



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本

(11)證書號數：TW I702955 B

(45)公告日：中華民國 109 (2020) 年 09 月 01 日

(21)申請案號：102116146

(22)申請日：中華民國 102 (2013) 年 05 月 06 日

(51)Int. Cl. : *A61K31/7088(2006.01)*
C12N15/12 (2006.01)
A61P27/02 (2006.01)

A61K48/00 (2006.01)
C12N15/86 (2006.01)

(30)優先權：2012/05/15 美國 61/647,461
 2012/07/11 美國 61/670,535
 2012/08/01 美國 61/678,555
 2012/08/21 美國 61/691,660
 2013/03/08 美國 61/775,440

(71)申請人：澳大利亞商艾佛蘭屈澳洲私營有限公司 (澳大利亞) AVALANCHE AUSTRALIA PTY LTD. (AU)

澳大利亞

(72)發明人：康斯坦堡 愛恩 J CONSTABLE, IAN J. (AU)；瑞可西，P 伊莉薩貝斯 RAKOCZY, P. ELIZABETH (AU)；賴 裘伊 梅 LAI, CHOOI-MAY (AU)；洽爾貝格 湯瑪士 W 二世 CHALBERG, THOMAS W., JR. (US)

(74)代理人：陳長文

(56)參考文獻：

US 2002/0194630A1

WO 99/14354A1

Gray and Zolotukhin, Design and construction of functional AAV vectors. Methods in Molecular Biology (2011), 807, pp.25-46.

Timothy K MacLachlan et al, Preclinical Safety Evaluation of AAV2-sFLT01-A Gene Therapy for Age-related Macular Degeneration, The American Society of Gene & Cell Therapy, vol. 19 no. 2, 326-334 feb. 2011

審查人員：林奕萍

申請專利範圍項數：4 項 圖式數：24 共 201 頁

(54)名稱

使用腺相關病毒 (AAV) SFLT-1 治療老年性黃斑部退化 (AMD)

(57)摘要

本發明提供用於減輕或治療人類個體之 CNV(例如 AMD)的組合物及方法，其係藉由向人類個體視網膜下投與包含醫藥有效量之重組病毒之醫藥組合物來達成，該重組病毒包含編碼可溶性 Fms 相關酪胺酸激酶-1(sFlt-1)蛋白質之核酸。

The present disclosure provides compositions and methods for reducing or treating CNV, such as AMD, in a human subject, by administering subretinally a pharmaceutical composition comprising a pharmaceutically effective amount of a recombinant virus comprising a nucleic acid encoding soluble Fms-related tyrosine kinase-1 (sFlt-1) protein to a human subject.

指定代表圖：

符號簡單說明：

- 102 . . . 複製起點序列
- 103 . . . ITR-2
- 104 . . . 啟動子
- 105 . . . 內含子
- 106 . . . 轉基因
- 107 . . . 多 A(多腺苷酸化)序列
- 108 . . . ITR-1

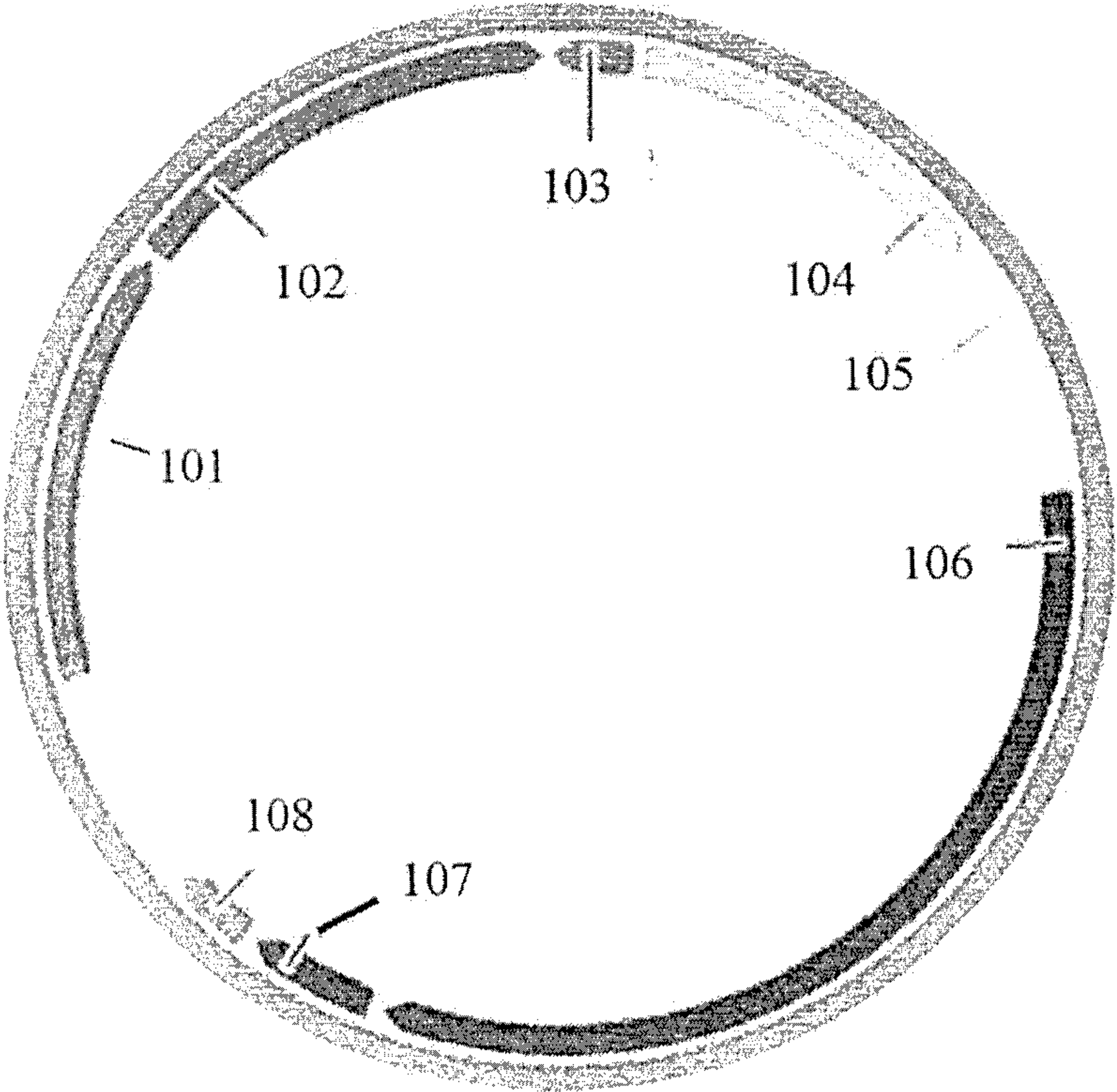


圖 1

I702955

發明摘要

※ 申請案號：

※ 申請日：

※IPC 分類：A61K; C12N

【發明名稱】

使用腺相關病毒(AAV)SFLT-1治療老年性黃斑部退化(AMD)

TREATMENT OF AMD USING AAV SFLT-1

【中文】

本發明提供用於減輕或治療人類個體之CNV (例如AMD)的組合物及方法，其係藉由向人類個體視網膜下投與包含醫藥有效量之重組病毒之醫藥組合物來達成，該重組病毒包含編碼可溶性Fms相關酪胺酸激酶-1 (sFlt-1)蛋白質之核酸。

【英文】

The present disclosure provides compositions and methods for reducing or treating CNV, such as AMD, in a human subject, by administering subretinally a pharmaceutical composition comprising a pharmaceutically effective amount of a recombinant virus comprising a nucleic acid encoding soluble Fms-related tyrosine kinase-1 (sFlt-1) protein to a human subject.

【代表圖】

【本案指定代表圖】：第（1）圖。

【本代表圖之符號簡單說明】：

- 102 複製起點序列
- 103 ITR-2
- 104 啟動子
- 105 內含子
- 106 轉基因
- 107 多A (多腺苷酸化)序列
- 108 ITR-1

【本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式】：

無

發明專利說明書

(本說明書格式、順序，請勿任意更動)

【發明名稱】

使用腺相關病毒(AAV)SFLT-1治療老年性黃斑部退化(AMD)

TREATMENT OF AMD USING AAV SFLT-1

本申請案在35 USC §119(e)下主張於2012年5月15日提出申請之美國臨時申請案第61/647,461號、於2012年7月11日提出之美國臨時申請案第61/670,535號、於2012年8月1日提出之美國臨時申請案第61/678,555號、於2013年3月8日提出之美國臨時申請案第61/775,440號之優先權，該等案件之全文各自以引用方式併入。

序列表

本申請案含有序列表，其以ASCII格式經由EFS-Web呈送且其全部內容以引用方式併入本文中。創建於2013年5月1日之該ASCII副本命名為43016-702.201_SL.txt且大小為83,388字節。

【先前技術】

老年性黃斑部退化(AMD)係年齡超過50歲之人之視力不可逆損害之主要原因之一。AMD在臨床上分成「乾式」及「濕式」兩種類型。濕型AMD可快速發生且經常導致失明。疾病之病理變化可引起若干視力損害。AMD之表現可包括(但不限於)黃斑區域中之視網膜色素上皮細胞(RPE)功能障礙及脈絡膜新生血管形成(CNV)。在嚴重情形下可發生流體滲漏、RPE或神經上皮剝離及自破裂血管流血。已發現，許多細胞因子在CNV產生之調控中起重要作用，其中可包括(但不限於)血管內皮生長因子(VEGF)、VEGF受體(VEGFR)、血小板衍生生長因子(PDGF)、缺氧可誘導因子(HIF)、血管生成素(Ang)及其細胞因子、有絲分裂促進劑活化之蛋白激酶(MAPK)及其他。

濕式AMD之一種目前批准之治療係樂舒晴® (Lucentis®)。樂舒晴®係抗血管生成劑且靶向血管內皮生長因子(VEGF)之所有同型異構體。臨床研究已顯示，約95%投與樂舒晴®之患者之視力得以改良或穩定，與之相比，約60%接受假治療之患者之視力得以改良或穩定。儘管樂舒晴®係第一種批准用於改良視力之藥劑，但其需要每4週玻璃體內投與以達成最佳視力益處。玻璃體內投與路徑可增加嚴重併發症(例如感染眼內炎及視網膜剝離)之風險，其中累積風險隨重複投與增加。亦已報告增加之眼內壓力、外傷性白內障及視網膜裂孔。最後，在由眼科醫師遞送之治療下，治療頻率通常決定對患者、醫師及健康系統之負擔及應減輕之可能程度。針對繼發於AMD之CNV之目前有用療法之限制在業內已產生解決所需高頻率治療及治療程序之侵襲之替代方法的需要。

【發明內容】

本發明提供用於治療人類個體之CNV (例如以濕型AMD發現)之組合物及方法。

在一個態樣中，本發明提供用於治療人類個體之AMD之組合物及方法，該方法包含：向需要治療AMD之人類個體視網膜下投與包含醫藥有效量之重組病毒的醫藥組合物，該重組病毒包含編碼可溶性Fms相關酪胺酸激酶-1 (sFLT-1)蛋白質之核酸。

在一個態樣中，本發明提供用於預防患有AMD之人類個體之CNV的組合物及方法，該方法包含：向需要治療AMD之人類個體視網膜下投與包含醫藥有效量之重組病毒的醫藥組合物，該重組病毒包含編碼可溶性Fms相關酪胺酸激酶-1 (sFLT-1)蛋白質之核酸。

在一些態樣中，病毒係選自腺相關病毒(AAV)、輔助病毒依賴性腺病毒、逆轉錄病毒、單純疱疹病毒、慢病毒、痘病毒、日本血凝病毒-脂質體(HVJ)複合體、莫洛尼(Moloney)鼠類白血病毒及基於HIV

之病毒。在一些態樣中，AAV係選自由以下組成之群：AAV1、AAV2、AAV3、AAV4、AAV5、AAV6、AAV7、AAV8、AAV9、AAV10、AAV11、AAV12及其雜合體。

在一些態樣中，重組病毒包含選自以下之啓動子：巨細胞病毒(CMV)啓動子、勞斯肉瘤病毒(Rous sarcoma virus, RSV)啓動子、MMT啓動子、EF-1 α 啓動子、UB6啓動子、雞 β -肌動蛋白啓動子、CAG啓動子、RPE65啓動子及視蛋白啓動子。

在一些態樣中，重組病毒包含增強子。

在一些態樣中，重組病毒包含嵌合內含子。

在一些態樣中，重組病毒包含SV40多A序列。

在一些態樣中，重組病毒包含人類sFLT-1蛋白質或其功能片段。

在一些態樣中，重組病毒係自包含安比西林(ampicillin)抗性標記或非安比西林抗性標記之質粒生成。

在一些態樣中，重組病毒係自包含細菌調控序列(例如T7 RNA聚合酶啓動子)之質粒生成。

在一些態樣中，重組病毒係自無細菌調控序列(例如T7 RNA聚合酶啓動子)之質粒生成。

在一些態樣中，重組病毒包含能夠引導sFLT-1蛋白質或其功能片段在眼細胞中選擇性表現之調控核酸片段。

在一些態樣中，醫藥組合物包含約 1×10^6 至約 1×10^{15} 個重組病毒載體基因組、約 1×10^7 至約 1×10^{14} 個重組病毒載體基因組、約 1×10^8 至約 1×10^{13} 個重組病毒載體基因組、約 1×10^9 至約 1×10^{12} 個重組病毒載體基因組或約 1×10^{10} 至約 1×10^{12} 個重組病毒載體基因組。

在一些態樣中，醫藥組合物係經由視網膜下注射投與。

在一些態樣中，該方法進一步包含向人類個體投與醫藥有效量之VEGF抑制劑。在一些態樣中，VEGF抑制劑包含針對VEGF之抗體

或其功能片段。在一些態樣中，VEGF抑制劑包含雷珠單抗(ranibizumab)。在一些態樣中，醫藥組合物係在投與VEGF抑制劑後至少5、6、7或8天時投與。在一些態樣中，醫藥組合物係在投與VEGF抑制劑之90天內投與。

在一些態樣中，VEGF抑制劑係在投與包含重組病毒之醫藥組合物之前投與1次且在投與後投與1至2次。在一些態樣中，VEGF抑制劑係在投與醫藥組合物之前投與至少2次且在投與後投與1至2次。在一些態樣中，VEGF抑制劑係在6至7週之時段內投與。

在一些態樣中，VEGF抑制劑係抗VEGF抗體，例如貝伐單抗(bevacizumab)或雷珠單抗。在其他態樣中，VEGF抑制劑係可溶性受體、融合蛋白或其片段，例如阿柏西普(aflibercept)或sFLT01。

在一些態樣中，AMD係濕式AMD。

在一些態樣中，AMD係乾式AMD。

在一些態樣中，人類個體處於濕式AMD風險下。

在一些態樣中，人類個體呈現早期濕式AMD症狀。

在一些態樣中，先前已投與該人類個體至少3、5、10、15、或20次不同VEGF抑制劑治療用於治療AMD。

在一些態樣中，在該雷珠單抗治療後，最佳校正之視力敏度(BCVA)未改良。

在一些態樣中，最佳校正之視力敏度(BCVA)在該雷珠單抗治療後改良1列以上，如藉由ETDRS（早期治療糖尿病性視網膜病變研究）字母所量測。

在一些態樣中，人類個體呈現早期乾式AMD之症狀。

在一些態樣中，治療係以至少每半年一次之頻率投與。

在一些態樣中，投與步驟係在該人類個體中實施，其中個體之年齡係20、40、50或65歲或更大。

在一些態樣中，投與至中央窩外部之位點。

在一些態樣中，投與至中央視網膜之視網膜下空間之一或多個細胞。

在一些態樣中，投與至外黃斑之一或多個細胞。

在一些態樣中，投與至內黃斑之一或多個細胞。

在一些態樣中，投與至視網膜色素上皮細胞。

在一些態樣中，投與不會不利地影響中央視網膜功能或中央視網膜結構。

在一些態樣中，投與步驟係在兩隻眼中同時或依序實施。

在一些態樣中，投與步驟係在一隻眼中實施。

在一些態樣中，在一隻眼呈現AMD之症狀時在對側眼中實施投與步驟。

在一些態樣中，投與步驟係在對青黴素(penicillin)具有抗性之人類個體中實施。

在一些態樣中，投與步驟係在對青黴素敏感之人類個體中實施。

在一些態樣中，投與步驟係對青黴素過敏之人類個體中實施。

在一些態樣中，投與步驟係在對青黴素不過敏之人類個體中實施。

在一些態樣中，投與步驟不會引起玻璃體發炎，如投與步驟後藉由活組織顯微鏡檢查(BE)及檢眼鏡間接檢查(IOE)所觀察。

在一些態樣中，投與步驟不會引起正常範圍之10%內之細胞毒性T細胞反應。

在一些態樣中，在投與步驟後，最佳校正之視力敏度(BCVA)改良1列、2列、3列、4列或5列，如藉由ETDRS (早期糖尿病性視網膜病變研究)字母量測。

在一些態樣中，在投與步驟後使用螢光素血管攝影術(FA)觀察新生血管形成減少。

在一些態樣中，雷珠單抗之投與頻率減少至少於每年12個劑量。在一些態樣中，阿柏西普之投與頻率減少至少於每年6個劑量。

在一些態樣中，以減少頻率投與雷珠單抗或阿柏西普或其他VEGF抑制劑或不再投與。

在一些態樣中，病毒包含與人類sFLT-1基因序列具有90%序列同源性之sFLT-1基因或其功能片段。

在一些態樣中，所投與病毒包含sFLT-1基因、基因變體或基因片段。

在一些態樣中，在投與醫藥組合物後7、14、21或30天，在人類個體之淚液、血液、唾液或尿試樣中未檢測到載體。

在一些態樣中，藉由qPCR或ELISA檢測病毒載體之存在。

在一些態樣中，在投與醫藥組合物後7、14、21或30天，人類個體之玻璃體中之sFLT-1蛋白質含量係約500 - 5,000 pg/ml、約600 - 4,000 pg/ml、約800 - 3,000 pg/ml、約900 - 2,000 pg/ml或約1,000 - 1,800 pg/ml。在一些態樣中，在投與醫藥組合物後7、14、21、30、60、90、180、270及365天，人類個體之玻璃體中之sFlt-1蛋白質含量(其亦可稱作sFlt-1蛋白質濃度)升高。

在一些態樣中，人類個體在至少2個月時段內未顯示臨床上顯著之視網膜毒性，如藉由連續眼科檢查所評定。

在一些態樣中，在至少2個月時段內，人類個體中不存在淺表、前段或玻璃體發炎體徵。

在一些態樣中，人類個體在投與重組病毒後至少120天中無需利用VEGF抑制劑之補救治療。在一些態樣中，人類個體在投與重組病毒後至少180天或至少210天中無需利用VEGF抑制劑之補救治療。在

一些態樣中，人類個體在投與重組病毒後至少270天中無需利用VEGF抑制劑之補救治療。在一些態樣中，人類個體在投與重組病毒後至少365天中無需利用VEGF抑制劑之補救治療。

在一些態樣中，在該投與重組病毒至少180天或至少210天後，該人類個體中無視力敏度損失、IOP升高、視網膜剝離或任何眼內或全身性免疫反應之證據。在一些態樣中，在投與重組病毒後至少365天，該人類個體中無視力敏度損失、IOP升高、視網膜剝離或任何眼內或全身性免疫反應之證據。

在另一態樣中，本發明提供包含約 1×10^6 至約 1×10^{15} 個重組病毒之醫藥組合物，其中重組病毒各自包含編碼可溶性Fms相關酪胺酸激酶-1 (sFlt-1)蛋白質之核酸。

在一些態樣中，本揭示內容提供治療或預防人類個體之眼新生血管形成的方法，該方法包含：向需要治療之人類個體之一或多個視網膜下位點投與醫藥有效量之包含編碼sFLT-1之核酸之醫藥組合物。

在一些態樣中，本揭示內容提供患有或懷疑患有一或多種選自由以下組成之群之病況之人類個體：老年性黃斑部退化(AMD)、濕式AMD、乾式AMD、視網膜新生血管形成、脈絡膜新生血管形成及糖尿病性視網膜病變。在一些情形下，人類個體患有或懷疑患有一或多種選自由以下組成之群之病況：增殖性糖尿病性視網膜病變、視網膜靜脈阻塞、中央視網膜靜脈阻塞、分枝視網膜靜脈阻塞、糖尿病性黃斑水腫、糖尿病性視網膜缺血、缺血性視網膜病變及糖尿病性視網膜水腫。

在一些態樣中，本揭示內容提供包含重組病毒之醫藥組合物，該病毒選自由以下組成之群：腺相關病毒(AAV)、輔助病毒依賴性腺病毒、逆轉錄病毒、單純皰疹病毒、慢病毒、痘病毒、日本血凝病毒-脂質體(HVJ)複合體、莫洛尼鼠類白血病毒及基於HIV之病毒。

在一些態樣中，本揭示內容提供編碼sFLT-1之核酸，其以可操作方式與選自由以下組成之群之啟動子連接：巨細胞病毒(CMV)啟動子、勞斯肉瘤病毒(RSV)啟動子、MMT啟動子、EF-1 α 啟動子、UB6啟動子、雞 β -肌動蛋白啟動子、CAG啟動子、RPE65啟動子及視蛋白啟動子。

在一些態樣中，本揭示內容提供sFLT-1核酸，其中sFLT-1編碼至少一個二聚結構域。在一些情形下，sFLT-1核酸不含原核調控序列。在一些情形下，sFLT-1核酸含有原核調控序列。

在一些態樣中，本揭示內容提供包含病毒或質粒之醫藥組合物。

在一些態樣中，本揭示內容提供向人類個體投與一或多次VEGF抑制劑治療。在一些情形下，VEGF抑制劑係在投與醫藥組合物後30、90或180天內投與。在一些情形下，本揭示內容之醫藥組合物及VEGF抑制劑間隔至少24小時投與。

在一些態樣中，本揭示內容提供投與至少55歲之人類個體之醫藥組合物。

在一些態樣中，本揭示內容提供在中央窩外部投與醫藥組合物。

在一些態樣中，本揭示內容提供在投與醫藥組合物後，人類個體之最佳校正之視力敏度(BCVA)改良至少1列、2列、3列、4列或5列，如藉由ETDRS (早期治療糖尿病性視網膜病變研究)字母所量測。

在一些態樣中，本揭示內容提供在投與醫藥組合物後，最佳校正之視力敏度(BCVA)降低小於15個字母，如藉由ETDRS (早期治療糖尿病性視網膜病變研究)所量測。

在一些態樣中，本揭示內容提供在選自由以下組成之群之條件下投與醫藥組合物：在一隻眼中投與醫藥組合物，在兩隻眼中依序投

與醫藥組合物及在兩隻眼中同時投與醫藥組合物。

在一些態樣中，本揭示內容提供在投與醫藥組合物後新生血管形成減少，如藉由螢光素血管攝影術(FA)所量測。

在一些態樣中，本揭示內容提供在注射後至少1週，人類個體中不存在淺表、前段或玻璃體發炎體徵。

在一些態樣中，本揭示內容提供在投與醫藥組合物後1週或3、6、9或12個月時，人類個體中不存在淺表、前段或玻璃體發炎體徵。

在一些態樣中，本揭示內容提供在投與醫藥組合物後至少30、60、90、120、180、270或365天中，人類個體無需補救治療。

在一些態樣中，本揭示內容提供在投與醫藥組合物後，人類個體未經歷視力敏度損失、IOP升高、視網膜剝離、眼內或全身性免疫反應。

在一些態樣中，本揭示內容提供在投與步驟後，未量測到增加之抗AAV細胞毒性T細胞反應。

在一些態樣中，本揭示內容提供在投與醫藥組合物後3、7、14、21或30天，人類個體之血液、唾液或尿試樣中未檢測到病毒。

在一些態樣中，本揭示內容提供在人類個體中投與醫藥組合物後7、14、21、30、60、90、120、150、180、270或365天，人類個體之玻璃體中之sFLT-1蛋白質含量為約500 - 5,000 pg/ml。

在一些態樣中，本揭示內容提供在投與醫藥組合物之前，人類個體接受一或多次VEGF抑制劑治療。

在一些態樣中，本揭示內容提供對VEGF抑制劑具有抗性之人類個體。

在一些態樣中，本揭示內容提供在投與醫藥組合物之前先前未接受VEGF抑制劑之人類個體。

在一些態樣中，本揭示內容提供在人類個體中以少於每年3次之

頻率投與醫藥組合物。

在一些態樣中，本揭示內容提供在人類個體中投與醫藥組合物以減少額外VEGF抑制劑治療之投與頻率。

在一些態樣中，本揭示內容提供當在投與醫藥組合物後7、14、21、30、60、90、120、150、180、270或365天量測時，人類個體之玻璃體中之sFLT-1蛋白質濃度升高。

在一些態樣中，本揭示內容提供在投與醫藥組合物之前或1週內已移除玻璃體凝膠之人類個體。

在一些態樣中，本揭示內容提供使用小於20規之玻璃體切除系統投與之醫藥組合物。

在一些態樣中，本揭示內容提供使用無需縫線之玻璃體切除系統投與之醫藥組合物。

在一些態樣中，本揭示內容提供使用小於39規之套管尖端投與之醫藥組合物。

在一些態樣中，本揭示內容提供醫藥組合物，之後在玻璃體房中進行氣體/流體交換。

在一些態樣中，本揭示內容提供在該藥理藥劑治療後12個月內，個體之中央視網膜厚度增加不超過50微米、100微米或250微米。

在一些態樣中，本揭示內容提供與未經治療人類個體之患病眼相比，地圖樣萎縮在人類個體之患病眼中未進展。

在一些態樣中，本揭示內容提供包含含有核酸之重組病毒或質粒的醫藥組合物，該核酸包含至少一個以可操作方式與sFLT-1轉基因序列連接的啟動子序列。在一些情形下，本揭示內容之醫藥組合物包含由大於300個鹼基對之序列隔開之啟動子序列及sFLT-1轉基因序列。在一些情形下，本揭示內容之醫藥組合物包含由UTR序列隔開之啟動子序列及sFLT-1轉基因序列。在一些情形下，UTR序列包含至少

10個鹼基對。在一些情形下，醫藥組合物包含至少三個各自包含至少50個鹼基對之連接體序列。

在一些態樣中，本揭示內容提供醫藥組合物，其中sFLT-1核酸編碼至少一個二聚結構域。

在一些態樣中，本揭示內容提供包含以下序列之醫藥組合物：選自由以下組成之群之啓動子序列：SEQ ID No. 1、SEQ ID No. 2、SEQ ID No. 3、SEQ ID No. 4、SEQ ID No. 5、SEQ ID No. 6、SEQ ID No. 7、SEQ ID No. 8、SEQ ID No. 9、SEQ ID No. 10、SEQ ID No. 11、SEQ ID No. 12、SEQ ID No. 13、SEQ ID No. 14、SEQ ID No. 15、SEQ ID No. 16、SEQ ID No. 17、SEQ ID No. 18、SEQ ID No. 19、SEQ ID No. 20、SEQ ID No. 21、SEQ ID No. 22、SEQ ID No. 23、SEQ ID No. 24、SEQ ID No. 25、SEQ ID No. 26、SEQ ID No. 27、SEQ ID No. 28、SEQ ID No. 29、SEQ ID No. 30、SEQ ID No. 31及SEQ ID No. 32；選自由以下組成之群之編碼VEGF抑制劑的序列：SEQ ID No. 102、SEQ ID No. 103、SEQ ID No. 104、SEQ ID No. 105、SEQ ID No. 106、SEQ ID No. 107及SEQ ID No. 108；由以下組成之內含子序列：SEQ ID No. 48、SEQ ID No. 115、SEQ ID No. 116、SEQ ID No. 117、SEQ ID No. 118及SEQ ID No. 119；選自由以下組成之群之UTR序列：SEQ ID No. 91、SEQ ID No. 2、SEQ ID No. 92、SEQ ID No. 93、SEQ ID No. 94、SEQ ID No. 95、SEQ ID No. 96、SEQ ID No. 97、SEQ ID No. 98、SEQ ID No. 99、SEQ ID No. 100及SEQ ID No. 101；及選自由以下組成之群之終止序列：SEQ ID No. 49、SEQ ID No. 50、SEQ ID No. 51、SEQ ID No. 52、SEQ ID No. 53、SEQ ID No. 54及SEQ ID No. 55。

在一些態樣中，本揭示內容提供包含 1×10^6 至 1×10^{15} 個載體基因組之重組病毒的醫藥組合物之單位劑量，其中重組病毒包含以可操作

方式與啓動子連接之編碼sFLT-1之核酸。在一些情形下，醫藥組合物之單位劑量包含 1×10^{10} 至 3×10^{12} 個載體基因組。

在一些態樣中，本揭示內容提供在細胞中生成重組病毒之方法，該方法包含：向細胞中引入包含至少一個以可操作方式與sFLT-1轉基因序列連接之啓動子序列、ITR序列及UTR序列的核酸；及純化重組病毒。在一些情形下，UTR序列係人類UTR序列。在一些情形下，核酸序列不含 β -內醯胺抗生素抗性序列。在一些情形下，當在以 1×10^6 MOI (感染複數)轉導HEK293細胞後72小時量測時，重組病毒產生在100-10,000 pg/mL範圍內之sFLT-1蛋白質。在一些情形下，重組病毒抑制人類臍管血管內皮(HUVEC)細胞增殖。

在一些態樣中，本揭示內容提供用於生成重組病毒載體之細胞，該細胞包含至少一個以可操作方式與sFLT-1轉基因序列連接之啓動子多核苷酸序列、ITR多核苷酸序列及UTR多核苷酸序列。

在一些態樣中，本揭示內容提供包含編碼sFLT-1之序列之核酸，其用於治療或預防人類之眼新生血管形成；其中該使用包含向有需要之人類個體在該人類個體之一或多個視網膜下位點處直接投與有效量之醫藥組合物；其中該醫藥組合物包含該核酸。

在一些態樣中，本揭示內容提供所用核酸，其中該sFLT-1係VEGF之抑制劑且其中該治療眼新生血管形成或降低其可能性係由於VEGF抑制而發生。

在一些態樣中，本揭示內容提供所用核酸，其中在向人類個體投與該醫藥組合物後至少72小時後，與在該投與之前該人類之玻璃體中之sFLT-1蛋白質含量相比，醫藥組合物能夠升高該人類個體之玻璃體中之sFLT-1蛋白質含量。

在一些態樣中，本揭示內容提供所用核酸，其中包含該sFLT-1之該核酸包含重組病毒，該病毒選自由以下組成之群：腺相關病毒

(AAV)、輔助病毒依賴性腺病毒、逆轉錄病毒、單純皰疹病毒、慢病毒、痘病毒、日本血凝病毒-脂質體(HVJ)複合體、莫洛尼鼠類白血病毒及基於HIV之病毒。

在一些態樣中，本揭示內容提供所用核酸，其中編碼sFLT-1之核酸以可操作方式與選自由以下組成之群之啟動子連接：巨細胞病毒(CMV)啟動子、勞斯肉瘤病毒(RSV)啟動子、MMT啟動子、EF-1 α 啟動子、UB6啟動子、雞 β -肌動蛋白啟動子、CAG啟動子、RPE65啟動子及視蛋白啟動子。

在一些態樣中，本揭示內容提供所用核酸，其中該核酸由病毒包裝或係質粒DNA。

在一些態樣中，本揭示內容提供所用核酸，該使用進一步包含向需要治療或減輕之人類個體投與一或多種額外VEGF抑制劑，視情況其中該額外VEGF抑制劑係雷珠單抗或貝伐單抗。

在一些態樣中，本揭示內容提供所用核酸，該使用包含向至少55歲之人類個體投與該醫藥組合物。

在一些態樣中，本揭示內容提供所用核酸，該使用包含在中央窩外部投與該醫藥組合物。

在一些態樣中，本揭示內容提供所用核酸，其中在投與有效量之醫藥組合物後，需要治療之人類個體之最佳校正之視力敏度(BCVA)改良至少1列、2列、3列、4列或5列，如藉由ETDRS (早期治療糖尿病性視網膜病變研究)字母所量測。

在一些態樣中，本揭示內容提供所用核酸，其中醫藥組合物之投與係以每3、6、9、12、18、或24個月至少一次之頻率在需要治療之人類個體中實施。

在一些態樣中，本揭示內容提供所用核酸，其中醫藥組合物之投與係以少於一年3次之頻率在人類個體中實施或以減少額外VEGF抑

制劑治療之投與頻率的頻率在人類個體中實施。

在一些態樣中，本揭示內容提供包含約 1×10^6 至 1×10^{15} 個重組病毒之醫藥組合物之單位劑量，其中該單位包含至少 1×10^{10} 至 3×10^{12} 個載體基因組，且其中該重組病毒包含以可操作方式與啟動子連接之編碼sFLT-1之核酸。

以引用方式併入

本說明書中所提及之所有公開案、專利及專利申請案均以引用方式併入本文中，其併入程度如同明確地及單獨地指出將每一個別公開案、專利或專利申請案以引用方式併入一般。

【圖式簡單說明】

本揭示內容之新穎特徵詳細闡釋於隨附申請專利範圍中。參照下文闡述其中利用本揭示內容之原理之闡釋性態樣之詳細說明及其附圖將會更好地瞭解本揭示內容之特徵及優點，在附圖中：

圖1繪示例示性質粒之示意圖。

圖2繪示來自rAAV.sflt-1轉導之細胞之sFLT-1之表現、分泌及生物活性。(a) 來自Ad.sFlt-1轉導之293細胞(泳道1)、rAAV.sFlt-1轉導之D407細胞(泳道2)、rAAV.sFlt-1轉導之293細胞(泳道3)及AAV.gfp轉導之D407細胞(泳道4)之條件化培養基之西方印跡分析。(b) 來自rAAV.sFlt-1轉導之細胞之條件化培養基對VEGF誘導之HUVEC增殖之抑制。將HUVEC在饑餓培養基(柱1)、含有重組VEGF之培養基(柱2)、含有VEGF及40 μ L來自rAAV.sFlt-1轉導之293細胞之條件化培養基的培養基(柱3)、含有VEGF及80 μ L來自rAAV.sFlt-1轉導之293細胞之條件化培養基的培養基(柱4)及含有VEGF及80 μ L來自之rAAV.gfp轉導之293細胞之條件化培養基的培養基(柱5)中培養。(針對rAAV.sFlt-1加上VEGF與僅VEGF之間之差，* $P < 0.02$ ，** $P < 0.005$)。

圖3A繪示顯示人類sFlt-1 (hsFLT-1)在左眼中注射rAAV.sFlt-1 (猴

8514、8530、8523、8524及999)、rAAV.gfp (猴8297及8532)、在兩隻眼中注射重組sFLT-1蛋白質(猴8294)之猴及在對照未注射猴(對照)之玻璃體中之表現的圖。在注射後3個月時使對照及猴8294及999無痛致死，在注射後9個月時使猴8524無痛致死且在注射後12個月時使猴8297、8532、8514、8530及8523無痛致死。*表示在注射rAAV.sFlt-1之眼中sFLT-1蛋白質含量顯著更高($p < 0.05$)。圖3B繪示顯示在注射後不同時間，注射rAAV.sFlt-1 (999、8524、8523、8530及8514)、注射rAAV.gfp (8297及8532)、注射重組sFLT-1蛋白質(8294)及未注射(對照)猴中之hsFLT-1含量的圖。

圖4：猴中之免疫細胞亞群群體。各圖顯示在注射後不同時間之免疫細胞亞群群體。999、8294、8514、8523及8530：注射rAAV.sFlt-1。8294：注射重組sFLT-1蛋白質。8297及8532：注射rAAV.gfp。

圖5繪示在注射後不同時間在不同猴中比較CD4+ T細胞中之Ki67反應的圖。

圖6繪示在注射後不同時間在不同猴中比較CD4+ T細胞中之Ki67反應的圖。

圖7A至7D繪示各種例示性複製起點序列。

圖8A至8F繪示各種例示性啟動子之序列。

圖9A至9C繪示各種例示性嵌合內含子、多A序列及ITR區之序列。

圖9D至9F繪示各種例示性連接體序列之序列。

圖9G至9H繪示各種例示性UTR序列之序列。

圖10A至10C繪示編碼各種例示性抗VEGF蛋白質之序列。

圖11繪示sFLT-1之胺基酸序列。

圖12A至12B繪示各種例示性抗生素抗性基因之序列。

圖13繪示一種例示性組合物(AVA-101)之PK，其中其在6至8週時

達到最佳抗VEGF表現。RBZ係抗VEGF之標準護理(例如雷珠單抗)。
「RBZ補救」意指補救治療。

圖14繪示患者之眼科評定。發炎係藉由活組織顯微鏡檢查(BE)及間接檢眼鏡檢查(IOE)評估。Unrem：不顯著。

圖15A及15B繪示視力敏度結果。

圖16繪示先前給予24次樂舒晴注射之患者之視網膜厚度的量測。

圖17繪示生物分佈：用於sFLT-1序列之qPCR (所檢測拷貝數)。

圖18繪示生物分佈：藉由ELISA量測之AAV衣殼，AAV效價(衣殼/mL)。

圖19繪示藉由ELISA量測之sFLT-1之生物分佈。顯示人類sFLT-1濃度(pg/mL)。

圖20A及20B繪示投與低劑量AVA-101 (R1、R2、R4)或高劑量AVA-101 (R5、R6及R8)之患者之OCT評定。

圖21A及21B繪示在治療後180天時經rAAV.sFlt-1治療之人類個體對未經治療對照患者的視力敏度結果。

圖22A及22B繪示在治療後1年時經rAAV.sFlt-1治療之人類個體對未經治療對照患者的視力敏度結果。

圖23繪示在rAAV.sFlt-1之臨床研究中以週計接受樂舒晴補救注射(VEGF抑制劑再投與)之人類個體之表。

圖24繪示在rAAV.sFlt-1之臨床研究中經rAAV.sFlt-1治療之人類個體以週計之視力敏度及SD-OCT影像。

【實施方式】

本揭示內容闡述以下意外結果：可使用表現VEGF抑制劑之病毒(例如AAV)治療人類之脈絡膜新生血管形成及AMD。

下文參照闡釋用實例應用來闡述本揭示內容之若干態樣。應瞭

解，本文列舉各種具體細節、關係及方法以提供對本揭示內容之完全理解。然而，熟習相關技術者易於認識到，可在不使用一或多個具體細節或使用其他方法之情形下來實踐本揭示內容。本發明並不限於各個動作或事件之所闡釋順序，此乃因一些動作可以不同順序發生及/或與其他動作或事件同時發生。另外，未必需要所有所闡釋動作或事件來實施本發明方法。

本發明之術語僅係用於闡述特定情形之目的而非意欲限制本揭示內容之組合物、方法及組合物。

除非另外指明，否則如本文所述之本揭示內容之組合物及方法可採用習用技術及分子生物學(包括重組技術)、細胞生物學、生物化學、免疫化學及眼科技術之說明，其為彼等實踐該技術者已知。該等習用技術包括觀察並分析個體之視網膜或視力之方法、重組病毒之選殖及繁殖、醫藥組合物之調配及生物化學純化及免疫化學。可參照本文中之實例具體說明適宜技術。然而，當然亦可使用等效習用程序。該等習用技術及說明可參見標準實驗室手冊，例如Green等人編輯，Genome Analysis: A Laboratory Manual Series (第I-IV卷) (1999)；Weiner等人編輯，Genetic Variation: A Laboratory Manual (2007)；Dieffenbach, Dveksler 編輯；PCR Primer: A Laboratory Manual (2003)；Bowtell及Sambrook, DNA Microarrays: A Molecular Cloning Manual (2003)；Mount, Bioinformatics: Sequence and Genome Analysis (2004)；Sambrook 及 Russell, Condensed Protocols from Molecular Cloning: A Laboratory Manual (2006)；及 Sambrook 及 Russell, Molecular Cloning: A Laboratory Manual (2002) (所有均來自 Cold Spring Harbor Laboratory Press)；Stryer, L., Biochemistry (第4版) W.H. Freeman, N.Y. (1995)；Gait, 「Oligonucleotide Synthesis: A Practical Approach」 IRL Press, London (1984)；Nelson 及 Cox,

Lehninger, Principles of Biochemistry, 第3版, W.H. Freeman Pub., New York (2000); 及Berg等人, Biochemistry, 第5版, W.H. Freeman Pub., New York (2002), 所有該等參考文獻出於所有目的皆全文以引用方式併入本文中。在闡述本發明組合物、研究工具及方法之前, 應瞭解, 本揭示內容並不限於所述具體方法、組合物、靶標及用途, 因此, 當然可變。亦應瞭解, 本文所用術語僅出於闡述特定態樣之目的而非意欲限制本發明之範圍, 本發明之範圍僅受限於隨附申請專利範圍。

除非上下文明確指明, 否則如本文中所使用, 單數形式「一(a)」、「一(an)」及「該(the)」亦意欲包括複數形式。另外, 在詳細說明及/或申請專利範圍中使用術語「包括(including)」、「包括(includes)」、「具有(having)」、「具有(has)」、「具有(with)」或其變化形式時, 該等術語意欲以類似於術語「包含(comprising)」之方式來表示包含範圍。

本文中範圍可表示為自「約」一個特定值、及/或至「約」另一特定值。當表示此一範圍時, 另一情形包括自該一個特定值及/或至該另一個特定值。類似地, 當數值藉由使用先行詞「約」表示為近似值時, 應瞭解, 該特定值構成另一情形。應進一步瞭解, 各範圍之端點在與另一端點有關、及與另一端點無關兩種情況下皆具有意義。本文所用術語「約」係指在特定使用之背景下自所述數值加上或減去15%之範圍。舉例而言, 約10可包括8.5至11.5之範圍。術語「約」亦慮及值之量測中之典型錯誤或不精確性。

I. AMD

AMD係50歲以上患者失明之主要原因且其特徵在於黃斑處之光感受器、外視網膜及視網膜色素上皮進行性退化。濕型(新生血管性或滲出性) AMD較不常見, 但通常可致使患者之中央視力快速且經常

顯著損失。在濕型AMD中，脈絡膜新生血管形成且發育成可在視網膜色素上皮下並穿過其生長之血管網絡。由於此係藉由向視網膜下空間中血漿滲漏及/或出血來完成，故若此在黃斑中發生，則可存在中央視力之嚴重突然喪失。

若無另外指明，則術語「AMD」可為乾式AMD或濕式AMD。本發明涵蓋AMD (濕式AMD及/或乾式AMD)之治療或預防。

如業內先前已知，已顯示AMD無單一病因。此高度複雜疾病可由各種情況(包括但不限於年齡、遺傳傾向及環境或其組合)引起。在人類中，例如，已建立流行病學風險因素可包括(但不限於)吸煙、飲食、雌性性別、高加索人種及AMD之家族史。由於AMD在年齡小於55歲之個體中稀少，故唯一所需風險因素係年齡，在AMD之發病機制中，其涉及多種伴隨正常衰老之細胞變化。

AMD之病原學複雜性反映為相對貧乏有效療法、預防策略及對其進行研究之良好動物模型。由於疾病之複雜性及不完整表徵，AMD在動物中不完全建模。此部分係由於動物及靈長類動物視網膜之解剖學差異、以及疾病發生所需之延長時間。人類分子遺傳及動物研究之證據支持以下意見：負責正常光感受器-RPE生理學之多種機制之改變穩態可參與該疾病。至少在分子級上，可在動物模型中且在一些情形下甚至在彼等基因缺陷並非人類之AMD之主要原因者中探索疾病。

先前遺傳研究以及深度病理分析揭示AMD無簡單遺傳模式且無一種病理學對於各種AMD動物模型係常見的。儘管業內已知非人類靈長類動物模型比小鼠或大鼠模型更好地近似人類之AMD，但非人類靈長類動物之視網膜解剖學、組織學及甚至遺傳學之基本差異產生不同物種特異性病狀。

此外且如本文所述，在動物模型中可使用雷射光凝固以誘導

AMD 樣症狀。在一些情形下，雷射治療使布魯赫膜 (Bruch's membrane) 破裂且誘發起源於脈絡膜中之纖維血管增殖性反應。此反應係基於在晚期 AMD 中對脈絡膜新生血管形成建模且在恒河猴及食蟹猴中發生。

使用氬雷射，保持斑點較小且利用足夠電力對其進行誘導以使布魯赫膜破裂。此在光凝固時以氣泡形式眼底鏡可見。光凝固誘導脈絡膜血管發生血栓，之後48小時後再內皮化及截至一週新血管在視網膜下空間中生長。由於新形成之血管更具滲透性，故新生血管性發育可利用螢光素血管攝影術監測以評定血管滲漏。

自發新生血管性內旋(由減少螢光素滲漏指示)在約3至7週時開始且隨後逐漸進展(在約2至13個月之時段內)直至滲漏在位點處不再明顯。

與較差血管化瘢痕相比之新血管生長程度可在所有模型中變化且受物種、視網膜中之損傷位置及雷射束之強度影響。物種與物種間治療差異之固有可變性進一步支持以下觀點：無一種動物模型完全概括人類之AMD。

在過去數年間，用於AMD之療法已發生變化，可利用結合蛋白質 VEGF 之抗體及適配體。已顯示 VEGF 蛋白質或 VEGF 配體經由結合細胞受體(包括 VEGF 受體)刺激新血管形成(即血管生成)。如業內已知，抗 VEGF 試劑可在一定程度上預防以濕式 AMD 發生之新生血管形成及血管生成。Macugen[®] 或樂舒晴[®] 或 Eylea[®] (抗 VEGF 試劑) 之眼內注射昂貴，且在大多數情形下治療應每四至六週重複一次或在 Eylea[®] 情形下每八週重複一次。舉例而言，樂舒晴係每月每次注射花費約 \$1950 之 VEGF 抗體片段。癌思停 (Avastin) (VEGF 抗體) 係標示外使用，且 Eylea (VEGF trap) 每次注射花費約 \$1850 且每第二月投與。所有該等醫藥共有之常見問題係藥物動力學性質降低且因此需要重複眼

部注射。

業內需要實際的、經濟上可行之長效治療策略。本揭示內容提供新穎治療劑以解決一些該等需要。

本發明提供抗VEGF分子(例如sFLT-1)，其由任何適宜載體(例如重組病毒系統)遞送至患有或懷疑患有AMD或相關新生血管性視網膜疾病之人類個體之視網膜。在一些情形下，sFLT-1可為VEGF之有效直接結合蛋白質。在一些情形下，sFLT-1亦可阻斷或抑制VEGF活性。

舉例而言，如業內已知，已觀察到sFLT-1結構域2 (如本文進一步闡述)以 $K_d=10$ pM結合VEGF蛋白質二聚體。此相互作用具有特異性且可與100倍過量未標記VEGF競爭。另外，在一些情形下，sFLT-1可藉由形成可在VEGF配體存在下穩定之無活性異源二聚體複合體不僅封阻VEGF配體，亦可封阻VEGF受體(KDR)。在一些情形下，sFLT-1可以顯性負性方式起作用，此乃因可防止細胞外空間中之過量VEGF結合且隨後活化VEGF受體。

本發明以提供與rAAV調介之至眼中之基因遞送相關之組合物及方法。已利用基於AAV之系統觀察到狗眼中之長期基因表現(>8年)。視網膜中之sFLT-1 mRNA表現維持至少18個月。已實施利伯先天性黑朦(Leber's congenital amaurosis)之三個人類試驗，證實在視網膜退化性疾病(例如LCA)之背景下，基於AAV之遞送系統安全。

II. VEGF及Fms相關之酪胺酸激酶-1 (sFLT-1)蛋白質

A. VEGF

血管內皮生長因子(本文中稱作「VEGF」或「VEGF配體」)係在生理血管形成中起關鍵作用之有效內皮細胞特異性有絲分裂促進劑。在一些情形下，VEGF活性由細胞中VEGF配體與一或多種VEGF受體結合產生。VEGF配體與VEGF受體之結合可具有多種下游細胞及生物

化學效應，包括但不限於組織中之血管生成。VEGF已涉及實質上每一類型之血管生成或新生血管性病變，包括彼等與癌症、缺血及發炎相關者。另外，VEGF已涉及眼疾病，包括但不限於缺血性視網膜病變、眼內新生血管形成、老年性黃斑部退化(AMD)、濕式AMD、乾式AMD、視網膜新生血管形成、糖尿病性黃斑水腫、糖尿病性視網膜缺血、糖尿病性視網膜水腫、增殖性糖尿病性視網膜病變、視網膜靜脈阻塞、中央視網膜靜脈阻塞、分枝視網膜靜脈阻塞。此外，抗VEGF治療(包括如本文所述本揭示內容之組合物及方法)可用於治療一或多種本文所述之該等疾病。

最近數據表明，VEGF係濕型AMD之發病機制中之周邊血管生成生長因子。

VEGF (一種46-kDa同源二聚體糖肽)係由若干不同眼細胞類型(包括但不限於色素上皮細胞、外周細胞、血管內皮細胞、神經膠質及神經節細胞)表現。在一些情形下，VEGF係在視網膜發育期間以具體空間及時間型式表現。在一些情形下，VEGF之人類同型異構體可包括206、189、183、165、148、145及121個胺基酸/單體之蛋白質，然而，主要人類VEGF同型異構體包括(但不限於)VEGF121、VEGF165、VEGF189及VEGF206。該等蛋白質係藉由選擇性剪切VEGF mRNA產生且其結合肝素及特異性VEGF受體或共受體(跨膜蛋白)之能力不同。由VEGF基因外顯子1-5編碼之結構域含有識別已知VEGF受體KDR/FLK-1及FLT-1所需之資訊。此結構域存於所有VEGF同型異構體中。VEGF經由該等受體起作用，該等受體係高親和力受體酪胺酸激酶，從而導致內皮細胞增殖、遷移及增加血管通透性。

VEGF係參與複雜血管生成過程之若干因子中之一者且對血管內皮細胞具有極高特異性。VEGF係諸如胚胎發生、骨骼生長及生殖功能等過程期間生理血管生成之調控劑，但其亦涉及與疾病相關之病理

性血管生成，例如涉及癌症、胎盤病症及其他病況。VEGF之潛在生物效應可藉由特異性fms樣跨膜受體FLT-1及FLK-1/KDR調介。在一些情形下，VEGF之該等天然結合配偶體可實現VEGF與VEGF受體結合，因此，調節VEGF受體及隨後下游途徑之活化。

關於癌症，若干VEGF抑制劑(包括針對VEGF之人類化單株抗體(rhuMab VEGF)、抗VEGFR-2抗體、抑制VEGFR-2信號轉導之小分子及可溶性VEGF受體)已顯示一些治療性質。

關於眼內新生血管性疾病(例如糖尿病性視網膜病變或老年性黃斑部退化)，一些VEGF拮抗劑顯示治療效應，但需要經常投與。

B. 抗VEGF

本發明之重組病毒包含編碼抗VEGF蛋白質(包括但不限於美國專利第7,635,474號中揭示之VEGF結合融合蛋白)之序列。抗VEGF蛋白質亦可包括如本文所述sFLT-1蛋白質。

本文中之「sFLT-1蛋白質」係指與天然人類sFLT-1序列至少90%或更高同源之多肽序列，以使sFLT-1蛋白質或多肽結合VEGF受體及/或起VEGF之顯性/負性抑制劑作用。在一些情形下，「sFLT-1蛋白質」可與天然人類sFLT-1蛋白質序列至少約90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、99.9%、99.99%或100%同源。在一些情形下，「sFLT-1蛋白質」可與天然人類sFLT-1蛋白質序列至多約90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、99.9%、99.99%或100%同源。在一些情形下，「sFLT-1蛋白質」可與天然人類sFLT-1蛋白質構象至少約90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、99.9%、99.99%或100%空間上同源。在一些情形下，「sFLT-1蛋白質」可與天然人類sFLT-1蛋白質構象至多約90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、99.9%、99.99%或100%空間上同源。天然人類sFLT-1蛋白質可包括

sFLT-1之任何適宜變體，包括但不限於功能片段、插入、缺失、取代、假片段、假基因、剪接變體或人工最佳化序列。

此外，可溶性經截短形式之VEGF受體FLT-1（即sFLT-1）係唯一已知內源特異性VEGF抑制劑。實際上，其係藉由選擇性mRNA剪切產生且無靠近膜之免疫球蛋白樣結構域、跨膜區及細胞內酪胺酸-激酶結構域。FLT-1及sFLT-1蛋白質在結構上均可包含多個功能結構域。在一些變體中，FLT及sFLT蛋白質通常共享6個互連結構域；3結構域參與蛋白質之二聚化且3個結構域參與配體（例如VEGF）之結合。

sFLT-1係可溶性經截短形式之FLT-1且以內源方式表現。如本文所述，「可溶性」FLT-1或sFLT-1係指並不限於細胞膜之FLT-1。未結合sFLT-1可在細胞外空間或溶液中自由擴散。

sFLT-1係唯一已知之內源特異性VEGF抑制劑。在一些情形下，sFLT-1之血管生成抑制活性可由藉由兩種機制之VEGF之抑制產生：i) 捕捉以高親和力與其結合之VEGF，及ii) 與VEGF受體FLT-1及FLK-1/KDR之跨膜同型異構體形成無活性異源二聚體。如業內已知，活體外結合分析已指示sFLT-1以高親和力結合VEGF且亦可抑制VEGF驅動之人類臍管靜脈內皮細胞增殖。在癌症之動物模型中，sFLT-1抑制腫瘤生長。

III. 載體及重組病毒

本揭示內容之組合物及方法提供編碼抗VEGF之核酸（例如sFLT-1蛋白質）至有需要之人類個體或患者之細胞之遞送。在一些情形下，核酸之遞送可稱作基因療法。

本揭示內容之組合物及方法提供遞送抗VEGF核酸（例如sFLT-1）之任何適宜方法。在一些情形下，核酸之遞送可使用任何適宜「載體」（有時亦稱作「基因遞送」或「基因轉移媒劑」）實施。載體、遞送媒劑、基因遞送媒劑或基因轉移媒劑可指包含欲遞送至靶細胞之多

核苷酸之任何適宜大分子或分子複合體。在一些情形下，靶細胞可為遞送核酸或基因之任何細胞。欲遞送之多核苷酸可包含基因療法中所關注編碼序列(例如sFLT-1基因)。

舉例而言，適宜載體可包括(但不限於)病毒載體(例如腺病毒、腺相關病毒(AAV)及逆轉錄病毒)、脂質體、其他含脂質之複合體及其他能夠調介多核苷酸遞送至靶細胞之大分子複合體。

在一些情形下，載體可為有機或無機分子。在一些情形下，載體可為小分子(即 <5 kD)或大分子(即 > 5 kD)。舉例而言，載體可包括(但不限於)非生物活性分子(例如金屬粒子)。在一些情形下，載體可為金粒子。

在一些情形下，載體可包含生物活性分子。舉例而言，載體可包含聚合化大分子，例如樹枝狀聚合物。

在一些情形下，載體可包含納入一或多種核酸之重組病毒載體。如本文所述，核酸可指多核苷酸。核酸及多核苷酸可互換使用。在一些情形下，核酸可包含DNA或RNA。在一些情形下，核酸可包括用於表現sFLT-1之DNA或RNA。在一些情形下，RNA核酸可包括(但不限於)所關注基因之轉錄物(例如sFLT-1)、內含子、未轉譯區、終止序列及諸如此類。在其他情形下，DNA核酸可包括(但不限於)諸如雜合體啟動子基因序列、強組成型啟動子序列、所關注基因(例如sFLT-1)、未轉譯區、終止序列及諸如此類等序列。在一些情形下，可使用DNA與RNA之組合。

如本文中之本揭示內容所述，術語「表現構築體」意欲包括任何類型之含有編碼基因產物之核酸或多核苷酸之遺傳構築體，其中部分或全部核酸編碼序列能夠經轉錄。轉錄物可轉譯成蛋白質。在一些情形下，其可部分轉譯或未轉譯。在某些態樣中，表現包括基因轉錄及mRNA轉譯至基因產物中。在其他態樣中，表現僅包括編碼所關注

基因之核酸之轉錄。

在一個態樣中，本發明提供重組病毒(例如腺相關病毒(rAAV))作為用於調介sFLT-1之表現之載體。

在一些情形下，本揭示內容之病毒載體可量測為pfu (溶菌斑形成單位)。在一些情形下，本揭示內容之組合物及方法之重組病毒或病毒載體的pfu可為約 10^8 pfu至約 5×10^{10} pfu。在一些情形下，本揭示內容之重組病毒係至少約 1×10^8 、 2×10^8 、 3×10^8 、 4×10^8 、 5×10^8 、 6×10^8 、 7×10^8 、 8×10^8 、 9×10^8 、 1×10^9 、 2×10^9 、 3×10^9 、 4×10^9 、 5×10^9 、 6×10^9 、 7×10^9 、 8×10^9 、 9×10^9 、 1×10^{10} 、 2×10^{10} 、 3×10^{10} 、 4×10^{10} 及 5×10^{10} pfu。在一些情形下，本揭示內容之重組病毒係至多約 1×10^8 、 2×10^8 、 3×10^8 、 4×10^8 、 5×10^8 、 6×10^8 、 7×10^8 、 8×10^8 、 9×10^8 、 1×10^9 、 2×10^9 、 3×10^9 、 4×10^9 、 5×10^9 、 6×10^9 、 7×10^9 、 8×10^9 、 9×10^9 、 1×10^{10} 、 2×10^{10} 、 3×10^{10} 、 4×10^{10} 及 5×10^{10} pfu。

在一些情形下，本揭示內容之病毒載體可量測為載體基因組。在一些情形下，本揭示內容之重組病毒係 1×10^{10} 至 3×10^{12} 個載體基因組。在一些情形下，本揭示內容之重組病毒係 1×10^9 至 3×10^{13} 個載體基因組。在一些情形下，本揭示內容之重組病毒係 1×10^8 至 3×10^{14} 個載體基因組。在一些情形下，本揭示內容之重組病毒係至少約 1×10^1 、 1×10^2 、 1×10^3 、 1×10^4 、 1×10^5 、 1×10^6 、 1×10^7 、 1×10^8 、 1×10^9 、 1×10^{10} 、 1×10^{11} 、 1×10^{12} 、 1×10^{13} 、 1×10^{14} 、 1×10^{15} 、 1×10^{16} 、 1×10^{17} 及 1×10^{18} 個載體基因組。在一些情形下，本揭示內容之重組病毒係 1×10^8 至 3×10^{14} 個載體基因組。在一些情形下，本揭示內容之重組病毒係至多約 1×10^1 、 1×10^2 、 1×10^3 、 1×10^4 、 1×10^5 、 1×10^6 、 1×10^7 、 1×10^8 、 1×10^9 、 1×10^{10} 、 1×10^{11} 、 1×10^{12} 、 1×10^{13} 、 1×10^{14} 、 1×10^{15} 、 1×10^{16} 、 1×10^{17} 及 1×10^{18} 個載體基因組。

在一些情形下，可使用感染複數(MOI)量測本揭示內容之病毒載

體。在一些情形下，MOI可指載體或病毒基因組對可將核酸遞送至其之細胞之比率或倍數。在一些情形下，MOI可為 1×10^6 。在一些情形下，MOI可為 1×10^5 - 1×10^7 。在一些情形下，MOI可為 1×10^4 - 1×10^8 。在一些情形下，本揭示內容之重組病毒係至少約 1×10^1 、 1×10^2 、 1×10^3 、 1×10^4 、 1×10^5 、 1×10^6 、 1×10^7 、 1×10^8 、 1×10^9 、 1×10^{10} 、 1×10^{11} 、 1×10^{12} 、 1×10^{13} 、 1×10^{14} 、 1×10^{15} 、 1×10^{16} 、 1×10^{17} 及 1×10^{18} MOI。在一些情形下，本揭示內容之重組病毒係 1×10^8 至 3×10^{14} MOI。在一些情形下，本揭示內容之重組病毒係至多約 1×10^1 、 1×10^2 、 1×10^3 、 1×10^4 、 1×10^5 、 1×10^6 、 1×10^7 、 1×10^8 、 1×10^9 、 1×10^{10} 、 1×10^{11} 、 1×10^{12} 、 1×10^{13} 、 1×10^{14} 、 1×10^{15} 、 1×10^{16} 、 1×10^{17} 及 1×10^{18} MOI。

在一些態樣中，核酸可在不使用病毒(即具有非病毒載體)情況下遞送且可量測為核酸之量。通常，任何適宜量之核酸可與本揭示內容之組合物及方法一起使用。在一些情形下，核酸可為至少約1 pg、10 pg、100 pg、1 pg、10 pg、100 pg、200 pg、300 pg、400 pg、500 pg、600 pg、700 pg、800 pg、900 pg、1 μg、10 μg、100 μg、200 μg、300 μg、400 μg、500 μg、600 μg、700 μg、800 μg、900 μg、1 ng、10 ng、100 ng、200 ng、300 ng、400 ng、500 ng、600 ng、700 ng、800 ng、900 ng、1 mg、10 mg、100 mg、200 mg、300 mg、400 mg、500 mg、600 mg、700 mg、800 mg、900 mg、1 g、2 g、3 g、4 g或5g。在一些情形下，核酸可為至多約1 pg、10 pg、100 pg、1 pg、10 pg、100 pg、200 pg、300 pg、400 pg、500 pg、600 pg、700 pg、800 pg、900 pg、1 μg、10 μg、100 μg、200 μg、300 μg、400 μg、500 μg、600 μg、700 μg、800 μg、900 μg、1 ng、10 ng、100 ng、200 ng、300 ng、400 ng、500 ng、600 ng、700 ng、800 ng、900 ng、1 mg、10 mg、100 mg、200 mg、300 mg、400 mg、500 mg、

600 mg、700 mg、800 mg、900 mg、1 g、2 g、3 g、4 g或5g。

在一些態樣中，可使用自互補載體(sc)。使用自互補AAV載體可不需要病毒第二鏈DNA合成且可導致轉基因蛋白質之更大表現速率，如由Wu, Hum Gene Ther. 2007, 18(2):171-82提供，其以引用方式併入本文中。

在一些態樣中，可生成若干AAV載體以使得能夠選擇大多數最佳血清型、啟動子及轉基因。

在一些情形下，載體可為靶向載體、尤其選擇性結合至特定細胞(例如癌細胞或腫瘤細胞或眼細胞)之靶向載體。用於本揭示內容中之病毒載體可包括彼等對靶細胞呈現低毒性且以細胞特異性方式誘導產生治療上有用量之光敏性跨膜蛋白質者。

本揭示內容之組合物及方法提供任何適宜病毒核酸遞送系統，包括但不限於使用以下中之至少一者：腺相關病毒(AAV)、輔助病毒依賴性腺病毒、逆轉錄病毒、單純皰疹病毒、慢病毒、痘病毒、日本血凝病毒-脂質體(HVJ)複合體、莫洛尼鼠類白血病毒及基於HIV之病毒。較佳地，病毒載體包含以可操作方式與多核苷酸連接之強真核啟動子，例如巨細胞病毒(CMV)啟動子。

通常，任何適宜病毒載體可經改造以針對與本揭示內容之組合物及方法之使用最佳化。舉例而言，可使用源自腺病毒(Ad)或腺相關病毒(AAV)之病毒載體。可使用人類及非人類病毒載體且可改變重組病毒載體，以使其可在人類中具有複製缺陷性。若載體係腺病毒，則載體可包含具有以可操作方式與編碼光敏性跨膜蛋白質之基因連接之啟動子的多核苷酸且在人類中具有複製缺陷性。

為組合兩個病毒載體系統之有利性質，可使用雜合病毒載體將編碼sFLT-1蛋白質之核酸遞送至靶細胞或組織。彼等熟習此項技術者熟知構築雜合載體之標準技術。該等技術可參見(例如) Sambrook等

人，In *Molecular Cloning: A laboratory manual*. Cold Spring Harbor, N.Y.或任何數量之論述重組DNA技術之實驗室手冊。可使用含有AAV與腺病毒ITR之組合之腺病毒衣殼中之雙鏈AAV基因組來轉導細胞。在另一變化形式中，可將AAV載體放置於「無膽量」、「輔助依賴性」或「高容量」腺病毒載體。腺病毒/AAV雜合載體論述於Lieber等人，*J. Virol.* 73:9314-9324, 1999中。逆轉錄病毒/腺病毒雜合載體論述於Zheng等人，*Nature Biotechnol.* 18:176-186, 2000中。

腺病毒內含有之逆轉錄病毒基因組可整合於靶細胞基因組內且實現穩定基因表現。

複製缺陷性重組腺病毒載體可根據已知技術產生。參見Quantin等人，*Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 89:2581-2584 (1992)；Stratford-Perricadet等人，*J. Clin. Invest.*, 90:626-630 (1992)；及Rosenfeld等人，*Cell*, 68:143-155 (1992)。

另外，較佳載體可包括(但不限於)病毒載體、融合蛋白及化學偶聯物。逆轉錄病毒載體包括莫洛尼鼠類白血病毒及基於HIV之病毒。在一些情形下，可使用基於HIV之病毒載體，其中基於HIV之病毒載體包含至少兩種載體，其中gag及pol基因係來自HIV基因組且env基因係來自另一病毒。可使用DNA病毒載體。該等載體包括痘病毒載體(例如正痘病毒或鳥痘病毒載體)、疱疹病毒載體(例如單純疱疹病毒I (HSV)載體[Geller, A.I.等人，*J. Neurochem*, 64: 487 (1995)；Lim, F.等人，*DNA Cloning: Mammalian Systems*, D. Glover編輯(Oxford Univ. Press, Oxford England) (1995)；Geller, A.I.等人，*Proc Natl. Acad. Sci.: U.S.A.*:90 7603 (1993)；Geller, A.I., 等人，*Proc Natl. Acad. Sci USA*: 87:1149 (1990)]、腺病毒載體[LeGal LaSalle等人，*Science*, 259:988 (1993)；Davidson等人，*Nat. Genet.* 3: 219 (1993)；Yang等人，*J. Virol.* 69: 2004 (1995)]及腺相關病毒載體[Kaplitt, M.G.等人，

Nat. Genet. 8:148 (1994)]，其以引用方式併入本文中。

可根據本發明使用之其他病毒載體包括基於單純疱疹病毒(HSV)之載體。缺失一或多個即早基因(IE)之HSV載體係有利的，此乃因其通常無細胞毒性，以類似於靶細胞中之潛伏期之狀態持續，且提供有效靶細胞轉導。重組HSV載體可納入約30 kb之異源核酸。

本揭示內容中亦可使用逆轉錄病毒(例如C型逆轉錄病毒)及慢病毒。舉例而言，逆轉錄病毒載體可基於鼠類白血病毒(MLV)，如由Hu及Pathak, *Pharmacol. Rev.* 52:493-511, 2000及Fong等人，*Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Syst.* 17:1-60, 2000所提供，其以引用方式併入本文中。基於MLV之載體可含有至多8 kb異源(治療性) DNA來替代病毒基因。異源DNA可包括組織特異性啟動子及光敏性跨膜蛋白質核酸。在遞送至腫瘤性細胞之方法中，其亦可編碼組織特異性受體之配體。

可使用額外逆轉錄病毒載體，包括但不限於基於複製缺陷性慢病毒之載體，包括基於人類免疫缺陷(HIV)之載體，如由Vigna及Naldini, *J. Gene Med.* 5:308-316, 2000及Miyoshi等人，*J. Virol.* 72:8150-8157, 1998所提供，其以引用方式併入本文中。慢病毒載體之有利之處在於其能夠感染主動分裂及未分裂細胞。其亦可在轉導人類上皮細胞時高度有效。

用於本揭示內容中之慢病毒載體可源自人類及非人類(包括SIV)慢病毒。慢病毒載體之實例包括載體繁殖所需之核酸序列以及以可操作方式與光敏性跨膜蛋白質基因連接之組織特異性啟動子。核酸序列可包括病毒LTR、引物結合位點、多嘌呤道、附接位點及衣殼化位點。

慢病毒載體可包裝至任何適宜慢病毒衣殼中。一種粒子蛋白質經不同病毒之另一形式取代稱作「假分型」。載體衣殼可含有來自其他病毒(包括鼠類白血病毒(MLV)或水疱性口炎病毒(VSV))之病毒包

膜蛋白。使用VSV G蛋白會產生高載體效價且產生載體病毒粒子之更大穩定性。

本揭示內容中亦可使用基於甲病毒之載體(例如彼等自西門利克森林病毒(semliki forest virus, SFV)及辛德畢斯病毒(sindbis virus, SIN)製得者)。甲病毒之使用闡述於Lundstrom, K., Intervirology 43:247-257, 2000及Perri等人, Journal of Virology 74:9802-9807, 2000中, 其以引用方式併入本文中。

重組複製缺陷性甲病毒載體可為有利的, 此乃因其能夠高程度異源(治療性)基因表現, 且可感染寬靶細胞範圍。甲病毒複製可藉由在其病毒粒子表面上展示功能異源配體或結合結構域靶向特定細胞類型, 該功能異源配體或結合結構域可允許選擇性結合至表現同源結合配偶體之靶細胞。甲病毒複製可建立潛伏期, 且因此在靶細胞中長期異源核酸表現。複製亦可在靶細胞中呈現瞬時異源核酸表現。

痘病毒載體可將基因引入細胞之胞質中。鳥痘病毒載體可引起基因或核酸短期表現。腺病毒載體、腺相關病毒載體及單純疱疹病毒(HSV)載體可與本揭示內容之組合物及方法一起使用。腺病毒載體可比腺相關病毒引起較短期表現(例如, 小於約1個月), 在一些態樣中, 且可呈現遠更長表現。所選特定載體可端視靶細胞及所治療病況而定。

腺相關病毒(AAV)係小的無包膜單鏈DNA病毒。其係無病原性人類細小病毒且可端視輔助病毒(包括腺病毒、單純疱疹病毒、痘苗病毒及CMV)而定用於複製。於野生型(wt) AAV中暴露與任何人類病狀無關或已知不會引起任何人類病狀且在一般群體中常見, 通常發生在與腺病毒感染相關之生命之前十年。

如本文所述, 「AAV」係指腺相關病毒, 「rAAV」係指重組腺相關病毒。

在一些情形下，野生型AAV編碼rep及cap基因。病毒複製需要rep基因且衣殼蛋白質之合成需要cap基因。經由選擇性轉譯起始及剪切位點之組合，小基因組可能夠表現四種rep基因產物及三種cap基因產物。rep基因產物及倒置末端重複(145 bp ITR，其側接基因組)中之序列在此過程中可為至關重要的。迄今為止，已分離11種血清型AAV。AAV2可與本揭示內容之組合物及方法一起使用。本揭示內容之組合物及方法提供任何適宜AAV血清型之用途。在一些情形下，可使用AAV1、AAV2、AAV3、AAV4、AAV5、AAV6、AAV7、AAV8、AAV9、AAV10或AAV11血清型。

腺病毒內含有之逆轉錄病毒基因組可整合於靶細胞基因組內且實現穩定基因表現。

在一些態樣中，AAV係選自由以下組成之群：AAV1、AAV2、AAV2.5、AAV3、AAV4、AAV5、AAV6、AAV7、AAV8、AAV9、AAV10、AAV11、AAV12及其雜合體。

在一些態樣中，本揭示內容提供包含進一步包含人類形式之經截短之可溶性VEGF受體1 (sFLT-1)之核酸的重組病毒且命名為rAAV.sFlt-1。載體係血清型2之重組之複製缺陷性腺相關病毒(rAAV)載體。

AAV2最具特徵。已顯示rAAV2能夠調介許多動物物種之眼中之長期轉基因表現。在大鼠中，在注射後18個月時，仍存在rAAV調介之報告基因(綠色螢光蛋白質)。在猴中，在注射後17個月時，存在相同報告基因。類似地，在注射後15個月時，在注射rAAV.sFlt-1之猴眼之玻璃體中存在高sFLT-1蛋白質含量。

已在動物模型中針對眼內新生血管性病變測試rAAV.sFlt-1。在角膜新生血管形成及視網膜新生血管形成之動物模型中，rAAV.sFlt抑制新生血管形成或減緩其進展。關鍵發現係在脈絡膜新生血管形成之猴

模型(濕型老年性黃斑部退化或AMD之模型)中，rAAV-調介之sFlt-1抑制新生血管形成。在此研究中，眼中rAAV.sFlt-1構築體之存在及sFLT-1之上調未影響猴之身體狀況或視網膜功能。無證據表明與全身性暴露於rAAV.sFlt-1相關之任何安全性問題。該等研究中之整體正向發現及無rAAV載體毒性、以及脈絡膜新生血管形成/AMD之哺乳動物模型中關於rAAV.sFlt-1之發現提供以下廣泛支持數據：在投與眼時，載體具有有利之安全特性。

另外，在UK及USA使用rAAV2骨架實施3個關於利伯先天性黑矇(LCA)之臨床試驗。LCA係在出生時或在生命之前幾個月出現之罕見遺傳眼病且其特徵在於出現眼球震顫、遲緩或無瞳孔反應及嚴重視力損失或失明。迄今為止，在該兩個試驗中，在向6名參與者之視網膜下空間中注射rAAV2構築體後尚未報告安全問題。參與臨床試驗之兩組推斷出其發現支持LCA患者中之其他基因療法研究。

載體可包含進一步調節基因遞送及/或基因表現或原本為靶向細胞提供有益性質之組份或功能。該等其他組份包括(例如)影響與細胞結合或靶向之組份(包括調介細胞型或組織特異性結合之組份)；影響載體核酸由細胞攝取之組份；影響攝取後多核苷酸於細胞內之定位之組份(例如調介核定位之藥劑)；及影響多核苷酸表現之組份。該等組份亦可包括標記，例如可用於檢測或選擇已吸收且正表現由載體遞送之核酸之細胞的可檢測及/或可選擇標記。該等組份可以載體之天然特徵形式提供(例如使用某些具有調介結合及攝取之組份或功能的病毒載體)，或載體可經改質以提供該等功能。

可選擇標記可為陽性、陰性或雙功能可選標記。陽性可選擇標記允許選擇攜帶標記之細胞，而陰性可選擇標記允許攜帶標記之細胞經選擇性消除。已闡述多種該等標記基因，包括雙功能(即，陽性/陰性)標記(例如，參見Lupton, S., WO 92/08796，於1992年5月29日公

開；及Lupton, S., WO 94/28143，於1994年12月8日公開)。陰性可選擇標記之實例可包括將抗性基因包括於抗生素(例如安比西林或卡那黴素(kanamycin))中。該等標記基因可提供可在基因療法背景下有利之增加控制措施。多種該等載體已為業內已知且通常可獲得。

在許多與本揭示內容之方法相容之病毒載體中，載體中可包括一或多個啟動子以允許一個以上異源基因由載體表現。此外，載體可包含編碼單一肽或有利於靶細胞之光敏性跨膜蛋白質表現的其他部分之序列。

編碼基因產物之核酸可在啟動子之轉錄控制下。如本文所提供，「啟動子」係指起始基因轉錄所需之適宜DNA序列。片語「在轉錄控制下」意指啟動子關於核酸處於正確位置及定位以控制RNA聚合酶起始及基因表現。在一些情形下，啟動子可包括「強」或組成型活化啟動子。舉例而言，CMV啟動子可如業內已知用作組成型活化啟動子。在一些情形下，CMV啟動子可包含用於促進表現之額外調控元件。在一些情形下，CMV啟動子可包含初始-早期CMV啟動子。

在一些情形下，啟動子可指「弱」啟動子或比強啟動子產生較低含量之sFLT-1蛋白質之序列。在一些情形下，可使用啟動子以使啟動子驅動sFLT-1之選擇性表現。在一些情形下，可使用與如本文所述序列組合使用之啟動子或其他調控元件來驅動眼細胞或眼組織中之sFLT-1之選擇性表現。

另外，「啟動子」、**104**亦可在本文中互換使用以指可在RNA聚合酶起始位點周圍存在之任何額外適宜轉錄控制模組。本揭示內容之組合物及方法可使用任何適宜啟動子及轉錄控制模組用於表現轉基因、**106**。額外轉錄控制模組可包括(但不限於)諸如HSV胸苷激酶(tk)及SV40早期轉錄單元等元件。通常，啟動子可包括離散功能模組，其各自由約7-20 bp DNA或20-5000 bp DNA組成，且含有一或多個用於

轉化活化劑或阻遏蛋白之識別位點。本揭示內容之組合物及方法提供任何適宜調控序列或其組合。在一些情形下，該等轉錄控制模組序列可稱作或鑑別為增強子或阻遏序列。

每一啟動子中之至少一個模組發揮作用以定位RNA合成之起始位點。一個實例係TATA盒。另一實例可包括一些無TATA盒之啟動子，例如用於哺乳動物末端去氧核苷酸基轉移酶基因之啟動子及用於SV40後期基因之啟動子，覆蓋起始位點之離散元件自身有助於固定起始位置。

額外啟動子元件調控轉錄起始之頻率。通常，該等元件位於起始位點上游30-110 bp區域，但多個啟動子亦可含有在起始位點下游之功能元件。啟動子元件間之間距通常可具撓性，以便在元件相對於另一者倒置或移動時保留啟動子功能。在tk啟動子中，例如，啟動子元件間之間距可在活性開始降低之前增加至相距50 bp。端視啟動子而定，個別元件可定位以協同或獨立地起作用以活化轉錄。

本揭示內容之組合物及方法提供用於控制靶向細胞中所關注核酸序列之表現的任何適宜序列。因此，若靶向人類細胞，則可為核酸編碼區之序列可經改造以毗鄰能夠在人類細胞中表現之啟動子並在其控制下。通常，該啟動子可包括人類或病毒啟動子。

在本揭示內容之各個態樣中，可使用人類巨細胞病毒(CMV)即早基因啟動子(ie-CMV)、SV40早期啟動子、勞斯肉瘤病毒長末端重複、 β -肌動蛋白、大鼠胰島素啟動子及甘油醛-3-磷酸酯脫氫酶以獲得所關注編碼序列(例如sFLT-1)之高程度表現。亦涵蓋使用業內熟知可達成所關注編碼序列表現之其他病毒或哺乳動物細胞或細菌噬菌體啟動子，前提係表現程度對於給定目的足夠。在一些態樣中，可採用原核調控序列，例如T7 RNA聚合酶啟動子序列。在其他態樣中，可不採用該等調控序列。藉由採用具有已知性質之啟動子，可最佳化轉染

或轉換後所關注蛋白質之表現程度及型式。

因應特定生理或合成信號調控之啟動子之選擇可容許基因產物之可誘導表現。舉例而言，在轉基因之表現(在利用多順反子載體時)對產生載體之細胞有毒性之情形下，可期望禁止或減少一或多個轉基因表現。可對生產細胞系有毒性之轉基因之實例係促細胞凋亡及細胞因子基因。若干可誘導啟動子系統可用於產生病毒載體，其中轉基因產物可具毒性。本揭示內容之組合物及方法提供啟動子序列、調控序列及轉基因之任何適宜組合。在一些情形下，序列之組合可不對細胞產生毒性。在一些情形下，序列之組合可對細胞產生高毒性。在一些情形下，序列之組合可在細胞中產生中等程度之毒性。

蛻皮激素系統(Invitrogen, Carlsbad, Calif.)係一種用於轉基因表現之該系統。此系統經設計以允許哺乳動物細胞中所關注基因經調控表現。其由嚴格調控之表現機制組成，該機制允許極小基底程度之轉基因表現，但超過200倍誘導性。該系統係基於果蠅屬(*Drosophila*)之異源二聚體蛻皮激素受體，且在蛻皮激素或類似物(例如米樂甾酮A (muristerone A))結合至受體時，受體活化啟動子以開啓下游轉基因表現，獲得高含量之mRNA轉錄物。在此系統中，異源二聚體受體之兩個單體以組成型自一個載體表現，而驅動所關注基因表現之蛻皮激素反應性啟動子係在另一質粒上。在本揭示內容之組合物及方法中可使用將此類型系統改造成所關注基因轉移載體。生產細胞系中含有所關注基因之質粒與受體單體之共轉染則可允許在無潛在毒性轉基因表現情況下產生基因轉移載體。在適當時間時，可利用蛻皮激素或米樂甾酮A活化轉基因表現。

在一些情況下，可期望調控基因療法載體中之轉基因表現。舉例而言，端視期望表現程度而定可利用具有改變活性強度之不同病毒啟動子。在哺乳動物細胞中，可使用CMV即早啟動子以提供強轉錄

活化。在期望降低之轉基因表現程度時，亦已使用較不有效之改質型式之CMV啟動子。在期望轉基因在造血細胞中表現時，經常使用逆轉錄病毒啟動子(例如來自MLV或MMTV之LTR (長末端重複))。可端視期望效應使用之其他病毒啟動子包括SV40、RSV LTR、HIV-1及HIV-2 LTR、腺病毒啟動子(例如來自E1A、E2A或MLP區)、AAV LTR、花椰菜嵌紋病毒(cauliflower mosaic Virus)、HSV-TK及鳥類肉瘤病毒。

在一些態樣中，組織特異性啟動子用於在具體組織或細胞中實現轉錄以便降低對非靶向組織之潛在毒性或不合意效應。舉例而言，可使用諸如PSA、前列腺鹼性蛋白、前列腺酸性磷酸酶或前列腺特異性腺體激肽釋放酶(hK2)等啟動子以靶向前列腺中之基因表現。

在一些情形下，可使用啟動子或調控序列元件以引導眼細胞或眼組織中之選擇性表現。舉例而言，具體眼細胞類型(例如視網膜色素上皮細胞)中發現之啟動子、序列元件或調控序列可用於適宜表現構築體中。

在本揭示內容之某些態樣中，使用內核糖體進入位點(IRES)或口蹄疫病毒(FMDV)元件可用於產生多基因或多順反子訊息。IRES元件能夠繞過5'甲基化Cap依賴性轉譯之核糖體掃描模型且在內部位點處開始轉譯。已闡述微小核糖核酸病毒家族之兩個成員(脊髓灰質炎病毒及腦心肌炎)之IRES元件，亦闡述來自哺乳動物訊息之IRES。IRES元件可與異源開放閱讀框連接。多個開放閱讀框可一起轉錄，其各自由IRES分開，從而產生多順反子訊息。藉由IRES元件，每一開放閱讀框可存取至核糖體用於有效轉譯。可使用單一啟動子/增強子有效表現多個基因以轉錄單一訊息。基因療法遞送載體中兩種蛋白質之共表現之替代系統係FMDV 2A系統。FMDV 2A系統採用逆轉錄病毒質粒載體，其中兩個基因可連接至來自微小核糖核酸病毒口蹄疫病毒之

編碼2A序列之核苷酸序列。轉錄及轉譯產生雙順反子mRNA及兩種獨立性蛋白質產物。

任何異源開放閱讀框可連接至IRES元件。此可包括分泌蛋白質、由獨立性基因編碼之多亞單位蛋白質、細胞內或膜集合蛋白質及可選擇標記之基因。以此方式，可將若干蛋白質之表現同時改造至具有單一構築體及單一可選擇標記之細胞中。

可容易地完成適當啓動子之選擇。在一些情形下，可使用高表現或強啓動子。適宜啓動子之實例係763個鹼基對巨細胞病毒(CMV)啓動子。亦可使用勞斯肉瘤病毒(RSV) (Davis等人, *Hum Gene Ther* 4:151 (1993))及MMT啓動子。某些蛋白質可使用其天然啓動子表現。亦可包括可增強表現之其他元件，例如引起(例如) tat基因及tar元件高程度表現之增強子或系統。隨後可將此盒插入包括(例如)大腸桿菌複製起點之載體(例如，質粒載體，例如pUC19、pUC118、pBR322或其他已知質粒載體)中。參見Sambrook等人, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory press, (1989)。下文論述啓動子。質粒載體亦可包括可選擇標記(例如針對安比西林抗性之 β -內醯胺酶基因)，前提係標記多肽不會不利地影響所治療有機體之代謝。在合成遞送系統(例如於以引用方式併入本文中之WO 95/22618中揭示之系統)中，此盒亦可結合至核酸結合部分。啓動子序列及/或任何相關調控序列通常可包含約至少150 bp、200 bp、300 bp、400 bp、500 bp、600 bp、700 bp、800 bp、900 bp、1000 bp、2000 bp、3000 bp、4000 bp、5000 bp或10000 bp。啓動子序列及任何相關調控序列可包含約至多150 bp、200 bp、300 bp、400 bp、500 bp、600 bp、700 bp、800 bp、900 bp、1000 bp、2000 bp、3000 bp、4000 bp、5000 bp或10000 bp。

在一些態樣中，重組病毒或質粒包含選自以下之啓動子：巨細

胞病毒(CMV)啟動子、勞斯肉瘤病毒(RSV)啟動子、及MMT啟動子、EF-1 α 啟動子、UB6啟動子、雞 β -肌動蛋白啟動子、CAG啟動子、RPE65啟動子及視蛋白啟動子。如由本發明提供之啟動子序列及啟動子/增強子序列可包括(但不限於)任何選自以下之序列：SEQ ID No. 1、SEQ ID No. 2、SEQ ID No. 3、SEQ ID No. 4、SEQ ID No. 5、SEQ ID No. 6、SEQ ID No. 7、SEQ ID No. 8、SEQ ID No. 9、SEQ ID No. 10、SEQ ID No. 11、SEQ ID No. 12、SEQ ID No. 13、SEQ ID No. 14、SEQ ID No. 15、SEQ ID No. 16、SEQ ID No. 17、SEQ ID No. 18、SEQ ID No. 19、SEQ ID No. 20、SEQ ID No. 21、SEQ ID No. 22、SEQ ID No. 23、SEQ ID No. 24、SEQ ID No. 25、SEQ ID No. 26、SEQ ID No. 27、SEQ ID No. 28、SEQ ID No. 29、SEQ ID No. 30、SEQ ID No. 31及SEQ ID No. 32。

在一些態樣中，抗生素標記用於產生重組病毒之製程中。抗生素抗性標記可在重組病毒生成中用於鑑別陽性轉基因細胞。在一些態樣中，抗生素標記包含編碼抗生素抗性基因之序列，例如彼等於本文中提供者，包括但不限於圖8A及圖8B中所示之序列。舉例而言，賦予抗性之標記可包括(但不限於)卡那黴素、安比西林、氯黴素(chloramphenicol)、四環素(tetracycline)、多西環素(doxycycline)或潮黴素(hygromycin)。在一些態樣中，抗生素抗性基因係非 β -內醯胺抗生素抗性基因，例如卡那黴素。

在一些態樣中，重組病毒及/或用於生成重組病毒之質粒包含編碼複製起點序列之序列，例如彼等於本文中提供者。複製起點序列通常提供用於傳送質粒之序列。由本發明提供之複製起點序列通常可包括(但不限於)任何選自如圖7A、圖7B、圖7C及圖7D中提供之序列的序列。

在一些態樣中，重組病毒及/或用於生成重組病毒之質粒包含增

強子，例如彼等於本文中提供者。

在一些態樣中，重組病毒及/或用於生成重組病毒之質粒包含嵌合內含子或內含子**105**，例如彼等提供於本文中且揭示於以引用方式併入本文中之美國專利第7635474號中者。嵌合內含子或內含子在本文中可互換使用。在一些情形下，內含子可指任何可經轉錄但未經轉譯之序列。在一些情形下，內含子可指任何經轉錄且自細胞中之成熟RNA轉錄物移除之序列。在一些情形下，嵌合內含子可包含約至少1 bp、50 bp、100 bp、150 bp、200 bp、300 bp、400 bp、500 bp、600 bp、700 bp、800 bp、900 bp、1000 bp、2000 bp、3000 bp、4000 bp或5000 bp。在一些情形下，嵌合內含子可包含約至少1 bp、50 bp、100 bp、150 bp、200 bp、300 bp、400 bp、500 bp、600 bp、700 bp、800 bp、900 bp、1000 bp、2000 bp、3000 bp、4000 bp或5000 bp。在一些情形下，嵌合內含子可為約300 bp。在一些情形下，嵌合內含子可為約200-400 bp。在一些情形下，嵌合內含子可為約100 - 500 bp。在一些情形下，嵌合內含子可為約50 - 200 bp。

在一些態樣中，嵌合內含子可包括(但不限於)諸如SEQ ID No. 48、SEQ ID No. 115、SEQ ID No. 116、SEQ ID No. 117、SEQ ID No. 118及SEQ ID No. 119等序列。

在一些態樣中，重組病毒及/或用於生成重組病毒之質粒包含多A(多腺苷酸化)序列**107**，例如彼等於本文中提供者(例如SV40多A序列)。任何適宜多A序列通常可用於轉基因(即sFLT-1)之期望表現。舉例而言，在一些情形下，本發明提供包含SV40多A序列或一部分SV40多A序列之序列。在一些情形下，可使用如在人類基因組序列中發現之人類sFLT-1基因之下游(3'UTR)發現的天然多A序列。在其他情形下，可使用除sFLT-1外之在基因下游發現之多A序列。在其他情形下，本發明提供包含一或多個多A序列或序列元件之組合之多A序

列。在一些情形下，不使用多A序列。在一些情形下，一或多個多A序列可稱作未轉譯區(UTR)、3' UTR或終止序列。

多A序列可包含1 - 10 bp、10- 20 bp、20 - 50 bp、50 - 100 bp、100 - 500 bp、500 bp - 1Kb、1Kb - 2 Kb、2Kb - 3 Kb、3Kb - 4 Kb、4Kb - 5 Kb、5Kb - 6 Kb、6Kb -7 Kb、7Kb - 8 Kb、8Kb - 9 Kb及9Kb - 10 Kb之長度。多A序列可包含至少1 bp、2 bp、3 bp、4 bp、5 bp、6 bp、7 bp、8 bp、9 bp、10 bp、20 bp、30 bp、40 bp、50 bp、60 bp、70 bp、80 bp、90 bp、100 bp、200 bp、300 bp、400 bp、500 bp、600 bp、700 bp、800 bp、900 bp、1Kb、2 Kb、3 Kb、4 Kb、5 Kb、6 Kb、7 Kb、8 Kb、9 Kb及10 Kb之長度。多A序列可包含至多1 bp、2 bp、3 bp、4 bp、5 bp、6 bp、7 bp、8 bp、9 bp、10 bp、20 bp、30 bp、40 bp、50 bp、60 bp、70 bp、80 bp、90 bp、100 bp、200 bp、300 bp、400 bp、500 bp、600 bp、700 bp、800 bp、900 bp、1Kb、2 Kb、3 Kb、4 Kb、5 Kb、6 Kb、7 Kb、8 Kb、9 Kb及10 Kb之長度。

在一些情形下，多A或終止序列可包括(但不限於)諸如SEQ ID No. 49、SEQ ID No. 50、SEQ ID No. 51、SEQ ID No. 52、SEQ ID No. 53、SEQ ID No. 54及SEQ ID No. 55等序列。

如由本發明提供之多A序列通常可包括(但不限於)任何選自如圖9A及圖9B中提供之多A區域1-10之序列。

在一些情形下，多A序列可針對影響蛋白質表現(包括但不限於細胞中之轉基因之mRNA半衰期、轉基因之mRNA之穩定性或轉錄調控)之各種參數最佳化。舉例而言，多A序列可經改變以增加轉基因之mRNA轉錄物，其可增加蛋白質表現。在一些情形下，多A序列可經改變以減少轉基因之mRNA轉錄物之半衰期，其可降低蛋白質表現。

在一些態樣中，重組病毒及/或用於生成重組病毒之質粒包含人類sFLT-1蛋白質或其功能片段。在一些情形下，重組病毒及/或用於

生成重組病毒之質粒包含編碼其他抗VEGF抑制劑之核酸。

在一些情形下，抗VEGF抑制劑可包括(但不限於)諸如SEQ ID No. 102、SEQ ID No. 103、SEQ ID No. 104、SEQ ID No. 105、SEQ ID No. 106、SEQ ID No. 107及SEQ ID No. 108等序列。

在一些態樣中，重組病毒及/或用於生成重組病毒之質粒包含能夠引導眼細胞中之sFLT-1蛋白質之選擇性表現的調控性核酸片段。在一些情形下，眼細胞可包含視網膜色素上皮細胞(RPE)。

在一些態樣中，重組病毒及/或用於生成重組病毒之質粒可包含一或多個未轉譯區(UTR)或序列。通常，任何適宜UTR序列可用於轉基因(即sFLT-1)之期望最佳表現。舉例而言，在一些情形下，UTR區域或序列可包含天然序列。在一些情形下，UTR序列可為如在人類基因組序列或其部分中發現之人類sFLT-1基因之上游(5' UTR)或下游(3'UTR)發現之基因之序列。在其他情形下，UTR序列可包含非天然序列，例如除sFLT-1外之上游或下游發現之基因，或包含進一步包含如本文進一步闡述之一或多個UTR序列元件之序列。在一些情形下，僅使用5' UTR序列。在一些情形下，僅使用3' UTR序列。在一些情形下，不使用UTR序列。

UTR序列可包含1 - 10 bp、10- 20 bp、20 - 50 bp、50 - 100 bp、100 - 500 bp、500 bp - 1Kb、1Kb - 2 Kb、2Kb - 3 Kb、3Kb - 4 Kb、4Kb - 5 Kb、5Kb - 6 Kb、6Kb -7 Kb、7Kb - 8 Kb、8Kb - 9 Kb及9Kb - 10 Kb之長度。UTR序列可包含至少1 bp、2 bp、3 bp、4 bp、5 bp、6 bp、7 bp、8 bp、9 bp、10 bp、20 bp、30 bp、40 bp、50 bp、60 bp、70 bp、80 bp、90 bp、100 bp、200 bp、300 bp、400 bp、500 bp、600 bp、700 bp、800 bp、900 bp、1Kb、2 Kb、3 Kb、4 Kb、5 Kb、6 Kb、7 Kb、8 Kb、9 Kb及10 Kb之長度。UTR序列可包含至多1 bp、2 bp、3 bp、4 bp、5 bp、6 bp、7 bp、8 bp、9 bp、10 bp、20 bp、30

bp、40 bp、50 bp、60 bp、70 bp、80 bp、90 bp、100 bp、200 bp、300 bp、400 bp、500 bp、600 bp、700 bp、800 bp、900 bp、1Kb、2 Kb、3 Kb、4 Kb、5 Kb、6 Kb、7 Kb、8 Kb、9 Kb及10 Kb之長度。

通常，如由本發明提供之UTR序列可包括(但不限於)任何包括但不限於以下之序列：SEQ ID No. 91、SEQ ID No. 2、SEQ ID No. 92、SEQ ID No. 93、SEQ ID No. 94、SEQ ID No. 95、SEQ ID No. 96、SEQ ID No. 97、SEQ ID No. 98、SEQ ID No. 99、SEQ ID No.100及SEQ ID No. 101。

在一些情形下，5'UTR及/或3'UTR之變化形式可針對期望程度之蛋白質表現最佳化。在一些情形下，3'UTR序列可針對影響蛋白質表現(包括但不限於細胞中之轉基因之mRNA半衰期、轉基因之mRNA之穩定性或條件調控(例如各種因子之結合以調節轉譯))之各種參數最佳化。舉例而言，3'UTR序列可經改變以增加轉基因之mRNA轉錄物之半衰期，其可增加蛋白質表現。在一些情形下，3'UTR序列可經改變以減少轉基因之mRNA轉錄物之半衰期，其可降低蛋白質表現。

通常，3' UTR序列可包含各種序列元件。本發明提供可包括(但不限於)序列元件(例如一或多個多腺苷酸化信號、連接體序列、間隔序列、SECIS元件、富AU或ARE序列或miRNA或RNAi結合序列、轉錄終止序列、3'終止序列或其變體及/或組合)的3' UTR序列。

在一些情形下，5'UTR序列可針對影響蛋白質表現(包括但不限於細胞中之轉基因之mRNA半衰期、轉基因之mRNA之穩定性或轉錄調控)之各種參數最佳化。舉例而言，5'UTR序列可經改變以增加轉基因之mRNA轉錄物之轉譯效率，其可增加蛋白質表現。在一些情形下，5'UTR序列可經改變以降低轉基因之mRNA轉錄物之轉譯效率，其可降低蛋白質表現。

通常，5' UTR序列可包含各種序列元件。本發明提供可包括(但

不限於)序列元件(例如一或多個核糖體結合位點(RBS)、連接體序列、間隔序列、調控序列、調控性反應元件、核糖開關、促進或抑制轉譯起始之序列、用於mRNA運輸之調控序列或其變體及/或組合)的5' UTR序列。

在一些態樣中，重組病毒及/或用於生成重組病毒之質粒可包含一或多個連接體或間隔序列。如本文所述，連接體序列或間隔序列可互換使用。通常，連接體序列或間隔序列可為任何適宜用於在至少兩個序列元件之間產生非連續序列之序列。舉例而言，在本揭示內容之一個態樣中，可發現連接體序列插入ITR-1 **108**序列或ITR-2 **103**與抗生素抗性基因序列**106**之間，如圖1A中所反映。在另一實例中，連接體序列可毗鄰重組病毒或編碼重組病毒之質粒之任何序列元件(包括ITR序列、啟動子或啟動子/增強子序列、內含子序列、轉基因序列及多A區序列)插入。通常，任何適宜連接體或間隔序列可用於產生非連續序列。舉例而言，在一些情形下，連接體序列可為隨機生成序列。在一些情形下，連接體序列可為最佳化以防止形成可不利地影響蛋白質表現之二級結構或分子內相互作用的非特異性序列。在一些情形下，連接體序列可包含任何額外功能序列元件，包括但不限於內含子、調控序列、增強子或諸如此類。連接體序列中之功能元件可用於病毒之期望最佳產生及/或轉基因表現之表現。在一些情形下，連接體序列係選殖位點、先前選殖位點之殘留物或其他非顯著序列，且在任意兩個序列元件之間插入該等連接體係可選的。

通常，如由本發明提供之連接體序列可包括(但不限於)任何選自如圖9D、圖9E及圖9F中所提供之序列的序列。

在一些情形下，連接體序列之長度可針對病毒之期望最佳產生及/或轉基因表現之表現最佳化。在一些情形下，位於病毒基因組或質粒中之一或多個位點處之一或多個連接體序列的長度可變化以產生

期望最佳蛋白質表現。舉例而言，可在如本文所述內含子與轉基因(即sFLT-1)之間發現連接體序列。連接體序列之長度可變化以對細胞中之轉基因之轉錄及隨後轉譯產生不同效應。

連接體序列可包含1 - 10 bp、10- 20 bp、20 - 50 bp、50 - 100 bp、100 - 500 bp、500 bp - 1Kb、1Kb - 2 Kb、2Kb - 3 Kb、3Kb - 4 Kb、4Kb - 5 Kb、5Kb - 6 Kb、6Kb - 7 Kb、7Kb - 8 Kb、8Kb - 9 Kb及9Kb - 10 Kb之長度。連接體序列可包含至少1 bp、2 bp、3 bp、4 bp、5 bp、6 bp、7 bp、8 bp、9 bp、10 bp、20 bp、30 bp、40 bp、50 bp、60 bp、70 bp、80 bp、90 bp、100 bp、200 bp、300 bp、400 bp、500 bp、600 bp、700 bp、800 bp、900 bp、1Kb、2 Kb、3 Kb、4 Kb、5 Kb、6 Kb、7 Kb、8 Kb、9 Kb及10 Kb之長度。連接體序列可包含至多1 bp、2 bp、3 bp、4 bp、5 bp、6 bp、7 bp、8 bp、9 bp、10 bp、20 bp、30 bp、40 bp、50 bp、60 bp、70 bp、80 bp、90 bp、100 bp、200 bp、300 bp、400 bp、500 bp、600 bp、700 bp、800 bp、900 bp、1Kb、2 Kb、3 Kb、4 Kb、5 Kb、6 Kb、7 Kb、8 Kb、9 Kb及10 Kb之長度。

在一些情形下，連接體或間隔序列可包括(但不限於) SEQ ID No. 60、SEQ ID No. 61、SEQ ID No. 62、SEQ ID No. 63、SEQ ID No. 64、SEQ ID No. 65、SEQ ID No. 66、SEQ ID No. 67、SEQ ID No. 68、SEQ ID No. 69、SEQ ID No. 70、SEQ ID No. 71、SEQ ID No. 72、SEQ ID No. 73、SEQ ID No. 74、SEQ ID No. 75、SEQ ID No. 76、SEQ ID No. 77、SEQ ID No. 78、SEQ ID No. 79、SEQ ID No. 80、SEQ ID No. 81、SEQ ID No. 82、SEQ ID No. 83、SEQ ID No. 84、SEQ ID No. 85、SEQ ID No. 86、SEQ ID No. 87、SEQ ID No. 88、SEQ ID No. 89及SEQ ID No. 90。

在一些態樣中，重組病毒及/或用於生成重組病毒之質粒按以下

次序包含核酸元件：a) 第一ITR序列；b) 啟動子序列；c) 內含子序列；d) 第一UTR序列；e) 編碼VEGF抑制劑之序列；f) 第二UTR序列；g) 多A序列；及h) 第二ITR序列。在重組病毒及/或用於生成重組病毒之質粒之一些態樣中，啟動子序列包含啟動子/增強子序列。在一些態樣中，編碼VEGF抑制劑之序列包含編碼人類sFLT-1蛋白質或其功能片段之序列。在其他態樣中，用於生成重組病毒之質粒進一步包含複製起點序列**102**。在一些態樣中，質粒進一步包含如本文提供之抗生素抗性基因之序列。

在一些態樣中，重組病毒及/或用於生成重組病毒之質粒按以下次序包含核酸元件：a) 第一ITR序列；b) 第一連接體序列；c) 啟動子序列；d) 第二連接體序列；e) 內含子序列；f) 第三連接體序列；g) 第一UTR序列；h) 編碼VEGF抑制劑之序列；i) 第二UTR序列；j) 第四連接體序列；k) 多A序列；l) 第五連接體序列；及m) 第二ITR序列。在重組病毒及/或用於生成重組病毒之質粒之一些態樣中，啟動子序列包含啟動子/增強子序列。在一些態樣中，編碼VEGF抑制劑之序列包含編碼人類sFLT-1蛋白質或其功能片段之序列。在其他態樣中，用於生成重組病毒之質粒進一步包含複製起點序列。在一些態樣中，質粒進一步包含如本文所提供抗生素抗性基因之序列。

IV. 醫藥組合物

醫藥組合物係含有一或多種活性成份以及一或多種賦形劑、載劑、穩定劑或增積劑之調配物，其適於投與人類患者以達成期望診斷結果或治療效應。對於儲存穩定性及操作便利性，可將醫藥組合物調配為凍乾(即冷凍乾燥)或乾燥粉末，可在投與患者之前利用鹽水或水對其進行重構。或者，可將醫藥組合物調配為水性溶液。醫藥組合物可含有蛋白質性活性成份。不幸地，蛋白質可極難以穩定，從而在調配、重構(若需要)期間及在使用含有蛋白質之醫藥組合物之前之儲存

期間引起蛋白質損失及/或蛋白質活性損失。由於蛋白質變性、降解、二聚及/或聚合可發生穩定性問題。各種賦形劑(例如白蛋白及明膠)以不同程度之成功使用以嘗試並穩定醫藥組合物中存在之蛋白質活性成份。另外，已使用冷凍保護劑(例如醇)以在凍乾之冷凍條件下減少蛋白質變性。

適宜內部使用之醫藥組合物包括無菌水溶液或分散液及用於臨時製備無菌注射溶液或分散液之無菌粉末。對於靜脈內投與，適宜載劑包括生理鹽水、抑菌水或磷酸鹽緩衝鹽水(PBS)。在所有情形下，組合物均應為無菌且其流動性程度應使其具有易注射性。其必須在製造及儲存條件下保持穩定且必須針對諸如細菌及真菌等微生物之污染作用進行防腐。載劑可為溶劑或分散介質，其含有(例如)水、乙醇、多元醇(例如，甘油、丙二醇及液體聚乙二醇及諸如此類)及其適宜混合物。可藉由使用塗料(例如卵磷脂)、在分散液情形下藉由維持所需粒子大小及藉由使用表面活性劑(例如聚山梨醇酯(Tween™)、十二烷基硫酸鈉(月桂基硫酸鈉)、月桂基二甲基氧化胺、十六烷基三甲基溴化銨(CTAB)、聚乙氧化醇、聚氧乙烯山梨醇酐、辛苯昔醇(Triton ×100™)、N,N -二甲基十二烷基胺-N-氧化物、十六烷基三甲基溴化胺(HTAB)、聚氧乙烯10月桂基醚、Brij 721™、膽汁鹽(去氧膽酸鈉、膽酸鈉)、普羅尼克酸(pluronic acid) (F-68、F-127)、聚烴氧基蓖麻油(Cremophor™)、壬基酚乙氧基化物(Tergitol™)、環糊精及氯化乙苄乙氧胺(Hyaminate™))來維持適當流動性。可藉由各種抗細菌劑及抗真菌劑(例如，對羥基苯甲酸、氯丁醇、苯酚、抗壞血酸、硫柳汞及諸如此類)來達成對微生物之作用的預防。在許多情形下，較佳將等滲劑(例如，糖、多元醇(例如，甘露醇、山梨醇)、氯化鈉)引入組合物中。藉由向組合物中加入延遲吸收之試劑(例如，單硬脂酸鋁及明膠)可以使可內部組合物之吸收延長。

無菌溶液可藉由以下步驟來製備：將所需量活性化合物納入具有上文所列舉一種成份或多種成份組合(若需要)的適宜溶劑中，隨後進行過濾滅菌。通常，可藉由將活性化合物納入含有基本分散介質及來自彼等上文所列舉者之所需其他成份的無菌媒劑中來製備分散液。就利用無菌粉末來製備無菌可注射溶液之情形而言，製備方法係真空乾燥及冷凍乾燥，其可產生由活性成份及任一期望額外成份(來自其先前經無菌過濾之溶液)構成之粉末。

在一個態樣中，活性化合物係利用將保護化合物免於自體內快速消除之載劑(例如控制釋放調配物，包括植入體及微囊化遞送系統)製備。可利用生物可降解之生物相容聚合物，例如乙烯基乙酸乙烯酯、聚酸酐、聚乙醇酸、膠原、聚原酸酯及聚乳酸。該等調配物之製備方法已為彼等熟習此項技術者明瞭。該等材料亦可購得。脂質體懸浮液(包括具有針對病毒抗原之單株抗體之靶向感染細胞之脂質體)亦可用作醫藥上可接受之載劑。可使用彼等熟習此項技術者已知的方法來製備該等材料，例如，如美國專利第4,522,811號中所述，其以引用方式併入本文中。

以劑量單位形式來調配口服或非經腸組合物特別有利於方便投與及達成劑量一致性。本文所用劑量單位形式係指適於作為單位劑量供欲治療人類個體使用之物理離散單位；每一單位包含經計算可產生期望治療效應的預定量之活性化合物與所需醫藥載劑之組合。本揭示內容之劑量單位形式之規格取決於且直接依賴於下列因素：活性化合物之獨特特性及欲達成之特定治療效應，及複合此一活性化合物以治療個體之技術中固有限制條件。

該等醫藥組合物可與投藥說明一起納入容器、包裝或分配器中。

本揭示內容之醫藥組合物涵蓋任何醫藥上可接受之鹽、酯、或

該等酯之鹽、或在投與動物(包含人類)後能夠提供(直接或間接)生物活性代謝物或其殘餘物的任何其他化合物。因此，例如，本揭示內容亦係關於本揭示內容化合物之前藥及醫藥上可接受之鹽、該等前藥之醫藥上可接受之鹽及其他生物等效物。

術語「前藥」指示以非活性形式製備之治療劑，其在體內或其細胞內藉由內源酶或其他化學物質及/或條件之作用轉化為活性形式(即藥物)。

術語「醫藥上可接受之鹽」係指本揭示內容化合物之生理上及醫藥上可接受之鹽；亦即，可保留母體化合物之期望生物活性且並不賦予其不期望毒理學效應之鹽。

醫藥上可接受之鹼加成鹽係利用金屬或胺(例如鹼金屬及鹼土金屬或有機胺)形成。用作陽離子之金屬包含鈉、鉀、鎂、鈣及諸如此類。胺包含N-N'-二苄基乙二胺、氯普魯卡因(chloroprocaine)、膽鹼、二乙醇胺、二環己基胺、乙二胺、N-甲基葡萄糖胺及普魯卡因(procaine) (例如，參見 Berge 等人，「Pharmaceutical Salts,」 *J. Pharma Sci.*, 1977, 66, 119)。該等酸性化合物之鹼加成鹽係藉由以習用方式使游離酸形式與足量期望鹼接觸以產生鹽來製備。游離酸形式可藉由以習用方式使鹽形式與酸接觸及分離游離酸來再生。游離酸形式與其各別鹽形式在某些物理性質(例如，在極性溶劑中的溶解性)上可有區別，但出於本發明之目的而言鹽原本等效於其各別游離酸。

如本文所用，「醫藥加成鹽」包含本揭示內容之組合物之一種組份之酸形式的醫藥上可接受之鹽。該等加成鹽包含胺之有機或無機酸鹽。較佳酸性鹽係鹽酸鹽、乙酸鹽、水楊酸鹽、硝酸鹽及磷酸鹽。其他適宜醫藥上可接受之鹽已為彼等熟習此項技術者所熟知且包含各種無機及有機酸形成之鹼性鹽，例如與無機酸(例如氫氯酸、氫溴酸、硫酸或磷酸)形成之鹼性鹽；與有機羧酸、磺酸或磷酸或N-取代之胺

基磺酸(例如乙酸、丙酸、乙醇酸、琥珀酸、馬來酸、羥基馬來酸、甲基馬來酸、富馬酸、蘋果酸、酒石酸、乳酸、草酸、葡萄糖酸、葡萄糖二酸、葡萄糖醛酸、檸檬酸、苯甲酸、肉桂酸、扁桃酸、水楊酸、4-胺基水楊酸、2-苯氧基苯甲酸、2-乙氧基苯甲酸、雙羥萘酸、菸酸或異菸酸)形成之鹼性鹽；與胺基酸(例如*Nature*中參與蛋白質之合成之20 α -胺基酸，例如麩胺酸或天冬胺酸)形成之鹼性鹽，亦即與苯基乙酸、甲烷磺酸、乙烷磺酸、2-羥基乙烷磺酸、乙烷-1,2-二磺酸、苯磺酸、4-甲基苯磺酸、萘-2-磺酸、萘-1,5-二磺酸、2-或3-磷酸甘油酸酯、葡萄糖-6-磷酸酯、N-環己基胺基磺酸(形成環己胺磺酸鹽)形成之鹼性鹽，或與其他酸性有機化合物(例如抗壞血酸)形成之鹼性鹽。亦可利用醫藥上可接受之陽離子製備化合物之醫藥上可接受之鹽。適宜醫藥上可接受之陽離子已為彼等熟習此項技術者所熟知且包含鹼、鹼土、銨及四級銨陽離子。碳酸鹽或碳酸氫鹽亦為可能的。對於寡核苷酸而言，醫藥上可接受之鹽之較佳實例包含(但不限於)：(I) 與陽離子(例如鈉、鉀、銨、鎂、鈣、多胺(例如精胺及精脒)及諸如此類)形成之鹽；(II) 與無機酸(例如氫氯酸、氫溴酸、硫酸、磷酸、硝酸及諸如此類)形成之酸加成鹽；(III) 與有機酸(例如乙酸、草酸、酒石酸、琥珀酸、馬來酸、富馬酸、葡萄糖酸、檸檬酸、蘋果酸、抗壞血酸、苯甲酸、丹寧酸、棕櫚酸、海藻酸、多麩胺酸、萘磺酸、甲烷磺酸、對甲苯磺酸、萘二磺酸、聚半乳糖醛酸及諸如此類)形成之鹽；及(IV) 自元素陰離子(例如氯、溴及碘)形成之鹽。

本發明醫藥組合物包含(但不限於)溶液、乳液、及含脂質體之調配物。該等組合物可自多種組份(包含但不限於預形成液體、自乳化固體及自乳化半固體)生成。

本發明之某些組合物亦在調配物中納入載劑化合物。如本文所用，「載劑化合物」或「載劑」可指核酸或其類似物，其係惰性的

(即，自身不具有生物活性)但由活體內過程識別為核酸，該活體內過程藉由(例如)降解生物活性核酸或促進其自循環移除來降低具有生物活性之核酸之生物利用度。核酸與載劑化合物之共投與(後一物質通常過量)可顯著降低肝、腎或其他外循環儲存器中回收之核酸之量，此推測係由於載劑化合物與核酸競爭共同受體。舉例而言，部分硫代磷酸酯寡核苷酸在與聚肌酐酸、硫酸葡聚糖、聚胞嘧啶酸或4-乙醯氨基-4'-異硫代氰基-二苯乙烯-2,2'-二磺酸共投與時，可降低其在肝組織中之回收(Miyao 等人，*Antisense Res. Dev.*, 1995, 5, 115-121；Takakura 等人，*Antisense & Nucl. Acid Drug Dev.*, 1996, 6, 177-183)。

可將載體或重組病毒(病毒粒子)納入醫藥組合物中用於投與哺乳動物患者，具體而言人類。可較佳於3至8範圍內、更佳6至8範圍內之pH下將載體或病毒粒子調配於無毒性、惰性、醫藥上可接受之水性載劑中。該等無菌組合物可包含含有編碼治療分子之核酸之載體或病毒粒子，其在重構後溶解於具有可接受pH之水性緩衝液中。

在一些態樣中，本文提供之醫藥組合物包含治療有效量之載體或病毒粒子與醫藥上可接受之載劑及/或賦形劑(例如鹽水、磷酸鹽緩衝鹽水、磷酸鹽及胺基酸、聚合物、多元醇、糖、緩衝液、防腐劑及其他蛋白質)之混合物。例示性胺基酸、聚合物及糖及諸如此類係辛基苯氧基聚乙氧基乙醇化合物、聚乙二醇單硬脂酸酯化合物、聚氧乙烯山梨醇酐脂肪酸酯、蔗糖、果糖、右旋糖、麥芽糖、葡萄糖、甘露醇、葡聚糖、山梨醇、肌醇、半乳糖醇、木糖醇、乳糖、海藻糖、牛或人類血清白蛋白、檸檬酸鹽、乙酸鹽、林格氏溶液(Ringer's solution)及漢克氏溶液(Hanks's solution)、半胱胺酸、精胺酸、肉鹼、丙胺酸、甘胺酸、離胺酸、纈胺酸、白胺酸、聚乙烯吡咯啶酮、聚乙烯及二醇。較佳地，此調配物於4°C下穩定至少6個月。

在一些態樣中，本文提供之醫藥組合物包含緩衝液，例如磷酸鹽緩衝鹽水(PBS)或磷酸鈉/硫酸鈉、tris緩衝液、甘胺酸緩衝液、無菌水及熟習此項技術者已知之其他緩衝液(例如彼等由Good等人(1966) *Biochemistry* 5:467所述者)。腺病毒載體遞送系統中含有包含抗VEGF之醫藥組合物的緩衝液之pH可在6.5至7.75、7至7.5或7.2至7.4範圍內。調配物之pH可在約3.0至約12.0範圍內。免疫原性組合物之pH可為至少約3、4、5、6、7、8、9、10、11或12個pH單位。免疫原性組合物之pH可為至多約3、4、5、6、7、8、9、10、11或12個pH單位。

在一些態樣中，本文提供之醫藥組合物包含約1-10% (例如1、2、3、4、5、6、7、8、9、或10%)之量之可增加懸浮液之黏度之物質，例如羧甲基纖維素鈉、山梨醇或葡聚糖。

本揭示內容之某些態樣提供含有一或多種重組病毒及一或多種其他化學治療劑之醫藥組合物。

該等化學治療劑之實例包含(但不限於)抗癌藥物，例如柔紅黴素(daunorubicin)、放線菌素D (dactinomycin)、多柔比星(doxorubicin)、博來黴素(bleomycin)、絲裂黴素(mitomycin)、氮芥(nitrogen mustard)、苯丁酸氮芥(chlorambucil)、美法侖(melphalan)、環磷醯胺(cyclophosphamide)、6-巯基嘌呤、6-硫鳥嘌呤、阿糖胞苷(cytarabine, CA)、5-氟尿嘧啶(5-fluorouracil, 5-FU)、氟尿苷(floxuridine, 5-FUdR)、胺甲蝶呤(methotrexate, MIX)、秋水仙鹼(colchicine)、長春新鹼(vincristine)、長春鹼(vinblastine)、依託泊苷(etoposide)、替尼泊苷(teniposide)、順鉑(cisplatin)及己烯雌酚(diethylstilbestrol, DES)。通常參見The Merck Manual of Diagnosis and Therapy, 第15版, Berkow等人編輯1987, Rahway, N.J., 第1206-1228頁)。

本揭示內容之組合物中亦可組合抗發炎藥物(包含但不限於非類固醇抗發炎藥物及皮質類固醇)及抗病毒藥物(包含但不限於利巴韋林(ribavirin)、阿糖腺苷(vidarabine)、阿昔洛維(acyclovir)及更昔洛韋(ganciclovir)) (The Merck Manual of Diagnosis and Therapy, 第15版, Berkow 等人編輯, 1987, Rahway, N.J., 分別第2499-2506及46-49頁)。其他非反義化學治療劑亦在本揭示內容之範圍內。兩種或更多種組合化合物可一起或依序使用。

在另一相關態樣中, 本揭示內容之組合物可含有一或多種重組病毒, 具體而言具有不同序列之sFLT-1。兩種或更多種組合病毒可一起或依序使用。

在另一態樣中, 本發明提供包含約 1×10^6 至約 1×10^{15} 個病毒基因組之醫藥組合物之單位劑量, 其中病毒包含編碼sFLT-1之核酸。

在一些情形下, 本揭示內容之醫藥組合物之單位劑量可量測為pfu (溶菌斑形成單位)。在一些情形下, 本揭示內容之醫藥組合物之單位劑量的pfu可為約 1×10^8 至約 5×10^{10} pfu。在一些情形下, 本揭示內容之醫藥組合物之單位劑量之pfu係至少約 1×10^8 、 2×10^8 、 3×10^8 、 4×10^8 、 5×10^8 、 6×10^8 、 7×10^8 、 8×10^8 、 9×10^8 、 1×10^9 、 2×10^9 、 3×10^9 、 4×10^9 、 5×10^9 、 6×10^9 、 7×10^9 、 8×10^9 、 9×10^9 、 1×10^{10} 、 2×10^{10} 、 3×10^{10} 、 4×10^{10} 及 5×10^{10} pfu。在一些情形下, 本揭示內容之醫藥組合物之單位劑量之pfu係至多約 1×10^8 、 2×10^8 、 3×10^8 、 4×10^8 、 5×10^8 、 6×10^8 、 7×10^8 、 8×10^8 、 9×10^8 、 1×10^9 、 2×10^9 、 3×10^9 、 4×10^9 、 5×10^9 、 6×10^9 、 7×10^9 、 8×10^9 、 9×10^9 、 1×10^{10} 、 2×10^{10} 、 3×10^{10} 、 4×10^{10} 及 5×10^{10} pfu。

在一些情形下, 本揭示內容之病毒載體可量測為載體基因組。在一些情形下, 本揭示內容之醫藥組合物之單位劑量係 1×10^{10} 至 3×10^{12} 個載體基因組。在一些情形下, 本揭示內容之醫藥組合物之單

位劑量係 1×10^9 至 3×10^{13} 個載體基因組。在一些情形下，本揭示內容之醫藥組合物之單位劑量係 1×10^{10} 至 1×10^{11} 個載體基因組。在一些情形下，本揭示內容之醫藥組合物之單位劑量係 1×10^8 至 3×10^{14} 個載體基因組。在一些情形下，本揭示內容之醫藥組合物之單位劑量係至少約 1×10^1 、 1×10^2 、 1×10^3 、 1×10^4 、 1×10^5 、 1×10^6 、 1×10^7 、 1×10^8 、 1×10^9 、 1×10^{10} 、 1×10^{11} 、 1×10^{12} 、 1×10^{13} 、 1×10^{14} 、 1×10^{15} 、 1×10^{16} 、 1×10^{17} 及 1×10^{18} 個載體基因組。在一些情形下，本揭示內容之醫藥組合物之單位劑量係 1×10^8 至 3×10^{14} 個載體基因組。在一些情形下，本揭示內容之醫藥組合物之單位劑量係至多約 1×10^1 、 1×10^2 、 1×10^3 、 1×10^4 、 1×10^5 、 1×10^6 、 1×10^7 、 1×10^8 、 1×10^9 、 1×10^{10} 、 1×10^{11} 、 1×10^{12} 、 1×10^{13} 、 1×10^{14} 、 1×10^{15} 、 1×10^{16} 、 1×10^{17} 及 1×10^{18} 個載體基因組。

在一些情形下，可使用感染複數(MOI)量測本揭示內容之醫藥組合物之單位劑量。在一些情形下，MOI可指載體或病毒基因組對可將核酸遞送至其之細胞之比率或倍數。在一些情形下，MOI可為 1×10^6 。在一些情形下，MOI可為 1×10^5 - 1×10^7 。在一些情形下，MOI可為 1×10^4 - 1×10^8 。在一些情形下，本揭示內容之重組病毒係至少約 1×10^1 、 1×10^2 、 1×10^3 、 1×10^4 、 1×10^5 、 1×10^6 、 1×10^7 、 1×10^8 、 1×10^9 、 1×10^{10} 、 1×10^{11} 、 1×10^{12} 、 1×10^{13} 、 1×10^{14} 、 1×10^{15} 、 1×10^{16} 、 1×10^{17} 及 1×10^{18} MOI。在一些情形下，本揭示內容之重組病毒係 1×10^8 至 3×10^{14} MOI。在一些情形下，本揭示內容之重組病毒係至多約 1×10^1 、 1×10^2 、 1×10^3 、 1×10^4 、 1×10^5 、 1×10^6 、 1×10^7 、 1×10^8 、 1×10^9 、 1×10^{10} 、 1×10^{11} 、 1×10^{12} 、 1×10^{13} 、 1×10^{14} 、 1×10^{15} 、 1×10^{16} 、 1×10^{17} 及 1×10^{18} MOI。

在一些態樣中，核酸可在不使用病毒(即具有非病毒載體)情況下遞送且可量測為核酸之量。通常，任何適宜量之核酸可與本揭示內容

之組合物及方法一起使用。在一些情形下，核酸之量可為至少約1 pg、10 pg、100 pg、1 pg、10 pg、100 pg、200 pg、300 pg、400 pg、500 pg、600 pg、700 pg、800 pg、900 pg、1 μg、10 μg、100 μg、200 μg、300 μg、400 μg、500 μg、600 μg、700 μg、800 μg、900 μg、1 ng、10 ng、100 ng、200 ng、300 ng、400 ng、500 ng、600 ng、700 ng、800 ng、900 ng、1 mg、10 mg、100 mg、200 mg、300 mg、400 mg、500 mg、600 mg、700 mg、800 mg、900 mg、1 g、2 g、3 g、4 g或5g。在一些情形下，核酸可為至多約1 pg、10 pg、100 pg、1 pg、10 pg、100 pg、200 pg、300 pg、400 pg、500 pg、600 pg、700 pg、800 pg、900 pg、1 μg、10 μg、100 μg、200 μg、300 μg、400 μg、500 μg、600 μg、700 μg、800 μg、900 μg、1 ng、10 ng、100 ng、200 ng、300 ng、400 ng、500 ng、600 ng、700 ng、800 ng、900 ng、1 mg、10 mg、100 mg、200 mg、300 mg、400 mg、500 mg、600 mg、700 mg、800 mg、900 mg、1 g、2 g、3 g、4 g或5g。

在一些態樣中，醫藥組合物包含約 1×10^6 至約 1×10^{15} 個重組病毒、約 1×10^7 至約 1×10^{14} 個重組病毒、約 1×10^8 至約 1×10^{13} 個重組病毒、約 1×10^9 至約 1×10^{12} 個重組病毒或約 1×10^{10} 至約 1×10^{12} 個重組病毒。

套組

用於本發明之組合物及試劑可包裝於套組中以有利於本發明之應用。在一些態樣中，本發明方法提供包含本揭示內容之重組核酸的套組。在一些態樣中，本發明方法提供包含本揭示內容之重組病毒的套組。說明書可呈任何期望形式，包括但不限於印刷於套組插頁上，印刷於一或多個容器上，以及提供於電子儲存媒介(例如電腦可讀儲存媒介)上之電子儲存說明書。亦視情況包括電腦可讀儲存媒介上容

許使用者整合資訊且計算對照劑量的軟體包裝。

在另一態樣中，本發明提供包含本文所提供醫藥組合物之套組。在又一態樣中，本揭示內容提供用於疾病(例如感染疾病有機體、AMD、血管生成相關疾病、癌症、自體免疫疾病及諸如此類)之治療中之套組。

在一個態樣中，套組包含：(a) 本文所提供重組病毒，及(b) 用以投與細胞或個體治療有效量之重組病毒之說明書。在一些態樣中，套組可包含用於投與重組病毒之醫藥上可接受之鹽或溶液。視情況，套組可進一步包含呈標記或單獨插頁形式之適宜可操作參數的說明書。舉例而言，套組可具有告知醫師或實驗室技術人員製備一劑重組病毒之標準說明書。

視情況，套組可進一步包含標準或對照資訊，以便使患者試樣與對照資訊標準比較以確定重組病毒之測試量是否係與(例如)使腫瘤縮小一致之治療量。

重組病毒可藉由任何適宜方式生成。本揭示內容之方法及組合物提供經由各種方式(包括使用轉基因細胞，其可包括哺乳動物細胞、昆蟲細胞、動物細胞或真菌細胞)生成重組病毒。

舉例而言，在一些態樣中，重組病毒可經由經重組桿狀病毒轉染昆蟲細胞來生成。在一些情形下，重組桿狀病毒可作為中間體生成，藉此桿狀病毒可含有生成其他病毒(例如AAV或rAAV2病毒)所需之序列。在一些情形下，可在用於本揭示內容之組合物及治療方法之重組病毒生成中使用一或多種桿狀病毒。在一些情形下，可使用昆蟲細胞(例如Sf9、高五(High-Five)或Sf21細胞系)。在一些情形下，可使用瞬時方法(即不利用穩定整合轉基因轉染)生成細胞系。在其他情形下，可經由生成細胞系((即利用穩定整合至宿主細胞基因組中之轉基因感染)生成細胞系。在其他態樣中，使用附著HEK293細胞製造本文

所提供醫藥組合物。在替代態樣中，使用懸浮液適應HEK293細胞製造本文所提供醫藥組合物。在另一態樣中，使用昆蟲細胞中之桿狀病毒表現系統(BVES)製造本文所提供醫藥組合物。在一些態樣中，使用疱疹輔助病毒產生載體。在一些態樣中，使用產生者-純系方法產生載體。在一些態樣中，使用Ad-AAV產生載體。

通常，任何適宜方法皆可用於如本文所述醫藥組合物中所用之重組病毒之生物化學純化中。可直接自細胞或自宿主細胞周圍之培養基收穫重組病毒。可使用各種生物化學方式(例如凝膠過濾、過濾、層析、親和力純化或尺寸排除方法)純化病毒。重組病毒可在調配至醫藥組合物中之前使用任何適宜方式測試其活性或含量。方法可包括(但不限於)免疫分析、ELISA、西方印跡、北方印跡、南方印跡、或PCR、HUVEC分析及諸如此類。

V. 治療方法

在另一態樣中，本發明提供治療病理血管生成相關疾病之方法，該方法包含向需要該治療之人類個體投與醫藥有效量之本文所提供醫藥組合物。在一些態樣中，該疾病係選自由以下組成之眼新生血管性疾病之群：老年性黃斑部退化(AMD)、濕式AMD、乾式AMD、視網膜新生血管形成、脈絡膜新生血管形成糖尿病性視網膜病變、增殖性糖尿病性視網膜病變、視網膜靜脈阻塞、中央視網膜靜脈阻塞、分枝視網膜靜脈阻塞、糖尿病性黃斑水腫、糖尿病性視網膜缺血、缺血性視網膜病變及糖尿病性視網膜水腫。

在一些情形下，可測試乾式AMD。在一些情形下，乾式AMD可稱作中央地圖樣萎縮，其特徵在於視網膜下之視網膜色素上皮層萎縮且隨後損失眼之中央部分中之光感受器。本揭示內容之組合物及方法提供任何及所有形式之AMD之治療。

在另一態樣中，本發明提供預防性治療如本文所述AMD或眼新

生血管性疾病之方法，該方法包含向需要該治療之人類個體投與醫藥有效量之本文所提供醫藥組合物。本發明亦可用於治療處於發生AMD或呈現該疾病之早期症狀之風險下的患者。此可包括同時或依序治療眼。同時治療可意指同時向每一眼中投與治療或在同一次拜訪治療醫師或其他健康護理提供者期間治療兩隻眼。已有文獻中記載，患者在呈現AMD之症狀之眼之健康對側眼中具有發生AMD之較高風險。本發明可作為預防性治療用於預防對側眼之AMD。

如本文所用術語「個體」(「subject」或「individual」)或「患者」係指患有疾病或病症或懷疑患有疾病或病症之個體及諸如此類。個體(Subject、individual)或患者在本揭示內容中可互換使用且涵蓋哺乳動物及非哺乳動物。哺乳動物之實例包括(但不限於)任何哺乳動物綱成員：人類、非人靈長類，例如黑猩猩及其他猿及猴類；農業動物，例如牛、馬、綿羊、山羊及豬；家畜，例如兔、狗及貓；實驗室動物，包括齧齒動物，例如大鼠、小鼠及天竺鼠及諸如此類。非哺乳動物之實例包括(但不限於)鳥、魚及諸如此類。在本文所提供方法及組合物之一些態樣中，哺乳動物係人類。

術語「個體」(「subject」或「individual」)亦包括患有病症或疾病之年齡為20及更大之人類。意外地，本發明可用於多個患者年齡中。此包括通常與AMD疾病無關之更年輕患者，其在65歲以上之患者中出現之頻率更大。本揭示內容之人類個體或患者可包括至少約20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95或100歲。本揭示內容之人類個體或患者可包括至多約20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95或100歲。

在一些態樣中，術語「個體」(「subject」或「individual」)包括對青黴素具有不同反應(例如對其效應具有抗性或敏感性)之患者或對

藥物顯示或無過敏反應之症狀的患者。

A. 遞送方法

在一些態樣中，醫藥組合物係使用任何引導方法投與視網膜下位點。在一些情形下，遞送方法可為藉由注射，例如彼等闡述於美國專利公開案第2010008170號中者，其全文以引用方式併入本文中。在一些情形下，直接投與視網膜下位點包括經由注射器注射液體醫藥組合物。在另一實例中，直接投與可涉及經由套管或其他適於遞送載體或重組病毒之儀器注射。在其他實例中，直接投與可包含進一步包含適於遞送轉基因(例如sFLT-1)之載體的植入體。在一些情形下，植入體可直接植入視網膜中或其附近。

視網膜之黃斑及中央窩區在哺乳動物中對靈長類動物係獨特的。此外，靈長類動物與人類之解剖學及隨後AMD之發病機制存在顯著不同。黃斑係在視網膜中央附近且直徑為約1.5 mm。此區域含有最高濃度之視桿及視錐光感受器。中央窩(即含有最大濃度之視錐光感受器之小坑)係在黃斑之中央處。視網膜之黃斑及中央窩區亦含有下伏RPE細胞。該等視網膜區負責感覺精細細節(敏銳度)及顏色。由於此區負責人類視力(精細視力)之最重要部分，故期望載體安全且有效地靶向黃斑及中央窩之視網膜下空間。在一些情形下，本揭示內容之醫藥組合物可在中央窩外部投與。

簡言之，將載體遞送至黃斑及中央窩之視網膜下空間之通用方法可藉由以下簡要概述加以闡釋。此實例僅意欲闡釋該方法之某些特性，且絕不意欲具有限制性。

通常，載體可在使用操作顯微鏡之直接觀察下以眼內(視網膜下)注射之懸浮液形式遞送。此程序可涉及玻璃體切除，之後經由在視網膜下空間中一或多個小的視網膜切口使用細套管注射載體懸浮液。

簡言之，可將輸注套管縫合在適當位置以藉由貫穿操作輸注(例

如鹽水)維持正常眼球體積。使用適當孔大小(例如20至27規)之套管實施玻璃體切除，其中藉由自輸注套管輸注鹽水或其他等滲溶液替代所移除玻璃體凝膠之體積。玻璃體切除係有利地實施，此乃因(1) 其皮質(玻璃樣後膜)之移除有利於視網膜被套管穿透；(2) 其移除及經流體(例如鹽水)替代產生用於容納載體之眼內注射的空間，及(3) 其受控移除降低視網膜裂孔及非計劃視網膜剝離之可能性。

在一些態樣中，藉由利用適當孔大小(例如27-45規)之套管將載體直接注射至中央視網膜外部之視網膜下空間中，由此在視網膜下空間中產生濾泡。在其他態樣中，在視網膜下注射載體懸浮液之前，向中央視網膜外部之視網膜下空間中視網膜下注射小體積(例如約0.1 ml至約0.5 ml)適當流體(例如鹽水或林格氏溶液)。此向視網膜下空間中之初始注射在視網膜下空間內建立初始流體濾泡，從而在初始濾泡之位置處引起局部視網膜剝離。此初始流體濾泡可有利於載體懸浮液靶向遞送至視網膜下空間(藉由在載體遞送之前界定注射平面)、且最小化至脈絡膜中之可能載體投與及至玻璃體腔中之載體注射或回流之可能性。在一些態樣中，此初始流體濾泡可藉由利用相同或額外細孔套管向初始流體濾泡直接投與包含一或多種載體懸浮液及/或一或多種額外治療劑之流體而進一步注射該等流體。

可使用附接至注射器之細孔套管(例如27-45規)實施載體懸浮液及/或初始小體積之流體之眼內投與。在一些態樣中，此注射器之柱塞可由機械化裝置(例如藉由壓下腳踏板)來驅動。根據欲靶向之視網膜區域(但在中央視網膜外部)，在每一個體中使細孔套管經由鞏膜切開術前進跨過玻璃體腔並在預定位點處進入視網膜。在一個態樣中，向中央窩外部之位點實施投與。在直接可視化下，在感覺神經視網膜下以機械方式注射載體懸浮液，從而在自封閉非擴展視網膜切開術下引起局部視網膜剝離。如上文所述，載體可直接注射至視網膜下空間

中，從而在中央視網膜外部產生濾泡，或載體可直接注射至中央視網膜外部之初始濾泡中，從而引起其擴展(且使視網膜剝離之面積擴展)。在一些態樣中，注射載體懸浮液，之後向濾泡中注射另一流體。

不希望受限於理論，視網膜下注射之速率及位置可產生可損害黃斑、中央窩及/或下伏RPE細胞之局部剪切力。可以最小化或避免剪切力之速率實施視網膜下注射。在一些態樣中，經約15-17分鐘注射載體。在一些態樣中，經約17-20分鐘注射載體。在一些態樣中，經約20-22分鐘注射載體。在一些態樣中，經約1分鐘或經約1-3分鐘或在小於1分鐘內注射載體。在一些態樣中，以約35 $\mu\text{l}/\text{min}$ 至約65 $\mu\text{l}/\text{min}$ 或65 $\mu\text{l}/\text{min}$ 至約150 $\mu\text{l}/\text{min}$ 之速率注射載體。在一些態樣中，以約35 $\mu\text{l}/\text{min}$ 之速率注射載體。在一些態樣中，以約40 $\mu\text{l}/\text{min}$ 之速率注射載體。在一些態樣中，以約45 $\mu\text{l}/\text{min}$ 之速率注射載體。在一些態樣中，以約50 $\mu\text{l}/\text{ml}$ 之速率注射載體。在一些態樣中，以約55 $\mu\text{l}/\text{min}$ 之速率注射載體。在一些態樣中，以約60 $\mu\text{l}/\text{ml}$ 之速率注射載體。在一些態樣中，以約65 $\mu\text{l}/\text{min}$ 之速率注射載體。在一些態樣中，以約100 $\mu\text{l}/\text{min}$ 之速率注射載體。熟習此項技術者應認識到，濾泡之注射速率及時間可藉由(例如)產生足夠視網膜剝離以存取中央視網膜之細胞所需的載體之體積或濾泡之大小、用於遞送載體之套管之大小及安全維持本揭示內容之套管之位置之能力引導。

可產生一或多個(例如2、3或更多個)濾泡。通常，藉由本揭示內容之方法及系統產生之濾泡之總體積不可超過眼之流體體積，例如在典型人類個體為約4 ml。每一個別濾泡之總體積較佳係至少約0.3 ml，且更佳至少約0.5 ml，以有利於足夠大小之視網膜剝離以暴露中央視網膜之細胞類型並對於最佳操縱產生足夠依賴性之濾泡。熟習此項技術者應瞭解，在根據本揭示內容之方法及系統產生濾泡中，必須

維持適當眼內壓力以避免損害眼結構。每一個別濾泡之大小可為(例如)約50 μ l至約100 μ l、約50 μ l至約200 μ l、約0.1 ml至約0.2 ml、約0.1 ml至約0.3 ml、約0.5 ml至約1.2 ml、約0.8 ml至約1.2 ml、約0.9 ml至約1.2 ml、約0.9 ml至約1.0 ml、約1.0 ml至約2.0 ml、約1.0 ml至約3.0 ml。因此，在一個實例中，可建立注射總共3 ml載體懸浮液，每約1 ml 3個濾泡。所有濾泡組合之總體積可為(例如)約0.5 ml至約3.0 ml、約0.8 ml至約3.0 ml、約0.9 ml至約3.0 ml、約1.0 ml至約3.0 ml、約0.5 ml至約1.5 ml、約0.5 ml至約1.2 ml、約0.9 ml至約3.0 ml、約0.9 ml至約2.0 ml、約0.9 ml至約1.0 ml。

為安全且有效地轉導靶視網膜(例如中央視網膜)在濾泡之最初位置邊緣外之區域，可操縱濾泡以將濾泡再定位至轉導靶區域。濾泡之操縱可藉由以下來進行：由濾泡之體積造成之濾泡之依賴性、含有濾泡之眼之再定位、眼中含有一或多個濾泡之人類頭之再定位及/或藉助流體-空氣交換。此具體而言與中央視網膜相關，此乃因此區域通常阻抗因視網膜下注射所致之剝離。在一些態樣中，利用流體-空氣交換以對濾泡進行再定位；來自輸注套管之流體暫時由來自(例如)吹至視網膜表面上之空氣之空氣替代。隨著空氣之體積置換視網膜表面之玻璃體腔流體，玻璃體腔中之流體可流出套管。自玻璃體腔流體之暫時壓力缺乏會引起濾泡移動且傾向至眼之從屬部分。藉由適當定位眼球，視網膜下載體之濾泡經操縱以涉及毗鄰區域(例如黃斑及/或中央窩)。在一些情形下，即使在不使用流體-空氣交換情況下，濾泡之質量亦足以引起其受重力作用。藉由改變人類個體頭之位置以便允許濾泡傾向至眼中之期望位置，可進一步有利於濾泡移動至期望位置。在達成濾泡之期望組態後，流體返回至玻璃體腔。流體係適當流體，例如新鮮鹽水。通常，視網膜下載體可不使用針對視網膜切開術之視網膜固定術且不使用眼內填塞即保留在原位，且視網膜將在約48小時

內自發再附接。

用於治療眼病之AAV-2之視網膜下投與已證實用於治療罕見遺傳疾病利伯先天性黑朦(「LCA」)。LCA之病理學及LCA患者群體不同於彼等濕式AMD者，且因此在rAAV.sFLT臨床研究之前，預計利用基因療法(具體而言利用AAV-2)治療濕式AMD不會係安全且有效的。特定而言，LCA係因視網膜蛋白質RPE-65之表現不足引起之退化性遺傳疾病。其在幼兒及年幼兒童中引起視力緩慢衰退，其導致直至成年期、通常在25至30歲之前完全失明。與之相比，如本文先前所述，濕式AMD係在生命晚期、通常在65歲至75歲之間開始由視網膜中之新血管生成引起。新血管之存在提高以下關注：AAV粒子、轉基因或轉基因產物可以較LCA研究中所示大之量運輸至眼外部。另外，免疫系統及對外來物質之免疫反應隨患者年齡而變化，從而不確定地產生揭示於實例12中之研究前結果，即利用病毒載體(例如rAAV.sFLT-1)治療濕式AMD可為安全且有效的。

B. 治療效應

在一些態樣中，向受影響眼中單次注射本發明醫藥組合物不僅具有樂舒晴[®]治療之益處，且亦可僅需要一個單次注射。

本發明醫藥組合物可停止於現存血管中之滲漏且可抑制在患有繼發於AMD之CNV之患者之視網膜下空間中之進一步新血管形成達至少18個月，且在一些態樣，活性繼續3-5年。滲漏及新血管形成之抑制防止在受影響患者中發生失明。

在一些態樣中，該人類個體之玻璃體中之sFLT-1蛋白質含量係約500 - 5,000 pg/ml、約600 - 4,000 pg/ml、約800 - 3,000 pg/ml、約900 - 2,000 pg/ml、或約1,000 - 1,800 pg/ml、500 - 700 pg/ml、700 - 1,000 pg/ml、1,000 - 1200 pg/ml、1200 - 1,500 pg/ml、1,800 - 2000 pg/ml。在一些情形下，人類個體之玻璃體中之蛋白質含量係至少約100

pg/ml、200 pg/ml、300 pg/ml、400 pg/ml、500 pg/ml、600 pg/ml、700 pg/ml、800 pg/ml、900 pg/ml、1000 pg/ml、1100 pg/ml、1200 pg/ml、1300 pg/ml、1400 pg/ml、1500 pg/ml、1600 pg/ml、1700 pg/ml、1800 pg/ml、1900 pg/ml、2000 pg/ml、2100 pg/ml、2200 pg/ml、2300 pg/ml或2400 pg/ml。在一些情形下，人類個體之玻璃體中之蛋白質含量係至多約100 pg/ml、200 pg/ml、300 pg/ml、400 pg/ml、500 pg/ml、600 pg/ml、700 pg/ml、800 pg/ml、900 pg/ml、1000 pg/ml、1100 pg/ml、1200 pg/ml、1300 pg/ml、1400 pg/ml、1500 pg/ml、1600 pg/ml、1700 pg/ml、1800 pg/ml、1900 pg/ml、2000 pg/ml、2100 pg/ml、2200 pg/ml、2300 pg/ml或2400 pg/ml。

在一些情形下，蛋白質「含量」可指任何量或相對量之蛋白質。在一些情形下，含量可量測為濃度(例如pM、nM、uM等)、重量莫耳濃度(例如m)、質量(例如pg、ug、ng等)或任何適宜量度。在一些情形下，無單位量度可指示含量。

在一些情形下，蛋白質含量可在投與該醫藥組合物後至少約0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、1.0、2、3、4、5、6、7、14、21或30、50、75、100、125、150、175、200、225、250、275、300、325、350或365天量測。在一些情形下，蛋白質含量可在投與該醫藥組合物後至多約0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、1.0、2、3、4、5、6、7、14、21或30、50、75、100、125、150、175、200、225、250、275、300、325、350或365天量測。在一些情形下，蛋白質含量係在投與該醫藥組合物後至少72小時量測。

本發明醫藥組合物之投與通常不導致副作用。

在一些態樣中，在投與該醫藥組合物後7、14、21或30天，人類個體之淚液、血液、唾液或尿試樣中未檢測到載體。在一些態樣中，藉由如業內已知之qPCR或ELISA檢測病毒載體之存在。

在一些情形下，在投與該醫藥組合物後至少約0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、1.0、2、3、4、5、6、7、14、21或30、50、75、100、125、150、175、200、225、250、275、300、325、350或365天，人類個體之淚液、血液、唾液或尿試樣中未檢測到載體。在一些情形下，在投與該醫藥組合物後至多約0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、1.0、2、3、4、5、6、7、14、21或30、50、75、100、125、150、175、200、225、250、275、300、325、350或365天，人類個體之淚液、血液、唾液或尿試樣中未檢測到載體。在一些情形下，在投與該醫藥組合物後至少72小時，人類個體之淚液、血液、唾液或尿試樣中未檢測到載體。

在一些態樣中，人類個體在至少約2、3、4、5、6、7、8、9、10、11或12個月時段期間不顯示臨床上顯著之視網膜毒性，如藉由連續眼科檢查所評定。在一些態樣中，人類個體在至多約2、3、4、5、6、7、8、9、10、11或12個月時段期間不顯示臨床上顯著之視網膜毒性，如藉由連續眼科檢查所評定。

在一些態樣中，在至少2個月時段內，人類個體中不存在淺表、前段或玻璃體發炎體徵。在一些情形下，在投與該醫藥組合物後1週或3、6、9或12個月時，人類個體中不存在淺表、前段或玻璃體發炎體徵。

在一些態樣中，在投與步驟後未觀察到發炎體徵，包括約正常範圍之10%內之細胞毒性T細胞反應。在一些態樣中，在投與步驟後藉由活組織顯微鏡檢查(BE)及檢眼鏡間接檢查(IOE)未觀察到玻璃體發炎。在一些態樣中，在投與步驟後藉由活組織顯微鏡檢查(BE)及檢眼鏡間接檢查(IOE)觀察到玻璃體之少許發炎，其在10天消退。在一些態樣中，在投與後至少120天，人類個體不需補救治療。在一些態樣中，在投與後至少30天、至少60天、至少90天、至少120天、至少

180天、至少270天或至少365天，人類個體不需補救治療。

如本文所用，補救治療係指在初始投與本發明中所述醫藥組合物後投與一劑VEGF抑制劑。投與補救治療以加強患者眼中之VEGF抑制之量，以使疾病進展之體徵及症狀停滯或逆轉。投與補救治療之決定可基於如實例12中所述之臨床研究中之預定診斷準則或患者中存在活動性疾病體徵之醫師之臨床判斷。

在一些態樣中，在投與後至少120天，該人類個體中無視力敏度損失、IOP升高、視網膜剝離或任何眼內或全身性免疫反應之證據。在一些態樣中，在投與後至少30天、至少60天、至少90天、至少120天至少180天、至少270天或至少365天，該人類個體中無視力敏度損失、IOP升高、視網膜剝離或任何眼內或全身性免疫反應之證據。在一些態樣中，在投與後至多30天、至少60天、至少90天、至少120天至少180天、至少270天或至少365天，該人類個體中無視力敏度損失、IOP升高、視網膜剝離或任何眼內或全身性免疫反應之證據。

在一些態樣中，患者之最佳校正之視力敏度(BCVA)改良1列、2列、3列、4列、5列或更多列。

在一些態樣中，在投與步驟後，藉由螢光素血管攝影術(FA)之新生血管形成減少。

在一些情形下，可量測視網膜厚度以檢查治療效應。在一些情形下，在利用本揭示內容之醫藥組合物治療後12個月內人類個體之中央視網膜厚度增加不超過50微米、100微米或250微米。在一些情形下，在利用本揭示內容之醫藥組合物治療後3個月、6個月或9個月、12個月內，人類個體之中央視網膜厚度減少至少50微米、100微米、200微米、250微米、300微米、400微米、500微米、600微米。人類個體之中央視網膜厚度之減少可藉由比較在投與本揭示內容之醫藥組合物1、3、7或10天時或該時間內之時間點量測之中央視網膜厚度與基

線量測值來量測。

C. 利用VEGF抑制劑之組合治療

在一些態樣中，該方法進一步包含向人類個體投與醫藥有效量之VEGF抑制劑。

在一些態樣中，VEGF抑制劑包含針對VEGF之抗體或其功能片段。在一些態樣中，VEGF抑制劑包含雷珠單抗。在其他態樣中，VEGF抑制劑係可溶性受體、融合蛋白或其片段，例如阿柏西普或sFLT01。在一些態樣中，醫藥組合物係在投與該VEGF抑制劑後至少1、2、3、4、5、6、7或8天時投與。在一些態樣中，醫藥組合物係在投與該VEGF抑制劑後至多1、2、3、4、5、6、7或8天時投與。在一些態樣中，醫藥組合物係在投與該VEGF抑制劑後90天內投與。

在一些態樣中，在(例如)圖13中概述之方案下治療患者。在由重組病毒表現之蛋白質係以適宜程度表現(或「開啓(on)」)時，在基於準則之再治療下追蹤患者：

- 若疾病復發，則允許雷珠單抗再治療
- 預計對照組每年5-8次再治療
- 在治療組中，在大幅減少再治療次數情況下預計達到等效視力。

若存在活動性CNV之體徵，則患者適於再治療：

- 基於如由盲化(masked)人員(技術人員及眼科醫師)評估之客觀準則
- 再治療準則係基於在利用抗VEGF試劑之先前試驗中大量經歷「視需要」(PRN)治療。

再治療之依據係基於活動性疾病之體徵；例如：

- 自人類個體之先前拜訪損失>10個早期治療糖尿病性視網膜病變研究(ETDRS)字母(歸因於視網膜原因)，或自先前拜訪減少>5

個ETDRS字母且患者感覺到功能損失；

- OCT上之任何增加之新的或持續性神經上皮層下、視網膜下色素上皮(RPE)或視網膜內流體；

- 經由FA增加CNV滲漏之體徵。

在一些態樣中，VEGF抑制劑係在投與該醫藥組合物之前投與至少1次且在該投與後以約30天間隔投與額外1或2次，以防止疾病進展，同時蛋白質表現增加至適宜程度。在一些態樣中，VEGF抑制劑係在投與該醫藥組合物之前投與至少2次。在一些態樣中，VEGF抑制劑係在投與該醫藥組合物後之6至7週時段內投與。

在一些態樣中，VEGF抑制劑之投與頻率減少少於一年或所有皆一起停止。

在一些態樣中，在VEGF抑制劑之5次或更多次治療後使用本發明。在一些態樣中，在觀察到AMD患者在使用其他VEGF抑制劑後未顯示BCVA改良後，使用本發明。

D. 其他組合治療

在另一較佳態樣中，患者之治療包含投與本文所提供之一或多種醫藥組合物、以及其他療法(例如，化學療法、輻射、抗發炎藥劑、選擇維生素及諸如此類)。其他藥劑可在醫藥組合物之前、之後投與或與其共投與。

可在未提供理論態樣情況下實踐本揭示內容之態樣。此外，在瞭解申請者並不設法受限於所提供理論下提供理論態樣。

儘管已在本文中顯示及闡述本發明之較佳態樣，但彼等熟習此項技術者顯然瞭解該等態樣僅作為實例提供。所屬領域技術人員現將構想出許多變更、改變及替代，此並不背離本揭示內容。應瞭解，可在本揭示內容實踐中使用本文所述本揭示內容之態樣之各種替代態樣。本揭示內容之範圍意欲由以下申請專利範圍界定且因此在該等申

請專利範圍及其等效內容之範圍內之方法及結構皆涵蓋在揭示內容內。

核酸之有效劑量將隨特定表現蛋白質、欲靶向之特定疾病、患者及其臨床病況、體重、年齡、性別等變化。

實例

彼等熟習此項技術者應瞭解，可作出諸多及各種修改以產生實質上類似之結果，而不背離本發明之精神。本文中提及之所有參考文獻之全文針對所論述標的物以引用方式併入。所包括之以下實例僅用於闡釋本發明而非意欲限定本揭示內容之範圍。

若未知指明，則必須解釋以下實例之百分比係所有重量百分比含量wt %。

實例1

rAAV.sFlt-1

一種實例性重組病毒係rAAV.sFlt-1。其編碼載體及人類形式之經截短、可溶性VEGF受體1 (sFLT-1)。載體係血清型2之重組、複製缺陷性腺相關病毒(rAAV)載體。

在優良製造規範(Good Manufacturing Practices, cGMP)下製造rAAV.sFlt-1。在製造地點處，根據方案要求(即200 μ l 1×10^{10} 或 1×10^{11} 個病毒基因組)將最終產物等分至無菌、低病毒結合微量離心管(個別經包裹、低保留、經滅菌平口小瓶)中並於-80°C下儲存以等候最終產物釋放。每一小瓶含有用於單一患者之足夠載體(欲投與100 μ l)。

重組病毒rAAV.sFlt-1係由人類巨細胞病毒(CMV)啟動子驅動之攜載可溶性VEGFR受體1 (VEGFR1)或sFLT-1的重組腺相關病毒2 (rAAV2)載體。用作骨架之rAAV.sFlt-1載體及完整AAV2基因組係如Lai等人，Gene Therapy 202，第9 (12)卷，804-813)中所述製備。

rAAV2載體不含編碼病毒之序列，即rep及cap經用於治療基因之表現盒替代。rAAV.sFlt-1之活性部分係sFlt-1。sFLT-1係天然存在之可溶性經截短形式之血管內皮生長因子受體1 (VEGFR1或Flt-1)。sFLT-1係VEGF之唯一已知內源特異性抑制劑且其因其在血管生成抑制中之潛在臨床應用而吸引大量關注。sFLT-1係藉由選擇性剪切生成且其無靠近之膜免疫球蛋白樣結構域、跨膜區及細胞內酪胺酸-激酶結構域。因此，其僅含有前六個細胞外免疫球蛋白樣環，之後31個獨特胺基酸殘基。sFLT-1首先在人類臍管靜脈內皮細胞(HUVEC)中鑑別，但後來發現在胎盤中天然存在且在妊娠女性中系統性循環。用於生成rAAV.sFlt-1之sFLT-1含有僅編碼全長跨膜FLT-1之前六個細胞外免疫球蛋白樣結構域的開放閱讀框，之後獨特31個胺基酸長之C末端衍生，代表稍早闡述之選擇性剪切、分泌可溶性FLT-1同型異構體。

儘管已顯示對於最大程度之轉基因表現，ITR具有輕度啟動子活性，但盒通常包括啟動子/增強子組合、小內含子序列、治療基因之cDNA及多腺苷酸化信號。在rAAV.sFlt-1中，人類CMV主要即早基因增強子/啟動子及嵌合內含子置於sFLT-1 cDNA上游。猿猴病毒40多腺苷酸化(SV40多A)信號置於sFLT-1 cDNA之上游。

已廣泛證實sFLT-1與VEGF活體外結合。sFLT-1抑制VEGF驅動之血管生成之能力因其潛在臨床應用而吸引大量關注，但在實例12中所述rAAV.sFlt-1之臨床研究之前未顯示在人類中具有功效或適用性之證據。sFLT-1之血管生成抑制活性由藉由兩種機制之VEGF之抑制產生：i) 捕捉以高親和力與其結合之VEGF，及ii) 與VEGF受體Flt-1及KDR/Flk-1之跨膜同型異構體形成無活性異源二聚體。

用於生成rAAV.sFlt-1之質粒載體之核苷酸序列及圖

藉由用pSSV.CI.hsFlt-1質粒載體及輔助質粒之DNA三重轉染293細胞生成rAAV.sFlt-1。藉由使用核酸分離、密度梯度離心及硫酸肝素

親和力管柱層析之依序製程純化rAAV.sFlt-1。圖1中給出sFLT-1質粒載體之代表圖。

調配物

在無菌低病毒結合微量離心管中將rAAV.sFlt-1以2個濃度調配於無菌磷酸鹽緩衝鹽水(pH7)中： 1×10^{10} 個載體基因組/ 100 μ L (低劑量)及 1×10^{11} 個載體基因組 / 100 μ L (高劑量)。調配物不含防腐劑且僅係針對藉由視網膜下注射之一次解凍、單次使用。

實例2

VEGF誘導之內皮細胞增殖之活體外抑制

實施研究以評定人類臍管靜脈內皮細胞(HUVEC)增殖之VEGF誘導且測定VEGF誘導之HUVEC增殖是否可由rAAV-調介之sFLT-1抑制。首先藉由條件化培養基之西方印跡分析確認轉導細胞中sFLT-1之存在(圖2之圖a)。向VEGF處理之HUVEC中以增加之稀釋添加rAAV.sFlt-1轉導及rAAV.gfp轉導之293細胞之條件化培養基。僅包括對照饑餓培養基(無牛內皮生長因子之正常HUVEC生長培養基)。以100 μ g/mL向每孔中添加肝素。於37°C下藉由向每一孔中添加25 μ L 3-(4,5-二甲基噻唑-2-基)-2,5-二苯基溴化四唑(MTT, 5 mg / mL, Sigma)分析經VEGF及不同條件化培養基處理之HUVECS之相對VEGF誘導之增殖達4小時。確認由rAAV.sFlt-1轉導之293細胞之40 μ L條件化培養基中之rAAV載體編碼之所分泌sFLT-1以抑制HUVECS之VEGF誘導之增殖達32%。將條件化培養基之體積加倍，從而等效於類似於饑餓培養基中之培養物之基底量競爭抑制細胞生長(圖2之圖b)。

實例3

小鼠中之rAAV.sFlt-1研究

藉由微量注射人類VEGF誘導之緩慢但穩定之視網膜新生血管形成的轉基因小鼠(trVEGF029)用作視網膜新生血管形成之模型。已實

施利用該等小鼠之兩個單獨研究。

在第一小鼠研究中，評定13只轉基因小鼠在一隻眼中投與rAAV.sFlt-1載體(1×10^{11} 個載體粒子)及在對側眼中投與對照載體之前及之後的眼新生血管性變化。在注射後1個月、3個月及8個月時使用螢光素血管攝影術評定眼之新生血管性變化。由三名觀察者對新生血管形成之程度、強度及階段分級(0 - 4)，該等觀察者對所檢查眼中接受之治療盲化。存在自「3」之中值等級(在注射之前)至注射後1個月時「1」之中值等級之新生血管性分級的統計學上顯著之整體減少($P = 0.012$)。在注射rAAV.sFlt-1後3個月時(中值 = 1； $P = 0.001$)及8個月時(中值 = 1； $P = 0.001$)維持此減少。在85% (13只中之11只)經治療眼中，注射rAAV.sFlt-1載體可使新生血管性血管長期(至少8個月)消退，與之相比對照載體治療眼中為8% (13只中之1只)。

臨床前研究中之眼之組織學檢查揭示，與注射rAAV.sFlt-1之眼相比，光感受器之紊亂在對照載體-注射眼中顯著($P < 0.01$)更突出。亦藉由組織試樣之逆轉錄酶-聚合酶鏈反應分析確認sFLT-1之表現；在測試之所有四隻眼中檢測sFLT-1之mRNA。與注射對照(rAAV.gfp)載體之眼相比，在注射rAAV.sFlt-1之眼中未注意到rAAV.sFlt-1載體特異性副作用。

在於trVEGF02轉基因小鼠中實施之第二研究中，研究目的係測定rAAV.sFlt-1之視網膜下注射是否產生任何細胞調介之免疫反應，該等免疫反應可負面地影響sFLT-1之長期表現或對於視網膜引起免疫反應相關之損害。在此研究中，對於50只trVEGF02轉基因小鼠在一隻眼中給予rAAV.sFlt-1 (8×10^9 個病毒粒子)或磷酸鹽緩衝鹽水(PBS)之視網膜下注射。隨後在注射後1週及1個月時評定rAAV.sFlt-1或對照治療組之30只小鼠之視網膜是否存在免疫細胞(白血球、巨噬細胞及B-及T淋巴球)。後眼杯之流式細胞檢查顯示，在注射後1週時，CD45+

白血球在統計學上顯著增加(與對照相比增加6.6倍； $P < 0.05$)且CD11b+巨噬細胞在統計學上顯著增加(與對照相比增加5.7倍； $P < 0.036$)。然而，在此時間點時，CD19+、CD8+及CD4+ (B-及T淋巴球)無差別。在注射後1個月時，經rAAV.sFlt-1或PBS對照治療之小鼠眼中之白血球亞群(即CD45+、CD19+、CD11b+、CD8+或CD4+細胞)之間之細胞數無差別，此表明白血球及巨噬細胞之浸潤係瞬時的。在1週及1個月時刻時，該等小鼠之脾之淋巴球亞群的流式細胞評價顯示淋巴球之數目無顯著差別。此發現表明，未觀察到全身性免疫反應，儘管視網膜中顯示瞬時、局部免疫反應。

在此第二研究中，5只注射rAAV.sFlt-1或PBS之小鼠之眼之組織學檢查揭示在任何所檢查小鼠之視網膜中無可觀察到之免疫反應相關之破壞或後遺症。

為評定視網膜新生血管形成之此轉基因小鼠模型(trVEGF02)中rAAV.sFlt-1對新生血管形成程度之影響，亦在治療後2個月時由兩個不同評定者獨立地對注射rAAV.sFlt-1或PBS之小鼠之視網膜進行分級。總之，注射rAAV.sFlt-1之眼中的平均新生血管形成等級顯著降低(在注射之前： 1.46 ± 0.58 ；在注射之後： 0.81 ± 0.57 ； $P < 0.00015$)，而注射PBS對照之眼中的平均新生血管形成等級顯著增加(在注射之前： 1.08 ± 0.56 ；在注射之後： 1.63 ± 0.96 ； $P < 0.018$)。

自此第二小鼠研究之發現明確指示，利用rAAV.sFlt-1之治療似乎逆轉視網膜新生血管形成及AMD之此小鼠模型中觀察之新生血管形成之進行性增加。此外，僅在視網膜下注射rAAV.sFlt-1後1週觀察到有限、局部之發炎反應且在1個月時消退。此免疫反應似乎未損壞rAAV.sFlt-1於視網膜中之長期治療功效。

此實例3中所述之轉基因小鼠模型可用於研究特定治療或醫藥組合物對於參與VEGF抑制之其他視網膜疾病的效應。該等疾病包括糖

尿病性黃斑水腫、糖尿病性視網膜缺血、糖尿病性視網膜水腫、增殖性糖尿病性視網膜病變、視網膜靜脈阻塞、中央視網膜靜脈阻塞及分枝視網膜靜脈阻塞。在臨床研究中，已顯示一些VEGF抑制劑(例如樂舒晴)有效地治療某些該等疾病，包括糖尿病性黃斑水腫及視網膜靜脈阻塞。此實例中小鼠模型中證實之rAAV.sFlt-1之功效表明rAAV.sFlt-1亦可有效治療該等VEGF調介之疾病。

實例4

大鼠中之rAAV.sFlt-1研究

在大鼠rAAV.sFlt-1研究中，使用兩個眼新生血管形成模型：燒灼誘導之角膜新生血管形成及雷射光凝固誘導之脈絡膜新生血管形成(CNV)。在角膜新生血管形成模型中，對22只大鼠在一隻眼之前室中注射rAAV.sFlt-1載體(8×10^8 個病毒粒子)且在對側眼中注射載體(rAAV.gfp)，之後燒灼角膜。隨後在燒灼四天後使用裂隙燈攝影術檢查眼之新生血管形成。發現與對照治療之眼相比，在rAAV.sFlt-1治療之眼中角膜血管形成之速率顯著較低(分別為27%及63%； $P = 0.009$)。眼之組織學檢查顯示，在大部分燒灼之rAAV.sFlt-1治療之眼中未觀察到角膜血管。組織學檢查亦揭示，與rAAV.sFlt-1治療之眼相比，角膜間質層之細胞浸潤在注射對照載體之眼中更突出。另外，在對照載體治療之眼中存在明顯水腫及角膜間質腫脹，而rAAV.sFlt-1治療之眼中無明顯組織腫脹之證據。

在雷射光凝固誘導之CNV模型中，對10只大鼠在一隻眼中視網膜下注射rAAV.sFlt-1載體(8×10^8 個病毒粒子)，且在對側眼中注射對照載體(rAAV.gfp)。注射後1個月，使用雷射光凝固誘導CNV。雷射光凝固後5週，使用螢光素血管攝影術檢查眼之CNV。僅41%雷射處理區域顯示rAAV.sFlt-1治療之眼中滲漏，與之相比，對照載體治療之眼中為60% ($P = 0.002$)。雷射誘導之CNV後16週，rAAV.sFlt-1治療之眼

仍顯示較對照眼顯著更低新生血管形成。眼中緊鄰注射位點之區域之組織學檢查揭示正常視網膜色素上皮及正常外段及外核層。該等發現表明，無與sFLT-1表現相關之明顯毒性。視網膜電流圖亦指示rAAV.sFlt-1治療之眼正常起作用。大部分rAAV.sFlt-1及對照載體治療之雷射損傷形成視網膜下細胞膜。然而，經rAAV.sFlt-1治療之眼中之損傷通常具有較少增殖內皮細胞，反映螢光素血管攝影術發現，且指示rAAV.sFlt-1治療之眼中之血管生成(即新生血管形成)速率降低。

實例5

猴中之rAAV.sFlt-1研究

亦在AMD之非人類靈長類動物(獼猴)模型中使用雷射光凝固以誘導CNV來檢查rAAV.sFlt-1之功效及安全性。研發治療人類AMD之一個挑戰在於非人類靈長類動物不會發生AMD。雷射光凝固誘導之CNV模擬AMD之症狀，但下伏生物過程係治癒急性損傷而非慢性疾病之進展，且因此可不預測患有AMD或其他基於CNV之疾病之人類中針對CNV之任何特定治療的性能。然而，由於人類眼比非靈長類動物眼在解剖學上更類似於非人類靈長類動物眼，故通常研究非人類靈長類動物以評定對潛在治療或其他干預之毒性及組織學反應。

在關於非人類靈長類動物之第一研究中，對五隻獼猴在一隻眼中視網膜下注射rAAV.sFlt-1 (4×10^{12} 個病毒粒子)且在對側眼中注射對照載體(rAAV.gfp)。在視網膜下注射後週期性評定猴之眼健康。無與對照或rAAV.sFlt-1載體之視網膜下注射直接相關之明顯併發症。在注射後之週內注意到瞬時結膜刺激及玻璃體渾濁，其直至第二週清除。視網膜下注射在一隻猴之右眼中不成功；因此，此動物未經受進一步評價。

視網膜下注射40-100 μ L rAAV懸浮液使視網膜上升，從而產生以局部方式將載體裝納在色素上皮與光感受器層之間之濾泡。此濾泡在

24至48小時內自校正。除了在針穿透點處視網膜色素上皮較小紊亂外，在隨訪持續時間(注射後3至17個月)內未觀察到其他視網膜異常。未觀察到其他異常或不良事件；絕無與手術相關之視網膜剝離。

為評定rAAVsFlt-1之長期治療功效，在用載體治療後16個月，隨後使四隻注射猴經受強烈雷射光凝固。使用雷射在每一眼中誘導8個損傷，且隨後在雷射處理後2週及4週時監測眼之CNV。在雷射光凝固後，四隻猴中僅三者可分析，因此，收集三隻動物之功效數據。經rAAVsFlt-1治療之三隻猴之眼皆不發生CNV相關之損傷且僅觀察到弱螢光素染色，指示最少滲漏/新生血管形成。所有經對照載體治療之對側眼皆發生CNV相關之損傷。

在旨在評定向視網膜下空間中注射rAAV.sFlt-1之安全性及功效的隨訪研究中，使用8只猴：5只在其左眼中注射rAAV.sFlt-1，2只在其左眼中注射rAAV.gfp，1只在兩隻眼中注射重組Flt-1蛋白質且1只保持為未注射對照。藉由彩色眼底攝影術、螢光素血管攝影術及視網膜電描記術在注射前及注射後檢查猴。按照常規收集血液用於分析sFLT-1含量且分離周邊血液淋巴球用於流式細胞術以評定免疫細胞亞群反應。在處死時(注射後3、9及12個月)，收集組織用於：i) 使用提取基因組DNA上之實時聚合酶鏈反應的rAAV.sFlt-1載體上之生物分佈研究；ii) 藉由ELISA之hsFLT-1蛋白質及AAV2衣殼蛋白質含量定量；及 iii) 眼之組織學。

彩色眼底攝影術、螢光素血管攝影術及視網膜電描記術未檢測到注射後眼上之任何不良效應。血漿sFLT-1含量未顯示任何雄性或雌性猴檢查中之任何rAAV.sFlt-1注射相關之含量升高。除了眼神經試樣以外，任何其他取樣組織(淋巴結、脾、肝、腦、腦、心臟、脾、角膜)之基因組DNA中未檢測到rAAV.sFlt-1序列。蘇木精及伊紅染色之石蠟嵌入之眼切片似乎正常。

儘管非人類靈長類動物解剖學比較小哺乳動物(例如小鼠)之解剖學更類似於人類解剖學，但存在使得非人類靈長類動物中之研究吸引人、但不可預測人類中之臨床結果的限制。如上文所述，此實例中之研究使用雷射損傷模型，其中動物原本具有健康視網膜組織。視網膜組織隨時間未如患病視網膜組織中降格，亦不存在疾病特異性病原性因子。非人類靈長類動物通常以不可預測之方式關於生物分佈、藥物動力學及劑量依賴性、抗體效價、免疫反應及發炎反應不同於人類。額外差別包括ILM (內部限制膜)及玻璃體房之體積，其係此研究中人類之中之約四倍。人類內部限制膜(即用於限制視網膜與玻璃體之間之傳輸之障壁)係比猴之ILM更突出且有效之障壁。

實例6

安全性研究

在該等研究中，在動物之玻璃體及血漿中使用用於sFLT-1蛋白質檢測之酶聯免疫吸附分析套組量測sFLT-1蛋白質。sFLT-1蛋白質含量在注射rAAV.sFlt-1之動物之玻璃體及眼中上調。圖3A顯示注射rAAV.sFlt-1之猴眼(左眼)及注射rAAV.gfp之對照眼及未注射眼(右眼)中之玻璃體sFLT-1蛋白質含量。sFLT-1蛋白質含量在5只注射rAAV.sFlt-1之眼中之4只中顯著更高。表5.3.1顯示未注射及注射rAAV.sFlt-1且在注射後1個月時摘除之小鼠眼中之sFLT-1蛋白質含量。小鼠之眼及猴之玻璃體中之sFLT-1之過表現未對其整體身體狀況具有任何不利效應。在猴中，玻璃體中之sFLT-1過表現未對其視網膜功能具有任何效應且未對眼具有任何臨床或組織學明顯之毒性效應。注射rAAV.sFlt-1之眼中之顯著更高sFLT-1蛋白質含量表明長期rAAV調介之hsFLT-1表現且支持關於注射後17個月猴視網膜中之病毒mRNA序列之檢測及rAAV調介之gfp表現之存在的先前數據。

表1概述注射後1個月時注射rAAV.sFlt-1之小鼠眼及未注射小鼠眼

中之hsFLT-1蛋白質含量。

動物物種及 眼之數目	治療	注射後時間(週)	sFLT-1蛋白質 含量(pg/mL)
小鼠(n=1)	未注射	NA	101.4 ± 4.8
小鼠(n=1)	未注射	NA	91.0 ± 10.9
小鼠(n=1)	未注射	NA	113.4 ± 6.3
小鼠(n=1)	未注射	NA	160.2 ± 8.9
小鼠(n=1)	注射rAAV.sFlt-1	4	1034.7 ± 44.3
小鼠(n=1)	注射rAAV.sFlt-1	4	610.3 ± 16.3
小鼠(n=1)	注射rAAV.sFlt-1	4	1417.2 ± 50
小鼠(n=1)	注射rAAV.sFlt-1	4	>最大值

猴中之血漿hsFLT-1含量在不同取樣時間時未顯示任何趨勢(圖3B)。此表明注射rAAV.sFlt-1未對血漿hsFLT-1含量具有明顯效應。波動含量未對猴之身體狀況具有任何效應。

表2 免疫原性研究

物種/品種	投與方法	投藥持續時間	劑量	GLP順應性
C57Bl/6小鼠	視網膜下	1、2及4週	8×10^8 個載體基因組	否
猴	視網膜下	12個月	8×10^{10} 個載體基因組	否

表2：免疫原性研究中所用動物品種、注射途徑、rAAV.sFlt-1之持續時間及劑量的概述

使用rAAV.sFlt-1、重組sFLT-1蛋白質及rAAV.gfp關於小鼠及猴實施免疫原性研究。表5.4概述注射途徑、劑量及劑量持續時間。

實例7

關於小鼠之免疫原性研究

在注射後1週、2週及3週使用流式細胞術評定小鼠眼中對rAAV.sFlt-1療法之細胞免疫反應。浸潤白血球係基於CD45表現鑒定且分別基於CD11b、CD19、CD4及CD8表現分類為單核球/顆粒球、B細胞、CD4⁺ T細胞及CD8⁺ T細胞。在每一組中自5只小鼠(注射

rAAV.sFlt-1、注射PBS、未注射對照)收集後眼杯並彙集用於分析。如圖4A中所示，在此實驗過程中每一組小鼠回收之細胞數目無差別。然而，注射後1週及2週，CD45⁺細胞之數目顯著增加，直至4週消失(圖4B)。第1週時觀察到之幾乎所有增加均可歸因於CD11b⁺細胞增加(圖4C)，此乃因CD4⁺、CD8⁺及CD19⁺細胞之數目無差別(圖4D-F)。但在2週時，注射AAV.sFlt-1之小鼠眼中存在之CD11b⁺之數目不再存在顯著差別；相反，CD4⁺及CD8⁺ T細胞之數目及朝向B細胞增加之可能趨勢顯著增加。CD4⁺及CD8⁺細胞之數目在4週時急劇降低，但與注射PBS及未注射之小鼠相比仍顯著增加。相比之下，在此實驗過程期間脾中之CD11b⁺、CD4⁺、CD8⁺及CD19⁺細胞之數目無變化(圖5A-E)。

藉由用PMA/離子黴素或抗CD3刺激T細胞並藉由流式細胞術量測細胞內IFN- γ 產生來更緊密地檢查T細胞浸潤視網膜之功能。圖6顯示與未注射對照相比，在注射rAAV.sFlt-1後，小比例之CD4⁺及CD8⁺ T細胞經初免以產生IFN- γ 。產生IFN- γ 之細胞之頻率在實驗過程中未顯著變化，但在第3天時CD8⁺ T細胞中明顯增加(圖6B)。在用rAAV衣殼蛋白質之I類MHC限制性表位再刺激T細胞時，量測較低含量之IFN- γ ，且亦在無任何刺激下檢測一些IFN- γ (數據未顯示)。總之，該等結果指示，浸潤注射rAAV.sFlt-1之小鼠眼之小比例之T細胞最近已經活化以產生IFN- γ ，但此在此實驗過程期間在T細胞亞群中未變化。

該等實驗提供關於免疫細胞浸潤至注射AAV-sFLT-1之小鼠眼中之數據明確顯示兩波細胞浸潤。在第1週時有一波早期CD11b⁺細胞，之後在2週時有一波CD4⁺及CD8⁺ T細胞。重要的是，在4週時兩波浸潤均已不存在，此表明浸潤已自身消退。重要的是，此時sFLT-1蛋白質產生並未減少，且實際上，繼續以極高程度表現。

關於IFN- γ 產生之數據指示，約5% CD4⁺及CD8⁺ T最近經初免，

且此頻率在實驗過程中未變化。Hu.等人首先闡述由活化T細胞破壞血液-視網膜障壁，且此處提供之數據與活化CD4⁺及CD8⁺細胞之浸潤一致。然而，並無證據表明此群體中衣殼特異性T細胞之數目有所增加，此乃因利用特異性肽之再刺激僅揭示低程度之IFN- γ 產生，其在實驗過程中未變化。總之，該等觀察表明，伴隨rAAV.sFlt-1注射出現之初始損傷產生短暫免疫細胞浸潤波，其在4週內自身消退，但不能激發可對眼組織有害或影響sFLT-1表現之進行中免疫反應。

實例8

關於猴之免疫原性研究

使用一組可鑒定免疫細胞亞群群體中之變化之抗體分析視網膜下注射rAAV.sFlt-1或rAAV.gfp後之免疫反應。結果概述於圖4中。在一些猴中，觀察到免疫細胞亞群群體極小變化，但其並非統計學上顯著。然而，在此之後進行循環細胞之更深入研究。特定而言，評定載體(rAAV)或插入基因產物(sFLT-1)可引起免疫活化之可能性。研究B細胞及T細胞之活化(圖5及圖6)。亦分析其他淋巴球群體以測定該療法是否引起任何可指示直接活化或對活化反應之可觀察差別。使用典型標記(Pitcher, 2002第129號)以及最近公開之報告中所述新穎表型分析(Miller, 2008第126號)之組合實施分析。使用表型標記(HLA-DR、Ki-67及Bcl-2)之小亞群研究在投與rAAV-sFLT-1 CD4⁺或CD8⁺ T細胞及/或B細胞後是否顯示活化之體徵。在由Miller及同事公開之研究中，活化T細胞展示活化效應子表型，其特徵在於分化標記HLA-DR及用作增殖之標記之細胞循環相關之核抗原Ki-67表現。靜息T細胞不表現Ki-67，而循環或最近分裂T細胞上調Ki-67表現。Ki-67表現程度通常檢測為穩態細胞循環之一部分。

實例9

rAAV.sFlt-1之生物分佈

自猴無痛致死後立刻收集之組織(眼神經、淋巴結、腦、心臟、肺、脾、肝、角膜)提取基因組DNA。在基因組DNA上實施實時聚合酶鏈反應以測定別處是否可存在視網膜下空間中注射之rAAV.sFlt-1載體構築體。基於已知量之對照質粒pssv.C1.sflt-1 DNA間之Ct值之比較，在一隻注射眼之眼神經中發現低基因拷貝數之rAAV.sFlt-1構築體且在任何其他組織試樣中未發現。此表明注射至視網膜下空間中之rAAV.sFlt-1主要保留於眼內。表4係自未注射或注射rAAV.sFlt-1-及rAAV.gfp之猴提取之基因組DNA之Ct值的概述。

表3：所分析不同基因組DNA及對照質粒DNA試樣之Ct值及Ct標準偏差值。

試樣ID	Ct平均值	Ct標準偏差
無DNA 0個拷貝	40.83970125	0.08415232
pssv.C1.hsFlt-1 (0.045ng) 6000000個拷貝	18.17500393	0.522299978
pssv.C1.hsFLT-1 (0.009.ng) 1000000個拷貝	22.5311632	0.318372962
pssv.C1.hsFLT-1 (0.0009ng) 100000個拷貝	26.23701276	0.183232131
pssv.C1.hsFLT-1 (0.00009ng) 10000個拷貝	25.2483849	0.164140658
pssv.C1.hsFLT-1 (0.000009ng) 1000個拷貝	29.4265616	0.415926721
對照未注射猴		
1 LE眼神經	42.11	0.573
2 RE眼神經	43.58	0.323
3 腋窩LN	45.86	1.319
4 子宮頸LN	N/A	N/A
5 脾	40.71	0.093
6 肝	44.16	0.604
猴999：注射rAAV.sFlt-1，注射後3個月無痛致死		
7 LE眼神經	39.13	0.137
8 RE眼神經	42.25	0.153
9 腋窩LN	40.87	0.728
10 下頷下LN	40.54	0.453

試樣ID	Ct平均值	Ct標準偏差
11 脾	N/A	N/A
12 肝	41.23	0.388
猴8294：注射sFLT-1蛋白質，注射後3個月無痛致死		
13 LE眼神經	42.15	0.545
14 RE眼神經	42.67	0.411
15 腋窩LN	43.92	0.304
16 下頷下LN	N/A	N/A
17 脾	N/A	N/A
18 肝	40.45	0.981
猴8524：注射rAAV.sFlt-1，注射後9個月無痛致死		
19 左角膜	39.72	0.975
20 右角膜	N/A	N/A
21 腋窩LN	44.12	0.216
22 子宮頸 LN	N/A	N/A
23 脾	37.91	0.668
24 肝	41.8	0.648
猴8514：注射rAAV.sFlt-1，注射後12個月無痛致死		
25 右眼神經	39.96	0.609
26 左眼神經	28.9	0.057
27 腋窩LN	40.08	0.221
28 子宮頸LN	41.27	0.063
29 脾	39.22	0.196
30 肝	40.79	0.367
31 腦	41.14	0.798
32 心臟	42.19	0.265
33 肺	40.11	2.093
猴8523：注射rAAV.sFlt-1，注射後12個月無痛致死		

試樣ID	Ct平均值	Ct標準偏差
34 左眼神經	37.27	0.838
35 右眼神經	37.92	1.181
36 腋窩LN	38.55	0.895
37 子宮頸LN	39.68	0.583
39 脾	36.44	0.519
40 肝	39.94	0.768
41 8523腦	40.29	0.397
42 8523心臟	41.28	0.877
43 8523肺	41.71	1.186
猴8530：注射rAAV.sFlt-1，注射後12個月無痛致死		
44 左眼神經	38.52	0.777
45 右眼神經	40.67	1.354
46 腋窩LN	42.49	0.841
47 子宮頸LN	38.55	0.895
48 脾	36.44	0.519
49 肝	39.94	0.768
50 腦	40.29	0.397
51 心臟	41.67	1.787
52 肺	39.29	1.474
猴8532：注射rAAV.sFlt-1，注射後12個月無痛致死		
53 左眼神經	35.07	1.06
54 右眼神經	38.14	0.665
55 腋窩LN	40.23	1.171
56 子宮頸LN	40.82	0.496
57 脾	40.09	0.195
58 肝	40.63	1.1052
59 腦	38.68	0.295
60 心臟	40.04	0.685

試樣ID	Ct平均值	Ct標準偏差
猴8297：注射rAAV.sFlt-1，注射後12個月無痛致死		
61 左眼神經	39.84	1.034
62 右眼神經	42.17	1.247
63 腋窩LN	41.19	2.174
64 子宮頸LN	41.38	2.040
65 脾	39.09	1.273
66 肝	41.36	0.683
67 腦	37.84	1.243
68 心臟	40.74	0.868
69 肺	42.60	0.276

實例10

視網膜新生血管形成之小鼠模型上之功效研究

在研究中使用在光感受器細胞中經由VEGF上調產生之轉基因小鼠。一隻眼注射rAAV.sFlt-1且對側眼注射rAAV.gfp。由盲化觀察者基於同意量表對新生血管形成之程度、強度及階段進行分級。結果顯示在注射後1個月時新生血管形成等級自中值為3(嚴重)至中值為1(輕微)在統計學上顯著整體降低(P = 0.012)。在rAAV.sFlt-1注射後3個月(中值 = 1；P = 0.001)及8個月(中值1；P = 0.001)時維持此低程度之螢光素滲漏，表明rAAV.sFlt-1之長期、持續治療效應。

表4：在AAV.sFlt-1及AAV.gfp注射之前及之後之眼之分級及注射後8個月時光感受器數目/排

動物ID	注射後時間(月)之等級				光感受器數目	光感受器排	消退
	^a 0	1	3	8			
243 L	1	0	0	0	68.8±14.1 ^b	4-8	中等
243 R	1	3	3	3	0	0	無
244 L	2	1	1	1	72.8±18.8 ^b	3-7	中等

244 R	1	3	2	1	5.8±3.1	0-1	無	
247 L	2	2	0	0	80.8±31.0 ^b	3-8		顯著
247 R	1	1	1	1	28.3±33.3	0-4		無
249 L	3	1	1	1	0	0	顯著	
249 R	3	3	3	4	7.2±13.1	0-1		無
250 L	3	1	1	1	65.1±24.4 ^b	3-8		顯著
250 R	3	3	3	3	0	0		無
251 L	3	2	1	1	0	0	顯著	
251 R	3	3	3	4	0	0		無
253 L	3	2	1	1	73.8±20.39 ^b	5-7	顯著	
253 R	3	2	3	2	20±30.3	0-2		中等
254 L	3	1	0	0	61.8±14.3 ^b	4-6		顯著
254 R	2	2	2	2	8.8±9.6	0-1	無	
324 L	1	1	1	1	ND	ND		無
324 R	1	1	1	1	ND	ND		無
326 L	2	1	1	1	ND	ND		中等
326 R	2	2	2	2	ND	ND		無
327 L	2	2	0	0	ND	ND		顯著
327 R	2	3	2	2	ND	ND		無
329 L	3	2	2	2	ND	ND		中等
329 R	2	2	2	2	ND	ND		無
330 L	3	3	2	3	ND	ND		無
330 R	3	3	3	3	ND	ND		無

L=注射 AAV.sFlt-1 之左眼，R= 注射 AAV.GFP 之右眼，ND= 未實施

^a在注射 AAV 載體之前 3 天。

^b光感受器數目之統計學上顯著差別(p<0.01)

實例 11

雷射誘導之脈絡膜新生血管形成之猴模型上之功效研究

對 5 只猴在一隻眼中注射 rAAV.sFlt-1 且在另一眼中注射

rAAV.gfp。視網膜下注射在一隻猴之右眼不成功；因此，此動物未經受進一步評價。視網膜下注射40-100 μL rAAV懸浮液使視網膜上升，從而產生以局部方式將載體裝納在色素上皮與光感受器層之間之濾泡。此濾泡在24至48小時內自校正。除了在針穿透點處視網膜色素上皮較小紊亂外，在隨訪持續時間(注射後3至17個月)內未觀察到其他視網膜異常。未觀察到其他異常或不良事件；絕無與手術相關之視網膜剝離。

為評定rAAVsFlt-1之長期治療功效，在用載體治療後16個月，隨後使四隻注射猴經受強烈雷射光凝固。使用雷射在每一眼中誘導8個損傷，且隨後在雷射處理後2週及4週時監測眼之脈絡膜新生血管形成。在雷射光凝固後，四隻猴中僅三者可分析，因此，收集三隻動物之功效數據。經rAAVsFlt-1治療之三隻猴之眼皆不發生脈絡膜新生血管形成相關之損傷且僅觀察到弱螢光素染色，指示最少滲漏/新生血管形成。所有經對照載體治療之對側眼皆發生脈絡膜新生血管形成相關之損傷。三隻動物之功效數據提供於表5中。

表5：獼猴中rAAV.sFlt-1或對照(rAAV.gfp)載體之視網膜下投與對雷射誘導之CNV之效應

猴編號.	雷射誘導之CNV 之時間(月)*	螢光素眼底血管攝影術後之CNV損傷 [†]			
		右眼(rAAV.sFlt-1)		左眼(rAAV.gfp)	
		2週	4週	2週	4週
1	16	0 / 8	0 / 8	1 / 8	6 / 8
2	16	0 / 8	0 / 8	0 / 8	3 / 8
4	16	0 / 8	0 / 8	0 / 8	2 / 8

*CNV係在視網膜下注射rAAVs後16個月時誘導。

[†]雷射光凝固後新生血管形成(螢光素滲漏)之黃斑損傷的數目。

藉由視網膜電描記術評定猴之視網膜功能。計算注射眼及未注射對側眼之反應之振幅及潛伏期且比較注射前及注射後不同時間。結

果顯示注射rAAV.sFlt-1、重組sFLT-1蛋白質或rAAV.gfp未對猴之視網膜共價具有任何不利效應。

實例12

治療濕式AMD中之護理標準涉及每4-8週頻繁眼內注射重組抗VEGF蛋白質。已針對有效(Kd約10 pM)、天然抗VEGF蛋白質、可溶性Fms相關酪胺酸激酶-1 (sFlt-1)研發rAAV構築體用於治療濕式AMD。rAAV.sFlt-1係根據FDA及ICH指南在UNC Vector Core Human Application Laboratory處產生。實施關於rAAV.sFlt-1之安全性及功效之8名患者對照研究。針對研究之合格、納入及排除準則係如下：

合格準則

適於研究之年齡： 65歲及以上
 適於研究之性別： 二者均可
 接受健康志願者： 否

納入準則：

- 年齡大於或等於65歲；
- 繼發於AMD且在另一眼中最佳校正之視力敏度為20/80 - 20/400或更好之中央窩下鱗CNV；
- 研究眼之螢光素血管攝影片必須顯示滲漏中央窩下鱗脈絡膜新生血管性損傷之證據；
- 必須為抗VEGF玻璃體內注射之候選；
- 損傷之整個尺寸必須不超過12個黃斑光凝固研究視盤面積；
- 無光動力療法或雷射之先前視網膜治療；
- 能夠提供知情同意書；
- 參與者在登記時具有臨床上可接受之實驗參數及ECG；及
- 能夠遵守方案要求，包括隨訪拜訪。

排除準則：

- 肝酶>正常上限值之2 x；
- 任何類型之主動性感染之臨床證據，包括腺病毒、A、B或C型肝炎或HIV病毒；
- 研究/對照眼中AMD之任何先前治療，不包括抗VEGF注射；
- 視網膜色素上皮中之裂孔；
- 廣泛黃斑下瘢痕組織；
- 除中央窩下鱗CNV AMD外之顯著視網膜疾病，例如糖尿病性視網膜病變或視網膜血管閉塞；
- 顯著非視網膜疾病，例如眼萎縮或白內障；
- 已知對螢光素過敏；
- 當前使用潑尼松龍(prednisolone)、其他抗發炎類固醇或免疫抑制藥物。允許使用非類固醇藥物，例如阿司匹林(aspirin)；
- 任何其他顯著疾病或病症，在研究者之觀點下，其可由於參與者參與研究而置參與者於危險下，或可影響研究結果或參與者參與研究之能力；
- 在過去12週中已參與涉及研究產品之另一調查研究的參與者；及
- 青黴素敏感。

投與程序：根據以下程序以適於視網膜下注射之設定向研究個體投與含有rAAV.sFlt-1之醫藥組合物：

1. 將個體之眼周皮膚及眼瞼邊緣及眼睫毛在用帷簾包裹之前用5%聚維酮(povidone)碘清潔；
2. 放置無菌整體帷簾，之後放置額外眼帷簾。
3. 插入眼瞼窺器，確保其充分定位於眼瞼下方以引導眼睫毛遠

離視野且由眼帷簾保護。

4. 插入3 × 23G或25G玻璃體切除口。
5. 將鹽水輸注連接至第一埠；
6. 將光線插入第二埠中；
7. 經由第三埠中之微連接器將36G-41G視網膜下套管連接至藥物注射器。
8. 在微觀控制下，在視網膜下注射100微升；
9. 在注射後，撤出儀器及埠；
10. 施加氫黴素軟膏；
11. 自無菌單次使用容器滴入1%阿托品(*Atropine*)滴；及
12. 施加眼墊及眼罩。

本文中概述rAAV.sFlt-1研究之結果。

8名登記個體(平均年齡77歲)均具有主動性中央窩下鱗脈絡膜新生血管形成，視力敏度為20/40至20/400，且先前接受1至25次雷珠單抗之玻璃體內注射。將患者隨機分成三組，即對照組及兩個實驗組。在研究之第1天及第30天，所有患者均接受雷珠單抗之玻璃體內注射。在第7天，經由視網膜下注射向第一實驗組投與100 μl體積之 1×10^{10} 個rAAV.sFlt-1之載體基因組且經由視網膜下注射向第二實驗組投與100 μl體積之 1×10^{11} 個rAAV.sFlt-1之載體基因組。在針對實驗組中之患者之所有六種情形下，視網膜下流體之濾泡在4小時內消退。24小時後，玻璃體中之大部分空氣已被吸收且僅視網膜注射位點保持可見。一名患者發生與程序相關之輕微出血，此不影響視力。如玻璃體切除後所預計，嗜中性球計數瞬時增加，該等嗜中性球計數在注射後14天恢復至正常。在注射後1天時在一名個體之淚液中發現載體序列，其直至第30天清除。除此單次出現外，迄今為止藉由qPCR或ELISA在個體血液、唾液或尿試樣中未檢測到AAV2。天然sFLT-1蛋白

質之背景含量顯示尿、血清及唾液之高基線變化，而治療後不增加。玻璃體中之sFLT-1含量亦在個體間有所變化(975-2085 pg/ml)。血液生物化學、全血計數及T細胞反應與基線相比仍無任何顯著改變。rAAV.sFlt-1之視網膜下注射顯示在2個月時段中無臨床上顯著之視網膜毒性，如藉由連續眼科檢查所評定。任何個體中不存在淺表、前段或玻璃體發炎體徵。任何個體中無視力敏度損失、IOP升高、視網膜剝離或任何眼內或全身性免疫反應之證據。抗VEGF治療(初始及補救)之概述針對每一患者概述於表6中。

表6：藉由患者之雷珠單抗注射之概述

個體	第 0 天	第 30 天	第 60 天	第 90 天	第 120 天	第 150 天	第 180 天	第 210 天	第 224 天	第 252 天	第 280 天	第 308 天	第 336 天	第 364 天
R1001	X	X	0	0	0	0	0	無 拜 訪	無 拜 訪	0	0	0	0	0
R1002	X	X	0	0	0	0	0	0	0	無 拜 訪	0	0	0	0
R1003 (對照)	X	X	0	X	X	0	0	X	0	X	0	0	X	0
R1004	X	X	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	X
R1005	X	X	0	0	0	0	0	無 拜 訪	0	0	0	0	0	0
R1006	X	X	0	X	無 拜 訪	0	0	0	0	0	0	0	0	0
R1007 (對照)	X	X	0	0	0	X	0	0	0	0	0	0	0	0

R1008	X	X	0	X	0	0	無 拜 訪	0	0	0	0	0	0	0
-------	---	---	---	---	---	---	-------------	---	---	---	---	---	---	---

注意：根據方案，第0天及第30天注射對於研究中之所有患者均係強制性的\\

應注意，實驗組中之患者在第60天時均不需補救治療且較低劑量實驗組中之大部分患者在第90天、第120天、第150天、第180天或第210天或第270天或第365天(1年)時無需補救治療。對照患者需要多次補救治療。該等結果係出於意料的且擴大了一大組患有濕式AMD之老年患者之基因療法之希望。經目前抗VEGF療法(例如玻璃體內注射VEGF抑制劑蛋白質或其他抗VEGF試劑)治療之患者在30、60或90天中通常將需要額外注射。

在視網膜下投與rAAV.sFLT-16後6週至8週達成研究個體或患者中之sFLT-1之最大表現程度。在此所謂「斜升」時段期間，以15至45天間隔、較佳約30天間隔注射至少1次、2次或3次抗VEGF試劑之玻璃體內注射，以防止疾病進展。較佳地，在投與rAAV.sFlt-1之前之1至30天之間且較佳5至10天之間投與抗VEGF試劑之首次玻璃體內注射，以允許吸收玻璃體內注射之抗VEGF試劑(樂舒晴或癌思停或Eylea或其他非sFLT試劑)。若此首次玻璃體內注射係在視網膜下投與rAAV.sFLT之前之小於24小時投與，則可在視網膜下注射程序期間將其自玻璃體洗掉，從而導致亞治療性抗VEGF試劑濃度及疾病進展。

在完成斜升時段後，表現足夠sFLT-1以治療或預防其AMD進展之患者可不需要額外玻璃體內抗VEGF注射，但預計其將仍在醫師護理下。根據需要基於客觀準則(例如利用光同調斷層掃描之增加之中央點視網膜厚度量測)監測並治療患者。

在此研究中，以約每月計評價對照及兩個實驗組中之患者之主

動性脈絡膜新生血管形成的體徵，並若滿足以下準則中之任一者，則利用玻璃體內雷珠單抗再治療。

- 自個體之先前拜訪損失>10個早期治療糖尿病性視網膜病變研究(ETDRS)字母(歸因於視網膜原因)、或自先前拜訪減少>5個ETDRS字母且患者感覺到功能損失；

- OCT上之任何增加之新的或持續性神經上皮層下、視網膜下色素上皮(RPE)或視網膜內流體；

- 經由FA增加CNV滲漏之體徵。

實例13

光同調斷層掃描(OCT)

使用已批准設備(Heidelberg Spectralis® SD-OCT)及標準技術實施譜域光同調斷層掃描(SD-OCT)以監測患者視網膜中之中央點視網膜厚度及流體滲漏。

光同調斷層掃描(OCT)係類似於超音及MRI之非接觸型醫學成像技術。使用OCT時，使用反射光產生眼之詳細三維剖視圖影像。SPECTRALIS® SD-OCT同時量測跨光譜之多個波長之反射光，因此稱為譜域OCT。掃描之增加速度及數目轉化成較高解析度及更好之觀察疾病之機會。在患有濕式AMD之患者中，可藉由SD-OCT檢測新視網膜流體或視網膜厚度在臨床上顯著增加之檢測。(Adhi等人，Curr Opin Ophthalmol. 2013年5月；24(3):213-21；Malamos 等人，Invest Ophthalmol Vis Sci. 2009年10月；50(10):4926-33)。患有在AMD之患者中檢測到該等症狀指示疾病進展，此係進行抗VEGF療法(例如樂舒晴或Eylea)治療之依據。

經由SD-OCT監測研究中每一個體之視網膜健康及AMD進展症狀。進行至少6個穿過各自長度為約6 mm之黃斑的徑向掃描；且在每一指定拜訪時收集OCT影像/掃描。由盲化讀者評價SD-OCT影像中視

網膜內流體之存在且使用Heidelberg SD-OCT軟體量測中央視網膜厚度。8名患者之每一拜訪之中央視網膜厚度結果提供於下表7中。

表7：藉由投藥組之中央視網膜厚度偏離第0天時基線之平均變化(以微米表示)

研究天	14	28	56	84	112	140	168	196	224	252	280	308	336	364
對照	-101	24	-194	-178	-176	-199	-131	-124	-186	-190	-198	-172	-157	-138
低劑量	-140	-115	-161	-189	-173	-163	-157	-147	-149	-155	-161	-144	-127	-134
高劑量	-254	-245	-266	-254	-245	-239	-235	-209	-219	-225	-215	-239	-246	-245

如表7中所示，在如由方案所需研究開始時投與抗VEGF蛋白質(樂舒晴)之玻璃體內注射後，所有投藥組中之個體之平均中央視網膜厚度減小。如所預計，對照組中之患者之中央視網膜厚度開始增加且可在投與抗VEGF蛋白質之30 - 90天內在SD-OCT影像上觀察到流體。出乎意料地，低及高投藥組中之個體之中央視網膜厚度通常由rAAV.sFlt-1充分控制且不會隨時間增加。在低劑量組個體或高劑量組個體之視網膜中不出現新視網膜內流體。此係藉由OCT示於(例如)圖24中。在12個月時，在投與包含rAAV.sFlt-1之醫藥組合物之12個月內，經rAAV.sFlt-1治療之個體之中央視網膜厚度增加不超過50微米、或不超過100微米、或不超過250微米。在與基線比較時，經rAAV.sFlt-1治療之人類個體之中央視網膜厚度減小50微米或在一些情形下減小100微米或在一些情形下減小200微米。在投與sFlt-1之8週內

觀察到此減小且在3個月、6個月、9個月及12個月時得以維持。此結果係驚人的且在人類個體之AMD及眼新生血管形成之臨床治療中未知。更通常，在無額外投與抗VEGF蛋白質或其他VEGF抑制劑情況下，將在30天、60天、90天或180天初始抗VEGF治療下觀察到視網膜內流體及中央視網膜厚度增加。

螢光素血管攝影術(FA)

使用標準技術實施FA。對研究眼攝取移動影像。對研究及非研究眼攝取中期及晚期影像；且在每一指定拜訪時觀察FA。

生物分佈研究

藉由分離自淚液、血漿、尿及唾液試樣之載體基因組的聚合酶鏈反應(PCR)擴增研究載體之散佈。藉由ELISA針對血漿、淚液及唾液中之sFLT-1及AAV2衣殼研究載體及sFLT-1之生物分佈。

DNA之提取

將試樣(100-300 μ l)移取至 Sample Collection Cards (Qiagen, Valencia, CA)或無菌發泡體尖端施加器上。根據製造商方案自每一試樣提取DNA。將純化DNA溶解於50 μ l洗脫緩衝液中。藉由分光光度法測定所存在DNA之量。

藉由實時PCR之rAAV.sFlt-1之檢測

使用TaqMan®基因表現分析(Applied Biosystems, U.S.A.)針對AAV.sFlt-1載體之存在篩選基因組DNA試樣(0.5-1 μ g)。該分析由以下組成：一對未經標記之PCR引物，其使AAV2與sFLT-1序列之間之片段擴增；及TaqMan®探針，在5'端上具有FAM™或VIC®染料標記及小溝黏合劑部分，且在3'上具有非螢光淬滅劑染料。循環條件係於50℃下保持2分鐘且於95℃下再保持20秒，之後進行45個於95℃下持續3秒及於60℃下持續30秒之循環。

進一步測試對rAAV.sFlt-1片段呈陽性之試樣且藉由實時聚合酶鏈

反應(PCR)對所存在rAAV.sFlt-1之基因拷貝數進行定量。使用IQ5 Bio-Rad實時PCR系統(Bio-Rad, Hercules, California, USA)使0.5 μ g至1.0 μ g提取DNA在20 μ l含有Platinum SYBR Green qPCR Supermix-UDG (Invitrogen, Carlsbad, California, USA)及0.5 μ M每一引物之反應混合物中擴增。將摻有含有靶序列之質粒DNA之類似試樣組平行設定為摻標試樣。借助Primer3 Output (Whitehead Institute, MA, USA)設計所用引物對(正向: CACTAGTCCAGTGTGGTGGGA; 反向: AGCCAGGAGACAACCACTTC)以使用 Rotorgene (Corbett)使載體cDNA之區域擴增成sFLT-1基因。所用循環條件係: 2 min 50.0°C, 2 min 95.0°C及60個95.0°C 20 s、60.0°C 20 s及72.0°C 20 s之三步循環。在每一輪中自具有相同靶載體序列之質粒DNA (pSSV.sFlt-1)的10倍吸收產生標準曲線。一式三份地分析每一試樣。

藉由ELISA定量sFlt-1蛋白質濃度

藉由使用Quantikine ELISA套組(R&D Systems, Minneapolis, MN)之ELISA定量地量測血漿、淚液及唾液中存在之sFLT-1之濃度, 該套組係基於三明治免疫分析技術。向經對VEGF R1/sFLT-1具有特異性之單株抗體塗佈之96孔板中添加試樣(100 μ l)並將其培育2小時。藉由用緩衝液洗滌移除任何未結合sFLT-1。在與對VEGF R1/sFLT-1具有特異性之酶聯多株抗體一起培育後, 洗滌掉抗體-酶偶聯物且隨後將試樣與基質溶液一起培育。藉由量測450 nm下之可見吸光度對酶催化之色原體形成進行定量。使用利用重組人類sFLT-1繪製之校準曲線自吸光度值計算試樣中之sFLT-1之濃度(以pg/ml表示)。

藉由ELISA之AAV2檢測

使用AAV2滴定ELISA套組(American Research Products公司, Belmont, Massachusetts, USA)分析血漿、淚液、尿及唾液中AAV2衣殼之存在。此套組係基於三明治ELISA技術且使用對裝配AAV粒子上

之構象表位具有特異性之小鼠單株抗體。將此單株抗體塗佈於微量板條帶上並用於自樣品捕獲AAV粒子。以兩步檢測所捕獲AAV粒子。首先，將AAV之生物素偶聯單株抗體結合至免疫複合體。在第二步驟中，使鏈黴抗生物素過氧化物酶偶聯物與生物素分子反應。添加基質溶液可產生與特異性結合之病毒粒子成正比之顏色反應。於450 nm下以光度計量方式量測吸光度。所提供套組對照含有空衣殼之AAV粒子製劑且其允許定量測定未知粒子效價之試樣。向板中添加試樣(100 μ l)且欲根據製造商之方案實施分析。

中和AAV-2抗體之檢測

分析血漿阻斷利用AAV2.gfp轉導HEK293細胞之能力。在多孔板中將患者之血漿連續稀釋於正常小鼠血清中。向每一孔中添加AAV2.gfp且將板於37°C下培育1小時，之後一式三份地添加至HEK293細胞中。中和抗體效價表示為可50%抑制由AAV2-gfp之轉導的血漿稀釋液。最大gfp活性由稀釋於正常小鼠血清中之載體表示；最大抑制由僅存於正常小鼠血清中之培養基表示。一起分析每一個體之基線血漿與每一術後試樣。48小時後在測試孔中對來自利用AAV2.gfp之293T細胞之轉導的綠色細胞進行計數且將其與基線血清試樣中之綠色細胞之數目進行比較。

抗AAV2抗體之檢測

為檢測AAV2衣殼之血漿抗體，於4°C下將增強蛋白質結合ELISA板用109 vg/ml AAV2 (Vector Core Facility, North Carolina)塗佈過夜。將板於37°C下封阻2小時且隨後於4°C下與連續稀釋之抗AAV2單株抗體(Industries International, Concord, MA)或患者血漿之1:50、1:100、1:200或1:400稀釋液一起培育過夜。將板與辣根過氧化物酶(HRP)偶聯之抗人類Ig於37°C下一起培育2小時，隨後與四甲基聯苯胺(TMP)基質及過氧化氫(H₂O₂)一起培育。由磷酸(H₃PO₄)停止反應且於450 nm

下在板讀數器上進行讀數。基於平行測定之市售抗體之標準曲線計算抗AAV2抗體之效價。一式三份地測定每一值。

地圖樣萎縮

根據標準技術檢查人類研究個體之經治療眼及未經治療眼中之地圖樣萎縮的體徵。在3個月、6個月、9個月或12個月時，在經rAAV.sFlt-1治療之患者中未觀察到地圖樣萎縮增加。假設治療可停止經治療眼之地圖樣萎縮進展高達15個月、18個月、24個月、36個月、5年及10年。

實例14

為進一步測試rAAV.sFlt-1用於治療濕式AMD及脈絡膜新生血管形成之安全性及功效，實施具有四十(40)名患者之額外控制臨床研究。如實例12中，rAAV.sFlt-1係根據FDA及ICH指南於UNC Vector Core Human Application Laboratory處產生。針對研究之合格、納入及排除準則係如下：

合格性：

適於研究之年齡： 55歲及以上

適合研究之性別： 二者均可

接受健康志願者： 否

納入準則：

- 年齡大於或等於55歲；
- 繼發於AMD且研究眼中之最佳校正之視力敏度為20/30 - 20/400且在另一眼中為20/200或更好之中央窩下鱗CNV；
- 研究眼之螢光素血管攝影片必須顯示滲漏中央窩下鱗脈絡膜新生血管性損傷之證據；或脈絡膜新生血管形成目前在抗VEGF療法之主動管控下；
- 必須為抗VEGF玻璃體內注射之候選；

- 損傷之整個尺寸必須不超過12個黃斑光凝固研究視盤面積；

- 無光動力療法或雷射之先前視網膜治療；
- 能夠提供知情同意書；
- 參與者在登記時具有臨床上可接受之實驗參數及ECG；及
- 能夠遵守方案要求，包括隨訪拜訪。

排除準則：

- 肝酶>正常上限值之2 x；
- 任何類型之活性感染之臨床證據，包括腺病毒、A、B或C型肝炎或HIV病毒；或有文獻記載之B型肝炎或C型肝炎病史；
- 研究/對照眼中AMD之任何先前治療，不包括抗VEGF注射；
- 視網膜色素上皮中之裂孔；
- 研究眼中之廣泛中央凹下瘢痕、廣泛地圖樣萎縮或稠視網膜下血液，如由研究者所測定；
- 除中央窩下鱗CNV AMD外之顯著視網膜疾病，例如糖尿病性視網膜病變或視網膜血管閉塞，其可損害研究眼之視力；
- 顯著非視網膜疾病，例如研究眼中之眼萎縮或顯著白內障，包括影響視力敏度之中央角膜瘢痕、具有視野缺陷之青光眼或任何可量測眼色素層炎；
- 已知對螢光素過敏；
- 當前使用潑尼松龍、其他抗發炎類固醇或免疫抑制藥物。允許使用吸入式類固醇及非類固醇藥物，例如阿司匹林；
- 任何其他顯著疾病或病症，在研究者之觀點下，其可由於參與者參與研究而置參與者於危險下，或可影響研究結果或參與者參與研究之能力；

- 在過去12週中已參與涉及研究產品之另一調查研究的參與者；及
- 藉由參與者醫學記錄確認青黴素敏感。

初始登記個體具有主動性中央窩下鱗脈絡膜新生血管形成，研究眼之視力敏度為20/30至20/400，且先前已接受0至25次雷珠單抗之玻璃體內注射。將患者隨機分成對照組或實驗組，直至登記總共14名患者對照患者及26名實驗患者。在研究之第1天及第30天，所有患者均接受雷珠單抗之玻璃體內注射。在第7天，經由視網膜下注射向實驗組投與100 μ l體積之 1×10^{11} 個rAAV.sFlt-1之載體基因組。

如實例12中之研究中，在視網膜下投與rAAV.sFLT-16後6週至8週達成研究個體或患者中之sFLT-1之最大表現程度。在此所謂「斜升」時段期間，以15至45天間隔、較佳約30天間隔注射至少1次、2次或3次抗VEGF試劑之玻璃體內注射，以防止疾病進展。較佳地，在投與rAAV.sFlt-1之前之1至30天之間且較佳5至10天之間投與抗VEGF試劑之首次玻璃體內注射，以允許吸收玻璃體內注射之抗VEGF試劑(樂舒晴或癌思停或Eylea或其他非sFLT試劑)。若此首次玻璃體內注射係在視網膜下投與rAAV.sFLT之前之小於24小時投與，則可在視網膜下注射程序期間將其自玻璃體洗掉，從而導致亞治療性抗VEGF試劑濃度及疾病進展。

在完成斜升時段後，表現足夠sFLT-1以治療或預防其AMD進展或脈絡膜新生血管形成之其他症狀之患者可不需要額外玻璃體內抗VEGF注射，但預計其將仍在醫師護理下。

在此實例中所述之此研究中，以約每月計評價對照及實驗組中之患者之主動性脈絡膜新生血管形成的體徵並若滿足以下準則中之任一者，則利用玻璃體內雷珠單抗再治療。

- 自個體之先前拜訪損失>10個早期治療糖尿病性視網膜病變研

究(ETDRS)字母(歸因於視網膜原因)、或自先前拜訪減少>5個ETDRS字母且患者感覺到功能損失；

- OCT上之任何增加之新的或持續性神經上皮層下、視網膜下色素上皮(RPE)或視網膜內流體；

- 經由FA增加CNV滲漏之體徵。

【符號說明】

102	複製起點序列
103	ITR-2
104	啟動子
105	內含子
106	轉基因
107	多A (多腺苷酸化)序列
108	ITR-1

【補充序列表】

<110> 澳大利亞商艾佛蘭屈澳洲私營有限公司 (AVALANCHE AUSTRALIA PTY LTD.)

<120> 使用腺相關病毒(AAV)SFLT-1治療老年性黃斑部退化(AMD)

<140> 102116146
<141> 2013-05-06

<150> 61/647,461
<151> 2012-05-15

<150> 61/670,535
<151> 2012-07-11

<150> 61/678,555
<151> 2012-08-01

<150> 61/691,660
<151> 2012-08-21

<150> 61/775,440
<151> 2013-03-08

<160> 120

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之敘述： 合成寡核苷酸

<400> 1
atggaaaaac gccagcaacg 20

<210> 2
<211> 881
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之敘述： 合成多核苷酸

<400> 2
aaaaggatct aggtgaagat cctttttgat aatctcatga ccaaaatccc ttaacgtgag 60
ttttcgttcc actgagcgtc agaccccgta gaaaagatca aaggatcttc ttgagatcct 120
ttttttctgc gcgtaatctg ctgcttgcaa acaaaaaaac caccgctacc agcggtggtt 180
tgtttgccgg atcaagagct accaactctt ttccgaagg taactggctt cagcagagcg 240

cagataccaa atactgtcct tctagtgtag ccgtagttag gccaccactt caagaactct

300

gtagcaccgc ctacatacct cgctctgcta atcctgttac cagtggctgc tgccagtggc

360

gataagtcgt gtcttaccgg gttaggactca agacgatagt taccggataa ggcgccagcgg

420

tcgggctgaa cgggggggttc gtgcacacag cccagcttgg agcgaacgac ctacaccgaa

480

ctgagatacc tacagcgtga gctatgagaa agcgccacgc ttcccgaagg gagaaaggcg

540

gacaggtatc cggtaagcgg cagggtcggg acaggagagc gcacgaggga gcttccaggg

600

ggaaacgcct ggtatcttta tagtcctgtc gggtttcgcc acctctgact tgagcgtcga

660

tttttgtgat gctcgtcagg ggggcggagc ctatggaaaa acgccagcaa cgcggccttt

720

ttacggttcc tggccttttg ctggcctttt gctcacatgt tctttcctgc gttatcccct

780

gattctgtgg ataaccgtat taccgccttt gagtgagctg ataccgctcg ccgcagccga

840

acgaccgagc gcagcgagtc agtgagcgag gaagcggaag a

881

<210> 3

<211> 362

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之敘述： 合成多核苷酸

<400> 3

gcgccacgct tcccgaaggg agaaaggcgg acaggatatcc ggtaagcggc agggtcggaa

60

caggagagcg cacgagggag cttccagggg gaaacgcctg gtatctttat agtcctgtcg

120

ggtttcgcca cctctgactt gagcgtcgat ttttgtgatg ctcgtcaggg gggcggagcc

180

tatggaaaaa cgccagcaac gcggcctttt tacggttcct ggcctttttgc tggccttttg

240

ctcacatgtt ctttcctgcg ttatcccctg attctgtgga taaccgtatt accgcctttg

300

agtgagctga taccgctcgc cgcagccgaa cgaccgagcg cagcgagtca gtgagcgagg

360

aa

362

<210> 4

<211> 615

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之敘述： 合成多核苷酸

<400> 4
aaaggatctt cttgagatcc tttttttctg cgcgtaatct gctgcttgca aacaaaaaaa 60
ccaccgctac cagcggtagt ttgtttgccg gatcaagagc taccaactct ttttccgaag 120
gtaactggct tcagcagagc gcagatacca aatactgttc ttctagtgtg gccgtagtta 180
ggccaccact tcaagaactc tgtagcaccg cctacatacc tcgctctgct aatcctgtta 240
ccagtggctg ctgccagtgg cgataagtcg tgtcttaccg ggttggactc aagacgatag 300
ttaccggata aggcgcagcg gtcgggctga acgggggggtt cgtgcacaca gcccagcttg 360
gagcgaacga cctacaccga actgagatac ctacagcgtg agctatgaga aagcgccacg 420
cttcccgaag ggagaaaggc ggacaggtat ccggtaaagc gcagggtcgg aacaggagag 480
cgcacgaggg agcttccagg gggaaacgcc tggatatctt atagtcctgt cgggttttcgc 540
cacctctgac ttgagcgtcg atttttgtga tgctcgtcag gggggcggag cctatggaaa 600
aacgccagca acgcg 615

<210> 5
<211> 1258
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之敘述： 合成
多核苷酸

<400> 5
tgttgtttgt cggttaacgt cgacctagag ctgcctcgcg cgtttcgggtg atgacgggtga 60
aaacctctga cacatgcagc tcccggagac ggtcacagct tgtctgtaag cggatgccgg 120
gagcagacaa gcccgtcagg gcgcgtcagc ggggtgttggc ggggtgtcggg gcgcagccat 180
gacctcagtca cgtagcgata gcggagtgtg tactggctta actatgcggc atcagagcag 240
attgtactga gagtgcacca tatgcggtgt gaaataccgc acagatgcgt aaggagaaaa 300
taccgcatca ggcgctcttc cgcttcctcg ctactgact cgctgcgctc ggtcgttcgg 360
ctgcggcgag cggtatcagc tcaactcaaag gcggtataac ggttatccac agaatcaggg 420
gataacgcag gaaagaacat gtgagcaaaa ggccagcaaa aggccaggaa ccgtaaaaag 480
gccgcgttgc tggcgttttt ccataggctc cgccccctg acgagcatca caaaaatcga 540
cgctcaagtc agaggtaggcg aaacccgaca ggactataaa gataccaggc gtttccccct 600
ggaagctccc tcgtgcgctc tcctgttccg accctgccgc ttaccggata cctgtccgcc 660
tttctccctt cgggaagcgt ggcgctttct caatgctcac gctgtaggta tctcagttcg 720

gtgtaggtcg ttcgctccaa gctgggctgt gtgcacgaac cccccgttca gcccgaccgc780

tgcgccttat ccggtaaacta tcgtcttgag tccaacccgg taagacacga cttatcgcca840

ctggcagcag ccactggtaa caggattagc agagcgaggt atgtaggcgg tgctacagag900

ttcttgaagt ggtggcctaa ctacggctac actagaagga cagtatttgg tatctgcgct960

ctgctgaagc cagttacctt cggaaaaaga gttggtagct ctlgatccgg caaacaacc1020

accgctggta gcggtggttt ttttgtttgc aagcagcaga ttacgcgcag aaaaaaagga1080

tctcaagaag atcctttgat cttttctacg gggcttgacg ctcagtggaa cgaaaactca1140

cgttaaggga ttttggtcac gagattatca aaaaggatct tcacctagat cctttttaat1200

taaaaatgaa gttttaaatc aatctaaagt atatatgagt aaacttggtc tgacagtt1258

<210> 6

<211> 674

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之敘述： 合成多核苷酸

<400> 6

cccgtagaaa agatcaaagg atcttcttga gatccttttt ttctgcgcgt aatctgctgc60

ttgcaaacaa aaaaaccacc gctaccagcg gtggttttgt tgccggatca agagctacca120

actctttttc cgaaggtaac tggcttcagc agagcgcaga taccaaatac tgtccttcta180

gtgtagccgt agttaggcca ccacttcaag aactctgtag caccgcctac atacctcgct240

ctgctaatac tgttaccagt ggctgctgcc agtggcgata agtcgtgtct taccgggttg300

gactcaagac gatagttacc ggataaggcg cagcggtcgg gctgaacggg gggttcgtgc360

acacagccca gcttggagcg aacgacctac accgaactga gataacctaca gcgtgagcat420

tgagaaagcg ccacgcttcc cgaagggaga aaggcggaca ggtatccggt aagcggcagg480

gtcggaacag gagagcgcac gagggagctt ccagggggaa acgcctggta tctttatagt540

cctgtcgggt ttcgccacct ctgacttgag cgtcgatttt tgtgatgctc gtcagggggg600

cggagcctat ggaaaaacgc cagcaacgcg gcctttttac ggttcctggc cttttgctgg660

ccttttgctc acat674

<210> 7

<211> 674

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之敘述： 合成
多核苷酸

<400> 7	
atgtgagcaa aaggccagca aaaggccagg aaccgtaaaa aggccgcgtt gctggcgttt	60
ttccataggc tccgcccccc tgacgagcat cacaaaaatc gacgctcaag tcagaggtgg	120
cgaaacccga caggactata aagataccag gcgtttcccc ctggaagctc cctcgtgcgc	180
tctcctgttc cgaccctgcc gcttaccgga tacctgtccg cctttctccc ttcgggaagc	240
gtggcgcttt ctcatagctc acgctgtagg tatctcagtt cgggtgtaggt cgttcgctcc	300
aagctgggct gtgtgcacga accccccgtt cagcccgacc gctgcgcctt atccggtaac	360
tatcgtcttg agtccaaccc ggtaagacac gacttatcgc cactggcagc agccactggt	420
aacaggatta gcagagcgag gtatgtaggc ggtgctacag agttcttgaa gtggtggcct	480
aactacggct acactagaag gacagtattt ggtatctgcg ctctgctgaa gccagttacc	540
ttcggaaaaa gagttggtag ctcttgatcc ggcaaacaaa ccaccgctgg tagcggtggt	600
ttttttgttt gcaagcagca gattacgcgc agaaaaaaag gatctcaaga agatcctttg	660
atcttttcta cggg	674

<210> 8
<211> 830
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之敘述： 合成
多核苷酸

<400> 8	
ttaataagat gatcttcttg agatcgtttt ggtctgcgcg taatctcttg ctctgaaaac	60
gaaaaaaccg ccttgcaggg cggtttttcg aaggttctct gagctaccaa ctctttgaac	120
cgaggtaact ggcttggagg agcgcagtca caaaaacttg tcctttcagt ttagccttaa	180
ccggcgcgatg acttcaagac taactcctct aaatcaatta ccagtggctg ctgccagtgg	240
tgcttttgca tgtctttccg ggttggactc aagacgatag ttaccggata aggcgcagcg	300
gtcggactga acgggggggtt cgtgcataca gtccagcttg gagegaactg cctacccgga	360
actgagtgtc aggcgtggaa tgagacaaac gcggccataa cagcggaatg acaccggtaa	420
accgaaaggc aggaacagga gagcgcacga gggagccgcc agggggaaac gcctggtatc	480
tttatagtcc tgtcgggttt cgccaccact gat ttgagcg tcagatttcg tgatgcttgt	540

caggggggcg gagcctatgg aaaaacggct ttgccgcggc cctctcactt ccctgttaag

600

tatcttcctg gcattctcca ggaaatctcc gccccgttcg taagccattt ccgctcgccg

660

cagtcgaacg accgagcgta gcgagtcagt gagcgaggaa gcggaatata tcctgtatca

720

catattctgc tgacgcaccg gtgcagcctt ttttctcctg ccacatgaag cacttcactg

780

acaccctcat cagtgccaac atagtaagcc agtatacact ccgctagcgc

830

<210> 9

<211> 237

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之敘述： 合成
多核苷酸

<400> 9

aaacgccagc aacgcggcct ttttacggtt cctggccttt tgctggcctt ttgctcacat

60

gttctttcct gcgttatccc ctgattctgt ggataaccgt attaccgcct ttgagtgagc

120

tgataccgct cgccgcagcc gaacgaccga gcgcagcgag tcagtgagcg aggaagcgga

180

agagcgccca atacgcaaac cgctctctcc cgcgcggttg ccgattcatt aatgcag

237

<210> 10

<211> 456

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之敘述： 合成
多核苷酸

<400> 10

aaattgtaaa cgttaatat ttgttaaaat tcgcgttaaa tat ttgttaa atcagctcat

60

tttttaacca ataggccgaa atcggcaaaa tcccttataa atcaaaagaa tagaccgcga

120

tagggttgag tgttgttcca gtttggaaca agagtccact attaaagaac gtggactcca

180

acgtcaaagg gcgaaaaacc gtctatcagg gcgatggccc actacgtgaa ccatcaccca

240

aatcaagttt ttgcggtcg aggtgccgta aagctctaaa tcggaaccct aaagggagcc

300

cccgatttag agcttgacgg ggaaagccgg cgaacgtggc gagaaaggaa gggaagaaag

360

cgaaaggagc gggcgctagg gcgctggcaa gtgtagcggc cacgctgcgc gtaaccacca

420

cacccgccgc gcttaatgcg ccgctacagg gcgcgt

456

<210> 11
<211> 307
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之敘述： 合成
多核苷酸

<400> 11
ggcgcattaa gcgcggcggg tgtggtggtt acgcgcagcg tgaccgctac acttgccagc 60
gccctagcgc ccgctccctt cgctttcttc ccttcctttc tcgccacgtt cgccggcttt 120
ccccgtcaag ctctaaatcg ggggctccct ttaggggttcc gatttagtgc tttaaggcac 180
ctcgacccca aaaaacttga ttaggggtgat ggttcacgta gtgggccatc gccctgatag 240
acggtttttc gccctttgac gttggagtcc acgttcttta atagtggact cttgttccaa 300
actggaa 307

<210> 12
<211> 456
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之敘述： 合成
多核苷酸

<400> 12
acgcgccctg tagcggcgca ttaagcgcgg cgggtgtggt ggttacgcgc agcgtgaccg 60
ctacacttgc cagcgcccta gcgcccgtc ctttcgcttt ctcccttcc ttctcgcga 120
cgttcgccgg ctttccccgt caagctctaa atcgggggct ccctttaggg ttccgattta 180
gtgctttacg gcacctcgac cccaaaaaac ttgattaggg tgatggttca cgtagtgggc 240
catcgccctg atagacggtt tttcgccctt tgacgttgga gtccacgttc tttaatagt 300
gactcttggt ccaaactgga acaacactca accctatctc ggtctattct tttgatttat 360
aagggat ttt gccgatttcg gcctatttgt taaaaaatga gctgatttaa caaaaattta 420
acgcgaattt taacaaaata ttaacgctta caattt 456

<210> 13
<211> 66
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之敘述： 合成
寡核苷酸

<400> 13

aatTTTTTTT atttatgcag aggccgaggc cgcctcggcc tctgagctat tccagaagta60

gtgagg66

<210> 14

<211> 362

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之敘述： 合成多核苷酸

<400> 14

tggacagcga acgcacacta caaccttgga tagagttagg aattagtaga cggacatact60

acagggatTTT aaatgataat cattctcaaa aatgacacca gataagccta aatcagataa120

cagccccaaa agcgagcttt tgggggtgcct tttagacggt gctaggTTTT tgacagcaga180

taagcctaaa tcagataaca gccgaatcga taagccttag ttggttaagg gggcaggaaa240

ttcatattga acaaatgttt agttaagtgt agaataatca tacatcctta ttaagggcaa300

gcataactcaa gccccacaaa gtgtgcttga aatccttgta aggggaaatc ccccttaacc360

cc362

<210> 15

<211> 589

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之敘述： 合成多核苷酸

<400> 15

ttgagatcct ttttttctgc gcgtaatctg ctgcttgcaa acaaaaaaac caccgctacc60

agcggtggtt tgtttgccgg atcaagagct accaactctt tttccgaagg taactggctt120

cagcagagcg cagataccaa atactgtcct tctagtgtag ccgtagttag gccaccactt180

caagaactct gtagcaccgc ctacatacct cgctctgcta atcctgttac cagtggctgc240

tgccagtggc gataagtcgt gtcttaccgg gttggactca agacgatagt taccggataa300

ggcgcagcgg tcgggctgaa cgggggggttc gtgcacacag cccagcttgg agcgaacgac360

ctacaccgaa ctgagatacc tacagcgtga gctatgagaa agcgccacgc ttcccgaagg420

gagaaaggcg gacaggtatc cggtaagcgg cagggtcgga acaggagagc gcacgaggga480

gcttccaggg ggaaacgcct ggtatcttta tagtcctgtc gggtttcgcc acctctgact

540

tgagcgtcga tttttgtgat gctcgtcagg ggggcggagc ctatggaaa

589

<210> 16

<211> 459

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之敘述： 合成多核苷酸

<400> 16

tttacgcgcc ctgtagcggc gcattaagcg cggcgggtgt ggtggttacg cgcagcgtga

60

ccgctacact tgccagcgcc ctagcgcccg ctcccttcgc ttctttccct tcctttctcg

120

ccacgttcgc cggctttccc cgtcaagctc taaatcgggg gctcccttta gggttccgat

180

ttagtgcttt acggcacctc gaccccaaaa aacttgattt gggatgatgt tcacgtagt

240

ggccatcgcc ctgatagacg gtttttcgcc ctttgacgtt ggagtcacg ttctttaata

300

gtggactctt gtccaaact tgaacaacac tcaaccctat ctgggctat tcttttgatt

360

tataagggat ttgccgatt tcggcctatt ggttaaaaaa tgagctgatt taacaaaaat

420

ttaacgcgaa ttttaacaaa atattaacgt ttacaattt

459

<210> 17

<211> 602

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之敘述： 合成多核苷酸

<400> 17

atgcattagt tattaatagt aatcaattac ggggtcatta gttcatagcc catatatgga

60

gttccgcgtt acataactta cggtaaattg cccgcctggc tgaccgcca acgacccccg

120

ccattgacg tcaataatga cgtatgttcc catagtaacg ccaataggga ctttccattg

180

acgtcaatgg gtggagtatt tacggtaaac tgcccacttg gcagtacatc aagtgtatca

240

tatgccaaagt acgcccccta ttgacgtcaa tgacggtaaa tggcccgccg ggcattatgc

300

ccagtacatg accttatggg actttcctac ttggcagtac atctacgtat tagtcatcgc

360

tattaccatg gtgatgcggt ttgggcagta catcaatggg cgtggatagc ggtttgactc

420

acggggatit ccaagtctcc accccattga cgtcaatggg agtttgtttt ggcaccaaaa

480

tcaacgggac tttccaaaat gtcgtaacaa ctccgccccca ttgacgcaaa tgggcggtag

gcgtgtacgg tgggaggtct atataagcag agctggttta gtgaaccgtc agatccgcta

gc

540

600

602

<210> 18

<211> 741

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之敘述： 合成多核苷酸

<400> 18

tcaatatggg ccattagcca tattattcat tggttatata gcataaatca atattggcta

ttggccattg catacgttgt atctatatca taatatgtac atttatattg gctcatgtcc

aatatgaccg ccatgttggc attgattatt gactagttat taatagtaat caattacggg

gtcattagtt catagcccat atatggagtt ccgcgttaca taacttacgg taaatggccc

gcctggctga ccgcccacg acccccgccc attgacgtca ataatgacgt atgttcccat

agtaacgcca atagggactt tccattgacg tcaatgggtg gagtatttac ggtaaactgc

ccacttggca gtacatcaag tgtatcata t gccaaagtccg cccctattg acgtcaatga

cggtaaatgg ccgcctggc attatgccc gtacatgacc ttacgggact ttccctacttg

gcagtacatc tacgtattag tcatcgctat taccatgggtg atgcggtttt ggcagtacac

caatgggcgt ggatagcgg t tgactcacg gggatttcca agtctccacc ccattgacgt

caatgggagt ttgttttggc accaaaatca acgggacttt ccaaaatgtc gtaataaccc

cgccccgttg acgcaaattg gcggtaggcg tgtacgggtg gaggtctata taagcagagc

tcgttttagtg aaccgtcaga t

60

120

180

240

300

360

420

480

540

600

660

720

741

<210> 19

<211> 664

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之敘述： 合成多核苷酸

<400> 19

acgcgtacta gttattaata gtaatcaatt acggggtcat tagttcatag cccatatatg

gagttccgcg ttacataact tacggtaa at ggcccgcctg gctgaccgcc caacgacccc

60

120

cgcccatlga cgtcaataat gacgtatgtt cccatagtaa cgtcaatagg gactttccat180

tgacgtcaat ggggtggagta tttaacggtaa actgcccact tggcagtaca tcaagtgtat240

catatgccaa gtacgcccc tattgacgtc aatgacggta aatggccccg ctaggcattat300

gcccagtaca tgaccttatg ggactttcct acttggcagt acatctacgt attagtcatc360

gctattacca tgggtgatgcg gttttggcag tacatcaatg ggcgtaggata gcggtttgac420

tcacggggat ttccaagtct ccaccccatt gacgtcaatg ggagtttggt ttgcaccaaa480

atcaacggga ctttccaaaa tgtcgtaaca actccgcccc attgacgcaa atgggcggta540

ggcgtgtacg gtgggaggtc tatataagca gagctcgttt agtgaaccgt cagatcgctt600

ggagacgcca tccacgtgtt tttagacctc atagaagaca ccgggaccga tccagcctcc660

gtac664

<210> 20

<211> 663

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之敘述： 合成多核苷酸

<400> 20

acgcgtggag ctagttatta atagtaatca attacggggt cattagttca tagcccatat60

atggagttcc gcgttacata acttacggta aatggccccg ctagctgacc gccaacgac120

ccccgcccatt tgacgtcaat aatgacgtat gtccccatag taacgtcaat agggactttc180

cattgacgtc aatgggtgga gtattttacgg taaactgccc acttggcagt acatcaagtg240

tatcatatgc caagtacgcc ccctattgac gtcaatgacg gtaaattggcc cgcctggcat300

tatgcccagt acatgacctt atgggacttt cctacttggc agtacatcta cgtattagtc360

atcgctatta ccatggtgat gcggttttgg cagtacatca atgggcgtgg atagcggttt420

gactcacggg gatttccaag tctccacccc attgacgtca atgggagttt gttttgcacc480

aaaatcaacg ggactttcca aaatgtcgta acaactccgc cccattgacg caaatgggcg540

gtaggcgtgt acggtgggag gtctatataa gcagagctcg tttagtgaac cgtcagatcg600

cctggagacg ccatccacgc tgttttgacc tccatagaag acaccgggac cgatccagcc660

tcc663

<210> 21

<211> 589

<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之敘述： 合成
多核苷酸

<400> 21
tagttattaa tagtaatcaa ttacggggtc attagttcat agcccatata tggagttccg 60
cgttacataa cttacggtaa atggccccgcc tggctgaccg cccaacgacc cccgcccatt 120
gacgtcaata atgacgtatg ttcccatagt aacgccaata gggactttcc attgacgtca 180
atgggtggag tatttacggg aaactgcccc cttggcagta catcaagtgt atcatatgcc 240
aagtacgccc cctattgacg tcaatgacgg taaatggccc gcctggcatt atgcccagta 300
catgacctta tgggactttc ctacttggca gtacatctac gtattagtca tcgctattac 360
catggtgatg cggttttggc agtacatcaa tgggcgtgga tagcggtttg actcacgggg 420
atttccaagt ctccacccca ttgacgtcaa tgggagtttg ttttggcacc aaaatcaacg 480
ggactttcca aaatgtcgta acaactccgc cccattgacg caaatgggcg gtaggcgtgt 540
acggtgggag gtctatataa gcagagctgg tttagtgaac cgtcagatc 589

<210> 22
<211> 670
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之敘述： 合成
多核苷酸

<400> 22
gcggccgcac gcgtggagct agttattaat agtaatcaat tacgggggtca ttagttcata 60
gcccatatat ggagttccgc gttacataac ttacggtaaa tggccccgct ggctgaccgc 120
ccaacgaccc ccgcccattg acgtcaataa tgacgtatgt tcccatagta acgtcaatag 180
ggactttcca ttgacgtcaa tgggtggagt atttacggta aactgcccac ttggcagtac 240
atcaagtgta tcatatgcca agtacgcccc ctattgacgt caatgacggg aaatggcccc 300
cctggcatta tgcccagtac atgaccttat gggactttcc tacttggcag tacatctacg 360
tattagtcac cgctattacc atggtgatgc ggttttggca gtacatcaat gggcgtggat 420
agcggtttga ctcacgggga tttccaagtc tccaccccat tgacgtcaat gggagtttgt 480
tttgcaccaa aatcaacggg actttccaaa atgtcgtaac aactccgccc cattgacgca 540
aatgggcggt aggcgtgtac ggtgggaggt ctatataagc agagctcggt tagtgaaccg 600

tcagatcgcc tggagacgcc atccacgctg ttttgacctc catagaagac accgggaccg660

atccagcctc670

<210> 23

<211> 490

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之敘述： 合成多核苷酸

<400> 23

ggcgaccgcc cagcgacccc cgcccgttga cgtcaatagt gacgtatgtt cccatagtaa60

cgccaatagg gactttccat tgacgtcaat ggggtggagta ttacggtaa actgcccact120

tggcagtaca tcaagtgtat catatgccaa gtccgcccc tattgacgtc aatgacggta180

aatggccccgc ctagcattat gcccagtaca tgaccttacg ggagtttcct acttggcagt240

acatctacgt attagtcatc gctattacca tggatgatgcg gttttggcag tacaccaatg300

ggcgtggata gcggtttgac tcacggggat ttccaagtct ccaccccat t gacgtcaatg360

ggagtttgtt ttggcaccaa aatcaacggg actttccaaa atgtcgtaat aaccccgccc420

cgttgacca aatgggcggt aggcgtgtac ggtgggaggt ctatatagca gagtcgttt480

agtgaaccgt490

<210> 24

<211> 887

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之敘述： 合成多核苷酸

<400> 24

ttagtcatat gttacttggc agaggccgca tggaaagtcc ctggacgtgg gacatctgat60

taatacgtga ggaggtcagc catgttcctt ttggcaaagg actacggtea ttggacgttt120

gattggcatg ggatagggtc agccagagtt aacagtgttc ttttggcaaa gggatacgtg180

gaaagccccg ggccatttac agtaaaactga tacggggaca aagcacagcc atatcttagtc240

atgtactgct tggcagaggg tctatggaaa gtccctggac gtgggacgtc tgattaatat300

gaaagaaggt cagccagagg tagctgtgtc ctttttggca aagggatacg gttatgggac360

gtttgattgg actgggatag ggtcagccag agttaacagt gtctcttttg caaaggaaac420

gtggaaagtc cggggccatt tacagtaaac tgatactggg acaaagtaca cccatattta	480
gtcatgttct ttttggcaaa gagcatctgg aaagtcccgg gcagcattat agtcacttgg	540
cagagggaaa gggtcactca gagttaagta catctttcca gggccaatat tccagtaa	600
tacacttagt tttatgcaaa tcagccacaa aggggatttt cccggccaat tatgactttt	660
tccttagtca tgcggtatcc aattactgcc aaattggcag tacatactag gtgattcact	720
gacatttggc cgtcctctgg aaagtccctg gaaaccgctc aagtactgta tcatggtgac	780
tttgcatttt tggagagcac gccccactcc accattgggc cacgtaccct atgggggagt	840
ggtttatgag tatataaggg gctccggttt agaagccggg cagagcg	887

<210> 25
<211> 935
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之敘述： 合成
多核苷酸

<400> 25	
attgacgtca ataatgacgt atgttcccat agtaacgcca atagggactt tccattgacg	60
tcaatgggtg gactatttac ggtaaactgc ccacttggca gtacatcaag tgtatcatat	120
gccaagtacg cccctatttg acgtcaatga cggtaaattgg cccgcctggc attatgcca	180
gtacatgacc ttatgggact ttccctacttg gcagtacatc tacgtattag tcatcgctat	240
taccatgggc gaggtgagcc ccacgttctg cttcactctc cccatctccc cccctcccc	300
accccccaatt ttgtatttat ttatttttta attattttgt gcagcgatgg gggcgggggg	360
gggggggggg cgcgcgccag gcgggggcggg gcgggggcgag gggcggggcg gggcgaggcg	420
gagaggtgcg gcggcagcca atcagagcgg cgcgctccga aagtttcctt ttatggcgag	480
gcggcggcgg cggcggccct ataaaaagcg aagcgcgcgg cgggcgggag tcgctgcgac	540
gctgccttcg ccccgctgcc cgctccgccg ccgcctcgcg ccgcccggcc cggtcttgac	600
tgaccgcgtt actcccacag gtgagcgggc gggacggccc ttctcctccg ggctgtaatt	660
agcgcttggg ttaatgacgg cttgtttctt ttctgtggct gcgtgaaagc cttgaggggc	720
tccgggaggg ccctttgtgc ggggggagcg gctcggggct gtccgcgggg ggacggctgc	780
cttcgggggg gacggggcag ggcggggttc ggcttctggc gtgtgaccgg cggctctaga	840
gcctctgcta accatgttca tgccttcttc tttttcctac agctcctggg caacgtgctg	900

gttattgtgc tgtctcatca ttttggcaaa gaatt

935

<210> 26
<211> 367
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之敘述： 合成
多核苷酸

<400> 26

gtcgaggtga gccccacgtt ctgcttcaact ctccccatct cccccccctc cccacccccca60

attttgtatt tatttatttt ttaattattt tgtgcagcga tgggggcgggg ggggggggggg120

gcgcgcgcga ggcgggggcgg ggcgggggcga ggggcggggc ggggcgaggc ggagaggtgc180

ggcggcagcc aatcagagcg gcgcgcctcc aaagtttcct tttatggcga ggcggcggcg240

gcggcgggccc tataaaaagc gaagcgcgcg gcgggcggga gtcgctgcgt tgccttcgcc300

ccgtgccccg ctccgcgccg cctcgcgccg ccgcgcccg ccttgactga ccgcgttact360

cccacag367

<210> 27
<211> 278
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之敘述： 合成
多核苷酸

<400> 27

tcgaggtgag cccacagtgc tgcttcactc tccccatctc cccccctcc ccacccccaa60

ttttgtattt atttatttt taattattt gtgcagcgat gggggcgggg ggggggggggg120

ggcgcgcgcc aggcggggcg gggcggggcg aggggcgggg cggggcgagg cggagaggtg180

cggcggcagc caatcagagc ggcgcgctcc gaaagtttcc ttttatggcg aggcggcggc240

ggcggcggcc ctataaaaag cgaagcgcgc ggcgggcg278

<210> 28
<211> 109
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之敘述： 合成
多核苷酸

<400> 28
ccagaaaaag tcaacacact tgtcataaag tcccgacgaa gtaaaacaag cggaattaat 60

tcaatttggc caaaaaacct agtataaaga cgtgcatagt gtcgggaat 109

<210> 29
<211> 999
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之敘述： 合成
多核苷酸

<400> 29
cttcctcacg ctgaaccctt ttaaccgttt cagtggtcgt gagtcttcta atctgactgt 60

gtgacgatgt tttaaggatt tggaggattg aggaggatca cctggtcagg taaatctgaa 120

atatccggat tacatcgga gttgagcaca cggaaaaaca aaagactctt attggattta 180

gatccgtcag ccacctgctg ctgctcttca tcatcaggcg tcttcacgcg cctgcagtgg 240

gcctgacaac agcttgtgtt tattacacta aaaactttat aaacccatca caaacatat 300

cacacagcag ggacttacct cttcactctgt aagaaggatt tttagagtig gcagcagagc 360

aacagtcagc tctgttgcct cactaaaaga gatctttgtt tgaatctgtg acctgtccaa 420

gtgtacctcg cttctcacc actgacctct ccacaacagt gagctggttg gcgggatgct 480

aatgtttcta gttattacgt gtaaccaaac ttaaagagta cagataaatc atttagcata 540

attaaagttt tactgtcatg ttattggctg ttaatatgat tgctgttgta agtatgtgtt 600

gatcactaac aatttaatta attaaatcaa tcattaaatt aagttttgtt ggaaaaagag 660

ggaaaactca tccactgacc acatggttct aggttcaatt ccttggagtt aaagggctaa 720

tcccagagcc atttaccaa ataataaata aatatTTaaa taagacgtgc atgcgactgc 780

ggtcaccttt aaagcacaaa gttttttttg agcagtgagg tgaactcggg tggatctgtg 840

tgttcacaga gaaaaccttc tgtaagcaga ttaaggagtc agaagtctt aatcctgaaa 900

gtttagaaaa atcccagcag cataatcttt gctgtaagtg gtttacgagc gtatataaga 960

ggctgacaca gcggcagcgg caaagagctc agggtcaca 999

<210> 30
<211> 626
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之敘述： 合成

多核苷酸

<400> 30	
aaatcaaaag tcctcaacct ggttggaaga atattggcac tgaatggtat caataaggtt	60
gctagagagg gttagaggtg cacaatgtgc ttccataaca ttttatactt ctccaatctt	120
agcactaatc aaacatgggtt gaatactttg ttactataa ctcttacaga gttataagat	180
ctgtgaagac agggacaggg acaataccca tctctgtctg gttcataggt ggtatgtaat	240
agatatTTTT aaaaataagt gagttaatga atgagggtga gaatggaggc acagaggtat	300
tagggggagg tgggccccag agaatgggtgc caagggtccag tggggtgact gggatcagct	360
caggcctgac gctggccact cccacctagc tcctttcttt ctaatctgtt ctcatctctc	420
ttgggaagga ttgagggtctc tggaaaacag ccaaacaact gttatgggaa cagcaagccc	480
aaataaagcc aagcatcagg gggatctgag agctgaaagc aacttctgtt cccctccct	540
cagctgaagg ggtggggaag ggctcccaa gccataactc cttttaaggg atttagaagg	600
cataaaaagg cccctggctg agaact	626

<210> 31
<211> 173
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之敘述： 合成
多核苷酸

<400> 31	
actcacgggg atttccaagt ctccacccca ttgacgtcaa tgggagtttg ttttggcacc	60
aaaatcaacg ggactttcca aaatgtcgta ataaccccg cccgttgacg caaatgggcg	120
gtaggcgtgt acggtgggag gtctatataa gcagagctcg tttagtgaac cgt	173

<210> 32
<211> 113
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之敘述： 合成
多核苷酸

<400> 32	
aaaatcaacg ggactttcca aaatgtcgta ataaccccg cccgttgacg caaatgggcg	60
gtaggcgtgt acggtgggag gtctatataa gcagagctcg tttagtgaac cgt	113

<210> 33	
<211> 21	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 人工序列之敘述： 合成寡核苷酸	
<400> 33	
gtaatacgac tcactatagg g	21
<210> 34	
<211> 19	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 人工序列之敘述： 合成寡核苷酸	
<400> 34	
taatacgact cactatagg	19
<210> 35	
<211> 67	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 人工序列之敘述： 合成寡核苷酸	
<400> 35	
ccgattaatc ataaatatga aaaataattg ttgcatcacc cgccaatgcg tggcttaatg	60
cacatca	67
<210> 36	
<211> 19	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 人工序列之敘述： 合成寡核苷酸	
<400> 36	
attaaccctc actaaaggg	19
<210> 37	
<211> 87	
<212> DNA	
<213> 人工序列	

<220>
<223> 人工序列之叙述： 合成寡核苷酸

<400> 37
ctagacaagg tcgaacgagg ggcatgaccc ggtgcggggc ttcttgcact cggcataggc 60

gagtgctaag aataacgttg gcactcg 87

<210> 38
<211> 1478
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之叙述： 合成多核苷酸

<400> 38
tattaggcga agaggcatct agtagtagtg gcagtgggtga gaacgtgggc gctgctatag 60
tgaacaatct ccagtcgatg gttaagaaga agagtgacaa accagcagtg aatgacttgt 120
ctgggtccgt gaggaaaaga aagaagcccc acacaaagga cagtaacgtc aagaaaccca 180
agaaataggg gggacctgtt tagatgtata ggaataaaaa ctccgagatg atctcaatgt 240
gtaatggagt tgtaatattg caaaggggga aaatcaagac tcaaacgtgt gtatgagtga 300
gcgtacgtat atctccgaga gtagtatgac ataatgatga ctgtgaatca tcgtaatctc 360
acacaaaaac cccattgtcg gccatatacc acaccaagca acaccacata tcccccgaa 420
aaaaaacgt gaaaaaaaga aacaatcaaa actacaacct actccttgat cacacagtca 480
ttgatcaagt tacagttcct gctaggggaat gaccaaggta caaatcagca ccttaatgg 540
tagcacgctc tcttactctc tctcacagtc ttccggcccc tattcaaaat tctgcacttc 600
catttgaccc cagggttggg aaacagggcc acaaaagaaa aacccgacgt gaatgaaaa 660
actaagaaaa gaaaaaaaaat tatcacacca gaaatttacc taattgggta attcccatcg 720
gtgtttttcc tggattgtcg cacgcacgca tgctgaaaaa agtgttcgag ttttgctttt 780
gcctcggagt ttcacgcaag tttttcgatc tcggaaccgg agggcggtcg ccttgttgtt 840
tgtgatgtcg tgctttgggt gttctaattgt gctgttattg tgctcttttt ttttcttctt 900
tttttggtga tcatatgata ttgctcggtg gattactttc gtgtgtaggt attcttttag 960
acgtttgggtt attgggtaga tatgagagag agagagtggg tgggggagga gttggttgta 1020
ggagggaccc ctgggaggaa gtgtagttga gttttccctg acgaatgaaa atacgttttt 1080
gagaagataa tacaggaaag gtgtgtcggg gaatttccat ctatccgagg atatgagtgg 1140

aggagagtcg tgtgcgtgtg gttaathtag gatcagtgga acacacaaag taactaagac 1200
agagagacag agagaaaaat ctggggaaga gacaaagagt cagagtgtgt gagttattct 1260
gtattgtgaa atttttttgc ccaactacat aatattgctg aaactaattt tacttaaaaa 1320
gaaaagccaa caacgtcccc agtaaaactt ttctataaat atcagcagtt ttccctttcc 1380
tccattcctc ttcttgtctt ttttcttact ttcccttttt tatacctttt cattatcatc 1440
ctttataatt gtctaaccaa caactatata tctatcaa 1478

<210> 39
<211> 412
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之敘述： 合成
多核苷酸

<400> 39
cccacacacc atagcttcaa aatgtttcta ctcccttttt actcttccag attttctcgg 60
actccgcgca tcgccgtacc acttcaaaac acccaagcac agcatactaa attttccctc 120
tttcttccctc taggggtgtcg ttaattaccc gtactaaagg ttgggaaaag aaaaaagaga 180
ccgcctcggtt tcttttttctt cgtcgaaaaa ggcaataaaa atttttatca cgtttctttt 240
tcttgaaatt ttttttttta gtttttttct ctttcagtga cctccattga tatttaagtt 300
aataaacggt ctccaatttc tcaagtttca gtttcatttt tcttgttcta ttacaacttt 360
ttttacttct tgttcattag aaagaaagca tagcaatcta atctaagggg cg 412

<210> 40
<211> 28
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之敘述： 合成
寡核苷酸

<400> 40
ttgacaatta atcatcggct cgtataat 28

<210> 41
<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之敘述：	合成寡核苷酸	
<400> 41	ttcaaatatg tatccgctca tgagaca	27
<210> 42		
<211> 143		
<212> DNA		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 人工序列之敘述：	合成多核苷酸	
<400> 42	aactacccgt aggtgtagtt ggcgcaagcg tccgattagc tcaggtttaa gatgtcgaga	60
	gtgagagtgg gcggtttaac tttctcagtt aggcataaaa ttacgtctta aatctcgtag	120
	cgactaatTT aataaaaatt gga	143
<210> 43		
<211> 419		
<212> DNA		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 人工序列之敘述：	合成多核苷酸	
<400> 43	gcgcagcacc atggcctgaa ataacctctg aaagaggaac ttggttaggt accttctgag	60
	gcggaaagaa ccagctgtgg aatgtgtgtc agttagggtg tggaaagtcc ccaggctccc	120
	cagcaggcag aagtatgcaa agcatgcac tcaattagtc agcaaccagg tgtggaaagt	180
	ccccaggctc ccagcaggc agaagtatgc aaagcatgca tctcaattag tcagcaacca	240
	tagtcccgcc cctaactccg cccatcccgc ccctaactcc gccagttcc gccattctc	300
	cgccccatgg ctgactaatt ttttttatTT atgcagaggc cgaggccgcc tcggcctctg	360
	agctattcca gaagtagtga ggaggctttt ttggaggcct aggcttttgc aaaaagctt	419
<210> 44		
<211> 28		
<212> DNA		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 人工序列之敘述：	合成寡核苷酸	

<400> 44
gacgcttttt atcgcaactc tctactgt

28

<210> 45
<211> 29
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之敘述： 合成寡核苷酸

<400> 45
catgacaaaa acgcgtaaca aaagtgtct

29

<210> 46
<211> 1904
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之敘述： 合成多核苷酸

<400> 46
agccgaattc ctctcattc ttctccaaac ctttattgag tacctactgt gtgctggaat 60
aagacaggca gggccatgcc ctcatgaagc tgacaatcct attgggtgtga ccatccccag 120
gtgtgtccca ggtgtgttgc aggtgtgtcc gaggtatgcc ccagctgtcc caggtgtgcc 180
ccagctgtct cagatgtgcc ccagctgtcc caggtgtgtc acagctgcat tgcaggtgtg 240
ccccagttgc attccatgtg tgctccaagt gtgtaccagc tgtcccaggt gtgtctcagg 300
tgtgccccag ctgtatccca ggtgtgcctc agctgtctta ggtgtgtctc aggtgcatcc 360
caggtgtgtc tcagatgtgc ccagctgtc ccaggtgtgc ccagctgtc ccaggtgtgc 420
ccagctgtc tccagtgtgt ccagctgtg cccaggtgt gtgtcctagg tgtgcctcag 480
ctgtctcagg tgtgccccag gcataccca ggtgtgcccc agctgtccca ggtgtgtcct 540
acgtgtgcac cagctgtatc ccaggtgtgc cccaggtgtg tctcagatgg gtcccaagtg 600
ttccccaact gcatttcagg tgtctcaggt gtgccaagc tgtcccaggt gtgtccaaga 660
tgtgccccag gtgtgtctca ggtgggtctc aagtgcccc gctgcatttc aggtgtctca 720
ggtgtgcccc ccagtgcac ccaggtgtgt cccaggtgtg cccaggtgc atcccaggtg 780
tgtcccaggt gtgccccagc tgtctcaggt gtctcaggtg tgccccaggc atatcccagg 840
tgtgcctcag ctctcccagg tgtgtcctac atgtgcacca gctgtatctc aggtgtgtct 900
caggtgtgcc ccagatgtgc ccccggtgtg tctcaggtgg gtcccaagtg ttcccagct 960

gcatttcaag tgtctcaggt gtgccccagg tgtgcccccg ctgtcccagg tgtgtccaag 1020
atgtacccca ggtgtgtccc agctgtccca agtgtgtctc aggtgtgccc caggtgtgtt 1080
ccaggtgttc ccagctgtc ccagctgtcc caggtctcag gtgtgccccca ggtgtgttcc 1140
aggtgttcac cagctgtccc agctgtccca ggtctcaggt gtgccccagg tatgttgcag 1200
gtgttcccca gctgtcccag ctgtcccagg tgtgtcccag gtgttcccca ggtgtgtccc 1260
agctgtccca ggtgtgtccc agatgtgccc caggtgtacc ccaggtgttt ctcaggtgga 1320
ttccaggtgt gtcccaggtg agccccagct gtattccata tgcgtccctc tgagtggggc 1380
cttggtttga tgtagctccg gggatcttct gctccctggt cctgggtgtca ccagcaactg 1440
cctcttgaca atcctgcctt gcctgcaaac ccaggtgag aagaagacaa atgactggga 1500
actgaccct cagtaagegc tgggtggtctc acctacagac ccccaggaag ctggtcactg 1560
tgggcttctt ttctctctta aattcctatt atcaggtggt tttctttctc atttgctatt 1620
ttcttaaaaa taaaaatagg gaaaaacagc ctttgtaaata tacggtttct tccggctcca 1680
tcctctccgt caggccccaca tcccaaggaa acagcaggct tgagcctggc tgctgaagcc 1740
aggggctgga tggagcagct cagaacagag ctttgagtgc ctctccagcc aggggccccca 1800
gaagcctggt ggttgtttgt ccttctcagg ggaaaagtga ggcggccccct tggaggaagg 1860
ggccgggcag aatgatctaa tcggattcca agcagctcag ggga 1904

<210> 47
<211> 352
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之敘述： 合成
多核苷酸

<400> 47
ctctgagctg ctccctact cacactctgt ccacaacccc attttcctga tcatgtagta 60
gaaagaaatg gaacacaatc ttgttaaata agcccttgta aacaagcaag agctacagtg 120
cttccacaag ccctactgca agccaggaat gggaacagtg gtgtgtgtgc agcaaattgcc 180
ctgagcaccc ctgtggattg gactcagaaa catggaagtg agggtaggag gggatgatct 240
aagtcctggg cccaattaag agatcagatg gtgaagggtt tgggggcctt taaggtaagg 300
aggcctgggc tgatcctgca ggctgatata aagtcctgta accccatagg ca 352

<210> 48

<211>	133	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	人工序列之敘述：	合成
	多核苷酸	
<400>	48	
gtaagtatca aggttacaag acaggttttaa ggagaccaat agaaactggg ctgtgcgaga		60
cagagaagac tcttgcgttt ctgataggca cctattggtc ttactgacat ccactttgcc		120
tttctctcca cag		133
<210>	49	
<211>	221	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	人工序列之敘述：	合成
	多核苷酸	
<400>	49	
agacatgata agatacattg atgagtttgg acaaaccaca actagaatgc agtgaaaaaa		60
atgcttttatt tgtgaaattt gtgatgctat tgctttattt gtaaccatta taagctgcaa		120
taaacaagtt aacaacaaca attgcattca ttttatgttt caggttcagg gggagatgtg		180
ggaggttttt taaagcaagt aaaacctcta caaatgtggt a		221
<210>	50	
<211>	222	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	人工序列之敘述：	合成
	多核苷酸	
<400>	50	
cagacatgat aagatacatt gatgagtttg gacaaaccac aactagaatg cagtgaaaaa		60
aatgctttat ttgtgaaatt tgtgatgcta ttgctttatt tgtaaccatt ataagctgca		120
ataaacaagt taacaacaac aattgcattc attttatgtt tcaggttcag ggggagatgt		180
gggaggtttt ttaaagcaag taaaacctct acaaatgtgg ta		222
<210>	51	
<211>	239	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	

<220>
<223> 人工序列之敘述： 合成
多核苷酸

<400> 51
ggccgccttcg agcagacatg ataagataca ttgatgagtt tggacaaacc acaactagaa 60
tgcagtgaaa aaaatgccttt atttgtgaaa tttgtgatgc tattgcttta tttgtaacca 120
ttataagctg caataaaca gttaacaaca acaattgcat tcattttatg tttcaggttc 180
agggggagat gtgggaggtt ttttaaagca agtaaaacct ctacaaatgt ggtaaaatc 239

<210> 52
<211> 222
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之敘述： 合成
多核苷酸

<400> 52
taatcagcat accacatttg tagaggtttt acttgcttta aaaaacctcc cacacctccc 60
cctgaacctg aaacataaaa tgaatgcaat tgttggttgt aacttgctta ttgcagctta 120
taatggttac aaataaagca atagcatcac aaatttcaca aataaagcat ttttttcact 180
gcattctagt tgtggtttgt ccaaactcat caatgtatct ta 222

<210> 53
<211> 142
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之敘述： 合成
多核苷酸

<400> 53
aacttgctta ttgcagctta taatggttac aaataaagca atagcatcac aaatttcaca 60
aataaagcat ttttttcact gcattctagt tgtggtttgt ccaaactcat caatgtatct 120
tatacgtct ggtcagggtg ca 142

<210> 54
<211> 132
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之敘述： 合成

多核苷酸

<400> 54

aacttgttta ttgcagctta taatggttac aaataaagca atagcatcac aaatttcaca60

aataaagcat ttttttcact gcattctagt tgtggtttgt ccaaactcat caatgtatct120

tatcacgtct gg132

<210> 55

<211> 49

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之敘述： 合成寡核苷酸

<400> 55

aataaaaatat ctttattttc attacatctg tgtgtttggtt ttttgtgtg49

<210> 56

<211> 341

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之敘述： 合成多核苷酸

<400> 56

ctgcgcgctc gctcgcctcac tgaggccgcc cgggcaaagc ccgggcgctc ggcgaccttt60

ggtcgccccgg cctcagtgag cgagcgagcg cgcagagagg gagtggccaa ctccatcact120

aggggttcct tgtagttaat gattaaccgc ccatgctact tatctacgcg tagataagta180

gcatggcgggg ttaatcatta actacaagga acccctagtg atggagttgg ccactccctc240

tctgcgcgct cgctcgctca ctgaggccgg gcgaccaaag gtcgccccgac gcccgggctt300

tgccccgggcg gcctcagtga gcgagcgagc gcgcagcctt a341

<210> 57

<211> 344

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之敘述： 合成多核苷酸

<400> 57

aggctgcgcg ctcgctcgct cactgaggcc gcccggggcaa agcccgggcg tcgggcgacc60

tttggtcgcc cggcctcagt gagcgagcga gcgcgcagag agggagtggc caactccatc	120
actagggggtt ccttgtagtt aatgattaac ccgccatgct acttatctac gcgtagataa	180
gtagcatggc gggttaatca ttaactacaa ggaaccccta gtgatggagt tggccactcc	240
ctctctgcgc gctcgcctgc tcactgaggc cgggcgacca aaggtcgcc gacgcccggg	300
ctttgcccgg gcggcctcag tgagcgagcg agcgcgcagc cttc	344

<210> 58
<211> 128
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之敘述： 合成
多核苷酸

<400> 58	
aggaaccct agtgatggag ttggccactc cctctctgcg cgctcgcctc ctcactgagg	60
ccgggcgacc aaaggtcgcc cgacgcccgg gctttgcccg ggccggcctca gtgagcgagc	120
gagcgcgc	128

<210> 59
<211> 130
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之敘述： 合成
多核苷酸

<400> 59	
aggaaccct agtgatggag ttggccactc cctctctgcg cgctcgcctc ctcactgagg	60
ccgggcgacc aaaggtcgcc cgacgcccgg gctttgcccg ggccggcctca gtgagcgagc	120
gagcgcgcag	130

<210> 60
<211> 45
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之敘述： 合成
寡核苷酸

<400> 60	
ttatgaagat ccctcgacct gcagcccaag cttggcgtaa tcatg	45

<210> 61	
<211> 27	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 人工序列之敘述： 合成寡核苷酸	
<400> 61	
gataaggatc ttcctagagc atggcta	27
<210> 62	
<211> 273	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 人工序列之敘述： 合成多核苷酸	
<400> 62	
atgtctgccc gtatttcgcg taaggaaatc cattatgtac tatttaaaaa acacaaactt	60
ttggatgttc ggtttattct ttttctttta cttttttatc atgggagcct acttcccgtt	120
tttcccgatt tggctacatg acatcaacca tatcagcaaa agtgatacgg gtattatttt	180
tgccgctatt tctctgttct cgctattatt ccaaccgctg tttaggtctgc tttctgacaa	240
actcggcctc gactctaggc ggccgcgggg atc	273
<210> 63	
<211> 141	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 人工序列之敘述： 合成多核苷酸	
<400> 63	
ggaggggtgg agtcgtgacg tgaattacgt catagggtta gggaggtcct gtattagagg	60
tcacgtgagt gttttgcgac attttgcgac accatgtggt cacgctgggt atttaagccc	120
gagtgagcac gcagggtctc c	141
<210> 64	
<211> 60	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 人工序列之敘述： 合成	

寡核苷酸

<400> 64	
ggatccactc gagtggagct cgcgactagt cgattcgaat tcgatatcaa gcttatcgat	60
<210> 65	
<211> 98	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 人工序列之敘述： 合成寡核苷酸	
<400> 65	
gcctgtacgg aagtgttact tctgctctaa aagctgcgga attgtacccg cggccgcaat	60
tcccgggggat cgaaagagcc tgctaaagca aaaaagaa	98
<210> 66	
<211> 48	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 人工序列之敘述： 合成寡核苷酸	
<400> 66	
ccgaaccgga attctgcaga tatccagcac agtggcggcc gcttcgag	48
<210> 67	
<211> 53	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 人工序列之敘述： 合成寡核苷酸	
<400> 67	
tagtttccat ggctacgtag ataagtagca tggcgggtta atcattaact aca	53
<210> 68	
<211> 64	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 人工序列之敘述： 合成寡核苷酸	
<400> 68	
tgtagttaat gattaaccg ccatgctact tatctacgta gccatgctcg atctgaattc	60

ggta

64

<210> 69
<211> 14
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之敘述： 合成寡核苷酸

<400> 69
ggccgcgggg atcc

14

<210> 70
<211> 11
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之敘述： 合成寡核苷酸

<400> 70
ggttcgaaca g

11

<210> 71
<211> 120
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之敘述： 合成多核苷酸

<400> 71
catgttcatg ccttccttctt ttccctacag ctccctgggca acgtgctggg tattgtgctg

60

tctcatcatt ttggcaaaga attctgcagt cgacgggtacc gcggggccccgg gatccaccgg

120

<210> 72
<211> 30
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之敘述： 合成寡核苷酸

<400> 72
gcggccgcac gcgtgttact agttattaat

30

<210> 73
<211> 115
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之敘述： 合成
多核苷酸

<400> 73
cactagaagc tttattgcgg tagtttatca cagttaaatt gctaacgcag tcagtgcttc 60

tgacacaaca gtctcgaact taagctgcag aagttggtcg tgaggcactg ggcag 115

<210> 74
<211> 68
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之敘述： 合成
寡核苷酸

<400> 74
gcctggagac gccatccacg ctgtttttgac ctccatagaa gacaccggga ccgatccagc 60

ctccggac 68

<210> 75
<211> 133
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之敘述： 合成
多核苷酸

<400> 75
gtgtccactc ccagttcaat tacagctctt aaggctagag tacttaatac gactcactat 60

aggctagcct cgagaattca cgcgtggtac cgagctcgga tccactagtc cagtgtggtg 120

gaattcgggc ggg 133

<210> 76
<211> 64
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之敘述： 合成
寡核苷酸

<400> 76
tgtatttaga aaaataaaca aatagggggtt ccgcgcacat ttccccgaaa agtgccacct 60

ggtc

64

<210> 77
<211> 26
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之敘述： 合成寡核苷酸

<400> 77
tagccatgct ctaggaagat cgtacc

26

<210> 78
<211> 26
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之敘述： 合成寡核苷酸

<400> 78
gaattcgagc ttgcatgcct gcaggt

26

<210> 79
<211> 56
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之敘述： 合成寡核苷酸

<400> 79
gtgtccactc ccagttcaat tacagctctt aaggctagag tacttctagc ctcgag

56

<210> 80
<211> 67
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之敘述： 合成寡核苷酸

<400> 80
aatcgataa ggatcctaga gcatggctac gtagataagt agcatggcgg gttaatcatt

60

aactaca

67

<210> 81	
<211> 13	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 人工序列之敘述： 合成寡核苷酸	
<400> 81	
ggcccgggat cca	13
<210> 82	
<211> 57	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 人工序列之敘述： 合成寡核苷酸	
<400> 82	
gttgaattcg atatcggatc catcgatacc gtcgacctcg aggggggggcc cggtacc	57
<210> 83	
<211> 44	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 人工序列之敘述： 合成寡核苷酸	
<400> 83	
caattcgccc tatagtgagt cgtattacgc gcgcagcggc cgac	44
<210> 84	
<211> 56	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 人工序列之敘述： 合成寡核苷酸	
<400> 84	
tgtagttaat gattaaccgc ccatgctact tatctacgta gccatgctct agatct	56
<210> 85	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	

<223> 人工序列之敘述： 合成寡核苷酸	
<400> 85 agcggccgca ctcctcag	18
<210> 86 <211> 21 <212> DNA <213> 人工序列	
<220> <223> 人工序列之敘述： 合成寡核苷酸	
<400> 86 atcgataccg tcgacccggg c	21
<210> 87 <211> 122 <212> DNA <213> 人工序列	
<220> <223> 人工序列之敘述： 合成多核苷酸	
<400> 87 cagatcgcct ggagacgcca tccacgctgt tttgacctcc atagaagaca ccgggaccga	60
tccagcctcc ggactctaga ggatccggta ctcgaggaac tgaaaaacca gaaagttaac	120
tg	122
<210> 88 <211> 28 <212> DNA <213> 人工序列	
<220> <223> 人工序列之敘述： 合成寡核苷酸	
<400> 88 ccggaccacg tgcggaccga gcggccgc	28
<210> 89 <211> 115 <212> DNA <213> 人工序列	
<220> <223> 人工序列之敘述： 合成多核苷酸	

<400> 89

gtgtccactc ccagttcaat tacagctctt aaggctagag tacttctagc ctcgagaatt60

cacgcgtggt accgagctcg gatccactag tccagtgtgg tggaattcgg gcggg115

<210> 90

<211> 67

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之敘述： 合成寡核苷酸

<400> 90

ttatttgtga aatttgtgat gctattgctt tatttgtaac cattataagc tgcaataaac60

aagttaa67

<210> 91

<211> 20

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之敘述： 合成寡核苷酸

<400> 91

taataataac cgggcaggcc20

<210> 92

<211> 124

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之敘述： 合成多核苷酸

<400> 92

agccgcgaga cgggcgctca gggcgcgggg ccggcggcgg cgaacgagag gacggactct60

ggcggccggg tcgttggccg cggggagcgc gggcaccggg cgagcaggcc gcgtcgcgct120

cacc124

<210> 93

<211> 194

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之敘述： 合成多核苷酸		
<400> 93		
ggggctcggg tgcagcggcc agcgggcctg gcggcgagga ttacccgggg aagtggttgt	60	
ctcctggctg gagccgcgag acgggcgctc agggcgcggg gccggcggcg gcgaacgaga	120	
ggacggactc tggcggccgg gtcgttggcc gggggagcgc gggcaccggg cgagcaggcc	180	
gcgtcgcgct cacc	194	
<210> 94		
<211> 20		
<212> DNA		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 人工序列之敘述： 合成寡核苷酸		
<400> 94		
aggactcatt aaaaagtaac	20	
<210> 95		
<211> 197		
<212> DNA		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 人工序列之敘述： 合成多核苷酸		
<400> 95		
ggggctcggg tgcagcggcc agcgggcgcc tggcggcgag gattaccggg ggaagtggtt	60	
gtctcctggc tggagccgcg agacgggcgc tcagggcgcg gggccggcgg cggcgaacga	120	
gaggacggac tctggcggcc gggtcgttgg ccgcggggag cgcgggcacc gggcgagcag	180	
gccgcgtcgc gctcacc	197	
<210> 96		
<211> 1000		
<212> DNA		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 人工序列之敘述： 合成多核苷酸		
<400> 96		
gggcgggtgc atcaatgcgg ccgaaaaaga cacggacacg ctcccctggg acctgagctg	60	
gttcgcagtc ttcccaaagg tgccaagcaa gcgtcagttc cctcaggcg ctccaggttc	120	

agtgccttgt gccgagggtc tccggtgcct tcctagactt ctcgggacag tctgaagggg180

tcaggagcgg cgggacagcg cgggaagagc aggcaagggg agacagccgg actgcgcctc240

agtcctccgt gccaagaaca ccgtcgcgga ggcgcggcca gcttcccttg gatcggactt300

tccgccccta gggccaggcg gcggagcttc agccttgtcc cttccccagt ttcgggcggc360

ccccagagct gagtaagccg ggtggaggga gtctgcaagg atttcctgag cgcgatgggc420

aggaggaggg gcaagggcaa gagggcgcgg agcaaagacc ctgaacctgc cggggccgcg480

ctcccggggc cgcgtcgcca gcacctcccc acgcgcgctc ggccccgggc caccgcacct540

cgtcggcccc cgcccccttc cgtagccgca gggaaagcgag cctgggagga agaagagggt600

aggtggggag gcgcatgagg ggtgggggac cccttgacgt caccagaagg aggtgccggg660

gtaggaagtg ggctggggaa aggttataaa tcgcccccg cctcggctgc tcttcatcga720

ggtccgcggg aggctcggag cgcgccaggc ggacactcct ctcggctcct ccccggcagc780

ggcggcggct cggagcgggc tccggggctc ggggtgcagcg gccagcgggc gcctggcggc840

gaggattacc cggggaagtg gttgtctcct ggctggagcc gcgagacggg cgctcagggc900

gcggggccgg cggcggcgaa cgagaggacg gactctggcg gccgggtcgt tggccgcggg960

gagcgcgggc accgggcgag caggccgcgt cgcgctcacc1000

<210> 97

<211> 71

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之敘述： 合成寡核苷酸

<400> 97

ttgcttgтта atcaataaac cgttttaattc gtttcagttg aactttggtc tctgcgtatt60

tctttcttat c71

<210> 98

<211> 34

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之敘述： 合成寡核苷酸

<400> 98

attttgaagc gggaggtttg aacgcgcagc cgcc34

<210> 99<211> 12<212> DNA<213> 人工序列

<220><223> 人工序列之敘述： 合成寡核苷酸

<400> 99ccggtcgcca cc12

<210> 100<211> 197<212> DNA<213> 人工序列

<220><223> 人工序列之敘述： 合成多核苷酸

<400> 100ggggctcggg tgcagcggcc agcggggcgcc tggcggcgag gattacccg ggaagtggtt60gtctcctggc tggagccgcg agacgggcgc tcagggcgcg gggccggcgg cggcgaacga120gaggacggac tctggcggcc gggtctttgg ccgcggggag cgcgggcacc gggcgagcag180gccgcgtcgc gctcacc197

<210> 101<211> 382<212> DNA<213> 人工序列

<220><223> 人工序列之敘述： 合成多核苷酸

<400> 101ggggtggggg accccttgac gtcaccagaa ggaggtgccg gggtaggaag tgggctgggg60aaaggttata aatcgcccc gccctcggt gctcttcac gaggtccgcg ggaggctcgg120agcgcgccag gcggacaact ctctcggtc ctccccggca gcggcggcgg ctcgagcgg180gctccggggc tcgggtgcag cggccagcgg gcgcctggcg gcgaggatta cccggggaag240tggttgtctc ctggctggag ccgcgagacg ggcgctcagg gcgcggggcc ggcggcggcg300aacgagagga cggactctgg cggccgggtc gttggccgcg gggagcgcgg gcaccgggcg360agcaggccgc gtcgcgtca cc382

<210>	102	
<211>	2064	
<212>	DNA	
<213>	智人	
<400>	102	
atggtcagct	actgggacac	cggggtcctg
ctgtgcgcgc	tgctcagctg	tctgcttctc
60		
acaggatcta	gttcagggtt	aaaattaaaa
gatcctgaac	tgagttttaa	aggcaccag
120		
cacatcatgc	aagcaggcca	gacactgcat
ctccaatgca	ggggggaagc	agcccataaa
180		
tggtctttgc	ctgaaatgg	gagtaaggaa
agcgaaaggc	tgagcataac	taaatctgcc
240		
tgtggaagaa	atggcaaaca	attctgcagt
actttaacct	tgaacacagc	tcaagcaaac
300		
cacactggct	tctacagctg	caaataatcta
gctgtaccta	cttcaaagaa	gaaggaaaca
360		
gaatctgcaa	tctatatatt	tattagtgat
acaggtagac	ctttcgtaga	gatgtacagt
420		
gaaatccccg	aaattataca	catgactgaa
ggaagggagc	tcgtcattcc	ctgccgggtt
480		
acgtcaccta	acatcactgt	tactttaaaa
aagtttccac	ttgacacttt	gatccctgat
540		
ggaaaacgca	taatctggga	cagtagaaag
ggcttcatca	tatcaaatgc	aacgtacaaa
600		
gaaatagggc	ttctgacctg	tgaagcaaca
gtcaatgggc	atttgtataa	gacaaactat
660		
ctcacacatc	gacaaaccaa	tacaatcata
gatgtccaaa	taagcacacc	acgcccagtc
720		
aaattactta	gaggccatac	tcttgtcctc
aattgtactg	ctaccactcc	cttgaacacg
780		
agagtcca	tgacctggag	ttaccctgat
gaaaaaaata	agagagcttc	cgtaaggcga
840		
cgaattgacc	aaagcaattc	ccatgccaac
atattctaca	gtgttcttac	tattgacaaa
900		
atgcagaaca	aagacaaagg	actttatact
tgtcgtgtaa	ggagtggacc	atcattcaaa
960		
tctgttaaca	cctcagtgca	tatatatgat
aaagcattca	tcactgtgaa	acatcgaaaa
1020		
cagcaggtgc	ttgaaaccgt	agctggcaag
cggctcttacc	ggctctctat	gaaagtgaag
1080		
gcatttccct	cgccggaagt	tgtatgggtta
aaagatgggt	tacctgcgac	tgagaaatct
1140		
gctcgctatt	tgactcgtgg	ctactcgtta
attatcaagg	acgtaactga	agaggatgca
1200		
gggaattata	caatcttgct	gagcataaaa
cagtcaa	tg	tttataaaa
cctcactgcc		
1260		
actctaattg	tcaatgtgaa	accccagatt
tacgaaaagg	ccgtgtcatc	gtttccagac
1320		
ccggctctct	acccactggg	cagcagacaa
atcctgactt	gtaccgcata	tggtatccct
1380		
caacctacaa	tcaagtgggt	ctggcacccc
tgtaaccata	atcattccga	agcaaggtgt
1440		
gacttttggt	ccaataatga	agagtccttt
atcctggatg	ctgacagcaa	catgggaaac
1500		
agaattgaga	gcatacactca	gcgcatggca
ataatagaag	gaaagaataa	gatggctagc
1560		

accttggttg tggctgactc tagaatttct ggaatctaca tttgcatagc ttccaataaa1620

gttgggactg tgggaagaaa cataagcttt tataatcacag atgtgccaaa tgggtttcat1680

gttaacttgg aaaaaatgcc gacggaagga gaggacctga aactgtcttg cacagttaac1740

aagtctttat acagagacgt tacttggatt ttactgcgga cagttaataa cagaacaatg1800

cactacagta ttagcaagca aaaaatggcc atcactaagg agcactccat cactcttaat1860

cttaccatca tgaatgtttc cctgcaagat tcaggcacct atgcctgcag agccaggaat1920

gtatacacag gggaagaaat cctccagaag aaagaaatta caatcagagg tgagcactgc1980

aacaaaaagg ctgttttctc tcggatctcc aaatttaaaa gcacaaggaa tgattgtacc2040

acacaaagta atgtaaaaca ttaa2064

<210> 103

<211> 1453

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之敘述： 合成多核苷酸

<400> 103

aagcttgggc tgcaggtcga tcgactctag aggatcgatc cccgggcgag ctcgaattcg60

caaccaccat ggtcagctac tgggacaccg gggtcctgct gtgcgcgctg ctcagctgtc120

tgcttctcac aggatctagt tccggaggta gacctttcgt agagatgtac agtgaaatcc180

ccgaaattat acacatgact gaaggaaggg agctcgtcat tccctgccgg gttacgtcac240

ctaacatcac tgttacttta aaaaagtttc cacttgacac tttgatccct gatggaaaac300

gcataatctg ggacagtaga aagggccttc tcataatcaa tgcaacgtac aaagaaatag360

ggcttctgac ctgtgaagca acagtcaatg ggcatTTgtA taagacaaac tatctcacac420

atcgacaaac caatacaatc atagatgtgg ttctgagtcc gtctcatgga attgaactat480

ctgttggaga aaagcttgtc ttaaattgta cagcaagaac tgaactaaat gtggggattg540

acttcaactg ggaataccct tcttcgaagc atcagcataa gaaacttgta aaccgagacc600

taaaaacca gtctgggagt gagatgaaga aatttttgag caccttaact atagatggtg660

taaccgagag tgaccaagga ttgtacacct gtgcagcatc cagtgggctg atgaccaaga720

agaacagcac atttgtcagg gtccatgaaa agggccccgg cgacaaaact cacacatgcc780

caccgtgccc agcacctgaa ctcttggggg gaccgtcagt ctctctcttc ccccaaaac840

ccaaggacac cctcatgac tcccggaccc ctgaggtcac atgcgtggtg gtggacgtga	900
gccacgaaga ccttgaggtc aagttcaact ggtacgtgga cggcgtggag gtgcataatg	960
ccaagacaaa gccgcgggag gagcagtaca acagcacgta ccgtgtggtc agcgtcctca	1020
ccgtcctgca ccaggactgg ctgaatggca aggagtacaa gtgcaaggtc tccaacaaag	1080
ccctcccagc ccccatcgag aaaaccatct ccaaagccaa agggcagccc cgagaaccac	1140
aggtgtacac cctgccccca tcccgggatg agctgaccaa gaaccaggtc agcctgacct	1200
gcctgggtcaa aggcttctat cccagcgaca tcgccgtgga gtgggagagc aatgggcagc	1260
cggagaacaa ctacaagacc acgcctcccg tgctggactc cgacggctcc ttcttctct	1320
atagcaagct caccgtggac aagagcaggt ggcagcaggg gaacgtcttc tcatgctccg	1380
tgatgcatga ggctctgcac aaccactaca cgcagaagag cctctccctg tctccgggta	1440
aatgagcggc cgc	1453

<210> 104
<211> 1377
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之敘述： 合成
多核苷酸

<400> 104	
atggtcagct actgggacac cggggtcctg ctgtgcgcgc tgctcagctg tctgcttctc	60
acaggatcta gttccggaag tgataccggt agacctttcg tagagatgta cagtgaaatc	120
cccgaaatta tacacatgac tgaaggaagg gagctcgtca ttccctgccg ggttacgtca	180
cctaacatca ctgttacttt aaaaaagttt ccacttgaca ctttgatccc tgatggaaaa	240
cgcataatct gggacagtag aaagggcttc atcatatcaa atgcaacgta caaagaaata	300
gggcttctga cctgtgaagc aacagtcaat gggcatttgt ataagacaaa ctatctcaca	360
catcgacaaa ccaatacaat catagatgtg gtctctgagtc cgtctcatgg aattgaacta	420
tctgttggag aaaagcttgt cttaaattgt acagcaagaa ctgaactaaa tgtggggatt	480
gacttcaact gggaataccc ttcttcgaag catcagcata agaaacttgt aaaccgagac	540
ctaaaaaccc agtctgggag tgagatgaag aaatttttga gcaccttaac tatagatggt	600
gtaacccgga gtgaccaagg attgtacacc tgtgcagcat ccagtgggct gatgaccaag	660
aagaacagca catttgtcag ggtccatgaa aaggacaaaa ctcacacatg cccaccgtgc	720
ccagcacctg aactcctggg gggaccgtca gtcttctctt tcccccaaa acccaaggac	780

accctcatga tctcccggac ccctgaggtc acatgcgtgg tggtaggacgt gagccacgaa	840
gaccctgagg tcaagttcaa ctggtacgtg gacggcgtgg aggtgcataa tgccaagaca	900
aagccgcggg aggagcagta caacagcacg taccgtgtgg tcagcgtcct caccgtcctg	960
caccaggact ggctgaatgg caaggagtac aagtgcagg tctccaacaa agccctccca	1020
gcccccatcg agaaaaccat ctccaaagcc aaagggcagc cccgagaacc acaggtgtac	1080
accctgcccc catcccggga tgagctgacc aagaaccagg tcagcctgac ctgcctggtc	1140
aaaggcttct atcccagcga catcgccgtg gagtgggaga gcaatgggca gccggagAAC	1200
aactacaaga ccacgcctcc cgtgctggac tccgacggct ccttcttcct ctacagcaag	1260
ctcaccgtgg acaagagcag gtggcagcag gggaacgtct tctcatgctc cgtgatgcat	1320
gaggctctgc acaaccacta cagcagaag agcctctccc tgtctccggg taaatga	1377

<210> 105
<211> 1444
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之敘述： 合成
多核苷酸

<400> 105	
aagcttgggc tgcaggtcga tcgactctag aggatcgatc cccgggcgag ctCGaattcg	60
caaccacCAT ggtcagctac tgggacaccg gggtcctgct gtgcgcgctg ctCagctgtc	120
tgtttctcAc aggatctagt tccggaggta gacctttcgt agagatgtac agtgaaatcc	180
ccgaaattat acacatgact gaaggaaggg agctcgtcat tccctgccgg gttacgtcAc	240
ctaacaTcAc tgttacttta aaaaagtttc cacttgacac ttTgatccct gatggaaaac	300
gcataatctg ggacagtaga aagggttca tcatatcaaa tgcaacgtac aaagaaatag	360
ggcttctgac ctgtgaagca acagtcaatg ggcatTTgtA taagacaaac tatctcAcac	420
atcgacaaac caatacaatc atagatatcc agctgttgcc caggaagtcg ctggagctgc	480
tggtagggga gaagctggtc ctcaactgca ccgtgtgggc tgagtttaac tcaggTgtca	540
cctttgactg ggactaccca gggaagcagg cagagcgggg taagtgggtg cccgagcgcAc	600
gtcCCAaAc gacCCAcAcA gaactctCCA gcatcctgac catCCAcAac gtcagCCAgc	660
acgacctggg ctcgatatgtg tgcaaggcca acaacggcat ccagcgattt cgggagagca	720
ccgaggTcat tgtgcatgaa aatggcccgg gcgacaaaac tcacacatgc ccaccgtgcc	780

cagcacctga actcctgggg ggaccgtcag tcttctcttt cccccaaaa cccaaggaca 840
ccctcatgat ctcccggacc cctgaggta catgcgtggt ggtggacgtg agccacgaag 900
accctgaggt caagttcaac tggtagctgg acggcgtgga ggtgcataat gccaagacaa 960
agccgcggga ggagcagtac aacagcacgt accgtgtggt cagcgtcctc accgtcctgc 1020
accaggactg gctgaatggc aaggagtaca agtgcaaggt ctccaacaaa gccctcccag 1080
ccccatcga gaaaaccatc tccaaagcca aagggcagcc ccgagaacca caggtgtaca 1140
ccctgcccc atcccgggat gagctgacca agaaccaggt cagcctgacc tgcctgggtca 1200
aaggcttcta tcccagcgac atcgccgtgg agtgggagag caatgggcag ccggagaaca 1260
actacaagac cagcctccc gtgctggact ccgacggctc cttcttcctc tatagcaagc 1320
tcaccgtgga caagagcagg tggcagcagg ggaacgtctt ctcatgctcc gtgatgcatg 1380
aggctctgca caaccactac acgcagaaga gcctctccct gtctccgggt aaatgagcgg 1440
ccgc 1444

<210> 106
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之敘述： 合成多肽

<400> 106
Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Val Leu Ile
35 40 45

Tyr Phe Thr Ser Ser Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Ser Thr Val Pro Trp
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 107
<211> 642
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之敘述： 合成
多核苷酸

<400> 107
gataattcagc tgacccagag cccgagcagc ctgagcgcga gcgtgggcga tcgcgtgacc 60
attacctgca gcgcgagcca ggatattagc aactatctga actggtatca gcagaaaccg 120
ggcaaagcgc cgaaagtgct gatttatitt accagcagcc tgcatagcgg cgtgccgagc 180
cgcttttagcg gcagcggcag cggcacccgat tttaccctga ccattagcag cctgcagccg 240
gaagattttg cgacctatta ttgccagcag tatagcaccg tgccgtggac ctttggccag 300
ggcaccaaag tggaaattaa acgcaccgtg gcggcgccga gcgtgtttat ttttccgccg 360
agcgatgaac agctgaaaag cggcacccgcg agcgtggtgt gcctgctgaa caacttttat 420
ccgcgcgaag cgaaagtgca gtggaaagtg gataacgcgc tgcagagcgg caacagccag 480

gaaagcgtga ccgaacagga tagcaaagat agcacctata gcctgagcag caccctgacc

ctgagcaaag cggattatga aaaacataaa gtgtatgcgt gcgaagtgac ccatcagggc

ctgagcagcc cggtgaccaa aagctttaac cgcggcgaat gc

540

600

642

<210> 108

<211> 642

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之敘述： 合成多核苷酸

<400> 108

gataattcaat tgactcaatc tccttcttct ttgtctgctt ctgttggtga tctgtttact

attacttggt ctgcttctca agataattct aattatttga attggtatca acaaaaacct

ggtaaagctc ctaaagtttt gatttatttt acttcttctt tgcattctgg tgttccttct

cgtttttctg gttctggttc tggtagctgat ttacttttga ctatttcttc tttgcaacct

gaagattttg ctacttatta ttgtcaacaa tattctactg ttccttggac ttttggtcaa

ggtactaaag ttgaaattaa acgtactggt gctgctcctt ctgtttttat ttttcctcct

tctgatgaac aattgaaatc tggtagctgt tctgttggtt gtttggtgaa taatttttat

cctcgtgaag ctaaagtcca atggaaagtt gataatgctt tgcaatctgg taattctcaa

gaatctgtta ctgaacaaga ttctaaagat tctacttatt ctttgtcttc tactttgact

ttgtctaaag ctgattatga aaaacataaa gtttatgctt gtgaagttac tcatcaaggt

ttgtcttctc ctgttactaa atctttttaat cgtgggtgaat gt

60

120

180

240

300

360

420

480

540

600

642

<210> 109

<211> 450

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之敘述： 合成多肽

<400> 109

Met Val Ser Tyr Trp Asp Thr Gly Val Leu Leu Cys Ala Leu Leu Ser

1 5 10 15

Cys Leu Leu Leu Thr Gly Ser Ser Ser Gly Ser Lys Leu Lys Asp Pro

20 25 30

Glu	Leu	Ser	Leu	Lys	Gly	Thr	Gln	His	Ile	Ala	Gly	Gln	Thr	Leu	His	
		35					40					45				
Leu	Gln	Cys	Arg	Gly	Glu	Ala	Ala	Met	Gln	His	Lys	Trp	Ser	Leu	Pro	
	50					55					60					
Glu	Met	Val	Ser	Lys	Glu	Ser	Glu	Arg	Leu	Ser	Ile	Thr	Lys	Ser	Ala	
65					70					75					80	
Cys	Gly	Arg	Asn	Gly	Lys	Gln	Phe	Cys	Ser	Thr	Leu	Thr	Leu	Asn	Thr	
				85					90					95		
Ala	Gln	Ala	Asn	His	Thr	Gly	Phe	Tyr	Ser	Cys	Lys	Tyr	Leu	Ala	Val	
			100					105					110			
Pro	Thr	Ser	Lys	Lys	Lys	Glu	Thr	Glu	Ser	Ala	Ile	Tyr	Ile	Phe	Ile	
		115					120					125				
Ser	Asp	Thr	Gly	Arg	Pro	Phe	Val	Glu	Met	Tyr	Ser	Glu	Ile	Pro	Glu	
	130					135					140					
Ile	Ile	His	Met	Thr	Glu	Gly	Arg	Glu	Leu	Val	Ile	Pro	Cys	Arg	Val	
145					150					155					160	
Thr	Ser	Pro	Asn	Ile	Thr	Val	Thr	Leu	Lys	Lys	Phe	Pro	Leu	Asp	Thr	
				165					170					175		
Leu	Ile	Pro	Asp	Gly	Lys	Arg	Ile	Ile	Trp	Asp	Ser	Arg	Lys	Gly	Phe	
			180					185					190			
Ile	Ile	Ser	Asn	Ala	Thr	Tyr	Lys	Glu	Ile	Gly	Leu	Leu	Thr	Cys	Glu	
		195					200					205				
Ala	Thr	Val	Asn	Gly	His	Leu	Tyr	Lys	Thr	Asn	Tyr	Leu	Thr	His	Arg	
	210					215					220					
Gln	Thr	Asn	Thr	Ile	Ile	Asp	Val	Gln	Ile	Ser	Thr	Pro	Arg	Pro	Val	
225					230					235					240	
Lys	Leu	Leu	Arg	Gly	His	Thr	Leu	Val	Leu	Asn	Cys	Thr	Ala	Thr	Thr	
				245					250					255		
Pro	Leu	Asn	Thr	Arg	Val	Gln	Met	Thr	Trp	Ser	Tyr	Pro	Asp	Glu	Lys	

260						265						270					
Asn	Lys	Arg	Ala	Ser	Val	Arg	Arg	Arg	Ile	Asp	Gln	Ser	Asn	Ser	His		
		275					280					285					
Ala	Asn	Ile	Phe	Tyr	Ser	Val	Leu	Thr	Ile	Asp	Lys	Met	Gln	Asn	Lys		
	290					295					300						
Asp	Lys	Gly	Leu	Tyr	Thr	Cys	Arg	Val	Arg	Ser	Gly	Pro	Ser	Phe	Lys		
305					310					315					320		
Ser	Val	Asn	Thr	Ser	Val	His	Ile	Tyr	Asp	Lys	Ala	Phe	Ile	Thr	Val		
				325					330					335			
Lys	His	Arg	Lys	Gln	Gln	Val	Leu	Glu	Thr	Val	Ala	Gly	Lys	Arg	Ser		
			340					345					350				
Tyr	Arg	Leu	Ser	Met	Lys	Val	Lys	Ala	Phe	Pro	Ser	Pro	Glu	Val	Val		
		355					360					365					
Trp	Leu	Lys	Asp	Gly	Leu	Pro	Ala	Thr	Glu	Lys	Ser	Ala	Arg	Tyr	Leu		
	370					375					380						
Thr	Arg	Gly	Tyr	Ser	Leu	Ile	Ile	Lys	Asp	Val	Thr	Glu	Glu	Asp	Ala		
385					390					395					400		
Gly	Asn	Tyr	Thr	Ile	Leu	Leu	Ser	Ile	Lys	Gln	Ser	Asn	Val	Phe	Lys		
				405					410					415			
Asn	Leu	Thr	Ala	Thr	Leu	Ile	Val	Asn	Val	Lys	Pro	Gln	Ile	Tyr	Glu		
			420					425					430				
Lys	Ala	Val	Ser	Ser	Phe	Pro	Asp	Pro	Ala	Leu	Tyr	Pro	Leu	Gly	Ser		
		435					440					445					
Arg	Gln																
	450																

<210> 110
<211> 375
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之敘述： 合成

多核苷酸

<400> 110
atggccaagt tgaccagtgc cgttccggtg ctcaccgcgc gcgacgtcgc cggagcggtc 60
gagttctgga ccgaccggct cgggttctcc cgggacttcg tggaggacga cttcgccggt 120
gtggtccggg acgacgtgac cctgttcata agcgcggtcc aggaccaggt ggtgccggac 180
aacaccctgg cctgggtgtg ggtgcgcggc ctggacgagc tgtacgccga gtggtcggag 240
gtcgtgtcca cgaacttccg ggacgcctcc gggccggcca tgaccgagat cggcgagcag 300
ccgtgggggc gggagttcgc cctgcgcgac ccggccggca actgcgtgca cttcgtggcc 360
gaggagcagg actga 375

<210> 111
<211> 375
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之敘述： 合成
多核苷酸

<400> 111
atgtctaaat taacctctgc tgttccagtg ttaaccgccc gtgatgttgc cggatgcagtg 60
gaattttgga ctgaccgttt gggtttctca cgtgactttg tcgaagatga ttttgctggc 120
gttgtgcgtg atgacgtcac tttgttcata tctgctgttc aggatcaggt cgtcccagac 180
aacactttgg cctgggtctg ggttcgtggt ttggacgaat tgtacgctga gtggagtgaa 240
gttgtgtcta caaactttcg tgatgcatca ggtccagcta tgaccgaaat tggcgaacaa 300
ccttggggcc gtgagttcgc tttacgtgat ccagccggta attgcgtgca cttcgttgct 360
gaggagcaag attag 375

<210> 112
<211> 861
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之敘述： 合成
多核苷酸

<400> 112
atgagtattc aacatttccg tgtcgccctt attccctttt ttgcggcatt ttgccttcct 60
gtttttgctc acccagaaac gctggtgaaa gtaaaagatg ctgaagatca gttgggtgca 120
cgagtgggtt acatcgaact ggatctcaac agcggtaaga tccttgagag ttttcgcccc 180

gaagaacgtt ttccaatgat gagcactttt aaagtctctgc tatgtggcgc ggtattatcc	240
cgtattgacg ccgggcaaga gcaactcggg cgccgcatac actattctca gaatgacttg	300
gttgagtact caccagtcac agaaaagcat cttacggatg gcatgacagt aagagaatta	360
tgcagtgctg ccataaccat gagtgataac actgcggcca acttacttct gacaacgatac	420
ggaggaccga aggagctaac cgcttttttg cacaacatgg gggatcatgt aactcgcctt	480
gatcgttggg aaccggagct gaatgaagcc ataccaaacg acgagcgtga caccacgatg	540
cctgtagcaa tggcaacaac gttgcgcaaa ctattaactg gcgaactact tactctagct	600
tcccggcaac aattaataga ctggatggag gcggataaag ttgcaggacc acttctgcgc	660
tcggcccttc cggctggctg gtttatttgc gataaatctg gagccggtga gcgtgggtct	720
cgcggtatca ttgcagcact ggggccagat ggtaagccct cccgtatcgt agttatctac	780
acgacgggga gtcaggcaac tatggatgaa cgaaatagac agatcgctga gataggtgcc	840
tcactgatta agcattggta a	861

<210> 113
<211> 795
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之敘述： 合成
多核苷酸

<400> 113	
atgattgaac aagatggatt gcacgcaggt tctccggccg cttgggtgga gaggctattc	60
ggctatgact gggcacaaca gacaatcggc tgctctgatg ccgccgtgtt ccggctgtca	120
gcgcaggggc gcccggttct ttttgtcaag accgacctgt ccggtgccct gaatgaactg	180
caggacgagg cagcgcggct atcgtggctg gccacgacgg gcgttccttg cgcagctgtg	240
ctcgacgttg tctactgaagc gggaagggaac tggctgctat tgggcgaagt gccggggcag	300
gatctcctgt catctcacct tgctcctgcc gagaaagtat ccatcatggc tgatgcaatg	360
cggcggctgc atacgcttga tccggctacc tgcccatcgc accaccaagc gaaacatcgc	420
atcgagcgag cacgtactcg gatggaagcc ggtcttgtcg atcaggatga tctggacgaa	480
gagcatcagg ggctcgcgcc agccgaactg ttgcccaggc tcaaggcgcg catgcccgcac	540
ggcgaggatc tcgtcgtgac ccatggcgat gcctgcttgc cgaatatcat ggtggaaaat	600
ggccgctttt ctggattcat cgactgtggc cggctgggtg tggcggaccg ctatcaggac	660

atagcgttgg ctacccgtga tattgctgaa gagcttggcg gcgaatgggc tgaccgcttc	720
ctcgtgcttt acggtatcgc cgctcccgat tcgcagcgca tcgccttcta tcgccttctt	780
gacgagttct tctga	795

<210> 114
<211> 2038
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之敘述： 合成
多核苷酸

<400> 114	
aggtggcact ttctggggaa atgtgcgcgg aaccctatt tgtttatfff tctaaataca	60
ttcaaatatg tatccgctca tgagacaata accctgataa atgcttcaat aatattgaaa	120
aaggaagagt atgagtattc aacatttccg tgtcgccctt attccctfff ttgcggcatt	180
ttgccttctt gtttttgctc acccagaaac gctggtgaaa gtaaaagatg ctgaagatca	240
gttgggtgca cgagtgggtt acatcgaact ggatctcaac agcggtaaga tccttgagag	300
ttttcgcccc gaagaacgtt ttccaatgat gagcactfff aaagtctctg tatgtggcgc	360
ggtattatcc cgtgttgacg ccgggcaaga gcaactcggc cgccgcatac actattctca	420
gaatgacttg gttgagtact caccagtcac agaaaagcat cttacggatg gcatgacagt	480
aagagaatta tgcagtgctg ccataacat gagtgataac actgcggcca acttacttct	540
gacaacgata ggaggaccga aggagctaac cgcttttttg cacaacatgg gggatcatgt	600
aactcgctt gatcgttggg aaccggagct gaatgaagcc ataccaaacg acgagcgtga	660
caccacgatg cctgcagcaa tggcaacaac gttgcgcaaa ctattaaactg gcgaactact	720
tactctagct tcccggcaac aattaataga ctggatggag gcggataaag ttgcaggacc	780
acttctgcgc tcggcccttc cggttggctg gtttatgtct gataaatctg gagccggtga	840
gcgtgggtct cgcggtatca ttgcagcact ggggccagat ggtaagccct cccgtatcgt	900
agttatctac acgacgggga gtcaggcaac tatggatgaa cgaaatagac agatcgctga	960
gataggtgcc tctactgatta agcattggta actgtcagac caagtttact catatatact	1020
ttagattgat ttaaaacttc atttttaatt taaaaggatc taggtgaaga tcctttttga	1080
taatctcatg accaaaatcc cttaacgtga gttttcgctc cactgagcgt cagaccccg	1140
agaaaagatc aaaggatctt cttgagatcc tttttttctg cgcgtaatct gctgcttgca	1200
aacaaaaaaa ccaccgctac cagcgggtgg ttgtttgccg gatcaagagc taccaactct	1260

ttttccgaag gtaactggct tcagcagagc gcagatacca aatactgtcc ttctagtgtgta	1320
gccgtagtta ggccaccact tcaagaactc tgtagcaccg cctacatacc tcgctctgct	1380
aatcctgtta ccagtggctg ctgccagtgg cgataagtcg tgtcttaccg ggttggactc	1440
aagacgatag ttaccggata aggcgcagcg gtcgggctga acgggggggtt cgtgcacaca	1500
gcccagcttg gagcgaacga cctacaccga actgagatac ctacagcgtg agctatgaga	1560
aagcgccacg ctccccgaag ggagaaaggc ggacaggtat ccggtaaagc gcagggtcgg	1620
aacaggagag cgcacgaggg agcttccagg gggaaacgcc tggtatcttt atagtcctgt	1680
cgggtttcgc cacctctgac ttgagcgtcg atttttgtga tgctcgtcag gggggcggag	1740
cctatggaaa aacgccagca acgcggcctt tttacggttc ctggcctttt gctggccttt	1800
tgctcacatg ttctttcctg cgttatcccc tgattctgtg gataaccgta ttaccgcctt	1860
tgagtgagct gataccgctc gccgcagccg aacgaccgag cgcagcgagt cagtgagcga	1920
ggaagcggaa gagcgctga tgcggtatTT tctccttacg catctgtgcg gtatttcaca	1980
ccgcataatgg tgcactctca gtacaatctg ctctgatgcc gcatagttaa gccagtat	2038

<210> 115
<211> 97
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之敘述： 合成
多核苷酸

<400> 115	
gtaagtttag tctttttgtc ttttatTTca ggtcccggat ccggtggtgg tgcaaatcaa	60
agaactgctc ctcaagtggat gttgccTTta ctcttag	97

<210> 116
<211> 493
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之敘述： 合成
多核苷酸

<400> 116	
tcgaatcccc gccgggaacg gtgcattgga acgcggattc cccgtgccaa gaggtagcgtgta	60
agtaccgcct atagagtcta taggcccaca aaaaatgctt tcttctTTta atatactTTT	120
ttgtttatct tatttctaata actttcccta atctctTTct ttcagggcaa taatgataca	180

atgtatcatg cctctttgca ccattctaaa gaataacagt gataatttct gggttaaggc 240
aatagcaata tttctgcata taaatatctt tgcataataa ttgtaactga tgtaagaggt 300
ttcatattgc taatagcagc tacaatccag ctaccattct gcttttattt tatggttggg 360
ataaggctgg attattctga gtccaagcta ggcccttttg ctaatcatgt tcataacctct 420
tatcttccctc ccacagctcc tgggcaacgt gctgggtctgt gtgctggccc atcacttttg 480
caaagaattg gga 493

<210> 117
<211> 31
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之敘述： 合成
多核苷酸

<400> 117
gtaagtttag tctttttgtc ttttatttca g 31

<210> 118
<211> 56
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之敘述： 合成
多核苷酸

<400> 118
acttaccata ctttaccggg aaactaatcg tcccactctc acatccttca ttgcag 56

<210> 119
<211> 148
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之敘述： 合成
多核苷酸

<400> 119
aaaagttccc cagccagaag cagagaagat gatgtcaaga aatcaagggg gataaatggc 60
catagctgct gcaaatagct tattgcagtc tctagagtgt ggtaaacagg tttccagtgc 120
cagctgtgga ggtgacagcg gcagggaa 148

<210> 120
<211> 147
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之敘述： 合成
多核苷酸

<400> 120
aaaagtcccc cagccagaag cagagaagat gatgtcaaga aatcaagggg gataaatggc 60
catagctgct gcaaatagct tattgcagtc tctagagtgt ggtaaacagg tttccagtgc 120
cagctgtgga ggtgacagcg gcaggga 147

申請專利範圍

1. 一種醫藥組合物之用途，其係用於製造治療人類個體之視網膜或脈絡膜新生血管形成的藥物，在投與該藥物之前之1至30天之間，該人類個體先前已接受一或多個VEGF抑制劑的劑量，該醫藥組合物包含編碼可操作連接於啟動子序列之包含sFLT-1結構域2之抗-VEGF蛋白質的核酸序列，其中該編碼可操作連接於啟動子序列之抗-VEGF蛋白質之核酸序列係包括於重組腺相關病毒(rAAV)，且其中該藥物係以包含至少 1×10^{10} 至最多 3×10^{12} 個rAAV之載體基因組及醫藥上可接受之載劑的單位劑量投與至該人類個體的眼中，其中該醫藥組合物的單位劑量在投與後至少一年量測時，提供該人類個體升高之抗-VEGF蛋白質表現，且其中在接受該醫藥組合物的單位劑量在介於約180天及約365天之期間中，該人類個體不需VEGF抑制劑之補救治療。
2. 如請求項1之用途，其中該藥物係以少於一年3次之頻率投與該人類個體。
3. 如請求項1或2之用途，其中該核酸序列係包括於rAAV之中，該rAAV係選自AAV1、AAV2、AAV2.5、AAV3、AAV4、AAV5、AAV6、AAV7、AAV8、AAV9、AAV10、AAV11及AAV12及其雜合體(hybrids)。
4. 如請求項1之用途，其中該單位劑量之體積係0.1 mL至0.5 mL。

圖式

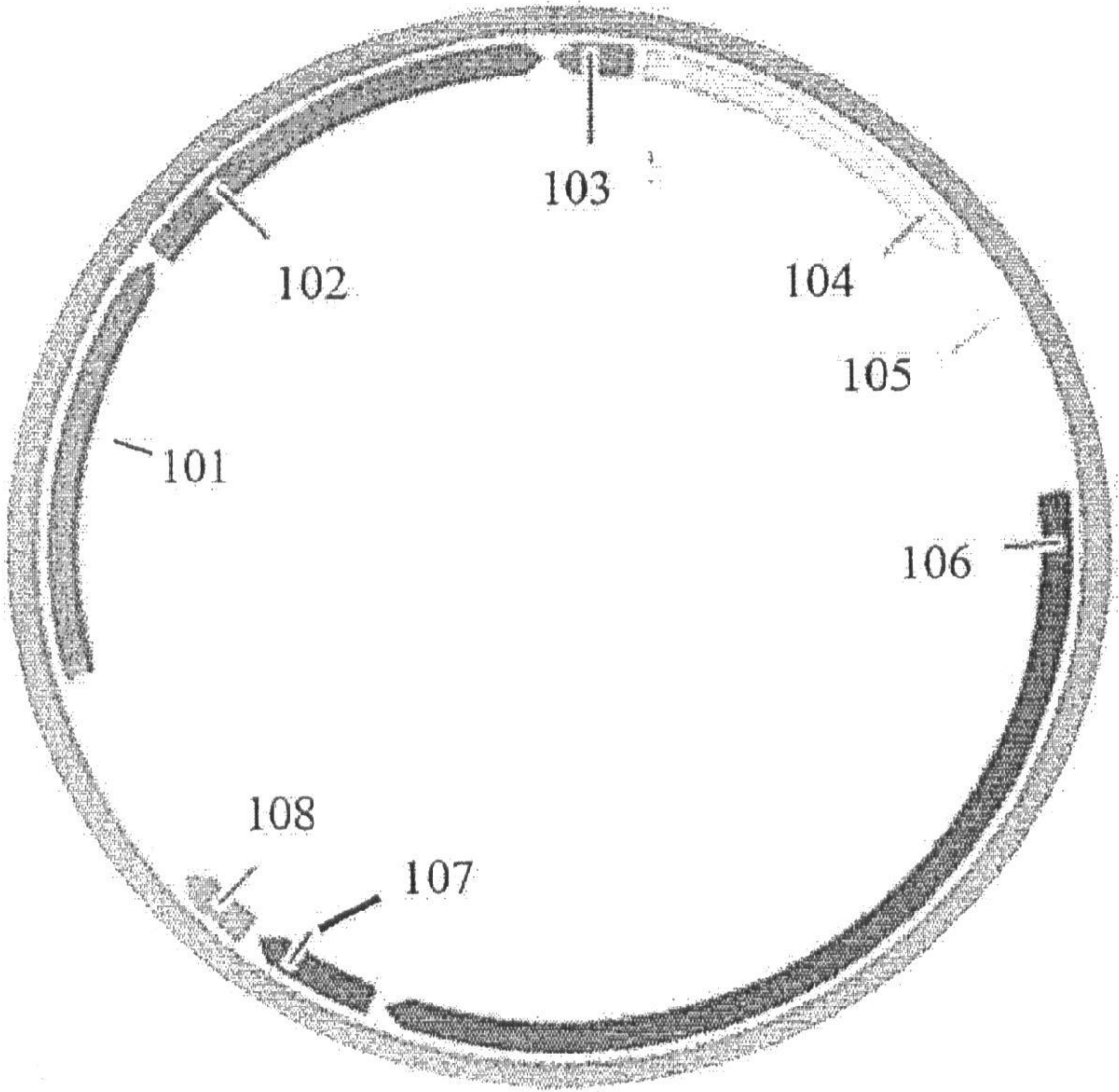


圖 1

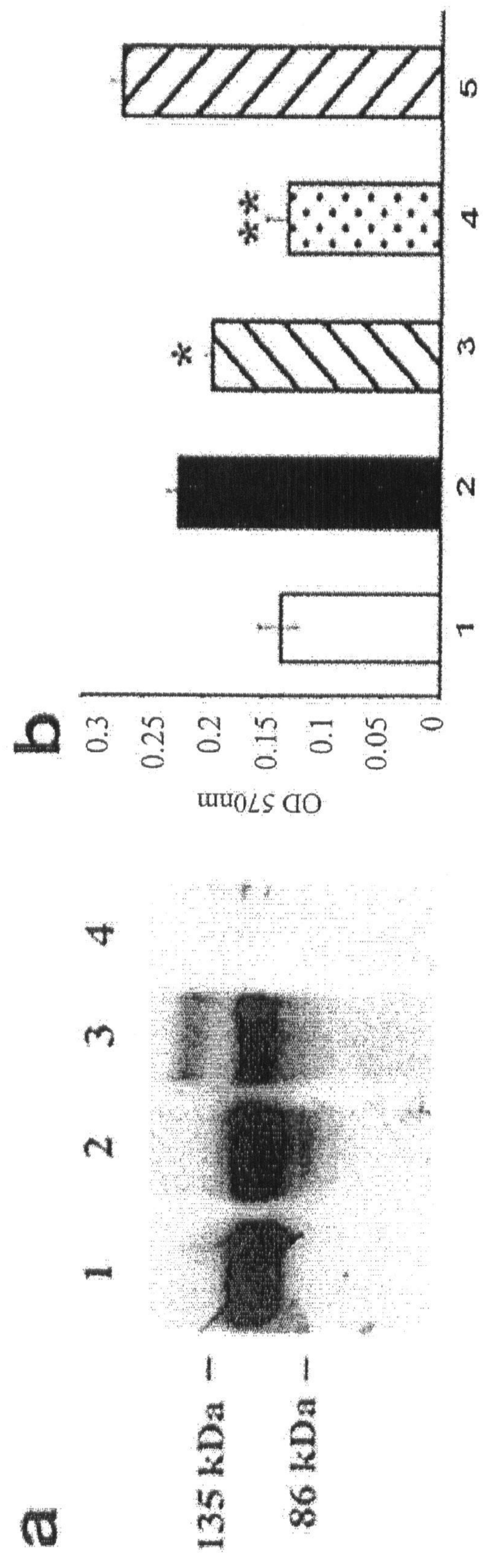


圖 2

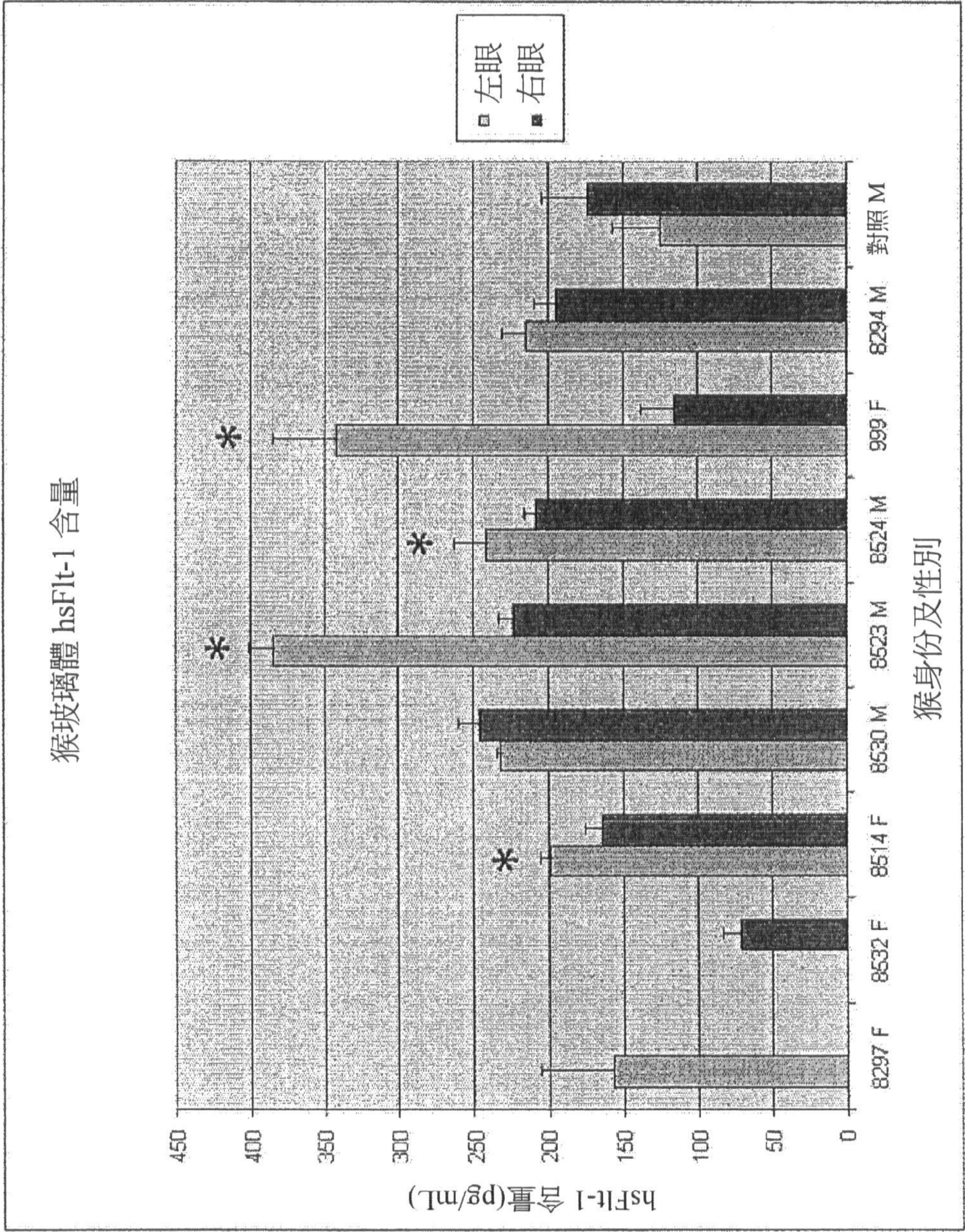


圖 3A

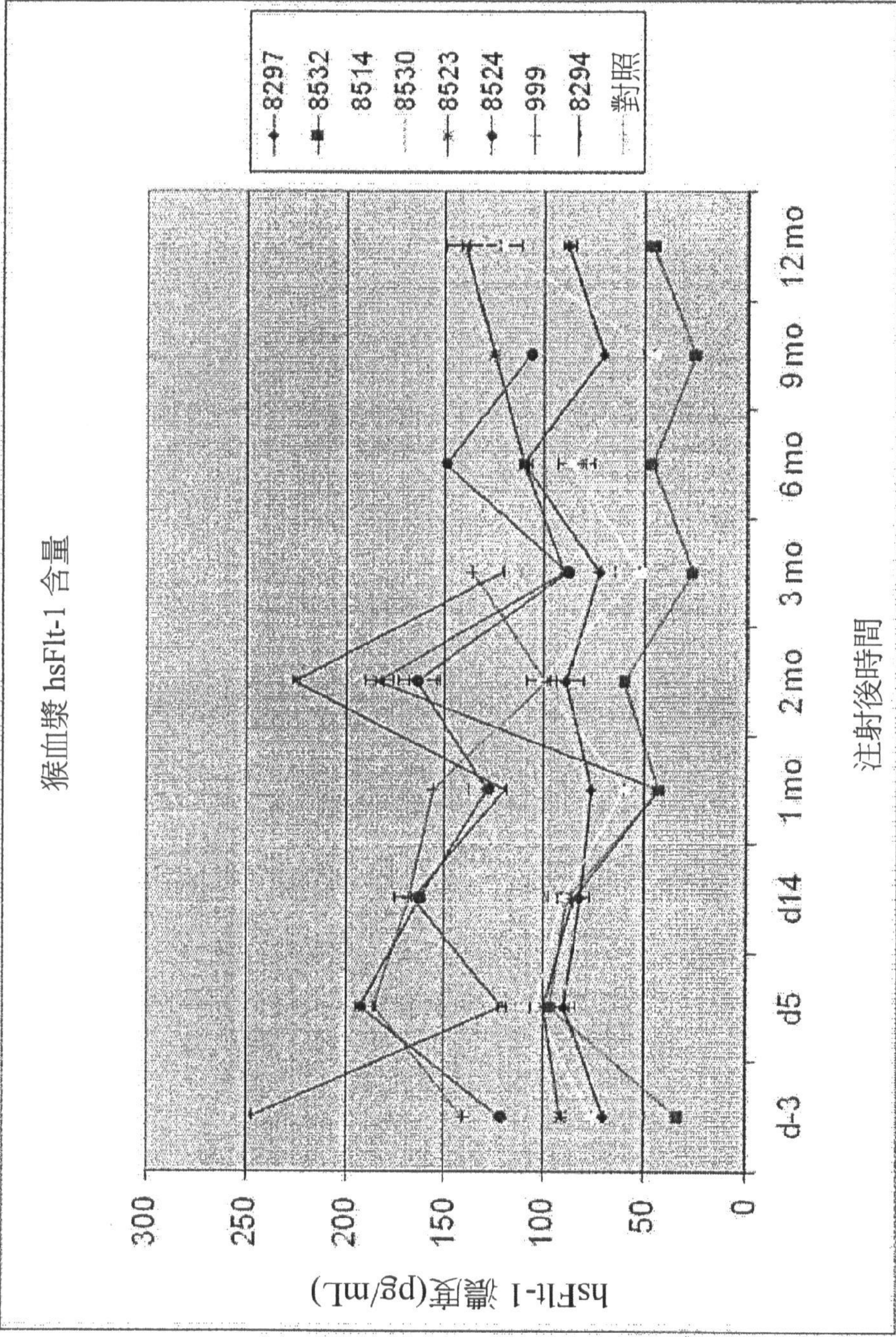


圖 3B

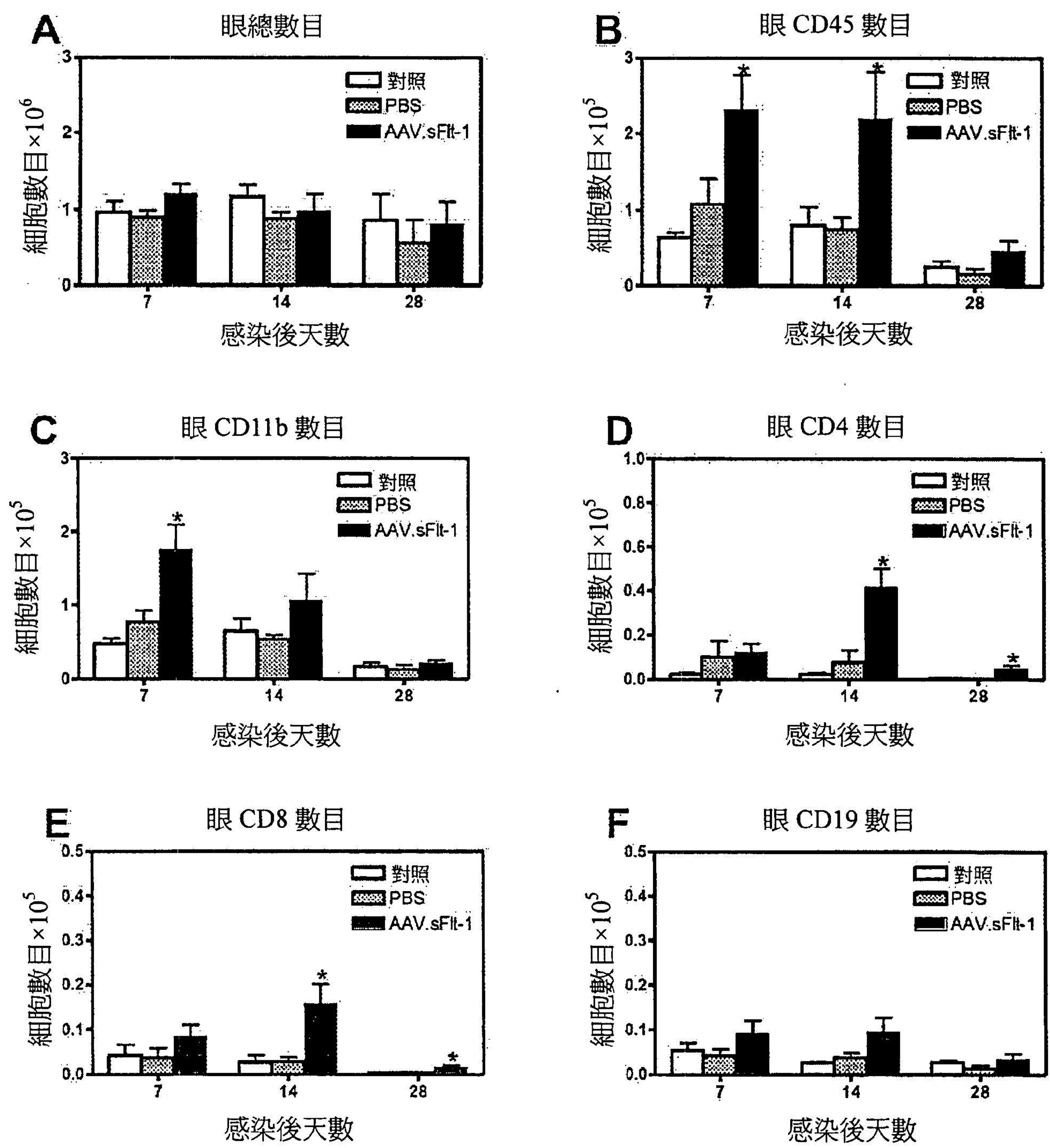


圖 4

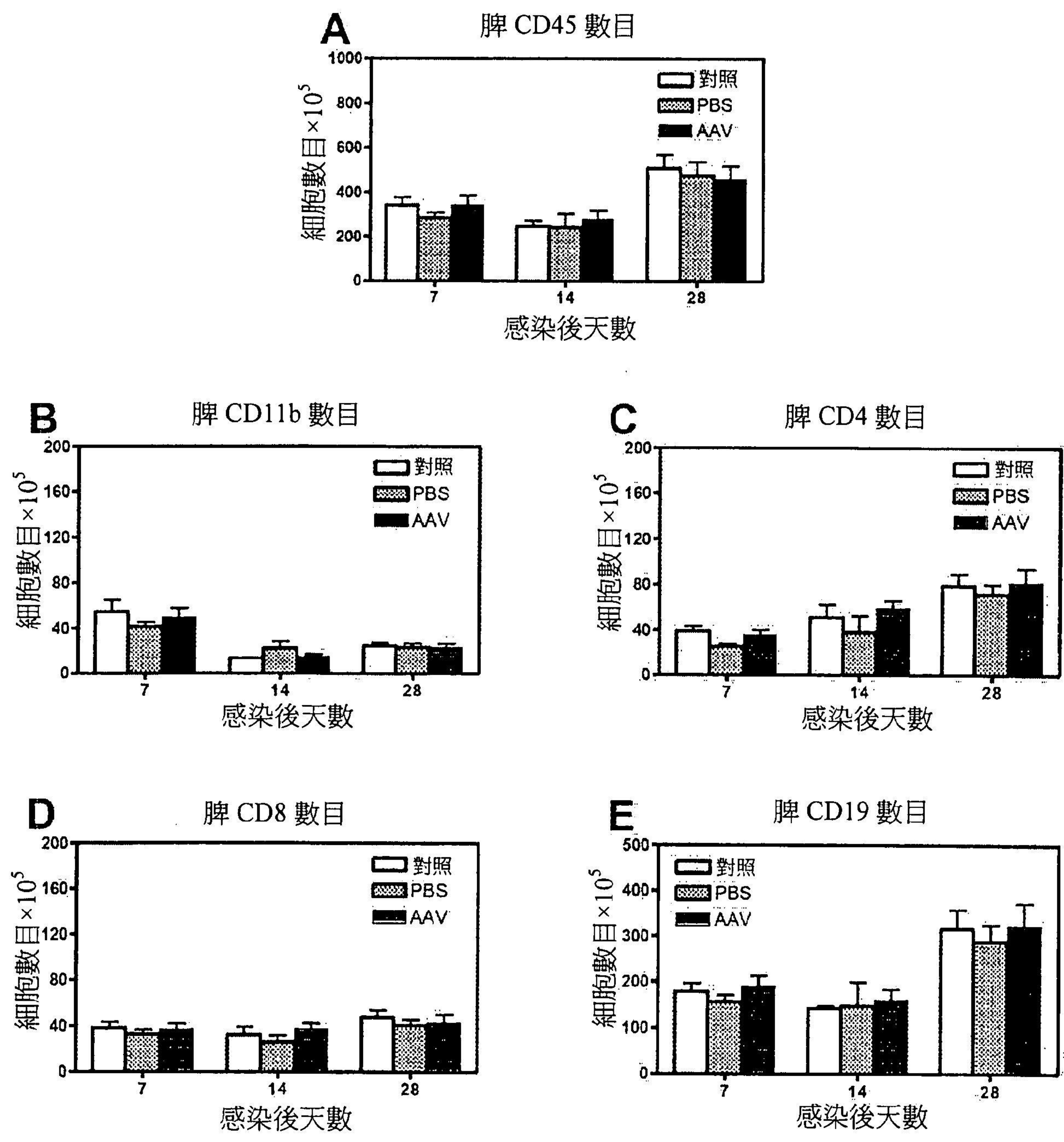


圖 5

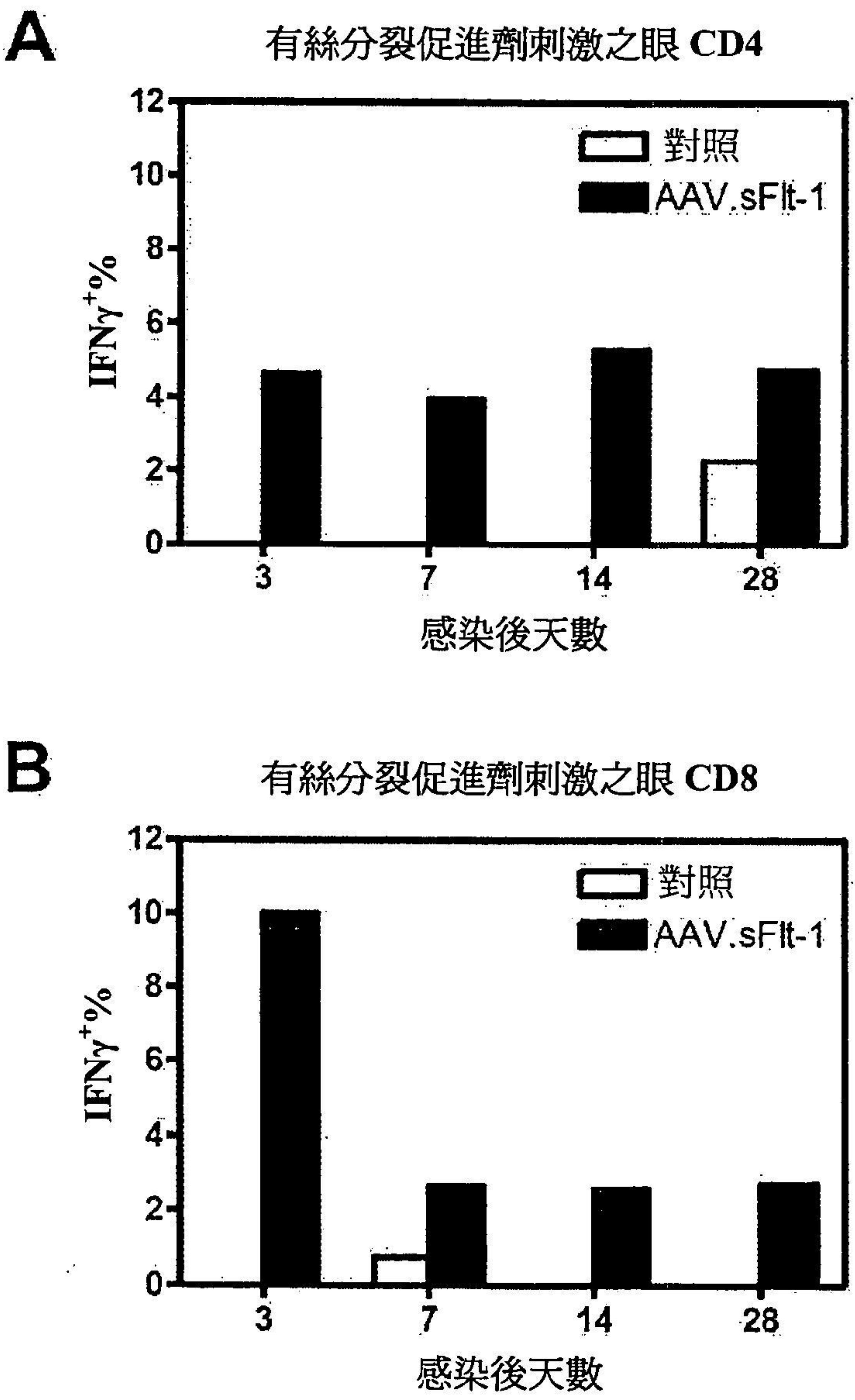


圖 6

起點 1

ATGGAAAAACGCCAGCAACG (SEQ ID NO: 1)

起點 2

AAAAGGATCTAGGTGAAGATCCTTTTTGATAATCTCATGACCAAAATCCCTTAACGTGAGTTTTCGTTCCACTGAGCGTCAGACCCCGTAGAAA
AGATCAAAGGATCTTCTTGAGATCCTTTTTCTGCGCGTAATCTGCTGCTTGCAAACAAAAAAACCACCGCTACCAGCGGTGGTTTGTTGCC
GGATCAAGAGCTACCAACTCTTTTCCGAAGGTAACCTGGCTTCAGCAGAGCGCAGATACCAAATACTGTCTTCTAGTGTAGCCGTAGTTAGG
CCACCACTTCAAGAACTCTGTAGCACCGCCTACATACCTCGCTCTGCTAATCCTGTTACCAGTGGCTGCTGCCAGTGGCGATAAGTCGTGTCTT
ACCGGGTTGGACTCAAGACGATAGTTACCGGATAAGGCGCAGCGGTCGGGCTGAACGGGGGGTTCGTGCACACAGCCCAGCTTGGAGCGAA
CGACCTACACCGAACTGAGATACCTACAGCGTGAGCTATGAGAAAGCGCCACGCTTCCCGAAGGGAGAAAGGCGGACAGGTATCCGGTAAG
CGGCAGGGTCGGAACAGGAGAGCGCACGAGGGAGCTTCCAGGGGGAAACGCCTGGTATCTTTATAGTCCTGTCGGGTTTCGCCACCTCTGAC
TTGAGCGTCGATTTTTGTGATGCTCGTCAGGGGGGCGGAGCCTATGGAAAAACGCCAGCAACGCGGCCTTTTTACGGTTCCTGGCCTTTTGCT
GGCCTTTTGCTCACATGTTCTTTCCTGCGTTATCCCCTGATTCTGTGGATAACCGTATTACCGCCTTTGAGTGAGCTGATACCGCTCGCCGCAGC
CGAACGACCGAGCGCAGCGAGTCAGTGAGCGAGGAAGCGGAAGA (SEQ ID NO: 2)

起點 3

GCGCCACGCTTCCCGAAGGGAGAAAGGCGGACAGGTATCCGGTAAGCGGCAGGGTCGGAACAGGAGAGCGCACGAGGGAGCTTCCAGGG
GGAAACGCCTGGTATCTTTATAGTCCTGTCGGGTTTCGCCACCTCTGACTTGAGCGTCGATTTTTGTGATGCTCGTCAGGGGGGCGGAGCCTA
TGGA AAAACGCCAGCAACGCGGCCTTTTTACGGTTCCTGGCCTTTTGCTGGCCTTTTGCTCACATGTTCTTTCCTGCGTTATCCCCTGATTCTGT
GGATAACCGTATTACCGCCTTTGAGTGAGCTGATACCGCTCGCCGCAGCCGAACGACCGAGCGCAGCGAGTCAGTGAGCGAGGAA (SEQ ID
NO: 3)

起點 4

AAAGGATCTTCTTGAGATCCTTTTTCTGCGCGTAATCTGCTGCTTGCAAACAAAAAAACCACCGCTACCAGCGGTGGTTTGTTGCCGGATC
AAGAGCTACCAACTCTTTTCCGAAGGTAACCTGGCTTCAGCAGAGCGCAGATACCAAATACTGTTCTTCTAGTGTAGCCGTAGTTAGGCCACCA
CTTCAAGAACTCTGTAGCACCGCCTACATACCTCGCTCTGCTAATCCTGTTACCAGTGGCTGCTGCCAGTGGCGATAAGTCGTGTCTTACCGGG
TTGGACTCAAGACGATAGTTACCGGATAAGGCGCAGCGGTCGGGCTGAACGGGGGGTTCGTGCACACAGCCCAGCTTGGAGCGAACGACCT
ACACCGAACTGAGATACCTACAGCGTGAGCTATGAGAAAGCGCCACGCTTCCCGAAGGGAGAAAGGCGGACAGGTATCCGGTAAGCGGCAG
GGTCGGAACAGGAGAGCGCACGAGGGAGCTTCCAGGGGGAAACGCCTGGTATCTTTATAGTCCTGTCGGGTTTCGCCACCTCTGACTTGAGC
GTCGATTTTTGTGATGCTCGTCAGGGGGGCGGAGCCTATGGAAAAACGCCAGCAACGCG (SEQ ID NO: 4)

圖 7A

起點 5

TGTTGTTTGTGCGGTTAACGTCGACCTAGAGCTGCCTCGCGCGTTTCGGTGATGACGGTGAAAACCTCTGACACATGCAGCTCCCGGAGACGGT
CACAGCTTGTCTGTAAAGCGGATGCCGGGAGCAGACAAGCCCGTCAGGGCGCGTCAGCGGGTGTTGGCGGGTGTCGGGGCGCAGCCATGACC
CAGTCACGTAGCGATAGCGGAGTGTATACTGGCTTAACTATGCGGCATCAGAGCAGATTGTACTGAGAGTGCACCATATGCGGGTGTGAAATA
CCGCACAGATGCGTAAGGAGAAAAATACCGCATCAGGCGCTCTCCGCTTCCTCGCTCACTGACTCGCTGCGCTCGGTGCTTCGGCTGCGGCGA
GCGGTATCAGCTCACTCAAAGGCGGTAATACGGTTATCCACAGAATCAGGGGATAACGCAGGAAAGAACATGTGAGCAAAAGGCCAGCAAA
AGGCCAGGAACCGTAAAAAGGCCGCGTTGCTGGCGTTTTTCCATAGGCTCCGCCCCCTGACGAGCATCACAAAATCGACGCTCAAGTCAG
AGGTGGCGAAACCCGACAGGACTATAAAGATACCAGGCGTTTTCCCCCTGGAAGCTCCCTCGTGCGCTCTCCTGTTCCGACCCTGCCGCTTACC
GGATACCTGTCCGCTTTCTCCCTTCGGGAAGCGTGCGCTTTCTCAATGCTCAGCTGTAGGTATCTCAGTTCGGTGTAGGTCGTTGCTCCA
AGCTGGGCTGTGTGCACGAACCCCCGTTAGCCCCGACCGCTGCGCCTTATCCGGTAACTATCGTCTTGAGTCCAACCCGGTAAGACACGACT
TATCGCCACTGGCAGCAGCCACTGGTAACAGGATTAGCAGAGCGAGGTATGTAGGCGGTGCTACAGAGTTCTTGAAGTGGTGGCCTAACTAC
GGCTACACTAGAAGGACAGTATTTGGTATCTGCGCTCTGCTGAAGCCAGTTACCTTCGGAAAAAGAGTTGGTAGCTCTTGATCCGGCAAACAA
ACCACCGCTGGTAGCGGTGGTTTTTTTTGTTTGCAAGCAGCAGATTACGCGCAGAAAAAAAGGATCTCAAGAAGATCCTTTGATCTTTTCTACG
GGGTCTGACGCTCAGTGGAAACGAAAACCTCACGTTAAGGGATTTTGGTCATGAGATTATCAAAAAGGATCTTCACCTAGATCCTTTTAAATTAA
AAATGAAGTTTTAAATCAATCTAAAGTATATATGAGTAAACTTGGTCTGACAGTT (SEQ ID NO: 5)

起點 6

CCCGTAGAAAAGATCAAAGGATCTTCTTGAGATCCTTTTTTCTGCGCGTAATCTGCTGCTTGCAAACAAAAAAACCACCGCTACCAGCGGTGG
TTTGTGTTGCCGGATCAAGAGCTACCAACTCTTTTTCCGAAGGTAAGTGGCTTCAGCAGAGCGCAGATACCAAATACTGTCCTTCTAGTGTAGCC
GTAGTTAGGCCACCACTTCAAGAACTCTGTAGCACCGCCTACATACCTCGCTCTGCTAATCCTGTTACCAGTGGCTGCTGCCAGTGGCGATAAG
TCGTGTCTTACCGGGTTGGACTCAAGACGATAGTTACCGGATAAGGCGCAGCGGTCGGGCTGAACGGGGGGTTCGTGCACACAGCCCAGCTT
GGAGCGAACGACCTACACCGAACTGAGATACCTACAGCGTGAGCATTGAGAAAGCGCCACGCTTCCCGAAGGGAGAAAGGCGGACAGGTAT
CCGGTAAGCGGCAGGGTCGGAACAGGAGAGGCGACGAGGGAGCTTCAGGGGGGAAACGCCTGGTATCTTTATAGTCTGTGCGGGTTTCGCC
ACCTCTGACTTGAGCGTCGATTTTTGTGATGCTCGTCAGGGGGGCGGAGCCTATGGAAAAACGCCAGCAACGCGGCCTTTTTACGGTTCCTGG
CCTTTTGCTGGCCTTTTGCTCACAT (SEQ ID NO: 6)

起點 7

ATGTGAGCAAAAGGCCAGCAAAAGGCCAGGAACCGTAAAAAGGCCGCGTTGCTGGCGTTTTTCCATAGGCTCCGCCCCCTGACGAGCATCA
CAAAAATCGACGCTCAAGTCAGAGGTGGCGAAACCCGACAGGACTATAAAGATACCAGGCGTTTCCCCCTGGAAGCTCCCTCGTGCGCTCTCC
TGTTCCGACCCTGCGGCTTACCGGATACCTGTCCGCTTTCTCCCTTCGGGAAGCGTGCGCTTTCTCATAGCTCAGCTGTAGGTATCTCAGTT
CGGTGTAGGTGCTTCGCTCCAAGCTGGGCTGTGTGCACGAACCCCCGTTAGCCCCGACCGCTGCGCCTTATCCGGTAACTATCGTCTTGAGTC
CAACCCGGTAAGACACGACTTATCGCCACTGGCAGCAGCCACTGGTAACAGGATTAGCAGAGCGAGGTATGTAGGCGGTGCTACAGAGTTCT
TGAAGTGGTGGCCTAACTACGGCTACACTAGAAGGACAGTATTTGGTATCTGCGCTCTGCTGAAGCCAGTTACCTTCGGAAAAAGAGTTGGTA
GCTCTTGATCCGGCAAACAAACCACCGCTGGTAGCGGTGGTTTTTTGTTTGCAAGCAGCAGATTACGCGCAGAAAAAAAGGATCTCAAGAA
GATCCTTTGATCTTTTCTACGGG (SEQ ID NO: 7)

圖 7B

起點 8

TTAATAAGATGATCTTCTTGAGATCGTTTTGGTCTGCGCGTAATCTCTTGCTCTGAAAACGAAAAACCGCCTTGCAGGGCGGTTTTTCGAAGG
TTCTCTGAGCTACCAACTCTTTGAACCGAGGTAACCTGGCTTGGAGGAGCGCAGTCACCAAACTTGTCTTTTCAGTTTAGCCTTAACCGGCGCA
TGACTTCAAGACTAACTCCTCTAAATCAATTACCAAGTGGCTGCTGCCAGTGGTGCTTTTGCATGTCTTTCCGGGTTGGACTCAAGACGATAGTT
ACCGGATAAGGCGCAGCGGTCCGACTGAACGGGGGGTTTCGTGCATACAGTCCAGCTTGGAGCGAACTGCCTACCCGGAAGTGAAGTGTGAGG
CGTGGAATGAGACAAACGCGGCCATAACAGCGGAATGACACCGGTAAACCGAAAGGCAGGAACAGGAGAGCGCACGAGGGGAGCCGCCAG
GGGGAAACGCCTGGTATCTTTATAGTCCTGTGCGGTTTTGCCACCACTGATTTGAGCGTCAGATTTTCGTGATGCTTGTGAGGGGGGCGGAGCC
TATGGAAAAACGGCTTTGCCGCGGCCCTCTCACTTCCCTGTAAAGTATCTTCCTGGCATCTTCCAGGAAATCTCCGCCCCGTTGTAAGCCATTT
CCGCTCGCCGAGTCGAACGACCGAGCGTAGCGAGTCAGTGAGCGAGGAAGCGGAATATATCCTGTATCACATATTCTGCTGACGCACCGGT
GCAGCCTTTTTTCTCCTGCCACATGAAGCACTTCACTGACACCCTCATCAGTGCCAACATAGTAAGCCAGTATACACTCCGCTAGCGC (SEQ ID
NO: 8)

起點 9

AAACGCCAGCAACGCGGCCTTTTTACGGTTCTGGCCTTTTGCTGGCCTTTTGCTCACATGTTCTTTCCTGCGTTATCCCCTGATTCTGTGGATA
ACCGTATTACCGCCTTTGAGTGAGCTGATACCGCTCGCCGCAGCCGAACGACCGAGCGCAGCGAGTCAGTGAGCGAGGAAGCGGAAGAGCG
CCCAATACGCAAACCGCCTCTCCCCGCGCGTTGGCCGATTCAATTAATGCAG (SEQ ID NO: 9)

起點 10

AAATTGTAAACGTTAATATTTTGTTAAAATTCGCGTTAAATATTTGTTAAATCAGCTCATTTTTTAACCAATAGGCCGAAATCGGC AAAATCCCT
TATAAATCAAAAGAATAGACCGCGATAGGGTTGAGTGTTGTTCCAGTTTGGAAACAAGAGTCCACTATTAAAGAACGTGGAATCCAACGTCAAA
GGGCGAAAAACCGTCTATCAGGGCGATGGCCCACTACGTGAACCATCACCCAAATCAAGTTTTTTGCGGTGAGGTGCCGTAAAGCTCTAAAT
CGGAACCCTAAAGGGAGCCCCCGATTTAGAGCTTGACGGGGAAAGCCGGCGAACGTGGCGAGAAAGGAAGGGGAAGAAAGCGAAAGGAGC
GGGCGCTAGGGCGCTGGCAAGTGTAGCGGTACGCTGCGCGTAACCACCACACCCGCCGCGCTTAATGCGCCGCTACAGGGCGCGT (SEQ ID
NO: 10)

起點 11

GGCGCATTAAAGCGCGGCGGGTGTGGTGGTTACGCGCAGCGTGACCGCTACACTTGCCAGCGCCCTAGCGCCCGCTCCTTTCGCTTTCTTCCCT
TCCTTTCTCGCCACGTTTCGCCGGCTTTCCCCGTCAAGCTCTAAATCGGGGGCTCCCTTTAGGGTTCCGATTTAGTGCTTTACGGCACCTCGACCC
CAAAAACTTGATTAGGGTGATGGTTCACGTAGTGGGCCATCGCCCTGATAGACGGTTTTTCGCCCTTGACGTTGGAGTCCACGTTCTTTAAT
AGTGGACTCTTGTTCCAACTGGAA (SEQ ID NO: 11)

起點 12

ACGCGCCCTGTAGCGGCGCATTAAAGCGCGGCGGGTGTGGTGGTTACGCGCAGCGTGACCGCTACACTTGCCAGCGCCCTAGCGCCCGCTCCT
TTCGCTTTCTTCCCTTCCTTTCTCGCCACGTTTCGCCGGCTTTCCCCGTCAAGCTCTAAATCGGGGGCTCCCTTTAGGGTTCCGATTTAGTGCTTTA
CGGCACCTCGACCCCAAAAACTTGATTAGGGTGATGGTTCACGTAGTGGGCCATCGCCCTGATAGACGGTTTTTCGCCCTTGACGTTGGAG
TCCACGTTCTTTAATAGTGACTCTTGTTCCAAACTGGAACAACACTCAACCCTATCTCGGTCTATTCTTTGATTTATAAGGGATTTTGCCGATT
TCGGCCTATTGGTTAAAAAATGAGCTGATTTAACAAAAATTTAACGCGAATTTTAACAAAATATTAACGCTTACAATTT (SEQ ID NO: 12)

起點 14

AATTTTTTTTATTTATGCAGAGGCCGAGGCCGCTCGGCCTCTGAGCTATTCCAGAAGTAGTGAGG (SEQ ID NO: 13)

圖 7C

起點 15

TGGACAGCGAACGCACACTACAACCTTGGATAGAGTTAGGAATTAGTAGACGGACATACTACAGGGATTAAATGATAATCATTCTCAAAAAT
GACACCAGATAAGCCTAAATCAGATAACAGCCCCAAAAGCGAGCTTTTGGGGTGCCTTTTAGACGGTGCTAGGTTTTTGACAGCAGATAAGCC
TAAATCAGATAACAGCCGAATCGATAAGCCTTAGTTGGTTAAGGGGGCAGGAAATTCATATTGAACAAATGTTTAGTTAAGTGTAGAATAATC
ATACATECTTATTAAGGGCAAGCATACTCAAGCCCCACAAAGTGTGCTTGAAATCCTTGTAAGGGGAAATCCCCCTTAACCCC (SEQ ID NO:
14)

起點 16

TTGAGATCCTTTTTTCTGCGCGTAATCTGCTGCTTGCAAACAAAAAAACCACCGCTACCAGCGGTGGTTTGTTGCCGGATCAAGAGCTACCA
ACTCTTTTCCGAAGGTAACTGGCTTCAGCAGAGCGCAGATACCAAATACTGTCCTTCTAGTGTAGCCGTAGTTAGGCCACCACTTCAAGA
CTGTAGCACCGCCTACATACCTCGCTCTGCTAATCCTGTTACCAAGTGGCTGCTGCCAGTGGCGATAAGTCGTGTCTTACCGGGTTGGACTCAAG
ACGATAGTTACCGGATAAGGCGCAGCGGTCTGGGGCTGAACGGGGGGTTCGTGCACACAGCCCAGCTTGGAGCGAACGACCTACACCGAACTG
AGATACCTACAGCGTGAGCTATGAGAAAGCGCCACGCTTCCCGAAGGGAGAAAGGCGGACAGGTATCCGGTAAGCGGCAGGGTCGGAACA
GGAGAGCGCACGAGGGAGCTTCCAGGGGGAAACGCCTGGTATCTTTATAGTCCTGTCTGGGTTCGCCACCTCTGACTTGAGCGTCGATTTTG
TGATGCTCGTCAGGGGGGGCGGAGCCTATGGAAA (SEQ ID NO: 15)

起點 17

TTTACGCGCCCTGTAGCGGCGCATTAAAGCGCGGCGGGTGTGGTGGTTACGCGCAGCGTGACCGCTACACTTGCCAGCGCCCTAGCGCCCGCT
CCTTTCGCTTTCCTCCCTTCCTTCTCGCCACGTTGCGCGGCTTCCCCGTCAAGCTCTAAATCGGGGGCTCCCTTAGGGTTCCGATTAGTGCT
TTACGGCACCTCGACCCCAAAAACTTGATTTGGGTGATGGTTCACGTAGTGGGCCATCGCCCTGATAGACGGTTTTTCGCCCTTTGACGTTGG
AGTCCACGTTCTTAATAGTGGACTETTGTCCAAACTTGAACAACACTCAACCCTATCTCGGGCTATTCTTTGATTATAAGGGATTTTGCCG
ATTTGCGCCTATTGGTTAAAAAATGAGCTGATTTAACAAAAATTTAACGCGAATTTAACAAAAATTAACGTTTACAATTT (SEQ ID NO: 16)

圖 7D

啓動子 1

ATGCATTAGTTATTAATAGTAATCAATTACGGGGTCATTAGTTCATAGCCCATATATGGAGTTCCGCGTTACATAACTTACGGTAAATGGCCCG
CCTGGCTGACCGCCCAACGACCCCCGCCATTGACGTCAATAATGACGTATGTTCCCATAGTAACGCCAATAGGGACTTTCCATTGACGTCAAT
GGGTGGAGTATTTACGGTAAACTGCCACTTGGCAGTACATCAAGTGTATCATATGCCAAGTACGCCCCCTATTGACGTCAATGACGGTAAAT
GGCCCGCTGGCATTATGCCAGTACATGACCTTATGGGACTTTCCTACTTGGCAGTACATCTACGTATTAGTCATCGCTATTACCATGGTGAT
GCGGTTTTGGCAGTACATCAATGGGCGTGGATAGCGGTTTGACTCACGGGGATTTCGAAGTCTCCACCCCATTGACGTCAATGGGAGTTTGTT
TTGGCACCAAATCAACGGGACTTTCGAAATGTCGTAACAACCTCCGCCCCATTGACGCAAATGGGCGGTAGGCGGTACGGTGGGAGGTCT
ATATAAGCAGAGCTGGTTTAGTGAACCGTCAGATCCGCTAGC (SEQ ID NO: 17)

啓動子 2

TCAATATTGGCCATTAGCCATATTATTCATTGGTTATATAGCATAAATCAATATTGGCTATTGGCCATTGCATACGTTGTATCTATATCATAATAT
GTACATTTATATTGGCTCATGTCCAATATGACCGCCATGTTGGCATTGATTATTGACTAGTTATTAATAGTAATCAATTACGGGGTCATTAGTTC
ATAGCCCATATATGGAGTTCCGCGTTACATAACTTACGGTAAATGGCCCGCTGGCTGACCGCCCAACGACCCCCGCCATTGACGTCAATAAT
GACGTATGTTCCCATAGTAACGCCAATAGGGACTTTCATTGACGTCAATGGGTGGAGTATTTACGGTAAACTGCCACTTGGCAGTACATCA
AGTGTATCATATGCCAAGTCCGCCCCCTATTGACGTCAATGACGGTAAATGGCCCGCTGGCATTATGCCAGTACATGACCTTACGGGACTTT
CCTACTTGGCAGTACATCTACGTATTAGTCATCGCTATTACCATGGTGATGCGGTTTTGGCAGTACACCAATGGGCGTGGATAGCGGTTTGACT
CACGGGGATTTCGAAGTCTCCACCCCATTGACGTCAATGGGAGTTTGTTTTGGCACCAAATCAACGGGACTTTCGAAATGTCGTAATAACCC
CGCCCCGTTGACGCAAATGGGCGGTAGGCGGTACGGTGGGAGGTCTATATAAGCAGAGCTCGTTTAGTGAACCGTCAGAT (SEQ ID NO:
18)

啓動子 3

ACGCGTACTAGTTATTAATAGTAATCAATTACGGGGTCATTAGTTCATAGCCCATATATGGAGTTCCGCGTTACATAACTTACGGTAAATGGCC
CGCCTGGCTGACCGCCCAACGACCCCCGCCATTGACGTCAATAATGACGTATGTTCCCATAGTAACGTCAATAGGGACTTTCCATTGACGTCA
ATGGGTGGAGTATTTACGGTAAACTGCCACTTGGCAGTACATCAAGTGTATCATATGCCAAGTACGCCCCCTATTGACGTCAATGACGGTAA
ATGGCCCGCTGGCATTATGCCAGTACATGACCTTATGGGACTTTCCTACTTGGCAGTACATCTACGTATTAGTCATCGCTATTACCATGGTG
ATGCGGTTTTGGCAGTACATCAATGGGCGTGGATAGCGGTTTGACTCACGGGGATTTCGAAGTCTCCACCCCATTGACGTCAATGGGAGTTTG
TTTTGCACCAAATCAACGGGACTTTCGAAATGTCGTAACAACCTCCGCCCCATTGACGCAAATGGGCGGTAGGCGGTACGGTGGGAGGTCT
ATATAAGCAGAGCTCGTTTAGTGAACCGTCAGATCGCCTGGAGACGCCATCCACGCTGTTTTGACCTCCATAGAAGACACCGGGACCGATCCA
GCCTCCGTAC (SEQ ID NO: 19)

啓動子 4

ACGCGTGGAGCTAGTTATTAATAGTAATCAATTACGGGGTCATTAGTTCATAGCCCATATATGGAGTTCCGCGTTACATAACTTACGGTAAATG
GCCCGCTGGCTGACCGCCCAACGACCCCCGCCATTGACGTCAATAATGACGTATGTTCCCATAGTAACGTCAATAGGGACTTTCCATTGACG
TCAATGGGTGGAGTATTTACGGTAAACTGCCACTTGGCAGTACATCAAGTGTATCATATGCCAAGTACGCCCCCTATTGACGTCAATGACGG
TAAATGGCCCGCTGGCATTATGCCAGTACATGACCTTATGGGACTTTCCTACTTGGCAGTACATCTACGTATTAGTCATCGCTATTACCATGG
TGATGCGGTTTTGGCAGTACATCAATGGGCGTGGATAGCGGTTTGACTCACGGGGATTTCGAAGTCTCCACCCCATTGACGTCAATGGGAGTT
TGTTTTGCACCAAATCAACGGGACTTTCGAAATGTCGTAACAACCTCCGCCCCATTGACGCAAATGGGCGGTAGGCGGTACGGTGGGAGG
TCTATATAAGCAGAGCTCGTTTAGTGAACCGTCAGATCGCCTGGAGACGCCATCCACGCTGTTTTGACCTCCATAGAAGACACCGGGACCGAT
CCAGCCTCC (SEQ ID NO: 20)

圖 8A

啟動子 5

TAGTTATTAATAGTAATCAATTACGGGGTCATTAGTTCATAGCCCATATATGGAGTTCGCGTTACATAAECTTACGGTAAATGGCCCGCCTGGC
TGACCGCCCAACGACCCCGCCATTGACGTCAATAATGACGTATGTTCCCATAGTAACGCCAATAGGGACTTTCATTGACGTCAATGGGTG
GAGTATTTACGGTAAACTGCCCACTTGGCAGTACATCAAGTGTATCATATGCCAAGTACGCCCCCTATTGACGTCAATGACGGTAAATGGCCC
GCCTGGCATTATGCCCAGTACATGACCTTATGGGACTTTCCTACTTGGCAGTACATCTACGTATTAGTCATCGCTATTACCATGGTGATGCGGTT
TTGGCAGTACATCAATGGGCGTGGATAGCGGTTTGACTCACGGGGATTTCGAAGTCTCCACCCCATTGACGTCAATGGGAGTTTGTTTTGGCA
CCAAAATCAACGGGACTTTCAAAATGTCGTAACAACCTCCGCCCCATTGACGCAAATGGGCGGTAGGCGGTACGGTGGGAGGTCTATATAA
GCAGAGCTGGTTTAGTGAACCGTCAGATC (SEQ ID NO: 21)

啟動子 6

GCGGCCGCACGCGTGGAGCTAGTTATTAATAGTAATCAATTACGGGGTCATTAGTTCATAGCCCATATATGGAGTTCGCGTTACATAAECTTAC
GGTAAATGGCCCGCCTGGCTGACCGCCCAACGACCCCGCCATTGACGTCAATAATGACGTATGTTCCCATAGTAACGTCAATAGGGACTTT
CCATTGACGTCAATGGGTGGAGTATTTACGGTAAACTGCCCACTTGGCAGTACATCAAGTGTATCATATGCCAAGTACGCCCCCTATTGACGTC
AATGACGGTAAATGGCCCGCCTGGCATTATGCCCAGTACATGACCTTATGGGACTTTCCTACTTGGCAGTACATCTACGTATTAGTCATCGCTA
TTACCATGGTGATGCGGTTTTGGCAGTACATCAATGGGCGTGGATAGCGGTTTGACTCACGGGGATTTCGAAGTCTCCACCCCATTGACGTCA
ATGGGAGTTTGTTTTGCACCAAAATCAACGGGACTTTCAAAATGTCGTAACAACCTCCGCCCCATTGACGCAAATGGGCGGTAGGCGGTACG
GTGGGAGGTCTATATAAGCAGAGCTCGTTTAGTGAACCGTCAGATCGCCTGGAGACGCCATCCACGCTGTTTTGACCTCCATAGAAGACACCG
GGACCGATCCAGCCTC (SEQ ID NO: 22)

啟動子 7

GGCGACCGCCAGCGACCCCGCCCGTTGACGTCAATAGTGACGTATGTTCCCATAGTAACGCCAATAGGGACTTTCATTGACGTCAATGGG
TGGAGTATTTACGGTAAACTGCCCACTTGGCAGTACATCAAGTGTATCATATGCCAAGTCCGCCCCCTATTGACGTCAATGACGGTAAATGGC
CCGCCTAGCATTATGCCCAGTACATGACCTACGGGAGTTTCCTACTTGGCAGTACATCTACGTATTAGTCATCGCTATTACCATGGTGATGCG
GTTTTGGCAGTACACCAATGGGCGTGGATAGCGGTTTGACTCACGGGGATTTCGAAGTCTCCACCCCATTGACGTCAATGGGAGTTTGTTTTG
GCACCAAAATCAACGGGACTTTCAAAATGTCGTAATAACCCCGCCCGTTGACCAAAATGGGCGGTAGGCGGTACGGTGGGAGGTCTATA
TAGCAGAGCTCGTTTAGTGAACCGT (SEQ ID NO: 23)

啟動子 8

TTAGTCATATGTTACTTGGCAGAGGCCGCATGGAAAGTCCCTGGACGTGGGACATCTGATTAATACGTGAGGAGGTGAGCCATGTTCTTTTTG
GCAAAGGACTACGGTCAATTGGACGTTTGATTGGCATGGGATAGGGTCAGCCAGAGTTAACAGTGTTCTTTGGCAAAGGGATACGTGGAAAG
CCCCGGGCCATTTACAGTAAACTGATACGGGGACAAAGCACAGCCATATTTAGTCATGTACTGCTTGGCAGAGGGTCTATGGAAAGTCCCTG
GACGTGGGACGTCTGATTAATATGAAAGAAGGTGAGCCAGAGGTAGCTGTGTCCTTTTGGCAAAGGGATACGGTTATGGGACGTTTGATTG
GACTGGGATAGGGTCAGCCAGAGTTAACAGTGTTCTTTTGGCAAAGGAAACGTGGAAAGTCCCGGGCCATTTACAGTAAACTGATACTGGGA
CAAAGTACACCCATATTTAGTCATGTTCTTTTGGCAAAGAGCATCTGGAAAGTCCCGGGCAGCATTATAGTCACTTGGCAGAGGGAAAGGGT
CACTCAGAGTTAAGTACATCTTCCAGGGCCAATATTCCAGTAAATTACACTTAGTTTTATGCAAATCAGCCACAAAGGGGATTTCCCGGTCA
ATTATGACTTTTTCTTAGTCATGCGGTATCCAATTACTGCCAAATTGGCAGTACATACTAGGTGATTCACTGACATTTGGCCGTCTCTGGAAA
GTCCCTGGAAACCGCTCAAGTACTGTATCATGGTGACTTTGCATTTTTGGAGAGCACGCCCCACTCCACCATTGGTCCACGTACCCTATGGGGG
AGTGGTTTATGAGTATATAAGGGGCTCCGGTTTAGAAGCCGGGCAGAGCG (SEQ ID NO: 24)

圖 8B

啓動子 9

ATTGACGTCAATAATGACGTATGTTCCCATAGTAACGCCAATAGGGACTTTCCATTGACGTCAATGGGTGGAETATTTACGGTAAACTGCCCAC
TTGGCAGTACATCAAGTGTATCATATGCCAAGTACGCCCCCTATTGACGTCAATGACGGTAAATGGCCCGCCTGGCATTATGCCCAGTACATG
ACCTTATGGGACTTTTCTACTTGGCAGTACATCTACGTATTAGTCATCGCTATTACCATGGTCGAGGTGAGCCCCACGTTCTGCTTCACTCTCCC
CATCTCCCCCCCCTCCCCACCCCAATTTTGTATTTATTTATTTTAAATTATTTTGTGCAGCGATGGGGGCGGGGGGGGGGGGGGGGGGCGCGC
GCCAGGCGGGGCGGGGCGGGGCGAGGGGCGGGGCGGGGCGAGGCGGAGAGGTGCGGCGGCAGCCAATCAGAGCGGCGCGCTCCGAAA
GTTTCCTTTTATGGCGAGGCGGCGGCGGCGGCGGCCCTATAAAAAGCGAAGCGCGCGGCGGGGAGTCGCTGCGACGCTGCCTTCGCCC
CGTGCCCCGCTCCGCCGCGCCTCGCGCCGCCCGCCCCGGCTCTGACTGACCGCGTTACTCCCACAGGTGAGCGGGCGGGACGGCCCTTCTCC
TCCGGGCTGTAATTAGCGCTTGTTTAAATGACGGCTTGTTCCTTTCTGTGGCTGCGTGAAAGCCTTGAGGGGCTCCGGGAGGGCCCTTGTG
CGGGGGGAGCGGCTCGGGGCTGTCCGCGGGGGGACGGCTGCCTTCGGGGGGGACGGGGCAGGGCGGGGTTCGGCTTCTGGCGTGTGACC
GGCGGCTCTAGAGCCTCTGCTAACCATGTTTCATGCCTTCTTCTTTTCTACAGCTCCTGGGCAACGTGCTGTTATTGTGCTGTCTCATCATTTT
GGCAAAGAATT (SEQ ID NO: 25)

啓動子 10

GTCGAGGTGAGCCCCACGTTCTGCTTCACTCTCCCCATCTCCCCCCCCTCCCCACCCCAATTTTGTATTTATTTATTTTAAATTATTTTGTGCAG
CGATGGGGGCGGGGGGGGGGGGGGGGGGCGCGCGCCAGGCGGGGCGGGGCGGGGCGAGGGGCGGGGCGGGGCGAGGCGGAGAGGTGCGGC
GGCAGCCAATCAGAGCGGCGCGCTCCGAAAGTTTCCTTTTATGGCGAGGCGGCGGGCGGCGGCGGCCCTATAAAAAGCGAAGCGCGCGGCG
GGCGGAGTCGCTGCGTTGCCTTCGCCCCGTGCCCGCTCCGCGCCGCTCGCGCCGCCCGCCCCGGCTCTGACTGACCGCGTTACTCCCACA
G (SEQ ID NO: 26)

啓動子 11

TCGAGGTGAGCCCCACGTTCTGCTTCACTCTCCCCATCTCCCCCCCCTCCCCACCCCAATTTTGTATTTATTTATTTTAAATTATTTTGTGCAGC
GATGGGGGCGGGGGGGGGGGGGGGGGGCGCGCGCCAGGCGGGGCGGGGCGGGGCGAGGGGCGGGGCGGGGCGAGGCGGAGAGGTGCGGC
CGGCAGCCAATCAGAGCGGCGCGCTCCGAAAGTTTCCTTTTATGGCGAGGCGGCGGGCGGCGGCGGCCCTATAAAAAGCGAAGCGCGCGGCG
GGCG (SEQ ID NO: 27)

啓動子 12

CCAGAAAAAGTCAACACACTTGTCAATAAAGTCCCGACGAAGTAAACAAGCGGAATTAATTCAATTTGGCCAAAAACCTAGTATAAAGACGT
GCATAGTGTGCGGAAT (SEQ ID NO: 28)

啓動子 13

CTTCCTCACGCTGAACCCCTTTAACCGTTTCAGTGGTCGTGAGTCTTCTAATCTGACTGTGTGACGATGTTTTAAGGATTTGGAGGATTGAGGA
GGATCACCTGGTCAGGTAAATCTGAAATATCCGGATTACATCGGAAGTTGAGCACACGGAAAAACAAAAGACTCTTATTGGATTAGATCCGT
CAGCCACCTGCTGCTGCTCTTCATCATCAGGCGTCTTCATCGCCCTGCAGTGGGCCTGACAACAGCTTGTGTTTATTACACTAAAACTTTATAA
ACCCATCACAAACCATATCACACAGCAGGGACTTACCTCTTCATCTGTAAGAAGGATTTTATAGAGTTGGCAGCAGAGCAACAGTCAGCTCTGTT
GCCTCACTAAAAGAGATCTTTGTTTGAATCTGTGACCTGTCCAAGTGTACCTCGCTTCTCACCCACTGACCTCTCCACAACAGTGAGCTGGTTG
GCGGGATGCTAATGTTTCTAGTTATTACGTGTAACCAACTTAAAGAGTACAGATAAATCATTTAGCATAATTAAAGTTTTACTGTCATGTTATT
GGCTGTTAATATGATTGCTGTTGTAAGTATGTGTTGATCACTAACAATTTAATTAATTAAATCAATCATTAAATTAAGTTTGTGGAAAAAGAG
GGAAAACTCATCCACTGACCACATGTTTCTAGGTTCAATTCCTTGGAGTTAAAGGGCTAATCCCAGAGCCATTTACCAAATAATAAATAAATA
TTTAAATAAGACGTGCATGCGACTGCGGTCACCTTTAAAGCACAAAGTTTTTTTTGAGCAGTGAGGTGAACTCGGGTGGATCTGTGTGTTAC
AGAGAAAACCTTCTGTAAGCAGATTAAGGAGTCAGAAGTTCTTAATCCTGAAAGTTTAGAAAAATCCCAGCAGCATAATCTTTGCTGTAAGTG
GTTTACGAGCGTATATAAGAGGCTGACACAGCGGCAGCGGCAAAGAGCTCAGGGTCACA (SEQ ID NO: 29)

圖 8C

啟動子 14

AAATCAAAAGTCCTCAACCTGGTTGGAAGAATATTGGCACTGAATGGTATCAATAAGGTTGCTAGAGAGGGTTAGAGGTGCACAATGTGCTT
CCATAACATTTTATACTTCTCCAATCTTAGCACTAATCAAACATGGTTGAATACTTTGTTTACTATAACTCTTACAGAGTTATAAGATCTGTGAAG
ACAGGGACAGGGGACAATACCCATCTCTGTCTGGTTCATAGGTGGTATGTAATAGATATTTTAAAAATAAGTGAGTTAATGAATGAGGGTGAG
AATGGAGGCACAGAGGTATTAGGGGGAGGTGGGCCCCAGAGAATGGTGCCAAGGTCCAGTGGGGTGACTGGGATCAGCTCAGGCCTGACG
CTGGCCACTCCCACCTAGCTCCTTTCTTTCTAATCTGTCTCATTCTCCTTGGGAAGGATTGAGGTCTCTGGAAAACAGCCAAACAACTGTTATG
GGAACAGCAAGCCCAAATAAAGCCAAGCATCAGGGGGATCTGAGAGCTGAAAGCAACTTCTGTTGCCCCCTCCCTCAGCTGAAGGGGTGGGG
AAGGGCTCCCAAAGCCATAACTCCTTTAAGGGATTTAGAAGGCATAAAAAGGCCCTGGCTGAGAACT (SEQ ID NO: 30)

啟動子 15

ACTCACGGGGATTTCGAAGTCTCCACCCATTGACGTCAATGGGAGTTTGTTTTGGCACCAAAATCAACGGGACTTTCGAAAATGTCGTAATAA
CCCCGCCCGTTGACGCAAATGGGCGGTAGGCGTGTACGGTGGGAGGTCTATATAAGCAGAGCTCGTTTAGTGAACCGT (SEQ ID NO: 31)

啟動子 16

AAAATCAACGGGACTTTCGAAAATGTCGTAATAACCCCGCCCCGTTGACGCAAATGGGCGGTAGGCGTGTACGGTGGGAGGTCTATATAAGC
AGAGCTCGTTTAGTGAACCGT (SEQ ID NO: 32)

啟動子 17

GTAATACGACTCACTATAGGG (SEQ ID NO: 33)

啟動子 18

TAATACGACTCACTATAGG (SEQ ID NO: 34)

啟動子 19

CCGATTAATCATAAATATGAAAAATAATTGTTGCATCACCCGCCAATGCGTGGCTTAATGCACATCA (SEQ ID NO: 35)

啟動子 20

ATTAACCCTCACTAAAGGG (SEQ ID NO: 36)

啟動子 21

ATTAACCCTCACTAAAGGG (SEQ ID NO: 36)

圖 8D

啟動子 22

CTAGACAAGGTCGAACGAGGGGCATGACCCGGTGCGGGGCTTCTTGCACTCGGCATAGGCGAGTGCTAAGAATAACGTTGGCACTCG (SEQ ID NO: 37)

啟動子 23

TATTAGGCGAAGAGGGCATCTAGTAGTAGTGGCAGTGGTGAGAACGTGGGCGCTGCTATAGTGAACAATCTCCAGTCGATGGTTAAGAAGAA
GAGTGACAAACCAGCAGTGAATGACTTGTCTGGGTCCGTGAGGAAAAGAAAGAAGCCCGACACAAAGGACAGTAACGTCAAGAAACCCAAG
AAATAGGGGGGACCTGTTTAGATGTATAGGAATAAAAACCTCCGAGATGATCTCAATGTGTAATGGAGTTGTAATATTGCAAAGGGGGAAAAT
CAAGACTCAAACGTGTGTATGAGTGAGCGTACGTATATCTCCGAGAGTAGTATGACATAATGATGACTGTGAATCATCGTAATCTCACACAAA
AACCCCATTTGTCGGCCATATACCACACCAAGCAACACCACATATCCCCCGGAAAAAAAAAACGTGAAAAAAGAAACAATCAAAACTACAACCT
ACTCCTTGATCACACAGTCATTGATCAAGTTACAGTTCCTGCTAGGGAATGACCAAGGTACAAATCAGCACCTTAATGGTTAGCACGCTCTCTT
ACTCTCTCTCACAGTCTTCCGGCCCCTATTCAAAATTCTGCACTTCCATTTGACCCAGGGTTGGGAAACAGGGCCACAAAAGAAAAACCCGAG
GTGAATGAAAAAACTAAGAAAAGAAAAAAATTATCACACCAGAAATTTACCTAATTGGGTAATTCCCATCGGTGTTTTCTGGATTGTCGCA
CGCACGCATGCTGAAAAAAGTGTTGAGTTTTGCTTTTGCTCGGAGTTTCACGCAAGTTTTTCGATCTCGGAACCGGAGGGCGGTGCGCTTG
TTGTTTGATGTCGTGCTTTGGGTGTTCTAATGTGCTGTTATTGTGCTCTTTTTTTCTTCTTTTTTGGTGATCATATGATATTGCTCGGTAGA
TACTTTGCTGTGTAGGTATTCTTTAGACGTTTGGTTATTGGGTAGATATGAGAGAGAGAGAGTGGGTGGGGGAGGAGTTGGTTGTAGGAG
GGACCCCTGGGAGGAAGTGTAGTTGAGTTTTCCCTGACGAATGAAAATACGTTTTTGAGAAGATAATACAGGAAAGGTGTGTCGGTGAATTT
CCATCTATCCGAGGATATGAGTGGAGGAGAGTCGTGTGCGTGTGGTTAATTTAGGATCAGTGGAACACACAAAGTAACTAAGACAGAGAGA
CAGAGAGAAAAATCTGGGGAAGAGACAAAGAGTCAGAGTGTGTGAGTTATTCTGTATTGTGAAATTTTTTGCCCAACTACATAATATTGCTG
AACTAATTTTACTTAAAAAGAAAAGCCAACAACGTCCCCAGTAAACTTTTCTATAAATATCAGCAGTTTTCCCTTTCCTCCATTCTTCTTG
TCTTTTTCTTACTTTCCTTTTTTATACCTTTTCATTATCATCCTTTATAATTGTCTAACCAACAACCTATATATCTATCAA (SEQ ID NO: 38)

啟動子 24

CCCACACACCATAGCTTCAAAATGTTTCTACTCCTTTTTACTCTTCCAGATTTTCTCGGACTCCGCGCATCGCCGTACCACTTCAAAACACCCAA
GCACAGCATACTAAATTTTCCCTCTTCTCCTCTAGGGTGTCGTTAATTACCCGTACTAAAGGTTTGGAAAAGAAAAAGAGACCGCCTCGTT
TCTTTTTCTTCGTCGAAAAAGGCAATAAAAATTTTATCACGTTTCTTTTTCTTGAAATTTTTTTTTAGTTTTTTCTCTTTCAGTGACCTCCATT
GATATTTAAGTTAATAAACGGTCTTCAATTTCTCAAGTTTCAGTTTCATTTTTCTTGTTCTATTACAACTTTTTTACTTCTTGTTCAATAGAAAGA
AAGCATAGCAATCTAATCTAAGGGGCG (SEQ ID NO: 39)

啟動子 25

TTGACAATTAATCATCGGCTCGTATAAT (SEQ ID NO: 40)

啟動子 26

TTCAAATATGTATCCGCTCATGAGACA (SEQ ID NO: 41)

啟動子 27

AACTACCCGTAGGTGTAGTTGGCGCAAGCGTCCGATTAGCTCAGGTTTAAGATGTCGAGAGTGAGAGTGGGCGGCTTAACTTTCTCAGTTAG
GCATAAAATTACGTCTTAAATCTCGTAGCGACTAATTTAATAAAAATTGGA (SEQ ID NO: 42)

圖 8E

啟動子 28

GCGCAGCACCATGGCCTGAAATAACCTCTGAAAGAGGAACTTGGTTAGGTACCTTCTGAGGCGGAAAGAACCAGCTGTGGAATGTGTGTCAG
TTAGGGTGTGGAAAGTCCCCAGGCTCCCCAGCAGGCAGAAAGTATGCAAAGCATGCATCTCAATTAGTCAGCAACCAGGTGTGGAAAGTCCCC
AGGETCCCCAGCAGGCAGAAAGTATGCAAAGCATGCATCTCAATTAGTCAGCAACCATAGTCCCGCCCCTAACTCCGCCCATCCCCGCCCTAACT
CCGCCCAGTTCGCCCATTCTCCGCCCATGGCTGACTAATTTTTTTTATTTATGCAAGAGGCCGAGGCCGCCTCGGCCTCTGAGCTATTCCAGAA
GTAGTGAGGAGGCTTTTTTGGAGGCCTAGGCTTTTGC AAAAGCTT (SEQ ID NO: 43)

啟動子 29

GACGCTTTTATCGCAACTCTCTACTGT (SEQ ID NO: 44)

啟動子 30

CATGACAAAAACGCGTAACAAAAGTGTCT (SEQ ID NO: 45)

啟動子 31

AGCCGAATTCCTCCTCATTCTTCTCCAAACCTTTATTGAGTACCTACTGTGTGCTGGAATAAGACAGGCAGGGCCATGCCCTCATGAAGCTGAC
AATCCTATTGGTGTGACCATCCCCAGGTGTGTCCCAGGTGTGTTGCAGGTGTGTCCGAGGTATGCCCCAGCTGTCCCAGGTGTGCCCCAGCTG
TCTCAGATGTGCCCCAGCTGTCCCAGGTGTGTACAGCTGCATTGCAGGTGTGCCCCAGTTGCATTCCATGTGTGCTCCAAGTGTGTACCAGCT
GTCCCAGGTGTGTCTCAGGTGTGCCCCAGCTGTATCCCAGGTGTGCCTCAGCTGTCTTAGGTGTGTCTCAGGTGCATCCCAGGTGTGTCTCAG
ATGTGCCCCAGCTGTCCCAGGTGTGCCCCAGCTGTCCCAGGTGTGCCCCAGCTGTCTCCAGTGTGTCCCAGCTGTGCCCCAGGTGTGTGTCTC
GGTGTGCCTCAGCTGTCTCAGGTGTGCCCCAGGCATATCCCAGGTGTGCCCCAGCTGTCCCAGGTGTGTCTACGTGTGCACCAGCTGTATCC
CAGGTGTGCCCCAGGTGTGTCTCAGATGGGTCCCAAGTGTTCCCCAACTGCATTTAGGTGTCTCAGGTGTGCCCAAGCTGTCCCAGGTGTGT
CCAAGATGTGCCCCAGGTGTGTCTCAGGTGGGTCTCAAGTGTGCCCCAGCTGCATTTAGGTGTCTCAGGTGTGCCCCCAGTGCATCCCAGGTG
TGTCCCAGGTGTGCCCCAGGTGCATCCCAGGTGTGTCCCAGGTGTGCCCCAGCTGTCTCAGGTGTCTCAGGTGTGCCCCAGGCATATCCCAGG
TGTGCCTCAGCTCTCCCAGGTGTGTCTACATGTGCACCAGCTGTATCTCAGGTGTGTCTCAGGTGTGCCCCAGATGTGCCCCCGGTGTGTCTC
AGGTGGGTCCCAAGTGTTCCCAGCTGCATTTCAAGTGTCTCAGGTGTGCCCCAGGTGTGCCCCCGCTGTCCCAGGTGTGTCCAAGATGTACC
CCAGGTGTGTCCCAGCTGTCCCAAGTGTGTCTCAGGTGTGCCCCAGGTGTGTTCCAGGTGTTCCCCAGCTGTCCCAGCTGTCCCAGGTCTCAG
GTGTGCCCCAGGTGTGTTCCAGGTGTTCAACAGCTGTCCCAGCTGTCCCAGGTCTCAGGTGTGCCCCAGGTATGTTGCAGGTGTTCCCCAGCT
GTCCCAGCTGTCCCAGGTGTGTCCCAGGTGTTCCCCAGGTGTGTCCCAGCTGTCCCAGGTGTGTCCCAGATGTGCCCCAGGTGTACCCAGGT
GTTTCTCAGGTGGATTCCAGGTGTGTCCCAGGTGAGCCCCAGCTGTATTCCATATGCGTCCCTCTGAGTGGGGCCTTGGTTTGATGTAGCTCCG
GGGATCTTCTGCTCCCTGGTCCCTGGTGTCAACAGCAACTGCCTCTTGACAATCCTGCCTTGCTGCAAACCCCAGGTGAGAAGAAGACAAATG
ACTGGGAACTGACCCCTCAGTAAGCGCTGGTGGTCTCACCTACAGACCCCCAGGAAGCTGGTCACTGTGGGCTTCTTTCTCTCTAAATTCCT
ATTATCAGGTGGTTTTCTTCTCATTGCTATTTTETTA AAAAATAAAAATAGGGAAAAACAGCCTTTGTAAATTACGGTTTCTTCCGGCTCCATCC
TCTCCGTCAAGCCCCACATCCCAAGGAAACAGCAGGCTTGAGCCTGGCTGCTGAAGCCAGGGGCTGGATGGAGCAGCTCAGAACAGAGCTTTG
AGTGCCTCTCCAGCCAGGGGGCCCCAGAAGCCTGGTGGTTGTTTGTCTTCTCAGGGGAAAAAGTGAGGCGGGCCCTTGGAGGAAGGGGCCGG
GCAGAATGATCTAATCGGATTCCAAGCAGCTCAGGGGA (SEQ ID NO: 46)

啟動子 32

CTCTGAGCTGCTTCCCTACTCACACTCTGTCCACAACCCATTTCCTGATCATGTAGTAGAAAGAAATGGAACACAATCTTTGTAAATAAGCCC
TTGTAAACAAGCAAGAGCTACAGTGCTTCCACAAGCCCTACTGCAAGCCAGGAATGGGAACAGTGGTGTGTGTGCAGCAAATGCCCTGAGCA
CCCCTGTGGATTGGACTCAGAAACATGGAAGTGAGGGTAGGAGGGGATGATCTAAGTCCTGGGCCCAATTAAGAGATCAGATGGTGAAGGG
TTTGGGGGCCCTTAAGGTAAAGGAGGCCTGGGCTGATCCTGCAGGCTGATATAAAGTCCTGTAAACCCCATAGGCA (SEQ ID NO: 47)

圖 8F

內含子 1

GTAAGTATCAAGGTTACAAGACAGGTTTAAGGAGACCAATAGAACTGGGCTTGTGAGACAGAGAAGACTCTTGCGTTTCTGATAGGCACC
TATTGGTCTTACTGACATCCACTTTGCCTTCTCTCCACAG (SEQ ID NO: 48)

內含子 2

GTAAGTTTAGTCTTTTTGTCTTTATTTAGGTCCCGGATCCGGTGGTGGTGCAAATCAAAGAACTGCTCCTCAGTGGATGTTGCCTTACTTCT
AG (SEQ ID NO: 115)

多 A 區域 1

AGACATGATAAGATACATTGATGAGTTTGGACAAACCACAACCTAGAATGCAGTGAAAAAAATGCTTTATTTGTGAAATTTGTGATGCTATTGC
TTTATTTGTAACCATTATAAGCTGCAATAAACAAGTTAACAACAACAATTGCATTCATTTTATGTTTCAGGTTTCAGGGGGAGATGTGGGAGGTT
TTTTAAAGCAAGTAAAACCTCTACAAATGTGGTA (SEQ ID NO: 49)

多 A 區域 2

CAGACATGATAAGATACATTGATGAGTTTGGACAAACCACAACCTAGAATGCAGTGAAAAAAATGCTTTATTTGTGAAATTTGTGATGCTATTG
CTTTATTTGTAACCATTATAAGCTGCAATAAACAAGTTAACAACAACAATTGCATTCATTTTATGTTTCAGGTTTCAGGGGGAGATGTGGGAGGT
TTTTAAAGCAAGTAAAACCTCTACAAATGTGGTA (SEQ ID NO: 50)

多 A 區域 3

GGCCGCTTCGAGCAGACATGATAAGATACATTGATGAGTTTGGACAAACCACAACCTAGAATGCAGTGAAAAAAATGCTTTATTTGTGAAATTT
GTGATGCTATTGCTTTATTTGTAACCATTATAAGCTGCAATAAACAAGTTAACAACAACAATTGCATTCATTTTATGTTTCAGGTTTCAGGGGGA
GATGTGGGAGGTTTTTTAAAGCAAGTAAAACCTCTACAAATGTGGTAAAATC (SEQ ID NO: 51)

多 A 區域 4

TAATCAGCATACCACATTTGTAGAGGTTTTACTTGCTTTAAAAAACCTCCCACACCTCCCCCTGAACCTGAAACATAAAATGAATGCAATTGTTG
TTGTTAACTTGTTTATTGCAGCTTATAATGGTTACAAATAAAGCAATAGCATCACAAATTCACAAATAAAGCATTTTTTTCACTGCATTCTAGTT
GTGGTTTGTCCAAACTCATCAATGTATCTTA (SEQ ID NO: 52)

多 A 區域 5

AGACATGATAAGATACATTGATGAGTTTGGACAAACCACAACCTAGAATGCAGTGAAAAAAATGCTTTATTTGTGAAATTTGTGATGCTATTGC
TTTATTTGTAACCATTATAAGCTGCAATAAACAAGTTAACAACAACAATTGCATTCATTTTATGTTTCAGGTTTCAGGGGGAGATGTGGGAGGTT
TTTTAAAGCAAGTAAAACCTCTACAAATGTGGTA (SEQ ID NO: 49)

多 A 區域 6

CAGACATGATAAGATACATTGATGAGTTTGGACAAACCACAACCTAGAATGCAGTGAAAAAAATGCTTTATTTGTGAAATTTGTGATGCTATTG
CTTTATTTGTAACCATTATAAGCTGCAATAAACAAGTTAACAACAACAATTGCATTCATTTTATGTTTCAGGTTTCAGGGGGAGATGTGGGAGGT
TTTTAAAGCAAGTAAAACCTCTACAAATGTGGTA (SEQ ID NO: 50)

圖 9A

多 A 區域 7

AACTTGTTTATTGCAGCTTATAATGGTTACAAATAAAGCAATAGCATCACAAATTTACAAATAAAGCATTTTTTCTACTGCATTCTAGTTGTGG
TTTGTCCAAACTCATCAATGTATCTTATCACGTCTGGTCAGGTGGCA (SEQ ID NO: 53)

多 A 區域 8

AACTTGTTTATTGCAGCTTATAATGGTTACAAATAAAGCAATAGCATCACAAATTTACAAATAAAGCATTTTTTCTACTGCATTCTAGTTGTGG
TTTGTCCAAACTCATCAATGTATCTTATCACGTCTGG (SEQ ID NO: 54)

多 A 區域 9

CAGACATGATAAGATACATTGATGAGTTTGGACAAACCACAAGTAGAATGCAGTGAAAAAATGCTTTATTTGTGAAATTTGTGATGCTATTG
CTTTATTTGTAACCATTTATAAGCTGCAATAAACAAGTTAACAACAACAATTGCATTCATTTTATGTTTCAGGTTTCAGGGGGAGATGTGGGAGGT
TTTTTAAAGCAAGTAAACCTCTACAAATGTGGTA (SEQ ID NO: 50)

多 A 區域 10

AATAAAATATCTTTATTTTCATTACATCTGTGTGTTGGTTTTTTGTGTG (SEQ ID NO: 55)

ITR 區域 1-間隔 1

CTGCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGGCCGCCGGGCAAAGCCCGGGCGTCGGGCGACCTTTGGTCGCCCCGGCCTCAGTGAGCGAGCGAGCGC
GCAGAGAGGGAGTGGCCAACTCCATCACTAGGGGTTCTTGAGTTAATGATTAACCCGCCATGCTACTTATCTACGCGTAGATAAGTAGCAT
GGCGGGTTAATCATTAACTACAAGGAACCCCTAGTGATGGAGTTGGCCACTCCCTCTCTGCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGGCCGGGCGACCA
AAGGTCGCCCCGACGCCCGGGCTTTGCCCGGGCGGCCTCAGTGAGCGAGCGAGCGCGCAGCCTTA (SEQ ID NO: 56)

ITR 區域 1-間隔 2

CTGCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGGCCGCCGGGCAAAGCCCGGGCGTCGGGCGACCTTTGGTCGCCCCGGCCTCAGTGAGCGAGCGAGCGC
GCAGAGAGGGAGTGGCCAACTCCATCACTAGGGGTTCTTGAGTTAATGATTAACCCGCCATGCTACTTATCTACGCGTAGATAAGTAGCAT
GGCGGGTTAATCATTAACTACAAGGAACCCCTAGTGATGGAGTTGGCCACTCCCTCTCTGCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGGCCGGGCGACCA
AAGGTCGCCCCGACGCCCGGGCTTTGCCCGGGCGGCCTCAGTGAGCGAGCGAGCGCGCAGCCTTA (SEQ ID NO: 56)

ITR 區域 2-間隔 1

AGGETGCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGGCCGCCGGGCAAAGCCCGGGCGTCGGGCGACCTTTGGTCGCCCCGGCCTCAGTGAGCGAGCGAG
CGCGCAGAGAGGGAGTGGCCAACTCCATCACTAGGGGTTCTTGAGTTAATGATTAACCCGCCATGCTACTTATCTACGCGTAGATAAGTAG
CATGGCGGGTTAATCATTAACTACAAGGAACCCCTAGTGATGGAGTTGGCCACTCCCTCTCTGCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGGCCGGGCGA
CCAAAGGTCGCCCCGACGCCCGGGCTTTGCCCGGGCGGCCTCAGTGAGCGAGCGAGCGCGCAGCCTTA (SEQ ID NO: 57)

圖 9B

ITR 區域 2-間隔 2

AGGCTGCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGGCCGCCCGGGCAAAGCCCGGGCGTCGGGCGACCTTTGGTCGCCCGGCCTCAGTGAGCGAGCGAG
CGCGCAGAGAGGGAGTGGCCAACTCCATCACTAGGGGTTCTTGTAGTTAATGATTAAACCCGCCATGCTACTTATCTACGCGTAGATAAGTAG
CATGGCGGGTTAATCATTAACTACAAGGAACCCCTAGTGATGGAGTTGGCCACTCCCTCTCTGCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGGCCGGGCGA
CCAAAGGTCGCCCGACGCCCGGGCTTTGCCCGGGCGGCCTCAGTGAGCGAGCGAGCGCGCAGCCTTA (SEQ ID NO: 57)

ITR 區域 3-間隔 1

AGGAACCCCTAGTGATGGAGTTGGCCACTCCCTCTCTGCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGGCCGGGCGACCAAAGGTCGCCCGACGCCCGGGC
TTTGCCCGGGCGGCCTCAGTGAGCGAGCGAGCGCGC (SEQ ID NO: 58)

ITR 區域 3-間隔 2

AGGAACCCCTAGTGATGGAGTTGGCCACTCCCTCTCTGCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGGCCGGGCGACCAAAGGTCGCCCGACGCCCGGGC
TTTGCCCGGGCGGCCTCAGTGAGCGAGCGAGCGCGCAG (SEQ ID NO: 59)

內含子 3

TCGAATCCCGGCCGGGAACGGTGCAATTGGAACGCGGATTCCCCGTGCCAAGAGTGACGTAAGTACCGCCTATAGAGTCTATAGGCCACAAA
AAATGCTTTCTTCTTTTAATATACTTTTTGTTTATCTTATTTCTAATACTTTCCCTAATCTCTTTCTTTCAGGGCAATAATGATACAATGTATCATG
CCTCTTGCACCATTTCTAAAGAATAACAGTGATAATTTCTGGGTTAAGGCAATAGCAATATTTCTGCATATAAATATTTCTGCATATAAATTGTA
ACTGATGTAAGAGGTTTCATATTGCTAATAGCAGCTACAATCCAGCTACCATTTCTGCTTTTATTTTATGGTTGGGATAAGGCTGGATTATTCTGA
GTCCAAGCTAGGCCCTTTTGCTAATCATGTTCATACCTCTTATCTTCTCCACAGCTCCTGGGCAACGTGCTGGTCTGTGTGCTGGCCCATCAC
TTTGGCAAAGAATTGGGA (SEQ ID NO: 116)

內含子 4

GTAAGTTTAGTCTTTTTGTCTTTATTTTCAGGTCCCGGATCCGGTGGTGGTGCAAATCAAAGAACTGCTCCTCAGTGGATGTTGCCTTTACTTCT
AG (SEQ ID NO: 117)

內含子 5

GTAAGTTTAGTCTTTTTGTCTTTATTTTCAG (SEQ ID NO: 118)

內含子 6

ACTTACCATACTTTACCCGGAACTAATCGTCCCACTCTCACATCCTTCATTGCAG (SEQ ID NO: 119)

內含子 7

AAAAGTTCCCGAGCCAGAAGCAGAGAAGATGATGTCAAGAAATCAAGGGGGATAAATGGCCATAGCTGCTGCAAATAGCTTATTGCAGTCTC
TAGAGTGTGGTAAACAGGTTTCCAGTGCCAGCTGTGGAGGTGACAGCGGCAGGGAA (SEQ ID NO: 120)

圖 9C

連接體序列 1

TTATGAAGATCCCTCGACCTGCAGCCCAAGCTTGGCGTAATCATG (SEQ ID NO: 60)

連接體序列 2

GATAAGGATCTTCCTAGAGCATGGCTA (SEQ ID NO: 61)

連接體序列 3

ATGTCTGCCCGTATTTTCGCGTAAGGAAATCCATTATGTACTATTTAAAAACACAACTTTGGATGTTTCGGTTTATTCCTTTTCTTTTACTTTTT
ATCATGGGAGCCTACTTCCCGTCTTTCCCGATTTGGCTACATGACATCAACCATATCAGCAAAAGTGATACGGGTATTATTTTGCCGCTATTC
TCTGTTCTCGCTATTATTCCAACCGCTGTTTGGTCTGCTTTCTGACAACTCGGCCTCGACTCTAGGCGGCCGCGGGGATC (SEQ ID NO: 62)

連接體序列 4

GGAGGGGTGGAGTCGTGACGTGAATTACGTCATAGGGTTAGGGAGGTCCTGTATTAGAGGTCACGTGAGTGTTTTGCGACATTTTTCGACAC
CATGTGGTCACGCTGGGTATTTAAGCCCGAGTGAGCACGCAGGGTCTCC (SEQ ID NO: 63)

連接體序列 5

GGATCCACTCGAGTGGAGCTCGCGACTAGTCGATTCGAATTCGATATCAAGCTTATCGAT (SEQ ID NO: 64)

連接體序列 6

GCCTGTACGGAAGTGTTACTTCTGCTCTAAAAGCTGCGGAATTGTACCCGCGGCCGCAATTCGCGGGGATCGAAAGAGCCTGCTAAAGCAAA
AAAGAA (SEQ ID NO: 65)

連接體序列 7

CCGAACCCGAATTCTGCAGATATCCAGCACAGTGGCGGCCGCTTCGAG (SEQ ID NO: 66)

連接體序列 8

TAGTTTCCATGGCTACGTAGATAAGTAGCATGGCGGGTTAATCATTAACTACA (SEQ ID NO: 67)

連接體序列 9

TGTAGTTAATGATTAAACCCGCCATGCTACTTATCTACGTAGCCATGCTCGATCTGAATTCGGTA (SEQ ID NO: 68)

連接體序列 10

GGCCGCGGGGATCC (SEQ ID NO: 69)

連接體序列 11

GGTTCGAACAG (SEQ ID NO: 70)

圖 9D

連接體序列 12

CATGTTTCATGCCTTCTTCTTTTCCTACAGCTCCTGGGCAACGTGCTGGTTATTGTGCTGTCTCATCATTTTGGCAAAGAATTCTGCAGTCGACG
GTACCGCGGGCCCGGGATCCACCGG (SEQ ID NO: 71)

連接體序列 13

GCGGCCGCACGCGTGTACTAGTTATTAAT (SEQ ID NO: 72)

連接體序列 14

CACTAGAAGCTTTATTGCGGTAGTTTATCACAGTTAAATTGCTAACGCAGTCAGTGCTTCTGACACAACAGTCTCGAACTTAAGCTGCAGAAGT
TGGTCGTGAGGCACTGGGCAG (SEQ ID NO: 73)

連接體序列 15

None

連接體序列 16

GCCTGGAGACGCCATCCACGCTGTTTTGACCTCCATAGAAGACACCGGGACCGATCCAGCCTCCGGAC (SEQ ID NO: 74)

連接體序列 17

GGATCCACTCGAGTGGAGCTCGCGACTAGTCGATTCTGAATTCGATATCAAGCTTATCGAT (SEQ ID NO: 64)

連接體序列 18

GTGTCCACTCCCAGTTCAATTACAGCTCTTAAGGCTAGAGTACTTAATACGACTCACTATAGGCTAGCCTCGAGAATTCACGCGTGGTACCGAG
CTCGGATCCACTAGTCCAAGTGTGGTGGAATTCGGGCGGG (SEQ ID NO: 75)

連接體序列 19

TGTAATTTAGAAAAATAACAAATAGGGGTTCCGCGCACATTTCCCCGAAAAGTGCCACCTGGTC (SEQ ID NO: 76)

連接體序列 20

TAGCCATGCTCTAGGAAGATCGTACC (SEQ ID NO: 77)

連接體序列 21

GAATTCGAGCTTGCATGCCTGCAGGT (SEQ ID NO: 78)

連接體序列 22

GTGTCCACTCCCAGTTCAATTACAGCTCTTAAGGCTAGAGTACTTCTAGCCTCGAG (SEQ ID NO: 79)

連接體序列 23

AAATCGATAAGGATCCTAGAGCATGGCTACGTAGATAAGTAGCATGGCGGGTTAATCATTA ACTACA (SEQ ID NO: 80)

連接體序列 24

GGCCCGGGATCCA (SEQ ID NO: 81)

圖 9E

連接體序列 25

GTTGAATTCGATATCGGATCCATCGATACCGTCGACCTCGAGGGGGGGCCCGGTACC (SEQ ID NO: 82)

連接體序列 26

CAATTCGCCCTATAGTGAGTCGTATTACGCGCGCAGCGGCCGAC (SEQ ID NO: 83)

連接體序列 27

TTCGAG

連接體序列 28

TGTAGTTAATGATTAACCCGCCATGCTACTTATCTACGTAGCCATGCTCTAGATCT (SEQ ID NO: 84)

連接體序列 29

AGCGGCCGCACTCCTCAG (SEQ ID NO: 85)

連接體序列 30

ATCGATACCGTCGACCCGGGC (SEQ ID NO: 86)

連接體序列 31

AACC

連接體序列 32

CAGATCGCCTGGAGACGCCATCCACGCTGTTTTGACCTCCATAGAAGACACCGGGACCGATCCAGCCTCCGGACTCTAGAGGATCCGGTACTC
GAGGAACTGAAAAACAGAAAGTTAACTG (SEQ ID NO: 87)

連接體序列 33

CCGGACCACGTGCGGACCGAGCGGCCGC (SEQ ID NO: 88)

連接體序列 34

GTGTCCACTCCCAGTTCAATTACAGCTCTTAAGGCTAGAGTACTTCTAGCCTCGAGAATTCACGCGTGGTACCGAGCTCGGATCCACTAGTCCA
GTGTGGTGGAATTCGGGCGGG (SEQ ID NO: 89)

連接體序列 35

AAATCGATAAGGATCCTAGAGCATGGCTACGTAGATAAGTAGCATGGCGGGTTAATCATTA ACTACA (SEQ ID NO: 80)

連接體序列 36

TTATTTGTGAAATTTGTGATGCTATTGCTTTATTTGTAACCATTATAAGCTGCAATAAACAAGTTAA (SEQ ID NO: 90)

圖 9F

UTR 序列 1

TAATAATAACCGGGCAGGCC (SEQ ID NO: 91)

UTR 序列 2

AGCCGCGAGACGGGCGCTCAGGGCGCGGGGCCGGCGGCGGCGAACGAGAGGACGGACTCTGGCGGCCGGGTCGTTGGCCGCGGGGAGCG
CGGGCACCGGGCGAGCAGGCCGCGTCGCGCTCACC (SEQ ID NO: 92)

UTR 序列 3

GGGGCTCGGGTGCAGCGGCCAGCGGGCCTGGCGGCGAGGATTACCCGGGGAAGTGGTTGTCTCCTGGCTGGAGCCGCGAGACGGGCGCTC
AGGGCGCGGGGCCGGCGGCGGCGAACGAGAGGACGGACTCTGGCGGCCGGGTCGTTGGCCGGGGGAGCGCGGGCACCGGGCGAGCAGG
CCGCGTCGCGCTCACC (SEQ ID NO: 93)

UTR 序列 4

AGGACTCATTA AAAAGTAAC (SEQ ID NO: 94)

UTR 序列 5

GGGGCTCGGGTGCAGCGGCCAGCGGGCGCCTGGCGGCGAGGATTACCCGGGGAAGTGGTTGTCTCCTGGCTGGAGCCGCGAGACGGGCGC
TCAGGGCGCGGGGCCGGCGGCGGCGAACGAGAGGACGGACTCTGGCGGCCGGGTCGTTGGCCGCGGGGAGCGCGGGCACCGGGCGAGCA
GGCCGCGTCGCGCTCACC (SEQ ID NO: 95)

UTR 序列 6

AGC

UTR 序列 7

CCACC

UTR 序列 8

GTCACC

圖 9G

UTR 序列 9

GGGCGGGTGCATCAATGCGGCCGAAAAAGACACGGACACGCTCCCCTGGGACCTGAGCTGGTTCGCAGTCTTCCCAAAGGTGCCAAGCAAG
CGTCAGTTCCTCAGGCGCTCCAGGTTCAGTGCCTTGCGCCGAGGGTCTCCGGTGCCTTCCTAGACTTCTCGGGACAGTCTGAAGGGGTGAG
GAGCGGCGGGACAGCGCGGGAAGAGCAGGCAAGGGGAGACAGCCGGAAGTGGCCTCAGTCTCCGTGCCAAGAACACCGTCGCGGAGGC
GCGGCCAGCTTCCCTTGATCGGACTTTCGCCCCCTAGGGCCAGGCGGCGGAGCTTCAGCCTTGTCCTTCCCCAGTTTCGGGCGGGCCCCAG
AGCTGAGTAAGCCGGGTGGAGGGAGTCTGCAAGGATTTCTGAGCGCGATGGGCAGGAGGAGGGGCAAGGGCAAGAGGGCGCGGAGCAA
AGACCCTGAACCTGCCGGGGCCGCGCTCCGGGGCCCGCGTCGCCAGCACCTCCCCACGCGCGCTCGGCCCGGGGCCACCCGCCCTCGTCGGC
CCCCGCCCTCTCCGTAGCCGCAGGGAAGCGAGCCTGGGAGGAAGAAGAGGGTAGGTGGGGAGGCGGATGAGGGGTGGGGGACCCCTTG
ACGTCACCAGAAGGAGGTGCCGGGGTAGGAAGTGGGCTGGGGAAAGGTTATAAATCGCCCCGCCCTCGGCTGCTCTTCATCGAGGTCCGC
GGGAGGCTCGGAGCGCGCCAGGCGGACACTCCTCTCGGCTCCTCCCCGGCAGCGGCGGGCGGCTCGGAGCGGGCTCCGGGGCTCGGGTGCA
GCGGCCAGCGGGCGCCTGGCGGCGAGGATTACCCGGGGAAGTGGTTGTCTCCTGGCTGGAGCCGCGAGACGGGCGCTCAGGGCGCGGGGC
CGGCGGCGGCGAACGAGAGGACGGACTCTGGCGGCCGGGTCGTTGGCCGCGGGGAGCGCGGGCACCGGGCGAGCAGGCCGCGTCGCGCT
CACC (SEQ ID NO: 96)

UTR 序列 10

TTGCTTGTTAATCAATAAACCGTTTAATTCGTTTCAGTTGAACTTTGGTCTCTGCGTATTTCTTCTTATC (SEQ ID NO: 97)

UTR 序列 11

ATTTTGAAGCGGGAGGTTTGAACGCGCAGCCGCC (SEQ ID NO: 98)

UTR 序列 12

CCGGTCGCCACC (SEQ ID NO: 99)

UTR 序列 13

GGGGCTCGGGTGCAGCGGCCAGCGGGCGCCTGGCGGCGAGGATTACCCGGGGAAGTGGTTGTCTCCTGGCTGGAGCCGCGAGACGGGCGC
TCAGGGCGCGGGGCCGGCGGCGGCGAACGAGAGGACGGACTCTGGCGGCCGGGTCTTTGGCCGCGGGGAGCGCGGGCACCGGGCGAGCA
GGCCGCGTCGCGCTCACC (SEQ ID NO: 100)

UTR 序列 14

TCGCCACC

UTR 序列 15

GGGGTGGGGGACCCCTTGACGTCACCAGAAGGAGGTGCCGGGGTAGGAAGTGGGCTGGGGAAAGGTTATAAATCGCCCCGCCCTCGGCT
GCTCTTCATCGAGGTCCGCGGGAGGCTCGGAGCGCGCCAGGCGGACACTCCTCTCGGCTCCTCCCCGGCAGCGGCGGCGGCTCGGAGCGGG
CTCCGGGGCTCGGGTGCAGCGGCCAGCGGGCGCCTGGCGGCGAGGATTACCCGGGGAAGTGGTTGTCTCCTGGCTGGAGCCGCGAGACGG
GCGCTCAGGGCGCGGGGCCGGCGGCGGCGAACGAGAGGACGGACTCTGGCGGCCGGGTCGTTGGCCGCGGGGAGCGCGGGCACCGGGCG
AGCAGGCCGCGTCGCGCTCACC (SEQ ID NO: 101)

UTR 序列 16

GCGGCCGC

圖 9H

sFLT-1

ATGGTCAGCTACTGGGACACCGGGGTCCTGCTGTGCGCGCTGCTCAGCTGTCTGCTTCTCACAGGATCTAGTTCAGGTTCAAAATTAAAAGAT
CCTGAACTGAGTTTAAAAGGCACCCAGCACATCATGCAAGCAGGCCAGACACTGCATCTCCAATGCAGGGGGGAAGCAGCCCATAAATGGTC
TTTGCTGAAATGGTGAGTAAGGAAAGCGAAAGGCTGAGCATAACTAAATCTGCCTGTGGAAGAAATGGCAAACAATTCTGCAGTACTTTAA
CCTTGAACACAGCTCAAGCAAACCACTGGCTTCTACAGCTGCAAATATCTAGCTGTACCTACTTCAAAGAAGAAGGAAACAGAATCTGCAA
TCTATATATTTATTAGTGATACAGGTAGACCTTTCTGAGAGATGTACAGTGAAATCCCCGAAATTATACACATGAETGAAGGAAGGGAGCTCG
TCATTCCCTGCCGGGTACGTCACCTAACATCACTGTTACTTTAAAAAGTTCCACTTGACACTTTGATCCCTGATGGAAAACGCATAATCTGG
GACAGTAGAAAGGGCTTCATCATATCAAATGCAACGTACAAAGAAATAGGGCTTCTGACCTGTGAAGCAACAGTCAATGGGCATTTGTATAA
GACAACTATCTCACACATCGACAAACCAATACAATCATAGATGTCCAAATAAGCACACCACGCCAGTCAAATTACTTAGAGGCCATACTCTT
GTCCTCAATTGTACTGCTACCACTCCCTTGAACACGAGAGTTCAAATGACCTGGAGTTACCCTGATGAAAAAATAAGAGAGCTTCCGTAAGG
CGACGAATTGACCAAAGCAATTCCCATGCCAACATATTCTACAGTGTTCTTACTATTGACAAAATGCAGAACAAAGACAAAGGACTTTATACTT
GTCGTGTAAGGAGTGGACCATCATTCAAATCTGTAAACACCTCAGTGCATATATATGATAAAGCATTCACTGTGAAACATCGAAAACAGC
AGGTGCTTGAAACCGTAGCTGGCAAGCGGTCTTACCGGCTCTCTATGAAAGTGAAGGCATTTCCCTCGCCGGAAGTTGTATGGTTAAAAGATG
GGTTACCTGCGACTGAGAAATCTGCTCGCTATTTGACTCGTGGCTACTCGTTAATTATCAAGGACGTAAGTGAAGAGGATGCAGGGAATTATA
CAATCTTGCTGAGCATAAAACAGTCAAATGTGTTTAAAAACCTCACTGCCACTCTAATTGTCAATGTGAAACCCCAGATTTACGAAAAGGCCGT
GTCATCGTTTCCAGACCCGGCTCTCTACCACTGGGCAGCAGACAAATCCTGACTTGTAACCGCATATGGTATCCCTCAACCTACAATCAAGTGG
TTCTGGCACCCCTGTAACCATAATCATTCCGAAGCAAGGTGTGACTTTTGTCCAATAATGAAGAGTCCTTTATCCTGGATGCTGACAGCAACA
TGGGAAACAGAATTGAGAGCATCACTCAGCGCATGGCAATAATAGAAGGAAAGAATAAGATGGCTAGCACCTTGGTTGTGGCTGACTCTAGA
ATTTCTGGAATCTACATTTGCATAGCTTCCAATAAAGTTGGGACTGTGGGAAGAAACATAAGCTTTTATATCACAGATGTGCCAAATGGGTTTC
ATGTTAACTTGGAAAAAATGCCGACGGAAGGAGAGGACCTGAAACTGTCTTGACAGTTAACAAGTTCTTATACAGAGACGTTACTTGGATT
TACTGCGGACAGTTAATAACAGAACAATGCACTACAGTATTAGCAAGCAAAAAATGGCCATCACTAAGGAGCACTCCATCACTCTTAATCTTAC
CATCATGAATGTTTCCCTGCAAGATTCAAGGCACCTATGCCTGCAGAGCCAGGAATGTATACACAGGGGAAGAAATCCTCCAGAAGAAAGAAA
TTACAATCAGAGGTGAGCACTGCAACAAAAGGCTGTTTCTCTCGGATCTCCAAATTTAAAAGCACAGGAATGATTGTACCACACAAAGTA
ATGTAAAACATTAA (SEQ ID NO: 102)

VEGF-Trap

AAGCTTGGGCTGCAGGTCGATCGACTCTAGAGGATCGATCCCCGGGCGAGCTCGAATTCGCAACCACCATGGTCAGCTACTGGGACACCGGG
GTCCTGCTGTGCGCGCTGCTCAGCTGTCTGCTTCTCACAGGATCTAGTTCGGGAGGTAGACCTTTCGTAGAGATGTACAGTGAAATCCCCGAA
ATTATACACATGACTGAAGGAAGGGAGCTCGTCATTCCCTGCCGGGTACGTACCTAACATCACTGTTACTTTAAAAAGTTTCCACTTGACA
CTTTGATCCCTGATGGAAAACGCATAATCTGGGACAGTAGAAAGGGCTTCATCATATCAAATGCAACGTACAAAGAAATAGGGCTTCTGACCT
GTGAAGCAACAGTCAATGGGCATTTGTATAAGACAACTATCTCACACATCGACAAACCAATACAATCATAGATGTGGTTCTGAGTCCGTCTC
ATGGAATTGAACTATCTGTTGGAGAAAAGCTTGTCTTAAATTGTACAGCAAGAACTGAACTAAATGTGGGGATTGACTTCAACTGGGAATACC
CTTCTTCAAGCATCAGCATAAGAACTTGTAACCGAGACCTAAAAACCCAGTCTGGGAGTGAGATGAAGAAATTTTGGAGCACCTTAACTA
TAGATGGTGTAACCCGGAGTGACCAAGGATTGTACACCTGTGCAGCATCCAGTGGGCTGATGACCAAGAAGAACAGCACATTTGTGAGGGTC
CATGAAAAGGGCCCGGGCGACAAACTCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCA
AAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCCTGAGGTCAAGTTCAA
CTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTC
ACCGTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCC
AAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCATCCCGGGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGACCTGCCT
GGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTG
GACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCAT
GAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGAGCGGCCGC (SEQ ID NO: 103)

圖 10A

VEGF-Trap

ATGGTCAGCTACTGGGACACCGGGGTCCTGCTGTGCGCGCTGCTCAGCTGTCTGCTTCTCACAGGATCTAGTTCCGGAAAGTGATACCGGTAGA
CCTTTCGTAGAGATGTACAGTGAAATCCCCGAAATTATACACATGACTGAAGGAAGGGAGCTCGTCATTCCCTGCCGGGTACGTCACCTAAC
ATCACTGTTACTTTAAAAAAGTTTCCACTTGACACTTTGATCCCTGATGGAAAACGCATAATCTGGGACAGTAGAAAGGGCTTCATCATATCAA
ATGCAACGTACAAAGAAATAGGGCTTCTGACCTGTGAAGCAACAGTCAATGGGCATTTGTATAAGACAAACTATCTCACACATCGACAAACCA
ATACAATCATAGATGTGGTTCTGAGTCCGTCTCATGGAATTGAACTATCTGTTGGAGAAAAGCTTGTCTTAAATTGTACAGCAAGAACTGAACT
AAATGTGGGGATTGACTTCAACTGGGAATACCCTTCTCGAAGCATCAGCATAAGAACTTGTAAACCGAGACCTAAAAACCCAGTCTGGGAG
TGAGATGAAGAAATTTTGAACACCTTAAGTATAGATGGTGTAAACCCGGAGTGACCAAGGATTGTACACCTGTGCAGCATCCAGTGGGCTGAT
GACCAAGAAGAACAGCACATTTGTCAGGGTCCATGAAAAGGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGAC
CGTCAGTCTTCCCTCTTCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACG
AAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCAC
GTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAG
CCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCATCCCGGGATGAGCTGACCAAG
AACCAGGTGAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACT
ACAAGACCACGCCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAAC
GTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA (SEQ ID NO: 104)

VEGF-Trap

AAGCTTGGGCTGCAGGTCGATCGACTCTAGAGGATCGATCCCCGGGCGAGCTCGAATTGGCAACCACCATGGTCAGCTACTGGGACACCGGG
GTCCTGCTGTGCGCGCTGCTCAGCTGTCTGCTTCTCACAGGATCTAGTTCCGGAGGTAGACCTTTCGTAGAGATGTACAGTGAAATCCCCGAA
ATTATACACATGACTGAAGGAAGGGAGCTCGTCATTCCCTGCCGGGTACGTCACCTAACATCACTGTTACTTTAAAAAAGTTTCCACTTGACA
CTTTGATCCCTGATGGAAAACGCATAATCTGGGACAGTAGAAAGGGCTTCATCATATCAAATGCAACGTACAAAGAAATAGGGCTTCTGACCT
GTGAAGCAACAGTCAATGGGCATTTGTATAAGACAAACTATCTCACACATCGACAAACCAATACAATCATAGATATCCAGCTGTTGCCAGGA
AGTCGCTGGAGCTGCTGGTAGGGGAGAAGCTGGTCCTCAACTGCACCGTGTGGGCTGAGTTTAACTCAGGTGTCACCTTTGACTGGGACTAC
CCAGGGAAGCAGGCAGAGCGGGGTAAGTGGGTGCCCGAGCGACGCTCCCAACAGACCCACACAGAAGCTCTCCAGCATCCTGACCATCCACA
ACGTCAGCCAGCACGACCTGGGCTCGTATGTGTGCAAGGCCAACACGGCATCCAGCGATTTCCGGGAGAGCACCGAGGTGATTGTGCATGAA
AATGGCCCCGGGCGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCTTCCCCCAAAACCC
AAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTA
CGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCCAGCGTCCTCACCGTC
CTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGC
CAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCATCCCGGGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGACCTGCCTGGTCA
AAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGTGGACTCC
GACGGCTCCTTCTTCTCTATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCT
CTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGAGCGGCCGC (SEQ ID NO: 105)

樂舒晴/雷珠單抗蛋白質序列(hVEGF 受體融合蛋白)

DIQLTQSPSSLSASVGDRVITITCSASQDISNYLNWYQQKPGKAPKVLITYFTSSLHSGVPS
RFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQYSTVPWTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPP
SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYSLSSTLT
LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 106)

圖 10B

編碼樂舒晴/雷珠單抗之 DNA 序列 1 (自蛋白質序列生成)

GATATTCAGCTGACCCAGAGCCCGAGCAGCCTGAGCGCGAGCGTGGGCGATCGCGTGACCATTACCTGCAGCGCGAGCCAGGATATTAGCA
ACTATCTGAACTGGTATCAGCAGAAACCG
GGCAAAGCGCCGAAAGTGCTGATTTATTTTACCAGCAGCCTGCATAGCGGCGTGCCGAGC
CGCTTTAGCGGCAGCGGCAGCGGCACCGATTTTACCCTGACCATTAGCAGCCTGCAGCCG
GAAGATTTTGCAGACCTATTATTGCCAGCAGTATAGCACCGTGCCGTGGACCTTTGGCCAG
GGCACCAAAGTGGAATTAAACGCACCGTGCGGGCGCCGAGCGTGTTTATTTTTCCGCCG
AGCGATGAACAGCTGAAAAGCGGCACCGCGAGCGTGCGTGTGCCTGCTGAACAACCTTTAT
CCGCGCGAAGCGAAAGTGCAAGTGGAAGTGGAACGCGCTGCAGAGCGGCAACAGCCAG
GAAAGCGTGACCGAACAGGATAGCAAAGATAGCACCTATAGCCTGAGCAGCACCTGACC
CTGAGCAAAGCGGATTATGAAAAACATAAAGTGTATGCGTGCGAAGTGACCCATCAGGGC
CTGAGCAGCCCGGTGACCAAAGCTTTAACCGCGGCGAATGC (SEQ ID NO: 107)

編碼樂舒晴/雷珠單抗之 DNA 序列 2 (自蛋白質序列生成)

GATATTCAATTGACTCAATCTCCTTCTTCTTTGTCTGCTTCTGTTGGTGATCGTGTTACTATTACTTGTCTGCTTCTCAAGATATTTCTAATTATTT
GAATTGGTATCAACAAAAACCTGGTAAAGCTCCTAAAGTTTTGATTATTTTACTTCTTCTTTGCATTCTGGTGTTCTTCTCGTTTTTCTGGTTCT
GGTTCTGGTACTGATTTTACTTTGACTATTTCTTCTTTGCAACCTGAAGATTTTGCTACTTATTATTGTCAACAATATTCTACTGTTCTTGGACTT
TTGGTCAAGGTACTAAAGTTGAAATTAAACGTAAGTGTGCTGCTCCTTCTGTTTTTATTTTTCTCCTTCTGATGAACAATTGAAATCTGGTACTG
CTTCTGTTGTTTGTGTTGAATAATTTTATCCTCGTGAAGCTAAAGTTCAATGGAAAGTTGATAATGCTTTGCAATCTGGTAATTCTCAAGAA
TCTGTTACTGAACAAGATTCTAAAGATTCTACTTATTCTTTGTCTTCTACTTTGACTTTGTCTAAAGCTGATTATGAAAAACATAAAGTTTATGCT
TGTGAAGTTACTCATCAAGGTTTGTCTTCTCTGTTACTAAATCTTTAATCGTGGTGAATGT (SEQ ID NO: 108)

圖 10C

MVSYWDTGVLLCALLSCLLLTGSSSGSKLKDPESLKGQTQHIAGQTLHLQCRGEAAMQ
HKWSLPPEMVSKESERLSITKSACGRNGKQFCSTLTNNTAQANHTGFYSCKYLAVPTSK
KKETESAIYIFISDTGRPFVEMYSEIPEIIHMTEGRELVIPCRVTSPNITVTLKKFPL
DTLIPDGKRIIWDSRKGFIIISNATYKEIGLLTCEATVNGHLYKTNYLTHRQNTIIDV
QISTPRPVKLLRGHTLVLNCTATTPLNTRVQMTWSYPDEKNKRASVRRRIDQSNSHAN
IFYSVLTIDKMQNKDKGLYTCRVRSGPSFKSVNTSVHIYDKAFITVKHRKQQVLETVA
GKRSYRLSMKVKAFPSPEVVWLKDGLPATEKSARYLTRGYSLIKDVTEEDAGNYTIL
LSIKQSNVFKNLTATLIVNVKPQIYEKAVSSFPDPALYPLGSRQ (SEQ ID NO: 109)

圖 11

吉歐黴素抗性

ATGGCCAAGTTGACCAAGTGCCGTTCCGGTGCTCACCGCGCGGACGTGCGCCGGAGCGGTGAGTTCTGGACCGACCGGCTCGGGTTCTCCCG
GGACTTCGTGGAGGACGACTTCGCCGGTGTGGTCCGGGACGACGTGACCTGTTTCATCAGCGCGGTCCAGGACCAGGTGGTGCCGGACAAC
ACCCTGGCCTGGGTGTGGGTGCGCGGGCTGGACGAGCTGTACGCCGAGTGGTCGGAGGTCTGTCCACGAACTTCGGGGACGCTCCGGGC
CGGCCATGACCGAGATCGGCGAGCAGCGTGCGGGGCGGGAGTTCGCCCTGCGCGACCCGGCCGGCAACTGCGTGCCTTCGTGGCCGAGG
AGCAGGACTGA (SEQ ID NO: 110)

吉歐黴素抗性

ATGTCTAAATTAACCTCTGCTGTTCCAGTGTTAACC GCCCGTGATGTTGCCGGTGCAGTGGAATTTTGGACTGACCGTTTGGGTTTCTCACGTG
ACTTTGTGAAGATGATTTTGCTGGCGTTGTGCGTGATGACGTCACTTTGTTTCATCTCTGCTGTTCAGGATCAGGTGTCCTCCAGACAACACTTT
GGCCTGGGTCTGGGTTCGTGGTTTGGACGAATTGTACGCTGAGTGGAGTGAAGTTGTGTCTACAACTTTCGTGATGCATCAGGTCCAGCTAT
GACCGAAATTGGCGAACAACCTTGGGGCCGTGAGTTCGCTTACGTGATCCAGCCGGTAATTGCGTGCCTTCGTTGCTGAGGAGCAAGATT
AG (SEQ ID NO: 111)

Amp

ATGAGTATTCAACATTTCCGTGTCGCCCTTATTCCTTTTTTGCGGCATTTTGCTTCCTGTTTTTGCTCACCCAGAAACGCTGGTGAAAGTAAAA
GATGCTGAAGATCAGTTGGGTGCACGAGTGGGTACATCGAACTGGATCTCAACAGCGGTAAGATCCTTGAGAGTTTTCGCCCCGAAGAACG
TTTTCCAATGATGAGCACTTTTAAAGTTCTGCTATGTGGCGCGGTATTATCCCGTATTGACGCCGGGCAAGAGCAACTCGGTGCGCGCATACAC
TATTCTCAGAATGACTTGTTGAGTACTCACCAGTCACAGAAAAGCATCTTACGGATGGCATGACAGTAAGAGAATTATGCAGTGCTGCCATA
ACCATGAGTGATAACACTGCGGCCAACTTACTTCTGACAACGATCGGAGGACCGAAGGAGCTAACCGCTTTTTTGCAACAACATGGGGGATCAT
GTAACCTCGCTTGATCGTTGGGAACCGGAGCTGAATGAAGCCATACCAAACGACGAGCGTGACACCACGATGCCTGTAGCAATGGCAACAAC
GTTGCGCAAACCTATTAACCTGGCGAACTACTTACTCTAGCTTCCCGGCAACAATTAATAGACTGGATGGAGGCGGATAAAGTTGCAGGACCACT
TCTGCGCTCGGCCCTTCCGGCTGGCTGGTTTATTGCTGATAAATCTGGAGCCGGTGAGCGTGGGTCTCGCGGTATCATTGCAGCACTGGGGCC
AGATGGTAAGCCCTCCCGTATCGTAGTTATCTACACGACGGGGAGTCAGGCAACTATGGATGAACGAAATAGACAGATCGCTGAGATAGGTG
CCTCACTGATTAAGCATTGGTAA (SEQ ID NO: 112)

Amp

ATGAGTATTCAACATTTCCGTGTCGCCCTTATTCCTTTTTTGCGGCATTTTGCTTCCTGTTTTTGCTCACCCAGAAACGCTGGTGAAAGTAAAA
GATGCTGAAGATCAGTTGGGTGCACGAGTGGGTACATCGAACTGGATCTCAACAGCGGTAAGATCCTTGAGAGTTTTCGCCCCGAAGAACG
TTTTCCAATGATGAGCACTTTTAAAGTTCTGCTATGTGGCGCGGTATTATCCCGTATTGACGCCGGGCAAGAGCAACTCGGTGCGCGCATACAC
TATTCTCAGAATGACTTGTTGAGTACTCACCAGTCACAGAAAAGCATCTTACGGATGGCATGACAGTAAGAGAATTATGCAGTGCTGCCATA
ACCATGAGTGATAACACTGCGGCCAACTTACTTCTGACAACGATCGGAGGACCGAAGGAGCTAACCGCTTTTTTGCAACAACATGGGGGATCAT
GTAACCTCGCTTGATCGTTGGGAACCGGAGCTGAATGAAGCCATACCAAACGACGAGCGTGACACCACGATGCCTGTAGCAATGGCAACAAC
GTTGCGCAAACCTATTAACCTGGCGAACTACTTACTCTAGCTTCCCGGCAACAATTAATAGACTGGATGGAGGCGGATAAAGTTGCAGGACCACT
TCTGCGCTCGGCCCTTCCGGCTGGCTGGTTTATTGCTGATAAATCTGGAGCCGGTGAGCGTGGGTCTCGCGGTATCATTGCAGCACTGGGGCC
AGATGGTAAGCCCTCCCGTATCGTAGTTATCTACACGACGGGGAGTCAGGCAACTATGGATGAACGAAATAGACAGATCGCTGAGATAGGTG
CCTCACTGATTAAGCATTGGTAA (SEQ ID NO: 112)

圖 12A

新黴素

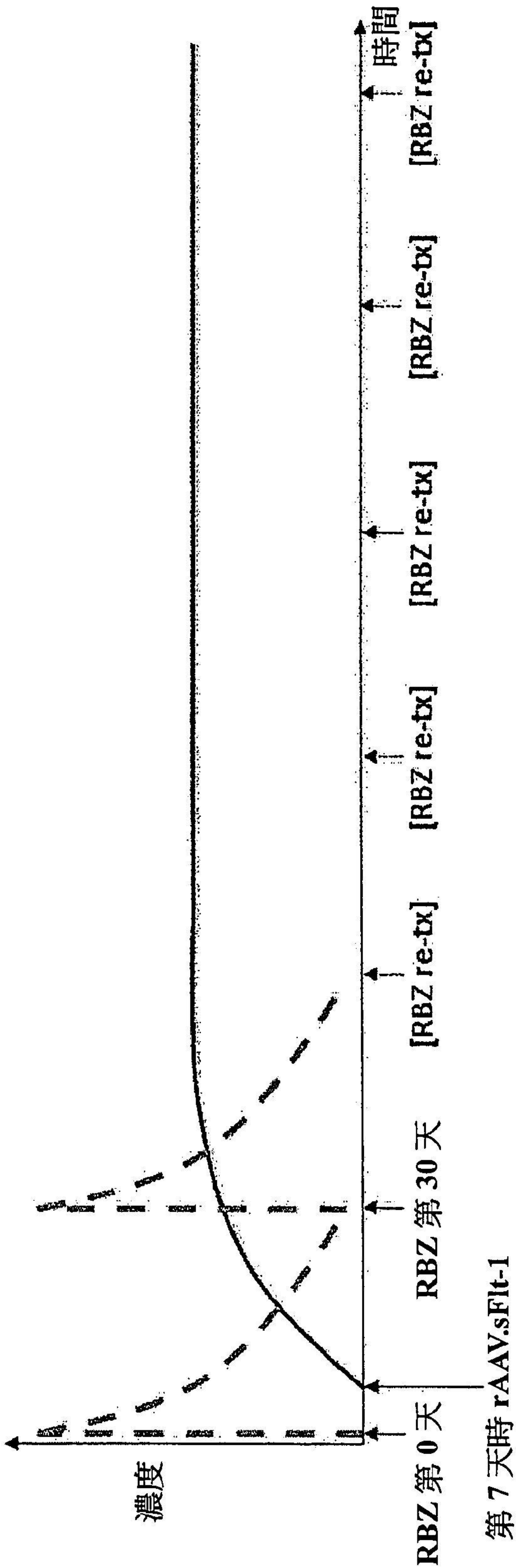
ATGATTGAACAAGATGGATTGCACGCAGGTTCTCCGGCCGCTTGGGTGGAGAGGCTATTCGGCTATGACTGGGCACAACAGACAATCGGCTG ,
CTCTGATGCCGCCGTGTTCCGGCTGTCAGCGCAGGGGCGCCGGTTCCTTTTGTCAAGACCGACCTGTCCGGTGCCCTGAATGAACTGCAGGA
CGAGGCAGCGCGGCTATCGTGGCTGGCCACGACGGGCGTTCCTTGCGCAGCTGTGCTCGACGTTGTCACTGAAGCGGGAAGGGACTGGCTG
CTATTGGGCGAAGTGCCGGGGCAGGATCTCCTGTCATCTCACCTTGCTCCTGCCGAGAAAGTATCCATCATGGCTGATGCAATGCGGCGGCTG
CATACGCTTGATCCGGCTACCTGCCATTTCGACCACCAAGCGAAACATCGCATCGAGCGAGCACGTA CTGGATGGAAGCCGGTCTTGTCGAT
CAGGATGATCTGGACGAAGAGCATCAGGGGCTCGCGCCAGCCGAACTGTTCCGCCAGGCTCAAGGCGCGCATGCCCGACGGCGAGGATCTCG
TCGTGACCCATGGCGATGCCTGCTTGCCGAATATCATGGTGGAATGGCCGCTTTTCTGGATTTCATCGACTGTGGCCGGCTGGGTGTGGCG
GACCGCTATCAGGACATAGCGTTGGCTACCCGTGATATTGCTGAAGAGCTTGGCGGCGAATGGGCTGACCGCTTCCTCGTGCTTTACGGTATC
GCCGCTCCCGATTTCGCAGCGCATCGCCTTCTATCGCCTTCTTGACGAGTTCTTCTGA (SEQ ID NO: 113)

安比西林抗性

AGGTGGCACTTTTCGGGGAAATGTGCGCGGAACCCCTATTTGTTTATTTTTCTAAATACATTCAAATATGTATCCGCTCATGAGACAATAACCCT
GATAAATGCTTCAATAATATTGAAAAAGGAAGAGTATGAGTATTCAACATTTCCGTGTCGCCCTTATTCCCTTTTTTGCGGCATTTTGCCTTCCT
GTTTTTGCTCACCCAGAAACGCTGGTGAAAGTAAAAGATGCTGAAGATCAGTTGGGTGCACGAGTGGGTTACATCGAACTGGATCTCAACAG
CGGTAAGATCCTTGAGAGTTTTCGCCCCGAAGAACGTTTTCCAATGATGAGCACTTTTAAAGTTCTGCTATGTGGCGCGGTATTATCCCGTGT
GACGCCGGGCAAGAGCAACTCGGTGCGCGCATACACTATTCTCAGAATGACTTGGTTGAGTACTACCAGTCACAGAAAAGCATCTTACGGAT
GGCATGACAGTAAGAGAATTATGCAGTGCTGCCATAACCATGAGTGATAACACTGCGGCCAACTTACTTCTGACAACGATCGGAGGACCGAA
GGAGCTAACCGCTTTTTTGCAACAATGGGGGATCATGTAATCGCCTTGATCGTTGGGAACCGGAGCTGAATGAAGCCATACCAAACGACG
AGCGTGACACCAGATGCCTGCAGCAATGGCAACAACGTTGCGCAAATTAATACTGGCGAACTACTTACTCTAGCTTCCCGGCAACAATTAA
TAGACTGGATGGAGGCGGATAAAGTTGCAGGACCACTTCTGCGCTCGGCCCTTCCGGCTGGCTGGTTTATTGCTGATAAATCTGGAGCGGT
GAGCGTGGGTCTCGCGGTATCATTGCAGCACTGGGGCCAGATGGTAAGCCCTCCCGTATCGTAGTTATCTACACGACGGGGAGTCAGGCAAC
TATGGATGAACGAAATAGACAGATCGCTGAGATAGGTGCCTCACTGATTAAGCATTGGTAAGTGTGAGACCAAGTTTACTCATATATACTTTA
GATTGATTTAAACTTCATTTTTAATTTAAAGGATCTAGGTGAAGATCCTTTTTGATAATCTCATGACCAAAATCCCTAACGTGAGTTTTCGTT
CCACTGAGCGTCAGACCCCGTAGAAAAGATCAAAGGATCTTCTTGAGATCCTTTTTTCTGCGCGTAATCTGCTGCTTGCAAACAAAAAACCA
CCGCTACCAGCGGTGGTTTGTGTTGCCGGATCAAGAGCTACCAACTCTTTTTCCGAAGGTAAGTGGCTTCAGCAGAGCGCAGATACCAAATAET
GTCCTTCTAGTGAGCCGTAGTTAGGCCACCACTTCAAGAACTCTGTAGCACCGCCTACATACCTCGCTCTGCTAATCCTGTTACCAGTGGCTGC
TGCCAGTGGCGATAAGTCGTGTCTTACCGGGTGGACTCAAGACGATAGTTACCGGATAAGGCGCAGCGGTGCGGCTGAACGGGGGGTTGCG
TGCACACAGCCCAGCTTGGAGCGAACGACCTACACCGAACTGAGATACCTACAGCGTGAGCTATGAGAAAGCGCCACGCTTCCCGAAGGGAG
AAAGGCGGACAGGTATCCGGTAAGCGGCAGGGTGGGAACAGGAGAGCGCACGAGGGAGCTTCCAGGGGGAAACGCCTGGTATCTTTATAG
TCCTGTGCGGTTTCGCCACCTCTGACTTGAGCGTCGATTTTGTGATGCTCGTCAGGGGGGCGGAGCCTATGGAAAAACGCCAGCAACGCGG
CCTTTTTACGGTTCCTGGCCTTTTGCTGGCCTTTTGCTCACATGTTCTTTCCTGCGTTATCCCTGATTCTGTGGATAACCGTATTACCGCCTTTGA
GTGAGCTGATACCGCTCGCCGACGCCGAACGACCGAGCGCAGCGAGTCAGTGAGCGAGGAAGCGGAAGAGCGCCTGATGCGGTATTTTCTC
CTTACGCATCTGTGCGGTATTTACACCGCATATGGTGCACTCTCAGTACAATCTGCTCTGATGCCGCATAGTTAAGCCAGTAT (SEQ ID NO:
114)

圖 12B

AAV 表現動力學告知臨床研究之投藥時間表



- 藉由表現動力學告知患有濕式 AMD 之人類中之 rAAV.sFlt-1 之安全性及功效的研究方案
- rAAV.sFlt-1 在 6-8 週時達到抗 VEGF 蛋白質 sFLT-1 之最佳表現
- 所有組中之個體在第 0 天及第 30 天時均接受兩次 0.5 mg 雷珠單抗之強制注射
- 預計對照組中更需要再治療或補救治療

圖 13

個體	拜訪	研究眼				對側眼			
		AC-細胞	AC-閃輝	VC-BE	VC-IOE	AC-細胞	AC-閃輝	VC-BE	VC-IOE
R1001	SCR	0	0	不顯著	不顯著	0	0	不顯著	不顯著
	基線	0	0	不顯著	不顯著	0	0	不顯著	不顯著
	第 8 天	0	0	痕量	痕量	0	0	不顯著	不顯著
	第 11 天	0	0	不顯著	不顯著	0	0	不顯著	不顯著
	第 21 天	0	0	不顯著	不顯著	0	0	不顯著	不顯著
	第 30 天	0	0	不顯著	不顯著	0	0	不顯著	不顯著
	第 60 天	0	0	不顯著	不顯著	0	0	不顯著	不顯著
R1002	SCR	0	0	不顯著	不顯著	0	0	不顯著	不顯著
	基線	0	0	不顯著	不顯著	0	0	不顯著	不顯著
	第 8 天	0	0	不顯著	不顯著	0	0	不顯著	
	第 11 天	0	0	痕量	痕量				
	第 21 天	0	0	不顯著	不顯著	0	0	不顯著	不顯著
	第 30 天	0	0	不顯著	不顯著	0	0	不顯著	不顯著
	第 60 天	0	0	不顯著	不顯著	0	0	不顯著	不顯著
R1003	SCR	0	0	不顯著	不顯著	0	0	不顯著	不顯著
	基線	0	0	不顯著	不顯著	0	0	不顯著	不顯著
	第 7 天	0	0	不顯著	不顯著	0	0	不顯著	不顯著
	第 30 天	0	0	不顯著	不顯著	0	0	不顯著	不顯著
	第 60 天	0	0	不顯著	不顯著	0	0	不顯著	不顯著
R1004	SCR	0	0	不顯著	不顯著	0	0	不顯著	不顯著
	第 8 天	0	0	不顯著	痕量	0	0	不顯著	
	第 11 天	0	0	不顯著	不顯著				
	第 21 天	0	0	不顯著	不顯著	0	0	不顯著	不顯著
	第 30 天	0	0	不顯著	不顯著	0	0	不顯著	不顯著
	第 60 天	0	0	不顯著	不顯著	0	0	不顯著	不顯著

圖 14

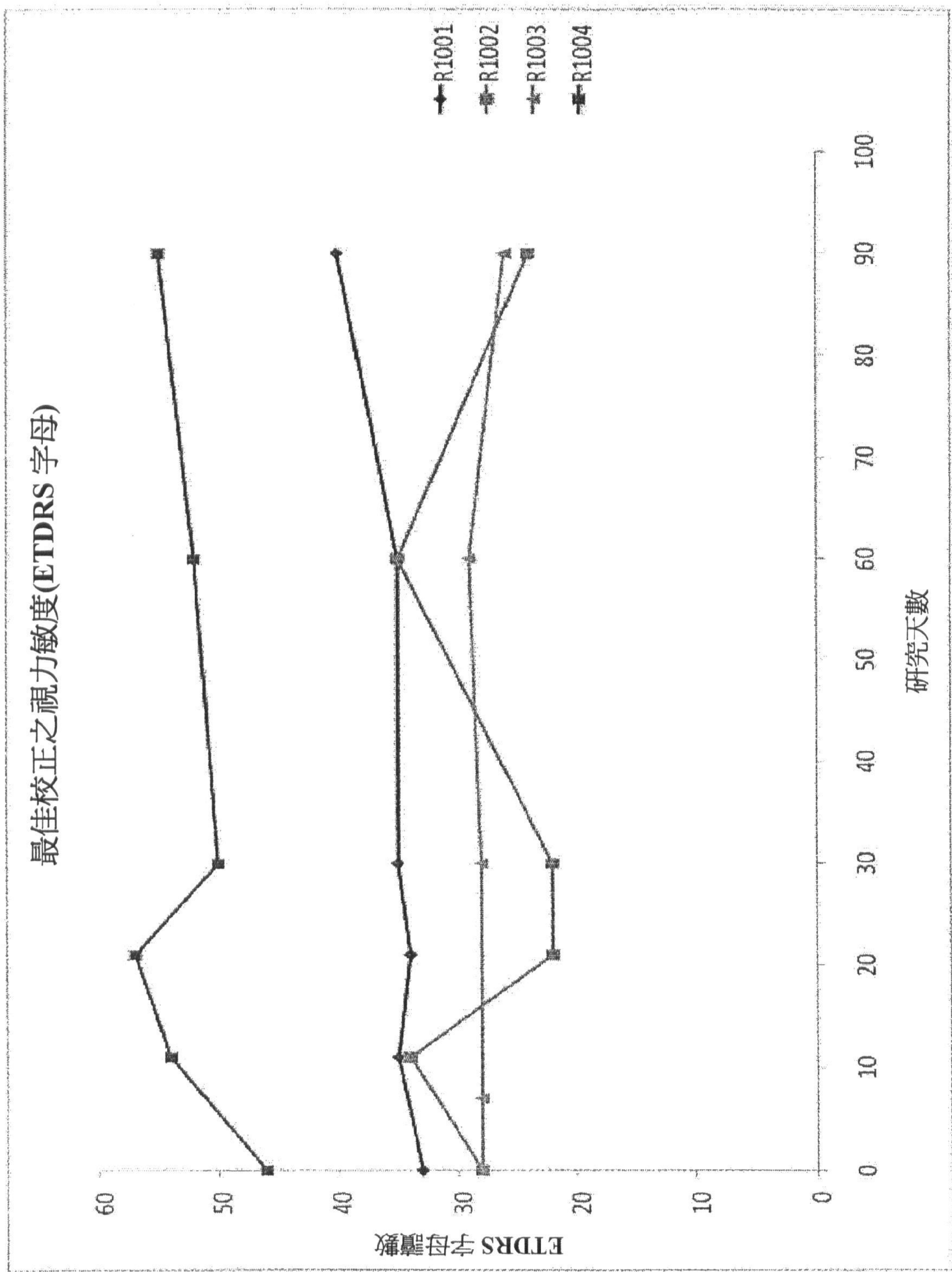


圖 15A

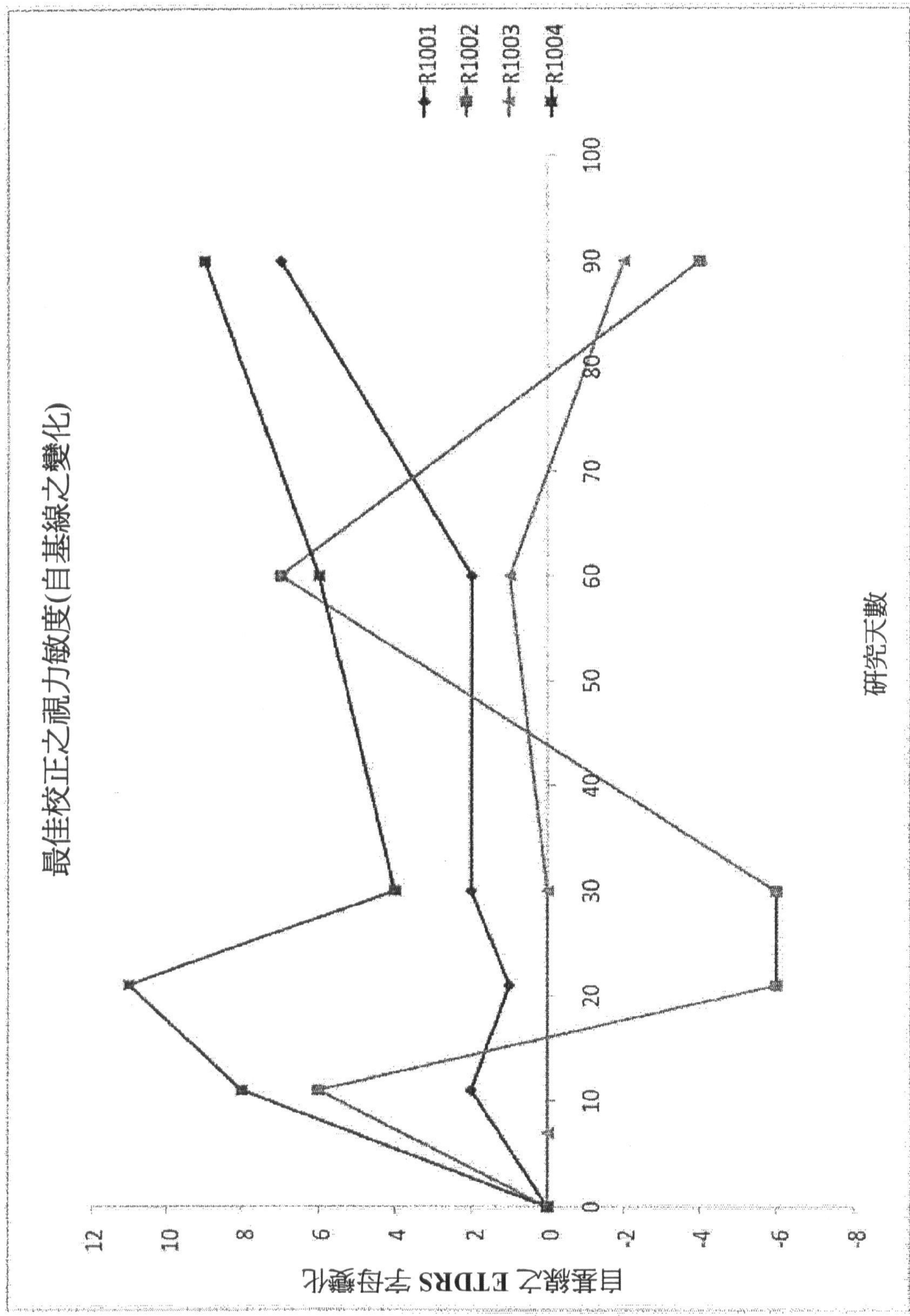


圖 15B

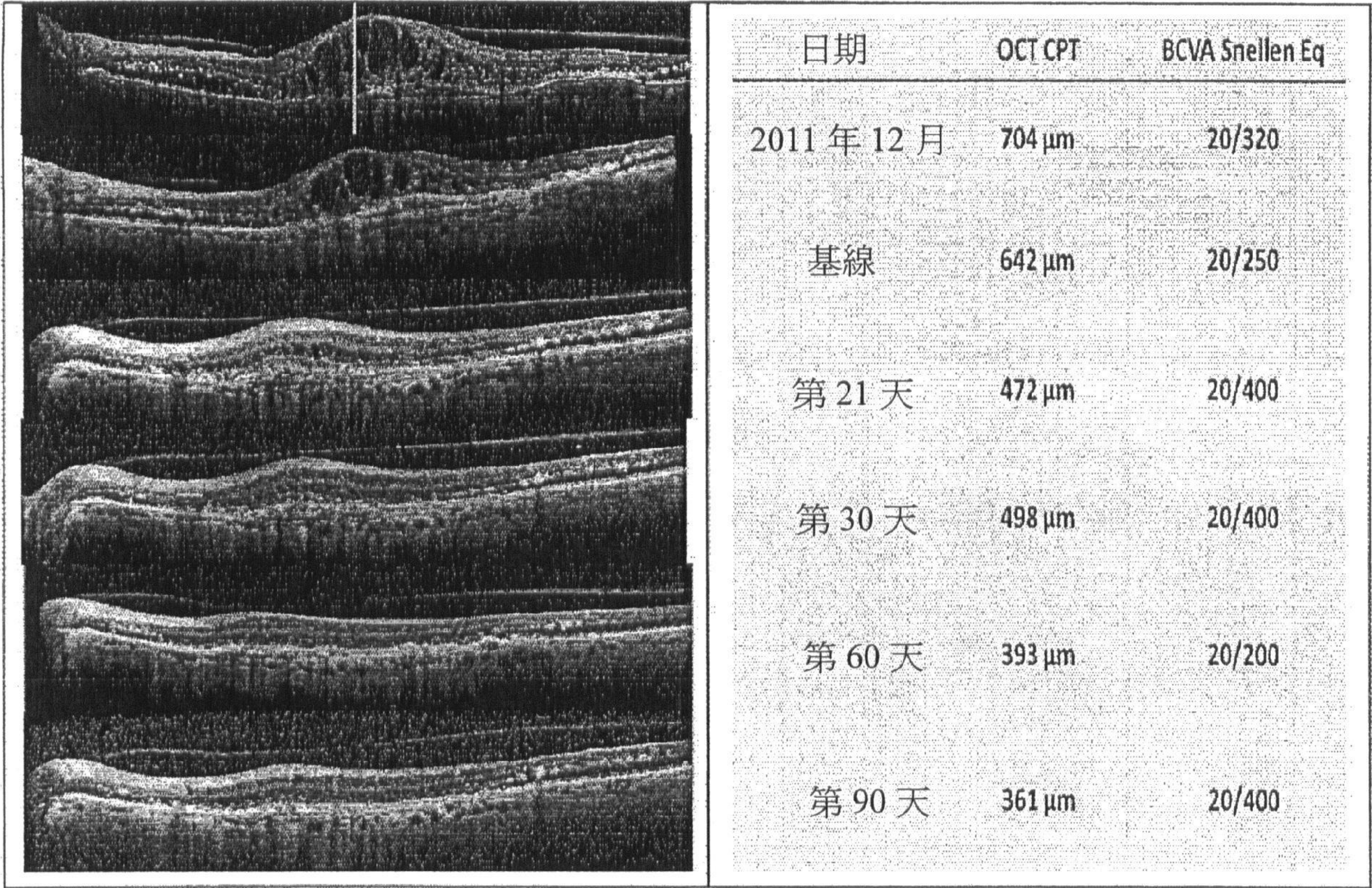


圖 16

個體	拜訪日	血液	淚液 (研究眼)	淚液 (對側眼)	唾液	尿
R1005	SCR	0	0	0	0	0
	第 8 天	0	35,000*	0	0	0
	第 30 天	0	0	0	0	0
R1006	SCR	0	0	0	0	0
	第 8 天	0	0	0	0	0
	第 30 天	0	0	0	0	0
R1007	SCR	0	0	0	0	0
	第 8 天	0	0	0	0	0
	第 30 天	0	0	0	0	0
R1008	SCR	0	0	0	0	0
	第 8 天	0	0	0	0	0
	第 30 天	0	0	0	0	0

圖 17

個體	拜訪日	血清	淚液 (研究眼)	淚液 (對側眼)	唾液	尿
R1001	SCR	0	ND	ND	ND	0
	第 8 天	0	ND	ND	ND	0
	第 21 天	0	ND	ND	0	0
	第 30 天	0	ND	ND	0	0
	第 60 天	0	ND	ND	0	0
R1002	SCR	0	ND	ND	ND	ND
	第 8 天	0	ND	ND	0	0
	第 21 天	0	ND	ND	0	0
	第 30 天	0	ND	ND	0	0
	第 60 天	0	ND	ND	0	0
R1003	SCR	0	ND	ND	0	0
	第 30 天	0	ND	ND	0	0
R1004	SCR	0	ND	ND	0	0
	第 8 天	0	ND	ND	ND	0
	第 21 天	0	ND	ND	ND	0
	第 30 天	0	ND	ND	0	0
	第 60 天	0	ND	ND	0	0

圖 18

個體	拜訪日	血清	淚液 (研究眼)	淚液 (對側眼)	唾液	尿
R1001	SCR	85.51±9.28	ND	ND	ND	0
	第 8 天	76.67±24.46	ND	ND	0	0
	第 21 天	46.19±11.65	ND	ND	875.27±99.44	0
	第 30 天	60.19±10.61	ND	ND	0	0
	第 60 天	14.89±20.97	ND	ND	0	0
	第 90 天	9.24±1.13	ND	ND	438.58±210.88	0
R1002	SCR	35.82±37.12	ND	ND	ND	ND
	第 8 天	46.19±6.99	ND	ND	1680.55±104.84	149.16±3.49
	第 21 天	12.42±5.82	ND	ND	407.93±17.47	102.03±26.79
	第 30 天	79.88±21.21	ND	ND	2337.78±123.30	0
	第 60 天	9.95±9.32	ND	ND	1607.72±314.52	0
	第 90 天	58.15±11.33	ND	ND	571.66±36.28	0
R1003	SCR	55.51±22.54	ND	ND	1105.90±83.53	0
	第 30 天	79.88±14.58	ND	ND	1915.90±83.53	0
	第 90 天	34.90±15.31	ND	ND	892.35±54.42	0
R1004	SCR	331.13±216.11	ND	ND	17.46±7.95	60.20±3.49
	第 8 天	62.67±4.66	ND	ND	ND	140.92±45.43
	第 21 天	4.19±5.82	ND	ND	ND	134.33±15.14
	第 30 天	62.07±7.95	ND	ND	1834.44±198.87	37.13±47.66
	第 60 天	9.13±15.14	ND	ND	92.77±50.67	25.60±15.14
	第 90 天	20.47±5.55	ND	ND	ND	0

圖 19

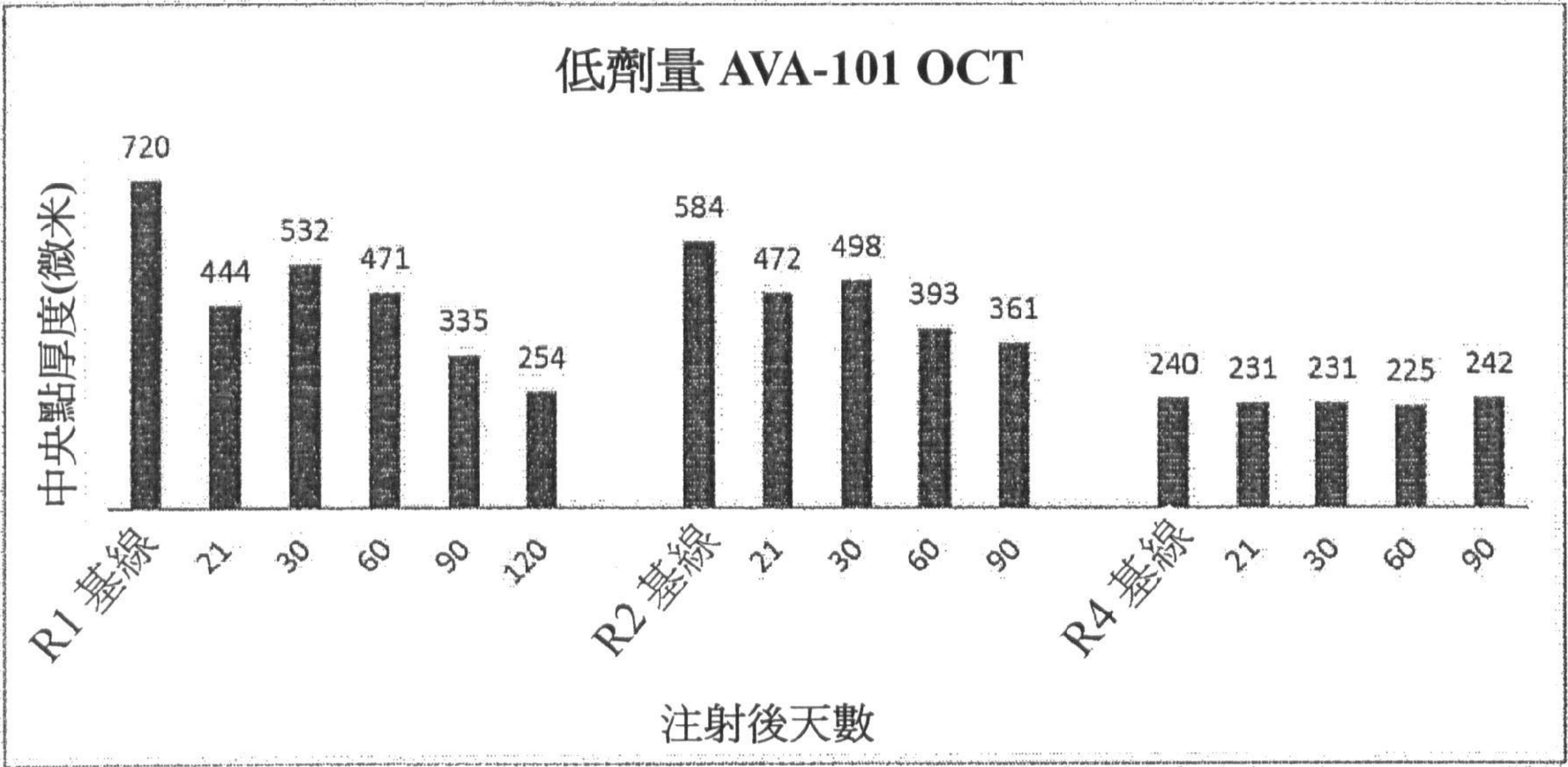


圖 20A

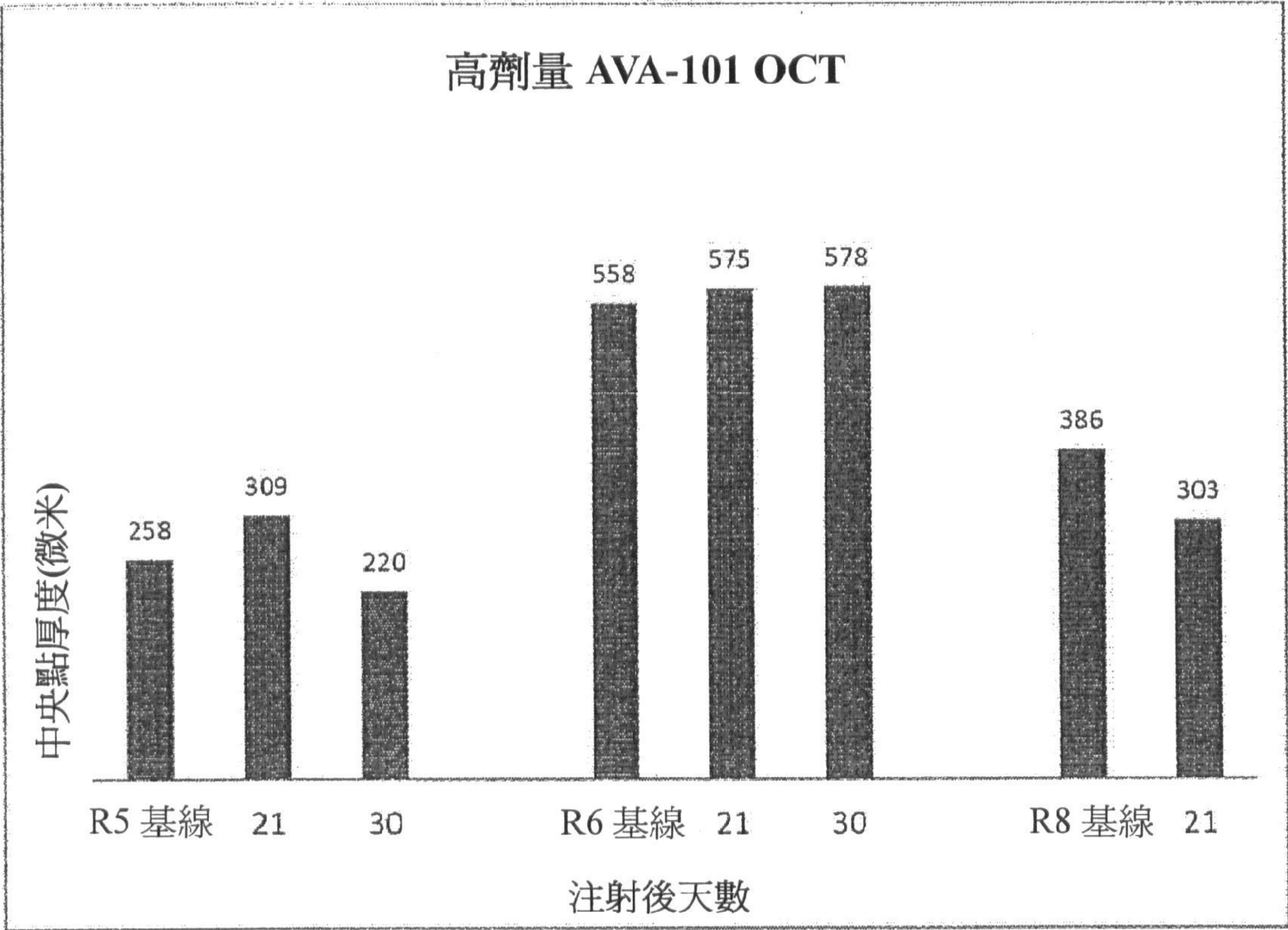


圖 20B

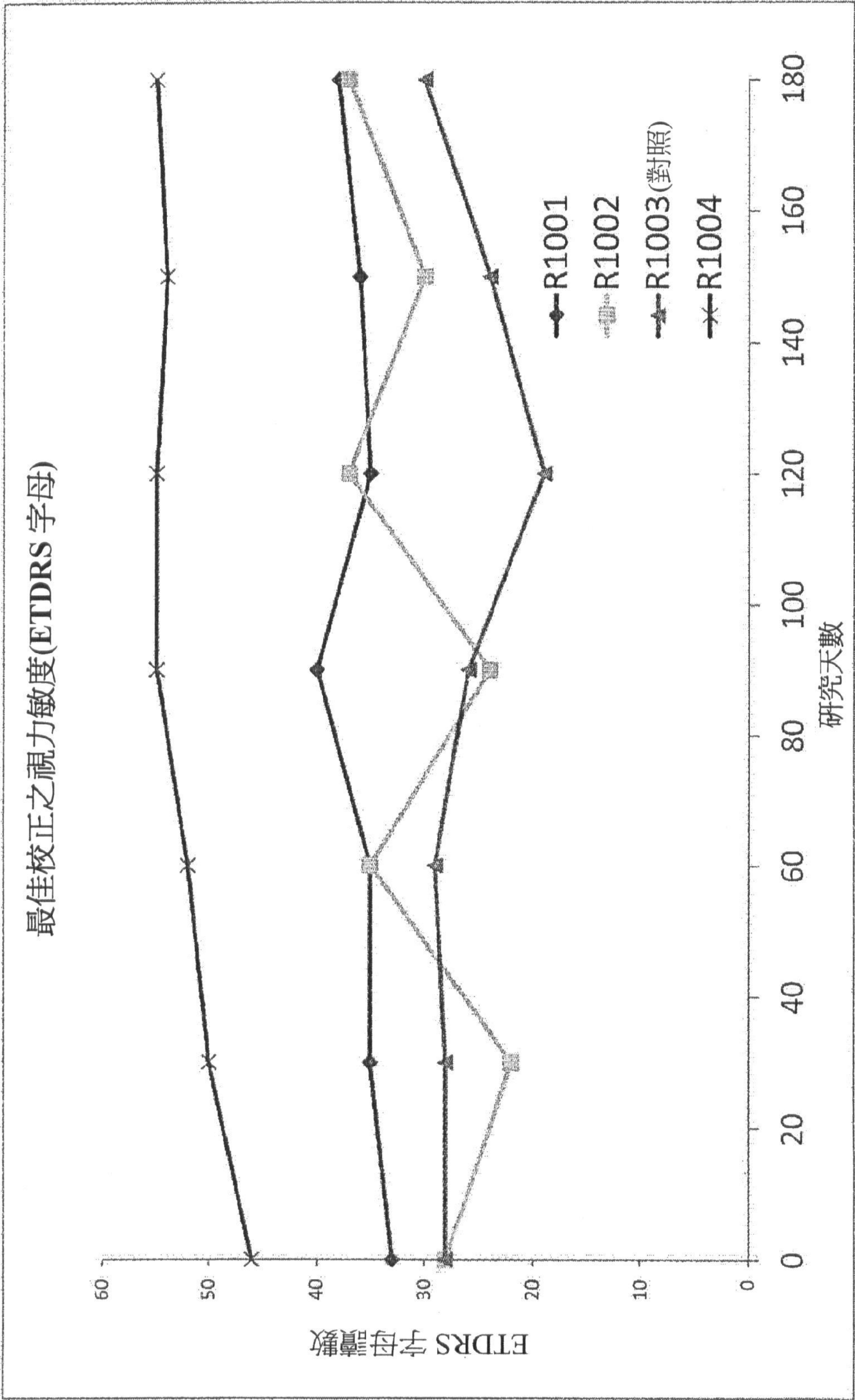


圖 21A

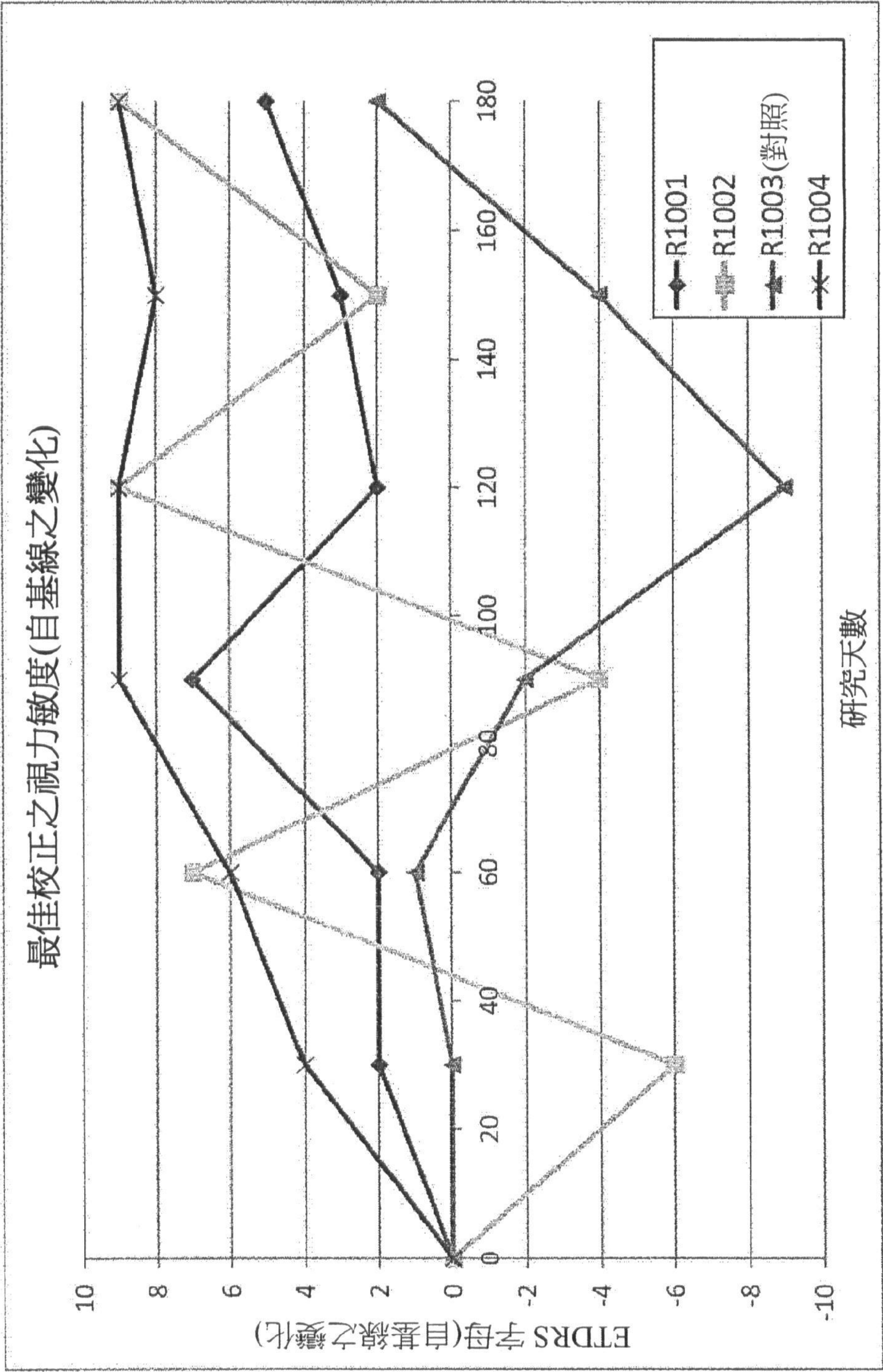


圖 21B

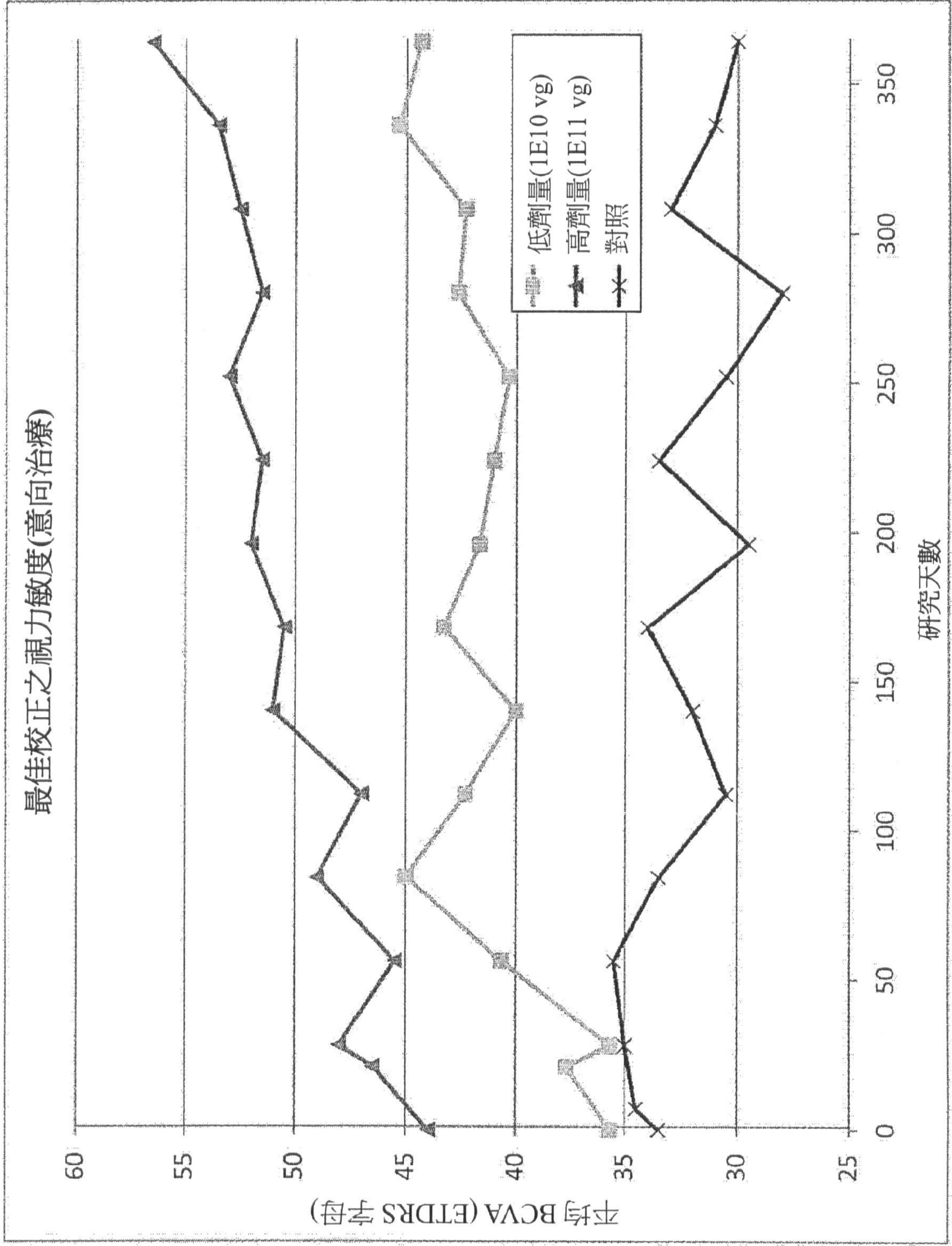


圖 22A

最佳校正之視力敏度(自基線之變化)

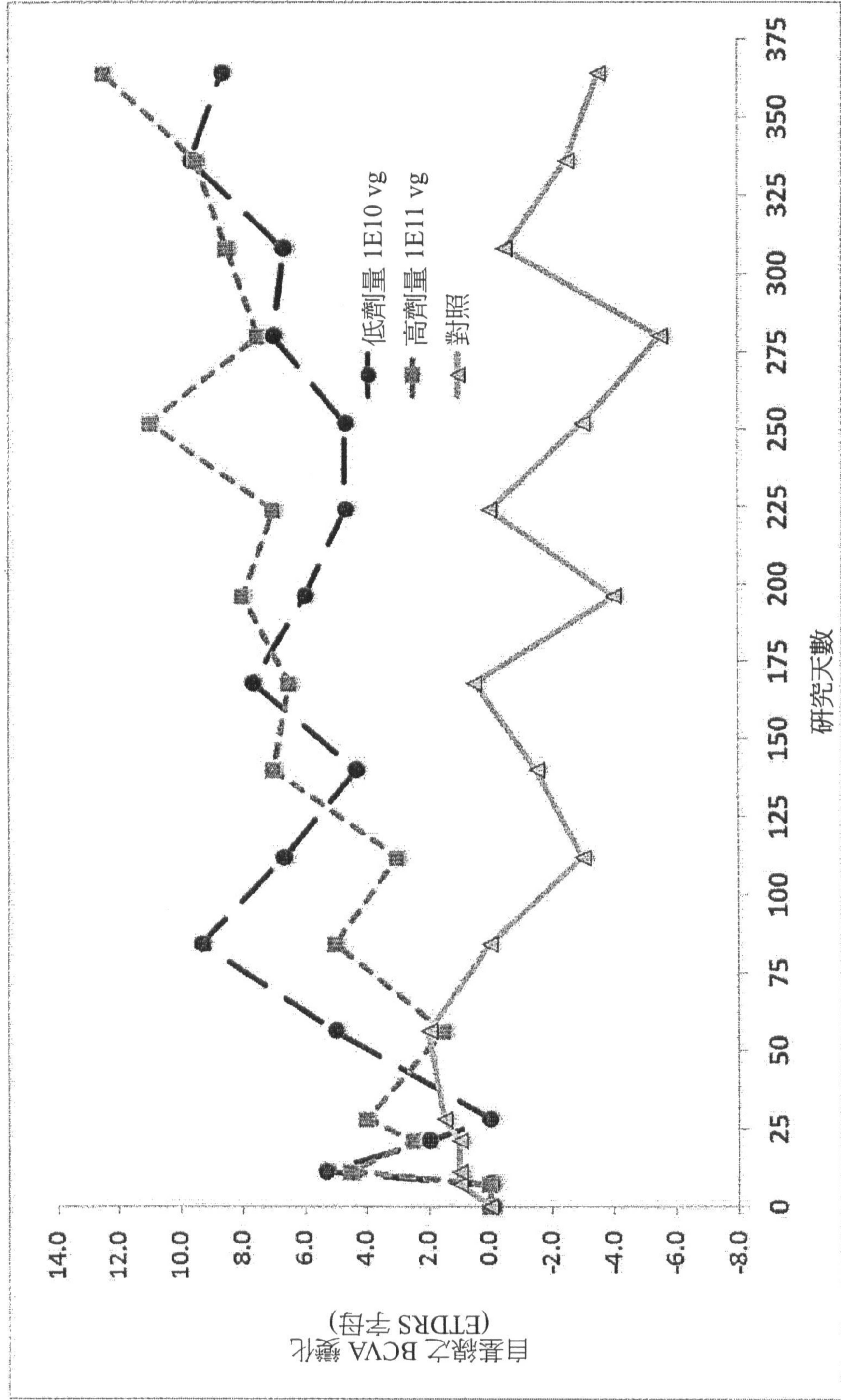


圖 22B

rAAVA.sFlt-1 臨床研究中之患者之抗 VEGF 再注射

週	8	12	16	20	24	28	32	36	40	44	48	52	56
R1003 對照	0	X	X	0	0	X	0	X	0	0	X	0	
R1007 對照	0	0	0	X	0	0	0	0	0	0	0	0	
R1001	0	0	0	0	0	*0	*0	0	0	0	0	0	0
R1002	0	0	0	0	0	0	0	*0	0	0	0	0	
R1004	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	X	
R1005	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
R1006	0	X	*0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
R1008	0	0	0	0	*0	0	0	0	0	0	0	0	

- *錯過拜訪(無注射) 上表顯示患有濕式 AMD 之患者中之 rAAV.sFlt-1 之安全性及功效的臨床研究之部分結果。
- 根據研究方案，患者首先在第 0 及 30 天視力時接受抗 VEGF 之玻璃體內注射，其後每 4 週監測疾病活動。
- 若呈現如研究方案中定義之疾病活動之其他體征，則向患者投與抗 VEGF 療法之額外玻璃體內注射。
- 「X」指示在所列舉週內在監測拜訪期間接受抗 VEGF 療法之玻璃體內注射的患者。

圖 23

經 rAAV.sFlt-1 治療之人類個體以週計之視力敏度及 SD-OCT 影像

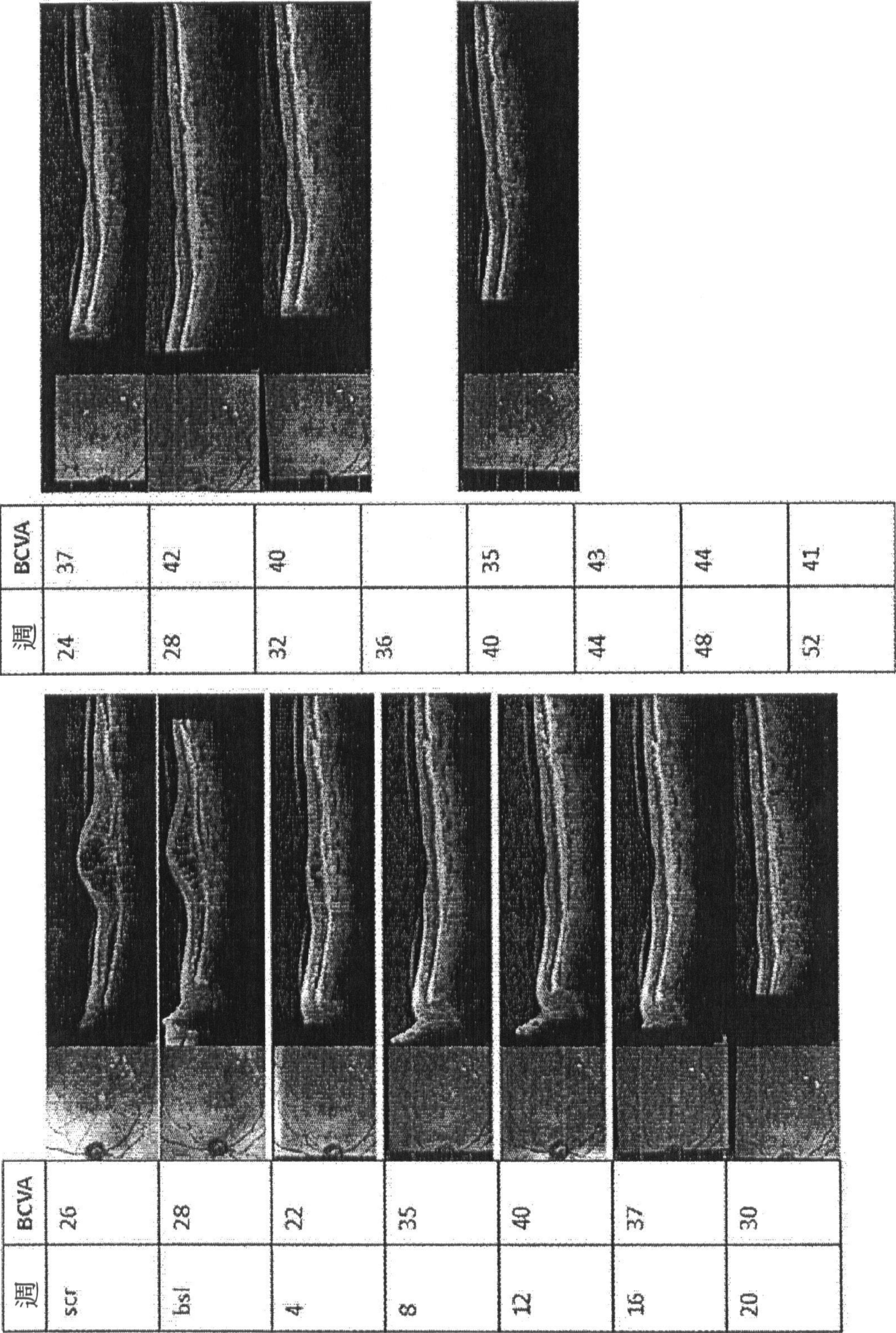


圖 24