



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2022-0148162
(43) 공개일자 2022년11월04일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 48/00 (2006.01) A61K 31/436 (2006.01)
A61K 31/573 (2021.01) A61K 38/46 (2006.01)
A61K 45/06 (2006.01) A61P 3/00 (2006.01)
A61P 43/00 (2006.01) C12N 9/16 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
A61K 48/0075 (2013.01)
A61K 31/436 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2022-7027253
(22) 출원일자(국제) 2021년01월28일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2022년08월05일
(86) 국제출원번호 PCT/US2021/015446
(87) 국제공개번호 WO 2021/154963
국제공개일자 2021년08월05일
(30) 우선권주장
62/967,494 2020년01월29일 미국(US)
(뒷면에 계속)
- (71) 출원인
리젠엑스바이오 인크.
미국 메릴랜드 (우편번호 20850) 록빌 메디컬 센터 드라이브 9804
(72) 발명자
파콜라, 스티븐, 조셉
미국 뉴욕 10533 어빙턴 루이스 로드 15
팔라벨라, 파울로
미국 메릴랜드 20854 포토맥 오버폰드 웨이 12324
뉴보렛, 마리-로르
미국 버지니아 23452 버지니아비치 체소페이안 트레일 328
(74) 대리인
특허법인 광장리앤고

전체 청구항 수 : 총 39 항

(54) 발명의 명칭 인간 신경 또는 신경아교 세포에 의해 생성된 재조합 인간 이두로네이트-2-설파타아제 (IDS)를 사용한 점액다당류증 II의 치료

(57) 요약

점액다당류증 II (MPS II)로 진단된 인간 대상체의 중추 신경계 (CNS)의 뇌척수액에 인간 뉴런 또는 신경아교 세포에 의해 생성된 재조합 인간 이두로네이트-2-설파타아제 (IDS)를 전달하기 위한 조성물 및 방법이 설명되어 있다.

대표도 - 도1

인간 IDS의 아미노산 서열

이두로네이트-2-설파타아제 (IDS)

→ 신호 → 성숙한 42kD
10 20 30 40 50
MPPPTGRGL LNLGLVLSV CVALGETQA [N]TTDALNVL LIIVDDLRS
60 70 80 90 100
LGCYGRKLVK SPNIQQLASH SLLFQNAFAQ QAVCAPSRVS FLTGRRPDTT
110 120 130 140 150
KLYDFNSYAR VHAG [N]STIP QYFKENGYTT MSVGKVFHFG IS [N]TDDSP
160 170 180 190 200
YKWSFPPT [N]SSEKYENETTCRGPD [N]ELHA NLLCPVDVLD VPSTLPQKQ
210 220 230 240 250
STEQAIGLLE KMKTSASFF LAVGYHKPHI PFRYPKEFK LYPLE [N]TLA
260 270 280 290 300
PDPEVEGDLF PWAYNEWMDI QREDVQAL [N]ISVPYGPV DFQRKIPQSY
310 320 330 340 350
FASVSYLDLG VGRLLSALDD LQLA [N]TTIA FTSDHGWALG EHGEMAKYGN
360 370 380 390 400
FDVATHVELI FYVPTASL PEAGEKLPY LDPFDSASQL MEPPQSMDL
410 420 430 440 450
VELVSLFTL AGLAGLVFP RCFVPSFHY LCREGKNLLK HFRERDLEED
→ Mature 14kD
460 470 480 490 500
PYLFGN [N]REL IAYSQYERES DIPQWNSDKP SLKDIKIMGY SIRTIDYRYT
510 520 530 540 550
VWVGFNDEF LA [N]FSDIHAG ELYFVDSDEL QGNHMY [N]SQ GGDLFQLLMP

이델릭제 = 신호 서열 (MPPPTGRGL LNLGLVLSV CVALG)

[N] = N-연결된 글리코실화 부위 (GlcNAc...)

[N] = Y-형산화 부위 (PSSEKYENETTCRGPD)

질량 = 42kD 또는 14kD 펩티드의 이두노-말단 서열 (Sleat 2005)

C⁴⁴ = 프로밀글리신 변형

N²⁸⁰ = M-G-P 전기(들)

(52) CPC특허분류

A61K 31/573 (2013.01)
A61K 38/465 (2013.01)
A61K 45/06 (2013.01)
A61K 48/005 (2013.01)
A61K 48/0083 (2013.01)
A61P 3/00 (2018.01)
A61P 43/00 (2018.01)
C12N 9/16 (2013.01)
C12Y 301/06013 (2013.01)

(30) 우선권주장

63/066,625 2020년08월17일 미국(US)
63/088,305 2020년10월06일 미국(US)

명세서

청구범위

청구항 1

II형 점액다당류증 (MPS II)으로 진단된 인간 대상체를 치료하는 방법으로서, 인간 뉴런 또는 인간 신경아교 세포에 의해 생성된 글리코실화된 재조합 인간 이두로네이트-2-설파타아제 (IDS) 전구체의 치료학적 유효량을 인간 대상체의 뇌척수액 (CSF)에 전달하는 단계를 포함하고, 상기 글리코실화된 재조합 인간 IDS 전구체는 인간 IDS를 인코딩하는 재조합 뉴클레오티드 발현 벡터의 투여에 의해 전달되고, 상기 재조합 뉴클레오티드 발현 벡터는 인간 대상체의 뇌 질량에 의존하는 용량으로 투여되고, 상기 뇌 질량은 인간 대상체의 뇌의 뇌 자기 공명 영상 (MRI)에 의해 결정되는, 방법.

청구항 2

청구항 1에 있어서, 상기 글리코실화된 재조합 인간 IDS 전구체는 검출가능한 수준에서 분비되는, 방법.

청구항 3

청구항 1 또는 2에 있어서, 상기 인간 뉴런 또는 인간 신경아교 세포는 인간 IDS 전구체를 인코딩하는 내인성 유전자에서 적어도 하나의 돌연변이를 갖는, 방법.

청구항 4

청구항 1 내지 3 중 어느 한 항에 있어서, 상기 인간 뉴런 또는 인간 신경아교 세포는 재조합 아데노-관련 바이러스 벡터 (rAAV)로 형질도입되는, 방법.

청구항 5

청구항 1 내지 4 중 어느 한 항에 있어서, 상기 글리코실화된 재조합 인간 IDS 전구체는 CB7 프로모터의 조절 하에서 발현되는, 방법.

청구항 6

청구항 1 내지 5 중 어느 한 항에 있어서, 상기 글리코실화된 재조합 인간 IDS 전구체는 인간 IDS 전구체를 인코딩하는 cDNA로부터 발현되는, 방법.

청구항 7

청구항 1 내지 6 중 어느 한 항에 있어서, 상기 글리코실화된 재조합 인간 IDS 전구체는 폴리아크릴아미드 겔 전기영동에 의해 측정된 경우에 약 90 kDa인, 방법.

청구항 8

청구항 1 내지 7 중 어느 한 항에 있어서, 상기 글리코실화된 재조합 인간 IDS 전구체는 포르밀글리신을 함유하는, 방법.

청구항 9

청구항 1 내지 8 중 어느 한 항에 있어서, 상기 글리코실화된 재조합 인간 IDS 전구체는 (a) α2,6-시알릴화되고/거나; (b) 검출가능한 NeuGc를 함유하지 않고/거나; (c) 검출가능한 α-Gal 항원을 함유하지 않고/거나; (d) 티로신-황산화물을 함유하고/거나; (e) 만노스-6-인산화되는, 방법.

청구항 10

청구항 1 내지 9 중 어느 한 항에 있어서, 상기 글리코실화된 재조합 인간 IDS 전구체는 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하는, 방법.

청구항 11

청구항 1 내지 10 중 어느 한 항에 있어서, 상기 재조합 뉴클레오타이드 발현 벡터는 AAV9 또는 AAVrh10 벡터인, 방법.

청구항 12

청구항 1 내지 11 중 어느 한 항에 있어서, 상기 인간 대상체의 뇌 질량은 cm^3 의 인간 대상체의 뇌 용적과 1.046 g/cm^3 의 인수를 곱셈함으로써 인간 대상체의 뇌 용적으로부터 전환되고, 상기 인간 대상체의 뇌 용적은 인간 대상체의 뇌 MRI로부터 취득되는, 방법.

청구항 13

청구항 1 내지 12 중 어느 한 항에 있어서, 상기 재조합 뉴클레오타이드 발현 벡터는 MRI에 의해 결정된 경우에 약 $1.3 \times 10^{10} \text{ GC/g}$ 뇌 질량, 또는 MRI에 의해 결정된 경우에 약 $6.5 \times 10^{10} \text{ GC/g}$ 뇌 질량의 용량으로 투여되는, 방법.

청구항 14

청구항 1 내지 12 중 어느 한 항에 있어서, 상기 재조합 뉴클레오타이드 발현 벡터는 MRI에 의해 결정된 경우에 약 $2.0 \times 10^{11} \text{ GC/g}$ 뇌 질량의 용량으로 투여되는, 방법.

청구항 15

청구항 1 내지 12 중 어느 한 항에 있어서, 상기 인간 대상체는 5세 이상이고 18세 미만인, 방법.

청구항 16

청구항 15에 있어서, 상기 재조합 뉴클레오타이드 발현 벡터는 MRI에 의해 결정된 경우에 약 $6.5 \times 10^{10} \text{ GC/g}$ 뇌 질량의 용량으로 투여되는, 방법.

청구항 17

청구항 15에 있어서, 상기 재조합 뉴클레오타이드 발현 벡터는 하기 표에 따른 용량으로 투여되는, 방법:

뇌 질량 (g)		목표 뇌 질량 (g)	용량: 총 GC ($6.5 \times 10^{10} \text{ GC/g}$ 뇌 질량)
최소	최대		
801	900	850	5.5×10^{13}
901	1050	975	6.3×10^{13}
1051	1200	1125	7.3×10^{13}
1201	-	1300	8.5×10^{13}

청구항 18

청구항 1 내지 12 중 어느 한 항에 있어서, 상기 인간 대상체는 4개월 이상이고 5세 미만인, 방법.

청구항 19

청구항 18에 있어서, 상기 재조합 뉴클레오타이드 발현 벡터는 하기 표에 따른 용량 1 또는 용량 2로부터 선택된 용량으로 투여되는, 방법:

뇌 질량 (g)		목표	용량 수준	
최소	최대		용량 1	용량 2
			총 GC (1.3×10^{10} GC/g 뇌 질량)	총 GC (6.5×10^{10} GC/g 뇌 질량)
-	700	650	8.5×10^{12}	4.2×10^{13}
701	800	750	9.8×10^{12}	4.9×10^{13}
801	900	850	1.1×10^{13}	5.5×10^{13}
901	1050	975	1.3×10^{13}	6.3×10^{13}
1051	1200	1125	1.5×10^{13}	7.3×10^{13}
1201	-	1300	1.7×10^{13}	8.5×10^{13}

청구항 20

청구항 18에 있어서, 상기 재조합 뉴클레오타이드 발현 벡터는 하기 표에 따른 용량으로 투여되는, 방법:

뇌 질량 (g)		목표	용량 3 총 GC (2.0×10^{11} GC/g 뇌 질량)
최소	최대		
-	474	450	9.0×10^{13}
475	524	500	1.0×10^{14}
525	574	550	1.1×10^{14}
575	624	600	1.2×10^{14}
625	674	650	1.3×10^{14}
675	724	700	1.4×10^{14}
725	774	750	1.5×10^{14}
775	824	800	1.6×10^{14}
825	874	850	1.7×10^{14}
875	924	900	1.8×10^{14}
925	974	950	1.9×10^{14}
975	1024	1000	2.0×10^{14}
1025	1074	1050	2.1×10^{14}
1075	1124	1100	2.2×10^{14}
1125	1174	1150	2.3×10^{14}
1175	1224	1200	2.4×10^{14}
1225	1274	1250	2.5×10^{14}
1275	>1300	1300	2.6×10^{14}

청구항 21

청구항 1 내지 20 중 어느 한 항에 있어서, 상기 재조합 뉴클레오타이드 발현 벡터는 수조내 (IC) 투여를 통해 투여되는, 방법.

청구항 22

청구항 1 내지 20 중 어느 한 항에 있어서, 상기 재조합 뉴클레오타이드 발현 벡터는 뇌실내 (ICV) 투여를 통해 투여되는, 방법.

청구항 23

청구항 1 내지 22 중 어느 한 항에 있어서, 상기 재조합 뉴클레오타이드 발현 벡터는 인간 대상체의 총 뇌척수액 용적의 10%를 초과하지 않는 용적으로 투여되는, 방법.

청구항 24

청구항 1 내지 23 중 어느 한 항에 있어서, 상기 글리코실화된 재조합 인간 IDS 전구체는 인간 대상체의 CNS에서 세포의 리소솜에 전달되는, 방법.

청구항 25

청구항 1 내지 24 중 어느 한 항에 있어서, 인간 IDS 전구체 치료 전 또는 그와 동시에 인간 대상체에게 면역 억제 요법을 투여하고, 그 후에 임의로 면역 억제 요법을 계속하는 단계를 추가로 포함하는, 방법.

청구항 26

청구항 25에 있어서, 상기 면역 억제 요법은 하나 이상의 코르티코스테로이드, 시클리무스, 및/또는 타크로리무스를 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 27

청구항 26에 있어서, 상기 하나 이상의 코르티코스테로이드가 메틸프레드니솔론 및/또는 프레드니손인, 방법.

청구항 28

청구항 25 내지 27 중 어느 한 항에 있어서, 면역 억제 요법 전 또는 그와 동시에 인간 대상체에게 하나 이상의 항생제를 투여하는 단계를 추가로 포함하는, 방법.

청구항 29

청구항 28에 있어서, 상기 하나 이상의 항생제는 트리메토프림, 설파메톡사졸, 펜타미딘, 답손, 및/또는 아토파쿠온인, 방법.

청구항 30

청구항 25 내지 29 중 어느 한 항에 있어서, 면역 억제 요법 전 또는 그와 동시에 인간 대상체에게 하나 이상의 항진균 요법을 투여하는 단계를 추가로 포함하는, 방법.

청구항 31

청구항 1 내지 30 중 어느 한 항에 있어서, 제조함 뉴클레오타이드 발현 벡터의 투여 후에 하기 바이오마커 중 하나 이상을 측정하는 단계를 추가로 포함하는 방법: (a) CSF 내 글리코사미노글리칸 (GAG)의 수준; (b) CSF 내 이두로네이트-2-설파타아제 (I2S)의 수준; (c) 혈장 내 GAG의 수준; (d) 혈장 내 I2S의 수준; (e) 백혈구 I2S 효소 활성의 수준; 및 (f) 소변 내 GAG의 수준.

청구항 32

청구항 31에 있어서, 상기 CSF 내 GAG는 CSF 내 헤파린 설페이트를 포함하는, 방법.

청구항 33

청구항 31에 있어서, 상기 CSF 내 GAG는 CSF 내 헤파린 설페이트인, 방법.

청구항 34

청구항 31 내지 33 중 어느 한 항에 있어서, 상기 혈장 내 GAG는 혈장 내 헤파린 설페이트를 포함하는, 방법.

청구항 35

청구항 31 내지 33 중 어느 한 항에 있어서, 상기 혈장 내 GAG는 혈장 내 헤파린 설페이트인, 방법.

청구항 36

청구항 31 내지 35 중 어느 한 항에 있어서, 상기 소변 내 GAG는 소변 내 헤파린 설페이트를 포함하는, 방법.

청구항 37

청구항 31 내지 35 중 어느 한 항에 있어서, 상기 소변 내 GAG는 소변 내 헤파린 설페이트인, 방법.

청구항 38

청구항 31 내지 37 중 어느 한 항에 있어서, 상기 측정하는 단계는 CSF 내 헤파린 설페이트의 수준을 메어링(mearing)하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 39

청구항 31 내지 38 중 어느 한 항에 있어서, 상기 측정하는 단계는 백혈구 I2S 효소 활성의 수준을 측정하는 단계를 포함하는, 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] **관련된 출원에 대한 교차-참조**

[0002] 본 출원은 2020년 10월 6일에 출원된 미국 가출원 번호 63/088,305, 2020년 8월 17일에 출원된 미국 가출원 번호 63/066,625 및 2020년 1월 29일에 출원된 미국 가출원 번호 62/967,494의 이익을 주장하며, 이의 각각의 내용은 그 전문이 본원에 참조로 포함된다.

[0003] **전자적으로 제출된 서열 목록 참조**

[0004] 본 출원은 2021년 1월 12일에 생성되고, 크기가 172,339 바이트인 "Sequence_Listing_12656-129-228.TXT"라는 제목의 텍스트 파일로서 본 출원과 함께 제출된 서열 목록을 참조로 포함한다.

[0005] **1.도입**

[0006] 점액다당류증 II (MPS II)로 진단된 인간 대상체의 중추 신경계 (CNS)의 뇌척수액 (CSF)에 인간 뉴런 또는 신경아교 세포에 의해 생성된 재조합 인간 이두로네이트-2-설페타아제 (IDS)를 전달하기 위한 조성물 및 방법이 설명되어 있다.

배경 기술

[0007] **2.발명의 배경**

[0008] 헌터 증후군/MPS II는 100,000명의 정상 출산아당 0.5 내지 1.3명으로 발생하는 희귀 X-연관 열성 유전 질환이다. 이 진행성이고 파괴적인 질환은, 헤파린 설페이트와 더마탄 설페이트의 리소좀 이화작용에 필요한 효소인, 리소좀 저장 효소 이두로네이트-2-설페타아제의 결핍으로 이어지는 IDS 유전자에서 유전적 돌연변이로 인해 발생한다. GAG (글리코사미노글리칸)라고 하는 이 편재하는 다당류는 MPS II 환자의 조직 및 기관에 축적되어 특징적인 저장 병변 및 다양한 질환 후유증을 유발한다. 이 환자 집단에서 이환율과 사망률이 높고; (신경인지 저하를 특징으로 하는) 중증 표현형을 가진 환자에서 11.7세 그리고 경증 또는 약화된 표현형을 가진 환자에서 21.7세의 평균 연령에 사망이 발생하는 것으로 보고되었다. (Young 등, 1982, A clinical and genetic study of Hunter's syndrome. 2 Differences between the mild and severe forms. J. Medical Genetics 19:408-411). 환자의 대다수 (3분의 2)는 이 질환의 중증 형태를 갖는 것으로 보고된다. (Wraith JE, 등, 2007, Enzyme replacement therapy in patients who have mucopolysaccharidosis I and are younger than 5 years: Results of a multinational study of recombinant human alpha-L-Iduronidase (Laronidase). Pediatrics 120(1):E37-E46). 이 질환이 주로 소년에게 이환시키지만, 이환된 여성은 유전자의 양쪽 대립유전자에서 비-무작위 x-불활성화 및/또는 돌연변이의 결과로서 보고되었다. (Martin 등, 2008, Recognition and diagnosis of mucopolysaccharidosis II (Hunter Syndrome). Pediatrics 121:e377). 그러나, 여성의 MPS II는 극히 드물어 당시 2% 미만으로 발생한다.

[0009] MPS II 환자는 출생 시 정상으로 보이지만, 질환의 징후와 증상은 전형적으로 18개월 내지 4세에 중증 형태로, 그리고 4세 내지 8세에 약화된 형태로 나타난다. 이환된 모든 환자에게 공통인 징후와 증상은 저신장, 거친 얼굴 특징, 대두증, 대설증, 청력 상실, 간-및 비장 비대, 다발성 근위축증, 관절 구축, 척추 협착증, 및 수근관 증후군을 포함한다. 빈번한 상부 호흡기 및 귀 감염은 대부분의 환자에서 발생하며 진행성 기도 폐쇄는 흔히 발견되어, 수면 무호흡증 그리고 종종 사망을 초래한다. 심장 질환은 이 집단에서 주요 사망 원인이며 우심실 및 좌심실 비대 및 심부전을 초래하는 판막 기능장애를 특징으로 한다. 사망은 일반적으로 폐쇄성 기도 질환 또는 심부전에 기인한다.

[0010] 중증 형태의 질환에서, 초기 발달 이정표가 충족될 수 있지만, 발달 지체는 18 내지 24개월까지 쉽게 명백하다.

일부 환자는 첫 해에 청력 선별 검사에 실패하고 지지받지 않고 앉는 능력, 걷는 능력, 및 언어능력을 포함한 다른 이정표는 지체된다. 발달 진행은 3세 내지 5세에 정체되기 시작하며, 퇴행은 약 6.5세에 시작되는 것으로 보고된다. 배변 훈련을 받은 MPS II를 가진 아동의 ~50% 중에서, 대부분은, 전부는 아니더라도, 질환이 진행함에 따라 이 능력을 상실할 것이다. (상기 Wraith 등, 2007; 상기 Martin 등, 2008).

[0011] 유의한 신경학적 침범을 가진 환자는 과잉행동, 완고함, 및 공격성을 포함하는 중증 행동 장애를 생후 2년차에 시작하여, 신경퇴행성이 이러한 행동을 악화시키는 때인, 8 내지 9세까지 계속한다. (Muenzer, 등, 2009, Mucopolysaccharidosis I: Management and Treatment Guidelines, Pediatric 123(1): 19-29).

[0012] 발작은 10세에 도달한 중증으로 이환된 환자의 절반 이상에서 보고되고, 사망 때까지 CNS 침범을 가진 대부분의 환자는 중증으로 정신 장애를 갖고 지속적인 돌봄이 필요하다. (상기 Wraith 등, 2007; 상기 Martin 등, 2008). 약화된 질환을 가진 환자는 정상 지적 기능을 나타내지만, MRI 영상은 백질 병변, 뇌실 비대, 및 뇌 위축을 포함하여 MPS II를 가진 모든 환자에서 전반적인 뇌 이상을 드러낸다. (상기 Muenzer, 등, 2009).

[0013] HT1080 (섬유육종) 세포 (Elaprase[®], Shire Human Genetic Therapies)에 의해 생성된 재조합 이두르설파아제를 사용한 효소 대체 요법 (ERT)은 헌터 증후군의 치료에 대하여 유일하게 승인된 제품이며 매주 주입으로 투여된다. (ELAPRASE (이두르설파아제) 주사 [패키지 삽입]. Lexington, MA: Shire Human Genetic Therapies, Inc; 2013, http://pi.shirecontent.com/PI/PDFs/Elaprase_USA_ENG.pdf에서 이용 가능).

[0014] 그러나, 현재 투여된 대로 ERT는 혈액 뇌 장벽을 횡단하지 않으므로 중증 질환, 즉 CNS/신경인지 및 행동 관련 과 MPS II를 가진 환자에서 충족되지 않은 욕구를 해결할 수 없다. 이 문제를 해결하기 위해 설계된 최근 임상 시험에서, 경막내 투여를 위하여 제형화된 이두르설파아제 (Elaprase)는 척추에 이식된 경막내 약물 전달 장치 (아래쪽 갈비뼈에서 절개를 통해 액세스 포트의 이식으로 L4/L5의 수준에서 카테터의 삽입)를 사용하여 소아 환자에게 매달 1회 투여되었다. 환자는 또한 매주 1회 병용 i.v. 이두르설파아제를 받았다. Muenzer 등, 2016, Genetics in Med 18: 73-81, esp. p. 74 참조; <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25834948?dopt=Abstract>에서 이용가능한 초록). 장치 오작동은 치료된 환자 12명 중 6명 (50%)에서 부분적 재수술, 전체 수술적 재수술, 또는 제거를 초래하였다. 특히, 14건의 SAE (심각한 유해 사례) 중 12건은 장치-관련되었다 (장치 삽입의 합병증, 장치 탈구/연결 문제, 장치 파손/오작동/고장, 이식 부위 감염, 시술 통증, 및 창상 열개). (Muenzer 등, 2016, p. 75, col. 2 및 도 1). 척추관에서 장치 파손 및 카테터 이동은 이 소아 집단의 높은 활동 수준에 의해 악화되었다. (Muenzer 등, 2016, p.78 Discussion).

발명의 내용

[0015] 3. 발명의 요약

[0016] 본 발명은 헌터 증후군으로 진단된 환자를 포함하지만, 이에 제한되지 않는 점액다당류증 II (MPS II)로 진단된 인간 대상체의 중추 신경계 (CNS)의 뇌척수액 (CSF)에 인간 뉴런 또는 신경아교 세포에 의해 생성된 재조합 인간 이두로네이트-2-설파타아제 (rhIDS)를 전달하는 것을 포함한다.

[0017] 바람직한 구현예에서, 치료는 유전자 요법을 통해, 예를 들어, MPS II로 진단된 환자 (인간 대상체)의 CSF에, 인간 IDS (hIDS), 또는 hIDS의 유도체를 인코딩하는 바이러스 벡터 또는 기타 DNA 발현 작제물을 투여하여, 이식유전자 산물을 CNS에 지속적으로 공급하는 형질도입된 뉴런 및/또는 신경아교 세포의 영구적인 데포(depot)가 생성됨으로써 달성된다. 뉴런/신경아교 세포 데포로부터 CSF로 분비된 rhIDS는 CNS의 세포에 의해 세포내 이입되어, 수용 세포에서 효소 결함에 대한 "교차-보정(cross-correction)"을 초래할 것이다. 더욱이, CNS에서 형질도입된 신경 및 신경아교 세포의 데포가 양쪽 CNS에 및 전신적으로 재조합 효소를 전달할 수 있고, 이는 전신 치료, 예를 들어, 효소의 매주 i.v. 주사에 대한 필요성을 감소 또는 제거할 수 있음을, 의외로, 알아내었다.

[0018] 대안적인 구현예에서, hIDS는 세포 배양 (예를 들어, 생물반응기)에서 인간 뉴런 또는 신경아교 세포로 생성될 수 있고, 효소 대체 요법 ("ERT")으로서, 예를 들어, 효소를 CSF에, 직접적으로 CNS에, 및/또는 전신적으로 주사함으로써 투여될 수 있다. 그러나, 유전자 요법 접근법이 ERT에 비해 몇 가지 이점을 제공하는 것은 효소가 혈액 뇌 장벽을 통과할 수 없기 때문에 효소의 전신 전달은 CNS 치료로 이어지지 않을 것이며; 본 발명의 유전자 요법 접근법과는 달리, 효소를 CSF 및/또는 CNS로 직접 전달하는 것은 부담이 될뿐만 아니라 감염 위험이 있는 반복 주사를 필요로 할 것이기 때문이다.

[0019] 이식유전자에 의해 인코딩된 hIDS는 서열 번호 1 (도 1에 도시됨)의 아미노산 서열을 갖는 인간 IDS (hIDS), 및 예를 들어, 도 2에 도시된 IDS의 오르토로그(ortholog)에서 상응하는 비-보존 잔기로부터 선택된 아미노산 치환

을 포함하지만 이에 제한되지 않는, 아미노산 치환, 결실 또는 부가가 있는 hIDS의 유도체를 포함할 수 있지만, 이에 제한되지 않고, 단 이러한 돌연변이는 효소 활성화에 요구되는 위치 84 (C84)에 시스테인 잔기의 대체 (Millat 등, 1997, Biochem J 326: 243-247); 또는 예를 들어, 도 3에 도시되거나, 그 전문이 본원에 참조로 포함된, Sukegawa-Hayasaka 등, 2006, J Inher Metab Dis 29: 755-761 ("약화된" 돌연변이체 R48P, A85T, W337R, 및 절단된 돌연변이체 Q531X; 및 "중증" 돌연변이체 P86L, S333L, S349I, R468Q, R468L 보고); Millat 등, 1998, BBA 1406: 214-218 ("약화된" 돌연변이체 P480L 및 P480Q; 및 "중증" 돌연변이체 P86L 보고); 및 Bonucelli 등, 2001, BBA 1537:233-238에 의해 보고된 중증, 중증-중간, 중간, 또는 약화된 MPS II 표현형으로 식별된 돌연변이를 포함하지 않는다.

[0020] 예를 들어, hIDS의 특정 위치에서 아미노산 치환은 도 2에 정렬된 IDS 오르토로그의 해당 위치에서 발견되는 상응하는 비-보존 아미노산 잔기 중에서 선택될 수 있고, 단 이러한 치환은 도 3에 도시되거나 그 전문이 본원에 참조로 포함된, 상기, Sukegawa-Hayasaka 등, 2006; 상기, Millat 등, 1998; 또는 상기, Bonucelli 등, 2001에 의해 보고된 임의의 유해한 돌연변이를 포함하지 않는다. 생성된 이식유전자 산물은 돌연변이가 IDS 기능을 방해하지 않는지 확인하기 위해 세포 배양 또는 시험 동물에서 종래의 시험관내 검정을 사용하여 시험될 수 있다. 선택된 바람직한 아미노산 치환, 결실 또는 부가는 MPS II에 대하여 세포 배양 또는 동물 모델에서 종래의 시험관내 검정에 의해 시험된 경우에 IDS의 효소 활성화, 안정성 또는 반감기를 유지하거나 증가시키는 것들이어야 한다. 예를 들어, 이식유전자 산물의 효소 활성화는 예를 들어 4-메틸움벨리페릴 α-L-이도피라노시두론산 2-설페이트 또는 4-메틸움벨리페릴 설페이트를 기질로 하는 종래의 효소 검정을 사용하여 평가될 수 있다 (사용될 수 있는 예시적인 IDS 효소 검정에 대해서는 예를 들어, Lee 등, 2015, Clin. Biochem. 48(18):1350-1353, Dean 등, 2006, Clin. Chem. 52(4):643-649 참조, 이들 각각은 그 전문이 본원에 참조로 포함됨). MPS II 표현형을 보정하는 이식유전자 산물의 능력은 세포 배양에서; 예를 들어, 배양 중 MPS II 세포를 hIDS 또는 유도체를 인코딩하는 바이러스 벡터 또는 기타 DNA 발현 작체물로 형질도입시키거나; 이식유전자 또는 유도체를 배양 중 MPS II 세포에 부가하거나; 또는 MPS II 세포를, rhIDS 또는 유도체를 발현시키고 분비하도록 조작된 인간 뉴런/신경아교숙주 세포와 공동 배양하고, 예를 들어, IDS 효소 활성화 및/또는 배양 중 MPS II 세포의 GAG 저장 감소를 검출하여 MPS II 배양된 세포에서 결함 보정을 결정함으로써 평가될 수 있다 (예를 들어, Stroncek 등, 1999, Transfusion 39(4):343-350 참조, 이들 각각은 그 전문이 본원에 참조로 포함됨). 바람직한 구현예에서, GAG 저장내 감소는 헤파란 설페이트 (HS) 저장내 감소이다. 또 다른 구현예에서, GAG 저장내 감소는 더마탄 설페이트 (DS) 저장내 감소이다. 또 다른 구현예에서, GAG 저장내 감소는 양쪽 HS 저장 및 DS 저장내 감소이다.

[0021] 본원에 기재된 치료제를 평가하는데 사용될 수 있는 MPS II에 대한 동물 모델은 설명되었다. 예를 들어, MPS II의 녹아웃 마우스 모델 (IDS-녹아웃)은 IDS 유전자의 엑손 4와 5를 네오마이신 내성 유전자로 대체함으로써 조작되었다. (Garcia 등, 2007, J Inher Metab Dis 30: 924-34). 이 IDS-녹아웃 마우스는, 골격 이상, 간비장 종대, 비뇨기 및 조직 GAG 상승, 및 뇌 저장 병변을 포함하여, MPS II의 많은 특징을 나타내며 (Muenzer 등, 2001, Acta Paediatr Suppl 91:98-99) ERT에 대한 임상 시험의 지원에서 MPS II내 효소 대체 요법의 효과를 평가하는데 사용되었다. 따라서, 이 마우스 모델은 MPS II에 대한 치료로서 뉴런 또는 신경아교세포에 의해 생성된 rIDS를 전달하는 유전자 요법의 효과를 연구하기 위하여 관련된 모델이다 (예를 들어, Polito and Cosma, 2009, Am. J. Hum. Genet. 85(2):296-301 참조, 그 전체가 본원에 참조로 포함됨).

[0022] 바람직하게는, 인간 뉴런/신경아교세포에 의해 생성된 hIDS 이식유전자는 뉴런 및/또는 신경아교세포에서 기능하는 발현 조절 요소, 예를 들어, CB7 프로모터 (답 β-액틴 프로모터 및 CMV 인핸서)에 의해 조절되어야 하고, 벡터에 의해 구동되는 이식유전자의 발현을 향상시키는 다른 발현 조절 요소 (예를 들어, 답 β-액틴 인트론 및 토끼 β-글로빈 폴리 A 신호)를 포함할 수 있다. hIDS 이식유전자에 대한 cDNA 작체물은 형질도입된 CNS 세포에 의한 적절한 동시 번역 처리 및 번역 후 처리 (글리코실화 및 단백질 황산화)를 보장하는 신호 펩티드에 대한 코딩 서열을 포함해야 한다. CNS 세포에 의해 사용되는 이러한 신호 펩티드는 다음을 포함할 수 있지만 이에 제한되지는 않는다:

[0023] 희소돌기아교세포-미엘린 당단백질 (hOMG) 신호 펩티드:

[0024] MEYQILKMSLCLFILLFLTPGILC (서열 번호:2)

[0025] E1A-자극 유전자 2의 세포 억제인자 (hCREG2) 신호 펩티드:

[0026] MSVRRGRPARPGTRLWLLCCSALLSPAAG (서열 번호:3)

[0027] V-세트 및 막횡단 도메인 함유 2B (hVSTM2B) 신호 펩티드:

- [0028] MEQRNRLGALGYLPPLLLHALLLFVADA (서열 번호:4)
- [0029] 프로토타데린(Protocadherin) 알파-1 (hPCADHA1) 신호 펩티드:
- [0030] MVFSRRGGLGARDLLLWLLLLAAWEVGSG (서열 번호:5)
- [0031] FAM19A1 (TAF1) 신호 펩티드:
- [0032] MAMVSAMSWVLYLWISACA (서열 번호:6)
- [0033] 인터류킨-2 신호 펩티드:
- [0034] MYRMQLLSIALILALVTNS (서열 번호:14)
- [0035] 신호 펩티드는 또한 본원에서 리더 서열 또는 리더 펩티드로 지칭될 수 있다.
- [0036] 이식유전자를 전달하는 데 사용되는 재조합 벡터는 뉴런 및/또는 신경아교 세포를 포함하지만 이에 제한되지 않는 CNS의 세포에 대한 향성(tropism)을 가져야 한다. 이러한 벡터는 비-복제 재조합 아데노-관련 바이러스 벡터 ("rAAV")를 포함할 수 있으며, 특히 AAV9 또는 AAVrh10 캡시드를 갖는 것이 바람직하다. 그 전문이 본원에 참조로 포함된 미국 특허 번호 7,906,111의 윌슨(Wilson)에 의해 설명된 것들을 포함하지만 이에 제한되지 않는 AAV 변이체 캡시드; 뿐만 아니라 각각 그 전문이 본원에 참조로 포함된, 미국 특허 번호 8,628,966, 미국 특허 번호 8,927,514의 채터지(Chatterjee) 및 문헌(Smith 등, 2014, Mol Ther 22: 1625-1634)에 설명된 AAV 변이체 캡시드가 사용될 수 있으며, AAV/hu.31 및 AAV/hu.32가 특히 바람직하다. 그러나, 렌티바이러스 벡터, 백시니아 바이러스 벡터, 또는 "네이키드(naked) DNA" 작제물로 지칭되는 비-바이러스 발현 벡터를 포함하지만 이에 제한되지 않는 다른 바이러스 벡터가 사용될 수 있다.
- [0037] 일 구현예에서, 작제물 1은 이식유전자를 전달하는데 사용될 수 있다. 작제물 1은 인간 이두로네이트-2-설페타아제 발현 카세트를 함유하는 재조합 아데노-관련 바이러스 혈청형 9 캡시드이고 여기서 발현은 거대세포바이러스 (CMV) 인핸서와 닭 베타 액틴 프로모터 (CB7)의 하이브리드에 의해 구동되고, 여기서 IDS 발현 카세트는 역방위 말단 반복 (ITR)이 측면에 있고 이식유전자는 닭 베타 액틴 인트론 및 토끼 베타-글로빈 폴리아데닐화 (polyA) 신호를 포함한다. 바람직한 구현예에서, ITR은 AAV2 ITR이다. 일 구현예에서, 작제물 1은 서열번호:45의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산을 포함한다.
- [0038] CSF에 투여하기에 적합한 약제학적 조성물은 생리적으로 적합한 수성 완충액, 계면활성제 및 선택적 부형제를 포함하는 제형 완충액 중의 rhIDS 벡터의 현탁액을 포함한다. 특정 구현예에서, 약제학적 조성물은 경막내 투여에 적합하다. 특정 구현예에서, 약제학적 조성물은 수조내 투여 (대조(cisterna magna)로 주사)에 적합하다. 특정 구현예에서, 약제학적 조성물은 C1-2 천자를 통해 지주막하 공간으로 주사하기에 적합하다. 특정 구현예에서, 약제학적 조성물은 뇌실내(intracerebroventricular) 투여에 적합하다. 특정 구현예에서, 약제학적 조성물은 요추 천자를 통한 투여에 적합하다.
- [0039] 치료학적 유효 용량의 재조합 벡터는 경막내 투여 (즉, 재조합 벡터가 CSF를 통해 분포하고 CNS에서 세포를 형질도입시키도록 지주막하 공간으로의 주사)를 통해 CSF에 투여되어야 한다. 이는 여러 가지 방법으로, 예를 들어, 두개내 (수조 또는 뇌실) 주사 또는 요추 수조(lumbar cistern)로의 주사에 의해 달성될 수 있다. 예를 들어 수조내 (IC) 주사 (대조로)는 CT-유도 후두하 천자에 의해 수행될 수 있거나; 지주막하 공간으로의 주사는 환자에게 가능할 때 C1-2 천자를 통해 수행될 수 있거나; 또는 CSF에 접근하기 위해 요추 천자 (전형적으로 CSF 샘플을 수집하기 위해 수행되는 진단 절차)가 사용될 수 있다. 대안적으로, 재조합 벡터를 뇌의 뇌실에 직접 주입하기 위해 뇌실내 (ICV) 투여 (혈액-뇌 장벽을 통과하지 않는 항감염 또는 항암 약물의 도입에 사용되는 보다 침습적인 기술)를 사용할 수 있다. 대안적으로, 재조합 벡터를 CNS에 전달하기 위해 비강내 투여를 사용할 수 있다.
- [0040] CSF 농도는 후두 또는 요추 천자로부터 수득한 CSF 유체 중의 rhIDS 농도를 직접 측정하여 모니터링될 수 있거나, 환자의 혈청에서 검출된 rhIDS의 농도로부터 외삽법에 의해 추정될 수 있다.
- [0041] 특정 구현예에서, 재조합 뉴클레오티드 발현 벡터는 인간 대상체의 뇌 질량에 의존하는 용량으로 투여되고, 여기서 뇌 질량은 인간 대상체의 뇌의 뇌 자기 공명 영상 (MRI)에 의해 결정된다. 특정 구현예에서, 재조합 뉴클레오티드 발현 벡터는 MRI에 의해 결정된 경우에 약 1.3×10^{10} GC/g 뇌 질량의 용량으로 투여된다. 특정 구현예에서, 재조합 뉴클레오티드 발현 벡터는 MRI에 의해 결정된 경우에 약 6.5×10^{10} GC/g 뇌 질량의 용량으로 투여

된다. 특정 구현에서, 재조합 뉴클레오타이드 발현 벡터는 MRI에 의해 결정된 경우에 약 2.0×10^{11} GC/g 뇌 질량의 용량으로 투여된다. 특정 구현에서, 인간 대상체의 뇌 질량은 cm^3 로 인간 대상체의 뇌 용적과 1.046 g/cm^3 의 인수를 곱셈함으로써 인간 대상체의 뇌 용적으로부터 전환되고, 여기서 인간 대상체의 뇌 용적은 인단 대상체의 뇌 MRI로부터 획득된다.

[0042] 배경으로, 인간 IDS는 도 1에 묘사된 8개의 잠재적 N-글리코실화 부위 (N^{31} , N^{115} , N^{144} , N^{246} , N^{280} , N^{325} , N^{513} 및 N^{537})를 함유하고 처리 동안 절단되는 25개 아미노산 신호 서열을 포함하는 550개 아미노산 폴리펩티드로서 번역된다. 초기 76kDa 세포내 전구체는 골지체에서 이의 올리고당 사슬의 변형 후 인산화된 90kDa 전구체로 전환된다. 이 전구체는 다양한 세포내 중간체를 통해서 글리코실화 변형 및 단백질분해 절단에 의해 주요 55kDa 형태로 처리된다. 요약하면, 25개 aa 신호 서열의 제거 후, 단백질분해 처리는 8개 아미노산 (잔기 26-33)의 폴리펩티드를 제거하는 N^{31} 의 N-말단 단백질분해 절단 다운스트림, 및 18kDa 폴리펩티드를 방출하고 55kDa 성숙한 형태로 전환되는 62kDa 중간체를 생성하는 N^{513} 의 C-말단 단백질분해 절단 업스트림을 포함한다. 추가 단백질분해 절단은 리소좀 구획에서 위치한 45kDa 성숙한 형태를 산출한다. (Millat 등, 1997, Exp Cell Res 230: 362-367 ("Millat 1997"); Millat 등, 1997, Biochem J. 326: 243-247 ("Millat 1997a"; 및 Froissart 등, 1995, Biochem J. 309:425-430에서 재현된 다이어그램에 대하여 도 4 참조, 이들 각각은 그 전문이 본원에 참조로 포함됨).

[0043] 효소 활성화에 요구된 C^{84} 의 포르밀글리신 변형 (도 1에서 굵게 표시됨)은 아마도 초기 번역 후 또는 동시 번역 이벤트로서, 가장 아마도 소포체에서 발생한다. (Millat 1997a, Schmidt 등, 1995, Cell 82: 271-278 인용 참조). 번역 후 처리는 복합 시알산-함유 글리칸의 부가 및 리소좀 구획에 전달을 위한 효소를 태깅하는 만노스-6-포스페이트 잔기의 획득을 포함하도록 골지에서 계속한다. (그 전문이 본원에 참조로 포함되는 간결한 검토를 위해 Clarke, 2008, Expert Opin Pharmacother 9: 311-317 참조). 단일 글리코실화 부위는 IDS 안정성에 필수적이지 않지만, 위치 N^{280} 에 글리코실화는 만노스-6-포스페이트 (M6P) 수용체를 통해 세포 내재화 및 리소좀 표적화에 중요하다. (Chung 등, 2014, Glycoconj J 31:309-315, p. 310, 첫 번째 컬럼 참조). 정상 생리적 상태에서, IDS는 매우 낮은 수준으로 생성되며 세포에서 분비되는 효소는 거의 없다. (상기 Clarke, 2008).

[0044] 본 발명은 부분적으로 다음의 원리에 기반한다:

[0045] (i) CNS의 뉴런 및 신경아교 세포는 CNS의 강력한 프로세스인, 글리코실화, 만노스-6-인산화, 및 티로신-O-황산화를 포함하는, 분비된 단백질의 번역 후 처리를 위한 세포 기구를 보유한 분비 세포이다. 예를 들어, 인간의 뇌 만노스-6-포스페이트 글리코프로테옴(glycoproteome)을 설명하고, 뇌에는 다른 조직에서 발견되는 것보다 훨씬 더 많은 수의 개별 이소형 및 만노스-6-인산화 단백질을 갖는 더 많은 단백질을 함유하고 있음에 주목하는 Sleat 등, 2005, Proteomics 5: 1520-1532, 및 Sleat 1996, J Biol Chem 271: 19191-98; 및 뉴런 세포에서 분비되는 티로신-황산화 당단백질의 생성을 보고하는 Kanan 등, 2009, Exp. Eye Res. 89: 559-567 및 Kanan & Al-Ubaidi, 2015, Exp. Eye Res. 133: 126-131을 참조하며, 이들 각각은 인간 CNS 세포에 의해 이루어진 번역 후 변형에 대해 그 전문이 참조로 포함된다.

[0046] (ii) 인간 뇌는 천연/고유 IDS의 여러 동형을 생성한다. 특히, 인간 뇌 만노스-6-인산화된 당단백질의 N-말단 시퀀스는 hIDS의 성숙한 42kDa 사슬의 N-말단 서열이 다음과 같이 위치 34 또는 36에서 시작하여, 뇌에서 가변하는 것을 밝혀냈다: $\text{T}^{34}\text{DALNVLLI}$; 및 $\text{A}^{36}\text{LNVLLIIV}$. (Sleat, 2005, Proteomics 5: 1520-1532, 표 S2). 8개의 N-연결된 글리코실화 부위 중 2개, 즉 N^{280} 및 N^{116} 은 인간 뇌에서 획득된 IDS에서 만노스-6-인산화되는 것으로 밝혀졌다. (Sleat 등, 2006, Mol & Cell Proteomics 5.4: 686-701, 표 V에서 보고됨).

[0047] (iii) hIDS를 처리하는 동안, 2개 폴리펩티드, 76kDa 및 90kDa는 신경 및 신경아교 세포에 의해 분비되지만, 90kDa 폴리펩티드만이 만노스-6-인산화되며, 이는 분비된 형태의 효소가 교차 보정을 달성하는 데 필요하다. (형질도입된 림프모구양 세포에 대한 결과인 Millat, 1997, 도 1, 및 형질도입된 섬유아세포에 대한 유사한 결과를 보여주는 - 배양 배지에서 90kDa 형태만 인산화되는 Froissart 1995, 도 4 참고). 흥미롭게도, 뉴런 및 신경아교 세포에 의해 생성된 재조합 IDS가 신장과 같은 다른 세포에 의해 생성된 재조합 IDS보다 수용 CNS 세포에 의해 더 열성적으로 세포내 이입될 수 있다는 것이 입증되었다. 다니엘(Daniele) 2002 (Biochimica et Biophysica Acta 1588(3):203-9)는 전구체를 45kDa 성숙한 활성 형태로 적절하게 처리하였던 비-형질도입된 뉴런 및 신경아교 세포의 수용 집단에 의해 형질도입된 뉴런 및 신경아교 세포 배양의 조건화된 배지로부터 재조

합 IDS의 M6P-수용체 매개 세포내 이입을 입증하였다. 뉴런 및 신경아교 세포주에 의해 생성된 재조합 IDS의 흡수 (74% 세포내 이입)는 신장 세포주에 의해 생성된 효소의 흡수 (5.6% 세포내 이입)를 훨씬 초과하였다. 각 경우에, 흡수는 M6P에 의해 억제되어, 재조합 IDS 흡수가 M6P-수용체 매개됨을 나타냈다. (다니엘 2002, 표 2 및 4 그리고 아래 표 1에 요약된 pp. 205-206의 결과에 동반하는 설명 참조).

표 1. 다니엘 2002에 보고된 결과의 요약

rIDS의 세포주 공급원	배지 효소 단위	수령 세포: 회수된 단위		% 세포내 이입 (평균 값)
		뉴런	신경아교	
신장 (형질감염된)	35 U	1.7 U	2.2 U	5.6%
뉴런 (Ad-형질도입된)	12 U	8.8 U	8.8 U	74%
신경아교 (Ad-형질도입된)	14 U	10.5 U	10.5 U	74%

(iv) 본원에 기재된 유전자 요법 접근법은 효소적으로 활성인 폴리아크릴아미드 겔 전기영동 (사용된 검정에 따라 다름)으로 측정된 경우에 약 90kDa의 hIDS 당단백질 전구체의 지속적인 분비를 초래해야 한다. 첫째, IDS 활성화에 요구되는 C⁸⁴의 포르밀글리신 변형을 담당하는 효소 -- FGly-생성 효소 (FGE, 별칭 SUMF1) --는 인간 뇌의 대뇌 피질에서 발견된다 (SUMF1에 대한 유전자 발현 데이터는 예를 들어 <http://www.genecards.org>에서 접근 가능한 GeneCards에서 찾아질 수 있다). 둘째, 제자리 형질도입된 뉴런 및 신경아교 세포에 의해 생성된 분비된 글리코실화된/인산화된 rIDS는 CNS에서 형질도입되지 않은 신경 및 신경아교 세포에 의해 흡수되고 올바르게 처리되어야 한다. 어떠한 이론에도 구속되지 않고, 유전자 요법에 의해 제자리 생성된 분비된 rhIDS 전구체가 CNS에 투여되면 ERT에 사용된 전통적 재조합 효소보다 CNS에서 수용 세포에 의해 더 열성적으로 세포내 이입될 수 있는 것으로 보인다. 예를 들어, Elaprase[®] (섬유육종 세포주인 HT1080에서 제조됨)는 더 심하게 인산화되는 것으로 보이는 뉴런 및 신경아교 세포에 의해 분비되는 90kDa 종이 아닌 - 약 76kDa의 분자량을 갖는 것으로 보고된 정제된 단백질이다. 8개의 N-연결된 글리코실화 부위가 Elaprase[®]에서 완전히 점유되고 2개의 비스-만노스-6-포스페이트 말단화된 글리칸 뿐만 아니라 복합 고도로 시알틸화된 글리칸을 함유하는 것으로 보고되지만, 효소 활성화에 대한 절대 요건인 C⁸⁴의 FGly로의 번역 후 변형은 겨우 약 50%이다. (Clarke, 2008, Expert Opin Pharmacother 9:311-317; Elaprase[®] Full Prescribing Information and EMA filing). 또 다른 재조합 제품, Hunterase[®]는 CHO 세포에서 만들어진다. Elaprase[®]보다 FGly 및 활성이 더 높은 것으로 보고되었지만, 만노스-6-인산화 및 흡수는 다르지 않았다. (Chung, 2014, Glycoconj J 31:309-315).

(v) 생체내 세포의 IDS 효능은 M6P 그리고 포르밀글리신 생성 효소에 의한 번역 후 변형을 통해서 C⁸⁴에서 전환되는 이의 활성 부위 포르밀글리신 (FGly)을 통해서 흡수 (세포 및 리소좀 내재화)에 의존한다. 상기 표 1에 나타난 바와 같이, 뇌 세포 (뉴런 및 신경아교 세포)는 유전적으로 조작된 신장 세포에 의해 분비되는 IDS 전구체 배지보다 형질도입된 뉴런 및 신경아교 세포에 의해 분비되는 IDS 전구체 배지와 인큐베이션될 때 더 높은 효소 활성을 보여준다. 결과적인 활성의 5배 증가는 IDS의 효율적인 흡수에 기인할 가능성이 높다 (다니엘 2002, 표 2 및 4 참조). CHO 세포 또는 HT-1080 세포에 의해 생성되는 상업적 형태의 IDS는 약 50% 내지 70%의 FGly 함량을 갖고, 이는 효소 활성을 결정한다. 그러나, IDS 흡수의 개선으로 인해, 뉴런 및 신경아교 세포는 이 활성을 개선할 수 있다.

(vi) IDS를 포함하는 리소좀 단백질의 세포 및 세포하 수송/흡수는 M6P를 통해 이루어진다. 다니엘 2002 및 Sleat, Proteomics, 2005에서 보고된 바와 같이, 뇌 세포로부터 IDS는 더 높은 M6P 함량을 함유할 수 있다 (인간 뇌는 다른 조직보다 더 많은 (양쪽 정량적 및 정성적 의미에서) Man6-P 당단백질을 함유함을 나타냄). 다니엘 2002에서 수행된 바와 같이, IDS 전구체의 M6P 함량을 측정하는 것이 가능하다. 억제성 M6P (예를 들어, 5 mM)의 존재 하에, 다니엘 2002의 유전적으로 조작된 신장 세포와 같은 비-뉴런 또는 비-신경아교 세포에 의해 생성된 IDS 전구체의 흡수는 다니엘 2002에서 보여준 바와 같이 대조 세포의 수준에 가까운 수준으로 감소할 것으로 예상된다. 억제성 M6P가 존재하는 동안, 뉴런 및 신경아교 세포와 같은 뇌 세포에 의해 생성된 IDS 전구체

의 흡수는 다니엘 2002에서 보여준 바와 같이 높은 수준으로 유지될 것으로 예상되며, 여기서 흡수는 대조 세포보다 4배 더 높았고, 억제성 M6P의 존재 없이 유전적으로 조작된 신장 세포에 의해 생성된 IDS 전구체의 IDS 활성 (또는 흡수) 수준과 비슷하였다. 이 검정을 통해 뇌 세포에 의해 생성된 IDS 전구체의 M6P 함량을 예측하고, 특히 상이한 유형의 세포에 의해 생성된 IDS 전구체의 M6P 함량을 비교할 수 있다. 본원에 기재된 유전자 요법 접근법은 이러한 검정에서 억제성 M6P의 존재 하에 높은 수준으로 뉴런 및 신경아교 세포로 흡수될 수 있는 hIDS 전구체의 지속적인 분비를 초래해야 한다.

[0052] (vii) IDS 전구체의 M6P 함량 및 흡수는 90kDa 및 76kDa 겔 밴드 (예를 들어, SDS-PAGE 겔 밴드)에 의해 또한 입증될 수 있다. 90kDa는 고도로 글리코실화된/인산화된 것으로 보고되고 M6P를 함유하지만, 76kDa는 그렇지 않다. 유전적으로 조작된 신장 세포에서 생성된 IDS 전구체 겔 밴드 (다니엘 2002, 도 1)와 유사한, 76kDa 내지 95kDa 범위를 가진 그리고 80 내지 85kDa의 평균 MW를 가진 매우 넓은 겔 밴드는 뇌 세포에서 생성된 IDS 전구체의 겔 밴드와 대조될 수 있다. 다니엘 2002에서, 겔 밴드는 IDS 전구체의 실패한 면역침전으로 인해 수득될 수 없다. 본원에 기재된 유전자 요법 접근법은 유전적으로 조작된 신장 세포에서 생성된 IDS 전구체 겔 밴드와 다른 hIDS 전구체의 지속적인 분비를 초래해야 한다.

[0053] (viii) 상업적 IDS 전구체의 M6P 함량은 2 내지 2.5 mol/mol이며, 이의 대부분은 이인산화된 글리칸의 형태로 존재한다. 평균적으로, 모든 IDS 전구체가 인산화되지만, 글리칸의 정상 분포는 다중 인산화 부위를 가정하는 2, 1 및 0개의 이인산화된 M6P 글리칸이 있는 일부 IDS 전구체를 가질 것이다. 흡수율은 다중 인산화로 유의하게 더 높아야 한다.

[0054] (ix) CNS의 인간 세포에 의한 hIDS의 글리코실화는 안정성, 반감기를 개선하고, 이식유전자 산물의 원치 않는 응집을 감소시킬 수 있는 글리칸의 첨가를 초래할 것이다. 유의하게도, 본 발명의 hIDS에 첨가되는 글리칸은, Neu5Ac ("NANA")를 포함하지만 이의 하이드록실화 유도체인 NeuGc (N-글리콜릴뉴라민산, 즉, "NGNA" 또는 "Neu5Gc")는 포함하지 않는, 2,6-시알산을 포함한다. 이러한 글리칸이 CHO 세포에서 만들어진, 재조합 IDS 제품, 예컨대 Hunterase[®]에 존재하지 않는 것은, 이들이 Neu5Ac (NANA) 대신 인간에게 전형적이지 않은 (그리고 잠재적으로 면역원성인) 시알산으로서 Neu5Gc (NGNA)를 추가하여도, CHO 세포가 이 번역 후 변형을 만드는 데 요구된 2,6-시알릴트랜스퍼라아제를 갖지 않고, CHO 세포가 이등분(bisecting) GlcNAc를 생성하지도 않기 때문이다. 예를 들어, Dumont 등, 2016, Critical Rev, Biotech 36(6):1110-1122 (Early Online pp. 1-13 at p. 5); 및 Hague 등, 1998 Electrophor 19:2612-2630 ("CHO 세포주는 α2,6-시알릴-트랜스퍼라아제가 없기 때문에 글리코실화 측면에서 '표현형적으로 제한되는' 것으로 간주됨")을 참조한다. 더욱이, CHO 세포는 또한 α-Gal 항원인, 면역원성 글리칸을 생성할 수 있으며, 이는 대부분의 개체에 존재하는 항-α-Gal 항체와 반응하며, 고 농도에서는 아나필락시스를 유발할 수 있다. 예를 들어, Bosques, 2010, Nat Biotech 28: 1153-1156을 참조한다. 본 발명의 rhIDS의 인간 글리코실화 패턴은 이식유전자 산물의 면역원성을 감소시키고 효능을 개선해야 한다.

[0055] (x) 이식유전자 산물의 면역원성은 환자의 면역 상태, 주입된 단백질 약물의 구조 및 특성, 투여 경로, 치료 기간을 포함하는 다양한 요인에 의해 유도될 수 있다. 공정-관련 불순물, 예컨대 숙주 세포 단백질 (HCP), 숙주 세포 DNA 및 화학적 잔류물, 및 생성물-관련 불순물, 예컨대 단백질 분해물 및 구조적 특성, 예컨대 글리코실화, 산화 및 응집 (미가시(sub-visible) 입자)은 면역 반응을 향상시키는 보조제 역할을 하여 면역원성을 높일 수도 있다. 공정-관련 및 생성물-관련 불순물의 양은 제조 공정, 즉 세포 배양, 정제, 제형화, 저장 및 취급에 의해 영향을 받을 수 있으며, 이는 상업적으로 제조된 IDS 산물에 영향을 미칠 수 있다. 유전자 요법에서 단백질은 생체내에서 생성되므로 공정-관련 불순물이 존재하지 않으며, 단백질 산물은 단백질 응집 및 단백질 산화와 같은 재조합 기술에 의해 생성된 단백질과 관련된 생성물-관련 불순물/분해물을 함유하지 않을 가능성이 높다. 예를 들어, 응집은 높은 단백질 농도, 제조 장비 및 용기와의 표면 상호작용, 및 특정 완충 시스템을 사용한 정제 공정으로 인해 단백질 생산 및 저장과 관련이 있다. 그러나 응집을 촉진하는 이러한 조건은 이식유전자가 생체내에서 발현될 때 존재하지 않는다. 메티오닌, 트립토판 및 히스티딘 산화와 같은 산화는 또한, 예를 들어, 스트레스 세포 배양 조건, 금속 및 공기 접촉, 완충액 및 부형제 중의 불순물로 인해 발생하는 단백질 생산 및 저장과 관련이 있다. 생체내에서 발현되는 단백질은 스트레스 조건에서도 산화될 수 있지만, 많은 유기체와 마찬가지로 인간은 산화 스트레스를 감소시킬뿐만 아니라 산화를 복구 및/또는 역전시킬 수 있는 항산화 방어 시스템을 갖추고 있다. 따라서, 생체내에서 생성된 단백질은 산화된 형태일 가능성이 없다. 응집과 산화 모두 효능, PK (제거율)에 영향을 미칠 수 있으며 면역원성 우려를 증가시킬 수 있다. 본원에 기재된 유전자 요법 접근법은 상업적으로 제조된 제품에 비해 면역원성을 감소시키면서 hIDS 전구체의 지속적인 분비를 초래해

야 한다.

- [0056] (xi) N-연결된 글리코실화 부위 외에도, hIDS는 티로신 ("Y") 황산화 부위 (PSSEKY¹⁶⁵ENTKTCRGPD)를 함유한다. (예를 들어, 단백질 티로신 황산화를 겪는 티로신 잔기를 둘러싼 아미노산의 분석을 위해 그 전문이 참조로 포함된 Yang 등, 2015, *Molecules* 20:2138-2164, esp., p. 2154를 참조한다. "규칙"은 다음과 같이 요약될 수 있다: Y의 +5 내지 -5 위치 내에 E 또는 D가 있고, Y의 위치 -1이 중성 또는 산성 하전된 아미노산이지만, 황산화를 무효화하는 염기성 아미노산, 예를 들어, R, K, 또는 H가 아닌 Y 잔기). 어떤 이론에도 구속되지는 않지만, hIDS에서 이 부위의 황산화는 효소의 안정성 및 기질에 대한 결합 친화도를 개선시킬 수 있다. hIDS의 티로신-황산화 - 인간 CNS 세포에서 강력한 번역 후 과정 - 는 이식유전자 산물의 개선된 처리 및 활성을 초래해야 한다. 리소좀 단백질의 티로신-황산화의 중요성은 아직 밝혀지지 않았지만; 다른 단백질에서 단백질-단백질 상호작용 (항체 및 수용체)의 결합력을 증가시키고, 단백질분해 처리 (펩티드 호르몬)을 촉진시키는 것으로 나타났다. (Moore, 2003, *J Biol. Chem.* 278: 24243-46; 및 Bundegaard 등, 1995, *The EMBO J* 14: 3073-79 참조). (IDS 처리의 최종 단계로서 발생할 수 있는) 티로신-황산화를 담당하는 티로실단백질 선포트랜스퍼라제 (TPST 1)는 뇌에서 (mRNA에 기반된) 더 높은 수준으로 분명히 발현된다 (TPST1에 대한 유전자 발현 데이터는, 예를 들어, <http://www.ebi.ac.uk/gxa/home>에서 접근가능한, EMBL-EBI Expression Atlas에서 찾아질 수 있다). 이러한 번역 후 변형은, 기껏해야, CHO 세포 제품에서 과소-표시된다. 인간 CNS 세포와 달리, CHO 세포는 분비 세포가 아니며 번역 후 티로신-황산화에 대하여 제한된 용량을 갖는다. (예를 들어, Mikkelsen & Ezban, 1991, *Biochemistry* 30: 1533-1537, 특히 1537 페이지에서 논의 참조).
- [0057] 전술한 이유로, 인간 뉴런 및/또는 신경아교 세포에 의한 rhIDS의 생산은 유전자 요법을 통해 - 예를 들어, MPS II 질환 (헌터를 포함하지만 이에 제한되지 않음)으로 진단된 환자 (인간 대상체)의 CSF에, rhIDS를 인코딩하는 바이러스 벡터 또는 기타 DNA 발현 작제물을 투여하여 형질도입된 CNS 세포에 의해 분비된 완전히 인간-글리코실화된, 만노스-6-인산화된, 황산화된 이식유전자 산물을 지속적으로 공급하는 CNS의 영구적인 세포가 생성됨으로써 달성되는 MPS II의 치료를 위한 "바이오베터(biobetter)" 분자를 생성해야 한다. 상기 세포로부터 CSF로 분비된 hIDS 이식유전자 산물은 CNS의 세포에 의해 세포내 이입되어 MPS II 수용 세포에서 효소 결함에 대한 "교차-보정"을 초래할 것이다.
- [0058] 유전자 요법 또는 단백질 치료 접근법에서 생성된 모든 rhIDS 분자가 완전히 글리코실화되고, 인산화되고, 황산화되는 것이 필수적인 것은 아니다. 오히려 생성된 당단백질 집단은 효능을 입증하기에 충분한 글리코실화 (2,6-시알릴화 및 만노스-6-인산화 포함) 및 황산화를 가져야 한다. 본 발명의 유전자 요법 치료의 목적은 질환의 진행을 늦추거나 저지하는 것이다. 효능은 인지 기능 (예를 들어, 신경인지 저하의 예방 또는 감소); CSF 및/또는 혈청에서 질환의 바이오마커 (예컨대 GAG) 감소; 및/또는 CSF 및/또는 혈청에서 IDS 효소 활성의 증가를 측정하여 모니터링될 수 있다. 염증 징후 및 기타 안전 사건도 모니터링될 수 있다.
- [0059] 유전자 요법에 대한 대안 또는 추가 치료로서, rhIDS 당단백질이 재조합 DNA 기술에 의해 인간 신경 또는 신경아교 세포주에서 생산될 수 있으며, 상기 당단백질은 MPS II로 진단된 환자에게 전신적으로 및/또는 ERT를 위해 CSF로 투여될 수 있다. 이러한 재조합 당단백질 생산에 사용될 수 있는 인간 세포주는 HT-22, SK-N-MC, HCN-1A, HCN-2, NT2, SH-SY5y, hNSC11, 또는 ReNcell VM을 포함하지만 이에 제한되지 않는다 (예를 들어, rHuGlyIDS 당단백질의 재조합 생산에 사용될 수 있는 인간 세포주에 대한 검토를 위해 그 전문이 참조로 포함된 Dumont 등, 2016, *Biotech* 36(6):1110-1122의 Critical Rev "Human cell lines for biopharmaceutical manufacturing: history, status, and future perspectives" 참조). 완전한 글리코실화, 특히 시알릴화 및 티로신-황산화를 보장하기 위해, 생산에 사용되는 세포주는 α -2,6-시알릴트랜스퍼라아제 (또는 α -2,3- 및 α -2,6-시알릴트랜스퍼라아제 둘 모두) 및/또는 티로신-O-황산화를 담당하는 TPST-1 및 TPST-2 효소를 공동 발현하도록 숙주 세포를 조작함으로써 강화될 수 있다.
- [0060] rhIDS의 전달은 면역 반응을 최소화해야 하지만, CNS 유도 유전자 요법과 관련된 가장 명확한 잠재적 독성의 출처는 IDS에 대해 유전적으로 결핍되어 잠재적으로 이식유전자 전달에 사용되는 단백질 및/또는 벡터에 대해 내성이 없는 인간 대상체에서 발현된 rhIDS 단백질에 대한 면역을 생성하는 것이다.
- [0061] 따라서, 바람직한 구현예에서, 특히 IDS 수준이 0에 가까운 중증 질환이 있는 환자를 치료할 때 면역 억제 요법으로 환자를 공동 치료하는 것이 바람직하다. 마이코페놀산과 함께, 또는 조직 이식 절차에 사용되는 다른 면역 억제 요법과 함께 타크로리무스 또는 라파마이신 (시플리무스) 요법을 포함하는 면역 억제 요법이 사용될 수 있다. 이러한 면역 억제 치료는 유전자 요법 과정 동안 투여될 수 있고, 특정 구현예에서 면역 억제 요법을 통한 사전 치료가 바람직할 수 있다. 면역 억제 요법은 치료 의사의 판단에 따라 유전자 요법 치료 후 계속될 수 있

으며, 이후 면역 관용이 유도되면; 예를 들어, 180일 후 중단될 수 있다.

- [0062] 다른 이용 가능한 치료의 전달과 함께 CSF로의 rhIDS 전달의 조합은 본 발명의 방법에 포함된다. 추가 치료는 유전자 요법 치료 전, 동시에 또는 후에 투여될 수 있다. 본 발명의 유전자 요법과 조합될 수 있는 MPS II에 대하여 이용가능한 치료는 전신적으로 또는 CSF로 투여되는 Elaprase[®]를 사용하는 효소 대체 요법; 및/또는 HSCT 요법을 포함하지만 이에 제한되지 않는다.
- [0063] 일 측면에서, MPS II로 진단된 인간 대상체를 치료하는 방법으로서, 인간 뉴런 또는 인간 신경아교 세포에 의해 생성된 글리코실화된 재조합 인간 IDS 전구체의 치료학적 유효량을 인간 대상체의 CSF에 전달하는 단계를 포함하는 방법에 있어서, 글리코실화된 재조합 인간 IDS 전구체는 인간 IDS를 인코딩하는 재조합 뉴클레오티드 발현 벡터의 투여에 의해 전달되고, 재조합 뉴클레오티드 발현 벡터는 인간 대상체의 뇌 질량에 의존하는 용량으로 투여되고, 뇌 질량은 인간 대상체의 뇌의 뇌 MRI에 의해 결정되는, 방법이 본원에 제공된다.
- [0064] 또 다른 측면에서, MPS II로 진단된 인간 대상체를 치료하는 방법으로서, 하기 순서: (a) 인간 뉴런 또는 인간 신경아교 세포에 의해 생성된 글리코실화된 재조합 인간 IDS 전구체의 치료학적 유효량을 인간 대상체의 CSF에 전달하는 단계; (b) 인간 대상체의 CSF에서 헤파란 설페이트의 수준을 측정하는 단계; 및 (c) 인간 대상체의 CSF에서 헤파란 설페이트의 수준을 참조 집단에서 헤파란 설페이드(sulfatae)의 수준과 비교하는 단계를 포함하는 방법에 있어서; 글리코실화된 재조합 인간 IDS 전구체는 인간 IDS를 인코딩하는 재조합 뉴클레오티드 발현 벡터의 투여에 의해 전달되고, 재조합 뉴클레오티드 발현 벡터는 인간 대상체의 뇌 질량에 의존하는 용량으로 투여되고, 뇌 질량은 인간 대상체의 뇌의 뇌 자기 공명 영상 (MRI)에 의해 결정되는, 방법이 본원에 제공된다. 특정 구현예에서, 참조 집단은 (a) MPS II 없이, 바람직하게는 인간 대상체와 유사한 연령, 체중, 및/또는 동일한 성별의 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 10, 25, 50, 75, 100, 200, 250, 300, 400, 500, 또는 1000명의 개별 건강한 사람으로 이루어진다.
- [0065] 또 다른 측면에서, MPS II로 진단된 인간 대상체를 치료하는 방법으로서, 하기 순서: (a) 인간 대상체의 CSF에서 헤파란 설페이트의 수준의 첫 번째 측정을 수행하는 단계; (b) 인간 뉴런 또는 인간 신경아교 세포에 의해 생성된 글리코실화된 재조합 인간 IDS 전구체의 치료학적 유효량을 인간 대상체의 CSF에 전달하는 단계; 및 (c) 일정 시간 후, 헤파란 설페이트의 수준의 두 번째 측정을 수행하는 단계를 포함하는 방법에 있어서; 글리코실화된 재조합 인간 IDS 전구체는 인간 IDS를 인코딩하는 재조합 뉴클레오티드 발현 벡터의 투여에 의해 전달되고, 재조합 뉴클레오티드 발현 벡터는 인간 대상체의 뇌 질량에 의존하는 용량으로 투여되고, 뇌 질량은 인간 대상체의 뇌의 뇌 자기 공명 영상 (MRI)에 의해 결정되는, 방법이 본원에 제공된다. 특정 구현예에서, 기간은 약 1일, 2일, 3일, 4일, 5일, 6일, 1주, 2주, 3주, 4주, 2개월, 3개월, 4개월, 5개월, 6개월, 7개월, 8개월, 11개월, 또는 1년이다.
- [0066] 본원에 기재된 치료하는 방법의 특정 구현예에서, 글리코실화된 재조합 인간 IDS 전구체는 인간 대상체의 CNS에서 세포의 리소솜에 전달된다.
- [0067] 본원에 기재된 치료하는 방법의 특정 구현예에서, 인간 대상체의 뇌 질량은 cm^3 로 인간 대상체의 뇌 용적과 1.046 g/cm^3 의 인수를 곱셈함으로써 인간 대상체의 뇌 용적으로부터 전환되고, 인간 대상체의 뇌 용적은 대상체의 뇌의 뇌 MRI에 의해 결정된다.
- [0068] 본원에 기재된 치료하는 방법의 특정 구현예에서, 재조합 뉴클레오티드 발현 벡터는 MRI에 의해 결정된 경우에 약 1.3×10^{10} GC/g 뇌 질량, 또는 MRI에 의해 결정된 경우에 약 6.5×10^{10} GC/g 뇌 질량의 용량으로 투여된다. 본원에 기재된 치료하는 방법의 특정 구현예에서, 재조합 뉴클레오티드 발현 벡터는 MRI에 의해 결정된 경우에 약 2.0×10^{11} GC/g 뇌 질량의 용량으로 투여된다.
- [0069] 본원에 기재된 치료하는 방법의 다양한 구현예에서, 인간 대상체는 5세 이상이고 18세 미만이다. 특정 구현예에서, 인간 대상체는 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17 또는 18세이다. 특정 구현예에서, 인간 대상체는 약 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17 또는 18세이다. 특정 구현예에서, 인간 대상체는 5-6, 6-7, 7-8, 8-9, 9-10, 10-11, 11-12, 12-13, 13-14, 14-15, 15-16, 16-17, 17-18 또는 18-19세이다. 특정 구현예에서, 인간 대상체는 약 5-6, 6-7, 7-8, 8-9, 9-10, 10-11, 11-12, 12-13, 13-14, 14-15, 15-16, 16-17, 17-18 또는 18-19세이다. 특정 구현예에서, 재조합 뉴클레오티드 발현 벡터는 MRI에 의해 결정된 경우에 약 6.5×10^{10} GC/g 뇌 질량의 용량으로 투여된다. 특정 구현예에서, 재조합 뉴클레오티드 발현 벡터는 표 7에 따

른 용량으로 투여된다.

- [0070] 본원에 기재된 치료하는 방법의 다양한 구현예에서, 인간 대상체는 4개월 이상이고 5세 미만이다. 특정 구현예에서, 인간 대상체는 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 또는 11개월이다. 특정 구현예에서, 인간 대상체는 약 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 또는 11개월이다. 특정 구현예에서, 인간 대상체는 4-5, 5-6, 6-7, 7-8, 8-9, 9-10, 10-11, 또는 11-12개월이다. 특정 구현예에서, 인간 대상체는 약 4-5, 5-6, 6-7, 7-8, 8-9, 9-10, 10-11, 또는 11-12개월이다. 특정 구현예에서, 인간 대상체는 1, 2, 3, 4, 또는 5세이다. 특정 구현예에서, 인간 대상체는 약 1, 2, 3, 4, 또는 5세이다. 특정 구현예에서, 인간 대상체는 1-2, 2-3, 3-4, 4-5, 또는 5-6세이다. 특정 구현예에서, 인간 대상체는 약 1-2, 2-3, 3-4, 4-5, 또는 5-6세이다. 특정 구현예에서, 재조합 뉴클레오티드 발현 벡터는 MRI에 의해 결정된 경우에 약 1.3×10^{10} GC/g 너 질량의 용량으로 투여된다. 특정 구현예에서, 재조합 뉴클레오티드 발현 벡터는 MRI에 의해 결정된 경우에 약 6.5×10^{10} GC/g 너 질량의 용량으로 투여된다. 특정 구현예에서, 재조합 뉴클레오티드 발현 벡터는 MRI에 의해 측정된 경우에 약 2.0×10^{11} GC/g 너 질량의 용량으로 투여된다. 특정 구현예에서, 재조합 뉴클레오티드 발현 벡터는 표 5에 따른 용량 1 또는 용량 2로부터 선택된 용량으로 투여된다. 특정 구현예에서, 재조합 뉴클레오티드 발현 벡터는 표 6에 따른 용량으로 투여된다.
- [0071] 본원에 기재된 치료하는 방법의 일부 구현예에서, 재조합 뉴클레오티드 발현 벡터는 수조내 (IC) 투여를 통해 투여된다. 본원에 기재된 치료하는 방법의 다른 구현예에서, 재조합 뉴클레오티드 발현 벡터는 뇌실내 (ICV) 투여를 통해 투여된다.
- [0072] 본원에 기재된 치료하는 방법의 특정 구현예에서, 재조합 뉴클레오티드 발현 벡터는 인간 대상체의 총 뇌척수액 용적의 10%를 초과하지 않는 용적으로 투여된다.
- [0073] 본원에 기재된 치료하는 방법의 특정 구현예에서, 글리코실화된 재조합 인간 IDS 전구체는 검출가능한 수준으로 분비된다.
- [0074] 본원에 기재된 치료하는 방법의 특정 구현예에서, 인간 뉴런 또는 인간 신경아교 세포는 인간 IDS 전구체를 인코딩하는 내인성 유전자에서 적어도 하나의 돌연변이를 갖는다.
- [0075] 본원에 기재된 치료하는 방법의 특정 구현예에서, 인간 뉴런 또는 인간 신경아교 세포는 재조합 아데노-관련 바이러스 벡터 (rAAV)로 형질도입된다.
- [0076] 바람직한 구현예에서, 재조합 뉴클레오티드 발현 벡터는 AAV9 또는 AAVrh10 벡터이다.
- [0077] 본원에 기재된 치료하는 방법의 특정 구현예에서, 글리코실화된 재조합 인간 IDS 전구체는 CB7 프로모터의 조절 하에서 발현된다.
- [0078] 본원에 기재된 치료하는 방법의 특정 구현예에서, 글리코실화된 재조합 인간 IDS 전구체는 인간 IDS 전구체를 인코딩하는 cDNA로부터 발현된다.
- [0079] 본원에 기재된 치료하는 방법의 특정 구현예에서, 글리코실화된 재조합 인간 IDS 전구체는 폴리아크릴아미드 겔 전기영동에 의해 측정된 경우에 약 90kDa이다.
- [0080] 본원에 기재된 치료하는 방법의 특정 구현예에서, 글리코실화된 재조합 인간 IDS 전구체는 포르밀글리신을 함유한다.
- [0081] 본원에 기재된 치료하는 방법의 특정 구현예에서, 글리코실화된 재조합 인간 IDS 전구체는 (a) α 2,6-시알릴화되고/거나; (b) 검출가능한 NeuGc를 함유하지 않고/거나; (c) 검출가능한 α -Gal 항원을 함유하지 않고/거나; (d) 티로신-황산화물을 함유하지 않고/거나; (e) 만노스-6-인산화된다.
- [0082] 본원에 기재된 치료하는 방법의 특정 구현예에서, 글리코실화된 재조합 인간 IDS 전구체는 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함한다.
- [0083] 본원에 제공된 특정 구현예에서, 본 방법은 인간 IDS 전구체 치료 전 또는 그와 동시에 면역 억제 요법을 인간 대상체에게 투여하고 그 후에 임의로 면역 억제 요법을 계속하는 단계를 추가로 포함한다.
- [0084] 일부 구현예에서, 면역 억제 요법은 하나 이상의 코르티코스테로이드, 시클리무스, 및/또는 타크로리무스를 투여하는 단계를 포함한다. 특정 구현예에서, 하나 이상의 코르티코스테로이드는 메틸프레드니솔론 및/또는 프레드니손이다.

- [0085] 일부 구현예에서, 본 방법은 면역 억제 요법 전 또는 그와 동시에 인간 대상체에게 하나 이상의 항생제를 투여하는 단계를 추가로 포함한다. 특정 구현예에서, 하나 이상의 항생제는 트리메토프림, 설파메톡사졸, 펜타미딘, 답손, 및/또는 아토바쿠온이다.
- [0086] 일부 구현예에서, 본 방법은 면역 억제 요법 전 또는 그와 동시에 인간 대상체에게 하나 이상의 항진균 요법을 투여하는 단계를 추가로 포함한다.
- [0087] 일부 구현예에서, 본 방법은 재조합 뉴클레오티드 발현 벡터의 투여 후 하기 바이오마커 중 하나 이상을 측정하는 단계를 추가로 포함한다: (a) CSF 내 글리코사미노글리칸 (GAG)의 수준; (b) CSF 내 이두로네이트-2-설파타아제 (I2S)의 수준; (c) 혈장 내 GAG의 수준; (d) 혈장 내 I2S의 수준; (e) 백혈구 I2S 효소 활성의 수준; 및 (f) 소변 내 GAG의 수준. 특정 구현예에서, CSF 내 GAG는 CSF 내 헤파린 설페이트를 포함한다. 또 다른 특정 구현예에서, CSF 내 GAG는 CSF 내 헤파린 설페이트이다. 또 다른 특정 구현예에서, 혈장 내 GAG는 혈장 내 헤파린 설페이트를 포함한다. 또 다른 특정 구현예에서, 혈장 내 GAG는 혈장 중 헤파린 설페이트이다. 또 다른 특정 구현예에서, 소변 내 GAG는 소변 내 헤파린 설페이트를 포함한다. 또 다른 특정 구현예에서, 소변 내 GAG는 소변 내 헤파린 설페이트이다. 특정 구현예에서, 측정하는 단계는 CSF 내 헤파린 설페이트의 수준을 메어링(measuring)하는 단계를 포함한다. 또 다른 특정 구현예에서, 측정하는 단계는 백혈구 I2S 효소 활성의 수준을 측정하는 단계를 포함한다.
- [0088] **3.1 예시적인 구현예**
- [0089] 3.1.1. 세트 1
- [0090] 1. II형 점액다당류증 (MPS II)으로 진단된 인간 대상체를 치료하는 방법으로서, 인간 뉴런 또는 인간 신경아교 세포에 의해 생성된 글리코실화된 재조합 인간 이두로네이트-2-설파타아제 (IDS) 전구체의 치료학적 유효량을 인간 대상체의 뇌척수액 (CSF)에 전달하는 단계를 포함하는 방법에 있어서, 글리코실화된 재조합 인간 IDS 전구체는 인간 IDS를 인코딩하는 재조합 뉴클레오티드 발현 벡터의 투여에 의해 전달되고, 재조합 뉴클레오티드 발현 벡터는 인간 대상체의 뇌 질량에 의존하는 용량으로 투여되고, 뇌 질량은 인간 대상체의 뇌의 뇌 자기 공명 영상 (MRI)에 의해 결정되는, 방법.
- [0091] 2. 단락 1에 있어서, 글리코실화된 재조합 인간 IDS 전구체는 검출가능한 수준에서 분비되는, 방법.
- [0092] 3. 단락 1 또는 2에 있어서, 인간 뉴런 또는 인간 신경아교 세포는 인간 IDS 전구체를 인코딩하는 내인성 유전자에서 적어도 하나의 돌연변이를 갖는, 방법.
- [0093] 4. 단락 1 내지 3 중 어느 하나에 있어서, 인간 뉴런 또는 인간 신경아교 세포는 재조합 아데노-관련 바이러스 벡터 (rAAV)로 형질도입되는, 방법.
- [0094] 5. 단락 1 내지 4 중 어느 하나에 있어서, 글리코실화된 재조합 인간 IDS 전구체는 CB7 프로모터의 조절 하에서 발현되는, 방법.
- [0095] 6. 단락 1 내지 5 중 어느 하나에 있어서, 글리코실화된 재조합 인간 IDS 전구체는 인간 IDS 전구체를 인코딩하는 cDNA로부터 발현되는, 방법.
- [0096] 7. 단락 1 내지 6 중 어느 하나에 있어서, 글리코실화된 재조합 인간 IDS 전구체는 폴리아크릴아미드 겔 전기영동에 의해 측정된 경우에 약 90kDa인, 방법.
- [0097] 8. 단락 1 내지 7 중 어느 하나에 있어서, 글리코실화된 재조합 인간 IDS 전구체는 포르밀글리신을 함유하는, 방법.
- [0098] 9. 단락 1 내지 8 중 어느 하나에 있어서, 글리코실화된 재조합 인간 IDS 전구체는 (a) α2,6-시알릴화되고/거나; (b) 검출가능한 NeuGc를 함유하지 않고/거나; (c) 검출가능한 α-Gal 항원을 함유하지 않고/거나; (d) 티로신-황산화물을 함유하고/거나; (e) 만노스-6-인산화되는, 방법.
- [0099] 10. 단락 1 내지 9 중 어느 하나에 있어서, 글리코실화된 재조합 인간 IDS 전구체는 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하는, 방법.
- [0100] 11. 단락 1 내지 10 중 어느 하나에 있어서, 재조합 뉴클레오티드 발현 벡터는 AAV9 또는 AAVrh10 벡터인, 방법.
- [0101] 12. 단락 1 내지 11 중 어느 하나에 있어서, 인간 대상체의 뇌 질량은 cm^3 로 인간 대상체의 뇌 용적과 1.046

g/cm^3 의 인수를 곱셈함으로써 인간 대상체의 뇌 용적으로부터 전환되고, 인간 대상체의 뇌 용적은 인간 대상체의 뇌 MRI로부터 획득되는, 방법.

- [0102] 13. 단락 1 내지 12 중 어느 하나에 있어서, 재조합 뉴클레오타이드 발현 벡터는 MRI에 의해 결정된 경우에 약 1.3×10^{10} GC/g 뇌 질량, 또는 MRI에 의해 결정된 경우에 약 6.5×10^{10} GC/g 뇌 질량의 용량으로 투여되는, 방법.
- [0103] 14. 단락 1 내지 13 중 어느 하나에 있어서, 재조합 뉴클레오타이드 발현 벡터는 수조내 (IC) 투여를 통해 투여되는, 방법.
- [0104] 15. 단락 1 내지 13 중 어느 하나에 있어서, 재조합 뉴클레오타이드 발현 벡터는 뇌실내 (ICV) 투여를 통해 투여되는, 방법.
- [0105] 16. 단락 1 내지 15 중 어느 하나에 있어서, 재조합 뉴클레오타이드 발현 벡터는 인간 대상체의 총 뇌척수액 용적의 10%를 초과하지 않는 용적으로 투여되는, 방법.
- [0106] 17. 단락 1 내지 16 중 어느 하나에 있어서, 글리코실화된 재조합 인간 IDS 전구체는 인간 대상체의 CNS에서 세포의 리소좀에 전달되는, 방법.
- [0107] 18. 단락 1 내지 17 중 어느 한 항에 있어서, 인간 IDS 전구체 치료 전 또는 그와 동시에 인간 대상체에게 면역 억제 요법을 투여하고 그 후에 임의로 면역 억제 요법을 계속하는 단계를 추가로 포함하는, 방법.
- [0108] 19. 단락 18에 있어서, 면역 억제 요법은 하나 이상의 코르티코스테로이드, 시롤리무스, 및/또는 타크로리무스를 투여하는 단계를 포함하는, 방법.
- [0109] 20. 단락 19에 있어서, 하나 이상의 코르티코스테로이드가 메틸프레드니솔론 및/또는 프레드니손인, 방법.
- [0110] 21. 단락 18 내지 20 중 어느 하나에 있어서, 면역 억제 요법 전 또는 그와 동시에 인간 대상체에게 하나 이상의 항생제를 투여하는 단계를 추가로 포함하는, 방법.
- [0111] 22. 단락 21에 있어서, 하나 이상의 항생제는 트리메토프림, 설파메톡사졸, 펜타미딘, 답손, 및/또는 아토바쿠온인, 방법.
- [0112] 23. 단락 18 내지 22 중 어느 하나에 있어서, 면역 억제 요법 전 또는 그와 동시에 인간 대상체에게 하나 이상의 항진균 요법을 투여하는 단계를 추가로 포함하는, 방법.
- [0113] 24. 단락 1 내지 23 중 어느 하나에 있어서, 재조합 뉴클레오타이드 발현 벡터의 투여 후에 하기 바이오마커 중 하나 이상을 측정하는 단계를 추가로 포함하는 방법: (a) CSF 내 글리코사미노글리칸 (GAG)의 수준; (b) CSF 내 이두로네이트-2-설파타아제 (I2S)의 수준; (c) 혈장 내 GAG의 수준; (d) 혈장 내 I2S의 수준; (e) 백혈구 I2S 효소 활성의 수준; 및 (f) 소변 내 GAG의 수준.
- [0114] 25. 단락 24에 있어서, CSF 내 GAG는 CSF 내 헤파린 설페이트를 포함하는, 방법.
- [0115] 26. 단락 24에 있어서, CSF 내 GAG는 CSF 내 헤파린 설페이트인, 방법.
- [0116] 27. 단락 24 내지 26 중 어느 하나에 있어서, 혈장 내 GAG는 혈장 내 헤파린 설페이트를 포함하는, 방법.
- [0117] 28. 단락 24 내지 26 중 어느 하나에 있어서, 혈장 내 GAG는 혈장 내 헤파린 설페이트인, 방법.
- [0118] 29. 단락 24 내지 28 중 어느 한 항에 있어서, 소변 내 GAG는 소변 내 헤파린 설페이트를 포함하는, 방법.
- [0119] 30. 단락 24 내지 28 중 어느 한 항에 있어서, 소변 내 GAG는 소변 내 헤파린 설페이트인, 방법.
- [0120] 31. 단락 24 내지 30 중 어느 하나에 있어서, 측정하는 단계는 CSF 내 헤파린 설페이트의 수준을 메어링하는 단계를 포함하는, 방법.
- [0121] 32. 단락 24 내지 31 중 어느 하나에 있어서, 측정하는 단계는 백혈구 I2S 효소 활성의 수준을 측정하는 단계를 포함하는, 방법.
- [0122] 3.1.2. 세트 2
- [0123] 1. II형 점액다당류증 (MPS II)으로 진단된 인간 대상체를 치료하는 방법으로서, 인간 뉴런 또는 인간 신경아교 세포에 의해 생성된 글리코실화된 재조합 인간 이두로네이트-2-설파타아제 (IDS) 전구체의 치료학적 유효량을

인간 대상체의 뇌척수액 (CSF)에 전달하는 단계를 포함하는 방법에 있어서, 글리코실화된 재조합 인간 IDS 전구체는 인간 IDS를 인코딩하는 재조합 뉴클레오티드 발현 벡터의 투여에 의해 전달되고, 재조합 뉴클레오티드 발현 벡터는 인간 대상체의 뇌 질량에 의존하는 용량으로 투여되고, 뇌 질량은 인간 대상체의 뇌의 뇌 자기 공명 영상 (MRI)에 의해 결정되는, 방법.

- [0124] 2. 단락 1에 있어서, 글리코실화된 재조합 인간 IDS 전구체는 검출가능한 수준에서 분비되는, 방법.
- [0125] 3. 단락 1 또는 2에 있어서, 인간 뉴런 또는 인간 신경아교 세포는 인간 IDS 전구체를 인코딩하는 내인성 유전자에서 적어도 하나의 돌연변이를 갖는, 방법.
- [0126] 4. 단락 1 내지 3 중 어느 하나에 있어서, 인간 뉴런 또는 인간 신경아교 세포는 재조합 아데노-관련 바이러스 벡터 (rAAV)로 형질도입되는, 방법.
- [0127] 5. 단락 1 내지 4 중 어느 하나에 있어서, 글리코실화된 재조합 인간 IDS 전구체는 CB7 프로모터의 조절 하에서 발현되는, 방법.
- [0128] 6. 단락 1 내지 5 중 어느 하나에 있어서, 글리코실화된 재조합 인간 IDS 전구체는 인간 IDS 전구체를 인코딩하는 cDNA로부터 발현되는, 방법.
- [0129] 7. 단락 1 내지 6 중 어느 하나에 있어서, 글리코실화된 재조합 인간 IDS 전구체는 폴리아크릴아미드 겔 전기영동에 의해 측정된 경우에 약 90 kDa인, 방법.
- [0130] 8. 단락 1 내지 7 중 어느 하나에 있어서, 글리코실화된 재조합 인간 IDS 전구체는 포르밀글리신을 함유하는, 방법.
- [0131] 9. 단락 1 내지 8 중 어느 하나에 있어서, 글리코실화된 재조합 인간 IDS 전구체는 (a) α 2,6-시알릴화되고/거나; (b) 검출가능한 NeuGc를 함유하지 않고/거나; (c) 검출가능한 α -Gal 항원을 함유하지 않고/거나; (d) 티로신-황산화물을 함유하고/거나; (e) 만노스-6-인산화되는, 방법.
- [0132] 10. 단락 1 내지 9 중 어느 하나에 있어서, 글리코실화된 재조합 인간 IDS 전구체는 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하는, 방법.
- [0133] 11. 단락 1 내지 10 중 어느 하나에 있어서, 재조합 뉴클레오티드 발현 벡터는 AAV9 또는 AAVrh10 벡터인, 방법.
- [0134] 12. 단락 1 내지 11 중 어느 하나에 있어서, 인간 대상체의 뇌 질량은 cm^3 로 인간 대상체의 뇌 용적과 1.046 g/cm^3 의 인수를 곱셈함으로써 인간 대상체의 뇌 용적으로부터 전환되고, 인간 대상체의 뇌 용적은 인간 대상체의 뇌 MRI로부터 획득되는, 방법.
- [0135] 13. 단락 1 내지 12 중 어느 하나에 있어서, 재조합 뉴클레오티드 발현 벡터는 MRI에 의해 결정된 경우에 약 $1.3 \times 10^{10} \text{ GC/g}$ 뇌 질량, 또는 MRI에 의해 결정된 경우에 약 $6.5 \times 10^{10} \text{ GC/g}$ 뇌 질량의 용량으로 투여되는, 방법.
- [0136] 14. 단락 1 내지 12 중 어느 하나에 있어서, 재조합 뉴클레오티드 발현 벡터는 MRI에 의해 결정된 경우에 약 $2.0 \times 10^{11} \text{ GC/g}$ 뇌 질량의 용량으로 투여되는, 방법.
- [0137] 15. 단락 1 내지 12 중 어느 하나에 있어서, 인간 대상체는 5세 이상이고 18세 미만인, 방법.
- [0138] 16. 단락 15에 있어서, 재조합 뉴클레오티드 발현 벡터는 MRI에 의해 결정된 경우에 약 $6.5 \times 10^{10} \text{ GC/g}$ 뇌 질량의 용량으로 투여되는, 방법.

[0139] 17. 단락 15에 있어서, 재조합 뉴클레오타이드 발현 벡터는 하기 표에 따른 용량으로 투여되는, 방법:

뇌 질량 (g)		목표 뇌 질량 (g)	용량: 총 GC (6.5×10^{10} GC/g 뇌 질량)
최소	최대		
801	900	850	5.5×10^{13}
901	1050	975	6.3×10^{13}
1051	1200	1125	7.3×10^{13}
1201	-	1300	8.5×10^{13}

[0140]

[0141] 18. 단락 1 내지 12 중 어느 하나에 있어서, 인간 대상체는 4개월 이상이고 5세 미만인, 방법.

[0142] 19. 단락 18에 있어서, 재조합 뉴클레오타이드 발현 벡터는 하기 표에 따른 용량 1 또는 용량 2로부터 선택된 용량으로 투여되는, 방법:

뇌 질량 (g)		목표	용량 수준	
최소	최대		용량 1 총 GC (1.3×10^{10} GC/g 뇌 질량)	용량 2 총 GC (6.5×10^{10} GC/g 뇌 질량)
-	700	650	8.5×10^{12}	4.2×10^{13}
701	800	750	9.8×10^{12}	4.9×10^{13}
801	900	850	1.1×10^{13}	5.5×10^{13}
901	1050	975	1.3×10^{13}	6.3×10^{13}
1051	1200	1125	1.5×10^{13}	7.3×10^{13}
1201	-	1300	1.7×10^{13}	8.5×10^{13}

[0143]

[0144] 20. 단락 18에 있어서, 재조합 뉴클레오타이드 발현 벡터는 하기 표에 따른 용량으로 투여되는, 방법:

뇌 질량 (g)		목표	용량 3 총 GC (2.0×10^{11} GC/g 뇌 질량)
최소	최대		
-	474	450	9.0×10^{13}
475	524	500	1.0×10^{14}
525	574	550	1.1×10^{14}
575	624	600	1.2×10^{14}
625	674	650	1.3×10^{14}
675	724	700	1.4×10^{14}
725	774	750	1.5×10^{14}
775	824	800	1.6×10^{14}
825	874	850	1.7×10^{14}
875	924	900	1.8×10^{14}
925	974	950	1.9×10^{14}
975	1024	1000	2.0×10^{14}
1025	1074	1050	2.1×10^{14}
1075	1124	1100	2.2×10^{14}
1125	1174	1150	2.3×10^{14}
1175	1224	1200	2.4×10^{14}
1225	1274	1250	2.5×10^{14}
1275	>1300	1300	2.6×10^{14}

[0145]

[0146] 21. 단락 1 내지 20 중 어느 하나에 있어서, 재조합 뉴클레오타이드 발현 벡터는 수조내 (IC) 투여를 통해 투여되는, 방법.

[0147] 22. 단락 1 내지 20 중 어느 하나에 있어서, 재조합 뉴클레오타이드 발현 벡터는 뇌실내 (ICV) 투여를 통해 투여되는, 방법.

- [0148] 23. 단락 1 내지 22 중 어느 하나에 있어서, 재조합 뉴클레오타이드 발현 벡터는 인간 대상체의 총 뇌척수액 용적의 10%를 초과하지 않는 용적으로 투여되는, 방법.
- [0149] 24. 단락 1 내지 23 중 어느 하나에 있어서, 글리코실화된 재조합 인간 IDS 전구체는 인간 대상체의 CNS에서 세포의 리소좀에 전달되는, 방법.
- [0150] 25. 단락 1 내지 24 중 어느 하나에 있어서, 인간 IDS 전구체 치료 전 또는 그와 동시에 인간 대상체에게 면역억제 요법을 투여하고 그 후에 임의로 면역 억제 요법을 계속하는 단계를 추가로 포함하는, 방법.
- [0151] 26. 단락 25에 있어서, 면역 억제 요법은 하나 이상의 코르티코스테로이드, 시클리무스, 및/또는 타크로리무스를 투여하는 단계를 포함하는, 방법.
- [0152] 27. 단락 26에 있어서, 하나 이상의 코르티코스테로이드가 메틸프레드니솔론 및/또는 프레드니손인, 방법.
- [0153] 28. 단락 25 내지 27 중 어느 하나에 있어서, 면역 억제 요법 전 또는 그와 동시에 인간 대상체에게 하나 이상의 항생제를 투여하는 단계를 추가로 포함하는, 방법.
- [0154] 29. 단락 28에 있어서, 하나 이상의 항생제는 트리메토프림, 설파메톡사졸, 펜타미딘, 답손, 및/또는 아토바쿠온인, 방법.
- [0155] 30. 단락 25 내지 29 중 어느 하나에 있어서, 면역 억제 요법 전 또는 그와 동시에 인간 대상체에게 하나 이상의 항진균 요법을 투여하는 단계를 추가로 포함하는, 방법.
- [0156] 31. 단락 1 내지 30 중 어느 하나에 있어서, 재조합 뉴클레오타이드 발현 벡터의 투여 후에 하기 바이오마커 중 하나 이상을 측정하는 단계를 추가로 포함하는 방법: (a) CSF 내 글리코사미노글리칸 (GAG)의 수준; (b) CSF 내 이두로네이트-2-설파타아제 (I2S)의 수준; (c) 혈장 내 GAG의 수준; (d) 혈장 내 I2S의 수준; (e) 백혈구 I2S 효소 활성의 수준; 및 (f) 소변 내 GAG의 수준.
- [0157] 32. 단락 31에 있어서, CSF 내 GAG는 CSF 내 헤파린 설페이트를 포함하는, 방법.
- [0158] 33. 단락 31에 있어서, CSF 내 GAG는 CSF 내 헤파린 설페이트인, 방법.
- [0159] 34. 단락 31 내지 33 중 어느 하나에 있어서, 혈장 내 GAG는 혈장 내 헤파린 설페이트를 포함하는, 방법.
- [0160] 35. 단락 31 내지 33 중 어느 하나에 있어서, 혈장 내 GAG는 혈장 내 헤파린 설페이트인, 방법.
- [0161] 36. 단락 31 내지 35 중 어느 하나에 있어서, 소변 내 GAG는 소변 내 헤파린 설페이트를 포함하는, 방법.
- [0162] 37. 단락 31 내지 35 중 어느 하나에 있어서, 소변 내 GAG는 소변 내 헤파린 설페이트인, 방법.
- [0163] 38. 단락 31 내지 37 중 어느 하나에 있어서, 측정하는 단계는 CSF 내 헤파린 설페이트의 수준을 메어링하는 단계를 포함하는, 방법.
- [0164] 39. 단락 31 내지 38 중 어느 하나에 있어서, 측정하는 단계는 백혈구 I2S 효소 활성의 수준을 측정하는 단계를 포함하는, 방법.

도면의 간단한 설명

[0165] 4. 도면의 간단한 설명

도 1. 인간 IDS의 아미노산 서열. C⁸⁴의 번역 후 포르밀글리신 변형 (도 1에서 굵게 표시됨)은 효소 활성에 요구된다. 8개의 N-연결된 글리코실화 부위 (N³¹, N¹¹⁵, N¹⁴⁴, N²⁴⁶, N²⁸⁰, N³²⁵, N⁵¹³ 및 N⁵³⁷)는 굵게 표시되고 박스표시된다. 하나의 티로신-O-황산화 부위 (Y)는 굵게 표시되고 PSSEKY¹⁶⁵ENTKTCRGPD)는 박스표시된다. 성숙한 42kDa 및 성숙한 14kDa 폴리펩티드의 N-말단은 수평 화살표로 표시된다. 뇌에서, 성숙한 42kDa 형태의 N-말단은 다음과 같이 위치 34 또는 36에서 시작을 형성한다: 도 1에 나타난 바와 같이 T³⁴DALNLLI; 및 A³⁶LNLLIIV. (Sleat, 2005, Proteomics 5: 1520-1532, 표 S2 참조). 8개의 N-연결된 글리코실화 부위 중 2개, 즉 N²⁸⁰ 및 N¹¹⁶은 인간 뇌에서 얻은 IDS에서 만노스-6-인산화된다. (Sleat 등, 2006, Mol & Cell Proteomics 5.4: 686-701, 표 V에 보고됨).

도 2. hIDS와 공지된 오르토로그의 다중 서열 정렬. 종의 이름과 단백질 ID는 다음과 같다:

SP|P22304|IDS_HUMAN [호모 사피엔스]; TR|K6ZGI9_PANTR [판 트로글로다이츠(Pan troglodytes) (침팬지)]; TR|K7BKV4_PANTR [판 트로글로다이츠 (침팬지)]; TR|H9FTX2_MACMU [마카카 몰라타 (붉은털원숭이)]; TR|F7EJG2_CALJA [비단 마모셋 (흰털귀 마모셋)]; TR|U3DTL8_CALJA [비단 마모셋 (흰털귀 마모셋)]; TR|G7NRX7_MACMU [마카카 몰라타 (붉은털원숭이)]; TR|G7Q1V9_MACFA [필리핀 원숭이 (게잡이 원숭이; 사이노몰로구스 원숭이)]; TR|H2PX10_PONAB [폰고 아벨리이(Pongo abelii) (수마트라 오랑우탄)]; TR|A0A0D9R4D1_CHLSB [사바나 원숭이 (녹색 원숭이)]; TR|G1RST8|G1RST8_NOMLE [노마스쿠스 류코제니스(Nomascus leucogenys) (북부 흰뺨 긴팔원숭이)]; UPI0000D9F625 [마카카 몰라타 (붉은털원숭이)]; UPI000274358B [판 파니스쿠스(Pan paniscus) (피그미 침팬지; 보노보(Bonobo))]; UPI00027F6FC5 [파피오 아누비스(Papio Anubis) (올리브 개코원숭이)]; UPI00027FAE03 [검은머리 다람쥐 원숭이 (볼리비아 다람쥐 원숭이)]; UPI0003ABBF28 [필리핀 원숭이 (게잡이 원숭이; 사이노몰로구스 원숭이)]; UPI000533297F [리노피테쿠스 록셀라나(Rhinopithecus roxellana) (황금 들창코 원숭이; 피가트릭스 록셀라나(Pygathrix roxellana))]; UPI0005F40BD2 [콜로부스 안골렌시스 팔리에이즈(Colobus angolensis paliates) (피터스 안골란 콜로부스(Peters' Angolan colobus))] (서열번호: 27-44).

도 3. hIDS 및 해당 질환 표현형, 경증, 중간 또는 중증의 MPS II 돌연변이. (Uniprot에서).

도 4. Millat 등, 1997, Exp. Cell. Res. 230: 362-367, 도 7에서 보고된 대로 처리하는 인간 IDS.

도 5. 작제물 1의 개략적 표시.

도 6. AAV 캡시드 1 내지 9 (서열 번호: 16-26)의 Clustal 다중 서열 정렬. 다른 정렬된 AAV 캡시드의 상응하는 위치에서 아미노산 잔기를 "동원"하여 AAV9 및 AAV8 캡시드에서 아미노산 치환 (하단 열에 굵게 표시됨)이 만들어질 수 있다. "HVR"로 지정된 서열 영역 = 초가변 영역.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

5. 발명의 상세한 설명

본 발명은 헌터 증후군으로 진단된 환자를 포함하지만, 이에 제한되지 않는 점액다당류증 II (MPS II)로 진단된 인간 대상체의 중추 신경계 (CNS)의 뇌척수액 (CSF)에 인간 뉴런 또는 신경아교 세포에 의해 생성된 재조합 인간 이두로네이트-2-설파타아제 (rhIDS)를 전달하는 것을 포함한다. 본원에 기재된 발명에 따라 사용될 수 있는 조성물 및 방법에 대하여, 그 전문이 본원에 참조로 포함되는, 2017년 4월 14일에 출원된 (2017년 10월 19일에 WO/2017/181113으로서 공개된) 국제 특허 출원 번호 PCT/US2017/027770, 또한, 참조.

바람직한 구현예에서, 치료는 유전자 요법을 통해 - 예를 들어, MPS II로 진단된 환자 (인간 대상체)의 CSF에, 인간 IDS (hIDS), 또는 hIDS의 유도체를 인코딩하는 바이러스 벡터 또는 기타 DNA 발현 작제물을 투여하여, 이식유전자 산물을 CNS에 지속적으로 공급하는 형질도입된 뉴런 및/또는 신경아교 세포의 영구적인 데포가 생성됨으로써 달성된다. 상기 뉴런/신경아교 세포 데포로부터 CSF로 분비된 rhIDS는 CNS의 세포에 의해 세포내 이입되어 수용 세포에서 효소 결핍에 대한 "교차-보정"을 초래할 것이다. 게다가, 의외로, CNS에서 형질도입된 신경 및 신경아교 세포의 데포가 양쪽 CNS에 및 전신적으로 재조합 효소를 전달할 수 있고, 이는 전신 치료, 예를 들어, 효소의 매주 i.v. 주사에 대한 필요성을 감소 또는 제거시킬 수 있는 것으로 밝혀졌다.

대안적인 구현예에서, hIDS는 세포 배양 (예를 들어 생물반응기)에서 인간 뉴런 또는 신경아교 세포에 의해 생성될 수 있고, 효소 대체 요법 ("ERT")으로서, 예를 들어, 효소를 - CSF에, 직접적으로 CNS에, 및/또는 전신적으로 주사함으로써 투여될 수 있다. 그러나 유전자 요법 접근법이 ERT에 비해 몇 가지 이점을 제공하는 것은 효소가 혈액 뇌 장벽을 통과할 수 없기 때문에 효소의 전신 전달은 CNS 치료로 이어지지 않을 것이며; 본 발명의 유전자 요법 접근법과는 달리, 효소를 CSF 및/또는 CNS로 직접 전달하는 것은 부담이 될 뿐만 아니라 감염 위험이 있는 반복 주사를 필요로 할 것이기 때문이다.

이식유전자에 의해 인코딩된 hIDS는 서열 번호 1 (도 1에 도시됨)의 아미노산 서열을 갖는 인간 IDS (hIDS), 및 예를 들어, 도 2에 도시된 IDS의 오르토로그에서 상응하는 비-보존 잔기로부터 선택된 아미노산 치환을 포함하지만 이에 제한되지 않는, 아미노산 치환, 결실 또는 부가가 있는 hIDS의 유도체를 포함할 수 있지만, 이에 제한되지 않고, 단 이러한 돌연변이는 효소 활성에 요구되는 위치 84 (C84)에 시스테인 잔기의 대체 (Millat 등, 1997, Biochem J 326: 243-247); 또는 도 3에 도시되거나, 이들 각각은 그 전문이 본원에 참조로 포함된, Sukegawa-Hayasaka 등, 2006, J Inher Metab Dis 29: 755-761 ("약화된" 돌연변이체 R48P, A85T, W337R, 및 절단된 돌연변이체 Q531X; 및 "중증" 돌연변이체 P86L, S333L, S349I, R468Q, R468L 보고); Millat 등, 1998,

BBA 1406: 214-218 ("약화된" 돌연변이체 P480L 및 P480Q; 및 "중증" 돌연변이체 P86L 보고); 및 Bonucelli 등, 2001, BBA 1537:233-238에 의해 보고된 중증, 중증-중간, 중간, 또는 약화된 MPS II 표현형으로 식별된 돌연변이를 포함하지 않는다.

[0171] 예를 들어, hIDS의 특정 위치에서 아미노산 치환은 도 2에 정렬된 IDS 오르토로그의 해당 위치에서 발견된 상응하는 비-보존 아미노산 잔기 중에서 선택될 수 있고, 단 이러한 치환은 도 3에 도시되거나 이들 각각은 그 전문이 본원에 참조로 포함된, 상기 Sukegawa-Hayasaka 등, 2006; 상기 Millat 등, 1998; 또는 상기 Bonucelli 등, 2001에 의해 보고된 임의의 유해한 돌연변이를 포함하지 않는다. 생성된 이식유전자 산물은 돌연변이가 IDS 기능을 방해하지 않는지 확인하기 위해 세포 배양 또는 시험 동물에서 종래의 시험관내 검정을 사용하여 시험될 수 있다. 선택된 바람직한 아미노산 치환, 결실 또는 부가는 MPS II에 대한 세포 배양 또는 동물 모델에서 종래의 시험관내 검정에 의해 시험된 때 IDS의 효소 활성, 안정성 또는 반감기를 유지하거나 증가시키는 것들이어야 한다. 예를 들어, 이식유전자 산물의 효소 활성은 예를 들어 4-메틸움벨리페틸 α-L-이도피라노시두론산 2-설페이트 또는 4-메틸움벨리페틸 설페이트를 기질로 하는 종래의 효소 검정을 사용하여 평가될 수 있다 (사용될 수 있는 예시적인 IDS 효소 검정에 대해서는 예를 들어, Lee 등, 2015, Clin. Biochem. 48(18):1350-1353, Dean 등, 2006, Clin. Chem. 52(4):643-649 참조, 이들 각각은 그 전문이 본원에 참조로 포함됨). MPS II 표현형을 보정하는 이식유전자 산물의 능력은 세포 배양으로; 예를 들어, 배양 중 MPS II 세포를 hIDS 또는 유도체를 인코딩하는 바이러스 벡터 또는 기타 DNA 발현 작제물로 형질도입하거나; 이식유전자 산물 또는 유도체를 배양 중 MPS II 세포에 부가하거나; 또는 MPS II 세포를, rhIDS 또는 유도체를 발현시키고 분비하도록 조작된 인간 뉴런/신경아교 숙주 세포와 공동 배양하고, 예를 들어, IDS 효소 활성 및/또는 배양 중 MPS II 세포의 GAG 저장 감소를 검출하여 MPS II 배양된 세포에서 결합 보정을 결정함으로써 평가될 수 있다 (예를 들어, Stroncek 등, 1999, Transfusion 39(4):343-350 참조, 이는 그 전문이 본원에 참조로 포함됨).

[0172] 본원에 기재된 치료제를 평가하는데 사용될 수 있는 MPS II에 대한 동물 모델은 설명되었다. 예를 들어, MPS II의 녹아웃 마우스 모델 (IDS-녹아웃)은 IDS 유전자의 엑손 4 및 5를 네오마이신 내성 유전자로 대체함으로써 조작되었다. (Garcia 등, 2007, J Inherit Metab Dis 30: 924-34). 이 IDS-녹아웃 마우스는 골격 이상, 간비장종대, 비뇨기 및 조직 GAG 상승, 뇌 저장 병변을 포함한 MPS II의 많은 특성을 나타내며 (Muenzer 등, 2001, Acta Paediatr Suppl 91:98-99) ERT에 대한 임상 시험을 지원하기 위해 MPS II에서 효소 대체 요법의 효과를 평가하는데 사용되었다. 따라서, 이 마우스 모델은 MPS II에 대한 치료로서 뉴런 또는 신경아교 세포에 의해 생성된 rIDS를 전달하는 유전자 요법의 효과를 연구하기 위한 관련 모델이다 (예를 들어, Polito and Cosma, 2009, Am. J. Hum. Genet. 85(2):296-301 참조, 이는 그 전체가 본원에 참고로 포함됨).

[0173] 바람직하게는, 인간 뉴런/신경아교 세포에 의해 생성된 hIDS 이식유전자는 뉴런 및/또는 신경아교 세포에서 기능하는 발현 조절 요소, 예를 들어, CB7 프로모터 (답 β-액틴 프로모터 및 CMV 인핸서)에 의해 조절되어야 하고, 벡터에 의해 구동되는 이식유전자의 발현을 향상시키는 다른 발현 조절 요소 (예를 들어, 답 β-액틴 인트론 및 토끼 β-글로빈 폴리 A 신호)를 포함할 수 있다. hIDS 이식유전자에 대한 cDNA 작제물은 형질도입된 CNS 세포에 의한 적절한 동시 번역 처리 및 번역 후 처리 (글리코실화 및 단백질 황산화)를 보장하는 신호 펩티드에 대한 코딩 서열을 포함해야 한다. CNS 세포에 의해 사용되는 이러한 신호 펩티드는 다음을 포함할 수 있지만 이에 제한되지는 않는다:

[0174] 희소돌기아교세포-미엘린 당단백질 (hOMG) 신호 펩티드:

[0175] MEYQILKMSLCFLILLFLTPGILC (서열 번호:2)

[0176] E1A-자극 유전자 2의 세포 억제인자 (hCREG2) 신호 펩티드:

[0177] MSVRRGRPARPGTRLSSWLLCCSALLSPAAG (서열 번호:3)

[0178] V-세트 및 막횡단 도메인 함유 2B (hVSTM2B) 신호 펩티드:

[0179] MEQRNRLGALGYLPPLLHALLLFVADA (서열 번호:4)

[0180] 프로토크라틴 알파-1 (hPCADHA1) 신호 펩티드:

[0181] MVFSRRGGLGARDLLWLLLLAAWEVGSG (서열 번호:5)

[0182] FAM19A1 (TAF1) 신호 펩티드:

[0183] MAMVSAMSWVLYLWISACA (서열 번호:6)

- [0184] 인터류킨-2 신호 펩티드:
- [0185] MYRMQLLSICALILALVTNS (서열 번호:14)
- [0186] 신호 펩티드는 또한 본원에서 리더 서열 또는 리더 펩티드로 지칭될 수 있다.
- [0187] 이식유전자를 전달하는 데 사용되는 재조합 벡터는 뉴런 및/또는 신경아교 세포를 포함하지만 이에 제한되는 CNS의 세포에 대한 향성을 가져야 한다. 이러한 벡터는 비-복제 재조합 아데노-관련 바이러스 벡터 ("rAAV")를 포함할 수 있으며, 특히 AAV9 또는 AAVrh10 캡시드를 갖는 것이 바람직하다. 그 전문이 본원에 참조로 포함된 미국 특허 번호 7,906,111의 윌슨(Wilson)에 의해 설명된 것들을 포함하지만 이에 제한되지 않는 AAV 변이체 캡시드; 뿐만 아니라 각각 그 전문이 본원에 참조로 포함된, 미국 특허 번호 8,628,966, 미국 특허 번호 8,927,514의 채터지 및 문헌(Smith 등, 2014, Mol Ther 22: 1625-1634)에 설명된 AAV 변이체 캡시드가 사용될 수 있으며, AAV/hu.31 및 AAV/hu.32가 특히 바람직하다. 그러나, 렌티바이러스 벡터, 백시니아 바이러스 벡터, 또는 "네이키드 DNA" 작제물로 지칭되는 비-바이러스 발현 벡터를 포함하지만 이에 제한되지 않는 다른 바이러스 벡터가 사용될 수 있다.
- [0188] CSF에 투여하기에 적합한 약제학적 조성물은 생리적으로 적합한 수성 완충액, 계면활성제 및 선택적 부형제를 포함하는 제형 완충액 중의 rhIDS 벡터의 현탁액을 포함한다. 특정 구현예에서, 약제학적 조성물은 경막내 투여에 적합하다. 특정 구현예에서, 약제학적 조성물은 수조내 투여 (대조로 주사)에 적합하다. 특정 구현예에서, 약제학적 조성물은 C1-2 천자를 통해 지주막하 공간으로 주사하기에 적합하다. 특정 구현예에서, 약제학적 조성물은 뇌실내 투여에 적합하다. 특정 구현예에서, 약제학적 조성물은 요추 천자를 통한 투여에 적합하다.
- [0189] 치료학적 유효 용량의 재조합 벡터는 경막내 투여 (즉, 재조합 벡터가 CSF를 통해 분포하고 CNS에서 세포를 형질도입시키도록 지주막하 공간으로의 주사)를 통해 CSF에 투여되어야 한다. 이는 여러 가지 방법으로, 예를 들어, 두개내 (수조 또는 뇌실) 주사 또는 요추 수조로의 주사에 의해 달성될 수 있다. 예를 들어 수조내 (IC) 주사 (대조로)는 CT-유도 후두하 천자에 의해 수행될 수 있거나; 지주막하 공간으로의 주사는 환자에게 가능할 때 C1-2 천자를 통해 수행될 수 있거나; 또는 CSF에 접근하기 위해 요추 천자 (전형적으로 CSF 샘플을 수집하기 위해 수행되는 진단 절차)가 사용될 수 있다. 대안적으로, 재조합 벡터를 뇌의 뇌실에 직접 주입하기 위해 뇌실내 (ICV) 투여 (혈액-뇌 장벽을 통과하지 않는 항감염 또는 항암 약물의 도입에 사용되는 보다 침습적인 기술)를 사용할 수 있다. 대안적으로, 재조합 벡터를 CNS에 전달하기 위해 비강내 투여를 사용할 수 있다.
- [0190] 발달 중인 아동의 초기에 발생하는 비교적 빠른 뇌 성장 때문에, IC 투여된 AAV9.hIDS의 총 용량은 상이한 연령 계층에 걸쳐 추정된 뇌 질량에 의존한다, 예를 들어, 하기 표 2 참조. 연구 대상자의 연령별 뇌 질량에 대해서는 예를 들어 AS Dekaban, Ann Neurol, 1978 Oct; 4(4): 345-56 참조.

표 2: 연령별 투여된 총 용량

대상체 연령	추정된 뇌 질량 (g)	용량 1 (총 GC)	용량 2 (총 GC)
4개월 이상 9개월 미만	600	7.8×10^{12}	3.9×10^{13}
9개월 이상 18개월 미만	1000	1.3×10^{13}	6.5×10^{13}
18개월 이상 3세 미만	1100	1.4×10^{13}	7.2×10^{13}
3세 이상	1300	1.7×10^{13}	8.5×10^{13}

- [0191]
- [0192] CSF 농도는 후두 또는 요추 천자로부터 얻은 CSF 유체 중의 rhIDS 농도를 직접 측정하여 모니터링되거나 환자의 혈청에서 검출된 rhIDS의 농도로부터 외삽법에 의해 추정될 수 있다.
- [0193] 배경으로, 인간 IDS는 도 1에 묘사된 8개의 잠재적인 N-글리코실화 부위 (N^{31} , N^{115} , N^{144} , N^{246} , N^{280} , N^{325} , N^{513} 및 N^{537})를 함유하고 처리 동안 절단되는 25개 아미노산 신호 서열을 포함하는 550개 아미노산 폴리펩티드로서 번역된다. 초기 76kDa 세포내 전구체는 골지체에서 이의 올리고당 사슬의 변형 후 인산화된 90kDa 전구체로 전환된다. 이 전구체는 다양한 세포내 중간체를 통해서 글리코실화 변형 및 단백질분해 절단에 의해 주요 55kDa 형태로 처리된다. 요약하면, 25개 aa 신호 서열의 제거 후, 단백질분해 처리는 8개 아미노산 (잔기 26-33)의 프로펩티드를 제거하는 N^{31} 의 N-말단 단백질분해 절단 다운스트림, 및 18kDa 폴리펩티드를 방출하고 55kDa 성숙한 형태

로 전환되는 62kDa 중간체를 생성하는 N⁵¹³의 C-말단 단백질분해 절단 업스트림을 포함한다. 추가 단백질분해 절단은 리소솜 구획에 위치한 45kDa 성숙한 형태를 생성한다. (Millat 등, 1997, Exp Cell Res 230: 362-367 ("Millat 1997")); Millat 등, 1997, Biochem J. 326: 243-247 ("Millat 1997a"); 및 Froissart 등, 1995, Biochem J. 309:425-430에서 재현된 다이어그램에 대해서는 도 4 참조, 이들 각각은 그 전체가 본원에 참고로 포함됨).

[0194] 효소 활성화에 요구된 C⁸⁴의 포르밀글리신 변형 (도 1에서 굵게 표시됨)은 아마도 초기 번역 후 또는 동시 번역 이벤트로서, 가장 아마도 소포체에서 발생한다. (Millat 1997a, Schmidt 등, 1995, Cell 82: 271-278 인용 참조). 번역 후 처리는 복합 시알산-함유 글리칸의 부가 및 리소솜 구획으로의 전달을 위하여 효소를 태깅하는 만노스-6-포스페이트 잔기의 획득을 포함하도록 골지에서 계속한다. (그 전문이 본원에 참조로 포함되는 간결한 검토를 위해 Clarke, 2008, Expert Opin Pharmacother 9: 311-317 참조). 단일 글리코실화 부위는 IDS 안정성에 필수적이지 않지만, 위치 N²⁸⁰에서의 글리코실화는 만노스-6-포스페이트 (M6P) 수용체를 통해 세포 내재화 및 리소솜 표적화에 중요하다. (Chung 등, 2014, Glycoconj J 31:309-315, p. 310, 첫 번째 컬럼 참조). 정상 생리적 상태에서, IDS는 매우 낮은 수준으로 생성되며 세포에서 분비되는 효소는 거의 없다. (상기 Clarke, 2008).

[0195] 본 발명은 부분적으로 다음의 원리에 기반한다:

[0196] (i) CNS의 뉴런 및 신경아교 세포는 CNS의 강력한 프로세스인, 글리코실화, 만노스-6-인산화, 및 티로신-O-황산화를 포함하는, 분비된 단백질의 번역 후 처리를 위한 세포 기구를 보유한 분비 세포이다. 예를 들어, 인간의 뇌 만노스-6-포스페이트 글리코프로테오를 설명하고, 뇌에는 다른 조직에서 발견되는 것보다 훨씬 더 많은 수의 개별 이소형 및 만노스-6-인산화 단백질을 갖는 더 많은 단백질을 함유하고 있음에 주목하는 Sleat 등, 2005, Proteomics 5: 1520-1532, 및 Sleat 1996, J Biol Chem 271: 19191-98; 및 뉴런 세포에서 분비되는 티로신-황산화 당단백질의 생성을 보고하는 Kanan 등, 2009, Exp. Eye Res. 89: 559-567 및 Kanan & Al-Ubaidi, 2015, Exp. Eye Res. 133: 126-131을 참조하며, 이들 각각은 인간 CNS 세포에 의해 이루어진 번역 후 변형에 대해 그 전문이 참조로 포함된다.

[0197] (ii) 인간 뇌는 천연/기본 IDS의 여러 동형을 생성한다. 특히, 인간 뇌 만노스-6-인산화된 당단백질의 N-말단 시퀀스는 hIDS의 성숙한 42kDa 사슬의 N-말단 서열이 다음과 같이 위치 34 또는 36에서 시작하여, 뇌에서 가변하는 것을 밝혀냈다: T³⁴DALNLLI; 및 A³⁶LNVLIIIV. (Sleat, 2005, Proteomics 5: 1520-1532, 표 S2). 8개의 N-연결된 글리코실화 부위 중 2개, 즉 N²⁸⁰ 및 N¹¹⁶은 인간 뇌에서 얻은 IDS에서 만노스-6-인산화되는 것으로 밝혀졌다. (Sleat 등, 2006, Mol & Cell Proteomics 5.4: 686-701, 표 V에서 보고됨).

[0198] (iii) hIDS를 처리하는 동안, 2개의 폴리펩티드, 76kDa 및 90kDa는 신경 및 신경아교 세포에 의해 분비되지만, 90kDa 폴리펩티드만이 만노스-6-인산화되며, 이는 분비된 형태의 효소가 교차 보정을 달성하는 데 필요하다. (형질도입된 림프모구양 세포에 대한 결과인 Millat, 1997, 도 1, 및 형질도입된 섬유아세포에 대한 유사한 결과를 보여주는 - 배양 배지에서 90kDa 형태만 인산화되는 Froissart 1995, 도 4 참조). 흥미롭게도, 뉴런 및 신경아교 세포에 의해 생성된 재조합 IDS가 신장과 같은 다른 세포에 의해 생성된 재조합 IDS보다 수용 CNS 세포에 의해 더 열성적으로 세포내 이입될 수 있다는 것이 입증되었다. 다니엘 2002는 전구체를 45kDa 성숙한 활성 형태로 적절하게 처리하였던 비-형질도입된 뉴런 및 신경아교 세포의 수용 집단에 의해 형질도입된 뉴런 및 신경아교 세포 배양의 조건화된 배지로부터 재조합 IDS의 M6P-수용체 매개 세포내 이입을 입증하였다. 뉴런 및 신경아교 세포주에 의해 생성된 재조합 IDS의 흡수 (74% 세포내 이입)는 신장 세포주에 의해 생성된 효소의 흡수 (5.6% 세포내 이입)를 훨씬 초과하였다. 각 경우에, 흡수는 M6P에 의해 억제되어, 재조합 IDS 흡수가 M6P-수용체 매개됨을 나타냈다. (다니엘 2002, 표 2 및 4 및 아래 표 3에 요약된 pp. 205-206의 결과에 동반하는 설명 참조).

표 3. 다니엘 2002 에 보고된 결과의 요약

rIDS 의 세포주 공급원	배지 효소 단위	수령 세포: 회수된 단위		% 세포내 이입 (평균 값)
		뉴런	신경아교	
신장 (형질감염됨)	35 U	1.7 U	2.2 U	5.6%
뉴런 (Ad-형질도입됨)	12 U	8.8 U	8.8 U	74%
신경아교 (Ad-형질도입됨)	14 U	10.5 U	10.5 U	74%

[0199]

[0200]

(iv) 본원에 기재된 유전자 요법 접근법은 효소적으로 활성인 폴리아크릴아미드 겔 전기영동 (사용된 검정에 따라 다름)으로 측정된 경우에 약 90kDa의 hIDS 당단백질 전구체의 지속적인 분비를 초래해야 한다. 첫째, IDS 활성에 요구되는 C⁸⁴의 포르밀글리신 변형을 담당하는 효소 -- FGly-생성 효소 (FGE, 별칭 SUMF1) --는 인간 뇌의 대뇌 피질에서 발현된다 (SUMF1에 대한 유전자 발현 데이터는 예를 들어 <http://www.genecards.org>에서 접근 가능한 GeneCards에서 찾아질 수 있다). 둘째, 제자리 형질도입된 뉴런 및 신경아교 세포에 의해 생성된 분비된 글리코실화된/인산화된 rIDS는 CNS에서 형질도입되지 않은 신경 및 신경아교 세포에 의해 흡수되고 올바르게 처리되어야 한다. 어떠한 이론에도 구속되지 않고, 유전자 요법에 의해 제자리 생성된 분비된 rhIDS 전구체가 CNS에 투여되면 ERT에 사용된 전통적 재조합 효소보다 CNS에서 수용 세포에 의해 더 열성적으로 세포내 이입될 수 있는 것으로 보인다. 예를 들어, Elaprase[®] (섬유육종 세포주인 HT1080에서 제조)는 더 심하게 인산화되는 것으로 보이는 뉴런 및 신경아교 세포에 의해 분비되는 90kDa 종이 아닌 - 약 76kDa의 분자량을 갖는 것으로 보고된 정제된 단백질이다. 8개의 N-연결된 글리코실화 부위가 Elaprase[®]에서 완전히 점유된 것으로 보고되고 2개의 비스-만노스-6-포스페이트 말단화된 글리칸 뿐만 아니라 복합 고도로 시알릴화된 글리칸을 함유하지만, 효소 활성화에 대한 절대 요건인 C⁸⁴의 FGly로의 번역 후 변형은 겨우 약 50%이다. (Clarke, 2008, Expert Opin Pharmacother 9:311-317; Elaprase[®] Full Prescribing Information and EMA filing). 또 다른 재조합 제품, Hunterase[®]는 CHO 세포에서 만들어진다. Elaprase[®]보다 FGly 및 활성이 더 높은 것으로 보고되었지만, 만노스-6-인산화 및 흡수는 다르지 않았다. (Chung, 2014, Glycoconj J 31:309-315).

[0201]

(v) 생체내 세포의 IDS 효능은 만노스-6-포스페이트 (M6P) 및 포르밀글리신 생성 효소에 의한 번역 후 변형을 통해서 C⁸⁴에서 전환되는 이의 활성 부위 포르밀글리신 (FGly)을 통해서 흡수 (세포 및 리소좀 내재화)에 의존한다. 상기 표 3에 나타난 대로, 뇌 세포 (뉴런 및 신경아교 세포)는 유전적으로 조작된 신장 세포에 의해 분비되는 IDS 전구체 배지보다 형질도입된 뉴런 및 신경아교 세포에 의해 분비되는 IDS 전구체 배지와 인큐베이션된 때 더 높은 효소 활성을 보여준다. 결과적인 활성의 5배 증가는 IDS의 효율적인 흡수에 기인할 가능성이 높다 (다니엘 2002, 표 2 및 4 참조). CHO 세포 또는 HT-1080 세포에 의해 생성되는 상업적 형태의 IDS는 효소 활성을 결정하는 약 50% 내지 70%의 FGly 함량을 갖는다. 그러나 IDS 흡수의 개선으로 인해, 뉴런 및 신경아교 세포는 이 활성을 개선할 수 있다.

[0202]

(vi) IDS를 포함하는 리소좀 단백질의 세포 및 세포하 수송/흡수는 M6P를 통해 이루어진다. 다니엘 2002에서, 그리고 Sleat, Proteomics, 2005에서 보고된 바와 같이, 뇌 세포로부터 IDS는 더 높은 M6P 함량을 함유할 수 있다 (인간 뇌는 다른 조직보다 더 많은 (양쪽 정량적 및 정성적 의미에서) Man6-P 당단백질을 함유한다는 것을 나타냄). 다니엘 2002에서 수행된 바와 같이, IDS 전구체의 M6P 함량을 측정하는 것은 가능하다. 억제성 M6P (예를 들어, 5 mM)의 존재 하에, 다니엘 2002의 유전적으로 조작된 신장 세포와 같은 비-뉴런 또는 비-신경아교 세포에 의해 생성된 IDS 전구체의 흡수는 다니엘 2002에서 보여준 바와 같이 대조 세포의 수준에 가까운 수준으로 감소할 것으로 예상된다. 억제성 M6P가 존재하는 동안, 뉴런 및 신경아교 세포와 같은 뇌 세포에 의해 생성된 IDS 전구체의 흡수는 다니엘 2002에서 보여준 바와 같이 높은 수준으로 유지될 것으로 예상되며, 여기서 흡수는 대조 세포보다 4배 더 높았고, 억제성 M6P의 존재 없이 유전적으로 조작된 신장 세포에 의해 생성된 IDS 전구체의 IDS 활성 (또는 흡수) 수준과 비슷하였다. 이 검정을 통해 뇌 세포에 의해 생성된 IDS 전구체의 M6P 함량을 예측하고, 특히 상이한 유형의 세포에 의해 생성된 IDS 전구체의 M6P 함량을 비교할 수 있다. 본원에 기재된 유전자 요법 접근법은 이러한 검정에서 억제성 M6P의 존재 하에 높은 수준으로 뉴런 및 신경아교 세포로

흡수될 수 있는 hIDS 전구체의 지속적인 분비를 초래해야 한다.

[0203] (vii) IDS 전구체의 M6P 함량 및 흡수는 90kDa 및 76kDa 겔 밴드 (예를 들어, SDS-PAGE 겔 밴드)로 또한 입증될 수 있다. 90kDa는 고도로 글리코실화된/인산화된 것으로 보고되고 M6P를 함유하지만, 76kDa는 그렇지 않다. 유전적으로 조작된 신장 세포에서 생성된 IDS 전구체 겔 밴드 (다니엘 2002, 도 1)와 유사한, 76kDa 내지 95kDa 범위를 가진 그리고 80-85kDa의 평균 MW를 가진 매우 넓은 겔 밴드는 뇌 세포에서 생성된 IDS 전구체의 겔 밴드와 대조될 수 있다. 다니엘 2002에서, 겔 밴드는 IDS 전구체의 실패한 면역침전으로 인해 수득될 수 없다. 본원에 기재된 유전자 요법 접근법은 유전적으로 조작된 신장 세포에서 생성된 IDS 전구체 겔 밴드와 다른 hIDS 전구체의 지속적인 분비를 초래해야 한다.

[0204] (viii) 상업적 IDS 전구체의 M6P 함량은 2 내지 2.5 mol/mol이며, 이의 대부분은 이인산화된 글리칸 형태로 존재한다. 평균적으로, 모든 IDS 전구체가 인산화되지만, 글리칸의 정상 분포는 다중 인산화 부위를 가정하는 2, 1 및 0개의 이인산화된 M6P 글리칸이 있는 일부 IDS 전구체를 가질 것이다. 흡수율은 다중 인산화로 유의하게 더 높아야 한다.

[0205] (ix) CNS의 인간 세포에 의한 hIDS의 글리코실화는 안정성, 반감기를 개선하고, 이식유전자 산물의 원치 않는 응집을 감소시킬 수 있는 글리칸의 첨가를 초래할 것이다. 유의하게도, 본 발명의 hIDS에 첨가되는 글리칸은 2,6-시알산을 포함하고, Neu5Ac ("NANA")를 포함하지만 이의 하이드록실화 유도체인 NeuGc (N-글리콜릴뉴라민산, 즉, "NGNA" 또는 "Neu5Gc")는 포함하지 않는다. 이러한 글리칸이 CHO 세포에서 만들어진 재조합 IDS 산물, 예컨대 Hunterase®에서 존재하지 않는 것은, 이들이 Neu5Ac (NANA) 대신 인간에게 전형적이지 않은 (그리고 잠재적으로 면역원성인) 시알산으로 Neu5Gc (NGNA)를 추가하여도, CHO 세포가 이 번역 후 변형을 만드는 데 필요한 2,6-시알릴트랜스퍼라아제를 갖지도 않고; CHO 세포가 이등분 GlcNAc를 생성하지도 않기 때문이다. 예를 들어, Dumont 등, 2016, Critical Rev, Biotech 36(6):1110-1122 (Early Online pp. 1-13, p. 5); 및 Hague 등, 1998 Electrophor 19:2612-2630 ("CHO 세포주는 α 2,6-시알릴-트랜스퍼라아제가 없기 때문에 글리코실화 측면에서 '표현형적으로 제한되는' 것으로 간주됨")을 참조한다. 더욱이, CHO 세포는 또한 α-Gal 항원인, 면역원성 글리칸을 생성할 수 있으며, 이는 대부분의 개체에 존재하는 항-α-Gal 항체와 반응하며, 고농도에서는 아나필락시스를 유발할 수 있다. 예를 들어, Bosques, 2010, Nat Biotech 28: 1153-1156을 참조한다. 본 발명의 rhIDS의 인간 글리코실화 패턴은 이식유전자 산물의 면역원성을 감소시키고 효능을 개선해야 한다.

[0206] (x) 이식유전자 산물의 면역원성은 환자의 면역 상태, 주입된 단백질 약물의 구조 및 특성, 투여 경로, 치료 기간을 포함하는 다양한 요인에 의해 유도될 수 있다. 공정-관련 불순물, 예컨대 숙주 세포 단백질 (HCP), 숙주 세포 DNA 및 화학적 잔류물, 및 생성물-관련 불순물, 예컨대 단백질 분해물 및 구조적 특성, 예컨대 글리코실화, 산화 및 응집 (미가시 입자)은 면역 반응을 향상시키는 보조제 역할을 하여 면역원성을 높일 수도 있다. 공정-관련 및 생성물-관련 불순물의 양은 제조 공정, 즉 세포 배양, 정제, 제형화, 저장 및 취급에 의해 영향을 받을 수 있으며, 이는 상업적으로 제조된 IDS 산물에 영향을 미칠 수 있다. 유전자 요법에서 단백질은 *생체내*에서 생성되므로 공정-관련 불순물이 존재하지 않으며, 단백질 산물은 단백질 응집 및 단백질 산화와 같은 재조합 기술에 의해 생성된 단백질과 관련된 생성물-관련 불순물/분해물을 함유하지 않을 가능성이 높다. 예를 들어, 응집은 높은 단백질 농도, 제조 장비 및 용기와의 표면 상호작용, 및 특정 완충 시스템을 사용한 정제 공정으로 인해 단백질 생산 및 저장과 관련이 있다. 그러나 응집을 촉진하는 이러한 조건은 이식유전자가 *생체내*에서 발현될 때 존재하지 않는다. 메티오닌, 트립토판 및 히스티딘 산화와 같은 산화는 또한, 예를 들어, 스트레스 세포 배양 조건, 금속 및 공기 접촉, 완충액 및 부형제 중의 불순물로 인해 발생하는 단백질 생산 및 저장과 관련이 있다. *생체내*에서 발현되는 단백질은 스트레스 조건에서도 산화될 수 있지만, 많은 유기체와 마찬가지로 인간은 산화 스트레스를 감소시킬뿐만 아니라 산화를 복구 및/또는 역전시킬 수 있는 항산화 방어 시스템을 갖추고 있다. 따라서, *생체내*에서 생성된 단백질은 산화된 형태일 가능성이 없다. 응집과 산화 모두 효능, 약동학 (제거율)에 영향을 미칠 수 있으며 면역원성 우려를 증가시킬 수 있다. 본원에 기재된 유전자 요법 접근법은 상업적으로 제조된 제품에 비해 면역원성을 감소시키면서 hIDS 전구체의 지속적인 분비를 초래해야 한다.

[0207] (xi) N-연결된 글리코실화 부위 외에도, hIDS는 티로신 ("Y") 황산화 부위 (PSSEKY¹⁶⁵ENTKTCRGPD)를 함유한다. (예를 들어, 단백질 티로신 황산화를 겪는 티로신 잔기를 둘러싼 아미노산의 분석을 위해 그 전문이 참조로 포함된 Yang 등, 2015, Molecules 20:2138-2164, 특히 2154 페이지를 참조한다. "규칙"은 다음과 같이 요약될 수 있다: Y의 +5 내지 -5 위치 내에 E 또는 D가 있고, Y의 위치 -1이 중성 또는 산성 하전된 아미노산이지만, 황산화를 무효화하는 염기성 아미노산, 예를 들어, R, K, 또는 H가 아닌 Y 잔기). 어떤 이론에도 구속되지는

않지만, hIDS에서 이 부위의 황산화는 효소의 안정성 및 기질에 대한 결합 친화도를 개선시킬 수 있다. hIDS의 티로신-황산화 - 인간 CNS 세포에서 강력한 번역 후 과정 - 는 이식유전자 산물의 개선된 처리 및 활성을 초래해야 한다. 리소좀 단백질의 티로신-황산화의 중요성은 아직 밝혀지지 않았지만; 다른 단백질에서 단백질-단백질 상호작용 (항체 및 수용체)의 결합력을 증가시키고, 단백질분해 처리 (펩티드 호르몬)을 촉진시키는 것으로 나타났다. (Moore, 2003, J Biol. Chem. 278: 24243-46; 및 Bundegaard 등, 1995, The EMBO J 14: 3073-79 참조). (IDS 처리의 최종 단계로서 발생할 수 있는) 티로신-황산화를 담당하는 티로실단백질 설포트랜스퍼라제 (TPST1)는 뇌에서 (mRNA에 기반된) 더 높은 수준으로 분명히 발현된다 (TPST1에 대한 유전자 발현 데이터는, 예를 들어, <http://www.ebi.ac.uk/gxa/home>에서 접근가능한, EMBL-EBI Expression Atlas에서 찾아질 수 있다). 이러한 번역 후 변형은, 기껏해야, CHO 세포 제품에서 과소-표시된다. 인간 CNS 세포와 달리, CHO 세포는 분비 세포가 아니며 번역 후 티로신-황산화에 대하여 제한된 용량을 갖는다. (예를 들어, Mikkelsen & Ezban, 1991, Biochemistry 30: 1533-1537, 특히 1537 페이지에서 논의 참조).

[0208] 전술한 이유로, 인간 뉴런 및/또는 신경아교 세포에 의한 rhIDS의 생산은 유전자 요법을 통해, 예를 들어, MPS II 질환 (헌터를 포함하지만 이에 제한되지 않음)으로 진단된 환자 (인간 대상체)의 CSF에, rhIDS를 인코딩하는 바이러스 벡터 또는 기타 DNA 발현 작제물을 투여하여 혈절도입된 CNS 세포에 의해 분비된 완전히 인간-글리코실화된, 만노스-6-인산화된, 황산화된 이식유전자 산물을 지속적으로 공급하는 CNS의 영구적인 데포가 생성됨으로써 달성되는 MPS II의 치료를 위한 "바이오테라" 분자를 생성해야 한다. 상기 데포로부터 CSF로 분비된 hIDS 이식유전자 산물은 CNS의 세포에 의해 세포내 이입되어 MPS II 수용 세포에서 효소 결함에 대한 "교차-보정"을 초래할 것이다.

[0209] 유전자 요법 또는 단백질 치료 접근법에서 생성된 모든 rhIDS 분자가 완전히 글리코실화되고, 인산화되고, 황산화되는 것이 필수적인 것은 아니다. 오히려 생성된 당단백질 집단은 효능을 입증하기에 충분한 글리코실화 (2,6-시알릴화 및 만노스-6-인산화 포함) 및 황산화를 가져야 한다. 본 발명의 유전자 요법 치료의 목적은 질환의 진행을 늦추거나 저지하는 것이다. 효능은 인지 기능 (예를 들어, 신경인지 저하의 예방 또는 감소); CSF 및/또는 혈청에서 질환의 바이오마커 (예컨대 GAG) 감소; 및/또는 CSF 및/또는 혈청에서 IDS 효소 활성의 증가를 측정하여 모니터링될 수 있다. 염증 징후 및 기타 안전 사건도 모니터링될 수 있다.

[0210] 유전자 요법에 대한 대안 또는 추가 치료로서, rhIDS 당단백질이 재조합 DNA 기술에 의해 인간 신경 또는 신경아교 세포주에서 생산될 수 있으며, 상기 당단백질은 MPS II로 진단된 환자에게 전신적으로 및/또는 ERT를 위해 CSF로 투여될 수 있다. 이러한 재조합 당단백질 생산에 사용될 수 있는 인간 세포주는 HT-22, SK-N-MC, HCN-1A, HCN-2, NT2, SH-SY5y, hNSC11, 또는 ReNcell VM을 포함하지만 이에 제한되지 않는다 (예를 들어, rHuGlyIDS 당단백질의 재조합 생산에 사용될 수 있는 인간 세포주에 대한 검토를 위해 그 전문이 참조로 포함된 Dumont 등, 2016, Biotech의 Critical Rev 36(6):1110-1122 "Human cell lines for biopharmaceutical manufacturing: history, status, and future perspectives" 참조). 완전한 글리코실화, 특히 시알릴화 및 티로신-황산화를 보장하기 위해, 생산에 사용되는 세포주는 α -2,6-시알릴트랜스퍼라제 (또는 α -2,3- 및 α -2,6-시알릴트랜스퍼라제 둘 모두) 및/또는 티로신-O-황산화를 담당하는 TPST-1 및 TPST-2 효소를 공동 발현하도록 숙주 세포를 조작함으로써 강화될 수 있다.

[0211] rhIDS의 전달은 면역 반응을 최소화해야 하지만, CNS 유도 유전자 요법과 관련된 가장 명확한 잠재적 독성의 출처는 IDS에 대해 유전적으로 결핍되어 잠재적으로 이식유전자 전달에 사용되는 단백질 및/또는 벡터에 대해 내성이 없는 인간 대상체에서 발현된 rhIDS 단백질에 대한 면역을 생성하는 것이다.

[0212] 따라서, 바람직한 구현예에서, 특히 IDS 수준이 0에 가까운 중증 질환 환자를 치료할 때 면역 억제 요법으로 환자를 공동 치료하는 것이 바람직하다. 마이코페놀산과 함께, 또는 조직 이식 절차에 사용되는 다른 면역 억제 요법과 함께 타크로리무스 또는 라파마이신 (시롤리무스) 요법을 포함하는 면역 억제 요법이 사용될 수 있다. 이러한 면역 억제 치료는 유전자 요법 과정 동안 투여될 수 있고, 특정 구현예에서 면역 억제 요법을 통한 사전 치료가 바람직할 수 있다. 면역 억제 요법은 치료 의사의 판단에 따라 유전자 요법 치료 후 계속될 수 있으며, 이후 면역 관용이 유도되면; 예를 들어, 180일 후 중단될 수 있다.

[0213] 다른 이용 가능한 치료의 전달과 함께 CSF로의 rhIDS 전달의 조합은 본 발명의 방법에 포함된다. 추가 치료는 유전자 요법 치료 전, 동시에 또는 후에 투여될 수 있다. 본 발명의 유전자 요법과 조합될 수 있는 MPS II에 대해 이용 가능한 치료는 전신적으로 또는 CSF로 투여되는 Elaprased[®]를 사용하는 효소 대체 요법; 및/또는 HSCT 요법을 포함하지만 이에 제한되지 않는다.

[0214] 특정 구현예에서, II형 점액다당류증 (MPS II)으로 진단된 인간 대상체를 치료하는 방법으로서, 인간 뉴런 또는

인간 신경아교 세포에 의해 생성된 재조합 인간 이두로네이트-2-설파타아제 (IDS) 전구체의 치료학적 유효량을 상기 인간 대상체의 뇌척수액 (CSF)에 전달하는 단계를 포함하는 방법이 본원에 기재된다.

- [0215] 특정 구현예에서, II형 점액다당류증 (MPS II)으로 진단된 인간 대상체를 치료하는 방법으로서, 폴리아크릴아미드 겔 전기영동에 의해 측정된 경우에 약 90kDa (예를 들어 85kDa, 86kDa, 87kDa, 88kDa, 89kDa, 90kDa, 91kDa, 92kDa, 93kDa, 94kDa, 또는 95kDa)이고, C⁸⁴에 포르밀글리신 잔기가 있고 (도 1), α2,6-시알릴화되고, 검출가능한 NeuGc를 함유하지 않고, 만노스-6-인산화되는 재조합 인간 이두로네이트-2-설파타아제 (IDS) 당단백질 전구체의 치료학적 유효량을 상기 인간 대상체의 뇌척수액 (CSF)에 전달하는 단계를 포함하는 방법이 본원에 기재된다.
- [0216] 특정 구현예에서, II형 점액다당류증 (MPS II)으로 진단된 인간 대상체를 치료하는 방법으로서, 폴리아크릴아미드 겔 전기영동에 의해 측정된 경우 약 90kDa (예를 들어 85kDa, 86kDa, 87kDa, 88kDa, 89kDa, 90kDa, 91kDa, 92kDa, 93kDa, 94kDa, 또는 95kDa)이고, C⁸⁴에 포르밀글리신 잔기가 있고 (도 1), α2,6-시알릴화되고, 검출가능한 NeuGc 및/또는 α-Gal 항원을 함유하지 않고, 만노스-6-인산화되는 재조합 인간 이두로네이트-2-설파타아제 (IDS) 당단백질 전구체의 치료학적 유효량을 상기 인간 대상체의 뇌척수액 (CSF)에 전달하는 단계를 포함하는 방법이 본원에 기재된다.
- [0217] 특정 구현예에서, 인간 IDS 전구체는 상기 IDS 전구체를 CSF에 분비하도록 유전적으로 조작된 중추 신경계에서 세포의 세포로부터 CSF로 전달된다. 특정 구현예에서, 세포는 대상체의 뇌에서 형성된다. 특정 구현예에서, 인간 대상체는 IDS 활성이 결핍되어 있다. 특정 구현예에서, 인간 IDS는 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함한다.
- [0218] 특정 구현예에서, II형 점액다당류증 (MPS II)으로 진단된 인간 대상체를 치료하는 방법으로서, 인간 이두로네이트-2-설파타아제 (IDS)를 인코딩하는 재조합 뉴클레오타이드 발현 벡터를 상기 인간 대상체의 뇌척수액 (CSF)에 투여하는 단계를 포함하는 방법에 있어서, 배양에서 일차 인간 뉴런 세포를 형질도입하는 데 사용된 때 상기 발현 벡터는 폴리아크릴아미드 겔 전기영동에 의해 측정된 경우 약 90kDa (예를 들어, 85kDa, 86kDa, 87kDa, 88kDa, 89kDa, 90kDa, 91kDa, 92kDa, 93kDa, 94kDa 또는 95kDa)이고, C⁸⁴에 포르밀글리신 잔기가 있고 (도 1), α2,6-시알릴화되고 만노스-6-인산화되는 분비된 인간 IDS 당단백질 전구체의 발현을 지시하는 방법이 본원에 기재된다.
- [0219] 특정 구현예에서, II형 점액다당류증 (MPS II)으로 진단된 인간 대상체를 치료하는 방법으로서, 세포가 α2,6-시알릴화되고 만노스-6-인산화되는 재조합 인간 IDS 당단백질 전구체를 분비하는 대상체의 중추 신경계에서 형성되도록, 인간 IDS를 인코딩하는 재조합 뉴클레오타이드 발현 벡터의 치료학적 유효량을 상기 인간 대상체의 뇌의 뇌척수액에 투여하는 단계를 포함하는 방법이 본원에 제공된다.
- [0220] 특정 구현예에서, α2,6-시알릴화되는 상기 재조합 인간 IDS 당단백질 전구체의 분비는 인간 뉴런 세포주를 세포 배양에서 상기 재조합 뉴클레오타이드 발현 벡터로 형질도입함으로써 확인된다. 특정 구현예에서, 만노스-6-인산화되는 상기 재조합 인간 IDS 당단백질 전구체의 분비는 인간 뉴런 세포주를 세포 배양에서 상기 재조합 뉴클레오타이드 발현 벡터로 형질도입함으로써 확인된다. 특정 구현예에서, 분비는 만노스-6-포스페이트의 존재 및 부재 하에서 확인된다.
- [0221] 특정 구현예에서, II형 점액다당류증 (MPS II)으로 진단된 인간 대상체를 치료하는 방법으로서, α2,6-시알릴화된 글리칸을 함유하는 글리코실화된 IDS 전구체를 분비하는 세포가 형성되도록, 인간 IDS를 인코딩하는 재조합 뉴클레오타이드 발현 벡터의 치료학적 유효량을 상기 인간 대상체의 뇌의 뇌척수액에 투여하는 단계를 포함하는 방법에 있어서; 상기 재조합 벡터는 배양에서 인간 뉴런 세포를 형질도입하는데 사용된 때 상기 세포 배양에서 α2,6-시알릴화된 글리칸을 함유하는 상기 글리코실화된 IDS 전구체의 분비를 초래하는 방법이 본원에 기재된다.
- [0222] 특정 구현예에서, II형 점액다당류증 (MPS II)으로 진단된 인간 대상체를 치료하는 방법으로서, 만노스-6-포스페이트를 함유하는 글리코실화된 IDS 전구체를 분비하는 세포가 형성되도록, 인간 IDS를 인코딩하는 재조합 뉴클레오타이드 발현 벡터의 치료학적 유효량을 상기 인간 대상체의 뇌의 뇌척수액에 투여하는 단계를 포함하는 방법에 있어서; 상기 재조합 벡터는 배양에서 인간 뉴런 세포를 형질도입하는데 사용된 때 상기 세포 배양에서 만노스-6-인산화되는 상기 글리코실화된 IDS 전구체의 분비를 초래하는 방법이 본원에 기재된다.
- [0223] 특정 구현예에서, II형 점액다당류증 (MPS II)으로 진단된 인간 대상체를 치료하는 방법으로서, 포르밀글리신을 함유하는 글리코실화된 IDS 전구체를 분비하는 세포가 형성되도록, 인간 IDS를 인코딩하는 재조합 뉴클레오타이드

발현 벡터의 치료학적 유효량을 상기 인간 대상체의 뇌의 뇌척수액에 투여하는 단계를 포함하는 방법에 있어서; 상기 재조합 벡터는 배양에서 인간 뉴런 세포를 형질도입하는데 사용된 때 상기 세포 배양에서 포르밀글리신을 함유하는 상기 글리코실화된 IDS 전구체의 분비를 초래하는 방법이 본원에 기재된다.

[0224] 특정 구현예에서, 인간 IDS는 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함한다. 특정 구현예에서, IDS 이식유전자는 리더 펩티드를 인코딩한다. 특정 구현예에서, 발현 벡터는 복제 결합 AAV 벡터이다. 특정 구현예에서, 발현 벡터는 경막내 (예를 들어, 수조내, 환자에 대해 가능한 경우 C1-2 천자, 또는 요추 천자), 뇌실내, 또는 비강내 투여에 의해 대상체의 CSF로 전달된다. 특정 구현예에서, 인간 대상체는 IDS 활성이 결핍된다.

[0225] 바람직한 구현예에서, 글리코실화된 IDS는 검출가능한 NeuGc 및/또는 α -Gal을 함유하지 않는다. 본원에 사용된 어구 "검출가능한 NeuGc 및/또는 α -Gal"은 당업계에 공지된 표준 검정 방법에 의해 검출가능한 NeuGc 및/또는 α -Gal 모이어티를 의미한다. 예를 들어, NeuGc는 Hara 등, 1989, "Highly Sensitive Determination of N-Acetyl- and N-Glycolylneuramic Acids in Human Serum and Urine and Rat Serum by Reversed-Phase Liquid Chromatography with Fluorescence Detection." J. Chromatogr., B: Biomed. 377: 111-119에 따라 HPLC에 의해 검출될 수 있고, 이는 NeuGc를 검출하는 방법에 대해 참고로 본원에 포함된다. 대안적으로, NeuGc는 질량 분석에 의해 검출될 수 있다. α -Gal은 ELISA, 예를 들어 Galili 등, 1998, "A sensitive assay for Measuring alpha-Gal epitope expression on cells by a monoclonal anti-Gal antibody." Transplantation. 65(8):1129-32 참조를 사용하여, 또는 질량 분석법, 예를 들어 Ayoub 등, 2013, "Correct primary structure assessment and extensive glyco-profiling of cetuximab by a combination of intact, middle-up, middle-down and bottom-up ESI and MALDI mass spectrometry techniques." Landes Bioscience. 5(5): 699-710 참조에 의해 검출될 수 있다. 또한 Platts-Mills 등, 2015, "Anaphylaxis to the Carbohydrate Side-Chain Alpha-gal" Immunol Allergy Clin North Am. 35(2): 247-260에 인용된 참고문헌 참조.

[0226] 일 측면에서, MPS II로 진단된 인간 대상체를 치료하는 방법으로서, 인간 뉴런 또는 인간 신경아교 세포에 의해 생성된 글리코실화된 재조합 인간 IDS 전구체의 치료학적 유효량을 인간 대상체의 CSF에 전달하는 단계를 포함하는 방법에 있어서, 글리코실화된 재조합 인간 IDS 전구체는 인간 IDS를 인코딩하는 재조합 뉴클레오티드 발현 벡터의 투여에 의해 전달되고, 재조합 뉴클레오티드 발현 벡터는 인간 대상체의 뇌 질량에 의존하는 용량으로 투여되고, 뇌 질량은 인간 대상체의 뇌의 뇌 MRI에 의해 결정되는, 방법이 본원에 제공된다.

[0227] 또 다른 측면에서, MPS II로 진단된 인간 대상체를 치료하는 방법으로서, 인간 대상체의 뇌 MRI로부터 인간 대상체의 뇌 질량을 결정하는 단계, 및 후속적으로 인간 뉴런 세포 또는 인간 신경아교 세포에 의해 생성된 글리코실화된 재조합 인간 IDS 전구체의 치료학적 유효량을 인간 대상체의 CSF에 전달하는 단계를 포함하는 방법에 있어서, 글리코실화된 재조합 인간 IDS 전구체는 인간 IDS를 인코딩하는 재조합 뉴클레오티드 발현 벡터의 투여에 의해 전달되고, 재조합 뉴클레오티드 발현 벡터는 인간 대상체의 뇌 질량에 의존하는 용량으로 투여되는, 방법이 본원에 제공된다.

[0228] 또 다른 측면에서, MPS II로 진단된 인간 대상체를 치료하는 방법으로서, (a) 인간 대상체의 뇌 MRI로부터 인간 대상체의 뇌 질량을 결정하는 단계, (b) 인간 대상체의 뇌 질량을 기준으로 한 용량을 계산하는 단계, 및 (c) 후속적으로 인간 IDS를 인코딩하는 재조합 뉴클레오티드 발현 벡터의 용량을 대상체의 CSF에 투여하는 단계를 포함하는, 방법이 본원에 제공된다.

[0229] MPS II로 진단된 인간 대상체를 치료하는 방법으로서, 하기 순서: (a) 인간 뉴런 또는 인간 신경아교 세포에 의해 생성된 글리코실화된 재조합 인간 IDS 전구체의 치료학적 유효량을 인간 대상체의 CSF에 전달하는 단계; (b) 인간 대상체의 CSF에서 헤파란 설페이트의 수준을 측정하는 단계; (c) 인간 대상체의 CSF에서 헤파란 설페이트의 수준을 참조 집단에서 헤파란 설페이트의 수준과 비교하는 단계를 포함하는 방법에 있어서; 글리코실화된 재조합 인간 IDS 전구체는 인간 IDS를 인코딩하는 재조합 뉴클레오티드 발현 벡터의 투여에 의해 전달되고, 재조합 뉴클레오티드 발현 벡터는 인간 대상체의 뇌 질량에 의존하는 용량으로 투여되고, 뇌 질량은 인간 대상체의 뇌의 뇌 자기 공명 영상 (MRI)에 의해 결정되는, 방법이 본원에 제공된다. 특정 구현예에서, 참조 집단은 (a) MPS II 없이, 바람직하게는 인간 대상체와 유사한 연령, 체중, 및/또는 동일한 성별의 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 10, 25, 50, 75, 100, 200, 250, 300, 400, 500, 또는 1000명의 개별 건강한 사람으로 이루어진다.

[0230] 또 다른 측면에서, MPS II로 진단된 인간 대상체를 치료하는 방법으로서, 하기 순서: (a) 인간 대상체의 CSF에서 헤파란 설페이트의 수준의 첫 번째 측정을 수행하는 단계; (b) 인간 뉴런 또는 인간 신경아교 세포에 의해 생성된 글리코실화된 재조합 인간 IDS 전구체의 치료학적 유효량을 인간 대상체의 CSF에 전달하는 단계; 및 (c) 일정 시간 후, 헤파란 설페이트의 수준의 두 번째 측정을 수행하는 단계를 포함하는 방법에 있어서; 글리코실화

된 재조합 인간 IDS 전구체는 인간 IDS를 인코딩하는 재조합 뉴클레오티드 발현 벡터의 투여에 의해 전달되고, 재조합 뉴클레오티드 발현 벡터는 인간 대상체의 뇌 질량에 의존하는 용량으로 투여되고, 뇌 질량은 인간 대상체의 뇌의 뇌 자기 공명 영상 (MRI)에 의해 결정되는, 방법이 본원에 제공된다. 특정 구현예에서, 기간은 약 1일, 2일, 3일, 4일, 5일, 6일, 1주, 2주, 3주, 4주, 2개월, 3개월, 4개월, 5개월, 6개월, 7개월, 8개월, 11개월, 또는 1년이다.

[0231] 바람직한 구현예에서, 글리코실화된 재조합 인간 IDS 전구체는 CNS에서 세포에 의해 세포내 이입될 것이다. 바람직한 구현예에서, 글리코실화된 재조합 인간 IDS 전구체는 인간 대상체의 CNS에서 세포의 리소솜에 전달된다.

[0232] 본원에 기재된 치료하는 방법의 특정 구현예에서, 인간 대상체의 뇌 질량은 cm^3 로 인간 대상체의 뇌 용적과 1.046 g/cm^3 의 인수를 곱셈함으로써 인간 대상체의 뇌 용적으로부터 전환되고, 여기서 인간 대상체의 뇌 용적은 대상체의 뇌의 뇌 MRI에 의해 결정된다.

[0233] 본원에 기재된 치료하는 방법의 특정 구현예에서, 재조합 뉴클레오티드 발현 벡터는 MRI에 의해 결정된 경우에 약 $1.3 \times 10^{10} \text{ GC/g}$ 뇌 질량, 또는 MRI에 의해 결정된 경우에 약 $6.5 \times 10^{10} \text{ GC/g}$ 뇌 질량의 용량으로 투여된다.

[0234] 본원에 기재된 치료하는 방법의 다양한 구현예에서, 인간 대상체는 5세 이상이고 18세 미만이다. 특정 구현예에서, 인간 대상체는 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17 또는 18세이다. 특정 구현예에서, 인간 대상체는 약 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17 또는 18세이다. 특정 구현예에서, 인간 대상체는 5-6, 6-7, 7-8, 8-9, 9-10, 10-11, 11-12, 12-13, 13-14, 14-15, 15-16, 16-17, 17-18 또는 18-19세이다. 특정 구현예에서, 인간 대상체는 약 5-6, 6-7, 7-8, 8-9, 9-10, 10-11, 11-12, 12-13, 13-14, 14-15, 15-16, 16-17, 17-18 또는 18-19세이다. 특정 구현예에서, 재조합 뉴클레오티드 발현 벡터는 MRI에 의해 결정된 경우에 약 $6.5 \times 10^{10} \text{ GC/g}$ 뇌 질량의 용량으로 투여된다. 특정 구현예에서, 재조합 뉴클레오티드 발현 벡터는 표 7에 따른 용량으로 투여된다.

[0235] 본원에 기재된 치료하는 방법의 다양한 구현예에서, 인간 대상체는 4개월 이상이고 5세 미만이다. 특정 구현예에서, 인간 대상체는 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 또는 11개월이다. 특정 구현예에서, 인간 대상체는 약 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 또는 11개월이다. 특정 구현예에서, 인간 대상체는 4-5, 5-6, 6-7, 7-8, 8-9, 9-10, 10-11, 또는 11-12개월이다. 특정 구현예에서, 인간 대상체는 약 4-5, 5-6, 6-7, 7-8, 8-9, 9-10, 10-11, 또는 11-12개월이다. 특정 구현예에서, 인간 대상체는 1, 2, 3, 4, 또는 5세이다. 특정 구현예에서, 인간 대상체는 약 1, 2, 3, 4, 또는 5세이다. 특정 구현예에서, 인간 대상체는 1-2, 2-3, 3-4, 4-5, 또는 5-6세이다. 특정 구현예에서, 인간 대상체는 약 1-2, 2-3, 3-4, 4-5, 또는 5-6세이다. 특정 구현예에서, 재조합 뉴클레오티드 발현 벡터는 MRI에 의해 결정된 경우에 약 $1.3 \times 10^{10} \text{ GC/g}$ 뇌 질량의 용량으로 투여된다. 특정 구현예에서, 재조합 뉴클레오티드 발현 벡터는 MRI에 의해 결정된 경우에 약 $6.5 \times 10^{10} \text{ GC/g}$ 뇌 질량의 용량으로 투여된다. 특정 구현예에서, 재조합 뉴클레오티드 발현 벡터는 MRI에 의해 결정된 경우에 약 $2.0 \times 10^{11} \text{ GC/g}$ 뇌 질량의 용량으로 투여된다. 특정 구현예에서, 재조합 뉴클레오티드 발현 벡터는 표 5에 따라 용량 1 또는 용량 2로부터 선택된 용량으로 투여된다. 특정 구현예에서, 재조합 뉴클레오티드 발현 벡터는 표 6에 따른 용량으로 투여된다.

[0236] 본원에 기재된 치료하는 방법의 일부 구현예에서, 재조합 뉴클레오티드 발현 벡터는 수조내 (IC) 투여를 통해 투여된다. 본원에 기재된 치료하는 방법의 다른 구현예에서, 재조합 뉴클레오티드 발현 벡터는 뇌실내 (ICV) 투여를 통해 투여된다.

[0237] 본원에 기재된 치료하는 방법의 특정 구현예에서, 재조합 뉴클레오티드 발현 벡터는 인간 대상체의 총 뇌척수액 용적의 10%를 초과하지 않는 용적으로 투여된다.

[0238] 본원에 기재된 치료하는 방법의 특정 구현예에서, 글리코실화된 재조합 인간 IDS 전구체는 검출가능한 수준에서 분비된다.

[0239] 본원에 기재된 치료하는 방법의 특정 구현예에서, 인간 뉴런 또는 인간 신경아교 세포는 인간 IDS 전구체를 인코딩하는 내인성 유전자에서 적어도 하나의 돌연변이를 갖는다.

[0240] 본원에 기재된 치료하는 방법의 특정 구현예에서, 인간 뉴런 또는 인간 신경아교 세포는 재조합 아데노-관련 바이러스 벡터 (rAAV)로 형질도입된다.

- [0241] 바람직한 구현예에서, 재조합 뉴클레오타이드 발현 벡터는 AAV9 또는 AAVrh10 벡터이다.
- [0242] 본원에 기재된 치료하는 방법의 특정 구현예에서, 글리코실화된 재조합 인간 IDS 전구체는 CB7 프로모터의 조절 하에서 발현된다.
- [0243] 본원에 기재된 치료하는 방법의 특정 구현예에서, 글리코실화된 재조합 인간 IDS 전구체는 인간 IDS 전구체를 인코딩하는 cDNA로부터 발현된다.
- [0244] 본원에 기재된 치료하는 방법의 특정 구현예에서, 글리코실화된 재조합 인간 IDS 전구체는 폴리아크릴아미드 겔 전기영동에 의해 측정된 경우에 약 90 kDa이다.
- [0245] 본원에 기재된 치료하는 방법의 특정 구현예에서, 글리코실화된 재조합 인간 IDS 전구체는 포르밀글리신을 함유한다.
- [0246] 본원에 기재된 치료하는 방법의 특정 구현예에서, 글리코실화된 재조합 인간 IDS 전구체는 (a) α 2,6-시알릴화되고/거나; (b) 검출가능한 NeuGc를 함유하지 않고/거나; (c) 검출가능한 α -Gal 항원을 함유하지 않고/거나; (d) 티로신-황산화물을 함유하고/거나; (e) 만노스-6-인산화된다.
- [0247] 본원에 기재된 치료하는 방법의 특정 구현예에서, 글리코실화된 재조합 인간 IDS 전구체는 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함한다.
- [0248] 본원에 제공된 특정 구현예에서, 본 방법은 인간 IDS 전구체 치료 전 또는 그와 동시에 인간 대상체에게 면역억제 요법을 투여하고 그 후에 임의로 면역억제 요법을 계속하는 단계를 추가로 포함한다.
- [0249] 일부 구현예에서, 면역억제 요법은 하나 이상의 코르티코스테로이드, 시클로무스, 및/또는 타크로리무스를 투여하는 단계를 포함한다. 특정 구현예에서, 하나 이상의 코르티코스테로이드는 메틸프레드니솔론 및/또는 프레드니손이다.
- [0250] 특정 구현예에서, 면역억제 요법은 약 0.10 mg/kg, 0.11 mg/kg, 0.12 mg/kg, 0.13 mg/kg, 0.14 mg/kg, 0.15 mg/kg, 0.16 mg/kg, 0.17 mg/kg, 0.18 mg/kg, 0.19 mg/kg, 0.20 mg/kg, 0.21 mg/kg, 0.22 mg/kg, 0.23 mg/kg, 0.24 mg/kg, 0.25 mg/kg, 0.26 mg/kg, 0.27 mg/kg, 0.28 mg/kg, 0.29 mg/kg, 0.30 mg/kg, 0.31 mg/kg, 0.32 mg/kg, 0.33 mg/kg, 0.34 mg/kg, 0.35 mg/kg, 0.36 mg/kg, 0.37 mg/kg, 0.38 mg/kg, 0.39 mg/kg, 0.40 mg/kg, 0.41 mg/kg, 0.42 mg/kg, 0.43 mg/kg, 0.44 mg/kg, 0.45 mg/kg, 0.46 mg/kg, 0.47 mg/kg, 0.48 mg/kg, 0.49 mg/kg, 0.5 mg/kg, 0.6 mg/kg, 0.7 mg/kg, 0.8 mg/kg, 0.9 mg/kg, 또는 1 mg/kg의 용량으로 프레드니손을 투여하는 단계를 포함한다. 특정 구현예에서, 면역억제 요법은 약 0.10 mg/kg 내지 약 0.20 mg/kg 범위의 용량으로 프레드니손을 투여하는 단계를 포함한다. 특정 구현예에서, 면역억제 요법은 약 0.20 mg/kg 내지 약 0.30 mg/kg 범위의 용량으로 프레드니손을 투여하는 단계를 포함한다. 특정 구현예에서, 면역억제 요법은 약 0.30 mg/kg 내지 약 0.40 mg/kg 범위의 용량으로 프레드니손을 투여하는 단계를 포함한다. 특정 구현예에서, 면역억제 요법은 약 0.40 mg/kg 내지 약 0.50 mg/kg 범위의 용량으로 프레드니손을 투여하는 단계를 포함한다. 특정 구현예에서, 면역억제 요법은 약 0.50 mg/kg 내지 약 1 mg/kg 범위의 용량으로 프레드니손을 투여하는 단계를 포함한다. 특정 구현예에서, 용량은 매일 투여된다. 특정 구현예에서, 면역억제 요법은 매일 0.5 mg/kg의 용량으로 프레드니손을 투여하는 단계를 포함한다. 또 다른 특정 구현예에서 면역억제 요법은 매일 0.5mg/kg의 용량으로 프레드니손을 투여하고 점진적으로 줄이고 중단하는 단계를 포함한다.
- [0251] 특정 구현예에서, 면역억제 요법은 약 0.5 mg/kg, 0.6 mg/kg, 0.7 mg/kg, 0.8 mg/kg, 0.9 mg/kg, 1 mg/kg, 1.5 mg/kg, 2 mg/kg, 2.5 mg/kg, 3 mg/kg, 3.5 mg/kg, 4mg/kg, 4.5 mg/kg, 5mg/kg, 5.5 mg/kg, 6mg/kg, 6.5 mg/kg, 7mg/kg, 7.5 mg/kg, 8mg/kg, 8.5 mg/kg, 9mg/kg, 9.5 mg/kg, 10mg/kg, 11 mg/kg, 12 mg/kg, 13 mg/kg, 14 mg/kg, 15 mg/kg, 16 mg/kg, 17 mg/kg, 18 mg/kg, 19 mg/kg, 또는 20 mg/kg의 용량으로 메틸프레드니솔론을 투여하는 단계를 포함한다. 특정 구현예에서, 면역억제 요법은 약 0.50 mg/kg 내지 약 1.0 mg/kg 범위의 용량으로 메틸프레드니솔론을 투여하는 단계를 포함한다. 특정 구현예에서, 면역억제 요법은 약 1.0 mg/kg 내지 약 2.0 mg/kg 범위의 용량으로 메틸프레드니솔론을 투여하는 단계를 포함한다. 특정 구현예에서, 면역억제 요법은 약 2.0 mg/kg 내지 약 3.0 mg/kg 범위의 용량으로 메틸프레드니솔론을 투여하는 단계를 포함한다. 특정 구현예에서, 면역억제 요법은 약 3.0 mg/kg 내지 약 5.0 mg/kg 범위의 용량으로 메틸프레드니솔론을 투여하는 단계를 포함한다. 특정 구현예에서, 면역억제 요법은 약 5.0 mg/kg 내지 약 10.0 mg/kg 범위의 용량으로 메틸프레드니솔론을 투여하는 단계를 포함한다. 특정 구현예에서, 면역억제 요법은 약 10.0 mg/kg 내지 약 15.0 mg/kg 범위의 용량으로 메틸프레드니솔론을 투여하는 단계를 포함한다. 특정 구현예에서, 면역억제 요법은 약 15.0 mg/kg

내지 약 20.0 mg/kg 범위의 용량으로 메틸프레드니솔론을 투여하는 단계를 포함한다. 특정 구현예에서, 메틸프레드니솔론은 1회 투여된다. 특정 구현예에서, 메틸프레드니솔론은 간헐적으로 투여된다. 특정 구현예에서, 메틸프레드니솔론은 500 mg의 최대량으로 투여된다. 특정 구현예에서, 메틸프레드니솔론은 적어도 30 분 동안 투여된다. 특정 구현예에서, 면역 억제 요법은 적어도 30 분 동안 500 mg의 최대량으로 IV 10 mg/kg의 용량으로 메틸프레드니솔론을 투여하는 단계를 포함한다.

[0252] 특정 구현예에서, 면역 억제 요법은 1-3 ng/mL의 표적 혈중 수준을 유지하기 위한 용량으로 시롤리무스를 투여하는 단계를 포함한다. 특정 구현예에서, 면역 억제 요법은 약 0.25 mg/m²/일, 0.3 mg/m²/일, 0.4 mg/m²/일, 0.5 mg/m²/일, 0.6 mg/m²/일, 0.7 mg/m²/일, 0.8 mg/m²/일, 0.9 mg/m²/일, 1 mg/m²/일, 1.25 mg/m²/일, 1.5 mg/m²/일, 1.75 mg/m²/일, 2 mg/m²/일, 2.25 mg/m²/일, 2.5 mg/m²/일, 2.75 mg/m²/일, 3 mg/m²/일, 3.25 mg/m²/일, 3.5 mg/m²/일, 3.75 mg/m²/일, 4 mg/m²/일, 4.25 mg/m²/일, 4.5 mg/m²/일, 4.75 mg/m²/일, 또는 5 mg/m²/일의 용량으로 시롤리무스를 투여하는 단계를 포함한다. 특정 구현예에서, 면역 억제 요법은 약 0.25 mg/m²/일 내지 약 0.5 mg/m²/일 범위의 용량으로 시롤리무스를 투여하는 단계를 포함한다. 특정 구현예에서, 면역 억제 요법은 약 0.50 mg/m²/일 내지 약 1.0 mg/m²/일 범위의 용량으로 시롤리무스를 투여하는 단계를 포함한다. 특정 구현예에서, 면역 억제 요법은 약 1.0 mg/m²/일 내지 약 1.5 mg/m²/일 범위의 용량으로 시롤리무스를 투여하는 단계를 포함한다. 특정 구현예에서, 면역 억제 요법은 약 1.5 mg/m²/일 내지 약 2 mg/m²/일 범위의 용량으로 시롤리무스를 투여하는 단계를 포함한다. 특정 구현예에서, 면역 억제 요법은 약 2 mg/m²/일 내지 약 5mg/m²/일 범위의 용량으로 시롤리무스를 투여하는 단계를 포함한다. 특정 구현예에서, 용량은 BID 용량화로 분할된다. 특정 구현예에서, 면역 억제 요법은 매 4 시간 약 1 mg/m²/일의 용량으로 시롤리무스를 투여하는 단계를 포함한다. 특정 구현예에서, 면역 억제 요법은 BID 용량화로 분할된 약 0.5 mg/m²/일의 용량으로 시롤리무스를 투여하는 단계를 포함한다.

[0253] 특정 구현예에서, 면역 억제 요법은 2-4 ng/mL의 표적 혈중 수준을 유지하기 위한 용량으로 타크로리무스를 투여하는 단계를 포함한다. 특정 구현예에서, 면역 억제 요법은 약 0.01 mg/kg, 0.02 mg/kg, 0.03 mg/kg, 0.04 mg/kg, 0.05 mg/kg, 0.06 mg/kg, 0.07 mg/kg, 0.08 mg/kg, 0.09 mg/kg, 또는 0.10 mg/kg의 용량으로 타크로리무스를 투여하는 단계를 포함한다. 특정 구현예에서, 면역 억제 요법은 0.01 mg/kg 내지 0.02 mg/kg 범위의 용량으로 타크로리무스를 투여하는 단계를 포함한다. 특정 구현예에서, 면역 억제 요법은 0.02 mg/kg 내지 0.03 mg/kg 범위의 용량으로 타크로리무스를 투여하는 단계를 포함한다. 특정 구현예에서, 면역 억제 요법은 0.03 mg/kg 내지 0.05 mg/kg 범위의 용량으로 타크로리무스를 투여하는 단계를 포함한다. 특정 구현예에서, 면역 억제 요법은 0.05mg/kg 내지 0.07mg/kg 범위의 용량으로 타크로리무스를 투여하는 단계를 포함한다. 특정 구현예에서, 면역 억제 요법은 0.07mg/kg 내지 0.10mg/kg 범위의 용량으로 타크로리무스를 투여하는 단계를 포함한다. 특정 구현예에서, 용량은 매일 2회 투여된다. 특정 구현예에서, 면역 억제 요법은 매일 2회 약 0.05mg/kg의 용량으로 타크로리무스를 투여하는 단계를 포함한다.

[0254] 일부 구현예에서, 본 방법은 면역 억제 요법 전 또는 그와 동시에 인간 대상체에게 하나 이상의 항생제를 투여하는 단계를 추가로 포함한다. 특정 구현예에서, 하나 이상의 항생제는 트리메토프림, 설파메톡사졸, 펜타미딘, 답손, 및/또는 아토바쿠온이다. 또 다른 특정 구현예에서, 하나 이상의 항생제는 트리메토프림 및/또는 설파메톡사졸이다. 또 다른 특정 구현예에서, 하나 이상의 항생제는 펜타미딘, 답손, 및/또는 아토바쿠온이다. 특정 구현예에서, 하나 이상의 항생제는 약 1 mg/kg, 2 mg/kg, 3 mg/kg, 4 mg/kg, 5 mg/kg, 6 mg/kg, 7 mg/kg, 8 mg/kg, 9 mg/kg, 또는 10 mg/kg의 용량으로 투여된다. 특정 구현예에서, 하나 이상의 항생제는 약 1 mg/kg 내지 2 mg/kg 범위의 용량으로 투여된다. 특정 구현예에서, 하나 이상의 항생제는 약 2 mg/kg 내지 3 mg/kg 범위의 용량으로 투여된다. 특정 구현예에서, 하나 이상의 항생제는 약 3 mg/kg 내지 5 mg/kg 범위의 용량으로 투여된다. 특정 구현예에서, 하나 이상의 항생제는 약 5 mg/kg 내지 7 mg/kg 범위의 용량으로 투여된다. 특정 구현예에서, 하나 이상의 항생제는 약 7 mg/kg 내지 10 mg/kg 범위의 용량으로 투여된다. 특정 구현예에서, 하나 이상의 항생제는 1주에 약 3회의 용량으로 투여된다. 특정 구현예에서, 하나 이상의 항생제는 주폐포자충 폐렴을 예방하기 위해 투여된다.

[0255] 일부 구현예에서, 본 방법은 면역 억제 요법 전 또는 그와 동시에 인간 대상체에게 하나 이상의 항진균 요법을

투여하는 단계를 추가로 포함한다. 특정 구현예에서, 하나 이상의 항진균 요법은 절대 호중구 수가 $< 500 \text{ mm}^3$ 이면 개시된다.

[0256] 일부 구현예에서, 본 방법은 재조합 뉴클레오타이드 발현 벡터의 투여 후에 하기 바이오마커 중 하나 이상을 측정하는 단계를 추가로 포함한다: (a) CSF 내 글리코사미노글리칸 (GAG)의 수준; (b) CSF 내 이두로네이트-2-설파타아제 (I2S)의 수준; (c) 혈장 내 GAG의 수준; (d) 혈장 내 I2S의 수준; (e) 백혈구 I2S 효소 활성의 수준; 및 (f) 소변 내 GAG의 수준. 특정 구현예에서, CSF 내 GAG는 CSF 내 헤파린 설페이트를 포함한다. 또 다른 특정 구현예에서, CSF 내 GAG는 CSF 내 헤파린 설페이트이다. 또 다른 특정 구현예에서, 혈장 내 GAG는 혈장 내 헤파린 설페이트를 포함한다. 또 다른 특정 구현예에서, 혈장 내 GAG는 혈장 내 헤파린 설페이트이다. 또 다른 특정 구현예에서, 소변 내 GAG는 소변 내 헤파린 설페이트를 포함한다. 또 다른 특정 구현예에서, 소변 내 GAG는 소변 내 헤파린 설페이트이다. 특정 구현예에서, 측정하는 단계는 CSF 내 헤파린 설페이트의 수준을 메어링하는 단계를 포함한다. 또 다른 특정 구현예에서, 측정하는 단계는 백혈구 I2S 효소 활성의 수준을 측정하는 단계를 포함한다.

[0257] 본원에 기재된 치료하는 방법의 특정 구현예에서, 재조합 뉴클레오타이드 발현 벡터는 액체 조성물이다. 본원에 기재된 치료하는 방법의 특정 구현예에서, 재조합 뉴클레오타이드 발현 벡터는 냉동된 조성물이다. 본원에 기재된 치료하는 방법의 특정 구현예에서, 재조합 뉴클레오타이드 발현 벡터는 동결건조된 조성물 또는 재구성된 동결건조된 조성물이다. 본원에 기재된 치료하는 방법의 특정 구현예에서, 본원에 제공된 재조합 뉴클레오타이드 발현 벡터는 IC 또는 ICV 투여를 위한 다양한 투여 형태로 제형화될 수 있다. 본원에 기재된 치료하는 방법의 특정 구현예에서, 본원에 제공된 재조합 뉴클레오타이드 발현 벡터는 단위-투여 형태 또는 다중-투여 형태로 제공될 수 있다. 단위-투여 형태는, 본원에 사용된 경우에, 인간 및 동물 대상체에 투여에 적합한, 그리고 당업계에서 공지된 대로 개별적으로 패키징된 물리적으로 별개 단위를 지칭한다. 각 단위-용량은, 요구된 약제학적 담체 또는 부형제와 공동으로, 원하는 치료적 효과를 생성하기에 충분한 소정량의 상기 재조합 뉴클레오타이드 발현 벡터 및/또는 다른 구성성분(들)을 함유한다. 단위-투여 형태의 예는 앰플, 바이알, 사전충전형 주사기, 또는 카트리지를 포함한다.

[0258] 본원에 기재된 치료하는 방법의 특정 구현예에서, 단위-투여 형태는 이의 분수 또는 배수로 투여될 수 있다. 본원에 기재된 치료하는 방법의 특정 구현예에서, 다중-투여 형태는 격리된 단위-투여 형태로 투여될 단일 용기에 패키징된 복수의 동일한 단위-투여 형태이다. 다중-투여 형태의 예는 바이알, 사전충전형 주사기, 또는 카트리지를 포함한다. 특정 구현예에서, 사전충전형 주사기는 8.5×10^{12} GC의 재조합 뉴클레오타이드 발현 벡터를 포함한다. 특정 구현예에서, 사전충전형 주사기는 9.8×10^{12} GC의 재조합 뉴클레오타이드 발현 벡터를 포함한다. 특정 구현예에서, 사전충전형 주사기는 1.1×10^{13} GC의 재조합 뉴클레오타이드 발현 벡터를 포함한다. 특정 구현예에서, 사전충전형 주사기는 1.3×10^{13} GC의 재조합 뉴클레오타이드 발현 벡터를 포함한다. 특정 구현예에서, 사전충전형 주사기는 1.5×10^{13} GC의 재조합 뉴클레오타이드 발현 벡터를 포함한다. 특정 구현예에서, 사전충전형 주사기는 1.7×10^{13} GC의 재조합 뉴클레오타이드 발현 벡터를 포함한다. 특정 구현예에서, 사전충전형 주사기는 4.2×10^{13} GC의 재조합 뉴클레오타이드 발현 벡터를 포함한다. 특정 구현예에서, 사전충전형 주사기는 4.9×10^{13} GC의 재조합 뉴클레오타이드 발현 벡터를 포함한다. 특정 구현예에서, 사전충전형 주사기는 5.5×10^{13} GC의 재조합 뉴클레오타이드 발현 벡터를 포함한다. 특정 구현예에서, 사전충전형 주사기는 6.3×10^{13} GC의 재조합 뉴클레오타이드 발현 벡터를 포함한다. 특정 구현예에서, 사전충전형 주사기는 7.3×10^{13} GC의 재조합 뉴클레오타이드 발현 벡터를 포함한다. 특정 구현예에서, 사전충전형 주사기는 8.5×10^{13} GC의 재조합 뉴클레오타이드 발현 벡터를 포함한다. 특정 구현예에서, 사전충전형 주사기는 9.0×10^{13} GC의 재조합 뉴클레오타이드 발현 벡터를 포함한다. 특정 구현예에서, 사전충전형 주사기는 1.0×10^{14} GC의 재조합 뉴클레오타이드 발현 벡터를 포함한다. 특정 구현예에서, 사전충전형 주사기는 1.1×10^{14} GC의 재조합 뉴클레오타이드 발현 벡터를 포함한다. 특정 구현예에서, 사전충전형 주사기는 1.2×10^{14} GC의 재조합 뉴클레오타이드 발현 벡터를 포함한다. 특정 구현예에서, 사전충전형 주사기는 1.3×10^{14} GC의 재조합 뉴클레오타이드 발현 벡터를 포함한다. 특정 구현예에서, 사전충전형 주사기는 1.4×10^{14} GC의 재조합 뉴클레오타이드 발현 벡터를 포함한다. 특정 구현예에서, 사전충전형 주사기

는 1.5×10^{14} GC의 재조합 뉴클레오티드 발현 벡터를 포함한다. 특정 구현예에서, 사전충전형 주사기는 1.6×10^{14} GC의 재조합 뉴클레오티드 발현 벡터를 포함한다. 특정 구현예에서, 사전충전형 주사기는 1.7×10^{14} GC의 재조합 뉴클레오티드 발현 벡터를 포함한다. 특정 구현예에서, 사전충전형 주사기는 1.8×10^{14} GC의 재조합 뉴클레오티드 발현 벡터를 포함한다. 특정 구현예에서, 사전충전형 주사기는 1.9×10^{14} GC의 재조합 뉴클레오티드 발현 벡터를 포함한다. 특정 구현예에서, 사전충전형 주사기는 2.0×10^{14} GC의 재조합 뉴클레오티드 발현 벡터를 포함한다. 특정 구현예에서, 사전충전형 주사기는 약 2.1×10^{14} GC의 재조합 뉴클레오티드 발현 벡터를 포함한다. 특정 구현예에서, 사전충전형 주사기는 2.2×10^{14} GC의 재조합 뉴클레오티드 발현 벡터를 포함한다. 특정 구현예에서, 사전충전형 주사기는 2.3×10^{14} GC의 재조합 뉴클레오티드 발현 벡터를 포함한다. 특정 구현예에서, 사전충전형 주사기는 2.4×10^{14} GC의 재조합 뉴클레오티드 발현 벡터를 포함한다. 특정 구현예에서, 사전충전형 주사기는 2.5×10^{14} GC의 재조합 뉴클레오티드 발현 벡터를 포함한다. 특정 구현예에서, 사전충전형 주사기는 2.6×10^{14} GC의 재조합 뉴클레오티드 발현 벡터를 포함한다.

[0259] 본원에 사용된 경우에, 용어 "약"은 주어진 값 또는 범위의 더하기 또는 빼기 10% 이내를 의미한다. 특정 구현예에서, 용어 "약"은 주어진 값 또는 범위의 더하기 또는 빼기 1% 이내를 의미하고, 여기서 값은 인간 대상체의 뇌 질량에 의존하는 용량이고, 여기서 뇌 질량은 인간 대상체의 뇌의 뇌 MRI에 의해 결정된다. 특정 구현예에서, 용어 "약"은 주어진 값 또는 범위의 더하기 또는 빼기 2% 이내를 의미하고, 여기서 값은 대상체의 뇌의 뇌 MRI에 의해 결정되는 용량이고, 여기서 뇌 질량은 인간 대상체의 뇌의 뇌 MRI에 의해 결정된다. 특정 구현예에서, 용어 "약"은 주어진 값 또는 범위의 더하기 또는 빼기 5% 이내를 의미하고, 여기서 값은 인간 대상체의 뇌 질량에 의존하는 용량이고, 여기서 뇌 질량은 인간 대상체의 뇌의 뇌 MRI에 의해 결정된다. 특정 구현예에서, 용어 "약"은 주어진 값 또는 범위의 더하기 또는 빼기 7% 이내를 의미하고, 여기서 값은 인간 대상체의 뇌 질량에 의존하는 용량이고, 여기서 뇌 질량은 인간 대상체의 뇌의 뇌 MRI에 의해 결정된다. 하지만, 본 명세서에서, 용어 "약"이 또한 상기 용어가 연결되는 정확한 값의 인용에 대한 지원을 제공하는 것으로 이해되어야 한다. 예를 들어 "약 10"은 정확히 숫자 "10"에 대한 지원을 제공한다.

[0260] 5.1처리, N-글리코실화 및 티로신 황산화

[0261] 5.1.1.처리

[0262] 인간 IDS는 처리 동안 절단되는 25개 아미노산 신호 서열을 포함한다. 초기 76kDa 세포내 IDS 전구체는 골지체에서 이의 올리고당 사슬의 변형 후 인산화된 90kDa IDS 전구체로 전환된다. 이 전구체는 다양한 세포내 중간체를 통해서 글리코실화 변형 및 단백질분해 절단에 의해 주요 55kDa 형태로 처리된다. 요약하면, 25개 aa 신호 서열의 제거 후, 단백질분해 처리는 8개 아미노산 (잔기 26-33)의 프로펩티드를 제거하는 N³¹의 N-말단 단백질분해 절단 다운스트림, 그리고 18kDa 폴리펩티드를 방출하고 55kDa 성숙한 형태로 전환되는 62kDa 중간체를 생성하는 N⁵¹³의 C-말단 단백질분해 절단 업스트림을 포함한다. 추가 단백질분해 절단은 리소좀 구획에 위치한 45kDa 성숙한 형태를 생성한다. (Millat 등, 1997, Exp Cell Res 230: 362-367 ("Millat 1997"); Millat 등, 1997, Biochem J. 326: 243-247 ("Millat 1997a"); 및 Froissart 등, 1995, Biochem J. 309:425-430에서 재현된 다이어그램에 대해서는 도 4 참조, 이들 각각은 그 전체가 본원에 참고로 포함됨).

[0263] 효소 활성화에 요구된 C⁸⁴의 포르밀글리신 변형 (도 1에서 굵게 표시됨)은 아마도 초기 번역 후 또는 동시 번역 이벤트로서, 가장 아마도 소포체에서 발생한다. (Millat 1997a, Schmidt 등, 1995, Cell 82: 271-278 인용 참조). 번역 후 처리는 복합 시알산 함유 글리칸의 추가 및 리소좀 구획으로의 전달을 위하여 효소를 태깅하는 만노스-6-포스페이트 잔기의 획득을 포함하도록 골지에서 계속한다. (그 전문이 본원에 참조로 포함되는 간결한 검토를 위해 Clarke, 2008, Expert Opin Pharmacother 9: 311-317 참조).

[0264] 특정 구현예에서, 본원에 기재된 방법에 따라 사용된 HuGlyIDS는, 생체내 또는 시험관내 뉴런 또는 신경아교 세포에서 발현될 때, 90 kDa (예를 들어, 85 kDa, 86 kDa, 87 kDa, 88 kDa, 89 kDa, 90 kDa, 91 kDa, 92 kDa, 93 kDa, 94 kDa, 또는 95 kDa) 만노스-6-인산화된 형태의 효소일 수 있다. 뉴런 및 신경아교 세포로부터 생성된

IDS는 다니엘 2002에서 그리고 Sleat, Proteomics, 2005에서 보고된 바와 같이, 더 높은 M6P 함량을 함유할 수 있다 (인간 뇌는 다른 조직보다 더 많은 (양쪽 정량적 및 정성적 의미에서) M6P 당단백질을 함유한다는 것을 나타냄). 다니엘 2002에서 실시된 바와 같이, IDS 전구체의 M6P 함량을 측정하는 것은 가능하다.

[0265] 따라서, 특정 구현예에서, 본원에 기재된 방법에 따라 사용된 HuGlyIDS는, 생체내 또는 시험관내 뉴런 또는 신경아교 세포에서 발현될 때, 비-뉴런 또는 신경아교 세포에서 발현된 IDS보다 더 높은 수준으로 만노스-6-인산화된다. 특히, 본원에 기재된 방법에 따라 사용된 HuGlyIDS는, 생체내 또는 시험관내 뉴런 또는 신경아교 세포에서 발현될 때, HT1080 또는 CHO 세포에서 발현된 IDS보다 더 높은 수준으로 만노스-6-인산화된다. 특정 구현예에서, 발현된 IDS의 만노스-6-인산화 수준은 M6P (예를 들어, 5mM M6P)의 존재 하에서 인간 뉴런 세포에 의한 IDS의 흡수에 의해 측정된다. 특정 구현예에서, 생체내 또는 시험관내 뉴런 또는 신경아교 세포에서 발현될 때, 본원에 기재된 방법에 따라 사용된 HuGlyIDS 분자의 10% - 20%, 20% - 30%, 30% - 40%, 40% - 50%, 50% - 60%, 60% - 70%, 70% - 80%, 80% - 90% 또는 90% - 100%가 만노스-6-인산화된다.

[0266] 5.1.2.N-글리코실화

[0267] CNS의 뉴런 및 신경아교 세포는 글리코실화 및 티로신-O-황산화를 포함하는, 분비된 단백질의 번역 후 처리를 위한 세포 기구를 보유한 분비 세포이다. hIDS는 도 1에서 식별된 8개의 아스파라진 ("N") 글리코실화 부위 (N³¹ST; N¹¹⁵FS; N¹⁴⁴HT; N²⁴⁶IT; N²⁸⁰IS; N³²⁵ST; N⁵¹³FS; N⁵³⁷DS)를 갖는다. 8개의 N-연결된 글리코실화 부위 중 2개, 즉 N²⁸⁰ 및 N¹¹⁶은 인간의 뇌에서 수득된 IDS에서 만노스-6-인산화된다. (Sleat 등, 2006, Mol & Cell Proteomics 5.4: 686-701, 표 V에 보고됨).

[0268] 단일 글리코실화 부위는 IDS 안정성에 필수적이지 않지만, 위치 N²⁸⁰에서의 글리코실화는 만노스-6-포스페이트 (M6P) 수용체를 통한 세포 내재화 및 리소좀 표적화에 중요하다. (Chung 등, 2014, Glycoconj J 31:309-315, p. 310, 첫 번째 컬럼). 정상 생리적 상태에서, IDS는 매우 낮은 수준으로 생성되며, 세포에서 분비되는 효소는 거의 없다. (상기 Clarke, 2008).

[0269] 유전자 요법 또는 단백질 치료 접근법에서 생성된 모든 분자가 완전히 글리코실화되고 황산화되는 것이 필수적인 것은 아니다. 오히려 생성된 당단백질 집단은 효능을 입증하기에 충분한 글리코실화 및 황산화를 가져야 한다.

[0270] 특정 구현예에서, 본원에 기재된 방법에 따라 사용된 HuGlyIDS는, 생체내 또는 시험관내 뉴런 또는 신경아교 세포에서 발현될 때, 이의 N-글리코실화 부위의 100%에서 글리코실화될 수 있다. 그러나, 당업자는 글리코실화의 이점을 얻기 위해 HuGlyIDS의 모든 N-글리코실화 부위가 N-글리코실화될 필요는 없다는 것을 이해할 것이다. 오히려 글리코실화의 이점은 N-글리코실화 부위의 일부만이 글리코실화될 때 및/또는 발현된 IDS 분자의 일부만이 글리코실화될 때 실현될 수 있다. 따라서, 특정 구현예에서, 본원에 기재된 방법에 따라 사용된 HuGlyIDS는, 생체내 또는 시험관내 뉴런 또는 신경아교 세포에서 발현될 때, 이의 가용 N-글리코실화 부위의 10% - 20%, 20% - 30%, 30% - 40%, 40% - 50%, 50% - 60%, 60% - 70%, 70% - 80%, 80% - 90%, 또는 90% - 100%에서 글리코실화된다. 특정 구현예에서, 생체내 또는 시험관내 뉴런 또는 신경아교 세포에서 발현될 때, 본원에 기재된 방법에 따라 사용된 HuGlyIDS 분자의 10% - 20%, 20% - 30%, 30% - 40%, 40% - 50%, 50% - 60%, 60% - 70%, 70% - 80%, 80% - 90%, 또는 90% - 100%는 이의 가용 N-글리코실화 부위 중 적어도 하나에서 글리코실화된다.

[0271] 특정 구현예에서, 본원에 기재된 방법에 따라 사용된 HuGlyIDS에 존재하는 N-글리코실화 부위의 적어도 10%, 20% 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 또는 99%는, HuGlyIDS가 생체내 또는 시험관내 뉴런 또는 신경아교 세포에서 발현될 때, N-글리코실화 부위에 존재하는 Asn 잔기 (또는 다른 관련 잔기)에서 글리코실화된다. 즉, 결과적인 HuGlyIDS의 N-글리코실화 부위의 적어도 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 또는 99%가 글리코실화된다.

[0272] 또 다른 특정 구현예에서, 본원에 기재된 방법에 따라 사용된 HuGlyIDS 분자에 존재하는 N-글리코실화 부위의 적어도 10%, 20% 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 또는 99%는, HuGlyIDS가 생체내 또는 시험관내 뉴런 또는 신경아교 세포에서 발현될 때, N-글리코실화 부위에 존재하는 Asn 잔기 (또는 다른 관련 잔기)에 연결된 동일한 부착된 글리칸과 글리코실화된다. 즉, 결과적인 HuGlyIDS의 N-글리코실화 부위의 적어도 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 또는 99%가 동일한 부착된 글리칸을 갖는다.

[0273] 중요하게는, 본원에 기재된 방법에 따라 사용된 IDS 단백질이 뉴런 또는 신경아교 세포에서 발현될 때, 원핵 숙주 세포 (예를 들어, *E. coli*) 또는 진핵 숙주 세포 (예를 들어, CHO)에서의 시험관내 생산에 대한

필요성이 회피된다. 대신, 본원에 기재된 방법 (예를 들어, IDS를 발현시키기 위한 뉴런 또는 신경아교 세포의 사용)의 결과로서, IDS 단백질의 N-글리코실화 부위는 유리하게는 인간 치료에, 그리고, 특히 치료의 표적 위치에서 관련되고 유익한 글리칸으로 장식된다. 이러한 이점은 CHO 세포 또는 *이. 콜라이*가 단백질 생산에 이용될 경우 얻을 수 없는데, 그 이유는 예를 들어, CHO 세포가 (1) 2,6 시알릴트랜스퍼라아제를 발현시키지 않고 따라서 N-글리코실화 동안 2,6 시알산을 추가할 수 없고, (2) Neu5Ac 대신 시알산으로 Neu5Gc를 추가할 수 있으며; *이. 콜라이*가 N-글리코실화에 필요한 성분을 자연적으로 포함하지 않기 때문이다. 더욱이, 이러한 이점은 뉴런 또는 신경아교 세포가 아닌 인간 세포가 단백질 생산에서 활용되는 때 달성될 수 없다. 따라서, 일 구현예에서, 본원에 기재된 치료 방법에 사용되는 HuGlyIDS를 생성하기 위해 뉴런 또는 신경아교 세포에서 발현되는 IDS 단백질은, 단백질이 인간 뉴런 또는 신경아교 세포에서 N-글리코실화되는 방식으로 글리코실화되지만, 단백질이 CHO 세포에서 글리코실화되는 방식으로는 글리코실화되지 않는다. 또 다른 구현예에서, 본원에 기재된 치료 방법에 사용되는 HuGlyIDS를 생성하기 위해 뉴런 또는 신경아교 세포에서 발현되는 IDS 단백질은 단백질이 뉴런 또는 신경아교 세포에서 N-글리코실화되는 방식으로 글리코실화되며, 여기서 이러한 글리코실화는, 예를 들어, *이. 콜라이*를 사용하는 원핵 숙주 세포를 사용하여 자연적으로 가능하지 않다. 일 구현예에서, 본원에 기재된 치료 방법에 사용되는 HuGlyIDS를 생성하기 위해 인간 뉴런 또는 신경아교 세포에서 발현되는 IDS 단백질은 단백질이 인간 뉴런 또는 신경아교 세포에서 N-글리코실화되는 방식으로 글리코실화되지만, 단백질이 뉴런 또는 신경아교 세포가 아닌 인간 세포에서 글리코실화되는 방식으로 글리코실화되지 않는다.

[0274] 단백질의 글리코실화 패턴을 결정하기 위한 검정은 당 업계에 공지되어 있다. 예를 들어, 하이드라진분해를 사용하여 글리칸을 분석할 수 있다. 첫째, 다당류는 하이드라진과 함께 인큐베이션하여 이의 관련 단백질로부터 방출된다 (영국 옥스퍼드셔 소재의 Ludger Liberate Hydrazinolysis Glycan Release Kit를 사용할 수 있음). 친핵체 하이드라진은 다당류와 담체 단백질 사이의 글리코시드 결합을 공격하고, 부착된 글리칸의 방출을 허용한다. 이 치료 중에 N-아세틸기가 손실되며, 재-N-아세틸화에 의해 재구성되어야 한다. 유리 글리칸을 탄소 컬럼에서 정제한 다음 환원 말단에서 형광단 2-아미노 벤즈아미드로 표지할 수 있다. 표지된 다당류는 문헌(Royale 등, Anal Biochem 2002, 304(1):70-90)의 HPLC 프로토콜에 따라 GlycoSep-N 컬럼 (GL Sciences)에서 분리될 수 있다. 생성된 형광 크로마토그램은 다당류 길이와 반복 단위 수를 나타낸다. 구조 정보는 개별 피크를 수집한 후 MS/MS 분석을 수행하여 수집될 수 있다. 이에 의해 반복 단위의 다당류 조성 및 서열을 확인할 수 있으며, 추가로 다당류 조성의 균질성도 식별될 수 있다. 저 분자량의 특정 피크는 MALDI-MS/MS로 분석될 수 있으며, 그 결과는 글리칸 서열을 확인하는 데 사용될 수 있다. 각 피크는 특정 수의 반복 단위 및 이의 단편으로 구성된 폴리머에 해당한다. 따라서 크로마토그램을 통해 폴리머 길이 분포를 측정할 수 있다. 용리 시간은 폴리머 길이에 대한 표시인 한편, 형광 강도는 각 폴리머의 몰 존재량과 상관관계가 있다.

[0275] 단백질과 연관된 글리칸 패턴의 균질성은, 글리칸 길이 및 글리코실화 부위에 걸쳐 존재하는 글리칸 수 모두와 관련이 있기 때문에, 당 업계에 공지된 방법, 예를 들어, 글리칸 길이 및 유체역학적 반경을 측정하는 방법을 사용하여 평가될 수 있다. 크기 배제-HPLC를 통해 유체역학적 반경을 측정할 수 있다. 단백질에서 더 많은 수의 글리코실화 부위는 글리코실화 부위가 더 적은 담체에 비해 유체역학적 반경에서 더 큰 변화를 초래한다. 그러나, 단일 글리칸 사슬을 분석하는 경우, 보다 조절된 길이로 인해 보다 균질할 수 있다. 글리칸 길이는 하이드라진분해, SDS PAGE 및 모세관 겔 전기영동으로 측정될 수 있다. 또한, 균질성은 특정 글리코실화 부위 사용 패턴이 더 넓은/더 좁은 범위로 변경됨을 의미할 수도 있다. 이러한 인자는 글리코펩티드 LC-MS/MS로 측정될 수 있다.

[0276] N-글리코실화는 본원에 기재된 방법에 사용되는 HuGlyIDS에 수많은 이점을 제공한다. 이러한 이점은 *이. 콜라이*에서의 단백질 생산에 의해 얻을 수 없는데, 그 이유는 *이. 콜라이*가 N-글리코실화에 필요한 성분을 자연적으로 보유하지 않기 때문이다. 또한, 예를 들어, CHO 세포에서의 단백질 생산을 통해 일부 이점을 얻을 수 없는데, 그 이유는 CHO 세포가 특정 글리칸 (예를 들어, 2,6 시알산)의 첨가에 필요한 성분이 결핍되어 있고, CHO 세포가 글리칸, 예를 들어, 인간에게 전형적이지 않은 Neu5Gc, 및 대부분의 개체에서 면역원성이고 고농도에서 아나필락시스를 유발할 수 있는 α -Gal 항원을 추가할 수 있기 때문이다. 더 나아가, 일부 이익은 뉴런 또는 신경아교 세포가 아닌 인간 세포에서 단백질 생산을 통해서 달성가능하지 않다. 따라서, 인간 뉴런 또는 신경아교 세포에서 IDS의 발현은 달리 CHO 세포에서, *이. 콜라이*에서, 또는 뉴런 또는 신경아교 세포가 아닌 인간 세포에서 생산되는 경우 단백질과 연관되지 않을 유익한 글리칸을 포함하는 HuGlyIDS의 생산을 초래한다.

[0277] 5.1.3. 티로신 황산화

[0278] N-연결된 글리코실화 부위 이외에, hIDS는 티로신 ("Y") 황산화 부위 (PSSEKY¹⁶⁵ENTKTCRGPD)를 함유한다. (예를

들어, 단백질 티로신 황산화물을 겪는 티로신 잔기를 둘러싼 아미노산의 분석을 위해 그 전문이 참조로 포함된 Yang 등, 2015, *Molecules* 20:2138-2164, esp., p. 2154를 참조한다. "규칙"은 다음과 같이 요약될 수 있다: Y의 +5 내지 -5 위치 내에 E 또는 D가 있고, Y의 위치 -1이 중성 또는 산성 하전된 아미노산이지만, 황산화를 무효화하는 염기성 아미노산, 예를 들어, R, K, 또는 H가 아닌 Y 잔기).

[0279] 중요한 것은, 티로신-황산화 단백질은 자연적으로 티로신-황산화에 필요한 효소를 보유하지 않는 *이*. 콜라이에서 생산될 수 없다는 것이다. 또한, CHO 세포는 티로신 황산화가 결핍되어 있으며, 이는 분비 세포가 아니고, 번역 후 티로신-황산화에 대한 능력이 제한된다. 예를 들어, Mikkelsen & Ezban, 1991, *Biochemistry* 30:1533-1537을 참조한다. 유리하게는, 본원에 제공된 방법은 분비성이고 티로신 황산화에 대한 능력을 갖는 뉴런 또는 신경아교 세포에서 IDS, 예를 들어 HuGlyIDS의 발현을 필요로 한다. 티로신 황산화를 검출하기 위한 검정은 당 업계에 공지되어 있다. 예를 들어, Yang 등, 2015, *Molecules* 20:2138-2164를 참조한다.

[0280] 인간 CNS 세포에서 강력한 번역 후 과정인 hIDS의 티로신-황산화는 이식유전자 산물의 처리 및 활성을 개선시켜야 한다. 리소좀 단백질의 티로신-황산화의 중요성은 밝혀지지 않았지만; 다른 단백질에서는 단백질-단백질 상호작용 (항체 및 수용체)의 결합력을 높이고, 단백질분해 처리 (펩티드 호르몬)를 촉진하는 것으로 나타났다. (Moore, 2003, *J Biol. Chem.* 278:24243-46; 및 Bundegaard 등, 1995, *The EMBO J* 14: 3073-79 참조). 티로신-황산화 (IDS 처리의 마지막 단계로 발생할 수 있음)를 담당하는 티로실단백질 설포트랜스퍼라아제 (TPST1)는 명백하게 뇌에서 더 높은 수준 (mRNA 기준)으로 발현된다 (예를 들어, <http://www.ebi.ac.uk/gxa/home>에서 액세스할 수 있는 EMBL-EBI Expression Atlas에서 TPST1에 대한 유전자 발현 데이터를 확인할 수 있음).

[0281] 5.2작제물 및 제형

[0282] 본원에 제공되는 방법에 사용하기 위한 것은 이두로네이트-2-설포타아제 (IDS), 예를 들어, 인간 IDS (hIDS)를 인코딩하는 바이러스 벡터 또는 다른 DNA 발현 작제물이다. 본원에 제공된 바이러스 벡터 또는 다른 DNA 발현 작제물은 이식유전자를 뇌척수액 (CSF)으로 전달하기 위한 임의의 적합한 방법을 포함한다. 이식유전자의 전달 수단에는 바이러스 벡터, 리포좀, 기타 지질-함유 복합체, 기타 거대분자 복합체, 합성 변형된 mRNA, 비변형 mRNA, 소분자, 비-생물학적 활성 분자 (예를 들어, 금 입자), 중합 분자 (예를 들어, 덴드리머), 네이키드 DNA, 플라스미드, 파지, 트랜스포존, 코스미드 또는 에피솜이 포함된다. 일부 구현예에서, 벡터는 표적화된 벡터, 예를 들어, 뉴런 세포를 표적으로 하는 벡터이다.

[0283] 일부 측면에서, 본 개시내용은 사용하기 위한 핵산을 제공하며, 여기서 핵산은 하기로 구성된 군으로부터 선택된 프로모터에 작동 가능하게 연결된 IDS, 예를 들어, hIDS를 인코딩한다: 거대세포바이러스 (CMV) 프로모터, 라우스 육종 바이러스 (RSV) 프로모터, MMT 프로모터, EF-1 알파 프로모터, UB6 프로모터, 닭 베타-액틴 프로모터, CAG 프로모터, RPE65 프로모터 및 옵신 프로모터.

[0284] 특정 구현예에서, 하나 이상의 핵산 (예를 들어, 폴리뉴클레오타이드)을 포함하는 재조합 벡터가 본원에 제공된다. 핵산은 DNA, RNA, 또는 DNA와 RNA의 조합을 포함할 수 있다. 특정 구현예에서, DNA는 프로모터 서열, 관심 유전자 서열 (이식유전자, 예를 들어, IDS), 미번역 영역, 및 종료 서열로 구성된 군으로부터 선택된 서열 중 하나 이상을 포함한다. 특정 구현예에서, 본원에 제공된 바이러스 벡터는 관심 유전자에 작동 가능하게 연결된 프로모터를 포함한다.

[0285] 특정 구현예에서, 본원에 개시된 핵산 (예를 들어, 폴리뉴클레오타이드) 및 핵산 서열은, 예를 들어, 당업자에게 공지된 임의의 코돈-최적화 기술을 통해 코돈-최적화될 수 있다 (예를 들어, Quax 등, 2015, *Mol Cell* 59:149-161의 검토 참조).

[0286] 또 다른 측면에서, 본 개시내용은 인간 IDS를 인코딩하는 재조합 뉴클레오타이드 발현 벡터를 포함하는 제형을 제공하고, 여기서 제형은 인간 뇌의 뇌척수액에 투여에 적합하여서, 데포는 폴리아크릴아미드 겔 전기영동에 의해 측정된 경우에 약 90 kDa (예를 들어, 85 kDa, 86 kDa, 87 kDa, 88 kDa, 89 kDa, 90 kDa, 91 kDa, 92 kDa, 93 kDa, 94 kDa, 또는 95 kDa)이고/거나, 포르밀글리신을 함유하고/거나, α2,6-시알릴화되고/거나, 검출가능한 NeuGc를 함유하지 않고/거나, α-Gal 항원을 함유하지 않고/거나, 만노스-6-인산화되는 재조합 인간 IDS 당단백질 전구체를 분비하는 인간 중추 신경계에서 형성된다. 예를 들어, 제형은 인간 뇌의 뇌척수액으로 투여에 적합하게 만드는 완충액 (예컨대 특정 pH를 갖는 완충액, 또는 특정 구성성분을 함유하는 완충액)을 함유할 수 있어서, 데포는 폴리아크릴아미드 겔 전기영동에 의해 측정된 경우에 약 90 kDa (예를 들어, 85 kDa, 86 kDa, 87 kDa, 88 kDa, 89 kDa, 90 kDa, 91 kDa, 92 kDa, 93 kDa, 94 kDa, 또는 95 kDa)이고/거나, 포르밀글리신을 함유하고/거나, α2,6-시알릴화되고/거나, 검출가능한 NeuGc를 함유하지 않고/거나, α-Gal 항원을 함유하지 않고/

거나, 만노스-6-인산화되는 재조합 인간 IDS 당단백질 전구체를 분비하는 인간 중추 신경계에서 형성된다. 특정 구현예에서, 완충액은 생리적으로 적합한 수성 완충액, 계면활성제 및 선택적 부형제를 포함한다.

[0287] 또 다른 측면에서, 본 개시내용은 인간 IDS를 인코딩하는 재조합 뉴클레오타이드 발현 벡터 및 약제학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는 키트를 제공하고, 여기서 재조합 뉴클레오타이드 발현 벡터는 인간 뇌의 뇌척수액 (CSF) 으로 투여에 적합하여서, 데포는 폴리아크릴아미드 겔 전기영동에 의해 측정된 경우에 약 90 kDa (예를 들어, 85 kDa, 86 kDa, 87 kDa, 88 kDa, 89 kDa, 90 kDa, 91 kDa, 92 kDa, 93 kDa, 94 kDa, 또는 95 kDa)이고/거나, 포르밀글리신을 함유하고/거나, α 2,6-시알릴화되고/거나, 검출가능한 NeuGc를 함유하지 않고/거나, 검출가능한 α -Gal 항원을 함유하지 않고/거나, 만노스-6-인산화되는 재조합 인간 IDS 당단백질 전구체를 분비하는 인간 중추 신경계에서 형성된다. 또 다른 측면에서, 본 개시내용은 인간 IDS를 인코딩하는 재조합 뉴클레오타이드 발현 벡터를 포함하는 제형을 포함하는 키트를 제공하고, 여기서 제형은 인간 뇌의 CSF로 투여에 적합하여서, 데포는 폴리아크릴아미드 겔 전기영동에 의해 측정된 경우에 약 90 kDa (예를 들어, 85 kDa, 86 kDa, 87 kDa, 88 kDa, 89 kDa, 90 kDa, 91 kDa, 92 kDa, 93 kDa, 94 kDa, 또는 95 kDa)이고/거나, 포르밀글리신을 함유하고/거나, α 2,6-시알릴화되고/거나, 검출가능한 NeuGc를 함유하지 않고/거나, 검출가능한 α -Gal 항원을 함유하지 않고/거나, 만노스-6-인산화되는 재조합 인간 IDS 당단백질 전구체를 분비하는 인간 중추 신경계에서 형성된다. 본원에 기재된 키트는 재조합 뉴클레오타이드 발현 벡터 또는 제형을 하나 이상의 컨테이너에서 포함한다. 이러한 하나 이상의 컨테이너와 임의로 연관되는 것은 의약품 또는 생물학적 제품의 제조, 사용 또는 판매를 규제하는 정부 기관이 규정한 형식의 통지일 수 있으며, 이 통지는 인간 투여를 위한 제조, 사용 또는 판매 기관의 승인을 반영한다.

[0288] 본원에 포괄된 제형 및 키트는 본 개시내용에서 제공된 바와 같이 인간 환자를 치료하는 방법에 따라 사용될 수 있다.

[0289] 5.2.1.mRNA

[0290] 특정 구현예에서, 본원에 제공된 벡터는 관심 유전자 (예를 들어, 이식유전자, 예를 들어, IDS)를 인코딩하는 변형된 mRNA이다. 이식유전자를 CSF로 전달하기 위한 변형된 및 비변형된 mRNA의 합성은, 예를 들어, 문헌 (Hocquemiller 등, 2016, 인간 Gene Therapy 27(7):478-496, 이는 그 전문이 본원에 참조로 포함됨)에서 교시된다. 특정 구현예에서, IDS, 예를 들어, hIDS를 인코딩하는 변형된 mRNA가 본원에 제공된다.

[0291] 5.2.2.바이러스 벡터

[0292] 바이러스 벡터는 아데노바이러스, 아데노-관련 바이러스 (AAV, 예를 들어, AAV9, AAVrh10), 렌티바이러스, 헬퍼 의존성 아데노바이러스, 단순 포진 바이러스, 폭스바이러스, 일본의 헤마글루티닌 바이러스 (HVJ), 알파바이러스, 백시니아 바이러스 및 레트로바이러스 벡터를 포함한다. 레트로바이러스 벡터는 뮤린 백혈병 바이러스 (MLV)- 및 인간 면역결핍 바이러스 (HIV)-기반 벡터를 포함한다. 알파바이러스 벡터는 샘리키 삼립열 바이러스 (SFV) 및 신드비스 바이러스 (SIN)를 포함한다. 특정 구현예에서, 본원에 제공된 바이러스 벡터는 재조합 바이러스 벡터이다. 특정 구현예에서, 본원에 제공된 바이러스 벡터는 인간에서 복제가 결핍되도록 변경된다. 특정 구현예에서, 바이러스 벡터는 하이브리드 벡터, 예를 들어, "무력한(helpless)" 아데노바이러스 벡터에 배치된 AAV 벡터이다. 특정 구현예에서, 제1 바이러스로부터의 바이러스 캡시드 및 제2 바이러스로부터의 바이러스 외피 단백질을 포함하는 바이러스 벡터가 본원에 제공된다. 특정 구현예에서, 제2 바이러스는 수포성 구내염 바이러스 (vesicular stomatitis virus; VSV)이다. 보다 특정한 구현예에서, 외피 단백질은 VSV-G 단백질이다.

[0293] 특정 구현예에서, 본원에 제공된 바이러스 벡터는 HIV 기반 바이러스 벡터이다. 특정 구현예에서, 본원에 제공된 HIV-기반 벡터는 적어도 2개의 폴리뉴클레오타이드를 포함하며, 여기서 gag 및 pol 유전자는 HIV 게놈에서 유래하고, env 유전자는 또 다른 바이러스에서 유래한다.

[0294] 특정 구현예에서, 본원에 제공된 바이러스 벡터는 단순 포진 바이러스-기반 바이러스 벡터이다. 특정 구현예에서, 본원에 제공된 단순 포진 바이러스-기반 벡터는 하나 이상의 조기 발현 (IE) 유전자를 포함하지 않도록 변형되어 비-세포독성으로 만든다.

[0295] 특정 구현예에서, 본원에 제공된 바이러스 벡터는 MLV 기반 바이러스 벡터이다. 특정 구현예에서, 본원에 제공된 MLV-기반 벡터는 바이러스 유전자 대신 최대 8kb의 이중 DNA를 포함한다.

[0296] 특정 구현예에서, 본원에 제공된 바이러스 벡터는 렌티바이러스-기반 바이러스 벡터이다. 특정 구현예에서, 본원에 제공된 렌티바이러스 벡터는 인간 렌티바이러스에서 유래한다. 특정 구현예에서, 본원에 제공된 렌티바이러스 벡터는 비-인간 렌티바이러스에서 유래한다. 특정 구현예에서, 본원에 제공된 렌티바이러스 벡터는 렌티바

이러스 캡시드로 패키징된다. 특정 구현예에서, 본원에 제공된 렌티바이러스 벡터는 다음 요소 중 하나 이상을 포함한다: 긴 말단 반복, 프라이머 결합 부위, 폴리퓨린관(polypurine tract), att 부위, 및 캡시드 형성(encapsidation) 부위.

[0297] 특정 구현예에서, 본원에 제공된 바이러스 벡터는 알파바이러스-기반 바이러스 벡터이다. 특정 구현예에서, 본원에 제공된 알파바이러스 벡터는 재조합 복제-결합 알파바이러스이다. 특정 구현예에서, 본원에 제공된 알파바이러스 벡터의 알파바이러스 레플리콘은 이의 비리온 표면에 기능성 이중 리간드를 표시함으로써 특정 세포 유형을 표적으로 한다.

[0298] 특정 구현예에서, 본원에 제공된 바이러스 벡터는 AAV 기반 바이러스 벡터이다. 바람직한 구현예에서, 본원에 제공된 바이러스 벡터는 AAV9 또는 AAVrh10 기반 바이러스 벡터이다. 특정 구현예에서, 본원에 제공된 AAV9 또는 AAVrh10 기반 바이러스 벡터는 CNS 세포에 대한 항성을 유지한다. 여러 AAV 혈청형이 식별되었다. 특정 구현예에서, 본원에 제공된 AAV-기반 벡터는 AAV의 하나 이상의 혈청형으로부터의 성분을 포함한다. 특정 구현예에서, 본원에 제공된 AAV 기반 벡터는 AAV1, AAV2, AAV3, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAV9, AAVrh10, AAV10 또는 AAV11 중 하나 이상으로부터의 성분을 포함한다. 바람직한 구현예에서, 본원에 제공된 AAV 기반 벡터는 AAV8, AAV9, AAVrh10, AAV10, 또는 AAV11 혈청형 중 하나 이상으로부터의 성분을 포함한다. AAV9-기반 바이러스 벡터는 본원에 기재된 방법에 사용된다. AAV 기반 바이러스 벡터의 핵산 서열 및 재조합 AAV 및 AAV 캡시드의 제조 방법은, 예를 들어, 미국 특허 번호 7,282,199 B2, 미국 특허 번호 7,790,449 B2, 미국 특허 번호 8,318,480 B2, 미국 특허 번호 8,962,332 B2 및 국제 특허 출원 번호 PCT/EP2014/076466에 교시되어 있으며, 이들 각각은 그 전문이 본원에 참조로 포함된다. 일 측면에서, 이식유전자 (예를 들어, IDS)를 인코딩하는 AAV (예를 들어, AAV9 또는 AAVrh10)-기반 바이러스 벡터가 본원에 제공된다. 특정 구현예에서, IDS를 인코딩하는 AAV9-기반 바이러스 벡터가 본원에 제공된다. 보다 특정한 구현예에서, hIDS를 인코딩하는 AAV9-기반 바이러스 벡터가 본원에 제공된다.

[0299] 특정 구현예에서 제공되는 것은 (i) 조절 요소의 조절 하에 있고 ITR이 측면에 있는 이식유전자를 함유하는 발현 카세트; 및 (ii) AAV9 캡시드 단백질의 아미노산 서열을 갖거나 AAV9 캡시드의 생물학적 기능을 유지하면서 AAV9 캡시드 단백질의 아미노산 서열 (서열 번호: 26)과 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 99.9% 동일한 바이러스 캡시드를 포함하는 인공 계놈을 포함하는 AAV9 벡터이다. 특정 구현예에서, 인코딩된 AAV9 캡시드는 AAV9 캡시드의 생물학적 기능을 유지하면서 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 또는 30개의 아미노산 치환이 있는 서열 번호: 26의 서열을 갖는다. 도 6은 SUBS로 표시된 행에서의 비교에 기반하여 정렬된 서열의 특정 위치에서 치환될 수 있는 잠재적인 아미노산과 상이한 AAV 혈청형의 캡시드 단백질의 아미노산 서열의 비교 정렬을 제공한다. 따라서, 특정 구현예에서, AAV9 벡터는 천연 AAV9 서열의 그 위치에 존재하지 않는 도 6의 SUBS 행에서 식별된 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 또는 30개의 아미노산 치환을 갖는 AAV9 캡시드 변이체를 포함한다.

[0300] 특정 구현예에서, 본원에 기재된 방법에 사용되는 AAV는 문헌(Zinn 등, 2015, Cell Rep. 12(6): 1056-1068, 이는 그 전문이 참조로 포함됨)에 기재된 바와 같이, Anc80 또는 Anc80L65이다. 특정 구현예에서, 본원에 기재된 방법에 사용되는 AAV는 각각 그 전문이 본원에 참조로 포함된, 미국 특허 번호 9,193,956; 9,458,517; 및 9,587,282 및 미국 특허 출원 공개 번호 2016/0376323에 기재된 바와 같이 다음 아미노산 삽입 중 하나를 포함한다: LGETTRP 또는 LALGETTRP. 특정 구현예에서, 본원에 기재된 방법에 사용되는 AAV는 각각 그 전문이 본원에 참조로 포함된, 미국 특허 번호 9,193,956; 9,458,517; 및 9,587,282 및 미국 특허 출원 공개 번호 2016/0376323에 기재된 바와 같이 AAV.7m8이다. 특정 구현예에서, 본원에 기재된 방법에 사용되는 AAV는 AAV-PHP.B와 같이 미국 특허 번호 9,585,971에 개시된 임의의 AAV이다. 특정 구현예에서, 본원에 기재된 방법에 사용되는 AAV는 각각 그 전문이 본원에 참조로 포함된 다음의 특허 및 특허 출원 중 어느 것에 개시된 AAV이다: 미국 특허 번호 7,906,111; 8,524,446; 8,999,678; 8,628,966; 8,927,514; 8,734,809; US 9,284,357; 9,409,953; 9,169,299; 9,193,956; 9,458,517; 및 9,587,282 미국 특허 출원 공개 번호 2015/0374803; 2015/0126588; 2017/0067908; 2013/0224836; 2016/0215024; 2017/0051257; 및 국제 특허 출원 번호 PCT/US2015/034799; PCT/EP2015/053335.

[0301] 특정 구현예에서, 단일-가닥 AAV (ssAAV)가 상기에서 사용될 수 있다. 특정 구현예에서, 자가-상보적 벡터, 예를 들어, scAAV가 사용될 수 있다 (예를 들어, Wu, 2007, 인간 Gene Therapy, 18(2):171-82, McCarty 등, 2001, Gene Therapy, Vol 8, Number 16, 페이지 1248-1254; 및 미국 특허 번호 6,596,535; 7,125,717; 및

7,456,683 참조, 이들 각각은 그 전문이 본원에 참조로 포함됨).

- [0302] 특정 구현예에서, 본원에 기재된 방법에 사용되는 바이러스 벡터는 아데노바이러스 기반 바이러스 벡터이다. 재조합 아데노바이러스 벡터가 IDS를 전달하는 데 사용될 수 있다. 재조합 아데노바이러스는 E1 결실이 있고, E3 결실이 있거나 없고, 발현 카세트가 어느 결실된 영역에 삽입된 1세대 벡터일 수 있다. 재조합 아데노바이러스는 E2 및 E4 영역의 전체 또는 부분 결실을 함유하는 2세대 벡터일 수 있다. 헬퍼-의존성 아데노바이러스는 아데노바이러스 역방위 말단 반복 및 패키징 신호 (ϕ)만을 보유한다. 이식유전자는 인공 계놈을 대략 36 kb의 야생형 크기에 가깝게 유지하기 위한 스테퍼 서열의 존재 또는 부재 하에 패키징 신호와 3' ITR 사이에 삽입된다. 아데노바이러스 벡터의 생산을 위한 예시적인 프로토콜은 문헌(Alba 등, 2005, "Gutless adenovirus: last generation adenovirus for gene therapy," Gene Therapy 12:S18-S27, 이는 그 전문이 본원에 참조로 포함됨)에서 확인할 수 있다.
- [0303] 특정 구현예에서, 본원에 기재된 방법에 사용되는 바이러스 벡터는 렌티바이러스 기반 바이러스 벡터이다. 재조합 렌티바이러스 벡터가 IDS를 전달하는 데 사용될 수 있다. 상기 작제물을 제조하기 위해 4개의 플라스미드가 사용된다: Gag/pol 서열 함유 플라스미드, Rev 서열 함유 플라스미드, 외피 단백질 함유 플라스미드 (즉 VSV-G), 및 패키징 요소 및 IDS 유전자를 포함하는 Cis 플라스미드.
- [0304] 렌티바이러스 벡터 생산을 위해, 4개의 플라스미드가 세포 (즉, HEK293 기반 세포)로 공동-형질감염되고, 따라서 폴리에틸렌민 또는 인산칼슘이 특히 형질감염제로서 사용될 수 있다. 이어서 렌티바이러스가 상청액에서 수확된다 (렌티바이러스는 활성화되기 위해 세포로부터 출아(bud)해야 하므로 세포 수확이 필요하지 않음/세포 수확을 수행하지 않아야 함). 상청액을 여과 (0.45 μ m)한 다음 염화마그네슘 및 벤조나아제(benzonase)를 첨가한다. 추가 다운스트림 공정은 매우 다양할 수 있으며, TFF 및 컬럼 크로마토그래피를 사용하는 것이 가장 GMP에 적합한 공정이다. 다른 경우에는 컬럼 크로마토그래피와 함께/없이 초원심분리를 사용한다. 렌티바이러스 벡터의 생산을 위한 예시적인 프로토콜은 문헌(Lesch 등, 2011, "Production and purification of lentiviral vector generated in 293T suspension cells with baculoviral vectors," Gene Therapy 18:531-538, 및 Ausubel 등, 2012, "Production of CGMP-Grade Lentiviral Vectors," Bioprocess Int. 10(2):32-43, 둘 모두 그 전문이 본원에 참조로 포함됨)에서 확인할 수 있다.
- [0305] 특정 구현예에서, 본원에 기재된 방법에 사용하기 위한 벡터는, CNS의 세포 또는 관련 세포 (예를 들어, *생체내* 또는 *시험관내* 뉴런 세포)의 형질도입시, IDS의 글리코실화된 변이체가 형질도입된 세포에 의해 발현되도록 IDS (예를 들어, hIDS)를 인코딩하는 벡터이다. 특정 구현예에서, 본원에 기재된 방법에 사용하기 위한 벡터는, CNS의 세포 또는 관련 세포 (예를 들어, *생체내* 또는 *시험관내* 뉴런 세포)의 형질도입시, IDS의 황산화된 변이체가 상기 세포에 의해 발현되도록 IDS (예를 들어, hIDS)를 인코딩하는 벡터이다.
- [0306] **5.2.3. 유전자 발현의 프로모터 및 조절인자**
- [0307] 특정 구현예에서, 본원에 제공된 벡터는 유전자 전달 또는 유전자 발현을 조절하는 성분 (예를 들어, "발현 조절 요소")을 포함한다. 특정 구현예에서, 본원에 제공된 벡터는 유전자 발현을 조절하는 성분을 포함한다. 특정 구현예에서, 본원에 제공된 벡터는 세포에 대한 결합 또는 표적화에 영향을 미치는 성분을 포함한다. 특정 구현예에서, 본원에 제공된 벡터는 흡수 후 세포 내에서 폴리뉴클레오티드 (예를 들어, 이식유전자)의 국제화에 영향을 미치는 성분을 포함한다. 특정 구현예에서, 본원에 제공된 벡터는, 예를 들어, 폴리뉴클레오티드를 흡수한 세포를 검출하거나 선택하기 위해 검출 가능하거나 선택 가능한 마커로서 사용될 수 있는 성분을 포함한다.
- [0308] 특정 구현예에서, 본원에 제공된 바이러스 벡터는 하나 이상의 프로모터를 포함한다. 특정 구현예에서, 프로모터는 구성적 프로모터이다. 대안적인 구현예에서, 프로모터는 유도성 프로모터이다. 대부분의 하우스키핑 유전자와 마찬가지로 기본 IDS 유전자는 주로 GC가 풍부한 프로모터를 사용한다. 바람직한 구현예에서, hIDS의 지속적인 발현을 제공하는 강력한 구성적 프로모터가 사용된다. 이러한 프로모터는 다음을 함유하는 "CAG" 합성 프로모터를 포함한다: "C" - 거대세포바이러스 (CMV) 초기 인핸서 요소; "A" - 닭 베타-액틴 유전자의 프로모터뿐만 아니라 첫 번째 엑손 및 인트론; 및 "G" - 토끼 베타-글로빈 유전자의 스플라이스 수용체 (Miyazaki 등, 1989, Gene 79: 269-277; 및 Niwa 등, Gene 108: 193-199 참조).
- [0309] 특정 구현예에서, 프로모터는 CB7 프로모터이다 (Dinculescu 등, 2005, Hum Gene Ther 16: 649-663 참조, 그 전문이 본원에 참조로 포함됨). 일부 구현예에서, CB7 프로모터는 벡터에 의해 구동되는 이식유전자의 발현을 향상시키는 다른 발현 조절 요소를 포함한다. 특정 구현예에서, 다른 발현 조절 요소는 닭 β -액틴 인트론 및/또는 토끼 β -글로빈 polA 신호를 포함한다. 특정 구현예에서, 프로모터는 TATA 박스를 포함한다. 특정 구현예

에서, 프로모터는 하나 이상의 요소를 포함한다. 특정 구현예에서, 하나 이상의 프로모터 요소는 역전되거나 서로에 대해 이동될 수 있다. 특정 구현예에서, 프로모터의 요소는 협력적으로 기능하도록 위치된다. 특정 구현예에서, 프로모터의 요소는 독립적으로 기능하도록 위치된다. 특정 구현예에서, 본원에 제공된 바이러스 벡터는 인간 CMV 초기 발현 유전자 프로모터, SV40 초기 프로모터, 라우스 육종 바이러스 (RS) 긴 말단 반복, 및 래트 인슐린 프로모터로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 프로모터를 포함한다. 특정 구현예에서, 본원에 제공된 벡터는 AAV, MLV, MMTV, SV40, RSV, HIV-1, 및 HIV-2 LTR로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 긴 말단 반복 (LTR) 프로모터를 포함한다. 특정 구현예에서, 본원에 제공된 벡터는 하나 이상의 조직 특이적 프로모터 (예를 들어, 뉴런 세포-특이적 프로모터)를 포함한다.

[0310] 특정 구현예에서, 본원에 제공된 바이러스 벡터는 프로모터 이외의 하나 이상의 조절 요소를 포함한다. 특정 구현예에서, 본원에 제공된 바이러스 벡터는 인핸서를 포함한다. 특정 구현예에서, 본원에 제공된 바이러스 벡터는 억제인자를 포함한다. 특정 구현예에서, 본원에 제공된 바이러스 벡터는 인트론 또는 키메라 인트론을 포함한다. 특정 구현예에서, 본원에 제공된 바이러스 벡터는 폴리아데닐화 서열을 포함한다.

[0311] 5.2.4. 신호 펩티드

[0312] 특정 구현예에서, 본원에 제공된 벡터는 단백질 전달을 조절하는 성분을 포함한다. 특정 구현예에서, 본원에 제공된 바이러스 벡터는 하나 이상의 신호 펩티드를 포함한다. 특정 구현예에서, 신호 펩티드는 이식유전자 산물 (예를 들어, IDS)이 세포에서 적절한 패키징 (예를 들어, 글리코실화)을 달성할 수 있도록 한다. 특정 구현예에서, 신호 펩티드는 이식유전자 산물 (예를 들어, IDS)이 세포에서 적절한 국재화를 달성할 수 있도록 한다. 특정 구현예에서, 신호 펩티드는 이식유전자 산물 (예를 들어, IDS)이 세포로부터 분비되도록 한다. 본원에 제공된 벡터 및 이식유전자와 관련하여 사용되는 신호 펩티드의 예는 표 4에서 확인할 수 있다. 신호 펩티드는 또한 본원에서 리더 서열 또는 리더 펩티드로 지칭될 수 있다.

[0313] 표 4. 본원에 제공된 벡터와 함께 사용하기 위한 신호 펩티드.

서열 번호	신호 펩티드	서열
2	희소돌기아교세포-미엘린 당단백질 (hOMG) 신호 펩티드	MEYQILKMSLCLFILLFLTPGILC
3	E1A-자극 유전자 2 의 세포 억제인자 (hCREG2) 신호 펩티드	MSVRRGRPARPGTRLSWLLCCSALLSPAAG
4	V-세트 및 막횡단 도메인 함유 2B (hVSTM2B) 신호 펩티드	MEQRNRLGALGYLPPLLHALLLFVADA
5	프로토카테린 알파-1 (hPCADHA1) 신호 펩티드	MVFSRRGGLGARDLLLWLLLLAAWEVGSG
6	FAM19A1 (TAF1) 신호 펩티드	MAMVSAMSWVLWLWISACA
7	VEGF-A 신호 펩티드	MNFLLSWVHW SLALLLYLHH AKWSQA
8	피롤린-1 신호 펩티드	MERAAPSRRV PLPLLLGGL ALLAAGVDA
9	비트로넥틴 신호 펩티드	MAPLRPLLIL ALLAWVALA
10	보체 인자 H 신호 펩티드	MRLLAKIICLMLWAICVA
11	옵티신 신호 펩티드	MRLLAFLSLL ALVLQETGT
12	알부민 신호 펩티드	MKWVTFISLLFLFSSAYS
13	키모트립시노겐 신호 펩티드	MAFLWLLSCWALLGTTFG
14	인터류킨-2 신호 펩티드	MYRMQLLSICIALILALVTNS
15	트립시노겐-2 신호 펩티드	MNLLLILTFVAAAVA

[0314]

[0315] 5.2.5.미번역 영역

[0316] 특정 구현예에서, 본원에 제공된 바이러스 벡터는 하나 이상의 미번역 영역 (UTR), 예를 들어, 3' 및/또는 5' UTR을 포함한다. 특정 구현예에서, UTR은 원하는 수준의 단백질 발현에 최적화되어 있다. 특정 구현예에서, UTR은 이식유전자의 mRNA 반감기에 최적화되어 있다. 특정 구현예에서, UTR은 이식유전자의 mRNA의 안정성에 최적화되어 있다. 특정 구현예에서, UTR은 이식유전자의 mRNA의 2차 구조에 최적화되어 있다.

[0317]

[0318] 5.2.6.역방위 말단 반복

[0318] 특정 구현예에서, 본원에 제공된 바이러스 벡터는 하나 이상의 역방위 말단 반복 (ITR) 서열을 포함한다. ITR 서열은 재조합 유전자 발현 카세트를 바이러스 벡터의 비리온으로 패키징하는 데 사용될 수 있다. 특정 구현예에서, ITR은 AAV, 예를 들어, AAV9에서 유래된다 (예를 들어, Yan 등, 2005, J. Virol., 79(1):364-379; 미국 특허 번호 7,282,199 B2, 미국 특허 번호 7,790,449 B2, 미국 특허 번호 8,318,480 B2, 미국 특허 번호 8,962,332 B2 및 국제 특허 출원 번호 PCT/EP2014/076466 참조, 이들 각각은 그 전문이 본원에 참조로 포함됨).

[0319]

[0320] 5.2.7.이식유전자

[0320] 특정 구현예에서, 본원에 제공된 벡터는 IDS 이식유전자를 인코딩한다. 특정 구현예에서, IDS는 뉴런 세포에서의 발현을 위한 적절한 발현 조절 요소에 의해 조절된다: 특정 구현예에서, IDS (예를 들어, hIDS) 이식유전자는 서열 번호: 1의 아미노산 서열을 포함한다. 특정 구현예에서, IDS (예를 들어, hIDS) 이식유전자는 서열 번

호: 1에 제시된 서열과 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함한다.

[0321] 이식유전자에 의해 인코딩된 HuGlyIDS는 서열 번호 1 (도 1에 도시됨)의 아미노산 서열을 갖는 인간 IDS (hIDS), 및 예를 들어, 도 2에 도시된 IDS의 오르토로그에서 상응하는 비-보존 잔기로부터 선택된 아미노산 치환을 포함하지만 이에 제한되지 않는, 아미노산 치환, 결실 또는 부가가 있는 hIDS의 유도체를 포함할 수 있지만, 이에 제한되지 않고, 단 이러한 돌연변이는 효소 활성에 요구되는 위치 84 (C84)에 시스테인 잔기의 대체 (Millat 등, 1997, Biochem J 326: 243-247); 또는 도 3에 도시되거나, 이들 각각은 그 전문이 본원에 참조로 포함된, Sukegawa-Hayasaka 등, 2006, J Inher Metab Dis 29: 755-761 ("약화된" 돌연변이체 R48P, A85T, W337R, 및 절단된 돌연변이체 Q531X; 및 "중증" 돌연변이체 P86L, S333L, S349I, R468Q, R468L 보고); Millat 등, 1998, BBA 1406: 214-218 ("약화된" 돌연변이체 P480L 및 P480Q; 및 "중증" 돌연변이체 P86L 보고); 및 Bonucelli 등, 2001, BBA 1537:233-238에 의해 보고된 중증, 중증-중간, 중간 또는 약화된 MPS II 표현형으로 식별된 돌연변이를 포함하지 않는다.

[0322] 예를 들어, hIDS의 특정 위치에서 아미노산 치환은 도 2에 정렬된 IDS 오르토로그의 해당 위치에서 발견되는 상응하는 비-보존 아미노산 잔기 중에서 선택될 수 있고, 단 이러한 치환은 도 3에 도시되거나 이들 각각은 그 전문이 본원에 참조로 포함된, 상기 Sukegawa-Hayasaka 등, 2006; 상기 Millat 등, 1998; 또는 상기 Bonucelli 등, 2001에 의해 보고된 임의의 유해한 돌연변이를 포함하지 않는다. 생성된 이식유전자 산물은 돌연변이가 IDS 기능을 방해하지 않는지 확인하기 위해 세포 배양 또는 시험 동물에서 종래의 시험관내 검정을 사용하여 시험될 수 있다. 선택된 바람직한 아미노산 치환, 결실 또는 부가는 MPS II에 대한 세포 배양 또는 동물 모델에서 종래의 시험관내 검정에 의해 시험될 때 IDS의 효소 활성, 안정성 또는 반감기를 유지하거나 증가시키는 것들이어야 한다. 예를 들어, 이식유전자 산물의 효소 활성은, 예를 들어, 4-메틸움벨리페릴 α-L-이도피라노시드론산 2-설페이트 또는 4-메틸움벨리페릴 설페이트를 기질로 하는 종래의 효소 검정을 사용하여 평가될 수 있다 (사용될 수 있는 예시적인 IDS 효소 검정에 대해서는 예를 들어, Lee 등, 2015, Clin. Biochem. 48(18):1350-1353, Dean 등, 2006, Clin. Chem. 52(4):643-649 참조, 이들 각각은 그 전문이 본원에 참조로 포함됨). MPS II 표현형을 보정하는 이식유전자 산물의 능력은 세포 배양으로; 예를 들어, 배양 중 MPS II 세포를 hIDS 또는 유도체를 인코딩하는 바이러스 벡터 또는 기타 DNA 발현 작제물로 형질도입시키거나; 이식유전자 산물 또는 유도체를 배양 중 MPS II 세포에 첨가하거나; 또는 MPS II 세포를, rhIDS 또는 유도체를 발현시키고 분비하도록 조작된 인간 뉴런/신경아교 숙주 세포와 공동 배양하고, 예를 들어, IDS 효소 활성 및/또는 배양 중 MPS II 세포의 GAG 저장 감소를 검출하여 MPS II 배양된 세포에서 결함 보정을 결정함으로써 평가될 수 있다 (예를 들어, Stroncek 등, 1999, Transfusion 39(4):343-350 참조, 이들 각각은 그 전문이 본원에 참조로 포함됨).

[0323] 5.2.8. 작제물

[0324] 특정 구현예에서, 본원에 제공된 바이러스 벡터는 다음의 순서로 다음 요소를 포함한다: a) 제1 ITR 서열, b) 제1 링커 서열, c) 프로모터 서열, d) 제2 링커 서열, e) 인트론 서열, f) 제3 링커 서열, g) 이식유전자 (예를 들어, IDS)를 인코딩하는 서열, h) 제4 링커 서열, i) 폴리 A 서열, j) 제5 링커 서열, 및 k) 제2 ITR 서열.

[0325] 특정 구현예에서, 본원에 제공된 바이러스 벡터는 다음의 순서로 다음 요소를 포함한다: a) 프로모터 서열, 및 b) 이식유전자 (예를 들어, IDS)를 인코딩하는 서열. 특정 구현예에서, 본원에 제공된 바이러스 벡터는 다음의 순서로 다음 요소를 포함하고: a) a 프로모터 서열, 및 b) 이식유전자 (예를 들어, IDS)를 인코딩하는 서열, 여기서 이식유전자는 신호 펩티드를 포함한다.

[0326] 특정 구현예에서, 본원에 제공된 바이러스 벡터는 다음의 순서로 다음 요소를 포함한다: a) 제1 ITR 서열, b) 제1 링커 서열, c) 프로모터 서열, d) 제2 링커 서열, e) 인트론 서열, f) 제3 링커 서열, g) 제1 UTR 서열, h) 이식유전자 (예를 들어, IDS)를 인코딩하는 서열, i) 제2 UTR 서열, j) 제4 링커 서열, k) 폴리 A 서열, l) 제5 링커 서열, 및 m) 제2 ITR 서열.

[0327] 특정 구현예에서, 본원에 제공된 바이러스 벡터는 다음의 순서로 다음 요소를 포함하고: a) 제1 ITR 서열, b) 제1 링커 서열, c) 프로모터 서열, d) 제2 링커 서열, e) 인트론 서열, f) 제3 링커 서열, g) 제1 UTR 서열, h) 이식유전자 (예를 들어, IDS)를 인코딩하는 서열, i) 제2 UTR 서열, j) 제4 링커 서열, k) 폴리 A 서열, l) 제5 링커 서열, 및 m) 제2 ITR 서열, 여기서 이식유전자는 신호 펩티드를 포함하고, 이식유전자는 hIDS를 인코딩한다.

[0328] 특정 구현예에서 본원에 기재된 바이러스 벡터는 도 5에서 예시된 바와 같은 순서로 요소들을 포함한다.

[0329] **5.2.9.백터의 제조 및 시험**

[0330] 본원에 제공된 바이러스 백터는 숙주 세포를 사용하여 제조될 수 있다. 본원에 제공된 바이러스 백터는 포유동물 숙주 세포, 예를 들어, A549, WEHI, 10T1/2, BHK, MDCK, COS1, COS7, BSC 1, BSC 40, BMT 10, VERO, W138, HeLa, 293, Saos, C2C12, L, HT1080, HepG2, 원발성 섬유아세포, 간세포, 및 근원세포를 사용하여 제조될 수 있다. 본원에 제공된 바이러스 백터는 인간, 원숭이, 마우스, 래트, 토끼 또는 햄스터 유래 숙주 세포를 사용하여 제조될 수 있다.

[0331] 숙주 세포는 이식유전자 및 관련 요소 (즉, 백터 계놈)를 인코딩하는 서열 및 숙주 세포에서 바이러스를 생산하는 수단, 예를 들어, 복제 및 캡시드 유전자 (예를 들어, AAV의 rep 및 cap 유전자)로 안정적으로 형질전환된다. AAV8 캡시드를 사용하여 재조합 AAV 백터를 생산하는 방법은 그 전문이 본원에 참조로 포함된 미국 특허 번호 7,282,199 B2의 상세한 설명의 섹션 IV를 참조한다. 상기 백터의 계놈 복제 역가는, 예를 들어, TAQMAN[®] 분석에 의해 결정될 수 있다. 비리온은, 예를 들어, CsCl₂ 침강에 의해 회수될 수 있다.

[0332] 시험관내 검정, 예를 들어, 세포 배양 검정을 사용하여 본원에 기재된 백터로부터 이식유전자 발현을 측정할 수 있으며, 따라서, 예를 들어, 백터의 효능을 나타낼 수 있다. 예를 들어, HT-22, SK-N-MC, HCN-1A, HCN-2, NT2, SH-SY5y, hNSC11, 또는 ReNcell VM 세포주, 또는 뉴런 또는 신경아교 세포 또는 뉴런 또는 신경아교 세포의 전구 세포로부터 유래된 기타 세포주가 이식유전자 발현을 평가하는 데 사용될 수 있다. 일단 발현되면, HuGlyIDS와 관련된 글리코실화 및 티로신 황산화 패턴의 결정을 포함하여, 발현된 산물 (즉, HuGlyIDS)의 특성을 결정할 수 있다.

[0333] **5.2.10.조성물**

[0334] 본원에 기재된 이식유전자를 인코딩하는 백터 및 적합한 담체를 포함하는 조성물이 기재되어 있다. 적합한 담체 (예를 들어, CSF, 및, 예를 들어, 뉴런 세포로의 투여를 위한)는 당업자에 의해 용이하게 선택될 것이다.

[0335] **5.3유전자 요법**

[0336] MPS II를 갖는 인간 대상체에게 치료학적 유효량의 이식유전자 작제물을 투여하는 방법이 기재되어 있다. 보다 상세하게는, 특히 CSF로의 투여를 위해 MPS II를 갖는 환자에게 치료학적 유효량의 이식유전자 작제물을 투여하는 방법이 기재되어 있다. 특정 구현예에서, 치료학적 유효량의 이식유전자 작제물의 CSF로의 투여를 위한 이러한 방법은 헌터 증후군을 갖는 환자를 치료하는 데 사용될 수 있다.

[0337] **5.3.1.표적 환자 집단**

[0338] 특정 구현예에서, 치료학적 유효 용량의 재조합 백터는 MPS II로 진단된 환자에게 투여된다. 특정 구현예에서 환자는 경증 MPS II로 진단되었다. 특정 구현예에서, 환자는 중증 MPS II로 진단되었다. 특정 구현예에서, 환자는 헌터 증후군으로 진단되었다. 특정 구현예에서, 환자는 신경병증성 MPS II로 진단되었다.

[0339] 특정 구현예에서, 치료학적 유효 용량의 재조합 백터는 IDS, 예를 들어, hIDS로의 치료에 반응하는 것으로 식별된 MPS II로 진단된 환자에게 투여된다.

[0340] 특정 구현예에서, 치료학적 유효 용량의 재조합 백터는 소아 환자에게 투여된다. 특정 구현예에서, 치료학적 유효 용량의 재조합 백터는 3세 미만의 환자에게 투여된다. 특정 구현예에서, 치료학적 유효 용량의 재조합 백터는 2세 내지 4세 환자에게 투여된다. 특정 구현예에서, 치료학적 유효 용량의 재조합 백터는 4개월 이상이고 5세 미만 환자에게 투여된다. 특정 구현예에서, 치료학적 유효 용량의 재조합 백터는 중증 MPS II가 있고 4개월 이상이고 5세 미만인 환자에게 투여된다. 특정 구현예에서, 치료학적 유효 용량의 재조합 백터는 5세 이상이고 18세 미만 환자에게 투여된다. 특정 구현예에서, 치료학적 유효 용량의 재조합 백터는 신경병증성 MPS II가 있고 5세 이상이고 18세 미만 환자에게 투여된다. 특정 구현예에서, 치료학적 유효 용량의 재조합 백터는 18개월 이상이고 8세 이하 환자에게 투여된다. 특정 구현예에서, 치료학적 유효 용량의 재조합 백터는 소아과 남성 환자이고 18개월 이상이고 8세 이하인 환자에게 투여된다. 특정 구현예에서, 치료학적 유효 용량의 재조합 백터는 3세 내지 8세 환자에게 투여된다. 특정 구현예에서, 치료학적 유효 용량의 재조합 백터는 8세 내지 16세 환자에게 투여된다. 특정 구현예에서, 치료학적 유효 용량의 재조합 백터는 5세 내지 18세 환자에게 투여된다. 특정 구현예에서, 치료학적 유효 용량의 재조합 백터는 10세 이하인 환자에게 투여된다. 특정 구현예에서, 치료학적 유효 용량의 재조합 백터는 중증 MPS II가 있고 10세 이하인 환자에게 투여된다. 특정 구현예에서, 치료학적 유효 용량의 재조합 백터는 18세 이하 환자에게 투여된다. 특정 구현예에서, 치료학적 유효 용량의 재조합 백터는

5세 초과 환자에게 투여된다. 특정 구현예에서, 치료학적 유효 용량의 재조합 벡터는 10세 초과 환자에게 투여된다.

[0341] 특정 구현예에서, 치료학적 유효 용량의 재조합 벡터는 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 또는 11개월 환자에게 투여된다. 특정 구현예에서, 치료학적 유효 용량의 재조합 벡터는 약 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 또는 11개월 환자에게 투여된다. 특정 구현예에서, 치료학적 유효 용량의 재조합 벡터는 4-5, 5-6, 6-7, 7-8, 8-9, 9-10, 10-11, 또는 11-12 개월 환자에게 투여된다. 특정 구현예에서, 치료학적 유효 용량의 재조합 벡터는 약 4-5, 5-6, 6-7, 7-8, 8-9, 9-10, 10-11, 또는 11-12 개월 환자에게 투여된다. 특정 구현예에서, 치료학적 유효 용량의 재조합 벡터는 약 1, 2, 3, 4, 또는 5 세 환자에게 투여된다. 특정 구현예에서, 치료학적 유효 용량의 재조합 벡터는 약 1, 2, 3, 4, 또는 5 세 환자에게 투여된다. 특정 구현예에서, 치료학적 유효 용량의 재조합 벡터는 1-2, 2-3, 3-4, 4-5, 또는 5-6 세 환자에게 투여된다. 특정 구현예에서, 치료학적 유효 용량의 재조합 벡터는 약 1-2, 2-3, 3-4, 4-5, 또는 5-6 세 환자에게 투여된다. 특정 구현예에서, 치료학적 유효 용량의 재조합 벡터는 5-6, 6-7, 7-8, 8-9, 9-10, 10-11, 11-12, 12-13, 13-14, 14-15, 15-16, 16-17, 17-18, 또는 18-19 세 환자에게 투여된다. 특정 구현예에서, 치료학적 유효 용량의 재조합 벡터는 약 5-6, 6-7, 7-8, 8-9, 9-10, 10-11, 11-12, 12-13, 13-14, 14-15, 15-16, 16-17, 17-18, 또는 18-19 세 환자에게 투여된다.

[0342] 특정 구현예에서, 치료학적 유효 용량의 재조합 벡터는 청소년 환자에게 투여된다. 특정 구현예에서, 치료학적 유효 용량의 재조합 벡터는 성인 환자에게 투여된다. 일부 구현예에서, 치료학적 유효 용량의 재조합 벡터는 남성 환자에게 투여된다. 기타 구현예에서, 치료학적 유효 용량의 재조합 벡터는 여성 환자에게 투여된다.

[0343] 특정 구현예에서, 치료학적 유효 용량의 재조합 벡터는 유전자 요법으로의 치료 전에 CSF로 주사되는, IDS, 예를 들어, hIDS로의 치료에 반응하는 것으로 식별된 MPS II로 진단된 환자에게 투여된다.

[0344] 5.3.2.투여량 및 투여 방식

[0345] 특정 구현예에서, 치료학적 유효 용량의 재조합 벡터는 경막내 투여 (즉, 재조합 벡터가 CSF를 통해 분포하고 CNS에서 세포를 형질도입시키도록 지주막하 공간으로의 주사)를 통해 CSF에 투여된다. 이는 여러 가지 방법으로, 예를 들어, 두개내 (수조 또는 뇌실) 주사 또는 요추 수조로의 주사에 의해 달성될 수 있다. 특정 구현예에서, 경막내 투여는 수조내 (IC) 주사 (예를 들어, 대조로)를 통해 수행된다. 특정 구현예에서, 수조내 주사는 CT-유도 후두하 천자에 의해 수행된다. 특정 구현예에서, 경막내 주사는 요추 천자에 의해 수행된다. 특정 구현예에서, 지주막하 공간으로의 주사는 환자에게 가능하면 C1-2 천자를 통해 수행된다. 대안적으로, 뇌실내 (ICV) 투여 (혈액-뇌 장벽을 관통하지 않는 항감염 또는 항암 약물의 도입에 사용된 더욱 침습적인 기법), 예를 들어 영상-보조 ICV 주사는 뇌실에 직접적으로 재조합 벡터를 주입하는데 사용될 수 있다. 특정 구현예에서, 재조합 벡터는 단일 영상-보조 ICV 주사를 통해 투여된다. 추가 특정 구현예에서, 재조합 벡터는 투여 카테터의 즉각 제거와 단일 영상-보조 ICV 주사를 통해 투여된다. 특정 구현예에서, 치료학적 유효 용량의 재조합 벡터는 비강내 투여를 통해 CNS로 투여된다. 특정 구현예에서, 치료학적 유효 용량의 재조합 벡터는 뇌실질내 주사를 통해 CNS로 투여된다. 특정 구현예에서, 뇌실질내 투여는 선조체를 표적으로 한다. 특정 구현예에서, 뇌실질내 주사는 백색질을 표적으로 한다. 특정 구현예에서, 치료학적 유효 용량의 재조합 벡터는 당 업계에 공지된 임의의 수단, 예를 들어, 문헌(Hocquemiller 등, 2016, 인간 Gene Therapy 27(7):478-496, 이는 그 전문이 본원에 참조로 포함됨)에 개시된 임의의 수단에 의해 CSF로 투여된다.

[0346] 바람직한 구현예에서, (IC 및 ICV 투여를 포함하는) 경막내 투여 경우에, 치료학적 유효 용량의 재조합 벡터는, 총 CSF 용적이 유아에서 약 50 mL 및 성인에서 약 150 mL인, 총 CSF 용적의 10%를 초과하지 않는 주사 용적으로 CSF에 투여되어야 한다. 엘리엇 B 용액(Elliotts B Solution)과 같은 경막내 주사에 적합한 담체를 재조합 벡터의 비히클로 사용해야 한다. 엘리엇 B 용액 (일반명: 염화나트륨, 중탄산나트륨, 무수 텍스트로스, 황산마그네슘, 염화칼륨, 염화칼슘 및 인산나트륨)은 정균 보존제를 함유하지 않는 멸균, 비발열성, 등장성 용액이며, 화학요법제의 경막내 투여를 위한 희석제로 사용된다.

[0347] 일 구현예에서, 인간 이두로네이트-2-설페이트 (IDS)를 발현시키는 비-복제 재조합 AAV9 벡터는 치료에 사용된다. 특정 구현예에서, IDS 발현 카세트는 역방위 말단 반복 (ITR)이 측면에 있고 발현은 거대세포바이러스 (CMV) 인핸서 및 닭 베타 액틴 프로모터 (CB7)의 하이브리드에 의해 구동된다. 특정 구현예에서, 이식유전자는 닭 베타 액틴 인트론 및 토끼 베타-글로빈 폴리아데닐화 (polyA) 신호를 포함한다.

[0348] 특정 구현예에서, 재조합 뉴클레오타이드 발현 벡터는 인간 대상체의 뇌 질량에 의존하는 용량으로 투여된다. 바람직한 구현예에서, 뇌 질량은 인간 대상체의 뇌의 뇌 자기 공명 영상 (MRI)에 의해 결정된다. 특정

구현예에서, 인간 대상체의 뇌 질량은 cm^3 로 인간 대상체의 뇌 용적과 1.046 g/cm^3 의 인수를 곱셈함으로써 인간 대상체의 뇌 용적으로부터 전환되고, 여기서 인간 대상체의 뇌 용적은 인간 대상체의 뇌 MRI로부터 취득된다.

[0349] 특정 구현예에서, rAAV9.hIDS는 약 5 내지 20 ml의 용적에서 1.4×10^{13} GC (1.1×10^{10} GC/g 뇌 질량) 내지 7.0×10^{13} GC (5.6×10^{10} GC/g 뇌 질량) 범위의 단일 균일 용량으로서 IC (후두하 주사)로 투여된다. 환자가 AAV에 대한 중화 항체가 있는 경우, 높은 범위의 용량은 사용될 수 있다.

[0350] 특정 구현예에서, 본원에 기재된 재조합 벡터는 약 1.3×10^{10} GC/g 뇌 질량 내지 약 6.5×10^{10} GC/g 뇌 질량 범위의 단일 균일 용량으로서 경막내로 투여될 수 있다 (예를 들어, 인간 환자가 4개월 이상이고 5세 미만인 경우). 특정 구현예에서, 본원에 기재된 재조합 벡터는 약 1.3×10^{10} GC/g 뇌 질량에서 단일 균일 용량으로서 경막내로 투여될 수 있다 (예를 들어, 인간 환자가 4개월 이상이고 5세 미만인 경우). 또 다른 특정 구현예에서, 본원에 기재된 재조합 벡터는 약 6.5×10^{10} GC/g 뇌 질량에서 단일 균일 용량으로서 경막내로 투여될 수 있다 (예를 들어, 인간 환자가 4개월 이상이고 5세 미만인 경우). 또 다른 특정 구현예에서, 본원에 기재된 재조합 벡터는 하기 표 5에 열거되고 표 5에 따른 용량 1 또는 용량 2에서 단일 균일 용량으로서 경막내로 투여될 수 있다 (예를 들어, 인간 환자가 4개월 이상이고 5세 미만인 경우).

[0351] 특정 구현예에서, 본원에 기재된 재조합 벡터는 약 1.3×10^{10} GC/g 뇌 질량 내지 약 2.0×10^{11} GC/g 뇌 질량 범위의 단일 균일 용량으로서 경막내로 투여될 수 있다 (예를 들어, 인간 환자가 4개월 이상이고 5세 미만인 경우). 특정 구현예에서, 본원에 기재된 재조합 벡터는 약 2.0×10^{11} GC/g 뇌 질량에서 단일 균일 용량으로서 경막내로 투여될 수 있다 (예를 들어, 인간 환자가 4개월 이상이고 5세 미만인 경우). 또 다른 특정 구현예에서, 본원에 기재된 재조합 벡터는 하기 표 6에 열거되고 이에 따른 용량 3에서 단일 균일 용량으로서 경막내로 투여될 수 있다 (예를 들어, 인간 환자가 4개월 이상이고 5세 미만인 경우).

[0352] 특정 구현예에서, 본원에 기재된 재조합 벡터는 약 1.3×10^{10} GC/g 뇌 질량 내지 약 6.5×10^{10} GC/g 뇌 질량 범위의 단일 균일 용량으로서 IC 투여로 투여될 수 있다 (예를 들어, 인간 환자가 4개월 이상이고 5세 미만인 경우). 특정 구현예에서, 본원에 기재된 재조합 벡터는 약 1.3×10^{10} GC/g 뇌 질량에서 단일 균일 용량으로서 IC 투여로 투여될 수 있다 (예를 들어, 인간 환자가 4개월 이상이고 5세 미만인 경우). 또 다른 특정 구현예에서, 본원에 기재된 재조합 벡터는 약 6.5×10^{10} GC/g 뇌 질량에서 단일 균일 용량으로서 IC 투여로 투여될 수 있다 (예를 들어, 인간 환자가 4개월 이상이고 5세 미만인 경우). 또 다른 특정 구현예에서, 본원에 기재된 재조합 벡터는 하기 표 5에 열거되고 표 5에 따른 용량 1 또는 용량 2에서 단일 균일 용량으로서 IC 투여로 투여될 수 있다 (예를 들어, 인간 환자가 4개월 이상이고 5세 미만인 경우).

[0353] 특정 구현예에서, 본원에 기재된 재조합 벡터는 약 1.3×10^{10} GC/g 뇌 질량 내지 약 2.0×10^{11} GC/g 뇌 질량 범위의 단일 균일 용량으로서 IC 투여로 투여될 수 있다 (예를 들어, 인간 환자가 4개월 이상이고 5세 미만인 경우). 특정 구현예에서, 본원에 기재된 재조합 벡터는 약 2.0×10^{11} GC/g 뇌 질량에서 단일 균일 용량으로서 IC 투여로 투여될 수 있다 (예를 들어, 인간 환자가 4개월 이상이고 5세 미만인 경우). 또 다른 특정 구현예에서, 본원에 기재된 재조합 벡터는 하기 표 6에 열거되고 표 6에 따른 용량 3에서 단일 균일 용량으로서 IC 투여로 투여될 수 있다 (예를 들어, 인간 환자가 4개월 이상이고 5세 미만인 경우).

[0354] 특정 구현예에서, 본원에 기재된 재조합 벡터는 약 1.3×10^{10} GC/g 뇌 질량 내지 약 6.5×10^{10} GC/g 뇌 질량 범위의 단일 균일 용량으로서 ICV 투여로 투여될 수 있다 (예를 들어, 인간 환자가 4개월 이상이고 5세 미만인 경우). 특정 구현예에서, 본원에 기재된 재조합 벡터는 약 1.3×10^{10} GC/g 뇌 질량에서 단일 균일 용량으로서 ICV 투여로 투여될 수 있다 (예를 들어, 인간 환자가 4개월 이상이고 5세 미만인 경우). 또 다른 특정 구현예에서, 본원에 기재된 재조합 벡터는 약 6.5×10^{10} GC/g 뇌 질량에서 단일 균일 용량으로서 ICV 투여로 투여될 수 있다 (예를 들어, 인간 환자가 4개월 이상이고 5세 미만인 경우). 또 다른 특정 구현예에서, 본원에 기재된 재조합 벡터는 하기 표 5에 열거되고 표 5에 따른 용량 1 또는 용량 2에서 단일 균일 용량으로서 ICV 투여로 투여될 수 있다 (예를 들어, 인간 환자가 4개월 이상이고 5세 미만인 경우).

[0355] 특정 구현예에서, 본원에 기재된 재조합 벡터는 약 1.3×10^{10} GC/g 뇌 질량 내지 약 2.0×10^{11} GC/g 뇌 질

량 범위의 단일 균일 용량으로서 ICV 투여로 투여될 수 있다 (예를 들어, 인간 환자가 4개월 이상이고 5세 미만인 경우). 특정 구현예에서, 본원에 기재된 재조합 벡터는 약 2.0×10^{11} GC/g 뇌 질량에서 단일 균일 용량으로서 ICV 투여로 투여될 수 있다 (예를 들어, 인간 환자가 4개월 이상이고 5세 미만인 경우). 또 다른 특정 구현예에서, 본원에 기재된 재조합 벡터는 하기 표 6에 열거되고 표 6에 따른 용량 3에서 단일 균일 용량으로서 ICV 투여로 투여될 수 있다 (예를 들어, 인간 환자가 4개월 이상이고 5세 미만인 경우).

표 5. 뇌 질량에 의해 투여된 총 용량 (용량 1 또는 용량 2)

뇌 질량 (g)		목표	용량 수준	
최소	최대		용량 1 총 GC (1.3×10^{10} GC/g 뇌 질량)	용량 2 총 GC (6.5×10^{10} GC/g 뇌 질량)
-	700	650	8.5×10^{12}	4.2×10^{13}
701	800	750	9.8×10^{12}	4.9×10^{13}
801	900	850	1.1×10^{13}	5.5×10^{13}
901	1050	975	1.3×10^{13}	6.3×10^{13}
1051	1200	1125	1.5×10^{13}	7.3×10^{13}
1201	-	1300	1.7×10^{13}	8.5×10^{13}

[0356]

표 6. 뇌 질량에 의해 투여된 총 용량 (용량 3)

뇌 질량 (g)		목표	용량 3 총 GC (2.0×10^{11} GC/g 뇌 질량)
최소	최대		
-	474	450	9.0×10^{13}
475	524	500	1.0×10^{14}
525	574	550	1.1×10^{14}
575	624	600	1.2×10^{14}
625	674	650	1.3×10^{14}
675	724	700	1.4×10^{14}
725	774	750	1.5×10^{14}
775	824	800	1.6×10^{14}
825	874	850	1.7×10^{14}
875	924	900	1.8×10^{14}
925	974	950	1.9×10^{14}
975	1024	1000	2.0×10^{14}
1025	1074	1050	2.1×10^{14}
1075	1124	1100	2.2×10^{14}
1125	1174	1150	2.3×10^{14}
1175	1224	1200	2.4×10^{14}
1225	1274	1250	2.5×10^{14}
1275	>1300	1300	2.6×10^{14}

[0357]

특정 구현예에서, 본원에 기재된 재조합 벡터는 약 6.5×10^{10} GC/g 뇌 질량에서 단일 균일 용량으로서 경막내로 투여될 수 있다 (예를 들어, 인간 환자가 5세 이상이고 18세 미만인 경우). 또 다른 특정 구현예에서, 본원에 기재된 재조합 벡터는 하기 표 7에 열거되고 표 7에 따라 단일 균일 용량으로서 경막내로 투여될 수 있다 (예를 들어, 인간 환자가 5세 이상이고 18세 미만인 경우).

[0358]

특정 구현예에서, 본원에 기재된 재조합 벡터는 약 6.5×10^{10} GC/g 뇌 질량에서 단일 균일 용량으로서 IC 투여로 투여될 수 있다 (예를 들어, 인간 환자가 5세 이상이고 18세 미만인 경우). 또 다른 특정 구현예에서, 본원에 기재된 재조합 벡터는 하기 표 7에 열거되고 표 7에 따라 단일 균일 용량으로서 IC 투여로 투여될 수 있다 (예를 들어, 인간 환자가 5세 이상이고 18세 미만인 경우).

[0359]

특정 구현예에서, 본원에 기재된 재조합 벡터는 약 6.5×10^{10} GC/g 뇌 질량에서 단일 균일 용량으로서 ICV 투

[0360]

여로 투여될 수 있다 (예를 들어, 인간 환자가 5세 이상이고 18세 미만인 경우). 또 다른 특정 구현예에서, 본원에 기재된 제조법 벡터는 하기 표 7에 열거되고 표 7에 따라 단일 균일 용량으로서 ICV 투여로 투여될 수 있다 (예를 들어, 인간 환자가 5세 이상이고 18세 미만인 경우).

표 7. 뇌 질량에 의해 투여된 총 용량

뇌 질량 (g)		목표 뇌 질량 (g)	용량: 총 GC (6.5×10^{10} GC/g 뇌 질량)
최소	최대		
801	900	850	5.5×10^{13}
901	1050	975	6.3×10^{13}
1051	1200	1125	7.3×10^{13}
1201	-	1300	8.5×10^{13}

5.4 병용 요법

다른 이용 가능한 치료의 투여를 수반하는 CSF로의 HuGlyIDS 투여의 조합은 본 발명의 방법에 포함된다. 추가 치료는 유전자 요법 치료 전, 동시에 또는 후에 투여될 수 있다. 본 발명의 유전자 요법과 조합될 수 있는 MPS II에 대해 이용 가능한 치료는 전신적으로 또는 CSF로 투여되는 이두르실파아제를 사용하는 효소 대체 요법; 및/또는 HSCT 요법을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 또 다른 구현예에서, ERT는 제조법 DNA 기술에 의해 인간 뉴런 및 신경아교 세포주에서 생산된 rHuGlyIDS 당단백질을 사용하여 투여될 수 있다. 이러한 제조법 당단백질 생산에 사용될 수 있는 인간 뉴런 및 신경아교 세포주는 몇가지를 들자면 HT-22, SK-N-MC, HCN-1A, HCN-2, NT2, SH-SY5y, hNSC11, 또는 ReNcell VM을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 완전한 글리코실화, 특히 시알릴화 및 티로신-황산화물을 보장하기 위해, 생산에 사용되는 세포주는 α -2,6-시알릴트랜스퍼라아제 (또는 α -2,3- 및 α -2,6-시알릴트랜스퍼라아제 둘 모두) 및/또는 티로신-O-황산화를 담당하는 TPST-1 및 TPST-2 효소를 공동 발현하도록 숙주 세포를 조작함으로써 강화될 수 있다.

5.5 바이오마커/샘플링/모니터링 효능

효능은 인지 기능 (예를 들어, 신경인지 저하의 예방 또는 감소); CSF 및 또는 혈청에서 질환의 바이오마커 (예컨대 GAG, 헤파란 설페이트 및 더마탄 설페이트 포함) 감소; 및/또는 CSF 및/또는 혈청에서 IDS 효소 활성의 증가를 측정하여 모니터링될 수 있다. 염증 징후 및 기타 안전 사건도 모니터링될 수 있다.

5.5.1. 질환 마커

특정 구현예에서, 제조법 뉴클레오타이드 발현 벡터를 사용한 치료의 효능은 환자의 질환 바이오마커 수준을 측정하여 모니터링된다. 특정 구현예에서, 질환 바이오마커 수준은 환자의 CSF에서 측정된다. 특정 구현예에서, 질환 바이오마커 수준은 환자의 혈청에서 측정된다. 특정 구현예에서, 질환 바이오마커 수준은 환자의 혈장에서 측정된다. 특정 구현예에서, 질환 바이오마커 수준은 환자의 소변에서 측정된다. 특정 구현예에서, 질환 바이오마커는 GAG이다. 바람직한 구현예에서, 질환 바이오마커는 헤파란 설페이트이다. 특정 구현예에서, 질환 바이오마커는 더마탄 설페이트이다. 특정 구현예에서, 질환 바이오마커는 IDS 효소 활성이다. 특정 구현예에서, 질환 바이오마커는 염증이다. 특정 구현예에서, 질환 바이오마커는 안전 사건이다.

특정 구현예에서, 제조법 뉴클레오타이드 발현 벡터를 사용한 치료의 효능은 환자로부터 샘플에서 하기 바이오마커 중 하나 이상을 측정하여 모니터링된다: (a) CSF 내 GAG의 수준; (b) CSF 내 I2S의 수준; (c) 혈장 내 GAG의 수준; (d) 혈장 내 I2S의 수준; (e) 백혈구 I2S 효소 활성의 수준; (f) 소변 내 GAG의 수준, (g) CSF 내 헤파란 설페이트의 수준, 및 (h) CSF 내 더마탄 설페이트의 수준.

특정 구현예에서, CSF 내 헤파란 설페이트 (HS) 글리코사미노글리칸 (GAG)은 생체분석 LC/MS를 사용하여 측정된다. 일부 구현예에서, CNS 내 헤파란 설페이트 비-환원 말단 및 총 헤파란 설페이트는 생체분석 LC/MS를 사용하여 측정된다. 일부 구현예에서, 혈장 내 헤파란 설페이트 비-환원 말단 및 총 헤파란 설페이트 CAG는 생체분석 LC/MS를 사용하여 측정된다. 일부 구현예에서, 소변 내 HS CAG는 생체분석 LC/MS를 사용하여 측정된다. 일부 구현예에서, 소변 총 CAG 농도는 비색 검정을 사용하여 측정된다. 일부 구현예에서, 사용될 수 있는 검정에 대한 더 많은 상세는 본 개시내용의 섹션 6에서 제공된다.

5.5.2. 신경인지 기능 검사

[0371] 특정 구현예에서, 재조합 벡터를 사용한 치료의 효능은 환자의 인지 기능 수준을 측정하여 모니터링된다. 인지 기능은 당업자에게 공지된 임의의 방법에 의해 측정될 수 있다. 특정 구현예에서, 인지 기능은 지능 지수 (IQ)를 측정하기 위한 검증된 도구를 통해 측정된다. 특정 구현예에서, IQ는 웨슬러 지능 검사 단축형(Wechsler Abbreviated Scale of Intelligence), 제2판 (WASI-II)으로 측정된다. 특정 구현예에서, 인지 기능은 기억력 측정을 위한 검증된 도구를 통해 측정된다. 특정 구현예에서, 기억력은 홉킨스 언어 학습 검사 (Hopkins Verbal Learning Test; HVLT)로 측정된다. 특정 구현예에서, 인지 기능은 주의력 측정을 위한 검증된 도구를 통해 측정된다. 특정 구현예에서, 주의력은 주의력 변수 검사 (Test Of Variables of Attention: TOVA)로 측정된다. 특정 구현예에서, 인지 기능은 IQ, 기억력 및 주의력 중 하나 이상을 측정하기 위해 검증된 도구를 통해 측정된다.

[0372] **5.5.3. 신체 변화**

[0373] 특정 구현예에서, 재조합 벡터를 사용한 치료의 효능은 환자의 리소좀 저장 결핍과 관련된 신체적 특성을 측정하여 모니터링된다. 특정 구현예에서, 신체적 특성은 저장 병변이다. 특정 구현예에서, 신체적 특성은 작은 키이다. 특정 구현예에서, 신체적 특성은 거친 얼굴 특징이다. 특정 구현예에서, 신체적 특성은 폐쇄 수면 무호흡이다. 특정 구현예에서, 신체적 특성은 청력 장애이다. 특정 구현예에서, 신체적 특성은 시력 장애이다. 특정 구현예에서, 시력 장애는 각막 혼탁으로 인한 것이다. 특정 구현예에서, 신체적 특성은 수두증이다. 특정 구현예에서, 신체적 특성은 척수 압박이다. 특정 구현예에서, 신체적 특성은 간비장비대이다. 특정 구현예에서, 신체적 특성은 뼈 및 관절 기형이다. 특정 구현예에서, 신체적 특성은 심장 판막 질환이다. 특정 구현예에서, 신체적 특성은 재발성 상기도 감염이다. 특정 구현예에서, 신체적 특성은 손목 터널 증후군이다. 특정 구현예에서, 신체적 특성은 대설증 (비대한 허)이다. 특정 구현예에서, 신체적 특성은 비대한 성대 및/또는 음성 변화이다. 이러한 신체적 특성은 당업자에게 공지된 임의의 방법에 의해 측정될 수 있다.

[0374] 서열 표

서열번호 :	설명	서열
1	인간 IDS 아미노산 서열	MPPPRGTGRGL LNLGLVLSSV CVALGSETQA NSTTDAINVL LIIIVDDLRLPS LGCYGDKLVR SPNIDQLASH SLLFQNAFAQ QAVCAPSRVS FLTGRRPDTT RLYDFNSYWR VHAGNFSTIP QYFKENGYVT MSVGKVFHPG ISSNHTDDSP YSWSFPPYHP SSEKYENTKT CRGPDGELHA NLLCPVDVLD VPEGILPDKQ STEQAIQLLE KMKTSASPFF LAVGYHKPHI PFRYPKEFQK LYPLENITLA PDPEVPDGLP PVAYNPWMDI RQREDVQALN ISVPYGPPIV DFQRKIRQSY FASVSYLDTQ VGRLLSALDD LQLANSTIIA FTSDHGWALG EHGAWAKYSN FDVATHVPLI FYVPGRTASL PEAGEKLFPY LDPFDSASQL MEPGRQSM DL VELVSLFPTL AGLAGLQVPP RCPVPSFHVE LCREGKNLLK HFRFRDLEED PYLPGNPREL IAYSQYPRPS DIPQWNSDKP SLKDIKIMGY SIRTIDYRYT VWWGFNPDEF LANFSDIHAG ELYFVDSDDL QDHNMNDSQ GGDLFQLLMP
2	희소돌기아교세포- 미엘린 당단백질 (hOMG) 신호 펩티드	MEYQILKMSL CLFILLFLTP GILC
3	E1A-자극 유전자 2 의 세포 억제인자 (hCREG2) 신호 펩티드	MSVRRGRPA RRGTRLSWLL CCSALLSPAA G
4	V-세트 및 막횡단 도메인 함유 2B (hVSTM2B) 신호 펩티드	MEQRNLGAL GYLPPLLHA LLLFVADA
5	프로토카데린 알파- 1 (hPCADHA1) 신호 펩티드	MVFSRRGGLG ARDLLLWLLL LAWEVGS
6	FAM19A1 (TAF1) 신호 펩티드	MAMVSAMSWV LYLWISACA
7	VEGF-A 신호 펩티드	MNFLLSWVHW SLALLLYLHH AKWSQA

[0375]

서열번호 :	설명	서열
8	피볼린-1 신호 펩티드	MERAAPSRRV PLPLLLLGGL ALLAAGVDA
9	비트로넥틴 신호 펩티드	MAPLRPLLIL ALLAWVALA
10	보체 인자 H 신호 펩티드	MRLAKIICL MLWAICVA
11	옵티신 신호 펩티드	MRLAFLSLL ALVLQETGT
12	알부민 신호 펩티드	MKWVTFISLL FLFSAYS
13	키모트립시노겐 신호 펩티드	MAFLWLLSCW ALLGTTFG
14	인터류킨-2 신호 펩티드	MYRMQLLSCI ALILALVTS
15	트립시노겐-2 신호 펩티드	MNLLILITFV AAVA
16	AAV1	MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWDLKPGAPKPKANQQKQDDGRGLV LPGYKYLGPFGNLDKGEFVNAADAAALEHDKAYDQQLKAGDNPYL YNHADAEFQERLQEDTSFGGNLGRAVFQAKKRVLEPLGLVEEGAKT APGKKRPVEQSPQEPDSSSGIGKIGQQPAKKRLNFGQTGDSESVPD PQPLGEPPATPAAVGPTTMASSGGGAPMADNNEGADGVGNASGNWHC DSTWLGDRVITTTSTRTWALPTYNNHLYKQISSASTGASNDNHYFGY STPWGYFDENRFHCHFSPRDWQRLINNNWGFRPKRLNFKLFNIQVK EVTINDGVTTIANNLSTVQVFSDEYQLPYVLGSAHQGCLPPFP DVFMIPOYGYLTLNNGSQAVGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNTFSY TFEEVPPHSSYAHSSQLDRLMNPLIDQYLYYLNRTQNQSGSAQNKD LLFSRGSPPAGMSVQPKNWLPGPCYRQQRVSKTKTDNNNSNFTWTGA SKYNLNGRESIINPGTAMASHKDDKFFPMMSGVMI FGKESAGASN TALDNVMITDEEEIKATNPVATERFGTVAVNFQSSSTDPATGDVHA MGALPGMVWQDRDVYLQGPWAKIPHTDGHFHPSPLMGGFGLKNPP PQILIKNTVPANPPAEFSATKFASFITQYSTGQVSVIEIEWELQKE NSKRWNPEVQYTSNYAKSANVDFTVDNNGLYTEPRPIGTRYLTRPL
17	AAV2	MAADGYLPDWLEDTLSEGIQWVKLPGPPPPKPAERHKDDSRGLV LPGYKYLGPFGNLDKGEFVNEADAAALEHDKAYDRQLDSGDNPYLK YNHADAEFQERLKEDTSFGGNLGRAVFQAKKRVLEPLGLVEEPVK APGKKRPVEHSPVEPDSSSGTGKAGQPPAKKRLNFGQTGDADSVPD PQPLGQPPAAPSGLTNTMATGSGAPMADNNEGADGVGNSSGNWHC DSTWLGDRVITTTSTRTWALPTYNNHLYKQISSQSGASNDNHYFGYS TPWGYFDENRFHCHFSPRDWQRLINNNWGFRPKRLNFKLFNIQVKE VTQNDGTTTIANNLSTVQVFTDSEYQLPYVLGSAHQGCLPPFPAD VFMVPOYGYLTLNNGSQAVGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNTFSYT

[0376]

서열번호 :	설명	서열
		FEDVFPFHSSYAHSQSLDRLMNPILIDQYLYLSRTNTPSGTTTQSRL QFSQAGASDIRDQSRNWLPGPCYRQQRVSKTSADNNSEYSWTGAT KYHLNGRDLSLVNPGPAMASHKDDDEEKFFPQSGVLIIFGKQGSEKTNV DIEKVMITDEEEIRITNPVATEQYGSVSNLQQRNRQAATADVNTQ GVLPGMVWQDRDVYLQGPWAKIPHTDGHFHPSPLMGGFGLKHPPP QILIKNTPVPANPSTTFSAKFASFITQYSTGQVSVIEWELQKEN SKRWNPFIQYTSNKNVSVNVDFTVDTNGVYSEPRPIGTRYLTRNL
18	AAV3-3	MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWWALKPGVPPQKANQQHQDNRRGLV LPGYKYLGPNGLDKGEFVNEDAAALEHDKAYDQQLKAGDNPYLK YNHADAEFQERLQEDTSFGGNLGRAVFQAKKRILEPLGLVEEAAKT APGKKGAVDQSPQEPDSSSGVGKSGKQPAKRNLNFGQTDSESVPD PQPLGEPAPAPTSLGSNTMASGGGAPMADNNEGADGVGNSSGNWHC DSQWLGDVRVITTTSTRTWALPTYNHLYKQISSQSGASNDNHVFGYS TPWGYFDNRFHCHFSFRDWQRLINNNWGFPRKKLSFKLFNIQVRG VTQNDGTTTTIANNLTSTVQVFTDSEYQLPYVLGSAHQGLPPFPAD VFMVPPQYGYLTLNNGSQAVGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNMFQFSYT FEDVFPFHSSYAHSQSLDRLMNPILIDQYLYLNRTQGTTSSTTQNSR LLFSQAGPQSMQLQARNWLPGPCYRQQRVSKTANDNNNSNFPWTAA SKYHLNGRDLSLVNPGPAMASHKDDDEEKFFPMHGNLIFGKEGTTASN AELDNVMITDEEEIRITNPVATEQYGTVANNLQSSNTAPTGTGVNH QGALPGMVWQDRDVYLQGPWAKIPHTDGHFHPSPLMGGFGLKHPPP PQIMIKNTPVPANPSTTFSPAKFASFITQYSTGQVSVIEWELQKE NSKRWNPFIQYTSNKNVSVNVDFTVDTNGVYSEPRPIGTRYLTRNL
19	AAV4-4	MTDGYLPDWLEDNLSEGVREWWALQPGAPKPKANQQHQDNARGVLV PGYKYLGPNGLDKGEFVNEDAAALEHDKAYDQQLKAGDNPYLK NHADAFFQRLQGDTSFGGNLGRAVFQAKKRILEPLGLVEQAGETA PGKKRPLIESPQQPDSSTGIGKKGKQPAKKLVFEDETGAAGDPPE GSTSGAMSDSEMRAAAGGAAGGGQADGVGNASGDWHCDSWSE GHVITTTSTRTWVLPNTYNHLYKRLGESLQSNNTYNGFSTPWGYFDN RFHCHFSFRDWQRLINNNWGMPPKAMRVKIFNIQVKEVTTSNGETT VANNTSTVQIFADSSYELPYVMDAGQEGSLPPFPNDVFMVPPQYGY CGLVTGNTSQQQTDRNAFYCLEYFPSQMLRTGNMFITYSFEKVPF HSMYAHSQSLDRLMNPILIDQYLWGLQSTTTGTTLNAGTATTNFTKL RPTNFSNFKKNWLPGPSIKQQGFSTANQNYKIPATGSDSLIKYET HSTLDGRWSALTPGPPMATAGPADSKFSNSQLIFAGPKQNGNTATV PGTLIFTSEELAAATNATDTDMWGNLPGGDQSNLPTVDRLTALG AVPGMVWQNRDIYYQGPWAKIPHTDGHFHPSPILGGFGLKHPPPQ IFIKNTPVPANPATTFSSTPVNSFITQYSTGQVSVQIDWEIQKERS KRWNPVQFTSNYQQNSLLWAPDAAGKYTEPRAIGTRYLTHHL
20	AAV5	MSFVDHPPDWLEEVGEGLEFLGLEAGPPKPKPNQQHQDQARGVLV PGYNYLGPNGLDKGEFVNRADEVAREHDSYNEQLEAGDNPYLK NHADAFFQEKLADDTSTFGGNLGAVFQAKKRILEPGLVEEGAKTA PTGKRIDDHFFPKRKKARTEEDSKPSTSSDAEAGPSGSQQLQIPAPQ ASSLGADTMSAGGGGPLGDNNQAGADGVGNASGDWHCDSWMDRVV TKSTRTWVLPSTYNHLYREIKSGSVDGSNANAYFGYSTPWGYFDN RFHSHWSFRDWQRLINNYWGFRRSLRVKIFNIQVKEVTVQDSITT

[0377]

서열번호 :	설명	서열
		IANNLTSTVQVFTDDDDYQLPYVVGNGTEGCLPAFFPPQVFTLPQYGY ATLNRDNTENPTIERSSFFCLEYFPSKMLRTGNNFEFTYNFEEVPPH SSFAPSQNLFLKLANPLVDQYLYRFVSTNNTGGVQFNKNLAGRYANT YKNWFPGPMGRITQGWNLGSGVNRASVSFAFATTNRMELEGASYQVPP QPNGMTNNLQGSNTYALENTMIFNSQPANPGTTATYLEGNMLITSE SETQPVNRVAYNVGGQMATNNQSSSTTAPATGTYNLQEIIVPGSVWME RDVYLQGGPIWAKIPETGAHFHPSAMGGFGLKHPPPMMLIKNTPVP GNITSFSDVPVSSFITQYSTGQVIVEMEWELKKENSKRWNPEIQYT NNYNDPQFVDFAPDSTIGEYRTTRPIGTRYLTRPL
21	AAV6	MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWDLKPGAPKPKANQQKQDDGRGLV LPGYKYLGPFGNLDKGEVNAADAAALEHDKAYDQQLKAGDNPYL YNHADAQFQERLQEDTSFGGNLGRAVFQAKKRVLEPLGLVEEGAKT APGKKRPVEQSPQEPDSSSGIGKTGQQPAKKRLNFGQTGDSESVDP PQPLGEPATPAAVGPTTASGGGAPMADNNEGADGVGNASGNWHC DSTWLGDRVITTTSTRTWALPTYNNHLYKQISSASTGASNDNHVFGY STPWGYFDFNRHCHFSRQDWQRLINNNWGFPRKRLNFKLFNIQVK EVTINDGVTTIANNLSTVQVFSDEYQLPYVLGSAHQGCLPPFPA DVFMIPQYGYLTLLNNGSQAVGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNFTFSY TFEDVPFHSSYAHSQSLDRLMNPLIDQYLYLNRQTQNSGSAQNKD LLFSRGSAPGMSVQPKNWLPGPCYRQQRVSKTKTDNNNSNFTWTGA SKYNLNGRESIINPGTAMASHKDDKDFPFMSGVMI FGKESAGASN TALDNVMTDEEEIKATNPVATERFGTVAVNLQSSSTDPATGDVHV MGALPGMVWQDRDQVYLQGGPIWAKIPHTDGHFHPSPLMGGFGLKHPP PQILIKNTPVPANPPAEFSATKFASFITQYSTGQVSVIEIWELOKE NSKRWNPEVQYTSNYAKSANVDFTVDNNGLYTEPRPIGTRYLTRPL
22	AAV7	MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWDLKPGAPKPKANQQKQDNGRGLV LPGYKYLGPFGNLDKGEVNAADAAALEHDKAYDQQLKAGDNPYL YNHADAQFQERLQEDTSFGGNLGRAVFQAKKRVLEPLGLVEEGAKT APAKKRPVEFSPQSPDSSTGIGKKGQGPARKRLNFGQTGDSESVDP DPQPLGEPAPAPSSVSGSTVAAGGGAPMADNNEGADGVGNASGNWH CDSTWLGDRVITTTSTRTWALPTYNNHLYKQISSETAGSTNDNTYFG YSTPWGYFDFNRHCHFSRQDWQRLINNNWGFPRKRLNFKLFNIQVK KEVTINDGVTTIANNLSTIQVFSDEYQLPYVLGSAHQGCLPPFP ADVFMI PQYGYLTLLNNGSQSVGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNFEFS YSFEDVPFHSSYAHSQSLDRLMNPLIDQYLYLARTQSNPGGTAGN RELQFYQGGPSTMAEQAKNWLPGPCFRQQRVSKTLDQNNNSNFAWT GATKYHLNGRNSLVNPGVAMATHKDDERFFPSSGVLFKGKTGATN KTTLENVMTNEEEIRPTNPVATEEYGIYSSNLQAANTAAQTQVNV NQALPGMVWQNRDQVYLQGGPIWAKIPHTDGNFHPSPLMGGFGLKHPP PPQILIKNTPVPANPPPEVFTPAKFASFITQYSTGQVSVIEIWELOKE ENSKRWNPEIQYTSNFEKQTGVDFAVDSQGVYSEPRPIGTRYLTRN L
23	AAV8	MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWDLKPGAPKPKANQQKQDDGRGLV LPGYKYLGPFGNLDKGEVNAADAAALEHDKAYDQQLQAGDNPYL YNHADAQFQERLQEDTSFGGNLGRAVFQAKKRVLEPLGLVEEGAKT APGKKRPVEFSPQSPDSSTGIGKKGQGPARKRLNFGQTGDSESVDP

[0378]

서열번호 :	설명	서열
		DPQPLGEPPAAPSGVGPNTMAAGGGAFMADNNEGADGVGSSSGNWH CDSTWLGDRVITTSRTWALPTYNNHLYKQISNGTSGGATNDNTYF GYSTPWGYFDNRFHCHFSRQWQRLINNNWGFRPKRLSFKLFNIQ VKEVTQNEGKTIANNLSTIQVFTDSEYQLPYVLGSAHQGCLPPF PADVFMIPOYGYLTLLNNGSQAVGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNFQF TYTFEDVPFHSSYAHSSQLDRLMNPIDQYLYLSRTQTTGGTANT QTLGFSQGGPNTMANQAKNWLPGPCYRQQRVSTTTGQNNNSNFAWT AGTKYHLNGRNSLANPGIAMATHKDDDEERFFPSNGILIFGKQNAAR DNADYSVMILTSEEEIKTTNPFVATEEYGVADNLQQQNTAPQIGTV NSQGALPGMVWQNRDVYLQGPWIWAKIPHTDGNFHPSPLMGGFGLKH PPPQILIKNTFVPADPPTTFNQSKLNSFITQYSTGQVSVEIEWELQ KENSKRWNPFIQYTSNYYKSTSVDFAVNTGVYSEPRPIGTRYLTR NL
24	hu31	MAADGYLPDWLEDTLSEGIQWVKLKPFPFPKPAERHKDDSRGLV LPGAQYLGPGNGLDKGEVNAADAAALEHDKAYDQQLKAGDNPYLK YNHADAEPQERLKEDTSFGGNLGRAVFQAKKRLLPLGLVEEAAKT APGKKRPVEQSPQEPDSSAGIGKSGSQPAKKKLNFQGTGDTESVPD PQPIGEPPAAPSGVGSLLTMAAGGGAPVADNNEGADGVGSSSGNWHC DSQWLGDVITTSRTWALPTYNNHLYKQISNSTSGGSSNDNAYFG YSTPWGYFDNRFHCHFSRQWQRLINNNWGFRPKRLNFKLFNIQV KEVIDNNGVKTIANNLSTVQVFTDSYQLPYVLGSAHEGCLPPFP ADVFMIPOYGYLTLLNNGSQAVGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNFQFS YEFENVPFHSSYAHSSQLDRLMNPIDQYLYLSKTINGSGQNQQT LKFSVAGPSNMVQGRNYPGPSPYRQQRVSTTVTQNNNSEFAWPGA SSWALNGRNSLMNPGPAMASHKEGEDRFFPLSGSLIFGKQGTGRDN VDADKVMITNEEEIKTTNPFVATESYGVQVATNHQSAQAQAQTGWVQN QGILPGMVWQDRDVYLQGPWIWAKIPHTDGNFHPSPLMGGFGMKHPP PQILIKNTFVPADPPTAFNKKDLNSFITQYSTGQVSVEIEWELQKE NSKRWNPEIQYTSNYYKSNNVEFAVSTGVYSEPRPIGTRYLTRNL
25	hu32	MAADGYLPDWLEDTLSEGIQWVKLKPFPFPKPAERHKDDSRGLV LPGAQYLGPGNGLDKGEVNAADAAALEHDKAYDQQLKAGDNPYLK YNHADAEPQERLKEDTSFGGNLGRAVFQAKKRLLPLGLVEEAAKT APGKKRPVEQSPQEPDSSAGIGKSGSQPAKKKLNFQGTGDTESVPD PQPIGEPPAAPSGVGSLLTMAAGGGAPVADNNEGADGVGSSSGNWHC DSQWLGDVITTSRTWALPTYNNHLYKQISNSTSGGSSNDNAYFG YSTPWGYFDNRFHCHFSRQWQRLINNNWGFRPKRLNFKLFNIQV KEVIDNNGVKTIANNLSTVQVFTDSYQLPYVLGSAHEGCLPPFP ADVFMIPOYGYLTLLNNGSQAVGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNFQFS YEFENVPFHSSYAHSSQLDRLMNPIDQYLYLSKTINGSGQNQQT LKFSVAGPSNMVQGRNYPGPSPYRQQRVSTTVTQNNNSEFAWPGA SSWALNGRNSLMNPGPAMASHKEGEDRFFPLSGSLIFGKQGTGRDN VDADKVMITNEEEIKTTNPFVATESYGVQVATNHQSAQAQAQTGWVQN QGILPGMVWQDRDVYLQGPWIWAKIPHTDGNFHPSPLMGGFGMKHPP PQILIKNTFVPADPPTAFNKKDLNSFITQYSTGQVSVEIEWELQKE NSKRWNPEIQYTSNYYKSNNVEFAVNTGVYSEPRPIGTRYLTRNL

[0379]

서열번호 :	설명	서열
26	AAV9	MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWALKPGAPQPKANQQHQDNARGLV LPGYKYLGPNGNLDKGEFVNAADAAALEHDKAYDQQLKAGDNPYLK YNHADAEFQERLKEDTSFGGNLGRAVFQAKKRLLLEPLGLVEEAAKT APGKKRPVEQSPQEPDSSAGIGKSGAQPAKKRLNFGQTGDTESVPD PQPIGEPPAAPSGVGSLLIMASGGGAPVADNNEGADGVGSSSGNWHC DSQNLGDRVITTTSTRITWALPTYNHLYKQISNSTSGGSSNDNAYFG YSTFWGYFDFNRFHCHFSPRDWQRLINNNWGFREPRLNFKLFNIQV KEVTDNNGVKTIANNLTSTVQVFTDSQYQLPVVLGSAHEGCLPFPF ADVFMIPQYGYLTLDGSAQVGRSSFYCLEYFSPQMLRTGNNFQFS YEFENVPFHSSYAHSQSLDRIMNPLIDQVLYYLSKTINGSGQNQQT LKFSVAGPSNMMAVQGRNYIPGPSYRQQRVSTTVIQNNSEFAWPGA SSWALNGRNSLMNPGPAMASHKEGEDRFFPLSGSLIFGKQGTGRDN VDADKVMITNEEEIKTTNPVATESYQVATNHQSAQAQAQTGWVQN QGILPGMVQDRDQVYLQGPWAKIPHTDGNFHPSPLMGGFGMKHFP PQILIKNTVPADPPTAFNKDKLNSFITQYSTGQVSVIEWELQKE NSKRWNPEIQYTSNYYKSNNVEFAVNTEGVYSEPRPIGTRYLTRNL
27	SP P22304 IDS_인간 [호모 사피엔스]	MPPFRTGRGLLWLGLVLSVCVALGSETQANSTTDALNVLLIIVDD LRPSLGCYGDKLVRSPNIDQLASHSLLFQNAFAQQAVCAPSRVSFL TGRRPDTTRLYDFNSYWRVHAGNFSTIPQYFKENG YVIMSVGKVFH PGISSNHTDDSPYSWSFPPYHPSSEKYENTKTCRGPDGELHANLLC PVDVLDVPEGTLDPKQSTEQAIIQLEKMKTSASPFFLAVGYHKPHI PFRYPKEFQKLYPLENITLAPDPEVPDGLPPVAYNPWMDIRQREDV QALNISVPYGPPIPVDFQRKIRQSYFASVSYLDTQVGRLLSALDDLQ LANSTIIAFTSDHGWALGEHGEWAKYSNFDVATHVPLIFYVPGRTA SLPEAGEKLFYLDPFDSASQLEMPGRQSMDELVELVSLFPTLAGLA GLQVPPRCVPVPSFHVELCREGKNLLKHFRFRDLEEDPYLPGNPREL IAYSQYPRPSDIPQWNSDKPSLKDIIKIMGYSIRTIIDRYTVWVGFN PDEFLANFSDIHAGELYFVDSDPDQDHNMYNDSQGGDLFQLLMP
28	TR K6ZG19_PANTR [판 트로글로다이츠 (침팬지)]	MPPFRTGRGLFWLGLVLSVCVALGSETQANSTTDALNVLLIIVDD LRPSLGCYGDKLVRSPNIDQLASHSLLFQNAFAQQAVCAPSRVSFL TGRRPDTTRLYDFNSYWRVHAGNFSTIPQYFKENG YVIMSVGKVFH PGISSNHTDDSPYSWSFPPYHPSSEKYENTKTCRGPDGELHANLLC PVDVLDVPEGTLDPKQSTEQAIIQLEKMKTSASPFFLAVGYHKPHI PFRYPKEFQKLYPLENITLAPDPEVPDGLPPVAYNPWMDIRQREDV QALNISVPYGPPIPVDFQRKIRQSYFASVSYLDTQVGRLLSALDDLQ LANSTIIAFTSDHGWALGEHGEWAKYSNFDVATHVPLMFYVPGRTA SLPEAGEKLFYLDPFDSASQLEMPGRQSMDELVELVSLFPTLAGLA GLQAPPRCPVPSFHVELCREGKNLLKHFRFRDLEEDPYLPGNPREL IAYSQYPRPSDIPQWNSDKPSLKDIIKIMGYSIRTIIDRYTVWVGFN PDEFLANFSDIHAGELYFVDSDPDQDHNMYNDSQGGDLFQLLMP
29	TR K7BKV4_PANTR [판 트로글로다이츠 (침팬지)]	MPPFRTGRGLFWLGLVLSVCVALGSETQANSTTDALNVLLIIVDD LRPSLGCYGDKLVRSPNIDQLASHSLLFQNAFAQQAVCAPSRVSFL TGRRPDTTRLYDFNSYWRVHAGNFSTIPQYFKENG YVIMSVGKVFH PGISSNHTDDSPYSWSFPPYHPSSEKYENTKTCRGPDGELHANLLC PVDVLDVPEGTLDPKQSTEQAIIQLEKMKTSASPFFLAVGYHKPHI PFRYPKEFQKLYPLENITLAPDPEVPDGLPPVAYNPWMDIRQREDV QALNISVPYGPPIPVDFQRKIRQSYFASVSYLDTQVGRLLSALDDLQ LANSTIIAFTSDHGWALGEHGEWAKYSNFDVATHVPLMFYVPGRTA

[0380]

서열번호 :	설명	서열
		SLPEAGEKLFPPYLDPFDSASQLMEPGRQSMDELVELVSLFPTLAGLA GLQAPPRCPVPSPFHVELCREGKNLLKHFRFRDLEEDPYLPGNPREL IAYSQYPRPSDIPQWNSDKPSLKD IKIMGYSIRTIDYRYT VWIGFN PDEFLANFSDIHAGELYFVDS DPLQDHNMYNDSQGGDLFQLLMP
30	TR H9FTX2_MACM U [마카카 몰라타 (붉은 털원숭이)]	MPTPGSGRGFLWLGLVLSVVCVALGCETQANSTTDALNILLIIVDD LRPSLGCYGDKLVRSPNIDQLASHSLLFQNAFAQQAVCAPSRVSFL TGRRPDTTRLYDFNSYWRVHAGNFSTIPQYFKENGYVTMSVGKVFH PGITSNHTDDSPYSWSFPPYHPSSEKYENTKTCRGPDELHANLLC PVDVVDVPEGTLDPKQSTEQAQIQLLEKMKTSASPPFLAVGYHKPHI PFRYPKEFQKLYPLENITLAPDSEVPDGLPPVAYNPNWMDIRQREDV QALNISVPYGPPIPVDFQKIRQSYFASVSYLDTQVGRLLSALDDLO LANSTIVAFTSDHGWALGEHGEWAKYSNFDVATHVPLMFYVPGRTA SLPEAGEKLFPPYLDPFDSASELMEPGRQSMDELVELVSLFPTLAGLA GLQVPPRCVPVPSPFHVELCREGKNLLKHFRFRDLEEDPYLPGNPREL IAYSQYPRPADFPQWNSDKPSLKD IKIMGYSIRTIDYRYT VWIGFN PDEFLANFSDIHAGELYFVDS DPLQDHNMYNDSQGGDLFQLLMP
31	TR F7EJG2 CALJA [비단 마모셋 (흰털귀 마모셋)]	MPPFRTSRCLLLLGLVLSVVCVTLGSAQASSTTDALNVLLIIVDD LRPSLGCYGDKLVRSPNIDQLASHSLLFQNAFAQQAVCAPSRVSFL TGRRPDTTRLYDFNSYWRVHAGNFSTIPQYFKDNGYVTMSVGKVFH PGISSNHSDSPYSWSFPPYHPSSEKYENTKTCRGPDELHANLLC PVDVVDVPEGTLDPKQSTEAAIRLLEKMKTSASPPFLAVGYHKPHI PFRYPKEFQKLYPLENITLAPDPEVPDGLPPVAYNPNWMDIRQREDV QALNISVPYGPPIPVDFQKIRQSYFASVSYLDTQVGHLLSALDDLO LANSTIVAFTSDHGWALGEHGEWAKYSNFDVATRVPVPLMFYVPGRTA SLPEADEKLFPPYVDPFHSASELMEPGRQSMDELVELVSLFPTLAGLA GLQVPPRCVPVPSPFHVELCREGKSLKHF RFHGLEEDPYLPGNPREL IAYSQYPRPADFPQWNSDKPSLKYIKIMGYSIRTVDYRYT VWIGFN PDEFLANFSDIHAGELYFVDS DPLQDHNMYNDSQGGELFQSLMP
32	TR U3DTL8 CALJA [비단 마모셋 (흰털귀 마모셋)]	MPPFRTSRCLLLLGLVLSVVCVTLGSAQASSTTDALNVLLIIVDD LRPSLGCYGDKLVRSPNIDQLASHSLLFQNAFAQQAVCAPSRVSFL TGRRPDTTRLYDFNSYWRVHAGNFSTIPQYFKDNGYVTMSVGKVFH PGISSNHSDSPYSWSFPPYHPSSEKYENTKTCRGPDELHANLLC PVDVVDVPEGTLDPKQSTEAAIRLLEKMKTSASPPFLAVGYHKPHI PFRYPKEFQKLYPLENITLAPDPEVPDGLPPVAYNPNWMDIRQREDV QALNISVPYGPPIPVDFQKIRQSYFASVSYLDTQVGHLLSALDDLO LANSTIVAFTSDHGWALGEHGEWAKYSNFDVATRVPVPLMFYVPGRTA SLPEADEKLFPPYVDPFHSASELMEPGRQSMDELVELVSLFPTLAGLA GLQVPPRCVPVPSPFHVELCREGKSLKHF RFHGLEEDPYLPGNPREL IAYSQYPRPADFPQWNSDKPSLKYIKIMGYSIRTVDYRYT VWIGFN PDEFLANFSDIHAGELYFVDS DPLQDHNMYNDSQGGELFQSLMP
33	TR G7NRX7 MACM U [마카카 몰라타 (붉은 털원숭이)]	MPTPGSGRGFLWLGLVLSVVCVALGCETQANSTTDALNILLIIVDD LRPSLGCYGDKLVRSPNIDQLASHSLLFQNAFAQQAVCAPSRVSFL TGRRPDTTRLYDFNSYWRVHAGNFSTIPQYFKENGYVTMSVGKVFH PGITSNHTDDSPYSWSFPPYHPSSEKYENTKTCRGPDELHANLLC PVDVVDVPEGTLDPKQSTEQAQIQLLEKMKTSASPPFLAVGYHKPHI PFRYPKEFQKLYPLENITLAPDSEVPDGLPPVAYNPNWMDIRQREDV QALNISVPYGPPIPVDFQKIRQSYFASVSYLDTQVGRLLSALDDLO LANSTIVAFTSDHGWALGEHGEWAKYSNFDVATHVPLMFYVPGRTA SLPEAGEKLFPPYLDPFDSASELMEPGRQSMDELVELVSLFPTLAGLA

[0381]

서열번호 :	설명	서열
		GLQVPPRCVPVPSFHVLCREGKNLLKHFRFRDLEEDPYLPGNPREL IAYSQYPRPADFPQWNSDKPSLKDIIKIMGYSIRITIDYRYTVWVGFN PDEFLANFSDIHAGELYFVDSDDLQDHNMYNDSQGGDLQLLLMP
34	TR G7Q1V9 MACFA [필리핀 원숭이 (게잡이 원숭이; 사이노몰로구스 원숭이)]	MPTPGSGRGFLWLGLVLSVCVALGSETQANSTTDALNILLIIVDD LRPSLGCYGDKLVRSPNIDQLASHSLLFQNAFAQQAVCAPSRVSFL TGRRPDTTRLYDFNSYWRVHAGNFSTIPQYFKENGYSVMSVGKVFH PGITSNHTDDSPYSWSFPPYHPSSEKYENTKTCRGPDGELHANLLC PVDVVDVPEGTLDPKQSTEQAIQLEKMKTSASPFLLAVGYHKPHI PFRYPKEFQKLYPLENITLAPDSEVPDGLPPVAYNPWMDIRQREDV QALNISVPYGPPIPVDFQKIRQSYFASVSYLDTQVGRLLSALDDLQ LANSTIIAFTSDHGWALGEHGEWAKYSNFDVATHVPLMFYVPGRTA SLPEAGEKLFYLDPFDSASELMEPGRQSMDLVSLVSLFPTLAGLA GLQVPPRCVPVPSFHVLCREGKNLLKHFRFRDLEEDPYLPGNPREL IAYSQYPRPADFPQWNSDKPSLKDIIKIMGYSIRITIDYRYTVWVGFN PDEFLANFSDIHAGELYFVDSDDLQDHNMYNDSQGGDLQLLLMP
35	TR H2PX10 PONAB [폰고 아벨리이 (수마트라 오랑우탄)]	MPPPRTGRLWLGLVLSVCVALGSETQADSTTDGLNVLLIIVDD LRPSLGCYGDKLVRSPNIDQLASHSLLFQNAFAQQAVCAPSRVSFL TGRRPDTTRLYDFNSYWRVHAGNFSTIPQYFKENGYSVMSVGKVFH PGISSNHTDDSPYSWSFPPYHPSSEKYENTKTCRGPDGELHANLLA KKMCWMFPRAPCCDKQSTEQAIQLEKMKTSASPFLLAVGYHKPHI PFRYPKEFQKLYPLENITLAPDSEVPDGLPPVAYNPWMDIRQREDV QALNISVPYGPPIPVDFQKIRQSYFASVSYLDTQVGRLLSALDDLQ LANSTIIAFTSDHGWALGEHGEWAKYSNFDVATHVPLMFYVPGRTA SLPEAGEKLFYLDPFDSASELMEPGRQSMDLVSLVSLFPTLAGLA GLQVPPRCVPVPSFHVLCREGKNLLKHFRFRDLEEDPYLPGNPREL IAYSQYPRPADFPQWNSDKPSLKDIIKIMGYSIRITIDYRYTVWVGFN PDEFLANFSDIHAGELYFVDSDDLQDHNMYNDSQGGDLQLLLMP
36	TR A0A0D9R4D1 C HLSB [사바나 원숭이 (녹색 원숭이)]	MPTPGSGRGFLWLGLVLSVCVALGSETQANSTTDALNILLIIVDD LRPSLGCYGDKLVRSPNIDQLASHSLLFQNAFAQQAVCAPSRVSFL TGRRPDTTRLHNFNSYWRVHAGNFSTIPQYFKENGYSVMSVGKVFH PGITSNHTDDSPYSWSFPPYHPSSEKYENTKTCRGPDGELHANLLC PVDVVDVPEGTLDPKQSTEQAIQLEKMKTSASPFLLAVGYHKPHI PFRYPKEFQKLYPLENITLAPDSEVPDGLPPVAYNPWMDIRQREDV QALNISVPYGPPIPVDFQKIRQSYFASVSYLDTQVGRLLSALDDLQ LANSTIIAFTSDHGWALGEHGEWAKYSNFDVATHVPLMFYVPGRTA SLPEAGEKLFYLDPFDSASELMEPGRQSMDLVSLVSLFPTLAGLA GLQVPPRCVPVPSFHVLCREGKNLLKHFRFRDLEEDPYLPGNPREL IAYSQYPRPADFPQWNSDKPSLKDIIKIMGYSIRITIDYRYTVWVGFN PDEFLANFSDIHAGELYFVDSDDLQDHNMYNDSQGGDLQLLLMP
37	TR G1RST8 G1RST8 NOMLE [노마스쿠스 류코제니스 (북부 흰뺨 긴팔 원숭이)]	MSPPRTGQGLLWLGLVLSVCVAVTSPKPPSFVDALNVLLIIVDD LRPSLGCYGDKLVRSPNIDQLASHSLLFQNAFAQQAVCAPSRVSFL TGRRPDTTRLYDFNSYWRVHAGNFSTIPQYFKENGYSVMSVGKVFH PGISSNHTDDSPYSWSFPPYHPSXXXXXXKTCRGPDGELHANLLC PVDVLDVPEGTLDPKQSTEQAIQLEKMKTSASPFLLAVGYHKPHI PFRYPKEFQKLYPLENITLAPDSEVPDGLPPVAYNPWMDIRQREDV QALNISVPYGPPIPVDFQKIRQSYFASVSYLDTQVGRLLSALDDLQ LANSTIIAFTSDHGWALGEHGEWAKYSNFDVATHVPLMFYVPGRTA SLPEAGEKLFYLDPFDSASELMEPGRQSMDLVSLVSLFPTLAGLA GLQVPPRCVPVPSFHVLCREGKNLLKHFRFRDLEEDPYLPGNPREL

[0382]

서열번호 :	설명	서열
38	UPI0000D9F625 [마카카 몰라타 (붉은 털원숭이)]	IAYSQYPRPADIPQWNSDKPSLKDIIKIMGYSIRTIDYRYTVWVGFS PDEFLANFSDIHAGELYFVDS DPLQDHNMYNDSQGGDLFQLLMP MPTFGSGRGFLWLGLVLS SVCVALGCETQANSTTDALNILLIIVDD LRPSLGCYGDKLVRSPNIDQLASHSLLFQNAFAQQAVCAPSRVSFL TGRRPDTTRLYDFNSYWRVHAGNFSTIPQYFKENG YVTMSVGKV FH PGITSNHTDDSPYSWSFPPYHPSSEKYENTKT CRGPDGELHANLLC PVDVVDVPEGTLDPKQSTEQAIIQLLEKMKTSASPF FLAVGYHKPHI PFRYPKEFQKLYPLENITLAPDSEVPDGLPPVAYNPWMDIRQREDV QALNISVPYGPPIPVDFQQRKIRQSYFASVSYLDTQVGHLLSALDDLQ LANSTIVAFTSDHGWALGEHGEWAKYSNFDVATHVPLMFYVPGRTA SLPEAGEKLFPPYLDPFDSASELMEPGRQSMDLVELVSLFPTLAGLA GLQVPPRCVPVPSFHVELCREGKNLLKHFRFRDLEEDPYLPGNPREL IAYSQYPRPADFPQWNSDKPSLKDIIKIMGYSIRTIDYRYTVWVGFN PDEFLANFSDIHAGELYFVDS DPLQDHNMYNDSQGGDLQLLMP
39	UPI000274358B [Pan paniscus (피그미 침팬지; 보노보)]	MPPFRTGRGLLWLGLVLS SVCVALGSETQANSTTDALNVLLIIVDD LRPSLGCYGDKLVRSPNIDQLASHSLLFQNAFAQQAVCAPSRVSFL TGRRPDTTRLYDFNSYWRVHAGNFSTIPQYFKENG YVTMSVGKV FH PGISSNHTDDSPYSWSFPPYHPSSEKYENTKT CRGPDGELHANLLC PVDVLDVPEGTLDPKQSTEQAIRLLEKMKTSASPF FLAVGYHKPHI PFRYPKEFQKLYPLENITLAPDSEVPDGLPPVAYNPWMDIRQREDV QALNISVPYGPPIPVDFQQRKIRQSYFASVSYLDTQVGRLLSALDDLQ LANSTIIAFTSDHGWALGEHGEWAKYSNFDVATHVPLMFYVPGRTA SLPEAGEKLFPPYLDPFDSASQLMEPGRQSMDLVELVSLFPTLAGLA GLQVPPRCVPVPSFHVELCREGKNLLKHFRFRDLEEDPYLPGNPREL IAYSQYPRPADFPQWNSDKPSLKDIIKIMGYSIRTIDYRYTVWVGFN PDEFLANFSDIHAGELYFVDS DPLQDHNMYNDSQGGDLFQLLMP
40	UPI00027F6FC5 [파피오 아누비스 (올리브 개코원숭이)]	MPTFGSGRGFLWLGLVLS SVCVALGCETQANSTTDALNILLIIVDD LRPSLGCYGDKLVRSPNIDQLASHSLLFQNAFAQQAVCAPSRVSFL TGRRPDTTRLYDFNSYWRVHAGNFSTIPQYFKENG YVTMSVGKV FH PGITSNHTDDSPYSWSFPPYHPSSEKYENTKT CRGPDGELHANLLC PVDVVDVPEGTLDPKQSTEQAIIQLLEKMKTSASPF FLAVGYHKPHI PFRYPKEFQKLYPLENITLAPDSEVPDGLPPVAYNPWMDIRQREDV QALNISVPYGPPIPVDFQQRKIRQSYFASVSYLDTQVGRLLSALDDLQ LANSTIVAFTSDHGWALGEHGEWAKYSNFDVATHVPLMFYVPGRTA SLPEAGEKLFPPYLDPFDSASELMEPGRQSMDLVELVSLFPTLAGLA GLQVPPRCVPVPSFHVELCREGKNLLKHFRFRDLEEDPYLPGNPREL IAYSQYPRPADFPQWNSDKPSLKDIIKIMGYSIRTIDYRYTVWVGFN PDEFLANFSDIHAGELYFVDS DPLQDHNMYNDSQGGDLFQLLMP
41	UPI00027FAE03 [검은머리 다람쥐 원숭이 (볼리비아 다람쥐 원숭이)]	MPPFRTGLCLLLLGLVLGSVCVTLGSAQANSTTDALNVLLIIVDD LRPSLGCYGDKLVRSPNIDQLASHSLLFQNAFVQAVCAPSRVSFL TGRRPDTTRLYDFNSYWRVHAGNFSTIPQYFKDNG YVTMSVGKV FH PGISSNHSDDSPYSWSFPPYHPSSEKYENTKT CRGPDGELHANLLC PVDVVDVPEGTLDPKQSTEEAIRLLKMKTSASPF FLAVGYHKPHI PFRYPKEFQKLYPLENITLAPDSEVPDGLPPVAYNPWMDIRQREDV QALNISVPYGPPIPVDFQQRKIRQSYFASVSYLDTQVGHLLSALDDLH LANSTIVAFTSDHGWALGEHGEWAKYSNFDVATHVPLMFYVPGRTA SLPETGEKLFPPYVDFPHSASELMEPGRQSTD LVELVSLFPTLAGLA GLQVPPRCVPVPSFHIELCREGKNLLKHFRFHGLEEDPYLPGNPREL

[0383]

서열번호 :	설명	서열
42	UPI0003ABBF28 [필리핀 원숭이 (게잡이 원숭이; 사이노몰로구스 원숭이)]	IAYSQYPRPADFFQQNSDKPSLKYIKIMGYSIRTVDRYTVWVGFN PDEFLANFSDIHAGELYFVDSDDLQDHNMYNDSQGGELFQSLMP MPTFGSGRGFLWLGLVLSVCVALGCETQANSTTDALNILLIIVDD LRPSLGCYGDKLVRSPNIDQLASHSLLFQNAFAQEAVCAPSRSVSFL TGRRPDTRLYDFNSYWRVHAGNFSTIPQYFKENGYSVMSVGKVFH PGITSNHTDDSPYSWSFPPYHPSSEKYENTKTCRGPDELHANLLC PVDVVDVPEGTLDPKQSTEQAIIQLLEKMKTSASPFLLAVGYHKPHI PFRYPKEFQKLYPLENITLAPDSEVPDGLPPVAYNPWMDIRQREDV QALNISVPYGPPIPVDFQKIRQSYFASVSYLDTQVGHLLSALDDLQ LANSTIVAFTSDHGWALGEHGEWAKYSNFDVATHVPLMFYVPGRTA SLPEAGEKLFPPYLDPFDSASELMEPGRQSMDELVELVSLFPTLAGLA GLQVPPRCVPVPSFHVELCREGKNLLKHFRDLEEDPYLPGNPREL IAYSQYPRPADFFQWNSDKPSLKDIIKIMGYSIRTIIDYRYTVWVGFN PDEFLANFSDIHAGELYFVDSDDLQDHNMYNDSQGGDLFQLLMP
43	UPI000533297F [리노피테쿠스 룩셀라나 (황금 들창크 원숭이; 피가트릭스 룩셀라나)]	MPTFASGRGFLWLGLVLSVCVALGSETQANSTTDALNILLIIVDD LRPSLGCYGDKLVRSPNIDQLASHSLLFQNAFAQQAACAPSRSVSFL TGRRPDTRLYDFNSYWRVHAGNFSTIPQYFKENGYSVMSVGKVFH PGITSNHTDDSPYSWSFPPYHPSSEKYENTKTCRGPDELHANLLC PVDVVDVPEGTLDPKQSTEQAIIQLLEKMKTSASPFLLAVGYHKPHI PFRYPKEFQKLYPLENITLAPDSEVPDGLPPVAYNPWMDIRQREDV QALNISVPYGPPIPVDFQKIRQSYFASVSYLDTQVGHLLSALDDLQ LANSTIVAFTSDHGWALGEHGEWAKYSNFDVATHVPLMFYVPGRTA SLPEAGEKLFPPYLDPFDSASELMEPGRQSMDELVELVSLFPTLAGLA GLQVPPRCVPVPSFHVELCREGKNLLKHFRDLEEDPYLPGNPREL IAYSQYPRPADFFQWNSDKPSLKDIIKIMGYSIRTIIDYRYTVWVGFN PDEFLANFSDIHAGELYFVDSDDLQDHNMYNDSQGGDLFQLLMP
44	UPI0005F40BD2 [콜로부스 안골렌시스 팔리에이츠 (피터스 안골란 콜로부스)]	MPTFASGRGFLWLGLVLSVCVALGSETQANSTTDALNILLIIVDD LRPSLGCYGDKLVRSPNIDQLASHSLLFQNAFAQQAACAPSRSVSFL TGRRPDTRLYDFNSYWRVHAGNFSTIPQYFKENGYSVMSVGKVFH PGITSNHTDDSPYSWSFPPYHPSSEKYENTKTCRGPDELHANLLC PVDVVDVPEGTLDPKQSTEQAIIQLLEKMKTSASPFLLAVGYHKPHI PFRYPKEFQKLYPLENITLAPDSEVPDGLPPVAYNPWMDIRQREDV QALNISVPYGPPIPVDFQKIRQSYFASVSYLDTQVGHLLSALDDLQ LANSTIVAFTSDHGWALGEHGEWAKYSNFDVATHVPLMFYVPGRTA SLPEAGEKLFPPYLDPFDSASELMEPGRQSMDELVELVSLFPTLAGLA GLQVPPRCVPVPSFHVELCREGKNLLKHFRDLEEDPYLPGNPREL IAYSQYPRPADFFQWNSDKPSLKDIIKIMGYSIRTIIDYRYTVWVGFN PDEFLANFSDIHAGELYFVDSDDLQDHNMYNDSQGGDLFQLLMP
45	CB7.CIhIDS.RBG (2)..(131) 5' ITR (199)..(580) CMV IE 프로모터 (583)..(864) CB 프로모터	gctgcgcgcct cgcgcgcctca ctgaggccgc cggggcaaaag cccgggcgctc gggcgacatt 60 tggtcgcccg gcctcagtga gcgagcgagc ggcgagagag ggagtgggca actccatcac 120 taggggttcc ttgtagttaa tgattaaccc gccatgctac ttatctacca gggtaatggg 180 gatcctctag aactatagct agtcgacatt gattattgac tagttattaa tagtaatcaa 240

[0384]

서열번호 :	설명	서열
	(837)..(840) TATA_신호	ttacgggggc attagttcat agcccatata tggagttcog cgttacataa cttacggtaa 300
	(959)..(1930) 닭 베타-액틴 인트론	atggccccgc tggctgacgc cccaacgacc cccgcccatt gacgtcaata atgacgtatg 360
	(1937)..(3589) hIDS	ttcccatagt aacgccaata gggactttcc attgacgtca atgggtggac tatttacggt 420
	(3623)..(3749) 토끼 글로빈 polyA	aaactgcccc cttggcagta catcaagtgt atcatatgcc aagtacgccc cctattgacg 480
	(3838)..(3967) 3' ITR	tcaatgacgg taaatggccc gcctggcatt atgcccagta catgacctta tgggactttc 540
		ctacttggca gtacatctac gtattagtca togctattac catggtcgag gtgagcccca 600
		cgttctgctt cactctcccc atctcccccc cctccccacc cccaattttg tatttattta 660
		ttttttaatt attttgtgca gcgatggggg cggggggggg ggggggggcg gcgccaggcg 720
		gggcggggcg gggcgagggg cggggcgggg cgaggcggag aggtgcgggc gcagccaatc 780
		agagcggcgc gctccgaaag ttctctttta tggcgaggcg gcggcggcg cggccctata 840
		aaaagcgaag cgcgcggcg gcggggagtc gctgcgacgc tgccttcgcc ccgtgccccg 900
		ctccgcgcgc gcctcgcgcc gcccgccccg gctctgactg accgcgttac tcccacaggt 960
		gagcggggcg gacggccctt ctctccggg ctgtaattag cgcttggttt aatgacggct 1020
		tgttttcttt ctgtggctgc gtgaaagcct tgaggggctc cgggagggcc ctttgtgcgg 1080
		ggggagcggc tcgggggggtg cgtgcgtgtg tgtgtgcgtg gggagcgccg cgtgcggctc 1140
		cgcgctgccc ggccggctgtg agcgtgcgg gcgoggcgcg gggctttgtg cgctccgcag 1200

[0385]

서열번호 :	설명	서열
		tgtgcgcgag gggagcgcgg ccggggggcgg tgccccgcgg tgcgggggggg gctgcgaggg 1260 gaacaaaggc tgcgtgcggg gtgtgtgcgt ggggggggtga gcaggggggtg tgggcgcgtd 1320 ggtcggggtg caaccccccc tgcaccccccc tccccgagtt gctgagcacg gcccggttc 1380 ggggtgcgggg ctccgtacgg ggcggtggcg ggggctcgcc gtgccggggc gggggtggcg 1440 gcagggtgggg gtgccgggcg gggcggggcc gcctcgggcc ggggaggggt cgggggaggg 1500 gcgcgggggc ccccgagcgg ccggcggtcg tcgagggcgc gcgagccgca gccattgcct 1560 tttatggtaa tcgtgcgaga gggcgcaggg acttcctttg tcccaaattc gtgcggagcc 1620 gaaatctggg aggcgcgcgc gcaccccccc tagcggggcg ggggcgaagc ggtgcggcgc 1680 cggcaggaag gaaatgggcg ggagggccct tcgtgcgtcg ccgcgcgcgc gtccccctct 1740 ccctctccag cctcgggggt gtccgcgggg ggaaggctgc cttcgggggg gacggggcag 1800 ggcgggggtc ggcttctggc gtgtgaccgg cggctctaga gcctctgcta accatgttca 1860 tgccttcttc ttttctctac agctcctggg caacgtgctg gttattgtgc tgtctcatca 1920 ttttgcaaaa gaattcatgc cggcaccgcc gacgggcga ggccttctct ggtgggtct 1980 ggttctgagc tcgtctgcg tcgccctcgg atccgaaaag caggccaact cgaaccacaga 2040 tgctctgaac gttcttctca tcacgttga tgacctgccc ccctccctgg gctgttatgg 2100 ggataagctg gtgaggtccc caaatattga ccaactggca tcccacagcc tctcttcca 2160

[0386]

서열번호 :	설명	서열
		gaatgccttt ggcagcaag cagtgtgccc cccgagccgc gtttctttcc tcaactggcag 2220 gagacctgac accacccgcc tgtacgactt caactcctac tggaggggtgc acgctggaaa 2280 cttctccacc atccccagc acttcaagga gaatggctat gtgacctgt cgggtggaaa 2340 agtctttcac cctgggatat cttctaacca taccgatgat tctccgtata gctggtcttt 2400 tccacottat catccttcc ctgagaagta tgaaaacact aagacatgtc gagggccaga 2460 tggagaactc catgccaaac tgctttgccc tgtggatgtg ctggatgttc ccgagggcac 2520 cttgcctgac aaacagagca ctgagcaagc catacagttg ttgaaaaga tgaaaacgtc 2580 agccagtcct ttcttctcgg ccgttgggta tcataagcca cacatccct tcagataccc 2640 caaggaattt cagaagtgt atcccttga gaacatcac ctggccccc atcccgagg 2700 ccctgatggc ctacccctg tggcctacaa ccctggatg gacatcaggc aacgggaaga 2760 cgtccaagcc ttaaacatca gtgtgccgta tggccaatt cctgtggact ttcagcggaa 2820 aatccgccag agctactttg cctctgtgtc atatttggat acacaggctg gcgcctctt 2880 gagtgccttg gacgatcttc agctggccaa cagcaccatc attgcattta cctcgatca 2940 tgggtgggct ctagggtgaa atggagaatg ggccaaatac agcaattttg atgttgctac 3000 ccatgttccc ctgatattct atgttccctg aaggacggct tcaattccgg aggcaggcga 3060 gaagcttttc cttacctcg acccttttga ttccgcctca cagttgatgg agccaggcag 3120

[0387]

서열번호 :	설명	서열
		gcaatccatg gaccttgttg aacttgtgtc ttttttccc acgctggctg gacttgcagg 3180 actgcagggt ccacctcgct gccccgttcc ttcatttcac gttgagctgt gcagagaagg 3240 caagaacctt ctgaagcatt ttogattccg tgacttggaa gaggatccgt acctccctgg 3300 taatccccgt gaactgattg cctatagcca gtatccccgg ccttcagaca tccctcagtg 3360 gaattctgac aagccgagtt taaaagatat aaagatcatg ggctattcca tacgcaccat 3420 agactatagg tatactgtgt gggttggctt caatcctgat gaatttctag ctaacttttc 3480 tgacatccat gcaggggaac tgtattttgt ggattctgac ccattgcagg atcacaatat 3540 gtataatgat tccaagggtg gagatctttt ccagttgttg atgccttgac tcgaggacgg 3600 gggtgaactac gcttgaggat ccgatctttt tccctctgcc aaaaattatg gggacatcat 3660 gaagccccct gagcatctga cttctggcta ataaaggaaa tttattttca ttgcaatagt 3720 gtgttggaat tttttgtgtc tctcactcgg aagcaattcg ttgatctgaa tttcgaccac 3780 ccataatacc cattaccctg gtagataagt agcatggcgg gttaatcatt aactacaagg 3840 aaccocctagt gatggagttg gccactccct ctctgcgcgc tcgctcgctc actgaggcgg 3900 ggcgacccaa ggtcgccoga cggccgggct ttgcccgggc ggcctcagtg agcgagcgag 3960 cgcgcgag 3967

6. 실시예

6.1 실시예 1: hIDS cDNA

hIDS (서열 번호:1)를 포함하는 이식유전자를 포함하는 hIDS cDNA-기반 벡터가 삭제된다. 이식유전자는 또한 표 4에 열거된 군으로부터 선택된 신호 펩티드를 포함하는 핵산을 포함한다. 선택적으로, 벡터는 프로모터를 추가로 포함한다.

6.2 실시예 2: 치환된 hIDS cDNA

예를 들어, 도 2에 도시된 IDS의 오르토로그에서 상응하는 비-보존 잔기로부터 선택된 아미노산 치환을 포함하지만 이에 제한되지 않는, 서열 번호:1의 hIDS 서열과 비교하여 아미노산 치환, 결실 또는 부가가 있는 hIDS를 포함하는 이식유전자를 포함하는 hIDS cDNA-기반 벡터가 삭제되며, 단 이러한 돌연변이는 효소 활성에 요구되는 위치 84 (C84)에 시스테인 잔기의 대체 (Millat 등, 1997, Biochem J 326: 243-247); 또는 도 3에 도시되거나, 이들 각각은 그 전문이 본원에 참조로 포함된, Sukegawa-Hayasaka 등, 2006, J Inher Metab Dis 29: 755-761 ("약화된" 돌연변이체 R48P, A85T, W337R, 및 절단된 돌연변이체 Q531X; 및 "중증" 돌연변이체 P86L, S333L, S349I, R468Q, R468L 보고); Millat 등, 1998, BBA 1406: 214-218 ("약화된" 돌연변이체 P480L 및 P480Q; 및 "중증" 돌연변이체 P86L 보고); 및 Bonucelli 등, 2001, BBA 1537:233-238에 의해 보고된 중증, 중증-중간, 중간 또는 약화된 MPS II 표현형으로 식별된 돌연변이를 포함하지 않는다. 이식유전자는 또한 표 4에 열거된 군으로부터 선택된 신호 펩티드를 포함하는 핵산을 포함한다. 선택적으로, 벡터는 프로모터를 추가로 포함한다.

6.3 실시예 3: hIDS 또는 치환된 hIDS를 사용한 동물 모델에서 MPS II의 치료

hIDS cDNA-기반 벡터는 이식유전자로서 발현될 때 MPS II의 치료에 유용한 것으로 간주된다. MPS II에 대한 동

물 모델, 예를 들어 Garcia 등, 2007, J Inherit Metab Dis 30: 924-34 또는 Muenzer 등, 2001, Acta Paediatr Suppl 91:98-99에 기재된 마우스 모델은 동물의 CSF에서 이식유전자 산물의 치료학적 유효 농도를 전달하고 유지하기에 충분한 용량으로 hIDS를 인코딩하는 재조합 벡터가 경막내로 투여된다. 치료 후, 동물은 특정 동물 모델에서 질환과 일치하는 증상의 개선에 대해 평가된다.

[0396] 6.4 실시예 4: hIDS 또는 치환된 hIDS를 사용한 MPS II의 치료

[0397] hIDS cDNA-기반 벡터는 이식유전자로서 발현될 때 MPS II의 치료에 유용한 것으로 간주된다. CSF에서 이식유전자 산물의 치료학적 농도를 전달하고 유지하기에 충분한 용량으로 hIDS (예를 들어, 예컨대 작제물 1 (하기 참조)를 인코딩하는 cDNA 기반 벡터를 MPS II가 발현된 대상체에게 경막내로 투여한다. 치료 후, 대상체는 MPS II 증상 개선에 대해 평가된다.

[0398] 6.5 실시예 5: MPS II (헌터 증후군)를 가진 소아 대상체에서 작제물 1의 안전성, 내약성, 및 약동학을 평가하기 위한 I/II 상 다기관, 공개-라벨 연구

[0399] 6.5.1. 개요

[0400] 조사 제품, 용량, 및 투여의 루트

[0401] 작제물 1: AAV9.CB7.hIDS (인간 이두로네이트-2-설파타아제 발현 카세트를 함유하는 재조합 아데노-관련 바이러스 혈청형 9 캡시드). 단락 [0019] 및 도 5 참조.

[0402] 제품은 단일 수조내 (IC) 용량으로서 전달될 것이다.

[0403] 2개의 용량 수준, 즉 1.3×10^{10} 게놈 사본 (GC)/g 뇌 질량 (용량 1) 및 6.5×10^{10} GC/g 뇌 질량 (용량 2)이 평가될 것이다. 투여된 총 용량은 그들의 연령에 기반한 연구 대상체의 추정된 뇌 크기를 설명할 것이다. 투여된 제품의 총 용적은 5mL를 초과하지 않을 것이다.

[0404] 목적

[0405] 일차 목적:

[0406] 중증 MPS II가 있는 소아 대상체에게 투여된 단일 IC 용량 이후 24 주까지 작제물 1의 안전성 및 내약성을 평가하는 것

[0407] 이차 목적:

[0408] 작제물 1의 장기간 안전성 및 내약성을 평가하는 것

[0409] 뇌척수액 (CSF), 혈장, 및 소변 내 바이오마커에 관한 작제물 1의 효과를 평가하는 것

[0410] 인지, 행동, 및 적응 기능의 신경발달 매개변수에 관한 작제물 1의 효과를 평가하는 것

[0411] CSF, 혈장, 및 소변 내 벡터 shedding을 평가하는 것

[0412] 탐구 목적:

[0413] · 작제물 1의 면역원성을 평가하는 것

[0414] · CNS에 대한 물리적 변화에 관한 작제물 1의 효과를 탐구하는 것

[0415] · 질환의 전신 증상에 관한 작제물 1의 효과를 탐구하는 것

[0416] · 청각 능력에 관한 작제물 1의 효과를 탐구하는 것

[0417] · IV ERT (ELAPRASE®)를 일시적으로 중단하는 대상체에서 혈장 및 소변 내 바이오마커에 관한 작제물 1의 효과를 탐구하는 것

[0418] · 삶의 질 (QOL) 및 수면 측정에 관한 작제물 1의 효과를 탐구하는 것

[0419] 연구 설계 및 방법론

[0420] 이것은 작제물 1의 I/II 상, 인간 최초, 다기관, 공개-라벨, 단일 아암 용량 증량 연구이다. 대조군 그룹은 포함되지 않는다. 중증 MPS II가 있는 대략 6명의 소아 대상체는 2개 용량 코호트, 1.3×10^{10} GC/g 뇌 질량

(용량 1) 또는 6.5×10^{10} GC/g 뇌 질량 (용량 2)으로 등록될 수 있고 IC 주사에 의해 투여된 작제물의 1의 단일 용량을 받을 것이다. 안전성은 치료 후 초기 24 주 (일차 연구 기간) 동안 일차 초점일 것이다. 일차 연구 기간의 완료 이후, 대상체는 작제물 1로 치료 이후 최대 총 104 주 동안 계속 (안전성 및 효능) 평가될 것이다. 연구의 끝에, 대상체는 장기 추적 연구에 참가하도록 초대될 것이다.

[0421] 첫 번째 3명의 적격 대상체는 용량 1 코호트 (1.3×10^{10} GC/g 뇌 질량)로 등록될 것이다. 첫 번째 대상체에 게 작제물 1 투여 후에, 안전성에 대하여 8-주 관찰 기간이 있을 것이다. 내부 안전성 위원회 (ISC)는 이 대상체에 대하여 처음 8주 동안 수득된 안전성 데이터 (8주 방문 동안 수득된 데이터 포함)를 검토할 것이고, 안전성 문제가 없으면, 두 번째 대상체가 등록될 수 있다. 동일한 과정은 세 번째 대상체를 등록하는데 사용될 것이다. 안전성 검토 트리거 (SRT) 사건이 관찰되지 않으면, 세 번째 대상체에 대하여 최대 8주 방문을 포함하여 수득된 용량 1 코호트에 대한 모든 이용가능한 안전성 데이터는 독립 데이터 모니터링 위원회 (IDMC)에 의해 평가될 것이다. 결정이 두 번째 용량 (6.5×10^{10} GC/g 뇌 질량)으로 진행하도록 하면, 후속 2명의 대상체는 마지막 용량화된 대상체에 대하여 처음 8 주 동안 수득된 모든 안전성 데이터 (8주 방문 동안 수득된 데이터 포함)가 검토된 후 발생하는 각 후속 대상체의 용량화로 초기 용량 코호트와 동일한 용량화 계획을 따를 것이다. ISC는 두 번째 대상체의 최대 2주 방문을 포함하여 수득된 모든 대상체 안전성 데이터를 검토할 것이고 이 평가 직후 세 번째 대상체의 용량화로 진행하는 것이 안전함을 결정할 수 있다. 용량 2 코호트에 대하여 모든 이용가능한 안전성 데이터는 용량 2 코호트에서 세 번째 대상체에 대하여 8주 방문 후에 IDMC에 의해 평가될 것이다.

[0422] 잠재적 대상체는 연구에 대한 적격성을 결정하기 위해 용량화에 앞서 최대 35일 스크리닝될 것이다. 적격성 기준을 충족시키는 이들 대상체는 (기관 관행에 따라) -2일과 1일의 아침 사이 병원에 입원될 것이고, 기초 평가는 용량전 수행될 것이다. 대상체는 1일에 작제물 1의 단일 IC 용량을 받을 것이고 관찰을 위하여 용량화 후에 대략 30-36 시간 동안 병원에 남아있을 것이다. 일차 연구 기간에서 (즉, 24주까지) 후속 평가는 4주까지 매주 그리고 8, 12, 16, 20, 및 24주에 수행될 것이다. 일차 연구 기간 후에, 방문은 28, 32, 40, 48, 52, 56, 64, 78, 및 104주에 있을 것이다. 12, 40, 및 64주 방문은 가정 보건 간호사에 의해 수행될 수 있다. 20 및 28주 평가는 전화 연락에 의한 AE 및 병용 요법의 평가로 제한될 것이다.

[0423] 모든 대상체는 동물에서 실행된 비임상 안전성/독성 연구에서 잠재적 면역원성의 발견에 기반한 연구에서 면역억제 (IS)를 처음에 받을 것이고 코르티코스테로이드 (투여 전 1일에 한 번 정맥내 [IV] 메틸프레드니솔론 10 mg/kg, 및 2일에 0.5 mg/kg/일로 시작하여 12주까지 점점 줄어들다 중단되는 경구 프레드니손), 타크로리무스 (2일 내지 24주에 4-8 ng/mL의 목표 혈중 수준으로 입으로 [PO] 1일 2회 [BID] 1 mg, 및 24주 내지 32주 사이의 8주에 걸쳐 점점 줄어들음) 및 시롤리무스 (-2일에 4시간마다 1 mg/m^2 의 로딩 용량 x 3회 용량, 그리고 나서 -1일부터 48주까지 4-8 ng/mL의 목표 혈중 수준으로 BID 용량화로 분할된 시롤리무스 0.5 mg/m^2 /일)을 포함할 것이다. 신경학적 평가 및 타크로리무스/시롤리무스 혈중 수준 모니터링이 수행될 것이다. 시롤리무스와 타크로리무스의 용량은 혈중 수준을 목표 범위 내로 유지하기 위해 조정될 것이다.

[0424] IS 요법은 48주 후에 계획되지 않는다. IS가 임상적으로 관련한 면역 반응을 조절하기 위해 48주 후에 요구되면, 적절한 면역억제 요법은, 임상적으로 지시된 대로, 의료 모니터 및 후원자와 논의에서, 연구 책임자 (PI)에 의해 결정될 것이다.

[0425] 효능 평가는 신경인지 기능, 청각 능력, 뇌 MRI, 간 및 비장 크기, 및 CSF, 혈장, 및 소변 내 약력학적 (PD) 바이오마커 수준의 측정을 포함할 것이다. 시험에 참가하는 동안 대상체의 치료 표준의 부분으로서 수행된 신경인지 또는 적응 척도는 또한, 현장과 논의한 후 연구 후원자에 의해 결정된 대로, 수집될 수 있다.

[0426] 평가변수

[0427] 일차 평가변수:

[0428] · 24 주까지 안전성: AE 및 심각한 유해 사례 (SAE)

[0429] 이차 평가변수:

[0430] · 104 주까지 안전성: AE 보고, 실험실 평가, 활력 징후, ECG, 신체 검사, 및 신경학적 평가

[0431] · CSF (GAG, I2S 활성), 혈장 (GAG, I2S 활성), 및 소변 (GAG) 내 바이오마커

[0432] · 인지, 행동 및 적응 기능의 신경발달 매개변수:

- [0433] · 베일리 영유아 발달 검사, 제3판 (BSID-III) (Bayley, 2005, Scales of Infant and Toddler Development, 3rd Ed., Springer, New York, NY) 또는 카우프만 아동용 진단검사, 제2판 (KABC-II) (Kaufman, 2004, Kaufman Assessment Battery for Children, 2nd Ed.)
- [0434] · 바인랜드 적응 행동 척도, 제2판, 포괄적 면담 양식 (VABS-II) (Sparrow 등., 2005, Vineland Adaptive Behavior Scales, 2nd Ed.)
- [0435] · 작제물 1 데옥시리보핵산 (DNA)에 대한 정량적 중합효소 연쇄 반응 (PCR)에 의한 CSF, 혈장 및 소변 내 벡터 농도
- [0436] 탐구 평가변수:
- [0437] · 면역원성 측정
- [0438] o CSF 및 혈청에서 AAV9에 대한 중화 항체 역가 그리고 I2S에 대한 결합 항체 역가
- [0439] o 효소 결합 면역스팟 (ELISPOT) 검정: AAV9 및 I2S에 대한 T-세포 반응
- [0440] o 유세포 분석: AAV- 및 I2S-특이적 조절 T 세포
- [0441] · 뇌의 자기 공명 영상 (MRI)으로 평가된 CNS 구조적 이상
- [0442] · MRI 및 복부 초음파로 평가된 간 및 비장 크기
- [0443] · 청각 뇌간 반응 (ABR) 시험으로 측정된 청각 능력 변화
- [0444] · IV ERT (ELAPRASE[®])를 일시적으로 중단하는 대상체의 혈장 및 소변 GAG
- [0445] · PedsQL (버전 4)
- [0446] · 수면 척도에 대한 전체적 인상
- [0447] 연구의 총 지속기간은 24주의 일차 안전성 평가 시점과 용량후 104주일 수 있다. 스크리닝은 최대 35일이 소요 될 수 있다.
- [0448] 포함 및 제외에 대한 진단 및 기준
- [0449] 이 연구에 참가할 자격이 있으려면, 대상체는 하기 포함 기준을 모두 충족시켜야 한다:
- [0450] 1. 대상체의 법적 보호자(들)는 연구의 성격이 설명된 후, 그리고 임의의 연구 관련 절차 이전에 서면으로, 서명된 사전 동의서를 제공할 의향이 있고 제공할 수 있음.
- [0451] 2. 남성임
- [0452] 3. 하기 기준 중 하나를 충족시킴:
- [0453] a. MPS II의 문서화된 진단이 있고 4개월 이상이고 5세 미만이고 신경인지 시험 점수가 55점 초과 77점 이하 (BSID-III 또는 KABC-II)임, 또는
- [0454] b. MPS II의 문서화된 진단이 있고 4개월 이상이고 5세 미만이고 순차적 신경인지 시험 (BSID-III 또는 KABC-II)에서 1 이상 표준 편차의 감소 및 시험 점수 55 초과임, 또는
- [0455] c. 대상체와 동일한 IDS 돌연변이를 갖는 중증 MPS II로 진단된 친척이 있고 유전학자의 의견으로 MPS II의 중증 형태를 유전함
- [0456] 4. 보조 기구를 사용하거나 사용하지 않고, 필요한 프로토콜 시험을 완료하기에 충분한 청각 및 시각 능력을 가져야 하며, 해당되는 경우, 시험일에 보조 기구를 착용하는 데 따라야 함.
- [0457] 하기 제외 기준 중 임의의 것을 충족하는 대상체는 연구에 참가할 자격이 없을 것이다:
- [0458] 1. 하기 중 임의의 것을 포함하여, IC 주사에 대한 금기 사항이 있음:
- [0459] a. 연구에 참가하는 신경방사선과 의사/신경외과 의사의 팀에 의해 기초 MRI 시험의 검토 (부위당 1개)는 IC 주사에 대한 금기 사항을 보여줌
- [0460] b. 연구에 참가하는 신경방사선과 의사/신경외과 의사의 팀에 의해 이용가능한 정보의 검토에 근거한, IC 주사에

대한 금기 사항을 초래한, 이전 두경부 수술의 이력

- [0461] c. 컴퓨터 단층 촬영 (CT), 조영제, 또는 전신 마취에 대한 임의의 금기 사항이 있음
- [0462] d. MRI 또는 가돌리늄에 대한 금기 사항이 있음
- [0463] e. 30 mL/분/1.73 m^2 미만의 추정된 사구체 여과율이 있음
- [0464] 2. 프레드니손, 타크로리무스 또는 시롤리무스를 이용한 치료를 금기하는 임의의 병태가 있음
- [0465] 3. MPS II 또는 PI의 의견으로 연구 결과의 해석을 혼란스럽게 할 수 있는 신경정신병적 병태의 진단으로 인한 것이 아닌 임의의 신경인지 결함이 있음
- [0466] 4. 요추 천자에 대한 임의의 금기 사항이 있음
- [0467] 5. 뇌실척로술이 있음
- [0468] 6. 조혈모세포 이식 (HSCT)을 경험함
- [0469] 7. AAV-기반 유전자 요법 제품으로 이전 치료를 받았음
- [0470] 8. 경막내 (IT) 투여를 통해 이두르설파아제 [ELAPRASE[®]]를 받음
- [0471] 9. IV 이두르설파아제 [ELAPRASE[®]]를 받았고 IV 이두르설파아제 [ELAPRASE[®]] 투여에 관련된 것으로 간주된, 아나필락시스를 포함한, 심각한 과민 반응을 경험하였음.
- [0472] 10. 사전 동의 양식 (ICF)에 서명하기 전 5 반감기 또는 1일 중 더 긴 날짜로부터 30일 이내에 임의의 조사 제품을 받았음
- [0473] 11. 스크리닝 전에 최소 3개월 동안 완전 관해되지 않은, 피부의 편평 세포 또는 기저 세포 암종 이외의, 림프종의 임의의 병력 또는 또 다른 암의 병력이 있음
- [0474] 12. 마이크로리터 (μL)당 100,000 미만 혈소판 수를 가짐
- [0475] 13. 대상체가 이전에 질베르 증후군의 병력이 공지되어 있고, 결합형 빌리루빈이 총 빌리루빈의 35% 미만을 나타내는 분별된 빌리루빈을 가지고 있지 않는 한 스크리닝 시 아미노트랜스퍼라제 (ALT) 또는 아스파르테이트 아미노트랜스퍼라제 (AST) $>3 \times \text{ULN}$ 또는 총 빌리루빈 $>1.5 \times \text{ULN}$ 을 가짐
- [0476] 14. 최대 의학적 치료에도 불구하고 조절되지 않는 고혈압 (수축기 혈압 [BP] $>180\text{mmHg}$, 이완기 BP $>100\text{mmHg}$)
- [0477] 15. 인간 면역결핍 바이러스 (HIV) 또는 B형 간염 또는 C형 간염 바이러스 감염의 병력이 있거나, B형 간염 표면 항원 또는 B형 간염 코어 항체, 또는 C형 간염 또는 HIV 항체에 대한 양성 스크리닝 시험이 있음
- [0478] 16. 임상 현장 직원 또는 연구의 수행에 관련된 임의의 기타 개인의 1차 가족 구성원이거나, 임상 현장 직원 또는 연구의 수행에 관련된 기타 개인임
- [0479] 17. PI의 의견으로, 대상체의 안전성을 손상시킬 임상적으로 유의한 ECG 이상이 있음
- [0480] 18. PI의 의견으로, 대상체의 안전성이나 연구에서의 성공적인 참가 또는 연구 결과의 해석을 손상시킬 심각한거나 불안정한 의학적 또는 심리적 병태가 있음
- [0481] 19. PI의 의견으로 대상체를 과도한 위험에 빠뜨릴 통제되지 않는 발작이 있음
- [0482] 면역억제 요법에 관련된 제외 기준:
- [0483] 20. 타크로리무스, 시롤리무스, 또는 프레드니손에 과민 반응의 병력이 있음
- [0484] 21. 원발성 면역결핍증 (예를 들어, 공통 가변성 면역결핍증 증후군), 비장절제술, 또는 대상체가 감염되기 쉬운 임의의 기저 병태의 병력이 있음
- [0485] 22. 스크리닝 적어도 12주 전에 완전히 해결되지 않은 대상 포진 (VZV), 거대세포바이러스 (CMV), 또는 엡스타인-바 바이러스 (EBV) 감염이 있음
- [0486] 23. 2차 방문 적어도 8주 전에 해결되지 않은 비경구 항-감염제로 치료 또는 입원을 요하는 임의의 감염이 있음

- [0487] 24. 2차 방문 전 10일 이내에 경구 항-감염제 (항바이러스제 포함)를 요하는 임의의 활성 감염이 있음
- [0488] 25. 활동성 결핵 (TB)의 병력 또는 스크리닝 동안 양성 퀴티페론-TB 골드 시험이 있음
- [0489] 26. ICF 서명하기 전 8주 이내에 임의의 생백신이 있음
- [0490] 27. ICF에 서명하기 전 8주 이내에 대수술 또는 연구 기간 동안 계획된 대수술을 받았음
- [0491] 28. 등록 6개월 이내에 아데노이드 절제술 또는 편도 절제술의 필요성을 예상함
- [0492] 29. $1.3 \times 10^3/\mu\text{L}$ 미만의 절대 호중구 수가 있음
- [0493] 30. PI가 면역억제 요법에 적절하지 않다고 생각하는 임의의 병태 또는 실험실 이상이 있음
- [0494] 통계적 방법
- [0495] 모든 데이터는 대상체 데이터 목록에 제시될 것이다. 범주형 변수는 빈도 및 백분율을 사용하여 요약될 것이고, 연속형 변수는 기술적 통계 (n, 평균, 표준 편차, 중앙값, 최소값, 및 최대값)를 사용하여 요약될 것이다. 그래픽 디스플레이는 적절한 경우 제시될 것이다. 안전성 및 PD 평가변수는 용량 그룹별로 보고되며 조합된 2개 용량 그룹에 대하여 또한 보고될 수 있다.
- [0496] 샘플 크기 및 검정력 계산: 공식 계산은 샘플 크기를 결정하기 위해 수행되지 않았다.
- [0497] 6.5.2. 약어 및 용어

표 8: 약어 및 전문가 용어

약어	용어
AAV	아데노-관련 바이러스
AAV9	혈청형 9의 AAV 벡터
AE(s)	유해 사례(들)
ALP	알칼리 포스파타아제
ALT	알라닌 아미노스랜스퍼라아제
AST	아스파테이트 아미노스랜스퍼라아제
BBB	혈액-뇌 장벽
BID	1 일 2 회
BP	혈압
BSID	베일리 영유아 발달 검사
BSL	생물안전도 수준
CB7	하이브리드 C4 및 CB (닭 베타 액틴 프로모터)
CBC	완전 혈구 측정
cDNA	공동 DNA
CFR	연방 규정집
CI	신뢰 구간
CMV	거대세포바이러스
CNS	중추신경계
CoA	분석 증명서
CRF	사례 보고 양식
CSF	뇌척수액
CT	컴퓨터 단층촬영
CTA	임상 시험 합의
CTCAE	유해 사례 공통 용어 기준

[0498]

약어	용어
CZ	Crystal Zenith®
DLT(s)	용량-제한 독성(들)
DNA	데옥시리보핵산
DRG	배근 신경절
EBV	엡스타인-바 바이러스
ECG	심전도
EDC	전자 데이터 획득
eGFR	추정된 사구체 여과율
ELISA	효소-결합 면역흡착 검정
ELISPOT	효소-결합 면역스팟
EOS	연구의 끝
ERT	효소 대체 요법
ET	조기 종료
FDA	미국 식품의약국
GAG(s)	글리코사미노글리칸(들)
GAN	거대 축삭 신경병증
GC	개농 사본
GCP	양호 임상 관행
GLP	양호 실험실 관행
GM3	모노시알로디핵소실강글리오사이드
HDL	고-밀도 지단백질
Hep	간염
Hex	헥소사미니다아제
hIDS	인간 이두로네이트-2-설파타아제
HIPAA	건강 보험 이동 회계 법
HIV	인간 면역결핍 바이러스

[0499]

약어	용어
HSCT	조혈모세포 이식
I2S	이두로네이트-2-설파타아제
IB	조사자 자료집
IC	수조내(로)
ICF	사전 동의 양식
ICH	국제 조화 협의회
ICV	뇌실내
IDMC	독립 데이터 모니터링 위원회
<i>ID_S</i>	이두로네이트-2-설파타아제 유전자
IEC(s)	독립 윤리 위원회(들)
IgG	면역글로불린 G
IND	조사 신약
IP	조사 제품
IQ	지능 지수
IRB	기관 검토 위원회
IS	면역 억제 / 면역억제
IT	경막내(로)
ITR(s)	역방위 말단 반복(들)
IV	정맥내(로)
KABC	카우프만 아동용 진단검사
KIDS	영유아 발달 척도
KSPD	교토 심리 발달 척도
LDL	저-밀도 지단백질
LIMP2	리소좀 막 단백질
MED	최소 유효 용량
MedDRA	규제 활동의 의학 사전

[0500]

약어	용어
MMF	마이코페놀레이트 모페틸
MPS I	I 형 점액다당류증
MPS II	II 형 점액다당류증
MPS III	산필리포 증후군
MPS VII	VII 형 점액다당류증
MRI	자기 공명 영상
MTD	최대 허용 용량
mTORC1	라파마이신 복합체 1 의 포유류/기계적 표적
N	샘플내 수
NAB	중화 항체
NCI	국립 암 연구소
NHP(s)	비-인간 영장류(들)
NIH	국립 보건원
NOAEL	관찰가능한-역효과 수준 없음
PBMC(s)	말초 혈액 단핵 세포(들)
PCR	중합효소 연쇄 반응
PD	약력학(들)
PgP	P-당단백질
PI	연구 책임자
PML	진행성 다초점 백질뇌병증
PO	입으로/경구로
PT	프로트롬빈 시간 또는 선회 용어
PTT	부분적 트롬보플라스틴 시간
PVAN	폴리오마 바이러스-관련 신병증
QD	매일
qPCR	정량적 중합효소 연쇄 반응

[0501]

약어	용어
RBC	적혈구
RG1	위험 그룹 1
작제물 1	인간 이두로네이트-2-설파타아제 발현 카세트를 함유하는 재조합 아데노-관련 바이러스 혈청형 9 캡시드
SAE(s)	심각한 유해 사례(들)
SAP	통계 분석 계획
SDV	원본 문서 검증
SMA	척수성 근위축증
SOC	기관별 대분류
SRT	안전성 검토 트리거
TB	결핵
TEAE(s)	치료-응급 유해 사례(들)
Treg	조절 T 세포
ULN	정상외 상한
U.S.	미국
US	조음파
USMs	긴급 안전 조치
VZV	수드 대상포진 바이러스
WBC	백혈구 (카운트)
WHO	세계 보건 기구

[0502]

[0503]

6.5.3. 조사 계획

[0504]

평가변수

[0505]

일차 평가변수

[0506]

· 24 주까지 안전성: AE 및 SAE

[0507]

이차 평가변수

[0508]

· 104 주까지 안전성: AE 보고, 실험실 평가, 활력 징후, 심전도 (ECG), 신체 검사, 및 신경학적 평가

[0509]

· CSF (GAG, I2S 활성), 혈장 (GAG, I2S 활성), 및 소변 (GAG) 내 바이오마커

[0510]

· 인지, 행동 및 적응 기능의 신경발달 매개변수:

[0511]

· 베일리 영유아 발달 검사, 제3판 (BSID-III) (Bayley, 2005, Scales of Infant and Toddler Development, 3rd Ed.) 또는 카우프만 아동용 진단검사, 제2판 (KABC-II) (Kaufman, 2004, Kaufman Assessment Battery for Children, 2nd Ed.)

[0512]

· 바인랜드 적응 행동 척도, 제2판, 포괄적 면담 양식 (VABS-II) (Sparrow 등, 2005, Vineland Adaptive Behavior Scales, 2nd Ed.)

[0513]

· 작제물 1 DNA에 대한 정량적 중합효소 연쇄 반응 (PCR)에 의한 CSF, 혈장 및 소변 내 백터 농도

[0514]

탐구 평가변수

[0515]

· 면역원성 측정

[0516]

o CSF 및 혈청에서 AAV9에 대한 중화 항체 역가 그리고 I2S에 대한 결합 항체 역가

[0517]

o 효소 결합 면역스팟 (ELISPOT) 검정: AAV9 및 I2S에 대한 T-세포 반응

[0518]

o 유세포 분석: AAV- 및 I2S-특이적 조절 T 세포

[0519]

· 뇌의 MRI로 평가된 CNS 구조적 이상

- [0520] · MRI 및 복부 초음파로 평가된 간 및 비장 크기
- [0521] · 청각 뇌간 반응 (ABR) 시험으로 측정된 청각 능력 변화
- [0522] · IV ERT (ELAPRASE[®])를 일시적으로 중단하는 대상체의 혈장 및 소변 GAG
- [0523] · PedsQL (버전 4)
- [0524] · 수면 척도에 대한 전체적 인상
- [0525] 연구 설계
- [0526] 이것은 작제물 1의 I/II 상, 인간 최초, 다기관, 공개-라벨, 단일 아암 용량 증량 연구이다. 중증 MPS II를 가진 대략 6명의 소아 대상체는 2개 용량 코호트, 1.3×10^{10} GC/g 뇌 질량 (용량 1) 또는 6.5×10^{10} GC/g 뇌 질량 (용량 2)으로 등록될 수 있고, IC 주사에 의해 투여된 작제물 1의 단일 용량을 받을 것이다. 안전성은 치료 후 초기 24 주 (일차 연구 기간) 동안 일차 초점일 것이다. 일차 연구 기간의 완료 이후, 대상체는 작제물 1로 치료 이후 최대 총 104 주 동안 계속 (안전성 및 효능) 평가될 것이다. 연구의 끝에, 모든 대상체는 장기 추적 연구에 참가하도록 초대될 것이다.
- [0527] 잠재적 대상체는 용량화에 앞서 최대 35 일까지 스크리닝되어 연구를 위한 적격성을 결정할 것이다. 적격성 기준을 충족시키는 이들 대상체는 (기관 관행에 따라) -2 일과 1 일의 아침 사이에 병원에 입원될 것이고, 기초 평가는 용량화전 수행될 것이다. 대상체는 1 일에 작제물 1의 단일 IC 용량을 받을 것이고 관찰을 위하여 용량화 후에 대략 30 내지 36 시간 동안 병원에 남아 있을 것이다. 일차 연구 기간에서 (즉, 24 주까지) 후속 평가는 4 주까지 매주 그리고 8, 12, 16, 20, 및 24 주에 수행될 것이다. 일차 연구 기간 후에, 방문은 28, 32, 40, 48, 52, 56, 64, 78, 및 104 주에 있을 것이다. 12, 40, 및 64 주 방문은 가정 보건 간호사에 의해 수행될 수 있다. 20 및 28 주 평가는 전화 연락에 의한 AE 및 병용 요법의 평가로 제한될 것이다.
- [0528] 모든 대상체는 비임상 연구에서 발견에 기반한 연구에서 IS를 초기에 받을 것이다. IS 요법은 코르티코스테로이드 (투여 전 1 일에 한 번 IV 메틸프레드니솔론 10 mg/kg, 및 2 일에 0.5 mg/kg/일로 시작하여 12 주까지 점점 줄어드는 경구 프레드니손), 타크로리무스 (2 일 내지 24 주에 4-8 ng/mL의 목표 혈중 수준으로 입으로 [PO] 1일 2회 [BID] 1 mg, 및 24 주 내지 32 주 사이의 8 주에 걸쳐 점점 줄어듦), 및 시롤리무스 (-2 일에 4 시간마다 1 mg/m²의 로딩 용량 x 3회 용량, 그리고 나서 -1 일부터: 48 주까지 4-8 ng/ml의 목표 혈중 수준으로 1일 2회 용량화로 분할된 시롤리무스 0.5 mg/m²/일)를 포함할 것이다. 신경학적 평가 및 타크로리무스/시롤리무스 혈중 수준 모니터링은 수행될 것이다. 시롤리무스 및 타크로리무스의 용량은 목표 범위에서 혈중 수준을 유지하도록 조정될 것이다.
- [0529] IS 요법이 48 주 후에 계획되지 않는다. IS가 임상적으로 관련한 면역 반응을 조절하기 위해 48 주 후에 요구되면, 적절한 면역억제 요법은, 임상적으로 지시된 대로, 의료 모니터 및 후원자와 논의에서, 연구 책임자 (PI)에 의해 결정될 것이다.
- [0530] 작제물 1의 안전성 및 내약성은 AE 및 심각한 유해 사례 (SAE), 화학, 혈액학, 소변검사, CSF 염증의 마커, 면역원성, 백터 웨딩 (백터 농도), 활력 징후, 심전도 (ECG), 및 신경학적 평가를 포함한 신체 검사의 평가를 통해서 모니터링될 것이다.
- [0531] 효능 평가는 신경인지 및 적응 기능, 청각 능력, 뇌 MRI, 간 및 비장 크기, CSF, 혈장, 및 소변에서 PD 바이오마커 수준의 측정을 포함할 것이다.
- [0532] **6.5.4. 대상체 집단 및 선택**
- [0533] 연구 집단의 선택
- [0534] MPS II로 인한 신경인지 결손을 문서화하거나 중증 MPS II의 유전된 형태와 일치하는 유전자형 및 가족력이 있는 4 개월 이상 5세 미만인 대략 6명의 소아 대상체는 조사 제품 (IP)으로 치료될 것이다.
- [0535] 포함 기준
- [0536] 이 연구에 참가할 자격이 있으려면, 대상체는 하기 기준 모두를 충족시켜야 한다:
- [0537] 1. 대상체의 법적 보호자는 연구의 성격이 설명된 후, 그리고 임의의 연구 관련 절차 이전에 서면으로, 서명된

사전 동의서를 제공할 의향이 있고 제공할 수 있음.

2. 남성임

3. 하기 기준 중 하나를 충족시킴:

a. MPS II의 문서화된 진단이 있고 4개월 이상이고 5세 미만이고 신경인지 시험 점수가 55 초과 77 이하 (BSID-III 또는 KABC-II)임, 또는

b. MPS II의 문서화된 진단이 있고 4개월 이상이고 5세 미만이고 신경인지 시험 (BSID-III 또는 KABC-II)에서 1 이상 표준 편차의 감소가 있고 시험 점수가 55 초과임, 또는

c. 대상체와 동일한 IDS 돌연변이를 갖는 중증 MPS II로 진단된 친척이 있고 유전학자의 의견으로 MPS II의 중증 형태를 유전함

4. 보조 기구를 사용하거나 사용하지 않고, 필요한 프로토콜 시험을 완료하기에 충분한 청각 및 시각 능력을 가져야 하며, 해당되는 경우, 시험일에 보조 기구를 착용하는 데 따라야 함.

제외 기준

하기 제외 기준 중 임의의 것을 충족시키는 대상체는 연구에 참가할 자격이 없을 것이다:

1. 하기 중 임의의 것을 포함하는, IC 주사를 위한 금기 사항이 있음:

a. 연구에 참가하는 신경방사선과의사/신경외과의사의 팀에 의한 기초 MRI 시험의 검토 (부위당 1개)는 IC 주사에 대한 금기 사항을 보여줌

b. 연구에 참가하는 신경방사선과의사/신경외과의사의 팀에 의해 이용가능한 정보의 검토에 근거한, IC 주사에 대한 금기 사항을 초래한, 이전 두경부 수술의 이력

c. 컴퓨터 단층촬영 (CT), 조영제 또는 전신 마취에 대한 금기 사항이 있음

d. MRI 또는 가돌리늄에 대한 금기 사항이 있음

e. 30 mL/분/1.73 m^2 미만의 추정된 사구체 여과율 (eGFR)이 있음

2. 프레드니손, 타크로리무스, 또는 시롤리무스를 이용한 치료를 금하는 임의의 병태가 있음.

3. MPS II 또는 PI의 의견으로 연구 결과의 해석을 혼란스럽게 할 수 있는 신경정신병적 병태의 진단으로 인한 것이 아닌 임의의 신경인지 결함이 있음

4. 요추 천자에 대한 임의의 금기 사항이 있음

5. 뇌실측로술이 있음

6. 조혈모세포 이식 (HSCT)을 경험함.

7. AAV-기반 유전자 요법 제품으로 이전 치료를 받았음.

8. 경막내 (IT) 투여를 통해 이두르설파아제를 받음

9. IV 이두르설파아제 [ELAPRASE®]를 받았고 IV 이두르설파아제 [ELAPRASE®] 투여와 관련된 것으로 간주된, 아나필락시스를 포함한, 심각한 중증 과민 반응을 경험함.

10. 사전 동의 양식 (ICF)에 서명하기 전 5 반감기 또는 1일 중 더 긴 날짜로부터 30일 이내에 임의의 조사 제품을 받음

11. 스크리닝 전에 최소 3개월 동안 완전 관해되지 않은 피부의 편평 세포 또는 기저 세포 암종 이외, 림프종의 임의의 병력 또는 또 다른 암의 병력이 있음.

12. 마이크로리터 (μL)당 100,000 미만 혈소판 수

13. 대상체가 이전에 질베르 증후군의 병력이 공지되어 있고, 결합형 빌리루빈이 총 빌리루빈의 35% 미만을 나타내는 분별된 빌리루빈을 가지고 있지 않는 한 스크리닝 시 아미노트랜스퍼라제 (ALT) 또는 아스파르테이트 아미노트랜스퍼라제 (AST) $>3 \times \text{ULN}$ 또는 총 빌리루빈 $>1.5 \times \text{ULN}$ 을 가짐.

- [0564] 14. 최대 의학적 치료에도 불구하고 조절되지 않는 고혈압 (수축기 혈압 [BP] >180mmHg, 이완기 BP >100mmHg).
- [0565] 15. 인간 면역결핍 바이러스 (HIV) 또는 B형 간염 또는 C형 간염 바이러스 감염의 병력이 있거나, B형 간염 표면 항원 또는 B형 간염 코어 항체, 또는 C형 간염 또는 HIV 항체에 대한 양성 스크리닝 시험이 있음.
- [0566] 16. 임상 현장 직원 또는 연구의 수행에 관여된 임의의 기타 개인의 1차 가족 구성원이거나, 임상 현장 직원 또는 연구의 수행에 관여된 기타 개인임.
- [0567] 17. PI의 의견으로, 대상체의 안전성을 손상시킬 임상적으로 유의한 ECG 이상이 있음.
- [0568] 18. PI의 의견으로, 대상체의 안전성이나 연구에서의 성공적인 참가 또는 연구 결과의 해석을 손상시킬 심각하거나 불안정한 의학적 또는 심리적 병태가 있음.
- [0569] 19. PI의 의견으로 대상체를 과도한 위험에 빠뜨릴 통제되지 않는 발작이 있음.
- [0570] 면역억제 요법에 관련된 제외 기준:
- [0571] 20. 타크로리무스, 시롤리무스, 또는 프레드니손에 과민 반응의 병력
- [0572] 21. 원발성 면역결핍증 (예를 들어, 공통 가변성 면역결핍증 증후군), 비장절제술, 또는 대상체가 감염되기 쉬운 임의의 기저 병태의 병력
- [0573] 22. 스크리닝 적어도 12주 전에 완전히 해결되지 않은 대상 포진 (VZV), 거대세포바이러스 (CMV), 또는 엡스타인-바 바이러스 (EBV) 감염
- [0574] 23. 2차 방문 적어도 8주 전에 해결되지 않은 비경구 항-감염제로 치료 또는 입원을 요하는 임의의 감염
- [0575] 24. 2차 방문 전 10일 이내에 경구 항-감염제 (항바이러스제 포함)를 요하는 임의의 활성 감염
- [0576] 25. 활동성 결핵 (TB)의 병력 또는 스크리닝 동안 양성 퀴티페론-TB 골드 시험
- [0577] 26. ICF 서명하기 전 8주 이내에 임의의 생백신
- [0578] 27. ICF에 서명하기 전 8주 이내에 대수술 또는 연구 기간 동안 계획된 대수술
- [0579] 28. 등록 6개월 이내에 아테노이드 절제술 또는 편도 절제술의 필요성을 예상함
- [0580] 29. $1.3 \times 10^3 / \mu\text{L}$ 미만의 절대 호중구 수
- [0581] 30. PI가 면역억제 요법에 적절하지 않다고 생각하는 임의의 병태 또는 실험실 이상

[0582] 6.5.5.치료

[0583] 투여된 치료

[0584] 조사 제품 (IP), 작제물 1 (도 5 참조)은 단일 용량 IC 투여로서 주어질 것이다. 2개 용량 수준: 1.3×10^{10} GC/g 뇌 질량 (용량 1) 또는 6.5×10^{10} GC/g 뇌 질량 (용량 2). 투여된 총 용량 (총 GC)는 연령별 뇌 크기에 서 차이를 고려하여 조정될 것이다. 투여된 제품의 총 용적은 5 mL를 초과하지 않을 것이다.

[0585] 참조 요법은 이 연구 동안 투여되지 않을 것이다. IS 요법은 아래 설명된 대로 IP 이외에 주어질 것이다.

[0586] 조사 제품

[0587] 작제물 1은 hIDS 발현 카세트를 함유하는 혈청형 9 캡시드의 비-복제 재조합 AAV이다. 단락 [0019] 참조.

제품명:	작제물 1
유전자 삽입물:	hIDS
대조군 요소:	CB7 프로모터, 닭 베타 액틴 인트론, 토끼 베타-글로빈 폴리아데닐화 신호
AAV 혈청형:	9

[0588]

[0589] AAV = 아테노-관련 바이러스; CB = 닭 베타-액틴; hIDS = 인간 이두로네이트-2-설파타아제

- [0590] 작제물 1은 경막내 (IT) 투여 이후 중추 신경계 (CNS)에서 인간 이두로네이트-2-설펜타아제 (hIDS) 제품의 효율적 발현을 허용하는 비-복제 재조합 AAV9 벡터이다. 벡터 게놈은 AAV2 역방위 말단 반복 (ITR)이 측면에 있는 hIDS 발현 카세트를 함유한다. 카세트로부터의 발현은 거대세포바이러스 (CMV) 최초 인헨서와 닭 β -액틴 프로모터 사이 하이브리드인, CB7 프로모터에 의해 구동된다. 이 프로모터로부터의 전사는 닭 β -액틴 인트론 (CI)의 존재에 의해 향상된다. 발현 카세트에 대한 폴리아데닐화 신호는 토끼 β -글로빈 (RBG) 유전자에서 나온다. 작제물 1의 개략적 표시는 도 5에 예시된다.
- [0591] 최종 IP는 CRYSTAL ZENITH[®] (CZ) 바이알내 2-mL에 충전된, 0.001% Pluronic[®] F68이 있는 변형된 엘리엇 B[®] 용액내 AAV 벡터 활성 구성성분 (AAV9.CB7.hIDS)의 냉동된 용액으로서 제공되고, 라텍스가 없는 고무 마개 그리고 알루미늄 플립-오프 밀봉재로 밀봉된다. 바이알은 -60℃ 이하에서 보관되어야 한다. 각 IP 로트의 농도 (GC/mL)는 분석 증명서 (CoA)에 보고될 것이다. 제품 농도에 기반된 자세한 용량화 지침은 관리 매뉴얼에서 제공될 것이다.
- [0592] 면역억제 요법
- [0593] 코르티코스테로이드
- [0594] · 벡터를 투여하는 날 아침 (투여 전 1일)에, 대상체에게 적어도 30분에 걸쳐 메틸프레드니솔론 10 mg/kg IV (500 mg의 최대량)가 투여될 것이다. 메틸프레드니솔론은 요추 천자 및 IP의 IC 주사 전에 투여되어야 한다. 아세트아미노펜 및 항히스타민제를 사용한 예비 투약은 선택 사항이고 조사자의 재량에 따른다.
- [0595] · 2일에, 경구 프레드니손은 12 주까지 프레드니손 중단을 목표로 시작될 것이다. 프레드니손의 용량은 다음과 같을 것이다:
- [0596] o 2일부터 2주 말까지: 0.5 mg/kg/일
- [0597] o 3주 및 4주: 0.35 mg/kg/일
- [0598] o 5주 내지 8주: 0.2 mg/kg/일
- [0599] o 9주 내지 12주: 0.1 mg/kg
- [0600] o 프레드니손은 12 주 후에 중단될 것이다. 프레드니손의 정확한 용량은 다음으로 더 높은 임상적으로 실용적 용량으로 조정될 수 있다.
- [0601] 시롤리무스
- [0602] · 벡터 투여 2일 전 (-2일): 4시간마다 시롤리무스 1 mg/m²의 로딩 용량 x 3회 용량이 투여될 것이다
- [0603] · -1일부터: 4-8 ng/mL의 목표 혈중 수준으로 1일 2회 용량화로 분할된 시롤리무스 0.5 mg/m²/일
- [0604] · 시롤리무스는 48주 방문 후에 중단될 것이다.
- [0605] 타크로리무스
- [0606] · 타크로리무스는 2일 (IP 투여 다음 날)에 1일 2회 1 mg의 용량으로 시작되고, 24주 동안 4-8 ng/mL의 혈중 수준을 달성하도록 조정될 것이다.
- [0607] · 24주 방문에서 시작하여, 타크로리무스는 8주에 걸쳐 점점 줄어든 것이다. 24주에 용량은 대략 50%까지 감소될 것이다. 28주에 용량은 대략 50%까지 추가 감소될 것이다. 타크로리무스는 32주에 중단될 것이다.
- [0608] · 타크로리무스 및 시롤리무스 혈중 수준 모니터링은 실행될 것이다. 용량화 조정은 본 개시내용에서 (예를 들어, 단락 [00124] - [00125]; [00220] - [00222]; 섹션 6에서) 논의된다.
- [0609] 대상체를 치료에 지정하는 방법
- [0610] 적격 대상체는 등록될 것이고 1.3×10^{10} GC/g 뇌 질량을 얻도록 지정된 초기 3명의 대상체로 용량 코호트에 순차적으로 지정될 것이고; 후속 3명의 대상체는 IDMC에 의한 안전성 데이터의 검토 동안 6.5×10^{10} GC/g 뇌 질량을 얻도록 지정될 것이다.
- [0611] 용량화 고려사항

- [0612] 조사 제품
- [0613] 개별 대상체들 사이 안전성 데이터의 검토를 포함하여 그리고 각 코호트가 임의의 용량 수준에서 용량화된 후, 대상체를 순차적으로 용량화하는 계획의 설명은 본 개시내용 (예를 들어, [00237] 내지 [00265]; [00175] 내지 [00186])에 개시된다.
- [0614] 면역억제 요법
- [0615] 프레드니손 용량화는 0.5 mg/kg/일에 시작할 것이고 12 주 방문까지 점차적으로 줄어든 것이다.
- [0616] 타크로리무스 용량 조정은 처음 24 주 동안 4 내지 8 ng/mL 이내로 전혈 최저 농도를 유지하기 위해 실시될 것이다. 24 주에 용량은 대략 50%만큼 감소될 것이다. 28 주에 용량은 대략 50%만큼 추가 감소될 것이다. 타크로리무스는 32 주에 중단될 것이다. 시롤리무스 용량 조정은 4 내지 8 ng/mL 이내로 전혈 최저 농도를 유지하기 위해 실시될 것이다. 대부분의 대상체에서, 용량 조정은 방정식: 새로운 용량 = 현재 용량 × (표적 농도/현재 농도)에 기반될 수 있다. 대상체는 농도 모니터링으로 추가 투여 조정 전에 적어도 7 내지 14 일 동안 새로운 유지 용량으로 계속해야 한다.
- [0617] 다음 약제 및 절차는 금지된다:
- [0618] · IT ERT는 스크리닝의 6개월 이내에 허용되지 않음.
- [0619] · ICF에 서명하기 전 또는 연구 동안 (104주까지) 임의의 시간에 5 반감기 또는 30일 중 더 긴 기간 이내에 임의의 조사 제품
- [0620] · 생백신은 시롤리무스 및/또는 타크로리무스 복용 중 피해야 함
- [0621] · CYP3A4 및/또는 P-당단백질 (PgP)의 강력한 억제제 (예컨대 케토코나졸, 보리코나졸, 이트라코나졸, 포사코나졸, 에리트로마이신, 텔리트로마이신 또는 클라리트로마이신) 또는 CYP3A4 및/또는 Pgp의 강력한 유도제 (예컨대 리팜핀 또는 리파부틴)는 시롤리무스 및/또는 타크로리무스 복용 중 피해야 함
- [0622] · 자몽 주스는 CYP3A-효소를 억제하여 증가된 타크로리무스 및 시롤리무스 전혈 최저 농도를 초래함. 대상체는 타크로리무스 및/또는 시롤리무스와 함께 자몽을 먹거나 자몽 주스를 마시는 것을 피해야 함.
- [0623] 허용된 약제 및 절차
- [0624] 대상체는 IV ERT의 안전한 요법 뿐만 아니라 임의의 지원 조치 (예를 들어, 물리 치료)를 계속 받는 것이 허용될 것이다. 지역 병원 치료 표준에 따라, 대상체는 MRI 동안 밀실 공포증을 예방하기 위한 약제를 받고 요추 천자, MRI, 및 신경 전도 연구 (ABR 또는 감각 유발 전위)를 위한 전신 마취를 받는 것이 허용될 것이다.
- [0625] 대상체의 안전 및 웰빙에 (예를 들어, 고혈압에) 필요한 것으로 고려되는, 위에 설명된 것 이외의 약제는 지역 치료 표준에 따라 조사자의 재량에 따라 주어질 수 있고 CRF의 적절한 섹션에 기록될 수 있다.
- [0626] **6.6 실시예 6: MPS II (헌터 중증군)를 가진 소아 대상체에서 작제물 1의 안전성, 내약성, 및 약력학을 평가하기 위한 I/II 상 다기관, 공개-라벨 연구**
- [0627] 상기 기재된 대로, 작제물 1은 AAV9.CB7.hIDS (인간 이두로네이트-2-설파타아제 발현 카세트를 함유하는 제조합 아데노-관련 바이러스 혈청형 9 캡시드)이다. 단락 [0019], 도 5 및 섹션 5.5 (실시예 5) 참조.
- [0628] 작제물 1은 단일 수조내 (IC) 또는 뇌실내 (ICV) 용량으로서 전달될 것이다.
- [0629] 2개 용량 수준, 1.3×10^{10} 게놈 사본 (GC)/g 뇌 질량 (용량 1) 및 6.5×10^{10} GC/g 뇌 질량 (용량 2)은 평가될 것이다. 투여된 총 용량은 그들의 스크리닝 자기 공명 영상 (MRI)을 기반으로 연구 대상체의 추정된 뇌 질량을 설명할 것이다. 투여된 제품의 총 용적은 총 CSF 용적의 10%를 초과하지 않을 것이다 (유아 뇌에서 ~50mL 그리고 성인 뇌에서 ~150mL로 추정됨).
- [0630] **6.6.1.목적:**
- [0631] 일차 목적
- [0632] · 중증 MPS II가 있는 소아 대상체에게 투여된 단일 IC, 또는 IC가 금기이면 ICV 용량 이후 24 주까지 작제물 1의 안전성 및 내약성을 평가하는 것

[0633] 이차 목적:

- [0634] · 작제물 1의 장기간 안전성 및 내약성을 평가하는 것
- [0635] · 뇌척수액 (CSF), 혈장, 및 소변 내 바이오마커에 관한 작제물 1의 효과를 평가하는 것
- [0636] · 인지, 행동, 및 적응 기능의 신경발달 매개변수에 관한 작제물 1의 효과를 평가하는 것
- [0637] · CSF, 혈청, 및 소변 내 벡터 셰딩을 평가하는 것

[0638] 탐구 목적:

- [0639] · 작제물 1의 면역원성을 평가하는 것
- [0640] · CNS 영상화에 관한 작제물 1의 효과를 탐구하는 것
- [0641] · 질환의 전신 증상에 관한 작제물 1의 효과를 탐구하는 것
- [0642] · 청각 능력에 관한 작제물 1의 효과를 탐구하는 것
- [0643] · 정맥내 (IV) ERT (ELAPRASE[®])를 일시적으로 중단하는 대상체에서 혈장 및 소변 내 바이오마커에 관한 작제물 1의 효과를 탐구하는 것
- [0644] · 삶의 질 (QOL)에 관한 작제물 1의 효과를 탐구하는 것
- [0645] · 수면 측정에 관한 작제물 1의 효과를 탐구하는 것
- [0646] · 임상의 보고된 결과에 관한 작제물 1의 효과를 탐구하는 것
- [0647] · 간병인 보고된 결과에 관한 작제물 1의 효과를 탐구하는 것

[0648] 6.6.2. 연구 설계 및 방법론

[0649] 이것은 작제물 1의 I/II 상, 인간 최초, 다기관, 공개-라벨, 단일 아암 용량 증량 연구이다. 대조군 그룹은 포함되지 않는다. 중증 MPS II가 있는 대략 6명의 소아 대상체는 2개 용량 코호트, 1.3×10^{10} GC/g 뇌 질량 (용량 1) 또는 6.5×10^{10} GC/g 뇌 질량 (용량 2)으로 등록될 수 있고 IC 또는 ICV 주사에 의해 투여된 작제물 1의 단일 용량을 받을 것이다. 안전성은 치료후 초기 24 주 (일차 연구 기간) 동안 일차 초점일 것이다. 일차 연구 기간의 완료 이후, 대상체는 작제물 1로 치료 이후 최대 총 104 주 동안 계속 (안전성 및 효능) 평가될 것이다. 연구의 끝에, 대상체는 장기 추적 연구에 참가하도록 초대될 것이다.

[0650] 첫 번째 3명의 적격 대상체는 용량 1 코호트 (1.3×10^{10} GC/g 뇌 질량)로 등록될 것이다. 첫 번째 대상체에 게 작제물 1 투여 후에, 안전성에 대하여 8-주 관찰 기간이 있을 것이다. 내부 안전성 위원회 (ISC)는 이 대상체에 대하여 ISC 현장에 따라 연구의 처음 8주 동안 수득된 안전성 데이터 (8주 방문 동안 수득된 데이터 포함)를 검토할 것이고, 안전성 문제가 없으면, 두 번째 대상체가 등록될 수 있다. 동일한 과정은 세 번째 대상체를 등록하는데 사용될 것이다. 다음 대상체에 대하여 사전 동의 및 스크리닝 활성화는 이전의 대상체에 대하여 관찰 기간 동안 진행할 수 있다.

[0651] 안전성 검토 트리거 (SRT) 사건이 관찰되지 않으면, 세 번째 대상체에 대하여 최대 8주 방문을 포함하여 수득된 용량 1 코호트에 대한 모든 이용가능한 안전성 데이터는 독립 데이터 모니터링 위원회 (IDMC)에 의해 평가될 것이다. 결정이 두 번째 용량 코호트 (6.5×10^{10} GC/g 뇌 질량)으로 진행하도록 하면, 후속 2명의 대상체는 초기 용량 코호트와 동일한 용량화 계획을 따를 것이다. ISC는 용량 2 코호트에서 두 번째 대상체의 최대 2주 방문을 포함하여 수득된 모든 대상체 안전성 데이터를 검토할 것이고 이 평가 직후 세 번째 대상체의 용량화로 진행하는 것이 안전함을 결정할 수 있다. 용량 2 코호트에 대하여 모든 이용가능한 안전성 데이터는 용량 2 코호트에서 세 번째 대상체에 대하여 8주 방문 후에 IDMC에 의해 평가될 것이다. IDMC의 승인으로, 연구 약물이 이용가능하고, 후원자의 승인이 있고 어느 한쪽 ISC 또는 IDMC에 따라 등록의 정지를 정당화하는 안전 사건이 없는 한 추가의 대상체는 용량 2 확장 코호트에서 용량화될 수 있다. 확장 코호트에서의 각 대상체는 적어도 2주의 간격으로 엇갈린 방식으로 용량화될 것이다.

[0652] 임의의 주어진 IDMC 회의에서, 용량 코호트의 종료 시에 계획되었거나 SRT에 의해 요청되었든, IDMC는 시험을 중단하거나, 현재 용량으로 추가의 대상체를 용량화하거나, 다음 용량 코호트로 진행하거나, 더 낮은 용량으로

진행할 것을 권고할 수 있다. 일단 8주의 데이터가 마지막 용량 2 코호트 대상체로부터 이용가능하면, 그리고 용량 2 코호트 대상체 중 아무도 SRT 사건이 없었다면, 연구에서의 등록은 완료된 것으로 고려될 것이고; 확장 코호트에서의 등록은 위에 명시된 대로 계속할 수 있다. 일단 확장 코호트에서 등록된 마지막 대상체가 2주 방문을 완료하면, 마지막 대상체의 2주 방문으로부터 데이터를 포함하여 확장 코호트에 대한 모든 안전성 데이터는 IDMC에 의해 평가될 것이다.

[0653] 임의의 사건이 중지 규칙의 기준을 충족하면, REGENXBIO 및 외부 IDMC에 의한 모든 안전성 데이터의 완전한 검토가 수행된 때까지 임의의 새로운 대상체의 용량화는 일시 중단될 것이다.

[0654] 잠재적 대상체는 연구에 대한 적격성을 결정하기 위해 용량화 전 최대 35 일 스크리닝될 것이고; 사전 동의 양식 (ICF)에 서명한 후 수행되었지만 이 기간을 벗어난 스크리닝 평가는 연구 책임자가 결정하고 의료 모니터가 승인한 대로 허용될 수 있다. 스크리닝 기간 밖에서 수행된 평가는 의료 모니터가 필요하다고 간주된 경우 반복될 것이다. 대상체는 처음에 등록에 실패하면 연구를 위하여 1회 리스크리닝될 수 있고; 대상체를 리스크리닝하기 위한 후원자 승인은 요구될 것이다. 리스크리닝은 대상체의 초기 스크린 실패의 시점으로부터 적어도 3개월이 경과한 후에 발생할 수 있다.

[0655] 적격성 기준을 충족시키는 그들 대상체는 (기관 관행에 따라) -2 일과 1 일의 아침 사이에 병원에 입원될 것이고, 기초 평가는 용량화전 수행될 것이다. 대상체는 1 일에 작제물 1의 단일 IC 또는 ICV 용량을 받을 것이고 관찰을 위하여 용량화 후에 대략 1 내지 2 일 동안 그리고 밤새 병원에 남아 있을 것이다. 대상체는 2박 이상의 입원 연장이 필요하지 않다고 연구 책임자가 결론을 내린 후 퇴원할 것이다. 일차 연구 기간에서 (즉, 24 주까지) 후속 평가는 4 주까지 매주 그리고 8, 12, 16, 20, 및 24 주에 수행될 것이다. 일차 연구 기간 후에, 방문은 28, 32, 40, 48, 52, 56, 64, 78, 및 104 주에 있을 것이다. 64 주 방문은 IV ERT를 중단하는 대상체에 대해서만 수행될 수 있다. 20 및 28 주 평가는 전화 연락에 의한 유해 사례 (AE) 및 병용 요법의 평가로 제한될 것이다.

[0656] 모든 대상체는 초기에 연구에서 면역 억제 (IS)를 받아 이식유전자를 발현시키는 조직에 대한 임의의 면역 매개 반응의 위험을 최소화할 뿐만 아니라 효능을 감소시킬 수 있는 IDS에 대한 항체의 형성 또는 증가와 연관된 임의의 위험을 최소화할 것이다. IS 요법은 코르티코스테로이드 (투여 전 1 일에 한 번 IV 메틸프레드니솔론 10 mg/kg 그리고 2 일에 0.5 mg/kg/일로 시작하여 12 주까지 점점 줄어든다 중단되는 경구 프레드니손), 타크로리무스 (2 일 내지 24 주에 2-4 ng/mL의 목표 혈중 수준으로 입으로 [PO] 1일 2회 [BID] 0.05 mg/kg 및 24 주 내지 32 주 사이의 8 주에 걸쳐 점점 줄어든) 및 시롤리무스 (-2 일에 4 시간마다 1 mg/m²의 로딩 용량 x 3회 용량 그리고 나서 -1 일부터: 48 주까지 1-3 ng/ml의 목표 혈중 수준으로 BID 용량화로 분할된 시롤리무스 0.5 mg/m²/일)를 포함할 것이다. 신경학적 평가 및 타크로리무스/시롤리무스 혈중 수준 모니터링은 수행될 것이다. 시롤리무스 및 타크로리무스의 용량은 목표 범위에서 혈중 수준을 유지하도록 조정될 것이다.

[0657] IS 요법이 48 주 후에 계획되지 않는다. IS가 임상적으로 관련한 면역 반응을 조절하기 위해 48 주 후에 요구되면, 적절한 면역억제 요법은, 임상적으로 지시된 대로, 의료 모니터 및 후원자와 논의에서, 연구 책임자 (PI)에 의해 결정될 것이다.

[0658] 비임상 안전성/독성 연구에서 관찰된 후근 신경절의 조직병리학적 소견 및 연관된 축삭병증 그리고 IC 투여 절차를 이용한 잠재적 안전성 위험을 감안할 때, 집중된 신경학적 평가 및 체성감각 유발 전위 (SSEP) 시험을 포함한, 긴밀한 신경학적 모니터링은 이용될 것이다.

[0659] 동물 데이터가 IC 및 ICV 작제물 1 투여의 전신 이익일 수 있음을 제안하므로, IV 이두로실파아제 (ELAPRASE[®]) 복용 중인 대상체는 52 주 방문 후에 ERT를 중단하는 옵션을 제공받을 수 있다. ERT를 중단하는 결정은 PI의 임상적 판단에 따르고 연구 후원자와 동의한 대로 이루어질 것이다. ERT를 중지하는 결정에 유용할 수 있는 추가의 정보는 최대 52주 방문의 혈장 I2S 그리고 혈장 및 소변 GAG의 최저 측정 (ERT 용량화 기준), 그리고 초음파에 의한 간 및 비장 크기 측정이다. 52, 56, 60, 64 및 78 주 방문은 ERT를 중단하기로 선출하는 대상체에서 대상체의 혈장 I2S 그리고 혈장 및 소변 GAG 수준에 대한 추가의 모니터링을 포함할 것이다. IV ERT를 중단하는 대상체는 간 및 비장 크기의 측정을 수행하기 위해 64주에 추가의 복부 초음파를 받을 것이다. IV ERT는 하기 기준 중 임의의 것이 충족되면 재시작될 것이다: 52주 방문에서 측정된 수준보다 2배 높은 소변의 GAG 수준에서의 증가, 또는 52주 값보다 20% 이하 높은 간 직경의 증가, 또는 내부 안전 위원회 및/또는 IDMC에 의해 IV ERT의 재시작을 보증하는 것으로 간주된 다른 안전성 매개변수에서 임의의 변화. 그러나, 대상체는 PI가 필요하다

고 간주되면, 언제든지 ERT를 재시작할 수 있다.

- [0660] 작제물 1의 안전성 및 내약성은 AE 및 심각한 유해 사례 (SAE), 화학, 혈액학, 소변검사, CSF 염증의 마커, 면역원성, 백터 웨딩 (백터 농도), 활력 징후, 심전도 (ECG), SSEP 시험, 및 신경학적 평가를 포함한 신체 검사의 평가를 통해서 모니터링될 것이다. 순환하는 바이러스 게놈 (EBV 및 CMV)의 검출을 위한 일련의 PCR (중합효소 연쇄 반응)은 또한 대상체가 IS를 받는 동안 수행될 것이다.
- [0661] 효능 평가는 약리학 (PD) 바이오마커 (CSF 및 혈장 내 GAG 및 I2S, 백혈구 I2S 효소 활성, 및 소변 내 GAG)의 수준의 측정, 뿐만 아니라 신경인지 기능, 청각 능력, 뇌 MRI, 간 및 비장 크기, 그리고 심장초음파에 의한 심장 평가를 포함할 것이다. 시험에 참가하는 동안 대상체의 치료 표준의 부분으로서 수행된 신경인지 또는 적응 평가는, 현장과 논의한 후 연구 후원자가 결정한 대로, 또한 수집될 수 있다.
- [0662] **6.6.3.평가변수**
- [0663] 일차 평가변수:
- [0664] · 24 주까지 안전성: AE 및 SAE
- [0665] 이차 평가변수:
- [0666] · 104 주까지 안전성: AE 보고, 실험실 평가, 활력 징후, ECG, 신체 검사, 및 신경학적 평가.
- [0667] · CSF (GAG, I2S 활성), 혈장 (GAG, I2S 활성), 및 소변 (GAG) 내 바이오마커
- [0668] · 인지, 행동 및 적응 기능의 신경발달 매개변수:
- [0669] o 베일리 영유아 발달 검사, 제3판 (BSID-III) (Bayley, 2005, Scales of Infant and Toddler Development, 3rd Ed.) 또는 카우프만 아동용 진단검사, 제2판 (KABC-II) (Kaufman, 2004, Kaufman Assessment Battery for Children, 2nd Ed.)
- [0670] o 바인랜드 적응 행동 척도, 제2판, 포괄적 면담 양식 (VABS-II) (Sparrow 등, 2005, Vineland Adaptive Behavior Scales, 2nd Ed.)
- [0671] · 작제물 1 데옥시리보핵산 (DNA)에 대한 정량적 중합효소 연쇄 반응 (PCR)에 의한 CSF, 혈장, 및 소변 내 백터 농도
- [0672] 탐구 평가변수:
- [0673] · 면역원성 측정
- [0674] o CSF 및 혈청에서 AAV9에 대한 중화 항체 역가 그리고 I2S에 대한 결합 항체 역가
- [0675] o 효소 결합 면역스팟 (ELISPOT) 검정: AAV9 및 I2S에 대한 T-세포 반응
- [0676] o 유세포 분석: AAV- 및 I2S-특이적 조절 T 세포
- [0677] · 뇌의 MRI로 평가된 CNS 구조적 이상
- [0678] · 복부의 초음파로 평가된 간 및 비장 크기
- [0679] · 판막 질환 및 좌심실 질량 지수에 대한 심장초음파에 의한 심장 평가
- [0680] · 청각 뇌간 반응 (ABR) 검사 또는 행동 청력측정 및 이음향 방출 시험으로 측정된 청각 능력 변화
- [0681] · IV ERT (ELAPRASE[®])를 일시적으로 중단하는 대상체의 혈장 및 소변 GAG
- [0682] · PedsQL
- [0683] · 수면 측정 (Ferreira 등, 2009, Sleep Medicine;10(4):457-463)
- [0684] · 질환의 임상 평가
- [0685] · 질환의 간병인 평가
- [0686] · 일상 생활의 활동 (Tanjuakio 등. 2015, Mol Genet Metab, 114(2):161-169; Kato 등, 2007, Brain Dev, 29(5): 298-305)

- [0687] · 질병의 부담
- [0688] **6.6.4.계획된 대상체의 수 및 연구 지속기간**
- [0689] 최대 12명의 대상체는 등록될 것이다.
- [0690] · 용량 1 코호트 내 3명의 대상체
- [0691] · 용량 2 코호트 내 3명의 대상체
- [0692] · 용량 2 확장 코호트 내 최대 6명의 대상체
- [0693] · IDMC는 추가의 대상체를 추가하는 것을 권장할 수 있다.
- [0694] 연구의 총 지속기간은 24주의 1차 안전성 평가 시점과 함께 용량 후 104주가 될 것이다. 스크리닝은 최대 35일이 소요될 수 있다.
- [0695] **6.6.5.포함 및 제외를 위한 진단 및 기준:**
- [0696] 이환된 친척에 대한 하기 정보는, 가능한 경우, 친척 사전 동의서가 취득된 후 수집될 것이다:
- [0697] · 인구통계 (나이, 성별)
- [0698] · 의료 및 수술 이력 (예를 들어, 심장 질환, 수근관 증후군, 고관절 이형성 또는 아탈구 등)
- [0699] · 중증 MPS II 진단 당시 연령 및 진단이 실시된 방법
- [0700] · 유전자형화 결과
- [0701] · 인지, 말하기 및 언어, 미세 운동 및 대근육 운동을 포함한 신경발달 시험 결과 (가능한 경우 그리고 중증 MPS II의 진단은 신경발달 시험을 통해 이루어짐)
- [0702] · 뇌 MRI의 결과
- [0703] · ERT 또는 HSCT를 포함하는, MPS II를 위한 치료
- [0704] · 현행 병용 약제
- [0705] 대상체는 처음에 등록에 실패한 경우 연구를 위해 1회 리스크리닝될 수 있고; 대상체를 리스크리닝하기 위한 후원자 승인이 요구될 것이다. 리스크리닝은 대상체의 초기 스크린 실패의 시점으로부터 적어도 3개월이 경과한 후에 발생할 수 있다. 리스크리닝되는 참가자는 새 ICF에 서명해야 된다. MRI를 제외한, 모든 스크리닝 절차는 반복될 것이고, 이에 대하여 재시험은 신경방사선의사/신경외과의사가 결정할 것이다.
- [0706] 이 연구에 참가할 자격이 있으려면, 대상체는 하기 포함 기준을 모두 충족시켜야 한다:
- [0707] · 1. 대상체의 법적 보호자(들)는 연구의 성격이 설명된 후, 그리고 임의의 연구 관련 절차 이전에 서면으로, 서명된 사전 동의서를 제공할 의향이 있고 제공할 수 있음.
- [0708] · 2. 4개월 이상이고 5세 미만 남성임
- [0709] · 3. 하기 기준 중 임의의 것을 충족시킴:
- [0710] o a. MPS II의 문서화된 진단이 있고 신경인지 시험 점수가 77점 이하 (BSID-III 또는 KABC-II)임, 또는
- [0711] o b. MPS II의 문서화된 진단이 있고 3 내지 36개월 떨어져서 투여된 일련의 신경인지 시험 (BSID-III 또는 KABC-II)에서 1 이상 표준 편차의 감소가 있음, 또는
- [0712] o c. 대상체와 동일한 IDS 돌연변이를 갖는 중증 MPS II로 임상적으로 진단된 친척이 있고 대상체가 유전학자의 의견으로 MPS II의 중증 형태를 유전함, 또는
- [0713] o d. 유전학자의 의견으로 항상 신경병증 표현형 [예를 들어, 완전한 결실 또는 큰 결실 (예를 들어 1개 이상 엑손에 걸쳐 있음) 또는 재조합]을 초래하는 것으로 공지된 IDS에서의 돌연변이가 문서화되었으며 임상학자의 의견으로 중증 형태의 MPS II가 있음.
- [0714] · 4. 보조 기구를 사용하거나 사용하지 않고, 필요한 프로토콜 시험을 완료하기에 충분한 청각 및 시각 능력을 가져야 하며, 해당되는 경우, 시험일에 보조 기구를 착용하는 데 따라야 함.

- [0715] 하기 제외 기준 중 임의의 것을 충족시키는 대상체는 연구에 참가할 자격이 없을 것이다:
- [0716] · 1. 하기 중 임의의 것을 포함하여, IC 또는 ICV 주사에 대한 금기 사항이 있음:
- [0717] o a. 연구에 참가하는 신경방사선의사/신경외과의사의 팀 (현장당 신경방사선의사 또는 신경외과의사 1명)에 의한 기초 MRI 시험의 검토는 IC 또는 ICV 주사에 대한 금기 사항을 보여줌
- [0718] o b. 연구에 참가하는 신경방사선의사/신경외과의사의 팀에 의한 이용가능한 정보의 검토를 기반으로, 양쪽 IC 및 ICV 주사에 대한 금기 사항을 초래한 이전 두경부 수술 이력
- [0719] o c. 컴퓨터 단층촬영, 조영제, 또는 전신 마취에 대한 임의의 금기 사항이 있음
- [0720] o d. MRI 또는 가돌리늄에 대한 임의의 금기 사항이 있음
- [0721] o e. 크레아티닌을 기준으로, $30 \text{ mL/분}/1.73 \text{ m}^2$ 미만의 추정된 사구체 여과율 (eGFR)에 의해 결정된 대로 신부전이 있음. 크레아티닌이 검정 검증 또는 검출의 하한선 미만이라고 실험실이 결정하면 하한선 컷오프 값은 eGFR을 추정하는 데 사용될 것임
- [0722] o f. 조사자와 신경방사선의사/신경외과의사의 팀의 의견으로 IC 및 ICV 주사에 대한 금기 사항인 임상적으로 유의한 두개내 출혈을 이전에 경험함
- [0723] · 2. 프레드니손, 타크로리무스 또는 시롤리무스를 이용한 치료를 금하는 임의의 병태가 있음
- [0724] · 3. MPS II 또는 PI의 의견으로 연구 결과의 해석을 혼란스럽게 할 수 있는 신경정신병적 병태의 진단으로 인한 것이 아닌 임의의 신경인지 결함이 있음
- [0725] · 4. 요추 천자에 대한 임의의 금기 사항이 있음
- [0726] · 5. 현장 신경방사선의사/신경외과의사의 의견으로 그리고 의료 모니터와의 논의를 통해 대상체의 투여 및 적절한 용량화에 영향을 미칠 수 있는 (대뇌) 심실 선트가 있음
- [0727] · 6. HSCT를 경험함
- [0728] · 7. AAV-기반 유전자 요법 제품으로 이전 치료를 받았음
- [0729] · 8. ICF에 서명한 후 4개월 이내에 경막내 (IT) 투여를 통해 이두르설파아제 (ELAPRASE[®])를 받음
- [0730] · 9. IV 이두르설파아제 (ELAPRASE[®])를 받았고 IV 이두르설파아제 (ELAPRASE[®]) 투여에 관련된 것으로 간주된, 아나필락시스를 포함한, 심각한 과민 반응을 경험하였음. 현재 IV 이두르설파아제를 받고 있고 용량 중단 또는 매주와 다른 용량 요법이 있는 경우, REGENXBIO 의료 모니터와 논의해야 됨
- [0731] · 10. ICF에 서명하기 전 5 반감기 또는 1일 중 더 긴 날짜로부터 30일 이내에 임의의 조사 제품을 받음
- [0732] · 11. 스크리닝 전에 적어도 1년 동안 완전 관해되지 않은, 피부의 편평 세포 또는 기저 세포 암종 이외의, 림프종의 임의의 병력 또는 또 다른 암의 병력이 있음
- [0733] · 12. 마이크로리터 (μL)당 100,000 미만 혈소판 수를 가짐
- [0734] · 13. 대상체가 이전에 질베르 증후군의 병력이 공지되어 있지 않는 한 스크리닝 시 아미노트랜스퍼라제 (ALT) 또는 아스파르테이트 아미노트랜스퍼라제 (AST) $>3 \times \text{ULN}$ 또는 총 빌리루빈 $>1.5 \times \text{ULN}$ 을 가짐
- [0735] · 14. 연령, 성별, 및 키에 대한 규범적 기준에 기반된 수축기 혈압 또는 이완기 혈압 > 99 번째 백분위수 + 5mmHg이기 위해 17세 이하의 아동으로 정의되는, 최대 의학적 치료에도 불구하고 조절되지 않는 고혈압
- [0736] · 15. 인간 면역결핍 바이러스 (HIV) 또는 B형 간염 또는 C형 간염 바이러스 감염의 병력이 있거나, B형 간염 표면 항원 또는 B형 간염 코어 항체, 또는 C형 간염 또는 HIV 항체에 대한 양성 스크리닝 시험이 있음
- [0737] · 16. 임상 현장 직원 또는 연구의 수행에 관여된 임의의 기타 개인의 1차 가족 구성원이거나 임상 현장 직원 또는 연구의 수행에 관여된 기타 개인임
- [0738] · 17. PI의 의견으로, 대상체의 안전성을 손상시킬 임상적으로 유의한 ECG 이상이 있음
- [0739] · 18. PI의 의견으로, 대상체의 안전성이나 연구에서의 성공적인 참가 또는 연구 결과의 해석을 손상시킬 심각

하거나 불안정한 의학적 또는 심리적 병태가 있음

[0740] · 19. PI의 의견으로 대상체를 과도한 위험에 빠뜨릴 통제되지 않는 발작이 있음

[0741] 면역억제 요법에 관련된 제외 기준:

[0742] · 20. 타크로리무스, 시롤리무스, 또는 프레드니손에 과민 반응의 병력이 있음

[0743] · 21. 원발성 면역결핍증 (예를 들어, 공통 가변성 면역결핍증 증후군), 비장절제술, 또는 대상체가 감염되기 쉬운 임의의 기저 병태의 병력이 있음

[0744] · 22. 스크리닝 적어도 12주 전에 완전히 해결되지 않은 대상 포진 (VZV), 거대세포바이러스 (CMV), 또는 엡스타인-바 바이러스 (EBV) 감염이 있음

[0745] · 23. 2차 방문 적어도 8주 전에 해결되지 않은 비경구 항-감염제로 치료 또는 입원을 요하는 임의의 감염이 있음

[0746] · 24. 2차 방문 전 10일 이내에 경구 항-감염제 (항바이러스제 포함)를 요하는 임의의 활성 감염이 있음

[0747] · 25. 활동성 결핵 (TB)의 병력 또는 스크리닝 동안 양성 쿼티페론-TB 골드 시험이 있음

[0748] · 26. 2일 전 4주 이내에 임의의 생백신을 받음

[0749] · 27. ICF에 서명하기 전 8주 이내에 대수술 또는 연구 기간 동안 계획된 대수술을 받았음

[0750] · 28. 등록 6개월 이내에 아테노이드 절제술 또는 편도 절제술의 필요성을 예상함. 아테노이드 절제술 또는 편도 절제술이 예상되면 스크리닝 전에 수행되어야 함

[0751] · 29. $1.0 \times 10^3 / \mu\text{L}$ 미만 절대 호중구 수가 있음

[0752] · 30. PI가 면역억제 요법에 적절하지 않다고 생각하는 임의의 병태 또는 실험실 이상이 있음

[0753] 6.6.6. 제안된 용량

[0754] 작제물 1은 단일 IC 주사로서 우선적으로 투여될 것이거나, IC 투여가 어렵거나 잠재적으로 불안정한 것으로 입증한다면 단일 ICV 주사로서 투여되어, 국한된 CSF 구획 내에서 표적 조직에 벡터의 직접 전달을 허용할 것이다. 경추 천자 (C1-C2)가 척수조영술을 위한 조영제 투여에 사용되는 일상적인 임상 절차이더라도, 영상-보조 후두하 천자는 IC 임상 투여의 루트로서 제안된다. 이것은 비임상 연구에서 사용된 투여의 루트를 복제하고 MPS II를 가진 환자가 C1-C2 IT 공간의 비정상적 협착의 발생률이 높기 때문에 의도된 환자 집단에서 C1-C2 천자보다 유리한 것으로 간주되고, 이는 C1-C2 천자와 연관된 위험을 실질적으로 증가시킨다. 절차에 앞서, 각 대상체는 연구에 참가하는 신경방사선과의사/신경외과의사의 팀에 의해 검토된 영역의 자기 공명 영상 (MRI)을 가질 것이다. IC 주사로 진행하는 것이 안전하지 않은 것으로 간주되면, 대상체는 ICV 주사에 대해 고려될 것이다. ICV 주사는 소아 및 성인 개인의 뇌실복강간 단락술 배치에 그리고, 보다 최근에는, CNS 약물 투여에 일반적으로 사용된 루트이다 (Drake 등, 2000, Childs Nerv Syst. 16(10-11):800-804; Cohen 등, 2017, Pediatric Neurology, 67:23-25; Slave 등, 2018, Mol Genetics and Metabolism, 124:184-188). 영상-보조 단일 ICV 주사는, 이 프로토콜에서 제안된 대로, 정위 뇌 생검에 필적하고, 이는 정밀 MRI 및 컴퓨터 단층촬영 (CT) 기술의 출현으로 일상적인 신경외과 개입이 또한 되었다.

[0755] 작제물 1로 MPS II 마우스에서 실행된 약리학 연구로부터, AAV9 벡터-기반 제품의 생체분포 및 이식유전자 발현 프로파일이 ICV 및 IC 루트에 필적하는 것으로 나타나, IC 투여가 어렵거나 잠재적으로 불안정한 것으로 입증한다면 대체 투여의 루트로서 ICV의 사용을 지원하였다. IC 및 ICV 절차의 추가 상세는 그들의 각자 관리 매뉴얼에 요약된다.

[0756] 투여된 제품의 총 용적은 총 CSF 용적의 10%를 초과하지 않는다 (유아 뇌에서 ~50 mL, 성인 뇌에서 ~150 mL로 추정됨).

[0757] 발달 중인 아동에서 초기에 발생하는 비교적 신속한 뇌 성장 때문에, IC 또는 ICV 투여된 작제물 1의 총 용량은 연구 대상체의 스크리닝 MRI에서 유래된 추정된 뇌 질량에 의존한다. 그들의 MRI로부터 연구 대상체의 추정된 뇌 용적은, 표 5, 섹션 5.3.2.에서 제시된 대로, 뇌 질량으로 전환되고 투여될 정확한 용량을 계산하는데 사용될 것이다.

- [0758] **6.6.7.면역억제 요법**
- [0759] 코르티코스테로이드
- [0760] · 벡터를 투여하는 날 아침 (투여 전 1일)에, 대상체에게 적어도 30분에 걸쳐 메틸프레드니솔론 10 mg/kg IV (500 mg의 최대량)가 투여될 것이다. 메틸프레드니솔론은 요추 천자 및 IP의 IC 또는 ICV 주사 전에 투여되어야 한다. 아세트아미노펜 및 항히스타민제를 사용한 예비 투약은 선택 사항이고 조사자의 재량에 따른다.
- [0761] · 2일에, 경구 프레드니손은 12 주까지 프레드니손 중단을 목표로 시작될 것이다. 프레드니손의 용량은 다음과 같을 것이다:
- [0762] o 2일부터 2주 말까지: 0.5 mg/kg/일
- [0763] o 3주 및 4주: 0.35 mg/kg/일
- [0764] o 5주 내지 8주: 0.2 mg/kg/일
- [0765] o 9주 내지 12주: 0.1 mg/kg
- [0766] o 프레드니손은 12 주 후에 중단될 것이다. 프레드니손의 정확한 용량은 다음으로 더 높은 임상적으로 실용적 용량으로 조정될 수 있다.
- [0767] 시롤리무스
- [0768] · 벡터 투여 2일 전 (-2일): 4시간마다 시롤리무스 1 mg/m^2 의 로딩 용량 x 3회 용량이 투여될 것이다
- [0769] · -1일부터: 1-3 ng/ml의 목표 혈중 수준으로 1일 2회 용량화로 분할된 시롤리무스 0.5 mg/m^2 /일
- [0770] · 시롤리무스는 48주 방문 후에 중단될 것이다.
- [0771] 타크로리무스
- [0772] · 타크로리무스는 2일 (IP 투여 다음 날)에 1일 2회 0.05 mg/kg의 용량으로 시작하고, 24주 동안 2-4 ng/mL의 혈중 수준을 달성하도록 조정될 것이다.
- [0773] · 24주 방문에서 시작하여, 타크로리무스는 8주에 걸쳐 점점 줄어들 것이다. 24주에, 용량이 대략 50%까지 감소될 것이다. 28주에, 용량이 대략 50%까지 추가 감소될 것이다. 타크로리무스는 32주에 중단될 것이다.
- [0774] · 타크로리무스 및 시롤리무스 혈중 수준 모니터링은 실행될 것이다.
- [0775] 용량화 조정
- [0776] 프레드니손 용량화는 0.5 mg/kg/일로 시작할 것이고 12 주 방문까지 점차적으로 줄어들 것이다.
- [0777] 타크로리무스 용량 조정은 처음 24 주 동안 2-4 ng/mL 이내로 전혈 최저 농도를 유지하기 위해 실시될 것이다. 24 주에, 용량은 대략 50%만큼 감소될 것이다. 28 주에, 용량은 대략 50%만큼 추가 감소될 것이다. 타크로리무스는 32 주에 중단될 것이다. 시롤리무스 용량 조정은 1-3 ng/mL 이내로 전혈 최저 농도를 유지하기 위해 실시될 것이다. 용량 조정은 임상 약사에 의해 수행되어야 한다. 대상체는 농도 모니터링으로 추가 투여 조정 전에 적어도 7 내지 14 일 동안 새로운 유지 용량으로 계속해야 한다.
- [0778] 트리메토프림/설파메톡사졸 (Bactrim™; BACTRIM™ USPI, 2013)을 사용한 폐포자충 폐렴 (PCP) 예방은 -2 일에 시작하여 48 주까지 계속하는 5 mg/kg의 용량으로 1주 3회 (예시 용량화 일정; 월요일, 수요일, 금요일) 제공될 것이다. 트리메토프림/설파메톡사졸 사용 (BACTRIM™ USPI, 2013)과 연관된 위험에 대하여 처방 정보를 참조한다. 설파 알레르기를 가진 환자 경우에, 대체 약제는 펜타미딘, 답손, 및 아토바쿰온을 포함할 수 있다.
- [0779] 항진균 예방은 ANC가 500 mm^3 미만이면 시행되어야 한다. 치료 요법은 적절한 하위 전문가와 상의하여 현지 현장 치료 표준을 통해서 결정될 것이다.
- [0780] 칼시뉴린 억제제와 라파문(Rapamune)의 동반 사용은 칼시뉴린 억제제-유도 혈전성 미세혈관병증의 위험을 증가시킬 수 있다. 혈전성 미세혈관병증 (TMA)은 혈소판 감소증, 미세혈관병증성 용혈성 빈혈, 및 다양한 기관계 침범을 특징으로 하는 장애들의 한 그룹이다.

- [0781] 이것은 중증 혈소판감소증 ($< 30 \times 10^9/L$), 혈액 도말 상의 분열적혈구를 특징으로 하는 미세혈관병증성 용혈성 빈혈, 증가된 망상적혈구 수 ($> 120 \times 10^9/L$), 상승된 락테이트 탈수소효소 수준 (LDH), 그리고 피부 및 점막 출혈, 쇠약, 및 호흡곤란의 징후를 나타낼 수 있다. 치료는 타크로리무스의 중단 그리고 혈장 교환의 가능한 개시를 포함한다.
- [0782] 증가하는 CMV 또는 EBV 바이러스 게놈이 일련의 시험 동안 검출되면, IS 감소 또는 항바이러스 치료 시작 결정은 적절한 하위 전문가와 상의하여 현지 치료 표준을 통해서 결정될 것이다.
- [0783] **6.6.8.금지된 약제 및 절차**
- [0784] 하기 약제 및 절차는 금지된다:
- [0785] · IT ERT는 ICF에 서명하기의 4개월 이내에 허용되지 않음.
- [0786] · ICF에 서명하기 전 또는 연구 동안 (104주까지) 임의의 시간에 5 반감기 또는 30일 중 더 긴 기간 이내에 임의의 조사 제품
- [0787] · 생백신은 시롤리무스 및/또는 타크로리무스 복용 중 피해야 함
- [0788] · CYP3A4 및/또는 P-당단백질 (PgP)의 강력한 억제제 (예컨대 케토코나졸, 보리코나졸, 이트라코나졸, 포사코나졸, 에리트로마이신, 텔리트로마이신 또는 클라리트로마이신) 또는 CYP3A4 및/또는 Pgp의 강력한 유도제 (예컨대 리팜핀 또는 리파부틴)는 시롤리무스 및/또는 타크로리무스 복용 중 피해야 함
- [0789] · 자몽 주스는 CYP3A-효소를 억제하여 증가된 타크로리무스 및 시롤리무스 전혈 최저 농도를 초래함. 대상체는 타크로리무스 및/또는 시롤리무스와 함께 자몽을 먹거나 자몽 주스를 마시는 것을 피해야 함.
- [0790] **6.6.9.허용된 약제 및 절차**
- [0791] 대상체는 IV ERT의 안정한 요법 뿐만 아니라 임의의 지원 조치 (예를 들어, 물리 치료)를 계속 받는 것이 허용될 것이다. 지역 병원 치료 표준에 따라, 대상체는 MRI 동안 밀실 공포증을 예방하기 위한 약제를 받고 요추 천자, MRI, 및 신경 전도 연구 (ABR 또는 SSEP)를 위한 전신 마취를 받는 것이 허용될 것이다.
- [0792] 대상체의 안전 및 웰빙에 (예를 들어, 고혈압에) 필요한 것으로 고려되는, 위에 설명된 것 이외의 약제는 지역 치료 표준에 따라 조사자의 재량에 따라 주어질 수 있고 CRF의 적절한 섹션에서 기록될 수 있다.
- [0793] **6.6.10.효능 평가**
- [0794] 바이오마커
- [0795] · CSF: GAG, I2S
- [0796] · 혈장: GAG, I2S. 매주 IV ERT로 치료된 대상체 경우에, 혈장 바이오마커는 ERT 주입 후 후속 주입이 시작될 때까지 적어도 96 시간으로서 정의된, 최저점에서 수집되어야 함
- [0797] · 백혈구 I2S 효소 활성. 매주 IV ERT로 치료된 대상체 경우에, 전혈은 ERT 주입 후 후속 주입이 시작될 때까지 적어도 96 시간으로서 정의된, 최저점에서 수집되어야 함
- [0798] · 소변: GAG. 매주 IV ERT로 치료된 대상체 경우에, 소변 GAG는 ERT 주입 후 후속 주입이 시작될 때까지 적어도 96 시간으로서 정의된, 최저점에서 수집되어야 함
- [0799] 인지, 행동, 및 적응 기능의 신경발달 매개변수:
- [0800] · 베일리 영유아 발달 검사, 제3판 (BSID-III) 또는 카우프만 아동용 진단검사, 제2판 (KABC-II)
- [0801] · 바인랜드 적응 행동 척도, 제2판, 포괄적 면담 양식(VABS-II)
- [0802] · 시험에 참가하는 동안 대상체의 치료 표준의 부분으로서 수행된 기타 신경인지 또는 적응 평가는 현장과 논의한 후 연구 후원자가 결정한 대로 또한 수집될 수 있음
- [0803] 영상 평가
- [0804] · 뇌의 MRI는 특정 방문시에 수행될 것이다. 추정된 사구체 여과율 (eGFR)은 가돌리늄으로 스크리닝 MRI 전에 문서화되어야 함. 조사자는 eGFR이 $30\text{mL}/\text{분}/1.73\text{m}^2$ 미만이면 스크리닝 MRI로 진행하기 전에 의료 모니터와 상의

해야 함

- [0805] · 복부 초음파는 장형 타원체 공식 ($0.52 \times \text{길이} \times \text{전후 치수} \times \text{너비}$)을 사용하여 계산된 비장 용적 및 쇄골 중앙선에서 상하 간 직경 (Kratzer 등, 2003, J. Ultrasound Med. 22:1155-1161)을 문서화하기 위해 특정 방문 시에 수행될 것임
- [0806] · 2-D 심장초음파는 판막 질환 및 좌심실 질량 지수를 평가하기 위해 특정 방문에서 수행될 것임.
- [0807] · 청각 능력 변화는 행동 청력 측정 및 이음향 방출 시험으로 측정될 것이고; 행동 청력 측정이 가능하지 않으면, ABR 시험이 완료될 것이다. 청각 능력은 특정 방문 시 평가될 것이고; 추가의 평가는 조사자가 임상적으로 필요하다고 간주하면 24주 방문 시 허용됨.
- [0808] · PedsQL을 사용한 QOL 평가
- [0809] · 수면 평가
- [0810] · 질환의 임상 평가
- [0811] · 질환의 간병인 평가
- [0812] · ADL
- [0813] · 질병의 부담
- [0814] **6.6.11. 임상 실험실 시험**
- [0815] 하기 CSF 안전성 실험실 및 항체 시험이 평가될 것이다:
- [0816] · CSF 염증의 마커: CSF 압력, 적혈구 세포수, 감별이 있는 백혈구 수, 총 단백질, 및 포도당
- [0817] · 면역 반응 모니터링: AAV9에 대한 중화 항체 그리고 I2S에 대한 결합 항체
- [0818] · 백터 농도 (qPCR): 작제물 1 농도
- [0819] 하기 임상 실험실 시험이 평가될 것이다:
- [0820] · 화학: 포도당, 혈액 요소 질소, 크레아티닌, 나트륨, 칼륨, 염화물, 이산화탄소, 칼슘, 마그네슘, 인, 총 단백질, 알부민, 총 빌리루빈, 직접 빌리루빈, 알칼리성 인산분해효소 (ALP), ALT, AST, 감마 글루타밀-트랜스퍼라제, 및 크레아틴 키나제
- [0821] · 지질 패널: 총 콜레스테롤, 저밀도 지단백질 (LDL) 콜레스테롤, 고밀도 지단백질 (HDL) 콜레스테롤, 중성지방
- [0822] · 혈액학: 헤마토크릿, 헤모글로빈, 적혈구 (RBC), WBC, 혈소판, 호중구, 림프구, 단핵구, 호산구, 및 호염기구 수를 포함한, 감별 및 혈소판 수가 있는 CBC
- [0823] · 응고: 프로트롬빈 시간 (PT) 및 부분 트롬보플라스틴 시간 (PTT)
- [0824] · 소변검사: 포도당, 케톤, 단백질, 혈액을 위한 덤스틱 (정당하면, 현미경 평가가 완료될 것임)
- [0825] · 면역원성 측정: AAV9에 대한 중화 항체 그리고 I2S에 대한 결합 항체; ELISPOT 검정: AAV9 및 I2S에 대한 T-세포 반응; AAV 및 I2S 특이적 조절 T 세포에 대한 유세포 분석
- [0826] · 백터 농도 (qPCR): 혈청 및 소변 내 작제물 1 농도
- [0827] · 혈청학 및 게놈 검출을 위한 바이러스 시험:
- [0828] o VZV: Ab 역가 (기준선)
- [0829] o EBV 및 CMV: 바이러스 게놈을 위한 PCR 검사 (기준선 및 일련으로)
- [0830] · B형 간염 표면 항원, B형 간염 코어 항체, 항C형 간염, 및 HIV: 스크리닝 목적으로만
- [0831] · 퀴티페론-골드_TB 플러스: 스크리닝 목적으로만.
- [0832] · 혈장 바이오마커

- [0833] · 소변 바이오마커
- [0834] 실험실 보고서는 적절한 임상 검토를 보장하기 위해 적시에 PI에 이용될 것이다. PI는 모든 실험실 보고서를 검토하고 서명할 책임이 있다.
- [0835] **6.6.12.활력 징후 및 심전도**
- [0836] 활력 징후 (수축기/이완기 BP, 맥박수, 체온, 및 호흡수), 머리 돌레, 키, 체중, 및 ECG의 평가는 방문 시에 획득/수행될 것이다.
- [0837] **6.6.13.신경학적 평가**
- [0838] 신경학적 평가는 하기를 포함해야 한다:
- [0839] · 의식 수준
- [0840] · 뇌신경 검사
- [0841] · 운동 기능
- [0842] · 감각 기능
- [0843] · 협응 및 보행
- [0844] SSEP 시험은 또한 선택된 시점에 수행될 것이다. SSEP 시험을 위한 프로토콜 요구사항에 관한 추가의 상세는 SSEP 매뉴얼에서 찾아질 수 있다.
- [0845] **6.7실시에 7: MPS II 쥐와 모델 연구**
- [0846] MPS II 또는 헌터 증후군은 조직에서 글리코사미노글리칸 (GAG)의 축적을 초래하는 이두로네이트-2-설파타아제 (I2S)의 결핍에 의해 야기된다. 중증 MPS II는 재조합 I2S 효소를 사용한 정맥내 투여된 효소 대체 요법으로 해결되지 않는 비가역적 신경인지 저하 및 행동 증상을 초래한다. 작제물 1은 인간 이두로네이트-2-설파타아제 발현 카세트를 함유하는 재조합 아데노-관련 바이러스 혈청형 9 캡시드 (AAV9) (AAV9.CB7.hIDS)이다. MPS II 쥐와 모델에서, 뇌척수액 (CSF)에 투여된 작제물 1은 용량 의존적 I2S 활성, 감소된 GAG 수준, 중추 신경계에서 저장 병리의 개선 및 개선된 신경행동 기능을 입증하였다. 백터 분포 및 감소된 GAG 수준, 뿐만 아니라 간 크기 및 중량의 정상화는 말초 기관에서 관찰되었다.
- [0847] **6.8실시에 8: 1/2 상, 인간 최초, 다기관, 공개-라벨, 용량 증량 시험**
- [0848] II형 점액다당류증 (MPS II)은, 궁극적으로 세포, 조직, 및 기관 기능 장애를 초래하는 조직에서 해파린 설페이트 (HS)를 포함하는, 글리코사미노글리칸 (GAG)의 축적을 유발하는 리소좀 효소 이두로네이트-2-설파타아제 (I2S)의 결핍으로 야기된 희귀, X-결합된 열성 질환이다. 중증 형태의 질환에서, 초기 발달 이정표가 충족될 수 있지만, 발달 지체는 18 내지 24 개월에 쉽게 나타난다. MPS II를 가진 환자는 중추 신경계 (CNS)에서의 질환 예전대 인지 발달 장애의 증상을 다루지 않는 전신 효소 대체 요법의 이용가능성에도 불구하고 유의한 어려움을 계속 갖는다. MPS II의 신경학적 증상을 해결하고 인지 저하를 예방하거나 안정화하기 위한 특정 치료는 여전히 충족되지 않은 중요한 의학적 필요성으로 남아 있다. MPS II 환자에서 I2S 효소적 활성의 핵심 바이오마커는 이의 기질 HS를 포함하며, 이는 장애의 신경인지적 증상과 상관관계가 있는 것으로 나타났다.
- [0849] 진행 중인 1/2 상, 인간 최초, 다기관, 공개-라벨, 용량 증량 시험에서, 작제물 1은 4개월 내지 5세의 중증 MPS II를 가진 참가자의 대수조에 1회 주사로서 투여되었다. 작제물 1은 AAV9 벡터를 사용하여 I2S 효소를 인코딩하는 유전자를 CNS에 직접 전달하도록 설계되며, 혈액-뇌 장벽 너머로 분비된 I2S의 영구적 공급원을 제공하여, CNS 전반에 걸쳐 세포의 장기간 교차 보정을 허용하도록 목표된다.
- [0850] 평가는 최대 104 주 안전성 및 내약성; CSF, 혈장 및 소변 바이오마커; 면역원성; 신경발달 척도 (베일리 영유아 발달 검사 또는 카우프만 아동용 진단검사, 및 바인랜드 적응 행동 척도); 청력검사; 뇌, 간 및 비장의 영상화; 그리고 임상적- 및 환자-보고된 결과 측정을 포함한다.
- [0851] 코호트 1은 16개월의 추적을 완료하는 적어도 1명의 환자로 등록을 완료하였다. 1/2 상 연구의 코호트 1에서, 3명의 환자는 1.3×10^{10} 게놈 사본 / 그램 (GC/g)의 뇌 질량으로 5개월 (환자 1), 35개월 (환자 2), 및 7개월 (환자 3)의 나이에 수조대로 용량화되었다. 작제물 1의 투여후 안전성 추적은 12주 내지 68주 범위이다. 작제물 1 투여는, 보고된 약물-관련 심각한 유해 사례 (SAE) 없이, 내약성이 양호하였다. 프로토콜에 따라, 환자는 면

역-매개 반응에 대한 잠재성을 최소화하기 위해 48주 면역억제 요법을 받았으며 중요하게는, 환자 1은 면역억제 요법을 완료하였다.

[0852] 코호트 1에서, I2S 효소 활성의 핵심 바이오마커 및 MPS II의 신경인지 감소의 핵심 GAG 바이오마커인, HS의 CSF 수준은 최대 48주 측정된 일관되고 지속적인 감소를 보여주었다. HS는 작제물 1의 투여 이후 뇌척수액 (CSF)의 이 1/2 상 연구에서 측정되었다. MPS II 환자에서, 많은 양의 HS가 CNS에 축적하여, 신경인지 감소와 밀접하게 관련된다. 코호트 1에 등록된 3명의 환자 모두의 CSF에서, HS 수준은 기준선에서 8주까지 33.3%의 평균 감소를 입증하였다. 환자 1은, 8주에 기준선에서 27.4% 감소 그리고 이용가능한 가장 최근 시점인 48주에 기준선에서 43.6% 감소로, 시간이 지남에 따라 CSF에서 HS 수준의 일관된 감소를 입증하였다. 환자 2는, 이용가능한 가장 최근 시점인 8주까지 기준선에서 30.9% 감소로, 또한 CSF에서 HS 수준의 감소를 입증하였다. 환자 3은 이용가능한 가장 최근 시점인, 8주까지 기준선에서 41.6% 감소로 CSF에서 HS 수준의 감소를 입증하였다.

[0853] 이밖에도, 초기 신경발달 매개변수는 진행 중인 기술 획득을 입증하였다. 24주 넘어서 진행된 2명의 환자 경우에, 예비 데이터는 신경인지 발달의 안정성을 나타낸다. 환자 1은 마지막 평가 시간인, 48주에 예상대로 정상 인지 발달을 계속 나타냈다. 환자 2는 작제물 1로 용량화하기 전에 신경인지 감소로 진단되었고 발달이 지체된 상태로 남아 있지만, 예비 평가는 용량화 이후 안정한 신경인지 발달을 시사한다.

[0854] 코호트 1의 모두 3명 환자로부터 안전성 및 효능 데이터의 검토 이후, 작제물 1의 I/II 상 연구에 대한 독립 데이터 모니터링 위원회는 코호트 2로의 계속 및 용량 증량을 승인하였다. 이어서, 작제물 1은 코호트 2의 첫 번째 환자에게 6.5×10^{10} GC/g의 뇌 질량의 용량으로 투여되었다. 코호트 2는 적극적으로 등록하고 용량화된다.

[0855] 결론적으로, MPS II의 치료를 위한 작제물 1의 진행 중인 1/2 상 시험의 첫 번째 코호트로부터 중간 데이터는 다음을 보여준다: (1) 작제물 1은 1회 수조내 투여 이후 MPS II를 가진 환자에서 내약성이 양호하였음; (2) 작제물 1을 사용한 치료는 작제물 1의 투여 후 최대 48주, MPS II에서 I2S 효소 활성의 핵심 바이오마커인, 헤파란 설페이트의 CSF 수준에서 일관되고 지속적인 감소를 초래하였음; 및 (3) 작제물 1을 사용한 치료는 이전에 진단된 발달 지체를 가진 환자에서 신경인지 안정성의 초기 징후를 달성하였고 더 어린 환자에서 정상 인지 발달을 계속하였음.

[0856] **6.9실시예 9: MPS II (헌터 증후군)를 가진 5세 이상 아동에서 작제물 1의 안전성, 내약성, 및 약력학을 평가하기 위한 I/II 상 다기관, 공개-라벨 연구**

[0857] **6.9.1.개요**

[0858] **연구 설계**

[0859] 이것은 작제물 1의 I/II 상, 다기관, 공개-라벨, 단일 아암 연구이다. 대조군 그룹은 포함되지 않는다. 중증 (신경병증성) MPS II가 있는 대략 6명의 아동 (5세 이상이고 18세 미만)은 6.5×10^{10} GC/g 뇌 질량의 단일 용량 코호트에 등록될 수 있고 IC 또는 ICV 주사에 의해 투여된 작제물 1의 단일 용량을 받을 것이다.

[0860] **일차 목적**

[0861] · 신경병증성 MPS II가 있는 나이가 많은 (5세 이상) 아동에게 투여된 단일 IC 용량, 또는 IC 루트가 금기이면 ICV 용량 이후 24 주까지 작제물 1의 안전성 및 내약성을 평가하는 것

[0862] **이차 목적**

[0863] · 작제물 1의 면역원성을 평가하는 것

[0864] · CNS 영상화에 관한 작제물 1의 효과를 탐구하는 것

[0865] · 질환의 전신 증상에 관한 작제물 1의 효과를 탐구하는 것

[0866] · IV ERT (ELAPRASE[®])를 중단하는 참가자에서 혈장 및 소변 내 바이오마커에 관한 작제물 1의 효과를 탐구하는 것

[0867] · 삶의 질 (QOL)에 관한 작제물 1의 효과를 탐구하는 것

[0868] · 수면 측정에 관한 작제물 1의 효과를 탐구하는 것

[0869] · 임상적 보고된 결과에 관한 작제물 1의 효과를 탐구하는 것

- [0870] · 간병인 보고된 결과에 관한 작제물 1의 효과를 탐구하는 것
- [0871] · 일상적 기능을 포착하기 위해 비디오 녹화를 사용하는 것
- [0872] · 소근육 민첩성에 관한 작제물 1의 효과를 탐구하는 것
- [0873] 포함을 위한 진단 및 주요 기준:
- [0874] 이 연구에 참가할 자격이 있으려면, 참가자는 다음이 있는 5세 이상이고 18세 미만 남성이어야 한다:
- [0875] · 신경인지 감소를 가진 MPS II의 문서화된 진단, 또는
- [0876] · MPS II의 신경병증성 형태를 초래하는 것으로 공지된 IDS의 문서화된 돌연변이(들), 또는
- [0877] · 신경병증성 MPS II를 가진 친척과 동일한 IDS의 문서화된 돌연변이(들).
- [0878] 이밖에도, 참가자는 IC 또는 ICV 주사 및 면역억제를 안전하게 받을 수 있어야 한다.
- [0879] 조사 제품, 투여 및 투여의 모드
- [0880] 작제물 1: AAV9.CB7.hIDS (인간 이두로네이트-2-설파타아제 발현 카세트를 함유하는 재조합 아데노-관련 바이러스 혈청형 9 캡시드). 단락 [0019] 및 도 5 참조.
- [0881] 제품은 단일 IC 또는 ICV 용량으로서 전달될 것이다.
- [0882] 1회 용량 수준, 6.5×10^{10} GC/g은 평가될 것이다. 투여된 총 용량은 그들의 스크리닝 MRI에 기반된 연구 참가자의 추정된 뇌 크기를 설명할 것이다. 투여된 제품의 총 용적은 추정된 CSF 용적의 10%를 초과하지 않을 것이다.
- [0883] **6.9.2. 안전성 및 효능 평가를 위한 기준**
- [0884] 일차 평가변수
- [0885] · 24 주까지 안전성: AE 및 SAE
- [0886] 이차 평가변수:
- [0887] · 104 주까지 안전성: AE 및 SAE
- [0888] · CSF (GAG, I2S 활성), 혈장 (GAG, I2S 활성), 및 소변 (GAG) 내 바이오마커
- [0889] · 인지, 행동, 및 적응 기능의 신경발달 매개변수:
- [0890] · 베일리 영유아 발달 검사, 제3판 (BSID-III) (Bayley, 2005, Scales of Infant and Toddler Development, 3rd Ed.)
- [0891] · 조기 학습의 멀렌 척도 (MSEL) (Mullen, Circle Pines, MN: American Guidance Service Inc., 1995)
- [0892] · 바인랜드 적응 행동 척도, 제2판, 포괄적 면담 양식 (VABS-II) (Sparrow 등, 2005, Vineland Adaptive Behavior Scales, 2nd Ed.)
- [0893] 탐구 평가변수:
- [0894] · 면역원성 측정
- [0895] · CSF 및 혈청에서 AAV9에 대한 중화 항체 역가 그리고 I2S에 대한 결합 항체 역가
- [0896] - 효소 결합 면역소포 (ELISPOT) 측정: AAV9 및 I2S에 대한 T-세포 반응
- [0897] · 뇌의 MRI로 평가된 CNS 구조적 이상
- [0898] · 복부의 초음파로 평가된 간 및 비장 크기
- [0899] · 판막 질환 및 좌심실 질환 지수에 대한 심장초음파에 의한 심장 평가
- [0900] · 정중 신경 운동 및 감각 원위 전도 속도 및 잠복기
- [0901] · IV ERT (ELAPRASE[®])를 중단하는 참가자의 혈장 및 소변 GAG

- [0902] · PedsQL
- [0903] · 수면 측정 (아동 수면 장애 척도 - SDSC) (Ferreira 등, 2009, Sleep Medicine;10(4):457-463)
- [0904] · 중증도에 대한 임상적 전체적 인상 및 변화에 대한 임상적 전체적 인상
- [0905] · 중증도에 대한 간병인 전체적 인상 및 변화에 대한 간병인 전체적 인상
- [0906] · 일상 생활의 활동 (Tanjuakio 등, 2015, Mol Genet Metab, 114(2):161-169; Kato 등, 2007, Brain Dev, 29(5): 298-305)
- [0907] · 아동용 장애 평가 척도 컴퓨터 적응 시험 (PEDI CAT)
- [0908] · 9-홀 Peg 시험
- [0909] · 비디오로 포착한 기능적 성능
- [0910] 통계적 방법
- [0911] 모든 데이터는 기술적 통계를 사용하여 분석될 것이다. 범주형 변수는 빈도와 백분율을 사용하여 요약될 것이다. 연속 변수는 비-결측된 관측치의 수, 평균, 표준 편차, 중앙값, 최소값, 및 최대값을 사용하여 요약될 것이다. 그래픽 디스플레이는 적절하게 제시될 것이다. 참가자 데이터 목록은 또한 표시될 것이다.
- [0912] 샘플 크기 및 검정력 계산
- [0913] 공식 계산은 샘플 크기를 결정하기 위해 수행되지 않았다.
- [0914] **6.9.3. 약어의 목록 및 용어의 정의**

표 9: 약어 및 전문가 용어

약어 또는 전문가 용어	설명
AAV	아데노-관련 바이러스
AAV9	아데노-관련 바이러스 혈청형 9
ABR	청각 뇌간 반응 (들)
ADL	일상 생활의 활동
AE	유해 사례
AESI	특별 관심의 유해 사례
ALP	알칼리 포스파타아제
ALT	알라닌 아미노스랜스퍼라아제
ANC	절대 호중구 수
APB	단무지외전근
AST	아스파테이트 아미노스랜스퍼라아제
BBB	혈액-뇌 장벽
BID	1 일 2 회
BP	혈압
BSID	베일리 영유아 발달 검사
BSL	생물안전도 수준
BUN	혈중 요소 질소
CB7	하이브리드 C4 및 CB (닭 베타 액틴 프로모터)
CBC	완전 혈구 측정
CFR	연방 규정집
CGL-C	변화에 대한 임상적 전체적 인상 척도

[0915]

약어 또는 전문가 용어	설명
CGI-S	중증도에 대한 임상적 전체적 인상 척도
CI	신뢰 구간
CIOMS	국제 의료 과학 기구 협의회
CMV	거대세포바이러스
CNS	중추신경계
CoA	분석 증명서
CRF	사례 보고 양식
CRO	계약 연구 기관
CSF	뇌척수액
CT	컴퓨터 단층촬영
CTA	임상 시험 합의
CTCAE	유해 사례 공통 용어 기준
CZ	Crystal Zenith®
DLT	용량-제한 독성
DNA	데옥시리보핵산
DRG	배근 신경절
DS	더마탄 설페이트
ECG	심전도
ED	조기 중단 (방문)
EDC	전자 데이터 획득
eGFR	추정된 사구체 여과율
ELISA	효소-결합 면역흡착 검정
ELISPOT	효소-결합 면역스팟

[0916]

약어 또는 전문가 용어	설명
EOS	연구의 끝
ERT	효소 대체 요법
EU	유럽 연합
FDA	식품의약국
FIM	가족 영향 모듈
G	그램
GAG(s)	글리코사미노글리칸(들)
GC	계능 사본
GCP	양호 임상 관행
GLP	양호 실험실 관행
HBsAg	간염 B 표면 항원
HCV	간염 C 바이러스
Hep	간염
hIDS	인간 이두로네이트-2-설파타아제 유전자
HIPAA	건강 보험 이동 회계 법
HIV	인간 면역결핍 바이러스
HS	헤파란 설페이트
HSCT	조혈모세포 이식
IB	조사자 자료집
IC	수조내
ICF	사전 동의 양식
ICH	국제 조화 회의
ICV	뇌실내

[0917]

약어 또는 전문가 용어	설명
IDMC	독립 데이터 모니터링 위원회
IDS	이두로네이트-2-설파타아제 유전자
IEC	독립 윤리 위원회 (들)
IgG	면역글로불린 G
IMP	조사 의약품
IND	조사 신약
INR	국제 표준화 비율
IP	조사 제품
IRB/IEC	기관 검토 위원회/독립 윤리 위원회
IS	면역 억제
ISC	내부 안전성 위원회
IT	경맥내(로)
ITRs	역방위 말단 반복
IV	정맥내(로)
LDH	락테이트 탈수소효소 수준
LDL	저-밀도 지단백질
LFT	간 기능 시험
MED	최소 유효 용량
MedDRA	규제 활동을 위한 의학 사전
mL	밀리리터
MPS I	II 형 점액다당류증
MPS VII	VII 형 점액다당류증
MRI	자기 공명 영상

[0918]

약어 또는 전문가 용어	설명
MSEL	조기 학습의 멀린 척도
MTD	최대 허용 용량
NAb	중화 항체
NHP	비-인간 영장류
NIH	국립 보건원
NIMP	비-조사 의약품
OAE	이음향 방출
PBMC	말초 혈액 단핵 세포
PCP	주폐포자충 폐렴
PCR	중합효소 연쇄 반응
PD	약리학
PEDI-CAT	아동용 장애 평가 척도 컴퓨터 적용 시험
PHI	보호된 건강 정보
PI	연구 책임자
PML	진행성 다초점 백질뇌병증
PK	약동학
PO	입으로/경구로
PT	프로트롬빈 시간, (MedDRA) 선호된 용어
PTT	부분적 트롬보플라스틴 시간
PVAN	폴리오마 바이러스-관련 신병증
QD	매일
QOL	삶의 질
qPCR	정량적 중합효소 연쇄 반응

[0919]

약어 또는 전문가 용어	설명
RBC	적혈구
작제물 1	인간 이두로네이트-2-설파타아제 발현 카세트를 함유하는 재조합 아데노-관련 바이러스 혈청형 9 캡시드
RNA	리보핵산
SAE	심각한 유해 사례
SAP	통계 분석 계획
SD	표준 편차
SDSC	아동 수면 장애 척도
SDV	원본 데이터 검증
SNAP	감각 신경 활동 전위
SOC	(MedDRA) 기관별 대분류
SRT	안전성 검토 트리거
SSEP	체성감각 유발 전위
SUSAR	중대하고 예상하지 못한 심각한 유해 반응
TB	결핵
TEAE	치료-용급 유해 사례
TMA	혈전성 미세혈관병증
Treg	조절 T 세포
ULN	정상의 상한
US	미국
VABS	바인랜드 적응 행동 척도
VAS	시각 아날로그 척도
VZV	수드 대상포진 바이러스

약어 또는 전문가 용어	설명
WBC	백혈구
WHO	세계 보건 기구

6.9.4. 전반적 연구 설계

이것은 작제물 1의 I/II 상, 다기관, 공개-라벨, 단일 아암 연구이다. 대조군은 포함되지 않는다. 중증 (신경병 증성) MPS II가 있는 대략 6명의 아동 (5세 이상이고 18세 미만)은 6.5×10^{10} GC/g 뇌 질량의 단일 용량 코호트에 등록될 수 있고 IC 또는 ICV 주사에 의해 투여된 작제물 1의 단일 용량을 받을 것이다. 안전성은 치료후 초기 24 주 (일차 연구 기간) 동안 일차 초점일 것이다. 일차 연구 기간의 완료 이후, 참가자는 작제물 1로 치료 이후 최대 총 104 주 동안 계속 (안전성 및 효능) 평가될 것이다. 연구의 끝에, 참가자는 장기 추적 연구에 참가하도록 초대될 것이다.

첫 번째 2명의 적격 참가자는 엇갈린 방식으로 등록될 것이다. 첫 번째 참가자에게 작제물 1 투여 후에, 안전성에 대하여 8-주 관찰 기간이 있을 것이다. 내부 안전성 위원회 (ISC)는 이 참가자에 대하여 ISC 현장에 따라 연구의 처음 8주 동안 수득된 안전성 데이터 (8주 방문 동안 수득된 데이터 포함)를 검토할 것이고, 안전성 문제가 없으면, 두 번째 참가자가 용량화될 수 있다. 두 번째 참가자에 대하여 사전 동의 및 스크리닝 활성화는 첫 번째 참가자에 대하여 관찰 기간 동안 진행할 수 있다.

안전성 검토 트리거 (SRT) 사건이 관찰되지 않으면, 두 번째 참가자에 대하여 최대 8주 방문을 포함하여 수득된

첫 번째 2명의 참가자에 대한 모든 이용가능한 안전성 데이터는 독립 데이터 모니터링 위원회 (IDMC)에 의해 평가될 것이다. 결정이 진행하도록 하면, 다음 4명의 참가자는 등록될 수 있다.

[0926] 모든 이용가능한 안전성 데이터는 6번째 참가자에 대한 8주 방문 후에 그리고 연구별 IDMC 현장 내에 명시된 간격으로 IDMC에 의해 평가될 것이다.

[0927] 임의의 주어진 IDMC 회의에서, SRT에 의해 계획되었거나 요청되었든, IDMC는 시험을 중단하거나 추가 참가자의 용량화를 지체하거나, 더 낮은 용량으로 진행할 것을 권고할 수 있다. 일단 8주의 데이터가 6번째 참가자로부터 이용가능하면, 연구에서의 등록은 완료될 것이다.

[0928] 임의의 사건이 미리특정된 중지 규칙의 기준을 충족한다면, REGENXBIO 및 외부 IDMC에 의한 모든 안전성 데이터의 완전한 검토가 수행된 때까지 임의의 새로운 참가자의 용량화가 보류될 것이다.

[0929] 적격성 기준을 충족시키는 이들 참가자는 (기관 관행에 따라) -2 일과 1 일의 아침 사이에 병원에 입원될 것이고, 기초 평가는 용량화 전 수행될 것이다. 참가자는 1 일에 작제물 1의 단일 IC 또는 ICV 용량을 받을 것이고 관찰을 위하여 용량화 후에 밤새 병원에 남아 있을 것이다. 참가자가 퇴원에 용이하고 입원 연장이 필요하지 않다고 연구 책임자가 결론을 내린 후 참가자는 퇴원할 것이다. 일차 연구 기간에서 (즉, 24 주까지) 후속 평가는 1, 2, 3, 4, 12, 및 24 주에 수행될 것이다. 8 및 16 주 평가는 전화 연락에 의한 유해 사례 (AE) 및 병용 요법의 평가로 제한될 것이다. 일차 연구 기간 후, 방문은 38, 52, 64, 78, 및 104 주에 있을 것이다. 30 주 방문은 24 주에 시작하는 IV ERT를 중단하는 참가자에만 수행될 것이다.

[0930] 아동에서 발생하는 뇌 성장 및 MPS II에서 발생할 수 있는 뇌 성장에서의 차이 때문에, IC 또는 ICV 투여된 작제물 1의 총 용량은 연구 참가자의 스크리닝 MRI에서 유래된 추정된 뇌 질량으로부터 계산될 것이다. 그들의 MRI로부터 연구 참가자의 추정된 뇌 용적은 뇌 질량으로 전환될 것이고, 표 10에 제시된 대로, 투여될 정확한 양을 계산하는데 사용될 것이다.

표 10: 뇌 질량에 의해 투여된 총 용량

뇌 질량 (g)		목표 뇌 질량 (g)	용량: 총 GC (6.5×10^{10} GC/g 뇌 질량)
최소	최대		
801	900	850	5.5×10^{13}
901	1050	975	6.3×10^{13}
1051	1200	1125	7.3×10^{13}
1201	-	1300	8.5×10^{13}

[0931]

[0932] 1. MRI 스크리닝으로부터 cm^3 로 참가자 뇌 용적을 수득함.

[0933] 2. 참가자의 MRI 뇌 용적을 뇌 질량으로 전환함:

[0934] 뇌 질량 = (cm^3 로 뇌 용적) $\times$ 1.046 g/ cm^3 (Hasgall 등, 2018, Tissue Properties, Density. [2019년 11월 4일 인용됨]. In: IT'IS Database for Thermal and Electromagnetic Parameters of Biological Tissues, Version 4.0, 2018년 5월 15일 [Internet]. Zurich: IT'IS Foundation, c2010으로부터 취득된 뇌 밀도)

[0935] 3. 상기 표 10에서 적절한 용량을 확인함.

[0936] 작제물 1은 작제물 1에 대한 조사자 자료집에서 정보에 익숙하고 임상 시험 수행에서 경험한 선택된 조사자에 의해서만 조사 용도를 위한 것이다. 작제물 1은 후원자에 의해 후원/승인된 임상 시험에 등록된 그리고 공식 서면 동의서를 제공한 인간 참가자에게만 투여될 수 있다.

[0937] 6.9.5.포함 기준

[0938] 참가자는 하기 기준의 모두가 적용해야만 연구에서 포함될 자격이 있다:

[0939] 1. 참가자의 법적 보호자(들)는 연구의 성격이 설명된 후, 그리고 임의의 연구 관련 절차 이전에 서면으로, 서명된 사전 동의서를 제공할 의향이 있고 제공할 수 있음.

[0940] 2. 5세 이상이고 18세 미만 남성임

- [0941] 3. 하기 기준 중 임의의 것을 충족시킴:
- [0942] a. MPS II의 문서화된 진단이 있고 신경인지 시험 점수가 검사 규범 평균으로부터 1.5 이하 표준 편차 (SD) (BSID-III:77 및 MSEL Visual Reception: 35)가 있음, 또는
- [0943] b. MPS II의 문서화된 진단이 있고 3 내지 36개월 떨어져서 투여된 일련의 신경인지 시험 (BSID-III Cognitive 또는 MSEL Visual Reception)에서 1 이상 표준 편차의 감소가 있음, 또는
- [0944] c. 참가자와 동일한 IDS 돌연변이를 갖는 신경병증성 MPS II로 임상적으로 진단된 친척이 있고 참가자가 유전학자의 의견으로 MPS II의 신경병증성 형태를 유전함, 또는
- [0945] d. 유전학자의 의견으로 신경병증성 표현형을 초래하는 것으로 공지된 IDS에서의 돌연변이가 문서화되었으며 임상학자의 의견으로 신경병증성 형태의 MPS II가 있음.
- [0946] **6.9.6.제외 기준**
- [0947] 참가자는 하기 기준의 임의의 것이 적용하면 연구로부터 제외된다:
- [0948] 1. 하기 중 임의의 것을 포함하여, IC 및 ICV 주사에 대한 금기 사항이 있음:
- [0949] a. 연구에 참가하는 신경방사선의사/신경외과의사의 팀에 의한 기초 MRI 검사의 검토는 IC 및 ICV 주사에 대한 금기 사항을 보여줌
- [0950] b. 연구에 참가하는 신경방사선의사/신경외과의사의 팀에 의한 이용가능한 정보의 검토를 기반으로, 양쪽 IC 및 ICV 주사에 대한 금기 사항을 초래한 이전 두경부 수술 이력
- [0951] c. 전신 마취에 대한 임의의 금기 사항이 있음
- [0952] d. MRI 또는 가돌리늄에 대한 임의의 금기 사항이 있음
- [0953] e. 크레아티닌을 기준으로, 30 mL/분/1.73 m^2 미만 추정된 사구체 여과율 (eGFR)에 의해 결정된 대로 신부전이 있음. 크레아티닌이 검정 검증 또는 검출의 하한선 미만이라고 실험실이 결정하면 하한선 컷오프 값은 eGFR을 추정하는 데 사용될 것임.
- [0954] f. 조사자와 신경방사선의사/신경외과의사의 팀의 의견으로, IC 및 ICV 주사에 대한 금기 사항인 임상적으로 유의한 두개내 출혈을 이전에 경험함
- [0955] g. 상승된 두개내 압력 ($30 \text{ cm H}_2\text{O}$ 이상)이 있음
- [0956] 2. 프레드니손, 타크로리무스 또는 시롤리무스를 이용한 치료를 금기할 임의의 병태가 있음
- [0957] 3. MPS II 또는 PI의 의견으로 연구 결과의 해석을 혼란스럽게 할 수 있는 신경정신병적 병태의 진단으로 인한 것이 아닌 임의의 신경인지 결함이 있음
- [0958] 4. 요추 천자에 대한 임의의 금기 사항이 있음
- [0959] 5. 현장 신경방사선의사/신경외과의사의 의견으로 그리고 의료 모니터와의 논의를 통해, 참가자의 투여 및 적절한 용량화에 영향을 미칠 수 있는 (대뇌) 심실 선트가 있음
- [0960] 6. AAV-기반 유전자 요법 제품으로 이전 치료를 받았음
- [0961] 7. ICF의 시간에 경막내 (IT) 투여를 통해 이두르설파아제 (ELAPRASE[®])를 받음. 참가자는 ICF에 서명한 직후 시작하여 연구의 지속기간 동안 IT 이두르설파아제를 중단하는 데 동의해야 함
- [0962] 8. IV 이두르설파아제 (ELAPRASE[®])를 받았고 IV 이두르설파아제 (ELAPRASE[®]) 투여에 관련된 것으로 간주된, 아나필락시스를 포함한, 심각한 과민 반응을 경험하였음.
- [0963] 9. 증가하는 소변 GAG 수준으로서 문서화된, 중화 항-IDS 항체 때문에 이두르설파아제 (ELAPRASE[®]) IV에 반응하지 않고; 참가자는 그가 면역 조절을 받았고 현재 IV 이두르설파아제 (ELAPRASE[®])에 반응성이면 등록할 수 있음
- [0964] 10. ICF에 서명하기 전 5 반감기 또는 1일 중 더 긴 날짜로부터 30일 이내에 임의의 조사 제품을 받음

- [0965] 11. 스크리닝 전에 적어도 1년 동안 완전 관해되지 않은, 피부의 편평 세포 또는 기저 세포 암종 이외의, 림프종의 임의의 병력 또는 또 다른 암의 병력이 있음
- [0966] 12. 마이크로리터 (μL)당 100,000 미만 혈소판 수를 가짐
- [0967] 13. 참가자가 이전에 질베르 증후군의 병력이 공지되어 있지 않은 한 스크리닝 시 아미노트랜스퍼라제 (ALT) 또는 아스파르테이트 아미노트랜스퍼라제 (AST) $>3 \times \text{ULN}$ 또는 총 빌리루빈 $>1.5 \times \text{ULN}$ 을 가짐
- [0968] 14. 인간 면역결핍 바이러스 (HIV) 또는 B형 간염 또는 C형 간염 바이러스 감염의 병력이 있거나, B형 간염 표면 항원 또는 B형 간염 코어 항체, 또는 C형 간염 또는 HIV 항체에 대한 양성 스크리닝 시험이 있음
- [0969] 15. 임상 현장 직원 또는 연구의 수행에 관여된 임의의 기타 개인의 1차 가족 구성원이거나 임상 현장 직원 또는 연구의 수행에 관여된 기타 개인임
- [0970] 16. PI의 의견으로, 참가자의 안전성을 손상시킬 임상적으로 유의한 ECG 이상이 있음
- [0971] 17. PI의 의견으로, 연구에서 참가자의 안전성을 손상시킬 심각하거나 불안정한 의학적 또는 심리적 병태가 있음
- [0972] 18. PI의 의견으로 참가자를 과도한 위험에 빠뜨릴 통제되지 않는 발작이 있음
- [0973] 19. 타크로리무스, 시롤리무스, 또는 프레드니손에 과민 반응의 병력이 있음
- [0974] 20. 원발성 면역결핍증 (예를 들어, 공통 가변성 면역결핍증 증후군), 비장절제술, 또는 참가자가 감염되기 쉬운 임의의 기저 병태의 병력이 있음
- [0975] 21. 스크리닝 적어도 12주 전에 완전히 해결되지 않은 대상 포진 (VZV), 거대세포바이러스 (CMV), 또는 엡스타인-바 바이러스 (EBV) 감염이 있음
- [0976] 22. 2차 방문 적어도 8주 전에 해결되지 않은 비경구 항-감염제로 치료 또는 입원을 요하는 임의의 감염이 있음
- [0977] 23. 2차 방문 전 10일 이내에 경구 항-감염제 (항바이러스제 포함)를 요하는 임의의 활성 감염이 있음
- [0978] 24. 활동성 결핵 (TB)의 병력 또는 스크리닝 동안 양성 퀴티페론-TB 골드 시험이 있음
- [0979] 25. -2일 전 4주 이내에 임의의 생백신을 받음
- [0980] 26. ICF에 서명하기 전 8주 이내에 대수술 또는 연구 기간 동안 계획된 대수술을 받았음
- [0981] 27. 등록 6개월 이내에 아데노이드 절제술 또는 편도 절제술의 필요성을 예상함. 아데노이드 절제술 또는 편도 절제술이 예상되면 스크리닝 전에 수행되어야 함
- [0982] 28. $1.0 \times 10^3/\mu\text{L}$ 미만 절대 호중구 수가 있음
- [0983] 29. PI가 면역억제 요법에 적절하지 않다고 생각하는 임의의 병태 또는 실험실 이상이 있음
- [0984] **6.9.7. 면역억제 요법**
- [0985] 코르티코스테로이드
- [0986] · 백터를 투여하는 날 아침 (투여 전 1일)에, 참가자에게 적어도 30분에 걸쳐 메틸프레드니솔론 10 mg/kg IV (500 mg의 최대량)가 투여될 것이다. 메틸프레드니솔론은 요추 천자 및 IP의 IC 주사 전에 투여되어야 한다. 아세트아미노펜 및 항히스타민제를 사용한 예비 투약은 선택 사항이고 조사자의 재량에 따른다.
- [0987] · 2일에, 경구 프레드니솔론은 12 주까지 프레드니솔론 중단을 목표로 시작될 것이다. 프레드니솔론의 용량은 다음과 같을 것이다:
- [0988] - 2일부터 2주 말까지: 0.5 mg/kg/일
- [0989] - 3주 및 4주: 0.35 mg/kg/일
- [0990] - 5주 내지 8주: 0.2 mg/kg/일
- [0991] - 9주 내지 12주: 0.1 mg/kg
- [0992] - 프레드니솔론은 12 주 후에 중단될 것이다. 프레드니솔론의 정확한 용량은 다음으로 더 높은 임상적으로 실

용적 용량으로 조정될 수 있다.

[0993] 시롤리무스

[0994] · 벡터 투여 2일 전 (-2일): 4시간마다 시롤리무스 1 mg/m^2 의 로딩 용량 x 3회 용량이 투여될 것이다

[0995] · -1일부터: 1-3 ng/ml의 목표 혈중 수준으로 1일 2회 용량화로 분할된 시롤리무스 $0.5 \text{ mg/m}^2/\text{일}$

[0996] · 시롤리무스는 48주 방문 후에 중단될 것이다.

[0997] 타크로리무스

[0998] · 타크로리무스는 2일 (IP 투여 다음 날)에 1일 2회 0.05 mg/kg 의 용량으로 시작하고, 24주 동안 혈중 수준 2-4 ng/mL를 달성하도록 조정될 것이다.

[0999] · 24주 방문에서 시작하여, 타크로리무스는 8주에 걸쳐 점점 줄어든 것이다. 24주에, 용량이 대략 50%까지 감소될 것이다. 28주에, 용량이 대략 50%까지 추가 감소될 것이다. 타크로리무스는 32주에 중단될 것이다.

[1000] · 타크로리무스 및 시롤리무스 혈중 수준 모니터링은 실행될 것이다.

[1001] 타크로리무스 용량 조정은 처음 24 주 동안 2-4 ng/mL 이내로 전혈 최저 농도를 유지하기 위해 실시될 것이다. 24 주에 용량은 대략 50%만큼 감소될 것이다. 28 주에 용량은 대략 50%만큼 추가 감소될 것이다. 타크로리무스는 32 주에 중단될 것이다. 시롤리무스 용량 조정은 1-3 ng/mL 이내로 전혈 최저 농도를 유지하기 위해 실시될 것이다. 용량 조정은 임상 약사에 의해 수행되어야 한다. 참가자는 농도 모니터링으로 추가 투여 조정 전에 적어도 7 내지 14 일 동안 새로운 유지 용량으로 계속해야 한다.

[1002] 면역억제제 약물 책임성, IS 분배, 시롤리무스 및 타크로리무스 전혈 최저 농도는 일상적인 연구 방문 동안 조사자에 의해 완료될 것이다.

[1003] IS 요법은 48주 후에 계획되지 않는다. IS가 임상적으로-관련한 면역 반응을 조절하기 위해 48주 후에 요구되었다면, 적절한 면역억제 요법은, 임상적으로 지시된 대로, 의료 모니터 및 후원자와 논의하여, PI에 의해 결정될 것이다.

[1004] 트리메토프림/설파메톡사졸 (Septra[®]; Bactrim[™]) (SEPTA[®] USPI, 2018; BACTRIM[™] USPI, 2013)을 사용한 폐포자충 폐렴 (PCP) 예방은 -2 일에 시작하여 48 주까지 계속하는 5 mg/kg 의 용량으로 1주 3회 (예시 용량화 일정; 월요일, 수요일, 금요일) 제공될 것이다. 트리메토프림/설파메톡사졸 사용 (BACTRIM[™] USPI, 2013)과 연관된 위험에 대하여 처방 정보를 참조한다. 설파 알레르기가 있는 환자 경우에, 대체 약제는 펜타미딘, 답손, 및 아토바쿠온을 포함할 수 있다.

[1005] 항진균 예방은 ANC가 500 mm^3 미만이면 개시되어야 한다. 치료 요법은 적절한 하위 전문의와 상의하여 현지 현장 치료 표준을 통해서 결정될 것이다.

[1006] 칼시뉴린 억제제와 라파문의 동반 사용은 칼시뉴린 억제제-유도 혈전성 미세혈관병증의 위험을 증가시킬 수 있다. 혈전성 미세혈관병증 (TMA)은 혈소판 감소증, 미세혈관병증성 용혈성 빈혈, 및 다양한 기관계 침범을 특징으로 하는 장애들의 한 그룹이다.

[1007] 이것은 중증 혈소판감소증 ($< 30 \times 10^9/\text{L}$), 혈액 도말 상의 분열적혈구를 특징으로 하는 미세혈관병증성 용혈성 빈혈, 증가된 망상적혈구 수 ($> 120 \times 10^9/\text{L}$), 상승된 락테이트 탈수소효소 수준 (LDH), 그리고 피부 및 점막 출혈, 쇄약, 및 호흡곤란의 징후를 나타낼 수 있다. 치료는 타크로리무스의 중단 그리고 혈장 교환의 가능한 개시를 포함한다.

[1008] 증가하는 CMV 또는 EBV 바이러스 게놈이 일련의 시험 동안 검출되면, IS 감소 또는 항바이러스 요법 시작 결정은 적절한 하위 전문가와 상의하여 현지 치료 표준을 통해서 결정될 것이다.

[1009] 6.10 실시예 10: MPS II (헌터 증후군)를 가진 소아 대상체에서 작제물 1의 안전성, 내약성, 및 약력학을 평가하기 위한 I/II 상 다기관, 공개-라벨 연구

[1010] 6.10.1. 개요

- [1011] 연구 설계
- [1012] 이것은 작제물 1의 I/II 상, 인간 최초, 다기관, 공개-라벨, 단일 아암 용량 증량 연구이다. 대조군 그룹은 포함되지 않는다. 중증 MPS II가 있는 대략 12명의 소아 대상체는 3개 용량 코호트, 1.3×10^{10} GC/g 뇌 질량 (용량 1), 6.5×10^{10} GC/g 뇌 질량 (용량 2), 또는 2.0×10^{11} GC/g 뇌 질량 (용량 3)에 등록될 수 있고, IC 또는 ICV 주사에 의해 투여된 작제물의 1의 단일 용량을 받을 것이다. 안전성은 치료 후 초기 24 주 (일차 연구 기간) 동안 일차 초점일 것이다. 일차 연구 기간의 완료 이후, 대상체는 작제물 1로 치료 이후 최대 총 104 주 동안 계속 (안전성 및 효능) 평가될 것이다. 연구의 끝에, 대상체는 장기 추적 연구에 참가하도록 초대될 것이다.
- [1013] 첫 번째 3명의 적격 대상체는 용량 1 코호트 (1.3×10^{10} GC/g 뇌 질량)에 등록될 것이다. 첫 번째 대상체에게 작제물 1 투여 후에, 안전성에 대하여 8-주 관찰 기간이 있을 것이다. 내부 안전성 위원회 (ISC)는 이 대상체에 대하여 ISC 현장에 따라 연구의 처음 8주 동안 수득된 안전성 데이터 (8주 방문 동안 수득된 데이터 포함)를 검토할 것이고, 안전성 문제가 없으면, 두 번째 대상체는 등록될 수 있다. 동일한 과정은 세 번째 대상체를 등록하는데 사용될 것이다. 다음 대상체에 대하여 사전 동의 및 스크리닝 활성화는 이전의 대상체에 대하여 관찰 기간 동안 진행할 수 있다.
- [1014] 안전성 검토 트리거 (SRT) 사건이 관찰되지 않으면, 세 번째 대상체에 대하여 최대 8주 방문을 포함하여 수득된 용량 1 코호트에 대한 모든 이용가능한 안전성 데이터는 독립 데이터 모니터링 위원회 (IDMC)에 의해 평가될 것이다. 결정이 두 번째 용량 코호트 (6.5×10^{10} GC/g 뇌 질량)으로 진행하도록 하면, 후속 2명의 대상체는 초기 용량 코호트와 동일한 용량화 계획을 따를 것이다. ISC는 용량 2 코호트에서 두 번째 대상체의 최대 2주 방문을 포함하여 수득된 모든 대상체 안전성 데이터를 검토할 것이고 이 평가 직후 세 번째 대상체의 용량화로 진행하는 것이 안전함을 결정할 수 있다. 용량 2 코호트에 대하여 모든 이용가능한 안전성 데이터는 용량 2 코호트에서 세 번째 대상체에 대하여 8주 방문 후에 IDMC에 의해 평가될 것이다.
- [1015] IDMC의 승인과 함께, 연구 약물이 이용가능하고, 후원자의 승인이 있고 어느 한쪽 ISC 또는 IDMC에 따라 등록의 보류를 정당화하는 안전 사건이 없는 한 최대 6명의 대상체는 용량 2 확장 코호트에서 용량화될 수 있다.
- [1016] 안전성 검토 트리거 (SRT) 사건이 관찰되지 않고 IDMC가 승인을 제공하면, 세 번째 용량 코호트 (2.0×10^{11} GC/g 뇌 질량)는 등록을 시작할 것이다. ISC는 최대 8 주 방문을 포함하여 용량화된 첫 번째 대상체에 대하여 모든 이용가능한 안전성 데이터를 검토할 것이다. 안전성 문제가 없으면, 두 번째 대상체는 용량화될 것이다. ISC는 용량 3 코호트에서 두 번째 대상체의 최대 2주 방문을 포함하여 수득된 모든 대상체 안전성 데이터를 검토할 것이고 이 평가 직후 세 번째 대상체의 용량화로 진행하는 것이 안전함을 결정할 수 있다.
- [1017] 일차 목적
- [1018] 중증 MPS II가 있는 소아 대상체에게 투여된, 단일 IC, 또는 IC가 금기이면 ICV 용량 이후 24 주까지 작제물 1의 안전성 및 내약성을 평가하는 것
- [1019] 이차 목적
- [1020] · 작제물 1의 장기간 안전성 및 내약성을 평가하는 것
- [1021] · CSF, 혈장, 및 소변 내 바이오마커에 관한 작제물 1의 효과를 평가하는 것
- [1022] · 인지, 행동, 및 적응 기능의 신경발달 매개변수에 관한 작제물 1의 효과를 평가하는 것
- [1023] · CSF, 혈청, 및 소변 내 벡터 웨딩을 평가하는 것
- [1024] 탐구 목적
- [1025] · 작제물 1의 면역원성을 평가하는 것
- [1026] · CNS 영상화에 관한 작제물 1의 효과를 탐구하는 것
- [1027] · 질환의 전신 증상에 관한 작제물 1의 효과를 탐구하는 것
- [1028] · 청각 능력에 관한 작제물 1의 효과를 탐구하는 것

- [1029] · IV ERT (ELAPRASE[®])를 일시적으로 중단하는 대상체에서 혈장 및 소변 내 바이오마커에 관한 작제물 1의 효과를 탐구하는 것
- [1030] · 삶의 질 (QOL)에 관한 작제물 1의 효과를 탐구하는 것
- [1031] · 수면 측정에 관한 작제물 1의 효과를 탐구하는 것
- [1032] · 임상의 보고된 결과에 관한 작제물 1의 효과를 탐구하는 것
- [1033] · 간병인 보고된 결과에 관한 작제물 1의 효과를 탐구하는 것
- [1034] 포함을 위한 진단 및 주요 기준:
- [1035] 이 연구에 참가할 자격이 있으려면, 대상체는 모든 하기 포함 기준을 충족시켜야 한다:
- [1036] 1. 대상체의 법적 보호자(들)는 연구의 성격이 설명된 후, 그리고 임의의 연구 관련 절차 이전에 서면으로, 서명된 사전 동의서를 제공할 의향이 있고 제공할 수 있음.
- [1037] 2. 4개월 이상 내지 5세 미만 남성임
- [1038] 3. 하기 기준 중 임의의 것을 충족시킴:
- [1039] a) MPS II의 문서화된 진단이 있고 신경인지 시험 점수가 77점 이하 (BSID-III 또는 KABC-II)임, 또는
- [1040] b) MPS II의 문서화된 진단이 있고 3 내지 36개월 떨어져서 투여된 일련의 신경인지 시험 (BSID-III 또는 KABC-II)에서 1 이상 표준 편차의 감소가 있음, 또는
- [1041] c) 대상체와 동일한 IDS 돌연변이를 갖는 중증 MPS II로 임상적으로 진단된 친척이 있고 대상체가 유전학자의 의견으로 MPS II의 중증 형태를 유전함, 또는
- [1042] d) 유전학자의 의견으로 항상 신경병증 표현형 [예를 들어, 완전한 결실 또는 큰 결실 (예를 들어 1 이상 엑손에 걸쳐 있음) 또는 재조합]을 초래하는 것으로 공지된 IDS에서의 돌연변이가 문서화되었으며 임상의의 의견으로 중증 형태의 MPS II가 있음.
- [1043] 4. 보조 기구를 사용하거나 사용하지 않고, 필요한 프로토콜 검사를 완료하기에 충분한 청각 및 시각 능력을 가져야 하며, 해당되는 경우, 검사일에 보조 기구를 착용하는 데 따라야 함.
- [1044] 제외를 위한 진단 및 주요 기준:
- [1045] 하기 제외 기준 중 임의의 것을 충족시키는 대상체는 연구에 참가할 자격이 없을 것이다:
- [1046] 1. 하기 중 임의의 것을 포함하여, IC 또는 ICV 주사에 대한 금기 사항이 있음:
- [1047] a) 연구에 참가하는 신경방사선의사/신경외과의사의 팀 (현장당 신경방사선의사 또는 신경외과의사 1명)에 의한 기초 MRI 시험의 검토는 IC 또는 ICV 주사에 대한 금기 사항을 보여줌
- [1048] b) 연구에 참가하는 신경방사선의사/신경외과의사의 팀에 의한 이용가능한 정보의 검토를 기반으로, 양쪽 IC 및 ICV 주사에 대한 금기 사항을 초래한 이전 두경부 수술 이력
- [1049] c) 컴퓨터 단층촬영, 조영제, 또는 전신 마취에 대한 임의의 금기 사항이 있음
- [1050] d) MRI 또는 가돌리늄에 대한 임의의 금기 사항이 있음
- [1051] e) 크레아티닌을 기준으로, 30 mL/분/1.73 m² 미만 추정된 사구체 여과율 (eGFR)에 의해 결정된 대로 신부전이 있음. 크레아티닌이 검정 검중 또는 검출의 하한선 미만이라고 실험실이 결정하면 하한선 컷오프 값은 eGFR을 추정하는 데 사용될 것임
- [1052] f) 조사자와 신경방사선의사/신경외과의사의 팀의 의견으로, IC 및 ICV 주사에 대한 금기 사항인 임상적으로 유의한 두개내 출혈을 이전에 경험함
- [1053] 2. 프레드니손, 타코로리무스 또는 시롤리무스를 이용한 치료를 금할 임의의 병태가 있음
- [1054] 3. MPS II 또는 PI의 의견으로 연구 결과의 해석을 혼란스럽게 할 수 있는 신경정신병적 병태의 진단으로 인한 것이 아닌 임의의 신경인지 결함이 있음

- [1055] 4. 요추 천자에 대한 임의의 금기 사항이 있음
- [1056] 5. 현장 신경방사선 의사/신경외과 의사의 의견으로 그리고 의료 모니터와의 논의를 통해, 대상체의 투여 및 적절한 용량화에 영향을 미칠 수 있는 (대뇌) 심실 선트가 있음
- [1057] 6. HSCT를 경험함
- [1058] 7. AAV-기반 유전자 요법 제품으로 이전 치료를 받았음
- [1059] 8. ICF에 서명한 후 4개월 이내에 경막내 (IT) 투여를 통해 이두르설파아제 (ELAPRASE[®])를 받음
- [1060] 9. IV 이두르설파아제 (ELAPRASE[®])를 받았고 IV 이두르설파아제 (ELAPRASE[®]) 투여에 관련된 것으로 간주된, 아나필락시스를 포함한, 심각한 과민 반응을 경험하였음. 현재 IV 이두르설파아제를 받고 있고 용량 중단 또는 매주와 다른 용량 요법이 있는 경우 REGENXBIO 의료 모니터와 논의해야 됨
- [1061] 10. ICF에 서명하기 전 5 반감기 또는 1일 중 더 긴 날짜로부터 30일 이내에 임의의 조사 제품을 받음
- [1062] 11. 스크리닝 전에 적어도 1년 동안 완전 관해되지 않은, 피부의 편평 세포 또는 기저 세포 암종 이외의, 림프종의 임의의 병력 또는 또 다른 암의 병력이 있음
- [1063] 12. 마이크로리터 (μL)당 100,000 미만 혈소판 수를 가짐
- [1064] 13. 대상체가 이전에 질베르 증후군의 병력이 공지되어 있지 않은 한 스크리닝 시 아미노트랜스퍼라제 (ALT) 또는 아스파테이트 아미노트랜스퍼라제 (AST) $>3 \times \text{ULN}$ 또는 총 빌리루빈 $>1.5 \times \text{ULN}$ 을 가짐
- [1065] 14. 연령, 성별, 및 키에 대한 규범적 기준에 따라 수축기 혈압 또는 이완기 혈압 > 99 번째 백분위수 + 5mmHg이기 위해 17세 이하의 아동으로 정의되는, 최대 의학적 치료에도 불구하고 조절되지 않는 고혈압
- [1066] 15. 인간 면역결핍 바이러스 (HIV) 또는 B형 간염 또는 C형 간염 바이러스 감염의 병력이 있거나, B형 간염 표면 항원 또는 B형 간염 코어 항체, 또는 C형 간염 또는 HIV 항체에 대한 양성 스크리닝 시험이 있음
- [1067] 16. 임상 현장 직원 또는 연구의 수행에 관여된 임의의 기타 개인의 1차 가족 구성원이거나 임상 현장 직원 또는 연구의 수행에 관여된 기타 개인임
- [1068] 17. PI의 의견으로, 대상체의 안전성을 손상시킬 임상적으로 유의한 ECG 이상이 있음
- [1069] 18. PI의 의견으로, 대상체의 안전성이나 연구에서의 성공적인 참가 또는 연구 결과의 해석을 손상시킬 심각하거나 불안정한 의학적 또는 심리적 병태가 있음
- [1070] 19. PI의 의견으로 대상체를 과도한 위험에 빠뜨릴 통제되지 않는 발작이 있음
- [1071] 면역억제 요법에 관련된 제외 기준:
- [1072] 20. 타크로리무스, 시롤리무스, 또는 프레드니손에 과민 반응의 병력이 있음
- [1073] 21. 원발성 면역결핍증 (예를 들어, 공통 가변성 면역결핍증 증후군), 비장절제술, 또는 대상체가 감염되기 쉬운 임의의 기저 병태의 병력이 있음
- [1074] 22. 스크리닝 적어도 12주 전에 완전히 해결되지 않은 대상 포진 (VZV), 거대세포바이러스 (CMV), 또는 엡스타인-바 바이러스 (EBV) 감염이 있음
- [1075] 23. 2차 방문 적어도 8주 전에 해결되지 않은 비경구 항-감염제로 치료 또는 입원을 요하는 임의의 감염이 있음
- [1076] 24. 2차 방문 전 10일 이내에 경구 항-감염제 (항바이러스제 포함)를 요하는 임의의 활성 감염이 있음
- [1077] 25. 활동성 결핵 (TB)의 병력 또는 스크리닝 동안 양성 퀴티페론-TB 골드 시험이 있음
- [1078] 26. 2일 전 4주 이내에 임의의 생백신을 받음
- [1079] 27. ICF에 서명하기 전 8주 이내에 대수술 또는 연구 기간 동안 계획된 대수술을 받았음
- [1080] 28. 등록 6개월 이내에 아데노이드 절제술 또는 편도 절제술의 필요성을 예상함. 아데노이드 절제술 또는 편도 절제술이 예상되면 스크리닝 전에 수행되어야 함

- [1081] 29. $1.0 \times 10^3/\mu\text{L}$ 미만 절대 호중구 수가 있음
- [1082] 30. PI가 면역억제 요법에 적절하지 않다고 생각하는 임의의 병태 또는 실험실 이상이 있음
- [1083] 조사 제품
- [1084] 작제물 1: AAV9.CB7.hIDS (인간 이두로네이트-2-설파타아제 발현 카세트를 함유하는 재조합 아데노-관련 바이러스 혈청형 9 캡시드). 단락 [0019] 및 도 5 참조.
- [1085] 용량
- [1086] 작제물 1은 단일 IC 주사로서 우선적으로 투여되거나, IC 투여가 어렵거나 잠재적으로 안전하지 않은 것으로 입증되면 단일 ICV 주사로 투여되어, 국한된 CSF 구획 내의 표적 조직에 백터의 직접 전달을 허용할 것이다. 경추 천자 (C1-C2)가 척수조영술을 위한 조영제 투여에 사용된 일상적 임상 절차이어도, 영상-보조 후두하 천자는 IC 임상 투여 루트로서 제안된다. 이것은 비임상 연구에서 사용된 투여 루트를 복제하고 MPS II를 가진 환자가 C1-C2 IT 공간의 비정상 협착의 발생률이 높기 때문에 의도된 환자 집단에서 C1-C2 천자보다 유리한 것으로 고려되며, 이는 C1-C2 천자와 연관된 위험을 실질적으로 증가시킨다. 절차에 앞서, 각 대상체는 연구에 참가하는 신경 방사선 의사/신경외과 의사의 팀에 의해 검토된 영역의 자기 공명 영상 (MRI)을 가질 것이다. IC 주사로 진행되는 것이 안전하지 않은 것으로 고려되면, 대상체는 ICV 주사에 대하여 고려될 것이다.

표 11: 뇌 질량에 의해 투여된 총 용량

뇌 질량 (g)		목표	용량 수준	
최소	최대		용량 1 총 GC (1.3×10^{10} GC/g 뇌 질량)	용량 2 총 GC (6.5×10^{10} GC/g 뇌 질량)
-	700	650	8.5×10^{12}	4.2×10^{13}
701	800	750	9.8×10^{12}	4.9×10^{13}
801	900	850	1.1×10^{13}	5.5×10^{13}
901	1050	975	1.3×10^{13}	6.3×10^{13}
1051	1200	1125	1.5×10^{13}	7.3×10^{13}
1201	-	1300	1.7×10^{13}	8.5×10^{13}
뇌 질량 용량 3에 의해 투여된 총 용량				
뇌 질량 (g)		목표	용량 3 총 GC (2.0×10^{11} GC/g 뇌 질량)	
최소	최대			
-	474	450	9.0×10^{13}	
475	524	500	1.0×10^{14}	
525	574	550	1.1×10^{14}	
575	624	600	1.2×10^{14}	
625	674	650	1.3×10^{14}	
675	724	700	1.4×10^{14}	
725	774	750	1.5×10^{14}	
775	824	800	1.6×10^{14}	
825	874	850	1.7×10^{14}	
875	924	900	1.8×10^{14}	
925	974	950	1.9×10^{14}	
975	1024	1000	2.0×10^{14}	
1025	1074	1050	2.1×10^{14}	
1075	1124	1100	2.2×10^{14}	
1125	1174	1150	2.3×10^{14}	
1175	1224	1200	2.4×10^{14}	
1225	1274	1250	2.5×10^{14}	
1275	>1300	1300	2.6×10^{14}	

- [1087]
- [1088] 1. MRI 스크리닝으로부터 cm^3 로 대상체 뇌 용적을 획득함
- [1089] 2. 대상체의 MRI 뇌 용적을 뇌 질량으로 전환함:

- [1090] 3. 뇌 질량 = (cm^3 로 뇌 용적) $\times$ 1.046 g/cm^3 (Hasgall 등, 2018, Tissue Properties, Density. [2019년 11월 4일 인용됨]. In: IT'IS Database for Thermal and Electromagnetic Parameters of Biological Tissues, Version 4.0, 2018년 5월 15일 [Internet]. Zurich: IT'IS Foundation, c2010으로부터 취득된 뇌 밀도)
- [1091] 4. 상기 또는 표 11에서 적절한 용량을 확인함.
- [1092] 작제물 1은 작제물 1에 대한 조사자 자료집에서 정보에 익숙하고 임상 시험 수행에서 경험한 선택된 조사자에 의해서만 조사 용도를 위한 것이다. 작제물 1은 후원자에 의해 후원/승인된 임상 시험에 참가하는 그리고 공식 서면 동의서를 제공한 인간 대상체에게만 투여될 수 있다.
- [1093] **6.10.2. 안전성 및 효능 평가를 위한 기준**
- [1094] 일차 평가변수
- [1095] · 24 주까지 안전성: AE 및 SAE
- [1096] 이차 평가변수
- [1097] · 104 주까지 안전성: AE 및 SAE
- [1098] · CSF (GAG, I2S 활성), 혈장 (GAG, I2S 활성), 및 소변 (GAG) 내 바이오마커
- [1099] · 인지, 행동 및 적응 기능의 신경발달 매개변수:
- [1100] - 베일리 영유아 발달 검사, 제3판 (BSID-III) (Bayley, 2005, Scales of Infant and Toddler Development, 3rd Ed.)
- [1101] - 바이랜드 적응 행동 척도, 제2판, 포괄적 면담 양식 (VABS-II) (Sparrow 등, 2005, Vineland Adaptive Behavior Scales, 2nd Ed.)
- [1102] · 작제물 1 DNA에 대한 정량적 중합효소 연쇄 반응 (PCR)에 의한 CSF, 혈장, 및 소변 내 백터 농도
- [1103] 탐구 평가변수
- [1104] · 면역원성 측정
- [1105] · CSF 및 혈청에서 AAV9에 대한 중화 항체 역가 그리고 I2S에 대한 결합 항체 역가
- [1106] · 효소 결합 면역스팟 (ELISPOT) 검정: AAV9 및 I2S에 대한 T-세포 반응
- [1107] · 유세포 분석: AAV9 및 I2S-특이적 조절 T 세포
- [1108] · 뇌의 MRI로 평가된 CNS 구조적 이상
- [1109] · 복부의 초음파로 평가된 간 및 비장 크기
- [1110] · 판막 질환 및 좌심실 질량 지수에 대한 심장초음파에 의한 심장 평가
- [1111] · 청각 뇌간 반응 (ABR) 검사 또는 행동 청력측정 및 이음향 방출 시험으로 측정된 청각 능력 변화
- [1112] · IV ERT (ELAPRASE[®])를 일시적으로 중단하는 대상체의 혈장 및 소변 GAG
- [1113] · PedsQL
- [1114] · 수면 측정 (Ferreira 등, 2009, Sleep Medicine;10(4):457-463)
- [1115] · 질환의 임상 평가
- [1116] · 질환의 간병인 평가
- [1117] · 일상 생활의 활동 (ADL) (Tanjuakio 등. 2015, Mol Genet Metab, 114(2):161-169; Kato 등, 2007, Brain Dev, 29(5): 298-305)
- [1118] · 질병의 부담

[1119] 6.10.3. 약어의 목록 및 용어의 정의

표 12: 약어 및 전문가 용어

약어	용어
AAV	아데노-관련 바이러스
AAV9	혈청형 9의 AAV 벡터
ABR	청각 뇌간 반응(들)
ADL	일상 생활의 활동
AE(s)	유해 사례(들)
AESI	특별 관심의 유해 사례(들)
ALP	알칼리 포스파타아제
ALT	알라닌 아미노스랜스퍼라아제
ANC	절대 호중구 수
AST	아스파테이트 아미노스랜스퍼라아제
BBB	혈액-뇌 장벽
BID	1일 2회
BP	혈압
BSID	베일리 영유아 발달 검사
BSL	생물안전도 수준
CB7	하이브리드 C4 및 CB (닭 베타 액틴 프로모터)
CBC	완전 혈구 측정
cDNA	공통 DNA
CFC	맥락적 공포 조건화
CFR	연방 규정집
CI	신뢰 구간
CMV	거대세포바이러스
CNS	중추신경계

[1120]

약어	용어
CoA	분석 증명서
CRF	사례 보고 양식
CSF	뇌척수액
CT	컴퓨터 단층촬영
CTA	임상 시험 합의
CTCAE	유해 사례 공통 용어 기준
CZ	Crystal Zenith®
ddPCR	디지털 액적 중합효소 연쇄 반응
DLT(s)	용량-제한 독성(들)
DNA	데옥시리보핵산
DRG	배근 신경절
DS	더마탄 설페이트
EBV	엡스타인-바 바이러스
ECG	심전도
EDC	전자 데이터 획득
eGFR	추정된 사구체 여과율
ELISA	효소-결합 면역흡착 검정
ELISPOT	효소-결합 면역스팟
EOS	연구의 끝
ERT	효소 대체 요법
ET	조기 종료
FDA	미국 식품의약국
g	그램
GAG(s)	글리코사미노글리칸(들)
GAN	거대 축삭 신경병증
GC	계놈 사본
GCP	양호 임상 관행

[1121]

약어	용어
GLP	양호 실험실 관행
GM3	모노시알로디핵소실강글리오사이드
HD	고 용량
HDL	고-밀도 지단백질
Hep	간염
Hex	헥소사미니다아제
hIDS	인간 이두로네이트-2-설파타아제
HIPAA	건강 보험 이동 회계 법
HIV	인간 면역결핍 바이러스
HS	헤파란 설페이트
HSCT	조혈모세포 이식
I2S	이두로네이트-2-설파타아제
IB	조사자 자료집
IC	수조내(로)
ICF	사전 동의 양식
ICH	국제 조화 협의회
ICV	뇌실내
IDMC	독립 데이터 모니터링 위원회
IDS	이두로네이트-2-설파타아제 유전자
IEC(s)	독립 유닐 위원회(들)
IgG	면역글로불린 G
IND	조사 신약
IP	조사 제품
IQ	지능 지수
IRB	기관 검토 위원회
IS	면역 억제 / 면역억제

[1122]

약어	용어
ISC	내부 안전성 위원회
IT	경맥내(로)
ITR(s)	역방위 말단 반복(들)
IV	정맥내(로)
KABC	카우프만 아동용 진단검사
KIDS	영유아 발달 척도
KSPD	교토 심리 발달 척도
LD	저 용량
LDH	락테이트 탈수소효소
LDL	저-밀도 지단백질
LIMP2	리소좀 막 단백질
MED	최소 유효 용량
MedDRA	규제 활동의 의학 사전
mL	밀리리터
MMF	마이코페놀레이트 모페틸
MPS I	I형 점액다당류증
MPS II	II형 점액다당류증
MPS III	산필리포 증후군
MPS VII	VII형 점액다당류증
MRI	자기 공명 영상
MTD	최대 허용 용량
mTORC1	라파마이신 복합체 1의 포유류/기계적 표적
N	샘플내 수
NAb	중화 항체
NAGLU	N-아세틸-알파-글루코사미니다아제
NCI	국립 암 연구소

[1123]

약어	용어
NHP(s)	비-인간 영장류(들)
NIH	국립 보건원
NOAEL	관찰가능한-역효과 수준 없음
NOR	새로운 물체 인식
PBMC(s)	말초 혈액 단핵 세포(들)
PCR	중합효소 연쇄 반응
PCP	주폐포자충 폐렴
PD	약리학(들)
PgP	p-당단백질
PI	연구 책임자
PML	진행성 다초점 백질뇌병증
PNS	말초 신경계
PO	입으로/경구로
PT	프로트롬빈 시간 또는 선회 용어
PTT	부분적 트롬보플라스틴 시간
PVAN	폴리오마 바이러스-관련 신병증
QD	매일
QOL	삶의 질
qPCR	정량적 중합효소 연쇄 반응
RBC	적혈구
RG1	위험 그룹 1
작제물 1	인간 이두로네이트-2-설파타아제 발현 카세트를 함유하는 재조합 아데노-관련 바이러스 혈청형 9 캡시드
SAE(s)	심각한 유해 사례(들)
SAP	통계 분석 계획
SDV	원본 문서 검증

약어	용어
SMA	척수성 근위축증
SOC	기관별 대분류
SRT	안전성 검토 트리거
SSEP	체성감각 유발 전위
TB	결핵
TEAE(s)	치료-용급 유해 사례(들)
TMA	혈전성 미세혈관병증
TPP	혈소판 감소성 자반병
Treg	조절 T 세포
ULN	정상의 상한
US	미국
USMs	긴급 안전 조치
VABS	바인랜드 적응 행동 척도
VZV	수드 대상포진 바이러스
WBC	백혈구 (카운트)
WHO	세계 보건 기구

[1126] **6.10.4. 면역억제 요법**

[1127] **코르티코스테로이드**

[1128] · 백터를 투여하는 날 아침 (투여 전 1일)에, 참가자에게 적어도 30분에 걸쳐 메틸프레드니솔론 10 mg/kg IV (500 mg의 최대량)가 투여될 것이다. 메틸프레드니솔론은 요추 천자 및 IP의 IC 주사 전에 투여되어야 한다. 아세트아미노펜 및 항히스타민제를 사용한 예비 투약은 선택 사항이고 조사자의 재량에 따른다.

[1129] · 2일에, 경구 프레드니솔론은 12 주까지 프레드니솔론 중단을 목표로 시작될 것이다. 프레드니솔론의 용량은 다음과 같을 것이다:

[1130] - 2일부터 2주 말까지: 0.5 mg/kg/일

[1131] - 3주 및 4주: 0.35 mg/kg/일

[1132] - 5주 내지 8주: 0.2 mg/kg/일

[1133] - 9주 내지 12주: 0.1 mg/kg

[1134] - 프레드니솔론은 12주 후에 중단될 것이다. 프레드니솔론의 정확한 용량은 다음으로 더 높은 임상적으로 실용적 용량으로 조정될 수 있다.

[1135] · 참고: 프레드니솔론은 조사자의 재량에 따라 1:1 전환율로 프레드니손을 치환시킬 수 있다.

[1136] **시롤리무스**

[1137] · 백터 투여 2일 전 (-2일): 4시간마다 시롤리무스 1 mg/m^2 의 로딩 용량 x 3회 용량이 투여될 것이다

[1138] · -1일부터: 1-3 ng/mL의 목표 혈중 수준으로 1일 2회 용량화로 분할된 시롤리무스 0.5 mg/m^2 /일

[1139] · 시롤리무스는 48주 방문 후에 중단될 것이다.

[1140] **타크로리무스**

[1141] · 타크로리무스는 2일 (IP 투여 다음 날)에 1일 2회 0.05 mg/kg의 용량으로 시작하고, 24주 동안 2-4 ng/mL의 혈중 수준을 달성하도록 조정될 것이다.

[1142] · 24주 방문에서 시작하여, 타크로리무스는 8주에 걸쳐 점점 줄어든 것이다. 24주에 용량이 대략 50%까지 감소될 것이다. 28주에 용량이 대략 50%까지 추가 감소될 것이다. 타크로리무스는 32주에 중단될 것이다.

[1143] · 타크로리무스 및 시롤리무스 혈중 수준 모니터링은 실행될 것이다.

[1144] 프레드니손 용량화는 0.5 mg/kg/일로 시작할 것이고 12 주 방문까지 점차적으로 줄어든 것이다.

[1145] 타크로리무스 용량 조정은 처음 24 주 동안 2-4 ng/mL 이내로 전혈 최저 농도를 유지하기 위해 실시될 것이다. 24 주에, 용량은 대략 50%만큼 감소될 것이다. 28 주에, 용량은 대략 50%만큼 추가 감소될 것이다. 타크로리무스는 32 주에 중단될 것이다. 시롤리무스 용량 조정은 1-3 ng/mL 이내로 전혈 최저 농도를 유지하기 위해 실시될 것이다. 용량 조정은 임상 약사에 의해 수행되어야 한다. 대상체는 농도 모니터링으로 추가 투여 조정 전에 적어도 7 내지 14 일 동안 새로운 유지 용량으로 계속해야 한다.

[1146] 트리메토프림/설파메톡사졸 (Bactrim™; BACTRIM™ USPI, 2013)을 사용한 폐포자충 폐렴 (PCP) 예방은 -2 일에 시작하여 48 주까지 계속하는 5 mg/kg의 용량으로 1주 3회 (예시 용량화 일정; 월요일, 수요일, 금요일) 제공될 것이다. 트리메토프림/설파메톡사졸 사용과 관련된 위험에 대한 처방 정보를 참조한다 (BACTRIM™ USPI, 2013). 설파 알레르기를 가진 환자 경우에, 대체 약물은 펜타미딘, 답손, 및 아토바쿠온을 포함할 수 있다.

[1147] 항진균 예방은 ANC가 500 mm^3 미만이면 개시되어야 한다. 치료 요법은 적절한 하위 전문의와 상의하여 현지 현장 치료 표준을 통해서 결정될 것이다.

[1148] 칼시뉴린 억제제와 라파문의 동반 사용은 칼시뉴린 억제제-유도 혈전성 미세혈관병증의 위험을 증가시킬 수 있다. 혈전성 미세혈관병증 (TMA)은 혈소판 감소증, 미세혈관병증성 용혈성 빈혈, 및 다양한 기관계 침범을 특징으로 하는 장애들의 한 그룹이다.

- [1149] 이것은 심각한 혈소판감소증 ($< 30 \times 10^9/L$), 혈액 도말 상의 분열적혈구를 특징으로 하는 미세혈관병증성 용혈성 빈혈, 증가된 망상적혈구 수 ($>120 \times 10^9/L$), 상승된 락테이트 탈수소효소 수준 (LDH), 그리고 피부 및 점막 출혈, 쇠약, 및 호흡곤란의 징후를 나타낸다. 치료는 타크로리무스의 중단 그리고 혈장 교환의 가능한 개시를 포함한다.
- [1150] 증가하는 CMV 또는 EBV 바이러스 게놈이 일련의 시험 동안 검출되면, IS 감소 또는 항바이러스 요법 시작 결정은 적절한 하위 전문가와 상의하여 현지 치료 표준을 통해서 결정될 것이다.
- [1151] **등가물**
- [1152] 본 발명이 이의 특정 구현예를 참조하여 상세하게 설명되지만, 기능적으로 동등한 변형이 본 발명의 범위 내에 있음을 이해할 것이다. 실제로, 본원에 도시되고 설명된 것들에 더하여 본 발명의 다양한 수정은 전술한 설명 및 첨부된 도면으로부터 당업자에게 명백할 것이다. 이러한 수정은 첨부된 청구범위의 범주 내에 속하도록 의도된다. 당업자는 단지 일상적인 실험을 사용하여 본원에 기재된 본 발명의 특정 구현예에 대한 많은 등가물을 인식하거나 확인할 수 있을 것이다. 이러한 등가물은 다음의 청구범위에 포함되도록 의도된다.
- [1153] 본 명세서에 언급된 모든 간행물, 특허 및 특허 출원은 각각의 개별 간행물, 특허 또는 특허 출원이 그 전문이 본원에 참조로 포함되는 것으로 구체적이고 개별적으로 지시된 것과 동일한 정도로 본 명세서에 참조로 포함된다.

도면

도면1

인간 IDS의 아미노산 서열

이두로네이트-2-설파타아제 (IDS)

→신호			→성숙한 42kD		
10	20	30	40	50	
MPPPR	TGRGL	LWLGLVLSSV	CVALGSETQA	STTDALNVL	LIIVDDL
60	70	80	90	100	
LG	CYGD	KLVR	SPNIDQLASH	SLLEQN	AFQAQ
110	120	130	140	150	
RL	YDFNS	YWR	VHAG	PSTIP	QYFKENGYVT
160	170	180	190	200	
YS	WSFPPYH	P	SSEK	YENTKT	CRGPDGELHA
210	220	230	240	250	
ST	EQAIQLLE	KMKTSAS	PFF LAVGYHKPHI	PFRYPKE	FQK
260	270	280	290	300	
PD	FEVPDGLP	PVAYNPWMDI	RQREDVQAI	ISVPYGP	PIPV
310	320	330	340	350	
FA	SVSYLDTQ	VGRLLSALDD	LQLA	STIIA	FTSDHGWALG
360	370	380	390	400	
FD	VATHVPLI	FYVPGRTASL	PEAGEKLF	PY LDPFDSASQL	MEPGRQ
410	420	430	440	450	
VE	LVSLFPTL	AGLAGLQVPP	RCFVPSFHVE	LCREGKNLLK	HFRFRDLEED
→Mature 14kD					
460	470	480	490	500	
PYL	FGNPREL	IAYSQYPRFS	DIPQWNSDKP	SLKDIKIMGY	SIRTIDYRYT
510	520	530	540	550	
VW	VGFNPDEF	LA	FSDIHAG	ELYFVDS	DPL QDHNMY
					DSQ GGDLFQLLMP

이탤릭체 = 신호 서열 (MPPPR TGRGL LWLGLVLSSV CVALG)

■ = N-연결된 글리코실화 부위 (GlcNac...)

박스표시됨 = Y-황산화 부위 (PSSEK YENTKT CRGPD)

밑줄 = 42kD 또는 14kD 펩티드의 아미노-말단 서열 (Sleat 2005)

C⁸⁴ = 포르밀글리신 변형

N²⁸⁰ = M-6-P 잔기(들)

도면2a

CLUSTAL O(1.2.4) 오르올로그에 대한 hIDS의 다중 서열 정렬

SP P22304 IDS_인간	MPPPRTGRGLLWLGLVLSSVCVALGSETQANSTTDALNVLLIIIVDDLRLPSLGCYGDKLVR	60
TR K6ZGI9 K6ZGI9_PANTR	MPPPRTGRGLPWLGLVLSSVCVALGSETQANSTTDALNVLLIIIVDDLRLPSLGCYGDKLVR	60
TR K7BKV4 K7BKV4_PANTR	MPPPRTGRGLPWLGLVLSSVCVALGSETQANSTTDALNVLLIIIVDDLRLPSLGCYGDKLVR	60
TR H9FTX2 H9FTX2_MACMU	MPTPGSGRGFLWLGLVLSSVCVALGCETQANSTTDALNILLIIIVDDLRLPSLGCYGDKLVR	60
TR F7EJG2 F7EJG2_CALJA	MPPPRTSRCLLLLGLVLGSCVCTLGSAQASSTTDALNVLLIIIVDDLRLPSLGCYGDKLVR	60
TR U3DTL8 U3DTL8_CALJA	MPPPRPSRCLLLLGLVLGSCVCTLGSAQASSTTDALNVLLIIIVDDLRLPSLGCYGDKLVR	60
TR G7NRX7 G7NRX7_MACMU	MPTPGSGRGFLWLGLVLSSVCVALGCETQANSTTDALNILLIIIVDDLRLPSLGCYGDKLVR	60
TR G7Q1V9 G7Q1V9_MACFA	MPTPGSGRGFLWLGLVLSSVCVALGCETQANSTTDALNILLIIIVDDLRLPSLGCYGDKLVR	60
TR H2PX10 H2PX10_PONAB	MPPPRTGRGLLWLGLVLSSVCVALGSETQADSTTDGLNVLLIIIVDDLRLPSLGCYGDKLVR	60
TR A0A0D9R4D1 A0A0D9R4D1_CHLSB	MPTPGSGRGFLWLGLVLSSVCVALGSETQANSTTDALNILLIIIVDDLRLPSLGCYGDKLVR	60
TR G1RST8 G1RST8_NOMLE	MSPPRTGQGLLWLGLVLSSVCVAXVTSPPKPSFVDALNVLLIIIVDDLRLPSLGCYGDKLVR	60
UPI0000D9F625	MPTPGSGRGFLWLGLVLSSVCVALGCETQANSTTDALNILLIIIVDDLRLPSLGCYGDKLVR	60
UPI000274358B	MPPPRTGRGLLWLGLVLSSVCVALGSETQANSTTDALNVLLIIIVDDLRLPSLGCYGDKLVR	60
UPI000276FC5	MPTPGSGRGFLWLGLVLSSVCVALGCETQANSTTDALNILLIIIVDDLRLPSLGCYGDKLVR	60
UPI00027FAE03	MPPPRTGLCLLLLGLVLGSCVCTLGSAQANSTTDALNVLLIIIVDDLRLPSLGCYGDKLVR	60
UPI0003ABBF28	MPTPGSGRGFLWLGLVLSSVCVALGCETQANSTTDALNILLIIIVDDLRLPSLGCYGDKLVR	60
UPI000533297F	MPTPASGRGFLWLGLVLSSVCVALGSETQANSTTDALNILLIIIVDDLRLPSLGCYGDKLVR	60
UPI0005F40BD2	MPTPASGRGFLWLGLVLSSVCVALGSETQANSTTDALNILLIIIVDDLRLPSLGCYGDKLVR	60
	* * . : **:* ***** . : * .*.*****	
SP P22304 IDS_인간	SPNIDQLASHSLLFQNAFAQQAVCAPSRVSFLTGRPDPTRLYDFNSYWRVHAGNFSTIP	120
TR K6ZGI9 K6ZGI9_PANTR	SPNIDQLASHSLLFQNAFAQQAVCAPSRVSFLTGRPDPTRLYDFNSYWRVHAGNFSTIP	120
TR K7BKV4 K7BKV4_PANTR	SPNIDQLASHSLLFQNAFAQQAVCAPSRVSFLTGRPDPTRLYDFNSYWRVHAGNFSTIP	120
TR H9FTX2 H9FTX2_MACMU	SPNIDQLASHSLLFQNAFAQQAVCAPSRVSFLTGRPDPTRLYDFNSYWRVHAGNFSTIP	120
TR F7EJG2 F7EJG2_CALJA	SPNIDQLASHSLLFQNAFAQQAVCAPSRVSFLTGRPDPTRLYDFNSYWRVHAGNFSTIP	120
TR U3DTL8 U3DTL8_CALJA	SPNIDQLASHSLLFQNAFAQQAVCAPSRVSFLTGRPDPTRLYDFNSYWRVHAGNFSTIP	120
TR G7NRX7 G7NRX7_MACMU	SPNIDQLASHSLLFQNAFAQQAVCAPSRVSFLTGRPDPTRLYDFNSYWRVHAGNFSTIP	120
TR G7Q1V9 G7Q1V9_MACFA	SPNIDQLASHSLLFQNAFAQQAVCAPSRVSFLTGRPDPTRLYDFNSYWRVHAGNFSTIP	120
TR H2PX10 H2PX10_PONAB	SPNIDQLASHSLLFQNAFAQQAVCAPSRVSFLTGRPDPTRLYDFNSYWRVHAGNFSTIP	120
TR A0A0D9R4D1 A0A0D9R4D1_CHLSB	SPNIDQLASHSLLFQNAFAQQAVCAPSRVSFLTGRPDPTRLHNFNSYWRVHAGNFSTIP	120
TR G1RST8 G1RST8_NOMLE	SPNIDQLASHSLLFQNAFAQQAVCAPSRVSFLTGRPDPTRLYDFNSYWRVHAGNFSTIP	120
UPI0000D9F625	SPNIDQLASHSLLFQNAFAQQAVCAPSRVSFLTGRPDPTRLYDFNSYWRVHAGNFSTIP	120
UPI000274358B	SPNIDQLASHSLLFQNAFAQQAVCAPSRVSFLTGRPDPTRLYDFNSYWRVHAGNFSTIP	120
UPI000276FC5	SPNIDQLASHSLLFQNAFAQQAVCAPSRVSFLTGRPDPTRLYDFNSYWRVHAGNFSTIP	120
UPI00027FAE03	SPNIDQLASHSLLFQNAFAQQAVCAPSRVSFLTGRPDPTRLYDFNSYWRVHAGNFSTIP	120
UPI0003ABBF28	SPNIDQLASHSLLFQNAFAQQAVCAPSRVSFLTGRPDPTRLYDFNSYWRVHAGNFSTIP	120
UPI000533297F	SPNIDQLASHSLLFQNAFAQQAVCAPSRVSFLTGRPDPTRLYDFNSYWRVHAGNFSTIP	120
UPI0005F40BD2	SPNIDQLASHSLLFQNAFAQQAVCTPSHVSFLTGRPDPTRLYDFNSYWRVHAGNFSTIP	120
	*****.*:*:*:*:****** ***:*****	
SP P22304 IDS_인간	QYFKENGYVTMSVGKVFPHGITSNHTDDSPYSWSFPPYHPSSSEKYENTKTCRGPDELHA	180
TR K6ZGI9 K6ZGI9_PANTR	QYFKENGYVTMSVGKVFPHGITSNHTDDSPYSWSFPPYHPSSSEKYENTKTCRGPDELHA	180
TR K7BKV4 K7BKV4_PANTR	QYFKENGYVTMSVGKVFPHGITSNHTDDSPYSWSFPPYHPSSSEKYENTKTCRGPDELHA	180
TR H9FTX2 H9FTX2_MACMU	QYFKENGYVTMSVGKVFPHGITSNHTDDSPYSWSFPPYHPSSSEKYENTKTCRGPDELHA	180
TR F7EJG2 F7EJG2_CALJA	QYFKDNGYVTMSVGKVFPHGITSNHSDDSPYSWSFPPYHPSSSEKYENTKTCRGPDELHA	180
TR U3DTL8 U3DTL8_CALJA	QYFKDNGYVTMSVGKVFPHGITSNHSDDSPYSWSFPPYHPSSSEKYENTKTCRGPDELHA	180
TR G7NRX7 G7NRX7_MACMU	QYFKENGYVTMSVGKVFPHGITSNHTDDSPYSWSFPPYHPSSSEKYENTKTCRGPDELHA	180
TR G7Q1V9 G7Q1V9_MACFA	QYFKENGYVTMSVGKVFPHGITSNHTDDSPYSWSFPPYHPSSSEKYENTKTCRGPDELHA	180
TR H2PX10 H2PX10_PONAB	QYFKENGYVTMSVGKVFPHGITSNHTDDSPYSWSFPPYHPSSSEKYENTKTCRGPDELHA	180
TR A0A0D9R4D1 A0A0D9R4D1_CHLSB	QYFKENGYVTMSVGKVFPHGITSNHTDDSPYSWSFPPYHPSSSEKYENTKTCRGPDELHA	180
TR G1RST8 G1RST8_NOMLE	QYFKENGYVTMSVGKVFPHGITSNHTDDSPYSWSFPPYHPSSXXXXXXKTCRGPDELHA	180
UPI0000D9F625	QYFKENGYVTMSVGKVFPHGITSNHTDDSPYSWSFPPYHPSSSEKYENTKTCRGPDELHA	180
UPI000274358B	QYFKENGYVTMSVGKVFPHGITSNHTDDSPYSWSFPPYHPSSSEKYENTKTCRGPDELHA	180
UPI000276FC5	QYFKENGYVTMSVGKVFPHGITSNHTDDSPYSWSFPPYHPSSSEKYENTKTCRGPDELHA	180
UPI00027FAE03	QYFKDNGYVTMSVGKVFPHGITSNHSDDSPYSWSFPPYHPSSSEKYENTKTCRGPDELHA	180
UPI0003ABBF28	QYFKENGYVTMSVGKVFPHGITSNHTDDSPYSWSFPPYHPSSSEKYENTKTCRGPDELHA	180
UPI000533297F	QYFKENGYVTMSVGKVFPHGITSNHTDDSPYSWSFPPYHPSSSEKYENTKTCRGPDELHA	180
UPI0005F40BD2	QYFKENGYVTMSVGKVFPHGITSNHTDDSPYSWSFPPYHPSSSEKYENTKTCRGPDELHA	180
	:**.*:*:*:*:****** *****	

도면 2b

SP P22304 IDS_인자	NLLCPVDVLDVPEGLTLPDKQSTEQAIQLLEKMKTSASPF	FLAVGYHKKPHIPFRYPKEFQK	2400
TR K6ZGI9 K6ZGI9_PANTR	NLLCPVDVLDVPEGLTLPDKQSTEQAIQLLEKMKTSASPF	FLAVGYHKKPHIPFRYPKEFQK	2400
TR K7BKV4 K7BKV4_PANTR	NLLCPVDVLDVPEGLTLPDKQSTEQAIQLLEKMKTSASPF	FLAVGYHKKPHIPFRYPKEFQK	2400
TR H9FTX2 H9FTX2_MACMU	NLLCPVDVVDVPEGLTLPDKQSTEQAIQLLEKMKTSASPF	FLAVGYHKKPHIPFRYPKEFQK	2400
TR F7EJG2 F7EJG2_CALJA	NLLCPVDVVDVPEGLTLPDKQSTEEAIRLLEKMKTSASPF	FLAVGYHKKPHIPFRYPKEFQK	2400
TR U3DTL8 U3DTL8_CALJA	NLLCPVDVVDVPEGLTLPDKQSTEEAIRLLEKMKTSASPF	FLAVGYHKKPHIPFRYPKEFQK	2400
TR G7NRX7 G7NRX7_MACMU	NLLCPVDVVDVPEGLTLPDKQSTEQAIQLLEKMKTSASPF	FLAVGYHKKPHIPFRYPKEFQK	2400
TR G7Q1V9 G7Q1V9_MACFA	NLLCPVDVVDVPEGLTLPDKQSTEQAIQLLEKMKTSASPF	FLAVGYHKKPHIPFRYPKEFQK	2400
TR H2PX10 H2PX10_PONAB	NLIAKMCWMPFRAPCCDKQSTEQAIQLLEKMKTSASPF	FLAVGYHKKPHIPFRYPKEFQK	2400
TR A0A0D9R4D1 A0A0D9R4D1_CHLSB	NLLCPVDVVDVPEGLTLPDKQSTEQAIQLLEKMKTSASPF	FLAVGYHKKPHIPFRYPKEFQK	2400
TR G1RST8 G1RST8_NOMLE	NLLCPVDVLDVPEGLTLPDKQSTEQAIQLLEKMKTSASPF	FLAVGYHKKPHIPFRYPKEFQK	2400
UPI0000D9F625	NLLCPVDVVDVPEGLTLPDKQSTEQAIQLLEKMKTSASPF	FLAVGYHKKPHIPFRYPKEFQK	2400
UPI000274358B	NLLCPVDVLDVPEGLTLPDKQSTEQAIQLLEKMKTSASPF	FLAVGYHKKPHIPFRYPKEFQK	2400
UPI000276FC5	NLLCPVDVVDVPEGLTLPDKQSTEQAIQLLEKMKTSASPF	FLAVGYHKKPHIPFRYPKEFQK	2400
UPI00027FAE03	NLLCPVDVVDVPEGLTLPDKQSTEEAIRLLEKMKTSASPF	FLAVGYHKKPHIPFRYPKEFQK	2400
UPI0003ABBF28	NLLCPVDVVDVPEGLTLPDKQSTEQAIQLLEKMKTSASPF	FLAVGYHKKPHIPFRYPKEFQK	2400
UPI000533297F	NLLCPVDVVDVPEGLTLPDKQSTEQAVQLLEKMKTSASPF	FLAVGYHKKPHIPFRYPKEFQK	2400
UPI0005F40BD2	NLLCPVDVVDVPEGLTLPDKQSTEQAIQLLEKMKTSASPF	FLAVGYHKKPHIPFRYPKEFQK	2400

SP P22304 IDS 인자	LYPLENITLAPDPEVPDGLPPVAYNPWMDIRQREDVQALNISVPYGPPIPVDFQRKIRQSY	3000
TR K6ZGI9 K6ZGI9_PANTR	LYPLENITLAPDPEVPDGLPPVAYNPWMDIRQREDVQALNISVPYGPPIPVDFQRKIRQSY	3000
TR K7BKV4 K7BKV4_PANTR	LYPLENITLAPDPEVPDGLPPVAYNPWMDIRQREDVQALNISVPYGPPIPVDFQRKIRQSY	3000
TR H9FTX2 H9FTX2_MACMU	LYPLENITLAPDSEVPDGLPPVAYNPWMDIRQREDVQALNISVPYGPPIPVDFQRKIRQSY	3000
TR F7EJG2 F7EJG2_CALJA	LYPLENITLAPDPEVPDGLPPVAYNPWMDIRQREDVQALNISVPYGPPIPVDFQRKIRQSY	3000
TR U3DTL8 U3DTL8_CALJA	LYPLENITLAPDPEVPDGLPPVAYNPWMDIRQREDVQALNISVPYGPPIPVDFQRKIRQSY	3000
TR G7NRX7 G7NRX7_MACMU	LYPLENITLAPDSEVPDGLPPVAYNPWMDIRQREDVQALNISVPYGPPIPVDFQRKIRQSY	3000
TR G7Q1V9 G7Q1V9_MACFA	LYPLENITLAPDSEVPDGLPPVAYNPWMDIRQREDVQALNISVPYGPPIPVDFQRKIRQSY	3000
TR H2PX10 H2PX10_PONAB	LYPLENITLAPDPEVPDGLPPVAYNPWMDIRQREDVQALNISVPYGPPIPVDFQRKIRQSY	3000
TR A0A0D9R4D1 A0A0D9R4D1_CHLSB	LYPLENITLAPDSEVPDGLPPVAYNPWMDIRQREDVQALNISVPYGPPIPVDFQRKIRQSY	3000
TR G1RST8 G1RST8_NOMLE	LYPLENITLAPDPEVPDGLPPVAYNPWMDIRQREDVQALNISVPYGPPIPVDFQRKIRQSY	3000
UPI0000D9F625	LYPLENITLAPDSEVPDGLPPVAYNPWMDIRQREDVQALNISVPYGPPIPVDFQRKIRQSY	3000
UPI000274358B	LYPLENITLAPDPEVPDGLPPVAYNPWMDIRQREDVQALNISVPYGPPIPVDFQRKIRQSY	3000
UPI00027FAE03	LYPLENITLAPDSEVPDGLPPVAYNPWMDIRQREDVQALNISVPYGPPIPVDFQRKIRQSY	3000
UPI00027FAE05	LYPLENITLAPDPEVPDGLPPVAYNPWMDIRQREDVQALNISVPYGPPIPVDFQRKIRQSY	3000
UPI0003ABBF28	LYPLENITLAPDSEVPDGLPPVAYNPWMDIRQREDVQALNISVPYGPPIPVDFQRKIRQSY	3000
UPI000533297F	LYPLENITLAPDSEVPDGLPPVAYNPWMDIRQREDVQALNISVPYGPPIPVDFQRKIRQSY	3000
UPI00055FA0BD2	LYPLENITLAPDSEVPDGLPPVAYNPWMDIRQREDVQALNISVPYGPPIPVDFQRKIRQSY	3000

[illegible]

도면2c

SP P22304 IDS_인간	FYVPGRTASLPEAGEKLFYYLDPFDSASQLMEPGRQSMDELVLVSLFPTLAGLAGLQVPP	420
TR K6ZG19 K6ZG19_PANTR	FYVPGRTASLPEAGEKLFYYLDPFDSASQLMEPGRQSMDELVLVSLFPTLAGLAGLQVPP	420
TR K7BKV4 K7BKV4_PANTR	FYVPGRTASLPEAGEKLFYYLDPFDSASQLMEPGRQSMDELVLVSLFPTLAGLAGLQVPP	420
TR H9FTX2 H9FTX2_MACMU	FYVPGRTASLPEAGEKLFYYLDPFDSASQLMEPGRQSMDELVLVSLFPTLAGLAGLQVPP	420
TR F7EJG2 F7EJG2_CALJA	FYVPGRTASLPEADEKLFYYVDPFHSASELMEPGRQSMDELVLVSLFPTLAGLAGLQVPP	420
TR U3DTL8 U3DTL8_CALJA	FYVPGRTASLPEADEKLFYYVDPFHSASELMEPGRQSMDELVLVSLFPTLAGLAGLQVPP	420
TR G7NRX7 G7NRX7_MACMU	FYVPGRTASLPEAGEKLFYYLDPFDSASELMEPGRQSMDELVLVSLFPTLAGLAGLQVPP	420
TR G7Q1V9 G7Q1V9_MACFA	FYVPGRTASLPEAGEKLFYYLDPFDSASELMEPGRQSMDELVLVSLFPTLAGLAGLQVPP	420
TR H2PX10 H2PX10_PONAB	FYVPGRTASLPEAGEKLFYYLDPFDSASELMEPGRQSMDELVLVSLFPTLAGLAGLQVPP	420
TR A0A0D9R4D1 A0A0D9R4D1_CHLSB	FYVPGRTASLPEAGEKLFYYLDPFDSASELMEPGRQSMDELVLVSLFPTLAGLAGLQVPP	420
TR G1RST8 G1RST8_NOMLE	FYVPGRTASLPEAGEKLFYYLDPFDSASELMEPGRQSMDELVLVSLFPTLAGLAGLQVPP	420
UPI00000D9F625	FYVPGRTASLPEAGEKLFYYLDPFDSASELMEPGRQSMDELVLVSLFPTLAGLAGLQVPP	420
UPI000274358B	FYVPGRTASLPEAGEKLFYYLDPFDSASQLMEPGRQSMDELVLVSLFPTLAGLAGLQVPP	420
UPI00027F6FC5	FYVPGRTASLPEAGEKLFYYLDPFDSASELMEPGRQSMDELVLVSLFPTLAGLAGLQVPP	420
UPI00027FAE03	FYVPGRTASLPETGEKLFYYVDPFHSASELMEPGRQSDTLVLVSLFPTLAGLAGLQVPP	420
UPI0003ABBF28	FYVPGRTASLPEAGEKLFYYLDPFDSASELMEPGRQSMDELVLVSLFPTLAGLAGLQVPP	420
UPI000533297F	FYVPGRTASLPEAGEKLFYYLDPFDSASELMEPGRQSMDELVLVSLFPTLAGLAGLQVPP	420
UPI00055F40BD2	FYVPGRTASLPEAGEKLFYYLDPFDSASELMEPGRQSMDELVLVSLFPTLAGLAGLQVPP	420

SP P22304 IDS_인간	RCVPVSHFVELCREGKNLLKHFRFRDLEEDPYLPGNPRELIAYSQYPRPSDIPQWNSDKP	480
TR K6ZGI9 K6ZGI9_PANTR	RCVPVSHFVELCREGKNLLKHFRFRDLEEDPYLPGNPRELIAYSQYPRPSDIPQWNSDKP	480
TR K7BKV4 K7BKV4_PANTR	RCVPVSHFVELCREGKNLLKHFRFRDLEEDPYLPGNPRELIAYSQYPRPSDIPQWNSDKP	480
TR H9FTX2 H9FTX2_MACMU	RCVPVSHFVELCREGKNLLKHFRFRDLEEDPYLPGNPRELIAYSQYPRPADFPQWNSDKP	480
TR F7EJG2 F7EJG2_CALJA	RCVPVSHFVELCREGKSLLKHFRFHGLEEDPYLPGNPRELIAYSQYPRPADFPQWNSDKP	480
TR U3DTL8 U3DTL8_CALJA	RCVPVSHFVELCREGKSLLKHFRFHGLEEDPYLPGNPRELIAYSQYPRPADFPQWNSDKP	480
TR G7NRX7 G7NRX7_MACMU	RCVPVSHFVELCREGKNLLKHFRFRDLEEDPYLPGNPRELIAYSQYPRPADFPQWNSDKP	480
TR G7Q1V9 G7Q1V9_MACFA	RCVPVSHFVELCREGKNLLKHFRFRDLEEDPYLPGNPRELIAYSQYPRPADFPQWNSDKP	480
TR H2PX10 H2PX10_PONAB	RCVPVSHFVELCREGKNLLKHFRFRDLEEDPYLPGNPRELIAYSQYPRPADFPQWNSDKP	480
TR A0A0D9R4D1 A0A0D9R4D1_CHLSB	RCVPVSHFVELCREGKNLLKHFRFRDLEEDPYLPGNPRELIAYSQYPRPADFPQWNSDKP	480
TR G1RST8 G1RST8_NOMLE	RCVPVSHFVELCREGKNLLKHFRFRDLEEDPYLPGNPRELIAYSQYPRPADIPQWNSDKP	480
UPI0000D9F625	RCVPVSHFVELCREGKNLLKHFRFRDLEEDPYLPGNPRELIAYSQYPRPADFPQWNSDKP	480
UPI000274358B	RCVPVSHFVELCREGKNLLKHFRFRDLEEDPYLPGNPRELIAYSQYPRPSDIPQWNSDKP	480
UPI0002746FC5	RCVPVSHFVELCREGKNLLKHFRFRDLEEDPYLPGNPRELIAYSQYPRPADFPQWNSDKP	480
UPI00027FAE03	RCVPVSHIELCREGKNLLKHFRFHGLEEDPYLPGNPRELIAYSQYPRPADFPQWNSDKP	480
UPI0003ABBF28	RCVPVSHFVELCREGKNLLKHFRFRDLEEDPYLPGNPRELIAYSQYPRPADFPQWNSDKP	480
UPI000533297F	RCVPVSHFVELCREGKNLLKHFRFRDLEEDPYLPGNPRELIAYSQYPRPADFPQWNSDKP	480
UPI00055F40BD2	RCVPVSHFVELCREGKNLLKHFRFRDLEEDPYLPGNPRELIAYSQYPRPADFPQWNSDKP	480

SP P22304 IDS_인간	SLKDIKIMGYSIRTIDYRYTVVWGFNPDEFLANFSDIHAGELYFVDS DPLQDHNMYNDSQ	540
TR K6ZGI9 K6ZGI9_PANTR	SLKDKIKMGYSIRTIDYRYTVWIGFNDEFLANFSDIHAGELYFVDS DPLQDHNMYNDSQ	540
TR K7BKV4 K7BKV4_PANTR	SLKDKIKMGYSIRTIDYRYTVWGFNPDEFLANFSDIHAGELYFVDS DPLQDHNMYNDSQ	540
TR H9FTX2 H9FTX2_MACMU	SLKDKIKMGYSIRTIDYRYTVVWGFNPDEFLANFSDIHAGELYFVDS DPLQDHNMYNDSQ	540
TR F7EJG2 F7EJG2_CALJA	SLKYIKIMGYSIRTVDYRYTVVWGFNPDEFLANFSDIHAGELYFVDS DPLQDHNMYNDSQ	540
TR U3DTL8 U3DTL8_CALJA	SLKYIKIMGYSIRTVDYRYTVVWGFNPDEFLANFSDIHAGELYFVDS DPLQDHNMYNDSQ	540
TR G7NRX7 G7NRX7_MACMU	SLKDKIKMGYSIRTIDYRYTVVWGFNPDEFLANFSDIHAGELYFVDS DPLQDHNMYNDSQ	540
TR G7Q1V9 G7Q1V9_MACFA	SLKDKIKMGYSIRTIDYRYTVVWGFNPDEFLANFSDIHAGELYFVDS DPLQDHNMYNDSQ	540
TR H2PX10 H2PX10_PONAB	SLKDKIKMGYSIRTIDYRYTVVWGFNPDEFLANFSDIHAGELYFVDS DPLQDHNMYNDSQ	540
TR A0A0D9R4D1 A0A0D9R4D1_CHLSB	NLKDKIKMGYSIRTIDYRYTVVWGFNPDEFLANFSDIHAGELYFVDS DPLQDHNMYNDSQ	540
TR G1RST8 G1RST8_NOMLE	SLKDKIKMGYSIRTIDYRYTVVWGFNPDEFLANFSDIHAGELYFVDS DPLQDHNMYNDSQ	540
UPI0000D9F625	SLKDKIKMGYSIRTIDYRYTVVWGFNPDEFLANFSDIHAGELYFVDS DPLQDHNMYNDSQ	540
UPI000274358B	SLKDKIKMGYSIRTIDYRYTVVWGFNPDEFLANFSDIHAGELYFVDS DPLQDHNMYNDSQ	540
UPI0002776FC5	SLKDKIKMGYSIRTIDYRYTVVWGFNPDEFLANFSDIHAGELYFVDS DPLQDHNMYNDSQ	540
UPI00027FAE03	SLKYIKIMGYSIRTVDYRYTVVWGFNPDEFLANFSDIHAGELYFVDS DPLQDHNMYNDSQ	540
UPI0003ABB78	SLKDKIKMGYSIRTIDYRYTVVWGFNPDEFLANFSDIHAGELYFVDS DPLQDHNMYNDSQ	540
UPI000533297F	SLKDKIKMGYSIRTIDYRYTVVWGFNPDEFLANFSDIHAGELYFVDS DPLQDHNMYNDSQ	540
UPI0005F40BD2	SLKDKIKMGYSIRTIDYRYTVVWGFNPDEFLANFSDIHAGELYFVDS DPLQDHNMYNDSQ	540
** *****.*****.***** *****.***** *****		

도면2d

```

SP|P22304|IDS_인간          GDDLQQLLMP 550
TR|K6ZGI9|K6ZGI9_PANTR     GDDLQQLLMP 550
TR|K7BKV4|K7BKV4_PANTR     GDDLQQLLMP 550
TR|H9FTX2|H9FTX2_MACMU     GDDLQQLLMP 550
TR|F7EJG2|F7EJG2_CALJA     GGELFQSLMP 550
TR|U3DTL8|U3DTL8_CALJA     GGELFQSLMP 550
TR|G7NRX7|G7NRX7_MACMU     GDDLQQLLMP 550
TR|G7Q1V9|G7Q1V9_MACFA     GDDLQQLLMP 550
TR|H2PX10|H2PX10_PONAB     GDDLQQLLMP 550
TR|A0A0D9R4D1|A0A0D9R4D1_CHLSB GDDLQQLLMP 550
TR|G1RST8|G1RST8_NOMLE     GDDLQQLLMP 550
UPI0000D9F625              GDDLQQLLMP 550
UPI000274358B              GDDLQQLLMP 550
UPI00027F6FC5              GDDLQQLLMP 550
UPI00027FAE03              GGELFQSLMP 550
UPI0003ABBF28              GDDLQQLLMP 550
UPI000533297F              GDDLQQLLMP 550
UPI0005F40BD2              GDDLQQLLMP 550
**:*:* **

```

종 범례:

```

SP|P22304|IDS_인간          [호모 사피엔스]
TR|K6ZGI9|K6ZGI9_PANTR     [판 트로글로다이츠 (침팬지)]
TR|K7BKV4|K7BKV4_PANTR     [판 트로글로다이츠 (침팬지)]
TR|H9FTX2|H9FTX2_MACMU     [마카카 몰라타 (붉은털원숭이)]
TR|F7EJG2|F7EJG2_CALJA     [비단 마모셋 (흰털귀 마모셋)]
TR|U3DTL8|U3DTL8_CALJA     [비단 마모셋 (흰털귀 마모셋)]
TR|G7NRX7|G7NRX7_MACMU     [마카카 몰라타 (붉은털원숭이)]
TR|G7Q1V9|G7Q1V9_MACFA     [필리핀 원숭이 (게잡이 원숭이; 사이노몰로구스 원숭이)]
TR|H2PX10|H2PX10_PONAB     [폰고 아벨리이 (수마트라 오랑우탄)]
TR|A0A0D9R4D1_CHLSB       [사바나 원숭이 (녹색 원숭이)]
TR|G1RST8|G1RST8_NOMLE     [노마스쿠스 류코제너스 (북부 흰뺨 긴팔원숭이)]
UPI0000D9F625              [마카카 몰라타 (붉은털원숭이)]
UPI000274358B              [판 파니스쿠스 (피그미 침팬지; 보노보)]
UPI00027F6FC5              [파피오 아누비스 (올리브 개코원숭이)]
UPI00027FAE03              [검은머리 다람쥐 원숭이 (볼리비아 다람쥐 원숭이)]
UPI0003ABBF28              [필리핀 원숭이 (게잡이 원숭이; 사이노몰로구스 원숭이)]
UPI000533297F              [리노피테쿠스 록셀라나 (황금 들창코 원숭이; 피가트릭스 록셀라나)]
UPI0005F40BD2              [콜로부스 안골렌시스 팔리에이츠 (피터스 안골란 콜로부스)]

```

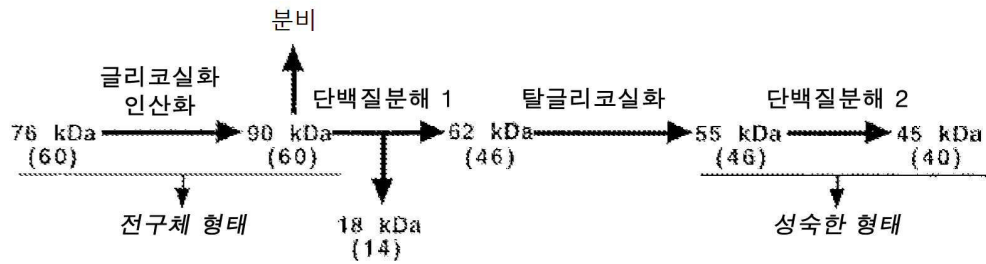
도면3

hIDS MPS II 변이체

L41P (경증); 41X (중간); D45N (MPS2); R48P (경증); Y54D (중증); N63D (경증/중간); A68E (중증); S71N (경증); S71R (중증); L73F (중증); A79E (경증); A82E (MPS2); A82V (유의한 효소 활성 없음); A85S (중증); A85T (경증 내지 중증 형태); P86L (중간 내지 중증 형태); P86Q (MPS2); P86R (중증); S87N (경증); R88C (중증); R88G (중증); R88H (중간/중증 형태); R88L (중증); R88P (중증-잔여 활동의 총 부재); V89F (MPS2); L92P (중증); G94D (경증); R95G (중간); R95T (경증); 95X (중증); L102R (경증); Y108C (경증); Y108S (경증); N115Y (MPS2); S117Y (중증); I17X (MPS2에서 결측; 중증 형태; 해로운 돌연변이); T118I (경증 내지 중증; 크게 감소된 활성); I18X (MPS2에서 결측; 중증 형태); P120H (경증); P120R (중증); Q121H (중증); Q121R (중증);	E125V (경증); S132W (중증); G134R (중증); K135N (중간); K135R (중간); H138D (경증/중간); G140V (MPS2; 유의한 효소 활성 없음); S143F (MPS2); D148H (중간); H159P (중증); I59X (MPS2에서 결측; 중간 형태); P160R (MPS2); N181I (경증); L182P (중간); C184F (경증/중간); C184W (MPS2); L196S (경증/중간); D198G (경증); A205P (중간); L221P (중간); G224E (중증); Y225D (중간); K227M (중간); K227Q (중증); P228L (MPS2); P228T (중증); H229R (중간/중증); H229Y (중증); P231L (경증); D252N (MPS2); L259P (중증); Y264N (MPS2); N265I (중간; 해로운 돌연변이); P266H (경증); P266R (MPS2); D269V (MPS2); Q293H (경증); S299I (경증); D308E (경증); D308N (중간); T309A (중증); R313C (MPS2; 미지의 병리학적 유의성); L314P (중증); S333L (중증);	D334G (중증); D334N (경증); H335R (중간); G336E (중증); G336R (중증); W337R (중간); L339R (중증); G340D (경증); E341K (중증); H342Y (경증); W345C (경증/중증); A346D (경증/중증); A346V (경증/중증); K347I (MPS2); K347Q (중증); K347T (중증); Y348H (MPS2); S349I (중증); P358R (중증); L403R (중간); L410P (MPS2); C422G (경증); C422R (중증); C432Y (중증); E434K (MPS2); Q465P (중증); P467L (중증); R468G (경증/중증); R468L (경증/중증); R468Q (중증/중간; 크게 감소된 활성); R468W (경증/중증); P469H (경증); D478G (경증); D478Y (중증); P480L (경증); P480Q (경증); P480R (중증); I485K (MPS2); I485R (중증); MG488 - 489IA (중간); Y490S (중간); S491F (경증); W502C (중증); W502S (MPS2); E521K (중증); E521V (중증); Y523C (경증);
---	--	--

도면4

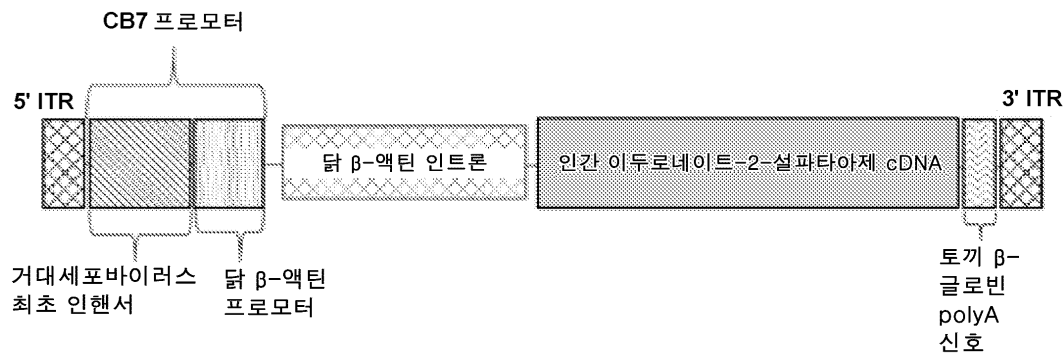
인간 IDS 처리 단계



도 7. IDS 처리, 탈글리코실화된 폴리펩티드의 분자 질량은 괄호 안에 표시된다.

(Millat 등, 1997, Exp. Cell. Res. 230: 362-367 ("Millat 1997") 도 7로부터).

도면5



도면6d

```

[---HVR9---]
AAV1 DDEDKFFFMSSGVMIIFGKESA---GASNTALD--NVMITDEEEIKATNPVATERFGTVAVNFQ 585
AAV2 DDEEKFFEQSGVLIIFGKQGS---EKTNVVDIE--KVMITDEEEIIRTTNPVATEQYGSVSTNLQ 584
AAV3-3 DDEEKFFFMHGNLIIFGKEGT---TASNAELD--NVMITDEEEIIRTTNPVATEQYGTVANNLQ 585
AAV4-4 PADSKFS--NSQLIFAGPKQN---GNTATVPG--TLIFTSEEEELAATNATDMDMGNLPGGDQ 583
AV5 LQGSNTYALENTMIFNSQPANPGTTATYLEGNMLITSESETQPVNRVAYNVGGQMATNNQ 574
AAV6 DDDKDKFFFMSSGVMIIFGKESA---GASNTALD--NVMITDEEEIKATNPVATERFGTVAVNLQ 585
AAV7 DDEDRFFPSSGVLIIFGKTGA---TN-KTTL--NVIMTNEEEIIRTTNPVATEEYGVSSNLQ 586
AAV8 DDEERFFPSSGILIFGKQNA---ARDNADYS--DVMLTSEEEIKTTNPVATEEYGVIVADNLQ 587
hu31 EGEDRFFPLSGSLIFGKQGT---GRDNVDAD--KVMITNEEEIKTTNPVATESYGVQVATNRQ 585
hu32 EGEDRFFPLSGSLIFGKQGT---GRDNVDAD--KVMITNEEEIKTTNPVATESYGVQVATNRQ 585
AAV9 EGEDRFFPLSGSLIFGKQGT---GRDNVDAD--KVMITNEEEIKTTNPVATESYGVQVATNRQ 585
SUBS LQGSNTYAMENTMFANPKQN---TNTATVPG--TLIF-S-S-TQPV--ATDYDMW--NLPGGD-
PADEK S QHQLI SESA EASKAALE--NMLM D RA R NVF TMSN L
DDK NN V TPS AK KTY L A QG I V N
S I N EI E S S F
N Y R D

[---HVR10---]
AAV1 SSSTDPATGCVHMGALPGMVWQDRDVYLQGPWAKIPHTDGHFHPSPLMGGFGLKNPPP 645
AAV2 RGNRQAATADVNTQGVLPGMVWQDRDVYLQGPWAKIPHTDGHFHPSPLMGGFGLKHPPP 644
AAV3-3 SSNTAFTTGTVNHQCALPGMVWQDRDVYLQGPWAKIPHTDGHFHPSPLMGGFGLKHPPP 645
AAV4-4 SNSNLPTVDRLTALGAVPGMVWQNRDIYYQGPWAKIPHTDGHFHPSPLIGGFGLKHPPP 643
AV5 SSTTAPATGCTYNLQEIIVPGSVWMEERDVYLQGPWAKIPETGAHFHPSPAMGGFGLKHPPP 634
AAV6 SSSTDPATGCVHVMGALPGMVWQDRDVYLQGPWAKIPHTDGHFHPSPLMGGFGLKHPPP 645
AAV7 AANTAAQTQVNNQCALPGMVWQNRDVYLQGPWAKIPHTDGNFHPSPLMGGFGLKHPPP 646
AAV8 QQNTAPQIGTVNSQCALPGMVWQNRDVYLQGPWAKIPHTDGNFHPSPLMGGFGLKHPPP 647
hu31 SAQAQAQTGWVQNGILPGMVWQDRDVYLQGPWAKIPHTDGNFHPSPLMGGFGMKHPPP 645
hu32 SAQAQAQTGWVQNGILPGMVWQDRDVYLQGPWAKIPHTDGNFHPSPLMGGFGMKHPPP 645
AAV9 SAQAQAQTGWVQNGILPGMVWQDRDVYLQGPWAKIPHTDGNFHPSPLMGGFGMKHPPP 645
SUBS RNSNLPTVDRLTALAEAV--S--ME--I-----E-GAH-----AI----L-N---
ASNTA AIADYHTM V N
QGTRD QT NH
Q V L
V
S

[---HVR11---]
AAV1 QILIKNTPVPANPPAEFSATKFASFITQYSTGQVSVEIEWELQKENS KRWNPEVQYTSNY 705
AAV2 QILIKNTPVPANPSTTFSAKFASFITQYSTGQVSVEIEWELQKENS KRWNPEIQYTSNY 704
AAV3-3 QIMIKNTPVPANPSTTFSAKFASFITQYSTGQVSVEIEWELQKENS KRWNPEIQYTSNY 705
AAV4-4 QIFIKNTPVPANPATTFSSFTVNSFITQYSTGQVSVIDWEIQERSKRWNPEVQFTSNY 703
AV5 MMLIKNTPVPGNI--TSFSDVFVSSFITQYSTGQVTVEWELKKENS KRWNPEIQYTNNY 693
AAV6 QILIKNTPVPANPPAEFSATKFASFITQYSTGQVSVEIEWELQKENS KRWNPEVQYTSNY 705
AAV7 QILIKNTPVPANPEVFTPAKFASFITQYSTGQVSVEIEWELQKENS KRWNPEIQYTSNF 706
AAV8 QILIKNTPVPADPPTTFNQSKLNSFITQYSTGQVSVEIEWELQKENS KRWNPEIQYTSNY 707
hu31 QILIKNTPVPADPPTAFNKDKLNSFITQYSTGQVSVEIEWELQKENS KRWNPEIQYTSNY 705
hu32 QILIKNTPVPADPPTAFNKDKLNSFITQYSTGQVSVEIEWELQKENS KRWNPEIQYTSNY 705
AAV9 QILIKNTPVPADPPTAFNKDKLNSFITQYSTGQVSVEIEWELQKENS KRWNPEIQYTSNY 705
SUBS MMM-----G-IAAE--SDVPVS-----QMD--IK--R-----V-----
F SET TAA FA
S PT
V QS
S

```

도면6e

```

[-----HVR12-----]
AAV1  AKSANVDFTVDNNGLYTEPRPIGTRYLTRPL 736 (서열번호 16)
AAV2  NKSVINVDFTVDINGVYSEPRPIGTRYLTRNL 735 (서열번호 17)
AAV3-3 NKSVINVDFTVDINGVYSEPRPIGTRYLTRNL 736 (서열번호 18)
AAV4-4 GQQNSLLWAFDAAGKYTEPRAIGTRYLTHHL 734 (서열번호 19)
AV5    NDPQFVDFAPDSTGEYRTTRPIGTRYLTRPL 724 (서열번호 20)
AAV6  AKSANVDFTVDNNGLYTEPRPIGTRYLTRPL 736 (서열번호 21)
AAV7  EKQTSVDFAVDSQGVYSEPRPIGTRYLTRNL 737 (서열번호 22)
AAV8  YKSTSVDEAVNTEGVYSEPRPIGTRYLTRNL 738 (서열번호 23)
hu31  YKSNVVEFAVSTEGVYSEPRPIGTRYLTRNL 736 (서열번호 24)
hu32  YKSNVVEFAVNTEGVYSEPRPIGTRYLTRNL 736 (서열번호 25)
AAV9  YKSNVVEFAVNTEGVYSEPRPIGTRYLTRNL 736 (서열번호 26)
SUBS  GQQVSLWTPDAA-K-RTT-A-----HP-
      NDPQF D  SSN E T  H
      A  TG  NQ L
      E  A  T
  
```

서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> REGENXBIO INC.

<120> TREATMENT OF MUCOPOLYSACCHARIDOSIS II WITH RECOMBINANT HUMAN
IDURONATE-2-SULFATASE (IDS) PRODUCED BY HUMAN NEURAL OR GLIAL
CELLS

<130> 12656-129-228

<140> TBA

<141> On even date herewith

<150> 62/967,494

<151> 2020-01-29

<150> 63/066,625

<151> 2020-08-17

<150> 63/088,305

<151> 2020-10-06

<160> 45

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 550

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Human IDS amino acid sequence

<400> 1

Met Pro Pro Pro Arg Thr Gly Arg Gly Leu Leu Trp Leu Gly Leu Val

1 5 10 15
 Leu Ser Ser Val Cys Val Ala Leu Gly Ser Glu Thr Gln Ala Asn Ser
 20 25 30
 Thr Thr Asp Ala Leu Asn Val Leu Leu Ile Ile Val Asp Asp Leu Arg
 35 40 45
 Pro Ser Leu Gly Cys Tyr Gly Asp Lys Leu Val Arg Ser Pro Asn Ile
 50 55 60

 Asp Gln Leu Ala Ser His Ser Leu Leu Phe Gln Asn Ala Phe Ala Gln
 65 70 75 80
 Gln Ala Val Cys Ala Pro Ser Arg Val Ser Phe Leu Thr Gly Arg Arg
 85 90 95
 Pro Asp Thr Thr Arg Leu Tyr Asp Phe Asn Ser Tyr Trp Arg Val His
 100 105 110
 Ala Gly Asn Phe Ser Thr Ile Pro Gln Tyr Phe Lys Glu Asn Gly Tyr
 115 120 125

 Val Thr Met Ser Val Gly Lys Val Phe His Pro Gly Ile Ser Ser Asn
 130 135 140
 His Thr Asp Asp Ser Pro Tyr Ser Trp Ser Phe Pro Pro Tyr His Pro
 145 150 155 160
 Ser Ser Glu Lys Tyr Glu Asn Thr Lys Thr Cys Arg Gly Pro Asp Gly
 165 170 175
 Glu Leu His Ala Asn Leu Leu Cys Pro Val Asp Val Leu Asp Val Pro
 180 185 190

 Glu Gly Thr Leu Pro Asp Lys Gln Ser Thr Glu Gln Ala Ile Gln Leu
 195 200 205
 Leu Glu Lys Met Lys Thr Ser Ala Ser Pro Phe Phe Leu Ala Val Gly
 210 215 220
 Tyr His Lys Pro His Ile Pro Phe Arg Tyr Pro Lys Glu Phe Gln Lys
 225 230 235 240
 Leu Tyr Pro Leu Glu Asn Ile Thr Leu Ala Pro Asp Pro Glu Val Pro
 245 250 255

Asp Gly Leu Pro Pro Val Ala Tyr Asn Pro Trp Met Asp Ile Arg Gln
 260 265 270
 Arg Glu Asp Val Gln Ala Leu Asn Ile Ser Val Pro Tyr Gly Pro Ile
 275 280 285
 Pro Val Asp Phe Gln Arg Lys Ile Arg Gln Ser Tyr Phe Ala Ser Val
 290 295 300
 Ser Tyr Leu Asp Thr Gln Val Gly Arg Leu Leu Ser Ala Leu Asp Asp
 305 310 315 320

 Leu Gln Leu Ala Asn Ser Thr Ile Ile Ala Phe Thr Ser Asp His Gly
 325 330 335
 Trp Ala Leu Gly Glu His Gly Glu Trp Ala Lys Tyr Ser Asn Phe Asp
 340 345 350
 Val Ala Thr His Val Pro Leu Ile Phe Tyr Val Pro Gly Arg Thr Ala
 355 360 365
 Ser Leu Pro Glu Ala Gly Glu Lys Leu Phe Pro Tyr Leu Asp Pro Phe
 370 375 380

 Asp Ser Ala Ser Gln Leu Met Glu Pro Gly Arg Gln Ser Met Asp Leu
 385 390 395 400
 Val Glu Leu Val Ser Leu Phe Pro Thr Leu Ala Gly Leu Ala Gly Leu
 405 410 415
 Gln Val Pro Pro Arg Cys Pro Val Pro Ser Phe His Val Glu Leu Cys
 420 425 430
 Arg Glu Gly Lys Asn Leu Leu Lys His Phe Arg Phe Arg Asp Leu Glu
 435 440 445

 Glu Asp Pro Tyr Leu Pro Gly Asn Pro Arg Glu Leu Ile Ala Tyr Ser
 450 455 460
 Gln Tyr Pro Arg Pro Ser Asp Ile Pro Gln Trp Asn Ser Asp Lys Pro
 465 470 475 480
 Ser Leu Lys Asp Ile Lys Ile Met Gly Tyr Ser Ile Arg Thr Ile Asp
 485 490 495
 Tyr Arg Tyr Thr Val Trp Val Gly Phe Asn Pro Asp Glu Phe Leu Ala

500 505 510

Asn Phe Ser Asp Ile His Ala Gly Glu Leu Tyr Phe Val Asp Ser Asp

515 520 525

Pro Leu Gln Asp His Asn Met Tyr Asn Asp Ser Gln Gly Gly Asp Leu

530 535 540

Phe Gln Leu Leu Met Pro

545 550

<210> 2

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Oligodendrocyte-myelin glycoprotein (hOMG) signal peptide

<400> 2

Met Glu Tyr Gln Ile Leu Lys Met Ser Leu Cys Leu Phe Ile Leu Leu

1 5 10 15

Phe Leu Thr Pro Gly Ile Leu Cys

20

<210> 3

<211> 31

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Cellular repressor of E1A-stimulated genes 2(hCREG2)

signal peptide

<400> 3

Met Ser Val Arg Arg Gly Arg Arg Pro Ala Arg Pro Gly Thr Arg Leu

1 5 10 15

Ser Trp Leu Leu Cys Cys Ser Ala Leu Leu Ser Pro Ala Ala Gly

20 25 30

<210> 4

<211> 28

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> V-set and transmembrane domain containing 2B(hVSTM2B)

signal peptide

<400> 4

Met Glu Gln Arg Asn Arg Leu Gly Ala Leu Gly Tyr Leu Pro Pro Leu

1 5 10 15

Leu Leu His Ala Leu Leu Leu Phe Val Ala Asp Ala

20 25

<210> 5

<211> 29

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Protocadherin alpha-1 (hPCADHA1) signal peptide

<400> 5

Met Val Phe Ser Arg Arg Gly Gly Leu Gly Ala Arg Asp Leu Leu Leu

1 5 10 15

Trp Leu Leu Leu Leu Ala Ala Trp Glu Val Gly Ser Gly

20 25

<210> 6

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> FAM19A1 (TAFA1) signal peptide

<400> 6

Met Ala Met Val Ser Ala Met Ser Trp Val Leu Tyr Leu Trp Ile Ser

1 5 10 15

Ala Cys Ala

<210> 7

<211> 26

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VEGF-A signal peptide

<400> 7

Met Asn Phe Leu Leu Ser Trp Val His Trp Ser Leu Ala Leu Leu Leu

1 5 10 15

Tyr Leu His His Ala Lys Trp Ser Gln Ala

20 25

<210> 8

<211> 29

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Fibulin-1 signal peptide

<400> 8

Met Glu Arg Ala Ala Pro Ser Arg Arg Val Pro Leu Pro Leu Leu Leu

1 5 10 15

Leu Gly Gly Leu Ala Leu Leu Ala Ala Gly Val Asp Ala

20 25

<210> 9

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Vitronectin signal peptide

<400> 9

Met Ala Pro Leu Arg Pro Leu Leu Ile Leu Ala Leu Leu Ala Trp Val

1 5 10 15

Ala Leu Ala

<210> 10

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Complement Factor H signal peptide

<400> 10

Met Arg Leu Leu Ala Lys Ile Ile Cys Leu Met Leu Trp Ala Ile Cys

1 5 10 15

Val Ala

<210> 11

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Opticin signal peptide

<400> 11

Met Arg Leu Leu Ala Phe Leu Ser Leu Leu Ala Leu Val Leu Gln Glu

1 5 10 15

Thr Gly Thr

<210> 12

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Albumin signal peptide

<400> 12

Met Lys Trp Val Thr Phe Ile Ser Leu Leu Phe Leu Phe Ser Ser Ala

1 5 10 15

Tyr Ser

<210> 13

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Chymotrypsinogen signal peptide

<400> 13

Met Ala Phe Leu Trp Leu Leu Ser Cys Trp Ala Leu Leu Gly Thr Thr

1 5 10 15

Phe Gly

<210> 14

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Interleukin-2 signal peptide

<400> 14

Met Tyr Arg Met Gln Leu Leu Ser Cys Ile Ala Leu Ile Leu Ala Leu

1 5 10 15

Val Thr Asn Ser

20

<210> 15

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Trypsinogen-2 signal peptide

<400> 15

Met Asn Leu Leu Leu Ile Leu Thr Phe Val Ala Ala Ala Val Ala

1 5 10 15

<210> 16

<211> 736

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> AAV1

<400> 16

Met Ala Ala Asp Gly Tyr Leu Pro Asp Trp Leu Glu Asp Asn Leu Ser

1 5 10 15

Glu Gly Ile Arg Glu Trp Trp Asp Leu Lys Pro Gly Ala Pro Lys Pro

20 25 30

Lys Ala Asn Gln Gln Lys Gln Asp Asp Gly Arg Gly Leu Val Leu Pro

35 40 45

Gly Tyr Lys Tyr Leu Gly Pro Phe Asn Gly Leu Asp Lys Gly Glu Pro

50 55 60

Val Asn Ala Ala Asp Ala Ala Ala Leu Glu His Asp Lys Ala Tyr Asp

65 70 75 80

Gln Gln Leu Lys Ala Gly Asp Asn Pro Tyr Leu Arg Tyr Asn His Ala

85 90 95
 Asp Ala Glu Phe Gln Glu Arg Leu Gln Glu Asp Thr Ser Phe Gly Gly
 100 105 110
 Asn Leu Gly Arg Ala Val Phe Gln Ala Lys Lys Arg Val Leu Glu Pro

 115 120 125
 Leu Gly Leu Val Glu Glu Gly Ala Lys Thr Ala Pro Gly Lys Lys Arg
 130 135 140
 Pro Val Glu Gln Ser Pro Gln Glu Pro Asp Ser Ser Ser Gly Ile Gly
 145 150 155 160
 Lys Thr Gly Gln Gln Pro Ala Lys Lys Arg Leu Asn Phe Gly Gln Thr
 165 170 175
 Gly Asp Ser Glu Ser Val Pro Asp Pro Gln Pro Leu Gly Glu Pro Pro

 180 185 190
 Ala Thr Pro Ala Ala Val Gly Pro Thr Thr Met Ala Ser Gly Gly Gly
 195 200 205
 Ala Pro Met Ala Asp Asn Asn Glu Gly Ala Asp Gly Val Gly Asn Ala
 210 215 220
 Ser Gly Asn Trp His Cys Asp Ser Thr Trp Leu Gly Asp Arg Val Ile
 225 230 235 240
 Thr Thr Ser Thr Arg Thr Trp Ala Leu Pro Thr Tyr Asn Asn His Leu

 245 250 255
 Tyr Lys Gln Ile Ser Ser Ala Ser Thr Gly Ala Ser Asn Asp Asn His
 260 265 270
 Tyr Phe Gly Tyr Ser Thr Pro Trp Gly Tyr Phe Asp Phe Asn Arg Phe
 275 280 285
 His Cys His Phe Ser Pro Arg Asp Trp Gln Arg Leu Ile Asn Asn Asn
 290 295 300
 Trp Gly Phe Arg Pro Lys Arg Leu Asn Phe Lys Leu Phe Asn Ile Gln

 305 310 315 320
 Val Lys Glu Val Thr Thr Asn Asp Gly Val Thr Thr Ile Ala Asn Asn
 325 330 335

Leu Thr Ser Thr Val Gln Val Phe Ser Asp Ser Glu Tyr Gln Leu Pro
 340 345 350
 Tyr Val Leu Gly Ser Ala His Gln Gly Cys Leu Pro Pro Phe Pro Ala
 355 360 365
 Asp Val Phe Met Ile Pro Gln Tyr Gly Tyr Leu Thr Leu Asn Asn Gly
 370 375 380
 Ser Gln Ala Val Gly Arg Ser Ser Phe Tyr Cys Leu Glu Tyr Phe Pro
 385 390 395 400
 Ser Gln Met Leu Arg Thr Gly Asn Asn Phe Thr Phe Ser Tyr Thr Phe
 405 410 415
 Glu Glu Val Pro Phe His Ser Ser Tyr Ala His Ser Gln Ser Leu Asp
 420 425 430
 Arg Leu Met Asn Pro Leu Ile Asp Gln Tyr Leu Tyr Tyr Leu Asn Arg
 435 440 445
 Thr Gln Asn Gln Ser Gly Ser Ala Gln Asn Lys Asp Leu Leu Phe Ser
 450 455 460
 Arg Gly Ser Pro Ala Gly Met Ser Val Gln Pro Lys Asn Trp Leu Pro
 465 470 475 480
 Gly Pro Cys Tyr Arg Gln Gln Arg Val Ser Lys Thr Lys Thr Asp Asn
 485 490 495
 Asn Asn Ser Asn Phe Thr Trp Thr Gly Ala Ser Lys Tyr Asn Leu Asn
 500 505 510
 Gly Arg Glu Ser Ile Ile Asn Pro Gly Thr Ala Met Ala Ser His Lys
 515 520 525
 Asp Asp Glu Asp Lys Phe Phe Pro Met Ser Gly Val Met Ile Phe Gly
 530 535 540
 Lys Glu Ser Ala Gly Ala Ser Asn Thr Ala Leu Asp Asn Val Met Ile
 545 550 555 560
 Thr Asp Glu Glu Glu Ile Lys Ala Thr Asn Pro Val Ala Thr Glu Arg
 565 570 575
 Phe Gly Thr Val Ala Val Asn Phe Gln Ser Ser Ser Thr Asp Pro Ala

580 585 590
 Thr Gly Asp Val His Ala Met Gly Ala Leu Pro Gly Met Val Trp Gln
 595 600 605
 Asp Arg Asp Val Tyr Leu Gln Gly Pro Ile Trp Ala Lys Ile Pro His
 610 615 620
 Thr Asp Gly His Phe His Pro Ser Pro Leu Met Gly Gly Phe Gly Leu

 625 630 635 640
 Lys Asn Pro Pro Pro Gln Ile Leu Ile Lys Asn Thr Pro Val Pro Ala
 645 650 655
 Asn Pro Pro Ala Glu Phe Ser Ala Thr Lys Phe Ala Ser Phe Ile Thr
 660 665 670
 Gln Tyr Ser Thr Gly Gln Val Ser Val Glu Ile Glu Trp Glu Leu Gln
 675 680 685
 Lys Glu Asn Ser Lys Arg Trp Asn Pro Glu Val Gln Tyr Thr Ser Asn

 690 695 700
 Tyr Ala Lys Ser Ala Asn Val Asp Phe Thr Val Asp Asn Asn Gly Leu
 705 710 715 720
 Tyr Thr Glu Pro Arg Pro Ile Gly Thr Arg Tyr Leu Thr Arg Pro Leu
 725 730 735

 <210> 17
 <211> 735
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> AAV2
 <400> 17
 Met Ala Ala Asp Gly Tyr Leu Pro Asp Trp Leu Glu Asp Thr Leu Ser
 1 5 10 15

 Glu Gly Ile Arg Gln Trp Trp Lys Leu Lys Pro Gly Pro Pro Pro Pro
 20 25 30
 Lys Pro Ala Glu Arg His Lys Asp Asp Ser Arg Gly Leu Val Leu Pro
 35 40 45
 Gly Tyr Lys Tyr Leu Gly Pro Phe Asn Gly Leu Asp Lys Gly Glu Pro

50					55					60									
Val	Asn	Glu	Ala	Asp	Ala	Ala	Ala	Leu	Glu	His	Asp	Lys	Ala	Tyr	Asp				
65					70					75					80				
Arg	Gln	Leu	Asp	Ser	Gly	Asp	Asn	Pro	Tyr	Leu	Lys	Tyr	Asn	His	Ala				
85					90					95									
Asp	Ala	Glu	Phe	Gln	Glu	Arg	Leu	Lys	Glu	Asp	Thr	Ser	Phe	Gly	Gly				
100					105					110									
Asn	Leu	Gly	Arg	Ala	Val	Phe	Gln	Ala	Lys	Lys	Arg	Val	Leu	Glu	Pro				
115					120					125									
Leu	Gly	Leu	Val	Glu	Glu	Pro	Val	Lys	Thr	Ala	Pro	Gly	Lys	Lys	Arg				
130					135					140									
Pro	Val	Glu	His	Ser	Pro	Val	Glu	Pro	Asp	Ser	Ser	Ser	Gly	Thr	Gly				
145					150					155					160				
Lys	Ala	Gly	Gln	Gln	Pro	Ala	Arg	Lys	Arg	Leu	Asn	Phe	Gly	Gln	Thr				
165					170					175									
Gly	Asp	Ala	Asp	Ser	Val	Pro	Asp	Pro	Gln	Pro	Leu	Gly	Gln	Pro	Pro				
180					185					190									
Ala	Ala	Pro	Ser	Gly	Leu	Gly	Thr	Asn	Thr	Met	Ala	Thr	Gly	Ser	Gly				
195					200					205									
Ala	Pro	Met	Ala	Asp	Asn	Asn	Glu	Gly	Ala	Asp	Gly	Val	Gly	Asn	Ser				
210					215					220									
Ser	Gly	Asn	Trp	His	Cys	Asp	Ser	Thr	Trp	Met	Gly	Asp	Arg	Val	Ile				
225					230					235					240				
Thr	Thr	Ser	Thr	Arg	Thr	Trp	Ala	Leu	Pro	Thr	Tyr	Asn	Asn	His	Leu				
245					250					255									
Tyr	Lys	Gln	Ile	Ser	Ser	Gln	Ser	Gly	Ala	Ser	Asn	Asp	Asn	His	Tyr				
260					265					270									
Phe	Gly	Tyr	Ser	Thr	Pro	Trp	Gly	Tyr	Phe	Asp	Phe	Asn	Arg	Phe	His				
275					280					285									
Cys	His	Phe	Ser	Pro	Arg	Asp	Trp	Gln	Arg	Leu	Ile	Asn	Asn	Asn	Trp				
290					295					300									

Gly Phe Arg Pro Lys Arg Leu Asn Phe Lys Leu Phe Asn Ile Gln Val
 305 310 315 320
 Lys Glu Val Thr Gln Asn Asp Gly Thr Thr Thr Ile Ala Asn Asn Leu
 325 330 335

Thr Ser Thr Val Gln Val Phe Thr Asp Ser Glu Tyr Gln Leu Pro Tyr
 340 345 350
 Val Leu Gly Ser Ala His Gln Gly Cys Leu Pro Pro Phe Pro Ala Asp
 355 360 365
 Val Phe Met Val Pro Gln Tyr Gly Tyr Leu Thr Leu Asn Asn Gly Ser
 370 375 380
 Gln Ala Val Gly Arg Ser Ser Phe Tyr Cys Leu Glu Tyr Phe Pro Ser
 385 390 395 400

Gln Met Leu Arg Thr Gly Asn Asn Phe Thr Phe Ser Tyr Thr Phe Glu
 405 410 415
 Asp Val Pro Phe His Ser Ser Tyr Ala His Ser Gln Ser Leu Asp Arg
 420 425 430
 Leu Met Asn Pro Leu Ile Asp Gln Tyr Leu Tyr Tyr Leu Ser Arg Thr
 435 440 445
 Asn Thr Pro Ser Gly Thr Thr Thr Gln Ser Arg Leu Gln Phe Ser Gln
 450 455 460

Ala Gly Ala Ser Asp Ile Arg Asp Gln Ser Arg Asn Trp Leu Pro Gly
 465 470 475 480
 Pro Cys Tyr Arg Gln Gln Arg Val Ser Lys Thr Ser Ala Asp Asn Asn
 485 490 495
 Asn Ser Glu Tyr Ser Trp Thr Gly Ala Thr Lys Tyr His Leu Asn Gly
 500 505 510
 Arg Asp Ser Leu Val Asn Pro Gly Pro Ala Met Ala Ser His Lys Asp
 515 520 525

Asp Glu Glu Lys Phe Phe Pro Gln Ser Gly Val Leu Ile Phe Gly Lys
 530 535 540
 Gln Gly Ser Glu Lys Thr Asn Val Asp Ile Glu Lys Val Met Ile Thr

545 550 555 560
 Asp Glu Glu Glu Ile Arg Thr Thr Asn Pro Val Ala Thr Glu Gln Tyr
 565 570 575
 Gly Ser Val Ser Thr Asn Leu Gln Arg Gly Asn Arg Gln Ala Ala Thr
 580 585 590

 Ala Asp Val Asn Thr Gln Gly Val Leu Pro Gly Met Val Trp Gln Asp
 595 600 605
 Arg Asp Val Tyr Leu Gln Gly Pro Ile Trp Ala Lys Ile Pro His Thr
 610 615 620
 Asp Gly His Phe His Pro Ser Pro Leu Met Gly Gly Phe Gly Leu Lys
 625 630 635 640
 His Pro Pro Pro Gln Ile Leu Ile Lys Asn Thr Pro Val Pro Ala Asn
 645 650 655

 Pro Ser Thr Thr Phe Ser Ala Ala Lys Phe Ala Ser Phe Ile Thr Gln
 660 665 670
 Tyr Ser Thr Gly Gln Val Ser Val Glu Ile Glu Trp Glu Leu Gln Lys
 675 680 685
 Glu Asn Ser Lys Arg Trp Asn Pro Glu Ile Gln Tyr Thr Ser Asn Tyr
 690 695 700
 Asn Lys Ser Val Asn Val Asp Phe Thr Val Asp Thr Asn Gly Val Tyr
 705 710 715 720

 Ser Glu Pro Arg Pro Ile Gly Thr Arg Tyr Leu Thr Arg Asn Leu
 725 730 735

 <210> 18
 <211> 736
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> AAV3-3
 <400> 18
 Met Ala Ala Asp Gly Tyr Leu Pro Asp Trp Leu Glu Asp Asn Leu Ser
 1 5 10 15
 Glu Gly Ile Arg Glu Trp Trp Ala Leu Lys Pro Gly Val Pro Gln Pro

20 25 30
 Lys Ala Asn Gln Gln His Gln Asp Asn Arg Arg Gly Leu Val Leu Pro

 35 40 45
 Gly Tyr Lys Tyr Leu Gly Pro Gly Asn Gly Leu Asp Lys Gly Glu Pro
 50 55 60
 Val Asn Glu Ala Asp Ala Ala Ala Leu Glu His Asp Lys Ala Tyr Asp
 65 70 75 80
 Gln Gln Leu Lys Ala Gly Asp Asn Pro Tyr Leu Lys Tyr Asn His Ala
 85 90 95
 Asp Ala Glu Phe Gln Glu Arg Leu Gln Glu Asp Thr Ser Phe Gly Gly

 100 105 110
 Asn Leu Gly Arg Ala Val Phe Gln Ala Lys Lys Arg Ile Leu Glu Pro
 115 120 125
 Leu Gly Leu Val Glu Glu Ala Ala Lys Thr Ala Pro Gly Lys Lys Gly
 130 135 140
 Ala Val Asp Gln Ser Pro Gln Glu Pro Asp Ser Ser Ser Gly Val Gly
 145 150 155 160
 Lys Ser Gly Lys Gln Pro Ala Arg Lys Arg Leu Asn Phe Gly Gln Thr

 165 170 175
 Gly Asp Ser Glu Ser Val Pro Asp Pro Gln Pro Leu Gly Glu Pro Pro
 180 185 190
 Ala Ala Pro Thr Ser Leu Gly Ser Asn Thr Met Ala Ser Gly Gly Gly
 195 200 205
 Ala Pro Met Ala Asp Asn Asn Glu Gly Ala Asp Gly Val Gly Asn Ser
 210 215 220
 Ser Gly Asn Trp His Cys Asp Ser Gln Trp Leu Gly Asp Arg Val Ile

 225 230 235 240
 Thr Thr Ser Thr Arg Thr Trp Ala Leu Pro Thr Tyr Asn Asn His Leu
 245 250 255
 Tyr Lys Gln Ile Ser Ser Gln Ser Gly Ala Ser Asn Asp Asn His Tyr
 260 265 270

Phe Gly Tyr Ser Thr Pro Trp Gly Tyr Phe Asp Phe Asn Arg Phe His
 275 280 285
 Cys His Phe Ser Pro Arg Asp Trp Gln Arg Leu Ile Asn Asn Asn Trp
 290 295 300
 Gly Phe Arg Pro Lys Lys Leu Ser Phe Lys Leu Phe Asn Ile Gln Val
 305 310 315 320
 Arg Gly Val Thr Gln Asn Asp Gly Thr Thr Thr Ile Ala Asn Asn Leu
 325 330 335
 Thr Ser Thr Val Gln Val Phe Thr Asp Ser Glu Tyr Gln Leu Pro Tyr
 340 345 350
 Val Leu Gly Ser Ala His Gln Gly Cys Leu Pro Pro Phe Pro Ala Asp
 355 360 365
 Val Phe Met Val Pro Gln Tyr Gly Tyr Leu Thr Leu Asn Asn Gly Ser
 370 375 380
 Gln Ala Val Gly Arg Ser Ser Phe Tyr Cys Leu Glu Tyr Phe Pro Ser
 385 390 395 400
 Gln Met Leu Arg Thr Gly Asn Asn Phe Gln Phe Ser Tyr Thr Phe Glu
 405 410 415
 Asp Val Pro Phe His Ser Ser Tyr Ala His Ser Gln Ser Leu Asp Arg
 420 425 430
 Leu Met Asn Pro Leu Ile Asp Gln Tyr Leu Tyr Tyr Leu Asn Arg Thr
 435 440 445
 Gln Gly Thr Thr Ser Gly Thr Thr Asn Gln Ser Arg Leu Leu Phe Ser
 450 455 460
 Gln Ala Gly Pro Gln Ser Met Ser Leu Gln Ala Arg Asn Trp Leu Pro
 465 470 475 480
 Gly Pro Cys Tyr Arg Gln Gln Arg Leu Ser Lys Thr Ala Asn Asp Asn
 485 490 495
 Asn Asn Ser Asn Phe Pro Trp Thr Ala Ala Ser Lys Tyr His Leu Asn
 500 505 510
 Gly Arg Asp Ser Leu Val Asn Pro Gly Pro Ala Met Ala Ser His Lys

515 520 525
 Asp Asp Glu Glu Lys Phe Phe Pro Met His Gly Asn Leu Ile Phe Gly
 530 535 540
 Lys Glu Gly Thr Thr Ala Ser Asn Ala Glu Leu Asp Asn Val Met Ile

 545 550 555 560
 Thr Asp Glu Glu Glu Ile Arg Thr Thr Asn Pro Val Ala Thr Glu Gln
 565 570 575
 Tyr Gly Thr Val Ala Asn Asn Leu Gln Ser Ser Asn Thr Ala Pro Thr
 580 585 590
 Thr Gly Thr Val Asn His Gln Gly Ala Leu Pro Gly Met Val Trp Gln
 595 600 605
 Asp Arg Asp Val Tyr Leu Gln Gly Pro Ile Trp Ala Lys Ile Pro His

 610 615 620
 Thr Asp Gly His Phe His Pro Ser Pro Leu Met Gly Gly Phe Gly Leu
 625 630 635 640
 Lys His Pro Pro Pro Gln Ile Met Ile Lys Asn Thr Pro Val Pro Ala
 645 650 655
 Asn Pro Pro Thr Thr Phe Ser Pro Ala Lys Phe Ala Ser Phe Ile Thr
 660 665 670
 Gln Tyr Ser Thr Gly Gln Val Ser Val Glu Ile Glu Trp Glu Leu Gln

 675 680 685
 Lys Glu Asn Ser Lys Arg Trp Asn Pro Glu Ile Gln Tyr Thr Ser Asn
 690 695 700
 Tyr Asn Lys Ser Val Asn Val Asp Phe Thr Val Asp Thr Asn Gly Val
 705 710 715 720
 Tyr Ser Glu Pro Arg Pro Ile Gly Thr Arg Tyr Leu Thr Arg Asn Leu
 725 730 735

 <210> 19
 <211> 734
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220><223> AAV4-4

<400> 19

Met Thr Asp Gly Tyr Leu Pro Asp Trp Leu Glu Asp Asn Leu Ser Glu

1 5 10 15

Gly Val Arg Glu Trp Trp Ala Leu Gln Pro Gly Ala Pro Lys Pro Lys

20 25 30

Ala Asn Gln Gln His Gln Asp Asn Ala Arg Gly Leu Val Leu Pro Gly

35 40 45

Tyr Lys Tyr Leu Gly Pro Gly Asn Gly Leu Asp Lys Gly Glu Pro Val

50 55 60

Asn Ala Ala Asp Ala Ala Ala Leu Glu His Asp Lys Ala Tyr Asp Gln

65 70 75 80

Gln Leu Lys Ala Gly Asp Asn Pro Tyr Leu Lys Tyr Asn His Ala Asp

85 90 95

Ala Glu Phe Gln Gln Arg Leu Gln Gly Asp Thr Ser Phe Gly Gly Asn

100 105 110

Leu Gly Arg Ala Val Phe Gln Ala Lys Lys Arg Val Leu Glu Pro Leu

115 120 125

Gly Leu Val Glu Gln Ala Gly Glu Thr Ala Pro Gly Lys Lys Arg Pro

130 135 140

Leu Ile Glu Ser Pro Gln Gln Pro Asp Ser Ser Thr Gly Ile Gly Lys

145 150 155 160

Lys Gly Lys Gln Pro Ala Lys Lys Lys Leu Val Phe Glu Asp Glu Thr

165 170 175

Gly Ala Gly Asp Gly Pro Pro Glu Gly Ser Thr Ser Gly Ala Met Ser

180 185 190

Asp Asp Ser Glu Met Arg Ala Ala Ala Gly Gly Ala Ala Val Glu Gly

195 200 205

Gly Gln Gly Ala Asp Gly Val Gly Asn Ala Ser Gly Asp Trp His Cys

210 215 220

Asp Ser Thr Trp Ser Glu Gly His Val Thr Thr Thr Ser Thr Arg Thr

225 230 235 240

Trp Val Leu Pro Thr Tyr Asn Asn His Leu Tyr Lys Arg Leu Gly Glu
 245 250 255

 Ser Leu Gln Ser Asn Thr Tyr Asn Gly Phe Ser Thr Pro Trp Gly Tyr
 260 265 270
 Phe Asp Phe Asn Arg Phe His Cys His Phe Ser Pro Arg Asp Trp Gln
 275 280 285
 Arg Leu Ile Asn Asn Asn Trp Gly Met Arg Pro Lys Ala Met Arg Val
 290 295 300
 Lys Ile Phe Asn Ile Gln Val Lys Glu Val Thr Thr Ser Asn Gly Glu
 305 310 315 320

 Thr Thr Val Ala Asn Asn Leu Thr Ser Thr Val Gln Ile Phe Ala Asp
 325 330 335
 Ser Ser Tyr Glu Leu Pro Tyr Val Met Asp Ala Gly Gln Glu Gly Ser
 340 345 350
 Leu Pro Pro Phe Pro Asn Asp Val Phe Met Val Pro Gln Tyr Gly Tyr
 355 360 365
 Cys Gly Leu Val Thr Gly Asn Thr Ser Gln Gln Gln Thr Asp Arg Asn
 370 375 380

 Ala Phe Tyr Cys Leu Glu Tyr Phe Pro Ser Gln Met Leu Arg Thr Gly
 385 390 395 400
 Asn Asn Phe Glu Ile Thr Tyr Ser Phe Glu Lys Val Pro Phe His Ser
 405 410 415
 Met Tyr Ala His Ser Gln Ser Leu Asp Arg Leu Met Asn Pro Leu Ile
 420 425 430
 Asp Gln Tyr Leu Trp Gly Leu Gln Ser Thr Thr Thr Gly Thr Thr Leu
 435 440 445

 Asn Ala Gly Thr Ala Thr Thr Asn Phe Thr Lys Leu Arg Pro Thr Asn
 450 455 460
 Phe Ser Asn Phe Lys Lys Asn Trp Leu Pro Gly Pro Ser Ile Lys Gln
 465 470 475 480
 Gln Gly Phe Ser Lys Thr Ala Asn Gln Asn Tyr Lys Ile Pro Ala Thr

485 490 495
 Gly Ser Asp Ser Leu Ile Lys Tyr Glu Thr His Ser Thr Leu Asp Gly
 500 505 510

Arg Trp Ser Ala Leu Thr Pro Gly Pro Pro Met Ala Thr Ala Gly Pro
 515 520 525

Ala Asp Ser Lys Phe Ser Asn Ser Gln Leu Ile Phe Ala Gly Pro Lys
 530 535 540

Gln Asn Gly Asn Thr Ala Thr Val Pro Gly Thr Leu Ile Phe Thr Ser
 545 550 555 560

Glu Glu Glu Leu Ala Ala Thr Asn Ala Thr Asp Thr Asp Met Trp Gly
 565 570 575

Asn Leu Pro Gly Gly Asp Gln Ser Asn Ser Asn Leu Pro Thr Val Asp
 580 585 590

Arg Leu Thr Ala Leu Gly Ala Val Pro Gly Met Val Trp Gln Asn Arg
 595 600 605

Asp Ile Tyr Tyr Gln Gly Pro Ile Trp Ala Lys Ile Pro His Thr Asp
 610 615 620

Gly His Phe His Pro Ser Pro Leu Ile Gly Gly Phe Gly Leu Lys His
 625 630 635 640

Pro Pro Pro Gln Ile Phe Ile Lys Asn Thr Pro Val Pro Ala Asn Pro
 645 650 655

Ala Thr Thr Phe Ser Ser Thr Pro Val Asn Ser Phe Ile Thr Gln Tyr
 660 665 670

Ser Thr Gly Gln Val Ser Val Gln Ile Asp Trp Glu Ile Gln Lys Glu
 675 680 685

Arg Ser Lys Arg Trp Asn Pro Glu Val Gln Phe Thr Ser Asn Tyr Gly
 690 695 700

Gln Gln Asn Ser Leu Leu Trp Ala Pro Asp Ala Ala Gly Lys Tyr Thr
 705 710 715 720

Glu Pro Arg Ala Ile Gly Thr Arg Tyr Leu Thr His His Leu
 725 730

<210> 20

<211> 724

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> AAV5

<400> 20

Met Ser Phe Val Asp His Pro Pro Asp Trp Leu Glu Glu Val Gly Glu

1 5 10 15

Gly Leu Arg Glu Phe Leu Gly Leu Glu Ala Gly Pro Pro Lys Pro Lys

20 25 30

Pro Asn Gln Gln His Gln Asp Gln Ala Arg Gly Leu Val Leu Pro Gly

35 40 45

Tyr Asn Tyr Leu Gly Pro Gly Asn Gly Leu Asp Arg Gly Glu Pro Val

50 55 60

Asn Arg Ala Asp Glu Val Ala Arg Glu His Asp Ile Ser Tyr Asn Glu

65 70 75 80

Gln Leu Glu Ala Gly Asp Asn Pro Tyr Leu Lys Tyr Asn His Ala Asp

85 90 95

Ala Glu Phe Gln Glu Lys Leu Ala Asp Asp Thr Ser Phe Gly Gly Asn

100 105 110

Leu Gly Lys Ala Val Phe Gln Ala Lys Lys Arg Val Leu Glu Pro Phe

115 120 125

Gly Leu Val Glu Glu Gly Ala Lys Thr Ala Pro Thr Gly Lys Arg Ile

130 135 140

Asp Asp His Phe Pro Lys Arg Lys Lys Ala Arg Thr Glu Glu Asp Ser

145 150 155 160

Lys Pro Ser Thr Ser Ser Asp Ala Glu Ala Gly Pro Ser Gly Ser Gln

165 170 175

Gln Leu Gln Ile Pro Ala Gln Pro Ala Ser Ser Leu Gly Ala Asp Thr

180 185 190

Met Ser Ala Gly Gly Gly Gly Pro Leu Gly Asp Asn Asn Gln Gly Ala

195 200 205

Asp Gly Val Gly Asn Ala Ser Gly Asp Trp His Cys Asp Ser Thr Trp

210 215 220

Met Gly Asp Arg Val Val Thr Lys Ser Thr Arg Thr Trp Val Leu Pro

225 230 235 240

Ser Tyr Asn Asn His Gln Tyr Arg Glu Ile Lys Ser Gly Ser Val Asp

245 250 255

Gly Ser Asn Ala Asn Ala Tyr Phe Gly Tyr Ser Thr Pro Trp Gly Tyr

260 265 270

Phe Asp Phe Asn Arg Phe His Ser His Trp Ser Pro Arg Asp Trp Gln

275 280 285

Arg Leu Ile Asn Asn Tyr Trp Gly Phe Arg Pro Arg Ser Leu Arg Val

290 295 300

Lys Ile Phe Asn Ile Gln Val Lys Glu Val Thr Val Gln Asp Ser Thr

305 310 315 320

Thr Thr Ile Ala Asn Asn Leu Thr Ser Thr Val Gln Val Phe Thr Asp

325 330 335

Asp Asp Tyr Gln Leu Pro Tyr Val Val Gly Asn Gly Thr Glu Gly Cys

340 345 350

Leu Pro Ala Phe Pro Pro Gln Val Phe Thr Leu Pro Gln Tyr Gly Tyr

355 360 365

Ala Thr Leu Asn Arg Asp Asn Thr Glu Asn Pro Thr Glu Arg Ser Ser

370 375 380

Phe Phe Cys Leu Glu Tyr Phe Pro Ser Lys Met Leu Arg Thr Gly Asn

385 390 395 400

Asn Phe Glu Phe Thr Tyr Asn Phe Glu Glu Val Pro Phe His Ser Ser

405 410 415

Phe Ala Pro Ser Gln Asn Leu Phe Lys Leu Ala Asn Pro Leu Val Asp

420 425 430

Gln Tyr Leu Tyr Arg Phe Val Ser Thr Asn Asn Thr Gly Gly Val Gln

435 440 445

Phe Asn Lys Asn Leu Ala Gly Arg Tyr Ala Asn Thr Tyr Lys Asn Trp

450 455 460
 Phe Pro Gly Pro Met Gly Arg Thr Gln Gly Trp Asn Leu Gly Ser Gly

 465 470 475 480
 Val Asn Arg Ala Ser Val Ser Ala Phe Ala Thr Thr Asn Arg Met Glu

 485 490 495
 Leu Glu Gly Ala Ser Tyr Gln Val Pro Pro Gln Pro Asn Gly Met Thr

 500 505 510
 Asn Asn Leu Gln Gly Ser Asn Thr Tyr Ala Leu Glu Asn Thr Met Ile

 515 520 525
 Phe Asn Ser Gln Pro Ala Asn Pro Gly Thr Thr Ala Thr Tyr Leu Glu

 530 535 540
 Gly Asn Met Leu Ile Thr Ser Glu Ser Glu Thr Gln Pro Val Asn Arg
 545 550 555 560
 Val Ala Tyr Asn Val Gly Gly Gln Met Ala Thr Asn Asn Gln Ser Ser

 565 570 575
 Thr Thr Ala Pro Ala Thr Gly Thr Tyr Asn Leu Gln Glu Ile Val Pro

 580 585 590
 Gly Ser Val Trp Met Glu Arg Asp Val Tyr Leu Gln Gly Pro Ile Trp

 595 600 605
 Ala Lys Ile Pro Glu Thr Gly Ala His Phe His Pro Ser Pro Ala Met

 610 615 620
 Gly Gly Phe Gly Leu Lys His Pro Pro Pro Met Met Leu Ile Lys Asn
 625 630 635 640
 Thr Pro Val Pro Gly Asn Ile Thr Ser Phe Ser Asp Val Pro Val Ser

 645 650 655
 Ser Phe Ile Thr Gln Tyr Ser Thr Gly Gln Val Thr Val Glu Met Glu

 660 665 670
 Trp Glu Leu Lys Lys Glu Asn Ser Lys Arg Trp Asn Pro Glu Ile Gln

 675 680 685
 Tyr Thr Asn Asn Tyr Asn Asp Pro Gln Phe Val Asp Phe Ala Pro Asp

 690 695 700

Ser Thr Gly Glu Tyr Arg Thr Thr Arg Pro Ile Gly Thr Arg Tyr Leu
 705 710 715 720
 Thr Arg Pro Leu

<210> 21

<211> 736

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> AAV6

<400> 21

Met Ala Ala Asp Gly Tyr Leu Pro Asp Trp Leu Glu Asp Asn Leu Ser
 1 5 10 15
 Glu Gly Ile Arg Glu Trp Trp Asp Leu Lys Pro Gly Ala Pro Lys Pro
 20 25 30
 Lys Ala Asn Gln Gln Lys Gln Asp Asp Gly Arg Gly Leu Val Leu Pro
 35 40 45
 Gly Tyr Lys Tyr Leu Gly Pro Phe Asn Gly Leu Asp Lys Gly Glu Pro
 50 55 60
 Val Asn Ala Ala Asp Ala Ala Ala Leu Glu His Asp Lys Ala Tyr Asp
 65 70 75 80
 Gln Gln Leu Lys Ala Gly Asp Asn Pro Tyr Leu Arg Tyr Asn His Ala
 85 90 95
 Asp Ala Glu Phe Gln Glu Arg Leu Gln Glu Asp Thr Ser Phe Gly Gly
 100 105 110
 Asn Leu Gly Arg Ala Val Phe Gln Ala Lys Lys Arg Val Leu Glu Pro
 115 120 125
 Phe Gly Leu Val Glu Glu Gly Ala Lys Thr Ala Pro Gly Lys Lys Arg
 130 135 140
 Pro Val Glu Gln Ser Pro Gln Glu Pro Asp Ser Ser Ser Gly Ile Gly
 145 150 155 160
 Lys Thr Gly Gln Gln Pro Ala Lys Lys Arg Leu Asn Phe Gly Gln Thr
 165 170 175

Gly Asp Ser Glu Ser Val Pro Asp Pro Gln Pro Leu Gly Glu Pro Pro

180 185 190
Ala Thr Pro Ala Ala Val Gly Pro Thr Thr Met Ala Ser Gly Gly Gly

195 200 205
Ala Pro Met Ala Asp Asn Asn Glu Gly Ala Asp Gly Val Gly Asn Ala

210 215 220
Ser Gly Asn Trp His Cys Asp Ser Thr Trp Leu Gly Asp Arg Val Ile

225 230 235 240
Thr Thr Ser Thr Arg Thr Trp Ala Leu Pro Thr Tyr Asn Asn His Leu

245 250 255
Tyr Lys Gln Ile Ser Ser Ala Ser Thr Gly Ala Ser Asn Asp Asn His

260 265 270
Tyr Phe Gly Tyr Ser Thr Pro Trp Gly Tyr Phe Asp Phe Asn Arg Phe

275 280 285
His Cys His Phe Ser Pro Arg Asp Trp Gln Arg Leu Ile Asn Asn Asn

290 295 300
Trp Gly Phe Arg Pro Lys Arg Leu Asn Phe Lys Leu Phe Asn Ile Gln

305 310 315 320
Val Lys Glu Val Thr Thr Asn Asp Gly Val Thr Thr Ile Ala Asn Asn

325 330 335
Leu Thr Ser Thr Val Gln Val Phe Ser Asp Ser Glu Tyr Gln Leu Pro

340 345 350
Tyr Val Leu Gly Ser Ala His Gln Gly Cys Leu Pro Pro Phe Pro Ala

355 360 365
Asp Val Phe Met Ile Pro Gln Tyr Gly Tyr Leu Thr Leu Asn Asn Gly

370 375 380
Ser Gln Ala Val Gly Arg Ser Ser Phe Tyr Cys Leu Glu Tyr Phe Pro

385 390 395 400
Ser Gln Met Leu Arg Thr Gly Asn Asn Phe Thr Phe Ser Tyr Thr Phe

405 410 415
Glu Asp Val Pro Phe His Ser Ser Tyr Ala His Ser Gln Ser Leu Asp

420 425 430
Arg Leu Met Asn Pro Leu Ile Asp Gln Tyr Leu Tyr Tyr Leu Asn Arg

435 440 445
Thr Gln Asn Gln Ser Gly Ser Ala Gln Asn Lys Asp Leu Leu Phe Ser

450 455 460
Arg Gly Ser Pro Ala Gly Met Ser Val Gln Pro Lys Asn Trp Leu Pro

465 470 475 480
Gly Pro Cys Tyr Arg Gln Gln Arg Val Ser Lys Thr Lys Thr Asp Asn

485 490 495
Asn Asn Ser Asn Phe Thr Trp Thr Gly Ala Ser Lys Tyr Asn Leu Asn

500 505 510
Gly Arg Glu Ser Ile Ile Asn Pro Gly Thr Ala Met Ala Ser His Lys

515 520 525
Asp Asp Lys Asp Lys Phe Phe Pro Met Ser Gly Val Met Ile Phe Gly

530 535 540
Lys Glu Ser Ala Gly Ala Ser Asn Thr Ala Leu Asp Asn Val Met Ile

545 550 555 560
Thr Asp Glu Glu Glu Ile Lys Ala Thr Asn Pro Val Ala Thr Glu Arg

565 570 575
Phe Gly Thr Val Ala Val Asn Leu Gln Ser Ser Ser Thr Asp Pro Ala

580 585 590
Thr Gly Asp Val His Val Met Gly Ala Leu Pro Gly Met Val Trp Gln

595 600 605
Asp Arg Asp Val Tyr Leu Gln Gly Pro Ile Trp Ala Lys Ile Pro His

610 615 620
Thr Asp Gly His Phe His Pro Ser Pro Leu Met Gly Gly Phe Gly Leu

625 630 635 640
Lys His Pro Pro Pro Gln Ile Leu Ile Lys Asn Thr Pro Val Pro Ala

645 650 655
Asn Pro Pro Ala Glu Phe Ser Ala Thr Lys Phe Ala Ser Phe Ile Thr

660 665 670

Gln Tyr Ser Thr Gly Gln Val Ser Val Glu Ile Glu Trp Glu Leu Gln

675 680 685

Lys Glu Asn Ser Lys Arg Trp Asn Pro Glu Val Gln Tyr Thr Ser Asn

690 695 700

Tyr Ala Lys Ser Ala Asn Val Asp Phe Thr Val Asp Asn Asn Gly Leu

705 710 715 720

Tyr Thr Glu Pro Arg Pro Ile Gly Thr Arg Tyr Leu Thr Arg Pro Leu

725 730 735

<210> 22

<211> 737

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> AAV7

<400> 22

Met Ala Ala Asp Gly Tyr Leu Pro Asp Trp Leu Glu Asp Asn Leu Ser

1 5 10 15

Glu Gly Ile Arg Glu Trp Trp Asp Leu Lys Pro Gly Ala Pro Lys Pro

20 25 30

Lys Ala Asn Gln Gln Lys Gln Asp Asn Gly Arg Gly Leu Val Leu Pro

35 40 45

Gly Tyr Lys Tyr Leu Gly Pro Phe Asn Gly Leu Asp Lys Gly Glu Pro

50 55 60

Val Asn Ala Ala Asp Ala Ala Ala Leu Glu His Asp Lys Ala Tyr Asp

65 70 75 80

Gln Gln Leu Lys Ala Gly Asp Asn Pro Tyr Leu Arg Tyr Asn His Ala

85 90 95

Asp Ala Glu Phe Gln Glu Arg Leu Gln Glu Asp Thr Ser Phe Gly Gly

100 105 110

Asn Leu Gly Arg Ala Val Phe Gln Ala Lys Lys Arg Val Leu Glu Pro

115 120 125

Leu Gly Leu Val Glu Glu Gly Ala Lys Thr Ala Pro Ala Lys Lys Arg

130 135 140
 Pro Val Glu Pro Ser Pro Gln Arg Ser Pro Asp Ser Ser Thr Gly Ile
 145 150 155 160
 Gly Lys Lys Gly Gln Gln Pro Ala Arg Lys Arg Leu Asn Phe Gly Gln
 165 170 175
 Thr Gly Asp Ser Glu Ser Val Pro Asp Pro Gln Pro Leu Gly Glu Pro
 180 185 190
 Pro Ala Ala Pro Ser Ser Val Gly Ser Gly Thr Val Ala Ala Gly Gly
 195 200 205

 Gly Ala Pro Met Ala Asp Asn Asn Glu Gly Ala Asp Gly Val Gly Asn
 210 215 220
 Ala Ser Gly Asn Trp His Cys Asp Ser Thr Trp Leu Gly Asp Arg Val
 225 230 235 240
 Ile Thr Thr Ser Thr Arg Thr Trp Ala Leu Pro Thr Tyr Asn Asn His
 245 250 255
 Leu Tyr Lys Gln Ile Ser Ser Glu Thr Ala Gly Ser Thr Asn Asp Asn
 260 265 270

 Thr Tyr Phe Gly Tyr Ser Thr Pro Trp Gly Tyr Phe Asp Phe Asn Arg
 275 280 285
 Phe His Cys His Phe Ser Pro Arg Asp Trp Gln Arg Leu Ile Asn Asn
 290 295 300
 Asn Trp Gly Phe Arg Pro Lys Lys Leu Arg Phe Lys Leu Phe Asn Ile
 305 310 315 320
 Gln Val Lys Glu Val Thr Thr Asn Asp Gly Val Thr Thr Ile Ala Asn
 325 330 335

 Asn Leu Thr Ser Thr Ile Gln Val Phe Ser Asp Ser Glu Tyr Gln Leu
 340 345 350
 Pro Tyr Val Leu Gly Ser Ala His Gln Gly Cys Leu Pro Pro Phe Pro
 355 360 365
 Ala Asp Val Phe Met Ile Pro Gln Tyr Gly Tyr Leu Thr Leu Asn Asn
 370 375 380

Gly Ser Gln Ser Val Gly Arg Ser Ser Phe Tyr Cys Leu Glu Tyr Phe
385 390 395 400

Pro Ser Gln Met Leu Arg Thr Gly Asn Asn Phe Glu Phe Ser Tyr Ser
405 410 415

Phe Glu Asp Val Pro Phe His Ser Ser Tyr Ala His Ser Gln Ser Leu
420 425 430

Asp Arg Leu Met Asn Pro Leu Ile Asp Gln Tyr Leu Tyr Tyr Leu Ala
435 440 445

Arg Thr Gln Ser Asn Pro Gly Gly Thr Ala Gly Asn Arg Glu Leu Gln
450 455 460

Phe Tyr Gln Gly Gly Pro Ser Thr Met Ala Glu Gln Ala Lys Asn Trp
465 470 475 480

Leu Pro Gly Pro Cys Phe Arg Gln Gln Arg Val Ser Lys Thr Leu Asp
485 490 495

Gln Asn Asn Asn Ser Asn Phe Ala Trp Thr Gly Ala Thr Lys Tyr His
500 505 510

Leu Asn Gly Arg Asn Ser Leu Val Asn Pro Gly Val Ala Met Ala Thr
515 520 525

His Lys Asp Asp Glu Asp Arg Phe Phe Pro Ser Ser Gly Val Leu Ile
530 535 540

Phe Gly Lys Thr Gly Ala Thr Asn Lys Thr Thr Leu Glu Asn Val Leu
545 550 555 560

Met Thr Asn Glu Glu Glu Ile Arg Pro Thr Asn Pro Val Ala Thr Glu
565 570 575

Glu Tyr Gly Ile Val Ser Ser Asn Leu Gln Ala Ala Asn Thr Ala Ala
580 585 590

Gln Thr Gln Val Val Asn Asn Gln Gly Ala Leu Pro Gly Met Val Trp
595 600 605

Gln Asn Arg Asp Val Tyr Leu Gln Gly Pro Ile Trp Ala Lys Ile Pro
610 615 620

His Thr Asp Gly Asn Phe His Pro Ser Pro Leu Met Gly Gly Phe Gly

625 630 635 640
 Leu Lys His Pro Pro Pro Gln Ile Leu Ile Lys Asn Thr Pro Val Pro
 645 650 655

 Ala Asn Pro Pro Glu Val Phe Thr Pro Ala Lys Phe Ala Ser Phe Ile
 660 665 670
 Thr Gln Tyr Ser Thr Gly Gln Val Ser Val Glu Ile Glu Trp Glu Leu
 675 680 685
 Gln Lys Glu Asn Ser Lys Arg Trp Asn Pro Glu Ile Gln Tyr Thr Ser
 690 695 700
 Asn Phe Glu Lys Gln Thr Gly Val Asp Phe Ala Val Asp Ser Gln Gly
 705 710 715 720

Val Tyr Ser Glu Pro Arg Pro Ile Gly Thr Arg Tyr Leu Thr Arg Asn
 725 730 735
 Leu

<210> 23

<211> 738

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> AAV8

<400> 23

Met Ala Ala Asp Gly Tyr Leu Pro Asp Trp Leu Glu Asp Asn Leu Ser
 1 5 10 15
 Glu Gly Ile Arg Glu Trp Trp Ala Leu Lys Pro Gly Ala Pro Lys Pro
 20 25 30
 Lys Ala Asn Gln Gln Lys Gln Asp Asp Gly Arg Gly Leu Val Leu Pro

 35 40 45
 Gly Tyr Lys Tyr Leu Gly Pro Phe Asn Gly Leu Asp Lys Gly Glu Pro
 50 55 60
 Val Asn Ala Ala Asp Ala Ala Ala Leu Glu His Asp Lys Ala Tyr Asp
 65 70 75 80
 Gln Gln Leu Gln Ala Gly Asp Asn Pro Tyr Leu Arg Tyr Asn His Ala

85 90 95
Asp Ala Glu Phe Gln Glu Arg Leu Gln Glu Asp Thr Ser Phe Gly Gly

100 105 110
Asn Leu Gly Arg Ala Val Phe Gln Ala Lys Lys Arg Val Leu Glu Pro

115 120 125
Leu Gly Leu Val Glu Glu Gly Ala Lys Thr Ala Pro Gly Lys Lys Arg

130 135 140
Pro Val Glu Pro Ser Pro Gln Arg Ser Pro Asp Ser Ser Thr Gly Ile

145 150 155 160
Gly Lys Lys Gly Gln Gln Pro Ala Arg Lys Arg Leu Asn Phe Gly Gln

165 170 175
Thr Gly Asp Ser Glu Ser Val Pro Asp Pro Gln Pro Leu Gly Glu Pro

180 185 190
Pro Ala Ala Pro Ser Gly Val Gly Pro Asn Thr Met Ala Ala Gly Gly

195 200 205
Gly Ala Pro Met Ala Asp Asn Asn Glu Gly Ala Asp Gly Val Gly Ser

210 215 220
Ser Ser Gly Asn Trp His Cys Asp Ser Thr Trp Leu Gly Asp Arg Val

225 230 235 240
Ile Thr Thr Ser Thr Arg Thr Trp Ala Leu Pro Thr Tyr Asn Asn His

245 250 255
Leu Tyr Lys Gln Ile Ser Asn Gly Thr Ser Gly Gly Ala Thr Asn Asp

260 265 270
Asn Thr Tyr Phe Gly Tyr Ser Thr Pro Trp Gly Tyr Phe Asp Phe Asn

275 280 285
Arg Phe His Cys His Phe Ser Pro Arg Asp Trp Gln Arg Leu Ile Asn

290 295 300
Asn Asn Trp Gly Phe Arg Pro Lys Arg Leu Ser Phe Lys Leu Phe Asn

305 310 315 320
Ile Gln Val Lys Glu Val Thr Gln Asn Glu Gly Thr Lys Thr Ile Ala

325 330 335

Asn Asn Leu Thr Ser Thr Ile Gln Val Phe Thr Asp Ser Glu Tyr Gln
 340 345 350
 Leu Pro Tyr Val Leu Gly Ser Ala His Gln Gly Cys Leu Pro Pro Phe
 355 360 365
 Pro Ala Asp Val Phe Met Ile Pro Gln Tyr Gly Tyr Leu Thr Leu Asn
 370 375 380
 Asn Gly Ser Gln Ala Val Gly Arg Ser Ser Phe Tyr Cys Leu Glu Tyr
 385 390 395 400
 Phe Pro Ser Gln Met Leu Arg Thr Gly Asn Asn Phe Gln Phe Thr Tyr
 405 410 415
 Thr Phe Glu Asp Val Pro Phe His Ser Ser Tyr Ala His Ser Gln Ser
 420 425 430
 Leu Asp Arg Leu Met Asn Pro Leu Ile Asp Gln Tyr Leu Tyr Tyr Leu
 435 440 445
 Ser Arg Thr Gln Thr Thr Gly Gly Thr Ala Asn Thr Gln Thr Leu Gly
 450 455 460
 Phe Ser Gln Gly Gly Pro Asn Thr Met Ala Asn Gln Ala Lys Asn Trp
 465 470 475 480
 Leu Pro Gly Pro Cys Tyr Arg Gln Gln Arg Val Ser Thr Thr Thr Gly
 485 490 495
 Gln Asn Asn Asn Ser Asn Phe Ala Trp Thr Ala Gly Thr Lys Tyr His
 500 505 510
 Leu Asn Gly Arg Asn Ser Leu Ala Asn Pro Gly Ile Ala Met Ala Thr
 515 520 525
 His Lys Asp Asp Glu Glu Arg Phe Phe Pro Ser Asn Gly Ile Leu Ile
 530 535 540
 Phe Gly Lys Gln Asn Ala Ala Arg Asp Asn Ala Asp Tyr Ser Asp Val
 545 550 555 560
 Met Leu Thr Ser Glu Glu Glu Ile Lys Thr Thr Asn Pro Val Ala Thr
 565 570 575
 Glu Glu Tyr Gly Ile Val Ala Asp Asn Leu Gln Gln Gln Asn Thr Ala

580 585 590
Pro Gln Ile Gly Thr Val Asn Ser Gln Gly Ala Leu Pro Gly Met Val
595 600 605
Trp Gln Asn Arg Asp Val Tyr Leu Gln Gly Pro Ile Trp Ala Lys Ile

610 615 620
Pro His Thr Asp Gly Asn Phe His Pro Ser Pro Leu Met Gly Gly Phe
625 630 635 640
Gly Leu Lys His Pro Pro Pro Gln Ile Leu Ile Lys Asn Thr Pro Val
645 650 655
Pro Ala Asp Pro Pro Thr Thr Phe Asn Gln Ser Lys Leu Asn Ser Phe
660 665 670
Ile Thr Gln Tyr Ser Thr Gly Gln Val Ser Val Glu Ile Glu Trp Glu

675 680 685
Leu Gln Lys Glu Asn Ser Lys Arg Trp Asn Pro Glu Ile Gln Tyr Thr
690 695 700
Ser Asn Tyr Tyr Lys Ser Thr Ser Val Asp Phe Ala Val Asn Thr Glu
705 710 715 720
Gly Val Tyr Ser Glu Pro Arg Pro Ile Gly Thr Arg Tyr Leu Thr Arg
725 730 735
Asn Leu

<210> 24

<211> 736

<212>

> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> hu31

<400> 24

Met Ala Ala Asp Gly Tyr Leu Pro Asp Trp Leu Glu Asp Thr Leu Ser
1 5 10 15
Glu Gly Ile Arg Gln Trp Trp Lys Leu Lys Pro Gly Pro Pro Pro Pro
20 25 30
Lys Pro Ala Glu Arg His Lys Asp Asp Ser Arg Gly Leu Val Leu Pro

35 40 45
 Gly Tyr Lys Tyr Leu Gly Pro Gly Asn Gly Leu Asp Lys Gly Glu Pro

 50 55 60
 Val Asn Ala Ala Asp Ala Ala Ala Leu Glu His Asp Lys Ala Tyr Asp
 65 70 75 80
 Gln Gln Leu Lys Ala Gly Asp Asn Pro Tyr Leu Lys Tyr Asn His Ala
 85 90 95
 Asp Ala Glu Phe Gln Glu Arg Leu Lys Glu Asp Thr Ser Phe Gly Gly
 100 105 110
 Asn Leu Gly Arg Ala Val Phe Gln Ala Lys Lys Arg Leu Leu Glu Pro

 115 120 125
 Leu Gly Leu Val Glu Glu Ala Ala Lys Thr Ala Pro Gly Lys Lys Arg
 130 135 140
 Pro Val Glu Gln Ser Pro Gln Glu Pro Asp Ser Ser Ala Gly Ile Gly
 145 150 155 160
 Lys Ser Gly Ser Gln Pro Ala Lys Lys Lys Leu Asn Phe Gly Gln Thr
 165 170 175
 Gly Asp Thr Glu Ser Val Pro Asp Pro Gln Pro Ile Gly Glu Pro Pro

 180 185 190
 Ala Ala Pro Ser Gly Val Gly Ser Leu Thr Met Ala Ser Gly Gly Gly
 195 200 205
 Ala Pro Val Ala Asp Asn Asn Glu Gly Ala Asp Gly Val Gly Ser Ser
 210 215 220
 Ser Gly Asn Trp His Cys Asp Ser Gln Trp Leu Gly Asp Arg Val Ile
 225 230 235 240
 Thr Thr Ser Thr Arg Thr Trp Ala Leu Pro Thr Tyr Asn Asn His Leu

 245 250 255
 Tyr Lys Gln Ile Ser Asn Ser Thr Ser Gly Gly Ser Ser Asn Asp Asn
 260 265 270
 Ala Tyr Phe Gly Tyr Ser Thr Pro Trp Gly Tyr Phe Asp Phe Asn Arg
 275 280 285

Phe His Cys His Phe Ser Pro Arg Asp Trp Gln Arg Leu Ile Asn Asn
 290 295 300
 Asn Trp Gly Phe Arg Pro Lys Arg Leu Asn Phe Lys Leu Phe Asn Ile

 305 310 315 320
 Gln Val Lys Glu Val Thr Asp Asn Asn Gly Val Lys Thr Ile Ala Asn
 325 330 335
 Asn Leu Thr Ser Thr Val Gln Val Phe Thr Asp Ser Asp Tyr Gln Leu
 340 345 350
 Pro Tyr Val Leu Gly Ser Ala His Glu Gly Cys Leu Pro Pro Phe Pro
 355 360 365
 Ala Asp Val Phe Met Ile Pro Gln Tyr Gly Tyr Leu Thr Leu Asn Asp

 370 375 380
 Gly Gly Gln Ala Val Gly Arg Ser Ser Phe Tyr Cys Leu Glu Tyr Phe
 385 390 395 400
 Pro Ser Gln Met Leu Arg Thr Gly Asn Asn Phe Gln Phe Ser Tyr Glu
 405 410 415
 Phe Glu Asn Val Pro Phe His Ser Ser Tyr Ala His Ser Gln Ser Leu
 420 425 430
 Asp Arg Leu Met Asn Pro Leu Ile Asp Gln Tyr Leu Tyr Tyr Leu Ser

 435 440 445
 Lys Thr Ile Asn Gly Ser Gly Gln Asn Gln Gln Thr Leu Lys Phe Ser
 450 455 460
 Val Ala Gly Pro Ser Asn Met Ala Val Gln Gly Arg Asn Tyr Ile Pro
 465 470 475 480
 Gly Pro Ser Tyr Arg Gln Gln Arg Val Ser Thr Thr Val Thr Gln Asn
 485 490 495
 Asn Asn Ser Glu Phe Ala Trp Pro Gly Ala Ser Ser Trp Ala Leu Asn

 500 505 510
 Gly Arg Asn Ser Leu Met Asn Pro Gly Pro Ala Met Ala Ser His Lys
 515 520 525
 Glu Gly Glu Asp Arg Phe Phe Pro Leu Ser Gly Ser Leu Ile Phe Gly

530 535 540
Lys Gln Gly Thr Gly Arg Asp Asn Val Asp Ala Asp Lys Val Met Ile
545 550 555 560
Thr Asn Glu Glu Glu Ile Lys Thr Thr Asn Pro Val Ala Thr Glu Ser

565 570 575
Tyr Gly Gln Val Ala Thr Asn His Gln Ser Ala Gln Ala Gln Ala Gln
580 585 590
Thr Gly Trp Val Gln Asn Gln Gly Ile Leu Pro Gly Met Val Trp Gln
595 600 605
Asp Arg Asp Val Tyr Leu Gln Gly Pro Ile Trp Ala Lys Ile Pro His
610 615 620
Thr Asp Gly Asn Phe His Pro Ser Pro Leu Met Gly Gly Phe Gly Met

625 630 635 640
Lys His Pro Pro Pro Gln Ile Leu Ile Lys Asn Thr Pro Val Pro Ala
645 650 655
Asp Pro Pro Thr Ala Phe Asn Lys Asp Lys Leu Asn Ser Phe Ile Thr
660 665 670
Gln Tyr Ser Thr Gly Gln Val Ser Val Glu Ile Glu Trp Glu Leu Gln
675 680 685
Lys Glu Asn Ser Lys Arg Trp Asn Pro Glu Ile Gln Tyr Thr Ser Asn

690 695 700
Tyr Tyr Lys Ser Asn Asn Val Glu Phe Ala Val Ser Thr Glu Gly Val
705 710 715 720
Tyr Ser Glu Pro Arg Pro Ile Gly Thr Arg Tyr Leu Thr Arg Asn Leu
725 730 735

<210> 25

<211> 736

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> hu32

<400> 25

Met Ala Ala Asp Gly Tyr Leu Pro Asp Trp Leu Glu Asp Thr Leu Ser

1 5 10 15

 Glu Gly Ile Arg Gln Trp Trp Lys Leu Lys Pro Gly Pro Pro Pro Pro
 20 25 30
 Lys Pro Ala Glu Arg His Lys Asp Asp Ser Arg Gly Leu Val Leu Pro
 35 40 45
 Gly Tyr Lys Tyr Leu Gly Pro Gly Asn Gly Leu Asp Lys Gly Glu Pro
 50 55 60
 Val Asn Ala Ala Asp Ala Ala Ala Leu Glu His Asp Lys Ala Tyr Asp
 65 70 75 80

 Gln Gln Leu Lys Ala Gly Asp Asn Pro Tyr Leu Lys Tyr Asn His Ala
 85 90 95
 Asp Ala Glu Phe Gln Glu Arg Leu Lys Glu Asp Thr Ser Phe Gly Gly
 100 105 110
 Asn Leu Gly Arg Ala Val Phe Gln Ala Lys Lys Arg Leu Leu Glu Pro
 115 120 125
 Leu Gly Leu Val Glu Glu Ala Ala Lys Thr Ala Pro Gly Lys Lys Arg
 130 135 140

 Pro Val Glu Gln Ser Pro Gln Glu Pro Asp Ser Ser Ala Gly Ile Gly
 145 150 155 160
 Lys Ser Gly Ser Gln Pro Ala Lys Lys Lys Leu Asn Phe Gly Gln Thr
 165 170 175
 Gly Asp Thr Glu Ser Val Pro Asp Pro Gln Pro Ile Gly Glu Pro Pro
 180 185 190
 Ala Ala Pro Ser Gly Val Gly Ser Leu Thr Met Ala Ser Gly Gly Gly
 195 200 205

 Ala Pro Val Ala Asp Asn Asn Glu Gly Ala Asp Gly Val Gly Ser Ser
 210 215 220
 Ser Gly Asn Trp His Cys Asp Ser Gln Trp Leu Gly Asp Arg Val Ile
 225 230 235 240
 Thr Thr Ser Thr Arg Thr Trp Ala Leu Pro Thr Tyr Asn Asn His Leu
 245 250 255

Tyr Lys Gln Ile Ser Asn Ser Thr Ser Gly Gly Ser Ser Asn Asp Asn
 260 265 270

 Ala Tyr Phe Gly Tyr Ser Thr Pro Trp Gly Tyr Phe Asp Phe Asn Arg
 275 280 285
 Phe His Cys His Phe Ser Pro Arg Asp Trp Gln Arg Leu Ile Asn Asn
 290 295 300
 Asn Trp Gly Phe Arg Pro Lys Arg Leu Asn Phe Lys Leu Phe Asn Ile
 305 310 315 320
 Gln Val Lys Glu Val Thr Asp Asn Asn Gly Val Lys Thr Ile Ala Asn
 325 330 335

 Asn Leu Thr Ser Thr Val Gln Val Phe Thr Asp Ser Asp Tyr Gln Leu
 340 345 350
 Pro Tyr Val Leu Gly Ser Ala His Glu Gly Cys Leu Pro Pro Phe Pro
 355 360 365
 Ala Asp Val Phe Met Ile Pro Gln Tyr Gly Tyr Leu Thr Leu Asn Asp
 370 375 380
 Gly Ser Gln Ala Val Gly Arg Ser Ser Phe Tyr Cys Leu Glu Tyr Phe
 385 390 395 400

 Pro Ser Gln Met Leu Arg Thr Gly Asn Asn Phe Gln Phe Ser Tyr Glu
 405 410 415
 Phe Glu Asn Val Pro Phe His Ser Ser Tyr Ala His Ser Gln Ser Leu
 420 425 430
 Asp Arg Leu Met Asn Pro Leu Ile Asp Gln Tyr Leu Tyr Tyr Leu Ser
 435 440 445
 Lys Thr Ile Asn Gly Ser Gly Gln Asn Gln Gln Thr Leu Lys Phe Ser
 450 455 460

 Val Ala Gly Pro Ser Asn Met Ala Val Gln Gly Arg Asn Tyr Ile Pro
 465 470 475 480
 Gly Pro Ser Tyr Arg Gln Gln Arg Val Ser Thr Thr Val Thr Gln Asn
 485 490 495
 Asn Asn Ser Glu Phe Ala Trp Pro Gly Ala Ser Ser Trp Ala Leu Asn

500 505 510
 Gly Arg Asn Ser Leu Met Asn Pro Gly Pro Ala Met Ala Ser His Lys
 515 520 525

Glu Gly Glu Asp Arg Phe Phe Pro Leu Ser Gly Ser Leu Ile Phe Gly
 530 535 540
 Lys Gln Gly Thr Gly Arg Asp Asn Val Asp Ala Asp Lys Val Met Ile
 545 550 555 560
 Thr Asn Glu Glu Glu Ile Lys Thr Thr Asn Pro Val Ala Thr Glu Ser
 565 570 575
 Tyr Gly Gln Val Ala Thr Asn His Gln Ser Ala Gln Ala Gln Ala Gln
 580 585 590

Thr Gly Trp Val Gln Asn Gln Gly Ile Leu Pro Gly Met Val Trp Gln
 595 600 605
 Asp Arg Asp Val Tyr Leu Gln Gly Pro Ile Trp Ala Lys Ile Pro His
 610 615 620
 Thr Asp Gly Asn Phe His Pro Ser Pro Leu Met Gly Gly Phe Gly Met
 625 630 635 640
 Lys His Pro Pro Pro Gln Ile Leu Ile Lys Asn Thr Pro Val Pro Ala
 645 650 655

Asp Pro Pro Thr Ala Phe Asn Lys Asp Lys Leu Asn Ser Phe Ile Thr
 660 665 670
 Gln Tyr Ser Thr Gly Gln Val Ser Val Glu Ile Glu Trp Glu Leu Gln
 675 680 685
 Lys Glu Asn Ser Lys Arg Trp Asn Pro Glu Ile Gln Tyr Thr Ser Asn
 690 695 700
 Tyr Tyr Lys Ser Asn Asn Val Glu Phe Ala Val Asn Thr Glu Gly Val
 705 710 715 720

Tyr Ser Glu Pro Arg Pro Ile Gly Thr Arg Tyr Leu Thr Arg Asn Leu
 725 730 735

<210> 26

<211> 736

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> AAV9

<400> 26

Met Ala Ala Asp Gly Tyr Leu Pro Asp Trp Leu Glu Asp Asn Leu Ser

1 5 10 15

Glu Gly Ile Arg Glu Trp Trp Ala Leu Lys Pro Gly Ala Pro Gln Pro

20 25 30

Lys Ala Asn Gln Gln His Gln Asp Asn Ala Arg Gly Leu Val Leu Pro

35 40 45

Gly Tyr Lys Tyr Leu Gly Pro Gly Asn Gly Leu Asp Lys Gly Glu Pro

50 55 60

Val Asn Ala Ala Asp Ala Ala Ala Leu Glu His Asp Lys Ala Tyr Asp

65 70 75 80

Gln Gln Leu Lys Ala Gly Asp Asn Pro Tyr Leu Lys Tyr Asn His Ala

85 90 95

Asp Ala Glu Phe Gln Glu Arg Leu Lys Glu Asp Thr Ser Phe Gly Gly

100 105 110

Asn Leu Gly Arg Ala Val Phe Gln Ala Lys Lys Arg Leu Leu Glu Pro

115 120 125

Leu Gly Leu Val Glu Glu Ala Ala Lys Thr Ala Pro Gly Lys Lys Arg

130 135 140

Pro Val Glu Gln Ser Pro Gln Glu Pro Asp Ser Ser Ala Gly Ile Gly

145 150 155 160

Lys Ser Gly Ala Gln Pro Ala Lys Lys Arg Leu Asn Phe Gly Gln Thr

165 170 175

Gly Asp Thr Glu Ser Val Pro Asp Pro Gln Pro Ile Gly Glu Pro Pro

180 185 190

Ala Ala Pro Ser Gly Val Gly Ser Leu Thr Met Ala Ser Gly Gly Gly

195 200 205

Ala Pro Val Ala Asp Asn Asn Glu Gly Ala Asp Gly Val Gly Ser Ser

210 215 220

Ser Gly Asn Trp His Cys Asp Ser Gln Trp Leu Gly Asp Arg Val Ile

225 230 235 240

Thr Thr Ser Thr Arg Thr Trp Ala Leu Pro Thr Tyr Asn Asn His Leu

245 250 255

Tyr Lys Gln Ile Ser Asn Ser Thr Ser Gly Gly Ser Ser Asn Asp Asn

260 265 270

Ala Tyr Phe Gly Tyr Ser Thr Pro Trp Gly Tyr Phe Asp Phe Asn Arg

275 280 285

Phe His Cys His Phe Ser Pro Arg Asp Trp Gln Arg Leu Ile Asn Asn

290 295 300

Asn Trp Gly Phe Arg Pro Lys Arg Leu Asn Phe Lys Leu Phe Asn Ile

305 310 315 320

Gln Val Lys Glu Val Thr Asp Asn Asn Gly Val Lys Thr Ile Ala Asn

325 330 335

Asn Leu Thr Ser Thr Val Gln Val Phe Thr Asp Ser Asp Tyr Gln Leu

340 345 350

Pro Tyr Val Leu Gly Ser Ala His Glu Gly Cys Leu Pro Pro Phe Pro

355 360 365

Ala Asp Val Phe Met Ile Pro Gln Tyr Gly Tyr Leu Thr Leu Asn Asp

370 375 380

Gly Ser Gln Ala Val Gly Arg Ser Ser Phe Tyr Cys Leu Glu Tyr Phe

385 390 395 400

Pro Ser Gln Met Leu Arg Thr Gly Asn Asn Phe Gln Phe Ser Tyr Glu

405 410 415

Phe Glu Asn Val Pro Phe His Ser Ser Tyr Ala His Ser Gln Ser Leu

420 425 430

Asp Arg Leu Met Asn Pro Leu Ile Asp Gln Tyr Leu Tyr Tyr Leu Ser

435 440 445

Lys Thr Ile Asn Gly Ser Gly Gln Asn Gln Gln Thr Leu Lys Phe Ser

450 455 460

Val Ala Gly Pro Ser Asn Met Ala Val Gln Gly Arg Asn Tyr Ile Pro

465 470 475 480
 Gly Pro Ser Tyr Arg Gln Gln Arg Val Ser Thr Thr Val Thr Gln Asn

 485 490 495
 Asn Asn Ser Glu Phe Ala Trp Pro Gly Ala Ser Ser Trp Ala Leu Asn
 500 505 510
 Gly Arg Asn Ser Leu Met Asn Pro Gly Pro Ala Met Ala Ser His Lys
 515 520 525
 Glu Gly Glu Asp Arg Phe Phe Pro Leu Ser Gly Ser Leu Ile Phe Gly
 530 535 540
 Lys Gln Gly Thr Gly Arg Asp Asn Val Asp Ala Asp Lys Val Met Ile

 545 550 555 560
 Thr Asn Glu Glu Glu Ile Lys Thr Thr Asn Pro Val Ala Thr Glu Ser
 565 570 575
 Tyr Gly Gln Val Ala Thr Asn His Gln Ser Ala Gln Ala Gln Ala Gln
 580 585 590
 Thr Gly Trp Val Gln Asn Gln Gly Ile Leu Pro Gly Met Val Trp Gln
 595 600 605
 Asp Arg Asp Val Tyr Leu Gln Gly Pro Ile Trp Ala Lys Ile Pro His

 610 615 620
 Thr Asp Gly Asn Phe His Pro Ser Pro Leu Met Gly Gly Phe Gly Met
 625 630 635 640
 Lys His Pro Pro Pro Gln Ile Leu Ile Lys Asn Thr Pro Val Pro Ala
 645 650 655
 Asp Pro Pro Thr Ala Phe Asn Lys Asp Lys Leu Asn Ser Phe Ile Thr
 660 665 670
 Gln Tyr Ser Thr Gly Gln Val Ser Val Glu Ile Glu Trp Glu Leu Gln

 675 680 685
 Lys Glu Asn Ser Lys Arg Trp Asn Pro Glu Ile Gln Tyr Thr Ser Asn
 690 695 700
 Tyr Tyr Lys Ser Asn Asn Val Glu Phe Ala Val Asn Thr Glu Gly Val
 705 710 715 720

Tyr Ser Glu Pro Arg Pro Ile Gly Thr Arg Tyr Leu Thr Arg Asn Leu

725 730 735

<210> 27

<211> 550

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> SP/P22304/IDS_human

<400> 27

Met Pro Pro Pro Arg Thr Gly Arg Gly Leu Leu Trp Leu Gly Leu Val

1 5 10 15

Leu Ser Ser Val Cys Val Ala Leu Gly Ser Glu Thr Gln Ala Asn Ser

20 25 30

Thr Thr Asp Ala Leu Asn Val Leu Leu Ile Ile Val Asp Asp Leu Arg

35 40 45

Pro Ser Leu Gly Cys Tyr Gly Asp Lys Leu Val Arg Ser Pro Asn Ile

50 55 60

Asp Gln Leu Ala Ser His Ser Leu Leu Phe Gln Asn Ala Phe Ala Gln

65 70 75 80

Gln Ala Val Cys Ala Pro Ser Arg Val Ser Phe Leu Thr Gly Arg Arg

85 90 95

Pro Asp Thr Thr Arg Leu Tyr Asp Phe Asn Ser Tyr Trp Arg Val His

100 105 110

Ala Gly Asn Phe Ser Thr Ile Pro Gln Tyr Phe Lys Glu Asn Gly Tyr

115 120 125

Val Thr Met Ser Val Gly Lys Val Phe His Pro Gly Ile Ser Ser Asn

130 135 140

His Thr Asp Asp Ser Pro Tyr Ser Trp Ser Phe Pro Pro Tyr His Pro

145 150 155 160

Ser Ser Glu Lys Tyr Glu Asn Thr Lys Thr Cys Arg Gly Pro Asp Gly

165 170 175

Glu Leu His Ala Asn Leu Leu Cys Pro Val Asp Val Leu Asp Val Pro

180 185 190
 Glu Gly Thr Leu Pro Asp Lys Gln Ser Thr Glu Gln Ala Ile Gln Leu
 195 200 205
 Leu Glu Lys Met Lys Thr Ser Ala Ser Pro Phe Phe Leu Ala Val Gly
 210 215 220
 Tyr His Lys Pro His Ile Pro Phe Arg Tyr Pro Lys Glu Phe Gln Lys
 225 230 235 240
 Leu Tyr Pro Leu Glu Asn Ile Thr Leu Ala Pro Asp Pro Glu Val Pro
 245 250 255

 Asp Gly Leu Pro Pro Val Ala Tyr Asn Pro Trp Met Asp Ile Arg Gln
 260 265 270
 Arg Glu Asp Val Gln Ala Leu Asn Ile Ser Val Pro Tyr Gly Pro Ile
 275 280 285
 Pro Val Asp Phe Gln Arg Lys Ile Arg Gln Ser Tyr Phe Ala Ser Val
 290 295 300
 Ser Tyr Leu Asp Thr Gln Val Gly Arg Leu Leu Ser Ala Leu Asp Asp
 305 310 315 320

 Leu Gln Leu Ala Asn Ser Thr Ile Ile Ala Phe Thr Ser Asp His Gly
 325 330 335
 Trp Ala Leu Gly Glu His Gly Glu Trp Ala Lys Tyr Ser Asn Phe Asp
 340 345 350
 Val Ala Thr His Val Pro Leu Ile Phe Tyr Val Pro Gly Arg Thr Ala
 355 360 365
 Ser Leu Pro Glu Ala Gly Glu Lys Leu Phe Pro Tyr Leu Asp Pro Phe
 370 375 380

 Asp Ser Ala Ser Gln Leu Met Glu Pro Gly Arg Gln Ser Met Asp Leu
 385 390 395 400
 Val Glu Leu Val Ser Leu Phe Pro Thr Leu Ala Gly Leu Ala Gly Leu
 405 410 415
 Gln Val Pro Pro Arg Cys Pro Val Pro Ser Phe His Val Glu Leu Cys
 420 425 430

Arg Glu Gly Lys Asn Leu Leu Lys His Phe Arg Phe Arg Asp Leu Glu
435 440 445

Glu Asp Pro Tyr Leu Pro Gly Asn Pro Arg Glu Leu Ile Ala Tyr Ser
450 455 460

Gln Tyr Pro Arg Pro Ser Asp Ile Pro Gln Trp Asn Ser Asp Lys Pro
465 470 475 480

Ser Leu Lys Asp Ile Lys Ile Met Gly Tyr Ser Ile Arg Thr Ile Asp
485 490 495

Tyr Arg Tyr Thr Val Trp Val Gly Phe Asn Pro Asp Glu Phe Leu Ala
500 505 510

Asn Phe Ser Asp Ile His Ala Gly Glu Leu Tyr Phe Val Asp Ser Asp
515 520 525

Pro Leu Gln Asp His Asn Met Tyr Asn Asp Ser Gln Gly Gly Asp Leu
530 535 540

Phe Gln Leu Leu Met Pro
545 550

<210> 28

<211> 550

<212> PRT

<213> Pan troglodytes (Chimpanzee)

<220><223> TR/K6ZGI9_PANTR

<400> 28

Met Pro Pro Pro Arg Thr Gly Arg Gly Leu Pro Trp Leu Gly Leu Val
1 5 10 15

Leu Ser Ser Val Cys Val Ala Leu Gly Ser Glu Thr Gln Ala Asn Ser
20 25 30

Thr Thr Asp Ala Leu Asn Val Leu Leu Ile Ile Val Asp Asp Leu Arg
35 40 45

Pro Ser Leu Gly Cys Tyr Gly Asp Lys Leu Val Arg Ser Pro Asn Ile
50 55 60

Asp Gln Leu Ala Ser His Ser Leu Leu Phe Gln Asn Ala Phe Ala Gln

65				70				75				80			
Gln	Ala	Val	Cys	Ala	Pro	Ser	Arg	Val	Ser	Phe	Leu	Thr	Gly	Arg	Arg
85				90				95							
Pro	Asp	Pro	Thr	Arg	Leu	Tyr	Asp	Phe	Asn	Ser	Tyr	Trp	Arg	Val	His
100				105				110							
Ala	Gly	Asn	Phe	Ser	Thr	Ile	Pro	Gln	Tyr	Phe	Lys	Glu	Asn	Gly	Tyr
115				120				125							
Val	Thr	Met	Ser	Val	Gly	Lys	Val	Phe	His	Pro	Gly	Ile	Ser	Ser	Asn
130				135				140							
His	Thr	Asp	Asp	Ser	Pro	Tyr	Ser	Trp	Ser	Phe	Pro	Pro	Tyr	His	Pro
145				150				155				160			
Ser	Ser	Glu	Lys	Tyr	Glu	Asn	Thr	Lys	Thr	Cys	Arg	Gly	Pro	Asp	Gly
165				170				175							
Glu	Leu	His	Ala	Asn	Leu	Leu	Cys	Pro	Val	Asp	Val	Leu	Asp	Val	Pro
180				185				190							
Glu	Gly	Thr	Leu	Pro	Asp	Lys	Gln	Ser	Thr	Glu	Gln	Ala	Ile	Gln	Leu
195				200				205							
Leu	Glu	Lys	Met	Lys	Thr	Ser	Ala	Ser	Pro	Phe	Phe	Leu	Ala	Val	Gly
210				215				220							
Tyr	His	Lys	Pro	His	Ile	Pro	Phe	Arg	Tyr	Pro	Lys	Glu	Phe	Gln	Lys
225				230				235				240			
Leu	Tyr	Pro	Leu	Glu	Asn	Ile	Thr	Leu	Ala	Pro	Asp	Pro	Glu	Val	Pro
245				250				255							
Asp	Gly	Leu	Pro	Pro	Val	Ala	Tyr	Asn	Pro	Trp	Met	Asp	Ile	Arg	Gln
260				265				270							
Arg	Glu	Asp	Val	Gln	Ala	Leu	Asn	Ile	Ser	Val	Pro	Tyr	Gly	Pro	Ile
275				280				285							
Pro	Val	Asp	Phe	Gln	Arg	Lys	Ile	Arg	Gln	Ser	Tyr	Phe	Ala	Ser	Val
290				295				300							
Ser	Tyr	Leu	Asp	Thr	Gln	Val	Gly	Arg	Leu	Leu	Ser	Ala	Leu	Asp	Asp
305				310				315				320			

Leu Gln Leu Ala Asn Ser Thr Ile Ile Ala Phe Thr Ser Asp His Gly
325 330 335

Trp Ala Leu Gly Glu His Gly Glu Trp Ala Lys Tyr Ser Asn Phe Asp
340 345 350

Val Ala Thr His Val Pro Leu Met Phe Tyr Val Pro Gly Arg Thr Ala
355 360 365

Ser Leu Pro Glu Ala Gly Glu Lys Leu Phe Pro Tyr Leu Asp Pro Phe
370 375 380

Asp Ser Ala Ser Gln Leu Met Glu Pro Gly Arg Gln Ser Met Asp Leu
385 390 395 400

Val Glu Leu Val Ser Leu Phe Pro Thr Leu Ala Gly Leu Ala Gly Leu
405 410 415

Gln Ala Pro Pro Arg Cys Pro Val Pro Ser Phe His Val Glu Leu Cys
420 425 430

Arg Glu Gly Lys Asn Leu Leu Lys His Phe Arg Phe Arg Asp Leu Glu
435 440 445

Glu Asp Pro Tyr Leu Pro Gly Asn Pro Arg Glu Leu Ile Ala Tyr Ser
450 455 460

Gln Tyr Pro Arg Pro Ser Asp Ile Pro Gln Trp Asn Ser Asp Lys Pro
465 470 475 480

Ser Leu Lys Asp Ile Lys Ile Met Gly Tyr Ser Ile Arg Thr Ile Asp
485 490 495

Tyr Arg Tyr Thr Val Trp Ile Gly Phe Asn Pro Asp Glu Phe Leu Ala
500 505 510

Asn Phe Ser Asp Ile His Ala Gly Glu Leu Tyr Phe Val Asp Ser Asp
515 520 525

Pro Leu Gln Asp His Asn Met Tyr Asn Asp Ser Gln Gly Gly Asp Leu
530 535 540

Phe Gln Leu Leu Met Pro
545 550

<210> 29

<211> 550

<212> PRT

<213> Pan troglodytes (Chimpanzee)

<220><223> TR/K7BKV4_PANTR

<400> 29

Met Pro Pro Pro Arg Thr Gly Arg Gly Leu Pro Trp Leu Gly Leu Val

1 5 10 15

Leu Ser Ser Val Cys Val Ala Leu Gly Ser Glu Thr Gln Ala Asn Ser

20 25 30

Thr Thr Asp Ala Leu Asn Val Leu Leu Ile Ile Val Asp Asp Leu Arg

35 40 45

Pro Ser Leu Gly Cys Tyr Gly Asp Lys Leu Val Arg Ser Pro Asn Ile

50 55 60

Asp Gln Leu Ala Ser His Ser Leu Leu Phe Gln Asn Ala Phe Ala Gln

65 70 75 80

Gln Ala Val Cys Ala Pro Ser Arg Val Ser Phe Leu Thr Gly Arg Arg

85 90 95

Pro Asp Thr Thr Arg Leu Tyr Asp Phe Asn Ser Tyr Trp Arg Val His

100 105 110

Ala Gly Asn Phe Ser Thr Ile Pro Gln Tyr Phe Lys Glu Asn Gly Tyr

115 120 125

Val Thr Met Ser Val Gly Lys Val Phe His Pro Gly Ile Ser Ser Asn

130 135 140

His Thr Asp Asp Ser Pro Tyr Ser Trp Ser Phe Pro Pro Tyr His Pro

145 150 155 160

Ser Ser Glu Lys Tyr Glu Asn Thr Lys Thr Cys Arg Gly Pro Asp Gly

165 170 175

Glu Leu His Ala Asn Leu Leu Cys Pro Val Asp Val Leu Asp Val Pro

180 185 190

Glu Gly Thr Leu Pro Asp Lys Gln Ser Thr Glu Gln Ala Ile Gln Leu

195 200 205

Leu Glu Lys Met Lys Thr Ser Ala Ser Pro Phe Phe Leu Ala Val Gly

210				215				220							
Tyr	His	Lys	Pro	His	Ile	Pro	Phe	Arg	Tyr	Pro	Lys	Glu	Phe	Gln	Lys
225				230				235				240			
Leu	Tyr	Pro	Leu	Glu	Asn	Ile	Thr	Leu	Ala	Pro	Asp	Pro	Glu	Val	Pro
245				250				255							
Asp	Gly	Leu	Pro	Pro	Val	Ala	Tyr	Asn	Pro	Trp	Met	Asp	Ile	Arg	Gln
260				265				270							
Arg	Glu	Asp	Val	Gln	Ala	Leu	Asn	Ile	Ser	Val	Pro	Tyr	Gly	Pro	Ile
275				280				285							
Pro	Val	Asp	Phe	Gln	Arg	Lys	Ile	Arg	Gln	Ser	Tyr	Phe	Ala	Ser	Val
290				295				300							
Ser	Tyr	Leu	Asp	Thr	Gln	Val	Gly	Arg	Leu	Leu	Ser	Ala	Leu	Asp	Asp
305				310				315				320			
Leu	Gln	Leu	Ala	Asn	Ser	Thr	Ile	Ile	Ala	Phe	Thr	Ser	Asp	His	Gly
325				330				335							
Trp	Ala	Leu	Gly	Glu	His	Gly	Glu	Trp	Ala	Lys	Tyr	Ser	Asn	Phe	Asp
340				345				350							
Val	Ala	Thr	His	Val	Pro	Leu	Met	Phe	Tyr	Val	Pro	Gly	Arg	Thr	Ala
355				360				365							
Ser	Leu	Pro	Glu	Ala	Gly	Glu	Lys	Leu	Phe	Pro	Tyr	Leu	Asp	Pro	Phe
370				375				380							
Asp	Ser	Ala	Ser	Gln	Leu	Met	Glu	Pro	Gly	Arg	Gln	Ser	Met	Asp	Leu
385				390				395				400			
Val	Glu	Leu	Val	Ser	Leu	Phe	Pro	Thr	Leu	Ala	Gly	Leu	Ala	Gly	Leu
405				410				415							
Gln	Ala	Pro	Pro	Arg	Cys	Pro	Val	Pro	Ser	Phe	His	Val	Glu	Leu	Cys
420				425				430							
Arg	Glu	Gly	Lys	Asn	Leu	Leu	Lys	His	Phe	Arg	Phe	Arg	Asp	Leu	Glu
435				440				445							
Glu	Asp	Pro	Tyr	Leu	Pro	Gly	Asn	Pro	Arg	Glu	Leu	Ile	Ala	Tyr	Ser
450				455				460							

Gln Tyr Pro Arg Pro Ser Asp Ile Pro Gln Trp Asn Ser Asp Lys Pro
465 470 475 480

Ser Leu Lys Asp Ile Lys Ile Met Gly Tyr Ser Ile Arg Thr Ile Asp
485 490 495

Tyr Arg Tyr Thr Val Trp Ile Gly Phe Asn Pro Asp Glu Phe Leu Ala
500 505 510

Asn Phe Ser Asp Ile His Ala Gly Glu Leu Tyr Phe Val Asp Ser Asp
515 520 525

Pro Leu Gln Asp His Asn Met Tyr Asn Asp Ser Gln Gly Gly Asp Leu
530 535 540

Phe Gln Leu Leu Met Pro
545 550

<210> 30

<211> 550

<212> PRT

<213> Macaca mulatta (Rhesus macaque)

<220><223> TR/H9FTX2_MACMU

<400> 30

Met Pro Thr Pro Gly Ser Gly Arg Gly Phe Leu Trp Leu Gly Leu Val
1 5 10 15

Leu Ser Ser Val Cys Val Ala Leu Gly Cys Glu Thr Gln Ala Asn Ser
20 25 30

Thr Thr Asp Ala Leu Asn Ile Leu Leu Ile Ile Val Asp Asp Leu Arg
35 40 45

Pro Ser Leu Gly Cys Tyr Gly Asp Lys Leu Val Arg Ser Pro Asn Ile
50 55 60

Asp Gln Leu Ala Ser His Ser Leu Leu Phe Gln Asn Ala Phe Ala Gln
65 70 75 80

Gln Ala Val Cys Ala Pro Ser Arg Val Ser Phe Leu Thr Gly Arg Arg
85 90 95

Pro Asp Thr Thr Arg Leu Tyr Asp Phe Asn Ser Tyr Trp Arg Val His

100	105	110	
Ala Gly Asn Phe Ser Thr Ile Pro Gln Tyr Phe Lys Glu Asn Gly Tyr			
115	120	125	
Val Thr Met Ser Val Gly Lys Val Phe His Pro Gly Ile Thr Ser Asn			
130	135	140	
His Thr Asp Asp Ser Pro Tyr Ser Trp Ser Phe Pro Pro Tyr His Pro			
145	150	155	160
Ser Ser Glu Lys Tyr Glu Asn Thr Lys Thr Cys Arg Gly Pro Asp Gly			
165	170	175	
Glu Leu His Ala Asn Leu Leu Cys Pro Val Asp Val Val Asp Val Pro			
180	185	190	
Glu Gly Thr Leu Pro Asp Lys Gln Ser Thr Glu Gln Ala Ile Gln Leu			
195	200	205	
Leu Glu Lys Met Lys Thr Ser Ala Ser Pro Phe Phe Leu Ala Val Gly			
210	215	220	
Tyr His Lys Pro His Ile Pro Phe Arg Tyr Pro Lys Glu Phe Gln Lys			
225	230	235	240
Leu Tyr Pro Leu Glu Asn Ile Thr Leu Ala Pro Asp Ser Glu Val Pro			
245	250	255	
Asp Gly Leu Pro Pro Val Ala Tyr Asn Pro Trp Met Asp Ile Arg Gln			
260	265	270	
Arg Glu Asp Val Gln Ala Leu Asn Ile Ser Val Pro Tyr Gly Pro Ile			
275	280	285	
Pro Val Glu Phe Gln Arg Lys Ile Arg Gln Ser Tyr Phe Ala Ser Val			
290	295	300	
Ser Tyr Leu Asp Thr Gln Val Gly Arg Leu Leu Ser Ala Leu Asp Asp			
305	310	315	320
Leu Gln Leu Ala Asn Ser Thr Ile Val Ala Phe Thr Ser Asp His Gly			
325	330	335	
Trp Ala Leu Gly Glu His Gly Glu Trp Ala Lys Tyr Ser Asn Phe Asp			
340	345	350	

Val Ala Thr His Val Pro Leu Met Phe Tyr Val Pro Gly Arg Thr Ala
355 360 365

Ser Leu Pro Glu Ala Gly Glu Lys Leu Phe Pro Tyr Leu Asp Pro Phe
370 375 380

Asp Ser Ala Ser Glu Leu Met Glu Pro Gly Arg Gln Ser Met Asp Leu
385 390 395 400

Val Glu Leu Val Ser Leu Phe Pro Thr Leu Ala Gly Leu Ala Gly Leu
405 410 415

Gln Val Pro Pro Arg Cys Pro Val Pro Ser Phe His Val Glu Leu Cys
420 425 430

Arg Glu Gly Lys Asn Leu Leu Lys His Phe Arg Phe Arg Asp Leu Glu
435 440 445

Glu Asp Pro Tyr Leu Pro Gly Asn Pro Arg Glu Leu Ile Ala Tyr Ser
450 455 460

Gln Tyr Pro Arg Pro Ala Asp Phe Pro Gln Trp Asn Ser Asp Lys Pro
465 470 475 480

Ser Leu Lys Asp Ile Lys Ile Met Gly Tyr Ser Ile Arg Thr Ile Asp
485 490 495

Tyr Arg Tyr Thr Val Trp Val Gly Phe Asn Pro Asp Glu Phe Leu Ala
500 505 510

Asn Phe Ser Asp Ile His Ala Gly Glu Leu Tyr Phe Val Asp Ser Asp
515 520 525

Pro Leu Gln Asp His Asn Met Tyr Asn Asp Ser Gln Gly Gly Asp Leu
530 535 540

Phe Gln Leu Leu Met Pro
545 550

<210> 31

<211> 550

<212> PRT

<213> Callithrix jacchus (White-tufted-ear marmoset)

<220><223> TRF7EJG2_CALJA

<400> 31

```

Met Pro Pro Pro Arg Thr Ser Arg Cys Leu Leu Leu Leu Gly Leu Val
1           5           10           15
Leu Gly Ser Val Cys Val Thr Leu Gly Ser Gln Ala Gln Ala Ser Ser
           20           25           30
Thr Thr Asp Ala Leu Asn Val Leu Leu Ile Ile Val Asp Asp Leu Arg
           35           40           45
Pro Ser Leu Gly Cys Tyr Gly Asp Lys Leu Val Arg Ser Pro Asn Ile
           50           55           60

Asp Gln Leu Ala Ser His Ser Leu Leu Phe Gln Asn Ala Phe Ala Gln
65           70           75           80
Gln Ala Val Cys Ala Pro Ser Arg Val Ser Phe Leu Thr Gly Arg Arg
           85           90           95
Pro Asp Thr Thr Arg Leu Tyr Asp Phe Asn Ser Tyr Trp Arg Val His
           100          105          110
Ala Gly Asn Phe Ser Thr Ile Pro Gln Tyr Phe Lys Asp Asn Gly Tyr
           115          120          125

Val Thr Met Ser Val Gly Lys Val Phe His Pro Gly Ile Ser Ser Asn
           130          135          140
His Ser Asp Asp Ser Pro Tyr Ser Trp Ser Phe Pro Pro Tyr His Pro
145          150          155          160
Ser Ser Glu Lys Tyr Glu Asn Thr Lys Thr Cys Arg Gly Pro Asp Gly
           165          170          175
Glu Leu His Ala Asn Leu Leu Cys Pro Val Asp Val Val Asp Val Pro
           180          185          190

Glu Gly Thr Leu Pro Asp Lys Gln Ser Thr Glu Glu Ala Ile Arg Leu
           195          200          205
Leu Glu Lys Met Lys Thr Ser Ala Ser Pro Phe Phe Leu Ala Val Gly
           210          215          220
Tyr His Lys Pro His Ile Pro Phe Arg Tyr Pro Lys Glu Phe Gln Lys
225          230          235          240
Leu Tyr Pro Leu Glu Asn Ile Thr Leu Ala Pro Asp Pro Glu Val Pro

```

245					250					255						
Asp	Gly	Leu	Pro	Pro	Val	Ala	Tyr	Asn	Pro	Trp	Met	Asp	Ile	Arg	Gln	
260					265					270						
Arg	Glu	Asp	Val	Gln	Ala	Leu	Asn	Ile	Ser	Val	Pro	Tyr	Gly	Pro	Ile	
275					280					285						
Pro	Val	Asp	Phe	Gln	Arg	Lys	Ile	Arg	Gln	Ser	Tyr	Phe	Ala	Ser	Val	
290					295					300						
Ser	Tyr	Leu	Asp	Thr	Gln	Val	Gly	His	Leu	Leu	Ser	Ala	Leu	Asp	Asp	
305					310					315					320	
Leu	Gln	Leu	Ala	Asn	Ser	Thr	Ile	Val	Ala	Phe	Thr	Ser	Asp	His	Gly	
325					330					335						
Trp	Ala	Leu	Gly	Glu	His	Gly	Glu	Trp	Ala	Lys	Tyr	Ser	Asn	Phe	Asp	
340					345					350						
Val	Ala	Thr	Arg	Val	Pro	Leu	Met	Phe	Tyr	Val	Pro	Gly	Arg	Thr	Ala	
355					360					365						
Ser	Leu	Pro	Glu	Ala	Asp	Glu	Lys	Leu	Phe	Pro	Tyr	Val	Asp	Pro	Phe	
370					375					380						
His	Ser	Ala	Ser	Glu	Leu	Met	Glu	Pro	Gly	Arg	Gln	Ser	Met	Asp	Leu	
385					390					395					400	
Val	Glu	Leu	Val	Ser	Leu	Phe	Pro	Thr	Leu	Ala	Gly	Leu	Ala	Gly	Leu	
405					410					415						
Gln	Val	Pro	Pro	Arg	Cys	Pro	Val	Pro	Ser	Phe	His	Val	Glu	Leu	Cys	
420					425					430						
Arg	Glu	Gly	Lys	Ser	Leu	Leu	Lys	His	Phe	Arg	Phe	His	Gly	Leu	Glu	
435					440					445						
Glu	Asp	Pro	Tyr	Leu	Pro	Gly	Asn	Pro	Arg	Glu	Leu	Ile	Ala	Tyr	Ser	
450					455					460						
Gln	Tyr	Pro	Arg	Pro	Ala	Asp	Phe	Pro	Gln	Trp	Asn	Ser	Asp	Lys	Pro	
465					470					475					480	
Ser	Leu	Lys	Tyr	Ile	Lys	Ile	Met	Gly	Tyr	Ser	Ile	Arg	Thr	Val	Asp	
485					490					495						

Tyr Arg Tyr Thr Val Trp Val Gly Phe Asn Pro Asp Glu Phe Leu Ala
500 505 510

Asn Phe Ser Asp Ile His Ala Gly Glu Leu Tyr Phe Val Asp Ser Asp
515 520 525

Pro Leu Gln Asp His Asn Met Tyr Asn Asp Ser Gln Gly Gly Glu Leu
530 535 540

Phe Gln Ser Leu Met Pro
545 550

<210> 32

<211> 550

<212> PRT

<213> Callithrix jacchus (White-tufted-ear marmoset)

<220><223> TR/U3DTL8_CALJA

<400> 32

Met Pro Pro Pro Arg Pro Ser Arg Cys Leu Leu Leu Gly Leu Val

1 5 10 15

Leu Gly Ser Val Cys Val Thr Leu Gly Ser Gln Ala Gln Ala Ser Ser
20 25 30

Thr Thr Asp Ala Leu Asn Val Leu Leu Ile Ile Val Asp Asp Leu Arg
35 40 45

Pro Ser Leu Gly Cys Tyr Gly Asp Lys Leu Val Arg Ser Pro Asn Ile
50 55 60

Asp Gln Leu Ala Ser His Ser Leu Leu Phe Gln Asn Ala Phe Ala Gln

65 70 75 80

Gln Ala Val Cys Ala Pro Ser Arg Val Ser Phe Leu Thr Gly Arg Arg
85 90 95

Pro Asp Thr Thr Arg Leu Tyr Asp Phe Asn Ser Tyr Trp Arg Val His
100 105 110

Ala Gly Asn Phe Ser Thr Ile Pro Gln Tyr Phe Lys Asp Asn Gly Tyr
115 120 125

Val Thr Met Ser Val Gly Lys Val Phe His Pro Gly Ile Ser Ser Asn

130	135	140	
His Ser Asp Asp Ser Pro Tyr Ser Trp Ser Phe Pro Pro Tyr His Pro			
145	150	155	160
Ser Ser Glu Lys Tyr Glu Asn Thr Lys Thr Cys Arg Gly Pro Asp Gly			
	165	170	175
Glu Leu His Ala Asn Leu Leu Cys Pro Val Asp Val Val Asp Val Pro			
	180	185	190
Glu Gly Thr Leu Pro Asp Lys Gln Ser Thr Glu Glu Ala Ile Arg Leu			
	195	200	205
Leu Glu Lys Met Lys Thr Ser Ala Ser Pro Phe Phe Leu Ala Val Gly			
	210	215	220
Tyr His Lys Pro His Ile Pro Phe Arg Tyr Pro Lys Glu Phe Gln Lys			
225	230	235	240
Leu Tyr Pro Leu Glu Asn Ile Thr Leu Ala Pro Asp Pro Glu Val Pro			
	245	250	255
Asp Gly Leu Pro Pro Val Ala Tyr Asn Pro Trp Met Asp Ile Arg Gln			
	260	265	270
Arg Glu Asp Val Gln Ala Leu Asn Ile Ser Val Pro Tyr Gly Pro Ile			
	275	280	285
Pro Val Asp Phe Gln Arg Lys Ile Arg Gln Ser Tyr Phe Ala Ser Val			
	290	295	300
Ser Tyr Leu Asp Thr Gln Val Gly His Leu Leu Ser Ala Leu Asp Asp			
305	310	315	320
Leu Gln Leu Ala Asn Ser Thr Ile Val Ala Phe Thr Ser Asp His Gly			
	325	330	335
Trp Ala Leu Gly Glu His Gly Glu Trp Ala Lys Tyr Ser Asn Phe Asp			
	340	345	350
Val Ala Thr Arg Val Pro Leu Met Phe Tyr Val Pro Gly Arg Thr Ala			
	355	360	365
Ser Leu Pro Glu Ala Asp Glu Lys Leu Phe Pro Tyr Val Asp Pro Phe			
	370	375	380

His Ser Ala Ser Glu Leu Met Glu Pro Gly Arg Gln Ser Met Asp Leu

385 390 395 400

Val Glu Leu Val Ser Leu Phe Pro Thr Leu Ala Gly Leu Ala Gly Leu

405 410 415

Gln Val Pro Pro Arg Cys Pro Val Pro Ser Phe His Val Glu Leu Cys

420 425 430

Arg Glu Gly Lys Ser Leu Leu Lys His Phe Arg Phe His Gly Leu Glu

435 440 445

Glu Asp Pro Tyr Leu Pro Gly Asn Pro Arg Glu Leu Ile Ala Tyr Ser

450 455 460

Gln Tyr Pro Arg Pro Ala Asp Phe Pro Gln Trp Asn Ser Asp Lys Pro

465 470 475 480

Ser Leu Lys Tyr Ile Lys Ile Met Gly Tyr Ser Ile Arg Thr Val Asp

485 490 495

Tyr Arg Tyr Thr Val Trp Val Gly Phe Asn Pro Asp Glu Phe Leu Ala

500 505 510

Asn Phe Ser Asp Ile His Ala Gly Glu Leu Tyr Phe Val Asp Ser Asp

515 520 525

Pro Leu Gln Asp His Asn Met Tyr Asn Asp Ser Gln Gly Gly Glu Leu

530 535 540

Phe Gln Ser Leu Met Pro

545 550

<210> 33

<211> 550

<212> PRT

<213> Macaca mulatta (Rhesus macaque)

<220><223> TR/G7NRX7_MACMU

<400> 33

Met Pro Thr Pro Gly Ser Gly Arg Gly Phe Leu Trp Leu Gly Leu Val

1 5 10 15

Leu Ser Ser Val Cys Val Ala Leu Gly Cys Glu Thr Gln Ala Asn Ser

20	25	30	
Thr Thr Asp Ala Leu Asn Ile Leu Leu Ile Ile Val Asp Asp Leu Arg			
35	40	45	
Pro Ser Leu Gly Cys Tyr Gly Asp Lys Leu Val Arg Ser Pro Asn Ile			
50	55	60	
Asp Gln Leu Ala Ser His Ser Leu Leu Phe Gln Asn Ala Phe Ala Gln			
65	70	75	80
Gln Ala Val Cys Ala Pro Ser Arg Val Ser Phe Leu Thr Gly Arg Arg			
85	90	95	
Pro Asp Thr Thr Arg Leu Tyr Asp Phe Asn Ser Tyr Trp Arg Val His			
100	105	110	
Ala Gly Asn Phe Ser Thr Ile Pro Gln Tyr Phe Lys Glu Asn Gly Tyr			
115	120	125	
Val Thr Met Ser Val Gly Lys Val Phe His Pro Gly Ile Thr Ser Asn			
130	135	140	
His Thr Asp Asp Ser Pro Tyr Ser Trp Ser Phe Pro Pro Tyr His Pro			
145	150	155	160
Ser Ser Glu Lys Tyr Glu Asn Thr Lys Thr Cys Arg Gly Pro Asp Gly			
165	170	175	
Glu Leu His Ala Asn Leu Leu Cys Pro Val Asp Val Val Asp Val Pro			
180	185	190	
Glu Gly Thr Leu Pro Asp Lys Gln Ser Thr Glu Gln Ala Ile Gln Leu			
195	200	205	
Leu Glu Lys Met Lys Thr Ser Ala Ser Pro Phe Phe Leu Ala Val Gly			
210	215	220	
Tyr His Lys Pro His Ile Pro Phe Arg Tyr Pro Lys Glu Phe Gln Lys			
225	230	235	240
Leu Tyr Pro Leu Glu Asn Ile Thr Leu Ala Pro Asp Ser Glu Val Pro			
245	250	255	
Asp Gly Leu Pro Pro Val Ala Tyr Asn Pro Trp Met Asp Ile Arg Gln			
260	265	270	

Arg Glu Asp Val Gln Ala Leu Asn Ile Ser Val Pro Tyr Gly Pro Ile

275 280 285
Pro Val Glu Phe Gln Arg Lys Ile Arg Gln Ser Tyr Phe Ala Ser Val
290 295 300
Ser Tyr Leu Asp Thr Gln Val Gly Arg Leu Leu Ser Ala Leu Asp Asp
305 310 315 320
Leu Gln Leu Ala Asn Ser Thr Ile Val Ala Phe Thr Ser Asp His Gly
325 330 335
Trp Ala Leu Gly Glu His Gly Glu Trp Ala Lys Tyr Ser Asn Phe Asp

340 345 350
Val Ala Thr His Val Pro Leu Met Phe Tyr Val Pro Gly Arg Thr Ala
355 360 365
Ser Leu Pro Glu Ala Gly Glu Lys Leu Phe Pro Tyr Leu Asp Pro Phe
370 375 380
Asp Ser Ala Ser Glu Leu Met Glu Pro Gly Arg Gln Ser Met Asp Leu
385 390 395 400
Val Glu Leu Val Ser Leu Phe Pro Thr Leu Ala Gly Leu Ala Gly Leu

405 410 415
Gln Val Pro Pro Arg Cys Pro Val Pro Ser Phe His Val Glu Leu Cys
420 425 430
Arg Glu Gly Lys Asn Leu Leu Lys His Phe Arg Phe Arg Asp Leu Glu
435 440 445
Glu Asp Pro Tyr Leu Pro Gly Asn Pro Arg Glu Leu Ile Ala Tyr Ser
450 455 460
Gln Tyr Pro Arg Pro Ala Asp Phe Pro Gln Trp Asn Ser Asp Lys Pro

465 470 475 480
Ser Leu Lys Asp Ile Lys Ile Met Gly Tyr Ser Ile Arg Thr Ile Asp
485 490 495
Tyr Arg Tyr Thr Val Trp Val Gly Phe Asn Pro Asp Glu Phe Leu Ala
500 505 510
Asn Phe Ser Asp Ile His Ala Gly Glu Leu Tyr Phe Val Asp Ser Asp

515 520 525
 Pro Leu Gln Asp His Asn Met Tyr Asn Asp Ser Gln Gly Gly Asp Leu

 530 535 540
 Leu Gln Leu Leu Met Pro
 545 550
 <210> 34
 <211> 550
 <212> PRT
 <213> Macaca fascicularis (Crab-eating macaque; Cynomologous monkey)
 <220><223> RT/G7Q1V9_MACFA
 <400> 34
 Met Pro Thr Pro Gly Ser Gly Arg Gly Phe Leu Trp Leu Gly Leu Val
 1 5 10 15
 Leu Ser Ser Val Cys Val Ala Leu Gly Cys Glu Thr Gln Ala Asn Ser
 20 25 30

 Thr Thr Asp Ala Leu Asn Ile Leu Leu Ile Ile Val Asp Asp Leu Arg
 35 40 45
 Pro Ser Leu Gly Cys Tyr Gly Asp Lys Leu Val Arg Ser Pro Asn Ile
 50 55 60
 Asp Gln Leu Ala Ser His Ser Leu Leu Phe Gln Asn Ala Phe Ala Gln
 65 70 75 80
 Gln Ala Val Cys Ala Pro Ser Arg Val Ser Phe Leu Thr Gly Arg Arg
 85 90 95

 Pro Asp Thr Thr Arg Leu Tyr Asp Phe Asn Ser Tyr Trp Arg Val His
 100 105 110
 Ala Gly Asn Phe Ser Thr Ile Pro Gln Tyr Phe Lys Glu Asn Gly Tyr
 115 120 125
 Val Thr Met Ser Val Gly Lys Val Phe His Pro Gly Ile Thr Ser Asn
 130 135 140
 His Thr Asp Asp Ser Pro Tyr Ser Trp Ser Phe Pro Pro Tyr His Pro
 145 150 155 160

Ser Ser Glu Lys Tyr Glu Asn Thr Lys Thr Cys Arg Gly Pro Asp Gly
165 170 175

Glu Leu His Ala Asn Leu Leu Cys Pro Val Asp Val Val Asp Val Pro
180 185 190

Glu Gly Thr Leu Pro Asp Lys Gln Ser Thr Glu Gln Ala Ile Gln Leu
195 200 205

Leu Glu Lys Met Lys Thr Ser Ala Ser Pro Phe Phe Leu Ala Val Gly
210 215 220

Tyr His Lys Pro His Ile Pro Phe Arg Tyr Pro Lys Glu Phe Gln Lys
225 230 235 240

Leu Tyr Pro Leu Glu Asn Ile Thr Leu Ala Pro Asp Ser Glu Val Pro
245 250 255

Asp Gly Leu Pro Pro Val Ala Tyr Asn Pro Trp Met Asp Ile Arg Gln
260 265 270

Arg Glu Asp Val Gln Ala Leu Asn Ile Ser Val Pro Tyr Gly Pro Ile
275 280 285

Pro Val Glu Phe Gln Arg Lys Ile Arg Gln Ser Tyr Phe Ala Ser Val
290 295 300

Ser Tyr Leu Asp Thr Gln Val Gly His Leu Leu Ser Ala Leu Asp Asp
305 310 315 320

Leu Gln Leu Ala Asn Ser Thr Ile Val Ala Phe Thr Ser Asp His Gly
325 330 335

Trp Ala Leu Gly Glu His Gly Glu Trp Ala Lys Tyr Ser Asn Phe Asp
340 345 350

Val Ala Thr His Val Pro Leu Met Phe Tyr Val Pro Gly Arg Thr Ala
355 360 365

Ser Leu Pro Glu Ala Gly Glu Lys Leu Phe Pro Tyr Leu Asp Pro Phe
370 375 380

Asp Ser Ala Ser Glu Leu Met Glu Pro Gly Arg Gln Ser Met Asp Leu
385 390 395 400

Val Glu Leu Val Ser Leu Phe Pro Thr Leu Ala Gly Leu Ala Gly Leu

405 410 415
 Gln Val Pro Pro Arg Cys Pro Val Pro Ser Phe His Val Glu Leu Cys
 420 425 430
 Arg Glu Gly Lys Asn Leu Leu Lys His Phe Arg Phe Arg Asp Leu Glu
 435 440 445
 Glu Asp Pro Tyr Leu Pro Gly Asn Pro Arg Glu Leu Ile Ala Tyr Ser
 450 455 460
 Gln Tyr Pro Arg Pro Ala Asp Phe Pro Gln Trp Asn Ser Asp Lys Pro
 465 470 475 480

 Ser Leu Lys Asp Ile Lys Ile Met Gly Tyr Ser Ile Arg Thr Ile Asp
 485 490 495
 Tyr Arg Tyr Thr Val Trp Val Gly Phe Asn Pro Asp Glu Phe Leu Ala
 500 505 510
 Asn Phe Ser Asp Ile His Ala Gly Glu Leu Tyr Phe Val Asp Ser Asp
 515 520 525
 Pro Leu Gln Asp His Asn Met Tyr Asn Asp Ser Gln Gly Gly Asp Leu
 530 535 540

 Phe Gln Leu Leu Met Pro
 545 550
 <210> 35
 <211> 550
 <212> PRT
 <213> Pongo abelii (Sumatran orangutan)
 <220><223> TR/H2PX10_PONAB
 <400> 35
 Met Pro Pro Pro Arg Thr Gly Arg Gly Leu Leu Trp Leu Gly Leu Val
 1 5 10 15
 Leu Ser Ser Val Cys Val Ala Leu Gly Ser Glu Thr Gln Ala Asp Ser
 20 25 30
 Thr Thr Asp Gly Leu Asn Val Leu Leu Ile Ile Val Asp Asp Leu Arg
 35 40 45

Pro Ser Leu Gly Cys Tyr Gly Asp Lys Leu Val Arg Ser Pro Asn Ile
50 55 60

Asp Gln Leu Ala Ser His Ser Leu Leu Phe Gln Asn Ala Phe Ala Gln
65 70 75 80

Gln Ala Val Cys Ala Pro Ser Arg Val Ser Phe Leu Thr Gly Arg Arg
85 90 95

Pro Asp Thr Thr Arg Leu Tyr Asp Phe Asn Ser Tyr Trp Arg Val His
100 105 110

Ala Gly Asn Phe Ser Thr Ile Pro Gln Tyr Phe Lys Glu Asn Gly Tyr
115 120 125

Val Thr Met Ser Val Gly Lys Val Phe His Pro Gly Ile Ser Ser Asn
130 135 140

His Thr Asp Asp Ser Pro Tyr Ser Trp Ser Phe Pro Pro Tyr His Pro
145 150 155 160

Ser Ser Glu Lys Tyr Glu Asn Thr Lys Thr Cys Arg Gly Pro Asp Gly
165 170 175

Glu Leu His Ala Asn Leu Ile Ala Lys Lys Met Cys Trp Met Phe Pro
180 185 190

Arg Ala Pro Cys Cys Asp Lys Gln Ser Thr Glu Gln Ala Ile Gln Leu
195 200 205

Leu Glu Lys Met Lys Thr Ser Ala Ser Pro Phe Phe Leu Ala Val Gly
210 215 220

Tyr His Lys Pro His Ile Pro Phe Arg Tyr Pro Lys Glu Phe Gln Lys
225 230 235 240

Leu Tyr Pro Leu Glu Asn Ile Thr Leu Ala Pro Asp Pro Glu Val Pro
245 250 255

Asp Gly Leu Pro Pro Val Ala Tyr Asn Pro Trp Met Asp Ile Arg Gln
260 265 270

Arg Glu Asp Val Gln Ala Leu Asn Ile Ser Val Pro Tyr Gly Pro Ile
275 280 285

Pro Val Asp Phe Gln Gln Lys Ile Arg Gln Ser Tyr Phe Ala Ser Val

290	295	300	
Ser Tyr Leu Asp Thr Gln Val Gly Arg Leu Leu Ser Thr Leu Asp Asp			
305	310	315	320
Leu Gln Leu Ala Asn Ser Thr Ile Ile Ala Phe Thr Ser Asp His Gly			
	325	330	335
Trp Ala Leu Gly Glu His Gly Glu Trp Ala Lys Tyr Ser Asn Phe Asp			
	340	345	350
Val Ala Thr His Val Pro Leu Met Phe Tyr Val Pro Gly Arg Thr Ala			
	355	360	365
Ser Leu Pro Glu Ala Gly Glu Lys Leu Phe Pro Tyr Leu Asp Pro Phe			
	370	375	380
Asp Ser Ala Ser Glu Leu Met Glu Pro Gly Arg Gln Ser Met Asp Leu			
385	390	395	400
Val Glu Leu Val Ser Leu Phe Pro Thr Leu Ala Gly Leu Ala Gly Leu			
	405	410	415
Gln Val Pro Pro Arg Cys Pro Val Pro Ser Phe His Val Glu Leu Cys			
	420	425	430
Arg Glu Gly Lys Asn Leu Leu Lys His Phe Arg Phe Arg Asp Leu Glu			
	435	440	445
Glu Asp Pro Tyr Leu Pro Gly Asn Pro Arg Glu Leu Ile Ala Tyr Ser			
	450	455	460
Gln Tyr Pro Arg Pro Ala Asp Ile Pro Gln Trp Asn Ser Asp Lys Pro			
465	470	475	480
Ser Leu Lys Asp Ile Lys Ile Met Gly Tyr Ser Ile Arg Thr Ile Asp			
	485	490	495
Tyr Arg Tyr Thr Val Trp Val Gly Phe Asn Pro Asp Glu Phe Leu Ala			
	500	505	510
Asn Phe Ser Asp Ile His Ala Gly Glu Leu Tyr Phe Val Asp Ser Asp			
	515	520	525
Pro Leu Gln Asp His Asn Met Tyr Asn Asp Ser Gln Gly Gly Asp Leu			
	530	535	540

Phe Gln Leu Leu Met Pro

545 550

<210> 36

<211> 550

<212> PRT

<213> Chlorocebus sabaeus (Green monkey)

<220><223> TR/A0A0D9R4D1_CHLSB

<400> 36

Met Pro Thr Pro Gly Ser Gly Arg Gly Phe Leu Trp Leu Gly Leu Val

1 5 10 15

Leu Ser Ser Val Cys Val Ala Leu Gly Ser Glu Thr Gln Ala Asn Ser

20 25 30

Thr Thr Asp Ala Leu Asn Ile Leu Leu Ile Ile Val Asp Asp Leu Arg

35 40 45

Pro Ser Leu Gly Cys Tyr Gly Asp Lys Leu Val Arg Ser Pro Asn Ile

50 55 60

Asp Gln Leu Ala Ser His Ser Leu Leu Phe Gln Asn Ala Phe Ala Gln

65 70 75 80

Gln Ala Val Cys Ala Pro Ser Arg Val Ser Phe Leu Thr Gly Arg Arg

85 90 95

Pro Asp Thr Thr Arg Leu His Asn Phe Asn Ser Tyr Trp Arg Val His

100 105 110

Ala Gly Asn Phe Ser Thr Ile Pro Gln Tyr Phe Lys Glu Asn Gly Tyr

115 120 125

Val Thr Met Ser Val Gly Lys Val Phe His Pro Gly Ile Thr Ser Asn

130 135 140

His Thr Asp Asp Ser Pro Tyr Ser Trp Ser Phe Pro Pro Tyr His Pro

145 150 155 160

Ser Ser Glu Lys Tyr Glu Asn Thr Lys Thr Cys Arg Gly Pro Asp Gly

165 170 175

Glu Leu His Ala Asn Leu Leu Cys Pro Val Asp Val Val Asp Val Pro

180 185 190
 Glu Gly Thr Leu Pro Asp Lys Gln Ser Thr Glu Gln Ala Ile Gln Leu
 195 200 205
 Leu Glu Lys Met Lys Thr Ser Ala Ser Pro Phe Phe Leu Ala Val Gly
 210 215 220
 Tyr His Lys Pro His Ile Pro Phe Arg Tyr Pro Lys Glu Phe Gln Lys
 225 230 235 240
 Leu Tyr Pro Leu Glu Asn Ile Thr Leu Ala Pro Asp Ser Glu Val Pro
 245 250 255

 Asp Gly Leu Pro Pro Val Ala Tyr Asn Pro Trp Met Asp Ile Arg Gln
 260 265 270
 Arg Glu Asp Val Gln Ala Leu Asn Ile Ser Val Pro Tyr Gly Pro Ile
 275 280 285
 Pro Val Glu Phe Gln Arg Lys Ile Arg Gln Ser Tyr Phe Ala Ser Val
 290 295 300
 Ser Tyr Leu Asp Thr Gln Val Gly Arg Leu Leu Ser Ala Leu Asp Asp
 305 310 315 320

 Leu Gln Leu Ala Asn Ser Thr Ile Val Ala Phe Thr Ser Asp His Gly
 325 330 335
 Trp Ala Leu Gly Glu His Gly Glu Trp Ala Lys Tyr Ser Asn Phe Asp
 340 345 350
 Val Ala Thr His Val Pro Leu Met Phe Tyr Val Pro Gly Arg Thr Ala
 355 360 365
 Ser Leu Pro Glu Ala Gly Glu Lys Leu Phe Pro Tyr Leu Asp Pro Phe
 370 375 380

 Asp Ser Ala Ser Glu Leu Met Glu Pro Gly Arg Gln Ser Met Asp Leu
 385 390 395 400
 Val Glu Leu Val Ser Leu Phe Pro Thr Leu Ala Gly Leu Ala Gly Leu
 405 410 415
 Gln Val Pro Pro Arg Cys Pro Val Pro Ser Phe His Val Glu Leu Cys
 420 425 430

Arg Glu Gly Lys Asn Leu Leu Lys His Phe Arg Phe Arg Asp Leu Glu
435 440 445

Glu Asp Pro Tyr Leu Pro Gly Asn Pro Arg Glu Leu Ile Ala Tyr Ser
450 455 460

Gln Tyr Pro Arg Pro Ala Asp Phe Pro Gln Trp Asn Ser Asp Lys Pro
465 470 475 480

Asn Leu Lys Asp Ile Lys Ile Met Gly Tyr Ser Ile Arg Thr Ile Asp
485 490 495

Tyr Arg Tyr Thr Val Trp Val Gly Phe Asn Pro Asp Glu Phe Leu Ala
500 505 510

Asn Phe Ser Asp Ile His Ala Gly Glu Leu Tyr Phe Val Asp Ser Asp
515 520 525

Pro Leu Gln Asp His Asn Met Tyr Asn Asp Ser Gln Gly Gly Asp Leu
530 535 540

Phe Gln Leu Leu Met Pro
545 550

<210> 37

<211> 550

<212> PRT

<213> Nomascus leucogenys (Northern white-cheeked gibbon)

<220><223> TR/G1RST8/G1RST8_NOMLE

<220><221> misc_feature

<222> (24)..(24)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220><221> misc_feature

<222> (163)..(168)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<400> 37

Met Ser Pro Pro Arg Thr Gly Gln Gly Leu Leu Trp Leu Gly Val Val
1 5 10 15

Leu Ser Ser Val Cys Val Ala Xaa Val Thr Ser Pro Lys Pro Pro Ser
20 25 30

Phe Val Asp Ala Leu Asn Val Leu Leu Ile Ile Val Asp Asp Leu Arg
 35 40 45

 Pro Ser Leu Gly Cys Tyr Gly Asp Lys Leu Val Arg Ser Pro Asn Ile
 50 55 60
 Asp Gln Leu Ala Ser His Ser Leu Leu Phe Gln Asn Ala Phe Ala Gln
 65 70 75 80
 Gln Ala Val Cys Ala Pro Ser Arg Val Ser Phe Leu Thr Gly Arg Arg
 85 90 95
 Pro Asp Thr Thr Arg Leu Tyr Asp Phe Asn Ser Tyr Trp Arg Val His
 100 105 110

 Ala Gly Asn Phe Ser Thr Ile Pro Gln Tyr Phe Lys Glu Asn Gly Tyr
 115 120 125
 Val Thr Met Ser Val Gly Lys Val Phe His Pro Gly Ile Ser Ser Asn
 130 135 140
 His Thr Asp Asp Ser Pro Tyr Ser Trp Ser Phe Pro Pro Tyr His Pro
 145 150 155 160
 Ser Ser Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Lys Thr Cys Arg Gly Pro Asp Gly
 165 170 175

 Glu Leu His Ala Asn Leu Leu Cys Pro Val Asp Val Leu Asp Val Pro
 180 185 190
 Glu Gly Thr Leu Pro Asp Lys Gln Ser Thr Glu Gln Ala Ile Gln Leu
 195 200 205
 Leu Glu Lys Met Lys Thr Ser Ala Ser Pro Phe Phe Leu Ala Val Gly
 210 215 220
 Tyr His Lys Pro His Ile Pro Phe Arg Tyr Pro Lys Glu Phe Gln Lys
 225 230 235 240

 Leu Tyr Pro Leu Glu Asn Ile Thr Leu Ala Pro Asp Pro Glu Val Pro
 245 250 255
 Asp Gly Leu Pro Pro Val Ala Tyr Asn Pro Trp Met Asp Ile Arg Gln
 260 265 270
 Arg Glu Asp Val Gln Ala Leu Asn Ile Ser Val Pro Tyr Gly Pro Ile

275 280 285
 Pro Val Asp Phe Gln Arg Lys Ile Arg Gln Ser Tyr Phe Ala Ser Val
 290 295 300

 Ser Tyr Leu Asp Thr Gln Val Gly Arg Leu Leu Ser Ala Leu Asp Asp
 305 310 315 320
 Leu Gln Leu Ala Asn Ser Thr Ile Ile Ala Phe Thr Ser Asp His Gly
 325 330 335
 Trp Ala Leu Gly Glu His Gly Glu Trp Ala Lys Tyr Ser Asn Phe Asp
 340 345 350
 Val Ala Thr His Val Pro Leu Met Phe Tyr Val Pro Gly Arg Thr Ala
 355 360 365

 Ser Leu Pro Glu Ala Gly Glu Lys Leu Phe Pro Tyr Leu Asp Pro Phe
 370 375 380
 Asp Ser Ala Ser Glu Leu Met Glu Pro Gly Arg Gln Ser Met Asp Leu
 385 390 395 400
 Val Glu Leu Val Ser Leu Phe Pro Thr Leu Ala Gly Leu Ala Gly Leu
 405 410 415
 Gln Val Pro Pro Arg Cys Pro Val Pro Ser Phe His Val Glu Leu Cys
 420 425 430

 Arg Glu Gly Lys Asn Leu Leu Lys His Phe Arg Phe Arg Asp Leu Glu
 435 440 445
 Glu Asp Pro Tyr Leu Pro Gly Asn Pro Arg Glu Leu Ile Ala Tyr Ser
 450 455 460
 Gln Tyr Pro Arg Pro Ala Asp Ile Pro Gln Trp Asn Ser Asp Lys Pro
 465 470 475 480
 Ser Leu Lys Asp Ile Lys Ile Met Gly Tyr Ser Ile Arg Thr Ile Asp
 485 490 495

 Tyr Arg Tyr Thr Val Trp Val Gly Phe Ser Pro Asp Glu Phe Leu Ala
 500 505 510
 Asn Phe Ser Asp Ile His Ala Gly Glu Leu Tyr Phe Val Asp Ser Asp
 515 520 525

Pro Leu Gln Asp His Asn Met Tyr Asn Asp Ser Gln Gly Gly Asp Leu
530 535 540

Phe Gln Leu Leu Met Pro
545 550

<210> 38
<211> 550
<212> PRT
<213> Macaca mulatta (Rhesus macaque)

<220><223> UPI0000D9F625
<400> 38

Met Pro Thr Pro Gly Ser Gly Arg Gly Phe Leu Trp Leu Gly Leu Val
1 5 10 15
Leu Ser Ser Val Cys Val Ala Leu Gly Cys Glu Thr Gln Ala Asn Ser
20 25 30
Thr Thr Asp Ala Leu Asn Ile Leu Leu Ile Ile Val Asp Asp Leu Arg
35 40 45
Pro Ser Leu Gly Cys Tyr Gly Asp Lys Leu Val Arg Ser Pro Asn Ile
50 55 60

Asp Gln Leu Ala Ser His Ser Leu Leu Phe Gln Asn Ala Phe Ala Gln
65 70 75 80
Gln Ala Val Cys Ala Pro Ser Arg Val Ser Phe Leu Thr Gly Arg Arg
85 90 95
Pro Asp Thr Thr Arg Leu Tyr Asp Phe Asn Ser Tyr Trp Arg Val His
100 105 110
Ala Gly Asn Phe Ser Thr Ile Pro Gln Tyr Phe Lys Glu Asn Gly Tyr
115 120 125

Val Thr Met Ser Val Gly Lys Val Phe His Pro Gly Ile Thr Ser Asn
130 135 140
His Thr Asp Asp Ser Pro Tyr Ser Trp Ser Phe Pro Pro Tyr His Pro
145 150 155 160
Ser Ser Glu Lys Tyr Glu Asn Thr Lys Thr Cys Arg Gly Pro Asp Gly
165 170 175

Glu Leu His Ala Asn Leu Leu Cys Pro Val Asp Val Val Asp Val Pro
180 185 190

Glu Gly Thr Leu Pro Asp Lys Gln Ser Thr Glu Gln Ala Ile Gln Leu
195 200 205

Leu Glu Lys Met Lys Thr Ser Ala Ser Pro Phe Phe Leu Ala Val Gly
210 215 220

Tyr His Lys Pro His Ile Pro Phe Arg Tyr Pro Lys Glu Phe Gln Lys
225 230 235 240

Leu Tyr Pro Leu Glu Asn Ile Thr Leu Ala Pro Asp Ser Glu Val Pro
245 250 255

Asp Gly Leu Pro Pro Val Ala Tyr Asn Pro Trp Met Asp Ile Arg Gln
260 265 270

Arg Glu Asp Val Gln Ala Leu Asn Ile Ser Val Pro Tyr Gly Pro Ile
275 280 285

Pro Val Glu Phe Gln Arg Lys Ile Arg Gln Ser Tyr Phe Ala Ser Val
290 295 300

Ser Tyr Leu Asp Thr Gln Val Gly His Leu Leu Ser Ala Leu Asp Asp
305 310 315 320

Leu Gln Leu Ala Asn Ser Thr Ile Val Ala Phe Thr Ser Asp His Gly
325 330 335

Trp Ala Leu Gly Glu His Gly Glu Trp Ala Lys Tyr Ser Asn Phe Asp
340 345 350

Val Ala Thr His Val Pro Leu Met Phe Tyr Val Pro Gly Arg Thr Ala
355 360 365

Ser Leu Pro Glu Ala Gly Glu Lys Leu Phe Pro Tyr Leu Asp Pro Phe
370 375 380

Asp Ser Ala Ser Glu Leu Met Glu Pro Gly Arg Gln Ser Met Asp Leu
385 390 395 400

Val Glu Leu Val Ser Leu Phe Pro Thr Leu Ala Gly Leu Ala Gly Leu
405 410 415

Gln Val Pro Pro Arg Cys Pro Val Pro Ser Phe His Val Glu Leu Cys

420 425 430
 Arg Glu Gly Lys Asn Leu Leu Lys His Phe Arg Phe Arg Asp Leu Glu
 435 440 445
 Glu Asp Pro Tyr Leu Pro Gly Asn Pro Arg Glu Leu Ile Ala Tyr Ser
 450 455 460
 Gln Tyr Pro Arg Pro Ala Asp Phe Pro Gln Trp Asn Ser Asp Lys Pro
 465 470 475 480
 Ser Leu Lys Asp Ile Lys Ile Met Gly Tyr Ser Ile Arg Thr Ile Asp
 485 490 495
 Tyr Arg Tyr Thr Val Trp Val Gly Phe Asn Pro Asp Glu Phe Leu Ala
 500 505 510

Asn Phe Ser Asp Ile His Ala Gly Glu Leu Tyr Phe Val Asp Ser Asp
 515 520 525
 Pro Leu Gln Asp His Asn Met Tyr Asn Asp Ser Gln Gly Gly Asp Leu
 530 535 540
 Leu Gln Leu Leu Met Pro
 545 550

<210> 39

<211> 550

<212> PRT

<213> Pan paniscus (Pygmy chimpanzee; Bonobo)

<220><223> UPI0000274358B

<400> 39

Met Pro Pro Pro Arg Thr Gly Arg Gly Leu Leu Trp Leu Gly Leu Val
 1 5 10 15

Leu Ser Ser Val Cys Val Ala Leu Gly Ser Glu Thr Gln Ala Asn Ser
 20 25 30
 Thr Thr Asp Ala Leu Asn Val Leu Leu Ile Ile Val Asp Asp Leu Arg
 35 40 45
 Pro Ser Leu Gly Cys Tyr Gly Asp Lys Leu Val Arg Ser Pro Asn Ile
 50 55 60
 Asp Gln Leu Ala Ser His Ser Leu Leu Phe Gln Asn Ala Phe Ala Gln

65				70				75				80			
Gln	Ala	Val	Cys	Ala	Pro	Ser	Arg	Val	Ser	Phe	Leu	Thr	Gly	Arg	Arg
85				90				95							
Pro	Asp	Thr	Thr	Arg	Leu	Tyr	Asp	Phe	Asn	Ser	Tyr	Trp	Arg	Val	His
100				105				110							
Ala	Gly	Asn	Phe	Ser	Thr	Ile	Pro	Gln	Tyr	Phe	Lys	Glu	Asn	Gly	Tyr
115				120				125							
Val	Thr	Met	Ser	Val	Gly	Lys	Val	Phe	His	Pro	Gly	Ile	Ser	Ser	Asn
130				135				140							
His	Thr	Asp	Asp	Ser	Pro	Tyr	Ser	Trp	Ser	Phe	Pro	Pro	Tyr	His	Pro
145				150				155				160			
Ser	Ser	Glu	Lys	Tyr	Glu	Asn	Thr	Lys	Thr	Cys	Arg	Gly	Pro	Asp	Gly
165				170				175							
Glu	Leu	His	Ala	Asn	Leu	Leu	Cys	Pro	Val	Asp	Val	Leu	Asp	Val	Pro
180				185				190							
Glu	Gly	Thr	Leu	Pro	Asp	Lys	Gln	Ser	Thr	Glu	Gln	Ala	Ile	Arg	Leu
195				200				205							
Leu	Glu	Lys	Met	Lys	Thr	Ser	Ala	Ser	Pro	Phe	Phe	Leu	Ala	Val	Gly
210				215				220							
Tyr	His	Lys	Pro	His	Ile	Pro	Phe	Arg	Tyr	Pro	Lys	Glu	Phe	Gln	Lys
225				230				235				240			
Leu	Tyr	Pro	Leu	Glu	Asn	Ile	Thr	Leu	Ala	Pro	Asp	Pro	Glu	Val	Pro
245				250				255							
Asp	Gly	Leu	Pro	Pro	Val	Ala	Tyr	Asn	Pro	Trp	Met	Asp	Ile	Arg	Gln
260				265				270							
Arg	Glu	Asp	Val	Gln	Ala	Leu	Asn	Ile	Ser	Val	Pro	Tyr	Gly	Pro	Ile
275				280				285							
Pro	Val	Asp	Phe	Gln	Arg	Lys	Ile	Arg	Gln	Ser	Tyr	Phe	Ala	Ser	Val
290				295				300							
Ser	Tyr	Leu	Asp	Thr	Gln	Val	Gly	Arg	Leu	Leu	Ser	Ala	Leu	Asp	Asp
305				310				315				320			

Leu Gln Leu Ala Asn Ser Thr Ile Ile Ala Phe Thr Ser Asp His Gly
325 330 335

Trp Ala Leu Gly Glu His Gly Glu Trp Ala Lys Tyr Ser Asn Phe Asp
340 345 350

Val Ala Thr His Val Pro Leu Met Phe Tyr Val Pro Gly Arg Thr Ala
355 360 365

Ser Leu Pro Glu Ala Gly Glu Lys Leu Phe Pro Tyr Leu Asp Pro Phe
370 375 380

Asp Ser Ala Ser Gln Leu Met Glu Pro Gly Arg Gln Ser Met Asp Leu
385 390 395 400

Val Glu Leu Val Ser Leu Phe Pro Thr Leu Ala Gly Leu Ala Gly Leu
405 410 415

Gln Val Pro Pro Arg Cys Pro Val Pro Ser Phe His Val Glu Leu Cys
420 425 430

Arg Glu Gly Lys Asn Leu Leu Lys His Phe Arg Phe Arg Asp Leu Glu
435 440 445

Glu Asp Pro Tyr Leu Pro Gly Asn Pro Arg Glu Leu Ile Ala Tyr Ser
450 455 460

Gln Tyr Pro Arg Pro Ser Asp Ile Pro Gln Trp Asn Ser Asp Lys Pro
465 470 475 480

Ser Leu Lys Asp Ile Lys Ile Met Gly Tyr Ser Ile Arg Thr Ile Asp
485 490 495

Tyr Arg Tyr Thr Val Trp Val Gly Phe Asn Pro Asp Glu Phe Leu Ala
500 505 510

Asn Phe Ser Asp Ile His Ala Gly Glu Leu Tyr Phe Val Asp Ser Asp
515 520 525

Pro Leu Gln Asp His Asn Met Tyr Asn Asp Ser Gln Gly Gly Asp Leu
530 535 540

Phe Gln Leu Leu Met Pro
545 550

<210> 40

<211> 550

<212> PRT

<213> Papio Anubis (Olive baboon)

<220><223> UPI00027F6FC5

<400> 40

Met Pro Thr Pro Gly Ser Gly Arg Gly Phe Leu Trp Leu Gly Leu Val

1 5 10 15

Leu Ser Ser Val Cys Val Ala Leu Gly Cys Glu Met Gln Ala Asn Ser

20 25 30

Thr Thr Asp Ala Leu Asn Ile Leu Leu Ile Ile Val Asp Asp Leu Arg

35 40 45

Pro Ser Leu Gly Cys Tyr Gly Asp Lys Leu Val Arg Ser Pro Asn Ile

50 55 60

Asp Gln Leu Ala Ser His Ser Leu Leu Phe Gln Asn Ala Phe Ala Gln

65 70 75 80

Gln Ala Val Cys Ala Pro Ser Arg Val Ser Phe Leu Thr Gly Arg Arg

85 90 95

Pro Asp Thr Thr Arg Leu Tyr Asp Phe Asn Ser Tyr Trp Arg Val His

100 105 110

Ala Gly Asn Phe Ser Thr Ile Pro Gln Tyr Phe Lys Glu Asn Gly Tyr

115 120 125

Val Thr Met Ser Val Gly Lys Val Phe His Pro Gly Ile Thr Ser Asn

130 135 140

His Thr Asp Asp Ser Pro Tyr Ser Trp Ser Phe Pro Pro Tyr His Pro

145 150 155 160

Ser Ser Glu Lys Tyr Glu Asn Thr Lys Thr Cys Arg Gly Pro Asp Gly

165 170 175

Glu Leu His Ala Asn Leu Leu Cys Pro Val Asp Val Val Asp Val Pro

180 185 190

Glu Gly Thr Leu Pro Asp Lys Gln Ser Thr Glu Gln Ala Ile Gln Leu

195 200 205

Leu Glu Lys Met Lys Thr Ser Ala Ser Pro Phe Phe Leu Ala Val Gly

210	215	220	
Tyr His Lys Pro His Ile Pro Phe Arg Tyr Pro Lys Glu Phe Gln Lys			
225	230	235	240
Leu Tyr Pro Leu Glu Asn Ile Thr Leu Ala Pro Asp Ser Glu Val Pro			
	245	250	255
Asp Gly Leu Pro Pro Val Ala Tyr Asn Pro Trp Met Asp Ile Arg Gln			
	260	265	270
Arg Glu Asp Val Gln Ala Leu Asn Ile Ser Val Pro Tyr Gly Pro Ile			
	275	280	285
Pro Val Glu Phe Gln Arg Lys Ile Arg Gln Ser Tyr Phe Ala Ser Val			
	290	295	300
Ser Tyr Leu Asp Thr Gln Val Gly Arg Leu Leu Ser Ala Leu Asp Asp			
305	310	315	320
Leu Gln Leu Ala Asn Ser Thr Ile Val Ala Phe Thr Ser Asp His Gly			
	325	330	335
Trp Ala Leu Gly Glu His Gly Glu Trp Ala Lys Tyr Ser Asn Phe Asp			
	340	345	350
Val Ala Thr His Val Pro Leu Met Phe Tyr Val Pro Gly Arg Thr Ala			
	355	360	365
Ser Leu Pro Glu Ala Gly Glu Lys Leu Phe Pro Tyr Leu Asp Pro Phe			
	370	375	380
Asp Ser Ala Ser Glu Leu Met Glu Pro Gly Arg Gln Ser Met Asp Leu			
385	390	395	400
Val Glu Leu Val Ser Leu Phe Pro Thr Leu Ala Gly Leu Ala Gly Leu			
	405	410	415
Gln Val Pro Pro Arg Cys Pro Val Pro Ser Phe His Val Glu Leu Cys			
	420	425	430
Arg Glu Gly Lys Asn Leu Leu Lys His Phe Arg Phe Arg Asp Leu Glu			
	435	440	445
Glu Asp Pro Tyr Leu Pro Gly Asn Pro Arg Glu Leu Ile Ala Tyr Ser			
	450	455	460

Gln Tyr Pro Arg Pro Ala Asp Phe Pro Gln Trp Asn Ser Asp Lys Pro
465 470 475 480

Ser Leu Lys Asp Ile Lys Ile Met Gly Tyr Ser Ile Arg Thr Ile Asp
485 490 495

Tyr Arg Tyr Thr Val Trp Val Gly Phe Asn Pro Asp Glu Phe Leu Ala
500 505 510

Asn Phe Ser Asp Ile His Ala Gly Glu Leu Tyr Phe Val Asp Ser Asp
515 520 525

Pro Leu Gln Asp His Asn Met Tyr Asn Asp Ser Gln Gly Gly Asp Leu
530 535 540

Phe Gln Leu Leu Met Pro
545 550

<210> 41

<211> 550

<212> PRT

<213> Saimiri boliviensis (Bolivian squirrel monkey)

<220><223> UPI00027FAE03

<400> 41

Met Pro Pro Pro Arg Thr Gly Leu Cys Leu Leu Leu Gly Leu Val
1 5 10 15

Leu Gly Ser Val Cys Val Thr Leu Gly Ser Gln Ala Gln Ala Asn Ser
20 25 30

Thr Thr Asp Ala Leu Asn Val Leu Leu Ile Ile Val Asp Asp Leu Arg

35 40 45

Pro Ser Leu Gly Cys Tyr Gly Asp Lys Leu Val Arg Ser Pro Asn Ile
50 55 60

Asp Gln Leu Ala Ser His Ser Leu Leu Phe Gln Asn Ala Phe Val Gln
65 70 75 80

Gln Ala Val Cys Ala Pro Ser Arg Val Ser Phe Leu Thr Gly Arg Arg
85 90 95

Pro Asp Thr Thr Arg Leu Tyr Asp Phe Asn Ser Tyr Trp Arg Val His

100 105 110
 Ala Gly Asn Phe Ser Thr Ile Pro Gln Tyr Phe Lys Asp Asn Gly Tyr
 115 120 125
 Val Thr Met Ser Val Gly Lys Val Phe His Pro Gly Ile Ser Ser Asn
 130 135 140
 His Ser Asp Asp Ser Pro Tyr Ser Trp Ser Phe Pro Pro Tyr His Pro
 145 150 155 160
 Ser Ser Glu Lys Tyr Glu Asn Thr Lys Thr Cys Arg Gly Pro Asp Gly

 165 170 175
 Glu Leu His Ala Asn Leu Leu Cys Pro Val Asp Val Val Asp Val Pro
 180 185 190
 Glu Gly Thr Leu Pro Asp Lys Gln Ser Thr Glu Glu Ala Ile Arg Leu
 195 200 205
 Leu Lys Lys Met Lys Thr Ser Ala Ser Pro Phe Phe Leu Ala Val Gly
 210 215 220
 Tyr His Lys Pro His Ile Pro Phe Arg Tyr Pro Lys Glu Phe Gln Lys

 225 230 235 240
 Leu Tyr Pro Leu Glu Asn Ile Thr Leu Ala Pro Asp Pro Glu Val Pro
 245 250 255
 Asp Gly Leu Pro Pro Val Ala Tyr Asn Pro Trp Met Asp Ile Arg Gln
 260 265 270
 Arg Glu Asp Val Gln Ala Leu Asn Ile Ser Val Pro Tyr Gly Pro Ile
 275 280 285
 Pro Val Asp Phe Gln Arg Lys Ile Arg Gln Ser Tyr Phe Ala Ser Val

 290 295 300
 Ser Tyr Leu Asp Thr Gln Val Gly His Leu Leu Ser Ala Leu Asp Asp
 305 310 315 320
 Leu His Leu Ala Asn Ser Thr Ile Val Ala Phe Thr Ser Asp His Gly
 325 330 335
 Trp Ala Leu Gly Glu His Gly Glu Trp Ala Lys Tyr Ser Asn Phe Asp
 340 345 350

Val Ala Thr Arg Val Pro Leu Met Phe Tyr Val Pro Gly Arg Thr Ala

355 360 365
Ser Leu Pro Glu Thr Gly Glu Lys Leu Phe Pro Tyr Val Asp Pro Phe

370 375 380
His Ser Ala Ser Glu Leu Met Glu Pro Gly Arg Gln Ser Thr Asp Leu

385 390 395 400
Val Glu Leu Val Ser Leu Phe Pro Thr Leu Ala Gly Leu Ala Gly Leu

405 410 415
Gln Val Pro Pro Arg Cys Pro Val Pro Ser Phe His Ile Glu Leu Cys

420 425 430
Arg Glu Gly Lys Asn Leu Leu Lys His Phe Arg Phe His Gly Leu Glu

435 440 445
Glu Asp Pro Tyr Leu Pro Gly Asn Pro Arg Glu Leu Ile Ala Tyr Ser

450 455 460
Gln Tyr Pro Arg Pro Ala Asp Phe Pro Gln Gln Asn Ser Asp Lys Pro

465 470 475 480
Ser Leu Lys Tyr Ile Lys Ile Met Gly Tyr Ser Ile Arg Thr Val Asp

485 490 495
Tyr Arg Tyr Thr Val Trp Val Gly Phe Asn Pro Asp Glu Phe Leu Ala

500 505 510
Asn Phe Ser Asp Ile His Ala Gly Glu Leu Tyr Phe Val Asp Ser Asp

515 520 525
Pro Leu Gln Asp His Asn Met Tyr Asn Asp Ser Gln Gly Gly Glu Leu

530 535 540
Phe Gln Ser Leu Met Pro

545 550

<210> 42

<211> 550

<212> PRT

<213> Macaca fascicularis (Crab-eating macaque; Cynomologous monkey)

<220><223> UPI0003ABBF28

<400> 42

Met Pro Thr Pro Gly Ser Gly Arg Gly Phe Leu Trp Leu Gly Leu Val

1 5 10 15

Leu Ser Ser Val Cys Val Ala Leu Gly Cys Glu Thr Gln Ala Asn Ser

20 25 30

Thr Thr Asp Ala Leu Asn Ile Leu Leu Ile Ile Val Asp Asp Leu Arg

35 40 45

Pro Ser Leu Gly Cys Tyr Gly Asp Lys Leu Val Arg Ser Pro Asn Ile

50 55 60

Asp Gln Leu Ala Ser His Ser Leu Leu Phe Gln Asn Ala Phe Ala Gln

65 70 75 80

Glu Ala Val Cys Ala Pro Ser Arg Val Ser Phe Leu Thr Gly Arg Arg

85 90 95

Pro Asp Thr Thr Arg Leu Tyr Asp Phe Asn Ser Tyr Trp Arg Val His

100 105 110

Ala Gly Asn Phe Ser Thr Ile Pro Gln Tyr Phe Lys Glu Asn Gly Tyr

115 120 125

Val Thr Met Ser Val Gly Lys Val Phe His Pro Gly Ile Thr Ser Asn

130 135 140

His Thr Asp Asp Ser Pro Tyr Ser Trp Ser Phe Pro Pro Tyr His Pro

145 150 155 160

Ser Ser Glu Lys Tyr Glu Asn Thr Lys Thr Cys Arg Gly Pro Asp Gly

165 170 175

Glu Leu His Ala Asn Leu Leu Cys Pro Val Asp Val Val Asp Val Pro

180 185 190

Glu Gly Thr Leu Pro Asp Lys Gln Ser Thr Glu Gln Ala Ile Gln Leu

195 200 205

Leu Glu Lys Met Lys Thr Ser Ala Ser Pro Phe Phe Leu Ala Val Gly

210 215 220

Tyr His Lys Pro His Ile Pro Phe Arg Tyr Pro Lys Glu Phe Gln Lys

225 230 235 240

Leu Tyr Pro Leu Glu Asn Ile Thr Leu Ala Pro Asp Ser Glu Val Pro
 245 250 255
 Asp Gly Leu Pro Pro Val Ala Tyr Asn Pro Trp Met Asp Ile Arg Gln
 260 265 270
 Arg Glu Asp Val Gln Ala Leu Asn Ile Ser Val Pro Tyr Gly Pro Ile
 275 280 285
 Pro Val Glu Phe Gln Arg Lys Ile Arg Gln Ser Tyr Phe Ala Ser Val
 290 295 300

 Ser Tyr Leu Asp Thr Gln Val Gly Arg Leu Leu Ser Ala Leu Asp Asp
 305 310 315 320
 Leu Gln Leu Ala Asn Ser Thr Ile Val Ala Phe Thr Ser Asp His Gly
 325 330 335
 Trp Ala Leu Gly Glu His Gly Glu Trp Ala Lys Tyr Ser Asn Phe Asp
 340 345 350
 Val Ala Thr His Val Pro Leu Met Phe Tyr Val Pro Gly Arg Thr Ala
 355 360 365

 Ser Leu Pro Glu Ala Gly Glu Lys Leu Phe Pro Tyr Leu Asp Pro Phe
 370 375 380
 Asp Ser Ala Ser Glu Leu Met Glu Pro Gly Arg Gln Ser Met Asp Leu
 385 390 395 400
 Val Glu Leu Val Ser Leu Phe Pro Thr Leu Ala Gly Leu Ala Gly Leu
 405 410 415
 Gln Val Pro Pro Arg Cys Pro Val Pro Ser Phe His Val Glu Leu Cys
 420 425 430

 Arg Glu Gly Lys Asn Leu Leu Lys His Phe Arg Phe Arg Asp Leu Glu
 435 440 445
 Glu Asp Pro Tyr Leu Pro Gly Asn Pro Arg Glu Leu Ile Ala Tyr Ser
 450 455 460
 Gln Tyr Pro Arg Pro Ala Asp Phe Pro Gln Trp Asn Ser Asp Lys Pro
 465 470 475 480
 Ser Leu Lys Asp Ile Lys Ile Met Gly Tyr Ser Ile Arg Thr Ile Asp

485 490 495

Tyr Arg Tyr Thr Val Trp Val Gly Phe Asn Pro Asp Glu Phe Leu Ala

500 505 510

Asn Phe Ser Asp Ile His Ala Gly Glu Leu Tyr Phe Val Asp Ser Asp

515 520 525

Pro Leu Gln Asp His Asn Met Tyr Asn Asp Ser Gln Gly Gly Asp Leu

530 535 540

Phe Gln Leu Leu Met Pro

545 550

<210> 43

<211> 550

<212> PRT

<213> Rhinopithecus roxellana (Golden snub-nosed monkey)

<220><223> UPI000533297F

<400> 43

Met Pro Thr Pro Ala Ser Gly Arg Gly Phe Leu Trp Leu Gly Leu Val

1 5 10 15

Leu Ser Ser Val Cys Val Ala Leu Gly Ser Glu Thr Gln Ala Asn Ser

20 25 30

Thr Thr Asp Ala Leu Asn Ile Leu Leu Ile Ile Val Asp Asp Leu Arg

35 40 45

Pro Ser Leu Gly Cys Tyr Gly Asp Lys Leu Val Arg Ser Pro Asn Ile

50 55 60

Asp Gln Leu Ala Ser His Ser Leu Leu Phe Gln Asn Ala Phe Ala Gln

65 70 75 80

Gln Ala Val Cys Ala Pro Ser Arg Val Ser Phe Leu Thr Gly Arg Arg

85 90 95

Pro Asp Thr Thr Arg Leu Tyr Asp Phe Asn Ser Tyr Trp Arg Val His

100 105 110

Ala Gly Asn Phe Ser Thr Ile Pro Gln Tyr Phe Lys Glu Asn Gly Tyr

115 120 125

Val Thr Met Ser Val Gly Lys Val Phe His Pro Gly Ile Thr Ser Asn
130 135 140
His Thr Asp Asp Ser Pro Tyr Ser Trp Ser Phe Pro Pro Tyr His Pro
145 150 155 160
Ser Ser Glu Lys Tyr Glu Asn Thr Lys Thr Cys Arg Gly Pro Asp Gly
165 170 175
Glu Leu His Ala Asn Leu Leu Cys Pro Val Asp Val Val Asp Val Pro
180 185 190

Glu Gly Thr Leu Pro Asp Lys Gln Ser Thr Glu Gln Ala Val Gln Leu
195 200 205
Leu Glu Lys Met Lys Thr Ser Ala Ser Pro Phe Phe Leu Ala Val Gly
210 215 220
Tyr His Lys Pro His Ile Pro Phe Arg Tyr Pro Lys Glu Phe Gln Lys
225 230 235 240
Leu Tyr Pro Leu Glu Asn Ile Thr Leu Ala Pro Asp Ser Glu Val Pro
245 250 255

Asp Gly Leu Pro Pro Val Ala Tyr Asn Pro Trp Met Asp Ile Arg Gln
260 265 270
Arg Glu Asp Val Gln Ala Leu Asn Ile Ser Val Pro Tyr Gly Pro Ile
275 280 285
Pro Val Asp Phe Gln Arg Lys Ile Arg Gln Ser Tyr Phe Ala Ser Val
290 295 300
Ser Tyr Leu Asp Thr Gln Val Gly His Leu Leu Ser Ala Leu Asp Asp
305 310 315 320

Leu Gln Leu Ala Asn Ser Thr Ile Val Ala Phe Thr Ser Asp His Gly
325 330 335
Trp Ala Leu Gly Glu His Gly Glu Trp Ala Lys Tyr Ser Asn Phe Asp
340 345 350
Val Ala Thr His Val Pro Leu Met Phe Tyr Val Pro Gly Arg Thr Ala
355 360 365
Ser Leu Pro Glu Ala Gly Glu Lys Leu Phe Pro Tyr Leu Asp Pro Phe

370							375										380
Asp	Ser	Ala	Ser	Glu	Leu	Met	Glu	Pro	Gly	Arg	Gln	Ser	Met	Asp	Leu		
385							390					395					400
Val	Glu	Leu	Val	Ser	Leu	Phe	Pro	Thr	Leu	Ala	Gly	Leu	Ala	Gly	Leu		
							405					410					415
Gln	Val	Pro	Pro	Arg	Cys	Pro	Val	Pro	Ser	Phe	His	Val	Glu	Leu	Cys		
							420					425					430
Arg	Glu	Gly	Lys	Asn	Leu	Leu	Lys	His	Phe	Arg	Phe	Arg	Asp	Leu	Glu		
							435					440					445
Glu	Asp	Pro	Tyr	Leu	Pro	Gly	Asn	Pro	Arg	Glu	Leu	Ile	Ala	Tyr	Ser		
							450					455					460
Gln	Tyr	Pro	Arg	Pro	Ala	Asp	Phe	Pro	Gln	Trp	Asn	Ser	Asp	Lys	Pro		
465							470					475					480
Ser	Leu	Lys	Asp	Ile	Lys	Ile	Met	Gly	Tyr	Ser	Ile	Arg	Thr	Ile	Asp		
							485					490					495
Tyr	Arg	Tyr	Thr	Val	Trp	Val	Gly	Phe	Asn	Pro	Asp	Glu	Phe	Leu	Ala		
							500					505					510
Asn	Phe	Ser	Asp	Ile	His	Ala	Gly	Glu	Leu	Tyr	Phe	Val	Asp	Ser	Asp		
							515					520					525
Pro	Phe	Gln	Asp	His	Asn	Met	Tyr	Asn	Asp	Ser	Gln	Gly	Gly	Asp	Leu		
							530					535					540
Phe	Gln	Leu	Leu	Met	Pro												
545							550										
<210>	44																
<211>	550																
<212>	PRT																
<213>	Colobus angolensis palliates (Peters Angolan colobus)																
<220><223>	UPI0005F40BD2																
<400>	44																
Met	Pro	Thr	Pro	Ala	Ser	Gly	Arg	Gly	Phe	Leu	Trp	Leu	Gly	Leu	Val		

Leu Arg Ser Val Cys Val Ala Leu Gly Ser Glu Thr Gln Ala Asn Ser
 20 25 30
 Thr Thr Asp Ala Leu Asn Ile Leu Leu Ile Ile Val Asp Asp Leu Arg
 35 40 45
 Pro Ser Leu Gly Cys Tyr Gly Asp Lys Leu Val Arg Ser Pro Asn Ile
 50 55 60
 Asp Gln Leu Ala Ser His Ser Leu Leu Phe Gln Asn Ala Phe Ala Gln

 65 70 75 80
 Gln Ala Val Cys Thr Pro Ser His Val Ser Phe Leu Thr Gly Arg Arg
 85 90 95
 Pro Asp Thr Thr Arg Leu Tyr Asp Phe Asn Ser Tyr Trp Arg Val His
 100 105 110
 Ala Gly Asn Phe Ser Thr Ile Pro Gln Tyr Phe Lys Glu Asn Gly Tyr
 115 120 125
 Val Thr Met Ser Val Gly Lys Val Phe His Pro Gly Ile Thr Ser Asn

 130 135 140
 His Thr Asp Asp Ser Pro Tyr Ser Trp Ser Phe Pro Pro Tyr His Pro
 145 150 155 160
 Ser Ser Glu Lys Tyr Glu Asn Thr Lys Thr Cys Arg Gly Pro Asp Gly
 165 170 175
 Glu Leu His Ala Asn Leu Leu Cys Pro Val Asp Val Val Asp Val Pro
 180 185 190
 Glu Gly Thr Leu Pro Asp Lys Gln Ser Thr Glu Gln Ala Ile Gln Leu

 195 200 205
 Leu Glu Lys Met Lys Thr Ser Ala Ser Pro Phe Phe Leu Ala Val Gly
 210 215 220
 Tyr His Lys Pro His Ile Pro Phe Arg Tyr Pro Lys Glu Phe Gln Lys
 225 230 235 240
 Leu Tyr Pro Leu Glu Asn Ile Thr Leu Ala Pro Asp Ser Glu Val Pro
 245 250 255
 Asp Gly Leu Pro Pro Val Ala Tyr Asn Pro Trp Met Asp Ile Arg Gln

260 265 270
 Arg Glu Asp Val Gln Ala Leu Asn Ile Ser Val Pro Tyr Gly Pro Ile
 275 280 285
 Pro Val Asp Phe Gln Arg Lys Ile Arg Gln Ser Tyr Phe Ala Ser Val
 290 295 300
 Ser Tyr Leu Asp Thr Gln Val Gly His Leu Leu Ser Ala Leu Asp Asp
 305 310 315 320
 Leu Gln Leu Ala Asn Ser Thr Ile Val Ala Phe Thr Ser Asp His Gly
 325 330 335
 Trp Ala Leu Gly Glu His Gly Glu Trp Ala Lys Tyr Ser Asn Phe Asp
 340 345 350
 Val Ala Thr His Val Pro Leu Met Phe Tyr Val Pro Gly Arg Thr Ala
 355 360 365
 Ser Leu Pro Glu Ala Gly Glu Lys Leu Phe Pro Tyr Leu Asp Pro Phe
 370 375 380
 Asp Ser Ala Ser Glu Leu Met Glu Pro Gly Arg Gln Ser Met Asp Leu
 385 390 395 400
 Val Glu Leu Val Ser Leu Phe Pro Thr Leu Ala Gly Leu Ala Gly Leu
 405 410 415
 Gln Val Pro Pro Arg Cys Pro Val Pro Ser Phe His Val Glu Leu Cys
 420 425 430
 Arg Glu Gly Lys Asn Leu Leu Lys His Phe Arg Phe Arg Asp Leu Glu
 435 440 445
 Glu Asp Pro Tyr Leu Pro Gly Asn Pro Arg Glu Leu Ile Ala Tyr Ser
 450 455 460
 Gln Tyr Pro Arg Pro Ala Asp Phe Pro Gln Trp Asn Ser Asp Lys Pro
 465 470 475 480
 Ser Leu Lys Asp Ile Lys Ile Met Gly Tyr Ser Ile Arg Thr Ile Asp
 485 490 495
 Tyr Arg Tyr Thr Val Trp Val Gly Phe Asn Pro Asp Glu Phe Leu Ala
 500 505 510

Asn Phe Ser Asp Ile His Ala Gly Glu Leu Tyr Phe Val Asp Ser Asp

515 520 525
Pro Leu Gln Asp His Asn Met Tyr Asn Asp Ser Gln Gly Gly Asp Leu

530 535 540
Phe Gln Leu Leu Met Pro

545 550

<210> 45

<211> 3967

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> CB7.CI.hIDS.RBG

<220><221> misc_feature

<222> (2)..(131)

<223> 5-prime ITR

<220><221> promoter

<222> (199)..(580)

<223> CMV IE promoter

<220><221> promoter

<222

> (583)..(864)

<223> CB promoter

<220><221> TATA_signal

<222> (837)..(840)

<220><221> Intron

<222> (959)..(1930)

<223> chicken beta-actin intron

<220><221> CDS

<222> (1937)..(3589)

<223> hIDS

<220><221> polyA_signal

<222> (3623)..(3749)

<223> rabbit globin polyA

<220><221> misc_feature

<222> (3838)..(3967)

<223> 3-prime ITR

<400> 45

gctgcgcgct cgctcgctca ctgaggccgc ccgggcaaag cccgggcgtc gggcgacctt	60
tggtcgcccc gcctcagtga gcgagcgagc gcgcagagag ggagtggcca actccatcac	120
taggggttcc ttgtagttaa tgattaaccc gccatgctac ttatctacca gggtaatggg	180
gaccccttag aactatagct agtcgacatt gattattgac tagttattaa tagtaatcaa	240
ttacggggtc attagtcat agcccatata tggagtccg cgttacataa ctacggtaa	300
atggccccgc tggctgaccg cccaacgacc ccgcccatt gacgtcaata atgacgtatg	360
ttcccatagt aacgccaata gggactttcc attgacgtca atgggtggac tatttacggt	420
aaactgcccc ctggcagta catcaagtgt atcatatgcc aagtacgccc cctattgacg	480
tcaatgacgg taaatggccc gcctggcatt atgcccagta catgacctta tgggactttc	540
ctacttggca gtacatctac gtattagtca tcgctattac catggtcgag gtgagcccca	600
cgttctgctt cactctcccc atctcccccc cctcccacc cccaattttg tatttattta	660
ttttttaatt attttgtga gcgatggggg cggggggggg gggggggcgc gcgccaggcg	720
gggcggggcg gggcgagggg cggggcgggg cgaggcggag aggtgcggcg gcagccaatc	780
agagcggcgc gtcgcaaaag tttcctttta tggcgaggcg gcggcggcgg cgccctata	840
aaaagcgaag cgcgcggcgg gcggggagtc gctgcgacgc tgccttcgcc ccgtgccccg	900
ctccgcccgc gcctcgccgc gcccggcccgc gctctgactg accgcgttac tcccacaggt	960
gagcggggcg gacggccctt ctctccggg ctgtaattag cgcttggttt aatgacggt	1020
tgtttctttt ctgtggctgc gtgaaagcct tgaggggctc cgggagggcc ctttgtcgg	1080
ggggagcggc tcggggggtg cgtgctgtg tgtgtgcgtg gggagcgccg cgtgcggctc	1140
cgcgtgccc ggcggctgtg agcgtgagg gcgcggcgcg gggttttgtg cgctccgcag	1200
tgtgcgcgag gggagcgcg ccggggggcg tgccccgcgg tgcggggggg gctgcgaggg	1260
gaacaaaggc tgcgtgcggg gtgtgtgcgt ggggggggtga gcagggggtg tgggcgcgtc	1320
ggtcgggctg caaccccccc tgcaccccc tccccagtt gctgagcacg gcccggcttc	1380
gggtgcgggg ctccgtacgg ggcgtggcgc ggggtcgcc gtgccggcg ggggtggcg	1440
gcagggtggg gtgccggcg gggcggggcc gcctcgggc ggggagggt cgggggaggg	1500
gcgcggcggc ccccgagcg ccggcggtg tcgaggcgcg gcgagccga gccattgcct	1560
tttatggtaa tcgtgcgaga gggcgcaggg acttcctttg tcccaaatct gtgcggagcc	1620
gaaatctggg aggcgccgc gcacccccct tagcgggcgc ggggcgaagc ggtgcggcgc	1680
cggcaggaag gaaatggcg gggagggcct tcgtgcgtcg ccgcgccgc gtccccttct	1740

ccctctccag cctcggggct gtccgcgggg ggacggctgc cttcgggggg gacggggcag	1800
ggcgggggttc ggcttctggc gtgtgaccgg cgctctaga gcctctgcta accatgttca	1860
tgccttcttc ttttctctac agctcctggg caactgtctg gttattgtgc tgtctcatca	1920
ttttggcaaa gaattcatgc cgccaccccg gaccggccga ggcttctctt ggctgggtct	1980
ggttctgagc tccgtctcgc tcgcccctcg atccgaaacg caggccaact cgaccacaga	2040
tgctctgaac gttcttctca tcatcgtgga tgacctgcgc cctccctgg gctgttatgg	2100
ggataagctg gtgaggtccc caaatattga ccaactggca tcccacagcc tcctcttcca	2160
gaatgccttt gcgcagcaag cagtgtgcgc ccgagccgc gtttctttcc tcaactggcag	2220
gagacctgac accacccgcc tgtacgactt caactcctac tggagggtgc acgtggaaa	2280
cttctccacc atccccagt acttcaagga gaatggctat gtgacctgt cgggtgggaaa	2340
agtctttcac cctgggatat ctcttaacca taccgatgat tctccgtata gctggctttt	2400
tccaccttat catccttctt ctgagaagta tgaaaacact aagacatgtc gagggccaga	2460
tggagaactc catgccaacc tgctttgccc tgtggatgtg ctggatgttc ccgagggcac	2520
cttgctgac aaacagagca ctgagcaagc catacattg ttggaaaaga tgaaaacgtc	2580
agccagtcct ttcttctgg ccgttgggtt tcataagcca cacatccct tcagatacc	2640
caaggaattt cagaagtgt atcccttga gaacatcacc ctggccccg atcccagggt	2700
ccctgatggc ctacccctg tggcctacaa ccctggatg gacatcaggc aacgggaaga	2760
cgtccaagcc ttaaacaatca gtgtccgta tggccaatt cctgtggact ttcagcggaa	2820
aatccgccag agctacttg cctctgtgtc atatttggat acacaggctg gccgcctctt	2880
gagtgccttg gacgatcttc agctggccaa cagcaccatc attgcattta cctcgatca	2940
tgggtgggct ctaggtgaac atggagaatg ggccaaatac agcaatttg atgttctac	3000
ccatgttccc ctgatatct atgttcttg aaggacggct tcacttccg aggcaggcga	3060
gaagcttttc cctacctcg acccttttga ttccgcctca cagtgtatgg agccaggcag	3120
gcaatccatg gaccttgtgg aacttgtgtc tcttttccc acgtggctg gacttgcagg	3180
actgcagggt ccacctcgt gccccgttcc ttcatttcac gttgagctgt gcagagaagg	3240
caagaacctt ctgaagcatt ttcgattccg tgacttggaa gaggatccgt acctccctgg	3300
taatccccgt gaactgattg cctatagcca gtatccccg ccttcagaca tccctcagt	3360
gaattctgac aagccgagtt taaaagatat aaagatcatg ggctattcca tacgcacat	3420
agactatagg tatactgtgt gggttggctt caatcctgat gaatttctag ctaactttc	3480

tgacatccat gcaggggaac tgtatTTTgt ggattctgac ccattgcagg atcacaatat	3540
gtataatgat tccaaggTg gagatctTTt ccagttgttg atgccttgac tcgaggacgg	3600
ggtgaactac gcctgaggat ccgatctTTt tccctctgcc aaaaattatg gggacatcat	3660
gaagccctt gagcatctga cttctggctt ataaaggaaa tttatTTtca ttgcaatagt	3720
gtgttggaat ttttTgtc tctactcgg aagcaattcg ttgatctgaa tttcgaccac	3780
ccataatacc cattaccctg gtagataagt agcatggcgg gttaatcatt aactacaagg	3840
aaccctagt gatggagtTg gccactccct ctctgcgcgc tcgctcgctc actgaggccg	3900
ggcgacaaa ggtcgccga cgccgggct ttgccgggc gccctcagtg agcgagcgag	3960
cgcgcag	3967