

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号

特表2023-541443

(P2023-541443A)

(43)公表日 令和5年10月2日(2023.10.2)

(51)国際特許分類	F I	テーマコード (参考)
C 1 2 N 15/12 (2006.01)	C 1 2 N 15/12	Z N A 4 B 0 6 5
C 1 2 N 15/11 (2006.01)	C 1 2 N 15/11	Z 4 C 0 8 4
C 1 2 N 15/864 (2006.01)	C 1 2 N 15/864	1 0 0 Z 4 C 0 8 7
C 1 2 N 7/01 (2006.01)	C 1 2 N 7/01	
A 6 1 K 35/76 (2015.01)	A 6 1 K 35/76	
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全189頁) 最終頁に続く		

(21)出願番号	特願2023-516689(P2023-516689)	(71)出願人	507044516
(86)(22)出願日	令和3年9月14日(2021.9.14)		プレジデント アンド フェローズ オブ
(85)翻訳文提出日	令和5年5月15日(2023.5.15)		ハーバード カレッジ
(86)国際出願番号	PCT/US2021/050205		アメリカ合衆国 マサチューセッツ 0 2
(87)国際公開番号	WO2022/056444		1 3 8, ケンブリッジ, クインシー
(87)国際公開日	令和4年3月17日(2022.3.17)		ストリート 1 7
(31)優先権主張番号	63/078,233	(74)代理人	100102842
(32)優先日	令和2年9月14日(2020.9.14)		弁理士 葛和 清司
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)	(72)発明者	コーリー, デイビッド, ビー.
(31)優先権主張番号	63/161,619		アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 0
(32)優先日	令和3年3月16日(2021.3.16)		2 1 3 8, ケンブリッジ, マサチューセ
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)		ッツ アヴェニュー 1 3 5 0, スミス
(81)指定国・地域	AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA	(72)発明者	センター - スイート 7 2 7, ケア オ
	最終頁に続く		ブハーバード ユニバーシティ
			ブース, ケビン, ティー.
			最終頁に続く

(54)【発明の名称】 G J B 2 をコードする組換えアデノ随伴ウイルス (r A A V) およびその使用。

(57)【要約】

本開示は、少なくとも部分的には、ギャップ結合ベータ2(GJB2)タンパク質を、GJB2を通常発現する内耳細胞(例、コルチ器およびその近傍領域の線維細胞および支持細胞)に送達することによって、非症候性聴覚喪失および難聴(DFN1)を治療するための組成物(例、単離された核酸およびrAAV)および方法に関する。本開示の単離された核酸は、ギャップ結合ベータ2(GJB2)遺伝子調節エレメント(GRE)(例、GJB2エンハンサー、GJB2プロモーター、GJB2 5' UTR、および/またはGJB2 3' UTR)と、GJB2タンパク質をコードするヌクレオチド配列とを含む発現カセットを含む。

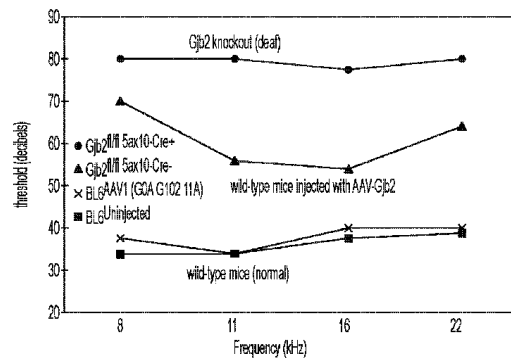


FIG. 2B

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

ギャップ結合ベータ2 (GJB2) 遺伝子調節エレメント (GRE) と、GJB2 タンパク質をコードするヌクレオチド配列とを含む発現カセットを含む単離された核酸。

【請求項 2】

GJB2 タンパク質がヒト GJB2 タンパク質である、請求項 1 に記載の単離された核酸。

【請求項 3】

GJB2 タンパク質が、配列番号 1 と少なくとも 80 % 同一のアミノ酸配列を含む、請求項 2 に記載の単離された核酸。

【請求項 4】

GJB2 タンパク質をコードするヌクレオチド配列が、配列番号 2 と少なくとも 80 % 同一のヌクレオチド配列を含む、請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の単離された核酸。

【請求項 5】

発現カセットが、GJB2 タンパク質をコードするヌクレオチド配列に作動可能に連結されたプロモーターをさらに含む、請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の単離された核酸。

【請求項 6】

プロモーターがヒト GJB2 プロモーターである、請求項 5 に記載の単離された核酸。

【請求項 7】

プロモーターが 500 ヌクレオチドのヒト GJB2 プロモーターを含む、請求項 6 に記載の単離された核酸。

【請求項 8】

プロモーターが、配列番号 5 と少なくとも 80 % 同一の核酸配列を含む、請求項 7 に記載の単離された核酸。

【請求項 9】

プロモーターが、配列番号 102 と少なくとも 80 % 同一、任意選択的に配列番号 102 と 100 % 同一の核酸配列を含む、請求項 6 に記載の単離された核酸。

【請求項 10】

ギャップ結合ベータ2 (GJB2) 遺伝子調節エレメント (GRE) が、5' UTR をコードするヌクレオチド配列を含む、請求項 1 ~ 9 のいずれか一項に記載の単離された核酸。

【請求項 11】

5' UTR が、プロモーターと GJB2 タンパク質をコードするヌクレオチド配列との間に配置される、請求項 9 に記載の単離された核酸。

【請求項 12】

5' UTR が約 300 ヌクレオチドのヒト GJB2 遺伝子 5' UTR を含む、請求項 10 または 11 に記載の単離された核酸。

【請求項 13】

プロモーターおよび 5' UTR が、配列番号 30 と少なくとも 80 % 同一のヌクレオチド配列を含む、請求項 12 に記載の単離された核酸。

【請求項 14】

GJB2 遺伝子調節エレメントがエンハンサーをさらに含む、請求項 1 ~ 13 のいずれか一項に記載の単離された核酸。

【請求項 15】

エンハンサーがプロモーターの 5' 側に配置される、請求項 14 に記載の単離された核酸。

【請求項 16】

エンハンサーが通常、GJB2 遺伝子のおよそ 200 kb 上流内または下流内に存在する、請求項 14 または 15 に記載の単離された核酸。

【請求項 17】

エンハンサーが通常、GJB2 遺伝子のおよそ 95 kb 内に存在する、請求項 14 ~ 16 のいずれか一項に記載の単離された核酸。

10

20

30

40

50

【請求項 18】

GJB2 GREが1つ以上のエンハンサーを含む、請求項14～17のいずれか一項に記載の単離された核酸。

【請求項 19】

1つ以上のエンハンサーが同じエンハンサーまたは異なるエンハンサーである、請求項18に記載の単離された核酸。

【請求項 20】

エンハンサーが、配列番号6～29のいずれか1つに示されるヌクレオチド配列またはその断片と少なくとも80%同一のヌクレオチド配列を含む、請求項14～19のいずれか一項に記載の単離された核酸。

10

【請求項 21】

エンハンサーが、配列番号37～46のいずれか1つに示されるGJB2エンハンサーと少なくとも80%同一のヌクレオチド配列を含む、請求項14～20のいずれか一項に記載の単離された核酸。

【請求項 22】

エンハンサーが、配列番号42と少なくとも80%同一のヌクレオチド配列を含む、請求項21に記載の単離された核酸。

【請求項 23】

ギャップ結合ベータ2(GJB2)プロモーターと、GJB2タンパク質をコードするヌクレオチド配列とを含む発現カセットを含む単離された核酸。

20

【請求項 24】

GJB2プロモーターが、配列番号102と少なくとも80%同一、任意選択的に配列番号102と100%同一の核酸配列を含む、請求項23に記載の単離された核酸。

【請求項 25】

発現カセットが、5' UTRをさらに含む、請求項23または24に記載の単離された核酸。

【請求項 26】

5' UTRが、

配列番号103と少なくとも80%同一、任意選択的に配列番号103と100%同一の第1の核酸配列;および/または

配列番号104と少なくとも80%同一、任意選択的に配列番号104と100%同一の第2の核酸配列

30

を含む、請求項25に記載の単離された核酸。

【請求項 27】

配列番号105と少なくとも80%同一、任意選択的に配列番号105と100%同一の核酸配列を含む、請求項23～27のいずれか一項に記載の単離された核酸。

【請求項 28】

GJB2遺伝子を通常発現する細胞においてGJB2を発現することが可能である、請求項1～27のいずれか一項に記載の単離された核酸。

【請求項 29】

蝸牛結合組織細胞およびコルチ器の支持細胞においてGJB2を発現することが可能である、請求項28に記載の単離された核酸。

40

【請求項 30】

コルチ器の支持細胞が、柱細胞(pillar cell)、ダイテルス細胞(Deiters' cell)、ヘンゼン細胞、クラウディウス細胞(Claudius cell)、内指節細胞、および境界細胞である、請求項29に記載の単離された核酸。

【請求項 31】

蝸牛結合組織細胞が、血管条中間細胞(strial intermediate cell)、側壁および血管条より前庭階方向に位置するラセン靱帯領域(suprastrial zone)の線維細胞、血管条の基底細胞、らせん靱帯の線維細胞、らせん板縁の線維細胞、前庭階に面する迷路骨包(bony otic capsule)内側の間葉系細胞、およびらせん板縁の上方領域の(supralimb

50

a) 暗細胞である、請求項29に記載の単離された核酸。

【請求項32】

発現カセットが、2つのアデノ随伴ウイルス逆方向末端反復配列(ITR)に隣接されている、請求項1~31のいずれか一項に記載の単離された核酸。

【請求項33】

AAV ITRが、AAV1 ITR、AAV2 ITR、AAV3 ITR、AAV4 ITR、AAV5 ITR、およびAAV6 ITRからなる群から選択される血清型に由来する、請求項32に記載の単離された核酸。

【請求項34】

AAV ITRがAAV2 ITRである、請求項32または33に記載の単離された核酸。

10

【請求項35】

発現カセットが、

配列番号106と少なくとも80%同一、任意選択的に配列番号106と100%同一のヌクレオチド配列を有する5' ITR;および/または

配列番号107と少なくとも80%同一、任意選択的に配列番号107と100%同一のヌクレオチド配列を有する3' ITR

を含む、請求項32または33に記載の単離された核酸。

【請求項36】

発現カセットが、GJB2タンパク質をコードするヌクレオチド配列に対するウッドチャック肝炎ウイルス(WHP)転写後調節エレメント(WPRE)3'をさらに含む、請求項1~35のいずれか一項に記載の単離された核酸。

20

【請求項37】

WPREが、配列番号108と少なくとも80%同一、任意選択的に配列番号108と100%同一のヌクレオチド配列を含む、請求項36に記載の単離された核酸。

【請求項38】

発現カセットが、WPREの3'側に位置する3' UTRをコードするヌクレオチド配列をさらに含む、請求項1~37のいずれか一項に記載の単離された核酸。

【請求項39】

3' UTRがGJB2 3' UTRである、請求項38に記載の単離された核酸。

【請求項40】

GJB2 3' UTRが、配列番号32と少なくとも80%同一のヌクレオチド配列を含む、請求項39に記載の単離された核酸。

30

【請求項41】

発現カセットが、ポリAシグナルをさらに含む、請求項1~40のいずれか一項に記載の単離された核酸。

【請求項42】

ポリAシグナルがウシ成長ホルモンポリAシグナルである、請求項41に記載の単離された核酸。

【請求項43】

ポリAシグナルが、配列番号109と少なくとも80%同一、任意選択的に配列番号109と100%同一のヌクレオチド配列を含む、請求項41に記載の単離された核酸。

40

【請求項44】

配列番号110または111と少なくとも80%同一、任意選択的に配列番号110または111と100%同一のヌクレオチド配列を含む単離された核酸。

【請求項45】

請求項1~44のいずれか一項に記載の単離された核酸を含むベクター。

【請求項46】

プラスミドまたはウイルスベクターである、請求項45に記載のベクター。

【請求項47】

ウイルスベクターがAAVベクターである、請求項46に記載のベクター。

50

【請求項 48】

5'から3'に、

- (a) 5' ITR;
 - (b) GJB2プロモーター、またはその基本GJB2プロモーター配列;
 - (c) GJB2 5' UTR;
 - (d) GJB2タンパク質をコードするヌクレオチド配列;
 - (e) GJB2 3' UTR;
 - (f) ウシ成長ホルモンポリAシグナル;および
 - (g) 3' ITR
- 含むベクター。

10

【請求項 49】

5'から3'に、

- (a) 5' ITR;
 - (b) GJB2エンハンサー;
 - (c) GJB2プロモーター、またはその基本GJB2プロモーター配列;
 - (d) GJB2 5' UTR;
 - (e) GJB2タンパク質をコードするヌクレオチド配列;
 - (f) GJB2 3' UTR;
 - (g) ウシ成長ホルモンポリAシグナル;および
 - (h) 3' ITR
- 含むベクター。

20

【請求項 50】

- (i) カプシドタンパク質;および
 - (ii) 請求項1~44のいずれか一項に記載の単離された核酸;
- を含む組換えアデノ随伴ウイルス(rAAV)。

【請求項 51】

- (i) カプシドタンパク質;と
 - (ii):
- (a) 5' ITR;
 - (b) GJB2プロモーター、またはその基本GJB2プロモーター配列;
 - (c) GJB2 5' UTR;
 - (d) GJB2タンパク質をコードするヌクレオチド配列;
 - (e) GJB2 3' UTR;
 - (f) ウシ成長ホルモンポリAシグナル;および
 - (g) 3' ITR
- を含む単離された核酸;と
- を含む、組換えアデノ随伴ウイルス(rAAV)。

30

【請求項 52】

- (i) カプシドタンパク質;と
 - (ii):
- (a) 5' ITR;
 - (b) GJB2エンハンサー;
 - (c) GJB2プロモーター、またはその基本GJB2プロモーター配列;
 - (d) GJB2 5' UTR;
 - (e) GJB2タンパク質をコードするヌクレオチド配列;
 - (f) GJB2 3' UTR;
 - (g) ウシ成長ホルモンポリAシグナル;および
 - (h) 3' ITR
- を含む単離された核酸;と
- を含む、組換えアデノ随伴ウイルス(rAAV)。

40

50

【請求項 53】

GJB2遺伝子を通常発現する蝸牛細胞のサブセットに対する指向性(tropism)を有する、請求項50～52のいずれか一項に記載のrAAV。

【請求項 54】

内耳の細胞に対する指向性を有する、請求項50～53のいずれか一項に記載のrAAV。

【請求項 55】

カプシドタンパク質が、AAV1カプシドタンパク質、AAV2カプシドタンパク質、AAV5カプシドタンパク質、AAV7カプシドタンパク質、AAV8カプシドタンパク質、AAV9カプシドタンパク質、AAV-Sカプシドタンパク質、またはそれらの変異体である、請求項50～54のいずれか一項に記載のrAAV。

10

【請求項 56】

AAVカプシドが、AAV9.PHP.B、AAV9.PHP.eB、またはAAV-Sである、請求項50～55のいずれか一項に記載のrAAV。

【請求項 57】

AAVカプシドタンパク質がAAV-Sである、請求項56に記載のrAAV。

【請求項 58】

請求項1～44のいずれか一項に記載の単離された核酸、請求項45～49のいずれか一項に記載のベクター、または請求項50～57のいずれか一項に記載のrAAVを含む細胞。

【請求項 59】

請求項1～44のいずれか一項に記載の単離された核酸、請求項45～49のいずれか一項に記載のベクター、請求項50～57のいずれか一項に記載のrAAV、または請求項58に記載の細胞を含む医薬組成物。

20

【請求項 60】

薬学的に許容される担体をさらに含む、請求項59に記載の医薬組成物。

【請求項 61】

対象において、GJB2遺伝子を通常発現する細胞でGJB2を特異的に発現させるための方法であって、有効量の、請求項1～44のいずれか一項に記載の単離された核酸、請求項45～49のいずれか一項に記載のベクター、請求項50～57のいずれか一項に記載のrAAV、請求項58に記載の細胞、または請求項59もしくは60に記載の医薬組成物を対象に投与することを含む方法。

30

【請求項 62】

それを必要とする対象において非症候性聴覚喪失および難聴(DFNB1)を治療するための方法であって、有効量の、請求項1～44のいずれか一項に記載の単離された核酸、請求項45～49のいずれか一項に記載のベクター、請求項50～57のいずれか一項に記載のrAAV、請求項58に記載の細胞、または請求項59もしくは60に記載の医薬組成物を対象に投与することを含む方法。

【請求項 63】

それを必要とする対象においてGJB2関連疾患を治療するための方法であって、有効量の、請求項1～44のいずれか一項に記載の単離された核酸、請求項45～49のいずれか一項に記載のベクター、請求項50～57のいずれか一項に記載のrAAV、請求項58に記載の細胞、または請求項59もしくは60に記載の医薬組成物を対象に投与することを含む方法。

40

【請求項 64】

対象が哺乳動物である、請求項61～63のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 65】

哺乳動物がヒトである、請求項64に記載の方法。

【請求項 66】

哺乳動物が非ヒト哺乳動物である、請求項64に記載の方法。

【請求項 67】

非ヒト哺乳動物が、マウス、ラット、または非ヒト霊長類である、請求項66に記載の

50

方法。

【請求項 68】

聴覚喪失が、GJB2 遺伝子の突然変異に関連する、請求項 61～67 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 69】

GJB2 遺伝子の突然変異が、点突然変異、ミスセンス突然変異、ナンセンス突然変異、欠失、挿入、またはそれらの組み合わせである、請求項 68 に記載の方法。

【請求項 70】

対象がヒトであり、突然変異が、表 2 に列挙される突然変異またはそれらの組み合わせである、請求項 69 に記載の方法。

【請求項 71】

突然変異が c 101.T>C または Del35G である、請求項 69 または 70 に記載の方法。

【請求項 72】

投与の工程が、蝸牛結合組織細胞ならびにコルチ器官の支持細胞における GJB2 タンパク質の発現をもたらす、請求項 61～71 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 73】

コルチ器の支持細胞が、柱細胞(pillar cell)、ダイテルス細胞(Deiters' cell)、ヘンゼン細胞、クラウディウス細胞(Claudius cell)、内指節細胞、および境界細胞である、請求項 72 に記載の方法。

【請求項 74】

蝸牛結合組織細胞が、血管条中間細胞(strial intermediate cell)、側壁および血管条より前庭階方向に位置するラセン靱帯領域(suprastrial zone)の線維細胞、血管条の基底細胞、らせん靱帯の線維細胞、らせん板縁の線維細胞、前庭階に面する迷路骨包(bony otic capsule)内側の間葉系細胞、およびらせん板縁の上方領域の(supralimb al) 暗細胞である、請求項 72 に記載の方法。

【請求項 75】

投与が注射によるものである、請求項 61～74 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 76】

注射が、蝸牛の正円窓膜を介して、蝸牛の中央階に、蝸牛の前庭階に、内耳の半規管に、または内耳の球形嚢もしくは卵形嚢に行われるものである、請求項 75 に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本出願は、35 米国特許法第 119 条(e)の下で、2021 年 3 月 16 日に提出された米国特許仮出願 U.S.S.N. 第 63/161,619 号、および 2020 年 9 月 14 日に提出された米国特許仮出願 U.S.S.N. 第 63/078,233 号の優先権を主張するものであり、これらの各々は参照により本明細書に組み込まれる。

【0002】

連邦政府による資金提供を受けた研究

本発明は、国立衛生研究所によって授与された DA048787 の下で政府の支援を受けてなされた。政府は、本発明に一定の権利を有する。

【背景技術】

【0003】

内耳のギャップ結合ベータ 2(GJB2)発現の喪失は、劣性の軽度から重度の感音性聴覚障害を特徴とする、非症候性聴覚喪失および難聴(DFNB1)と呼ばれる障害の根底にある。これらのペイシェントの多くは、出生時にもおそらく不可逆的な重度の聴覚喪失を伴って生まれる。2/3 は出生時にいくらかの残存聴覚を有し、その大部分はその後数年にわたって聴覚を失う。したがって、これらのペイシェントは、DFNB1 の治療の潜在的な候補である。GJB2 の以前の遺伝子置換療法は、GJB2 遺伝子の遺伝子付加が細胞生存およびギャップ結合ネットワークを救済したにもかかわらず、聴覚を救済することに失敗した。

10

20

30

40

50

聴覚救済のための効果的なGJB2遺伝子置換療法は開発されていない。

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0004】

本開示は、少なくとも部分的に、ギャップ結合ベータ2(GJB2)遺伝子調節エレメント(GRE)と、GJB2タンパク質をコードするヌクレオチド配列とを含む発現カセットを含む単離された核酸に関する。いくつかの実施形態では、発現カセットは、プロモーター(例、GJB2プロモーター)をさらに含む。いくつかの実施形態では、発現カセットは、2つのアデノ随伴ウイルス(AAV)逆方向末端反復配列(ITR)に隣接されている。単離された核酸中の天然GJB2調節エレメント(GRE)の存在は、有毒で聴覚を損傷する、内耳における乱雑なGJB2遺伝子発現を防止する。したがって、いくつかの実施形態では、本明細書において記載される単離された核酸は、GJB2遺伝子を通常発現する内耳細胞(例、蝸牛の結合組織細胞ならびにコルチ器およびその近傍領域の支持細胞)ではGJB2タンパク質を発現することが可能であるが、GJB2を通常発現しない細胞(例、有毛細胞およびらせん神経節ニューロン)では発現することは不可能である。

10

【課題を解決するための手段】

【0005】

いくつかの態様では、本開示は、ギャップ結合ベータ2(GJB2)遺伝子調節エレメント(GRE)と、GJB2タンパク質をコードするヌクレオチド配列とを含む発現カセットを含む単離された核酸を提供する。

20

【0006】

いくつかの実施形態では、GJB2タンパク質は、ヒトGJB2タンパク質である。いくつかの実施形態では、GJB2タンパク質は、配列番号1と少なくとも80%同一のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、ヒトGJB2タンパク質をコードするヌクレオチド配列は、配列番号2と少なくとも80%同一のヌクレオチド配列を含む。

【0007】

いくつかの実施形態では、発現カセットは、GJB2タンパク質をコードするヌクレオチド配列に作動可能に連結されたプロモーターをさらに含む。いくつかの実施形態では、プロモーターは、ヒトGJB2プロモーターである。いくつかの実施形態では、プロモーターは500ヌクレオチドのヒトGJB2プロモーターを含む。いくつかの実施形態では、プロモーターは、配列番号5と少なくとも80%同一の核酸配列を含む。いくつかの実施形態では、プロモーターは、配列番号102と少なくとも80%同一の核酸配列を含む。いくつかの実施形態では、プロモーターは、配列番号102と100%同一の核酸配列を含む。

30

【0008】

いくつかの実施形態では、プロモーターは、ヒトGJB2基本プロモーター(basal promoter)である。いくつかの実施形態では、ヒトGJB2基本プロモーターは、配列番号47と少なくとも80%同一の核酸配列を含む。

【0009】

いくつかの実施形態では、発現カセットは、5' UTRをコードするヌクレオチド配列を含む。いくつかの実施形態では、5' UTRは、プロモーターとGJB2タンパク質をコードするヌクレオチド配列との間に配置される。いくつかの実施形態では、約300ヌクレオチドの5' UTRはヒトGJB2遺伝子5' UTRを含む。いくつかの実施形態では、プロモーターおよび5' UTRは、配列番号30と少なくとも80%同一のヌクレオチド配列を含む。

40

【0010】

いくつかの実施形態では、GJB2遺伝子調節エレメントは、エンハンサーを含む。いくつかの実施形態では、エンハンサーはプロモーターの5'側に配置される。いくつかの実施形態では、エンハンサーは通常、GJB2遺伝子のおよそ200 kb上流内または下流内に存在する。いくつかの実施形態では、エンハンサーは通常、GJB2遺伝子のおよそ95 kb内に存在する。いくつかの実施形態では、GJB2 GREは、1つ以上のエンハンサーを含む。いくつかの実施形態では、1つ以上のエンハンサーは同じエンハンサーまたは異なるエ

50

ンハンサーである。いくつかの実施形態では、エンハンサーは、配列番号6～29のいずれか1つに示されるヌクレオチド配列またはその断片と少なくとも80%同一のヌクレオチド配列を含む。いくつかの実施形態では、エンハンサーは、配列番号37～46および55～60のいずれかに示されるGJB2エンハンサーと少なくとも80%同一のヌクレオチド配列を含む。いくつかの実施形態では、エンハンサーは、配列番号42と少なくとも80%同一のヌクレオチド配列を含む。

【0011】

いくつかの態様では、本開示はまた、ギャップ結合ベータ2(GJB2)プロモーターと、GJB2タンパク質をコードするヌクレオチド配列とを含む発現カセットを含む単離された核酸を提供する。

10

【0012】

いくつかの実施形態では、GJB2プロモーターは、配列番号102と少なくとも80%同一の核酸配列を含む。いくつかの実施形態では、GJB2プロモーターは、配列番号102と100%同一の核酸配列を含む。

【0013】

いくつかの実施形態では、発現カセットは、5' UTRをさらに含む。いくつかの実施形態では、5' UTRは、配列番号103と少なくとも80%同一の第1の核酸配列;および/または配列番号104と少なくとも80%同一の第2の核酸配列を含む。いくつかの実施形態では、発現カセットは、5' UTRをさらに含む。いくつかの実施形態では、5' UTRは、配列番号103と100%同一の第1の核酸配列;および/または配列番号104と100%同一の第2の核酸配列を含む。

20

【0014】

いくつかの実施形態では、単離された核酸は、配列番号105と少なくとも80%同一の核酸配列を含む。いくつかの実施形態では、単離された核酸は、配列番号105と100%同一の核酸配列を含む。

【0015】

いくつかの実施形態では、単離された核酸は、GJB2遺伝子を通常発現する細胞においてGJB2を発現することが可能である。いくつかの実施形態では、単離された核酸は、蝸牛結合組織細胞およびコルチ器の支持細胞においてGJB2を発現することが可能である。いくつかの実施形態では、コルチ器の支持細胞は、柱細胞(pillar cell)、ダイテルス細胞(Deiter cell)、ヘンゼン細胞、クラウディウス細胞(Claudius cell)、内指節細胞、および境界細胞である。いくつかの実施形態では、蝸牛結合組織細胞は、血管条中間細胞(strial intermediate cell)、側壁および血管条より前庭階方向に位置するラセン靱帯領域(suprastrial zone)の線維細胞、血管条の基底細胞、らせん靱帯の線維細胞、らせん板縁の線維細胞、前庭階に面する迷路骨包(bony otic capsule)内側の間葉系細胞、およびらせん板縁の上方領域の(supralimbal)暗細胞である。

30

【0016】

いくつかの実施形態では、発現カセットは、2つのアデノ随伴ウイルス逆方向末端反復配列(ITR)に隣接されている。いくつかの実施形態では、AAV ITRは、AAV1 ITR、AAV2 ITR、AAV3 ITR、AAV4 ITR、AAV5 ITR、およびAAV6 ITRからなる群から選択される血清型に由来する。いくつかの実施形態では、AAV ITRはAAV2 ITRである。

40

【0017】

いくつかの実施形態では、発現カセットは、配列番号106と少なくとも80%同一のヌクレオチド配列を有する5' ITR;および/または配列番号107と少なくとも80%同一のヌクレオチド配列を有する3' ITRを含む。いくつかの実施形態では、発現カセットは、配列番号106と100%同一のヌクレオチド配列を有する5' ITR;および/または配列番号107と100%同一のヌクレオチド配列を有する3' ITRを含む。

【0018】

いくつかの実施形態では、発現カセットは、GJB2タンパク質をコードするヌクレオチド配列に対するウッドチャック肝炎ウイルス(WHP)転写後調節エレメント(WPRE)3'を

50

さらに含む。

【0019】

いくつかの実施形態では、WPREは、配列番号108と少なくとも80%同一のヌクレオチド配列を含む。いくつかの実施形態では、WPREは、配列番号108と100%同一のヌクレオチド配列を含む。

【0020】

いくつかの実施形態では、発現カセットは、WPREの5'に位置する3' UTRをコードするヌクレオチド配列をさらに含む。いくつかの実施形態では、3' UTRはGJB2エクソン2の3' UTRである。いくつかの実施形態では、GJB2エクソン2の3' UTRは、配列番号32と少なくとも80%同一のヌクレオチド配列を含む。

10

【0021】

いくつかの実施形態では、発現カセットは、3' UTRに配置された1つ以上のmiRNA結合部位をさらに含む。いくつかの実施形態では、miRNA結合部位はニューロン関連miRNA結合部位である。いくつかの実施形態では、ニューロン関連miRNAは、miR-124、miR-127、miR-129、miR-129*、miR-136、miR-136*、miR-137、miR-154、miR-300-3p、miR-323、miR-329、miR-341、miR-369-5p、miR-376a、miR-376b-3p、miR-376c、miR-379、miR-382、miR-382*、miR-410、miR-411、miR-433、miR-434、miR-495、miR-541、miR-543*、miR-551b、miR-143、miR-449a、miR-219-2-3p、miR-126、miR-126*、miR-141、miR-142-3p、miR-142-5p、miR-146a、miR-150、miR-200cおよびmiR-223から選択される。いくつかの実施形態では、ニューロン関連miRNAはmiR-124である。いくつかの実施形態では、miRNA結合部位は蝸牛有毛細胞関連miRNA結合部位である。いくつかの実施形態では、蝸牛有毛細胞関連miRNA結合部位は、miR-124、miR-96、miR-182およびmiR-183から選択される。

20

【0022】

いくつかの実施形態では、発現カセットは、ポリAシグナルをさらに含む。いくつかの実施形態では、ポリAシグナルは、ウシ成長ホルモンポリAシグナルである。

【0023】

いくつかの実施形態では、ポリAシグナルは、配列番号109と少なくとも80%同一のヌクレオチド配列を含む。いくつかの実施形態では、ポリAシグナルは、配列番号109と100%同一のヌクレオチド配列を含む。

30

【0024】

いくつかの態様では、本開示はまた、配列番号110または111と100%同一のヌクレオチド配列を含む単離された核酸を提供する。いくつかの態様では、本開示はまた、配列番号110または111と少なくとも80%同一のヌクレオチド配列を含む単離された核酸を提供する。

【0025】

いくつかの態様では、本開示はまた、本明細書において記載される単離された核酸を含むベクターを提供する。いくつかの実施形態では、ベクターはプラスミドまたはウイルスベクターである。いくつかの実施形態では、ウイルスベクターはAAVベクターである。

40

【0026】

いくつかの態様では、本開示はまた、5'から3'に:(a)AAV 5' ITR;(b)GJB2プロモーター、またはその基本GJB2プロモーター配列;(c)GJB2 5' UTR(例、GJB2エクソン1の5' UTR);(d)GJB2タンパク質をコードするヌクレオチド配列;(e)任意選択的に1つ以上のmiR-124結合部位を含む、GJB2 3' UTR(例、GJB2エクソン2の3' UTR);(f)ウシ成長ホルモンポリAシグナル;および(g)AAV 3' ITRを含むベクターを提供する。

【0027】

いくつかの態様では、本開示はまた、5'から3'に:(a)AAV 5' ITR;(b)GJB2エンハンサー;(c)GJB2プロモーター、またはその基本GJB2プロモーター配列;(d)GJB2 5' UTR(例、GJB2エクソン1の5' UTR);(e)GJB2タンパク質をコードするヌクレオチド配列;(f

50

)任意選択的に1つ以上のmiR-124結合部位を含む、GJB2 3' UTR(例、GJB2エクソン2の3' UTR);(g)ウシ成長ホルモンポリAシグナル;および(h)AAV 3' ITRを含むベクターを提供する。

【0028】

いくつかの実施形態では、ベクターは、配列番号36、48~62、および61~83のいずれか1つと少なくとも80%同一のヌクレオチド配列を含む。いくつかの実施形態では、ベクターはAAVベクターである。いくつかの実施形態では、ベクターは、GJB2遺伝子を通常発現する細胞においてGJB2を発現することが可能である。

【0029】

いくつかの態様では、本開示はまた、(i)カプシドタンパク質;および(ii)本明細書において記載される単離された核酸を含む組換えアデノ随伴ウイルス(rAAV)を提供する。

10

【0030】

いくつかの態様では、本開示はまた、(i)カプシドタンパク質と、(ii):(a)AAV 5' ITR(例、GJB2エクソン1の5' UTR);(b)GJB2プロモーター、またはその基本GJB2プロモーター配列;(c)GJB2 5' UTR(例、GJB2エクソン2の3' UTR)(該GJB2エクソン2の3' UTRは任意選択的に1つ以上のmiR-124結合部位を含む);(d)GJB2タンパク質をコードするヌクレオチド配列;(e)GJB2 3' UTR;(f)ウシ成長ホルモンポリAシグナル;および(g)AAV 3' ITRを含む単離された核酸とを含む組換えアデノ随伴ウイルス(rAAV)を提供する。

【0031】

20

いくつかの態様では、本開示はまた、(i)カプシドタンパク質と、(ii):(a)AAV 5' ITR;(b)GJB2エンハンサー;(c)GJB2プロモーター、またはその基本GJB2プロモーター配列;(d)GJB2 5' UTR(例、GJB2エクソン1の5' UTR);(e)GJB2タンパク質をコードするヌクレオチド配列;(f)GJB2 3' UTR(例、GJB2エクソン2の3' UTR)(任意選択的に、該GJB2エクソン2の3' UTRは1つ以上のmiR-124結合部位を含む);(g)ウシ成長ホルモンポリAシグナル;および(h)AAV 3' ITRを含む単離された核酸とを含む組換えアデノ随伴ウイルス(rAAV)を提供する。

【0032】

いくつかの実施形態では、rAAVは、GJB2遺伝子を通常発現する蝸牛細胞のサブセットに対する指向性(tropism)を有する。いくつかの実施形態では、rAAVは、内耳の細胞に対して指向性を有する。

30

【0033】

いくつかの実施形態では、カプシドタンパク質は、AAV1カプシドタンパク質、AAV2カプシドタンパク質、AAV5カプシドタンパク質、AAV7カプシドタンパク質、AAV8カプシドタンパク質、AAV9カプシドタンパク質、AAV-Sカプシドタンパク質、またはそれらの変異体である。いくつかの実施形態では、AAVカプシドは、AAV9.PHP.B、AAV9.PHP.eB、またはAAV-Sである。いくつかの実施形態では、AAVカプシドタンパク質はAAV-Sである。

【0034】

いくつかの態様では、本開示は、本明細書において記載される単離された核酸、ベクター、またはrAAVを含む宿主細胞を提供する。

40

【0035】

いくつかの態様では、本開示は、本明細書において記載される単離された核酸、ベクター、rAAVまたは宿主細胞を含む医薬組成物を提供する。いくつかの実施形態では、医薬組成物は、薬学的に許容される担体をさらに含む。

【0036】

いくつかの態様では、本開示は、対象において、GJB2遺伝子を通常発現する細胞でGJB2を特異的に発現させるための方法であって、有効量の本明細書において記載される単離された核酸、ベクター、rAAV、宿主細胞または医薬組成物を対象に投与することを含む方法を提供する。

50

【0037】

いくつかの態様では、本開示は、対象において非症候性聴覚喪失および難聴(DFNB1)を治療する方法であって、有効量の本明細書において記載される単離された核酸、ベクター、rAAV、宿主細胞または医薬組成物を対象に投与することを含む方法を提供する。

【0038】

それを必要とする対象においてGJB2関連疾患を治療するための方法であって、有効量の本明細書において記載される単離された核酸、ベクター、rAAV、宿主細胞または医薬組成物を対象に投与することを含む方法。

【0039】

いくつかの実施形態では、対象は哺乳動物である。いくつかの実施形態では、哺乳動物はヒトである。いくつかの実施形態では、哺乳動物は非ヒト哺乳動物である。いくつかの実施形態では、非ヒト哺乳動物は、マウス、ラット、または非ヒト霊長類である。

10

【0040】

いくつかの実施形態では、聴覚喪失は、GJB2遺伝子の突然変異に関連する。いくつかの実施形態では、GJB2遺伝子の突然変異は、点突然変異、ミスセンス突然変異、ナンセンス突然変異、スプライス変更突然変異、同義突然変異、欠失、挿入、またはそれらの組み合わせである。いくつかの実施形態では、対象はヒトであり、突然変異は、表2(下記)に列挙される突然変異またはそれらの組み合わせである。いくつかの実施形態では、突然変異は、NM_004004.6 c.101T>C(GRCh37/hg19 Chr13:20763620A>G)またはc.35delG(GRCh37/hg19 chr13:20763685AC>A)である。

20

【0041】

いくつかの実施形態では、投与は、蝸牛結合組織細胞ならびにコルチ器官およびその近傍領域の支持細胞におけるGJB2タンパク質の発現をもたらす。いくつかの実施形態では、コルチ器の支持細胞は、柱細胞(pillar cell)、ダイテルス細胞(Deiters' cell)、ヘンゼン細胞、クラウディウス細胞(Claudius cell)、内指節細胞、および境界細胞である。いくつかの実施形態では、結合組織細胞は、血管条中間細胞(strial intermediate cell)、側壁および血管条より前庭階方向に位置するラセン靱帯領域(suprastrial zone)の線維細胞、血管条の基底細胞、らせん靱帯の線維細胞、らせん板縁の線維細胞、前庭階に面する迷路骨包(bony otic capsule)内側の間葉系細胞、およびらせん板縁の上方領域の(supralimbal)暗細胞である。

30

【0042】

いくつかの実施形態では、投与は注射によるものである。いくつかの実施形態では、注射は、蝸牛の正円窓膜を介して、蝸牛の中央階に、蝸牛の鼓室階に、蝸牛の前庭階に、内耳の半規管に、または内耳の球形嚢もしくは卵形嚢に行われる。

【0043】

本発明の1つ以上の実施形態の詳細は、以下の説明に示される。本発明の他の特徴または利点は、以下の図面および特定の実施形態の詳細な説明から、また添付の特許請求の範囲から明らかになるものと思われる。

【0044】

本明細書に組み込まれ、本明細書の一部を構成する添付の図面は、特定の実施形態を示し、記載された説明と共に、本明細書において開示される組成物および方法の特定の態様の非限定的な例を提供するのに役立つ。

40

【図面の簡単な説明】

【0045】

【図1A】図1A~1Cは、GJB2の構造および発現分布、ならびにGJB2発現の喪失がペイシエントにどのように影響するかを示す。図1Aは、GJB2ヘミチャネルの構造を示す。それぞれが4つの膜貫通ヘリックスを有するGJB2タンパク質の6つのサブユニットが膜の平面に集合して、大きな中心孔を形成する。隣接する細胞からのGJB2ヘミチャネルが接合して、一方の細胞の細胞質から他方の細胞質へのチャネルを作り出す。ギャップ結合は、結合ブランクに充填された数百または数千のチャネルによって形成される。図1B

50

～1Cは、GJB2が発現されている線維細胞および上皮細胞のネットワーク(図1B)、ならびにGJB2が発現されていない内外の有毛細胞(図1C)を示す。

【図1B】図1A～1Cは、GJB2の構造および発現分布、ならびにGJB2発現の喪失がペイシエントにどのように影響するかを示す。図1B～1Cは、GJB2が発現されている線維細胞および上皮細胞のネットワーク(図1B)、ならびにGJB2が発現されていない内外の有毛細胞(図1C)を示す。

【図1C】図1A～1Cは、GJB2の構造および発現分布、ならびにGJB2発現の喪失がペイシエントにどのように影響するかを示す。図1B～1Cは、GJB2が発現されている線維細胞および上皮細胞のネットワーク(図1B)、ならびにGJB2が発現されていない内外の有毛細胞(図1C)を示す。

【図1D】図1Dは、出生時にいくらかの聴覚残存を有する(1または複数の)GJB2突然変異を有する多くのペイシエントが、次の3～6年間にわたってさらなる聴覚喪失を示すことを示す。治療のためのウィンドウが生後1～5年間存在する。米国の0～5歳の約1万人の罹患小児が治療可能である。

【0046】

【図2A】図2A～図2Bは、正円窓膜(RWM)を介した直接注射による蝸牛へのウイルスベクターの送達、および注射されたマウスの聴覚に対するGJB2の乱雑な発現の有害作用を示す。図2Aは、正円窓膜(RWM)注射を示す漫画である。

【図2B】図2A～図2Bは、正円窓膜(RWM)を介した直接注射による蝸牛へのウイルスベクターの送達、および注射されたマウスの聴覚に対するGJB2の乱雑な発現の有害作用を示す。図2Bは、野生型マウスの内耳におけるGjb2の乱雑な発現が聴覚を損傷したことを示す。

【0047】

【図3A】図3A～3Nは、GJB2遺伝子を天然に発現する蝸牛細胞のサブセットにおけるGJB2発現に重要なシス調節エレメント(例、エンハンサー)の同定を示す。図3A～図3Bは、GJB2関連難聴を有する特定のペイシエントがGJB2コード配列突然変異と共にトランスに生じる上流欠失を有することを示し、これは、一部のペイシエントがシス調節エレメントに(1または複数の)突然変異を担持し、CRYL1遺伝子の隣の領域がそのようなシス調節エレメントの同定にとって特に重要であることを示唆する。

【図3B】図3A～3Nは、GJB2遺伝子を天然に発現する蝸牛細胞のサブセットにおけるGJB2発現に重要なシス調節エレメント(例、エンハンサー)の同定を示す。図3A～図3Bは、GJB2関連難聴を有する特定のペイシエントがGJB2コード配列突然変異と共にトランスに生じる上流欠失を有することを示し、これは、一部のペイシエントがシス調節エレメントに(1または複数の)突然変異を担持し、CRYL1遺伝子の隣の領域がそのようなシス調節エレメントの同定にとって特に重要であることを示唆する。

【図3C-1】図3A～3Nは、GJB2遺伝子を天然に発現する蝸牛細胞のサブセットにおけるGJB2発現に重要なシス調節エレメント(例、エンハンサー)の同定を示す。図3C(上)は、マウスGjb2遺伝子領域の約300 kbにわたる、発達段階P2、P5およびP8のマウス蝸牛からのATAC-SeqのUCSC Genome Browser viewsでの遺伝子調節エレメント(GRE)の同定を示す。斜線領域は、推定GREを含有する領域を標している。X軸はマウスゲノムのchr14上のゲノム領域である。Y軸は、ゲノム内の特定の領域にアラインメントするATAC-Seqによるリードの数である。明るい陰影は、オープンクロマチンの領域を表示し、これは、リードパイルアップについて濃縮された転写活性領域の特徴であり、これらの領域におけるより高い活性を示唆する。領域AおよびBは、マウスGjb2自体の内の転写活性配列を標している。領域C～Mは、シス調節ネットワークの一部であり得るGjb2の周囲の転写活性領域である。図3C(下)は、特定のGRE(暗いハイライト)として試験された明るい影の領域およびその周囲の転写活性領域を示す。GREはマウスにおいて最初に同定されたことに留意されたい。ヒトGJB2 GREは、マウスGREをモデル化することによってin silicoで同定された。ヒトGJB2 GREはその後の実験で試験された。

【図3C-2】図3A～3Nは、GJB2遺伝子を天然に発現する蝸牛細胞のサブセットにお

10

20

30

40

50

けるGJB2発現に重要なシス調節エレメント(例、エンハンサー)の同定を示す。図3C(上)は、マウスGjb2遺伝子領域の約300 kbにわたる、発達段階P2、P5およびP8のマウス蝸牛からのATAC-SeqのUCSC Genome Browser viewsでの遺伝子調節エレメント(GRE)の同定を示す。斜線領域は、推定GREを含有する領域を標している。X軸はマウスゲノムのchr14上のゲノム領域である。Y軸は、ゲノム内の特定の領域にアラインメントするATAC-Seqによるリードの数である。明るい陰影は、オープンクロマチンの領域を表示し、これは、リードパイルアップについて濃縮された転写活性領域の特徴であり、これらの領域におけるより高い活性を示唆する。領域AおよびBは、マウスGjb2自体の内の転写活性配列を標している。領域C~Mは、シス調節ネットワークの一部であり得るGjb2の周囲の転写活性領域である。図3C(下)は、特定のGRE(暗いハイライト)として試験された明るい影の領域およびその周囲の転写活性領域を示す。GREはマウスにおいて最初に同定されたことに留意されたい。ヒトGJB2 GREは、マウスGREをモデル化することによってin silicoで同定された。ヒトGJB2 GREはその後の実験で試験された。

10

【図3C-3】図3A~3Nは、GJB2遺伝子を天然に発現する蝸牛細胞のサブセットにおけるGJB2発現に重要なシス調節エレメント(例、エンハンサー)の同定を示す。図3C(上)は、マウスGjb2遺伝子領域の約300 kbにわたる、発達段階P2、P5およびP8のマウス蝸牛からのATAC-SeqのUCSC Genome Browser viewsでの遺伝子調節エレメント(GRE)の同定を示す。斜線領域は、推定GREを含有する領域を標している。X軸はマウスゲノムのchr14上のゲノム領域である。Y軸は、ゲノム内の特定の領域にアラインメントするATAC-Seqによるリードの数である。明るい陰影は、オープンクロマチンの領域を表示し、これは、リードパイルアップについて濃縮された転写活性領域の特徴であり、これらの領域におけるより高い活性を示唆する。領域AおよびBは、マウスGjb2自体の内の転写活性配列を標している。領域C~Mは、シス調節ネットワークの一部であり得るGjb2の周囲の転写活性領域である。図3C(下)は、特定のGRE(暗いハイライト)として試験された明るい影の領域およびその周囲の転写活性領域を示す。GREはマウスにおいて最初に同定されたことに留意されたい。ヒトGJB2 GREは、マウスGREをモデル化することによってin silicoで同定された。ヒトGJB2 GREはその後の実験で試験された。

20

【図3C-4】図3A~3Nは、GJB2遺伝子を天然に発現する蝸牛細胞のサブセットにおけるGJB2発現に重要なシス調節エレメント(例、エンハンサー)の同定を示す。図3C(上)は、マウスGjb2遺伝子領域の約300 kbにわたる、発達段階P2、P5およびP8のマウス蝸牛からのATAC-SeqのUCSC Genome Browser viewsでの遺伝子調節エレメント(GRE)の同定を示す。斜線領域は、推定GREを含有する領域を標している。X軸はマウスゲノムのchr14上のゲノム領域である。Y軸は、ゲノム内の特定の領域にアラインメントするATAC-Seqによるリードの数である。明るい陰影は、オープンクロマチンの領域を表示し、これは、リードパイルアップについて濃縮された転写活性領域の特徴であり、これらの領域におけるより高い活性を示唆する。領域AおよびBは、マウスGjb2自体の内の転写活性配列を標している。領域C~Mは、シス調節ネットワークの一部であり得るGjb2の周囲の転写活性領域である。図3C(下)は、特定のGRE(暗いハイライト)として試験された明るい影の領域およびその周囲の転写活性領域を示す。GREはマウスにおいて最初に同定されたことに留意されたい。ヒトGJB2 GREは、マウスGREをモデル化することによってin silicoで同定された。ヒトGJB2 GREはその後の実験で試験された。

30

40

【図3D】図3A~3Nは、GJB2遺伝子を天然に発現する蝸牛細胞のサブセットにおけるGJB2発現に重要なシス調節エレメント(例、エンハンサー)の同定を示す。図3D~3Eは、GJB2プロモーターおよび/またはエンハンサーの組込みの有る、または無い、様々なベクター設計を示す。これらのベクターはマウス内耳で試験された。GJB2エンハンサーベクターであるC15ベクターは、500 bpのヒトGJB2プロモーター、ヒトGJB2 5' UTR、続いてGFPのコード配列およびヒトGJB2 3' UTR、およびATAC-seqによって同定されたマウス配列と一致する3つのヒトGJB2エンハンサーをつないでいる。ベクターc20~23は、マウスにおけるGjb2の乱雑な発現の毒性を試験するために構築された。ベクターc20は、 2×10^9 ゲノムコピーを超える用量で致死的であった。

50

【図 3 E】図 3 A～3 Nは、GJB2 遺伝子を天然に発現する蝸牛細胞のサブセットにおける GJB2 発現に重要なシス調節エレメント(例、エンハンサー)の同定を示す。図 3 D～3 Eは、GJB2 プロモーターおよび/またはエンハンサーの組み込みの有る、または無い、様々なベクター設計を示す。これらのベクターはマウス内耳で試験された。GJB2 エンハンサーベクターである C15 ベクターは、500 bp のヒト GJB2 プロモーター、ヒト GJB2 5' UTR、続いて GFP のコード配列およびヒト GJB2 3' UTR、および ATAC-seq によって同定されたマウス配列と一致する 3 つのヒト GJB2 エンハンサーをつないでいる。ベクター c20～23 は、マウスにおける *Gjb2* の乱雑な発現の毒性を試験するために構築された。ベクター c20 は、 2×10^9 ゲノムコピーを超える用量で致死性であった。

【図 3 F】図 3 A～3 Nは、GJB2 遺伝子を天然に発現する蝸牛細胞のサブセットにおける GJB2 発現に重要なシス調節エレメント(例、エンハンサー)の同定を示す。図 3 Fは、側壁(上)から歯間細胞(下)までのマウス蝸牛のセグメントを示す。AAV9-PHP.B-C15 ベクターで形質導入され、*Gjb2* エンハンサー下で GFP マーカー遺伝子を発現する細胞が左パネルに示される。GJB2 を通常発現する細胞が中央パネルに示される。右側のパネルでは、アクチンを蛍光ファロイジンで標識することによって、IHC および OHC (標示) も同定される。c15 構築物によって駆動された GFP の発現パターンは、GJB2 に対する同じ抗体を使用した Kikuchi et al., 1995 で報告された天然の *Gjb2* 発現と一致する。明白に、c15 は、有毛細胞における GFP 発現を駆動しない。

【図 3 G】図 3 A～3 Nは、GJB2 遺伝子を天然に発現する蝸牛細胞のサブセットにおける GJB2 発現に重要なシス調節エレメント(例、エンハンサー)の同定を示す。図 3 Gは、構築物 c20 によって駆動される、内有毛細胞における *Gjb2* の発現を示す。外有毛細胞および内有毛細胞を有する、注射されていないマウス蝸牛におけるコルチ器官の 3D 再構築が上のパネルに示される。支持細胞中の GJB2 含有ギャップ結合が、GJB2 タンパク質に対する抗体で標識された。有毛細胞はギャップ結合を作らない。乱雑なプロモーターを有するベクター c20 は、内有毛細胞および他の細胞型における GJB2 発現を駆動する(下のパネルを参照されたい)。

【図 3 H】図 3 A～3 Nは、GJB2 遺伝子を天然に発現する蝸牛細胞のサブセットにおける GJB2 発現に重要なシス調節エレメント(例、エンハンサー)の同定を示す。図 3 Hは、乱雑な *Gjb2* 発現が野生型マウスの聴覚を損なうが、標的化された発現が *Gjb2* ノックアウトマウスの聴覚を救済することを示す。しかしながら、ATAC-Seq からの予備試験結果に基づいて GJB2 プロモーター/エンハンサーを包含する C70 構築物は、15～20 dB まで聴覚を救済することが可能であり、野生型において聴覚を損傷しなかった。

【図 3 I】図 3 A～3 Nは、GJB2 遺伝子を天然に発現する蝸牛細胞のサブセットにおける GJB2 発現に重要なシス調節エレメント(例、エンハンサー)の同定を示す。図 3 I～3 Lは、HA タグの有る、または無い、マウス GJB2 またはヒト GJB2 をコードする c70 ベクタープラスミドのマッピングを示す。

【図 3 J】図 3 A～3 Nは、GJB2 遺伝子を天然に発現する蝸牛細胞のサブセットにおける GJB2 発現に重要なシス調節エレメント(例、エンハンサー)の同定を示す。図 3 I～3 Lは、HA タグの有る、または無い、マウス GJB2 またはヒト GJB2 をコードする c70 ベクタープラスミドのマッピングを示す。

【図 3 K】図 3 A～3 Nは、GJB2 遺伝子を天然に発現する蝸牛細胞のサブセットにおける GJB2 発現に重要なシス調節エレメント(例、エンハンサー)の同定を示す。図 3 I～3 Lは、HA タグの有る、または無い、マウス GJB2 またはヒト GJB2 をコードする c70 ベクタープラスミドのマッピングを示す。

【図 3 L】図 3 A～3 Nは、GJB2 遺伝子を天然に発現する蝸牛細胞のサブセットにおける GJB2 発現に重要なシス調節エレメント(例、エンハンサー)の同定を示す。図 3 I～3 Lは、HA タグの有る、または無い、マウス GJB2 またはヒト GJB2 をコードする c70 ベクタープラスミドのマッピングを示す。

【図 3 M】図 3 A～3 Nは、GJB2 遺伝子を天然に発現する蝸牛細胞のサブセットにおける GJB2 発現に重要なシス調節エレメント(例、エンハンサー)の同定を示す。図 3 Mは、HA

10

20

30

40

50

タグの有る、または無い、マウスGJB2またはヒトGJB2をコードするベクターc.70の概略図を示す。

【図3N】図3A～3Nは、GJB2遺伝子を天然に発現する蝸牛細胞のサブセットにおけるGJB2発現に重要なシス調節エレメント(例、エンハンサー)の同定を示す。図3Nは、作り出され、試験された追加のベクターを示す。

【0048】

【図4】図4は、CBAプロモーターを有するeGFPをコードするAAV-Sが、新生仔マウスおよび幼若NHP蝸牛の両方において、有毛細胞、支持細胞、および側壁の細胞を効率的に形質導入することを示す。

【0049】

【図5A】図5A～5Vは、それぞれ同定されたGJB2 GRE 1、2、3、4、5、7、8、および9を含むAAVベクターのベクターマップを示す。ベクターは、5'から3'に、5' ITR、ヒトGJB2 GRE、GJB2基本プロモーター、GJB2エクソン1の5' UTR、eGFRをコードするヌクレオチド配列、およびGJB2エクソン2の3'UTRを含む。図5Aは、ヒトGJB2 GRE1を含むし、ヒトGJB2をコードするベクターc.81.1を示す。

【図5B】図5A～5Vは、それぞれ同定されたGJB2 GRE 1、2、3、4、5、7、8、および9を含むAAVベクターのベクターマップを示す。ベクターは、5'から3'に、5' ITR、ヒトGJB2 GRE、GJB2基本プロモーター、GJB2エクソン1の5' UTR、eGFRをコードするヌクレオチド配列、およびGJB2エクソン2の3'UTRを含む。図5Bは、ヒトGJB2 GRE1を含むし、マウスGJB2をコードするベクターc.81.1を示す。

【図5C】図5A～5Vは、それぞれ同定されたGJB2 GRE 1、2、3、4、5、7、8、および9を含むAAVベクターのベクターマップを示す。ベクターは、5'から3'に、5' ITR、ヒトGJB2 GRE、GJB2基本プロモーター、GJB2エクソン1の5' UTR、eGFRをコードするヌクレオチド配列、およびGJB2エクソン2の3'UTRを含む。図5Cは、ヒトGJB2 GRE2を含むし、eGFPをコードするベクターc.81.2を示す。

【図5D】図5A～5Vは、それぞれ同定されたGJB2 GRE 1、2、3、4、5、7、8、および9を含むAAVベクターのベクターマップを示す。ベクターは、5'から3'に、5' ITR、ヒトGJB2 GRE、GJB2基本プロモーター、GJB2エクソン1の5' UTR、eGFRをコードするヌクレオチド配列、およびGJB2エクソン2の3'UTRを含む。図5Dは、ヒトGJB2 GRE2を含むし、ヒトGJB2をコードするベクターc.81.2を示す。

【図5E】図5A～5Vは、それぞれ同定されたGJB2 GRE 1、2、3、4、5、7、8、および9を含むAAVベクターのベクターマップを示す。ベクターは、5'から3'に、5' ITR、ヒトGJB2 GRE、GJB2基本プロモーター、GJB2エクソン1の5' UTR、eGFRをコードするヌクレオチド配列、およびGJB2エクソン2の3'UTRを含む。図5Eは、ヒトGJB2 GRE2を含むし、マウスGJB2をコードするベクターc.81.2を示す。

【図5F】図5A～5Vは、それぞれ同定されたGJB2 GRE 1、2、3、4、5、7、8、および9を含むAAVベクターのベクターマップを示す。ベクターは、5'から3'に、5' ITR、ヒトGJB2 GRE、GJB2基本プロモーター、GJB2エクソン1の5' UTR、eGFRをコードするヌクレオチド配列、およびGJB2エクソン2の3'UTRを含む。図5Fは、ヒトGJB2 GRE3を含むし、eGFPをコードするベクターc.81.3を示す。

【図5G】図5A～5Vは、それぞれ同定されたGJB2 GRE 1、2、3、4、5、7、8、および9を含むAAVベクターのベクターマップを示す。ベクターは、5'から3'に、5' ITR、ヒトGJB2 GRE、GJB2基本プロモーター、GJB2エクソン1の5' UTR、eGFRをコードするヌクレオチド配列、およびGJB2エクソン2の3'UTRを含む。図5Gは、ヒトGJB2 GRE3を含むし、ヒトGJB2をコードするベクターc.81.3を示す。

【図5H】図5A～5Vは、それぞれ同定されたGJB2 GRE 1、2、3、4、5、7、8、および9を含むAAVベクターのベクターマップを示す。ベクターは、5'から3'に、5' ITR、ヒトGJB2 GRE、GJB2基本プロモーター、GJB2エクソン1の5' UTR、eGFRをコードするヌクレオチド配列、およびGJB2エクソン2の3'UTRを含む。図5Hは、ヒトGJB2 GRE3を含むし、マウスGJB2をコードするベクターc.81.3を示す。

【図5S】図5A～5Vは、それぞれ同定されたGJB2 GRE 1、2、3、4、5、7、8、および9を包含するAAVベクターのベクターマップを示す。ベクターは、5'から3'に、5' ITR、ヒトGJB2 GRE、GJB2基本プロモーター、GJB2エクソン1の5' UTR、eGFRをコードするヌクレオチド配列、およびGJB2エクソン2の3'UTRを包含する。図5Sは、ヒトGJB2 GRE9を包含し、eGFPをコードするベクターc.81.9を示す。

【図5T】図5A～5Vは、それぞれ同定されたGJB2 GRE 1、2、3、4、5、7、8、および9を包含するAAVベクターのベクターマップを示す。ベクターは、5'から3'に、5' ITR、ヒトGJB2 GRE、GJB2基本プロモーター、GJB2エクソン1の5' UTR、eGFRをコードするヌクレオチド配列、およびGJB2エクソン2の3'UTRを包含する。図5Tは、ヒトGJB2 GRE9を包含し、ヒトGJB2をコードするベクターc.81.9を示す。

10

【図5U】図5A～5Vは、それぞれ同定されたGJB2 GRE 1、2、3、4、5、7、8、および9を包含するAAVベクターのベクターマップを示す。ベクターは、5'から3'に、5' ITR、ヒトGJB2 GRE、GJB2基本プロモーター、GJB2エクソン1の5' UTR、eGFRをコードするヌクレオチド配列、およびGJB2エクソン2の3'UTRを包含する。図5Uは、ヒトGJB2 GRE9を包含し、マウスGJB2をコードするベクターc.81.9を示す。

【図5V】図5A～5Vは、それぞれ同定されたGJB2 GRE 1、2、3、4、5、7、8、および9を包含するAAVベクターのベクターマップを示す。ベクターは、5'から3'に、5' ITR、ヒトGJB2 GRE、GJB2基本プロモーター、GJB2エクソン1の5' UTR、eGFRをコードするヌクレオチド配列、およびGJB2エクソン2の3'UTRを包含する。図5Vは、上記の、eGFP、マウスGJB2およびヒトGJB2をコードするc81.2、c81.3、c81.5、c81.7およびc81.9の概略図を示す。

20

【0050】

【図6A】図6A～図6Dは、コルチ器の細胞におけるベクターc81.5によるGFP発現を示す。図6Aは、コルチ器中およびコルチ器の内側の様々な支持細胞を包含するGFP発現細胞の蛍光画像を示す。

【図6B】図6A～図6Dは、コルチ器の細胞におけるベクターc81.5によるGFP発現を示す。図6Bは、コルチ器の領域における内因性GJB2の抗体標識を示す。Gjb2発現は、外因性GFPの発現と大部分重複していた。

【図6C】図6A～図6Dは、コルチ器の細胞におけるベクターc81.5によるGFP発現を示す。図6Cは、第3のアクチン染色を施した図6Aと図6Bとのオーバーレイであり、これは有毛細胞の不動毛を明らかにした。

30

【図6D】図6A～図6Dは、コルチ器の細胞におけるベクターc81.5によるGFP発現を示す。図6Dは、GFPおよび有毛細胞のタンパク質マーカー、MYO7Aの凍結切片免疫蛍光画像を示す。GFPはコルチ器の様々な支持細胞において発現されたが、有毛細胞で発現されたMYO7A発現と重複しなかった。

【0051】

【図7A】図7A～図7Eは、蝸牛の側壁におけるベクター81.5によるGFP発現パターンを示す。図7Aは、側壁の線維細胞を包含する細胞におけるGFP発現を示す。

【図7B】図7A～図7Eは、蝸牛の側壁におけるベクター81.5によるGFP発現パターンを示す。図7Bは、側壁の領域における内因性Gjb2の抗体標識を示す。GJB2発現は、外因性GFPの発現と大部分重複している。

40

【図7C】図7A～図7Eは、蝸牛の側壁におけるベクター81.5によるGFP発現パターンを示す。図7Cは、図7Aと7Bとのオーバーレイ画像である。GFPは、Gjb2を発現する細胞において発現されたことに留意されたい。

【図7D】図7A～図7Eは、蝸牛の側壁におけるベクター81.5によるGFP発現パターンを示す。図7D～7Eは、コルチ器の支持細胞および側壁の線維細胞におけるGFP(図7D)およびGJB2(図7E)の凍結切片免疫蛍光を示す。

【図7E】図7A～図7Eは、蝸牛の側壁におけるベクター81.5によるGFP発現パターンを示す。図7D～7Eは、コルチ器の支持細胞および側壁の線維細胞におけるGFP(図7D)およびGJB2(図7E)の凍結切片免疫蛍光を示す。

50

【0052】

本明細書に組み込まれ、本明細書の一部を構成する添付の図面は、特定の実施形態を示し、記載された説明と共に、本明細書において開示される組成物および方法の特定の態様の非限定的な例を提供するのに役立つ。

【発明を実施するための形態】

【0053】

本開示は、少なくとも部分的に、ギャップ結合ベータ2(GJB2)遺伝子調節エレメント(GRE)と、GJB2タンパク質をコードするヌクレオチド配列とを含む発現カセットを含む単離された核酸に関する。いくつかの実施形態では、発現カセットは、プロモーター(例、GJB2プロモーター)をさらに含む。いくつかの実施形態では、発現カセットは、2つのアデノ随伴ウイルス(AAV)逆方向末端反復配列(ITR)に隣接されている。単離された核酸中の天然GJB2調節エレメント(GRE)の存在は、有毒で聴覚を損傷する、内耳における乱雑なGJB2遺伝子発現を防止する。したがって、いくつかの実施形態では、本明細書において記載される単離された核酸は、GJB2遺伝子を通常発現する内耳細胞(例、蝸牛の結合組織細胞ならびにコルチ器およびその近傍領域の支持細胞)ではGJB2タンパク質を発現することが可能であるが、GJB2遺伝子を通常発現しない細胞(例、有毛細胞およびらせん神経節ニューロン)では発現することは不可能である。

【0054】

1. 単離された核酸

いくつかの態様では、本開示は、特定の常染色体劣性遺伝疾患、例えば非症候性聴覚喪失(DFNB1)を治療するための組成物および方法に関する。DFNB1は、GJB2遺伝子の突然変異によって引き起こされる。GJB2遺伝子は、コネキシン26としても公知のGJB2タンパク質をコードする。コネキシン26はコネキシンタンパク質ファミリーのメンバーである。GJB2タンパク質は、ギャップ結合と呼ばれるクラスター内にチャネルを形成し、これにより、内耳中の細胞を包含する近隣細胞間の通信が可能になる。GJB2遺伝子の突然変異は、ギャップ結合の構造を排除または変化させ、聴覚に必要な細胞の機能または生存に影響を及ぼす。遺伝子置換療法(例、組換えアデノ随伴ウイルス(rAAV)による遺伝子療法)は、GJB2遺伝子コード配列のサイズが小さい(700 bp未満)ために魅力的である。しかしながら、現在利用可能な遺伝子療法を用いた内耳におけるGJB2発現の回復は、聴覚の回復にはつながらない。

【0055】

したがって、本開示は、GJB2遺伝子療法の成功が、GJB2タンパク質を通常発現する細胞(例、蝸牛の結合組織細胞ならびにコルチ器およびその近傍領域の支持細胞)ではGJB2発現を必要とし、他の細胞(例、有毛細胞およびらせん神経節ニューロン)では必要としないという驚くべき発見に部分的に基づく。感覚細胞を除いて、蝸牛内のほとんどの細胞はギャップ結合を介して接続されており、これらのギャップ結合は蝸牛機能において重要な役割を果たすようである。GJB2タンパク質は、蝸牛のほとんどの細胞クラスを接続するギャップ結合に存在する。ギャップ結合を相互接続することによって画定される2つの独立した細胞系が存在する。第1の系である上皮細胞ギャップ結合系は、主にすべてのコルチ器支持細胞(例、内溝および外溝の上皮細胞、ならびに歯間細胞)から構成され、らせん板縁の歯間細胞およびらせん靱帯内の根細胞も包含する。内耳では、コルチ器と呼ばれる蝸牛の感覚領域は、様々な支持細胞に囲まれた1列の内有毛細胞(IHC)および3~4列の外有毛細胞(OHC)を包含する。支持細胞は、内耳感覚上皮の発達、機能、および維持において重要な役割を果たす。上皮の管腔表面のみに接触する有毛細胞とは異なり、支持細胞は、基底膜から管腔まで上皮の深さ全体に及ぶ。支持細胞は、緊密な接着結合によって互いにおよび有毛細胞に連結され、これらはギャップ結合によって他の支持細胞と直接通信する(例、Wan et al., Inner ear supporting cells: Rethinking the silent majority, Semin Cell Dev Biol. 2013 May; 24(5): 448-459)。コルチ器の支持細胞の非限定的な例としては、柱細胞(pillar cell)、ダイテルス細胞(Deiters' cell)、ヘンゼン細胞、クラウディウス細胞(Claudius cell)、内指節細胞、および境界細胞を包含

する。第2の系である結合組織細胞ギャップ結合系としては、血管条中間細胞(strial intermediate cell)、側壁および血管条より前庭階方向に位置するラセン靱帯領域(suprastrial zone)の線維細胞、血管条の基底細胞、らせん靱帯の線維細胞、らせん板縁の線維細胞、前庭階に面する迷路骨包(bony otic capsule)内側の間葉系細胞、およびらせん板縁の上方領域の(supralimbal)暗細胞を包含する。いくつかの実施形態では、蝸牛において、GJB2は、通常、コルチ器およびその近傍領域の支持細胞(例、柱細胞、ダイテルス細胞、ヘンゼン細胞、クラウディウス細胞、内指節細胞、および境界細胞)、ならびに、血管条中間細胞(strial intermediate cell)、側壁および血管条より前庭階方向に位置するラセン靱帯領域(suprastrial zone)の線維細胞、血管条の基底細胞、らせん靱帯の線維細胞、らせん板縁の線維細胞、前庭階に面する迷路骨包(bony otic capsule)の内側の間葉系細胞、および、らせん板縁の上方領域の(supralimbal)暗細胞を含む結合組織系において発現される(例、Kikuchi et al.(1995)Gap junctions in the rat cochlea:immunohistochemical and ultrastructural analysis.Anat Embryol(Berl)191:101-118;およびKikuchi et al.,Gap junction systems in the mammalian cochlea,Brain Res Brain Res Rev.2000 Apr;32(1):163-6 .doi:10.1016/s0165-0173(99)00076-4を参照されたい)。

10

【0056】

GJB2発現は蝸牛機能にとって重要である。例えば、形質導入チャネルを通して有毛細胞に入り、基底 K^+ チャネルを通して出る K^+ は、上皮系によってコルチ器から運び去られ、細胞質系によって血管条(stria)に搬送され、そこで内リンパにポンプで戻される。さらに、GJB2タンパク質を内耳に欠くマウスは、有毛細胞がGjb2を発現していないにもかかわらず、生後30日(P30)までに、有毛細胞および支持細胞の蝸牛内電位の低下および著しいアポトーシス喪失を有するので、GJB2は蝸牛の発達において役割を果たす(Cohen-Salmon et al.,2002;Wang et al.,2009;Sun et al.,2009;Crispino et al.,2011;Johnson et al.,2017)。Gjb2がP6の後に欠失している場合、表現型ははるかに軽度である(Chang et al.,2015)。しかしながら、GJB2タンパク質に対する長期的な必要性が依然として存在しており、P14ほどの後期の欠失であっても、有毛細胞の喪失が数ヶ月後に起こる((Ma et al.,2020)。いかなる特定の理論にも拘束されることを望むものではないが、 K^+ シャトルにおけるGJB2の機能は、蝸牛の発達におけるその役割に関連し得、 K^+ がギャップ結合ネットワークによって有毛細胞から運び去られない場合、 K^+ の蓄積は有毛細胞を脱分極させ、 Ca^{2+} 流入および最終的な細胞死をもたらすことができる。ギャップ結合ネットワークはまた、グルコースおよび栄養素を血管から感覚上皮に輸送するために必要とされ得、その不在は細胞死につながることを示す。

20

30

【0057】

いくつかの実施形態では、本開示は、発現カセットに隣接する2つのアデノ随伴ウイルス(AAV)逆方向末端反復配列(ITR)を含む単離された核酸を提供し、該発現カセットは、GJB2遺伝子調節エレメント(GRE)をコードするヌクレオチド配列に作動可能に連結されるプロモーター(例、ヒトGJB2プロモーター)と、ギャップ結合ベータ2(GJB2)タンパク質をコードするヌクレオチド配列とを含む。天然のGJB2遺伝子調節エレメントおよび/または組織/細胞特異的プロモーターを単離された核酸に組み込むことは、GJB2遺伝子を通常発現する細胞(例、線維細胞を包含する蝸牛の結合組織細胞、ならびにコルチ器およびその近傍領域の支持細胞)におけるGJB2遺伝子の発現を促進する。本明細書において使用される場合、発現カセットは、ベクターおよびその調節配列を有する細胞によって発現されるタンパク質コード配列を含むベクターDNAの成分を指す。標的細胞に送達されると、発現カセットは、RNAおよび/または(1または複数の)タンパク質(例、GJB2タンパク質)を作るように細胞の機構に指示する。

40

【0058】

「核酸」配列は、DNAまたはRNA配列を指す。いくつかの実施形態では、本開示のタンパク質および核酸が単離される。本明細書において使用される場合、「単離された」という用語は、人工的に産生されたことを意味する。核酸に関して本明細書において使用さ

50

れる場合、「単離された」という用語は、(i)例えばポリメラーゼ連鎖反応(PCR)によって *in vitro* で増幅された;(ii)クローニングにより組換え生産された;(iii)例えば、切断およびゲル分離によって精製された;または(iv)例えば化学合成によって合成された;ことを意味する。単離された核酸は、当技術分野において周知の組換えDNA技術によって容易に操作可能なものである。したがって、5'および3'制限部位が公知であるかまたはポリメラーゼ連鎖反応(PCR)プライマー配列が開示されているベクターに含有されるヌクレオチド配列は単離されていると見なされるが、その天然宿主中にその天然状態で存在する核酸配列は単離されているとは見なされない。単離された核酸は、実質的に精製され得るが、精製されている必要はない。例えば、クローニングベクターまたは発現ベクター内で単離される核酸は、それが存在する細胞中にごくわずかな割合の材料のみ含み得るという点で純粋ではない。しかしながら、このような核酸は、当業者に公知の標準的な技術によって容易に操作可能であるため、この用語が本明細書において使用される場合、単離される。タンパク質またはペプチドに関して本明細書において使用される場合、「単離された」という用語は、その天然環境から単離された、または人工的に産生された(例、化学合成によって、組換えDNA技術によって、など)タンパク質またはペプチドを指す。

10

20

30

40

50

【0059】

いくつかの実施形態では、GJB2タンパク質は、ヒトGJB2タンパク質である。いくつかの実施形態では、ヒトGJB2タンパク質は、配列番号1と少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%同一のアミノ酸配列を含む。

【0060】

例示的なヒトGJB2タンパク質配列は配列番号1に示される:

MDWGTLLQTLGGVNHSTSIGKIWLTVLFIFRIMILVVAAKEVWGDEQADFVCNTLQ
PGCKNVCYDHYFPISHIRLWALQLIFVSTPALLVAMHVAYRRHEKRKFKEIKSEFK
DIEEIKTQKVRIEGLWWTYTSSIFFRVIFEAAFMVVFYVMYDGFMSQRLVKCNAWP
CPNTVDCFVSRPTEKTVFTVFMIASGICILLNVTELCYLLIRYCSGKSKKPV

【0061】

いくつかの実施形態では、単離された核酸の発現カセットは、配列番号1に示されるアミノ酸配列を有するヒトGJB2タンパク質をコードする。いくつかの実施形態では、ヒトGJB2タンパク質をコードするヌクレオチド配列は、配列番号2と少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%同一のヌクレオチド配列を含む。

【0062】

ヒトGJB2タンパク質をコードする例示的なヌクレオチド配列は配列番号2に示される:

ATGGATTGGGGCACGCTGCAGACGATCCTGGGGGGTGTGAACAAACACTCCACCAG
CATTGGAAAGATCTGGCTCACCGTCCTCTTCATTTTTTCGCATTATGATCCTCGTTGT
GGCTGCAAAGGAGGTGTGGGGAGATGAGCAGGCCGACTTTGTCTGCAACACCCTGC
AGCCAGGCTGCAAGAACGTGTGCTACGATCACTACTTCCCCATCTCCACATCCGG
CTATGGGCCCTGCAGCTGATCTTCGTGTCCACGCCAGCGCTCCTAGTGGCCATGCA
CGTGGCCTACCGGAGACATGAGAAGAAGAGGAAGTTTCATCAAGGGGGAGATAAAGA
GTGAATTTAAGGACATCGAGGAGATCAAAACCCAGAAGGTCCGCATCGAAGGCTCC
CTGTGGTGGACCTACACAAGCAGCATCTTCTTCCGGGTCATCTTCGAAGCCGCCTT
CATGTACGTCTTCTATGTACGTACGACGGCTTCTCCATGCAGCGGCTGGTGAAGT
GCAACGCCTGGCCTTGTCCCAACACTGTGGACTGCTTTGTGTCCCGGCCACGGAG
AAGACTGTCTTCACAGTGTTTCATGATTGCAGTGTCTGGAATTTGCATCCTGCTGAA
TGTCACCTGAATTGTGTTATTTGCTAATTAGATATTGTTCTGGGAAGTCAAAAAGC

CAGTT

【0063】

いくつかの実施形態では、GJB2タンパク質は、マウスGJB2タンパク質である。いくつかの実施形態では、マウスGJB2タンパク質は、配列番号3と少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%同一のアミノ酸配列を含む。

【0064】

例示的なマウスGJB2タンパク質配列は配列番号3に示される：

MDWGTLSILGGVNHSTSIGKIWLTVLFIFRIMILVVAKEVWGDEQADFVCNTLQ
PGCKNVCYDHHFPIHRLWALQLIMVSTPALLVAMHVAYRRHEKRRKFMKGEIKN
EFKDIEEIKTQKVRIEGLWWTYTTTSIFFRVIFEAVFMYVFYIMYNGFFMQRLVKCN
AWPCPNTVDCFISRPTEKTVFTVFMISVSGICILLNITELCYLFVRYCSGKSKRPV

【0065】

いくつかの実施形態では、単離された核酸は、配列番号3に示されるアミノ酸配列を有するマウスGJB2タンパク質をコードするヌクレオチド配列を含む。いくつかの実施形態では、マウスGJB2タンパク質をコードするヌクレオチド配列は、配列番号4と少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%同一のヌクレオチド配列を含む。

【0066】

ヒトGJB2タンパク質をコードする例示的なヌクレオチド配列は配列番号4に示される：

ATGGATTGGGGCACACTCCAGAGCATCCTCGGGGGTGTCAACAAACACTCCACCAG
CATTGGAAAGATCTGGCTCACGGTCCTCTTCATCTTCCGCATCATGATCCTCGTGGT
GGCTGCAAAGGAGGTGTGGGGAGATGAGCAAGCCGATTTTGTCTGCAACACGCTCC
AGCCTGGCTGCAAGAATGTATGCTACGACCACCACTTCCCCATCTCTCACATCCGG
CTCTGGGCTCTGCAGCTGATCATGGTGTCCACGCCAGCCCTCCTGGTAGCTATGCA
TGTGGCCTACCGGAGACATGAAAAGAAACGGAAGTTTCATGAAGGGAGAGATAAAGA
ACGAGTTTAAGGACATCGAAGAGATCAAAACCCAGAAGGTCCGTATCGAAGGGTCC
CTGTGGTGGACCTACACCACCAGCATCTTCTTCCGGGTCATCTTTGAAGCCGTCTTC
ATGTACGTCTTTTACATCATGTACAATGGCTTCTTCATGCAACGTCTGGTGAAATG
CAACGCTTGGCCCTGCCCAATACAGTGGACTGCTTCAATTTCCAGGCCACAGAAA
AGACTGTCTTACCGTGTTTATGATTTCTGTGTCTGGAATTTGCATTCTGCTAAATA
TCACAGAGCTGTGCTATTTGTTCTTAGGTATTGCTCAGGAAAGTCCAAAAGACCA
GTC

【0067】

いくつかの実施形態では、GJB2タンパク質をコードするヌクレオチド配列は、宿主(例、ヒト)における発現のためにコドン最適化されている。本明細書において記載される「コドン最適化」は、所望の細胞において最大タンパク質発現効率を増加させることが公知のコドンにコドンを変更する設計プロセスを指す。いくつかの代替形態では、コドン最適化が記載され、ここで、コドン最適化は、高タンパク質収率のために最適化された合成遺伝子転写産物を作り出すために当業者に公知のアルゴリズムを使用することによって実施されることができる。コドン最適化のためのアルゴリズムを含有するプログラムは当業者に公知である。プログラムは、例えばOptimumGene(商標)、GeneGPS(登録商標)アルゴリズムなどを包含することができる。さらに、合成コドン最適化配列は、例えばIntegrated DNA Technologiesおよび他の市販のDNAシーケンシングサービスから商業的に得られることができる。

【0068】

本明細書において使用される場合、「配列同一性」という用語は、最大の同一性パーセント(例として、最適なアラインメントのために候補配列および参照配列の一方または両方にギャップが導入されることができ、比較目的のために非相同配列は無視されることができる)を達成するために配列を整列させ、必要に応じてギャップを導入した後の、参照配列、例として、本明細書において開示されるGJB2タンパク質およびそのコード配列のアミノ酸(または核酸)残基と同一である候補配列のアミノ酸(または核酸)残基のパーセンテージを指す。アミノ酸配列または核酸コード配列の変更は、参照配列の残基の欠失、付加または置換によって得られることができる。同一性パーセントを決定するためのアラインメントは、実例としては、BLAST、BLAST-2、BLAST-P、BLAST-N、BLAST-X、WU-BLAST-2、ALIGN、ALIGN-2、CLUSTAL、またはMegalign(DNASTAR)ソフトウェアなどの公的に利用可能なコンピュータソフトウェアを使用して、当業者の技能の範囲内である様々な方法で達成されることができる。当業者は、比較される配列の全長にわたって最大アラインメントを達成するために必要な任意のアルゴリズムを包含する、アラインメントを測定するための適切なパラメータを決定することができる。実例としては、所与の参照配列に対する、所与の参照配列との、または所与の参照配列と対照した所与の候補配列のアミノ酸(または核酸)配列同一性パーセント(あるいは、所与の参照配列に対する、所与の参照配列との、または所与の参照配列と対照した特定のアミノ酸(または核酸)配列同一性パーセントを有するか、またはそれを包含する所与の候補配列と言い換えることができる)は、以下のように計算される。

$$100 \times (A/B \text{ の割合})$$

(式中、Aは、候補配列と参照配列とのアラインメントにおいて同一であるとスコア化されたアミノ酸(または核酸)残基の数であり、Bは、参照配列中のアミノ酸(または核酸)残基の総数である)。特に、候補配列と比較するためにアラインメントされた参照配列は、この候補配列が、候補配列の全長または候補配列の連続するアミノ酸(または核酸)残基の選択された部分にわたって、例、50%~100%の同一性を提示することを示すことができる。比較目的でアラインメントされた候補配列の長さは、参照配列の長さの少なくとも30%、例として、少なくとも40%、例として、少なくとも50%、60%、70%、80%、90%、95%、98%、99%または100%である。候補配列中の位置が、参照配列(例、GJB2アミノ酸配列、コード配列、GJB2遺伝子調節エレメント(GRE)のヌクレオチド配列、または本明細書において記載される任意の他の配列)中の対応する位置と同じアミノ酸(または核酸)残基によって占められている場合、分子はその位置において同一である。

【0069】

本明細書において記載される単離された核酸配列の発現カセット(例、GJB2タンパク質をコードするヌクレオチド配列を含む単離された核酸の発現カセット)は、コード配列(例、GJB2タンパク質コード配列)に作動可能に連結されたプロモーターをさらに含み得る。「プロモーター」は、遺伝子の転写を開始するのに必要な細胞の合成機構または導入された合成機構によって認識されるDNA配列を指す。「作動可能に連結された」、「制御下にある」または「転写制御下にある」という語句は、プロモーターが核酸に対して正しい位置および向きにあり、RNAポリメラーゼの開始および遺伝子の発現を制御することを意味する。プロモーターは、構成的プロモーター、誘導性プロモーター、または組織特異的プロモーターであり得る。

【0070】

いくつかの実施形態では、プロモーターは、組織/細胞特異的プロモーターである。組織/細胞特異的プロモーターは、本明細書において使用される場合、特定の細胞型のみにおいて活性を有するプロモーターを指す。いくつかの実施形態では、本明細書において記載される単離された核酸に使用されるプロモーターは、GJB2遺伝子を通常発現する蝸牛細胞において活性を有する。本明細書において記載される単離された核酸における組織/細胞特異的プロモーターの使用は、望ましくない導入遺伝子(例、GJB2遺伝子)発現を制限し、持続的な導入遺伝子発現を促進することができる。いくつかの実施形態では、単離

された核酸の発現カセットは、組織/細胞特異的プロモーターを含む。いくつかの実施形態では、単離された核酸の発現カセットは、GJB2プロモーター(例、細胞特異的GJB2発現が望まれる任意の種のためのGJB2プロモーター)を含む。いくつかの実施形態では、単離された核酸の発現カセットは、ヒトGJB2プロモーターを含む。いくつかの実施形態では、単離された核酸の発現カセットは、少なくとも300 bp(例、300 bp、400 bp、500 bp、600 bp、700 bpまたはそれ以上)の任意の連続するヌクレオチドのヒトGJB2プロモーターを含む。いくつかの実施形態では、単離された核酸の発現カセットは、500 bpの連続するヌクレオチドのヒトGJB2プロモーターを有するプロモーターを含む。いくつかの実施形態では、単離された核酸の発現カセットは、配列番号5と少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%同一のヌクレオチド配列を有するプロモーターを含む。500 bpのヒトGJB2プロモーターの例示的ヌクレオチド配列は配列番号5に示される:

10

20

30

40

50

```
ACCTGTCTCCCGCCGTGGCGCCTTTTAACCGCACCCCCACACCCCGCCTCTTCCCTCG
GAGACTGGGAAAGTTACGGAGGGGGCGGCGCCGCGGGCGGAGCGCGCCCGGCCTCT
GGGTCCTCAGAGCTTCCCGGGTCCGCGAACCCCCGACCGCCCCCGAAAGCCCCGAA
CCCCCAAGTCCCCTTCGAGGTCCCGATCTCCTAGTTTCTTTGAGCCCCCATGAGTT
CCCCAAGTGCCCCCAGCGCCCTGAGTCTCCCCCGGTTACCCCGAGCGCCGCTCCC
CCAGCCCCCTTGGCGGCCCGGGTGAAGCGGGGGCGGCTGAGAGTCGGGACCCCCCAG
GAAGCGGCGCCCCAGACCCCGGCTCCGGCGCTGTGCCGTGGGCGGGGTTTCAGGGAT
GGCTGTGGTCTGTTGTCCTCTGTACTCCGCATAGTGCGAGAGGACTTGGCATTATG
AGCGCTTCTTTAATTTTTTATTGTTAGAGAAACAGGCATTCTCCAAGGA
```

【0071】

いくつかの実施形態では、単離された核酸の発現カセットは、GJB2基本プロモーター(例、ヒトGJB2基本プロモーター)を含む。GJB2基本プロモーターは、異なる種(例、ヒトおよびマウス)にわたって高度に保存されたGJB2遺伝子のプロモーター領域である。GJB2基本プロモーターは、例えば、Tu, Z.J., and Kiang, D.T. (1998). Mapping and characterization of the basal promoter of the human connexin26 gene. *Biochim. Biophys. Acta* 1443, 169-181; Kiang, D.T., Jin, N., Tu, Z.J., and Lin, H.H. (1997). Upstream genomic sequence of the human connexin26 gene. *Gene* 199, 165-171; および Castillo et al., DFNB1 Non-syndromic Hearing Impairment: Diversity of Mutations and Associated Phenotypes, *Front. Mol. Neurosci.*, 22 December 2017、に以前に記載されており、これらはそれぞれ参照により本明細書に組み込まれる。いくつかの実施形態では、単離された核酸の発現カセットは、配列番号47と少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%同一のヌクレオチド配列を有するGJB2基本プロモーターを含む。ヒトGJB2基本プロモーターの例示的ヌクレオチド配列は配列番号47に示される:

```
GGGTTTCGGGGCTTTTCGGGGGCGGTCGGGGGTTTCGCGGACCCGGGAAGCTCTGAGGA
CCCAGAGGCCGGGCGCGCTCCGCCCGCGGCGCCGCCCTCCGTAACCTTTCCAGT
CTCCGAGGGAAGAGGCGGGGTGT
```

【0072】

構成的プロモーターの例は、限定するものではないが、レトロウイルスのラウス肉腫ウイルス(RSV)長末端反復配列(LTR)プロモーター(RSVエンハンサーを有していてもよい)、サイトメガロウイルス(CMV)プロモーター(CMVエンハンサーを有していてもよい)(例、Boshart et al., *Cell*, 41:521-530 (1985)を参照されたい)、サル空胞ウイルス40(SV40)プロモーター、ジヒドロ葉酸還元酵素プロモーター、 β -アクチンプロモーター、ホスホグリセロールキナーゼ(PGK)プロモーターおよび伸長因子1-アルファ1(EF1 α)

プロモーターを包含する。いくつかの実施形態では、プロモーターは、ニワトリベータアクチン(CBA)プロモーターである。いくつかの実施形態では、プロモーターは、強化型ニワトリ β -アクチンプロモーターである。いくつかの実施形態では、プロモーターは、U6プロモーターである。CBAプロモーターはすべての細胞型で構成的に活性であるので、本明細書において記載される単離された核酸中でCBAプロモーターを使用すると、GJB2タンパク質を通常発現しない細胞(例、蝸牛の有毛細胞)を包含するすべての細胞型でのGJB2タンパク質の乱雑な発現につながる。したがって、いくつかの実施形態では、CBAプロモーターは、本明細書中に記載の単離された核酸では使用されない。

【0073】

誘導性プロモーターは、遺伝子発現の調節を可能にし、外因的に供給される化合物、温度などの環境因子、または特定の生理学的状態、例として、急性期、細胞の特定の分化状態の存在によって、または複製細胞のみにおいて調節されることができる。誘導性プロモーターおよび誘導性系は、限定するものではないが、Invitrogen、ClontechおよびArriadを包含する様々な商業的供給源から利用可能である。多くの他のプロモーターが記載されており、当業者によって容易に選択されることができる。外因的に供給されるプロモーターによって調節される誘導性プロモーターの例としては、亜鉛誘導性ヒツジメタロチオニン(MT)プロモーター、デキサメタゾン(Dex)誘導性マウス乳腺腫瘍ウイルス(MMTV)プロモーター、T7ポリメラーゼプロモーター系(国際公開第98/10088号パンフレット);エクジソン昆虫プロモーター(No et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 93:3346-3351(1996))、テトラサイクリン抑制系(Gossen et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 89:5547-5551(1992))、テトラサイクリン誘導系(Gossen et al., Science, 268:1766-1769(1995)、Harvey et al., Curr. Opin. Chem. Biol., 2:512-518(1998)も参照されたい)、RU486誘導系(Wang et al., Nat. Biotech., 15:239-243(1997)およびWang et al., Gene Ther., 4:432-441(1997))およびラパマイシン誘導系(Magari et al., J. Clin. Invest., 100:2865-2872(1997))を包含する。

【0074】

いくつかの実施形態では、単離された核酸は、遺伝子調節エレメント(GRE)(例、GJB2 GRE)を含む。遺伝子調節エレメントは、本明細書において使用される場合、遺伝子発現の調節に関与する様々なDNA配列を指す。例えば、GREは、遺伝子発現を調節するために、DNA、細胞タンパク質(例、ヒストン)、および転写因子を伴う相互作用に依存し得る。

【0075】

いくつかの実施形態では、単離された核酸は、シス調節エレメント(例、GJB2遺伝子のためのシス調節エレメント)である遺伝子調節エレメントを含む。シス調節エレメントは、近隣遺伝子の転写を調節する非コードDNAの領域である。シス調節エレメントは、それらが調節する遺伝子の近くに見出される。シス調節エレメントは、典型的には、転写因子に結合することによって遺伝子転写を調節する。いくつかの実施形態では、遺伝子調節エレメントは細胞特異的遺伝子発現能(例、細胞特異的GJB2遺伝子発現)を授ける。いくつかの実施形態では、遺伝子調節エレメントは、GJB2遺伝子に関連するシス調節エレメントである。

【0076】

いくつかの実施形態では、GJB2遺伝子のシス調節エレメントは、エンハンサーである。エンハンサーは、本明細書において使用される場合、プロモーターと比較して転写開始部位よりも遠位に位置し、部位特異的転写因子と相互作用して細胞型特異的様式で遺伝子発現を調節することが可能であるDNA配列を指す。エンハンサーは、細胞内の転写因子の集合体に結合することによって細胞特異的遺伝子発現調節を付与し、これは、様々な機構、例として、翻訳後ヒストン修飾を触媒するエピジェネティック酵素の動員、およびDNAループ形成を促進する補因子の動員を介して転写の活性化または阻害につながる。エンハンサーは、それらが調節する遺伝子の近くで、またはそれらの標的遺伝子から数百キロベースの距離で同定されることができる。複数のエンハンサーは、遺伝子発現を調節す

るために相加的および冗長的に作用することができる(例、Doane et al,Regulatory elements in molecular networks,Wiley Interdiscip Rev Syst Biol Med.2017 May;9(3))。いくつかの実施形態では、本明細書において記載されるエンハンサーは、ゲノムGJB2遺伝子発現を調節することが可能であるエンハンサーである。いくつかの実施形態では、GJB2エンハンサーは、GJB2遺伝子の転写活性配列において同定される。転写活性配列は、本明細書において使用される場合、配列が露出され、それによって転写因子の結合および転写が起こることを可能にするように、DNAがオープンクロマチン確認状態(open chromatin confirmation)にある染色体中のDNAの領域を指す。いくつかの実施形態では、GJB2エンハンサーは、ゲノムGJB2遺伝子のおよそ1000 kb内(例、GJB2遺伝子の1000 kb内、900 kb内、800 kb内、700 kb内、600 kb内、500 kb内、450 kb内、400 kb内、350 kb内、300 kb内、250 kb内、200 kb内、150 kb内、100 kb内、95 kb内、90 kb内、85 kb内、85 kb内、80 kb内、75 kb内、70 kb内、65 kb内、60 kb内、55 kb内、50 kb内、45 kb内、40 kb内、35 kb内、30 kb内、25 kb内、20 kb内、15 kb内、10 kb内、またはそれ以下の上流または下流)に同定される。いくつかの実施形態では、GJB2エンハンサーは、GJB2遺伝子のおよそ200 kb内に同定される。いくつかの実施形態では、GJB2エンハンサーは、GJB2遺伝子のおよそ95 kb内(例、図3Cに列挙された領域C～M)に同定される。いくつかの実施形態では、GJB2エンハンサーは、表1に列挙されるGJB2遺伝子の近傍のDNA配列の領域(図3C)内にある。

10

20

30

40

50

【表 1 - 1】

表 1 GJB2 エンハンサーを包含するヒトおよびマウス DNA 領域。

領域	ヒト	マウス
A	CTTTGTGGATGGCTTGGTGGCCTCACTGTCAGGCT GGCAGTGTGGCTCAGTTAGCATATCTGTTTTGAT AAGTGTGCAACAGTGCATTATAATTGTGGGCTGT GGTTTTAATTTCAAAGTGTCTTAAAGACACAT TATTTTAAATGACAGAAAATTCAACTCCCTCGGT TACTGGCCCAAGCTAAGCGACGCTCACTGCATTGCAG TTCAGCGCTGAAGCTTGGGAGAGTCCCACACTCCT TACTGCAAGCGGATGTGGAGAGGCCAGTGGATAAT CTCCTGTGAGCCCATGGCCTTCTTTTCATCCCAGG ATGTGAATTGTCTTCACTGATTATAGTTACACCC TGCCCTGCCACAACCAAGCCTCTCCTAAACAAGATT CCACCCCTCTCCACAATCCGGATGAATCATCTCTTT TCCACCCCTTCAGAGCTGGTAGTGAATCCTCCTTCT TCTTTTTCTTAAAGCATCCTCCTCTCCTCATTTTT AGGCAAGTTGCATCCCGTTTTCTGATGGACTCCAG AAGCAGGCTCGTAGTGAATGTCTTTCATGACCCAC AGTCGCTGCCACGGGGCACCAGGTCAGGCAGAAA CCATCCAGTGGCCACCTTGGTCAGAGGCTAACAGGA GAGAGTGGCCACGAAAGTTACATCAGATTGACAT AGGCCTGTGAAACATTAGCTTCACTGAGCTTGGG AAAGACAACATCATTGGAAAAACAATATTTTAGC CCAGGTTGAGCAGCTGAACTTGAATCCAGACT GGGAGGCCCTTAGGTGAGCTGGTTGTCTGCTACA GCACCCACAGCTCAGGCCAGTCCCGTCCCAACAGC AGAACCCAGGAGGACAGCAACATCCGATTTTAAAC AAAAGCATCTTATGGAATTGACATTTCTCATTTGG CCTCACTGAGTGGAAAAACAGGATACTCCCGAAG TAAAGTCTCTCCTGGTTTACAAACAATACACCTGGC CAAGAATATGGGGCTGCAGGAGGAGGGGTTATCC TTTGCCCTCTTCCACCTGCCAAACCCAGGTCATAC ACCCTTCTACAGACCTGTCCAGTTACCATCAGCTG AGAAAAATACAGTTCGGAGAAACCTATATTGTTA TTTTATAAAGCTTGAAGTTGAAGCTACCTGTTTTAA AGATCCTTTTTTCAGGAAGAGGAGTAAATTAAGATT TACTCCCAATGGGCTAGGGGGTCATGGGTAAAGA GGGGCTCAGAAGCAGGACGAAGTTGTTTTCAATAT TCAAGTCAAGAGGAGGAGCTGCCCTCCTGGCCTCCC GACCCTGGGCGGTTACATGCAGCTTCTACCGGGC CCACGCCATCTGCACCGCCTGGAGGGCTGCCAGA GGCCAGCGGAGGAGTTGGTTAGTTCCCTTAGGGAA GACACTAGGTGAATCACCAGGATCCAGAAAAGGCA AAAGGGACTCTTCCACCCCTTAAATTTCTCCACCT TAGGTGATGGGTGGTCGACCTTGCTGGCTGTCCC CAGAGGGTTCTCCACCCCTTCTCACCAGTGTCTGA AATTGTGACCGACTGTGCACAGCAGTTTCGAAAGG GACTCTAAGGTACATGGGGACACGGCCGTACCAC GCTTCTCAAGGCAGTCCCAGGTGCATGGCCACGGA ACCCAGCTCTCAGCAGCTGTTAGTTAGGTGAGCGC TGTTCCGGCTGCCTTCTCCTCCAGTGGGGCAGGA TCGAGGCACTGATGGAACCGTCTGAGGACGCGGG TCTCAGCCGCACACCACTCTTCGCGAACAAGGCT CCTAAAAATTTTCTTCTAGCGGGGAGCAGAGCC CGGAAACAGACCCTCGTGAAGTGTTTAGGAAAAAG GGAAGCCACTGAAATCTTGGCCCGGGGTAGGCCG GGATCGGCTGGCTCCGCGTTAGTTCTAGGCAAACT CCGCCCAATCTCTGCCCGGGGATTTTCTGCAGA AGCCGCTCCAAGAGGTAAAGGTCAGTTCTCTGCAG GAAGGCTTCTGCTTACCGGCGAAACGGAGCTTT GCTTCGAAGCTAAGCTTTCGGTGAATTTAAAAACGT	CCAAAAAGGGACAAAAACAGACAAAACAACAACAC CAACACAAAACAACACAGCACTAAACGAGTCTCT GCACCTAGGTCTTCGCACGCAGGCTGGTAGTCCCA CCCTCAGGTAGGGCCTGTTTGTTAACGATCCGTG TCTGTTTTGATATGTGTGCAAGTGAGTGTGCAC TGTGGACTATGGTTTTAACCTTGAAGTGATTCTAA AATAAATATATGATGAAAAATGACGGAAAAATTAGC TCAGCGGTTCAACAGTTGCTGGTCCAAGGAGCCAC CTGATGGGGGTTTTGCCTTGGGTGGCATCACAGTG TATCCTGTCTGAGTGACACAGTGTCTATATATGGC CTGTGCCCTAGATGAGCCTCCATAAGCCAATGACC TTCTATTTTCATCCCAGGGCAGGAACCTTCCATGGC TACACCTGGTCTGTCAAAATCAACCCCTCTTTTGA TTAATCCCATCTTCCCGGCTGTCTGACTCACTTG CTTCCACCCCTTCCCTTCCAAGCTGTAAAGAATCT CTGACTCTTTCTTAAAGCACCCCTACCCTCCTGCT TAGCAAGTTACATCCTGTTTCGCAGTGGACTCACA GCAGGCGCAGAGAGAAGTCCCTCCTTGTCCCTAGT GGGCGTGGCAGAGCACCAGGAACCCACTTGCTGG AACCACCTCAGCTCTGCCTTGGACAGAGGAGATAG GGCCAGGGGCTAGGGAATTAAGGAATACTGACATA CACCGGTAAAACATCAAGTCTATCCAACCTTGGAA AGCAGAAACAGACAGGCTCGGCAGGTTACGCCCTG ACCCATTTATACCTAGACTGTGAGAGGCCCTTTGG GAAGCTGGTTGTCTCTGAACAGTCTCTCAGCTCC ATGTGGTCTGCCCAACAGCAGAGAAGGATTGAAA GCAACAGTGTTCGAAGTTTAAACAAAACAATCTGAT TGGAATTAGACCTTCTGTTCTTCTTCCCTTCTC CCGAGTGGAGATCAGGACATTGAAATAAACATCTA CACACCTGACCCAAAATACAGAGCTGGAGGATCCC TTTGCCCTGCCTATAGCATCCACAGACTAGCCCAAT TATTATCAACACAGAAAAAACAACCCCTCAAT TTCTGCGTAAACTGTGCACCTGTGTTTATAAAGTAC TTAAGTGTGTTGTTGAATTTGAGTTTACCGTGTAC CCAGGATGGCTTCTAAATCCATGCAGTTGGAGTTA GCACAACATGGGGGTGGGGTAGGGGGTTAATACA TCTATAATAGCAGAACTCTGGAGGCTGAGGTAGGA GGAGTGTGCTAACTTGAGGAAAACCTTTCTGCAGA GCAAGACCTGGCTCAAGAAAAACAACACCAAAAG AGACAAGAAAAGAAAAGAACAGAACCAAAACAAAA ACAAAACAACAACAACAACAACAACAACAACAATGG GAAGGCCGATTGAACAACAAGGTCAAGAAGAGA GAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAG AGAGAGAAAACCTCCAAAAGAAAACCAATAGCTGG GACATAGCTGTGGGTCCCGGCATATCTGATTGCAG CTGCTTGTCTTAAATGGCCTTCTAAGTGGAAGGA GAGGTAAAAATTTGACCTCACAAAGGGGTAGGAG TACTAAGCCAGCAGGTGAAATCGTCAATATTTCAAC TGTGGTGTAGGAGGTGATTTCCAGGCTGGCCTTAG GACTAGGTACACGCAGGTCCTTACCTGGCATGGG ACACCTGGAGATTGCCTTGAACCGGTGAATCATTC GCTCCTGAGTAGAAGGGAGCTTCTCCATGTTTATA GTATATACTGCATATGACCCTTATTTGCCTTAAAG GATACTTCGGGGAGCTGGTGGACTGCCTCTAGATG CTGACCCACCGCACCCCTCCACCTTCTCATAATT CACTGGCTTTGCCCATAGTTCCCAAGGACTCCGG GGTAAAGTGTAGCCATGACTGAGCCAGGCTTCTCAG GACAATCCCGTGGACCTGAGCAATGGGTCCCATTT AGGCCTACGCTCCCTTCCCTTCCATTGAGGCAGCA

10

20

30

40

50

【表 1 - 2】

TTGGTGCGAGTGGGTCAAGTAGCCAGGCGGCTGCG CTAGAGTACCCGGAAGGACATCGGCGACACCACA AACCTCGCGCTGGCGGCTCGCCCCGCGCTTTTCC CCTCCCGCGCGCGCCGCGCCCACTCGACCCCGG GCGGTGCCATCGCGTCCACTTCCCGGCGGCCCA TTCCAGCTCCGGAGCTCGGCGCAGAAACGCCCGC TCCAGAAAGCGGCGCCCGCGCCCGGCCCAAGGAC GTGTGTTGGTCCAGCCCCCGGTTCCCCGAGACCC ACGCGGCGGGGCAACCGCTCTGGGTCTCGCGGTCC CTCCCGCGCCAGGTTCTTGGCGGCGAGTCCGGG GCCGCGGGGCTCACCTGCGTCCGGAGGAAGCGCGG CGGGGCGGGGCGGGGCTCGGCGTTGGGGTCTC TGGCTGGGGTCTTGGCGCTCTTAGGCGGGTCTTG GGCGGGGCGCGCGAGGGGCTCCGAGTGGGGGAG AGGAGCGCGGGGCGCTGCGGGGCGCAACACCTG TCTCCCGCGGTGGCGCTTTAAACCGCACCCACA CCCCGCTCTTCCCTCGGAGACTGGGAAAGTTACG GAGGGGCGGGCGCGCGGGCGGAGCGCGCCCGCC TCTGGGTCTCAGAGCTTCCCGGTCGCGCAACCC CCGACCGCGCCCGAAAGCGCCGAACCCCAAGTC CCCTTCGAGGTCCCGATCTCCTAGTTCTTTGAGC CCCCATGAGTTCCCCAAGTGCCCCAGCGCCCTGA GTCTCCCGCGTTACCCGAGCGCGGCTCCCCCA GCCCTTGGCGGCGCGGTTGAAGCGGGGCGGCTG AGAGTCCGGACCCCGAGGAAGCGGCGCCCCAGAC CCCGGCTCCGGCGCTGTGCCGTGGGCGGGGTTAG GGATGGCTGTGGTGGCTTGTCTCTGTACTCCGCAT AGTGGAGAGGACTTGGCATTTATGAGCGCTTCTT TAATTTTTTATGTTAGAGAAACAGGCATTCTCC AAGGACTGAAGATCTGTTTCGAGTCCGGAGGCTGC GCGGGCGCGGAGGCTCTCGCAGGGGAGCTAGGC TGGGTGGCGGGGAGTGCCCTCTGGAATGGGGGT AACGGTGGCGGAGGAGGGGCGCGCTGGTGCCGG CGAAGTCCCGCTTTCTTCTCCCTCAAAATCTCA GCAATCCGAACGAGCGCTTCTGCAATTTCCGATT TTATTCGAATTCTTTCAACAATGTGCCAAGGACTA AGGTTGGGGGCGGTGGGAGAGACAAGCCTCGTTTT TGCCATGGCCGCGCAGGGGGGTCCGCGCATCTCGGG AGGGTGCCCCCGCGGCGCCCGGCCAGCCAACTT CCTCCTCTTTTCGCAACTGGGGAAGTGAAGGAGG TGACTCCTTTTCGGGTGAGGAGGCCAGACTTTTC AGAAAGGAAAGAGGGCAGGTAACCTGCCAAGCC CCTTCTGCTCGATGCACACAGCACGAAAGGGGA AACTGATAGGATTCTGCGGAAGACCGCTGGGGGGC TGCTCTGCACTGCACACCTGCTGGGGGCTTTCTG GATACCGTGAACCTTTGTCTCAGATTATGAGGTCT CAGTATTTGCATTTGGTTGGGGATTTTGATGTCTT GCGATACAAATGACAGAAGACAGATTTGCACAGCG CAAGCGATGAGGGACTAAGATGTGCAGAGCAGGC TGGGTGGGGACTCCCGGGGAGGTCTCCCCAACCC CCGCCCCACCTCGGGCACCCACTTCGCGATTTTGG CAGAGGGGAGCCAGGTGACAGGTGCAGCCTGGTCC CCTCGCGCTCAGGTTTTTACCAGGTGAGTTGAA GTTAAGTGGAATGATGATTAATCCTGACAAGTCA GATCTGGCCTCAGAAATGGATTTCCCGTGATTGCCA CCATTATTAGCATTGACTTTTCTTGAATAATTGG CGCCCCGTGGCCATGGGCCGACCTAGGCAGTTTCT GCAGGGACGAGCGTGAGTTTTGTACCGCGGTTACC ACCTACTTTCCAGCTCCAGGTCTTAGTCTAAGAGG GAGTGTCTGTCATGAAGAAGGCAAGCCCCAGGAG CTGCGAAAGCCTTGATGGCCCATCTGAGAGATG	CCAAGGGGCTGATGCAATTGTCTTAAGGGACAAGT TTCTCAGCAGCACGCCATCTGTGAACCTGTGCCTT CCCTTCCAGCTGTAACGTCCCGGCTGGAGCGAAAT CCTTAAAAAGCATTTAAGGAAAGAAAAAAAAAAAA AGCAATCAAAATCTCCACCGAGTGCAGGTGGGG TTCCCGAGCTCGCGGGAGCGGCTACGGCGCGCGT TTTGGGCGGTGCGCCACGTACCCCAAGTGTCTTAG GTGGTAAAGGTGAGTGTCTTCCACGGAGGCTTCC TGCTTAACAAATGAAACTGAGTTTTCTGTCTCAGC TTTCGGTTAGCTAAAAACTTTTCAATGGCGGCAGA CAACGCAGCCAGGAGGCTCGGGAAAAATCTAGCG AAGGAATACTGGCGACAGTGCAGTGTGTGCGCGG AACAGCCTGGCCCCCGCTCCCTCCCCACCCCGCG CTGTGCGGGACCTCCCGGCTCAGGCTGTGCGCGGC GGTGAGAGCAGCCGGCTCCAACCCGAGCCGGGGC AGACGCTGCAAGCGGAAGAAACGCGTTACAGCTC GGGTCCCTATGCACGGGTGGCGGTGGCCGTAGGG ACCGCGCAGCGCGTTCCGGCTTCGGTTTCCAGGA CCGTGGCGGCGCGCACCCCTCTCGCACCTCAGCG GTCCCTACTGGCTGAGTCTCGCGCCCAAGCCAGCG TGGGGCTGTGCGGTGGGGGCGGGTTACACCACTG TGACTCGGTGGCGCGGATTGGCGGTGCGACCTGTG TCCGAGGAGCGTGCAGCGTTGGGTGGCGGGAAGC GGCGAGGCGCTGTCCCGGTAAGGAGCAGGTCTGA AGCGGGTCCCGGGCGGCTCCTGGGTGGTCCGAA ATGGGTGCGCGGCTGATCTGTGTGTGTGCGCGCG GGTCCCGGTGGAAGGCTGCGCTCAGTGGACTGGAAGC GCCGCGGACTGGCTGCGAGTTGGGAGAGCGGAGCG CGCGCGCGCTGCGATCCTGGACACCTGTTGGCGG CGGCGCTTTTAAACCAAGCCCTACCCCGCTCT CTACCCCTGGAGCGATTGAGAAAGTTGGGAGGAG GCGGCTCCAGTAGCCCCCACCCCAAGCGCCACG GGCGGGGCTCTCGGGCACCCAGAGCGCTCAGGGC CCGCGAGTGCAGGCTCTCCTGGAGCCTAGGTCA CTCCCCACCCACTCCGCCCCACCCACCCCAAGC TCTCTTTGAGCTCAAGGCTCTTCCAGTGTCTGTG CCGAGCGCAGCTGAACAGAGCTGGTAGACCTGTG TCTTACCCAGGACGAGGTGCGAAAGCTCAGAGT CCCAGCTACTCGCTTTTGGGGGATTGGGTGATGTT GAAAGAGAGTTGATGTTGCTCTTACTACTCTCACT AGTGAAAGTGCTGTTATATTGAAAGCTTCGCT GTAGTAATATTATATATACTTGTGTGTGTGTGT GTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGT ACGGACGGTACAGTTTTGTGTTGGCCTGCAGCTTC CAGTAGCGCACAGGAGACTCCTCTCCCGTAGTGCA GTGAGCTGAGGCATCTAGAATTCGGGTTCAAGGCA GACTAACAGAGGGCGCGCCAGGGCTGGCCAAATT CTGGCTTCTATTTCTTTGAATTCGGATTTAATTC GATCACTTTGAACAGGGTGCCAGTGGCTAGGACAG AAGAAGATGTAGAGGTGCGTCTCCAGGGCTGGCCT GGAAGTGGACTTGTACAGTCTCTGGAGGGTTCTC TGCCTGTGCCCCCGCTCTGTGTCTCTTTTCCA CAACTGAAAGCATTGCAAGGAAGGGGACCCAGAT TCTGCGGTGCAAGGGATGCGGAAGGGGGGGGGA GCAGAAGAGGTTAGGCAAGCCCATCCCTCTGGAG TCCAGGATGCTGGGAAGACCTGGGACGCTGCATC TACCTCTCTCCGCCAAGCTGTTCTGTGGGTTTTGAG GGCTCGGTGTTCCACATTGCTTGGCTGTCTGGATA GTTTTGAGAGGAGTTACGGTGGACATTCAAGAG CTAGCTACGCTTTGGGATACCTAGGCCAGCTAGCT TCACCTTACTACTTGAACCCGAGTCTACAGCTG
--	---

10

20

30

40

50

【表 1 - 3】

	TGCTGAGTCGGCTTGTTAAAAATGACAGGCAAAAGC CTGTGGGGTGGGGCAGCTTTCTTGGCCTGAGCGCA TCTTGGTTGAGCCAGAGGTGACTTGGGGTGGGGAG TGGGGCGCCGGTTGGTGGGTTCTCCCTTTAATTTT TCAAAGGCTGTGGTGTTTATGAGTCTGTTGGAATC CTGGTTGGGTTGGAATGAAGGAAGGTTCTAGAACC ATTGTGGGAAGCTCGCTAGTAAAGATGGTTTGGAG ATCGGAAGTTGACTGACTTTCCCAATTGAAAAAT GTCACCTGAGATTTTGTAGTCTGTATCACGATTAT AGGCTCAACTTTCTTTTCTGTTTCTTTGATTT AGTTCTCCTTATGTGCAAAATTACTGTGTGATGTT GGCTAGTCGTATTATCACAGCCACTCCGTGTTTTT AGGATTTGTAGCTGGAAGTCTATAGCACTTAAGT CTTCACTTACAGATCAGCGCTTGCTTTTATTCTGT TTTGTGTGATTTCTGCTGTTTTCTGTGAGTTGGT GGTTTCTTCCCAAGTAGGCTCAGGACTCCTCTAGG GCAGGACATTATATGCATGTACATAGTGTCTCCA GTGTAGGGGAGGAGAGGAGGAGAGGTGAGGTGGG AAAAAGGTGAGGG (SEQ ID NO:6)	CCAGGTTTGGAATGAAAACGGCACATCCCCACAAA GTTTCCTTCAGATTAGCTTTACACGCAGTGAAGAGA CTGATTCATTCTGACAAGGCCCGTCTGGTCGAAGG ATTGGCTTTCAATGAAAAGGACCATGGCTGAAGGTA CATGCTTTCCCTGTAAAGCTGGCACATTGCCGCGG GCAGACCTGACTGCTCTTGCTTGGGCAGAGGAAGG TTGCACGCTCGCTTGCTACTACCCCACTCTCTTT CTAACTGTAAGTCTTAGTCTAAGAGGGAGTGTCTC TAAGGAAGAGAGCCTCGGATCTGTGTCCAGCCCTT CAGAGAGAGAGAGATGTGCTGAATCAGCTTGTGTG GAATAACTGGCCAAGCAAGATGGGGTGGTACAAC CCCTTGGCCTGAGCACATCTAAAGATGAATCAAAG AGGAGATGAGGTAGTGGCAGCAGGCAGGGGTGGAA GGATGTTGGCACCTTTAGCTTCTCATGGGTGCTAC AGTTTCCAGTCAATTGGAGCCCTGTTCACTGAGG ATGACAGAAGCTTCTAGAATCATTGTAGGAAGCTG GCCAGTAAAAGATAGGTTGGAGATCAGAACTGCTT CACTTTCTCCATTGAACAATTTCTCCTGAGGGTTA GTGCCACGTTATGATTACAGCTTCAGCGTCTAGC TCCCTAACTTGCTTCTACAGATTGCGCTAATGGCT GTGTGTTGGCTGATGGTCACAGGTGCTGGGAATAT TAGGATGTATCGCTAGCTCATCTCCTCCTCTGTTT CAGCCATCCCTCCTTTGTTTTCTTTTCTCACCAA CTAGACCAGAGGCTCCTCTAGGGTAAGAAATGCTA AATTTATTTGTGTATGTGATTCTCCAGAGGGGGA GAGGGGAGAGGGAAGGAGAAGGGAGGGGAAGAGAG GCAAGGAGAAGGGAGAAGGGAGGAGAAGGGAGGAC AGGGGGACAGAGGAAGCTAGAAAAGAGCTAGGA (SEQ ID NO:7)
B	TAATCCAGATGTTAACACTGAAACTTCCAAGCAGG GGAGTGAAATGAGACTTTTCACTTTTGACTTCGTAT ACTCCTGTATTATTTAAGTGAAATGTATTTATAT ATTTCTATAATTACAAAAATCACATTGGTTGCCTTT TCATTTTGAAATGAGCAAAAGTGACAGGGCTGTTA AAAAGCTAAGTCACTTGAGCAATAACGTGATGTCC AGAACAGTGTTCCATGGCTCAGCCATGTCCGGGG CTGCACTGAGGACAGGGGGCCATCTGCCTTCTAGG AGGACACTGTGGACTGGAATATTGTTCTGCTGCTTG AGGAGGAGTCTCCAGCACAGTTACTGCTGCTTGA CTGTACAGCATGCGTTTTCTTAGGGAAAGTTGAAG GCAGCCTGTATCTAGTAAGTGATGTCAGTAGTT GCTTAATGCTGAATGTGTGAAGGAATGTGGGGCTG TGGAGCAGGAGGATAAAGTCTGAACTTGGACCTGT TGTTCTCAGCTATTGCAAGCTTTCTCAAGTGAAAA ATAGACTGACTTTGGGTCCATCAGAGGGCAGAACAA AATGCTGGAGAGCAGATGCTAGAAATCCGTCTTAA AACCATGAATCCTTACAGCGCCCTGCGTGGCCCTGC GCCATCTGTCCAGCCACGCCCTCCTTGGCCCCAT CTCCCCCTTTCTCGCCCTGACTCTTTGGCATCCTG GCCTTTCCGCTCTCACTGGGATGCTTCCCTAAGAGA CTCGTGTGGTTTGCTGCCCTGTATCCTCCGGATCT CCTGACCACCTATGTTAGTTACATTGCAATTTCC CGTTTCCCTCATGACGTCTTATTTTCCCTCCATTTA AATTACCTGCAGCAGGTACCACTACAGGGATCTG TTGAGAGTCGGCCTCCTTCAATGTGAAGCCTGATG TTTTGTTCTGTTACAGCTATGCCCCAGCCCTTA ACAGTTGGTGCGAGTCAGTAAATATTGCTTGGGAA AACGAATCATTAGCCATGTGCAGAAATGGAACAGC GTCTACCAAGTTGGGGTTGCCCTGAGCCCTGTG AACACTGGGCGAGCTGGGGTGTTCTCTACTGTGCTT GTTACCGGCTTCAGGAATCAATGCACTAGAGAAAT	CATGGAGAGAGATGGATAACTGAGATTTCTGGGCA AGAGATGAAATGGGCTGAATCCCACTCCTGACTGC ACACACCTCTCAGTGATTTAATTAGAAATAAAAAAC AAGTCTCTACATTAACATTTACATAAGTAACATCA GCCGTCTTTTCCATTCAAAGTGACTGAAGGAGATG GTGTTGTTAAAAGATTGAAATTAGACAGCAGCAAC ACGTCTAGAAAGAGCATCCCTGGGGCAGGGTTCTGC CTCAACACCACACAGCACTACACAGCACCACACTT AGCACAAAGGCTCCTCGTGGCTCCTCATGTCCCTTC AGCAAGTCAACAGTGACACAGGAGGCGTTGGGGAG GGAACCTCCTGACCACAATCAGAGCCTGAGGGTTGG AGTTGTGTTTCACTCATCTTGGGGGGCAGGGGGAG CTTAAACTCGTTGGCATTTACTAGGGCAGTACACA GCAGCCGCTCCACGTTGAACGAGTGGATGATCAGC CTGAGAAATCAAGGCTGGGCTGAGCTTGGCTCTATC CTCAATTATCTGCAGAGCGCCCTGGTAGAGAACAG ATCTGCCTTTGAGTTTCCAAAGTGAGAGCGGAGCAA GGCTGGGCACAGAGCAGGGTGGCAAGGTGGCTGCT GTGGGCACAGCACAGAAGATACTCAGGGGCATAGA TCTTCTGGTGGCTGCTTGGTCTCATGTTGGTCAG GTCACCTCCATTTTGGCCTCATCATCTTCTGACA TGCACCTGCTTCATGCGTCTGCTTCTGGAACCCA TTCCTGGCTTTTTGCTTAAATTTCTCTGAGGCAGGT GGCTCCATTGCTTGTCTCCTTTAGGTTTCATCTAA GAGGGACCGTCACACAGCCTGTGTGGGCATCAT GCTGGTGCCTGACAGTCTCTCTCTCTCTCTCTCT CTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCT GCTGTGGCTTTGGCCTCTGCAGAAACAATCTATGG GATTTGTTGATATGCTGCCTCCTTCAACACAAAGG CTTAAGTTGTATTTATCAGTCCAGTCCAGGGGAA TAATCATGTCTGGTGCTTAGCTGGTGCTCAGTAGA TAGCAGCTGATGAAAAAAATCAGGAGGGATACGT

10

20

30

40

50

【表 1 - 4】

TGTAGAAGTGCGGTCCACATCCTCTGTGTGGTAGG ACCAGCTGCTGTTGGCCTCTGAGCAGGATCTCTTA CCTCTCTGAGCAGTGCCTTCTCTGTGGCCTCAGCA AGAATAACACTAACAGCCTAGGACTTCAGAGCACT GCTGGCAGGTGCAAAATGAGGTGATATGGGAAAAGC ATTTGGTGAGATGTATGGAAAGGTAGAGACCCGTG ACCAGATGAGTCAATGGCCTTCTTGCTTACTCTGT TGACCTTTCTTTAATACAGAGTGCATAGCTGTG ACCACCTTATCCTTTTTTGGCTGCTATATTGGCCCC CAGCCATTCTCTCCCGGCTTATGTGGCTAGACTC ACCTGCCTGTGCTGCAGTTACTCCAGGCTTTGTGT AAATGTGCATTTTTTCCAGCCCCAGTTTATCAA GCTTTGCTTGAGTCACTTGTATCTGAAATACCATC TGCTACTCTCCAGGTGGGATCTGTCTAGTGGAA AACAGATGACAGTCAATATGTACTTAGTGTCTTAC TATGTGGAGAACGTTTACATAAAATATCTTATTTT ATTGGCACTAAGCCGGGGAAGATTGAGGAAACCC ATTTTAAGATGAGGACACTGAGGTGAGGGTAAGTG AGTGAGCTTTTACCCACCTCTCAGCTGCTCTAG TTGTCAAAGACCAACCCGTGGGGGTGGCTCAGGCC CGACCCCTGCAGCATATTCTTGGGGCCTCCCAAG TGGGCCCCGATCTGCTCACCCAGCTGTGACTGTCT TTTGACAGGAGGAGGAGCAGCGAGGCTGCACCCA CTGCTCAATAAAGCAGAGGTTGTCACGCGGAGG GCTCGGCTGGGTGGGAGGCGCTTCCACAAGGCTT TTTCTTGCTCCATACAAAGTGCAGACTGATGCTTT GAGATATAGTCAGGATTATCATTTTTCAGAGCTCAA GCTCTAATTTCCAGGATGTGACCAAGCCTCTCTA TCCATTCTACAAAGTGGTCGAGAGTAGCCCATAA TATTTTGGCTTGGTCTTTTAAATAGCTTGAGAGTAA TAATCTACATAGCTTTGAGAGTGAATGTACTTAT TTTTAAAGTTCTGTGTTTTTGTATGTTGTTGTTGT TTGGGACAGGATCTTGTCTGCGCTAGGCTGGAGT GCAGTGGCACAATCTCAGCTCACTGCAGCATGGAC CTCCAGGTTCAAGCAATCTTCCACCTCAGCCTC CTGAGTAGCTGAGACTACAGGCACATGTTACCAG CCTGCTGGCTAACATTTTTATTTTTATAGAAAC AATGTCTCCCTATATTGCCAGGCTGGTTTTGAAC TCTTGGGCTCAAGTGAATCCTCTGCTCTCAGCCTCC CAAAGTGTGGGATTATAGGTATAAGCCTCTGCAC CCAGCTTAAAAAATCCTATTTTTCAGCTCTATGTG CAGAGCATTTTGGAAAGTCAGGTAGAAACCATTTCC CATTTTCTATTACCTGGGTGATAGTTGACTGGTTT TTGTTCTTTGAAATCCATTTTAAAGTGTATGGTC CTCTATGAAAACTTCTAATTATTGATGTGTGAA ATGCTTTGAAATCCTTGGATGGAAATCTTGTACCA TGAAAGAACAGAAGCTTGGTGGTGTCTCTGGGAG AGGCTCAGGAGGGCGGGCAAGCCTGTGGGGGTAG CAGGCAGTCACTCCCATGGGACAGGCTGACCTGG CAGGCTTATTTCCCATGGAAGTGGGCACTGAGGAA TAAAAAGCAGTTTCAGGCCAGGTGCGGTGGCCAT GCCTGTAATCCTTGCCTTTAGGAGACTGAGGCAG GGGGATCCCTTCAGCCAGGAGTTTCGAGACAGAC TGGGCAATATAGTGGGACCTCGTTTCTACAAAAA TGAAAAAATTAGTGGAGTGTGGTGGCACACTCCAG TGGTCCCAGCTACTTGGGACGCTGAGGTGGGAGGA TCGCTTGAGCCTGGGAGGCAGAGGTTGCAGTGAGC CAAGGTGATGCTATGAGTAACATTTTGAAGGTCCA CTTCTGGGATTATCCAGGAGCTAAACGGGTCTATG TCCAGCCAACCTCAGCATTCACCAAGGTACGTTTTC AGACCAAAACACCACATTGTGCTATAGACTGATATGC	AGGAACTGACCACAAAACTTGTGGGGGTGCAGTT ACACCACGGAAGTCCAGCAGTGTGCAACAGATGTA GGTTGTGGGCTGTGGAGTTAGTCTTCATTGTGGG AGGGGCAACTCCACAAGGCCTATCAACATAACCTC CGAGGGGTGGACTACTCTTGGCTGGCCTTCGATCT TGACAATTACCAGTGCCTTCTTCAACCCCTCCC CCACCCCTGCACAGGTGATGACTTGATGGTTCTTA AGTTGCAATAAGAATGACAGGAAGCAAGCAGGAAG CAAGAGATGTGATATACACATTAGGTCTGATGGAG ACCTGACAGAGCAACCTGTAACATTCACTTTA CTGTATTAGCCCTTTCTTAGTCACTTATTAATAT TCATTTAGTCACTTAGTTTTTGTGTTTGTGTTGAT GCAGAGTCTCATGAAGTTCAGGCTGGCTTGAAC AAGTATGCAGCTGAGGATAGCCTTGAACCTTCAAA TCTCTACCTTCATTTCTGAGCCATTGGGAATGCA GGCATCCACCTTGGAGCGCCATTTCTATTTATTTA CTTCTCTAAGGCTGGGGATGGAGCCTATGGCTGT GTGTGGTAGGCACAGGCTGGGGATGGAGCCTATGG CTGTGTGTGGTAGGTAGCATTTTGGCATTGACTCA CTTACTCTCAGCCCTTGATTCTTTTGAGTTACAG AGTGATACCATTTGCCTGTCACTCATCTTTACTGTG CTTTGTGTATGCACCCAGCCCTTCTCTGTGTT GACCTGGCTGGTCTCTGAGGTCACTGTGTTATGTT TATTTCACTGTCAACCTGCACTCTCAAGCTTCC GGTTAATTGAGCTTTGCAGGAGACATTCTCTACTTA CTCTGTCACTTACCATTGTCACTCAGGGTCTACTGA GTGGGAGAGAGATGACATATTAATGCTAATATCAT TCTACTGCCCTAGGTGGAGGAGAGGGTCTGTGTGA ATCACCCCATTTGCTTTTCTAGGGGTGGGGAGTAT TTAGGAAGCCCACTGTAAGGTGGAGAGCCTAGGCC AGGGTAAGCAGGAGCTCCCTTCCACCCGTGGCCA CCCATTCAAGCATTTGCAAGCTGCTCCCTGGTGCAT CACCTAGTTAGAACAGTGGCACCTGAGACAGCTTA GGCCTGGGGAACCAATAGAACACTCTGTTGTTCC ACTTGGACTAGCAGTGGCCTGTCTCTCCACAGGGA GCACCACCATGTTGGGAGCATCACCTGTAACCT CCAGAGTCACTCACACCAAGGCTTCTTCTCTTCA CAAAGTCCATCTGCTAGTATCAGGATGATCATAT TCCAGAGGCCAAGCTTATGGCCAGCCCTCTCCGTC AGTCTATGAAGTGGTGTGTTGGCAGTTTGAATTA TTTTGGCCCTGTTCTTTAATACCTTAAGAGTAATA ATCTTCATAATGTGTAGGAGTGGAAGTACGCAATT AAAAAGCTGTGCATTCTTTTAAAGGGTACGTCCA GGACACCTGGCAGGTGGGAGAGACTATTCACCTTT TTCTACTGTCCAAGTGGACGTGGGCTAAGTTGTAT CCCTTTCGAGCTAGGTGTATGGTCTCCATAAAAA ACATAGTATCACTGATGTTTTAAATGCCTTGACAG CCTCAGTGTGAAGCTTATAATTTAAAGGATGATAG TGAGGTACCACCCAGGAGAGAGAGATAGCCTG TCCCTTACCTGGGACAGCTTGCCTGGCAAGGTCT GTCCCGTGGGAATAGACATGGAGGAACAAAGAAC ATGGGCCACATGCTTCTACACACACACACACAC ACACACACACACACAGAGAGAGAGAGAGAGAGAG GAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAG AGTCTTGCAAGTTCTGACAGAGGACGGTTCTCAAA GTGTAGTCTTCACAGTGAAGATGTTTTAATTTTT AAATATAAAGAGGTTTTGTTGTTGTTTCTGTG ATACTGGTGTTCATATGGGGGCCACACACGGA GACAGGTGTTTTAGCGCTGATTACACACTGAGCCT AAGGACCATGTAACCTGTGAGTTCTCTGCTTCTT CTAGAAACGGAACGGAAGTGTCCGCTCACCAGGA
--	---

10

20

30

40

50

【表 1 - 5】

	CTCAAAAACCTGGTAGAGGTGGGCACGGGGTTAGG TAGAAATCATCTTCCCTCCCTTCCCTCCCCACCAAA CTTTCTGGTGACAGAGCTTTTCTGTAACTGGGGC AGAATGGGGTCAGACACTCTGGCAACTTACCCATT GGTGTATGAAATATAAAACATTAAATGTATTTATA TAAAAAGTGATAGATGAAATTTAAATTTGCTGTTT TATTAACCATATTTAGATTTTAAATTTATATAGA GATTATATTTTAAATGTTTTAAATGTATTTGATACA TTACAAAATTTATTTAGTTACAAGCATATCATTA AGCTATTCTTTATTATTACAAAATGCTTTTACAAT GCTATTCTTGACAACAGGAAAACTTACCCTCAC TGAATATGTGGAGTACCATTTTTTGGAAACCATG TCAAGCATAATGGCAATATTCAGGTTCAATCTTCC TATAGATCTGCTCAATATTTATCTAAACCTTAGCT TCTATTCTTTTACATGTTATTAGCTATATTTTCA CTTAAAAAATTGGAGGCTGAAGGGGTAAGCAAACA AACTTTTGAAGTAGACAAAGCTCATCTTTAATCAA CAGACTTTAGAGTCCAGTCTTTCCAAATCTGTTTT TAACGACAGAAACTTCTCCCTCCCTGCCCCATTT TGCTCTCCCCATTAAATGGTACTGTGTCAATAAAA TTCCCAAGCGACCTCTTTAAATCAGCGTTCTTTCC TAGTCTGGCTACCAAGTCTATGAAAAAGGGAGATG TGTGGACAGGCTGTCTTACAGGTAGTAGTTGG TGGTACATCCAGTCTGTATTTCTTACAAAAATTA CATCTAAATATTTGACATAGAGGCAATTTGCTATCA TAAGCCATCACTAGGAACCTTCTAGTCTGTCTCACT CGATTGAGGCTACAATGTTGTTAGGTGCTATGACC ACAATGAATACAACAGACAGCCTCTCAGCTGTGCT GCAAGTATTTCATAACCAAAAGACCATATTTCAAA TTAAATCATAGTAGCGAATGACATACCATTTACAT ATTACAATCTGAGCCTCTGAAACAGGGGGAACATA TAATGGTATCCAGAACATCTTTACATCAAAAATAC CTATCATACTACAAAGTTTTCACTTCCAAAAAGTG TAACAGAGTTTAAAGGCACTGGTAACTTTGTCCACT GTTAGAGATTAATACTTCCAAAGCAATGAAAGAA CCAATGTTACCTTTTAACTGGGGGAAAGTTGGCAA AAAGAACCCAGGAGGACACCCAAACCTTCTCTGT GTCTCTGTGGAACTGGCTTTTTCTCTTGTCCCT CAGAGAAAGAAACAAATGCCGATATCTCTGTTTA AAATATGAAAGTACCTTACACCAATAACCCCTAAC AGCCTGGGGTCTCAGTGGAACTAACTTAAAGTAAA GAAAAATTAAGACAGGCATAGAATTAGGCCCTTGT TTGAGGCTTTAGGGGAGCAGAGCTCCATTGTGGCA TCTGGAGTTTACCTGAGGCCCTACAGGGGTTCAA ATGGTTGCATTTAAGGTGAGAACTTTTGTGTTGGG AAATGCTAGCGACTGAGCCTTGACAGCTGAGCACG GGTTGCCTCATCCCTCTCATGCTGTCTATTTCTTA ATCTAACAACTGGGCAATGCGTTAACTGGCTTTT TTGACTTCCAGAACAAATATCTAATTAGC (SEQ ID NO:8)	CTTAGCATCCTCCTGCTGCACTCTGACTCTCAGAC CTTGACAGCCCTTAGGTTGGGGCTCACGGAACCTCT TAGAGTGGGTGGATTGGGGCAGCAGTGGTCTGTCT GTTCCCTCTCTCTTTATCAAGTTTTCTAGCCACAG GGTATTTTTTGTAACTGGAGCAGAATCCAGAAACA TGTGTAAACATGTGAGCATACTTCTGGGATGCTTT AAGATATAAACTATGAAATATATGTATATACAAAT TAGTATAGCTGGGCATGGTGGTGTGCACGTTTAAAT CTCAGTCTTGGGAGGCAGAGACAGGCAGATTAT GAGAGTTCTAGGCCAGTCTGGTGACAGAGTGAGGC CCTGTTTCAAAGACAAAAACAAATCAAAGCCAGAA AACTTACCATTGGTCACGTTAGAGTTTGGTATTC TATTAACAACTTATTTAATTTTAAAGTATACAAA ATAATCATATTTTAAATAAGGGCATTAGGGGTTT ACAAAATTATATCAGTGACAAGCATGAAACCACAA CTCTTATTTATTGTTACAAAATGGCTTTCCAATGA CATTCTTGGCAGGAAGAAGTGCCCTGTTGGATT TGTGACTGTCTATCTGTAGGATACACATAAGGCA TAGTGGTAATGGTTCAACTTGCCTAGAAAGGTTA CATACTGACCTAAACTAGTTTCTTCTATTCTTCC AAATATCCACATTTCTGTTTCCAGTTAAGAAGGCA ATGCTGAAGAGGGAGGCAACACACTTTCAAAGT AGAAAACTTAGTTTTAATCAACAGGATTGGGAGT CTAGAAGTTTCTGTTTCTCTGAAAACCAACCCCA TTTGGTTCTGCACCATGAATTGTCCCATGGCAG TGAATTTCCCAAGCAAAACCATGAAGTCCCTATCT TCTGATGCTGACTGCAACATCCACAGCTACAGAG TAGACAAACTGGTGGGGGGTGGGGGGGGGGGGGG CTGAGTTAGGCTCATGGCAGGTGGCAGTTGTGGG ATATCCTATCTGTCTCTTACAAAAATTACAGTTG ACTATTTTAAATGAGGCTCTTCTGTGAGAAAGCC AGCAGAGACGCTTCCAGTTTGTCTCACTTATGAC AGGCAGTAGGGTTATAGCCCTGAGCCAGCAGGCC AGTGATGAATACAATAGTGGGCCCTCAGCCACAC TGCAGGTTTCCCATAAACCAAGGCCAACATCTTA AAGACCCCTGTGAGATCTGGTTACACACCATGCTCA CTTCACACACTGAACCTCTGGACTAGGAGGAATGT ATAATACTTTCCAGATCATTTTAGGAAAAAAGA GCCTATCTTATTTTAAAGTTTTCATTAATAAAGAA AAGTACACAGCACTGAAGTATTAATAGCTTTTTG TCCATTGTTGCACACGTAACCTATCAAAGCAAATA ACAGTATGGCATTTCTTTACCTTTAGCTAGGGGTA ACTTGGGGGGGGGACTTTCTCAGTGGCACCTTCC TCAGGACCGGGTTCTCTCTCTCTCTCAGAGGA AGAGAAACAATGTGAGATCCCTTTGTTTAACTGT GAATGTATCCTCCAAGCTTGGTCCGTACCAGCACG GGGTCTCAGTGGAACTAACTTTAGAACCCTTAAT ACAGGCATAGAATTGGGCCCTTTGTTGGGAGCTTT GGGGGAAGGGAGGCCACGGAGGCTTCTGGAGTTT CATAGGAGGCTCCAGGGACTTCAAATGGTGGCAT TTTAGATGGGAATGTTGTCTTGGGAAGTCTGGT GGCTGAGCTCTGCCGACTAAGCGACTAAGCATGGG TTGCTCATCTCTCCCTCCATCTTTGCTCTAGCA GCCAGGCAATGCATTAGACTGGTCTTTTGGACTTT CCTGAGCAATACCTAACGAAC (SEQ ID NO:9)
C	AAGGGGACAGGACATCTCTTTCCAAAACCTTAGGTT TGGTGACTCTGGATTTTACACTCTCTGACTGCTT GGGTGAGGGTGAATGGAGGGCTGTCCCCACCCT CGCACCTGCACGGTGGCATGCTTTCCTCTACTCC	GTAAGAGCCAATTAGGAAGTTCCAGGGTTAGTAAA GGCCAATCAGTAAGCACCAGGGTAAGAGCCAATCA GTAAGCTCCAAGGTTAGTAAGAGCCAATCAGTAAG CTCCAGGTTAGTAAGAACCAATCGGTAAGCACCAG

10

20

30

40

50

【表 1 - 6】

AGGGAATTCCTCGTGGCCTCATGGCCTGGGCTGTT TCTGGCTTCAAGCTCCACGTGGCCTGGCCCCAGCG GTCTGGTCCACCTTGTACTCGGTGCCCCGCTGCC CCCTGGCCTCAGCTGGAGTGACGCACCTCATCCAT GCGGGCTGGCGTCTGGAAAGGTGGCTGGGTCTCTC GGGCTTGAGCACCATCATCTTAGCTCCAACATGTC ATTATTCTCTTCTACTGAGGACTTTTCTGCTTCC TAATTGGTTGTTGAAGATGAGGCCCCCATGCTCTT TTAAGAAAACCTGTTGTGCCCCAGGCTTGGCTGTG ATGGGCACTGACTCATACAGAAGTAGAAAGGCCTG CTGAGTCATCAACACTCGTGCAGCGCCCTCGCATT TTCAATTAATGATGGCCTCCCTGCCACACGTGAATC ACTCCAGCCCGAGATCTGAAACCAAGGACACACCCC AGGGGCGAGGTGACGCTGAGTGAGCCAGCTGTGT CCCTTTCATGAGAACTCAGAGCACAGGGCTCTGTG TGCAATGGCCGTCGCCCTCCAGAGAGGAGGAAGTAAA TGCCGGGATTAGTGAAGATCATTTCCTTCTATTT GCCCTTGGCTTACGCTTTTCAGAATTCAAACACGTG CACTGTTGACCTGCAATGGTGGAGTTTTTGGATT TTCCTTCAGTCCGATTGCTAAAATACTTCCCTCTC ATGTGAGCTGTTGTGAAAGTCATCAGCCAGATACC ATTCTAAAAACAAAGATGTGCTTCTCGTATGTTG CATGCTCGGTTACTGAAATATTAGGGAATTACATAA AGGTTTTCTGGGACACATATTCAAGCTGAATGATA AAATTGAAGGTCACACAAAGCTAAGGTCTTCAAA TCCTGACCCAAATTAGCTCTCTGTTAGCTCTCTGAC TTTGGAACAAGCTGTCTGGTCTCTGGAAGCATACTT TGTTGCGCCTGGGTAGGGGCCCTCTGTTTTAACAG CGTTTGGCAGATGAAACATTTGCAAGGCCAAAGG ACAATGAAATCTACGGAAGCTACCATATGCCAAT GACTCCACCAATGTTTTCTCTTCTTGGGATCTTC TAAATTCATCTGAATACTTATAAGTTATGCAAA TTTGGTTATTAATCTAGGTTGTATTACCTTGGGGG AAGTCAGTTAATCTCTTTGAACTCAGTTTCTTAT CTGTGAACCTGAAAGAACACCTTCAAACTCCAAGG GTGGCTGTGCAATTAACATAGAGGTGCAGGTAT CAGATGAAAGCTATAAACAGTTTACAGATCTTAG ATATTATGATGGATGGCTATGATACGTTTCTCGAA TCACTGCTTGCCAATGAGCTGTACAATCTTCTCTGA AGGGGTCTGCCTTTCCAATCTGGGCAGCAACAGTT AATGACGGGTGTGCCAGGATATCTGTGTCTCCTTT ATCTGCTCCAGACTTTAAACACACCCCTCTGATTAC ATCACACTATCAATTTGAAAAAGGGCTCAGAGCCA AAATCACCACCTGTTAGCGAGTTCTCCAGGGCTGCC TCCTATCTCTGGAAGGTGGGGCTCTCGTCTGCAGA AATAGGCATAAGGGTTTTCTATGGTTTTTGTGTTG TTTAAAGACGAAACATGTTTGGGATCTTTTAAAGA ATCCTAATCGTTGTGAAAGAACTGAAGTAAGTTA CTGTTCAAGTGACTCTCATTCTGTGTGAATAGTT TCTCCCACGTGAAGTCAGCTCAAGAGACTGTGAAT TGCTTCAGCCTACCTGAGACCTGGTACACAGGGAG GCTTCTAGCCACGGAAGAGGAGAGCGTTTGCAGG AGGAGAAGGAGAGAGAGGGCCACGAGGTGACA TTCTGGAAGGGGAATGCTGGTGCAGAACTGCCTCA CCTACTTTGCTCCTTGGATGTTCAAGGAAAAGCCAG CCCATCCGCCCCAGTCCGAGGGCCTCACTCATGG AACAAATGAAGCTGAGAAGAGGAGCTTCTGTTTT CCAGCTGCTGGGGTCACTATTATCTTCAGGAAGGA CCCCGAAAAGCATCGTGTGTTGTGCAAAAGGCCTG CCTTATCTGCCCCCAGGTGCCCTCTCCGCTGGCC CTGTCTACTGGATAAGCTGAGGTTGCACGAAGTAG	GGTTAGTAAAGGCCAATCAGTAACTCCAGGGTTA GCAAAGACCAATCAGGAAGTTCCAGGGTTAGTAAT GGCCAATCAGTAAGCTCCTGGGTTAGTAAGAGCTT CTGGTTTTGGTCCTTCAATCACTGGCCTGAGCACT CATGTGATTGGCTAGGCTGGCTAATCAACCAGCTG TGGGAATACTATCCAGTGATGGGCTTGACAGACAGA TGCCACAGCATGTGGCACCTTTAATGTGGGTGCTG AGGATACAAAGTCAGGTCTCTCCACGCTTGCCATAG GAAACACTTTACCAAAATGAGCCATTTTTCTCAGTT TCGATTTTATTTTATTTTTGAGACAGGGTCCCAC TGTATAGCTCAGGTTGGACACAGACTTGTGATACT CCTATCTTGGCCTCCTTGACTACTGGAATTGCAAG TGTGTGGCACCATGCCAGCTGGAAGGTAACCTTTC TAAGGTACCTCTTCTAAAAATAGATGTTGACCTTT TGTAAGGACAGACTAAACGCCCCCTGGGCTTGAGG CTGGCGCCATCCAGAACAGGGTAGAGCGTATTGAG CCTGGCAGGTTGAATCCATCTCCAAATGAAGAGG GCAGGTGGGTTTTGGGGGTTGATGACGAGGGAGGG GCAGAAAGAGGGAGACAAGACAGAGAGTGTTACTC AGTCCAGGTACTCTCTTGAACAAAGAGCACACAGG GAAGAAGGGCCTCATCTGAGGCCAAGGTGTCATTG TATCCGGTATAAGGGGACAGGATCACCTCCTTTCA TGTGGAGCTCGTGGATCTTACATTCTCTAATGCT TGACTAGATGTGAGTGGAGCTAGAACACGTATCTT CTCCTGGTCACCGCCAGGGTTCGTGCGCTTTTCT TACTCGGTACATCATCTCATCGCAGTGGGCTGGT CTCTGGCTGCCTCATCCAGTTTGTGCTCAGTTTC ATACGGACACCCCTGGCTTGTCAAGTGTGCCCCA GTACCCTCGGGCCTGAGCAGCTGTGATGCCCTGCG CTCCAGCTCTTCTCCCCAGAGTCTGCAATGCTAT CATTCTTCCCGGCCAGAGACTTACGCTTCTCTCA TTAGATGTGGGAGATGAGGTTCTCAAGCTCCAACA AACCAGTCTGACCTCGTTTTGGCAGGAACCAAA GAGAAGTCAGAAAGCTTGTGAATACCCACACCGG CCGGCCGGCCGAGCATCCTGGCAAGGCCTGTAATT AGAGCCTCTCTTTCACACCTTGAATCTTGAGGGCC CCACGTCTGAAATGAGGGGTGTCCACAGTGCCTGCT GCAAGTTTATGAGCAGCACACAGACTCCTTTCTCT TGGAACCTCAGGGGTGCTGCCTGCGTCTGGCTTCTG TGGAGGAGGAAGTAATGTGTGTGGATTAGTAAAG ATCATTTTCTGCTGTTTGTCTTGGCCTCCGTGCT TCAGAATTCAAGCACTTGTACTCTTGACCCTGCAG TGGTGGCTGGTTTTGAGTCCACTTCTGTCTGATC GCTAAACTGCTCCTTCTCTGAGGACCTTCAGCTGA AGCCACTTACCTGCTAACACTTAATTAATTAATAA TTAATATTGTAATTAATTTTTTGTGTCAGGATTGG CAGTGAACCCAAAACGTCACACATGCTAAGCAGG CACGGGGCCATCAAAATCTTTCTTAATTTTTTAC TTTTTTATTTTTTGTGTGTGACAGGGTCTCAAGTA ACCCAGGTTGACCTTAAACTTCTGTGTGGCCAGA ATGGCTTGAATCTCTGGCCCTTCTTCTCCCTCCC ATGGTACTGAGATTACAGGTATGTACCACCATGCC TGACACCTGATGCTGTGGTGGACTCAAGGAATGC ACATACCTAAGCTTGAATGCTCGCTGTTGAAATAC TAGAGACATTTAAAAATAATTTGCCAGTTAGGAAAA GCTTTCTATGGCACACAGTCCAATTGAATCTTAAC ACACACACACACACACACACACACACACACACA CACACACACACAGACTTAGGTCTTTCAAATTCAGC TTGGTGGCTTGTTCATGCTTCTTTGGACAAGCC CTCCAGCTCTCCTCTCCTCTGCTCTCCTCTTGGT AACTAAGGGGAGGCCACGCTACTTTATTGGCATC
--	--

10

20

30

40

50

【表 1 - 7】

	GTCCAGGCCTAATGTGACAGTGAATAATATGGTGT TTGGCCACACAGAGATGTGTGTAGGTACAAAAACC ACCATGCTTTTGGCGGCAAAGTAAAAAATGAAGAT GTCGTCAAACGATCTGAACTCTGATGGAGACTGAG CGAGAGACCCTGGCCAAAAACAATCACTCCATGGC GGATGCGCTCTGGGGTAGACAGCTACTGCTCTCAG AGCAGCTGTTTTAGGCCA (SEQ ID NO:10)	CTAGAGATGCCAACATTGGCAAAGAGAAGGGACAA TTAAATTCATTGAGGCCTGTGTGGTGTGTGACGAA CTCTGCCAACCACTTTCTTATCTTGGTATCATTTA AATTAGTTTGAACACTTAAAGGTTGTGTAAATGT GGCTGTCTAGTATTAGAAGCTGTTTTGTATTATTG TTAGTTGTGTTCCCTCAGGGGAAGTGAGCTGCCCT GAGCTCAGTTCTTTATCTGGAACCTGGGCCTAATA CCTCCAGACTCAAATGACTGTACAGGACTTAGCT ATGAAGGAAAGGGTTGAGGCAGAAGTCAGAGCACT TTACAAATATTAGGCGCACTTACTAATGCTCATGA TAAATTCCTCAAATTGTTGTGCGATAAAGATCTTG TCAGGGTTTCTCAGGCGGCTATCTTTCCCATCAGA GCTGTCTGTCCAAGTTAAAGACAGCTTACTGGAAT ATTTCTGTATCCTTTTGTCCAATACAGGATTTAAA TATACCCTGCGATTAGATTGTAATGCCAATAAAAA GAAAAGAGGGGATGTCAGAGCATAAGCCAGGGTG ACAACCCTGGGACTGGCATTCTAGATTCTGGGGAG GAGACTCTTCTGGGAAGAGAGGCTCATGGCGTTT TGCAGTTTTTGTCTTTCTGTTTTAAGACAGGAGTTG CTTTGGGAGCTTTATCTTAAGAATCCGAACGGTT GTGTAGGCAAGCAAGCAAGCAAGGCAGCTACTGTT CGGTTGACCTCGTTCTGCTGTGAAGAATTTGCACT GTGTGAAGTGTGTTCAAGGAAACCTGAATAGCCTT GGCACACCTCCGACGTGCTGCTTCTGGTAAAGTT TCCTGTCTCTAAAGAGAAGACATTTAAAGGAAGA GGAGGGACCAAGAAGCGGGTCACCTAGACAACAGG GATCTGGGCACCTGGTAGGAAGGAAACCTTAGCTT ATTTACTCCTTGAATGTTGGGAGAGAACAGCCAGG ACCCTGCCCTAGAGCCTCACTCATGAAAGCTGAAT CTGGGACAGTGAGTCCTCCCTCTAACTGCTCCCA GTTCCACTGTCTCCAGGGTGGATCCCAAGTGGATG CTGTGTACATGGCCTTCATTCTGGTGCCTAAGCTC CACTCTGTGGACCTGTACCAAGTTGGTGTGAGG AAATGTAACATTTAATATTATGGGTCTGGGCCACA CCAATAAACTACGAGGCATTGTAGTCAAAGCTGCT GCCGCCTTTCAGTCACCTGACCTCGGTGGCCATTG AATAAGTGACCTTGGTCTAAACAATTGCTCCAAT GTTCTGTTCTGATGCTCTGGGTGGATCGCTGCTTG TGTCAGAGCAGATGTTCCAGGCTGTTGCTGGGGC CAATGTCAACATTCTGTTAGTTTCAGATTGTCTA TTAGTTCTAGATAGGGTCTCATTATATGAGACACC CCACCTCCTGCATGGCTCAAAAGTTTACTGATTT TTATTCTTTGTGTGTAAGTGTCTTGTGTGCACGCA CATATATGTGCACCATATGCATTCTGGTGGTAGG AAGCTAGAAGAGGGGCTCAGATTCTCTGGAACCTGG AGTTACAGATAGTCGTGAGT (SEQ ID NO:11)	10
			20
D	ATCACGCAGCCCATACCCTGCGGTTCTCCGGGGAC TTATGCATCGGCCCAAGTTGAGGGTTTTGTCTGAAC TGAAACCCGCATCCTAGACCTGGCTTTCTTCTCCC CAAATCCAAGGGGACACCCGGTGACCCACAAAAG CTTAGAAAAATCCAACACGCGAGCAAAATGAAACGGGG GAAAGGGGCACCGGCCCTCACTCTGGCCTCTTAGA CACACGATATGAAACCTTCATAAAACCTGTTGTAC AAGTCAAAGGGGACCACGCTGGGGTAAAGTCAAA CCAGTCCATCCTCGTTCCCTCTGCGTACAGAGAGAG GGTCCAGCGCGGGGCGGCCACTGCCATCGGGCC GGGGCCGGGGCGCTGGACAGGAGGGTGCGGATAG AGGCAGATCGGGGGCCCGGTCGCCACAGTGCGGC CAGACACCCATCCCGGCCGCGCTCTGCCGCTCTG ATCCGGTGCCAGACAGGAGCGACAGGGCGGAGGTG	AATCATGCAGCCTGAATGGGCATTTCTCTCCAAGT CGCAGGGTTTGACTGACCATAAACATCATTCTCTG CTGTGCTTTTCTGCCGCTCCCCAAATCGATGACA GCCCCAAACCAGCAAAGGAATGAGAAAAGGGACT TAATCCGGACTCTAGTCACTTTAAACAGCCTGGTG TGTTTATAAAACCTGTGTCGAAGTCAGAGGGGCA TGGTGCAATGCAGAAGTCAAAGTCCATCCCAGT TCCTACTGCAGGGCACGAGGGAGGGGGCGCGCGG GTGACAACCACCTGCCGCGGTTCCAAGTTCCCGGT GGGCTCGCAAAGGCGGGATGCCGATGGGAGGCAGA TAAGGATGCTGGCAAACCCCGCCTCCCCCCCCC CACCCTCCGATGGTCAAGACTGTCTGTAACCGCC GGGCGCCTGGAGATACTTCCACCCCTCGTCCC ACAAATCTGGCGAGAAAGGAACAGACCACTTCCT	30
			40
			50

【表 1 - 8】

	GGGACCAGCCGCCGACCTCACCTGTTTTGTTTTCT TGGAGGAAATTCCTCGCTGGGGGGCCGAGGTGGC ACCGCCCGCTCGCCCCCGCAAGACCCAGCCGGTC CGCGCCCGCTTACCTGCTCTGCGGGCGGGCGCCCT GCGCGGGGCTCTGCGCGGGGGCGCGCCCTTCGCTC CGGCTGGGAGGCGAGGTGCGGCTCGGGCGCGCGG GCTGTGCGGCTCTCGTGGGTTTTCGGGTGAAGGCC CCGGCTCCACCTGCTGCGCCTTTTAACCGCGCCC CACCCCGCTCTGCGCTGACGCGGCTCGGGCGGGC TCGGGGAGGCGAGCGCTGTCTCGACGAGCCCCC CGCCCCACCTACCGGGGGCGACTAGCCGCTGGG CGCGGACCGTCCCCCTGAGGAGCAAGGAGTGCAAG ACCGGGGCTGTCCCTCGGGGCGGATGCGCAGAG CGGGACCTTTTTCCCGTGGCGGGGGCGAGGGTG GGGGACCCTAAGAAGTGACAGTGCAGCGGGGCC TCTTTCCGGCCCTTGAGGGAACGGGGTACCGGGG ATGACGGGGTAGGGCTCTCCCTCGGGAGCGCAGA GGGCGGGCCAGCCCCCTCTGCACGGGTGCAAGTG TGGGGCGCTGCTCAGGCCCTCGAGGGAACCTTTC TTCCCTAATGTCACCCGTGGGGAGCAGTGTGAGGG CAGGCTGTGTTTTGCCAGGACACATCCTCAGTCT TTCTGGGTGATCCAGCCTTCTCATAGCCCGCGGG TGACACAGCCTCTCTATAGGAGCCTGGAGTTCT TTATTAATGACACCTTAGAGGAGGTACAGGG GTTGTTTTTATTAATACCTCCATCCTTTGAAGAC TCCTCGGGGAAGCGGAGCAGGCCCTCTCGGGAC AGTGACACGAGGAGACCAATTGCTTCCCGCTT TTCAGTCAAGACTAGAAAGCTCAGGGCCAGTACAG GGAGTGGTGCAAGGGGTGGTGGGGTGGAAACGTG GAAGCTATTTAGGCACCTGGCTTTACAGGTTCAAA CCTGTACGCACTCGGACAAAGATGTGTGACTTGC TTATTCTACAAAAGTGTTCGGTAATTAACGTCCTC CACCTAAACCATATGCCACTTGTGGGTGATATTC TCCCACGAAACAATTAAGATGTCTGTAAAGGTCA TGGATTTGAGCCAAGACTTCATAAAATCCGCTT TCCAAAATATTTATTTGAGGAGAACAAGGTTCTT AAAGAAATTTGCCCAAGTC (SEQ ID NO:12)	TTACCTGCCCCGGGTTTCTCGGAGGAAATGCTCCCA CTCGCGCTTACCTGCTCGGTGGGAGCCGGCTCCA GCTCGCAGCGGCACTCAGAGCTCCTACCCTGAGCG TAGGTTGGATCAGGCGCGCGGTTTACAGCGGGA ATGGAATCGGGGACAGTGCGGGTGGAGCCCGGTT TCCACCTGTGGCTTCTTTAACCAGCGCCCCACCC CGCCTCTGCCTGACGCCGACGGGAGGGCTGCGGG AGAGGAGCGGGGCACTCGACGCGCCTTCTGTGGT GCGACCCGCTCTCTCGGGACAGAGGAGCGGGG CGGGTCCCCCTTCTGTGGAGCAAGGGGAGGGGACC TTCCCTGTTAGGGCCAGGTCTTAGTGGTACTATAT TAGGGCACTCGTTGGGATCCTTCTTCTGAAGCCAG GGACCACTGCGAGTGTCCCTAGGAGAGACTCCAG GTGTAGGCTGGTCTTCCCTTGGGTGGGGACAGAA GGCTTGTCCCTTCTGTGGATGTGGGTGGAGCGTG GACCGCATGGGCAAGCTCAGCCAGATCCCATCAA GGACAGGGAAAAGTTGCCCGCTGGGGCCTTGTGG GGCTGGACACTGGAGGGCCCTTAATGAAGTGAGGG CTATCCAGAGTACGGGGAACAGGCTTGTGGACCA GCTAGTAGTGAGTCTCTCCTGTTGGTCACTCCTGG AGGAAGACAAGTGGTTGTTTTCTATCCTTTCTAGA CCCTTTGGGCACCTCTCCTCTAGAGCAGCCTGGA GGTTCTTTATTCCTTAATGACCACTTAGGAGTCTC AAAGGTTTGTGTTTTATTAGTCATCTGAATCCCTTC CTGCATTGTCCAGGGAAGGGAGTGGACTTCCATC TTGAGAGATCCCACTGTGTCTGCTGCACATCAAG GGCAGGGTAAGGTCAAGGCAAGCATAGAGGGTGGT ACAGGGGGTCTGGGGTGGAAATGTTGGAAGCCAT GTAAGGACCTAGTTTTACAGGGCCTGCCCTGTGCT ACTTCAGACAAGACTTGTAAACATGTGTAACCTGGT TATTTTACAAAATGGCTGGCAGGTATGTTCTTAC CTGTTGGGTGATATTCTCACTTTAGCTACATTCTA CCTGTTGGTTACAGTCTCTCACAACACAGAGTA ATAGTGCTTCTTAAATGTCTCTCCAGGTCATGG AGGTTGAGTCAACGCTTTATAAAAAACCCACCTTAA TAAATACTTGAACAGAGTCTCGGAATTGGACC C (SEQ ID NO:13)
E	TAAAGTGAGCAACAGCTTGAACCAATCTAAACA GCTTATTTATTTGAGGTAATAAACTTTTCTTCTT CCTGAGTTTTCTCAAATCTTCTCTATCATGAAAA TAGCATTAATAGCTAAAAATTTAAGTGTTAGAGG TTTTGCCTTTCAAATCCAGTAAGTCTCCAGAGTCA ACAGGTGCTACAGATGCTACTGGCAGTAACAGTG CTTCTCCAGGATTGTGGTAGGTGGTGTCTAAGGGT CTTTTAGCTTGAAGGTTCTGTTTCCAGTTCTGT CTCACCTAAGATCAGATCTTGGTGAGTATATTGGC AAACCATTTTATTATTTAAATTTGTAATAACAGG CTTTAGGCCGGGCGCGGTGGCTCACACCTGTAATC CCAGCACTTTGGGAGGCCAGGCGGGCAGATCACC TGAGGTTGGGAGTTTGAGACCAGCCTGACCAACAT GGTGAACTACGTCTCTACTGAAAAACAACTTA GCCAGGCTTGGTGGCAGATGCTGTAATCCAGCT ACTCGAGAGGCTGAGGCAAGGAGAAATCGCTTGAACC CGAGAGGCGGAGGTTGCTGTGAGCTAAGATTGTGC CATTGCACTCCAGCTTGGGCAACAAGAATGAACT CCATCTCAAAAAAAAAAAAAACAACAACAACAA AAACAGGCTTTAATTGTATTTTCACTCTTTAACT AACTAGATATTAACATAAAATATTAACAATTTC AATTTTTGTAAAGGAATACATTTACACAGCTTAA AAATTCAGTGGAACATAAAGGTTTACAAGGCAAT ATTTAGTCTCTGCCCATTTCTCTGCTCTCCCA	AGGAGGTGTGCTTCTCGGAGGAAATATGTCACAA GGGTGGGCTTTGAGCATTTAAAAATTTACCCCTT TCCAGGTTTTCTCTCTGCTTCTGCTTATGGTTT AAGATACAACTCTCAGCTTCCAGCTTCCAGCCCT CTGCTCTCAGAGATGCTCATCTCTCTGGAACCATG GGTCCAAATAAACTCTTGTCTATAAGTTACCAT GGTACGGTGTCTTACCACAGCAACAGCAAAAGTAG CTAATATAATCTTTCAAGGCCACGAAAAAGAGAA AGGCAAAACCAAGAGTTGGCTGACCAAAATCAGCTG AGAACACAAACCTTCCCATCTAAATTTCCCAATG TTCTTTTATTTTTCATCATGCAAAATAGCCACTGAT ATTTAAATTATATTAATGTGCTCATTATGGCAGTT TCATATATTTATATATTGTACTTTGAACATATTCA CACACCTCCAAATACCTCTTCTGTCCCCACATT TTAAGACTGGAAGTCTCGTTTTTCAAATCCATTA TTAGGTCCTTAGGGTCAATGGGGTCATATGATGGT GTCTGTGGTTCTAATTAGTGCCAGCTGGATACCT GCAGAATCAATGACTAGTGGGTAAAAAGTGAGCAG TCAGGGTCAGCAGCTCAAAAGCGTCAGTGAGAGG CGGACAAAGAGAGCTTTCAGCAACCCCTAACTGGG TGGGCAGCATGTGAGCCAAGTGTGAGTCCCTCCTT TTTGGACCTGGGAGACCAGCAGAGTGTGACGGCC TCCGTTGGCTTGGGCCAGGTGATAAGCTGACCTCA GCAGGAATTACCTCAGTCTTAGTCCAGTCTCTGAT

10

20

30

40

50

【表 1 - 9】

CCCTGTATGCTGTCCAGAGGCAACCAACGCCCTTT CATTTTTTAGAGCTCTTCTGACGTTTTACCTTTATG TTTCAAATAATGTGCTTATTATGCCATTTACTGA TTGCTGGACTTTAGACCTGTTGACTTTTTCTGCTA TGGTAGGGAGGCTTTAGTCTGTACCTGAGCCCA CTGCTCCTGTCCACCCACACCTCTTCCCTCACCC TCATGACATGATCATGGCTCATACTCTGGTCAAAT ACATATTGTTATTTATATTTTGGACTGCGAGCA TAATGACGTCTGGACCAAGTTGTATTCTATGTTAC ATTTTCTTTTGGTTGCAATTGCCCTCCCTTCCCTGA GAGTGAAACCATGACTGGGGTTTTCAATTGCTTGGC TTTCTATGTGCTATTGTTCCGCTTTTCCCTACTCT TCCAACAAATCTGTATATGCCCGGAAACAATTTT TTCAAGTCCCAGACATGGTTCCGCACAGTCCATC TATTCATCTGTTTCTTCCCTTTTCCCGGGGCT GTGGTCTGGGCAAGGTGCTGTGCCCTCTGCCAG TGGTCCCTGGGCTCCCTTGCCTTTCCCTGGGC CAGAGCTTGTGCTTCTGGAGTCCGTGTCTTCTG TCTTGGTCTTACCTTCATTTTGTGTAAGCACACA CCTTCCAGGAATCTCTCAGGAGGGGAATGTGAA CTAAACTTCTATGCACATAAAGTCTTCATATCACC CTCAAACCCGATCTGTCTCCCGCCTCCAATGTAC TTTCTTTCTCTCTTATTTTCTCTGTTTTATGA ACTTCCAGCAATTTTCTTCACTATTGTGAATTGG CATTTAAGATGGGAGTAGAGATAAATGCACCTGTG TAGGCTCATATAACACACGCTCAGTGCAATGGG TGTTTATCAGACTTCTCTCAATCAAGAGCTGCGCT GAGTACTTGTGAAGGCCCTGCAGGGCTGGTGTGA GTAAGTTCAGGATTGGGCACCTCTGAGGGGTGAGG AAATGGAGGTTGAGAGACGAGAAGGAATCCCCA AGGCCACATGGTTAATGATTGGAGATCTGAGATT CTAAACCAACCTGAGTGCATCACTTCCCTTTCTG TCCACTGCACATGATAACTGAAGCCCAAGGGCTGAG GCCACACCTCAGCGTGTGAGGATCAGCAGAGGAGA CCCTGCTGGCTGCGGGATGTGGATAGGCTTTGAGG AAGAGGAAAAGCACAGGCAAAATGTCAAAGATAAG TGGGAATGAGGTTCCCTGGAGCATGAGTGCAGGT GCTCAGGAAGGTGCTGGCAGCTCTAGAGAAGGCCA GAGAGAAGCACCCAGTGGTGGGAGCCACAGCCCA AGACACAGGCTAAAGCCCGAGCCAGGGTGGGTGA GCTCCACCTGTACCTATGGGGTTGCATGCAAGT GGTTCCTCTAAGCATTTGGCTTCTCTGGGAGGCGG GGGTGACATCGCTTCTTTGAGCCTTATTTGGAGGA CTAAACAACACATGCATTTTGTCTATTAGGCTGGT CAAAAGTAATTTGGTTTTTTCTATTACTTTTAA TTGTAAAAACCGCAATTAGTTTTGCAGCAACATAC TAACTTTAAAGTTCTTAATACATATGAGATATTAT TTCTATCAGCTTAGAAGGATCCATTATGATTGTAG AAGACCTGGGATGCCAGTCTGAGGAACCTCTTCTT TCTTAAGCAAAGGAGAAACAAAATAATTCTGATGG GGGAGTGACTGACCCAGTCTGGCTCACCGGCGGC TGTGAAGTCTGAGTGTCTCTGGCAGCTGCCCTT GAAAGCGCAGTGGTGTCCGGGGCTCGCCACTGAAT AGCGTTTGTCTCAGAAGGGAGCCCGTGGAAT TTGAAGCTGCAGTTAGGAATGTGTATGGCCTT GGAACTGAAGATGTTCTTTAAAGAAAAATCAC AGTGTTTTTAAACTCAGATGACAGCTTTGACCAT TATCTGCTTCTCTCTGCGAGCTCTAGAGTTTT CTTGGGATGTTATCAAGGATGATATCAACAATG CCCACTCTGTGTTTTTTTTAACTGAATGACAAA TTACCAATCAGCAGATGATAGCCATCCAGGGAAT	GTAAGTCTCACTCAAAACAAAACAAGCCTAG ACAAAACCAAGCTTGTGTCTTTTTTCTGTTGTGGG AACTGCTCCCACTCAGGAATTTCTCAGTGGCCCCC TCAAGGAAGTTGCTTCTCTCTGCTTCTTCCAC ACATCTGTGTCTTTCTGGTTGGAGACCATGGACTT GAGAGTCAAGTTGAGCTTCCACTACCCTAAGTGC CTGGGTCAAGCACACCTGCGCTGAGAAGGGTCTG CCAGTCTCAAAACTGCATCACTAGATCAGCAGTAT ACTCTCTCACTTAAGCATGGAGTGGGGAGGTGCCT TTGTATGTCTTAGCAATAGTCATCTACGTGATTTT GAGGTCAATTTACTTTTAAAGTATATAATCTTCAA ACCAAAATCAAAGACTAGGCAAAATTTTAAATTA GCTTTTAAAAAATGAGCTGGTTTGTCTTACTTCCCT GATCTTAATTCTCTATAGGCAGTATTGTGAGGTAAC TTATTTAGGTTTAGGGATGATAGAGAAATAATGTC TTAGGGTTTTACTCTGTGAACAGACACTATGACC AAGGCAACACTTATAAAGACAATGTTTAATTGGGG CTGGCTTACAGGTTCAAGTTGTTCAAGTCCATTATCA AGGCAGGAACATGGCAGTGTCTAGGCAGGTATGGT GCAGGAGGAGCTGAGAGTTCTACAGCTTCATCTGA AGGAAGTACGAGAATCCTGGCTTCTAGGAAGCTA GGATGAGGATCTTAAAGCCACGCTCAGAGTGACA CACTTCTTCAACAAGGCCACACCTCCAAATAGTG CCACTCTTGGGCCAAGCATATTCAAACTCACTATG GGTACTCTTAAAGAATGCATGTTTATGCTTTAAA CATTGTTCAITTTATCCGTGAACAGACTGGTTTGA GATCTCTCAGCAAAAGGGAGTTATCCTTATACAGGG ACTCTTTTCAITTTTCTTTCTTAGTGATATTCAAT GTAGATAGTGTGAGTTGTATAAAGGCTTTATCTA TCTATCTATCTATCTATCTATCTACATCCCAATG TTGCCCCCTCCTCCGTACCCCTCAAAGAGTTCTT TCTCCACCCCTTCTCTTTGCCCTTAAAGAGGCA ACCTCCTCTTATATCTCCCAACCTGATGCATCAA ATCTCTGCAGGATTAGGCCTCAGGCCAGCCCATGT ATGCTCTTTGGTTGGTGACTCAGTCTCTGGAAGCT CCCAGGGGTCCAGGTTAGTTGACACTGTTGGTTTT CTTGTGGGGTTGCCATCTGCTTGAAGGGCTTCAAT CCTTCCCTAACTCTCCACAGGGGTTCCCAACCT CCAGTCAAGTCCAGTGTATCTATGGGTATCTGGA TATCCCTCTGTCTCATCAGCTGCTGGGTACAGC CTCTCAGAGGCTGCTATGCTAGGCTCCTGTCTGC AAGCACAAACATAGTATCATCAATGGGTGAGTGAT GGGTGCCTGCCCATGGGATGGGTCTCAAAACGATC TGATCACTGGTCAGCCATTCCTTCAAGTCTTTGCTC CATCTTTGTCCCTGCCTTTCTTTTAGACAAGATCA ATTTGGGGTCAAATTATAAAGGCATTTTCTATGTTA AGTGATAATGTATTTGACCATGTTTCCCATAT CCTCCTACCTCCCATTTGCCCTCCCTCTTCTCA TTAGTATTCTTTGTTCTAGACAAATTTACTCTACT TTTATGGCATATGACACATACATGATTTAATGAAA CATAAAATGGAGAATCTACAGACAAAAGAAAGCAT GAAATATTTGGCTGAAGCTGACTCAACTCATTTAA TATGACAACCTCCATTTCCCTACAAATAAGAGAAT CTCATTCTTTATTGACAGCTAAAATCCACAGGTG TATATACCACATTTCTTTCCCTATCCCTCTGTCTT TGGACACCTAGGCAGGTTCCACCGTGTAGCTATTG TGAGTAATGCTGTAGTCAACATTGACATGCAAGTG TCTCTGTGACATGTTGACACAGAGTTCTCTGGATA AACACATAGGAGTGTGCTAGCTGAATGGCAGTCGA TTGAGAAAACAAATAATAAAGGGTTGGTGAGCAG GTGGGAAAAGGAACTTTGAACGCATTGCTGGTGA
---	---

10

20

30

40

50

【表 1 - 10】

	TTCTTTTAAATGCTGGACTTTTGCAAAAATGTAGA GCCTTGGTGGCAATTGTGATTCTTTTTTTTTCTT TTCTTTTCCCAATGAAGGTACTTTTTTTTATGTC CAGTTTTGGAAGGCTCCTGAAGATTGTTTGAGAAC TTGACTGCTGTGTCAGGGCAGTGCTGACACTCTCT GTTGCCAACTGTTATTTCATTATCCAAAAAATCAG AGAAGCAAAAACGACCCCTCCAAACAACCTCCAAGA CAAACCTCAAGCAAAACAACAACACACACAAAAAC CCACAATTTTCTTTGGTTGCTTCTGAGAAGGAGT TTTAATGGTATAGTAAATACAGCATTATCGGATG ATTTTGGCTGCCATTGATATGTTTCTCTTCTTG (SEQ ID NO:14)	GAAGGAAAGTCAGTCTAGCTGCTATGGAAATCAGG GCGAGGGTTCTCAGGCCCTAAAAACGAACTGCC TTATGACCCAGGCAGTCTTGACAGCTGTTGTTGTC TGTGCTTAAGTCTTGACTCTGTGACACATAGAGA AACCAGATCTCAGGCTAGAAGTTCCTTTCTCTCC ATGTTCCCTTAACCAACCTCTTCTCTCCTGCCTCA GCCTTGTAGAAGTGTGCCTTCCATTAGGCACCTAA GAAGAGGAACTTGACAGTCAGCTGCCACCTTCTAG TGACTGGAAGAACCATAATTTCTGGATCTGAATAA AAGATTTTACATTCTGCTTTGTGGCTCACAGGAGA CTCAGTGACAGGCCACCTAAGCACACACAGAACAA GTAGAGCGACAGGTTGAAACAGCTTCCAGGAGGAG TGGGGGGAGGACGGGCTGAGGAAGTGGGATGTGTA ATTCCAGTAGAGAAAGTCATTGGAGGTACGGAAGG TGCTGGCAACCCTGAGAAACAGCAGCTGATCCACC AGCTGCAGGGCCAGGCCCTCTGGATGCAACAGCCAA GTCAGAGCCCAGCTGGGCTGGCTGTGTTCCACCT GCTCCCTGGGTGGCCCCAGGCAAGTGACTCCCTG AGAACTGGCTTCAGTAGTGAGAAGAGGGGTGGGGT GACAATAGCCTCTTTACAGGGTTACCTAGAGGACT AAATAATGCACATACGCATACACACACACAGACAT GCACACATAGACGCACACATAGACACATAGACACA GACACACACACAGAAACAGACACTGACACACACAT ACACATACACAAAGACACACAGAAACAGACACATA CATATATGTATACACACAGAGATATACAAATATAC ATACACACATGGACACAAACACACACATACAGAAA CAGACACACAGACACACACCAACATATAATACA CACCCATATAACACACACATATAACACACACACAC AGGCAACACATGGGTTTATGGGCTCTGCAGTACA ATAAGGCTTTATTTTCATCAGCTTAGTCAGCAGTA GCCTACAAATATTAGTGTCAAAGTATTTTCTAG GCAAGGGAGAGACAGAAAGTGGTTGTGGTGGGGAG TGAGGCTGGTGACTGTGAGTGGGCAGTGTCTAGTG TCTGGGGACAGCTGAGATTGGCAGCCCCTGGCCA CTGACTAGAGTTGCTTCCACAAAGTGAGTCCAGTG GAAATTTTATGTTTGTCTTTAGAACTGTGCCTTC AGCCTTGGAACTGAAGATGTTTCTTTAAAGAAA AATCGTGCTTTTGAACCTCAATGAGAGCATTGC CTGCGGTCTGCTTTTCTCTCTCTCTCTCACCAG TTTTCTGGGATGTTATCAGGGCCAATCATCAGAA CAATGCTCACTTCTATCTTGTGTCTAACCTGGATG ACAAATGGCCAGTCAGCCGATGTAGGTCACGCAAG GAAGTCTGTCTTTCGGGTGGACTGAGGTAGCCGC AGTGCGATGGCTGCTTTGTGTTTCTTCCCTTTT CTTGTCCCACTAAAAGCGCTTCTGGTCTGGGAGT AGGGGCGACTGAAGGCTGTTTGAGAACTTGACTGC TGGGCCCCTCTAACATTTTCTGTTGCCAACAGCTT ACTCCTTTTGCTAAAAAATAAAAAAAAAAAAAA AAGCAACAAGCCCAAACTACTTCTTCAACAATT CTAAGACACCACACAAACAGAACAGACTGAAGCCC CAGTAACCCAGCTTTCCAGGGATGTTTGTGAGAA CCAGGGTAGTTTTGATCACTACTAAATTTCTACTT AAACATTTTAAAGGATTCTTTTTCTTCTCGTTT TTAAATTTGTTCTTGAATACAATGTATTTTGTAT CATATGTGCACCCCTCCCCAACCCCTCCTTCTAT CAAGCCAACCTGGTGTTCCTCCCCCTCCCCCTCTCC CTCCTCCTCTCCCTCCCCCTCCCTCTCCTTCCCT TTCCCTCATCTCCCCCTCCCCCTCCCCCTCATTTCC CCCTCCCCCTCCC (SEQ ID NO:15)	10
F	GTTTTAATGGTATAGTAAATACAGCATTATCGGA TGATTTTGGCTGCCATTGATATGTTTCTCTTCTTG	GGGTAGTTTTTGATCACTACTAAATTTCTACTTAA CATTTTAAAGGATTCTTTTTCTTCTCGTTTTTA	30

【表 1 - 1 1】

AAAGAGGAATTCAAATGACAATGAACATTTTTGGG GTCTCTTTTTTGGAGTTTGATTTTCAGGGGATTG TCAGGCATGTGCTCTCCGGGTCCCATGCTGCACA GTCCAGCACTCTCTGTGGCTCAGCCTTCCCGTCC TTAGCCCTCTGAATACTTGGCGTTGACTGAATGG TCATCGTTAGCACAGGTCATCACAATACATGACTC CTGGGCAGGAGGAACAGAGGAGCGGAGGTTGTGCC ATGCATTTAAAAACCCAGTTAGCATCCCAGTGGGTC TTCCAAGGCCGAAGATGGCAAAACGTTTTTATTTT ACTTTGTTGAAATCATCTGTTTCCCTCCAAATGGT GGGCTGTTTGGGCACAAGGTCATGTTGTCTTCAAT TTCATAGCCCCGGTACCAGCAAGGATGGCTGCC ATAGGCTCTATTAAAGATGCCGAGTGCAATCCGTGGC ACGGCCAGGAGGAGTGCTGTGGTCAGCCTTCCA GAAGGAATCAATCTCTGGGAGAAAGTGAGAAAGTT GGCTGAGCAGAGGGGCTCGAGAATGGCGGGTCTC ATCCACCACCAGCAGGCTCGTCTGTTGCCAGCAG TGTGATCCTAGCTGAGGTTTATTCTCTTCCCTCA TTAGACTGCAGTCTCTGAAAGGAGGCTGTGCAC CTGAGCTGTCTTTTGGGCTTTCATCCTGCGCCCT GCACGGTTTGATCAGTAAATGGTGGCTGAGAGACA AGGGAGTGGGAAGGAGGAGGTCAGGAGGGGAGAG AGGTCTGAGTGCTTGAAGAGTCCCTCCTCTGCTT CAGGGCTTGTCTTGGGGTTTCTGGATCTTCACT ACTTGGGGTAGGATCTGAGCTCTCCCGGCCCTG GTGGTTGTTGGCCAGGCTGGCCAGCTTCCAGCAG CACAGGTCATCATAATATGACTCCTGGACAGGA GGAACAGAGGAGCGGAGGTCGTGCCATGCATTTAA AACCCAGTTAGCATCCACTGGGTCTTCCAAGGCG GAAGATGGCAAAACGTTTTTATTTTACTTTGTTGA AATGCAAGTTGTTCCCTTTTTTTTAAACCACTTTT ATGTTCCAAGGCTAAACATAGCATAAAACAATTT GAAAAAGTCGGTTTCAATGTTTCCCATTTGTTCACT GAGAGAGGGTCACACAGGGTGCAAGGCAACAGAGG ACACCATTTGCTTACGTAGTACCTCGTGAGCTGCAC TGGGAGAGGCTTTCAAAGGAAGGTTTTATTTAGG AAGCAAGGAATGATTAACACTGATGGCTCTAATC AAATGAGATTTAAAAATTTCCATTAACCTTCATA GTTAGGCTGCATGCAGTGGCTCATGCTTGTAACCTC CAGCACCTTTGGGAGGCTGAGATGGGAGGATCACTT GAGGCCAGGAGGTTGAGGCTGCAGTGAGCTGTGAC TGGGGCACTGCACCTCAGTCTGAGTGACAGAGGGA GACTGTATCTCAAAAAATAAAAAAATAAAAAAT AAAAGAAATAAACCTTTAATGTTGGGTGTAATTTT ACTTTCCATCTACTCCTTCTTCCCTACCTGCAACG TTCAAGAGCAGGAGGGAAGATGTGAACACACATTT GTGTGTGTGTGTAACATGCTCATGTGTTTCTAAA TTATCAAGTCAGGATAAGAACTTCTACTGTGAAAT ACAGATATACAACAATATGTCCCAAGCTATGTTTA ATGCACTTTTATTATCCTGTGCTAGTCTTCTAAATA TGATCATTATACAATAGTCTTTTTTTTTTTTTTT TTGAGATGGAGTCTGTCTGTGACCTAGGCTGGA GTGCAGTAGCGCAATCTCGGCTCACTGCAACCTCC GCCCCCAGATTCAAGCAATTTCTCTGACTCAGCC TCCCGAGTAGCTGGGACTACAGGCGCGTGCCACCA CACCCAGCTAATTTTTGTATTTTATGAGAGACGG GGGTCTTGGCTCGTGGGCCAGTTTGGTCTCGAACT CCTGACCTCAGGTGATCCACCCACCTTGGCCTCCC AAAGTGCTAGGATTACAGGTGTGAGCCACTGTGCC CGGCCCATTTACAATAGTCTACAAAGAAAAATTT AAGAGCAAGCTCTGGCTTAGTCTTTGAAAAACAAG	AATTTGTTCTTCGAATACAATGTATTTTTGATCAT ATGTGCACCCCTCCCCCAACCCCTCCTTCTATCAA GCCAACCTGGGTTCCTCTCCCTCCCTCTCCCTC CTCTCTCCCTCCCTCCCTCTCTCTCTTCCCTTTC CCTCATCTCCCTCTCCCTTCCCTCATTTCCCTCC TCCCTTCCCTCTCCCTCTCTCTTCCCTCTCTTTC TCTCCCTCTCTTACCTCCCTCTCTTCCCTTCC CCTCCCTCCCTCCCTTCTCTCTTCTTGGAGGT TATGGTAGCACTAGGAGTCAAATCCAGAGCCTGAC ACTCAACTGCTGATTGAACCCCTGACCCTTCTTAT TTTTCTGTCCATGTTTATTTCTTGAAGGAGGAA TTACATAAAAAATGAGCCTTTCCGAGGCTCTCTCT CTTGAGTCTGCTGTTAGGGATGAGTCCCGTTTGA ATTTCTGTCCATGGCAGGCTCTAGCGCCGATTTCT CTCTGATCCCCAGAACCCTACCCCTGATGAGGTTT TGGCATGGGTGACACTAAACAGTGTCTTCTACTAA ACAGTGGGCTTTGTGGGGACAGGCTGACACTGTCT TCCACTTGTCTGAGTTCCTCCGAGGATCACCCCT CTCTCTCCCTCTGGTGGCCCACTCTCTCTATCTG GGTAGGTTGACAGGCCCTCACAGTTTACCTGGA ACGTGTCTGTGGTCAGCGCAGGACAGGCTGGCTGG CCTTTGTAAGACTGGCCAACCTAGAGCGATGCAAA CCGGCTGGCACCAACCCGGGCTGCTCTGCAGAAA GCTAGCTGATTTCAGCCTGAGCAGGTGCTGTGA CTCCAGGGGACAGGCTCTGTGACAGCACCTCTA TCCATCTTCTATCTTATCCCTATGTTCTGACTGTT AAATGGCACTGAGTGAGGAGGGAAGGAAGGAC AGGAGGGGTCTGAGAGGGATTTGAGTGTTCAGG CCTTGAGAGGCTGTCCCGGGTCTGGAGGGCTTC AGCCAGGCTGTCTATGTAACACAGGATCCTCAGA TAGCAGGTACTGTAAAGAGGAGGCCATCACACCT GTGCATTTGAGACCTGCCAAAGCAAAAGGTGTCA ACACCCGATTTTACTGCAATGGAATGTAGTTCGT TCCTTTTCAACCTTTTGTATCGTGGGGCTGAAGAG ATGATGTGAAGGACTTTAAACACTCCACTAGGCT TCTCTGCTTTGTTCACTGTAGAAGGTACAGGGAG TTCAAGAAAACAGGCTAGGGATAGGAGGATGCTCA TGTGCTTCTCTTGTGAGCGGTGGCAGGGCAGCTC CGTCTCAAAGCAGGCTTTATCTAGAAACTGGTGAG GTGGCAGGAGCTTAGGAGGAGGAGAAATGATTT AAATATTTTCTAATAACACTCCCTCACTGATGGTA ATTTCACTTGTCTCTCTCCCTCTTAGCCCCCACAC TTCAGAACAGGAGAGAGAGGATACTCGCATACACA CACATTTAAGTCAGGCACACACATAGATATGTAT TTCTAAACATTTTCTCTGTAATACAATGATGTG CTCCGATATATACTTAAGCCAGTCTTACTATTTAA CCATCTCTTCTAAAAAATATGATCAAAACACAGTT GTTCTAAAGCAAACTCTAAAGACTGACCTAGTC TCTGACAATGAGTTTGAAGAGTGCAGCTCTTGGT GTTGTCTGCAAAACCAACTATTTGTTGACTTGA CAGGCAAGACAGACAAACCTCAAAGTTAATGGTT TCTCTATTCTGTTACTCTGTAAGTGCTCTCTGCAT TCAAGCGAGATACTGCATTGGCTGACACATTAAT ATGCTGAGACTCTTCCAGAACGACGAGGACAGACA ACCACGGTCAACAGTGGGGGAATGGTATTTGTCT GGCTTAGTTATCTCCAAATGTCTAGAGAGAGAATA ATAGTATATAATGGTGCATGGAACACCCATGAG CCTTGGTGTGTTATTAGTAGTAGTTACTTTATAGT GGGTAATGACAAAAATAAGGTAGCTTCCAGTTCT GAAGGTTTACTATGTGTGGATGTAACCCCTGCTAA TCACCACCTTAGTTAATCCAAACAACAGTCCCATG
--	--

10

20

30

40

50

【表 1 - 1 2】

TTTGGAAATTTCTATACGAGTGGATAAAATGTCAG CTCTTGGTATTGTCCTTAAGACACAGTACATGGTA TTTACTCTCTTTTTATAGGGTAAAGATAGATAAAAT CCCCAAAGGCCTTGGCATTAGGAAACAATCATGC TTTATCTATTAACCTACTCTTTAAGCTCTGTCTATT TTTTGCGTCTGAGTGAGACACTCTATTTACTGAGC CACAGACCACCTGCTAGATAAGCAGAGACTCTTCC AGGGCACACAGCCTGGAGAAAAACGCCCTGAATGC ACAAC TAGAAGTATTAGCAAGCTGGTTAACTGT CCCCAAATGTCTAAGTAAAGATATTAGTGGGCCAG GCGCAGTGGCTCACGCCCTGTAATCCCAGCACTTTG GGAGGCCGAGGCGGGCGGATCATGAGGTCAGGAGA TCGAGACCATCTGGCTAACACAGTGAAACCCCAT CTCTACTGAAAAATACAAAAAAATAGCTGGACATG GTGGCAGCCACCTGCTCTAGTCCCAGCTACTCGGG AGGCTGAGGCAGGAGAATGGCATGAACCCGGGAGG CGGAGCTTGCACTGAGCCGAGCCCGCGCCACTGCA TCCAGCCTGGGCGATAGAGCGAGACTCTGCCTCA AAAAAAAAGAAATATTAGTGAATGATTAGTAT ATGGGAAACACCTCCGGACCACCTACATTATTAT TAGTCTTCTACCTTTTGGTGGGTAAAGATAAAATAA AAGTAGCTACCGTTTATTGAATGTTTACCATGTGT GGATGAAAAACATGTTAATCAATGTCTCTTTAAT CCTCACAGCAACCTAATGAAGTAGGTACTATAATT TTGCAGATAGCCACATTGAGGGTGAGTGAGGTTAA ACAACCTTGCTCATATGACTCAAAAGTTTGGAAAGCC GATTTCAAAACCATGTTAGTGGACAAAGTGCCCTTTT TAACCATTGTATTATTCACTCTTCTATGAAGACA CGCCTCTATTTGGGGCATTTACTTCTATATAACT TGATGAAAAAAACCCAGCAGATTTTCTGCTTGCC TATAAAAACTCTAAAGGTGTTTCTGTGGGAGGGTG TGTTATTTCCACTCAGCTATTGATAAAATATAGTCTT GTCTTAATGTTAATGTGGATCTTTTTTCTGTCTT ATGCTTTTCTGAAATTTTGAGTGACCATGTCTACT AGAAAAAGCTTTGAATCAGCAACATTTCCAGTGGAC TGTAGGGAAGCCTGTTGTTTTGGTGGAAAGTAGA GAGTCACAGATCCCCAACCTTCTCTGAGCCGTGG TTCTGCATCAGTACAGACAGGAACCAACTATTAG GAGCCACTACATGAATAGTATTTCTCAGGTGAG CAAAAAATCTTTTGCTTTTGATAGATTGGCCCTGT CTATACGTGGTAGCCACTAGTCACATGTGGCTTTT GACGTTTGCAATTTTAATTAATTAAGTGAAACACA ATTTAAAGTTTCACTACCCCTGCCACACTATAAGT GCCCAGTATTCAATACAACCTGCCAGTGGCTGCCA TGCTGGGCGGCGCAACCGTAGAGCACTTCTGTCTT GGCTGAAAAATCTACTAGACAGAGCCATCCAGGAA TTTGGACTAGCAAGCACCAAGTTTACAGTTAGAGA ACACAGTTGCAAGGCCAGGCGCGGTGGCTCACGCCT GTAATCCCAGCACTTTGGGAGGCCAAGGCGGATGG ATCACGAAATCAGGAGTTTGAGACCAGCCTGGCCA GCACGGTGAAACCCCATCTCTACTAAAAATACAAA AAATTAGCCAGGCATGGTGGTGTCTCACCTGTAATC CCAGCTACTCGGGAGGCTGAGGCAGAAGATCACT TGAACCCAGGAGGCGGAGGTTGCACTGAGCTGAGA TTGCGTCACTGCACTCCAGCCTGGGCAATAGAGCA AGACTCTGTCTCAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAGGAAAGAAAAAGAAAAAGAGAAGACAGCTGC TTTACAAAGCAAGAGGGCTTCAAGAATCTGGAAC CAAAGGAGCAATGTCTTTGAGTTTCTACAAATTT GGGCCCACTGATTGGGCCTTTCCACAGCCAATTC CATTTGCCTTCATTATGGAAGTAACAGTTTAAC	AAGTATGACTATTATTATCCCCATTTTACAGACAA ACAAAAATGAGGACTACAGAGGTTAATAACTTGCCC CAAGTCATGGTACCAAAGGGTTTGGGAGCCATTAT TTCAGTCAAAATCTAACCAAGTGCTTAGCCATC GTGCCAGAGGTTCCAAGGAAGGAGTTTGCTTGTTT GTTTTATTTATATCACTTGATGAAATAAACTACC ATTCCCATTACATATAAAACCTCCTATAGATGCC CCTTAGCATGCTGTGTGATTCCACTAAGCTGTTGA TAGACACAGTCTCGGGGCTGGGGGTGTGGGTCTAT TTGTTAGCATGCATGAGGCTCTGGGTTTGATCCCC AGCACTGATAAAGCTGGCATGGTGATGTATGCCCTG TCACCCAGGACTTCAGAGATGGAGGAAGCCATT AGTGCCATCACCAGCTACATAATGAGTAAGAAAGA GACCAGCCTGGAACACATGGCATTATCTTAAAAA AAAAAAAAAGACATTCGTTTTGACATGTATATTTT TTGCTTTTGTAATTTTCAAGGGAATGTTTCAACC AGAAGCTTTGCACTGCTGATGGTACACGTCTGAAA TGTCAGCAATCCAGAGGCTGAGGCGAGGAGGATT TGAGTTCCAGGTCAGCTGGGTCTAAACACAGGAGG AAAGTAGAGCTTTGAGTGGACCATGTTTCAAGATG CTCAATGATCTTCAGAGTTATGCTTTTGGCAGACA CCACACCAACAGAAAAACAAGAACAACTTGCCCT TCAAAGGGAGGGCAGCCTTGTGAAGCTCTGATTCA AAGGAGAATTGTCTTTGGAGTCTGAATGAATTTG GACCGCTCTTTCTGAGCCTTTCCAATTTCTACTGGC ATCCACAAC TGAACAAACAGCGGTGCCCTGATT GCCACAGACACTCTCTGCTGGGCAGACAGCACACC GCAGTTCCCAGGCTGTTCTGCCAGCATCTCTCAGG TGTTCAAGCTGGGTGGGGAATGCAACATGTGTAG CAAGCCAGGTGGCCCTGCAGAGCCTGTCTCCAAC TCGATGCTGCTGGGGACACAAAGAACATTAGGGCA TGGAGTGGCTCTGTGAGTCTCTGTGAGGGAAGCCC TTGCTCACCACATAACATCATTCCTAGGTGTGTT CCTGCACATATCTCAATTTGTTTTAACTCTGTATT TATAGTGAGAATTGTTAAGAGAATCTTAGGACTGA GCAGGACTGAACAGACAGAGACAGCAGTTCCATG TTGCCAGACAGATCTTACACAGGCTTAGCCTGGTC GCAGCCACAGACAGGCTCCCTGTTCACTGAGAGG TGGAAGAAATACACATGGATTTTTTTTTTCATTT TTTGCTTTGTAATCATGTGGGAGATGGAAAAAGTT TACACATAGATTTTTTTTTTCTTTTCGTTATTGT TTTATAAGTCATTACTACTAGCCTAGGCTAGCTT GGAGCACTCTCTGTAGCTCAGGCTGGCCTTGAAC CTTAGCATCTCAGCTTCAAGCTCCTGAGAACTGGG ATTACATAGCTATGATACTATACTGGCGCCAGAG TGTGTTTTAAAGCCTCAACTTCCAATAGACCTAG ACGCTCCTTTCTCAGTCTGAAGGACACAAATGTAC CTCAATCTACAACTTAATCACAAATCTCTCAAGG GTGTTTTCTGAACTTCAGAGCACTTTGGAACAAAC TTTCCTAGTGGGAGGTTTGTTTCTTCACTCATTT AACTGGCAAGTCAACATATACAACTTCATTTAT TTATATAATTCTATCTAATAATGGAATAAGAGG TGAGGTTAGAGAAGAGGAATAACTTTTAATATTCT GTAGTAAAGTAGTGAAG (SEQ ID NO:17)
--	---

10

20

30

40

50

【表 1 - 13】

	TTCTACTGACATGCTCTGCAGTGCAGACAGTAAA CAGTAGCTCACCCTGCTTCTGCCAGCTGCTCTCG GGTGTCTACTTGGGTGGGGAACAGCAGCACTGGC ACTGGCACTGGCCCCGGTGGCCCCACAGAGCATGG CTCCATCAGGCTGGGTGCTACAGAGGGATGCCAAG AACATTTGGGCATTGAATGCCTCTCTCTCTCTC TCTCTGAAATGAAAACCTCATCAATTCAACAATA GTTTCTCTAATAGACATATAGTGATTTGTTTCAT CTCAACTGTTCCCATACAATAATAGAAAGGAGGGA GTCTGTGCCTGAGAGTGCCTGCAAACCCAGGGCA CACCAGCCCCGTGGAGCCATAACAGTTGCTCACAG AGACAGCCCCCTCACAGCAGCCCCGGCACAGTGAC TCGTGTAATGAAAGCTGGAAAAATTGCCAGGAAAA CCTGAAGATGCATTCTGAAAGCTCCCACTCCAA CGCAGCACACAGACTTCTCTCTGGCTTTAGG AACATGAATTTACCTTGAATCTTTAACTTAATTG AAAACTTTGCAAAATAACGAGCTTTCTTTGAATC TTTATGGCACTTTGTAATAAAATGTCTAAAAGGGG GCCATTCCATGAAATCATTTAATTGGCATTAAATAG TACACTATTACTTCATATAAAATCATAATCATATA AATGTACTTATATAACTCCATGTAATTAATTTAT ATAA (SEQ ID NO:16)	
G	N/A	GACTTGCACTCTTCAAGAACGGATGATGCCCCAGG CAAAAGGGGTATCCTACCCTGCCACTTAGTGGGCC CCAAAGGAGAGGCTTCTGCTCTAGGGCAAAGCTTC ATTTCCCTCTTCTTTGAGCTCACTTATTTGGAAT GAGTATGTCTGCCCCCTGCTGCTATCATGGTC TTTTGGGAACACACAACAACTGGTTTTGCCGGT TCACAGCCAGAGGACGGATTCCCTTCTACATGGGT CTGCCTATACCAGATGATGTGATACTGTGTTGACT TGGGACTTGGAGTGGTTTGGGCATGGGTTAAGACT TTGGGCCAGTTGGGATGGGTAAGTGGCTTTAGCA TGTGAGGATGCTAAATATGAACCTGGGGACATAG AGAATATGGAGTTATAGACCCAGTGGTATCCTTCC AGATTTGTAATTAATCTGTACAGTTCAATACCTC AAAAATGTGACTATATTTGGAGACAGGGCTTCCATG GGGAGATGACATTGAAATGGGGCCGTCAGGATGGA CTCTAACCTGAATGATGTCTTTGTAAGAGAATCAT TAGCTACAAAGAGAGCCCCAGGGGCACACACTAGA AAGGATCCACAAAGGACACAGGAAGGGAGTGGACA TGTGCAAGGCAGGCAGAGGCTCCTGAGAAATCGG TTCTGTCTGCACCTTGATCTTGGATATCCAGCCTC TAGAATTATGAATGCATTGCCTTCTTTGACAAATC TGTATCTAAAAGAAAGGAGGGTGTATTTGTTTAA GCTCAAGTTCTAGTACAAGGTCACCTGGCCCCCTTG TGCTTGGGTGGAGCATCATAACATTTGGCAGAAGA CAGCCATTCTGTCTATAGGAGATAGGATGCAGAGG ACAAGTGAAGGGGAGGGGACTGGACACATAGGCA CAACACCCGTGGTGACCTGCTTACCCAGCTGGGC CGATACCTCCTGAGATTCCAGCACCATCCAAAACA GCACCATGAGCAGGAGAACAGATTGAGAGCCATT ATGCATGCAAGCCATAACAGTGAGGGAATACATTT CTGCTAAGTCATAAGTAATACTGACTTCAATCTTA AAATCCCAGGGAAGCTGATGAAGCTCAGCGGTAAG GCACTTGCTGGCGTGCTAGAGGCTCTGGGTTCCCA TCCCTCCCAGACAATTTACCAGAGTCTTCCCTTGG TGTTAGCAGTTTGGGTCTCTTGTCTTCACATTA AAACTGACATTACATGGAATGATTTTGTCTAATG GTGAGAAAGGGTTCATTTTATTCTCATTAAAGAGGG TCAACTAAGTACCACACACACACACACACACAC ACACACACACACCCACAGATTATTTGCAAGCCCT

10

20

30

40

50

【表 1 - 1 4】

		CGGTCTTAAAGTGATGCAATTGCTGTGCACTCCTGT CTTGCAGGCTGTGCTCTGTTCTATTGGTGGTTAC CAGCCTGTGCCAACACTGACTGGAAGAACAAAGCTC TCTCTGGTTCATCTTCACAGTCTTGGTTATT (SEQ ID NO:18)
H	GAATGTTTACATGTACATTTCAAACCCAGTTTTCT AATTGTGCAGTCTTAATTTCTAGTTAATTTCACT TTACAGATAAGAAGCTCTGGAGACATGGCCTTTCC GGTTAAAGACACAGAGCCAGGCACTGCCACGGC TTCTCCACACTCATGCTGCTTTCCCTTAGGTAAG ACAAACCTCACCAAAGCTGAGACTGGCTCAAGAAA CGGGGAAGCCTAATGCTTGTAAACATTCCCTTAAT TGAAGCATTAGGCACCAAAATTTCTCTAAAAAA TATGTAAGCCCCAAGAATGAAAGGGCCATGGTTAG CACAAACCGCACCTCCTGAGCCAGCAAAACCCAA CAGGCACAGTGCAGCACAGCTGGGCGGTCTCTCA GGTGAGTCTCTGCCCTCGCTCTTGCCCTGTCTGTCA CCTCATCTCTGCCAAGTCTGAAAATCCTGAGCTCC AGGGACTGTGGGAACCTTCACTAGACATGTGTGAAC AAGCTACATTTCTGATCCGTAGCGTCTCCCTAATG ATGCACATCTAGGAAGGAGAGGGAGGGAGAGGGAG CGTGTGCATTCTTGGAGCAACGAGGACAGCCTAG TGATTTGCAAAACCTTTGGCGCCCTCCTGGTGGGCT TCAGAATCAATTTGTGAGTCCCAACAGAATTTTC TACATAATTAGAATAAAACAGAGTTAAGATATGAG TGCATCGTATGTTGCAAGATACTGTTTTGTAACG TTGTTTTAGATATTGTTGAGTGCACATGTGTGT GCAGTAATGGGTACAAAAATATATTTACTCTGGGT CATGTTTTAAGAGGGCTAGAAGGCAACACTAACAT AGGATGGTTGGAAGATGCTCAGGCTCAGAACATCA AAGTTTTGCCTCCTTCCAGGGTACCACCTTTTATCAA GTCACACATTTCTTCCCGCTCTGCTTTTGTGTTTC TCAATCGCTATCCAAATTTGCGCAGAAGTCAGGAA TCACGTGGGTAAAGATTTAAGCTGTACTTCTGTGT TAATTAAGCACGTTGAAGAAGAGGTGCTCTGGGG AAGCTGGAGAAGGTGGGTAGCGAGGGCTCCAGGG CTCAGAAGGTGGCCTCGAGGGGCTCTCATCTGCCA TCCTTGTGAGGGAGAAAGTCTAAACCAAGTCGTAA CATTGCCAGAACAAAGGGTCCCAATCCAGACCTCC AAAGAGGGTGCTTGGATCTCTCATGGGAAGGAATT CAAGGTGAGTCACAAAGTGCTGTGAGAAGAGAGAG TTTTTTGGAAGTTACGCAGATACAGAGTAGGGTGT CCTCAGAAAGCAAGAGGAGGAACGCTCGTCTTT AAGTTTTTCTTACATAGGAGTCTCTCTATGTAAA GACAGAGCTAAGCTGTGTCTCTATGTGGGTGGGCT GACAGCGTGACAAAAATTTATTATTCTGTTGATTTA AAGAAAATATACTCAATATTTAATGTGTAAGTA CATCAAGTCATAATTATAATTATCTTGAAAGCATA TATTGTTATGGGTATTGGGACCTCTGGACTTTTCG TTGTCATATGATTGTATCCTTGCAAGGTATCTTTAG GCTGTTTCTTCAACTGTAAATATCTTATGACTGTG GGTCGTGACCGGCAAGGAATGGAGTTGGTTTTTAA AATGGTGTACCCCTGGCTCTTCTATGCTCCTGTTT CCCTAACAGTAATAGCCAGCCATTCTCTCCCATG TTCTCTCTGCCCTCAACTTCAGAAATGAAGTCAAT TTTTATTTTACGCCAAAATAGGAGGATTCTATTCTG TCTGTTGAGGTCTGCTGTGGTCTAATGATGTTAAT AACCAGTGGCTGGGCATGATTACACGACGAGGATT CTAAATCCTGTTTCATGTTTCCCTCTGGGCCACT GGCTATATGACCCCTTAA (SEQ ID NO:19)	GAGTATATATGTTTCTAAGCCAGGTTCCCTAACTAT GTAGTATTAATTTCCCTAATGAAACACCCTTTACAG GTAGTGAGGCCCTTTGGAGACCAGGGCTTTAAAGGC CAAGTAGCTGAAGCCAGGGTCTTTCCATGGCTTC TTCTATGACTGTTTATCTAATAGATGAGACAAAC CTTTTCAAACTGATTATCAGTTAAGTTCCAAGAA AGCACCCTGTAAATGTTAATGTTCCCTTGAAATG GAAGTATTTAGCGCTCTGTGTGTGTGTGTGAGTGT GTGTGTGTTGTGCAGTTGGGTACATATATGCAGAT ATGCACAATTTGTTGTGTTGTGGGTCTTTGTGTG TGTGTGCAGGTCTAAAGTTTTCCTTTTCATTAGTT ATGGTCTAAAGTGGTTTTAAAAAAGAAAAAGAAG AGCAGAGAAGGCTATGATAGCATGAGGTTCCCTTG GGATTGTCTGGCTTAGAACGCTAGGTTTTCCCATG TTTTAACAGCTTCCCATGTCTTCCCACTCTGCTT TTGTCTTCTCATTGTGATCCAGATTTGCCCCAGA GGGGGAGAAGCCAGTAGGTAAGAGTTCCAGCTGTA CTCCATGTTAATTAAGTGATGTGGAAGTCTTGGA AAGGCTGGGCAGTTTTTCTGTCTTCCAGGAGCT GGGGGAGGTTCTATCCTTAATGGAACCAAGTTCCATG CCATCCCCAGGAGGCAAGAAGTCTGGAACATCAA TAATTATTAGTCAACAACAACCCACTTTCCTCTCT CCCCCTAATCCTCAACTGCTGACTTCAGGACAAAG TCCATCTGATTCAATCAGATAGGAAGACTAGTTA GAGGCCTGCCCCAGTTTACTGGCTGCAGCAACAGG AAGCACAGGTTACAATACCAAGTATTCCACGCTG AAAGCTTCACTCTGATCATCTACCAGGCTGCTAC ATGAGCCCTTGAAAGCGAATTATCCCCGGAGACTT ACTTTCTATATAACACATATATACTTACATATACA TGTCGACTTTGTTTTTCTTGTATGCTGTAAAGAT GCCTAGGATACATTTAAGGATGCAACATAAAAGTC ACTTTCTTATGAGGTAATTATTATAATAGTACTT GTTTCTGGGGGAGCAAATTGAAATGTTTCCCATG TGAAGTCCCAAGTTAAACAACAAAAAGCTAGTTG GAGCTCCCCCT (SEQ ID NO:20)
I	CTAACATAGGGTCGTTAGTGTGCAAGTGAATTA	TCCTTGGCTACTTTCTCTAGCTCCTCCATTGGGAG

10

20

30

40

50

【表 1 - 15】

ATTTAGGACATGCAGGTGGTGACTGCAGAGAATT GGAGCATTGCTTGGAGTGAAAACCAAGCCACATA TTTGGTGTCAAAAGTGTATACAAAGTAGAAAAACA GGTTCCTCTTAAATGGAATATTATTCAGCCGTATTA AGGAATGAGGTTACAGCCCATACTACAGCACATAT GAATCTCCAAAATATTGTGTTTAGTGAAATAATAT AGACACAAAGGACAAATACTGTATAATTGCACCTTA CATGAGGTGCCTGGAATAGGCAATCCATAGAGAC AGGCAGTAGAATCATGGTTGCCAGGGGCTGGGCGG GAGGGAGAATGGAGAGTTAGTGCTTAATGGGTACA GAGTTTCTGTTTAGAGGTGATGAAAACAGTTTGGA AATAGTGGTGATGATTGTACTATATTGTGAATGTA TGAATGCCACTCACCGAACACTCTAAAGTGTGTTG AAATAGCAAAATTTCTATTATACGTATTTTACCATA GTTTTAAAGTTAATTACCATAGTTTTTAAAAAGTTA ATAGGATAAATTTCCCTGAACCACTATACACTTTA GATTGGTACACTGTGTGGCATGTGCATTATATCTC AATGAAGTTGTTAAAAACAAGATTAAAGCAGAG ATTGGGTAAAGTAAAGTTTGCTCTGTGCTGAGCT GTGTGGCATGTGGACCTGTTTTCCAGGAGGGAGC ACTCCTGGGGTTTTGGCCGAGCTGCACATCAGCC CCTGTGCAGAGGAGGTATGGTGTGTGATCTGGAG ATTAGCTGTTTTCTAGTGACGATTTTACATTTAAAG ACATTGCTGAGTTAGGCAGAAATTTCTATATCCAT TTGTATTTTGCTTGGCATTCACITTTCTTACAAAAA TGGCAATCAAGACAAAGAAAAACAAAGGTCCAAT TACTACTCTTCAATTTTCCATGAAAAGCAATA TTAGTTTTCAATTTTTTTTCCATAGAAAAGCAAT AACAGTCCCATACTACCTCCTCTCCATGAAAAGTA GTGCTTGAGATGCCCAAGGAAAAACCATTTCTTTC CAAAGATGAAAAGACTTTGACCTGTACAGGTGAAGA GATGGAATAAATGCCACTCCTAGTGGGTGTGGGAC TTGTGCAAGCCCTGTGCTCCAGTTATCTGCTTATC AGAATGTGGTTTGATATACCTTTAGCGGAATTC CTGGGATGCTTGTAAATTTCTGGGGAGATGTCTGG AGTCTGCATTTTATGCCAGTACTCCTATGACTTAG GCACAGTAGGGAACCACTGGTGCCATTCCTTCCTT CCTTTCTCCTTCCTTCCTTCCTTCCTTCCTTCCT TCCTTCCTTCCTTCCTTCCTTCCTTCCTTCCTTCCT TCCTTCCTTCCTTCCTTCCTTCCTTCCTTCCTTCCT AGTCTCACTCTGTACCCCAAGCTGGATTGCAATGG TGTGATCTTGGCTCACTGCAACCTCTGTCTTCTGG GTTCAAGTGATTCTCCTGCCTCAGCCTGCTCAGTA GCTGGTATTATAGGTGTGCACCACACACCCAGCT AATTTTTTTGGATTTTATGAGGGGGTTTACCAC GTTGAGCAGGCTGATCTTGAACCTCTGCTTCAAA TGATCCACCCGCTCAGCCTCCCAAAGTACTTGG TTACAGGCGTGAACCACTGCGCCCTGCTGCAATGC TTTTGTCTTCCGTATACAAGGAGGGGTTGCAGGCT TGACTCTAAAAATGATTGACTTTATGGAGGACCGTC TCATGTCTGGATGGTAAGTGATAGGGGAGGGGCA ACCCTAAATGGGATCCCAATGACTTGATGAAAGAC TGGAAAGATGAGACACTTTTCAAGGTGTGCATAATGGA AGACTTACGTAGGACTAGGACCAAGCCTCTCAATT ATACTAAGTTGTCCATGATTGACCAGGGATTGAT GAAAAATCCCACTGCCTTCTAGAAAGGTTAAGAGA GGCCTTGGTAAAGCACACCTCTCTATCTCCTGATT CAGTCAAGGGACAGCTAATCCTAAAGGATGAATTT GGCTGGGATGGTGGCTCATGGGTGTAATCCAGC ACTTTGGGAGGCTGAGGTGGGAGGATCACTGAGG TCAAGAGTTTGAGACCAAGCCTTGTCACAGTGGTGA	CCCTATGATCCATCCATTAGCTGACTGATGACACT GCATTCTTTAATATATGGGGTTTGCACTAACTTGG GGTAGTTATTGTGCATGTTTGAACATAAATTATAGGA CCTCCAGTTGCTGGAGAATTGCTCTGTGTGGACTG TCCACACATATTGGGTTTCTAAAAATGTATATAAG CAGACACTGCAGTTTCTCCACAGTGAATCTTACC CGGGCATAATAAGGGAAGACATTCCGGCACAAGCTT CAACACAGGTGAACCTTAGAAAAACATGCTAGTGAA ATAATCCACACCCCAAAGGACAAACAGGAAATGAT TCTTATACAAGACACCTGGCAGAGGCCAGCTTAAA GAGACAGGCAGAAAGATGTGAGTCCCAAGGACTGCG GAGGGGAAATGACAGCCAGTGTTTTGTGGGTGCTG AGGGCAACAGTTTGGAGTAGACAAATGGTGATGCAG GGCTGTGAACGGGCTCAGTGCCGCTCACTGAACCA AACAGCCTAAGTGTTTATAATAACAAAAGTAATAC TGACATACACCTTCCGTTGTTTGAAGAGTTAATA AGGTAACATTCCCCAAATCACTTTAAACAGGCAAAA CTATGTGAAATATAAATCTGTTTCTGTGAAGCTGC TTTTTTAAATGCTTCTCCTATCAGAGGTCAGAAGA AAGAAGGCTTGCTGGGAGTGGAGTTGGCTGTGTAT CTCAGACCTGTTTTTGCAGGAGGAGTGTCGCTCC GGGATTTGGCAGCGGCTCAGTGCATCCCTGTGAGA GGCAGGCATGGTGCGTGATCCTGGGGCTTTTCTGT TTCTAGTGTTCTATTATTATTTAAAGACATTGCTGA GTTCAGCAGAAATGTTTCACATCCATTTGTATTTT CCTTGGTACTCATTTCTTACAAAAATGACGATCA AAGCAAAGAAAAACAGAGAATCTTCAATTTTACCCCA AAGCAAAGTGAGTGCACTTCTAATACCATAACAGA AAAAAACGCTTCCGGGCCCTTAGGAAGTGCTGAAGAA GCTGGGCAAGGTGGTGGGTGCCTTTAGACCCAAAG GAAAGTGATTTTCTCCTCAAAATGTGAGAGGCTGCGA TGATGGGGTGAGTGCCCCCAGAGGATGTGGGGAC TGAATAGCGCTGTCTCCGTCTGTATGCCCAAGTGAA GCTGTGGGTGGGACACAATTAACAGCACAAGTCTG AGTGGTGAGACCCCTCTGCTGTGACGAAACCCCTGCAC TGATGTTACTGTTGAAGGTATCTCTCAAGTGCTCA TGCTGGAACCTAAGCCCCAGTTTCTAGTTGATGT TGTTTGGAGGTGGGATCTTATGGGAGGGGATTAGG ATTAGATGATGTCATAGGGGTGGGGCCTCCACAAT GGCATTAATTGCTTTAGAGGAAGCAGACAAGACCA AACTAGCACATTTACGCTGTCTTACCCTGAGAGTA ATCTGCCATCTTCTGAGGCAGGTGAGTTGATATCA CCAGATGCCCCACCATGCATTTGGGCTCCACAGT CTCCAGAATCATAGGTTTTTGAACCTTTATTTCTTA TAAGTTTTCTAGACTGGGGCATTCTGTTACAGCAG CAAGAAGTAGACTAATATACATCCCTCCTTCCATC TGCCCA (SEQ ID NO:22)
--	--

10

20

30

40

50

10

20

30

40

【表 1 - 17】

		TCACTCTGAAAACAGCATCTTCATCTCCTTAGGCT CAGCTTCTCAAAGTCACACAGGCTACATTGGCTGCC TCAGGGTGAGCCTCCCTTCATTTCATCTCGGTGATA ATTCTAAACAATGGCCTGTGTGTTATAGAAAGGCC CTGCAAGCATACATGTTATCAACTTACTAGCTGTG CCCAAGGTTGCATAGCTAGTAAGTGGTAAGACTGA AATTGAGCCTAGGGGACCATAACTCTAAACAATG TTCTATCCACTAGGCGGTACTGTGTAGACCATGGG CTCACACACACACACACACACACACACAAAAATG TATTGAATAAAATAATTGTGGGTTTTGCATATTTT CCTGTTTTATGTAGCTTGACACAAGCTAGAATCA TTTGTGAAGAGGGAATCTCAATTGAGAAAAATGCTT CCACTTTTTGTGTTTTGTGTTGTTTTGCTG TCGGAAAGCTGCACT (SEQ ID NO:23)
K	CTGTGGAGTGCCTATAGCACTGTGTGTAGGCAGAA TGCAAAGGGGACAGTGTGGGTGGGGACAGTGTGG TGTAAGAAATGGCGGGGAGGTTAGATTGCAGGCACA GAGGGCCTCAGCCATCTCGAGAGCCAGACTTCCT CCCTGAGGTGATGGCACTTGGGGAAGTCAGTCATG GAAGGATTTTAAGAAAGATGTGAAAGGGGCAGGTT TCTATTTTCAGAAAACCATTCTGGGCCAGTGGAAG ATGGAGTACACAGGACCACACCTTGGTGAAGGGAG ATTGTAGGAGCCTGGGCTTGGTGGCGGGGACAGT GGAGAGAACAGCCTGGGATGTATGAACATGGCAAG TCTCCCTTCTGGCAGTGGGTTTTGCCTATGGTG GACAGAAGGTGAGATCATCCTTTGAAAAATGCCAC TTCATAGTGTTCCTCAGCTGTGGGCTTCACTCA TTGGAGGGTCAAATAATCAATGTATTAGGTTGCAA (SEQ ID NO:24)	TCCAGAGAACCTAAGCCTGATTCACGACCCCAA AGGACTGCTTACAACCAACTGAAACTCCAGTTTCA GGATCCAACACCCTCTTCTGGCCTCTGTAGGCACC AGGCTTGATGTGTACCCAGACATTCGTGCAAGC AAAACACTCATACATATAAAAAATAGATAAAATAAT GCCTATTTAAACCCTTGCCCTCATCTGAAATTAATC TGAATGTTGATTTCTTTGGATTCCCTTTCTTTTG CCCTTGGGAAAAATAGGTACACCCCTGTGTGAGTTA CTGTATGTTTTGGTCACTGTTTATAGTTTATAGAGA GGATGCTTAGGAGGGCAGGGTCACCTGTGGTGTGG CAATTGGGAGCTCCATGTGCAGAAGGAATGCAGAC ACAGCAGCAGAGAGTGAGGAGGCCCGGAAGGTTT CACCATCCCCACAGCCCCACTTCTCCCTCTGCCG AAGGGGTTGGGGGTGAGGCAGAGGCTTTAAGAGGG GCGTGGACAGGGTAGATTTCTGTTTTGGGAAAAACC ATCTATCAGAGGGCAGAGGACAGGGTGAACCCAA CACAGCTGAGAGCTTGCAAGGGGCTGGGCTGGGCA GCAGTGAAGAGGAACCTCACAGGGAGGAGCCCTG GGGTGCAGGGGCTCTGAAACTGCCCTGTGAAAAAC ACTGCCCTCATTGTCTTTGGCAGTTTGGGCCCTGACC CAGTAGCAGCAGGTGAGACAAATTGTTATATAAAGT TCCGAAAATTCAAACCTCCCCCTTCTCCTTCATC CTTCTTAGCTACAGTGTGTCCATGAGTGGCAGAG CAGGCACTCACATAGAGGTGTGCCCACTGCAGCGG CTACAGCACTAAAGAAAATCCCTCTCTCCCTTCC TCTCCCCCTTTCTTTTACTTCAAAGCAGAGTCTTA CTATAGGGCCCCGCCCTGTGGGCTGTCACTTTT AATCCTCTGCCTTGGCCTATCTAGCACTGAGATCA CACACCTGCCTGTGTCACTATGCCTGGCTTCCAGC ACTTCTTTGAGTGTGACAGACACCTCAAGTGGAA AATTCTTGTCTTGTCTTCAATTTGACAGATCACAGT GAAAAATGGGAGCCCACTAAAAATACTTTATAGGAT TACCCTCGGGCTGTGTCTGAGGCGGGTAGGTAACA TAAGGAATTTAGGGGTTAGACTTTAGTCTGTGAC CAAGACATCTATCTCTTTATACATATAAAGTATT CCACAGTCTGAAAAAGCTCTGAAATAGAGAATGC TTCTTGTCATAGCATCATAGATAGAGACCCTTCA GACTTGTATATAAACAGAATTGAAAAAGTCAATTC AGGTGTGCACACACACATGCATGCACGCACACGCA CGCCTGACATCTCTCAGGGCTGCCGGGCATCACTC AGGTGACTGCTTGACGTGTTGATGTTTGTGTTT GGCTTCTTCTTTGAGTCTTTTGTGTTTTCTTTT ATTTTATTTATGAGACAGGGTTGAGTTTATTGCAT (SEQ ID NO:25)
L	CACACCATTGCATGCTTCAGCCGTTGCCGCTGCTA TTTCTCCCTTGGAAGCCCTCTACTGTGAGGCCC TCACCTCTCAACCTCTCCCTGGCCCCCATGTTGT	TAAGCCATCACATGCTTCAACCATGGGCTACTTCC ACCTGCTCCCCCCCCCCCCACACACACACTGCT ACCCTCACCCCCAGCTTGGTGCCTCACTTCTCAG

10

20

30

40

50

【表 1 - 18】

	CTATGTGATTTCTTGCCATTTAAAAATCTACCCAG GTGTCAAGCGCTTGGGCAAGTTTCTCACACCTCTCA CCCAGTTTCATCCTCCCTTGCTTGGTGCTATTTCTG CCCTTGTCCATATCCCCACCACAGCATGCACTTTG GATTCCAGGCACGCTCCTTGAGTGTGACCCGAGG CCCTCTGTGGGCTCTTGGAGCAGGGCAAAGCTGGG TGTGCTGGGGCGCAGCACGGGCTGATGCCCTGAG GTTGTTTGTGTGCTGGGCTGGAGGCGTTTGAAGA AACGTCCAAGGAGGCTGCTAGACTCAGTTCTTTCT TTCTGTTTTCCCTCCACCTCCTCTGCTAGTGGAAG CTCCATGTCTCCAGGCTCGTGAGCTGGCAAACAC CCCGCTTGCATGGTTTCACTGTTGTGCTTGGCGGCA GGCGTACGTGGAAAGGCCAGTTACAGAGGCTCTCTA GGGCTAATGCATTTACAACACACCGCCCTCTGAC ACTCCACGCTCTGCTTTTCTCCAGAACCCTCCCT TTTGCAAACTCTGTTTCAAAACAAAAGAGCACAA AGAGGCTGACCGTGCTTCTCCAAACCAAGCTCCCT CTCTCCACAGGTGCACAGCAAGAGCCCTTTGTCTG TGATGGGACAGGCTGGGCTCCAGTGAGCAAGACA GGCAGTGTGGGCCCATCCAAATATTAAGTGGAC ACTTTCCTACTTTGAAAACATGAGACTTTGTACTC AGAGCCCTGCCCTCCAGAGAACACAATTACTTCTG TTTTTCTTTTCTAGTGAAGGAGGCTTGACACTG GTGATGGCTTGGCTTTCAATGCTCAGGCTTTGG GAAAGTCAGGGCTAGGGCTGCTGATCTCCAGGCA CTGTCTGCTTTCCATCTATCCTCTCTGCTTGGTCC CTGAAAAGCAGGAGGGAGACAGGAGGAATGGGAGC ATGAATGCCCTCAGGGTCCACGGGGATCCCGGAA GGCCTAGAACACCAGGGGTCTGGGCTCCACCCATG ATGGATCATGCCCTTTGGGGGAAGATTGGCCTACAC TGTGTCAGTAAGTAAGTTTACTTCTTGACCTG GTGTTAGGTTGGTTCTAAGATGCAGCTGTAACCTG TGACTAAGATCAATATTTTCTATGTCACTATCTGA TCATACAATGGTCAATTTATCGATTTAGAAAATTG TTGCAACACGAGGCAACACCGAGTCATGACTTAAA AAAAAAGAGTGGATCTAACCGAAGCTAGATTGT GGCTTATACCTTTGATTGTGAGTTTCTTGGGTC AATCTTAATGGCCATTTGACCACTGTGTCAAGAGA GGCCAGGTTCCAACTCAGCTCCGTGTATAGTGTTC ATGGAATCTCAATGCTCATCAGGCGCTGCTGGGGC TGGGCTCGGGGAGGGGAGGCTCCTGTGAGCACA AGTCACCAGCACAGGTTTAAACAGCCAGTCTGGG CTACTTTTACCCTGAAGCAGTGGGGCGAGAACT CTATTTTACAGTGTCTTCTAAAACCTCTGTGAGCTA AAAGTAGAAGCAACTCAATGCCCTCACCTGATG AATAAACAAACACAGTGTGGCATCCTCGTACAATG GAGTATTATTACGCCATAGAAAGGGAGGAAATAGT TGTGCTCGATACAGTATGGATGAGGCTTGGAGACA TGATGATAAGTGAAGAAGCCAATCAGAAAGGA CAAATAATGTATGATTCCAT (SEQ ID NO:26)	GCTATAATGCTGCTTTTCATGGACATTCTTGTCT TTGGAAACAAGGGCCCTTCCCTCTGCAGAGTTCTC CTGCCCTGAGGCTGTGTGTTCTTGGTTTGTGGGCT TTGCCAGCTGGTGCCAGTGCAAGGTGCCCTGCT AACTGAACAAAATGACCTTGCTCATCGTCTCTCT TGGTCTCCATCTTTTGGTGGAGCCTTCTGGACCA CCGGCAGGTACCCTTTGCAGGACAGCCTATCCTGC CCTGTCTCCCTACAGAGCCACTCCCTGAAGCTGCA GAAAACAAGAGAGCATAGAGGTGACCCTCTCCACA GGTGTGTGGCCAGAGCCACTCATCCACAGTGGCCA GGCCCATCCAAATATTAATGATGGGTGTTTTCTGC TTTGAAGTTGAGAATGTGGTCTCTCAAGAGTCCAC CCTGAAGAGAACAACCAACATCTGTTTCTCTTCCA GGGAACAGGGGCTGCAGTGGCTTCTTCTCTGTCC GTGCCCAGAGCATGTATCTGAGCATGCCAGAGCC AAACACAGCATCTATTTCTACTGATCTTTCACAGC TGGACAGGCTCCACACAGCCAGATGCTCCCTGGG GAGCCTCAAAAGCAAGGTTACCCAGGTGGAGCTCT GGGGAATTTGCTTTCAACTCTGTCTTGGCAGGGCT TGCTTCTGCACCTGGCTTTAGGAGGGCTCCAAGA TGCAGCATAACATGGGACGGATATCAACGCTTCTG TCTGATCTTATAACAAAGGTCAATTTGTAAAGTTG ATACCACCAAGTCTTTCTTCTTCTTCTTCTTCCA CACCCCGTCTCTCTGAGAAAATGGATCCAAATGA AGCTAGAGTGTGACTTGTAGGTTCTGACTGTCACT TCTTTGGGGTGAATTTTAAATGCCAAATCAGCCAGG GGCGAAGCTGAGGAGAGCCAAAGTTACACACAGTT CAGCACGAAGTTTTAATTCAGTCCCATCCGTCCGA ATCTGCACTGCTGTGGGTGGGTAAAGGGAGAGCA GGCTCCTGACAGCATGTGCTCCAGCACAGGTGAGT CTGTACACTTTTTCTACAGCTGCCAGGCAAGAC GTCAAGTCTACTTAAGGTTTCTTATGCTTGAATC GCCTAAAACGTAAGCAATCAAAATGTCTATCACC CAAAGAGTAGCCAGACAAAACACAGCAGGTCTTT TATGAAGAGTCCGTGTGTCACAGACACAGGAAT CAATCTCAGCCATTAAAGGACGCTGTAATGAC ACTGGCCAGCATATGCCACATCTTAGAAATATTAC AATAAGTCAAGAAGCCAGCAGCAAAAGGCTAACT AATGTATTATTTCCAT (SEQ ID NO:27)
M	CTCTAGGTGGTGAAGATGACCAGATTTGGTTGTGG GGTCATAGTGGACATAAAGATCAGCAAGGGAAAA AAGATGTGACTATAAATTTCCATTCTCACAGTTG TTTTGAGACCCGAGTGACGTTTAAATGTTTTCAAC AGAAGAGGCTGCATGAAGAAGAGTAAGTTAAACGC GGGAGGCTGTGAGAATTTTTCTGCGCGGACAATG GAGCTCAGTGTCTTTTCACTGTTTGTGCTCTCTA TAGATACCTGGATGATTCTTGGGCTCAGTGTGTT CTCGCTCCCTCCCTGCCGAGACTCAAAGGGATGAT GCACGCTGCCAGCCAAACAGGACAGACGCTCT	CCTCAGCTGGAATTAACCTACACAGTTCCCTCAGA GCCTAGGGCTTAGTAAAAAGGCCAAGCCTGACCTA TGACCTCTCTGACATCTGTCTTAGCACGTGTTCT TTTCTTTCCAAGTACATTGTACCACCATGATGGCC TGTGCCCTCCTCCCATCACCTCCATACAACGAAT GAGCTCTCATGAGAGCAGAGTGAGGCTGGTGCTG TGGCTCCACTCAGGAATTGTGAACCACTCCAACC TTCTTTTGTAAACATTACCTAGCCTCAAAATATCT TGTGATAGCAACAGAAGAGACTAAGATACTTAAAA ATATCTATGGATGAAGAAAATGACCAATGTGAGGA

10

20

30

40

50

【表 1 - 19】

TTTTCCCGTGGAATGCGCTCCCGGCCAATTC CAAGGCCTGCCTGGGTCCTATTCAGGCAGTGCTGG GGTGAGCAGCAGGCTCGGGCCAGCTGACACGGCC AGAGATCCCCAGTGA CTACTTCTGACATGGCAG AGATGGCAGATGGAGAATCCATAAGCCCCAGTTAC ACCCGGGAGCTCACACTGTGGCTTCAGTCTCCAAG GAGAGTGGGGAGAGCCCTGGCCCTCCGTGAAGGAT TGCTTCCGCCCAAGGGGGCCAGTGAACCCGAATC ACTCTGCTGGATGGTGCTGGGGGGCTGATGCAATC TGCACTTCTTCCCTCGCACCCCTTACCCCTCGCT ACCTCCCTCTCTCATCTCTCCCACTCGCACCTCT CCTTCTCCCACTGGCTGACACCCACTCTTGAG TCACTGTGACGTCCAAGACAGAACC GGCACTCTGG GTGCTTGGCAGGAGCCAAAGGAGCATGTTACAGGA TCTCTGGCTTACAGATGGGGAGAGCAGTTACAG AGAATTGGGGTTCCACATTTGCTTGAAGTCACTC ATCAGCCTTTATGTTACATTACAACAAAGCAGCCC AGGGGACATGGACTCATAGGGTACCTGGTGTTTCC CCAACGTAGGGGGGATTCGGGGACAAATAAAGTT TGCCACTGGGACCCTCCCGGCACTGTGCCCTGTC CCACTCTGTGACACACTCTCTGCCACAAGAGAG TGCCCAACAGTGGAGGCTGAGAGTGACCACCTGCC TGCCCTCAGTTATTAAGGGTACTGGGAACAAGC CTTGAGTGCCTGCTGAGAACACATGCCCTAGCTG CCATCAAAGAGAATCACTTCATATGATTTTGACCA TAAGCAAACCTTCCACCTTCATTTTTTAAATAA CGGCTTTATTGAGATATGCATCACTTACCATGAAA CTCACTCTTTTAAAGTGTAACCCAGGGTTTTCA GTGTAATTCACGGAATTTGTGCAACCATCACCCATCA CCCCTAATTTTCAAGACATTTTATCACTCCAAAAA GAAACTTTGCACACATCACTTCTTCTCTCCCAAG CCTCTGACAACCTGCTGATCTATTTTGTCTCTATGG ATTTAGCAGTATGGACATTTTATATACATGGAAT CATACACTATATGCTCTTTTATGACTGACATCTGT CACTTAGCATGATTTTATGAGATTATCATGTTGG AGCATGCACCCATGCTTCCATCCTTTCTTTTTTT TTTTACAGTCTTGCTCTGTCGTGCAGGCTGAAGT GCAATGGCAGCATTTTGGCTCACTGCAACCTCTGC CTCCAGGTTCAAGCCATTTCTCCTGCCTCAGCCTC CCAGGTAGCTGGGACTACAGGTATGTGCCACTATG CCTGGCTAATTTTTTTGTATTTTATGATAGAGATGG AGTTTCCCATGCTGGCCAGGCTGGTCTCAAACCTC CTGACCTCAAGTGATCTGCCCGCTTCGGCCTCCCA AAGTGCTGGGATTACAGACGTGAGCCACACATCC TTTCTAAGGCTGAATAGTATTGCACTGTATGGATA GACCACATTTAGTTTATCTGCCCTGCTGGCTTATGG ACAATGAGTCACTCCACTTTTGGCTACTATGAAT CATGCTGTTGTGAGCACTTGTGTACATGCTTTTAT ATGGATGCTGTTTTCCCTTCCATTGGGTTTTGCTT GGGGGTGGAATTTGCTGGGCCACCTTCTTTCTCCAT GAGTGGAGCATGCCATATGCGCCCATCCCGCATCT CCCATGTGTGGAGGCACTGCCAAGCTCGTCTGTA CTCTGAGTCACAGGGCTGTGCAACATTACCGATCA CCATCTATGGGTGAGGACTTATCAATGAGCAAGA CATAGCCCTGCCATCACTAACTCACATTCTGCAT CGTCCTGTGCCATCCCAACCCACCCACCTTGGTCA GGCCCACTGTCCAGGTGCTTCAACTGCTCACCTT CCCCCTATTTTGTGGCTGAAGTTATCCAGACA TCAGGGTGCCCTATTGAAATGCTAGTTAATATGA CCTCTCTGCTATTAACCCCAATGTTGGAGTCTTGTC ATCAGTGGGATAGAGCTGGTGTGACTGCACCAAGC	CGTCGTGGATATTGGCCATCAGCAAAGAAGAGAGC ATAAAGTTCCCATTTCTCACAGATATTCTGAAACCT GTGTATTTTCATTTTTGATGGAAAAGAGCTGCACAC AGAATAGTAAGTTAGCTGGAGGGAACCTATGAGCC TTTTTTTTTCCCTCACAATAAACAAACAAATGGAGC TTAGTGTCCATTTCATTTCTTTTGTGCTTGACTGG GACCCAGATGGCTCACTGTCCCTCAGTATGTCCTT GCTCCCTCCCTGCTGAGATCTCATTGGCTGTGACG CACTGCCCTGCTCCAGCCAGGACACTACTGTCTTT CTTCCCGTGGAATGTGTTCTCAAAGCCAACCTCC AACAACGCTGACCTGGGCATCACTTGGGTGGTGCT GGAGTGAGCTGTAGGCTCTGCTCCTGCTGTTGTAG CCTGGGGTCTAGTTGTCAATTCCTGACACAGCA GAGAGAGCAAACAACAGAACCAATGGCTGTAGCCA CATGGTGAACAGCTAGACCTCCAGAACAATAGGAG TAAATGCTTCTGCCACGAAGTGATGGAGAACCTA AACCAATCTTCAGGCAGAACTGGGGCCAGGTACCA CACACAGCCCTGCCCTTTCTCAGCTGGCTGTTGC CCATGCCAGAGTCATGATCACCATAAGGATTCTCA GACCCAGGGCATTGTGTAGCTGGAGCTCAATGAGT CTTACGGGCCGGAAGCAGCCAATTCAGGGAACCTCT GGGTTCTGCGTTTGTCTTTGATCTATTTGGTGAGA GACAGTGTGAGTTCTTCCATTACAAAATTCGAATG TTTAAAGAGCAAACAGTCAAGAAAACAGAAAAA AACCCAAGGGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGC ATGTGTTTATGTATGTGCGAGGTACATGTTGGGGAC ATGTGCTGTGCTGCTTTACATGTGCTATAGAGAG TCAGAAGACAACACCAGCTGTTGTTCCCAAGTAC AATCCATAGTTCAACCCCTGTGTGTGTGTGTGTG TGTGTTTATGTGTGCTATGCTATGGAAGTCAAAG ATTGAGTCTGGTGTCTTCACTGCCCTCTACCTA TTTTCTGAAACAGAGTCTCTCACTAAATCTAGACC TCACTGGTTGGGCATCCTTGTAGCCAAATGAGCTC AACTATCTGCCCGTTTGTCTCTCTCTCTCTCTCT CTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCT TCTCTCTCTCCATAAATGAATGAATGTGTGTTTT AAAAAGAGAGTTTTAAAAAACTAAGGTGGCATGT ATCCAGCTTCTCTCCACAATCCAACCTGGAACGGC TCAGGCCAGCCTCATTTACGCGAGCTCACTCTATC AACACATCTGCTGCACAGAGCATGCTTTGTGAGTG ACTCAAAGATCAGAACCCTGACTTCCAATGGCTTA TAGCCTAAGGGTAGAGAAAGTTACCTGTATTCTGGC AAGATACCAGGGATTGTAGGAGGGGTAGCAACCTG GGGAGGAGGGAATGCACTCTGTGTAGGAGATGCAG AAAGGATTGGAAGAGCTGGTGAGTATTTGAGTTGG ATGTTGGACTGATAAATGCAGGGAGCATCTCACAG GTTGGGATCAGGCACACCGGTAGGATGTTTCATCC ATCCGAGTCAAAATGGAGGGCAGGTGTAGGGATTTC AGGTTAGAGGGCAGGGAAAGAAAGTAGAGAGGAGA GCCTGGGGTTGTGCTGGAGTGTGCACAGAGCACTC AGCTGGCACTTTGAAGAACAAGTGGACTGTCCCT GGACGTGAGACTGAGCAGGTAAAGGTGGGTAAAGAG ACGGTAAGATCACTACTGCAATAATCCAAAATAAG AACCTTTATGATCTCTAGGTGGGATAACAACCAAG GGGAGGGACTTTTAAACACAAATTCAGTTCAACAG GAACTCGCACATCCTGGAGGCAACACGTGAACCTGC GCAGGCTCAGCAGTCAATGCTCTGTTCTGCGTGGTG CTCTTCCAAGTGGCAGAGTGTCTTCATCAGACCTG GTGCTCAGTACTGATCTAGTCACAGAACAGGCC ATGTATCAAGTTTTGGGAAACAGGAAGCAATGGGA GAAATGTATTTTATTGGTGATTAAGTGAAGTGCAA
--	---

10

20

30

40

50

【表 1 - 2 0】

CAGTCAGGTTCAACTTTTATGAAAGGAAGTTGTGA GTTGCTTTCAGTTGCCATGGACCCCAAGTCGTAGG TCATGTAAGCTGAGCATGCCCAAACGGACCAAGCA TGCAACCATGGGCAGAACCTGAGTGCTCAGACTGA GGAGCAGGGGCTGAATTAAGAAGCAGAGCATACAT GGCAGGATCCAGGATCCAGGAGCCAATCAGACTGA GTTTGGCATCACTCCATGGCAGGATCCAATCAGAT CACACCTCCCTGCAGCACCTCATTGCAAGATCCAA TCAGACCACACCTCATTACCCTAGGCTTATAAAAT CCAGGCCAGCCGCTAGCTTGGGGAGGCAGATTGA GTGTTTTTTTTTCTGTCTCCTTGCCAGACTACC AGCAAAAAGGTTTTCTTTCTCAAAAGCCGGTGT CATGGTATTGGCCTCTGTGCACATTGGGCAGTGAG CCCACTGATTGCTCAGTAACATGGGCACACTCTGG GGCCACACAAGCCAGGAATGATGTGGCCTTTACC TGCTGCTCCAGCTGCATCTGAGCCAGTATCCCCT GAACACAAACCCCACTGCATGGAGCTGCATGCG GTTCTCGGGTACCTCCTGGCTATGTTCACTCCTG TAGATTCTTCAGATCCACTCCTTCCCATTTCCTC ATCCAAC TGCCAGCAGAGTGCCCTACTATGCGCCA CACACTGGGATTCAGCAGTAAACGACACAAACATG ATCCCCACCCTTATCCTTCTCCAGGACTCTTATT AATCTAAGGCTCACCTCCCTTCTTGTAACCTCCAT GAACTCATATGCTCCCTCTCAGCTCAGGGACGTTG CTGGAGGAAGCAAGAGAGCAGCAGATGAACCTTA TGTTCAAGAGGAGAGTGAGCTCATTCAAAGCCCA CCTTGGCCTCTTCTTAACCGAAGATTTTAGCAAG TCATATAACCTTTGAACTGCAACTCCCTGGATTGT GGAATGCCCAAAGTGCTGAGCGTGAAGTAAATA ATGCAAGTGTAAGTGTCGGCATGGTCTGCTGTTT ATCTCAGGAGGCGGTTAGGAACTAGCACTTATTT TTGCCAGGGCTTGAGCATAGAACAATACTAATTTCC CCAATGGCATTATCACATTGTATTACTTTTTATTT ACATGTTCTTTCTCCCTACCAATCTCAGAGAATC TCAAGGGCAGCAATGATTAATTATTAATTTTGAA TCCTTGGTTCTTGGCACATTCTTGAAAATAAATC ATTGGCTTACTTTCCACTGATTCTCTTAATTACCC CTGAGAGGCAGAGATTGGAATTATACTATGCTGAG CAGCTCAATGTTTTCCCACTAACAGCAGGAAAAATC CCAATGCACAGAGAAGGAACCTGAATGACTTAGGT GGGACACACCAGGACAGACACCCGTGGTGATGACA TTCTGTGCCCTTCATCCACAGAGTGCTGTCTT CACAGTGGTCTCCCTCACCACACTGAGCCCTCAA ACTTCTCTTTCCGCTGACCAAAGTGACCCAGGC CTGCTTGTCCATTGAGACAGATGCCAGGGCCCTCT GCACTCCATCTGACCTCTGCAATATGCCGTTTCT AATAAGGGAGCAGGATCCAGGTCCAGTTGTTTACA CTTCTAATTTCAATACCGGCAGCCTCAGTAAAGTTC TGCCATCAGGCTAAGGCCCACTGATCGTCGACCT TTTCTGCATAAAGATTACCTCCAGGGCTCTTAGA AAATACTGCTGCCTGGCTACCACCCCATCCTTAGT GTGACATAGGGTTTTTTTTCTTCTTCTGTTT TTTGTTTTTTTAGAATAATTAGGCAGCTCTGTTG CCCAGGCTGGAGTGAGTGCCATGATCTCAGCTCA CTGCAACCTCTGCCTCCTGGTTCAAGCAATTCTCC TACCTCAGCCTCTTGAGTACCTAGGACTATAGGCA CACGCCACCATGCCCGGCTAATTTTTGTATTTT AGTAGAGACGGGTTTACCAGGTTAGCCAGGATG GTCTCAATCTCCTGACCTTGTGATCCGCCACCTC AGCCTCCCAAAGTGCTGGGATTACAGACGTGAGGC ACCACACCTGGCTGCCCCGGGTTGTTTTTTTTT	AAGATAGGACGTGCTA (SEQ ID NO:29)
--	--

10

20

30

40

50

【表 1 - 2 1】

TAAAGCTCCCCAGGGATTTGTAAGTGCATACCAAA GACTGGGAACCCCTGGCTTAGCTCACAGAGCAAAAG AGCCTTTTGAGGGTTCCCTCGACAGTTGCTCCCT CACCTCCAGCTGTGGGGCCACACAGAGCGCTGGGC CATTGTGGTGTAGAGACCAGAGTTAAAGGGACTC CATCTGTAATATCCAGGACAAATGGGCTGGCAGGT GCTGCTAAACCCCTTACACACAGATAGTATTTGGG GAGGTGAGGTCAATTCCTCCCATTTATGGAACGCTGC GGTTTTAAAGCAAGCAAAACAAACAAAAACAGGAA AAAAGTGAGCTTTTTAAACTAAGGTAAAAATTTGT CCTCAACTTCCTGGCCTTGATTGGGCTCTGCTACT AGAGCGGCAGAACCACTCACTTCCTGCTTCCAC GGACCTGTTTCATGTAATGCATTTTGCAGAGATTT GAAGACAGGGTCTTTGACTTGGGCAGCTAACAGCC TGAGGCTAGAGGCAGCCACCCCTGAACAGTGAACA ATTCTGCAAGGCGCTGGCAATAGTACTATGCGGG GAGGGGGTAGGAACAAGGTGCTGCAGGGCGGGGTG GAGGAGGAAATGAATTCTGCCTGGGAGAAGCGGGA GTGCGTATTTGAGTGGGGTCTGGAGCAGGTGCATG CAAAGAAGCACCTCAAAGGCAGGGCAGGTGTGTG CAGGCGTGGGCAGGCGTGGGCAGGCGTGGGAAGGC GTGGGCAGGCGTGGGCAGGTGTGGGCAGGCGTGGG CAGGCGTGGGCAGGCGTGGGCAGGTGTGGGCAGGT GTGGGCAGGCATGTGGGCACGGCACAGGGCTTGTC CAGGCCAGATGCCATTAAGCACAGGTATCTGTGGT GGGCAGGGGACACAGTGAAGCAGATAGAGAAGGT TTGCTGGGGTCCCATGGAGGGCGCCTTGTAGGCC ATGGTCACTCTAGGCTGATGCAAGGTGCTCAAGGT TGAAGGCAGAGGTGACTGACCTGTGCTTGAGAGAG GGTAGGGAAGAGAAGCTGCCGGACTTGAGGGGCTG AAATTGCTCTGTAATAGTCCAGGTGAGGAGTGTTA ATGATGCCCCAGCTCGGGCAGTGAACACGGCAAGG AGAGTTTAACATGTGGTTTCAGTTGAGCAGACATGG GGAACCTCACTATGTGTGAAGCAGGACACATCACGG AGGCAGCCCTCAAATGCTTGAAGACAGTAATCCTG CCCCTGTGCTGTGGCGGGTTCTTTAAGGGGTGTGA CTTCCTCATCAGACCATTTGCTCTCACACCTAATG ATGCTGCCATGTGGCAGGGCTGTGGGCAGAGCCAT GCCCTAGCAGGGGAAGTGGAGGACAGCGCGGGGA GGGAGTGTGGGCAGGGCTTTCCTGCCCTCTGGGTC CTCTCCTCTCTTTCTGTGGCAGGGCCTTGAGGTCCA TTCGCTGGGCTGCACAGAAGGAGGACTCCAGAGCC CCCTTGGGTTGAGGATTTTATACACGAGCATTC CAGACAGATGGACCCGTGATTGACAATGAAAGCA TGGGAGAACTGTATTTCTTTGGTGATTAAAGTAA TGCAAAAGTTATGATGC (SEQ ID NO:28)	
--	--

10

20

30

【0077】

いくつかの実施形態では、GJB2 GRE(例、GJB2エンハンサー)配列は、表2に列挙される領域配列から同定されることができる。いくつかの実施形態では、GJB2 GRE(例、GJB2エンハンサー)は、表2に記載の領域配列いずれか中の、少なくとも200、少なくとも250、少なくとも300、少なくとも350、少なくとも400、少なくとも450、少なくとも500、少なくとも550、少なくとも600、少なくとも650、少なくとも700、少なくとも750、少なくとも800、少なくとも850、少なくとも900、少なくとも1000、少なくとも1100、少なくとも1200、少なくとも1300、少なくとも1400、少なくとも1500、少なくとも1600、少なくとも1700、少なくとも1800、少なくとも1900、

40 少なくとも2000、少なくとも2100、少なくとも2200、少なくとも2300、少なくとも2400、少なくとも2500、少なくとも2600、少なくとも2700、少なくとも2800、少なくとも2800、少なくとも2900、少なくとも3000、少なくとも3100、少なくとも3200、少なくとも3300、少なくとも3400、少なくとも3500、少なくとも3600、少なくとも3700、少なくとも3800、少なくとも3900、少なくとも4000、少なくとも4100、少なくとも4200、少なくとも4200、少なくとも4400、少なくとも4500、少なくとも4600、少なくとも4700、少なくとも4800、少なくとも4900、少なくとも5000、またはそれ以上の連続ヌクレオチド(例、ヒトGJB2領域A～MまたはマウスGjb2領域A～M)を含む。いくつかの実施形態では、GJB2 GRE(例、GJB2エンハンサー)は、GJB2遺伝子の転写活性領域(例、領域Aおよび/またはB)で同定される。いくつかの

50

実施形態では、GJB2 GRE(例、GJB2エンハンサー)は、領域Aおよび/またはB内の少なくとも200、少なくとも250、少なくとも300、少なくとも350、少なくとも400、少なくとも450、少なくとも500、少なくとも550、少なくとも600、少なくとも650、少なくとも700、少なくとも750、少なくとも800、少なくとも850、少なくとも900、少なくとも1000、少なくとも1100、少なくとも1200、少なくとも1300、少なくとも1400、少なくとも1500、少なくとも1600、少なくとも1700、少なくとも1800、少なくとも1900、少なくとも2000、少なくとも2100、少なくとも2200、少なくとも2300、少なくとも2400、少なくとも2500、少なくとも2600、少なくとも2700、少なくとも2800、少なくとも2800、少なくとも2900、少なくとも3000、少なくとも3100、少なくとも3200、少なくとも3300、少なくとも3400、少なくとも3500、少なくとも3600、少なくとも3700、少なくとも3800、少なくとも3900、少なくとも4000、少なくとも4100、少なくとも4200、少なくとも4200、少なくとも4400、少なくとも4500、少なくとも4600、少なくとも4700、少なくとも4800、少なくとも4900、少なくとも5000またはそれ以上の連続するヌクレオチドを含む。いくつかの実施形態では、GJB2 GRE(例、GJB2エンハンサー)は、領域C～M内の少なくとも200、少なくとも250、少なくとも300、少なくとも350、少なくとも400、少なくとも450、少なくとも500、少なくとも550、少なくとも600、少なくとも650、少なくとも700、少なくとも750、少なくとも800、少なくとも850、少なくとも900、少なくとも1000、少なくとも1100、少なくとも1200、少なくとも1300、少なくとも1400、少なくとも1500、少なくとも1600、少なくとも1700、少なくとも1800、少なくとも1900、少なくとも2000、少なくとも2100、少なくとも2200、少なくとも2300、少なくとも2400、少なくとも2500、少なくとも2600、少なくとも2700、少なくとも2800、少なくとも2800、少なくとも2900、少なくとも3000、少なくとも3100、少なくとも3200、少なくとも3300、少なくとも3400、少なくとも3500、少なくとも3600、少なくとも3700、少なくとも3800、少なくとも3900、少なくとも4000、少なくとも4100、少なくとも4200、少なくとも4200、少なくとも4400、少なくとも4500、少なくとも4600、少なくとも4700、少なくとも4800、少なくとも4900、少なくとも5000、またはそれ以上の連続するヌクレオチドを含む。いくつかの実施形態では、GJB2 GRE(例、GJB2エンハンサー)は、表3に列挙された領域のうちのヌクレオチド配列を含む。

10

20

30

【0078】

いくつかの実施形態では、GJB2 GRE(例、GJB2エンハンサー)は、ゲノム中のGJB2コード配列のセンス鎖上に位置する。いくつかの実施形態では、GJB2 GRE(例、GJB2エンハンサー)は、ゲノム中のGJB2コード配列の逆相補鎖上に位置する。本明細書において記載されるエンハンサー配列を使用してベクターを設計する場合、適切な配列(例、センス鎖上のGRE配列、または逆相補鎖上のGRE配列)を選択することは当業者の技能の範囲内である。

【0079】

いくつかの実施形態では、GJB2 GRE(例、GJB2エンハンサー)は、少なくとも200、少なくとも250、少なくとも300、少なくとも350、少なくとも400、少なくとも450、少なくとも500、少なくとも550、少なくとも600、少なくとも650、少なくとも700、少なくとも750、少なくとも800、少なくとも850、少なくとも900、少なくとも1000、少なくとも1100、少なくとも1200、少なくとも1300、少なくとも1400、少なくとも1500、少なくとも1600、少なくとも1700、少なくとも1800、少なくとも1900、少なくとも2000、少なくとも2100、少なくとも2200、少なくとも2300、少なくとも2400、少なくとも2500、少なくとも2600、少なくとも2700、少なくとも2800、少なくとも2800、少なくとも2900、少なくとも3000、少なくとも3100、少なくとも3200、少なくとも3300、少なくとも3400、少なくとも3500、少なくとも3600、少なくとも3700、少なくとも3800、少なくとも3900、少なくとも4000、少なくとも4100、少なくとも4200、少なくとも4200、少なくとも4400、少なくとも4

40

50

500、少なくとも4600、少なくとも4700、少なくとも4800、少なくとも4900、少なくとも5000、またはそれ以上のヌクレオチドを含む。いくつかの実施形態では、GJB2 GRE(例、GJB2エンハンサー)は、200~500ヌクレオチドまたはその間の任意の数のヌクレオチド、300~600ヌクレオチドまたはその間の任意の数のヌクレオチド、400~700ヌクレオチドまたはその間の任意の数のヌクレオチド、500~800ヌクレオチドまたはその間の任意の数のヌクレオチド、600~900ヌクレオチドまたはその間の任意の数のヌクレオチド、700~1000ヌクレオチドまたはその間の任意の数のヌクレオチド、1000~1500ヌクレオチドまたはその間の任意の数のヌクレオチド、1500~2000ヌクレオチドまたはその間の任意の数のヌクレオチドを含む。いくつかの実施形態では、GJB2 GRE(例、GJB2エンハンサー)は700ヌクレオチドを含む。

10

【0080】

いくつかの実施形態では、GJB2 GREは、ヒトGJB2エンハンサーである。いくつかの実施形態では、GJB2 GRE(例、ヒトGJB2エンハンサー)は、表3に列挙されたGRE配列のいずれか1つと少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%同一のヌクレオチド配列を含む。

20

30

40

50

【表 2 - 1】

表 3: ヒト GJB2 エンハンサー配列

	センス鎖	逆相補鎖
<i>hGJB2</i> GRE1	TCATCCATGTCCCTACAAAGGACATGAACATCATC ATTTTTATGGCTGCATGAAGTCGTTCTTTCAAAC ACCCTGCAGTCAGCTTCTCCTCACGAGAAACCAC ATGAAAGCCCTCGGGGAAATGCCTCTCGGGATCT ACTTTTCTTTGTGTGTATCCTACTTAGCCTATCG GTTTTCTGCTTCTGTGGGGCTACAGCCGTCTCGT CTTTTTCTGCTGGCTCCTTTGCTCTGTTCTCCAG TGGCTATCTTCTTCTCCTTTCTTTCAAATGTTT TCCCTTATCTTCTGTATACAGACAGAAGGTCAG GAGCCACGCCCATTACACTGACAGAACCCTGATG CCTGATGCGCTCTGTGCTCCAGATTGGATGT GGACTCGAGGCGAGCTGGCCAGAGAGCAATCATT TCAGCGAGGGTCGTTATTTCCCATCTTCTCTCTTA GGACGGAGGTAGGGGGACTTCTGGCCCCAAATGT TCCTTCTTCCAGCTGTGGCTGCTTCCATCCCGCA GAGTGAGCCTTTAATTTGGAGATCCTAATGCCCC AGTGCTGTGCCAGGCACAGTACACGTTCTGCATG GAGGACGGTTTACGCTCCCTTACAGAAGAGGAA GGACACTCAGAAGGCTGAACGTTCTGCGCTAAGG TCACCGAGTTGCTAAGGCAAGAAGCAGCCTCCAA TTCCTGCCTTACTGATTCTTGGGATGTGAACCA AAAGGGTGAGGCGGCAAGCCCCGGCTGCCCTCGG GGGCTCTTCCCAAGTGCTCTCTT (SEQ ID NO:55)	AAGAGAGCACTTGGGAAGAGCCCCCGAGGGCAGC CGGGGCTTGGCGCCTCACCCCTTTTGGTTTCACAT CCCAGAAATCAGTAAGGCAGGAATTGGAGGCTGC TTCTTGCCTTAGCAACTCGGTGACCTTAGGCAGA ACAGTTACGCCTTCTGAGTGTCTTCTCTTCTG TAAGGGGAGCGTAAACCGTCTCCATGCAGAACG TGACTGTGCTGGCACAGCACTGGGGCATTAGG ATCTCCAAATTAAGGCTCACTCTGCGGGATGGA GGCAGCCACAGCTGGAAGAAGGAACATTTGGGGC CAGAAGTCCCCCTACCTCCGTCTAAGAGAGAAG ATGGGAATAACGACCCTCGCTGAATGATTGCTC TCTGGCCAGCTCGCTCGCATCCACATCCAAATC TGGGAGGCACAGAGCGCATCAGGACATCGGGTTC TGTCAGTGTAATGGGCGTGGCTCCTGACCTTCTG TCTGTATCAGAGAAGATAAGGGAGAACATTTGAA AGAAAGGAGAAAGAAGATAGCCACTGGAGAACAG AGCAAAGGAGCCAGCAGAAAAAGACGAGACGGCT GTAGCCCCACAGGAAGCAGAAACCGATAGGCTAA GTAGGATACACAAAGAAAAGTAGATCCCGAGA GGCATTTCCTCCGAGGGCTTTTCATGTGGTTTCTCG TGAGGAGAAGCTGACTGCGAGGGTGTGAAAGAA CGACTTATGCAGCCATAAAAAATGATGAGTTTCT GTCTTTGTAGGGACATGGATGA (SEQ ID NO:56)
<i>hGJB2</i> GRE2	CCATGATATGTTAAGAAAAGCAAAGTGTGGAATA GTAGGTAAAAATTTCTATCTTATGTGCAAAAGGG GAAATAAAAAGTCATCAATATTCATGTAGATTCAA TTCACATATAGATTTCATATCACATTCTATATAT ATAGAAATTTCTGGAAAGACAAAAATAAATTAAT AAAAGTTGTTACTTACTTGTGATTTTTAAAGTTT TTTGAGTCTTAAGACTTACTTTCCACTTCTGTAG AAAGGAATACAAATCCTTTCTTTATAGAGCTAT GTGATGAAATAAACATAAAGCATTGGGCACACTT CAGGATAGCAACTGTGGGATTAATGATTAACACA GTCACCTTTGACCAGATTACACCCAGAGATTCC TTCATTTATATTTATGTGGTTTTGTGTGTCAGTT ATGCGACTCACTCAGTCACTCACTATGTTTACA GCTGCAACACTCTATTTTTTTCTTTGGTACAGGA GTCGCGCTCTTATCCACTGTTTCATTTTTGTGGT TCCAGTTACCTGTAGTCAACCACAGTTGGAAAAAT ATGATAGCAATTTTGAGAGAGAGACTGCATCCAAA AACTTATATTACAATATATTGTTATACATTGTTA TAAGTGTTGTTTTATTATCTTTATTGTTAATCT CTTACCATTAAAGCCTTATGGTAGGTTTGTATGTA TAGGAAAAAACAGATTATAT (SEQ ID NO:37)	ATATAATCTGTTTTTCTCTATACATAACACCTA CCATAAGGCTTAATGGTAAGAGATTAAACAATAAA GAATAATAAAACAACACTTATAACAATGTATAAC AATATATTGTAATATAAGTTTTTGGATGCAGTCT CTCTCTCAAAATGCTATCATATTTTCCAACTGTG GTTGACTACAGGTAACCTGGAACCCACAAAAATGAA ACAGTGGATAAGAGGGCGACTCCTGTACCAAAGA AAAAAATAGAGTGTTGCAGCTGTAACATAGTTGA ATGACTGAGTTAGACTGCATAACTGACACACAAA ACCACATAAATATAAATGAAGGAATCTCTGGGTG TAATCTGGTGCAAAAGGTGACTGTGTTAATCATT ATCCACAAGTTGCTATCCTGAAAGTGTGCCAAATG CTTTATGTTTATTTTCATCACATAGCTCTATAAAG AAAGGATTTGTAATTCCTTTCTACAGAAGTGGA AGTAAGTCTTAAGACTCAAAAAACTTTAAAAACT ACAATGAAGTAACAACCTTTTATTAATTTATTTTG TGTCTTTCCAGAATTTCTATATATATAGGAATGT GATATGAATCTATATGTGAATTGAATCTACATGA ATATTGATGACTTTTATTTCCCTTTTGCACATA AGATAGAATATTTTACCTACTATTCCACACTTTTG CTTTTCTTAACATATCATGG (SEQ ID NO:38)
<i>hGJB2</i> GRE3	GCAGAGACCTACAGACAGAAGTACATTTTACACT GGATCCAGGACACACATCAGTCTGAAAACACACA CATGAACCAAAACGTTTCCATAAGCATTACTTATC CTTGCTAATAGCAACACATTCTCATATTCTTTTA TACTTCAATTAATTTTCATATAAAAAAGAAAAGGA AAGGAAAGAAATCTATTTCTCAGCCCATTAATAA GGTCAGGAGCAGCAACACCAGACTAGAAGAAAAAG CTTACCTATAGATTTTTCTGCGACCTCTTGAGTG CGTCCAGCTTTCCGACAAGTCTCAGTGCCATCTA CTGTGCGCTCTGGGTATTGCAATTGCTTTTTTTT TTTTTTTTTTTTTTTTTTTGAATGAGACTAAGT CAGAGAACACAAAGAACTTCTTTCCCCACAGTGG AGATGGCTCTGAAAGCGTTTAAGGAATAGCTTAG	TAGGATTGACAAGGGCAATAGAGCGATGACTCCC TGGCTGTGTTGATTTGATGGACGGCAGTAGCTT TTCACAAAATGCTCATTTGGATGTTTCAAATTA AACGTTTCACTTTCTAGAACCAATTACGTGGTCA GTTTAGCTCCTGAGGTCCAGTCAGAGGGGTATT CTGTAGCTTGCAAAAGCCTCTCTTTGGGGACTGGA CATGGAGTCTGTGGTCTTAGAATTCAGAACCGGG AGAATGTGTTAGCCACTCATCTAAGCTATTCTT AAACGCTTTTCAGAGCCATCTCCACTGTGGGAAA GAAGTTCTTTGTGTTCTCTGACTTAGTCTCATTC TAAAAAAGCAATTTTACCAAGTGGTGGTGGTGG GCAATACCCAGAGCGCACAGTAGATGGCACTGAG ACTTGTGCGAAAGCTGGACGCACTCAAGAGGTGG

10

20

30

40

50

【表 2 - 2】

	ATGAGTGGCTAACACATTCTCCGGTTCTGAATT CTAAGACCACAGACTCCATGTCCAGTCCCAAG AGAGGCTTTGCAAGCTACAGAATACCCCTCTGAC TGGGACCTCAGGAGCTAAACTGACCAGTAATTG GTTCTAGAAAAGTGAACGTTTTAATTGAAACAT CCAAATGAGCATTTTGTGAAAAGCTACTGCCGTC CATCAAATACAACACAGCCAGGGAGTCATCGCTC TATTGCCCTTGTCAATCCTA (SEQ ID NO:39)	CAGAAAAATCTATAGGTAAGCTTTTCTCTAGTC TGGTGTGCTGCTCCTGACCTTATTAATGGGCTG AGAAATAGATTCTTTCCTTTCTTTTCTTTT ATATGAAATTAATGAAGTATAAAGAATATGAG AATGTGTGCTATTAGCAAGGATAAGTAATGCTT TAGGAAACGTTTGGTTCATGTGTGTGTTTCAGA CTGATGTGTGCTGCTGGATCCAGTGTAAGTATAC TTCTGTCTGTAGGTCTCTGC (SEQ ID NO:40)
<i>hGJB2</i> GRE4	CTTGCTTACCAGACTCAGAGAAGTCTCCCTGTT CTGTCTAGCTAGTGATTCTGTGTTGTGTGCAT TCGTCTTTTCCAGAGCAAACCGCCAGAGTAGAA GATGGATTGGGGCAGCGTGCAGACGATCCTGGGG GGTGTGAACAAACACTCCACCAGCATTGGAAAGA TCTGGCTCACCGTCTCTTCAATTTTTCGCATTAT GATCCTCGTTGTGGCTGCCAAGGAGGTGTGGGA GATGAGCAGGCGGACTTTGTCTGCAACACCTGTC AGCCAGGCTGCAAGAAGCTGTGTACGATCACTA CTTCCCCATCTCCACATCCGGCTATGGGCCCTG CAGCTGATCTTCGTGTCCAGCCAGCGCTCCTAG TGGCCATGCACGTGGCCTACCGGAGACATGAGAA GAAGAGGAAGTTCATCAAGGGGGAGATAAGAGT GAATTTAAGGACATCGAGGAGATCAAACCCAGA AGGTCCGCATCGAAGGCTCCCTGTGGTGGACCTA CACAAGCAGCATCTTCTCCGGGTCTCTTCGAA GCCGCTTTCATGTACGCTTCTATGTGTGTACG ACGGCTTCTCCATCGAGGCGCTGGTGAAGTGCAA CGCCTGGCCTTGTCCCAACACTGTGGACTGCTTT GTGTCCCGGCCACGGAGAAGACTGTCTTCACAG TGTTTCATGATTGCAGTGTC (SEQ ID NO:57)	GACACTGCAATCATGAACACTGTGAAGACAGTCT TCTCCGTGGGCGGGACACAAAGCAGTCCACAGT GTTGGGACAAGGCCAGGCGTTGCACTTACCAGC CGCTGCATGGAGAAGCCGTCGTACATGACATAGA AGACGTACATGAAGGCGGCTTCGAAGATGACCCG GAAGAAGATGCTGCTTGTGTAGGTCCACCACAGG GAGCCTTCGATGCGGACCTTCTGGGTTTGTATCT CCTCGATGTCTTAAATTCACCTCTTTATCTCCCC CTTGATGAACCTCTCTCTTCTCTCATGTCTCCGG TAGGCCACGTGCATGGCCACTAGGAGCGCTGGCG TGGACACGAAGATCAGCTGCAGGCGCCATAGCCG GATGTGGGAGATGGGGAAGTAGTGATCGTAGCAC ACGTTCTTGACGCTGGCTGCAGGCGTGTGACAGA CAAAGTCGGCCTGCTCATCTCCACACCTCTCTT TGCAGCCACAACGAGGATCATAATGCGAAAAATG AAGAGGACGCTGAGCCAGATCTTCCATGCTGG TGGAGTGTTTTTCACACCCCGGAGATCGTCTG CAGCGTGCCTCAATCCATCTTCTACTCTGGGCGG TTTGCTCTGGAAGAGCAATGCACACAACACAG GAATCACTAGCTAGGACAGAACAGGGAGACTTCT CTGAGTCTGGGTAAGCAAG (SEQ ID NO:58)
<i>hGJB2</i> GRE5	ATCCATTATTTGATTAGCCATTTCAAAAACACAT TTACGGAGATCTTTCATCTGGGAGAGCATTATTC CAGGCTCTGAAGAACCAAGATGATTTTGAAG GAGGTACAGTGACAGACAGCGGTGTGTATATAA GGTGGCTACTTTACAAAACAGGATATGGCAAGCT GGACATGACAGGCACAGCAAGTCTCTGAACAGA GTTCCGGGGCATGAAATTTCTTTTGGGGGTCT TCAGGAACAATTTTCATGAAAGCTAAATCATGAAA GATAGCAGGCTTTTGCCAGGAAAAAACAACAA GACTAGTGATTAGTTTGGCGTTTTTCGGTTTTCTT GAGAAGCGAAATAACTTATCAAGGACTCTTTTG CCACTTGATGTTATAATTTGGTTGATAGGTCTCTC AGAAGCCCTTTGTGCAAACTAGAACCTGCAGGGA TGTGCAAAAGCCTCTCTCTGCTGCCATCTGCTGTC TTACAAGAGGTAAGTGAAGAGGTTGAATCCTCC AATGCCCTGGGGATTCCCATTCAGGGCAGGGGC AGCAGCCTGTGTTAATAACCCCGAACAGCCAC ATGTACCCCTCCACAAAAGTGTCACTGTCTCCAT TGCTCTGGAGTTTGTATTTCCCAATTTGTAATCTT TGTTAGGGCACTCATAAAAAATTAACAAACAAAA TTCACACAACATACACTAC (SEQ ID NO:41)	GTAGTGTATGTTTGTGTGAATTTTGTTTTTAAT TTTTATGAGTGCCCTAACAAAGATTACAAATTG GGAATACAACTCCAGAGCAATGGAGACAGTGAC ACTTTTGTGGAGGGGTACATGTGGCTGTTCCGGT GGTTATTAAACACAGGCTGCTGCCCTGCCCTGCA ATGGGAATCCCCAGGGCATTGGAGGATTCAACCT CTTGCACTTACCTCTTGTGAAGACAGCAGATGGCA GCAGAGAGAGGCTTTGCACATCCCTGCAGGTTCT AGTTTGACAAAGGGCTCTGAGAGACCTATCAA CCAATTATAACATCAAGTGGCAAAAAGAGTCCTT GATAAGTTATTTGCTTCTCAAAGAAACCGAAAA CGCCAACTAATCACTAGTCTTGTTTTTTTTTT CCTGGCAAAAGCCTGCTATCTTTTCATGTTTAGC TTTCATGAAATTGTTCTGAAAGACCCCAAAAGA AACAATTTTCATGCCCCGAAGTCTGTTTCAGAGACT TTGCTGTGCCTGTCTATGTCCAGCTTGCATATCC TGTTTTGTAAAGTAGCCACCTTATATACACACCT GCTGTCTGCACTGTGACCTCTTTCAAATCATC TTTGGTTCTTCAGAGGCTGGAATAATGCTCTGC CCAGATGAAGATCTCCGTAATGTGTTTTTGAAA TGGCTAATCAAATAATGGAT (SEQ ID NO:42)
<i>hGJB2</i> GRE7	GCTAATTGGGTGAGGATTGAAAGACCTTAGCTT TGTGTGACCTTCAATTTATCATTACAGCTTGAAT ATGTGCCCCAGAAAACCTTTATGTAATTCCTTAA TATTTTCAGTAACAGCATGCAACATACGAGAAGC ACATTCTTTGTTTTAGAAATGGTATCTGGCTGAT GACTTTTCACACAGCTCAGATGAGAGGGAAGTAT TTTAGCAATCGGACTGAAGGAAAAATCCAAAACT CCACCATTGCAGGGTCAACAGTGCACGTGTTTGA	ATCTTAGCTCCAACATGTCTATTATTCCTTCTCA CTGAGGACTTTTCTGCTTCTCAATTTGGTTGTGA AGATGAGGCCCCATGCTCTTTTAAGAAAACCTG TTGTGCCCCAGGCTTGGCTGTGATGGGCACTGAC TCATACAGAAGTAGAAAGGCTGCTGAGTCATCA ACACTCGTGCGACGCCCTCGCATTTTCATTAATG ATGGCTCTCCCTGCCACACGTGAATCACTCCAGCC CGAGATCTGAAACAGGACACACCCCGAGGGCGA

10

20

30

40

50

【表 2 - 3】

	ATTCTGAAAGACGTAAGCCAAAGGCAATAGAAGG AAATGATCTTCCACTAATCCCGGCATTTACTTCC TCCTCTCTGGAGGGGACGGCCATGCACACAGAGC CCTGTGCTCTGAGTTCTCATGAAAGGGACACAGC TGGGCTCACTCAGCGTCACCTCGCCCTGGGGTG TGTCTGGTTTCAAGATCTCGGGCTGGAGTGATTG ACGTGTGGCAGGAGGGCCATCATTAAATGAAAATG CGAGGGCGTCGCACGAGTGTTGATGACTCAGCAG GCCTTTCTACTTCTGTATGAGTCAGTGCCCATCA CAGCCAAGCCTGGGGCACAACAGGTTTTCTTAAA AGAGCATGGGGGCTCATCTTCAACAACCAATTA GGAAGCAGAAAAGTCTCAGTGAGGAAGGAATAA TGACATGTTGGAGCTAAGAT (SEQ ID NO:43)	GGTGACGCTGAGTGAGCCAGCTGTGTCCCTTTC ATGAGAACTCAGAGCACAGGGCTCTGTGTGCATG GCCGTCCCCTCCAGAGAGGAGGAAGTAAATGCCG GGATTAGTGGAAGATCATTTCCCTTCTATTTGCC TGGCTTACGTCTTTTCAAAATCAAACACGTGCAC TGTTGACCCCTGCAATGGTGGAGTTTTTGGATTTT CCTTCAGTCCGATTGCTAAAATACTTCCCTCTCA TGTGAGCTGTTGTGAAAGTCATCAGCCAGATACC ATTCTAAAAACAAAGAATGTGCTTCTCGTATGTT GCATGCTGGTTACTGAAATATTAGGGAATTACAT AAAGGTTTTCTGGGGCAGATATTCAAGCTGAATG ATAAATTTGAAGGTCACACAAAGCTAAGGCTTTT CAAATCCTGACCCCAATTAGC (SEQ ID NO:44)
hGJB2 GRE8	GCCTGACACAGTCTGAGCCTCCTCAGGCGGCCTC AGGGGTTGGGATAGAGTGGAGAATTCAGGCAAGA ATGCCAACCTTAGCTCCAGGCTCGGACCCACAG GCCTGGGAAAAAGAGTGGTTGCCCGTCTTGAGA CAGCCGAAACTGTGTCCCAAGGATTGTTGGTTT CATAAAAGCAAGTAGCTAGGGAGGCCACATTTAC AGGGGATCAGAACACTTGGGTAGGGGCTTGCT GTAGGTGTCTATCAGGGAAGTGGGGGACGGCAGGA GGGATGTGGCCAGTACGCAGATGAAGACAGGTG ATCATCCGCTGGGCCACACGTGGCAGGGATATGG GCAGAGTGAGCTTGGCTGGCCCCAGGCTCCAAAG CTGCCCAGCCCCGCTGAAGGTGAGGCCTCAGCT GGTGGGAATGTACCTTCCAGGTGACTGGCTGGC TCCAAAGGCCTTTGTCATGATCTCCAGGAGTTTGG AGGGGAGAGGCCACATTCCAAATCCAGCTTGAAA AGTGCTCTGTATACCCCTCAGCACTGAGGGGGCC AGAGTCTAGGAGGAAGGACACAGGGTTGGGGG GCAGCCCTGACCTGGTGGCCGACCTGCCAGGTC CCGAGAGACAACCCATCTCACACACATTCAAAAA CACACACCAGGAGCAGATGGCTAAACAAATCGC ACTAAACGCCAGGAAGGCAG (SEQ ID NO:59)	CTGCCTTCCTGGCGTTTTAGTGCGATTGTTTAGC CATGTGCTCCCTGGTGTGTGTTTTTGAATGTGTG TGAGATGGGTGTCTCTCGGGACCTGGCAGGTGC GGCCACCAGGTGAGGGCTGCCCCCAACCCCTGTG CCTCCTTCCTCCTAGACTCTGGCCCCCTCAGTGC TGAGGGTGATACAGAGCACTTTTCAAGCTGGATT TGGAAATGTGGCCTCTCCCTCCAACTCCTGGAG ATCATGCAAAAGGCCTTTGGAGCCAGCCAGTCACC TGGAAAGGTGACATTTCCACCAGCTGAGGCCTCAC CTTACGCGGGGCTGGGCAGCTTTGGAAGCCTGGG GCCAGCCAAGCTCACTCTGCCCATATCCCTGCCA CGTGTGGCCAGCGGATGATCACCTGTCTTCATC TGGCTACTGGGCCACATCCCTCCTGCCGTCCCCC ACTTCCCTGATGACACCTACAGCAAGCCCTACC CAAGTGTCTGTGATCCCTGTAAATGTGGCCTC CCTAGCTACTTGTCTTTATGAACCAACAATCCT GGGGACACAGTTTTTGGGCTGTCTCAAGACGGGGC AACCCTCTTTTCCCGAGCCTGTGGGTCCCGAGG CCTGGAGCTAGGGTTGGCATTCTTGCCTGAATTC TCCACTCTATCCCAACCCCTGAGGCCCGCTGAGG AGGCTCAGACTGTGTAGGC (SEQ ID NO:60)
hGJB2 GRE9	CGCCTCGGCCTCCCAAAGTGCTGGGATTACAGGC GTGAGCCACCACCGTGCTGGCTTATACAAGTAA TTGTAACGGAAGAAAGAAAAATGGAGATACAGTT TTCTCGTGATCTTAACTTTGGTGCTTAAAGC ACCATTAAATCTGCTTTCACATGAACACACACA AGATTACCACGTTTGTCTGGGCTGCTGCGTATT GGAAGGACATACACATTCAACAAATATTTGTTGA ACTTCCATTCTGTACACAAAGCACAAAGAAAGAT TCGTTACAGTCCGTGTGGGTACTGGAAAGCAGT TCCAGCCCTGCGCTGCCAGGGGGCACCCAGGCCAA GCACATCTCAGTGGCTGCTAGAAAGTGAATTGAG GCTGAGTCTCTCCACACCCAAAGTGTAGGCGTTC TAGGCTCAGAAAGAGACAATGACAATGCGGGCAA TTCTCTCTTCACTGTGTCTCTTCTTTGCTAGAA ATGTTATTAGAATATGGAATGTGACATTCAGCA CTAATCAGTTTGACATATGAATATATCTATACAC ATATTTCTCCCTGAAATTTGGCCTAAATACTCTTT CTTGGAACCAAAATGAGAAGCAAAACACCTTTACA ACTAAACATTAAACCATAGATGAACATCTTAGT TGTCTACCTAGA (SEQ ID NO:45)	TTCTAGGTAGACAATAAGATGTTTCATCTTATGG TTAAATGTTTGTGTAAGGTTGTTTGTCTCTC ATTTGGTTCCAAGAAAGAGTATTAGGCCAATTT CAGGGAGAAATATGTGTATAGATATATTCATATG TCAAACCTGATTAGTGCTGAATGTCACATTTCCAT ATTCTAATAACATTTCTAGCAAAGAAGAGGACAC AGTGAAGAGAGAATTGCCCGCATTTGTCAATTGTCT CTTTCTGAGCCTAGAACGCCTAACACTTGGGTGT GGAGAGACTCAGCCTCAATTCCTTTCTAGCAGC CACTGAGATGTGCTTGCCTGGGGTGCCCTGGC AGGCAGGGCTGGAAGTCTTTCCAGTACCCACAC GGACTGTGAACGAATCTTCTTTGTGCTTTGTGT ACAGAATGGAAGTTCAACAAATATTTGTTGAATG TGTATGTCCTTCCAATACGCAGCAGCCAGAGCA AACGTGGTAATCTTGTGTGTGTTTATGTGAAAGC AGAATTTAATGGTGCTTTTAAAGCACCAAAGTTTA AGATGCACGAGAAAAGTGTATCTCCATTTTTTCC TTTTCGTTTACAATTACTTGTATAAGCCAGGCAC GGTGGTGGCTCAGCCTGTAATCCAGCACTTTG GGAGGCCGAGGGCGGGCGGATCAGATGAGGTGGG AG (SEQ ID NO:46)

10

20

30

【0081】

いくつかの実施形態では、GJB2 GREは、非ヒト霊長類(例、カニクイザル(*Cynomol-
gus macaque*))GJB2エンハンサーである。いくつかの実施形態では、GJB2 GRE(例
、*Cynomolgus macaque* GJB2エンハンサー)は、表4に列挙されたGRE配列のいずれ
か1つと少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少な
くとも85%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、
少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98
%、少なくとも99%、または100%同一のヌクレオチド配列を含む。

40

50

【表 3 - 1】

表 4: カニクイザル (*Cynomolgus macaque*) GJB2 (mfGJB2) エンハンサー配列

	センス鎖	逆相補鎖
<i>mfGJB2</i> GRE1	ATGGCACCAGCTTTTGAAAAAGAAAACCTTTT TGCTGGTAGTCTGGCAAGGAGACAGAAAAAAC CACTCACATCTGCCCTCCCGAGGCTGGGGCTGG GCCGGATTTTATAAGGATAGGGTAATGAGGGGT GGCTCTTTGGATCTTGCAATGAGGTGCTGCTG GGAGGTGTGATCTGATTGGATCCTGCCATGGAG TGATGCCAAAAGCTCCATCTGATTGGATCCTGGA TCCTGCCGTGTGTCTGCTTCTTAATGCAAC CCCTGCTCCTCAGTCTGAGCCCTTAGATTCTGC CCACGGTTGCACGCTTGGTTCACTTTGGCATGC TCAGGTTACATGACCTTCAGCTTGGGGTCCATG GCAACTGAAAAGCAACTCACAACTTCCTTTTCAT AAAAAATTGAACCTGACTGGTCTGGTGCACTCAC ACCAGCTCTATCCCATTTGATGACAGGACCGCAT CATGGGATTAGAGCAGAGAGGTACATAGTAACT AGCATTTTCAAGAGGGCACCCCTGATGTCTGGAT GAACTTCAGGGCAACAAAATAGCGGGCAGGTGA GCAGTTGAAGACACCCAGACACTGGGCTGACC AAGGTGGGGTGGTGGGGATGGCACAGGAGGACA CAGGATGGGAATTAATGAGGGCAGGGGCTTTGT CTTGCTCACTGATAAGTCCATGGCACATAGAGG GTGATCG (SEQ ID NO:84)	CGATCACCTCTATGTGCCATGGACTTATCAGT GAGCAAGACAAAGCCCTGCCCTCATTAAATCC CATCCTGTGTCTCCTGTGCCATCCCCACCACC CCACCTTGGTCAGGCCAGTGTCTGGGTGTCTT CAACTGCTCACCTGCCCGCTATTTTGTGGCCCT GAAGTTCATCCAGACATCAGGGTGCCCTCTTGA AAATGCTAGTTACTATGACCTCTCTGCTCTAAT CCCCATGATGCGGTCTGTCTCAATGGGATAG AGCTGGTGTGACTGCACCAGACCAGTCAGGTTT AATTTTATGAAAGGAAGTTGTGAGTTGCTTTT CAGTTGCCATGGACCCCAAGCTGAAGGTCATGT AACCTGAGCATGCCAAAGTGAACCAAGCGTGCA ACCGTGGGCAGAACTAAGGGCTCAGACTGAGG AGCAGGGGTTGCATTAAGAAGCAGAGCACACAC GGCAGGATCCAGGATCCAATCAGATGGAGCTTT GGCATCACTCCATGGCAGGATCCAATCAGATCA CACCTCCCAGCAGCACCTCATTGCAAGATCCAA ACAGACCACCCCTCATTACCCTATCCTATAAA ATCCGGCCCAGCCCCAGCCTGGGGAGGCAGAT GTGAGTGGTTTTTTCTGTCTCCTTGCCAGACT ACCAGCAAAAAGGTTTTCTTTTTTCAAAAGCTG TGCCAT (SEQ ID NO:85)
<i>mfGJB2</i> GRE2	CCGTTAGGAAAAGAAAAACAGAAGGAATTGTGT TCTCTGGAGGGCAGGGCTCTGAGTACTGAGTCT CATGTTTTCAAAGTCGGAAGTGTCCACAGTTA ATATTTGGATGGGCCACAGTGCCCGTCTTTGCT CCGCCGAGCCAGGCGCTGTCCCATCACAGACAA AGGGCTCTTGCTGTGCACCTGTGGAGAGGGGAG CTTGGCTGGGGAAGGCAGGGTCAGCCTCTTTGT GCTCTTTTTTTTGAAGCAGAGTTTTGCAAAAGG GAGTGGCTCTGGAAGAAAAGCAGAGCGTGGAGT GTCAGAGGCCGGCGTGTTGTGAAATGCATAAGC CCTGGAGACCTCTGTAAGTGGCCTTCACACAC GCGCCGCGCCAAGGACAACACTGAACACGGAA GCGGGGTGTTTGCCAGCTCACGAGACGGGGAGA CATGAAGCTTCTACCAGCAGAGGAGCTGGAGGG GAAACAGAAAGAAAGAACTGAGTCTAGCAGCCT CTTGGACATTTCTTCCAACGCCTCCAGCCAG CACAACAAACAACCTCAGGGCATCCGGCCCGTG TCGCGCCCTGGCACACCAACTCTGCCCTGCTC CAAGAGCCCACAGAGGGCTCGGGGTACACTC AAGGAGCATGCTTGAATCCAAAGTGATGCTG TGGTGGGGAGATGGACAAGGACAGAAATAGCAC CCAGCAA (SEQ ID NO:86)	TTGCTGGGTGCTATTTCTGTCTTGTCCATCTC CCCACCACAGCATGCACCTTTGGATTCCAAGCAT GCTCCTTGAGTGTGACCCCGAGGCCCTCTGTGG GCTCTTGGAGCAGGGCAGAGTTGGGTGTGCCAG GCGCGACACGGGCGGGATGCCCTGAGGTTGTT TGTGTGTCTGGGCTGGAGGCGTTGGAAGAAATG TCCAAGGAGGCTGCTAGACTCAGTTCTTTCTTT CTGTTTCCCTCCAGCTCCTCTGTGGTAGAAG CTTTCATGTCTCCCGTCTCGTGAGCTGGCAAC ACCCGCTTCCGTGGTTCAGTGTTGTCTTGGC GCGGGCGGTGTGTGAAGGCCAGTTACAGAGGGT CTCAGGGCTTATGCATTTTCAACACGCCGGC CTCTGACACTCCACGCTCTGCTTTTCTTCCAGA GCCACTCCCTTTGCAAAACTCTGCTTCAAACAA AAAGAGCACAAAGAGGCTGACCTGCCTTCCCC AGCCAAGCTCCCTCTCCACAGGTGCACAGCAA GAGCCCTTTGTCTGTGATGGGACAGGCTGGGC TCCGGCGAGCAAGACGGGCACTGTGGGCCATC CAAATATTAACTGTGGACACTTTCCGACTTTGA AAACATGAGACTCAGTACTCAGAGCCCTGCCCT CCAGAGAACACAATTCCCTTCTGTTTTCTTTT CTAACGG (SEQ ID NO:87)
<i>mfGJB2</i> GRE3	AAAAAAGAAATCACAATTGCCACCAAGGCTCTAT GTTTTCGCAAAAGTCCAGCATTTAAAGAAACT TCCTGCATGGCTACATCTGCTGATTGGTAATT	CTGGGATGCCAATCTGAGGAATCCTTCTTTTCC TAAGCAAAGGAGAAACAAAATAATTCTGATGGG GGAGTGACTGACCCAGTCTGGCTTACCGGCTG

10

20

30

40

50

【表 3 - 2】

	TGTCGTTTCAGGTTAAAAACAAAACAAGCGGGCA TTGTTGTGATATCATCCTTGATAACATCCCAAG AAAACCTAGAGCTGGCAAGAGAGGAAAGCAGA TAATGGTCAAAGCTGTCTAGTGTAAAAA CACTGGGATTTTCTTTAAAGGAACATCTTCA GTTTCCAAGGCCATACACAGCGCTCCTAACTGC AGCTTAAAAATTTTCACTGGGCTCCCTTCTGAG AACAACCGCTATTAGTGGCGAGTGCCGGACAC CACTGCGCTTTCAAAGGTGGCTGCCAGAGGACA CTCAGGACTTCACAGCAGCCGGTAAGCCAGACT GGGGTCAGTCACTCCCCATCAGAAATTATTTG TTTCTCCTTTGCTTAGGAAAGGAAGGATTCCTC AGATTGGCATCCCAAG (SEQ ID NO:88)	CTGTGAAGTCCTGAGTGTCTCTGGCAGCCACC TTTGAAAGCGCAGTGGTGTCCGGCACTCGCCAC TGAATAGCGTTTGTCTCAGAAGGGAGCCAGT GGAAAAATTTAAGCTGCAGTTAGGAGCCGTGTG TATGGCCTTGGAACCTGAAGATGTTCTTTAAA AGAAAAATCAGAGTGTAAAACTCAGATGA CAGCTTGACCATTATCTGCTTTCCTCTCTTGC CAGCTCTAGAGTTTCTTGGGATGTTATCAAGG ATGATATCACAAACATGCCCGCTGTTTTGTTT TTAACCTGAACGACAAATTACCAATCAGCAGAT GTAGGCCATGCAGGAAGTTCTTTTAAATGCTG GACTTTTGGCAAAACATAGAGCCTTGGTGGCAA TTGTGATTCTTTTTT (SEQ ID NO:89)
<i>mFGJB2</i> GRE4	ATAATGAGCAACATAAGGTTAAATAACATTGC AACCCCATGGAAGCAAGAGAAATGGAATTTATT AATAAATGGACACATGTAAGGGAATGCTGTGG TTCTATTGTAGAGATTACAGAGAGCAATTTAGG AGAGCCAGGCGCTGGGGGCAAGAGGGAATGAA ACGAAAACCGAAGGATTTGTTCAAGGAAGAAAA ATGAAAAACAGATAAAAGGTGTTCAATTTCAAAGC TTCCCTCTTTCCAGCATTTTTCTGAAGTAGAG TTTGAAGGAAGCAAAATAACTGCAAAACCAAT ACAGTGGCAGCAGGTTCACTGACGCAAGAGCTAGG AACGACGTCCAGAGATCTCCAGCCCGCCTCCC GTTCTGGGTCACTGGGCTCTTGACAGCCCTGA AAACTGCCTGTGCAAAATCTCAGGCATGTTATA CCCATAGCGGGGACGTGTGGCACGCAAAAGG GACCTGTACACCTTTGAAGTATCTTGGGAGACC AGACTCACATTCCACACACGCTCACGAGTCACT GAGCAGCCCATTTGGAAATACGTGGCACCGTCT CATTTCCATATTTGACCAAAACAGTGTTTACCC AGCTCAGCCGATAGTTTCAATTTTTTAAACAAA CCTAATGCAGAAATGGC (SEQ ID NO:90)	GCCATTCTGCATTAGGTTTGGTTAAAAAATGA AACTATCGGCTGAGCTGGGTAACACTGGTTTT GGTCAAAATATGGAATGAGACGGTGCCACGTATT TCCAATGGGGCTGCTCAGTGACTCGTGAGCGGTG TGTGGAATGTGAGTCTGGTCTCCCAGGATACTT CAAAGGTGTACAGGTCCCTTTGTCGGTGCCACA CGTCCCGCTCATGGGTATAACATGCCTGGAGA TTTGCACAGGCAGTTTTCAGGGCTGTCAAGGAG CCAGGTGACCCAGAACGGGAGCGGGGCTGGAG ATCTCTGGACGTCTGTTCTAGCTCTGCGTCAGT GAACTCGTGCCACTGTATTGGTTTGCAGTTATT TTGCTTTCCTTTCAAACCTCACTTCAGAAAAAT GCTGGGAAAGAGGGAAGCTTTGAAATGAACACC TTTTATCTGTTTTCATTTTTCTCCTGAACAAA TCCCTTCGGTTTTCTGTTTCAATTCCTCTTGCC CCCAGCGCCTGGCTCTCTAAATTTGCTCTCTGT AATCTCTACAATAGAACCACAGCATTCCCTTAC ATGTGGTCCATTTATTAATAATTTCCATTTCTC TTGCTTCCATGGGGTGTCAATGTTATTTAAACC TTATGTTGCTCATTAT (SEQ ID NO:91)
<i>mFGJB2</i> GRE5	CACGCTCTGTAATTTTTTTACTGAATGTTAGAC ATTGCATATAAAAGACTATCCAGGAGTGTGTTG TTTTTGTGTTTTCTAGTGAGTGCAAGTCCCTTG CTCTCTGCCAGTTGGCTGGAATGAGAACTGAT CAGATTTCAAGAGTCAAGGTTGAGCTGAGAC TGAGCGGTAGTGTCTCAATAATGAGTGCACCA CTGATATCTAATGGAACAAGGACATTTTACTT TGCTCCTCAGCCTAACCTGAATTTCTATGCCA CCACTGTATAATGGCTGGTTTTCTTGGTTCTCC TAATGTGTGAGCTGGAAGCAGGTTGAGACATAG ATTTCAATATCATTTTGGCTTCCCTTGCACTAA CATGGCTCCACAATTCAGCACTATGAAATTTGT TTAATGTTTTCCAGTCTTGCTCCACAGCCAC TTTTGCAGTAAAAACAGGATGGGGGTGACGTT GAGCCAACTATTTTGCATTTGGTGGACTTCT AAATTTCAATCCAGCTCCAAATCTTTTGGCAGA TTTTTCTTAAAGGT (SEQ ID NO:92)	ACCTTTAAGAAAAATCTGCCAAAAGATTGGAG CTGGATTGGAATTTAGAAGTCCACCAATGCAA AAATAGTTTGGCTCAACGTCACCCCATCCGTG ATTTTACTGCAAAAGTGCGTGTGGAGGCAAGAC TGGAACACAGTTAAACAATTTCATAGTGCTTGA ATTGTGGAGCCATGTTAGATGCAAGGGAAGCCA AAATGATATGAAATCTATGTCTCAACCTGCTTC CAGCTCACACATTAGGAGAACCAAGAAACCAG CCATTATACAGTGGTGGCATAGGAAATTCAGGT TAGGCTGAGGAGCAAAAGTAAATGTCTTGTGTT CCATTAGATATCAGTGGTGCACCTCAATTTAGTG AACACTACCGCTCAGTCTCAGCTCAACCTGACT CTTGATGAAATCTGATCAGATTCTCATTCCAGC CAACTGGCAGAGAGCAAGGGACTTGCACTCACT AGAAAAACAAAAACAAACACTCCTGGATAGT CTTTTATATGCAATGTCTAACATTCAAGTAAAAA AATTACAAGACGTG (SEQ ID NO:93)
<i>mFGJB2</i> GRE6	CGGCAGAGACCTACAGACCAAAAGTACATTTTAC ACTGGATCCAGGACACATCAGTCTGAAAGCA CACACATGAACCAACGTTTCTTAAAGCATTAC TTACCTTTGCTAATAGCAACACATTCTCATATT CTTTTATACTTCATTTAATTTTCAATTTAAAAAG AAAAAGATAGGAAAGAAATCTATTTCTCCGCC ATTAATAAGGTACAGCGCAGCAACGCTAGACTA GAAGAAAAGTTTACCTACTGATTTTCTCCAC	TTGCAAAAGCCTCTCTTTGGGGATCGGACATGGA GTCTGTGGTCTTAGAATTCAGAACTGGGATAAT GTGTTAGCCACTCATCTAAGCCATTCTTAAAC GCTTTCAGAGCCATCTCCACTGTGGGGAAGAA GTTCTTTGTGTTCTCTCATTTAGTCTCATTCTA AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAGGCTATTGCA GTACCCAGAGCGCACAGTAGATGGCACTGACAC TTGTCGGAAAGCTGTGCGCACTCAGGAGGTGGG

10

20

30

40

50

【表 3 - 3】

	CTCCTGAGTGCGCACAGCTTTCCGACAAGTGTC AGTGCCATCTACTGTGCGCTCTGGGTACTGCAA TAGCCTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTAGAA TGAGACTAAATGAGAGAACAAGAACTTCTT TCCCCACAGTGGAGATGGCTCTGAAAGCGTTA AGGAATGGCTTAGATGAGTGGCTAACACATTAT CCCAGTTCTGAATTCTAAGACCACAGACTCCAT GTCCGATCCCCAAAGAGAGGCTTTGCAA (SEQ ID NO:94)	AGAAAAATCAGTAGGTAACCTTTTCTTCTAGTC TAGCGTTGCTGCGCTGACCTTATTAATGGGCG GAGAAATAGATTTCTTTCCATCTTTTTCTTTT TTAAATGAAATTAATGAAGTATAAAGAATAT GAGAATGTGTTGCTATTAGCAAGGTAAGTAAT GCTTTAGGAAACGTTTGGTTCATGTGTGCTT TCAGACTGATGTGTCTCCTGGATCCAGTGTGAA ATGTACTTTGGTCTGTAGGTCTCTGCGG (SEQ ID NO:95)
<i>mfGJB2</i> GRE7	GGTGTGTATATCAGGTGGTTACTTTACAAAACA GGATGTGGCAAGCTGGACCTGATAGACACATCA AAGCCTCTGAACAGAGTTTACGGGCATGAAATGG TTCTTTTGGGGGCTTTCAGGAACAATTTTCATG AAAGCTAAATCATGAAAGATAGCAGACTTTTGC CAGGAAAAAACAACAAAACGAGACTAGT GATTAGTTTGGCGTTTTCGGTTTCTTTGAGAAG CGAAATAACTTATCAAGGACTCTTTGTGCCGCT TGATGTTCTAATCGGTGATGGGTCTCTCAGAA GCCCTTTCTGCAAACTAGAACCTGCAGGGATGT GCAAAGCCTCTCTGCTGCTGCACTCTGCTGCTT ACAAGAGGTCACTGCGAGAGGCTGAATCCCCCA ATGCCTTGGGGATTCCCACCTGCAGGGCAGGGGC GCCAGCCTGTGTTACAACCACCTGAACGGCCAC GTGGACCTTCCACAAAAGTGTCACTGTTTCCAT TGCTCTGGTGTGTTGATTTCCCAATGTGTAGTCT TTGTTAGGGCACTCACAAGTTAAAAACAAA AATTCACACAAGCATACA (SEQ ID NO:96)	TGTATGCTTGTGTGAATTTTGTTTTTAACTTT TTGTGAGTGCCCTAACAAAGACTACACATTGGG AATACAAAACCCAGAGCAATGGAAACAGTGACA CTTTTGTGGAAGGTCCACGTGGCCGTTTCAGGTG GTTGTAACACAGGCTGGCGCCCTGCGCTGCAG TGGGAATCCCCAAGGCATTGGGGGATTGAGCCT CTCGCAGTGACCTCTGTAAAGACAGCAGATGGC AGCAGAGAGAGGCTTTGCACATCCCTGCAGGTT CTAGTTTGCAGAAAGGGCTCTGAGAGACCCAT CAACCGATTAGAACATCAAGCGGCACAAAAGAGT CCTTGATAAGTTATTTCGCTTCTCAAAGAAACC GAAAACGCCAACTAATCACTAGTCTCGTTTTG TTTTGTTTTTTTTCTGGCAAAAGTCTGCTAT CTTTCATGATTTAGCTTTTCATGAAATTTGTTCT GAAGACCCCAAAAGAAACCATTTTCATGCCCTG AACTCTGTTTCAGAGGCTTTGATGTGTCTATCAG GTCAGCTTGGCACATCCTGTTTTGTAAAGTAA CCACCTGATATACACC (SEQ ID NO:97)
<i>mfGJB2</i> GRE8	GGTCAGGATTGAAAGACCTTAGCTTTGTGTGA CCTTCAGTTTTATCATTCAGTTTGAATATGTGC CCCAGAAAACTTTATGTAATTTCCATAATATT CAGTAACATAATTTACAACATACAAGCAGCACA TTCTCTTTTTTAGAATGGTGTCTCGCTGATGA CTTTGACGACAGCTCAGTGAGAGGGAAGTATT TCAGCAATCAGACCGGAGGAGAAATCCAAAAACC CCACTATTGCGGGGTCAAGAGTGCACGTGTTTG AATTCGTAAAGATGTAAGCCAAGGCAACAGAA GGAAATGATCTTCCACTAATCCCTGCATTTACT TCCTCTCTCTGGAGGGGACGGCCACACACACA GAGCCCTGTGCTCTGACTTCTCTGAAGGGGAC ACAGCTGGGCTCACTCAGTGTCACTCGCCCT GGGGTGTGCCGGGTTTCAGATCTCAGGCTGGA GTGATTACAGTGTAGCAGGGAGGCGCTCATTAA TGAAATGCAAGGGCGCTCGCGGAGTGTGATG ATTGAGCAGGCTTTCTACTTCTCTATGAGTCA GTACCGTGCAGGCAAGCCTGGGGCAGAACAG GTTTTCTTAAAGAGCATGGGGCCTCGTCTTC AACAAACCAATTAGAGGCGAGAAAGTCTCAGT GAGGAAGGAATAATGACATGTTGGAGCTAAGAT GATGGTG (SEQ ID NO:98)	CACCATCATCTTAGCTCCAACATGTCATTATTC CTTCCTCACTGAGGACTTTTCTGCCTCCTAATT GGTTGTTGAAGACGAGGCCCCCATGCTCTTTTA AGAAAACCTGTTCTGCCCCAGGCTTGGCTGCGA CGGGTACTGACTCATAGAGAAGTAGAAAGGCCT GCTGAATCATCAACACTCCCGGACGCCCCCTGC ATTTTCATTAATGACGGCTCCTGCTACACGT GAATCACTCCAGCCTGAGATCTGAAACCCGGGC ACACCCAGGGGCGAGGTGACACTGAGTGAGCC CAGCTGTGTCCCTTCAGGAGAAGTCAGAGCAC AGGGCTCTGTGTGTGTGGCCGTCCTCCAGAG AGGAGGAAGTAAATGCAGGGATTAGTGGAAGAT CATTTCTTCTGTTTGCCTTGGCTTACATCTTT CAGAATTCAAACAGTGCACCTTGACCCCGCA ATAGTGGGGTTTTTGGATTCTCCTTCGGTCTGA TTGCTGAAATACTTCCTCTCACGTGAGCTGTC GTCAAAGTCATCAGCGAGACACCATTTCTAAAAA AAGAGAATGTGTGCTTGTATGTTGTGAATAT GTACTGAAATATTAGGAAATTACATAAAGGTT TTCTGGGGCACATATCAAACCTGAATGATAAAA CTGAAGGTACACAAAAGCTAAGGTCTTTCAAAT CCTGACC (SEQ ID NO:99)
<i>mfGJB2</i> GRE9	GTTTTTTCATGCATCTTAAACTTTGGTGCTTAA AGAAAAGCACCATTAAATCTGTCTCACACGA ACACACACAAGATTACACGTTTGTCTGGGCT GCCGCTATAGGAAGGACATATACATTCAATAA ATATTGTTGAACTTCCATTCTGTACACAAAAGC ACAAAGAAAGATTCTGTTACAGTCCGCGTGGGT ACAGGAAAGCAGTTCCAGCCCTGCTGCCAGGG GGCACCCAGGCAAGCACATCTCAGTGGCTGCA AGAAAGTCAGCGAGTTGAGGCTGAGTCTCTCTC TATACCAAGTGTTAGGTGTTCTAGGCTCAAAG	GTTTCCTTCTCATTTGGTTTCAAGGAAGACAGT GTTTAGGACAATTTACGGGAGAAATATGTGTCT ATGTAGATATACTCATATGTCAAACCTGATTAGT GCTGAATTCTCAATCGACGGGTACATTCCAC ATTCTAATAACATTTCTAGCAAAGAAAGGGACA CAGTGAAGAGAGAATTGCCCGCATTTGTCATTGT CTCTCTTTGAGCCTAGAACCTAACACTTGGG TATAGAGAGAGACTCAGCCTCAACTCGCTGACT TTCTTGAGCCACTGAGATGTGCTTGCCTGGGG TGCCCCCTGGCAGGCAAGGCTGGAACCTGCTTTC

【表 3 - 4】

AGAGACAATGACAATGCGGGCAATTCTCTCTTC ACTGTGTCCTTTCTTTGCTAGAAATGTTATTA GAATGTGGAATGTGACCCGTCGATTGAGAATT CAGCACTAATCAGTTTGACATATGAGTATATCT ACATAGACATATTTCTCCTGAAATTTGCTCT AAACACTGTCTTCTTGAACCAATGAGAAGG AAAC (SEQ ID NO:100)	CTGTACCCACGCGGACTGTGAACGAATCTTTCT TTGTGCTTTGTGTACAGAATGGAAGTTCAACAA ATATTTATTGAATGTATATGCTTCTCTATACG CGGCAGCCAGAGCAACGTTGGTAATCTTGTGT GTGTTCTGTGTGAGAGCAGGATTTAATGGTGCTT TTCTTTAAGCACCAAGTTAAGATGCATGAAA AAAC (SEQ ID NO:101)
--	--

【0082】

いくつかの実施形態では、ヒトGJB2 GREは、mfGJB2 GREと相同性を共有する。いくつかの実施形態では、ヒトGJB2 GREは、表5に示すmfGJB2 GREに対応する。

10

20

30

40

50

【表 4】

表 5: ヒト GJB2 GRE と mfGJB2 GRE との間の相同性

<i>hGJB2 GRE9</i>	<i>mfGJB2 GRE9</i>
<i>hGJB2 GRE7</i>	<i>mfGJB2 GRE8</i>
<i>hGJB2 GRE5</i>	<i>mfGJB2 GRE7</i>
<i>hGJB2 GRE3</i>	<i>mfGJB2 GRE6</i>
<i>hGJB2 GRE2</i>	<i>mfGJB2 GRE5</i>

10

【0083】

いくつかの実施形態では、単離された核酸は、1つ以上(例、1、2、3、4、5、6、7、9、またはそれ以上)のエンハンサー(例、GJB2エンハンサー)を含む。いくつかの実施形態では、単離された核酸は2つ以上のエンハンサーを含み、2つ以上のエンハンサーは同じエンハンサーまたは異なるエンハンサーである。いくつかの実施形態では、GJB2 GREはプロモーターの5'側に配置される。いくつかの実施形態では、GJB2 GREはプロモーターの3'側に配置される。いくつかの実施形態では、単離された核酸中の(1または複数の)GJB2エンハンサーの存在は、単離された核酸によってコードされるGJB2タンパク質の細胞型特異的発現を促進する。いくつかの実施形態では、GJB2遺伝子を通常発現する細胞(例、コルチ器およびその近傍領域の線維細胞および支持細胞)は、GJB2エンハンサーによって調節されるGJB2発現を活性化する転写ネットワークを有するが、GJB2を通常発現しない細胞(例、有毛細胞およびらせん神経節ニューロン)では活性化しない。

20

【0084】

いくつかの実施形態では、単離された核酸の発現カセットは、5' UTRをさらに含む。いくつかの実施形態では、5' UTRは、ゲノムGJB2遺伝子の天然の5' UTRである。5' 非翻訳領域(5' UTR)(リーダー配列またはリーダーRNAとしても公知)は、開始コドンのすぐ上流にあるmRNAの領域である。5' UTRは、下流遺伝子(例、GJB2遺伝子)の転写調節および翻訳調節の両方において重要な役割を果たす。いくつかの実施形態では、GJB2 5' UTRをコードするヌクレオチド配列を含む単離された核酸はまた、細胞特異的様式(例、GJB2を通常発現する細胞においてGJB2を発現すること)でGJB2を発現することが可能である。いくつかの実施形態では、GJB2 5' UTRをコードするヌクレオチド配列は、完全長ヒトGJB2遺伝子5' UTRをコードするヌクレオチド配列の一部を含む。いくつかの実施形態では、5' UTRは、ヒトGJB2遺伝子エクソン1の5' UTRである。いくつかの実施形態では、5' UTRをコードするヌクレオチド配列は、天然の完全長5' UTR(例、ヒトGJB2遺伝子エクソン1の5' UTR)の少なくとも100個の連続するヌクレオチド、少なくとも200個の連続するヌクレオチド、少なくとも300個の連続するヌクレオチド、少なくとも400個の連続するヌクレオチド、少なくとも500個の連続するヌクレオチド、少なくとも600個の連続するヌクレオチド、少なくとも700個の連続するヌクレオチド、少なくとも800個の連続するヌクレオチド、少なくとも900個の連続するヌクレオチド、少なくとも1000個の連続するヌクレオチド、またはそれ以上を含む。いくつかの実施形態では、発現カセットは、ヒトGJB2遺伝子5' UTR(例、ヒトGJB2遺伝子エクソン1の5' UTR)をコードするヌクレオチド配列と少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%

30

40

50

、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%の配列同一性を有する、5' UTRをコードするヌクレオチド配列を含む。いくつかの実施形態では、発現カセットは、配列番号53に示される連続する300 bpのヒトGJB2遺伝子5' UTR(例、ヒトGJB2遺伝子エクソン1の5' UTR)をコードするヌクレオチド配列と少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%の配列同一性を有する、5' UTRをコードするヌクレオチド配列を含む。いくつかの実施形態では、300 bpのヒトGJB2遺伝子エクソン1の5' UTRをコードする例示的なヌクレオチド配列は、配列番号53に示されるヌクレオチド配列を有する:

10

```
GGGGTGC GGTTAAAGGCGCCACGGCGGGAGACAGGTGTTGCGGCCCCGCGAGCGCC  
CGCGCGCTCCTCTCCCCGACTCGGAGCCCTCGGCGGGCGCCCGGCCAGGACCCGC  
CTAGGAGCGCAGGAGCCCCAGCGCAGAGACCCCAACGCCGAGACCCCGCCCCGGC  
CCCGCCGCGCTTCCTCCCGACGCAGAGCAAACCGCCAGAGTAG  
【0085】
```

いくつかの実施形態では、細胞特異的GJB2発現は、基本プロモーターおよびGJB2 5' UTRまたはその一部(基本プロモーター/5' UTR)をコードするヌクレオチド配列の組み込みによって達成される。いくつかの実施形態では、発現カセット(例、GJB2発現カセット)は、5' UTRをコードするヌクレオチド配列を含む。いくつかの実施形態では、単離された核酸は、1つ以上のGJB2 GRE(例、GJB2エンハンサー)をコードするさらなるヌクレオチド配列をさらに含むことができる。GJB2 GREをコードするヌクレオチド配列および基本プロモーター/5' UTRをコードするヌクレオチド配列は、任意の順序で置かれることができる。いくつかの実施形態では、GJB2 GREをコードするヌクレオチド配列は、基本プロモーター/5' UTRをコードするヌクレオチド配列の5'側に置かれる。いくつかの実施形態では、GJB2基本プロモーター/5' UTRをコードするヌクレオチド配列を含む単離された核酸はまた、細胞特異的様式(例、GJB2を通常発現する細胞においてGJB2を発現すること)でGJB2を発現することが可能である。いくつかの実施形態では、基本プロモーター/5' UTRをコードするヌクレオチド配列は、完全長ヒトGJB2遺伝子5' UTRをコードするヌクレオチド配列の一部を含む。いくつかの実施形態では、5' UTRは、天然の完全長5' UTR(例、GJB2 5' UTR)の少なくとも100個の連続するヌクレオチド、少なくとも200個の連続するヌクレオチド、少なくとも300個の連続するヌクレオチド、少なくとも400個の連続するヌクレオチド、少なくとも500個の連続するヌクレオチド、少なくとも600個の連続するヌクレオチド、少なくとも700個の連続するヌクレオチド、少なくとも800個の連続するヌクレオチド、少なくとも900個の連続するヌクレオチド、少なくとも1000個の連続するヌクレオチド、またはそれ以上を含む。いくつかの実施形態では、5' UTRは、ヒトGJB2遺伝子エクソン1の5' UTRである。いくつかの実施形態では、発現カセットは、基本プロモーターおよび約300 bpのヒトGJB2遺伝子5' UTR(例、ヒトGJB2遺伝子エクソン1の5' UTR)をコードするヌクレオチド配列(配列番号30)と少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%の配列同一性を有する、基本プロモーター/5' UTRをコードするヌクレオチド配列を含む。いくつかの実施形態では、300 bpのヒトGJB2遺伝子基本プロモーター/エクソン1の5' UTRをコードする例示的なヌクレオチド配列は、配列番号30に示されるヌクレオチド配列を有する:

20

30

40

50

【化 1】

GGGTTCTGGGGCTTTCTGGGGGCGGTCTGGGGGTTCGCGGACCCGGGAAGCTCTGAGGACCCAGA
GGCCGGGGCGCGCTCCGCCCCGCGGCGCCGCCCCCTCCGTAACCTTTCCAGTCTCCGAGGGAAG
AGGCGGGGTGTGGGGTTCGGGTTAAAAGGCGCCACGGCGGGAGACAGGTGTTGCGGCCCCGCA
GCGCCCCGCGCGCTCCTCTCCCCGACTCGGAGCCCCCTCGGCGGCGCCCCGGCCCCAGGACCCGCC
TAGGAGCGCAGGAGCCCCAGCGCAGAGACCCCAACGCCGAGACCCCCGCCCCGGCCCCGCCG
CGCTTCCTCCCGACGCAGAGCAAACCGCCCAGAGTAG

【0086】

いくつかの実施形態では、発現カセット(例、GJB2発現カセット)内の基本プロモーター/5' UTR(例、ヒトGJB2基本プロモーター/エクソン1の5' UTR)をコードするヌクレオチド配列は、イントロンまたはその一部をさらに含む。いくつかの実施形態では、単離された核酸の発現カセット(例、GJB2発現カセット)は、GJB2遺伝子のイントロン1の保存された配列をさらに含む。いくつかの実施形態では、イントロン(例、ヒトGJB2イントロン1)をコードするヌクレオチド配列は、配列番号54と少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%の配列同一性を有する。GJB2イントロン1の保存された配列をコードする例示的なヌクレオチド配列は配列番号54に示される:

AAGCAGGTGAGTTTGTGGTGTGCGCGATGTCCCTTCGGGGTACTCTAGCGCAGCCG
CCTGGCTACTTGACCACTGCCACCAACGTTTTTAAATTCACCGAAAGCTTAGCTT
CGAAGCAAAGCTCCGTTTTCGCCGGTGAAGCAGGAAGCCTTCGCTGCAGGAACTGAC
CTTTACCTCTTGAGCGGCTTCTGCAGAAAAATCCCCGGGCAGAGATTTGGGCGGA
GTTTGCCTAGAACTAACGCGGGAGCCAGCCGATCCCGGCCTACCCCGGGGCCAAGAT
TTTTAAGGGGTGAAGAGTCCCTTTTGCCTTTTCTGGATCCTGGTGATTACCTAGTGT
CTTCCCTAAGGAACTGAACCAACTCCTCCGCTGGCCTCTGGCAGCCCTCCAGGCGG
TGCAGGATGGCGTGGGCCCCGGTAGGAAGCTGCATGTAACCGCCCAGGGTCGGGAGG
CCAGGAGGGCAGCTCCTCCTCTGACTTGAATATTGAAAACAAGAGGATGCTTTTAA
GAAAAAGAAGAAGGAGGATTCCTACTACCAGCTCTGAAGGGTGGAAAAAGAGATGATTC
ATCCGGATTGTGGAGAGGGTGGAAATCTTGTTTAGGAGAGCGTTGGTTGTGGCAGGC
AGGGTGTAACCTATGAATCAGTGAAGACAATTCACATCCTGGGATGAAAAGAAGGCC
ATGGGCTCACAGGAGATTATCCACTGGCCTCTCCACATCCGCTTGAGTAAGGAGT
GTGGGACTCTCCAAGCTTCAGCGCTGAACTGCAATGCAGTGACGTCGCTTAAGA

【0087】

いくつかの実施形態では、基本プロモーター/5' UTR/イントロンをコードするヌクレオチド配列は、配列番号31と少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%の配列同一性を有する。ヒトGJB2基本プロモーター/5' UTR/イントロン1の保存された配列をコードする例示的なヌクレオチド配列は配列番号31に示される:

10

20

30

40

【化 2】

GGGTTTCGGGGCTTTCGGGGGCGGTTCGGGGGTTTCGCGGACCCGGGAAGCTCTGAGGACCCAGA
GGCCGGGCGCGCTCCGCCCCGGGCGCCGCCCTCCGTAACCTTTCCCAGTCTCCGAGGGAAG
AGGCGGGGTGTGGGGTTCGGGTTAAAAGGCGCCACGGCGGGAGACAGGTGTTGCGGCCCCGCA
GCGCCCCGCGCGCTCCTCTCCCCGACTCGGAGCCCCCTCGGCGGCGCCCGGCCAGGACCCGCC
TAGGAGCGCAGGAGCCCCAGCGCAGAGACCCCAACGCCGAGACCCCCGCCCCGGCCCCGCCG
CGCTTCCTCCCGACGCAGAGCAAACCGCCCCAGAGTAGAAGCAGGTGAGTTTGTGGTGTGCGC
GATGTCCCTTCGGGGTACTCTAGCGCAGCCGCTGGCTACTTGACCCACTGCCACCAAACGT
TTTAAATTCACCGAAAGCTTAGCTTCGAAGCAAAGCTCCGTTTTCGCCGGTGAAGCAGGAAGC
CTTCGCTGCAGGAAGTACCTTTACCTCTTGAGCGGCTTCTGCAGAAAAATCCCCGGGCAG
AGATTTGGGCGGAGTTTGCCTAGAACTAACGCGGAGCCAGCCGATCCCCGGCCTACCCCGGGG
CCAAGATTTTAAAGGGGTGAAGAGTCCCTTTTGCCTTTTCTGGATCCTGGTGATTACCTAGT
GTCTTCCCTAAGGAAGTGAACCAACTCCTCCGCTGGCCTCTGGCAGCCCTCCAGGCGGTGCA
GGATGGCGTGGGCCCCGGTAGGAAGCTGCATGTAACCGCCCAGGGTTCGGGAGGCCAGGAGGGC
AGCTCCTCCTCTGACTTGAATATTGAAAACAAGAGGATGCTTTTAAGAAAAAGAAGAAGGAG
GATTCACCTACCAGCTCTGAAGGGTGGAAAAGAGATGATTCATCCGGATTGTGGAGAGGGTGG
AATCTTGTITAGGAGAGCGTTGGTTGTGGCAGGCAGGGTGTAACCTATGAATCAGTGAAGACA
ATTCACATCCTGGGATGAAAAGAAGGCCATGGGCTCACAGGAGATTATCCACTGGCCTCTCC
ACATCCGCTTGCAAGGAGTGTGGGACTCTCCCAAGCTTCAGCGCTGAACTGCAATGCAG
TGACGTCGCTTAAGA

10

20

【0088】

いくつかの実施形態では、発現カセット(例、GJB2発現カセット)は、ヒトGJB2遺伝子の近位プロモーターをコードするヌクレオチド配列を含む。いくつかの実施形態では、ヒトGJB2遺伝子の近位プロモーターは、配列番号102に示されるヌクレオチド配列と少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%の配列同一性を有する。いくつかの実施形態では、ヒトGJB2遺伝子近位プロモーターをコードする例示的なヌクレオチド配列は、配列番号102に示されるヌクレオチド配列を有する。いくつかの実施形態では、発現カセット(例、GJB2発現カセット)は、配列番号102を含む:

30

GACCTCGAAGGGGACTTGGGGGGTTTCGGGGGCTTTCGGGGGCGGTTCGGGGGTTTCGCG
GACCCGGGAAGCTCTGAGGACCCAGAGGCCGGGCGCGCTCCGCCCCGCGGCGCCGCC
CCCTCCGT

【0089】

いくつかの実施形態では、発現カセット(例、GJB2発現カセット)は、ヒトGJB2遺伝子の5' UTRをコードするヌクレオチド配列を含む。いくつかの実施形態では、ヒトGJB2遺伝子の5' UTRは、配列番号103またはCCに示されるヌクレオチド配列と少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%の配列同一性を有する。いくつかの実施形態では、ヒトGJB2遺伝子5' UTRをコードする例示的なヌクレオチド配列は、配列番号103またはCCに示されるヌクレオチド配列を有する。いくつかの実施形態では、ヒトGJB2遺伝子5' UTRをコードする例示的なヌクレオチド配列は、配列番号103および配列番号104を含むヌクレオチド配列を有する。いくつかの実施形態では、発現カセット(例、GJB2発現カセット)は、配列番号103を含む:

40

AACTTTCCCAGTCTCCGAGGGAAGAGGCGGGGTGTGGGGTTCGGGTTAAAAGGCGCC
ACGGCGGGAGACAGGTGTTGCGGCCCGCAGCGCCCGCGCGCTCCTCTCCCCGACT
CGGAGCCCCTCGGCGGCGCCCGGCCAGGACCCGCCTAGGAGCGCAGGAGCCCCAG

50

CGCAGAGACCCCAACGCCGAGACCCCGCCCCGGCCCCGCCGCGCTTCCTCCCGAC
GCAG

【0090】

いくつかの実施形態では、発現カセット(例、GJB2発現カセット)は、配列番号104を含む:

AGCAAACCGCCCAGAGTAGAAG

【0091】

いくつかの実施形態では、発現カセット(例、GJB2発現カセット)は、ヒトGJB2遺伝子の近位プロモーターおよび5' UTRをコードするヌクレオチド配列を含む。いくつかの実施形態では、ヒトGJB2遺伝子の近位プロモーターおよび5' UTRは、配列番号105に示されるヌクレオチド配列と少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%の配列同一性を有する。いくつかの実施形態では、ヒトGJB2遺伝子近位プロモーターおよび5' UTRをコードする例示的なヌクレオチド配列は、配列番号105に示されるヌクレオチド配列を有する:いくつかの実施形態では、発現カセット(例、GJB2発現カセット)は、配列番号105を含む:

GACCTCGAAGGGGACTTGGGGGGTTTCGGGGGCTTTCGGGGGCGGTCGGGGGGTTCGCG
GACCCGGGAAGCTCTGAGGACCCAGAGGCCGGGGCGCGCTCCGCCCCGCGGCGCCGCC
CCCTCCGTAACCTTCCAGTCTCCGAGGGAAGAGGCGGGGTGTGGGGTGCGGTTAA
AAGGCGCCACGGCGGGAGACAGGTGTTGCGGCCCGCAGCGCCCGCGCGCTCCTCT
CCCCGACTCGGAGCCCCCTCGGCGGCGCCCCGGCCCAGGACCCGCCTAGGAGCGCAGG
AGCCCCAGCGCAGAGACCCCAACGCCGAGACCCCGCCCCGGCCCCGCGCGCTTC
CTCCCGACGCAGAGCAAACCGCCCAGAGTAGAAG

【0092】

本明細書において記載される単離された核酸はまた、望ましくはプロモーター/エンハンサー配列とタンパク質コード配列(例、GJB2タンパク質をコードするヌクレオチド配列)との間に位置する人工イントロンを含有し得る。いくつかの実施形態では、イントロンは合成または人工(例、異種)イントロンである。合成イントロンの例としては、SV-40に由来するイントロン配列(SV-40 Tイントロン配列と呼ばれる)およびニワトリベータ-アクチン遺伝子に由来するイントロン配列を包含する。いくつかの実施形態では、本開示によって記載される導入遺伝子は、1つ以上(1、2、3、4、5またはそれ以上)の人工イントロンを含む。いくつかの実施形態では、1つ以上のイントロンは、プロモーターとGJB2タンパク質をコードするヌクレオチド配列との間に配置される。

【0093】

いくつかの実施形態では、発現カセット(例、GJB2)は、GJB2タンパク質をコードするヌクレオチド配列の3'側に位置する3' UTRをコードするヌクレオチド配列をさらに含む。いくつかの実施形態では、3' UTRはGJB2遺伝子3' UTRである。いくつかの実施形態では、3' UTRはGJB2遺伝子エクソン2の3' UTRである。いくつかの実施形態では、3' UTRをコードするヌクレオチド配列は、配列番号32と少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%の配列同一性を有する。GJB2遺伝子エクソン2の3' UTRをコードする例示的なヌクレオチド配列は配列番号32に示される:

CGCATTGCCAGTTGTTAGATTAAGAAATAGACAGCATGAGAGGGATGAGGCAACC
CGTGCTCAGCTGTCAAGGCTCAGTCGCTAGCATTTCCCAACACAAAGATTCTGACC
TTAAATGCAACCATTTGAAACCCCTGTAGGCCTCAGGTGAAACTCCAGATGCCACA
ATGGAGCTCTGCTCCCTAAAGCCTCAAAACAAAGGCCTAATTCTATGCCTGTCTT
AATTTTCTTTCACTTAAGTTAGTTCCACTGAGACCCCAGGCTGTTAGGGGTTATTG

GTGTAAGGTACTTTTCATATTTTAAACAGAGGATATCGGCATTTGTTTCTTTCTCTGA
GGACAAGAGAAAAAAGCCAGGTTCCACAGAGGACACAGAGAAGGTTTGGGTGTCCT
CCTGGGGTTCTTTTTGCCAACTTTCCCCACGTTAAAGGTGAACATTGGTTCTTTTCAT
TTGCTTTGGAAGTTTTAATCTCTAACAGTGGACAAAGTTACCAGTGCCTTAAACTC
TGTTACACTTTTTTGGAAAGTGAAACTTTGTAGTATGATAGGTTATTTTGATGTAAA
GATGTTCTGGATACCATTATATGTTCCCCCTGTTTCAGAGGCTCAGATTGTAATAT
GTAAATGGTATGTCATTTCGCTACTATGATTTAATTTGAAATATGGTCTTTTGTTAT
GAATACTTTGCAGCACAGCTGAGAGGCTGTCTGTTGTATTTCATTGTGGTCATAGCA
CCTAACAAACATTGTAGCCTCAATCGAGTGAGACAGACTAGAAGTTCCTAGTGATGG
CTTATGATAGCAAATGGCCTCATGTCAAATATTTAGATGTAATTTTGTGTAAGAAA
TACAGACTGGATGTACCACCACTACTACCTGTAATGACAGGCCTGTCCAACACAT
CTCCCTTTTCCATGACTGTGGTAGCCAGCATCGGAAAGAACGCTGATTTAAAGAGG
TCGCTTGGGAATTTTATTGACACAGTACCATTTAATGGGGAGGACAAAATGGGGCA
GGGGAGGGAGAAGTTTCTGTCGTTAAAAACAGATTTGGAAAGACTGGACTCTAAAG
TCTGTTGATTAAAGATGAGCTTTGTCTACTTCAAAAGTTTGTGTTGCTTACCCCTTCA
GCCTCCAATTTTTTAAAGTGAAAATATAGCTAATAACATGTGAAAAGAATAGAAGCT
AAGGTTTAGATAAATATTGAGCAGATCTATAGGAAGATTGAACCTGAATATTGCCA
TTATGCTTGACATGGTTTCCAAAAAATGGTACTCCACATATTTTCAGTGAGGGTAAG
TATTTTCTGTTGTCAAGAATAGCATTGTAAAAGCATTTTGTAATAATAAAGAATA
GCTTTAATGATATGCTTGTAATAAATAATTTTGTAAATGTATCAAATACATTTAA
AACATTAAAATATAATCTCTATAATAA

10

20

【0094】

いくつかの実施形態では、単離された核酸の発現カセットは、ある細胞型(例、有毛細胞またはらせん神経節ニューロン)における導入遺伝子発現(例、GJB2発現)を制限または減少させる脱標的化剤を含む。いくつかの実施形態では、発現への1つ以上のmiRNA結合部位の組み込みは、細胞型特異的様式での(例、有毛細胞またはらせん神経節ニューロンでの)導入遺伝子発現の脱標的化を可能にする。いくつかの実施形態では、1つ以上のmiRNA結合部位は、3' UTR(例、単離された核酸の発現カセットのGJB2エクソン2の3' UTR)に配置される。

【0095】

30

いくつかの実施形態では、発現カセットは、GJB2を通常発現しない細胞(例、有毛細胞またはらせん神経節ニューロン)からのGJB2の発現を脱標的化する1つ以上(例、1、2、3、4、5、またはそれ以上)のmiRNA結合部位を含む。いくつかの実施形態では、単離された核酸の発現カセットは、ニューロン細胞(例、らせん神経節ニューロン)を脱標的化するための1つ以上のmiR結合部位、例として、Jovicic et al., Comprehensive Expression Analyses of Neural Cell-Type-Specific miRNAs Identify New Determinants of the Specification and Maintenance of Neuronal Phenotypes, J Neurosci. 2013 Mar 20; 33(12): 5127-5137に記載のニューロン濃縮miR(neuron enriched miR)のための結合部位を含み、当該文献は参照により本明細書に組み込まれる。ニューロン濃縮miRの非限定的な例としては、miR-124、miR-127、miR-129、miR-129*、miR-136、miR-136*、miR-137、miR-154、miR-300-3p、miR-323、miR-329、miR-341、miR-369-5p、miR-376a、miR-376b-3p、miR-376c、miR-379、miR-382、miR-382*、miR-410、miR-411、miR-433、miR-434、miR-495、miR-541、miR-543*、miR-551b、miR-143、miR-449a、miR-219-2-3p、miR-126、miR-126*、miR-141、miR-142-3p、miR-142-5p、miR-146a、miR-150、miR-200c、またはmiR-223を包含する。いくつかの実施形態では、単離された核酸の発現カセットは、有毛細胞(例、内有毛細胞または外有毛細胞)を脱標的化するための1つ以上のmiR結合部位、例として、Li et al., MicroRNAs in hair cell development and deafness, Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg. 2010 Oct; 18(5): 459-465に記載の有毛細胞濃縮miRのための結合部位を

40

50

含み、当該文献は参照により本明細書に組み込まれる。ニューロン濃縮miRの非限定的な例としては、miR-96、miR-182、miR-183、miR-18aまたはmiR-99aを包含する。いくつかの実施形態では、発現カセットのGJB2エクソン2の3' UTRは、ニューロン細胞および有毛細胞を脱標的化するための1つ以上のmiR結合部位を含む。いくつかの実施形態では、発現カセットのGJB2エクソン2の3' UTRは、miR-124のための1つ以上のmiR結合部位を含む。

【0096】

本開示の態様は、本明細書において記載される単離された核酸を含む遺伝子療法ベクターに関する。遺伝子療法ベクターは、ウイルスベクター(例、レンチウイルスベクター、アデノ随伴ウイルスベクター、アデノウイルス(Ad)ベクターなど)、プラスミド、クロ

10

【0097】

本開示の単離された核酸は、組換えアデノ随伴ウイルス(AAV)ベクター(rAAVベクター)であり得る。いくつかの実施形態では、本開示によって記載される単離された核酸は、2つのアデノ随伴ウイルス(AAV)逆方向末端反復(ITR)配列またはその変異体を含む。単離された核酸(例、組換えAAVベクター)は、カプシドタンパク質にパッケージングされ、対象に投与され、および/または選択された標的細胞に送達され得る。「組換えAAV(rAAV)ベクター」は、典型的には、最低でも、発現カセット(例、GJB2の発現カセット)、ならびに5'および3' AAV逆方向末端反復配列(ITR)から構成される。単離された核酸はまた、例えば、5'および3'非翻訳領域(UTR)および/または発現制御配列(例、ポリA

20

【0098】

一般に、ITR配列は約145 bp長である。好ましくは、ITRをコードする実質的に全配列が単離された核酸において使用されるが、これらの配列のある程度の軽微な改変は許容される。これらのITR配列を改変する能力は、当業者の技能の範囲内である。(例、Sambrook et al., Molecular Cloning. A Laboratory Manual, 2d ed., Cold Spring Harbor Laboratory, New York(1989); and K. Fisher et al., J Virol., 70:520-532(1996)などのテキストを参照されたい)本発明で使用されるそのような分子の例は、GJB2タンパク質をコードする発現カセットを含む単離された核酸であり、ヌクレオチド配列GJB2タンパク質とGJB2遺伝子調節エレメント(GRE)とを含む発現カセットは、5'および3' AAV ITR配列に隣接されている。AAV ITR配列は、現在同定されている哺乳動物AAVタイプを包含する任意の公知のAAVから得られ得る。いくつかの実施形態では、単離された核酸(例、rAAVベクター)は、AAV1、AAV2、AAV5、AAV6、AAV6.2、AAV7、AAV8、AAV9、AAV10、AAV11およびそれらの変異体から選択される血清型を有する少なくとも1つのITRを含む。いくつかの実施形態では、単離された核酸は、AAV2 ITRをコードする領域(例、第1の領域)を含む。

30

40

【0099】

いくつかの実施形態では、単離された核酸は、第2のAAV ITRを含む領域(例、第2の領域、第3の領域、第4の領域など)をさらに含む。いくつかの実施形態では、第2のAAV ITRは、AAV1、AAV2、AAV5、AAV6、AAV6.2、AAV7、AAV8、AAV9、AAV10、AAV11およびそれらの変異体から選択される血清型を有する。いくつかの実施形態では、第2のAAV ITRはAAV2 ITRである。いくつかの実施形態では、第2のITRは、機能的末端解離部位(TRS)を欠く突然変異ITRである。「末端解離部位を欠く」という用語は、ITRの末端解離部位(TRS)の機能を無効にする突然変異(例、非同義突然変異などのセンス変異、ミスセンス突然変異)を含むAAV ITR、または機能的TRSをコードする核酸配列を欠く切断型AAV ITR(例、ΔTRS ITR、またはΔITR)を指すことができる。いかな

50

る特定の理論にも拘束されることを望むものではないが、機能的TRSを欠くITRを含むrAAVベクターは、例えば、McCarthy(2008)Molecular Therapy 16(10):1648-1656に記載されているように、自己相補的rAAVベクターを産生する。いくつかの実施形態では、単離された核酸は、5' AAV2 ITRおよび3' AAV2 ITRを含む。

【0100】

例示的な5' AAV2 ITRヌクレオチド配列は配列番号34に示される:

TTGGCCACTCCCTCTCTGCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGGCCGGGCGACCAAAGGT
CGCCCGACGCCCGGGCTTTGCCCGGGCGGCCTCAGTGAGCGAGCGAGCGCGCAGAG
AGGGAGTGGCCAACTCCATCACTAGGGGGTTCTTAGAT

【0101】

例示的な5' ITRヌクレオチド配列は配列番号106に示される:

CTGCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGGCCGCCCGGGCAAAGCCCCGGGCGTCGGGCGAC
CTTTGGTTCGCCCGGCCTCAGTGAGCGAGCGAGCGCGCAGAGAGGGAGTGGCCAACT
CCATCACTAGGGGGTTCTCT

【0102】

例示的な3' AAV2 ITRヌクレオチド配列は配列番号35に示される:

CCCCTAGTGATGGAGTTGGCCACTCCCTCTCTGCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGGC
CGCCCGGGCAAAGCCCCGGGCGTTCGGGCGACCTTTGGTCGCCCGGCCTCAGTGAGCG
AGCGAGCGCGCAGAGAGGGGAGTGGCCA

【0103】

例示的な3' ITRヌクレオチド配列は配列番号107に示される:

AGGAACCCCTAGTGATGGAGTTGGCCACTCCCTCTCTGCGCGCTCGCTCGCTCACT
GAGGCCGGGCGACCAAAGGTCGCCCGACGCCCGGGCTTTGCCCGGGCGGCCTCAGT
GAGCGAGCGAGCGCGCAG

【0104】

いくつかの実施形態では、本明細書において記載される単離された核酸(例、rAAVベクター)は、配列番号34または106と少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%の配列同一性を有する5' ITR配列を含む。

【0105】

いくつかの実施形態では、本明細書において記載される単離された核酸(例、rAAVベクター)は、配列番号35または107と少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%の配列同一性を有する3' ITR配列を含む。

【0106】

いくつかの実施形態では、本明細書において記載される単離された核酸(例、rAAVベクター)は、転写後応答エレメントを含む。本明細書において使用される場合、「転写後応答エレメント」という用語は、転写されると、遺伝子の発現を増強する三次構造をとる核酸配列を指す。転写後調節エレメントの例としては、限定するものではないが、ウッドチャック肝炎ウイルス転写後調節エレメント(WPRE)、マウスRNA輸送エレメント(RTE)、サルレトロウイルス1型(SRV-1)の構成的輸送エレメント(CTE)、メイソン-ファイザーサルウイルス(MPMV)由来のCTE、およびヒト熱ショックタンパク質70の5'非翻訳領域(Hsp70 5'UTR)を包含する。いくつかの実施形態では、単離された核酸(例、rAAVベクター)は、ウッドチャック肝炎ウイルス転写後調節エレメント(WPRE)を含む。

【0107】

いくつかの実施形態では、本明細書において記載される単離された核酸(例、rAAVベ

クター)は、配列番号108と少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%の配列同一性を有する転写後応答エレメントを含む。例示的な転写後応答エレメントは配列番号108に示される:

```
GATAATCAACCTCTGGATTACAAAATTTGTGAAAGATTGACTGGTATTCTTAACTA
TGTTGCTCCTTTTACGCTATGTGGATACGCTGCTTTAATGCCTTTGTATCATGCTAT
TGCTTCCCGTATGGCTTTTCAATTTCTCCTCCTTGTATAAATCCTGGTTGCTGTCTCT
TTATGAGGAGTTGTGGCCCGTTGTTCAGGCAACGTGGCGTGGTGTGCACTGTGTTTG
CTGACGCAACCCCCACTGGTTGGGGCATTGCCACCACCTGTCAGCTCCTTTCCGGG
ACTTTTCGCTTTCCCCCTCCCTATTGCCACGGCGGAACCTCATCGCCGCCTGCCTTGCC
CGCTGCTGGACAGGGGCTCGGCTGTTGGGCACTGACAATTCCGTGGTGTGTCGGG
GAAATCATCGTCCTTTCCCTTGGCTGCTCGCCTGTGTTGCCACCTGGATTCTGCGCGG
GACGTCCTTCTGCTACGTCCCTTCGGCCCTCAATCCAGCGGACCTTCCTTCCCGCGG
CCTGCTGCCGGCTCTGCGGCCTCTTCCGCGCTCTTCGCCTTCGCCCTCAGACGAGTCG
GATCTCCCTTTGGGCGCGCTCCCCGCATCGGACTAG
```

10

【0108】

いくつかの実施形態では、ベクターは、ベクターでトランスフェクトされた細胞、または本開示によって産生されたウイルスに感染した細胞においてその転写、翻訳、および/または発現を可能にする様式で、GJB2コード配列のエレメントと作動可能に連結された従来の制御エレメントをさらに含む。発現制御配列は、適切な転写開始、終結;スプライシングおよびポリアデニル化(ポリA)シグナルなどの効率的なRNAプロセッシングシグナル;細胞質mRNAを安定化する配列;翻訳効率を増強する配列(例、コザックコンセンサス配列);タンパク質の安定性を増強する配列を包含する。ポリアデニル化配列は、一般に、コード配列の後、および任意選択的に3' AAV ITR配列の前に挿入される。本開示において有用なrAAV構築物はまた、望ましくはプロモーター/エンハンサー配列と導入遺伝子との間に位置するイントロンを含有し得る。

20

【0109】

いくつかの実施形態では、本明細書において記載される単離された核酸(例、rAAVベクター)は、配列番号109と少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%の配列同一性を有するポリアデニル化シグナル配列を含む。例示的なポリアデニル化シグナル配列は配列番号109に示される:

30

```
GTCGACTAGAGCTCGCTGATCAGCCTCGACTGTGCCTTCTAGTTGCCAGCCATCTG
TTGTTTGCCCTCCCCCGTGCTTCTTACCCCTGGAAGGTGCCACTCCCACTGTCC
TTTCCTAATAAAATGAGGAAATTGCATCGCATTGTCTGAGTAGGTGTCATTCTATT
CTGGGGGGGTGGGGTGGGGCAGGACAGCAAGGGGGAGGATTGGGAAGACAATAGCAG
GCATGCTGGGGA
```

【0110】

40

いくつかの実施形態では、本明細書において記載されるAAVベクターは、GJB2近位プロモーター(例、配列番号102)、GJB2 5' UTR(例、配列番号103およびCC)、GJB2遺伝子産物をコードするヌクレオチド配列(例、配列番号2)、GJB2 3' UTR(例、配列番号32)、WPRE(例、配列番号108)、およびウシ成長ホルモンポリAシグナル(例、配列番号109)を含む。いくつかの実施形態では、本明細書において記載されるAAVベクターは、配列番号110と少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%の配列同一性を有するヌクレオチド配列を含む。例示的なAAVベクター配列は配列番号110に示される:

50

GACCTCGAAGGGGACTTGGGGGGTTTCGGGGGCTTTTCGGGGGCGGTCGGGGGGTTTCGCG
GACCCGGGAAGCTCTGAGGACCCAGAGGCCGGGGCGCGCTCCGCCCGCGGCGCCGCC
CCCTCCGTAACCTTTCCCAGTCTCCGAGGGAAGAGGCGGGGTGTGGGGTGCGGTTAA
AAGGCGCCACGGCGGGAGACAGGTGTTGCGGCCCGCAGCGCCCGCGCGCTCCTCT
CCCCGACTCGGAGCCCCCTCGGCGGGCGCCCGGCCAGGACCCGCCTAGGAGCGCAGG
AGCCCCAGCGCAGAGACCCCAACGCCGAGACCCCCGCCCCGGCCCCGCGCGCTTC
CTCCCGACGCAGAGCAAACCGCCCCAGAGTAGAAGCGGATCCGCCACCATGGATTGG
GGCACGCTGCAGACGATCCTGGGGGGTGTGAACAAACACTCCACCAGCATTGGAAA
GATCTGGCTCACCGTCTCTTTCATTTTTTCGCATTATGATCCTCGTTGTGGCTGCAAA
GGAGGTGTGGGGAGATGAGCAGGCCGACTTTGTCTGCAACACCCTGCAGCCAGGCT
GCAAGAACGTGTGCTACGATCACTACTTCCCCATCTCCACATCCGGCTATGGGCC
CTGCAGCTGATCTTCGTGTCCACGCCAGCGCTCCTAGTGGCCATGCACGTGGCCTA
CCGGAGACATGAGAAGAAGAGGAAGTTCATCAAGGGGGAGATAAAGAGTGAATTTA
AGGACATCGAGGAGATCAAAACCCAGAAGGTCCGCATCGAAGGCTCCCTGTGGTGG
ACCTACACAAGCAGCATCTTCTTCCGGGTCTCTTCGAAGCCGCCTTCATGTACGT
CTTCTATGTCATGTACGACGGCTTCTCCATGCAGCGGCTGGTGAAGTGCAACGCCT
GGCCTTGTCCCAACACTGTGGACTGCTTTTGTGTCCCGGCCACGGAGAAGACTGTC
TTCACAGTGTTTCATGATTGCAGTGTCTGGAATTTGCATCCTGCTGAATGTCACTGA
ATTGTGTTATTTGCTAATTAGATATTGTTCTGGGAAGTCAAAAAAGCCAGTTTACC
CATACGATGTTCCAGATTACGCTTAAGGCGCGCCACCCCTGCAGGGAATTCCGCAT
TGCCCAGTTGTTAGATTAAGAAATAGACAGCATGAGAGGGATGAGGCAACCCGTGC
TCAGCTGTCAAGGCTCAGTCGCTAGCATTTCCCAACACAAAGATTCTGACCTTAAA
TGCAACCATTTGAAACCCCTGTAGGCCTCAGGTGAAACTCCAGATGCCACAATGGA
GCTCTGCTCCCCTAAAGCCTCAAAACAAAGGCCTAATTCTATGCCTGTCTTAATTTT
CTTTCACCTTAAGTTAGTTCCACTGAGACCCAGGCTGTTAGGGGTTATTGGTGTA
GGTACTTTTCATATTTTAAACAGAGGATATCGGCATTTGTTTCTTCTCTGAGGACA
AGAGAAAAAAGCCAGGTTCCACAGAGGACACAGAGAAGGTTTGGGTGTCCTCCTGG
GGTTCTTTTTTGCCAACCTTTCCCCACGTTAAAGGTGAACATTGGTTCTTTTCATTTGCT
TTGGAAGTTTTAATCTCTAACAGTGGACAAAGTTACCAGTGCCTTAAACTCTGTTA
CACTTTTTTGGAAGTGAAAACCTTTGTAGTATGATAGGTTATTTTGATGTAAAGATGT
TCTGGATACCATTATATGTTCCCCCTGTTTCAGAGGCTCAGATTGTAATATGTAAA
TGGTATGTCATTCGCTACTATGATTTAATTTGAAATATGGTCTTTTGTTTATGAATA
CTTTGCAGCACAGCTGAGAGGCTGTCTGTTGTATTTCATTGTGGTCATAGCACCTAA
CAACATTGTAGCCTCAATCGAGTGAGACAGACTAGAAGTTCCTAGTGATGGCTTAT
GATAGCAAATGGCCTCATGTCAAATATTTAGATGTAATTTTGTGTAAGAAATACAG
ACTGGATGTACCACCACTACTACCTGTAATGACAGGCCTGTCCAACACATCTCCC
TTTTCCATGACTGTGGTAGCCAGCATCGGAAAGAACGCTGATTTAAAGAGGTCGCT
TGGGAATTTTATTGACACAGTACCATTTAATGGGGAGGACAAAATGGGGCAGGGGA
GGGAGAAGTTTCTGTCTGTTAAAAACAGATTTGGAAAGACTGGACTCTAAAGTCTGT
TGATTAAAGATGAGCTTTGTCTACTTCAAAAGTTTGTGTTGCTTACCCCTTCAGCCTC
CAATTTTTTAAAGTGAAAATATAGCTAATAACATGTGAAAAGAATAGAAGCTAAGGT
TTAGATAAATATTGAGCAGATCTATAGGAAGATTGAACCTGAATATTGCCATTATG
CTTGACATGGTTTCCAAAAAATGGTACTCCACATATTTTCAGTGAGGGTAAGTATTT
TCCTGTTGTCAAGAATAGCATTGTAAAAGCATTTTGTAAATAATAAGAATAGCTTT
AATGATATGCTTGTAATAATAAATTTTGTAAATGTATCAAATACATTTAAACAT
TAAAATATAATCTCTATAATAATTTAAATCTAATATGGTTTTAATAGAACAGCGA
TATCAAGCTTATCGATGATAATCAACCTCTGGATTACAAAATTTGTGAAAGATTGA
CTGGTATTCTTAACCTATGTTGCTCCTTTTACGCTATGTGGATACGCTGCTTTAATGC
CTTTGTATCATGCTATTGCTTCCCGTATGGCTTTTCATTTTCTCCTCCTTGTATAAAT
CCTGGTTGCTGTCTCTTTATGAGGAGTTGTGGCCCGTTGTCAGGCAACGTGGCGTG

10

20

30

40

50

GTGTGCACTGTGTTTGTCTGACGCAACCCCCACTGGTTGGGGCATTGCCACCACCTG
TCAGCTCCTTTCCGGGACTTTTCGCTTTCCCCCTCCCTATTGCCACGGCGGAACATCAT
CGCCGCCTGCCTTGCCCGCTGCTGGACAGGGGCTCGGCTGTTGGGCACTGACAATT
CCGTGGTGTGTGTCGGGGAAATCATCGTCCTTTCTTGGCTGCTCGCCTGTGTTGCCA
CCTGGATTCTGCGCGGGGACGTCCTTCTGCTACGTCCTTTCGGCCCTCAATCCAGCG
GACCTTCCTTCCCGCGGCCTGCTGCCGGCTCTGCGGCCTCTTCCGCGTCTTCGCCTT
CGCCCTCAGACGAGTCGGATCTCCCTTTGGGCCGCTCCCCGCATCGGACTAGGAA
TTCATCGATACCGAGCGCTGCTCGAGAGATCTGTGATAGCGGCCATCAAGCTGGGT
CGACTAGAGCTCGCTGATCAGCCTCGACTGTGCCTTCTAGTTGCCAGCCATCTGTT
GTTTGCCCCCTCCCCCGTGCCTTCTTGAACCTGGAAGGTGCCACTCCCCTGTCCTT
TCCTAATAAAATGAGGAAATTGCATCGCATTGTCTGAGTAGGTGTCAATTCTATTCT
GGGGGGTGGGGTGGGGCAGGACAGCAAGGGGGAGGATTGGGAAGACAATAGCAGGC
ATGCTGGGGA

10

【0111】

いくつかの実施形態では、本明細書において記載されるAAVベクターは、5' ITR(例、配列番号106)、GJB2近位プロモーター(例、配列番号102)、GJB2 5' UTR(例、配列番号103およびCC)、GJB2遺伝子産物をコードするヌクレオチド配列(例、配列番号2)、GJB2 3' UTR(例、配列番号32)、WPRE(例、配列番号108)、ウシ成長ホルモンポリAシグナル(例、配列番号109)、および3' ITR(例、配列番号107)を含む。いくつかの実施形態では、本明細書に記載AAVベクターは、配列番号111と少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%の配列同一性を有するヌクレオチド配列を含む。例示的なAAVベクター配列は配列番号111に示される:

20

CTGCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGGCCGCCCCGGGCAAGCCCCGGGCGTCGGGCGAC
CTTTGGTTCGCCCCGGCCTCAGTGAGCGAGCGAGCGCGCAGAGAGGGAGTGGCCAACT
CCATCACTAGGGGTTCTTGTAGTTAATGATTAACCCGCCATGCTACTTATCTACCA
GGGTAATGGGGATCCTCTAGAACGCGTTTAATTAAGACCTCGAAGGGGACTTGGGG
GGTTTCGGGGCTTTCGGGGGCGGTTCGGGGGTTTCGCGGACCCGGGAAGCTCTGAGGAC
CCAGAGGCCGCGCGCTCCGCCCGCGGCGCCGCCCTCCGTAACCTTCCCAGTC
TCCGAGGGAAGAGGCGGGGTGTGGGGTTCGGTTAAAAGGCGCCACGGCGGGAGACA
GGTGTTCGCGCCCCGCGAGCGCCCGCGCGCTCCTCTCCCCGACTCGGAGCCCCCTCGG
CGGCGCCCCGGCCAGGACCCGCCTAGGAGCGCAGGAGCCCCAGCGCAGAGACCCCA
ACGCCGAGACCCCCGCCCCGGCCCCGCGCGCTTCTCTCCGACGCAGAGCAAACCG
CCCAGAGTAGAAGCGGATCCGCCACCATGGATTGGGGCACGCTGCAGACGATCCTG
GGGGGTGTGAACAAACACTCCACCAGCATTGGAAAGATCTGGCTCACCGTCCTCTT
CATTTTTTCGCATTATGATCCTCGTTGTGGCTGCAAAGGAGGTGTGGGGAGATGAGC
AGGCCGACTTTGTCTGCAACACCCTGCAGCCAGGCTGCAAGAACGTGTGCTACGAT
CACTACTTCCCCATCTCCACATCCGGCTATGGGCCCTGCAGCTGATCTTCGTGTCC
ACGCCAGCGCTCCTAGTGGCCATGCACGTGGCCTACCGGAGACATGAGAAGAAGAG
GAAGTTCATCAAGGGGGAGATAAAGAGTGAATTTAAGGACATCGAGGAGATCAAAA
CCCAGAAGGTCCGCATCGAAGGCTCCCTGTGGTGGACCTACACAAGCAGCATCTTC
TTCCGGGTTCATCTTCGAAGCCGCTTCATGTACGTCTTCTATGTTCATGTACGACGGC
TTCTCCATGCAGCGGCTGGTGAAGTGCAACGCCTGGCCTTGTCCCAACACTGTGGA
CTGCTTTGTGTCCCGGCCACGGAGAAGACTGTCTTCACAGTGTTTCATGATTGCAG
TGTCTGGAATTTGCATCCTGCTGAATGTCACTGAATTGTGTTATTTGCTAATTAGAT
ATTGTTCTGGGAAGTCAAAAAAGCCAGTTTACCCATACGATGTTCCAGATTACGCT
TAAGGCGCGCCACCCCTGCAGGGAATTCCGCATTGCCAGTTGTTAGATTAAGAAA
TAGACAGCATGAGAGGGATGAGGCAACCCGTGCTCAGCTGTCAAGGCTCAGTCGCT

30

40

50

AGCATTTCCCAACACAAAGATTCTGACCTTAAATGCAACCATTGTGAAACCCCTGTA
GGCCTCAGGTGAAACTCCAGATGCCACAATGGAGCTCTGCTCCCCTAAAGCCTCAA
AACAAAGGCCTAATTCTATGCCTGTCTTAATTTTCTTTCACTTAAGTTAGTTCCACT
GAGACCCCAGGCTGTTAGGGGTTATTGGTGTAAGGTACTTTTCATATTTTAAACAGA
GGATATCGGCATTTGTTTCTTTCTCTGAGGACAAGAGAAAAAAGCCAGGTTCCACA
GAGGACACAGAGAAGGTTTGGGTGTCCTCCTGGGGTTCTTTTTGCCAACTTTCCCC
ACGTTAAAGGTGAACATTGGTTCTTTCACTTTGCTTTGGAAGTTTTAATCTCTAACA
GTGGACAAAGTTACCAGTGCCTTAAACTCTGTTACACTTTTTGGAAGTGAAAACCTT
TGTAAGTATGATAGGTTATTTTGATGTAAAGATGTTCTGGATACCATTATATGTTCC
CCCTGTTTCAGAGGCTCAGATTGTAATATGTAAATGGTATGTCATTGCTACTATG
ATTTAATTTGAAATATGGTCTTTTGGTTATGAATACTTTGCAGCACAGCTGAGAGG
CTGTCTGTTGTATTCACTGTGGTCATAGCACCTAACAACATTGTAGCCTCAATCGA
GTGAGACAGACTAGAAAGTTCCTAGTGATGGCTTATGATAGCAAATGGCCTCATGTC
AAATATTTAGATGTAATTTTGTGTAAGAAATACAGACTGGATGTACCACCAACTAC
TACCTGTAATGACAGGCCTGTCCAACACATCTCCCTTTTCCATGACTGTGGTAGCC
AGCATCGGAAAGAACGCTGATTTAAAGAGGTGCTTGGGAATTTTATTGACACAGT
ACCATTTAATGGGGAGGACAAAATGGGGCAGGGGAGGGAGAAGTTTCTGTGCTTAA
AAACAGATTTGGAAAGACTGGACTCTAAAGTCTGTTGATTAAAGATGAGCTTTGTC
TACTTCAAAGTTTGTGTTGCTTACCCCTTCAGCCTCCAATTTTTTAAGTGAAAATAT
AGCTAATAACATGTGAAAAGAATAGAAGCTAAGGTTTAGATAAATATTGAGCAGAT
CTATAGGAAGATTGAACCTGAATATTGCCATTATGCTTGACATGGTTTCCAAAAAA
TGGTACTCCACATATTTCACTGAGGGTAAGTATTTTCTGTTGTCAAGAATAGCAT
TGTAAGGCAATTTTGTAAATAATAAGAAATAGCTTTAATGATATGCTTGTAACATAA
ATAATTTTGTAAATGTATCAAATACATTTAAACATTAAATATAATCTCTATAATA
ATTTAAATCTAATATGTTTTAATAGAACAGCGATATCAAGCTTATCGATGATAA
TCAACCTCTGGATTACAAAATTTGTGAAAGATTGACTGGTATTCTTAACCTATGTTG
CTCCTTTTACGCTATGTGGATACGCTGCTTTAATGCCTTTGTATCATGCTATTGCTT
CCCGTATGGCTTTCAATTTCTCCTCCTTGTATAAATCCTGGTTGCTGTCTCTTTATG
AGGAGTTGTGGCCCGTTGTGAGGCAACGTGGCGTGGTGTGCACTGTGTTTGTGCTGAC
GCAACCCCCACTGGTTGGGGCATTGCCACCACCTGTCAGCTCCTTTCCGGGACTTT
CGCTTTCCCCCTCCCTATTGCCACGGCGGAACCTCATCGCCGCCTGCCTTGCCCGCTG
CTGGACAGGGGCTCGGCTGTTGGGCACTGACAATTCCGTGGTGTGTCGGGGAAAT
CATCGTCCTTTCTTGGCTGCTCGCCTGTGTTGCCACCTGGATTCTGCGCGGGACGT
CCTTCTGCTACGTCCCTTCGGCCCTCAATCCAGCGGACCTTCCTTCCCGCGGCCTGC
TGCCGGCTCTGCGGCCTCTTCCGCGTCTTCGCCTTCGCCCTCAGACGAGTCGGATCT
CCCTTTGGGCGCCTCCCCGCATCGGACTAGGAATTCATCGATACCGAGCGCTGCT
CGAGAGATCTGTGATAGCGGCCATCAAGCTGGGTCGACTAGAGCTCGCTGATCAGC
CTCGACTGTGCCTTCTAGTTGCCAGCCATCTGTTGTTTGCCCTCCCCCGTGCTTCT
CTTGACCCTGGAAGGTGCCACTCCCCTGTCCTTTCTTAATAAAATGAGGAAATTG
CATCGCATTGTCTGAGTAGGTGTCATTCTATTCTGGGGGGTGGGGTGGGGCAGGAC
AGCAAGGGGGAGGATTGGGAAGACAATAGCAGGCATGCTGGGGACACGTGCGGACC
GAGCGGCCGCGGTACCAAACCTAGGTAATACCCATTACCCTGGTAGATAAGTAGCA
TGGCGGGTTAATCATTAACCTACAAGGAACCCCTAGTGATGGAGTTGGCCACTCCCT
CTCTGCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGGCCGGGCGACCAAAGGTCGCCCCGACGCCCG
GGCTTTGCCCGGGCGGCCTCAGTGAGCGAGCGAGCGCGCAG

【0112】

いくつかの実施形態では、本明細書において記載されるAAVベクターは、5' ITR、GJB2基本プロモーター、5' UTR(例、GJB2エクソン1の5' UTR)、コザック配列、遺伝子産物(例、GJB2またはGFP)をコードするヌクレオチド配列、任意選択のHAタグ、3' UTR(例、GJB2エクソン2の3' UTR)、WPRE、ウシ成長ホルモンポリAシグナル、およ

10

20

30

40

50

び3' ITRを含む(例、ベクターc70)。いくつかの実施形態では、本明細書において記載されるAVVベクターは、配列番号36と少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%配列同一性のヌクレオチド配列を含む。HAタグを有するマウスGJB2タンパク質をコードするベクターc70の例示的なヌクレオチド配列は配列番号36に示される(マウスGJB2コード配列は太字で;HAタグには下線を付した):

【化3】

```
TTGCTGGCCTTTTGTCTACATGTCCTGCAGGCAGCTGCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGGCCG
CCCGGGCAAAGCCCGGGCGTCGGGCGACCTTTGGTCGCCCCGGCCTCAGTGAGCGAGCGAGCG
CGCAGAGAGGGAGTGGCCAACTCCATCACTAGGGGTTTCTGCGGCCGCACGCGTTTAATTAA
GACCTCGAAGGGGACTTGGGGGGTTTCGGGGCTTTCGGGGGCGGTTCGGGGGTTCGCGGACCCG
GGAAGCTCTGAGGACCCAGAGGCCGGGCGCGCTCCGCCCGCGGCGCCGCCCCCTCCGTAACT
TTCCCAGTCTCCGAGGGAAGAGGCGGGGTGTGGGGTTCGGTTAAAAGGCGCCACGGCGGGAG
```

10

20

30

40

50

【化 4】

ACAGGTGTTGCGGCCCCGCGAGCGCCCGCGCGCTCCTCTCCCCGACTCGGAGCCCCCTCGGCGG
CGCCCGGCCCCAGGACCCGCTAGGAGCGCAGGAGCCCCAGCGCAGAGACCCCAACGCCGAGA
CCCCCGCCCCGGCCCCGCGCGCTTCCCTCCCGACGCAGAGCAAACCGCCCAGAGTAGAAGCG
GATCCGCCACC**ATGGATTGGGGCACACTCCAGAGCATCCTCGGGGGTGTCAACAAACACTCC**
ACCAGCATTGAAAAGATCTGGCTCACGGTCCTCTTCATCTTCCGCATCATGATCCTCGTGGT
GGCTGCAAAGGAGGTGTGGGGAGATGAGCAAGCCGATTTTGTCTGCAACACGCTCCAGCCTG
GCTGCAAGAAATGTATGCTACGACCACCATTCCCCATCTCTCACATCCGGCTCTGGGCTCTG
CAGCTGATCATGGTGTCCACGCCAGCCCTCCTGGTAGCTATGCATGTGGCTACCGGAGACA
TGAAAAGAAACGGAAGTTCATGAAGGGAGAGATAAAGAACGAGTTTAAGGACATCGAAGAGA
TCAAAACCCAGAAGGTCCGTATCGAAGGGTCCCTGTGGTGGACCTACACCACCAGCATCTTC
TTCCGGGTCATCTTTGAAGCCGTCTTCATGTACGTCTTTTACATCATGTACAATGGCTTCTT
CATGCAACGTCTGGTGAATGCAACGCTTGGCCCTGCCCAATACAGTGGACTGCTTCATTT
CCAGGCCACAGAAAAGACTGTCTTCACCGTGTTCATGATTTCTGTGTCTGGAATTTGCATT
CTGCTAAATATCACAGAGCTGTGCTATTTGTTCGTTAGGTATTGCTCAGGAAAGTCCAAAAG
ACCAGTCTACCCATACGATTGTTCCAGATTACGCTTAAGCGCGCCACCCCTGCAGGGAATTC
CGCATTGCCACAGTTGTTAGATTAAAGAAATAGACAGCATGAGAGGGATGAGGCAACCCGTGCT
CAGCTGTCAAGGCTCAGTCGCTAGCATTTCCCAACACAAAGATTCTGACCTTAAATGCAACC
ATTTGAAAACCCCTGTAGGCCTCAGGTGAAACTCCAGATGCCACAATGGAGCTCTGCTCCCT
AAAGCCTCAAAACAAAGGCCTAATTCTATGCCTGTCTTAATTTCTTTCACTTAAGTTAGTT
CCACTGAGACCCAGGCTGTAGGGGTTATTGGTGTAAAGTACTTTTCATATTTTAAACAGAG
GATATCGGCATTTGTTTCTTTCTCTGAGGACAAGAGAAAAAGCCAGGTTCCACAGAGGACA
CAGAGAAGGTTTGGGIGTCTCCTGGGGTCTTTTTGCCAAGTTTCCCCACGTTAAAGGTGA
ACATTGGTTCTTTCAATTTGCTTTGGAAGTTTAACTCTCTAACAGTGGACAAAAGTTACCAGTG
CCTTAAACTCTGTTACACTTTTTGGAAGTGAACCTTTGTAGTATGATAGGTTATTTTGATG
TAAAGATGTTCTGGATAACATTATATGTTCCCCCTGTTTCAGAGGCTCAGATTGTAATATGT
AAATGGTATGTCAATTCGCTACTATGATTTAATTTGAAATATGGTCTTTTGGTTATGAATACT
TTGCAGCACAGCTGAGAGGCTGTCTGTTGTATTTCATTGTGGTTCATAGCACCTAACACATTG
TAGCCTCAATCGAGTGAGACAGACTAGAAGTTCCTAGTGATGGCTTATGATAGCAAATGGCC
TCATGTCAAAATATTTAGATGTAATTTTGTGTAAGAAATACAGACTGGATGTACCACCACTA
CTACCTGTAATGACAGGCCTGTCCAACACATCTCCCTTTTCCATGACTGTGGTAGCCAGCAT
CGGAAAAGAACGCTGATTTAAAGAGGTCGCTTGGGAATTTTATTGACACAGTACCATTTAATG
GGGAGGACAAAATGGGGCAGGGGAGGGAGAAGTTTCTGTCGTTAAAAACAGATTTGGAAGA
CTGGACTCTAAAGTCTGTTGATTAAAGATGAGCTTTGTCTACTTCAAAAGTTTGTTTGCTTA
CCCCCTCAGCCTCCAATTTTTTAAGTGAAAATATAGCTAATAACATGTGAAAAGAATAGAAG
CTAAGGTTTAGATAAATATTGAGCAGATCTATAGGAAGATTGAACCTGAATATTGCCATTAT
GCTTGACATGGTTTCCAAAAAATGGTACTCCACATATTTAGTGAGGGTAAGTATTTTCCGT
TTGTCAAGAATAGCAATGTAAAAGCATTGTTGTAATAATAAAGAATAGCTTTAATGATATGCT
TGTAACATAAAATAATTTTGTAATGTATCAAATACATTTAAACATTAAATATAATCTCTAT
AATAATTTAAATCTAATATGGTTTTAATAGAACAGCGATATCAAGCTTATCGATAATCAAC
CTCTGGATTACAAAATTTGTGAAAGATTGACTGGTATTCTTAACATGTTGCTCCTTTTACG
CTAIGIGGATACGCTGCTTTAATGCCTTTGTATCATGCTATTGCTTCCCGTATGGCTTTTCAT
TTTCTCCTCCTTGATAAATCCTGGTTGCTGTCTCTTTATGAGGAGTTGTGGCCCGTTGTCA
GGCAACGTGGCGTGGIGTCACTGTGTTGCTGACGCAACCCCCACTGGTTGGGGCATTGCC
ACCACCTGTCAGCTCCTTTCCGGGACTTTTCGCTTTCCCCCTCCCTATTGCCACGGCGGAAC
CATCGCCGCTGCCTTGCCCGCTGTGGACAGGGGCTCGGCTGTTGGGCACTGACAATCCG
TGGTGTGTCGGGGAATCATCGTCCTTTCCCTGGCTGCTCGCCTATGTTGCCACCTGGATT
CIGCGCGGACGCTCCTTCTGCTACGTCCCTTCGGCCCTCAATCCAGCGGACCTTCCCTCCG
CGGCCIGCTGCCGGCTCIGCGGCTCTTCCGCGTCTTCGCCTTCGCCCTCAGACGAGTCGGA
TCTCCCTTTGGGCGGCTCCTCCGCGAATTCATCGATAACCGAGCGCTGCTCGAGAGATCTGTG
ATAGCGGCCATCAAGCTGGCTGTGCCTTCTAGTTGCCAGCCATCTGTTGTTTGCCCTCCCC
CGTGCCCTCCTTGACCCTGGAAGGTGCCACTCCCAGTGTCTTTCCCTAATAAAATGAGGAAA

10

20

30

40

50

【化 5】

TTGCATCGCATTGCTCTGAGTAGGTGTCATTCTATTCTGGGGGGTGGGGTGGGGCAGGACAGC
 AAGGGGGAGGATTGGGAAGACAATAGCAGGCATGCTGGGGACACGTGCGGACCGAGCGGCCG
 CAGGAACCCCTAGTGATGGAGTTGGCCACTCCCTCTCTGCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGGC
 CGGGCGACCAAAGGTCGCCCCGACGCCCGGGCTTTGCCCGGGCGGCCTCAGTGAGCGAGCGAG
 CGCGCAGCTGCCTGCAGGGGCGCCTGATGCGGTATTTCTCCTTACGCATCTGTGCGGTATT
 TCACACCGCATACGTCAAAGCAACCATAGTACGCGCCCTGTAGCGGCGCATTAAAGCGCGGCG
 GGTGTGGTGGTTACGCGCAGCGTGACCGCTACACTTGCCAGCGCCCTAGCGCCCGCTCCTTT
 CGCTTTCTTCCCTTCCCTTTCTCGCCACGTTTCGCCGGCTTTCCCGTCAAGCTCTAAATCGGG
 GGCTCCCTTTAGGGTTCGGATTTAGTGCTTTACGGCACCTCGACCCCAAAAACTTGATTG
 GGTGATGGTTACGTTAGTGGCCATCGCCCTGATAGACGGTTTTTCGCCCTTTGACGTTGGA
 GTCCACGTTCTTTAATAGTGGACTCTTGTTCCAAACTGGAACAACACTCAACCCATCTCTCGG
 GCTATTCTTTTGATTTATAAGGGATTTTGCCGATTTTCGGCCTATTGGTTAAAAAATGAGCTG
 ATTTAACAAAAATTTAACGCGAATTTTAACAAAATATTAACGTTTACAATTTTATGGTGCAC
 TCTCAGTACAATCTGCTCTGATGCCGCATAGTTAAGCCAGCCCCGACACCCGCCAACACCCG
 CTGACGCGCCCTGACGGGCTTGCTGCTCCCGGCATCCGCTTACAGACAAGCTGTGACCGTC
 TCCGGGAGCTGCATGIGTCAGAGGTTTTACCGTCATCACCGAAACGCGCGAGACGAAAGGG
 CCTCGTGATACGCCATTTTTATAGGTTAATGTCATGATAATAATGGTTTCTTAGACGTCAG
 GTGGCACTTTTCGGGGAAATGTGCGCGGAACCCCTATTTGTTTATTTTTCTAAATACATTCA
 AATATGTATCCGCTCATGAGACAATAACCCCTGATAAATGCTTCAATAATATTGAAAAAGGAA
 GAGTATGAGTATTCAACATTTCCGTGTCGCCCTTATTCCCTTTTTTGCGGCATTTTGCCCTTC
 CTGTTTTTGCTCACCCAGAAACGCTGGTGAAAGTAAAAGATGCTGAAGATCAGTTGGGTGCA
 CGAGTGGGTTACATCGAAGTGGATCTCAACAGCGGTAAAGATCCTTGAGAGTTTTCGCCCCGA
 AGAACGTTTTTCCAATGATGAGCACTTTTAAAGTTCTGCTATGIGGCGCGGTATTATCCCGTA
 TTGACGCCGGGCAAGAGCAACTCGGTGCGCGCATACACTATTCTCAGAATGACTTGGTTGAG
 TACTCACCAGTCACAGAAAAGCATCTTACGGATGGCATGACAGTAAGAGAATTATGCAGTGC
 TGCCATAACCATGAGTGATAACACTGCGGCCAACTTACTTCTGACAACGATCGGAGGACCGA
 AGGAGCTAACCGCTTTTTTGCACAACATGGGGGATCATGTAACCTCGCCTTGATCGTTGGGAA
 CCGGAGCTGAATGAAGCCATACCAAACGACGAGCGTGACACCACGATGCCTGTAGCAATGGC
 AACAACGTTGCGCAAACATTAACCTGGCGAACTACTTACTCTAGCTTCCCGGCAACAATTAA
 TAGACTGGATGGAGGCGGATAAAAGTTGCAGGACCCTTCTGCGCTCGGCCCTTCCGGCTGGC
 TGGTTTTATTGCTGATAAATCTGGAGCCGGTGAGCGTGGGTCTCGCGGTATCATTGCAGCACT
 GGGGCCAGATGGTAAAGCCCTCCCGTATCGTAGTTATCTACACGACGGGGAGTCAGGCAACTA
 TGGATGAACGAAAATAGACAGATCGCTGAGATAGGTGCCTCACTGATTAAAGCATTGGTAACTG
 TCAGACCAAGTTTACTCATATATACTTTAGATTGATTTAAAACCTTCATTTTTAATTTAAAG
 GATCTAGGTGAAGATCCTTTTTTGATAATCTCATGACCAAAATCCCTTAACGTGAGTTTTCTGT
 TCCACTGAGCGTCAGACCCCGTAGAAAAGATCAAAGGATCTTCTTGAGATCCTTTTTTTCTG
 CGCGTAATCTGCTGCTTGCAACAAAAAAACCACCGCTACCAGCGGTGGTTTGTGTGCCGGA
 TCAAGAGCTACCAACTCTTTTTCCGAAGGTAACCTGGCTTCAGCAGAGCGCAGATACCAAATA
 CTGTCCTTCTAGTGTAGCCGTAGTTAGGCCACCACTTCAAGAACTCTGTAGCACCGCCTACA
 TACCTCGCTCTGCTAATCCTGTTACCAAGTGGCTGCTGCCAGTGGCGATAAGTCGTGCTTAC
 CGGGTTGGACTCAAGACGATAGTTACCGGATAAGGCGCAGCGGTGCGGCTGAACGGGGGGTT
 CGTGACACAGCCCAGCTTGAGAGCAACGACCTACACCGAACTGAGATACCTACAGCGTGAG
 CTATGAGAAAGCGCCACGCTTCCCGAAGGGAGAAAGGCGGACAGGTATCCGGTAAGCGGCAG
 GGTCGGAACAGGAGAGCGCACGAGGGAGCTTCCAGGGGAAACGCCTGGTATCTTTATAGTC
 CTGTGCGGTTTTGCCACCTCTGACTTGAGCGTCGATTTTTGTGATGCTCGTCAGGGGGGCGG
 AGCCTATGGAAAAACGCCAGCAACGCGGCCTTTTTACGGTTCCTGGCCTT

10

20

30

40

【0113】

いくつかの実施形態では、本明細書において記載されるAVVベクターは、配列番号61
 と少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも
 90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なく
 とも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、ま
 たは100%配列同一性のヌクレオチド配列を含む。HAタグを有するヒトGJB2タンパク
 質をコードするベクターc70の例示的なヌクレオチド配列は配列番号61に示される(ヒト
 GJB2コード配列は太字で;HAタグには下線を付した):

50

【化 6】

TTGCTGGCCTTTTGCTCACATGTCCTGCAGGCAGCTGCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGGCCG
 CCCGGGCAAAGCCCGGGCGTCCGGGCGACCTTTGGTCGCCCCGGCCTCAGTGAGCGAGCGAGCG
 CGCAGAGAGGGAGTGGCCAACTCCATCACTAGGGGTTCCTGCGGCCGCACGCGTTTAATTAA
 GACCTCGAAGGGGACTTGGGGGGTTCGGGGCTTTTCGGGGGCGGTTCGGGGGTTCGCGGACCCG
 GGAAGCTCTGAGGACCCAGAGGCCGGGCGCGCTCCGCCCCGCGCGCCGCCCCCTCCGTAAC
 TTCCCAGTCTCCGAGGGAAGAGGCGGGGTGTGGGGTGCGGTTAAAAGGCGCCACGGCGGGAG
 ACAGGTGTTGCGGCCCCGCAGCGCCCCGCGCGCTCCTCTCCCCGACTCGGAGCCCCCTCGGCGG
 CGCCCCGGCCAGGACCCGCTAGGAGCGCAGGAGCCCCAGCGCAGAGACCCCAACGCCGAGA
 CCCCCGCCCCGGCCCCGCGCGCTTCCTCCCGACGCAGAGCAAACCGCCCAGAGTAGAAGCG
 GATCCGCCACC**ATGGATTGGGGCACGCTGCAGACGATCCTGGGGGGTGTGAACAAACACTCC**
ACCAGCATTGGAAAGATCTGGCTCACCGTCCTCTTCATTTTTTCGATTATGATCCTCGTTGT
GGCTGCAAAGGAGGTGTGGGGAGATGAGCAGGCCGACTTTGTCTGCAACACCCTGCAGCCAG
GCTGCAAGAACGTGTGCTACGATCACTACTTCCCCATCTCCACATCCGGCTATGGGCCCTG
CAGCTGATCTTCGTGTCCACGCCAGCGCTCCTAGTGGCCATGCACGTGGCCTACCGGAGACA
TGAGAAGAAGAGGAAGTTCATCAAGGGGGAGATAAAGAGTGAATTTAAGGACATCGAGGAGA
TCAAACCCAGAAGGTCCGCATCGAAGGCTCCCTGTGGTGGACCTACACAAGCAGCATCTTC
TTCCGGGTCACTTTCGAAGCCGCTTCATGTACGTCTTCTATGTCATGTACGACGGCTTCTC
CATGCAGCGGTGGTGAAGTGCAACGCCTGGCCTTGTCCCAACACTGTGGACTGCTTTGTGT
CCCGGCCACGGAGAAGACTGTCTTCACAGTGTTTCATGATTGCAGTGTCTGGAATTTGCATC
CTGCTGAATGTCCTGAATTGTGTTATTTGCTAATTAGATATTGTTCTGGGAAGTCAAAAAA
GCCAGTTTACCCATACGATGTTCCAGATTACGCTTAAGGCGCGCCACCCCTGCAGGGAATTC
 CGCATTGCCAGTTGTTAGATTAAGAAATAGACAGCATGAGAGGGATGAGGCAACCCGTGCT
 CAGCTGTCAAGGCTCAGTCGCTAGCATTTCCTCAACACAAAGATTCTGACCTTAAATGCAACC
 ATTTGAAACCCCTGTAGGCCTCAGGTGAAACTCCAGATGCCACAATGGAGCTCTGCTCCCCCT
 AAAGCCTCAAAACAAAGGCCTAATTCTATGCCTGTCTTAATTTTCTTTCACTTAAGTTAGTT
 CCACTGAGACCCCAGGCTGTTAGGGGTTATTGGTGTAAAGTACTTTTCATATTTTAAACAGAG
 GATATCGGCATTTGTTTCTTTCTCTGAGGACAAGAGAAAAAGCCAGGTTCACAGAGGACA
 CAGAGAAGGTTTGGGTGTCTCCTGCGGTTCTTTTTGCCAACTTTCCCCACGTTAAAGGTGA
 ACATTGGTTCTTTCAATTTGCTTTGGAAGTTTTAATCTCTAACAGTGGACAAAGTTACCAGTG
 CCTTAAACTCTGTTACACTTTTTGGAAGTGAAAACCTTGTAGTATGATAGGTTATTTTGATG
 TAAAGATGTTCTGGATACCATTATATGTTCCCCCTGTTTCAGAGGCTCAGATTGTAATATGT
 AAATGGTATGTCATTGCTACTATGATTTAATTTGAAATATGGTCTTTTGGTTATGAATACT
 TTGCAGCACAGCTGAGAGGCTGTCTGTTGTATTTCATTGTGGTCATAGCACCTAACAACATTG
 TAGCCTCAATCGAGTGAGACAGACTAGAAGTTCCCTAGTGATGGCTTATGATAGCAATGGCC
 TCATGTCAAATATTTAGATGTAATTTTGTGTAAGAAATACAGACTGGATGTACCACCAACTA
 CTACCTGTAATGACAGGCCTGTCCAACACATCTCCCTTTTCCATGACTGTGGTAGCCAGCAT
 CGGAAAGAACGCTGATTTAAAGAGGTGCTTGGGAATTTTATTGACACAGTACCATTTAATG
 GGGAGGACAAAATGGGGCAGGGGAGGGAGAAGTTTCTGTCTGTTAAAAACAGATTGGAAAGA
 CTGGACTCTAAAGTCTGTTGATTAAAGATGAGCTTTGTCTACTTCAAAGTTTGTGTTGCTTA
 CCCCTTCAGCCTCCAATTTTTTAAGTGAAAATATAGCTAATAACATGTGAAAAGAATAGAAG
 CTAAGGTTTAGATAAATATTGAGCAGATCTATAGGAAGATTGAACCTGAATATTGCCATTAT
 GCTTGACATGTTTTCCAAAAAATGGTACTCCACATATTTTCAGTGAGGGTAAGTATTTTCTG
 TTGTCAAGAATAGCATTGTAAAAGCATTTTGTAAATAATAAAGAATAGCTTTAATGATATGCT
 TGTAACTAAAATAATTTTGTAAATGTATCAAATACATTTAAAACATTAAAATATAATCTCTAT
 AATAATTTAAAATCTAATATGGTTTTAATAGAACAGCGATATCAAGCTTATCGATAATCAAC
 CTCTGGATTACAAAATTTGTGAAAGATTGACTGGTATTCTTAACTATGTTGCTCCTTTTACG

10

20

30

40

50

【化 7】

CTATGTGGATACGCTGCTTTAATGCCTTTGTATCATGCTATTGCTTCCCGTATGGCTTTTCAT
 TTTCTCCTCCTTGTATAAAATCCTGGTTGCTGCTCTTTATGAGGAGTTGTGGCCCGTTGTCA
 GGCAACGTGGCGTGGTGTGCACTGTGTTTGCTGACGCAACCCCCACTGGTTGGGGCATTGCC
 ACCACCTGTCAGCTCCTTTCCGGGACTTTTCGCTTTCCCTCCCTATTGCCACGGCGGAAT
 CATCGCCGCTGCTTGCCTTGCCCGCTGCTGGACAGGGGCTCGGCTGTTGGGCATGACAATTCCG
 TGGTGTGTGCGGGAAATCATCGTCTTTTCCTTGGCTGCTCGCCTATGTTGCCACCTGGATT
 CTGCGCGGGACGTCTTCTGCTACGTCCCTTCGGCCCTCAATCCAGCGGACCTTCCTTCCCG
 CGGCCTGCTGCCGGCTCTGCGGCCTCTTCCGCGTCTTCGCTTCGCCCTCAGACGAGTCGGA
 TCTCCCTTTGGGCGGCTTCCCGCGAATTCATCGATAACGAGCGCTGCTCGAGAGATCTGTG
 ATAGCGGCCATCAAGCTGGCTGTGCTTCTAGTTGCCAGCCATCTGTTGTTTGGCCCTCCCG
 CGTGCTTCCCTTGACCCTGGAAGGTGCCACTCCCACTGTCCTTTCCCTAATAAAATGAGGAAA
 TTGCATCGCATTGTCTGAGTAGGTGTCTATTCTTGGGGGGTGGGGTGGGGCAGGACAGC
 AAGGGGGAGGATTGGGAAGACAATAGCAGGCATGCTGGGGACACGTGCGGACCGAGCGGCCG
 CAGGAACCCCTAGTGATGGAGTTGGCCACTCCCTCTCTGCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGGC
 CGGGCGACCAAAGGTGCGCCGACGCGCCGGGCTTTGCCCGGGCGGCTCAGTGAGCGAGCGGAG
 CGCGCAGCTGCGTGCAGGGCGGCTGATGCGGTATTTCTCCTTACGCATCTGTGCGGTATT
 TCACACCGCATACGTCAAAGCAACCATAGTAGCGGCCCTGTAGCGGCGCATTAAGCGCGGGC
 GGTGTGGTGGTTACGCGCAGCGTGACCGCTACACTTGCCAGCGCCCTAGCGCCCGCTCCTTT
 CGCTTTCTTCCCTTCTTTCTCGCCACGTTCCGCGGCTTTCCCGTCAAGCTCTAAATCGGG
 GGCTCCCTTTAGGGTTCGATTTAGTGCTTTACGGCACCTCGACCCCCAAAAAATTTGATTTG
 GGTGATGGTTACAGTAGTGGGCCATCGCCCTGATAGACGGTTTTTTCGCCCTTTGACGTTGGA
 GTCCACGTTCTTTAATAGTGACTCTTGTTCAAACTGGAACAACACTCAACCCTATCTCGG
 GCTATTCTTTTGATTTATAAGGGATTTTGCCGATTTTCGGCCTATTGGTTAAAAAATGAGCTG
 ATTTAACAAAAATTTAACGCGAATTTTAAACAAAATATTAACGTTTACAATTTTATGGTGCAC
 TCTCAGTACAATCTGCTCTGATGCCGCATAGTTAAGCCAGCCCCGACACCCGCCAACACCCG
 CTGACCGCGCCCTGACGGGCTTGTCTGCTCCCGGCATCCGCTTACAGACAAGCTGTGACCGTC
 TCCGGGAGCTGCATGTGTGACAGGTTTTTACCCGTATCACCGAAACGCGCGAGACGAAAGGG
 CCTCGTGATACGCCTATTTTTATAGGTTAATGTCATGATAATAATGGTTTCTTAGACGTCAG
 GTGGCACTTTTCGGGGAAATGTGCGCGGAACCCCTATTTGTTTATTTTTCTAAATACATTCA
 AATATGTATCCGCTCATGAGACAATAACCCTGATAAATGCTTCAATAATATTGAAAAAGGAA
 GAGTATGAGTATTCAACATTTCCGTGTGCGCCTTATTCCCTTTTTTGCGGCATTTTGCCITC
 CTGTTTTTGTACCCAGAAACGCTGGTGAAAGTAAAGATGCTGAAGATCAGTTGGGTGCA
 CGAGTGGGTTACATCGAAGTGGATCTCAACAGCGGTAAGATCCTTGAGAGTTTTCGCCCCGA
 AGAACGTTTTTCCAATGATGAGCACTTTTAAAGTTCTGCTATGTGGCGCGGTATTATCCCGTA
 TTGACGCGGGGAAGAGCAACTCGGTGCGCGCATACACTATTCTCAGAATGACTTGGTTGAG
 TACTACCAAGTACAGAAAAGCATCTTACGGATGGCATGACAGTAAGAGAATTATGCAGTGC
 TGCCATAACCATGAGTGATAACACTGCGGCCAACTTACTTCTGACAACGATCGGAGGACCGA
 AGGAGCTAACCGCTTTTTTGACACAACATGGGGGATCATGTAACCTCGCCTTGATCGTTGGGAA
 CCGGAGCTGAATGAAGCCATACCAAACGACGAGCGTGACACCAGATGCCTGTAGCAATGGC
 AACAACTGTGCGCAAACTATTAAGTGGCGAACTACTTACTCTAGCTTCCCGGCAACAATTA
 TAGACTGGATGGAGGCGGATAAAGTTGCAGGACCACTTCTGCGCTCGGCCCTTCCGGCTGGC
 TGGTTTTATTGCTGATAAATCTGGAGCCGGTGAGCGTGGGTCTCGCGGTATCATTGCAGCACT
 GGGGCCAGATGGTAAGCCCTCCCGTATCGTAGTTATCTACACGACGGGGAGTCAGGCAACTA
 TGGATGAACGAAATAGACAGATCGCTGAGATAGGTGCCTCACTGATTAAGCATTGGTAACTG
 TCAGACCAAGTTTACTCATATATACTTTAGATTGATTTAAAACCTTCATTTTTAATTTAAAG
 GATCTAGGTGAAGATCCTTTTTGATAATCTCATGACCAAAAATCCCTTAACGTGAGTTTTCGT
 TCCACTGAGCGTCAGACCCCGTAGAAAAGATCAAAGGATCTTCTTGAGATCCTTTTTTCTG
 CGCGTAATCTGCTGCTTGCAACAAAAAACCACCGCTACCAGCGGTGGTTTGTGTGCGGGA
 TCAAGAGCTACCAACTCTTTTTCCGAAGGTAAGTGGCTTCAGCAGAGCGCAGATACCAATA
 CTGTCTTCTAGTGTAGCCGTAGTTAGGCCACCACTTCAAGAACTCTGTAGCACCGCCTACA
 TACCTCGCTCTGCTAATCCTGTTACCAGTGGCTGCTGCCAGTGGCGATAAGTCGTGTCTTAC

10

20

30

40

【化 8】

CGGGTTGGACTCAAGACGATAGTTACCGGATAAGGCGCAGCGGTGCGGGCTGAACGGGGGGTT
 CGTGCACACAGCCCAGCTTGGAGCGAACGACCTACACCGAACTGAGATACCTACAGCGTGAG
 CTATGAGAAAGCGCCACGCTTCCCGAAGGGAGAAAGGCGGACAGGTATCCGGTAAGCGGCAG
 GGTGCGGAACAGGAGAGCGCACGAGGGAGCTTCCAGGGGGAAACGCCTGGIATCTTTATAGTC
 CTGTGCGGGTTTCGCCACCTCTGACTTGAGCGTTCGATTTTTGTGATGCTCGTICAGGGGGCGG
 AGCCTATGAAAAACGCCAGCAACGCGGCCTTTTTACGGTTCTTGGCCTT

いくつかの実施形態では、本明細書において記載されるAVVベクターは、配列番号62と少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%配列同一性のヌクレオチド配列を含む。HAタグを有するマウスGJB2タンパク質をコードするベクターc70の例示的なヌクレオチド配列は配列番号62に示される(マウスGJB2コード配列は太字で;HAタグは含まれない):

【化9】

```
CAGCACTGGGGCCAGATGGTAAGCCCTCCCGTATCGTAGTTATCTACACGACGGGGAGTCAG
GCAACTATGGATGAACGAAATAGACAGATCGCTGAGATAGGTGCCTCACTGATTAAAGCATTG
GTAACGTGTCAGACCAAGTTTACTCATATATACTTTAGATTGATTTAAAACCTTCATTTTTTAAT
TTAAAAGGATCTAGGTGAAGATCCTTTTTTGATAATCTCATGACCAAAATCCCTTAACGTGAG
TTTTCGTTCCTACTGAGCGTCAGACCCCGTAGAAAAGATCAAAGGATCTTCTTGAGATCCTTT
TTTTCTGCGCGTAATCTGCTGCTTGCAAACAAAAAAACCACCGCTACCAGCGGTGGTTTGT
TGCCGGATCAAGAGCTACCAACTCTTTTTCCGAAGGTAACTGGCTTCAGCAGAGCGCAGATA
CCAAATACTGTCTTCTAGTGTAGCCGTAGTTAGGCCACCACTTCAAGAACTCTGTAGCACC
GCCTACATACTCGCTCTGCTAATCCTGTTACCAGTGGCTGCTGCCAGTGGCGATAAGTCGT
GTCTTACC GG GTTGGACTCAAGACGATAGTTACCGGATAAGGCGCAGCGGTGCGGCTGAACG
GGGGGTTTCGTGCACACAGCCCAGCTTGGAGCGAACGACCTACACCGAACTGAGATACCTACA
GCGTGAGCTATGAGAAAGCGCCACGCTTCCCGAAGGGAGAAAGGCGGACAGGTATCCGGTAA
GCGGCAGGGTCGGAACAGGAGAGCGCACGAGGGAGCTTCCAGGGGGAAACGCTGGTATCTT
TATAGTCTGTCGGGTTTTCGCCACCTCTGACTTGAGCGTCGATTTTTGTGATGCTCGTCAGG
GGGGCGGAGCCTATGGA AAAACGCCAGCAACGCGGCCTTTTTACGGTTCCTGGCCTTTTGCT
GGCCTTTTGCTCACATGTCCTGCAGGCAGCTGCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGGCCGCCCCG
GCAAAGCCCCGGGCGTCGGGCGACCTTTGGTGCCTCGGCTCAGTGAGCGAGCGAGCGCGCAG
AGAGGGAGTGGCCAACTCCATCACTAGGGGTTTCTGCGGCCGCACGCGTTTAAATTAAGACCT
CGAAGGGGACTTGGGGGGTTCGGGGCTTTTCGGGGGCGGTCGGGGGTTTCGCGGACCCGGGAAG
CTCTGAGGACCCAGAGGCCGGGCGGCTCCGCCCCGCGCGCCGCCCTCCGTAACCTTTCCC
AGTCTCCGAGGGAAGAGGCGGGGTGTGGGGTGCGGTTAAAAGGCGCCACGGCGGGAGACAGG
TGTTGCGGCCCCCGCAGCGCCCCGCGCGCTCCTCTCCCCGACTCGGAGCCCCCTCGGCGGGCCCC
GGCCCCAGGACCCGCCCTAGGAGCGCAGGAGCCCCAGCGCAGAGACCCCAACGCCGAGACCCCC
GCCCCGCCCCCGCCGCGCTTCTCTCCGACGCAGAGCAAACCGCCCAGAGTAGAAGCGGATCC
GCCACCATGGATTGGGGCACACTCCAGAGCATCCTCGGGGGTGTCAACAAACACTCCACCAG
CATTGGAAAGATCTGGCTCACGGTCCTCTTCATCTTCCGCATCATGATCCTCGTGGTGGCTG
CAAAGGAGGTGTGGGGAGATGAGCAAGCCGATTTTGTCTGCAACACGCTCCAGCCTGGCTGC
AAGAATGTATGCTACGACCACCACTTCCCCATCTCTCACATCCGGCTCTGGGCTCTGCAGCT
GATCATGGTGTCCACGCCAGCCCTCCTGGTAGCTATGCATGTGGCCTACCGGAGACATGAAA
AGAAACGGAAGTTCATGAAGGGAGAGATAAAGAACGAGTTTAAGGACATCGAAGAGATCAAA
ACCCAGAAGGTCCGTATCGAAGGGTCCCTGTGGTGGACCTACACCACCAGCATCTTCTTCCG
GGTCATCTTTGAAGCCGTCTTCATGTACGTCTTTTACATCATGTACAATGGCTTCTTCATGC
AACGTCTGGTGAAATGCAACGCTTGGCCCTGCCCCAATACAGTGGACTGCTTCATTTCCAGG
CCCACAGAAAAGACTGTCTTCACCGTGTTTATGATTTCTGTGTCTGGAATTTGCATTCTGCT
```

10

20

30

40

【化 10】

AAATATCACAGAGCTGTGCTATTTGTTTCGTTAGGTATTGCTCAGGAAAGTCCAAAAGACCAG
TCTAAGGCGCGCCACCCCTGCAGGGAATCCGCATTGCCAGTTGTTAGATTAAAGAAATAGA
CAGCATGAGAGGGATGAGGCAACCCGTGCTCAGCTGTCAAGGCTCAGTCGCTAGCATTTCCTC
AACACAAAGATTCTGACCTTAAATGCAACCATTTGAAACCCCTGTAGGCCCTCAGGTGAAACT
CCAGATGCCACAATGGAGCTCTGCTCCCCTAAAGCCTCAAAACAAAGGCCTAATTCTATGCC
TGTCTTAATTTTCTTTTCACTTAAGTTAGTTCCACTGAGACCCCAGGCTGTTAGGGGTTATTG
GTGTAAGGTACTTTTCATATTTTAAACAGAGGATATCGGCATTTGTTTCTTTCTCTGAGGACA
AGAGAAAAAGCCAGGTTCCACAGAGGACACAGAGAAGGTTTGGGTGTCCTCCTGGGGTTCT
TTTTGCCAACTTTCCCCACGTTAAAGGTGAACATTGGTTCTTTCAATTGCTTTGGAAGTTTT
AATCTCTAACAGTGGACAAAGTTACCAGTGCCTTAAACTCTGTTACACTTTTTGGAAGTGAA
AACTTTGTAGTATGATAGGTTATTTTGATGTAAAGATGTTCTGGATACCATTATATGTTCCC
CCTGTTTCAGAGGCTCAGATTGTAATATGTAAATGGTATGTCATTGCTACTATGATTTAAT
TTGAAATATGGTCTTTTGGTTATGAATACTTTGCAGCACAGCTGAGAGGCTGTCTGTTGTAT
TCATTGTGGTCATAGCACCTAACAAACATTGTAGCCTCAATCGAGTGAGACAGACTAGAAGTT
CCTAGTGATGGCTTATGATAGCAAAATGGCCTCATGTCAAATATTTAGATGTAATTTTGTGTA
AGAAATACAGACTGGATGTACCACCAACTACTACCTGTAAATGACAGGCCTGTCCAACACATC
TCCCCTTTCCATGACTGTGGTAGCCAGCATCGGAAAGAACGCTGATTTAAAGAGGTGCTTG
GGAATTTTATTGACACAGTACCATTTAATGGGGAGGACAAAATGGGGCAGGGGAGGGAGAAG
TTTCTGTCTGTTAAAAACAGATTGGAAAGACTGGACTCTAAAGTCTGTTGATTAAAGATGAG
CTTTGTCTACTTCAAAGTTTGTGTTGCTTACCCCTTCAGCCTCCAATTTTTTAAGTGAAAT
ATAGCTAATAACATGTGAAAAGAATAGAAGCTAAGGTTTAGATAAATATTGAGCAGATCTAT
AGGAAGATTGAACCTGAATATTGCCATTATGCTTGACATGGTTTCCAAAAAATGGTACTCCA
CATATTTCAAGTGAGGGTAAGTATTTTCTGTTGTCAAGAATAGCATTGTAAAAGCATTTTGT
AATAATAAAGAATAGCTTTAATGATATGCTTGTAACATAAATAATTTTGTAAATGTATCAAT
ACATTTAAACATTAAATATAATCTCTATAATAATTTAAATCTAATATGGTTTTAATAGA
ACAGCGATATCAAGCTTATCGATAATCAACCTCTGGATTACAAAATTTGTGAAAGATTGACT
GGTATTCTTAACATTGCTTCCCTTTTACGCTATGTGGATACGCTGCTTTAATGCCCTTTGTA
TCATGCTAATTGCTTCCCGTATGGCTTTCAATTTTCTCCTCTGTATAAAATCCTGGTIGCTGT
CTCTTTATGAGGAGTTGTGGCCCGTTGTGAGGCAACGTGGCGTGGTGTGCACTGTGTTTGT
GACGCAACCCCCACTGGTTGGGGCATTGCCACCACCTGTCAGCTCCTTTCCGGGACTTTTCGC
TTTCCCCCTCCCTATTGCCACGGCGGAACCTCATCGCCGCTGCCTTGCCCGCTGCTGGACAG
GGGCTCGGCTGTGTTGGGCACTGACAATCCGTGGTGTGTGCGGGGAAATCATCGTCCCTTCCCT
TGGCTGCTCGCCTATGTTGCCACCTGGATTCTGCGCGGGACGTCCTTCTGCTACGTCCCTTC
GGCCCTCAATCCAGCGGACCTTCCCTCCCGCGGCTGCTGCGCGCTCTGCGGCTCTTCCGC
GTCTTCGCCTTCGCCCTCAGACGAGTCGGATCTCCCTTTGGGCCGCTCCCCGCGAATTCAT
CGATACCGAGCGCTGCTCGAGAGATCTGTGATAGCGGCCATCAAGCTGGCTGTGCCTTCTAG
TTGCCAGCCATCTGTTGTTTSCCCCTCCCCCGTGCCTTCCTTGACCCTGGAAGGTGCCACTC
CCACTGTCCCTTTCCATAATAAAATGAGGAAATTGCATCGCATTGTCTGAGTAGGTGTCAATTCT
ATTCTGGGGGGTGGGGTGGGGCAGGACAGCAAGGGGGAGGATTGGGAAGACAATAGCAGGCA
TGCTGGGGACACGTGCGGACCGAGCGGCCGAGGAACCCCTAGTGATGGAGTTGGCCACTCC
CTCTCTGCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGGCCGGGCGACCAAAGGTCGCCCCGACGCCCGGGCT
TTGCCCGGGCGGCTCAGTGAGCGAGCGAGCGCGCAGCTGCCTGCAGGGGCGCCTGATGCGG
TATTTTCTCCTTACGCATCTGTGCGGTATTTACACCCGCATACGTCAAAGCAACCATAGTAC
GCGCCCTGTAGCGGCGCATTAAGCGCGGCGGGTGTGGTGGTTACGCGCAGCGTGACCGCTAC
ACTTGCCAGCGCCCTAGCGCCCGCTCCTTTGCTTTCTTCCCTTCCTTTCTCGCCACGTTTCG
CCGGCTTTCCCCGTCAAGCTCTAAATCGGGGGCTCCCTTTAGGGTTCCGATTTAGTGCTTTA
CGGCACCTCGACCCCAAAAACCTTGATTTGGGTGATGGTTCACGTAGTGGGCCATCGCCCTG
ATAGACGGTTTTTTCGCCCTTTGACGTTGGAGTCCACGTTCTTTAATAGTGGACTCTTGTTCC
AAACTGGAACAACACTCAACCTATCTCGGGCTATTCTTTTGATTTATAAGGGATTTTGCCG
ATTTCCGGCTATTGGTTAAAAAATGAGCTGATTTAACAAAAATTTAACGCGAATTTTAACAA
AATATTAACGTTTACAATTTTATGGTGCCTCTCAGTACAATCTGCTCTGATGCCGCATAGT

10

20

30

40

50

【化 1 1】

TAAGCCAGCCCCGACACCCGCCAACACCCGCTGACGCGCCCTGACGGGCTTGTCTGCTCCCG
GCATCCGCTTACAGACAAGCTGTGACCGTCTCCGGGAGCTGCATGTGTGAGAGGTTTTACCC
GTCATCACCGAAACGCGCGAGACGAAAGGGCCTCGTGATACGCCTATTTTTATAGGTTAATG
TCATGATAATAATGGTTTTCTTAGACGTCAGGTGGCACTTTTCGGGGAAATGTGCGCGGAACC
CCTATTTGTTTATTTTTCTAAATACATTCAAATATGTATCCGCTCATGAGACAATAACCCTG
ATAAATGCTTCAATAATATTGAAAAAGGAAGAGTATGAGTATTCAACATTTCCGTGTCGCCC
TTATTCCCTTTTTTTCGGGCATTTTTGCCTTCTGTTTTTGTCTACCCAGAAACGCTGGTGAAA
GTAAAAGATGCTGAAGATCAGTTGGGTGCACGAGTGGGTACATCGAAGTGGATCTCAACAG
CGGTAAGATCCTTGAGAGTTTTCCGCCCGAAGAACGTTTTTCCAATGATGAGCACTTTTAAAG
TTCTGCTATGTGGCGCGGTATTATCCCGTATTGACGCCGGGCAAGAGCAACTCGGTGCGCCG
ATACACTATTCTCAGAATGACTTGGTTGAGTACTCACCAGTCACAGAAAAGCATCTTACGGA
TGGCATGACAGTAAGAGAATTATGCAGTGCTGCCATAACCATGAGTGATAACACTGCGGCCA
ACTTACTTCTGACAACGATCGGAGGACCGAAGGAGCTAACCGCTTTTTTGCACAACATGGGG
GATCATGTAACTCGCCTTGATCGTTGGGAACCGGAGCTGAATGAAGCCATACCAAACGACGA
GCGTGACACCACGATGCCTGTAGCAATGGCAACAACGTTGCGCAAACTATTAAGTTGCGGAAC
TACTTACTCTAGCTTCCCGGCAACAATTAATAGACTGGATGGAGGGCGGATAAAGTTGCGAGGA
CCACTTCTGCGCTCGGCCCTTCCGGCTGGCTGGTTTATTGCTGATAAATCTGGAGCCGGTGA
GCGTGGGTCTCGCGGTATCAATTG

10

【0 1 1 5】

20

いくつかの実施形態では、本明細書において記載されるAVVベクターは、配列番号63と少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%配列同一性のヌクレオチド配列を含む。HAタグを有するマウスGJB2タンパク質をコードするベクターc70の例示的なヌクレオチド配列は配列番号63に示される(ヒトGJB2コード配列は太字で;HAタグは含まれない):

【化 1 2】

CAGCACTGGGGCCAGATGGTAAGCCCTCCCGTATCGTAGTTATCTACACGACGGGGAGTCAG
GCAACTATGGATGAACGAAATAGACAGATCGCTGAGATAGGTGCCCTACIGATTAAAGCAATTG
GTAAGTGTGACACCAAGTTTACTCATATATACTTTAGATTGATTTAAACCTTCATTTTTAAT
TTAAAAGGATCTAGGTGAAGATCCTTTTTGATAATCTCATGACCAAAATCCCTTAACGTGAG
TTTTCGTTCCACTGAGCGTCAGACCCCGTAGAAAAGATCAAAGGATCTTCTTGAGATCCTTT
TTTTCTGCGCGTAATCTGCTGCTTGCAAACAAAAAAACCACCGCTACCAGCGGTGGTTTGT
TGCCGGATCAAGAGCTACCAACTCTTTTTCCGAAGGTAAGTGGCTTCAGCAGAGCGCAGATA
CCAAATACTGTCTTCTAGTGTAGCCGTAGTTAGGCCACCACTTCAAGAACTCTGTAGCACC
GCCTACATACCTCGCTCTGCTAATCCTGTTACCAGTGGCTGCTGCCAGTGGCGATAAGTCGT
GTCTTACCGGGTTGGACTCAAGACGATAGTTACCGGATAAGGCGCAGCGGTGCGGCTGAACG
GGGGGTTTCGTGCACACAGCCAGCTTGGAGCGAACGACCTACACCGAACTGAGATACCTACA
GCGTGAGCTATGAGAAAGCGCCACGCTTCCCGAAGGGAGAAAGGCGGACAGGTATCCGGTAA
GCGGCAGGGTTCGGAACAGGAGAGCGCACGAGGGAGCTTCCAGGGGGAAACGCCTGGTATCTT
TATAGTCCTGTGCGGTTTTGCCACCTCTGACTTGAGCGTCGATTTTTGTGATGCTCGTCAGG
GGGGCGGAGCCTATGGA AAAACGCCAGCAACGCGGCCTTTTTACGGTTCTTGGCCTTTTGCT
GGCCTTTTTGCTCACATGTCTGTCAGGCAGCTGCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGGCCGCCCGG
GCAAAGCCCCGGGCGTTCGGGCGACCTTTGGTTCGCCCCGGCCTCAGTGAGCGAGCGAGCGCGCAG
AGAGGGAGTGGCCAACTCCATCACTAGGGGTTCTTGC GGCCGCACGCGTTTAATTAAGACCT
CGAAGGGGACTTGGGGGGTTTCGGGGGCTTTCGGGGGCGGTTCGGGGGTTTCGCGGACCCGGGAAG
CTCTGAGGACCCAGAGGCCGGGCGCGCTCCGCCCGCGGCGCCGCCCTCCGTAACCTTTCCC
AGTCTCCGAGGGAAGAGGCGGGGTGTGGGGTTCGGTTAAAAGGCGCCACGGCGGGAGACAGG
TGTTGCGGCCCCGCAGCGCCCGCGCGCTCCTCTCCCGACTCGGAGCCCCCTCGGCGGCGCCC

30

40

50

【化 1 3】

GGCCCAGGACCCGCCTAGGAGCGCAGGAGCCCCAGCGCAGAGACCCCAACGCCGAGACCCCC
GCCCCGGCCCCCGCCGCGCTTCCTCCCGACGCAGAGCAAACCGCCCAGAGTAGAAGCGGATCC
GCCACC**ATGGATTGGGGCAGCGTGCAGACGATCCTGGGGGGTGTGAACAAACACTCCACCAG**
CATTGGAAAGATCTGGCTACCGTCCCTCTTCATTTTTCGCATTATGATCCTCGTTGTGGCTG
CAAAGGAGGTGTGGGGAGATGAGCAGGCCGACTTTGTCTGCAACACCCTGCAGCCAGGCTGC
AAGAACGTGTGCTACGATCACTACTTCCCCATCTCCACATCCGGCTATGGGCCCTGCAGCT
GATCTTCGTGTCCACGCCAGCGCTCCTAGTGGCCATGCACGTGGCCTACCGGAGACATGAGA
AGAAGAGGAAGTTCATCAAGGGGGAGATAAAGAGTGAATTTAAGGACATCGAGGAGATCAAA
ACCCAGAAGGTCCGCATCGAAGGCTCCCTGTGGTGGACCTACACAAGCAGCATCTTCTTCCG
GGTCATCTTCGAAGCCGCCTTCATGTACGCTTCTATGTCATGTACGACGGCTTCTCCATGC
AGCGGCTGGTGAAGTGCAACGCCTGGCCTTGTCCCAACACTGTGGACTGCTTTGTGTCCCGG
CCCACGGAGAAGACTGTCTTCACAGTGTTTCATGATTGCAGTGTCTGGAATTTGCATCCTGCT
GAATGTCACTGAATTGTGTTATTTGCTAATTAGATATTGTTCTGGGAAGTCAAAAAAGCCAG
TTTAAGGCGCGCCACCCCTGCAGGGAATTCGCATTGCCAGTTGTTAGATTAAAGAAATAGA
CAGCATGAGAGGGATGAGGCAACCCGTGCTCAGCTGTCAAGGCTCAGTCGCTAGCATTTCCC
AACACAAAGATTCTGACCTTAAATGCAACCATTTGAAACCCCTGTAGGCCTCAGGTGAAACT
CCAGATGCCACAATGGAGCTCTGCTCCCTTAAAGCCTCAAAACAAAGGCCTAATTCTATGCC
TGTCTTAATTTTTCTTTCACTTAAGTTAGTTCCACTGAGACCCCAGGCTGTTAGGGGTTATTG
GTGTAAGGTACTTTTCATATTTTAAACAGAGGATATCGGCATTTGTTTCTTTCTCTGAGGACA
AGAGAAAAAAGCCAGGTTCCACAGAGGACACAGAGAAGGTTTGGGTGTCTCCTCGGGTTCT
TTTTGCCAACTTTCCCCACGTAAAGGTGAACATTGGTTCCTTCATTTGCTTTGGAAGTTTT
AATCTCTAACAGTGGACAAAGTTACAGTGCTTAAACTCTGTTACACTTTTTGGAAGTGAA
AACTTTGTAGTATGATAGGTTATTTTGATGTAAAGATGTTCTGGATACCATTATATGTTCCC
CCTGTTTCAGAGGCTCAGATTGTAATATGTAATGGTATGTCATTGCTACTATGATTTAAT
TTGAAATATGGTCTTTTGGTTATGAATACTTTGCAGCACAGCTGAGAGGCTGTCTGTTGTAT
TCATTGTGGTCAATAGCACCTAACAACATTGTAGCCTCAATCGAGTGAGACAGACTAGAAGTT
CCTAGTGATGGCTTATGATAGCAAATGGCCTCATGTCAAATATTTAGATGTAATTTTGTGTA
AGAAATACAGACTGGATGTACCACCACTACTACCTGTAATGACAGGCCTGTCCAACACATC
TCCCTTTTCCATGACTGTGGTAGCCAGCATCGGAAAGAACGCTGATTTAAAGAGGTGCTTG
GGAATTTTATTGACACAGTACCATTTAATGGGGAGGACAAAATGGGGCAGGGGAGGGAGAAG
TTTCTGTCTGTTAAAAACAGATTTGGAAAGACTGGACTCTAAAGTCTGTTGATTAAAGATGAG
CTTTGTCTACTTCAAAAGTTTGTGTTGCTTACCCCTTCAGCCTCCAATTTTTTAAGTGAAAT
ATAGCTAATAACATGTGAAAAGAATAGAAGCTAAGGTTTAGATAAATATTGAGCAGATCTAT
AGGAAGATTGAACCTGAATATTGCCATTATGCTTGACATGGTTTCCAAAAAATGGTACTCCA
CATATTTCAAGTGAGGGTAAGTATTTTCTGTTGTCAAGAATAGCATTGTAAAAGCATTTTGT
AATAATAAAGAATAGCTTTAATGATATGCTTGTAACATAAATAATTTGTAATGTATCAAAT
ACATTTAAACATTAAATATAATCTCTATAATAATTTAAATCTAATATGGTTTTAATAGA
ACAGCGATATCAAGCTTATCGATAATCAACCTCTGGATTACAAAATTTGTGAAAGATTGACT
GGTATTCCTTAACATATGTTGCTCCTTTTACGCTATGTGGATACGCTGCTTTAATGCCTTTGTA
TCATGCTATTGCTTCCCGTATGGCTTTTCATTTTCTCCTCCTTGATAAATCCTGGTTGCTGT
CTCTTTATGAGGAGTTGTGGCCGTTGTCAGGCAACGTGGCGTGGTGTGCACTGTGTTTGCT
GACGCAACCCCCACTGGTTGGGGCATTGCCACCACCTGTCAGCTCCTTTCCGGGACTTTCCG
TTTCCCCCTCCCTATTGCCACGGCGGAACCTCATCGCCGCCTGCCTTGCCCGCTGCTGGACAG
GGGCTCGGCTGTTGGGCACGTGACAATCCGTGGTGTGTGCGGGGAAATCATCGTCCTTTCCCT
TGGCTGCTCGCCTATGTTGCCACCTGGATTCTGCGCGGGACGTCCTTCTGCTACGTCCCTTC
GGCCCTCAATCCAGCGGACCTTCCTTCCCGCGGCTGCTGCCGGCTCTGCGGCCTCTTCCGC
GTCTTCGCCTTCGCCCTCAGACGAGTCGGATCTCCCTTTGGGCCGCTCCCGCGGAATTCAT
CGATACCGAGCGCTGCTCGAGAGATCTGTGATAGCGGCCATCAAGCTGGCTGTGCCTTCTAG
TTGCCAGCCATCTGTGTGTTTGGCCCTCCCCCGTGCTTCCCTTGACCCTGGAAGGTGCCACTC
CCACTGTCTTTTCTAATAAAATGAGGAAATTCATCGCATTGTCTGAGTAGGTGTCTTCT
ATTCTGGGGGGTGGGGTGGGGCAGGACAGCAAGGGGGAGGATTGGGAAGACAATAGCAGGCA

10

20

30

40

50

【化 1 4】

TGCTGGGGACACGTGCGGACCGAGCGGCCGCAGGAACCCCTAGTGATGGAGTTGGCCACTCC
 CTCTCTGCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGGCCGGGCGACCAAAGGTCGCCCCGACGCCCGGGCT
 TTGCCCGGGCGGCCTCAGTGAGCGAGCGAGCGCGCAGCTGCCTGCAGGGGGCGCCTGATGCGG
 TATTTTCTCCTTACGCATCTGTGCGGTATTTACACCCGCATACGTCAAAGCAACCATAGTAC
 GCGCCCTGTAGCGGCGCATTAAGCGCGGGGGTGTGGTGGTTACGCGCAGCGTGACCGCTAC
 ACTTGCCAGCGCCCTAGCGCCCGCTCCTTTTCGCTTTTCTTCCCTTCCCTTTCTCGCCACGTTCCG
 CCGGCTTTCCCCGTCAAGCTCTAAATCGGGGGCTCCCTTTAGGGTTCCGATTTAGTGCTTTA
 CGGCACCTCGACCCCCAAAAAAGTTGATTTGGGTGATGGTTACGTAGTGGGCCATCGCCCTG
 ATAGACGGTTTTTCGCCCTTTGACGTTGGAGTCCACGTTCTTTAATAGTGGACTCTTGTTCC
 AAACCTGGAACAACACTCAACCCCTATCTCGGGCTATTCTTTTGATTTATAAGGGATTTTGCCG
 ATTTTCGGCCTATTGGTTAAAAAATGAGCTGATTTAACAAAAATTTAACGCGAATTTTAACAA
 AATATTAACGTTTACAATTTTATGGTGCACCTCTCAGTACAATCTGCTCTGATGCCGCATAGT
 TAAGCCAGCCCCGACACCCGCCAACACCCGCTGACGCGCCCTGACGGGCTTGCTGCTCCCCG
 GCATCCGCTTACAGACAAGCTGTGACCGTCTCCGGGAGCTGCAITGTGTCAGAGGTTTTTACC
 GTCATCACCGAAACGCGCGAGACGAAAGGGCCTCGTGATACGCCCTATTTTTATAGGTTAATG
 TCATGATAAATAATGGTTTTCTTAGACGTCAGGTGGCACTTTTCGGGGAAATGTGCGCGGAACC
 CCTATTTGTTTTATTTTTCTAAATACATTCAAATATGTATCCGCTCATGAGACAATAACCCCTG
 ATAAATGCTTCAATAATATTGAAAAAGGAAGAGTATGAGTATTCAACATTTCCGTGTCGCCC
 TTATTTCCCTTTTTTTCGGGCATTTTGCCTTCTGTTTTTGTCTACCCAGAAACGCTGGTGAAA
 GTAAAAGATGCTGAAGATCAGTTGGGTGCACGAGTGGGTTACATCGAACTGGATCTCAACAG
 CGGTAAGATCCTTGAGAGTTTTTCGCCCCGAAGAACGTTTTTCCAATGATGAGCACTTTTAAAG
 TTCTGCTATGTGGCGCGGTATTATCCCGTATTGACGCCGGGCAAGAGCAACTCGGTGCGCCGC
 ATACACTATTCTCAGAATGACTTGGTTGAGTACTCACCAGTCACAGAAAAGCATCTTACGGA
 TGGCATGACAGTAAGAGAATTATGCAGTGCTGCCATAACCATGAGTGATAACACTGCGGCCA
 ACTTACTTCTGACAACGATCGGAGGACCGAAGGAGCTAACCCTTTTTTGCACAACATGGGG
 GATCATGTAACCTCGCCTTGATCGTTGGGAACCGGAGCTGAATGAAGCCATACCAAACGACGA
 GCGTGACACCACGATGCCTGTAGCAATGGCAACAACGTTGCGCAAACCTATTAACCTGGCGAAC
 TACTTACTCTAGCTTCCCGGCAACAATTAATAGACTGGATGGAGGCGGATAAAGTTGCAGGA
 CCACTTCTGCGCTCGGCCCTTCCGGCTGGCTGGTTTTATTGCTGATAAACTCGGAGCCGGTGGA
 GCGTGGGTCTCGCGGTATCAATTG

10

20

30

【0 1 1 6】

いくつかの実施形態では、本明細書において記載されるAAVベクターは、AAV 5' ITR、GJB2 GREエンハンサー(hGJB2 GRE1)、GJB2基本プロモーター、GJB2エクソン1の5' UTR、コザック配列、遺伝子産物(例、GJB2またはGFP)をコードするヌクレオチド配列、GJB2エクソン2の3' UTR、WPRE、ウシ成長ホルモンポリAシグナル、およびAAV 3' ITRを含む(例、ベクターc81.1)。

【0 1 1 7】

いくつかの実施形態では、本明細書において記載されるAVVベクターは、配列番号64と少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%配列同一性のヌクレオチド配列を含む。eGFPをコードするベクターc81.1の例示的なヌクレオチド配列は配列番号64に示される(hGJB2 GRE1には下線を付した;eGFPコード配列は太字で):

40

【化 1 5】

CGATGCCTGTAGCAATGGCAACAACGTTGCGCAAACCTATTAACCTGGCGAACTACTTACTCTA
 GCTTCCCGGCAACAATTAATAGACTGGATGGAGGCGGATAAAGTTGCAGGACCACTTCTGCG
 CTCGGCCCTTCCGGCTGGCTGGTTTTATTGCTGATAAATCTGGAGCCGGTGAGCGTGGGTCTC

50

【化 16】

GCGGTATCATITGCAGCACTGGGGCCAGATGGTAAGCCCTCCCGTATCGTAGTTATCTACACG
 ACGGGGAGTCAGGCCAACTATGGATGAACGAAATAGACAGATCGCTGAGATAGGTGCCTCACT
 GATTAAGCATITGGTAACTGTCAGACCAAGTTTACTCATATATACTTTAGATTGATTTAAAAAC
 TTCATTTTTAAATTTAAAAAGGATCTAGGTGAAGATCCTTTTTGATAATCTCATGACCAAAATC
 CCTTAACGTGAGTTTTTCGTTCCACTGAGCGTCAGACCCCGTAGAAAAGATCAAAGGATCTTC
 TTGAGATCCTTTTTTTCTGCGCGTAATCTGCTGCTTGCAAACAAAAAACCCGCTACCAG
 CGGTGGTTTGGTTTGGCGGATCAAGAGCTACCAACTCTTTTTCCGAAGGTAAGTGGCTTCAGC
 AGAGCGCAGATACCAATACTGTCTTCTAGTGTAGCCGTAGTTAGGCCACCACTTCAAGAA
 CTCTGTAGCACCCTACATACCTCGCTCTGCTAATCCTGTTACCAGTGGCTGCTGCCAGTG
 GCGATAAGTCGTGTCTTACCGGGTTGGACTCAAGACGATAGTTACCGGATAAGGCGCAGCGG
 TCGGGCTGAACGGGGGGTTCTGTGCACACAGCCAGCTTGGAGCGAACGACCTACACCGAACT
 GAGATACCTACAGCGTGAGCTATGAGAAAGCGCCACGCTTCCCGAAGGGAGAAAGGCGGACA
 GGTATCCCGTAAGCGGCAGGCTCGGAACAGGAGAGCGCAGGAGCTTCCAGGGGGGAAAC
 GCCTGGTATCTTTTATAGTCTGTGCGGGTTTCGCCACCTCTGACTTGAGCGTCGATTTTTGTG
 ATGCTCGTCAGGGGGGCGGAGCCTATGGAACAAACGCCAGCAACGCGGCCTTTTTACGGTTCC
 TGGCCTTTTGTGCGCTTTTGTCTACATGTCTGTCAGGCAGCTGCGCGCTCGCTCGCTCACT
 GAGGCCGCCCCGGGCAAAGCCCGGGCGTGGGGCGACCTTTGGTTCGCCCCGGCTCAGTGAGCGA
 GCGAGCGCGCAGAGAGGGAGTGGCCAACTCCATCACTAGGGGTTCTTGGCGCCGCACGCGTA
 AGAGAGCACTTGGGAAGAGCCCCGAGGGCAGCCGGGGCTTGGCGCCTCACCCTTTTGGTTT
 CACATCCCAGAAATCAGTAAGGCAGGAATTGGAGGCTGCTTCTTGGCTTAGCAACTCGGTGA
 CCTTAGGCAGAACAGTTTACGCTTCTGAGTGTCTTCTCTCTGTAAGGGGAGCGTAAACC
 GTCTTCCATGCAGAACGTGTACTGTGCTGGCACAGCACTGGGGCATTAGGATCTCCAAATT
 AAAGGCTCACTCTGCGGGATGGAGGCAGCCACAGCTGGAAGAAGGAACATTTGGGGCCAGAA
 GTCCCCCTACCTCCGTCTTAAGAGAGAAGATGGGAATAACGACCCCTCGCTGAAATGATTGCT
 CTCTGGCCAGCTCGCCTCGCATCCACATCCAAATCTGGGAGGCACAGAGCGCATCAGGACAT
 CGGGTTCTGTCAGTGTAATGGGCGTGGCTCCTGACCTTCTGTCTGTATCAGAGAAGATAAGG
 GAGAACATTTGAAAGAAAGGAGAAAGAAGATAGCCACTGGAGAACAGAGCAAAGGAGCCAGC
 AGAAAAAGACGAGACGGCTGTAGCCCCACAGGAAGCAGAAACCGATAGGCTAAGTAGGATAC
 ACACAAAGAAAAGTAGATCCCGAGAGGCATTTCCCCGAGGGCTTTCAITGIGGTTTCTCGTGA
 GGAGAAGCTGACTGCAGGGTGTGTTGAAAGAACGACTTATGCAGCCATAAAAAATGATGAGTT
 CATGTCTTTGTAGGGACATGGATGATTAATTAAGACCTCGAAGGGGACTTGGGGGGTTCCG
 GGCTTTCCGGGGCGGTCCGGGGTTCCGCGGACCCGGAAGCTCTGAGGACCCAGAGGCCGGGC
 GCGCTCCGCCCGCGCGCGCCGCCCTCCGTAACCTTTCCAGCTCCGAGGGGAAGAGCGGGG
 TGTGGGTGCGGTTAAAGGCGCCACGGCGGGAGACAGGTGTTGCGGCCCGCAGCGCCCGC
 GCGTCTCTTCCCCGACTCGGAGCCCCCTCGGCGGCGCGCCGAGGACCCGCTAGGAGCG
 CAGGAGCCCCAGCGCAGAGACCCCAACGCCGAGACCCCGCCCCGCGCCCGCGCTTCCCT
 CCCGACGAGAGCAAACCGCCAGAGTAGAAGCC**ATGGTGAGCAAGGGCGAGGAGCTGTTCA**
CCGGGGTGGTGCCCATCCTGGTTCGAGCTGGACGGCGACGTAAACGGCCACAAGTTTCAGCGTG
TCCGGCGAGGGCGAGGGCGATGCCACCTACGGCAAGCTGACCCTGAAGTTTCATCTGCACCAC
CGGCAAGCTGCCCCGTGCCCTGGCCACCCCTCGTGACCACCCTGACCTACGGCGTGCACTGCT
TCAGCCGCTACCCCGACCACATGAAGCAGCAGCACTTCTTCAAGTCCGCCATGCCCGAAGGC
TACGTCCAGGAGCGCACCATCTTCTTCAAGGACGACGGCAACTACAAGACCCGCGCCGAGGT
GAAGTTCGAGGGCGACACCCTGGTGAACCGCATCGAGCTGAAGGGCATCGACTTCAAGGAGG
ACGGCAACATCTTGGGCGACAAGCTGGAGTACAACATAACAGCCACAACGTCTATATCATG
GCCGACAAGCAGAAGAAGCGCATCAAGGTGAACTTCAAGATCCGCCACAACATCGAGGACGG
CAGCGTGCAGCTCGCCGACCACTACCAGCAGAACACCCCATCGGCGACGGCCCCGTGCTGC
TGCCCGACAACCACTACCTGAGCACCCAGTCCGCCCTGAGCAAAGACCCCAACGAGAAGCGC
GATCACATGGTCTCTGCTGGAGTTCTGTGACCGCCCGGGGATCACTCTCGGCATGGACGAGCT
GTACAAGTAATAAGGCGCGCCACCCCTGCAGGGAATTCCGCATTGCCAGTTGTTAGATTA
 AGAAATAGACAGCATGAGAGGGATGAGGCAACCCGTGCTCAGCTGTCAAGGCTCAGTCGCTA
 GCATTTCCCAACACAAAGATTCTGACCTTAAATGCAACCATTGAAACCCCTGTAGGCTCA

10

20

30

40

50

【化 17】

GGTGAAACTCCAGATGCCACAATGGAGCTCTGCTCCCCCTAAAGCCTCAAAACAAAGGCCTAA
TTCTATGCCTGTCTTAAATTTTCTTTCACTTAAAGTTAGTTCCACTGAGACCCAGGCTGTTAG
GGGTTATTGGTGTAAGGTACTTTTCATATTTTAAACAGAGGATATCGGCATTTGTTTCTTTCT
CTGAGGACAAGAGAAAAAGCCAGGTTCCACAGAGGACACAGAGAAGGTTTGGGTGTCCTCC
TGGGGTTCTTTTIGCCAACTTTCCCCACGTTAAAGGTGAACATTGGTTCTTTTCATTTTGCTTT
GGAAGTTTTAATCTCTAACAGTGGACAAAGTTACCAGTGCCTTAAACTCTGTTACACTTTTT
GGAAGTGAAAACCTTTGTAGTATGATAGGTTATTTTGTATGTAAAGATGTTCTGGATACCATT
TATGTTCCCCCTGTTTCAGAGGCTCAGATTGTAATATGTAAATGGTATGTCATTTCGCTACTA
TGATTTAATTTGAAATATGGTCTTTTGGTTATGAATACTTTGCAGCACAGCTGAGAGGCTGT
CTGTTGTATTCAATTGTGGTCATAGCACCTAACAAACATTGTAGCCTCAATCGAGTGAGACAGA
CTAGAAGTTCCTAGTGATGGCTTATGATAGCAAATGGCCTCATGTCAAATATTTAGATGTAA
TTTTGTGTAAGAAATACAGACTGGATGTACCACCAACTACTACCTGTAATGACAGGCCTGTC
CAACACATCTCCCTTTTCCATGACTGTGGTAGCCAGCATCGGAAAGAAGCCTGATTTAAAGA
GGTCGCTTGGGAATTTTATTGACACAGTACCATTAAATGGGGAGGACAAAATGGGGCAGGGG
AGGGAGAAGTTTCTGTCTGTTAAAAACAGATTTTGAAAGACTGGACTCTAAAGTCTGTTGATT
AAAGATGAGCTTTGTCTACTTTCAAAAGTTTGTGTTGCTTACCCCTTCAGCCTCCAATTTTTTA
AGTGAAAATATAGCTAATAACATGTGAAAAGAATAGAAGCTAAGGTTTAGATAAATATTGAG
CAGATCTATAGGAAGATTGAACCTGAATATTGCCATTATGCTTGACATGGTTTCCAAAAAAT
GGTACTCCACATATTTTCAGTGAGGGTAAAGTATTTTCTGTTGTCAAGAATAGCATTGTAAAA
GCATTTTGTAAATAATAAGAATAGCTTTAATGATATGCTTGTAACATAAATAATTTTGTAAAT
GTATCAAATACATTTAAAAACATTAAAAATAATCTCTATAATAATTTAAATCTAATAIGGT
TTTAATAGAACAGCGATATCAAGCTTATCGATAATCAACCTCTGGATTACAAAATTTGTGAA
AGATTGACTGGTATTCTTAACATATGTTGCTCCTTTTACGCTATGTGGATACGCTGCTTTAAT
GCCTTTGTATCATGCTATTGCTTCCCGTATGGCTTTCATTTTCTCCTCCTTGTATAAAICCT
GGTTGCTGTCTCTTTATGAGGAGTTGTGGCCGTTGTGAGGCAACGTGGCGTGGTGTGCACT
GTGTTTGTGACGCAACCCCTCCTGTTGGGGCATTGCCACCACCTGTGAGCTCCTTTCCGG
GACTTTGCTTTTCCCTCCTTATTGCCACGGCGGAACATCGCCGCTGCTTGGCCGCT
GCTGGACAGGGGCTCGGCTGTTGGGCACTGACAATTCCGTGGTGTGTCGGGGAATCATCG
TCCTTTCTTGGCTGCTCGCCTATGTTGCCACCTGGATTCTGCGCGGACGTCCTTCTGCTA
CGTCCCTTCGGCCCTCAATCCAGCGGACCTTCCCTCCCGCGGCTGCTGCCGGCTCTGCGGC
CTCTTCCGCGTCTTCCGCTTCGCCCTCAGACGAGTCGGATCTCCCTTTGGGCGGCTCCCCG
CGAATTCATCGATACCGAGCGCTGCTCGAGAGATCTGTGATAGCGCCATCAAGCTGGCTGT
GCCTTCTAGTTGCCAGCCATCTGTTGTTTGGCCCTCCCCCGTGCCTTCCCTTGACCCTGGAAG
GTGCCACTCCCCTGTCCTTTCCCTAATAAAAAATGAGGAAATTCATCGCATTGTCTGAGTAGG
TGTCATTCTATTCTGGGGGTGGGGTGGGGCAGGACAGCAAGGGGGAGGATTGGGAAGACAA
TAGCAGGCATGCTGGGGACACGTGCGGACCGAGCGGCCGAGGAACCCCTAGTGATGGAGTT
GGCCACTCCCTCTCTGCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGGCCGGGCGACCAAAGGTCGCCGAC
GCCCCGGCTTTGGCCGGGCGGCCCTCAGTGAGCGAGCGAGCGCGAGCTGCCTGCAGGGGCGC
CTGATGCGGTATTTTCTCCTTACGCATCTGTGCGGTATTTTACACCCGCATACGTCAAAGCAA
CCATAGTACGCGCCCTGTAGCGGCGCATTAAAGCGGGCGGGTGTGGTGGTTACGCGCAGCGT
GACCGCTACACTTGCCAGCGCCCTAGCGCCCGCTCCTTTGCTTTCTTCCCTTCCCTTTCTCG
CCACGTTTCGCCGGCTTTCCCGTCAAGCTCTAAATCGGGGGCTCCCTTTAGGGTTCCGATTT
AGTGCTTTACGGCACCTCGACCCCAAAAACTTGATTTGGGTGATGGTTACGTTAGTGGGCC
ATCGCCCTGATAGACGGTTTTTCGCCCTTTGACGTTGGAGTCCACGTTCTTTAATAGTGGAC
TCTTGTTCAAACTGGAACAACACTCAACCTATCTCGGGCTATTCTTTTGATTTATAAGGG
ATTTTGCCGATTTCCGCCCTATTGGTTAAAAAATGAGCTGATTTAACAAAAATTTAACGCGAA
TTTTAACAATAATTAACGTTTACAATTTTATGGTGCACTCTCAGTACAATCTGCTCTGATG
CCGCATAGTTAAGCCAGCCCCGACACCCGCCAACCCGCTGACGCGCCCTGACGGGCTTGT
CTGCTCCCGGCATCCGCTTACAGACAAGCTGTGACCGTCTCCGGGAGCTGCATGTGTCAGAG
GTTTTACCGTTCATCACCGAAACGCGCGAGACGAAAGGGCCTCGTGATACGCCTATTTTTAT
AGGTTAATGTATGATAATAATGGTTTCTTAGACGTCAGGTGGCACTTTTCGGGGAATGTG

10

20

30

40

50

【化 1 8】

CGCGGAACCCCTATTTGTTTATTTTTCTAAATACATTCAAATATGTATCCGCTCATGAGACA
ATAACCCTGATAAATGCTTCAATAATATTGAAAAAGGAAGAGTATGAGTATTCAACATTTCC
GTGTCGCCCTTATTCCTTTTTTGCGGCATTGCTTCTGTTTTTGCTCAGCCAGAAACG
CTGGTGAAAGTAAAAGATGCTGAAGATCAGTTGGGTGCACGAGTGGGTTACATCGAACTGGA
TCTCAACAGCGGTAAGATCCTTGAGAGTTTTCGCCCCGAAGAACGTTTTCCAATGATGAGCA
CTTTTAAAGTTCTGCTATGTGGCGCGGTATTATCCCGTATTGACGCCGGGCAAGAGCAACTC
GGTCGCCGCATACACTATTCTCAGAATGACTTGGTTGAGTACTCACCAGTCACAGAAAAGCA
TCTTACGGATGGCAIGACAGTAAGAGAATTATGCAGTGCTGCCATAACCATGAGTGATAACA
CTGCGGCCAACTTACTTCTGACAACGATCGGAGGACCGAAGGAGCTAACCGCTTTTTTGCAC
AACATGGGGGATCATGTAACCTCGCCTTGATCGTTGGGAACCGGAGCTGAATGAAGCCATACC
AAACGACGAGCGTGACACCA

10

【0 1 1 8】

いくつかの実施形態では、本明細書において記載されるAVVベクターは、配列番号65と少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%配列同一性のヌクレオチド配列を含む。ヒトGJB2をコードするベクターc81.1の例示的なヌクレオチド配列は配列番号65に示される(hGJB2 GRE1には下線を付した;ヒトGJB2コード配列は太字で):

20

30

40

50

【化 1 9】

CGATGCCTGTAGCAATGGCAACAACGTTGCGCAAACCTATTAACCTGGCGAACTACTTACTCTA
GCTTCCCCGGCAACAATTAATAGACTGGATGGAGGCGGATAAAAGTTGCAGGACCACTTCTGCG
CTCGGCCCTTCCGGCTGGCTGGTTTTATTGCTGATAAATCTGGAGCCGGTGAGCGTGGGTCTC
GCGGTATCATTGCAGCACTGGGGCCAGATGGTAAGCCCTCCCGTATCGTAGTTATCTACACG
ACGGGGAGTCAGGCAACTATGGATGAACGAAATAGACAGATCGCTGAGATAGGTGCCTCACT
GATTAAGCATTGGTAACTGTCAGACCAAGTTTACTCATATATACTTTAGATTGATTTAAAC
TTCATTTTTTAATTTAAAAGGATCTAGGTGAAGATCCTTTTTTGATAATCTCATGACCAAAATC
CCTTAACGTGAGTTTTTCGTTCCACTGAGCGTCAGACCCCGTAGAAAAGATCAAAGGATCTTC
TTGAGATCCTTTTTTTCTGCGCGTAATCTGCTGCTTGCAAACAAAAAACCACCGCTACCAG
CGGTGGTTTGTGTGCCGGATCAAGAGCTACCAACTCTTTTTCCGAAGGTAACCTGGCTTCAGC
AGAGCGCAGATACCAAATACTGTCCTTCTAGTGTAGCCGTAGTTAGGCCACCACTTCAAGAA
CTCTGTAGCACCGCCTACATACCTCGCTCTGCTAATCCTGTTACCAGTGGCTGCTGCCAGTG
GCGATAAGTCGTGTCTTACCGGGTTGGACTCAAGACGATAGTTACCGGATAAGGCGCAGCGG
TCGGGCTGAACGGGGGGTTTCGTGCACACAGCCCAGCTTGAGCGAACGACCTACACCGAACT
GAGATACCTACAGCGTGAGCTATGAGAAAGCGCCACGCTTCCCGAAGGGAGAAAGGCGGACA
GGTATCCGGTAAGCGGCAGGGTCGGAACAGGAGAGCGCACGAGGGAGCTTCCAGGGGGAAAC
GCCTGGTATCTTTATAGTCCTGTGCGGGTTTCGCCACCTCTGACTTGAGCGTCGATTTTTGTG
ATGCTCGTCAGGGGGGCGGAGCCTATGGAAAAACGCCAGCAACGCGGCCTTTTTACGGTTCC
TGGCCTTTTGCTGGCCTTTTGCTCACATGTCCTGCAGGCAGCTGCGCGCTCGCTCGCTCACT
GAGGCCGCCCCGGCAAAGCCCCGGGCGTCGGGCGACCTTTGGTCGCCCCGGCCTCAGTGAGCGA
GCGAGCGCGCAGAGAGGGAGTGGCCAACTCCATCACTAGGGGTTCTGCGGGCCGCACGCGTA
AGAGAGCACTTGGAAGAGCCCCCGAGGGCAGCCGGGGCTTGCCGCCTCACCTTTTTGGTTT
CACATCCCAGAAATCAGTAAGGCAGGAATTGGAGGCTGCTTCTTGCTTAGCAACTCGGTGA
CCTTAGGCAGAACAGTTCAGCCTTCTGAGTGTCTTCTCTTCTGTAAGGGGAGCGTAACC
GTCCTCCATGCAGAACGTGTACTGTGCCTGGCACAGCACTGGGGCATTAGGATCTCCAAATT
AAAGGCTCACTCTGCGGGATGGAGGCAGCCACAGCTGGAAGAAGGAACATTTGGGGCCAGAA
GTCCCCCTACCTCCGTCTTAAGAGAGAAGATGGGAATAACGACCCTCGCTGAAATGATTGCT
CTCTGGCCAGCTCGCCTCGCATCCACATCCAAATCTGGGAGGCACAGAGCGCATCAGGACAT
CGGGTTCTGTGAGTGTAAATGGGCGTGGCTCCTGACCTTCTGTCTGTATCAGAGAAGATAAGG
GAGAACATTTGAAAGAAAAGGAGAAAGAAGATAGCCACTGGAGAACAGAGCAAAGGAGCCAGC

10

20

30

40

50

【化 20】

AGAAAAAGACGAGACGGCTGTAGCCCCACAGGAAGCAGAAACCGATAGGCTAAGTAGGATAC
 ACACAAAGAAAAGTAGATCCCGAGAGGCATTTCCCCGAGGGCITTICATGTGGTTTCTCGTGA
 GGAGAAGCTGACTGCAGGGTGTTTGAAAGAACGACTTATGCAGCCATAAAAAATGATGACTT
 CATGTCCTTTGTAGGGACATGGATGATTAATTAAGACCTCGAAGGGGACTTGGGGGGTTCGG
 GGCTTTTCGGGGGCGGTTCGGGGGTTTCGGGACCCGGAAGCTCTGAGGACCCAGAGGCCGGGC
 GCGCTCCGCCCGCGCGCCGCCCTCCGTAACCTTTCCAGTCTCCGAGGGAAGAGGCCGGG
 TGTGGGTGCGGTATAAAGGCGCCACGGCGGGAGACAGGTGTTGCGGCCCCGAGCGCCCGC
 GCGCTCCTCTCCCCGACTCGGAGCCCCCTCGGCGGCGCCCGGCCAGGACCCGCCTAGGAGCG
 CAGGAGCCCCAGCGCAGAGACCCCCAACGCCGAGACCCCCGCCCGGCCCGCCGCGCTTCCT
 CCCGACGCAGAGCAAAACGCCCAGAGTAGAAGCC**ATGGATTGGGGCACGCTGCAGACGATCC**
TGGGGGGTGTGAACAAACACTCCACCAGCATTGGAAGATCTGGCTCACCGTCTCTTCATT
TTTCGCATTATGATCCTCGTGTGGCTGCAAAGGAGGTGTGGGGAGATGAGCAGGCCGACTT
TGCTGCAACACCCTGCAGCCAGGCTGCAAGAACGTGTGCTACGATCACTACTCCCCATCT
CCACATCCGGCTATGGGCCCTGCAGCTGATCTTCGTGTCCAGCCAGCGCTCCTAGTGCC
ATGCACGTGGCCTACCGGAGACATGAGAAGAAGAGGAAGTTCATCAAGGGGGAGATAAAGAG
TGAATTTAAGGACATCGAGGAGATCAAAACCCAGAAGGTCCGCATCGAAGGCTCCCTGTGGT
GGACCTACACAAGCAGCATCTTCTCCGGGTCATCTTCGAAGCCGCCTTCATGTACGCTTTC
TATGTCATGTACGACGGCTTCTCCATGCAGCGGCTGGTGAAGTGCAACGCCTGGCCTGTCC
CAACACTGTGGACTGCTTTGTGTCCCGGCCACGGAGAAGACTGTCTTCACAGTGTTTCATGA
TTGCAGTGCTGGAATTTGCATCCTGCTGAATGTCACTGAATTGTGTTATTTGCTAATTAGA
TATTGTTCTGGGAAGTCAAAAAGCCAGTTTAAAGGCGCGCCACCCCTGCAGGGAATTCCGC
 ATTGCCAGTTGTTAGATTAAGAAATAGACAGCATGAGAGGGATGAGGCAACCCGTGCTCAG
 CTGTCAAGGCTCAGTCGCTAGCATTTCCTAACACAAAGATTCTGACCTTAAATGCAACCAT
 TGAAACCCCTGTAGGCCTCAGGTGAAACTCCAGATGCCACAATGGAGCTCTGCICCCCTAAA
 GCCTCAAAACAAAGGCCTAATTCTATGCCTGTCTTAATTTTCTTTCACTTAAGTTAGTTCCA
 CTGAGACCCAGGCTGTAGGGGTTATTGGTGTAAGGTACTTTCATATTTTAAACAGAGGAT
 ATCGGCATTTGTTTCTTTCTGTGAGGACAAGAGAAAAAGCCAGGTTCCACAGAGGACACAG
 AGAAGGTTTGGGTGTCTCTCGGGTTCTTTTTGCCAAGTTTCCCCACGTTAAAGGTGAACA
 TTGGTTCTTTCAATTTGCTTTGGAAGTTTTAATCTCTAACAGTGGACAAAGTTACCAGTGCCT
 TAACTCTGTTACACTTTTGGAGTGAAAACCTTTGTAGTATGATAGGTTATTTTGAIGTAA
 AGATGTTCTGGATAACATTATATGTTCCCCCTGTTTCAGAGGCTCAGATTGTAATATGTAAA
 TGGTATGTCATTCGCTACTATGATTTAATTTGAAATATGGTCTTTTGGTTATGAATACTTTG
 CAGCACAGCTGAGAGGCTGTCTGTTGTATTCTATTGTGGTCATAGCACCTAACACATTGTAG
 CCTCAATCGAGTGAGACAGACTAGAAGTTCTTAGTGATGGCTTATGATAGCAATGGCCTCA
 TGTCAAATATTTAGATGTAATTTTGTGTAAGAAATACAGACTGGATGTACCACCAACTACTA
 CCTGTAATGACAGGCCTGTCCAACACATCTCCCTTTTCCATGACTGTGGTAGCCAGCATCGG
 AAAGAACGCTGATTTAAAGAGGTCGCTTGGGAATTTTATTGACACAGTACCATTTAATGGGG
 AGGACAAAATGGGGCAGGGGAGGGAGAAAGTTTCTGTCTTAAAAACAGATTTGGAAAAGACTG
 GACTCTAAAGTCTGTTGATTAAGATGAGCTTTGTCTACTTCAAAAGTTTGTGTTTACCC
 CTTCAGCCTCCAATTTTTTAAGTGAAAATATAGCTAATAACATGTGAAAAGAATAGAAAGCTA
 AGGTTTAGATAAAATATTGAGCAGATCTATAGGAAGATTGAACCTGAATATTGCCATTATGCT
 TGACATGGTTTCAAAAAATGGTACTCCACATATTTCACTGAGGGTAAGTATTTTCTGTGTG
 TCAAGAATAGCATTGTAAAAGCATTTTGTAAATAATAAGAATAGCTTTAATGATATGCTTGT
 AACTAAAAATAATTTGTAAATGTATCAAATACATTTAAACATTAAATATAATCTCTATAAT
 AATTTAAATCTAATATGGTTTTAATAGAACAGCGATATCAAGCTTATCGATAATCAACCTC
 TGGATTACAAAATTTGTGAAAGATTGACTGGTATTCTTAACCTATGTTGCTCCTTTTACGCTA
 TGTGGATACGCTGCTTAAATGCCTTTGTATCATGCTATTGCTTCCCGTATGGCTTTTCAATTT
 CTCCTCCTTGTATAAATCCTGGTTGCTGTCTCTTTATGAGGAGTTGTGGCCGTTGTGACGC
 AACGTGGCGTGGTGTGCACTGTGTTTGTGACGCAACCCCACTGGTTGGGGCATTGCCACC
 ACCTGTGAGCTCCTTTCCGGGACTTTCGCTTTCCCTCCCTATTTGCCACGGCGGAATCAT
 CGCCGCTGCCTTGCCCGCTGCTGGACAGGGGCTCGGCTGTTGGGCACTGACAATTCCGTGG

10

20

30

40

50

【化 2 1】

TGTGTGCGGGGAAATCATCGTCCTTTCTTGGCTGCTCGCCTATGTTGCCACCTGGATTCTG
 CGCGGGACGTCTTCTGCTACGTCCCTTCGGCCCTCAATCCAGCGGACCTTCTTCCCGCGG
 CCTGCTGCGGGCTCTGCGGCCTCTTCCGCGTCTTCGCCCTTCGCCCTCAGACGAGTCGGATCT
 CCGTTTGGGGCCGCTCCCCGCGAATTCATCGATACCGAGCGCTGCTCGAGAGATCTGTGATA
 GCGGCCATCAAGCTGGCTGTGCCCTTCTAGTTGCCAGCCATCTGTTGTTTGGCCCTCCCCCGT
 GCCTTCCCTTGACCCTGGAAGGTGCCACTCCCACTGTCTTTTCTAATAAAATGAGGAAATTG
 CATCGCATTGTCTGAGTAGGTGTCATTCTATTCTGGGGGGTGGGGTGGGGCAGGACAGCAAG
 GGGGAGGATTGGGAAGACAATAGCAGGCATGCTGGGGACACGTGCGGACCGAGCGGCCGCGAG
 GAACCCCTAGTGATGGAGTTGGCCACTCCCTCTCTGCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGGCCGG
 GCGACCAAAGGTGCGCCGACGCCCCGGCTTTGCCCGGGCGGCCCTCAGTGAGCGAGCGAGCGC
 GCAGCTGCCTGCAGGGGCGCCTGATGCGGTATTTTCTCCTTACGCATCTGTGCGGTATTTCA
 CACCGCATACGTCAAAGCAACCATAGTACGCGCCCTGTAGCGGCGCATTAAAGCGCGCGGGT
 GTGGTGGTTACGCGCAGCGTGACCGCTACACTTGCCAGCGCCCTAGCGCCCGCTCCTTTTCGC
 TTTCTTCCCTTCCCTTTCTCGCCACGTTTCGCCGGCTTTCCCGTCAAGCTCTAAATCGGGGGC
 TCCCTTTAGGGTTCCGATTTAGTGCTTTACGGCACCTCGACCCCAAAAACTTGATTTGGGT
 GATGGTTACGTAGTGGGCCATCGCCCTGATAGACGGTTTTTTCGCCCTTTGACGTTGGAGTC
 CACGTTCTTTAATAGTGGACTCTTGTTCCAACTGGAACAACACTCAACCCTATCTCGGGCT
 ATTCTTTTGATTTATAAGGGATTTTGCCGATTTTCGGCTATTGGTTAAAAAATGAGCTGATT
 TAACAAAAATTTAACGCGAATTTTAACAAAATATTAACGTTTACAATTTTATGGTGCACCTCT
 CAGTACAATCTGCTCTGATGCCGCATAGTTAAGCCAGCCCCGACACCCGCCAACACCCGCTG
 ACGCGCCCTGACGGGCTTGCTGCTCCCGGCATCCGCTTACAGACAAGCTGTGACCGTCTCC
 GGGAGCTGCATGTGTGTCAGAGGTTTTACCGTTCATCACCGAAACGCGCGAGACGAAAGGGCCT
 CGTGATACGCCTATTTTTATAGGTTAATGTCATGATAATAATGGTTTTCTTAGACGTCAGGTG
 GCACTTTTTCGGGGAAATGTGCGCGGAACCCCTATTTGTTTATTTTTCTAAATACATTCAAAT
 ATGTATCCGCTCATGAGACAATAACCCTGATAAATGCTTCAATAATATTGAAAAAGGAAGAG
 TATGAGTATTCAACATTTCCGTGTCGCCCTTATTCCTTTTTTTCGGGCATTTTGCCTTCCTG
 TTTTGTCTACCCAGAAACGCTGGTGAAAGTAAAGATGCTGAAGATCAGTTGGGTGCACGA
 GTGGGTTACATCGAACTGGATCTCAACAGCGGTAAGATCCTTGAGAGTTTTTCGCCCGGAAGA
 ACGTTTTTCCAATGATGAGCACTTTTAAAGTTCTGCTATGTGGCGCGGTATTATCCCGTATTG
 ACGCCGGGCAAGAGCAACTCGGTGCGCGCATACACTATTCTCAGAATGACTTGGTTGAGTAC
 TCACCAGTCACAGAAAAGCATCTTACGGATGGCATGACAGTAAGAGAATTATGCAGTGCTGC
 CATAACCATGAGTGATAAAGCTGCGGCCAACTTACTTCTGACAACGATCGGAGGACCGAAGG
 AGCTAACCGCTTTTTTGCACAACATGGGGGATCATGTAACCTCGCCTTGATCGTTGGGAACCG
 GAGCTGAATGAAGCCATACCAAACGACGAGCGTGACACCA

10

20

30

40

50

【0 1 1 9】

いくつかの実施形態では、本明細書において記載されるAVVベクターは、配列番号66
 と少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも
 90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なく
 とも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、ま
 たは100%配列同一性のヌクレオチド配列を含む。マウスGJB2をコードするベクターc
 81.1の例示的なヌクレオチド配列は配列番号66に示される(hGJB2 GRE1には下線を付
 した;マウスGJB2コード配列は太字で):

【化 2 2】

CGATGCCTGTAGCAATGGCAACAACGTTGCGCAAACCTATTAAGTGGCGAACTACTTACTCTA
 GCTTCCCGGCAACAATTAATAGACTGGATGGAGGCGGATAAAGTTGCAGGACCACTTCTGCG
 CTCGGCCCTTCCGGCTGGCTGGTTTATTGCTGATAAATCTGGAGCCGGTGAGCGTGGGTCTC
 GCGGTATCATTTGCAGCACTGGGGCCAGATGGTAAGCCCTCCCGTATCGTAGTTATCTACACG
 ACGGGGAGTCAGGCAACTATGGATGAACGAAATAGACAGATCGCTGAGATAGGTGCCTCACT
 GATTAAGCATTGGTAAGTGTGACACCAAGTTTACTCATATATACTTTAGATTGATTTAAAC

【化 2 3】

TTCATTTTTAATTTAAAGGATCTAGGTGAAGATCCTTTTTGATAATCTCATGACCAAATC
 CCTTAACGTGAGTTTTTCGTTCCACTGAGCGTCAGACCCCGTAGAAAAGATCAAAGGATCTTC
 TTGAGATCCTTTTTTCTGCGCGTAATCTGCTGCTTGCAAACAAAAAACCACCGCTACCAG
 CGGTGGTTTTGTTTGCCTGATCAAGAGCTACCAACTCTTTTTCCGAAGGTAACCTGGCTTCAGC
 AGAGCGCAGATACCAAATACTGTCCTTCTAGTGTAGCCGTAGTTAGGCCACCACTTCAAGAA
 CTCTGTAGCACCGCCTACATACCTCGCTCTGCTAATCCTGTTACCAGTGGCTGCTGCCAGTG
 GCGATAAGTCGTGTCTTACCGGGTTGGACTCAAGACGATAGTTACCGGATAAGGCGCAGCGG
 TCGGGCTGAACGGGGGGTTTCGTGCACACAGCCAGCTTGAGCGAACGACCTACACCGAACT
 GAGATACCTACAGCGTGAGCTATGAGAAAGCGCCACGCTTCCCGAAGGGAGAAAGGCGGACA
 GGTATCCGGTAAGCGGCAGGGTCGGAACAGGAGAGCGCACGAGGGAGCTTCCAGGGGGAAAC
 GCCTGGTATCTTTATAGTCCTGTGCGGTTTTCGCCACCTCTGACTTGAGCGTCGATTTTTGTG
 ATGCTCGTCAGGGGGGCGGAGCCTATGGAACAAACGCCAGCAACGCGGCCTTTTTACGGTTCC
 TGGCCTTTTGCTGGCCTTTTGCTCACATGTCCTGCAGGCAGCTGCGCGCTCGCTCGCTCACT
 GAGGCCGCCCGGGCAAAGCCCGGGCGTCGGGCGACCTTTGGTCGCCCGGCCTCAGTGAGCGA
 GCGAGCGCGCAGAGAGGGAGTGGCCAACTCCATCACTAGGGGTTCTTGGCGCCGACGCGTA
 AGAGAGCACCTTGGGAAGAGCCCCGAGGGCAGCCGGGGCTTGCCGCCTCACCCTTTTGGITT
 CACATCCCAGAAATCAGTAAGGCAGGAATTGGAGGCTGCTTCTTGCTTAGCAACTCGGTGA
 CCTTAGGCAGAACAGTTTACGCTTCTGAGTGTCTTCTCTTCTGTAAGGGGAGCGTAAACC
 GTCTCCATGCAGAACGTGTACTGTGCTTGGCACAGCACTGGGGCATTAGGATCTCCAAATT
 AAAGGCTCACTCTGCGGGATGGAGGCAGCCACAGCTGGAAGAAGGAACATTTGGGGCCAGAA
 GTCCCCCTACCTCCGTCTTAAGAGAGAAGATGGGAATAACGACCCTCGCTGAAATGATTGCT
 CTCTGGCCAGCTCGCCTCGCATCCACATCCAAATCTGGGAGGCACAGAGCGCATCAGGACAT
 CGGGTTCTGTGAGTGAATGGGCGTGGCTCTTGACCTTCTGTCTGTATCAGAGAAGATAAGG
 GAGAACATTTGAAAGAAAGGAGAAAGAAGATAGCCACTGGAGAACAGAGCAAAGGAGCCAGC
 AGAAAAAGACGAGACGGCTGTAGCCCCACAGGAAGCAGAAACCGATAGGCTAAGTAGGATAC
 ACACAAAGAAAAGTAGATCCCGAGAGGCATTTCCCGAGGGCTTTTCATGTGGTTTTCTCGTGA
 GGAGAAGCTGACTGCAGGGTGTGTTGAAAGAACGACTTATGCAGCCATAAAAAATGATGAGTT
 CATGTCCITTTGAGGGACATGGATGATTAATTAAGACCTCGAAGGGGACTTGGGGGGTTTCGG
 GGCTTTTCGGGGGCGGTTCGGGGGTTTCGGGACCCGGGAAGCTCTGAGGACCCAGAGGCCGGGC
 GCGCTCCGCCCCGCGGCGCCGCCCTCCGTAACITTTCCAGTCTCCGAGGGAAGAGGCCGGGG
 TGTGGGGTTCGGTTAAAGGCGCCACGGCGGGAGACAGGTGTTGCGGCCCCGACGCGCCCGC
 GCGCTCCTCTCCCGGACTCGGAGCCCCCTCGGCGGCGCCCCGGCCCCAGGACCCGCCTAGGAGCG
 CAGGAGCCCCAGCGCAGAGACCCCAACGCCGAGACCCCCGCCCCGCCCCGCGCTTCCT
 CCCGACGCAGAGCAAACCGCCCAGAGTAGAAGCC**ATGGATTGGGGCACACTCCAGAGCATCC**
TCGGGGGTGTCAACAAACTCCACCAGCATTGGAAGATCTGGCTCACGGTCTCTTCATC
TTCCGCATCATGATCTCTGTTGGTGGCTGCAAAGGAGGTGTGGGGAGATGAGCAAGCCGATT
TGTCTGCAACACGCTCCAGCCTGGCTGCAAGAATGTATGCTACGACCACCACTTCCCCATCT
CTCACATCCGGCTCTGGGCTCTGCAGCTGATCATGGTGTCCACGCCAGCCCTCCTGGTAGCT
ATGCATGTGGCTACCGGAGACATGAAAAGAAACGGAAGTTCATGAAGGGAGAGATAAAGAA
CGAGTTTAAGGACATCGAAGAGATCAAACCCAGAAGGTCCGTATCGAAGGGTCCCTGTGGT
GGACCTACACCACAGCATCTTCTTCCGGGTCATCTTTGAAGCCGTCTTCATGTACGTCTTT
TACATCATGTACAATGGCTTCTTTCATGCAACGTCTGGTGAAATGCAACGCTTGGCCCTGCCC
CAATACAGTGGACTGCTTCATTTCCAGGCCACAGAAAAGACTGTCTTCACCGTGTATGA
TTTCTGTGTCTGGAATTTGCATTCTGCTAAATATCACAGAGCTGTGCTATTTGTTTCGTTAGG
TATTGCTCAGGAAAGTCCAAAAGACAGTCTACCCATACGATGTTCCAGATTACGCTTAAAG
 GCGCGCCACCCCTGCAGGGAATTCCGCATTGCCAGTTGTTAGATTAAAGAAATAGACAGCAT
 GAGAGGGATGAGGCAACCCGTGCTCAGCTGTCAAGGCTCAGTCGCTAGCATTTCCCAACACA
 AAGATTCTGACCTTAAATGCAACCATTTGAAACCCCTGTAGGCCTCAGGTGAAACTCCAGAT
 GCCACAATGGAGCTCTGCTCCCCTAAAGCCTCAAAACAAAGGCCTAATTCTATGCCTGTCTT
 AATTTTCTTTCACTTAAGTTAGTTCCACTGAGACCCAGGCTGTAGGGGTTATTGGTGTAA
 GGTACTTTTCATATTTTAAACAGAGGATATCGGCATTTGTTTCTTTCTCTGAGGACAAGAGAA

10

20

30

40

50

【化 2 4】

AAAAGCCAGGTTCCACAGAGGACACAGAGAAGGTTTGGGTGTCCTCCTGGGGTTCTTTTTGC
 CAACTTTCCCCACGTTAAAGGTGAACATTGGTTCTTTCATTGCTTTGGAAGTTTTAATCTC
 TAACAGTGGACAAAGTTACCAGTGCCTTAAACTCTGTTACACTTTTTGGAAGTGAAAACTTT
 GTAGTATGATAGGTTATTTTGATGTAAAGATGTTCTGGATACCATTATATGTTCCCCCTGTT
 TCAGAGGCTCAGATTGTAATATGTAAATGGTATGTCATTGCTACTATGATTTAATTTGAAA
 TATGGTCTTTTTGGTTATGAATACTTTGCAGCACAGCTGAGAGGCTGTCTGTTGTATTCAATTG
 TGGTCATAGCACCTAACAAACATTGTAGCCTCAATCGAGTGAGACAGACTAGAAGTTCCTAGT
 GATGGCTTATGATAGCAAATGGCCTCATGTCAAATATTTAGATGTAATTTTGTGTAAGAAAT
 ACAGACTGGATGTACCACCACTACTACCTGTAATGACAGGCCTGTCCAACACATCTCCCTT
 TTCCATGACTGTGGTAGCCAGCATCGGAAAGAACGCTGATTTAAAGAGGTGCTTGGGAATT
 TTATTGACACAGTACCATTAAATGGGGAGGACAAAAATGGGGCAGGGGAGGGAGAAGTTTCTG
 TCGTTAAAAACAGATTTGGAAAGACTGGACTCTAAAGTCTGTTGATTAAAGATGAGCTTTGT
 CTACTTCAAAGTTTGTGTTTACCCCTTCAGCCTCCAATTTTTTAAGTGAAAATATAGCT
 AATAACATGTGAAAAGAATAGAAGCTAAGGTTTAGATAAATATTGAGCAGATCTATAGGAAG
 ATTGAACCTGAATATTGCCATTATGCTTGACATGGTTTCCAAAAAATGGTACTCCACATATT
 TCAGTGAGGGTAAGTATTTTCCGTGTTGCAAGAATAGCATTGTAAAGCATTTTGTAAATAAT
 AAAGAATAGCTTTAATGATATGCTTGTAACATAAATAATTTGTAATGTATCAAATACATTT
 AAAACATTAAATATAATCTCTATAATAATTTAAATCTAATATGGTTTTAATAGAACAGCG
 ATATCAAGCTTATCGATAATCAACCTCTGGATTACAAAATTTGTGAAAGATTGACTGGTATT
 CTTAACTATGTTGCTCCTTTTACGCTATGTGGATACGCTGCTTAAATGCCTTTGTATCATGC
 TATTGCTTCCCGTATGGCTTTCATTTTCTCCTCCTTGTATAAAATCCTGGTTGCTGTCTCTTT
 ATGAGGAGTTGTGGCCCGTTGTGAGGCAACGTGGCGTGGTGTCAGTGTGTTTGTGACGCA
 ACCCCCACTGGTTGGGGCATTGCCACCACCTGTCAGCTCCTTTCCGGGACTTTTCGCTTTCCC
 CCTCCCTATTGCCACGGCGGAACCTCAICGCCGCTGCCTTGCCCGCTGCTGGACAGGGGCTC
 GGCTTGGGCACGTGACAAATTCGIGGTGTTGTGCGGGAAATCATCGTCCCTTTCCCTGGCTG
 CTCGCTATGTTGCCACCTGGATTCTGCGCGGGACGTCTTCTGCTACGTCCCTTCGGCCCT
 CAATCCAGCGGACCTTCCCTCCCGCGGCTGCTGCCGGCTCTGCGGCCTCTTCCGCGTCTTC
 GCCTTCGCCCTCAGACGAGTCGGAATCCTCTTTGGGCCGCTCCCGCGAATTCATCGATAC
 CGAGCGCTGCTCGAGAGATCTGTGATAGCGGCCATCAAGCTGGCTGTGCCTTCTAGTTGCCA
 GCCATCTGTTGTTTGGCCCTCCCCCGTGCCTTCCCTGACCTGGAAGGTGCCACTCCCCTG
 TCCTTTCCTAAATAAATGAGGAAATGTCATCGCATTGTCTGAGTAGGIGTCATTCTATTCTG
 GGGGGTGGGGTGGGGCAGGACAGCAAGGGGGAGGATTGGGAAGACAATAGCAGGCATGCTGG
 GGACACGTGCGGACCGAGCGGCCGAGGAACCCCTAGTGATGGAGTTGGCCACTCCCTCTCT
 GCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGGCGGGCGACCAAAGGTGCGCCGACGCCCGGGCTTTGCC
 GGGCGGCCCTCAGTGAGCGAGCGAGCGCGCAGCTGCCTGCAGGGGCGCCTGATGCGGTATTTT
 CTCCTTACGCATCTGTGCGGTATTTACACCCGCATACGTCAAAGCAACCATAGTACGCGCC
 TGTAGCGGCGCATTAAGCGCGGGCGGGTGTGGTGTACGCGCAGCGTGACCGCTACACTTGC
 CAGCGCCCTAGCGCCCGCTCCTTTTCGCTTTCTTCCCTTCCCTTCTCGCCACGTTTCGCCGCT
 TTCCCGCTCAAGCTCTAAATCGGGGGCTCCCTTTAGGGTTCCGATTTAGTGCTTTACGGCAC
 CTCGACCCCAAAAACTTGATTTGGGTGATGGTTCACGTAGTGGGCCATCGCCCTGATAGAC
 GGTTTTTCGCCCTTTGACGTTGGAGTCCACGTTCTTTAATAGTGGACTCTTGTTCAAACTG
 GAACAACACTCAACCCTATCTCGGGCTATTCTTTGATTTATAAGGGATTTTGCCGATTTCG
 GCCTATTGGTTAAAAAATGAGCTGATTTAACAAAAATTTAACGCGAATTTTAACAAAAATATT
 AACGTTTACAATTTTATGGTGCACCTCTCAGTACAATCTGCTCTGATGCCGCATAGTTAAGCC
 AGCCCCGACACCCGCCAACACCCGCTGACGCGCCCTGACGGGCTTGTCTGCTCCCGGCATCC
 GCTTACAGACAAGCTGTGACCGTCTCCGGGAGCTGCATGTGTGAGAGGTTTTACCCGTCTATC
 ACCGAACCGCGCAGAGCAAGAGGCCCTCGTGATACGCCTATTTTATAGGTTAATGTCATGA
 TAATAATGGTTTCTTAGACGTCAGGTGGCACTTTTCGGGGAAATGTGCGCGGAACCCCTATT
 TGTITATTTTCTAAATACATTCAAATATGTATCCGCTCATGAGACAATAACCCTGATAAAT
 GCTTCAATAATATTGAAAAAGGAAGAGTATGAGTATTCAACATTTCCGTGTGCGCCCTTATTC
 CCTTTTTTGCGGCATTTTGCCTTCTGTTTTTGTCTACCCAGAAACGCTGGTGAAAGTAAAA

10

20

30

40

【化 2 5】

GATGCTGAAGATCAGTTGGGTGCACGAGTGGGTTACATCGAACTGGATCTCAACAGCGGTAA
 GATCCTTGAGAGTTTTTCGCCCCGAAGAACGTTTTTCCAATGATGAGCACTTTTAAAGTTCTGC
 TATGTGGCGCGGTATTATCCCGTATTGACGCCGGGCAAGAGCAACTCGGTGCGCGCATACAC
 TATTCTCAGAATGACTTGGTTGAGTACTCACCAGTCACAGAAAAGCATCTTACGGATGGCAT
 GACAGTAAGAGAATTATGCAGTGCTGCCATAACCATGAGTGATAAACTGCGGCCAACTTAC
 TTCTGACAACGATCGGAGGACCGAAGGAGCTAACCGCTTTTTTGACAAACATGGGGGATCAT
 GTAACCTCGCCTTGATCGTTGGGAACCGGAGCTGAATGAAGCCATAACCAACGACGAGCGTGA
 CACCA

50

【0120】

いくつかの実施形態では、本明細書において記載されるAAVベクターは、AAV 5' ITR、GJB2 GREエンハンサー(hGJB2 GRE2)、GJB2基本プロモーター、GJB2エクソン1の5' UTR、コザック配列、遺伝子産物(例、GJB2またはGFP)をコードするヌクレオチド配列、GJB2エクソン2の3' UTR、WPRE、ウシ成長ホルモンポリAシグナル、およびAAV 3' ITRを含む(例、ベクターc81.2)。

【0121】

いくつかの実施形態では、本明細書において記載されるAAVベクターは、配列番号48と少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%配列同一性のヌクレオチド配列を含む。eGFPをコードするベクターc81.2の例示的なヌクレオチド配列は配列番号48に示される(hGJB2 GRE2には下線を付した;eGFPコード配列は太字で):

【化26】

```
CGATGCCTGTAGCAATGGCAACAACGTTGCGCAAACCTATTAAGTGGCGAACTACTTACTCTA
GCTTCCCGGCAACAATTAATAGACTGGATGGAGGCGGATAAAGTTGCAGGACCACTTCTGCG
CTCGGCCCTTCCGGCTGGCTGGTTTATTGCTGATAAATCTGGAGCCGGTGAGCGTGGGTCTC
GCGGTATCATTGCAGCACTGGGGCCAGATGGTAAGCCCTCCCGTATCGTAGTTATCTACACG
ACGGGGAGTCAGGCAACTATGGATGAACGAAATAGACAGATCGCTGAGATAGGTGCCTCACT
GATTAAGCATTGGTAACCTGTCAGACCAAGTTTACTCATATATACTTTAGATTGATTTAAAC
TTCATTTTTTAATTTAAAGGATCTAGGTGAAGATCCTTTTTTGATAATCTCATGACCAAAATC
CCTTAACGTGAGTTTTTCGTTCCACTGAGCGTCAGACCCCGTAGAAAAGATCAAAGGATCTTC
TTGAGATCCTTTTTTCTGCGCGTAATCTGCTGCTTGCAAACAAAAAACACCGCTACCAG
CGGTGGTTTTGTTTTGCCGGATCAAGAGCTACCAACTCTTTTTCCGAAGGTAAGTGGCTTCAGC
AGAGCGCAGATACCAAACTACTGTCCTTCTAGTGTAGCCGTAGTTAGGCCACCACTTCAAGAA
CTCTGTAGCACCGCCTACATACCTCGCTCTGCTAATCCTGTTACCAGTGGCTGCTGCCAGTG
GCGATAAGTCGTGTCTTACCGGGTTGGACTCAAGACGATAGTTACCGGATAAGGCGCAGCGG
TCGGGCTGAACGGGGGGTTTCGTGCACACAGCCCAGCTTGGAGCGAACGACCTACACCGAACT
GAGATACCTACAGCGTGAGCTATGAGAAAGCGCCACGCTTCCCGAAGGGAGAAAGGCGGACA
GGTATCCGGTAAGCGGCAGGGTCGGAACAGGAGAGCGCACGAGGGAGCTTCCAGGGGGAAAC
GCCTGGTATCTTTATAGTCCTGTCTGGGTTTCGCCACCTCTGACTTGAGCGTCGATTTTTGTG
ATGCTCGTCAGGGGGGCGGAGCCTATGGAAAAACGCCAGCAACGCGGCCCTTTTTACGGTTCC
TGGCCTTTTTGCTGGCCTTTTTGCTCACATGTCCTGCAGGCAGCTGCGCGCTCGCTCGCTCACT
GAGGCCGCCCGGGCAAAGCCCGGGCGTCTGGGCGACCTTTGGTCGCCCGGCCCTCAGTGAGCGA
GCGAGCGCGCAGAGAGGGAGTGGCCAACTCCATCACTAGGGGTTCCCTGCGGGCCGCACGCGTC
AGTGATGCCTGAAACCTCAGATGGTACTGAACCCTCTATATAATCTGTTTTTTTCTATACAT
ACAAACCTACCATAAGGCTTAATGGTAAGAGATTAACAATAAAGAATAATAAAACAACACTT
ATAACAATGTATAACAATATATTGTAATATAAGTTTTTGGATGCAGTCTCTCTCTCAAAATG
CTATCATATTTTTCCAACCTGTGGTTGACTACAGGTAAGTGAACCAACAAAATGAAACAGTGG
```

10

20

30

40

50

【化 2 7】

ATAAGAGGGCGACTCCTGTACCAAAGAAAAAATAGAGTGTTCAGCTGTAACATAGTTGAA
 TGACTGAGTTAGACTGCATAACTGACACACAAAACCACATAAATATAAATGAAGGAATCTCT
 GGGTGTAATCTGGTGCAAAGGTGACTGTGTTAATCATTAAATCCACAAGTTGCTATCCTGAAG
 TGTGCCAAATGCTTTATGTTTATTTTCATCACATAGCTCTATAAAGAAAGGATTTGTAATTCC
 TTTCTACAGAAGTGGAAGTAAGTCTTAAGACTCAAAAACTTTAAAACTACAATGAAGTA
 ACAACTTTTATTAATTTATTTTGTGCTTTCCAGAATTTCTATATATATAGGAATGTGATAT
 GAATCTATATGTGAATTGAATCTACATGAATATTGATGACTTTTATTTCCCTTTTGCACAT
 AAGATAGAATATTTTACCTACTATTCCACACTTTGCTTTTCTTAACATATCAIGGGATCTTT
 TTATATAAGTGAACAAAGAGTTTCTTCATTCTTTCACACAGTTTAATTAAGACCTCGAAGGG
 GACTTGGGGGGTTTCGGGGCTTTCGGGGCGGTCGGGGGTTCGCGGACCCGGGAAGCTCTGAG
 GACCCAGAGGCCGGGCGCGCTCCGCCCCGGCGCCGCCCTCCGTAACCTTTCCAGTCTCC
 GAGGGAAGAGGCGGGGTGTGGGTGCGGTTAAAAAGGCGCCACGGCGGGAGACAGGTGTTGCG
 GCCCCGCGAGCGCCGCGCGCTCCTCTCCCCGACTCGGAGCCCCCTCGGCGGCGCCCCGGCCG
 GACCCGCCCTAGGAGCGCAGGAGCCCCAGCGCAGAGACCCCAACGCCGAGACCCCCGCCCCG
 CCCCCGCGCGCTTCTCCGACGCAGAGCAAACCGCCAGAGTAGAAGCC**ATGGTGAGCAAG**
GGCGAGGAGCTGTTACCGGGGTGGTGCCCATCCTGGTCGAGCTGGACGGCGACGTAAACGG
CCACAAGTTCAGCGTGTCCGGCGAGGGCGAGGGCGATGCCACCTACGGCAAGCTGACCTGA
AGTTCATCTGCACCACCGGCAAGCTGCCCGTGCCCTGGCCCCACCTCGTGACCACCCTGACC
TACGGCGTGCACTGCTTCAGCCGCTACCCCGACCACATGAAGCAGCACGACTTCTTCAAGTC
CGCCATGCCCGAAGGCTACGTCCAGGAGCGCACCATCTTCTTCAAGGACGACGGCAACTACA
AGACCCGCGCCGAGGTGAAGTTCGAGGGCGACACCCTGGTGAACCGCATCGAGCTGAAGGGC
ATCGACTTCAAGGAGGACGGCAACATCCTGGGGCACAAGCTGGAGTACAACAGCCA
CAACGTCTATATCATGGCCGACAAGCAGAAGAACGGCATCAAGGTGAAGTTCAGATCCGCC
ACAACATCGAGGACGGCAGCGTGCACTCGCCGACCACTACCAGCAGAACCCCCATCGGC
GACGGCCCCGTGCTGCTGCCCGACAACCACTACCTGAGCACCCAGTCCGCCCTGAGCAAAGA
CCCCAACGAGAAGCGCGATCACATGGTCTGCTGGAGTTCGTGACCGCCGCCGGGATCACTC
TCGGCATGGACGAGCTGTACAAGTAAAGGCGCGCCACCCCTGCAGGGAATTCGCGATTGCCC
 AGTTGTTAGATTAAGAAATAGACAGCATGAGAGGGATGAGGCAACCCGTGCTCAGCTGTCAA
 GGCTCAGTCGCTAGCATTTCCCAACACAAAGATTCTGACCTTAAATGCAACCATTGTAAACC
 CCTGTAGGCCTCAGGTGAAACTCCAGATGCCACAATGGAGCTCTGCTCCCTTAAAGCCTCAA
 AACAAAGGCCTAATTCTATGCCTGTCTTAATTTCTTTCACTTAAGTTAGTTCCACTGAGAC
 CCCAGGCTGTTAGGGGTATTGGTGTAAAGTACTTTTCATATTTTAAACAGAGGATATCGGCA
 TTTGTTTCTTTCTCTGAGGACAAGAGAAAAAAGCCAGGTTCCACAGAGGACACAGAGAAGGT
 TTGGGTGTCTCTGGGGTCTTTTTTGCCAACTTTCCCCACGTTAAAGGTGAACATTGGTTC
 TTTCAATTTGCTTTGGAAGTTTAAATCTCTAACAGTGGACAAAGTTACCAGTGCCTTAAACTC
 TGTTACACTTTTTGGAAGTGAAAACCTTTGTAGTATGATAGGTTATTTTGATGTAAAGATGTT
 CTGGATACCAATATATGTTCCCCCTGTTTCAGAGGCTCAGATTGTAATATGTAAATGGTATG
 TCATTGCTACTATGATTTAATTTGAAATATGGTCTTTTGTTATGAATACTTTGCAGCACA
 GCTGAGAGGCTGTCTGTTGTATTTCATTGTGGTCATAGCACCTAACAAACATTGTAGCCTCAAT
 CGAGTGAGACAGACTAGAAGTTCCTAGTGATGGCTTATGATAGCAAATGGCCTCATGTCAA
 TATTTAGATGTAATTTTGTGTAAGAAATACAGACTGGATGTACCACCACTACTACCTGTAA
 TGACAGGCCTGTCCAACACATCTCCCTTTTCCATGACTGTGGTAGCCAGCATCGGAAAGAAC
 GCTGATTTAAAGAGGTGCTTGGGAATTTTATTGACACAGTACCATTTAATGGGGAGGACAA
 AATGGGGCAGGGGAGGGAGAAGTTTCTGTCGTTAAAAACAGATTTGGAAAGACTGGACTCTA
 AAGTCTGTTGATTAAAGATGAGCTTTGTCTACTTCAAAAGTTTGTGTTGCTTACCCCTTCAGC
 CTCCAATTTTTTAAAGTGAATAATAGCTAATAACATGTGAAAAGAATAGAAGCTAAGTTTA
 GATAAATATTGAGCAGATTATAGGAAGATTGAACCTGAATATTGCCATTATGCTTGACATG
 GTTTCACAAAAATGGTACTCCACATATTCAGTGAGGGTAAGTATTTTCTGTTGTCAAGAA
 TAGCATTGTAAAAGCATTTTGTAAATAATAAAGAATAGCTTTAATGATATGCTTGTAACATAAA
 ATAATTTTGTAAATGTATCAAATACATTTAAAAACATTAAAAATATAATCTCTATAATAATTTAA
 AATCTAATATGGTTTTAATAGAACAGCGATATCAAGCTTATCGATAATCAACCTCTGGATTA

10

20

30

40

50

【化 2 8】

CAAAATTTGTGAAAGATTGACTGGTATTCTTAACTATGTTGCTCCTTTTACGCTATGTGGAT
 ACGCTGCTTTAATGCCTTTGTATCATGCTATTGCTTCCCGTATGGCTTTCATTTTCTCCTCC
 TTGTATAAAATCCTGGTTGCTGCTCTTTTATGAGGAGTTGTGGCCCCGTTGTCAGGCAACGTGG
 CGTGGTGTGCACTGTGTTTGTGACGCAACCCCCACTGGTTGGGGCATTGCCACCACCTGTC
 AGCTCCTTTTCCGGGACTTTTCGCTTTCCCCCTCCCTATTGCCACGGCGGAACTCATCGCCGCC
 TGCCTTGCCCCGCTGCTGGACAGGGGCTCGGCTGTTGGGCACTGACAATTCGGTGGTGTGTC
 GGGGAAATCATCGTCCTTTTCTTGGCTGCTCGCCTATGTTGCCACCTGGATTCTGCGCGGGA
 CGTCCCTTCTGCTACGTCCCTTCGGCCCTCAATCCAGCGGACCTTCCTTCCCGCGGCCTGCTG
 CCGGCTCTGCGGCCTCTTCCGCGTCTTCGCCTTCGCCCTCAGACGAGTCGGATCTCCCTTTG
 GGCCGCCTCCCCGCGAATTCATCGATACCGAGCGCTGCTCGAGAGATCTGTGATAGCGGCCA
 TCAAGCTGGCTGTGCTTCTAGTTGCCAGCCATCTGTTGTTTGCCCCCTCCCCCGTGCCTTCC
 TTGACCCTGGAAGGTGCCACTCCCACTGTCCTTTCCTAATAAAATGAGGAAATTGCATCGCA
 TTGTCTGAGTAGGTGTCAATTCTATTCTGGGGGGTGGGGTGGGGCAGGACAGCAAGGGGGAGG
 ATTGGGAAGACAATAGCAGGCATGCTGGGGACACGTGCGGACCGAGCGGCCGCGAGGAACCCC
 TAGTGATGGAGTTGGCCACTCCCTCTCTGCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGGCCGGGCGACCA
 AAGGTCGCCCCGACGCCCGGGCTTTGCCCGGGCGGCCTCAGTGAGCGAGCGAGCGCGCAGCTG
 CCTGCAGGGGCGCCTGATGCGGTATTTTCTCCTTACGCATCTGTGCGGTATTTACACCGCA
 TACGTCAAAGCAACCATAGTACGCGCCCTGTAGCGGCGCATTAAGCGCGGCGGGGTGTGGTGG
 TTACGCGCAGCGTGACCGCTACACTTGCCAGCGCCCTAGCGCCCGCTCCTTTTCGCTTTCTTC
 CCTTCCTTTTCTCGCCACGTTTCGCCGGCTTTCCCCGTCAAGCTCTAAATCGGGGGCTCCCTTT
 AGGGTTCCGATTTAGTGCTTTACGGCACCTCGACCCCAAAAACTTGATTTGGGTGATGGTT
 CACGTAGTGGGCCATCGCCCTGATAGACGGTTTTTCGCCCTTTGACGTTGGAGTCCACGTTT
 TTTAATAGTGGACTCTTGTITCCAACTGGAACAACACTCAACCCTATCTCGGGCTATTCTTT
 TGATTTATAAGGGATTTTGCCTGATTTTCGGCCTATTGGTTAAAAAATGAGCTGATTTAACAAA
 AATTTAACGCGAATTTTAAACAAAATATTAACGTTTACAATTTTATGGTGCATCTCAGTACA
 ATCTGCTCTGATGCCGCATAGTTAAGCCAGCCCCGACACCCGCCAACACCCGCTGACGCGCC
 CTGACGGGCTTGTCTGCTCCCGGCATCCGCTTACAGACAAGCTGTGACCGTCTCCGGGAGCT
 GCATGTGTGACAGGTTTTTACCGTCAACCGGAAACGCGCGAGACGAAAGGGCCTCGTGATA
 CGCCTATTTTTATAGGTTAATGTATGATAATAATGGTTTCTTAGACGTCAGGTGGCACTTT
 TCGGGGAAATGTGCGCGGAACCCCTATTTGTTTTATTTTTCTAAATACATTCAAATATGTATC
 CGCTCATGAGACAATAACCCCTGATAAATGCTTCAATAATATTGAAAAAGGAAGAGTATGAGT
 ATTCAACATTTCCGTGTGCCCCCTATTCCCTTTTTTTCGGGCATTTTGCCTTCCTGTTTTTGC
 TCACCCAGAAACGCTGGTGAAAGTAAAGATGCTGAAGATCAGTTGGGTGCACGAGTGGGTT
 ACATCGAACTGGATCTCAACAGCGGTAAGATCCTTGAGAGTTTTTCGCCCCGAAGAACGTTTT
 CCAATGATGAGCACTTTTTAAAGTTCTGCTATGTGGCGCGGTATTATCCCGTATTGACGCCGG
 GCAAGAGCAACTCGGTGCGCCGCATACACTATTCTCAGAATGACTTGGTTGAGTACTCACCAG
 TCACAGAAAAGCATCTTACGGATGGCATGACAGTAAGAGAATTATGCAGTGCTGCCATAACC
 ATGAGTGATAACACTGCGGCCAACTTACTTCTGACAACGATCGGAGGACCGAAGGAGCTAAC
 CGCTTTTTTGCACAACATGGGGGATCATGTAACCTCGCCTTGATCGTTGGGAACCGGAGCTGA
 ATGAAGCCATACCAAACGACGAGCGTGACACCA

10

20

30

40

【0 1 2 2】

いくつかの実施形態では、本明細書において記載されるAVVベクターは、配列番号67
 と少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも
 90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なく
 とも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、ま
 たは100%配列同一性のヌクレオチド配列を含む。ヒトGJB2をコードするベクターc81
 .2の例示的なヌクレオチド配列は配列番号67に示される(hGJB2 GRE2には下線を付し
 た;ヒトGJB2コード配列は太字で):

50

【化 2 9】

CGATGCCTGTAGCAATGGCAACAACGTTGCGCAAACCTATTAACCTGGCGAACTACTTACTCTA
 GCTTCCCGGCAACAATTAATAGACTGGATGGAGGCGGATAAAGTTGCAGGACCACCTTCTGCG
 CTCGGCCCTTCCGGCTGGCTGGTTTATTGCTGATAAACTCGAGCCGGTGAGCGTGGGTCTC
 GCGGTATCATTGCAGCACTGGGGCCAGATGGTAAGCCCTCCCGTATCGTAGTTATCTACACG
 ACGGGGAGTCAGGCAACTATGGATGAACGAAATAGACAGATCGCTGAGATAGGTGCCTCACT
 GATTAAGCATTGGTAACCTGTCAGACCAAGTTTACTCATATATACTTTAGATTGATTTAAAC
 TTCATTTTTTAATTTAAAGGATCTAGGTGAAGATCCTTTTTGATAATCTCATGACCAAAATC
 CCTTAACGTGAGTTTTCTGTTCCACTGAGCGTCAGACCCCGTAGAAAAGATCAAAGGATCTTC
 TTGAGATCCITTTTTTCTGCGCGTAATCTGCTGCTTGCAAACAAAAAAACCACCGCTACCAG
 CGGTGGTTTTGTTGCCGGATCAAGAGCTACCAACTCTTTTTCCGAAGGTAACCTGGCTTCAGC
 AGAGCGCAGATACCAAATACTGTCCTTCTAGTGTAGCCGTAGTTAGGCCACCACCTTCAAGAA
 CTCTGTAGCACCGCCTACATACCTCGCTCTGCTAATCCTGTTACCAGTGGCTGCTGCCAGTG
 GCGATAAGTCGTGTCTTACCAGGTTGGACTCAAGACGATAGTTACCGGATAAGGCGCAGCGG
 TCGGGCTGAACGGGGGGTTTCGTGCACACAGCCAGCTTGGAGCGAACGACCTACACCGAAT
 GAGATACCTACAGCGTGAGCTATGAGAAAGCGCCACGCTTCCCGAAGGGAGAAAGCGGACA
 GGTATCCGGTAAGCGGCAGGGTCGGAACAGGAGAGCGCACGAGGGAGCTTCCAGGGGGAAAC
 GCCTGGTATCTTTATAGTCTGTCGGGTTTTGCCACCTCTGACTTGAGCGTCGATTTTTGTG
 ATGCTCGTCAGGGGGGCGGAGCCTATGGAACAAACGCCAGCAACGCGGCCCTTTTTACGGTTCC
 TGGCCTTTTTGCTGGCCTTTTTGCTCACATGTCCTGCAGGCAGCTGCGCGCTCGCTCGCTCACT
 GAGGCCGCCCGGGCAAAGCCCGGGCGTCGGGCGACCTTTGGTCGCCCGGCCCTCAGTGAGCGA
 GCGAGCGCGCAGAGAGGGAGTGGCCAACCTCCATCACTAGGGGTTCTGCGGGCCGCACGCGTC
 AGTGATGCCTGAAACCTCAGATGGTACTGAACCTCTATATAATCTGTTTTTCTCTATACAT
ACAAACCTACCATAAGGCTTAAIGGTAAGAGATTAAACAATAAGAATAATAAAACAACACTT
ATAACAATGTATAACAATATATTGTAATATAAGTTTTTGGATGCAGTCTCTCTCTCAAAATG
CTATCATATTTTCCAACCTGTGGTTGACTACAGGTAACCTGGAACCACAAAAATGAAACAGTGG
ATAAGAGGGCGACTCCTGTACCAAAGAAAAAATAGAGTGTGACGCTGTAACATAGTTGAA
TGACTGAGTTAGACTGCATAACTGACACACAAAACCAATAAAATATAAATGAAGGAATCTCT
GGGTGTAATCTGGTGCAAAGGTGACTGTGTTAATCATTAAATCCACAAGTTGCTATCCTGAAG
TGTGCCAAATGCTTTATGTTTATTTTCATCACATAGCTCTATAAAGAAAGGATTTGTAATTCC
TTTCTACAGAAGTGGAAGTAAGTCTTAAGACTCAAAAACTTTAAAACTACAATGAAGTA
ACAACTTTTATTAATTTATTTTTGTGTCTTTCCAGAATTTCTATATATATAGGAATGTGATAT
GAATCTATATGTGAATTGAATCTACATGAATATTGATGACTTTTATTTCCTTTTGCACAT
AAGATAGAATATTTTACCTACTATTCCACACTTTGCTTTCTTAACATATCATGGGATCTTT
TTATATAAGTGAACAAAGAGTTTTCTTCATTCTTTCACACAGTTTAATTAAGACCTCGAAGGG
GACTTGGGGGGTTTCGGGGCTTTCGGGGGCGGTTCGGGGGTTTCGCGGACCCGGGAAGCTCTGAG
GACCCAGAGGCCGGGCGCGCTCCGCCCCGCGCGCCGCCCTCCGTAACTTTCCAGTCTCC
GAGGGAAGAGGCGGGGTGTGGGTGCGGTTAAAGGCGCCACGGCGGGAGACAGGTGTTGCG
GCCCCGACGCGCCGCGCGCTCCTCTCCCCGACTCGGAGCCCTCGGCGGCGCCCGGCCAG
GACCCGCTAGGAGCGCAGGAGCCCCAGCGCAGAGACCCCAACGCCGAGACCCCCGCCCCGG
CCCCGCGCGCTTCTCCCGACGCAGAGCAAACCGCCCAGAGTAGAAGCCATGGATTGGGGC
ACGCTGCAGACGATCCTGGGGGGTGTGAACAAACACTCCACCAGCATTTGAAAGATCTGGCT
CACCGTCTCTTTCATTTTTTCGATTATGATCCTCGTTGTGGCTGCAAAGGAGGTGTGGGGAG
ATGAGCAGGCCGACTTTGTCTGCAACACCCTGCAGCCAGGCTGCAAGAACGTGTGCTACGAT
CACTACTTCCCATCTCCACATCCGGCTATGGGCCCTGCAGCTGATCTTCGTGTCCACGCC
AGCGCTCCTAGTGGCCATGCACGTGGCCTACCGGAGACATGAGAAGAAGAGGAAGTTCATCA
AGGGGGAGATAAAGAGTGAATTTAAGGACATCGAGGAGATCAAAACCCAGAAGGTCCGCATC
GAAGGCTCCCTGTGGTGGACCTACACAAGCAGCATCTTCTTCCGGGTCATCTTCGAAGCCGC
CTTCATGTACGTCTTCTATGTATGTACGACGGCTTCTCCATGCAGCGGCTGGTGAAGTGCA
ACGCTTGGCCTTGTCCCAACACTGTGGACTGCTTTGTGTCCCGGCCACGGAGAAGACTGTC
TTACAGTGTTCATGATTGCAGTGTCTGGAATTTGCATCCTGCTGAATGTCACTGAATTGTG
TTATTTGCTAATTAGATATTGTTCTGGGAAGTCAAAAAAGCCAGTTTAAAGGCGCGCCACCC

10

20

30

40

50

【化 3 0】

CTGCAGGGAATTCGCATTGCCAGTTGTTAGATTAAAGAAATAGACAGCATGAGAGGGATGA
GGCAACCCGTGCTCAGCTGTCAAGGCTCAGTCGCTAGCATTTCCCAACACAAAGATTCTGAC
CTTAAATGCAACCATTTGAAACCCCTGTAGGCCCTCAGGTGAAACTCCAGATGCCACAATGGA
GCTCTGCTCCCTTAAAGCCTCAAAACAAAGGCCTAATTCTATGCCTGTCTTAATTTTCTTTT
ACTTAAGTTAGTTCCACTGAGACCCCAGGCTGTTAGGGGTATTGGTGTAAGGTACTTTTCAT
ATTTTAAACAGAGGATATCGGCATTTGTTTCTTTCTCTGAGGACAAGAGAAAAAGCCAGGT
TCCACAGAGGACACAGAGAAGGTTTGGGTGTCTCCTGGGGTTCCTTTTGCCAACCTTTCCCC
ACGTTAAAGGTGAACATTGGTTCTTTTCATTTGCTTTGGAAGTTTAAATCTCTAACAGTGGA
AAAGTTACCAGTGCCCTTAAACTCTGTTACACTTTTTGGAAGTGAAAACTTTGTAGTATGATA
GGTATTTTIGATGTAAAGATGTTCTGGATACCATTTATATGTTCCCCCTGTTTCAGAGGCTCA
GATTGTAATATGTAAATGGTATGTCATTTCGCTACTATGATTTAATTTGAAATATGGTCTTTT
GGTTATGAATACTTTGCAGCACAGCTGAGAGGCTGTCTGTTGTATTTCATTGTGGTCATAGCA
CCTTAACAACATTGTAGCCTCAATCGAGTGAGACAGACTAGAAGTTCCTAGTGATGGCTTATG
ATAGCAAATGGCCTCATGTCAAATATTTAGATGTAATTTTGTGTAAGAAATACAGACTGGAT
GTACCACCACTACTACCTGTAATGACAGGCCCTGTCCAACACATCTCCCTTTTCCATGACTG
TGGTAGCCAGCATCGGAAAGAACGCTGATTTAAAGAGGTCGCTTGGGAATTTTATTGACACA
GTACCATTTAATGGGGAGGACAAAATGGGGCAGGGGAGGGAGAAGTTTCTGTGCTTAAAAAC
AGATTTGGAAAGACTGGACTCTAAAGTCTGTTGATTAAAGATGAGCTTTGTCTACTTCAAAA
GTTTGTTTGCCTTACCCCTTCAGCCTCCAATTTTAAAGTGAAAATATAGCTAATAACATGTG
AAAAGAATAGAAGCTAAGGTTTAGATAAATATTGAGCAGATCTATAGGAAGATTGAACCTGA
ATATTGCCATTATGCTTGACATGGTTTCCAAAAATGGTACTCCACATATTTCAAGTGAGGGT
AAGTATTTTCCGTGTTGTCAAGAATAGCATTGTAAGAGCATTTTGTAAATAATAAGAATAGCT
TTAATGATATGCTTGTAACATAAATAATTTTGTAAATGTATCAAATACATTTAAACATTAAA
ATATAATCTCTATAATAATTTAAAACTAATATGGTTTAAATAGAACAGCGATATCAAGCTT
ATCGATAATCAACCTCTGGATTACAAAATTTGTGAAAGATTGACTGGTATTCCTTAACATGT
TGCTCCTTTTACGCTATGTGGATACGCTGCTTTAATGCCTTTGTATCATGCTATTGCTTCCC
GTATGGCTTTTCAATTTTCTCCTCCTTGATAAAATCCTGGTTGCTGTCTCTTTATGAGGAGTTG
TGGCCCGTTGTGTCAGGCAACGTGGCGTGGTGTGCACTGTGTTTGCTGACGCAACCCCCACTGG
TTGGGGCATTGCCACCACCTGTCTAGCTCCTTTCCGGGACTTTCGCTTTCCCCCTCCCTATTG
CCACGGCGGAACCTCATCGCCGCTGCCTTGCCCGCTGCTGGACAGGGGCTCGGCTGTTGGGC
ACTGACAAITCCGIGGTGTTGTGCGGGAAATCATCGTCTTTTCCCTGGCTGCTCGCCTATGT
TGCCACCTGGATTCTGCGCGGGACGTCTTCTGCTACGTCCCTTCGGCCCTCAATCCAGCGG
ACCTTCCCTTCCCGCGGCTGCTGCGGGCTCTGCGGCTCTTCCGCGTCTTCGCCTTCGCCCT
CAGACGAGTCGGATCTCCCTTTGGGCGGCTCCCCGCGAATTCATCGATACCGAGCGCTGCT
CGAGAGATCTGTGATAGCGGCCATCAAGCTGGCTGTGCTTCTAGTTGCCAGCCATCTGTTG
TTTGCCCCCTCCCCGTGCCTTCCCTTGACCCTGGAAGGTGCCACTCCCCTGCTCCTTTCCCTAA
TAAATGAGGAAATTCATCGCATTGTCTGAGTAGGTGTCATTCTATTCTGGGGGGTGGGT
GGGGCAGGACAGCAAGGGGGAGGATTGGGAAGACAATAGCAGGCATGCTGGGGACACGTGCG
GACCGAGCGGCCGAGGAACCCCTAGTGATGGAGTTGGCCACTCCCTCTCTGCGCGCTCGCT
CGCTCACTGAGGCCGGGCGACCAAAGGTGCCCCGACGCCCCGGGCTTTGCCCCGGCGGCCCTCA
GTGAGCGAGCGAGCGCGCAGCTGCCTGCAGGGGCGCCTGATGCGGTATTTTCTCCTTACGCA
TCTGTGCGGTATTTACACCGCATACGTCAAAGCAACCATAGTACGCGCCCTGTAGCGGCGC
ATTAAGCGCGGGGGTGTGGTGGTTACGCGCAGCGTGACCGCTACACTTGCCAGCGCCCTAG
CGCCCGCTCCTTTGCTTTCTTCCCTTCCCTTCTCGCCACGTTCGCGGGCTTTCCCCGTCAA
GCTCTAAATCGGGGGCTCCCTTTAGGGTTCCGATTTAGTGCTTTACGGCACCTCGACCCCAA
AAAACCTTGATTTGGGIGATGGTTACGTAGTGGGCCATCGCCCTGATAGACGGTTTTTTCGCC
CTTTGACGTTGGAGTCCACGTTCTTTAATAGTGGAATCTTGTTCAAAACCTGGAACAACACTC
AACCCATATCTCGGGCTATTCTTTGATTTATAAGGGATTTTGCCGATTTTCGGCCTATTGGTT
AAAAATGAGCTGATTTAACAAAAATTTAACGCGAATTTAACAAAAATTAACGTTTACAA
TTTTATGGTGCACCTCTCAGTACAATCTGCTCTGATGCCGCATAGTTAAGCCAGCCCCGACAC
CCGCCAACACCCGCTGACGCGCCCTGACGGGCTTGCTGCTCCCGGCATCCGCTTACAGACA

10

20

30

40

【化 3 1】

AGCTGTGACCGTCTCCGGGAGCTGCATGTGTCAGAGGTTTTACCGTCATCACCGAAACGCG
CGAGACGAAAGGGCCTCGTGATACGCCTATTTTTATAGGTTAATGTCATGATAATAATGGTT
TCTTAGACGTCAGGTGGCACTTTTCGGGGAAATGTGCGCGGAACCCCTAATTGTTTTATTTTT
CTAAATACATTCAAATATGTATCCGCTCATGAGACAATAACCCCTGATAAATGCTTCAATAAT
ATTGAAAAAGGAAGAGTATGAGTATTCAACATTTCCGTGTGCGCCCTTATTCCTTTTTTGCG
GCATTTTGCCTTCCIGTTTTTGTCTACCCAGAAACGCTGGTGAAAGTAAAAGATGCTGAAGA
TCAGTTGGGTGCACGAGTGGGTACATCGAACTGGATCTCAACAGCGGTAAGATCCTTGAGA
GTTTTCGCCCCGAAGAACGTTTTCCAATGATGAGCACTTTTAAAGTTCTGCTATGTGGCGCG
GTATTATCCCGTATIGACGCCGGGCAAGAGCAACTCGGTGCGCCGCATACACTATTCTCAGAA
TGACTTGGTTGAGTACTCACCAGTCACAGAAAAGCATCTTACGGATGGCATGACAGTAAGAG
AATTATGCAGTGCTGCCATAACCATGAGTGATAACACTGCGGCCAACTTACTTCTGACAACG
ATCGGAGGACCGAAGGAGCTAACCGCTTTTTTGCACAACATGGGGGATCATGTAACCTCGCCT
TGATCGTTGGGAACCGGAGCTGAATGAAGCCATACCAAACGACGAGCGTGACACCA

10

【0 1 2 3】

いくつかの実施形態では、本明細書において記載されるAVVベクターは、配列番号68
と少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも
90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なく
とも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、ま
たは100%配列同一性のヌクレオチド配列を含む。マウスGJB2をコードするベクターc
81.2の例示的なヌクレオチド配列は配列番号68に示される(hGJB2 GRE2には下線を付
した;マウスGJB2コード配列は太字で):

20

30

40

50

【化 3 2】

CGATGCCTGTAGCAATGGCAACAACGTTGCGCAAACCTATTAACCTGGCGAACTACTTACTCTA
GCTTCCCGGCAACAATTAATAGACTGGATGGAGGCGGATAAAGTTGCAGGACCACTTCTGCG
CTCGGCCCTTCCGGCTGGCTGGTTTATTGCTGATAAATCTGGAGCCGGTGAGCGTGGGTCTC
GCGGTATCATTGCAGCACTGGGGCCAGATGGTAAGCCCTCCCGTATCGTAGTTATCTACACG
ACGGGGAGTCAGGCAACTATGGATGAACGAAATAGACAGATCGCTGAGATAGGTGCCTCACT
GATTAAGCATTGGTAACTGTCAGACCAAGTTTACTCATATATACTTTAGATTGATTTAAAC
TTCATTTTTAATTTAAAGGATCTAGGTGAAGATCCTTTTTTGATAATCTCATGACCAAAATC
CCTTAACGTGAGTTTTTCGTTCCACTGAGCGTCAGACCCCGTAGAAAAGATCAAAGGATCTTC
TTGAGATCCTTTTTTCTGCGCGTAATCTGCTGCTTGCAAACAAAAAACACCAGCTACCAG
CGGTGGTITTTGTTTGCCGGATCAAGAGCTACCAACTCTTTTTCCGAAGGTAACCTGGCTTCAGC
AGAGCGCAGATAACCAATACTGTCCTTCTAGTGTAGCCGTAGTTAGGCCACCACTTCAAGAA
CTCTGTAGCACCGCCTACATACCTCGCTCTGCTAATCCTGTTACCAGTGGCTGCTGCCAGTG
GCGATAAGTCGTGTCTTACCGGGTTGGACTCAAGACGATAGTTACCGGATAAGGCGCAGCGG
TCGGGCTGAACGGGGGGTTTCGTGCACACAGCCCAGCTTGGAGCGAACGACCTACACCGAACT
GAGATACCTACAGCGTGAGCTATGAGAAAGCGCCACGCTTCCCGAAGGGAGAAAGGCGGACA
GGTATCCGGTAAGCGGCAGGGTCGGAACAGGAGAGCGCACGAGGGAGCTTCCAGGGGAAAC
GCCTGGTATCTTTATAGTCCTGTCTGGGTTTCGCCACCTCTGACTTGAGCGTCGATTTTTGTG
ATGCTCGTCAGGGGGCGGAGCCTATGGAAAAACGCCAGCAACGCGGCCTTTTTACGGTTCC
TGGCCTTTTTGCTGGCCTTTTTGCTCACATGTCCTGCAGGCAGCTGCGCGCTCGCTCGCTCACT
GAGGCCGCCCGGGCAAAGCCCGGGCGTCGGGCGACCTTTGGTCGCCCCGGCCTCAGTGAGCGA
GCGAGCGCGCAGAGAGGGAGTGGCCAACTCCATCACTAGGGGTTCCCTGCGGGCCGCACGCGTC
AGTGATGCCTGAAACCTCAGATGGTACTGAACCCTCTATATAATCTGTTTTTTCCTATACAT
ACAAACCTACCATAAGGCTTAATGGTAAGAGATTAACAATAAAGAATAATAAAACAACACTT
ATAACAATGTATAACAATATATTGTAATATAAGTTTTTGGATGCAGTCTCTCTCTCAAAATG
CTATCATATTTTCCAACCTGTGGTTGACTACAGGTAACCTGGAACCACAAAATGAAACAGTGG
ATAAGAGGGCGACTCCTGTACCAAAGAAAAAATAGAGTGTTGCAGCTGTAACATAGTTGAA
TGAAGTGAAGTTAGACTGCATAACTGACACACAAAACACATAAATATAAATGAAGGAATCTCT
GGGTGTAATCTGGTGCAAAGGTGACTGTGTTAATCATTAAATCCACAAGTTGCTATCCTGAAG

10

20

30

40

50

【化 3 3】

TGTGCCAAATGCITTTATGTTTATTTTCATCACATAGCTCTATAAAGAAAGGATTTGTAATTCC
 TTCTACAGAAGTGGAAGTAAGTCTTAAGACTCAAAAAACTTAAAAACTACAATGAAGTA
 ACAACTTTTTATTAATTTATTTTIGTGTCTTTCCAGAATTTCTATAATATATAGGAATGTGATAT
 GAATCTATAAGTGAATTGAATCTACATGAATATTGATGACTTTTATTTCCCTTTTGCACAT
 AAGATAGAATATTTTACCTACTATTCCACACTTTGCTTTTCTTAACATATCATGGGATCTTT
 TTATATAAGTGAACAAAGAGTTTCTTCATTCTTTACACAGTTTAATTAAGACCTCGAAGGG
 GACTTGGGGGGTTTCGGGGCTTTTCGGGGCGGTTCGGGGTTTCGGGACCCGGGAAGCTCTGAG
 GACCCAGAGGCCCGGGCGCGCTCCGCCCCGCGGCCCGCCCCCTCCGTAACCTTTCCAGTCTCC
 GAGGGAAGAGGCGGGGTGTGGGGTTCGGTTAAAAGGCGCCACGGCGGGAGACAGGTGTTGCG
 GCCCCGCAGCGCCCGCGCGCTCCTCTCCCGGACTCGGAGCCCCCTCGCGCGCGCCCCGGCCAG
 GACCCGCTTAGGAGCGCAGGAGCCCCAGCGCAGAGACCCCAACGCCGAGACCCCCGCCCCGG
 CCCCCGCGCTTCTCTCCGACGCAGAGCAAACCGCCAGAGTAGAAGCC**ATGGATTGGGGC**
ACACTCCAGAGCATCTCTCGGGGGTGTCAACAAACTCCACCAGCATTGGAAAGATCTGGCT
CACGGTCTCTTCATCTTCCGCATCATGATCCTCGTGGTGGCTGCAAAGGAGGTGTGGGGAG
ATGAGCAAGCCGATTTTGTCTGCAACACGCTCCAGCCTGGCTGCAAGAATGTATGCTACGAC
CACCACTTCCCCATCTCTCACATCCGGCTCTGGGCTCTGCAGCTGATCATGGTGTCCACGCC
AGCCCTCTGGTAGCTATGCATGTGGCTTACCGGAGACATGAAAAGAAACGGAAGTTCATGA
AGGGAGAGATAAAGAACGAGTTTAAGGACATCGAAGAGATCAAAACCCAGAAGGTCCGTATC
GAAGGGTCCCTGTGGTGGACCTACACCACCAGCATCTTCTCCGGGTCATCTTTGAAGCCGT
CTTCATGTACGTCTTTTACATCATGTACAATGGCTTCTTCATGCAACGTCTGGTGAAATGCA
ACGCTTGGCCCTGCCCAATACAGTGGACTGCTTCATTTCCAGGCCACAGAAAAGACTGTC
TTACCGTGTATTATGATTTCTGTGTCTGGAATTTGCATTCTGCTAAATATCACAGAGCTGTG
CTATTTGTTGCTTAGGTATTGCTCAGGAAAGTCCAAAAGACCAGTCTACCCATACGATGTT
 CAGATTACGCTTAAAGGCGCGCCACCCCTGCAGGGAATTCCGCATTGCCAGTTGTTAGATT
 AAGAAATAGACAGCATGAGAGGGATGAGGCAACCCGTGCTCAGCTGTCAAGGCTCAGTCGCT
 AGCATTTCACACAAAGATTCTGACCTTAAATGCAACCAATTGAAACCCCTGTAGCCCTC
 AGGTGAAACTCCAGATGCCACAATGGAGCTCTGCTCCCTAAAGCCTCAAAACAAAGGCCA
 ATTCTATGCTGTCTTAAATTTCTTTTCACTTAAGTTAGTTCCACTGAGACCCAGGCTGTAA
 GGGGTATTGGTGTAAAGTACTTTTCATATTTTAAACAGAGGATATCGGCATTTGTTTCTTTC
 TCTGAGGACAAGAGAAAAAGCCAGGTTCCACAGAGGACACAGAGAAGGTTGGGTGTCTCTC
 CTGGGGTCTTTTTTGCCAACCTTTCCACAGTTAAAGGTGAACATTGGTCTTTTCATTGTCTT
 TGGAAGTTTTAATCTCTAACAGTGGACAAAGTTACCAGTGCCTTAACTCTGTTACACTTTT
 TGGAAGTGAAACTTTGTAGTATGATAGGTTATTTTGATGTAAAGATGTTCTGGATACCAAT
 ATATGTTCCCCCTGTTTTCAGAGGCTCAGATTGTAATATGTAATGGTATGTCATTCTGCTACT
 ATGATTTAATTTGAAATATGGTCTTTTGGTTATGAATACTTTGCAGCACAGCTGAGAGGCTG
 TCTGTTGTATTTCATTGTGGTCTATAGCACCTAACACATTGTAGCCTCAATCGAGTGAGACAG
 ACTAGAAGTTCCTAGTGATGGCTTATGATAGCAATGGCCTCATGTCAAATATTTAGATGTA
 ATTTTGTGTAAGAAATACAGACTGGATGTACCACCACTACTACCTGTAATGACAGGCCTGT
 CCAACACATCTCCCTTTTCCATGACTGTGGTAGCCAGCATCGGAAAGAACGCTGATTTAAAG
 AGGTCGCTTGGGAATTTTATTGACACAGTACCATTTAATGGGGAGGACAAAAATGGGGCAGGG
 GAGGGAGAAGTTTCTGTCTGTTAAAAACAGATTTGGAAAGACTGGACTCTAAAGTCTGTTGAT
 TAAAGATGAGCTTTGTCTACTTCAAAAGTTTGTGTTGCTTACCCCTTCAGCCTCCAATTTTTT
 AAGTGAAAATATAGCTAATAACATGTGAAAAGAATAGAAGCTAAGGTTTAGATAAATATTGA
 GCAGATCTATAGGAAGATTGAACCTGAATATTGCCATTATGCTTGACATGGTTTCCAAAAAA
 TGGTACTCCACATATTTTCAGTGAGGGTAAGTATTTTCCTGTTGTCAAGAATAGCATTGTAAA
 AGCATTTTGTAATAATAAAGAATAGCTTTAATGATATGCTTGTAACATAAATAATTTGTAA
 TGTATCAAATACATTTAAACATTTAAATATAATCTCTATAATAATTTAAATCTAATATGG
 TTTTAATAGAACAGCGATATCAAGCTTATCGATAATCAACCTCTGGATTACAAAATTTGTGA
 AAGATTGACTGGTATTCTTAACTATGTTGCTCCTTTTACGCTATGTGGATACGCTGCTTTAA
 TGCCCTTTGTATCATGCTATTGCTTCCCGTATGGCTTTTCATTTCTCCTCCTTGATAAATCC
 TGGTTGCTGTCTCTTTATGAGGAGTTGTGGCCGTTGTGAGGCAACGTGGCGTGGTGTGCAC

10

20

30

40

50

【化 3 4】

TGTGTTTGGCTGACGCAACCCCCACTGGTTGGGGCATTGCCACCACCTGTCAGCTCCTTTCCG
 GGACTTTTCGCTTTCCCCCTCCCTATTGCCACGGCGGAACATCATCGCCGCCTGCCTTGCCCGC
 TGCTGGACAGGGGCTCGGCTGTTGGGCACTGACAATTCCGTGGTGTGTCGGGGAAATCATC
 GTCCTTTTCTTGGCTGCTCGCCTATGTTGCCACCTGGATTCTGCGCGGGACGTCTTCTGCT
 ACGTCCCTTCGGCCCTCAATCCAGCGGACCTTCCTTCCCGCGGCCTGCTGCCGGCTCTGCGG
 CCTCTTCCGCGTCTTCGCCTTCGCCCTCAGACGAGTCGGATCTCCCTTTGGGCCGCCTCCCC
 GCGAATTCATCGATAACCGAGCGCTGCTCGAGAGATCTGTGATAGCGGCCATCAAGCTGGCTG
 TGCCTTCTAGTTGCCAGCCATCTGTTGTTTGGCCCTCCCCCGTGCCTTTCCTTGACCCTGGAA
 GGTGCCACTCCCCTGTCCTTTCTAATAAAAATGAGGAAATTGCATCGCATTGTCTGAGTAG
 GTGTCATTCTATTCTGGGGGGTGGGGTGGGGCAGGACAGCAAGGGGGAGGATTGGGAAGACA
 ATAGCAGGCATGCTGGGGACACGTGCGGACCGAGCGGCCGCAGGAACCCCTAGTGATGGAGT
 TGGCCACTCCCTCTCTGCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGGCCGGGCGACCAAAGGTCGCCCCGA
 CGCCCGGGCTTTGCCCGGGCGGCCTCAGTGAGCGAGCGAGCGCGCAGCTGCCTGCAGGGGCG
 CCTGATGCGGTATTTTCTCCTTACGCATCTGTGCGGTATTTACACCCGCATACGTCAAAGCA
 ACCATAGTACGCGCCCTGTAGCGGCGCATTAAAGCGCGGGGTTGTGGTGGTTACGCGCAGCG
 TGACCGCTACACTTGCCAGCGCCCTAGCGCCCGCTCCTTTTCGCTTTCTTCCCTTCTTTCTC
 GCCACGTTTCGCCGGCTTTCCCCGTCAAGCTCTAAATCGGGGGCTCCCTTTAGGGTTCCGATT
 TAGTGCTTTACGGCACCTCGACCCCAAAAACTTGATTGGGTGATGGTTCACGTAGTGGGC
 CATCGCCCTGATAGACGGTTTTTCGCCCTTTGACGTTGGAGTCCACGTTCTTTAATAGTGGA
 CTCTTGTTCCAACTGGAACAACACTCAACCCTATCTCGGGCTATTCTTTTGATTTATAAGG
 GATTTTGCCGATTTTCGGCCTATTGGTTAAAAAATGAGCTGATTTAACAAAAATTTAACGCGA
 ATTTTAACAAAAATATTAACGTTTACAATTTTATGGTGCACCTCTCAGTACAATCTGCTCTGAT
 GCCGCATAGTTAAGCCAGCCCCGACACCCGCCAACACCCGCTGACGCGCCCTGACGGGCTTG
 TCTGCTCCCGGCATCCGCTTACAGACAAGCTGTGACCGTCTCCGGGAGCTGCATGTGTGAGA
 GGTTTTACACGTCATCACCGAAACGCGCGAGACGAAAGGGCCTCGTGATACGCCTATTTTTTA
 TAGGTTAATGTCAIGATAATAATGGTTTTCTTAGACGTCAGGTGGCACTTTTCGGGGAAATGT
 GCGCGGAACCCCTATTTGTTTTATTTTTCTAAATACATTCAAATATGTATCCGCTCATGAGAC
 AATAACCCTGATAAATGCTTCAATAATATTGAAAAAGGAAGAGTATGAGTATTCAACATTTTC
 CGTGTCGCCCTTATTCCCTTTTTTTCGGCATTTTTGCTTCTGTTTTTGTCTACCCAGAAAC
 GCTGGTGAAAGTAAAAGATGCTGAAGATCAGTTGGGTGCACGAGTGGGTTACATCGAACTGG
 ATCTCAACAGCGGTAAGATCCTTGAGAGTTTTTCGCCCGAAGAACGTTTTCCAATGATGAGC
 ACTTTTAAAGTTCTGCTATGTGGCGCGGTATTATCCCGTATTGACGCCGGGCAAGAGCAACT
 CGGTGCGCCGCATACACTATTCTCAGAATGACTTGGTTGAGTACTCACCAGTCACAGAAAAGC
 ATCTTACGGATGGCATGACAGTAAGAGAATTATGCAGTGCTGCCATAACCATGAGTGATAAC
 ACTGCGGCCAACTTACTTCTGACAACGATCGGAGGACCGAAGGAGCTAACCGCTTTTTTGTGA
 CAACATGGGGGATCATGTAACCTCGCCTTGATCGTTGGGAACCGGAGCTGAATGAAGCCATAC
 CAAACGACGAGCGTGACACCA

10

20

30

【0124】

いくつかの実施形態では、本明細書において記載されるAAVベクターは、AAV 5' ITR、GJB2 GREエンハンサー(hGJB2 GRE3)、GJB2基本プロモーター、GJB2エクソン1の5' UTR、コザック配列、遺伝子産物(例、GJB2またはGFP)をコードするヌクレオチド配列、GJB2エクソン2の3' UTR、WPRE、ウシ成長ホルモンポリAシグナル、およびAAV 3' ITRを含む(例、ベクターc.81.3)。

40

【0125】

いくつかの実施形態では、本明細書において記載されるAVVベクターは、配列番号49と少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%配列同一性のヌクレオチド配列を含む。ベクターc.81.3の例示的なヌクレオチド配列は配列番号49に示される(hGJB2 GRE3には下線を付した;eGFPコード配列は

50

太字で):

【化 3 5】

CGATGCCTGTAGCAATGGCAACAACGTTGCGCAAACCTATTAACCTGGCGAACTACTTACTCTA
 GCTTCCCGGCAACAATTAATAGACTGGATGGAGGCGGATAAAGTTGCAGGACCACCTTCTGCG
 CTCGGCCCTTCCGGCTGGCTGGTTTATTGCTGATAAATCTGGAGCCGGTGAGCGTGGGTCTC
 GCGGTATCATTGCAGCACTGGGGCCAGATGGTAAGCCCTCCCGTATCGTAGTTAICTACACG
 ACGGGGAGTCAGGCAACTATGGATGAACGAAATAGACAGATCGCTGAGATAGGTGCCTCACT
 GATTAAGCATTGGTAACTGTGACCAAGTTTACTCATATATACTTTAGATTGATTTAAAC
 TTCATTTTTAATTTAAAGGATCTAGGTGAAGATCCTTTTTGATAATCTCATGACCAAAATC
 CCTAACGIGAGTTTTTCGTTCCACTGAGCGTCAGACCCGTAGAAAAGATCAAAGGATCTTC
 TTGAGATCCTTTTTTTCTGCGCGTAATCTGCTGCTTGCAAACAAAAAACACCGCTACCAG
 CGGTGGTTTGTGTTGCGCGATCAAGAGCTACCAACTCTTTTTCCGAAGGTAACTGGCTTCAGC
 AGAGCGCAGATACCAATACTGTCTTCTAGTGTAGCCGTAGTTAGGCCACCACCTTCAAGAA
 CTCTGTAGCACCAGCTACATACCTCGCTCTGCTAATCCTGTTACCAGTGGCTGCTGCCAGTG
 GCGATAAGTCGTGTCTTACCGGGTTGGACTCAAGACGATAGTTACCGGATAAGGCGCAGCGG
 TCGGGCTGAACGGGGGTTTCGTGCACACAGCCAGCTTGGAGCGAACGACCTACACCGAACT
 GAGATACCTACAGCGTGAGCTATGAGAAAAGCGCCACGCTTCCCGAAGGGAGAAAAGCGGACA
 GGTATCCGGTAAGCGGCAGGGTCGGAACAGGAGAGCGCACGAGGGAGCTTCCAGGGGGAAAC
 GCCTGGTAICTTTATAGTCCTGTGCGGGTTTCGCCACCTCTGACTTGAGCGTCGATTTTTGTG
 ATGCTCGTCAGGGGGCGGAGCCTATGAAAAACGCCAGCAACGCGGCCTTTTTACGGTTCC
 TGGCCTTTTGTGCTGCTTTTGTCTACATGTCTGTCAGGCAGCTGCGCGCTCGCTCGCTCACT
 GAGGCCCGCCGGGCAAAGCCCGGGCGTCGGGCGACCTTTGGTTCGCCCCGCCCTCAGTGAGCGA
 GCGAGCGCGCAGAGAGGGAGTGGCCAACTCCATCACTAGGGGTTCTGCGGCCGCACGCGTG
 CTATCTATCATCTTGAAGGGCTTCTGGAACAAGTTAGAATAGAGTCAACACTCAIGAACTGC
 TGTAGCAAAAAAACTATAGATGTAGGATTGACAAGGGCAATAGAGCGATGACTCCCTGGCT
 GTGTTGTAITTTGATGGACGGCAGTAGCTTTTACAAAATGCTCATTTGGATGTTTCAAATTA
 AAACGTTTCACTTTCTAGAACCAATTACGTGGTCAGTTTAGCTCCTGAGGTCCCAGTCAGAG
 GGGTATTCIGTAGCTTGCAAAGCCTCTCTTTGGGGACTGGACATGGAGTCTGTGGTCTTAGA
 ATTCAGAACCGGGAGAATGTGTTAGCCACTCATCTAAGCTATTCCTTAAACGCTTTTCAAGAGC
 CATCTCCACTGTGGGGAAAGAAGTTCTTTGTGTTCTCTGACTTAGTCTCATTCTAAAAAAA
 AAAAAAAAAAAAAAAAAAAGCAATTGCAATACCCAGAGCGCACAGTAGATGGCACTGAGACT
 TGTCGGAAGCTGGACGCACTCAAGAGGTGGCAGAAAAATCTATAGGTAAGCTTTTCTTCTA
 GTCTGGTGTGCTGCTCCTGACCTTATTAATGGGCTGAGAAATAGATTTCTTTCTTTCTTT
 TTCTTTTTTATATGAAATTAATGAAGTATAAAGAATATGAGAATGTGTTGCTATTAGCAA
 GGATAAGTAATGCTTTAGGAAACGTTTGGTTTATGTGTGTGTTTTTCACTGATGTGTGTCC
 TGGATCCAGTGTAAAATGTACTTCTGTCTGTAGGTCTCTGCCACAGAAAAGTTGGAAAGCCA
 TTGTTGTATTCCATTTCCAGGGCAACAAAAGATACCACTGTCACTTTCATGTGAAATGGTGT
 GTTTAATTAAGACCTCGAAGGGGACTTGGGGGGTTTCGGGGCTTTTCGGGGGCGGTTCGGGGGT
 CGCGGACCCGGGAAGCTCTGAGGACCCAGAGCCGGGCGCGCTCCGCCCGCGGCGCGCCCC
 CTCCGTAACCTTTCCAGTCTCCGAGGGAAGAGGCGGGGTGTGGGGTGCGGTTAAAAGCGCC
 ACGGCGGGAGACAGGTGTTGCGGCCCCGACGCGCCCGCGCGCTCCTCTCCCCGACTCGGAGC
 CCTTCGGCGGCGCCCGGCCCCAGGACCCGCTAGGAGCGCAGGAGCCCCAGCGCAGAGACCCC
 AACGCCGAGACCCCGCCCCGCCCCGCGCGCTTCTTCCGACGCAGAGCAAACCGCCAG
 AGTAGAAGCC**ATGGTGAGCAAGGGCGAGGAGCTGTTACCGGGGTGGTGCCCATCCTGGTGC**
AGCTGGACGGCGACGTAAACGGCCACAAGTTACAGCGTGTCCGGCGAGGGCGAGGGCGATGCC
ACCTACGGCAAGCTGACCCTGAAGTTCATCTGCACCACCGGCAAGCTGCCCGTGCCCTGGCC
CACCCTCGTGACCACCCTGACCTACGGCGTGCAGTGCTTACGCCGCTACCCCGACCACATGA
AGCAGCACGACTTCTTCAAGTCCGCCATGCCGAAGGCTACGTCCAGGAGCGCACCATCTTC
TTCAAGGACGACGGCAACTACAAGACCCGCGCCGAGGTGAAGTTCGAGGGCGACACCCTGGT
GAACCGCATCGAGCTGAAGGGCATCGACTTCAAGGAGGACGGCAACATCCTGGGGCACAAGC

10

20

30

40

50

【化 3 6】

TGGAGTACAACACTACAACAGCCACAACGTCATATATCATGGCCGACAAGCAGAAGAACGGCATC
AAGGTGAACCTTCAAGATCCGCCACAACATCGAGGACGGCAGCGTGCAGCTCGCCGACCACTA
CCAGCAGAACACCCCCATCGGCGACGGCCCCGTGCTGCTGCCCCGACAACCACTACCTGAGCA
CCCAGTCCGCCCTGAGCAAAGACCCCCAACGAGAAGCGCGATCACATGGTCTGCTGGAGTTC
GTGACCGCCGCGGGGATCACTCTCGGCATGGACGAGCTGTACAAGTAAAGGCGCGCCACCCC
TGCAGGGAATTCCGCATTGCCAGTTGTTAGATTAAAGAAATAGACAGCATGAGAGGGATGAG
GCAACCCGTGCTCAGCTGTCAAGGCTCAGTCGCTAGCATTTCCTAACACAAAGATTCTGACC
TTAAATGCAACCATTTGAAACCCCTGTAGGCCTCAGGTGAAACTCCAGATGCCACAATGGAG
CTCTGCTCCCCCTAAAGCCTCAAAACAAAGGCCTAATTCTATGCCTGTCTTAATTTTCTTTCA
CTTAAGTTAGTTCCACTGAGACCCAGGCTGTTAGGGGTTATTGGTGTAAGGTACTTTTCATA
TTTTAAACAGAGGATATCGGCATTTGTTTCTTTCTCTGAGGACAAGAGAAAAAGCCAGGTT
CCACAGAGGACACAGAGAAGGTTTGGGTGTCCTCCTGGGGTTCTTTTGCCAACCTTTCCCCA
CGTTAAAGGTGAACATTGGTTCTTTTCATTTGCTTTTGGAAGTTTAACTCTTAACAGTGGACA
AAGTTACCAAGTGCCTTAAACTCTGTTACACTTTTTTGGAAGTGAAAACCTTTGTAGTATGATAG
GTIATTTTGATGTAAAGATGTTCTGGATACCATTATATGTTCCCCCTGTTTCAGAGGCTCAG
ATTGTAATATGTAAATGGTATGTCATTGCTACTATGATTTAATTTGAAATATGGTCTTTTG
GTTATGAATACTTTGCAGCACAGCTGAGAGGCTGTCTGTTGTATTTCATTGTGGTCATAGCAC
CTAACACATTGTAGCCTCAATCGAGTGAGACAGACTAGAAGTTCCTAGTGATGGCTTATGA
TAGCAAATGGCCTCATGTCAAATATTTAGATGTAATTTTGTGTAAGAAATACAGACTGGATG
TACCACCAACTACTACCTGTAATGACAGGCCTGTCCAACACATCTCCCTTTTCCATGACTGT
GGTAGCCAGCATCGGAAAGAACGCTGATTTAAAGAGGTGCGTTGGGAATTTTATTGACACAG
TACCATTTAATGGGGAGGACAAAATGGGGCAGGGGAGGAGAAAGTTTCTGTGCTTAAAAACA
GATTTGGAAAGACTGGACTCTAAAGTCTGTTGATTAAAGATGAGCTTTGTCTACTTCAAAG
TTTGTGTTGCTTACCCCTTCAGCCTCCAATTTTTTAAGTGAAAATATAGCTAATAACATGTGA
AAAGAATAGAAGCTAAGGTTTAGATAAATATTGAGCAGATCTATAGGAAGATTGAACCTGAA
TATTGCCATTATGCTTGACATGGTTTTCCAAAAAATGGTACTCCACATATTTTCAGTGAGGGTA
AGIATTTTCTGTTGTCAAGAATAGCATTGTAAAAGCATTTTGTAATAATAAAGAATAGCTT
TAATGATATGCTTGTAATAAATAATTTTGTAAATGTATCAAATACATTTAAAAACATTAAAA
TATAATCTCTATAATAATTTAAATCTAATATGGTTTTAATAGAACAGCGATATCAAGCTTA
TCGATAATCAACCTCTGGATTACAAAATTTGTGAAAGATTGACTGGTATTCTTAACATATGTT
GCTCCTTTTACGCTATGTGGATACGCTGCTTTAATGCCTTTGTATCATGCTATTGCTTCCCG
TATGGCTTTCAITTTCTCCTCCTTGTATAAATCCTGGTGTGCTGTCTTTATGAGGAGTTGT
GGCCCGTTGTGAGGCAACGTGGCGTGGTGTGCACTGTGTTTGTGACGCAACCCCCACTGGT
TGGGGCATTGCCACCACCTGTGAGCTCCTTTCCGGGACTTTTCGCTTTCCCCCTCCCTATTGC
CACGGCGGAACCTCATCGCCGCTGCTTGGCCGCTGCTGGACAGGGGCTCGGCTGTTGGGCA
CTGACAATTCGCTGGTGTGTGCGGGGAAATCATCGTCCTTTCTTGGCTGCTCGCCTATGTT
GCCACCTGGATTCTGCGCGGGACGTCCTTCTGCTACGTCCCTTCGGCCCTCAATCCAGCGGA
CCTTCTTTCCCGCGGCCTGTGCGGGCTCTGCGGCCTCTTCCGCGTCTTCGCTTCGCCCCC
AGACGAGTCGGATCTCCCTTTGGGCGGCCTCCCCGCGAATTCATCGATACCGAGCGCTGCTC
GAGAGATCTGTGATAGCGCCATCAAGCTGGCTGTGCCTTCTAGTTGCCAGCCATCTGTTGT
TTGCCCTCCCCCGTGCCTTCTTGAACCTGGAAGGTGCCACTCCCACTGTCTTTCTTAAT
AAAATGAGGAAATTGCATCGCATTGTCTGAGTAGGTGTCATTCTATTCTGGGGGTGGGGTG
GGGCAGGACAGCAAGGGGGAGGATTGGGAAGACAATAGCAGGCATGCTGGGGACACGTGCGG
ACCGAGCGGCCGAGGAACCCCTAGTGATGGAGTTGGCCACTCCCTCTCTGCGCGCTCGCTC
GCTCACTGAGGCCGGGCGACCAAAGGTGCGCCGACGCGCGGGCTTTGCCCGGGCGGCCTCAG
TGAGCGAGCGAGCGCGCAGCTGCCTGCAGGGGCGCCTGATGCGGTATTTTCTCCTTACGCAT
CTGTGCGGTATTTACACCGCATACGTCAAAGCAACCATAGTACGCGCCCTGTAGCGGCGCA
TTAAGCGCGGCGGGTGTGGTGGTTACGCGCAGCGTGACCGCTACACTTGCCAGCGCCCTAGC
GCCCGCTCCTTTGCTTTTCTTCCCTTCTTCTCGCCACGTTGCGCGGCTTTCCCCGTCAAG
CTCTAAATCGGGGGCTCCCTTTAGGGTTCCGATTTAGTGCTTTACGGCACCTCGACCCCAA
AAACTTGATTTGGGTGATGGTTCACGTAGTGGGCATCGCCCTGATAGACGGTTTTTTCGCC

10

20

30

40

50

【化 3 7】

TTTGACGTTGGAGTCCACGTTCTTTAATAGTGGACTCTTGTTCCAAACTGGAACAACACTCA
ACCCTATCTCGGGCTATTCTTTTGATTTATAAGGGATTTTGCCGATTTGCGCCTATTGGTTA
AAAAATGAGCTGATTTAACAAAAATTTAACGCGAATTTTAACAAAATATTAACGTTTACAAT
TTTATGGTGCACCTCTCAGTACAATCTGCTCTGATGCCGCATAGTTAAGCCAGCCCCGACACC
CGCCAACACCCGCTGACGCGCCCTGACGGGCTTGTCTGCTCCCGGCATCCGCTTACAGACAA
GCTGTGACCGTCTCCGGGAGCTGCATGTGTCAGAGGTTTTACCGTCATCACCGAAACGCGC
GAGACGAAAGGGCCTCGTGATACGCCTATTTTTATAGGTTAATGTCATGATAATAATGGTTT
CTTAGACGTCAGGTGGCACTTTTCGGGGAAATGTGCGCGGAACCCCTAITTGTTTATTTTC
TAAATACATTCAAATATGTATCCGCTCATGAGACAATAACCCCTGATAAATGCTTCAATAATA
TTGAAAAAGGAAGAGTATGAGTATTCAACATTTCCGTGTGCGCCCTTATTCCTTTTTTGCGG
CATTTTGCCTTCCTGTTTTTGTCTACCCAGAAACGCTGGTGAAAGTAAAAGATGCTGAAGAT
CAGTTGGGTGCACGAGTGGGTTACATCGAACTGGATCTCAACAGCGGTAAGATCCTTGAGAG
TTTTCGCCCCGAAGAACGTTTTCCAATGATGAGCACTTTTAAAGTTCGTCTATGTGGCGCGG
TATTATCCCGTATTGACGCCGGGCAAGAGCAACTCGGTGCGCGCATACACTATTCTCAGAAT
GACTTGTTGAGTACTCACCAGTCACAGAAAAGCATCTTACGGATGGCATGACAGTAAGAGA
ATTATGCAGTGCTGCCATAACCATGAGTGATAAACTGCGGCCAACTTACTTCTGACAACGA
TCGGAGGACCGAAGGAGCTAACCGCTTTTTTGCACAACATGGGGGATCATGTAACTCGCCTT
GATCGTTGGGAACCGGAGCTGAATGAAGCCATACCAAACGACGAGCGTGACACCA

10

【0 1 2 6】

20

いくつかの実施形態では、本明細書において記載されるAVVベクターは、配列番号70と少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%配列同一性のヌクレオチド配列を含む。ベクターc.81.3の例示的なヌクレオチド配列は配列番号70に示される(hGJB2 GRE3には下線を付した;ヒトGJB2コード配列は太字で):

30

40

50

【化 3 8】

CGATGCCTGTAGCAATGGCAACAACGTTGCGCAAACCTATTAACCTGGCGAACTACTTACTCTA
GCTTCCCGGCAACAATTAATAGACTGGATGGAGGCGGATAAAGTTGCAGGACCACTTCTGCG
CTCGGCCCTTCCGGCTGGCTGGTTTATTGCTGATAAATCTGGAGCCGGTGAGCGTGGGTCTC
GCGGTATCATTGCAGCACTGGGGCCAGATGGTAAGCCCTCCCGTATCGTAGTTATCTACACG
ACGGGGAGTCAGGCAACTATGGATGAACGAAATAGACAGATCGCTGAGATAGGTGCCTCACT
GATTAAGCATTGGTAACTGTCAGACCAAGTTTACTCATATATACTTTAGATTGATTTAAAC
TTCATTTTTTAATTTAAAAGGATCTAGGTGAAGATCCTTTTTTGATAATCTCATGACCAAAATC
CCTTAACGTGAGTTTTTCGTTCCACTGAGCGTCAGACCCCGTAGAAAAGATCAAAGGATCTTC
TTGAGATCCTTTTTTCTGCGCGTAATCTGCTGCTTGCAAACAAAAAACCACCGCTACCAG
CGGTGGTTTTGTTTGCCGGATCAAGAGCTACCAACTCTTTTTCCGAAGGTAAGTGGCTTCAGC
AGAGCGCAGATACCAATACTGTCTTCTAGTGTAGCCGTAGTTAGGCCACCACTTCAAGAA
CTCTGTAGCACCGCCTACATACCTCGCTCTGCTAATCCTGTTACCAGTGGCTGCTGCCAGTG
GCGATAAGTCGTGTCTTACCGGGTTGGACTCAAGACGATAGTTACCGGATAAGGCGCAGCGG
TCGGGCTGAACGGGGGGTTTCGTGCACACAGCCCAGCTTGGAGCGAACGACCTACACCGAACT
GAGATACCTACAGCGTGAGCTATGAGAAAGCGCCACGCTTCCCGAAGGGAGAAAGGCGGACA
GGTATCCGGTAAGCGGCAGGGTCGGAACAGGAGAGCGCACGAGGGAGCTTCCAGGGGAAAC
GCCTGGTATCTTTATAGTCCTGTCTGGGTTTCGCCACCTCTGACTTGAGCGTCGATTTTTGTG
ATGCTCGTCAGGGGGCGGAGCCTATGGAAAAACGCCAGCAACGCGGCCTTTTTACGGTTCC
TGGCCTTTTTGCTGGCCTTTTTGCTCACATGTCCTGCAGGCAGCTGCGCGCTCGCTCGCTCACT
GAGGCCGCCCGGGCAAAGCCCGGGCGTCGGGCGACCTTTGGTCGCCCGGCCTCAGTGAGCGA
GCGAGCGCGCAGAGAGGGAGTGGCCAACTCCATCACTAGGGGTTCCTGCGGCCGCACGCGTG
CTATCTATCATCTTGAAGGGCTTCTGGAACAAGTTAGAATAGAGTCAACACTCATGAACTGC
TGTAGCAAAAAAAGCTATAGATGTAGGATTGACAAGGGCAATAGAGCGATGACTCCCTGGCT

10

20

30

40

50

【化 3 9】

GTGTTGTATTTGATGGACGGCAGTAGCTTTTCACAAAATGCTCATTGGATGTTTCAAATTA
AAACGTTTCACTTTCTAGAACCAATTACGTGGTCAGTTTAGCTCCTGAGGTCCCAGTCAGAG
GGGTATTCTGTAGCTTGCAGAGCCTCTCTTTGGGGACTGGACATGGAGTCTGTGGTCTTAGA
ATTGAGAACCCGGGAGAAATGTGTTAGCCACTCATCTAAGCTATTCCCTAAACGCTTTTCAGAGC
CATCTCCACTGTGGGGAAAGAAGTTCTTTGTGTTCTCTGACTTAGTCTCATTCTAAAAAAA
AAAAAAAAAAAAAAAAAAGCAATTGCAATACCCAGAGCGCACAGTAGATGGCACTGAGACT
TGTCGGAAGCTGGACGCACTCAAGAGGTGGCAGAAAAATCTATAGGTAAGCTTTTCTTCTA
GTCTGGTGTGCTGCTCCTGACCTTATTAATGGGCTGAGAAATAGATTTCTTTCTTTCTTT
TTCTTTTTTATATGAAATTAAATGAAGTATAAAGAATATGAGAATGTGTTGCTATTAGCAA
GGATAAGTAATGCTTTAGGAAACGTTTGGTTTCATGTGTGTGTTTTCAGACTGATGTGTGTGTC
TGGATCCAGTGTAATAATGTACTTCTGTCTGTAGGTCTCTGCCACAGAAAAGTTGGAAAGCCA
TTGTTGTATTCCATTTCCAGGGCAACAAAAGATACCACTGTCACTTCATGTGAAATGGTGT
GTTTAATTAAGACCTCGAAGGGGACTTGGGGGGTTCGGGGCTTTTCGGGGCGGTTCGGGGGT
CGCGGACCCGGGAAGCTCTGAGGACCCAGAGGCCGGCGCGCTCCGCCCGCGGCGCGCGCCCC
CTCCGTAAGATTTCCAGTCTCCGAGGGAAGAGCGGGGTGTGGGGTGCAGTTAAAGGCGGCC
ACGGCGGAGACAGGTGTTGCGGCCCCGAGCGCCCCGCGCGCTCCTCTCCCCGACTCGGAGC
CCCTCGGCGGCGCGCGGCCAGGACCCGCCCTAGGAGCGCAGGAGCCCCAGCGCAGAGACCCC
AACGCCGAGACCCCCGCCCCGCGCGCGCGCTTCCCTCCCGACGCAGAGCAAAACGCCCGAG
AGTAGAAGCCATGGATTGGGGCACGCTGCAGACGATCCTGGGGGGTGTGAACAAACACTCCA
CCAGCATTGGAAAGATCTGGCTCACCGTCTCTTCATTTTTCGCAATTATGATCCTCGTTGTG
GCTGCAAGAGGAGGTGTGGGGAGATGAGCAGGCCGACTTTGTCTGCAACACCCTGCAGCCAGG
CTGCAAGAACGTGTGCTACGATCACTACTTCCCCATCTCCACATCCGGCTATGGGCCCTGC
AGCTGATCTTCGTGTCCACGCCAGCGCTCCTAGTGGCCATGCACGTGGCCTACCGGAGACAT
GAGAAGAAGAGGAAGTTCATCAAGGGGGAGATAAAGAGTGAATTTAAGGACATCGAGGAGAT
CAAAACCCAGAAGGTCCGCATCGAAGGCTCCCTGTGGTGGACCTACACAAGCAGCATCTTCT
TCCGGGTCTCTTGAAGCCGCCTTCATGTACGTCTTCTATGTATGTACGACGGCTTCTCC
ATGACCGGCTGCTGCAAGTGCACGCTTGTCCCAACACTGTGGACTGCTTTGTGTGTC
CCGGCCCCACGGAGAAGACTGTCTTTCACAGTGTTCATGATTGCAGTGTCTGGAATTTGCATCC
TGCTGAATGTCACTGAATTGTGTTATTTGCTAATTAGATATTGTTCTGGGAAGTCAAAAAAG
CCAGTTTAAAGGCGCGCCACCCCTGCAGGGAATTCGCGATTGCCAGTTGTTAGATTAAGAA
ATAGACAGCATGAGAGGGATGAGGCAACCCGTGCTCAGCTGTCAAGGCTCAGTCGCTAGCAT
TTCCCAACACAAAGATTCTGACCTTAAATGCAACCATTGAAACCCCTGTAGGCCCTCAGGTG
AAACTCCAGATGCCACAATGGAGCTCTGCTCCCTAAAGCCTCAAAACAAAGGCCTAATTCT
ATGCCTGTCTTAATTTTCTTTCACTTAAGTTAGTTCCACTGAGACCCAGGCTGTTAGGGGT
TATTGGTGTAAAGTACTTTTCATATTTTAAACAGAGGATATCGGCATTTGTTTCTTTCTCTGA
GGACAAGAGAAAAAAGCCAGGTTCCACAGAGGACACAGAGAAGGTTTGGGTGTCTCTCTGGG
GTTCTTTTGGCAACTTTCCCCACGTTAAAGGTGAACATTGGTTCTTTTCATTTGCTTTGGAA
GTTTTAATCTCTAACAGTGGACAAAGTTACCAGTGCCTTAAACTCTGTTACACTTTTGGAA
GTGAAAACCTTTGTAGTATGATAGGTTATTTTGATGTAAAGATGTTCTGGATACCATTTATATG
TTCCCCCTGTTTCAGAGGCTCAGATTGTAATATGTAATGGTATGTCATTGCTACTATGAT
TTAATTTGAAATATGGTCTTTTGGTTATGAATACTTTGCAGCACAGCTGAGAGGCTGTCTGT
TGTATTCAATTGTGGTCAATAGCACCTAACAACATTGTAGCCTCAATCGAGTGAGACAGACTAG
AAGTTCCCTAGTGATGGCTTATGATAGCAAATGGCCTCATGTCAAATATTTAGATGTAATTTT
GTGTAAGAAATACAGACTGGATGTACCACCACTACTACCTGTAATGACAGGCCTGTCCAAC
ACATCTCCCTTTTCCATGACTGTGGTAGCCAGCATCGGAAAGAACGCTGATTTAAAGAGGTC
GCTTGGGAATTTTATTGACACAGTACCATTTAATGGGGAGGACAAAATGGGGCAGGGGAGGG
AGAAGTTTCTGTCTGTTAAAAACAGATTGGAAAGACTGGACTCTAAAGTCTGTTGATTAAAG
ATGAGCTTTGTCTACTTCAAAAGTTTGTGTTTACCCCTTCAGCCTCCAATTTTTTAAGTG
AAAAATATAGCTAATAACATGTGAAAAGAATAGAAGCTAAGGTTTAGATAAATATTGAGCAGA
TCTATAGGAAGATTGAACCTGAATATTGCCATTATGCTTGACATGGTTTCAAAAAAATGGTA
CTCCACATATTTCAAGTGGGGTAAGTATTTTCTGTTGTCAAGAATAGCATTGTAAAGCAT

10

20

30

40

50

【化 4 0】

TTTGTAATAATAAAGAATAGCTTTAATGATATGCTTGTAACATAAATAATTTTGTAAATGTAT
 CAAATACATTTTAAAACATTAAAATATAATCTCTATAATAATTTAAAATCTAATATGGTTTTA
 ATAGAACAGCGATATCAAGCTTATCGATAATCAACCTCTGGATTACAAAATTTGTGAAAGAT
 TGACTGGTATTCTTAACCTATGTTGCTCCTTTTACGCTATGTGGATACGCTGCTTTAATGCCT
 TTGTATCATGCTATTGCTTCCCGTATGGCTTTTCATTTTCTCCTCCTTGATATAAATCCTGGTT
 GCTGTCTCTTTATGAGGAGTTGTGGCCCGTTGTCAGGCAACGTGGCGTGGTGTGCACTGTGT
 TTGCTGACGCAACCCCCACTGGTTGGGGCATTGCCACCACCTGTCAGCTCCTTTCCGGGACT
 TTCGCTTTCCCCCTCCCTATTGCCACGGCGGAACATCGCCGCTGCCTTGCCCGCTGCTG
 GACAGGGGCTCGGCTGTTGGGCACTGACAATCCGTGGTGTGTGCGGGGAAATCATCGTCCT
 TTCCTTGGCTGCTCGCCTATGTTGCCACCTGGATTCTGCGCGGGACGTCTTCTGCTACGTC
 CCTTCGGCCCTCAATCCAGCGGACCTTCCTTCCCGCGGCCTGCTGCCGGCTCTGCGGCCTCT
 TCCGCGTCTTCGCCCTTCGCCCTCAGACGAGTCGGATCTCCCTTTGGGCGGCCTCCCCGCGAA
 TTCATCGATACCGAGCGCTGCTCGAGAGATCTGTGATAGCGGCCATCAAGCTGGCTGTGCCT
 TCTAGTTGCCAGCCATCTGTTGTTTGGCCCTCCCCCGTGCCTTCCCTTGACCTGGAAGGTGC
 CACTCCCACIGTCTTTTCTAATAAAAATGAGGAAATTGCATCGCATTGCTGAGTAGGTGTC
 ATTCTATTCTGGGGGGTGGGGTGGGGCAGGACAGCAAGGGGGAGGATTGGGAAGACAATAGC
 AGGCATGCTGGGGACACGTGCGGACCGAGCGGCCGAGGAACCCCTAGTGATGGAGTTGGCC
 ACTCCCTCTCTGCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGGCCGGGCGACCAAAGGTGCCCCGACGCC
 GGGCTTTGCCCGGGCGGCCTCAGTGAGCGAGCGAGCGCGCAGCTGCCTGCAGGGGCGCCTGA
 TGCGGTATTTTCTCCTTACGCATCTGTGCGGTATTTACACCCGCATACGTCAAAGCAACCAT
 AGTACGCGCCCTGTAGCGGCGCATTAAGCGCGGCGGGTGTGGTGGTTACGCGCAGCGTGACC
 GCTACACTTGCCAGCGCCCTAGCGCCCGCTCCTTTTCGCTTTCTTCCCTTCCCTTCTCGCCAC
 GTTCGCCGGCTTTCCCGTCAAGCTCTAAATCGGGGGCTCCCTTTAGGGTTCCGATTTAGTG
 CTTTACGGCACCTCGACCCCAAAAACTTGATTGGGTGATGGTTACGTAGTGGGCCATCG
 CCCTGATAGACGGTTTTTTCGCCCTTGACGTTGGAGTCCACGTTCTTTAATAGTGGACTCTT
 GTTCCAAACTGGAACAACACTCAACCTATCTCGGGCTATTCTTTTGATTTATAAGGGATTT
 TGCCGATTTCCGGCTATTGGTTAAAAAATGAGCTGATTTAACAAAAATTTAACGCGAATTTT
 AACAAAAATTTAACGTTTACAATTTTATGGTGCACCTCTCAGTACAATCTGCTCTGATGCCGC
 ATAGTTAAGCCAGCCCCGACACCCGCCAACACCCGCTGACGCGCCCTGACGGGCTTGCTGTC
 TCCCGGCATCCGCTTACAGACAAGCTGTGACCGTCTCCGGGAGCTGCATGTGTGAGAGTTT
 TCACCGTCATCACCGAAACGCGCGAGACGAAAGGGCCTCGTGATACGCCTATTTTTATAGGT
 TAATGTATGATAATAATGGTTTCTTAGACGTCAGGTGGCCTTTTCGGGGAAATGTGCGCG
 GAACCCCTAITTTGTTTATTTTTCTAAATACATTCAAATATGTATCCGCTCATGAGACAATAA
 CCCTGATAAATGCTTCAATAATATTGAAAAAGGAAGAGTATGAGTATTCAACATTTCCGTGT
 CGCCCTTATTCCTTTTTTTGCGGCATTTTGCTTCCTGTTTTTGTCTACCCAGAAACGCTGG
 TGAAAGTAAAGATGCTGAAGATCAGTTGGGTGCACGAGTGGGTACATCGAACTGGATCTC
 AACAGCGGTAAGATCCTTGAGAGTTTTCGCCCCGAAGAACGTTTTCCAATGATGAGCACTTT
 TAAAGTTCTGCTATGTGGCGCGGTATTATCCCGTATTGACGCCGGGCAAGAGCAACTCGGTC
 GCCGCATACACTATTCTCAGAATGACTTGTTGAGTACTACCAGTCACAGAAAAGCATCTT
 ACGGATGGCATGACAGTAAGAGAATTATGCAGTGCTGCCATAACCATGAGTGATAACACTGC
 GGCCAACTTACTTCTGACAACGATCGGAGGACCGAAGGAGCTAACCGCTTTTTTGCACAACA
 TGGGGGATCATGTAACCTCGCCTTGATCGTTGGGAACCGGAGCTGAATGAAGCCATACCAAAC
 GACGAGCGTGACACCA

10

20

30

40

【0127】

いくつかの実施形態では、本明細書において記載されるAVVベクターは、配列番号71
 と少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも
 90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なく
 とも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、ま
 たは100%配列同一性のヌクレオチド配列を含む。ベクターc.81.3の例示的なヌクレオ
 チド配列は配列番号71に示される(hGJB2 GRE3には下線を付した;マウスGJB2コード
 配列は太字で):

50

【化 4 1】

CGATGCCTGTAGCAATGGCAACAACGTTGCGCAAACTATTAAGTGGCGAACTACTTACTCTA
GCTTCCCGGCAACAATTAATAGACTGGATGGAGGCGGATAAAGTTGCAGGACCACTTCTGCG
CTCGGCCCTTCCGGCTGGCTGGTTTATTGCTGATAAATCTGGAGCCGGTGAGCGTGGGTCTC
GCGGTATCATTTGCAGCACTGGGGCCAGATGGTAAGCCCTCCCGTATCGTAGTTATCTACACG
ACGGGGAGTCAGGCAACTATGGATGAACGAAATAGACAGATCGCTGAGATAGGTGCCTCACT
GATTAAGCATTTGGTAACTGTCAGACCAAGTTTACTCATATATACTTTAGATTGATTTAAAC
TTCATTTTTTAATTTAAAAGGATCTAGGTGAAGATCCTTTTTTGATAATCTCATGACCAAAATC
CCTTAACGTGAGTTTTTCGTTCCACTGAGCGTCAGACCCCGTAGAAAAGATCAAAGGATCTTC
TTGAGATCCTTTTTTCTGCGCGTAATCTGCTGCTTGCAACAAAAAACCACCGCTACCAG
CGGTGGTTTGTTCGCGGATCAAGAGCTACCAACTCTTTTTCCGAAGGTAAGTGGCTTCAGC
AGAGCGCAGATACCAAAATCTGTCTTCTAGTGTAGCCGTAGTTAGGCCACCACTTCAAGAA
CTCTGTAGCACCGCTACATACCTCGCTCTGCTAATCCTGTTACCAGTGGCTGCTGCCACTG
GCGATAAGTTCGTGTCTTACCAGGTTGGACTCAAGACGATAGTTACCAGGATAAGGCGCAGCGG
TCGGGCTGAACGGGGGTTTCGTGCACACAGCCAGCTTGAGCGAACGACCTACACCGAACT
GAGATACCTACAGCGTGAGCTATGAGAAAGCGCCACGCTTCCCGAAGGGAGAAAGGCGGACA
GGTATCCGGTAAGCGGCAGGGTCGGAACAGGAGAGCGCACGAGGGAGCTTCCAGGGGAAAC
GCCTGGTATCTTTATAGTCTGTGCGGGTTTCGCCACCTCTGACTTGAGCGTCGATTTTTGTG
ATGCTCGTCAGGGGGCGGAGCCTATGGAACACGCCAGCAACGCGGCCTTTTTACGGTTCC
TGGCCTTTTGTGCGCTTTTGTCTCATGTCTGTCAGGCAGCTGCGCGCTCGCTCGCTCACT
GAGGCCCGCCGGGCAAAGCCCGGGCGTCGCGCGACCTTTGGTTCGCGCGCCTCAGTGAGCGA
GCGAGCGCGCAGAGAGGGAGTGGCCAACTCCATCACTAGGGGTTCTGCGGCCGCACGCGTG
CTATCTATCACTTTGAAGGGCTTCTGGAACAAGTTAGAATAGAGTCAACACTCATGAACTGC
TGTAGCAAAAAAACTATAGATGTAGGATTGACAAGGGCAATAGAGCGATGACTCCCTGGCT
GTGTGTATTTGATGGACGGCAGTAGCTTTTCAAAAATGCTCAITTTGGAIGTTTCAAATTA
AAACGTTTCACTTTCTAGAACCAATTACGTGGTCAGTTTAGCTCCTGAGGTCCCAGTCAGAG
GGGTATTCTGTAGCTTGCAAGCCTCTCTTTGGGGACTGGACATGGAGTCTGTGGTCTTAGA
ATTGAGAACCGGGAGAATGTGTTAGCCACTCATCTAAGCTATTCTTAAACGCTTTTCAAGC
CATCTCCACTGTGGGGAAAGAAGTTCTTTGTGTCTCTGACTTAGTCTCAITTTAAAAA
AAAAAAAAAAAAAAAAAAGCAATTGCAATACCCAGAGCGCACAGTAGATGGCACTGAGACT
TGTTCGAAAGCTGGACGCACTCAAGAGGTGGCAGAAAAATCTATAGGTAAGCTTTTCTTCTA
GTCTGGTGTGTCTCTCTGACCTTATTAATGGGCTGAGAAATAGATTTCTTTCTTTCTCTT
TTCTTTTTTATATGAAATTAATGAAGTATAAAAGAATATGAGAATGTGTTGCTATTAGCAA
GGATAAGTAATGCTTTAGGAAACGTTTGGTTCATGTGTGTGTTTTAGACTGATGTGTGTCC
TGGATCCAGTGTAAAATGTACTTCTGTCTGTAGGTCTCTGCCACAGAAAAGTTGGAAAGCCA
TTGTGTATTCCATTTCCAGGGCAACAAAAGATAACCACTGTCACCTTCATGTGAAATGGTGT
GTTTAATTAAGACCTCGAAGGGGACTTGGGGGTTTCGGGGCTTTCGGGGGCGGTTCGGGGGTT
CGCGGACCCGGGAAGCTCTGAGGACCCAGAGGCCGGGCGCGCTCCGCCGCGGCGCGCCCC
CTCCGTAACCTTTCCAGTCTCCGAGGGAAGAGGCGGGGTGTGGGGTGCGGTTAAAGGCGCC
ACGGCGGGAGACAGGTGTTGCGGCCCCGACGCGCCGCGCGCTCCTCTCCCGACTCGGAGC
CCCTCGGCGGCGCCCGGCCAGGACCCGCCTAGGAGCGCAGGAGCCCCAGCGCAGAGACCCC
AACGCCGAGACCCCGCCCCGCCCCGCGCGCTTCTCCCGACGCGAGAGCAAACCGCCAG
AGTAGAAGCCATGGATTGGGGCACACTCCAGAGCATCCTCGGGGGTGTCAACAAACACTCCA
CCAGCATTGGAAGATCTGGCTCACGGTCCTCTTCATCTTCCGCATCATGATCCTCGTGGTG
GCTGCAAAGGAGGTGTGGGGAGATGAGCAAGCCGATTTTGTCTGCAACACGCTCCAGCCTGG
CTGCAAGAATGTATGCTACGACCACCACTTCCCCATCTCTCACATCCGGCTCTGGGCTCTGC
AGCTGATCATGGTGTCCACGCCAGCCCTCCTGGTAGCTATGCATGTGGCCTACCGGAGACAT
GAAAAGAAACGGAAGTTTATGAAGGGAGAGATAAAGAACGAGTTTAAGGACATCGAAGAGAT
CAAAACCCAGAAGGTCCGTATCGAAGGGTCCCTGTGGTGGACCTACACCACCAGCATCTTCT

10

20

30

40

50

【化 4 2】

TCCGGGTCATCTTTGAAGCCGTCTTCATGTACGTCTTTTACATCATGTACAATGGCTTCTTC
ATGCAACGTCTGGTGAAATGCAACGCTTGGCCCTGCCCAATACAGTGGACTGCTTCATTTT
CAGGCCCACAGAAAAGACTGTCTTCACCGTGTTTATGATTTCTGTGTCTGGAATTTGCATT
TGCTAAATATCACAGAGCTGTGCTATTTGTTTCGTTAGGTATTGCTCAGGAAAGTCCAAAAGA
CCAGTCTACCCATACGATGTTCCAGATTACGCTTAAAGGCGCGCCACCCCTGCAGGGAATTC
CGCATTGCCAGTTGTTAGATTAAGAAATAGACAGCATGAGAGGGATGAGGCAACCCGTGCT
CAGCTGTCAAGGCTCAGTCGCTAGCATTTCCTAACACAAAGATTCTGACCTTAAATGCAACC
ATTTGAAACCCCTGTAGGCCTCAGGTGAAACTCCAGATGCCACAATGGAGCTCTGCTCCCT
AAAGCCTCAAAACAAAGGCCTAATTCTATGCCTGTCTAATTTTCTTTCACTTAAGTTAGTT
CCACTGAGACCCAGGCTGTTAGGGGTTATTGGTGTAAAGGTACTTTTCATATTTTAAACAGAG
GATATCGGCATTTGTTTCTTCTCTGAGGACAAGAGAAAAAGCCAGGTTCCACAGAGGACA
CAGAGAAGGTTTGGGTGTCTCTCTGGGGTCTTTTTTGCCAACTTTCCCCACGTTAAAGGTGA
ACATTGGTTCTTTTCAATTTGCTTTTGAAGTTTTAATCTCTAACAGTGGACAAAGTTACCAGTG
CCTTAAACTCTGTTACACTTTTTTGAAGTGAAAACTTTGTAGTATGATAGGTTATTTTGAIG
TAAAGATGTTCTGGATACCATTATATGTTCCCCCTGTTTCAGAGGCTCAGATTGTAATATGT
AAATGGTATGTCATTTCGCTACTATGATTTAATTTGAAATATGGTCTTTTGGTTATGAATACT
TTGCAGCACAGCTGAGAGGCTGTCTGTTGTATTTCATTGTGGTCATAGCACCTAACACATTG
TAGCCTCAATCGAGTGAGACAGACTAGAAGTTCCTAGTGATGGCTTATGATAGCAAATGGCC
TCATGTCAAATATTTAGATGTAATTTTGTGTAAGAAATACAGACTGGATGTACCACCACTA
CTACCTGTAATGACAGGCCTGTCCAACACATCTCCCTTTTCCATGACTGTGGTAGCCAGCAT
CGGAAAGAACGCTGATTTAAAGAGGTGCTTGGGAATTTTATTGACACAGTACCATTTAATG
GGGAGGACAAAATGGGGCAGGGGAGGGAGAAGTTTCTGTCTGTTAAAAACAGATTTGGAAGA
CTGGACTCTAAAGTCTGTTGATTAAAGATGAGCTTTGTCTACTTCAAAAGTTTGTGTTGCTTA
CCCCCTTCAGCCTCCAATTTTTTAAAGTGAATAATAGCTAATAACATGTGAAAAGAATAGAAG
CTAAGGTTTAGATAAATATTGAGCAGATCTATAGGAAGATTGAACCTGAATATTGCCATTAT
GCTTGACATGGTTTCCAAAAAATGGTACTCCACATATTTTCAGTGAGGGTAAGTATTTTCTCTG
TTGTCAAGAATAGCATTGTAAAAGCATTTTGTAATAATAAAGAATAGCTTTAATGATATGCT
TGTAATAAATAATTTTGTAAATGTATCAAATACATTTAAAAACATTAAAAATATAATCTCTAT
AATAATTTAAATCTAATATGGTTTTAATAGAACAGCGATATCAAGCTTATCGATAATCAAC
CTCTGGATTACAAAATTTGTGAAAGATTGACTGGTATTCTTAATCTATGTTGCTCCTTTTACG
CTATGTGGATACGCTGCTTTAATGCCTTTGTATCATGCTATTGCTTCCCGTATGGCTTTTCAT
TTTCTCCTCCTTGTATAAATCCTGGTTGCTGTCTCTTTATGAGGAGTTGTGGCCCGTTGTCA
GGCAACGTGGCGTGGTGTGCACTGTGTTTGTGACGCAACCCCCACTGGTTGGGGCATTGCC
ACCACCTGTACGCTCCTTTCCGGGACTTTTCGCTTTCCCCCTCCCTATTGCCACGGCGGAAC
CATCGCCGCTGCTTTCGCGCTGTGACAGGGGCTCGGCTGTTGGGCACTGACAATTCCG
TGGTGTGTCGGGGAATCATCGTCTTTTCTTGGCTGCTCGCCTATGTTGCCACCTGGATT
CTGCGCGGGACGTCCTTCTGCTACGTCCCTTCGGCCCTCAATCCAGCGGACCTTCTTCCCG
CGGCTGCTGCGGCTCTGCGGCTCTTCCGCGTCTTCGCTTCGCTCAGACGAGTCCGA
TCTCCCTTTGGGCGCCTCCCGCGAATTCATCGATACCGAGCGCTGCTCGAGAGATCTGTG
ATAGCGGCCATCAAGCTGGCTGTGCTTCTAGTTGCCAGCCATCTGTTGTTTGGCCCTCCCC
CGTGCTTCTTTCGACCTTGAAGGTGCCACTCCCACTGTCTTTTCTAATAAAATGAGGAAA
TTGCATCGCATTGTCTGAGTAGGTGTCATTCTATTCTGGGGGTGGGGTGGGGCAGGACAGC
AAGGGGGAGGATTGGGAAGACAATAGCAGGCATGCTGGGGACACGTGCGGACCGAGCGGCCG
CAGGAACCCCTAGTGATGGAGTTGGCCACTCCCTCTCTGCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGGC
CGGGCGACCAAAGGTGCGCCGACGCGCGGGCTTTGCCCCGGCGGCTCAGTGAGCGAGCGAG
CGCGCAGCTGCCTGCAGGGGCGCCTGATGCGGTATTTTCTCCTTACGCATCTGTGCGGTATT
TCACGCGGCATACGTCAAAGCAACCATAGTACGCGCCCTGTAGCGGGCAGAAAGCGCGCG
GGTAGGGTGGTTACGCGAGCGTGACCGCTACACTTGCCAGCGCCCTAGCGCCCGCTCCTTT
CGCTTTCTTCCCTTCTTTCTCGCCACGTTCCGCGGCTTTCCCGTCAAGCTCTAAATCGGG
GGCTCCCTTTAGGGTTCCGATTTAGTGCTTTACGGCACCTCGACCCCAAAAACTTGATTG
GGTGATGGTTACGTAGTGGCCATCGCCCTGATAGACGGTTTTTCGCCCTTTGACGTTGGA

10

20

30

40

50

【化 4 3】

GTCCACGTTCTTTAATAGTGGACTCTTGTTCCAACTGGAACAACACTCAACCCTATCTCGG
 GCTATTCTTTTGATTTATAAGGGATTTTGCCGATTTTCGGCCTATTGGTTAAAAAATGAGCTG
 ATTTAACAAAAATTTAACGCGAATTTTAACAAAATATTAACGTTTACAATTTTATGGTGCAC
 TCTCAGTACAATCTGCTCTGATGCCGCATAGTTAAGCCAGCCCCGACACCCGCCAACACCCG
 CTGACGCGCCCTGACGGGCTTGCTCTGCTCCCGGCATCCGCTTACAGACAAGCTGTGACCGTC
 TCCGGGAGCTGCATGTGTCTCAGAGGTTTTTACCCTCATCACCGAAACGCGCGAGACGAAAGGG
 CCTCGTGATACGCCTATTTTTATAGGTTAATGTCATGATAATAATGGTTTTCTTAGACGTCAG
 GTGGCACTTTTCGGGGAAATGTGCGCGGAACCCCTATTTGTTTTATTTTTCTAAATACATTCA
 AATATGTATCCGCTCATGAGACAATAACCCCTGATAAATGCTTCAATAATATTGAAAAAGGAA
 GAGTATGAGTATTCAACATTTCGGTGTGCGCCCTTATTCCCTTTTTTTCGGGCATTTTGCCTTC
 CTGTTTTTGTCTACCCAGAAACGCTGGTGAAAGTAAAGATGCTGAAGATCAGTTGGGTGCA
 CGAGTGGGTACATCGAACTGGATCTCAACAGCGGTAAGATCCTTGAGAGTTTTTCGCCCCGA
 AGAACGTTTTTCCAATGATGAGCACTTTTAAAGTTCTGCTATGTGGCGCGGTATTATCCCGTA
 TTGACGCCGGGCAAGAGCAACTCGGTGCGCCGCATACACTATTCTCAGAATGACTTGGTTGAG
 TACTCACCAGTCACAGAAAAGCATCTTACGGATGGCATGACAGTAAGAGAATTATGCAGTGC
 TGCCATAACCATGAGTGATAACACTGCGGCCAACTTACTTCTGACAACGATCGGAGGACCGA
 AGGAGCTAACCGCTTTTTTGCACAACATGGGGGATCATGTAACTCGCCCTTGATCGTTGGGAA
 CCGGAGCTGAATGAAGCCATACCAAACGACGAGCGTGACACCA

10

【0 1 2 8】

20

いくつかの実施形態では、本明細書において記載されるAAVベクターは、AAV 5' ITR、GJB2 GREエンハンサー(hGJB2 GRE4)、GJB2基本プロモーター、GJB2エクソン1の5' UTR、コザック配列、遺伝子産物(例、GJB2またはGFP)をコードするヌクレオチド配列、GJB2エクソン2の3' UTR、WPRE、ウシ成長ホルモンポリAシグナル、およびAAV 3' ITRを含む(例、ベクターc.81.4)。

【0 1 2 9】

いくつかの実施形態では、本明細書において記載されるAVVベクターは、配列番号72と少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%配列同一性のヌクレオチド配列を含む。ベクターc.81.4の例示的なヌクレオチド配列は配列番号72に示される(hGJB2 GRE4には下線を付した;eGFPコード配列は太字で)：

30

【化 4 4】

CGATGCCTGTAGCAATGGCAACAACGTTGCGCAAACCTATTAACCTGGCGAACTACTTACTCTA
 GCTTCCCGGCAACAATTAATAGACTGGATGGAGGCGGATAAAGTTGCAGGACCACTTCTGCG
 CTCGGCCCTTCCGGCTGGCTGGTTTTATTGCTGATAAATCTGGAGCCGGTGAGCGTGGGICTC
 GCGGTATCATTGCAGCACTGGGGCCAGATGGTAAGCCCTCCCGTATCGTAGTTATCTACACG
 ACGGGGAGTCAGGCAACTATGGATGAACGAAATAGACAGATCGCTGAGATAGGTGCCTCACT
 GATTAAGCATTGGTAACCTGTCAGACCAAGTTTACTCATATATACTTTAGATTGATTTAAAC
 TTCATTTTTTAATTTAAAGGATCTAGGTGAAGATCCTTTTTTGATAATCTCATGACCAAAATC
 CCTTAACGTGAGTTTTTCGTTCCACTGAGCGTCAGACCCCGTAGAAAAGATCAAAGGATCTTC
 TTGAGATCCTTTTTTTCTGCGCGTAATCTGCTGCTTGCAAACAAAAAAACCACCGCTACCAG
 CGGTGGTITTTGTTTGCCGGATCAAGAGCTACCAACTCTTTTTCCGAAGGTAACCTGGCTTCAGC
 AGAGCGCAGATACCAATACTGTCTTCTAGTGTAGCCGTAGTTAGGCCACCACTTCAAGAA
 CTCTGTAGCACCGCCTACATACCTCGCTCTGCTAATCCTGTTACCAGTGGCTGCTGCCAGTG
 GCGATAAGTCGTGTCTTACCGGGTTGGACTCAAGACGATAGTTACCGGATAAGGCGCAGCGG
 TCGGGCTGAACGGGGGGTTTCGTGCACACAGCCCAGCTTGAGCGAACGACCTACACCGAACT
 GAGATACCTACAGCGTGAGCTATGAGAAAGCGCCACGCTTCCCGAAGGGAGAAAGGCGGACA

40

50

【化 4 5】

GGTATCCGGTAAGCGGCAGGGTCGGAACAGGAGAGCGCACGAGGGAGCTTCCAGGGGGAAAC
GCCTGGTATCTTTATAGTCCTGTGGGTTTTCGCCACCTCTGACTTGAGCGTCGATTTTTGTG
ATGCTCGTCAGGGGGGCGGAGCCTATGGAACAGCCAGCAACGCGGCCCTTTTACGGTTCC
TGGCCTTTTGTCTGGCCTTTTGTCTACATGTCCTGCAGGCAGCTGCGCGCTCGCTCGCTCACT
GAGGCCGCCCCGGGCAAAGCCCCGGGCGTCGGGCGACCTTTGGTCGCCCCGGCCTCAGTGAGCGA
GCGAGCGCGCAGAGAGGGAGTGGCCAACTCCATCACTAGGGGTTCTGCGGCCGCACGCGTA
ACTGGGCAATGCGTTAAACTGGCTTTTTTGAATCTCCAGAACAAATATCTAATTAGCAAATAA
CACAATTCACTGACATTCAGCAGGATGCAAATCCAGACACTGCAATCATGAACACTGTGAA
GACAGTCTTCTCCGTGGGCGGGGACACAAAGCAGTCCACAGTGTGGGACAAGGCCAGGCGT
TGCACTTCACCAGCCGCTGCATGGAGAAGCCGTCGTACATGACATAGAAGACGTACATGAAG
GCGCTTCGAAGATGACCCGGAAGAAGATGCTGCTTGTGTAGGTCCACCACAGGGAGCCTTC
GATGCGGACCTTCTGGGTTTTGATCTCCTCGATGTCTTAAATTCACCTTTATCTCCCCCT
TGATGAATCTCTTCTTCTCATGTCTCCGGTAGGCCACGTGCATGGCCACTAGGAGCGCT
GGCGTGACACGAAGATCAGCTGCAGGGCCCATAGCCGATGTGGGAGATGGGGAAGTAGTG
ATCGTAGCACCGTTCCTTGCAGCCTGGCTGCAGGGTGTTCAGACAAAGTCGGCCTGCTCAT
CTCCCCACACCTCCTTTGCAGCCACAACGAGGATCATAATGCGAAAAATGAAGAGGACGGTG
AGCCAGATCTTTCCAATGCTGGTGGAGTGTGTTGTTACACCCCCCAGGATCGTCTGCAGCGT
GCCCCAATCCATCTTCTACTCTGGGCGGTTTTGCTCTGGAAAAGACGAATGCACACAACACAG
GAATCACTAGCTAGGACAGAACAGGGAGACTTCTCTGAGTCTGGGTAAGCAAGCATGCTTAA
ATCTCTTCTGAGCAAAACACCAACTCTTACACAACCTCACCAAAACAGGTGAAGACAGAACC
AACTAGTTTGTCTAATTAAGACCTCGAAGGGGACTTGGGGGTTTCGGGGCTTTCGGGGG
CGGTGCGGGGTTTCGCGGACCCGGGAAGCTCTGAGGACCCAGAGGCCGGGCGCGCTCCGCCCG
CGGCGCCGCCCCCTCCGTAACTTTTCCAGTCTCCGAGGGAAGAGGCGGGGTGTGGGGTGC
TTAAAAGGCGCCACGGCGGGAGACAGGTGTGCGGCCCCGAGCGCCCGCGCTCCTCTCC
CCGACTCGGAGCCCCCTCGGCGGCGCCCGGCCAGGACCCGCTAGGAGCGCAGGAGCCCCAG
CGCAGAGACCCCCAACGCGGAGACCCCCGCCCCGCCCCGCGCTTCTCCCGACGCGAG
CAAACCGCCCCAGAGTAGAAGCCATGGTGAGCAAGGGCGAGGAGCTGTTACCGGGGTGGTGC
CCATCCTGGTTCGAGCTGGACGGCGACGTAACGGCCACAAGTTCAGCGTGTCCGGCGAGGGC
GAGGGCGATGCCACCTACGGCAAGCTGACCCTGAAGTTCATCTGCACCACGGCAAGCTGCC
CGTGCCCTGGCCACCCTCGTGACCACCCTGACCACGGCGTGAGTGTTCAGCCGCTACC
CCGACCACATGAAGCAGCAGCACTTCTTCAAGTCCGCCATGCCGAAGGCTACGTCCAGGAG
CGCACCATCTTCTTCAAGGACGACGGCAACTACAAGACCCGCGCCGAGGTGAAGTTCGAGGG
CGACACCCTGGTGAACCGCATCGAGCTGAAGGGCATCGACTTCAAGGAGGACGGCAACATCC
TGGGGCACAAGCTGGAGTACAACACAACAGCCACAACGTCATATATCATGGCCGACAAGCAG
AAGAACGGCATCAAGGTGAACCTCAAGATCCGCCACAACATCGAGGACGGCAGCGTGCAGCT
CGCCGACCACTACCAGCAGAACACCCCATCGGCGACGGCCCCGTGCTGCTGCCCCGACAACC
ACTACCTGAGCACCCAGTCCGCCCTGAGCAAAGACCCCAACGAGAAGCGCGATCACATGGTC
CTGCTGGAGTTCTGTGACCGCCCGGGATCACTCTCGGCATGGACGAGCTGTACAAGTAATA
AAGGCGCGCCACCCCTGCAGGGAATCCGCATTGCCAGTTGTTAGATTAAGAAATAGACAG
CATGAGAGGGATGAGGCAACCCGTGCTCAGCTGTCAAGGCTCAGTCGCTAGCATTTCCCAAC
ACAAAGATTCTGACCTTAAATGCAACATTTGAAACCCCTGTAGGCCTCAGGTGAAACTCCA
GATGCCACAATGGAGCTCTGCTCCCTAAAGCCTCAAAACAAAGGCCTAATTCTATGCCTGT
CTTAATTTTCTTTCACTTAAGTTAGTTCCACTGAGACCCAGGCTGTAGGGGTTATTGGTG
TAAGGTACTTTTCATATTTTAAACAGAGGATATCGGCATTTGTTCTTTCTCTGAGGACAAGA
GAAAAAAGCCAGGTTCCACAGAGGACACAGAGAAGGTTTGGGTGTCTCCTGGGGTTCTTTT
TGCCAACTTTCCCCACGTTAAAGGTGAACATTGGTTCTTTCAATTTGCTTTGGAAGTTTAAAT
CTCTAACAGTGGACAAAGTTACCAGTGCCTTAAACTCTGTTACACTTTTGGAAAGTGAAAC
TTTGTAGTATGATAGGTTATTTTGTATGTAAGATGTTCTGGATACCATATATGTTCCCCCT
GTTTCAGAGGCTCAGATTGTAATATGTAAATGGTATGTCATTGCTACTATGATTTAATTTG
AAATATGGTCTTTTGGTTATGAATACTTTGCAGCACAGCTGAGAGGCTGTCTGTTGTATTCA
TTGTGGTCATAGCACCTAACAACATTGTAGCCTCAATCGAGTGAGACAGACTAGAAGTTCCT

10

20

30

40

【化 4 6】

AGTGATGGCTTATGATAGCAAAATGGCCCTCATGTCAAATATTTAGATGTAATTTTGTGTAAGA
 AATACAGACTGGATGTACCACCAACTACTACCTGTAATGACAGGCCTGTCCAACACATCTCC
 CTTTTCCATGACTGTGGTAGCCAGCATCGGAAAAGAACGCTGATTTAAAGAGGTGCGTTGGGA
 ATTTTATTGACACAGTACCATTTAATGGGGAGGACAAAAATGGGGCAGGGGAGGGAGAAAGTTT
 CTGTCGTTAAAAACAGATTTGGAAAAGACTGGACTCTAAAGTCTGTTGATTAAAGATGAGCTT
 TGCTACTTCAAAAGTTTGTGTTGCTTACCCCTTCAGCCTCCAATTTTTTAAGTGAAAAATATA
 GCTAATAACATGTGAAAAGAATAGAAAGCTAAGGTTTAGATAAAATATTGAGCAGATCTATAGG
 AAGATTGAACCTGAATATTGCCATTATGCTTGACATGGTTTCCAAAAAATGGTACTCCACAT
 ATTTGAGTGAGGGTAAGTATTTTCTGTTGTCAAGAATAGCATTGTAAAAGCATTGTGTAAT
 AATAAAGAATAGCTTTAATGATATGCTTGTAACATAAAATAATTTTGTAAATGTATCAAAATACA
 TTTAAAAACATTAAAAATATAATCTCTATAATAATTTAAAAATCTAATATGGTTTTAATAGAACAA
 GCGATATCAAGCTTATCGATAATCAACCTCTGGATTACAAAAATTTGTGAAAAGATTGACTGGT
 ATTCTTAACATATGTTGCTCCTTTTACGCTATGTGGATACGCTGCTTTAATGCCTTTGTATCA
 TGCTATTGCTTCCCGTATGGCTTTTCATTTTCTCCTTGTATAAATCCTGGTTGCTGTCTC
 TTTATGAGGAGTTGTGGCCCGTTGTGAGGCAACGTGGCGTGGTGTGCACTGTGTTTGTGCTGAC
 GCAACCCCTGCTGTTGGGGCATTGCCACACCTGTGAGCTCCTTTCCGGGACTTTGCGCTTT
 CCCCCCTCCCTATTGCCACGGCGGAACCTCATCGCCGCTGCTTGGCCGCTGCTGGACAGGGG
 CTCGGCTGTTGGGCACTGACAATTCCGTGGTGTGTCGGGGGAAATCATCGTCCCTTTCCCTGG
 CTGCTCGCCTATGTTGCCACCTGGATTCTGCGCGGGACGTCTTCTGCTACGTCCCTTCGGC
 CCTCAATCCAGCGGACCTTCTTCCCGCGGCTGCTGCGGCTCTGCGGCTCTTCCGCGCTC
 TTCGCTTCGCCCTCAGACGAGTGGATCTCCCTTTGGGCGGCTCCCCGCGAATTCATCGA
 TACCGAGCGCTGCTCGAGAGATCTGTGATAGCGGCCATCAAGCTGGCTGTGCCTTCTAGTTG
 CCAGCCATCTGTTGTTTGGCCCTCCCCCGTGCCTTCTTGACCTGGAAGGTGCCACTCCCA
 CTGCTCCTTTCTAATAAAATGAGGAAATTGCATCGCATTGTCTGAGTAGGTGTGCTATTCTATT
 CTGGGGGGTGGGGTGGGGCAGGACAGCAAGGGGGAGGATTGGGAAGACAATAGCAGGCATGC
 TGGGGACACGTGCGGACCGAGCGGCCGAGGAACCCCTAGTGATGGAGTTGGCCACTCCCTC
 TCTGCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGGCGCGGGCGACCAAAAGGTGCGCCGACGCGCGGGCTTTG
 CCGGGCGGCTCAGTGAGCGGAGCGGAGCGCGCAGCTGCCTGACGGGGCGCCTGATGCGGTAT
 TTTCTCCTTACGCATCTGTGCGGTATTTACACCCGCATACGTCAAAGCAACCATAGTACGCG
 CCTGTAGCGGCGCATTAAAGCGCGGCGGGTGTGGTGGTTACGCGCAGCGTGACCGCTACACT
 TGCCAGCGCCCTAGCGCCCGCTCCTTTGCTTTCTTCCCTTCTTCTCGCCACGTTGCGCG
 GCTTTCCCCGTCAGCTCTAAATCGGGGGCTCCCTTTAGGGTTCCGATTTAGTGCTTTACGG
 CACCTCGACCCCAAAAAAATTGATTTGGGTGATGGTTACGTAAGTGGGCCATCGCCCTGATA
 GACGGTTTTTTGCGCCCTTTGACGTTGGAGTCCACGTTCTTTAATAGTGGAATCTTGTTCAAAA
 CTGGAACAACACTCAACCCCTATCTCGGGCTATTCTTTTGATTTATAAGGGATTTTGCCGATT
 TCGGCCATTGTTGTTAAAAAATGAGCTGATTTAACAACAAAAATTTAACGCGAATTTTAACAAAAAT
 ATTAACGTTTACAATTTTATGGTGCATCTCAGTACAATCTGCTCTGATGCCGCATAGTTAA
 GCCAGCCCCGACACCCGCCAACACCCGCTGACGCGCCCTGACGGGCTTGTCTGCTCCCGGCA
 TCCGCTTACAGACAAGCTGTGACCGTCTCCGGGAGCTGCATGTGTCAGAGGTTTTACCGCTC
 ATCACCGAAACGCGGAGACGAAAGGGCTCGTGATACGCTATTTTTATAGGTTAATGTCA
 TGATAAATAATGGTTTCTTAGACGTGAGGTGGCACTTTTCGGGGGAAATGTGCGCGGAACCCCT
 ATTTGTTTTATTTTTCTAAATACATTCAAATATGTATCCGCTCATGAGACAATAACCCCTGATA
 AATGCTTCAATAATATTGAAAAAGGAAGAGTATGAGTATTCAACATTTCCGTGTGCGCCCTTA
 TTCCCTTTTTTGCGGCATTTTGCTTCTGTTTTGCTCACCCAGAAACGCTGGTGAAAGTA
 AAAGATGCTGAAGATCAGTTGGGTGCACGAGTGGGTTACATCGAACTGGATCTCAACAGCGG
 TAAGATCCTTGAGAGTTTTGCCCCGAAGAACGTTTTCCAATGATGAGCACTTTTAAAGTTC
 TGCTATGTGGCGCGTATTATCCCGTATTGACGCCGGGCAAGAGCAACTCGGTGCGCGCATA
 CACTATTCTCAGAATGACTTGGTTGAGTACTCACCAGTCACAGAAAAGCATCTTACGGATGG
 CATGACAGTAAGAGAATTATGCAGTGCTGCCATAACCATGAGTGATAAACAATGCGGCCAACT
 TACTTCTGACAACGATCGGAGGACCGAAGGAGCTAACCGCTTTTTTGCACAACATGGGGGGAT

10

20

30

40

【化 4 7】

CATGTAACCTGCGCTTGATCGTTGGGAACCGGAGCTGAATGAAGCCATACCAAACGACGAGCG
 TGACACCA

【0130】

いくつかの実施形態では、本明細書において記載されるAVVベクターは、配列番号73
 と少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも
 90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なく
 とも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、ま

50

たは100%配列同一性のヌクレオチド配列を含む。ベクターc.81.4の例示的なヌクレオチド配列は配列番号73に示される(hGJB2 GRE4には下線を付した;ヒトGJB2コード配列は太字で):

【化48】

CGATGCCTGTAGCAATGGCAACAACGTTGCGCAAACCTATTAACCTGGCGAACTACTTACTCTA
GCTTCCCGGCAACAATTAATAGACTGGATGGAGGCGGATAAAAGTTGCAGGACCACTTCTGCG
CTCGGCCCTTCCGGCTGGCTGGTTTATTGCTGATAAATCTGGAGCCGGTGAGCGTGGGTCTC
GCGGTATCATTGCAGCACTGGGGCCAGATGGTAAGCCCTCCCGTATCGTAGTTATCTACACG
ACGGGGAGTCAGGCAACTATGGATGAACGAAATAGACAGATCGCTGAGATAGGTGCCTCACT
GATTAAGCATTGGTAACTGTCAGACCAAGTTTACTCATATATACTTTAGATTGATTTAAAC
TTCATTTTTAATTTAAAAGGATCTAGGTGAAGATCCTTTTTTGATAATCTCATGACCAAAATC
CCTTAACGTGAGTTTTTCGTTCCACTGAGCGTCAGACCCCGTAGAAAAGATCAAAGGATCTTC
TTGAGATCCTTTTTTTCTGCGCGTAATCTGCTGCTTGCAAACAAAAAACACCACCGCTACCAG
CGGTGGTTTTGTTTGCCGGATCAAGAGCTACCAACTCTTTTTCCGAAGGTAACTGGCTTCAGC
AGAGCGCAGATACCAATACTGTCTTCTAGTGTAGCCGTAGTTAGGCCACCACTTCAAGAA
CTCTGTAGCACCGCTACATACCTCGCTCTGCTAATCCTGTTACCAGTGGCTGCTGCCAGTG
GCGATAAGTCGTGCTTACCGGGTTGGACTCAAGACGATAGTTACCGGATAAGGCGCAGCGG
TCGGGCTGAACGGGGGGTTTCGTGCACACAGCCCAGCTTGGAGCGAACGACCTACACCGAACT
GAGATACCTACAGCGTGAGCTATGAGAAAGCGCCACGCTTCCCGAAGGGAGAAAGGCGGACA
GGTATCCGGTAAGCGGCAGGGTCGGAACAGGAGAGCGCACGAGGGAGCTTCCAGGGGGAAAC
GCCTGGTATCTTTATAGTCCTGTCTGGGTTTTCGCCACCTCTGACTTGAGCGTCGATTTTTGTG
ATGCTCGTCAGGGGGGCGGAGCCTATGGAAAAACGCCAGCAACGCGGCCTTTTTACGGTTCC
TGGCCTTTTGCTGGCCTTTTGCTCACATGTCTGTCAGGCAGCTGCGCGCTCGCTCGCTCACT
GAGGCCGCCCGGGCAAAGCCCGGGCGTTCGGGCGACCTTTGGTTCGCCCGGCCTCAGTGAGCGA
GCGAGCGCGCAGAGAGGGAGTGGCCAACTCCATCACTAGGGGTTTCTGCGGCCGCGACGCGTA
ACTGGGCAATGCGTTAACTGGCTTTTTTGACTTCCAGAACAAATATCTAATTAGCAAATAA
CACAATTCAGTGACATTGAGCAGGATGCAAATTCAGACACTGCAATCATGAACACTGTGAA
GACAGTCTTCTCCGTGGGCCGGGACACAAAGCAGTCCACAGTGTTGGGACAAGGCCAGGCGT
TGCACTTCACCAGCCGCTGCATGGAGAAGCCGTCGTACATGACATAGAAGACGTACATGAAG
GCGGCTTCGAAGATGACCCGGAAGAAGATGCTGCTTGTGTAGGTCCACCACAGGGAGCCTTC
GATGCGGACCTTCTGGGTTTTGATCTCCTCGATGTCTTAAATTCACCTCTTTATCTCCCCCT
TGATGAACTTCCTCTTCTTCTCATGTCTCCGGTAGGCCACGTGCATGGCCACTAGGAGCGCT
GGCGTGGACACGAAGATCAGCTGCAGGGCCCATAGCCGGATGTGGGAGATGGGGAAGTAGTG
ATCGTAGCACACGTTCTTGCAGCCTGGCTGCAGGGTGTTCAGACAAAGTCGGCCTGCTCAT
CTCCCCACACCTCCTTTGCAGCCACAACGAGGATCATAATGCGAAAAATGAAGAGGACGGTG
AGCCAGATCTTTCCAATGCTGGTGGAGTGTGTTTACACCCCCCAGGATCGTCTGCAGCGT
GCCCCAATCCATCTTCTACTCTGGGCGGTTTGCTCTGGAAAAGACGAATGCACACAACACAG
GAATCACTAGCTAGGACAGAACAGGGAGACTTCTCTGAGTCTGGGTAAGCAAGCATGCTTAA
ATCTCTTCCTGAGCAAACACCAACTCTTACACAACCTCACCAAAACAGGTGAAGACAGAACC
AACTTAGTTTTGTCATTAATTAAGACCTCGAAGGGGACTTGGGGGGTTCGGGGCTTTTCGGGGG
CGGTTCGGGGGTTCGCGGACCCGGGAAGCTCTGAGGACCCAGAGGCCGGGCGCGCTCCGCCCCG
CGGCGCCGCCCCCTCCGTAACCTTTCCAGTCTCCGAGGGAAGAGGCGGGGTGTGGGGTTCGGG

10

20

30

40

【化 4 9】

TTAAAAGGCGCCACGGCGGGAGACAGGTGTTGCGGCCCGCAGCGCCCGCGCGCTCCTCTCC
CCGACTCGGAGCCCCCTCGGCGGGCGCCCGGCCAGGACCCGCCCTAGGAGCGCAGGAGCCCCAG
CGCAGAGACCCCCAACGCGCGAGACCCCCGCCCCGGCCCCGCGCGCTTCTCTCCGACGCAGAG
CAAACCGCCCCAGAGTAGAAGCC**ATGGATTGGGGCACGCTGCAGACGATCCTGGGGGGTGTGA**
ACAAACACTCCACCAGCATTGGAAGATCTGGCTCACCGTCTCTTCATTTTTCGCATTATG
ATCCTCGTTGTGGCTGCAAAGGAGGTGTGGGGAGATGAGCAGGCCGACTTTGTCTGCAACAC
CCTGCAGCCAGGCTGCAAGAACGTGTGCTACGATCACTACTTCCCCATCTCCACATCCGGC
TATGGGCCCTGCAGCTGATCTTCGTGTCCACGCCAGCGCTCCTAGTGGCCATGCACGTGGCC
TACCGGAGACATGAGAAGAAGAGGAAGTTCATCAAGGGGGAGATAAAGAGTGAATTTAAGGA
CATCGAGGAGATCAAAACCCAGAAGGTCCGCATCGAAGGCTCCCTGTGGTGGACCTACACAA
GCAGCATCTTCTTCCGGGTCTCTTGAAGCCGCTTCATGTACGTCTTCTATGTCTATGTAC
GACGGCTTCTTCCATGCAGCGGTGGTGAAGTGCAACGCCCTGGCCTTGTCCTCAACACTGTGA
CTGCTTTGTGTCCCGGCCACGGAGAAGACTGTCTTCACAGTGTTCATGATTGCAGTGTCTG
GAATTTGCATCTCTGCTGAATGTCACTGAATTGTGTTATTTGCTAATTAGATATTGTTCTGGG
AAGTCAAAAAAGCCAGTTTAAAGGCGCGCCACCCCTGCAGGGAATTCCGCATTGCCAGTTG
TTAGATTAAGAAATAGACAGCATGAGAGGGATGAGGCAACCCGTGCTCAGCTGTCAAGGCTC
AGTCGCTAGCATTTCCTAACACAAAGATTCTGACCTTAAATGCAACCATTTGAAACCCCTGT
AGGCCTCAGGTGAAACTCCAGATGCCACAATGGAGCTCTGCTCCCTAAAGCCTCAAAACAA
AGGCCTAATTCTATGCCTGTCTTAATTTCTTTCACTTAAGTTAGTTCCACTGAGACCCAG
GCTGTTAGGGGTTATTGGTGTAAAGTACTTTTCATATTTTAAACAGAGGATATCGGCATTTGT
TTCTTTCTCTGAGGACAAGAGAAAAAGCCAGGTTCCACAGAGGACACAGAGAAGGTTTGGG
TGTCTCTCTGGGGTTCTTTTGGCAACTTTCCCCACGTTAAAGGTGAACATTGGTTCTTTCA
TTTGCTTTGGAAGTTTTAATCTCTAACAGTGGACAAAAGTTACCAGTGCCCTAAACTCTGTTA
CACTTTTGGAAAGTGAAACTTTGTAGTATGATAGGTTATTTGATGTAAAGATGTTCTGGA
TACCATTATAIGTTCCCCCTGTTTCAGAGGCTCAGATTGTAATATGTAAATGGIATGTCATT
CGCTACTATGATTTAATTTGAAATATGGTCTTTTGGTTATGAATACTTTGCAGCACAGCTGA
GAGGCTGTCTGTTGTATTCTATTGTGGTCATAGCACCTAACAAACATTGTAGCCTCAATCGAGT
GAGACAGACTAGAAGTTCTTAGTGATGGCTTATGATAGCAAATGGCCTCATGTCAAATATTT
AGATGTAATTTTGTGTAAAGAAATACAGACTGGATGTACCACCACTACTACCTGTAATGACA
GGCCTGTCCAACACATCTCCCTTTTCCATGACTGTGGTAGCCAGCATCGGAAAGAACGCTGA
TTTAAAGAGGTCGCTTGGGAATTTTATTGACACAGTACCATTTAATGGGGAGGACAAAATGG
GGCAGGGGAGGGAGAAGTTTCTGTCGTTAAAAACAGATTTGGAAAAGACTGGACTCTAAAGTC
TGTTGATTAAAGATGAGCTTTGTCTACTTCAAAAGTTTGTGTTGCTTACCCCTTCAGCCTCCA
ATTTTTTAAGTGAAAATATAGCTAATAACATGTGAAAAGAATAGAAGCTAAGGTTTAGATAA
ATATTGAGCAGATCTATAGGAAGATTGAACCTGAATATTGCCATTATGCTTGACATGGTTTC
CAAAAAATGGTACTCCACATATTTTCAGTGAGGGTAAGTATTTTCTGTTGTCAAGAATAGCA
TTGTAAAAGCATTTTGTAAATAATAAAGAATAGCTTTAATGATATGCTTGTAACATAAAATAAT
TTTGTAATGTATCAAAATACATTTAAAACATTAAAAATATAATCTCTATAATAATTTAAATCT
AATATGGTTTTAATAGAACAGCGATATCAAGCTTATCGATAATCAACCTCTGGATTACAAAA
TTTGTGAAAGATTGACTGGTATTCTTAACATATGTTGCTCCTTTTACGCTATGTGGATACGCT
GCTTTAATGCCTTTGTATCATGCTATTGCTTCCCGTATGGCTTTCATTTCTCCTCCTTGTA
TAAATCCTGGTTGCTGTCTCTTTATGAGGAGTTGTGGCCGTTGTGAGGCAACGTGGCGTGG
TGTCAGCTGTGTTTGTGACGCAACCCCCACTGGTTGGGGCATTGCCACCACCTGTCAGCTC
CTTTCCGGGACTTTTCGCTTTCCCCCTCCCTATTGCCACGGCGGAACCTCATCGCCGCTGCCT
TGCCCGCTGCTGGACAGGGGCTCGGCTGTTGGGCACTGACAATTCCGTGGTGTGTGCGGGGA
AATCATCGTCTTTCTTTGGCTGCTCGCCTATGTTGCCACCTGGATTCTGCGCGGGACGTCC
TTCTGCTACGTCCCTTCGGCCCTCAATCCAGCGGACCTTCCTTCCCGCGGCCTGCTGCGCGG
TCTGCGGCTCTTCCGCGCTCTTCGCCTTCGCCCTCAGACGAGTCGGATCTCCCTTTGGGCGG
CCTCCCCGCGAATTCATCGATACCGAGCGCTGCTCGAGAGATCTGTGATAGCGGCCATCAAG
CTGGCTGTGCCTTCTAGTTGCCAGCCATCTGTTGTTTGCCTTCCCCGTGCCTTCTTTGAC
CCTGGAAGGTGCCACTCCCACTGCTCTTTCTTAATAAAATGAGGAAATTGCATCGCATTGTC

10

20

30

40

50

【化 5 0】

TGAGTAGGTGTCATTCTATTCTGGGGGGTGGGGTGGGGCAGGACAGCAAGGGGGAGGATTGG
GAAGACAATAGCAGGCATGCTGGGGACACGTGCGGACCGAGCGGCCGCAGGAACCCCTAGTG
ATGGAGTTGGCCACTCCCTCTCTGCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGGCCGGGCGACCAAAGGT
CGCCCGACGCCCCGGGCTTTGCCCCGGGCGGCCTCAGTGAGCGAGCGAGCGCGCAGCTGCCTGC
AGGGGCGCCTGATGCGGTATTTTCTCCTTACGCATCTGTGCGGTATTTACACCCGCATACGT
CAAAGCAACCATAGTACGCGCCCTGTAGCGGCGCATTAAGCGCGGCGGGTGTGGTGGTTACG
CGCAGCGTGACCGCTACACTTGCCAGCGCCCTAGCGCCCGCTCCTTTTCGCTTTCTTCCCTTC
CTTTCTCGCCACGTTTCGCCGGCTTTCCCCGTCAAGCTCTAAATCGGGGGCTCCCTTTAGGGT
TCCGATTTAGTGCTTTACGGCACCTCGACCCCAAAAACTTGATTTGGGTGATGGTTCACGT
AGTGGGCCATCGCCCTGATAGACGGTTTTTCGCCCTTTGACGTGGAGTCCACGTTCTTTAA
TAGTGGACTCTTGTTCCAACTGGAACAACACTCAACCCTATCTCGGGCTATTCTTTTGATT
TATAAGGGATTTTGGCGATTTTCGGCCTATTGGTTAAAAAATGAGCTGATTTAACAAAAATTT
AACGCGAATTTTAAACAAAATATTAACGTTTACAATTTTATGGTGCACCTCTCAGTACAATCTG
CTCTGATGCCGCATAGTTAAGCCAGCCCCGACACCCGCCAACACCCGCTGACGCGCCCTGAC
GGGCTTGTCTGCTCCCGGCATCCGCTTACAGACAAGCTGTGACCGTCTCCGGGAGCTGCATG
TGTCAGAGGTTTTTCACCGTCATCACCGAAACGCGCGAGACGAAAGGGCCTCGTGATACGCCT
ATTTTTATAGGTTAATGTCATGATAATAATGGTTTTCTTAGACGTCAGGTGGCACTTTTCGGG
GAAATGTGCGCGGAACCCCTATTTGTTTTATTTTTCTAAATACATTCAAATATGTATCCGCTC
ATGAGACAATAACCCTGATAAATGCTTCAATAATATTGAAAAAGGAAGAGTATGAGTATTCA
ACATTTCCGTGTCGCCCTTATTCCCTTTTTTGCGGCATTTTGCTTCCGTGTTTTTGCTCACC
CAGAAACGCTGGTGAAAGTAAAGATGCTGAAGATCAGTTGGGIGCACGAGTGGGTACATC
GAACTGGATCTCAACAGCGGTAAGATCCTTGAGAGTTTTCGCCCCGAAGAACGTTTTCCAAT
GATGAGCACTTTTAAAGTTCTGCTATGTGGCGCGGTATTATCCCGTATTGACGCCGGGCAAG
AGCAACTCGGTGCGCCGCATACACTATTCTCAGAATGACTTGGTTGAGTACTCACCAGTCACA
GAAAAGCATCTTACGGATGGCATGACAGTAAGAGAATTATGCAGTGTGCTGCCATAACCATGAG
TGATAACACTGCGGCCAACTTACTTCTGACAACGATCGGAGGACCGAAGGAGCTAACCGCTT
TTTTGCACAACATGGGGGATCATGTAACCTGCCTTGATCGTTGGGAACCGGAGCTGAAIGAA
GCCATACCAAACGACGAGCGTGACACCA

10

20

【0 1 3 1】

30

いくつかの実施形態では、本明細書において記載されるAVVベクターは、配列番号74と少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%配列同一性のヌクレオチド配列を含む。ベクターc.81.4の例示的なヌクレオチド配列は配列番号74に示される(hGJB2 GRE4には下線を付した;マウスGJB2コード配列は太字で):

40

50

【化 5 1】

CGATGCCTGTAGCAATGGCAACAACGTTGCGCAAACCTATTAACCTGGCGAACTACTTACTCTA
GCTTCCCGGCAACAATTAATAGACTGGATGGAGGCGGATAAAGTTGCAGGACCACTTCTGCG
CTCGGCCCTTCCGGCTGGCTGGTTTATTGCTGATAAATCTGGAGCCGGTGAGCGTGGGTCTC
GCGGTATCATTGCAGCACTGGGGCCAGATGGTAAGCCCTCCCGTATCGTAGTTATCTACACG
ACGGGGAGTCAGGCAACTATGGATGAACGAAATAGACAGATCGCTGAGATAGGTGCCTCACT
GATTAAGCATTGGTAACTGTCAGACCAAGTTTACTCATATATACTTTAGATTGATTTAAAAC
TTCATTTTTAATTTAAAAGGATCTAGGTGAAGATCCTTTTTTGATAATCTCATGACCAAAATC
CCTTAACGTGAGTTTTTCGTTCCACTGAGCGTCAGACCCCGTAGAAAAGATCAAAGGATCTTC
TTGAGATCCTTTTTTTCTGCGCGTAATCTGCTGCTTGCAAACAAAAAAACCACCGCTACCAG
CGGTGGTTTGTTTGCCGGATCAAGAGCTACCAACTCTTTTTCCGAAGGTAAGTGGCTTCAGC
AGAGCGCAGATACCAAATACTGTCCTTCTAGTGTAGCCGTAGTTAGGCCACCACTTCAAGAA
CTCTGTAGCACCGCCTACATACCTCGCTCTGCTAATCCTGTTACCAGTGGCTGCTGCCAGTG

10

20

30

40

50

【化 5 2】

GCGATAAGTCGTGCTTACC GGTTGGACTCAAGACGATAGTTACCGGATAAGGCGCAGCGG
 TCGGGCTGAACGGGGGGTTCGTGCACACAGCCAGCTTGGAGCGAACGACCTACACCGAACT
 GAGATACCTACAGCGTGAGCTATGAGAAAAGCGCCACGCTTCCCGAAGGGAGAAAGCGGACA
 GGTATCCGGTAAGCGGCAGGGTCGGAACAGGAGAGCGCACGAGGGAGCTTCCAGGGGGAAAC
 GCCTGGTATCTTTATAGTCTGTGCGGGTTTCGCCACCTCTGACTTGAGCGTCGATTTTTGTG
 ATGCTCGTCAGGGGGGCGGAGCCTATGAAAAACGCCAGCAACGCGGCCCTTTTACGGTTCC
 TGGCCTTTTGTGCTGGCCTTTTGTCTACATGTCTGCAGGCAGCTGCGCGCTCGCTCGCTCACT
 GAGGCCGCCCGGGCAAAGCCCGGGCGTCGGGCGACCTTTGGTCGCCCCGGCCTCAGTGAGCGA
 GCGAGCGCGCAGAGAGGGAGTGGCCAACTCCATCACTAGGGGTTCCCTGCGGCCGCACGCGTA
 ACTGGGCAATGCGTTAAACTGGCTTTTTTGACTTCCCAGAACAAATATCTAATTAGCAAATAA
 CACAATTCACTGACATTCAGCAGGATGCAAATTCAGACACTGCAATCATGAACACTGTGAA
 GACAGTCTTCTCCGTGGGCCGGGACACAAAGCAGTCCACAGTGTGGGACAAGGCCAGGCGT
 TGCACCTTACCAGCCGCTGCATGGAGAAGCCGTCGTACATGACATAGAAGACGTACATGAAG
 GCGGCTTCGAAGATGACCCGGAAGAAGATGCTGCTTGTGTAGGTCCACCACAGGGGCCCTTC
 GATGCGGACCTTCTGGGTTTTGATCTCCTCGATGTCTTAAATTCACCTCTTTATCTCCCCCT
 TGATGAACCTCTCTTCTCTCATGTCTCCGGTAGGCCACGTGCATGGCCACTAGGAGCGCT
 GCGGTGGACACGAAGATCAGCTGCAGGGCCCATAGCCGGATGTGGGAGATGGGGAAGTAGTG
 ATCGTAGCACACGTTCTTGCAGCCTGGCTGCAGGGTGTTCAGACAAAGTCGGCCTGCTCAT
 CTCCCCACACCTCCTTTGCAGCCACAACGAGGATCATAATGCCAAAAATGAAGAGGACGGTG
 AGCCAGATCTTTCCAATGCTGGTGGAGTGTTCACACCCCCCAGGATCGTCTGCAGCGT
 GCCCAATCCATCTTCTACTCTGGGCGGTTTGTCTGGAAAAGACGAATGCACACAACACAG
 GAATCACTAGCTAGGACAGAACAGGGAGACTTCTCTGAGTCTGGGTAAGCAAGCATGCTTAA
 ATCTCTTCTGAGCAAAACACCAACTCTTACACAACCTCACCAAAAACAGGTGAAGACAGAACC
 AACTTAGTTTTGTCTAATTAAGACCTCGAAGGGGACTTGGGGGGTTCGGGGCTTTCGGGGG
 CGGTTCGGGGGTTTCGGGACCCGGGAAGCTCTGAGGACCCAGAGGCCGGGCGCGCTCCGCCCG
 CGGCGCCGCCCTCCGTAACCTTCCAGTCTCCGAGGGAAGAGGCGGGGTGTGGGGTGCAG
 TTAAAGGCGCCACGGCGGGAGACAGGTGTTCGGGCCCCGACGCGCCCGCGCTCCTCTCC
 CCGACTCGGAGCCCCCTCGGCGGCGCCCGGCCAGGACCCGCTAGGAGCGCAGGAGCCCCAG
 CGCAGAGACCCCCAACGCCGAGACCCCCGCCCCGCCCCGCGCTTCTCTCCGACGCAGAG
 CAAACCGCCCAGAGTAGAAGCC**ATGGATTGGGGCACACTCCAGAGCATCCTCGGGGGTGTCA**
ACAAACACTCCACCAGCATTTGGAAGATCTGGCTCACGGTCTCTTCATCTTCCGCATCATG
ATCCTCGTGGTGGCTGCAAAGGAGGTGTGGGGAGATGAGCAAGCCGATTTTGTCTGCAACAC
GCTCCAGCCTGGCTGCAAGAATGTATGCTACGACCACCACTTCCCCATCTCTCACATCCGGC
TCTGGGCTCTGCAGCTGATCATGGTGTCCACGCCAGCCCTCCTGGTAGCTATGCATGTGGCC
TACCGGAGACATGAAAAGAAACGGAAGTTCATGAAGGGGAGAGATAAAGAACGAGTTTAAGGA
CATCGAAGAGATCAAAACCCAGAAGTCCGTATCGAAGGGTCCCTGTGGTGGACCTACACCA
CCAGCATCTTCTTCCGGGTCTCTTTGAAGCCGTCTTCATGTACGTCTTTTACATCATGTAC
AATGGCTTCTTCATGCAACGTCTGGTGAATGCAACGCTTGGCCCTGCCCAATACAGTGGA
CTGCTTCATTTCCAGGCCACAGAAAAGACTGTCTTCACCGTGTATGATTTCTGTGTCTG
GAATTTGCATTCTGCTAAATATCACAGAGCTGTGCTATTTGTTTCGTTAGGTATTGCTCAGGA
AAGTCCAAAAGACCAGTCTACCCATACGATGTTCAGATTACGCTTAAAGGCGCGCCACCCC
 TGCAGGGAATTCCGCATTGCCAGTTGTTAGATTAAGAAATAGACAGCATGAGAGGGATGAG
 GCAACCCGTGCTCAGCTGTCAAGGCTCAGTCGCTAGCATTTCCTAACACAAAGATTCTGACC
 TTAAATGCAACCATTGAAACCCCTGTAGGCCTCAGGTGAAACTCCAGATGCCACAATGGAG
 CTCTGCTCCCCTAAAGCCTCAAAACAAAGGCCTAATTCTATGCCTGTCTTAATTTCTTTCA
 CTAAAGTTAGTTCCACTGAGACCCAGGCTGTTAGGGGTTATGGTGTAAGGTAAGTTTTCATA
 TTTTAAACAGAGGATATCGGCATTTGTTTCTTCTCTGAGGACAAGAGAAAAAAGCCAGGTT
 CCACAGAGGACACAGAGAAGTTTGGGTGTCTCTCTGGGGTCTTTTTTGCCAACTTTCCCCA
 CGTTAAAGGTGAACATTGGTTCTTTCAATTGCTTTGGAAGTTTTAATCTCTAACAGTGGACA
 AAGTTACCAGTGCCTTAAACTCTGTTACACTTTTTGGAAGTGAAAACCTTTGTAGTATGATAG
 GTTATTTTGATGTAAAGATGTTCTGGATACCATTATATGTTCCCCCTGTTTCAGAGGCTCAG

10

20

30

40

50

【化 5 3】

ATTGTAATATGTAAATGGTATGTCATTTCGCTACTATGATTTAATTGAAATATGGTCTTTTG
 GTTATGAATACTTTGCAGCACAGCTGAGAGGCTGTCTGTTGTAATTCATTGTGGTCATAGCAC
 CTAACAACATTGTAGCCTCAATCGAGTGAGACAGACTAGAAGTTCCTAGTGATGGCTTATGA
 TAGCAAATGGCCTCATGTCAAATATTTAGATGTAATTTTGTGTAAGAAATACAGACTGGATG
 TACCACCACTACTACCTGTAATGACAGGCCTGTCCAACACATCTCCCTTTTCCATGACTGT
 GGTAGCCAGCATCGGAAAGAAGCTGATTTAAAGAGGTGCGTTGGGAATTTTATTGACACAG
 TACCATTTAATGGGGAGGACAAAATGGGGCAGGGGAGGAGAAGTTTCTGTCGTTAAAAACA
 GATTTGGAAAGACTGGACTCTAAAGTCTGTTGATTAAAGATGAGCTTTGTCTACTTCAAAG
 TTTGTTTGCTTACCCCTTCAGCCTCCAATTTTTTAAGTGAAAATATAGCTAATAACATGTGA
 AAAGAATAGAAGCTAAGGTTTAGATAAATATTGAGCAGATCTATAGGAAGATTGAACCTGAA
 TATTGCCATTATGCTTGACATGGTTTTCCAAAAATGGTACTCCACATATTTTCAGTGAGGGTA
 AGTATTTTCTGTTGTCAAGAATAGCATTGTAAAAAGCATTGTGTAATAATAAAGAATAGCTT
 TAATGATATGCTTGTAACTAAAATAATTTTGTAAATGTATCAAATAACATTTAAACATTAAAA
 TATAATCTCTATAATAATTTAAATCTAATATGGTTTTAATAGAACAGCGATATCAAGCTTA
 TCGATAATCAACCTCTGGATTACAAAATTTGTGAAAGATTGACTGGTATTCTTAACATATGTT
 GCTCCTTTTACGCTATGTGGATACGCTGCTTTAATGCCTTTGTATCATGCTATTGCTTCCCG
 TATGGCTTTTCAATTTTCTCCTCCTTGTATAAATCCTGGTTGCTGTCTCTTTATGAGGAGTTGT
 GGCCCGTTGTGAGGCAACGTGGCGTGGTGTGCACTGTGTTTGTGACGCAACCCCCACTGGT
 TGGGGCATTTGCCACCACCTGTGAGCTCCTTTCCGGGACTTTCGCTTTCCCCCTCCCTATTGC
 CACGGCGGAACCTCATCGCCGCTGCTTGGCCGCTGCTGGACAGGGGCTCGGCTGTTGGGCA
 CTGACAATTCGCTGGTGTGTGCGGGGAAATCATCGTCCTTTCCCTGGCTGCTCGCCTATGTT
 GCCACCTGGATTCTGCGCGGGACGTCCTTCTGCTACGTCCCTTCGGCCCTCAATCCAGCGGA
 CCTTCCTTCCCGCGGCCTGCTGCGGCTCTGCGGCTCTTCCGCGTCTTCGCTTTCGCTTTCGCTC
 AGACGAGTCGGATCTCCCTTTGGGCGCCTCCCGCGAATTCATCGATAACCGAGCGCTGCTC
 GAGAGATCTGIGATAGCGGCCATCAAGCTGGCTGTGCTTCTAGTTGCCAGCCATCTGTTGT
 TTGCCCCCTCCCCGIGCTTCTTGTACCCCTGGAAGGTGCCACTCCCACTGTCTTTTCTAAT
 AAAATGAGGAAATTGCATCGCATTGTCTGAGTAGGTGTGCTATTCTGTTGGGGGTGGGGTG
 GGGCAGGACAGCAAGGGGGAGGATTGGGAAGACAATAGCAGGCATGCTGGGGACACGTGCGG
 ACCGAGCGGCGCGAGGAACCCCTAGTGATGGAGTTGGCCACTCCCTCTCTGCGCGCTCGCTC
 GCTCACTGAGGCGGGCGACCAAGGTGCGCCGACGCGCGGCTTTGCCCGGGCGGCCTCAG
 TGAGCGAGCGAGCGCGCAGCTGCTGCGAGGGCGCCTGATGCGGTATTTTCTCCTTACGCAT
 CTGTGCGGTATTTACACCCGCATACGTCAAAGCAACCATAGTACGCGCCCTGTAGCGGCGCA
 TTAAGCGCGGCGGGTGTGGTGGTTACGCGCAGCGTGACCGCTACACTTGCCAGCGCCCTAGC
 GCCCGCTCCTTTTCGCTTTCTTCCCTTCTTCTCGCCACGTTCCGCGGCTTTCCCCGTCAAG
 CTCTAAATCGSSGGCTCCCTTTAGGGTTCCGATTTAGTGCTTTACGGCACCTCGACCCCAAA
 AAATGATTTGGGTGATGTTTACGTAGTGGGCCATCGCCCTGATAGACGGTTTTTTCGCCC
 TTTGACGTGGAGTCCACGTTCTTTAATAGTGGACTCTTGTTCCAAACGGAACAACACTCA
 ACCCTATCTCGGGCTATTCTTTTGATTTATAAGGGATTTTGCCGATTTTCGGCTATTGGTTA
 AAAAATGAGCTGATTTAACAATAATTTAACGCGAATTTTAACAAAATATTAACGTTTACAAT
 TTTATGGTGCCTCTCAGTACAATCTGCTCTGATGCCGCATAGTTAAGCCAGCCCCGACACC
 CGCCAACACCCGCTGACGCGCCCTGACGGGCTTGTCTGCTCCCGGCATCCGCTTACAGACAA
 GCTGTGACCGTCTCCGGGAGCTGCATGTGTGAGAGTTTTACCGTTCATCACCGAAACGCGC
 GAGACGAAAGGGCTCGTGATACGCCTATTTTTATAGGTTAATGTGATGATAATAATGGTTT
 CTTAGACGTGAGGTGGCACTTTTCGGGAAATGTGCGCGGAACCCCTATTTGTTTATTTTTC
 TAAATACATTCAAATATGATCCGCTCATGAGACAATAACCCCTGATAAATGCTTCAATAATA
 TTGAAAAGGAAGAGTATGAGTATTCAACATTTCCGTTGTCGCCCTTATTCCCTTTTTTTCGG
 CATTTTGGCTTCTGTTTTTGTTCACCCAGAAACGCTGGTGAAAGTAAAGATGCTGAAGAT
 CAGTTGGGTCACGAGTGGTTTACATCGAATCGGATCTCAACAGCGGTAAGATCCTTGAGAG
 TTTTTCGCCCCGAAGAAGTTTTTCCAATGATGAGCACTTTTAAAGTTCTGCTATGTGGCGCGG
 TATTATCCCGTATTGACGCCGGCAAGAGCAACTCGGTGCGCGCATACACTATTCTCAGAAT
 GACTTGGTTGAGTACTACCAGTCACAGAAAAGCATCTTACGGATGGCATGACAGTAAGAGA

10

20

30

40

【化 5 4】

ATTATGCAGTGCTGCCATAACCATGAGTGATAACACTGCGGCCAACTTACTTCTGACAACGA
 TCGGAGGACCGAAGGAGCTAACCGCTTTTTTGCACAACATGGGGGATCATGTAACCTCGCCTT
 GATCGTTGGGAACCGGAGCTGAATGAAGCCATACCAAACGACGAGCGTGACACCA

【0 1 3 2】

いくつかの実施形態では、本明細書において記載されるAAVベクターは、AAV 5' IT
R、GJB2 GREエンハンサー(hGJB2 GRE5)、GJB2基本プロモーター、GJB2エクソン

50

1の5' UTR、コザック配列、遺伝子産物(例、GJB2またはGFP)をコードするヌクレオチド配列、GJB2エクソン2の3' UTR、WPRE、ウシ成長ホルモンポリAシグナル、およびAAV 3' ITRを含む(例、ベクターc.81.5)。

【0133】

いくつかの実施形態では、本明細書において記載されるAVVベクターは、配列番号50と少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%配列同一性のヌクレオチド配列を含む。ベクターc.81.5の例示的なヌクレオチド配列は配列番号50に示される(hGJB2 GRE5には下線を付した;eGFPコード配列は太字で)：

10

【化55】

CGATGCCTGTAGCAATGGCAACAACGTTGCGCAAACCTATTAACCTGGCGAACTACTTACTCTA
GCTTCCCGGCAACAATTAATAGACTGGATGGAGGCGGATAAAGTTGCAGGACCACTTCTGCG
CTCGGCCCTTCCGGCTGGCTGGTTTATTGCTGATAAATCTGGAGCCGGTGAGCGTGGGTCTC
GCGGTATCATTGCAGCACTGGGGCCAGATGGTAAGCCCTCCCGTATCGTAGTTATCTACACG
ACGGGGAGTCAGGCAACTATGGATGAACGAAATAGACAGATCGCTGAGATAGGTGCCTCACT
GATTAAGCATTGGTAACTGTCAGACCAAGTTTACTCATATATACTTTAGATTGATTTAAAAC
TTCATTTTTTAATTTAAAAGGATCTAGGTGAAGATCCTTTTTTGATAATCTCATGACCAAAATC
CCTTAACGTGAGTTTTTCGTTCCACTGAGCGTCAGACCCCGTAGAAAAGATCAAAGGATCTTC
TTGAGATCCTTTTTTTCTGCGCGTAATCTGCTGCTTGCAAACAAAAAAACCACCGCTACCAG
CGGTGGTTTTGTTTGGCGGATCAAGAGCTACCAACTCTTTTTCCGAAGGTAACTGGCTTCAGC
AGAGCGCAGATACCAATACTGTCCTTCTAGTGTAGCCGTAGTTAGGCCACCACTTCAAGAA
CTCTGTAGCACCGCCTACATACCTCGCTCTGCTAATCCTGTTACCAGTGGCTGCTGCCAGTG
GCGATAAGTCGTGTCTTACCGGGTTGGACTCAAGACGATAGTTACCGGATAAGGCGCAGCGG
TCGGGCTGAACGGGGGGTTCGTGCACACAGCCCAGCTTGGAGCGAACGACCTACACCGAACT
GAGATACCTACAGCGTGAGCTATGAGAAAGCGCCACGCTTCCCGAAGGGAGAAAGGCGGACA
GGTATCCGGTAAGCGGCAGGGTCGGAACAGGAGAGCGCACGAGGGAGCTTCCAGGGGGAAAC
GCCTGGTATCTTTATAGTCCTGTCGGGTTTCGCCACCTCTGACTTGAGCGTCGATTTTTGTG
ATGCTCGTCAGGGGGCGGAGCCTATGGAAAAACGCCAGCAACGCGGCCTTTTTACGGTTCC
TGGCCTTTTGCTGGCCTTTTGCTCACATGTCCTGCAGGCAGCTGCGCGCTCGCTCGCTCACT
GAGGCCGCCCGGGCAAAGCCCGGGCGTTCGGGCGACCTTTGGTCGCCCGGCCTCAGTGAGCGA
GCGAGCGCGCAGAGAGGGAGTGGCCAACTCCATCACTAGGGGTTCTCGGGCCGCACGCGTA
AGCTACTAACTACAACCACGAGATTATAGATGTTTGCTGATATTGTTCTCAGTTTGGTTATT
GTGTTGTTTATGAATGAAAGTAGTGTATGTTTGTGTGAATTTTTGTTTTTAATTTTTTATGA
GTGCCCTAACAAAGATTACAAATTGGGAATACAACTCCAGAGCAATGGAGACAGTGACACT
TTTGTGGAGGGGTACATGTGGCTGTTTCGGGTGGTTATTAACACAGGCTGCTGCCCTGCCCT
GCAATGGGAATCCCCAGGGCATTTGGAGGATTCAACCTCTTGCAGTTACCTCTTGTAAGACAG
CAGATGGCAGCAGAGAGAGGCTTTGCACATCCCTGCAGGTTCTAGTTTGCACAAAGGGCTTC
TGAGAGACCTATCAACCAATTATAACATCAAGTGGCAAAAAGAGTCCTTGATAAGTTATTTT
GCTTCTCAAAGAAACCGAAAACGCCAACTAATCACTAGTCTTGTTTTTTTTTCTGGCA
AAAGCCTGCTATCTTTTCATGATTTAGCTTTTCATGAAATTGTTCTGAAGACCCCAAAAGAA

20

30

40

【化 5 6】

ACAATTTCATGCCCCGAACCTCTGTTTCAGAGACTTTGCTGTGCCTGTCAATGTCAGCTTGCCA
 TATCCTGTTTTTGTAAAGTAGCCACCTTATATACACACCTGCTGTCTGCACTGTGACCTCCTT
 TCAAAATCATCTTTGGTTCTTCAGAGGCCTGGAATAATGCTCTGCCCAGATGAAGATCTCCG
 TAAATGTGTTTTTGAATGGCTAATCAAATAATGGATAACCTTAGGTATTTTTGCAGAAACA
 CTTGGCAGCCTTCCATAATATCCCTACTATGAAATGGAACCTGTGAATGAGATGTGGCTTT
 AATTAAGACCTCGAAGGGGACTTGGGGGGTTTCGGGGCTTCGGGGGCGGTTCGGGGGTTTCGCG
 GACCCGGGAAGCTCTGAGGACCCAGAGGCCGGGCGCGCTCCGCCCCGCGGCGCCGCCCTCC
 GTAACCTTTCCAGTCTCCGAGGGAAGAGGCGGGGTGTGGGGTGCGGTTAAAAGGCGCCACGG
 CGGGAGACAGGTGTTGCGGCCCGCAGCGCCCGCGCGCTCCTCTCCCCGACTCGGAGCCCT
 CGGCGGCGCCCCGGCCAGGACCCGCTAGGAGCGCAGGAGCCCCAGCGCAGAGACCCCAACG
 CCGAGACCCCGCCCCGGCCCCGCGCGCTTCCCTCCGACGCAGAGCAAACCGCCAGAGTA
 GAAGCC**ATGGTGAGCAAGGGCGAGGAGCTGTTACCGGGGTGGTGCCCATCCTGGTCGAGCT**
GGACGGCGACGTAAACGGCCACAAGTTCAGCGTGTCCGGCGAGGGCGAGGGCGATGCCACCT
ACGGCAAGCTGACCCTGAAGTTCATCTGCACCACCGCAAGCTGCCCGTGCCCTGGCCACC
CTCGTGACCACCCTGACCTACGGCGTGCAGTGTTCAGCCGCTACCCGACCACATGAAGCA
GCACGACTTCTTCAAGTCCGCCATGCCCCAAGGCTACGTCCAGGAGCGCACCATCTTCTTCA
AGGACGACGGCAACTACAAGACCCGCGCCGAGGTGAAGTTCGAGGGCGACACCCTGGTGAAC
CGCATCGAGCTGAAGGGCATCGACTTCAAGGAGGACGGCAACATCCTGGGGCACAAGCTGGA
GTACAACCTACAACAGCCACAACGTCTATATCATGGCCGACAAGCAGAAGAACGGCATCAAGG
TGAACCTCAAGATCCGCCACAACATCGAGGACGGCAGCGTGCAGCTCGCCGACCCTACCAG
CAGAACACCCCATCGGCGACGGCCCCGTGCTGCTGCCCCGACAACCACTACCTGAGCACCCA
GTCCGCCCTGAGCAAAGACCCCAACGAGAAGCGCGATCACATGGTCTGCTGGAGTTCGTGA
CCGCCCGCGGGATCACTCTCGGCATGGACGAGCTGTACAAGTAAAGGCGCGCCACCCCTGCA
 GGAATTCGCGATTGCCAGTTGTTAGATTAAGAAATAGACAGCATGAGAGGGATGAGGCCAA
 CCGGTGCTCAGCTGTCAAGGCTCAGTCGCTAGCATTTCCCAACACAAAGATTCTGACCTTAA
 ATGCAACCATTTGAAACCCCTGTAGGCCTCAGGTGAAACTCCAGATGCCACAATGGAGCTCT
 GCTCCCCTAAAGCCTCAAAACAAAGGCCTAATTCTATGCCTGTCTTAATTTCTTTCACTTA
 AGTTAGTTCCTACTGAGACCCAGGCTGTTAGGGGTTATTGGTGTAAAGTACTTTTCAATTTT
 AAACAGAGGATATCGGCATTTGTTCTTTCTCTGAGGACAAGAGAAAAAAGCCAGGTTCCAC
 AGAGGACACAGAGAAGGTTTGGGTGTCCTCCTGGGTTCTTTTGCCAACTTTCCCCACGTT
 AAAGGTGAACATTGGTTCTTTTCAATTTGCTTTGGAAGTTTAAATCTCTAACAGTGGACAAAGT
 TACCAGTGCCTTAAACTCTGTTACACTTTTTGGAAGTGAAAACTTTGTAGTATGATAGGTTA
 TTTTGATGTAAAGATGTTCTGGATACCATTATATGTTCCCCCTGTTTCAGAGGCTCAGATTG
 TAATATGTAAATGGTATGTCATTTCGCTACTATGATTTAATTTGAAATATGGTCTTTTGGTTA
 TGAATACTTTGCAGCACAGCTGAGAGGCTGTCTGTTGTATTTCATTGTGGTCATAGCACCTAA
 CAACATTGTAGCCTCAATCGAGTGAGACAGACTAGAAGTTCCTAGTGATGGCTTATGATAGC
 AAATGGCCCATGTCAAAATATTTAGATGTAAATTTGTGTAAAGAAATACAGACTGGATGTACC
 ACCAACTACTACCTGTAATGACAGGCCTGTCCAACACATCTCCCTTTTCCATGACTGTGGTA
 GCCAGCATCGGAAAGAACGCTGATTTAAAGAGGTGCGTTGGGAATTTTATTGACACAGTACC
 ATTTAATGGGGAGGACAAAATGGGGCAGGGGAGGGAGAAAGTTTCTGTCGTTAAAAACAGATT
 TGGAAAGACTGGACTCTAAAGTCTGTTGATTAAAGATGAGCTTTGTCTACTTCAAAAGTTTG
 TTTGCTTACCCCTTCAGCCTCCAATTTTTTAAGTGAAAAATAGCTAATAACATGTGAAAAG
 AATAGAAGCTAAGGTTTAGATAAATATTGAGCAGATCTATAGGAAGATTGAACCTGAATATT
 GCCATTATGCTTGACATGGTTTTCCAAAAATGGTACTCCACATATTTTCAGTGAGGGTAAGTA
 TTTTCTGTTGTCAAGAATAGCATTGTAAAAGCATTTTGTAAATAATAAAGAATAGCTTTAAT
 GATATGCTTGTAATAAATAAATTTGTAAATGTATCAAAATACATTTAAAACATTAAAATATA
 ATCTCTATAATAATTTAAATCTAATATGGTTTTAATAGAACAGCGATATCAAGCTTATCGA
 TAATCAACCTCTGGATTACAAAATTTGTGAAAGATTGACTGGTATTCTTAACTATGTTGCTC
 CTTTTACGCTATGTGGATACGCTGCTTTAATGCCTTTGTATCATGCTATTGCTTCCCGTATG
 GCTTTTCATTTTCTCCTCCTTGATAAATCCTGGTTGCTGTCTCTTTATGAGGAGTTGTGGCC
 CGTTGTGAGGCAACGTGGCGTGGTGTGCACTGTGTTTGTGACGCAACCCCCACTGGTTGGG

10

20

30

40

50

【化 5 7】

GCATTGCCACCACCTGTCAGCTCCTTTCCGGGACTTTTCGCTTTCCCCCTCCCTATTGCCACG
 GCGGAACATCATCGCCGCTGCCTTGCCCGCTGCTGGACAGGGGCTCGGCTGTTGGGCACTGA
 CAATTCCGTGGTGTGTCGGGGAAATCATCGTCCTTTCCCTTGGCTGCTCGCCTATGTTGCCA
 CCTGGATTCTGCGCGGGACGTCCTTCTGCTACGTCCTTTCGGCCCTCAATCCAGCGGACCTT
 CCTTCCCGCGGCTGCTGCCGGCTCTGCGGCTCTTCCGCGTCTTCGCCTTCGCCCTCAGAC
 GAGTCGGATCTCCCTTTGGGCGCCTCCCCGCGAATTCATCGATAACGAGCGCTGCTCGAGA
 GATCTGTGATAGCGGCCATCAAGCTGGCTGTGCCTTCTAGTTGCCAGCCATCTGTGTGTTTGC
 CCCTCCCCCGTGCCTTCCCTTGACCCTGGAAGGTGCCACTCCCCTGTCCTTTCCCTAATAAAA
 TGAGGAAATTGCATCGCATTTGTCTGAGTAGGTGTCATTCTATTCTGGGGGGTGGGGTGGGGC
 AGGACAGCAAGGGGGAGGATTGGGAAGACAATAGCAGGCATGCTGGGGACACGTGCGGACCG
 AGCGGCCCGCAGGAACCCCTAGTGATGGAGTTGGCCACTCCCTCTCTGCGCGCTCGCTCGCTC
 ACTGAGGCCGGGCGACCAAAGGTGCCCCGACGCCCGGGCTTTGCCCGGGCGGCCTCAGTGAG
 CGAGCGAGCGCGCAGCTGCCTGCAGGGGCGCCTGATGCGGTATTTTCTCCTTACGCATCTGT
 GCGGTATTTACACCCGCATACGTCAAAGCAACCATAGTACGCGCCCTGTAGCGGCGCATTA
 GCGCGGCGGGTGTGGTGGTTACGCGCAGCGTGACCGCTACACTTGCCAGCGCCCTAGCGCCC
 GCTCCTTTTCGCTTTCTTCCCTTCCCTTCTCGCCACGTTGCGCGGCTTTCCCCGTCAAGCTCT
 AAATCGGGGGCTCCCTTTAGGGTTCGGATTTAGTGCTTTACGGCACCTCGACCCCAAAAAAC
 TTGATTTGGGTGATGGTTCACGTAGTGGGCCATCGCCCTGATAGACGGTTTTTTCGCCCTTTG
 ACGTTGGAGTCCACGTTCTTTAATAGTGGACTCTTGTTCCAACTGGAACAACACTCAACCC
 TATCTCGGGCTATTCTTTTGATTTATAAGGGATTTTGCCGATTTGCGCCTATTGGTTAAAAA
 ATGAGCTGATTTAACAAAAATTTAACGCGAATTTTAACAAAATATTAACGTTTACAATTTTA
 TGGTGCACTCTCAGTACAATCTGCTCTGATGCCGCATAGTTAAGCCAGCCCCGACACCCGCC
 AACACCCGCTGACGCGCCCTGACGGGCTTGTCTGCTCCCGGCATCCGCTTACAGACAAGCTG
 TGACCGTCTCCGGGAGCTGCATGTGTCTAGAGGTTTTACCGTCATCACCGAAACGCGCGAGA
 CGAAAGGGCCICGTGATACGCCTATTTTTATAGGTTAATGTCTATGATAATAATGGTTTCTTA
 GACGTCAGGTGGCACTTTTTCGGGGAAATGTGCGCGGAACCCCTATTTGTTTTATTTTTCTAAA
 TACATTCAAATATGTATCCGCTCATGAGACAATAACCCCTGATAAATGCTTCAATAATATTGA
 AAAAGGAAGAGTATGAGTATTCAACATTTCCGTGTGCGCCCTTATTCCCTTTTTTTCGCGCAT
 TTGCCCTTCCGTGTTTTTGTCTACCCAGAAACGCTGGTGAAAGTAAAAGATGCTGAAGATCAGT
 TGGGTGCACGAGTGGGTACATCGAACTGGATCTCAACAGCGGTAAGATCCTTGAGAGTTTT
 CGCCCCGAAGAACGTTTTTCCAATGATGAGCACTTTTAAAGTTCTGCTATGTGGCGCGGTATT
 ATCCCGTATGACGCCGGGCAAGAGCAACTCGGTGCGCCGCATACACTATTCTCAGAATGACT
 TGGTTGAGTACTCACCAGTCACAGAAAAGCATCTTACGGATGGCATGACAGTAAGAGAATTA
 TGCAGTGCTGCCATAACCATGAGTGATAACACTGCGGCCAACTTACTTCTGACAACGATCGG
 AGGACCGAAGGAGCTAACCGCTTTTTTGCACAACATGGGGGATCATGTAACCTCGCCTTGATC
 GTTGGGAACCGGAGCTGAATGAAGCCATACCAAACGACGAGCGTGACACCA

10

20

30

【0134】

いくつかの実施形態では、本明細書において記載されるAVVベクターは、配列番号75
 と少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも
 90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なく
 とも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、ま
 たは100%配列同一性のヌクレオチド配列を含む。ベクターc.81.5の例示的なヌクレオ
 チド配列は配列番号75に示される(hGJB2 GRE5には下線を付した;ヒトGJB2コード配
 列は太字で):

40

【化 5 8】

CGATGCCTGTAGCAATGGCAACAACGTTGCGCAAACCTATTAACCTGGCGAACTACTTACTCTA
GCTTCCCGGCAACAATTAATAGACTGGATGGAGGCGGATAAAGTTGCAGGACCACCTTCTGCG
CTCGGCCCTTCCGGCTGGCTGGTTTATTGCTGATAAATCTGGAGCCGGTGAGCGTGGGTCTC
GCGGTATCATTGCAGCACTGGGGCCAGATGGTAAGCCCTCCCGTATCGTAGTTATCTACACG
ACGGGGAGTCAGGCAACTATGGATGAACGAAATAGACAGATCGCTGAGATAGGTGCCTCACT

【化 5 9】

GATTAAAGCATTGGTAACTGTCAGACCAAGTTTACTCATATATACTTTAGATTGATTTAAAC
TTCATTTTTTAATTTAAAGGATCTAGGTGAAGATCCTTTTTGATAATCTCATGACCAAAATC
CCTTAACGTGAGTTTTCTGTTCCACTGAGCGTCAGACCCCGTAGAAAAGATCAAAGGATCTTC
TTGAGATCCTTTTTTCTGCGCGTAATCTGCTGCTTGCAAACAAAAAACACCGCTACCAG
CGGTGGTTTTGTTTGCCTGATCAAGAGCTACCAACTCTTTTTCCGAAGGTAAGTGGCTTCAGC
AGAGCGCAGATACCAATACTGTCCTTCTAGTGTAGCCGTAGTTAGGCCACCCTTCAAGAA
CTCTGTAGCACCGCCTACATACCTCGCTCTGCTAATCCTGTTACCAAGTGGCTGCTGCCAGTG
GCGATAAGTCGTGTCTTACCGGGTTGGACTCAAGACGATAGTTACCGGATAAGGCGCAGCGG
TCGGGCTGAACGGGGGGTTCTGTGCACACAGCCAGCTTGGAGCGAACGACCTACACCGAACT
GAGATACCTACAGCGTGAGCTATGAGAAAGCGCCACGCTTCCCGAAGGGAGAAAGGCGGACA
GGTATCCGGTAAGCGGCGAGGGTCGGAACAGGAGAGCGCACGAGGGAGCTTCCAGGGGGAAC
GCCTGGTATCTTTATAGTCTGTGCGGTTTTCGCCACCTCTGACTTGAGCGTCGATTTTTGTG
ATGCTCGTCAGGGGGGCGGAGCCTATGGAACAGCCAGCAACGCGGCCCTTTTACGGTTCC
TGGCCTTTTGTGCTGGCCTTTTGTCTACATGTCTGTCAGGCAGCTGCGCGCTCGCTCGCTCACT
GAGGCCGCCCGGGCAAAGCCCGGGCGTCGGGCGACCTTTGGTCGCCCCGGCTCAGTGAGCGA
GCGAGCGCGCAGAGAGGGAGTGGCCAACTCCATCACTAGGGGTTCCCTGCGGCCGACGCGTA
AGCTACTAATAACAACACGAGATTATAGATGTTTGTGATATTGTTCTCAGTTTGGTTATT
GTGTTGTTTATGAATGAAAGTAGTGTATGTTTGTGTGAATTTTTGTTTTTAATTTTTATGA
GTGCCCTAACAAAGATTACAAATTGGGAATACAAACTCCAGAGCAATGGAGACAGTGACACT
TTTGTGGAGGGGTACATGTGGCTGTTCCGGTGGTTATTAACACAGGCTGCTGCCCCTGCCCT
GCAATGGGAATCCCCAGGGCATTGGAGGATTCAACCTCTTGCACTTACCTCTTGTAAGACAG
CAGATGGCAGCAGAGAGAGGCTTTGCACATCCCTGCAGGTTCTAGTTTGCAAAAGGGCTTC
TGAGAGACCTATCAACCAATTATAACATCAAGTGGCAAAAAGAGTCCTTGATAAGTTATTTT
GCTTCTCAAAGAAACCGAAAACGCCAACTAATCACTAGTCTTGTTTTTTTTTTCTGGCA
AAAGCCTGCTATCTTTTATGATTTAGCTTTTATGAAATTGTTCTGAAGACCCCCAAAAGAA
ACAATTTTATGCCCCGAACCTCTGTTTCAAGAGACTTTGCTGTGCTGTCTATGTCCAGCTTGCCA
TATCCTGTTTTGTAAAGTAGCCACCTTATATACACACCTGCTGTCTGCACTGTGACCTCCTT
TCAAATCATCTTTGGTTCTTCAAGAGCCTGGAATAATGCTCTGCCCAGATGAAGATCTCCG
TAAATGTGTTTTTGAATGGCTAATCAAATAATGGATACCTTAGGTATTTTTGCAGAAACA
CTTGGCAGCCTTCCATAATATCCCTACTATGAAATGGAACTTGTGAATGAGATGTGGCTTT
AATTAAGACCTCGAAGGGGACTTGGGGGGTTTCGGGGCTTTTCGGGGGCGGTTCGGGGTTTCGG
GACCCGGAAGCTCTGAGGACCCAGAGGCCGGGCGCGCTCCGCCCGCGCGCCGCCCCCCCTCC
GTAACCTTTCCAGTCTCCGAGGGAAGAGGCGGGGTGTGGGGTGCGGTTAAAAGGCGCCACGG
CGGGAGACAGGTGTTGCGGCCCGCAGCGCCCGCGCGCTCCTCTCCCCGACTCGGAGCCCCCT
CGGCGGCGCCCCGGCCCCAGGACCCGCTAGGAGCGCAGGAGCCCCAGCGCAGAGACCCCAACG
CCGAGACCCCCCGCCCCGGCCCCGCGCGCTTCTCCCGACGAGAGCAAACCGCCAGAGTA
GAAGCCATGGATTGGGGCAGCTGCAGACGATCCTGGGGGGTGTGAACAAACACTCCACCAG
CATTGGAAGATCTGGCTCACCGTCTCTTCAATTTTTCGCATTTATGATCCTCGTTGTGGCTG
CAAAGGAGGTGTGGGGAGATGAGCAGGCCGACTTTGTCTGCAACACCCTGCAGCCAGGCTGC
AAGAACGTGTGCTACGATCACTACTTCCCCATCTCCACATCCGGCTATGGGCCCTGCAGCT
GATCTTTCGTGTCCACGCCAGCGCTCCTAGTGGCCATGCACGTGGCCTACCGGAGACATGAGA
AGAAGAGGAAGTTTCAATCAAGGGGAGATAAAGAGTGAATTTAAGGACATCGAGGAGATCAAA
ACCCAGAAGGTCCGCATCGAAGGCTCCCTGTGGTGGACCTACACAAGCAGCATCTTCTTCCG
GGTCATCTTCAAGCCGCTTTCATGTACGTCTTCTATGTATGTACGACGGCTTCTCCATGC
AGCGGCTGGTGAAGTGCAACGCTGGCCTTGTCCCAACACTGTGGACTGCTTTGTGTCCCGG
CCCACGGAGAAGACTGTCTTACAGTGTTCATGATTGCAGTGTCTGGAATTTGCATCCTGCT
GAATGTCACTGAATTTGTGTTATTTGCTAATTAGATATTGTTCTGGGAAGTCAAAAAAGCCAG
TTTAAAGGCGCGCCACCCCTGCAGGGAATTCGCGATTGCCAGTTGTTAGATTAAGAAATAG
ACAGCATGAGAGGGATGAGGCAACCCGTGCTCAGCTGTCAAGGCTCAGTCGCTAGCATTTCC
CAACACAAAGATTCTGACCTTAAATGCAACCATTGAAACCCCTGTAGGCTCAGGTGAAAC
TCCAGATGCCACAATGGAGCTCTGCTCCCTAAAGCCTCAAAACAAAGGCCTAATTCTATGC

10

20

30

40

50

【化 6 0】

CTGTCCTAATTTTCTTTTACCTTAAGTTAGTTCCACTGAGACCCAGGCTGTTAGGGGTTAAT
 GGTGTAAGGTACTTTTCATATTTTAAACAGAGGATATCGGCATTGTTTCTTTCTGAGGAC
 AAGAGAAAAAGCCAGGTTCCACAGAGGACACAGAGAAGGTTTGGGTGTCCTCCTGGGGTTC
 TTTTGGCCAACTTTCCCCACGTTAAAGGTGAACATTGGTTCTTTTCAATTTGCTTTGGAAGTTT
 TAATCTCTAACAGTGGACAAAGTTACCAGTGCCTTAAACTCTGTTACACTTTTTGGAAGTGA
 AAACCTTTGTAGTATGATAGGTTATTTTGTATGTAAGATGTTCTGGATAACCATTATATGTTCC
 CCCTGTTTCAGAGGCTCAGATTGTAATATGTAAATGGTATGTCATTGCTACTATGATTTAA
 TTTGAAATATGGTCTTTTGGTTATGAATACTTTGCAGCACAGCTGAGAGGCTGTCTGTTGTA
 TTCATTGTGGTTCATAGCACCTAACAAACATTGTAGCCTCAATCGAGTGAGACAGACTAGAAGT
 TCCTAGTGATGGCTTATGATAGCAAATGGCCTCATGTCAAATATTTAGATGTAATTTTGTGT
 AAGAAATACAGACTGGATGTACCACCAACTACTACCTGTAATGACAGGCCTGTCCAACACAT
 CTCCCTTTTCCATGACTGTGGTAGCCAGCATCGGAAAGAACGCTGATTTAAAGAGGTCGCTT
 GGGAAATTTTATTGACACAGTACCATTTAATGGGGAGGACAAAATGGGGCAGGGGAGGGAGAA
 GTTTCTGTGCTTAAAAACAGATTTGGAAGACTGGACTCTAAAGTCTGTTGATTAAAGATGA
 GCTTTGTCTACTTCAAAGTTTGTGTTTACCCCTTCAGCCTCCAATTTTTTAAGTGAAAA
 TATAGCTAATAACATGTGAAAAGAATAGAAGCTAAGGTTTAGATAAATATTGAGCAGATCTA
 TAGGAAGATTGAACCTGAATATTGCCATTATGCTTGACATGGTTTCCAAAAAATGGTACTCC
 ACATATTTTCACTGAGGGTAAAGTATTTTCTGTTGTCAAGAATAGCATTGTAAAAGCATTTTG
 TAATAATAAAGAATAGCTTTAATGATATGCTTGTAACATAAATAATTTTGTAATGTATCAAA
 TACATTTAAACATTAAAAATATAATCTCTATAATAATTTAAAAATCTAATATGGTTTTAATAG
 AACAGCGATATCAAGCTTATCGATAATCAACCTCTGGATTACAAAATTTGTGAAAGATTGAC
 TGGTATTCTTAACATATGTTGCTCCTTTTACGCTATGTGGATACGCTGCTTTAATGCCTTTGT
 ATCATGCTATTGCTTCCCGTATGGCTTTTCAATTTCTCCTCCTTGATAAATCCTGGTTGCTG
 TCTCTTTATGAGGAGTTGTGGCCGTTGTGAGGCAACGTGGCGTGCTGTCAGTGTGTTTGC
 TGACGCAACCCCCACITGGTTGGGGCATTGCCACCACCTGTCAGCTCCTTTCCGGGACTTTTCG
 CTTTCCCCCTCCCTATTGCCACGGCGGAACCTCATCGCCGCTGCTTGGCCGCTGCTGGACA
 GGGGCTCGGCTGTTGGGCACTGACAATCCGCTGGTGTGTCGGGGAAATCATCGTCTTTTCC
 TTGGCTGCTCGCCTATGTTGCCACCTGGATTCTGCGCGGGACGTCCTTCTGCTACGTCCCTT
 CGGCCCTCAATCCAGCGGACCTTCCCTTCCCGCGGCTGCTGCGGCTCTGCGGCTCTTCCG
 CGTCTTCGCCCTTCGCCCTCAGACGAGTCGGATCTCCCTTTGGGCGGCTCCCCGCGAATTCA
 TCGATACCGAGCGCTGCTCGAGAGATCTGTGATAGCGCCATCAAGCTGGCTGTGCCTTCTA
 GTTGCCAGCCATCTGTTGTTTGGCCCTCCCCCGTGCTTCCCTTGACCCTGGAAGGTGCCACT
 CCCACTGTCTTTTCTAATAAAATGAGGAAATTGCATCGCATTGTCTGAGTAGGTGTCATTC
 TATTCTGGGGGTGGGGTGGGGCAGGACAGCAAGGGGGAGGATTGGGAAGACAATAGCAGGC
 ATGCTGGGGACACGTGCGGACCGAGCGGCCGAGGAACCCCTAGTGATGGAGTTGGCCACTC
 CCTCTCTGCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGGCCGGGCGACCAAAGGTGCGCCGACGCGCGGC
 TTTGGCCGGGCGGCCTCAGTGAGCGAGCGAGCGCGCAGCTGCCTGCAGGGGCGCCTGATGCG
 GTATTTTCTCCTTACGCATCTGTGCGGTATTTACACCCGCATACGTCAAAGCAACCATAGTA
 CGCGCCCTGTAGCGGCGCATTAAGCGCGGCGGGTGTGGTGGTTACGCGCAGCGTGACCGCTA
 CACTTGCCAGCGCCCTAGCGCCCGCTCCTTTGCTTTCTTCCCTTCTTTCTCGCCACGTTT
 GCCGGCTTTCCCGTCAAGCTCTAAATCGGGGGCTCCCTTAGGGTTCCGATTTAGTGCTTT
 ACGGCACCTCGACCCCAAAAACTTGATTTGGGTGATGGTTCACGTAGTGGGCCATCGCCCT
 GATAGACGTTTTTTCGCCCTTTGACGTTGGAGTCCACGTTCTTTAATAGTGGACTCTTGTTT
 CAAACTGGAACAACACTCAACCCTATCTCGGGCTATTCTTTTGATTTATAAGGGATTTTGCC
 GATTTTCGGCTATTGGTTAAAAAATGAGCTGATTTAACAAAAATTTAACGCGAATTTTAACA
 AAATATTAACGTTTACAATTTTATGGTGCACCTCTCAGTACAATCTGCTCTGATGCCGCTAG
 TTAAGCCAGCCCCGACACCCGCCAACACCCGCTGACGCGCCCTGACGGGCTTGTCTGCTCCC
 GGCATCCGCTTACAGACAAGCTGTGACCGTCTCCGGGAGCTGCATGTGTGAGAGGTTTTAC
 CGTCATCACGAAACGCGCGAGACGAAAGGGCTCGTGATACGCTATTTTTATAGGTTAAT
 GTCATGATAATAATGGTTTCTTAGACGTAGGTGGCACTTTTCGGGGAAATGTGCGCGGAAC
 CCCTATTTGTTTATTTTCTAAATACATTCAAATATGTATCCGCTCATGAGACAATAACCTT

10

20

30

40

50

【化 6 1】

GATAAATGCTTCAATAATATTGAAAAAGGAAGAGTATGAGTATTCAACATTTCCGTGTCGCC
CTTATTCCTTTTTTTCGGCATTTTGCCTTCCTGTTTTTGTCTACCCAGAAACGCTGGTGAA
AGTAAAAGATGCTGAAGATCAGTTGGGTGCACGAGTGGGTACATCGAACTGGATCTCAACA
GCGGTAAGATCCTTGAGAGTTTTCGCCCCGAAGAACGTTTTCCAATGATGAGCACTTTTAAA
GTTCTGCTATGTGGCGCGGTATTATCCCGTATTGACGCCGGGCAAGAGCAACTCGGTCGCCG
CATACACTATTCTCAGAATGACTTGGTTGAGTACTCACCAGTCACAGAAAAGCATCTTACGG
ATGGCATGACAGTAAGAGAATTATGCAGTGCTGCCATAACCATGAGTGATAACACTGCGGCC
AACTTACTTCTGACAACGATCGGAGGACCGAAGGAGCTAACCGCTTTTTTGCACAACATGGG
GGATCATGTAACCTCGCCTTGATCGTTGGGAACCGGAGCTGAATGAAGCCATACCAAACGACG
AGCGTGACACCA

10

【0 1 3 5】

いくつかの実施形態では、本明細書において記載されるAVVベクターは、配列番号76と少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%配列同一性のヌクレオチド配列を含む。ベクターc.81.5の例示的なヌクレオチド配列は配列番号76に示される(hGJB2 GRE5には下線を付した;マウスGJB2コード配列は太字で):

20

30

40

50

【化 6 2】

CGATGCCTGTAGCAATGGCAACAACGTTGCGCAAACCTATTAACCTGGCGAACTACTTACTCTA
 GCTTCCCGGCAACAATTAATAGACTGGATGGAGGCGGATAAAGTTGCAGGACCACTTCTGCG
 CTCGGCCCTTCCGGCTGGCTGGTTTATTGCTGATAAATCTGGAGCCGGTGAGCGTGGGTCTC
 GCGGTATCATTCAGCACTGGGGCCAGATGGTAAGCCCTCCCGTATCGTAGTTATCTACACG
 ACGGGGAGTCAGGCAACTATGGATGAACGAAATAGACAGATCGCTGAGATAGGTGCCTCACT
 GATTAAGCATTGGTAACTGTCAGACCAAGTTTACTCATATATACTTTAGATTGATTTAAAC
 TTCATTTTTTAATTTAAAGGATCTAGGTGAAGATCCTTTTTTGATAATCTCATGACCAAAATC
 CCTTAACGTGAGTTTTTCGTTCCACTGAGCGTCAGACCCCGTAGAAAAGATCAAAGGATCTTC
 TTGAGATCCTTTTTTCTGCGCGTAATCTGCTGCTTGCAAACAAAAAACCACCGCTACCAG
 CGGTGGTTTGTTTGCCGGATCAAGAGCTACCAACTCTTTTTCCGAAGGTAACCTGGCTTCAGC
 AGAGCGCAGATACCAATACTGTCCTTCTAGTGTAGCCGTAGTTAGGCCACCACTTCAAGAA
 CTCTGTAGCACCGCCTACATACCTCGCTCTGCTAATCCTGTTACCAGIGGCTGCTGCCAGTG
 GCGATAAGTCGTGTCTTACCGGGTTGGACTCAAGACGATAGTTACCGGATAAGGCGCAGCGG
 TCGGGCTGAACGGGGGGTTTCGTGCACACAGCCCAGCTTGGAGCGAACGACCTACACCGAACT
 GAGATACCTACAGCGTGAGCTATGAGAAAGCGCCACGCTTCCCGAAGGGAGAAAGGCGGACA
 GGTATCCGGTAAGCGGCAGGGTCGGAACAGGAGAGCGCACGAGGGAGCTTCCAGGGGGAAAC
 GCCTGGTATCTTTATAGTCCTGTGCGGTTTCGCCACCTCTGACTTGAGCGTCGATTTTTGTG
 ATGCTCGTCAGGGGGGCGGAGCCTATGGAAAAACGCCAGCAACGCGGCCTTTTTACGGTTCC
 TGGCCTTTTTGCTGGCCTTTTTGCTCACATGTCCTGCAGGCAGCTGCGCGCTCGCTCGCTCACT
 GAGGCCGCCCGGGCAAAGCCCCGGGCGTCGGGCGACCTTTGGTCGCCCGGCCTCAGTGAGCGA
 GCGAGCGCGCAGAGAGGGAGTGGCCAACTCCATCACTAGGGGTTCCCTGCGGCCGCACGCGTA
 AGCTACTAACTACAACCACGAGATTATAGATGTTTGCTGATATTGTTCTCAGTTTGGTTATT
 GTGTTGTTTATGAATGAAAGTAGTGTATGTTTGTGTGAATTTTTGTTTTTAATTTTTTATGA
 GTGCCCTAACAAAGATTACAAATTGGGAATACAACTCCAGAGCAATGGAGACAGTGACACT
 TTTGTGGAGGGGTACATGTGGCTGTTTCGGGTGGTTATTAACACAGGCTGCTGCCCCTGCCCT
 GCAATGGGAATCCCCAGGGCATTTGGAGGATTCAACCTCTTGCAGTTACCTCTTGTAAAGACAG
 CAGATGGCAGCAGAGAGAGGCTTTGCACATCCCTGCAGGTTCTAGTTTGCACAAAGGGCTTC
 TGAGAGACCTATCAACCAATTATAACATCAAGTGGCAAAAAGAGTCCTTGATAAGTTATTTTC
 GCTTCTCAAAGAAACCGAAAACGCCAACTAATCACTAGTCTTGTTTTTTTTTTTTTCTGGCA
 AAAGCCTGCTATCTTTCATGATTTAGCTTTCATGAAATTGTTTCTGAAGACCCCCAAAAGAA
 ACAATTTTCATGCCCCGAACCTCTGTTTCAGAGACTTTGCTGTGCCTGTCATGTCCAGCTTGCCA

10

20

30

40

50

【化 6 3】

TATCCTGTTTTGTAAAGTAGCCACCTTATATACACACCTGCTGTCTGCACTGTGACCTCCTT
TCAAAATCATCTTTGGTTCTTCAGAGGCCTGGAATAATGCTCTGCCAGATGAAGATCTCCG
TAAATGTGTTTTTGAATGGCTAATCAAATAATGGATACCCCTTAGGTATTTTTGCAGAAACA
CTTGGCAGCCTTCCATAATATCCCTACTATGAAATGGAAACTTGTGAATGAGATGTGGCTTT
AATTAAGACCTCGAAGGGGACTTGGGGGGTTCGGGGCTTTTCGGGGCGGTTCGGGGTTTCGCG
GACCCGGAAGCTCTGAGGACCCAGAGGCCGGGCGCGCTCCGCGCGGGCGCGCCCCCTCC
GTAACCTTTCCAGTCTCCGAGGGAAGAGCGGGGTGTGGGTGCGGTTAAAAGGCGCCACGG
CGGGAGACAGGTGTTGCGGCCCCGAGCGCCCCGCGCTCCTCTCCCCGACTCGGAGCCCCCT
CGGCGGCGCCCCGGCCAGGACCCGCTTAGGAGCGCAGGAGCCCCAGCGCAGAGACCCCAACG
CCGAGACCCCCGCCCCGGCCCCGCGCGCTTCTCCCGACGCAGAGCAAACCGCCAGAGTA
GAAGCCATGGATTGGGGCACACTCCAGAGCATCCTCGGGGGTGTCAACAAACACTCCACCAG
CATTGGAAAGATCTGGCTCACGGTCTCTTCATCTTCCGCATCATGATCCTCGTGGTGGCTG
CAAAGGAGGTGTGGGGAGATGAGCAAGCCGATTTTGTCTGCAACACGCTCCAGCCTGGCTGC
AAGAATGTATGCTACGACCACACTTCCCCATCTCTCACATCCGGCTCTGGGCTCTGCAGCT
GATCATGGTGTCCACGCCAGCCCTCCTGGTAGCTATGCATGTGGCCTACCGGAGACATGAAA
AGAAACGGAAGTTCATGAAGGGAGAGATAAAGAACGAGTTTAAAGGACATCGAAGAGATCAAA
ACCCAGAAGGTCCGTATCGAAGGGTCCCTGTGGTGGACCTACACCACCAGCATCTTCTTCCG
GGTCATCTTTGAAGCCGTCTTCATGTACGTCTTTTACATCATGTACAATGGCTTCTTCATGC
AACGTCTGGTGAAATGCAACGCTTGGCCCTGCCCAATACAGTGGACTGCTTCATTTCCAGG
CCCACAGAAAAGACTGTCTTCACCGTGTATATGATTCTGTGTCTGGAATTTGCATTCTGCT
AAATATCACAGAGCTGTGCTATTTGTTCTAGGTATTGCTCAGGAAAGTCCAAAAGACCAG
TCTACCCATACGATGTTCCAGATTACGCTTAAAGGCGCGCCACCCCTGCAGGGAATTCGCA
TTGCCAGTTGTTAGATTAAAGAAATAGACAGCATGAGAGGGATGAGGCAACCCGTGCTCAGC
TGTCAAGGCTCAGTCGCTAGCATTTCCCAACACAAAGATTCTGACCTTAAATGCAACCATT
GAAACCCCTGTAGGCCTCAGGTGAACTCCAGATGCCACAATGGAGCTCTGCTCCCTAAAG
CCTCAAAACAAAGGCCATAATCTATGCCTGTCTTAATTTCTTTCACTTAAGTTAGTTCCAC
TGAGACCCAGGCTGTTAGGGGTTATTGGTGTAAAGGTACTTTCATATTTTAAACAGAGGATA
TCGGCATTGTCTTTCTCTGAGGACAAGAGAAAAAAGCCAGGTTCCACAGAGGACACAGA
GAAGGTTTGGGTGTCCTCCTGGGGTCTTTTTTGCCAACTTTCCCAAGTTAAAGGTGAACAT
TGGTTCTTTTCACTTTGCTTTGGAAGTTTAACTCTTAACAGTGGACAAAGTTACCAAGTGCCT
AAACTCTGTTACACTTTTTGGAAGTGAACCTTTGTAGTATGATAGGTATTTTTGATGTAAA
GATGTTCTGGATACCATTATATGTTCCCCCTGTTTCAGAGGCTCAGATTGTAATATGTAAAT
GGTATGTCATTCCGTACTATGATTTAATTTGAAATATGGTCTTTTGGTTATGAATACTTTGC
AGCACAGCTGAGAGGCTGTCTGTTGTATTCTGTTGGTCATAGCACCTAACAACATTGTAGC
CTCAATCGAGTGAGACAGACTAGAAGTTCCTAGTGATGGCTTATGATAGCAAATGGCCTCAT
GTCAAATATTTAGATGTAATTTTGTGTAAGAAATACAGACTGGATGTACCACCACTACTAC
CTGTAATGACAGGCCTGTCCAACACATCTCCCTTTCCATGACTGTGGTAGCCAGCATCGGA
AAGAACGCTGATTTAAAGAGGTGCTTGGGAATTTTATTGACACAGTACCATTTAATGGGGA
GGACAAAATGGGGCAGGGGAGGGAGAAGTTTCTGTCGTTAAAAACAGATTTGGAAAGACTGG
ACTCTAAAGTCTGTTGATTAAAGATGAGCTTTGTCTACTTCAAAAGTTTGTGTTGCTTACCCC
TTCAGCCTCCAATTTTTTAAGTGAAAATATAGCTAATAACATGTGAAAAGAATAGAAGCTAA
GGTTTAGATAAATATTGAGCAGATCTATAGGAAGATTGAACCTGAATATTGCCATTATGCTT
GACATGGTTTTCAAAAAATGGTACTCCACATATTTCACTGAGGGTAAGTATTTTCTGTTGT
CAAGAATAGCATTGTAAAAGCATTTTGTAAATAATAAGAATAGCTTTAATGATAIGCTTGTA
ACTAAAATAATTTTGTAATGTATCAAATACATTTAAAAACATTAAAAATATAATCTCTATAATA
ATTTAAAATCTAATATGGTTTTAATAGAACAGCGATATCAAGCTTATCGATAATCAACCTCT
GGATTACAAAATTTGTGAAAGATTGACTGGTATTCTTAACATGTTGCTCCTTTTACGCTAT
GTGGATACGCTGCTTTAATGCCTTTGTATCATGCTATTGCTTCCCGTATGGCTTTTCATTTTC
TCCTCCTTGTATAAACTCTGGTTGCTGTCTTTATGAGGAGTTGTGGCCGTTGTGAGGCA
ACGTGGCGTGGTGTGCACTGTGTTTGCTGACGCAACCCCCACTGGTTGGGGCATTGCCACCA
CCTGTGAGCTCCTTTCCGGGACTTTGCTTTCCCCCTCCCTATTGCCACGGCGGAACCTCATC

10

20

30

40

50

【化 6 4】

GCCGCCTGCCTTGCCCGCTGCTGGACAGGGGCTCGGCTGTTGGGCACTGACAATTCCGTGGT
 GTTGTGCGGGGAAATCATCGTCCCTTTCTTGGCTGCTCGCCTATGTTGCCACCTGGATTCTGC
 GCGGGACGTCTTCTGCTACGTCCCTTCGGCCCTCAATCCAGCGGACCTTCCTTCCCGCGGC
 CTGCTGCCGGCTCTGCGGCCTCTTCCGCGTCTTCGCCTTCGCCCTCAGACGAGTCGGATCTC
 CCTTTGGGCGCGCTCCCCGCGAATTCATCGATACCGAGCGCTGCTCGAGAGATCTGTGATAG
 CGGCCATCAAGCTGGCTGTGCCTTCTAGTTGCCAGCCATCTGTTGTTTGCCCCCTCCCCCGTG
 CCTTCCCTTGACCCTGGAAGGTGCCACTCCCCTGCTCCTTTTCTAATAAAATGAGGAAATTGC
 ATCGCATTGTCTGAGTAGGTGTCATTCTATTCTGGGGGGTGGGGTGGGGCAGGACAGCAAGG
 GGGAGGATTGGGAAGACAATAGCAGGCATGCTGGGGACACGTGCGGACCGAGCGGCCGCAGG
 AACCCTAGTGATGGAGTTGGCCACTCCCTCTCTGCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGGCCGGG
 CGACCAAAGGTGCGCCGACGCCCGGGCTTTGCCCGGGCGGCCTCAGTGAGCGAGCGAGCGCG
 CAGCTGCCTGCAGGGGCGCCTGATGCGGTATTTTCTCCTTACGCATCTGTGCGGTATTTTAC
 ACCGCATACGTCAAAGCAACCATAGTACGCGCCCTGTAGCGGCGCATTAAAGCGCGCGGGTG
 TGGTGGTTACGCGCAGCGTGACCGCTACACTTGCCAGCGCCCTAGCGCCCGCTCCTTTTCGT
 TTCTTCCCTTCCCTTCTCGCCACGTTCCGCGGCTTTCCCGTCAAGCTCTAAATCGGGGGCT
 CCTTTAGGGTTCCGATTAGTGCTTTACGGCACCTCGACCCCCAAAAAACTTGATTGTTGGTG
 ATGGTTCACGTAGTGGGCCATCGCCCTGATAGACGGTTTTTCGCCCTTTGACGTTGGAGTCC
 ACGTTCCTTAATAGTGGACTCTTGTTCCAACTGGAACAACACTCAACCCTATCTCGGGCTA
 TTCTTTTGATTTATAAGGGATTTTGCCGATTTTCGGCCTATTGGTTAAAAAATGAGCTGATT
 AACAAAAATTTAACGCGAATTTTAACAAAATATTAACGTTTACAATTTTATGGTGCACCTCTC
 AGTACAATCTGCTCTGATGCCGCATAGTTAAGCCAGCCCCGACACCCGCCAACACCCGCTGA
 CGCGCCCTGACGGGCTTGCTGCTCCCGGCATCCGCTTACAGACAAGCTGTGACCGTCTCCG
 GGAGCTGCATGTGTCAGAGGTTTTACCGTTCATACCGAAACGCGCGAGACGAAAGGGCCTC
 GTGATACGCCTATTTTTATAGGTTAATGTCATGATAATAATGGTTTCTTAGACGTCAGGTGG
 CACTTTTCGGGGAAATGTGCGCGGAACCCCTATTTGTTTATTTTTCTAAATACATTCAAATA
 TGTATCCGCTCATGAGACAATAACCCTGATAAATGCTTCAATAATATTGAAAAAGGAAGAGT
 ATGAGTATTCAACATTTCCGTGTCGCCCTTATTCCCTTTTTTTCGGGCATTTTGCCCTTCCTGT
 TTTTGCTCACCCAGAAACGCTGGTGAAAGTAAAAGATGCTGAAGATCAGTTGGGTGCACGAG
 TGGGTTACATCGAACTGGATCTCAACAGCGGTAAAGATCCTTGAGAGTTTTCGCCCCGAAGAA
 CGTTTTCCAATGATGAGCACTTTTAAAGTTCTGCTATGTGGCGCGGTATTATCCCGTATTGA
 CGCCGGGCAAGAGCAACTCGGTGCGCGCATACACTATTCTCAGAATGACTTGTTGAGTACT
 CACCAGTCACAGAAAAGCATCTTACGGATGGCATGACAGTAAGAGAATTATGCAGTGCTGCC
 ATAACCATGAGTGATAACACTGCGGCCAACTTACTTCTGACAACGATCGGAGGACCGAAGGA
 GCTAACCGCTTTTTTGCACAACATGGGGGATCATGTAACCTCGCCTTGATCGTTGGGAACCGG
 AGCTGAATGAAGCCATACCAAACGACGAGCGTGACACCA

10

20

30

【0136】

いくつかの実施形態では、本明細書において記載されるAAVベクターは、AAV 5' ITR、GJB2 GREエンハンサー(hGJB2 GRE7)、GJB2基本プロモーター、GJB2エクソン1の5' UTR、コザック配列、遺伝子産物(例、GJB2またはGFP)をコードするヌクレオチド配列、GJB2エクソン2の3' UTR、WPRE、ウシ成長ホルモンポリAシグナル、およびAAV 3' ITRを含む(例、ベクターc.81.7)。

40

【0137】

いくつかの実施形態では、本明細書において記載されるAVVベクターは、配列番号51と少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%配列同一性のヌクレオチド配列を含む。ベクターc.81.7の例示的なヌクレオチド配列は配列番号51に示される(hGJB2 GRE7には下線を付した;eGFPコード配列は太字で):

50

【化 6 5】

CGATGCCTGTAGCAATGGCAACAACGTTGCGCAAACCTATTAACCTGGCGAACTACTTACTCTA
 GCTTCCCCGGCAACAATTAATAGACTGGATGGAGGCGGATAAAGTTGCAGGACCACTTCTGCG
 CTCGGCCCTTCCGGCTGGCTGGTTTATTGCTGATAAATCTGGAGCCGGTGAGCGTGGGTCTC
 GCGGTATCATTGCAGCACTGGGGCCAGATGGTAAGCCCTCCCGTATCGTAGTTATCTACACG
 ACGGGGAGTCAGGCAACTATGGATGAACGAAATAGACAGATCGCTGAGATAGGTGCCTCACT
 GATTAAGCATTGGTAACTGTCAGACCAAGTTTACTCATATATACTTTAGATTGATTTAAAAC
 TTCATTTTTAATTTAAAAGGATCTAGGTGAAGATCCTTTTTTGATAATCTCATGACCAAAATC
 CCTTAACGTGAGTTTTTCGTTCCACTGAGCGTCAGACCCCGTAGAAAAGATCAAAGGATCTTC
 TTGAGATCCTTTTTTCTGCGCGTAATCTGCTGCTTGCAAACAAAAAAACCACCGCTACCAG
 CGGTGGTTTTGTTTGCCGGATCAAGAGCTACCAACTCTTTTTCCGAAGGTAACCTGGCTTCAGC
 AGAGCGCAGATACCAAACTACTGTCTTCTAGTGTAGCCGTAGTTAGGCCACCACTTCAAGAA
 CTCTGTAGCACCCTACATACTCTGCTCTGCTAATCCTGTTACCAGTGGCTGCTGCCAGTG
 GCGATAAGTCGTGTCTTACCGGGTTGGACTCAAGACGATAGTTACCGGATAAGGCGCAGCGG
 TCGGGCTGAACGGGGGGTTCGTGCACACAGCCAGCTTGGAGCGAACGACCTACACCGAACT
 GAGATACCTACAGCGTGAGCTATGAGAAAAGCGCCACGCTTCCCGAAGGGAGAAAAGCGGACA
 GGTATCCGGTAAGCGGCAGGGTCGGAACAGGAGAGCGCACGAGGGAGCTTCCAGGGGGAAAC
 GCCTGGTATCTTTATAGTCCTGTGCGGGTTTCGCCACCTCTGACTTGAGCGTCGATTTTTGTG
 ATGCTCGTCAGGGGGGCGGAGCCTATGGA AAAACGCCAGCAACGCGGCCTTTTTACGGTTCC
 TGGCCTTTTGCTGGCCTTTTGCTCACATGTCTGCAGGCAGCTGCGCGCTCGCTCGCTCACT
 GAGGCCGCCCGGGCAAAGCCCCGGGCGTCGGGCGACCTTTGGTCGCCCCGGCCTCAGTGAGCGA
 GCGAGCGCGCAGAGAGGGAGTGGCCAACTCCATCACTAGGGGTTCTGCGGCCGCACGCGTC
 TCAGCTGGAGTGACGCACCTCATCCATGCGGGCCTGGCGTCTGGAAGGTGGCTGGGTCTCTC
 GGGCTTGAGCACCATCATCTTAGCTCCAACATGTCATTATTCTTCTCCTCACTGAGGACTTTT
CTGCTTCTTAATTGGTTGTTGAAGATGAGGCCCCCATGCTCTTTTAAGAAAACCTGTTGTGC
CCCAGGCTTGGCTGTGATGGGCACTGACTCATA CAGAAGTAGAAAGGCCTGCTGAGTCATCA
ACACTCGTGCGACGCCCTCGCATTTTCATTAATGATGGCCTCCCTGCCACACGTGAATCACT
CCAGCCCCGAGATCTGAAACCAGGACACACCCCAGGGGCGAGGTGACGCTGAGTGAGCCCAGC
TGTGTCCCTTTTCATGAGAACTCAGAGCACAGGGCTCTGTGTGCATGGCCGTCCCTCCAGAG
AGGAGGAAGTAAATGCCGGGATTAGTGGAAGATCATTTCTTCTATTTGCCTTGCTTACGT
CTTTCAGAATTCAAACACGTGCACTGTTGACCCTGCAATGGTGGAGTTTTTGATTTTCCTT
CAGTCCGATTGCTAAAATACTTCCCTCTCATGTGAGCTGTTGTGAAAGTCATCAGCCAGATA
CCATTCTAAAAACAAAGAATGTGCTTCTCGTATGTTGCATGCTGGTTACTGAAATATTAGGG
AATTACATAAAGGTTTTCTGGGGCACATATTCAAGCTGAATGATAAAATTGAAGGTCACACA
AAGCTAAGGTCTTTCAAATCCTGACCCAATTAGCTCTCTGTTAGCTCTCTGACTTTGGACAA
 GCTGTCTGGTCTCTGAAGCATACTTTGTTCCGCTGGGTAGGGGCCCTCTGTTTTAACAGC
 GTTTGGCATTAAATTAAGACCTCGAAGGGGACTTGGGGGGTTTCGGGGCTTTTCGGGGGCGGTG
 GGGGTTTCGCGGACCCGGGAAGCTCTGAGGACCCAGAGGCCGGGCGCGCTCCGCCCCGCGCGC
 CGCCCCCTCCGTAACCTTTCCAGTCTCCGAGGGAAGAGGCGGGGTGTGGGGTGCGGTTAAAA
 GGCGCCACGGCGGGAGACAGGTGTTGCGGCCCGCAGCGCCCGCGCGCTCCTCTCCCCGACT
 CGGAGCCCCCTCGGCGGCGCCCCGGCCAGGACCCGCCTAGGAGCGCAGGAGCCCCAGCGCAGA
 GACCCCAACGCGGAGACCCCCGCCCCGGCCCGCCGCGCTTCTCCCCGACGCAGAGCAAACC
 GCCCAGAGTAGAAGCC**ATGGTGAGCAAGGGCGAGGAGCTGTTTACCGGGGTGGTGCCCATCC**
TGGTCGAGCTGGACGGCGACGTAAACGGCCACAAGTTTCAGCGTGTCCGGCGAGGGCGAGGGC
GATGCCACCTACGGCAAGCTGACCCCTGAAGTTTCATCTGCACCACCGGCAAGCTGCCCGTGCC
CTGGCCCCACCCTCGTGACCACCCTGACCTACGGCGTGCACTGCTTACAGCCGCTACCCCCGACC
ACATGAAGCAGCACGACTTCTTCAAGTCCGCCATGCCCCGAAGGCTACGTCCAGGAGCGCACC
ATCTTCTTCAAGGACGACGGCAACTACAAGACCCGCGCCGAGGTGAAGTTTCAGGGGCGACAC
CCTGGTGAACCGCATCGAGCTGAAGGGCATCGACTTCAAGGAGGACGGCAACATCTGGGGC

10

20

30

40

50

【化 6 6】

ACAAGCTGGAGTACAACACTACAACAGCCACAACGCTCTATATCATGGCCGACAAGCAGAAGAAC
GGCATCAAGGTGAACTTCAAGATCCGCCACAACATCGAGGACGGCAGCGTGCAGCTCGCCGA
CCACTACCAGCAGAACACCCCATCGGCCACGGCCCCGTGCTGCTGCCCCGACAACCACTACC
TGAGCACCCAGTCCGCCCTGAGCAAAGACCCCAACGAGAAGCGCGATCACATGGTCCTGCTG
GAGTTCGTGACCGCGCCGGGATCACTCTCGGCATGGACGAGCTGTACAAGTAAAGGCGCGC
CACCCCTGCAGGGAATTCGCAATTGCCAGTTGTTAGATTAAAGAAATAGACAGCATGAGAGG
GATGAGGCAACCCGTGCTCAGCTGTCAAGGCTCAGTCGCTAGCATTTCCTAACACAAAGATT
CTGACCTTAAATGCAACCATTGAAACCCCTGTAGGCCTCAGGTGAAACTCCAGATGCCACA
ATGGAGCTCTGCTCCCCTAAAGCCTCAAAACAAAGGCCTAATTCTATGCCTGTCTTAATTTT
CTTTCACTTAAGTTAGTTCCACTGAGACCCAGGCTGTTAGGGGTTATTGGTGTAAAGTACT
TTCATATTTTAAACAGAGGATATCGGCATTTGTTCTTTCTCTGAGGACAAGAGAAAAAAGC
CAGGTTCACAGAGGACACAGAGAAGGTTTGGGTGTCTCTCGGGGTTCTTTTTGCCAACTT
TCCCCACGTAAAGGTGAACATTGGTTCTTTCAATTGCTTTGGAAGTTTTAATCTCTAACAG
TGGACAAAGTTACCAGTGCCTTAAACTCTGTTACACTTTTTGGAAGTGAAAACCTTTGTAGTA
TGATAGGTTATTTTGATGTAAAGATGTTCTGGATACCATTATATGTTCCCCCTGTTTCAGAG
GCTCAGATTGTAATATGTAAATGGTATGTCATTGCTACTATGATTAAATTTGAAATATGGT
CTTTTGGTTATGAATACTTTGCAGCACAGCTGAGAGGCTGTCTGTTGTATTCTATTGGGTCA
TAGCACCTAACAAACATTGTAGCCTCAATCGAGTGAGACAGACTAGAAGTTCTAGTGATGGC
TTATGATAGCAAATGGCCTCATGTCAAATATTTAGATGTAATTTTGTGTAAGAAATACAGAC
TGGATGTACCACCACTACTACCTGTAATGACAGGCCTGTCCAACACATCTCCCTTTTCCAT
GACTGTGGTAGCCAGCATCGGAAAGAAGCTGATTAAAGAGGTGCTTGGGAATTTTATTG
ACACAGTACCATTAAATGGGGAGGACAAAATGGGGCAGGGGAGGGAGAAGTTCTGTCGTTA
AAAAAGATTTGGAAAGACTGGACTCTAAAGTCTGTTGATTAAAGATGAGCTTTGTCTACTT
CAAAAGTTTGTGTTGCTTACCCCTTCAGCCTCCAATTTTTTAAGTGAAAATATAGCTAATAAC
ATGTGAAAAGAATAGAAGCTAAGGTTTAGATAAAATATTGAGCAGATCTATAGGAAGATTGAA
CCTGAATATTGCCATTATGCTTGACATGGTTTCCAAAAAATGGTACTCCACATATTTCAAGT
AGGCTAAGTATTTTCTGTTGTGCAAGAATAGCATTGTAAAGCAATTTGTAATAATAAAGAA
TAGCTTTAATGATATGCTTGTAACATAAAATAATTTTGTAAATGTAACAAATACATTTAAACAA
TTAAATATAATCTCTATAATAATTTAAATCTAATATGGTTTTAATAGAACAGCGATATCA
AGCTTATCGATAATCAACCTCTGGATTACAAAATTTGTGAAAGATTGACTGGTATTCTTAAC
TAGTTGCTCCTTTTACGCTATGTGGATACGCTGCTTTAATGCCTTTGTATCATGCTATTGC
TTCCCGTATGGCTTTCAATTTCTCCTCCTTGATAAAATCCTGGTTGCTGTCTCTTTATGAGG
AGTTGTGGCCCGTTGTGAGGCAACGTGGCGTGGTGTGCACTGTGTTTGCTGACGCAACCCCC
ACTGGTTGGGGCATTGCCACCACCTGTCAGCTCCTTTCCGGGACTTTTCGCTTTCCCCCTCCC
TATTGCCACGGCGGAATCATCGCCGCTGCTTGGCCGCTGCTGGACAGGGGCTCGGCTGT
TGGGCACTGACAATTCGTTGGTGTGTGCGGGGAAATCATCGTCCTTTCTTGGCTGCTCGCC
TATGTTGCCACCTGGATTCTGCGCGGACGTCCTTCTGCTACGTCCCTTCGGCCCTCAATCC
AGCGGACCTTCCTTCCCGCGGCTGCTGCGGCTCTGCGGCTCTTCCGCGTCTTTCGCTTC
GCCCTCAGACGAGTCGGATCTCCCTTTGGGCCGCTCCCCGGAATTCATCGATACCGAGCG
CTGCTCGAGAGATCTGTGATAGCGCCATCAAGCTGGCTGTGCCTTCTAGTTGCCAGCCATC
TGTTGTTTGGCCCTCCCCCGTGCCTTCCTTGACCTGGAAGGTGCCACTCCCACTGTCCTTT
CCTAATAAAATGAGGAAATGTCATCGCATTGTCTGAGTAGGTGTCATTCTATTCTGGGGGT
GGGGTGGGGCAGGACAGCAAGGGGGAGGATTGGGAAGACAATAGCAGGCATGCTGGGGACAC
GTGCGGACCGAGCGGCCGAGGAACCCCTAGTGATGGAGTTGGCCACTCCCTCTCTGCGCGC
TCGCTCGCTCACTGAGGCCGGGCGACCAAAGGTCGCCCGACGCCCGGGCTTTGCCCGGGCGG
CCTCAGTGAGCGAGCGAGCGCGCAGCTGCCTGCAGGGGCGCCTGATGCGGTATTTCTCCTT
ACGCATCTGTGCGGTATTTACACCGCATACGTCAAAGCAACCATAGTACGCGCCCTGTAGC
GGCGCATTAAAGCGCGCGGGTGTGGTGGTTACGCGCAGCGTGACCGCTACACTTGGCAGCGC
CCTAGCGCCCGCTCCTTTTCGCTTTCTTCCCTTCTTCTCGCCACGTTCCGCGGCTTTCCCC
GTCAAGCTCTAAATCGGGGGCTCCCTTTAGGGTTCCGATTTAGTGCTTTACGGCACCTCGAC
CCCCAAAACTTGATTTGGGTGATGGTTCACGTAGTGGGCCATCGCCCTGATAGACGGTTTT

10

20

30

40

50

【化 6 7】

TCGCCCCTTTGACGTTGGAGTCCACGTTCTTTAATAGTGGACTCTTGTTCCAAACTGGAACAA
CACTCAACCCCTATCTCGGGCTATTCTTTTGATTTATAAGGGATTTTGCCGATTTTCGGCCTAT
TGGTTAAAAAATGAGCTGATTTAACAAAAATTTAACGCGAATTTTAACAAAATATTAACGTT
TACAATTTTATGGTGCACTCTCAGTACAATCTGCTCTGATGCCGCATAGTTAAGCCAGCCCC
GACACCCGCCAACACCCGCTGACGCGCCCTGACGGGCTTGTCTGCTCCCGGCATCCGCTTAC
AGACAAGCTGTGACCGTCTCCGGGAGCTGCATGTGTGAGAGGTTTTACCGTCATCACCGAA
ACGCGCGAGACGAAAGGGCCTCGTGATACGCCTATTTTTATAGGTTAATGTCATGATAATAA
TGGTTTCTTAGACGTCAGGTGGCACTTTTCGGGGAAATGTGCGCGGAACCCCTATTTGTTTA
TTTTTCTAAATACATTCAAATATGTATCCGCTCATGAGACAATAACCCTGATAAATGCTTCA
ATAATATTGAAAAAGGAAGAGTATGAGTATTCAACATTTCCGIGTCGCCCTTATTCCCTTTT
TTGCGGCATTTTGCCTTCCTGTTTTTGTCTACCCAGAAACGCTGGTGAAAGTAAAAGATGCT
GAAGATCAGTTGGGTGCACGAGTGGGTACATCGAACTGGATCTCAACAGCGGTAAGATCCT
TGAGAGTTTTTCGCCCCGAAGAACGTTTTTCCAATGATGAGCACTTTTAAAGTTCTGCTATGTG
GCGCGGTATTATCCCGTATTGACGCCGGGCAAGAGCAACTCGGTCGCCGCATACACTATTCT
CAGAATGACTTGGTTGAGTACTCACCAGTCACAGAAAAGCATCTTACGGATGGCATGACAGT
AAGAGAATTATGCAGTGCTGCCATAACCATGAGTGATAACACTGCGGCCAACTTACTTCTGA
CAACGATCGGAGGACCGAAGGAGCTAACCGCTTTTTTGCACAACATGGGGGATCATGTAACT
CGCCTTGATCGTTGGGAACCGGAGCTGAATGAAGCCATACCAAACGACGAGCGTGACACCA

10

20

【0138】

いくつかの実施形態では、本明細書において記載されるAVVベクターは、配列番号77と少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%配列同一性のヌクレオチド配列を含む。ベクターc.81.7の例示的なヌクレオチド配列は配列番号77に示される(hGJB2 GRE7には下線を付した;ヒトGJB2コード配列は太字で):

30

40

50

【化 6 8】

CGATGCCTGTAGCAATGGCAACAACGTTGCGCAAACCTATTAACCTGGCGAACTACTTACTCTA
GCTTCCCGGCAACAATTAATAGACTGGATGGAGGCGGATAAAGTTGCAGGACCACTTCTGCG
CTCGGCCCTTCCGGCTGGCTGGTTTTATTGCTGATAAATCTGGAGCCGGTGAGCGIGGGTCTC
GCGGTATCATTGCAGCACTGGGGCCAGATGGTAAGCCCTCCCGTATCGTAGTTATCTACACG
ACGGGGAGTCAGGCAACTATGGATGAACGAAATAGACAGATCGCTGAGATAGGTGCCTCACT
GATTAAGCATTGGTAACTGTCAGACCAAGTTTACTCATATATACTTTAGATTGATTTAAAC
TTCATTTTTAATTTAAAAGGATCTAGGTGAAGATCCTTTTTTGATAATCTCATGACCAAAATC
CCTTAACGTGAGTTTTTCGTTCCACTGAGCGTCAGACCCCGTAGAAAAGATCAAAGGATCTTC
TTGAGATCCTTTTTTTCTGCGCGTAATCTGCTGCTTGCAAACAAAAAACACCGCTACCAG
CGGTGGTTTTGTTTGCCGGATCAAGAGCTACCAACTCTTTTTCCGAAGGTAACCTGGCTTCAGC
AGAGCGCAGATACCAAATACTGTCCTTCTAGTGTAGCCGTAGTTAGGCCACCACTTCAAGAA
CTCTGTAGCACCGCCTACATACCTCGCTCTGCTAATCCTGTTACCAGTGGCTGCTGCCAGTG
GCGATAAGTCGTGTCTTACCGGGTTGGACTCAAGACGATAGTTACCGGATAAGGCGCAGCGG
TCGGGCTGAACGGGGGGTTTCGTGCACACAGCCCAGCTTGGAGCGAACGACCTACACCGAACT
GAGATACCTACAGCGTGAGCTATGAGAAAGCGCCACGCTTCCCGAAGGGAGAAAGGCGGACA
GGTATCCGGTAAGCGGCAGGGTCGGAACAGGAGAGCGCACGAGGGAGCTTCCAGGGGGAAAC
GCCTGGTATCTTTATAGTCCTGTCGGGTTTCGCCACCTCTGACTTGAGCGTCGATTTTTGTG
ATGCTCGTCAGGGGGGCGGAGCCTATGGAAAAACGCCAGCAACGCGGCCTTTTTACGGTTCC
TGGCCTTTTTGCTGGCCTTTTTGCTCACATGTCCTGCAGGCAGCTGCGCGCTCGCTCGCTCACT
GAGGCCGCCCGGGCAAAGCCCGGGCGTCGGGCGACCTTTGGTCGCCCGGCCTCAGTGAGCGA
GCGAGCGCGCAGAGAGGGAGTGGCCAACTCCATCACTAGGGGTTCCTGCGGCCGCACGCGTC
TCAGCTGGAGTGACGCACCTCATCCATGCGGGCCTGGCGTCTGGAAGGTGGCTGGGTCTCTC
GGGCTTGAGCACCATCATCTTAGCTCCAACATGTCATTATTCCTTCCTCACTGAGGACTTTT

10

20

30

40

50

【化 6 9】

CTGCTTCCTAATTGGTTGTTGAAGATGAGGCCCCCATGCTCTTTTAAGAAAACCTGTTGTGC
CCCAGGCTTGGCTGTGATGGGCACTGACTCATACAGAAGTAGAAAGGCCTGCTGAGTCATCA
ACACTCGTGCGACGCCCTCGCATTTTTCATTAATGATGGCCCTCCCTGCCACACGTGAATCACT
CCAGCCCCGAGATCTGAAACCAGGACACACCCCAGGGGCGAGGTGACGCTGAGTGAGCCCAGC
TGTGTCCCTTTTCATGAGAAGCTCAGAGCACAGGGCTCTGTGTGCATGGCCGTCCCTCCAGAG
AGGAGGAAGTAAATGCCGGGATTAGTGAAGATCATTTCCTTCTATTGCTTGGCTTACGT
CTTTCAGAATTCAAACACGTGCACTGTTGACCCTGCAATGCTGGAGTTTTTGGATTTTCCTT
CAGTCCGATTGCTAAAATACTTCCCTCTCATGTGAGCTGTTGTGAAAGTCATCAGCCAGATA
CCATTCTAAAAACAAAGAATGTGCTTCTCGTATGTTGCATGCTGGTTACTGAAATATTAGGG
AATTACATAAAGGTTTTTCTGGGGCACATATTCAAGCTGAATGATAAAATTGAAGGTCACACA
AAGCTAAGGTCTTTCAAATCCTGACCCAATTAGCTCTCTGTTAGCTCTCTGACTTTGGACAA
GCTGTCTGGTCTCTGAAGCATACTTTGTTCCGCTTGGGTAGGGGCCCTCTGTTTTAACAGC
GTTTGGCATTAAATTAAGACCTCGAAGGGGACTTGGGGGGTTCGGGGCTTTCGGGGGCGGTCTG
GGGTTTCGCGGACCCGGGAAGCTCTGAGGACCCAGAGGCCGGGCGCGCTCCGCCCCGCGGCGC
CGCCCCCTCCGTAACTTTCCAGTCTCCGAGGGAAGAGGCGGGGTGTGGGGTGCGGTTAAAA
GGCGCCACGGCGGGAGACAGGTGTTGCGGCCCGCAGCGCCCGCGCGCTCCTCTCCCCGACT
CGGAGCCCCCTCGGCGGCGCCCCGCCCCAGGACCCGCCCTAGGAGCGCAGGAGCCCCAGCGCAGA
GACCCCAACGCGGAGACCCCCGCCCCGCCCCGCGCTTCTCTCCGACGCAGAGCAAACC
GCCCAGAGTAGAAGCC**ATGGATTGGGGCAGCTGCAGACGATCCTGGGGGGTGTGAACAAAC**
ACTCCACCAGCATTGGAAAGATCTGGCTCACCGTCCCTTTCATTTTTCGCATTATGATCCTC
GTTGTGGCTGCAAAGGAGGTGTGGGGAGATGAGCAGGCCGACTTTGTCTGCAACACCCTGCA
GCCAGGCTGCAAGAACGTGTGCTACGATCACTACTTCCCCATCTCCCACATCCGGCTATGGG
CCCTGCAGCTGATCTTCGTGTCCACGCCAGCGCTCCTAGTGGCCATGCACGTGGCCTACCGG
AGACATGAGAAGAAGAGGAAGTTCATCAAGGGGAGATAAAGAGTGAATTTAAGGACATCGA
GGAGATCAAAACCCAGAAGGTCGCGATCGAAGGCTCCCTGTGGTGGACCTACACAAGCAGCA
TCTTCTTCCGGGTCACTTTCGAAGCCGCCTTCATGTACGCTTCTATGTGCATGTACGACGGC
TTCTCCATGCAGCGGCTGGTGAAGTGCAACGCCTGGCCTTGTCCTCAACACTGTGGACTGCTT
TGTGTCCCGGCCACGGAGAAGACTGTCTTCACAGTGTTTCATGATTGCAGTGTCTGGAATTT
GCATCTGCTGAATGTCACTGAATTGTGTTATTTGCTAATTAGATATTGTTCTGGGAAGTCA
AAAAAGCCAGTTTAAAGGCGCGCCACCCCTGCAGGGAATTCCGCATTGCCAGTTGTTAGAT
TAAGAAATAGACAGCATGAGAGGGATGAGGCAACCCGTGCTCAGCTGTCAAGGCTCAGTCGC
TAGCATTTCCCAACACAAAGATTCTGACCTTAAATGCAACCATTGAAACCCCTGTAGGCCT
CAGGTGAAACTCCAGATGCCACAATGGAGCTCTGCTCCCTTAAAGCCTCAAAACAAAGGCCT
AATTCTATGCCTGTCTTAATTTTCTTTCACTTAAGTTAGTTCCTGAGACCCAGGCTGTT
AGGGGTATTGGTGTAAAGGTACTTTTCATATTTTAAACAGAGGATATCGGCATTTGTTTCTTT
CTCTGAGGACAAGAGAAAAAAGCCAGGTTCCACAGAGGACACAGAGAAGGTTTGGGTGTCTT
CCTGGGGTTCTTTTGGCAACTTTCCACAGTTAAAGGTGAACATTGGTTCTTTTCATTGCT
TTGGAAGTTTTAATCTCTAACAGTGGACAAAGTTACCAGTGCCTTAAACTCTGTTACACTTT
TTGGAAGTGAAAACTTTGTAGTATGATAGGTTATTTTGATGTAAAGATGTTCTGGATACCAT
TATATGTTCCCCCTGTTTCAGAGGCTCAGATTGTAATATGTAAATGGTATGTCATTGCTAC
TATGATTTAATTTGAAATATGGTCTTTTGGTTATGAATACTTTGCAGCACAGCTGAGAGGCT
GTCTGTTGTATTTCATTGTGGTTCATAGCACCTAACACATTGTAGCCTCAATCGAGTGAGACA
GACTAGAAGTTTCTAGTGATGGCTTATGATAGCAAATGGCCTCATGTCAAATATTTAGATGT
AATTTTGTGTAAAGAAATACAGACTGGATGTACCACCACTACTACCTGTAATGACAGGCCTG
TCCAACACATCTCCCTTTTCCATGACTGTGGTAGCCAGCATCGGAAAGAACGCTGATTTAAA
GAGGTGCTTGGGAATTTTATTGACACAGTACCATTTAATGGGGAGGACAAAATGGGGCAGG
GGAGGGAGAAGTTTCTGTCTGTTAAAAACAGATTTGGAAAGACTGGACTCTAAAGTCTGTTGA
TTAAAGATGAGCTTTGTCTACTTCAAAAGTTTGTGTTGCTTACCCCTTCAGCCTCCAATTTTT
TAAGTGAAAAATATAGCTAATAACATGTGAAAAGAATAGAAGCTAAGGTTTAGATAAATATTG
AGCAGATCTATAGGAAGATTGAACCTGAATATTGCCATTATGCTTGACATGGTTTTCCAAAAA
ATGGTACTCCACATATTTTCAGTGAGGGTAAGTATTTTCTGTGTGCAAGAATAGCATTGTAA

10

20

30

40

50

【化 7 0】

AAGCATTTTGTAAATAATAAAGAATAGCTTTAATGATATGCTTGTAACATAAAATAATTTTGTG
 ATGTATCAAATACATTTAAACATTAAATATAATCTCTATAATAATTTAAATCTAATATG
 GTTTTAATAGAACAGCGATATCAAGCTTATCGATAATCAACCTCTGGATTACAAAATTTGTG
 AAAGATTGACTGGTATTCCTTAACATATGTTGCTCCTTTTACGCTATGTGGATACGCTGCTTTA
 ATGCCTTTGTATCATGCTATTGCTTCCCGTATGGCTTTTATTTTCTCCTCCTTGTATAAATC
 CTGGTTGCTGTCTCTTTATGAGGAGTTGTGGCCCGTTGTCAGGCAACGTGGCGTGGTGTGCA
 CTGTGTTTGTGACGCAACCCCCACTGGTTGGGGCATTGCCACCACCTGTCAGCTCCTTTCC
 GGGACTTTCGCTTTCCCCCTCCCTATTGCCACGGCGGAACATCGCCGCCGCTTGGCCG
 CTGCTGGACAGGGGCTCGGCTGTTGGGCACTGACAATTCCGTGGTGTGTCGGGGAAATCAT
 CGTCCCTTTCCTTGGCTGCTCGCCTATGTTGCCACCTGGATTCTGCGCGGGACGTCCTTCTGC
 TACGTCCCTTCGGCCCTCAATCCAGCGACCTTCCCTCCCGCGGCCTGCTGCCGGCTCTGCG
 GCCTCTTCCGCGTCTTCGCCTTCGCCCTCAGACGAGTCGGATCTCCCTTTGGGCCGCTCCC
 CGCAATTATCGATAACCGAGCGCTGCTCGAGAGATCTGTGATAGCGGCCATCAAGCTGGCT
 GTGCCTTCTAGTTGCCAGCCATCTGTTGTTTGGCCCTCCCCCGTGCCTTCCCTTGACCCTGGA
 AGGTGCCACTCCCCTGTCCTTTTCTAATAAAATGAGGAAATTCATCGCATTTGTCTGAGTA
 GGTGTCAATCTATTCTGGGGGGTGGGGTGGGGCAGGACAGCAAGGGGGGAGGATTGGGAAGAC
 AATAGCAGGCATGCTGGGGACACGTGCGGACCGAGCGGCCGAGGAACCCCTAGTGATGGAG
 TTGGCCACTCCCTCTCTGCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGGCCGGGCGACCAAAGGTGCCCCG
 ACGCCCGGGCTTTGCCCGGGCGGCCTCAGTGAGCGAGCGAGCGCGAGCTGCCTGCAGGGGC
 GCCTGATGCGGTATTTTCTCCTTACGCATCTGTGCGGTATTTACACCGCATACGTCAAAGC
 AACCATAGTACGCGCCCTGTAGCGGCGCATTAAGCGCGGCGGGTGTGGTGGTTACGCGCAGC
 GTGACCGCTACACTTGCCAGCGCCCTAGCGCCCGCTCCTTTTCGCTTCTTCCCTTCCCTTCT
 CGCCACGTTTCGCCGGCTTTCCCGTCAAGCTCTAAATCGGGGGCTCCCTTTAGGGTTCCGAT
 TTAGTGCTTTACGGCACCTCGACCCCAAAAACTTGATTGTTGGGTGATGGTTACGTAGTGGG
 CCATCGCCCTGATAGACGGTTTTTCGCCCTTTGACGTTGGAGTCCACGTTCTTTAATAGTGG
 ACTCTTGTTCCAAACCTGGAACAACACTCAACCCATCTCGGGCTATTCTTTGATTTATAAG
 GGATTTTGCCGATTTCGGCCTATTGGTTAAAAAATGAGCTGATTTAACAAAAATTTAACGCG
 AATTTTAACAAAATATTAAAGTTTACAATTTTATGGTGCACCTCTCAGTACAAICTGCTCTGA
 TGCCGCATAGTTAAGCCAGCCCCGACACCCGCCAACACCCGCTGACGCGCCCTGACGGGCTT
 GTCTGCTCCCGGCATCCGCTTACAGACAAGCTGTGACCGTCTCCGGGAGCTGCATGTGTCAG
 AGGTTTTACCGTCACTACCGAAACGCGCGAGACGAAAGGGCCTCGTGATACGCCTATTTTT
 ATAGGTAAATGTCATGATAAATATGGTTTCTTAGACGTCAGGTGGCACTTTTCGGGGAAATG
 TGCGCGGAACCCCTATTTGTTTATTTTTCTAAATACATTCAAATATGTATCCGCTCATGAGA
 CAATAACCCTGATAAATGCTTCAATAATATTGAAAAAGGAAGAGTATGAGTATTCAACATTT
 CCGTGTCGCCCTTATTCCCTTTTTTTCGGGCATTTTGCCTTCCCTGTTTTTGTCTACCCAGAAA
 CGCTGGTGAAAGTAAAGATGCTGAAGATCAGTTGGGTGCACGAGTGGGTACATCGAACTG
 GATCTCAACAGCGGTAAAGATCCTTGAGAGTTTTCGCCCCGAAGAAGTTTTCCAATGATGAG
 CACTTTTAAAGTTCTGCTATGTGGCGCGGTATTATCCCGTATTGACGCCGGGCAAGAGCAAC
 TCGGTGCGCCGCATACACTATTCTCAGAATGACTTGGTTGAGTACTCACCAGTCACAGAAAAG
 CATCTTACGGATGGCATGACAGTAAGAGAATTATGCAGTGCTGCCATAACCATGAGTGATAA
 CACTGCGGCCAACTTACTTCTGACAACGATCGGAGGACCGAAGGAGCTAACCGCTTTTTTGC
 ACAACATGGGGGATCATGTAACCTGCCTTGATCGTTGGGAACCGGAGCTGAATGAAGCCATA
 CCAACGACGAGCGTGACACCA

10

20

30

40

【0139】

いくつかの実施形態では、本明細書において記載されるAVVベクターは、配列番号78
 と少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも
 90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なく
 とも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、ま
 たは100%配列同一性のヌクレオチド配列を含む。ベクターc.81.7の例示的なヌクレオ
 チド配列は配列番号78に示される(hGJB2 GRE7には下線を付した;マウスGJB2コード
 配列は太字で):

50

【化 7 1】

CGATGCCCTGTAGCAATGGCAACAACGTTGCGCAAACCTATTAACCTGGCGAACTACTTACTCTA
GCTTCCCGGCAACAATTAATAGACTGGATGGAGGCGGATAAAAGTTGCAGGACCACTTCTGCG
CTCGGCCCTTCCGGCTGGCTGGTTTATTGCTGATAAATCTGGAGCCGGTGAGCGTGGGTCTC
GCGGTATCATTGCAGCACTGGGGCCAGATGGTAAGCCCTCCCGTATCGTAGTTATCTACACG
ACGGGGAGTCAGGCAACTATGGATGAACGAAATAGACAGATCGCTGAGATAGGTGCCTCACT
GATTAAGCATTGGTAACCTGTCAGACCAAGTTTACTCATATATACTTTAGATTGATTTAAAC
TTCATTTTTTAATTTAAAAGGATCTAGGTGAAGATCCTTTTTTGATAATCTCATGACCAAAATC
CCTTAACGTGAGTTTTTCGTTCCACTGAGCGTCAGACCCCGTAGAAAAGATCAAAGGATCTTC
TTGAGATCCITTTTTTCTGCGCGTAATCTGCTGCTTGCAAACAAAAAACCAACCGCTACCAG
CGGTGGTTTTGTTTGCCGGATCAAGAGCTACCAACTCTTTTTCCGAAGGTAACTGGCTTCAGC
AGAGCGCAGATACCAATACTGTCTTCTAGTGTAGCCGTAGTTAGGCCACCACTTCAAGAA
CTCTGTAGCACCAGCTACATACCTCGCTCTGCTAATCCTGTTACCAGTGGCTGCTGCCAGTG
GCGATAAGTCGTGTCTTACCGGGTTGGACTCAAGACGATAGTTACCGGATAAGGCGCAGCGG
TCGGGCTGAACGGGGGGTTCGTGCACACAGCCAGCTTGGAGCGAACGACCTACACCGAACT
GAGATACCTACAGCGTGAGCTATGAGAAAGCGCCACGCTTCCCGAAGGGAGAAAGGCGGACA
GGTATCCGGTAAGCGGCAGGGTCGGAACAGGAGAGCGCACGAGGGAGCTTCCAGGGGGAAAC
GCCTGGTATCTTTATAGTCCTGTGCGGTTTTCGCCACCTCTGACTTGAGCGTCGATTTTTGIG
ATGCTCGTCAGGGGGGCGGAGCCTATGAAAAACGCCAGCAACGCGGCCTTTTTACGGTTC
TGGCCTTTTGCTGGCCTTTTGCTCACATGTCTGCAGGCAGCTGCGCGCTCGCTCGCTCACT
GAGGCCGCCCGGGCAAAGCCCCGGGCGTCGGGCGACCTTTGGTCGCCCCGGCCTCAGTGAGCGA
GCGAGCGCGCAGAGAGGGAGTGGCCAACTCCATCACTAGGGGTTCTGCGGCCGCACGCGTC
TCAGCTGGAGTGACGCACCTCATCCATGCGGGCCTGGCGTCTGGAAGGTGGCTGGGTCTCTC
GGGCTTGAGCACCATCATCTTAGCTCCAACATGTCAATTATTCCTTCCTCACTGAGGACITTT
CTGCTICCIAAATTGGTTGTTGAAGATGAGGCCCCCATGCTCTTTTAAGAAAACCTGTTGTGC
CCCAGGCTTGGCTGTGATGGGCACTGACTCATAAGAGTAGAAAGGCCTGCTGAGTCATCA
ACACTCGTGCAGCGCCCTCGCATTTTCATTAATGATGGCCTCCCTGCCACACGTGAATCACI
CCAGCCCCGAGATCTGAAACCAGGACACACCCCAGGGGCGAGGTGACGCTGAGTGAGCCCAGC
TGTGTCCCTTTTCATGAGAACTCAGAGCACAGGGCTCTGTGTGCATGGCCGTCCCTCCAGAG
AGGAGGAAGTAAATGCCGGGATTAGTGGAAGATCATTTCCCTTCTATTTGCCTTGGCTTACGI
CTTTCAGAATTCAAACACGTGCACTGTTGACCCCTGCAATGGTGGAGTTTTTGGATTTTCCTT
CAGTCCGATTGCTAAAATACTTCCCTCTCATGTGAGCTGTTGTGAAAGTCATCAGCCAGATA
CCATTCTAAAAACAAAGAATGTGCTTCTCGTATGTTGCATGCTGGTTACTGAAATATTAGGG
AATTACATAAAGGTTTTCTGGGGCACATATTCAAGCTGAATGATAAAATTGAAGGTCACACA
AAGCTAAGGTCCTTCAAATCCTGACCCAATTAGCTCTCTGTTAGCTCTCTGACTTTGGACAA
GCTGTCTGGTCTCTGAAGCATACTTTGTTGCCCTGGGTAGGGGCCCTCTGTTTTAACAGC
GTTTGGCATTAAATTAAGACCTCGAAGGGGACTTGGGGGGTTTCGGGGCTTTTCGGGGGCGGTG
GGGTTTCGCGGACCCGGGAAGCTCTGAGGACCCAGAGGCCGGGCGCGCTCCGCCCCGCGGCG
CGCCCCCTCCGTAACTTTCCAGTCTCCGAGGGAAGAGGCGGGGTGTGGGTGCGGTTAAAA
GGCGCCACGGCGGGAGACAGGTGTTGCGGGCCCGCAGCGCCCGCGCGCTCCTCTCCCCGACT
CGGAGCCCCCTCGGCGGCGCCCCGGCCAGGACCCGCTAGGAGCGCAGGAGCCCCAGCGCAGA
GACCCCAACGCCGAGACCCCCGCCCCGGCCCCGCGCTTCTCTCCGACGCAGAGCAAACC
GCCCAGAGTAGAAGCCATGGATTGGGGCACACTCCAGAGCATCCTCGGGGGTGTCAACAAAC
ACTCCACCAGCATTGGAAAGATCTGGCTCACGGTCTCTTTCATCTTCCGCATCATGATCCTC
GTGGTGGCTGCAAAGGAGGTGTGGGGAGATGAGCAAGCCGATTTTGTCTGCAACACGCTCCA
GCCTGGCTGCAAGAATGTATGCTACGACCACCACTTCCCCATCTCTCACATCCGGCTCTGGG
CTCTGCAGCTGATCATGGTGTCCACGCCAGCCCTCCTGGTAGCTATGCATGTGGCCTACCGG
AGACATGAAAAGAAACGGAAGTTCATGAAGGGAGAGATAAAGAACGAGTTTAAGGACATCGA
AGAGATCAAAACCCAGAAGGTCCGTATCGAAGGGTCCCTGTGGTGGACCTACACCACCAGCA

10

20

30

40

50

【化 7 2】

TCTTCTTCCGGGTCATCTTTGAAGCCGTCTTCATGTACGTCTTTTACATCATGTACAATGGC
TTCTTCATGCAACGTCTGGTGAAATGCAACGCTTGGCCCTGCCCAATACAGTGGACTGCTT
CATTTCCAGGCCCACAGAAAAGACTGTCTTCACCGTGTTATGATTTCTGTGTCTGGAATTT
GCATTCTGCTAAATATCACAGAGCTGTGCTATTTGTTCTAGGTATTGCTCAGGAAAGTCC
AAAAGACCAGTCTACCCATACGATGTTCCAGATTACGCTTAAAGGCGCGCCACCCCTGCAGG
GAATTCGCAITGCCAGTTGTTAGATTAAAGAAATAGACAGCATGAGAGGGATGAGGCAACC
CGTGCTCAGCTGTCAAGGCTCAGTCGCTAGCATTTCCCAACACAAAGATTCTGACCTTAAAT
GCAACCATTTGAAACCCCTGTAGGCCCTCAGGTGAAACTCCAGATGCCACAATGGAGCTCTGC
TCCCCTAAAGCCTCAAAACAAAGGCCATAATTCTATGCCTGTCTTAATTTTCTTTCACTTAAG
TTAGTTCCACTGAGACCCAGGCTGTTAGGGGTTATTGGTGTAAGGTACTTTTCATATTTTAA
ACAGAGGATATCGGCATTTGTTTCTTTCTCTGAGGACAAGAGAAAAAGCCAGGTTCCACAG
AGGACACAGAGAAGGTTTGGGTGTCCTCTGGGGTTCTTTTGGCAACTTTCCCCACGTTAA
AGGTGAACATTGGTTCTTTTCATTTTGCTTTGGAAAGTTTAACTCTTAACAGTGGACAAAGTTA
CCAGTGCCCTTAAACTCTGTTACACTTTTTGGAAAGTGAACCTTTGTAGTATGATAGGTTATT
TTGATGTAAAGATGTTCTGGATACCATTATATGTTCCCCCTGTTTCAGAGGCTCAGATTGTA
ATATGTAAATGGTATGTCATTTCGCTACTATGATTTAATTTGAAATATGGTCTTTTGGTTATG
AATACTTTGCAGCACAGCTGAGAGGCTGTCTGTGTATTCAATTGTGGTCATAGCACCTAACA
ACATTGTAGCCTCAATCGAGTGAGACAGACTAGAAGTTCCTAGTGATGGCTTATGATAGCAA
ATGGCCTCATGTCAAATATTTAGATGTAATTTTGTGTAAGAAATACAGACTGGATGTACCAC
CAACTACTACCTGTAATGACAGGCCTGTCCAACACATCTCCCTTTTCCATGACTGTGGTAGC
CAGCATCGGAAAGAAGCGTGATTTAAAGAGGTGCGCTTGGGAATTTTATTGACACAGTACCAT
TTAATGGGGAGGACAAAATGGGGCAGGGGAGGGAGAGTTTCTGTCTGTTAAAAACAGATTG
GAAAGACTGGACTCTAAAGTCTGTTGATTAAAGATGAGCTTTGTCTACTTCAAAAGTTTGT
TGCTTACCCCTTCAGCCTCCAATTTTTTAAGTGAATAATAGCTAATAACATGTGAAAGAA
TAGAAGCTAAGGTTTAGATAAATATTGAGCAGATCTATAGGAAGATTGAACCTGAATATTGC
CATTATGCTTGACATGGTTTTCCAAAAATGGTACTCCACATATTCAGTGAGGGTAAGTATT
TTCCTGTTGTCAAGAATAGCATTGTAAAAGCATTTTGTAATAATAAAGAATAGCTTTAATGA
TATGCTTGTAATAAATAAATTTTGTAAATGTATCAAATACATTTAAACATTAAATATAAT
CTCTATAATAATTTAAATCTAATATGGTTTTAATAGAACAGCGATATCAAGCTTATCGATA
ATCAACCTCTGGATTACAAAATTTGTGAAAGATTGACTGGTATTCTTAACATATGTTGCTCCT
TTTACGCTATGTGGATACGCTGCTTTAATGCCTTTGTATCATGCTATTGCTTCCCGTATGGC
TTTCATTTTCTCCTCCTTGTATAAATCCTGGTTGCTGTCTTTATGAGGAGTTGTGGCCCG
TTGTACAGCAACGTGGCGTGGTGTGCACTGTGTTTGTGACGCAACCCCCACTGGTTGGGGC
ATTGCCACCACCTGTACGCTCCTTTCCGGGACTTTTCGCTTTCCCCCTCCCTATTGCCACGGC
GGAACCTCATCGCCGCTGCCTTGCCCGCTGTCTGGACAGGGGCTCGGCTGTTGGGCACTGACA
ATTCCGTGGTGTGTGCGGGGAAATCATCGTCCTTTCCCTTGGCTGCTCGCCTATGTTGCCACC
TGGATTCTGCGCGGGACGTCTTCTGCTACGTCCCTTCGGCCCTCAATCCAGCGGACCTTCC
TTCCCGCGGCCTGCTGCCGGCTCTGCGGCCTTTCCCGCTCTTCGCTTCGCCCTCAGACGA
GTCGGATCTCCCTTTGGGCCGCTCCCGCGGAATTCATCGATACCGAGCGCTGCTCGAGAGA
TCTGTGATAGCGCCATCAAGCTGGCTGTGCCTTCTAGTTGCCAGCCATCTGTTGTTTGCCC
CTCCCCCGTGCCTTCTTGACCCCTGGAAGGTGCCACTCCCACTGTCTTTCTTAATAAAATG
AGGAAATTGCATCGCATTGTCTGAGTAGGTGTCAATCTATTCTGGGGGTGGGGTGGGGCAG
GACAGCAAGGGGGAGGATTGGGAAGACAATAGCAGGCATGCTGGGGACACGTGCGGACCGAG
CGGCCGAGGAACCCCTAGTGATGGAGTTGGCCACTCCCTCTCTGCGCGCTCGCTCGCTCAC
TGAGGCCGGGCGACCAAGGTGCCCCGACGCCCGGGCTTTGCCCGGGCGGCCTCAGTGAGCG
AGCGAGCGCGCAGCTGCCTGCAGGGGCGCCTGATGCGGTATTTTCTCCTTACGCATCTGTGC
GGTATTTTACACCGCATACGTCAAAGCAACCATAGTACGCGCCCTGTAGCGGCGCATTAAGC
GCGGCGGGTGTTGGTGGTTACGCGCAGCGTGACCGCTACACTTGCCAGCGCCCTAGCGCCCGC
TCCTTTTCGCTTTCTCCCTTCTTCTCGCCACGTTTCGCGGCTTTCCCGCTCAAGCTCTAA
ATCGGGGGCTCCCTTTAGGGTTCCGATTTAGTGCTTTACGGCACCTCGACCCCAAAAACTT
GATTTGGGTGATGGTTCACGTAGTGGCCATCGCCCTGATAGACGGTTTTTTCGCCCTTTGAC

10

20

30

40

50

【化 7 3】

GTTGGAGTCCACGTTCTTTAATAGTGGACTCTTGTTCCTAACTGGAACAACACTCAACCCTA
 TCTCGGGCTAATTCTTTTGATTTATAAGGGATTTTGCCGATTTTCGGCCTATTGGTTAAAAAAT
 GAGCTGATTTAACAAAAATTTAACGCGAATTTTAACAAAAATATTAACGTTTACAATTTTATG
 GTGCACTCTCAGTACAATCTGCTCTGATGCCGCATAGTTAAGCCAGCCCCGACACCCGCCAA
 CACCCGCTGACGCGCCCTGACGGGCTTGTCTGCTCCCGGCATCCGCTTACAGACAAGCTGTG
 ACCGTCTCCGGGAGCTGCATGTGTCTCAGAGGTTTTTACCCTCATCACCGAAACGCGCGAGACG
 AAAGGGCCTCGTGATACGCCTATTTTTTATAGGTTAATGTCATGATAATAATGGTTTCTTAGA
 CGTCAGGTGGCACTTTTTCGGGGAAATGTGCGCGGAACCCCTATTTGTTTATTTTTCTAAATA
 CATTCAAATAIGTATCCGCTCATGAGACAATAACCCCTGATAAATGCTTCAATAATATTGAAA
 AAGGAAGAGTATGAGTATTCAACATTTCCGTGTGCGCCCTTATTCCCTTTTTTTCGGGCATTTT
 GCCTTCCTGTTTTTTGTCTACCCAGAAACGCTGGTGAAAGTAAAAGATGCTGAAGATCAGTTG
 GGTGCACGAGTGGGTTACATCGAACTGGATCTCAACAGCGGTAAGATCCTTGAGAGTTTTTCG
 CCCCAGAAGACGTTTTTCCAATGATGAGCACTTTTAAAGTTCTGCTATGTGGCGCGGTATTAT
 CCCGTATTGACGCCGGGCAAGAGCAACTCGGTCGCCGCATACACTATTCTCAGAATGACTTG
 GTTGAGTACTCACCAGTACACAGAAAAGCATCTTACGGATGGCATGACAGTAAGAGAATTATG
 CAGTGCTGCCATAACCATGAGTGATAACACTGCGGCCAACTTACTTCTGACAACGATCGGAG
 GACCGAAGGAGCTAACCGCTTTTTTGCACAACATGGGGGATCATGTAACCTCGCCTTGATCGT
 TGGGAACCGGAGCTGAATGAAGCCATACCAAACGACGAGCGTGACACCA

10

【0 1 4 0】

20

いくつかの実施形態では、本明細書において記載されるAAVベクターは、AAV 5' ITR、GJB2 GREエンハンサー(hGJB2 GRE8)、GJB2基本プロモーター、GJB2エクソン1の5' UTR、コザック配列、遺伝子産物(例、GJB2またはGFP)をコードするヌクレオチド配列、GJB2エクソン2の3' UTR、WPRE、ウシ成長ホルモンポリAシグナル、およびAAV 3' ITRを含む(例、ベクターc.81.8)。

【0 1 4 1】

いくつかの実施形態では、本明細書において記載されるAVVベクターは、配列番号79と少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%配列同一性のヌクレオチド配列を含む。ベクターc.81.8の例示的なヌクレオチド配列は配列番号79に示される(hGJB2 GRE8には下線を付した;eGFPコード配列は太字で)：

30

【0 1 4 2】

【化 7 4】

[00142] CGATGCCTGTAGCAATGGCAACAACGTTGCGCAAACCTATTAACCTGGCGAACTACTT
 ACTCTAGCTTCCCGGCAACAATTAATAGACTGGATGGAGGCGGATAAAGTTGCAGGACCACT
 TCTGCGCTCGGCCCTTCCGGCTGGCTGGTTTATTGCTGATAAATCTGGAGCCGGTGAGCGTG
 GGTCTCGCGGTATCATTGCAGCACTGGGGCCAGATGGTAAGCCCTCCCGTATCGTAGTTATC
 TACACGACGGGGAGTCAGGCAACTATGGATGAACGAAATAGACAGATCGCTGAGATAGGTGC
 CTCACTGATTAAAGCATTGGTAACTGTCAGACCAAGTTTACTCATATATACTTTAGATTGATT
 TAAAACCTTCATTTTTTAATTTAAAAGGATCTAGGTGAAGATCCTTTTTTGATAATCTCATGACC
 AAAATCCCTTAACGTGAGTTTTTCGTTCCACTGAGCGTCAGACCCCGTAGAAAAGATCAAAGG
 ATCTTCTTGAGATCCTTTTTTTCTGCGCGTAATCTGCTGCTTGCAAACAAAAAACCACCGC
 TACCAGCGGTGGTTTTGTTTGCCGGATCAAGAGCTACCAACTCTTTTTCCGAAGGTAACCTGGC
 TTCAGCAGAGCGCAGATACCAAATACTGTCCTTCTAGTGTAGCCGTAGTTAGGCCACCACTT
 CAAGAACTCTGTAGCACCGCCTACATACCTCGCTCTGCTAATCCTGTTACCAGTGGCTGCTG
 CCAGTGGCGATAAGTCGTGTCTTACCGGGTTGGACTCAAGACGATAGTTACCGGATAAGGCG
 CAGCGGTGCGGCTGAACGGGGGGTTCTGTCACACAGCCCAGCTTGGAGCGAACGACCTACAC
 CGAACTGAGATACCTACAGCGTGAGCTATGAGAAAGCGCCACGCTTCCCGAAGGGAGAAAGG

40

50

【化 7 5】

CGGACAGGTATCCGGTAAGCGGCAGGGTCGGAACAGGAGAGCGCACGAGGGAGCTTCCAGGG
GGAAACGCCTGGTATCTTTATAGTCCTGTCTGGGTTTCGCCACCTCTGACTTGAGCGTCGATT
TTTGTGATGCTCGTCAGGGGGGCGGAGCCTATGGAAAAACGCCAGCAACCGGGCCTTTTTAC
GGTTCCTGGCCTTTTGTCTGGCCTTTTGTCTACATGTCTGCAGGCAGCTGCGCGCTCGCTCG
CTCACTGAGGCCCGCCCGGGCAAAGCCCGGGCGTCTGGGCGACCTTTGGTCTGCCCCGGCCTCAGT
GAGCGAGCGAGCGCGCAGAGAGGGAGTGGCCAACTCCATCACTAGGGGTTTCTGCGGCCGCA
CGCGTCGACCTGAACGATTAAGGCAAAACTTCGAAATGTGCCCCAGCAGAGATTTATTTTTC
AGGGGGTGTTTTGCATTCCAGCCCCCTCTGCCTTCTTGGCGTTTAGTGCGATTTGTTTAGCCA
TGTGCTCCCTGGTGTGTGTTTTGAATGTGTGTGAGATGGGTTGTCTCTCGGGACCTGGCAG
GTGCGGCCACCAAGGTCAGGGCTGCCCCCAACCCTGTGCCTCCTTCTCTAGACTCTGGCC
CCCTCAGTGTGAGGGTGATACAGAGCACTTTTCAAGCTGGATTGGAATGTGGCCTCTCCC
CTCCAACTCCTGGAGATCATGCAAAGGCCCTTTGGAGCCAGCCAGTCACCTGGAAGGTGACA
TTCCCACCAGCTGAGGCCTCACCTTCAGCGGGGGCTGGGCAGCTTTGGAGCCTGGGGCCAGC
CAAGCTCACTCTGCCCATATCCCTGCCACGTGTGGCCAGCGGATGATCACCTGTCTTTCATC
TGCGTACTGGGCCACATCCCTCCTGCCGTCCCCCACTTCCCTGATGACACCTACAGCAAGCC
CCTACCCAAGTGTCTGTGATCCCCTGTAAATGTGGCCTCCCTAGCTACTTGCTTTTATGAA
ACCAACAATCCTGGGGACACAGTTTTTCGGCTGTCTCAAGACGGGGCAACCACTCTTTTCCC
AGGCCTGTGGGTCCCAGGCCTGGAGCTAGGGTTGGCATTCTTGCTGAATTCTCCACTCTAT
CCCAACCCCTGAGGCCCGCTGAGGAGGCTCAGACTGTGTCAAGCTAGGAGGACAGTCAAACC
ACAAAAACATGCCTTTTAAAGAAGTATAAGCACAAATCCCTCTTTGATGTTATATAAAAGCTC
AGTGTCACTTTAATTAAGACCTCGAAGGGGACTTGGGGGTTTCGGGGCTTTTCGGGGGCGGT
GGGGGTTTCGCGGACCCGGGAAGCTCTGAGGACCCAGAGGCCGGGCGCTCCGCCCCGCGCG
CCGCCCCCTCCGTAACCTTTCCAGTCTCCGAGGGAAGAGCGGGGTGTGGGGTGCAGTTAA
AGCGCCACCGCGGGAGACAGGTGTTGCGGCCCGCAGCGCCCGCGCTCTCTCCCGAC
TCGGAGCCCCCTCGGCGGCGCCCGGCCAGGACCCGCTAGGAGCGCAGGAGCCCCAGCGCAG
AGACCCCAACGCGAGACCCCGCCCCGCGCCCGCGCGCTTCTTCCGACGCAGAGCAAAC
CGCCAGAGTAGAAGCCATGGTGAGCAAGGGCGAGGAGCTGTTACCGGGGTGGTGCCCATC
CTGGTTCGAGCTGGACGGCGACGTAAACGGCCACAAGTTCAGCGTGTCCGGCGAGGGCGAGGG
CGATGCCACCTACGGCAAGCTGACCCTGAAGTTCATCTGCACCACCGCAAGCTGCCCCGTGC
CCTGGCCCCACCTCGTGACCACCCTGACCTACGGCGTGCTGCTTACGCCGCTACCCCGAC
CACATGAAGCAGCAGCACTTCTTCAAGTCCGCCATGCCCCAAGGCTACGTCCAGGAGCGCAC
CATCTTCTTCAAGGACGACGGCAACTACAAGACCCGCGCCGAGGTGAAGTTCGAGGGCGACA
CCCTGGTGAACCGCATCGAGCTGAAGGGCATCGACTTCAAGGAGGACGGCAACATCCTGGGG
CACAAGCTGGAGTACAACATAACAGCCACAACGTCTATATCATGSCCGACAAGCAGAAGAA
CGGCATCAAGGTGAACCTCAAGATCCGCCACAACATCGAGGACGGCAGCGTGCAGCTCGCCG
ACCACTACCAGCAGAACACCCCATCGGCGACGGCCCCGTGCTGCTGCCCCGACAACCACTAC
CTGAGCACCCAGTCCGCCCTGAGCAAAGACCCCAACGAGAAGCGCGATCACATGGTCTCTGCT
GGAGTTCGTGACCGCGCGGGATCACTCTCGGCATGGACGAGCTGTACAAGTAAATAAAGGC
GCGCCACCCCTGCAGGGAATTCCGCATTGCCAGTTGTTAGATTAAAGAAATAGACAGCATGA
GAGGGATGAGGCAACCCGTGCTCAGCTGTCAAGGCTCAGTCGCTAGCATTTCCTAACACAAA
GATTCTGACCTTAAATGCAACCATTTGAAACCCCTGTAGGCCTCAGGTGAAACTCCAGATGC
CACAATGGAGCTCTGCTCCCCCTAAAGCCTCAAAACAAAGGCCTAATTCTATGCCTGTCTTAA
TTTTCTTTTCACTTAAAGTTAGTTCCTGAGACCCAGGCTGTTAGGGGTTATTGGTGTAAGG
TACTTTTCATATTTTAAACAGAGGATATCGGCATTTGTTTCTTCTCTGAGGACAAGAGAAAA
AAGCCAGGTTCACAGAGGACACAGAGAAGTTTGGGTGTCTCTCGGGGTTCTTTTTGCCA
ACTTTCCCCACGTTAAAGGTGAACATTGGTTCTTTTCACTTTGCTTTGGAAGTTTTAATCTCTA
ACAGTGAGACAAAGTTACCAGTGCCTTAAACTCTGTACACTTTTGGAAAGTGAAAACCTTTGT
AGATGATAGGTTATTTTGTATGTAAGATGTTCTGGATACCATATATGTTCCCCCTGTTTC
AGAGGCTCAGATTGTAATATGTAATGGTATGTCATTTCGCTACTATGATTAAATTGAAATA
TGGTCTTTTGGTTATGAATACTTTGCAGCACAGCTGAGAGGCTGTCTGTTGTATTCAATTGTG
GTCATAGCACCTAACAACATTGTAGCCTCAATCGAGTGAGACAGACTAGAAGTTCTAGTGA

10

20

30

40

50

【化 7 6】

TGGCTTATGATAGCAAATGGCCCATGTCAAATATTTAGATGTAATTTTGTGTAAGAAATAC
 AGACTGGATGTACCACTACTACCTGTAATGACAGGCCTGTCCAACACATCTCCCTTTT
 CCATGACTGTGGTAGCCAGCATCGGAAAGAACGCTGATTTAAAGAGGTCGCTTGGGAATTTT
 ATTGACACAGTACCATTTAATGGGGAGGACAAAATGGGGCAGGGGAGGGAGAAGTTTCTGTC
 GTTAAAAACAGATTTGGAAAGACTGGACTCTAAAGTCTGTTGATTAAAGATGAGCTTTGTCT
 ACTTCAAAAGTTTGTGTTGCTTACCCCTTCAGCCTCCAATTTTTTAAGTGAAAAATATAGCTAA
 TAACATGTGAAAAGAATAGAAGCTAAGGTTTAGATAAAATATTGAGCAGATCTATAGGAAGAT
 TGAACCTGAATATTGCCATTATGCTTGACATGCTTTCCAAAAAATGGTACTCCACATATTTTC
 AGTGAGGGTAAGTATTTTCTGTTGTCAAGAATAGCATTGTAAAAGCATTGTGTAATAATAA
 AGAATAGCTTTAATGATATGCTTGTAACTAAAAATAATTTTGTAAATGTATCAAATACATTTAA
 AACATTAATAATATAATCTCTATAATAATTTAAAAATCTAATATGGTTTTAATAGAACAGCGAT
 ATCAAGCTTATCGATAATCAACCTCTGGATTACAAAATTTGTGAAAAGATTGACTGGTATTCT
 TAACTATGTTGCTCCTTTTACGCTATGTGGATACGCTGCTTTAATGCCTTTGTATCATGCTA
 TTGCTTCCCGTATGGCTTTTCAATTTCTCCTCCTTGTATAAAATCCTGGTTGCTGTCTCTTTAT
 GAGGAGTTGTGGCCCGTTGTGTCAGGCAACGTGGCGTGGTGTGCACTGTGTTTGTGCTGACGCAAC
 CCCCCTGGTTGGGGCATTGCCACACCTGTGCTGCTTTTCCGGGACTTTCGCTTTCCCTTCCCT
 TCCCTATTGCCACGGCGGAATTCATCGCCGCTGCTTGGCCGCTGCTGACAGGGGCTCGG
 CTGTTGGGCACTGACAATTCCGTTGGTGTGTCGGGGAAATCATCGTCTTTTCTTGGCTGCT
 CGCTATGTTGCCACCTGGATTCTGCGCGGGACGTCTTCTGCTACGTCCTTCCGGCCCTCA
 ATCCAGCGGACCTTCTTCCCGCGGCTGCTGCGGGCTCTGCGGCCCTTCCCGCTCTTCGC
 CTTTCGCCCTCAGACGAGTCGGATCTCCCTTTGGGCGGCTCCCGCGAATTCATCGATACCG
 AGCGCTGCTCGAGAGATCTGTGATAGCGCCATCAAGCTGGCTGTGCTTCTAGTTGCCAGC
 CATCTGTTGTTTGGCCCTCCCGTGCCTTCTTACCCTGGAAGGTGCCACTCCCCTGCTC
 CTTTCTAATAAAATGAGGAAATTGCATCGCATTGTCTGAGTAGGTGTCTATTCTATTTGGG
 GGGTGGGGTGGGGCAGGACAGCAAGGGGGAGGATTGGGAAGACAATAGCAGGCAATGCTGGGG
 ACACGTGCGGACCGAGCGGCCGAGGAACCCCTAGTGATGGAGTTGGCCACTCCCTCTCTGC
 GCGCTCGCTCGCTCACTGAGGCGGGCGACCAAGGTGCGCCGACGCGCGGGCTTTGCCCCG
 GCGGCTCAGTGAGCGAGCGAGCGCGCAGCTGCCTGCAGGGGCGCTGATGCGGTATTTTCT
 CCTTACGCATCTGTGCGGTATTTACACCCGCATACGTCAAAGCAACCATAGTACGCGCCCTG
 TAGCGGCGCATTAAGCGCGGCGGGTGTGGTGGTTACGCGCAGCGTGACCGCTACACTTGCCA
 GCGCCCTAGCGCCCGCTCCTTTCGCTTCTTCCCTTCTTCTCGCCACGTTGCGCGGCTTT
 CCCCCTCAAGCTCTAAATCGGGGGCTCCCTTTAGGGTTCGGATTTAGTGCTTTACGGCACCT
 CGACCCCAAAAAATGATTTGGGTGATGGTTACGCTAGTGGGCCATCGCCCTGATAGACGG
 TTTTTCGCCCTTTGACGTTGGAGTCCACGTCTTTAATAGTGGACTCTTGTTCAAAATGGA
 ACAACACTCAACCTATCTCGGGCTATTCTTTTGTATTTATAAGGGATTTTGGCGATTTGCGC
 CTATTGGTTAAAAAATGAGCTGATTTAAACAAAAATTTAACGCGAATTTTAAACAAAAATATAA
 CGTTTACAATTTTATGGTGCATCTCAGTACAATCTGCTCTGATGCCGCATAGTTAAGCCAG
 CCCCAGACCCGCCAACACCCGCTGACGCGCCCTGACGGGCTTGTCTGCTCCCGGCATCCGC
 TTACAGACAAGCTGTGACCGTCTCCGGGAGCTGCATGTGTCAGAGGTTTTACCGTCATCAC
 CGAAACGCGCGAGACGAAAGGGCTCGTGATACGCTATTTTATAGGTTAATGTCATGATA
 ATAATGGTTTCTTAGACGTCAGGTGGCACTTTTCGGGGAAATGTGCGCGGAACCCCTATTTG
 TTTATTTTCTAAATACATTCAAATATGTATCCGCTCATGAGACAATAACCTGATAAATGC
 TTCAATAATATTGAAAAAGGAAGAGTATGAGTATTCAACATTTCCGTGTGCGCCCTATTCCC
 TTTTTTGGCGCATTTTGCCTTCCCTGTTTTTGTCTACCCAGAAACGCTGGTGAAAGTAAAAAGA
 TGCTGAAGATCAGTTGGGTGCACGAGTGGGTACATCGAACTGGATCTCAACAGCGGTAAGA
 TCCTTGAGAGTTTTTCGCCCCGAAGAACGTTTTTCCAATGATGAGCACTTTTAAAGTTCTGCTA
 TGTGGCGCGGTATTATCCCGTATTGACGCCGGGCAAGAGCAACTCGGTCGCGCATACACTA
 TTCTCAGAATGACTTGGTTGAGTACTACACAGTACAGAAAAAGCATCTTACGGATGGCATGA
 CAGTAAGAGAATTATGCAGTGTGCTGCCATAACCATGAGTGATAAACTGCGGCCAATTACTT
 CTGACAACGATCGGAGGACCGAAGGAGCTAACCCTTTTTTGCACAACATGGGGGATCATGT

10

20

30

40

【化 7 7】

AACTCGCCTTGATCGTTGGGAACCGGAGCTGAATGAAGCCATACCAAACGACGAGCGTGACA
 CCA

【0 1 4 3】

いくつかの実施形態では、本明細書において記載されるAVVベクターは、配列番号80
 と少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも
 90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なく
 とも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、ま

50

たは100%配列同一性のヌクレオチド配列を含む。ベクターc.81.8の例示的なヌクレオチド配列は配列番号80に示される(hGJB2 GRE8には下線を付した;ヒトGJB2コード配列は太字で):

【化78】

CGATGCCTGTAGCAATGGCAACAACGTTGCGCAAACCTATTAACCTGGCGAACTACTTACTCTA
GCTTCCCGGCAACAATTAATAGACTGGATGGAGGCGGATAAAAGTTGCAGGACCACTTCTGCG
CTCGGCCCTTCCGGCTGGCTGGTTTATTGCTGATAAATCTGGAGCCGGTGAGCGTGGGTCTC
GCGGTATCATTCAGCACTGGGGCCAGATGGTAAGCCCTCCCGTATCGTAGTTATCTACACG
ACGGGGAGTCAGGCAACTATGGATGAACGAAATAGACAGATCGCTGAGATAGGTGCCTCACT
GATTAAGCATTTGGTAACTGTCAGACCAAGTTTACTCATATATACTTTAGATTGATTTAAAC
TTCATTTTTAATTTAAAAGGATCTAGGTGAAGATCCTTTTTTGATAATCTCATGACCAAAATC
CCTTAACGTGAGTTTTTCGTTCCACTGAGCGTCAGACCCCGTAGAAAAGATCAAAGGATCTTC
TTGAGATCCTTTTTTTCTGCGCGTAATCTGCTGCTTGCAAACAAAAAAACCACCGCTACCAG
CGGTGGTTTTGTTTGCCGGATCAAGAGCTACCAACTCTTTTTCCGAAGGTAACCTGGCTTCAGC
AGAGCGCAGATACCAATACTGTCCTTCTAGTGTAGCCGTAGTTAGGCCACCACTTCAAGAA
CTCTGTAGCACCGCCTACATACCTCGCTCTGCTAATCCTGTTACCAGTGGCTGCTGCCAGTG
GCGATAAGTCGTGTCTTACCGGGTTGGACTCAAGACGATAGTTACCGGATAAGGCGCAGCGG
TCGGGCTGAACGGGGGGTTTCGTGCACACAGCCCAGCTTGGAGCGAACGACCTACACCGAACT
GAGATACCTACAGCGTGAGCTATGAGAAAGCGCCACGCTTCCCGAAGGGAGAAAGGCGGACA
GGTATCCGGTAAGCGGCAGGGTCGGAACAGGAGAGCGCACGAGGGAGCTTCCAGGGGGAAAC
GCCTGGTATCTTTATAGTCTGTCGGGTTTCGCCACCTCTGACTTGAGCGTCGATTTTTTGIG
ATGCTCGTCAGGGGGGCGGAGCCTATGGAAAAACGCCAGCAACGCGGCCTTTTTACGGTTCC
TGGCCTTTTGCTGGCCTTTTGCTCACATGTCCTGCAGGCAGCTGCGCGCTCGCTCGCTCACT
GAGGCCGCCCGGGCAAAGCCCGGGCGTTCGGGCGACCTTTGGTCGCCCGGCCTCAGTGAGCGA
GCGAGCGCGCAGAGAGGGAGTGGCCAACTCCATCACTAGGGGTTCCCTGCGGCCGCGACGCTC
GACCTGAACGATTAAGGCAAACTTCGAAATGTGCCCCAGCAGAGATTTATTTTTTCAGGGGG
TGTTTTGCATTCAGCCCCCTCTGCCCTTCCTGGCGTTTAGTGCGATTTGTTTAGCCATGTGCT
CCCTGGTGTGTGTTTTTTGAATGTGTGTGAGATGGGTTGTCTCTCGGGACCTGGCAGGTGCGG
CCACCAGGTGAGGGCTGCCCCCAACCCTGTGCCTCCTTCCTCCTAGACTCTGGCCCCCTCA
GTGCTGAGGGTGATACAGAGCACTTTTCAAGCTGGATTTGGAATGTGGCCTCTCCCCCTCCAA
ACTCCTGGAGATCATGCAAAGGCCTTTGGAGCCAGCCAGTCACCTGGAAGGTGACATTCCCA
CCAGCTGAGGCCTCACCTTCAGCGGGGGCTGGGCAGCTTTGGAGCCTGGGGCCAGCCAAGCT
CACTCTGCCCATATCCCTGCCACGTGTGGCCAGCGGATGATCACCTGTCTTCATCTGCGTA
CTGGGCCACATCCCTCCTGCCGTCCCCCACTTCCCTGATGACACCTACAGCAAGCCCCCTACC
CAAGTGTTCTGTGATCCCCTGTAAATGTGGCCTCCCTAGCTACTTGCTTTTATGAAACCAAC
AATCCTGGGGACACAGTTTTTCGGCTGTCTCAAGACGGGGCAACCACTCTTTTCCCAGGCCT
GTGGGTCCCAGGCCTGGAGCTAGGGTTGGCATTCTTGCTTGAATTCTCCACTCTATCCCAAC
CCCTGAGGCCGCTGAGGAGGCTCAGACTGTGTCAGGCTAGGAGGACAGTCAAACCACAAAA
ACATGCCTTTTAAGAAGTATAAGCACAAATCCCTCTTTGATGTTATATAAAAGCTCAGTGTC
ACTTTAATTAAGACCTCGAAGGGGACTTGGGGGGTTTCGGGGCTTTTCGGGGGCGGTGCGGGGT
TCGCGGACCCGGGAAGCTCTGAGGACCCAGAGGCCGGGCGCGCTCCGCCCGCGGCGCGGCC
CCTCCGTAACTTTCCCAGTCTCCGAGGGAAGAGGCGGGGTGTGGGGTGCGGTTAAAGGCGC

10

20

30

40

【化 7 9】

CACGGCGGGAGACAGGTGTTGCGGCCCGCAGCGCCCGCGCGCTCCTCTCCCCGACTCGGAG
CCCCTCGGCGGGCGCCCGGCCAGGACCCGCCTAGGAGCGCAGGAGCCCCAGCGCAGAGACCC
CAACGCCGAGACCCCCGCCCCGGCCCCGCCGCGCTTCCTCCCGACGCAGAGCAAACCGCCCA
GAGTAGAAGCC**ATGGATTGGGGCACGCTGCAGACGATCCTGGGGGGTGTGAACAAACACTCC**
ACCAGCATTGGAAAGATCTGGCTCACCGTCCTCTTCATTTTTTCGCATTATGATCCTCGTTGT
GGCTGCAAAGGAGGTGTGGGGAGATGAGCAGGCCGACTTTGTCTGCAACACCCCTGCAGCCAG
GCTGCAAGAACGTGTGCTACGATCACTACTTCCCCATCTCCACATCCGGCTATGGGCCCTG
CAGCTGATCTTCGTGTCCACGCCAGCGCTCCTAGTGGCCATGCACGTGGCCTACCGGAGACA
TGAGAAGAAGAGGAAGTTCATCAAGGGGGAGATAAAGAGTGAATTTAAGGACATCGAGGAGA
TCAAAACCCAGAAGGTCCGCATCGAAGGCTCCCTGTGGTGGACCTACACAAGCAGCATCTTC
TTCCGGGTCACTCTTCGAAGCCGCCTTCATGTACGTCTTCTATGTCATGTACGACGGCTTCTC
CATGCAGCGGCTGGTGAAGTGAACGCCCTGGCCTTGTCCTCAACACTGTGGACTGCTTTGTGT
CCCGGCCACGGAGAAGACTGTCTTACAGTGTTCATGATTGCAGTGTCTGGAATTTGCATC
CTGCTGAATGTCACTGAATTGTGTTATTTGCTAATTAGATATTGTTCTGGGAAGTCAAAAAA
GCCAGTTTAAAGGCGCGCCACCCCTGCAGGGAATTCGCGATTGCCAGTTGTTAGATTAAAGA
AATAGACAGCATGAGAGGGATGAGGCAACCCGTGCTCAGCTGTCAAGGCTCAGTCGCTAGCA
TTTCCCAACACAAAGATTCTGACCTTAAATGCAACCATTTGAAACCCCTGTAGGCCTCAGGT
GAAACTCCAGATGCCACAATGGAGCTCTGCTCCCCTAAAGCCTCAAAACAAAGGCCTAATTC
TATGCTGTCTTAATTTTCTTTCACTTAAGTTAGTTCCACTGAGACCCAGGCTGTTAGGGG
TTATTGGTGTAAGGTACTTTCATATTTTAAACAGAGGATATCGGCATTTGTTTCTTTCTCTG
AGGACAAGAGAAAAAAGCCAGGTTCCACAGAGGACACAGAGAAGGTTTGGGIGTCCTCCTGG
GGTCTTTTTTGCCAACCTTTCCCCACGTTAAAGGTGAACATTGGTCTTTTCATTTGCTTTGGA
AGTTTAAATCTCTAACAGTGGACAAAGTTACCAGTGCCTTAACTCTGTTACACTTTTTGGA
AGTGAACACTTTGTAGTATGATAGGTTATTTTGAIGTAAAGATGTTCTGGATACCATTATAT
GTTCCCCCTGTTTTCAGAGGCTCAGATTGTAATATGTAATGGTATGTCATTGCTACTATGA
TTTAATTTGAAATATGGTCTTTTGGTTATGAATACTTTGCAGCACAGCTGAGAGGCTGTCTG
TTGTATTCAATTGTGGTCAATGACCTAACAACATTGTAGCCTCAATCGAGTGAGACAGACTA
GAAGTTCCTAGTGATGGCTTATGATAGCAAATGGCCTCATGTCAAATATTTAGATGTAATTT
TGTGTAAGAAATACAGACTGGATGTACCACCACTACTACCTGTAATGACAGGCCTGTCCAA
CACATCTCCCTTTTCCATGACTGTGGTAGCCAGCATCGGAAAGAACGCTGATTTAAAGAGGT
CGCTTGGGAATTTTATTGACACAGTACCATTTAATGGGGAGGACAAAATGGGGCAGGGGAGG
GAGAAGTTTCTGTGCTTAAAAACAGATTTGGAAAGACTGGACTCTAAAGTCTGTTGATTAAA
GATGAGCTTTGTCTACTTCAAAAGTTTGTGTTGCTTACCCCTTCAGCCTCCAATTTTTTAAGT
GAAAATATAGCTAATAACATGTGAAAAGAATAGAAGCTAAGGTTTAGATAAATATTGAGCAG
ATCTATAGGAAGATTGAACCTGAATATTGCCATTATGCTTGACATGGTTTCAAAAAATGGT
ACTCCACATATTTAGTGAGGGTAAGTATTTTCTGTTGTCAAGAATAGCATTGTAAAGCA
TTTTGTAATAATAAAGAATAGCTTTAATGATAIGCTTGTAACTAAAATAATTTTGTAATGTA
TCAAATACATTTAAACATTAAATATAATCTCTATAATAATTTAAAAATCTAATATGGTTTT
AATAGAACAGCGATATCAAGCTTATCGATAATCAACCTCTGGATTACAAAATTTGTGAAAGA
TTGACTGGTATTCTTAACATATGTTGCTCCTTTTACGCTATGTGGATACGCTGCTTTAATGCC
TTTGATCATGCTATTGCTTCCCGTATGGCTTTTCAATTTCTCCTCCTGTATAAATCCTGGT
TGCTGTCTCTTTATGAGGAGTGTGGCCCGTTGTGAGGCAACGTGGCGTGGTGTGCACTGTG
TTTGCTGACGCAACCCCCACTGTTGGGGCATTGCCACCACCTGTGAGCTCCTTTCCGGGAC
TTTCGCTTTCCCCCTCCCTATTGCCACGGCGGAACCTCATCGCCGCTGCCTTGCCCGCTGCT
GGACAGGGGCTCGGCTGTTGGGCACTGACAATCCGTGGTGTGTCGGGGAAATCATCGTCC
TTTCCTTGGCTGCTCGCTATGTTGCCACCTGGATTCTGCGCGGGACGTCCTTCTGCTACGT
CCCTGCGGCCCTCAATCCAGCGGACCTTCCTTCCCGCGGCTGCTGCGGCTCTGCGGCCCTC
TTCCGCTGCTTTCGCTTCCGCTCAGACGAGTCCGATCTCCCTTTGGGCCGCTCCCCGCGA
ATTCATCGATACCGAGCGCTGCTCGAGAGATCTGTGATAGCGGCCATCAAGCTGGCTGTGCC
TTCTAGTTGCCAGCCATCTGTTGTTTGCCCTCCCCCGTGCCTTCCTTGACCTGGAAGGTG
CCACTCCCACTGTCTTTCTAATAAAATGAGGAAATTGCATCGCATTTGCTGAGTAGGTGT

10

20

30

40

50

【化 8 0】

CATTCTATTCTGGGGGGTGGGGTGGGGCAGGACAGCAAGGGGGAGGATTGGGAAGACAATAG
CAGGCATGCTGGGGACACGTGCGGACCGAGCGGCCCGCAGGAACCCCTAGTGATGGAGTTGGC
CACTCCCTCTCTGCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGGCCGGGCGACCAAAGGTCGCCCCGACGCC
CGGGCTTTGCCCCGGGCGGCCCTCAGTGAGCGAGCGAGCGCGCAGCTGCCTGCAGGGGCGCCTG
ATGCGGTATTTTCTCCTTACGCATCTGTGCGGTATTTACACCCGCATACGTCAAAGCAACCA
TAGTACGCGCCCTGTAGCGGCGCATTAAAGCGCGCGGGTGTGGTGGTTACGCGCAGCGTGAC
CGCTACACTTGCCAGCGCCCTAGCGCCCGCTCCTTTTCGCTTTCTTCCCTTCCTTTCTCGCCA
CGTTTCGCGCGCTTTCCCCGTCAAGCTCTAAATCGGGGGCTCCCTTTAGGGTTCCGATTTAGT
GCTTTACGGCACCTCGACCCCAAAAACTTGATTTGGGTGATGGTTACGTAGTGGGCCATC
GCCCTGATAGACGGTTTTTTCGCCCTTTGACGTTGGAGTCCACGTTCTTTAATAGTGGACTCT
TGTTCCAAACTGGAACAACACTCAACCCTATCTCGGGCTATTCTTTTGATTTATAAGGGATT
TTGCCGATTTTCGGCCTATTGGTTAAAAAATGAGCTGATTTAACAAAAATTTAACGCGAATTT
TAACAAAAATATTAACGTTTACAATTTTATGGTGCCTCTCAGTACAATCTGCTCTGATGCCG
CATAGTTAAGCCAGCCCCGACACCCGCCAACACCCGCTGACGCGCCCTGACGGGCTTGTCTG
CTCCCGGCATCCGCTTACAGACAAGCTGTGACCGTCTCCGGGAGCTGCATGTGTGTCAGAGGTT
TTCACCGTCATCACCGAAACGCGCGAGACGAAAGGGCCTCGTGATACGCCTATTTTTATAGG
TTAATGTCATGATAATAATGGTTTCTTAGACGTCAGGTGGCACTTTTCGGGGAAATGTGCGC
GGAACCCCTATTTGTTTATTTTTCTAAATACATTCAAATATGTAICCGCTCATGAGACAATA
ACCCTGATAAATGCTTCAATAATATTGAAAAAGGAAGAGTATGAGTATTCAACATTTCCGTG
TCGCCCTTATTCCCTTTTTTTCGGGCATTTTGCCTTCCTGTTTTTGTCTACCCAGAAACGCTG
GTGAAAGTAAAAGATGCTGAAGATCAGTTGGGTGCACGAGTGGGTTACATCGAACTGGATCT
CAACAGCGGTAAGATCCTTGAGAGTTTTTCGCCCCGAAGAACGTTTTCCAATGATGAGCACTT
TTAAAGTTCTGCTATGTGGCGCGGTATTATCCCGTATTGACGCCGGGCAAGAGCAACTCGGT
CGCCGCATACACTATTCTCAGAATGACTTGGTTGAGTACTACACAGTCACAGAAAAGCATCT
TACGGATGGCATGACAGTAAGAGAATTATGCAGTGCTGCCATAACCATGAGTGATAACACTG
CGGCCAACTTACTTCTGACAACGATCGGAGGACCGAAGGAGCTAACCGCTTTTTTGCACAAC
ATGGGGGATCATGTAACCTCGCCTTGATCGTTGGGAACCGGAGCTGAATGAAGCCATACCAAA
CGACGAGCGTGACACCA

10

20

【0 1 4 4】

30

いくつかの実施形態では、本明細書において記載されるAVVベクターは、配列番号81と少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%配列同一性のヌクレオチド配列を含む。ベクターc.81.8の例示的なヌクレオチド配列は配列番号81に示される(hGJB2 GRE8には下線を付した;マウスGJB2コード配列は太字で):

40

50

【化 8 1】

CGATGCCTGTAGCAATGGCAACAACGTTGCGCAAACCTATTAACCTGGCGAACTACTTACTCTA
GCTTCCCGGCAACAATTAATAGACTGGATGGAGGCGGATAAAGTTGCAGGACCACTTCTGCG
CTCGGCCCTTCCGGCTGGCTGGTTTATTGCTGATAAATCTGGAGCCGGTGAGCGTGGGTCTC
GCGGTATCATTGCAGCACTGGGGCCAGATGGTAAGCCCTCCCGTATCGTAGTTATCTACACG
ACGGGGAGTCAGGCAACTATGGATGAACGAAATAGACAGATCGCTGAGATAGGTGCCTCACT
GATTAAGCATTGGTAACTGTCAGACCAAGTTTACTCATATATACTTTAGATTGATTTAAAAC
TTCATTTTTAATTTAAAAGGATCTAGGTGAAGATCCTTTTTGATAATCTCATGACCAAATC
CCTTAACGTGAGTTTTTCGTTCCACTGAGCGTCAGACCCCGTAGAAAAGATCAAAGGATCTTC
TTGAGATCCTTTTTTTCTGCGCGTAATCTGCTGCTTGCAAACAAAAAAACCACCGCTACCAG
CGGTGGTTTGTGTTTCCGGATCAAGAGCTACCAACTCTTTTTCCGAAGGTAACTGGCTTCAGC
AGAGCGCAGATACCAAATACTGTCCTTCTAGTGTAGCCGTAGTTAGGCCACCACTTCAAGAA
CTCTGTAGCACCGCCTACATACCTCGCTCTGCTAATCCTGTTACCAGTGGCTGCTGCCAGTG
GCGATAAGTCGTGTCTTACCGGGTTGGACTCAAGACGATAGTTACCGGATAAGGCGCAGCGG

10

20

30

40

50

【化 8 2】

TCGGGCTGAACGGGGGGTTTCGTGCACACAGCCCAGCTTGGAGCGAACGACCTACACCGAACT
 GAGATACCTACAGCGTGAGCTATGAGAAAGCGCCACGCTTCCCGAAGGGAGAAAGGCGGACA
 GGTATCCGGTAAGCGGCAGGGTCGGAACAGGAGAGCGCACGAGGGAGCTTCCAGGGGGAAAC
 GCCTGGTATCTTTATAGTCCTGTCTGGGTTTCGCCACCTCTGACTTGAGCGTCGATTTTTGTG
 ATGCTCGTCAGGGGGGGCGGAGCCTATGGAACAAACGCCAGCAACGCGGCCCTTTTACGGTTCC
 TGGCCTTTTGTCTGGCCTTTTGTCTACATGTCTGCAGGCAGCTGCGCGCTCGCTCGCTCACT
 GAGGCCGCGCGGGCAAAGCCCGGGCGTCTGGGCGACCTTGGTCTGCGCCGGCCTCAGTGAGCGA
 GCGAGCGCGCAGAGAGGGAGTGGCCAACTCCATCACTAGGGGTTTCTGCGGCCGCGACGCGTC
 GACCTGAACGATTAAGGCAAACTTCGAAATGTGCCCCAGCAGAGATTTATTTTTTCAGGGGG
 TGTTTTGCATTCCAGCCCCCTCTGCCCTTCTGGCGTTTAGTGCGATTTGTTTAGCCATGTGCT
 CCCTGGTGTGTGTGTGTGAATGTGTGTGAGATGGGTTGTCTCTCGGGACCTGGCAGGTGCGG
 CCACCAGGTGAGGGCTGCCCCCAACCCCTGTGCCTCCTTCTCTAGACTCTGGCCCCCTCA
 GTGCTGAGGGTGATACAGAGCACTTTTCAAGCTGGATTGGAATGTGGCCTCTCCCCCTCCAA
 ACTCTGGAGATCATGCAAGGCCCTTTGGAGCCAGCCAGTCACCTGGAAGGTGACATTCCCA
 CCAGCTGAGGCCTCACCTTCAGCGGGGGCTGGGCAGCTTTGGAGCCTGGGGCCAGCCAAGCT
 CACTCTGCCCATATCCCTGCCACGTGTGGCCCAGCGGATGATCACCTGTCTTCATCTGCGTA
 CTGGGCCACATCCCTCCTGCCGTCCCCCACTTCCCTGATGACACCTACAGCAAGCCCCCTACC
 CAAGTGTTCTGTGATCCCCCTGTAAATGTGGCCTCCCTAGCTACTTGCTTTTATGAAACCAAC
 AATCCTGGGGACACAGTTTTTCGGCTGTCTCAAGACGGGGCAACCACTCTTTTCCCCAGGCCT
 GTGGGTCCCAGGCCTGGAGCTAGGGTTGGCATTCTTGCTGAATTCTCCACTCTATCCCCAAC
 CCCTGAGGCCGCGCTGAGGAGGCTCAGACTGTGTGAGGCTAGGAGGACAGTCAAACCACAAAA
 ACATGCCTTTTAAAGAAGTATAAGCACAAATCCCTCTTTGATGTTATATAAAAGCTCAGTGTCT
 ACTTTAATTAAGACCTCGAAGGGGACTTGGGGGTTTCGGGGCTTTTCGGGGCGGTTCGGGGT
 TCGCGGACCCCGGAAGCTCTGAGGACCCAGAGGCCGGGCGCGCTCCGCCCGCGGCGCGGCC
 CCTCCGTAACTTTCCAGTCTCCGAGGGAAGAGGCGGGGTGTGGGGTGCGGTTAAAGGCGC
 CACGGCGGGAGACAGGTGTTCGGGCCCGCAGCGCCCGCGCGCTCCTCTCCCCGACTCGGAG
 CCCCTCGGCGGCGCCCGGCCAGGACCCGCCTAGGAGCGCAGGAGCCCCAGCGCAGAGACCC
 CAACGCCGAGACCCCGGCCCGGCCCGCGCGCTTCTCCGACGACAGAGCAAACCGCCCA
 GAGTAGAAGCC**ATGGATTGGGGCACACTCCAGAGCATCCTCGGGGGTGTC****CAACAAACACTCC**
ACCAGCATTGGAAAGATCTGGCTCACGGTCCCTTTCATCTTCCGCATCATGATCCTCGTGGT
GGCTGCAAAGGAGGTGTGGGGAGATGAGCAAGCCGATTTTGTCTGCAACACGCTCCAGCCTG
GCTGCAAGAATGTATGCTACGACCACCACTTCCCCATCTCTCACATCCGGCTCTGGGCTCTG
CAGCTGATCATGGTGTCCACGCCAGCCCTCCTGGTAGCTATGCATGTGGCCTACCGGAGACA
TGAAAAGAACCGAAGTTCATGAAGGGAGAGATAAAGAACGAGTTAAGGACATCGAAGAGA
TCAAAACCCAGAAGGTCGATCGAAGGGTCCCTGTGGTGACCTACACCACCAGCATCTTC
TTCCGGGTCACTTTGAAGCCGTCTTCATGTACGTCTTTTACATCATGTACAATGGCTTCTT
CATGCAACGTCTGGTGAAATGCAACGCTTGCCCTGCCCAATACAGTGGAAGTCTTCATTT
CCAGGCCACAGAAAAGACTGTCTTACCCTGTTTATGATTTCTGTGTCTGGAATTTGCATT
CTGCTAAATATCACAGAGCTGTGCTATTTGTTTCGTTAGGTATTGCTCAGGAAAGTCCAAAAG
ACCAGTCTACCCATACGATGTTCCAGATTACGCTTAAAGGCGCGCCACCCCTGCAGGGAATT
 CCGCATTGCCAGTTGTTAGATTAAGAAATAGACAGCATGAGAGGGATGAGGCAACCCGTGC
 TCAGCTGTCAAGGCTCAGTCGCTAGCATTTCCTAACACAAAGATTCTGACCTTAAATGCAAC
 CATTTGAAACCCCTGTAGGCCTCAGGTGAAACTCCAGATGCCACAATGGAGCTCTGCTCCCC
 TAAAGCCTCAAAACAAAGGCTAATTCTATGCCTGTCTTAATTTTCTTTCACTTAAGTTAGT
 TCCACTGAGACCCCAGGCTGTTAGGGGTTATTGGTGTAAGGTACTTTTCATATTTTAAACAGA
 GGATATCGGCATTTGTTTCTTCTCTGAGGACAAGAGAAAAAGCCAGGTTCCACAGAGGAC
 ACAGAGAAGGTTTGGGTGTCTCTGGGGTTCTTTTTGCCAACTTTCCCCACGTTAAAGGTG
 AACATTGGTTCTTTTCAATTTGCTTTGGAAGTTTTAATCTCTAACAGTGGACAAAGTTACCAGT
 GCCTTAAACTCTGTTACACTTTTTGGAAGTGAAAACCTTTGTAGTATGATAGGTTATTTTGTAT
 GTAAAGATGTTCTGGATACCATTATATGTTCCCCCTGTTTCAGAGGCTCAGATTGTAATATG
 TAAATGGTATGTCATTCTACTATGATTTAATTTGAAATATGGTCTTTTGGTTATGAATAC

10

20

30

40

50

【化 8 3】

TTTGCAGCACAGCTGAGAGGCTGTCTGTTGTATTTCATTGTGGTCATAGCACCTAACCAACATT
 GTAGCCTCAATCGAGTGAGACAGACTAGAAGTTCCTAGTGATGGCTTATGATAGCAAATGGC
 CTCATGTCAAATATTTAGATGTAATTTTGTGTAAGAAATACAGACTGGATGTACCACCAACT
 ACTACCTGTAATGACAGGCCTGTCCAACACATCTCCCTTTTCCATGACTGTGGTAGCCAGCA
 TCGGAAAGAACGCTGATTTAAAGAGGTCGCTTGGGAATTTTATTGACACAGTACCATTTAAT
 GGGGAGGACAAAATGGGGCAGGGGAGGGAGAAGTTTCTGTCGTTAAAAACAGATTTGGAAAG
 ACTGGAATCTAAAGTCTGTTGATTAAAGATGAGCTTTGTCTACTTCAAAAGTTTGTGTTGCTT
 ACCCCTTCAGCCTCCAATTTTTTAAGTGAAGATATAGCTAATAACATGTGAAAAGAATAGAA
 GCTAAGGTTTAGATAAATATTGAGCAGATCTATAGGAAGATTGAACCTGAATATTGCCATTA
 TGCTTGACATGGTTTCCAAAAAATGGTACTCCACATATTTCACTGAGGGTAAGTATTTTCCCT
 GTTGTCAGAATAGCATTTGTAAGGATTTTGTAAATAATAAGAAATAGCTTTAATGATATGC
 TTGTAATAAAAAAATTTTGTAAATGTATCAAATACATTTAAAAACATTAATAATATAATCTCTA
 TAATAATTTAAAAATCTAATATGGTTTTAATAGAACAGCGATATCAAGCTTATCGATAATCAA
 CCTCTGGATTACAAAATTTGTGAAAGATTGACTGGTATTCTTAACTATGTTGCTCCTTTTAC
 GCTATGTGGATACGCTGCTTTAATAGCCTTTGTATCATGCTATTGCTTCCCGTATGGCTTTTAC
 TTTCTCCTCCTTGTATATAAATCCTGGTTGCTGTCTCTTTATGAGGAGTTGTGGCCCGTTGTC
 AGGCAACGTTGGCGTGGTGTGCACTGTGTTTGTGACGCAACCCCCACTGGTTGGGGCATTGC
 CACCACCTGTGAGCTCCTTTCCGGGACTTTCCGCTTTCCCCCTCCCTATTGCCACGGCGGAAC
 TCATCGCCGCTGCCTTGCCCGCTGCTGGACAGGGGCTCGGCTGTGGGCACTGACAATTCC
 GTGGTGTGTCGGGGAAATCATCGTCTTTCCCTTGGCTGCTCGCCTATGTTGCCACCTGGAT
 TCTGCGCGGGACGTCCTTCTGCTACGTCCCTTCGGCCCTCAATCCAGCGGACCTTCCCTCCC
 GCGGCTGCTGCGCGCTCTGCGGCCTCTTCCGCGTCTTCGCTTCGCGCTCAGACGAGTCGG
 ATCTCCCTTTGGGCGCGCTCCCCGGAATTCATCGATACCGAGCGCTGCTCGAGAGATCTGT
 GATAGCGGCCATCAAGCTGGCTGTGCTTCTAGTTGCCAGCCATCTGTGTTTGGCCCTCCC
 CCGTGCCTTCCCTTGACCCTGGAAGGTGCCACTCCCACTGTCTTCTCTAATAAAATGAGGAA
 ATTGCATCGCATTTGTCTGAGTAGGTGTCTTCTATTCTGGGGGTGGGGTGGGGCAGGACAG
 CAAGGGGGAGGATTGGGAAGACAATAGCAGGCATGCTGGGGACACGTGCGGACCCGAGCGGCC
 GCAGGAACCCCTAGTGATGGAGTTGGCCACTCCCTCTCTGCGCGCTGCTGCTCACTGAGG
 CCGGGCGACCAAAGGTGCGCCGACGCCGGGCTTTGCCCGGGCGGCTCAGTGAGCGAGCGA
 GCGCGCAGCTGCCTGCAGGGGCGCCTGATGCGGTATTTTCTCCTTACGCATCTGTGCGGTAT
 TTCACACCGCATACGTCAAAGCAACCATAGTACGCGCCCTGTAGCGGCGCATTAAAGCGCGGC
 GGGTGTGGTGGTTACGCGCAGCGTGACCGCTACACTTGCCAGCGCCCTAGCGCCCGCTCCTT
 TCGCTTTCTTCCCTTCCCTTCTCGCCACGTTGCGCGGCTTTCCCGCTCAAGCTCTAAATCGG
 GGGCTCCCTTTAGGGTTCCGATTTAGTGCTTTACGGCACCTCGACCCCAAAAACTTGATTT
 GGGTGATGGTTACGTAAGTGGGCTATCGCCCTGATAGACGGTTTTTTCGCCCTTTGACGTTGG
 AGTCCACGTTCTTTAATAGTGGACTCTTGTTCAACTGGAACAACACTCAACCCTATCTCG
 GGCTATTTCTTTGATTTATAAGGGATTTTGGCGATTTTCGGCTATTGGTTAAAAAATGAGCT
 GATTTAACAAAAATTTAACGCGAATTTTAAACAAAATATTACGTTTACAATTTTATGGTGCA
 CTCTCAGTACAACTGTCTGTGATGCCGCATAGTTAAGCCAGCCCCGACACCCGCCAACACCC
 GCTGACGCGCCCTGACGGGCTTGTCTGCTCCCGGCATCCGCTTACAGACAAGCTGTGACCGT
 CTCCGGGAGCTGCATGTGTGAGAGGTTTTACCGTTCATCACCAGAAACGCGGAGACGAAAGG
 GCCTCGTGATACGCTATTTTTATAGGTTAATGTGATGATAATAATGGTTTCTTAGACGTCA
 GGTGGCACTTTTTCGGGGAAATGTGCGCGGAACCCCTATTTGTTTATTTTCTAAATACATTC
 AAATATGTATCCGCTCATGAGACAATAACCCGTGATAAATGCTTCAATAATATTGAAAAAGGA
 AGAGTATGAGTATTCAACATTTCCGTGTGCGCCCTTATTCCCTTTTTTTCGGGCATTTTGCCTT
 CCTGTTTTTGTCTACCCAGAAACGCTGGTGAAAGTAAAGATGCTGAAGATCAGTTGGGTGC
 ACGAGTGGGTACATCGAACTGGATCTCAACAGCGGTAAGATCCTTGAGAGTTTTCGCCCCG
 AAGAAGCTTTTCCAATGATGAGCACTTTTAAAGTTCTGCTATGTGGCGCGGTATTATCCCGT
 ATTGACGCCGGGCAAGAGCAACTCGGTCGCGCATACACTATTCTCAGAATGACTTGGTTGA
 GTACTCACGAGTCACAGAAAAGCATCTTACGGATGGCATGACAGTAAGAGAATTATGCAGTG
 CTGCCATAACCATGAGTGATAACACTGCGGCCAATTACTTCTGACAACGATCGGAGGACCG

10

20

30

40

【化 8 4】

AAGGAGCTAACCGCTTTTTTGCACAACATGGGGGATCATGTAACCTCGCCTTGATCGTTGGGA
 ACCGGAGCTGAATGAAGCCATACCAAACGACGAGCGTGACACCA

【0145】

いくつかの実施形態では、本明細書において記載されるAAVベクターは、AAV 5' IT
 R、GJB2 GREエンハンサー(hGJB2 GRE9)、GJB2基本プロモーター、GJB2エクソン
 1の5' UTR、コザック配列、遺伝子産物(例、GJB2またはGFP)をコードするヌクレオチ
 ド配列、GJB2エクソン2の3' UTR、WPRE、ウシ成長ホルモンポリAシグナル、および

50

AAV 3' ITRを含む(例、ベクターc.81.9)。

【0146】

いくつかの実施形態では、本明細書において記載されるAVVベクターは、配列番号52と少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%配列同一性のヌクレオチド配列を含む。ベクターc.81.9の例示的なヌクレオチド配列は配列番号52に示される(hGJB2 GRE9には下線を付した;eGFPコード配列は太字で):

【化85】

CGATGCCTGTAGCAATGGCAACAACGTTGCGCAAACCTATTAACCTGGCGAACTACTTACTCTA
GCTTCCCGGCAACAATTAATAGACTGGATGGAGGCGGATAAAGTTGCAGGACCACTTCTGCG
CTCGGCCCTTCCGGCTGGCTGGTTTATTGCTGATAAATCTGGAGCCGGTGAGCGTGGGTCTC
GCGGTATCATTGCAGCACTGGGGCCAGATGGTAAGCCCTCCCGTATCGTAGTTATCTACACG
ACGGGGAGTCAGGCAACTATGGATGAACGAAATAGACAGATCGCTGAGATAGGTGCCTCACT
GATTAAGCATTGGTAACCTGTCAGACCAAGTTTACTCATATATACTTTAGATTGATTTAAAC
TTCATTTTTTAATTTAAAAGGATCTAGGTGAAGATCCTTTTTTGATAATCTCATGACCAAATC
CCTTAACGTGAGTTTTTCGTTCCACTGAGCGTCAGACCCCGTAGAAAAGATCAAAGGATCTTC
TTGAGATCCTTTTTTTTCTGCGCGTAATCTGCTGCTTGCAAACAAAAAACACCGCTACCGAG
CGGTGGTTTGTGTTGCCGATCAAGAGCTACCAACTCTTTTTCCGAAGGTAACCTGGCTTCAGC
AGAGCGCAGATACCAAATACTGTCTTCTAGTGTAGCCGTAGTTAGGCCACCACTTCAAGAA
CTCTGTAGCACCGCCTACATACCTCGCTCTGCTAATCCTGTTACCAGTGGCTGCTGCCAGTG
GCGATAAGTCGTGCTTACCGGGTTGGACTCAAGACGATAGTTACCGGATAAGGCGCAGCGG
TCGGGCTGAACGGGGGGTTCGTGCACACAGCCCAGCTTGGAGCGAACGACCTACACCGAACT
GAGATACCTACAGCGTGAGCTATGAGAAAGCGCCACGCTTCCCGAAGGGAGAAAGGCGGACA
GGTATCCGGTAAGCGGCAGGGTCGGAACAGGAGAGCGCACGAGGGAGCTTCCAGGGGGAAAC
GCCTGGTATCTTTATAGTCCTGTGCGGGTTTCGCCACCTCTGACTTGAGCGTCGATTTTTGTG
ATGCTCGTCAGGGGGCGGAGCCTATGGAAAAACGCCAGCAACGCGGCCTTTTTACGGTTCC
TGGCCTTTTTGCTGGCCTTTTTGCTCACATGTCTTGCAGGCAGCTGCGCGCTCGCTCGCTCACT
GAGGCCGCCCGGGCAAAGCCCGGGCGTTCGGGCGACCTTTGGTTCGCCCGGCCTCAGTGAGCGA
GCGAGCGCGCAGAGAGGGAGTGGCCAACTCCATCACTAGGGGTTCCTGCGGCCGCGACGCGTT
CTAGGTAGACAACCTAAGATGTTTCATCTTATGGTTTAATGTTTAGTTGTAAAGGTTGTTTGCT
TCTCATTTGGTTCCAAGAAAGAGTATTTAGGCCAATTTACGGGAGAAATATGTGTATAGATA
TATTCATATGTCAAACCTGATTAGTGCTGAATGTCACATTTCCATATTCTAATAACATTTCTA
GCAAAGAAGAGGACACAGTGAAGAGAGAATTGCCCGCATTGTCATTGTCTCTTTCTGAGCCT
AGAACGCCTAACACTTGGGTGTGGAGAGACTCAGCCTCAATTCACTTTCTAGCAGCCACTGA
GATGTGCTTGCCTGGGGTGGCCCCCTGGCAGGCAGGGCTGGAACCTGCTTTCCAGTACCCACAC
GGACTGTGAACGAATCTTTCTTTGTGCTTTGTGTACAGAATGGAAGTTCAACAAATATTTGT
TGAATGTGTATGTCTTTCCAATACGCAGCAGCCCAGAGCAAACGTGGTAATCTTGTGTGTGT
TCATGTGAAAGCAGAATTTAATGGTGCTTTTAAGCACCAAAGTTTAAGATGCACGAGAAAAC
TGTATCTCCATTTTTTCTTTTTCGTTTACAATTACTTGTATAAGCCAGGCACGGTGGTGGCT

10

20

30

40

50

【化 8 6】

CACGCCTGTAATCCCAGCACTTTGGGAGGCCGAGGCGGGCGGATCACATGAGGTCGGGAGTT
 AATTAAGACCTCGAAGGGGACTTGGGGGTTTCGGGGCTTTCGGGGCGGTTCGGGGTTTCGCG
 GACCCGGGAAGCTCTGAGGACCCAGAGGCCGGGCGCGCTCCGCCCCGCGCGCCGCCCCCTCC
 GTAACITTTCCAGTCTCCGAGGGAAGAGGCGGGGTGTGGGGTGCAGTTAAAAGGCGCCACGG
 CGGGAGACAGGTGTTGCGGCCCGCAGCGCCCGCGCGCTCCTCTCCCCGACTCGGAGCCCCT
 CGGCGGCGCCCCGGCCAGACCCGCCCTAGGAGCGCAGGAGCCCCAGCGCAGAGACCCCAACG
 CCGAGACCCCCGCCCCGGCCCCGCGCGCTTCTCCCGACGCAGAGCAAACCGCCAGAGTA
 GAAGCC**ATGGTGAGCAAGGGCGAGGAGCTGTTACCGGGGTGGTGCCCATCCTGGTTCGAGCT**
GGACGGCGACGTAAACGGCCACAAGTTCAGCGTGTCCGGCGAGGGCGAGGGCGATGCCACCT
ACGGCAAGCTGACCCCTGAAGTTCATCTGCACCACCGGCAAGCTGCCCCGTGCCCTGGCCCCACC
CTCGTGACCACCCTGACCTACGGCGTGCAGTGCTTCAGCCGCTACCCCGACCACATGAAGCA
GCACGACTTCTTCAAGTCCGCCATGCCGAAGGCTACGTCCAGGAGCGCACCATCTTCTTCA
AGGACGACGGCAACTACAAGACCCGCGCCGAGGTGAAGTTCGAGGGCGACACCCTGGTGAAC
CGCATCGAGCTGAAGGGCATCGACTTCAAGGAGGACGGCAACATCCTGGGGCACAAGCTGGA
GTACAACACTACAACAGCCACAACGTCTATATCATGGCCGACAAGCAGAAGAACGGCATCAAGG
TGAACCTTCAAGATCCGCCACAACATCGAGGACGGCAGCGTGACGCTCGCCGACCCTACAG
CAGAACACCCCCATCGGCGACGGCCCCGTGCTGCTGCCCCGACAACCCTACCTGAGCACCCA
GTCCGCCCTGAGCAAAGACCCCAACGAGAAGCGCGATCACATGGTCTGCTGGAGTTCGTGA
CCGCCCGCGGGATCACTCTCGGCATGGACGAGCTGTACAAGTAAAGGCGCGCCACCCCTGCA
 GGGAAITTCGCAATTGCCAGTTGTTAGATTAAAGAAATAGACAGCATGAGAGGGATGAGGCAA
 CCCGTGCTCAGCTGTCAAGGCTCAGTCGCTAGCATTTCCCAACACAAAGATTCTGACCTTAA
 ATGCAACCATTGTAAACCCCTGTAGGCCCTCAGGTGAAACTCCAGATGCCACAATGGAGCTCT
 GCTCCCCCTAAAGCCTCAAAACAAAGGCCATAATTCTATGCCTGTCTTAATTTCTTTCACTTA
 AGTTAGTTCCTACTGAGACCCAGGCTGTTAGGGGTTATTGGTGTAAGGTACTTTTCATATTTT
 AAACAGAGGATATCGGCATTGTTTTCTTTCTCTGAGGACAAGAGAAAAAGCCAGGTTCCAC
 AGAGGACACAGAGAAGGTTTGGGTGTCCTCCTGGGGTTCTTTTTGCCAACTTTCCCCACGTT
 AAAGGTGAACATTGGTTCCTTCATTGCTTTGGAAGTTTTAATCTCTAACAGTGGACAAAGT
 TACCAGTGCCCTTAAACTCTGTTACACTTTTTGGAAGTGAAAACCTTTGTAGTATGATAGGTTA
 TTTTGATGTAAAGATGTTCTGGATACCATTATATGTTCCCCCTGTTTCAGAGGCTCAGATTG
 TAATATGTAAATGGTATGTCATTTCGCTACTATGATTTAATTTGAAATATGGTCTTTTGGTTA
 TGAATACTTTGCAGCACAGCTGAGAGGCTGTCTGTTGTAATTCATTGTGGTCATAGCACCTAA
 CAACATTGTAGCCTCAATCGAGTGAGACAGACTAGAAGTTCCTAGTGATGGCTTATGATAGC
 AAATGGCCTCATGTCAAATATTTAGATGTAATTTTGTGTAAGAAATACAGACTGGATGTACC
 ACCAACTACTACCTGTAATGACAGGCCGTGCCAACACATCTCCCTTTTCCATGACTGTGGTA
 GCCAGCATCGGAAAGAACGCTGATTTAAAGAGGTGCGTTGGGAATTTTATTGACACAGTACC
 ATTTAATGGGGAGGACAAAATGGGGCAGGGGAGGAGAGAGTTCCTGTCGTTAAAAACAGATT
 TGGAAAGACTGGACTCTAAAGTCTGTTGATTAAAGATGAGCTTTGTCTACTTTCAAAGTTTG
 TTTGCTTACCCCTTCAGCCTCCAATTTTTTAAAGTGAAAATATAGCTAATAACATGTGAAAAG
 AATAGAAGCTAAGGTTTAGATAAATATTGAGCAGATCTATAGGAAGATTGAACCTGAATATT
 GCCATTATGCTTGACATGGTTTTCCAAAAATGGTACTCCACATATTTCAGTGAGGGTAAGTA
 TTTTCTGTTGTCAAGAATAGCATTGTAAAAGCATTTTGTAATAATAAAGAATAGCTTTAAT
 GATATGCTTGTAATAAATAATTTTGTAAATGTATCAAATACATTTAAAACATTAAAAATAA
 ATCTCTATAATAATTTAAATCTAATATGGTTTTAATAGAACAGCGATATCAAGCTTATCGA
 TAATCAACCTCTGGATTACAAAATTTGTGAAAGATTGACTGGTATTCTTAACATATGTTGCTC
 CTTTTACGCTATGTGGATACGCTGCTTTAATGCCTTTGTATCATGCTATTGCTTCCCGTATG
 GCTTTCATTTTCTCCTCCTTGATAAAATCCTGGTTGCTGTCTTTATGAGGAGTTGTGGCC
 CGTTGTTCAGGCAACGTGGCGTGGTGTGCACTGTGTTTGTGACGCAACCCCCACTGGTTGGG
 GCATTGCCACCACCTGTCAGTCCCTTTCCGGGACTTTCGCTTTCCCCCTCCCTATTGCCACG
 GCGGAACCTATCGCCGCTGCTTGGCCGCTGCTGGACAGGGGCTCGGCTGTTGGGCACTGA
 CAATCCGTGGTGTGTGTCGGGGAATCATCGTCCCTTTCCCTGGCTGCTCGCCTATGTTGCCA
 CCTGGATTCTGCGCGGGACGTCCTTCTGCTACGTCCCTTCGGCCCTCAATCCAGCGGACCTT

10

20

30

40

50

【化 8 7】

CCTTCCCGCGGCCTGCTGCCGGCTCTGCGGCCTCTTCCGCGTCTTCGCCTTCGCCCTCAGAC
 GAGTCGGATCTCCCTTTGGGCGGCCTCCCCGGAATTCATCGATACCGAGCGCTGCTCGAGA
 GATCTGTGATAGCGGCCATCAAGCTGGCTGTGCCTTCTAGTTGCCAGCCATCTGTTGTTTGC
 CCCTCCCCCGTGCTTCCCTTGACCCTGGAAGGTGCCACTCCCACTGTCCTTTCCTAATAAAAA
 TGAGGAAATTGCATCGCATTGTCTGAGTAGGTGTCATTCTATCTGGGGGGTGGGGTGGGGC
 AGGACAGCAAGGGGGAGGATTGGGAAGACAATAGCAGGCATGCTGGGGACACGTGCGGACCG
 AGCGGCCCGCAGGAACCCCTAGTGATGGAGTTGGCCACTCCCTCTCTGCGCGCTCGCTCGCTC
 ACTGAGGCCGGGCGACCAAAGGTCGCCCCGACGCCCGGGCTTTGCCCGGGCGGCCTCAGTGAG
 CGAGCGAGCGCGCAGCTGCCTGCAGGGGCGCCTGATGCGGTATTTTCTCCTTACGCATCTGT
 GCGGTATTTACACCCGCATACGTCAAAGCAACCATAGTACGCGCCCTGTAGCGGCGCATTAA
 GCGCGGCGGGTGTGGTGGTTACGCGCAGCGTGACCGCTACACTTGCCAGCGCCCTAGCGCCC
 GCTCCTTTTCGCTTTCCTTCCCTTCCCTTCTCGCCACGTTGCGCGGCTTTCCCCGTCAAGCTCT
 AAATCGGGGGCTCCCTTTAGGGTTCCGATTTAGTGCTTTACGGCACCTCGACCCCAAAAAAC
 TTGATTTGGGTGATGGTTCACGTAGTGGGCCATCGCCCTGATAGACGGTTTTTTCGCCCTTTG
 ACGTTGGAGTCCACGTTCTTTAATAGTGGACTCTTGTTCCAACTGGAACAACACTCAACCC
 TATCTCGGGCTATTCTTTTGATTTATAAGGATTTTGCCGATTTTCGGCCTATTGGTTAAAAA
 ATGAGCTGATTTAACAAAAATTTAACGCGAATTTTAACAAAAATTTAACGTTTACAATTTTA
 TGGTGCACCTCTCAGTACAATCTGCTCTGATGCCGCATAGTTAAGCCAGCCCCGACACCCGCC
 AACACCCGCTGACGCGCCCTGACGGGCTTGTCTGCTCCCGGCATCCGCTTACAGACAAGCTG
 TGACCGTCTCCGGGAGCTGCATGTGTGAGAGGTTTTACCGTCAACCGGAAACGCGCGAGA
 CGAAAGGGCCTCGTGATACGCCATTTTTATAGGTTAATGTCAIGATAATAATGGTTTCTTA
 GACGTCAGGTGGCACTTTTCGGGGAAATGTGCGCGGAACCCCTATTTGTTTTATTTTCTAAA
 TACATTCAAATATGTATCCGCTCATGAGACAATAACCCCTGATAAATGCTTCAATAATATTGA
 AAAAGGAAGAGTATGAGTATTCAACATTTCCGTGTGCGCCCTTATTCCTTTTTTTCGCGCAT
 TTGCCTTCCCTGTTTTTGTCTACCCAGAAACGCTGGTGAAAGTAAAGATGCTGAAGATCAGT
 TGGGTGCACGAGTGGGTACATCGAAGTGGATCTCAACAGCGGTAAGATCCCTGAGAGTTTT
 CGCCCCGAAGAAGCTTTTCCAATGATGAGCACTTTTAAAGTTCTGCTAIGTGGCGCGGTATT
 ATCCCGTATTGACGCCGGGCAAGAGCAACTCGGTGCGCGCATACACTATTTCTCAGAATGACT
 TGGTTGAGTACTCACCAGTCACAGAAAAGCATCTTACGGATGGCATGACAGTAAAGAGAATTA
 TGCAGTGCTGCCATAACCATGAGTGATAACACTGCGGCCAACTTACTTCTGACAACGATCGG
 AGGACCGAAGGAGCTAACCGCTTTTTTGCACAACATGGGGGATCATGTAACCTCGCCTTGATC
 GTTGGGAACCGGAGCTGAATGAAGCCATACCAAACGACGAGCGTGACACCA

10

20

30

【0147】

いくつかの実施形態では、本明細書において記載されるAVVベクターは、配列番号82
 と少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも
 90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なく
 とも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、ま
 たは100%配列同一性のヌクレオチド配列を含む。ベクターc.81.9の例示的なヌクレオ
 チド配列は配列番号82に示される(hGJB2 GRE9には下線を付した;ヒトGJB2コード配
 列は太字で):

40

【化 8 8】

CGATGCCTGTAGCAATGGCAACAACGTTGCGCAAACCTATTAAGTGGCGAACTACTTACTCTA
 GCTTCCCGGCAACAATTAATAGACTGGATGGAGGCGGATAAAGTTGCAGGACCACTTCTGCG
 CTCGGCCCTTCCGGCTGGCTGGTTTTATGTCTGATAAATCTGGAGCCGGTGAGCGTGGGTCTC
 GCGGTATCATTGCAGCACTGGGGCCAGATGGTAAGCCCTCCCGTATCGTAGTTATCTACACG
 ACGGGGAGTCAGGCAACTATGGATGAACGAAATAGACAGATCGCTGAGATAGGTGCCTCACT
 GATTAAGCATTGGTAACTGTCAGACCAAGTTTACTCATATATACTTTAGATTGATTTAAAC
 TTCATTTTTTAATTTAAAAGGATCTAGGTGAAGATCCTTTTTTGATAATCTCATGACCAAAATC
 CCTTAACGTGAGTTTTTCGTTCCACTGAGCGTCAGACCCCGTAGAAAAGATCAAAGGATCTTC
 TTGAGATCCTTTTTTTCTGCGCGTAATCTGCTGCTTGCAAACAAAAAACCAACCGCTACCAG

50

【化 8 9】

CGGTGGTTTGTGGCCGGATCAAGAGCTACCAACTCTTTTTCCGAAGGTAAGTGGCTTCAGC
AGAGCGCAGATACCAAATACTGTCCTTCTAGTGTAGCCGTAGTTAGGCCACCACCTTCAAGAA
CTCTGTAGCACCGCCTACATACCTCGCTCTGCTAATCCTGTTACCAAGTGGCTGCTGCCAGTG
GCGATAAGTTCGTGTCTTACC GGTTGGACTCAAGACGATAGTTACCGGATAAGGCGCAGCGG
TCGGGCTGAACGGGGGGTTTCGTGCACACAGCCAGCTTGGAGCGAACGACCTACACCGAACT
GAGATACCTACAGCGTGAGCTATGAGAAAGCGCCACGCTTCCCGAAGGGAGAAAGGCGGACA
GGTATCCGGTAAGCGGCAGGGTCGGAACAGGAGAGCGCACGAGGGAGCTTCCAGGGGGAAC
GCCTGGTATCTTTATAGTCTGTGCGGTTTTCGCCACCTCTGACTTGAGCGTCGATTTTTGTG
ATGCTCGTCAGGGGGGCGGAGCCTATGGA AAAACGCCAGCAACGCGGCCCTTTTTACGGTTCC
TGGCCTTTTTGCTGGCCTTTTTGCTCAGATGTCCTGCAGGCAGCTGCGCGCTCGCTCGCTCACT
GAGGCCGCCCCGGGCAAAGCCCGGGCGTCGGGCGACCTTTGGTCGCCCCGGCCTCAGTGAGCGA
CGGAGCGCGCAGAGAGGGAGTGGCCAACCTCCATCACTAGGGGTTCCCTGCGGCCGCACGCGTT
CTAGGTAGACAACCTAAGATGTTTCATCTTATGGTTTAAATGTTTAGTTGTAAAGGTTGTTTGCT
TCTCATTGGTTCCAAAGAAAGAGTATTTAGGCCAATTTAGGGAGAAATATGTGTATAGATA
TATTCATATGTCAAACCTGATTAGTGTGAATGTCACATTTCCATATTCTAATAACATTTCTA
GCAAAGAAAGAGGACACAGTGAAGAGAGAATTGCCCGCATTGTCATTGTCTCTTTCTGAGCCT
AGAACGCCTAACACTTGGGTGTGGAGAGACTCAGCCTCAATTCACTTTCTAGCAGCCACTGA
GATGTGCTTGCTGGGGTGCCCCCTGGCAGGCAGGGCTGGAAGTCTTTCCAGTACCCACAC
GGACTGTGAACGAATCTTTCTTTGTGCTTTGTGTACAGAATGGAAGTTCAACAAATATTTGT
TGAATGTGTATGTCTTCCAATACGCAGCAGCCCAGAGCAAACGTGGTAATCTTGTGTGTGT
TCATGTGAAAGCAGAATTTAATGGTGCTTTTAAGCACCAAAGTTAAGATGCACGAGAAAAC
TGTATCTCCATTTTTTCTTTTCGTTTACAATTACTTGTATAAGCCAGGCACGGTGGTGGCT
CACGCCTGTAATCCAGCACTTTGGGAGGGCCGAGGCGGGCGGATCACATGAGGTGCGGAGTT
AATTAAGACCTCGAAGGGGACTTGGGGGGTTTCGGGGCTTTTCGGGGCGGTGCGGGGTTTCGCG
GACCCGGGAAGCTCTGAGGACCCAGAGGCCGGGCGCGCTCCGCCCGCGGCGCCGCCCTCC
GTAACCTTCCAGTCTCCGAGGGAAGAGGCGGGGTGTGGGTGCGGTTAAAAGGCGCCACGG
CGGAGACAGGTGTTGCGGCCCGCAGCGCCCGCGCGCTCCTCTCCCCGACTTCGGAGCCCCCT
CGGCGGCGCCCCGGCCAGGACCCGCTAGGAGCGCAGGAGCCCCAGCGCAGAGACCCCAACG
CCGAGACCCCCGCCCCGGCCCCGCGCGCTTCTCCCCGACGCAGAGCAAACCGCCAGAGTA
GAAGCCATGGATTGGGGCACGCTGCAGACGATCCTGGGGGGTGTGAACAAACACTCCACCAG
CATTGGAAGATCTGGCTCACCGTCTCTTCATTTTTTCGCATTATGATCCTCGTTGTGGCTG
CAAAGGAGGTGTGGGGAGATGAGCAGGCCGACTTTGTCTGCAACACCCTGCAGCCAGGCTGC
AAGAACGTGTGCTACGATCACTACTTCCCCATCTCCACATCCGGCTATGGGCCCTGCAGCT
GATCTTCGTGTCCACGCCAGCGCTCCTAGTGGCCATGCAGCTGGCCTACCGGAGACATGAGA
AGAAGAGGAAGTTCATCAAGGGGGAGATAAAGAGTGAATTTAAGGACATCGAGGAGATCAAA
ACCCAGAAGGTCCGCATCGAAGGCTCCCTGTGGTGGACCTACACAAGCAGCATCTTCTTCCG
GGTCATCTTCGAAGCCGCCTTCATGTACGCTTCTATGTATGTACGACGGCTTCTCCATGC
AGCGGCTGGTGAAGTGCAACGCCTGGCCTTGTCCCAACACTGTGGACTGCTTTGTGTCCCGG
CCCACGGAGAAGACTGTCTTCACAGTGTTCATGATTGCAGTGTCTGGAATTTGCATCCTGCT
GAATGTCACTGAATTGTGTTATTTGCTAATTAGATATTGTTCTGGGAAGTCAAAAAAGCCAG
TTTAAAGGCGCGCCACCCCTGCAGGGAATTCGCGATTGCCAGTTGTTAGATTAAGAAATAG
ACAGCATGAGAGGGATGAGGCAACCCGTGCTCAGCTGTCAAGGCTCAGTCGCTAGCATTTCC
CAACACAAAGATTCTGACCTTAAATGCAACATTTGAAACCCCTGTAGGCCTCAGGTGAAAC
TCCAGATGCCACAATGGAGCTCTGCTCCCTAAAGCCTCAAAACAAAGGCCTAATTCTATGC
CTGCTCTTAATTTCTTTCACTTAAAGTTAGTTCCACTGAGACCCAGGCTGTTAGGGGTTATT
GGTGTAAGGTACTTTTCATATTTTAAACAGAGGATATCGGCATTTGTTTCTTTCTCTGAGGAC
AAGAGAAAAAGCCAGGTTCCACAGAGGACACAGAGAAGGTTTGGGTGTCTCTCTGGGGTTC
TTTTTGCCAACTTTCCCCACGTTAAAGGTGAACATTGGTTCTTTTCATTTGCTTTGGAAGTTT
TAATCTCTAACAGTGGACAAAGTTACCAGTGCCTTAAACTCTGTTACACTTTTGGAGTGA
AAACTTTGTAGTATGATAGGTTATTTTGATGTAAAGATGTTCTGGATACCATTATATGTTCC
CCCTGTTTCAGAGGCTCAGATTGTAATATGTAAATGGTATGTCATTGCTACTATGATTTAA

10

20

30

40

50

【化 9 0】

TTTGAAATATGGTCTTTTGGTTATGAATACTTTGCAGCACAGCTGAGAGGCTGTCTGTTGTA
 TTCATTGTGGTCATAGCACCTAACAACATTGTAGCCTCAATCGAGTGAGACAGACTAGAAGT
 TCCTAGTGATGGCTTATGATAGCAAATGGCCTCATGTCAAATATTTAGATGTAATTTTGTGT
 AAGAAATACAGACTGGATGTACCACCACTACTACCTGTAATGACAGGCCTGTCCAACACAT
 CTCCCTTTTCCATGACTGTGGTAGCCAGCATCGGAAAGAACGCTGATTTAAAGAGGTCGCTT
 GGGAAATTTTATTGACACAGTACCATTTAATGGGGAGGACAAAAATGGGGCAGGGGAGGGAGAA
 GTTCTGTGCTTAAAAACAGATTTGGAAAGACTGGACTCTAAAGTCTGTTGATTAAAGATGA
 GCTTTGTCTACTTCAAAGTTTGTGTTGCTTACCCCTTCAGCCTCCAATTTTTTAAGTGAAAA
 TATAGCTAATAACATGTGAAAAGAATAGAAGCTAAGGTTTAGATAAATATTGAGCAGATCTA
 TAGGAAGATTGAACCTGAATATTGCCATTATGCTTGACATGGTTTCCAAAAAATGGTACTCC
 ACATATTTTCAGTGAGGGTAAGTATTTTCTGTTGTCAAGAAATAGCATTGTAAAAGCATTTTG
 TAATAATAAAGAATAGCTTTAATGATATGCTTGTAACATAAATAATTTTGTAATGTATCAAA
 TACATTTAAACATTAAAAATAAATCTCTATAAATAATTTAAAAATCTAATATGGTTTAAATAG
 AACACCGATATCAAGCTTATCGATAATCAACCTCTGGATTACAAAATTTGTGAAAGATTGAC
 TGGTATTCTTAACATATGTTGCTCCTTTTACGCTATGTGGATACGCTGCTTTAATGCCTTTGT
 ATCATGCTATTGCTTCCCGTATGGCTTTTCAATTTCTCCTCCTTGTATAAATCCTGGTTGCTG
 TCTCTTTATGAGGAGTTGTGGCCCGTTGTCAGGCAACGTGGCGTGGTGTGCACTGTGTTTGC
 TGACGCAACCCCCACTGGTTGGGGCATTGCCACCACCTGTCAGCTCCTTTCCGGGACTTTTCG
 CTTTCCCCCTCCCTATTGCCACGGCGGAACCTCATCGCCGCTGCCTTGCCCGCTGCTGGACA
 GGGGCTCGGCTGTGGGCACTGACAATCCCGTGGTGTGTCGGGGAAATCATCGTCCCTTCC
 TTGGCTGCTCGCCTATGTGCCACCTGGATTCTGCGCGGGACGCTTCTGCTACGTCCCTT
 CGGCCCTCAATCCAGCGGACCTTCCCTCCCGCGGCTGCTGCCGGCTCTGCGGCTCTTCCG
 CGTCTTCGCTTCGCCCTCAGACGAGTCGGATCTCCCTTTGGGCGGCTCCCGCGGAATTCA
 TCGATACCGAGCGCTGCTCGAGAGATCTGTGATAGCGGCCATCAAGCTGGCTGTGCCTTCTA
 GTTGCCAGCAGCTGTGTTGTTTCCCCCTCCCCGTGCCTTCCCTGACCCTGGAAGGTGCCACT
 CCCACTGTCCCTTTCCATAAATAAGGAAATTGCATCGCATTTGCTGAGTAGGTGTCTATTC
 TATTCTGGGGGGTGGGGTGGGGCAGGACAGCAAGGGGGAGGATTGGGAAGACAATAGCAGGC
 ATGCTGGGGACACGTGCGGACCGAGCGGCCGAGGAACCCCTAGTGATGGAGTTGGCCACTC
 CCTCTCTGCGGCTCGCTCGCTCACTGAGGCCGGGCGACCAAAGGTGCCCCGACGCCCGGGC
 TTTGCCCGGGCGGCTCAGTGAGCGAGCGAGCGCGCAGCTGCCIGCAGGGGCGCCTGATGCG
 GTATTTTCTCCTTACGCATCTGTGCGGTATTTACACCGCATACGTCAAAGCAACCATAGTA
 CGCGCCCTGTAGCGGCGCATTAAGCGCGGCGGGTGTGGTGGTTACGCGCAGCGTGACCGCTA
 CACTTGCCAGCGCCCTAGCGCCCGCTCCTTTGCTTTCTTCCCTTCCCTTCTCGCCACGTTT
 GCCGGCTTTCCCCGTCAAGCTCTAAATCGGGGGCTCCCTTTAGGGTTCCGATTTAGTGCTTT
 ACGGCACCTCGACCCCCAAAAAATTGATTGGGTGATGGTTACGTAGTGGGCCATCGCCCT
 GATAGACGGTTTTTTCGCCCTTTGACGTTGGAGTCCACGTTCTTTAATAGTGGAATCTTGTT
 CAAACTGGAACAACACTCAACCCTATCTCGGGCTATTCTTTTGATTATAAGGGATTTTGCC
 GATTTCCGGCTATTGGTTAAAAAATGAGCTGATTTAACAAAAAATTTAACGCGAATTTTAA
 AAATATTAAACGTTTACAATTTTATGGTGCACCTCTCAGTACAATCTGCTCTGATGCCGATAG
 TTAAGCCAGCCCCGACACCCGCCAACACCCGCTGACGCGCCCTGACGGGCTTGTCTGCTCCC
 GGCATCCGCTTACAGACAAGCTGTGACCGTCTCCGGGAGCTGCATGTGTCAGAGGTTTTCAC
 CGTCATCACCGAAACGCGCGAGACGAAAGGGCCTCGTGATACGCCATTTTTTATAGGTAAAT
 GTCATGATAATAATGGTTTCTTAGACGTCAGGTGGCACTTTTCGGGGAAATGTGCGCGGAAC
 CCTATTTGTTTATTTTCTAAATACATTCAAATATGTATCCGCTCATGAGACAATAACCCCT
 GATAAATGCTTCAATAATATTGAAAAAGGAAGAGTATGAGTATTCAACATTTCCGIGTGCCT
 CTATTCCCTTTTTTTCGGCATTTTGCCTTCTGTTTTTGTCTACCCAGAAACGCTGGTGAA
 AGTAAAAGATGCTGAAGATCAGTTGGGTGCACGAGTGGGTACATCGAACTGGATCTCAACA
 GCGGTAAGATCCTTGAGAGTTTTCGCCCCGAAGAACGTTTTTCAATGATGAGCACTTTTAA
 GTTCTGCTATGTGGCGGGTATTATCCCGTATTGACGCCGGGCAAGAGCAACTCGGTGCGCG
 CATACACTATTCTCAGAAATGACTTGGTTGAGTACTACCAAGTCACAGAAAAGCATCTTACGG
 ATGGCATGACAGTAAGAGAATTATGCAGTGCTGCCATAACCATGAGTGATAACACTGCGGCC

10

20

30

40

【化 9 1】

AACTTACTTCTGACAACGATCGGAGGACCGAAGGAGCTAACCCTTTTTTGCACAACATGGG
 GGATCATGTAACCTCGCCTTGATCGTTGGGAACCGGAGCTGAATGAAGCCATACCAAACGACG
 AGCGTGACACCA

【0 1 4 8】

いくつかの実施形態では、本明細書において記載されるAVVベクターは、配列番号83
 と少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも
 90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なく

50

とも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%配列同一性のヌクレオチド配列を含む。ベクターc.81.9の例示的なヌクレオチド配列は配列番号83に示される(hGJB2 GRE9には下線を付した;マウスGJB2コード配列は太字で):

【化92】

CGATGCCTGTAGCAATGGCAACAACGTTGCGCAAACCTATTAACCTGGCGAACTACTTACTCTA
GCTTCCCGGCAACAATTAATAGACTGGATGGAGGCGGATAAAGTTGCAGGACCACTTCTGCG
CTCGGCCCTTCCGGCTGGCTGGTTTATTGCTGATAAATCTGGAGCCGGTGAGCGTGGGTCTC
GCGGTATCATTTGCAGCACTGGGGCCAGATGGTAAGCCCTCCCGTATCGTAGTTATCTACACG
ACGGGGAGTCAGGCAACTATGGATGAACGAAATAGACAGATCGCTGAGATAGGTGCCCTCACT
GATTAAGCATTTGGTAACTGTCAGACCAAGTTTACTCATATATACTTTAGATTGATTTAAAC
TTCATTTTTTAATTTAAAGGATCTAGGTGAAGATCCTTTTTTGATAATCTCATGACCAAAATC
CCTTAACGTGAGTTTTTCGTTCCACTGAGCGTCAGACCCCGTAGAAAAGATCAAAGGATCTTC
TTGAGATCCTTTTTTTCTGCGCGTAATCTGCTGCTTGCAAACAAAAAACCACCGCTACCAG
CGGTGGTTTTGTTTGCCGGATCAAGAGCTACCAACTCTTTTTCCGAAGGTAACCTGGCTTCAGC
AGAGCGCAGATACCAATACTGTCTTCTAGTGTAGCCGTAGTTAGGCCACCACTTCAAGAA
CTCTGTAGCACCGCCTACATACCTCGCTCTGCTAATCCTGTTACCACTGGCTGCTGCCAGTG
GCGATAAGTCGTGTCTTACCGGGTTGGACTCAAGACGATAGTTACCGGATAAGGCGCAGCGG
TCGGGCTGAACGGGGGGTTTCGTGCACACAGCCCAGCTTGGAGCGAACGACCTACACCGAACT
GAGATACCTACAGCGTGAGCTATGAGAAAGCGCCACGCTTCCCGAAGGGAGAAAGGCGGACA
GGTATCCGGTAAGCGGCAGGGTCGGAACAGGAGAGCGCACGAGGGAGCTTCCAGGGGGAAAC
GCCTGGTATCITTATAGTCCTGTGCGGGTTTCGCCACCTCTGACTTGAGCGTCGATTTTGTG
ATGCTCGTCAGGGGGCGGAGCCTATGGAAAAACGCCAGCAACGCGGCCTTTTTACGGTTCC
TGGCCTTTTTGCTGGCCTTTTTGCTCACATGTCTTCAGGCAGCTGCGCGCTCGCTCGCTCACT
GAGGCCGCCCGGGCAAAGCCCGGGCGTCGGGCGACCTTTGGTCGCCCGGCCTCAGTGAGCGA
GCGAGCGCGCAGAGAGGGAGTGGCCAACTCCATCACTAGGGGTTCTGCGGCCGACGCGTT
CTAGGTAGACAACCTAAGATGTTTCATCTTATGGTTTAAATGTTTAGTTGTAAAGGTTGTTTGCT
TCTCATTTGGTTCCAAGAAAGAGTATTTAGGCCAATTTACGGGAGAAATATGTGTATAGATA
TATTCATATGTCAAACCTGATTAGTGCTGAATGTACATTTCCATATTCTAATAACATTTCTA
GCAAAGAAGAGGACACAGTGAAGAGAGAATTGCCCGCATTGTCATTGTCTCTTTCTGAGCCT
AGAACGCCTAACACTTGGGTGTGGAGAGACTCAGCCTCAATTCACCTTTCTAGCAGCCACTGA
GATGTGCTTGCCTGGGGTGGCCCTGGCAGGCAGGGCTGGAACCTGCTTTCCAGTACCCACAC
GGACTGTGAACGAATCTTTCTTTGTGCTTTGTGTACAGAATGGAAGTTCAACAAATATTTGT
TGAATGTGTATGTCTTCCAATACGCAGCAGCCCAGAGCAAACGTGGTAATCTTGTGTGTGT
TCATGTGAAAGCAGAATTTAATGCTGCTTTTAAGCACCAAAGTTTAAGATGCACGAGAAAAC
TGTATCTCCATTTTTTCTTTTCGTTTACAATTACTTGTATAAGCCAGGCACGGTGGTGGCT
CACGCCTGTAATCCCAGCACTTTGGGAGGCCGAGGCGGGCGGATCACATGAGGTGCGGGAGTT
AATTAAGACCTCGAAGGGGACTTGGGGGGTTCGGGGGCTTTCGGGGGCGGTGCGGGGTTCGCG
GACCCGGGAAGCTCTGAGGACCCAGAGGCCGGGCGCGCTCCGCCCGCGGCGCCGCCCTCC
GTAACTTTCCAGTCTCCGAGGGAAGAGGCGGGGTGTGGGTGCGGTTAAAAGGCGCCACGG
CGGGAGACAGGTGTTGCGGCCCGCAGCGCCCGCGCGCTCCTCTCCCGACTCGGAGCCCT
CGGCGGCGCCCGGCCAGGACCCGCCTAGGAGCGCAGGAGCCCCAGCGCAGAGACCCCAACG
CCGAGACCCCCGCCCCGGCCCCGCCGCGCTTCTCCCGACGCAGAGCAAACCGCCCAGAGTA

10

20

30

40

【化 9 3】

GAAGCCATGGATTGGGGCACACTCCAGAGCATCCTCGGGGGTGTCAACAAACACTCCACCAG
CATTGGAAAGATCTGGCTCACGGTCTCTTCATCTTCCGCATCATGATCCTCGTGGTGGCTG
CAAAGGAGGTGTGGGGAGATGAGCAAGCCGATTTTGTCTGCAACACGCTCCAGCCTGGCTGC
AAGAATGTATGCTACGACCACCCTTCCCCATCTCTCACATCCGGCTCTGGGCTCTGCAGCT
GATCATGGTGTCCACGCCAGCCCTCCTGGTAGCTATGCATGTGGCCTACCGGAGACATGAAA
AGAAACGGAAGTTCATGAAGGGAGAGATAAAGAACGAGTTTAAGGACATCGAAGAGATCAAA
ACCCAGAAGGTCCGTATCGAAGGGTCCCTGTGGTGGACCTACACCACCAGCATCTTCTTCCG
GGTCATCTTTGAAGCCGTCTTCATGTACGTCTTTTACATCATGTACAATGGCTTCTTCATGC
AACGTCTGGTGAAATGCAACGCTTGGCCCTGCCCAATACAGTGGACTGCTTCATTTCCAGG
CCCACAGAAAAGACTGTCTTACCCTGTTTATGATTTCTGTGTCTGGAATTTGCATTCTGCT
AAATATCACAGAGCTGTGCTATTTGTTTCGTTAGGTATTGCTCAGGAAAGTCCAAAAGACCAG
TCTACCCATACGATGTTCCAGATTACGCTTAAAGGCGCGCCACCCCTGCAGGGAATTCCGCA
TTGCCAGTTGTTAGATTAAAGAAATAGACAGCATGAGAGGGATGAGGCAACCCGTGCTCAGC
TGTCAGGCTCAGTCGCTAGCATTTCCCAACACAAAAGATTCTGACCTTAAATGCAACCATTT
GAAACCCCTGTAGGCCTCAGGTGAAACTCCAGATGCCACAATGGAGCTCTGCTCCCTAAAG
CCTCAAAACAAAGGCCTAATTTCTATGCCTGTCTTAATTTTCTTTCACTTAAGTTAGTTCCAC
TGAGACCCAGGCTGTTAGGGGTTATTGGTGTAAAGTACTTTTCATATTTTAAACAGAGGATA
TCGGCATTTGTTTCTTCTCTGAGGACAAGAGAAAAAGCCAGGTTCCACAGAGGACACAGA
GAAGGTTTGGGTGTCTCTCGGGTCTTTTTTGCCAACTTCCCCACGTTAAAGGTGAACAT
TGGTTCTTTCAATTGCTTTGGAAGTTTTAATCTCTAACAGTGGACAAAGTTACCAGTGCCTT
AAACTCTGTIACACTTTTTGGAAGTGAAGCTTTGTAGTATGATAGGTTATTTTGATGTAA
GATGTTCTGGATACCATTATATGTTCCCCCTGTTTCAGAGGCTCAGATTGTAATATGTAAAT
GGTATGTCAATTCGCTACTATGATTTAATTTGAAATATGGTCTTTTGGTTATGAATACTTTGC
AGCACAGCTGAGAGGCTGTCTGTTGTATTCTATTGTTGTCATAGCACCTAACAACTTGTAGC
CTCAATCGAGTGAGACAGACTAGAAGTTCCTAGTGATGGCTTATGATAGCAATGGCCTCAT
GTCAAATATTTAGATGTAAATTTTGTGTAAGAAATACAGACTGGATGTACCACCACTACTAC
CTGTAATGACAGGCTGTCCACACATCTCCCTTTTCCATGACIGGGTAGCCAGCATCGGA
AAGAACGCTGATTTAAAGAGGTCGCTTGGGAATTTTATTGACACAGTACCATTTAATGGGGA
GGACAAAATGGGGCAGGGGAGGGAGAAGTTTCTGTCGTTAAAAACAGATTTGGAAAGACTGG
ACTCTAAAGTCTGTTGATTAAAGATGAGCTTTGTCTACTTCAAAAGTTTGTGTTTACCCC
TTCAGCCTCCAATTTTTTAAGTGAAGATATAGCTAATAACATGTGAAAAGAATAGAAGCTAA
GGTTTAGATAAATATIGAGCAGATCTATAGGAAGATTGAACCTGAATATTGCCATTATGCTT
GACATGGTTTCCAAAAAATGGTACTCCACATATTTCACTGAGGGTAAGTATTTTCTGTTGT
CAAGAATAGCATTGTAAAAGCATTTTGTAAATAAAGAAATAGCTTTAATGATATGCTTGT
ACTAAAATAATTTTGTAAATGTATCAAATACATTTAAAAACATTAAAAATATAATCTCTATAATA
ATTTAAAATCTAATATGGTTTTAAATAGAACAGCGATATCAAGCTTATCGATAATCAACCTCT
GGATTACAAAATTTGTGAAAGATTGACTGGTATTCTTAACATATGTTGCTCCTTTTACGCTAT
GTGGATACGCTGCITTAATGCCITTTGTATCATGCTATTGCTTCCCGTATGGCTTTCAATTTT
TCCCTCCTTGTATAAATCCTGGTTGCTGTCTCTTTATGAGGAGTTGTGGCCCGTTGTACGGCA
ACGTGGCGTGGTGTGCACTGTGTTTGTGACGCAACCCCCACTGGTTGGGGCATTGCCACCA
CCTGTCAGCTCCTTTCCGGGACTTTTCGCTTTCCCCCTCCCTATTGCCACGGCGGAACCTCATC
GCCGCTGCCTTGGCCGCTGCTGGACAGGGGCTCGGCTGTTGGGCACTGACAATTCGGTGGT
GTTGTGCGGGGAAATCATCGTCTTTTCTTGGCTGCTCGCCTATGTTGCCACCTGGATTCTGC
GCGGGACGTCTTCTGCTACGTCCCTTCGGCCCTCAATCCAGCGGACCTTCTTCCCGCGGC
CTGCTGCCGGCTCTGCGGCCCTCTCCGCGCTCTTCGCCCTTCGCCCTCAGACGAGTCGGATCTC
CCTTTGGGCGCCTCCCCGCGAATTCATCGATACCGAGCGCTGCTCGAGAGATCTGTGATAG
CGGCCATCAAGCTGGCTGTGCTTCTAGTTGCCAGCCATCTGTTGTTTGGCCCTCCCCCGTG
CCTTCCTTGACCCTGGAAGGTGCCACTCCCACTGTCTTCTTAATAAATGAGGAAATTGC
ATCGCATTGTCTGAGTAGGTGTCATTCTATTCTGGGGGTGGGGTGGGGCAGGACAGCAAGG
GGGAGGATTGGGAAGACAATAGCAGGCATGCTGGGGACACGTGCGGACCGAGCGGCCGAGG
AACCCTAGTGATGGAGTTGGCCACTCCCTCTCTGCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGGCCGG

10

20

30

40

50

【化 9 4】

CGACCAAAGGTCGCCCCGACGCCCCGGGCTTTGCCCGGGCGGCCTCAGTGAGCGAGCGAGCGCG
 CAGCTGCCTGCAGGGGCGCCTGATGCGGTATTTTCTCCTTACGCATCTGTGCGGTATTTTCAC
 ACCGCATACGTCAAAGCAACCATAGTACGCGCCCTGTAGCGGCGCATTAAGCGCGGGCGGGTG
 TGGTGGTTACGCGCAGCGTGACCGCTACACTTGCCAGCGCCCTAGCGCCCCGCTCCTTTTCGCT
 TTCTTCCCTTCTTTCTCGCCACGTTCCGCGGCTTTCCCGTCAAGCTCTAAATCGGGGGCT
 CCCTTTAGGGTTCCGATTTAGTGCTTTACGGCACCTCGACCCCCAAAAAAGTTGATTTGGGTG
 ATGGTTCACGTAGTGGGCCATCGCCCTGATAGACGGTTTTTTCGCCCTTTGACGTTGGAGTCC
 ACGTTCTTTAATAGTGGACTCTTGTTCCAAACTGGAACAACACTCAACCCTATCTCGGGCTA
 TTCTTTTGATTTATAAGGGATTTTGCCGATTTTCGGCCTATTGGTTAAAAAATGAGCTGATTT
 AACAAAAATTTAACGCGAATTTTAACAAAAATATTAACGTTTACAATTTTATGGTGCACCTCTC
 AGTACAATCTGCTCTGATGCCGCATAGTTAAGCCAGCCCCGACACCCGCCAACACCCGCTGA
 CGCGCCCTGACGGGCTTGTCTGCTCCCGGCATCCGCTTACAGACAAGCTGTGACCGTCTCCG
 GGAGCTGCATGTGTCAGAGGTTTTACCCGTCATCACCAGAACGCGCGAGACGAAAGGGCCTC
 GTGATACGCCATTTTTTATAGGTTAATGTCATGATAATAATGGTTTTCTTAGACGTCAGGTGG
 CACTTTTTCGGGGAAATGTGCGCGGAACCCCTATTTGTTTTATTTTCTAAATACATTCAAATA
 TGTATCCGCTCATGAGACAATAACCCTGATAAATGCTTCAATAATATTGAAAAAGGAAGAGT
 ATGAGTATTCAACATTTCCGTGTGCGCCCTTATTCCCTTTTTTTCGGGCATTTTGCCTTCCTGT
 TTTTGCTCACCCAGAAACGCTGGTGAAAGTAAAAGATGCTGAAGATCAGTTGGGTGCACGAG
 TGGGTTACATCGAACTGGATCTCAACAGCGGTAAGATCCTTGAGAGTTTTTCGCCCCGAAGAA
 CGTTTTTCCAATGATGAGCACTTTTAAAGTTCTGCTATGTGGCGCGGTATTATCCCGTATTGA
 CGCCGGGCAAGAGCAACTCGGTGCGCGCATACTATTCTCAGAATGACTTGGTTGAGTACT
 CACCAGTCACAGAAAAGCATCTTACGGATGGCATGACAGTAAGAGAATTATGCAGTGCTGCC
 ATAACCATGAGTGATAACACTGCGGCCAACTTACTTCTGACAACGATCGGAGGACCGAAGGA
 GCTAACCGCTTTTTTGCACAACATGGGGGATCATGTAACCTCGCCTTGAICGTTGGGAACCGG
 AGCTGAATGAAGCCATACCAAACGACGAGCGTGACACCA

10

20

【0149】

II. 組換えアデノ随伴ウイルス(rAAV)

いくつかの態様では、本開示は、単離されたAAVを提供する。AAVに関して本明細書
 において使用される場合、「単離された」という用語は、人工的に産生され、操作され、
 または得られたAAVを指す。単離されたAAVは、組換え法を用いて産生され得る。その
 ようなAAVは、本明細書において「組換えAAV」と呼ばれる。組換えAAV(rAAV)は、
 好ましくは、rAAVの導入遺伝子が1つ以上の(1つまたは複数の)所定の組織に特異的に
 送達されるように、組織特異的標的化能力を有する。AAVカプシドは、これらの組織特
 異的標的化能力を決定する上で重要なエレメントである。したがって、標的化される組織
 に適したカプシドを有するrAAVが選択されることができる。

30

【0150】

所望のカプシドタンパク質を有する組換えAAVを得る方法は、当技術分野において公
 知である。(例えば、参照により本明細書に組み込まれる米国特許出願公開第2003/013
 8772号明細書を参照されたい)。典型的には、本方法は、AAVカプシドタンパク質をコ
 ードする核酸配列;機能的rep遺伝子;AAV逆方向末端反復配列(ITR)および発現カセット(
 例、GJB2発現カセット)から構成される組換えAAVベクター;ならびに組換えAAVベク
 ターのAAVカプシドへのパッケージングを可能にするための、アデノウイルス由来のE2b
 転写産物およびE4転写産物を発現するヘルパープラスミド、を含有する宿主細胞を培養
 することを伴う。いくつかの実施形態では、カプシドタンパク質は、AAVのcap遺伝子
 によってコードされる構造タンパク質である。AAVは、3つのカプシドタンパク質、ビリ
 オンタンパク質1~3(VP1、VP2およびVP3と命名)を含み、それらはすべて、選択的ス
 プライシング(alternative splicing)を介して単一のcap遺伝子から転写される。いく
 つかの実施形態では、VP1、VP2およびVP3の分子量はそれぞれ、約87 kDa、約72 k
 Daおよび約62 kDaである。いくつかの実施形態では、翻訳時に、カプシドタンパク質

40

50

は、ウイルスゲノムの周りに球状の60量体タンパク質殻を形成する。いくつかの実施形態では、カプシドタンパク質の機能は、ウイルスゲノムを保護する、ゲノムを送達する、および/または宿主と相互作用することである。いくつかの態様では、カプシドタンパク質は、ウイルスゲノムを組織特異様式で宿主に(例、内耳の細胞に)送達する。

【0151】

本開示は、特定のAAV血清型カプシドが導入遺伝子(例、GJB2遺伝子)を耳(例、内耳の細胞)に送達することが可能であるという知見に部分的に基づく。いくつかの実施形態では、AAVカプシドタンパク質は、AAV9.PHP.B、AAV9.PHP.eB、exoAAV、Anc80、AAV1、AAV2、AAV3、AAV4、AAV5、AAV6、AAV7、AAV8、AAVrh8、AAV9、AAV10、AAVrh10、およびAAV-Sからなる群から選択されるAAV血清型のものである。AAV2.7m8は、蝸牛有毛細胞および支持細胞ならびに網膜を標的とする導入遺伝子を送達することが可能である。AAV2.7m8は、内耳への良好な形質導入を示す(Isgri g et al., 「AAV2.7m8 is a powerful viral vector for inner ear gene therapy,」 Nature Communications volume 10, Article number:427(2019))。いくつかの実施形態では、カプシドタンパク質はAAV血清型9(AAV9)のものである。いくつかの実施形態では、AAVカプシドタンパク質は、AAV9に由来する血清型のもの(例、AAV9カプシド変異体)、例えば、AAV9.PHP.Bである。いくつかの実施形態では、AAV9カプシド変異体はAAV9.PHP.Bである。いくつかの実施形態では、AAV9カプシド変異体はAAV-Sである。AAV-Sは、中枢神経系(CNS)を標的とするために最初に開発されたAAV9カプシドタンパク質変異体である(Hanlon et al, Selection of an Efficient AAV Vector for Robust CNS Transgene Expression, Molecular Therapy Method & Clinical Development, vol.15, pp.320-332, December 13, 2019、およびPCT/US第2020/025720号パンフレット、当該文献は参照により本明細書に組み込まれる)。驚くべきことに、AAV-Sは、下記の細胞を包含する内耳細胞に対する良好な遺伝子導入効率を示した(e.g., Hanlon et al., AAV-S: A novel AAV vector selected in brain transduces the inner ear with high efficiency, Molecular Therapy Vol 18 No 4 S1, April 28, 2020, Abstract 151を参照されたい、当該文献は参照により本明細書に組み込まれる)、限定するものではないが、外有毛細胞(OHC)、内有毛細胞(IHC)、支持細胞(例、境界細胞、内指節細胞、内柱細胞、外柱細胞、ダイテルス細胞、ヘンゼン細胞、またはクラウディウス細胞)、らせん神経節ニューロン、らせん板縁細胞(例、グリア細胞または歯間細胞)、外溝細胞(outer sulcus cell)、側壁、血管条(例、基底細胞および中間細胞)、内溝(inner sulcus)、らせん靱帯(例、線維細胞)、または前庭系の細胞。いくつかの実施形態では、AAVカプシドはAAV-Sである。AAV-Sの例示的なアミノ酸配列は、配列番号33に示される。いくつかの実施形態では、AAVカプシドはexoAAVである。exoAAVは、エクソソーム関連AAVを指す。exoAAVカプシドタンパク質は、AAV1、AAV2、AAV3、AAV4、AAV5、AAV6、AAV7、AAV8、AAVrh8、AAV9、AAV10、AAVrh10、およびAAV.PHP.Bからなる群から選択され得る。いくつかの例では、exoAAVはexoAAV1またはexoAAV9である。

【0152】

AAV-Sの例示的なアミノ酸配列は、配列番号33に示される。

MAADGYLPDWLEDNLSEGIREW WALKPGAPQPKANQQHQDNARGLVLPGYKYLGP
GNGLDKGEPVNAADAAALEHDKAYDQQLKAGDNPYLYKNHADAEFQERLKEDTSFG
GNLGRAVFQAKKRLLEPLGLVEEAAKTAPGKKRPVEQSPQEPDSSAGIGKSGAQP
AKKRLNFGQTGDTEVPDPQPIGEPPAAPSGVGS LT MASGGGAPVADNNEGADGVGSS
GNWHCDSQWLGD RVITTSTRTWALPTYNNHLYKQISNSTSGGSSNDNAYFGYSTP
WGYFDFNRFHCHFS PRDWQRLINNNWGFRPKRLNFKLFNIQVKEVTDNNGVKTIAN
NLTSTVQVFTDSDYQLPYVLGSAHEGCLPPFPADVFMIPQYGYLTLNDGSQAVGRSS
FYCLEYFPSQMLRTGNNFQFSYEFENVFPFHSSYAHSQSLDRLMNP LIDQYLYYLSKT
INGSGQNQQTLKFSVAGPSNMAVQGRNYIPGPSYRQQRVSTTTVTQNNNSEFAWPGA
SSWALNGRNSLMNPGPAMASHKEGEDRFFPLSGSLIFGKQGTGRDNVDADKVMITN

EEEIKTTNPVATESYGQVATNHQSAQSTTLTLYSPAQAQTGWVQNQGILPGMVWQDR
DVYLQGPIWAKIPHTDGNFHPSPLMGGFGMKHPPPQILIKNTPVPADPPTAFNKDK
LNSFITQYSTGQVSVEIEWELQKENS KRWNPEIQYTSNYYKSNNVEFAVNTEGVYSE
PRPIGTRYLTRNL

【0153】

当業者はまた、カプシドタンパク質の機能的に等価な変異体またはホモログを提供するために保存的アミノ酸置換が行われ得ることを理解するものと思われる。いくつかの態様では、本開示は、保存的アミノ酸置換をもたらす配列変更を擁する。本明細書において使用される場合、保存的アミノ酸置換は、アミノ酸置換が行われるタンパク質の相対電荷またはサイズ特性を変更させないアミノ酸置換を指す。変異体は、当業者に公知のポリペプチド配列を変更するための方法、そのような方法を編集する参考文献、例、Molecular Cloning: A Laboratory Manual, J. Sambrook, et al., eds., Second Edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York, 1989、または Current Protocols in Molecular Biology, F. M. Ausubel, et al., eds., John Wiley & Sons, Inc., New York などに見出されるような方法に従って調製されることができる。アミノ酸の保存的置換は、以下の群内のアミノ酸間で行われる置換を包含する: (a) M、I、L、V; (b) F、Y、W; (c) K、R、H; (d) A、G; (e) S、T; (f) Q、N; および (g) E、D。したがって、本明細書において記載されるタンパク質およびポリペプチドのアミノ酸配列(例、GJB2タンパク質配列)に対して保存的アミノ酸置換を行うことができる。

【0154】

いくつかの実施形態では、rAAVは一本鎖AAV(ssAAV)である。ssAAVは、本明細書において使用される場合、導入遺伝子発現カセットのコード配列および相補配列を別々の鎖上に有し、別々のウイルスカプシドにパッケージングされたrAAVを指す。いくつかの実施形態では、rAAVは自己相補的AAV(scAAV)である。scAAVは、本明細書において使用される場合、導入遺伝子発現カセットのコード配列と相補配列との両方がAAVゲノムの一本鎖上に存在するrAAVを指す。scAAVのコード領域は、分子内二本鎖DNA鋳型を形成するように設計された。感染すると、第2鎖の細胞媒介合成を待つのではなく、scAAVの2つの相補的半分会合して、即時の複製および転写の準備ができていて1つの二本鎖DNA(dsDNA)ユニットを形成するものと思われる。

【0155】

いくつかの実施形態では、本明細書で提供されるrAAVは、導入遺伝子(例、GJB2)を哺乳動物に送達することが可能である。いくつかの例では、哺乳動物は、ヒトまたはマウス、ラットなどの非ヒト哺乳動物、または非ヒト霊長類(例、カニクイザル)、ネコ、イヌ、ブタ、ウマ、ロバ、ラクダ、ヒツジ、またはヤギであることができる。特定の実施形態では、哺乳動物はヒトである。

【0156】

いくつかの実施形態では、本明細書で提供されるrAAVは、導入遺伝子(例、GJB2)を耳に送達することが可能である。場合によっては、本明細書で提供されるrAAVは、導入遺伝子(例、GJB2)を内耳の細胞(例、蝸牛、球形囊、卵形囊および半規管)に送達することが可能である。標的細胞の非限定的な例は、外有毛細胞(OHC)、内有毛細胞(IHC)、らせん神経節ニューロン、血管条の細胞、内溝(inner sulcus)の細胞、らせん靱帯の細胞、前庭系の細胞、コルチ器の支持細胞(e.g., 内溝および外溝(outer sulcus)の上皮細胞、ならびに歯間細胞)、らせん板縁の歯間細胞、らせん靱帯内の根細胞、柱細胞、ダイテルス細胞、ヘンゼン細胞、クラウディウス細胞、内指節細胞;ならびに境界細胞、血管条中間細胞(strial intermediate cell)、側壁および血管条より前庭階方向に位置するラセン靱帯領域(suprastrial zone)の線維細胞、血管条の基底細胞、らせん靱帯の線維細胞、らせん板縁の線維細胞、前庭階に面する迷路骨包(bony otic capsule)の内側の間葉系細胞、および、らせん板縁の上方領域の(supralimbal)暗細胞である。いくつかの実施形態では、内耳への指向性を有するAAVカプシド(例、AAV-SまたはAAV-PHP.B)と、本明細書において記載される単離された核酸(例、GJB2遺伝子調節エレメン

トの制御下でGJB2発現を駆動する単離された核酸)との組み合わせは、GJB2発現をそれを通常発現する細胞に限定し、乱雑なGJB2発現に関連する毒性(例、GJB2が有毛細胞および/または中枢神経系(CNS)において発現されることに関連する毒性)を低減するという点で、GJB2遺伝子置換療法において優れている。

【0157】

rAAVベクターをAAVカプシドにパッケージングするために宿主細胞内で培養される成分は、トランスで宿主細胞に提供され得る。あるいは、必要な成分(例、組換えAAVベクター、rep配列、cap配列、および/またはヘルパー機能)の任意の1つ以上は、当業者に公知の方法を使用して、必要な成分の1つ以上を含有するように操作された安定な宿主細胞によって提供され得る。最も適切には、そのような安定な宿主細胞は、誘導性プロモーターの制御下で必要な(1または複数の)成分を含有するものと思われる。しかしながら、必要な(1または複数の)成分は、構成的プロモーターの制御下にあり得る。適切な誘導性プロモーターおよび構成的プロモーターの例は、導入遺伝子と共に使用するのに適した調節エレメントの考察において、本明細書に提供される。さらに別の代替形態では、選択された安定な宿主細胞は、構成的プロモーターの制御下にある選択された(1または複数の)成分および1つ以上の誘導性プロモーターの制御下にある他の選択された(1または複数の)成分を含有し得る。例えば、293細胞(構成的プロモーターの制御下でE1ヘルパー機能を含有する)に由来するが、誘導性プロモーターの制御下でrepおよび/またはcapタンパク質を含有する安定な宿主細胞が作製され得る。さらに他の安定な宿主細胞は、当業者によって作製され得る。

10

20

【0158】

いくつかの実施形態では、本開示は、タンパク質(例、GJB2タンパク質)をコードするコード配列を含む核酸を含有する宿主細胞に関する。いくつかの実施形態では、宿主細胞は、哺乳動物細胞(例、ヒト細胞)、酵母細胞、細菌細胞、昆虫細胞、植物細胞、または真菌細胞である。

【0159】

本開示のrAAVを産生するために必要な組換えAAVベクター、rep配列、cap配列、およびヘルパー機能は、任意の適切な遺伝エレメント(例、ベクター)を使用してパッケージング宿主細胞に送達され得る。選択された遺伝エレメントは、本明細書に記載され、当技術分野において公知のものを包含する任意の適切な方法によって送達され得る。本開示の任意の実施形態を構築するために使用される方法は、核酸操作の当業者に公知であり、遺伝子工学、組換え工学、および合成技術を包含する。例、Sambrook et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harbor, N.Y.を参照されたい。同様に、rAAVビリオンを作製する方法は当技術分野において公知であり、適切な方法の選択は本開示に対する限定ではない。例、K. Fisher et al., J. Virol., 70:520-532(1993)および米国特許第5,478,745号明細書を参照されたく、当該文献の各々が参照により本明細書に組み込まれる。

30

【0160】

いくつかの実施形態では、組換えAAVは、トリプルトランスフェクション法(米国特許第6,001,650号明細書に詳細に記載されており、当該文献は参照により本明細書に組み込まれる)を使用して産生され得る。典型的には、組換えAAVは、AAV粒子にパッケージングされる(導入遺伝子を含む)組換えAAVベクター、AAVヘルパー機能ベクター、およびアクセサリ機能ベクターを宿主細胞にトランスフェクトすることによって産生される。AAVヘルパー機能ベクターは、産生AAVの複製およびカプシド形成のためにトランスで機能する「AAVヘルパー機能」配列(例、repおよびcap)をコードする。好ましくは、AAVヘルパー機能ベクターは、任意の検出可能な野生型AAVビリオン(例、機能的なrepおよびcap遺伝子を含有するAAVビリオン)を生成することなく効率的なAAVベクター産生を支持する。本開示と共に使用するのに適したベクターの非限定的な例としては、米国特許第6,001,650号明細書に記載のpHLP19、および米国特許第6,156,303号明細書に記載のpRep6cap6ベクターを包含し、当該文献はその両方が参照により本明細書に組

40

50

み込まれる。アクセサリ機能ベクターは、AAVが複製に依存する非AAV由来のウイルス機能および/または細胞機能(すなわち、「アクセサリ機能」)のためのヌクレオチド配列をコードする。アクセサリ機能は、限定するものではないが、AAV遺伝子転写の活性化、段階特異的AAV mRNAスプライシング、AAV DNA複製、cap発現産物の合成、およびAAVカプシドアセンブリに関与する部分を包含する、AAV複製に必要な機能を包含する。ウイルスに基づくアクセサリ機能は、アデノウイルス、ヘルペスウイルス(単純ヘルペスウイルス1型以外)、およびワクシニアウイルスなどの公知のヘルパーウイルスのいずれかに由来されることができる。

【0161】

いくつかの態様では、本開示は、トランスフェクトされた宿主細胞を提供する。「トランスフェクション」という用語は、細胞による外来DNAの取り込みを指すために使用され、外因性DNAが細胞膜の内側に導入された場合、細胞は「トランスフェクト」されている。多数のトランスフェクション技術が当技術分野において一般的に知られている。例、Graham et al.(1973)Virology,52:456、Sambrook et al.(1989)Molecular Cloning,a Laboratory Manual,Cold Spring Harbor Laboratories,New York、Davis et al.(1986)Basic Methods in Molecular Biology,Elsevier、およびChu et al.(1981)Gene 13:197を参照されたい。そのような技術は、1つ以上の外因性核酸を適切な宿主細胞に導入するために使用されることができる。

10

【0162】

「宿主細胞」は、目的の物質を保有する、または保有が可能である任意の細胞を指す。多くの場合、宿主細胞は哺乳動物細胞である。宿主細胞は、AAVヘルパー構築物、AAVプラスミド、アクセサリ機能ベクター、または組換えAAVの産生に関連する他のトランスファードNAのレシピエントとして使用され得る。この用語は、トランスフェクトされた元の細胞の子孫を包含する。したがって、本明細書において使用される場合、「宿主細胞」は、外因性DNA配列をトランスフェクトされた細胞を指し得る。単一の親細胞の子孫は、天然、偶発的、または意図的な突然変異または操作のために、元の親と形態またはゲノムもしくは全DNA相補体が必ずしも完全に同一であり得ないことが理解されよう。

20

【0163】

本明細書において使用される場合、「細胞株」という用語は、in vitroで連続的または長期的な増殖および分裂が可能である細胞の集団を指す。多くの場合、細胞株は、単一の前駆細胞に由来するクローン集団である。このようなクローン集団の保存または移入中に核型に自発的または誘導的な変化が起こり得ることは、当技術分野においてさらに公知である。したがって、言及される細胞株に由来する細胞は、祖先細胞または培養物と正確に同一ではあり得ず、言及される細胞株はそのような変異体を包含する。

30

【0164】

本明細書において使用される場合、「組換え細胞」という用語は、生物学的に活性なポリペプチド(例、GJB2タンパク質)の転写につながるDNAセグメントなどの外因性DNAセグメントが導入されている細胞を指す。

【0165】

本明細書において使用される場合、「ベクター」という用語は、適切な制御エレメントと会合すると複製が可能であり、細胞間で遺伝子配列を移入することができる、プラスミド、ファージ、トランスポゾン、コスミド、染色体、人工染色体、ウイルス、ビリオンなどの任意の遺伝エレメントを包含する。したがって、この用語は、クローニングおよび発現ビヒクル、ならびにウイルスベクターを包含する。いくつかの実施形態では、有用なベクターは、転写される核酸セグメントがプロモーターの転写制御下に位置するベクターであることが企図される。「発現ベクターまたは発現構築物」という用語は、配列をコードする核酸の一部または全部が転写されることが可能な核酸を含有する、任意の型の遺伝子構築物を意味する。

40

【0166】

本開示のrAAVを生成するために組換えベクターを所望のAAVカプシドにパッケージン

50

グするための前述の方法は、限定することを意味するものではなく、他の適切な方法が当業者には明らかであるものと思われる。

【0167】

本開示は、導入遺伝子(例、GJB2)を発現させるためのベクター(例、AAVベクター)を含むrAAVを提供し、そのようなベクターは、AAV LTR(例、AAV2 LTR)、およびプロモーター(例、ヒトGJB2プロモーターまたはその断片)に作動可能に連結されたプロモーターを含む発現カセットを包含する。さらに、ベクターは、特定の調節エレメント(例、GJB2エンハンサー、GJB2遺伝子の5'および3' UTR、WPRE、ならびにポリアデニル化部位)をさらに含むことができる。さらに、rAAVは、カプシドタンパク質(例、AAV9、PHP.BカプシドまたはAAV-Sカプシド)を含むことができる。そのようなrAAVは、導入遺伝子(例、GJB2)を標的組織(例、通常GJB2を内耳において発現する細胞)に送達することができる。いくつかの実施形態では、そのようなrAAVは、標的組織中の特定の細胞、例えば蝸牛の結合組織細胞ならびにコルチ器および近傍領域の支持細胞に導入遺伝子(例、GJB2)を送達することが可能である。

10

【0168】

III. 医薬組成物

rAAVは、当技術分野において公知の任意の適切な方法による組成物で対象に送達され得る。rAAVは、好ましくは生理学的に適合性の担体(すなわち、組成物中)に懸濁され、対象、例、宿主動物、ペイシエント、実験動物に投与され得る。いくつかの実施形態では、対象は哺乳動物である。いくつかの例では、哺乳動物はヒトである。他の実施形態では、哺乳動物は、ヒト、マウス、ラット、ネコ、イヌ、ヒツジ、ウサギ、ウマ、ウシ、ヤギ、ブタ、モルモット、ハムスター、ニワトリ、シチメンチョウ、または非ヒト霊長類(例、カニクイザル)などの非ヒト哺乳動物であることができる。対象は、発達の任意の段階および任意の性別であり得る。

20

【0169】

rAAVは、目的の任意の器官または組織に送達されることができる。いくつかの実施形態では、rAAVは内耳に送達される。哺乳動物対象へのrAAVの送達は、例えば耳への注射によるものであり得る。いくつかの実施形態では、注射は、内耳の正円窓膜を介して耳に、蝸牛の中央階に、蝸牛の前庭階に、内耳の半規管に、または内耳の球形嚢もしくは卵形嚢に行われる。いくつかの実施形態では、rAAVは局所投与(例、点耳剤)によって耳に送達される。いくつかの実施形態では、注射は局所投与ではない。投与方法の組み合わせ(例、局所投与および内耳の正円窓膜を介した注射)も使用されることができる。

30

【0170】

本開示の組成物は、本明細書において記載されるrAAVを単独で、または1つ以上の他のウイルス(例、1つ以上の異なる導入遺伝子を有することをコードする第2のrAAV)と組み合わせて含み得る。いくつかの実施形態では、組成物は、それぞれが1つ以上の異なる導入遺伝子を有する1、2、3、4、5、6、7、8、9、10またはそれ以上の異なるrAAVを含む。

【0171】

いくつかの実施形態では、組成物は、薬学的に許容される担体をさらに含む。適切な担体は、rAAVが向けられる適応症を考慮して当業者によって容易に選択され得る。「許容される」とは、担体が、組成物のrAAVまたは単離された核酸と適合性でなければならず(好ましくは、活性成分を安定化することが可能であり)、治療される対象に有害であってはならないことを意味する。いくつかの実施形態では、薬学的に許容される担体/賦形剤は、投与様式と適合性である。当技術分野において周知の緩衝液を包含する、薬学的に許容される賦形剤(担体)。例、Remington:The Science and Practice of Pharmacy 20th Ed.(2000)Lippincott Williams and Wilkins,Ed.K.E.Hooverを参照されたい。例えば、1つの許容される担体は、生理食塩水を包含し、これは様々な緩衝液と共に製剤化され得る(例、リン酸緩衝生理食塩水)。他の例示的な担体としては、滅菌生理食塩水、ラクトース、スクロース、リン酸カルシウム、ゼラチン、デキストラン、寒天、ペ

40

50

クチン、落花生油、ゴマ油および水を包含する。担体の選択は、本開示を限定するものではない。

【0172】

本明細書において開示されるrAAV含有医薬組成物は、適切な緩衝液をさらに含み得る。緩衝液は、別の酸または塩基の添加後に溶液のpHを選択された値付近に維持するために使用される弱酸または弱塩基である。いくつかの例では、本明細書において開示される緩衝液は、二酸化炭素濃度(例、細胞呼吸によって産生される)の変化にもかかわらず生理学的pHを維持することが可能である緩衝液であり得る。例示的な緩衝液としては、限定するものではないが、HEPES(4-(2-ヒドロキシエチル)-1-ピペラジンエタンスルホン酸)緩衝液、ダルベッコリン酸緩衝生理食塩水(DPBS)緩衝液、またはリン酸緩衝生理食塩水(PBS)緩衝液を包含する。そのような緩衝液は、リン酸水素二ナトリウムおよび塩化ナトリウム、またはリン酸二水素カリウムおよび塩化カリウムを含み得る。

10

【0173】

任意選択的に、本開示の組成物は、rAAVおよび(1または複数の)担体に加えて、防腐剤または化学安定剤などの他の医薬成分を含有し得る。適切な例示的な防腐剤としては、クロロブタノール、ソルビン酸カリウム、ソルビン酸、二酸化硫黄、没食子酸プロピル、パラベン、エチルバニリン、グリセリン、フェノールおよびパラクロロフェノールを包含する。適切な化学安定剤としては、ゼラチンおよびアルブミンを包含する。

【0174】

本明細書において記載されるrAAV含有医薬組成物は、界面活性剤などの1つ以上の適切な表面活性剤を含む。界面活性剤は、2つの液体間、気体と液体との間、または液体と固体との間の表面張力(または界面張力)を低下させる化合物である。界面活性剤は、洗剤、湿潤剤、乳化剤、発泡剤、および分散剤として作用し得る。適切な界面活性剤としては、特に、ポリオキシエチレンソルビタン(例、Tween(商標)20、40、60、80または85)および他のソルビタン(例、Span(商標)20、40、60、80または85)などの非イオン性剤を包含する。表面活性剤を含む組成物は、好都合には0.05~5%の間の表面活性剤を含み、0.1~2.5%の間であることができる。必要に応じて、他の成分、例えばマンニトールまたは他の薬学的に許容されるビヒクルが添加され得ることが理解されよう。

20

【0175】

rAAVは、所望の組織(例、蝸牛の結合組織細胞ならびにコルチ器およびその近傍領域の支持細胞)の細胞をトランスフェクトし、過度な逆効果なしに十分なレベルの遺伝子移入および発現を提供するのに十分な量で投与される。薬学的に許容される投与経路の例としては、限定するものではないが、選択された器官(例、耳)または組織への直接送達、静脈内、筋肉内、皮下、皮内、腫瘍内および他の親投与経路(parental route)を包含する。所望であれば、投与経路は組み合わせられ得る。

30

【0176】

特定の「治療効果」を達成するために必要なrAAVビリオンの用量、例、体重1キログラムあたりのウイルスゲノムコピー(GC/kgまたはVG/kg)での用量の単位は、限定するものではないが、rAAVビリオンの投与経路、治療効果を達成するために必要な遺伝子またはRNA発現のレベル、治療されている特定の疾患または障害、および遺伝子またはrAAV産物の安定性を包含するいくつかの因子に基づいて変動する。当業者は、上述の因子ならびに他の因子に基づいて、特定の疾患または障害(例、非症候性聴覚喪失および難聴、または任意のGJB2関連障害)を有するペイシエントを治療するためのrAAVビリオン用量範囲を容易に決定することができる。

40

【0177】

rAAVの有効量は、動物(例、マウス、ラット、非ヒト霊長類またはヒト)に感染するか、または所望の組織もしくは細胞(例、蝸牛の結合組織細胞ならびにコルチ器およびその近傍領域の支持細胞)を標的とするのに十分な量である。有効量は、主に、種、年齢、体重、対象の健康状態、および標的とする組織などの因子に依存するものと思われ、したがって動物および組織間で変動し得る。例えば、rAAVの有効量は、一般に、約 $10^9 \sim 10^{11}$

50

⁶ゲノムコピーを含有する溶液約1 ml～約100 mlの範囲である。場合によっては、約 10^{11} ～ 10^{13} rAAVゲノムコピーの投与量が適切である。特定の実施形態では、 10^9 個rAAVゲノムコピーが内耳組織(例、蝸牛の結合組織細胞ならびにコルチ器およびその近傍領域の支持細胞)を標的とするのに有効である。いくつかの実施形態では、 10^9 個rAAVゲノムコピーよりもより濃縮された用量は、対象の耳に投与した場合に毒性である。いくつかの実施形態では、有効量は、rAAVの複数回用量によって生成される。

【0178】

いくつかの実施形態では、rAAVの用量は、1日(例、24時間の期間)当たり1回以下で対象に投与される。いくつかの実施形態では、rAAVの用量は、2、3、4、5、6、または7日当たり1回以下で対象に投与される。いくつかの実施形態では、rAAVの用量は、1週間(例、7暦日)当たり1回以下で対象に投与される。いくつかの実施形態では、rAAVの用量は、隔週当たり1回以下(例、2週間に1回)で対象に投与される。いくつかの実施形態では、rAAVの用量は、1ヶ月当たり1回以下(例、30暦日に1回)で対象に投与される。いくつかの実施形態では、rAAVの用量は、6ヶ月当たり1回以下で対象に投与される。いくつかの実施形態では、rAAVの用量は、1年(例、365日または閏年では366日)当たり1回以下で対象に投与される。いくつかの実施形態では、rAAVの用量は、生涯に1回対象に投与される。

【0179】

いくつかの実施形態では、rAAV組成物は、特に高いrAAV濃度が存在する場合(例、約 10^{13} GC/ml以上)、組成物中のAAV粒子の凝集を減少させるように製剤化される。例えば、界面活性剤の添加、pH調整、塩濃度調整などを包含する、凝集を減少させるための適切な方法が使用され得る。(例、その内容が参照により本明細書に組み込まれる、Wright et al., Molecular Therapy (2005) 12, 171-178を参照されたい。)

【0180】

薬学的に許容される賦形剤および担体溶液の製剤化は、様々な治療レジメンにおいて本明細書において記載される特定の組成物を使用するための適切な投与および治療レジメンの開発と同様に、当業者に周知である。溶解度、バイオアベイラビリティ、生物学的半減期、投与経路、製品貯蔵寿命、ならびに他の薬理学的考慮事項などの因子は、そのような医薬製剤を調製する当業者によって企図され、したがって、様々な投与量および治療レジメンが望ましくあり得る。

【0181】

いくつかの実施形態では、本明細書において開示される適切に製剤化された医薬組成物中のrAAVは、標的組織に直接、例、内耳組織(例、蝸牛の結合組織細胞ならびにコルチ器およびその近傍領域の支持細胞)に直接送達される。しかし、特定の状況では、別の経路、例、皮下、非経口、静脈内、筋肉内、髄腔内、経口、または腹腔内を介してrAAVベースの治療用構築物を別々にまたは加えて送達することが望ましくあり得る。いくつかの実施形態では、米国特許第5,543,158号明細書;同第5,641,515号明細書および同第5,399,363号明細書(それぞれその全体が参照により本明細書に具体的に組み込まれる)に記載の投与モダリティを、rAAVを送達するために使用することができる。

【0182】

注射使用に適した医薬形態としては、滅菌水溶液または分散液、および滅菌注射溶液または分散液の即時調製のための滅菌粉末を包含する。分散液はまた、グリセロール、液体ポリエチレングリコールおよびそれらの混合物中および油中で調製され得る。保存および使用の通常の条件下では、これらの調製物は、微生物の増殖を防ぐために防腐剤を含有する。多くの場合、形態は滅菌である。調製物は、製造および貯蔵の条件下で安定でなければならない。担体は、例えば、水、エタノール、ポリオール(例、グリセロール、プロピレングリコール、および液体ポリエチレングリコールなど)、それらの適切な混合物、および/または植物油を含有する溶媒または分散媒であり得る。適切な流動性は、例えば、レシチンなどのコーティングの使用によって、分散液の場合には必要な粒径の維

10

20

30

40

50

持によって、および界面活性剤の使用によって維持され得る。微生物による汚染の防止は、様々な抗菌剤および抗真菌剤、例えばパラベン、クロロブタノール、フェノール、ソルビン酸、チメロサルなどによって達成されることができ。多くの場合、等張剤、例えば糖または塩(例、塩化ナトリウム)を包含することが好ましい。注射用組成物の持続的吸収は、吸収を遅延させる薬剤、例えばモノステアリン酸アルミニウムおよびゼラチンの組成物における使用によって達成されることができ。

【0183】

注射用水溶液の投与のために、例えば、溶液は、必要に応じて適切に緩衝化され得、液体希釈剤は、まず十分な生理食塩水またはグルコースで等張性にされる。これらの特定の水溶液は、静脈内投与、筋肉内投与、皮下投与、腹腔内投与、および内耳の正円窓膜を介した注射に特に適している。この点において、適切な滅菌水性媒体が使用され得る。例えば、1回の投与量は1 mlの等張性NaCl溶液に溶解し、1000 mlの皮下点滴液に添加するか、または提案された注入部位)に注射され得る(例えば、Remington's Pharmaceutical Sciences 15th Edition, pages 1035-1038および1570-1580を参照されたい。投与量のいくらかの変動は、宿主の状態に応じて必然的に生じるものと思われる。投与の責任者は、いずれにせよ、個々の対象/主に対する適切な用量を決定するものと思われる。

【0184】

滅菌注射溶液は、必要な量の活性rAAVを、必要に応じて、本明細書中に記載される様々な他の成分と共に適切な溶媒中に組み込み、続いて濾過滅菌することによって調製される。一般に、分散液は、様々な滅菌された活性成分を、基礎分散媒および上に挙げたものからの必要な他の成分を含有する滅菌ビヒクルに組み込むことによって調製される。滅菌注射溶液の調製のための滅菌粉末の場合、好ましい調製方法は、活性成分+任意の追加の所望の成分の粉末を、すでに滅菌濾過されたその溶液から得る真空乾燥および凍結乾燥技術である。

【0185】

本明細書において開示されるrAAV組成物はまた、中性形態または塩形態で製剤化され得る。薬学的に許容される塩としては、限定するものではないが、塩酸もしくはリン酸、または酢酸、シュウ酸、酒石酸、マンデル酸などの有機酸を包含する。遊離カルボキシル基で形成された塩はまた、無機塩基、例えば水酸化ナトリウム、水酸化カリウム、水酸化アンモニウム、水酸化カルシウム、または水酸化第二鉄など、およびイソプロピルアミン、トリメチルアミン、ヒスチジン、プロカインなどの有機塩基から誘導されることができ。製剤化すると、溶液は、投与製剤と適合する様式で、治療上有効な量で投与されるものと思われる。製剤は、注射用溶液、薬物放出カプセルなどの様々な剤形で容易に投与される。

【0186】

本明細書において使用される場合、「担体」としては、ありとあらゆる溶媒、分散媒、ビヒクル、溶媒、コーティング、希釈剤、抗菌剤および抗真菌剤、等張剤および吸収遅延剤、緩衝液、担体溶液、懸濁液、コロイドなどを包含する。薬学的に活性な物質のためのそのような媒体および薬剤の使用は、当技術分野において周知である。補助活性成分も組成物に組み込まれることができる。「薬学的に許容される」という語句は、宿主に投与した場合にアレルギー反応または類似の有害反応を生じない分子実体および組成物を指す。

【0187】

リボソーム、ナノカプセル、微粒子、ミクロスフェア、脂質粒子、小胞などの送達ビヒクルが、本開示の組成物を適切な宿主細胞に導入するために使用され得る。特に、rAAVベクター送達導入遺伝子は、脂質粒子、リボソーム、小胞、ナノスフェア、ナノ粒子などに封入された送達用に製剤化され得る。

【0188】

そのような製剤は、本明細書において開示される核酸またはrAAV構築物の薬学的に許容される製剤の導入に好ましい場合があり得る。リボソームの形成および使用は、一般に

当業者に公知である。最近、改善された血清安定性および循環半減期を有するリポソームが開発された(米国特許第5,741,516号明細書、当該文献は参照により本明細書に組み込まれる)。さらに、潜在的な薬物担体としてのリポソームおよびリポソーム様調製物の様々な方法が記載されている(米国特許第5,567,434号明細書;同第5,552,157号明細書;同第5,565,213号明細書;同第5,738,868号明細書および同第5,795,587号明細書(当該文献の各々は参照により本明細書に組み込まれる))。

【0189】

あるいは、rAAVのナノカプセル製剤が使用され得る。ナノカプセルは、一般に、安定かつ再現性のある方法で物質を捕捉することができる。細胞内ポリマー過負荷による副作用を回避するために、そのような超微粒子(約0.1 μm のサイズ)は、*in vivo*で分解され得るポリマーを使用して設計されるべきである。これらの要件を満たす生分解性ポリアルキル-シアノアクリレートナノ粒子を使用することが企図される。

【0190】

IV. 治療用途

本開示はまた、聴覚喪失を治療するために、対象の耳(例、蝸牛の結合組織細胞ならびにコルチ器およびその近傍領域の支持細胞)において導入遺伝子(例、GJB2)を通常発現する細胞に導入遺伝子(例、GJB2)を(例、単離された核酸、ベクター、rAAV、宿主細胞、または本明細書において記載される医薬組成物によって)送達する方法を提供する。いくつかの態様では、本開示は、対象の耳(例、蝸牛の結合組織細胞ならびにコルチ器およびその近傍領域の支持細胞)において導入遺伝子(例、GJB2)を通常発現する細胞に導入遺伝子(例、GJB2)を、(例、単離された核酸、ベクター、rAAV、宿主細胞、または本明細書において記載される医薬組成物によって)送達することによって、対象においてGJB2関連疾患(例、非症候性聴覚喪失および難聴(DFNB1))を治療する方法を提供する。いくつかの態様では、本開示は、対象の耳(例、蝸牛の結合組織細胞ならびにコルチ器およびその近傍領域の支持細胞)において導入遺伝子(例、GJB2)を通常発現する細胞に導入遺伝子(例、GJB2)を、(例、単離された核酸、ベクター、rAAV、宿主細胞、または本明細書において記載される医薬組成物によって)送達することによって、内耳支持細胞におけるGJB2発現標的化ならびに/またはニューロンおよび/もしくは蝸牛有毛細胞におけるGJB2の脱標的化のための方法を提供する。いくつかの実施形態では、内耳支持細胞におけるGJB2発現標的化ならびに/またはニューロンおよび/もしくは蝸牛有毛細胞におけるGJB2の脱標的化は、本明細書において記載されるGJB2関連疾患を治療するように設計される。いくつかの実施形態では、対象は哺乳動物である。いくつかの例では、対象はヒトである。他の実施形態では、対象は、マウス、ラット、ウシ、ヤギ、ブタ、ラクダ、または非ヒト霊長類(例、カニクイザル)などの非ヒト哺乳動物である。

【0191】

いくつかの実施形態では、対象は、聴覚喪失を有しているか、または有する疑いがある。特定の実施形態では、対象は、非症候性聴覚喪失および難聴(DFNB1)を揺すると診断される。特定の実施形態では、聴覚喪失は、GJB2遺伝子の突然変異に関連する。いくつかの実施形態では、GJB2遺伝子の突然変異は、点突然変異、ミスセンス突然変異、ナンセンス突然変異、欠失、挿入、またはそれらの組み合わせである。GJB2遺伝子における突然変異の非限定的な例は表2に示される。本明細書で使用される突然変異は、配列、例、核酸配列またはアミノ酸配列内の残基の別の残基による置換、または配列内の1つ以上の残基の欠失もしくは挿入を指す。突然変異は、典型的には、元の残基を同定し、続いて配列内の残基の位置および新たに置換された残基の同一性を同定することによって本明細書において記載される。

10

20

30

40

50

【表 5 - 1】

表 2:GJB2 遺伝子における例示的な突然変異(NM_004004.6 の ATG で始まるヌクレオチド番号)

突然変異	アミノ酸の変化	突然変異	アミノ酸の変化
c.677T>G	p.Val226Gly	c.509__522del	p.Asn170ThrfsTer35
c.677T>A	p.Val226Asp	c.521G>C	p.Cys174Ser
c.674C>T	p.Pro225Leu	c.520T>C	p.Cys174Arg
c.653G>A	p.Cys218Tyr	c.518C>G	p.Pro173Arg
c.647__650del	p.Arg216IlefsTer17	c.517C>T	p.Pro173Ser
c.650A>G	p.Tyr217Cys	c.516G>C	p.Trp172Cys
c.645del	p.Arg216AspfsTer18	c.516G>A	p.Trp172Ter
c.641T>C	p.Leu214Pro	c.514T>A	p.Trp172Arg
c.638T>A	p.Leu213Ter	c.512__513insAACG	p.Trp172ThrfsTer39
c.632__633del	p.Cys211LeufsTer5	c.508__511dup	p.Alal71GlufsTer40
c.633T>A	p.Cys211Ter	c.511G>T	p.Alal71Ser
c.632G>A	p.Cys211Tyr	c.509dup	p.Asn170LysfsTer40
c.622A>C	p.Thr208Pro	c.509A>C	p.Asn170Thr
c.617A>G	p.Asn206Ser	c.506G>A	p.Cys169Tyr
c.617A>C	p.Asn206Thr	c.504__505insAAGG	p.Cys169LysfsTer42
c.614T>C	p.Leu205Pro	c.505T>C	p.Cys169Arg
c.613C>G	p.Leu205Val	c.488T>C	p.Met163Thr
c.608__609delinsAA	p.Ile203Lys	c.487A>G	p.Met163Val
c.605G>T	p.Cys202Phe	c.487A>C	p.Met163Leu
c.592__600delinsCAGTGTTTCATGACATTC	p.Val198GlnfsTer4	c.486__487insT	p.Met163TyrfsTer47
c.599G>C	p.Gly200Ala	c.482T>C;	p.Phe161Ser
c.598G>T	p.Gly200Ter	c.476A>T	p.Asp159Val
c.598G>A	p.Gly200Arg	c.458__475dup	p.Val153__Tyr158dup
c.596C>T	p.Ser199Phe	c.475G>A	p.Asp159Asn
c.592G>A	p.Val198Met	c.473A>G	p.Tyr158Cys
c.589G>T	p.Alal97Ser	c.464__465del	p.Tyr155CysfsTer54
c.585G>C	p.Met195Ile	c.465T>A	p.Tyr155Ter
c.584T>C	p.Met195Thr	c.458T>C	p.Val153Ala
c.583A>G	p.Met195Val	c.456C>A	p.Tyr152Ter
c.576del	p.Val193CysfsTer3	c.452T>G	p.Met151Arg
c.575__576del	p.Thr192SerfsTer17	c.431__450del	p.Val144AspfsTer59
c.585G>C	p.Met195Ile	c.439G>T	p.Glu147Ter
c.584T>C	p.Met195Thr	c.439G>A	p.Glu147Lys
c.583A>G	p.Met195Val	c.435__436del	p.Phe146ArgfsTer63
c.576del	p.Val193CysfsTer3	c.428G>T	p.Arg143Leu
c.575__576del	p.Thr192SerfsTer17	c.428G>A	p.Arg143Gln
c.572del	p.Phe191SerfsTer5	c.427C>T	p.Arg143Trp
c.569T>A	p.Val190Asp	c.424__426del	p.Phe142del
c.564__565del	p.Lys188AsnfsTer21	c.426C>G	p.Phe142Leu
c.563A>G	p.Lys188Arg	c.426C>A	p.Phe142Leu
c.559__561del	p.Glu187del	c.424T>C	p.Phe142Leu
c.557C>T	p.Thr186Met	c.424T>A	p.Phe142Ile
c.557C>A	p.Thr186Lys	c.419T>G	p.Ile140Ser
c.551G>C	p.Arg184Pro	c.416G>A	p.Ser139Asn
c.551G>A	p.Arg184Gln	c.415A>T	p.Ser139Cys
c.550C>T	p.Arg184Trp	c.413G>A	p.Ser138Asn
c.550C>G	p.Arg184Gly	c.409dup	p.Thr137AsnfsTer73
c.548C>T	p.Ser183Phe	c.408C>A	p.Tyr136Ter
c.535G>C	p.Asp179His	c.407A>G	p.Tyr136Cys
c.523C>A	p.Pro175Thr	c.405del	p.Tyr136ThrfsTer32
c.535G>A	p.Asp179Asn	c.402del	p.Trp134Ter
c.533T>C	p.Val178Ala	c.401G>A	p.Trp134Ter

10

20

30

40

50

【表 5 - 2】

c. 516__532del	p. Trp172CysfsTer32	c. 400T>C	p. Trp134Arg
c. 390__399del	p. Ser131GlyfsTer34	c. 389G>A	p. Gly130Asp
c. 398G>A	p. Trp133Ter	c. 384C>G	p. Ile128Met
c. 397T>G	p. Trp133Gly	c. 377__383dup	p. Glu129ProfsTer83
c. 394C>G	p. Leu132Val	c. 382A>G	p. Ile128Val
c. 389G>T	p. Gly130Val	c. 380G>T	p. Arg127Leu
c. 389G>C	p. Gly130Ala	c. 379C>T	p. Arg127Cys
c. 377__378insATGCGGA	p. Arg127CysfsTer85	c. 344T>G	p. Phe115Cys
c. 370C>T	p. Gln124Ter	c. 340G>T	p. Glu114Ter
c. 367del	p. Thr123ProfsTer45	c. 339T>G	p. Ser113Arg
c. 365A>T	p. Lys122Ile	c. 336G>T;	p. Lys112Asn
c. 363del	p. Thr123ProfsTer45	c. 334__335del	p. Lys112GlufsTer2
c. 355__363del	p. Glu119__Ile121del	c. 335A>T	p. Lys112Met
c. 358__360del	p. Glu120del	c. 331A>G	p. Ile111Val
c. 358G>A	p. Glu120Lys	c. 329del	p. Glu110GlyfsTer2
c. 355G>A	p. Glu119Lys	c. 328del	p. Glu110ArgfsTer2
c. 345dup	p. Lys116Ter	c. 327__328del	p. Glu110AspfsTer4
c. 328G>A	p. Glu110Lys	c. 299__300del	p. His100ArgfsTer14
c. 327__328delinsA	p. Glu110ArgfsTer2	c. 300T>A	p. His100Gln
c. 314__327del	p. Lys105ArgfsTer5	c. 299A>T	p. His100Leu
c. 313__326del	p. Lys105GlyfsTer5	c. 299A>C	p. His100Pro
c. 326G>T	p. Gly109Val	c. 292__298dup	p. His100ProfsTer4
c. 326G>A	p. Gly109Glu	c. 298del	p. His100MetfsTer12
c. 310__323del	p. Arg104GlyfsTer6	c. 298C>T	p. His100Tyr
c. 317T>A	p. Phe106Tyr	c. 296__297del	p. Arg99ThrfsTer2
c. 307A>T	p. Lys103Ter	c. 290__ 295delinsCCCG	p. Tyr97SerfsTer4
c. 301__303del	p. Glu101del	c. 293G>A	p. Arg98Gln
c. 302A>G	p. Glu101Gly	c. 292C>T	p. Arg98Trp
c. 314A>G	p. Lys105Arg	c. 290dup	p. Tyr97Ter
c. 280__284dup	p. Ala96ThrfsTer18	c. 262G>T	p. Ala88Ser
c. 283G>A	p. Val95Met	c. 262G>C	p. Ala88Pro
c. 279G>A	p. Met93Ile	c. 258__260del	p. Pro87del
c. 278T>C	p. Met93Thr	c. 257C>T	p. Thr86Met
c. 270__271insT	p. Val91CysfsTer11	c. 257C>G	p. Thr86Arg
c. 269dup	p. Val91SerfsTer11	c. 253T>C	p. Ser85Pro
c. 269del	p. Leu90GlnfsTer22	c. 251T>C	p. Val84Ala
c. 269T>G	p. Leu90Arg	c. 250G>T	p. Val84Leu
c. 269T>C	p. Leu90Pro	c. 250G>C	p. Val84Leu
c. 268C>G	p. Leu90Val	c. 250G>A	p. Val84Met
c. 263C>T	p. Ala88Val	c. 247__249del	p. Phe83del
c. 263C>G	p. Ala88Gly	c. 247T>A	p. Phe83Ile
c. 263C>A	p. Ala88Glu	c. 246C>G	p. Ile82Met
c. 241C>G	p. Leu81Val	c. 232dup	p. Ala78GlyfsTer24
c. 239A>T	p. Gln80Leu	c. 232G>T	p. Ala78Ser
c. 239A>G	p. Gln80Arg	c. 232G>A	p. Ala78Thr
c. 239A>C	p. Gln80Pro	c. 231G>A	p. Trp77Ter
c. 236__239delinsAGATCCG	p. Leu79__ Gln80delinsGlnIleArg	c. 230G>A	p. Trp77Ter
c. 238C>T	p. Gln80Ter	c. 229T>C	p. Trp77Arg
c. 238C>A	p. Gln80Lys	c. 227T>C	p. Leu76Pro
c. 236T>C	p. Leu79Pro	c. 224G>A	p. Arg75Gln
c. 235del	p. Leu79CysfsTer3	c. 223C>T	p. Arg75Trp
c. 235C>G	p. Leu79Val	c. 2__18A>G	p. His73Arg,
c. 217C>T	p. His73Tyr	c. 195C>A	p. Tyr65Ter
c. 212T>C	p. Ile71Thr	c. 194A>G	p. Tyr65Cys
c. 212T>A	p. Ile71Asn	c. 193T>C	p. Tyr65His
c. 209C>T	p. Pro70Leu	c. 192C>A	p. Cys64Ter
c. 208C>T	p. Pro70Ser	c. 176__191del	p. Gly59AlafsTer18

10

20

30

40

50

【表 5 - 3】

c. 208C>G	p. Pro70Ala	c. 191G>A	p. Cys64Tyr
c. 200A>G	p. His67Arg	c. 188T>C	p. Val63Ala
c. 196G>C	p. Asp66His	c. 187del	p. Val63CysfsTer19
c. 196G>A	p. Asp66Asn	c. 187G>T	p. Val63Leu
c. 195C>G	p. Tyr65Ter	c. 187G>A	p. Val63Met
c. 184__185insT	p. Asn621lefsTer40	c. 169C>T	p. Gln57Ter
c. 181A>C	p. Lys61Gln	c. 167del	p. Leu56ArgfsTer26
c. 176del	p. Gly59AlafsTer23	c. 167T>C	p. Leu56Pro
c. 176G>T	p. Gly59Val	c. 164C>A	p. Thr55Asn
c. 176G>C	p. Gly59Ala	c. 163A>C	p. Thr55Pro
c. 176G>A	p. Gly59Asp	c. 162C>A	p. Asn54Lys
c. 175G>C	p. Gly59Arg	c. 161A>T	p. Asn54Ile
c. 175G>A	p. Gly59Ser	c. 161A>G	p. Asn54Ser
c. 173C>G	p. Pro58Arg	c. 160A>C	p. Asn54His
c. 172C>G	p. Pro58Ala	c. 155__158del	p. Val52AlafsTer29
c. 158G>A	p. Cys53Tyr	c. 139G>T	p. Glu47Ter
c. 157T>C	p. Cys53Arg	c. 139G>C	p. Glu47Gln
c. 154G>C	p. Val52Leu	c. 139G>A	p. Glu47Lys
c. 153del	p. Phe51LeufsTer31	c. 138T>G	p. Asp46Glu
c. 149A>C	p. Asp50Ala	c. 136G>A	p. Asp46Asn
c. 148G>T;	p. Asp50Tyr	c. 134G>A	p. Gly45Glu
c. 148G>A	p. Asp50Asn	c. 132G>C	p. Trp44Cys
c. 147del	p. Asp50ThrfsTer32	c. 132G>A	p. Trp44Ter
c. 146C>T	p. Ala49Val	c. 131G>T	p. Trp44Leu
c. 138__143del	p. Asp46__ Gln48delinsGlu	c. 131G>C	p. Trp44Ser
c. 131G>A	p. Trp44Ter	c. 109G>C	p. Val37Leu
c. 125__127del	p. Glu42del	c. 109G>A	p. Val37Ile
c. 127G>A	p. Val43Met	c. 107T>C	p. Leu36Pro
c. 124G>A	p. Glu42Lys	c. 104T>G	p. Ile35Ser
c. 119C>T	p. Ala40Val	c. 102G>A	p. Met34Ile
c. 119C>G	p. Ala40Gly	c. 101T>C	p. Met34Thr
c. 119C>A	p. Ala40Glu	c. 100A>T	p. Met34Leu
c. 118G>T	p. Ala40Ser	c. 100A>G	p. Met34Val
c. 110T>C	p. Val37Ala	c. 99del	p. Met34Ter
c. 109G>T	p. Val37Phe	c. 101 T>G	p. Met34Arg
c. 98T>C	p. Ile33Thr	c. 85__87del	p. Phe29del
c. 98T>A	p. Ile33Asn	c. 82C>A	p. Leu28Ile
c. 95G>T	p. Arg32Leu	c. 71G>A	p. Trp24Ter
c. 95G>A	p. Arg32His	c. 31__68del	p. Gly11LeufsTer24
c. 94C>T	p. Arg32Cys	c. 62G>A	p. Gly21Glu
c. 94C>A	p. Arg32Ser	c. 51__ 62delinsA	p. Thr18LysfsTer26
c. 93del	p. Arg32AlafsTer3	c. 61G>A	p. Gly21Arg
c. 91T>A	p. Phe31Ile	c. 60T>G	p. Ile20Met
c. 89T>A	p. Ile30Asn	c. 59T>C	p. Ile20Thr
c. 88del	p. Ile30PhefsTer5	c. 56G>C	p. Ser19Thr
c. 88A>G	p. Ile30Val	c. 53C>T	p. Thr18Ile
c. 50C>T	p. Ser17Phe	c. 35dup	p. Val13CysfsTer35
c. 50C>A	p. Ser17Tyr	c. 35del	p. Gly12ValfsTer2
c. 47A>G	p. His16Arg	c. 35G>T	p. Gly12Val
c. 31__44del	p. Gly11ThrfsTer32	c. 35G>A	p. Gly12Asp
c. 44A>C	p. Lys15Thr	c. 34G>T	p. Gly12Cys
c. 42C>G	p. Asn14Lys	c. 34G>C	p. Gly12Arg
c. 40A>T	p. Asn14Tyr	c. 32G>A	p. Gly11Glu
c. 40A>G	p. Asn14Asp	c. 29T>C	p. Leu10Pro
c. 37G>A	p. Val13Met	c. 28del	p. Leu10TrpfsTer4
c. 24G>A	p. Thr8=	c. 28__ 29delinsTG	p. Leu10Trp

【表 5 - 4】

c. 23C>T	p. Thr8Met	c. 7T>C	p. Trp3Arg
c. 20A>C	p. Gln7Pro	c. 1A>G	p. Met1?
c. 19C>T	p. Gln7Ter	c. -1G>A	N/A
c. 17T>C	p. Leu6Pro	c. -22-2A>C	N/A
c. 11del	p. Gly4AlafsTer10	c. -22-6T>C	N/A
c. 9G>A	p. Trp3Ter	c. -23+1G>A	N/A
c. 7dup	p. Trp3LeufsTer45	c. -23G>T	N/A
c. 37dup	p. Val13GlyfsTer35	c. 475G>T	p. Asp159Tyr

【0192】

本開示の態様は、機能的遺伝子産物(例、GJB2タンパク質)を遺伝子療法(例、GJB2タンパク質をコードするrAAV)を使用して、遺伝子産物の非存在または機能不全をもたら

10

20

30

40

50

す関連遺伝子(例、GJB2)において少なくとも1つの対立遺伝子における1つ以上の突然変異を含む標的細胞(例、線維細胞ならびにコルチ器およびその近傍領域の支持細胞などのGJB2を通常発現する細胞)に送達することによって、聴覚喪失(例、DFNB1)を治療する方法に関する。

【0193】

本発明の態様は、対象に送達された場合、聴覚喪失(例、DFNB1)の治療に有効な特定のタンパク質コード導入遺伝子(例、GJB2)に関する。いくつかの実施形態では、対象は、聴覚喪失を有するか、または有する疑いがある。いくつかの実施形態では、聴覚喪失は、GJB2遺伝子の突然変異に関連する。いくつかの実施形態では、聴覚喪失は、表2(上記)に列挙されるGJB2遺伝子の突然変異に関連する。いくつかの実施形態では、対象はDFNB1と診断される。

10

【0194】

したがって、本開示によって記載される方法および組成物は、いくつかの実施形態では、GJB2遺伝子の1つ以上の突然変異または欠失に関連するDFNB1の治療に有用である。

【0195】

導入遺伝子(例、GJB2)を対象に送達するための方法が本開示によって提供される。この方法は、典型的には、有効量の、GJB2タンパク質をコードする単離された核酸、またはGJB2を発現するための核酸を含むrAAVを対象に投与することを伴う。

【0196】

いくつかの実施形態では、GJB2突然変異は、限定するものではないが、点変異、ミスセンス変異、ナンセンス変異、挿入および欠失である。いくつかの実施形態では、DFNB1に関連するGJB2遺伝子突然変異としては、限定するものではないが、表2の突然変異を包含する。いくつかの実施形態では、GJB2遺伝子の突然変異はc.101T>Cである。いくつかの実施形態では、GJB2遺伝子の突然変異は35DelGである。対象(例、GJB2遺伝子の欠失または変異に関連するDFNB1を有するかまたは有する疑いがある対象)におけるGJB2突然変異は、当技術分野において公知の任意の方法によって、対象から得られた試料(例、DNA試料、RNA試料、血液試料、または他の生体試料)から同定され得る。例えば、いくつかの実施形態では、核酸(例、DNA、RNA、またはそれらの組み合わせ)が、対象から得られた生体試料から抽出され、GJB2遺伝子における突然変異を特定するために核酸シーケンシングが行われる。いくつかの実施形態では、GJB2遺伝子における突然変異は、例えば、GJB2タンパク質発現(例、ウエスタンブロットによって)もしくは機能(例、構造、機能などを分析することによって)を定量することによって、またはDNAの直接シーケンシングおよび得られた配列を対照DNA配列(例、野生型GJB2 DNA配列)と比較することによって、間接的に検出される。

20

30

【0197】

いくつかの態様では、本開示は、それを必要とする対象においてDFNB1を治療するための方法であって、DFNB1を有するかまたは有することが疑われる対象に治療有効量の単離された核酸、または導入遺伝子(例、GJB2)をコードするrAAVを投与することを含む方法を提供する。いくつかの実施形態では、導入遺伝子(例、GJB2)をコードするrAAVは、本開示によって記載されるように、注入によって内耳の正円窓膜への注射を介して注射される。いくつかの態様では、本開示は、治療における医薬品の製造に使用するための、導入遺伝子(例、GJB2)をコードする単離された核酸もしくはrAAV、またはその医薬組成物を提供する。いくつかの態様では、本開示は、GJB2に関連する聴覚喪失および/または難聴を治療するための医薬品の製造に使用するための、導入遺伝子(例、GJB2)をコードする単離された核酸もしくはrAAV、またはその医薬組成物を提供する。いくつかの態様では、本開示は、非症候性難聴および/または聴覚喪失(DFNB1)を治療するための医薬品の製造に使用するための、導入遺伝子(例、GJB2)をコードする単離された核酸もしくはrAAV、またはその医薬組成物を提供する。

40

【0198】

物質の「有効量」とは、所望の効果を生じるのに十分な量である。いくつかの実施形態

50

では、単離された核酸(例、GJB2タンパク質をコードする導入遺伝子を含む単離された核酸)の有効量は、対象の標的組織の十分な数の標的細胞をトランスフェクトする(またはrAAV媒介性送達の際には感染させる)のに十分な量である。いくつかの実施形態では、標的組織は蝸牛(例、蝸牛の結合組織細胞ならびにコルチ器およびその近傍領域の支持細胞)である。いくつかの実施形態では、単離された核酸の(例、rAAVを介して送達され得る)有効量は、対象において治療利益を有するために十分な量、例、目的の遺伝子またはタンパク質(例、GJB2タンパク質)の発現を増加または補足するために十分な量、対象において疾患の1つ以上の症状(例、DFNB1の症状または徴候)を改善するために十分な量などであり得る。有効量は、例えば、対象の種、年齢、体重、健康状態、および標的となる組織などの様々な因子に依存するものと思われ、したがって、本開示の他の箇所に記載されるように対象および組織間で変動し得る。いくつかの実施形態では、rAAVの有効量は、安定な体細胞トランスジェニック動物モデルを産生するのに十分な量であり得る。

10

【0199】

有効量はまた、使用されるrAAVに依存し得る。本発明は、特定の血清型(例、AAV9、PHP.BまたはAAV-S)を有するカプシドタンパク質を含むrAAVが、異なる血清型を有するカプシドタンパク質を含むrAAVよりも効率的な、蝸牛(例、内有毛細胞、外有毛細胞)組織の形質導入を媒介するという認識に部分的に基づく。

【0200】

特定の実施形態では、rAAVの有効量は、 10^{10} 、 10^{11} 、 10^{12} 、 10^{13} または 10^{14} ゲノムコピー/kgである。特定の実施形態では、rAAVの有効量は、 10^{10} 、 10^{11} 、 10^{12} 、 10^{13} または 10^{14} 、または 10^{15} ゲノムコピー/対象である。

20

【0201】

有効量はまた、投与の様式に依存し得る。例えば、内耳の正円窓膜を介した注射によって蝸牛(例、蝸牛の結合組織細胞ならびにコルチ器およびその近傍領域の支持細胞)組織を標的とすることは、場合によっては、別の方法(例、全身投与、局所投与)によって蝸牛(例、蝸牛の結合組織細胞ならびにコルチ器およびその近傍領域の支持細胞)組織を標的とすることとは異なる(例、より高いまたはより低い)用量を必要とし得る。したがって、いくつかの実施形態では、注射は、内耳の正円窓膜を介した注射である。いくつかの実施形態では、投与は局所投与(例、耳への局所投与)である。いくつかの実施形態では、注射は後半規管注射である。場合によっては、rAAVの複数回用量が投与される。

30

【0202】

いかなる特定の理論にも拘束されることを望むものではないが、本明細書において記載されるrAAVによる蝸牛細胞(例、本明細書において記載される蝸牛の結合組織細胞ならびにコルチ器およびその近傍領域の支持細胞)の効率的な形質導入は、遺伝性聴覚喪失(例、DFNB1)を有する対象の治療に有用であり得る。いくつかの実施形態では、本明細書において記載される組成物および方法は、他のGJB2関連疾患を治療するのに有用であり得る。本明細書において使用される場合、GJB2関連疾患は、GJB2突然変異(例、機能喪失突然変異)によって引き起こされる状態および/または障害を指す。非限定的なGJB2関連疾患としては、難聴、常染色体劣性1A、難聴、常染色体優性3A、DFNB1、角膜炎-魚鱗癬-難聴(KID)、魚鱗癬、ヤマアラシ皮状-難聴(hystrix-like-deafness)(HID)、掌蹠角皮症-難聴(PPK)、汗孔角化症エクリン汗腺および汗管母斑(Porokeratotic eccrine ostial and dermal duct nevus)、Vohwinkel、Burt-Pumphrey、異常皮膚粘膜(Unususal mucocutaneous)-難聴(例、Srinivas et al., Human diseases associated with connexin mutations, Biochimica et Biophysica Acta(BBA)-Biomebranes, Volume 1860, Issue 1, January 2018, Pages 192-201; Lossa et al., GJB2 Gene Mutations in Syndromic Skin Diseases with Sensorineural Hearing Loss, Curr Genomics. 2011 Nov; 12(7):475-785を参照されたい)を包含する。

40

【0203】

したがって、遺伝性聴覚喪失を治療するための方法および組成物も本明細書において提

50

供される。いくつかの態様では、本開示は、遺伝性聴覚喪失(例、DFNB1)または本明細書において記載される任意の他のGJB2関連疾患を治療する方法であって、遺伝性聴覚喪失を有するかまたは有する疑いがある対象に有効量のrAAVを投与することを含み、該rAAVが、(i)AAV9.PHP.BまたはAAV-Sの血清型を有するカプシドタンパク質と、(ii)発現カセットに隣接する2つのアデノ随伴ウイルス(AAV)逆方向末端反復配列(ITR)を含む単離された核酸とを含み、該発現カセットが、GJB2遺伝子調節エレメント(GRE)をコードするヌクレオチド配列およびギャップ結合ベータ2(GJB2)タンパク質をコードするヌクレオチド配列に作動可能に連結されたプロモーターを含む方法を提供する。

【0204】

いくつかの実施形態では、rAAV(例、GJB2をコードするrAAV)は、1日、10日、1ヶ月、3ヶ月、6ヶ月、1歳、2歳、3歳、5歳、6歳、7歳、8歳、9歳、10歳、11歳、12歳、13歳、14歳、15歳、16歳、17歳、18歳、またはそれ以上の年齢でペイシエント(例、DFNB1を有するペイシエント)に投与されることができる。いくつかの実施形態では、ペイシエントは、乳児、小児、または成人である。いくつかの実施形態では、GJB2関連疾患(例、DFNB1)を治療するウィンドウは、通常、出生から学齢前まで(例、出生～1歳、1～2歳、2～3歳、3～4歳、4～5歳、または5～6歳)である。いくつかの実施形態では、rAAV(例、GJB2をコードするrAAV)は、生涯に1回、10年ごと、5年ごと、2年ごと、毎年、6ヶ月ごと、3ヶ月ごと、毎月、2週間ごと、または毎週ペイシエント(例、DFNB1を有するペイシエント)に投与される。他の実施形態では、rAAV(例、GJB2をコードするrAAV)の投与は、GJB2関連疾患(例、DFNB1)の他の公知の治療方法と組み合わせてペイシエント(例、DFNB1を有するペイシエント)に投与される。

【0205】

V.キットおよび関連組成物

本明細書において記載される薬剤は、いくつかの実施形態では、治療用途または研究用途におけるそれらの使用を容易にするために、医薬キットまたは研究キットに組み立てられ得る。キットは、本開示の成分(例、核酸、rAAV)および使用説明書を収容する1つ異常の容器を包含し得る。具体的には、そのようなキットは、本明細書において記載される1つ以上の薬剤と併せて、意図される用途およびこれらの薬剤の適切な使用を記載する説明書を包含し得る。特定の実施形態では、キット中の薬剤は、特定の用途および薬剤の投与方法に適した医薬製剤および投与量であり得る。研究目的のキットは、様々な実験を行うために適切な濃度または量の成分を含有し得る。

【0206】

いくつかの実施形態では、本開示は、本明細書において記載されるrAAVを投与するためのキットに関する。いくつかの実施形態では、キットは、rAAVを収容する容器と、ハウジングからrAAVを抽出するための装置(例、注射器)とを含む。いくつかの実施形態では、ハウジングからrAAVを抽出するための装置は、投与(例、注射)にも使用される。

【0207】

いくつかの実施形態では、本開示は、rAAVを産生するためのキットであって、タンパク質(例、GJB2)をコードする導入遺伝子を含む単離された核酸を収容する容器を含むキットに関する。いくつかの実施形態では、キットは、AAVカプシドタンパク質、例えばAAV.PHP.Bカプシドタンパク質またはAAV-Sカプシドタンパク質をコードする単離された核酸を収容する容器をさらに含む。いくつかの実施形態では、キットは、rep/cap遺伝子をコードするベクターと、rAAVを産生するための宿主とをさらに含む。

【0208】

いくつかの実施形態では、本開示は、聴覚喪失(例、DFNB1)を治療するためのキットに関する。いくつかの実施形態では、キットは、遺伝子療法(例、本明細書において記載されるrAAV)を使用して、標的細胞(例、蝸牛の結合組織細胞ならびに本明細書において記載されるコルチ器および近傍領域の支持細胞)に機能性(例、DFNB1)を送達するためのものである。

【0209】

キットは、研究者による本明細書において記載される方法の使用を容易にするように設計され得、多くの異なる形態をとることができる。キットの各組成物は、適用可能な場合、液体形態(例、溶液中)または固体形態(例、乾燥粉末)で提供され得る。特定の場合には、組成物のいくつかは、例えば、キットに提供され得る、またはされ得ない適切な溶媒または他の媒体(例えば、水または細胞培養培地)の添加によって、(例、活性な形態に)構成可能、またはそうでなければ加工可能であり得る。本明細書において使用される場合、「説明書」は、説明および/または販売促進の構成要素を包含することができ、典型的には、包装の上、または包装に関連付けられた書面の説明書を伴うことができる。説明書はまた、説明書がキットに関連付けられるべきであることをユーザが明確に認識するような任意の様式で提供される任意の口頭または電子の説明書、例えば、視聴覚(例、ビデオテープ、DVD、CD-ROM、ダウンロード可能ファイルのためのウェブサイトリンクなどである)、インターネットおよび/またはウェブベースの通信などを包含することができる。書面の説明書は、医薬品または生物学的製品の製造、使用または販売を規制する政府機関によって規定された形態であり得、その説明書はまた、動物投与のための製造、使用または販売の機関による承認を反映することができる。

10

【0210】

キットは、本明細書において記載される成分の任意の1つ以上を、1つ以上の容器に含有し得る。一例として、一実施形態では、キットは、キットの1つ以上の成分を混合するため、および/または試料を単離および混合して対象に適用するための説明書を包含し得る。キットは、本明細書において記載されるrAAVを収容する容器を包含し得る。rAAVは、液体、ゲルまたは固体(粉末)の形態であり得る。rAAVは、無菌的に調製し、注射器に包装し、冷蔵して出荷し得る。あるいは、rAAVは、保存のためにバイアルまたは他の容器に収容され得る。第2の容器は、無菌的に調製された他の薬剤を有し得る。あるいは、キットは、予め混合され、注射器、バイアル、チューブまたは他の容器で出荷されるrAAVを包含し得る。

20

【0211】

VI. 一般的な技術

本発明の実施は、特に他のことが明記されない限り、当業者の技能の範囲内である分子生物学(組換え技術を包含する)、微生物学、細胞生物学、生化学、および免疫学の従来の技術を使用ものと思われる。Molecular Cloning: A Laboratory Manual, second edition (Sambrook, et al., 1989) Cold Spring Harbor Press; Oligonucleotide Synthesis (M. J. Gait, ed., 1984); Methods in Molecular Biology, Humana Press; Cell Biology: A Laboratory Notebook (J. E. Cellis, ed., 1998) Academic Press; Animal Cell Culture (R. I. Freshney, ed., 1987); Introduction to Cell and Tissue Culture (J. P. Mather and P. E. Roberts, 1998) Plenum Press; Cell and Tissue Culture: Laboratory Procedures (A. Doyle, J. B. Griffiths, and D. G. Newell, eds., 1993-8) J. Wiley and Sons; Methods in Enzymology (Academic Press, Inc.); Handbook of Experimental Immunology (D. M. Weir and C. C. Blackwell, eds.); Gene Transfer Vectors for Mammalian Cells (J. M. Miller and M. P. Calos, eds., 1987); Current Protocols in Molecular Biology (F. M. Ausubel, et al., eds., 1987); PCR: The Polymerase Chain Reaction, (Mullis, et al., eds., 1994); Current Protocols in Immunology (J. E. Coligan et al., eds., 1991); Short Protocols in Molecular Biology (Wiley and Sons, 1999); Immunobiology (C. A. Janeway and P. Travers, 1997); Antibodies (P. Finch, 1997); Antibodies: a practical approach (D. Catty, ed., IRL Press, 1988-1989); Monoclonal antibodies: a practical approach (P. Shepherd and C. Dean, eds., Oxford University Press, 2000); Using antibodies: a laboratory manual (E. Harlow and D. Lane (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1999)); The Antibodies (M. Zanetti and J. D. Capra, eds., Harwood Academic Publishers, 1995)。

30

40

【0212】

50

さらに詳述することなく、当業者は、本開示に基づいて、本発明を最大限に利用することができると考えられる。したがって、以下の特定の実施形態は、単なる例示として解釈されるべきであり、決して本開示の残りの部分を限定するものではない。本明細書において引用されるすべての刊行物は、本明細書において言及される目的または主題のために参照により組み込まれる。

【0213】

本発明の例示的な実施形態は、以下の実施例によってより詳細に説明されるものと思われる。これらの実施形態は、本発明の例示であり、本発明をこれらの例示的な実施形態に限定するものではないことを当業者は認識するものと思われる。

【実施例】

【0214】

遺伝的起源の聴覚障害は出生1,000人に約1人で起こり、大部分は常染色体劣性および非症候性である。70を超える異なる難聴遺伝子が同定されているが、高度-重度常染色体劣性非症候性聴覚喪失の全症例のほぼ半分は、ヘミチャネルを形成する6つのサブユニットを含有するギャップ結合タンパク質コネキシン26をコードするただ1つの遺伝子:GJB2における突然変異に起因する。各ユニットが4つの膜貫通ヘリックスを有し、これらが膜の平面に集合して、大きな中心孔を形成する(図1A)。隣接する細胞からのGJB2ヘミチャネルが接合して、一方の細胞の細胞質から他方の細胞質へのチャネルを作り出す。ギャップ結合は、結合プラークに充填された数百または数千のチャネルによって形成される。

【0215】

蝸牛では、GJB2は2つの細胞群:コルチ器官の支持細胞、内溝および外溝の上皮細胞、ならびに歯間細胞を含む上皮系;ならびに側壁および血管条より前庭階方向に位置するラセン靱帯領域(suprastrial zone)の線維細胞、血管条の基底細胞、およびらせん板縁の上方領域の(supralimbal)暗細胞を含む細胞質系で発現される(例、Kikuchi et al.,(1995)Gap junctions in the rat cochlea:immunohistochemical and ultrastructural analysis.Anat Embryol(Berl)191:101-118を参照されたい)。GJB2は有毛細胞では発現されない。蝸牛では、上皮系は大部分が有糸分裂後である。対照的に、細胞質系の線維芽細胞はゆっくりターンオーバーするが、BrdU標識で観察されるいくらかの細胞分裂がある(Lang et al.,2002;Li et al.,2017)。蝸牛および線維細胞/コルチ支持細胞ネットワークの構造は図1A~図1Bに示される。

【0216】

GJB2発現は蝸牛機能にとって重要である。例えば、形質導入チャネルを通して有毛細胞に入り、基底 K^+ チャネルを通して出る K^+ は、上皮系によってコルチ器から運び去られ、細胞質系によって血管条(stria)に搬送され、そこで内リンパにポンプで戻される。さらに、GJB2を内耳に欠くマウスは、有毛細胞がGjb2を発現していないにもかかわらず、p30までに、有毛細胞および支持細胞の蝸牛内電位の低下および著しいアポトーシス喪失を有するので、GJB2は蝸牛の発達において役割を果たす(Cohen-Salmon et al.,2002;Wang et al.,2009;Sun et al.,2009;Crispino et al.,2011;Johnson et al.,2017)。Gjb2がP6の後に欠失している場合、表現型ははるかに軽度である(Chang et al.,2015)。しかしながら、GJB2に対する長期的な必要性が依然として存在しており、P14ほどの後期の欠失であっても、有毛細胞の喪失が数ヶ月後に起こる((Ma et al.,2020)。本明細書において記載される理論にも拘束されることを望むものではないが、 K^+ シャトルにおけるGJB2の機能は、蝸牛の発達におけるその役割に関連し得、 K^+ がギャップ結合ネットワークによって有毛細胞から運び去られない場合、 K^+ の蓄積は有毛細胞を脱分極させ、 Ca^{2+} 流入および最終的な細胞死をもたらすことができる。ギャップ結合ネットワークはまた、グルコースおよび栄養素を血管から感覚上皮に輸送するために必要とされ得、その不在は細胞死につながる可能性がある(Chang et al.,2008;Mammanno,2019)。

【0217】

GJB2発現の喪失は、劣性の軽度から重度の感音性聴覚障害を特徴とする、非症候性聴

10

20

30

40

50

覚喪失および難聴(DFNB1)と呼ばれる障害の根底にある(Kelsell et al., 1997; Kenna et al., 2010)。故に、100を超える突然変異がペイシエントにおいて記載されているが、ペイシエントのほぼ60%が単一塩基欠失(35delG)を有し、フレームシフトおよび停止につながる(Kenna et al., 2010)。米国だけで、原因遺伝子GJB2に2つの突然変異を有する子供が毎年約3,500人生まれている(Kelsell et al., 1997; Zelante et al., 1997; Azaiez et al., 2018)。多くは、出生時にもおそらく不可逆的な重度の聴覚喪失を伴って生まれる。2/3が出生時にいくらかの残存聴覚を有し、それらの大部分はその後数年にわたって聴覚を喪失し、治療的介入のためのウィンドウが存在することを示唆している(Kenna et al., 2010)。したがって、DFNB1の治療の潜在的な候補である5~10,000人の学齢前の小児が存在する(図1D)。

10

【0218】

蝸牛は外科的にアクセス可能であり、比較的免疫保護された環境であるため、ウイルスベクターを用いた遺伝子療法は魅力的なアプローチである。GJB2コード配列は小さく(約680 bp)、AAVベクターに容易に適合するものと思われる。AAVはゲノムに挿入されず、分裂細胞で希釈されるが、ほとんどの蝸牛細胞は分裂せず、AAVは数十年以上にわたって発現を駆動することができる。GJB2のコード配列を担持するrAAVの注射は、通常、正円窓膜(RWM)を通して注射される(図2A)。しかしながら、遺伝子療法の以前の試験は、GJB2の遺伝子付加が細胞生存およびギャップ結合ネットワークを救済したにもかかわらず、聴覚を救済することに失敗した。

20

【0219】

驚くべきことに、蝸牛におけるGJB2の無差別な発現は、線維細胞および支持細胞における機能を救済するとしても、有毛細胞およびニューロンの機能を損なうことが見出された。さらに、野生型マウスの内耳におけるGJB2の乱雑な発現が聴覚を損傷した(図2B)。

【0220】

ギャップ結合は、隣接細胞間に低抵抗のパスを作り出す。しかしながら、蝸牛の有毛細胞およびニューロンは、低変換またはシナプス電流で脱分極を生成するために高抵抗膜に依存する。いずれかが隣接細胞に電気的に結合している場合、脱分極はシャントされ、脳への信号は失われる。乱雑なGJB2発現によって引き起こされる聴覚喪失の驚くべき現象は、GJB2を通常発現しない有毛細胞の無差別なギャップ結合カップリングによって説明されることができた。したがって、効果的な遺伝子療法処置は、GJB2突然変異を有する対象において聴覚を救済するために、遺伝子を通常発現する細胞(例、線維細胞および支持細胞)における外因性GJB2の細胞特異的発現につながらなければならない。

30

【0221】

細胞特異的GJB2発現を達成するために、GJB2遺伝子のシス調節エレメントが評価された。130 kb~300 kbを超えるGJB2の上流の大きなゲノム欠失は、先天性の重度の難聴を引き起こすことが見出されている。これらの欠失の重複分析は、内耳におけるGJB2発現のための重要な(1または複数の)エンハンサーを収容すると疑われる約95 kbの共有領域を明らかにする(図3A)。

【0222】

ヒトペイシエントにおけるGJB2のシス調節エンハンサーを同定するために、ペイシエントゲノムデータ、ATAC-Seqおよびin vitroアッセイの組み合わせが使用された。GJB2関連聴覚喪失が疑われるペイシエントを、大規模並列シーケンシングまたはゲノムシーケンシングと組み合わせた標的ゲノム濃縮のいずれかでスクリーニングして、約95.4 kbの範囲内の非コード疾患を引き起こす変異体を検索した(図3B)。OtoSCOPEパネルでスクリーニングされたペイシエントの遺伝子型および表現型が再検討された。最初の選別ラウンドには、GJB2コード配列中の公知または予測される病原性変異体についてヘテロ接合性であり、聴覚喪失についての遺伝子診断が陰性であったすべてのペイシエントが含まれた。次に、ペイシエントのコホートを表現型に基づいて精緻化した。シス調節エレメントに突然変異を有するトランスの機能喪失突然変異を有するペイシエントは、先天性の高度-重度難聴を有するはずである。GJB2遺伝子座への連鎖/対立遺伝子分離およびGJ

40

50

B2におけるコード変異体の非存在を有する劣性難聴の家族も研究された。

【0223】

シーケンシング後、データはThe Broad InstituteのGATKのベストプラクティスに従ってカスタムバイオインフォマティクスパイプラインによって分析された。簡潔には、Burrows-Wheeler Alignerを使用して生配列をゲノムにマッピングし、続いてPicardを使用して重複を除去し、Genome Analysis Tool Kit(GATK)を使用して変異体呼び出しを行い、Ensembl Variant Effect PredictorおよびdbNSFPを使用して変異体アノテーションの注釈を付けた。アノテーション後、変異体を、質、マイナー対立遺伝子頻度および位置(約95 kbのウィンドウ内)に基づいてフィルタリングした。変異体は、Encyclopedia of DNA Elements(ENCODE)およびGenotype-Tissue Expressionによって定義されるように、調節エレメント内に入る変異体に基づいて優先順位付けした。100人を超えるペイシエントがシーケンシングされ、200を超える候補変異体が同定された。DFNB1ペイシエントのおおまかに5~10%が、非コード領域に第2の疾患を引き起こす対立遺伝子を有する。

10

【0224】

マウスおよび非ヒト霊長類において、ATAC-Seq(Assay for Transposase-Accessible Chromatin using Sequencing; Buenrostro et al., 2013)を使用して、蝸牛において活性な遺伝子のためのエンハンサーが同定された。ATAC-Seqは、シーケンシングアダプターをゲノムのオープン領域に挿入する高活性突然変異体Tn5トランスポザーゼを使用する。次いで、ゲノムDNAがアダプターからシーケンシングされ、オープンクロマチンが同定された。

20

【0225】

蝸牛が正常な機能を獲得するP2、P5およびP8齢の新生仔マウスから蝸牛が解剖された。成体マカクサルから1つの蝸牛が解剖された。このデータセットは、蝸牛における遺伝子調節の研究に対する重要な貢献である。実例としては、有毛細胞、隣接する幹細胞、およびらせん神経節ニューロンなどの、遺伝性および後天性の両方の聴覚喪失において頻繁に損なわれる特定の細胞型における遺伝子発現を駆動するために使用されることができ

【0226】

マウスGjb2遺伝子に関連する18の候補エンハンサーが同定された。図3Cは、マウスGjb2遺伝子の領域における約200 kbのマウスゲノム配列を示し、ハイライトされているのは、多くのATAC-Seqリードを有する領域である。その後の研究は、哺乳動物種間で保存されているマウスGjb2遺伝子の近くにあるエンハンサーに焦点を当てた。図3C(上)は、マウスGjb2遺伝子領域の約300 kbにわたる、発達段階P2、P5およびP8のマウス蝸牛からのATAC-SeqのUCSC Genome Browser viewsでのマウスGjb2遺伝子調節エレメント(GRE)の同定を示す。斜線領域は、推定GREを含有する領域を標している(GREを含有するヒトおよびマウスの領域(regional)配列は表1に列挙される)。X軸はマウスゲノムのchr14上のゲノム領域である。Y軸は、ゲノム内の特定の領域にアラインメントするATAC-Seqによるリードの数である。ライトブルーのハイライトは、オープンクロマチンの領域を表示し、これは、リードパイルアップについて濃縮された転写活性領域の特徴であり、これらの領域におけるより高い活性を示唆する。領域AおよびBは、マウスGjb2自体の内の転写活性配列を標している。領域C~Mは、シス調節ネットワークの一部であり得るGjb2の周囲の転写活性領域である。GJB2 GRE配列が、表1に列挙された領域配列により同定された。図3C(下)は、特定のマウスGjb2 GRE(GRE 2、3、5、7、および9)として同定されたライトブルーの陰影の領域中およびその周囲の転写活性領域を示す。ヒトGJB2 GREは、マウスGjb2 GREをモデル化することによってin silicoで同定された。ヒトGRE 1、2、3、4、5、7および9のヌクレオチド配列は表3に示され、その後の実験で試験された。

30

40

【0227】

さらに、GJB2遺伝子のプロモーター、5' UTRおよび/または3' UTRはまた、天然の

50

調節配列を含有する。プロモーター、5' UTRおよび/または3' UTRを包含する構築物が設計され、細胞特異的GJB2発現におけるそれらの能力について試験された。構築物はrAAVにパッケージングされ、マウスの内耳に注射された。マーカー遺伝子を発現する細胞型を、GJB2を発現する細胞型に対して比較した。実例としては、C15ベクターは、500 bpのヒトGJB2プロモーター、300 bpの5' UTR、続いてGFPおよびヒトGJB2の3' UTRのコード配列を包含するように構築された(図3DのベクターC15)。AAV9-PHP.Bカプシドを使用してrAAVにパッケージングされたC15ベクターは、多くの蝸牛細胞型の形質導入に有効であることが以前に見出されている(Gyorgy et al., 2018)。AAV9-PHP.B-C15ウイルスがP0仔マウスの内耳に注射された。GJB2発現は、GJB2を標的とする抗体を使用する免疫蛍光法によって検出された(図3F、中央パネル)。AAV9-PHP.B-C15ベクターで形質導入され、Gjb2エンハンサー下でGFPマーカー遺伝子を発現する細胞が左側のパネルに示される。内耳におけるGJB2の発現パターンは、Kikuchiによって報告されたものと一致していた。右側のパネルでは、アクチンを蛍光ファロイジンで標識することによって、IHCおよびOHC(標示)も同定される。右側のパネルでは、アクチンを蛍光ファロイジンで標識することによって、IHCおよびOHC(標示)も同定される。明白に、AAV9-PHP.B-C15は有毛細胞に効率的に形質導入することが可能であるが、GFP発現は有毛細胞では観察されなかった。これは、Gjb2エンハンサーが有毛細胞において活性でないためであると思われる。図3Fは、側壁(上)から歯間細胞(下)までのマウス蝸牛のセグメントを示す。AAV9-PHP.B-C15ベクターで形質導入され、Gjb2エンハンサー下でGFPマーカー遺伝子を発現する細胞が左パネルに示される。Gjb2を通常発現する細胞が中央パネルに示される。右側のパネルでは、アクチンを蛍光ファロイジンで標識することによって、IHCおよびOHC(標示)も同定される。c15構築物によって駆動されたGFPの発現パターンは、GJB2に対する同じ抗体を使用したKikuchi et al., 1995で報告された天然のGjb2発現と一致する。明白に、c15は、有毛細胞におけるGFP発現を駆動しない。

10

20

30

40

50

【0228】

さらに、乱雑なニワトリベータアクチン(CBA)プロモーター下で外因性GJB2発現を試験するために、他の構築物(C20~C23)が設計された。C20ベクターでは、ヒトGJB2コード配列がCBAプロモーターによって駆動された(図3E、ベクターC20)。C20ベクターはrAAVにパッケージングされ、これがマウスのP0蝸牛に注射された。GJB2抗体を使用した免疫蛍光法により、GJB2発現が有毛細胞において確認された(図3G)。有毛細胞によるGJB2の発現は、隣接支持細胞への電氣的結合を生じさせ、正常な感覚受容器電位を短絡させるものと思われる。この理論を試験するために、いくつかの他のベクターが設計された。C21ベクターは、35delG突然変異を保有するヒトGJB2コード配列に作動可能に連結されたCBAプロモーターを包含する。C21ベクターによって活性GJB2タンパク質が産生されることはできない。C22ベクターは、CBAプロモーターを包含し、GJB2コード配列は包含しない。C23ベクターは、有毛細胞によって通常発現されるタンパク質であるヒトClarin 1の発現を駆動するCBAプロモーターを包含する。ベクターは、AAV1またはAAV9-PHP.Bカプシドを使用してrAAVにパッケージングされた。rAAVはP1で正円窓膜を通してマウスの内耳に注射され、聴性脳幹反応(ABR)がP30において測定された(8、11および16 kHzにおいて平均化された閾値)。図3Hに示すように、非感染野生型マウスは30 dB付近のABR閾値を有し、生理食塩水偽注射は野生型マウスのABR閾値を変化させなかった。AAV1またはAAV9-PHP.BカプシドのいずれかにおけるCBAプロモーターによるGJB2発現は、閾値を30~40 dB上昇させた。比較のために、コンディショナルノックアウトCre⁺、Gjb2^{fl/fl}マウスは、試験された最高レベル(90 dB)で反応がなかった。さらに、AAV9-PHP.B-C20を注射したマウスは、発作を包含する神経学的症状を多くの場合示し、多くの場合死亡することが観察された。ベクターAAV9-PHP.B-C21(不活性化突然変異を有するGJB2が発現される)、AAV9-PHP.B-C22(GJB2コード配列を含まない)またはAAV9-PHP.B-C23(正常な有毛細胞タンパク質であるClarin 1が発現される)において致死性は観察されなかった。さらに、rAAVを注射前に10

倍または100倍希釈した場合、いずれのベクターでも毒性または致死性は観察されなかった。GJB2をコードする少量のrAAVが、ニューロンの電氣的結合が恒常性系の神経調節を損なっているAAV9-PHP.Bの脳指向性のために、脳に到達していた可能性がある。これは、予想外であるが劇的に、毒性を低下させるためにGJB2発現を適切な細胞に制限する必要性を示した。

【0229】

Sox10-Cre+、Gjb2^{fl/fl}ノックアウトマウスは、試験された最高レベル(90 dB)で反応がなかった(図3H)。ノックアウトでは、AAV1-CBA-GJB2またはAAV9-PHP.B-CBA-GJB2 rAAVは救済を生じなかった。エンハンサーを聴覚の救済において試験するために、C70構築物が作製された。C70構築物は、AAV 5' ITR、GJB2基本プロモーター、GJB2エクソン1の5' UTR、コザック配列、マウスまたはヒトGJB2コード配列、任意選択のHAタグ、GJB2エクソン2の3' UTR、WPRE、ウシ成長ホルモンポリAシグナル、およびAAV 3' ITRを包含する。C70構築物はAAV9-PHP.Bカプシドタンパク質を使用してrAAVにパッケージングされ、野生型マウスおよびSox10-Cre+、Gjb2^{fl/fl}ノックアウトマウスの両方の内耳に注射された。Gjb2発現は、Sox10-Cre+、Gjb2^{fl/fl}ノックアウトマウスにおいて聴覚を15~20 dB救済した。同じベクターは、野生型マウスにおいて聴覚を損傷しなかった(図3H)。図3I~3Lは、HAタグの有る、または無い、マウスGJB2またはヒトGJB2をコードするc70ベクタープラスミドのマップを示す。図3Mは、HAタグの有る、または無い、マウスGJB2またはヒトGJB2をコードするベクター-c70の概略図を示す。図3Nは、作り出され、試験された追加のベクターを示す。

【0230】

さらに、内耳細胞に対する指向性を有する他のAAVカプシドタンパク質は、マウスおよび霊長類の両方において導入遺伝子(例、GJB2またはGFP)を適切な内耳細胞に送達し、聴覚を救済するそれらの能力について試験された。元々は脳指向性のために開発されたAAV-Sカプシドタンパク質は、マウスおよび霊長類の蝸牛の両方においてGJB2発現細胞の良好な形質導入を示した(図4)。AAV-Sカプシドタンパク質と、GJB2基本プロモーターおよび5' UTR下でGJB2の発現を駆動するc70ベクターとを含むrAAVがパッケージングされた。AAV-S-C70 rAAVはGjb2コンディショナルノックアウトマウスに注射される。これらのマウスの聴覚が試験された。AAV-S-C70 rAAVは、AAV9-PHP.B-C70 rAAVと同様に、またはさらに良好に聴覚を救済することが可能である。

【0231】

AAV-S-C70 rAAVは野生型マウスに注射される。C70ベクターはHAタグを包含し、これは内耳のGJB2発現を抗HA抗体で容易に検出可能にする。GJB2発現は、GJB2を通常発現するコルチ器の支持細胞および線維細胞においてのみ検出されると予想される。注射された野生型マウスの聴覚もまた、GJB2関連毒性を評価するために試験される。

【0232】

さらに、非ヒト霊長類(NHP)の内耳細胞に形質導入するAAV-Sの能力が試験された。AAV-Sカプシドタンパク質およびGFPをコードするベクターを含むrAAVが、非ヒト霊長類の両耳に注射された。動物を3週間後に安楽死させ、蝸牛を組織学のために調製した。GFP発現は、これらの動物の蝸牛において評価される。マウスにおける同様の実験が並行して行われた。

【0233】

GFPをコードするAAV-Sベクターは、(マウスの内耳全体にベクターを確実に送達する)後半規管(posterior canal)経路を使用して成体マウスの内耳に注射された。注射の20日後に動物を安楽死させ、蝸牛を採取した。

【0234】

表3に列挙したGJB2 GREが、通常GJB2を発現する細胞におけるその発現を可能にし、通常GJB2を発現しない細胞におけるGJB2発現を防止するかどうかを試験するために、GREがそれぞれ、基本GJB2プロモーターおよびGJB2エクソン1の5' UTRの制御下でGFP、ヒトGJB2またはマウスGjb2発現を駆動するAAVベクター内に組み込まれた。ベ

クターマップは図5A～5Uに示される。ベクターは、5'から3'に、AAV 5' ITR、ヒトGJB2 GRE、GJB2基本プロモーター、ヒトGJB2エクソン1の5' UTR、eGFRをコードするヌクレオチド配列、ヒトGJB2またはマウスGjb2およびGJB2エクソン2の3'UTRを包含する。ベクターc.81.1はヒトGJB2 GRE1を包含する;ベクターc.81.2はヒトGJB2 GRE2を包含する;ベクターc.81.3はヒトGJB2 GRE3を包含する;ベクターc.81.4はヒトGJB2 GRE4を包含する;ベクターc.81.5はヒトGJB2 GRE5を包含する;ベクターc.81.7はヒトGJB2 GRE7を包含する;ベクターc.81.8はヒトGJB2 GRE8を包含する;ベクターc.81.9はヒトGJB2 GRE9(図5A～5U)を包含する。図5Vは、上記の、eGFP、マウスGJB2およびヒトGJB2をコードするc81.2、c81.3、c81.5、c81.7およびc81.9の概略図を示す。

10

【0235】

GFPをコードするc.81.2、c81.3、c81.5、c81.7およびc81.9ベクターはそれぞれ、AAV9.PHP.Bカプシドタンパク質を使用してrAAVにパッケージングされ、野生型マウスの出生後1日目に正円窓膜を通して注射された。蝸牛は組織学のためにP6において固定され、蝸牛組織におけるGFP発現が評価された。

【0236】

GJB2遺伝子調節エレメント5(GJB2 GRE5、レポーターとしてeGFPをコードするベクターc81.5中)が、GJB2発現細胞に対するeGFPの発現を標的とするのに役立つことが見出された。図6Aは、コルチ器内およびコルチ器の内側の様々な支持細胞を包含するeGFP発現細胞の蛍光画像を示す。図6Bは、コルチ器の領域における内因性GJB2の抗体標識を示す。GJB2発現は、外因性eGFPの発現と大部分重複していた。図6Cは、第3のアクチン染色を施した図6Aと図6Bとのオーバーレイであり、これは有毛細胞の不動毛を明らかにした。有毛細胞ではeGFPは発現されなかった。図6Dは、eGFPおよび有毛細胞のタンパク質マーカー、MYO7Aの凍結切片免疫蛍光画像を示す。eGFPはコルチ器の様々な支持細胞において発現されたが、有毛細胞で発現されたMYO7A発現と重複しなかった。ヒトGJB2またはマウスGJB2をコードするベクターが、目的の細胞におけるGJB2発現について試験されることになる。

20

【0237】

図7A～図7Dは、蝸牛の側壁におけるベクターc.81.5によるeGFP発現パターンを示す。図7Aは、側壁の線維細胞を包含する細胞におけるeGFP発現を示す。図7Bは、側壁の領域における内因性GJB2の抗体標識を示す。GJB2発現は、外因性GFPの発現と大部分重複している。図7Cは、図7Aと7Bとのオーバーレイ画像である。eGFPは、Gjb2を発現する細胞において発現されたことに留意されたい。図7D～7Eは、コルチ器の支持細胞および側壁の線維細胞におけるGFP(図7D)およびGJB2(図7E)の凍結切片免疫蛍光を示す。

30

【0238】

ヒト欠失に基づいて同定されたヒトGJB2エンハンサーは、聴覚を救済することが可能であり、同様にGJB2関連毒性につながらない。

【0239】

参考文献

Buenrostro JD,Giresi PG,Zaba LC,Chang HY,Greenleaf WJ(2013)Transposition of native chromatin for fast and sensitive epigenomic profiling of open chromatin,DNA-binding proteins and nucleosome position.Nature methods 10:1213-1218.

40

【0240】

Cohen-Salmon M,Ott T,Michel V,Hardelin JP,Perfettini I,Eybalin M,Wu T,Marcus DC,Wangemann P,Willecke K,Petit C(2002)Targeted ablation of connexin26 in the inner ear epithelial gap junction network causes hearing impairment and cell death.Curr Biol 12:1106-1111.

【0241】

50

Crispino G, Di Pasquale G, Scimemi P, Rodriguez L, Galindo Ramirez F, De Sisti RD, Santarelli RM, Arslan E, Bortolozzi M, Chiorini JA, Mammano F (2011) BAAV mediated GJB2 gene transfer restores gap junction coupling in cochlear organotypic cultures from deaf Cx26Sox10Cre mice. *PloS one* 6:e23279.

[0 2 4 2]

Deverman BE, Pravdo PL, Simpson BP, Kumar SR, Chan KY, Banerjee A, Wu WL, Yang B, Huber N, Pasca SP, Gradinaru V (2016) Cre-dependent selection yields AAV variants for widespread gene transfer to the adult brain. *Nat Biotechnol* 34:204-209.

[0 2 4 3]

Feigenspan A, Janssen-Bienhold U, Hormuzdi S, Monyer H, Degen J, Sohl G, Willecke K, Ammermuller J, Weiler R (2004) Expression of connexin36 in cone pedicles and OFF-cone bipolar cells of the mouse retina. *J Neurosci* 24:3325-3334.

[0 2 4 4]

Forge A, Becker D, Casalotti S, Edwards J, Marziano N, Nevill G (2003) Gap junctions in the inner ear: comparison of distribution patterns in different vertebrates and assessment of connexin composition in mammals. *J Comp Neurol* 467:207-231.

[0 2 4 5]

Gyorgy B, Sage C, Indzhykulian AA, Scheffer DI, Brisson AR, Tan S, Wu X, Volak A, Mu D, Tamvakologos PI, Li Y, Fitzpatrick Z, Ericsson M, Breakefield XO, Corey DP, Maguire CA (2017) Rescue of hearing by gene delivery to inner-ear hair cells using exosome-associated AAV. *Mol Ther* 25:379-391.

[0 2 4 6]

Gyorgy B, Meijer EJ, Ivanchenko MV, Tenneson K, Emond F, Hanlon KS, Indzhykulian AA, Volak A, Karavitaki KD, Tamvakologos PI, Vezina M, Berezovskii VK, Born RT, O'Brien M, Lafond JF, Arsenijevic Y, Kenna MA, Maguire CA, Corey DP (2018) Gene Transfer with AAV9-PHP.B Rescues Hearing in a Mouse Model of Usher Syndrome 3A and Transduces Hair Cells in a Non-human Primate. *Mol Ther Methods Clin Dev* 13:1-13.

[0 2 4 7]

Iizuka T, Kamiya K, Gotoh S, Sugitani Y, Suzuki M, Noda T, Minowa O, Ikeda K (2015) Perinatal Gjb2 gene transfer rescues hearing in a mouse model of hereditary deafness. *Hum Mol Genet* 24:3651-3661.

[0 2 4 8]

Kelsell DP, Dunlop J, Stevens HP, Lench NJ, Liang JN, Parry G, Mueller RF, Leigh IM (1997) Connexin 26 mutations in hereditary non-syndromic sensorineural deafness. *Nature* 387:80-83.

[0 2 4 9]

Kenna MA, Feldman HA, Neault MW, Frangulov A, Wu BL, Fligor B, Rehm HL (2010) Audiologic phenotype and progression in GJB2 (Connexin 26) hearing loss. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 136:81-87.

[0 2 5 0]

Kikuchi T, Kimura RS, Paul DL, Adams JC (1995) Gap junctions in the rat cochlea: immunohistochemical and ultrastructural analysis. *Anat Embryol (Berl)* 191:101-118.

[0 2 5 1]

Li W, Wu J, Yang J, Sun S, Chai R, Chen ZY, Li H (2015) Notch inhibition in

10

20

30

40

50

duces mitotically generated hair cells in mammalian cochleae via activating the Wnt pathway. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 112:166-171.

【0252】

Lin FR, Niparko JK, Ferrucci L (2011) Hearing loss prevalence in the United States. *Arch Intern Med* 171:1851-1852.

【0253】

Mason JA, Herrmann KR (1998) Universal infant hearing screening by automated auditory brainstem response measurement. *Pediatrics* 101:221-228.

【0254】

Shu Y, Tao Y, Wang Z, Tang Y, Li H, Dai P, Gao G, Chen ZY (2016) Identification of Adeno-Associated Viral Vectors That Target Neonatal and Adult Mammalian Inner Ear Cell Subtypes. *Hum Gene Ther* 27:687-699.

【0255】

Sun Y, Tang W, Chang Q, Wang Y, Kong W, Lin X (2009) Connexin30 null and conditional connexin26 null mice display distinct pattern and time course of cellular degeneration in the cochlea. *J Comp Neurol* 516:569-579.

【0256】

Takada Y, Beyer LA, Swiderski DL, O'Neal AL, Prieskorn DM, Shivatzki S, Avraham KB, Raphael Y (2014) Connexin 26 null mice exhibit spiral ganglion degeneration that can be blocked by BDNF gene therapy. *Hearing research* 309:124-135.

【0257】

Wang Y, Chang Q, Tang W, Sun Y, Zhou B, Li H, Lin X (2009) Targeted connexin26 ablation arrests postnatal development of the organ of Corti. *Biochem Biophys Res Commun* 385:33-37.

【0258】

Watanabe K, Takeda K, Katori Y, Ikeda K, Oshima T, Yasumoto K, Saito H, Takasaka T, Shibahara S (2000) Expression of the Sox10 gene during mouse inner ear development. *Brain Res Mol Brain Res* 84:141-145.

【0259】

Wise AK, Tu T, Atkinson PJ, Flynn BO, Sgro BE, Hume C, O'Leary SJ, Shepherd RK, Richardson RT (2011) The effect of deafness duration on neurotrophin gene therapy for spiral ganglion neuron protection. *Hearing research* 278:69-76.

【0260】

Yu Q, Wang Y, Chang Q, Wang J, Gong S, Li H, Lin X (2014) Virally expressed connexin26 restores gap junction function in the cochlea of conditional Gjb2 knockout mice. *Gene Ther* 21:71-80.

【0261】

Zelante L, Gasparini P, Estivill X, Melchionda S, D'Agruma L, Govea N, Mila M, Monica MD, Lutfi J, Shohat M, Mansfield E, Delgrosso K, Rappaport E, Surrency S, Fortina P (1997) Connexin26 mutations associated with the most common form of non-syndromic neurosensory autosomal recessive deafness (DFNB1) in Mediterraneans. *Hum Mol Genet* 6:1605-1609.

【0262】

他の実施形態

本明細書に開示されたすべての特徴は、任意の組み合わせで組み合わせ得る。本明細書に開示された各特徴は、同一、等価、または類似の目的を果たす代替的な特徴によって置

10

20

30

40

50

き換えられ得る。したがって、特に他のことが明記されない限り、開示された各特徴は、等価または類似の特徴の一般的な一連の例にすぎない。

【0263】

上記の説明から、当業者は、本発明の本質的な特徴を容易に確かめることができ、その精神および範囲から逸脱することなく、本発明を様々な用途および条件に適合させるために本発明の様々な変更および修正を行うことができる。したがって、他の実施形態も特許請求の範囲内である。

【0264】

等価物

いくつかの本発明の実施形態を本明細書において記載および例示してきたが、当業者は、本明細書において記載される機能を実行し、および/または結果および/または1つ以上の利点を得るための様々な他の手段および/または構造を容易に想像するものと思われ、そのような変形および/または修正の各々は、本明細書において記載される本発明の実施形態の範囲内にあると考えられる。より一般的には、当業者は、本明細書において記載されるすべてのパラメータ、寸法、材料、および構成が例示的であることを意味し、実際のパラメータ、寸法、材料、および/または構成が、本発明の教示が使用される1つまたは複数の特定の用途に依存するものであることを容易に理解されよう。当業者は、本明細書において記載される特定の発明の実施形態に対する多くの等価物を認識するか、または日常の実験のみを使用して確かめることができるものと思われる。したがって、前述の実施形態は、単なる例として提示されており、添付の特許請求の範囲およびその等価物の範囲内で、本発明の実施形態は、具体的に記載および特許請求されたものとは別の方法で実施され得ることを理解されたい。本開示の本発明の実施形態は、本明細書において記載される個々の特徴、系、物品、材料、キット、および/または方法に関する。さらに、2つ以上のそのような特徴、系、物品、材料、キット、および/または方法の任意の組み合わせは、そのような特徴、系、物品、材料、キット、および/または方法が相互に矛盾しない場合、本開示の発明の範囲内に包含される。

【0265】

本明細書において定義および使用されるすべての定義は、辞書の定義、参照により組み込まれる文書における定義、および/または定義された用語の通常の意味を制御すると理解されるべきである。

【0266】

本明細書において開示されるすべての参考文献、特許および特許出願は、それぞれが引用されている主題に関して参照により組み込まれ、場合によっては文書全体を網羅し得る。

【0267】

本明細書および特許請求の範囲で使用される不定冠詞「a」および「an」は、そうでないことが明確に示されない限り、「少なくとも1つ」を意味すると理解されるべきである。

【0268】

本明細書および特許請求の範囲において使用される「および/または」という語句は、そのようにつながり合わされた要素、すなわち、場合によっては共同して存在し、他の場合には選言的に存在する要素の「いずれかまたは両方」を意味すると理解されるべきである。「および/または」で列挙された複数の要素は、同じように、すなわち、そのようにつながり合わされた要素の「1つ以上」と解釈されるべきである。「および/または」節によって具体的に特定される要素以外に、具体的に特定される要素に関連するか否かにかかわらず、他の要素が任意選択的に存在し得る。したがって、非限定的な例として、「Aおよび/またはB」への言及は、「含む」などのオープンエンド言語と併せて使用される場合、一実施形態では、Aのみ(B以外の要素を任意選択的に包含する);別の実施形態では、Bのみ(A以外の要素を任意選択的に包含する);さらに別の実施形態では、AおよびBの両方(任意選択的に他の要素を包含する);を指すことができる。

【0269】

本明細書および特許請求の範囲において使用される場合、「または」は、上記で定義された「および/または」と同じ意味を有すると理解されるべきである。例えば、リスト内の項目を分離する場合、「または」または「および/または」は、包括的であると判断されるべきであり、すなわち、要素の数またはリストのうちの少なくとも1つを包含するが、2つ以上も包含し、任意選択的に、追加の列挙されていない項目も含む。「～のうちの1つのみ(only one of)」または「～のうちの正確に1つ(exactly one of)」、または特許請求の範囲で使用される場合、「～からなる(consisting of)」などの反対のことが明確に示された用語のみが、いくつかの要素または要素のリストのうちの正確に1つの要素の包含を指す。一般に、本明細書において使用される「または」という用語は、特許請求の範囲で使用される場合、「いずれか」、「～のうちの1つ」、「～のうちの1つのみ」、または「～のうちの正確に1つ」、「～から本質的になる」などの排他性の用語が先行する場合、排他的な選択肢(すなわち、「一方または他方であるが両方ではない」)を示すものとしてのみ判断されるべきであり、特許法の分野で使用される通常の意味を有するべきである。

10

【0270】

本明細書および特許請求の範囲において使用される場合、1つ以上の要素のリストに関連して「少なくとも1つ」という語句は、要素のリスト内の要素のいずれか1つ以上から選択される少なくとも1つの要素を意味するが、要素のリスト内に具体的に列挙されたありとあらゆる要素の少なくとも1つを必ずしも包含するのではなく、要素のリスト中の要素の任意の組み合わせを除外しないことを理解すべきである。この定義はまた、具体的に特定された要素に関連するか否かにかかわらず、「少なくとも1つ」という語句が指す要素のリスト内で具体的に特定された要素以外の要素が任意選択的に存在し得ることを可能にする。したがって、非限定的な例として、「AおよびBの少なくとも1つ」(または、同等に、「AまたはBの少なくとも1つ」、または同等に、「Aおよび/またはBの少なくとも1つ」)は、一実施形態では、少なくとも1つ、任意選択的に2つ以上を包含してAを指し、Bが存在しない(およびB以外の要素を任意選択的に包含する);別の実施形態では、少なくとも1つ、任意選択的に2つ以上を包含してBを指し、Aが存在しない(およびA以外の要素を任意選択的に包含する);さらに別の実施形態では、少なくとも1つ、任意選択的に2つ以上を包含してA、および少なくとも1つ、任意選択的に2つ以上を包含してB(他の要素を任意選択的に包含する)などを指すことができる。

20

30

【0271】

また、そうでないことが明確に示されていない限り、2つ以上のステップまたは行為を包含する本明細書において特許請求される任意の方法において、方法のステップまたは行為の順序は、方法のステップまたは行為が列挙される順序に必ずしも限定されないことも理解すべきである。

【図面】

【図1A】

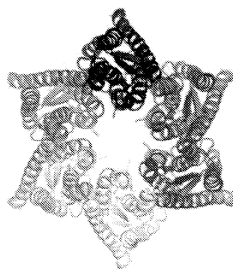


図1A

【図1B】

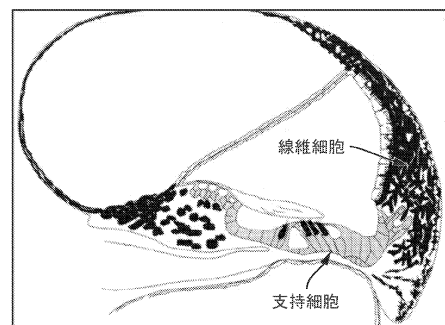


図1B

40

50

【図 1 C】



図1C

【図 1 D】

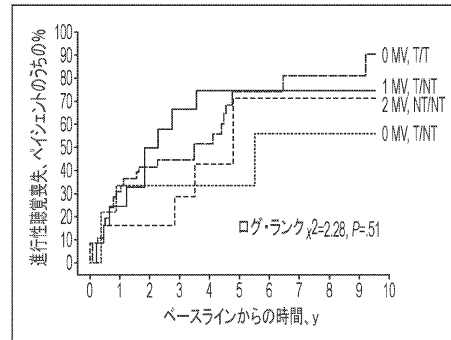


図1D

【図 2 A】

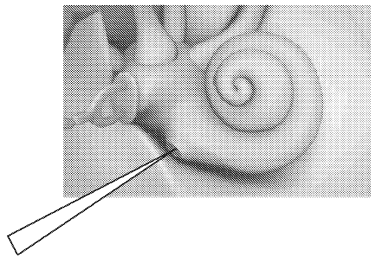


図2A

【図 2 B】

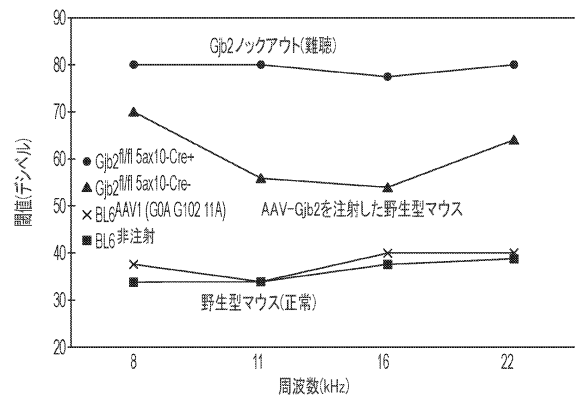


図2B

10

20

30

40

50

【図 3 A】

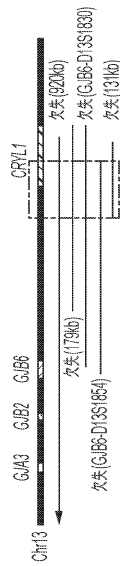


図3A

【図 3 B】

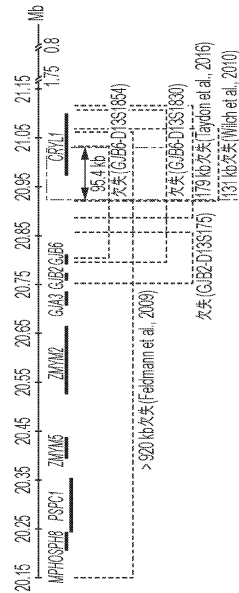


図3B

【図 3 C - 1】

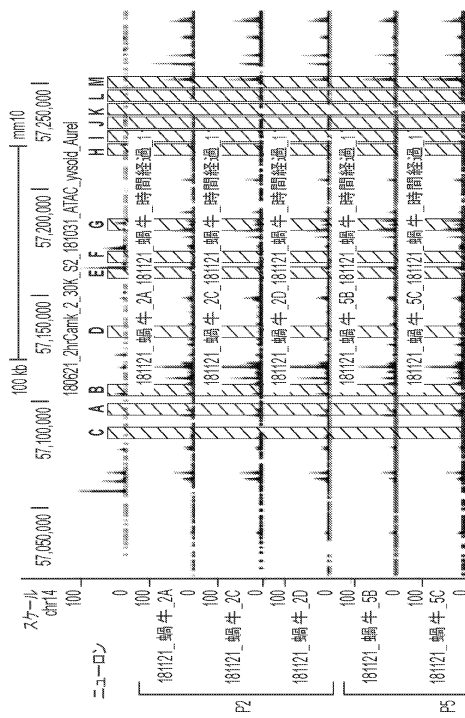


図3C

【図 3 C - 2】

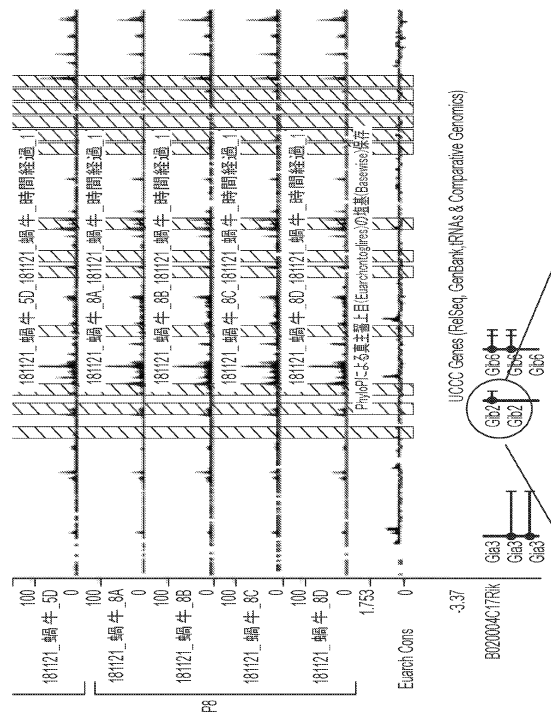


図3C続き

10

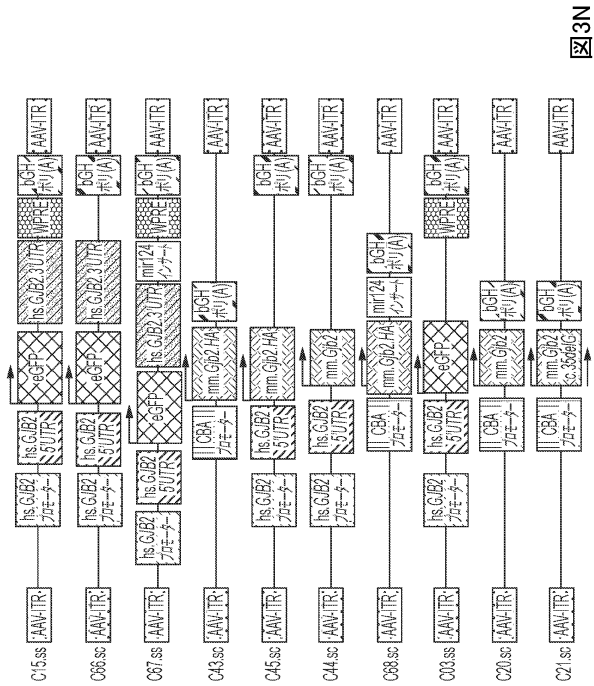
20

30

40

50

【図 3 N】



【図 4】

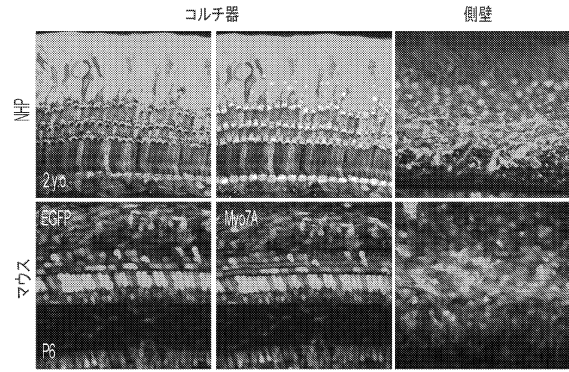


図4

【図 5 A】

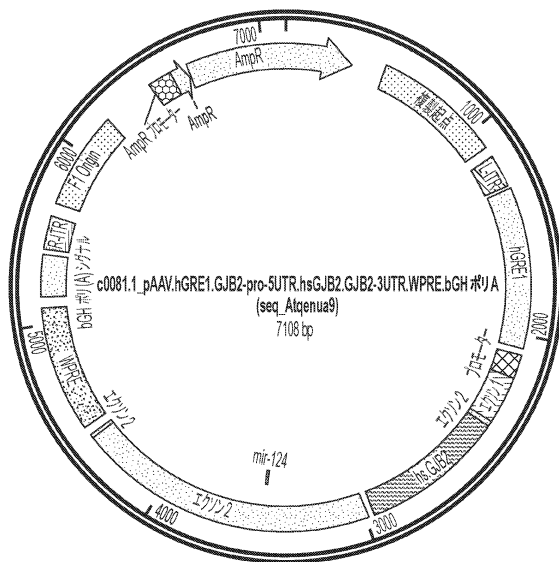


図5A

【図 5 B】

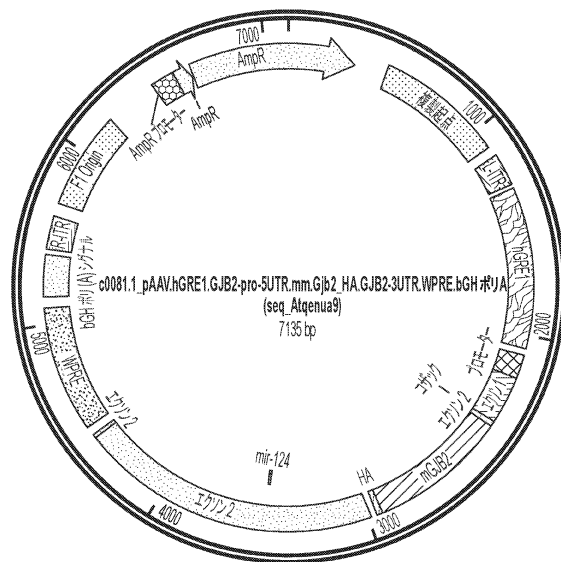


図5B

【図 5 K】

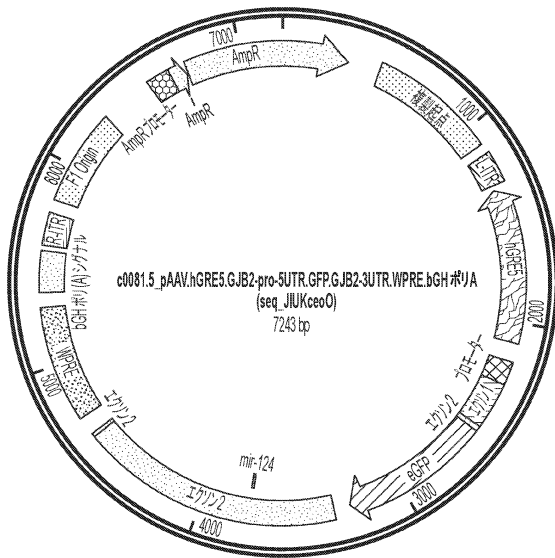


図5K

【図 5 L】

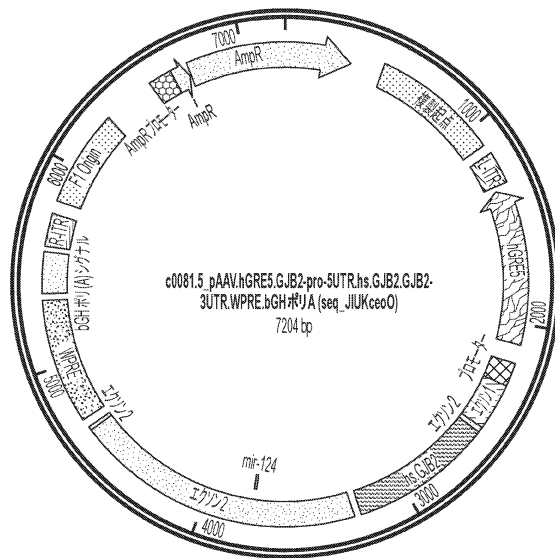


図5L

【図 5 M】

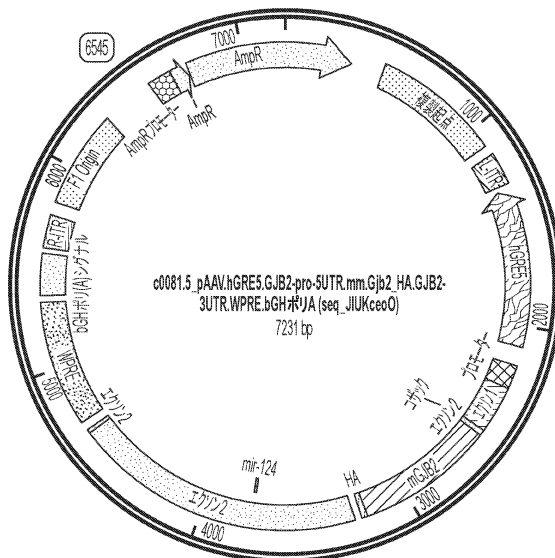


図5M

【図 5 N】

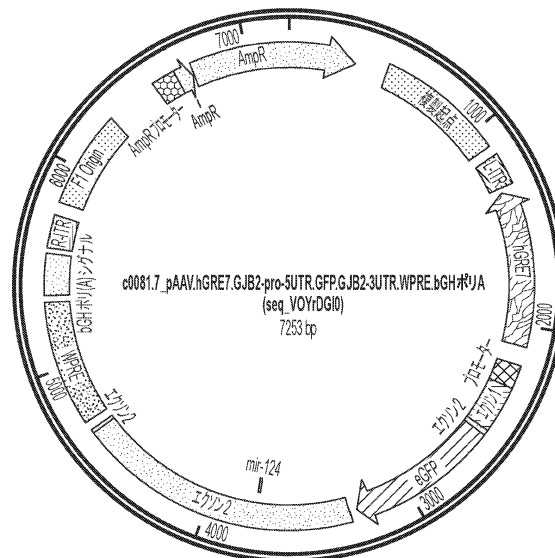


図5N

10

20

30

40

50

【図 5 O】

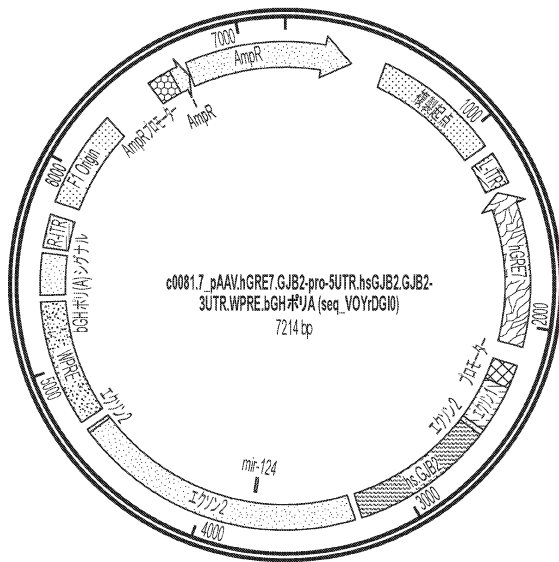


図5O

【図 5 P】

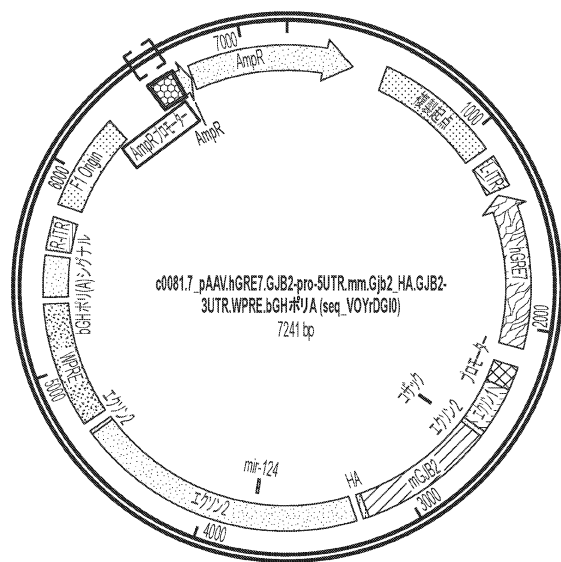


図5P

【図 5 Q】

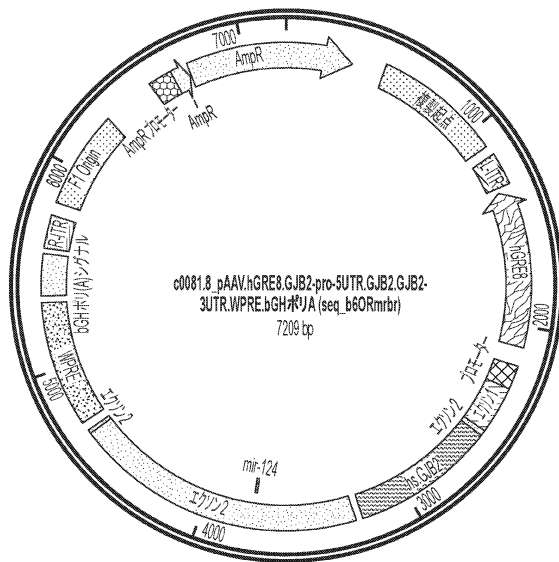


図5Q

【図 5 R】

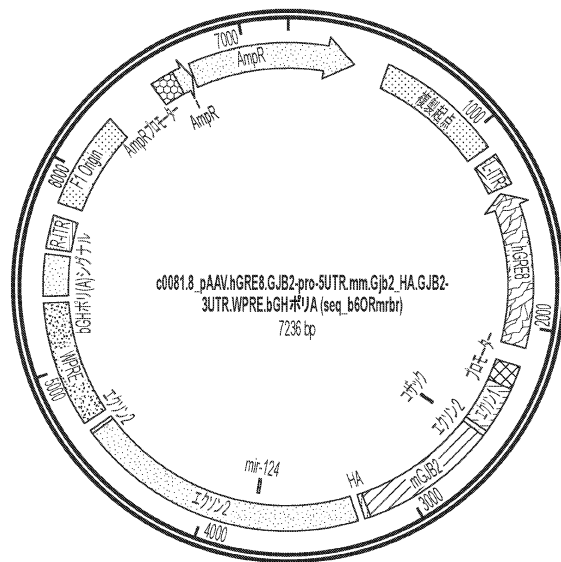


図5R

10

20

30

40

50

【図 5 S】

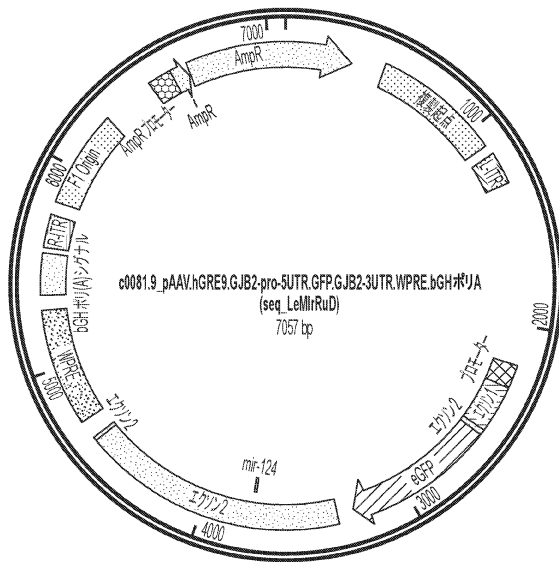


図5S

【図 5 T】

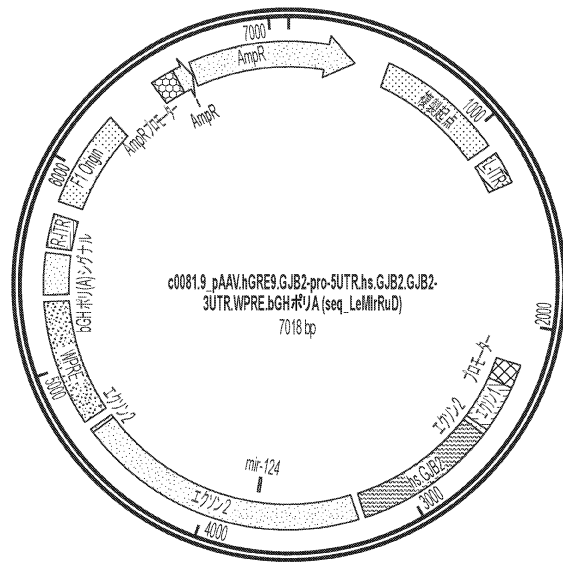


図5T

【図 5 U】

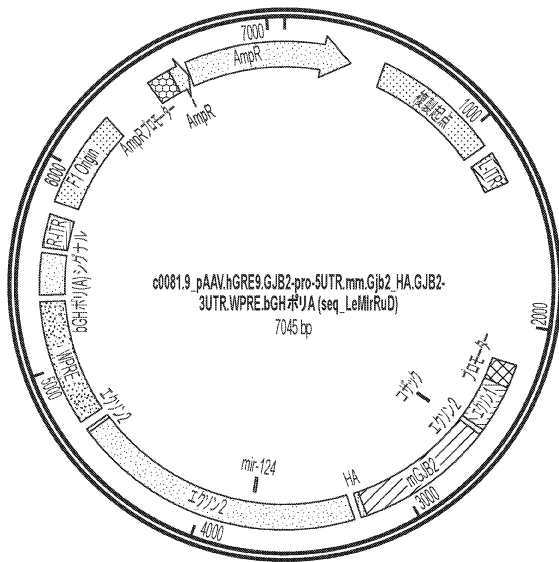


図5U

【図 5 V】

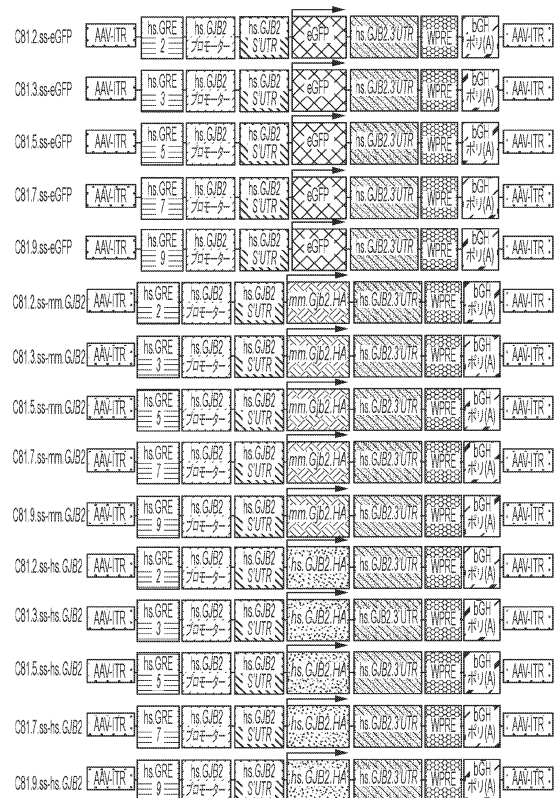


図5V

10

20

30

40

50

【図 6 A】

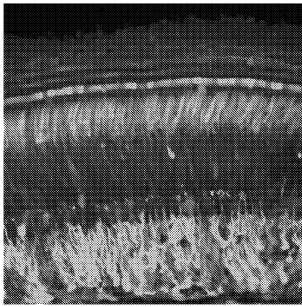


図6A

【図 6 B】

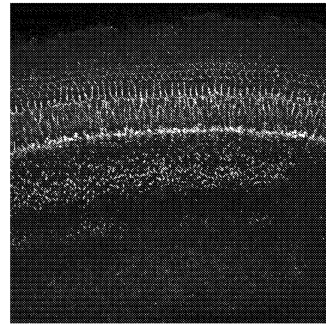


図6B

10

【図 6 C】

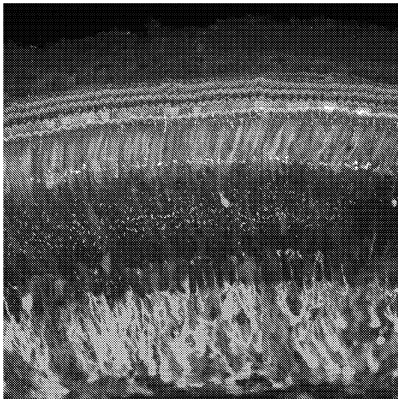


図6C

【図 6 D】

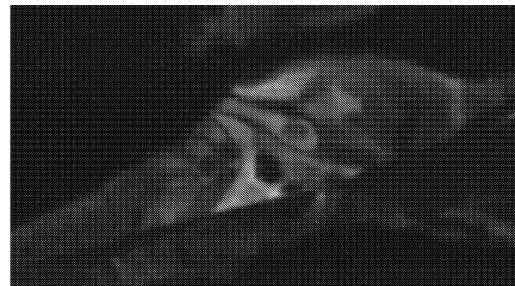


図6D

20

30

40

50

【図 7 A】

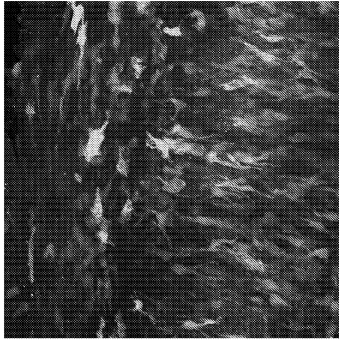


図7A

【図 7 B】

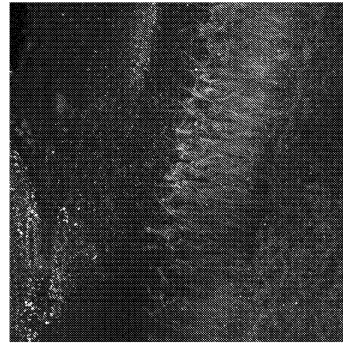


図7B

10

【図 7 C】

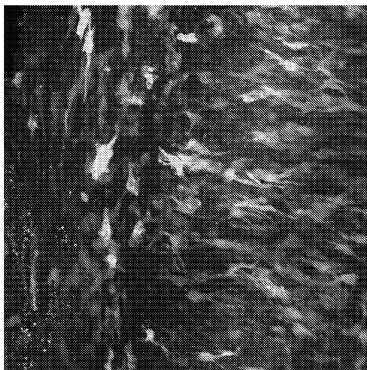


図7C

【図 7 D】

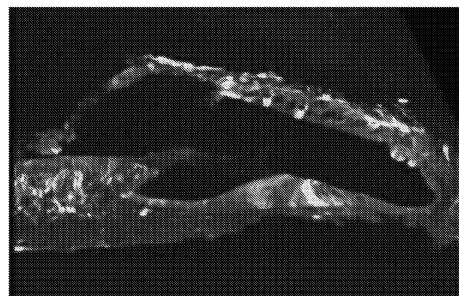


図7D

20

30

40

50

【図 7 E】

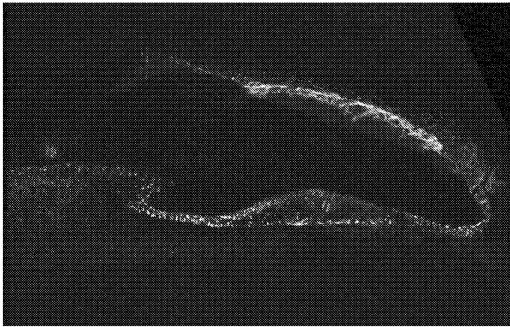


図7E

10

【配列表】

2023541443000001.app

20

30

40

50

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2021/050205

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC(8) - C07K 14/705; C12N 15/864 (2021.01)
CPC - C07K 14/705; C12N 15/8645; C12N 2750/14143 (2021.08)

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

see Search History document

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

see Search History document

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

see Search History document

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X — Y	WO 2019/200016 A1 (PRESIDENT AND FELLOWS OF HARVARD COLLEGE et al) 17 October 2019 (17.10.2019) entire document	1-4 — 49, 52
X — Y	WO 2020/077295 A1 (DECIBEL THERAPEUTICS INC.) 16 April 2020 (16.04.2020) entire document	23, 25 — 24, 26
X — Y	WO 2020/097372 A1 (AKOIOS INC.) 14 May 2020 (14.05.2020) entire document	48, 51 — 49, 52
Y	US 2008/0311627 A1 (TETZNER et al) 18 December 2008 (18.12.2008) entire document	24, 26
A	US 2009/0270480 A1 (AMEGADZIE et al) 29 October 2009 (29.10.2009) entire document	1-4, 23-26, 44, 48, 49, 51, 52
P, X	WO 2021/067448 A1 (APPLIED GENETIC TECHNOLOGIES CORPORATION) 08 April 2021 (08.04.2021) entire document	1-4, 23-26, 44, 48, 49, 51, 52

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"D" document cited by the applicant in the international application

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

18 November 2021

Date of mailing of the international search report

DEC 20 2021

Name and mailing address of the ISA/US

Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents

P.O. Box 1450, Alexandria, VA 22313-1450

Facsimile No. 571-273-8300

Authorized officer

Harry Kim

Telephone No. PCT Helpdesk: 571-272-4300

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US2021/050205

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:

a. ☒ forming part of the international application as filed:

☒ in the form of an Annex C/ST.25 text file.

☐ on paper or in the form of an image file.

b. ☐ furnished together with the international application under PCT Rule 13ter.1(a) for the purposes of international search only in the form of an Annex C/ST.25 text file.

c. ☐ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search only:

☐ in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13ter.1(a)).

☐ on paper or in the form of an image file (Rule 13ter.1(b) and Administrative Instructions, Section 713).

2. ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that forming part of the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.

3. Additional comments:

SEQ ID NOs: 1, 2, 102-104, 110, and 111 were searched.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US2021/050205

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☒ Claims Nos.: 5-22, 27-43, 45-47, 50, 53-78
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

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

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

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

フロントページの続き

(51)国際特許分類

F I

テーマコード (参考)

A 6 1 K	35/12	(2015.01)	A 6 1 K	35/12	
A 6 1 P	27/16	(2006.01)	A 6 1 P	27/16	
A 6 1 P	43/00	(2006.01)	A 6 1 P	43/00	1 0 5
A 6 1 K	48/00	(2006.01)	A 6 1 P	43/00	1 1 1
C 1 2 N	5/10	(2006.01)	A 6 1 K	48/00	
			C 1 2 N	5/10	

,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,D
K,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),O
A(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,B
B,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD
,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IR,IS,IT,JO,JP,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,
LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,
RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,Z
W

(72)発明者 アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 0 2 1 3 8、ケンブリッジ、マサチューセッツ アヴェニュー 1 3 5 0、スミス センター - スイート 7 2 7、ケア オブ ハーバード ユニバーシティ
ピータース, コール, ダブリュー., ディー.

(72)発明者 アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 0 2 1 3 8、ケンブリッジ、マサチューセッツ アヴェニュー 1 3 5 0、スミス センター - スイート 7 2 7、ケア オブ ハーバード ユニバーシティ

イワンチェンコ, マリナ, ヴイ.

(72)発明者 アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 0 2 1 3 8、ケンブリッジ、マサチューセッツ アヴェニュー 1 3 5 0、スミス センター - スイート 7 2 7、ケア オブ ハーバード ユニバーシティ

(72)発明者 グリーンバーグ, マイケル, イー.

(72)発明者 アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 0 2 1 3 8、ケンブリッジ、マサチューセッツ アヴェニュー 1 3 5 0、スミス センター - スイート 7 2 7、ケア オブ ハーバード ユニバーシティ

(72)発明者 フルヴァティン, シニシャ

(72)発明者 アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 0 2 1 3 8、ケンブリッジ、マサチューセッツ アヴェニュー 1 3 5 0、スミス センター - スイート 7 2 7、ケア オブ ハーバード ユニバーシティ

(72)発明者 ナギー, マーク, オーレル

(72)発明者 アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 0 2 1 3 8、ケンブリッジ、マサチューセッツ アヴェニュー 1 3 5 0、スミス センター - スイート 7 2 7、ケア オブ ハーバード ユニバーシティ

(72)発明者 グリフィス, エリック, シー.

(72)発明者 アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 0 2 1 3 8、ケンブリッジ、マサチューセッツ アヴェニュー 1 3 5 0、スミス センター - スイート 7 2 7、ケア オブ ハーバード ユニバーシティ

F ターム (参考) 4B065 AA91X AA95X AB01 AC14 BA01 BA02 CA24 CA44

4C084 AA13 NA14 ZA341 ZB211 ZC411

4C087 AA01 AA02 AA03 BB65 BC83 CA04 CA08 CA12 NA14 ZA34
ZB21 ZC41