(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2023-0018378
(43) 공개일자 2023년02월07일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C12N 15/86 (2006.01) *A61K 35/28* (2015.01)
A61K 38/19 (2006.01) *A61K 48/00* (2006.01)
A61P 25/28 (2006.01) *A61P 35/00* (2006.01)
A61P 37/00 (2006.01) *C07K 14/47* (2006.01)
C07K 14/535 (2006.01) *C07K 14/54* (2006.01)
C07K 14/57 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C12N 15/86 (2013.01)
A61K 35/28 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2022-7041496
(22) 출원일자(국제) 2021년04월07일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2022년11월25일
(86) 국제출원번호 PCT/EP2021/059070
(87) 국제공개번호 WO 2021/239308
국제공개일자 2021년12월02일
(30) 우선권주장
20176939.5 2020년05월27일
유럽특허청(EPO)(EP)

(71) 출원인
유니버시타트 취리히
스위스, 71 씨에이치-8006 취리히, 라미스트라쎄
(72) 발명자
실레르, 울리히
프랑스, 에프-68220 레이먼, 뤼 드 라 가르 26
라이엔바흐, 재닌
스위스, 8032 취리히, 베스트베그 3
누비에, 마르티나
스위스, 8047 취리히, 레치그라벤 108
(74) 대리인
특허법인더웨이브

전체 청구항 수 : 총 73 항

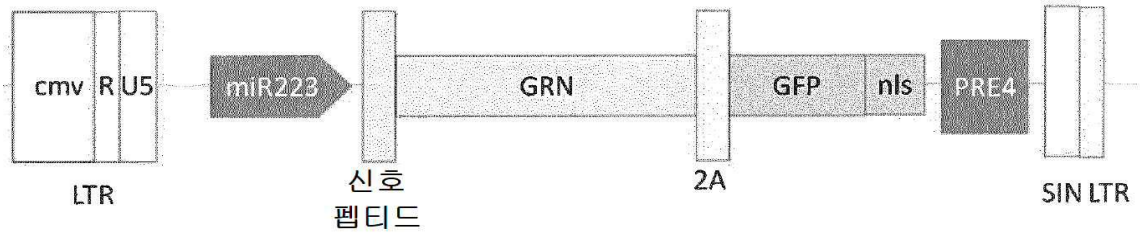
(54) 발명의 명칭 **골수 세포 및 미세아교세포에서 치료 단백질을 특이적으로 발현하는 바이러스 벡터**

(57) 요 약

본 발명은 인간 치료에 사용하기 위한 신규한 바이러스 벡터, 구체적으로 뇌에서 기원하거나 또는 뇌-기반인 질병 또는 장애, 구체적으로 전두측두엽 퇴행성 질병 또는 장애 예컨대 알츠하이머병, 근위축 측삭 경화증 및 파킨슨병을 포함하는 PGRN-관련 신경퇴행성 질병 또는 장애의 치료에 사용하기 위한 신규한 바이러스 벡터를 제공한

(뒷면에 계속)

대 표 도 - 도1



다. 본 발명은 또한 뇌 종양, 구체적으로 교모세포종, 신경아교종, 신경절신경모세포종, 성상세포종, 희소돌기아교세포종, PNET (원시 신경외배엽 종양), 수모세포종, CNS 림프종 및 신경모세포종으로 구성된 그룹으로부터 선택되는 뇌 종양, 또는 임의의 다른 CNS 종양의 치료, 및 추가로 임의의 형태의 유방, 폐, 결장, 고환, 신장 암종 및 흑색종, 또는 임의의 다른 고형 종양, 및/또는 모든 형태의 백혈병 및 림프종을 포함하는 임의의 혈액 종양으로부터 기원하는 뇌 전이의 치료에 사용하기 위한 바이러스 벡터를 제공한다. 추가로, 상기 바이러스 벡터는 자가면역 질환, 염증성 질환 및/또는 알레르기성 질환의 치료에 사용될 수 있다.

(52) CPC특허분류
A61K 38/19 (2013.01)
A61K 38/193 (2013.01)
A61K 48/0058 (2013.01)
A61P 25/28 (2018.01)
A61P 35/00 (2018.01)
A61P 37/00 (2018.01)
C07K 14/47 (2013.01)
C07K 14/5434 (2013.01)
C07K 14/57 (2013.01)

명 세 서

청구범위

청구항 1

프로모터 또는 프로모터 단편의 제어하에 치료 폴리펩티드 또는 치료 폴리펩티드의 조합을 코딩하는 핵산 분자를 포함하는 바이러스 벡터 (viral vector)로서, 상기 프로모터 또는 프로모터 단편은 골수 세포 (myeloid cells) 및 미세아교세포 (microglia)에서 치료 단백질 또는 치료 단백질의 조합의 발현을 유도하고, 상기 프로모터 또는 프로모터 단편은 전구 세포 (progenitor cell) 및/또는 줄기 세포 (stem cell)에서 불활성인 바이러스 벡터.

청구항 2

청구항 1에 있어서, 프로모터는 하기인 것인 바이러스 벡터:

a) miR223 프로모터, 또는 서열번호: 1에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 또는

b) ITGAM 프로모터, 또는 서열번호: 6에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 또는

c) AIF1 프로모터, 또는 서열번호: 5에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 또는

d) TMEM119 프로모터, 또는 서열번호: 3, 서열번호: 23 또는 서열번호: 24에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 또는

e) P2RY12 프로모터, 또는 서열번호: 2, 서열번호: 21 또는 서열번호: 22에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 또는

f) OLFML3 프로모터, 또는 서열번호: 4 또는 서열번호: 25에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 또는

g) 하기에 작동 가능하게 연결된, miR233 프로모터, 또는 서열번호: 1에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편을 포함하는 융합 프로모터 (fusion promoter):

i) TMEM119 프로모터, 또는 서열번호: 3, 서열번호: 23 또는 서열번호: 24에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 및/또는

ii) P2RY12 프로모터, 또는 서열번호: 2, 서열번호: 21 또는 서열번호: 22에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 및/또는

iii) OLFML3 프로모터, 또는 서열번호: 4 또는 서열번호: 25에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 및/또는

iv) ITGAM 프로모터, 또는 서열번호: 6에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 및/또는

v) AIF1 프로모터, 또는 서열번호: 5에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편.

청구항 3

청구항 1 또는 2에 있어서, 바이러스 벡터는 적어도 하나의 전사 조절 요소를 포함하고, 상기 적어도 하나의 전사 조절 요소는 프로모터의 전사 활성을 억제하거나 또는 활성화하도록 배열되는 바이러스 벡터.

청구항 4

청구항 3에 있어서, 적어도 하나의 전사 조절 요소는 전사 활성인자 또는 억제인자에 대한 결합 부위를 포함하고, 구체적으로 상기 전사 활성인자 또는 억제인자는 하기를 포함하는 바이러스 벡터:

i) 항생제-결합 도메인, 구체적으로 테트라사이클린/독시사이클린-결합 도메인, 마크롤라이드 (macrolide)-결합 도메인 또는 프리스티나마이신 (pristinamycin)-결합 도메인;

ii) 호르몬-결합 도메인, 구체적으로 RU486-결합 도메인 또는 아브시스산 (abscisic acid)-결합 도메인;

iii) 스테로이드-결합 도메인, 구체적으로 에크디손 (ecdysone)-결합 도메인; 또는

iv) 이량체화제 시스템 (dimerizer system), 구체적으로 라파마이신 (rapamycin)-기반 또는 라팔로그 (rapalog)-기반 이량체화제 시스템.

청구항 5

청구항 1 내지 4 중 어느 한 항에 있어서, 바이러스 벡터는 리보스위치 (riboswitch)를 코딩하고, 상기 리보스위치는 치료 단백질 또는 치료 단백질의 조합을 코딩하는 mRNA의 번역을 제어하는 바이러스 벡터.

청구항 6

청구항 1 내지 5 중 어느 한 항에 있어서, 치료 폴리펩티드는 하기인 것인 바이러스 벡터:

i) 세포에서 세포 기능을 회복하거나/하고 세포 반응을 유도하는 폴리펩티드; 또는

ii) 세포의 표적 특이성을 가능하게 하거나/하고 이를 증가시키는 폴리펩티드.

청구항 7

청구항 6에 있어서, 세포에서 세포 기능을 회복하거나/하고 세포 반응을 유도하는 폴리펩티드는 PGRN, 프레세닐린 (Presenilin) 1, 프레세닐린 2, IL-2, IL-12, IL-15, IL-21, IFN-알파, IFN-알파 수용체, IFN-감마, IFN-감마 수용체, FasL/Fas, CD11b, 셀렉틴 (selectins), 예컨대 L-셀렉틴 또는 P-셀렉틴, PSGL (P-셀렉틴 리간드), TRAIL, TRAIL-R, 림포톡신 베타 (Lymphotoxin beta: LT-β), LT-βR, 유인수용체 (decoyreceptors) 1-3, TNF-알파, TNF-알파R, MSH, G-CSF, GM-CSF, IL-1, IL-6, IL-7, IL-8, IL31, IL1R, IL31R, IL-10, IL-23, CXCR3 리간드 예컨대 CXCL9 및 CXCL-10, PD-1, PD-1L, PD-2 (PDC2), PD-2L, 그랜자임 (Granzyme) B, 그래눌리신 (Granulysine), CD11b, TIGIT, CD 112, CD 155, 일산화질소 신타제 (nitric oxide synthase), DNA 메틸트란스퍼라제 3b (DNA methyltransferase 3b: DNMT3b), Jumonji 도메인-함유 단백질 1A (Jumonji domain-containing protein 1A: JMJD1A), 소마토스타틴 (somatostatine), 히스톤 데아세틸라제 (histone deacetylases: HDAC) 예컨대 HDAC3 또는 HDAC 9, CSF1 수용체 (CSF1R), IL-34, TAM, 모든 케모카인 및 케모카인 수용체, 모든 사이토카인 및 사이토카인 수용체로 구성된 그룹으로부터 선택된 하나 이상의 폴리펩티드의 단편을 적어도 포함하는 바이러스 벡터.

청구항 8

청구항 6에 있어서, 세포의 표적 특이성을 가능하게 하거나/하고 이를 증가시키는 폴리펩티드는 종양 항원에 대한 특이성을 가능하게 하거나/하고 이를 증가시키며, 구체적으로 종양 항원은 VEGF, VEGF-수용체, 메탈로프로테나제 (metalloproteinase) (예: MMP-9)에 대한 길항제, CD40/CD40L, EGFR, 아넥신 (Annexin) 1, FGFR-1, Her2, St6galnac5, MMP1-28, TIMPS1-4, 멜라노트란스페린 (Melanotransferrin), 알파4-베타1 인테그린 (alpha4-beta1 Integrin), VCAM-1, E-카드헤린 (E-cadherin), 알파-v-베타3 인테그린, 알파-v-베타5 인테그린, 알파-v-베타6 인테그린, 알파-v-베타8 인테그린, CCND1, BRCA, CEA, 암-관련 항원 72-4 (cancer-related antigen 72-4: CA 72-4), 암-관련 항원 19-9 (CA 19-9), WT1, CD 11b, L-셀렉틴, NY-ESO-1, 또는 이의 단편인 바이러스 벡터.

청구항 9

하나 이상의 프로모터의 제어하에 이식유전자 (transgene)를 포함하는 바이러스 벡터로서, 상기 이식유전자는 하기를 코딩하는 바이러스 벡터:

a) PGRN 또는 이의 기능적 단편; 또는

b) 서열번호: 7, 서열번호: 8 또는 서열번호: 9에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는

100%의 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드, 또는 이의 기능적 단편.

청구항 10

하나 이상의 프로모터의 제어하에 이식유전자를 포함하는 바이러스 벡터로서, 상기 이식유전자는 하기를 코딩하는 바이러스 벡터:

a) IL-12 또는 이의 기능적 단편; 또는

b) 서열번호: 11에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드, 또는 이의 기능적 단편; 및/또는 서열번호: 12에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드, 또는 이의 기능적 단편.

청구항 11

하나 이상의 프로모터의 제어하에 이식유전자를 포함하는 바이러스 벡터로서, 상기 이식유전자는 하기를 코딩하는 바이러스 벡터:

a) IFN-감마 또는 이의 기능적 단편; 또는

b) 서열번호: 10에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드, 또는 이의 기능적 단편.

청구항 12

하나 이상의 프로모터의 제어하에 이식유전자를 포함하는 바이러스 벡터로서, 상기 이식유전자는 하기를 코딩하는 바이러스 벡터:

a) GM-CSF 또는 이의 기능적 단편; 또는

b) 서열번호: 13에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드, 또는 이의 기능적 단편.

청구항 13

하나 이상의 프로모터의 제어하에 이식유전자를 포함하는 바이러스 벡터로서, 상기 이식유전자는 하기를 코딩하는 바이러스 벡터:

a) G-CSF 또는 이의 기능적 단편; 또는

b) 서열번호: 14에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드, 또는 이의 기능적 단편.

청구항 14

하나 이상의 프로모터의 제어하에 이식유전자를 포함하는 바이러스 벡터로서, 상기 이식유전자는 하기를 코딩하는 바이러스 벡터:

a) GM-CSF 및 IFN-감마 또는 이의 기능적 단편; 또는

b) 서열번호: 15에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드, 또는 이의 기능적 단편.

청구항 15

하나 이상의 프로모터의 제어하에 이식유전자를 포함하는 바이러스 벡터로서, 상기 이식유전자는 하기를 코딩하는 바이러스 벡터:

a) G-CSF 및 IFN-감마, 또는 이의 기능적 단편; 또는

b) 서열번호: 16에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드, 또는 이의 기능적 단편.

청구항 16

하나 이상의 프로모터의 제어하에 이식유전자를 포함하는 바이러스 벡터로서, 상기 이식유전자는 하기를 코딩하는 바이러스 벡터:

a) IL-2 또는 이의 기능적 단편; 또는

b) 서열번호: 17에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드, 또는 이의 기능적 단편.

청구항 17

하나 이상의 프로모터의 제어하에 이식유전자를 포함하는 바이러스 벡터로서, 상기 이식유전자는 하기를 코딩하는 바이러스 벡터:

a) IL-15 또는 이의 기능적 단편; 또는

b) 서열번호: 18에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드, 또는 이의 기능적 단편.

청구항 18

하나 이상의 프로모터의 제어하에 이식유전자를 포함하는 바이러스 벡터로서, 상기 이식유전자는 하기를 코딩하는 바이러스 벡터:

a) IL-21 또는 이의 기능적 단편; 또는

b) 서열번호: 19에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드, 또는 이의 기능적 단편.

청구항 19

하나 이상의 프로모터의 제어하에 이식유전자를 포함하는 바이러스 벡터로서, 상기 이식유전자는 하기를 코딩하는 바이러스 벡터:

a) IFN-알파 또는 이의 기능적 단편; 또는

b) 서열번호: 20에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드, 또는 이의 기능적 단편.

청구항 20

청구항 9 내지 19 중 어느 한 항에 있어서, 하나 이상의 프로모터는 하기를 포함하는 바이러스 벡터:

a) 골수-특이적 프로모터 (myelo-specific promoter), 또는 이의 기능적 단편; 및/또는

b) 미세아교세포-특이적 프로모터 (microglia-specific promoter), 또는 이의 기능적 단편; 및/또는

c) 하기를 포함하거나 또는 이로 구성된 융합 프로모터:

i) 골수-특이적 프로모터 또는 미세아교세포-특이적 프로모터, 또는 이의 기능적 단편인 제1 프로모터; 및

ii) 제2 프로모터.

청구항 21

청구항 20에 있어서, 골수-특이적 프로모터는 하기인 것인 바이러스 벡터:

a) miR233 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 1에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편;

b) AIF1 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 5에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 또는

c) ITGAM 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 6에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%,

98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편.

청구항 22

청구항 20 또는 21에 있어서, 미세아교세포-특이적 프로모터는 하기인 것인 바이러스 벡터:

a) TMEM119 프로모터 또는 서열번호: 3, 서열번호: 23 또는 서열번호: 24에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 또는

b) P2RY12 프로모터 또는 서열번호: 2, 서열번호: 21 또는 서열번호: 22에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편;

c) OLFML3 프로모터 또는 서열번호: 4 또는 서열번호: 25에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편.

청구항 23

청구항 20 내지 22 중 어느 한 항에 있어서, 제1 프로모터는 골수-특이적 프로모터이고, 제2 프로모터는 미세아교세포-특이적 프로모터이거나, 또는 그 반대의 경우인 것인 바이러스 벡터.

청구항 24

청구항 20 내지 23 중 어느 한 항에 있어서, 제1 프로모터는 miR233 프로모터, 또는 서열번호: 1에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편이고; 상기 제1 프로모터는 하기에 작동 가능하게 연결되는 바이러스 벡터:

i) TMEM119 프로모터, 또는 서열번호: 5, 서열번호: 6 또는 서열번호: 7에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편;

ii) P2RY12 프로모터, 또는 서열번호: 2, 서열번호: 3 또는 서열번호: 4에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편;

iii) OLFML3 프로모터, 또는 서열번호: 8 또는 서열번호: 9에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편;

iv) ITGAM 프로모터, 또는 서열번호: 11에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 및/또는

v) AIF1 프로모터 또는 서열번호: 10에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편.

청구항 25

청구항 9 내지 24 중 어느 한 항에 있어서, 바이러스 벡터는 적어도 하나의 전사 조절 요소를 포함하고, 상기 적어도 하나의 전사 조절 요소는 프로모터의 전사 활성을 억제하거나 또는 활성화하도록 배열되는 것인 바이러스 벡터.

청구항 26

청구항 25에 있어서, 적어도 하나의 전사 조절 요소는 전사 활성인자 또는 억제인자에 대한 결합 부위를 포함하고, 구체적으로 전사 활성인자 또는 억제인자는 하기를 포함하는 바이러스 벡터:

i) 항생제-결합 도메인, 구체적으로 테트라사이클린/독시사이클린-결합 도메인, 마크롤라이드-결합 도메인 또는 프리스티나마이신-결합 도메인;

ii) 호르몬-결합 도메인, 구체적으로 RU486-결합 도메인 또는 아브시스산-결합 도메인;

iii) 스테로이드-결합 도메인, 구체적으로 에크디손-결합 도메인;

iv) 이량체화제 시스템, 구체적으로 라파마이신-기반 또는 라팔로그-기반 이량체화제 시스템.

청구항 27

청구항 9 내지 26 중 어느 한 항에 있어서, 바이러스 벡터는 리보스위치를 코딩하고, 상기 리보스위치는 치료 단백질 또는 치료 단백질의 조합을 코딩하는 mRNA의 번역을 제어하는 바이러스 벡터.

청구항 28

청구항 1 내지 27 중 어느 한 항에 있어서, 바이러스 벡터는 하기인 것인 바이러스 벡터:

a) 레트로바이러스 벡터, 구체적으로 렌티바이러스 벡터, 보다 구체적으로 렌티바이러스 SIN 벡터; 또는

b) 포말상 바이러스 벡터 (foamy viral vector); 또는

c) 아데노바이러스 벡터, 아데노-관련 바이러스 벡터, 헤르페스 바이러스 벡터, 파르보바이러스 벡터, 코로나바이러스 벡터 및 알파-레트로바이러스 벡터로 구성된 그룹으로부터 선택된 바이러스 벡터.

청구항 29

a) miR223 프로모터 또는 서열번호: 1에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 및

b) 미세아교세포-특이적 프로모터, 또는 이의 기능적 단편을 포함하는 융합 프로모터로서,

miR223 프로모터 또는 서열번호: 1에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편은 미세아교세포-특이적 프로모터, 또는 이의 기능적 단편에 작동 가능하게 연결되는 것인 융합 프로모터.

청구항 30

청구항 29에 있어서, 미세아교세포-특이적 프로모터는 하기인 것인 융합 프로모터:

a) TMEM119 프로모터 또는 서열번호: 3, 서열번호: 23 또는 서열번호: 24에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편;

b) P2RY12 프로모터 또는 서열번호: 2, 서열번호: 21 또는 서열번호: 22에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편;

c) OLFML3 프로모터 또는 서열번호: 4 또는 서열번호: 25에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편,

d) AIF1 프로모터 또는 서열번호: 5에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 또는

e) ITGAM 프로모터 또는 서열번호: 6에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편.

청구항 31

청구항 29 또는 30에 있어서, 융합 프로모터는 적어도 하나의 전사 조절 요소를 포함하고, 상기 적어도 하나의 전사 조절 요소는 프로모터의 전사 활성을 억제하거나 또는 활성화하도록 배열되는 것인 융합 프로모터.

청구항 32

청구항 31에 있어서, 적어도 하나의 전사 조절 요소는 전사 활성인자 또는 억제인자에 대한 결합 부위를 포함하고, 구체적으로 전사 활성인자 또는 억제인자는 하기를 포함하는 것인 융합 프로모터:

i) 항생제-결합 도메인, 구체적으로 테트라사이클린/독시사이클린-결합 도메인, 마크롤라이드-결합 도메인 또는 프리스티나마이신-결합 도메인;

ii) 호르몬-결합 도메인, 구체적으로 RU486-결합 도메인 또는 아브시스산-결합 도메인;

iii) 스테로이드-결합 도메인, 구체적으로 에크디손-결합 도메인;

iv) 이량체화제 시스템, 구체적으로 라파마이신-기반 또는 라팔로그-기반 이량체화제 시스템.

청구항 33

청구항 29 내지 32 중 어느 한 항에 있어서, 융합 프로모터는:

a) 서열번호: 26-29에 제시된 서열 중 어느 하나를 포함하거나; 또는

b) 서열번호: 26-29에 제시된 서열 중 어느 하나와 90%, 91%, 92%, 93%, 94% 또는 95%의 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하고, 상기 프로모터는 미세아교세포 및/또는 골수 세포에서 발현을 유도하는 것인 융합 프로모터.

청구항 34

청구항 1 내지 28 중 어느 한 항에 따른 바이러스 벡터를 포함하는 숙주 세포 (host cell).

청구항 35

청구항 34에 있어서, 숙주 세포는 조혈 줄기 세포, 바람직하게는 CD34-포지티브 농축된 세포 집단의 조혈 줄기 세포이거나, 또는 숙주 세포는 골수 세포인 숙주 세포.

청구항 36

청구항 1 내지 28 중 어느 한 항에 따른 바이러스 벡터 및/또는 청구항 34 또는 35에 따른 숙주 세포를 포함하는 약학 조성물.

청구항 37

의약 (medicine)에서 사용하기 위한, 청구항 1 내지 28 중 어느 한 항에 따른 바이러스 벡터, 청구항 32 또는 33에 따른 숙주 세포, 또는 청구항 36에 따른 약학 조성물.

청구항 38

뇌에서 기원 (origin) 또는 소견 (manifestation)을 갖거나, 또는 뇌-기반 (brain-based)인 질병 또는 장애의 치료에 사용하기 위한, 청구항 1 내지 28 중 어느 한 항에 따른 바이러스 벡터, 청구항 34 또는 35에 따른 숙주 세포, 또는 청구항 36에 따른 약학 조성물.

청구항 39

PGRN-관련 질병 또는 장애의 예방 및/또는 치료에 사용하기 위한, 청구항 9 또는 20 내지 28 중 어느 한 항에 따른 바이러스 벡터, 청구항 34 또는 35에 따른 숙주 세포, 또는 청구항 36에 따른 약학 조성물로서, 구체적으로 바이러스 벡터는 PGRN 또는 이의 기능적 단편을 코딩하는 바이러스 벡터, 숙주 세포, 또는 약학 조성물.

청구항 40

청구항 39에 있어서, PGRN-관련 질병 또는 장애는 신경퇴행성 질병 또는 장애인 바이러스 벡터, 숙주 세포 또는 약학 조성물.

청구항 41

청구항 40에 있어서, 신경퇴행성 질병 또는 장애는 퇴행성 질병 또는 장애인 바이러스 벡터, 숙주 세포 또는 약학 조성물.

청구항 42

청구항 41에 있어서, 퇴행성 질병 또는 장애는 알츠하이머병, 근위축 측삭 경화증, 신경 세로이드 리포푸스신증 (neuronal ceroid lipofuscinosis) 및 파킨슨병으로 구성된 그룹으로부터 선택되는 바이러스 벡터, 숙주 세포 또는 약학 조성물.

청구항 43

암, 림프종 및/또는 육종의 치료에 사용하기 위한, 청구항 10 내지 28 중 어느 한 항에 따른 바이러스 벡터, 청구항 34 또는 35에 따른 숙주 세포, 또는 청구항 36에 따른 약학 조성물로서, 구체적으로 바이러스 벡터는 IL-12, IFN-감마, G-CSF, GM-CSF, IL-2, IL-15, IL-21 및/또는 IFN-알파 중 적어도 하나; 또는 이의 기능적 단편

을 코딩하는 바이러스 벡터, 숙주 세포 또는 약학 조성물.

청구항 44

청구항 43에 있어서, 암, 림프종 및/또는 육종은 뇌 종양 또는 뇌 전이인 바이러스 벡터, 숙주 세포 또는 약학 조성물.

청구항 45

청구항 44에 있어서, 뇌 종양은 교모세포종 (glioblastoma), 신경아교종 (glioma), 신경절신경모세포종 (ganglioneuroblastoma), 성상세포종 (astrocytoma), 희소돌기아교세포종 (oligodendroglioma), PNET (원시 신경외배엽 종양 (primitive neuroectodermal tumor)), 수모세포종 (medulloblastoma), CNS 림프종 (CNS lymphoma), 수막종 (meningioma), 망막모세포종 (retinoblastoma) 및 신경모세포종 (neuroblastoma)으로 구성된 그룹으로부터 선택되는 바이러스 벡터, 숙주 세포 또는 약학 조성물.

청구항 46

청구항 44에 있어서, 뇌 종양은 임의의 형태의 유방암, 폐암, 결장암, 고환암, 신장 암종, 흑색종, 난소 암종, 전립선 암종, 신경내분비 종양 또는 임의의 다른 고형 종양 또는 임의의 육종, 또는 모든 형태의 백혈병 및 림프종을 포함하는 임의의 혈액 종양으로부터 기원하는 전이 종양인 바이러스 벡터, 숙주 세포 또는 약학 조성물.

청구항 47

청구항 37 내지 46 중 어느 한 항에 있어서, 바이러스 벡터, 숙주 세포 또는 약학 조성물은 혈액-뇌-관문 (blood-brain-barrier)의 완전성 (integrity)을 감소시키는 요법과 함께 투여되며, 구체적으로 혈액-뇌-관문의 완전성을 감소시키는 요법은 골수 컨디셔닝 요법 (bone marrow conditioning therapy), CNS 컨디셔닝 요법 (CNS conditioning therapy), 및/또는 혈액-뇌-관문 컨디셔닝 요법 (blood-brain-barrier conditioning therapy)인 바이러스 벡터, 숙주 세포 또는 약학 조성물.

청구항 48

청구항 47에 있어서, 골수 컨디셔닝 요법은 세포독성제 (cytotoxic agents), 알킬화제 (alkylating agents), 부설판 (Busulphan), 트레오설판 (Treosulfan), 에토포시드 (Etoposide), 로무스틴 (Lomustin), 방사선 요법, 표적 방사선 요법 (예: 이트륨 (Yttrium)-90 표지된 항-CD45 항체 또는 이트륨-90 표지된 항-CD66 항체), ACK2 (항-c-kit 항체), CD117 항체-약물-접합체, CD45-SAP, 콜로니-자극 인자 1 (colony-stimulating factor 1: CSF1) 특이적 물질, PLX3397, BLZ9445, PLX5622, RG7155, PLX647, Ki20227, GW2580, IL-34 및/또는 데사티닙 (desatinib)의 사용을 포함하는 바이러스 벡터, 숙주 세포 또는 약학 조성물.

청구항 49

청구항 47 또는 48에 있어서, CNS 컨디셔닝 요법은 부설판 (Busulphan)의 사용을 포함하는 바이러스 벡터, 숙주 세포 또는 약학 조성물.

청구항 50

청구항 47 내지 49 중 어느 한 항에 있어서, 혈액-뇌-관문 컨디셔닝 요법은 방사선 요법 또는 표적화된 방사선 요법을 포함하는 바이러스 벡터, 숙주 세포 또는 약학 조성물.

청구항 51

청구항 47 내지 50 중 어느 한 항에 있어서, 바이러스 벡터, 숙주 세포 또는 약학 조성물은 혈액-뇌-관문의 완전성을 감소시키는 요법 후에 투여되며, 구체적으로 바이러스 벡터, 숙주 세포 또는 약학 조성물은 혈액-뇌-관문의 완전성을 감소시키는 요법 후에 반나절 이내에 투여되는 바이러스 벡터, 숙주 세포 또는 약학 조성물.

청구항 52

자가면역 질환 (autoimmune diseases)의 치료에 사용하기 위한, 청구항 1 내지 28 중 어느 한 항에 따른 바이러스 벡터, 청구항 34 또는 35에 따른 숙주 세포, 또는 청구항 36에 따른 약학 조성물.

청구항 53

자가염증성 질환 (autoinflammatory diseases)의 치료에 사용하기 위한, 청구항 1 내지 28 중 어느 한 항에 따른 바이러스 벡터, 청구항 34 또는 35에 따른 숙주 세포, 또는 청구항 36에 따른 약학 조성물.

청구항 54

알레르기성 질환 (allergic diseases)의 치료에 사용하기 위한, 청구항 1 내지 28 중 어느 한 항에 따른 바이러스 벡터, 청구항 34 또는 35에 따른 숙주 세포, 또는 청구항 36에 따른 약학 조성물.

청구항 55

조혈 및 고형 장기 이식 (hematopoietic and solid organ transplantation)에 사용하기 위한, 청구항 1 내지 28 중 어느 한 항에 따른 바이러스 벡터, 청구항 34 또는 35에 따른 숙주 세포, 또는 청구항 36에 따른 약학 조성물.

청구항 56

하기 단계를 포함하는, 치료를 필요로 하는 대상체의 뇌에서 기원 또는 소견을 갖거나, 또는 뇌-기반인 질병 또는 장애를 치료하는 방법:

a) 조혈 줄기 세포 및/또는 농축된 CD34-포지티브 골수 세포의 집단을 청구항 1 내지 28 중 어느 한 항에 따른 바이러스 벡터와 접촉시키는 단계를 포함하는, 조혈 줄기 세포 및/또는 농축된 CD34-포지티브 골수 세포의 집단을 유전자 변형시키는 단계; 또는 골수 세포 및/또는 농축된 골수 세포의 집단을 청구항 1 내지 28 중 어느 한 항에 따른 바이러스 벡터와 접촉시키는 단계를 포함하는, 골수 세포 및/또는 농축된 골수 세포의 집단을 유전자 변형시키는 단계;

b) 상기 단계 (a)의 유전자 변형된 세포를 치료를 필요로 하는 대상체에게 정맥내로 투여하는 단계; 및

c) 치료를 필요로 하는 대상체의 뇌에서 기원 또는 소견을 갖거나, 또는 뇌-기반인 질병 또는 장애를 치료하는 단계.

청구항 57

청구항 56에 있어서, 조혈 줄기 세포 및/또는 농축된 CD34-포지티브 골수 세포의 집단, 또는 골수 세포 및/또는 농축된 골수 세포의 집단은 이를 필요로 하는 대상체 또는 외래 공여자로부터 입수한 것인 방법.

청구항 58

하기 단계를 포함하는, 치료를 필요로 하는 대상체의 뇌에서 기원 또는 소견을 갖거나, 또는 뇌-기반인 질병 또는 장애를 치료하는 방법:

a) 치료를 필요로 하는 대상체에서 조혈 줄기 세포를 동원하는 (mobilizing) 단계;

b) 상기 단계 (a)의 조혈 줄기 세포의 동원에 후속하여 청구항 1 내지 28 중 어느 한 항에 따른 바이러스 벡터를 치료를 필요로 하는 대상체에게 정맥내로 투여하는 단계; 및

c) 치료를 필요로 하는 대상체의 뇌에서 기원 또는 소견을 갖거나, 또는 뇌-기반인 질병 또는 장애를 치료하는 단계.

청구항 59

청구항 58에 있어서, 조혈 줄기 세포를 이를 필요로 하는 대상체에서의 동원 (mobilization)은 G-CSF 및/또는 플레릭사포르 (Plerixafor)의 투여를 포함하는 방법.

청구항 60

청구항 56 내지 59 중 어느 한 항에 있어서, 뇌에서 기원 또는 소견을 갖거나, 또는 뇌-기반인 질병 또는 장애는 PGRN-관련 질병 또는 장애이고, 구체적으로 PGRN-관련 질병 또는 장애는 신경퇴행성 질병 또는 장애이며, 구체적으로 신경퇴행성 질병 또는 장애는 퇴행성 질병 또는 신경퇴행성 장애이고, 구체적으로 퇴행성 질병 또는 신경퇴행성 장애는 알츠하이머병, 근위축 측삭 경화증, 신경 세로이드 리포푸스신증 및 파킨슨병으로 구성된 그

룹으로부터 선택되고, 구체적으로 바이러스 벡터는 PGRN 또는 이의 기능적 단편을 코딩하는 방법.

청구항 61

청구항 56 내지 59 중 어느 한 항에 있어서, 뇌에서 기원 또는 소견을 갖거나, 또는 뇌-기반인 질병 또는 장애는 뇌 종양이고, 구체적으로 뇌 종양은 신경아교종, 교모세포종, 신경절신경모세포종, 성상세포종, 희소돌기아교세포종, PNET (원시 신경외배엽 종양), 수모세포종, CNS 림프종 및 신경모세포종으로 구성된 그룹으로부터 선택되거나; 또는 뇌 종양은 임의의 형태의 유방암, 폐암, 결장암, 고환암, 신장 암종, 흑색종, 전립선암 또는 임의의 다른 고형 종양 또는 임의의 육종, 또는 모든 형태의 백혈병 및 림프종을 포함하는 임의의 혈액 종양으로부터 기원하는 전이 종양이며, 구체적으로 상기 바이러스 벡터는 IL-12, IFN-감마, GM-CSF, G-CSF, I1-2, IL-15, IL-21 및/또는 IFN-알파, 또는 이의 기능적 단편을 코딩하는 방법.

청구항 62

청구항 56 내지 61 중 어느 한 항에 있어서, 상기 방법은 혈액-뇌-관문의 완전성을 감소시키는 추가 단계를 포함하고, 구체적으로 혈액-뇌-관문의 완전성을 감소시키는 단계는 골수 컨디셔닝 요법, CNS 컨디셔닝 요법, 및/또는 혈액-뇌-관문 컨디셔닝 요법을 포함하는 방법.

청구항 63

청구항 62에 있어서, 혈액-뇌-관문의 완전성을 감소시키는 요법은 유전자 변형된 세포를 이를 필요로 하는 대상체에게 투여하기 전에 수행되고, 구체적으로 혈액-뇌-관문의 완전성을 감소시키는 요법 및 유전자 변형된 세포의 투여 사이의 시간 간격은 혈액-뇌-관문의 완전성을 감소시키는 요법 후에 수행되는 방법.

청구항 64

하기 단계를 포함하는, 치료를 필요로 하는 대상체에서 암을 치료하는 방법:

a) 치료를 필요로 하는 대상체에서 조혈 줄기 세포를 동원하는 단계;

b) 상기 단계 (a)의 조혈 줄기 세포의 동원에 후속하여 본 발명에 따른 바이러스 벡터를 치료를 필요로 하는 대상체에게 정맥내로 투여하는 단계; 및

c) 치료를 필요로 하는 대상체에서 암을 치료하는 단계.

청구항 65

청구항 64에 있어서, 조혈 줄기 세포를 이를 필요로 하는 대상체에서의 동원은 G-CSF 및/또는 플레릭사포르의 투여를 포함하는 방법.

청구항 66

하기 단계를 포함하는, 대상체의 뇌 및/또는 CNS에서 이식유전자를 발현시키는 방법:

a) 조혈 줄기 세포 및/또는 농축된 CD34-포지티브 골수 세포의 집단을 청구항 1 내지 26 중 어느 한 항에 따른 바이러스 벡터와 접촉시키는 단계를 포함하는, 조혈 줄기 세포 및/또는 농축된 CD34-포지티브 골수 세포의 집단을 유전자 변형시키는 단계; 또는 골수 세포 및/또는 농축된 골수 세포의 집단을 청구항 1 내지 28 중 어느 한 항에 따른 바이러스 벡터와 접촉시키는 단계를 포함하는, 골수 세포 및/또는 농축된 골수 세포의 집단을 유전자 변형시키는 단계;

b) 상기 단계 (a)의 유전자 변형된 세포를 이를 필요로 하는 대상체에게 정맥내로 투여하는 단계; 및

c) 대상체의 뇌 및/또는 CNS에서 바이러스 벡터에 의해 코딩된 이식유전자를 발현시키는 단계.

청구항 67

청구항 66에 있어서, 조혈 줄기 세포 및/또는 농축된 CD34-포지티브 골수 세포의 집단; 또는 골수 세포 및/또는 농축된 골수 세포의 집단은 대상체 또는 외래 공여자로부터 입수한 것인 방법.

청구항 68

하기 단계를 포함하는, 대상체의 뇌 및/또는 CNS에서 이식유전자를 발현시키는 방법:

a) 대상체에서 조혈 줄기 세포를 동원하는 단계;

b) 상기 단계 (a)의 조혈 줄기 세포의 동원에 후속하여 청구항 1 내지 28 중 어느 한 항에 따른 바이러스 벡터를 이를 필요로 하는 대상체에게 정맥내로 투여하는 단계; 및

c) 대상체의 뇌 및/또는 CNS에서 바이러스 벡터내에 코딩된 이식유전자를 발현시키는 단계.

청구항 69

청구항 68에 있어서, 대상체에서 조혈 줄기 세포의 동원은 G-CSF 또는 플레릭사포르의 투여를 포함하는 방법.

청구항 70

청구항 66 내지 69 중 어느 한 항에 있어서, 상기 방법은 혈액-뇌-관문의 완전성을 감소시키는 추가 단계를 포함하고, 구체적으로 혈액-뇌-관문의 완전성을 감소시키는 단계는 골수 컨디셔닝 요법, CNS 컨디셔닝 요법, 및/또는 혈액-뇌-관문 컨디셔닝 요법을 포함하는 방법.

청구항 71

청구항 70에 있어서, 혈액-뇌-관문의 완전성을 감소시키는 요법은 유전자 변형된 세포를 이를 필요로 하는 대상체에게 투여하기 전에 수행되고, 구체적으로 혈액-뇌-관문의 완전성을 감소시키는 요법 및 유전자 변형된 세포의 투여 사이의 시간 간격은 혈액-뇌-관문의 완전성을 감소시키는 요법 후에 수행되는 방법.

청구항 72

하기 단계를 포함하는, 치료를 필요로 하는 대상체의 뇌에서 기원 또는 소견을 갖거나, 또는 뇌-기반인 질병 또는 장애를 치료하는 방법:

a) 청구항 1 내지 28 중 어느 한 항에 따른 바이러스 벡터를 치료를 필요로 하는 대상체의 뇌로 또는 경막내로 투여하는 단계; 및

b) 치료를 필요로 하는 대상체의 뇌에서 기원 또는 소견을 갖거나, 또는 뇌-기반인 질병 또는 장애를 치료하는 단계.

청구항 73

청구항 72에 있어서, 바이러스 벡터는 AAV-기반 바이러스 벡터인 바이러스 벡터.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 인간 유전자 요법에 사용하기 위한 신규한 바이러스 벡터 (viral vectors), 구체적으로 뇌 (brain)에서 기원하거나 또는 뇌-기반 (brain-based) 질병 또는 장애, 구체적으로 전두측두엽 퇴행성 질병 또는 장애 예컨대 알츠하이머병 (Alzheimer's disease), 근위축 측삭 경화증 (amyotrophic lateral sclerosis) 및 파킨슨병 (Parkinson's disease)을 포함하는 PGRN-관련 신경퇴행성 질병 또는 장애의 치료에 사용하기 위한 신규한 바이러스 벡터를 제공한다. 본 발명은 또한 뇌 종양 (brain tumors), 구체적으로 교모세포종 (glioblastoma), 신경아교종 (glioma), 신경절신경모세포종 (ganglioneuroblastoma), 성상세포종 (astrocytoma), 희소돌기아교세포종 (oligodendroglioma), PNET (원시 신경외배엽 (primitive neuroectodermal) 종양), 수모세포종 (medulloblastoma), CNS 림프종 (CNS lymphoma) 및 신경모세포종 (neuroblastoma)으로 구성된 그룹으로부터 선택되는 뇌 종양, 또는 임의의 다른 CNS 종양의 치료, 및 추가로 임의의 형태의 유방, 폐, 결장, 고환, 신장 암종 및 흑색종, 또는 임의의 다른 고형 종양, 및/또는 모든 형태의 백혈병 및 림프종을 포함하는 임의의 혈액 종양으로부터 기원하는 뇌 전이 (brain metastasis)의 치료에 사용하기 위한 바이러스 벡터를 제공한다.

배 경 기 술

[0002] 인간 질병의 치료를 위한 유전자 요법 (Gene therapy)은 엑스 비보 (*ex vivo*) 단리된 세포, 또는 인 비보 (*in vivo*) 세포 및 조직의 유전자 조작의 모든 방법을 포함한다. 첫 번째로 임상적으로 성공한 유전자 요법 연구는

2000년에 발표되었고, 이는 면역계에 생명을 위협하는 선천적 결함을 가진 유아를 치료하는데 조혈 줄기 세포(hematopoietic stem cell: HSC)를 검토하였다 (Cavazzana-Calvo et al. (2000) Science 288: 669-72). 이러한 연구는 감마레트로바이러스 유전자 요법 벡터를 사용하여, CD34+ 골수 세포 집단내 HSC의 엑스 비보 조작을 기반으로 하였다.

[0003] 레트로바이러스 유전자 요법 벡터는 치료 단백질 서열 (즉, 환자의 이환된 유전자의 건강한 카피)을 코딩하는 RNA 서열 및 바이러스 벡터 RNA 서열을 포함하는 단일 가닥 RNA가 레트로바이러스 입자에 통합되고 이에 의해 운반되는 바이러스 벡터이다. 하나의 유전자 요법 레트로바이러스 입자 내에, 이중 가닥 DNA로의 역전사에 필요한 바이러스 단백질 뿐만 아니라 2개의 RNA 분자는 바이러스 단백질로 구성된 캡시드 구조로 봉입된다. 상기 바이러스 캡시드는 바이러스 외피 내에 봉입되며, 이는 형질도입 과정 중에 표적 세포의 세포막과 융합할 수 있는 능력을 갖는다. 상기 레트로바이러스 단백질은 운반된 치료 RNA 서열을 이중 가닥 DNA로 역전사시킬 수 있고, 이는 이어서 형질도입된 세포의 핵으로 운반되고, 형질도입된 표적 세포의 게놈에 통합된다.

[0004] 신경퇴행성 치매 (neurodegenerative dementia)는 중년 및 노년층 환자에서 장애의 중요한 원인으로, 신체적 및 사회적 독립성을 상실하게 된다. 치료 뿐만 아니라, 가정이나 요양 시설에서의 일상적인 돌봄은 가족, 의료진 및 사회에 큰 어려움이다. 60세 이상 인구에서 치매 유병률은 5-7%로 추정되며, 2010년에는 전 세계적으로 3,500만 명이 넘는 사람들이 이환되었다.

[0005] 전체적으로, 65세 미만의 치매 발병 환자 중 최대 20%는 전두측두엽 치매 (frontotemporal dementia: FTD)가 이환되었다. 한 연구에 따르면, 유병률은 15 내지 22/100,000의 범위이고 (Onyike & Diehl-Schmid (2013) Int Rev Psychiatry 25: 130-137), 전체 발병률은 100,000명당 2.7 - 4.1건의 신규 사례이다 (Onyike & Diehl-Schmid (2013) Int Rev Psychiatry 25: 130-137). 영국 카운티 (UK counties)의 2곳에서, 유병률은 65세 내지 69세 사이에서 42.6/100,000로 절정 (peak)을 보여주었다. FTD를 포함한 신경퇴행성 치매에 대한 치유적 치료 옵션은 현재 존재하지 않는다.

[0006] 모든 FTD 사례에 대한 그래눌린 전구체 단백질 (granulin precursor protein) 또는 프로그래눌린 (progranulin: PGRN)을 코딩하는 *GRN* 유전자에서 돌연변이의 비율에 대한 다양한 추정이 존재한다. 이러한 추정치의 범위는 대략 5% (Gass et al. (2006) Hum Mol Genet. 15: 2988-3001; Le Ber et al. (2007) Hum Mutat. 28: 846-55) 내지 30% (Bunessi et al. (2009) Neurobiology of Disease 33: 379-385)이고, 여기서 침투도 (penetrance)는 1/3이 65세 미만의 개인이고, 2/3가 65세 이상의 개인이다.

[0007] 환자에서 확인된 모든 *GRN* 돌연변이는 더 낮은 수준의 PGRN의 결과로, 기능 상실 (loss-of-function) 및 1배체 불완전성 (haploinsufficiency)과 관련되었다. 이러한 사실로 인해 PGRN-결핍 FTD는 PGRN의 생리학적 수준을 회복시키는 것을 목표로 하는 치료적 접근법에 적합한 표적이 된다.

[0008] PGRN은 조직-상주 대식세포의 뇌 상주 대응물인 미세아교세포 (microglia)에서 주로 발현된다. 유전자 요법 접근법을 사용한 3가지 보고된 동물 연구 (Arrant et al. (2018) J Neurosci. 38: 2341-58; Arrant et al. (2017) Brain 140: 1447-65; Amado et al. (2019) Mol Ther. 27: 465-478)에서 어느 것도 미세아교세포에서 PGRN 발현이 회복될 수 있다고 보고하지 않았고; 선행 기술에서 보고된 연구에서, AAV 바이러스 유전자 요법 벡터를 마우스 뇌에 주사하여, 뉴런에서 PGRN 발현을 유도하였지만, 미세아교세포에서는 PGRN 발현이 유도되지 않았다. 또한, 최신 동물 연구에서, 강력한 PGRN 과발현은 신경세포 독성 징후와 관련이 있었다.

[0009] 그러므로, 뇌 미세아교세포에서 생리학적 PGRN 발현을 목표로 하는 대체 치료 전략이 필요하다. 이러한 표적화 전략은 AAV 바이러스 벡터를 사용하여 신경세포 PGRN 과발현 및 신경세포 독성을 초래하는 상기 언급한 이전 시도와는 다르다.

[0010] 또한, 골수 세포에서, 구체적으로 HSC의 형질도입 후에, 말초 혈액, 말초 조직 및 뇌/CNS에서 이식유전자를 발현시키기 위한 보다 안전한 전략이 당해 기술 분야에서 필요하다.

발명의 내용

[0011] 발명의 요약

[0012] 본 발명은 이러한 대안 및 개선된 전략을 제공하며, 이는 본원에 기재된 다양한 구체예 및 청구범위에 정의된다.

[0013] 특정 일 구체예에서, 본 발명은 프로모터 또는 프로모터 단편의 제어하에 치료 폴리펩티드 또는 치료 폴리펩티

드의 조합을 코딩하는 핵산 분자를 포함하는 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 여기서 프로모터 또는 프로모터 단편은 골수 세포 및 미세아교세포에서 치료 단백질 또는 치료 단백질의 조합의 발현을 유도하고, 상기 프로모터 또는 프로모터 단편은 조혈 전구 및/또는 줄기 세포에서 불활성이다.

[0014] 즉, 본 발명은 골수 세포 및 미세아교세포에서 이식유전자의 발현을 유도할 수 있지만, 줄기 세포, 구체적으로 조혈 줄기 세포 및 조혈 줄기 및 전구 세포에서는 침묵하는 프로모터의 놀라운 확인에 기반한다. 이러한 세포-특이적 프로모터는 세포 및 유전자 요법 적용에 유리하며, 이들은 분화된 표적 세포, 즉 골수 세포 및 미세아교세포에 대한 수반되는 이식유전자 발현으로 벡터 활성을 제한하기 때문이다. 이는 미분화된 줄기 세포에서 프로모터/인핸서 활성이 종양유전자 전이활성화, 클론 우성, 염색체 불안정성, 단염색체 7 또는 백혈병 전환과 같은 합병증을 유발할 수 있고, 미분화된 줄기 세포에서 이식유전자의 발현은 세포 기능 또는 면역 반응의 손상을 유발할 수 있기 때문에 특히 중요하다. 따라서, 본 발명의 프로모터는 편재하는 프로모터에 유리하며, 이들은 세포 및 유전자 요법 적용의 정확성 및 안전성을 유의미하게 증가시킬 수 있기 때문이다.

[0015] 부설판 매개 골수 컨디셔닝 (busulfan mediated bone marrow conditioning)을 동반한 조혈 줄기 세포의 유전자 요법은 유전자 변형된 조혈 줄기 세포 이식편으로부터 유래된 세포에 의해 뇌의 골수 구획의 적어도 부분적 재구성을 유도하는 것으로 밝혀졌다 (Biffi et al. (2013) Science 341:1233158). 그러므로, 조혈 포식세포 및 뇌 골수 세포, 즉 미세아교세포에 대한 이식유전자 발현을 촉진 및 제한하는 프로모터가 당해 기술 분야에서 필요하다. 본 발명자들은 놀랍게도 골수 세포 및 미세아교세포에서 이식유전자의 발현을 유도하는 프로모터를 확인하였다. 본원에서 사용된, 용어 "골수 세포 (myeloid cells)"는 과립구 (호중구, 호산구 및 호염기구), 단핵구, 대식세포, Kupffer 세포 (Kupffer cells) 및 비만 세포를 포함하는 일련의 골수-유래 세포 계통 (bone marrow-derived cell lineages)을 지칭한다. 또한, 골수 기원의 말초 혈액 수지상 세포, 및 적절한 배양 조건의 존재하에 단핵구로부터 인 비트로 유래된 수지상 세포 및 대식세포가 또한 포함된다.

[0016] 본원에서 사용된, 용어 "미세아교 세포 (microglial cell)" 또는 "미세아교세포 (microglia)"는 대식세포로서 작용함으로써 중추신경계 내에서 면역 반응의 매개에 관여하는 신경아교 세포 (glial cells)의 부류를 지칭한다. 미세아교세포는 엑소좀, 사이토카인, 케모카인 및 신경영양 인자를 생성할 수 있으며, 아메바형 미세아교 세포 (amoeboid microglial cells), 수지상 미세아교 세포 (ramified microglial cells) 및 반응성 미세아교 세포 (reactive microglial cells)를 포함하는 다양한 형태의 미세아교 세포를 추가로 포함한다. 미세아교 세포는 반응성 미세아교세포를 포함하고, 이는 반응성, 대식세포-유사 상태로 전환되고, 뇌 손상 및 염증 부위에 축적되어 조직 복구 및 신경 재생을 돕는 휴지기의 수지상 미세아교세포 (quiescent ramified microglia)로 정의된다. 조혈 줄기 세포가 뇌로 이동하여 미세아교세포의 많은 특징을 갖는 대식세포로 분화할 수 있다는 것이 당해 기술 분야에 알려져 있다. 본 발명의 프로모터가 대식세포 및 미세아교세포에서 활성인 것으로 입증되었기 때문에, 이들 프로모터가 또한 조혈 줄기 세포 (HSC)-유래 미세아교세포-유사 세포에서 활성일 것이라는 것이 적어도 타당할 수 있다.

[0017] 말초 혈액 중 골수 세포는 HSC로부터 독점적으로 유래되지만, 조직-상주 대식세포 및 미세아교세포는 정상 조건하에 난황낭 적혈구 전구체 (yolk sac erythromyeloid precursors)로부터만 발생하는 것으로 믿어진다. 말초 혈액 골수 세포 및 미세아교세포의 이러한 상이한 기원에 기반하여, 본 발명의 프로모터가 두 세포 타입 모두에서 발현을 유도할 수 있다는 것이 놀랍게도 고려될 수 있다.

[0018] 중요하게는, 본 발명의 프로모터는 줄기 세포 또는 전구 세포에서 발현을 유도하지 않는다. 구체적으로, 본 발명의 프로모터는 조혈 줄기 세포, 및 조혈 줄기 및 전구 세포 (hematopoietic stem and progenitor cells: HSPCs)에서 발현을 유도하지 않는다 (도 21 참조).

[0019] 본원에서 사용된, 용어 "조혈 줄기 및 전구 세포 (hematopoietic stem and progenitor cell)" 또는 "HSPC"는 항원성 마커 CD34의 존재 (CD34+)에 의해 확인된 세포를 지칭하고, 그러므로 CD34+ 세포, 및 이러한 세포의 집단을 특징으로 한다. 특정 구체예에서, 용어 "HSPC"는 항원성 마커 CD34의 존재 (CD34+) 및 계통 (lin) 마커 (lineage markers)의 부재에 의해 확인된 세포를 지칭하고, 그러므로 CD34+/Lin(-) 세포, 및 이러한 세포의 집단을 특징으로 한다. CD34+ 및/또는 Lin(-) 세포를 포함하는 세포 집단은 또한 조혈 전구 세포를 포함하고, 따라서 본 출원의 목적을 위해 용어 "HSPC"는 조혈 줄기 세포 및 조혈 전구 세포를 포함하는 것으로 인정된다.

[0020] 당업자는 프로모터가 특정 세포 타입에서 활성인지 여부를 결정하는 방법을 알고 있다. 예를 들어, 프로모터가 특정 세포 타입에서 활성인지 여부를 결정하기 위해, 각 세포 타입의 세포는 관심 프로모터의 제어하에 형광 마커를 포함하는 바이러스 벡터로 형질도입될 수 있다. 프로모터가 형광 마커의 발현을 유도하는지 여부는 예를 들어 유세포 분석에 의해 검출될 수 있다. 즉, 형광 마커가 형질도입된 세포에서 충분한 양으로 검출될 수 있

는 경우, 프로모터는 이러한 세포 타입에서 이식유전자의 발현을 유도한다고 한다. 그러나 형질도입된 세포에서 형광 마커의 양이 전혀 검출되지 않거나 또는 극소량만이 검출될 수 있는 경우, 프로모터는 이러한 세포 타입에서 발현을 유도하지 않는다고 한다. 당업자는 세포가 형질도입 절차 중에 다른 세포 타입으로 분화할 수 있음을 추가로 알고 있다. 그러나, 당업자는 형질도입 절차 전후에 세포 타입을 결정하기 위한 세포 표면 마커의 특정 조합을 알고 있다. 당업자는 프로모터 활성이 없다는 진술이 프로모터 유도된 이식유전자 산물 검출의 감수성에 의해 제한되고, 형광 단백질, 특히 이식유전자 산물로서 높은 양자 수율 (quantum yield)을 갖는 EGFP가 높은 감수성으로 검출될 수 있다는 것을 알고 있다. 그러므로, 이러한 종류의 발현 실험에서 형광 단백질 검출의 부재는 프로모터가 검출한계 미만이고 생물학적 관련성이 없을 가능성이 큰 경우를 나타내는 것으로 받아들여진다.

[0021] 본 발명의 프로모터는 골수 세포 및 미세아교세포에서 치료 단백질 또는 치료 단백질의 조합을 코딩하는 이식유전자의 발현을 유도할 수 있다. 즉, 본 발명의 프로모터는 이식유전자에 작동 가능하게 연결된다. 본원에서 사용된, 용어 "작동 가능하게 연결된 (operably linked)"은 2개 이상의 핵산 (예를 들어, DNA) 세그먼트 사이의 기능적 상관관계를 지칭한다. 전형적으로, 이는 전사된 서열에 대한 전사 조절 서열의 기능적 상관관계를 지칭한다. 예를 들어, 프로모터 서열이 적절한 숙주 세포 또는 다른 발현 시스템에서 코딩 서열의 전사를 자극 또는 조절하는 경우, 프로모터 서열은 코딩 서열에 작동 가능하게 연결된다. 일반적으로, 전사된 서열에 작동 가능하게 연결된 프로모터 전사 조절 서열은 전사된 서열에 대해 물리적으로 연속적이며, 즉, 이는 시스-작용성 (cis-acting)이다.

[0022] 이식유전자는 단백질 또는 기능적 RNA를 코딩하는 임의의 핵산일 수 있다. 이식유전자의 바람직한 예가 하기에 논의된다.

[0023] 특정 일 구체예에서, 본 발명은 본 발명에 따른 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 여기서 프로모터는 하기이다:

[0024] a) miR223 프로모터, 또는 서열번호: 1에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 또는

[0025] b) TMEM119 프로모터, 또는 서열번호: 3, 서열번호: 23 또는 서열번호: 24에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 또는

[0026] c) P2RY12 프로모터, 또는 서열번호: 2, 서열번호: 21 또는 서열번호: 22에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 또는

[0027] d) OLFML3 프로모터, 또는 서열번호: 4 또는 서열번호: 25에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 또는

[0028] e) ITGAM 프로모터, 또는 서열번호: 6에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 또는

[0029] f) AIF1 프로모터, 또는 서열번호: 5에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 또는

[0030] g) 하기에 작동 가능하게 연결된, miR233 프로모터, 또는 서열번호: 1에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편을 포함하는 융합 프로모터:

[0031] i) TMEM119 프로모터, 또는 서열번호: 3, 서열번호: 23 또는 서열번호: 24에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 및/또는

[0032] ii) P2RY12 프로모터, 또는 서열번호: 2, 서열번호: 21 또는 서열번호: 22에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 및/또는

[0033] iii) OLFML3 프로모터, 또는 서열번호: 4 또는 서열번호: 25에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 및/또는

[0034] iv) ITGAM 프로모터, 또는 서열번호: 6에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 및/또는

[0035] v) AIF1 프로모터, 또는 서열번호: 5에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편.

[0036] 즉, 소정의 구체예에서, 프로모터는 miR223 프로모터 또는 이의 기능적 단편이다. 용어 "miR223 프로모터"는 서열번호: 1의 서열 및/또는 적어도 200개의 뉴클레오티드로 이루어진 이의 임의의 단편, 및/또는 서열 동일성이 >95%인 적어도 200개의 뉴클레오티드로 이루어진 임의의 서열 또는 이의 단편을 지칭한다.

ACTTGTACAGCTTCACAGGGCTCCATGCTTAGAAGGACCCCACACTTAGTTTAATGTTCTGCTGTC
ATCATCTTGATATTCTTAATTTTTAAATAAAGGGCCTATCGTTTTCATTTTTTACTGGGCCTTGCA
AATTATGTAGCTGGTTCTGTATGCCAGGAGAGAAGTTGGAAGTAAAATGGTATTCCAGGACCAGCA
GGCATTCTGGCAGAGTGAAAGAACATGTGATTTGGAGTCCATGGGGATGGGTTTAAATTTCAGCTT
TCCACTAATTTGCTTTGTGATACTGAGTATTTCCTTTTATCCCTCAGAGGCTCTGTTTCTCAATTT
TGACTACGGGTTTTTTCATTAGATAATGTCTCAGTTCTGGTATTCCAGGTTTCCCTCAATTATTCT
GGGAAAACCTCCTTGACCCACAGGCAGAGCCTAGGGCAGCCAGGTGCTTTCTACTCTCTCTCTCTC
TGCAGCTTGGAAAGTTAGTGTCTGTTGAAGGTCAGCTGGGAGTTGGTGGAGGCAGGGCAGTGGCCT
GCTACTATTGCTGCAGTAGCAGACCCTTTCACAACAGCATTGTTTTGTCATTTTGCATCCAGATTT
CCGTTGGCTAACCTCAGTCTTATCTTCCTCATTTCTGTTTCCTGTTGAAGACACCAAGGGCCCTTC
AAAACACAGAAGCTTCTTGCTCACGGCAGAAAGCCCAATTCCATCTGGCCCCTGCAGGTTGGCTCA
GCACTGGGGAATCAGAGTCCCCTCCATGACCAAGGCACCACTCCACTGACAG (서열번호:1)

[0037]

[0038] 본원에서 프로모터 miR223은 다양한 골수 세포 타입에서 발현을 유도하지만 (도 11 및 도 18), 문헌에 따르면 미세아교세포에서는 발현을 유도하지 않는 것으로 밝혀졌다. 본 발명자들은 놀랍게도 불멸화된 미세아교세포 세포주 (immortalized microglia cell line)에서 miR223 프로모터 활성을 검출하였다 (도 13).

[0039] miR223 프로모터는 서열번호: 1의 서열을 가질 수 있다. 그러나, 당업자는 서열번호: 1의 단편 및/또는 서열 변이체가 miR223 프로모터와 동일한 특징을 가질 수 있음을 알고 있다.

[0040] 따라서, 용어 "miR223 프로모터"는 또한 miR223 프로모터의 기능적 단편으로 확장된다. miR223 프로모터의 기능적 단편은 서열번호: 1의 적어도 20, 적어도 30, 적어도 40, 적어도 50, 적어도 60, 적어도 70, 적어도 80, 적어도 90, 적어도 100, 적어도 150, 적어도 200, 적어도 300, 적어도 400, 적어도 500, 적어도 600 또는 적어도 700개의 연속 뉴클레오티드를 포함하는 뉴클레오티드 서열이다. miR223 프로모터의 기능적 단편은 동일한 세포 타입에서 및 서열번호: 1에 제시된 프로모터와 유사한 수준으로 발현을 유도하는 것으로 정의된다.

[0041] 본 발명은 miR223 프로모터의 2개 이상의 기능적 단편을 포함하는 프로모터를 포함하는 것으로 추가로 이해되어야 한다. 즉, 소정의 구체예에서, 프로모터는 서열번호: 1의 적어도 20, 적어도 30, 적어도 40, 적어도 50, 적어도 60, 적어도 70, 적어도 80, 적어도 90, 적어도 100, 적어도 150, 적어도 200 또는 적어도 300개의 연속 뉴클레오티드를 포함하는 2개의 상이한 뉴클레오티드 서열을 포함할 수 있다. 소정의 구체예에서, 프로모터는 서열번호: 1의 적어도 20, 적어도 30, 적어도 40, 적어도 50, 적어도 60, 적어도 70, 적어도 80, 적어도 90, 적어도 100, 적어도 150 또는 적어도 200개의 연속 뉴클레오티드를 포함하는 3개의 상이한 뉴클레오티드 서열을 포함할 수 있다. 소정의 구체예에서, 프로모터는 서열번호: 1의 적어도 20, 적어도 30, 적어도 40, 적어도 50, 적어도 60, 적어도 70, 적어도 80, 적어도 90 또는 적어도 100개의 연속 뉴클레오티드를 포함하는 4개의 상이한 뉴클레오티드 서열을 포함할 수 있다.

[0042] 용어 "miR223 프로모터 (miR223 promoter)"는 또한 miR223 프로모터의 프로모터 기능 (promoter functionality)을 가진 프로모터로 확장된다. 프로모터가 동일한 세포 타입에서 및 유사한 수준으로 발현을 유도하는 경우 및 프로모터가 miR223 프로모터에 대해 적어도 소정의 정도의 서열 유사성을 포함하는 경우, 프로모터는 miR223 프로모터의 기능을 갖는다고 한다.

[0043] 프로모터가 서열번호: 1의 적어도 20, 적어도 30, 적어도 40, 적어도 50, 적어도 60, 적어도 70, 적어도 80, 적어도 90, 적어도 100, 적어도 150, 적어도 200, 적어도 300, 적어도 400, 적어도 500, 적어도 600 또는 적어도 700개의 뉴클레오티드의 연속 스트레치 (consecutive stretch)를 포함하는 경우, 프로모터는 miR223 프로모터에 대해 소정의 정도의 유사성을 갖는다고 한다.

[0044] 대안으로서, 프로모터가 서열번호: 1에 제시된 서열에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%의 서열 동일성을 갖는 경우, 프로모터는 miR223 프로모터에 대해 소정의 정도의 유사성을 갖는다고 한다.

[0045] 또한, 프로모터가 서열번호: 1의 적어도 100, 적어도 150, 적어도 200, 적어도 300, 적어도 400, 적어도 500, 적어도 600 또는 적어도 700개의 뉴클레오티드의 연속 스트레치를 포함하는 경우, 프로모터는 miR223 프로모터에 대해 소정의 정도의 유사성을 갖는 것으로 결정될 수 있으며, 상기 연속 스트레치는 서열번호: 1의 상응하는

단편에 대해 적어도 95%의 서열 동일성을 갖는다.

[0046] 즉, 소정의 구체예에서, miR223 프로모터의 기능적 단편은 서열번호: 1과 적어도 95%의 동일성을 갖는 적어도 100, 150, 200, 300, 400, 500, 600 또는 700개의 염기쌍으로 이루어진 핵산 서열이며, 상기 핵산 서열은 miR223 프로모터 활성을 갖는다.

[0047] 본원에서 사용된, 용어 "서열 동일성 (sequence identity)"은 비교 창 (comparison window)에 대해 2개의 최적으로 정렬된 서열을 비교함으로써 결정되며, 상기 비교 창에서 폴리뉴클레오티드의 단편은 2개의 서열의 최적 정렬을 위해 참조 서열과 비교하여 부가 또는 결실 (예를 들어, 갭 (gaps) 또는 돌출부 (overhangs))을 포함할 수 있고, 여기서 참조 서열은 부가 또는 결실을 포함하지 않는다. 서열 동일성의 퍼센트는 동일한 핵산 염기 또는 아미노산 잔기가 2개의 서열에서 나타나는 위치의 수를 결정하여 일치되는 위치의 수를 산출하고, 일치된 위치의 수를 비교 창에서 총 위치의 수로 나누고, 그 결과에 100을 곱하여 서열 동일성의 퍼센트를 산출한다. 비교를 위한 서열의 최적 정렬은 Smith and Waterman Add. APL. Math. 2:482 (1981)의 국소 상동성 알고리즘 (local homology algorithm)에 의해, Needleman and Wunsch J. Mol. Biol. 48:443 (1970)의 상동성 정렬 알고리즘 (homology alignment algorithm)에 의해, Pearson and Lipman Proc. Natl. Acad. Sci. (USA) 85: 2444 (1988)의 유사성 방법에 대한 검색 (search for similarity method)에 의해, 이들 알고리즘 (GAP, BESTFIT, BLAST, PASTA, and TFASTA in the Wisconsin Genetics Software Package, Genetics Computer Group (GCG), 575 Science Dr., Madison, WI)의 컴퓨터 구현 (computerized implementations)에 의해, 또는 검사 (inspection)에 의해 수행될 수 있다.

[0048] 소정의 구체예에서, 프로모터는 ITGAM 프로모터 또는 이의 기능적 단편이다. 용어 "ITGAM 프로모터"는 서열번호: 6의 서열 및/또는 적어도 200개의 뉴클레오티드로 이루어진 이의 임의의 단편, 및/또는 서열 동일성이 > 95%인 적어도 200개의 뉴클레오티드로 이루어진 임의의 서열 또는 이의 단편을 지칭한다.

[0049] CGCACCCAGCCAAGTTTGTACATATATTTTTGACTACACTTCTTAACTATTCTTAGGATAAA
TTACTAGAAGTGAAAATTCTTGGGTGAAGAGCTTGAGGCCTTTACACACACACACACACACA
CACACAAAAATAGGCTGGATGCAGTGGCTCACACCTGTAATCTCAGCAGTTTGGGAGGCTGA
GGAAGGAGGATCACTTGAGTCCAGGAGGTTGAGAATAGCCTGAACAACATAGCAAGATCTTG
TCTCTACAAAAAATTTAAAAAAAATTAGCTGGCCATGGCAGCATGTGCCTGTAGTACCAGCT
ACTCGGAAGGCTGAGGTAGGAGGATCGCTTGAGCCCAGGAGGTTGATTGAAGCTGCAGTGAG
CTGTGATTACACCACTGCACTCCAGCCTGGGCAACAGAGCTAGACTCTGTCTCTAAAAAAAG
CACAAAATAATATTTAAAAAGCACCAGGTATGCCTGTACTTGAGTTGTCTTTGTTGATGGCT
ACAAATGAGGACAGCTCTGGCTGAAGGGCGCTTCCATTTCCATGGGCTGAAGGAGGGACATT
TTGCAAAGTGTGTTTTCAGGAAGACACAGAGTTTTACCTCCTACACTTGTTTGATCTGTATT
AATGTTTGCTTATTTATTTATTTAATTTTTTTTTTGAGACAGAGTCTCACTCTGTCACCTGG
GCTGGAGTGCAGTGGCATTATTGAGGCTCATTGCAGTCTCAGACTCCTGAGCTCAAACAATC
CTCCTGCCTCAGCCTCTGGAGTAGCTAGGACTACAGGCATGTGCCACCATGCCTGGCTAATT
TTTTAAATGTATTTTTTTGTAGAGTCGGGGGTCTCCCTATGTTGCCCAGGCTGGAGTGCAGTG
GTGTGATCCTAGCTCACTGCAGCCTGGACCTCGGGCTCAAGTAATTCTCACACCTCAGCCTG
TCCAGTAGCAGGGGCTACAGGCGCGCACCACCATGCCCAGCTAATTAAAAATATTTTTTTGT
AGAGACAGGGTCTCTCTATGTTGCCCAGGCTGGTTTCAAACTCCCAGGCTCAAGCAATCCTC
CTGCCTTGGCCTCCCAAAGTGCTGGCATTACAGGCGTGAGCCACTGCGCCTGGCCCGTATTA
ATGTTTAGAACACGAATTCCAGGAGGCAGGCTAAGTCTGTTCAGCTTGTTCATATGCTTGGG
CCAACCCAAGAAACAAGTGGGTGACAAATGGCACCTTTTGGATAGTGGTATTGACTTTGAAA
GTTTGGGTCAGGAAGCTGGGGAGGAAGGGTGGGCAGGCTGTGGGCAGTCCTGGGCGGAAGAC
CAGGCAGGGCTATGTGCTCACTGAGCCTCCGCCCTCTTCCTTTGAATCTCTGATAGACTTCT
GCCTCCTACTTCTCCTTTTCTGCCCTTCTTTGCTTTGG (서열번호:6)

[0050] 본원에는 프로모터 ITGAM이 다양한 골수 세포 타입 (도 11 및 도 18) 및 미세아교세포 (도 13)에서 발현을 유도하는 것으로 개시하였다.

[0051] ITGAM 프로모터는 서열번호: 6의 서열을 가질 수 있다. 그러나, 당업자는 서열번호: 6의 단편 및/또는 서열 변이체가 ITGAM 프로모터와 동일한 특징을 가질 수 있음을 알고 있다.

[0052] 따라서, 용어 "ITGAM 프로모터 (ITGAM promoter)"는 또한 ITGAM 프로모터의 기능적 단편으로 확장된다. ITGAM

프로모터의 기능적 단편은 서열번호: 6의 적어도 20, 적어도 30, 적어도 40, 적어도 50, 적어도 60, 적어도 70, 적어도 80, 적어도 90, 적어도 100, 적어도 150, 적어도 200, 적어도 300, 적어도 400, 적어도 500, 적어도 600 또는 적어도 700개의 연속 뉴클레오티드를 포함하는 뉴클레오티드 서열이다. ITGAM 프로모터의 기능적 단편은 동일한 세포 타입에서 및 서열번호: 6에 제시된 프로모터와 유사한 수준으로 발현을 유도한다.

[0053] 본 발명은 ITGAM 프로모터의 2개 이상의 기능적 단편을 포함하는 프로모터를 포함하는 것으로 추가로 이해되어야 한다. 즉, 소정의 구체예에서, 프로모터는 서열번호: 6의 적어도 20, 적어도 30, 적어도 40, 적어도 50, 적어도 60, 적어도 70, 적어도 80, 적어도 90, 적어도 100, 적어도 150, 적어도 200 또는 적어도 300개의 연속 뉴클레오티드를 포함하는 2개의 상이한 뉴클레오티드 서열을 포함할 수 있다. 소정의 구체예에서, 프로모터는 서열번호: 6의 적어도 20, 적어도 30, 적어도 40, 적어도 50, 적어도 60, 적어도 70, 적어도 80, 적어도 90, 적어도 100, 적어도 150 또는 적어도 200개의 연속 뉴클레오티드를 포함하는 3개의 상이한 뉴클레오티드 서열을 포함할 수 있다. 소정의 구체예에서, 프로모터는 서열번호: 6의 적어도 20, 적어도 30, 적어도 40, 적어도 50, 적어도 60, 적어도 70, 적어도 80, 적어도 90 또는 적어도 100개의 연속 뉴클레오티드를 포함하는 4개의 상이한 뉴클레오티드 서열을 포함할 수 있다.

[0054] 용어 "ITGAM 프로모터 (ITGAM promoter)"는 또한 ITGAM 프로모터의 프로모터 기능을 가진 프로모터로 확장된다. 프로모터가 동일한 세포 타입에서 및 유사한 수준으로 발현을 유도하는 경우 및 프로모터가 ITGAM 프로모터에 대해 적어도 소정의 정도의 서열 유사성을 포함하는 경우, 프로모터는 ITGAM 프로모터의 기능을 갖는다고 한다.

[0055] 프로모터가 서열번호: 6의 적어도 20, 적어도 30, 적어도 40, 적어도 50, 적어도 60, 적어도 70, 적어도 80, 적어도 90, 적어도 100, 적어도 150, 적어도 200, 적어도 300, 적어도 400, 적어도 500, 적어도 600 또는 적어도 700개의 뉴클레오티드의 연속 스트레치를 포함하는 경우, 프로모터는 ITGAM 프로모터에 대해 소정의 정도의 유사성을 갖는다고 한다.

[0056] 대안으로서, 프로모터가 서열번호: 6에 제시된 서열에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%의 서열 동일성을 갖는 경우, 프로모터는 ITGAM 프로모터에 대해 소정의 정도의 유사성을 갖는다고 한다.

[0057] 또한, 프로모터가 서열번호: 6의 적어도 100, 적어도 150, 적어도 200, 적어도 300, 적어도 400, 적어도 500, 적어도 600 또는 적어도 700개의 뉴클레오티드의 연속 스트레치를 포함하는 경우, 프로모터는 ITGAM 프로모터에 대해 소정의 정도의 유사성을 갖는 것으로 결정될 수 있으며, 상기 연속 스트레치는 서열번호: 6의 상응하는 단편에 대해 적어도 95%의 서열 동일성을 갖는다.

[0058] 즉, 소정의 구체예에서, ITGAM 프로모터의 기능적 단편은 서열번호: 6과 적어도 95%의 동일성을 갖는 적어도 100, 150, 200, 300, 400, 500, 600 또는 700개의 염기쌍으로 이루어진 핵산 서열이며, 상기 핵산 서열은 ITGAM 프로모터 활성을 갖는다.

[0059] 소정의 구체예에서, 프로모터는 AIF1 프로모터 또는 이의 기능적 단편이다. 용어 "AIF1 프로모터 (AIF1 promoter)"는 서열번호: 5의 서열 및/또는 적어도 200개의 뉴클레오티드로 이루어진 이의 임의의 단편, 및/또는 서열 동일성이 >95%인 적어도 200개의 뉴클레오티드로 이루어진 임의의 서열 또는 이의 단편을 지칭한다.

CGCCTGTAGTCCCAGCTACTCAGGAGGCTGAGGTAGGAGAATTGCTTGAACCCAGGAGGCAG
TGGTTGCAGTGAGCCGAGATTGCACCATTGCACTCCCGCCTGGGCGACAGAGCAAGACTCCG
ACTCAAAAAAAAAAAAAAAAGCAGCAGCAGCAGCCAGAGGCCACTCCAGCATCTCCCCTACC
TGGCTTGGGTCAGGGAGAGGGCAGTGAGAAGTGAAAACTCCCAGCTACAGAAAAGGAAATAT
GTTGGGGGGGAAGGGAGAAGGAAAGGTGTCTTCATCAATGCCGGGGCAGGGTAGATGGAGCCC
TGGGCAGGGAGTTTGGACCAGGAAATCTCAATGAGGGAAATGTGCTGTCCTCACCTCTCCAA
GAAGCGACTGGCCAAACAGAGTGACAGAGGGGATAAAGGTTATGCCTAGGGAGGCATGTGTC
AGAGGCTATCATCCACTCTGTTGAACCCACAGTGACCAGCACCACCATCACACAAACATGCC
TGCATGTGTGCACGCACGTGCAGTGTGCAAACCTGATGTCAGCCTCACTCCCTGGCTCTTCT
GTCCACAAACGCTGTTTCTTTAAGTACCACTTTCAGTTCCTCCAAAGAATCTACTTAAACTC
TTAAATTCCTGATCTCTATAGATTTTACTAAAGATTTCAAAGGAGATAAGATGAGAGGGTTA
CGTTGCACATTCTAAAGCAAACAAATTAAAATGTTTTGTTAGACATTTCCATATTTTTAAGG
GCCTCCTTGGAGCTGCCAGGCTGGGAGTGAGGTTTCTCTCCCTTTCTAAACCCTGTGCCCAT
CTTGTCACCCTCCTGGAGCTGCCAGCAGACTTCAGATTCTTCTCCGATCTACAGAGCAGAAA
AATTCAGCCAGCCCTTCCTTGTCTTCCTATCCACAGCTGCCTGCCCAGACTCATGAAACCTG
ACAAAATGCAAGGTCTTATCATTACCTGAACCTTGGACCTGTTCAAAAATACTAGTTCCTGA
GAATAAATATCCCTGGTGTCTTCCTGCCCTTCCTGCACACCTCCAGTGGCTTATCAAAATAT
TTGTTTCATGCGCACACTGGGCTCTCATTTAAGAGGAATTTGGGAGAATGTTATTTTCTAAT
CTGCATTTCACACCAGGCTCCCCCTCCTTCCTGGGGTGCTAGTGTCAGCAGAACCTGATGGG
GAAGTGAGGTCTGGGAGGCAGAGGAGGAAGGAATGAGGGGAAAGGGGAAGTTTGGGAGGAAG
GCTTCTG (서열번호:5)

[0060]

[0061] AIF1 프로모터는 서열번호: 5의 서열을 가질 수 있다. 그러나, 당업자는 서열번호: 5의 단편 및/또는 서열 변이체가 AIF1 프로모터와 동일한 특징을 가질 수 있음을 알고 있다.

[0062] 따라서, 용어 "AIF1 프로모터 (AIF1 promoter)"는 또한 AIF1 프로모터의 기능적 단편으로 확장된다. AIF1 프로모터의 기능적 단편은 서열번호: 5의 적어도 20, 적어도 30, 적어도 40, 적어도 50, 적어도 60, 적어도 70, 적어도 80, 적어도 90, 적어도 100, 적어도 150, 적어도 200, 적어도 300, 적어도 400, 적어도 500, 적어도 600 또는 적어도 700개의 연속 뉴클레오티드를 포함하는 뉴클레오티드 서열이다. AIF1 프로모터의 기능적 단편은 동일한 세포 타입에서 및 서열번호: 5에 제시된 프로모터와 유사한 수준으로 발현을 유도한다.

[0063] 본 발명은 AIF1 프로모터의 2개 이상의 기능적 단편을 포함하는 프로모터를 포함하는 것으로 추가로 이해되어야 한다. 즉, 소정의 구체예에서, 프로모터는 서열번호: 5의 적어도 20, 적어도 30, 적어도 40, 적어도 50, 적어도 60, 적어도 70, 적어도 80, 적어도 90, 적어도 100, 적어도 150, 적어도 200 또는 적어도 300개의 연속 뉴클레오티드를 포함하는 2개의 상이한 뉴클레오티드 서열을 포함할 수 있다. 소정의 구체예에서, 프로모터는 서열번호: 5의 적어도 20, 적어도 30, 적어도 40, 적어도 50, 적어도 60, 적어도 70, 적어도 80, 적어도 90, 적어도 100, 적어도 150 또는 적어도 200개의 연속 뉴클레오티드를 포함하는 3개의 상이한 뉴클레오티드 서열을 포함할 수 있다. 소정의 구체예에서, 프로모터는 서열번호: 5의 적어도 20, 적어도 30, 적어도 40, 적어도 50, 적어도 60, 적어도 70, 적어도 80, 적어도 90 또는 적어도 100개의 연속 뉴클레오티드를 포함하는 4개의 상이한 뉴클레오티드 서열을 포함할 수 있다.

[0064] 용어 "AIF1 프로모터"는 또한 AIF1 프로모터의 프로모터 기능을 가진 프로모터로 확장된다. 프로모터가 동일한 세포 타입에서 및 유사한 수준으로 발현을 유도하는 경우 및 프로모터가 AIF1 프로모터에 대해 적어도 소정의 정도의 서열 유사성을 포함하는 경우, 프로모터는 AIF1 프로모터의 기능을 갖는다고 한다.

[0065] 프로모터가 서열번호: 5의 적어도 20, 적어도 30, 적어도 40, 적어도 50, 적어도 60, 적어도 70, 적어도 80, 적어도 90, 적어도 100, 적어도 150, 적어도 200, 적어도 300, 적어도 400, 적어도 500, 적어도 600 또는 적어도 700개의 뉴클레오티드의 연속 스트레치를 포함하는 경우, 프로모터는 AIF1 프로모터에 대해 소정의 정도의 유사성을 갖는다고 한다.

[0066] 대안으로서, 프로모터가 서열번호: 5에 제시된 서열에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%의 서열 동일성을 갖는 경우, 프로모터는 AIF1 프로모터에 대해 소정의 정도의 유사성을 갖는다고 한다.

[0067] 또한, 프로모터가 서열번호: 5의 적어도 100, 적어도 150, 적어도 200, 적어도 300, 적어도 400, 적어도 500,

적어도 600 또는 적어도 700개의 뉴클레오티드의 연속 스트레치를 포함하는 경우, 프로모터는 AIF1 프로모터에 대해 소정의 정도의 유사성을 갖는 것으로 결정될 수 있으며, 상기 연속 스트레치는 서열번호: 5의 상응하는 단편에 대해 적어도 95%의 서열 동일성을 갖는다.

[0068] 즉, 소정의 구체예에서, AIF1 프로모터의 기능적 단편은 서열번호: 5와 적어도 95%의 동일성을 갖는 적어도 100, 150, 200, 300, 400, 500, 600 또는 700개의 염기쌍으로 이루어진 핵산 서열이며, 상기 핵산 서열은 AIF1 프로모터 활성을 갖는다.

[0069] 소정의 구체예에서, 프로모터는 P2RY12 프로모터 (또한 P2Y12라고 함, https://www.genenames.org/data/gene-symbol-report/#!/hgnc_id/18124 참조) 또는 이의 기능적 단편이다. 용어 "P2RY12 프로모터 (P2RY12 promoter)"는 서열번호: 2의 서열 및/또는 적어도 200개의 뉴클레오티드로 이루어진 이의 임의의 단편, 및/또는 서열 동일성이 >95%인 적어도 200개의 뉴클레오티드로 이루어진 임의의 서열 또는 이의 단편을 지칭한다.

GGTGTTGGAGAGGATGTGGAGAAATAGGAACACTTTTACACTGTTGGTGGGACTATAAACTA
GTTCAACCATTGTGGAAGTCAGTGTGGTGATTCCTCAGTGATCTAGAACTAGAAATACCATT
TAACCCAGCCATCCCATTACTGGGTATATACCCAAAGGATTATAAGTCATGCTGCTATAAAG
ACACATGCACACGTATGTTTATTGCGGCACTATTCATAATAGCAAAGACTTGGAACCAACCC
AAAAGTCCAACAATGATAGACTGGATTAAGAAAATGTGGCACATATACACCATGGAATACTA
TGCAGCCATAAAAAATGATGAGTTCATGTCCTTTGTAGGGACATGGATGAAATTAGAAATCA
TCATTCTCAGTAAACTATCGCAAGAACAAAAAACCAAACACCACATATTCTCACTCATAGGT
GGGAACTGAACAATGAGAACACATGGACACAGGAAGGGAAACACTACACTCTGGGGACTGTT
GTGGGGTGGGGGGATGGGGGAGGGATAGCTTTAGGAGATATACCTAATGCTAAATGACGAGT
TAATGGGTGTAGCACACCAGCATGGCACATGTATACATATGTAACTAACCTGCACATTGTGC
ACATGTACCCTAAAACTTAACGTATAATAATAATAAAATTAAAAAAAAAAAAGTTAAAGCAGC
AAAACACTTTGCCCTTCAATCTCACCCCTAACATATTTTTTGCCCTTCTGGTTTCAAAGTTA
AACAACTGTAAATAATTGTGATACAAGGATGCCTTAATTTAATGTTATATTTTCCCAAAAAC
TCAAAGTTAGGTAAAGAAACAAAAAAAAATTGTTTATATTTAAATTCTATTCAAGAAAAGCA
TGAACGACACAGTATATAATAAGCCTGGCAATGGATACAATCACTTCTCTAATGTAATTTTG
GAATCTGCTAATTTATAATAGAAGGAAGCTGTTTCACCTACAAAGGAGTTAATCAAACACAG
GTTTAAAATAATGACATTATTAACCAAGGGAAAAACAAAGGGCCAGAGACTTAACATCCCTA
GCCAGCACGCATTTTGAGTTAACATAATTACTTGTTAGAAGAAAATACATCACCCAGTGTTG
TACACAATATATTTCAGATAAATTAACCACCCAAGAAAGCAAGCTTAAAATCTTCTCCAGGA
AGCAGACTTCGAAGGCTTGATCTCAACTTGGATTTATCATTTGCATAGAAAATAACCATAAC
TCGAAGTTATAAATCATCAACTCTATAGCAGGTTTCAGTAAAAAGCCGCAAGATTTTAAATT
GCTTTTTAAAAGATGACTTCTCAGCCATCCTCATCCCACATTTCCTGGGAAATAAAAGCAGA
AGTCCTAAAAGAGGACAGATAGAAATTCAGTGTCTGCATAGCTTTGAGTCCAGTGTTTGA
(서열번호:2)

[0070]

[0071] P2RY12 프로모터는 서열번호: 2의 서열을 가질 수 있다. 그러나, 당업자는 서열번호: 2의 단편 및/또는 서열 변이체가 P2RY12 프로모터와 동일한 특징을 가질 수 있음을 알고 있다.

[0072] 따라서, 용어 "P2RY12 프로모터 (P2RY12 promoter)"는 또한 P2RY12 프로모터의 기능적 단편으로 확장된다. P2RY12 프로모터의 기능적 단편은 서열번호: 2의 적어도 20, 적어도 30, 적어도 40, 적어도 50, 적어도 60, 적어도 70, 적어도 80, 적어도 90, 적어도 100, 적어도 150, 적어도 200, 적어도 300, 적어도 400, 적어도 500, 적어도 600 또는 적어도 700개의 연속 뉴클레오티드를 포함하는 뉴클레오티드 서열이다. P2RY12 프로모터의 기능적 단편은 동일한 세포 타입에서 및 서열번호: 2에 제시된 프로모터와 유사한 수준으로 발현을 유도한다. 소정의 구체예에서, P2RY12 프로모터의 기능적 단편은 서열번호: 21의 서열을 갖는다. 소정의 구체예에서, P2RY12 프로모터의 기능적 단편은 서열번호: 22의 서열을 갖는다.

[0073] 본 발명은 P2RY12 프로모터의 2개 이상의 기능적 단편을 포함하는 프로모터를 포함하는 것으로 추가로 이해되어야 한다. 즉, 소정의 구체예에서, 프로모터는 서열번호: 2의 적어도 20, 적어도 30, 적어도 40, 적어도 50, 적어도 60, 적어도 70, 적어도 80, 적어도 90, 적어도 100, 적어도 150, 적어도 200 또는 적어도 300개의 연속 뉴클레오티드를 포함하는 2개의 상이한 뉴클레오티드 서열을 포함할 수 있다. 소정의 구체예에서, 프로모터는 서열번호: 2의 적어도 20, 적어도 30, 적어도 40, 적어도 50, 적어도 60, 적어도 70, 적어도 80, 적어도 90, 적어

도 100, 적어도 150 또는 적어도 200개의 연속 뉴클레오티드를 포함하는 3개의 상이한 뉴클레오티드 서열을 포함할 수 있다. 소정의 구체예에서, 프로모터는 서열번호: 2의 적어도 20, 적어도 30, 적어도 40, 적어도 50, 적어도 60, 적어도 70, 적어도 80, 적어도 90 또는 적어도 100개의 연속 뉴클레오티드를 포함하는 4개의 상이한 뉴클레오티드 서열을 포함할 수 있다.

[0074] 용어 "P2RY12 프로모터 (P2RY12 promoter)"는 또한 P2RY12 프로모터의 프로모터 기능을 가진 프로모터로 확장된다. 프로모터가 동일한 세포 타입에서 및 유사한 수준으로 발현을 유도하는 경우 및 프로모터가 P2RY12 프로모터에 대해 적어도 소정의 정도의 서열 유사성을 포함하는 경우, 프로모터는 P2RY12 프로모터의 기능을 갖는다고 한다.

[0075] 프로모터가 서열번호: 2의 적어도 20, 적어도 30, 적어도 40, 적어도 50, 적어도 60, 적어도 70, 적어도 80, 적어도 90, 적어도 100, 적어도 150, 적어도 200, 적어도 300, 적어도 400, 적어도 500, 적어도 600 또는 적어도 700개의 뉴클레오티드의 연속 스트레치를 포함하는 경우, 프로모터는 P2RY12 프로모터에 대해 소정의 정도의 유사성을 갖는다고 한다.

[0076] 대안으로서, 프로모터가 서열번호: 2, 서열번호: 21 또는 서열번호: 22에 제시된 서열에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%의 서열 동일성을 갖는 경우, 프로모터는 P2RY12 프로모터에 대해 소정의 정도의 유사성을 갖는다고 한다.

[0077] 또한, 프로모터가 서열번호: 2의 적어도 100, 적어도 150, 적어도 200, 적어도 300, 적어도 400, 적어도 500, 적어도 600 또는 적어도 700개의 뉴클레오티드의 연속 스트레치를 포함하는 경우, 프로모터는 P2RY12 프로모터에 대해 소정의 정도의 유사성을 갖는 것으로 결정될 수 있으며, 상기 연속 스트레치는 서열번호: 2의 상응하는 단편에 대해 적어도 95%의 서열 동일성을 갖는다.

[0078] 즉, 소정의 구체예에서, P2RY12 프로모터의 기능적 단편은 서열번호: 2와 적어도 95%의 동일성을 갖는 적어도 100, 150, 200, 300, 400, 500, 600 또는 700개의 염기쌍으로 이루어진 핵산 서열이며, 상기 핵산 서열은 P2RY12 프로모터 활성을 갖는다.

[0079] 소정의 구체예에서, 프로모터는 TMEM119 프로모터 또는 이의 기능적 단편이다. 용어 "TMEM119 프로모터 (TMEM119 promoter)"는 서열번호: 3의 서열 및/또는 적어도 200개의 뉴클레오티드로 이루어진 이의 임의의 단편, 및/또는 서열 동일성이 >95%인 적어도 200개의 뉴클레오티드로 이루어진 임의의 서열 또는 이의 단편을 지칭한다.

GTTCCTACCCAGAGAGCACGCACTCATCCTTCATGCACTCCCCTGTTCCAAACCCTCACTGG
CTCCGTACTGCCTCCGACCTTCCGAGACTTTAGCCTGGCTCCTGTCAACATCTCTGACCCTT
ACTACATGATCCTCTCTTTGGTCCATGCTCCAGCCTAATCTAATTGCGGTGGCTTGTGCGTG
GTGGCATTCCCAGCCACCATACCTTTACCCACGCTGGTCCTTCCATGCGGAATGCCTTTCCA
GGGCCTGCTTTGCCCGCTTCTGCTCATACACAGGCATGCCCTCCAGGATGGCTTCCTACCTC
TTTCCCTTGGGGGATTGATCTCTCTGTCTTGGGGTTCTCGGAGCCCTTGACCTGACCCCTTT
CTGTTTGGCAAAAAAGTAATTTACCTCGGTGTCCTTCTCCCTGGTAGTCTGTGAGCTCCCCA
AGGCTGGGCTGTGCCTGATTCACCTCTGGAACTTGCTTAGCACAGTGCGTGGCCTGCTGCAG
GTGTTCATTGAGCACTTGCCGAATGAATGCATGAATGAATGAATGAATGAATGAATGCAAGG
GGCTGCTAATCCACAGGACTCCTCAGGTCAGCCAGACGTCCCGGTTCCAAGGCCTGCCACTG
ACTCACCTCAGGACCCTGCTTGAACCATTAGAACTCACCCTGCCTCACTTTCCCCCTCTGTG
AAATGGGGCTCCAACTCCTATTCAAGCTACTATCATTTGGGGGCATTGTGAGGCCACAGATC
CCAGAACATCAGAGTCAGAGGTAGCCCAGAAAGCTTCCCACCCATCCCTACAAATGGGAAAC
TGAGGTCTGGAGAGGGAAGGGCAGAGTTGGGCTCCCTGTCTCAGGCTCGGACCCACCATCAG
GCCTGTCTCTAAAACGAATCCCAGCTCCCACGCTGCACCCTGAGCCTGGAAGCCTGAGCCAC
ACAAGGACGGGGAATTTTCCTTCCCACTTCCAGAGGCCTCTGAACCTCCCTGAGCTTGTCCC
CTTTGGAGGGTATTGGGCAGCAGCGTGGGCAGAACCCCAGCTCACTGTCTGGGGGAGCGCTG
CAGGACAGCCTTGTCTGTCTGTCTCAGCCTGCCCTGGGGACCCGAGGTCAGGGAGGAAGTGC
CGCATCTGGTCTTCCCCAGAGCGAGAGTGTGAGCAAGGGTGGGATTGCGTGTGGCCCGAGAG
TAGCCCCTCCCCTCCCCCTGTCCCCACCCCAAACCCTCTTAATGAAATCAAGCTGGCCCTGC
GGCCCAGCCGGGGAGGGAGGAAGGAGGAGGGACGGGAGGAGGGACGGG
AGGAGGGAGGGCGGGCAGGC (서열번호:3)

[0080]

[0081] TMEM119 프로모터는 서열번호: 3의 서열을 가질 수 있다. 그러나, 당업자는 서열번호: 3의 단편 및/또는 서열 변이체가 TMEM119 프로모터와 동일한 특징을 가질 수 있음을 알고 있다.

[0082] 따라서, 용어 "TMEM119 프로모터 (TMEM119 promoter)"는 또한 TMEM119 프로모터의 기능적 단편으로 확장된다. TMEM119 프로모터의 기능적 단편은 서열번호: 3의 적어도 20, 적어도 30, 적어도 40, 적어도 50, 적어도 60, 적어도 70, 적어도 80, 적어도 90, 적어도 100, 적어도 150, 적어도 200, 적어도 300, 적어도 400, 적어도 500, 적어도 600 또는 적어도 700개의 연속 뉴클레오티드를 포함하는 뉴클레오티드 서열이다. TMEM119 프로모터의 기능적 단편은 동일한 세포 타입에서 및 서열번호: 3에 제시된 프로모터와 유사한 수준으로 발현을 유도한다. 소정의 구체예에서, TMEM119 프로모터의 기능적 단편은 서열번호: 23의 서열을 갖는다. 소정의 구체예에서, TMEM119 프로모터의 기능적 단편은 서열번호: 24의 서열을 갖는다.

[0083] 본 발명은 TMEM119 프로모터의 2개 이상의 기능적 단편을 포함하는 프로모터를 포함하는 것으로 추가로 이해되어야 한다. 즉, 소정의 구체예에서, 프로모터는 서열번호: 3의 적어도 20, 적어도 30, 적어도 40, 적어도 50, 적어도 60, 적어도 70, 적어도 80, 적어도 90, 적어도 100, 적어도 150, 적어도 200 또는 적어도 300개의 연속 뉴클레오티드를 포함하는 2개의 상이한 뉴클레오티드 서열을 포함할 수 있다. 소정의 구체예에서, 프로모터는 서열번호: 3의 적어도 20, 적어도 30, 적어도 40, 적어도 50, 적어도 60, 적어도 70, 적어도 80, 적어도 90, 적어도 100, 적어도 150 또는 적어도 200개의 연속 뉴클레오티드를 포함하는 3개의 상이한 뉴클레오티드 서열을 포함할 수 있다. 소정의 구체예에서, 프로모터는 서열번호: 3의 적어도 20, 적어도 30, 적어도 40, 적어도 50, 적어도 60, 적어도 70, 적어도 80, 적어도 90 또는 적어도 100개의 연속 뉴클레오티드를 포함하는 4개의 상이한 뉴클레오티드 서열을 포함할 수 있다.

[0084] 용어 "TMEM119 프로모터 (TMEM119 promoter)"는 또한 TMEM119 프로모터의 프로모터 기능을 가진 프로모터로 확장된다. 프로모터가 동일한 세포 타입에서 및 유사한 수준으로 발현을 유도하는 경우 및 프로모터가 TMEM119 프로모터에 대해 적어도 소정의 정도의 서열 유사성을 포함하는 경우, 프로모터는 TMEM119 프로모터의 기능을 갖는다고 한다.

[0085] 프로모터가 서열번호: 3의 적어도 20, 적어도 30, 적어도 40, 적어도 50, 적어도 60, 적어도 70, 적어도 80, 적어도 90, 적어도 100, 적어도 150, 적어도 200, 적어도 300, 적어도 400, 적어도 500, 적어도 600 또는 적어도 700개의 뉴클레오티드의 연속 스트레치를 포함하는 경우, 프로모터는 TMEM119 프로모터에 대해 소정의 정도의 유사성을 갖는다고 한다.

[0086] 대안으로서, 프로모터가 서열번호: 3, 서열번호: 23 또는 서열번호: 24에 제시된 서열에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%의 서열 동일성을 갖는 경우, 프로모터는 TMEM119 프로모터에 대해 소정의 정도의 유사성을 갖는다고 한다.

[0087] 또한, 프로모터가 서열번호: 3의 적어도 100, 적어도 150, 적어도 200, 적어도 300, 적어도 400, 적어도 500, 적어도 600 또는 적어도 700개의 뉴클레오티드의 연속 스트레치를 포함하는 경우, 프로모터는 TMEM119 프로모터에 대해 소정의 정도의 유사성을 갖는 것으로 결정될 수 있으며, 상기 연속 스트레치는 서열번호: 3의 상응하는 단편에 대해 적어도 95%의 서열 동일성을 갖는다.

[0088] 즉, 소정의 구체예에서, TMEM119 프로모터의 기능적 단편은 서열번호: 3과 적어도 95%의 동일성을 갖는 적어도 100, 150, 200, 300, 400, 500, 600 또는 700개의 염기쌍으로 이루어진 핵산 서열이며, 상기 핵산 서열은 TMEM119 프로모터 활성을 갖는다.

[0089] 소정의 구체예에서, 프로모터는 OLFML3 프로모터 또는 이의 기능적 단편이다. 용어 "OLFML3 프로모터 (OLFML3 promoter)"는 서열번호: 4의 서열 및/또는 적어도 200개의 뉴클레오티드로 이루어진 이의 임의의 단편, 및/또는 서열 동일성이 >95%인 적어도 200개의 뉴클레오티드로 이루어진 임의의 서열 또는 이의 단편을 지칭한다.

GCAGTGTCCAGGGTCCTTACTTCACATCATCTGGATCTGACCCTTTGAAAGAGGTAGAAGAC
TTCTGAGACCGGCTAATTAAGCTTTGTTTCCTCATATGTTTTGCCAGATAGCAGTAGCAGAA
TGAAAAGATGAGTAACCACAGGAAGCTGCTATTTTTCCCCTCCTTTCAAACTGTACTGTTAG
AGTCATGGTCCTTTTTACAGAAGGAACCTCTCATCAGATTCTGTTGATTCTAAAGTGAATAG
AATTTCTCCCGATAAAGAAATAGGGGTTTGTTTCGATTAATGACTGCAGGTCTCTGAGTAAA
TGCTCTATTTGATTTTTTTTTTCGGCCCGTGTGTCTACCTTATGGCCCAAGTCTACCTTATG
GTGGCCATTAATTCATTTTGGGCTCCTGCAGCCTTAGTTGGGATATAGAAATGAGAAACACT
CAGAAATACCCTTTTGGACCACAACCAAGAGAAATAACCAATAGTCTTTTCTCCCAGTGGTA
AGGAAGTCAGAATACATTGATCTAGACTGCAACAACATATATATATATATCAGATTCCGCCC
CCCCGCAATACATGAATGTATAGTAAATTAGTGTGAACTCACTGAACACTCCTCAGTTTTGG
TGAGAGACTATATCTGGCCTCTTTCAAGCAAAGGAAAGCCATGTAAAACAGCGCTGCTGTCA
GCCTTAACTTCCAGACGATCGAGTTAATTTACTAACTTCTCAGTGACCTGTTTTTTTTTTTT
TTTTAATCTCAGTTATATTTTCTTCCTTGGGCTAAATCAGATATTTGCATAGCCCCCAAAGT
AGTAATTGGATAGTCTTGGGGGAAATATGCATTTCAGTGGTGAAAACCCCTGTAAATTCAAT
ATATTTGGCTTTTGTGGAAAATTTTCCTCATGGGGTGAAGTCTAAGCCTTAGTTTCTGTATT
ATCATGAGAGATGACACCAGCTGCTTAGCACAAGGTGGCGCCAATGAGCTTTAGAATAAGTT
GGGCTTGACCACTTGGGCCATTGTTTTCCTGCTTCCTCCCTTCAAGCCTCACCTCCCCAGCT
CCCAGCTTCTACTGAACAAGGCTGAAAACCCACTCTATTGCAGGGAAAGGGAAAGATTAATG
AAAAATGTCAGTTTCTTAAGTCAGCACTGGTGAAACTTTCCTAAAACAGGAATGGCGTTTGC
TGAGTTTTCTCTGGGGTCTCTGCTTTCTGCAGCTAGCTTCCCTGCTTGACTGCCTAGAAGGC
CTCTGCTTTCGGGTTTCCATCTCTTTCCCCTCCAGAGGACCCTACAGCCTAGGCGGGAGGTG
GTTAAGGCTTCTGGCTGCTGTGCAATGGGGCCATCTGTGTTTGATCAATCCTGGCGGAAAGG
AGGGGGTGGGGGTTGTAAAGAGAACTGAAAGCATTCCAGAGTAGTGAGAGAGA
(서열번호 :4)

[0090]

[0091] OLFML3 프로모터는 서열번호: 4의 서열을 가질 수 있다. 그러나, 당업자는 서열번호: 4의 단편 및/또는 서열 변이체가 OLFML3 프로모터와 동일한 특징을 가질 수 있음을 알고 있다.

[0092] 따라서, 용어 "OLFML3 프로모터 (OLFML3 promoter)"는 또한 OLFML3 프로모터의 기능적 단편으로 확장된다. OLFML3 프로모터의 기능적 단편은 서열번호: 4의 적어도 20, 적어도 30, 적어도 40, 적어도 50, 적어도 60, 적어도 70, 적어도 80, 적어도 90, 적어도 100, 적어도 150, 적어도 200, 적어도 300, 적어도 400, 적어도 500, 적어도 600 또는 적어도 700개의 연속 뉴클레오티드를 포함하는 뉴클레오티드 서열이다. OLFML3 프로모터의 기능적 단편은 동일한 세포 타입에서 및 서열번호: 4에 제시된 프로모터와 유사한 수준으로 발현을 유도한다. 소정의 구체예에서, OLFML3 프로모터의 기능적 단편은 서열번호: 25의 서열을 갖는다.

[0093] 본 발명은 OLFML3 프로모터의 2개 이상의 기능적 단편을 포함하는 프로모터를 포함하는 것으로 추가로 이해되어야 한다. 즉, 소정의 구체예에서, 프로모터는 서열번호: 4의 적어도 20, 적어도 30, 적어도 40, 적어도 50, 적어도 60, 적어도 70, 적어도 80, 적어도 90, 적어도 100, 적어도 150, 적어도 200 또는 적어도 300개의 연속 뉴

클레오티드를 포함하는 2개의 상이한 뉴클레오티드 서열을 포함할 수 있다. 소정의 구체예에서, 프로모터는 서열번호: 4의 적어도 20, 적어도 30, 적어도 40, 적어도 50, 적어도 60, 적어도 70, 적어도 80, 적어도 90, 적어도 100, 적어도 150 또는 적어도 200개의 연속 뉴클레오티드를 포함하는 3개의 상이한 뉴클레오티드 서열을 포함할 수 있다. 소정의 구체예에서, 프로모터는 서열번호: 4의 적어도 20, 적어도 30, 적어도 40, 적어도 50, 적어도 60, 적어도 70, 적어도 80, 적어도 90 또는 적어도 100개의 연속 뉴클레오티드를 포함하는 4개의 상이한 뉴클레오티드 서열을 포함할 수 있다.

[0094] 용어 "OLFML3 프로모터 (OLFML3 promoter)"는 또한 OLFML3 프로모터의 프로모터 기능을 가진 프로모터로 확장된다. 프로모터가 동일한 세포 타입에서 및 유사한 수준으로 발현을 유도하는 경우 및 프로모터가 OLFML3 프로모터에 대해 적어도 소정의 정도의 서열 유사성을 포함하는 경우, 프로모터는 OLFML3 프로모터의 기능을 갖는다고 한다.

[0095] 프로모터가 서열번호: 4의 적어도 20, 적어도 30, 적어도 40, 적어도 50, 적어도 60, 적어도 70, 적어도 80, 적어도 90, 적어도 100, 적어도 150, 적어도 200, 적어도 300, 적어도 400, 적어도 500, 적어도 600 또는 적어도 700개의 뉴클레오티드의 연속 스트레치를 포함하는 경우, 프로모터는 OLFML3 프로모터에 대해 소정의 정도의 유사성을 갖는다고 한다.

[0096] 대안으로서, 프로모터가 서열번호: 4 또는 서열번호: 25에 제시된 서열에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%의 서열 동일성을 갖는 경우, 프로모터는 OLFML3 프로모터에 대해 소정의 정도의 유사성을 갖는다고 한다.

[0097] 또한, 프로모터가 서열번호: 4의 적어도 100, 적어도 150, 적어도 200, 적어도 300, 적어도 400, 적어도 500, 적어도 600 또는 적어도 700개의 뉴클레오티드의 연속 스트레치를 포함하는 경우, 프로모터는 OLFML3 프로모터에 대해 소정의 정도의 유사성을 갖는 것으로 결정될 수 있으며, 상기 연속 스트레치는 서열번호: 4의 상응하는 단편에 대해 적어도 95%의 서열 동일성을 갖는다.

[0098] 즉, 소정의 구체예에서, OLFML3 프로모터의 기능적 단편은 서열번호: 4와 적어도 95%의 동일성을 갖는 적어도 100, 150, 200, 300, 400, 500, 600 또는 700개의 염기쌍으로 이루어진 핵산 서열이며, 상기 핵산 서열은 OLFML3 프로모터 활성을 갖는다.

[0099] 소정의 구체예에서, 프로모터는 (a) miR223 프로모터, 이의 단편 또는 miR223 기능을 가진 프로모터 및 (b) 제2 프로모터를 포함하는 융합 프로모터이다. miR223 프로모터는 골수 세포 및 미세아교세포에서의 특이적 활성 외에도, 이는 DNA 메틸화에 대한 저항성으로 인해 세포 및 유전자 요법 적용에서 사용하기에 매력적이다. 이는 줄기 세포를 골수 세포 또는 미세아교세포-유사 세포로 분화하면 프로모터 서열의 광범위한 메틸화를 초래하는 것으로 알려져 있기 때문에 중요하며, 이는 전형적으로 분화된 세포에서 이식유전자의 침묵을 초래한다. 따라서, 프로모터 miR223은 HSC로부터 기원하는 분화된 세포에서 안정한 이식유전자 발현을 가능하게 하는 이점을 갖는다.

[0100] 바람직하게는, 융합 프로모터는 miR223 프로모터, 이의 단편 또는 miR223 기능을 가진 프로모터 및

[0101] (a) TMEM119 프로모터, 이의 기능적 단편 또는 TMEM119 기능을 가진 프로모터; (b) P2RY12 프로모터, 이의 기능적 단편 또는 P2RY12 기능을 가진 프로모터; (c) OLFML3 프로모터, 이의 기능적 단편 또는 OLFML3 기능을 가진 프로모터; (d) ITGAM 프로모터, 이의 기능적 단편 또는 ITGAM 기능을 가진 프로모터; 또는 (e) AIF1 프로모터, 이의 기능적 단편 또는 AIF1 기능을 가진 프로모터를 포함한다.

[0102] 용어 "miR223 융합 구조체 (miR223 fusion construct)" 또는 "miR223 융합 프로모터 (miR223 fusion promoter)"는 하기에 융합된 miR223 프로모터로 구성되는, 프로모터 구조체를 지칭한다:

[0103] (i) P2Y12 프로모터, 또는 P2Y12 프로모터의 서열의 적어도 200개의 뉴클레오티드로 구성된, P2Y12 프로모터 유래의 프로모터 단편, 또는;

[0104] (ii) TMEM119 프로모터, 또는 TMEM119 프로모터의 서열의 적어도 200개의 뉴클레오티드로 구성된, TMEM119 프로모터 유래의 프로모터 단편, 또는;

[0105] (iii) OLFML3 프로모터, 또는 OLFML3 프로모터의 서열의 적어도 200개의 뉴클레오티드로 구성된, OLFML3 프로모터 유래의 프로모터 단편, 또는;

[0106] (iv) AIF1 프로모터, 또는 AIF1 프로모터의 서열의 적어도 200개의 뉴클레오티드로 구성된, AIF1 프로모터 유래

의 프로모터 단편, 또는;

[0107] (v) ITGAM 프로모터, 또는 ITGAM 프로모터의 서열의 적어도 200개의 뉴클레오티드로 구성된, ITGAM 프로모터 유래의 프로모터 단편.

[0108] 즉, 소정의 구체예에서, 융합 프로모터는 miR223 프로모터, 또는 서열번호: 1에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 및 P2RY12 프로모터, 또는 서열번호: 2, 서열번호: 21 또는 서열번호: 22에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편을 포함한다. 기능적 단편은 바람직하게는 상기 정의된 바와 같은 miR223 및/또는 P2RY12 기능을 가진 프로모터인 것으로 이해되어야 한다.

[0109] 소정의 구체예에서, miR223 프로모터 및 P2RY12 프로모터를 포함하는 융합 프로모터는 서열번호: 26 또는 서열번호: 27의 뉴클레오티드 서열, 또는 서열번호: 26 또는 서열번호: 27과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함할 수 있다.

[0110] 소정의 구체예에서, 융합 프로모터는 miR223 프로모터, 또는 서열번호: 1에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 및 TMEM119 프로모터, 또는 서열번호: 3, 서열번호: 23 또는 서열번호: 24에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편을 포함한다. 기능적 단편은 바람직하게는 상기 정의된 바와 같은 miR223 및/또는 TMEM119 기능을 가진 프로모터인 것으로 이해되어야 한다.

[0111] 소정의 구체예에서, miR223 프로모터 및 TMEM119 프로모터를 포함하는 융합 프로모터는 서열번호: 28의 뉴클레오티드 서열, 또는 서열번호: 28과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함할 수 있다.

[0112] 소정의 구체예에서, 융합 프로모터는 miR223 프로모터, 또는 서열번호: 1에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 및 OLFML3 프로모터, 또는 서열번호: 4 또는 서열번호: 25에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편을 포함한다. 기능적 단편은 바람직하게는 상기 정의된 바와 같은 miR223 및/또는 OLFML3 기능을 가진 프로모터인 것으로 이해되어야 한다.

[0113] 소정의 구체예에서, miR223 프로모터 및 OLFML3 프로모터를 포함하는 융합 프로모터는 서열번호: 29의 뉴클레오티드 서열, 또는 서열번호: 29와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함할 수 있다.

[0114] 소정의 구체예에서, 융합 프로모터는 miR223 프로모터, 또는 서열번호: 1에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 및 ITGAM 프로모터, 또는 서열번호: 6에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편을 포함한다. 기능적 단편은 바람직하게는 상기 정의된 바와 같은 miR223 및/또는 ITGAM 기능을 가진 프로모터인 것으로 이해되어야 한다.

[0115] 소정의 구체예에서, 융합 프로모터는 miR223 프로모터, 또는 서열번호: 1에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 및 AIF1 프로모터, 또는 서열번호: 5에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편을 포함한다. 기능적 단편은 바람직하게는 상기 정의된 바와 같은 miR223 및/또는 AIF1 기능을 가진 프로모터인 것으로 이해되어야 한다.

[0116] 소정의 구체예에서, 본 발명은 본 발명에 따른 벡터 (vector)에 관한 것으로서, 여기서 프로모터는 하기이다:

[0117] a) miR223 프로모터 또는 서열번호: 1에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 또는

[0118] b) ITGAM 프로모터 또는 서열번호: 6에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 또는

[0119] c) miR233 프로모터, 또는 서열번호: 1에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편이; TMEM119 프로모터, 또는 서열번호: 3, 서열번호: 23 또는 서열번호: 24에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로

모터, 또는 이의 기능적 단편에 작동 가능하게 연결된 융합 프로모터.

[0120] 소정의 구체예에서, 본 발명은 본 발명에 따른 벡터에 관한 것으로서, 여기서 프로모터는 하기이다:

[0121] a) miR223 프로모터 또는 서열번호: 1에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 또는

[0122] b) miR233 프로모터, 또는 서열번호: 1에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편을 포함하는 융합 프로모터.

[0123] 소정의 구체예에서, 본 발명은 본 발명에 따른 벡터에 관한 것으로서, 여기서 프로모터는 하기이다:

[0124] a) miR223 프로모터 또는 서열번호: 1에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 또는

[0125] b) miR233 프로모터, 또는 서열번호: 1에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편이; TMEM119 프로모터, 또는 서열번호: 3, 서열번호: 23 또는 서열번호: 24에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편에 작동 가능하게 연결된 융합 프로모터.

[0126] 소정의 구체예에서, 본 발명은 본 발명에 따른 벡터에 관한 것으로서, 여기서 프로모터는 하기이다:

[0127] a) miR223 프로모터 또는 서열번호: 1에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 또는

[0128] b) miR233 프로모터, 또는 서열번호: 1에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편이; TMEM119 프로모터, 또는 서열번호: 23에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편에 작동 가능하게 연결된 융합 프로모터.

[0129] 소정의 구체예에서, 본 발명은 본 발명에 따른 벡터에 관한 것으로서, 여기서 프로모터는 a) miR233 프로모터, 또는 서열번호: 1에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편이; b) TMEM119 프로모터, 또는 서열번호: 23에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편에 작동 가능하게 연결된 융합 프로모터이다.

[0130] 소정의 구체예에서, 본 발명은 본 발명에 따른 벡터에 관한 것으로서, 여기서 프로모터는 a) miR233 프로모터, 또는 서열번호: 1에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터가; b) TMEM119 프로모터, 또는 서열번호: 23에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터에 작동 가능하게 연결된 융합 프로모터이다.

[0131] 본 발명 내에서, 상기 개시된 서열 유사성 이외에, 프로모터가 동일한 세포 타입에서 및 유사한 수준으로 발현을 유도하는 경우, 프로모터는 특정 프로모터 (참조 프로모터, 예를 들어 서열번호: 1에 따른 miR223)의 기능을 갖는다고 한다. 상기 프로모터 유래의 리포터 유전자의 발현 수준이 비교 가능한 조건하에 참조 프로모터 유래의 동일한 리포터 유전자의 발현 수준의 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80% 또는 적어도 90%인 경우, 프로모터는 유사한 수준으로 발현을 유도한다고 한다. 2개의 프로모터가 유사한 활성 및 세포 특이성을 갖는지 여부를 결정하기에 적합한 다수의 리포터 유전자가 당해 기술 분야에 알려져 있다.

[0132] 특정 일 구체예에서, 본 발명은 본 발명에 따른 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 상기 바이러스 벡터는 적어도 하나의 전사 조절 요소 (transcriptional regulatory element)를 포함하고, 상기 적어도 하나의 전사 조절 요소는 프로모터의 전사 활성을 억제하거나 또는 활성화하도록 배열된다.

[0133] 즉, 바이러스 벡터는 이식유전자의 발현을 보다 정확하게 제어할 수 있는 조절 요소를 추가로 포함할 수 있다. 본원에서 사용된, 용어 '전사 조절 요소 (transcriptional regulatory element)'는 하나 이상의 유전자, 바람직하게는 이식유전자의 발현을 조절할 수 있는 핵산 단편을 지칭한다. 전사 조절 요소는 이식유전자의 발현을 활성화하거나 또는 억제할 수 있다. 따라서, 전사 조절 요소, 이식유전자 및 프로모터는 서로 작동 가능하게 연결된다.

[0134] 전사 조절 요소는 본 발명의 프로모터에 매우 근접한 핵산 서열인 것으로 이해되어야 한다. 바람직하게는, 전

사 조절 요소는 전사 활성인자 (activator) 또는 억제인자 (repressor)에 대한 결합 부위를 구성한다. 전사 활성인자는 전사 조절 요소에 결합하는 경우 이식유전자의 발현을 활성화시키는 단백질이다. 전사 억제인자는 전사 조절 요소에 결합하는 경우 이식유전자의 발현을 방지하는 단백질이다.

[0135] 소정의 구체예에서, 전사 활성인자 또는 억제인자는 전사 조절 요소에 대한 결합 가능성을 결정하는 구조적 변화를 겪을 수 있다. 예를 들어, 전사 활성인자는 전사 조절 요소에만 결합할 수 있고, 이에 의해 활성인자가 유도인자 분자 (inducer molecule)에 의해 특이적으로 결합하는 경우 이식유전자의 발현을 활성화할 수 있다. 대안으로서, 전사 억제인자는 전사 조절 요소에만 결합할 수 있고, 이에 의해 활성인자가 억제인자 분자에 의해 특이적으로 결합하는 경우 이식유전자의 발현을 불활성화할 수 있다.

[0136] 당업자는 본 발명의 프로모터 유래의 이식유전자의 발현을 제어하기 위해 사용될 수 있는 다양한 시스템을 알고 있다. 특정 일 구체예에서, 본 발명은 본 발명에 따른 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 여기서 적어도 하나의 전사 조절 요소는 전사 활성인자 또는 억제인자에 대한 결합 부위를 포함하고, 구체적으로 상기 전사 활성인자 또는 억제인자는 하기를 포함한다:

[0137] i) 항생제-결합 도메인, 구체적으로 테트라사이클린/독시사이클린-결합 도메인, 마크롤라이드 (macrolide)-결합 도메인 또는 프리스티나마이신 (pristinamycin)-결합 도메인;

[0138] ii) 호르몬-결합 도메인, 구체적으로 RU486-결합 도메인 또는 아브시스산 (abscisic acid)-결합 도메인;

[0139] iii) 스테로이드-결합 도메인, 구체적으로 에크디손 (ecdysone)-결합 도메인; 또는

[0140] iv) 이량체화제 시스템 (dimerizer system), 구체적으로 라파마이신 (rapamycin)-기반 또는 라팔로그 (rapalog)-기반 이량체화제 시스템.

[0141] 즉, 소정의 구체예에서, 유도인자 또는 억제인자 분자는 항생제 또는 항생제 유도체이다. 전사 활성인자 또는 억제인자 단백질에 대한 항생제 또는 항생제 유도체의 특이적 결합은 각각 이식유전자의 발현을 유도하거나 또는 억제할 수 있다. 전사 활성인자 또는 억제인자로 기능하는 조절 단백질의 잘 알려진 예는 테트라사이클린/독시사이클린-결합 도메인, 마크롤라이드-결합 도메인 또는 프리스티나마이신-결합 도메인을 포함하는 단백질이다.

[0142] 대안으로서, 전사 활성인자 또는 억제인자는 호르몬에 대한 결합 부위를 포함할 수 있다. 이러한 경우에, 바이러스 벡터 내에 포함된 전사 조절 요소에 대한 전사 활성인자 또는 억제인자의 결합은 전사 활성인자 또는 억제인자에 대한 호르몬의 결합에 의해 제어된다. 전사 활성인자 또는 억제인자로 기능하는 조절 단백질의 잘 알려진 예는 RU486-결합 도메인 또는 아브시스산-결합 도메인을 포함하는 단백질이다.

[0143] 대안으로서, 전사 활성인자 또는 억제인자는 스테로이드에 대한 결합 부위를 포함할 수 있다. 이러한 경우에, 바이러스 벡터 내에 포함된 전사 조절 요소에 대한 전사 활성인자 또는 억제인자의 결합은 전사 활성인자 또는 억제인자에 대한 스테로이드의 결합에 의해 제어된다. 전사 활성인자 또는 억제인자로 기능하는 조절 단백질의 잘 알려진 예는 에크디손-결합 도메인을 포함하는 단백질이다.

[0144] 소정의 구체예에서, 이식유전자의 발현은 이량체화제 시스템에 의해 제어될 수 있다. 이량체화제 시스템은 2개의 개별 단백질로 구성된 전사 활성인자이다. 제1 단백질은 바이러스 벡터 내에 포함된 전사 조절 요소에 대한 결합 부위 및 추가로 약물-결합 도메인을 포함한다. 제2 단백질은 이식유전자의 발현을 각각 유도하거나 또는 억제할 수 있는 활성인자 또는 억제인자 도메인 및 또 다른 약물-결합 도메인을 포함한다. 이량체화제 시스템을 사용한 활성화 또는 억제는 이량체화제 분자의 존재하에서만 작동하고, 이는 두 단백질의 약물-결합 도메인에 의해 특이적으로 결합하고, 이에 의해 두 단백질을 근접하게 유도하여, 이식유전자의 발현을 유도 또는 억제할 수 있다. 이량체화제 시스템의 잘 알려진 예는 라파마이신-기반 또는 라팔로그-기반 이량체화제 시스템이다.

[0145] 특정 일 구체예에서, 본 발명은 본 발명에 따른 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 상기 바이러스 벡터는 리보스위치 (riboswitch)를 코딩하고, 상기 리보스위치는 치료 단백질 또는 치료 단백질의 조합을 코딩하는 mRNA의 번역을 제어한다.

[0146] 전사 조절 요소에 대한 대안으로서 또는 이에 추가하여, 본 발명에 따른 바이러스 벡터는 이식유전자에 의해 코딩된 mRNA의 번역을 제어하는 리보스위치를 코딩할 수 있다.

[0147] 본원에서 사용된, 용어 "리보스위치 (riboswitch)"는 RNA 폴리뉴클레오티드 (또는 리보스위치를 코딩하는 DNA)

의 조절 세그먼트 (regulatory segment)를 지칭한다. 본 발명의 맥락에서 리보스위치는 센서 영역 (예: 압타머) 및 이펙터 스템-루프 (effector stem-loop)를 함유하며, 이들은 함께 리간드 (예: 소분자)의 존재를 감지하고, 이펙터 스템-루프에 위치한 폴리아데닐화 서열의 접근성을 조절하는 역할을 한다.

[0148] 특정 일 구체예에서, 본 발명은 본 발명에 따른 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 여기서 치료 폴리펩티드는 하기이다:

[0149] i) 세포 또는 조직에서 세포 기능을 회복하거나/하고 세포 반응을 유도하는 폴리펩티드; 또는

[0150] ii) 세포의 표적 특이성을 가능하게 하거나/하고 이를 증가시키는 폴리펩티드.

[0151] 이식유전자는 바람직하게는 하나 이상의 치료 단백질(들)을 코딩한다. 본 발명 내에서, 2가지 주요 타입의 치료 단백질이 구상된다.

[0152] 치료 단백질의 제1 타입은 표적 세포의 세포 기능을 회복하거나 또는 표적 세포에서 세포 반응을 유도하는 단백질이다. 예를 들어, 소정의 질병은 특정 단백질의 비정상적으로 낮은 수준에 의해 또는 특정 단백질의 불활성 돌연변이 변이체에 의해 유발되는 것으로 알려져 있다. 이러한 세포에서 정상적인 단백질 기능은 이러한 단백질의 기능적 변이체를 코딩하는 이식유전자를 이들 세포에 전달함으로써 회복될 수 있다. 대안으로서, 이식유전자는 이식유전자를 발현하는 세포 또는 주변 조직에서 세포 반응을 유도하는 단백질을 코딩할 수 있다. 예를 들어, 이식유전자는 표적 세포에서 특이적 반응을 유도하는 사이토카인을 코딩할 수 있다. 또한, 사이토카인은 표적 세포 외부로 분비되어, 표적 세포뿐만 아니라 주변 조직에서 반응을 유발할 수 있다.

[0153] 즉, 특정 일 구체예에서, 본 발명은 본 발명에 따른 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 세포에서 세포 기능을 회복하거나/하고 세포 반응을 유도하는 폴리펩티드는 하기로 구성된 그룹으로부터 선택된 하나 이상의 폴리펩티드의 단편을 적어도 포함한다: PGRN, 프레세닐린 (Presenilin) 1, 프레세닐린 2, IL-2, IL-12, IL-15, IL-21, IFN-알파, IFN-알파 수용체, IFN-감마, IFN-감마 수용체, FasL/Fas, CD11b, 셀렉틴 (selectins), 예컨대 L-셀렉틴 또는 P-셀렉틴, PSGL (P-셀렉틴 리간드), TRAIL, TRAIL-R, 림포톡신 베타 (Lymphotoxin beta: LT-β), LT-βR, 유인수용체 (decoyreceptors) 1-3, TNF-알파, TNF-알파R, MSH, G-CSF, GM-CSF, IL-1, IL-6, IL-7, IL-8, IL31, IL1R, IL31R, IL-10, IL-23, CXCR3 리간드 예컨대 CXCL9 및 CXCL-10, PD-1, PD-1L, PD-2 (PDC2), PD-2L, 그랜자임 (Granzyme) B, 그래눌리신 (Granulysine), CD11b, TIGIT, CD 112, CD 155, 일산화질소 신타제 (nitric oxide synthase), DNA 메틸트란스퍼라제 3b (DNA methyltransferase 3b: DNMT3b), Jumonji 도메인-함유 단백질 1A (Jumonji domain-containing protein 1A: JMJD1A), 소마토스타틴 (somatostatine), 히스톤 데아세틸라제 (histone deacetylases: HDAC) 예컨대 HDAC3 또는 HDAC 9, CSF1 수용체 (CSF1R), IL-34, TAM, 모든 케모카인 및 케모카인 수용체, 모든 사이토카인 및 사이토카인 수용체.

[0154] 소정의 구체예에서, 세포에서 세포 기능을 회복하거나/하고 세포 반응을 유도하는 폴리펩티드는 하기 유전자에 의해 코딩된 하나 이상의 폴리펩티드의 단편을 적어도 포함한다: MAPT, C9orf72, TDP-43, FUS, CHMP2B, VCP, SQSTM1, UBQLN2, TBK1, OPTN, SOD1, SYT11, FGF20, PM20D1, BST1, GPNMB, APP, PSEN1, 및/또는 PSEN2.

[0155] 대안으로서, 치료 단백질은 표적 세포를 특정 위치로 유도하는 단백질일 수 있다. 예를 들어, 치료 단백질은 형질도입된 세포를 특정 세포 타입 또는 조직으로 유도하는 항원-결합 분자일 수 있다. 예를 들어, 종양 항원에 특이적으로 결합하는 단백질의 발현은 형질도입된 세포 예컨대 면역 세포를 종양으로 유도할 수 있다. 소정의 구체예에서, 항원-결합 분자는 항체일 수 있거나 또는 항체를 포함할 수 있다. 소정의 구체예에서, 항원-결합 분자는 항체의 단편일 수 있거나 또는 이를 포함할 수 있다. 소정의 구체예에서, 항원-결합 분자는 키메라 항원 수용체 (chimeric antigen receptor: CAR)일 수 있다.

[0156] 즉, 특정 일 구체예에서, 본 발명은 본 발명에 따른 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 세포의 표적 특이성을 가능하게 하거나/하고 이를 증가시키는 폴리펩티드는 종양 항원에 대한 특이성을 가능하게 하거나/하고 이를 증가시키며, 구체적으로 종양 항원은 VEGF, VEGF-수용체, 메탈로프로테나제 (metalloproteinase) (예: MMP-9)에 대한 길항제, CD40/CD40L, EGFR, 아넥신 (Annexin) 1, FGFR-1, Her2, St6galnac5, MMP1-28, TIMPS1-4, 멜라노트란스페린 (Melanotransferrin), 알파4-베타1 인테그린 (alpha4-beta1 Integrin), VCAM-1, E-카드헤린 (E-cadherin), 알파-v-베타3 인테그린, 알파-v-베타5 인테그린, 알파-v-베타6 인테그린, 알파-v-베타8 인테그린, CCND1, BRCA, CEA, 암-관련 항원 72-4 (cancer-related antigen 72-4: CA 72-4), 암-관련 항원 19-9 (CA 19-9), WT1, CD 11b, L-셀렉틴, NY-ESO-1, 또는 이의 단편이다.

[0157] 특정 일 구체예에서, 본 발명은 하나 이상의 프로모터의 제어하에 이식유전자를 포함하는 바이러스 벡터에 관한

것으로서, 상기 이식유전자는 하기를 코딩한다:

[0158] a) PGRN 또는 이의 기능적 단편; 또는

[0159] b) 서열번호: 7, 서열번호: 8 또는 서열번호: 9에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드, 또는 이의 기능적 단편.

[0160] 즉, 소정의 구체예에서, 본 발명은 프로그래눌린 (PGRN)을 코딩하는 바이러스 벡터에 관한 것이다. 용어 "프로그래눌린 (Progranulin)", "PGRN", "그래눌린 (Granulin)", "GRN"은 서열번호: 7의 단백질 서열 및/또는 서열번호: 8의 단백질 서열, 및/또는 서열번호: 9의 단백질 서열을 포함하는 단백질, 또는 적어도 50개의 아미노산의 길이를 갖는 서열번호: 7, 서열번호: 8 또는 서열번호: 9의 단백질 서열로부터 유래된 임의의 단백질 단편, 또는 이의 95% 초과의 상동성을 갖는 임의의 단백질 서열을 지칭한다. 또한, 본원에는 상기 단백질을 코딩하는 핵산 서열이 제공된다.

프로그래눌린 이소형 1 (서열번호: 7)

[0161]

MWTLVSWVALTAGLVAGTRCPDGQFCPVACCLDPGGASYSCCRPLLDKWPTTLSRHLGGPCQ
VDAHCSAGHSCIFTVSGTSSCCPFPEAVACGDGHHCCPRGFHCSADGRSCFQRSGNNSVGAI
QCPDSQFECPDFSTCCVMVDGSWGCCPMPQASCCEDRVHCCPHGAFCDLVHTRCITPTGTHP
LAKKLPAQRTNRAVALSSSVMCPDARSRCPDGSTCCELPSGKYGCCPMPNATCCSDHLHCCP
QDTVCDLIQSKCLSKENATTDLLTKLPAHTVGDVKCDMEVSCPDGYTCCRLQSGAWGCCPFT
QAVCCEDHIHCCPAGFTCDTQKGTCEQGPHQVPWMEKAPAHLSLPDPQALKRDVPCDNVSSC
PSSDTCCQLTSGEWGCCPIPEAVCCSDHQHCCPQGYTCVAEGQCQRGSEIVAGLEKMPARRA
SLSHPRDIGCDQHTSCPVGQTCCPSLGGSWACCQLPHAVCCEDRQHCCPAGYTCNVKARSCE
KEVVSAQPATFLARSPHVGVKDVECGEGHFCHDNQTCCRDNRQGWACCPYRQGVCCADRRHC
CPAGFRCAARGTKCLRREAPRWDAPLRDPALRQLL

DNA 서열에 의해 코딩된 바와 같음 (서열번호:30):

[0162]

```
1       ATGTGGACAC TGGTGAGTTG GGTGGCATTG ACAGCAGGTC TGGTAGCAGG CACAAGATGT CCAGATGGTC
71      AGTTTTGTCC AGTGGCTTGT TGTCTTGACC CTGGGGGTGC CTCATATAGT TGCTGCCGCC CACTGCTCGA
141     TAAGTGGCCT ACCACACTGA GTCGCCACTT GGGTGGTCCT TGTCAAGTTG ATGCCCATTG TTCAGCAGGA
211     CATTCATGCA TCTTTACCGT AAGCGGAACC AGTTCCTGTT GCCCATTTCC AGAGGCAGTA GCGTGTGGGG
281     ACGGTCACCA CTGTTGCCCA AGGGGATTCC ACTGCTCAGC CGACGGCAGG AGTTGTTTCC AGAGGAGCGG
351     CAATAACTCT GTCGGGGCAA TCCAGTGTCC AGACAGCCAG TTTGAGTGCC CTGACTTTTC TACTTGCTGC
421     GTGATGGTTG ACGGCTCCTG GGGTTGCTGT CCAATGCCCC AGGCAAGTTG CTGTGAGGAT AGAGTGCACT
491     GCTGCCCCCA CGGCGCATTT TGCGACCTGG TTCATACTAG GTGTATCACC CCCACTGGTA CACACCCCCT
561     CGCTAAAAAG CTCCCAGCTC AGAGAACTAA CAGAGCCGTT GCGTTGTCAT CCTCCGTCAT GTGTCCTGAT
631     GCACGGAGCA GATGTCCAGA TGGAAGCACA TGCTGTGAGC TGCCAAGCGG CAAGTACGGC TGTTGTCCGA
701     TGCCCAACGC CACCTGTTGT TCAGACCACC TTCATTGTTG TCCACAGGAC ACCGTGTGTG ACCTCATTCA
771     GAGCAAATGC CTGAGTAAAG AAAACGCGAC TACAGACCTC CTCACAAAGT TGCCCGCGCA CACAGTGGGG
841     GATCTGAAAT GTGACATGGA AGTGTCCTGT CCTGACGGGT ACACTTGCTG TAGACTTCAG TCTGGCGCGT
911     GGGGGTGCTG TCCTTTTACC CAGGCAGTGT GCTGTGAAGA CCACATTCAT TGTTGCCCCG CAGGGTTCAC
981     ATGTGACACA CAAAAGGGAA CCTGCGAACA GGGTCCTCAC CAGGTGCCTT GGATGGAGAA AGCCCCAGCA
1051    CATCTGTCAC TGCCTGACCC TCAAGCTTTG AAACGGGACG TGCCTTGCGA CAATGTGTCT TCCTGTCCTT
1121    CATCTGACAC GTGCTGCCAA TTGACAAGTG GAGAGTGGGG ATGCTGCCCC ATTCCAGAGG CCGTCTGTTG
1191    CAGCGACCAT CAGCACTGTT GTCCCCAGGG ATACACGTGT GTGGCCGAGG GACAGTGTCA GCGAGGGAGT
1261    GAGATTGTGG CTGGTCTGGA AAAGATGCCA GCAAGAAGAG CGTCCCTTTC TCATCCCAGG GATATTGGCT
1331    GTGACCAACA CACTAGCTGT CCTGTGGGTC AGACATGTTG CCCCAGTCTG GGTGGTTCAT GGGCCTGCTG
1401    CCAGCTCCCT CATGCCGTTT GTTGCGAAGA CCGCCAGCAT TGCTGTCCAG CGGGATACAC ATGCAACGTG
1471    AAGGCACGGA GCTGTGAAAA GGAAGTCGTA TCAGCACAGC CCGCAACTTT TCTCGCTCGC TCCCCCCATG
1541    TGGGGGTAAA GGACGTGGAG TGTGGTGAGG GCCATTTCTG CCACGATAAC CAGACATGTT GCCGCGATAA
1611    TCGCCAGGGT TGGGCCTGCT GTCCCTACAG ACAGGGAGTC TGCTGTGCTG ATAGGCGACA TTGTTGTCCA
1681    GCAGGATTTA GGTGTGCTGC GAGAGGCACG AAATGCCTGA GGCGGGAGGC TCCAAGATGG GATGCACCTC
1751    TTCGGGACCC AGCTCTCAGG CAACTGCTG
```

프로그래눌린 이소형 2 (서열번호: 8)

MWTLVSWVALTAGLVAGTRCPDGQFCPVACCLDPGGASYSCCRPLLDKWPTTLSRHLGGPCQ
VDAHCSAGHSCIFTVSGTSSCCPFFPEAVACGDGHHCCPRGFHCSADGRSCFQRSGNNSVGAI
QCPDSQFECPDFSTCCVMVDGSWGCCPMPQASCCEDRVHCCPHGAFCDLVHTRCITPTGTHP
LAKKLPAQRTNRAVALSSSVMCPDARSRCPDGSTCCELPSGKYGCCPMPNATCCSDHLHCCP
QDTVCDLIQSKCLSKENATTDLLTKLPAHTVGDVKCDMEVSCPDGYTCCRLQSGAWGCCPFT
QAVCCEDHIHCCPAGFTCDTQKGTCEQGPHQVPWMEKAPAHLSLPDPQALKRDVPCDNVSSC
PSSDTCCRDNRQGWACCPYRQGVCCADRRHCCPAGFRCAARGTKCLRREAPRWDAPLRDPAL
RQLL

[0163]

DNA 서열에 의해 코딩된 바와 같음 (서열번호:31):

```
1       ATGTGGACCC TCGTATCTTG GGTTGCTCTT ACAGCAGGTC TCGTTGCAGG GACTAGATGT CCTGACGGAC
71      AGTTTTGCCC TGTGGCATGT TGTCTGGACC CAGGCGGAGC ATCCTACTCA TGTTGTCGCC CCCTCCTGGA
141     CAAGTGGCCT ACTACTCTGT CAAGACATTT GGGAGGACCC TGTCAAGTTG ACGCCCATTG TTCCGCAGGA
211     CACTCTTGCA TCTTTACTGT CTCTGGGACA AGCTCCTGTT GCCCATTTCC TGAAGCCGTG GCTTGCGGCG
281     ACGGACATCA CTGTTGTCCA CGAGGGTTCC ATTGCTCAGC AGATGGCAGA AGCTGTTTTC AAAGGAGTGG
351     GAACAATTCC GTAGGCGCAA TTCAGTGCCC AGATTCACAG TTCGAGTGCC CTGATTTCAG CACCTGCTGT
421     GTGATGGTCG ATGGGTCATG GGGATGCTGC CCTATGCCAC AAGCCTCTTG TTGTGAGGAC CGAGTCCACT
491     GTTGCCCTCA TGGCGCATTT TGTGACCTGG TGCATACAAG GTGCATCACG CCCACAGGAA CCCACCCCCT
561     TGCTAAAAAA CTTCCAGCAC AAAGGACAAA CAGAGCCGTT GCTCTCTCTT CTTCCGTGAT GTGCCCCGAC
631     GCCAGAAGCA GATGCCCAGA TGGCTCAACT TGTTGCGAGC TGCCTAGTGG GAAGTACGGG TGCTGCCCAA
701     TGCCAAATGC CACGTGTTGC TCTGACCACC TTCACTGCTG CCCGCAAGAT ACTGTGTGCG ACCTGATTCA
771     GTCCAAATGT TTGTCTAAGG AAAATGCCAC CACCGACCTG CTGACAAAAC TTCCCGCTCA CACAGTGGGG
841     GACGTGAAAT GTGATATGGA GGTTTCATGC CCCGACGGGT ATACATGTTG TAGATTGCAG AGCGGCGCAT
911     GGGGATGTTG TCCATTCACC CAGGCTGTTT GTTGCGAGGA CCACATCCAC TGTTGTCCTG CTGGGTTCAC
981     ATGCGACACA CAAAAAGGCA CTTGCGAGCA AGGACCACAC CAGGTTCCTT GGATGGAGAA AGCCCCAGCC
1051    CACCTGTCTT TGCCTGACCC TCAGGCTTTG AAGCGCGATG TACCCTGCGA CAACGTTTCT TCCTGTCCCT
1121    CCTCCGATAC ATGTTGCAGA GACAATAGAC AGGGATGGGC TTGTTGTCCT TATCGACAGG GCGTTTGCTG
1191    CGCTGATAGG AGGCATTGTT GTCCCGCAGG TTTTCGGTGC GCTGCTAGGG GAACAAAATG TCTGAGACGG
1261    GAGGCTCCAA GATGGGATGC TCCTTTGCGC GACCCCGCTC TGCGACAACT GCTC
```

[0164]

프로그래눌린 이소형 3 (서열번호: 9)

MAITAAHGASTAVQTGDPASKDQVTTPWVPSSALIVSSNARTSPRAVLWSMAPGGAAPCPRL
PAVKTGCTAVCDLIQSKCLSKENATTDLLTKLPAHTVGDVKCDMEVSCPDGYTCCRLQSGAW
GCCPFTQAVCCEDHIHCCPAGFTCDTQKGTCEQGPHQVPWMEKAPAHLSLPDPQALKRDVPC
DNVSSCPSSDTCCQLTSGEWGCCPIPEAVCCSDHQHCCPQGYTCVAEGQCQRGSEIVAGLEK
MPARRASLSHPRDIGCDQHTSCPVGQTCCPSLGGSWACCQLPHAVCCEDRQHCCPAGYTCNV
KARSCEKEVVSAQPATFLARSPHVGVKDVECGEGHFCHDNQTCCRDNRQGWACCPYRQGVCC
ADRRHCCPAGFRCAARGTKCLRREAPRWDAPLRDPALRQLL

[0165]

DNA 서열에 의해 코딩된 바와 같음 (서열번호:32):

```
1       ATGGCAATAA CTGCTGCACA TGGGGCCTCT ACAGCCGTGC AAACTGGAGA CCCAGCAAGT AAGGACCAAG
71      TTACAACCCC CTGGGTGCCC AGCTCTGCTC TTATCGTATC CAGTAATGCT CGAACCAGTC CCCGAGCTGT
141     ATTGTGGTCT ATGGCCCCAG GAGGGGCAGC TCCATGTCCT AGATTGCCTG CCGTAAAGAC AGGATGCACC
211     GCTGTATGCG ACCTCATCCA ATCTAAGTGT CTGTCTAAAG AAAACGCAAC TACAGACCTG CTTACGAAGC
281     TGCCCGCTCA TACCGTAGGG GACGTCAAAT GTGATATGGA GGTATCCTGT CCTGACGGCT ATACATGTTG
351     TCGCTTGCAG AGTGGTGCTT GGGGATGTTG TCCCTTCACA CAGGCCGTGT GTTGTGAGGA CCACATACAC
421     TGCTGCCCTG CTGGGTTCAC ATGTGACACG CAGAAGGGGA CATGTGAGCA GGGACCCCAT CAAGTACCTT
491     GGATGGAGAA GGCCCCAGCT CATCTGAGTC TGCCTGACCC CCAGGCACTG AAGAGAGATG TGCCCTGTGA
561     CAACGTGTCC TCCTGCCCCT CATCTGACAC TTGCTGCCAG TTGACATCTG GCGAATGGGG CTGCTGCCCT
631     ATACCCGAAG CTGTGTGTTG TAGTGACCAC CAACACTGCT GCCCCCAGGG ATACACCTGT GTGGCTGAGG
701     GACAGTGCCA GAGGGGTTCC GAAATTGTTG CTGGCTTGGA GAAGATGCCT GCTCGGAGAG CCTCACTTAG
771     CCATCCACGC GATATTGGGT GTGACCAGCA CACCTCCTGT CCTGTCGGAC AGACATGTTG CCCGTCCCTT
841     GGTGGAAGTT GGGCTTGTTG TCAGCTCCCC CATGCCGTTT GTTGCGAGGA CCGACAGCAC TGTTGTCCAG
911     CAGGCTATAC CTGCAATGTG AAAGCTAGGA GCTGCGAGAA GGAGGTTGTT AGCGCTCAAC CAGCAACATT
981     TCTGGCCCGC TCCCCCCATG TCGGTGTGAA AGATGTTGAA TGTGGCGAGG GACACTTCTG CCACGACAAC
1051    CAGACTTGCT GTAGGGACAA CCGCCAGGGT TGGGCTTGCT GTCCATATAG ACAGGGGGTG TGCTGTGCTG
1121    ATAGGAGACA TTGTTGTCCT GCTGGATTTA GATGTGCGGC TAGAGGCACT AAATGTTTGC GAAGGGAAGC
1191    TCCTAGATGG GATGCTCCAC TTAGAGACCC AGCCCTGCGG CAATTGCTC
```

[0166]

[0167] 프로그래눌린은 그래눌린의 전구체 단백질이다. 프로그래눌린의 절단은 다양한 활성 6 kDa 그래눌린 펩티드를 생성한다. 이러한 더 작은 절단 산물은 그래눌린 A, 그래눌린 B, 그래눌린 C 등으로 명명된다. 에피텔린 (Epithelins) 1 및 2는 각각 그래눌린 A 및 B와 동의어이다. 프로그래눌린의 그래눌린으로의 절단은 세포외 기질 (extracellular matrix) 또는 리소좀 (lysosome)에서 일어난다. 엘라스타제 (elastase), 프로테나제 (proteinase) 3 및 기질 메탈로프로테나제 (matrix metalloproteinase)는 프로그래눌린을 개별 그래눌린 펩티드로 절단할 수 있는 프로테아제이다. 프로그래눌린 및 그래눌린은 세포 내에서 이들의 가정된 반대 역할에 의해 추가로 분화될 수 있다. 프로그래눌린은 항-염증과 관련이 있는 반면에, 절단된 그래눌린 펩티드는 전-염증성 거동 (pro-inflammatory behavior)과 관련이 있다. 프로그래눌린 (*GRN*) 유전자의 돌연변이는 가족성 전두측두엽 치매의 주요 원인이다. 이들은 1배체 불완전성 (haploinsufficiency)을 초래하여 프로그래눌린 수준의 감소 및 수십 년은 아니더라도 수년에 걸쳐 언폴딩 (unfolding)되는 GRN-관련 뇌 퇴행성 변화를 초래한다. 이러한 경우에, 프로그래눌린 수준은 본 발명의 바이러스 벡터로 회복될 수 있다.

[0168] 프로그래눌린의 기능적 단편은 서열번호: 7, 서열번호: 8 및/또는 서열번호: 9와 적어도 95%의 서열 동일성을 갖는 적어도 50, 적어도 100, 적어도 150, 적어도 200, 적어도 250, 적어도 300, 적어도 350, 적어도 400, 적어도 450 또는 적어도 500개의 아미노산의 단편이며, 여기서 상기 단편은 프로그래눌린 활성을 갖는다. 단백질이 적어도 하나의 그래눌린으로 절단될 수 있는 경우, 이는 프로그래눌린 활성을 갖는다고 한다. 소정의 구체예에서, 단백질이 그래눌린 A, 그래눌린 B 및/또는 그래눌린 C 중 적어도 하나로 절단될 수 있는 경우, 이는 프로그래눌린 활성을 갖는다고 한다. 소정의 구체예에서, 단백질이 그래눌린 A, 그래눌린 B 및 그래눌린 C로 절단될 수 있는 경우, 이는 프로그래눌린 활성을 갖는다고 한다.

[0169] 특정 일 구체예에서, 본 발명은 PGRN 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 7, 서열번호: 8 또는 서열번호: 9에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 또는 이의 기능적 단편을 코딩하는 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 여기서 하나 이상의 프로모터는 하기를 포함한다:

[0170] a) 골수-특이적 프로모터 (myelo-specific promoter), 또는 이의 기능적 단편; 및/또는

[0171] b) 미세아교세포-특이적 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 및/또는

[0172] c) 하기를 포함하거나 또는 이로 구성된 융합 프로모터:

[0173] i) 골수-특이적 프로모터 또는 미세아교세포-특이적 프로모터, 또는 이의 기능적 단편인 제1 프로모터; 및

[0174] ii) 제2 프로모터.

[0175] 즉, 소정의 구체예에서, 상기 개시된 바와 같은 PGRN 또는 이의 기능적 단편 또는 돌연변이 변이체는 골수-특이적 프로모터 또는 이의 기능적 단편으로부터 발현될 수 있다. 다른 구체예에서, 상기 개시된 바와 같은 PGRN 또는 이의 기능적 단편 또는 돌연변이 변이체는 미세아교세포-특이적 프로모터 또는 이의 기능적 단편으로부터 발현될 수 있다. 다른 구체예에서, 상기 개시된 바와 같은 PGRN 또는 이의 기능적 단편 또는 돌연변이 변이체는 융합 프로모터로부터 발현될 수 있으며, 바람직하게는 상기 융합 프로모터는 골수-특이적 또는 미세아교세포

-특이적 프로모터 또는 이의 기능적 단편을 포함한다.

[0176] 본원에서 사용된, 용어 "골수-특이적 프로모터 (myelo-specific promoter)"는 골수 세포에서 발현을 유도할 수 있는 임의의 프로모터를 지칭한다. 당업자는 프로모터가 골수 세포에서 발현을 유도할 수 있는지 여부를 확인하는 방법을 알고 있다. 예를 들어, 골수 세포 예컨대 단핵구 세포주 (monocytic cell line) THP-1은 해당 프로모터의 제어하에 형광 마커를 코딩하는 바이러스 벡터로 형질도입될 수 있다. 골수 세포의 게놈 내로 바이러스 벡터의 통합 시에 형광 마커의 발현이 골수 세포에서 검출될 수 있는 경우, 프로모터는 골수-특이적 프로모터인 것으로 결정된다. 본 발명의 의미 내에서 골수-특이적 프로모터는 miR223 프로모터, AIF1 프로모터 및 ITGAM 프로모터를 포함하지만 이에 한정되지 않는다.

[0177] 즉, 특정 일 구체예에서, 본 발명은 PGRN 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 7, 서열번호: 8 또는 서열번호: 9에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 또는 이의 기능적 단편을 코딩하는 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 여기서 골수-특이적 프로모터는 하기이다:

[0178] a) miR233 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 1에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 또는

[0179] b) ITGAM 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 6에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 또는

[0180] c) AIF1 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 5에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편.

[0181] 본원에서 사용된, 용어 "미세아교세포-특이적 프로모터 (microglia-specific promoter)"는 미세아교세포에서 발현을 유도할 수 있는 임의의 프로모터를 지칭한다. 당업자는 프로모터가 미세아교세포에서 발현을 유도할 수 있는지 여부를 확인하는 방법을 알고 있다. 예를 들어, 미세아교세포 예컨대 불멸화된 미세아교세포 세포주는 해당 프로모터의 제어하에 형광 마커를 코딩하는 바이러스 벡터로 형질도입될 수 있다. 미세아교세포의 게놈 내로 바이러스 벡터의 통합 시에 형광 마커의 발현이 미세아교세포에서 검출될 수 있는 경우, 프로모터는 미세아교세포-특이적 프로모터인 것으로 결정된다. 본 발명의 의미 내에서 미세아교세포-특이적 프로모터는 P2RY12 프로모터, TMEM119 프로모터, OLFML3 프로모터, ITGAM 프로모터 및 AIF1 프로모터를 포함하지만 이에 한정되지 않는다.

[0182] 즉, 특정 일 구체예에서, 본 발명은 PGRN 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 7, 서열번호: 8 또는 서열번호: 9에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 또는 이의 기능적 단편을 코딩하는 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 여기서 미세아교세포-특이적 프로모터는 하기이다:

[0183] a) TMEM119 프로모터 또는 서열번호: 3, 서열번호: 23 또는 서열번호: 24에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 또는

[0184] b) P2RY12 프로모터 또는 서열번호: 2, 서열번호: 21 또는 서열번호: 22에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 또는

[0185] c) OLFML3 프로모터 또는 서열번호: 4 또는 서열번호: 25에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편.

[0186] 특정 일 구체예에서, 본 발명은 PGRN 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 7, 서열번호: 8 또는 서열번호: 9에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드, 또는 이의 기능적 단편을 코딩하는 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 여기서 제1 프로모터는 골수-특이적 프로모터이고, 제2 프로모터는 미세아교세포-특이적 프로모터이거나, 또는 그 반대의 경우이다.

[0187] 제2 프로모터는 당해 기술 분야에 알려진 임의의 프로모터일 수 있다. 그러나, 소정의 구체예에서, 상기 개시된 바와 같은 PGRN 또는 이의 기능적 단편 또는 돌연변이 변이체는 골수-특이적 프로모터 및 미세아교세포-특이적 프로모터를 포함하는 융합 프로모터로부터 발현될 수 있다. 즉, 상기 개시된 임의의 골수-특이적 프로모터는 상기 개시된 임의의 미세아교세포-특이적 프로모터와 임의의 순서로 조합될 수 있다.

[0188] 소정의 구체예에서, 상기 개시된 바와 같은 PGRN 또는 이의 기능적 단편 또는 돌연변이 변이체는 miR223, 이의 기능적 단편 또는 miR223 기능을 가진 프로모터, 및 미세아교세포-특이적 프로모터를 포함하는 융합 프로모터로부터 발현될 수 있다.

[0189] 즉, 특정 일 구체예에서, 본 발명은 PGRN 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 7, 서열번호: 8 또는 서열번호: 9에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 또는 이의 기능적 단편을 코딩하는 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 여기서 제1 프로모터는 miR233 프로모터, 또는 서열번호: 1에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편이고; 상기 제1 프로모터는 하기에 작동 가능하게 연결된다:

[0190] i) TMEM119 프로모터, 또는 서열번호: 3, 서열번호: 23 또는 서열번호: 24에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편;

[0191] ii) P2RY12 프로모터, 또는 서열번호: 2, 서열번호: 21 또는 서열번호: 22에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편;

[0192] iii) OLFML3 프로모터, 또는 서열번호: 4 또는 서열번호: 25에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편;

[0193] iv) ITGAM 프로모터, 또는 서열번호: 6에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 및/또는

[0194] v) AIF1 프로모터 또는 서열번호: 5에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편.

[0195] 소정의 구체예에서, 본 발명은 PGRN 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 7, 서열번호: 8 또는 서열번호: 9에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 또는 이의 기능적 단편을 코딩하는 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 여기서 프로모터는 miR233 프로모터, 또는 서열번호: 1에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편이다.

[0196] 소정의 구체예에서, 본 발명은 PGRN 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 7, 서열번호: 8 또는 서열번호: 9에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 또는 이의 기능적 단편을 코딩하는 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 여기서 제1 프로모터는 ITGAM 프로모터, 또는 서열번호: 6에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편이다.

[0197] 소정의 구체예에서, 본 발명은 PGRN 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 7, 서열번호: 8 또는 서열번호: 9에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 또는 이의 기능적 단편을 코딩하는 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 여기서 프로모터는 (a) miR233 프로모터, 또는 서열번호: 1에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 및 (b) P2RY12 프로모터, 또는 서열번호: 2, 서열번호: 21 또는 서열번호: 22에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편을 포함하는 융합 프로모터이다. 소정의 구체예에서, 융합 프로모터는 서열번호: 26 또는 서열번호: 27과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다.

[0198] 소정의 구체예에서, 본 발명은 PGRN 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 7, 서열번호: 8 또는 서열번호: 9에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 또는 이의 기능적 단편을 코딩하는 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 여기서 프로모터는 (a) miR233 프로모터, 또는 서열번호: 1에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 및 (b) TMEM119 프로모터, 또는 서열번호: 3, 서열번호: 23 또는 서열번호: 24에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편을 포함하는 융합 프로모터이다. 소정의 구체예에서, 융합 프로모터는 서열번호: 28과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다.

[0199] 소정의 구체예에서, 본 발명은 PGRN 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 7, 서열번호: 8 또는 서열번호: 9에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 또는 이의 기능적 단편을 코딩하는 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 여기서 프로모터는 (a) miR233 프로모터, 또는 서열번호:

1에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 및 (b) OLFML3 프로모터, 또는 서열번호: 4 또는 서열번호: 25에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편을 포함하는 융합 프로모터이다. 소정의 구체예에서, 융합 프로모터는 서열번호: 29와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다.

[0200] 특정 일 구체예에서, 본 발명은 하나 이상의 프로모터의 제어하에 이식유전자를 포함하는 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 상기 이식유전자는 하기를 코딩한다:

[0201] a) IL-12 또는 이의 기능적 단편; 또는

[0202] b) 서열번호: 11에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드, 또는 이의 기능적 단편; 및/또는 서열번호: 12에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드, 또는 이의 기능적 단편.

[0203] 즉, 소정의 구체예에서, 본 발명은 인터루킨-12 (interleukin-12: IL-12)를 코딩하는 바이러스 벡터에 관한 것이다. 용어 "인터루킨-12" 또는 "IL-12"는 서열번호: 11의 단백질 서열 및 서열번호: 12의 단백질 서열을 포함하는 단백질, 또는 적어도 50개의 아미노산의 길이를 갖는 서열번호: 11 및/또는 서열번호: 12의 단백질 서열로부터 유래된 임의의 단백질 단편, 또는 이의 95% 초과의 상동성을 갖는 임의의 단백질 서열을 지칭한다. 또한, 본원에는 상기 단백질을 코딩하는 핵산 서열이 제공된다.

[0204] IL-12 서브유닛 알파 (서열번호: 11)

MCPARSLLLVATLVLLDHLSLARNLPVATPDPGMFPCLHHSQNLLRAVSNMLQKARQTLEFY
PCTSEEIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRETSFITNGSCLASRKTSFMMALCL
SSIYEDLKMYQVEFKTMNAKLLMDPKRQIFLDQNMLAVIDELMQALNFNSETVPQKSSLEEP
DFYKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS

[0205] IL-12 서브유닛 베타 (서열번호: 12)

MCHQQLVISWFSLVFLASPLVAIWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTL
DQSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLLHKKEDGIWSTDILKDQKEPK
NKTFLRCEAKNYSGRFTCWWLTTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVRGDNKE
YEYSVECQEDSACPAAEESLPIEVMVDAVHKLKYENYTSSFFIRDIIKPDPPKNLQLKPLKN
SRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRA
QDRYYSSSWSEWASVPCS

[0206] 링커로 연결된 IL-12 베타 및 알파 서브유닛 (서열번호:33)

MCHQQLVISWFSLVFLASPLVAIWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTL
DQSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLLHKKEDGIWSTDILKDQKEPK
NKTFLRCEAKNYSGRFTCWWLTTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVRGDNKE
YEYSVECQEDSACPAAEESLPIEVMVDAVHKLKYENYTSSFFIRDIIKPDPPKNLQLKPLKN
SRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRA
QDRYYSSSWSEWASVPCSGGGGSGGGGSGGGGSRNLPVATPDPGMFPCLHHSQNLLRAVSNM
LQKARQTLEFYPCTSEEIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRETSFITNGSCLAS
RKTSFMMALCLSSIYEDLKMYQVEFKTMNAKLLMDPKRQIFLDQNMLAVIDELMQALNFNSE
TVPQKSSLEEPDFYKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS

[0207] 바람직하게는, 본 발명의 바이러스 벡터는 서열번호: 11에 따른 폴리펩티드 및 서열번호: 12에 따른 폴리펩티드 둘 다를 코딩한다. 소정의 구체예에서, 2개의 IL-12 서브유닛 알파 및 베타는 링커를 통해 연결될 수 있다. 소정의 구체예에서, 링커는 아미노산 서열 GGGGSGGGGSGGGGS (서열번호: 34)를 갖는다. 소정의 구체예에서, 본 발명에 따른 바이러스 벡터 내에 코딩된 IL-12는 단일-사슬 IL-12 변이체이다. 단일-사슬 IL-12 변이체가 당해 기술 분야에 개시되어 있다.

[0208] 인터루킨-12 (IL-12)는 항원 자극에 반응하여 수지상 세포, 대식세포, 호중구 및 인간 B-림프구성 세포 (NC-

37)에 의해 자연적으로 생성되는 인터루킨이다. IL-12는 4개의 알파 나선의 묶음으로 구성된다. 이는 IL-12A (p35) 및 IL-12B (p40)라는 2개의 개별 유전자에 의해 코딩된 이종이량체 사이토카인이다. p40의 동종이량체, 및 활성 이종이량체 ('p70'으로 지칭됨)는 단백질 합성 후에 형성된다. 따라서, 본 발명의 바이러스 벡터는 바람직하게는 IL-12의 알파 서브유닛 (서열번호: 11) 및 베타 서브유닛 (서열번호: 12) 둘 다를 코딩한다. 인터루킨-12 (IL-12)는 항-종양 면역요법을 위한 가장 강력한 물질 중 하나로 대두되었다. 그러나, IL-12의 전신 투여와 관련된 잠재적인 치명적 독성으로 인해, 순수한 사이토카인의 형태로 이의 임상 적용은 배제한다.

[0209] IL-12의 기능적 단편은 서열번호: 11 또는 서열번호: 12와 적어도 95%의 서열 동일성을 갖는 적어도 50, 적어도 100, 적어도 150 또는 적어도 200개의 아미노산의 단편이고, 여기서 상기 단편은 IL-12 활성을 갖는다. 단백질이 IL-12 활성을 갖는지 여부를 결정하기 위한 분석이 당해 기술 분야, 예를 들어 Peng et al., A single-chain IL-12 IgG3 antibody fusion protein retains antibody specificity and IL-12 bioactivity and demonstrates antitumor activity; J Immunol. 1999 Jul 1;163(1):250-8에 기재되어 있다.

[0210] 특정 일 구체예에서, 본 발명은 IL-12, 이의 단일-사슬 변이체, 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 11 및/또는 서열번호: 12에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 또는 이의 기능적 단편을 코딩하는 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 여기서 하나 이상의 프로모터는 하기를 포함한다:

[0211] a) 골수-특이적 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 및/또는

[0212] b) 미세아교세포-특이적 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 및/또는

[0213] c) 하기를 포함하거나 또는 이로 구성된 융합 프로모터:

[0214] i) 골수-특이적 프로모터 또는 미세아교세포-특이적 프로모터, 또는 이의 기능적 단편인 제1 프로모터; 및

[0215] ii) 제2 프로모터.

[0216] 즉, 소정의 구체예에서, 상기 개시된 바와 같은 IL-12 또는 이의 기능적 단편 또는 돌연변이 변이체는 골수-특이적 프로모터 또는 이의 기능적 단편으로부터 발현될 수 있다. 다른 구체예에서, 상기 개시된 바와 같은 IL-12 또는 이의 기능적 단편 또는 돌연변이 변이체는 미세아교세포-특이적 프로모터 또는 이의 기능적 단편으로부터 발현될 수 있다. 다른 구체예에서, 상기 개시된 바와 같은 IL-12 또는 이의 기능적 단편 또는 돌연변이 변이체는 융합 프로모터로부터 발현될 수 있으며, 바람직하게는 상기 융합 프로모터는 골수-특이적 또는 미세아교세포-특이적 프로모터 또는 이의 기능적 단편을 포함한다.

[0217] 즉, 특정 일 구체예에서, 본 발명은 IL-12, 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 11 및/또는 서열번호: 12에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 또는 이의 기능적 단편을 코딩하는 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 여기서 골수-특이적 프로모터는 하기이다:

[0218] a) miR233 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 1에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편;

[0219] b) ITGAM 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 6에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 또는

[0220] c) AIF1 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 5에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편.

[0221] 특정 일 구체예에서, 본 발명은 IL-12, 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 11 및/또는 서열번호: 12에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드, 또는 이의 기능적 단편을 코딩하는 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 여기서 미세아교세포-특이적 프로모터는 하기이다:

[0222] a) TMEM119 프로모터 또는 서열번호: 3, 서열번호: 23 또는 서열번호: 24에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 또는

[0223] b) P2RY12 프로모터 또는 서열번호: 2, 서열번호: 21 또는 서열번호: 22에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편;

[0224] c) OLFML3 프로모터 또는 서열번호: 4 또는 서열번호: 25에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편.

[0225] 특정 일 구체예에서, 본 발명은 IL-12, 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 11 및/또는 서열번호: 12에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드, 또는 이의 기능적 단편을 코딩하는 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 여기서 제1 프로모터는 골수-특이적 프로모터이고, 제2 프로모터는 미세아교세포-특이적 프로모터이거나, 또는 그 반대의 경우이다.

[0226] 제2 프로모터는 당해 기술 분야에 알려진 임의의 프로모터일 수 있다. 그러나, 소정의 구체예에서, 상기 개시된 바와 같은 IL-12 또는 이의 기능적 단편 또는 돌연변이 변이체는 골수-특이적 프로모터 및 미세아교세포-특이적 프로모터를 포함하는 융합 프로모터로부터 발현될 수 있다. 즉, 상기 개시된 임의의 골수-특이적 프로모터는 상기 개시된 임의의 미세아교세포-특이적 프로모터와 임의의 순서로 조합될 수 있다.

[0227] 소정의 구체예에서, 상기 개시된 바와 같은 IL-12 또는 이의 기능적 단편 또는 돌연변이 변이체는 miR223, 이의 기능적 단편 또는 miR223 기능을 가진 프로모터, 및 미세아교세포-특이적 프로모터를 포함하는 융합 프로모터로부터 발현될 수 있다.

[0228] 즉, 특정 일 구체예에서, 본 발명은 IL-12 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 11 및/또는 서열번호: 12에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 또는 이의 기능적 단편을 코딩하는 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 여기서 제1 프로모터는 miR233 프로모터, 또는 서열번호: 1에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편이고; 상기 제1 프로모터는 하기에 작동 가능하게 연결된다:

[0229] i) TMEM119 프로모터, 또는 서열번호: 3, 서열번호: 23 또는 서열번호: 24에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편;

[0230] ii) P2RY12 프로모터, 또는 서열번호: 2, 서열번호: 21 또는 서열번호: 22에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편;

[0231] iii) OLFML3 프로모터, 또는 서열번호: 4 또는 서열번호: 25에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편;

[0232] iv) ITGAM 프로모터, 또는 서열번호: 6에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 및/또는

[0233] v) AIF1 프로모터 또는 서열번호: 5에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편.

[0234] 소정의 구체예에서, 본 발명은 IL-12 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 11 및/또는 서열번호: 12에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 또는 이의 기능적 단편을 코딩하는 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 여기서 프로모터는 miR233 프로모터, 또는 서열번호: 1에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편이다.

[0235] 소정의 구체예에서, 본 발명은 IL-12 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 11 및/또는 서열번호: 12에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 또는 이의 기능적 단편을 코딩하는 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 여기서 제1 프로모터는 ITGAM 프로모터, 또는 서열번호: 6에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편이다.

[0236] 소정의 구체예에서, 본 발명은 IL-12 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 11 및/또는 서열번호: 12에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 또는 이의 기능적 단편을 코딩하는 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 여기서 프로모터는 (a) miR233 프로모터, 또는 서열번호: 1에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 및 (b) P2RY12 프로모터, 또는 서열번호: 2, 서열번호: 21 또는 서열번호: 22에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편을 포함하는 융합 프로모터이다. 소정의 구체예에서, 융합 프로모터는 서열번호: 26 또는 서열번호: 27과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다.

[0237] 소정의 구체예에서, 본 발명은 IL-12 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 11 및/또는 서열번호: 12에 제시

된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 또는 이의 기능적 단편을 코딩하는 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 여기서 프로모터는 (a) miR233 프로모터, 또는 서열번호: 1에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 및 (b) TMEM119 프로모터, 또는 서열번호: 3, 서열번호: 23 또는 서열번호: 24에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편을 포함하는 융합 프로모터이다. 소정의 구체예에서, 융합 프로모터는 서열번호: 28과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다.

[0238] 소정의 구체예에서, 본 발명은 IL-12 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 11 및/또는 서열번호: 12에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 또는 이의 기능적 단편을 코딩하는 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 여기서 프로모터는 (a) miR233 프로모터, 또는 서열번호: 1에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 및 (b) OLFML3 프로모터, 또는 서열번호: 4 또는 서열번호: 25에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편을 포함하는 융합 프로모터이다. 소정의 구체예에서, 융합 프로모터는 서열번호: 29와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다.

[0239] 특정 일 구체예에서, 본 발명은 하나 이상의 프로모터의 제어하에 이식유전자를 포함하는 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 상기 이식유전자는 하기를 코딩한다:

[0240] a) 인터페론-감마 (Interferon-gamma: IFN-gamma) 또는 이의 기능적 단편; 또는

[0241] b) 서열번호: 10에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드, 또는 이의 기능적 단편.

[0242] 즉, 소정의 구체예에서, 본 발명은 인터페론-감마 (IFN-감마)를 코딩하는 바이러스 벡터에 관한 것이다. 용어 "인터페론-감마" 또는 "IFN-감마" 또는 "IFN-γ"는 서열번호: 10의 단백질 서열, 및/또는 이의 >95%의 상동성의 서열 동일성을 갖는 임의의 서열을 지칭한다. 또한, 본원에는 상기 단백질을 코딩하는 핵산 서열이 제공된다.

[0243] MKYTSYILAFQLCIVLGSLGCYCQDPYVKEAENLKKYFNAGHSDVADNGTLFLGILKNWKEE
SDRKIMQSQIVSFYFKLFKNFKDDQSIQKSVETIKEDMNVKFFNSNKKKRDDFEKLTNYSVT
DLNVQRKAIHELIQVMAELSPAAKTGKRKRSQMLFRGRRASQ (서열번호:10)

DNA 서열에 의해 코딩된 바와 같음 (서열번호:35):

```
1       ATGAAGTACA CCTCCTACAT CCTCGCTTTT CAACTGTGCA TTGTCCTTGG GTCTCTTGGA TGTTACTGTC
71      AAGACCCATA CGTGAAAGAG GCAGAGAACC TCAAAAAGTA TTTCAATGCT GGACATAGCG ACGTGGCCGA
141     TAATGGCACT CTCTTCCTGG GCATCCTGAA GAACTGGAAG GAAGAATCTG ACCGCAAGAT TATGCAGTCC
211     CAGATTGTGT CCTTTTATTT CAAACTCTTC AAGAATTTCA AAGATGACCA GAGCATTCAG AAAAGCGTGG
281     AAACAATCAA AGAGGATATG AACGTGAAGT TTTTCAATTC AAATAAGAAG AAGCGCGATG ACTTTGAGAA
351     ACTTACCAAC TATTCCGTGA CCGACTTGAA TGTGCAGAGG AAGGCCATAC ATGAGTTGAT ACAAGTTATG
421     GCTGAACTGA GCCCCGCCGC TAAAACTGGT AAAAGGAAGC GCAGCCAAAT GCTGTTTCGA GGGAGGCGCG
491     CCAGTCAG
```

[0244]

[0245] IFN-감마는 인터페론의 타입 II 부류의 유일한 구성원인 이량체화된 가용성 사이토카인이다. 인간에서, IFN-감마 단백질은 *IFNG* 유전자에 의해 코딩된다. IFN-감마 또는 타입 II 인터페론은 바이러스, 일부 박테리아 및 원생동물 감염에 대한 선천성 및 적응성 면역에 중요한 사이토카인이다. IFN-감마는 대식세포의 중요한 활성인자이며, 주조직 적합성 복합체 부류 II 분자 발현의 유도인자이다. 비정상적인 IFN-감마 발현은 다수의 자가염증 및 자가면역 질환과 관련이 있다. 면역계에서 IFN-감마의 중요성은 부분적으로는 바이러스 복제를 직접적으로 억제하는 능력으로부터 비롯되며, 가장 중요하게는 면역자극 및 면역조절 효과로부터 기인한다. IFN-감마는 선천성 면역 반응의 일부로서 자연 살해 세포 (NK) 및 자연 살해 T 세포 (NKT)에 의해 주로 생성되며, 항원-특이적 면역이 적응 면역 반응의 일부로서 발생하면 CD4 Th1 및 CD8 세포독성 T 림프구 (CTL) 이펙터 T 세포에 의해 생성된다. IFN-감마는 또한 2010년대 초에 처음 발견된 면역 세포 계열인 비-세포독성 선천성 림프구 세포 (ILC)에 의해 생성된다.

[0246] IFN-감마 1b가 만성 육아종 질환 및 골화석증 (osteopetrosis)을 치료하는 것으로 미국 식약처 (U.S. Food and Drug Administration)에 의해 승인되었다. 이는 프리드라이히 운동실조증 (Friedreich's ataxia)의 치료를 위

해 연구되고 있다. 공식적으로 승인되지는 않았지만, IFN-감마는 중등도 내지 중증의 아토피 피부염 환자를 치료하는데에도 효과적인 것으로 밝혀졌다. IFN-감마는 모든 암 면역요법의 치료에 대해 아직 승인되지 않았다. 그러나, 방광 암종 및 흑색종 암 환자에게 IFN-감마를 투여한 경우 생존율이 개선된 것으로 관찰되었다. 난소암종 2기 및 3기 환자에서 가장 유망한 결과가 달성되었다.

[0247] IFN-감마의 기능적 단편은 서열번호: 10과 적어도 95%의 서열 동일성을 갖는 적어도 50, 적어도 100 또는 적어도 150개의 아미노산의 단편이고, 여기서 상기 단편은 IFN-감마 활성을 갖는다. 단백질이 IFN-감마 활성을 갖는지 여부를 결정하기 위한 분석이 당해 기술 분야, 예를 들어 Corstjens et al., A user-friendly, highly sensitive assay to detect the IFN-gamma secretion by T cells; Clin Biochem. 2008 Apr; 41(6): 440-444에 기재되어 있다.

[0248] 특정 일 구체예에서, 본 발명은 IFN-감마, 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 10에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 또는 이의 기능적 단편을 코딩하는 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 여기서 하나 이상의 프로모터는 하기를 포함한다:

[0249] a) 골수-특이적 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 및/또는

[0250] b) 미세아교세포-특이적 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 및/또는

[0251] c) 하기를 포함하거나 또는 이로 구성된 융합 프로모터:

[0252] i) 골수-특이적 프로모터 또는 미세아교세포-특이적 프로모터, 또는 이의 기능적 단편인 제1 프로모터; 및

[0253] ii) 제2 프로모터.

[0254] 즉, 소정의 구체예에서, 상기 개시된 바와 같은 IFN-감마 또는 이의 기능적 단편 또는 돌연변이 변이체는 골수-특이적 프로모터 또는 이의 기능적 단편으로부터 발현될 수 있다. 다른 구체예에서, 상기 개시된 바와 같은 IFN-감마 또는 이의 기능적 단편 또는 돌연변이 변이체는 미세아교세포-특이적 프로모터 또는 이의 기능적 단편으로부터 발현될 수 있다. 다른 구체예에서, 상기 개시된 바와 같은 IFN-감마 또는 이의 기능적 단편 또는 돌연변이 변이체는 융합 프로모터로부터 발현될 수 있으며, 바람직하게는 상기 융합 프로모터는 골수-특이적 또는 미세아교세포-특이적 프로모터 또는 이의 기능적 단편을 포함한다.

[0255] 즉, 특정 일 구체예에서, 본 발명은 IFN-감마, 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 10에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 또는 이의 기능적 단편을 코딩하는 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 여기서 골수-특이적 프로모터는 하기이다:

[0256] a) miR233 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 1에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편;

[0257] b) ITGAM 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 6에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 또는

[0258] c) AIF1 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 5에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편.

[0259] 특정 일 구체예에서, 본 발명은 IFN-감마, 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 10에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드, 또는 이의 기능적 단편을 코딩하는 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 여기서 미세아교세포-특이적 프로모터는 하기이다:

[0260] a) TMEM119 프로모터 또는 서열번호: 3, 서열번호: 23 또는 서열번호: 24에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 또는

[0261] b) P2RY12 프로모터 또는 서열번호: 2, 서열번호: 21 또는 서열번호: 22에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 또는

[0262] c) OLFML3 프로모터 또는 서열번호: 4 또는 서열번호: 25에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편.

[0263] 특정 일 구체예에서, 본 발명은 IFN-감마, 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 10에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드, 또는 이의 기능적 단편을 코딩하는 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 여기서 제1 프로모터는 골수-특이적 프로모터이고, 제2 프로모터는 미세아교세포-

특이적 프로모터이거나, 또는 그 반대의 경우이다.

[0264] 제2 프로모터는 당해 기술 분야에 알려진 임의의 프로모터일 수 있다. 그러나, 소정의 구체예에서, 상기 개시된 바와 같은 IFN-감마 또는 이의 기능적 단편 또는 돌연변이 변이체는 골수-특이적 프로모터 및 미세아교세포-특이적 프로모터를 포함하는 융합 프로모터로부터 발현될 수 있다. 즉, 상기 개시된 임의의 골수-특이적 프로모터는 상기 개시된 임의의 미세아교세포-특이적 프로모터와 임의의 순서로 조합될 수 있다.

[0265] 소정의 구체예에서, 상기 개시된 바와 같은 IFN-감마 또는 이의 기능적 단편 또는 돌연변이 변이체는 miR223, 이의 기능적 단편 또는 miR223 기능을 가진 프로모터, 및 미세아교세포-특이적 프로모터를 포함하는 융합 프로모터로부터 발현될 수 있다.

[0266] 즉, 특정 일 구체예에서, 본 발명은 IFN-감마 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 10에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 또는 이의 기능적 단편을 코딩하는 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 여기서 제1 프로모터는 miR233 프로모터, 또는 서열번호: 1에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편이고; 상기 제1 프로모터는 하기에 작동 가능하게 연결된다:

[0267] ii) TMEM119 프로모터, 또는 서열번호: 3, 서열번호: 23 또는 서열번호: 24에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편;

[0268] i) P2RY12 프로모터, 또는 서열번호: 2, 서열번호: 21 또는 서열번호: 22에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편;

[0269] iii) OLFML3 프로모터, 또는 서열번호: 4 또는 서열번호: 25에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편;

[0270] iv) ITGAM 프로모터, 또는 서열번호: 6에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 및/또는

[0271] v) AIF1 프로모터 또는 서열번호: 5에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편.

[0272] 소정의 구체예에서, 본 발명은 IFN-감마 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 10에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 또는 이의 기능적 단편을 코딩하는 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 여기서 프로모터는 miR233 프로모터, 또는 서열번호: 1에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편이다.

[0273] 소정의 구체예에서, 본 발명은 IFN-감마 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 10에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 또는 이의 기능적 단편을 코딩하는 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 여기서 제1 프로모터는 ITGAM 프로모터, 또는 서열번호: 6에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편이다.

[0274] 소정의 구체예에서, 본 발명은 IFN-감마 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 10에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 또는 이의 기능적 단편을 코딩하는 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 여기서 프로모터는 (a) miR233 프로모터, 또는 서열번호: 1에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 및 (b) P2RY12 프로모터, 또는 서열번호: 2, 서열번호: 21 또는 서열번호: 22에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편을 포함하는 융합 프로모터이다. 소정의 구체예에서, 융합 프로모터는 서열번호: 26 또는 서열번호: 27과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다.

[0275] 소정의 구체예에서, 본 발명은 IFN-감마 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 10에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 또는 이의 기능적 단편을 코딩하는 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 여기서 프로모터는 (a) miR233 프로모터, 또는 서열번호: 1에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 및 (b) TMEM119 프로모터, 또는 서열번호: 3, 서열번호: 23 또는 서열번호: 24에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편을 포함하는 융합 프로모터이다. 소정의 구체예에서, 융합 프로모터는 서열번호: 28과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%,

적어도 98%, 적어도 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다.

[0276] 소정의 구체예에서, 본 발명은 IFN-감마 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 10에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 또는 이의 기능적 단편을 코딩하는 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 여기서 프로모터는 (a) miR233 프로모터, 또는 서열번호: 1에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 및 (b) OLFML3 프로모터, 또는 서열번호: 4 또는 서열번호: 25에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편을 포함하는 융합 프로모터이다. 소정의 구체예에서, 융합 프로모터는 서열번호: 29와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다.

[0277] 특정 일 구체예에서, 본 발명은 하나 이상의 프로모터의 제어하에 이식유전자를 포함하는 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 상기 이식유전자는 하기를 코딩한다:

[0278] a) GM-CSF, 또는 이의 기능적 단편; 또는

[0279] b) 서열번호: 13에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드, 또는 이의 기능적 단편.

[0280] 즉, 소정의 구체예에서, 본 발명은 과립구-대식세포 콜로니-자극 인자 (Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor: GM-CSF)를 코딩하는 바이러스 벡터에 관한 것이다. 용어 "GM-CSF"는 서열번호: 13의 단백질 서열, 및/또는 이의 >95%의 상동성의 서열 동일성을 갖는 임의의 서열을 지칭한다. 또한, 본원에는 상기 단백질을 코딩하는 핵산 서열이 제공된다.

[0281] MWLQSLLLLGTVACSISAPARSPSPSTQPWEHVNAIQEARRLLNLSRDTAAEMNETVEVISE
MFDLQEPTCLQTRLELYKQGLRGSLTKLKGPLTMMASHYKQHCPPTPETSCATQIITFESFK
ENLKDFLLVIPFDCWEPVQE (서열번호:13)

[0282] 콜로니-자극 인자 2 (CSF2)로도 알려진 과립구-대식세포 콜로니-자극 인자 (GM-CSF)는 사이토카인으로 기능하는 대식세포, T 세포, 비만 세포, 자연 살해 세포, 내피 세포 및 섬유아세포에 의해 분비되는 단량체 당단백질이다. 자연 발생하는 GM-CSF의 약학적 유사체는 사르그라모스팀 (sargramostim) 및 몰그라모스팀 (molgramostim)이라고 한다. 특히 호중구 증식 및 성숙을 촉진하는 과립구 콜로니-자극 인자와 달리, GM-CSF는 더 많은 세포 타입, 특히 대식세포 및 호산구에 영향을 주었다. GM-CSF는 백혈구 성장 인자인 사이토카인으로 기능하는 단량체 당단백질이다. GM-CSF는 줄기세포를 자극하여 과립구 (호중구, 호산구, 호염기구) 및 단핵구를 생성한다. 단핵구는 순환계를 빠져나와 조직으로 이동하여, 대식세포 및 수지상 세포로 성숙한다. 따라서, 이는 면역/염증 캐스케이드의 일부이며, 소수의 대식세포가 활성화되면 그 수가 빠르게 증가될 수 있고, 이는 감염과 싸우는데 중요한 과정이다.

[0283] GM-CSF의 기능적 단편은 서열번호: 13과 적어도 95%의 서열 동일성을 갖는 적어도 50, 적어도 100개의 아미노산, 적어도 110, 적어도 120, 적어도 130 또는 적어도 140개의 아미노산의 단편이며, 여기서 상기 단편은 GM-CSF 활성을 갖는다. 단백질이 GM-CSF 활성을 갖는지 여부를 결정하기 위한 분석이 당해 기술 분야, 예를 들어 Singh et al, GM-CSF Enhances Macrophage Glycolytic Activity In Vitro and Improves Detection of Inflammation In Vivo; J Nucl Med. 2016 Sep;57(9):1428-35. doi: 10.2967/jnumed.115.167387. Epub 2016 Apr 14에 기재되어 있다.

[0284] 특정 일 구체예에서, 본 발명은 GM-CSF, 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 13에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 또는 이의 기능적 단편을 코딩하는 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 여기서 하나 이상의 프로모터는 하기를 포함한다:

[0285] a) 골수-특이적 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 및/또는

[0286] b) 미세아교세포-특이적 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 및/또는

[0287] c) 하기를 포함하거나 또는 이로 구성된 융합 프로모터:

[0288] i) 골수-특이적 프로모터 또는 미세아교세포-특이적 프로모터, 또는 이의 기능적 단편인 제1 프로모터; 및

[0289] ii) 제2 프로모터.

[0290] 즉, 소정의 구체예에서, 상기 개시된 바와 같은 GM-CSF 또는 이의 기능적 단편 또는 돌연변이 변이체는 골수-특이적 프로모터 또는 이의 기능적 단편으로부터 발현될 수 있다. 다른 구체예에서, 상기 개시된 바와 같은 GM-CSF 또는 이의 기능적 단편 또는 돌연변이 변이체는 미세아교세포-특이적 프로모터 또는 이의 기능적 단편으로부터 발현될 수 있다. 다른 구체예에서, 상기 개시된 바와 같은 GM-CSF 또는 이의 기능적 단편 또는 돌연변이 변이체는 융합 프로모터로부터 발현될 수 있으며, 바람직하게는 상기 융합 프로모터는 골수-특이적 또는 미세아교세포-특이적 프로모터 또는 이의 기능적 단편을 포함한다.

[0291] 즉, 특정 일 구체예에서, 본 발명은 GM-CSF, 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 13에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 또는 이의 기능적 단편을 코딩하는 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 여기서 골수-특이적 프로모터는 하기이다:

[0292] a) miR233 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 1에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편;

[0293] b) ITGAM 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 5에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편;

[0294] c) AIF1 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 6에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편.

[0295] 특정 일 구체예에서, 본 발명은 GM-CSF, 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 13에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드, 또는 이의 기능적 단편을 코딩하는 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 여기서 미세아교세포-특이적 프로모터는 하기이다:

[0296] a) TMEM119 프로모터 또는 서열번호: 3, 서열번호: 23 또는 서열번호: 24에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 또는

[0297] b) P2RY12 프로모터 또는 서열번호: 2, 서열번호: 21 또는 서열번호: 22에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편;

[0298] c) OLFML3 프로모터 또는 서열번호: 4 또는 서열번호: 25에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편.

[0299] 특정 일 구체예에서, 본 발명은 GM-CSF, 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 13에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드, 또는 이의 기능적 단편을 코딩하는 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 여기서 제1 프로모터는 골수-특이적 프로모터이고, 제2 프로모터는 미세아교세포-특이적 프로모터이거나, 또는 그 반대의 경우이다.

[0300] 제2 프로모터는 당해 기술 분야에 알려진 임의의 프로모터일 수 있다. 그러나, 소정의 구체예에서, 상기 개시된 바와 같은 GM-CSF 또는 이의 기능적 단편 또는 돌연변이 변이체는 골수-특이적 프로모터 및 미세아교세포-특이적 프로모터를 포함하는 융합 프로모터로부터 발현될 수 있다. 즉, 상기 개시된 임의의 골수-특이적 프로모터는 상기 개시된 임의의 미세아교세포-특이적 프로모터와 임의의 순서로 조합될 수 있다.

[0301] 소정의 구체예에서, 상기 개시된 바와 같은 GM-CSF 또는 이의 기능적 단편 또는 돌연변이 변이체는 miR223, 이의 기능적 단편 또는 miR223 기능을 가진 프로모터, 및 미세아교세포-특이적 프로모터를 포함하는 융합 프로모터로부터 발현될 수 있다.

[0302] 즉, 특정 일 구체예에서, 본 발명은 GM-CSF 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 13에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 또는 이의 기능적 단편을 코딩하는 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 여기서 제1 프로모터는 miR233 프로모터, 또는 서열번호: 1에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편이고; 상기 제1 프로모터는 하기에 작동 가능하게 연결된다:

[0303] i) TMEM119 프로모터, 또는 서열번호: 3, 서열번호: 23 또는 서열번호: 24에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편;

[0304] ii) P2RY12 프로모터, 또는 서열번호: 2, 서열번호: 21 또는 서열번호: 22에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편;

[0305] iii) OLFML3 프로모터, 또는 서열번호: 4 또는 서열번호: 25에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편;

[0306] iv) ITGAM 프로모터, 또는 서열번호: 6에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 및/또는

[0307] v) AIF1 프로모터 또는 서열번호: 5에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편.

[0308] 소정의 구체예에서, 본 발명은 GM-CSF 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 13에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 또는 이의 기능적 단편을 코딩하는 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 여기서 프로모터는 miR233 프로모터, 또는 서열번호: 1에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편이다.

[0309] 소정의 구체예에서, 본 발명은 GM-CSF 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 13에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 또는 이의 기능적 단편을 코딩하는 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 여기서 제1 프로모터는 ITGAM 프로모터, 또는 서열번호: 6에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편이다.

[0310] 소정의 구체예에서, 본 발명은 GM-CSF 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 13에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 또는 이의 기능적 단편을 코딩하는 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 여기서 프로모터는 (a) miR233 프로모터, 또는 서열번호: 1에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 및 (b) P2RY12 프로모터, 또는 서열번호: 2, 서열번호: 21 또는 서열번호: 22에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편을 포함하는 융합 프로모터이다. 소정의 구체예에서, 융합 프로모터는 서열번호: 26 또는 서열번호: 27과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다.

[0311] 소정의 구체예에서, 본 발명은 GM-CSF 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 13에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 또는 이의 기능적 단편을 코딩하는 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 여기서 프로모터는 (a) miR233 프로모터, 또는 서열번호: 1에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 및 (b) TMEM119 프로모터, 또는 서열번호: 3, 서열번호: 23 또는 서열번호: 24에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편을 포함하는 융합 프로모터이다. 소정의 구체예에서, 융합 프로모터는 서열번호: 28과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다.

[0312] 소정의 구체예에서, 본 발명은 GM-CSF 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 13에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 또는 이의 기능적 단편을 코딩하는 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 여기서 프로모터는 (a) miR233 프로모터, 또는 서열번호: 1에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 및 (b) OLFML3 프로모터, 또는 서열번호: 4 또는 서열번호: 25에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편을 포함하는 융합 프로모터이다. 소정의 구체예에서, 융합 프로모터는 서열번호: 29와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다.

[0313] 특정 일 구체예에서, 본 발명은 하나 이상의 프로모터의 제어하에 이식유전자를 포함하는 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 상기 이식유전자는 하기를 코딩한다:

[0314] a) G-CSF, 또는 이의 기능적 단편; 또는

[0315] b) 서열번호: 14에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드, 또는 이의 기능적 단편.

[0316] 즉, 소정의 구체예에서, 본 발명은 과립구 콜로니-자극 인자 (Granulocyte colony-stimulating factor: G-CSF)를 코딩하는 바이러스 벡터에 관한 것이다. 용어 "G-CSF"는 서열번호: 14의 단백질 서열, 및/또는 이의 >95%의 상동성의 서열 동일성을 갖는 임의의 서열을 지칭한다. 또한, 본원에는 상기 단백질을 코딩하는 핵산

서열이 제공된다.

MAGPATQSPMKLMALQLLLWHSALWTVQEATPLGPASSLPQSFLLKCLEQVRKIQGDGAALQ
EKLVSECATYKLCHPEELVLLGHSLGIPWAPLSSCPSQALQLAGCLSQLHSGLFLYQGLLQA
LEGISPELGPTLDTLQLDVADFATTIWQQMEELGMAPALQPTQGAMPAFASAFQRRAGGVLV
ASHLQSFLEVSYRVLRHLAQP (서열번호:14)

[0317]

[0318] 콜로니-자극 인자 3 (CSF3)으로도 알려진 과립구 콜로니-자극 인자 (G-CSF 또는 GCSF)는 골수를 자극하여 과립구 및 줄기 세포를 생성하고 이를 혈류로 방출하는 당단백질이다. 기능적으로는, 이는 콜로니-자극 인자의 한 타입인 사이토카인 및 호르몬이며, 다수의 상이한 조직에서 생성된다. 자연 발생하는 G-CSF의 약학적 유사체는 필그라스팀 (filgrastim) 및 레노그라스팀 (lenograstim)이라고 한다. G-CSF는 또한 호중구 전구물질 및 성숙한 호중구의 생존, 증식, 분화 및 기능을 자극한다.

[0319] 화학요법은 골수억제 및 허용할 수 없는 낮은 수준으로 백혈구의 감소 (백혈구 감소증)를 일으켜서, 환자는 감염 및 패혈증에 취약할 수 있다. G-CSF는 백혈구의 한 타입인 과립구의 생성을 자극한다. 종양학 및 혈액학에서, G-CSF의 재조합 형태로 특정 암 환자에게 사용되어, 화학요법 후에 회복을 가속화하고 호중구 감소증으로 인한 사망률을 감소시키므로, 고강도 치료 요법을 가능하게 한다. G-CSF는 알츠하이머병의 마우스 모델에서 염증을 감소시키고, 아밀로이드 베타 부담을 줄이며, 인지 장애를 역전시키는 것으로 나타났다. 이의 신경보호 특성으로 인해, G-CSF는 현재 임상 IIb상 단계에서 대뇌 허혈에 대해 조사 중이며, 다른 신경 질환 예컨대 근위축 측삭 경화증 (amyotrophic lateral sclerosis)에 대한 여러 임상 파일럿 연구가 발표되었다.

[0320] G-CSF의 기능적 단편은 서열번호: 14와 적어도 95%의 서열 동일성을 갖는 적어도 50, 적어도 100개의 아미노산, 적어도 120, 적어도 140, 적어도 160 또는 적어도 180개의 아미노산의 단편이며, 여기서 상기 단편은 G-CSF 활성을 갖는다. 단백질이 G-CSF 활성을 갖는지 여부를 결정하기 위한 분석이 당해 기술 분야, 예를 들어 Mickiene et al., Human granulocyte-colony stimulating factor (G-CSF)/stem cell factor (SCF) fusion proteins: design, characterization and activity; PeerJ. 2020; 8: e9788에 기재되어 있다.

[0321] 특정 일 구체예에서, 본 발명은 G-CSF, 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 14에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 또는 이의 기능적 단편을 코딩하는 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 여기서 하나 이상의 프로모터는 하기를 포함한다:

[0322] a) 골수-특이적 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 및/또는

[0323] b) 미세아교세포-특이적 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 및/또는

[0324] c) 하기를 포함하거나 또는 이로 구성된 융합 프로모터:

[0325] i) 골수-특이적 프로모터 또는 미세아교세포-특이적 프로모터, 또는 이의 기능적 단편인 제1 프로모터; 및

[0326] ii) 제2 프로모터.

[0327] 즉, 소정의 구체예에서, 상기 개시된 바와 같은 G-CSF 또는 이의 기능적 단편 또는 돌연변이 변이체는 골수-특이적 프로모터 또는 이의 기능적 단편으로부터 발현될 수 있다. 다른 구체예에서, 상기 개시된 바와 같은 G-CSF 또는 이의 기능적 단편 또는 돌연변이 변이체는 미세아교세포-특이적 프로모터 또는 이의 기능적 단편으로부터 발현될 수 있다. 다른 구체예에서, 상기 개시된 바와 같은 G-CSF 또는 이의 기능적 단편 또는 돌연변이 변이체는 융합 프로모터로부터 발현될 수 있으며, 바람직하게는 상기 융합 프로모터는 골수-특이적 또는 미세아교세포-특이적 프로모터 또는 이의 기능적 단편을 포함한다.

[0328] 즉, 특정 일 구체예에서, 본 발명은 G-CSF a, 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 14에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 또는 이의 기능적 단편을 코딩하는 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 여기서 골수-특이적 프로모터는 하기이다:

[0329] a) miR233 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 1에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편;

[0330] c) ITGAM 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 6에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 또는

[0331] b) AIF1 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 5에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%,

98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편.

[0332] 특정 일 구체예에서, 본 발명은 G-CSF, 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 14에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드, 또는 이의 기능적 단편을 코딩하는 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 여기서 미세아교세포-특이적 프로모터는 하기이다:

[0333] a) TMEM119 프로모터 또는 서열번호: 3, 서열번호: 23 또는 서열번호: 24에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편;

[0334] b) P2RY12 프로모터 또는 서열번호: 2, 서열번호: 21 또는 서열번호: 22에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 또는

[0335] c) OLFML3 프로모터 또는 서열번호: 4 또는 서열번호: 25에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편.

[0336] 특정 일 구체예에서, 본 발명은 G-CSF, 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 14에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드, 또는 이의 기능적 단편을 코딩하는 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 여기서 제1 프로모터는 골수-특이적 프로모터이고, 제2 프로모터는 미세아교세포-특이적 프로모터이거나, 또는 그 반대의 경우이다.

[0337] 제2 프로모터는 당해 기술 분야에 알려진 임의의 프로모터일 수 있다. 그러나, 소정의 구체예에서, 상기 개시된 바와 같은 G-CSF 또는 이의 기능적 단편 또는 돌연변이 변이체는 골수-특이적 프로모터 및 미세아교세포-특이적 프로모터를 포함하는 융합 프로모터로부터 발현될 수 있다. 즉, 상기 개시된 임의의 골수-특이적 프로모터는 상기 개시된 임의의 미세아교세포-특이적 프로모터와 임의의 순서로 조합될 수 있다.

[0338] 소정의 구체예에서, 상기 개시된 바와 같은 G-CSF 또는 이의 기능적 단편 또는 돌연변이 변이체는 miR223, 이의 기능적 단편 또는 miR223 기능을 가진 프로모터, 및 미세아교세포-특이적 프로모터를 포함하는 융합 프로모터로부터 발현될 수 있다.

[0339] 즉, 특정 일 구체예에서, 본 발명은 G-CSF 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 14에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 또는 이의 기능적 단편을 코딩하는 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 여기서 제1 프로모터는 miR233 프로모터, 또는 서열번호: 1에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편이고; 상기 제1 프로모터는 하기에 작동 가능하게 연결된다:

[0340] i) TMEM119 프로모터, 또는 서열번호: 3, 서열번호: 23 또는 서열번호: 24에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편;

[0341] ii) P2RY12 프로모터, 또는 서열번호: 2, 서열번호: 21 또는 서열번호: 22에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편;

[0342] iii) OLFML3 프로모터, 또는 서열번호: 4 또는 서열번호: 25에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편;

[0343] iv) ITGAM 프로모터, 또는 서열번호: 6에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 및/또는

[0344] v) AIF1 프로모터 또는 서열번호: 5에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편.

[0345] 소정의 구체예에서, 본 발명은 G-CSF 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 14에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 또는 이의 기능적 단편을 코딩하는 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 여기서 프로모터는 miR233 프로모터, 또는 서열번호: 1에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편이다.

[0346] 소정의 구체예에서, 본 발명은 G-CSF 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 14에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 또는 이의 기능적 단편을 코딩하는 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 여기서 제1 프로모터는 ITGAM 프로모터, 또는 서열번호: 6에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편이다.

[0347] 소정의 구체예에서, 본 발명은 G-CSF 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 14에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 또는 이의 기능적 단편을 코딩하는 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 여기서 프로모터는 (a) miR233 프로모터, 또는 서열번호: 1에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 및 (b) P2RY12 프로모터, 또는 서열번호: 2, 서열번호: 21 또는 서열번호: 22에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편을 포함하는 융합 프로모터이다. 소정의 구체예에서, 융합 프로모터는 서열번호: 26 또는 서열번호: 27과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다.

[0348] 소정의 구체예에서, 본 발명은 G-CSF 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 14에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 또는 이의 기능적 단편을 코딩하는 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 여기서 프로모터는 (a) miR233 프로모터, 또는 서열번호: 1에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 및 (b) TMEM119 프로모터, 또는 서열번호: 3, 서열번호: 23 또는 서열번호: 24에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편을 포함하는 융합 프로모터이다. 소정의 구체예에서, 융합 프로모터는 서열번호: 28과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다.

[0349] 소정의 구체예에서, 본 발명은 G-CSF 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 14에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 또는 이의 기능적 단편을 코딩하는 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 여기서 프로모터는 (a) miR233 프로모터, 또는 서열번호: 1에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 및 (b) OLFML3 프로모터, 또는 서열번호: 4 또는 서열번호: 25에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편을 포함하는 융합 프로모터이다. 소정의 구체예에서, 융합 프로모터는 서열번호: 29와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다.

[0350] 특정 일 구체예에서, 본 발명은 하나 이상의 프로모터의 제어하에 이식유전자를 포함하는 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 상기 이식유전자는 하기를 코딩한다:

[0351] a) GM-CSF 및 IFN-감마, 또는 이의 기능적 단편; 또는

[0352] b) 서열번호: 10에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 제1 폴리펩티드 또는 이의 기능적 단편, 및 서열번호: 13에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 제2 폴리펩티드 또는 이의 기능적 단편; 또는

[0353] c) 서열번호: 15에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 핵산 서열.

[0354] 즉, 소정의 구체예에서, 본 발명은 GM-CSF - INF-감마 공동-발현 구조체 (GM-CSF - INF-gamma co-expression construct)를 코딩하는 바이러스 벡터에 관한 것이다. 공동-발현 구조체 (co-expression construct)는 상기 정의된 바와 같은 GM-CSF 또는 이의 임의의 기능적 단편 또는 변이체를 코딩할 수 있다. 공동-발현 구조체는 상기 정의된 바와 같은 INF-감마 또는 이의 임의의 기능적 단편 또는 변이체를 추가로 코딩할 수 있다. GM-CSF 및 INF-감마, 및 이의 기능적 단편 또는 변이체는 본 발명의 바이러스 벡터로부터 개별 폴리펩티드로서 발현될 수 있다. 소정의 구체예에서, GM-CSF 및 INF-감마는 융합 단백질로서 발현될 수 있다.

[0355] GM-CSF - INF-감마 공동-발현을 위한 예시되는 핵산 서열은 하기 핵산 서열을 포함할 수 있다:

TCCTTCCAGCCATGTTTAAATATACAAGTTATATCTTGGCTTTTCAGCTCTGCATCGTTTTG
GGTTCTCTTGGCTGTTACTGCCAGGACCCATATGTAAAAGAAGCAGAAAACCTTAAGAAATA
TTTTAATGCCGGTCATTCAGATGTAGCGGATAATGGAACTCTTTTCTTAGGCATTTTGAAGA
ATTGGAAAGAGGAGAGTGACAGAAAAATAATGCAGAGCCAAATTGTCTCCTTTTACTTCAAA
CTTTTTAAGAACTTTAAGGATGACCAGAGCATCCAAAAGAGTGTGGAGACCATCAAGGAAGA
CATGAATGTCAAGTTTTTCAATAGCAACAAAAAGAAACGAGATGACTTCGAAAAGCTGACTA
ATTATTCGGTAACTGACTTGAATGTCCAACGCAAAGCAATACATGAACTCATCCAAGTGATG
GCTGAACTGTCGCCAGCAGCGAAAACAGGGAAGCGAAAAAGGAGTCAGATGCTGTTTCGAGG
TCGAAGAGCATCCCAGTAAGATATCCCCTCTCCCTCCCCCCCCCCTAACGTTACTGGCCGAA
GCCGCTTGGAATAAGGCCGGTGTGCGTTTGTCTATATGTTATTTTCCACCATATTGCCGTCT
TTTGGCAATGTGAGGGCCCGGAAACCTGGCCCTGTCTTCTTGACGAGCATTCCTAGGGGTCT
TTCCCCTCTCGCCAAAGGAATGCAAGGTCTGTTGAATGTCGTGAAGGAAGCAGTTCCTCTGG
AAGCTTCTTGAAGACAAACAACGTCTGTAGCGACCCTTTGCAGGCAGCGGAACCCCCCACCT
GGCGACAGGTGCCTCTGCGGCCAAAAGCCACGTGTATAAGATACACCTGCAAAGGCGGCACA
ACCCCAGTGCCACGTTGTGAGTTGGATAGTTGTGGAAAGAGTCAAATGGCTCTCCTCAAGCG
TATTCAACAAGGGGCTGAAGGATGCCCAGAAGATACCCCATTGTATGGGATCTGATCTGGGG
CCTCGGTGCACATGCTTTACATGTGTTTAGTCGAGGTTAAAAAAACGTCTAGGCCCCCCGAA
CCACGGGGACGTGGTTTTCCTTTGAAAAACACGATGATAAATGTGGCCACTGCAAAGTCTGC
TTTTGCTGGGCACCGTAGCTTGTAGCATATCAGCGCCTGCTCGGAGTCCCTCTCCATCAACG
CAACCCTGGGAACACGTGAACGCAATTCAGGAGGCAAGAAGGTTGCTGAACCTGAGCCGGGA
CACCGCCGCTGAAATGAATGAAACCGTAGAAGTGATTTCCGAGATGTTTGACCTCCAAGAAC
CAACTTGTCTGCAAACAAGACTTGAGCTTTATAAACAGGGACTCCGAGGCAGCCTGACAAAA
CTCAAGGGGCCCCTCACAATGATGGCAAGCCATTATAAACAACACTGTCCTCCGACCCCGGA
GACTTCTTGCGCCACACAGATCATCACTTTTGAGAGCTTCAAAGAGAACCTTAAAGACTTTC
TGCTGGTCATTCCGTTCGATTGCTGGGAACCCGTGCAGGAGTGA (서열번호:15)

[0356]

[0357] 특정 일 구체예에서, 본 발명은 GM-CSF - INF-감마 공동-발현 구조체, 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 15에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 서열을 코딩하거나; 또는 서열번호: 10에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 제1 폴리펩티드 또는 이의 기능적 단편, 및 서열번호: 13에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 제2 폴리펩티드 또는 이의 기능적 단편을 코딩하는 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 여기서 하나 이상의 프로모터는 하기를 포함한다:

[0358] a) 골수-특이적 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 및/또는

[0359] b) 미세아교세포-특이적 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 및/또는

[0360] c) 하기를 포함하거나 또는 이로 구성된 융합 프로모터:

[0361] i) 골수-특이적 프로모터 또는 미세아교세포-특이적 프로모터, 또는 이의 기능적 단편인 제1 프로모터; 및

[0362] ii) 제2 프로모터.

[0363] 즉, 소정의 구체예에서, 상기 개시된 바와 같은 GM-CSF - INF-감마 공동-발현 구조체 또는 이의 기능적 단편 또는 돌연변이 변이체는 골수-특이적 프로모터 또는 이의 기능적 단편으로부터 발현될 수 있다. 다른 구체예에서, 상기 개시된 바와 같은 GM-CSF - INF-감마 공동-발현 구조체 또는 이의 기능적 단편 또는 돌연변이 변이체는 미세아교세포-특이적 프로모터 또는 이의 기능적 단편으로부터 발현될 수 있다. 다른 구체예에서, 상기 개시된 바와 같은 GM-CSF - INF-감마 공동-발현 구조체 또는 이의 기능적 단편 또는 돌연변이 변이체는 융합 프로모터로부터 발현될 수 있으며, 바람직하게는 상기 융합 프로모터는 골수-특이적 또는 미세아교세포-특이적 프로모터 또는 이의 기능적 단편을 포함한다.

[0364] 즉, 특정 일 구체예에서, 본 발명은 GM-CSF - INF-감마 공동-발현 구조체, 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 15에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 핵산 서열을 코딩하거나; 또는 서열번호: 10에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 제1

폴리펩티드 또는 이의 기능적 단편, 및 서열번호: 13에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 제2 폴리펩티드 또는 이의 기능적 단편을 코딩하는 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 여기서 골수-특이적 프로모터는 하기이다:

[0365] a) miR233 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 1에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편;

[0366] b) ITGAM 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 6에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편;

[0367] c) AIF1 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 5에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편.

[0368] 특정 일 구체예에서, 본 발명은 GM-CSF - INF-감마 공동-발현 구조체, 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 15에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 핵산 서열을 코딩하거나; 또는 서열번호: 10에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 제1 폴리펩티드 또는 이의 기능적 단편, 및 서열번호: 13에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 제2 폴리펩티드 또는 이의 기능적 단편을 코딩하는 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 여기서 미세아교세포-특이적 프로모터는 하기이다:

[0369] a) TMEM119 프로모터 또는 서열번호: 3, 서열번호: 23 또는 서열번호: 24에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편;

[0370] b) P2RY12 프로모터 또는 서열번호: 2, 서열번호: 21 또는 서열번호: 22에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 또는

[0371] c) OLFML3 프로모터 또는 서열번호: 4 또는 서열번호: 25에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편.

[0372] 특정 일 구체예에서, 본 발명은 GM-CSF - INF-감마 공동-발현 구조체, 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 15에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 핵산 서열을 코딩하거나; 또는 서열번호: 10에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 제1 폴리펩티드 또는 이의 기능적 단편, 및 서열번호: 13에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 제2 폴리펩티드 또는 이의 기능적 단편을 코딩하는 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 여기서 제1 프로모터는 골수-특이적 프로모터이고, 제2 프로모터는 미세아교세포-특이적 프로모터이거나, 또는 그 반대의 경우이다.

[0373] 제2 프로모터는 당해 기술 분야에 알려진 임의의 프로모터일 수 있다. 그러나, 소정의 구체예에서, 상기 개시된 바와 같은 GM-CSF - INF-감마 공동-발현 구조체 또는 이의 기능적 단편 또는 돌연변이 변이체는 골수-특이적 프로모터 및 미세아교세포-특이적 프로모터를 포함하는 융합 프로모터로부터 발현될 수 있다. 즉, 상기 개시된 임의의 골수-특이적 프로모터는 상기 개시된 임의의 미세아교세포-특이적 프로모터와 임의의 순서로 조합될 수 있다.

[0374] 소정의 구체예에서, 상기 개시된 바와 같은 GM-CSF - INF-감마 공동-발현 구조체 또는 이의 기능적 단편 또는 돌연변이 변이체는 miR223, 이의 기능적 단편 또는 miR223 기능을 가진 프로모터, 및 미세아교세포-특이적 프로모터를 포함하는 융합 프로모터로부터 발현될 수 있다.

[0375] 즉, 특정 일 구체예에서, 본 발명은 GM-CSF - INF-감마 공동-발현 구조체; 또는 서열번호: 15에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 핵산 서열을 코딩하거나; 또는 서열번호: 10에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 제1 폴리펩티드 또는 이의 기능적 단편, 및 서열번호: 13에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 제2 폴리펩티드 또는 이의 기능적 단편을 코딩하는 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 여기서 제1 프로모터는 miR233 프로모터, 또는 서열번호: 1에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편이고; 상기 제1 프로모터는 하기에 작동 가능하게 연결된다:

[0376] i) TMEM119 프로모터, 또는 서열번호: 3, 서열번호: 23 또는 서열번호: 24에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편;

[0377] ii) P2RY12 프로모터, 또는 서열번호: 2, 서열번호: 21 또는 서열번호: 22에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편;

[0378] iii) OLFML3 프로모터, 또는 서열번호: 4 또는 서열번호: 25에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편;

[0379] iv) ITGAM 프로모터, 또는 서열번호: 6에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 및/또는

[0380] v) AIF1 프로모터 또는 서열번호: 5에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편.

[0381] 소정의 구체예에서, 본 발명은 GM-CSF - INF-감마 공동-발현 구조체, 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 15에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 핵산 서열을 코딩하거나; 또는 서열번호: 10에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 제1 폴리펩티드 또는 이의 기능적 단편, 및 서열번호: 13에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 제2 폴리펩티드 또는 이의 기능적 단편을 코딩하는 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 여기서 프로모터는 miR233 프로모터, 또는 서열번호: 1에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편이다.

[0382] 소정의 구체예에서, 본 발명은 GM-CSF - INF-감마 공동-발현 구조체, 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 15에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 핵산 서열을 코딩하거나; 또는 서열번호: 10에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 제1 폴리펩티드 또는 이의 기능적 단편, 및 서열번호: 13에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 제2 폴리펩티드 또는 이의 기능적 단편을 코딩하는 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 여기서 제1 프로모터는 ITGAM 프로모터, 또는 서열번호: 6에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편이다.

[0383] 소정의 구체예에서, 본 발명은 GM-CSF - INF-감마 공동-발현 구조체, 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 15에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 핵산 서열을 코딩하거나; 또는 서열번호: 10에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 제1 폴리펩티드 또는 이의 기능적 단편, 및 서열번호: 13에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 제2 폴리펩티드 또는 이의 기능적 단편을 코딩하는 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 여기서 프로모터는 (a) miR233 프로모터, 또는 서열번호: 1에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 및 (b) P2RY12 프로모터, 또는 서열번호: 2, 서열번호: 21 또는 서열번호: 22에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편을 포함하는 융합 프로모터이다. 소정의 구체예에서, 융합 프로모터는 서열번호: 26 또는 서열번호: 27과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다.

[0384] 소정의 구체예에서, 본 발명은 GM-CSF - INF-감마 공동-발현 구조체, 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 15에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 핵산 서열을 코딩하거나; 또는 서열번호: 10에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 제1 폴리펩티드 또는 이의 기능적 단편, 및 서열번호: 13에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 제2 폴리펩티드 또는 이의 기능적 단편을 코딩하는 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 여기서 프로모터는 (a) miR233 프로모터, 또는 서열번호: 1에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 및 (b) TMEM119 프로모터, 또는 서열번호: 3, 서열번호: 23 또는 서열번호: 24에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편을 포함하는 융합 프로모터이다. 소정의 구체예에서, 융합 프로모터는 서열번호: 28과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다.

[0385] 소정의 구체예에서, 본 발명은 GM-CSF - INF-감마 공동-발현 구조체, 또는 서열번호: 15에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 핵산 서열을 코딩하거나; 또는 서열번호: 10에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 제1 폴리펩티드 또는 이의 기능적

단편, 및 서열번호: 13에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 제2 폴리펩티드 또는 이의 기능적 단편을 코딩하는 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 여기서 프로모터는 (a) miR233 프로모터, 또는 서열번호: 1에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 및 (b) OLFML3 프로모터, 또는 서열번호: 4 또는 서열번호: 25에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편을 포함하는 융합 프로모터이다. 소정의 구체예에서, 융합 프로모터는 서열번호: 29와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다.

[0386] 특정 일 구체예에서, 본 발명은 하나 이상의 프로모터의 제어하에 이식유전자를 포함하는 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 상기 이식유전자는 하기를 코딩한다:

[0387] a) G-CSF 및 IFN-감마, 또는 이의 기능적 단편; 또는

[0388] b) 서열번호: 10에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 제1 폴리펩티드, 또는 이의 기능적 단편, 및 서열번호: 14에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 제2 폴리펩티드, 또는 이의 기능적 단편; 또는

[0389] c) 서열번호: 16에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드.

[0390] 즉, 소정의 구체예에서, 본 발명은 G-CSF - INF-감마 공동-발현 구조체를 코딩하는 바이러스 벡터에 관한 것이다. 공동-발현 구조체는 상기 정의된 바와 같은 G-CSF 또는 이의 임의의 기능적 단편 또는 변이체를 코딩할 수 있다. 공동-발현 구조체는 상기 정의된 바와 같은 INF-감마 또는 이의 임의의 기능적 단편 또는 변이체를 추가로 코딩할 수 있다. G-CSF 및 INF-감마, 및 이의 기능적 단편 또는 변이체는 본 발명의 바이러스 벡터로부터 개별 폴리펩티드로서 발현될 수 있다. 소정의 구체예에서, G-CSF 및 INF-감마는 융합 단백질로서 발현될 수 있다.

[0391] 또한, 본원에는 상기 공동-발현 구조체를 코딩하는 핵산 서열이 제공된다.

[0392] 예시되는 G-CSF - INF-감마 공동-발현 구조체는 하기 핵산 서열을 포함할 수 있다:

TCCTTCCAGCCATGTTTAAATATACAAGTTATATCTTGGCTTTTCAGCTCTGCATCGTTTTG
GGTTCTCTTGGCTGTTACTGCCAGGACCCATATGTAAAAGAAGCAGAAAACCTTAAGAAATA
TTTTAATGCCGGTCATTCAGATGTAGCGGATAATGGAACTCTTTTCTTAGGCATTTTGAAGA
ATTGGAAAGAGGAGAGTGACAGAAAAATAATGCAGAGCCAAATTGTCTCCTTTTACTTCAAA
CTTTTTAAGAACTTTAAGGATGACCAGAGCATCCAAAAGAGTGTGGAGACCATCAAGGAAGA
CATGAATGTCAAGTTTTTCAATAGCAACAAAAAGAAACGAGATGACTTCGAAAAGCTGACTA
ATTATTCGGTAACTGACTTGAATGTCCAACGCAAAGCAATACATGAACTCATCCAAGTGATG
GCTGAACTGTCGCCAGCAGCGAAAACAGGGAAGCGAAAAAGGAGTCAGATGCTGTTTCGAGG
TCGAAGAGCATCCCAGTAAGATATCCCCTCTCCCTCCCCCCCCCCTAACGTTACTGGCCGAA
GCCGCTTGGAATAAGGCCGGTGTGCGTTTGTCTATATGTTATTTTCCACCATATTGCCGTCT
TTTGGCAATGTGAGGGCCCGGAAACCTGGCCCTGTCTTCTTGACGAGCATTCCTAGGGGTCT
TTCCCCTCTCGCCAAAGGAATGCAAGGTCTGTTGAATGTCGTGAAGGAAGCAGTTCCTCTGG
AAGCTTCTTGAAGACAAACAACGTCTGTAGCGACCCTTTGCAGGCAGCGGAACCCCCCACCT
GGCGACAGGTGCCTCTGCGGCCAAAAGCCACGTGTATAAGATACACCTGCAAAGGCGGCACA
ACCCCAGTGCCACGTTGTGAGTTGGATAGTTGTGGAAAGAGTCAAATGGCTCTCCTCAAGCG
TATTCAACAAGGGGCTGAAGGATGCCCAGAAGATACCCCATTGTATGGGATCTGATCTGGGG
CCTCGGTGCACATGCTTTACATGTGTTTAGTCGAGGTTAAAAAAACGTCTAGGCCCCCCGAA
CCACGGGGACGTGGTTTTCCTTTGAAAAACACGATGATAAATGGCCGGCCCCGCCACCCAGA
GCCCCATGAAGCTGATGGCCCTGCAGCTGCTGCTGTGGCACAGCGCCCTGTGGACCGTGCAG
GAGGCCACCCCCCTCGGCCCCGCCAGCAGCCTGCCCCAGAGCTTCCTGCTGAAGTGCCTCGA
ACAAGTGCGCAAGATACAAGGCGACGGCGCCGCCCTGCAGGAGAAGCTCGTGAGCGAGTGCG
CCACCTACAAGCTGTGCCACCCCGAGGAGCTGGTGCTGCTGGGCCACAGCCTCGGCATCCCC
TGGGCCCCCCTGAGCAGCTGCCCCAGCCAAGCCCTGCAGCTGGCCGGCTGCCTGAGCCAGCT
GCACAGCGGCCTGTTCCTGTACCAAGGCTTACTACAGGCCCTCGAAGGCATCAGCCCCGAGC
TGGGCCCCACCCTCGACACCCTGCAGCTGGACGTGGCCGACTTCGCCACCACCATCTGGCAG
CAGATGGAGGAGCTGGGCATGGCCCCCGCCCTGCAGCCCACCCAAGGCGCCATGCCCGCCTT
CGCCAGCGCCTTCCAGCGCCGCGCCGGGGGCGTGCTGGTGGCCAGCCACCTGCAGAGCTTCC
TCGAAGTGAGCTACCGCGTGCTGCGCCACCTCGCCCAGCCC TGA (서열번호:16)

[0393]

[0394] 특정 일 구체예에서, 본 발명은 G-CSF - INF-감마 공동-발현 구조체, 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 16에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 핵산 서열 또는 이의 기능적 단편을 코딩하거나; 또는 서열번호: 10에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 제1 폴리펩티드 또는 이의 기능적 단편을 코딩하고, 서열번호: 14에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 제2 폴리펩티드 또는 이의 기능적 단편을 코딩하는 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 여기서 하나 이상의 프로모터는 하기를 포함한다:

[0395] a) 골수-특이적 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 및/또는

[0396] b) 미세아교세포-특이적 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 및/또는

[0397] c) 하기를 포함하거나 또는 이로 구성된 융합 프로모터:

[0398] i) 골수-특이적 프로모터 또는 미세아교세포-특이적 프로모터, 또는 이의 기능적 단편인 제1 프로모터; 및

[0399] ii) 제2 프로모터.

[0400] 즉, 소정의 구체예에서, 상기 개시된 바와 같은 G-CSF - INF-감마 공동-발현 구조체 또는 이의 기능적 단편 또는 돌연변이 변이체는 골수-특이적 프로모터 또는 이의 기능적 단편으로부터 발현될 수 있다. 다른 구체예에서, 상기 개시된 바와 같은 G-CSF - INF-감마 공동-발현 구조체 또는 이의 기능적 단편 또는 돌연변이 변이체는 미세아교세포-특이적 프로모터 또는 이의 기능적 단편으로부터 발현될 수 있다. 다른 구체예에서, 상기 개시된 바와 같은 G-CSF - INF-감마 공동-발현 구조체 또는 이의 기능적 단편 또는 돌연변이 변이체는 융합 프로모터로부터 발현될 수 있으며, 바람직하게는 상기 융합 프로모터는 골수-특이적 또는 미세아교세포-특이적 프로모터 또는 이의 기능적 단편을 포함한다.

[0401] 즉, 특정 일 구체예에서, 본 발명은 G-CSF - INF-감마 공동-발현 구조체, 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 16에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 핵산 서열 또는 이의 기능적 단편을 코딩하거나; 또는 서열번호: 10에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 제1 폴리펩티드 또는 이의 기능적 단편, 및 서열번호: 14에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 제2 폴리펩티드 또는 이의 기능적 단편을 코딩하는 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 여기서 골수-특이적 프로모터는 하기이다:

[0402] a) miR233 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 1에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편;

[0403] b) ITGAM 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 6에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 또는

[0404] c) AIF1 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 5에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편.

[0405] 특정 일 구체예에서, 본 발명은 G-CSF - INF-감마 공동-발현 구조체, 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 16에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 핵산 서열 또는 이의 기능적 단편을 코딩하거나; 또는 서열번호: 10에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 제1 폴리펩티드 또는 이의 기능적 단편, 및 서열번호: 14에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 제2 폴리펩티드 또는 이의 기능적 단편을 코딩하는 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 여기서 미세아교세포-특이적 프로모터는 하기이다:

[0406] a) TMEM119 프로모터 또는 서열번호: 3, 서열번호: 23 또는 서열번호: 24에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편;

[0407] b) P2RY12 프로모터 또는 서열번호: 2, 서열번호: 21 또는 서열번호: 22에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 또는

[0408] c) OLFML3 프로모터 또는 서열번호: 4 또는 서열번호: 25에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편.

[0409] 특정 일 구체예에서, 본 발명은 G-CSF - INF-감마 공동-발현 구조체, 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 16에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 핵산 서열 또는 이의 기능적 단편을 코딩하거나; 또는 서열번호: 10에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 제1 폴리펩티드 또는 이의 기능적 단편, 및 서열번호: 14에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 제2 폴리펩티드 또는 이의 기능적 단편을 코딩하는 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 여기서 제1 프로모터는 골수-특이적 프로모터이고, 제2 프로모터는 미세아교세포-특이적 프로모터이거나, 또는 그 반대의 경우이다.

[0410] 제2 프로모터는 당해 기술 분야에 알려진 임의의 프로모터일 수 있다. 그러나, 소정의 구체예에서, 상기 개시된 바와 같은 G-CSF - INF-감마 공동-발현 구조체 또는 이의 기능적 단편 또는 돌연변이 변이체는 골수-특이적 프로모터 및 미세아교세포-특이적 프로모터를 포함하는 융합 프로모터로부터 발현될 수 있다. 즉, 상기 개시된 임의의 골수-특이적 프로모터는 상기 개시된 임의의 미세아교세포-특이적 프로모터와 임의의 순서로 조합될 수 있다.

[0411] 소정의 구체예에서, 상기 개시된 바와 같은 G-CSF - INF-감마 공동-발현 구조체 또는 이의 기능적 단편 또는 돌연변이 변이체는 miR223, 이의 기능적 단편 또는 miR223 기능을 가진 프로모터, 및 미세아교세포-특이적 프로모터를 포함하는 융합 프로모터로부터 발현될 수 있다.

[0412] 즉, 특정 일 구체예에서, 본 발명은 G-CSF - INF-감마 공동-발현 구조체, 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 16에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 핵산 서열 또는 이의 기능적 단편을 코딩하거나; 또는 서열번호: 10에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 제1 폴리펩티드 또는 이의 기능적 단편, 및 서열번호: 14에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 제2 폴리펩티드 또는 이의 기능적 단편을 코딩하는 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 여기서 제1 프로모터는 miR233 프로모터, 또는 서열번호: 1에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편이고; 상기 제1 프

로모터는 하기에 작동 가능하게 연결된다:

[0413] i) TMEM119 프로모터, 또는 서열번호: 3, 서열번호: 23 또는 서열번호: 24에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편;

[0414] ii) P2RY12 프로모터, 또는 서열번호: 2, 서열번호: 21 또는 서열번호: 22에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편;

[0415] iii) OLFML3 프로모터, 또는 서열번호: 4 또는 서열번호: 25에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편;

[0416] iv) ITGAM 프로모터, 또는 서열번호: 6에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 및/또는

[0417] v) AIF1 프로모터 또는 서열번호: 5에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편.

[0418] 소정의 구체예에서, 본 발명은 G-CSF - INF-감마 공동-발현 구조체, 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 16에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 핵산 서열 또는 이의 기능적 단편을 코딩하거나; 또는 서열번호: 10에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 제1 폴리펩티드 또는 이의 기능적 단편, 및 서열번호: 14에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 제2 폴리펩티드 또는 이의 기능적 단편을 코딩하는 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 여기서 프로모터는 miR233 프로모터, 또는 서열번호: 1에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편이다.

[0419] 소정의 구체예에서, 본 발명은 G-CSF - INF-감마 공동-발현 구조체, 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 16에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 핵산 서열 또는 이의 기능적 단편을 코딩하거나; 또는 서열번호: 10에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 제1 폴리펩티드 또는 이의 기능적 단편, 및 서열번호: 14에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 제2 폴리펩티드 또는 이의 기능적 단편을 코딩하는 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 여기서 제1 프로모터는 ITGAM 프로모터, 또는 서열번호: 6에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편이다.

[0420] 소정의 구체예에서, 본 발명은 G-CSF - INF-감마 공동-발현 구조체, 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 16에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 핵산 서열 또는 이의 기능적 단편을 코딩하거나; 또는 서열번호: 10에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 제1 폴리펩티드 또는 이의 기능적 단편, 및 서열번호: 14에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 제2 폴리펩티드 또는 이의 기능적 단편을 코딩하는 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 여기서 프로모터는 (a) miR233 프로모터, 또는 서열번호: 1에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 및 (b) P2RY12 프로모터, 또는 서열번호: 2, 서열번호: 21 또는 서열번호: 22에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편을 포함하는 융합 프로모터이다. 소정의 구체예에서, 융합 프로모터는 서열번호: 26 또는 서열번호: 27과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다.

[0421] 소정의 구체예에서, 본 발명은 G-CSF - INF-감마 공동-발현 구조체, 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 16에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 핵산 서열 또는 이의 기능적 단편을 코딩하거나; 또는 서열번호: 10에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 제1 폴리펩티드 또는 이의 기능적 단편, 및 서열번호: 14에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 제2 폴리펩티드 또는 이의 기능적 단편을 코딩하는 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 여기서 프로모터는 (a) miR233 프로모터, 또는 서열번호: 1에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 및 (b) TMEM119 프로모터, 또는 서열번호: 3, 서열번호: 23 또는 서열번호: 24에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편을 포함하는 융합 프로모터이다. 소정의 구체예에서, 융합 프로모터는 서열번호: 28과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다.

[0422] 소정의 구체예에서, 본 발명은 G-CSF - INF-감마 공동-발현 구조체, 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 16에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 핵산 서열 또는 이의 기능적 단편을 코딩하거나; 또는 서열번호: 10에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 제1 폴리펩티드 또는 이의 기능적 단편, 및 서열번호: 14에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 제2 폴리펩티드 또는 이의 기능적 단편을 코딩하는 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 여기서 프로모터는 (a) miR233 프로모터, 또는 서열번호: 1에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 및 (b) OLFML3 프로모터, 또는 서열번호: 4 또는 서열번호: 25에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편을 포함하는 융합 프로모터이다. 소정의 구체예에서, 융합 프로모터는 서열번호: 29와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다.

[0423] 특정 일 구체예에서, 본 발명은 하나 이상의 프로모터의 제어하에 이식유전자를 포함하는 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 상기 이식유전자는 하기를 코딩한다:

[0424] a) IL-2, 또는 이의 기능적 단편; 또는

[0425] b) 서열번호: 17에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드, 또는 이의 기능적 단편.

[0426] 즉, 소정의 구체예에서, 본 발명은 인터루킨-2 (Interleukin-2: IL-2)를 코딩하는 바이러스 벡터에 관한 것이다. 용어 "IL-2"는 서열번호: 17의 단백질 서열, 및/또는 이의 >95% 상동성의 서열 동일성을 갖는 임의의 서열을 지칭한다. 또한, 본원에는 상기 단백질을 코딩하는 핵산 서열이 제공된다.

[0427] MYRMQLLSCIALSLALVTNSAPTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTF
KFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFM
CEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLT (서열번호:17)

[0428] 인터루킨-2 (IL-2)는 면역계에서 사이토카인 신호전달 분자의 한 타입인 인터루킨이다. 이는 면역을 담당하는 백혈구 세포 (백혈구, 종종 림프구)의 활성을 조절하는 15.5-16 kDa의 단백질이다. IL-2는 미생물 감염에 대한 신체의 자연적 반응의 일부이며, 외래 ("비-자기 (non-self)") 및 "자기 (self)"를 구별한다. IL-2는 IL-2 수용체에 결합하여 그 효과를 매개하고, 이는 림프구에 의해 발현된다. IL-2의 주요 공급원은 활성화된 CD4+ T 세포 및 활성화된 CD8+ T 세포이다.

[0429] 알데스루킨 (Aldesleukin)은 재조합 인터루킨-2의 한 타입이다. 이는 재조합 DNA 기술을 사용하여 제조되며, 단백질 치료제로 판매되고, 프로루킨 (Proleukin)이 브랜드명이다. 이는 FDA (the Food and Drug Administration) 및 여러 유럽 국가에서 암 (악성 흑색종, 신세포 암) 치료에 대해 간헐적 고용량으로 승인되었으며, 연속 용량으로 광범위하게 사용되었다.

[0430] IL-2의 기능적 단편은 서열번호: 17과 적어도 95%의 서열 동일성을 갖는 적어도 50, 적어도 100개의 아미노산, 적어도 110, 적어도 120, 적어도 130 또는 적어도 140개의 아미노산의 단편이고, 여기서 상기 단편은 IL-2 활성을 갖는다. 단백질이 IL-2 활성을 갖는지 여부를 결정하기 위한 분석이 당해 기술 분야, 예를 들어 Leivestad et al., A simple and sensitive bioassay for the detection of IL-2 activity; J Immunol Methods. 1988 Nov 10;114(1-2):95-9. doi: 10.1016/0022-1759(88)90159-7에 기재되어 있다.

[0431] 특정 일 구체예에서, 본 발명은 IL-2, 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 17에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 또는 이의 기능적 단편을 코딩하는 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 여기서 하나 이상의 프로모터는 하기를 포함한다:

[0432] a) 골수-특이적 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 및/또는

[0433] b) 미세아교세포-특이적 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 및/또는

[0434] c) 하기를 포함하거나 또는 이로 구성된 융합 프로모터:

[0435] i) 골수-특이적 프로모터 또는 미세아교세포-특이적 프로모터, 또는 이의 기능적 단편인 제1 프로모터; 및

[0436] ii) 제2 프로모터.

[0437] 즉, 소정의 구체예에서, 상기 개시된 바와 같은 IL-2 또는 이의 기능적 단편 또는 돌연변이 변이체는 골수-특이적 프로모터 또는 이의 기능적 단편으로부터 발현될 수 있다. 다른 구체예에서, 상기 개시된 바와 같은 IL-2 또는 이의 기능적 단편 또는 돌연변이 변이체는 미세아교세포-특이적 프로모터 또는 이의 기능적 단편으로부터 발현될 수 있다. 다른 구체예에서, 상기 개시된 바와 같은 IL-2 또는 이의 기능적 단편 또는 돌연변이 변이체는 융합 프로모터로부터 발현될 수 있으며, 바람직하게는 상기 융합 프로모터는 골수-특이적 또는 미세아교세포-특이적 프로모터 또는 이의 기능적 단편을 포함한다.

[0438] 즉, 특정 일 구체예에서, 본 발명은 IL-2, 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 17에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 또는 이의 기능적 단편을 코딩하는 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 여기서 골수-특이적 프로모터는 하기이다:

[0439] a) miR233 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 1에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편;

[0440] b) ITGAM 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 6에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 또는

[0441] c) AIF1 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 5에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편.

[0442] 특정 일 구체예에서, 본 발명은 IL-2, 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 17에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드, 또는 이의 기능적 단편을 코딩하는 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 여기서 미세아교세포-특이적 프로모터는 하기이다:

[0443] a) TMEM119 프로모터 또는 서열번호: 3, 서열번호: 23 또는 서열번호: 24에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편;

[0444] b) P2RY12 프로모터 또는 서열번호: 2, 서열번호: 21 또는 서열번호: 22에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 또는

[0445] c) OLFML3 프로모터 또는 서열번호: 4 또는 서열번호: 25에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편.

[0446] 특정 일 구체예에서, 본 발명은 IL-2, 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 17에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드, 또는 이의 기능적 단편을 코딩하는 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 여기서 제1 프로모터는 골수-특이적 프로모터이고, 제2 프로모터는 미세아교세포-특이적 프로모터이거나, 또는 그 반대의 경우이다.

[0447] 제2 프로모터는 당해 기술 분야에 알려진 임의의 프로모터일 수 있다. 그러나, 소정의 구체예에서, 상기 개시된 바와 같은 IL-2 또는 이의 기능적 단편 또는 돌연변이 변이체는 골수-특이적 프로모터 및 미세아교세포-특이적 프로모터를 포함하는 융합 프로모터로부터 발현될 수 있다. 즉, 상기 개시된 임의의 골수-특이적 프로모터는 상기 개시된 임의의 미세아교세포-특이적 프로모터와 임의의 순서로 조합될 수 있다.

[0448] 소정의 구체예에서, 상기 개시된 바와 같은 IL-2 또는 이의 기능적 단편 또는 돌연변이 변이체는 miR223, 이의 기능적 단편 또는 miR223 기능을 가진 프로모터, 및 미세아교세포-특이적 프로모터를 포함하는 융합 프로모터로부터 발현될 수 있다.

[0449] 즉, 특정 일 구체예에서, 본 발명은 IL-2 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 17에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 또는 이의 기능적 단편을 코딩하는 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 여기서 제1 프로모터는 miR233 프로모터, 또는 서열번호: 1에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편이고; 상기 제1 프로모터는 하기에 작동 가능하게 연결된다:

[0450] i) TMEM119 프로모터, 또는 서열번호: 3, 서열번호: 23 또는 서열번호: 24에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편;

[0451] ii) P2RY12 프로모터, 또는 서열번호: 2, 서열번호: 21 또는 서열번호: 22에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편;

[0452] iii) OLFML3 프로모터, 또는 서열번호: 4 또는 서열번호: 25에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편;

[0453] iv) ITGAM 프로모터, 또는 서열번호: 6에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 및/또는

[0454] v) AIF1 프로모터 또는 서열번호: 5에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편.

[0455] 소정의 구체예에서, 본 발명은 IL-2 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 17에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 또는 이의 기능적 단편을 코딩하는 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 여기서 프로모터는 miR233 프로모터, 또는 서열번호: 1에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편이다.

[0456] 소정의 구체예에서, 본 발명은 IL-2 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 17에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 또는 이의 기능적 단편을 코딩하는 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 여기서 제1 프로모터는 ITGAM 프로모터, 또는 서열번호: 6에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편이다.

[0457] 소정의 구체예에서, 본 발명은 IL-2 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 17에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 또는 이의 기능적 단편을 코딩하는 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 여기서 프로모터는 (a) miR233 프로모터, 또는 서열번호: 1에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 및 (b) P2RY12 프로모터, 또는 서열번호: 2, 서열번호: 21 또는 서열번호: 22에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편을 포함하는 융합 프로모터이다. 소정의 구체예에서, 융합 프로모터는 서열번호: 26 또는 서열번호: 27과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다.

[0458] 소정의 구체예에서, 본 발명은 IL-2 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 17에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 또는 이의 기능적 단편을 코딩하는 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 여기서 프로모터는 (a) miR233 프로모터, 또는 서열번호: 1에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 및 (b) TMEM119 프로모터, 또는 서열번호: 3, 서열번호: 23 또는 서열번호: 24에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편을 포함하는 융합 프로모터이다. 소정의 구체예에서, 융합 프로모터는 서열번호: 28과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다.

[0459] 소정의 구체예에서, 본 발명은 IL-2 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 17에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 또는 이의 기능적 단편을 코딩하는 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 여기서 프로모터는 (a) miR233 프로모터, 또는 서열번호: 1에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 및 (b) OLFML3 프로모터, 또는 서열번호: 4 또는 서열번호: 25에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편을 포함하는 융합 프로모터이다. 소정의 구체예에서, 융합 프로모터는 서열번호: 29와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다.

[0460] 특정 일 구체예에서, 본 발명은 하나 이상의 프로모터의 제어하에 이식유전자를 포함하는 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 상기 이식유전자는 하기를 코딩한다:

[0461] a) IL-15, 또는 이의 기능적 단편; 또는

[0462] b) 서열번호: 18에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드, 또는 이의 기능적 단편.

[0463] 즉, 소정의 구체예에서, 본 발명은 인터루킨-15 (IL-15)를 코딩하는 바이러스 벡터에 관한 것이다. 용어 "IL-15"는 서열번호: 18의 단백질 서열, 및/또는 이의 >95%의 상동성의 서열 동일성을 갖는 임의의 서열을 지칭한다. 또한, 본원에는 상기 단백질을 코딩하는 핵산 서열이 제공된다.

[0464] MRISKPHLRSISIQCYLCLLLNSHFLTEAGIHVFILGCFSAGLPKTEANWVNVISDLKKIED
LIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLLELQVISLESGDASIHDTVENLIILANNSLSS
NGNVTESGCKECEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS (서열번호:18)

[0465] 인터루킨-15 (IL-15)는 인터루킨-2 (IL-2)와 구조적으로 유사성을 갖는 사이토카인이다. IL-2와 마찬가지로, IL-15는 IL-2/IL-15 수용체 베타 사슬 (CD122) 및 공통 감마 사슬 (감마-C, CD132)로 구성된 복합체에 결합하고 이를 통해 신호를 전달한다. IL-15는 바이러스(들) 감염 후에 단핵 포식세포 (및 일부 다른 세포)에서 분비된다. 이러한 사이토카인은 자연 살해 세포, 즉 바이러스에 감염된 세포를 사멸시키는 주요 역할을 하는 선천성 면역계의 세포의 증식을 유도한다. IL-15는 T 세포 및 자연 살해 (NK) 세포의 활성화 및 증식을 조절한다. 항원의 부재 시에 기억 T 세포를 유지하는 생존 신호는 IL-15에 의해 제공된다. 이러한 사이토카인은 또한 NK 세포 발생과 관련이 있다. 설치류 (rodent) 림프구에서, IL-15는 아폽토시스 경로의 억제제인 BCL2L1/BCL-x(L)를 유도하여 아폽토시스를 방지한다. 복강병이 있는 인간에서, IL-15는 Bcl-2 및/또는 Bcl-xL을 유도하여 T-림프구에서 아폽토시스를 유사하게 억제한다.

[0466] IL-15는 전-임상 모델에서 CD8+ T 세포의 항-종양 면역을 증진시키는 것으로 나타났다. 전이 흑색종 및 신세포암종 (신장암) 환자에서 IL-15의 안전성, 투여량 및 항-종양 효능을 평가하기 위한 임상 I상 시험을 위해 국립보건원 (the National Institutes of Health)에서 환자를 등록하기 시작하였다.

[0467] IL-15의 기능적 단편은 서열번호: 18과 적어도 95%의 서열 동일성을 갖는 적어도 50, 적어도 100개의 아미노산, 적어도 110, 적어도 120, 적어도 130 또는 적어도 140개의 아미노산의 단편이고, 여기서 상기 단편은 IL-15 활성을 갖는다. 단백질이 IL-15 활성을 갖는지 여부를 결정하기 위한 분석이 당해 기술 분야, 예를 들어 Hu et al., Discovery of a novel IL-15 based protein with improved developability and efficacy for cancer immunotherapy; Sci Rep. 2018 May 16;8(1):7675. doi: 10.1038/s41598-018-25987-4에 기재되어 있다.

[0468] 특정 일 구체예에서, 본 발명은 IL-15, 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 18에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 또는 이의 기능적 단편을 코딩하는 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 여기서 하나 이상의 프로모터는 하기를 포함한다:

[0469] a) 골수-특이적 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 및/또는

[0470] b) 미세아교세포-특이적 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 및/또는

[0471] c) 하기를 포함하거나 또는 이로 구성된 융합 프로모터:

[0472] i) 골수-특이적 프로모터 또는 미세아교세포-특이적 프로모터, 또는 이의 기능적 단편인 제1 프로모터; 및

[0473] ii) 제2 프로모터.

[0474] 즉, 소정의 구체예에서, 상기 개시된 바와 같은 IL-15 또는 이의 기능적 단편 또는 돌연변이 변이체는 골수-특이적 프로모터 또는 이의 기능적 단편으로부터 발현될 수 있다. 다른 구체예에서, 상기 개시된 바와 같은 IL-15 또는 이의 기능적 단편 또는 돌연변이 변이체는 미세아교세포-특이적 프로모터 또는 이의 기능적 단편으로부터 발현될 수 있다. 다른 구체예에서, 상기 개시된 바와 같은 IL-15 또는 이의 기능적 단편 또는 돌연변이 변이체는 융합 프로모터로부터 발현될 수 있으며, 바람직하게는 상기 융합 프로모터는 골수-특이적 또는 미세아교세포-특이적 프로모터 또는 이의 기능적 단편을 포함한다.

[0475] 즉, 특정 일 구체예에서, 본 발명은 IL-15, 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 18에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 또는 이의 기능적 단편을 코딩하는 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 여기서 골수-특이적 프로모터는 하기이다:

[0476] a) miR233 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 1에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편;

[0477] b) ITGAM 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 6에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 또는

[0478] c) AIF1 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 5에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편.

[0479] 특정 일 구체예에서, 본 발명은 IL-15, 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 18에 제시된 서열에 대해 적어

도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드, 또는 이의 기능적 단편을 코딩하는 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 여기서 미세아교세포-특이적 프로모터는 하기이다:

[0480] a) TMEM119 프로모터 또는 서열번호: 3, 서열번호: 23 또는 서열번호: 24에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편;

[0481] b) P2RY12 프로모터 또는 서열번호: 2, 서열번호: 21 또는 서열번호: 22에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 또는

[0482] c) OLFML3 프로모터 또는 서열번호: 4 또는 서열번호: 25에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편.

[0483] 특정 일 구체예에서, 본 발명은 IL-15, 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 18에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드, 또는 이의 기능적 단편을 코딩하는 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 여기서 제1 프로모터는 골수-특이적 프로모터이고, 제2 프로모터는 미세아교세포-특이적 프로모터이거나, 또는 그 반대의 경우이다.

[0484] 제2 프로모터는 당해 기술 분야에 알려진 임의의 프로모터일 수 있다. 그러나, 소정의 구체예에서, 상기 개시된 바와 같은 IL-15 또는 이의 기능적 단편 또는 돌연변이 변이체는 골수-특이적 프로모터 및 미세아교세포-특이적 프로모터를 포함하는 융합 프로모터로부터 발현될 수 있다. 즉, 상기 개시된 임의의 골수-특이적 프로모터는 상기 개시된 임의의 미세아교세포-특이적 프로모터와 임의의 순서로 조합될 수 있다.

[0485] 소정의 구체예에서, 상기 개시된 바와 같은 IL-15 또는 이의 기능적 단편 또는 돌연변이 변이체는 miR223, 이의 기능적 단편 또는 miR223 기능을 가진 프로모터, 및 미세아교세포-특이적 프로모터를 포함하는 융합 프로모터로부터 발현될 수 있다.

[0486] 즉, 특정 일 구체예에서, 본 발명은 IL-15 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 18에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 또는 이의 기능적 단편을 코딩하는 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 여기서 제1 프로모터는 miR233 프로모터, 또는 서열번호: 1에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편이고; 상기 제1 프로모터는 하기에 작동 가능하게 연결된다:

[0487] i) TMEM119 프로모터, 또는 서열번호: 3, 서열번호: 23 또는 서열번호: 24에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편;

[0488] ii) P2RY12 프로모터, 또는 서열번호: 2, 서열번호: 21 또는 서열번호: 22에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편;

[0489] iii) OLFML3 프로모터, 또는 서열번호: 4 또는 서열번호: 25에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편;

[0490] iv) ITGAM 프로모터, 또는 서열번호: 6에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 및/또는

[0491] v) AIF1 프로모터 또는 서열번호: 5에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편.

[0492] 소정의 구체예에서, 본 발명은 IL-15 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 18에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 또는 이의 기능적 단편을 코딩하는 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 여기서 프로모터는 miR233 프로모터, 또는 서열번호: 1에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편이다.

[0493] 소정의 구체예에서, 본 발명은 IL-15 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 18에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 또는 이의 기능적 단편을 코딩하는 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 여기서 제1 프로모터는 ITGAM 프로모터, 또는 서열번호: 6에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편이다.

[0494] 소정의 구체예에서, 본 발명은 IL-15 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 18에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 또는 이의 기능적 단편을 코딩하는 바이러스 벡

터에 관한 것으로서, 여기서 프로모터는 (a) miR233 프로모터, 또는 서열번호: 1에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 및 (b) P2RY12 프로모터, 또는 서열번호: 2, 서열번호: 21 또는 서열번호: 22에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편을 포함하는 융합 프로모터이다. 소정의 구체예에서, 융합 프로모터는 서열번호: 26 또는 서열번호: 27과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다.

[0495] 소정의 구체예에서, 본 발명은 IL-15 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 18에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 또는 이의 기능적 단편을 코딩하는 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 여기서 프로모터는 (a) miR233 프로모터, 또는 서열번호: 1에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 및 (b) TMEM119 프로모터, 또는 서열번호: 3, 서열번호: 23 또는 서열번호: 24에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편을 포함하는 융합 프로모터이다. 소정의 구체예에서, 융합 프로모터는 서열번호: 28과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다.

[0496] 소정의 구체예에서, 본 발명은 IL-15 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 18에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 또는 이의 기능적 단편을 코딩하는 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 여기서 프로모터는 (a) miR233 프로모터, 또는 서열번호: 1에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 및 (b) OLFML3 프로모터, 또는 서열번호: 4 또는 서열번호: 25에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편을 포함하는 융합 프로모터이다. 소정의 구체예에서, 융합 프로모터는 서열번호: 29와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다.

[0497] 특정 일 구체예에서, 본 발명은 하나 이상의 프로모터의 제어하에 이식유전자를 포함하는 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 상기 이식유전자는 하기를 코딩한다:

[0498] a) IL-21, 또는 이의 기능적 단편; 또는

[0499] b) 서열번호: 19에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드, 또는 이의 기능적 단편.

[0500] 즉, 소정의 구체예에서, 본 발명은 인터루킨-21 (IL-21)을 코딩하는 바이러스 벡터에 관한 것이다. 용어 "IL-21"은 서열번호: 19의 단백질 서열, 및/또는 이의 >95%의 상동성의 서열 동일성을 갖는 임의의 서열을 지칭한다. 또한, 본원에는 상기 단백질을 코딩하는 핵산 서열이 제공된다.

[0501] MRSSPGNMERIVICLMVIFLGTLVHKSSSQGQDRHMIRMRQLIDIVDQLKNYVNDLVPEFLP
APEDVETNCEWSAFSCFQKAQLKSANTGNNERIINVSIKKLKRKPPSTNAGRRQKHRLTCPS
CDSYEKKPPKEFLERFKSLLQKMIHQHLSSRTHGSEDS (서열번호:19)

[0502] 인터루킨-21 (IL-21)은 바이러스에 감염된 세포 또는 암세포를 파괴할 수 있는 자연 살해 (NK) 세포 및 세포독성 T 세포를 포함한, 면역계의 세포에 강력한 조절 효과를 갖는 사이토카인이다. 이러한 사이토카인은 이의 표적 세포에서 세포 분열/증식을 유도한다.

[0503] 인간 T 세포의 분화 프로그래밍을 조절하는 IL-21의 역할이 보고되었으며, 여기서 IL-2 생성 능력을 가진 고유한 CD28+ CD127hi CD45RO+ 표현형을 가진 중추 기억-타입 CTL 집단이 풍부한 것으로 밝혀졌다. IL-21의 존재하에 프라이밍에 의해 생성된 종양-반응성 항원-특이적 CTL은 안정한, '헬퍼-비의존적 (helper-independent)' 표현형을 유도하였다. IL-21은 또한 지속적인 종양 면역을 달성하기 위해 지속적이고 증가된 CD8+ 세포 반응을 통해 항-종양 효과를 갖는 것으로 알려져 있다.

[0504] 전이 흑색종 (metastatic melanoma: MM) 및 신세포 암종 (renal cell carcinoma: RCC) 환자를 대상으로 한 임상 1상 시험을 위해 IL-21이 승인되었다. 이는 투여되는 경우, 부작용으로 독감 (flu)-유사 증상을 갖는, 안전한 것으로 밝혀졌다. 용량-제한 독성 (Dose-limiting toxicities)에는 낮은 림프구, 호중구 및 혈소판 계수뿐만 아니라 간독성을 포함하였다. RECIST (Response Evaluation Criteria in Solid Tumors) 반응 척도에 따르면, MM 환자 47명 중 2명 및 RCC 환자 19명 중 4명에서 각각 완전 및 부분 반응을 보였다. 또한, 말초 NK 세포

및 CD8+ T 세포에서 퍼포린 (perforin), 그랜자임 B (granzyme B), IFN-감마 (IFN-gamma) 및 CXCR3 mRNA의 증가가 있었다. 이는 IL-21이 CD8+ 이펙터 기능을 증진시켜서 항-종양 반응을 유도하는 것을 시사하였다. IL-21은 임상 2상 시험을 진행하였고, 여기서 이는 단독으로 투여되거나, 또는 소라피닙 (sorafinib) 및 리툭시맙 (rituximab)과 같은 약물과 함께 투여되었다.

[0505] IL-21의 기능적 단편은 서열번호: 19와 적어도 95%의 서열 동일성을 갖는 적어도 50, 적어도 100개의 아미노산, 적어도 110, 적어도 120, 적어도 130 또는 적어도 140개의 아미노산의 단편이고, 여기서 상기 단편은 IL-21 활성을 갖는다. 단백질이 IL-21 활성을 갖는지 여부를 결정하기 위한 분석이 당해 기술 분야, 예를 들어 Maurer et al., Generation and characterization of human anti-human IL-21 neutralizing monoclonal antibodies; MAbs. 2012 Jan-Feb; 4(1): 69-83에 기재되어 있다.

[0506] 특정 일 구체예에서, 본 발명은 IL-21, 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 19에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 또는 이의 기능적 단편을 코딩하는 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 여기서 하나 이상의 프로모터는 하기를 포함한다:

[0507] a) 골수-특이적 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 및/또는

[0508] b) 미세아교세포-특이적 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 및/또는

[0509] c) 하기를 포함하거나 또는 이로 구성된 융합 프로모터:

[0510] i) 골수-특이적 프로모터 또는 미세아교세포-특이적 프로모터, 또는 이의 기능적 단편인 제1 프로모터; 및

[0511] ii) 제2 프로모터.

[0512] 즉, 소정의 구체예에서, 상기 개시된 바와 같은 IL-21 또는 이의 기능적 단편 또는 돌연변이 변이체는 골수-특이적 프로모터 또는 이의 기능적 단편으로부터 발현될 수 있다. 다른 구체예에서, 상기 개시된 바와 같은 IL-21 또는 이의 기능적 단편 또는 돌연변이 변이체는 미세아교세포-특이적 프로모터 또는 이의 기능적 단편으로부터 발현될 수 있다. 다른 구체예에서, 상기 개시된 바와 같은 IL-21 또는 이의 기능적 단편 또는 돌연변이 변이체는 융합 프로모터로부터 발현될 수 있으며, 바람직하게는 상기 융합 프로모터는 골수-특이적 또는 미세아교세포-특이적 프로모터 또는 이의 기능적 단편을 포함한다.

[0513] 즉, 특정 일 구체예에서, 본 발명은 IL-21, 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 19에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 또는 이의 기능적 단편을 코딩하는 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 여기서 골수-특이적 프로모터는 하기이다:

[0514] a) miR233 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 1에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편;

[0515] b) ITGAM 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 6에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 또는

[0516] c) AIF1 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 5에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편.

[0517] 특정 일 구체예에서, 본 발명은 IL-21, 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 19에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드, 또는 이의 기능적 단편을 코딩하는 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 여기서 미세아교세포-특이적 프로모터는 하기이다:

[0518] a) TMEM119 프로모터 또는 서열번호: 3, 서열번호: 23 또는 서열번호: 24에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편;

[0519] b) P2RY12 프로모터 또는 서열번호: 2, 서열번호: 21 또는 서열번호: 22에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 또는

[0520] c) OLFML3 프로모터 또는 서열번호: 4 또는 서열번호: 25에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편.

[0521] 특정 일 구체예에서, 본 발명은 IL-21, 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 19에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드, 또는 이의 기능적 단편을 코딩하는 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 여기서 제1 프로모터는 골수-특이적 프로모터이고, 제2 프로모터는 미세아교세포-특

이적 프로모터이거나, 또는 그 반대의 경우이다.

[0522] 제2 프로모터는 당해 기술 분야에 알려진 임의의 프로모터일 수 있다. 그러나, 소정의 구체예에서, 상기 개시된 바와 같은 IL-21 또는 이의 기능적 단편 또는 돌연변이 변이체는 골수-특이적 프로모터 및 미세아교세포-특이적 프로모터를 포함하는 융합 프로모터로부터 발현될 수 있다. 즉, 상기 개시된 임의의 골수-특이적 프로모터는 상기 개시된 임의의 미세아교세포-특이적 프로모터와 임의의 순서로 조합될 수 있다.

[0523] 소정의 구체예에서, 상기 개시된 바와 같은 IL-21 또는 이의 기능적 단편 또는 돌연변이 변이체는 miR223, 이의 기능적 단편 또는 miR223 기능을 가진 프로모터, 및 미세아교세포-특이적 프로모터를 포함하는 융합 프로모터로부터 발현될 수 있다.

[0524] 즉, 특정 일 구체예에서, 본 발명은 IL-21 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 19에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 또는 이의 기능적 단편을 코딩하는 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 여기서 제1 프로모터는 miR233 프로모터, 또는 서열번호: 1에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편이고; 상기 제1 프로모터는 하기에 작동 가능하게 연결된다:

[0525] i) TMEM119 프로모터, 또는 서열번호: 3, 서열번호: 23 또는 서열번호: 24에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편;

[0526] ii) P2RY12 프로모터, 또는 서열번호: 2, 서열번호: 21 또는 서열번호: 22에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편;

[0527] iii) OLFML3 프로모터, 또는 서열번호: 4 또는 서열번호: 25에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편;

[0528] iv) ITGAM 프로모터, 또는 서열번호: 6에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 및/또는

[0529] v) AIF1 프로모터 또는 서열번호: 5에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편.

[0530] 소정의 구체예에서, 본 발명은 IL-21 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 19에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 또는 이의 기능적 단편을 코딩하는 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 여기서 프로모터는 miR233 프로모터, 또는 서열번호: 1에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편이다.

[0531] 소정의 구체예에서, 본 발명은 IL-21 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 19에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 또는 이의 기능적 단편을 코딩하는 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 여기서 제1 프로모터는 ITGAM 프로모터, 또는 서열번호: 6에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편이다.

[0532] 소정의 구체예에서, 본 발명은 IL-21 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 19에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 또는 이의 기능적 단편을 코딩하는 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 여기서 프로모터는 (a) miR233 프로모터, 또는 서열번호: 1에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 및 (b) P2RY12 프로모터, 또는 서열번호: 2, 서열번호: 21 또는 서열번호: 22에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편을 포함하는 융합 프로모터이다. 소정의 구체예에서, 융합 프로모터는 서열번호: 26 또는 서열번호: 27과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다.

[0533] 소정의 구체예에서, 본 발명은 IL-21 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 19에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 또는 이의 기능적 단편을 코딩하는 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 여기서 프로모터는 (a) miR233 프로모터, 또는 서열번호: 1에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 및 (b) TMEM119 프로모터, 또는 서열번호: 3, 서열번호: 23 또는 서열번호: 24에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편을 포함하는 융합 프로모터이다. 소정의 구체예에서, 융합 프로모터는 서열번호: 28과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도

98%, 적어도 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다.

[0534] 소정의 구체예에서, 본 발명은 IL-21 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 19에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 또는 이의 기능적 단편을 코딩하는 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 여기서 프로모터는 (a) miR233 프로모터, 또는 서열번호: 1에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 및 (b) OLFML3 프로모터, 또는 서열번호: 4 또는 서열번호: 25에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편을 포함하는 융합 프로모터이다. 소정의 구체예에서, 융합 프로모터는 서열번호: 29와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다.

[0535] 특정 일 구체예에서, 본 발명은 하나 이상의 프로모터의 제어하에 이식유전자를 포함하는 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 상기 이식유전자는 하기를 코딩한다:

[0536] a) IFN-알파, 또는 이의 기능적 단편; 또는

[0537] b) 서열번호: 20에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드, 또는 이의 기능적 단편.

[0538] 즉, 소정의 구체예에서, 본 발명은 인터페론-알파 (IFN-alpha)를 코딩하는 바이러스 벡터에 관한 것이다. 용어 "IFN-알파 (IFN-alpha)"는 서열번호: 20의 단백질 서열, 및/또는 이의 >95%의 상동성의 서열 동일성을 갖는 임의의 서열을 지칭한다. 또한, 본원에는 상기 단백질을 코딩하는 핵산 서열이 제공된다.

[0539] MALTFALLVALLVLSCKSSCSVGCDLPQTHSLGSRRTLMLLAQMRKISLFSCLKDRHDFGFP QEEFGNQFQKAETIPVLHEMIQQIFNLFSTKDSSAAWDETLLDKFYTELYQQLNDLEACVIQ GVGVTETPLMKEDSILAVRKYFQRITLYLKEKKYSPCAWEVVRAEIMRSFSLSTNLQESLRS KE (서열번호:20)

[0540] 인간 인터페론 알파-2 (Human interferon alpha-2: IFNα2)는 타입 I IFN 패밀리에 속하는 사이토카인이다. IFNα2는 바이러스에 감염된 세포에서 분비되고 다른 세포에 작용하여 바이러스 감염을 억제하는 단백질이다.

[0541] 경구로 제공되는 경우, IFNα2는 소화 효소에 의해 분해되어 더 이상 활성을 갖지 않는다. 따라서, IFNα2는 본질적으로 피하 또는 근육내 주사에 의해 주로 투여된다. 일단 혈액에 들어가면, IFNα2는 신장에서 빠르게 제거된다. 유기체에서 IFNα2의 수명이 짧기 때문에, 일주일에 여러 번 주사해야 한다. 페그인터페론 알파-2a (Peginterferon alpha-2a) 및 페그인터페론 알파-2b (Peginterferon alpha-2b) (IFNα2에 연결된 폴리에틸렌 글리콜)는 장기-지속되는 IFNα2 제제이므로, 이는 주당 1회 주사가 가능하다.

[0542] 재조합 IFNα2 (α2a 및 α2b)는 일부 바이러스 감염 (예컨대 만성 바이러스성 B형 간염 및 C형 간염) 또는 일부 종류의 암 (흑색종, 신세포 암종 및 다양한 혈액 악성 종양)으로 진단된 환자의 치료에서 유효성이 입증되었다.

[0543] IFN-알파의 기능적 단편은 서열번호: 20과 적어도 95%의 서열 동일성을 갖는 적어도 50, 적어도 100개의 아미노산, 적어도 110, 적어도 120, 적어도 130 또는 적어도 140개의 아미노산의 단편이고, 여기서 상기 단편은 IFN-알파 활성을 갖는다. 단백질이 IFN-알파 활성을 갖는지 여부를 결정하기 위한 분석이 당해 기술 분야, 예를 들어 Moll et al., The differential activity of interferon-α subtypes is consistent among distinct target genes and cell types; Cytokine. 2011 Jan; 53(1): 52-59에 기재되어 있다.

[0544] 특정 일 구체예에서, 본 발명은 IFN-알파, 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 20에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 또는 이의 기능적 단편을 코딩하는 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 여기서 하나 이상의 프로모터는 하기를 포함한다:

[0545] a) 골수-특이적 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 및/또는

[0546] b) 미세아교세포-특이적 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 및/또는

[0547] c) 하기를 포함하거나 또는 이로 구성된 융합 프로모터:

[0548] i) 골수-특이적 프로모터 또는 미세아교세포-특이적 프로모터, 또는 이의 기능적 단편인 제1 프로모터; 및

[0549] ii) 제2 프로모터.

[0550] 즉, 소정의 구체예에서, 상기 개시된 바와 같은 IFN-알파 또는 이의 기능적 단편 또는 돌연변이 변이체는 골수-특이적 프로모터 또는 이의 기능적 단편으로부터 발현될 수 있다. 다른 구체예에서, 상기 개시된 바와 같은 IFN-알파 또는 이의 기능적 단편 또는 돌연변이 변이체는 미세아교세포-특이적 프로모터 또는 이의 기능적 단편으로부터 발현될 수 있다. 다른 구체예에서, 상기 개시된 바와 같은 IFN-알파 또는 이의 기능적 단편 또는 돌연변이 변이체는 융합 프로모터로부터 발현될 수 있으며, 바람직하게는 상기 융합 프로모터는 골수-특이적 또는 미세아교세포-특이적 프로모터 또는 이의 기능적 단편을 포함한다.

[0551] 즉, 특정 일 구체예에서, 본 발명은 IFN-알파, 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 20에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 또는 이의 기능적 단편을 코딩하는 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 여기서 골수-특이적 프로모터는 하기이다:

[0552] a) miR233 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 1에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편;

[0553] b) ITGAM 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 6에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 또는

[0554] c) AIF1 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 5에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편.

[0555] 특정 일 구체예에서, 본 발명은 IFN-알파, 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 20에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드, 또는 이의 기능적 단편을 코딩하는 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 여기서 미세아교세포-특이적 프로모터는 하기이다:

[0556] a) TMEM119 프로모터 또는 서열번호: 3, 서열번호: 23 또는 서열번호: 24에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편;

[0557] b) P2RY12 프로모터 또는 서열번호: 2, 서열번호: 21 또는 서열번호: 22에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 또는

[0558] c) OLFML3 프로모터 또는 서열번호: 4 또는 서열번호: 25에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편.

[0559] 특정 일 구체예에서, 본 발명은 IFN-알파, 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 20에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드, 또는 이의 기능적 단편을 코딩하는 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 여기서 제1 프로모터는 골수-특이적 프로모터이고, 제2 프로모터는 미세아교세포-특이적 프로모터이거나, 또는 그 반대의 경우이다.

[0560] 제2 프로모터는 당해 기술 분야에 알려진 임의의 프로모터일 수 있다. 그러나, 소정의 구체예에서, 상기 개시된 바와 같은 IFN-알파 또는 이의 기능적 단편 또는 돌연변이 변이체는 골수-특이적 프로모터 및 미세아교세포-특이적 프로모터를 포함하는 융합 프로모터로부터 발현될 수 있다. 즉, 상기 개시된 임의의 골수-특이적 프로모터는 상기 개시된 임의의 미세아교세포-특이적 프로모터와 임의의 순서로 조합될 수 있다.

[0561] 소정의 구체예에서, 상기 개시된 바와 같은 IFN-알파 또는 이의 기능적 단편 또는 돌연변이 변이체는 miR223, 이의 기능적 단편 또는 miR223 기능을 가진 프로모터, 및 미세아교세포-특이적 프로모터를 포함하는 융합 프로모터로부터 발현될 수 있다.

[0562] 즉, 특정 일 구체예에서, 본 발명은 IFN-알파 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 20에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 또는 이의 기능적 단편을 코딩하는 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 여기서 제1 프로모터는 miR233 프로모터, 또는 서열번호: 1에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편이고; 상기 제1 프로모터는 하기에 작동 가능하게 연결된다:

[0563] i) TMEM119 프로모터, 또는 서열번호: 3, 서열번호: 23 또는 서열번호: 24에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편;

[0564] ii) P2RY12 프로모터, 또는 서열번호: 2, 서열번호: 21 또는 서열번호: 22에 제시된 서열에 대해 적어도 95%,

96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편;

[0565] iii) OLFML3 프로모터, 또는 서열번호: 4 또는 서열번호: 25에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편;

[0566] iv) ITGAM 프로모터, 또는 서열번호: 6에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 및/또는

[0567] v) AIF1 프로모터 또는 서열번호: 5에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편.

[0568] 소정의 구체예에서, 본 발명은 IFN-알파 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 20에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 또는 이의 기능적 단편을 코딩하는 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 여기서 프로모터는 miR233 프로모터, 또는 서열번호: 1에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편이다.

[0569] 소정의 구체예에서, 본 발명은 IFN-알파 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 20에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 또는 이의 기능적 단편을 코딩하는 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 여기서 제1 프로모터는 ITGAM 프로모터, 또는 서열번호: 6에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편이다.

[0570] 소정의 구체예에서, 본 발명은 IFN-알파 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 20에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 또는 이의 기능적 단편을 코딩하는 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 여기서 프로모터는 (a) miR233 프로모터, 또는 서열번호: 1에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 및 (b) P2RY12 프로모터, 또는 서열번호: 2, 서열번호: 21 또는 서열번호: 22에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편을 포함하는 융합 프로모터이다. 소정의 구체예에서, 융합 프로모터는 서열번호: 26 또는 서열번호: 27과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다.

[0571] 소정의 구체예에서, 본 발명은 IFN-알파 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 20에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 또는 이의 기능적 단편을 코딩하는 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 여기서 프로모터는 (a) miR233 프로모터, 또는 서열번호: 1에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 및 (b) TMEM119 프로모터, 또는 서열번호: 3, 서열번호: 23 또는 서열번호: 24에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편을 포함하는 융합 프로모터이다. 소정의 구체예에서, 융합 프로모터는 서열번호: 28과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다.

[0572] 소정의 구체예에서, 본 발명은 IFN-알파 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 20에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 또는 이의 기능적 단편을 코딩하는 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 여기서 프로모터는 (a) miR233 프로모터, 또는 서열번호: 1에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 및 (b) OLFML3 프로모터, 또는 서열번호: 4 또는 서열번호: 25에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편을 포함하는 융합 프로모터이다. 소정의 구체예에서, 융합 프로모터는 서열번호: 29와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다.

[0573] 특정 일 구체예에서, 본 발명은 본 발명에 따른 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 여기서 하나 이상의 프로모터는 하기를 포함한다:

[0574] a) 골수-특이적 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 및/또는

[0575] b) 미세아교세포-특이적 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 및/또는

[0576] c) 하기를 포함하거나 또는 이로 구성된 융합 프로모터:

[0577] i) 골수-특이적 프로모터 또는 미세아교세포-특이적 프로모터, 또는 이의 기능적 단편인 제1 프로모터; 및

[0578] ii) 제2 프로모터.

[0579] 즉, 상기 개시된 임의의 이식유전자, 또는 이의 기능적 단편 또는 변이체는 하나 이상의 프로모터에 작동 가능하게 연결될 수 있다. 소정의 구체예에서, 상기 개시된 이식유전자, 또는 이의 기능적 단편 또는 변이체는 골수-특이적 프로모터 또는 이의 기능적 단편에 작동 가능하게 연결될 수 있다. 소정의 구체예에서, 상기 개시된 이식유전자, 또는 이의 기능적 단편 또는 변이체는 미세아교세포-특이적 프로모터 또는 이의 기능적 단편에 작동 가능하게 연결될 수 있다. 소정의 구체예에서, 상기 개시된 이식유전자, 또는 이의 기능적 단편 또는 변이체는 골수-특이적 또는 미세아교세포-특이적 프로모터 또는 이의 기능적 단편, 및 제2 프로모터를 포함하는 융합 프로모터에 작동 가능하게 연결될 수 있다.

[0580] 특정 일 구체예에서, 본 발명은 본 발명에 따른 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 여기서 골수-특이적 프로모터는 하기이다:

[0581] a) miR233 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 1에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편;

[0582] b) ITGAM 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 6에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 또는

[0583] c) AIF1 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 또는 서열번호: 5에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편.

[0584] 본원에서 사용된, 용어 "골수-특이적 프로모터 (myelo-specific promoter)"는 골수 세포에서 발현을 유도할 수 있는 임의의 프로모터를 지칭한다. 당업자는 프로모터가 골수 세포에서 발현을 유도할 수 있는지 여부를 확인하는 방법을 알고 있다. 예를 들어, 골수 세포 예컨대 단핵구 세포주 (monocytic cell line) THP-1은 해당 프로모터의 제어하에 형광 마커를 코딩하는 바이러스 벡터로 형질도입될 수 있다. 골수 세포의 게놈 내로 바이러스 벡터의 통합 시에 형광 마커의 발현이 골수 세포에서 검출될 수 있는 경우, 프로모터는 골수-특이적 프로모터인 것으로 결정된다. 본 발명의 의미 내에서 골수-특이적 프로모터는 miR223 프로모터, AIF1 프로모터 및 ITGAM 프로모터를 포함하지만 이에 한정되지 않는다.

[0585] 특정 일 구체예에서, 본 발명은 본 발명에 따른 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 여기서 미세아교세포-특이적 프로모터는 하기이다:

[0586] a) TMEM119 프로모터 또는 서열번호: 3, 서열번호: 23 또는 서열번호: 24에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편;

[0587] b) P2RY12 프로모터 또는 서열번호: 2, 서열번호: 21 또는 서열번호: 22에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 또는

[0588] c) OLFML3 프로모터 또는 서열번호: 4 또는 서열번호: 25에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편.

[0589] 본원에서 사용된, 용어 "미세아교세포-특이적 프로모터 (microglia-specific promoter)"는 미세아교세포에서 발현을 유도할 수 있는 임의의 프로모터를 지칭한다. 당업자는 프로모터가 미세아교세포에서 발현을 유도할 수 있는지 여부를 확인하는 방법을 알고 있다. 예를 들어, 미세아교세포 예컨대 불멸화된 미세아교세포 세포주는 해당 프로모터의 제어하에 형광 마커를 코딩하는 바이러스 벡터로 형질도입될 수 있다. 미세아교세포의 게놈 내로 바이러스 벡터의 통합 시에 형광 마커의 발현이 미세아교세포에서 검출될 수 있는 경우, 프로모터는 미세아교세포-특이적 프로모터인 것으로 결정된다. 본 발명의 의미 내에서 미세아교세포-특이적 프로모터는 P2RY12 프로모터, TMEM119 프로모터, OLFML3 프로모터, ITGAM 프로모터 및 AIF1 프로모터를 포함하지만 이에 한정되지 않는다.

[0590] 소정의 구체예에서, 본 발명은 본 발명에 따른 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 여기서 제1 프로모터는 골수-특이적 프로모터이고, 제2 프로모터는 미세아교세포-특이적 프로모터이거나, 또는 그 반대의 경우이다.

[0591] 즉, 융합 프로모터는 바람직하게는 골수-특이적 프로모터 및 미세아교세포-특이적 프로모터를 포함할 수 있다. 소정의 구체예에서, 상기 미세아교세포-특이적 프로모터는 골수-특이적 프로모터의 5' 말단에 융합된다. 소정의 구체예에서, 상기 미세아교세포-특이적 프로모터는 골수-특이적 프로모터의 3' 말단에 융합된다.

[0592] 특정 일 구체예에서, 본 발명은 본 발명에 따른 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 여기서 제1 프로모터는 miR233

프로모터, 또는 서열번호: 1에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편이고; 상기 제1 프로모터는 하기에 작동 가능하게 연결된다:

[0593] i) TMEM119 프로모터, 또는 서열번호: 3, 서열번호: 23 또는 서열번호: 24에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편;

[0594] ii) P2RY12 프로모터, 또는 서열번호: 2, 서열번호: 21 또는 서열번호: 23에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편;

[0595] iii) OLFML3 프로모터, 또는 서열번호: 4 또는 서열번호: 25에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편;

[0596] iv) ITGAM 프로모터, 또는 서열번호: 6에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 및/또는

[0597] v) AIF1 프로모터 또는 서열번호: 5에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편.

[0598] 특정 일 구체예에서, 본 발명은 본 발명에 따른 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 여기서 제1 프로모터는 miR233 프로모터, 또는 서열번호: 1에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편이며; 상기 제1 프로모터는 TMEM119 프로모터, 또는 서열번호: 3, 서열번호: 23 또는 서열번호: 24에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편에 작동 가능하게 연결된다. 소정의 일 구체예에서, 본 발명에 따른 바이러스 벡터는 서열번호: 28에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 폴리퓁티드를 포함한다.

[0599] 특정 일 구체예에서, 본 발명은 본 발명에 따른 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 여기서 바이러스 벡터는 적어도 하나의 전사 조절 요소를 포함하고, 상기 적어도 하나의 전사 조절 요소는 프로모터의 전사 활성을 억제하거나 또는 활성화하도록 배열된다.

[0600] 특정 일 구체예에서, 본 발명은 본 발명에 따른 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 여기서 적어도 하나의 전사 조절 요소는 전사 활성인자 또는 억제인자에 대한 결합 부위를 포함하고, 구체적으로 상기 전사 활성인자 또는 억제인자는 하기를 포함한다:

[0601] i) 항생제-결합 도메인, 구체적으로 테트라사이클린/독시사이클린-결합 도메인, 마크롤라이드-결합 도메인 또는 프리스티나마이신-결합 도메인;

[0602] ii) 호르몬-결합 도메인, 구체적으로 RU486-결합 도메인 또는 아브시스산-결합 도메인;

[0603] iii) 스테로이드-결합 도메인, 구체적으로 에크디손-결합 도메인;

[0604] iv) 이량체화제 시스템, 구체적으로 라파마이신-기반 또는 라팔로그-기반 이량체화제 시스템.

[0605] 특정 일 구체예에서, 본 발명에 따른 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 여기서 바이러스 벡터는 리보스위치(riboswitch)를 코딩하고, 상기 리보스위치는 치료 단백질 또는 치료 단백질의 조합을 코딩하는 mRNA의 번역을 제어한다.

[0606] 즉, 상기 개시된 이식유전자 중 어느 하나, 또는 이의 기능적 단편 또는 변이체를 코딩하는 바이러스 벡터는 이식유전자의 발현을 제어할 수 있게 하는 조절 요소를 포함할 수 있다. 바람직하게는, 조절 요소는 본원에 개시된 임의의 조절 요소이다.

[0607] 특정 일 구체예에서, 본 발명은 본 발명에 따른 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 여기서 바이러스 벡터는 하기이다:

[0608] a) 레트로바이러스 벡터, 구체적으로 렌티바이러스 벡터, 보다 구체적으로 렌티바이러스 SIN 벡터; 또는

[0609] b) 포말상 바이러스 벡터 (foamy viral vector); 또는

[0610] c) 아데노바이러스 벡터, 아데노-관련 바이러스 벡터, 헤르페스 바이러스 벡터, 파르보바이러스 벡터, 코로나바이러스 벡터 및 알파-레트로바이러스 벡터로 구성된 그룹으로부터 선택된 바이러스 벡터.

[0611] 본 발명에 따른 바이러스 벡터는 이식유전자를 포유동물 세포, 또는 바람직하게는 인간 세포에 전달할 수 있는

임의의 타입의 바이러스 벡터일 수 있다.

[0612] 소정의 구체예에서, 바이러스 벡터는 레트로바이러스 벡터이다. 본원에서 사용된, 용어 "레트로바이러스(retrovirus)"는 게놈 RNA의 선형 이중-가닥 DNA 카피로의 역전사, 후속하는 게놈 DNA의 숙주 게놈으로의 공유 통합에 필요한 바이러스 단백질 뿐만 아니라 바이러스 RNA를 봉입하는, 막 융합 활성을 갖는, 수포성 구내염 바이러스 (VSV) 당단백질 (vesicular stomatitis virus (VSV) glycoprotein (VSVG))을 포함하지만 이에 한정되지 않는, 바이러스 기원의 외부 외피 당단백질 쉘 (outer envelope glycoprotein shell)로 구성된 바이러스를 지칭한다.

[0613] 레트로바이러스는 유전자 전달을 위한 일반적인 수단이다 (Miller, 2000, *Nature.* 357: 455-460). 바이러스가 숙주 게놈에 통합되면, 이는 "프로바이러스 (provirus)"라고 한다. 프로바이러스는 RNA 폴리머라제 II의 주형으로서 역할을 하며, 새로운 바이러스 입자를 생성하는데 필요한 구조 단백질 및 효소를 코딩하는 RNA 분자의 발현을 지시한다. 예시되는 레트로바이러스는 하기를 포함하지만 이에 한정되지 않는다: 몰로니 뮤린 백혈병 바이러스 (Moloney murine leukemia virus: M-MuLV), 몰로니 뮤린 육종 바이러스 (Moloney murine sarcoma virus: MoMSV), 하비 뮤린 육종 바이러스 (Harvey murine sarcoma virus: HaMuSV), 뮤린 유선 종양 바이러스 (murine mammary tumor virus: MuMTV), 긴팔원숭이 백혈병 바이러스 (gibbon ape leukemia virus: GaLV), 고양이 백혈병 바이러스 (feline leukemia virus: FLV), 스푸마바이러스 (spumavirus), 프렌드 뮤린 백혈병 바이러스 (Friend murine leukemia virus), 뮤린 줄기 세포 바이러스 (Murine Stem Cell Virus: MSCV) 및 라우스 육종 바이러스 (Rous Sarcoma Virus: RSV) 및 렌티바이러스 (lentivirus).

[0614] 본원에서 사용된, 용어 "렌티바이러스 (lentivirus)"는 복합 레트로바이러스 (complex retroviruses)의 그룹 (또는 속)을 지칭한다. 예시되는 렌티바이러스는 하기를 포함하지만 이에 한정되지 않는다: HIV (인간 면역결핍 바이러스; HIV 타입 1 및 HIV 타입 2 포함); 비스나-메디 바이러스 (visna-maedi virus: VMV) 바이러스; 염소 관절염-뇌염 바이러스 (caprine arthritis-encephalitis virus: CAEV); 말 감염성 빈혈 바이러스 (equine infectious anemia virus: EIAV); 고양이 면역결핍 바이러스 (feline immunodeficiency virus: FIV); 소 면역결핍 바이러스 (bovine immune deficiency virus: BIV); 및 유인원 면역결핍 바이러스 (simian immunodeficiency virus: SIV). 일 구체예에서, HIV 기반 벡터 백본 (즉, HIV 시스-작용 서열 요소)이 바람직하다.

[0615] 용어 "벡터 (vector)"는 다른 핵산 분자를 전달하거나 또는 운반할 수 있는 핵산 분자를 지칭하기 위해 본원에서 사용된다. 전달된 핵산은 일반적으로 벡터 핵산 분자에 연결, 즉 삽입된다. 벡터는 세포에서 자율 복제를 지시하는 서열을 포함할 수 있거나, 또는 숙주 세포 DNA로의 통합을 허용하기에 충분한 서열을 포함할 수 있다. 유용한 벡터는 예를 들어 플라스미드 (예: DNA 플라스미드 또는 RNA 플라스미드), 트란스포손 (transposons), 코스미드 (cosmids), 박테리아 인공 염색체 및 바이러스 벡터를 포함한다. 유용한 바이러스 벡터는 예를 들어 복제 결함 레트로바이러스 및 렌티바이러스를 포함한다.

[0616] 본 발명 내에서, 바이러스 벡터는 표적 세포를 형질도입하는데 사용된다. 용어 "형질도입 (transduction)"은 바이러스 벡터를 표적 세포와 물리적으로 접촉시킨 후에 바이러스 핵산을 표적 세포 내로 도입하고, 레트로바이러스의 경우 이의 DNA로의 역전사를 유도하여 표적 세포의 게놈 내로의 통합을 유도하는 것을 목표로 하고 허용하는 조건의 발생과 관련이 있다.

[0617] 용어 "렌티바이러스 벡터 (lentiviral vector)"는 렌티바이러스 감염성 입자를 지칭하는데 사용될 수 있으며, 이는 바이러스 외피 당단백질로 장식된 생물학적 막 또는 바이러스 외피 단백질 쉘이 없이 막 융합 잠재력을 가진 생물학적 막으로 구성되고, 렌티바이러스 단백질에 의해 형성된 렌티바이러스 캡시드 구조를 봉입하며, 여기서 캡시드 구조는 역전사 및 표적 세포의 게놈으로의 안정적인 통합에 필요한 렌티바이러스 단백질 및 렌티바이러스 RNA를 봉입한다.

[0618] 렌티바이러스 벡터는 치료 폴리펩티드를 코딩하는 핵산 분자를 분열 및/또는 비-분열 세포로 전달할 수 있다. 렌티바이러스 벡터는 인 비트로 형질도입 뿐만 아니라 인 비보 주입에 사용될 수 있는 반면에, AAV 감염성 입자는 인 비보 주입에 의해 비-분열 세포 내로 DNA의 전달에 사용될 수 있다.

[0619] 바람직하게는, 본 발명에 따른 바이러스 벡터는 자기-불활성화 렌티바이러스 벡터 (self-inactivating lentiviral vector)이다. "자기-불활성화" (SIN) 벡터는 복제-결함 벡터, 예를 들어 바이러스 또는 렌티바이러스 벡터이며, 여기서 U3 영역으로 알려진 우측 (3') LTR 인핸서-프로모터 영역이 (예: 결실 및/또는 치환에 의해) 변형되어 바이러스 복제의 제1 라운드 이후 바이러스 전사를 방지한다. 결과적으로, 벡터는 숙주 게놈을

감염시킨 다음 한번만 통합할 수 있으며, 추가로 계대될 수 없다. 이는 바이러스 복제 중에 우측 (3') LTR U3 영역이 좌측 (5') LTR U3 영역에 대한 주형으로서 사용되기 때문이며, 따라서 바이러스 전사체는 U3 인핸서-프로모터 없이는 생성될 수 없다. 바이러스 전사체가 생성되지 않으면, 이는 처리되거나 또는 비리온으로 패키지될 수 없으므로, 바이러스의 수명 주기가 종료된다.

[0620] 소정의 구체예에서, 바이러스 벡터는 포말상 바이러스 벡터일 수 있다. 본원에서 사용된, 용어 "포말상 바이러스 벡터 (foamy viral vector)"는 포말상 바이러스 유래 부분을 사용하는 바이러스 벡터를 지칭한다. 바이러스 벡터를 개발하는 방법은 당업자에게 알려져 있다 (예를 들어, Mergia, A, and M Heinkelein, 2003, Current topics in microbiology and immunology vol. 277: 131-59).

[0621] 소정의 구체예에서, 바이러스 벡터는 아데노바이러스 벡터, 아데노-관련 바이러스 벡터, 헤르페스 바이러스 벡터, 파르보바이러스 벡터, 코로나바이러스 벡터 및 알파-레트로바이러스 벡터로 구성된 그룹으로부터 선택된다.

[0622] 본원에서 사용된, 용어 "아데노바이러스 벡터 (Adenoviral vector)"는 주로 아데노바이러스로부터 유래되는, 구조적 및 기능적 유전자 요소, 또는 이의 일부를 함유하는 바이러스 벡터 또는 플라스미드를 지칭한다.

[0623] 본원에서 사용된, 용어 "아데노바이러스 (Adenovirus)"는 아데노비리데 (Adenoviridae) 과의 구성원을 지칭한다. 아데노비리데는 전형적으로 이중 가닥 DNA 게놈을 함유하는 20면체 뉴클레오캡시드 (icosahedral nucleocapsid)를 가진, 중간-크기 (90-100 nm), 비-외피 (외부 지질 이중층이 없는) 바이러스이다. 아데노바이러스 벡터를 수득하는 방법은 당업자에게 알려져 있다 (예를 들어, Kamen, A., and Henry, O., 2004, The Journal of Gene Medicine: A cross-disciplinary journal for research on the science of gene transfer and its clinical applications, 6(S1), S184-S192; Volpers, C. and Kochanek, S., 2004, The Journal of Gene Medicine: A cross-disciplinary journal for research on the science of gene transfer and its clinical applications, 6(S1), S164-S171 참조).

[0624] 본원에서 사용된, 용어 "헤르페스 바이러스 벡터 (herpes viral vector)"는 주로 헤르페스 바이러스로부터 유래되는, 구조적 및 기능적 유전자 요소, 또는 이의 일부를 함유하는 바이러스 벡터 또는 플라스미드를 지칭한다. 본원에서 사용된, 용어 "헤르페스 바이러스 (herpes virus)"는 심플렉스바이러스 (Simplexvirus) 속 유래의 임의의 바이러스를 지칭한다. 헤르페스 바이러스 벡터를 수득하는 방법은 당업자에게 알려져 있다 (예를 들어, Logvinoff, Carine, and Alberto L. Epstein, 2001, Human gene therapy 12.2: 161-167 참조).

[0625] 본원에서 사용된, 용어 "알파-레트로바이러스 벡터 (alpha-retroviral vector)"는 주로 알파-레트로바이러스로부터 유래되는, 구조적 및 기능적 유전자 요소, 또는 이의 일부를 함유하는 바이러스 벡터 또는 플라스미드를 지칭한다. 본원에서 사용된, 용어 "알파-레트로바이러스 (alpha-retrovirus)"는 알파레트로바이러스 (Alpharetrovirus) 속 유래의 임의의 바이러스를 지칭한다. 알파-레트로바이러스 벡터를 수득하는 방법은 당업자에게 알려져 있다 (예를 들어, Garoff, Henrik, and Kejun Li, 1998, Gene Therapy. 61-69 참조).

[0626] 소정의 구체예에서, 바이러스 벡터는 아데노-관련 바이러스 (adeno-associated viral: AAV) 벡터일 수 있다. 현재 사용 중인 재조합 AAV (recombinant AAV: rAAV)에는 2가지 부류가 있다: 단일-가닥 AAV (single-stranded AAV: ssAAV) 및 자기-상보성 AAV (self-complementary AAV: scAAV). ssAAV는 센스 (플러스-가닥) 또는 안티센스 (마이너스-가닥) 게놈으로 패키징된다.

[0627] 즉, 소정의 구체예에서, 바이러스 벡터는 DNA-기반 바이러스 벡터이다. 이러한 구체예에서, 바이러스 DNA는 바이러스 DNA의 역전사 없이 표적 세포의 게놈 내로 직접 통합될 수 있다.

[0628] 특정 일 구체예에서, 본 발명은 하기를 포함하는 융합 프로모터에 관한 것이다:

[0629] a) miR223 프로모터 또는 서열번호: 1에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 및

[0630] b) 미세아교세포-특이적 프로모터, 또는 이의 기능적 단편;

[0631] 상기 miR223 프로모터 또는 서열번호: 1에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편은 미세아교세포-특이적 프로모터, 또는 이의 기능적 단편에 작동 가능하게 연결된다.

[0632] 프로모터 miR223은 세포 분화 시에 메틸화에 대한 이의 저항성으로 인해 HSC 또는 각질형성세포를 표적으로 하는 세포 및 유전자 요법 적용에서 사용할 수 있는 큰 잠재력을 보여준다. 소정의 구체예에서, 프로모터

miR223, 또는 이의 기능적 단편 또는 변이체는 제2 프로모터, 바람직하게는 미세아교세포-특이적 프로모터에 융합될 수 있다.

[0633] 따라서, 특정 일 구체예에서, 본 발명은 본 발명에 따른 융합 프로모터에 관한 것으로서, 여기서 미세아교세포-특이적 프로모터는 하기이다:

[0634] a) TMEM119 프로모터 또는 서열번호: 3, 서열번호: 23 또는 서열번호: 24에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편;

[0635] b) P2RY12 프로모터 또는 서열번호: 2, 서열번호: 21 또는 서열번호: 22에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편;

[0636] c) OLFML3 프로모터 또는 서열번호: 4 또는 서열번호: 25에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편,

[0637] d) ITGAM 프로모터 또는 서열번호: 6에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 또는

[0638] e) AIF1 프로모터 또는 서열번호: 5에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편.

[0639] 소정의 구체예에서, 융합 프로모터는 miR223 프로모터 및 P2RY12 프로모터를 포함한다. 즉, 소정의 구체예에서, 본 발명은 하기를 포함하는 융합 프로모터에 관한 것이다:

[0640] a) miR223 프로모터 또는 서열번호: 1에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 및

[0641] b) P2RY12 프로모터 또는 서열번호: 2, 서열번호: 21 또는 서열번호: 22에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편.

[0642] 특정 일 구체예에서, 본 발명에 따른 miR223-P2RY12 융합 프로모터는 서열번호: 26 또는 서열번호: 27에 제시된 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 특정 일 구체예에서, 본 발명에 따른 miR223-P2RY12 융합 프로모터는 서열번호: 26 또는 서열번호: 27에 제시된 뉴클레오티드 서열과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다.

[0643] 소정의 구체예에서, 융합 프로모터는 miR223 프로모터 및 TMEM119 프로모터를 포함한다. 즉, 소정의 구체예에서, 본 발명은 하기를 포함하는 융합 프로모터에 관한 것이다:

[0644] a) miR223 프로모터 또는 서열번호: 1에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 및

[0645] b) TMEM119 프로모터 또는 서열번호: 3, 서열번호: 23 또는 서열번호: 24에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편.

[0646] 특정 일 구체예에서, 본 발명에 따른 miR223-TMEM119 융합 프로모터는 서열번호: 28에 제시된 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 특정 일 구체예에서, 본 발명에 따른 miR223-TMEM119 융합 프로모터는 서열번호: 28에 제시된 뉴클레오티드 서열과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다.

[0647] 소정의 구체예에서, 융합 프로모터는 miR223 프로모터 및 OLFML3 프로모터를 포함한다. 즉, 소정의 구체예에서, 본 발명은 하기를 포함하는 융합 프로모터에 관한 것이다:

[0648] a) miR223 프로모터 또는 서열번호: 1에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 및

[0649] b) OLFML3 프로모터 또는 서열번호: 8 또는 서열번호: 9에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편.

[0650] 특정 일 구체예에서, 본 발명에 따른 miR223-OLFML3 융합 프로모터는 서열번호: 29에 제시된 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 특정 일 구체예에서, 본 발명에 따른 miR223-OLFML3 융합 프로모터는 서열번호: 29에 제시된 뉴클레오티드 서열과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%의 서열 동일성을

갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다.

[0651] 소정의 구체예에서, 융합 프로모터는 miR223 프로모터 및 AIF1 프로모터를 포함한다. 즉, 소정의 구체예에서, 본 발명은 하기를 포함하는 융합 프로모터에 관한 것이다:

[0652] a) miR223 프로모터 또는 서열번호: 1에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 및

[0653] b) AIF1 프로모터 또는 서열번호: 5에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편.

[0654] 소정의 구체예에서, 융합 프로모터는 miR223 프로모터 및 ITGAM 프로모터를 포함한다. 즉, 소정의 구체예에서, 본 발명은 하기를 포함하는 융합 프로모터에 관한 것이다:

[0655] a) miR223 프로모터 또는 서열번호: 1에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편; 및

[0656] b) ITGAM 프로모터 또는 서열번호: 6에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 프로모터, 또는 이의 기능적 단편.

[0657] 특정 일 구체예에서, 본 발명은 본 발명에 따른 융합 프로모터에 관한 것으로서, 상기 융합 프로모터는 적어도 하나의 전사 조절 요소를 포함하며, 상기 적어도 하나의 전사 조절 요소는 상기 프로모터의 전사 활성을 억제하거나 또는 활성화하도록 배열된다.

[0658] 특정 일 구체예에서, 본 발명은 본 발명에 따른 융합 프로모터에 관한 것으로서, 여기서 적어도 하나의 전사 조절 요소는 전사 활성인자 또는 억제인자에 대한 결합 부위를 포함하고, 구체적으로 상기 전사 활성인자 또는 억제인자는 하기를 포함한다:

[0659] i) 항생제-결합 도메인, 구체적으로 테트라사이클린/독시사이클린-결합 도메인, 마크롤라이드-결합 도메인 또는 프리스티나마이신-결합 도메인;

[0660] ii) 호르몬-결합 도메인, 구체적으로 RU486-결합 도메인 또는 아브시스산-결합 도메인;

[0661] iii) 스테로이드-결합 도메인, 구체적으로 에크디손-결합 도메인;

[0662] iv) 이량체화제 시스템, 구체적으로 라파마이신-기반 또는 라팔로그-기반 이량체화제 시스템.

[0663] 특정 일 구체예에서, 본 발명은 본 발명에 따른 융합 프로모터에 관한 것으로서, 여기서 바이러스 벡터는 리보스위치를 코딩하며, 상기 리보스위치는 치료 단백질 또는 치료 단백질의 조합을 코딩하는 mRNA의 번역을 제어한다.

[0664] 즉, 본 발명의 융합 프로모터는 이식유전자의 발현을 보다 정확한 방식으로 제어할 수 있도록 하는 조절 요소를 포함할 수 있다. 바람직하게는, 조절 요소는 본원에 개시된 임의의 조절 요소이다.

[0665] 특정 일 구체예에서, 본 발명은 본 발명에 따른 융합 프로모터에 관한 것으로서, 상기 융합 프로모터는:

[0666] a) 서열번호: 26-29에 제시된 서열 중 어느 하나를 포함하거나; 또는

[0667] b) 서열번호: 26-29에 제시된 서열 중 어느 하나와 90%, 91%, 92%, 93%, 94% 또는 95%의 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하고, 여기서 프로모터는 미세아교세포 및/또는 골수 세포에서 발현을 유도한다.

[0668] 특정 일 구체예에서, 본 발명은 본 발명에 따른 융합 프로모터에 관한 것으로서, 상기 융합 프로모터는:

[0669] a) 서열번호: 28에 제시된 서열을 포함하거나; 또는

[0670] b) 서열번호: 28에 제시된 서열과 90%, 91%, 92%, 93% 또는 95%의 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하고, 여기서 프로모터는 미세아교세포 및/또는 골수 세포에서 발현을 유도한다.

[0671] 특정 일 구체예에서, 본 발명은 본 발명에 따른 바이러스 벡터를 포함하는 숙주 세포에 관한 것이다.

[0672] 즉, 본 발명은 또한 본 발명에 따른 바이러스 벡터를 포함하는 숙주 세포에 관한 것이다. 소정의 구체예에서, 숙주 세포는 본 발명에 따른 바이러스 벡터를 생성하는데 사용되는 세포일 수 있다. 예를 들어, 숙주 세포는 HEK293T 세포일 수 있다. 소정의 구체예에서, 숙주 세포는 바이러스 생성 능력과 무관하게 바이러스 핵산을 포

함하는 감염성 바이러스 입자 또는 이의 자손 세포 (예: 대식세포)로 감염된 세포 (예: HSC)일 수 있다.

[0673] 숙주 세포가 바이러스 벡터의 생성을 위한 유전자 요소를 코딩하는 플라스미드로 형질감염되고 상기 플라스미드가 "안정적으로 생성된 세포"로 숙주 세포의 게놈내로 통합된 경우, 숙주 세포는 또한 본 발명에 따른 바이러스 벡터를 포함한다고 한다. 따라서, 바이러스 벡터는 숙주 세포에 포함되기 위해 반드시 원형 형태로 존재할 필요는 없다.

[0674] 특정 일 구체예에서, 본 발명은 본 발명에 따른 숙주 세포에 관한 것으로서, 여기서 숙주 세포는 조혈 줄기 세포, 바람직하게는 CD34-포지티브 농축 세포 집단의 조혈 줄기 세포이거나, 또는 숙주 세포는 골수 세포이다. 즉, 소정의 구체예에서, 숙주 세포는 형질도입된 조혈 줄기 세포, 바람직하게는 CD34-포지티브 농축 세포 집단의 조혈 줄기 세포, 또는 형질도입된 골수 세포일 수 있다. 구체적으로, 본원에 개시된 임의의 질병 및/또는 장애의 치료 및/또는 예방에 사용되는 숙주 세포는 바람직하게는 형질도입된 조혈 줄기 세포, 바람직하게는 CD34-포지티브 농축 세포 집단의 조혈 줄기 세포, 또는 형질도입된 골수 세포이다.

[0675] 소정의 구체예에서, 숙주 세포는 조혈 줄기 세포일 수 있다. 즉, 소정의 구체예에서, 본 발명은 본원에 개시된 임의의 바이러스 벡터로 형질도입된 조혈 줄기 세포에 관한 것이다.

[0676] 용어 "조혈 줄기 세포 (haematopoietic stem cell)" 또는 "HSC" 또는 "HSPC"와 동일한 용어 "조혈 줄기 세포 (Haematopoietic stem cells)"는 이에 한정되는 것은 아니지만 골수 흡인, 줄기 세포 동원 시의 성분채집술로 수득되거나, 또는 (제대) 탯줄 혈액으로부터 수득된 임의의 세포 집단, 및/또는 CD34-포지티브 또는 CD133-포지티브 세포가 이에 한정되는 것은 아니지만 CD34-포지티브 및/또는 CD133-포지티브 세포 라벨링 및 농축과 같은 임의의 방법, 또는 당해 기술 분야에 알려진 임의의 방법에 의해 계열-포지티브 세포 (lineage-positive cells)의 고갈에 의해 농축된 임의의 세포 집단에 관한 것이다.

[0677] 본원에서 사용된, "CD34-포지티브 농축된 (CD34-positive enriched)"은 CD34-포지티브 세포가 농축 단계 이전의 세포 집단에서 발견되는 것보다 더 많은 수 및/또는 더 높은 퍼센트로 집단에 포함하는 것을 나타낸다. CD34-포지티브 세포 농축을 위한 다양한 방법이 당업자에게 알려져 있다 (예를 들어, Baldwin, K. et. al., 2015, Stem cells, 33(5), 1532-1542; Wojciechowski, Joel C et al., 2008, British journal of haematology vol. 140,6 673-81; Gori, J. L. et. al., 2012, Blood, The Journal of the American Society of Hematology, 120(13), e35-e44; Kilic, P. et al., 2019, Cells Tissues Organs, 207(1), 15-20 참조).

[0678] 바람직한 일 구체예에서, 숙주 세포는 CD34-포지티브 골수 세포가 농축된 집단의 세포이다. 보다 바람직한 일 구체예에서, 숙주 세포는 CD34-포지티브 골수 세포가 농축된 집단에서 조혈 줄기 및 전구 세포이다. 가장 바람직한 일 구체예에서, 숙주 세포는 CD34-포지티브 골수 세포가 농축된 집단의 조혈 줄기 세포이다.

[0679] 다른 구체예에서, 숙주 세포는 골수 세포일 수 있다. 즉, 소정의 구체예에서, 본 발명은 본원에 개시된 임의의 바이러스 벡터로 형질도입된 과립구 (호중구, 호산구 및 호염기구), 단핵구, 대식세포, 쿠퍼 세포 (Kupffer cell) 또는 비만 세포에 관한 것이다. 소정의 구체예에서, 숙주 세포는 대식세포이다. 소정의 구체예에서, 숙주 세포는 단핵구이다. 추가의 구체예에서, 숙주 세포는 미세아교세포이다.

[0680] 당업자는 상기 개시된 세포 타입을 농축 및/또는 확인하고, 이를 바이러스 벡터로 형질도입하는 방법을 알고 있다.

[0681] 특정 일 구체예에서, 본 발명은 본 발명에 따른 바이러스 벡터 및/또는 본 발명에 따른 숙주 세포를 포함하는 약학 조성물에 관한 것이다.

[0682] 즉, 소정의 구체예에서, 본 발명은 본원에 개시된 바이러스 벡터 중 어느 하나의 바이러스 벡터 및/또는 본원에 개시된 숙주 세포 중 어느 하나의 숙주 세포를 포함하는 약학 조성물에 관한 것이다.

[0683] 소정의 구체예에서, 약학 조성물은 본 발명에 따른 바이러스 벡터를 포함한다. 이러한 구체예에서, 약학 조성물은 바람직하게는 표적 세포, 예컨대 조혈 줄기 세포를 엑스 비보 형질도입하는데 사용된다. 대안으로서, 약학 조성물에 포함된 바이러스 벡터가 표적 세포에 인 비보 형질도입하기 위해 이를 필요로 하는 대상체에게 약학 조성물이 직접 투여될 수 있다. 당업자는 표적 세포의 특정 집단을 인 비보 표적화하기에 적합한 바이러스 벡터를 알고 있다. 당업자는 약학 조성물로 바이러스 벡터를 제제화하는 방법을 추가로 알고 있다.

[0684] 다른 구체예에서, 약학 조성물은 본 발명에 따른 바이러스 벡터를 포함하는 숙주 세포를 포함한다. 이러한 숙주 세포는 본 발명에 따른 벡터 중 어느 하나로 숙주 세포를 형질도입함으로써 수득될 수 있다. 형질도입된 숙주 세포를 포함하는 약학 조성물은 이를 필요로 하는 대상체에게 투여될 수 있다. 당업자는 약학 조성물로 형

질도입된 숙주 세포를 제제화하는 방법을 알고 있다.

[0685] 본원에서 사용된, 용어 "약학 조성물 (pharmaceutical composition)"은 그 자체로 약학적으로 허용 가능한 개별 성분의 조합으로부터 생성된 조성물을 의미한다. 예를 들어, 정맥내 또는 경막내 투여가 예상되는 경우, 성분은 정맥내 또는 경막내 투여에 (질 (quality) 및 양 (quantity) 모두에서) 적합하거나 또는 허용 가능하다. 당업자는 바이러스 벡터 및 숙주 세포를 각각 제제화하는데 적합한 약학적으로 허용 가능한 성분을 알고 있다.

[0686] 소정의 구체예에서, 본 발명은 본 발명에 따른 바이러스 벡터 및/또는 본 발명에 따른 숙주 세포 및 적어도 하나의 추가 치료제를 포함하는 약학 조성물에 관한 것이다.

[0687] 본원에서 사용된, 용어 "치료제 (therapeutic agent)"는 대상체에게 치료적으로 유효한 양으로 투여 시에 대상체에게 치료적 유익을 제공하는 물질의 화합물 또는 조성물을 지칭한다. 치료제는 질병 또는 의학적 병태를 치료, 제어 또는 예방하기 위해 사용되는 임의의 타입의 약물, 의약, 의약품, 호르몬, 항생제, 단백질, 유전자, 성장 인자 및/또는 생체활성 물질일 수 있다.

[0688] 일부 구체예에서, 본 발명의 약학 조성물 (및 임의의 추가 치료제)은 우수한 의료 행위와 일치하는 방식으로 제제화되고, 투약되고, 투여된다. 이러한 맥락에서 고려할 요소에는 치료 중인 특정 장애, 치료 중인 특정 대상체, 대상체의 임상 병태, 장애의 원인, 제제의 전달 부위, 투여 방법, 투여 일정, 및 의사에게 알려진 다른 요인을 포함한다.

[0689] 본 발명에 따른 바이러스 벡터 및/또는 본 발명에 따른 숙주 세포는 해당 장애를 예방 또는 치료하기 위해 현재 사용되는 하나 이상의 추가 치료제와 약학 조성물로 제제화될 필요는 없지만, 그러나 선택적으로 약학 조성물로 제제화될 수 있다.

[0690] 본 발명의 벡터는 대상체에게 비경구로, 바람직하게는 혈관내 (정맥내 포함) 및 경막내로 투여될 수 있다. 비경구로 투여되는 경우, 멸균 수성 용액 또는 분산액과 같은 주사에 적합한 약학적 비히클 (pharmaceutical vehicle)에 벡터가 제공되는 것이 바람직하다. 투여 후에, 대상체는 유전자 발현의 변화를 검출하기 위해 모니터링된다. 치료 투여량 및 기간은 치료할 병태 또는 질병에 따라 개별적으로 결정된다. 본 발명의 벡터내 관심 유전자의 투여에 의해 생성된 유전자 발현에 기반하여 매우 다양한 병태 또는 질병이 치료될 수 있다. 본 발명의 방법을 사용하여 전달되는 벡터의 투여량은 사용된 숙주 및 벡터에 의한 원하는 반응에 따라 달라질 것이다.

[0691] 본 발명 내에서, 본 발명에 따른 바이러스 벡터, 숙주 세포 또는 약학 조성물은 대상체의 혈류 또는 뇌척수액 (또는 뇌 조직) 내로 투여되는 것으로 구상된다. 본원에서 사용된, 숙주 세포를 "대상체의 혈류 내로" "도입"하는 것은 이러한 세포를 주사를 통해 대상체의 정맥 또는 동맥 중 하나로 도입하는 것을 포함하지만 이에 한정되지 않는다. 이러한 투여는 또한, 예를 들어, 1회, 복수 회, 및/또는 1회 이상의 연장된 기간에 걸쳐 수행될 수 있다. 1회 주사가 바람직하지만, 경우에 따라 경시적으로 (예: 분기별, 반기별 또는 연간)의 반복 주사가 필요할 수 있다. 이러한 투여는 또한 바람직하게는 숙주 세포 및 약학적으로 허용 가능한 담체의 혼합물을 사용하여 수행된다. 약학적으로 허용 가능한 담체는 당업자에게 잘 알려져 있으며, 0.01-0.1 M, 바람직하게는 0.05 M의 포스페이트 버퍼 또는 0.8% 식염수를 포함하지만 이에 한정되지 않는다. 또한, 이러한 약학적으로 허용 가능한 담체는 수성 또는 비-수성 용액, 현탁액 및 에멀젼일 수 있다. 비-수성 용매의 예로는 프로필렌 글리콜, 폴리에틸렌 글리콜, 식물성 오일 예컨대 올리브 오일, 및 주사 가능한 유기 에스테르 예컨대 에틸 올레에이트가 있다. 수성 담체에는 물, 알코올/수성 용액, 에멀젼 및 현탁액을 포함하며, 식염수 및 완충된 매질을 포함한다. 비경구 비히클에는 염화나트륨 용액, 링커 덱스트로스 (Ringer's dextrose), 덱스트로스 및 염화나트륨, 락테이트 링거 (lactated Ringer's) 및 고정 오일 (fixed oils)을 포함한다. 정맥내 비히클은 유체 및 영양 보충제, 전해질 보충제 예컨대 링거 덱스트로스, 링거 덱스트로스를 기반으로 하는 것 등을 포함한다. i.v. 투여에 통상적으로 사용되는 유체는 예를 들어, Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 20th Ed., p. 808, Lippincott Williams & Wilkins (2000)에서 찾을 수 있다. 보존제 및 다른 첨가제, 가령 예를 들어 항미생물제, 항산화제, 킬레이트화제, 불활성 기체 등이 또한 존재할 수 있다.

[0692] 본원에서 본 발명에 따른 바이러스 벡터, 숙주 세포 또는 약학 조성물은 대상체의 혈류 내로 투여되는 것이 바람직하다. 그러나, 본 발명에 따른 바이러스 벡터, 숙주 세포 또는 약학 조성물은 또한 표적 조직에 직접 투여될 수 있다. 즉, 소정의 구체예에서, 본 발명에 따른 바이러스 벡터, 숙주 세포 또는 약학 조성물은 뇌에 직접 주사될 수 있다. 대안으로서, 본 발명에 따른 바이러스 벡터, 숙주 세포 또는 약학 조성물은 직접 CNS 주사, CSF 내로 주사, 경막내 주사 및/또는 혈관내 투여에 의해 투여될 수 있다.

[0693] 대안으로서, 본 발명에 따른 바이러스 벡터, 숙주 세포 또는 약학 조성물은 종양 내로 직접 투여될 수 있다.

[0694] 특정 일 구체예에서, 본 발명은 의약에 사용하기 위한 본 발명에 따른 바이러스 벡터, 본 발명에 따른 숙주 세포 또는 본 발명에 따른 약학 조성물에 관한 것이다.

[0695] 즉, 본 발명에 따른 바이러스 벡터, 숙주 세포, 또는 약학 조성물은 이를 필요로 하는 대상체의 치료에 사용될 수 있다. 본원에서 사용된, 용어 "치료 (treatment)"는 방지적 (예를 들어, 예방적), 치유적 또는 완화적 치료를 포함하고, 본원에서 사용된, "치료하는 (treating)"은 또한 방지적, 치유적 및 완화적 치료를 포함한다. 본원에서 사용된, 용어 "대상체 (subject)"는 동물, 바람직하게는 포유동물, 보다 바람직하게는 인간에 관한 것이다.

[0696] 특정 일 구체예에서, 본 발명은 뇌에서 기원 (origin) 또는 소견 (manifestation)을 갖거나, 또는 뇌-기반 (brain-based)인 질병 또는 장애의 치료에 사용하기 위한, 본 발명에 따른 바이러스 벡터, 본 발명에 따른 숙주 세포, 또는 본 발명에 따른 약학 조성물에 관한 것이다.

[0697] 치료적 치료를 위해 뇌 세포를 표적으로 하는 것은 혈액-뇌-관문 (blood-brain-barrier)의 선택적 투과성으로 인해 어렵다. 본 발명 내에서, 본 발명자들은 세포 및 유전자 요법에 의해 뇌의 질병 또는 장애를 표적으로 한다. 이를 위해, 조혈 줄기 세포 또는 조혈 줄기 세포를 포함하는 세포 집단이 본원에 개시된 바이러스 벡터 중 어느 하나로 형질전환되어 뇌의 질병 또는 장애를 앓고 있는 대상체에게 투여될 수 있다. 조혈 줄기 세포는 혈류로 순환할 수 있고, 특히 부설판 (busulfan) 투여에 의한 치료 관련 방사선 또는 화학요법 시에 혈액-뇌-관문이 일시적으로 누출되는 동안 혈액 뇌 관문을 통과할 수 있다. 일단 뇌 내부로 들어가면, 조혈 줄기 세포는 미세아교세포의 특성을 나타내는 대식세포로 분화할 수 있고, 뇌에서 미세아교세포를 대체할 수 있다 (Speicher et al., Generating microglia from human pluripotent stem cells: novel in vitro models for the study of neurodegeneration; Molecular Neurodegeneration; 14, Article number 46 (2016)). 본 발명의 바이러스 벡터는 대식세포 및 미세아교세포 모두에서 활성인 것으로 입증되었기 때문에 뇌를 표적으로 하는데 특히 적합하다.

[0698] 본 발명에 따른 바이러스 벡터를 포함하는 조혈 줄기 세포를 이를 필요로 하는 대상체의 혈류 내로 투여하는 것이 바람직하지만, 본 발명에 따른 바이러스 벡터, 숙주 세포 또는 약학 조성물은 또한 뇌로 (두개내) 직접 투여될 수 있다.

[0699] 특정 일 구체예에서, 본 발명은 PGRN-관련 질병 또는 장애의 예방 및/또는 치료에 사용하기 위한 본 발명에 따른 바이러스 벡터, 본 발명에 따른 숙주 세포 또는 본 발명에 따른 약학 조성물에 관한 것으로서, 구체적으로 바이러스 벡터는 PGRN 또는 이의 기능적 단편을 코딩한다.

[0700] 프로그래눌린 (progranulin)의 비정상적 발현으로 인해 다양한 질병 및 장애가 발생하는 것으로 보고되었다. 구체적으로, 다양한 신경퇴행성 질병 또는 장애의 원인으로서 *PGRN* 유전자의 돌연변이가 보고되었다. 따라서, 본 발명에 따른 바이러스 벡터는 PGRN-관련 질병 또는 장애를 앓고 있는 대상체의 뇌에서 프로그래눌린 수준을 회복시키는데 사용될 수 있다. 이를 위해, 바이러스 벡터 내에 코딩된 이식유전자는 PGRN 유전자 또는 PGRN 기능 및 서열번호: 7, 서열번호: 8 또는 서열번호: 9에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드를 코딩하는 폴리뉴클레오티드인 것이 바람직하다.

[0701] 특정 일 구체예에서, 본 발명은 본 발명에 따라 사용하기 위한 바이러스 벡터, 숙주 세포 또는 약학 조성물에 관한 것으로서, 여기서 PGRN-관련 질병 또는 장애는 신경퇴행성 질병 또는 장애이다.

[0702] 즉, PGRN-관련 질병은 신경퇴행성 질병 또는 장애일 수 있다. 본 발명 내에서, 신경퇴행성 질병 또는 장애는 바람직하게는 비정상적인 PGRN 발현과 관련된 신경퇴행성 질병 또는 장애이다.

[0703] 특정 일 구체예에서, 본 발명은 본 발명에 따라 사용하기 위한 바이러스 벡터, 숙주 세포 또는 약학 조성물에 관한 것으로서, 여기서 신경퇴행성 질병 또는 장애는 전두측두엽 퇴행성 질병 또는 장애이다. 특정 일 구체예에서, 본 발명은 본 발명에 따라 사용하기 위한 바이러스 벡터, 숙주 세포 또는 약학 조성물에 관한 것으로서, 여기서 퇴행성 질병 또는 장애는 알츠하이머병, 근위축 측삭 경화증, 신경 세로이드 리포푸스신증 (neuronal ceroid lipofuscinosis) 및 파킨슨병으로 구성된 그룹으로부터 선택된다.

[0704] 특정 일 구체예에서, 본 발명은 본 발명에 따라 사용하기 위한 바이러스 벡터, 숙주 세포 또는 약학 조성물에 관한 것으로서, 여기서 전두측두엽 퇴행성 질병 또는 장애는 전두측두엽 치매이다. 바람직하게는, 전두측두엽 퇴행성 질병 또는 장애는 PGRN 유전자의 돌연변이에 의해 유발되는 전두측두엽 치매이다.

[0705] 특정 일 구체예에서, 본 발명은 암, 림프종 및/또는 육종의 치료에 사용하기 위한 본 발명에 따른 바이러스 벡터, 본 발명에 따른 숙주 세포 또는 본 발명에 따른 약학 조성물에 관한 것으로서, 구체적으로 바이러스 벡터는 IL-12, IFN-감마, G-CSF, GM-CSF, IL-2, IL-15, IL-21 및/또는 IFN-알파 중 적어도 하나; 또는 이의 기능적 단편을 코딩한다.

[0706] 즉, 본 발명의 바이러스 벡터는 암 치료에 사용될 수 있다. 본 발명의 프로모터는 상이한 골수 세포 및 미세아교세포에서 활성인 것으로 본원에서 입증되었다. 따라서, 본 발명에 따른 바이러스 벡터 또는 본 발명에 따른 바이러스 벡터를 포함하는 숙주 세포는 뇌 뿐만 아니라 신체의 다른 부분에서의 암의 치료에 사용될 수 있다.

[0707] 예를 들어, 본 발명에 따른 바이러스 벡터를 포함하는 조혈 줄기 세포는 암을 앓고 있는 대상체에게 투여될 수 있다. 조혈 줄기 세포는 골수 세포로 분화하고, 종양 부위로 이동하여 종양에 대한 면역 반응을 유도할 수 있다. 골수 세포는 종양에 대한 면역 반응을 증가시키기 위해 본원에 개시된 사이토카인 중 하나를 코딩하는 이식유전자를 포함할 수 있다. 대안으로서 또는 추가로, 이식유전자는 골수 세포를 종양으로 유도하여 종양에 대해 보다 현저한 면역 반응을 유도하는 항원-결합 단백질을 코딩할 수 있다.

[0708] 특정 일 구체예에서, 본 발명은 본 발명에 따라 사용하기 위한 바이러스 벡터, 숙주 세포 또는 약학 조성물에 관한 것으로서, 여기서 암, 림프종 및/또는 육종은 뇌 종양 또는 뇌 전이이다.

[0709] 즉, 본 발명에 따른 바이러스 벡터 또는 숙주 세포는 뇌 종양을 치료하는데 사용될 수 있다. 뇌종양은 원발성 또는 속발성 뇌종양일 수 있다. 전술한 바와 같이, 본 발명에 따른 바이러스 벡터를 포함하는 조혈 줄기 세포는 뇌로 이동하여 미세아교세포의 특성을 나타내는 대식세포로 분화될 수 있고, 뇌에서 미세아교세포를 대체할 수 있다. 뇌 내부에서, 이러한 미세아교세포 및 미세아교세포-유사 세포는 사이토카인 예컨대 IL-12, IFN-감마, G-CSF, GM-CSF, IL-2, IL-15, IL-21, IFN-알파 또는 이의 조합 또는 융합 변이체를 분비하여 종양에 대한 뇌의 면역 반응을 유발할 수 있다.

[0710] 특정 일 구체예에서, 본 발명은 본 발명에 따라 사용하기 위한 바이러스 벡터, 숙주 세포 또는 약학 조성물에 관한 것으로서, 여기서 뇌 종양은 교모세포종, 신경아교종, 신경절신경모세포종, 성상세포종, 희소돌기아교세포종, PNET (원시 신경외배엽 종양), 수모세포종, CNS 림프종, 수막종, 망막모세포종 및 신경모세포종으로 구성된 그룹으로부터 선택된다.

[0711] 특정 일 구체예에서, 본 발명은 본 발명에 따라 사용하기 위한 바이러스 벡터, 숙주 세포 또는 약학 조성물에 관한 것으로서, 여기서 뇌 종양은 임의의 형태의 유방암, 폐암, 결장암, 고환암, 신장 암종, 흑색종, 난소암종, 전립선 암종, 신경내분비 종양 또는 임의의 다른 고형 종양 또는 임의의 육종, 또는 모든 형태의 백혈병 및 림프종을 포함하는 임의의 혈액 종양으로부터 기원하는 전이 종양이다.

[0712] 본원에서 사용된, 용어 "암 (cancer)"은 조절되지 않는 세포 증식 및/또는 성장을 특징으로 하는 질병을 지칭한다. 상기 용어는 종양과 같은 양성 및 악성 암성 질병을 포함하며, 침습적 또는 비-침습적 암을 지칭할 수 있다. 이 용어는 암종, 육종, 림프종, 백혈병, 생식 세포 종양 및 모세포종을 포함한 모든 타입의 암을 포함한다.

[0713] 특정 일 구체예에서, 본 발명은 본 발명에 따라 사용하기 위한 바이러스 벡터, 숙주 세포 또는 약학 조성물에 관한 것으로서, 여기서 바이러스 벡터, 숙주 세포 또는 약학 조성물은 혈액-뇌-관문의 완전성 (integrity)을 감소시키는 요법과 함께 투여되며, 구체적으로 혈액-뇌-관문의 완전성을 감소시키는 요법은 골수 컨디셔닝 요법 (bone marrow conditioning therapy), CNS 컨디셔닝 요법 (CNS conditioning therapy), 및/또는 혈액-뇌-관문 컨디셔닝 요법 (blood-brain-barrier conditioning therapy)이다.

[0714] 상기 개시된 바와 같이, 본 발명은 뇌에서 기원 또는 소견을 갖거나 또는 뇌-기반인 질병 또는 장애의 예방 및/또는 치료에 사용될 수 있다. 이를 위해, 본 발명의 바이러스 벡터를 포함하는 조혈 줄기 세포가 이를 필요로 하는 대상체에게 투여되는 것으로 구상된다. 일단 대상체에게 투여되면, 조혈 줄기 세포는 뇌로 이동하고, 미세아교세포-유사 대식세포 또는 미세아교세포로 분화할 수 있다.

[0715] 대안으로서, 본 발명에 따른 AAV-기반 바이러스 벡터, 또는 본 발명에 따른 AAV-기반 바이러스 벡터를 포함하는 약학 조성물은 이를 필요로 하는 세포의 인 비보 감염을 위해 뇌 구획 (brain compartments)으로 직접 적용될 수 있다.

[0716] 뇌에서 미세아교세포를 본 발명의 형질도입된 세포로 보다 효율적으로 대체하기 위해, 형질도입된 세포의 투여 전에 내인성 미세아교세포가 고갈되는 것이 바람직하다. 혈액-뇌-관문의 완전성을 감소시키는 다양한 치료 요

법은 미세아교세포의 고갈을 초래하는 것으로 보고되었다. 예를 들어, Capotondo 등은 조혈 줄기 세포 이식 후에 성공적인 미세아교세포 재구성을 위해 뇌 컨디셔닝이 중요하다는 것을 입증하였다 (Proc Natl Acad Sci U S A. 2012 Sep 11; 109(37): 15018-15023).

[0717] 특정 일 구체예에서, 본 발명은 본 발명에 따라 사용하기 위한 바이러스 벡터, 숙주 세포 또는 약학 조성물에 관한 것으로서, 여기서 골수 컨디셔닝 요법은 세포독성제, 알킬화제, 부설판, 트레오설판, 에토포시드, 로무스틴, 방사선 요법, 표적 방사선 요법 (예: 이트륨 (Yttrium)-90 표지된 항-CD45 항체 또는 이트륨-90 표지된 항-CD66 항체), ACK2 (항-c-kit 항체), CD117 항체-약물-접합체, CD45-SAP, 콜로니-자극 인자 1 (CSF1) 특이적 물질, PLX3397, BLZ9445, PLX5622, RG7155, PLX647, Ki20227, GW2580, IL-34 및/또는 데사티닙 (desatinib)의 사용을 포함한다.

[0718] 특정 일 구체예에서, 본 발명은 본 발명에 따라 사용하기 위한 바이러스 벡터, 숙주 세포 또는 약학 조성물에 관한 것으로서, 여기서 CNS 컨디셔닝 요법은 부설판 (Busulphan)의 사용을 포함한다.

[0719] 특정 일 구체예에서, 본 발명은 본 발명에 따라 사용하기 위한 바이러스 벡터, 숙주 세포 또는 약학 조성물에 관한 것으로서, 여기서 혈액-뇌-관문 컨디셔닝 요법은 방사선요법 또는 표적화된 방사선요법을 포함한다.

[0720] 특정 일 구체예에서, 본 발명은 본 발명에 따라 사용하기 위한 바이러스 벡터, 숙주 세포 또는 약학 조성물에 관한 것으로서, 여기서 바이러스 벡터, 숙주 세포 또는 약학 조성물은 혈액-뇌-관문의 완전성을 감소시키는 요법 후에 투여되며, 구체적으로 상기 바이러스 벡터, 숙주 세포 또는 약학 조성물은 혈액-뇌-관문의 완전성을 감소시키는 요법 후에 반나절 이내에 투여된다.

[0721] 즉, 본 발명에 따른 바이러스 벡터, 숙주 세포 또는 약학 조성물은 혈액-뇌-관문의 완전성을 감소시키는 요법 후 0.5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 또는 15일 후에 이를 필요로 하는 대상체에게 투여될 수 있다.

[0722] 본 발명의 바이러스 벡터는 골수 세포 및 미세아교세포에서 이의 프로모터의 활성으로 인해 뇌-기반 질병 또는 장애의 치료에 특히 적합하지만, CNS 또는 신체의 다른 부분에서의 종양을 표적으로 하는데에도 상기 바이러스 벡터가 사용될 수 있음을 이해하는 것이 중요하다. 원칙적으로, 본 발명의 바이러스 벡터는 대식세포 또는 단핵구와 같은 골수 세포에 접근 가능한 임의의 장기 또는 조직내 암을 치료하는데 사용될 수 있다.

[0723] 특정 일 구체예에서, 본 발명은 자가면역 질환의 치료에 사용하기 위한 본 발명에 따른 바이러스 벡터, 본 발명에 따른 숙주 세포 또는 본 발명에 따른 약학 조성물에 관한 것이다.

[0724] 즉, 본 발명에 따른 바이러스 벡터, 숙주 세포 또는 약학 조성물은 또한 자가면역 질환의 치료에 사용될 수 있다.

[0725] 본원에서 사용된, 용어 "자가면역 질환 (autoimmune disease)"은 자가면역 반응으로 인한 장애로서 정의된다. 자가면역 질환은 자기-항원 (self-antigen)에 대한 부적절하고 과도한 반응의 결과이다. 자가면역 질환의 예로는 애디슨병, 원형 탈모증, 강직성 척추염, 보통 천포창 (pemphigus vulgaris) 이외의 자가면역 수포성 질환, 자가면역 간염, 자가면역 이하선염, 크론병, 당뇨병 (I형), 이영양성 수포성 표피박리증 (dystrophic epidermolysis bullosa), 부고환염, 사구체신염, 그레이브스병 (Graves' disease), 길랭-바레 증후군 (Guillain-Barr syndrome), 하시모토병 (Hashimoto's disease), 용혈성 빈혈, 전신 홍반성 루푸스, 다발성 경화증, 중증 근무력증, 보통 천포창, 건선, 류마티스열, 류마티스 관절염, 사코이드증 (sarcoidosis), 공피증 (scleroderma), 쇼그렌 증후군 (Sjogren's syndrome), 척추관절병증 (spondyloarthropathies), 갑상선염, 모든 타입의 혈관염, 백반증 (vitiligo), 점액부종 (myxedema), 악성빈혈 (pernicious anemia), 궤양성 대장염 등을 포함하지만 이에 한정되지 않는다.

[0726] 자가면역 질환의 치료에 사용될 수 있는 이식유전자는 IL-1, IL-1R 길항제, IL-2, IL-4, IL-10, TGFbeta, FOXP3, T-bet, GATA-3, CD36 패밀리 (CD36-L1, CD36-L2) 결합 CD1b, CD1c, CD1D, 및 MHC-관련 단백질 번호 1 (MR1)의 T 세포 수용체 인식을 포함한다.

[0727] 특정 일 구체예에서, 본 발명은 자가염증성 질환의 치료에 사용하기 위한 본 발명에 따른 바이러스 벡터, 본 발명에 따른 숙주 세포 또는 본 발명에 따른 약학 조성물에 관한 것이다.

[0728] 본원에서 사용된, 용어 "자가염증성 질환 (autoinflammatory disease)"은 임의의 자가염증성 질환을 포함하는 것으로 이해되어야 한다. 본 발명의 바이러스 벡터, 숙주 세포 또는 약학 조성물로 치료할 수 있는 자가염증성 질환의 비-제한적인 예는 저보체혈증 (hypocomplementemic) 및 정상보체혈증 (normocomplementemic) 두드러기

혈관염 (urticarial vasculitis), 심낭염 (pericarditis), 근염 (myositis), 항-신테타제 증후군 (anti-synthetase syndrome), 공막염 (scleritis), 대식세포 활성화 증후군 (macrophage activation syndrome), 베체트 증후군 (Becet's Syndrome), PAPA 증후군, 블라우 증후군 (Blau's Syndrome), 통풍, 성인 및 청소년 스틸병 (adult and juvenile Still's disease), 한랭피린병증 (cryropyrinopathy), 머클-웰스 증후군 (Muckle-Wells syndrome), 가족성 감기-유발 자가-염증 증후군 (familial cold-induced auto-inflammatory syndrome), 신생아 발병 다기관 염증성 질환 (neonatal onset multisystemic inflammatory disease), 가족성 지중해열 (familial Mediterranean fever), 만성 영아 신경, 피부 및 관절 증후군 (chronic infantile neurologic, cutaneous and articular syndrome), 전신 소아 특발성 관절염 (systemic juvenile idiopathic arthritis), 고 IgD 증후군 (Hyper IgD syndrome), 슈니츨러 증후군 (Schnitzler's syndrome) 및 TNF 수용체-관련 주기적 증후군 (TNF receptor-associated periodic syndrome: TRAPS)이 있다.

[0729] 자가염증성 질환의 치료에 사용될 수 있는 이식유전자는 IL-1 수용체-길항제, IL-1베타를 포함한다.

[0730] 특정 일 구체예에서, 본 발명은 알레르기성 질환의 치료에 사용하기 위한 본 발명에 따른 바이러스 벡터, 본 발명에 따른 숙주 세포 또는 본 발명에 따른 약학 조성물에 관한 것이다.

[0731] 본원에서 사용된, 용어 "알레르기성 질환 (allergic disease)"은 알레르기로 인한 임의의 증상, 조직 손상 또는 조직 기능 상실을 의미하며, 아토피성 피부염, 두드러기, 접촉 피부염, 알레르기성 결막염, 알레르기성 비염, 알레르기성 천식, 아나필락시스, 음식 알레르기 및 건초열 (hay fever)과 같은 질병을 제한 없이 포함한다.

[0732] 알레르기성 질환의 치료에 사용될 수 있는 이식유전자는 Fab의 가변 및 초가변 영역을 포함하는, Fc, Fab를 포함하는 임의의 IgE의 임의의 부분에 대한 항체 및 다른 수용체-결합 단백질을 포함하는 단백질; 또는 비만 세포, 호산구, B 세포 및 T 세포를 포함하는, 알레르기 반응을 매개하는 것으로 암시된 세포의 임의의 수용체를 코딩하는 유전자를 포함한다. 또한, 가용성의 잠재적으로 중화하는 결합 단백질 및 펩티드 또는 항체는 알레르기성 질환에 관련된, IL-1, IL-4, IL-33, 및 모든 형태의 인터루킨 및 케모카인을 포함하는 임의의 다른 사이토카인에 대한 유전자에 의해 유도되어야 한다.

[0733] 특정 일 구체예에서, 본 발명은 조혈 및 고형 장기 이식에 사용하기 위한 본 발명에 따른 바이러스 벡터, 본 발명에 따른 숙주 세포 또는 본 발명에 따른 약학 조성물에 관한 것이다.

[0734] 즉, 본 발명에 따른 바이러스 벡터, 숙주 세포 또는 약학 조성물은 조혈 또는 고형 장기 이식 전에 이를 필요로 하는 대상체에게 투여될 수 있다. 조혈 및 고형 장기 이식에 사용될 수 있는 이식유전자는 IL-1, IL-1R 길항제, IL-2, IL-4, IL-10, TGFbeta, FOXP3, T-bet, GATA-3, CD36 패밀리 (CD36-L1, CD36-L2) 결합 CD1b, CD1c, CD1D, 및 MHC-관련 단백질 번호 1 (MR1)의 T 세포 수용체 인식을 포함한다.

[0735] 특정 일 구체예에서, 본 발명은 치료를 필요로 하는 대상체의 뇌에서 기원 또는 소견을 갖거나, 또는 뇌-기반인 질병 또는 장애를 치료하는 방법에 관한 것으로서, 상기 방법은 하기 단계를 포함한다:

[0736] a) 조혈 줄기 세포 및/또는 농축된 CD34-포지티브 골수 세포의 집단을 본 발명에 따른 바이러스 벡터와 접촉시키는 단계를 포함하는, 조혈 줄기 세포 및/또는 농축된 CD34-포지티브 골수 세포의 집단을 유전자 변형시키는 단계; 또는 골수 세포 및/또는 농축된 골수 세포의 집단을 본 발명에 따른 바이러스 벡터와 접촉시키는 단계를 포함하는, 골수 세포 및/또는 농축된 골수 세포의 집단을 유전자 변형시키는 단계;

[0737] b) 상기 단계 (a)의 유전자 변형된 세포를 이를 필요로 하는 대상체에게 정맥내로 투여하는 단계; 및

[0738] c) 치료를 필요로 하는 대상체의 뇌에서 기원 또는 소견을 갖거나, 또는 뇌-기반인 질병 또는 장애를 치료하는 단계.

[0739] 즉, 본 발명은 추가로 뇌의 질병 또는 장애를 치료하는 방법에 관한 것이다. 상기 언급된 바와 같이, 본 발명에 따른 바이러스 벡터를 포함하는 숙주 세포가 뇌-기반 질병 또는 장애를 앓고 있는 대상체의 뇌로 이동하여 미세아교세포를 대체할 수 있다.

[0740] 이를 위해, 세포, 예컨대 조혈 줄기 세포 또는 골수 세포는 본 발명에 따른 바이러스 벡터로 엑스 비보 형질도입될 수 있다. 그 다음에 형질도입된 세포의 집단이 이를 필요로 하는 대상체에게 투여될 수 있다. 소정의 구체예에서, 형질도입된 조혈 줄기 세포는 이를 필요로 하는 대상체에게 투여된다. 이는 줄기 세포가 다른 세포 타입보다 혈액-뇌-관문을 통과할 가능성이 더 높기 때문에 유리할 수 있다. 그러나, 숙주 세포는 또한 골수 세포, 예컨대 단핵구 및/또는 대식세포일 수 있다. 그러나, 단핵구 및/또는 대식세포는 바람직하게는 혈액-뇌-관

문이 손상된 대상체에서 사용된다.

[0741] 특정 일 구체예에서, 본 발명은 본 발명에 따른 방법에 관한 것으로서, 여기서 조혈 줄기 세포 및/또는 농축된 CD34-포지티브 골수 세포의 집단, 또는 골수 세포 및/또는 농축된 골수 세포의 집단이 이를 필요로 하는 대상체로부터 수득되거나 또는 외래 공여자로부터 수득되었다.

[0742] 즉, 소정의 구체예에서, 본 발명의 방법은 자가 세포 (autologous cells)의 사용을 포함한다. 당업자는 대상체의 혈액으로부터 특정 세포 타입을 농축하는 방법을 알고 있다. 결과적으로, 특정 타입의 혈액 세포는 이를 필요로 하는 대상체의 혈액으로부터 농축되고, 본 발명에 따른 바이러스 벡터로 형질도입되고, 이를 필요로 하는 대상체에게 재투여될 수 있다. 자가 세포는 면역원성 반응의 위험을 줄이는 이점을 갖는다.

[0743] 다른 구체예에서, 필요로 하는 대상체에게 투여되는 세포는 외래 공여자로부터 기원할 수 있다. 당업자는 적합한 공여자를 확인하거나 또는 면역원성 반응의 위험이 감소되도록 이를 필요로 하는 대상체 및/또는 세포를 조작하는 방법을 알고 있다.

[0744] 특정 일 구체예에서, 본 발명은 치료를 필요로 하는 대상체의 뇌에서 기원 또는 소견을 갖거나, 또는 뇌-기반인 질병 또는 장애를 치료하는 방법에 관한 것으로서, 상기 방법은 하기 단계를 포함한다:

[0745] a) 치료를 필요로 하는 대상체에서 조혈 줄기 세포를 동원하는 (mobilizing) 단계;

[0746] b) 상기 단계 (a)의 조혈 줄기 세포의 동원에 후속하여 본 발명에 따른 바이러스 벡터를 치료를 필요로 하는 대상체에게 정맥내로 투여하는 단계; 및

[0747] c) 치료를 필요로 하는 대상체의 뇌에서 기원 또는 소견을 갖거나, 또는 뇌-기반인 질병 또는 장애를 치료하는 단계.

[0748] 즉, 본 발명의 바이러스 벡터 또는 본 발명에 따른 바이러스 벡터를 포함하는 약학 조성물은 또한 이를 필요로 하는 대상체에게 직접 투여될 수 있다. 바람직하게는, 동원된 조혈 줄기 세포가 본 발명에 따른 바이러스 벡터로 인 비보 감염될 수 있도록 상기 대상체에서 조혈 줄기 세포의 동원을 유도하는 물질 (agent)로 대상체를 사전-치료한다. 골수 유래의 조혈 줄기 세포의 동원을 자극하기 위해 통상적으로 사용되는 물질은 G-CSF 및 플레릭사포르 (Plerixafor)이다. 그러나, 골수 유래의 조혈 줄기 세포의 동원을 자극하는 다른 물질이 당해 기술분야에 알려져 있으며, 청구된 방법의 일부로서 사용될 수 있다.

[0749] 소정의 구체예에서, 인 비보 형질도입된 조혈 줄기 세포는 뇌로 이동할 수 있고, 여기서 이들은 미세아교세포 또는 미세아교세포-유사 세포로 분화한다. 이러한 구체예에서, 상기 방법은 뇌-기반 질병 및 장애의 예방 및/또는 치료에 사용될 수 있다. 미세아교세포-유사 세포는 뇌-기반 질병 또는 장애의 예방 및/또는 치료에 필요한 하나 이상의 이식유전자를 발현할 수 있다. 예를 들어, 미세아교세포-유사 세포는 본원에 개시된 PGRN-관련 질병 또는 장애 중 하나의 예방 및/또는 치료에 사용되는 경우 PGRN을 발현할 수 있다. 대안으로서, 미세아교세포-유사 세포는 뇌 종양의 치료에 사용되는 경우 본원에 개시된 사이토카인 중 하나를 발현할 수 있다.

[0750] 특정 일 구체예에서, 본 발명은 본 발명에 따른 방법에 관한 것으로서, 여기서 치료를 필요로 하는 대상체에서 조혈 줄기 세포의 동원은 G-CSF 및/또는 플레릭사포르의 투여를 포함한다. 플레릭사포르 (INN and USAN, 상표명 Mozobil)는 암 환자의 조혈 줄기 세포를 혈류로 이동시키는데 사용되는 면역자극제 (immunostimulant)이다.

[0751] 특정 일 구체예에서, 본 발명은 본 발명에 따른 방법에 관한 것으로서, 여기서 뇌에서 기원 또는 소견을 갖거나, 또는 뇌-기반인 질병 또는 장애는 PGRN-관련 질병 또는 장애이고, 구체적으로 PGRN-관련 질병 또는 장애는 신경퇴행성 질병 또는 장애이며, 구체적으로 신경퇴행성 질병 또는 장애는 전두측두엽 퇴행성 질병 또는 신경퇴행성 장애이고, 구체적으로 상기 전두측두엽 퇴행성 질병 또는 신경퇴행성 장애는 알츠하이머병, 근위축 측삭 경화증, 신경 세로이드 리포푸스신증 및 파킨슨병으로 구성된 그룹으로부터 선택되며, 구체적으로 바이러스 벡터는 PGRN, 또는 이의 기능적 단편을 코딩한다.

[0752] 즉, 프로그래눌린 또는 PGRN 기능 및 서열번호: 7, 서열번호: 8 또는 서열번호: 9에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드를 코딩하는 바이러스 벡터는 본원에 개시된 임의의 PGRN-관련 신경퇴행성 질환의 치료에 사용될 수 있다.

[0753] 특정 일 구체예에서, 본 발명은 본 발명에 따른 방법에 관한 것으로서, 여기서 뇌에서 기원 또는 소견을 갖거나, 또는 뇌-기반인 질병 또는 장애는 뇌 종양이고, 구체적으로 뇌 종양은 신경아교종, 교모세포종, 신경절신경모세포종, 성상세포종, 희소돌기아교세포종, PNET (원시 신경외배엽 종양), 수모세포종, CNS 림프종 및 신

경모세포종으로 구성된 그룹으로부터 선택되며; 또는 뇌 종양은 임의의 형태의 유방암, 폐암, 결장암, 고환암, 신장 암종, 흑색종, 전립선암, 또는 임의의 다른 고형 종양 또는 임의의 육종, 또는 모든 형태의 백혈병 및 림프종을 포함하는 임의의 혈액 종양으로부터 기원하는 전이 종양이고, 구체적으로 바이러스 벡터는 IL-12, IFN-감마, GM-CSF, G-CSF, I1-2, IL-15, IL-21 및/또는 IFN-알파, 또는 이의 기능적 단편을 코딩한다.

[0754] 특정 일 구체예에서, 본 발명은 본 발명에 따른 방법에 관한 것으로서, 여기서 상기 방법은 혈액-뇌-관문의 완전성을 일시적으로 감소시키는 추가적 단계를 포함하며, 구체적으로 혈액-뇌-관문의 완전성을 감소시키는 단계는 골수 컨디셔닝 요법, CNS 컨디셔닝 요법, 및/또는 혈액-뇌-관문 컨디셔닝 요법을 포함한다.

[0755] 특정 일 구체예에서, 본 발명은 본 발명에 따른 방법에 관한 것으로서, 여기서 혈액-뇌-관문의 완전성을 감소시키는 요법은 유전자 변형된 세포를 이를 필요로 하는 대상체에게 투여하기 전에 수행되며, 구체적으로 혈액-뇌-관문의 완전성을 감소시키는 요법 및 유전자 변형된 세포의 투여 사이의 시간 간격은 혈액-뇌-관문의 완전성을 감소시키는 요법 후에 수행된다.

[0756] 혈액-뇌-관문의 완전성을 감소시키는 요법은 본원에 개시된 요법 중 어느 하나일 수 있다. 소정의 구체예에서, 혈액 뇌 관문의 완전성을 감소시키는 요법은 본 발명에 따른 바이러스 벡터, 숙주 세포 또는 약학 조성물의 투여 전 0.5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 또는 15일 전에 투여될 수 있다.

[0757] 상기 언급된 바와 같이, 본 발명에 따른 바이러스 벡터, 숙주 세포 또는 약학 조성물이 또한 신체의 다른 부분의 암을 치료하는데 사용될 수 있다. 즉, 특정 일 구체예에서, 본 발명은 치료를 필요로 하는 대상체에서 암을 치료하는 방법에 관한 것으로서, 상기 방법은 하기 단계를 포함한다:

[0758] a) 치료를 필요로 하는 대상체에서 조혈 줄기 세포를 동원하는 단계;

[0759] b) 상기 단계 (a)의 조혈 줄기 세포의 동원에 후속하여 본 발명에 따른 바이러스 벡터를 치료를 필요로 하는 대상체에게 정맥내로 투여하는 단계; 및

[0760] c) 치료를 필요로 하는 대상체의 암을 치료하는 단계.

[0761] 암 치료의 경우, 바이러스 벡터는 IL-12, IFN-감마, GM-CSF, G-CSF, I1-2, IL-15, IL-21 및/또는 IFN-알파 중 적어도 하나, 또는 이의 기능적 단편을 코딩하는 것이 바람직하다.

[0762] 특정 일 구체예에서, 본 발명은 대상체의 뇌 및/또는 CNS에서 이식유전자를 발현시키는 방법에 관한 것으로서, 상기 방법은 하기 단계를 포함한다:

[0763] a) 조혈 줄기 세포 및/또는 농축된 CD34-포지티브 골수 세포의 집단을 본 발명에 따른 바이러스 벡터와 접촉시키는 단계를 포함하는, 조혈 줄기 세포 및/또는 농축된 CD34-포지티브 골수 세포의 집단을 유전자 변형시키는 단계; 또는 골수 세포 및/또는 농축된 골수 세포의 집단을 본 발명에 따른 바이러스 벡터와 접촉시키는 단계를 포함하는, 골수 세포 및/또는 농축된 골수 세포의 집단을 유전자 변형시키는 단계;

[0764] b) 상기 단계 (a)의 유전자 변형된 세포를 이를 필요로 하는 대상체에게 정맥내 또는 경막내로 투여하는 단계; 및

[0765] c) 대상체의 뇌 및/또는 CNS에서 바이러스 벡터에 의해 코딩된 이식유전자를 발현시키는 단계.

[0766] 즉, 상기 방법은 이를 필요로 하는 대상체의 뇌 또는 중추 신경계에서 이식유전자를 발현시키는데 사용될 수 있다. 이를 위해, 세포의 집단은 본 발명에 따른 바이러스 벡터로 엑스 비보 형질도입될 수 있다. 소정의 구체예에서, 세포의 집단은 조혈 줄기 세포의 집단 또는 농축된 CD34-포지티브 골수 세포의 집단일 수 있다. 바람직하게는, 농축된 CD34-포지티브 골수 세포의 집단은 조혈 줄기 세포 및/또는 조혈 전구 세포를 포함한다. 소정의 구체예에서, 세포의 집단은 농축된 골수 세포의 집단일 수 있다. 골수 세포는 본원에 개시된 임의의 골수 세포일 수 있다. 소정의 구체예에서, 골수 세포는 대식세포일 수 있다.

[0767] 용어 "세포의 집단 (population of cells)"은 복수의 세포를 나타내기 위해 사용된다. 예를 들어, 조혈 줄기 세포의 집단은 복수의 줄기 세포를 지칭한다. 조혈 줄기 세포의 집단은 조혈 줄기 세포로만 한정적으로 구성될 수 있다. 그러나, 본원에서 사용된 "조혈 줄기 세포의 집단 (population of hematopoietic stem cells)"은 바람직하게는 조혈 줄기 세포를 포함하는 세포의 집단인 것으로 이해된다. 즉, "조혈 줄기 세포의 집단 (population of hematopoietic stem cells)"은 다른 세포 타입, 구체적으로 CD34-포지티브 세포 타입을 포함할 수 있다. 당업자는 세포의 혼합물, 예를 들어 혈액 또는 골수 유래의 조혈 줄기 세포를 농축시키는 방법을 알고 있다. 예를 들어, 조혈 줄기 세포는 세포 표면 마커 CD34의 발현에 기반하여 농축될 수 있으며, 농축된 CD-

34-포지티브 골수 세포의 집단을 생성할 수 있다. 농축된 CD-34-포지티브 골수 세포의 집단은 집단내 모든 세포의 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90% 또는 적어도 95%가 세포 표면 마커 CD34를 발현하는 세포의 집단일 수 있다.

[0768] 농축된 골수 세포의 집단은 집단내 모든 세포의 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90% 또는 적어도 95%가 골수 세포인 세포의 집단이다. 당업자는 유세포 분석에 의해 골수 세포의 특정 타입 또는 특정 타입들을 농축시키는데 사용될 수 있는 세포 표면 마커의 조합을 알고 있다.

[0769] 세포의 집단은 본원에 개시된 임의의 바이러스 벡터로 형질도입될 수 있다. 형질도입 단계는 엑스 비보로 수행될 수 있다. 당업자는 바이러스 벡터로 세포를 형질도입하는 방법을 알고 있다.

[0770] 특정 일 구체예에서, 본 발명은 본 발명에 따른 방법에 관한 것으로서, 여기서 조혈 줄기 세포 및/또는 농축된 CD34-포지티브 골수 세포의 집단; 또는 골수 세포 및/또는 농축된 골수 세포의 집단은 대상체 또는 외래 공여자로부터 수득되었다.

[0771] 즉, 세포의 집단은 상기 기재된 바와 같은 자가 (autologous) 또는 동종이계 (allogeneic) 세포를 포함할 수 있다.

[0772] 특정 일 구체예에서, 본 발명은 대상체의 뇌 및/또는 CNS에서 이식유전자를 발현시키는 방법에 관한 것으로서, 상기 방법은 하기 단계를 포함한다:

[0773] a) 대상체에서 조혈 줄기 세포를 동원하는 단계;

[0774] b) 상기 단계 (a)의 조혈 줄기 세포의 동원에 후속하여 본 발명에 따른 바이러스 벡터를 이를 필요로 하는 대상체에게 정맥내로 투여하는 단계; 및

[0775] c) 대상체의 뇌 및/또는 CNS에서 바이러스 벡터내에 코딩된 이식유전자를 발현시키는 단계.

[0776] 즉, 소정의 구체예에서, 이식유전자는 이를 필요로 하는 대상체에게 인 비보 전달될 수 있다.

[0777] 즉, 본 발명에 따른 바이러스 벡터는 바람직하게는 대상체가 줄기 세포 동원 요법을 받은 후에, 대상체에게 직접 투여될 수 있다. 따라서, 특정 일 구체예에서, 본 발명은 본 발명에 따른 방법에 관한 것으로서, 여기서 대상체에서 조혈 줄기 세포의 동원은 G-CSF 및 플레릭사포르의 투여를 포함한다.

[0778] 특정 일 구체예에서, 본 발명은 본 발명에 따른 방법에 관한 것으로서, 여기서 방법은 혈액-뇌-관문의 완전성을 일시적으로 감소시키는 추가 단계를 포함하며, 구체적으로 혈액-뇌-관문의 완전성을 감소시키는 단계는 골수 컨디셔닝 요법, CNS 컨디셔닝 요법, 및/또는 혈액-뇌-관문 컨디셔닝 요법을 포함한다.

[0779] 즉, 형질도입된 조혈 줄기 세포의 뇌로의 이동은 바이러스 벡터가 투여되기 전에 이를 필요로 하는 대상체에서 미세아교세포가 고갈된 경우 더 효과적일 수 있다. 대상체에서 미세아교세포를 고갈시키기 위한 방법 및 화합물은 당해 기술 분야에 알려져 있고, 본원에 개시되어 있다.

[0780] 특정 일 구체예에서, 본 발명은 본 발명에 따른 방법에 관한 것으로서, 여기서 혈액-뇌-관문의 완전성을 감소시키는 요법은 유전자 변형된 세포를 이를 필요로 하는 대상체에게 투여하기 전에 수행되며, 구체적으로 혈액-뇌-관문의 완전성을 감소시키는 요법 및 유전자 변형된 세포의 투여 사이의 시간 간격은 혈액-뇌-관문의 완전성을 감소시키는 요법 후에 수행된다.

[0781] 즉, 혈액-뇌-관문의 완전성을 감소시키는 요법은 본 발명에 따른 바이러스 벡터 또는 본 발명에 따른 바이러스 벡터를 포함하는 약학 조성물을 투여하기 전 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 또는 15일 전에 투여될 수 있다.

[0782] 특정 일 구체예에서, 본 발명은 치료를 필요로 하는 대상체의 뇌에서 기원 또는 소견을 갖거나, 또는 뇌-기반인 질병 또는 장애를 치료하는 방법에 관한 것으로서, 상기 방법은 하기 단계를 포함한다:

[0783] a) 본 발명에 따른 바이러스 벡터를 치료를 필요로 하는 대상체의 뇌로 또는 경막내로 투여하는 단계; 및

[0784] b) 치료를 필요로 하는 대상체의 뇌에서 기원 또는 소견을 갖거나, 또는 뇌-기반인 질병 또는 장애를 치료하는 단계.

[0785] 즉, 본 발명에 따른 바이러스 벡터 또는 본 발명에 따른 바이러스 벡터를 포함하는 약학 조성물은 뇌 또는 척주관 (spinal canal) (경막내)으로 직접 투여될 수 있다. 이러한 구체예에서, 바이러스 벡터는 AAV-기반 바이러

스 벡터인 것이 바람직하다. 따라서, 특정 일 구체예에서, 본 발명은 본 발명에 따른 바이러스 벡터에 관한 것으로서, 여기서 바이러스 벡터는 AAV-기반 바이러스 벡터이다.

[0786] 상기 방법은 본원에 개시된 임의의 뇌-기반 질병 또는 장애, 구체적으로 신경퇴행성 질병 및 장애 및 암의 치료 또는 예방에 사용될 수 있음을 이해해야 한다. 본원에서 사용된, 용어 "경막내 (intrathecally)"는 뇌 및 척수를 덮는 조직의 얇은 층 사이의 유체로 충전된 공간 내로 또는 그 안에 투여되는 것을 의미한다.

[0787] 본 발명은 인간 치료에 사용하기 위한, 구체적으로 뇌에서 기원하거나, 또는 뇌-기반인 질병 또는 장애, 구체적으로 전두측두엽 퇴행성 질병 또는 장애 예컨대 알츠하이머병, 근위축 측삭 경화증 및 파킨슨병을 포함하는 PGRN-관련 신경퇴행성 질병 또는 장애의 치료에 사용하기 위한 신규한 레트로바이러스 벡터 (retroviral vectors)를 제공한다. 본 발명은 또한 뇌 종양, 구체적으로 교모세포종, 신경아교종, 신경절신경모세포종, 성상세포종, 희소돌기아교세포종, PNET (원시 신경외배엽 종양), 수모세포종, CNS 림프종 및 신경모세포종으로 구성된 그룹으로부터 선택되는 뇌 종양, 또는 임의의 다른 CNS 종양의 치료, 및 추가로 임의의 형태의 유방, 폐, 결장, 고환, 신장 암종 및 흑색종, 또는 임의의 다른 고형 종양, 및 모든 형태의 백혈병 및 림프종을 포함하는 임의의 혈액 종양으로부터 기원하는 뇌 전이의 치료에 사용하기 위한 레트로바이러스 벡터를 제공한다.

[0788] 구체적으로, 본 발명은 조직 특이적 프로모터의 제어하에 치료 이식유전자, 구체적으로 PGRN cDNA를 코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 레트로바이러스 유전자 요법 벡터, 구체적으로 렌티바이러스 유전자 요법 벡터를 제공하며, 상기 벡터는 조혈 줄기 세포 (HSC)의 형질도입에 사용될 수 있다. 본 발명에 따른 특이적 벡터 구조는 HSC-유래 단핵구/대식세포, 수지상 세포, 및 뇌의 미세아교세포-유사 및 미세아교 세포에서 치료 이식유전자의 독점적인 발현을 초래하고, 대체 구조체에서 볼 수 있는 바와 같이 뉴런 및 아교 세포에 영향을 미치는 신경퇴행 및 해마 독성 (hippocampal toxicity)을 피하기 위해 유전자 발현을 중간 수준으로 유도한다.

[0789] 본 발명에 따른 벡터는 포식세포-특이적 발현을 위한 골수/미세아교세포-특이적 프로모터, 바람직하게는 이에 한정되는 것은 아니지만 이식유전자의 발현, 구체적으로 PGRN cDNA의 발현을 유도하기 위해, miR223 유전자 프로모터, 또는 miR223 프로모터를 포함하는 융합 프로모터 구조체의 안전-특성 (safety-feature)을 포함한다.

[0790] 따라서, 특정 일 구체예에서, 본 발명은 렌티바이러스 자기-불활성화 (SIN) 유전자 요법 벡터에 의해, 골수-/미세아교세포-특이적 프로모터, 바람직하게는 이에 한정되는 것은 아니지만 miR223 프로모터를 포함하는 PGRN-코딩 발현 카세트의 HSC로의 도입에 관한 것이다.

[0791] 다른 특정 구체예에서, 본 발명은 TMEM119 프로모터, P2RY12 프로모터, OLFML3 프로모터, AIF1 프로모터 및 ITGAM 프로모터로 구성된 그룹으로부터 선택된 골수-/미세아교세포-특이적 프로모터를 포함하는, PGRN-코딩 발현 카세트의 도입에 관한 것이다.

[0792] 또 다른 특정 구체예에서, 본 발명은 골수-/미세아교세포-특이적 프로모터, 바람직하게는 이에 한정되는 것은 아니지만 miR223 융합 프로모터, 구체적으로 miR223 프로모터 또는 이의 기능적 부분이 TMEM119 프로모터, P2RY12 프로모터, OLFML3 프로모터, AIF1 프로모터 및 ITGAM 프로모터로 구성된 그룹으로부터 선택된 프로모터 전부 또는 이의 기능적 부분과 융합되는 융합 프로모터를 포함하는 PGRN-코딩 발현 카세트의 도입에 관한 것이다.

[0793] 일 양상에서, 본 발명은 HSC-유래 단핵구/대식세포, 수지상 세포 뿐만 아니라, 대식세포가 뇌로 이동 시에 미세아교세포-유사 세포 또는 미세아교세포에서 PGRN 발현을 유도하기 위한, TMEM119 프로모터 구조체, P2RY12 프로모터 구조체, OLFML3 프로모터 구조체, 또는 TMEM119에 융합된 miR223, P2RY12에 융합된 miR223, 또는 OLFML3 프로모터에 융합된 miR223으로 구성된 융합 구조체의 용도에 관한 것이다.

[0794] HSC의 형질도입 이후에 엑스 비보 처리된 HSC를 환자에게 투여한다. 특정 일 구체예에서, 엑스 비보 처리된 HSC는 정맥내로 투여된다.

[0795] HSC 이식의 경우, 환자의 골수는 적절한 컨디셔닝 화합물 또는 처리, 구체적으로 부설판, 트레오설판, 방사선 요법 또는 내인성 뇌 미세아교세포를 고갈시킬 수 있는 생물학적 제제, 바람직하게는 부설판으로 컨디셔닝될 것이다. 이는 HSC-유래 유전자이식 단핵구/대식세포 또는 수지상 세포를 뇌로 진입시키고, 뇌에서 HSC-유래 단핵구/대식세포, 미세아교세포-유사 대식세포, 수지상 세포 및/또는 미세아교세포의 키메라화 (chimerism)가 상당한 수준에 도달하고, 이에 의해 충분한 양의 PGRN 또는 다른 이식유전자를 뇌로 전달할 것이다.

[0796] 본 발명의 특정 일 구체예에서, 환자는 투여 (administration) 전 과거 5일 내지 과거 20일의 범위내, 구체적으로 도입 (introduction) 전 마지막 8일 또는 마지막 15일 이내에, 부설판, 트레오설판, 방사선 요법, 또는 생물

학적 제제, 예컨대 콜로니-자극 인자 1 (colony-stimulating factor 1: CSF1)의 모노클로날 항체-기반 또는 소분자-기반 억제제 및 CSF1 수용체 (CSF1R) 억제제 예컨대 PLX3397, BLZ9445, PLX5622, RG7155, PLX647, Ki20227, GW2580 또는 CSF1R-리간드 IL-34, 데사티닙 (desatinib) 및 이의 임의의 조합으로 사전-치료한다.

[0797] 본 발명에 따른 레트로바이러스 벡터는 또한 뇌 종양 및 전이에 관여하는 골수 유래 대식세포 및 미세아교세포를 표적화하는데 사용될 수 있다. 골수-/미세아교세포-특이적 프로모터를 포함하는 본 발명에 따른 특이적 벡터 구조는 종양 진행을 역전 또는 지연시키기 위해, 골수 유래 단핵구/대식세포, 수지상 세포, 미세아교세포-유사 세포 및 미세아교세포에서 단백질의 성공적인 발현을 위한 기초이다.

[0798] 구체적으로, 본 발명은 뇌 종양, 구체적으로 교모세포종, 신경아교종, 신경절신경모세포종, 성상세포종, 희소돌기아교세포종, PNET (원시 신경외배엽 종양), 수모세포종, CNS 림프종 및 신경모세포종으로 구성된 그룹으로부터 선택되는 뇌 종양, 또는 임의의 다른 CNS 종양을 앓고 있는 환자의 치료를 위한, 본원에 기재된 본 발명에 따른 레트로바이러스 벡터 구조체의 용도에 관한 것이다.

[0799] 다른 특정 구체예에서, 본 발명은 임의의 형태의 유방, 폐, 결장, 고환, 신장 암종 및 흑색종, 또는 임의의 다른 고형 종양, 및 모든 형태의 백혈병 및 림프종을 포함하는 임의의 혈액 종양으로부터 기원하는 뇌 전이를 앓고 있는 환자의 치료를 위한, 본원에 기재된 본 발명에 따른 레트로바이러스 벡터 구조체의 용도에 관한 것이다.

[0800] 구체적으로, 본 발명은 하기 구체예를 제공한다:

[0801] 1. HSC-유래 골수 세포, HSC-유래 혈액 단핵구/대식세포, 수지상 세포에서, 및 대식세포의 뇌로의 이동 시에 뇌 미세아교세포 또는 미세아교세포-유사 세포에서 치료 폴리펩티드 또는 치료 폴리펩티드의 조합의 발현을 유도하는, 골수-/미세아교세포-특이적 프로모터, 또는 골수특이적 및 미세아교세포-특이적 프로모터의 조합, 구체적으로 융합-프로모터의 제어하에 치료 폴리펩티드 또는 치료 폴리펩티드의 조합을 코딩하는 핵산 분자를 포함하는 레트로바이러스 벡터 분자 (retroviral vector molecule).

[0802] 2. 구체예 1에 있어서, 미세아교세포-특이적 프로모터는 TMEM119 프로모터, P2RY12 프로모터, OLFML3 프로모터, AIF1 프로모터 및 ITGAM 프로모터로 구성된 그룹으로부터 선택된 프로모터의 프로모터 기능을 가진, 프로모터 또는 프로모터 단편인 것인 레트로바이러스 벡터.

[0803] 3. 구체예 1에 있어서, 골수-/미세아교세포-특이적 프로모터는 하기로부터 선택된 프로모터의 프로모터 기능을 가진, 프로모터 또는 프로모터 단편인 것인 레트로바이러스 벡터:

[0804] (a) AIF1 프로모터 또는 ITGAM 프로모터; 또는

[0805] (b) miR223 프로모터의 프로모터 기능을 가진 프로모터 또는 프로모터 단편, 및 TMEM119 프로모터, P2RY12 프로모터, OLFML3 프로모터로 구성된 그룹으로부터 선택된 프로모터의 프로모터 기능을 가진 프로모터 또는 프로모터 단편을 포함하는 융합 프로모터.

[0806] 4. 구체예 3에 있어서, miR233 프로모터 기능을 가진 프로모터 또는 프로모터 단편은 서열번호: 1에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 100%의 서열 동일성을 갖거나, 또는 길이가 적어도 200개의 뉴클레오티드인 이의 단편이며, 상기 프로모터 또는 단편은 여전히 miR223 프로모터의 프로모터 기능을 갖는 것인 레트로바이러스 벡터.

[0807] 5. 구체예 1 내지 3 중 어느 하나에 있어서, P2RY12 프로모터 기능을 가진 프로모터 또는 프로모터 단편은 서열번호: 2에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 100%의 서열 동일성을 갖거나, 또는 길이가 적어도 200개의 뉴클레오티드인 이의 단편이며, 상기 프로모터 또는 단편은 여전히 P2RY12 프로모터의 프로모터 기능을 갖는 것인 레트로바이러스 벡터.

[0808] 6. 구체예 1 내지 3 중 어느 하나에 있어서, TMEM119 프로모터 기능을 가진 프로모터 또는 프로모터 단편은 서열번호: 3에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 100%의 서열 동일성을 갖거나, 또는 길이가 적어도 200개의 뉴클레오티드인 이의 단편이며, 상기 프로모터 또는 단편은 여전히 TMEM119 프로모터의 프로모터 기능을 갖는 것인 레트로바이러스 벡터.

[0809] 7. 구체예 1 내지 3 중 어느 하나에 있어서, OLFML3 프로모터 기능을 가진 프로모터 또는 프로모터 단편은 서열번호: 4에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 100%의 서열 동일성을 갖거나, 또는 길이가 적어도 200개의 뉴클레오티드인 이의 단편이며, 상기 프로모터 또는 단편은 여전히 OLFML3 프로모터의 프로모터

기능을 갖는 것인 레트로바이러스 벡터.

[0810] 8. 구체예 1 내지 3 중 어느 하나에 있어서, AIF1 프로모터 기능을 가진 프로모터 또는 프로모터 단편은 서열번호: 5에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 100%의 서열 동일성을 갖거나, 또는 길이가 적어도 200개의 뉴클레오티드인 이의 단편이며, 상기 프로모터 또는 단편은 여전히 AIF1 프로모터의 프로모터 기능을 갖는 것인 레트로바이러스 벡터.

[0811] 9. 구체예 1 내지 3 중 어느 하나에 있어서, ITGAM 프로모터 기능을 가진 프로모터 또는 프로모터 단편은 서열번호: 6에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 100%의 서열 동일성을 갖거나, 또는 길이가 적어도 200개의 뉴클레오티드인 이의 단편이며, 상기 프로모터 또는 단편은 여전히 ITGAM 프로모터의 프로모터 기능을 갖는 것인 레트로바이러스 벡터.

[0812] 10. 구체예 3 내지 9 중 어느 하나에 있어서, 조직-특이적 프로모터는 miR223 프로모터 융합 프로모터인 것인 레트로바이러스 벡터.

[0813] 11. 구체예 1 내지 10 중 어느 하나에 있어서, 치료 폴리펩티드는 PGRN 또는 이의 기능적 단편인 것인 레트로바이러스 벡터.

[0814] 12. 구체예 11에 있어서, 치료 폴리펩티드는 서열번호: 7, 서열번호: 8 또는 서열번호: 9에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 100%의 서열 동일성을 갖거나, 또는 길이가 적어도 50개의 아미노산인 이의 단편이며, 상기 폴리펩티드는 여전히 PGRN 기능을 제공하는 것인 레트로바이러스 벡터.

[0815] 13. 구체예 12에 있어서, PGRN 폴리펩티드의 부분 서열은 길이가 적어도 40개의 아미노산인 것인 레트로바이러스 벡터.

[0816] 14. 구체예 1 내지 10 중 어느 하나에 있어서, 치료 폴리펩티드는 FasL/Fas, Trail/TRAIL-R, 림포톡신 베타, 유인수용체 1-3, TNF-알파, TNF-알파R, IFN-감마, IFN-감마 수용체, IL-1-IL31, IL1R-IL31수용체, IL-10, IL-12, IL-23, CXCL-10, PD-1L, PD-1, PD-2L, PD-2, 그랜자임 B, 그래눌리신, 일산화질소 신타제, DNA 메틸트란스퍼라제 3b (DNMT3b), Jumonji 도메인-함유 단백질 1A (JMJD1A), 히스톤 데아세틸라제 3 (HDAC3) 또는 HDAC 9, CSF1 수용체 (CSF1R) 또는 CSD1R-리간드 IL-34, 모든 케모카인, 케모카인 수용체, VEGF, VEGF-수용체, 메탈로프로테나제 (예: MMP-9)에 대한 길항제, CD40/CD40L, 종양특이적 리간드 및 수용체 예컨대 EGFR, 아넥신1, FGFR-1, Her2, St6galnac5, MMP1-28 및 이의 대응물 TIMPS1-4 (메탈로프로테나제의 조직 억제제), 멜라노트란스페린, 알파4-베타1 인테그린 및 이의 리간드 내피 세포 VCAM-1, E-카드헤린, 알파-v-베타3 인테그린, 알파-v-베타5 인테그린, 알파-v-베타6 인테그린, 알파-v-베타8 인테그린, 단일-뉴클레오티드 변이체 신생항원, INDEL 프레임이동 신생항원 (frameshift neoantigens), 스플라이스 변이체 항원, 융합 단백질 신생항원, 내인성 레트로요소 항원 (endogenous retroelement antigens), 종양-특이적 항원, 구체적으로 암에 의한 종양-특이적 항원, 구체적으로 CCND1, BRCA, CEA, 암-관련 항원 72-4 (CA 72-4), 암-관련 항원 19-9 (CA 19-9), WT1 및 NY-ESO-1), 결합된 가용성 막으로 구성된 그룹으로부터 선택되는 것인 레트로바이러스 벡터.

[0817] 15. 구체예 14에 있어서, 치료 폴리펩티드는 인터페론 감마 (IFNgamma) 또는 이의 기능적 단편인 것인 레트로바이러스 벡터.

[0818] 16. 구체예 14에 있어서, 치료 폴리펩티드는 P-셀렉틴, MSH, GM-CSF, IL-12, TNF-알파 또는 그랜자임 B인 것인 레트로바이러스 벡터.

[0819] 17. 구체예 15에 있어서, 치료 폴리펩티드는 서열번호: 10에 제시된 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 100%의 서열 동일성을 갖거나, 또는 길이가 적어도 50개의 아미노산인 이의 단편이며, 상기 폴리펩티드는 여전히 IFN감마 기능을 제공하는 것인 레트로바이러스 벡터.

[0820] 18. 구체예 1 내지 17 중 어느 하나에 있어서, 레트로바이러스 벡터는 렌티바이러스 벡터, 구체적으로 렌티바이러스 SIN 벡터인 것인 레트로바이러스 벡터.

[0821] 19. 구체예 1 내지 17 중 어느 하나에 있어서, 레트로바이러스 벡터는 포말상 바이러스 벡터인 것인 레트로바이러스 벡터.

[0822] 20. 구체예 1 내지 17 중 어느 하나에 있어서, 바이러스 벡터는 아데노바이러스 및 헤르페스 바이러스 벡터이거나, 또는 바이러스 벡터는 알파-레트로바이러스 벡터인 것인 바이러스 벡터.

[0823] 21. 치료 (therapy)에 사용하기 위한, 구체예 1 내지 20 중 어느 하나에 따른 레트로바이러스 벡터.

[0824] 22. 뇌에서 기원을 갖거나, 또는 뇌 또는 신경계 기반인 질병 또는 장애의 치료에 사용하기 위한, 구체예 1 내지 20 중 어느 하나에 따른 레트로바이러스 벡터.

[0825] 23. PGRN-관련 질병 또는 장애의 치료에 사용하기 위한, 구체예 1 내지 13 및 18 내지 232 중 어느 하나에 따른 레트로바이러스 벡터.

[0826] 24. 구체예 23에 있어서, PGRN-관련 질병 또는 장애는 신경퇴행성 질병 또는 장애인 것인 레트로바이러스 벡터.

[0827] 25. 구체예 24에 있어서, 신경퇴행성 질병 또는 장애는 전두측두엽 퇴행성 질병 또는 장애인 것인 레트로바이러스 벡터.

[0828] 26. 구체예 25에 있어서, 전두측두엽 퇴행성 질병 또는 장애는 알츠하이머병, 근위축 측삭 경화증 및 파킨슨병으로 구성된 그룹으로부터 선택되는 것인 레트로바이러스 벡터.

[0829] 27. 뇌 종양의 치료에 사용하기 위한, 구체예 1 내지 10 및 14 내지 22 중 어느 하나에 따른 레트로바이러스 벡터.

[0830] 28. 구체예 27에 있어서, 교모세포종, 신경아교종, 신경절신경모세포종, 성상세포종, 희소돌기아교세포종, PNET (원시 신경외배엽 종양), 수모세포종, CNS 림프종 및 신경모세포종으로 구성된 그룹으로부터 선택되는 뇌 종양, 또는 임의의 다른 CNS 종양의 치료에 사용하기 위한 것인 레트로바이러스 벡터.

[0831] 29. 구체예 27에 있어서, 임의의 형태의 유방, 폐, 결장, 고환, 신장 암종 및 흑색종, 또는 임의의 다른 고형 종양, 및 모든 형태의 백혈병 및 림프종을 포함하는 임의의 혈액 종양으로부터 기원하는 뇌 전이의 치료에 사용하기 위한 것인 레트로바이러스 벡터.

[0832] 30. 뇌에서 기원을 갖거나, 또는 뇌 기반인 질병 또는 장애를 치료하는 방법으로서, 구체예 1 내지 22 중 어느 하나에 따른 레트로바이러스 벡터를 사용한 레트로바이러스 형질도입에 의해 이러한 질병 또는 장애를 앓고 있는 환자의 조혈 줄기 세포 및/또는 농축된 CD34-포지티브 골수 세포의 집단을 엑스 비보 유전자 변형하는 단계, 및 변형된 세포를 환자에게 투여하는 단계를 포함하는 방법.

[0833] 31. 구체예 30에 있어서, 레트로바이러스 벡터는 구체예 1 내지 13 및 18 내지 22 중 어느 하나에 따른 벡터이고, 환자는 PGRN-관련 질병 또는 장애를 앓고 있는 것인 방법.

[0834] 32. 구체예 31에 있어서, PGRN-관련 질병 또는 장애는 신경퇴행성 질병 또는 장애인 것인 방법.

[0835] 33. 구체예 32에 있어서, 신경퇴행성 질병 또는 장애는 전두측두엽 퇴행성 질병 또는 장애인 것인 방법.

[0836] 34. 구체예 33에 있어서, 전두측두엽 퇴행성 질병 또는 장애는 알츠하이머병, 근위축 측삭 경화증 및 파킨슨병으로 구성된 그룹으로부터 선택되는 것인 방법.

[0837] 35. 구체예 30에 있어서, 레트로바이러스 벡터는 구체예 1 내지 10 및 14 내지 21 중 어느 하나에 따른 벡터이고, 환자는 뇌 종양을 앓고 있는 것인 방법.

[0838] 36. 구체예 35에 있어서, 뇌 종양은 신경아교종, 교모세포종, 신경절신경모세포종, 성상세포종, 희소돌기아교세포종, PNET (원시 신경외배엽 종양), 수모세포종, CNS 림프종 및 신경모세포종, 또는 임의의 다른 CNS 종양으로 구성된 그룹으로부터 선택되는 것인 방법.

[0839] 37. 구체예 35에 있어서, 환자는 임의의 형태의 유방, 폐, 결장, 고환, 신장 암종 및 흑색종, 또는 임의의 다른 고형 종양, 및 모든 형태의 백혈병 및 림프종을 포함하는 임의의 혈액 종양으로부터 기원하는 뇌 전이를 앓고 있는 것인 방법.

[0840] 38. 구체예 30 내지 37 중 어느 하나에 있어서, 환자는 투여 전 과거 8일 내지 과거 15일의 범위 이내에, 부설판, 트레오설판, 방사선 요법, 생물학적 제제 예컨대 콜로니-자극 인자 1 (CSF1)의 모노클로날 항체-기반 또는 소분자-기반 억제제 및 CSF1 수용체 (CSF1R) 억제제 예컨대 PLX3397, BLZ9445, PLX5622, RG7155, PLX647, Ki20227, GW2580 또는 CSF1R-리간드 IL-34, 데사티닙, 및 이의 임의의 조합으로 사전-치료하는 것인 방법.

도면의 간단한 설명

[0841] **도 1:** 프로모터 miR223 (서열번호: 1)의 제어하에 이식유전자 GRN을 포함하는 SIN-렌티바이러스 구조체 vUS6. 2A: 자기 절단 펩티드; GFP: 녹색 형광 단백질; nls: 핵 위치 서열 (nuclear localization sequence); PRE4:

변형된 Woodchuck 간염 바이러스 (modified Woodchuck Hepatitis Virus: WHP) 전사후 조절 요소.

도 2: 형질도입 후 HEK293T 세포를 사용한 FACS 분석. 좌측: 비-형질도입된 세포. 우측: 도 1에 도시된 렌티바이러스 구조체로 형질도입된 세포 (vUS6) (역가: 6.04 x 10^6 TU/mL; MOI = 2).

도 3: 형질도입 후 THP1 세포를 사용한 FACS 분석. 좌측: 비-형질도입된 세포. 우측: 도 1에 도시된 렌티바이러스 구조체로 형질도입된 세포 (vUS6) (역가: 6.04 x 10^6 TU/mL; MOI = 2).

도 4: 형질도입 후 인간 미세아교세포를 사용한 FACS 분석. 좌측: 비-형질도입된 세포. 우측: 도 1에 도시된 렌티바이러스 구조체로 형질도입된 세포 (vUS6) (역가: 6.04 x 10^6 TU/mL; MOI = 2).

도 5: ELISA에 의해 측정된 인간 미세아교세포 (GRN-/-)에 의한 프로그래눌린 방출. 좌측 막대: 비-형질도입된 세포. 우측 막대: 도 1에 도시된 렌티바이러스 구조체로 형질도입된 세포 (vUS6).

도 6: 프로모터 miR223 (서열번호: 1)의 제어하에 이식유전자 IL-12를 포함하는 SIN-렌티바이러스 구조체. IRES: 내부 리보솜 진입 부위; PRE4: 변형된 Woodchuck 간염 바이러스 (WHP) 전사후 조절 요소.

도 7: 형질도입 후 THP1 세포를 사용한 FACS 분석. 좌측: 비-형질도입된 세포. 우측: 도 6에 도시된 렌티바이러스 구조체로 형질도입된 세포 (역가: 3.24 x 10^6 TU/mL; MOI = 2).

도 8: 형질도입 후 인간 미세아교세포를 사용한 FACS 분석. 좌측: 비-형질도입된 세포. 우측: 도 6에 도시된 렌티바이러스 구조체로 형질도입된 세포 (역가: 3.24 x 10^6 TU/mL; MOI = 2).

도 9: 프로모터 (A) miR223-TMEM119 (vUS7; 서열번호: 28); (B) ITGAM (vUS8; 서열번호: 6); (C) miR223_P2RY12 (vUS11; 서열번호: 26); 및 (D) miR223_OLFML3 (vUS12; 서열번호: 29)의 제어하에 이식유전자 GRN을 포함하는 SIN-렌티바이러스 구조체. 2A: 자기 절단 펩티드; GFP: 녹색 형광 단백질; nls: 핵 위치 서열; PRE4: 변형된 Woodchuck 간염 바이러스 (WHP) 전사후 조절 요소.

도 10: 대식세포로의 분화 시에 상이한 벡터로 형질도입된 THP-1 세포를 사용한 FACS 분석. (A) 비-형질도입된 대조군; (B) vUS6-LV_miR223_GRN (도 1); (C) vUS7-LV_miR223-TMEM119_GRN (도 9A); (D) vUS8-LV_ITGAM_GRN (도 9B); (E) vUS11 - LV_miR223-P2RY12 (도 9C); (F) vUS12-LV_miR223-OLFML3 (도 9D).

도 11: (A) 분화된 THP-1 세포에서 GFP 포지티브 세포의 퍼센트 (형질도입율). (B) 분화된 THP-1 세포의 평균 형광 세기.

도 12: 상이한 벡터로 형질도입된 인간 미세아교세포 세포주 (GRN -/-)의 FACS 분석. (A) 비-형질도입된 대조군; (B) vUS6-LV_miR223_GRN (도 1); (C) vUS7-LV_miR223-TMEM119_GRN (도 9A); (D) vUS8-LV_ITGAM_GRN (도 9B); (E) vUS11 - LV_miR223-P2RY12 (도 9C); (F) vUS12-LV_miR223-OLFML3 (도 9D).

도 13: (A) 인간 미세아교세포 세포주 (GRN -/-)에서 GFP 포지티브 세포의 퍼센트 (형질도입율). (B) 인간 미세아교세포 세포주 (GRN -/-)의 평균 형광 세기.

도 14: 인간 미세아교세포 세포주 (GRN -/-)에서 GRN 분비의 회복. (A) 상등액 중 그래눌린의 양. (B) 벡터 카피 수로 정규화된 평균 형광 세기. (C) (형질도입율 x 벡터 카피수)에 의해 정규화된 그래눌린의 양

도 15: 인간 CD34+ 골수 세포를 이식유전자로서 GRN-2A-GFP를 코딩하는 벡터로 렌티바이러스로 형질도입한 다음에, 단핵구로 분화시키고, 단핵구에서 FACS 분석을 수행하였다 (12일째). (A) 비-형질도입된 대조군; (B) vUS6-LV_miR223_GRN (도 1); (C) vUS7-LV_miR223-TMEM119_GRN (도 9A); (D) vUS8-LV_ITGAM_GRN (도 9B); (E) vUS11 - LV_miR223-P2RY12 (도 9C); (F) vUS12-LV_miR223-OLFML3 (도 9D).

도 16: GFP 포지티브 단핵구의 퍼센트.

도 17: 단핵구로의 분화 시에 인간 CD34+ 세포에서 후보 프로모터의 활성 분석 (7일째). (A) 비-형질도입된 대조군; (B) vUS6-LV_miR223_GRN (도 1): (좌측) 암포테리신 B (Amphotericin B)의 존재하에 형질도입, (우측) 렌티부스트 (Lentiboost)의 존재하에 형질도입; (C) vUS7-LV_miR223-TMEM119_GRN (도 9A): (좌측) 암포테리신 B의 존재하에 형질도입, (우측) 렌티부스트의 존재하에 형질도입; (D) vUS8-LV_ITGAM_GRN (도 9B): (좌측) 암포테리신 B의 존재하에 형질도입, (우측) 렌티부스트의 존재하에 형질도입.

도 18: 단핵구로의 분화 시에 인간 CD34+ 세포의 벡터 카피 수 (12일째). (상단) 암포테리신 B의 존재하에 형

질도입, (하단) 렌티부스트의 존재하에 형질도입.

도 19: 도 18의 요약.

도 20: 인간 CD34+ 세포로부터 수득된 골수 세포에서 형질도입 효율 (% GFP-포지티브 세포를 벡터 카피 수 (VCN)로 나눈 값).

도 21: 단핵구, 대식세포, 및 조혈 줄기 세포에 대한 iPSC-유래 상동체에서 miR223 프로모터 활성.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0842] 실시예

[0843] **실시예 1: GRN 유전자 돌연변이로 인한 전두측두엽 치매를 앓고 있는 환자의 치료에 적합한 유전자 변형된 조혈 줄기 세포 (HSC)의 생성**

[0844] HSC 동원 시 백혈구 성분채집술 (leukapheresis)에 의해 수득한 HSC를, 서열번호: 1에 따른 miR223 프로모터의 제어하에 서열번호: 7에 따른 cDNA를 코딩하는 인간 PGRN (프로그래눌린)을 포함하는 렌티바이러스 자기-불활성화 (SIN) 벡터로 형질도입하였다. 우선적으로, 유전자 변형된 자가 HSC 집단은 유전자 조작 후에 동결보존하였다.

[0845] **실시예 2: GRN 유전자 돌연변이로 인한 전두측두엽 치매를 앓고 있는 환자의 치료에 적합한 유전자 변형된 CD34+ 세포의 생성**

[0846] HSC 동원 시 백혈구 성분채집술에 의해 수득한 다음에 CD34+ 세포 단리한 CD34+ 세포 집단을, 서열번호: 1에 따른 miR223 프로모터에 융합된 서열번호: 3에 함유된 TMEM119 프로모터로 구성된 miR223 융합 프로모터 구조체의 제어하에 서열번호: 7에 따른 PGRN을 코딩하는 렌티바이러스 SIN 벡터로 형질도입하였다.

[0847] **실시예 3: GRN 유전자 돌연변이로 인한 전두측두엽 치매를 앓고 있는 환자의 치료에 적합한 유전자 변형된 CD34+ 농축된 골수 세포의 생성**

[0848] CD34+ 농축된 골수 세포를 서열번호: 6에 따른 ITGAM 프로모터의 제어하에 서열번호: 8에 따른 PGRN을 코딩하는 렌티바이러스 벡터로 형질도입하였다.

[0849] **실시예 4: GRN 유전자 돌연변이로 인한 전두측두엽 치매를 앓고 있는 환자의 치료에 적합한 유전자 변형된 CD34+ 농축된 골수 세포의 생성**

[0850] CD34+ 골수 세포를 서열번호: 6에 따른 ITGAM 프로모터의 제어하에 서열번호: 8에 따른 PGRN을 코딩하는 포말상 바이러스 벡터로 형질도입하였다.

[0851] **실시예 5: 교모세포종을 앓고 있는 환자의 치료에 적합한 유전자 변형된 혈액 유래 단핵구의 생성**

[0852] 교모세포종을 앓고 있는 환자의 혈액 유래 단핵구를 서열번호: 6에 따른 ITGAM 프로모터의 제어하에 인터페론-감마를 코딩하는 렌티바이러스 벡터로 형질도입하였다.

[0853] **실시예 6: 신장 암종 및 뇌 전이를 앓고 있는 환자의 치료에 적합한 유전자 변형된 혈액 유래 단핵구의 생성**

[0854] 신장 암종을 앓고 있고 선택적으로 뇌 전이를 앓고 있는 환자의 혈액 유래 단핵구를 서열번호: 1에 따른 miR223 프로모터의 제어하에 인터페론-감마를 코딩하는 렌티바이러스 벡터로 형질도입하였다.

[0855] **실시예 7: 포식세포-특이적 이식유전자 발현을 위한 렌티바이러스-SIN 벡터를 사용한 실험**

[0856] 세포주의 형질도입 테스트

[0857] 개발된 렌티바이러스 SIN-벡터는 포식세포-특이적 이식유전자 발현을 가능하게 하므로, 포식세포가 질병-유발 세포이거나, 또는 포식세포가 이러한 질병을 치유하거나 또는 치료하기 위한 치료 요소를 제공할 수 있는 인간 질병에 적용할 수 있다. 이는 뇌에 기원이 있는 장애 예컨대 신경퇴행성 질환, 또는 뇌암 또는 전이 뿐만 아니라 뇌 외부의 장애 예컨대 면역결핍 또는 암의 경우이다.

[0858] GRN 이식유전자를 포함하는 벡터를 사용한 형질도입:

[0859] 하기 세포주를 분석하였다:

[0860] 1. 포지티브 대조군으로서 HEK293T세포 (인간 배아 신장 세포);

[0861] 2. 포식세포 보정 (phagocyte correction)을 위한 모델로서 THP1 세포 (인간 포식세포 세포주);

[0862] 3. 질병 모델로서 GRN 유전자가 녹아웃된 (GRN-/-) 불멸화된 인간 미세아교세포 세포주 (Im-hMicro).

[0863] 세포주의 형질도입을 위해, 내부 프로모터로서 miR223 프로모터, 이식유전자로서 hGRN 코딩 cDNA, 및 2A 서열에 의해 GRN에 연결된 EGFP-리포터를 포함하는 렌티바이러스 자기-불활성화 (SIN) 벡터를 사용하였다 (도 1). 형질도입 실험은 사이토카인 또는 형질도입 인핸서의 첨가 없이 10% FBS가 보충된 DMEM 배지에서 MOI 2 (6.04*TU/mL의 역가 기준)로 수행하였다. GFP 발현은 형질도입 48시간 후에 FACS로 측정하였고, GRN 이식유전자의 발현과 상관관계가 있다.

[0864] 벡터 구조체에서, miR223 프로모터 활성은 그래눌린 및 GFP를 모두 코딩하는 하나의 mRNA 종의 번역을 유도하였고, 이는 1:1의 분자 비율로 2개의 개별 단백질로 공동-번역하였고, 이 중 GFP는 유세포 분석으로 검출하였다. 3개의 세포주 모두에서, LV-miR223-GRN 벡터를 사용한 형질도입으로, 높은 발현 수준의 GFP: HEK293T 세포, 77% GFP-포지티브 세포 (도 2); THP1 세포, 88.6% GFP-포지티브 세포 (도 3), 불멸화된 인간 미세아교세포 GRN -/- 세포주, 63.9% GFP-포지티브 세포 (도 4)를 유도하였다. 따라서, 프로모터 miR223은 포식세포 및 미세아교세포에서 이식유전자의 발현을 유도한다는 것을 성공적으로 입증하였다.

[0865] 또한, 불멸화된 인간 미세아교세포 GRN -/- 세포주에서, 형질도입 10일 후에 세포 배양 상등액으로 프로그래눌린 단백질의 방출을 측정하는 ELISA 분석을 수행하여, 프로그래눌린 단백질 생성의 재구성 및 미세아교세포로부터의 방출을 보여주었다 (도 5). ELISA의 경우, 10% FBS가 보충된 DMEM을 함유하는 배양 배지를 FBS가 없는 DMEM 배지로 분석 전에 24시간 동안 교환하였다. 비-형질도입된 세포를 형질도입된 세포와 비교하였다.

[0866] IL-12 이식유전자 벡터를 사용한 형질도입:

[0867] 하기 세포주를 분석하였다:

[0868] 1. 포식세포 보정을 위한 모델로서 THP1 세포 (인간 포식세포 세포주); 및

[0869] 2. 미세아교세포 보정을 위한 모델로서 GRN 유전자가 녹아웃된 (GRN-/-) 불멸화된 인간 미세아교세포 세포주 (Im-hMicro).

[0870] 세포주의 형질도입을 위해, 내부 프로모터로서 miR223 프로모터, 및 IL-12 활성을 갖는 하나의 단백질에 단백질 링커에 의해 융합된 cDNA 서브유닛을 코딩하는 인간 IL 12-베타 및 IL 12-알파, 뿐만 아니라 내부 리보솜 진입 부위 (IRES)가 선행하는 IL 12 서브유닛에 연결된 mCherry-리포터를 포함하는 렌티바이러스 자기-불활성화 (SIN) 벡터를 사용하였다 (도 6). 실험은 사이토카인 또는 형질도입 인핸서의 첨가 없이 10% FBS가 보충된 DMEM 배지에서 $3.24*10^6$ TU/mL의 역가에 기준한 MOI 2로 수행하였다. mCherry 발현은 형질도입 48시간 후에 FACS로 측정하였고, IL12 이식유전자의 발현과 상관관계가 있다.

[0871] 세포주 모두에서, LV-miR223-IL12 벡터를 사용한 형질도입으로, 높은 발현 수준의 mCherry: THP1 세포, 98.7% mCherry-포지티브 세포 (도 7), 불멸화된 인간 미세아교세포 GRN -/- 세포주, 99.7% GFP-포지티브 세포 (도 8)를 유도하였다. 따라서, 프로모터 miR223은 포식세포 및 미세아교세포에서 이식유전자의 발현을 유도한다는 것을 성공적으로 입증하였다.

[0872] **실시예 8: 포식세포 세포주에서 추가 프로모터의 분석**

[0873] 실시예 7에서 입증한 바와 같이, 프로모터 miR223은 인간 포식세포 뿐만 아니라 인간 미세아교세포에서 발현을 유도할 수 있다. 본 실시예에서, 포식세포에서 추가 프로모터의 활성을 테스트하였다.

[0874] 하기 렌티바이러스 구조체를 테스트하였다:

[0875] • LV-miR223-hGRN-2A-EGFP-NLS-WPRE (도 1)

[0876] • LV-miR223-TMEM119-hGRN-2A-EGFP-NLS-WPRE (도 9A)

[0877] • LV-ITGAM-hGRN-2A-EGFP-NLS-WPRE (도 9B)

[0878] • LV-miR223-P2RY12-hGRN-2A-EGFP-NLS-WPRE (도 9C)

[0879] • LV-miR223-OLFML3-hGRN-2A-EGFP-NLS-WPRE (도 9D)

[0880] THP-1 세포를 96-웰 플레이트에 웰당 40,000개의 세포 밀도로 시딩하였다. 형질도입은 적절한 양의 바이러스 (MOI 2)를 첨가하고, 웰에 상기 세포를 재현탁하여 시딩한 직후에 수행하였다. 비-형질도입 또는 형질도입된 THP-1 세포의 분화를 위해, 세포를 분화 배지 (RPMI 10% FBS, 1X GlutaMAX, 1X PenStrep, 10 ng/mL PMA)에서 배양하고, 72시간 동안 인큐베이션하였다. 부착 세포를 StemPro Accutase로 분리하고, PBS로 세포를 세척하였다. 분석을 위해, Fc 수용체는 1:20으로 희석한 FcR 차단 시약으로 차단하였고, 세포를 LIVE/DEAD Fixable Violet 염료 (1:1000) 및 PE-Cy7-CD11b (1:200)로 염색한 다음에 LSR II Fortessa 유세포 분석기로 분석을 수행하였다. 하나의 생존 가능한 세포 (LIVE/DEAD Fixable Violet 염색에 대해 네가티브)만을 분석하였다. 대식세포로의 분화는 대식세포로의 분화 시에 증가하는 PE-Cy7-CD11b 염색의 정량화를 수행하였다. GRN/GFP 공동-발현은 GFP 형광 신호 세기의 정량화에 의해 분석하였다. 모든 실험은 이중으로 수행하였다.

[0881] 테스트한 모든 프로모터 변이체는 THP-1 세포에서 높은 이식유전자 발현을 유도하였다. 이러한 분석의 결과를 도 10 및 도 11에 요약하였다.

[0882] **실시예 9: 미세아교세포에서 추가 프로모터의 분석**

[0883] 실시예 8에 기재된 렌티바이러스 구조체의 활성을 또한 미세아교세포에서 테스트하였다.

[0884] 이를 위해, 불멸화된 인간 미세아교세포를 96-웰 플레이트에 웰당 40,000개의 세포 밀도로 시딩하였다. 형질도입은 적절한 양의 바이러스 (MOI 2)를 첨가하고 웰에 상기 세포를 재현탁하여 시딩한 직후에 수행하였다. 부착 세포를 TrypLE Express로 분리하고, PBS로 세포를 세척하였다. 분석을 위해, 세포를 LIVE/DEAD Fixable Violet 염료 (1:1000)로 염색시킨 다음에, LSR II Fortessa 유세포 분석기로 분석을 수행하였다. 하나의 생존 가능한 세포 (LIVE/DEAD Fixable Violet 염색에 대해 네가티브)만을 분석하였다. GRN/GFP 공동-발현은 GFP 형광 신호 세기의 정량화에 의해 분석하였다.

[0885] 그래눌린-결핍 인간 미세아교세포의 유전자 요법 치료 시에 그래눌린 분비의 정량분석을 위해, 500 μL 배지의 24-웰 플레이트에 웰당 150,000개의 세포 밀도로 세포를 시딩하였다. 시딩 24시간 후에, 배양 배지를 제거하고, 500 μL의 신선한 무-항생제 배지로 교체하였다. 배양 24시간 후에 조건화된 배지를 수집하고, 17,000 g로 10분 동안 원심분리하여 데브리스를 제거하고, 샘플을 처리할 때까지 -20℃에서 저장하였다. 그래눌린 단백질 농도의 정량분석을 위해, 상등액 샘플을 Amicon Ultra-0.5 3K 원심분리 필터 장치를 사용하여 농축하고, 프로그래눌린 (인간) ELISA 키트 (Adipogen, cat. # AG-45A-0018YEK-KI01)를 사용하여 제조자의 프로토콜에 따라 PGRN의 농도를 결정하였다. 결과는 24시간 내에 500 μL의 배지로 150,000개의 세포가 방출한 PGRN의 총 ng로 나타낸다. 모든 실험은 이중으로 수행하였다.

[0886] 테스트한 모든 프로모터 변이체는 미세아교세포에서 높은 이식유전자 발현을 유도하였다. 이러한 분석의 결과를 도 12 및 도 13에 요약하였다. GRN-/- 세포에서 그래눌린 분비의 회복은 도 14에 나타내었다.

[0887] **실시예 10: 인간 CD34+ 골수 세포의 형질도입 후 단핵구로의 분화**

[0888] 상업적으로 이용 가능한 인간 CD34+ 골수 세포를 해동하고, X-VIVO 20, HSA 1%, SCF 300 ng/mL, Flt3-L 300 ng/mL, TPO 100 ng/mL에서 배양하였다 (0일째). 1일 및 2일째에, 프로타민 설페이트 4 μg/mL 및 암포테리신 B 1 μg/mL의 존재하에 MOI3으로 세포를 형질도입하였다. 세포를 3일째에 증식 배지 (X-VIVO 20, HSA 1%, PenStrep 1X, SCF 100 ng/mL, Flt3-L 100 ng/mL, TPO 100 ng/mL)에 재-플레이팅하였다. 5일째에, 배지를 골수세포-유발 증식 배지 (pro-myelocytes expansion medium) (IMDM, HEPES 5 mM, GlutaMax 2 mM, FBS 10%, PenStrep 0.5X, SCF 100 ng/mL, IL-3 100 ng/mL)로 교체하고, 8일째에 골수세포-유발 분화 배지 (pro-myelocytes differentiation medium) (IMDM, HEPES 5 mM, GlutaMax 2 mM, FBS 10%, PenStrep 0.5X, SCF 50 ng/mL, IL-3 20 ng/mL, GM-CSF 20 ng/mL, M-CSF 100 ng/mL)로 교체하였다. 12일째에 계통 마커 (lineage markers) 및 마커 유전자 발현 (marker gene expression)에 대해 유세포 분석으로 세포를 분석하였다.

[0889] CD11b 및 CD14 발현에 대한 분화된 세포의 분석으로 분화된 단핵구가 80%를 초과하는 것으로 나타났다. 단핵구 세포 집단 내에서, 그래눌린과 함께 발현되는 GFP 마커 유전자 발현을 분석하였다 (도 15 및 16 참조).

[0890] **실시예 11: CD34+ 세포에서 추가 프로모터의 분석**

[0891] 인간 CD34+ 세포를 해동하고 (0일째), (X-VIVO 20, HSA 1%, SCF 300 ng/mL, Flt3-L 300 ng/mL, TPO 100 ng/mL에서) 배양하였다. 1일 및 2일째에, (형질도입 인핸서 (암포테리신 B 또는 렌티부스트)의 존재하에) 세포를 바

이러스 감염성 입자로 연속적으로 3회 형질도입하였다. 2일째 종료 시부터 5일째까지, 세포를 골수세포-유발 증식 배지 (IMDM, FBS 10%, PenStrep 0.5X, SCF 100 ng/mL, IL-3 100 ng/mL)에서 배양하였다. 5일째에, 세포를 골수세포-유발 분화 배지 (IMDM, FBS 20%, PenStrep 0.5X, SCF 100ng/mL, IL-3 100 ng/mL, G-CSF 20 ng/mL)에 재-플레이팅하였다. 7일째에 FACS 분석으로 GFP 마커 발현을 정량분석하였고 (도 17); 배양 12일째에 VCN을 정량분석하였다 (도 18).

[0892] **실시예 12: 형질도입된 CD34+ 세포에서 벡터 카피 수 결정**

[0893] - 분화 프로토콜의 12일째에 세포를 펠렛화하고, 세포 펠렛을 처리할 때까지 -20℃에서 저장하였다.

[0894] - QIAamp® DNA Blood Mini 키트 (Qiagen, Hilden, Germany)를 사용하여 제조자의 프로토콜에 따라 세포 펠렛으로부터 게놈 DNA를 단리하였다.

[0895] - 통합된 벡터 유전자에 대해 WPRE 및 참조 유전자로서 FOXP2를 사용하여, 델타-델타 Ct 방법 (delta-delta Ct method)으로 qPCR에 의해 VCN을 결정하였다.

[0896] - 2개의 γ 통합을 포함하는 클론 H10을 참조로 사용하였다.

[0897] 결과를 도 19 및 20에 요약하였다.

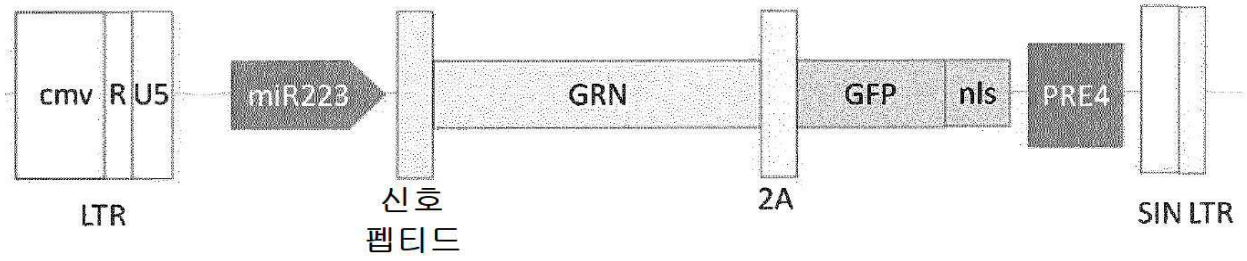
[0898] **실시예 13: HSPC 및 골수 세포에서 이식유전자 발현**

[0899] miR223 프로모터의 제어하에 또는 항시적으로 활성인 SFFV 프로모터의 제어하에 p47phox를 코딩하는 렌티바이러스 벡터로 p47phox-결핍 iPSC를 형질도입하였다. 세포를 배아체 (embryoid bodies)로 분화시키고, 추가로 단핵구 및 대식세포로 분화시켰다. iPSC (CD133+). 배아체에서 조혈 줄기 세포에 대한 iPSC-유래 상동체로서 CD34-포지티브 세포, 단핵구 (CD14+) 및 대식세포 (CD206)를 유전자이식 p47phox 발현에 대해 분석하였다.

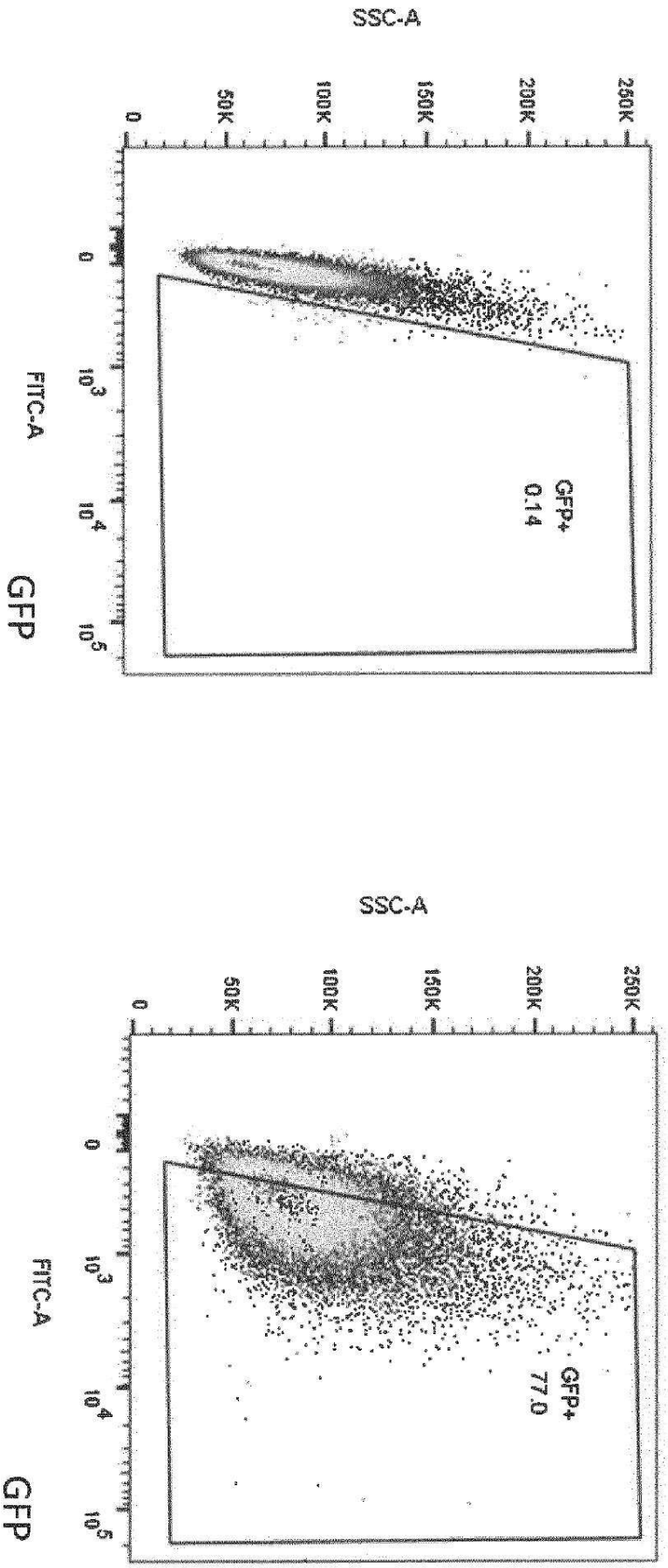
[0900] 도 21은 miR223 프로모터가 단핵구 및 대식세포에서는 활성이지만, 조혈 줄기 세포에 대한 iPSC-유래 상동체에서는 불활성임을 나타낸다.

도면

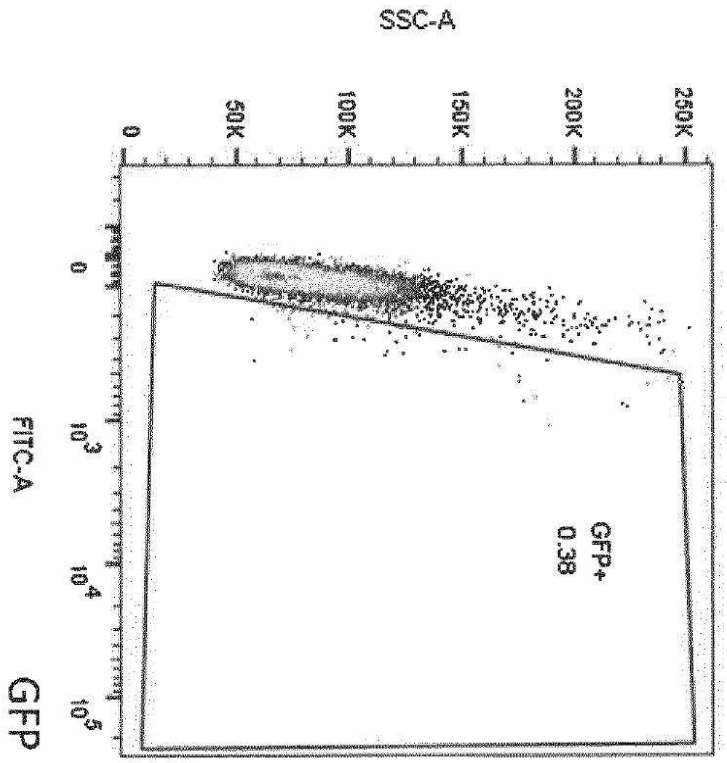
도면1

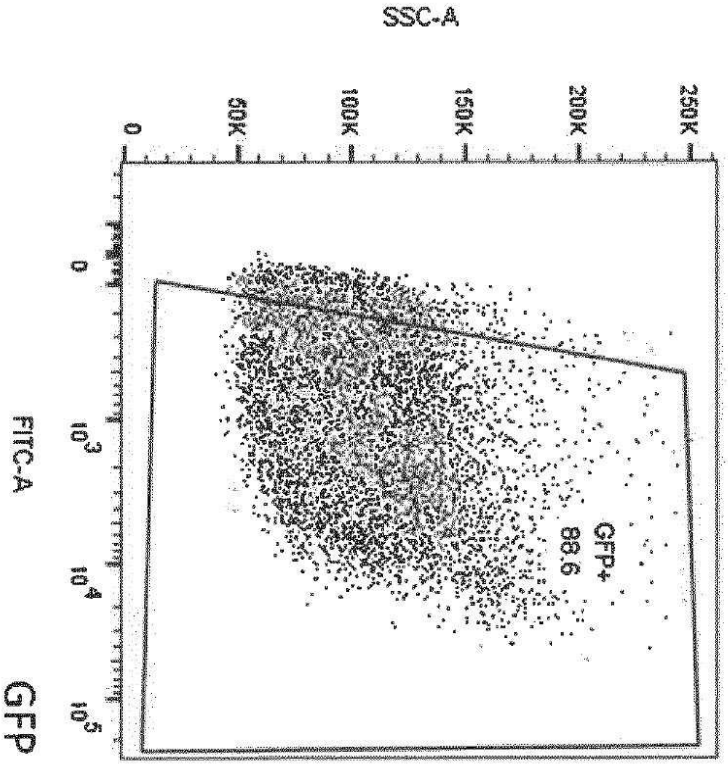


도면2

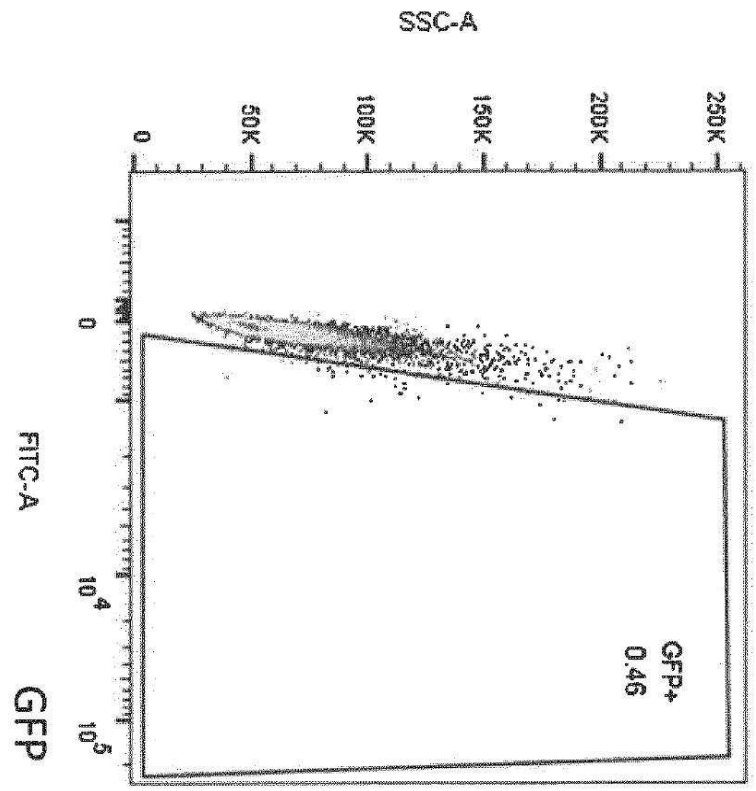

SSC-A
0
50K
100K
150K
200K
250K
FITC-A
GFP
0
10^3
10^4
10^5
GFP+
0.14
SSC-A
0
50K
100K
150K
200K
250K
FITC-A
GFP
0
10^3
10^4
10^5
GFP+
77.0

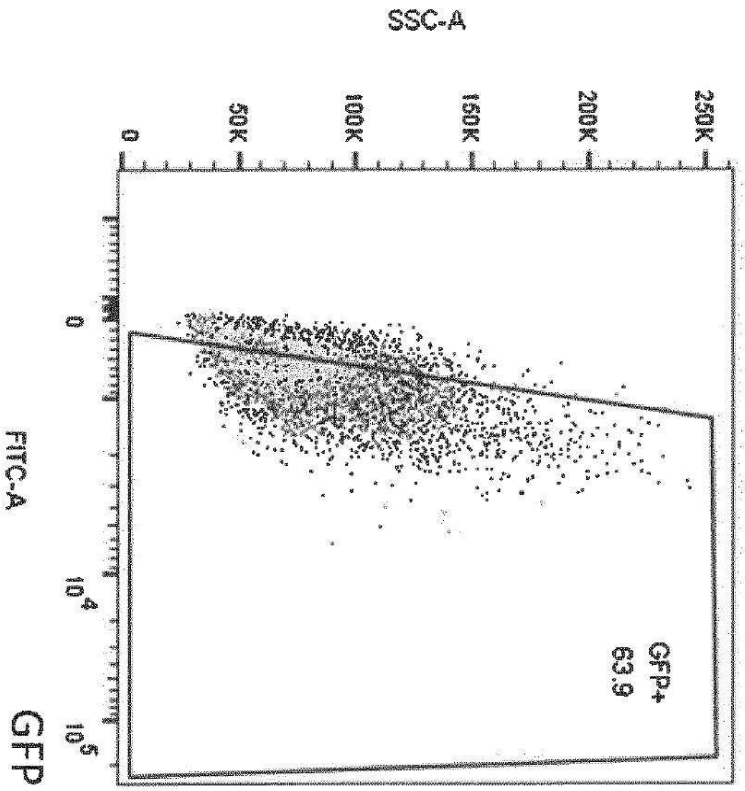
도면3


SSC-A
0
50K
100K
150K
200K
250K
FITC-A
0
10^3
10^4
10^5
GFP
GFP+
0.38

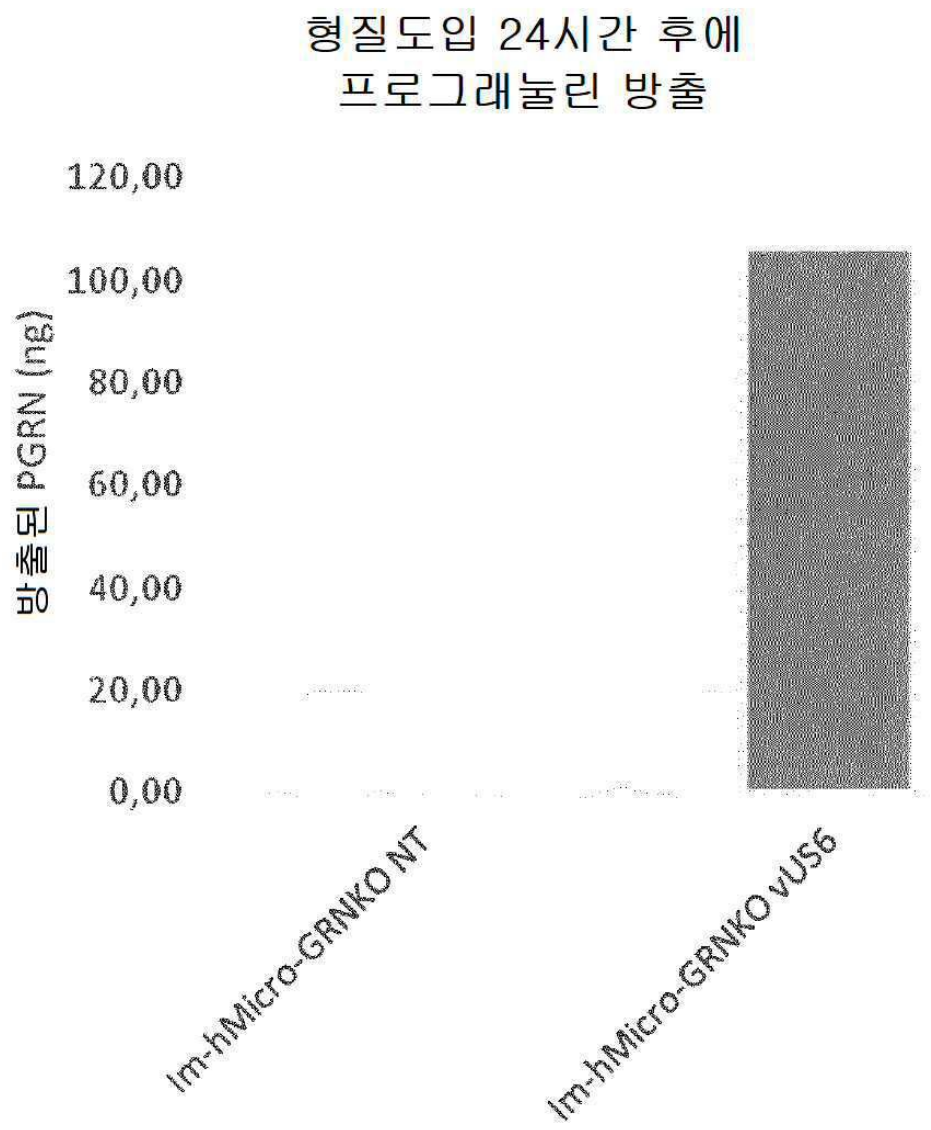

SSC-A
0
50K
100K
150K
200K
250K
FITC-A
0
10^3
10^4
10^5
GFP
GFP+
88.6

도면4

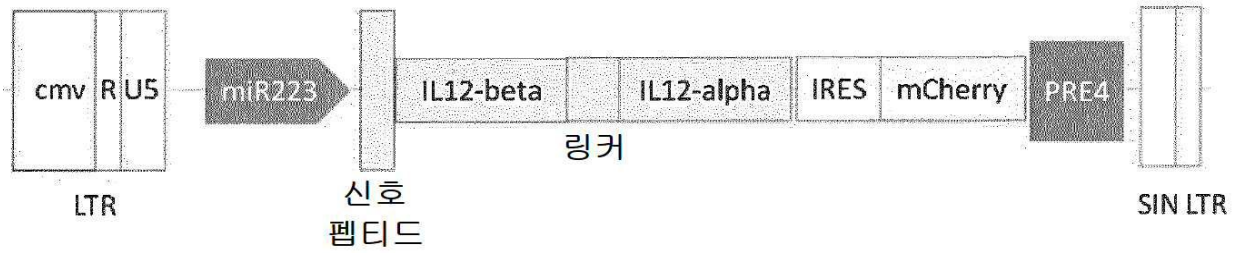

SSC-A
0
50K
100K
150K
200K
250K
FITC-A
0
10^4
10^5
GFP
GFP+
0.46


SSC-A
0
50K
100K
150K
200K
250K
FITC-A
0
10^4
10^5
GFP
GFP+
63.9

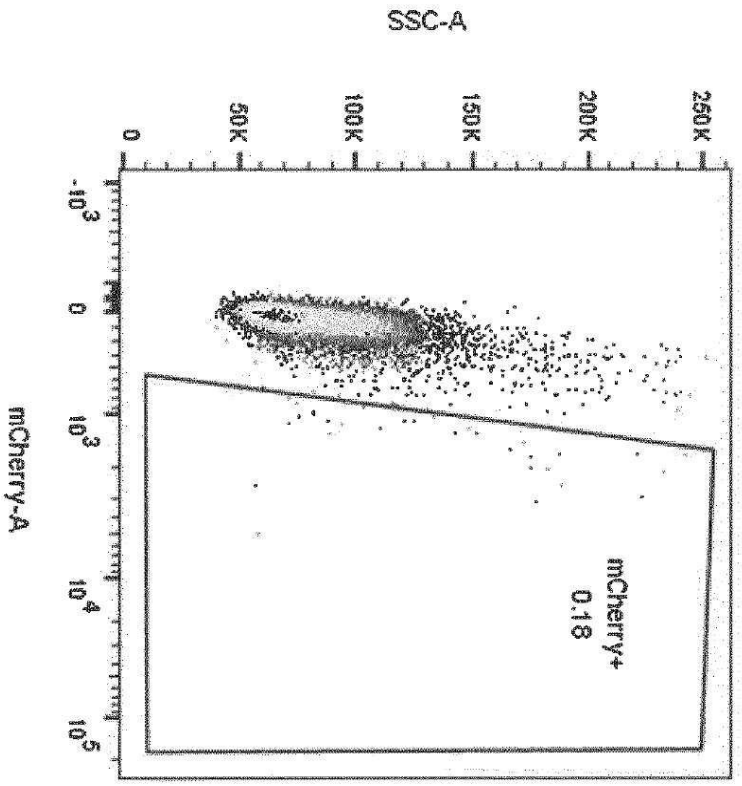
도면5

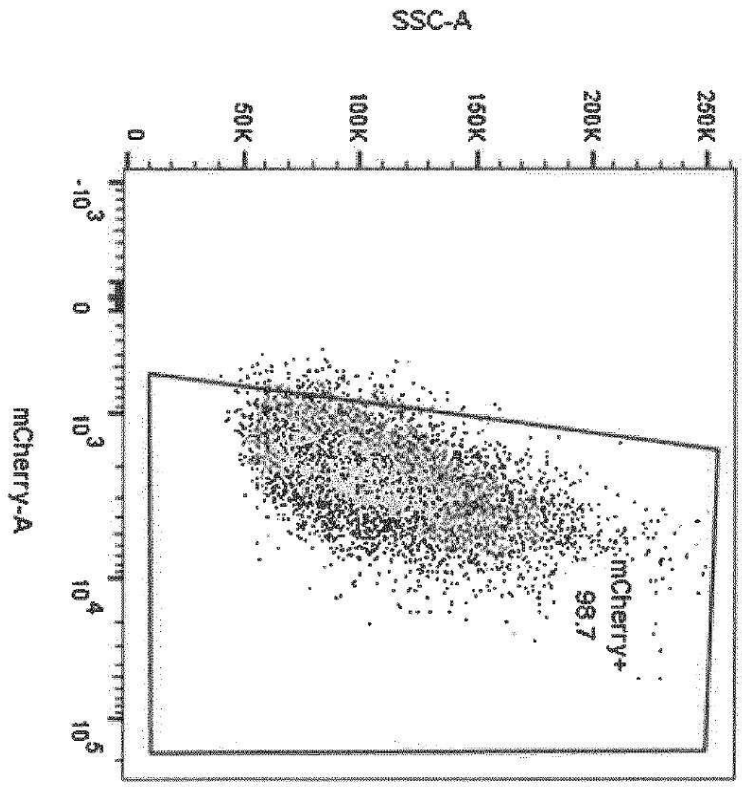

형질도입 24시간 후에
프로그래눌린 방출
120,00
100,00
80,00
60,00
40,00
20,00
0,00
방출된 PGRN (ng)
Im-hMicro-GRNKO NT
Im-hMicro-GRNKO vUS6

도면6

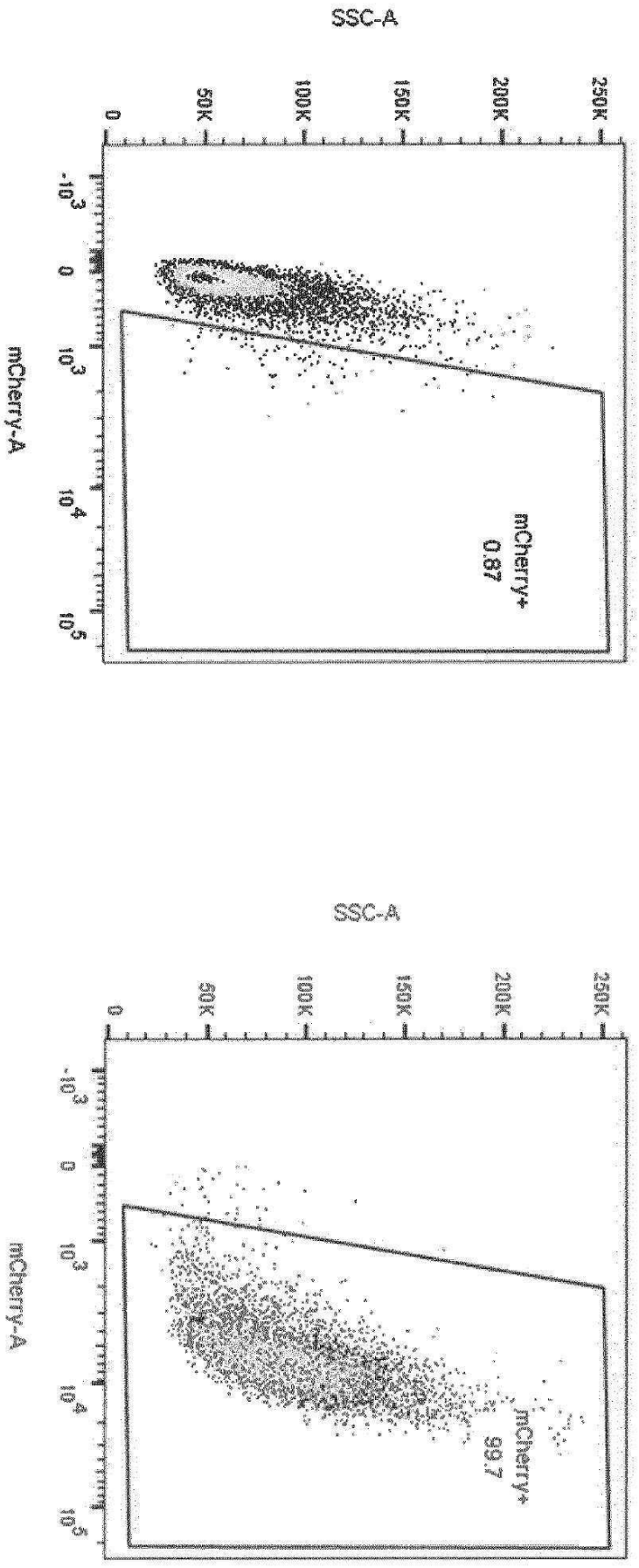

cmv
R
U5
miR223
IL12-beta
IL12-alpha
IRES
mCherry
PRE4
링커
LTR
신호
펩티드
SIN LTR

도면7

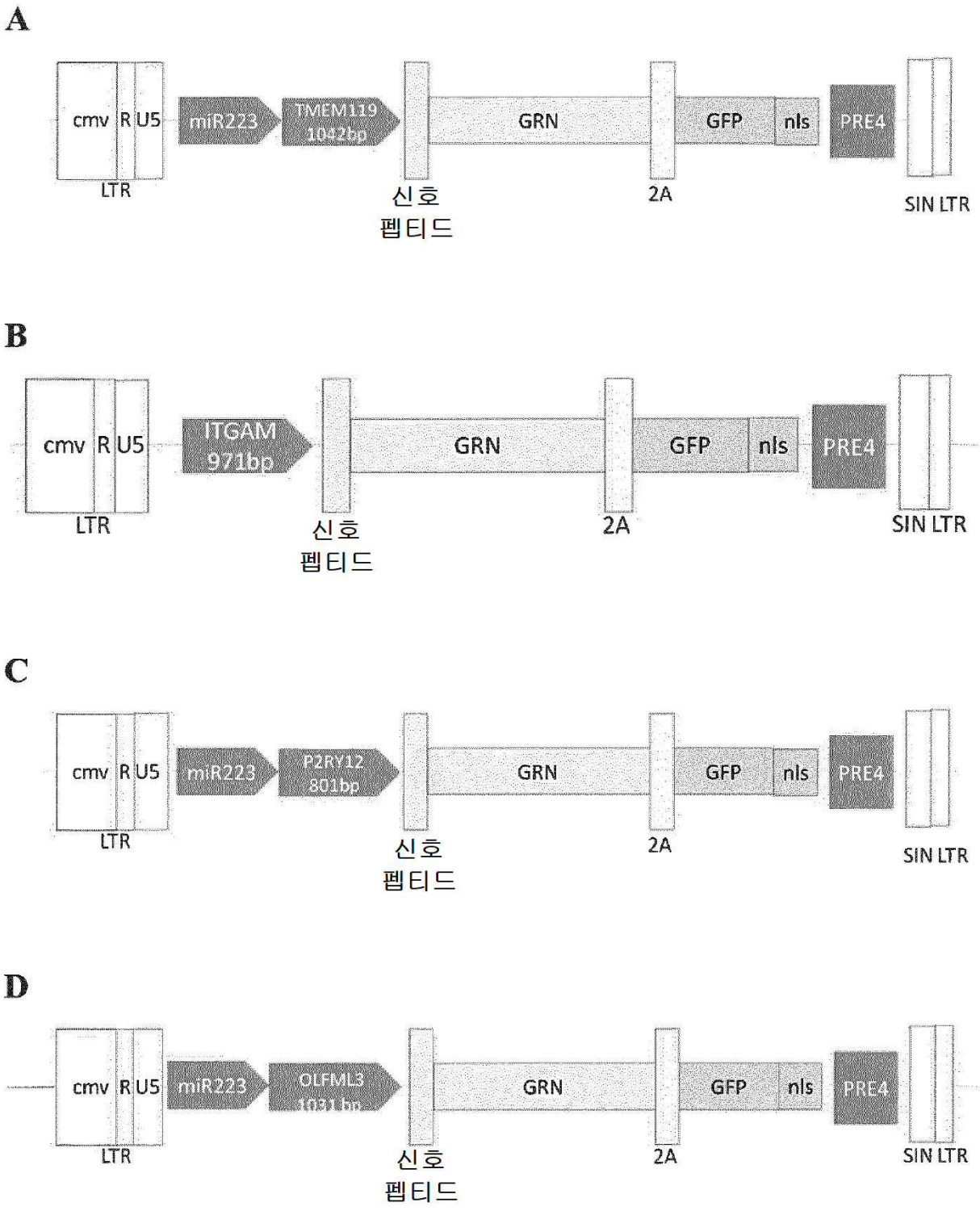

SSC-A
0
50K
100K
150K
200K
250K
mCherry-A
-10^3
0
10^3
10^4
10^5
mCherry+
0.18


SSC-A
0
50K
100K
150K
200K
250K
mCherry-A
-10^3
0
10^3
10^4
10^5
mCherry+
98.7

도면8

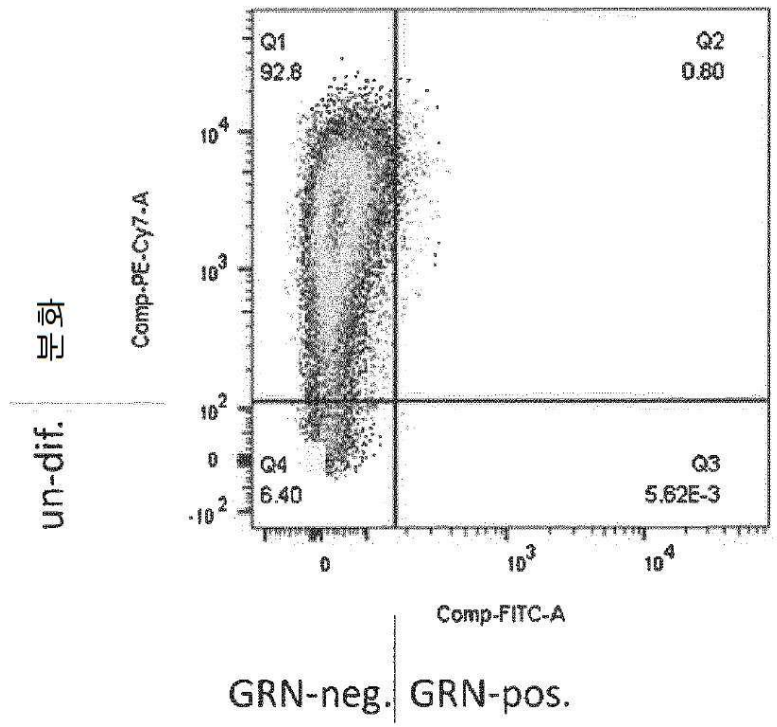

SSC-A
0
50K
100K
150K
200K
250K
mCherry-A
-10^3
0
10^3
10^4
10^5
mCherry+
0.87
SSC-A
0
50K
100K
150K
200K
250K
mCherry-A
-10^3
0
10^3
10^4
10^5
mCherry+
99.7

도면9

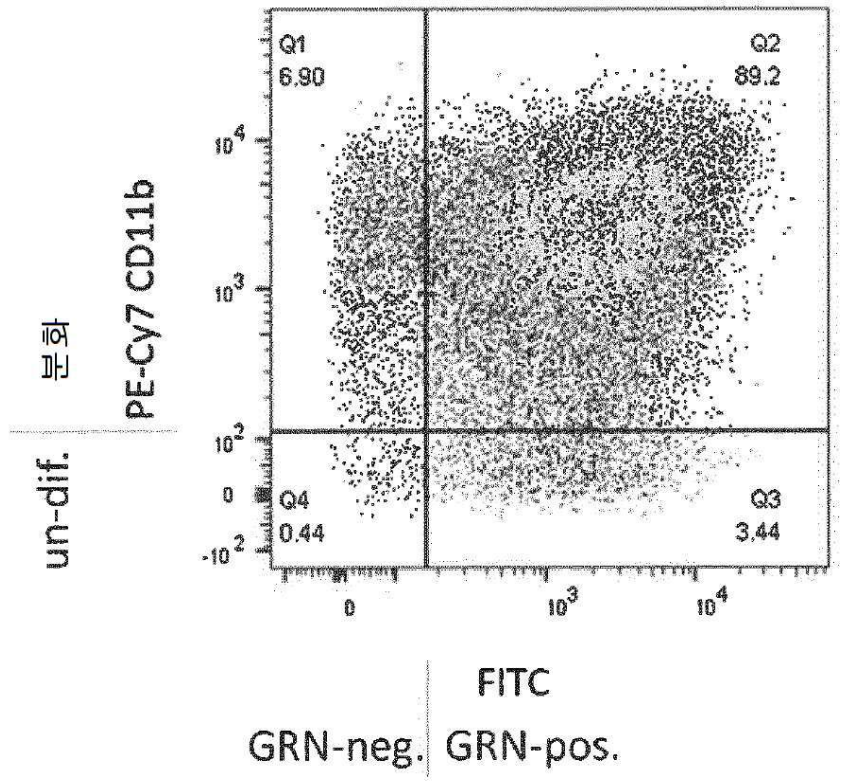

A
cmv
R
U5
LTR
miR223
TMEM119
1042bp
신호
펩티드
GRN
2A
GFP
nls
PRE4
SIN LTR
B
cmv
R
U5
LTR
ITGAM
971bp
신호
펩티드
GRN
2A
GFP
nls
PRE4
SIN LTR
C
cmv
R
U5
LTR
miR223
P2RY12
801bp
신호
펩티드
GRN
2A
GFP
nls
PRE4
SIN LTR
D
cmv
R
U5
LTR
miR223
OLFML3
신호
펩티드
GRN
2A
GFP
nls
PRE4
SIN LTR

도면10ab

A

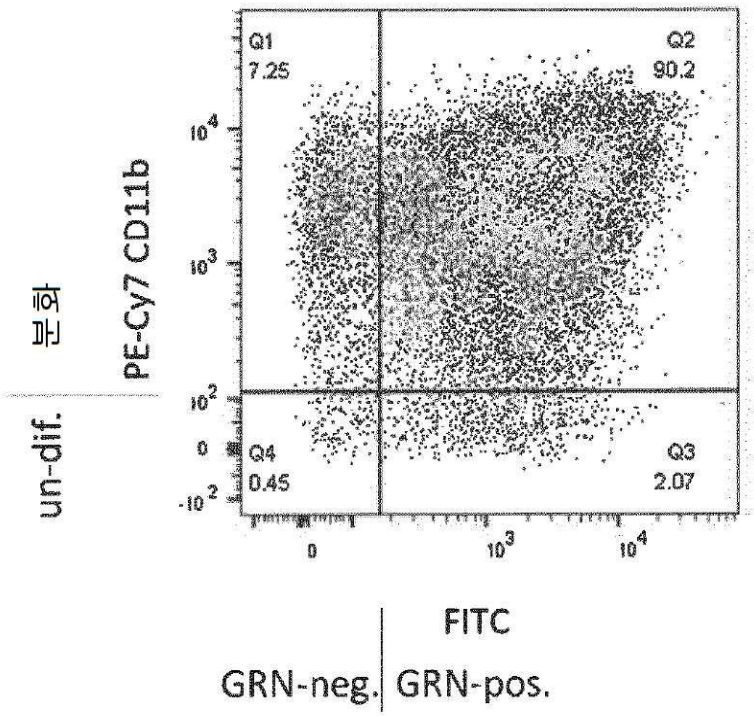

Q1
92.8
Q2
0.80
Q4
6.40
Q3
5.62E-3
Comp-PE-Cy7-A
Comp-FITC-A
분화
un-dif.
GRN-neg.
GRN-pos.

B

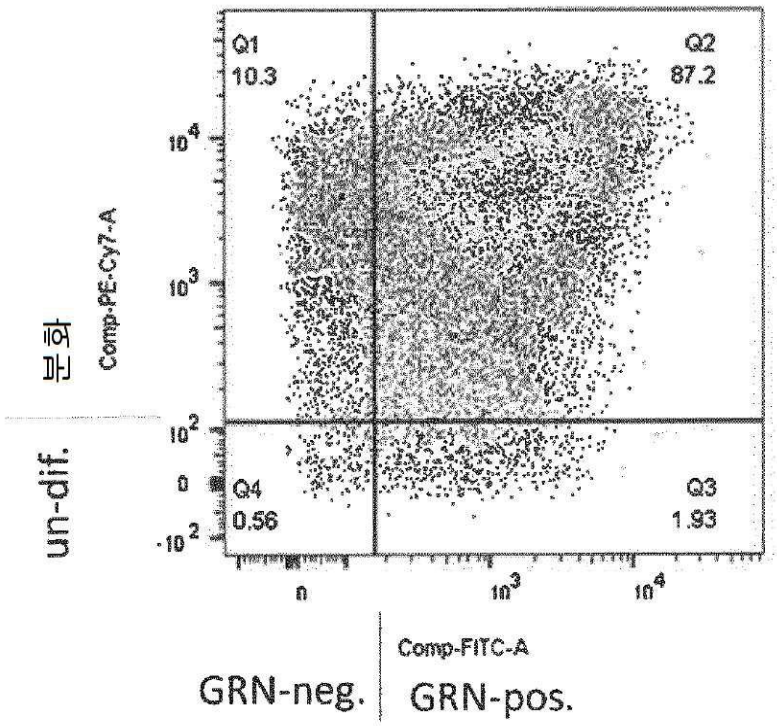

Q1
6.90
Q2
89.2
Q4
0.44
Q3
3.44
PE-Cy7 CD11b
FITC
분화
un-dif.
GRN-neg.
GRN-pos.

도면10cd

C

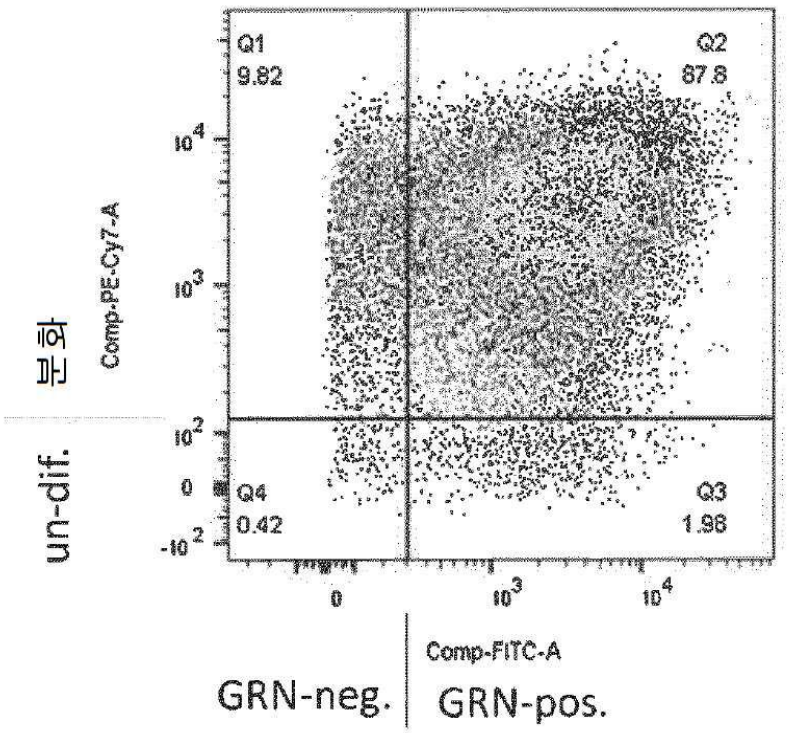

Q1
7.25
Q2
90.2
Q4
0.45
Q3
2.07
분화
un-dif.
PE-Cy7 CD11b
FITC
GRN-neg.
GRN-pos.

D

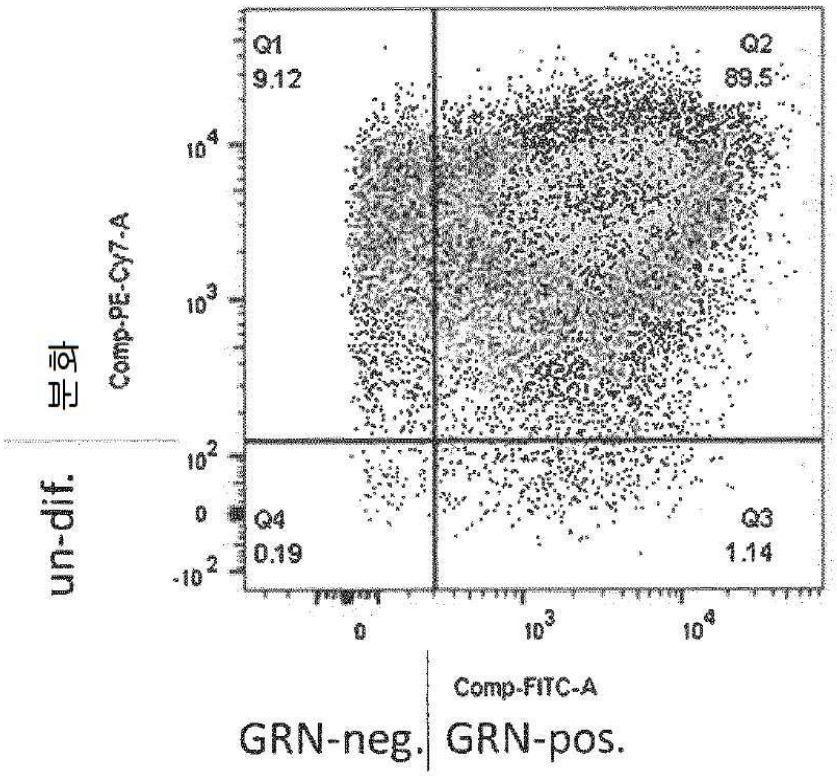

Q1
10.3
Q2
87.2
Q4
0.56
Q3
1.93
분화
un-dif.
Comp-PE-Cy7-A
Comp-FITC-A
GRN-neg.
GRN-pos.

도면10ef

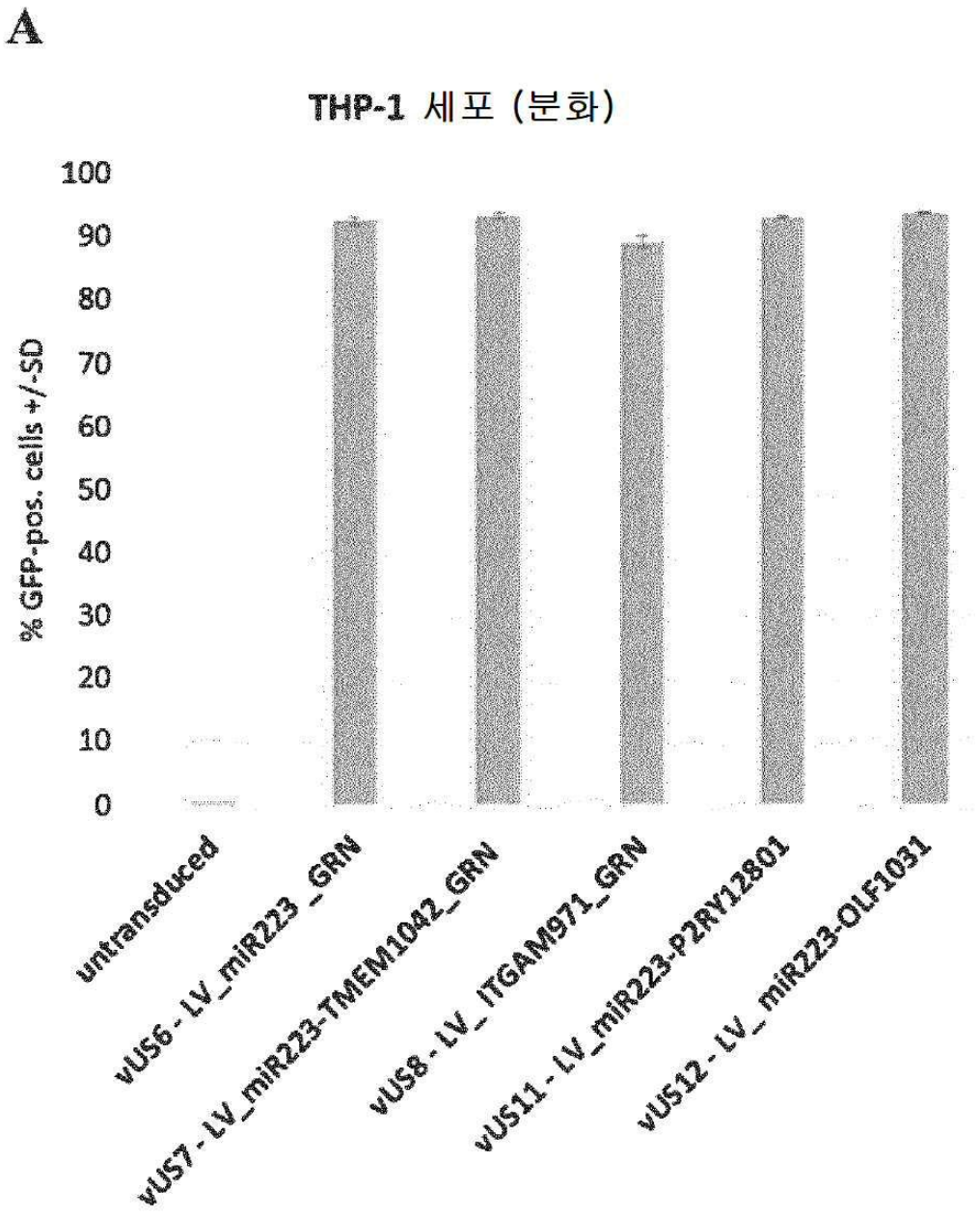
E


Q1
9.82
Q2
87.8
Q4
0.42
Q3
1.98
분화
un-dif.
Comp-PE-Cy7-A
Comp-FITC-A
GRN-neg.
GRN-pos.

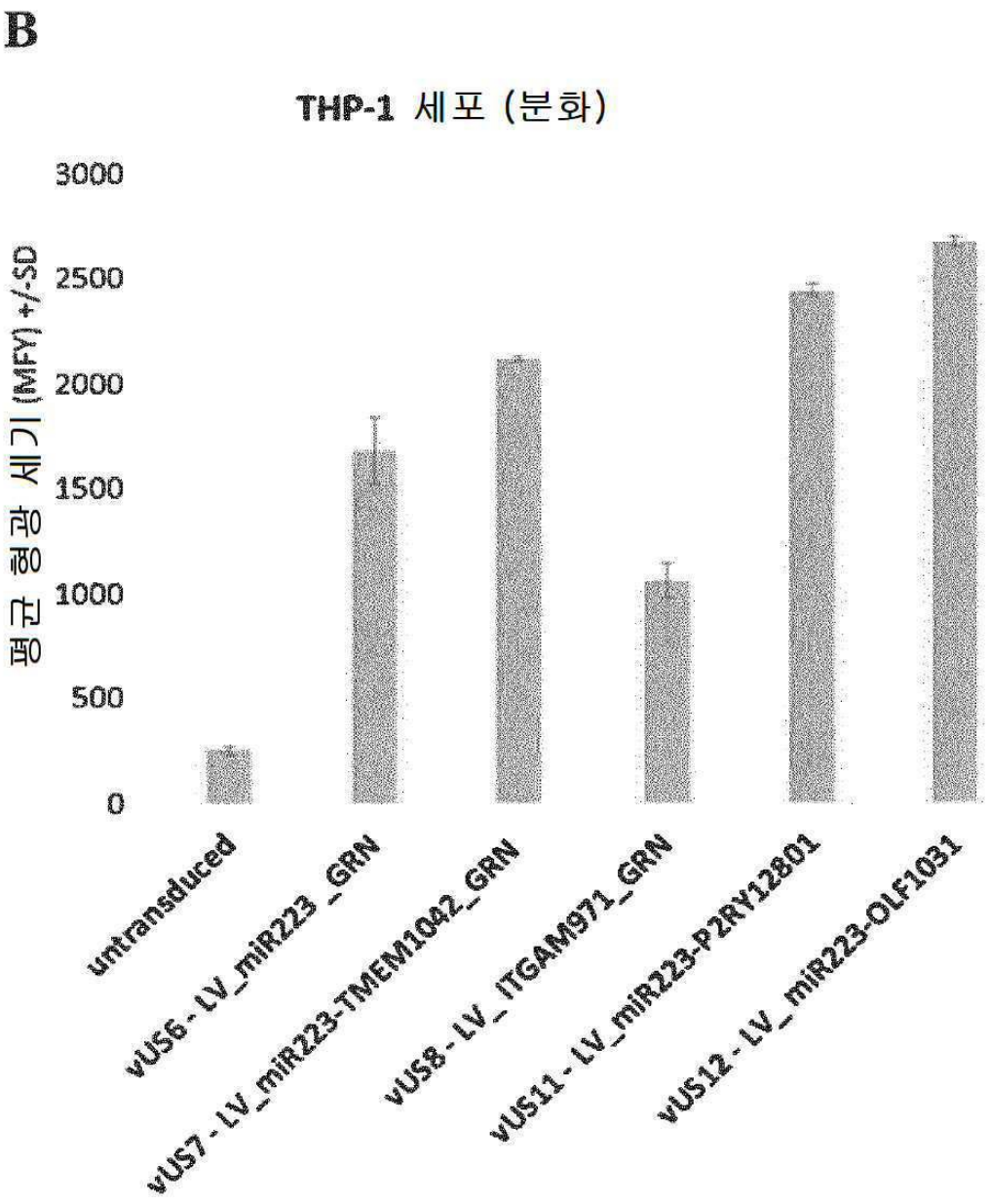
F


Q1
9.12
Q2
89.5
Q4
0.19
Q3
1.14
분화
un-dif.
Comp-PE-Cy7-A
Comp-FITC-A
GRN-neg.
GRN-pos.

도면11a

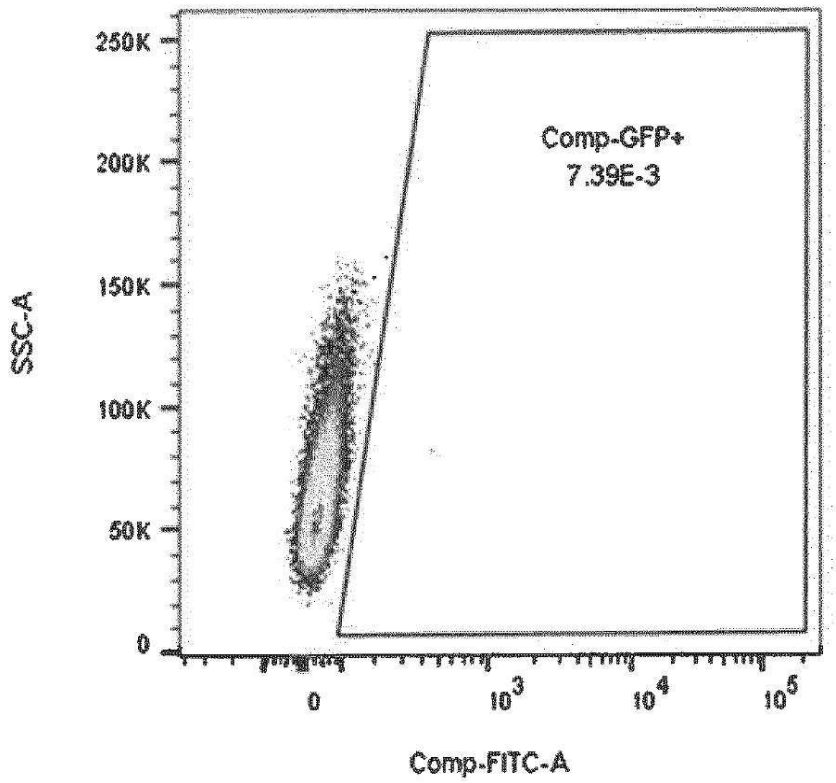

A
THP-1 세포 (분화)
% GFP-pos. cells +/-SD
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
untransduced
vUS6 - LV_miR223 _GRN
vUS7 - LV_miR223-TMEM1042_GRN
vUS8 - LV_ ITGAM971_GRN
vUS11 - LV_miR223-P2RY12801
vUS12 - LV_ miR223-OLF1031

도면11b

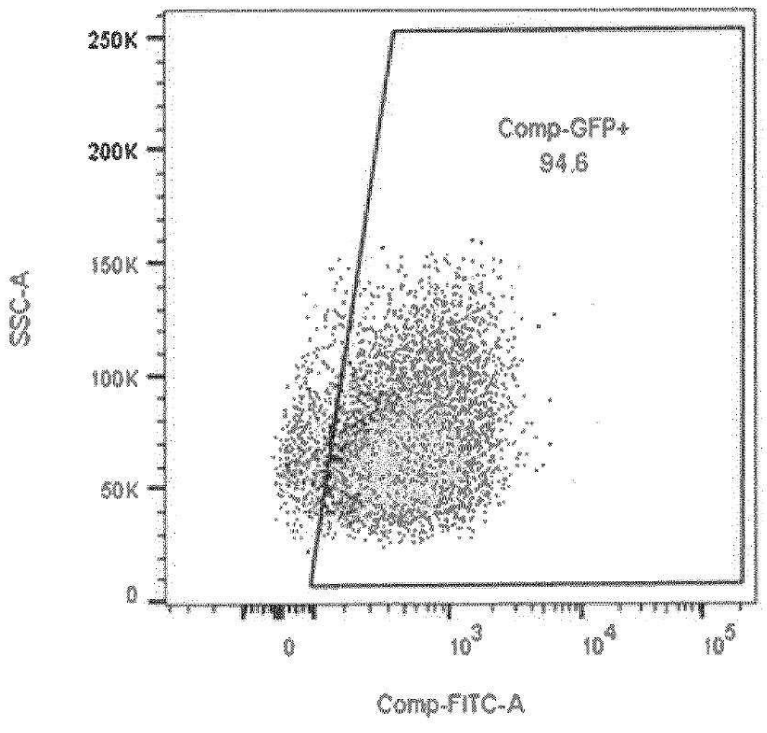

B
THP-1 세포 (분화)
평균 형광 세기 (MFY) +/-SD
3000
2500
2000
1500
1000
500
0
untransduced
vUS6 - LV_miR223 _GRN
vUS7 - LV_miR223-TMEM1042_GRN
vUS8 - LV_ ITGAM971_GRN
vUS11 - LV_miR223-P2RY12801
vUS12 - LV_ miR223-OLF1031

도면12ab

A

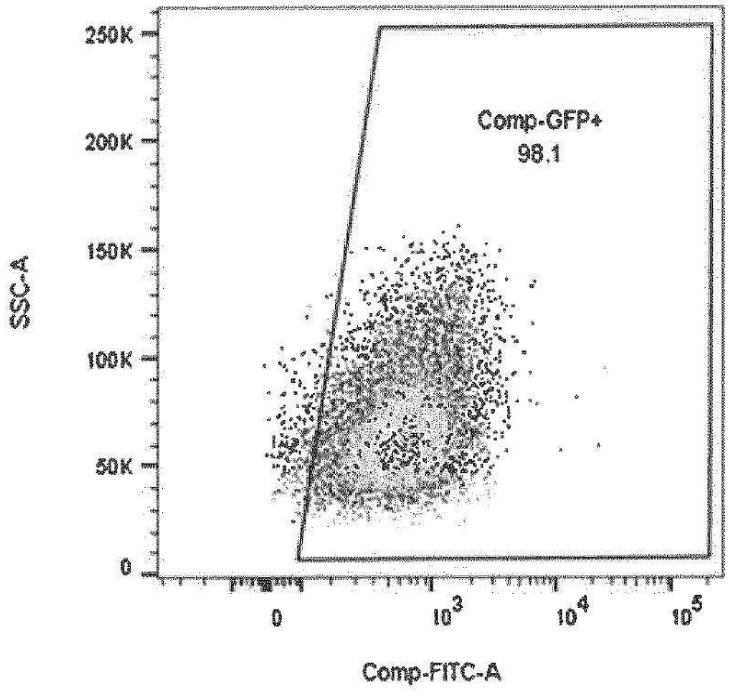

250K
200K
150K
100K
50K
0
SSC-A
Comp-GFP+
7.39E-3
0
10^3
10^4
10^5
Comp-FITC-A

B

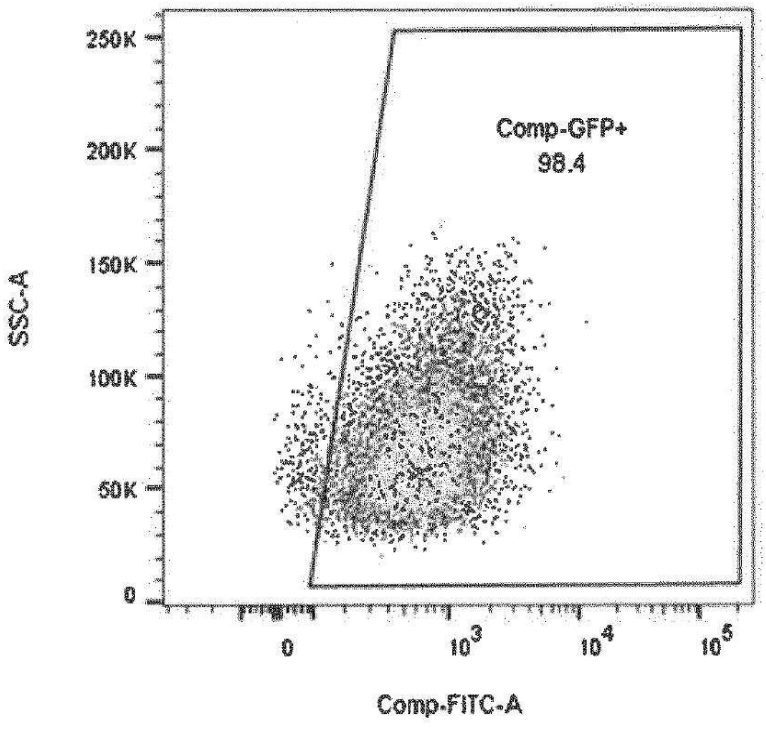

250K
200K
150K
100K
50K
0
SSC-A
Comp-GFP+
94.6
0
10^3
10^4
10^5
Comp-FITC-A

도면12cd

C

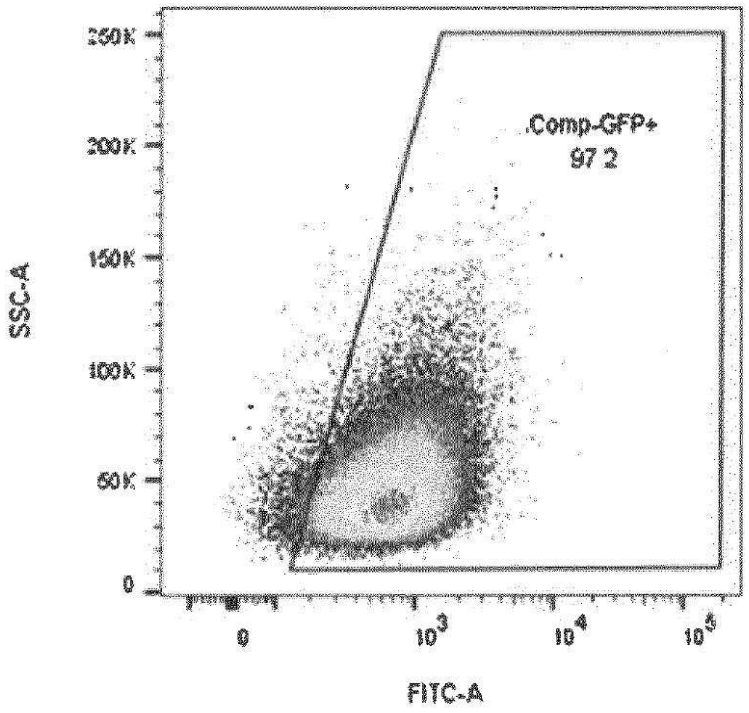

250K
200K
150K
100K
50K
0
SSC-A
Comp-GFP+
98.1
0
10^3
10^4
10^5
Comp-FITC-A

D

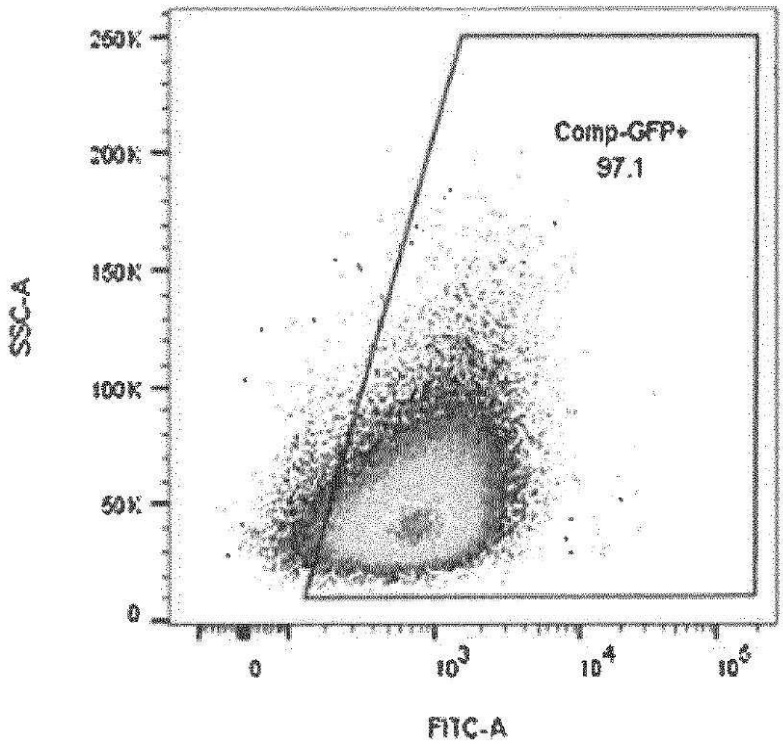

250K
200K
150K
100K
50K
0
SSC-A
Comp-GFP+
98.4
0
10^3
10^4
10^5
Comp-FITC-A

도면12ef

E

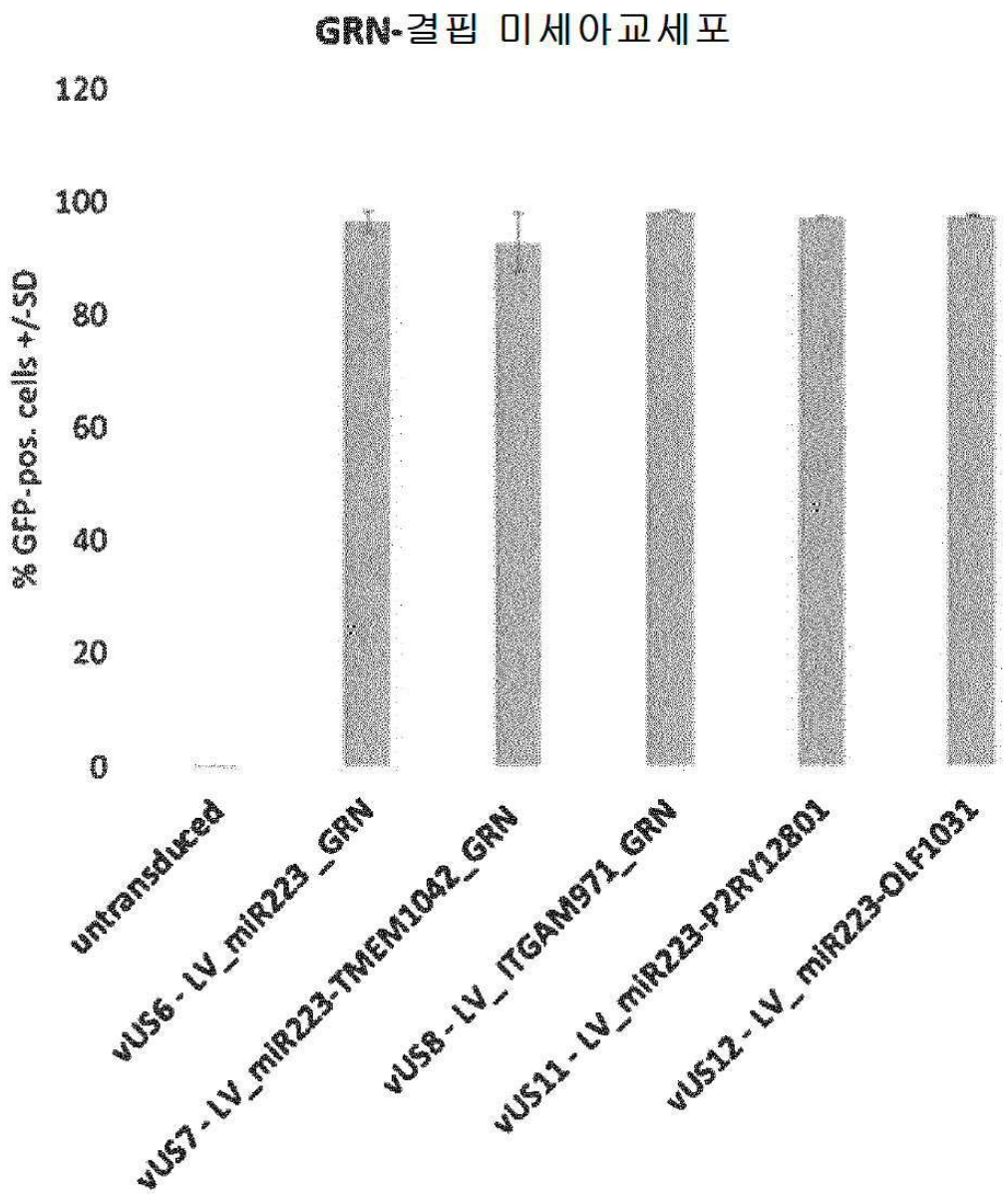

250K
200K
150K
100K
50K
0
SSC-A
Comp-GFP+
97.2
0
10^3
10^4
10^5
FITC-A

F

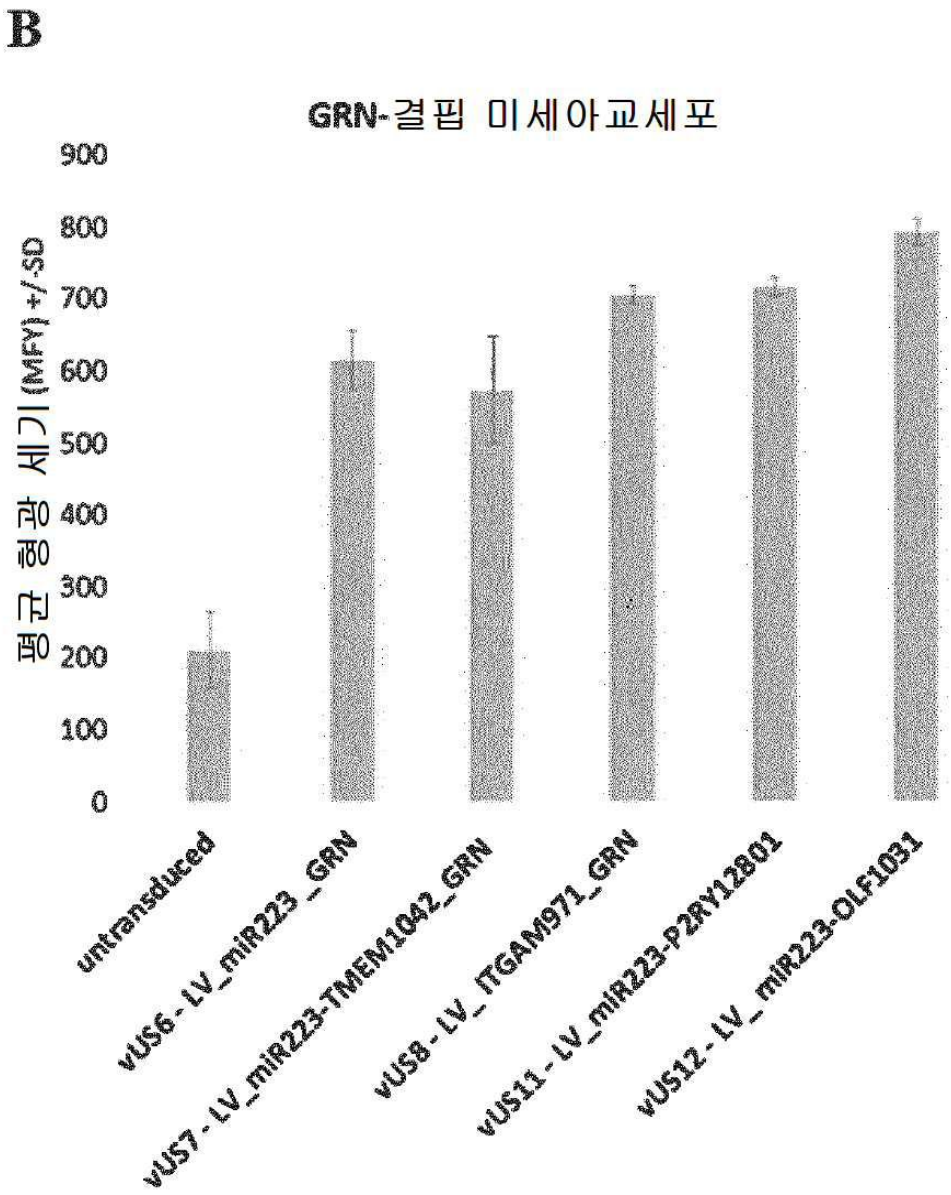

250K
200K
150K
100K
50K
0
SSC-A
Comp-GFP+
97.1
0
10^3
10^4
10^5
FITC-A

도면13a

A

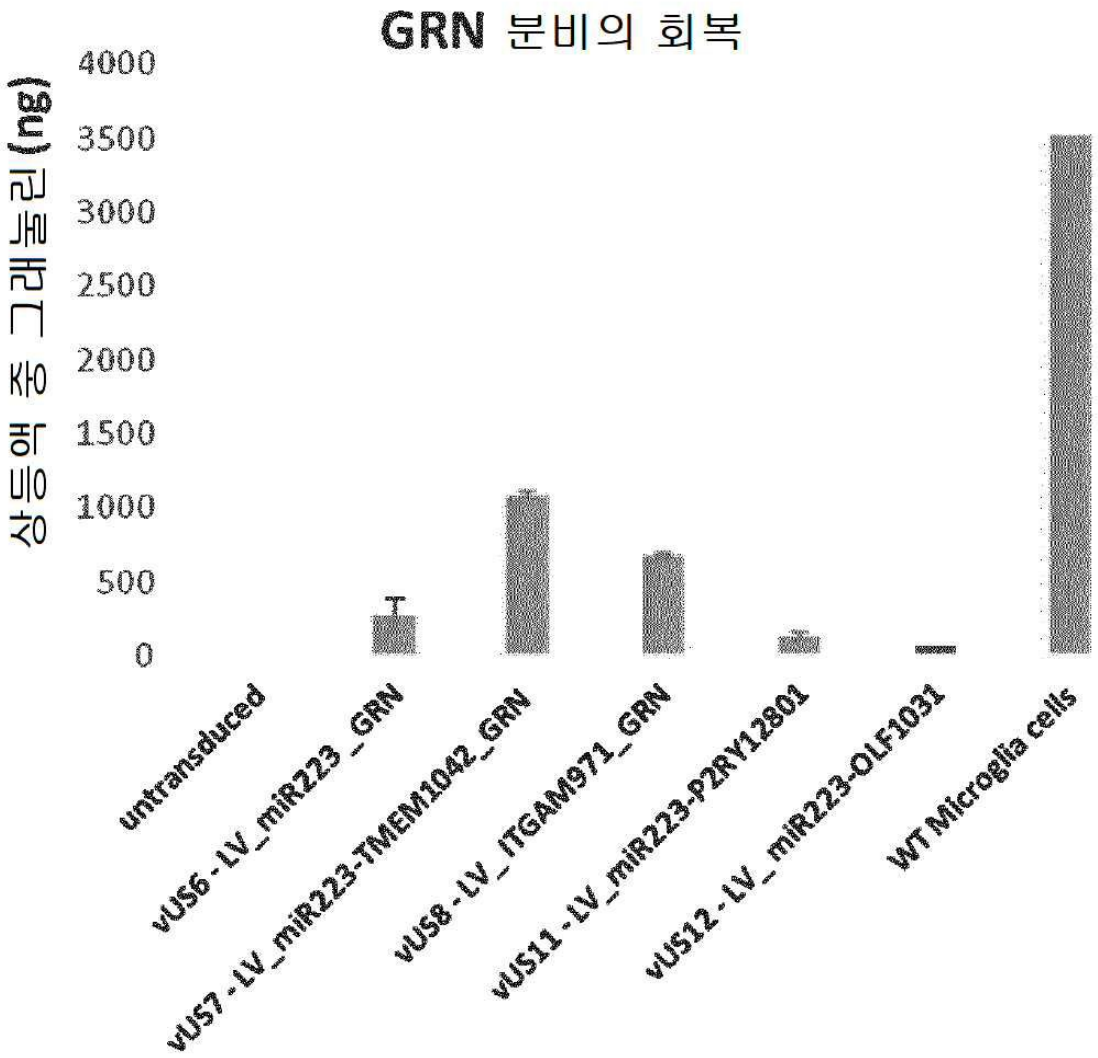

GRN-결핍 미세아교세포
% GFP-pos. cells +/-SD
120
100
80
60
40
20
0
untransduced
vUS6 - LV_miR223 _GRN
vUS7 - LV_miR223-TMEM1042_GRN
vUS8 - LV_ ITGAM971_GRN
vUS11 - LV_miR223-P2RY12801
vUS12 - LV_ miR223-OLF1031

도면13b


B
GRN-결핍 미세아교세포
평균 형광 세기 (MFI) +/-SD
900
800
700
600
500
400
300
200
100
0
untransduced
vUS6 - LV_miR223 _GRN
vUS7 - LV_miR223-TMEM1042_GRN
vUS8 - LV_ ITGAM971_GRN
vUS11 - LV_miR223-P2RY12801
vUS12 - LV_ miR223-OLF1031

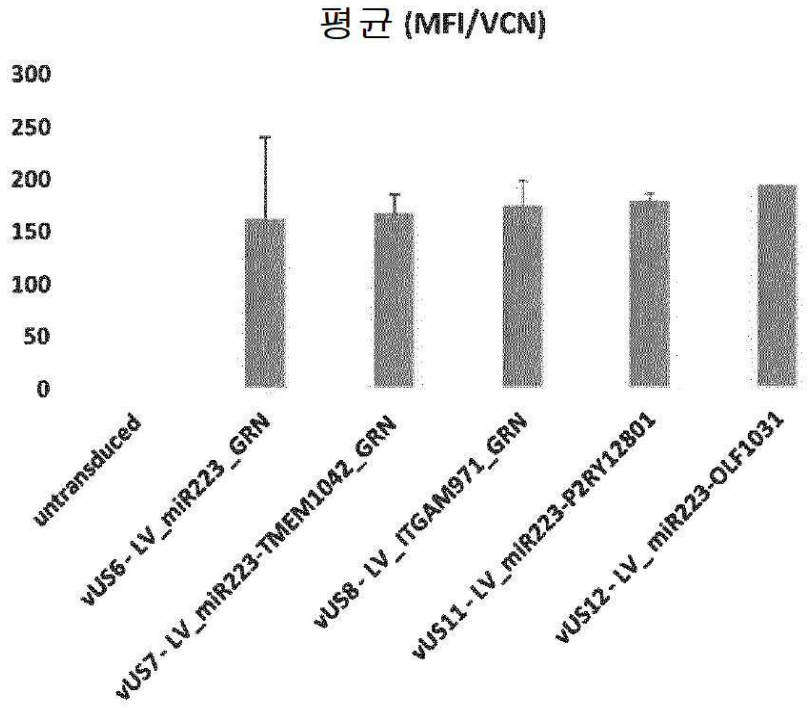
도면14a

A

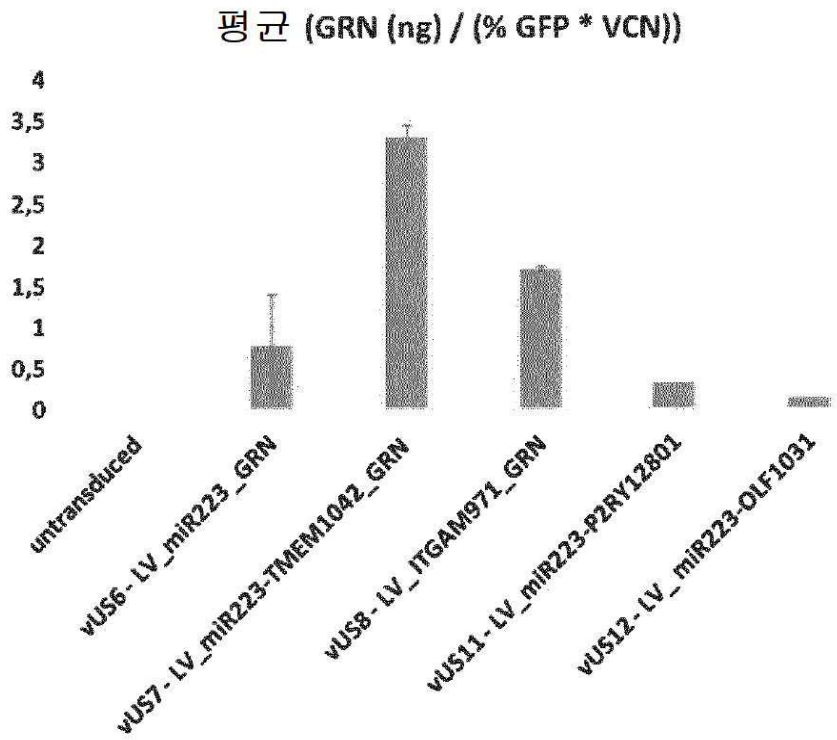

GRN 분비의 회복
상등액 중 그래뉼린 (ng)
4000
3500
3000
2500
2000
1500
1000
500
0
untransduced
vUS6 - LV_miR223 _GRN
vUS7 - LV_miR223-TMEM1042_GRN
vUS8 - LV_ ITGAM971_GRN
vUS11 - LV_miR223-P2RY12801
vUS12 - LV_ miR223-OLF1031
WT Microglia cells

도면14bc

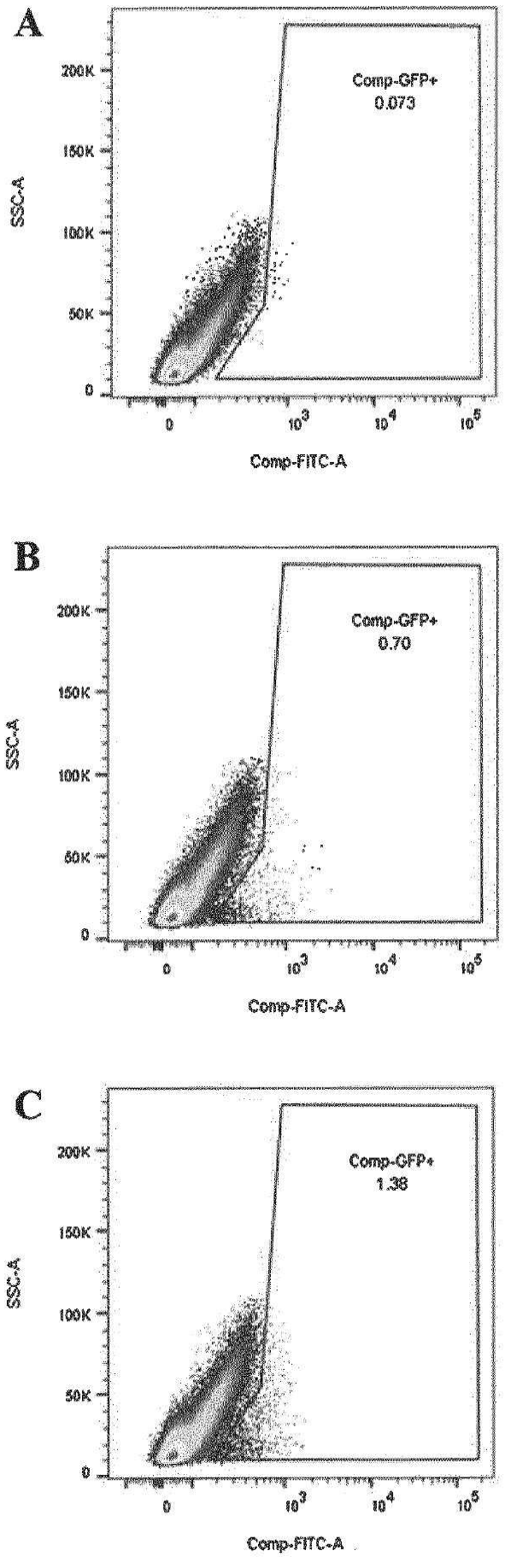
B


평균 (MFI/VCN)
300
250
200
150
100
50
0
untransduced
vUS6 - LV_miR223_GRN
vUS7 - LV_miR223-TMEM1042_GRN
vUS8 - LV_ITGAM971_GRN
vUS11 - LV_miR223-P2RY12801
vUS12 - LV_ miR223-OLF1031

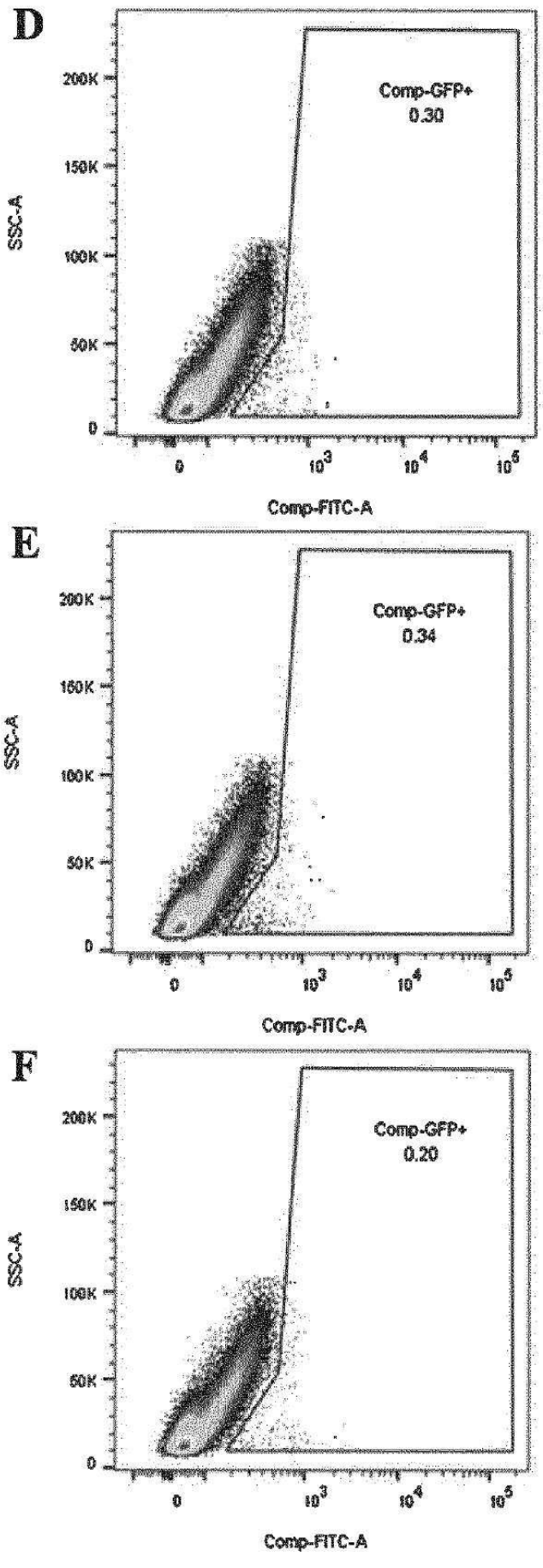
C


평균 (GRN (ng) / (% GFP * VCN))
4
3,5
3
2,5
2
1,5
1
0,5
0
untransduced
vUS6 - LV_miR223_GRN
vUS7 - LV_miR223-TMEM1042_GRN
vUS8 - LV_ITGAM971_GRN
vUS11 - LV_miR223-P2RY12801
vUS12 - LV_ miR223-OLF1031

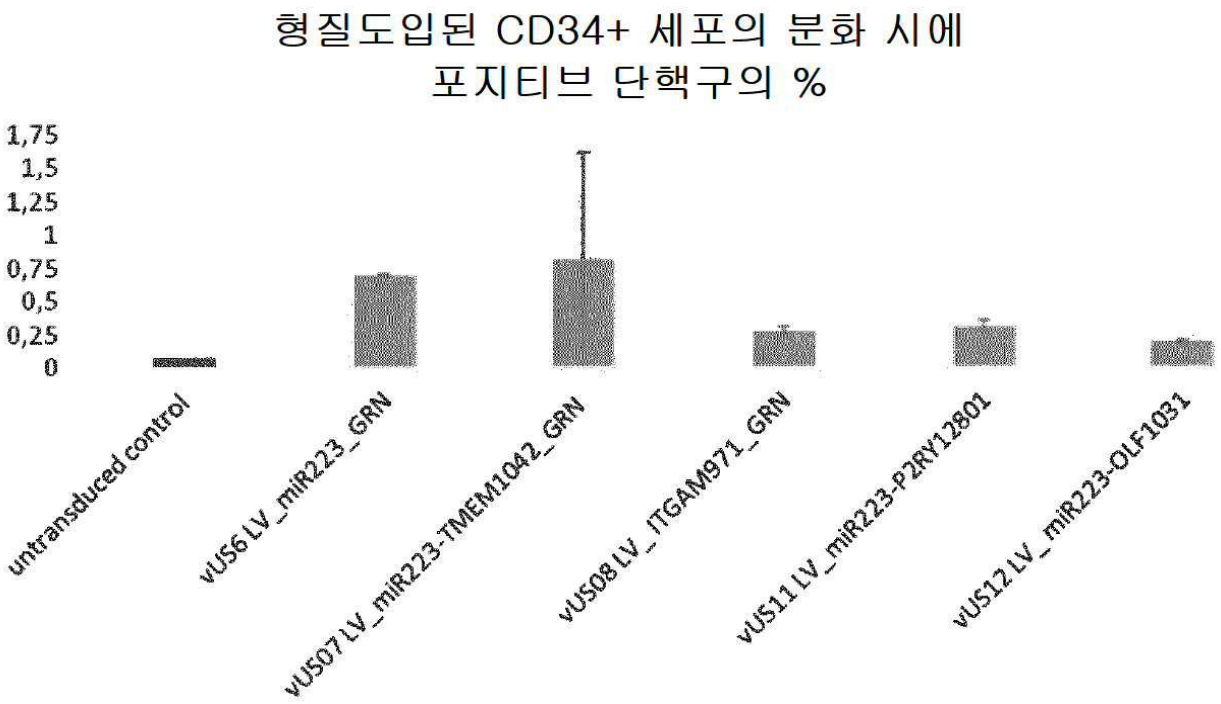
도면15abc


A
200K
150K
100K
50K
0
SSC-A
Comp-GFP+
0.073
0
10^3
10^4
10^5
Comp-FITC-A
B
200K
150K
100K
50K
0
SSC-A
Comp-GFP+
0.70
0
10^3
10^4
10^5
Comp-FITC-A
C
200K
150K
100K
50K
0
SSC-A
Comp-GFP+
1.38
0
10^3
10^4
10^5
Comp-FITC-A

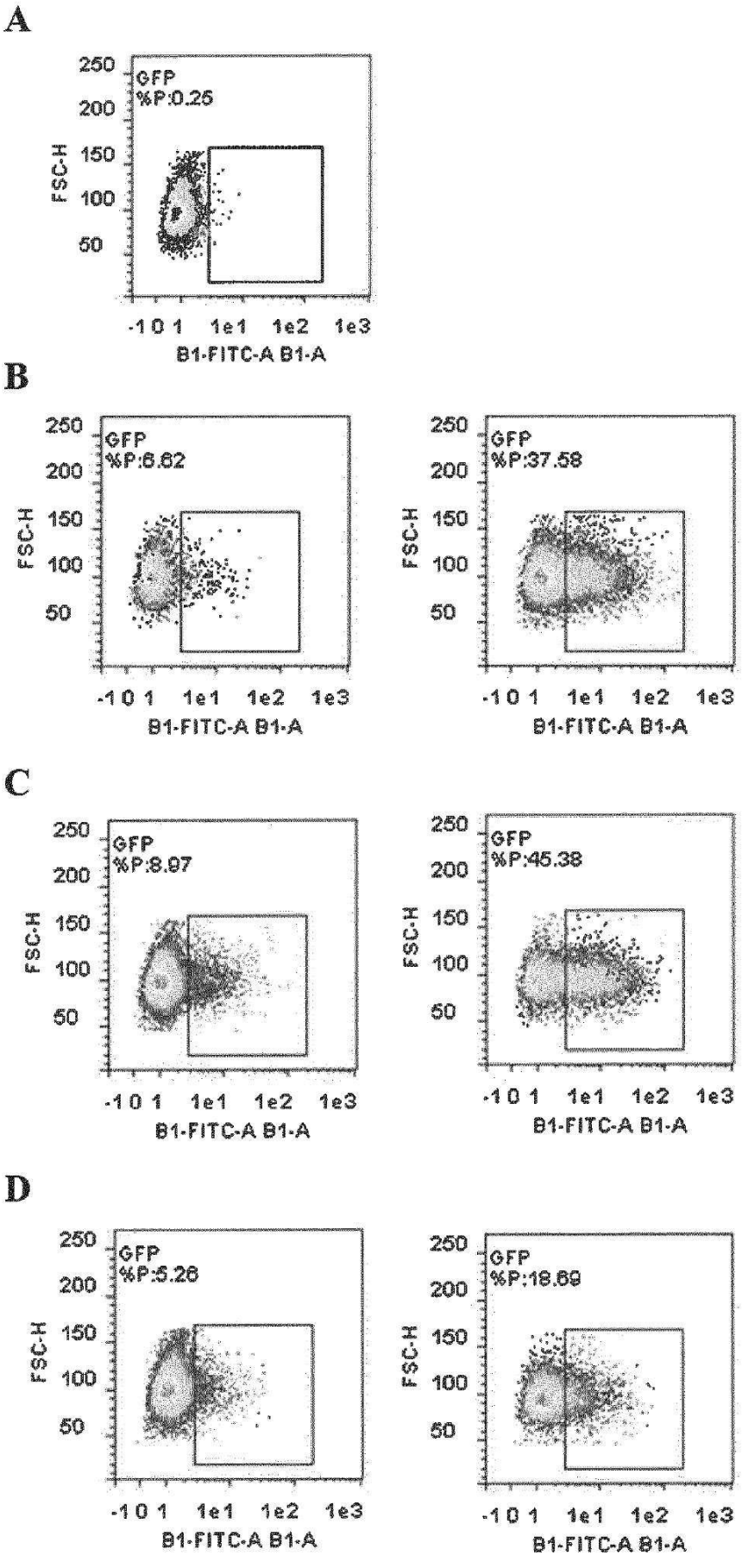
도면15def


D
Comp-GFP+
0.30
SSC-A
200K
150K
100K
50K
0
0
10^3
10^4
10^5
Comp-FITC-A
E
Comp-GFP+
0.34
SSC-A
200K
150K
100K
50K
0
0
10^3
10^4
10^5
Comp-FITC-A
F
Comp-GFP+
0.20
SSC-A
200K
150K
100K
50K
0
0
10^3
10^4
10^5
Comp-FITC-A

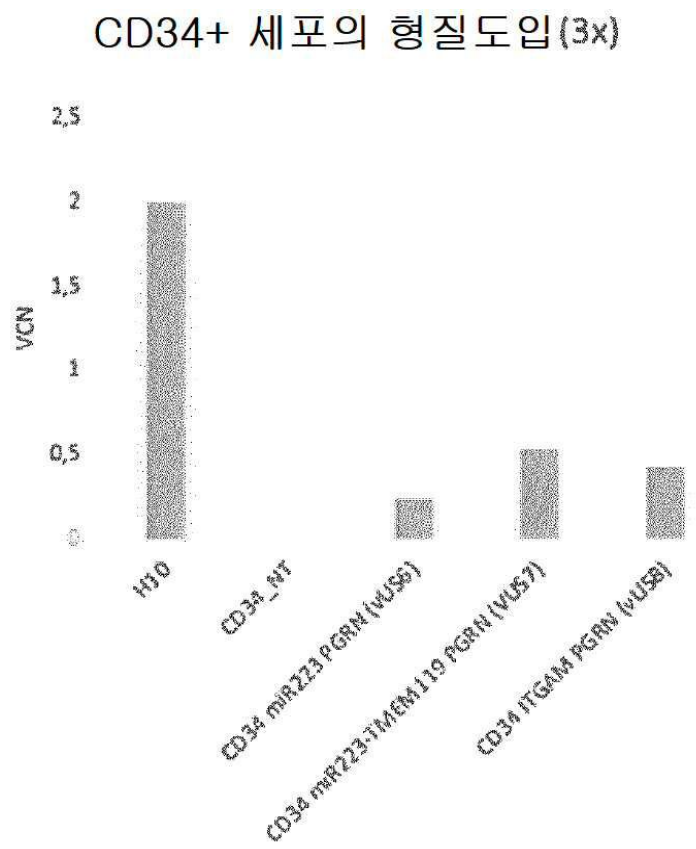
도면16

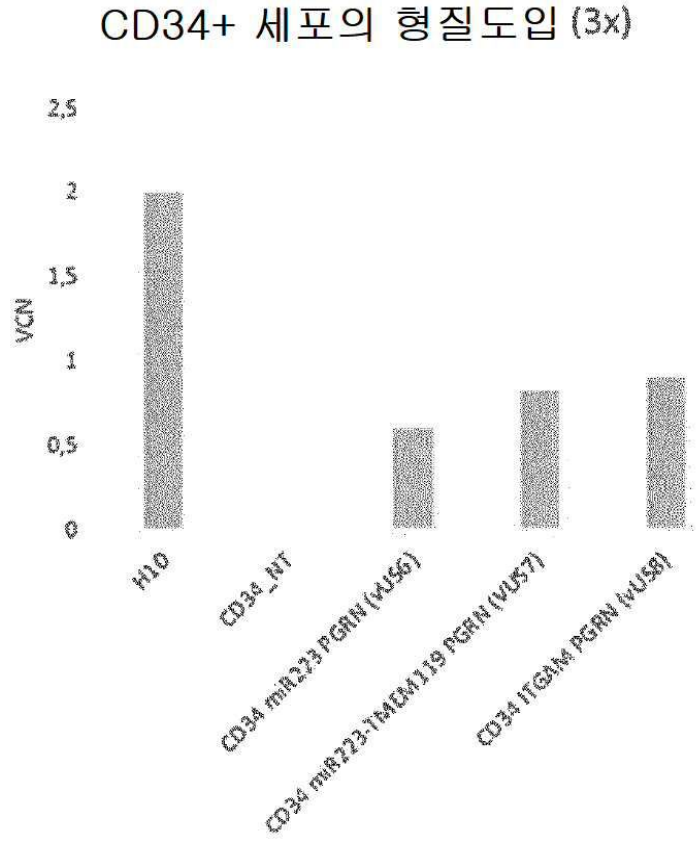

형질도입된 CD34+ 세포의 분화 시에
포지티브 단핵구의 %
1,75
1,5
1,25
1
0,75
0,5
0,25
0
untransduced control
vUS6 LV_miR223_GRN
vUS07 LV_miR223-TMEM1042_GRN
vUS08 LV_ITGAM971_GRN
vUS11 LV_miR223-P2RY12801
vUS12 LV_miR223-OLF1031

도면17

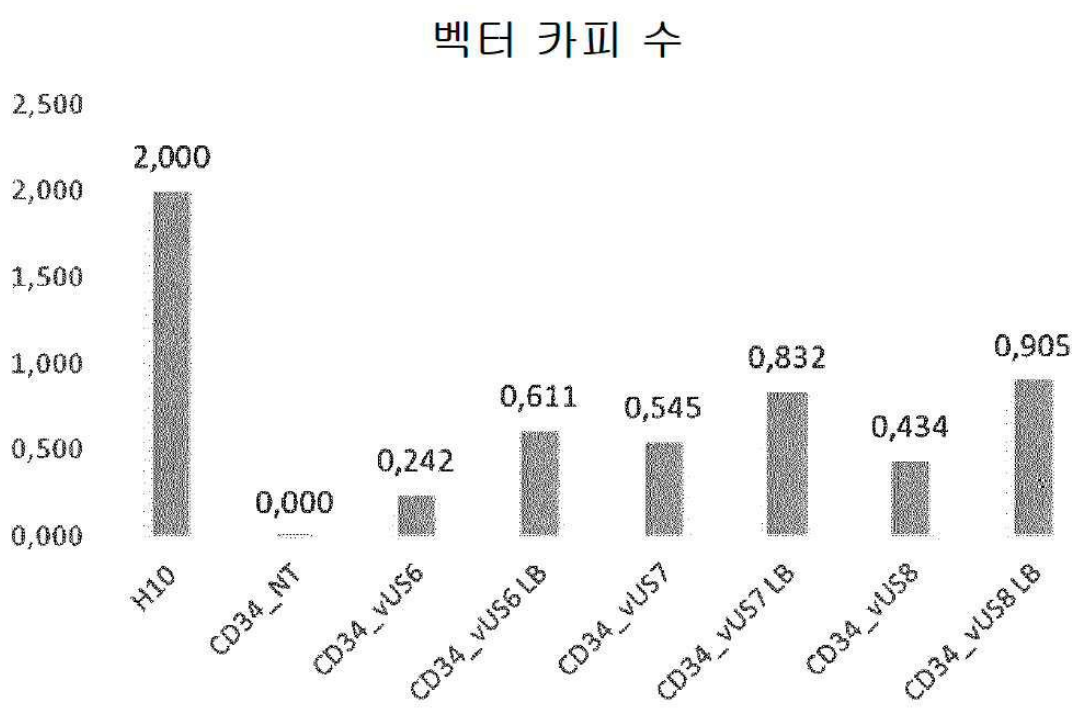

A
GFP
%P:0.25
FSC-H
250
200
150
100
50
-1 0 1
1e1
1e2
1e3
B1-FITC-A B1-A
B
GFP
%P:6.62
GFP
%P:37.58
C
GFP
%P:8.97
GFP
%P:45.38
D
GFP
%P:5.26
GFP
%P:18.69

도면18

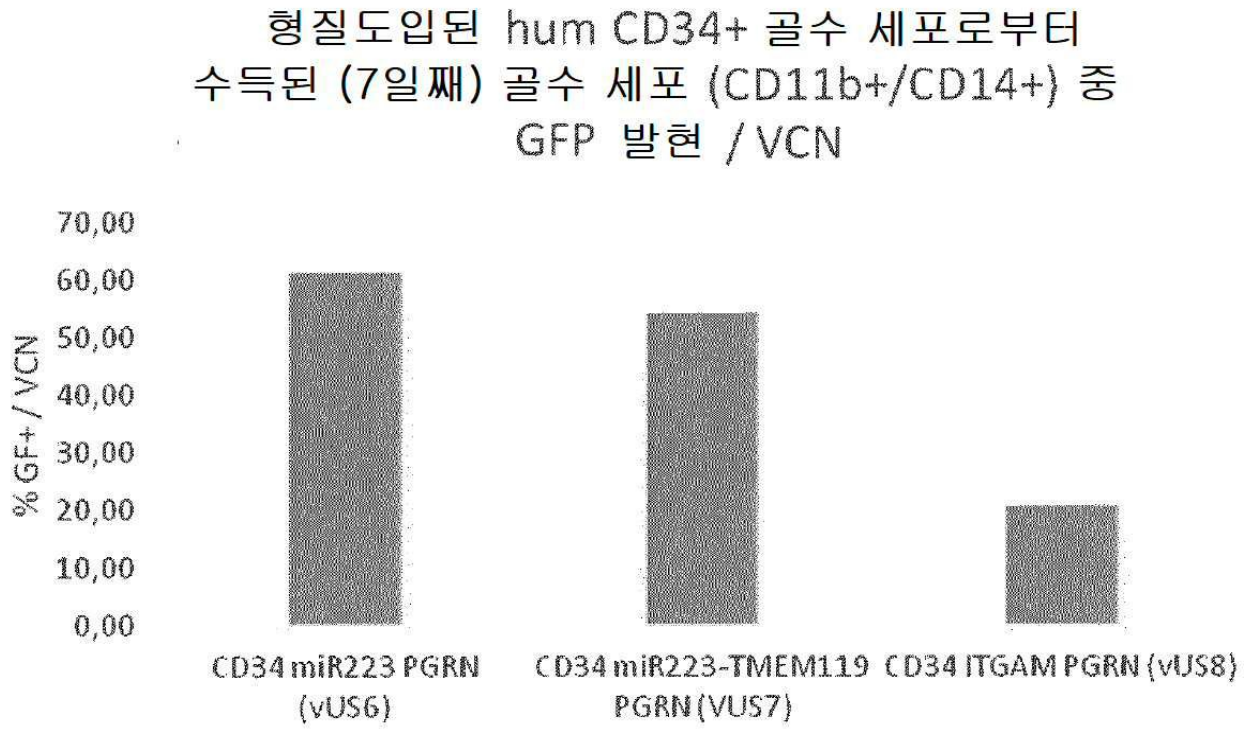

CD34+ 세포의 형질도입(3x)
VCN
2,5
2
1,5
1
0,5
0
H10
CD34_NT
CD34 miR223 PGRN (vUS6)
CD34 miR223-TMEM119 PGRN (vUS7)
CD34 ITGAM PGRN (vUS8)


CD34+ 세포의 형질도입 (3x)
VCN
2,5
2
1,5
1
0,5
0
H10
CD34_NT
CD34 miR223 PGRN (vUS6)
CD34 miR223-TMEM119 PGRN (vUS7)
CD34 ITGAM PGRN (vUS8)

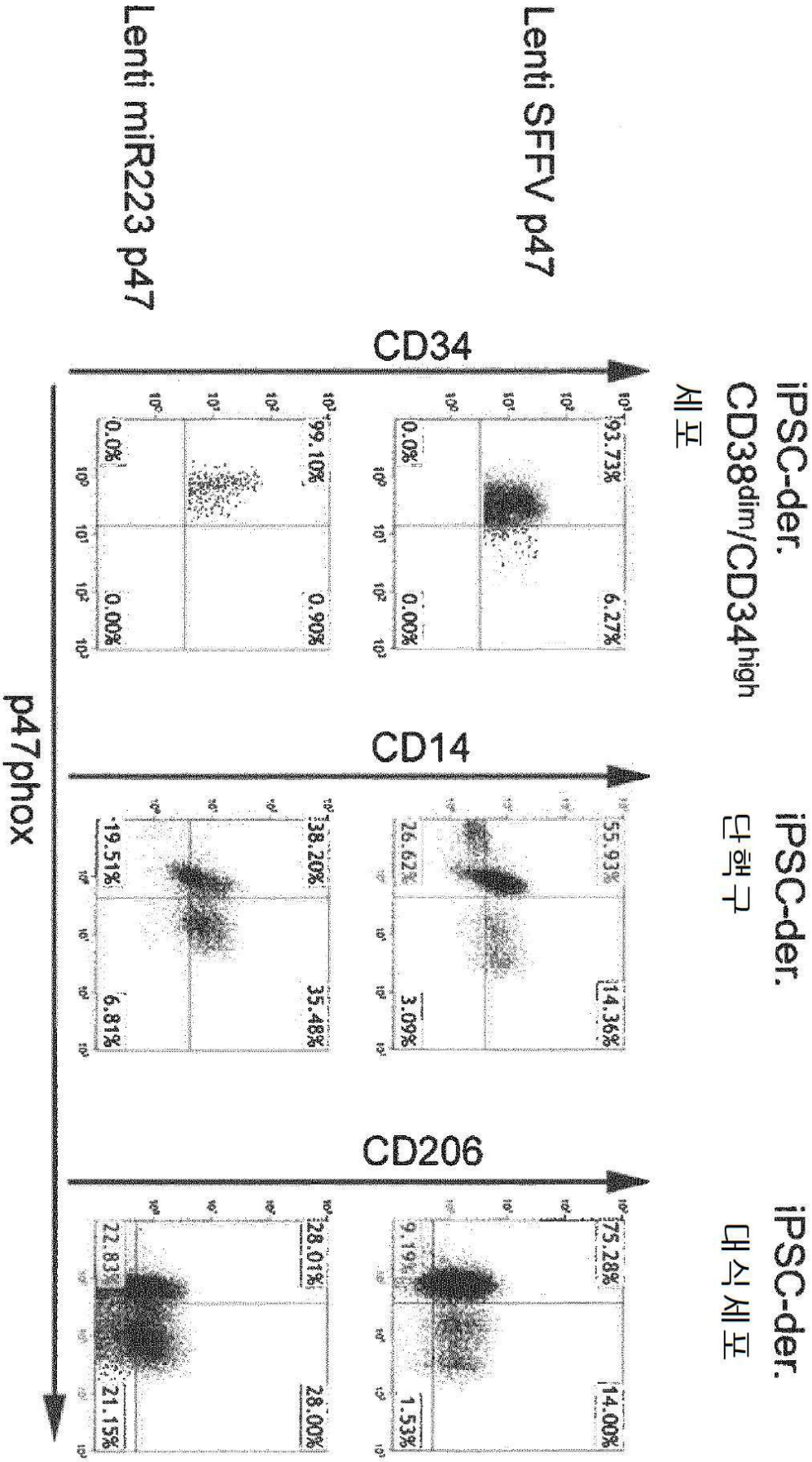
도면19


벡터 카피 수
2,500
2,000
1,500
1,000
0,500
0,000
2,000
0,000
0,242
0,611
0,545
0,832
0,434
0,905
H10
CD34_NT
CD34_vUS6
CD34_vUS6 LB
CD34_vUS7
CD34_vUS7 LB
CD34_vUS8
CD34_vUS8 LB

도면20


형질도입된 hum CD34+ 골수 세포로부터
수득된 (7일째) 골수 세포 (CD11b+/CD14+) 중
GFP 발현 / VCN
% GF+ / VCN
70,00
60,00
50,00
40,00
30,00
20,00
10,00
0,00
CD34 miR223 PGRN (vUS6)
CD34 miR223-TMEM119 PGRN (VUS7)
CD34 ITGAM PGRN (vUS8)

도면21


Lenti SFFV p47
Lenti miR223 p47
CD34
CD14
CD206
p47phox
iPSC-der.
CD38dim/CD34high
세포
iPSC-der.
단핵구
iPSC-der.
대식세포
0.0%
99.10%
0.00%
0.90%
0.0%
93.73%
0.00%
6.27%
19.51%
38.20%
6.81%
35.48%
26.62%
55.93%
3.09%
14.36%
22.83%
28.01%
21.15%
28.00%
9.19%
75.28%
1.53%
14.00%

서 열 목 록

SEQUENCE LISTING

<110> Universitat Zurich

<120> Viral Vectors

<130> AD2195 PCT BS

<160> 35

<170> BiSSAP 1.3.6

<210> 1

<211> 778

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> miR223 promoter sequence

<400> 1

acttgtacag cttcacaggg ctccatgctt agaaggaccc cacacttagt ttaatgttct 60

gctgtcatca tcttgatatt cttaattttt aaataaaggg cctatcgttt tcatttttta 120

ctgggccttg caaattatgt agctggttct gtatgccagg agagaagttg gaagtaaaat 180

ggtattccag gaccaggagg cattctggca gagtgaaaga acatgtgatt tggagtccat 240

ggggatgggt ttaaatttca gctttccact aatttgcttt gtgatactga gtatttcctt 300

ttatccctca gaggctctgt ttctcaattt tgactacggg ttttttcatt agataatgtc 360

tcagttctgg tattccaggt ttccctcaat tattctggga aaacctcctt gacccacagg 420

cagagcctag ggcagccagg tgctttctac tctctctctc tctgcagctt ggaaagttag 480

tgtctgttga aggtcagctg ggagttggtg gaggcagggc agtggcctgc tactattgct 540

gcagtagcag acccttttcac aacagcattg ttttgtcatt ttgcatccag atttccgttg 600

gctaacctca gtcttatctt cctcatttct gtttcctgtt gaagacacca agggcccttc 660

aaaacacaga agcttcttgc tcacggcaga aagcccaatt ccatctggcc cctgcaggtt 720

ggctcagcac tggggaatca gagtcccctc catgaccaag gcaccactcc actgacag 778

<210> 2

<211> 1424

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> P2Y12 promoter sequence

<400> 2

ggtgttggag aggatgtgga gaaataggaa cacttttaca ctgttggtgg gactataaac 60

tagttcaacc attgtggaag tcagtgtggt gattcctcag tgatctagaa ctagaaatac 120

catttaaccc agccatccca ttactgggta tatacccaaa ggattataag tcatgctgct 180

ataaagacac atgcacacgt atgtttattg cggcactatt cataatagca aagacttgga 240

accaacccaa aagtccaaca atgatagact ggattaagaa aatgtggcac atatacacca 300

tggaatacta tgcagccata aaaaatgatg agttcatgtc ctttgtaggg acatggatga 360

aattagaaat catcattctc agtaaactat cgcaagaaca aaaaaccaaa caccacatat 420

tctcactcat aggtgggaac tgaacaatga gaacacatgg acacaggaag ggaaacacta 480

cactctgggg actgttgtgg ggtgggggga tgggggaggg atagctttag gagatatacc 540

taatgctaaa tgacgagtta atgggtgtag cacaccagca tggcacatgt atacatatgt 600

aactaacctg cacattgtgc acatgtaccc taaaacttaa cgtataataa taataaaatt 660

aaaaaaaaaa agttaaagca gcaaaacact ttgcccttca atctcacccc taacatattt 720

tttgcccttc tggtttcaaa gttaaacaac tgtaaataat tgtgatacaa ggatgcctta 780

atttaatgtt atattttccc aaaaactcaa agttaggtaa agaaacaaaa aaaaattgtt 840

tatatttaaa ttctattcaa gaaaagcatg aacgacacag tatataataa gcctggcaat 900

ggatacaatc acttctctaa tgtaattttg gaatctgcta atttataata gaaggaagct 960

gtttcaccta caaaggagtt aatcaaacac aggtttaaaa taatgacatt attaaccaag 1020

ggaaaaacaa agggccagag acttaacatc cctagccagc acgcattttg agttaacata 1080

attacttgtt agaagaaaat acatcaccca gtgttgtaca caatatattt cagataaatt 1140

aaccacccaa gaaagcaagc ttaaaatctt ctccaggaag cagacttcga aggcttgatc 1200

tcaacttgga tttatcattt gcatagaaaa taaccataac tcgaagttat aaatcatcaa 1260

ctctatagca ggtttcagta aaaagccgca agattttaaa ttgcttttta aaagatgact 1320

tctcagccat cctcatccca catttcctgg gaaataaaag cagaagtcct aaaagaggac 1380

agatagaaat tcagtgtctg catagctttg agtccagtgt ttga 1424

<210> 3

<211> 1308

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> TMEM119 promoter sequence

<400> 3

gttcctaccc agagagcacg cactcatcct tcatgcactc ccctgttcca aaccctcact 60

ggctccgtac tgcctccgac cttccgagac tttagcctgg ctcctgtcaa catctctgac 120

ccttactaca tgatcctctc tttggtccat gctccagcct aatctaattg cggtggcttg 180

tgcgtggtgg cattcccagc caccatacct ttacccacgc tggtccttcc atgcggaatg 240

cctttccagg gcctgctttg cccgcttctg ctcatacaca ggcatgccct ccaggatggc 300

ttcctacctc tttcccttgg gggattgatc tctctgtctt ggggttctcg gagcccttga 360

cctgacccct ttctgtttgg caaaaaagta atttacctcg gtgtccttct ccctggtagt 420

ctgtgagctc cccaaggctg ggctgtgcct gattcacctc tggaacttgc ttagcacagt 480

gcgtggcctg ctgcaggtgt tcattgagca cttgccgaat gaatgcatga atgaatgaat 540

gaatgaatga atgcaagggg ctgctaatcc acaggactcc tcaggtcagc cagacgtccc 600

ggttccaagg cctgccactg actcacctca ggaccctgct tgaaccatta gaactcaccc 660

tgcctcactt tccccctctg tgaaatgggg ctccaactcc tattcaagct actatcattt 720

gggggcattg tgaggccaca gatcccagaa catcagagtc agaggtagcc cagaaagctt 780

cccacccatc cctacaaatg ggaaactgag gtctggagag ggaagggcag agttgggctc 840

cctgtctcag gctcggaccc accatcaggc ctgtctctaa aacgaatccc agctcccacg 900

ctgcaccctg agcctggaag cctgagccac acaaggacgg ggaattttcc ttcccacttc 960

cagaggcctc tgaacctccc tgagcttgtc ccctttggag ggtattgggc agcagcgtgg 1020

gcagaacccc agctcactgt ctgggggagc gctgcaggac agccttgtct gtctgtctca 1080

gcctgccctg gggacccgag gtcagggagg aagtgccgca tctggtcttc cccagagcga 1140

gagtgtgagc aagggtggga ttgcgtgtgg cccgagagta gcccctcccc tccccctgtc 1200

cccaccccaa accctcttaa tgaaatcaag ctggccctgc ggcccagccg gggagggagg 1260

aaggaggagg gacgggagga gggacgggag gagggagggc gggcaggc 1308

<210> 4

<211> 1417

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> OLFML3 promoter sequence

<400> 4

gcagtgtcca gggtccttac ttcacatcat ctggatctga ccctttgaaa gaggtagaag 60

acttctgaga ccggctaatt aagctttgtt tcctcatatg ttttgccaga tagcagtagc 120

agaatgaaaa gatgagtaac cacaggaagc tgctattttt cccctccttt caaactgtac 180

tgttagagtc atggtccttt ttacagaagg aacctctcat cagattctgt tgattctaaa 240

gtgaatagaa tttctcccga taaagaaata ggggtttgtt tcgattaatg actgcaggtc 300

tctgagtaaa tgctctattt gatttttttt ttcggcccgt gtgtctacct tatggcccaa 360

gtctaccttа tggtggccat taattcattt tgggctcctg cagccttagt tgggatatag 420

aaatgagaaa cactcagaaa tacccttttg gaccacaacc aagagaaata accaatagtc 480

ttttctccca gtggtaagga agtcagaata cattgatcta gactgcaaca acatatatat 540

atatatcaga ttccgccccc ccgcaataca tgaatgtata gtaaattagt gtgaactcac 600

tgaacactcc tcagttttgg tgagagacta tatctggcct ctttcaagca aaggaaagcc 660

atgtaaaaca gcgctgctgt cagccttaac ttccagacga tcgagttaat ttactaactt 720

ctcagtgacc tgtttttttt ttttttttaa tctcagttat attttcttcc ttgggctaaa 780

tcagatattt gcatagcccc caaagtagta attggatagt cttgggggaa atatgcattt 840

cagtggtgaa aacccctgta aattcaatat atttggcttt tgtggaaaat tttcctcatg 900

gggtgaagtc taagccttag tttctgtatt atcatgagag atgacaccag ctgcttagca 960

caaggtggcg ccaatgagct ttagaataag ttgggcttga ccacttgggc cattgttttc 1020

ctgcttcctc ccttcaagcc tcacctcccc agctcccagc ttctactgaa caaggctgaa 1080

aacccactct attgcaggga aagggaaaga ttaatgaaaa atgtcagttt cttaagtcag 1140

cactggtgaa actttcctaa aacaggaatg gcgtttgctg agttttctct ggggtctctg 1200

ctttctgcag ctagcttccc tgcttgactg cctagaaggc ctctgctttc gggtttccat 1260

ctctttcccc tccagaggac cctacagcct aggcgggagg tggttaaggc ttctggctgc 1320

tgtgcaatgg ggccatctgt gtttgatcaa tcctggcgga aaggaggggg tgggggttgt 1380

aaagagaact gaaagcattc cagagtagtg agagaga 1417

<210> 5

<211> 1247

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> AIF1 promoter sequence

<400> 5

cgcctgtagt cccagctact caggaggctg aggtaggaga attgcttgaa cccaggaggc 60

agtggttgca gtgagccgag attgcaccat tgcactcccg cctgggcgac agagcaagac 120

tccgactcaa aaaaaaaaaa aaaagcagca gcagcagcca gaggccactc cagcatctcc 180

cctacctggc ttgggtcagg gagagggcag tgagaagtga aaactcccag ctacagaaaa 240

ggaaatatgt tgggggggaag ggagaaggaa aggtgtcttc atcaatgccg gggcagggta 300

gatggagccc tgggcaggga gtttggacca ggaaatctca atgagggaaa tgtgctgtcc 360

tcacctctcc aagaagcgac tggccaaaca gagtgacaga ggggataaag gttatgccta 420

gggaggcatg tgtcagaggc tatcatccac tctgttgaac ccacagtgac cagcaccacc 480

atcacacaaa catgcctgca tgtgtgcacg cacgtgcagt gtgcaaacct gatgtcagcc 540

tcactccctg gctcttctgt ccacaaacgc tgtttcttta agtaccactt tcagttcctc 600

caaagaatct acttaaactc ttaaattcct gatctctata gattttacta aagatttcaa 660

aggagataag atgagagggt tacgttgcac attctaaagc aaacaaatta aaatgttttg 720

ttagacattt ccatattttt aagggcctcc ttggagctgc caggctggga gtgaggtttc 780

tctccctttc taaaccctgt gcccatcttg tcaccctcct ggagctgcca gcagacttca 840

gattcttctc cgatctacag agcagaaaaa ttcagccagc ccttccttgt cttcctatcc 900

acagctgcct gcccagactc atgaaacctg acaaaatgca aggtcttatc attacctgaa 960

ccttggacct gttcaaaaat actagttcct gagaataaat atccctggtg tcttcctgcc 1020

cttcctgcac acctccagtg gcttatcaaa atatttgttt catgcgcaca ctgggctctc 1080

atttaagagg aatttgggag aatgttattt tctaatctgc atttcacacc aggctccccc 1140

tccttcctgg ggtgctagtg tcagcagaac ctgatgggga agtgaggtct gggaggcaga 1200

ggaggaagga atgaggggaa aggggaagtt tgggaggaag gcttctg 1247

<210> 6

<211> 1402

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> ITGAM promoter sequence

<400> 6

cgcacccagc caagtttgta catatatttt tgactacact tcttaactat tcttaggata 60

aattactaga agtgaaaatt cttgggtgaa gagcttgagg cctttacaca cacacacaca 120

cacacacaca aaaataggct ggatgcagtg gctcacacct gtaatctcag cagtttggga 180

ggctgaggaa ggaggatcac ttgagtccag gaggttgaga atagcctgaa caacatagca 240

agatcttgtc tctacaaaaa atttaaaaaa aattagctgg ccatggcagc atgtgcctgt 300

agtaccagct actcggaagg ctgaggtagg aggatcgctt gagcccagga ggttgattga 360

agctgcagtg agctgtgatt acaccactgc actccagcct gggcaacaga gctagactct 420

gtctctaaaa aaagcacaaa ataatattta aaaagcacca ggtatgcctg tacttgagtt 480

gtctttgttg atggctacaa atgaggacag ctctggctga agggcgcttc catttccatg 540

ggctgaagga gggacatttt gcaaagtgtg ttttcaggaa gacacagagt tttacctcct 600

acacttgttt gatctgtatt aatgtttgct tatttattta tttaattttt tttttgagac 660

agagtctcac tctgtcacct gggctggagt gcagtggcat tattgaggct cattgcagtc 720

tcagactcct gagctcaaac aatcctcctg cctcagcctc tggagtagct aggactacag 780

gcatgtgcca ccatgcctgg ctaatttttt aaatgtattt ttttgtagag tcggggtctc 840

cctatgttgc ccaggctgga gtgcagtggt gtgatcctag ctcactgcag cctggacctc 900

gggctcaagt aattctcaca cctcagcctg tccagtagca ggggctacag gcgcgcacca 960

ccatgcccag ctaattaaaa atatttttt gtagagacag ggtctctcta tgttgcccag 1020

gctggtttca aactcccagg ctcaagcaat cctcctgcct tggcctccca aagtgctggc 1080

attacaggcg tgagccactg cgcctggccc gtattaatgt ttagaacacg aattccagga 1140

ggcaggctaa gtctgttcag cttgttcata tgcttgggcc aacccaagaa acaagtgggt 1200

gacaaatggc acctttgga tagtggtatt gactttgaaa gtttgggtca ggaagctggg 1260

gaggaagggt gggcaggctg tgggcagtcc tgggcggaag accaggcagg gctatgtgct 1320

cactgagcct ccgccctctt cctttgaatc tctgatagac ttctgcctcc tacttctcct 1380

tttctgccct tctttgcttt gg 1402

<210> 7

<211> 593

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Progranulin isoform 1

<400> 7

Met Trp Thr Leu Val Ser Trp Val Ala Leu Thr Ala Gly Leu Val Ala

1 5 10 15

Gly Thr Arg Cys Pro Asp Gly Gln Phe Cys Pro Val Ala Cys Cys Leu

20 25 30

Asp Pro Gly Gly Ala Ser Tyr Ser Cys Cys Arg Pro Leu Leu Asp Lys

35 40 45

Trp Pro Thr Thr Leu Ser Arg His Leu Gly Gly Pro Cys Gln Val Asp
50 55 60
Ala His Cys Ser Ala Gly His Ser Cys Ile Phe Thr Val Ser Gly Thr
65 70 75 80
Ser Ser Cys Cys Pro Phe Pro Glu Ala Val Ala Cys Gly Asp Gly His

85 90 95
His Cys Cys Pro Arg Gly Phe His Cys Ser Ala Asp Gly Arg Ser Cys
100 105 110
Phe Gln Arg Ser Gly Asn Asn Ser Val Gly Ala Ile Gln Cys Pro Asp
115 120 125
Ser Gln Phe Glu Cys Pro Asp Phe Ser Thr Cys Cys Val Met Val Asp
130 135 140
Gly Ser Trp Gly Cys Cys Pro Met Pro Gln Ala Ser Cys Cys Glu Asp

145 150 155 160
Arg Val His Cys Cys Pro His Gly Ala Phe Cys Asp Leu Val His Thr
165 170 175
Arg Cys Ile Thr Pro Thr Gly Thr His Pro Leu Ala Lys Lys Leu Pro
180 185 190
Ala Gln Arg Thr Asn Arg Ala Val Ala Leu Ser Ser Ser Val Met Cys
195 200 205
Pro Asp Ala Arg Ser Arg Cys Pro Asp Gly Ser Thr Cys Cys Glu Leu

210 215 220
Pro Ser Gly Lys Tyr Gly Cys Cys Pro Met Pro Asn Ala Thr Cys Cys
225 230 235 240
Ser Asp His Leu His Cys Cys Pro Gln Asp Thr Val Cys Asp Leu Ile
245 250 255
Gln Ser Lys Cys Leu Ser Lys Glu Asn Ala Thr Thr Asp Leu Leu Thr
260 265 270
Lys Leu Pro Ala His Thr Val Gly Asp Val Lys Cys Asp Met Glu Val

275 280 285
Ser Cys Pro Asp Gly Tyr Thr Cys Cys Arg Leu Gln Ser Gly Ala Trp

290 295 300

Gly Cys Cys Pro Phe Thr Gln Ala Val Cys Cys Glu Asp His Ile His

305 310 315 320

Cys Cys Pro Ala Gly Phe Thr Cys Asp Thr Gln Lys Gly Thr Cys Glu

325 330 335

Gln Gly Pro His Gln Val Pro Trp Met Glu Lys Ala Pro Ala His Leu

340 345 350

Ser Leu Pro Asp Pro Gln Ala Leu Lys Arg Asp Val Pro Cys Asp Asn

355 360 365

Val Ser Ser Cys Pro Ser Ser Asp Thr Cys Cys Gln Leu Thr Ser Gly

370 375 380

Glu Trp Gly Cys Cys Pro Ile Pro Glu Ala Val Cys Cys Ser Asp His

385 390 395 400

Gln His Cys Cys Pro Gln Gly Tyr Thr Cys Val Ala Glu Gly Gln Cys

405 410 415

Gln Arg Gly Ser Glu Ile Val Ala Gly Leu Glu Lys Met Pro Ala Arg

420 425 430

Arg Ala Ser Leu Ser His Pro Arg Asp Ile Gly Cys Asp Gln His Thr

435 440 445

Ser Cys Pro Val Gly Gln Thr Cys Cys Pro Ser Leu Gly Gly Ser Trp

450 455 460

Ala Cys Cys Gln Leu Pro His Ala Val Cys Cys Glu Asp Arg Gln His

465 470 475 480

Cys Cys Pro Ala Gly Tyr Thr Cys Asn Val Lys Ala Arg Ser Cys Glu

485 490 495

Lys Glu Val Val Ser Ala Gln Pro Ala Thr Phe Leu Ala Arg Ser Pro

500 505 510

His Val Gly Val Lys Asp Val Glu Cys Gly Glu Gly His Phe Cys His

515 520 525

Asp Asn Gln Thr Cys Cys Arg Asp Asn Arg Gln Gly Trp Ala Cys Cys

530 535 540

Pro Tyr Arg Gln Gly Val Cys Cys Ala Asp Arg Arg His Cys Cys Pro
545 550 555 560
Ala Gly Phe Arg Cys Ala Ala Arg Gly Thr Lys Cys Leu Arg Arg Glu
565 570 575
Ala Pro Arg Trp Asp Ala Pro Leu Arg Asp Pro Ala Leu Arg Gln Leu
580 585 590
Leu

<210> 8
<211> 438
<212> PRT
<
213> Artificial Sequence
<220>
<223> Progranulin isoform 2
<400> 8
Met Trp Thr Leu Val Ser Trp Val Ala Leu Thr Ala Gly Leu Val Ala
1 5 10 15
Gly Thr Arg Cys Pro Asp Gly Gln Phe Cys Pro Val Ala Cys Cys Leu
20 25 30
Asp Pro Gly Gly Ala Ser Tyr Ser Cys Cys Arg Pro Leu Leu Asp Lys
35 40 45
Trp Pro Thr Thr Leu Ser Arg His Leu Gly Gly Pro Cys Gln Val Asp

50 55 60
Ala His Cys Ser Ala Gly His Ser Cys Ile Phe Thr Val Ser Gly Thr
65 70 75 80
Ser Ser Cys Cys Pro Phe Pro Glu Ala Val Ala Cys Gly Asp Gly His
85 90 95
His Cys Cys Pro Arg Gly Phe His Cys Ser Ala Asp Gly Arg Ser Cys
100 105 110
Phe Gln Arg Ser Gly Asn Asn Ser Val Gly Ala Ile Gln Cys Pro Asp

115 120 125
Ser Gln Phe Glu Cys Pro Asp Phe Ser Thr Cys Cys Val Met Val Asp

130 135 140

Gly Ser Trp Gly Cys Cys Pro Met Pro Gln Ala Ser Cys Cys Glu Asp

145 150 155 160

Arg Val His Cys Cys Pro His Gly Ala Phe Cys Asp Leu Val His Thr

165 170 175

Arg Cys Ile Thr Pro Thr Gly Thr His Pro Leu Ala Lys Lys Leu Pro

180 185 190

Ala Gln Arg Thr Asn Arg Ala Val Ala Leu Ser Ser Ser Val Met Cys

195 200 205

Pro Asp Ala Arg Ser Arg Cys Pro Asp Gly Ser Thr Cys Cys Glu Leu

210 215 220

Pro Ser Gly Lys Tyr Gly Cys Cys Pro Met Pro Asn Ala Thr Cys Cys

225 230 235 240

Ser Asp His Leu His Cys Cys Pro Gln Asp Thr Val Cys Asp Leu Ile

245 250 255

Gln Ser Lys Cys Leu Ser Lys Glu Asn Ala Thr Thr Asp Leu Leu Thr

260 265 270

Lys Leu Pro Ala His Thr Val Gly Asp Val Lys Cys Asp Met Glu Val

275 280 285

Ser Cys Pro Asp Gly Tyr Thr Cys Cys Arg Leu Gln Ser Gly Ala Trp

290 295 300

Gly Cys Cys Pro Phe Thr Gln Ala Val Cys Cys Glu Asp His Ile His

305 310 315 320

Cys Cys Pro Ala Gly Phe Thr Cys Asp Thr Gln Lys Gly Thr Cys Glu

325 330 335

Gln Gly Pro His Gln Val Pro Trp Met Glu Lys Ala Pro Ala His Leu

340 345 350

Ser Leu Pro Asp Pro Gln Ala Leu Lys Arg Asp Val Pro Cys Asp Asn

355 360 365

Val Ser Ser Cys Pro Ser Ser Asp Thr Cys Cys Arg Asp Asn Arg Gln

370 375 380

Gly Trp Ala Cys Cys Pro Tyr Arg Gln Gly Val Cys Cys Ala Asp Arg
385 390 395 400
Arg His Cys Cys Pro Ala Gly Phe Arg Cys Ala Ala Arg Gly Thr Lys
405 410 415
Cys Leu Arg Arg Glu Ala Pro Arg Trp Asp Ala Pro Leu Arg Asp Pro
420 425 430
Ala Leu Arg Gln Leu Leu
435

<210> 9
<211> 413
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Progranulin isoform 3
<400> 9
Met Ala Ile Thr Ala Ala His Gly Ala Ser Thr Ala Val Gln Thr Gly
1 5 10 15
Asp Pro Ala Ser Lys Asp Gln Val Thr Thr Pro Trp Val Pro Ser Ser
20 25 30
Ala Leu Ile Val Ser Ser Asn Ala Arg Thr Ser Pro Arg Ala Val Leu
35 40 45
Trp Ser Met Ala Pro Gly Gly Ala Ala Pro Cys Pro Arg Leu Pro Ala

50 55 60
Val Lys Thr Gly Cys Thr Ala Val Cys Asp Leu Ile Gln Ser Lys Cys
65 70 75 80
Leu Ser Lys Glu Asn Ala Thr Thr Asp Leu Leu Thr Lys Leu Pro Ala
85 90 95
His Thr Val Gly Asp Val Lys Cys Asp Met Glu Val Ser Cys Pro Asp
100 105 110
Gly Tyr Thr Cys Cys Arg Leu Gln Ser Gly Ala Trp Gly Cys Cys Pro

115 120 125
Phe Thr Gln Ala Val Cys Cys Glu Asp His Ile His Cys Cys Pro Ala

130 135 140

Gly Phe Thr Cys Asp Thr Gln Lys Gly Thr Cys Glu Gln Gly Pro His

145 150 155 160

Gln Val Pro Trp Met Glu Lys Ala Pro Ala His Leu Ser Leu Pro Asp

165 170 175

Pro Gln Ala Leu Lys Arg Asp Val Pro Cys Asp Asn Val Ser Ser Cys

180 185 190

Pro Ser Ser Asp Thr Cys Cys Gln Leu Thr Ser Gly Glu Trp Gly Cys

195 200 205

Cys Pro Ile Pro Glu Ala Val Cys Cys Ser Asp His Gln His Cys Cys

210 215 220

Pro Gln Gly Tyr Thr Cys Val Ala Glu Gly Gln Cys Gln Arg Gly Ser

225 230 235 240

Glu Ile Val Ala Gly Leu Glu Lys Met Pro Ala Arg Arg Ala Ser Leu

245 250 255

Ser His Pro Arg Asp Ile Gly Cys Asp Gln His Thr Ser Cys Pro Val

260 265 270

Gly Gln Thr Cys Cys Pro Ser Leu Gly Gly Ser Trp Ala Cys Cys Gln

275 280 285

Leu Pro His Ala Val Cys Cys Glu Asp Arg Gln His Cys Cys Pro Ala

290 295 300

Gly Tyr Thr Cys Asn Val Lys Ala Arg Ser Cys Glu Lys Glu Val Val

305 310 315 320

Ser Ala Gln Pro Ala Thr Phe Leu Ala Arg Ser Pro His Val Gly Val

325 330 335

Lys Asp Val Glu Cys Gly Glu Gly His Phe Cys His Asp Asn Gln Thr

340 345 350

Cys Cys Arg Asp Asn Arg Gln Gly Trp Ala Cys Cys Pro Tyr Arg Gln

355 360 365

Gly Val Cys Cys Ala Asp Arg Arg His Cys Cys Pro Ala Gly Phe Arg

370 375 380

Cys Ala Ala Arg Gly Thr Lys Cys Leu Arg Arg Glu Ala Pro Arg Trp
385 390 395 400
Asp Ala Pro Leu Arg Asp Pro Ala Leu Arg Gln Leu Leu
405 410

<210> 10
<211> 166
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Human interferon-gamma
<400> 10

Met Lys Tyr Thr Ser Tyr Ile Leu Ala Phe Gln Leu Cys Ile Val Leu
1 5 10 15

Gly Ser Leu Gly Cys Tyr Cys Gln Asp Pro Tyr Val Lys Glu Ala Glu
20 25 30
Asn Leu Lys Lys Tyr Phe Asn Ala Gly His Ser Asp Val Ala Asp Asn
35 40 45
Gly Thr Leu Phe Leu Gly Ile Leu Lys Asn Trp Lys Glu Glu Ser Asp
50 55 60
Arg Lys Ile Met Gln Ser Gln Ile Val Ser Phe Tyr Phe Lys Leu Phe
65 70 75 80

Lys Asn Phe Lys Asp Asp Gln Ser Ile Gln Lys Ser Val Glu Thr Ile
85 90 95
Lys Glu Asp Met Asn Val Lys Phe Phe Asn Ser Asn Lys Lys Lys Arg
100 105 110
Asp Asp Phe Glu Lys Leu Thr Asn Tyr Ser Val Thr Asp Leu Asn Val
115 120 125
Gln Arg Lys Ala Ile His Glu Leu Ile Gln Val Met Ala Glu Leu Ser
130 135 140

Pro Ala Ala Lys Thr Gly Lys Arg Lys Arg Ser Gln Met Leu Phe Arg
145 150 155 160
Gly Arg Arg Ala Ser Gln

165

<210> 11

<211> 219

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Human IL-12 subunit alpha

<400> 11

Met Cys Pro Ala Arg Ser Leu Leu Leu Val Ala Thr Leu Val Leu Leu
1 5 10 15
Asp His Leu Ser Leu Ala Arg Asn Leu Pro Val Ala Thr Pro Asp Pro
20 25 30

Gly Met Phe Pro Cys Leu His His Ser Gln Asn Leu Leu Arg Ala Val
35 40 45
Ser Asn Met Leu Gln Lys Ala Arg Gln Thr Leu Glu Phe Tyr Pro Cys
50 55 60
Thr Ser Glu Glu Ile Asp His Glu Asp Ile Thr Lys Asp Lys Thr Ser
65 70 75 80
Thr Val Glu Ala Cys Leu Pro Leu Glu Leu Thr Lys Asn Glu Ser Cys
85 90 95

Leu Asn Ser Arg Glu Thr Ser Phe Ile Thr Asn Gly Ser Cys Leu Ala
100 105 110
Ser Arg Lys Thr Ser Phe Met Met Ala Leu Cys Leu Ser Ser Ile Tyr
115 120 125
Glu Asp Leu Lys Met Tyr Gln Val Glu Phe Lys Thr Met Asn Ala Lys
130 135 140
Leu Leu Met Asp Pro Lys Arg Gln Ile Phe Leu Asp Gln Asn Met Leu
145 150 155 160

Ala Val Ile Asp Glu Leu Met Gln Ala Leu Asn Phe Asn Ser Glu Thr
165 170 175
Val Pro Gln Lys Ser Ser Leu Glu Glu Pro Asp Phe Tyr Lys Thr Lys
180 185 190

Ile Lys Leu Cys Ile Leu Leu His Ala Phe Arg Ile Arg Ala Val Thr

195 200 205

Ile Asp Arg Val Met Ser Tyr Leu Asn Ala Ser

210 215

<210> 12

<211> 328

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Human IL-12 subunit beta

<400> 12

Met Cys His Gln Gln Leu Val Ile Ser Trp Phe Ser Leu Val Phe Leu

1 5 10 15

Ala Ser Pro Leu Val Ala Ile Trp Glu Leu Lys Lys Asp Val Tyr Val

20 25 30

Val Glu Leu Asp Trp Tyr Pro Asp Ala Pro Gly Glu Met Val Val Leu

35 40 45

Thr Cys Asp Thr Pro Glu Glu Asp Gly Ile Thr Trp Thr Leu Asp Gln

50 55 60

Ser Ser Glu Val Leu Gly Ser Gly Lys Thr Leu Thr Ile Gln Val Lys

65 70 75 80

Glu Phe Gly Asp Ala Gly Gln Tyr Thr Cys His Lys Gly Gly Glu Val

85 90 95

Leu Ser His Ser Leu Leu Leu Leu His Lys Lys Glu Asp Gly Ile Trp

100 105 110

Ser Thr Asp Ile Leu Lys Asp Gln Lys Glu Pro Lys Asn Lys Thr Phe

115 120 125

Leu Arg Cys Glu Ala Lys Asn Tyr Ser Gly Arg Phe Thr Cys Trp Trp

130 135 140

Leu Thr Thr Ile Ser Thr Asp Leu Thr Phe Ser Val Lys Ser Ser Arg

145 150 155 160

Gly Ser Ser Asp Pro Gln Gly Val Thr Cys Gly Ala Ala Thr Leu Ser

165 170 175

Ala Glu Arg Val Arg Gly Asp Asn Lys Glu Tyr Glu Tyr Ser Val Glu

180 185 190

Cys Gln Glu Asp Ser Ala Cys Pro Ala Ala Glu Glu Ser Leu Pro Ile

195 200 205

Glu Val Met Val Asp Ala Val His Lys Leu Lys Tyr Glu Asn Tyr Thr

210 215 220

Ser Ser Phe Phe Ile Arg Asp Ile Ile Lys Pro Asp Pro Pro Lys Asn

225 230 235 240

Leu Gln Leu Lys Pro Leu Lys Asn Ser Arg Gln Val Glu Val Ser Trp

245 250 255

Glu Tyr Pro Asp Thr Trp Ser Thr Pro His Ser Tyr Phe Ser Leu Thr

260 265 270

Phe Cys Val Gln Val Gln Gly Lys Ser Lys Arg Glu Lys Lys Asp Arg

275 280 285

Val Phe Thr Asp Lys Thr Ser Ala Thr Val Ile Cys Arg Lys Asn Ala

290 295 300

Ser Ile Ser Val Arg Ala Gln Asp Arg Tyr Tyr Ser Ser Ser Trp Ser

305 310 315 320

Glu Trp Ala Ser Val Pro Cys Ser

325

<210> 13

<211> 144

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Human GM-CSF

<400> 13

Met Trp Leu Gln Ser Leu Leu Leu Leu Gly Thr Val Ala Cys Ser Ile

1 5 10 15

Ser Ala Pro Ala Arg Ser Pro Ser Pro Ser Thr Gln Pro Trp Glu His

20 25 30

Val Asn Ala Ile Gln Glu Ala Arg Arg Leu Leu Asn Leu Ser Arg Asp

35 40 45

Thr Ala Ala Glu Met Asn Glu Thr Val Glu Val Ile Ser Glu Met Phe

50 55 60

Asp Leu Gln Glu Pro Thr Cys Leu Gln Thr Arg Leu Glu Leu Tyr Lys

65 70 75 80

Gln Gly Leu Arg Gly Ser Leu Thr Lys Leu Lys Gly Pro Leu Thr Met

85 90 95

Met Ala Ser His Tyr Lys Gln His Cys Pro Pro Thr Pro Glu Thr Ser

100 105 110

Cys Ala Thr Gln Ile Ile Thr Phe Glu Ser Phe Lys Glu Asn Leu Lys

115 120 125

Asp Phe Leu Leu Val Ile Pro Phe Asp Cys Trp Glu Pro Val Gln Glu

130 135 140

<210> 14

<211> 207

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Human G-CSF

<400> 14

Met Ala Gly Pro Ala Thr Gln Ser Pro Met Lys Leu Met Ala Leu Gln

1 5 10 15

Leu Leu Leu Trp His Ser Ala Leu Trp Thr Val Gln Glu Ala Thr Pro

20 25 30

Leu Gly Pro Ala Ser Ser Leu Pro Gln Ser Phe Leu Leu Lys Cys Leu

35 40 45

Glu Gln Val Arg Lys Ile Gln Gly Asp Gly Ala Ala Leu Gln Glu Lys

50 55 60

Leu Val Ser Glu Cys Ala Thr Tyr Lys Leu Cys His Pro Glu Glu Leu

65 70 75 80

Val Leu Leu Gly His Ser Leu Gly Ile Pro Trp Ala Pro Leu Ser Ser
85 90 95
Cys Pro Ser Gln Ala Leu Gln Leu Ala Gly Cys Leu Ser Gln Leu His
100 105 110
Ser Gly Leu Phe Leu Tyr Gln Gly Leu Leu Gln Ala Leu Glu Gly Ile
115 120 125
Ser Pro Glu Leu Gly Pro Thr Leu Asp Thr Leu Gln Leu Asp Val Ala
130 135 140

Asp Phe Ala Thr Thr Ile Trp Gln Gln Met Glu Glu Leu Gly Met Ala
145 150 155 160
Pro Ala Leu Gln Pro Thr Gln Gly Ala Met Pro Ala Phe Ala Ser Ala
165 170 175
Phe Gln Arg Arg Ala Gly Gly Val Leu Val Ala Ser His Leu Gln Ser
180 185 190
Phe Leu Glu Val Ser Tyr Arg Val Leu Arg His Leu Ala Gln Pro
195 200 205

<210> 15
<211> 1532
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> GM-CSF ? INF-gamma coexpression construct
<400> 15
tccttccagc catgtttaaa tatacaagtt atatcttggc ttttcagctc tgcatcgttt 60
tgggttctct tggctgttac tgccaggacc catatgtaaa agaagcagaa aaccttaaga 120
aatattttaa tgccggtcat tcagatgtag cggataatgg aactcttttc ttaggcattt 180
tgaagaattg gaaagaggag agtgacagaa aaataatgca gagccaaatt gtctcctttt 240
acttcaaact ttttaagaac tttaaggatg accagagcat ccaaaagagt gtggagacca 300

tcaaggaaga catgaatgtc aagtttttca atagcaacaa aaagaaacga gatgacttcg 360
aaaagctgac taattattcg gtaactgact tgaatgtcca acgcaaagca atacatgaac 420
tcatccaagt gatggctgaa ctgtcgccag cagcgaaaac agggaagcga aaaaggagtc 480
agatgctgtt tcgaggtcga agagcatccc agtaagatat ccccctctccc tccccccccc 540

ctaacgttac tggccgaagc cgcttggaat aaggccggtg tgcgtttgtc tatatgttat 600

tttccaccat attgccgtct tttggcaatg tgagggcccg gaaacctggc cctgtcttct 660

tgacgagcat tcctaggggt ctttcccctc tcgccaaagg aatgcaaggt ctgttgaatg 720

tcgtgaagga agcagttcct ctggaagctt cttgaagaca aacaacgtct gtagcgaccc 780

tttgcaggca gcggaacccc ccacctggcg acaggtgcct ctgcggccaa aagccacgtg 840

tataagatac acctgcaaag gcggcacaac cccagtgcca cgttgtgagt tggatagttg 900

tggaaagagt caaatggctc tcctcaagcg tattcaacaa ggggctgaag gatgcccaga 960

agatacccca ttgtatggga tctgatctgg ggcctcggtg cacatgcttt acatgtgttt 1020

agtcgaggtt aaaaaaacgt ctaggccccc cgaaccacgg ggacgtggtt ttcctttgaa 1080

aaacacgatg ataaatgtgg ccactgcaaa gtctgctttt gctgggcacc gtagcttgta 1140

gcatatcagc gcctgctcgg agtccctctc catcaacgca accctgggaa cacgtgaacg 1200

caattcagga ggcaagaagg ttgctgaacc tgagccggga caccgccgct gaaatgaatg 1260

aaaccgtaga agtgatttcc gagatgtttg acctccaaga accaacttgt ctgcaaacaa 1320

gacttgagct ttataaacag ggactccgag gcagcctgac aaaactcaag gggcccctca 1380

caatgatggc aagccattat aaacaacact gtcctccgac cccggagact tcttgcgcca 1440

cacagatcat cacttttgag agcttcaaag agaaccttaa agactttctg ctggtcattc 1500

cgttcgattg ctgggaaccc gtgcaggagt ga 1532

<210> 16

<211> 1718

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> G-CSF ? INF-gamma coexpression construct

<400> 16

tccttccagc catgtttaaa tatacaagtt atatcttggc ttttcagctc tgcatcgttt 60

tgggttctct tggctgttac tgccaggacc catatgtaaa agaagcagaa aaccttaaga 120

aatattttaa tgccggtcat tcagatgtag cggataatgg aactcttttc ttaggcattt 180

tgaagaattg gaaagaggag agtgacagaa aaataatgca gagccaaatt gtctcctttt 240

acttcaaact ttttaagaac tttaaggatg accagagcat ccaaaagagt gtggagacca 300

tcaaggaaga catgaatgtc aagtttttca atagcaacaa aaagaaacga gatgacttcg 360

aaaagctgac taattattcg gtaactgact tgaatgtcca acgcaaagca atacatgaac 420

tcatccaagt gatggctgaa ctgtcgccag cagcgaaaac agggaagcga aaaaggagtc 480

agatgctgtt tcgaggtcga agagcatccc agtaagatat cccctctccc tccccccccc 540

ctaacgttac tggccgaagc cgcttggaat aaggccggtg tgcgtttgtc tatatgttat 600

tttccaccat attgccgtct tttggcaatg tgagggcccg gaaacctggc cctgtcttct 660

tgacgagcat tcctaggggt ctttcccctc tcgccaaagg aatgcaaggt ctgttgaatg 720

tcgtgaagga agcagttcct ctggaagctt cttgaagaca aacaacgtct gtagcgaccc 780

tttgcaggca gcggaacccc ccacctggcg acaggtgcct ctgcggccaa aagccacgtg 840

tataagatac acctgcaaag gcggcacaac cccagtgcca cgttgtgagt tggatagttg 900

tggaaagagt caaatggctc tcctcaagcg tattcaacaa ggggctgaag gatgcccaga 960

agatacccca ttgtatggga tctgatctgg ggcctcggtg cacatgcttt acatgtgttt 1020

agtcgaggtt aaaaaaacgt ctaggccccc cgaaccacgg ggacgtggtt ttcctttgaa 1080

aaacacgatg ataaatggcc ggccccgcca cccagagccc catgaagctg atggccctgc 1140

agctgctgct gtggcacagc gccctgtgga ccgtgcagga ggccaccccc ctcggccccg 1200

ccagcagcct gccccagagc ttcctgctga agtgcctcga acaagtgcgc aagatacaag 1260

gcgacggcgc cgccctgcag gagaagctcg tgagcgagtg cgccacctac aagctgtgcc 1320

accccgagga gctggtgctg ctgggccaca gcctcggcat cccctgggcc cccctgagca 1380

gctgccccag ccaagccctg cagctggccg gctgcctgag ccagctgcac agcggcctgt 1440

tcctgtacca aggcttacta caggccctcg aaggcatcag ccccgagctg ggccccaccc 1500

tcgacaccct gcagctggac gtggccgact tcgccaccac catctggcag cagatggagg 1560

agctgggcat ggcccccgcc ctgcagccca cccaaggcgc catgcccgcc ttcgccagcg 1620

ccttccagcg ccgcgccggg ggcgtgctgg tggccagcca cctgcagagc ttcctcgaag 1680

tgagctaccg cgtgctgcgc cacctcgccc agccctga 1718

<210> 17

<211> 153

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Human IL-2

<400> 17

Met Tyr Arg Met Gln Leu Leu Ser Cys Ile Ala Leu Ser Leu Ala Leu

1 5 10 15

Val Thr Asn Ser Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu

20 25 30

Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile

35 40 45

Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe

50 55 60

Tyr Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu

65 70 75 80

Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys

85 90 95

Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile

100 105 110

Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala

115 120 125

Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe

130 135 140

Cys Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr

145 150

<210> 18

<211> 162

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Human IL-15

<400> 18

Met Arg Ile Ser Lys Pro His Leu Arg Ser Ile Ser Ile Gln Cys Tyr

1 5 10 15

Leu Cys Leu Leu Leu Asn Ser His Phe Leu Thr Glu Ala Gly Ile His

20 25 30

Val Phe Ile Leu Gly Cys Phe Ser Ala Gly Leu Pro Lys Thr Glu Ala

35 40 45

Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile

50 55 60

Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val His

65 70 75 80

Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu Gln

85 90 95

Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Glu

100 105 110

Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val

115 120 125

Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile

130 135 140

Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn

145 150 155 160

Thr Ser

<210> 19

<211> 162

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Human IL-21

<400> 19

Met Arg Ser Ser Pro Gly Asn Met Glu Arg Ile Val Ile Cys Leu Met

1 5 10 15

Val Ile Phe Leu Gly Thr Leu Val His Lys Ser Ser Ser Gln Gly Gln

20 25 30

Asp Arg His Met Ile Arg Met Arg Gln Leu Ile Asp Ile Val Asp Gln

35 40 45

Leu Lys Asn Tyr Val Asn Asp Leu Val Pro Glu Phe Leu Pro Ala Pro

50 55 60

Glu Asp Val Glu Thr Asn Cys Glu Trp Ser Ala Phe Ser Cys Phe Gln

65 70 75 80

Lys Ala Gln Leu Lys Ser Ala Asn Thr Gly Asn Asn Glu Arg Ile Ile

85 90 95

Asn Val Ser Ile Lys Lys Leu Lys Arg Lys Pro Pro Ser Thr Asn Ala

100 105 110

Gly Arg Arg Gln Lys His Arg Leu Thr Cys Pro Ser Cys Asp Ser Tyr

115 120 125

Glu Lys Lys Pro Pro Lys Glu Phe Leu Glu Arg Phe Lys Ser Leu Leu

130 135 140

Gln Lys Met Ile His Gln His Leu Ser Ser Arg Thr His Gly Ser Glu

145 150 155 160

Asp Ser

<210> 20

<211> 188

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Human IFN-alpha

<400> 20

Met Ala Leu Thr Phe Ala Leu Leu Val Ala Leu Leu Val Leu Ser Cys

1 5 10 15

Lys Ser Ser Cys Ser Val Gly Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu

20 25 30

Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met Leu Leu Ala Gln Met Arg Lys Ile Ser

35 40 45

Leu Phe Ser Cys Leu Lys Asp Arg His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu

50 55 60

Glu Phe Gly Asn Gln Phe Gln Lys Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu His

65 70 75 80

Glu Met Ile Gln Gln Ile Phe Asn Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser

85 90 95

Ala Ala Trp Asp Glu Thr Leu Leu Asp Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr

100 105 110

Gln Gln Leu Asn Asp Leu Glu Ala Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val

115 120 125

Thr Glu Thr Pro Leu Met Lys Glu Asp Ser Ile Leu Ala Val Arg Lys

130 135 140

Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu Tyr Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro

145 150 155 160

Cys Ala Trp Glu Val Val Arg Ala Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu

165 170 175

Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser Leu Arg Ser Lys Glu

180 185

<210> 21

<211> 760

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> P2Y12 promoter sequence 2 (760 bp)

<400> 21

ttgcccttca atctcacccc taacatattt tttgcccttc tggtttcaaa gttaaacaac 60

tgtaaataat tgtgatacaa ggatgcctta atttaatgtt atattttccc aaaaactcaa 120

agttaggtaa agaaacaaaa aaaaattgtt tatatttaaa ttctattcaa gaaaagcatg 180

aacgacacag tatataataa gcctggcaat ggatacaatc acttctctaa tgtaattttg 240

gaatctgcta atttataata gaaggaagct gtttcaccta caaaggagtt aatcaaacac 300

aggtttaaaa taatgacatt attaaccaag ggaaaaacaa agggccagag acttaacatc 360

cctagccagc acgcattttg agttaacata attacttgtt agaagaaaat acatcaccca 420

gtgttgtaca caatatattt cagataaatt aaccacccaa gaaagcaagc ttaaaatctt 480

ctccaggaag cagacttcga aggcttgatc tcaacttgga tttatcattt gcatagaaaa 540

taaccataac tcgaagttat aaatcatcaa ctctatagca ggtttcagta aaaagccgca 600

agattttaaa ttgcttttta aaagatgact tctcagccat cctcatccca catttcctgg 660

gaaataaaag cagaagtcct aaaagaggac agatagaaat tcagtgtctg catagctttg 720

agtccagtgt ttgaagacaa tctctgattg tgaagccctc 760

<210> 22

<211> 438

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> P2Y12 promoter sequence 3 (438 bp)

<400> 22

taaccaaggg aaaaacaaag ggccagagac ttaacatccc tagccagcac gcattttgag 60

ttaacataat tacttgttag aagaaaatac atcacccagt gttgtacaca atatatttca 120

gataaattaa ccacccaaga aagcaagctt aaaatcttct ccaggaagca gacttcgaag 180

gcttgatctc aacttggatt tatcatttgc atagaaaata accataactc gaagttataa 240

atcatcaact ctatagcagg tttcagtaaa aagccgcaag attttaaatt gctttttaaa 300

agatgacttc tcagccatcc tcatcccaca tttcctggga aataaaagca gaagtcctaa 360

aagaggacag atagaaattc agtgtctgca tagctttgag tccagtgttt gaagacaatc 420

tctgattgtg aagccctc 438

<210> 23

<211> 1005

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> TMEM119 promoter sequence 2 (1005 bp)

<400> 23

cccttgacct gacccctttc tgtttggcaa aaaagtaatt tacctcggtg tccttctccc 60

tggtagtctg tgagctcccc aaggctgggc tgtgcctgat tcacctctgg aacttgctta 120

gcacagtgcg tggcctgctg caggtgttca ttgagcactt gccgaatgaa tgcatgaatg 180

aatgaatgaa tgaatgaatg caaggggctg ctaatccaca ggactcctca ggtcagccag 240

acgtcccggt tccaaggcct gccactgact cacctcagga ccctgcttga accattagaa 300

ctcaccctgc ctcactttcc ccctctgtga aatggggctc caactcctat tcaagctact 360

atcatttggg ggcattgtga ggccacagat cccagaacat cagagtcaga ggtagcccag 420

aaagcttccc acccatccct acaaatggga aactgaggtc tggagaggga agggcagagt 480

tgggctccct gtctcaggct cggacccacc atcaggcctg tctctaaaac gaatcccagc 540

tcccacgctg caccctgagc ctggaagcct gagccacaca aggacgggga attttccttc 600

ccacttccag aggcctctga acctccctga gcttgtcccc tttggagggt attgggcagc 660

agcgtgggca gaaccccagc tcactgtctg ggggagcgct gcaggacagc cttgtctgtc 720

tgtctcagcc tgccctgggg acccgaggtc agggaggaag tgccgcatct ggtcttcccc 780

agagcgagag tgtgagcaag ggtgggattg cgtgtggccc gagagtagcc cctcccctcc 840

ccctgtcccc accccaaacc ctcttaatga aatcaagctg gccctgcggc ccagccgggg 900

agggaggaag gaggagggac gggaggaggg acgggaggag ggagggcggg caggcgccag 960

cccagagcag ccccgggcac cagcacggac tctctcttcc atcta 1005

<210> 24

<211> 590

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> TMEM119 promoter sequence 3 (590 bp)

<400> 24

cccagaaagc ttcccaccca tccctacaaa tgggaaactg aggtctggag agggaagggc 60

agagttgggc tccctgtctc aggctcggac ccaccatcag gcctgtctct aaaacgaatc 120

ccagctccca cgctgcaccc tgagcctgga agcctgagcc acacaaggac ggggaatttt 180

ccttcccact tccagaggcc tctgaacctc cctgagcttg tccccttgg agggtattgg 240

gcagcagcgt gggcagaacc ccagctcact gtctgggggga gcgctgcagg acagccttgt 300

ctgtctgtct cagcctgccc tggggacccg aggtcaggga ggaagtgccg catctggtct 360

tccccagagc gagagtgtga gcaagggtgg gattgcgtgt ggcccgagag tagcccctcc 420

cctccccctg tccccacccc aaaccctctt aatgaaatca agctggccct gcggcccagc 480

cggggaggga ggaaggagga gggacgggag gagggacggg aggagggagg gcgggcaggc 540

gccagcccag agcagccccg ggcaccagca cggactctct cttccatcta 590

<210> 25

<211> 990

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> OLFML3 promoter sequence 2 (990 bp)

<400> 25

tacccttttg gaccacaacc aagagaaata accaatagtc ttttctccca gtggtaagga 60

agtcagaata cattgatcta gactgcaaca acatatatat atatatcaga ttccgccccc 120

ccgcaataca tgaatgtata gtaaattagt gtgaactcac tgaacactcc tcagttttgg 180

tgagagacta tatctggcct ctttcaagca aaggaaagcc atgtaaaaca gcgctgctgt 240

cagccttaac ttccagacga tcgagttaat ttactaactt ctcagtgacc tgtttttttt 300

ttttttttaa tctcagttat attttcttcc ttgggctaaa tcagatattt gcatagcccc 360

caaagtagta attggatagt cttgggggaa atatgcattt cagtggtgaa aacccctgta 420

aattcaatat atttggcttt tgtggaaaat tttcctcatg gggtgaagtc taagccttag 480

tttctgtatt atcatgagag atgacaccag ctgcttagca caaggtggcg ccaatgagct 540

ttagaataag ttgggcttga ccacttgggc cattgttttc ctgcttcctc ccttcaagcc 600

tcacctcccc agctcccagc ttctactgaa caaggctgaa aacccactct attgcaggga 660

aagggaaaga ttaatgaaaa atgtcagttt cttaagtcag cactggtgaa actttcctaa 720

aacaggaatg gcgtttgctg agttttctct ggggtctctg ctttctgcag ctagcttccc 780

tgcttgactg cctagaaggc ctctgctttc gggtttccat ctctttcccc tccagaggac 840

cctacagcct aggcgggagg tggttaaggc ttctggctgc tgtgcaatgg ggccatctgt 900

gtttgatcaa tcctggcgga aaggaggggg tgggggttgt aaagagaact gaaagcattc 960

cagagtagtg agagagaccc agagatcagg 990

<210> 26

<211> 1544

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> miR223_P2RY12 (760 bp) fusion promoter

<400> 26

acttgtacag cttcacaggg ctccatgctt agaaggaccc cacacttagt ttaatgttct 60

gctgtcatca tcttgatatt cttaattttt aaataaaggg cctatcgttt tcatttttta 120

ctgggccttg caaattatgt agctggttct gtatgccagg agagaagttg gaagtaaaat 180

ggtattccag gaccaggagg cattctggca gagtgaaaga acatgtgatt tggagtccat 240

ggggatgggt ttaaatttca gctttccact aatttgcttt gtgatactga gtatttcctt 300

ttatccctca gaggctctgt ttctcaattt tgactacggg ttttttcatt agataatgtc 360

tcagttctgg tattccaggt ttccctcaat tattctggga aaacctcctt gacccacagg 420

cagagcctag ggcagccagg tgctttctac tctctctctc tctgcagctt ggaaagttag 480

tgtctgttga aggtcagctg ggagttggtg gaggcagggc agtggcctgc tactattgct 540

gcagtagcag acccttтcac aacagcattg ttttgtcatt ttgcatccag atttccgttg 600

gctaacctca gtcttatctt cctcatttct gtttcctgtt gaagacacca agggcccttc 660

aaaacacaga agcttcttgc tcacggcaga aagcccaatt ccatctggcc cctgcaggtt 720

ggctcagcac tggggaatca gagtcccctc catgaccaag gcaccactcc actgacaggg 780

atccttgccc ttcaatctca cccctaacat atttttgcc cttctggttt caaagttaaa 840

caactgtaaa taattgtgat acaaggatgc cttaatttaa tgttatattt tcccaaaaac 900

tcaaagttag gtaaagaaac aaaaaaaaat tgtttatatt taaattctat tcaagaaaag 960

catgaacgac acagtatata ataagcctgg caatggatac aatcacttct ctaatgtaat 1020

tttggaatct gctaatttat aatagaagga agctgtttca cctacaaagg agttaatcaa 1080

acacaggttt aaaataatga cattattaac caagggaaaa acaaagggcc agagacttaa 1140

catccctagc cagcacgcat tttgagttaa cataattact tgttagaaga aaatacatca 1200

cccagtgttg tacacaatat atttcagata aattaaccac ccaagaaagc aagcttaaaa 1260

tcttctccag gaagcagact tcgaaggctt gatctcaact tggatttatc atttgcatag 1320

aaaataacca taactcgaag ttataaatca tcaactctat agcaggtttc agtaaaaagc 1380

cgcaagattt taaattgctt tttaaaagat gacttctcag ccatcctcat cccacatttc 1440

ctgggaaata aaagcagaag tcctaaaaga ggacagatag aaattcagtg tctgcatagc 1500

tttgagtcca gtgtttgaag acaatctctg attgtgaagc cctc 1544

<210> 27

<211> 1222

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> miR223_P2RY12 (438 bp) fusion promoter

<400> 27

acttgtacag cttcacaggg ctccatgctt agaaggaccc cacacttagt ttaatgttct 60

gctgtcatca tcttgatatt cttaattttt aaataaaggg cctatcgttt tcatttttta 120

ctgggccttg caaattatgt agctggttct gtatgccagg agagaagttg gaagtaaaat 180

ggtattccag gaccaggagg cattctggca gagtgaaaga acatgtgatt tggagtccat 240

ggggatgggt ttaaatttca gctttccact aatttgcttt gtgatactga gtatttcctt 300

ttatccctca gaggctctgt ttctcaattt tgactacggg ttttttcatt agataatgtc 360

tcagttctgg tattccaggt ttccctcaat tattctggga aaacctcctt gacccacagg 420

cagagcctag ggcagccagg tgctttctac tctctctctc tctgcagctt ggaaagttag 480

tgtctgttga aggtcagctg ggagttggtg gaggcagggc agtggcctgc tactattgct 540

gcagtagcag acccttttcac aacagcattg ttttgtcatt ttgcatccag atttccgttg 600

gctaacctca gtcttatctt cctcatttct gtttcctgtt gaagacacca agggcccttc 660

aaaacacaga agcttcttgc tcacggcaga aagcccaatt ccatctggcc cctgcaggtt 720

ggctcagcac tggggaatca gagtcccctc catgaccaag gcaccactcc actgacaggg 780

atcctaacca agggaaaaac aaagggccag agacttaaca tccctagcca gcacgcattt 840

tgagttaaca taattacttg ttagaagaaa atacatcacc cagtgttgta cacaatatat 900

ttcagataaa ttaaccaccc aagaaagcaa gcttaaaatc ttctccagga agcagacttc 960

gaaggcttga tctcaacttg gatttatcat ttgcatagaa aataaccata actcgaagtt 1020

ataaatcatc aactctatag caggtttcag taaaaagccg caagatttta aattgctttt 1080

taaaagatga cttctcagcc atcctcatcc cacatttcct gggaaataaa agcagaagtc 1140

ctaaaagagg acagatagaa attcagtgtc tgcatagctt tgagtccagt gtttgaagac 1200

aatctctgat tgtgaagccc tc 1222

<210> 28

<211> 1789

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> miR223_TMEM119 fusion promoter

<400> 28

acttgtacag cttcacaggg ctccatgctt agaaggaccc cacacttagt ttaatgttct 60

gctgtcatca tcttgatatt cttaattttt aaataaaggg cctatcgttt tcatttttta 120

ctgggccttg caaattatgt agctggttct gtatgccagg agagaagttg gaagtaaaat 180

ggtattccag gaccaggagg cattctggca gagtgaaaga acatgtgatt tggagtccat 240

ggggatgggt ttaaatttca gctttccact aatttgcttt gtgatactga gtatttcctt 300

ttatccctca gaggctctgt ttctcaattt tgactacggg ttttttcatt agataatgtc 360

tcagttctgg tattccaggt ttccctcaat tattctggga aaacctcctt gacccacagg 420

cagagcctag ggcagccagg tgctttctac tctctctctc tctgcagctt ggaaagttag 480

tgtctgttga aggtcagctg ggagttggtg gaggcagggc agtggcctgc tactattgct 540
gcagtagcag acccttcac aacagcattg ttttgtcatt ttgcatccag atttccgttg 600
gctaacctca gtcttatctt cctcatttct gtttcctgtt gaagacacca agggcccttc 660
aaaacacaga agcttcttgc tcacggcaga aagcccaatt ccatctggcc cctgcaggtt 720
ggctcagcac tggggaatca gagtcccctc catgaccaag gcaccactcc actgacaggg 780
atccccctg acctgacccc tttctgtttg gcaaaaaagt aatttacctc ggtgtccttc 840
tccctggtag tctgtgagct ccccaaggct gggctgtgcc tgattcacct ctggaacttg 900

cttagcacag tgcgtggcct gctgcaggtg ttcattgagc acttgccgaa tgaatgcatg 960
aatgaatgaa tgaatgaatg aatgcaaggg gctgctaatc cacaggactc ctcaggtcag 1020
ccagacgtcc cggttccaag gcctgccact gactcacctc aggaccctgc ttgaaccatt 1080
agaactcacc ctgcctcact ttccccctct gtgaaatggg gctccaactc ctattcaagc 1140
tactatcatt tgggggcatt gtgaggccac agatcccaga acatcagagt cagaggtagc 1200
ccagaaagct tcccacccat ccctacaaat gggaaactga ggtctggaga gggaagggca 1260
gagttgggct ccctgtctca ggctcggacc caccatcagg cctgtctcta aaacgaatcc 1320

cagctcccac gctgcaccct gagcctggaa gcctgagcca cacaaggacg gggaattttc 1380
cttcccactt ccagaggcct ctgaacctcc ctgagcttgt ccccttgga gggtattggg 1440
cagcagcgtg ggcagaaccc cagctcactg tctgggggag cgctgcagga cagccttgtc 1500
tgtctgtctc agcctgccct ggggacccga ggtcagggag gaagtgccgc atctggtctt 1560
ccccagagcg agagtgtgag caagggtggg attgcgtgtg gcccgagagt agcccctccc 1620
ctccccctgt ccccacccca aaccctctta atgaaatcaa gctggccctg cggcccagcc 1680
ggggagggag gaaggaggag ggacgggagg agggacggga ggagggaggg cgggcaggcg 1740

ccagcccaga gcagccccgg gcaccagcac ggactctctc ttccatcta 1789

<210> 29

<211> 1774

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> miR223_OLFML3 fusion promoter

<400> 29

acttgtacag cttcacaggg ctccatgctt agaaggaccc cacacttagt ttaatgttct 60

gctgtcatca tcttgatatt cttaattttt aaataaaggg cctatcgttt tcatttttta 120

ctgggccttg caaattatgt agctggttct gtatgccagg agagaagttg gaagtaaaat 180

ggtattccag gaccaggagg cattctggca gagtgaaaga acatgtgatt tggagtccat 240

ggggatgggt ttaaatttca gctttccact aatttgcttt gtgatactga gtatttcctt 300

ttatccctca gaggctctgt ttctcaattt tgactacggg ttttttcatt agataatgtc 360

tcagttctgg tattccaggt ttccctcaat tattctggga aaacctcctt gacccacagg 420

cagagcctag ggcagccagg tgctttctac tctctctctc tctgcagctt ggaaagttag 480

tgtctgttga aggtcagctg ggagttggtg gaggcagggc agtggcctgc tactattgct 540

gcagtagcag acccttttcac aacagcattg ttttgtcatt ttgcatccag atttccgttg 600

gctaacctca gtcttatctt cctcatttct gtttcctgtt gaagacacca agggcccttc 660

aaaacacaga agcttcttgc tcacggcaga aagcccaatt ccatctggcc cctgcaggtt 720

ggctcagcac tggggaatca gagtcccctc catgaccaag gcaccactcc actgacaggg 780

atcctaccct tttggaccac aaccaagaga aataaccaat agtcttttct cccagtggta 840

aggaagtcag aatacattga tctagactgc aacaacatat atatatatat cagattccgc 900

ccccccgcaa tacatgaatg tatagtaaat tagtgtgaac tcactgaaca ctcctcagtt 960

ttggtgagag actatatctg gcctctttca agcaaaggaa agccatgtaa aacagcgctg 1020

ctgtcagcct taacttccag acgatcgagt taatttacta acttctcagt gacctgtttt 1080

ttttttttt ttaatctcag ttatattttc ttccttgggc taaatcagat atttgcatag 1140

cccccaaagt agtaattgga tagtcttggg ggaaatatgc atttcagtgg tgaaaacccc 1200

tgtaaattca atatatttgg cttttgtgga aaattttcct catggggtga agtctaagcc 1260

ttagtttctg tattatcatg agagatgaca ccagctgctt agcacaaggt ggcgccaatg 1320

agctttagaa taagttgggc ttgaccactt gggccattgt tttcctgctt cctcccttca 1380

agcctcacct ccccagctcc cagcttctac tgaacaaggc tgaaaaccca ctctattgca 1440

gggaaaggga aagattaatg aaaaatgtca gtttcttaag tcagcactgg tgaaactttc 1500

ctaaaacagg aatggcgttt gctgagtttt ctctggggtc tctgctttct gcagctagct 1560

tccctgcttg actgcctaga aggcctctgc tttcgggttt ccatctcttt cccctccaga 1620

ggaccctaca gcctaggcgg gaggtggtta aggcttctgg ctgctgtgca atggggccat 1680

ctgtgtttga tcaatcctgg cggaaaggag ggggtggggg ttgtaaagag aactgaaagc 1740

attccagagt agtgagagag acccagagat cagg 1774

<210> 30

<211> 1779

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Progranulin isoform 1

<400> 30

atgtggacac tggtgagttg ggtggcattg acagcaggtc tggtagcagg cacaagatgt 60

ccagatggtc agttttgtcc agtggcttgt tgtcttgacc ctgggggtgc ctcatatagt 120

tgctgccgcc cactgctcga taagtggcct accacactga gtcgccactt gggtggtcct 180

tgtcaagttg atgcccattg ttcagcagga cattcatgca tctttaccgt aagcggaacc 240

agttcctgtt gcccatttcc agaggcagta gcgtgtgggg acggtcacca ctgttgccca 300

aggggattcc actgctcagc cgacggcagg agttgtttcc agaggagcgg caataactct 360

gtcggggcaa tccagtgtcc agacagccag tttgagtgcc ctgacttttc tacttgctgc 420

gtgatggttg acggctcctg gggttgctgt ccaatgcccc aggcaagttg ctgtgaggat 480

agagtgcact gctgccccca cggcgcattt tgcgacctgg ttcatactag gtgtatcacc 540

cccactggta cacacccccc cgctaaaaag ctcccagctc agagaactaa cagagccgtt 600

gcgttgtcat cctccgtcat gtgtcctgat gcacggagca gatgtccaga tggaagcaca 660

tgctgtgagc tgccaagcgg caagtacggc tgttgtccga tgcccaacgc cacctgttgt 720

tcagaccacc ttcattgttg tccacaggac accgtgtgtg acctcattca gagcaaatgc 780

ctgagtaaag aaaacgcgac tacagacctc ctcacaaagt tgcccgcgca cacagtgggg 840

gatgtgaaat gtgacatgga agtgtcctgt cctgacgggt acacttgctg tagacttcag 900

tctggcgcgt gggggtgctg tccttttacc caggcagtgt gctgtgaaga ccacattcat 960

tgttgccccg cagggttcac atgtgacaca caaaagggaa cctgcgaaca gggtcctcac 1020

caggtgcctt ggatggagaa agccccagca catctgtcac tgcctgaccc tcaagctttg 1080

aaacgggacg tgccttgcga caatgtgtct tcctgtcctt catctgacac gtgctgccaa 1140

ttgacaagtg gagagtgggg atgctgcccc attccagagg ccgtctgttg cagcgaccat 1200

cagcactgtt gtccccaggg atacacgtgt gtggccgagg gacagtgtca gcgagggagt 1260

gagattgtgg ctggtctgga aaagatgcca gcaagaagag cgtccctttc tcatcccagg 1320

gatattggct gtgaccaaca cactagctgt cctgtgggtc agacatgttg ccccagtctg 1380

ggtggttcat gggcctgctg ccagctccct catgccgttt gttgcgaaga ccgccagcat 1440

tgctgtccag cgggatacac atgcaacgtg aaggcacgga gctgtgaaaa ggaagtcgta 1500

tcagcacagc ccgcaacttt tctcgctcgc tccccccatg tgggggtaaa ggacgtggag 1560

tgtggtgagg gccatttctg ccacgataac cagacatgtt gccgcgataa tcgccagggt 1620

tgggcctgct gtccctacag acagggagtc tgctgtgctg ataggcgaca ttgttgtcca 1680

gcaggattta ggtgtgctgc gagaggcacg aaatgcctga ggcgggaggc tccaagatgg 1740

gatgcacctc ttcgggaccc agctctcagg caactgctg 1779

<210> 31

<211> 1314

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Progranulin isoform 2

<400> 31

atgtggaccc tcgtatcttg ggttgctctt acagcaggtc tcgttgcagg gactagatgt 60

cctgacggac agttttgccc tgtggcatgt tgtctggacc caggcggagc atcctactca 120

tgttgtcgcc ccctcctgga caagtggcct actactctgt caagacattt gggaggaccc 180

tgtcaagttg acgcccattg ttccgcagga cactcttgca tctttactgt ctctgggaca 240

agctcctgtt gcccatttcc tgaagccgtg gcttgcggcg acggacatca ctgttgtcca 300

cgagggttcc attgctcagc agatggcaga agctgttttc aaaggagtgg gaacaattcc 360

gtaggcgcaa ttcagtgccc agattcacag ttcgagtgcc ctgatttcag cacctgctgt 420

gtgatggtcg atgggtcatg gggatgctgc cctatgccac aagcctcttg ttgtgaggac 480

cgagtccact gttgccctca tggcgcattt tgtgacctgg tgcatacaag gtgcatcacg 540

cccacaggaa cccacccccc tgctaaaaaa cttccagcac aaaggacaaa cagagccgtt 600

gctctctctt cttccgtgat gtgccccgac gccagaagca gatgcccaga tggctcaact 660

tgttgcgagc tgcctagtgg gaagtacggg tgctgcccaa tgccaaatgc cacgtgttgc 720

tctgaccacc ttcactgctg cccgcaagat actgtgtgcg acctgattca gtccaaatgt 780

ttgtctaagg aaaatgccac caccgacctg ctgacaaaac ttcccgctca cacagtgggg 840

gacgtgaaat gtgatatgga ggtttcatgc cccgacgggt atacatgttg tagattgcag 900

agcggcgcat ggggatgttg tccattcacc caggctgttt gttgcgagga ccacatccac 960

tgttgtcctg ctgggttcac atgcgacaca caaaaaggca cttgcgagca aggaccacac 1020

caggttcctt ggatggagaa agccccagcc cacctgtctt tgcctgaccc tcaggctttg 1080

aagcgcgatg taccctgcga caacgtttct tcctgtccct cctccgatac atgttgcaga 1140

gacaatagac agggatgggc ttgttgtcct tatcgacagg gcgtttgctg cgctgatagg 1200

aggcattgtt gtcccgcagg ttttcggtgc gctgctaggg gaacaaaatg tctgagacgg 1260

gaggctccaa gatgggatgc tcctttgcgc gaccccgctc tgcgacaact gctc 1314

<210> 32

<211> 1239

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Progranulin isoform 3

<400> 32

atggcaataa ctgctgcaca tggggcctct acagccgtgc aaactggaga cccagcaagt 60

aaggaccaag ttacaacccc ctgggtgccc agctctgctc ttatcgtatc cagtaatgct 120

cgaaccagtc cccgagctgt attgtggtct atggccccag gaggggcagc tccatgtcct 180

agattgcctg ccgtaaagac aggatgcacc gctgtatgcg acctcatcca atctaagtgt 240

ctgtctaaag aaaacgcaac tacagacctg cttacgaagc tgcccgctca taccgtaggg 300

gacgtcaaat gtgatatgga ggtatcctgt cctgacggct atacatgttg tcgcttgcag 360

agtggtgctt ggggatgttg tcccttcaca caggccgtgt gttgtgagga ccacatacac 420

tgctgccctg ctgggttcac atgtgacacg cagaagggga catgtgagca gggaccccat 480

caagtacctt ggatggagaa ggccccagct catctgagtc tgcctgaccc ccaggcactg 540

aagagagatg tgccctgtga caacgtgtcc tcctgccccc catctgacac ttgctgccag 600

ttgacatctg gcgaatgggg ctgctgccct atacccgaag ctgtgtgttg tagtgaccac 660

caacactgct gcccccaggg atacacctgt gtggctgagg gacagtgcca gaggggttcc 720

gaaattgttg ctggcttgga gaagatgcct gctcggagag cctcacttag ccatccacgc 780

gatattgggt gtgaccagca cacctcctgt cctgtcggac agacatgttg cccgtccctt 840

ggtggaagtt gggcttgttg tcagctcccc catgccgttt gttgcgagga ccgacagcac 900

tgttgtccag caggctatac ctgcaatgtg aaagctagga gctgcgagaa ggaggttgtt 960

agcgctcaac cagcaacatt tctggcccgc tccccccatg tcggtgtgaa agatgttgaa 1020

tgtggcgagg gacacttctg ccacgacaac cagacttgct gtagggacaa ccgccagggt 1080

tgggcttgct gtccatatag acaggggggtg tgctgtgctg ataggagaca ttgttgtcct 1140

gctggattta gatgtgcggc tagaggcact aaatgtttgc gaagggaagc tcctagatgg 1200

gatgctccac ttagagaccc agccctgcgg caattgctc 1239

<210> 33

<211> 540

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> IL-12 beta and alpha subunit connected with a linker

<400> 33

Met Cys His Gln Gln Leu Val Ile Ser Trp Phe Ser Leu Val Phe Leu
1 5 10 15

Ala Ser Pro Leu Val Ala Ile Trp Glu Leu Lys Lys Asp Val Tyr Val
20 25 30

Val Glu Leu Asp Trp Tyr Pro Asp Ala Pro Gly Glu Met Val Val Leu
35 40 45

Thr Cys Asp Thr Pro Glu Glu Asp Gly Ile Thr Trp Thr Leu Asp Gln
50 55 60

Ser Ser Glu Val Leu Gly Ser Gly Lys Thr Leu Thr Ile Gln Val Lys
65 70 75 80

Glu Phe Gly Asp Ala Gly Gln Tyr Thr Cys His Lys Gly Gly Glu Val
85 90 95

Leu Ser His Ser Leu Leu Leu Leu His Lys Lys Glu Asp Gly Ile Trp
100 105 110

Ser Thr Asp Ile Leu Lys Asp Gln Lys Glu Pro Lys Asn Lys Thr Phe
115 120 125

Leu Arg Cys Glu Ala Lys Asn Tyr Ser Gly Arg Phe Thr Cys Trp Trp
130 135 140

Leu Thr Thr Ile Ser Thr Asp Leu Thr Phe Ser Val Lys Ser Ser Arg
145 150 155 160

Gly Ser Ser Asp Pro Gln Gly Val Thr Cys Gly Ala Ala Thr Leu Ser
165 170 175

Ala Glu Arg Val Arg Gly Asp Asn Lys Glu Tyr Glu Tyr Ser Val Glu
180 185 190

Cys Gln Glu Asp Ser Ala Cys Pro Ala Ala Glu Glu Ser Leu Pro Ile
195 200 205

Glu Val Met Val Asp Ala Val His Lys Leu Lys Tyr Glu Asn Tyr Thr

210 215 220

Ser Ser Phe Phe Ile Arg Asp Ile Ile Lys Pro Asp Pro Pro Lys Asn

225 230 235 240

Leu Gln Leu Lys Pro Leu Lys Asn Ser Arg Gln Val Glu Val Ser Trp

245 250 255

Glu Tyr Pro Asp Thr Trp Ser Thr Pro His Ser Tyr Phe Ser Leu Thr

260 265 270

Phe Cys Val Gln Val Gln Gly Lys Ser Lys Arg Glu Lys Lys Asp Arg

275 280 285

Val Phe Thr Asp Lys Thr Ser Ala Thr Val Ile Cys Arg Lys Asn Ala

290 295 300

Ser Ile Ser Val Arg Ala Gln Asp Arg Tyr Tyr Ser Ser Ser Trp Ser

305 310 315 320

Glu Trp Ala Ser Val Pro Cys Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly

325 330 335

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Arg Asn Leu Pro Val Ala Thr Pro Asp

340 345 350

Pro Gly Met Phe Pro Cys Leu His His Ser Gln Asn Leu Leu Arg Ala

355 360 365

Val Ser Asn Met Leu Gln Lys Ala Arg Gln Thr Leu Glu Phe Tyr Pro

370 375 380

Cys Thr Ser Glu Glu Ile Asp His Glu Asp Ile Thr Lys Asp Lys Thr

385 390 395 400

Ser Thr Val Glu Ala Cys Leu Pro Leu Glu Leu Thr Lys Asn Glu Ser

405 410 415

Cys Leu Asn Ser Arg Glu Thr Ser Phe Ile Thr Asn Gly Ser Cys Leu

420 425 430

Ala Ser Arg Lys Thr Ser Phe Met Met Ala Leu Cys Leu Ser Ser Ile

435 440 445

Tyr Glu Asp Leu Lys Met Tyr Gln Val Glu Phe Lys Thr Met Asn Ala

450 455 460

Lys Leu Leu Met Asp Pro Lys Arg Gln Ile Phe Leu Asp Gln Asn Met

465 470 475 480

Leu Ala Val Ile Asp Glu Leu Met Gln Ala Leu Asn Phe Asn Ser Glu

485 490 495

Thr Val Pro Gln Lys Ser Ser Leu Glu Glu Pro Asp Phe Tyr Lys Thr

500 505 510

Lys Ile Lys Leu Cys Ile Leu Leu His Ala Phe Arg Ile Arg Ala Val

515 520 525

Thr Ile Asp Arg Val Met Ser Tyr Leu Asn Ala Ser

530 535 540

<210> 34

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Linker sequence

<400> 34

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

1 5 10 15

<210> 35

<211> 498

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> IFN-gamma

<400> 35

atgaagtaca cctcctacat cctcgctttt caactgtgca ttgtccttgg gtctcttgga 60

tgttactgtc aagacccata cgtgaaagag gcagagaacc tcaaaaagta tttcaatgct 120

ggacatagcg acgtggccga taatggcact ctcttcctgg gcatcctgaa gaactggaag 180

gaagaatctg accgcaagat tatgcagtcc cagattgtgt ccttttattt caaactcttc 240

aagaatttca aagatgacca gagcattcag aaaagcgtgg aaacaatcaa agaggatatg 300

aacgtgaagt ttttcaattc aaataagaag aagcgcgatg actttgagaa acttaccaac 360

tattccgtga ccgacttgaa tgtgcagagg aaggccatac atgagttgat acaagttatg 420

gctgaactga gccccgccgc taaaactggt aaaaggaagc gcagccaaat gctgtttcga 480

gggaggcgcg ccagtcag 498