaggcgtgtacggtgggaggtctatataagcaga gct (配列番号 62)
eGFP	ATGgtgagcaagggcgaggagctgttcaccggggtggtgcccatcctggtcgagctggacggcgac gtaaacggccacaagttcagcgtgtccggcgagggcgagggcgatgccacctacggcaagctgaccct gaagttcatctgcaccaccggcaagctgcccgtgccctggcccaccctcgtgaccaccctgacctacggc gtgcagtgcttcagccgctaccccgaccacatgaagcagcacgacttcttcaagtccgccatgcccgaag gctacgtccaggagcgcaccatcttcttcaaggacgacggcaactacaagacccgcgccgaggtgaagt tcgagggcgacaccctggtgaaccgcatcgagctgaagggcatcgacttcaaggaggacggcaacatc ctggggcacaagctggagtacaactacaacagccacaacgtctatatcatggccgacaagcagaagaac ggcatcaaggtgaacttcaagatccgccacaacatcgaggacggcagcgtgcagctcgccgaccactac cagcagaacaccccatcggcgacggccccgtgctgctgcccgacaaccactacctgagcacccagtc cgccctgagcaaagaccccaacgagaagcgcgatcacatggtcctgctggagttcgtgaccgccgccg ggatcactctcggcatggacgagctgtacaagTAA (配列番号 63)
SV40 ポリA	Aacttgtttattgcagcttataatggttacaaataaagcaatagcatcacaaatttcacaaataaagcatttttttt cactgcattctagttgtggtttgtccaaactcatcaatgtatctta (配列番号 64)
ITR	Aggaacccctagtgatggagttggccactccctctctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgggcgac caaaggtcgcccgacgcccgggctttgcccgggcggcctcagtgagcgagcgagcgcgcagctgcct gcagg (配列番号 60)

【０１５５】

本開示の例示的なＡＡＶベクターは、５’から３’へと：第１の末端逆位反復配列（ＩＴＲ）配列、Ｕ７プロモーター配列、非標的化Ｕ７　ｅｓｎＲＮＡ配列、Ｕ７下流ターミネーター配列、バッファー配列、Ｕ７プロモーター配列、非標的化Ｕ７　ｅｓｎＲＮＡ配列、Ｕ７下流ターミネーター配列、バッファー配列、Ｕ７プロモーター配列、非標的化Ｕ７ｅｓｎＲＮＡ配列、Ｕ７下流ターミネーター配列、ＣＭＶプロモーター配列、緑色蛍光タンパク質（ＧＦＰ）をコードする配列、ｓｖ４０ポリＡ配列、および第２のＩＴＲ配列を含む。一部の態様では、非標的化リピート標的化ｓｎＲＮＡ配列をコードするＡＡＶベクターＡ０２８９７をコードする核酸配列は、配列番号１３３を含む。

Ａ０２８９７　ｐＡＡＶ＿３ｘＵ７（ＮＴ１）＿ＣＭＶ＿ＧＦＰ（５００ｂｐバッファー）

【表３３－１】

ITR	Cctgcaggcagctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgcccgggcgtcgggcgacctttggtcgcc cggcctcagtgagcgagcgagcgcgcagagagggagtggccaactccatcactaggggttcct (配列番号 59)
U7 プロモーター	TACTGCCGAATCCAGGTCTCCGGGCTTAACAACAACGAAGGGG CTGTGACTGGCTGCTTTCTCAACCAATCAGCACCGAACTCATTT GCATGGGCTGAGAACAAATGTTCGCGAACTCTAGAAATGAATG

【表３３－２】

	ACTTAAGTAAGTTCCTTAGAATATTATTTTTCCTACTGAAAGTT ACCACATGCGTCGTTGTTTATACAGTAATAGGAACAAGAAAAA AGTCACCTAAGCTCACCCTCATCAATTGTGGAGTTCCTTTATAT CCCATCTTCTCTCCAAACACATACGCA (配列番号 39)
U7 snRNA	ggagtTCACCAGAAGCGTACCATACTCACGAAATTTTTGGAGTAgg ctttctggctccttaccggaaagcc (配列番号 66)
U7 下流 (ターミネーター)	CCTCTTATGATGTTTGTTGCCAATGATAGATTGTTTTCACTGTGC AAAAATTATGGGTAGTTTTGGTGGTCTTGATGCAGTTGTAAGCT TGGAG (配列番号 49)
500bp バッファー 1	CAAACTACAGAGCCAAGTGCTATCCACAGAGAGCTTTCTGGGT TGCCATCTCAAGCAGACTACAAGGCCATCAGCTCATACTCACA ATTGACTTTGAGAGTCATTTTCCAATGCTCCTACACACCCCTTC TTCACAATCCCCAACAAATCTGAGGCTGGAACTTGGTACCATA ACAATCATTACATTATTTCACCAGAAGTACACCTTGCCTGGAAG ATTGGCATTATAGCATCTTCTAACATTGTGAAAGTTAGTGACCA ATGAGGAGATCCAAGTCAGTTCCAGTTGGATTTCTCTATACTCT ATAATAAATATATATGGTGTCTTCAACAATAGGACTTTGCCATC CAGTGATGCTAAAAATCAATAACAATGGCAATAACCTGCCCTG TTTGGAAAGCCTCTGGCTTCCATGACTAACAATTCAAGGCAGG TCTCCTATACCTAGTACTGAGATTTTTATTTGATAAACTATATCT TCTGGGAGGAGAAGCATTGT (配列番号 29)
U7 プロモーター	TACTGCCGAATCCAGGTCTCCGGGCTTAACAACAACGAAGGGG CTGTGACTGGCTGCTTTCTCAACCAATCAGCACCGAACTCATTT GCATGGGCTGAGAACAAATGTTCGCGAACTCTAGAAATGAATG ACTTAAGTAAGTTCCTTAGAATATTATTTTTCCTACTGAAAGTT ACCACATGCGTCGTTGTTTATACAGTAATAGGAACAAGAAAAA AGTCACCTAAGCTCACCCTCATCAATTGTGGAGTTCCTTTATAT CCCATCTTCTCTCCAAACACATACGCA (配列番号 39)
U7 snRNA	ggagtTCACCAGAAGCGTACCATACTCACGAAATTTTTGGAGTAgg ctttctggctccttaccggaaagcc (配列番号 66)
U7 下流 (ターミネーター)	CCTCTTATGATGTTTGTTGCCAATGATAGATTGTTTTCACTGTGC AAAAATTATGGGTAGTTTTGGTGGTCTTGATGCAGTTGTAAGCT TGGAG (配列番号 49)
500bp バッファー 2	TTGACCACATACGTGCTCTTTCAAAGTTCTGTGTTTGAAGTTAT GTTAGTAACAACTGATGCCCATCCTGCAATGACAAATCCAATT CTCAGTGCAGCTCTCTGAAATAGTTTTGCTTTCTCTCTCTAGGTC TGTTCTATACTCCTAACTCTCCAGGAGTTTACAAGGAATAAAAT CTCTTCCAAATGCTTTCTGTTGCAACAACTGGACCATACTGAAA GCTGAGGCCCACAATTGCAATCTAGGTTAGCAGGTAATCATTG TTGGTGAGGTCCTCCCTTTCCCCAGGCTCGTGTTTGTATTGGGG AGCAGGAAATTTTTGCTAGAGCAGCACTGCCATCTCTCTACACT CCACCTGATTGGTGGGATGGACCAGAGAAATGGACATTCCCAA CACAGTCCCTCCTTTCACATCTGCTCACCTGCCCACAGGATACT TTCCACCATGCATACTGGGCTCTGCACCAACCATTCAGCAGTGA TGAAGAGGAAACTTGAAC (配列番号 30)
U7 プロモーター	TACTGCCGAATCCAGGTCTCCGGGCTTAACAACAACGAAGGGG CTGTGACTGGCTGCTTTCTCAACCAATCAGCACCGAACTCATTT GCATGGGCTGAGAACAAATGTTCGCGAACTCTAGAAATGAATG ACTTAAGTAAGTTCCTTAGAATATTATTTTTCCTACTGAAAGTT

【表３３－３】

	ACCACATGCGTCGTTGTTTATACAGTAATAGGAACAAGAAAAA AGTCACCTAAGCTCACCCTCATCAATTGTGGAGTTCCTTTATAT CCCATCTTCTCTCCAAACACATACGCA (配列番号 39)
U7 snRNA	ggagtTCACCAGAAGCGTACCATACTCACGAAATTTTTGGAGTAgg ctttctggctccttaccggaaagcc (配列番号66)
U7 下流 (ターミネーター)	CCTCTTATGATGTTTGTTGCCAATGATAGATTGTTTTCACTGTGC AAAAATTATGGGTAGTTTTGGTGGTCTTGATGCAGTTGTAAGCT TGGAG (配列番号 49)
CMV プロモーター	Cgttacataacttacggtaaatggcccgcctggctgaccgcccaacgacccccgcccattgacgtcaat aatgacgtatgttcccatagtaacgccaatagggactttccattgacgtcaatgggtggagtatttacggta aactgcccacttggcagtacatcaagtgtatcatatgccaagtacgccccctattgacgtcaatgacggta aatggcccgcctggcattatgcccagtacatgaccttatgggactttcctacttggcagtacatctacgtatt agtcatcgctattaccatggtgatgcggttttggcagtacatcaatgggcgtggatagcggtttgactcacg gggatttccaagtctccaccccattgacgtcaatgggagtttgttttggcaccaaaatcaacgggactttcc aaaatgtcgtaacaactccgccccattgacgcaaatgggcggtaggcgtgtacggtgggaggtctatata agcagagct (配列番号 62)
eGFP	ATGgtgagcaagggcgaggagctgttcaccggggtggtgcccatcctggtcgagctggacggcga cgtaaacggccacaagttcagcgtgtccggcgagggcgagggcgatgccacctacggcaagctgacc ctgaagttcatctgcaccaccggcaagctgcccgtgccctggcccaccctcgtgaccaccctgacctac ggcgtgcagtgcttcagccgctaccccgaccacatgaagcagcacgacttcttcaagtccgccatgccc gaaggctacgtccaggagcgcaccatcttcttcaaggacgacggcaactacaagacccgcgccgaggt gaagttcgagggcgacaccctggtgaaccgcatcgagctgaagggcatcgacttcaaggaggacggc aacatcctggggcacaagctggagtacaactacaacagccacaacgtctatatcatggccgacaagcag aagaacggcatcaaggtgaacttcaagatccgccacaacatcgaggacggcagcgtgcagctcgccg accactaccagcagaacaccccatcggcgacggccccgtgctgctgcccgacaaccactacctgagc acccagtccgccctgagcaaagaccccaacgagaagcgcgatcacatggtcctgctggagttcgtgac cgccgccgggatcactctcggcatggacgagctgtacaagTAA (配列番号 63)
SV40 ポリA	Aacttgtttattgcagcttataatggttacaaataaagcaatagcatcacaaatttcacaaataaagcatttttt tcactgcattctagttgtggtttgtccaaactcatcaatgtatctta (配列番号 64)
ITR	Aggaacccctagtgatggagttggccactccctctctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgggcga ccaaaggtcgcccgacgcccgggctttgcccgggcggcctcagtgagcgagcgagcgcgcagctgc ctgcagg (配列番号 60)

【０１５６】

本開示の例示的なＡＡＶベクターは、５’から３’へと：第１の末端逆位反復配列（ＩＴＲ）配列、Ｕ７プロモーター配列、ＣＡＧリピート標的化Ｕ７　ｅｓｎＲＮＡ配列、Ｕ７下流ターミネーター配列、バッファー配列、Ｕ７プロモーター配列、ＣＡＧリピート標的化Ｕ７　ｅｓｎＲＮＡ配列、Ｕ７下流ターミネーター配列、バッファー配列、Ｕ７プロモーター配列、ＣＡＧリピート標的化Ｕ７　ｅｓｎＲＮＡ配列、Ｕ７下流ターミネーター配列、ＣＭＶプロモーター配列、緑色蛍光タンパク質（ＧＦＰ）をコードする配列、ｓｖ４０ポリＡ配列、および第２のＩＴＲ配列を含む。一部の態様では、ＣＡＧリピート標的化リピート標的化ｓｎＲＮＡ配列をコードするＡＡＶベクターＡ０２９６９をコードする核酸配列は、配列番号１３４を含む。

Ａ０２９６９　ｐＡＡＶ＿３ｘＵ７（１５ｘＣＡＧ）＿ＣＭＶ＿ＧＦＰ（５００ｂｐバッファー）ＣＡＧリピートを標的化

【表３４－１】

ITR	Cctgcaggcagctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgcccgggcgtcgggcgacctttggtcgccc ggcctcagtgagcgagcgagcgcgcagagagggagtggccaactccatcactaggggttcct (配列番号 59)
U7 プロモーター	TACTGCCGAATCCAGGTCTCCGGGCTTAACAACAACGAAGGGG CTGTGACTGGCTGCTTTCTCAACCAATCAGCACCGAACTCATTT GCATGGGCTGAGAACAAATGTTCGCGAACTCTAGAAATGAATG ACTTAAGTAAGTTCCTTAGAATATTATTTTTCCTACTGAAAGTTA CCACATGCGTCGTTGTTTATACAGTAATAGGAACAAGAAAAAA GTCACCTAAGCTCACCCTCATCAATTGTGGAGTTCCTTTATATCC CATCTTCTCTCCAAACACATACGCA (配列番号39)
U7 snRNA	ggagtCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTG CTGAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc (配列番号 67)
U7 下流 (ターミネーター)	CCTCTTATGATGTTTGTTGCCAATGATAGATTGTTTTCACTGTGC AAAAATTATGGGTAGTTTTGGTGGTCTTGATGCAGTTGTAAGCT TGGAG (配列番号 49)
500bp buffer 1	CAAACTACAGAGCCAAGTGCTATCCACAGAGAGCTTTCTGGGTT GCCATCTCAAGCAGACTACAAGGCCATCAGCTCATACTCACAAT TGACTTTGAGAGTCATTTTCCAATGCTCCTACACACCCCTTCTTC ACAATCCCCAACAAATCTGAGGCTGGAACTTGGTACCATAACAA TCATTACATTATTTCACCAGAAGTACACCTTGCCTGGAAGATTG GCATTATAGCATCTTCTAACATTGTGAAAGTTAGTGACCAATGA GGAGATCCAAGTCAGTTCCAGTTGGATTTCTCTATACTCTATAAT AAATATATATGGTGTCTTCAACAATAGGACTTTGCCATCCAGTG ATGCTAAAAATCAATAACAATGGCAATAACCTGCCCTGTTTGGA AAGCCTCTGGCTTCCATGACTAACAATTCAAGGCAGGTCTCCTA TACCTAGTACTGAGATTTTTATTTGATAAACTATATCTTCTGGGA GGAGAAGCATTGT (配列番号 29)
U7 プロモーター	TACTGCCGAATCCAGGTCTCCGGGCTTAACAACAACGAAGGGG CTGTGACTGGCTGCTTTCTCAACCAATCAGCACCGAACTCATTT GCATGGGCTGAGAACAAATGTTCGCGAACTCTAGAAATGAATG ACTTAAGTAAGTTCCTTAGAATATTATTTTTCCTACTGAAAGTTA CCACATGCGTCGTTGTTTATACAGTAATAGGAACAAGAAAAAA GTCACCTAAGCTCACCCTCATCAATTGTGGAGTTCCTTTATATCC CATCTTCTCTCCAAACACATACGCA (配列番号 39)
U7 snRNA	ggagtCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTG CTGAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc (配列番号 67)
U7 下流 (ターミネーター)	CCTCTTATGATGTTTGTTGCCAATGATAGATTGTTTTCACTGTGC AAAAATTATGGGTAGTTTTGGTGGTCTTGATGCAGTTGTAAGCT TGGAG (配列番号 49)
500bp buffer 2	TTGACCACATACGTGCTCTTTCAAAGTTCTGTGTTTGAAGTTATG TTAGTAACAACTGATGCCCATCCTGCAATGACAAATCCAATTCT CAGTGCAGCTCTCTGAAATAGTTTTGCTTTCTCTCTCTAGGTCTG TTCTATACTCCTAACTCTCCAGGAGTTTACAAGGAATAAAATCT CTTCCAAATGCTTTCTGTTGCAACAACTGGACCATACTGAAAGC TGAGGCCCACAATTGCAATCTAGGTTAGCAGGTAATCATTGTTG GTGAGGTCCTCCCTTTCCCCAGGCTCGTGTTTGTATTGGGGAGC AGGAAATTTTTGCTAGAGCAGCACTGCCATCTCTCTACACTCCA

【表３４－２】

	CCTGATTGGTGGGATGGACCAGAGAAATGGACATTCCCAACAC AGTCCCTCCTTTCACATCTGCTCACCTGCCCACAGGATACTTTCC ACCATGCATACTGGGCTCTGCACCAACCATTCAGCAGTGATGAA GAGGAAACTTGAAC (配列番号30)
U7 プロモーター	TACTGCCGAATCCAGGTCTCCGGGCTTAACAACAACGAAGGGG CTGTGACTGGCTGCTTTCTCAACCAATCAGCACCGAACTCATTT GCATGGGCTGAGAACAAATGTTCGCGAACTCTAGAAATGAATG ACTTAAGTAAGTTCCTTAGAATATTATTTTTCCTACTGAAAGTTA CCACATGCGTCGTTGTTTATACAGTAATAGGAACAAGAAAAAA GTCACCTAAGCTCACCCTCATCAATTGTGGAGTTCCTTTATATCC CATCTTCTCTCCAAACACATACGCA (配列番号39)
U7 snRNA	ggagtCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTG CTGAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc (配列番号67)
U7 下流 （ターミネーター）	CCTCTTATGATGTTTGTTGCCAATGATAGATTGTTTTCACTGTGC AAAAATTATGGGTAGTTTTGGTGGTCTTGATGCAGTTGTAAGCT TGGAG (配列番号49)
CMV プロモーター	Cgttacataacttacggtaaatggcccgcctggctgaccgcccaacgacccccgcccattgacgtcaata atgacgtatgttcccatagtaacgccaatagggactttccattgacgtcaatgggtggagtatttacggtaaa ctgcccacttggcagtacatcaagtgtatcatatgccaagtacgccccctattgacgtcaatgacggtaaat ggcccgcctggcattatgcccagtacatgaccttatgggactttcctacttggcagtacatctacgtattagtc atcgctattaccatggtgatgcggttttggcagtacatcaatgggcgtggatagcggtttgactcacgggga tttccaagtctccaccccattgacgtcaatgggagtttgttttggcaccaaaatcaacgggactttccaaaatg tcgtaacaactccgccccattgacgcaaatgggcggtaggcgtgtacggtgggaggtctatataagcaga gct (配列番号62)
eGFP	ATGgtgagcaagggcgaggagctgttcaccggggtggtgcccatcctggtcgagctggacggcgac gtaaacggccacaagttcagcgtgtccggcgagggcgagggcgatgccacctacggcaagctgaccct gaagttcatctgcaccaccggcaagctgcccgtgccctggcccaccctcgtgaccaccctgacctacggc gtgcagtgcttcagccgctaccccgaccacatgaagcagcacgacttcttcaagtccgccatgcccgaag gctacgtccaggagcgcaccatcttcttcaaggacgacggcaactacaagacccgcgccgaggtgaagt tcgagggcgacaccctggtgaaccgcatcgagctgaagggcatcgacttcaaggaggacggcaacatc ctggggcacaagctggagtacaactacaacagccacaacgtctatatcatggccgacaagcagaagaac ggcatcaaggtgaacttcaagatccgccacaacatcgaggacggcagcgtgcagctcgccgaccactac cagcagaacaccccatcggcgacggccccgtgctgctgcccgacaaccactacctgagcacccagtc cgccctgagcaaagaccccaacgagaagcgcgatcacatggtcctgctggagttcgtgaccgccgccg ggatcactctcggcatggacgagctgtacaagTAA (配列番号63)
SV40 ポリA	Aacttgtttattgcagcttataatggttacaaataaagcaatagcatcacaaatttcacaaataaagcatttttttt cactgcattctagttgtggtttgtccaaactcatcaatgtatctta (配列番号64)
ITR	Aggaacccctagtgatggagttggccactccctctctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgggcgac caaaggtcgcccgacgcccgggctttgcccgggcggcctcagtgagcgagcgagcgcgcagctgcct gcagg (配列番号60)

【０１５７】

本開示の例示的なＡＡＶベクターは、５’から３’へと：第１の末端逆位反復配列（ＩＴＲ）配列、Ｕ７プロモーター配列、ＤＭＤエクソン５１標的化Ｕ７　ｅｓｎＲＮＡ配列、Ｕ７下流ターミネーター配列、Ｕ１プロモーター配列、ＤＭＤエクソン５１標的化Ｕ７ｅｓｎＲＮＡ配列、Ｕ１下流ターミネーター配列、および第２のＩＴＲ配列を含む。一部の態様では、ＤＭＤエクソン５１標的化ｓｎＲＮＡ配列をコードするＡＡＶベクターＡ０３９８０をコードする核酸配列は、配列番号１３５を含む。

Ａ０３９８０：ｐＡＡＶ（ｓｓＡＡＶ）Ｕ７プロモーター－ｅｓｎＲＮＡ－ｚ３８／４２－Ｕ７ターミネーション－Ｕ１プロモーター－ｅｓｎＲＮＡｚ３８／ｚ４２－Ｕ１ターミ

ネーション

【表３５】

ITR	cctgcaggcagctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgcccgggcgtcgggcgacctttggtcgcccggcc tcagtgagcgagcgagcgcgcagagagggagtggccaactccatcactaggggttcct（配列番号 59）
U7プロモーター	TACTGCCGAATCCAGGTCTCCGGGCTTAACAACAACGAAGGGGCTG TGACTGGCTGCTTTCTCAACCAATCAGCACCGAACTCATTTGCATGG GCTGAGAACAAATGTTCGCGAACTCTAGAAATGAATGACTTAAGTA AGTTCCTTAGAATATTATTTTTCCTACTGAAAGTTACCACATGCGTC GTTGTTTATACAGTAATAGGAACAAGAAAAAAGTCACCTAAGCTCA CCCTCATCAATTGTGGAGTTCCTTTATATCCCATCTTCTCTCCAAAC ACATACGCA（配列番号 39）
z38/42 esnRNA (DMDエキソン51)	ggagtTACCTCCAACATCAAGGAAGATGGCAGTAACCACAGGTTGTGT CACCAGAGTAACAAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc（配列番号 68）
U7 ターミネーション	CCTCTTATGATGTTTGTTGCCAATGATAGATTGTTTTCACTGTGCAA AAATTATGGGTAGTTTTGGTGGTCTTGATGCAGTTGTAAGCTTGGAG（配列番号 49）
U1プロモーター	TAAGGACCAGCTTCTTTGGGAGAGAACAGACGCAGGGGCGGGAGG GAAAAAGGGAGAGGCAGACGTCACTTCCCCTTGGCGGCTCTGGCAG CAGATTGGTCGGTTGAGTGGCAGAAAGGCAGACGGGGACTGGGCA AGGCACTGTCGGTGACATCACGGACAGGGCGACTTCTATGTAGATG AGGCAGCGCAGAGGCTGACGTCTTCGCCACTTGCTGCTTCACCACG AAGGAGTTCCCGTGCCCTGGGAGCGGGTTCAGGACCGCTGATCGGA AGTGAGAATCCCAGCTGTGTGTCAGGGCTGGAAAGGGCTCGGGAGT GCGCGGGGCAAGTGACCGTGTGTGTAAAGAGTGAGGCGTATGAGG CTGTGTCGGGGCAGAGGCacaacgtttc（配列番号 40）
z38/42 esnRNA (DMDエキソン51)	ggagtTACCTCCAACATCAAGGAAGATGGCAGTAACCACAGGTTGTGT CACCAGAGTAACAAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc（配列番号 68）
U1 ターミネーション	ACTTTCTGGAGTTTCAAAAACAGACTGTACGCCAAGGGTCATATCTT TTT（配列番号 50）
ITR	aggaacccctagtgatggagttggccactccctctctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgggcgaccaaa ggtcgcccgacgcccgggctttgcccgggcggcctcagtgagcgagcgagcgcgcagctgcctgcagg（配列番号 60）

【０１５８】

本開示の例示的なＡＡＶベクターは、５’から３’へと：第１の末端逆位反復配列（ＩＴＲ）配列、Ｕ７プロモーター配列、ＤＭＤエクソン５１標的化Ｕ７　ｅｓｎＲＮＡ配列、Ｕ７下流ターミネーター配列、Ｕ１プロモーター配列、ＤＭＤエクソン５１標的化Ｕ７ｅｓｎＲＮＡ配列、Ｕ１下流ターミネーター配列、および第２のＩＴＲ配列を含む。一部の態様では、ＤＭＤエクソン５１標的化ｓｎＲＮＡ配列をコードするＡＡＶベクターＡ０３９８１をコードする核酸配列は、配列番号１３６を含む。

Ａ０３９８１：ｐＡＡＶ（ｓｓＡＡＶ）＿Ｕ７プロモーター－ｅｓｎＲＮＡ－ｚ４２－Ｕ７ターミネーション－Ｕ１プロモーター－ｅｓｎＲＮＡ－ｚ３８－Ｕ１ターミネーション

【表３６】

ITR	cctgcaggcagctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgcccgggcgtcgggcgacctttggtcgcccggcctcagtgagcgagcgagcgcgcagagagggagtggccaactccatcactaggggttcct（配列番号59）
U7プロモーター	TACTGCCGAATCCAGGTCTCCGGGCTTAACAACAACGAAGGGGCTGTGACTGGCTGCTTTCTCAACCAATCAGCACCGAACTCATTTGCATGGGCTGAGAACAAATGTTCGCGAACTCTAGAAATGAATGACTTAAGTAAGTTCCTTAGAATATTATTTTTCCTACTGAAAGTTACCACATGCGTCGTTGTTTATACAGTAATAGGAACAAGAAAAAAGTCACCTAAGCTCACCCTCATCAATTGTGGAGTTCCTTTATATCCCATCTTCTCTCCAAACACATACGCA（配列番号39）
z42 esnRNA (DMDエキソン51)	ggagtGTAACCACAGGTTGTGTCACCAGAGTAACAAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc（配列番号69）
U7ターミネーション	CCTCTTATGATGTTTGTTGCCAATGATAGATTGTTTTCACTGTGCAAAAATTATGGGTAGTTTTGGTGGTCTTGATGCAGTTGTAAGCTTGGAG（配列番号49）
U1プロモーター	TAAGGACCAGCTTCTTTGGGAGAGAACAGACGCAGGGGCGGGAGGGAAAAAGGGAGAGGCAGACGTCACTTCCCCTTGGCGGCTCTGGCAGCAGATTGGTCGGTTGAGTGGCAGAAAGGCAGACGGGGACTGGGCAAGGCACTGTCGGTGACATCACGGACAGGGCGACTTCTATGTAGATGAGGCAGCGCAGAGGCTGACGTCTTCGCCACTTGCTGCTTCACCACGAAGGAGTTCCCGTGCCCTGGGAGCGGGTTCAGGACCGCTGATCGGAAGTGAGAATCCCAGCTGTGTGTCAGGGCTGGAAAGGGCTCGGGAGTGCGCGGGGCAAGTGACCGTGTGTGTAAAGAGTGAGGCGTATGAGGCTGTGTCGGGGCAGAGGCacaacgtttc（配列番号40）
z38 esnRNA (DMDエキソン51)	ggagtTACCTCCAACATCAAGGAAGATGGCAAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc（配列番号70）
U1ターミネーション	ACTTTCTGGAGTTTCAAAAACAGACTGTACGCCAAGGGTCATATCTTTTT（配列番号50）
ITR	aggaacccctagtgatggagttggccactccctctctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgggcgaccaaaggtcgcccgacgcccgggctttgcccgggcggcctcagtgagcgagcgagcgcgcagctgcctgcagg（配列番号60）

【０１５９】

本開示の例示的なＡＡＶベクターは、５’から３’へと：第１の末端逆位反復配列（ＩＴＲ）配列、Ｕ７プロモーター配列、ＤＭＤエクソン５１標的化Ｕ７　ｅｓｎＲＮＡ配列、Ｕ７下流ターミネーター配列、Ｕ１プロモーター配列、ＤＭＤエクソン５１標的化Ｕ７ｅｓｎＲＮＡ配列、Ｕ１下流ターミネーター配列、および第２のＩＴＲ配列を含む。一部の態様では、ＤＭＤエクソン５１標的化ｓｎＲＮＡ配列をコードするＡＡＶベクターＡ０４２２９をコードする核酸配列は、配列番号１３７を含む。

【０１６０】

Ａ０４２２９：ｐＡＡＶ（ｓｃＡＡＶ）Ｕ７プロモーター－ｅｓｎＲＮＡ－ｚ３８／４２－Ｕ７ターミネーション－Ｕ１プロモーター－ｅｓｎＲＮＡｚ３８／ｚ４２－Ｕ１ターミネーション－ｍｕｔＩＴＲ

【表３７】

ITR	cctgcaggcagctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgcccgggcgtcgggcgacctttggtcgcccggc ctcagtgagcgagcgagcgcgcagagagggagtggccaactccatcactaggggttcct（配列番号 59）
U7 プロモーター	TACTGCCGAATCCAGGTCTCCGGGCTTAACAACAACGAAGGGGCT GTGACTGGCTGCTTTCTCAACCAATCAGCACCGAACTCATTTGCAT GGGCTGAGAACAAATGTTCGCGAACTCTAGAAATGAATGACTTAA GTAAGTTCCTTAGAATATTATTTTTCCTACTGAAAGTTACCACATGC GTCGTTGTTTATACAGTAATAGGAACAAGAAAAAAGTCACCTAAG CTCACCCTCATCAATTGTGGAGTTCCTTTATATCCCATCTTCTCTCC AAACACATACGCA（配列番号 39）
z38/42 esnRNA（DMD エキソン51）	ggagtTACCTCCAACATCAAGGAAGATGGCAGTAACCACAGGTTGTG TCACCAGAGTAACAAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc（配列番号 68）
U7 ターミネーション	CCTCTTATGATGTTTGTTGCCAATGATAGATTGTTTTCACTGTGCAA AAATTATGGGTAGTTTTGGTGGTCTTGATGCAGTTGTAAGCTTGGA G（配列番号 49）
U1 プロモーター	TAAGGACCAGCTTCTTTGGGAGAGAACAGACGCAGGGGCGGGAGG GAAAAAGGGAGAGGCAGACGTCACTTCCCCTTGGCGGCTCTGGCA GCAGATTGGTCGGTTGAGTGGCAGAAAGGCAGACGGGGACTGGGC AAGGCACTGTCGGTGACATCACGGACAGGGCGACTTCTATGTAGA TGAGGCAGCGCAGAGGCTGACGTCTTCGCCACTTGCTGCTTCACCA CGAAGGAGTTCCCGTGCCCTGGGAGCGGGTTCAGGACCGCTGATC GGAAGTGAGAATCCCAGCTGTGTGTCAGGGCTGGAAAGGGCTCGG GAGTGCGCGGGGCAAGTGACCGTGTGTGTAAAGAGTGAGGCGTAT GAGGCTGTGTCGGGGCAGAGGCacaacgtttc（配列番号 40）
z38/42 esnRNA（DMD エキソン51）	ggagtTACCTCCAACATCAAGGAAGATGGCAGTAACCACAGGTTGTG TCACCAGAGTAACAAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc（配列番号 68）
U1 ターミネーション	ACTTTCTGGAGTTTCAAAAACAGACTGTACGCCAAGGGTCATATCT TTTT（配列番号50）
mITR	CCACTCCCTCTCTGCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGGCCGGGCGACC AAAGGTCGCCCGACGCCCGGGCTTTGCCCGGGCGGCCTCAGTGAG CGAGCGAGCGCGCAGAGAGGGA（配列番号 61）

【０１６１】

本開示の例示的なＡＡＶベクターは、５’から３’へと：第１の末端逆位反復配列（ＩＴＲ）配列、Ｕ７プロモーター配列、ＤＭＤエクソン５１標的化Ｕ７　ｅｓｎＲＮＡ配列、Ｕ７下流ターミネーター配列、バッファー配列、Ｕ１プロモーター配列、ＤＭＤエクソン５１標的化Ｕ７　ｅｓｎＲＮＡ配列、Ｕ１下流ターミネーター配列、バッファー配列、および第２のＩＴＲ配列を含む。一部の態様では、ＤＭＤエクソン５１標的化ｓｎＲＮＡ配列をコードするＡＡＶベクターＡ０４１８４をコードする核酸配列は、配列番号１３８を含む。

Ａ０４１８４：ｐＡＡＶ（ｓｓＡＡＶ）－Ｕ７プロモーター－ｚ３８／４２－Ｕ７ｔｅｒｍ＿Ｕ１プロモーター－ｚ３８／４２－Ｕ１ｔｅｒｍ＿バッファー組合せ配列

【表３８－１】

ITR	cctgcaggcagctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgcccgggcgtcgggcgacctttggtcgccc ggcctcagtgagcgagcgagcgcgcagagagggagtggccaactccatcactaggggttcct（配列番号59）
U7プロモーター	TACTGCCGAATCCAGGTCTCCGGGCTTAACAACAACGAAGGGG CTGTGACTGGCTGCTTTCTCAACCAATCAGCACCGAACTCATTT GCATGGGCTGAGAACAAATGTTCGCGAACTCTAGAAATGAATG ACTTAAGTAAGTTCCTTAGAATATTATTTTTCCTACTGAAAGTT ACCACATGCGTCGTTGTTTATACAGTAATAGGAACAAGAAAAA AGTCACCTAAGCTCACCCTCATCAATTGTGGAGTTCCTTTATAT CCCATCTTCTCTCCAAACACATACGCA（配列番号39）
z38/42 esnRNA (DMDエキソン51)	ggagtTACCTCCAACATCAAGGAAGATGGCAGTAACCACAGGTTG TGTCACCAGAGTAACAAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaa gcc（配列番号68）
U7 ターミネーション	CCTCTTATGATGTTTGTTGCCAATGATAGATTGTTTTCACTGTGC AAAAATTATGGGTAGTTTTGGTGGTCTTGATGCAGTTGTAAGCT TGGAG（配列番号49）
U1 プロモーター	TAAGGACCAGCTTCTTTGGGAGAGAACAGACGCAGGGGCGGGA GGGGAAAAAGGGAGAGGCAGACGTCACTTCCCCTTGGCGGCTCT GGCAGCAGATTGGTCGGTTGAGTGGCAGAAAGGCAGACGGGG ACTGGGCAAGGCACTGTCGGTGACATCACGGACAGGGCGACTT CTATGTAGATGAGGCAGCGCAGAGGCTGACGTCTTCGCCACTT GCTGCTTCACCACGAAGGAGTTCCCGTGCCCTGGGAGCGGGTT CAGGACCGCTGATCGGAAGTGAGAATCCCAGCTGTGTGTCAGG GCTGGAAAGGGCTCGGGAGTGCGCGGGGCAAGTGACCGTGTGT GTAAAGAGTGAGGCGTATGAGGCTGTGTCGGGGCAGAGGCacaa cgtttc（配列番号40）
z38/42 esnRNA (DMDエキソン51)	ggagtTACCTCCAACATCAAGGAAGATGGCAGTAACCACAGGTTG TGTCACCAGAGTAACAAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaa gcc（配列番号68）
U1 ターミネーション	ACTTTCTGGAGTTTCAAAAACAGACTGTACGCCAAGGGTCATAT CTTTTT（配列番号50）
バッファー組合せ配列	CAAACTACAGAGCCAAGTGCTATCCACAGAGAGCTTTCTGGGT TGCCATCTCAAGCAGACTACAAGGCCATCAGCTCATACTCACA ATTGACTTTGAGAGTCATTTTCCAATGCTCCTACACACCCCTTCT TCACAATCCCCAACAAATCTGAGGCTGGAACTTGGTACCATAA CAATCATTACATTATTTCACCAGAAGTACACCTTGCCTGGAAGA TTGGCATTATAGCATCTTCTAACATTGTGAAAGTTAGTGACCAA TGAGGAGATCCAAGTCAGTTCCAGTTGGATTTCTCTATACTCTA TAATAAATATATATGGTGTCTTCAACAATAGGACTTTGCCATCC AGTGATGCTAAAAATCAATAACAATGGCAATAACCTGCCCTGT TTGGAAAGCCTCTGGCTTCCATGACTAACAATTCAAGGCAGGTC TCCTATACCTAGTACTGAGATTTTTATTTGATAAACTATATCTTC TGGGAGGAGAAGCATTGTTTGACCACATACGTGCTCTTTCAAA GTTCTGTGTTTGAAGTTATGTTAGTAACAACTGATGCCCATCCT GCAATGACAAATCCAATTCTCAGTGCAGCTCTCTGAAATAGTTT TGCTTTCTCTCTCTAGGTCTGTTCTATACTCCTAACTCTCCAGGA GTTTACAAGGAATAAAATCTCTTCCAAATGCTTTCTGTTGCAAC AACTGGACCATACTGAAAGCTGAGGCCCACAATTGCAATCTAG GTTAGCAGGTAATCATTGTTGGTGAGGTCCTCCCTTTCCCCAGG

【表３８－２】

	CTCGTGTTTGTATTGGGGAGCAGGAAATTTTTGCTAGAGCAGCA CTGCCATCTCTCTACACTCCACCTGATTGGTGGGATGGACCAGA GAAATGGACATTCCCAACACAGTCCCTCCTTTCACATCTGCTCA CCTGCCCACAGGATACTTTCCACCATGCATACTGGGCTCTGCAC CAACCATTCAGCAGTGATGAAGAGGAAACTTGAACCCATGCAG AGTACCTCTAGAGAAAAGTTTCTAAAGTTGGTTTTGCCTTGCTT AGAAAGGAGGTCAAAGGTGAAGCCTAGGAGAAACATTCAGCA ATGTTGCACAAAGACATGAGAATAAATGATTTTAGCATCCTGA AATGAAGAGCATAGTGATCTCACCATAGCTACCCACCTACCCA GAGAACTTCCAGGCTTTCACTGTCTCTTTTCTGAATCACCCACA TTACAGAATATCAGTCATTGTGTAATTAGATAACAGATTGTGAG GTGCCCAAACAGAAACAAACTTTACAGGAGGAGAGAGAAAAT CAAGGTGATGACTATGGAGAACAAAATGAGAAGGAGAGGTGG AGTTCCTGCTGCATGAACACCTATCCTGCTATAGAGCCCATTTC TTCCATAAATAATACAACTCTGTAACTCCATAGGTCAGAAAGA AACAGTGTTCTGTGTCTTCCCATCTAGCACCACAAACCCCCACA AGATTAATTTGTTTCTAGGGACCCTTAAATCTCTATCAAAATTC TGGAAACCTCTACTTTAGAAAATCTTATATTTATTATTCAGGCT ACTTTCCAGAGTGATAAGCTACTGAGTCTCCTAAGTGTCATCTA TGGTACACAGGGATAAGATCAGGAATAAACCTGGG（配列番号144）
ITR	aggaacccctagtgatggagttggccactccctctctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgggcgac caaaggtcgcccgacgcccgggctttgcccgggcggcctcagtgagcgagcgagcgcgcagctgcct gcagg（配列番号60）

【０１６２】

本開示の例示的なＡＡＶベクターは、５’から３’へと：第１の末端逆位反復配列（ＩＴＲ）配列、Ｕ７プロモーター配列、ＣＵＧリピート標的化Ｕ７　ｅｓｎＲＮＡ配列、Ｕ７下流ターミネーター配列、バッファー配列、Ｕ１プロモーター配列、ＣＵＧリピート標的化Ｕ７　ｅｓｎＲＮＡ配列、Ｕ１下流ターミネーター配列、ｅＣＭＶプロモーター配列、ＧＦＰをコードする配列、ポリＡ配列、および第２のＩＴＲ配列を含む。一部の態様では、ＣＵＧリピート標的化ｓｎＲＮＡ配列をコードするＡＡＶベクターＡ０３６８１をコードする核酸配列は、配列番号１３９を含む。

Ａ０３６８１：ｐＡＡＶ（ｓｓＡＡＶ）－Ｕ７プロモーター－ｚＣＵＧｘ１５－Ｕ７　ｔｅｒｍ＿Ｕ１プロモーター－ｚＣＵＧｘ１５－Ｕ１　ｔｅｒｍ－ｅＣＭＶ－ｅＧＦＰ

【表３９－１】

ITR	cctgcaggcagctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgcccgggcgtcgggcgacctttggtcgcccggcct cagtgagcgagcgagcgcgcagagagggagtggccaactccatcactaggggttcct（配列番号59）
U7 プロモーター	TACTGCCGAATCCAGGTCTCCGGGCTTAACAACAACGAAGGGGCTG TGACTGGCTGCTTTCTCAACCAATCAGCACCGAACTCATTTGCATGG GCTGAGAACAAATGTTCGCGAACTCTAGAAATGAATGACTTAAGTA AGTTCCTTAGAATATTATTTTTCCTACTGAAAGTTACCACATGCGTCG TTGTTTATACAGTAATAGGAACAAGAAAAAAGTCACCTAAGCTCAC CCTCATCAATTGTGGAGTTCCTTTATATCCCATCTTCTCTCCAAACAC ATACGCA（配列番号39）

【表３９－２】

zCUGx15 esnRNA	ggagtCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAG CAGAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc（配列番号 65）
U7 ターミネーション	CCTCTTATGATGTTTGTTGCCAATGATAGATTGTTTTCACTGTGCAAA AATTATGGGTAGTTTTGGTGGTCTTGATGCAGTTGTAAGCTTGGAG（配列番号 49）
U1 プロモーター	TAAGGACCAGCTTCTTTGGGAGAGAACAGACGCAGGGGCGGGAGGG AAAAAGGGAGAGGCAGACGTCACTTCCCCTTGGCGGCTCTGGCAGC AGATTGGTCGGTTGAGTGGCAGAAAGGCAGACGGGGACTGGGCAAG GCACTGTCGGTGACATCACGGACAGGGCGACTTCTATGTAGATGAG GCAGCGCAGAGGCTGACGTCTTCGCCACTTGCTGCTTCACCACGAAG GAGTTCCCGTGCCCTGGGAGCGGGTTCAGGACCGCTGATCGGAAGT GAGAATCCCAGCTGTGTGTCAGGGCTGGAAAGGGCTCGGGAGTGCG CGGGGCAAGTGACCGTGTGTGTAAAGAGTGAGGCGTATGAGGCTGT GTCGGGGCAGAGGCacaacgtttc（配列番号 40）
zCUGx15 esnRNA	ggagtCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAG CAGAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc（配列番号 65）
U1 ターミネーション	ACTTTCTGGAGTTTCAAAAACAGACTGTACGCCAAGGGTCATATCTT TTT（配列番号 50）
eCMV プロモーター	cgttacataacttacggtaaatggcccgcctggctgaccgcccaacgacccccgcccattgacgtcaataatgac gtatgttcccatagtaacgccaatagggactttccattgacgtcaatgggtggagtatttacggtaaactgcccactt ggcagtacatcaagtgtatcatatgccaagtacgcccctattgacgtcaatgacggtaaatggcccgcctggcatt atgcccagtacatgaccttatgggactttcctacttggcagtacatctacgtattagtcatcgctattaccatg（配列番号 62）
eGFP	ATGgtgagcaagggcgaggagctgttcaccggggtggtgcccatcctggtcgagctggacggcgacgtaaa cggccacaagttcagcgtgtccggcgagggcgagggcgatgccacctacggcaagctgaccctgaagttcatct gcaccaccggcaagctgcccgtgccctggcccaccctcgtgaccaccctgacctacggcgtgcagtgcttcagc cgctaccccgaccacatgaagcagcacgacttcttcaagtccgccatgcccgaaggctacgtccaggagcgcac catcttcttcaaggacgacggcaactacaagacccgcgccgaggtgaagttcgagggcgacaccctggtgaacc gcatcgagctgaagggcatcgacttcaaggaggacggcaacatcctggggcacaagctggagtacaactacaa cagccacaacgtctatatcatggccgacaagcagaagaacggcatcaaggtgaacttcaagatccgccacaaca tcgaggacggcagcgtgcagctcgccgaccactaccagcagaacaccccatcggcgacggccccgtgctgc tgcccgacaaccactacctgagcacccagtccgccctgagcaaagaccccaacgagaagcgcgatcacatggt cctgctggagttcgtgaccgccgccgggatcactctcggcatggacgagctgtacaagTAA（配列番号 63）
SV40 pA	aacttgtttattgcagcttataatggttacaaataaagcaatagcatcacaaatttcacaaataaagcatttttttcactg cattctagttgtggtttgtccaaactcatcaatgtatctta（配列番号 64）
ITR	aggaacccctagtgatggagttggccactccctctctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgggcgaccaaag gtcgcccgacgcccgggctttgcccgggcggcctcagtgagcgagcgagcgcgcagctgcctgcagg（配列番号 60）

【０１６３】

本開示の例示的なＡＡＶベクターは、５’から３’へと：第１の末端逆位反復配列（ＩＴＲ）配列、Ｕ１プロモーター配列、ＣＵＧリピート標的化Ｕ７　ｅｓｎＲＮＡ配列、Ｕ１下流ターミネーター配列、バッファー配列、Ｕ７プロモーター配列、ＣＵＧリピート標的化Ｕ７　ｅｓｎＲＮＡ配列、Ｕ７下流ターミネーター配列、ｅＣＭＶプロモーター配列、ＧＦＰをコードする配列、ポリＡ配列、および第２のＩＴＲ配列を含む。一部の態様では、ＣＵＧリピート標的化ｓｎＲＮＡ配列をコードするＡＡＶベクターＡ０３６８２をコードする核酸配列は、配列番号１４０を含む。

Ａ０３６８２：ｐＡＡＶ（ｓｓＡＡＶ）－Ｕ１プロモーター－ｚＣＵＧｘ１５－Ｕ１　ｔｅｒｍ＿Ｕ７プロモーター－ｚＣＵＧｘ１５－Ｕ７　ｔｅｒｍ－ｅＣＭＶ－ｅＧＦＰ

【表４０－１】

ITR	cctgcaggcagctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgcccgggcgtcgggcgacctttggtcgcccggcc tcagtgagcgagcgagcgcgcagagagggagtggccaactccatcactaggggttcct（配列番号 59)
U1プロモーター	TAAGGACCAGCTTCTTTGGGAGAGAACAGACGCAGGGGCGGGAGG GAAAAAGGGAGAGGCAGACGTCACTTCCCCTTGGCGGCTCTGGCAG CAGATTGGTCGGTTGAGTGGCAGAAAGGCAGACGGGGACTGGGCA AGGCACTGTCGGTGACATCACGGACAGGGCGACTTCTATGTAGATG AGGCAGCGCAGAGGCTGACGTCTTCGCCACTTGCTGCTTCACCACG AAGGAGTTCCCGTGCCCTGGGAGCGGGTTCAGGACCGCTGATCGGA AGTGAGAATCCCAGCTGTGTGTCAGGGCTGGAAAGGGCTCGGGAGT GCGCGGGGCAAGTGACCGTGTGTGTAAAGAGTGAGGCGTATGAGG CTGTGTCGGGGCAGAGGCacaacgtttc (配列番号40)
zCUGx15 esnRNA	ggagtCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAG CAGAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc（配列番号65)
U1 ターミネーション	ACTTTCTGGAGTTTCAAAAACAGACTGTACGCCAAGGGTCATATCTT TTT（配列番号50)
U7プロモーター	AATCCAGGTCTCCGGGCTTAACAACAACGAAGGGGCTGTGACTGGC TGCTTTCTCAACCAATCAGCACCGAACTCATTTGCATGGGCTGAGA ACAAATGTTCGCGAACTCTAGAAATGAATGACTTAAGTAAGTTCCT TAGAATATTATTTTTCCTACTGAAAGTTACCACATGCGTCGTTGTTT ATACAGTAATAGGAACAAGAAAAAAGTCACCTAAGCTCACCCTCAT CAATTGTGGAGTTCCTTTATATCCCATCTTCTCTCCAAACACATACG CA（配列番号39)
zCUGx15 esnRNA	ggagtCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAG CAGAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc（配列番号65） ）
U7 ターミネーション	CCTCTTATGATGTTTGTTGCCAATGATAGATTGTTTTCACTGTGCAA AAATTATGGGTAGTTTTGGTGGTCTTGATGCAGTTGTAAGCTTGGAG（配列番号49)
eCMV プロモーター	cgttacataacttacggtaaatggcccgcctggctgaccgcccaacgacccccgcccattgacgtcaataatgac gtatgttcccatagtaacgccaatagggactttccattgacgtcaatgggtggagtatttacggtaaactgcccactt ggcagtacatcaagtgtatcatatgccaagtacgccccctattgacgtcaatgacggtaaatggcccgcctggca ttatgcccagtacatgaccttatgggactttcctacttggcagtacatctacgtattagtcatcgctattaccatg（配列番号62)
eGFP	ATGgtgagcaagggcgaggagctgttcaccggggtggtgcccatcctggtcgagctggacggcgacgtaa acggccacaagttcagcgtgtccggcgagggcgagggcgatgccacctacggcaagctgaccctgaagttca tctgcaccaccggcaagctgcccgtgccctggcccaccctcgtgaccaccctgacctacggcgtgcagtgcttc agccgctaccccgaccacatgaagcagcacgacttcttcaagtccgccatgcccgaaggctacgtccaggagc gcaccatcttcttcaaggacgacggcaactacaagacccgcgccgaggtgaagttcgagggcgacaccctggt gaaccgcatcgagctgaagggcatcgacttcaaggaggacggcaacatcctggggcacaagctggagtacaa ctacaacagccacaacgtctatatcatggccgacaagcagaagaacggcatcaaggtgaacttcaagatccgc cacaacatcgaggacggcagcgtgcagctcgccgaccactaccagcagaacaccccatcggcgacggccc cgtgctgctgcccgacaaccactacctgagcacccagtccgccctgagcaaagaccccaacgagaagcgcga tcacatggtcctgctggagttcgtgaccgccgccgggatcactctcggcatggacgagctgtacaagTAA（配列番号63)

【表４０－２】

SV40 pA	aacttgtttattgcagcttataatggttacaaataaagcaatagcatcacaaatttcacaaataaagcatttttttcactg cattctagttgtggtttgtccaaactcatcaatgtatctta（配列番号64)
ITR	aggaacccctagtgatggagttggccactccctctctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgggcgaccaaa ggtcgcccgacgcccgggctttgcccgggcggcctcagtgagcgagcgagcgcgcagctgcctgcagg（配列番号60)

【０１６４】

本開示の例示的なＡＡＶベクターは、５’から３’へと：第１の末端逆位反復配列（ＩＴ

Ｒ）配列、Ｕ７プロモーター配列、非標的化Ｕ７　ｅｓｎＲＮＡ配列、Ｕ７下流ターミネーター配列、バッファー配列、Ｕ１プロモーター配列、非標的化Ｕ７　ｅｓｎＲＮＡ配列、Ｕ１下流ターミネーター配列、ｅＣＭＶプロモーター配列、ＧＦＰをコードする配列、ポリＡ配列、および第２のＩＴＲ配列を含む。一部の態様では、非標的化ｓｎＲＮＡ配列をコードするＡＡＶベクターＡ０３６８３をコードする核酸配列は、配列番号１４１を含む。

Ａ０３６８３：ｐＡＡＶ（ｓｓＡＡＶ）－Ｕ７プロモーター－ｚｎｔ－Ｕ７　ｔｅｒｍ＿Ｕ１プロモーター－ｚｎｔ－Ｕ１　ｔｅｒｍ－ｅＣＭＶ－ｅＧＦＰ

【表４１－１】

ITR	cctgcaggcagctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgcccgggcgtcgggcgacctttggtcgcccggcctcagtgagcgagcgagcgcgcagagagggagtggccaactccatcactaggggttcct (配列番号59)
U7 プロモーター	TACTGCCGAATCCAGGTCTCCGGGCTTAACAACAACGAAGGGGCTGTGACTGGCTGCTTTCTCAACCAATCAGCACCGAACTCATTTGCATGGGCTGAGAACAAATGTTCGCGAACTCTAGAAATGAATGACTTAAGTAAGTTCCTTAGAATATTATTTTTCCTACTGAAAGTTACCACATGCGTCGTTGTTTATACAGTAATAGGAACAAGAAAAAAGTCACCTAAGCTCACCCTCATCAATTGTGGAGTTCCTTTATATCCCATCTTCTCTCCAAACACATACGCA (配列番号39)
z-nt esnRNA	ggagtTCACCAGAAGCGTACCATACTCACGAAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc (配列番号 66)
U7 ターミネーション	CCTCTTATGATGTTTGTTGCCAATGATAGATTGTTTTCACTGTGCAAAAATTATGGGTAGTTTTGGTGGTCTTGATGCAGTTGTAAGCTTGGAG (配列番号 49)
U1 プロモーター	TAAGGACCAGCTTCTTTGGGAGAGAACAGACGCAGGGGCGGGAGGGAAAAAGGGAGAGGCAGACGTCACTTCCCCTTGGCGGCTCTGGCAGCAGATTGGTCGGTTGAGTGGCAGAAAGGCAGACGGGGACTGGGCAAGGCACTGTCGGTGACATCACGGACAGGGCGACTTCTATGTAGATGAGGCAGCGCAGAGGCTGACGTCTTCGCCACTTGCTGCTTCACCACGAAGGAGTTCCCGTGCCCTGGGAGCGGGTTCAGGACCGCTGATCGGAAGTGAGAATCCCAGCTGTGTGTCAGGGCTGGAAAGGGCTCGGGAGTGCGCGGGGCAAGTGACCGTGTGTGTAAAGAGTGAGGCGTATGAGGCTGTGTCGGGGCAGAGGCacaacgtttc (配列番号 40)
z-nt esnRNA	ggagtTCACCAGAAGCGTACCATACTCACGAAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc (配列番号 66)
U1 ターミネーション	ACTTTCTGGAGTTTCAAAAACAGACTGTACGCCAAGGGTCATATCTTTTT (配列番号 50)

【表４１－２】

eCMV プロモーター	cgttacataacttacggtaaatggcccgcctggctgaccgcccaacgacccccgcccattgacgtcaataatgac gtatgttcccatagtaacgccaatagggactttccattgacgtcaatgggtggagtatttacggtaaactgcccactt ggcagtacatcaagtgtatcatatgccaagtacgccccctattgacgtcaatgacggtaaatggcccgcctggca ttatgcccagtacatgaccttatgggactttcctacttggcagtacatctacgtattagtcatcgctattaccatg（配列番号62）
eGFP	ATGgtgagcaagggcgaggagctgttcaccggggtggtgcccatcctggtcgagctggacggcgacgtaa acggccacaagttcagcgtgtccggcgagggcgagggcgatgccacctacggcaagctgaccctgaagttca tctgcaccaccggcaagctgcccgtgccctggcccaccctcgtgaccaccctgacctacggcgtgcagtgcttc agccgctaccccgaccacatgaagcagcacgacttcttcaagtccgccatgcccgaaggctacgtccaggagc gcaccatcttcttcaaggacgacggcaactacaagacccgcgccgaggtgaagttcgagggcgacaccctggt gaaccgcatcgagctgaagggcatcgacttcaaggaggacggcaacatcctggggcacaagctggagtacaa ctacaacagccacaacgtctatatcatggccgacaagcagaagaacggcatcaaggtgaacttcaagatccgc cacaacatcgaggacggcagcgtgcagctcgccgaccactaccagcagaacaccccatcggcgacggccc cgtgctgctgcccgacaaccactacctgagcacccagtccgccctgagcaaagaccccaacgagaagcgcga tcacatggtcctgctggagttcgtgaccgccgccgggatcactctcggcatggacgagctgtacaagTAA（配列番号63）
SV40 pA	aacttgtttattgcagcttataatggttacaaataaagcaatagcatcacaaatttcacaaataaagcatttttttcactg cattctagttgtggtttgtccaaactcatcaatgtatctta（配列番号64）
ITR	Aggaacccctagtgatggagttggccactccctctctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgggcgaccaaa ggtcgcccgacgcccgggctttgcccgggcggcctcagtgagcgagcgagcgcgcagctgcctgcagg（配列番号 60）

【０１６５】

本開示の例示的なＡＡＶベクターは、５’から３’へと：第１の末端逆位反復配列（ＩＴＲ）配列、Ｕ７プロモーター配列、ＣＵＧリピート標的化Ｕ７　ｅｓｎＲＮＡ配列、Ｕ７下流ターミネーター配列、バッファー配列、Ｕ１プロモーター配列、ＣＵＧリピート標的化Ｕ７　ｅｓｎＲＮＡ配列、Ｕ１下流ターミネーター配列、および第２のＩＴＲ配列を含む。一部の態様では、ＣＵＧリピート標的化ｓｎＲＮＡ配列をコードするＡＡＶベクターＡ０３６８４をコードする核酸配列は、配列番号１４２を含む。

Ａ０３８６４：ｐＡＡＶ（ｓｓＡＡＶ）－Ｕ７プロモーター－ｚＣＵＧｘ１５－Ｕ７　ｔｅｒｍ＿Ｕ１プロモーター－ｚＣＵＧｘ１５－Ｕ１　ｔｅｒｍ（マイナスＧＦＰ－３６８１の誘導体）

【表４２－１】

ITR	cctgcaggcagctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgcccgggcgtcgggcgacctttggtcgcccggcc tcagtgagcgagcgagcgcgcagagagggagtggccaactccatcactaggggttcct（配列番号59）
U7プロモーター	TACTGCCGAATCCAGGTCTCCGGGCTTAACAACAACGAAGGGGCTG TGACTGGCTGCTTTCTCAACCAATCAGCACCGAACTCATTTGCATGG GCTGAGAACAAATGTTCGCGAACTCTAGAAATGAATGACTTAAGTA AGTTCCTTAGAATATTATTTTTCCTACTGAAAGTTACCACATGCGTC GTTGTTTATACAGTAATAGGAACAAGAAAAAAGTCACCTAAGCTCA CCCTCATCAATTGTGGAGTTCCTTTATATCCCATCTTCTCTCCAAAC ACATACGCA（配列番号39）
zCUGx15 esnRNA	ggagtCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAG CAGAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc（配列番号65）

【表４２－２】

U7 ターミネーション	CCTCTTATGATGTTTGTTGCCAATGATAGATTGTTTTCACTGTGCAA AAATTATGGGTAGTTTTGGTGGTCTTGATGCAGTTGTAAGCTTGGAG (配列番号49)
U1プロモーター	TAAGGACCAGCTTCTTTGGGAGAGAACAGACGCAGGGGCGGGAGG GAAAAAGGGAGAGGCAGACGTCACTTCCCCTTGGCGGCTCTGGCAG CAGATTGGTCGGTTGAGTGGCAGAAAGGCAGACGGGGACTGGGCA AGGCACTGTCGGTGACATCACGGACAGGGCGACTTCTATGTAGATG AGGCAGCGCAGAGGCTGACGTCTTCGCCACTTGCTGCTTCACCACG AAGGAGTTCCCGTGCCCTGGGAGCGGGTTCAGGACCGCTGATCGGA AGTGAGAATCCCAGCTGTGTGTCAGGGCTGGAAAGGGCTCGGGAGT GCGCGGGGCAAGTGACCGTGTGTGTAAAGAGTGAGGCGTATGAGG CTGTGTCGGGGCAGAGGCacaacgtttc (配列番号40)
zCUGx15 esnRNA	ggagtCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAG CAGAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc (配列番号65)
U1 ターミネーション	ACTTTCTGGAGTTTCAAAAACAGACTGTACGCCAAGGGTCATATCTT TTT (配列番号50)
ITR	aggaacccctagtgatggagttggccactccctctctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgggcgaccaaa ggtcgcccgacgcccgggctttgcccgggcggcctcagtgagcgagcgagcgcgcagctgcctgcagg (配列番号60)

【０１６６】

本開示の例示的なＡＡＶベクターは、５’から３’へと：第１の末端逆位反復配列（ＩＴＲ）配列、Ｕ７プロモーター配列、ＣＵＧリピート標的化Ｕ７　ｅｓｎＲＮＡ配列、Ｕ７下流ターミネーター配列、バッファー配列、Ｕ１プロモーター配列、ＣＵＧリピート標的化Ｕ７　ｅｓｎＲＮＡ配列、Ｕ１下流ターミネーター配列、および第２のＩＴＲ配列を含む。一部の態様では、ＣＵＧリピート標的化ｓｎＲＮＡ配列をコードするＡＡＶベクターＡ０４２３３をコードする核酸配列は、配列番号１４３を含む。

Ａ０４２３３：ｐＡＡＶ（ｓｃＡＡＶ）－Ｕ７プロモーター－ｚＣＵＧｘ１５－Ｕ７ターミネーション－Ｕ１プロモーター－ｚＣＵＧｘ１５－Ｕ１ターミネーション（Ａ０３６８１の誘導体、ｓｃＡＡＶにおいてＧＦＰなし）

【表４３－１】

ITR	cctgcaggcagctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgcccgggcgtcgggcgacctttggtcgcccggcc tcagtgagcgagcgagcgcgcagagagggagtggccaactccatcactaggggttcct (配列番号 59)
U7プロモーター	TACTGCCGAATCCAGGTCTCCGGGCTTAACAACAACGAAGGGGCTG TGACTGGCTGCTTTCTCAACCAATCAGCACCGAACTCATTTGCATGG GCTGAGAACAAATGTTCGCGAACTCTAGAAATGAATGACTTAAGTA AGTTCCTTAGAATATTATTTTTCCTACTGAAAGTTACCACATGCGTC GTTGTTTATACAGTAATAGGAACAAGAAAAAAGTCACCTAAGCTCA CCCTCATCAATTGTGGAGTTCCTTTATATCCCATCTTCTCTCCAAAC ACATACGCA (配列番号39)
zCUGx15 esnRNA	ggagtCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAG CAGAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc (配列番号65)
U7 ターミネーション	CCTCTTATGATGTTTGTTGCCAATGATAGATTGTTTTCACTGTGCAA AAATTATGGGTAGTTTTGGTGGTCTTGATGCAGTTGTAAGCTTGGAG (配列番号49)

【表４３－２】

U1 プロモーター	TAAGGACCAGCTTCTTTGGGAGAGAACAGACGCAGGGGCGGGAGG GAAAAAGGGAGAGGCAGACGTCACTTCCCCTTGGCGGCTCTGGCAG CAGATTGGTCGGTTGAGTGGCAGAAAGGCAGACGGGGACTGGGCA AGGCACTGTCGGTGACATCACGGACAGGGCGACTTCTATGTAGATG AGGCAGCGCAGAGGCTGACGTCTTCGCCACTTGCTGCTTCACCACG AAGGAGTTCCCGTGCCCTGGGAGCGGGTTCAGGACCGCTGATCGGA AGTGAGAATCCCAGCTGTGTGTCAGGGCTGGAAAGGGCTCGGGAGT GCGCGGGGCAAGTGACCGTGTGTGTAAAGAGTGAGGCGTATGAGG CTGTGTCGGGGCAGAGGCacaacgtttc (配列番号 40)
zCUGx15 esnRNA	ggagtCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAG CAGAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc (配列番号65)
U1 ターミネーション	ACTTTCTGGAGTTTCAAAAACAGACTGTACGCCAAGGGTCATATCTT TTT (配列番号 50)
mITR	CCACTCCCTCTCTGCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGGCCGGGCGACCA AAGGTCGCCCGACGCCCGGGCTTTGCCCGGGCGGCCTCAGTGAGCG AGCGAGCGCGCAGAGAGGGA (配列番号 61)

プロモーター配列

【０１６７】

本開示の遺伝子治療用組成物およびＲＮＡ標的化ｓｎＲＮＡ遺伝子治療用組成物は、ｓｎＲＮＡに由来するプロモーター配列を含む。

【０１６８】

「プロモーター」は、転写の開始および速度が制御されるポリヌクレオチド配列の領域である制御配列である。プロモーターは、ＲＮＡポリメラーゼおよび他の転写因子などの調節性タンパク質および分子が結合することができる遺伝子エレメントを含有し得る。

【０１６９】

本開示の組成物および方法の一部の実施形態では、本明細書において提供される発現ベクター、ウイルスベクターまたは非ウイルスベクターは、これだけに限定することなく、発現制御エレメントを含む。「発現制御エレメント」は、本明細書で使用される場合、遺伝子などのコード配列の発現を調節する任意の配列を指す。例示的な発現制御エレメントとしては、これだけに限定されないが、プロモーター、エンハンサー、マイクロＲＮＡ、転写後調節エレメント、ポリアデニル化シグナル配列、およびイントロンが挙げられる。発現制御エレメントは、例えば、構成的、誘導性、抑制性、または組織特異的であり得る。「プロモーター」は、転写の開始および速度が制御されるポリヌクレオチド配列の領域である制御配列である。プロモーターは、ＲＮＡポリメラーゼおよび他の転写因子などの調節性タンパク質および分子が結合することができる遺伝子エレメントを含有し得る。「エンハンサー」は、活性化タンパク質が結合して転写の尤度または頻度を増加させることができる、ＤＮＡの領域である。

【０１７０】

本開示の組成物および方法の一部の実施形態では、本明細書において提供される発現ベクター、ウイルスベクターまたは非ウイルスベクターは、これだけに限定することなく、ベクターエレメント、例えば、ｓｎＲＮＡから下流側のヒトゲノム配列に由来するバッファー配列であって、それ故、単一構築物からの複数のｓｎＲＮＡをコードする能力を有するバッファー配列を含む。

【０１７１】

一部の実施形態では、本明細書に開示される組成物へのコード配列の組込みによって、マルチシストロン性ベクターは、同じｍＲＮＡからの２つまたはそれより多くの別々のタンパク質を同時に発現させることができる。マルチシストロン性配置を構築するために最も広く使用されている２つの戦略は、ＩＲＥＳまたは２Ａ自己切断部位を使用することに

よる戦略である。「ＩＲＥＳ」は、ポリシストロン性ベクター構築物内に使用される、ウイルス、原核生物、または真核生物を起源とする配列内リボソーム進入部位またはその一部を指す。一部の実施形態では、ＩＲＥＳは、キャップ依存的に翻訳開始を可能にするＲＮＡエレメントである。「自己切断ペプチド」または「自己切断ペプチドをコードする配列」または「２Ａ自己切断部位」という用語は、リボソームスキッピングを促進するための、したがって、単一のプロモーターから２つのポリペプチドを生成するための部位を組み入れるためにベクター構築物内に使用される連結配列を指す。そのような自己切断ペプチドとしては、これだけに限定することなく、Ｔ２Ａペプチド、およびＰ２Ａペプチド、または自己切断ペプチドをコードする他の配列が挙げられる。

【０１７２】

別の実施形態では、ベクター構成は、リンカー（複数可）、シグナル配列（複数可）、および／またはタグ（複数可）を含み得る。

【０１７３】

一部の実施形態では、ベクターは、ウイルスベクターである。一部の実施形態では、ベクターは、アデノウイルスベクター、アデノ随伴ウイルス（ＡＡＶ）ベクター、またはレンチウイルスベクターである。一部の実施形態では、ベクターは、レトロウイルスベクター、アデノウイルス／レトロウイルスキメラベクター、単純ヘルペスウイルスＩもしくはＩＩベクター、パルボウイルスベクター、細網内皮症ウイルスベクター、ポリオウイルスベクター、乳頭腫ウイルスベクター、ワクシニアウイルスベクター、または２つもしくはそれよりも多くのウイルスベクターの好都合な側面が組み入れられた任意のハイブリッドもしくはキメラベクターである。一部の実施形態では、ベクターは、ポリヌクレオチドに作動可能に連結された１つまたは複数の発現制御エレメントをさらに含む。一部の実施形態では、ベクターは、１つまたは複数の選択マーカーをさらに含む。一部の実施形態では、ＡＡＶベクターは、低毒性を有する。一部の実施形態では、ＡＡＶベクターは、宿主ゲノム内に組み入れられず、それにより、挿入変異誘発が引き起こされる確率が低くなる。一部の実施形態では、ＡＡＶベクターは、４．５ｋｂから４．７５ｋｂまでの範囲の総ポリヌクレオチドをコードし得る。一部の実施形態では、本明細書に記載の組成物、系、方法およびキットのいずれかに使用することができる例示的なＡＡＶベクターとしては、ＡＡＶ１ベクター、改変ＡＡＶ１ベクター、ＡＡＶ２ベクター、改変ＡＡＶ２ベクター、ＡＡＶ２－Ｔｙｒ変異体ベクター、ＡＡＶ３ベクター、改変ＡＡＶ３ベクター、ＡＡＶ４ベクター、改変ＡＡＶ４ベクター、ＡＡＶ５ベクター、改変ＡＡＶ５ベクター、ＡＡＶ６ベクター、改変ＡＡＶ６ベクター、ＡＡＶ７ベクター、改変ＡＡＶ７ベクター、ＡＡＶ８ベクター、ＡＡＶｒｈ８ベクター、ＡＡＶ９ベクター、ＡＡＶ．ｒｈ１０ベクター、改変ＡＡＶ．ｒｈ１０ベクター、ＡＡＶｒｈ．７４、ＡＡＶ．ｒｈ３２／３３ベクター、改変ＡＡＶ．ｒｈ３２／３３ベクター、ＡＡＶ．ｒｈ４３ベクター、改変ＡＡＶ．ｒｈ４３ベクター、ＡＡＶ．ｒｈ６４Ｒ１ベクター、および改変ＡＡＶ．ｒｈ６４Ｒ１ベクター、ＡＡＶ－Ｔｙｒ変異体ベクター、ＡＡＶ－Ｔｙｒ－Ｓｅｒ変異体ベクター、ＡＡＶ－Ｔｙｒ－Ｓｅｒ－Ｔｈｒ変異体ベクター、およびこれらの任意の組合せまたは等価物を挙げることができる。一部の実施形態では、レンチウイルスベクターは、インテグラーゼコンピテントレンチウイルスベクター（ＩＣＬＶ）である。一部の実施形態では、レンチウイルスベクターは、導入遺伝子プラスミドベクター、ならびに関連するプラスミド（例えば、パッケージングプラスミド、ｒｅｖ発現プラスミド、エンベローププラスミド）と併せた導入遺伝子プラスミドベクター、ならびにウイルスまたはウイルス様侵入機構によって外因性核酸を細胞に導入することができるレンチウイルスに基づく粒子を指し得る。

【０１７４】

レンチウイルスベクターは、当技術分野で周知である（例えば、Ｔｒｏｎｏ Ｄ．（２００２） Ｌｅｎｔｉｖｉｒａｌ ｖｅｃｔｏｒｓ，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ：Ｓｐｒｉｎｇ－Ｖｅｒｌａｇ Ｂｅｒｌｉｎ Ｈｅｉｄｅｌｂｅｒｇ ａｎｄ Ｄｕｒａｎｄ ｅｔ ａｌ．（２０１１） Ｖｉｒｕｓｅｓ ３（２）：１３２－１５９ ｄｏｉ：１０．３３９０／ｖ３０２０１３２を参照されたい）。一部の実施形態では、本明細書に記

載の組成物、系、方法およびキットのいずれかに使用することができる例示的なレンチウイルスベクターとしては、ヒト免疫不全ウイルス（ＨＩＶ）１ベクター、改変ヒト免疫不全ウイルス（ＨＩＶ）１ベクター、ヒト免疫不全ウイルス（ＨＩＶ）２ベクター、改変ヒト免疫不全ウイルス（ＨＩＶ）２ベクター、スーティーマンガベイサル免疫不全ウイルス（SIV_{SM}）ベクター、改変スーティーマンガベイサル免疫不全ウイルス（SIV_{SM}）ベクター、アフリカミドリザルサル免疫不全ウイルス（SIV_{AGM}）ベクター、改変アフリカミドリザルサル免疫不全ウイルス（SIV_{AGM}）ベクター、ウマ伝染性貧血ウイルス（ＥＩＡＶ）ベクター、改変ウマ伝染性貧血ウイルス（ＥＩＡＶ）ベクター、ネコ免疫不全ウイルス（ＦＩＶ）ベクター、改変ネコ免疫不全ウイルス（ＦＩＶ）ベクター、ビスナ／マエディウイルス（ＶＮＶ／ＶＭＶ）ベクター、改変ビスナ／マエディウイルス（ＶＮＶ／ＶＭＶ）ベクター、ヤギ関節炎脳炎ウイルス（ＣＡＥＶ）ベクター、改変ヤギ関節炎脳炎ウイルス（ＣＡＥＶ）ベクター、ウシ免疫不全ウイルス（ＢＩＶ）、または改変ウシ免疫不全ウイルス（ＢＩＶ）を挙げることができる。

核酸

【０１７５】

ＮＯＩ（目的のヌクレオチド配列）は、限定することなく、ベクターにより送達され得る任意のヌクレオチド配列または導入遺伝子を含む。ＮＯＩは、合成のものであることがあり、天然に存在するＤＮＡもしくはＲＮＡに由来することがあり、コドン最適化されていることがあり、組換えＲＮＡ／ＤＮＡであることがあり、ｃＤＮＡであることがあり、部分的ゲノムＤＮＡであることがあり、および／またはこれらの組合せであることがある。ＮＯＩは、コード領域または部分的コード領域であることがあるが、コード領域である必要はない。ＮＯＩは、センスまたはアンチセンス配向でのＲＮＡ／ＤＮＡであることがある。ＮＯＩは、ｓｎＲＮＡであることがある。ＮＯＩは、本明細書では、限定することなく、導入遺伝子、異種配列、遺伝子、治療用遺伝子とも呼ばれる。ＮＯＩは、ＲＮＡ（リボヌクレオタンパク質複合体）、ＰＯＩ（目的のタンパク質）、部分的ＰＯＩ、ＰＯＩの変異型バージョンまたはバリアントをコードすることもある。ＰＯＩは、野生型タンパク質に類似していることがあり、または野生型タンパク質に相当することがある。ＰＯＩは、融合タンパク質またはリボヌクレオタンパク質複合体、例えば、ｓｎＲＮＡであることもある。一部の態様では、本明細書に開示されるＲＮＡ配列をＤＮＡ配列として表すことができ、ＤＮＡ配列からＲＮＡ配列の配列をもたらすことは当業者の能力の範囲内である。

コドン最適化

【０１７６】

一部の実施形態では、ＮＯＩまたは導入遺伝子またはＧＯＩ、例えば、本開示のＲＮＡ標的化ｓｎＲＮＡをコードする核酸配列は、コドン最適化された核酸配列である。一部の実施形態では、コドン最適化された配列は、ヒト対象において、野生型のまたはコドン最適化されていない核酸配列と比べて、転写または翻訳の少なくとも５％、少なくとも１０％、少なくとも２０％、少なくとも３０％、少なくとも５０％、少なくとも７５％、少なくとも１００％、少なくとも２００％、少なくとも３００％、少なくとも５００％、または少なくとも１０００％増加を示す。

【０１７７】

一部の態様では、コドン最適化された核酸配列は、安定性の増加を示す。一部の態様では、コドン最適化された核酸配列は、加水分解に対する耐性の増加によって安定性の増加を示す。一部の実施形態では、コドン最適化された配列は、野生型のまたはコドン最適化されていない核酸配列と比べて、安定性の少なくとも５％、少なくとも１０％、少なくとも２０％、少なくとも３０％、少なくとも５０％、少なくとも７５％、少なくとも１００％、少なくとも２００％、少なくとも３００％、少なくとも５００％、または少なくとも１０００％増加を示す。一部の実施形態では、コドン最適化された配列は、ヒト対象において、野生型のまたはコドン最適化されていない核酸配列と比べて、加水分解に対する耐性の少なくとも５％、少なくとも１０％、少なくとも２０％、少なくとも３０％、少なく

とも５０％、少なくとも７５％、少なくとも１００％、少なくとも２００％、少なくとも３００％、少なくとも５００％、または少なくとも１０００％増加を示す。

【０１７８】

一部の態様では、コドン最適化された核酸配列は、ドナースプライス部位を含み得ない。一部の態様では、コドン最適化された核酸配列は、約１つ、または約２つ、または約３つ、または約４つ、または約５つ、または約６つ、または約７つ、または約８つ、または約９つ、または約１０以下のドナースプライス部位を含み得る。一部の態様では、コドン最適化された核酸配列は、コドン最適化されていない核酸配列と比較して、少なくとも１つ、または少なくとも２つ、または少なくとも３つ、または少なくとも４つ、または少なくとも５つ、または少なくとも６つ、または少なくとも７つ、または少なくとも８つ、または少なくとも９つ、または少なくとも１０少ない、ドナースプライス部位を含む。

【０１７９】

理論により拘束されることを望まないが、コドン最適化された核酸配列におけるドナースプライス部位の除去は、クリプティックスプライシングが防止されるので、ｉｎ　ｖｉｖｏで目的のタンパク質の発現を予想外におよび予測不能に増加させることができる。さらに、クリプティックスプライシングは、対象によって異なることがあり、これは、ドナースプライス部位を含むタンパク質の発現レベルが、予測不能に対象によって異なることがあることを意味する。ヒトの治療に関して、このような予測不能性は許容できない。それに応じて、ドナースプライス部位を欠いているコドン最適化された核酸配列は、予想外におよび驚くべきことに、ヒト対象におけるタンパク質の発現増加を可能にし、タンパク質の発現をヒト対象の違いを超えて規則化する。

【０１８０】

一部の態様では、コドン最適化された核酸配列は、ＲＮＡ標的化ｓｎＲＮＡをコードするコドン最適化されていない核酸配列のＧＣ含量とは異なるＧＣ含量を有し得る。一部の態様では、コドン最適化された核酸配列のＧＣ含量は、コドン最適化されていない核酸配列と比較して、核酸配列全体にわたってより均一に分布している。

【０１８１】

理論により拘束されることを望まないが、核酸配列全体にわたってより均一にＧＣ含量を分布させることによって、コドン最適化された核酸配列は、転写物の全長にわたってより均一な融解温度（「Ｔｍ」）を示す。融解温度の均一性は、ポリメラーゼおよび／またはリボソームがあまり失速せずに核酸配列の転写および／または翻訳が起こるので、ヒト対象におけるコドン最適化された核酸の発現増加を予想外にもたらす。

【０１８２】

一部の態様では、コドン最適化された核酸配列は、コドン最適化されていない核酸配列と比較して、より少ない抑制的マイクロＲＮＡ標的結合部位を有し得る。一部の態様では、コドン最適化された核酸配列は、コドン最適化されていない核酸配列と比較して、少なくとも１つ、もしくは少なくとも２つ、もしくは少なくとも３つ、もしくは少なくとも４つ、もしくは少なくとも５つ、もしくは少なくとも６つ、もしくは少なくとも７つ、もしくは少なくとも８つ、もしくは少なくとも９つ、もしくは少なくとも１０の、または少なくとも１０少ない、抑制的マイクロＲＮＡ標的結合部位を有し得る。

【０１８３】

理論により拘束されることを望まないが、より少ない抑制的マイクロＲＮＡ標的結合部位を有することによって、コドン最適化された核酸配列は、ヒト対象において発現の増加を予想外に示す。

【０１８４】

本明細書に記載の遺伝子移入および発現技法における使用のための、遺伝子治療用組成物またはＲＮＡ標的化ｓｎＲＮＡ系をコードする核酸配列が本明細書において提供される。必ずしも明記されていないが、本明細書において提供される配列を使用して、発現産物をもたらすことができること、ならびにＲＮＡをコードする、または同じ生物学的性質を有するタンパク質を発現および産生する、実質的に同一の配列をもたらすことができるこ

とは理解されるべきである。これらの「生物学的に等価の」または「生物活性ある」または「等価の」ポリペプチドは、本明細書に記載の等価のポリヌクレオチドによってコードされる。これらは、デフォルトの条件下で実行される配列同一性方法を使用して比較した場合に、参照ポリペプチドに対して少なくとも６０％、あるいは少なくとも６５％、あるいは少なくとも７０％、あるいは少なくとも７５％、あるいは少なくとも８０％、あるいは少なくとも８５％、あるいは少なくとも９０％、あるいは少なくとも９５％あるいは少なくとも９８％同一の一次アミノ酸配列を有することができる。特定の実施形態の例として特定のポリペプチド配列が提供される。同様の電荷を有する代替のアミノ酸を用いたアミノ酸への配列への改変（ｍｏｄｉｆｉｃａｔｉｏｎｓ ｔｏ ｔｈｅ ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ ｔｏ ａｍｉｎｏ ａｃｉｄｓ）。さらに、等価のポリヌクレオチドは、参照ポリヌクレオチドもしくはその相補物とストリンジェントな条件下でハイブリダイズするポリヌクレオチドであり、またはポリペプチドに関しては、参照コードポリヌクレオチドまたはその相補鎖とストリンジェントな条件下でハイブリダイズするポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチドである。あるいは、等価のポリペプチドまたはタンパク質は、等価のポリヌクレオチドから発現されるものである。

【０１８５】

本明細書に開示されるＮＯＩまたは核酸配列（例えば、ポリヌクレオチド配列）は、当技術分野で周知の技法であるコドン最適化がなされたものであり得る。コドン最適化は、異なる細胞では特定のコドンの使用が異なるという事実を指す。このコドンの偏りは、細胞型における特定のｔＲＮＡの相対的な存在量の偏りに対応する。配列内のコドンを対応するｔＲＮＡの相対的な存在量と釣り合うように変更することにより、発現を増加させることが可能である。対応するｔＲＮＡが特定の細胞型において稀であることが分かっているコドンを意図して選択することによって発現を低減させることも可能である。哺乳動物細胞に関して、ならびに種々の他の生物体に関して、コドン使用表が当技術分野で公知である。遺伝暗号、例えばｅｓｎＲＮＡをコードする核酸配列、に基づいて、ｅｓｎＲＮＡを生成することができる。一部の実施形態では、そのような配列を、宿主または標的細胞、例えば、ｅｓｎＲＮＡを発現させるために使用される宿主細胞、または開示されている方法が実施される細胞における（例えば、哺乳動物細胞、例えば、ヒト細胞における）発現に関して最適化する。特定の種についてのコドンの選好およびコドン使用表を使用して、その特定の種のコドン使用選好性（ｃｏｄｏｎ ｕｓａｇｅ ｐｒｅｆｅｒｅｎｃｅ）を活用する、ｅｓｎＲＮＡをコードする単離された核酸分子を操作することができる。例えば、本明細書に開示されるｅｓｎＲＮＡを、目的の特定の生物体によって優先的に使用されるコドンを有するように設計することができる。一例では、ｅｓｎＲＮＡ核酸配列は、ヒト細胞における発現に関して最適化され、例えば、その対応する野生型または起源核酸配列に対して少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９２％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、または少なくとも９９％配列同一性を有するものである。一部の実施形態では、少なくとも１つのｅｓｎＲＮＡ（ベクターの一部であり得る）をコードする単離された核酸分子は、真核細胞における発現に関してコドン最適化されている少なくとも１つのｅｓｎＲＮＡコード配列、またはヒト細胞における発現に関してコドン最適化された少なくとも１つのｅｓｎＲＮＡコード配列を含む。一実施形態では、そのようなコドン最適化されたｅｓｎＲＮＡコード配列は、その対応する野生型または起源配列に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９２％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％配列同一性を有する。別の実施形態では、真核細胞のコドン最適化された核酸配列は、その対応する野生型または起源配列に対して少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９２％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％配列同一性を有するｅｓｎＲＮＡをコードする。別の実施形態では、配列は異なるが同じｅｓｎＲＮＡ配列をコードする核酸などの、機能的に等価の核酸を含有する種々のクローンを、常套的に生成することができる。コード配列内のサイレント変異は、

１つよりも多くのコドンが同じアミノ酸残基をコードし得る遺伝暗号の縮退（すなわち、重複性）に起因する。したがって、例えば、ロイシンは、ＣＴＴ、ＣＴＣ、ＣＴＡ、ＣＴＧ、ＴＴＡ、またはＴＴＧによってコードされ得る；セリンは、ＴＣＴ、ＴＣＣ、ＴＣＡ、ＴＣＧ、ＡＧＴ、またはＡＧＣによってコードされ得る；アスパラギンは、ＡＡＴまたはＡＡＣによってコードされ得る；アスパラギン酸は、ＧＡＴまたはＧＡＣによってコードされ得る；システインはＴＧＴまたはＴＧＣによってコードされ得る；アラニンは、ＧＣＴ、ＧＣＣ、ＧＣＡ、またはＧＣＧによってコードされ得る；グルタミンは、ＣＡＡまたはＣＡＧによってコードされ得る；チロシンは、ＴＡＴまたはＴＡＣによってコードされ得る；およびイソロイシンは、ＡＴＴ、ＡＴＣ、またはＡＴＡによってコードされ得る。標準の遺伝暗号を示す表は、種々の情報源において見出すことができる（例えば、Ｓｔｒｙｅｒ，１９８８，Ｂｉｏｃｈｅｍｉｓｔｒｙ，３．ｓｕｐ．ｒｄ Ｅｄｉｔｉｏｎ，Ｗ．Ｈ．５ Ｆｒｅｅｍａｎ ａｎｄ Ｃｏ．，ＮＹを参照されたい）。

【０１８６】

「ハイブリダイゼーション」は、１つまたは複数のポリヌクレオチドが反応して、ヌクレオチド残基の塩基間の水素結合によって安定化される複合体を形成する、反応を指す。水素結合は、ワトソン－クリック塩基対合により、フーグスティーン結合により、または任意の他の配列特異的様式で存在し得る。複合体は、二重鎖構造を形成する２つの鎖、多重鎖複合体を形成する３つまたはそれよりも多くの鎖、単一の自己ハイブリダイズ鎖、またはこれらの任意の組合せを含み得る。ハイブリダイゼーション反応は、ＰＣ反応の開始、またはリボザイムによるポリヌクレオチドの酵素的切断などの、より広範囲にわたるプロセスのステップを構成し得る。

【０１８７】

ストリンジェントなハイブリダイゼーション条件の例としては、インキュベーション温度、約２５℃～約３７℃；ハイブリダイゼーション緩衝液濃度、約６×ＳＳＣ～約１０×ＳＳＣ；ホルムアミド濃度、約０％～約２５％；および洗浄溶液、約４×ＳＳＣ～約８×ＳＳＣが挙げられる。中程度のハイブリダイゼーション条件の例としては、インキュベーション温度、約４０℃～約５０℃；緩衝液濃度、約９×ＳＳＣ～約２×ＳＳＣ；ホルムアミド濃度、約３０％～約５０％；および洗浄溶液、約５×ＳＳＣ～約２×ＳＳＣが挙げられる。高ストリンジェンシー条件の例としては、インキュベーション温度、約５５℃～約６８℃；緩衝液濃度、約１×ＳＳＣ～約０．１×ＳＳＣ；ホルムアミド濃度、約５５％～約７５％；および洗浄溶液、約１×ＳＳＣ、０．１×ＳＳＣ、または脱イオン水が挙げられる。一般に、ハイブリダイゼーションインキュベーション時間は、５分から２４時間までであり、１回、２回、またはそれよりも多くの洗浄ステップを伴い、洗浄インキュベーション時間は、約１分、２分、または１５分である。ＳＳＣは、０．１５ＭのＮａＣｌおよび１５ｍＭのクエン酸緩衝液である。他の緩衝液系を使用するＳＳＣの等価物を利用することができることは理解される。

【０１８８】

「相同性」または「同一性」または「類似性」は、２つのペプチド間または２つの核酸分子間の配列類似性を指す。相同性は、比較のためにアラインメントすることができる各配列内の位置を比較することによって決定することができる。比較される配列内の位置を同じ塩基またはアミノ酸が占めている場合、その分子は、その位置において相同である。配列間の相同性の程度は、それらの配列が共有するマッチするまたは相同な位置の数に応じる。「関連しない」または「非相同的」配列は、本発明の配列の１つと４０％未満の同一性あるいは２５％未満の同一性を共有する。

細胞

【０１８９】

本開示の組成物および方法の一部の実施形態では、本開示の細胞は、原核細胞である。

【０１９０】

本開示の組成物および方法の一部の実施形態では、本開示の細胞は、真核細胞である。一部の実施形態では、細胞は、哺乳動物細胞である。一部の実施形態では、細胞は、ウシ

類、ネズミ類、ネコ類、ウマ類、ブタ類、イヌ類、サル類、またはヒトの細胞である。一部の実施形態では、細胞は、非ヒト霊長類細胞などの非ヒト哺乳動物細胞である。

【０１９１】

一部の実施形態では、本開示の細胞は、体細胞である。一部の実施形態では、本開示の細胞は、生殖細胞系列細胞である。一部の実施形態では、本開示の生殖細胞系列細胞は、ヒト細胞ではない。

【０１９２】

本開示の組成物および方法の一部の実施形態では、本開示の細胞は、幹細胞である。一部の実施形態では、本開示の細胞は、胚性幹細胞である。一部の実施形態では、本開示の胚性幹細胞は、ヒト細胞ではない。一部の実施形態では、本開示の細胞は、複能性幹細胞または多能性幹細胞である。一部の実施形態では、本開示の細胞は、成体幹細胞である。一部の実施形態では、本開示の細胞は、人工多能性幹細胞（ｉＰＳＣ）である。一部の実施形態では、本開示の細胞は、造血幹細胞（ＨＳＣ）である。

【０１９３】

本開示の組成物および方法の一部の実施形態では、本開示の体細胞は、ニューロン細胞である。一実施形態では、本明細書に開示される組成物で処置される患者の細胞（単数または複数）としては、限定することなく、中枢神経系（ニューロン）、末梢神経系（ニューロン）、末梢運動ニューロン、および／または感覚ニューロンが挙げられる。一実施形態では、ニューロン細胞は、グリア細胞である。

【０１９４】

本開示の組成物および方法の一部の実施形態では、本開示の体細胞は、上皮細胞である。一部の実施形態では、本開示の上皮細胞は、線維芽細胞、扁平上皮細胞、立方上皮細胞、円柱上皮細胞、重層上皮細胞、多列円柱上皮細胞または移行上皮細胞を形成する。一部の実施形態では、本開示の上皮細胞は、これだけに限定されないが、松果体、胸腺、下垂体、甲状腺、副腎、アポクリン腺、ホロクリン腺、部分分泌腺、漿液腺、粘液腺および脂腺を含めた腺を形成する。一部の実施形態では、本開示の上皮細胞は、これだけに限定されないが、肺、脾臓、胃、膵臓、膀胱、腸、腎臓、胆嚢、肝臓、喉頭または咽頭を含めた器官の外表面と接触している。一部の実施形態では、本開示の上皮細胞は、血管または静脈の外表面と接触している。

【０１９５】

本開示の一部の実施形態では、体細胞は、眼細胞である。眼細胞としては、限定することなく、角膜上皮細胞、ケラチノサイト（ｋｅｒａｔｙｏｃｙｔｅ）、網膜色素上皮（ＲＰＥ）細胞、水晶体上皮細胞、虹彩色素上皮細胞、結膜線維芽細胞、非色素性毛様体上皮細胞、小柱網細胞、眼球脈絡膜線維芽細胞、結膜上皮細胞が挙げられる。一部の実施形態では、眼細胞は、網膜細胞または角膜細胞である。一実施形態では、網膜細胞は、光受容細胞または網膜色素上皮細胞である。別の実施形態では、網膜細胞は、神経節細胞、アマクリン細胞、双極細胞、水平細胞、ミュラーグリア細胞、杵体細胞、または錐体細胞である。

本開示の組成物および方法の一部の実施形態では、本開示の体細胞は、初代細胞である。

【０１９６】

本開示の組成物および方法の一部の実施形態では、本開示の体細胞は、培養細胞である。

【０１９７】

本開示の組成物および方法の一部の実施形態では、本開示の体細胞は、ｉｎ　ｖｉｖｏ、ｉｎ　ｖｉｔｒｏ、ｅｘ　ｖｉｖｏまたはｉｎ　ｓｉｔｕにある。

【０１９８】

本開示の組成物および方法の一部の実施形態では、本開示の体細胞は、自家細胞または同種異系細胞である。

使用方法

【０１９９】

本開示は、本明細書に記載のｓｎＲＮＡ系を使用して細胞においてＲＮＡをコードするまたはＮＯＩを発現させる方法であって、本開示の改変ＡＡＶカプシドタンパク質を含むＡＡＶウイルスベクターを投与するステップを含む方法を提供する。一実施形態では、本開示は、ＲＮＡまたはＲＮＡ分子によってコードされるタンパク質の活性を改変する方法であって、本開示の組成物と標的ＲＮＡ分子を、ＲＮＡ分子への結合に好適な条件下で接触させるステップを含む方法を提供する。

【０２００】

本開示は、本開示のＲＮＡ分子の発現またはそのＲＮＡ分子によってコードされるタンパク質の発現のレベルを改変する方法であって、本開示の組成物とＲＮＡ分子を含む細胞とを、ＲＮＡ分子への結合に好適な条件下で接触させるステップを含む方法を提供する。一部の実施形態では、細胞は、ｉｎ ｖｉｖｏ、ｉｎ ｖｉｔｒｏ、ｅｘ ｖｉｖｏまたはｉｎ ｓｉｔｕにある。一部の実施形態では、本開示の組成物は、ｓｎＲＮＡを含むベクターを含む。一部の実施形態では、ベクターは、ＡＡＶである。

【０２０１】

本開示は、本開示のＲＮＡ分子の発現またはそのＲＮＡ分子によってコードされるタンパク質の発現のレベルを改変する方法であって、本開示の組成物とＲＮＡ分子を、標的ＲＮＡのノックダウン、遮断、スプライシング、多標的化または編集に好適な条件下で、接触させるステップを含む方法を提供する。一部の実施形態では、ベクターは、ＡＡＶである。

【０２０２】

本開示は、標的ＲＮＡをまたはＲＮＡ分子によりコードされるタンパク質の活性を改変する方法であって、組成物とＲＮＡ分子を含む細胞とを標的ＲＮＡのノックダウン、遮断、スプライシング、多標的化または編集に好適な条件下で接触させるステップを含む方法を提供する。一部の実施形態では、細胞は、ｉｎ ｖｉｖｏ、ｉｎ ｖｉｔｒｏ、ｅｘ ｖｉｖｏまたはｉｎ ｓｉｔｕにある。一部の実施形態では、組成物は、本明細書に開示されるｓｎＲＮＡ配列を含むベクターを含む。一部の実施形態では、ベクターは、ＡＡＶである。

【０２０３】

本開示は、疾患または障害を処置する方法であって、本開示のｓｎＲＮＡ組成物の治療有効量を対象に投与するステップを含む方法を提供する。

【０２０４】

本開示は、疾患の処置を、そのような処置を必要とする患者において行う方法であって、本開示のｓｎＲＮＡ組成物の治療有効量を患者に投与するステップを含み、組成物が、本明細書に記載のｓｎＲＮＡを含むベクターを含み、組成物が、毒性リピートＲＮＡの発現のレベルを（非標的化（ＮＴ）対照で処置された毒性リピートＲＮＡの発現のレベルと比較して、または無処置と比較して）改変する、低下させる、破壊する、下げるまたは取り除く、方法を提供する。別の実施形態では、低減のレベルは、１倍である、またはそれより大きい。別の実施形態では、低減のレベルは、２倍、３倍、４倍、５倍、６倍、７倍、８倍、９倍または１０倍である。別の実施形態では、低減のレベルは、１０倍である、またはそれより大きい。別の実施形態では、低減のレベルは、１０倍～２０倍の間である。別の実施形態では、低減のレベルは、１１倍、１２倍、１３倍、１４倍、１５倍、１６倍、１７倍、１８倍、１９倍、または２０倍である。別の実施形態では、本明細書に開示される遺伝子治療用組成物は、患者に投与されたとき、毒性リピートＲＮＡの２０％～１００％分解をもたらす。一実施形態では、毒性リピートＲＮＡの％消失は、２０～９９％、２５％～９９％、５０％～９９％、８０％～９９％、９０％～９９％、９５％～９９％のいずれかである。一実施形態では、％消失は、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％である。別の実施形態では、％消失は、毒性リピートＲＮＡの完全消失または１００％消失である。

【０２０５】

本開示は、対象における疾患または障害を処置する方法であって、ＲＮＡ標的化核酸分

子（すなわち、本開示のｅｓｎＲＮＡ）、または本開示のｅｓｎＲＮＡを含むＡＡＶベクターを、投与するステップを含む方法を提供する。

【０２０６】

一部の態様では、疾患または障害は、毒性リピートＲＮＡ配列に関連する。一部の態様では、毒性リピートＲＮＡ配列は、ＣＡＧ、ＣＵＧ、ＧＧＣＣＣＣ、ＣＣＧＧＧ、またはＧＧＣＣＣ＋ＣＣＧＧＧＧ　ＲＮＡリピートである。

【０２０７】

一部の態様では、疾患または障害は、筋強直性ジストロフィー（ＤＭ１）またはハンチントン病（ＨＤ）である。

【０２０８】

一部の態様では、疾患または障害は、デュシェンヌ型筋ジストロフィーである。一部の態様では、ＲＮＡ標的化核酸分子またはＡＡＶベクターは、ジストロフィン（ＤＭＤ）をコードするＲＮＡ配列を標的とする。一部の態様では、ＤＭＤをコードするＲＮＡ配列は、イントロン配列またはエクソン配列を含む。一部の態様では、エクソン配列は、ＤＭＤのエクソン５１またはそのフランキング領域を含む。

【０２０９】

本開示の方法の一部の実施形態では、本開示の対象は、処置されることになる疾患の診断を受けている。一部の実施形態では、本開示の対象は、処置されることになる障害または疾患についての少なくとも１つの徴候または症状を示している。一部の実施形態では、本開示の対象は、疾患についての少なくとも１つの徴候または症状を示している。

【０２１０】

本開示の方法の一部の実施形態では、本開示の対象は、女性である。本開示の方法の一部の実施形態では、本開示の対象は、男性である。一部の実施形態では、本開示の対象は、２つの染色体ＸＸまたはＸＹを有する。一部の実施形態では、本開示の対象は、２つの染色体ＸＸまたはＸＹおよび第３の染色体、ＸまたはＹのいずれかを有する。

【０２１１】

本開示の方法の一部の実施形態では、本開示の対象は、新生児、乳児、小児、成人、年配成人、または高齢成人である。本開示の方法の一部の実施形態では、本開示の対象は、少なくとも１日齢、２日齢、３日齢、４日齢、５日齢、６日齢、７日齢、８日齢、９日齢、１０日齢、１１日齢、１２日齢、１３日齢、１４日齢、１５日齢、１６日齢、１７日齢、１８日齢、１９日齢、２０日齢、２１日齢、２２日齢、２３日齢、２４日齢、２５日齢、２６日齢、２７日齢、２８日齢、２９日齢、３０日齢または３１日齢である。本開示の方法の一部の実施形態では、本開示の対象は、少なくとも１カ月齢、２カ月齢、３カ月齢、４カ月齢、５カ月齢、６カ月齢、７カ月齢、８カ月齢、９カ月齢、１０カ月齢、１１カ月齢または１２カ月齢である。本開示の方法の一部の実施形態では、本開示の対象は、少なくとも１歳、２歳、３歳、４歳、５歳、６歳、７歳、８歳、９歳、１０歳、１５歳、２０歳、２５歳、３０歳、３５歳、４０歳、４５歳、５０歳、５５歳、６０歳、６５歳、７０歳、７５歳、８０歳、８５歳、９０歳、９５歳、１００歳またはその間の任意の年齢または部分年齢である。

【０２１２】

本開示の方法の一部の実施形態では、本開示の対象は、哺乳動物である。一部の実施形態では、本開示の対象は、非ヒト哺乳動物である。

【０２１３】

本開示の方法の一部の実施形態では、本開示の対象は、ヒトである。

【０２１４】

本開示の方法の一部の実施形態では、治療有効量は、単回用量の本開示の組成物を含む。一部の実施形態では、治療有効量は、少なくとも１用量の本開示の組成物を含む、治療有効量を含む。一部の実施形態では、治療有効量は、１用量または複数用量の本開示の組成物を含む、治療有効量を含む。

【０２１５】

本開示の方法の一部の実施形態では、治療有効量は、疾患または障害の徴候または症状を排除するものである。一部の実施形態では、治療有効量は、疾患または障害の徴候または症状の重症度を低下させるものである。

【０２１６】

本開示の方法の一部の実施形態では、治療有効量は、疾患または障害を排除するものである。

【０２１７】

本開示の方法の一部の実施形態では、治療有効量は、疾患または障害の発症を防止するものである。一部の実施形態では、治療有効量は、疾患または障害の発症を遅延させるものである。一部の実施形態では、治療有効量は、疾患または障害の徴候または症状の重症度を低下させるものである。一部の実施形態では、治療有効量は、対象の予後を改善するものである。

【０２１８】

本開示の方法の一部の実施形態では、本開示の組成物は、対象に脳内投与を介して投与される。一部の実施形態では、本開示の組成物は、対象に線条体内経路によって投与される。一部の実施形態では、本開示の組成物は、対象に定位固定注射または注入によって投与される。一部の実施形態では、組成物は、脳に投与される。本開示の方法の一部の実施形態では、本開示の組成物は、対象に局所的に投与される。

一部の実施形態では、本明細書に開示される組成物を医薬組成物として製剤化する。簡単に述べると、本明細書に開示される使用のための医薬組成物は、必要に応じて免疫直交性でもある、タンパク質（複数可）または必要に応じてＡＡＶ内に含められたタンパク質（複数可）をコードするポリヌクレオチドを、１つまたは複数の薬学的にまたは生理的に許容される担体、希釈剤または賦形剤と組み合わせて含み得る。そのような組成物は、緩衝液、例えば、中性緩衝食塩水、リン酸緩衝食塩水など；炭水化物、例えば、グルコース、マンノース、スクロースまたはデキストラン、マンニトール；タンパク質；ポリペプチドまたはアミノ酸、例えば、グリシン；抗酸化剤；キレート剤、例えば、ＥＤＴＡまたはグルタチオン；アジュバント（例えば、水酸化アルミニウム）；および保存剤を含み得る。本開示の組成物を、例えば、経口、経腸、局部、経皮、鼻腔内および／または吸入投与経路などの、投与経路用に、ならびに例えば、静脈内、筋肉内、軟膜下、くも膜下、実質内、くも膜下、線条体内、皮下、皮内、腹腔内、腫瘍内、静脈内、眼内および／または非経口投与などの、注射または注入による投与経路用に、製剤化することができる。ある特定の実施形態では、本開示の組成物は、脳内または線条体内投与用に製剤化される。

【実施例】

【０２１９】

（実施例１）

ＤＭ１細胞モデルにおけるＣＵＧリピートを標的とするｅｓｎＲＮＡ

材料および方法：

【０２２０】

ＣＴＧ４８０　ＨｅＬａ細胞を１２ウェルプレートに１００，０００細胞／ｍｌで播種した。翌日、リポフェクタミン（１試料当たり２μＬのＰ３０００および２．５μｌのリポフェクタミン）を使用してｓｎＲＮＡをトランスフェクトした。２４時間後、細胞をトリプシン処理し、細胞の１／２をＦＩＳＨのためにチャンバースライドに播種し、他の１／２をＲＮＡ解析のために２４ウェルプレートに播種した。

【０２２１】

翌日、ＲＮＡをＲＮＡ解析のために抽出し、細胞をＦＩＳＨのために固定した。ＦＩＳＨ　ＣＵＧフォーカスにＣＵＧ蛍光プローブで標識し、細胞核をＤＡＰＩで染色した。

【０２２２】

目的：操作されたステムループを含む操作されたｓｎＲＮＰが、ＤＭ１細胞モデルにおいて、ＣＵＧ伸長をノックダウンすることができるかどうか、ひいてはＲＮＡフォーカスの数を減少させるかどうかを判定すること。

【０２２３】
原理的説明：Ｕ７　ｓｎＲＮＡを、そのヒストンｍＲＮＡアニーリング配列を目的の標的と相補的な配列に置き換えることにより、ｍＲＮＡを標的とするようにプログラムすることができる。１５×ＣＡＧリピートを有するＵ７が、ＤＭ１を引き起こすＣＵＧリピート伸長を低減させることは、他者により示されている（Ｆｒａｎｃｏｉｓ　ｅｔ　ａｌ　ＮＳＭＢ　２０１１）。本発明者らは、細胞内のＵ７　ｓｎＲＮＡの二次構造をよりよく安定化するようにステムループ（配列番号１）を操作することによって、このｓｎＲＮＡ系を最適化した。本発明者らは、本発明者らの操作されたＵ７ステムループを、当技術分野において公知のＵ７ステムループ（Ｆｒａｎｃｏｉｓ　ｅｔ　ａｌ　ＮＳＭＢ　２０１１）と比較した。構築物は、１５×ＣＡＧリピートと、プログラムされたＵ７の安定化にさらに役立つ最適化されたＳｍ結合ドメインとを含有する。ＣＵＧ標的化構築物を試験して、それらが適切な細胞モデルにおいてＣＵＧリピートに結合し、それを遮断することによってＣＵＧフォーカスを枯渇させることができるかどうかを判定し、非標的化（ＮＴ）配列を含有するＵ７と比較した。図１Ａ～Ｄおよび２Ａ～Ｃを参照されたい。

【０２２４】
ＤＭ１をモデル化し、ｉｎ　ｓｉｔｕハイブリダイゼーションにより示されるＣＵＧフォーカスを発現させるために、構築物および対照を、４８０のＣＴＧリピートがＣＲＩＳＰＲによってそのゲノムに挿入されたＨｅＬａ（ＣＴＧ４８０）に、一過性にトランスフェクトした。細胞をチャンバースライドに播種して固定し、ＣＵＧのためのプローブおよび核染色のためのｄａｐｉを使用して細胞に対してＲＮＡ　ｉｎ　ｓｉｔｕハイブリダイゼーションを行った。ＣＵＧプローブおよびＤＡＰＩシグナルの共局在化を、Ｈａｌｏを使用して定量した。

【０２２５】
１５×ＣＡＧ　ｅｓｎＲＮＡ構築物での（ＣＵＧリピートを標的化／遮断するための）処理は、ＣＵＧ　ＲＮＡフォーカスを有意に減少させた。

【０２２６】
それらのそれぞれの非標的化対照と比較して、操作されていないｓｎＲＮＡおよびｅｓｎＲＮＡ構築物は、それぞれ、平均フォーカス数／細胞の３９％および６８％低減をもたらした。

【０２２７】
（実施例２）
ＣＡＧリピートを標的とするｅｓｎＲＮＡ
材料および方法：

【０２２８】
ＨＥＫ２９３Ｔ細胞を１２ウェルプレートに１５０，０００細胞／ｍｌで播種した。翌日、リポフェクタミン（１試料当たり２μＬのＰ３０００および２．５μｌのリポフェクタミン）を使用してｓｎＲＮＡをトランスフェクトした。ＣＡＧレポーター構築物（８０のＣＡＧリピートを含有する）と、ＣＡＧリピートを標的とするｓｎＲＮＡプラスミド（ＣＵＧ－１５と呼ぶ）または対照非標的化（ｎｔ）プラスミドの漸増用量（１００～１０００ｎｇ）とを、細胞にトランスフェクトした。

【０２２９】
トランスフェクションの４８時間後にＱｉａＣｕｂｅ　Ｃｏｎｎｅｃｔを使用してＲＮＡ解析のためにＲＮＡを抽出した。ｑＲＴ－ＰＣＲを行ってＣＡＧレポーターの発現レベルを検出し、ＧＡＰＤＨ参照遺伝子の発現レベルに対して正規化した。

【０２３０】
細胞の別のセットを、ｍｙｃタグ抗体を用いるウェスタンブロット解析に使用して、ポリＱ　ＣＡＧ含有レポーターのタンパク質レベルを検出した。ＧＡＰＤＨを負荷対照として使用した。

【０２３１】
目的：変異体ＨＴＴは、ＨＴＴのエクソン１におけるマイクロサテライトリピートの存

在によって引き起こされる。ここで、本発明者らは、操作されたステムループを含む操作されたｓｎＲＮＰがＣＡＧ８０レポーターアッセイにおいてＣＡＧマイクロサテライトリピートＲＮＡをノックダウンすることができるかどうかを詳しく調査した。

【０２３２】

原理的説明：

【０２３３】

Ｕ７　ｓｎＲＮＡを、そのヒストンｍＲＮＡアニーリング配列を目的の標的と相補的な配列に置き換えることにより、ｍＲＮＡを標的とするようにプログラムすることができる。ＣＡＧリピートを標的とするように再プログラムされたｅｓｎＲＮＡ系は、細胞内のＵ７　ｓｎＲＮＡの二次構造をよりよく安定化するために配列番号１のｅＳＬを含む。構築物は、ＣＡＧ伸長を標的化するために１５×ＣＵＧリピートを含有する。これらの構築物は、プログラムされたＵ７の安定化にさらに役立つ最適化されたＳｍ結合ドメインも含有した。ＣＡＧ標的化構築物を試験して、それらが、非標的化配列を含有するｅＳＬと比較してＣＡＧリピートおよびポリＱ含有タンパク質をノックダウンすることができるかどうかを判定した。

【０２３４】

検出可能なポリＱタンパク質の完全なノックダウンがＵ７の最高３用量によって達成された。ほぼ完全なノックダウンが最低Ｕ７用量で達成された。したがって、本発明者らは、ベースラインレベルへのＣＡＧ８０レポーターｍＲＮＡの用量依存的ノックダウンを本明細書において示す。図３Ａ～３Ｃを参照されたい。

【０２３５】

（実施例３）

ＵＳＨ２Ａミニ遺伝子エクソン１３スプライシングのｅｓｎＲＮＡモジュレーション

材料および方法：

【０２３６】

ＨＥＫ２９３Ｔ細胞を１２ウェルプレートに１５０，０００／ｍｌで播種した。翌日、５０ｎｇのＵＳＨ２Ａミニ遺伝子を、非標的化ｅｓｎＲＮＡまたはＵＳＨ２Ａエクソン１３標的化ｅｓｎＲＮＡを発現するｐｃＤＮＡとリポフェクタミンの合計２５０ｎｇ、５００ｎｇ、１ｕｇとともに、細胞にトランスフェクトした。

【０２３７】

細胞をトランスフェクションの４８時間後に回収した。ＲＮＡを、Ｑｉａｃｕｂｅ　ｃｏｎｎｅｃｔを使用して抽出し、逆転写し、半定量的ＰＣＲを、ＵＳＨ２Ａエクソン１２および１４にアニーリングするプライマーを用いて行った。

【０２３８】

Ｕ７の定量は、非標的化ｅｓｎＲＮＡにアニーリングするプライマーを用いてＰＣＲによって行った。

【０２３９】

原理的説明：ＵＳＨ２Ａエクソン１３の変異は、アッシャー症候群２Ａ型をもたらす。エクソン１３は、インフレームエクソンであり、治療戦略は、エクソン１３のスキッピングを含む。本発明者らは、ＵＳＨ２Ａのエクソン１３におけるエクソンスプライシングエンハンサーを標的とし、それにアニーリングし、エクソン１３の包含を阻止する、本明細書に開示されるｅＳＬを含むｅｓｎＲＮＡを設計した。ＵＳＨ２Ａエクソン１３を標的とする本発明者らのプログラムされたｅｓｎＲＮＡ系は、ミニ遺伝子における効率的エクソン１３スキッピングをもたらす。ＰＣＲ結果は、操作されていないＳＬと比較してｅｓｎＲＮＡ系のより高い定常状態レベルを示唆する。図４Ａ～４Ｄを参照されたい。図１Ａも参照されたい。

【０２４０】

（実施例４）

ＤＭ１患者筋管におけるｅｓｎＲＮＡ媒介ＣＵＧリピート遮断によるスプライシング修正

材料および方法：

【０２４１】
ＤＭＰＫの３’ＵＴＲに２６００のＣＵＧリピートを含有するＤＭ１患者筋管を１３日間分化させた後、１５×ＣＵＧリピートを標的とする本明細書に開示するｅＳＬを含むｅｓｎＲＮＡを導入した。ＲＮＡを処理の２４時間後に細胞から抽出し、ＲＮＡを逆転写し、半定量的ＰＣＲをＤＭ１疾患スプライシングバイオマーカーＬＤＢ３エクソン１１、ＢＩＮ１エクソン１１およびＤＭＤエクソン７８に対して行った。スプライシングアイソフォームの解析は、疾患アイソフォームと健康なアイソフォーム両方からの総シグナルに対する健康なスプライスアイソフォーム（ＬＤＢ３エクソン１１排除型、ＢＩＮ１エクソン１１包含型およびＤＭＤエクソン７８包含型）のパーセンテージを計算することによって行った。

【０２４２】
原理的説明：

【０２４３】
ＤＭ１は、ＭＢＮＬタンパク質を隔離し結果として選択的スプライシングの調節不全をもたらす、ＤＭＰＫ遺伝子の３’ＵＴＲのＣＵＧリピート伸長によって引き起こされる。本明細書に開示するｅＳＬを含むｅｓｎＲＮＡを、ＣＵＧ（１５×ＣＵＧ）を標的とするようにプログラムし、これは、非標的化対照と比較して３つの試験した疾患スプライシングバイオマーカー全てについて健康なスプライスアイソフォームの用量依存的増加をもたらした。図５Ａ～５Ｆを参照されたい。図２Ｃも参照されたい。

【０２４４】
（実施例５）
Ｕ７に基づくｅＳＬおよびＩＳＤにおける代替５’安定化モチーフの試験。
ＲＮＡフォーカスを低減させる点での代替５’相互作用安定化ドメイン（ＩＳＤ）を有するＣＵＧｘ１５標的化ｓｎＲＮＡの有効性を、ＣＴＧ４８０　ＨｅＬａ細胞への合成ｓｎＲＮＡトランスフェクション、続いてのＣＵＧ　ＲＮＡフォーカスについての蛍光ｉｎｓｉｔｕハイブリダイゼーションによって明らかにし、決定した。図６Ａ～６Ｂを参照されたい。（淡青色＝対応する５’ＩＳＤを有する代替の操作されたステムループ。濃青色＝選択された操作されたステムループおよび対応する５’ＩＳＤ。ｓＲ２２００４＝非標的化ｓｎＲＮＡ）。

【０２４５】
合成ｓｎＲＮＡのトランスフェクション後２４時間、４８時間および７２時間の時点での代替５’安定化ドメインを有する非標的化ｓｎＲＮＡの発現レベルを評価した。図７Ａ～７Ｂを参照されたい。ｓＲ２２００４は、全ての時点で最高の発現を有した。ｓＲ２２００８８は、検出可能な発現を有さなかった。００４に見出されたｅＳＬ／５’ＩＳＤを将来の構築物のために選択した。ｓＲ２２００４およびｓＲ２２００９１は、４８時間および７２時間の時点で発現を最も高度に保持していた。

【０２４６】
（実施例６）
ＰｏｌＩＩＩおよびＰｏｌＩＩプロモーターによるＵ７　ｓｎＲＮＡ有効性および発現
ｓｎＲＮＡ発現を、ＣＴＧ４８０　ＨｅＬａ細胞において、ｓｎＲＮＡ発現が異なるヒトＰｏｌＩＩＩおよびＰｏｌＩＩプロモーターにより駆動された場合にｑＰＣＲによって評価した。図８を参照されたい。Ｕ１プロモーターは、最高レベルのｓｎＲＮＡを駆動し、これにＵ７プロモーターが続いた。ＰｏｌＩＩＩプロモーターＵ６および７ＳＫは、低い発現を有し、ＰｏｌＩＩＩ　ｔＲＮＡプロモーターは、最低の発現を有した。

【０２４７】
ＣＵＧフォーカス定量をＣＴＧ４８０　ＨｅＬａ細胞においてＲＮＡ　ＦＩＳＨによって評価した。図９Ａ～９Ｂを参照されたい。Ｕ１およびＵ７プロモーターのみが、ＣＵＧフォーカスの数を低減させる点で明らかに効果があり、Ｕ１のほうがＵ７よりも効果があった（青色＝ＣＵＧ標的化；灰色＝非標的化）。

【表４４】

UID	プロモーター、標的
P03490	tRNA (CUGx15)
P03462	U6 (CUGx15)
P03465	7SK (CUGx15)
P03557	U1 (CUGx15)
P02225	U7 (CUGx15)
P03491	tRNA (nt)
P03463	U6 (nt)
P03466	7SK (nt)
P03561	U1 (nt)
P02313	U7 (nt)

【０２４８】
ｓｎＲＮＡ発現をＨＥＫ２９３Ｔ細胞においてｑＰＣＲによって決定した（図１０を参照されたい）。ＰｏｌＩＩＩプロモーターのもとでのＵ７　ｓｎＲＮＡの発現は、ＳｍＯｐｔがＵ１　Ｓｍ結合部位に変換されたとき最高で２５×増加した。ＰｏｌＩＩ　Ｕ１およびＵ７プロモーターによる発現は、Ｓｍ部位がＵ１　Ｓｍに変換されたとき減少した。Ｕ１およびＵ７プロモーターによる発現は、Ｐｏｌ　ＩＩＩプロモーターに勝る。
【０２４９】
ＨＥＫ２９３Ｔ細胞へのｓｎＲＮＡトランスフェクションを行った。図１１Ａ～１１Ｂを参照されたい。ここではｚｎｔ　ｅｓｎＲＮＡおよびｚ３８　ｅｓｎＲＮＡ発現を別個のｓｎＲＮＡプロモーターによって駆動した。これらの構築物をＨＥＫ２９３Ｔ細胞にトランスフェクトした。トランスフェクションの４８時間後、ＲＮＡを抽出し、ｃＤＮＡを作製した。各々のｓｎＲＮＡ（ｚ）に対して特異的なプライマーをｑＰＣＲに使用して、ｓｎＲＮＡ発現および相対プロモーター強度を決定した。
【０２５０】
（実施例７）
ｅｓｎＲＮＡ構築物は患者筋管におけるエクソン５１のＤＭＤエクソンスキッピングをもたらす。
本明細書に開示するｓｎＲＮＡによるヒトデルタエクソン５２筋管への形質導入を行った。図１２Ａ～１２Ｂを参照されたい。増幅プライマーを使用するバンド強度の定量によってエクソン５１スキッピング％を決定した。
【０２５１】
ヒトデルタエクソン５２筋管に、本明細書に開示するｓｎＲＮＡを有するＡＡＶ９によって形質導入した。免疫蛍光検査をデスミンおよびジストロフィンに対して行った。エクソン５１標的化ｓｎＲＮＡでの処置後にジストロフィンを検出することができる。図１３Ａ～１３Ｂを参照されたい。
【０２５２】
（実施例８）
エクソン５１スキッピング骨格筋管およびＤＭＤマウスモデル
エクソン５２が欠失しているヒト骨格筋管に、エクソンスプライシングエンハンサー（ＥＳＥ）を標的とする融合アンチセンス配列（ｚ７３＝ｚ３８／ｚ４２およびｚ１８７＝ｚ４２／ｚ３８）を有するエクソン５１ＲＮＡ標的化ｓｎＲＮＡをトランスフェクトした

。低用量のｓｎＲＮＡのトランスフェクションの２４時間後、エクソン５１スキッピングレベルを定量した（テープステーション画像　図１５Ａ）。ヒト骨格筋管（ＤＭＤエクソン５２が欠失している）にＡＡＶ９－Ａ０４５２６（２×ｚ７３）およびＡ０４５６９（２×ｚ１８７）によって形質導入した。筋管に、７日間、２．５ｅ４、１ｅ５および５ｅ５のＭＯＩで形質導入した。ＡＡＶ９に基づくエクソン５１スキッピングを定量した（図１５Ｂ）。エクソン５２が欠失しているｈＤＭＤ（ｄｅｌ５２ｈＤＭＤ／ｍｄｘ）を有するマウスにＡ０４５２６およびＡ０４５６９の３ｅ１２ベクターゲノムを後眼窩注射した。３週間生存後、ＲＮＡを前脛骨筋（ＴＡ）、腓腹筋（Ｇｃ）および心臓から抽出した。半定量的ＲＴ－ＰＣＲを行って、エクソン５１包含および排除バンドを検出した。（図１５Ｃ）は、ヒト化ＤＭＤマウスモデルにおけるエクソン５１スキッピングの定量を示す。ｄｅｌ５２ｈＤＭＤ／ｍｄｘマウスの腓腹筋への３ｅ１１ｖｇ／筋肉用量のＡ０４５２６またはエクソン５１　ＥＳＥ標的化モルフォリノ（ＶｉＭ）の筋肉内送達。図１５Ｄは、４週間後のジストロフィン陽性線維の定量を示す。野生型ヒトジストロフィンを発現するｈＤＭＤ／ｍｄｘマウス（灰色の棒）は、ジストロフィン発現の陽性対照としての役割を果たす。Ｕ＝未処置。

【０２５３】

（実施例９）

ＤＭ１患者由来の筋管におけるＡＡＶ９に基づくスプライシング逆転およびＣＵＧリピートノックダウン

ＤＭ１患者線維芽細胞をｍｙｏＤアデノウイルスベクターによる形質導入によって筋管に分化させた（５日間）。筋管にＡ０４２３３およびＡ０４２３４（ＣＵＧリピートを標的とする二重ｓｎＲＮＡカセットを有するｓｃＡＡＶ９）の５ｅ４、２ｅ５および１ｅ６のＭＯＩで形質導入し、形質導入の７日後に筋管を回収した。患者由来の筋管（１７００のＣＵＧリピートを含有する）におけるＣＵＧリピートを標的とするＵ７　ｓｎＲＮＡでの処置後のＤＭＤおよびＬＢＤ３　ＲＮＡのスプライシング逆転ならびにＤＭＰＫのノックダウン。図１６Ａ～Ｄを参照されたい。細胞核をＤＡＰＩで染色し、ＣＵＧ標識プローブを用いてＣＵＧ　ＦＩＳＨを行った。細胞を形質導入の７日後に１細胞当たりのＣＵＧフォーカスの平均数の定量のために処理した。図１７Ａ～Ｂを参照されたい。

【０２５４】

（実施例１０）

ＨＤ患者細胞およびＨＤマウスモデルにおけるＡＡＶ９に基づくＨＴＴノックダウン

ＨＤ患者ｉＰＳｃ（６６のＣＡＧリピートを含有する）を、２週間、皮質ニューロンに分化させ、次いでさらに２週間、ＡＡＶ－Ａ０４３９０　ｓｎＲＮＡベクター（ＣＡＧリピートを標的とする２×ｓｎＲＮＡカセット）の２つの異なるＭＯＩで形質導入した。次いで、皮質ニューロンを回収し、変異型可溶性ＨＴＴをＭｅｓｏ　ｓｃａｌｅ　ｄｉｓｃｏｖｅｒｙイムノアッセイによって定量した。図１８Ａ～１８Ｃを参照されたい。次いで、Ｒ６／２　ＨＤマウスモデルにおいてＣＡＧリピートを標的とするｉｎ　ｖｉｖｏ研究を計画した。ＣＡＧリピートを標的とするＡＡＶ－ｓｎＲＮＡベクター（Ａ０３０８１；ＡＡＶｒｈ１０－ｓｎＲＮＡ（ＣＡＧｘ１５　ＴＳを有する４×ｓｎＲＮＡ））を２ｅ１０ベクターゲノムで線条体内投与し、処置後の変異型可溶性ＨＴＴタンパク質を、未処置およびｓｎＲＮＡ処置マウス（ｎ＝１０）に関するＭｅｓｏ　ｓｃａｌｅ　ｄｉｓｃｏｖｅｒｙイムノアッセイ（ＭＳＤ）によって定量した。図１９Ａ～Ｂを参照されたい。

【０２５５】

（実施例１１）

ネイティブなステムループｓｎＲＮＡベクターと比較して高い操作されたステムループｓｎＲＮＡベクターによる発現レベル

ＣＨＯ－Ｌｅｃ２細胞にＡＡＶ９－Ａ０４５２７ベクター（ＤＭＤエクソン５１　ＥＳＥを標的とするｚ３８／４２を発現するネイティブなステムループ）またはＡＡＶ９－Ａ０４５２６ベクター（ＤＭＤエクソン５１　ＥＳＥを標的とするｚ３８／４２を発現する操作されたステムループ）によって１ｅ６のＭＯＩで形質導入した。ｚ３８／４２の発現

は、ネイティブなステムループｓｎＲＮＡベクターによって形質導入された細胞におけるｚ３８／４２の発現と比較して、操作されたｓｎＲＮＡベクターによって形質導入された細胞におけるほうが高かった。図２０Ａ～Ｂを参照されたい。

参照による組込み

【０２５６】

あらゆる相互参照されるまたは関連する特許または出願を含めた、本明細書において引用されているあらゆる文書は、明白に排除されるまたは他のやり方で限定される場合を除き、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。いずれの文書の引用も、それが本明細書に開示されるもしくは具体化されるあらゆる発明に対して先行技術であること、または、単独で、もしくは任意の他の参考文献（複数可）との任意の組合せで、あらゆるそのような発明を教示、示唆もしくは開示するものであることを認めるものではない。さらに、本文書における用語のいずれかの意味または定義が参照により組み込まれる文書における同じ用語のいずれかの意味または定義と矛盾する範囲では、本文書におけるその用語に割り当てられた意味または定義が支配するものとする。

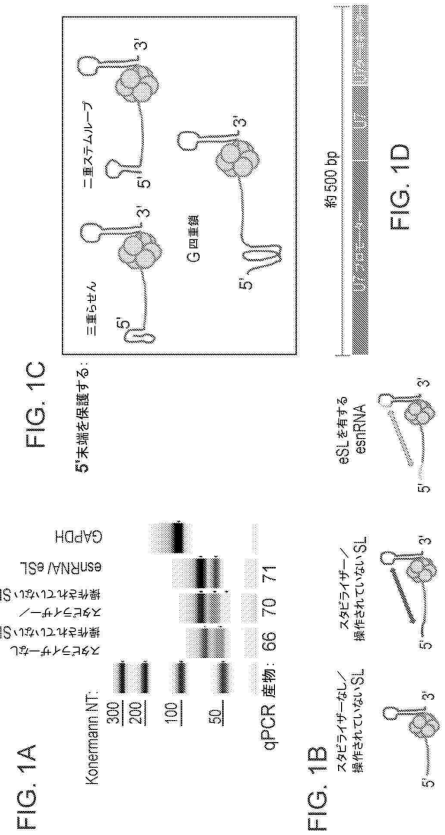
他の実施形態

【０２５７】

本開示の特定の実施形態を例示し、記載したが、種々の他の変更および改変を本開示の主旨および範囲から逸脱することなく行うことができる。添付の特許請求の範囲は、本開示の範囲内に入るそのような変更および改変の全てを包含する。

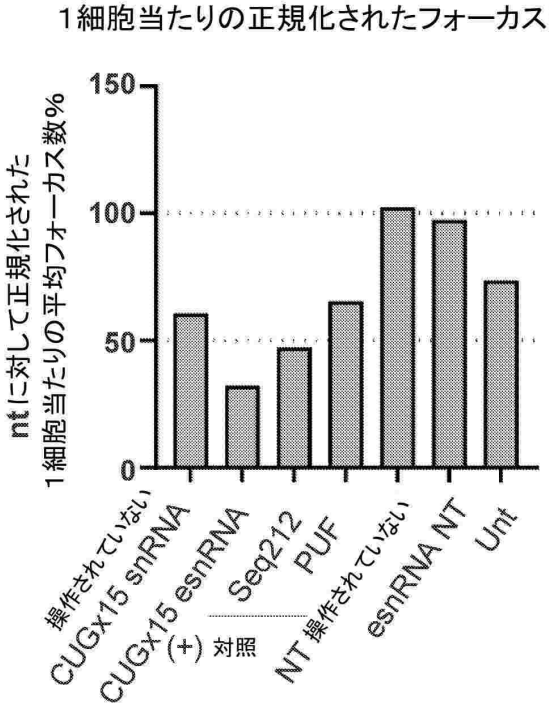
【図面】

【図１】



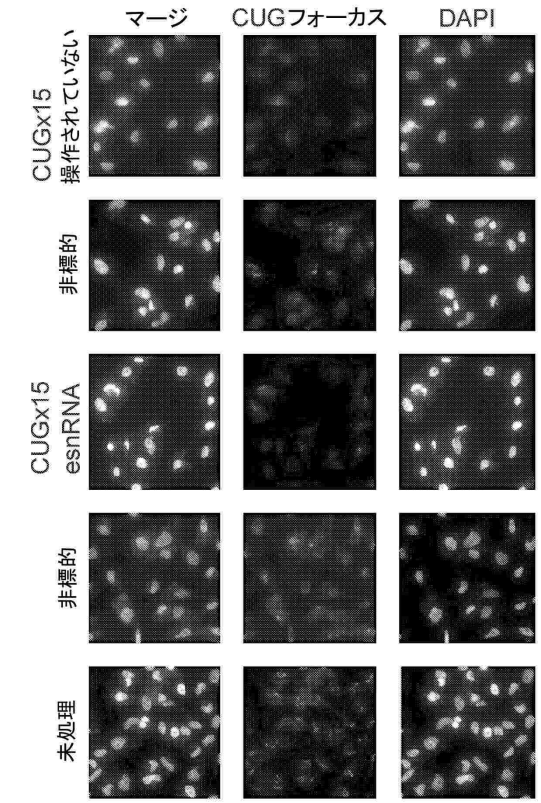
【図２Ａ】

FIG. 2A



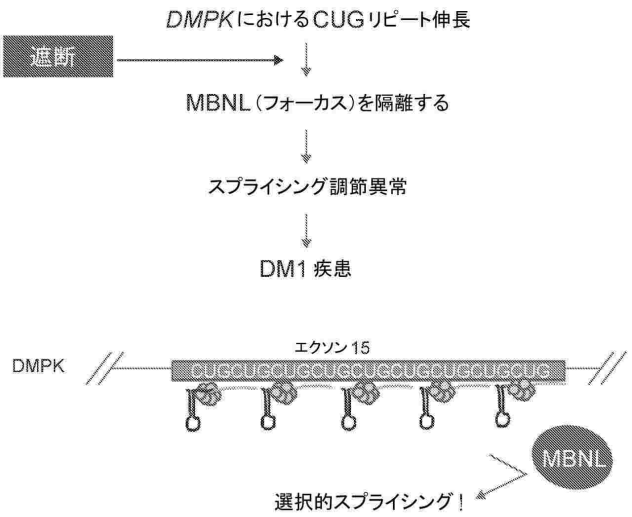
【図２Ｂ】

FIG. 2B

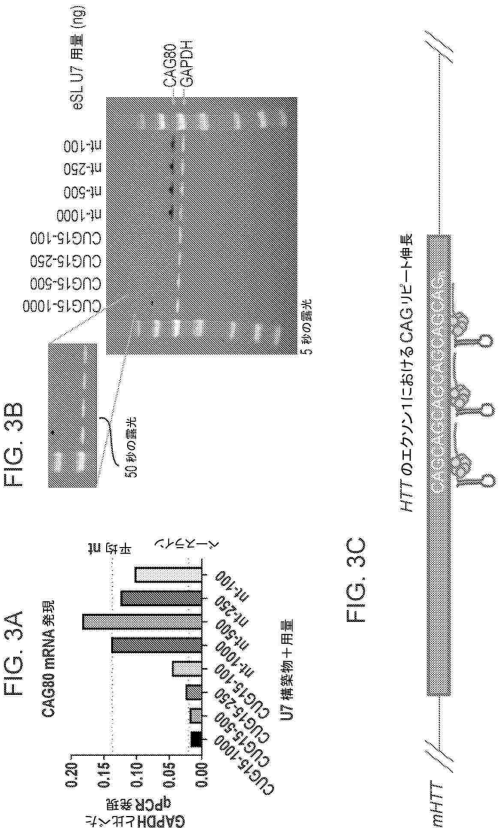


【図２Ｃ】

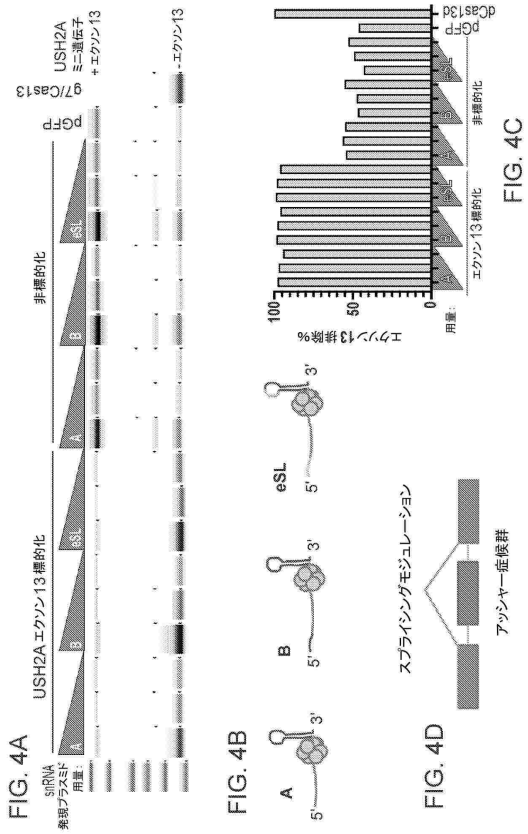
FIG. 2C



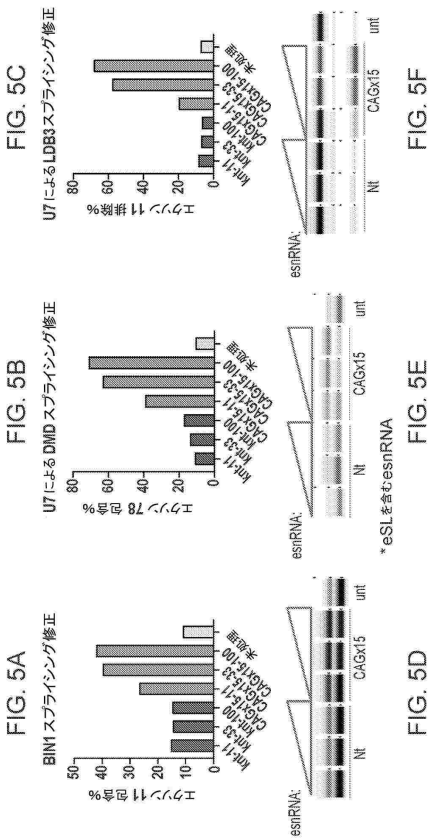
【図３】



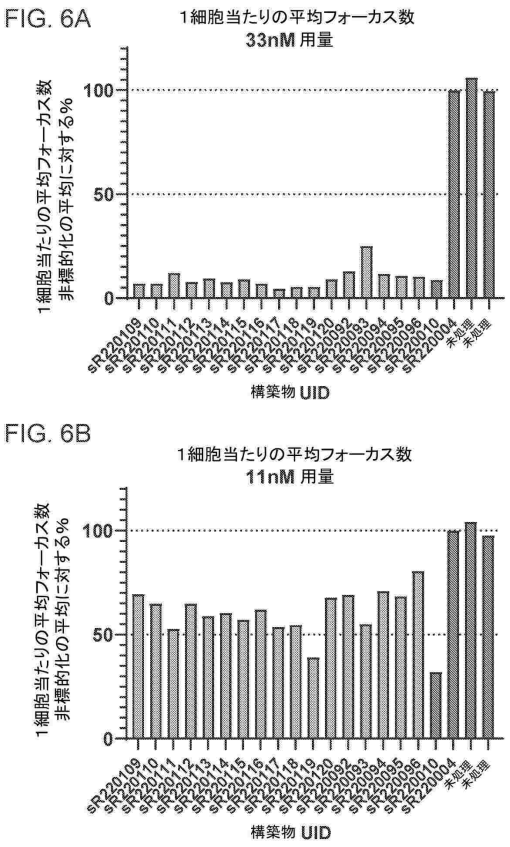
【図４】



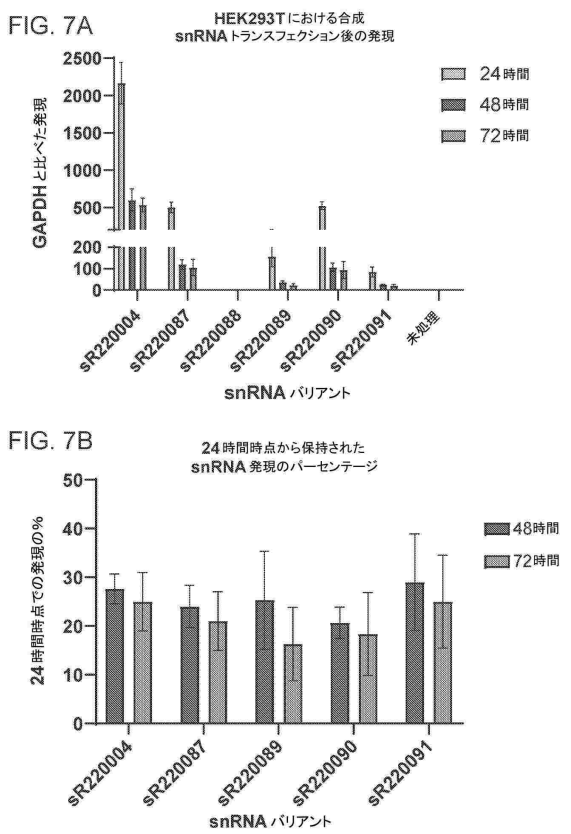
【図５】


FIG. 5C
U7によるLDB3スプライシング修正
エクソン11 排除%
FIG. 5F
FIG. 5B
U7によるDMD スプライシング修正
エクソン78 含有%
FIG. 5E
*eSLを含むesnRNA
FIG. 5A
BIN1スプライシング修正
エクソン11 包含%
FIG. 5D
esnRNA:
unt
CAGx15
Nt
未処理
Mut-17
Mut-33
Mut-100
CAGxT15-17
CAGxT15-33
CAGxT15-100

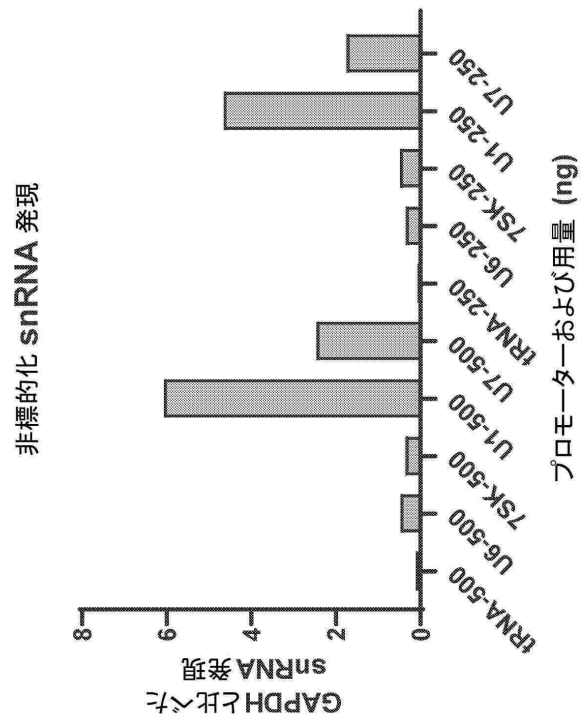
【図６】


FIG. 6A
1細胞当たりの平均フォーカス数
33nM 用量
1細胞当たりの平均フォーカス数
非標的化の平均に対する%
構築物 UID
FIG. 6B
1細胞当たりの平均フォーカス数
11nM 用量
1細胞当たりの平均フォーカス数
非標的化の平均に対する%
構築物 UID

【図７】


FIG. 7A
HEK293Tにおける合成
snRNAトランスフェクション後の発現
GAPDHと比べた発現
24時間
48時間
72時間
snRNA バリアント
FIG. 7B
24時間時点から保持された
snRNA発現のパーセンテージ
24時間時点での発現の%
48時間
72時間
snRNA バリアント

【図８】


FIG. 8
非標的化 snRNA 発現
GAPDHと比べた
snRNA発現
プロモーターおよび用量 (ng)

【図９】

FIG. 9A

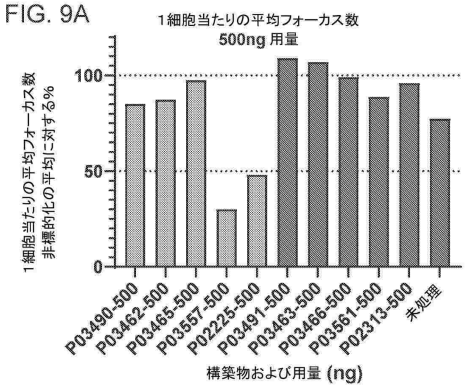
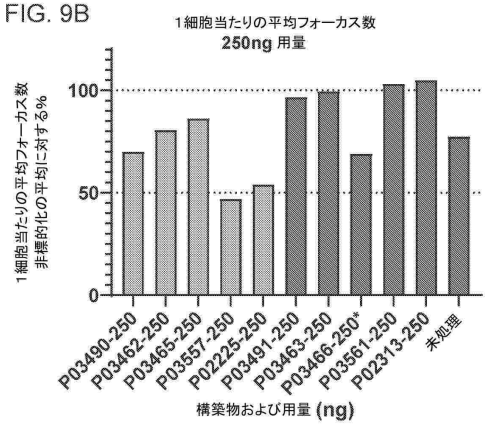
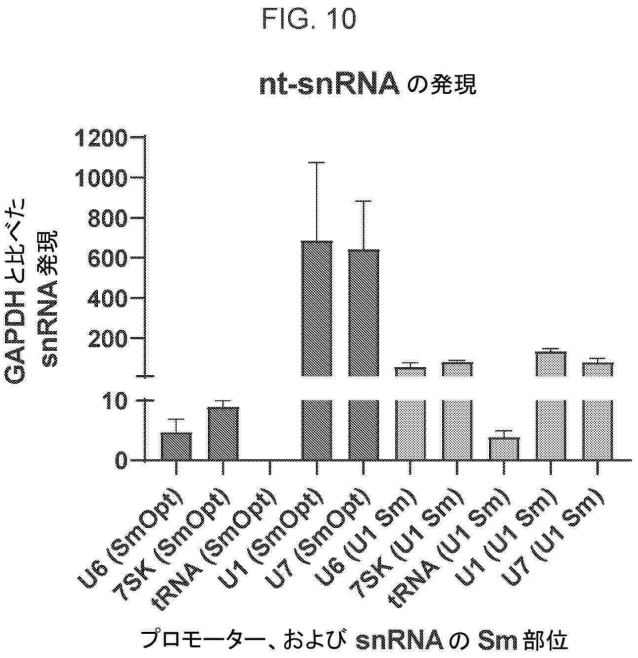


FIG. 9B



【図１０】

FIG. 10



【図１１】

FIG. 11B

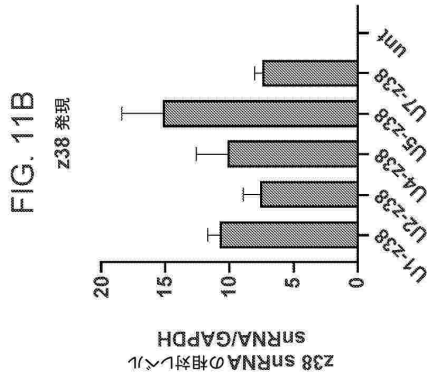
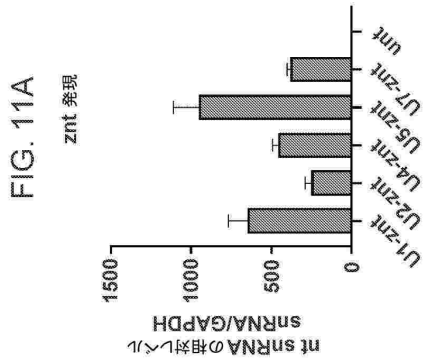
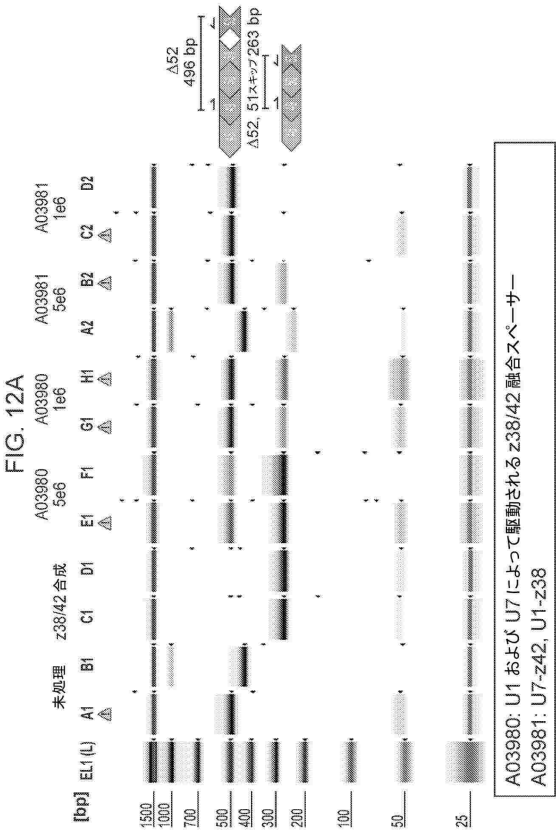


FIG. 11A

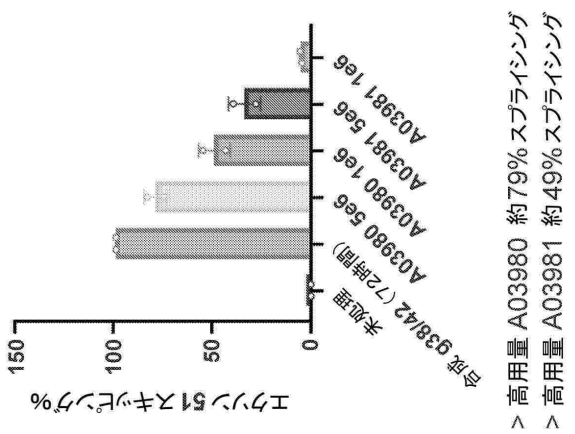


【図１２Ａ】

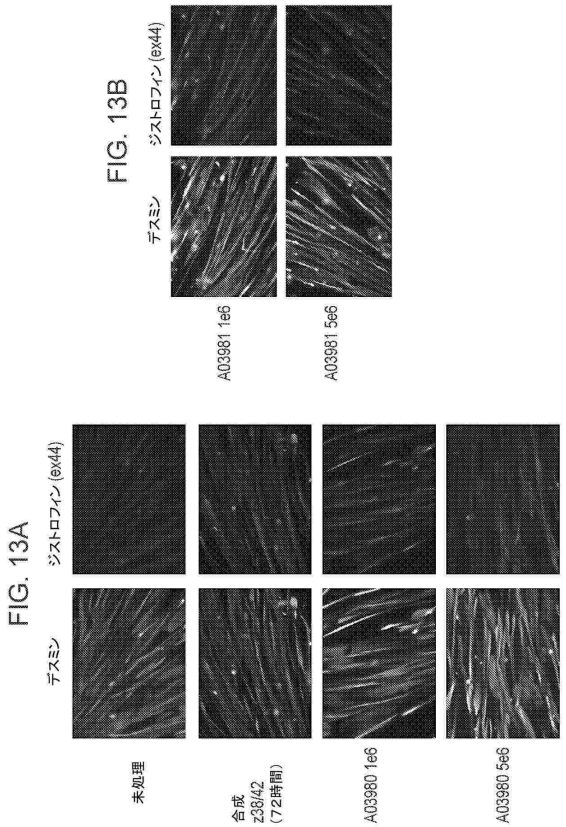
FIG. 12A



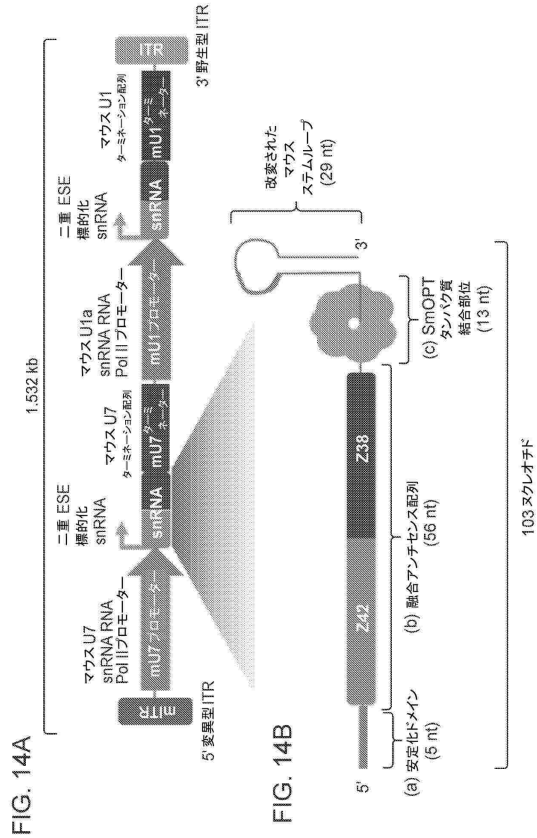
【図１２Ｂ】



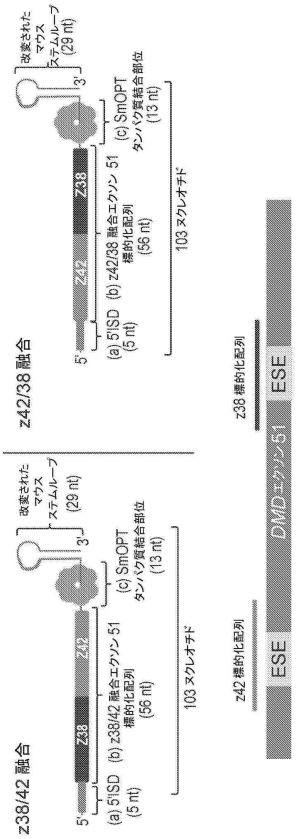
【図１３】



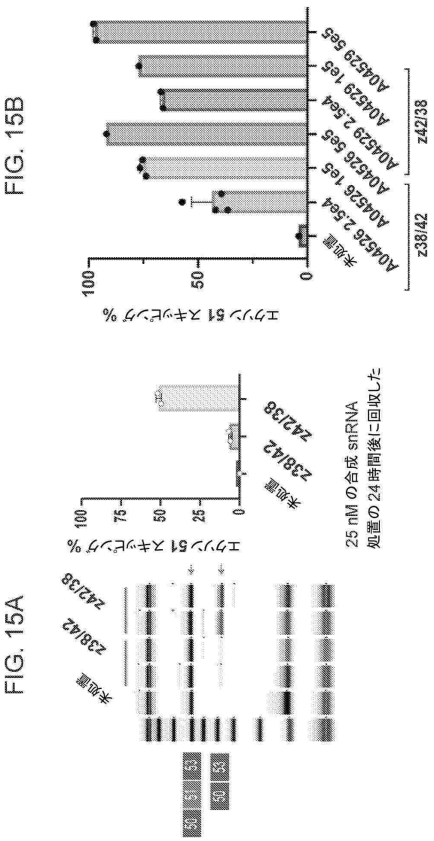
【図１４Ａ Ｂ】



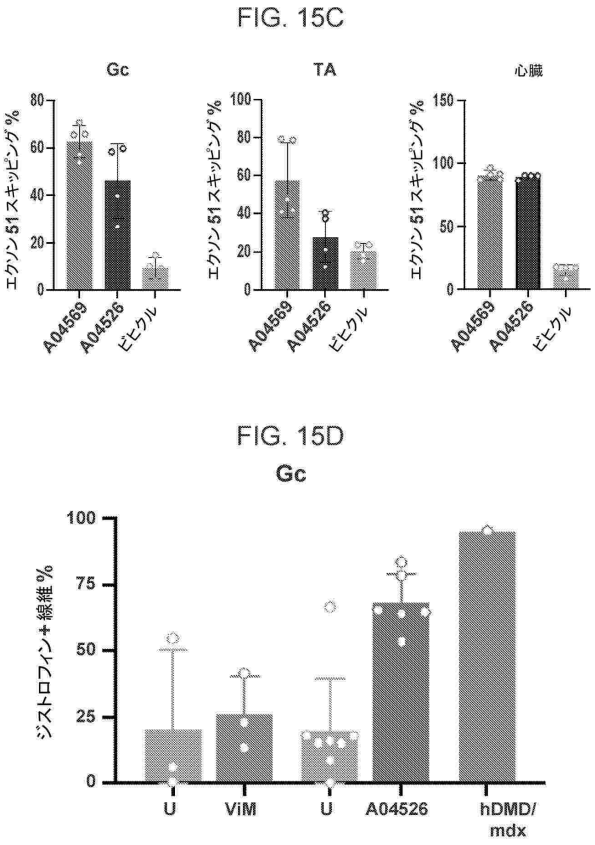
【図１４Ｃ】



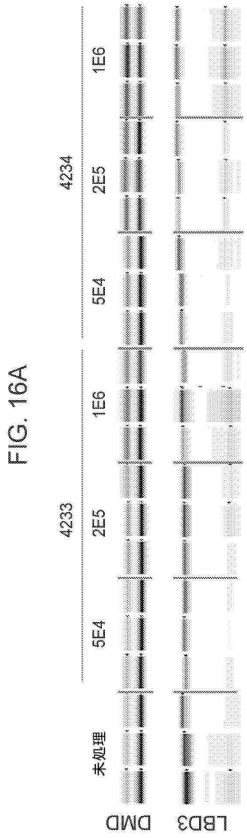
【図１５ＡＢ】



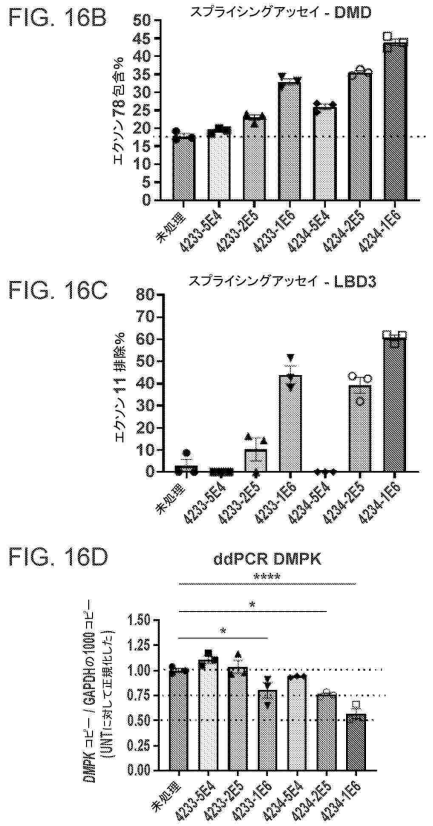
【図１５ＣＤ】



【図１６Ａ】



【図１６ＢＣＤ】



【図１７】

FIG. 17A

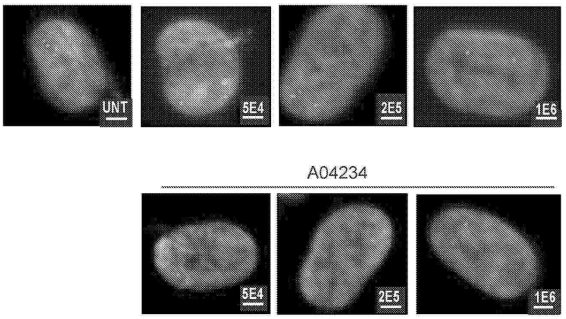
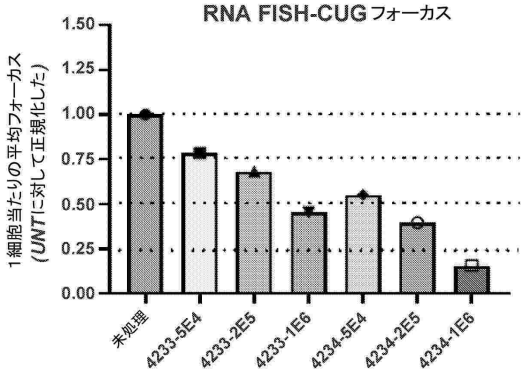


FIG. 17B



【図１８】

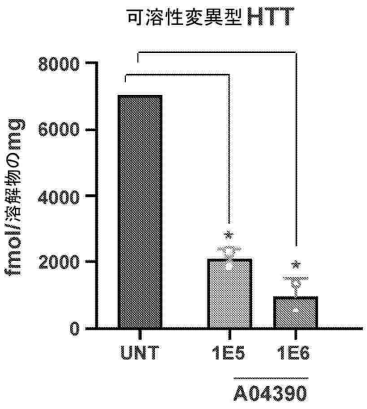
FIG. 18A

ベクター	MOI	読み出し情報
A04390: hU7p_U7CAG15_ hU1p_U7CAG15 snRNA	MOI 1e6, 1e5	形質導入の2週間後の可溶性HTTについてのMSD

FIG. 18B



FIG. 18C



【図１９】

FIG. 19B

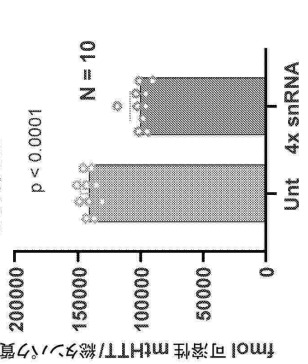
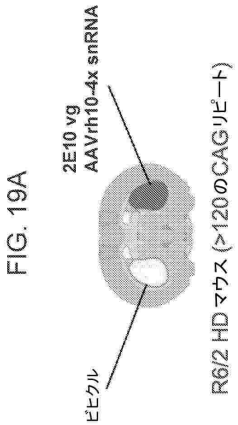


FIG. 19A



【図２０】

FIG. 20B

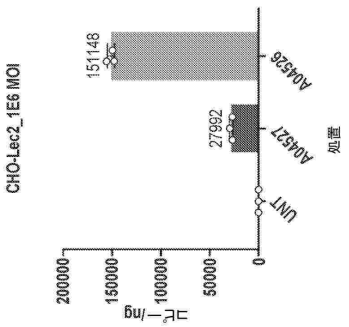
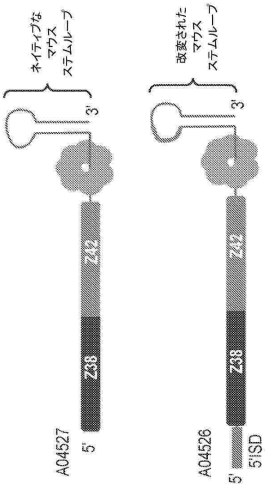


FIG. 20A



【配列表】
20255079580000001.xml

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2023/063798

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. C12N15/11 C12N15/113 A61K31/7088 A61P21/00
ADD.

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)
C12N A61K A61P

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

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
EPO-Internal, WPI Data, BIOSIS, Sequence Search, EMBASE, EMBL, CHEM ABS Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 2021/216853 A1 (SHAPE THERAPEUTICS INC [US]) 28 October 2021 (2021-10-28) paragraphs [0026], [0075], [0108], [0204], [0241]; claims 1,2,23,24,41-51; figure 7; example 6; sequences 43,85	1-27, 29-37

-/--

[x] Further documents are listed in the continuation of Box C. [x] See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance;; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance;; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
16 June 2023	14/08/2023

Name and mailing address of the ISA/	Authorized officer
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Bucka, Alexander

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2023/063798

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	KOLEV NIKOLAY G ET AL: "In vivo assembly of functional U7 snRNP requires RNA backbone flexibility within the Sm-binding site", NATURE STRUCTURAL & MOLECULAR BIOLOGY, vol. 13, no. 4, 19 March 2006 (2006-03-19), pages 347-353, XP093048357, New York ISSN: 1545-9993, DOI: 10.1038/nsmb1075 Retrieved from the Internet: URL:http://www.nature.com/articles/nsmb1075> figures 1,3 -----	1-27, 29-37
A	EZZEDDINE NADER ET AL: "A Subset of Drosophila Integrator Proteins Is Essential for Efficient U7 snRNA and Spliceosomal snRNA 3'-End Formation", MOLECULAR AND CELLULAR BIOLOGY, vol. 31, no. 2, 15 November 2010 (2010-11-15), pages 328-341, XP093049747, DOI: 10.1128/MCB.00943-10 Retrieved from the Internet: URL:https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3019983/pdf/0943-10.pdf> figures 1,3 -----	1-27, 29-37
Y	WO 2020/214763 A1 (SAREPTA THERAPEUTICS INC [US]) 22 October 2020 (2020-10-22) claims 1-17; sequence 4 -----	1-27, 29-37
A	GOYENVALLE AURELIE ET AL: "Engineering Multiple U7snRNA Constructs to Induce Single and Multiexon-skipping for Duchenne Muscular Dystrophy", MOLECULAR THERAPY, ELSEVIER INC, US, [Online] vol. 20, no. 6, 21 February 2012 (2012-02-21), pages 1212-1221, XP008158627, ISSN: 1525-0016, DOI: 0.1038/MT.2012.26 Retrieved from the Internet: URL:http://www.nature.com/mt/index.html> [retrieved on 2012-02-21] figures 2,5; table 1 ----- -/--	1-27, 29-37

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2023/063798

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	BUCHOLC KATARZYNA ET AL: "Composition and processing activity of a semi-recombinant holo U7 snRNP", NUCLEIC ACIDS RESEARCH, vol. 48, no. 3, 10 December 2019 (2019-12-10), pages 1508-1530, XP055846556, GB ISSN: 0305-1048, DOI: 10.1093/nar/gkz1148 Retrieved from the Internet: URL:http://academic.oup.com/nar/article-pdf/48/3/1508/32788657/gkz1148.pdf> figures 2,4 -& Bucholc Katarzyna ET AL: "SUPPLEMENTARY DATA: Composition and processing activity of a semi-recombinant holo U7 snRNP", Nucleic Acids Research, 10 December 2019 (2019-12-10), XP093049681, Retrieved from the Internet: URL:https://academic.oup.com/nar/article-lookup/doi/10.1093/nar/gkz1148#supplementary-data [retrieved on 2023-05-25] figures S3, S4	1-27, 29-37
A	MARTELLY WILLIAM ET AL: "Synergistic roles for human U1 snRNA stem-loops in pre-mRNA splicing", RNA BIOLOGY, vol. 18, no. 12, 9 June 2021 (2021-06-09), pages 2576-2593, XP093049691, ISSN: 1547-6286, DOI: 10.1080/15476286.2021.1932360 figures 1,2	1-27, 29-37
Y	MARZ MANJA ET AL: "U7 snRNAs: A Computational Survey", GENOMICS PROTEOMICS AND BIOINFORMATICS, vol. 5, no. 3, 8 February 2008 (2008-02-08), pages 187-195, XP029707162, ISSN: 1672-0229, DOI: 10.1016/S1672-0229(08)60006-6 figures 3,4	1-27, 29-37
A	WO 2011/113889 A1 (ASS INST DE MYOLOGIE [FR]; GARCIA LUIS [FR] ET AL.) 22 September 2011 (2011-09-22) claims 1-25; figures 2,8	1-27, 29-37

-/--

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2023/063798

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	DE ANGELIS F G ET AL: "Chimeric snRNA molecules carrying antisense sequences against the splice junctions of exon 51 of the dystrophin pre-mRNA induce exon skipping and restoration of a dystrophin synthesis in Delta 48-50 DMD cells", PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES,, vol. 99, no. 14, 9 July 2002 (2002-07-09), pages 9456-9461, XP008115971, DOI: 10.1073/PNAS.142302299 figures 1,4,5	1-27, 29-37
A	SHUKLA GIRISH C. ET AL: "The intramolecular stem-loop structure of U6 snRNA can functionally replace the U6atac snRNA stem-loop", RNA, vol. 7, no. 1, 7 February 2001 (2001-02-07), pages 94-105, XP093048359, US ISSN: 1355-8382, DOI: 10.1017/S1355838201000218 figures 2,4,5,7	1-27, 29-37
A	GADGIL ANKUR ET AL: "U7 snRNA: A tool for gene therapy", THE JOURNAL OF GENE MEDICINE, vol. 23, no. 4, 23 February 2021 (2021-02-23), XP093048311, US ISSN: 1099-498X, DOI: 10.1002/jgm.3321 Retrieved from the Internet: URL:https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full-xml/10.1002/jgm.3321> figures 3,4	1-27, 29-37

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2023/063798

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. [X] forming part of the international application as filed.

   b. [ ] furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search (Rule 13*ter*.1(a)).

      [ ] accompanied by a statement to the effect that the sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed.

2. [ ] With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, this report has been established to the extent that a meaningful search could be carried out without a WIPO Standard ST.26 compliant sequence listing.

3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2023/063798

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.:
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:

see additional sheet

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 an 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.:

1-27, 29-37(all partially)

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.

Form PCT/ISA/210 (continuation of first sheet (2)) (April 2005)

International Application No. PCT/US2023/063798

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

This International Searching Authority found multiple (groups of) inventions in this international application, as follows:

1. claims: 1-27, 29-37(all partially)

An RNA-targeting nucleic acid molecule comprising an engineered snRNA esnRNA, wherein the esnRNA system comprises an engineered stem loop (eSL) comprising the nucleic acid sequence of SEQ ID NO: 1.

2-35. claims: 1-27, 29-37(all partially)

An RNA-targeting nucleic acid molecule comprising an engineered snRNA esnRNA, wherein the esnRNA system comprises an engineered stem loop (eSL), wherein in each separate invention the eSL is selected from an eSL comprising one of the nucleic acid sequences selected from SEQ ID NO: 2-11, 146-148, 163 and 186-205.

---

36. claim: 28

A DMD exon 51 RNA-targeting nucleic acid molecule comprising a spacer sequence set forth in any one of SEQ ID NO: 206 - SEQ ID NO: 230.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/US2023/063798

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2021216853 A1	28-10-2021	AU 2021261374 A1	13-10-2022
		CA 3173012 A1	28-10-2021
		CN 115777020 A	10-03-2023
		EP 4139453 A1	01-03-2023
		JP 2023523237 A	02-06-2023
		US 2023203483 A1	29-06-2023
		WO 2021216853 A1	28-10-2021
WO 2020214763 A1	22-10-2020	EP 3955966 A1	23-02-2022
		JP 2022528725 A	15-06-2022
		US 2022193246 A1	23-06-2022
		WO 2020214763 A1	22-10-2020
WO 2011113889 A1	22-09-2011	CA 2792696 A1	22-09-2011
		EP 2547768 A1	23-01-2013
		ES 2566553 T3	13-04-2016
		JP 5894543 B2	30-03-2016
		JP 2013521791 A	13-06-2013
		US 2013045538 A1	21-02-2013
		WO 2011113889 A1	22-09-2011

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (April 2005)

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	*1/19 (2006.01)*	C12N	1/19	
C12N	*1/21 (2006.01)*	C12N	1/21	
C12N	*5/10 (2006.01)*	C12N	5/10	
A61K	*31/7105(2006.01)*	A61K	31/7105	
A61P	*21/04 (2006.01)*	A61P	21/04	
A61P	*25/14 (2006.01)*	A61P	25/14	
A61K	*35/76 (2015.01)*	A61K	35/76	
A61K	*48/00 (2006.01)*	A61K	48/00	

,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,ME,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,CV,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,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,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

弁護士　山本 健策

(72)発明者　ラルデリ マークミラー， レア
アメリカ合衆国 カリフォルニア ９２１２１， サンディエゴ， ジョン ホプキンズ コート ３５４５， スイート ２００， ロックアネイビオ， インコーポレイテッド 気付

(72)発明者　ロス， ダニエラ
アメリカ合衆国 カリフォルニア ９２１２１， サンディエゴ， ジョン ホプキンズ コート ３５４５， スイート ２００， ロックアネイビオ， インコーポレイテッド 気付

(72)発明者　ノーランド， ダニエル エー．
アメリカ合衆国 カリフォルニア ９２１２１， サンディエゴ， ジョン ホプキンズ コート ３５４５， スイート ２００， ロックアネイビオ， インコーポレイテッド 気付

(72)発明者　バトラ， ランジャン
アメリカ合衆国 カリフォルニア ９２１２１， サンディエゴ， ジョン ホプキンズ コート ３５４５， スイート ２００， ロックアネイビオ， インコーポレイテッド 気付

(72)発明者　アダムス， レイチェル エー．
アメリカ合衆国 カリフォルニア ９２１２１， サンディエゴ， ジョン ホプキンズ コート ３５４５， スイート ２００， ロックアネイビオ， インコーポレイテッド 気付

Fターム（参考）　4B065　AA91X AA93X AB01 AB04 AC20 BA05 CA44 CA46
4C084　AA13 MA55 MA58 MA66 NA14 ZA02 ZA94
4C086　AA01 AA02 AA03 EA16 MA01 MA04 MA55 MA58 MA66 NA14 ZA02 ZA94
4C087　AA01 AA02 BB65 BC83 CA12 MA55 MA58 MA66 NA14 ZA02 ZA94