



(19) 中華民國智慧財產局

(12) 發明說明書公開本

(11) 公開編號：TW 202214695 A

(43) 公開日：中華民國 111 (2022) 年 04 月 16 日

(21) 申請案號：110121993

(22) 申請日：中華民國 110 (2021) 年 06 月 16 日

(51) Int. Cl.：

*C07K16/28 (2006.01)**C12N15/86 (2006.01)**A61K39/00 (2006.01)**A61K48/00 (2006.01)*

(30) 優先權：2020/06/17 美國

63/040,381

2021/01/11 美國

63/135,998

2021/02/22 美國

63/152,085

(71) 申請人：賓州大學委員會 (美國) THE TRUSTEES OF THE UNIVERSITY OF PENNSYLVANIA (US)

美國

(72) 發明人：威爾森 詹姆士 M WILSON, JAMES M. (US)；亨德勒 克里斯欽 HINDERER, CHRISTIAN (US)；堀內真 HORIUCHI, MAKOTO (JP)

(74) 代理人：王彥評；黃政誠

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：19 項 圖式數：12 共 166 頁

(54) 名稱

用於治療基因療法患者之組成物及方法

(57) 摘要

本文提供對於與基因療法載體共投予至患者為有用的組成物，該患者具有預先存在之對病毒來源的基因療法載體殼體的中和抗體。該組成物包含抑制 FcRn 與 IgG 之間的特異性結合的 FcRn 配體。

Provided herein are compositions useful for co-administering with a gene therapy vector to a patient having pre-existing neutralizing antibodies to the viral source of the gene therapy vector capsid. The compositions comprise an FcRn ligand which inhibits specific binding between FcRn and IgG.

【發明摘要】

【中文發明名稱】

用於治療基因療法患者之組成物及方法

【英文發明名稱】

COMPOSITIONS AND METHODS FOR TREATMENT OF GENE
THERAPY PATIENTS

【中文】

本文提供對於與基因療法載體共投予至患者為有用的組成物，該患者具有預先存在之對病毒來源的基因療法載體殼體的中和抗體。該組成物包含抑制 FcRn 與 IgG 之間的特異性結合的 FcRn 配體。

【英文】

Provided herein are compositions useful for co-administering with a gene therapy vector to a patient having pre-existing neutralizing antibodies to the viral source of the gene therapy vector capsid. The compositions comprise an FcRn ligand which inhibits specific binding between FcRn and IgG.

【指定代表圖】

無。

【代表圖之符號簡單說明】

無。

【特徵化學式】

無。

【發明說明書】

【中文發明名稱】

用於治療基因療法患者之組成物及方法

【英文發明名稱】

COMPOSITIONS AND METHODS FOR TREATMENT OF GENE
THERAPY PATIENTS

【技術領域】

【0001】本文係關於對於與基因療法載體共投予至患者為有用的組成物，該患者具有預先存在之對病毒來源的基因療法載體殼體的中和抗體。該組成物包含抑制 FcRn 與 IgG 之間的特異性結合的 FcRn 配體。

【先前技術】

【0002】重組的腺相關病毒(adeno-associated virus) (AAV)載體係衍生自野生型(WT) AAV，其為微小病毒科(Parvoviridae family)中之小的無套膜的 4.7 kb DNA 依賴病毒(dependovirus)。此等 rAAV 已證實能於各種組織中作為有用的基因遞送系統，包括眼睛、肝臟、骨骼肌及中樞神經系統。WT AAV 因其已在許多不同的人體組織中檢測到，而在人類族群中極為普遍[Smith-Arica JR, et al., Infection efficiency of human and mouse embryonic stem cells using adenoviral and adeno-associated viral vectors. Cloning Stem Cells 2003; 5:51-62; Friedman-Einat M, et al, Detection of adeno-associated virus type 2 sequences in the human genital tract. J Clin Microbiol 1997; 35:71-8; 及 Auricchio A, Rolling F. Adeno-

associated viral vectors for retinal gene transfer and treatment of retinal diseases. *Curr Gene Ther* 2005; 5:339-48]。例如，已有描述天然 AAV 感染的盛行率高達族群的 15%至 30%(>1:20, AAV8)。

【0003】雖然暴露於 WT AAV 尚未與任何臨床病理學或疾病有關，但已顯示存在有對於某些 AAV 之預先存在的中和抗體，且該中和抗體可防止具有相同的或血清學上交叉反應性的殼體之 rAAV 於載體投予後的組織轉導。因此，大於 1:5 的中和抗體效價的存在為 AAV 系全身性基因療法的常見排除基準。參見 HC Verdera, et al, *Molecular Therapy*, Vol. 28, No. 3, pp 723-746 (March 2020)。靜脈內 AAV 投予後，NAb 效價高於 1:5 會顯著降低轉基因的表現。特別是對於 AAV 的全身/靜脈內投予，當效價>1:10，NAb 完全阻斷基因轉導。

【0004】目前，患者根據其 AAV 中和抗體效價而被排除在臨床試驗之外，且預期多至 30%的患者將基於其中和抗體效價而沒有資格接受批准的 AAV 藥物。

【0005】已嘗試過各種嘗試以降低對於所選擇的 AAV 殼體之預先存在的中和抗體在以具有該殼體的 rAAV 有效治療患者的能力上的影響。此等方法包括使用各種免疫抑制方案與 rAAV 遞送結合。

【0006】新生兒 Fc 受體 (FcRn) 為一種非典型的主要組織相容性 (MHC) I 類分子，由獨特的跨膜常見 $\beta 2$ -微球蛋白 ($\beta 2m$) 所組成 (Burmeister, W. P. Huber, A. H. & Bjorkman, P. J. Crystal structure of the complex of rat

neonatal Fc receptor with Fc. Nature 372, 379-383 (1994)、Burmeister, W. P. Gastinel, L. N. Simister, N. E., Blum, M. L. & Bjorkman, P. J. Crystal structure at 2.2 Å resolution of the MHC-related neonatal Fc receptor. Nature 372, 336-343 (1994); West, A. P. Jr. & Bjorkman, P. J. Crystal structure and immunoglobulin G (IgG) binding properties of the human major histocompatibility complex-related Fc receptor. Biochemistry 39, 9698-9708 (2000)。FcRn已被描述為在哺乳動物之IgG及血清(SA)白蛋白水準的調節中發揮作用。已描述人類 FcRn 之三維結構[V Oganessian, et al, J Biol Chem., Vol 289, No. 11, pp 2812-78124 (March 2014)]。FcRn之抑制劑已被暗示在治療體液性媒介的自體免疫失調中的作用。參見 X Li and RP Kimberly, Expert Opin Ther Targets, 2014 March; 18(3): 335-350。

【0007】本領域存在用於具有對 AAV 殼體的中和抗體的患者之基因療法治療的組成物及方法的需求。

【發明內容】

發明概要

【0008】本文提供的組成物及方案係藉由消除中和抗體對所選擇的病毒載體殼體的作用，因此允許有效遞送具有攜帶所欲基因產物的 AAV 殼體的 rAAV，而增加能以基因療法載體治療的患者族群。

【0009】一種治療具有對病毒載體之中和抗體的患者之組合方案，該方案包含將病毒載體與配體組合投

予，該病毒載體包含表現匣，該表現匣包含編碼於目標細胞中表現的基因產物之核酸序列及引導其表現的調節序列；該配體抑制人類新生兒 Fc 受體 (FcRn) 與免疫球蛋白 G (IgG) 之結合。於某些具體實施例，全身性地遞送病毒載體。於某些具體實施例，配體為肽、蛋白質、RNAi 序列、或小分子。於某些具體實施例，蛋白質為單株抗體、免疫黏附素 (immunoadhesin)、駱駝科抗體 (camelid antibody)、Fab 片段、Fv 片段、或 scFv 片段。於某些具體實施例，重組病毒載體為重組腺相關病毒、重組腺病毒、重組單純疱疹病毒 (herpes simplex virus)、或重組慢病毒 (lentivirus)。於某些具體實施例，配體為單株抗體，其特異性地抑制 FcRn-IgG 結合而不會干擾 FcRn-白蛋白結合。於某些具體實施例，單株抗體為尼泊卡利單抗 (nipocalimab) (M281)、洛利昔珠單抗 (rozanolixizumab) (UCB7665)；IMVT-1401、RVT-1401、HL161、HBM916、ARGX-113 (依加替莫德 (efgartigimod))、SYNT001、SYNT002、ABY-039、或 DX-2507、或此等之衍生物或組合。於某些具體實施例，於投予病毒載體前一至七日遞送配體。於某些具體實施例，每日遞送配體。於某些具體實施例，於投予病毒載體的同一日投劑或投予配體。於某些具體實施例，於載體投予後一日至四週投劑配體。於某些具體實施例，經由不同於載體的投予途徑而投劑配體。於某些具體實施例，口服投劑配體。於某些具體實施例，病毒載體係腹膜內、靜脈內、肌內、鼻內或鞘內投劑。於某些

具體實施例，預先確定當於活體外分析中確認時，患者對該載體殼體具有大於 1：5 的中和抗體效價。於某些具體實施例，於將病毒載體與抑制性配體組合遞送之前，該患者先前未接受過基因療法，因而患者的預先存在的中和抗體為野生型感染的結果。於某些具體實施例，於將病毒載體與抑制性免疫球蛋白構築體組合遞送之前，患者先前已接受過基因療法治療。於某些具體實施例，方案進一步包含共投予下列之一或多者：(a) 類固醇或類固醇類之組合及/或(b) IgG 切割酶；(c) Fc-IgE 結合抑制劑；(d) Fc-IgM 結合抑制劑；(e) Fc-IgA 結合抑制劑；及/或(f) γ -干擾素。

【0010】於另一態樣，提供一種增加基因療法為有效的患者族群的方法。該方法包含對於來自對所選擇的病毒殼體或血清學上交叉反應的殼體具有大於 1：5 的中和抗體效價之族群的患者，共投予：(a) 具有所選擇的病毒殼體及包裝於其中的基因療法表現匣之重組病毒；及(b) 特異性地結合新生兒 Fc 受體(FcRn)之配體，其於基因療法載體遞送之前投予，其中該配體阻斷 FcRN 結合至免疫球蛋白 G(IgG)並允許有效量的基因療法產物在患者中表現。

【0011】於某些具體實施例，提供一種治療具有對重組腺相關病毒(rAAV)之殼體的中和抗體的患者之方法。該方法包含將 rAAV 與抗新生兒 Fc 受體(FcRn)免疫球蛋白構築體組合投予，其中該免疫球蛋白構築體特異性地抑制 FcRn-免疫球蛋白 G(IgG)結合。於某些具體實

施例，免疫球蛋白構築體係選自單株抗體、免疫黏附素、駱駝科抗體、Fab 片段、Fv 片段、或 scFv 片段。於某些具體實施例，免疫球蛋白構築體特異性地抑制人類 FcRn-IgG 結合而不會干擾 FcRn-白蛋白結合。於某些具體實施例，全身性地遞送 rAAV，例如靜脈內、腹膜內、鼻內或經由吸入。於某些具體實施例，rAAV 具有選自 AAV1、AAV2、AAV3、AAV5、AAV7、AAV8、AAV9、AAVrh10、AAVhu37 的殼體。於某些具體實施例，免疫球蛋白構築體包含尼泊卡利單抗(M281)之重鏈及/或輕鏈的 CDR。於某些具體實施例，免疫球蛋白構築體為單株抗體尼泊卡利單抗(M281)。於某些具體實施例，於與 rAAV 投予的同一日，遞送免疫球蛋白構築體。於某些具體實施例，於 rAAV 投予後至少一日至四週遞送免疫球蛋白構築體。於某些具體實施例，於 rAAV 投予後四週至 6 個月遞送免疫球蛋白構築體。

【0012】由下列本發明的詳細說明，本發明之其它態樣及優點將為顯而易見。

【圖式簡單說明】

【0013】

圖 1A 及 1B 顯示 M281 mAb 在以 IVIG 治療的 hFcRn 小鼠中減少 hIgG 並改善 AAV-TT1(試驗轉基因 1)轉導。圖 1A 顯示於 IVIG 治療後第 1 至 16 日血清人類 IgG 的水準。圖 1B 顯示 AAV8 載體遞送後血清中轉基因活性的水準，以單位(U)表示。四方形表示接受 M281 靜脈注射的小鼠。實心四方形表示觀察到 IgG 水準降低的小鼠。空心四方形表示未觀察到 IgG 水準降低的小鼠。

圖 2A 及 2B 顯示藉由 M281 而抑制 FcRn，係減少 IVIG 衍生的 NAb 以及總 hIgG，並允許在靜脈內遞送 AAV8 載體後的肝臟轉導。圖 2A 顯示以 IVIG 預處理後第 0 日至第 5 日，血清人類 IgG(hIgG)之水準。M281 及 AAV 載體的投予係以箭頭指示。圖 2B 顯示研究的第 0 日至第 33 日，血清中 TT1 水準。

圖 3 顯示評估阻斷 FcRn 對非人類靈長類動物(NHP)中 NAb 效價及 AAV-TT2(試驗轉基因 2)轉導的影響的研究設計(研究 1 及研究 2)。

圖 4A 至 4D 顯示 M281 輸注於 NHP 中減少預先存在的 NAb 效價以及 IgG(研究 1)。圖 4A 顯示血清恆河獼猴(rhesus macaque) IgG (rhIgG)之水準，繪製為第 -5 日的百分比，其中 M281 投予係以圖上的箭頭指示。圖 4B 顯示 AAVhu68-非中和性結合抗體(BAb)效價，其中 M281 投予係以圖上的箭頭指示。圖 4C 顯示 AAVhu68-中和性結合抗體(NAb)效價，其中 M281 投予係以圖上的箭頭指示。圖 4D 顯示血清白蛋白之水準，繪製為第 -5 日的百分比，其中 M281 投予係以圖上的箭頭指示。

圖 5A 至 5B 顯示 M281 輸注於 NHP 中減少預先存在的 NAb 效價以及 IgG(研究 2)。圖 5A 顯示血清恆河獼猴 IgG(rhIgG)之水準，繪製為第 -5 日的百分比，其中 M281 之投予(第 -5、-4、及 -3 日)及 AAV 之投予(第 0 日)係以圖上的箭頭指示。圖 5B 顯示血清白蛋白之水準，繪製為第 -5 日的百分比，其中 M281 投予係以圖上的箭頭指示。

圖 6A 至 6B 顯示 AAV-結合抗體效價(研究 2)。圖 6A 顯示研究第 -15 日至第 0 日期間的 AAVhu68-非中和性結合抗體(BAb)效價，其中 M281 之投予(第 -5、-4、及 -3 日)及 AAV 之投予(第 0 日)。圖 6B 顯示研究第 0 日至第 30 日期間的 AAVhu68-非中和性結合抗體(BAb)效價。

圖 7A 至 7E 顯示由研究 2 中收穫的各種組織中的載體基因體生物分布(vector genome biodistribution)，繪製為每微克(μg) DNA 的基因體拷貝(GC)。圖 7A 顯示於心臟中的載體基因體生物分布。圖 7B 顯示於骨骼肌中的載體基因體生物分布。圖 7C 顯示於肝臟右葉中的載體基因體生物分布。圖 7D 顯示於肝臟左葉中的載體基因體生物分布。圖 7E 顯示於脾臟中的載體基因體生物分布。

圖 8A 及 8B 顯示原位雜交定量結果，其檢查自研究 2 中收穫的心臟及肝臟組織中的 TT2 mRNA 表現水準，繪製為陽性面積比。圖 8A 顯示原位雜交結果，其檢查自研究 2 中收穫的肝臟組織(左及右葉)中的 TT2 mRNA 表現水準。圖 8B 顯示原位雜交結果，其檢查自研究 2 中收穫的心臟組織(左、右心室及中隔)中的 TT2 mRNA 表現水準。

圖 9 顯示在以 1×10^{13} GC/kg 的劑量重新投予 AAV8.TT3(試驗轉基因 3)後評估阻斷預先存在的 FcRn NAb 效價的影響的研究設計。

圖 10A 及 10B 顯示 AAV8.TT3 重新投予研究之結果，其中 M281 投予降低 NHP(先前投予 AAV8.TT3)中預先存在的 NAb 效價(AAV8)以及 IgG。圖 10A 顯示恆河獼猴 IgG(rhIgG)之血清水準，繪製為第 -5 日的百分比，其中 NHP 於第 -5、-4、-3、及 -2 日被投予 M281，且於第 0 日被投予 AAV8.TT3。圖 10B 顯示 M281 之測量的血清水準，繪製為 mg/mL。

圖 11A 及 11B 顯示另一 AAV8.TT3 研究的結果，其中 M281 投予降低 NHP 中預先存在的 NAb 效價(AAV8)以及 IgG，該 NHP 係藉由自然感染而具有預先存在的 NAb+(1 : 20)。圖 11A 顯示總恆河獼猴 IgG 水準(rhIgG)，繪製為第 -5 日的百分比，其中 NHP 於第 -5、-4、-3、及 -2 日被投予 M281，且於第 0 日被投予 AAV8.TT3。圖 11B 顯示血清 M281 水準(hIgG)，繪製為 mg/mL 並使用 ELISA 測量。

圖 12 顯示在 AAV8.TT1 載體投予時以 IVIG 共同治療的小鼠中 TT1 活性水準減少的結果。

【實施方式】

【0014】提供對於治療患者為有用之方案及組成物，該患者具有對所選擇的用於遞送基因產物至患者目標細胞/組織的病毒載體之殼體的中和抗體。於某些具體實施例，對於利用所選擇的病毒載體的任何治療性處置，患者可能為初始的(naïve)，且可能由於先前感染了野生型病毒而具有預先存在的免疫力。於其它具體實施例，患者可由於先前的治療或疫苗的結果，而具有中和

抗體。於某些具體實施例，患者可具有 1：1 至 1：20、或者超過 1：2、超過 1：5、超過 1：10、超過 1：20、超過 1：50、超過 1：100、超過 1：200、超過 1：300 或以上之中和抗體。於某些具體實施例，患者具有中和抗體之範圍為 1：1 至 1：200、或 1：5 至 1：100、或 1：2 至 1：20、或 1：5 至 1：50、或 1：5 至 1：20。於某些具體實施例，患者接受單一抗 FcRn 配體(例如，抗 FcRn 抗體)作為單獨劑以調節 FcRn-IgG 結合並允許有效的載體遞送。於其它具體實施例，患者可接受一或多種抗 FcRn 配體及第二成分(例如，Fc 受體向下調節劑(例如， γ -干擾素)、IgG 酶、或另一適合的成分)之組合。此種組合可特別適合具有特別高的中和抗體水準(例如，超過 1：200)的患者。於某些具體實施例，包含抗 FcRn 配體之組成物、以及方案及共投予被利用於病毒載體的全身性遞送期間。然而，如本文中更詳細描述，本發明並未如此限制。

【0015】如本文所使用，術語「FcRn」係指新生兒 Fc 受體，其結合至免疫球蛋白(IgG)抗體之 Fc 區域。一示例的 FcRn 為具有 UniProt ID No. P55899 (SEQ ID NO：45)之人類 FcRn。咸信人類 FcRn 負責藉由結合並運輸組成性內化的 IgG 回到細胞表面以用於 IgG 的再循環，而維持 IgG 的半衰期。除非另有指明，「FcRn」係指患者原有的 FcRn。

【0016】如本文所使用，術語「免疫球蛋白 G」或「IgG」係指由四種不同的 IgG 分子亞型(subtype)或子

類 (subclass) 所組成的一類抗體的任何成員，稱為 IgG1、IgG2、IgG3 及 IgG4。除非另有指明，本文提供的組成物、方案、及組合中所選擇使用的抗 FcRn 配體可結合患者的 IgG 中和抗體 (NAb) 之任何亞型。於某些具體實施例，可選擇結合 NAb IgG 子類的子集 (subset) 之抗 Fc 配體，例如，僅 IgG1；或者 IgG1、IgG2；或者 IgG3 或 IgG4；僅 IgG4；或者其它組合。儘管目前咸信對所選擇的外殼體 (對於無套膜的載體) 或病毒載體的套膜蛋白 (例如，AAV 的殼體蛋白質) 的預先存在的中和抗體主要為 IgG 類 (或其子類)，但於某些具體實施例，本文提供的含有抑制性配體之組成物及組合係對於抑制其它免疫球蛋白類的中和抗體為有用的，該其它免疫球蛋白類的中和抗體係例如預先存在的抗 AAV 殼體或血清學交叉反應的殼體之中和抗體。

【0017】於某些具體實施例，當全身性地遞送病毒載體 (例如，基因療法載體) 時，本文提供的組成物特別適合使用。如本文所使用，「全身性遞送」涵括遞送之任何適合途徑，包括但未限於腹膜內、肌內、皮下、靜脈內、口服、直接投予至器官 (例如，心臟、肝臟)，不包括眼睛 (例如玻璃體內、視網膜下)、腦及中樞神經系統的其它部分 (例如，鞘內)。然而，有某些具體實施例，其中如本文所提供的 FcRn 阻斷配體組成物之遞送適合用於與非全身性載體系基因療法的結合，例如，直接投予載體至眼睛 (例如，視網膜下、玻璃體內)、腦、或 CNS 的另外部分。

【0018】如本文所使用，術語「載體(vector)」係指運輸、轉導或以其它方式而作為異源分子(如多核苷酸)的攜帶者的任何分子或部分。「病毒載體」為包含一或多個多核苷酸區域的載體，該多核苷酸區域編碼或包含感興趣的分子，例如，轉基因、編碼多肽或多個多肽的多核苷酸或調節性的核酸。可重組性地生產病毒載體。本文之實施例證實共投予抗 FcRN 配體與重組腺相關病毒(AAV)殼體至所選擇之具有中和抗體的患者之方法。

【0019】然而，此方法及組成物可利用於具有對下列之中和抗體的患者：腺病毒殼體蛋白質(於利用重組腺病毒的治療)、單純疱疹病毒(於利用重組單純疱疹病毒載體的治療)、或慢病毒(於利用重組慢病毒的治療)。於此等載體類別中的每一者中，中和抗體可能為血清學上特異性的，但在此特異性內，可為具有相同殼體來源或與該殼體在血清學上具有交叉反應性的不同殼體來源的病毒。每種病毒類型中的不同病毒殼體：AAV、腺病毒、HSV、或慢病毒，可為血清學上不同或為血清學上有交叉反應的。例如，待投予攜帶所欲轉基因的 rAAV8 的患者將被篩選對 AAV8 的中和抗體。

【0020】如本文所使用，「中和抗體」或「NAb」特異性地結合至病毒殼體或套膜並干擾病毒或具有病毒殼體或套膜的重組病毒載體的感染性，如此防止重組病毒載體遞送有效量之由其載體基因體中的表現匣編碼的基因產物。可利用各種評估患者的血清中之中和抗體的方法。術語方法及分析可互換使用。如本文所使用，術

語「中和分析」及「血清病毒中和分析」係指偵測可防止病毒感染之全身性抗體存在的血清學試驗。此種分析亦可定性或定量地辨別抗體中和目標的結合能力(例如，量級)或效力。免疫學分析可包括酵素免疫分析(EIA)、放射免疫分析(RIA)(其使用放射性同位素)、螢光免疫分析(FIA)(其使用螢光材料)、化學發光免疫分析(CLIA)(其使用化學發光材料)及計數免疫分析(counting immunoassay) (CIA)(其運用顆粒計數技術)、其它經改質的分析，如西方印漬法、免疫組織化學(IHC)及凝集作用。最常見的酵素免疫分析之一為酵素結合免疫吸附分析法(ELISA)。

【0021】適合的方法之例包括下列彼等所述者，例如，R Calcedo, et al, Journal Infectious Diseases, 2009, 199:381-290；GUO, et al., “Rapid AAV_Neutralizing Antibody Determination with a Cell-Binding Assay”, Molecular Therapy: Methods & Clinical Development Vol. 13 June 2019、T. Ito et al, “A convenient enzyme-linked immunosorbent assay for rapid screening of anti-adenovirus associated virus neutralizing antibodies”, Ann Clin Biochem 2009; 46: 508-510；US 2018/0356394A2 (Voyager Therapeutics)。此外，存在有商業套組(參見例如 Athena Diagnostics、Invitrogen、ThermoFisher.com；Covance)。

【0022】抗體之中和能力通常經由報導基因(如螢光素酶或 GFP)之表現而測量。為了確定及比較中和抗體

之活性，於本文所述的中和分析之一中，試驗的抗體應展現 50%以上的中和活性。於一些實施例中，中和能力係藉由測量報導基因產物(例如，螢光素酶、GFP)的活性而確定。抗體對特異性病毒載體之中和能力可為至少 50%，例如，至少 55%、60%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、或至少 99%。

【0023】目前，許多臨床試驗需要測試潛在患者是否存在對試驗的病毒載體之殼體(或套膜)的 NAb。某些臨床試驗目前使用 1：20 以上、1：10 以上、或 1：5 以上的 NAb 效價作為試驗中用於治療的排除條件。此於全身性地遞送病毒載體時係特別重要。然而，本文提供的組成物及方法可允許落入此等排除基準中的一項、兩項或全部的患者接受有效的基因療法(或疫苗)治療。可使用對於不具有預先選擇的 NAb 效價的患者族群所選擇的標準來確定有效的基因轉移。例如，有效的基因轉移可藉由測量下列來確定：轉基因表現、疾病生物標記、疾病症狀的減輕、疾病進展的減緩、及/或被改善的臨床後遺症的其它預先選擇的決定因素。

【0024】如本文所使用，術語「NAb 效價」係產生多少中和抗體(例如抗 AAV Nab)的量度，該中和抗體中和其靶向的抗原決定位(例如 AAV)的生理作用。抗 AAV

NAb 效價可如下述測量，例如，Calcedo, R., et al., Worldwide Epidemiology of Neutralizing Antibodies to Adeno-Associated Viruses. Journal of Infectious Diseases, 2009. 199(3): p. 381-390，其藉由引用而併入本文。

【0025】該方法包含對受試者投予如本文所述的載體的懸浮液。於一具體實施例，該方法包含對受試者投予如本文所述的 rAAV 於調配緩衝液的懸浮液。

【0026】該組成物及方法允許以載體治療需要其之受試者(人類患者)。於特別理想的具體實施例中，

【0027】

1. FcRn 配體

【0028】如本文所使用，「FcRn 配體」為任何部分(例如肽、蛋白質、抗體、shRNA、RNAi、編碼肽、蛋白質、或抗體之核酸、或小分子藥物，並未限制)，其阻斷或顯著地減少人類新生兒 Fc 受體(FcRn)與患者之中和抗體之間的結合。於理想的具體實施例，於本文配體可稱為「抗 FcRn」。於某些具體實施例，FcRn 配體阻斷 FcRn 結合至患者的 NAb 而不阻斷 FcRn 結合至白蛋白。此於本文中可稱為 FcRn-IgG 阻斷配體、FcRn-NAb 阻斷配體或抗 FcRn 配體。

【0029】如本文所使用，術語「抑制 IgG 結合至 FcRn」係指配體阻斷或抑制 IgG(例如，IgG1)結合至患者原有的 FcRn(例如，人類患者中的人類 FcRn)之能力。於一些具體實施例，配體結合 FcRn，例如，在人

類 FcRn 上之與 IgG 結合的部位。如此，配體抑制患者的 IgG 自體抗體對 FcRn 之結合。於一些具體實施例，配體實質上或完全地抑制對 IgG 的結合。於一些具體實施例，IgG 的結合降低 10%、20%、30%、50%、70%、80%、90%、95%、或甚至 100%。

【0030】如本文所使用，特異性地抑制 FcRn 而不阻斷或干擾白蛋白水準係指所選擇的抗 FcRn 配體之特徵及其特異性地降低抗 AAV 中和抗體結合至 FcR 的能力。

「特異性地」係意指以本文提供的抗 FcRn 抗體方案治療後，患者至少保留必要的血清白蛋白之最低水準。

較佳地，患者白蛋白水準維持於正常範圍，例如，約 3.4 g/dL 至約 5.5 g/dL (34 至 54 g/L)，但可能以輕度消耗(例如，2.8 至 3.4 g/dL)至中度白蛋白消耗(2 g/dL 至 2.7 g/dL)為特徵。具有輕度、中度或重度白蛋白消耗(例如，低於 3 g/dl)的患者可能仍為治療方案的候選者。於某些具體實施例，白蛋白替代療法(例如，於靜脈內輸注的遞送)可進一步與本文提供的方案共投予。

【0031】

抗 FcRn 免疫球蛋白

於某些具體實施例，選擇單株抗體，其具有所選擇的重(H)鏈之互補性決定區(CDR)：CDR H1[SEQ ID NO：16 或與其至少 99%相同的序列、CDR H2[SEQ ID NO：18]或與其至少 99%相同的序列、CDR H3[SEQ ID NO：20]或與其至少 99%相同的序列。於某些具體實施例，提供 WO 2016/124521 之 N027 的全長重鏈。參見例

如 SEQ ID NO：8 或與其至少 95%相同的序列。於某些具體實施例，於 CDR H1、H2 及/或 H3 中的任一者中的胺基酸變更不超過 1 個。於某些具體實施例，於重鏈中的胺基酸變更不超過 1 至 4 個。於某些具體實施例，選擇使用該重鏈的 CDR，但經工程化至不同的抗體框架中且選擇不同的重鏈恆定區。於某些具體實施例，選擇單株抗體，其具有所選擇的輕鏈 CDR：CDR L1[SEQ ID NO：10]或與其至少 99%相同的序列、CDR L2[SEQ ID NO：12]或與其至少 99%相同的序列、CDR L3[SEQ ID NO：14]或與其至少 99%相同的序列。於某些具體實施例，提供 WO 2016/124521 之 N027 的全長輕鏈。參見例如 SEQ ID NO：7 或與其至少 95%相同的序列。於某些具體實施例，於 CDR L1、L2 及/或 L3 中的任一者中的胺基酸變更不超過 1 個。於某些具體實施例，於輕鏈中的胺基酸變更不超過 1 至 4 個。於某些具體實施例，選擇使用該輕鏈的 CDR，但經工程化至不同的抗體框架中且選擇不同的輕鏈恆定區。於某些具體實施例，單株抗體具有 SEQ ID NO：4 或 8 之重鏈及 SEQ ID NO：2 或 7 之輕鏈、或者與此等至少 95%相同、與此等至少 97%相同、或與此等至少 99%相同的序列。於某些具體實施例，輕鏈之 CDR 進一步選自 SEQ ID NO：41 之 CDR L3 變異體及/或 SEQ ID NO：42 之 CDR L2 變異體、或與此等至少 99%相同的序列。於某些具體實施例，重鏈之 CDR 進一步選自：SEQ ID NO：21、22 及 43 之 CDR H1 變異體、或與此等至少 99%相同的序列；SEQ ID NO：

23、24、25 及 44 之 CDR H2 變異體、或與此等至少 99% 相同的序列。

【0032】如本文所使用，術語「互補性決定區」及「CDR」係指抗體可變域之區域，其於序列中為高度變異及/或形成結構上限定的環。CDR 亦稱為高度變異區。輕鏈及重鏈可變區各具有三個 CDR。輕鏈可變區含有 CDR L1、CDR L2、及 CDR L3。重鏈可變區含有 CDR H1、CDR H2、及 CDR H3。各 CDR 可包括來自如 Kabat 所定義的互補性決定區之胺基酸殘基，即，輕鏈可變區中約殘基 24 至約 34 (CDR L1)、約 50 至約 56 (CDR L2) 及約 89 至約 97 (CDR L3) 以及重鏈可變區中約殘基 31 至約 35 (CDR H1)、約 50 至約 65 (CDR H2) 及約 95 至約 102 (CDR H3)。

【0033】如本文所使用，術語「可變區」及「可變域」係指抗體之輕鏈及重鏈的部分，包括互補性決定區 (CDR，例如 CDR L1、CDR L2、CDR L3、CDR H1、CDR H2、及 CDR H3) 之胺基酸序列及框架區 (framework region) (FR)。指稱為 CDR 及 FR 的胺基酸位置係依據 Kabat 定義 (Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD. (1991))。使用此編號系統，實際的線性胺基酸序列可含有較少或額外的胺基酸，對應於可變區的 CDR (進一步於本文定義) 或 FR (進一步於本文定義) 之縮短或插入。例如，重鏈可變區可包括 CDR H2 之殘基 52 後之單一經插入的殘基

(即，依據 Kabat 為殘基 52a)及重鏈 FR 之殘基 82 後之經插入的殘基(即，依據 Kabat 為殘基 82a、82b、82c 等)。對於給定的抗體，可藉由在抗體序列的同源區域與「標準」Kabat 編號序列進行比對，而確定殘基的 Kabat 編號。

【0034】本文使用術語「免疫球蛋白」以包括抗體、其功能性片段、及免疫黏附素。於某些具體實施例，此等於本文亦稱為「免疫球蛋白構築體」或「抗體構築體」。抗體能以多種形式存在，包括例如：多株抗體、單株抗體、駱駝源化單一域抗體(camelized single domain antibody)、細胞內抗體(「intrabody」)、重組抗體、多特異性抗體、抗體片段(如 Fv、Fab、F(ab)₂、F(ab)₃、Fab'、Fab'-SH、F(ab')₂、單鏈可變的片段抗體(scFv)、串接/雙-scFv、Fc、pFc'、scFvFc(或 scFv-Fc)、二硫化 Fv(dsFv))、雙特異性抗體(bc-scFv)(如 BiTE 抗體)；駱駝科抗體、表面重塑(resurfaced)抗體、人源化抗體、完整人類抗體、單域抗體(sdAb，亦稱為 NANOBODY®)、多域抗體(mdAb)、嵌合抗體、包含至少一種人類恆定區的嵌合抗體等。

【0035】本文所述的抗 FcRn 免疫球蛋白構築體可於任何適合的活體外生產系統中生產，純化並調配於適合的組成物，遞送至如本文所述的患者。可選擇地，此等構築體可含有一或多個免疫球蛋白構築體。可選擇地，此等構築體(例如，單株抗體)可與病毒載體分開調配。於其它具體實施例，構築體可與病毒載體調配及遞送。

【0036】於其它具體實施例，可選擇或合併使用另一單株抗體。此種抗體之例可包括例如：洛利昔珠單抗(UCB7665)(UCB SA)；IMVT-1401、RVT-1401 (HL161)、HBM9161(全部來自 HanAll BioPharma Co. Ltd)、尼泊卡利單抗(M281)(Momenta Pharmaceuticals Inc)、ARGX-113(依加替莫德)(Argenx S.E.)、奧諾利單抗(orilanolimab)(ALXN 1830、SYNT001，Alexion Pharmaceuticals Inc)、SYNT002、ABY-039 (Affibody AB)、或 DX-2507(Takeda Pharmaceutical Co. Ltd)、此等之組合、或此等抗體之一與另外的配體組合。或者，其它抗體構築體可衍生自此等抗體等。

【0037】本發明之含有一或多種抗 FcRn 抗體構築體作為治療性蛋白質之醫藥組成物可被調配用於靜脈內投予、腸胃外投予、皮下投予、肌肉內投予、動脈內投予、鞘內投予、或腹膜內投予。尤其，較佳為靜脈內投予。醫藥組成物亦可調配用於或經由下列而投予：口服、鼻、噴霧、氣溶膠、直腸或陰道投予。於可注射的調配物，各種有效的醫藥載劑為本領域已知。本發明之醫藥組成物之劑量取決於包括下列之因子：投予途徑及身體特徵，例如，受試者之年齡、體重、性別、一般健康狀態。醫藥組成物可包括抗 FcRn 抗體構築體之劑量範圍為 0.01 至 500 mg/kg(例如，0.01、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、1、2、3、4、5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、100、150、200、250、300、350、400、450、或 500 mg/kg)，於更特定的具體實施例，約 1 至約 100

mg/kg，於更特定的具體實施例，約 1 至約 50 mg/kg，於更特定的具體實施例，約 15 至約 30 mg/kg。劑量可由醫師根據常規因素來調整，如受試者的疾病的程度及不同的參數。醫藥組成物係以與劑量調配物相容的方式投予。醫藥組成物係以各種劑型投予，例如，靜脈內劑型、皮下劑型、及口服劑型(例如，可攝取的溶液、藥物釋放膠囊)。一般而言，治療性蛋白質係以 1 至 100 mg/kg 投劑，例如，1 至 50 mg/kg。於某些具體實施例，此等組成物可在預定天數(例如，3 至 7 日)或在另一預先選擇的時間段內以遞增或遞減劑量投劑。可選擇地，配體(例如，抗 FcRn 抗體)可被工程化至適合的遞送載體(例如，rAAV 或另外的病毒載體)並以適合的量遞送，以表現上述量的蛋白質水準。

【0038】含有抗 FcRn 抗體構築體之醫藥組成物可被投予至需要其之受試者，例如每日、每週、每月、每半年、每年一或多次(例如，1-10 次或以上)或在醫學上有必要時。劑量能以單次或多次劑量方案來提供。

【0039】

抗 FcRn 肽及蛋白質

可選擇地、另外或替代地，對於上述 FcRn 抗體構築體，適合的抗 FcRn 配體可為結合人類 FcRn 以抑制 IgG 結合的肽或蛋白質構築體。示例可包括例如：SYN1436(Biogen)，一結合至 FcRn 以阻斷其與 IgG 交互作用之 26 個胺基酸的肽，其為 SYN 1327(SEQ ID NO：30)之二聚體；或者 SYN 1327 經修飾的變異體(SEQ ID

NO : 31)、或其非經截斷且非二聚物化的肽變異體 SYN746(SEQ ID NO : 29)。亦參見 US 專利 9,527,890。此外，一例可包括 FcRn 親和性結合分子，例如： Z_{FcRn} ，具有 58 個胺基酸及摺疊的反向平行三螺旋束結構；或 Z_{FcRn} 融合蛋白，如 Z_{FcRn} -白蛋白結合域(ABD)融合蛋白。其中， Z_{FcRn} 肽可包含具有胺基酸序列 SEQ ID NO : 26 之 Z_{FcRn} -2、具有胺基酸序列 SEQ ID NO : 27 之 Z_{FcRn} -4、及/或具有胺基酸序列 SEQ ID NO : 28 之 Z_{FcRn} -16 (Seijsing, J., et al., 2014, PNAS, 111(48):1710-17115)。其它適合的抗 FcRn 配體可包括例如：QRFCTGHFGGLYPCNGP (SEQ ID NO : 32)、GGGCVTGHFGGIYCNYQ (SEQ ID NO : 33)、KIICSPGHFGGMYCQ GK (SEQ ID NO : 34)、PSYCIEGHIDGIYCFNA (SEQ ID NO : 35)、及/或 NSFCRGRPGHFGG CYLF (SEQ ID NO : 36)。參見例如 WO 2007/098420 A2。此外，適合的蛋白質構築體之例可包括 DX-2504 輕鏈(SEQ ID NO : 37)、DX-2504 重鏈(SEQ ID NO : 38)、DX-2507 輕鏈(SEQ ID NO : 39)及/或 DX-2507 重鏈(SEQ ID NO : 40)。亦參見 US 9,359,438 B2。

【0040】醫藥組成物可包括抗 FcRn 肽或蛋白質之劑量範圍為 0.01 至 500 mg/kg(例如，0.01、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、1、2、3、4、5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、100、150、200、250、300、350、400、450、或 500 mg/kg)，於更特定的具體實施

例，約 1 至約 100 mg/kg，於更特定的具體實施例，約 1 至約 50 mg/kg。

【 0041 】

蛋白質及肽生產

編碼抗 FcRn 蛋白質或肽(例如，免疫球蛋白、免疫球蛋白構築體、抗體、抗體構築體)之胺基酸序列的核酸序列可藉由本技術領域中已知的各種方法製備。序列表提供於活體外表現及實施例中使用的用於表現抗體輕鏈及重鏈之核酸序列。此等序列包括例如 SEQ ID NO：5 或與其至少 90%相同的序列(其編碼具有 SEQ ID NO：7 之胺基酸序列的 M281 輕鏈)、SEQ ID NO：6 或與其至少 90%相同的序列(其具有 SEQ ID NO：8 之胺基酸序列的編碼 M281 重鏈)、SEQ ID NO：9 或與其至少 90%相同的序列(其編碼具有 SEQ ID NO：10 之胺基酸序列的 M281 CDR-L1)、SEQ ID NO：11 或與其至少 90%相同的序列(其編碼具有 SEQ ID NO：12 之胺基酸序列的 M281 CDR-L2)、SEQ ID NO：13 或與其至少 90%相同的序列(其編碼具有 SEQ ID NO：14 之胺基酸序列的 M281 CDR-L3)、SEQ ID NO：15 或與其至少 90%相同的序列(其編碼具有 SEQ ID NO：16 之胺基酸序列 M281 CDR-H1)、SEQ ID NO：17 或與其至少 90%相同的序列(其編碼具有 SEQ ID NO：18 之胺基酸序列的 M281 CDR-H2)、SEQ ID NO：19 或與其至少 90%相同的序列(其編碼具有 SEQ ID NO：20 之胺基酸序列的 M281 CDR-H3)。其它核酸序列可包括彼等編碼一或多種 M281

CDR-H1 變異體 (具有 SEQ ID NO : 21 或 SEQ ID NO : 22 之胺基酸序列)、M281 CDR-H2 變異體 (具有 SEQ ID NO : 23 或 SEQ ID NO : 24 或 SEQ ID NO : 25)。

【0042】其它核酸序列可包括編碼一或多種具有下列胺基酸序列的蛋白質及肽者，SEQ ID NO : 26 (Z FcRn2)、SEQ ID NO : 27 (Z FcRn-4)；SEQ ID NO : 28 (Z FcRn-16)、SYN746 (SEQ ID : 29)、SEQ ID NO : 30 (SYN 1327)、經修飾的 SYN1327 (SEQ ID NO : 31)、98420-p1 (SEQ ID NO : 32)、98420-p2 (SEQ ID NO : 33)、98420-p3 (SEQ ID NO : 34)、98420-p4 (SEQ ID NO : 35)、98420-p5 (SEQ ID NO : 36)、DX-2504-LC (SEQ ID NO : 37)、DX-2504-HC (SEQ ID NO : 38)、DX-2507-LC (SEQ ID NO : 39)、DX-2507-HC (SEQ ID NO : 40)、DX-CDR-L3 (SEQ ID NO : 41)、DX-CDR-L2 (SEQ ID NO : 42)、DX-CDR-H1 (SEQ ID NO : 43)、或 DX-CDR-H2 (SEQ ID NO : 44)。

【0043】編碼抗 FcRn 配體之核酸分子可使用標準技術獲得，例如，基因合成。或者，編碼野生型抗 FcRn 配體 (例如，抗體) 之核酸分子可使用本技術領域之標準技術而變異以含有特定的胺基酸取代，例如，QuikChange™ mutagenesis。使用核苷酸合成器或 PCR 技術可合成核酸分子。編碼抗 FcRn 抗體或其它配體之核酸序列可被插入至於原核或真核宿主細胞中能夠複製及表現該核酸分子之載體。許多適合活體外蛋白質或肽生產之載體為本技術領域中可取得的且可使用。每一載

體可含有可為了與特定宿主細胞的相容性而調整及最適化的各種組件。例如，載體組件可包括但不限於：複製起點、選擇標記基因、啟動子、核糖體結合位、訊息序列、編碼感興趣的蛋白質之核酸序列、及轉錄終止序列。於其它具體實施例，載體可被設計用於活體內生產配體，如抗 FcRn 抗體。此種載體可選自任何適合的載體，例如，rAAV 或其它病毒載體，如關於編碼基因產物的 rAAV 所述者。

【0044】於一些具體實施例，用於生產抗 FcRn 抗體之載體為一質體，其包含 SEQ ID NO：1 之核酸序列，其編碼 SEQ ID NO：2 之抗 FcRn 蛋白質 M281-LC 之胺基酸序列。於一些具體實施例，包含用於生產抗 FcRn 蛋白質或肽之載體的質體係包含 SEQ ID NO：3 之核酸序列或與其至少 90% 相同的序列，其編碼 SEQ ID NO：4 之抗 FcRn 蛋白質 M281-HC 之胺基酸序列。

【0045】於一些具體實施例，哺乳動物細胞係用作宿主細胞。哺乳動物細胞類型之例包括但不限於：人類胚胎腎臟(HEK)(例如，HEK293、HEK 293F)、中國倉鼠卵巢(CHO)、HeLa、COS、PC3、Vero、MC3T3、NSO、Sp2/0、VERY、BHK、MDCK、W 138、BT483、Hs578T、HTB2、BT20、T47D、NSO (一種不內源性產生任何免疫球蛋白鏈的鼠骨髓瘤細胞株)、CRL7030、及 HsS78Bst 細胞。於其它具體實施例，於本發明使用大腸桿菌作為宿主細胞。不同的宿主細胞對於蛋白質產物的轉譯後加工及修飾具有特徵性及特異性的機制。可

選擇適合的細胞株或宿主系統以確保表現的抗 FcRn 抗體(或其它配體)的正確修飾及加工。上述表現載體可使用本技術領域中之習用技術而導入至適當宿主細胞，例如，轉形、轉染、電穿孔、磷酸鈣沉澱、及直接顯微注射。

【0046】一旦將載體導入宿主細胞以用於蛋白質生產，將宿主細胞培養於經修飾的習用營養培養基，該習用營養培養基被修飾為適合誘導啟動子、選擇轉形體、或放大編碼所欲序列之基因。於本技術領域已知表現治療性蛋白質之方法，參見例如 Paulina Balbas, Argelia Lorence (eds.) *Recombinant Gene Expression: Reviews and Protocols (Methods in Molecular Biology)*, Humana Press; 2nd ed. 2004 (July 20, 2004)及 Vladimir Voynov and Justin A. Caravella (eds.) *Therapeutic Proteins: Methods and Protocols (Methods in Molecular Biology)* Humana Press; 2nd ed. 2012 (June 28, 2012)。

【0047】用於生產抗 FcRn 配體(例如，抗體或其它肽或蛋白質)之宿主細胞可於本技術領域已知且適合於培養所選擇的宿主細胞的培養基中生長。適合於哺乳動物宿主細胞之培養基可包括，例如，最低必需培養基(Minimal Essential Medium) (MEM)、杜爾貝寇改良的伊格爾培養基(Dulbecco's Modified Eagle's Medium) (DMEM)、Expi293™表現培養基、補充有胎牛血清(FBS)的 DMEM、及 RPMI-1640。適合細菌宿主細胞之

培養基之例包括加上必要補充劑(例如，如安比西林(ampicillin)之選擇劑)之盧利亞培養液(Luria broth)(LB)。宿主細胞係培養於適合溫度下，諸如約20°C至約39°C，例如，25°C至約37°C，較佳於37°C，且於CO₂水準。培養基之pH主要取決於宿主生物體，一般為約6.8至7.4，例如，7。若本發明之表現載體使用可誘導的啟動子，則於適合活化此啟動子之條件下，會誘導蛋白質表現。蛋白質回收一般涉及宿主細胞的破壞，通常藉由如滲透壓衝擊、超音波振盪(sonication)或溶胞作用(lysis)的手段。一旦細胞被破壞，可利用離心或過濾以移除細胞碎片。可進一步純化蛋白質。抗FcRn抗體可藉由蛋白質純化領域已知的任何方法進行純化，例如藉由蛋白質A親和性、其它層析(例如，離子交換、親和性、及粒徑篩析管柱層析)、離心、不同的溶解度，或者藉由用於蛋白質純化的任何其它標準技術(參見 *Process Scale Purification of Antibodies*, Uwe Gottschalk (ed.) John Wiley & Sons, Inc., 2009)。於一些情形，抗FcRn抗體(或其它配體)可結合標記序列，如促進純化的肽。標記胺基酸序列之例為六個組胺酸之肽(His 標籤)，其以微莫耳親和力與鎳官能基化瓊脂糖親和性管柱結合。對純化有用的其它肽標籤包括但未限於血球凝集素「HA」標籤，其對應於衍生自流感血球凝集素蛋白質的抗原決定位。

【0048】

抗FcRn蛋白質或肽之活體內表現

於某些具體實施例，編碼抗 FcRn 免疫球蛋白、肽及/或蛋白質之核酸序列被遞送至受試者(例如，人類患者)，使受試者產生抗 FcRn 免疫球蛋白、肽及/或蛋白質(例如，抗 FcRn 抗體)。在治療的背景下，此可藉由投予攜帶此等核酸序列的病毒或非病毒載體而完成。此種載體可為無複製能力的腺相關病毒(AAV)或另一病毒載體，例如，反轉錄病毒載體、腺病毒載體、痘病毒載體(例如，牛痘病毒載體，如經修飾的安卡拉牛痘病毒(Modified Vaccinia Ankara) (MVA))、或 α 病毒載體)，其含有編碼抗 FcRn 配體之核酸分子，於引導其於宿主細胞中表現的調節序列的控制下。可選擇地，調節序列可包括可調節的啟動子，其允許通過投劑藥理部分(例如，雷帕黴素類似物(rapalog)或雷帕黴素(rapamycin))來控制抗 FcRn 配體的表現。於其它具體實施例，調節序列可包括另一適合的啟動子，例如，組成型啟動子(constitutive promoter)、組織特異性啟動子、或另外適合的啟動子類型。於某些具體實施例，抗 FcRn 配體經由與遞送治療或疫苗基因產物的編碼序列相同的載體遞送。載體一旦進入受試者的細胞內(例如，藉由轉形、轉染、電穿孔、磷酸鈣沉澱、直接顯微注射、感染等)將促進抗 FcRn 配體(例如，抗體構築體)的表現，然後抗 FcRn 配體自細胞中分泌。

【0049】於某些具體實施例，在引導其於宿主細胞中表現之調節序列的控制下的編碼抗 FcRn 配體(例如，抗 FcRn 抗體)的核酸分子為於表現匣中的核酸序列。

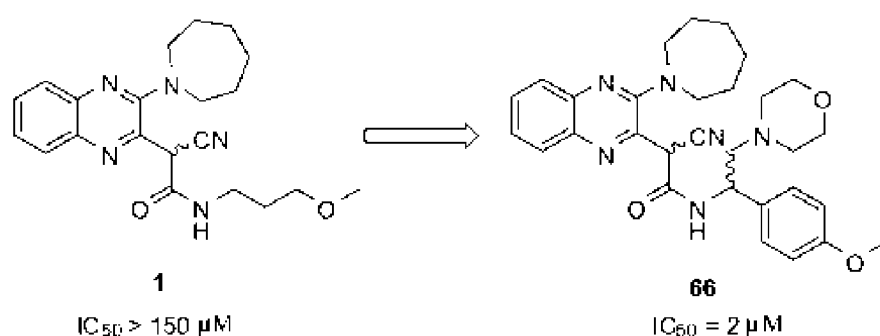
【0050】於某些具體實施例，可使用靶向受體的奈米顆粒，其中奈米顆粒包含被包封的編碼抗 FcRn 配體 (例如，抗 FcRn 抗體) 的核酸序列，該序列係在引導其於宿主細胞中表現的調節序列的控制下。例如，靶向受體的奈米顆粒可用於遞送 mRNA 或其它包括肽的活性劑。提供此種奈米顆粒之例，例如，於 US2018/0021455A1。

【0051】

小分子抑制劑

於某些具體實施例，可選擇 FcRn-IgG 結合之小分子抑制劑。參見例如 Z Wang, et al, “Discovery and structure-activity relationships of small molecules that block the human immunoglobulin G-human neonatal Fc receptor (hIgG-hFcRn) protein-protein interaction”, Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, Vol 23, Issue 5, 1 March 2013, pp. 1253-1256。

【0052】



【0053】可選擇地，對於另一 Fc 受體的抗體或其它配體可與本文提供的 FcRn 配體組合使用。此種其它受體可包括例如 IgA 之受體 (例如，Fcα (CD89)、IgE 之受體 (FcεRI)、IgM 之受體 (FCμR)。參見例如 X Li and RP

Kimberly, Expert Opin Ther Targets, 2014 March; 18(3): 335-350, 其藉由引用併入本文。

【 0054 】

2. 表現匣

治療具有對病毒載體之中和抗體的患者之方案及方法涉及投予病毒載體及抗 FcRn-IgG 配體。病毒載體包含表現匣，該表現匣包含編碼於目標細胞中表現的基因產物之核酸序列及調節序列，當被投予至對病毒載體無中和抗體的患者時或當以本文提供的方法投予時該調節序列於目標細胞中引導其表現。

【 0055 】如本文所使用，「表現匣」係指包含生物學上有用的核酸序列(例如，編碼蛋白質、酵素或其它有用的基因產物之基因 cDNA、mRNA 等)及與其可操作地連接的調節序列之核酸分子，該調節序列引導或調節核酸序列及其基因產物之轉錄、轉譯及/或表現。如本文所使用，「可操作地連接的」序列包括與核酸序列連續或不連續的調節序列、及在異側或同側核酸序列中作用的調節序列兩者。此種調節序列典型上包括例如：一或多個之啟動子、強化子、內含子、科札克序列(Kozak sequence)、多腺苷酸化(polyadenylation)序列、及 TATA 訊息。表現匣除了其它元件外，可含有基因序列之上游(朝 5')的調節序列，例如，一或多個啟動子、強化子、內含子等；以及基因序列的下游(朝 3')的一或多個強化子或調節序列，例如，包含多腺苷酸化位之 3'未轉譯區(3' UTR)。於某些具體實施例，調節序列係可操作地連

接至基因產物之核酸序列，其中該調節序列藉由插入的核酸序列(即，5'-未轉譯區(5'UTR))而與基因產物的核酸序列分開。於某些具體實施例，表現匣包含一或多種基因產物之核酸序列。於一些具體實施例，表現匣可為單順反子(monocistronic)或雙順反子(bicistronic)表現匣。於其它具體實施例，術語「轉基因」係指插入目標細胞的來自外源的一或多個 DNA 序列。

通常，此類可用於產生病毒載體的載體基因體且含有本文所述基因產物的編碼序列的表現匣，其兩側為病毒基因體的包裝訊息及其它表現控制序列(諸如本文所述者)。於某些具體實施例，載體基因體可含有二或以上個表現匣。可選擇地，表現匣(及載體基因體)於 UTR 中可包含一或多個背根神經節(drg)-miRNA 靶向序列，例如，以降低 drg 毒性及/或軸突病變(axonopathy)。參見例如，2019 年 12 月 20 日申請之 PCT/US2019/67872、及現已公開為 WO 2020/132455；2020 年 5 月 12 日申請之 US 臨時專利申請案 No. 63/023593 及 2020 年 6 月 12 日申請之 US 臨時專利申請案 No. 63/038488，所有皆標題為「Compositions for Drg-Specific Reduction of Transgene Expression」，此等完整併入本文。

【0056】如本文所使用，「載體基因體」係指包裝在形成病毒顆粒的微小病毒(例如，rAAV)殼體內部的核酸序列。此種核酸序列含有 AAV 反向末端重複序列(ITRs)。於本文之例中，載體基因體由 5'至 3'，最低限度含有 AAV 5' ITR、編碼序列(即，轉基因(一或多個))

及 AAV 3' ITR。可選擇來自 AAV2 之 ITR，一種異於殼體之不同來源 AAV，或可選擇除全長 ITR 以外者。於某些具體實施例，ITR 係來自與生產過程中提供 rep 功能的 AAV 或反式互補 AAV 相同的 AAV 來源。再者，可使用其它 ITR，例如，自互補 (self-complementary) (scAAV) ITRs。單股 AAV 及自互補 (sc) AAV 兩者皆包含於 rAAV。轉基因為一種核酸編碼序列，與載體序列異源，其編碼有興趣之多肽、蛋白質、功能性 RNA 分子 (例如，miRNA、miRNA 抑制劑) 或其它基因產物。該核酸編碼序列係以在目標組織的細胞中允許轉基因轉錄、轉譯及/或表現的方式與調節組件可操作地連接。載體基因體的適當組件係於本文中更詳細地討論。於一例中，「載體基因體」由 5' 至 3'，最低限度含有載體特異性序列、可操作地連接至調節控制序列之編碼抗 FcRn 抗體的核酸序列 (該調節控制序列於目標細胞中引導此等之表現)，其中載體特異性序列可為末端重複序列，該末端重複序列特異性地包裝載體基因體至病毒載體殼體或套膜蛋白質中。例如，AAV 反向末端重複 (inverted terminal repeats) 用於包裝至 AAV 及某些其它微小病毒殼體中。

【0057】於一態樣，提供一種表現匣，其包含編碼所欲基因產物的核酸序列 (轉基因) 之經工程化的核酸序列、及引導其表現之調節序列。於一具體實施例，提供一種表現匣，其包含本文所述編碼功能性基因產物之經工程化的核酸序列、及引導其表現之調節序列。

【0058】表現匣可含有任何適合用於遞送至患者的轉基因。特別適合的表現匣係經由病毒載體全身性地遞送。於下文與使用方法有關的章節中，提供有用的基因、編碼序列及基因產物之例。

【0059】如本文所使用，術語「表現」或「基因表現」係指來自基因的信息被用於合成功能性基因產物的過程。基因產物可為蛋白質、肽、或核酸聚合物(如RNA、DNA或PNA)。

【0060】如本文所使用，術語「調節序列」或「表現控制序列」係指核酸序列，如起始子序列(*initiator sequence*)、強化子序列、及啟動子序列，彼等誘導、抑制、或以其它方式控制與彼等可操作地連接的蛋白質編碼核酸序列的轉錄。

【0061】用以描述核酸序列或蛋白質之術語「外源的」意指核酸或蛋白質並非天然存在於其在染色體或宿主細胞中存在的位置。外源的核酸序列亦指衍生自及被插入至相同宿主細胞或受試者之序列，但其係以非天然的狀態出現，例如，不同的拷貝數、或於不同調節元件的控制下。

【0062】用以描述核酸序列或蛋白質之術語「異源的」意指核酸或蛋白質衍生自與表現核酸或蛋白質的宿主細胞或受試者不同的生物體或同一生物體的不同物種。當使用於提及之質體、表現匣或載體(例如，rAAV)中的蛋白質或核酸時，術語「異源的」表示該蛋白質或核酸存於另一序列或子序列，未發現該另一序列或子序

列與所討論的蛋白質或核酸於自然界中彼此有相同關係。

【0063】於一具體實施例，為了於人類受試者中表現及分泌而設計表現匣。於一具體實施例，為了於肌肉中表現而設計表現匣。於一具體實施例，為了於肝臟中表現而設計表現匣。

【0064】於某些具體實施例，可選擇組成型啟動子。於一具體實施例，啟動子為人類巨細胞病毒(CMV)或雞 β -肌動蛋白啟動子。各種雞 β -肌動蛋白啟動子已被單獨描述或與各種強化子元件組合而描述(例如，CB7為具有巨細胞病毒強化子元件之雞 β -肌動蛋白啟動子；CAG啟動子，其包括啟動子、雞 β -肌動蛋白之第一外顯子及第一內含子、及兔 β -球蛋白基因之剪接接受體(splice acceptor)；CBh啟動子，SJ Gray et al, Hu Gene Ther, 2011 Sep; 22(9): 1143-1153)。或者，可選擇其它組成型啟動子。

【0065】其它適合的啟動子可包括例如組織特異性啟動子或可誘導的/調節性啟動子。較佳地，此種啟動子為人類來源的。

【0066】肝臟特異性啟動子之例可包括例如：甲狀腺素結合球蛋白(thyroid hormone-binding globulin)(TBG)、白蛋白(Miyatake et al., (1997) J. Virol., 71:5124-32)；B型肝炎病毒核心啟動子(Sandig et al., (1996) Gene Ther., 3:1002-9)；或者人類 α 1-抗胰蛋白酶(alpha 1-antitrypsin)、磷酸烯醇丙酮酸羧化激酶

(phosphoenolpyruvate carboxykinase) (PECK)、或 α -胎兒蛋白 (alpha-fetoprotein) (AFP) (Arbuthnot et al., (1996) Hum. Gene Ther., 7:1503-14)。肌肉特異性啟動子之例可包括例如肌肉肌酸激酶 (MCK) 啟動子及其截斷型。參見例如 B. Wang, et al, Gene Therapy volume 15, pages 1489-1499 (2008)。亦參見肌肉特異性轉錄同側調節模組 (cis-regulatory modules) (CRMs)，如描述於 S. Sarcare, et al, (Jan 2019) Nat Commun. 2019; 10: 492 者。

【0067】或者，可選擇可調節的啟動子。參見例如 WO 2017/106244，其描述不同的可調節的表現系統及雷帕黴素/雷帕黴素類似物可誘導的系統，描述於例如 WO 2007/126798、US 6,506,379、及 WO 2011/126808B2，藉由引用併入本文。

【0068】於一具體實施例，調節序列進一步包含強化子。於一具體實施例，調節序列包含一個強化子。於另一具體實施例，調節序列含有二個以上之表現強化子。此等強化子可為相同或可為不同。例如，強化子可包括 Alpha mic/bik 強化子或 CMV 強化子。此強化子能夠以位置彼此相鄰的兩個拷貝的方式存在。或者，強化子的雙重拷貝可被一個或多個序列分開。

【0069】於一具體實施例，調節序列進一步包含一內含子。於另一具體實施例，內含子為雞 β -肌動蛋白內含子。其它適合的內含子包括本領域已知者，可為人類 β -球蛋白內含子、及/或市售可取得的 Promega® 內含子、及描述於 WO 2011/126808 者。

【0070】於一具體實施例，調節序列進一步包含一多腺苷酸化訊息(polyA)。於另一具體實施例，polyA為兔球蛋白 poly A。參見例如 WO 2014/151341。或者，另外的 polyA，例如人類生長激素(hGH)多腺苷酸化序列、SV40 polyA、胸苷激酶(TK)或合成的 polyA 可包括於表現匣中。

【0071】應了解於本文所述的表現匣中的組成意圖應用於整個說明書描述的其它組成物、方案、態樣、具體實施例、及方法。

【0072】

3. 載體

於一態樣，本文提供一種載體，其包含編碼功能性人類基因產物之經工程化的核酸序列、及引導其於目標細胞中表現的調節序列。於某些具體實施例，使用此等載體之組合。

【0073】如本文使用的「載體」為一包含核酸序列之生物學或化學部分，其可被導入適當之複製或表現該核酸序列用的目標細胞中。載體之例包括但未限於重組病毒、質體、微脂體複合物(Lipoplexes)、聚合物囊泡(Polymersome)、聚合複合物(Polyplexes)、樹枝狀聚合物(dendrimer)、細胞穿透肽(cell penetrating peptide)(CPP)結合物、磁性顆粒、或奈米顆粒。於一具體實施例，載體為核酸分子，編碼功能性基因產物的外源或異源或經工程化的核酸可被插入於其中，然後該載體可被導入適當目標細胞。此種載體較佳具有一或多個複製起

點、及重組 DNA 可被插入的一或多個部位。載體通常具有可自未帶有載體的細胞中選擇帶有載體的細胞的手段，例如，彼等編碼抗藥性基因。通常的載體包括質體、病毒基因體、及「人工染色體」。本領域中具有通常知識者可使用載體之生產、製造、特性分析或定量之習用方法。

【0074】於一具體實施例，載體為非病毒性質體，其包含其描述表現的表現匣，例如，「裸露的 DNA」、「裸露的質體 DNA」、RNA、及 mRNA；與各種組成物及奈米顆粒偶合，包括例如微胞 (micelle)、微脂體 (liposome)、陽離子性脂質-核酸組成物、多聚醣 (polyglycan) 組成物、及其它聚合物、脂質及/或膽固醇系-核酸結合物、及其它構築體，如本文所述。參見例如 X. Su et al, Mol. Pharmaceutics, 2011, 8 (3), pp 774-787; web publication: March 21, 2011; WO2013/182683、WO 2010/053572 及 WO 2012/170930，此等全部藉由引用併入本文。

【0075】於某些具體實施例，本文所述載體為「複製缺陷型病毒」或「病毒載體」，其係指合成或人工的病毒顆粒，其中，含有編碼功能性基因產物的核酸序列的表現匣被包裝在病毒殼體或套膜中，亦被包裝在病毒殼體內或套膜內的任何病毒基因體序列皆為複製缺陷的；即，彼等無法產生子代病毒顆粒但保留感染目標細胞的能力。於一具體實施例，病毒載體之基因體不包括編碼複製所需酵素的基因(該基因體可被工程化為「無

膽的(gutless)」-僅含有編碼基因產物的核酸序列，其兩側為增幅及包裝人工基因體所需的訊號)，但可能在生產過程中提供此等基因。因此，由於除非存在複製所需的病毒酵素，否則子代病毒顆粒的複製及感染不會發生，而被認為可安全地用於基因療法。

【0076】適合的病毒載體可包括任何適合的遞送載體，諸如例如重組腺病毒、重組慢病毒、重組波卡病毒(bocavirus)、重組腺相關病毒(rAAV)、或另一重組微小病毒(例如，波卡病毒或雜合 AAV/波卡病毒)、反轉錄病毒載體、腺病毒載體、痘病毒載體(例如，牛痘病毒載體，如經修飾的安卡拉牛痘病毒(MVA))、或 α 病毒載體)。於某些具體實施例，病毒載體為用於對有需要的患者遞送基因產物的重組 AAV。

【0077】如本文所使用，包裝細胞株係用於生產載體(例如，重組 AAV)。宿主細胞可為原核或真核細胞(例如，人類、昆蟲、或酵母菌)，其含有藉由任何手段被導入細胞中的外源的或異源的 DNA，該手段例如為電穿孔、磷酸鈣沉澱、顯微注射、轉形、病毒感染、轉染、微脂體遞送、膜融合技術、高速 DNA 被覆顆粒(high velocity DNA-coated pellet)、病毒感染及原生質體融合。宿主細胞之例可包括但未限於經單離的細胞、細胞培養物、大腸桿菌細胞、酵母菌細胞、人類細胞、非人類細胞、哺乳動物細胞、非哺乳動物細胞、昆蟲細胞、HEK-293 細胞、肝細胞、腎臟細胞、中樞神經系統細胞、神經元、神經膠細胞、或幹細胞。

【0078】如本文所使用，術語「目標細胞」係指欲在其中表現功能性基因產物之任何目標細胞。於某些具體實施例，術語「目標細胞」意圖指待治療的受試者之細胞。目標細胞之例可包括但未限於肝細胞、骨骼肌細胞、心臟細胞等。目標細胞之其它例描述於本文。

【0079】應了解於本文所述的載體中的組成意圖應用於整個說明書描述的其它組成物、方案、態樣、具體實施例、及方法。

【0080】

腺相關病毒(AAV)

於一態樣中，本文提供一種重組 AAV(rAAV)，其包含 AAV 殼體及包裝於其中的載體基因體。於某些具體實施例，載體基因體包含 AAV 5'反向末端重複(ITR)、如本文所述之編碼基因產物之經工程化的核酸序列、於目標細胞中引導基因產物的表現的調節序列、及 AAV 3' ITR。載體基因體包含 AAV 5'反向末端重複(ITR)、如本文所述之編碼基因產物之經工程化的核酸序列、於目標細胞中引導基因產物的表現的調節序列、及 AAV 3' ITR。於某些具體實施例，調節序列包含組織特異性啟動子(例如，肌肉或肝臟)。於某些具體實施例，調節序列進一步包含強化子。於一具體實施例，調節序列進一步包含內含子。於一具體實施例，調節序列進一步包含 poly A。於一具體實施例，AAV 殼體為 AAV1 殼體。於某些具體實施例，AAV 殼體為 AAV8 殼體。於某些具體實施例，AAV 殼體為 AAV9 殼體。於某些具體實施例，

此 AAV 殼體為 AAVhu68 殼體。於某些具體實施例，AAV 殼體為 anAAVrh91 殼體。

【0081】於一具體實施例，調節序列係如上文所述。於一具體實施例，載體基因體包含 AAV 5'反向末端重複(ITR)、如本文所述之表現匣、及 AAV 3' ITR。

【0082】ITR 為在載體生產過程中負責基因體的複製及包裝的遺傳元件，且為生成 rAAV 所需的唯一病毒同側元件。於一具體實施例，ITR 來自不同於提供殼體的 AAV。於較佳具體實施例，為了方便及加速監管批准，可使用來自 AAV2 之 ITR 序列、或其經刪除版(Δ ITR)。然而，可選擇來自其它 AAV 來源的 ITR。於 ITR 之來源為來自 AAV2 且 AAV 殼體來自另一 AAV 來源時，生成的載體可稱為假型(pseudotyped)。一般而言，AAV 載體基因體包含 AAV 5' ITR、編碼核酸基因產物之核酸序列、及任何調節序列、及 AAV 3' ITR。然而，此等元件之其它型態可為適合的。於一具體實施例，提供自互補 AAV。已描述 5'ITR 的縮短版，稱為 Δ ITR，其中刪除了 D 序列(D-sequence)及末端分割位(terminal resolution site)(trs)。於某些具體實施例，載體基因體包括 130 個鹼基對之縮短的 AAV2 ITR，其中外部「a」元件被刪除。在使用內部 A 元件作為模板的載體 DNA 擴增過程中，縮短的 ITR 被回復為 145 個鹼基對的野生型長度。於其它具體實施例，使用全長 AAV 5'及 3'ITRs。

【0083】如本文使用之術語「AAV」係指天然存在的腺相關病毒、本領域中具有通常知識者可獲得的及/或根據本文所述的組成物及方法可獲得的腺相關病毒、以及人工 AAV。腺相關病毒(AAV)病毒載體為具有 AAV 蛋白質殼體的 AAV DNA 水解酶抗性顆粒，於其中包裝表現匣，表現匣兩側為 AAV 反向末端重複序列(ITRs)，用於遞送至目標細胞。AAV 殼體係由 60 個殼體(cap)蛋白質次單元 VP1、VP2、及 VP3 所構成，彼等以二十面體對稱的方式排列，比例約為 1：1：10 至 1：1：20，取決於所選擇的 AAV。可選擇各種 AAV 作為如上述的 AAV 病毒載體殼體的來源。於一具體實施例，AAV 殼體為 AAV9 殼體或其變異體。於某些具體實施例，殼體蛋白質係藉由 rAAV 載體名稱中術語「AAV」後的數字、或數字及字母的組合所指定。除非另有指明，本文所述的 AAV 殼體、ITR、及其它選擇的 AAV 組件可容易地選自任何 AAV，包括但不限於定義如下的 AAV：AAV1、AAV2、AAV3、AAV4、AAV5、AAV6、AAV7、AAV8、AAV9、AAVrh10、AAVhu37、AAVrh32.33、AAV8bp、AAV7M8 及 AAVAnc80、AAV1、AAV2、AAV3、AAV4、AAV5、AAV6、AAV7、AAV8、AAV9.47、AAV9(hu14)、AAV10、AAV11、AAV12、AAVrh8、AAVrh74、AAV-DJ8、AAV-DJ、AAVhu68，並未限制，參見例如：WO2019/168961 及 WO 2019/169004 (AAV 載體；脫鹽胺)；WO 2019/169004 (新穎 AAV 殼體)；US 公開專利申請案 No. 2007-0036760-A1；US 公開專利申請

案 No. 2009-0197338-A1 ; EP 1310571 。亦參見 WO 2003/042397 (AAV7 及其它猴 AAV)、US 專利 7790449 及 US 專利 7282199 (AAV8)、WO 2005/033321 及 US 7,906,111 (AAV9) 、及 WO 2006/110689 、及 WO 2003/042397 (rh.10)、及 WO 2005/033321 , 此等藉由引用併入本文。其它適合的 AAV 可包括但未限於 AAVrh90 、 AAVrh91 、 AAVrh92 、 AAVrh93 、 AAVrh91.93 。參見例如 WO 2020/223232 A1 (AAV rh.90) 、 WO 2020/223231 A1 (AAV rh.91) 、及 WO 2020/223236 A1 (AAV rh.92 、 AAV rh.93 、 AAV rh.91.93) , 此等藉由引用完整併入本文。其它適合的 AAV 包括 AAV3B 變異體, 其描述於 2020 年 10 月 20 日申請的 PCT/US20/56511 (請求 2020 年 1 月 31 日申請的 US 臨時專利申請案 No. 62/924,112 、及 2020 年 5 月 18 日申請的 US 臨時專利申請案 No. 63/025,753 之利益) , 描述 AAV3B.AR2.01 、 AAV3B.AR2.02 、 AAV3B.AR2.03 、 AAV3B.AR2.04 (SEQ ID NO : 8) 、 AAV3B.AR2.05 、 AAV3B.AR2.06 、 AAV3B.AR2.07 、 AAV3B.AR2.08 、 AAV3B.AR2.10 、 AAV3B.AR2.11 、 AAV3B.AR2.12 、 AAV3B.AR2.13 、 AAV3B.AR2.14 、 AAV3B.AR2.15 、 AAV3B.AR2.16 、或 AAV3B.AR2.17 , 其藉由引用併入本文。此等文獻亦描述可選擇用於生成 AAV 的其它 AAV , 並藉由引用併入。於自人類或非人類靈長類動物 (NHP) 所單離或經工程化且經充分特性分析的 AAV 中 , 人類 AAV2 為第一個被開發為基因轉移載體

的 AAV；其已廣泛用於不同目標組織及動物模式中的有效基因轉移實驗。

【0084】如本文所使用，關於 AAV，術語「變異體」意指衍生自己知的 AAV 序列的任何 AAV 序列，包括具有保留式胺基酸取代者，且彼等於胺基酸或核酸序列上共有至少 70%、至少 75%、至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 97%、至少 99% 或以上的序列一致性。於另一具體實施例，AAV 殼體包括變異體，該變異體可包括與任何描述的或已知的 AAV 殼體序列多至約 10% 變異。即，AAV 殼體與本文提供的及/或本領域已知的 AAV 殼體共有約 90% 一致性至約 99.9 % 一致性、約 95% 至約 99% 一致性或約 97% 至約 98% 一致性。於一具體實施例，該 AAV 殼體與一 AAV 殼體共有至少 95% 一致性。當確定 AAV 殼體的一致性百分比時，可對任何可變蛋白(variable protein) (例如，vp1、vp2 或 vp3) 進行比較。

【0085】ITR 或其它 AAV 組件可使用本領域中具有通常知識者可用的技術自 AAV 容易地單離或工程化。此種 AAV 可自學術、商業或公共來源(例如，the American Type Culture Collection, Manassas, VA)單離、工程化、或獲得。或者，AAV 序列可通過合成或其它適合的手段藉由參考公開的序列而進行工程化，例如可在文獻或資料庫(如 GenBank、PubMed 等)中獲得的序列。AAV 病毒可藉由習用分子生物學技術進行工程化，從而可能最適化此等顆粒以用於核酸序列的細胞特異性遞送、最小化

免疫原性、調節穩定性及顆粒壽命、有效降解、準確遞送至細胞核等。

【0086】如本文所使用，可交替使用的術語「rAAV」及「人工 AAV」意指但未限於包含殼體蛋白質及包裝於其中的載體基因體之 AAV，其中載體基因體包含與 AAV 為異源的核酸。於一具體實施例，殼體蛋白質為非天然存在的殼體。此種人工殼體可藉由任何適合的技術產生，將所選擇的 AAV 序列(例如，vp1 殼體蛋白質的片段)與異源序列組合使用，異源序列可從不同的選擇的 AAV、相同 AAV 的非連續部分獲得、從非 AAV 病毒來源獲得、或從非病毒來源獲得。人工 AAV 可為但未限於假型 AAV、嵌合 AAV 殼體、重組 AAV 殼體、或「人源化」AAV 殼體。假型載體(其中一 AAV 之殼體以異源殼體蛋白質替代)於本發明為有用的。於一具體實施例，AAV2/5 及 AAV2/8 為示例的假型載體。所選擇的遺傳元件可藉由任何適合的方法而被遞送，包括轉染、電穿孔、微脂體遞送、膜融合技術、高速 DNA 被覆顆粒、病毒感染及原生質體融合。用於製作此種構築體之方法為核酸操作領域中具有通常知識者所知悉，包括基因工程、重組工程、及合成技術。參見例如 Green and Sambrook, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harbor, NY (2012)。

【0087】已描述生產殼體、其編碼序列之方法、及生產 rAAV 病毒載體之方法。參見例如 Gao, et al, *Proc.*

Natl. Acad. Sci. U.S.A. 100 (10), 6081-6086 (2003)及 US 2013/0045186A1。

【0088】於一具體實施例，如本文所述的 rAAV 為自互補 AAV。「自互補 AAV」係指其中由重組 AAV 核酸序列攜帶的編碼區被設計形成分子內雙股 DNA 模板的構築體。當感染時，並非等待細胞調控的第二股合成，而是 scAAV 的兩個互補的半部將聯合形成準備好立即複製及轉錄的一個雙股 DNA(dsDNA)單元。參見例如 D M McCarty et al, “Self-complementary recombinant adeno-associated virus (scAAV) vectors promote efficient transduction independently of DNA synthesis”, Gene Therapy, (August 2001), Vol 8, Number 16, Pages 1248-1254。自互補 AAV 描述於例如美國專利號 6,596,535；7,125,717；及 7,456,683，此等各自藉由引用完整併入本文。

【0089】於某些具體實施例，如本文所述的 rAAV 為核酸酶抗性的。此種核酸酶可為單一核酸酶或核酸酶的混合物，且可為核酸內切酶或核酸外切酶。核酸酶抗性 rAAV 指 AAV 殼體已完全組裝並保護此等被包裝的基因體序列在核酸酶培養步驟期間免於降解(消化)，該核酸酶培養步驟被設計用於除去可能在生產過程中出現的污染的核酸。於許多情形，本文所述 rAAV 為 DNA 水解酶抗性的。

【0090】本文所述重組腺相關病毒(AAV)可使用已知技術生產。參見例如 WO 2003/042397；WO

2005/033321、WO 2006/110689；US 7588772 B2。此種方法涉及培養宿主細胞，其含有編碼 AAV 殼體的核酸序列；功能性 rep 基因；如本文所述表現匣，其兩側為 AAV 反向末端重複 (ITRs)；及足夠的輔助功能，以允許將表現匣包裝至 AAV 殼體蛋白質中。本文亦提供宿主細胞，其含有編碼 AAV 殼體的核酸序列；功能性 rep 基因；如本文所述的載體基因體；及足夠的輔助功能，以允許將載體基因體包裝至 AAV 殼體蛋白質中。於一具體實施例，宿主細胞為 HEK 293 細胞。此等方法在 WO2017160360 A2 中有更詳細的描述，其藉由引用併入本文。

【0091】可利用本領域中具有通常知識者可用的其它生產 rAAV 的方法。適合的方法可包括但不限於桿狀病毒 (baculovirus) 表現系統或經由酵母菌的生產。參見例如 Robert M. Kotin, Large-scale recombinant adeno-associated virus production. Hum Mol Genet. 2011 Apr 15; 20(R1): R2-R6. Published online 2011 Apr 29. doi: 10.1093/hmg/ddr141；Aucoin MG et al., Production of adeno-associated viral vectors in insect cells using triple infection: optimization of baculovirus concentration ratios. Biotechnol Bioeng. 2006 Dec 20;95(6):1081-92；SAMI S. THAKUR, Production of Recombinant Adeno-associated viral vectors in yeast. Thesis presented to the Graduate School of the University of Florida, 2012；Kondratov O et al. Direct Head-to-Head Evaluation of

Recombinant Adeno-associated Viral Vectors Manufactured in Human versus Insect Cells, *Mol Ther.* 2017 Aug 10. pii: S1525-0016(17)30362-3. doi: 10.1016/j.ymthe.2017.08.003. [Epub ahead of print] ; Mietzsch M et al, OneBac 2.0: Sf9 Cell Lines for Production of AAV1, AAV2, and AAV8 Vectors with Minimal Encapsulation of Foreign DNA. *Hum Gene Ther Methods.* 2017 Feb;28(1):15-22. doi: 10.1089/hgtb.2016.164. ; Li L et al. Production and characterization of novel recombinant adeno-associated virus replicative-form genomes: a eukaryotic source of DNA for gene transfer. *pLoS One.* 2013 Aug 1;8(8):e69879. doi: 10.1371/journal.pone.0069879. Print 2013 ; Galibert L et al, Latest developments in the large-scale production of adeno-associated virus vectors in insect cells toward the treatment of neuromuscular diseases. *J Invertebr Pathol.* 2011 Jul;107 Suppl:S80-93. doi: 10.1016/j.jip.2011.05.008 ; 及 Kotin RM, Large-scale recombinant adeno-associated virus production. *Hum Mol Genet.* 2011 Apr 15;20(R1):R2-6. doi: 10.1093/hmg/ddr141. Epub 2011 Apr 29 。

【 0092 】 使用高鹽濃度下的兩步驟親和性層析純化，接著使用陰離子交換樹脂層析，以純化載體藥物產物並移除空的殼體。此等方法更詳細描述於 WO 2017/160360，標題為「Scalable Purification Method for

AAV9」，其藉由引用併入本文。簡而言之，用於從基因體缺陷的 AAV9 中間體中分離具有包裝的基因體序列的 rAAV9 顆粒的方法，涉及對包含重組 AAV9 病毒顆粒及 AAV9 殼體中間體的懸浮液進行快速高效液相層析，其中 AAV9 病毒顆粒及 AAV9 中間體結合至一種經平衡於 pH 10.2 的強陰離子交換樹脂，並經過鹽梯度，同時以約 260 及約 280 的紫外線吸光度來監測洗提物。儘管對於 rAAV9 未到最適，但 pH 可於約 10.0 至 10.4 的範圍內。於此方法中，從 A260/A280 之比達到反曲點時洗提的流份中收集 AAV9 完整的殼體。於一例中，對於親和性層析步驟，可將經透析過濾的產物應用於有效捕捉 AAV2/9 血清型的 Capture Select™ Poros-AAV2/9 親和性樹脂 (Life Technologies)。於此等離子條件下，顯著百分比之殘留的細胞 DNA 及蛋白質流過管柱，而 AAV 顆粒被有效捕獲。

【0093】本領域中具有通常知識者可使用 rAAV 的特性分析或定量之習用方法。為了計算空的(empty)及完整的(full)顆粒含量，將所選擇的樣品(例如，在本文的實施例中之碘克沙醇(iodixanol)梯度純化的製劑，其中 GC 的#=顆粒的#)的 VP3 帶(band)體積對裝載的 GC 顆粒作圖。所生成的線性方程式($y=mx+c$)係用於計算測試物品峰的帶體積中的顆粒數量。然後將每 20 μ L 裝載的顆粒數(pt)乘以 50，得到顆粒(pt)/mL。Pt/mL 除以 GC/mL 得到顆粒對基因體拷貝的比率(pt/GC)。Pt/mL-GC/mL 得到空的 pt/mL。空的 pt/mL 除以 pt/mL 並 x100 得到空

的顆粒的百分比。一般而言，用於分析空的殼體及具有包裝的基因體之 AAV 載體顆粒的方法為本技術領域中已知。參見例如 Grimm et al., *Gene Therapy* (1999) 6:1322-1330; Sommer et al., *Molec. Ther.* (2003) 7:122-128。為了測試變性的殼體，該方法包括對處理過的 AAV 系群 (stock) 進行 SDS-聚丙稀醯胺凝膠電泳，該電泳由能夠分離三種殼體蛋白質的任何凝膠組成，例如，在緩衝液中含有 3-8% 的 Tris-乙酸鹽的梯度凝膠，然後運行凝膠直到分離樣品材料，然後將凝膠印漬到尼龍或硝化纖維素膜上，較佳為尼龍。然後將抗 AAV 殼體抗體使用作為結合至變性的殼體蛋白質的一級抗體，較佳為抗 AAV 殼體單株抗體，最佳為 B1 抗 AAV-2 單株抗體 (Wobus et al., *J. Viral.* (2000) 74:9281-9293)。然後使用二級抗體，該二級抗體與一級抗體結合且含有用於檢測與一級抗體的結合的手段，更佳為含有與其共價結合的檢測分子的抗 IgG 抗體，最佳為與辣根過氧化酶 (horseradish peroxidase) 共價連接的綿羊抗小鼠 IgG 抗體。使用檢測結合的方法，以半定量地確定一級抗體與二級抗體之間的結合，較佳為能夠檢測放射性同位素發射、電磁輻射或比色變化的檢測方法，最佳為化學發光檢測套組。例如，對於 SDS-PAGE，可從管柱流份中取樣品，並於含有還原劑 (例如 DTT) 的 SDS-PAGE 裝載緩衝液 (loading buffer) 中加熱，將殼體蛋白質於預鑄的梯度聚丙稀醯胺凝膠 (例如 Novex) 進行解析。可根據製造商的說明使用 SilverXpress (Invitrogen, CA) 或其它適合的染色方法

(即，SYPRO 染色)進行銀染色。於一具體實施例，可藉由定量即時 PCR(Q-PCR)測量管柱流份中的 AAV 載體基因體(vg)的濃度。稀釋樣品並以 dNase I(或其它合適的核酸酶)消化以移除外源的 DNA。核酸酶失活後，使用引子及對引子之間的 DNA 序列為特異性的 TaqMan™螢光探針進行進一步稀釋及擴增樣品。在 Applied Biosystems Prism 7700 序列檢測系統上測量每個樣品達到定義的螢光水準所需的循環數(閾值循環，Ct)。使用含有與 AAV 載體中含的序列相同的質體 DNA，以於 Q-PCR 反應中生成標準曲線。從樣品獲得的循環閾值(Ct)數值係用於藉由將其標準化為質體標準曲線的 Ct 值來確定載體基因體效價(titer)。亦可使用基於數位 PCR 的終點分析。

【0094】於一態樣，使用最適化的 q-PCR 方法，其利用廣效絲胺酸蛋白酶，例如蛋白酶 K(如可由 Qiagen 購得)。更具體而言，最適化的 qPCR 基因體效價分析除了於 dNase I 消化後，將樣品以蛋白酶 K 緩衝液稀釋並以蛋白酶 K 處理，然後進行熱失活之外，與標準分析相似。適合地，以與樣品量相等的量的蛋白酶 K 緩衝液稀釋樣品。蛋白酶 K 緩衝液可濃縮至 2 倍以上。通常，蛋白酶 K 處理為約 0.2mg/mL，但可於 0.1mg/mL 至約 1mg/mL 之間變化。該處理步驟通常於約 55°C 下進行約 15 分鐘，但可於較低溫度(例如約 37°C 至約 50°C)下進行較長時間(例如約 20 分鐘至約 30 分鐘)；或者於較高的溫度(例如，高至約 60°C)下進行較短的時間(例如，約 5

至 10 分鐘)。相似地，熱失活通常於約 95°C 下約 15 分鐘，但溫度可降低(例如約 70 至約 90°C)且時間延長(例如約 20 分鐘至約 30 分鐘)。然後將樣品稀釋(例如 1000 倍)，並如標準分析中所述進行 TaqMan 分析。

【0095】另外或替代地，可使用液滴式數位 PCR (droplet digital PCR) (ddPCR)。例如，已描述一種藉由 ddPCR 確定單股及自互補 AAV 載體基因體效價的方法。參見例如 M. Lock et al, *Hum Gene Therapy Methods*, *Hum Gene Ther Methods*. 2014 Apr;25(2):115-25. doi: 10.1089/hgtb.2013.131. Epub 2014 Feb 14。

【0096】亦可使用確定殼體蛋白質 vp1、vp2 及 vp3 之間比例的方法。參見例如 Vamseedhar Rayaprolu et al, *Comparative Analysis of Adeno-Associated Virus Capsid Stability and Dynamics*, *J Virol*. 2013 Dec; 87(24): 13150–13160 ; Buller RM, Rose JA. 1978. Characterization of adenovirus-associated virus-induced polypeptides in KB cells. *J. Virol*. 25:331–338; 及 Rose JA, Maizel JV, Inman JK, Shatkin AJ. 1971. Structural proteins of adenovirus-associated viruses. *J. Virol*. 8:766–770。

【0097】如本文所使用，rAAV 之「系群(stock)」係指一群 rAAV。儘管由於脫醯胺作用而彼等之殼體蛋白質具有異質性，但是系群中的 rAAV 被預期共有相同的載體基因體。系群可包括具有殼體之 rAAV，該殼體具有例如所選擇的 AAV 殼體蛋白質及所選擇生產系統的異

質性脫醯胺樣式特徵。該系群可從單一生產系統生產，亦可自生產系統的多次運行儲集。可選擇各種生產系統，包括但不限於本文所述者。

【0098】應了解於本文所述的 rAAV 中的組成意圖應用於整個說明書描述的其它組成物、方案、態樣、具體實施例、及方法。

【0099】

5. 醫藥組成物

於一態樣中，本文提供一種醫藥組成物，其包含在調配物緩衝液中的如本文所述的載體。於某些具體實施例，包含載體之醫藥組成物進一步包含抗 FcRn 配體，例如，如本文所述的抗 FcRn 抗體。於某些具體實施例，一或多個抗 FcRn 配體係與載體分開地調配及遞送。於一具體實施例，提供一種醫藥組成物，其包含在調配物緩衝液中的如本文所述的 rAAV。於某些具體實施例，提供一種醫藥組成物，其包含在調配物緩衝液中的靶向受體的奈米顆粒，該顆粒包含包封的核酸序列，該核酸序列編碼如本文所述的抗 FcRn 配體(例如，抗 FcRn 抗體)。

【0100】於一具體實施例，調配物進一步包含溶解在水性懸浮液中的界面活性劑、防腐劑、賦形劑、及/或緩衝劑。於一具體實施例，緩衝劑為 PBS。適合地，調整該調配物至生理上可接受的 pH，例如，範圍為 pH 6 至 8；用於靜脈內遞送，期望可為 pH 6.8 至約 7.2。然而，可選擇該最廣範圍及此等子範圍內的其它 pH 用於其它遞送途徑。

【0101】適合的界面活性劑或界面活性劑的組合可選自無毒的非離子界面活性劑。於一具體實施例，選擇末端為一級羥基的雙官能嵌段共聚物界面活性劑，例如，諸如 Pluronic® F68 [BASF]，亦稱為泊洛沙姆 188 (Poloxamer 188)，其具有中性 pH，平均分子量為 8400。可選擇其它界面活性劑及其它泊洛沙姆，即由一個聚氧伸丙基(聚(環氧丙烷))之中央疏水鏈及兩側的兩個聚氧伸乙基(聚(環氧乙烷))之親水鏈所構成的非離子三嵌段共聚物、SOLUTOL HS 15(聚乙二醇-15 羥基硬脂酸酯)、LABRASOL(辛醯癸醯聚乙二醇甘油酯 (Caprylocaproyl macrogol glycerides))、聚乙二醇 10 油基醚(polyoxy 10 oleyl ether)、TWEEN(聚氧乙烯山梨糖醇酐脂肪酸酯)、乙醇及聚乙二醇。於一具體實施例，調配物含有泊洛沙姆。此等共聚物通常以字母「P」(用於泊洛沙姆)跟三個數字命名：前兩個數字 x100 給出聚氧伸丙基核心的近似分子量，最後一個數字 x10 給出聚氧伸乙基含量百分比。於一具體實施例，選擇泊洛沙姆 188。界面活性劑能以高至懸浮液的約 0.0005%至約 0.001%之量存在。

【0102】另外，提供一種醫藥組成物，其包含醫藥上可接受的載劑及載體，該載體包含編碼如本文所述的功能性基因產物的核酸序列。如本文所使用，「載劑」包括任何及所有的溶劑、分散介質、媒液、包衣、稀釋劑、抗細菌及抗真菌劑、等張及吸收延遲劑、緩衝液、載劑溶液、懸浮液、膠體等。此種用於醫藥活性物質的

介質及藥劑的用途為本技術領域中所熟知。補充的活性成分亦可併入此組成物中。遞送媒液諸如微脂體、奈米膠囊、微粒、微球、脂質顆粒、囊泡等，可用於將本發明之組成物導入適當的宿主細胞中。特別是，可將 rAAV 載體包封於脂質顆粒、微脂體、囊泡、奈米球或奈米顆粒等之任一者而調配用於遞送。於一具體實施例，醫藥組成物中包括治療上有效量之該載體。載劑的選擇並非本發明的限制。其它習用的醫藥上可接受的載劑，諸如防腐劑或化學穩定劑。適合的示例性防腐劑包括氯丁醇、山梨酸鉀、山梨酸、二氧化硫、沒食子酸丙酯、對羥基苯甲酸酯類 (parabens)、乙基香草醛、甘油、苯酚及對氯苯酚。適合的化學穩定劑包括明膠及白蛋白。

【0103】用語「醫藥上可接受」係指當投予至宿主時不會產生過敏或類似的不良反應的分子實體及組成物。

【0104】如本文所使用，術語「劑量」或「量」可指於治療期間被遞送至受試者的總劑量或量、或者以單一單位(或多單位或分次劑量)投予的劑量或量。

【0105】又，可在劑量單位中調配複製缺陷型病毒組成物以包含一定量之複製缺陷型病毒，即範圍在約 1.0×10^9 GC 至約 1.0×10^{16} GC(治療平均體重 70 公斤的受試者)，包括該範圍內的所有整數或分數量，並對於人類患者較佳為 1.0×10^{12} GC 至 1.0×10^{14} GC。於一具體實施例，調配組成物以使每劑含有至少 1×10^9 、

2×10^9 、 3×10^9 、 4×10^9 、 5×10^9 、 6×10^9 、 7×10^9 、 8×10^9 、或 9×10^9 GC，包括該範圍內的所有整數或分數量。於另一具體實施例，調配組成物以使每劑含有至少 1×10^{10} 、 2×10^{10} 、 3×10^{10} 、 4×10^{10} 、 5×10^{10} 、 6×10^{10} 、 7×10^{10} 、 8×10^{10} 、或 9×10^{10} GC，包括該範圍內的所有整數或分數量。於另一具體實施例，調配組成物以使每劑含有至少 1×10^{11} 、 2×10^{11} 、 3×10^{11} 、 4×10^{11} 、 5×10^{11} 、 6×10^{11} 、 7×10^{11} 、 8×10^{11} 、或 9×10^{11} GC，包括該範圍內的所有整數或分數量。於另一具體實施例，調配組成物以使每劑含有至少 1×10^{12} 、 2×10^{12} 、 3×10^{12} 、 4×10^{12} 、 5×10^{12} 、 6×10^{12} 、 7×10^{12} 、 8×10^{12} 、或 9×10^{12} GC，包括該範圍內的所有整數或分數量。於另一具體實施例，調配組成物以使每劑含有至少 1×10^{13} 、 2×10^{13} 、 3×10^{13} 、 4×10^{13} 、 5×10^{13} 、 6×10^{13} 、 7×10^{13} 、 8×10^{13} 、或 9×10^{13} GC，包括該範圍內的所有整數或分數量。於另一具體實施例，調配組成物以使每劑含有至少 1×10^{14} 、 2×10^{14} 、 3×10^{14} 、 4×10^{14} 、 5×10^{14} 、 6×10^{14} 、 7×10^{14} 、 8×10^{14} 、或 9×10^{14} GC，包括該範圍內的所有整數或分數量。於另一具體實施例，調配組成物以使每劑含有至少 1×10^{15} 、 2×10^{15} 、 3×10^{15} 、 4×10^{15} 、 5×10^{15} 、 6×10^{15} 、 7×10^{15} 、 8×10^{15} 、或 9×10^{15} GC，包括該範圍內的所有整數或分數量。於一具體實施例，對於人類應用，劑量範圍可為每劑 1×10^{10} 至約 1×10^{12} GC，包括該範圍內的所有整數或分數量。

【0106】於一具體實施例，包含如本文所述的 rAAV 之醫藥組成物可以以每克腦質量約 1×10^9 GC 至每克腦質量約 1×10^{14} GC 的劑量投予。

【0107】本文所述的水性懸浮液或醫藥組成物設計用於藉由任何適合的途徑或不同途徑的組合遞送至有需要的受試者。於一具體實施例，醫藥組成物被調配用於經由腦室內(ICV)、鞘內(IT)或腦池內(intracisternal)注射的遞送。於一具體實施例，本文所述的組成物被設計用於藉由靜脈內注射遞送至需要其之受試者。或者，可選擇其它投予途徑(例如，口服、吸入、鼻內、氣管內、動脈內、眼內、肌內及其它腸胃外途徑)。

【0108】於某些具體實施例，使用水性懸浮液或醫藥組成物用於製備藥物。於某些具體實施例，提供使用水性懸浮液或醫藥組成物用於需要的患者中減少對載體(例如，親代 AAV 殼體來源)之中和抗體的水準。

【0109】應了解於本文所述的醫藥組成物中的組成意圖應用於整個說明書描述的其它組成物、方案、態樣、具體實施例、及方法。

【0110】

6. 治療方法

於一具體實施例，提供一種治療具有對病毒載體之中和抗體的患者之組合方案。該方案包含將載體與配體組合投予，該配體抑制人類 FcRn 與預先存在的患者中和抗體(例如，IgG)的結合。FcRn 配體(即，抗 FcRn)如本文所述。於某些具體實施例，配體為抗 FcRn 抗體構

築體，載體為重組病毒載體。載體可為重組腺相關病毒(rAAV)或另一如本文所述的病毒載體(例如，重組腺病毒、重組單純疱疹病毒、或重組慢病毒、重組反轉錄病毒載體、重組痘病毒載體(例如，牛痘病毒載體，如經修飾的安卡拉牛痘病毒(MVA))、或 α 病毒載體))，且所選擇的患者可具有對該載體(例如，親代 AAV 殼體來源)之中和抗體。於某些具體實施例，患者具有預先存在的抗 AAV8 抗體，且該組合包含抗 FcRn 配體及 rAAV8 載體或交叉反應的載體之共投予。於某些具體實施例，患者具有預先存在的抗 AAV2 抗體，且該組合包含抗 FcRn 配體及 rAAV2 載體或交叉反應的載體(例如，具有來自 AAV2 變異體或不同的 AAV 分支 B AAV 的殼體)之共投予。於某些具體實施例，患者具有預先存在的抗腺病毒第 5 型，並將抗 FcRn 配體及具有第 5 型殼體之重組腺病毒共投予。鑑於本說明書的教示，可選擇其它病毒類型及亞型。

【0111】於某些具體實施例，對於利用所選擇的病毒載體的任何治療性處置，患者可能為初始的(naïve)，且可能由於先前感染了野生型病毒而具有預先存在的免疫力。於其它具體實施例，患者可由於先前的治療或疫苗的結果，而具有中和抗體。於某些具體實施例，患者可具有約 1：1 至約 1：20、或者超過 1：2、超過 1：5、超過 1：10、超過 1：20、超過 1：50、超過 1：100、超過 1：200、超過 1：300 或以上之中和抗體。於某些具體實施例，患者具有中和抗體之範圍為 1：1 至

1 : 200、或 1 : 5 至 1 : 100、或 1 : 2 至 1 : 20、或 1 : 5 至 1 : 50、或 1 : 5 至 1 : 20。於某些具體實施例，患者具有中和抗體之範圍為大於 1 至約 5。於某些具體實施例，患者具有中和抗體之範圍為約 1 至約 20。於某些具體實施例，患者具有中和抗體之範圍為約 1 至約 40。於某些具體實施例，患者具有中和抗體之範圍為約 1 至約 80。於某些具體實施例，患者接受單一抗 FcRn 配體(例如，抗 FcRn 抗體)作為單獨劑以調節 FcRn-IgG 結合並允許有效的載體遞送。於其它具體實施例，患者可接受一或多種抗 FcRn 配體及第二成分(例如，Fc 受體向下調節劑(例如， γ -干擾素)、IgG 酶、或另一適合的成分)之組合。此種組合可特別適合具有特別高的中和抗體水準(例如，超過 1 : 200)的患者。於某些具體實施例，包含抗 FcRn 配體之組成物、以及方案及共投予被利用於病毒載體的全身性遞送期間。然而，如本文中更詳細描述，本發明並未如此限制。

【0112】於某些具體實施例，在所選擇的病毒載體之前及可選擇地同時對具有中和抗體的患者投予抗 FcRn 配體(例如，抗體)。於某些具體實施例，理想為基因療法載體投予後，短期內(暫時基礎)繼續表現抗 FcRn 配體，例如，直到病毒載體從患者體內清除為止。於某些具體實施例，理想為抗 FcRn 配體之持續表現。可選擇地，於此具體實施例，配體可經由病毒載體遞送，包括例如於表現治療性轉基因之病毒載體。然而，當被遞送的治療基因為抗體或抗體構築體或包含 IgG 鏈的另一

構築體時，此具體實施例並非理想。於此種具體實施例，當具有 IgG 鏈的抗體構築體經由病毒載體遞送至具有預先存在的免疫力的患者時，抗 FcRn 配體被短暫地遞送或投劑，因而在表現有效水準的載體媒介的轉基因產物之前，自血清中清除循環中的大量抗 FcRn 配體。

【0113】於某些具體實施例，在載體(例如，rAAV)投予前 1 至 7 日遞送 FcRn 配體。於某些具體實施例，每日遞送 FcRn 配體。於某些具體實施例，在投予載體的同一天遞送 FcRn 配體(例如，免疫球蛋白構築體)。於某些具體實施例，於 rAAV 投予後至少一日至四週遞送 FcRn 配體(例如，免疫球蛋白構築體)。於某些具體實施例，於 rAAV 投予後四週至 6 個月遞送配體。於某些具體實施例，經由不同於 rAAV 的投予途徑投劑配體。於某些具體實施例，口服、靜脈內、或腹膜內投劑配體。

【0114】於某些具體實施例，患者具有預先存在的中和抗體，係由於 WT 感染(例如，以 WT AAV)的結果，於將載體與抗 FcRn 免疫球蛋白構築體組合遞送之前先前未曾接受載體系基因療法治療。於某些具體實施例，於活體外分析中測定時，患者具有大於 1:5 的中和效價。於某些具體實施例，於將載體(例如，rAAV)與抗 FcRn 免疫球蛋白構築體組合遞送之前，患者先前已接受過基因療法。

【0115】於某些具體實施例，該方法為進一步包含共投予下列一或多者之方案的一部分：(a)一類固醇或類固醇類之組合及/或(b) IgG 切割酶；(c) Fc-IgE 結合抑

制劑；(d) Fc-IgM 結合抑制劑；(e) Fc-IgA 結合抑制劑；及/或(f) γ -干擾素。

【0116】可例如藉由測量 NAb 效價來確定本文提供的組成物及方案之功效。另外或替代地，可使用檢測載體媒介遞送後的轉基因表現的分析來確定組成物及方案之功效。此種分析可與用於檢測未檢測陽性中和抗體或中和抗體的預定閾值的患者中的轉基因表現的分析相同。

【0117】適合的用於遞送的轉基因之例包括例如：與家族性高膽固醇血症(例如，VLDLr、LDLr、ApoE、PCSK9)、肌肉失養症、囊腫纖維化及罕見或孤兒疾病相關者。此種罕見疾病之例可包括脊髓性肌肉萎縮症(spinal muscular atrophy) (SMA)、亨汀頓氏舞蹈症(Huntingdon's Disease)、雷特氏症候群(Rett Syndrome)(例如，甲基-CpG-結合蛋白質 2 (MeCP2)；UniProtKB-P51608)、肌肉萎縮性脊髓側索硬化症(Amyotrophic Lateral Sclerosis) (ALS)、裘馨氏肌肉萎縮症(Duchenne Type Muscular dystrophy)、弗裡德里希共濟失調(Friedrichs Ataxia)(例如，共濟蛋白(frataxin))、顆粒蛋白前體(progranulin) (PRGN)(與非阿茲海默氏腦退化(non-Alzheimer's cerebral degenerations)有關，包括額顳葉失智症(frontotemporal dementia) (FTD)、漸進式非流暢型失語症(progressive non-fluent aphasia) (PNFA)及語意型失智症(semantic dementia))等。其它有用的基因產物包括：胺甲醯基合成酶 I(carbamoyl synthetase I)、

鳥胺酸胺甲醯基轉移酶 (ornithine transcarbamylase) (OTC)、精胺琥珀酸合成酶 (arginosuccinate synthetase)、治療精胺琥珀酸裂解酶缺乏症之精胺琥珀酸裂解酶 (arginosuccinate lyase) (ASL)、精胺酸酶 (arginase)、延胡索醯乙酸水解酶 (fumarylacetate hydrolase)、苯丙胺酸羥化酶 (phenylalanine hydroxylase)、 α -1 抗胰蛋白酶 (alpha-1 antitrypsin)、恆河獼猴 α -胎兒蛋白 (rhesus alpha-fetoprotein) (AFP)、恆河獼猴絨毛膜性腺激素 (chorionic gonadotrophin) (CG)、葡萄糖 6-磷酸酶 (glucose-6-phosphatase)、膽色素原脫胺酶 (porphobilinogen deaminase)、胱硫醚- β -合成酶 (cystathione β -synthase)、支鏈酮酸脫羧酶 (branched chain ketoacid decarboxylase)、白蛋白、異戊醯輔酶 A 脫氫酶 (isovaleryl-coA dehydrogenase)、丙醯輔酶 A 羧化酶 (propionyl CoA carboxylase)、甲基丙二醯輔酶 A 變位酶 (methyl malonyl CoA mutase)、戊二醯輔酶 A 脫氫酶 (glutaryl CoA dehydrogenase)、胰島素、 β -葡萄糖苷酶、丙酮酸羧化酶、肝臟磷酸酶 (hepatic phosphorylase)、磷酸酶激酶 (phosphorylase kinase)、甘胺酸脫羧酶 (glycine decarboxylase)、H-蛋白質、T-蛋白質、囊腫纖維化跨膜傳導調節蛋白 (cystic fibrosis transmembrane regulator) (CFTR) 序列、及肌肉萎縮蛋白 (dystrophin) 基因產物 [例如，小肌肉萎縮蛋白或微肌肉萎縮蛋白 (mini- or micro-dystrophin)]。再其它的基因產物包括酵素，如於酵素替代療法中 useful 者，其於因酵素

活性不足導致的多種病症中 useful。例如，含有甘露糖 6-磷酸(mannose-6-phosphate)的酵素可用於胞溶體貯積症的治療(例如，適合的基因包括編碼 β -葡萄糖醛酸酶(β -glucuronidase) (GUSB)者)。用於遞送的適合的轉基因之例可包括在如所述的 AAV 載體中遞送的人類共濟蛋白，例如，2020 年 12 月 18 日申請的 PCT/US20/66167、2019 年 12 月 19 日申請的 US 臨時專利申請案 No. 62/950,834、及 2021 年 1 月 11 日申請的 US 臨時專利申請案 No. 63/136,059，此等藉由引用併入本文。用於遞送的適合的轉基因之另一例可包括在如所述的 AAV 載體中遞送的人類酸性 α -葡萄糖苷酶(acid- α -glucosidase) (GAA)，例如，2020 年 4 月 30 日申請之 PCT/US20/30493(現已公開為 WO2020/223362A1)、2020 年 4 月 20 日申請之 PCT/US20/30484(現已公開為 WO2020/223356 A1)、2019 年 4 月 30 日申請之 US 臨時專利申請案 No. 62/840,911、2019 年 10 月 10 日申請之 US 臨時專利申請案 No. 62/913,401、2020 年 5 月 14 日申請之 US 臨時專利申請案 No. 63/024,941、及 2020 年 11 月 4 日申請之 US 臨時專利申請案 No. 63/109,677，此等藉由引用併入本文。又，用於遞送的適合的轉基因之另一例可包括在如所述的 AAV 載體中遞送的人類 α -L-艾杜糖醛酸酶(α -L-iduronidase) (IDUA)，例如，2014 年 3 月 13 日申請之 PCT/US2014/025509(現已公開為 WO2014/151341)、及 2013 年 3 月 15 日申請之 US 臨時專利申請案 No. 61/788,724，此等藉由引用併入本文。

【0118】可經由載體(例如，rAAV)遞送的其它例示性基因包括但不限於：與肝醣貯積症或缺乏性 1A 型 (GSD1)有關的葡萄糖-6-磷酸酶；與 PEPCK 缺乏症有關的磷酸烯醇丙酮酸羧化激酶 (phosphoenolpyruvate-carboxykinase) (PEPCK)；與癲癇發作和嚴重的神經發展障礙 (neurodevelopmental impairment) 有關之第五型類週期蛋白依賴型激酶 (cyclin-dependent kinase-like 5) (CDKL5)，亦稱為絲胺酸/蘇胺酸激酶 9 (STK9)；與半乳糖血症有關之半乳糖-1-磷酸尿苷醯基轉移酶 (galactose-1 phosphate uridyl transferase)；與苯酮尿症 (PKU) 有關之苯丙胺酸羧化酶；與楓糖漿尿病 (Maple syrup urine disease) 有關之支鏈 α -酮酸脫氫酶；與第一型酪胺酸血症有關之延胡索醯乙醯乙酸水解酶 (fumarylacetoacetate hydrolase)；與甲基丙二酸血症有關的甲基丙二醯輔酶 A 變位酶；與中鏈醯基輔酶 A 缺乏症有關的中鏈醯基輔酶 A 脫氫酶 (medium chain acyl CoA dehydrogenase)；與鳥胺酸胺甲醯基轉移酶缺乏症有關的鳥胺酸胺甲醯基轉移酶 (OTC)；與瓜胺酸血症 (citrullinemia) 有關的精胺琥珀酸合成酶 (ASS1)；卵磷脂-膽固醇醯基轉移酶 (lecithin-cholesterol acyltransferase) (LCAT) 缺乏症；甲基丙二酸血症 (MMA)；尼曼匹克症 (Niemann-Pick disease)，C1 型)；丙酸血症 (PA)；與家族性高膽固醇血症 (FH) 有關的低密度脂蛋白受體 (LDLR) 蛋白；與克-納二氏病 (Crigler-Najjar disease) 有關的尿苷二磷酸葡萄糖醛酸基轉移酶 (UDP-glucouronosyltransferase)；與嚴重

合併性免疫不全病有關的腺苷脫胺酶 (adenosine deaminase)；與痛風及萊希-尼亨症候群 (Lesch-Nyan syndrome)有關的次黃嘌呤-鳥嘌呤磷酸核糖轉移酶 (hypoxanthine guanine phosphoribosyl transferase)；與生物素酶缺乏症有關的生物素酶 (biotimidase)；與法布瑞氏病 (Fabry disease)有關的 α 半乳糖苷酶 A (α -Gal A)；與威爾森氏病 (Wilson's Disease)有關的 ATP7B；與第 2 及 3 型高歇氏病 (Gaucher disease)有關的 β -葡萄糖腦苷酶 (β -glucocerebrosidase)；與齊威格氏症候群 (Zellweger syndrome)有關的 70 kDa 的過氧化體 (peroxisome)膜蛋白質；與異染性白質失養症有關的芳基硫酸酯酶 A (arylsulfatase A) (ARSA)；與克拉培氏病 (Krabbe disease)有關的半乳糖腦苷酶 (galactocerebrosidase) (GALC)酵素；與龐貝氏症 (Pompe disease)有關的 α -葡萄糖苷酶 (GAA)；與 A 型尼曼匹克氏症 (Nieman Pick disease type A)有關的神經髓磷脂酶 (sphingomyelinase) (SMPD1)基因；與成人發作第 II 型瓜胺酸血症 (CTLN2)有關的精胺琥珀酸合成酶；與尿素循環障礙有關的胺甲醯基磷酸合成酶 1 (carbamoyl-phosphate synthase 1) (CPS1)；與脊髓性肌肉萎縮症有關的存活運動神經元 (SMN)蛋白質；與法伯氏脂肉芽腫症有關的神經醯胺酶；與 GM2 神經節苷脂症 (GM2 gangliosidosis)和戴氏-薩克斯氏病 (Tay-Sachs disease)及山德霍夫症 (Sandhoff disease)有關的 b-己糖胺酶 (b-hexosaminidase)；與天冬胺醯葡萄糖胺尿症 (aspartyl-

glucosaminuria) 有關的天冬胺醯胺基葡萄糖苷酶 (aspartylglucosaminidase)；與岩藻糖貯積症 (fucosidosis) 有關的 α -岩藻糖苷酶 (α -fucosidase)；與 α -甘露糖苷貯積症 (α -mannosidosis) 有關的 α -甘露糖苷酶；與急性間歇性紫質症 (acute intermittent porphyria) (AIP) 有關的膽色素原脫胺酶；用於治療 α -1 抗胰蛋白酶缺乏症 (肺氣腫) 之 α -1 抗胰蛋白酶；用於治療由地中海型貧血或腎衰竭所引起的貧血之紅血球生成素；用於治療缺血性疾病之血管內皮生長因子、血管生成素-1 (angiopoietin-1) 及纖維母細胞生長因子；用於治療閉塞血管 (如見於動脈粥樣硬化、血栓形成或栓塞中) 之凝血調節素 (thrombomodulin) 及組織因子路徑抑制劑；用於治療帕金森氏病 (Parkinson's disease) 之芳香族胺基酸脫羧酶 (AADC) 及酪胺酸羥化酶 (TH)；用於治療鬱血性心衰竭之 β -腎上腺素受體、受磷蛋白 (phospholamban) 的反義或突變形式、肌質網 (內質網) 腺苷三磷酸酶-2 (sarco(endo)plasmic reticulum adenosine triphosphatase-2) (SERCA2) 及心臟腺苷酸環化酶 (cardiac adenylyl cyclase)；用於治療各種癌症之腫瘤抑制基因，如 p53；用於治療炎症及免疫失調及癌症之細胞介素，如各種介白素之一；用於治療肌肉失養症之肌肉萎縮蛋白 (dystrophin) 或小肌肉萎縮蛋白 (minidystrophin) 及肌營養相關蛋白 (utrophin) 或小肌營養相關蛋白 (miniutrophin)；及用於治療糖尿病之胰島素或 GLP-1。其它感興趣的基因及疾病包括例如：肌張力異常蛋白

(dystonin)基因相關疾病，如遺傳性感覺及自主神經病變 VI 型(Hereditary Sensory and Autonomic Neuropathy Type VI) (DST 基因編碼肌張力異常蛋白；由於蛋白質的大小(~7570 aa)，可能需要雙 AAV 載體；SCN9A 相關疾病，其中功能喪失型突變體導致無法感覺到疼痛，而功能獲得型突變體引起疼痛狀況，如肢端紅痛症(erythromelagia)。另一種情況為 NEFL 基因(神經元絲輕鏈)的突變導致的夏馬杜三氏病 1F 及 2E 型，其特徵為進行性周圍運動及感覺神經病變，具有可變的臨床及電生理表現。於某些具體實施例，本文所述的載體可用於治療黏多醣病(mucopolysaccharidoses (MPS) disorders)。此種載體可含有攜帶編碼 α -L-艾杜糖醛酸酶(IDUA)的核酸序列，用於治療 MPS I (賀勒氏、賀勒-施艾氏、及施艾氏症候群(Hurler, Hurler-Scheie and Scheie syndromes))；編碼艾杜糖醛酸-2-硫酸酯酶(iduronate-2-sulfatase)(IDS)的核酸序列，用於治療 MPS II (韓特氏症候群(Hunter syndrome))；編碼磺醯胺酶(sulfamidase)(SGSH)的核酸序列，用於治療 MPSIII A、B、C、及 D (聖菲利柏氏症候群(Sanfilippo syndrome))；編碼 N-乙醯半乳糖胺糖-6-硫酸酯硫酸酯酶(GALNS)的核酸序列，用於治療 MPS IV A 及 B(莫奎歐氏症候群(Morquio syndrome))；編碼芳基硫酸酯酶 B(ARSB)的核酸序列，用於治療 MPS VI (馬-拉二氏症候群(Maroteaux-Lamy syndrome))；編碼透明質酸酶的核酸序列，用於治療 MPSI IX (透明質酸酶缺乏症)及編碼 β -葡萄糖醛酸酶的

核 酸 序 列 ， 用 於 治 療 MPS VII (史 萊 氏 候 群 (Sly syndrome)) 。 參 見 例 如 www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease_Search_List.php ; rarediseases.info.nih.gov/diseases 。

【 0119 】 亦 可 選 擇 編 碼 膽 固 醇 調 節 及 / 或 脂 質 調 節 受 體 的 核 酸 序 列 ， 包 括 低 密 度 脂 蛋 白 (LDL) 受 體 、 高 密 度 脂 蛋 白 (HDL) 受 體 、 極 低 密 度 脂 蛋 白 (VLDL) 受 體 、 及 清 道 夫 受 體 (scavenger receptor) 。 其 它 適 合 的 基 因 產 物 可 包 括 類 固 醇 激 素 受 體 超 家 族 成 員 ， 包 括 甾 皮 質 激 素 受 體 及 雌 激 素 受 體 、 維 生 素 D 受 體 及 其 它 核 受 體 。 此 外 ， 有 用 的 基 因 產 物 包 括 轉 錄 因 子 ， 如 jun 、 fos 、 max 、 mad 、 血 清 反 應 因 子 (SRF) 、 AP-1 、 AP2 、 myb 、 MyoD 及 肌 細 胞 生 成 素 (myogenin) 、 含 蛋 白 質 的 ETS-box 、 TFE3 、 E2F 、 ATF1 、 ATF2 、 ATF3 、 ATF4 、 ZF5 、 NFAT 、 CREB 、 HNF-4 、 C/EBP 、 SP1 、 CCAAT-box 結 合 蛋 白 質 、 干 擾 素 調 節 因 子 (IRF-1) 、 威 爾 姆 氏 瘤 蛋 白 質 、 ETS-結 合 蛋 白 質 、 STAT 、 GATA-box 結 合 蛋 白 質 (例 如 ， GATA-3) 、 及 翼 狀 螺 旋 蛋 白 的 叉 頭 家 族 。

【 0120 】 其 它 適 合 的 基 因 之 例 可 包 括 例 如 激 素 及 生 長 分 化 因 子 ， 包 括 但 未 限 於 ： 胰 島 素 、 升 糖 素 、 類 升 糖 素 肽 -1 (GLP1) 、 生 長 激 素 (GH) 、 副 甲 狀 腺 素 (PTH) 、 生 長 激 素 釋 放 因 子 (GRF) 、 促 濾 泡 素 (FSH) 、 黃 體 激 素 (LH) 、 人 類 絨 毛 膜 促 性 腺 激 素 (hCG) 、 血 管 內 皮 生 長 因 子 (VEGF) 、 血 管 生 成 素 、 血 管 抑 制 素 、 顆 粒 性 白 血 球 群 落 刺 激 因 子 (GCSF) 、 紅 血 球 生 成 素 (EPO) (包 括 例 如 人 類 、 犬 或 貓 epo) 、 結 締 組 織 生 長 因 子 (CTGF) 、 神 經 營 養

因子，包括例如：鹼性纖維母細胞生長因子(bFGF)、酸性纖維母細胞生長因子(aFGF)、表皮生長因子(EGF)、血小板衍生生長因子(PDGF)、胰島素生長因子 I 及 II(IGF-I 及 IGF-II)、轉形生長因子 α 超家族之任一者(包括 TGF α)、活化素(activin)、抑制素(inhibin)、或骨形態發生蛋白蛋白(bone morphogenic protein) (BMP) BMPs 1-15 之任一者、生長因子之調蛋白(heregulin)/神經調節蛋白(neuregulin)/ARIA/neu 分化因子(NDF)家族之任一者、神經生長因子(NGF)、腦源性神經營養因子(BDNF)、神經營養蛋白(neurotrophin)NT-3 及 NT-4/5、睫狀神經營養因子(ciliary neurotrophic factor) (CNTF)、神經膠細胞株衍生的神經營養因子(GDNF)、神經營養素(neurturin)、集聚蛋白(agrins)、腦信號蛋白(semaphorin)/腦衰蛋白(collapsin)家族之任一者、軸突導向分子-1(netrin-1)及軸突導向分子-2、肝細胞生長因子(HGF)、ephrins、noggin、音蝟因子(sonic hedgehog)及酪胺酸羥化酶。

【0121】其它有用的轉基因產物包括調節免疫系統的蛋白質，包括但未限於細胞介素及淋巴激素，例如：促血小板生成素(thrombopoietin) (TPO)、介白素(IL) IL-1 至 IL-36(包括例如人類介白素 IL-1、IL-1 α 、IL-1 β 、IL-2、IL-3、IL-4、IL-6、IL-8、IL-12、IL-11、IL-12、IL-13、IL-18、IL-31、IL-35)、單核球趨化蛋白(monocyte chemoattractant protein)、白血病抑制性因子、顆粒球-巨噬細胞群落刺激因子、Fas 配體、腫瘤壞

死因子 α 及 β 、干擾素 α 、 β 及 γ 、幹細胞因子、flk-2/flt3 配體。免疫系統產生的基因產物於本發明中亦有用。此等包括但不限於：免疫球蛋白 IgG、IgM、IgA、IgD 及 IgE、嵌合免疫球蛋白、人源化抗體、單鏈抗體、T 細胞受體、嵌合 T 細胞受體、單鏈 T 細胞受體、第 I 及 II 類 MHC 分子、以及經工程化免疫球蛋白及 MHC 分子。例如，於某些具體實施例，rAAV 抗體可被設計成遞送犬或貓抗體，例如，如抗 IgE、抗 IL31、抗 CD20、抗 NGF、抗 GnRH。有用的基因產物亦包括補體調節蛋白，如補體調節蛋白、膜輔因子蛋白(membrane cofactor protein) (MCP)、衰退加速因子(DAF)、CR1、CF2、CD59、及 C1 酯酶抑制劑(C1-INH)。再其它有用的基因產物包括對於激素、生長激素、細胞介素、淋巴激素、調節性蛋白質及免疫系統蛋白質之受體之任一者。

【0122】適合的轉基因之例於治療一或多種神經退化性失調中 useful。此種失調可包括但不限於：傳染性海綿狀腦病(例如，庫傑二氏病(Creutzfeld-Jacob disease))、裘馨氏肌肉萎縮症(Duchenne muscular dystrophy) (DMD)、肌微管性肌病變(myotubular myopathy)及其它肌病變、帕金森氏病(Parkinson's disease)、肌肉萎縮性脊髓側索硬化症(ALS)、多發性硬化症、阿滋海默氏症(Alzheimer's Disease)、亨汀頓氏舞蹈症、康納丸氏病(Canavan's disease)、創傷性腦損傷、脊髓損傷(ATI335、Novartis 公司的 anti-nogol)、偏

頭痛(Alder Biopharmaceuticals 公司的 ALD403；Eli 公司的 LY2951742；Labrys Biologics 公司的 RN307)、胞溶體貯積症、中風、及影響中樞神經系統的感染性疾病。胞溶體貯積症之例包括例如：高歇氏病、法布瑞氏病、尼曼匹克症、韓特氏症候群、第 II 型肝醣貯積症(龐貝氏症)、或戴氏-薩克斯氏病。對於此等病症中的某些，例如，DMD 及肌病變，本文提供的組成物於減少或消除與用於骨骼肌和心肌的轉導或發明的高劑量表現匣(例如，由病毒載體攜帶)有關的軸突病變中 useful。

【0123】適合的轉基因亦可包括活體內表現的抗體。某些具體實施例允許抗 FcRn 配體(例如，抗體)與經由病毒載體遞送的治療基因的持續遞送(或表現)。然而，當被遞送的治療基因為抗體或抗體構築體或包含 IgG 鏈的另一構築體時，此具體實施例並非理想。於此種具體實施例，當具有 IgG 鏈的抗體構築體經由病毒載體遞送至具有預先存在的免疫力的患者時，抗 FcRn 配體被短暫地遞送或投劑，因而在表現有效水準的載體媒介的轉基因產物之前，自血清中清除循環中的大量抗 FcRn 配體。

【0124】又其它核酸可編碼針對富含白胺酸重複序列及含免疫球蛋白樣域的蛋白質 1(LINGO-1)的免疫球蛋白，LINGO-1 為 Nogo 受體的功能性組件，且與患有多發性硬化症、帕金森氏病或自發性震顫的患者的自發性震顫有關。一種此種市售抗體是奧瑞珠單抗(ocrelizumab) (Biogen, B1IB033)。參見例如 US 專利

8,425,910。於一具體實施例，核酸構築體編碼對 ALS 患者有用的免疫球蛋白構築體。適合的抗體之例包括抗 ALS 酵素超氧化物歧化酶 1(SOD1)及其變異體的抗體(例如，ALS 變異體 G93A、C4F6 SOD1 抗體)；MS785，針對 Derlin-1 結合區)；抗神經突生長抑制劑(NOGO-A 或 Reticulon 4)的抗體，例如 GSK1223249、奧載恩珠單抗(ozanezumab)(人源化，GSK，亦被描述為對多發性硬化症有用)。可設計或選擇編碼於患有阿茲海默氏症的患者中有用的免疫球蛋白的核酸序列。此種抗體構築體包括例如：阿杜卡努抗體(adumanucab) (Biogen)、巴匹珠單抗(Bapineuzumab) (Elan；抗 A β 之胺基末端的人源化 mAb)；索拉珠單抗(Solanezumab) (Eli Lilly，抗可溶性 A β 之中央部分的人源化 mAb)；甘特那單抗(Gantenerumab) (Chugai and Hoffmann-La Roche，為針對 A β 之胺基末端及中央部分兩者的完整人類 mAb)；克林珠單抗(Crenezumab) (Genentech，作用於 A β (包括寡聚及原纖維體形式(protofibrillar form))之單體及構形表位的人源化 mAb)；BAN2401 (Esai Co., Ltd，人源化免疫球蛋白 G1 (IgG1)，其選擇性結合至 A β 原纖維體且被認為可增強 A β 原纖維體的清除及/或中和彼等對腦神經元的毒性作用)；GSK 933776 (針對 A β 之胺基末端的人源化 IgG1 單株抗體)；AAB-001、AAB-002、AAB-003 (Fc-經工程化的巴匹珠單抗)；SAR228810 (針對 A β 之原纖維體及低分子量的人源化 mAb)；BIIB037/BART (抗不溶性原纖維體人類 A β 的完整人類 IgG1，Biogen

Idec)；抗 A β 抗體，如 m266、tg2576 (對 A β 寡聚物之相對特異性)[Brody and Holtzman, Annu Rev Neurosci, 2008; 31: 175-193]。其它抗體可靶向 β -澱粉樣蛋白、A β 、 β 分泌酶(beta secretase)及/或 tau 蛋白。於又其它具體實施例，抗 β -澱粉樣蛋白抗體源自 IgG4 單株抗體以靶向 β -澱粉樣蛋白以使效應功能最小化，或選擇缺乏 Fc 區的 scFv 之外的構築體以避免澱粉樣蛋白相關成像異常(amyloid related imaging abnormality) (ARIA)及發炎反應。於此等具體實施例之某些，將 scFv 構築體之一或多者之重鏈可變區及/或輕鏈可變區使用於另一適合的如本文所提供的免疫球蛋白構築體。與含有 Fc 區域的免疫球蛋白相比，此等 scFV 及其它經工程化的免疫球蛋白可減少血清中免疫球蛋白的半衰期。減少抗澱粉樣蛋白分子的血清濃度可能會進一步減少 ARIA 的風險，因為血清中極高水準的抗澱粉樣蛋白抗體可能會使具有高負荷澱粉樣蛋白斑的腦血管不穩定，導致血管滲透性。編碼用於治療帕金森氏病患者的其它免疫球蛋白構築體的核酸可被工程化或設計以表現構築體，包括例如富含白胺酸的重複激酶 2、震顫素(dardarin) (LRRK2)抗體；抗突觸核蛋白(synuclein)及 α -突觸核蛋白抗體以及 DJ-1 (PARK7)抗體。其它抗體可包括 PRX002 (Prothena and Roche)帕金森氏病及相關的突觸核蛋白病(synucleinopathy)。此等抗體，特別是抗突觸核蛋白抗體於治療一或多種胞溶體貯積症中亦有用。

【0125】可工程化或選擇編碼用於治療多發性硬化症的免疫球蛋白構築體的核酸構築體。此種免疫球蛋白可包括或可衍生自抗體，如 2006 年批准的那他珠單抗 (natalizumab) (人源化抗 $\alpha 4$ -integrin, iNATA, Tysabri, Biogen Idec and Elan Pharmaceuticals)、阿倫單抗 (alemtuzumab) (Campath-1H, 人源化抗 CD52)、利妥昔單抗 (rituximab) (rituzin, 嵌合抗 CD20)、達克珠單抗 (daclizumab) (Zenepax, 人源化抗 CD25)、奧瑞珠單抗 (人源化抗 CD2, Roche)、優特克單抗 (ustekinumab) (CNTO-1275, 人源化抗 IL12 p40+IL23p40); 抗 LINGO-1 及 ch5D12 (嵌合抗 CD40)、及 rHIgM22 (再髓鞘化的單株抗體; Acorda and the Mayo Foundation for Medical Education and Research)。又其它抗 $\alpha 4$ -整合素抗體、抗 CD20 抗體、抗 CD52 抗體、抗 IL17、抗 CD19、抗 SEMA4D、及抗 CD40 抗體可經由本文所述的 AAV 載體遞送。

【0126】本發明亦考量針對中樞神經系統的各种感染的抗體。此種感染性疾病可包括真菌性疾病，如隱球菌性腦膜炎、腦膿瘍、脊髓硬膜外感染(其由例如新型隱球菌 (*Cryptococcus neoformans*)、粗球孢子菌 (*Coccidioides immitis*)、毛黴目 (order Mucorales)、麴菌屬 (*Aspergillus spp*) 及念珠菌屬 (*Candida spp*)；原蟲性疾病，如弓蟲症、瘧疾及原發性阿米巴腦膜腦炎(其由病原體所引起，如弓蟲 (*Toxoplasma gondii*)、有鉤絛蟲 (*Taenia solium*)、惡性瘧原蟲 (*Plasmodium falciparum*)、

曼森裂頭條蟲 (*Spirometra mansonoides*)(裂頭條蟲症 (sparganosis))、胞蟲屬 (*Echinococcus* spp)(引起神經胞蟲囊病))、及腦阿米巴病 (cerebral amoebiasis)；細菌性疾病，諸如，例如肺結核、麻風、神經梅毒、細菌性腦炎、萊姆病 (lyme disease)(博氏疏螺旋體 (*Borrelia burgdorferi*))、落磯山斑疹熱 (Rocky Mountain spotted fever)(立克次氏立克次體 (*Rickettsia rickettsia*))、CNS 奴卡菌病 (nocardiosis)(奴卡菌屬)、CNS 結核病(結核分枝桿菌 (*Mycobacterium tuberculosis*))、CNS 李氏菌症 (listeriosis)(李斯特單胞菌 (*Listeria monocytogenes*))、腦膿瘍、及神經螺旋體病 (neuroborreliosis)；病毒感染，諸如，例如病毒性腦膜炎、東部馬腦炎 (EEE)、聖路易腦炎、西尼羅病毒及/或腦炎、狂犬病、加州腦炎病毒、拉克羅斯腦炎 (La Crosse encephalitis)、麻疹腦炎、脊髓灰白質炎 (poliomyelitis)、由例如疱疹家族病毒 (HSV)、HSV-1、HSV-2(新生兒的單純疱疹病毒性腦炎)、水痘帶狀疱疹病毒 (VZV)所引起者、畢氏腦炎 (Bickerstaff encephalitis)、艾司坦氏-巴爾氏病毒 (Epstein-Barr virus) (EBV)、巨細胞病毒 (CMV，如正由 Theraclone Sciences 開發的 TCN-202)、人類疱疹病毒 6 (HHV-6)、B 病毒(猴疱疹病毒)、黃病毒腦炎 (Flavivirus encephalitis)、日本腦炎、墨累山谷熱 (Murray valley fever)、JC 病毒 (進行性多部腦白質病 (progressive multifocal leukoencephalopathy))、立百病毒 (Nipah Virus)(NiV)、麻疹 (亞急性硬化泛腦炎 (subacute

sclerosing panencephalitis))；及其它感染，諸如，例如亞急性硬化泛腦炎、進行性多部腦白質病；人類免疫不全病毒(後天性免疫不全症候群(AIDS))；化膿鏈球菌(streptococcus pyogenes)及其它 β -溶血性鏈球菌(例如，與鏈球菌感染有關的兒童自體免疫神經精神異常(Pediatric Autoimmune Neuropsychiatric Disorders Associated with Streptococcal Infection, PANDAS))及/或席登罕氏舞蹈症(Sydenham's chorea)、及格巴二氏症候群、及普里昂蛋白(prion)。

【0127】適合的抗體構築體之例可包括於例如 WO 2007/012924A2(2015 年 1 月 29 日)中所述者，其藉由引用併入本文。

【0128】例如，其它核酸序列可編碼抗普里昂蛋白免疫球蛋白構築體。此種免疫球蛋白可針對主要普里昂蛋白(PrP，即普里昂蛋白蛋白質或蛋白酶抗性蛋白質，亦稱為 CD230(分化 230 之簇集))。提供 PrP 之胺基酸序列，例如 ncbi.nlm.nih.gov/protein/NP_000302，其藉由引用併入本文。該蛋白質能以多種同功型(isoform)存在，正常的 PrPC、引起疾病的 PrPSc 及位於線粒體中的同功型。錯誤折疊型式的 PrPSc 與多種認知障礙及神經退化性疾病有關，例如庫傑二氏病、牛海綿狀腦病、吉斯曼-史特斯科-先克症候群(Gerstmann-Sträussler-Scheinker syndrome)、致死性家族性失眠症及庫魯病(kuru)。

【0129】於某些具體實施例，提供一種增加基因療法為有效的患者族群之方法。該方法包含對於來自對所選擇的病毒殼體或血清學上交叉反應的殼體具有大於 1：5 的中和抗體效價之族群的患者，共投予：(a)具有所選擇的病毒殼體及包裝於其中的基因療法表現匣之重組病毒；及(b)特異性地結合新生兒 Fc 受體(FcRn)之配體，其於基因療法載體遞送之前投予，其中該配體阻斷 FcRN 結合至免疫球蛋白 G(IgG)並允許有效量的基因療法產物在患者中表現。

【0130】於某些具體實施例，提供一種治療具有對重組腺相關病毒(rAAV)之殼體的中和抗體的患者之方法。該方法包含將 rAAV 與如本文所述的抗新生兒 Fc 受體(FcRn)免疫球蛋白構築體組合投予，其中該免疫球蛋白構築體特異性地抑制 FcRn 結合至免疫球蛋白 G(IgG)，適當地不干擾 FcRn-白蛋白結合。

【0131】於某些具體實施例，全身性地遞送病毒載體(例如，rAAV)。於某些具體實施例，靜脈內、腹膜內、鼻內或經由吸入而遞送 rAAV。於某些具體實施例，rAAV 具有選自 AAV1、AAV2、AAV3、AAV5、AAV7、AAV8、AAV9、AAVrh10、AAVhu37 的殼體。於某些具體實施例，rAAV 具有 AAVhu68 殼體。於某些具體實施例，rAAV 具有 AAVrh91 殼體。於某些具體實施例，免疫球蛋白構築體為單株抗體尼泊卡利單抗(M281)或包含其三個以上的 CDR 的免疫球蛋白構築體或其組合。於某些具體實施例，免疫球蛋白構築體選自洛利昔

珠單抗 (UCB7665)、IMVT-1401、RVT-1401、HL161、HBM916、ARGX-113(依加替莫德)、SYNT001、SYNT002、ABY-039、或 DX-2507、或免疫球蛋白構築體之衍生物、或免疫球蛋白構築體之組合及/或其衍生物。

【0132】於一具體實施例，受試者被遞送治療有效量之本文所述的載體。如本文所使用，「治療有效量」係指遞送並在目標細胞中表現足以實現功效的量的酵素之包含編碼功能性基因的核酸序列的組成物的量。於一具體實施例，載體之劑量為每劑約 1×10^9 GC 至約 1×10^{13} 基因體拷貝(GC)。於特定具體實施例中，載體投予至患者之劑量為至少約 1.0×10^9 GC/kg、約 1.5×10^9 GC/kg、約 2.0×10^9 GC/kg、約 2.5×10^9 GC/kg、約 3.0×10^9 GC/kg、約 3.5×10^9 GC/kg、約 4.0×10^9 GC/kg、約 4.5×10^9 GC/kg、約 5.0×10^9 GC/kg、約 5.5×10^9 GC/kg、約 6.0×10^9 GC/kg、約 6.5×10^9 GC/kg、約 7.0×10^9 GC/kg、約 7.5×10^9 GC/kg、約 8.0×10^9 GC/kg、約 8.5×10^9 GC/kg、約 9.0×10^9 GC/kg、約 9.5×10^9 GC/kg、約 1.0×10^{10} GC/kg、約 1.5×10^{10} GC/kg、約 2.0×10^{10} GC/kg、約 2.5×10^{10} GC/kg、約 3.0×10^{10} GC/kg、約 3.5×10^{10} GC/kg、約 4.0×10^{10} GC/kg、約 4.5×10^{10} GC/kg、約 5.0×10^{10} GC/kg、約 5.5×10^{10} GC/kg、約 6.0×10^{10} GC/kg、約 6.5×10^{10} GC/kg、約 7.0×10^{10} GC/kg、約 7.5×10^{10} GC/kg、約 8.0×10^{10} GC/kg、約 8.5×10^{10} GC/kg、約 9.0×10^{10} GC/kg、約

9.5×10^{10} GC/kg、約 1.0×10^{11} GC/kg、約 1.5×10^{11} GC/kg、約 2.0×10^{11} GC/kg、約 2.5×10^{11} GC/kg、約 3.0×10^{11} GC/kg、約 3.5×10^{11} GC/kg、約 4.0×10^{11} GC/kg、約 4.5×10^{11} GC/kg、約 5.0×10^{11} GC/kg、約 5.5×10^{11} GC/kg、約 6.0×10^{11} GC/kg、約 6.5×10^{11} GC/kg、約 7.0×10^{11} GC/kg、約 7.5×10^{11} GC/kg、約 8.0×10^{11} GC/kg、約 8.5×10^{11} GC/kg、約 9.0×10^{11} GC/kg、約 9.5×10^{11} GC/kg、約 1.0×10^{12} GC/kg、約 1.5×10^{12} GC/kg、約 2.0×10^{12} GC/kg、約 2.5×10^{12} GC/kg、約 3.0×10^{12} GC/kg、約 3.5×10^{12} GC/kg、約 4.0×10^{12} GC/kg、約 4.5×10^{12} GC/kg、約 5.0×10^{12} GC/kg、約 5.5×10^{12} GC/kg、約 6.0×10^{12} GC/kg、約 6.5×10^{12} GC/kg、約 7.0×10^{12} GC/kg、約 7.5×10^{12} GC/kg、約 8.0×10^{12} GC/kg、約 8.5×10^{12} GC/kg、約 9.0×10^{12} GC/kg、約 9.5×10^{12} GC/kg、約 1.0×10^{13} GC/kg、約 1.5×10^{13} GC/kg、約 2.0×10^{13} GC/kg、約 2.5×10^{13} GC/kg、約 3.0×10^{13} GC/kg、約 3.5×10^{13} GC/kg、約 4.0×10^{13} GC/kg、約 4.5×10^{13} GC/kg、約 5.0×10^{13} GC/kg、約 5.5×10^{13} GC/kg、約 6.0×10^{13} GC/kg、約 6.5×10^{13} GC/kg、約 7.0×10^{13} GC/kg、約 7.5×10^{13} GC/kg、約 8.0×10^{13} GC/kg、約 8.5×10^{13} GC/kg、約 9.0×10^{13} GC/kg、約 9.5×10^{13} GC/kg、或約 1.0×10^{14} GC/kg。

【0133】 於一具體實施例，該方法進一步包含受試者接受免疫抑制的協同治療。用於此種協同治療之免疫

抑制劑包括但有限於：醣皮質激素、類固醇、抗代謝物質、T細胞抑制劑、巨環內酯(例如，雷帕黴素或雷帕黴素類似物)、及細胞生長抑制劑(包括烷化劑、抗代謝物質、細胞毒性抗生素、抗體、或對免疫親和素有活性的藥劑)。免疫抑制劑可包括氮芥(nitrogen mustard)、亞硝脲(nitrosourea)、鉑化合物、胺甲喋呤(methotrexate)、硫唑嘌呤(azathioprine)、巯嘌呤(mercaptopurine)、氟尿嘧啶(flourouracil)、放線菌素(dactinomycin)、蒽環類(anthracycline)、絲裂黴素C(mitomycin C)、博來黴素(bleomycin)、光輝黴素(mithramycin)、針對 IL-2 受體(CD25)或 CD3 的抗體、抗 IL-2 抗體、環孢素(ciclosporin)、他克莫司(tacrolimus)、西羅莫司(sirolimus)、IFN- β 、IFN- γ 、類鴉片(opioid)、或 TNF- α (腫瘤壞死因子- α)結合劑。

【0134】於某些具體實施例，免疫抑制療法可於基因療法投予前 0、1、2、7、或以上的日數開始。此種療法可涉及於同一日之二種以上藥物的共投予(例如，強體松(prednelisone)、黴酚酸(MMF)及/或西羅莫司(即，雷帕黴素))。於基因療法投予後能以相同劑量或調整劑量繼續使用此等藥物之一種或多種。根據需要，此種治療可持續約 1 週(7 日)、約 60 日或更長時間。於某些具體實施例，選擇無他克莫司的方案。於一具體實施例，將本文所述的 rAAV 投予至有需要的受試者一次。於另一具體實施例，將 rAAV 投予至有需要的受試者超過一次。

【0135】應了解於本文所述的方法中的組成意圖應用於整個說明書描述的其它組成物、方案、態樣、具體實施例、及方法。

【0136】

7. 套組

於某些具體實施例，提供一種套組，其包括懸浮在調配物中的濃縮載體(可選擇性地經冷凍)、可選擇的稀釋緩衝液以及投予所需的裝置及組件。於一具體實施例，該套組提供充足的緩衝液以使用於注射。於某些具體實施例，該套組提供充足的緩衝液以使用於鼻內或氣溶膠化投予。此種緩衝液能使濃縮的載體稀釋約1：1至1：5或更多。於其它具體實施例，包括更高或更低量的緩衝液或無菌水，以允許治療臨床醫生進行劑量調定及其它調整。於再其它具體實施例中，該裝置的一個或多個組件包括於該套組中。可使用適合的稀釋緩衝液，如鹽水、磷酸鹽緩衝鹽水(PBS)或甘油/PBS。

【0137】可選擇地，套組進一步包含組成物，該組成物包含用於遞送的抗FcRn配體(例如，免疫球蛋白、抗體構築體)。

【0138】應了解於本文所述的套組中的組成意圖應用於整個說明書描述的其它組成物、方案、態樣、具體實施例、及方法。

【0139】如本文所使用，短語「改善症狀」、「改良症狀」或其任何文法上的變異體，係指與所遞送的基因產物有關的症狀的逆轉、症狀、或症狀進展的預防。

於一具體實施例，改善或改良係指與投予或使用之前相比，投予所述組成物或使用所述方法後患者中的症狀總數減少約 5%、約 10%、約 20%、約 30%、約 40%、約 50%、約 60%、約 70%、約 80%、約 90%、約 95%。於另一具體實施例，改善或改良係指與投予或使用之前相比，投予所述組成物或使用所述方法後症狀的嚴重度或進展減少約 5%、約 10%、約 20%、約 30%、約 40%、約 50%、約 60%、約 70%、約 80%、約 90%、約 95%。

【0140】除非另有指明，「患者」係指雄性或雌性的人類且「受試者」係指臨床研究中使用的雄性或雌性的人類、犬、及動物模式。

【0141】於某些具體實施例，為一治療具有對所欲病毒載體之外殼體或套膜蛋白質的中和抗體之基因療法患者之組合方案。該方案包含共投予攜帶表現匣之病毒載體(該表現匣包含可操作地連接至調節序列之編碼基因產物之核酸序列，該調節序列引導其於目標細胞中的表現)、與配體(該配體抑制人類新生兒的 Fc 受體(FcRn)與針對病毒載體外殼體或套膜蛋白的免疫球蛋白 G(IgG)之結合)之治療性組合。適合地，配體針對 FcRn-IgG 結合而不干擾 FcRn-白蛋白結合。配體可選自肽、蛋白質、RNAi 序列、或小分子。於某些具體實施例，配體蛋白質為單株抗體、免疫黏附素、駱駝科抗體、Fab 片段、Fv 片段、或 scFv 片段。病毒載體可為但未限於重組腺相關病毒、重組腺病毒、重組單純疱疹病毒、或重組慢病毒。

【0142】於某些具體實施例，該方案包含以單株抗體治療患者，該單株抗體選自尼泊卡利單抗(M281)、洛利昔珠單抗(UCB7665)；IMVT-1401、RVT-1401、HL161、HBM916、ARGX-113(依加替莫德)、奧諾利單抗(SYNT001)、SYNT002、ABY-039、或DX-2507、或此等之衍生物或組合。

【0143】於某些具體實施例，配體為尼泊卡利單抗(M281)或包含其選自下列的三個以上的CDR之免疫球蛋白構築體：(a) 重鏈CDR：(i) CDR H1，SEQ ID NO：16 或與其至少99%相同的序列、(ii) CDR H2，SEQ ID NO：18 或與其至少99%相同的序列、及(iii) CDR H3，SEQ ID NO：20 或與其至少99%相同的序列；或(b) 輕鏈CDR：CDR L1，SEQ ID NO：10 或與其至少99%相同的序列，CDR L2，SEQ ID NO：12 或與其至少99%相同的序列，CDR L3，SEQ ID NO：14，或與其至少99%相同的序列。於某些具體實施例，尼泊卡利單抗或免疫球蛋白構築體包含：(a) 重鏈CDR：(i) CDR H1，SEQ ID NO：16、(ii) CDR H2，SEQ ID NO：18、及(iii) CDR H3，SEQ ID NO：20；或(b) 輕鏈CDR：CDR L1，SEQ ID NO：10、CDR L2，SEQ ID NO：12、CDR L3，SEQ ID NO：14。

【0144】於某些具體實施例，本文提供的方法及組成物包括編碼此等配體或另外選擇的配體之核酸序列。配體(例如，抗FcRn抗體)可於投予包含編碼配體(例如，抗-FcRn抗體)的核酸序列的載體後於活體內表現，

該核酸序列可操作地連接至引導配體表現的調節控制序列。

【0145】於某些具體實施例，投劑組合方案之前，當於活體外分析中確認時，患者對 rAAV 殼體或血清學上交叉反應的殼體已具有大於 1：5 的中和效價。

【0146】於某些具體實施例，於投予或遞送病毒載體之前一日至七日、於與病毒載體之同一日能以配體(即，遞送的配體)治療患者、及/或病毒載體遞送後一日、數日、數週、或數月(例如，10 日至 6 個月或較長、約 2 週至 12 週或較長)能以配體(即，遞送的配體)治療患者。可選擇地，每日遞送配體。於某些具體實施例，經由不同於載體的投予途徑遞送配體。可口服遞送配體。病毒載體可腹膜內、靜脈內、肌內、鼻內或鞘內遞送。

【0147】於某些具體實施例，於治療之前，當於活體外試驗中分析時，確定患者對該載體殼體具有大於 1：5 的中和抗體效價。於某些具體實施例，於將病毒載體與抑制性配體組合遞送之前，該患者先前未接受過基因療法治療或使用病毒載體之基因遞送，因而患者的預先存在的中和抗體為野生型病毒載體感染的結果。於某些具體實施例，於將病毒載體與抑制性配體組合遞送之前，患者先前已接受過基因療法治療。

【0148】於某些具體實施例，本文提供的組合方案進一步包含共投予下列一或多者：(a)一類固醇或類固醇類之組合；及/或(b) IgG 切割酶；及(c) Fc-IgE 結合抑

制劑；(d) Fc-IgM 結合抑制劑；(e) Fc-IgA 結合抑制劑；及/或(f) γ -干擾素。

【0149】於某些具體實施例，本文所述方法對於擴大(增加)基因治療有效的患者族群為有效的。例如，此種方法可包含對來自對所選擇的病毒殼體或血清學上交叉反應性殼體具有大於 1：5 的中和抗體效價的族群的患者共投予下列：(a)具有所選擇的病毒殼體及包裝於所選擇的病毒殼體的基因療法表現匣之重組病毒；及(b)特異性地結合新生兒 Fc 受體(FcRn)的配體，其於基因療法載體遞送之前投予，其中該配體阻斷 FcRN 對免疫球蛋白 G(IgG)的結合，並允許有效量的基因療法產物在患者中表現。於某些具體實施例，提供一種方法用於治療具有對重組腺相關病毒(rAAV)之殼體的中和抗體的患者，該方法包含將 rAAV 與抗新生兒 Fc 受體(FcRn)免疫球蛋白構築體組合投予，其中該免疫球蛋白構築體特異性地抑制 FcRn-免疫球蛋白 G(IgG)結合。於某些具體實施例，rAAV 係全身性地遞送，例如靜脈內、腹膜內、鼻內或經由吸入。可選擇任何適合的殼體，但於某些具體實施例，rAAV 具有選自 AAV1、AAV2、AAV3、AAV5、AAV7、AAV8、AAV9、AAVrh10、AAVrh91、AAVhu37、AAVhu68 之殼體。

【0150】關於此等發明的描述，意圖本文所述之各組成係於本發明的另外的具體實施例、方法中 useful。此外，亦意圖本文所述之各組成係於本發明的方法、另外的具體實施例、其本身的具體實施例中 useful。

【0151】除非於本說明書中另有定義，否則本文所用的技術及科學術語具有與本發明所屬領域中具有通常知識者及參照公開文本所通常理解的相同含義，公開文本為本領域中具有通常知識者提供了本申請案中所使用之許多術語的一般指引。

【0152】核酸係指核苷酸的聚合型式且包括 RNA、mRNA、cDNA、基因體 DNA、肽核酸(PNA)及上述之合成型式及混合型聚合物。核苷酸係指核糖核苷酸、去氧核苷酸或任一類型核苷酸的修飾型(例如，肽核酸寡聚物)。此術語亦包括 DNA 之單股及雙股型。本領域中具有通常知識者將理解此等核酸分子的功能變異體亦意圖為本發明之一部分。功能變異體為可直接被轉譯的核酸序列，使用標準基因碼，以提供與從親代核酸分子轉譯的胺基酸序列相同的胺基酸序列。

【0153】方法為已知且之前已被描述(例如，WO 96/09378)。若與野生型序列相比至少一個非較佳密碼子被更佳的密碼子替換，則認為該序列經工程化。於此，非較佳密碼子係與編碼相同胺基酸的另一個密碼子相比，為在生物體中使用頻率低的密碼子，且更佳的密碼子係與非較佳密碼子相比，為在生物體中使用頻率更高的密碼子。特定生物體的密碼子使用頻率可於密碼子頻率表中找到，諸如於 www.kazusa.jp/codon。較佳地，多於一個非較佳密碼子、較佳為大部分或所有的非較佳密碼子被更佳的密碼子替換。較佳地，於工程化序列使用生物體中最常使用的密碼子。藉由較佳密碼子的替換

通常會導致更高的表現。本領域中具有通常知識者亦應理解，由於遺傳密碼的簡併性(*degeneracy*)，許多不同的核酸分子可編碼相同的多肽。亦應理解，本領域中具有通常知識者可使用常規技術進行不影響由核酸分子編碼的胺基酸序列的核苷酸置換，以反映表現多肽的任何特定宿主生物體的密碼子使用。因此，除非另有指明，「編碼胺基酸序列的核酸序列」包括彼此的簡併形式且編碼相同胺基酸序列的所有核苷酸序列。核酸序列可使用常規分子生物學技術選殖，或者藉由 DNA 合成從頭生成，其可由具有 DNA 合成及/或分子選殖領域業務的服務公司(例如，GeneArt、GenScript、Life Technologies、Eurofins)使用常規程序進行。

【0154】於核酸序列之上下文中，術語「一致性百分比(%)」、「序列一致性」、「序列一致性百分比」或「百分比相同」係指兩個序列中當對應比對時為相同的殘基。序列一致性比較之長度理想可為整個基因體之全長、基因編碼序列之全長、或至少約 500 至 5000 個核苷酸之片段。然而，較小片段間的一致性亦為理想，例如，至少約 9 個核苷酸、通常至少約 20 至 24 個核苷酸、至少約 28 至 32 個核苷酸、至少約 36 或以上之核苷酸。

【0155】多個序列比對程式亦可用於核酸序列。此種程式之例包括：「Clustal Omega」、「Clustal W」、「CAP Sequence Assembly」、「BLAST」、「MAP」、及「MEME」，此等可通過網際網路上的網站伺服器進

行。此種程式之其它來源為本技術領域中具有通常知識者所知悉。或者，亦可使用 Vector NTI 應用程式。本領域中亦有許多可用於測量核苷酸序列一致性的已知演算法，包括含於上述程式中者。作為另一例，可使用 GCG 版本 6.1 的程式 Fasta™，而比較多核苷酸序列。Fasta™ 提供查詢序列及檢索序列之間最佳重疊區域的比對及序列一致性百分比。例如，核酸序列之間的序列一致性百分比可使用 Fasta™ 及其如 GCG 版本 6.1 中所提供的內定參數(字長為 6，得分矩陣的 NOPAM 因子)而確定，其藉由引用併入本文。

【0156】對於整個蛋白質全長、多肽、約 32 個胺基酸、約 330 個胺基酸或其肽片段的胺基酸序列、或編碼序列之相應的核酸序列，可容易地確定一致性百分比。適合的胺基酸片段可為至少約 8 個胺基酸長且可多至約 700 個胺基酸。一般而言，當提及兩個不同序列之間的「一致性」、「同源性」、或「相似性」時，參照「比對」序列來確定「一致性」、「同源性」、或「相似性」。「比對」序列或「比對」係指多個核酸序列或蛋白質(胺基酸)序列，與參考序列相比，通常含有缺失或增加的鹼基或胺基酸的校正。

【0157】除非上限範圍另有說明，否則應理解，一致性百分比為最低一致性水準，包括所有更高水準的一致性，多至對參考序列 100%一致性。除非另有說明，否則應理解，一致性百分比為最低一致性水準，包括所有更高水準的一致性，多至對參考序列 100%一致性。

例如，「95%一致性」及「至少 95%一致性」可交換地使用且包括對參考序列之 95、96、97、98、99、多至 100%一致性，及其間的所有分數。

【0158】除非另有指明，數值將被理解為服從常規的數學四捨五入規則。

【0159】可藉由預備序列的比對並通過使用本領域已知的或可商業購得的多種演算法及/或電腦程式(例如，BLAST、ExPASy；Clustal Omega；FASTA；使用例如 Needleman-Wunsch algorithm、Smith-Waterman algorithm)來確定一致性。使用多種公開或市售的多序列比對程式中的任何一種進行比對。序列比對程式可用於胺基酸序列，例如，「Clustal Omega」、「Clustal X」、「MAP」、「PIMA」、「MSA」、「BLOCKMAKER」、「MEME」、及「Match-Box」程式。一般而言，儘管本技術領域中具有通常知識者可依需要改變此等設定，但此等程式之任一者皆可於內定設定下使用。或者，本技術領域中具有通常知識者可利用另一種演算法或電腦程式，該演算法或電腦程式至少提供與所引用的演算法及程式所提供的一致性或比對水準。參見例如 J. D. Thomson et al, Nucl. Acids. Res., “A comprehensive comparison of multiple sequence alignments”, 27(13):2682-2690 (1999)。

【0160】本文所述的水性懸浮液或醫藥組成物設計用於藉由任何適合的途徑或不同途徑的組合遞送至有需要的受試者。

【0161】如本文所使用，術語「鞘內遞送」或「鞘內投予」係指藥物經由注射至脊髓管、更具體而言為注射至蜘蛛膜下腔的投予途徑，以使其到達腦脊髓液(CSF)。鞘內遞送可包括腰椎穿刺、腦室內、枕骨下/腦池內穿刺、及/或 C1-2 穿刺。例如，可藉由腰椎穿刺手段而導入物質以在整個蜘蛛膜下腔擴散。於另一例，可注射至腦大池(cisterna magna)。腦池內遞送可增加載體擴散及/或減少由投予引起的毒性及炎症。參見例如 Christian Hinderer et al, Widespread gene transfer in the central nervous system of cynomolgus macaques following delivery of AAV9 into the cisterna magna, Mol Ther Methods Clin Dev. 2014; 1: 14051. Published online 2014 Dec 10. doi: 10.1038/mtm.2014.51。

【0162】如本文所使用，術語「腦池內遞送」或「腦池內投予」係指藥物直接進入腦室或於腦大池小腦延髓之腦脊髓液中的投予途徑，更具體而言係經由枕骨下穿刺或藉由直接注射至腦大池，或者經由永久定位的管子。

【0163】「包含」為一術語，意指包括其它成分或方法步驟。當使用「包含」，應了解相關的具體實施例包括：使用術語「由...組成」的描述，其排除其它成分或方法步驟；及使用術語「基本上由...組成」的描述，其排除實質上改變具體實施例或發明的性質的任何成分或方法步驟。應了解儘管說明書中的多種具體實施例使用「包含」語句來呈現，但各種情況下，相關具體實施

例亦使用「由...組成」或「實質上由...組成」語句來描述。

【0164】應注意術語「一」(a 或 an)係指一或以上，例如，「一載體」應理解為表示一或多個 rAAV 或另外特定的載體。如此，術語「一」(a 或 an)、「一或以上」及「至少一種」於本文中可互換使用。

【0165】如本文所使用，除非另有指明，術語「約」意指與給定參考值間有 $\pm 10\%$ 的變化。

【0166】在某些情況下，術語「E+#」或術語「e+#」用於提及指數。例如，「5E10」或「5e10」為 5×10^{10} 。此等術語可交換使用。

【0167】

8. 實施例

提供此等實施例僅用於說明的目的，且本發明決不應被解釋為限於此等實施例，而是應被解釋為包含由於本文提供的教示而變得明顯的任何和所有變化。

【0168】本發明人等已開發一種策略，以 AAV 載體治療具有預先存在的中和抗體的受試者。使用單劑之靶向新生兒 Fc 受體 (FcRn) 的單株抗體，預先存在的中和抗體會暫時地減少多至 10 倍，使 AAV 的投予有效。

【0169】在以人類 IgG 處理的小鼠中，單次 FcRN mAb 劑量導致抗體效價降低 10 倍，並允許成功的 AAV 媒介的肝臟轉導。

【0170】

實施例 1.阻斷 FcRn 對小鼠 NAb 效價及 AAV 轉導的影響

於此研究，吾人測試抗 FcRn 抗體是否可減少抗 AAV NAb 的水準，從而增強小鼠靜脈內(i.v.)投予 AAV 後 AAV 媒介的基因轉導。於此研究，吾人觀察到於以儲集人類 IgG 預處理的人源化 FcRn 轉基因小鼠中，M281 單株抗體(mAb)的投予逆轉了靜脈內的載體投予後人類 NAb 媒介的肝臟靶向基因轉導的阻斷。圖 13 顯示在 AAV8.TT1 載體投予時以 IVIG 共同治療的小鼠中 TT1 活性水準減少的結果。

【0171】下表 1 顯示檢查阻斷 FcRn 對小鼠 NAb 效價及 AAV 轉導的影響之概要的研究設計。於此研究，吾人使用人類 FcRn 轉基因小鼠(即，SCID-hFcRnTg32 小鼠(JAX：018441))，其藉由表現人類 FcRn(M281 抗體的目標)，提供人類免疫球蛋白 G(hIgG)的較長血清半衰期。M281 為 hIgG1 抗體，包含 SEQ ID NO：8 之重鏈 M281-HC 及 SEQ ID NO：7 之輕鏈。於研究開始時，第 0 日，小鼠以 0.5 g/kg 的劑量靜脈注射 Privigen (IVIG)。Privigen 具有在 0.1 g/ml 溶液中比例為 1：320 的 AAV8 中和抗體(NAb)。於第 1 日，小鼠腹膜內注射 30 mg/kg 劑量的 M281(第 2 組)或對照組的 PBS(第 1 組)。於第 16 日，小鼠以 4×10^{12} GC/kg 之劑量投予 AAV8.TBG.TT1。AAV8.TBG.TT1 為具有 AAV8 殼體及編碼試驗轉基因 1(即，TT1)轉基因的載體基因體之載體。測量 hIgG 的血清水準/Nab 效價作為研究的讀數。

【 0172 】 表 1.

日數	處理	第 1 組 N=8	第 2 組 N=5	樣品
-7				血清
0	IVIG (i.v.) 0.5 g/kg	x	x	血清
1	M281 (i.p.) 30mg/kg	PBS	PBS	血清
8				血清
16	AAV8.TBG.TT1 (i.v. 4e12 GC/kg)	x	x	血清
44				血清
72				屍體剖檢(血清、肝臟、心臟)

【 0173 】 至第 16 日，包括 NAb 的 hIgG 水準降低至約 50%。圖 1A 及 1B 顯示當以 IVIG 預處理時，M281 mAb 的投予降低 hIgG 的水準並改善於 hFcRn 小鼠之肝臟中的 AAV 轉導。圖 1A 顯示於 IVIG 預處理後第 1 至 16 日血清人類 IgG 的水準。圖 1B 顯示 AAV 轉導後 28 日轉基因活性水準，以單位 (U) 表示。四方形表示接受 M281 靜脈注射的小鼠。實心四方形表示觀察到 IgG 水準降低的小鼠。空心四方形表示其中 IgG 的血清水準相比時較高且為與 PBS 處理組相關的小鼠。以 M281 處理 (空心四方形) 且未顯示 hIgG 減少的兩隻小鼠可能是由於腹膜內注射失敗。

【 0174 】 吾人接著檢查 M281 對藉由更高劑量的靜脈內 AAV 投予之 hFcRn Tg 小鼠的轉基因轉導的影響，此等小鼠以 IVIG 進行預處理。下表 2 顯示用於檢查在每隻小鼠 1×10^{11} GC 的較高劑量下阻斷 FcRn 的效果、以及 NAb 效價與 AAV8.TBG.TT1 轉導之間的相關性的概要的研究設計。

【 0175 】 表 2.

組命名	1	2	3
N/組	5	5	5
說明	無 IVIG	IVIG+PBS	IVIG+M281
基因型	hFcRnTg32	hFcRnTg32	hFcRnTg32
IVIG (iv) –第 0 日	媒劑對照	1 g/kg	1 g/kg
M281 (ip)– 6h 及 24h	-	媒劑對照	30 mg/kg
載體劑量(iv)	1e11 GC/小鼠	1e11 GC/小鼠	1e11 GC/小鼠
持續時間，讀數	35 日研究 血清 NAb、BAb 及 IgG(生存期間)、以及屍體剖檢後載體基因體生物分布		

【 0176 】 於此實驗，使用人源化 FcRn 轉基因 scid 小鼠。對於實驗組，在第 0 日小鼠以 1 g/kg 儲集人類 IgG 靜脈內處理，在人類 IgG 後 6 及 24 小時接受 M281 腹膜內注射(每個時間點 30 mg/kg)。一對照組未接受人類 IgG 或 M281，另一對照組接受人類 IgG 但未接受 M281mAb。於第 5 日，所有小鼠均接受靜脈內 AAV8.TBG.TT1 載體投予(1×10^{11} GC/小鼠)，以藉由血清 TT1 活性檢查第 19、26 及 33 日的肝臟靶向基因轉導。測量 NAb(中和性結合抗體)、BAb(非中和性結合抗體)及 hIgG(人類 IgG)的血清水準、以及載體基因體生物分布作為研究的讀數。人類 IgG ELISA 顯示以 M281 mAb 處理的小鼠中人類 IgG 顯著減少成少於以人類 IgG 處理但於人類 IgG 後第 5 日未以 M281 mAb 處理者之 10%(圖 2A)。當未投予 M281 mAb 時，人類 IgG 完全地減少血清 TT1。相比之下，無人類 IgG 的小鼠顯示血清 TT1 活性顯著增加，暗示源自儲集人類 IgG 的 NAb 阻斷藉由 IV 載體的肝臟靶向基因轉導。藉由 M281 mAb 將人類

IgG 減少 90%以上，使肝臟轉導恢復到未以人類 IgG 處理的小鼠的 60%以上。此等結果證明抗 AAV NAb 的長血清半衰期取決於活體內 FcRn 受體，並且藉由 M281 mAb 阻斷受體而減少循環 IgG 及 NAb。圖 2A 顯示以 IVIG 預處理後之人類 IgG(hIgG)血清水準。M281 及 AAV 的投予係以箭頭指示。於研究第 5 日，以 M281 治療的小鼠(第 3 組)的血清 hIgG 水準降低，其結果總結在下表 3 中。圖 2B 顯示研究的第 0 日至第 35 日，血清中載體生物分布水準。血清中的 TT1 活性水準與未以 IVIG 預處理的對照組 1 之小鼠中的相似。藉由 M281 抑制 FcRn 而減少 IVIG 衍生的 NAb 以及總 hIgG，並允許以靜脈內 AAV8 進行肝臟基因轉導。

【 0177 】 表 3.

組別	於第 5 日 AAV8 NAb
無 IVIG	<1 : 5
IVIG+PBS	1 : 10
IVIG+M281	<1 : 5

【 0178 】 吾人已證實，當輸注儲集人類 IgG(IVIG)時，抗 FcRn 抗體 M281 在人類 FcRn 轉基因小鼠模式中降低人類 IgG 水準及增強 AAV 媒介的基因傳遞的功效。

【 0179 】

實施例 2.阻斷 FcRn 對非人類靈長類動物(NHP) NAb 效價及 AAV 轉導的影響

於此研究，吾人測試 M281 對於 NHP 中預先存在的 NAb 及靜脈內遞送 AAVhu68 載體(AAVhu68 殼體及具有

CB7 啟動子及試驗轉基因 2 轉基因(即，TT2)之載體基因體)後心臟基因轉導的影響。於此研究，吾人觀察到在具有內源性預先存在的 NAb 的非人類靈長類動物中，M281 mAb 的投予會暫時降低預先存在的 NAb 效價，並增強藉由靜脈內載體投予之基因轉導。

【0180】圖 3 顯示檢查阻斷 FcRn 對 NHP 之 NAb 效價及 AAV 轉導的影響的研究設計。於吾人的研究中，使用恆河獼猴(NHP)，如所示的，經測量的預先存在的 NAb 效價為 1：80、1：40、1：20 及/或 $\leq$ 1：5。在 AAV 注射(第 0 日)之前 5、4 及 3 日(-5、-4 及 -3 日)，NHP 以 8 mg/kg 的劑量靜脈內投劑 M281。於第 0 日，NHP 以 3×10^{13} GC/kgs 靜脈內注射 AAVhu68 載體。於初始研究 1(如圖 3 所示)，兩隻分別具有預先存在的 AAVhu68 NAb 效價 1：20 及 1：40 之恆河獼猴，係連續 3 日(第 -5、-4 及 -3 日)以 8 mg/kg 的靜脈內 M281 mAb 治療，以檢查藉由 M281 阻斷 FcRn 對非人靈長類動物中預先存在的 NAb 效價的影響。如圖 4B 所示，兩隻動物中 AAVhu68 NAb 效價在第 -3 日減至一半，然後在第 0 日達到 1：5。NAb 效價在第 2 日小量增加到 1：10，並保持在 1：10 直到第 9 日。此等結果清楚地表明，M281 mAb 與恆河獼猴 FcRn 交叉反應，並減少內源性恆河獼猴 IgG 與 NAb。指出 M281 投劑計畫對於具有多至 1：40 之預先存在的 NAb 效價的 NHP，有效降低 NAb 效價至 1：5。圖 4A 至 4D 顯示 M281 輸注於 NHP 中減少預先存在的 NAb 效價及 IgG。圖 4A 顯示血清恆河獼猴 IgG (rhIgG)

之水準，繪製為第-5 日的百分比，其中投予 M281 的日數係以圖上的箭頭指示。圖 4B 顯示 AAVhu68-非中和性結合抗體 (BAb) 效價，其中投予 M281 的日數係以圖上的箭頭指示。圖 4C 顯示 AAVhu68 中和性結合抗體 (NAb) 效價，其中投予 M281 的日數係以圖上的箭頭指示。圖 4D 顯示血清白蛋白之水準，繪製為第-5 日的百分比，其中 M281 投予係以圖上的箭頭指示。

【0181】接著，於研究 2(如圖 3 所示)，吾人以 M281 mAb 處理分別具有 1：40 及 1：80 的 AAVhu68 NAb 效價的 2 隻恆河獼猴，然後靜脈內投劑載體，以測試藉由 M281 mAb 之 NAb 減少是否對靜脈內 AAV 基因療法中的基因轉導具有正向影響。於此研究，於第-5、-4 及-3 日靜脈內注射 8 mg/kg 之 M281 3 日後，於第 0 日靜脈內投予表現 TT2 的 AAVhu68 載體 (3×10^{13} GC/kg)。1 隻具有 NAb <1：5 的 NHP 及另一隻具有 NAb 1：40 的 NHP 分別用作 NAb 陰性及 NAb 陽性對照，其僅接受 IV 載體但未接受 M281 mAb 預處理。以 M281 處理的 NHP 中，連同血清總 IgG 及 AAV 結合抗體，NAb 係於第 0 日減少並達到 1：5。注射載體後，此等動物中 AAV 後 7 日內，NAb 效價強勁增加，達到 1：1280。儘管該增加比在第 7 日顯示 1：2560 的 NAb 陽性對照猴為低 1-稀釋，但與在第 7 日顯示 1：160 的 NAb 陰性對照猴相比則為高得多。在第 30 日屍體剖檢後分析心臟、肝臟、脾臟及骨骼肌中的載體基因體生物分布。與 NAb 陰性猴相比，NAb 陽性對照猴的心臟、肝臟及骨骼肌中的載體基因體

拷貝數減少。此於 M281 治療的猴子的肝臟及骨骼肌中被改善。對於心臟，在基線時具有 1：40 Nab 的 M281 處理的猴之一者的拷貝數有小量改善。於 NAb 陽性猴中，由於抗體媒介的免疫反應，載體基因體傾向於積累至脾臟。

【0182】圖 5A 至 5B 顯示 M281 輸注於 NHP 中減少預先存在的 NAb 效價以及 IgG(研究 2)。圖 5A 顯示血清恆河獼猴 IgG(rhIgG)之水準，繪製為第-5 日的百分比，其中 M281 之投予(第-5、-4、及-3 日)及 AAV 之投予(第 0 日)係以圖上的箭頭指示。圖 5B 顯示血清白蛋白之水準，繪製為第-5 日的百分比，其中 M281 投予係以圖上的箭頭指示。圖 6A 至 6B 顯示 AAV-結合抗體效價(研究 2)。圖 6A 顯示研究第-15 日至第 0 日期間的 AAVhu68-非中和性結合抗體(BAb)效價，其中 M281 之投予(第-5、-4、及-3 日)及 AAV 之投予(第 0 日)。圖 6B 顯示研究第 0 日至第 30 日期間的 AAVhu68-非中和性結合抗體(BAb)效價。

【0183】AAVhu68-NAb 效價總結於下表 4 中。

【0184】表 4.

	M281	BSL	第-5 日	第-4 日	第-3 日	第 0 日	第 7 日	第 14 日	第 21 日	第 30 日
NHP3	-	<1：5				<1：5	1：160	1：640	1：640	1：640
NHP4	-	1：40				1：40	1：2560	1：1280	1：2560	1：1280
NHP5	+	1：40	1：20	1：20	<1：5	1：5	1：1280	1：1280	1：1280	1：1280
NHP6	+	1：80	1：40	1：40	1：20	1：5	1：1280	1：640	1：320	1：320

【0185】圖 7A 至 7E 顯示由研究 2 中收穫的各種組織中的載體基因體生物分布，繪製為每微克(μg) DNA 的基因體拷貝(GC)。圖 7A 顯示於心臟中的載體基因體生物分布。圖 7B 顯示於骨骼肌中的載體基因體生物分布。圖 7C 顯示於肝臟右葉中的載體基因體生物分布。圖 7D 顯示於肝臟左葉中的載體基因體生物分布。圖 7E 顯示於脾臟中的載體基因體生物分布。

【0186】於另外的研究中，吾人將測試在 NHP 中預先存在的 NAb 在有或沒有 FcRn 阻斷下對 IV 投予 AAV-TT3(試驗轉基因 3)後轉導效率的影響。簡而言之，基於預先存在的 NAb 的評估水準及確認的效價水準，將編入的動物分成兩組。測量血漿、心臟、肌肉及肝臟中 NAb(中和性結合抗體)的血清水準、基線生物標記及轉基因表現，作為研究的讀數。TT2 原位雜交被預期於以 M281 治療的猴子的肝臟及心臟中顯示改善 TT2 mRNA 之表現。

【0187】圖 8A 及 8B 顯示原位雜交結果，其檢查自研究 2 中收穫的心臟及肝臟組織中的 TT2 mRNA 表現水準，繪製為陽性面積比。圖 8A 顯示原位雜交結果，其檢查自研究 2 中收穫的肝臟組織(左及右葉)中的 TT2 mRNA 表現水準。圖 8B 顯示原位雜交結果，其檢查自研究 2 中收穫的心臟組織(左、右心室及中隔)中的 TT2 mRNA 表現水準。

【0188】

實施例 3.M281 抗體生產、純化及用於靜脈內遞送的製劑。

本文提供的實施例描述了免疫球蛋白構築體的活體外生產。

【0189】編碼 M281 之核酸分子，包含 M281-LC(輕鏈)及 M281-HC(重鏈)，係使用標準技術獲得，即 ThermoFisher Life Technologies 的基因合成服務。又將編碼 M281-LC 或 M281-HC 的核酸序列選殖至適合的質體，該質體攜帶適合在生產宿主細胞株中表現的載體基因體。攜帶載體基因體的質體包含 CMV 啟動子(SEQ ID NO：1 之核苷酸 47 至 726)、編碼如下所述 M281 構築體的核酸序列、WRPE 元件(SEQ ID NO：1 之核苷酸 1514 至 2111)、及胸苷激酶(TK) poly A 訊息(SEQ ID NO：1 之核苷酸 2115 至 2386)：

- (a) M281-LC 核酸序列(SEQ ID NO：1 之核苷酸 754 至 1467)，其編碼 SEQ ID NO：2 之 M281-LC 蛋白質；及/或
- (b) M281-HC 核酸序列(SEQ ID NO：3 之核苷酸 754 至 2154)，其編碼 SEQ ID NO：4 之 M281-HC 蛋白質。

【0190】抗體構築體被選殖至適合的質體中，然後用於在宿主細胞中表現，從生產宿主細胞株中純化並調配用於靜脈內遞送。

【0191】

實施例 4.具有預先存在的中和抗體之非人類靈長類動物的抗 FcRN 抗體治療

於此研究，吾人使用替代的 M281 方案測試 M281 對 NHP 之預先存在的 AAV8 NAb 的效果。NHP 先前在 2015 年係藉由靜脈內投予而投予 AAV8。使用歷史的 AAV8 對照作為參考。測量基線 AAV8 NAb 水準，NHP 研究受試者為 1：40，歷史對照為 <1：5。M281 的投予劑量多至 13 mg/kg。圖 9 顯示在以 1×10^{13} GC/kg 的劑量重新投予 AAV8.TT3(試驗轉基因 3)後評估阻斷預先存在的 FcRn NAb 效價的影響的研究設計。於第 14 日測量 TT3 表現之血清水準。於第 14 日對 NHP 研究受試者進行屍體剖檢，並對歷史對照受試者進行肝臟生檢。收集的組織用於分析 TT3 表現(ISH/IHC)。亦分析由研究受試者收集的組織及樣品的 TT3 表現的血清水準及載體生物分布。

【0192】圖 10A 及 10B 顯示 AAV8.TT3 重新投予研究之結果，其中 M281 投予降低 NHP(先前投予 AAV8.TT3)中預先存在的 NAb 效價(AAV8)以及 IgG。圖 10A 顯示恆河獼猴 IgG(rhIgG)之血清水準，繪製為第 -5 日的百分比，其中 NHP 於第 -5、-4、-3、及 -2 日被投予 M281，且於第 0 日被投予 AAV8.TT3。圖 10B 顯示 M281 之測量的血清水準，繪製為 mg/mL。

【0193】下表 5 顯示如上檢查的 AAV8 NAb 水準的總結。下表 6 顯示 AAV8 結合 ELISA 分析之結果的總結。

【 0194 】 表 5.

動物 ID	研究日	於 HEK293 細胞的 AAV8 NAb				
		Rep 1	Rep 2	Rep 3	Rep 4	RLU/s 的平均
RA1476	預篩選	40	N/A	N/A	N/A	40
	基線	80	40	40	40	80
	第-5 日	40	40	40	40	40
	第-4 日	80	40	40	40	40
	第-3 日	40	40	40	20	40
	第-2 日	40	20	20	40	40
	第 0 日	10	10	10	10	10

【 0195 】 表 6.

動物 ID	研究日	AAV8 結合 Elisa	
		Rep 1	Rep 2
RA1476	預篩選	N/A	N/A
	基線	400	400
	第-5 日	400	400
	第-4 日	200	200
	第-3 日	200	200
	第-2 日	200	200
	第 0 日	100	100

【 0196 】 圖 11A 及 11B 顯示另一 AAV8.TT3 研究的結果，其中 M281 投予降低 NHP 中預先存在的 NAb 效價(AAV8)以及 IgG，該 NHP 係藉由自然感染而具有預先存在的 NAb+(1：20)。圖 11A 顯示總恆河獼猴 IgG 水準(rhIgG)，繪製為第-5 日的百分比，其中 NHP 於第-5、-4、-3、及-2 日被投予 M281，且於第 0 日被投予 AAV8.TT3。圖 11B 顯示血清 M281 水準(hIgG)，繪製為 mg/mL 並使用 ELISA 測量。表 7 顯示如上檢查的 AAV8 NAb 水準的總結。下表 8 顯示 AAV8 結合 ELISA 分析之結果的總結。

【 0197】 表 7.

動物 ID	研究日	於 HEK293 細胞的 AAV8 NAb				
		Rep 1	Rep 2	Rep 3	Rep 4	RLU/s 的平均
181262	預篩選	10	20	N/A	N/A	20
	基線	10	20	20	10	20
	第-5 日	10	10	10	10	10
	第-4 日	5	10	5	5	5
	第-3 日	10	10	10	10	10
	第-2 日	<5	<5	<5	<5	<5
	第 0 日					<5

【 0198】 表 8.

動物 ID	研究日	AAV8 結合 Elisa	
		Rep 1	Rep 2
181262	預篩選	N/A	N/A
	基線	N/A	N/A
	第-5 日	20	20
	第-4 日	20	20
	第-3 日	10	10
	第-2 日	<10	<10

【 0199】

表(序列表非關鍵詞文字)

對於含有在數字識別號 <223> 下的非關鍵詞文字的序列，提供下列資訊。

SEQ ID NO : (含有非關鍵詞文字)	在<223>下的非關鍵詞文字
1	<220> <223> M281-LC 表現質體 <220> <221> 啟動子 <222> (47)..(726) <223> CMV 啟動子 <220> <221> CDS <222> (754)..(1467) <223> M281_LC <220> <221> misc_feature <222> (1514)..(2111) <223> WRPE <220> <221> misc_feature <222> (2115)..(2386) <223> TK pA 訊息 <220> <221> 啟動子 <222> (2855)..(3224) <223> SV40 早期啟動子 <220> <221> misc_feature <222> (3260)..(4054) <223> Neo-R <220> <221> polyA_訊息 <222> (4230)..(4360) <223> SV40 pA 訊息 <220> <221> rep_origin <222> (4743)..(5416) <223> pUC ori <220> <221> misc_feature <222> (5561)..(6421) <223> Amp-R <220> <221> 啟動子 <222> (6422)..(6520) <223> bla 啟動子

SEQ ID NO : (含有非關鍵詞文字)	在<223>下的非關鍵詞文字
2	<220> <223> 合成的構築體
3	<220> <223> M281-HC 表現質體 <220> <221> 啟動子 <222> (47)..(726) <223> CMV 啟動子 <220> <221> CDS <222> (754)..(2154) <223> M281_HC <220> <221> misc_feature <222> (2201)..(2798) <223> WRPE <220> <221> misc_feature <222> (2802)..(3073) <223> TK pA 訊息 <220> <221> 啟動子 <222> (3542)..(3911) <223> SV40 早期啟動子 <220> <221> misc_feature <222> (3947)..(4741) <223> Neo-R <220> <221> polyA_訊息 <222> (4917)..(5047) <223> SV40 pA 訊息 <220> <221> rep_origin <222> (5430)..(6103) <223> pUC ori <220> <221> misc_feature <222> (6248)..(7108) <223> Amp-R <220> <221> 啟動子 <222> (7109)..(7207) <223> bla 啟動子

SEQ ID NO : (含有非關鍵詞文字)	在<223>下的非關鍵詞文字
4	<220> <223> 合成的構築體
5	<220> <223> M281_LC 核酸序列
6	<220> <223> M281_HC 核酸序列
7	<220> <223> M281_LC 胺基酸序列
8	<220> <223> M281_HC 胺基酸序列
9	<220> <223> CDR-L1 核酸序列
10	<220> <223> CDR-L1 胺基酸序列
11	<220> <223> CDR-L2 核酸序列
12	<220> <223> CDR-L2 胺基酸序列
13	<220> <223> CDR-L3 核酸序列
14	<220> <223> CDR-L3 胺基酸序列
15	<220> <223> CDR-H1 核酸序列
16	<220> <223> CDR-H1 胺基酸序列
17	<220> <223> CDR-H2 核酸序列
18	<220> <223> CDR-H2 胺基酸序列
19	<220> <223> CDR-H3 核酸序列
20	<220> <223> CDR-H3 胺基酸序列
21	<220> <223> CDR-H1 變異體 1
22	<220> <223> CDR-H1 變異體 2
23	<220> <223> CDR-H2 變異體 1
24	<220> <223> CDR-H2 變異體 2
25	<220> <223> CDR-H2 變異體 3
26	<220> <223> Z_FcRn-2
27	<220> <223> Z_FcRn-4
28	<220> <223> Z_FcRn-16
29	<220> <223> SYN746

SEQ ID NO : (含有非關鍵詞文字)	在<223>下的非關鍵詞文字
30	<220> <223> SYN1327
31	<220> <223> SYN1327-經修飾 <220> <221> MOD_RES <222> (3)..(3) <223> Pen <220> <221> MOD_RES <222> (9)..(9) <223> Sar <220> <221> MOD_RES <222> (10)..(10) <223> NMeLeu
32	<220> <223> 98420-1 胺基酸序列
33	<220> <223> 98420-2
34	<220> <223> 98420-3
35	<220> <223> 98420-4
36	<220> <223> 98420-5
37	<220> <223> DX2504LC
38	<220> <223> DX2504HC
39	<220> <223> DX2507LC
40	<220> <223> DX2507HC
41	<220> <223> DX-CDR-L3
42	<220> <223> DX-CDR-L2
43	<220> <223> DX-CDR-H1
44	<220> <223> DX-CDR-H2
45	<220> <223> hFcRN 胺基酸序列

【0200】本說明書所引用之所有公開文獻藉由引用完整併入本文。2020年6月17日申請的US臨時專利申請案No. 63/040,381、2021年1月11日申請的US臨時

專利申請案 No. 63/135,998 及 2021 年 2 月 22 日申請的 US 臨時專利申請案 No. 63/152,085 係藉由引用併入本文。附隨的標記為「20-9394TW_SeqListing_ST25」的序列表係藉由引用併入。儘管已經參考特定具體實施例描述本發明，但應當理解，可於不脫離本發明的精神的情況下進行修改。此種修改意圖落入所附申請專利權利的範疇內。

【符號說明】

無。

序列表

- <110> 賓州大學委員會(The Trustees of the University of Pennsylvania)
- <120> 用於治療基因療法患者之組成物及方法
- <130> UPN-20-9394. TW
- <140> TW 110121993
- <141> 2021-06-16
- <150> US 63/040,381
- <151> 2020-06-17
- <150> US 63/152,085
- <151> 2021-02-22
- <150> US 63/135,998
- <151> 2021-01-11
- <160> 45
- <170> PatentIn版本3.5
- <210> 1
- <211> 6742
- <212> DNA
- <213> 人工序列
- <220>
- <223> M281-LC表現質體
- <220>
- <221> 啟動子
- <222> (47).. (726)
- <223> CMV啟動子
- <220>
- <221> CDS
- <222> (754).. (1467)
- <223> M281_LC
- <220>
- <221> misc_feature
- <222> (1514).. (2111)
- <223> WRPE
- <220>
- <221> misc_feature
- <222> (2115).. (2386)
- <223> TK pA訊息
- <220>
- <221> 啟動子
- <222> (2855).. (3224)
- <223> SV40早期啟動子
- <220>
- <221> misc_feature

<222> (3260).. (4054)
<223> Neo-R

<220>
<221> polyA_訊息
<222> (4230).. (4360)
<223> SV40 pA訊息

<220>
<221> rep_origin
<222> (4743).. (5416)
<223> pUC ori

<220>
<221> misc_feature
<222> (5561).. (6421)
<223> Amp-R

<220>
<221> 啟動子
<222> (6422).. (6520)
<223> bla啟動子

<400> 1	
gttaggcgtt ttgcgtgct tcgcgatgta cgggccagat atacgcgttg acattgatta	60
ttgactagtt attaatagta atcaattacg gggtcattag ttcatagccc atatatggag	120
ttccgcgtta cataacttac ggtaaatggc ccgcctggct gaccgcccac cgacccccgc	180
ccattgacgt caataatgac gtatgttccc atagtaacgc caatagggac tttccattga	240
ogtcaatggg tggagtattt acggtaaaact gcccaacttg cagtacatca agtgtatcat	300
atgccaagta cgcacctat tgacgtcaat gacggtaaat ggccgcctg gcattatgcc	360
cagtacatga ctttatggga ctttctact tggcagtaca tctacgtatt agtcatcgct	420
attaccatgg tgatgcgggt ttggcagtac atcaatgggc gtggatagcg gtttgactca	480
cggggatttc caagtctcca cccattgac gtcaatggga gtttgttttg gcacccaaat	540
caacgggact ttccaaaatg tcgtaacaac tccgccccat tgacgcaaat gggcggtagg	600
cgtgtacggt gggagggtcta tataagcaga gctcgtttag tgaaccgtca gatcgctgg	660
agacgccatc cacgtgttt tgacctocat agaagacacc gggaccgatc cagcctccgg	720
actctagagg atcgaacctt tggatccgcc acc atg gaa acc gat aca ctg ctg	774
Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu	
1 5	
ctg tgg gtg ctg ttg ctc tgg gtg cca gga tct aca ggc cag tct gct	822
Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro Gly Ser Thr Gly Gln Ser Ala	
10 15 20	
ctg act cag cct gcc tct gtt tct ggc tcc cct ggc cag tct atc acc	870

Leu	Thr	Gln	Pro	Ala	Ser	Val	Ser	Gly	Ser	Pro	Gly	Gln	Ser	Ile	Thr	
25						30					35					
atc	tct	tgt	acc	ggc	acc	ggc	tcc	gac	gtg	ggc	tct	tat	aac	ctg	gtg	918
Ile	Ser	Cys	Thr	Gly	Thr	Gly	Ser	Asp	Val	Gly	Ser	Tyr	Asn	Leu	Val	
40					45				50					55		
tcc	tgg	tat	cag	cag	cac	ccc	gga	aag	gcc	cct	aag	ctg	atg	atc	tac	966
Ser	Trp	Tyr	Gln	Gln	His	Pro	Gly	Lys	Ala	Pro	Lys	Leu	Met	Ile	Tyr	
			60						65				70			
ggc	gac	tct	gaa	cgg	cct	tcc	ggc	gtg	tcc	aat	aga	ttc	tcc	ggc	tcc	1014
Gly	Asp	Ser	Glu	Arg	Pro	Ser	Gly	Val	Ser	Asn	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	
			75					80				85				
aag	tcc	ggc	aat	acc	gcc	tct	ctg	aca	atc	agt	gga	ctg	cag	gcc	gag	1062
Lys	Ser	Gly	Asn	Thr	Ala	Ser	Leu	Thr	Ile	Ser	Gly	Leu	Gln	Ala	Glu	
		90					95					100				
gac	gag	gcc	gac	tac	tac	tgt	tct	tct	tac	gcc	ggc	tcc	ggc	atc	tac	1110
Asp	Glu	Ala	Asp	Tyr	Tyr	Cys	Ser	Ser	Tyr	Ala	Gly	Ser	Gly	Ile	Tyr	
	105					110					115					
gtg	ttc	ggc	acc	gga	aca	aaa	gtg	acc	gtg	ctg	gga	cag	cct	aag	gcc	1158
Val	Phe	Gly	Thr	Gly	Thr	Lys	Val	Thr	Val	Leu	Gly	Gln	Pro	Lys	Ala	
120					125					130					135	
gct	cct	tct	gtg	acc	ctg	ttt	cct	cca	tcc	tcc	gag	gaa	ctg	cag	gct	1206
Ala	Pro	Ser	Val	Thr	Leu	Phe	Pro	Pro	Ser	Ser	Glu	Glu	Leu	Gln	Ala	
			140						145				150			
aac	aag	gct	acc	ctc	gtg	tgc	ctg	atc	tcc	gat	ttt	tac	cct	ggc	gct	1254
Asn	Lys	Ala	Thr	Leu	Val	Cys	Leu	Ile	Ser	Asp	Phe	Tyr	Pro	Gly	Ala	
			155					160					165			
gtg	acc	gtg	gcc	tgg	aag	gct	gat	agt	tct	cct	gtg	aag	gcc	ggc	gtg	1302
Val	Thr	Val	Ala	Trp	Lys	Ala	Asp	Ser	Ser	Pro	Val	Lys	Ala	Gly	Val	
		170					175					180				
gaa	acc	acc	aca	cct	tcc	aag	cag	tcc	aac	aac	aaa	tac	gcc	gcc	tcc	1350
Glu	Thr	Thr	Thr	Pro	Ser	Lys	Gln	Ser	Asn	Asn	Lys	Tyr	Ala	Ala	Ser	
		185				190					195					
tcc	tac	ctg	tct	ctg	acc	cct	gaa	cag	tgg	aag	tcc	cac	aag	tcc	tac	1398
Ser	Tyr	Leu	Ser	Leu	Thr	Pro	Glu	Gln	Trp	Lys	Ser	His	Lys	Ser	Tyr	
200					205					210					215	
agc	tgc	caa	gtg	acc	cat	gag	ggc	tcc	acc	gtg	gaa	aag	aca	gtg	gcc	1446
Ser	Cys	Gln	Val	Thr	His	Glu	Gly	Ser	Thr	Val	Glu	Lys	Thr	Val	Ala	
			220						225					230		
cct	acc	gag	tgc	tcc	tga	tga	ctcgagaagg	gttcgatccc	taccggttag							1497
Pro	Thr	Glu	Cys	Ser												
			235													
taatgagttt	gatatctcga	caatcaacct	ctggattaca	aaatttgtga	aagattgact											1557

ggatattctta actatgttgc tccttttaacg ctatgtggat acgctgcttt aatgcctttg	1617
tatcatgcta ttgcttcccg tatggctttc attttctcct ccttgtataa atcctggttg	1677
ctgtctcttt atgaggagtt gtggcccggt gtcaggcaac gtggcgtggt gtgcactgtg	1737
tttgcgtacg caacccccac tggttggggc attgccacca cctgtcagct cctttccggg	1797
actttcgctt tccccctccc tattgccacg gcggaactca tcgccgcctg ccttgcccg	1857
tgctggacag gggctoggct gttgggcaact gacaattcog tgggtgtgtc ggggaagctg	1917
acgtcctttc catggctgct cgctgtgtt gccacctgga ttctgcgcgg gacgtccttc	1977
tgctacgtcc cttaggcct caatccagcg gaccttcctt cccgcggcct gctgccggct	2037
ctgcggcctc ttccgcgtct tcgccttcgc cctcagaaga gtcggatctc cctttgggcc	2097
gcctccccgc ctggaacggg ggaggctaac tgaaacacgg aaggagacaa taccggaagg	2157
aaaccgcgct atgacggcaa taaaaagaca gaataaaacg cacgggtgtt gggtcgtttg	2217
ttcataaacg cggggttcgg tcccagggt ggcactctgt cgatacccca ccgagacccc	2277
attggggcca ataagccgc gtttcttctt tttccccacc ccacccccca agttcgggtg	2337
aaggcccagg gctgcagcc aacgtogggg cggcaggccc tgccatagca gatctgcgca	2397
gctggggctc taggggtat ccccacgogc cctgtagcgg cgcattaagc gcggcgggtg	2457
tgggtgttac gcgcagcgtg accgctaac ttgccagcgc cctagcgcgc gctcctttcg	2517
ctttcttccc ttcttttctc gccacgttcg ccggctttcc ccgtcaagct ctaaactcggg	2577
ggctcccttt agggttccga tttagtgtt tacggcacct cgaccccaaa aaacttgatt	2637
agggtgatgg ttacgtagt gggccatogc cctgatagac ggtttttcgc cctttgacgt	2697
tggagtccac gttctttaat agtggactct tgttccaaac tggaacaaca ctcaacccta	2757
tctcggctca ttcttttgat ttataaggga ttttgccgat ttccggcctat tggttaaaaa	2817
atgagctgat ttaacaaaaa tttaacgcga attaatctg tggaatgtgt gtcagttagg	2877
gtgtggaaag tccccaggct cccacgcagg cagaagtatg caaagcatgc atctcaatta	2937
gtcagcaacc aggtgtggaa agtccccagg ctccccagca ggcagaagta tgcaaagcat	2997
gcattctaat tagtcagcaa ccatagtccc gcccttaact ccgcccattc cgccttaac	3057
tccgccaggt tccgccatt ctccgccccca tggctgacta atttttttta tttatgcaga	3117
ggccgaggcc gcctctgcct ctgagctatt ccagaagtag tgaggaggct tttttggagg	3177
cctaggcttt tgcaaaaagc tcccgggagc ttgtatatcc attttcggat ctgatcaaga	3237
gacaggatga ggatcgtttc gcatgattga acaagatgga ttgcacgcag gttctccggc	3297

cgcttgggtg gagaggctat tcggctatga ctgggcacaa cagacaatcg gctgctctga	3357
tgccgccgtg ttccggctgt cagcgcaggg gcgcccggtt ctttttgtca agaccgacct	3417
gtccgggtgcc ctgaatgaac tgcaggacga ggcagcgcgg ctatcgtggc tggccacgac	3477
ggcggttcct tgcgcagctg tgctcgacgt tgtcactgaa gcgggaaggg actggctgct	3537
attgggcgaa gtgccggggc aggatctcct gtcctctcac cttgctcctg ccgagaaagt	3597
atccatcatg gctgatgcaa tgcggcggct gcatacgctt gatccggcta cctgcccatt	3657
cgaccaccaa gcgaaacatc gcctcgagcg agcacgtact cggatggaag ccggtcttgt	3717
cgatcaggat gatctggacg aagagcatca ggggctcgcg ccagccgaac tgttcgccag	3777
gctcaaggcg cgcattgccg acggcgagga tctcgtcgtg acctatggcg atgcctgctt	3837
gccgaatatc atggtggaaa atggccgctt ttctggattc atcgactgtg gccggctggg	3897
tgtggcggac cgctatcagg acatagcggt ggctaccgt gatattgctg aagagcttgg	3957
cgcggaatgg gctgaccgtt tcctcgtgct ttacggtatc gccgctcccg attcgcagcg	4017
catcgccctc tatcgccctc ttgacgagtt cttctgagcg ggactctggg gttcgcgaaa	4077
tgaccgacca agcgacgccc aacctgccat cacgagattt cgattccacc gccgccttct	4137
atgaaagggtt gggcttcgga atcgttttcc gggacgcgg ctggatgac ctccagcgcg	4197
gggatctcat gctggagttc ttcccccacc ccaacttggt tattgcagct tataatggtt	4257
acaaataaag caatagcatc acaaatttca caaataaagc atttttttca ctgcattcta	4317
gttgttggtt gtccaaactc atcaatgtat cttatcatgt ctgtataccg tcgacctcta	4377
gctagagctt ggcgtaatca tggatcatagc tgtttcctgt gtgaaattgt tatccgctca	4437
caattccaca caacatacga gccggaagca taaagtgtaa agcctggggg gcctaattgag	4497
tgagctaact cacattaatt gcgttgcgct cactgcccgc tttccagtcg ggaaacctgt	4557
cgtgccagct gcattaatga atcggccaac gcgcggggag aggcgggttg cgtattgggc	4617
gctcttcgcg ttctcgcctc actgactcgc tgcgctcggc cgttcggctg cggcgagcgg	4677
tatcagctca ctcaaaggcg gtaatacggc tatccacaga atcaggggat aacgcaggaa	4737
agaacatgtg agcaaaaggc cagcaaaagg ccaggaaccg taaaaaggcc gcgttgctgg	4797
cgttttttcca taggctccgc cccctgacg agcatcacaa aaatcgacgc tcaagtcaga	4857
ggtggcgaaa cccgacagga ctataaagat accaggcggt tccccctgga agctccctcg	4917
tgcgctctcc tgttcgacc ctgccgtta ccggatacct gtccgccttt ctcccttcgg	4977

gaagcgtggc gctttctcat agtcacgct gtaggtatct cagttcggtg taggtcgttc	5037
gctccaagct gggctgtgtg cacgaacccc ccgttcagcc cgaccgctgc gccttatccg	5097
gtaactatcg tcttgagtc aacccggtaa gacacgactt atcgccactg gcagcagcca	5157
ctggtaacag gattagcaga gcgaggtatg taggcgggtg tacagagttc ttgaagtgg	5217
ggcctaacta cggctacact agaagaacag tatttggat ctgcgctctg ctgaagccag	5277
ttaccttcgg aaaaagagtt ggtagctctt gatccggcaa acaaaccacc gctggtagcg	5337
gtggtttttt tgtttgcaag cagcagatta cgcgcagaaa aaaaggatct caagaagatc	5397
ctttgatctt ttctacgggg tctgacgctc agtggaaaga aaactcacgt taagggattt	5457
tggtcatgag attatcaaaa aggatcttca cctagatcct tttaaattaa aaatgaagtt	5517
ttaaatcaat ctaaagtata tatgagtaaa cttggtctga cagttaccaa tgcttaatca	5577
gtgaggcacc tatctcagcg atctgtctat ttctgtcctc catagttgcc tgactccccg	5637
togttagat aactacgata cgggagggct taccatctgg cccagtgct gcaatgatac	5697
cgcgagaccc acgctcaccg gctccagatt tatcagcaat aaaccagcca gccggaaggg	5757
ccgagcgcag aagtggctct gcaactttat ccgcctccat ccagtctatt aattgttgcc	5817
gggaagctag agtaagtagt tcgccagtta atagtttgcg caacgttggt gccattgcta	5877
caggcatcgt ggtgtcacgc tcgtcgtttg gtatggcttc attcagctcc ggttcccaac	5937
gatcaaggcg agttacatga tccccatgt tgtgcaaaaa agcggttagc tccttcggtc	5997
ctccgatcgt tgtcagaagt aagttggcgc cagtgttctc actcatggtt atggcagcac	6057
tgcataattc tcttactgtc atgccatccg taagatgctt ttctgtgaat ggtgagtact	6117
caaccaagtc attctgagaa tagtgtatgc ggccagcgag ttgctcttgc ccggcgtcaa	6177
tacgggataa taccgcgcca catagcagaa ctttaaaagt gctcatcatt ggaaaacgtt	6237
cttcggggcg aaaactctca aggatcttac cgctgttgag atccagttcg atgtaacca	6297
ctcgtgcacc caactgatct tcagcatctt ttactttcac cagcgtttct gggtgagcaa	6357
aaacaggaag gcaaaatgcc gcaaaaaagg gaataagggc gacacggaaa tgttgaatac	6417
tcatactctt cttttttcaa tattattgaa gcatttatca gggttattgt ctcatgagcg	6477
gatacatatt tgaatgtatt tagaaaaata aacaaatagg ggttccgcgc acatttcccc	6537
gaaaagtgcc acctgacgtc gacggatcgg gagatctccc gatccccat ggtcgactct	6597
cagtacaatc tgctctgatg ccgcatagtt aagccagtat ctgctccctg cttgtgtgtt	6657
ggaggtcgtc gagtagtgcg cgagcaaaat ttaagctaca acaaggcaag gcttgaccga	6717

caattgcatg aagaatctgc ttagg

6742

<210> 2

<211> 236

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的構築體

<400> 2

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro
1 5 10 15

Gly Ser Thr Gly Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly
20 25 30

Ser Pro Gly Gln Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Gly Ser Asp
35 40 45

Val Gly Ser Tyr Asn Leu Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys
50 55 60

Ala Pro Lys Leu Met Ile Tyr Gly Asp Ser Glu Arg Pro Ser Gly Val
65 70 75 80

Ser Asn Arg Phe Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr
85 90 95

Ile Ser Gly Leu Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser
100 105 110

Tyr Ala Gly Ser Gly Ile Tyr Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr
115 120 125

Val Leu Gly Gln Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro
130 135 140

Ser Ser Glu Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile
145 150 155 160

Ser Asp Phe Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser
165 170 175

Ser Pro Val Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser
180 185 190

Asn Asn Lys Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln
195 200 205

Trp Lys Ser His Lys Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser
210 215 220

Thr Val Glu Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
225 230 235

<210> 3
<211> 7429
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> M281-HC表現質體

<220>
<221> 啟動子
<222> (47).. (726)
<223> CMV啟動子

<220>
<221> CDS
<222> (754).. (2154)
<223> M281_HC

<220>
<221> misc_feature
<222> (2201).. (2798)
<223> WRPE

<220>
<221> misc_feature
<222> (2802).. (3073)
<223> TK pA訊息

<220>
<221> 啟動子
<222> (3542).. (3911)
<223> SV40早期啟動子

<220>
<221> misc_feature
<222> (3947).. (4741)
<223> Neo-R

<220>

<221> polyA_訊息
<222> (4917).. (5047)
<223> SV40 pA訊息

<220>
<221> rep_origin
<222> (5430).. (6103)
<223> pUC ori

<220>
<221> misc_feature
<222> (6248).. (7108)
<223> Amp-R

<220>
<221> 啟動子
<222> (7109).. (7207)
<223> bla啟動子

<400> 3
gttaggcgtt ttgcgtgct tcgcgatgta cgggccagat atacgcgttg acattgatta 60
ttgactagtt attaatagta atcaattacg gggtcattag ttcatagccc atatatggag 120
ttcgcgtta cataacttac ggtaaatggc ccgcctggct gaccgcccac cgacccccgc 180
ccattgacgt caataatgac gtatgttccc atagtaacgc caatagggac tttccattga 240
cgtcaatggg tggagtattt acggtaaact gcccaacttg cagtacatca agtgtatcat 300
atgccaagta cgcacctat tgacgtcaat gacggtaa at ggccgcctg gcattatgcc 360
cagtacatga ctttatggga ctttctact tggcagtaca tctacgtatt agtcatcgct 420
attaccatgg tgatgcgggt ttggcagtac atcaatgggc gtggatagcg gtttgactca 480
cggggatttc caagtctcca cccattgac gtcaatggga gtttgttttg gcacccaaat 540
caacgggact ttccaaaatg tcgtaacaac tccgccccat tgacgcaa at gggcggtagg 600
cgtgtacggt gggagggtcta tataagcaga gctcgtttag tgaaccgtca gatcgctgg 660
agaagccatc cacgtgttt tgacctcat agaagacacc gggaccgatc cagcctccgg 720
actctagagg atcgaacct tggatccgcc acc atg gaa acc gat aca ctg ctg 774
Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu
1 5

ctg tgg gtg ctg ttg ctc tgg gtt cca gga tot aca ggc gag gtg cag 822
Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro Gly Ser Thr Gly Glu Val Gln
10 15 20

ctg ttg gaa tot ggc gga gga ttg gtt cag cct ggc ggc tot ctg aga 870
Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg
25 30 35

ctg tct tgt gct gcc tct ggc ttc acc ttc tot acc tac gct atg ggc 918

Leu 40	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser 45	Gly	Phe	Thr	Phe	Ser 50	Thr	Tyr	Ala	Met	Gly 55	
tgg Trp	gtc Val	cga Arg	cag Gln	gct Ala	cct Pro	gga Gly	aaa Lys	gga Gly	ctg Leu	gaa Glu	tgg Trp	gtg Val	tcc Ser	tct Ser	atc Ile	966
			60						65					70		
ggc Gly	gcc Ala	tct Ser	ggc Gly	agc Ser	cag Gln	acc Thr	aga Arg	tac Tyr	gct Ala	gat Asp	tcc Ser	gtg Val	aag Lys	ggc Gly	aga Arg	1014
			75					80					85			
ttc Phe	acc Thr	atc Ile	agc Ser	cgg Arg	gac Asp	aac Asn	tcc Ser	aag Lys	aac Asn	acc Thr	ctg Leu	tac Tyr	ctg Leu	cag Gln	atg Met	1062
		90					95					100				
aac Asn	tcc Ser	ctg Leu	aga Arg	gcc Ala	gag Glu	gac Asp	acc Thr	gcc Ala	gtg Val	tac Tyr	tat Tyr	tgt Cys	gct Ala	aga Arg	ctg Leu	1110
	105					110					115					
gcc Ala	atc Ile	ggc Gly	gac Asp	tct Ser	tat Tyr	tgg Trp	ggc Gly	cag Gln	gga Gly	aca Thr	atg Met	gtc Val	acc Thr	gtg Val	tcc Ser	1158
120					125					130					135	
tct Ser	gct Ala	tcc Ser	acc Thr	aag Lys	gga Gly	cct Pro	tcc Ser	gtg Val	ttt Phe	cct Pro	ctg Leu	gct Ala	cct Pro	tcc Ser	agc Ser	1206
				140					145					150		
aag Lys	tct Ser	acc Thr	tct Ser	ggt Gly	gga Gly	acc Thr	gct Ala	gct Ala	ctg Leu	ggc Gly	tgc Cys	ctg Leu	gtc Val	aag Lys	gat Asp	1254
			155					160					165			
tac Tyr	ttt Phe	cct Pro	gag Glu	cct Pro	gtg Val	acc Thr	gtg Val	tct Ser	tgg Trp	aac Asn	tcc Ser	ggt Gly	gct Ala	ctg Leu	aca Thr	1302
		170					175					180				
tcc Ser	ggc Gly	gtg Val	cac His	aca Thr	ttt Phe	cca Pro	gct Ala	gtg Val	ctg Leu	cag Gln	tcc Ser	tcc Ser	ggc Gly	ctg Leu	tac Tyr	1350
	185					190					195					
tct Ser	ctg Leu	tcc Ser	tct Ser	gtc Val	gtg Val	acc Thr	gtg Val	cct Pro	tct Ser	agc Ser	tct Ser	ctg Leu	ggc Gly	acc Thr	cag Gln	1398
200					205					210					215	
acc Thr	tac Tyr	atc Ile	tgc Cys	aac Asn	gtg Val	aac Asn	cac His	aag Lys	cct Pro	tcc Ser	aac Asn	acc Thr	aag Lys	gtg Val	gac Asp	1446
				220					225					230		
aag Lys	aag Lys	gtg Val	gaa Glu	ccc Pro	aag Lys	tcc Ser	tgc Cys	gac Asp	aag Lys	acc Thr	cac His	acc Thr	tgt Cys	cct Pro	cca Pro	1494
			235					240					245			
tgt Cys	cct Pro	gct Ala	cca Pro	gaa Glu	ctg Leu	ctc Leu	ggc Gly	gga Gly	ccc Pro	tct Ser	gtg Val	ttc Phe	ctg Leu	ttt Phe	cca Pro	1542
		250					255					260				
cct Pro	aag Lys	cct Pro	aag Lys	gac Asp	acc Thr	ctg Leu	atg Met	atc Ile	tct Ser	cgg Arg	acc Thr	cct Pro	gaa Glu	gtg Val	acc Thr	1590

265	270	275	
tgc gtg gtg gtg gat gtg tct cac gag gac cca gaa gtg aag ttc aat			1638
Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn			
280	285	290	295
tgg tac gtg gac ggc gtg gaa gtg cac aac gcc aag acc aag cct aga			1686
Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg			
	300	305	310
gag gaa cag tac gcc tcc acc tac aga gtg gtg tct gtg ctg acc gtg			1734
Glu Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val			
	315	320	325
ctg cac cag gat tgg ctg aac ggc aaa gag tac aag tgc aag gtg tcc			1782
Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser			
	330	335	340
aac aag gcc ctg cct gct cct atc gaa aag acc atc tcc aag gct aag			1830
Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys			
	345	350	355
ggc cag cct cgg gaa cct cag gtt tac acc ctg cct cca tct cgg gaa			1878
Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu			
360	365	370	375
gag atg acc aag aac cag gtg tcc ctg acc tgc ctc gtg aag gga ttc			1926
Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe			
	380	385	390
tac cct tcc gat atc gcc gtg gaa tgg gag tct aac ggc cag cca gag			1974
Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu			
	395	400	405
aac aac tac aag aca acc cct cct gtg ctg gac tcc gac ggc tca ttc			2022
Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe			
	410	415	420
ttc ctg tac tcc aag ctg aca gtg gac aag tct cgg tgg cag cag ggc			2070
Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly			
	425	430	435
aac gtg ttc tcc tgt tct gtg atg cac gag gcc ctg cac aac cac tac			2118
Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr			
440	445	450	455
aca cag aag tcc ctg tct ctg tcc cct ggc tga tga ctcgagaagg			2164
Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly			
	460	465	
gttcgatccc taccggttag taatgagttt gatatctoga caatcaacct ctggattaca			2224
aaatttgtga aagattgact ggtattotta actatgttgc tccttttacg ctatgtggat			2284
acgctgcttt aatgcctttg tatcatgcta ttgcttcccg tatggctttc attttctcct			2344
ccttgtataa atcctggttg ctgtctcttt atgaggagtt gtggcccggtt gtcaggcaac			2404

gtggcgtggt gtgcactgtg tttgtgacg caacccccac tggttggggc attgccacca	2464
cctgtcagct cctttccggg actttcgctt tccccctccc tattgccacg gcggaactca	2524
tcgcgcctg ccttgcccg cgttggaacg gggctcggt gttggggcact gacaattccg	2584
tggtgttgtc ggggaagctg acgtcctttc catggctgct cgcctgtgtt gccacctgga	2644
ttctgcgcgg gacgtccttc tgctacgtcc cttcggccct caatccagcg gaccttcctt	2704
cccgccgct gctgcgggt ctcgggcctc ttccgcgtct tcgccttcgc cctcagacga	2764
gtcggatctc cctttggggc gcctccccgc ctggaaacgg ggaggctaac tgaaacacgg	2824
aaggagacaa taccggaagg aaccgcgcgt atgacggcaa taaaaagaca gaataaacg	2884
cacgggtgtt gggtcgtttg ttcataaacg cggggttcgg tcccagggct ggcactctgt	2944
cgatacccca ccgagacccc attggggcca atacgccgc gtttcttcct tttccccacc	3004
ccacccccca agttcgggtg aaggcccagg gctcgcagcc aacgtcgggg cggcaggccc	3064
tgccatagca gatctgcgca gctggggctc taggggggtat cccacgcgc cctgtagcgg	3124
cgcattaagc gcggcgggtg tgggtggttac gcgcagcgtg accgctacac ttgccagcgc	3184
cctagcgcgc gctcctttcg ctttcttccc ttctttctc gccacgttcg ccggctttcc	3244
ccgtcaagct ctaaatacggg ggctcccttt agggttccga tttagtgtt tacggcacct	3304
cgacccccaa aaacttgatt aggtgatgg ttcacgtagt gggccatcgc cctgatagac	3364
ggtttttcgc cctttgacgt tggagtccac gttctttaat agtggactct tgttccaaac	3424
tggaacaaca ctcaacccta tctcgggtcta ttcttttgat ttataaggga ttttgccgat	3484
ttcggcctat tggttaaaaa atgagctgat ttaacaaaaa tttacgcga attaatctg	3544
tggaatgtgt gtcagttagg gtgtggaaag tccccaggct cccagcagg cagaagtatg	3604
caaagcatgc atctcaatta gtcagcaacc aggtgtggaa agtccccagg ctccccagca	3664
ggcagaagta tgcaaagcat gcatctcaat tagtcagcaa ccatagtccc gcccctaact	3724
ccgcccattc cgcccctaac tccgccaggt tccgccatt ctccgcccc tggctgacta	3784
atTTTTTTT tttatgcaga ggccgaggcc gcctctgcct ctgagctatt ccagaagtag	3844
tgaggaggct tttttggagg cctaggcttt tgcaaaaagc tccggggagc ttgtatatcc	3904
attttcggat ctgatcaaga gacaggatga gcatcgtttc gcatgattga acaagatgga	3964
ttgcacgcag gttctccggc cgcttgggtg gagaggctat tcggctatga ctgggcacaa	4024
cagacaatcg gctgctctga tgccgcgtg ttccggctgt cagcgcaggg gcgcccgtt	4084

ctttttgtca agaccgacct gtccggtgcc ctgaatgaac tgcaggacga ggcagcgcg	4144
ctatcgtggc tggccaacgac gggcgttcct tgcgcagctg tgctcgacgt tgtcactgaa	4204
gcgggaaggg actggctgct attgggcgaa gtgccggggc aggatctcct gtcattctac	4264
cttgctcctg ccgagaaagt atccatcatg gctgatgcaa tgcggcggct gcatacgctt	4324
gatccggcta cctgcccatt cgaccaccaa gcgaaacatc gcatcgagcg agcacgtact	4384
cggatggaag ccggtcttgt cgatcaggat gatctggacg aagagcatca ggggctcgcg	4444
ccagccgaac tgttcgccag gctcaaggcg cgcattgccg acggcgagga tctcgtcgtg	4504
acccatggcg atgcctgctt gccgaatata atggtggaaa atggccgctt ttctggattc	4564
atcgactgtg gcgggctggg tgtggcggac cgctatcagg acatagcgct ggctaccgct	4624
gatattgctg aagagcttgg cggcgaatgg gctgaccgct tctcgtgct ttacggtatc	4684
gccgctcccg attcgcagcg catcgcttc tatcgcttc ttgacgagtt cttctgagcg	4744
ggactctggg gttcgcgaaa tgaccagcca agcgacgcc aacctgccat cacgagattt	4804
cgattccacc gcgccttct atgaaaggct gggcttcgga atcgttttcc gggacgccgg	4864
ctggatgacg ctcacgcgcg gggatctcat gctggagttc ttgcgccacc ccaacttgct	4924
tattgcagct tataatggct acaataaag caatagcatc acaaatttca caaataaagc	4984
atTTTTTTca ctgcattcta gttgtggttt gtccaaactc atcaatgtat cttatcatgt	5044
ctgtataccg tcgacctcta gctagagctt ggcgtaatca tggatcatagc tgtttcctgt	5104
gtgaaattgt tatccgctca caattccaca caacatacga gccggaagca taaagtgtaa	5164
agcctggggg gcctaattgag tgagctaact cacattaatt gcgttgcgct cactgccgcg	5224
tttccagtcg ggaaacctgt cgtgccagct gcattaatga atcggccaac gcgcggggag	5284
aggcggtttg cgtattgggc gctcttcgc ttctcgcgc actgactcgc tgcgctcggc	5344
cgttcggcgt cggcgagcgg tatcagctca ctcaaaggcg gtaatacggc tatccacaga	5404
atcaggggat aacgcaggaa agaacatgtg agcaaaaggc cagcaaaagg ccaggaaccg	5464
taaaaaggcc gcgttgctgg cgtttttcca taggctccgc cccctgacg agcatcacia	5524
aaatcgacgc tcaagtcaga ggtggcgaaa cccgacagga ctataaagat accaggcgct	5584
tccccctgga agctccctcg tgcgctctcc tgttccgacc ctgccgctta ccggatacct	5644
gtccgccttt ctcccttcgg gaagcgtggc gctttctcat agctcacgct gtaggtatct	5704
cagttcgggt taggtcgttc gctccaagct gggctgtgtg cacgaacccc ccgttcagcc	5764
cgaccgctgc gccttatccg gtaactatcg tcttgagtc aacccggtaa gacacgactt	5824

atgccactg gcagcagcca ctggtaacag gattagcaga gcgaggatg taggcggtgc	5884
tacagagttc ttgaagtggg ggccctaact cggctacact agaagaacag tatttggtat	5944
ctgcgctctg ctgaagccag ttaccttcgg aaaaagagtt ggtagctctt gatccggcaa	6004
acaaaccacc gctggtagcg gtggtttttt tgtttgcaag cagcagatta cgcgcagaaa	6064
aaaaggatct caagaagatc ctttgatctt ttctacgggg tctgacgctc agtggaacga	6124
aaactcacgt taagggattt tggatcatgag attatcaaaa aggatcttca cctagatcct	6184
tttaaattaa aaatgaagtt ttaaatcaat ctaaagtata tatgagtaaa cttggtctga	6244
cagttaccaa tgcttaatca gtgaggcacc tatctcagcg atctgtctat ttctgttcac	6304
catagttgcc tgactccccg tctgttagat aactacgata cgggagggct taccatctgg	6364
cccagtgct gcaatgatac cgcgagaccc acgctcacgg gctccagatt tatcagcaat	6424
aaaccagcca gcggaaggg ccgagcgcag aagtggtoct gcaactttat cgcctccat	6484
ccagtcctatt aattgttgcc gggaaagctag agtaagtagt tcgccagtta atagtttgcg	6544
caaogttgtt gccattgcta caggcatcgt ggtgtcacgc tcgtcgtttg gtatggcttc	6604
attcagctcc ggttcccaac gatcaaggcg agttacatga tccccatgt tgtgcaaaaa	6664
agcggttagc tccttcggtc ctccgatcgt tgtcagaagt aagttggccg cagtgttatc	6724
actcatggtt atggcagcac tgcataattc tcttactgtc atgccatccg taagatgctt	6784
ttctgtgact ggtgagtact caaccaagtc attctgagaa tagtgtatgc ggcgaccgag	6844
ttgtctcttg ccggcgtcaa tacgggataa taccgcgcca catagcagaa ctttaaaagt	6904
gtcatcatt ggaaaacgtt cttcggggcg aaaactotca aggatcttac cgtgtttgag	6964
atccagttcg atgtaaccca ctctgtcacc caactgatct tcagcatctt ttactttcac	7024
cagcgtttct gggtgagcaa aaacaggaag gcaaaatgcc gcaaaaaagg gaataagggc	7084
gacacggaaa tgttgaatac tcatactctt cctttttcaa tattattgaa gcattttatca	7144
gggttattgt ctcatgagcg gatacatatt tgaatgtatt tagaaaaata aacaaatagg	7204
ggttccgcgc acatttcccc gaaaagtgcc acctgacgtc gacggatcgg gagatctccc	7264
gatcccctat ggtcgactct cagtacaatc tgctctgatg ccgcatagtt aagccagtat	7324
ctgctccctg cttgtgtgtt ggaggtcgct gagtagtgcg cgagcaaaat ttaagctaca	7384
acaaggcaag gcttgaccga caattgcatg aagaatctgc ttagg	7429

<210> 4

<211> 465
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的構築體

<400> 4

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro
1 5 10 15

Gly Ser Thr Gly Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val
20 25 30

Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr
35 40 45

Phe Ser Thr Tyr Ala Met Gly Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly
50 55 60

Leu Glu Trp Val Ser Ser Ile Gly Ala Ser Gly Ser Gln Thr Arg Tyr
65 70 75 80

Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys
85 90 95

Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala
100 105 110

Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Leu Ala Ile Gly Asp Ser Tyr Trp Gly Gln
115 120 125

Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
130 135 140

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
145 150 155 160

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
165 170 175

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
180 185 190

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
195 200 205

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
210 215 220

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
225 230 235 240

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
245 250 255

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
260 265 270

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
275 280 285

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
290 295 300

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg
305 310 315 320

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
325 330 335

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
340 345 350

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
355 360 365

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
370 375 380

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
385 390 395 400

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
405 410 415

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

420

425

430

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His

435440445

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro

450455460

Gly
465

<210> 5
<211> 720
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> M281_LC核酸序列

<400> 5

atggaaaccg ataacgtgct gctgtgggtg ctgttgctct gggtgccagg atctacaggc60

cagtctgctc tgactcagcc tgcctctgtt tctggctccc ctggccagtc taccaccatc120

tcttgtaccg gcaccggctc cgacgtgggc tcttataacc tgggtgtcctg gtatcagcag180

caccccggaaggccctaa gctgatgata tacggcgact ctgaacggcc ttccggcgtg240

tccaatagat tctccggctc caagtccggc aataccgcct ctctgacaat cagtggactg300

caggccgagg acgaggccga ctactactgt tcttcttaag ccggctccgg catctacgtg360

ttcgccaccg gaacaaaagt gaccgtgctg ggacagccta aggccgctcc ttctgtgacc420

ctgtttcctc catcctccga ggaactgcag gctaacaagg ctaccctcgt gtgcctgata480

tccgattttt accctggcgc tgtgaccgtg gcctggaagg ctgatagtgc tctgtgaag540

gccggcgtgg aaaccaccac accttccaag cagtccaaca acaataacgc cgcctcctcc600

tacctgtctc tgaccctga acagtggaag tcccacaagt cctacagctg ccaagtgacc660

catgagggct ccaccgtgga aaagacagtg gccctaccg agtgctcctg atgactcgag720

<210> 6
<211> 1407
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> M281_HC核酸序列

<400> 6
atggaaaccg atacactgct gctgtgggtg ctgttgctct gggttccagg atctacaggc 60
gaggtgcagc tgttggaaac tggcggagga ttggttcagc ctggcggctc tctgagactg 120
tcttgtgctg cctctggctt caccttctct acctacgcta tgggctgggt cgcacaggct 180
cctggaaaag gactggaatg ggtgtcctct atcggcgctt ctggcagcca gaccagatac 240
gctgattccg tgaagggcag attcaccatc agccgggaca actccaagaa caccctgtac 300
ctgcagatga actccctgag agccgaggac accgcctgtt actattgtgc tagactggcc 360
atcggcgact cttattgggg ccagggaaca atggtcacct tgtcctctgc ttccaccaag 420
ggaccttccg tgtttcctct ggctccttcc agcaagtcta cctctgggtg aaccgctgct 480
ctgggctgcc tggtaagga ttactttcct gagcctgtga cctgtcttg gaactccggt 540
gctctgacat ccggcgtgca cacatttcca gctgtgtgc agtcctccgg cctgtactct 600
ctgtcctctg tcgtgaccgt gccttctagc tctctgggca ccagacctc catctgcaac 660
gtgaaccaca agccttccaa caccaagggt gacaagaagg tggaacccaa gtctgtgcac 720
aagaccaca cctgtcctcc atgtcctgct ccagaactgc tcggcggacc ctctgtgttc 780
ctgtttccac ctaagcctaa ggacacctg atgatctctc ggacctctga agtgacctgc 840
gtggtgtgtg atgtgtctca cgaggaccca gaagtgaagt tcaattggta cgtggacggc 900
gtggaagtgc acaacgcca gaccaagcct agagaggaa agtacgcctc cacctacaga 960
gtggtgtctg tgctgaccgt gctgcaccag gattggctga acggcaaaga gtacaagtgc 1020
aagggtgtcc acaaggccct gcctgtcctt atcgaaaaga ccctctccaa ggctaagggc 1080
cagcctcggg aacctcaggt ttacacctg cctccatctc gggaagagat gaccaagaac 1140
cagggtgtcc tgacctgcct cgtgaaggga ttctaccctt ccgatatcgc cgtggaatgg 1200
gagtctaacg gccagccaga gaacaactac aagacaacc ctctgtgtgt ggactccgac 1260
ggctcattct tcctgtactc caagctgaca gtggacaagt ctcggtggca gcagggaac 1320
gtgttctcct gttctgtgat gcacgaggcc ctgcacaacc actacacaca gaagtcctg 1380
tctctgtccc ctggctgatg actcgag 1407

<210> 7
<211> 236
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> M281_LC氨基酸序列

<400> 7

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro
1 5 10 15

Gly Ser Thr Gly Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly
20 25 30

Ser Pro Gly Gln Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Gly Ser Asp
35 40 45

Val Gly Ser Tyr Asn Leu Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys
50 55 60

Ala Pro Lys Leu Met Ile Tyr Gly Asp Ser Glu Arg Pro Ser Gly Val
65 70 75 80

Ser Asn Arg Phe Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr
85 90 95

Ile Ser Gly Leu Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser
100 105 110

Tyr Ala Gly Ser Gly Ile Tyr Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr
115 120 125

Val Leu Gly Gln Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro
130 135 140

Ser Ser Glu Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile
145 150 155 160

Ser Asp Phe Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser
165 170 175

Ser Pro Val Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser
180 185 190

Asn Asn Lys Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln
195 200 205

Trp Lys Ser His Lys Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser
210 215 220

Thr Val Glu Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
225 230 235

<210> 8
<211> 465
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> M281_HC氨基酸序列

<400> 8

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro
1 5 10 15

Gly Ser Thr Gly Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val
20 25 30

Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr
35 40 45

Phe Ser Thr Tyr Ala Met Gly Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly
50 55 60

Leu Glu Trp Val Ser Ser Ile Gly Ala Ser Gly Ser Gln Thr Arg Tyr
65 70 75 80

Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys
85 90 95

Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala
100 105 110

Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Leu Ala Ile Gly Asp Ser Tyr Trp Gly Gln
115 120 125

Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
130 135 140

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
145 150 155 160

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser

165																170					175				
Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val										
			180					185					190												
Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro										
		195					200					205													
Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys										
	210					215					220														
Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp										
225					230					235					240										
Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly										
				245					250					255											
Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile										
			260					265					270												
Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu										
		275					280					285													
Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His										
	290					295					300														
Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Ala	Ser	Thr	Tyr	Arg										
305					310					315					320										
Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys										
				325					330					335											
Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu										
			340					345					350												
Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr										
		355					360					365													
Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu										
		370				375					380														
Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp										
385					390					395					400										

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
405 410 415

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
420 425 430

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
435 440 445

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
450 455 460

Gly
465

<210> 9
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> CDR-L1核酸序列

<400> 9
accggcaccg gctccgacgt gggctottat aacctggtgt cc 42

<210> 10
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CDR-L1胺基酸序列

<400> 10

Thr Gly Thr Gly Ser Asp Val Gly Ser Tyr Asn Leu Val Ser
1 5 10

<210> 11
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> CDR-L2核酸序列

<400> 11

ggcgactctg aacggccttc c 21

<210> 12
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CDR-L2氨基酸序列

<400> 12

Gly Asp Ser Glu Arg Pro Ser
1 5

<210> 13
<211> 30
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> CDR-L3核酸序列

<400> 13
tcttcttacg ccggtccgg catctaogtg 30

<210> 14
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CDR-L3氨基酸序列

<400> 14

Ser Ser Tyr Ala Gly Ser Gly Ile Tyr Val
1 5 10

<210> 15
<211> 15
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> CDR-H1核酸序列

<400> 15
acctacgcta tgggc 15

<210> 16
<211> 5

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CDR-H1氨基酸序列

<400> 16

Thr Tyr Ala Met Gly
1 5

<210> 17
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> CDR-H2核酸序列

<400> 17
tctatcggcg cctctggcag ccagaccaga tacgctgatt cc

42

<210> 18
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CDR-H2氨基酸序列

<400> 18

Ser Ile Gly Ala Ser Gly Ser Gln Thr Arg Tyr Ala Asp Ser
1 5 10

<210> 19
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> CDR-H3核酸序列

<400> 19
ctggccatcg gcgactctta t

21

<210> 20
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CDR-H3氨基酸序列

<400> 20

Leu Ala Ile Gly Asp Ser Tyr
1 5

<210> 21
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CDR-H1變異體1

<400> 21

Asp Tyr Ala Met Gly
1 5

<210> 22
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CDR-H1變異體2

<400> 22

Asn Tyr Ala Met Gly
1 5

<210> 23
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CDR-H2變異體1

<400> 23

Ser Ile Gly Ala Ser Gly Ala Gln Thr Arg Tyr Ala Asp Ser
1 5 10

<210> 24
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CDR-H2變異體2

<400> 24

Ser Ile Gly Ala Ser Gly Gly Gln Thr Arg Tyr Ala Asp Ser
1 5 10

<210> 25
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CDR-H2變異體3

<400> 25

Ser Ile Gly Ser Ser Gly Ala Gln Thr Arg Tyr Ala Asp Ser
1 5 10

<210> 26
<211> 58
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Z_FcRn-2

<400> 26

Val Asp Ala Lys Tyr Ala Lys Glu Gln Asp Ala Ala Ala His Glu Ile
1 5 10 15

Arg Trp Leu Pro Asn Leu Thr Phe Asp Gln Arg Val Ala Phe Ile His
20 25 30

Lys Leu Ala Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ser Glu Leu Leu Ser Glu Ala
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ser Gln Ala Pro Lys
50 55

<210> 27
<211> 58
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Z_FcRn-4

<400> 27

Val Asp Ala Lys Tyr Ala Lys Glu Trp Met Arg Ala Ala His Glu Ile

1 5 10 15

Arg Trp Leu Pro Asn Leu Thr Phe Asp Gln Arg Val Ala Phe Ile His
20 25 30

Lys Leu Glu Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ser Glu Leu Leu Ser Glu Ala
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ser Gln Ala Pro Lys
50 55

<210> 28
<211> 58
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Z_FcRn-16

<400> 28

Val Asp Ala Lys Tyr Ala Lys Glu Phe Glu Ser Ala Ala His Glu Ile
1 5 10 15

Arg Trp Leu Pro Asn Leu Thr Tyr Asp Gln Arg Val Ala Phe Ile His
20 25 30

Lys Leu Ser Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ser Glu Leu Leu Ser Glu Ala
35 40 45

Lys Lys Leu Asn Asp Ser Gln Ala Pro Lys
50 55

<210> 29
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> SYN746

<400> 29

Arg Phe Thr Gly His Phe Gly Leu Tyr Pro Cys
1 5 10

<210> 30
<211> 13

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> SYN1327

<400> 30

Arg Phe Cys Thr Gly His Phe Gly Gly Leu Tyr Pro Cys
1 5 10

<210> 31
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> SYN1327-經修飾

<220>
<221> MOD_RES
<222> (3).. (3)
<223> Pen

<220>
<221> MOD_RES
<222> (9).. (9)
<223> Sar

<220>
<221> MOD_RES
<222> (10).. (10)
<223> NMeLeu

<400> 31

Arg Phe Xaa Thr Gly His Phe Gly Xaa Leu Tyr Pro Cys
1 5 10

<210> 32
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 98420-1胺基酸序列

<400> 32

Gln Arg Phe Cys Thr Gly His Phe Gly Gly Leu Tyr Pro Cys Asn Gly
1 5 10 15

Pro

<210> 33
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 98420-2

<400> 33

Gly Gly Gly Cys Val Thr Gly His Phe Gly Gly Ile Tyr Cys Asn Tyr
1 5 10 15

Gln

<210> 34
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 98420-3

<400> 34

Lys Ile Ile Cys Ser Pro Gly His Phe Gly Gly Met Tyr Cys Gln Gly
1 5 10 15

Lys

<210> 35
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 98420-4

<400> 35

Pro Ser Tyr Cys Ile Glu Gly His Ile Asp Gly Ile Tyr Cys Phe Asn
1 5 10 15

Ala

<210> 36
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 98420-5

<400> 36

Asn Ser Phe Cys Arg Gly Arg Pro Gly His Phe Gly Gly Cys Tyr Leu
1 5 10 15

Phe

<210> 37
<211> 216
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DX2504LC

<400> 37

Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15

Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Gly Ser Asp Val Gly Ser Tyr
20 25 30

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

Met Ile Tyr Gly Asp Ser Gln Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu
65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Cys Ser Tyr Ala Gly Ser
85 90 95

Gly Ile Tyr Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly Gln
100 105 110

Pro Lys Ala Asn Pro Thr Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu

115										120										125																																																										
Leu	Gln	Ala	Asn	Lys	Ala	Thr	Leu	Val	Cys	Leu	Ile	Ser	Asp	Phe	Tyr																																																															
130																135																140																																														
Pro	Gly	Ala	Val	Thr	Val	Ala	Trp	Lys	Ala	Asp	Gly	Ser	Pro	Val	Lys																																																															
145																150																155																160																														
Ala	Gly	Val	Glu	Thr	Thr	Lys	Pro	Ser	Lys	Gln	Ser	Asn	Asn	Lys	Tyr																																																															
															165																170																175																															
Ala	Ala	Ser	Ser	Tyr	Leu	Ser	Leu	Thr	Pro	Glu	Gln	Trp	Lys	Ser	His																																																															
															180																185																190																															
Arg	Ser	Tyr	Ser	Cys	Gln	Val	Thr	His	Glu	Gly	Ser	Thr	Val	Glu	Lys																																																															
															195																200																205																															
Thr	Val	Ala	Pro	Thr	Glu	Cys	Ser																																																																							
															210																215																																															
<210>																38																																																														
<211>																446																																																														
<212>																PRT																																																														
<213>																人工序列																																																														
<220>																																																																														
<223>																DX2504HC																																																														
<400>																38																																																														
Glu	Val	Gln	Leu	Leu	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly																																																															
1																5																10																15																														
Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Glu	Tyr																																																															
															20																25																30																															
Ala	Met	Gly	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val																																																															
															35																40																45																															
Ser	Ser	Ile	Gly	Ser	Ser	Gly	Gly	Gln	Thr	Lys	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val																																																															
															50																55																60																															
Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr																																																															
															65																70																75																80															

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Leu Ala Ile Gly Asp Ser Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Met Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
115 120 125

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
130 135 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
145 150 155 160

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
165 170 175

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu
180 185 190

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr
195 200 205

Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
210 215 220

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe
225 230 235 240

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
245 250 255

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
260 265 270

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
275 280 285

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
290 295 300

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys

305 310 315 320

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
325 330 335

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
340 345 350

Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
355 360 365

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
370 375 380

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
385 390 395 400

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
405 410 415

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
420 425 430

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440 445

<210> 39
<211> 216
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DX2507LC

<400> 39

Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15

Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Gly Ser Asp Val Gly Ser Tyr
20 25 30

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

Met Ile Tyr Gly Asp Ser Gln Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu
65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ser Tyr Ala Gly Ser
85 90 95

Gly Ile Tyr Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly Gln
100 105 110

Pro Lys Ala Asn Pro Thr Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu
115 120 125

Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr
130 135 140

Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Gly Ser Pro Val Lys
145 150 155 160

Ala Gly Val Glu Thr Thr Lys Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr
165 170 175

Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His
180 185 190

Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys
195 200 205

Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
210 215

<210> 40
<211> 445
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DX2507HC

<400> 40

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Glu	Tyr	
			20					25					30			
Ala	Met	Gly	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val	
		35					40					45				
Ser	Ser	Ile	Gly	Ser	Ser	Gly	Gly	Gln	Thr	Lys	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val	
	50					55					60					
Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr	
65					70					75					80	
Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	
				85					90					95		
Ala	Arg	Leu	Ala	Ile	Gly	Asp	Ser	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Met	Val	
			100					105					110			
Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	
		115					120					125				
Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	
	130					135					140					
Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	
145					150					155					160	
Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	
				165					170					175		
Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	
			180					185					190			
Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	
		195					200					205				
Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	
	210					215					220					
Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	
225					230					235					240	

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
245 250 255

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
260 265 270

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
275 280 285

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
290 295 300

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
305 310 315 320

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
325 330 335

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
340 345 350

Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
355 360 365

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
370 375 380

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
385 390 395 400

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
405 410 415

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
420 425 430

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440 445

<210> 41
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DX-CDR-L3

<400> 41

Ala Ser Tyr Ala Gly Ser Gly Ile Val Tyr
1 5 10

<210> 42
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DX-CDR-L2

<400> 42

Gly Asp Ser Gln Arg Pro Ser
1 5

<210> 43
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DX-CDR-H1

<400> 43

Glu Tyr Ala Met Gly
1 5

<210> 44
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DX-CDR-H2

<400> 44

Ser Ile Gly Ser Ser Gly Gly Gln Thr Lys Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 45
<211> 365

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> hFcRN氨基酸序列

<400> 45

Met Gly Val Pro Arg Pro Gln Pro Trp Ala Leu Gly Leu Leu Leu Phe
1 5 10 15

Leu Leu Pro Gly Ser Leu Gly Ala Glu Ser His Leu Ser Leu Leu Tyr
20 25 30

His Leu Thr Ala Val Ser Ser Pro Ala Pro Gly Thr Pro Ala Phe Trp
35 40 45

Val Ser Gly Trp Leu Gly Pro Gln Gln Tyr Leu Ser Tyr Asn Ser Leu
50 55 60

Arg Gly Glu Ala Glu Pro Cys Gly Ala Trp Val Trp Glu Asn Gln Val
65 70 75 80

Ser Trp Tyr Trp Glu Lys Glu Thr Thr Asp Leu Arg Ile Lys Glu Lys
85 90 95

Leu Phe Leu Glu Ala Phe Lys Ala Leu Gly Gly Lys Gly Pro Tyr Thr
100 105 110

Leu Gln Gly Leu Leu Gly Cys Glu Leu Gly Pro Asp Asn Thr Ser Val
115 120 125

Pro Thr Ala Lys Phe Ala Leu Asn Gly Glu Glu Phe Met Asn Phe Asp
130 135 140

Leu Lys Gln Gly Thr Trp Gly Gly Asp Trp Pro Glu Ala Leu Ala Ile
145 150 155 160

Ser Gln Arg Trp Gln Gln Gln Asp Lys Ala Ala Asn Lys Glu Leu Thr
165 170 175

Phe Leu Leu Phe Ser Cys Pro His Arg Leu Arg Glu His Leu Glu Arg
180 185 190

Gly Arg Gly Asn Leu Glu Trp Lys Glu Pro Pro Ser Met Arg Leu Lys

195					200					205					
Ala	Arg	Pro	Ser	Ser	Pro	Gly	Phe	Ser	Val	Leu	Thr	Cys	Ser	Ala	Phe
	210					215					220				
Ser	Phe	Tyr	Pro	Pro	Glu	Leu	Gln	Leu	Arg	Phe	Leu	Arg	Asn	Gly	Leu
225					230					235					240
Ala	Ala	Gly	Thr	Gly	Gln	Gly	Asp	Phe	Gly	Pro	Asn	Ser	Asp	Gly	Ser
				245					250					255	
Phe	His	Ala	Ser	Ser	Ser	Leu	Thr	Val	Lys	Ser	Gly	Asp	Glu	His	His
			260					265					270		
Tyr	Cys	Cys	Ile	Val	Gln	His	Ala	Gly	Leu	Ala	Gln	Pro	Leu	Arg	Val
		275					280					285			
Glu	Leu	Glu	Ser	Pro	Ala	Lys	Ser	Ser	Val	Leu	Val	Val	Gly	Ile	Val
	290					295					300				
Ile	Gly	Val	Leu	Leu	Leu	Thr	Ala	Ala	Ala	Val	Gly	Gly	Ala	Leu	Leu
305					310					315					320
Trp	Arg	Arg	Met	Arg	Ser	Gly	Leu	Pro	Ala	Pro	Trp	Ile	Ser	Leu	Arg
				325					330					335	
Gly	Asp	Asp	Thr	Gly	Val	Leu	Leu	Pro	Thr	Pro	Gly	Glu	Ala	Gln	Asp
			340					345					350		
Ala	Asp	Leu	Lys	Asp	Val	Asn	Val	Ile	Pro	Ala	Thr	Ala			
		355					360					365			

【發明申請專利範圍】

【請求項 1】一種治療具有對選擇的 AAV 殼體或與選擇的殼體為血清學上交叉反應的 AAV 殼體之免疫球蛋白 G(IgG)中和抗體的患者之組合方案，該方案包含：(a)投予 AAV 病毒載體，該載體包含該選擇的 AAV 殼體及載體基因體，該載體基因體包含編碼基因產物之核酸序列，該核酸序列與引導其於目標細胞中表現的調節序列可操作地連接；及(b)共投予一配體，其特異性地防止人類新生兒 Fc 受體(FcRn)與該中和抗體之間的結合而不會干擾白蛋白與 FcRn 的結合。

【請求項 2】如請求項 1 之組合方案，其中該配體係選自肽、蛋白質、RNAi 序列、或小分子。

【請求項 3】如請求項 1 或 2 之組合方案，其中該配體為針對 FcRn 的單株抗體、免疫黏附素(immunoadhesin)、駱駝科抗體(camelid antibody)、Fab 片段、Fv 片段、或 scFv 片段。

【請求項 4】如請求項 1 至 3 中任一項之組合方案，其中該配體為單株抗體，選自尼泊卡利單抗(nipocalimab)(M281)、洛利昔珠單抗(rozanolixizumab)；IMVT-1401、RVT-1401、HL161、HBM916、依加替莫德(efgartigimod)、奧諾利單抗(orilanolimab)(SYNT001)、SYNT002、ABY-039、DX-2507、此等之衍生物或組合。

【請求項 5】如請求項 1 至 4 中任一項之組合方案，其中該配體為尼泊卡利單抗(M281)或包含其選自下列的三個以上的 CDR 之免疫球蛋白構築體：

(a)重鏈 CDR：(i) CDR H1，SEQ ID NO：16 或與其至少 99%相同的序列、(ii) CDR H2，SEQ ID NO：18 或與其至少 99%相同的序列、及(iii) CDR H3，SEQ ID NO：20 或與其至少 99%相同的序列；或

(b)輕鏈 CDR：CDR L1，SEQ ID NO：10 或與其至少 99%相同的序列、CDR L2，SEQ ID NO：12 或與其至少 99%相同的序列、CDR L3，SEQ ID NO：14，或與其至少 99%相同的序列。

【請求項 6】如請求項 5 之組合方案，其中尼泊卡利單抗或免疫球蛋白構築體包含：

(a)重鏈 CDR：(i) CDR H1，SEQ ID NO：16、(ii) CDR H2，SEQ ID NO：18、及(iii) CDR H3，SEQ ID NO：20；或

(b)輕鏈 CDR：CDR L1，SEQ ID NO：10、CDR L2，SEQ ID NO：12、CDR L3，SEQ ID NO：14。

【請求項 7】如請求項 1 至 6 中任一項之組合方案，其中該配體於載體遞送後在活體內表現，該載體包含編碼配體的序列，該序列與引導配體表現的調節序列可操作地連接。

【請求項 8】如請求項 1 至 7 中任一項之組合方案，其中該編碼基因產物之 rAAV 具有選自 AAV1、AAV2、AAV3、AAV5、AAV7、AAV8、AAV9、AAVrh10、AAVrh91、AAVhu37、或 AAVhu68 的殼體。

【請求項 9】如請求項 1 至 8 中任一項之組合方案，其中於該組合方案之遞送之前，當於活體外分析中確認時，患者對 rAAV 殼體或血清學上交叉反應的殼體具有大於 1：5 的中和效價。

【請求項 10】如請求項 1 至 9 中任一項之組合方案，其中於遞送 rAAV 前一至七日遞送該配體。

【請求項 11】如請求項 1 至 10 中任一項之組合方案，其中每日遞送該配體。

【請求項 12】如請求項 1 至 11 中任一項之組合方案，其中當遞送 rAAV 時，於同一日遞送該配體。

【請求項 13】如請求項 1 至 9 中任一項之組合方案，其中在 rAAV 遞送後一日至四週及/或四週至六個月遞送該配體。

【請求項 14】如請求項 1 至 14 中任一項之組合方案，其中口服遞送該配體。

【請求項 15】如請求項 1 至 14 中任一項之組合方案，其中全身性地遞送該 rAAV，可選擇經由腹膜內、靜脈內、肌內、或鼻內、或鞘內遞送。

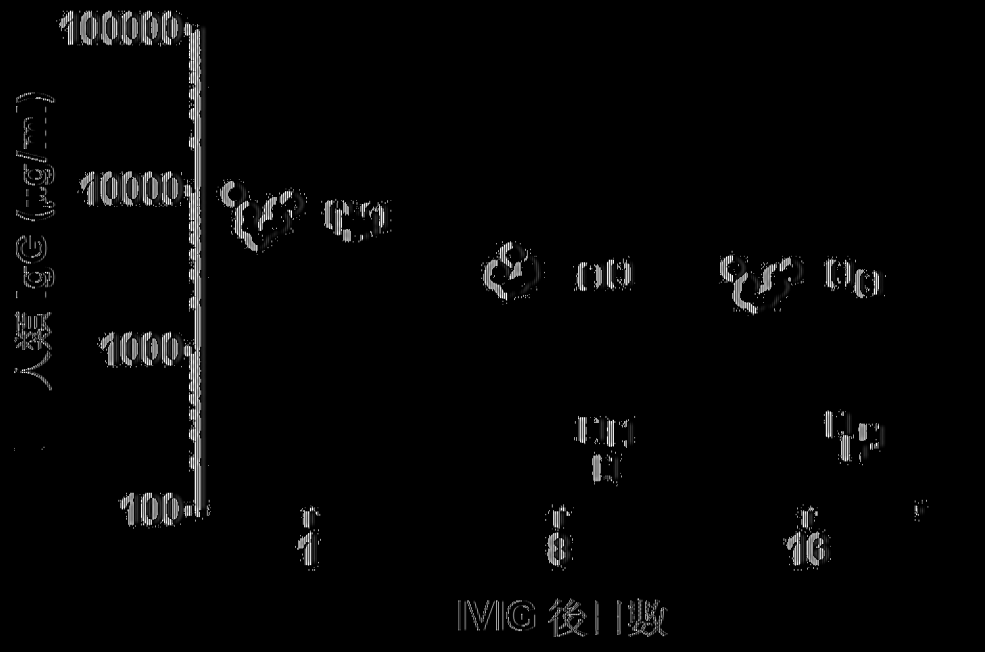
【請求項 16】如請求項 1 至 15 中任一項之組合方案，其中於將病毒載體與抑制性配體組合遞送之前，該患者先前未接受過基因療法治療或使用 AAV 之基因遞送，因而患者的預先存在的中和抗體為野生型病毒載體感染的結果。

【請求項 17】如請求項 1 至 16 中任一項之組合方案，其中該方案進一步包含共投予下列之一或多者：(a) 一類固醇或類固醇類之組合；及/或(b) IgG 切割酶；及(c) Fc-IgE 結合抑制劑；(d) Fc-IgM 結合抑制劑；(e) Fc-IgA 結合抑制劑；及/或(f) γ -干擾素。

【請求項 18】一種抗 FcRn 抗體於製造醫藥之用途，其中該醫藥於如請求項 1 至 17 中任一項之組合方案中有效，該用途係用於以有效量之基因產物來治療需要其之患者。

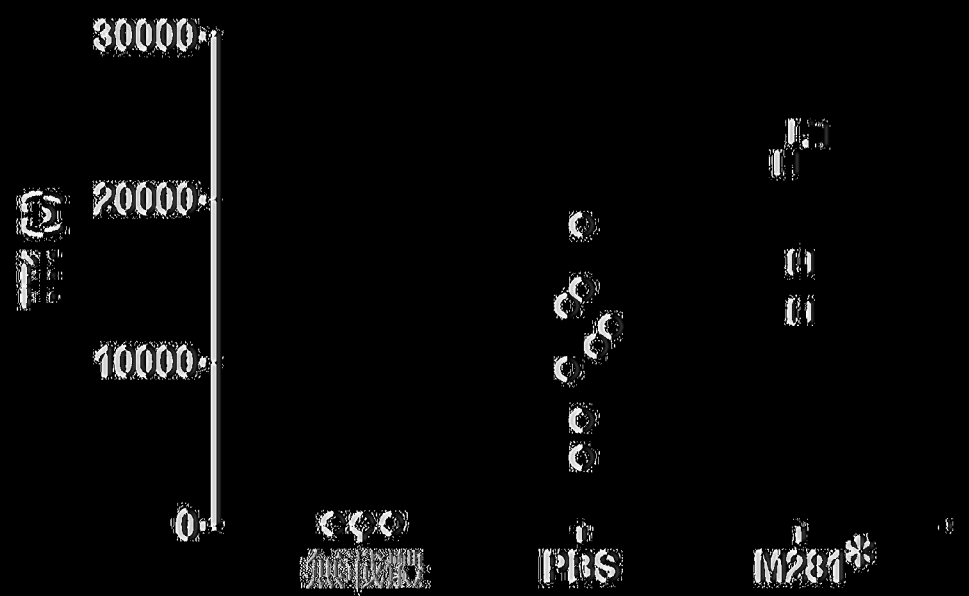
【請求項 19】一種 rAAV 載體於製造醫藥之用途，其中該 rAAV 載體包含用於遞送至細胞的轉基因，該醫藥於包含共投予 rAAV 載體與抗 FcRn 抗體之如請求項 1 至 17 中任一項之組合方案中有效。

|(發明|圖式)|



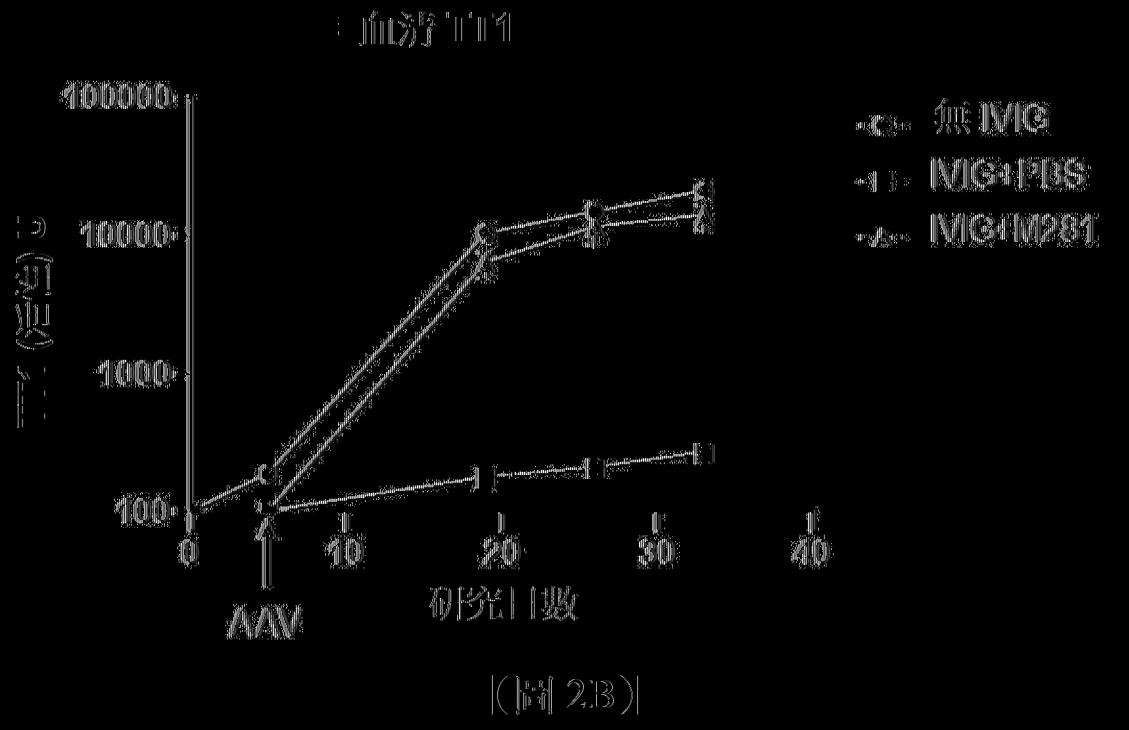
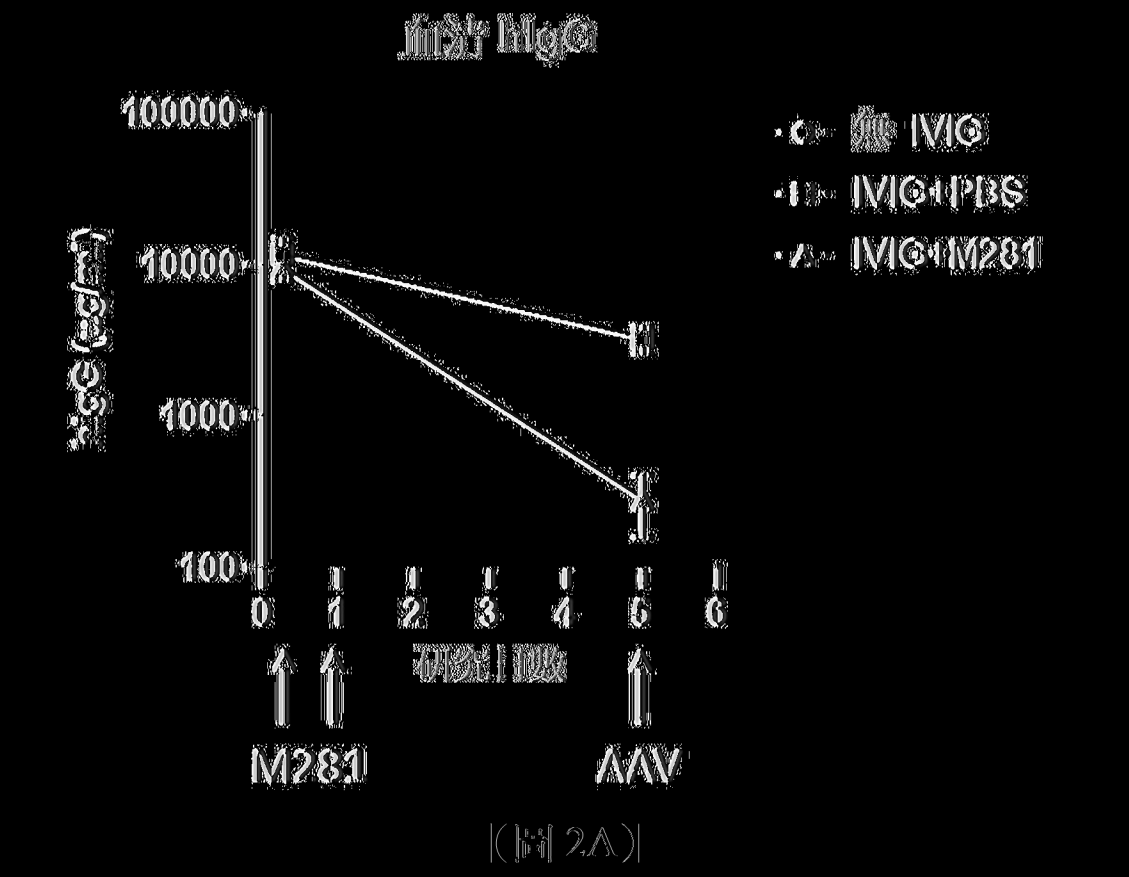
- (○) PBS
- (●) M281 (30 mg/kg)
- (□) M281 (30 mg/kg), 高血清 IgG+

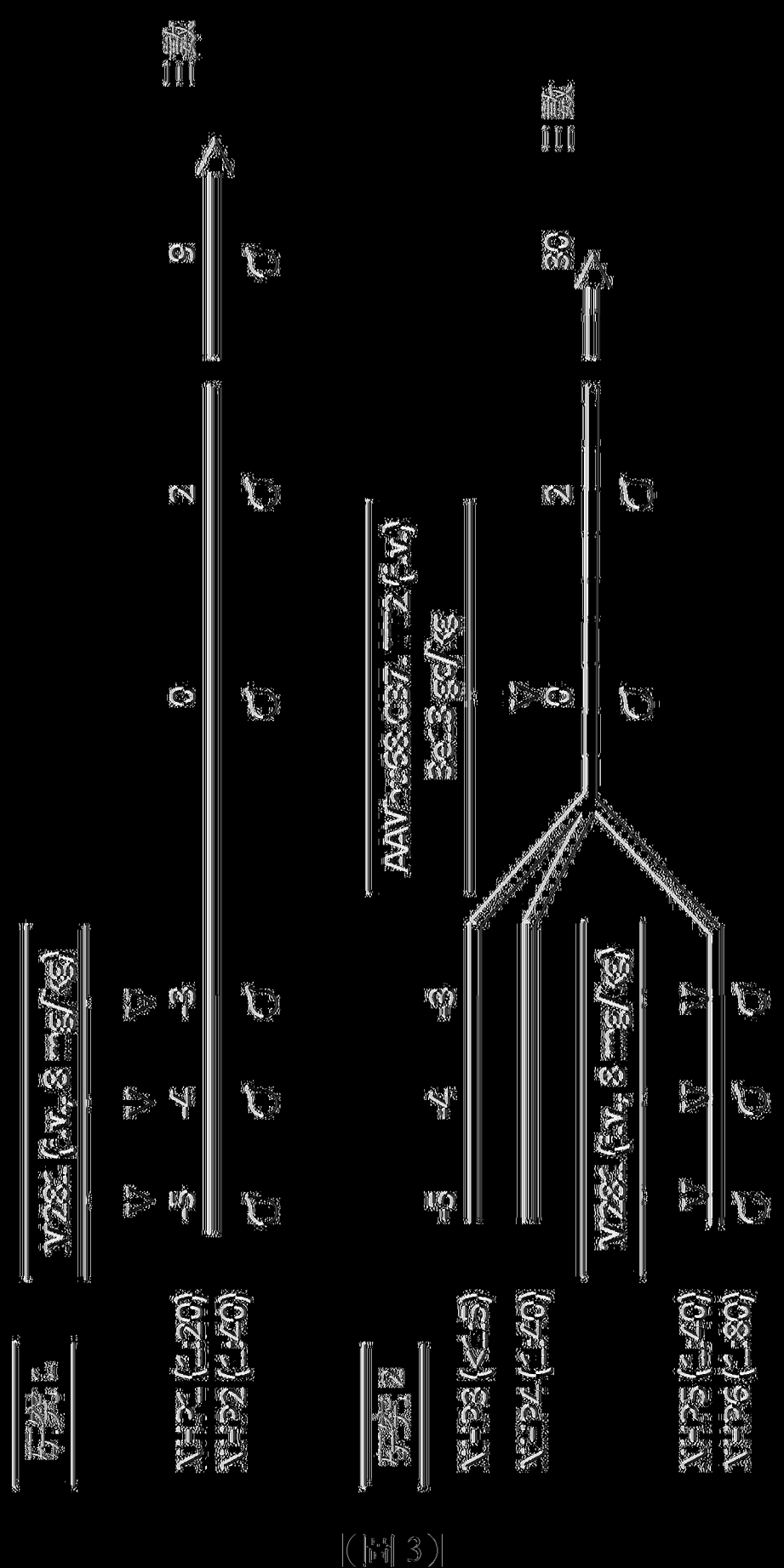
|(圖| 1A)|

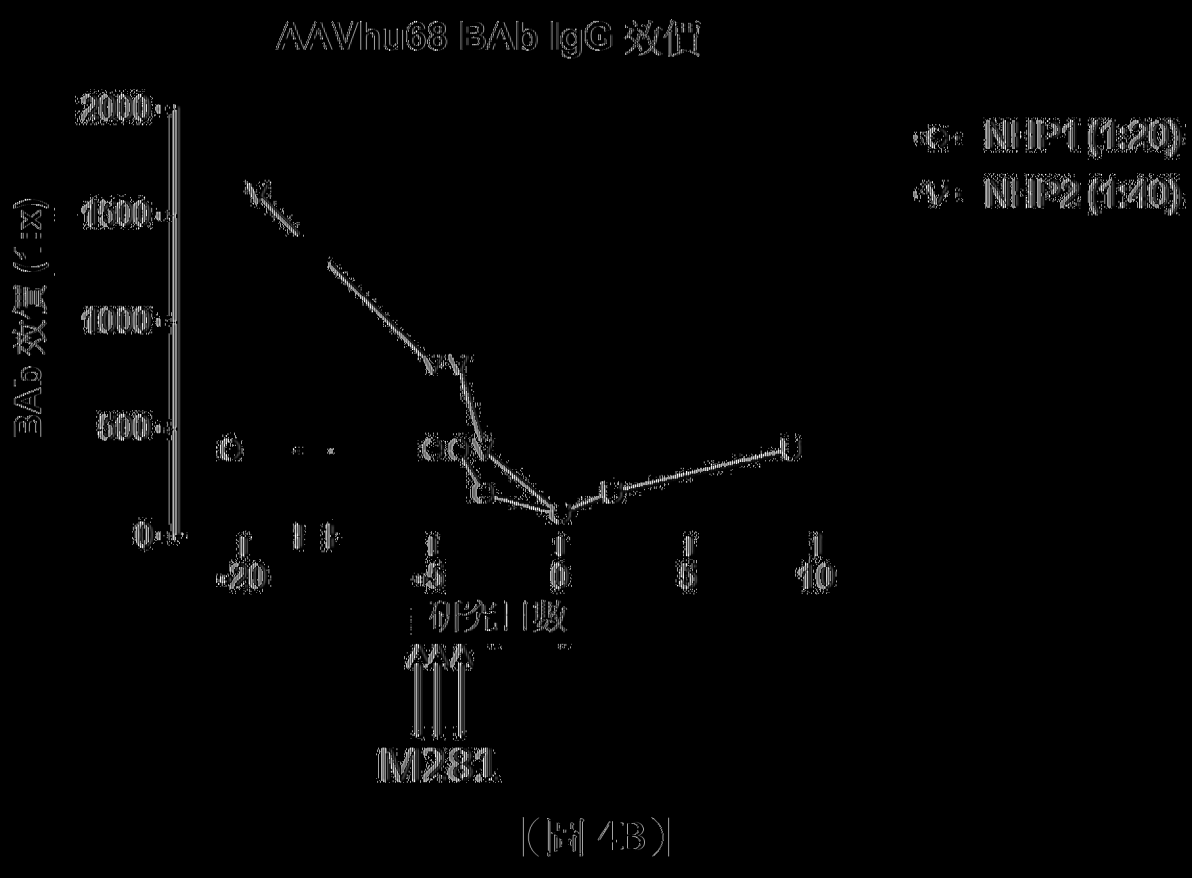
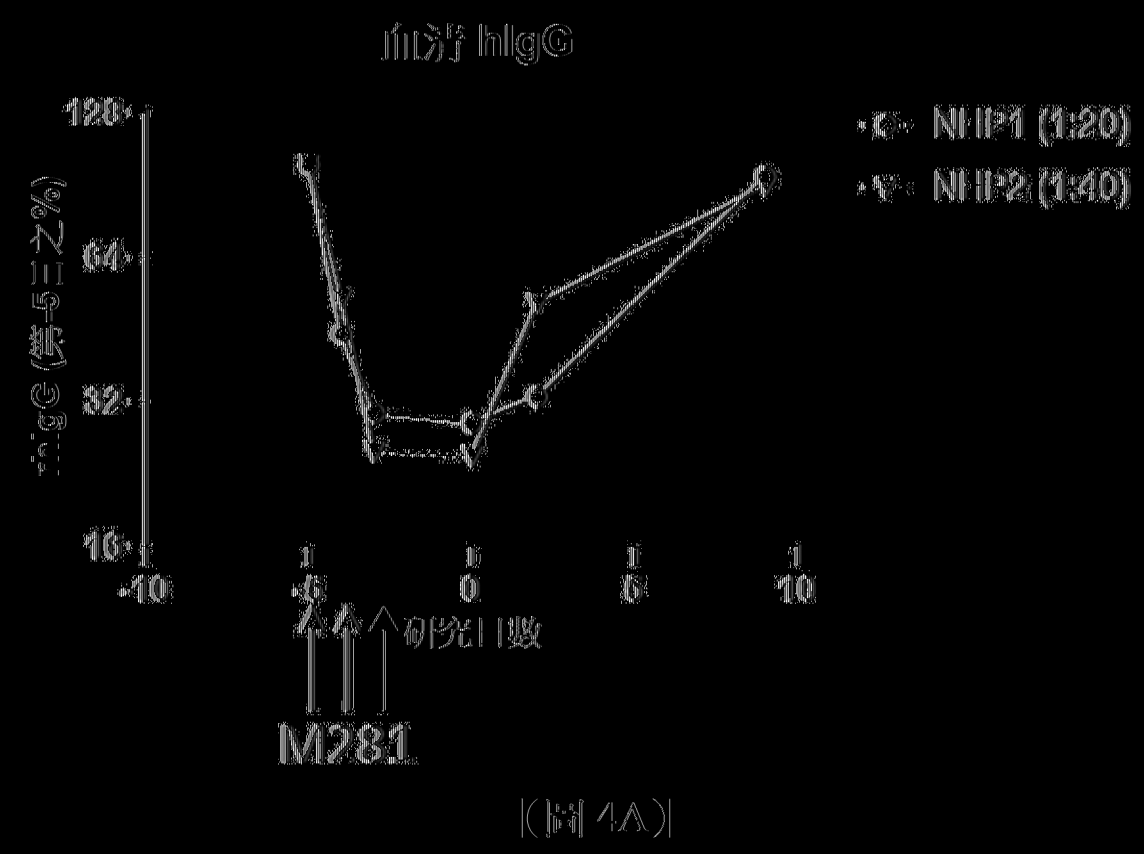


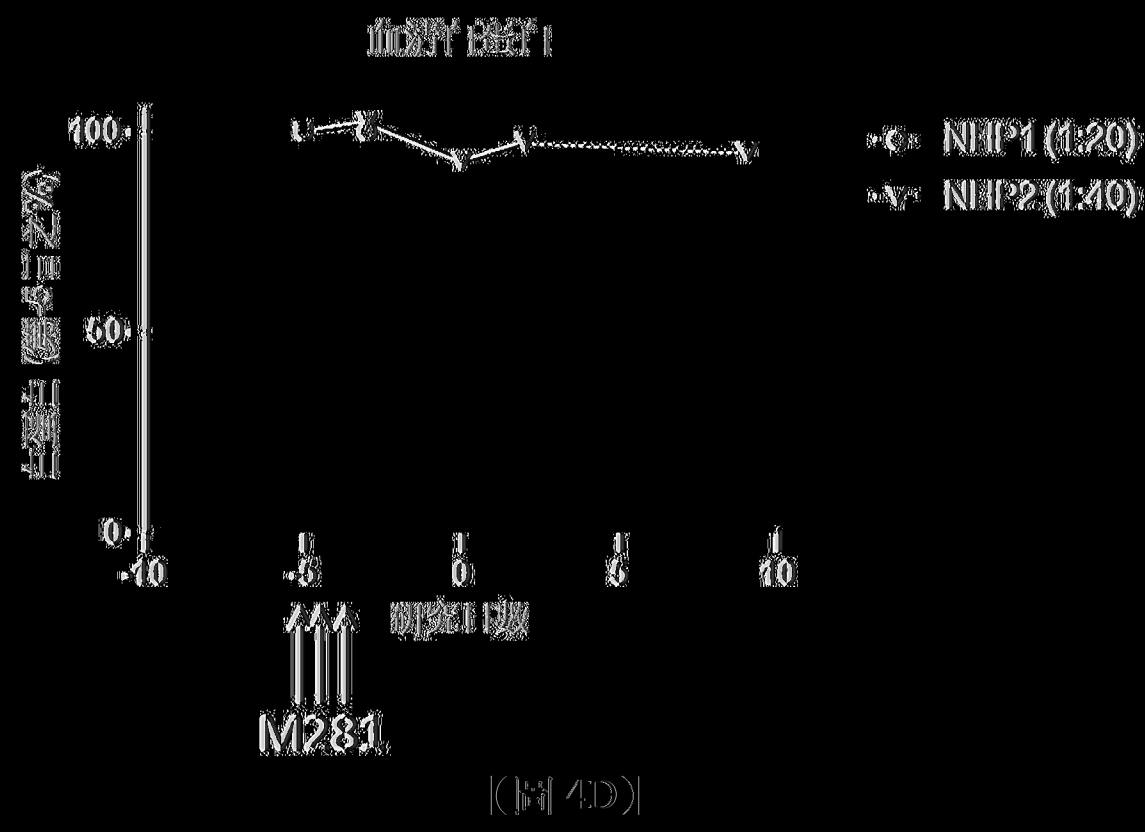
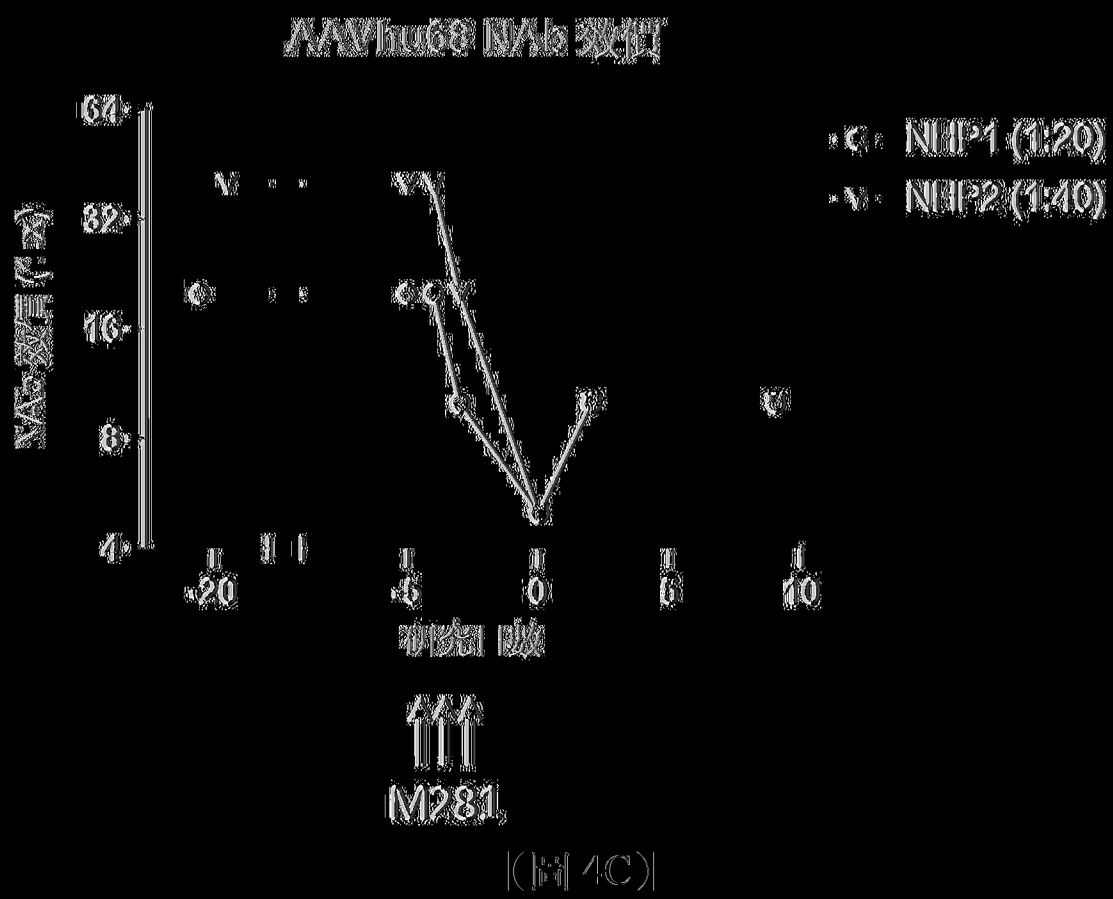
*兩隻以M281處理的小鼠未測得血清IgG減少
可能是由於i.p.注射失敗(空心圓形)

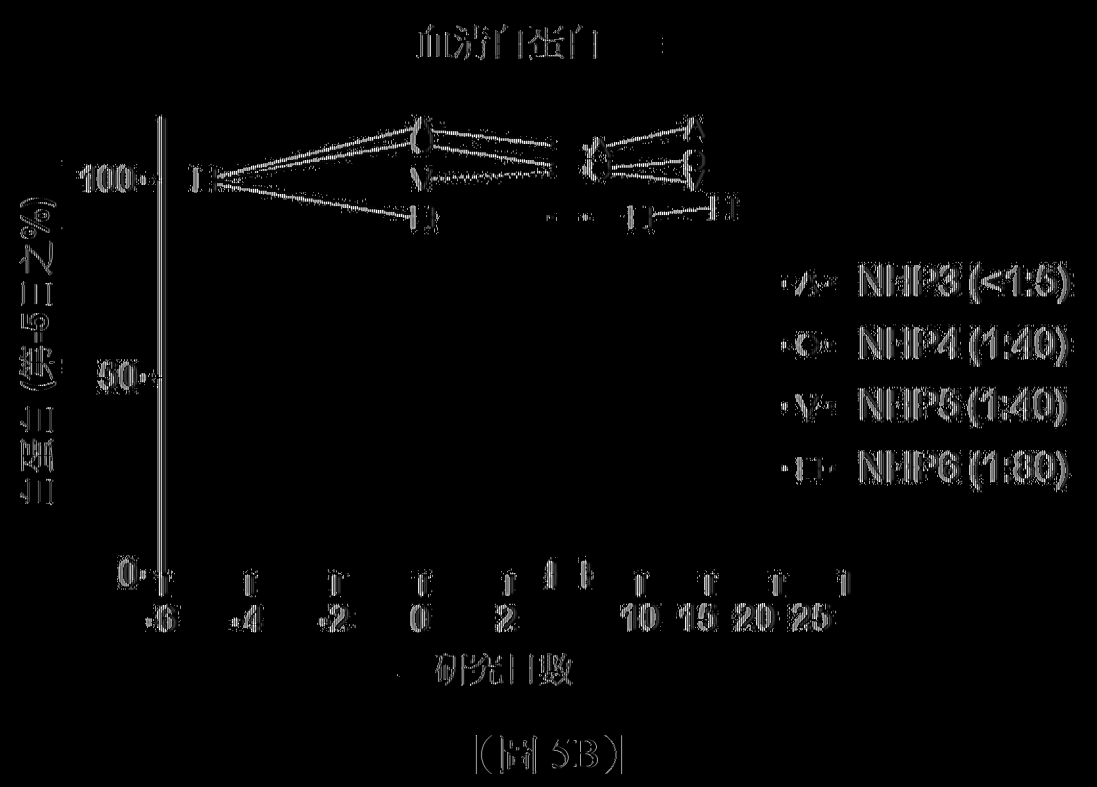
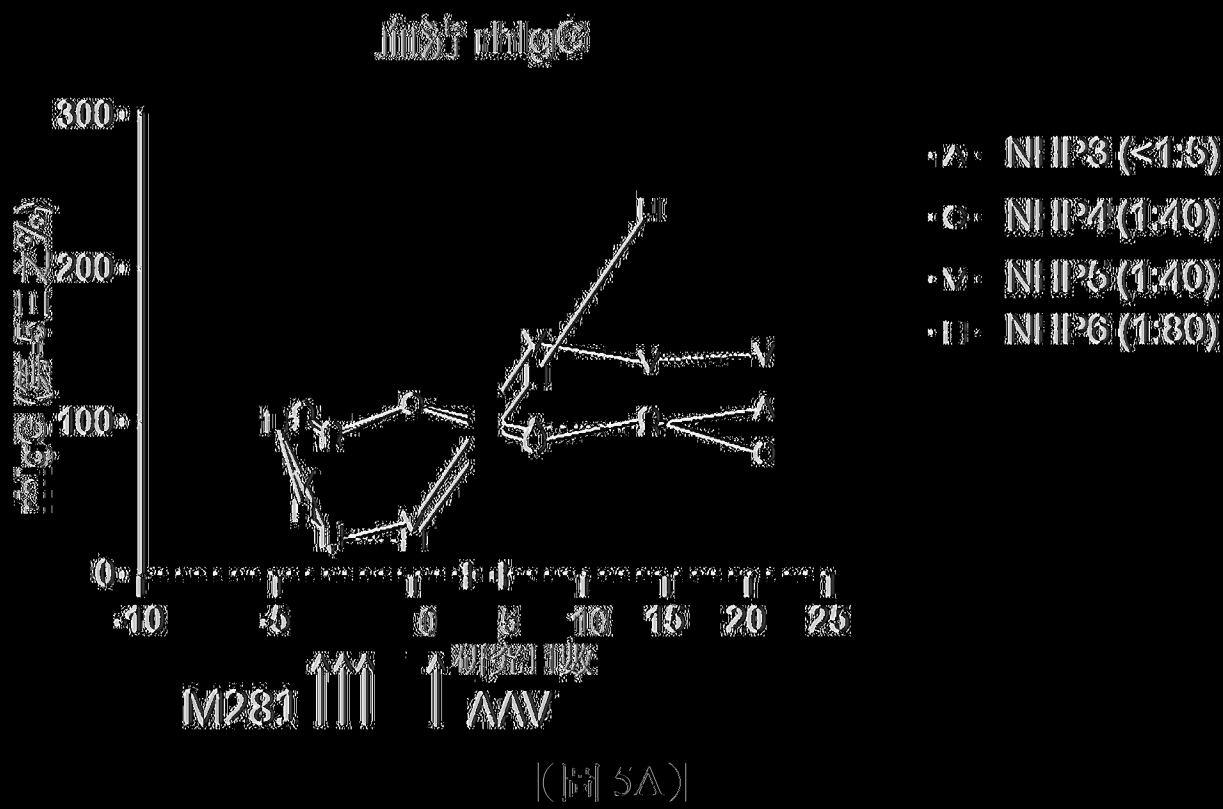
|(圖| 1B)|

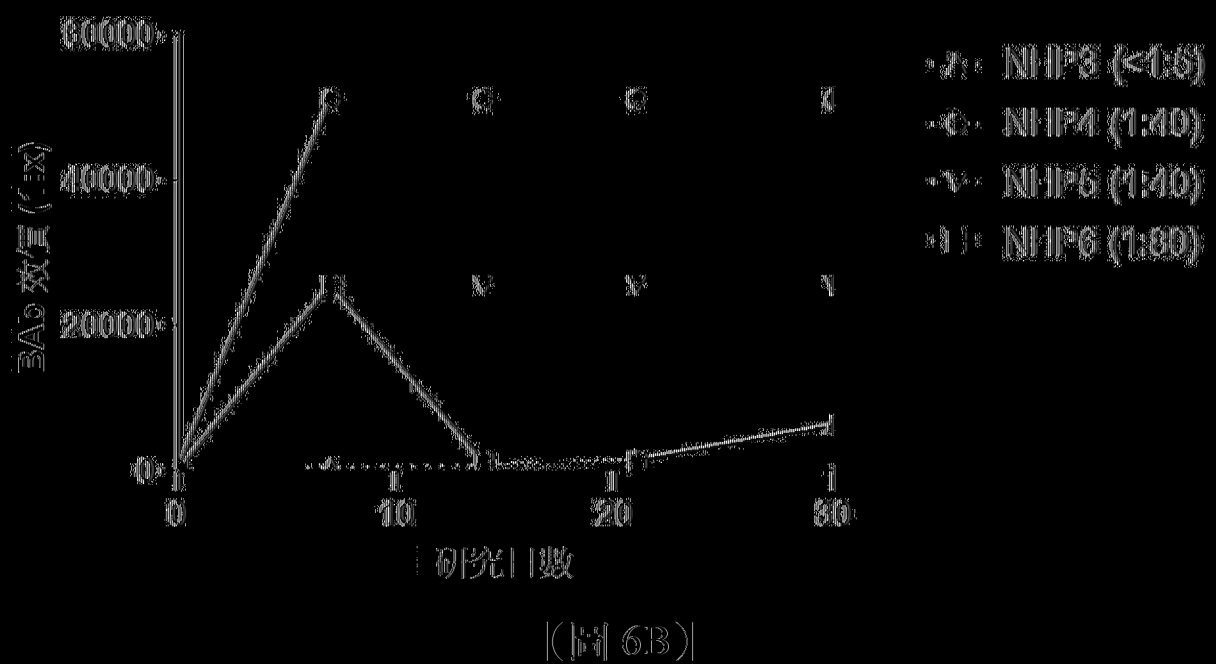
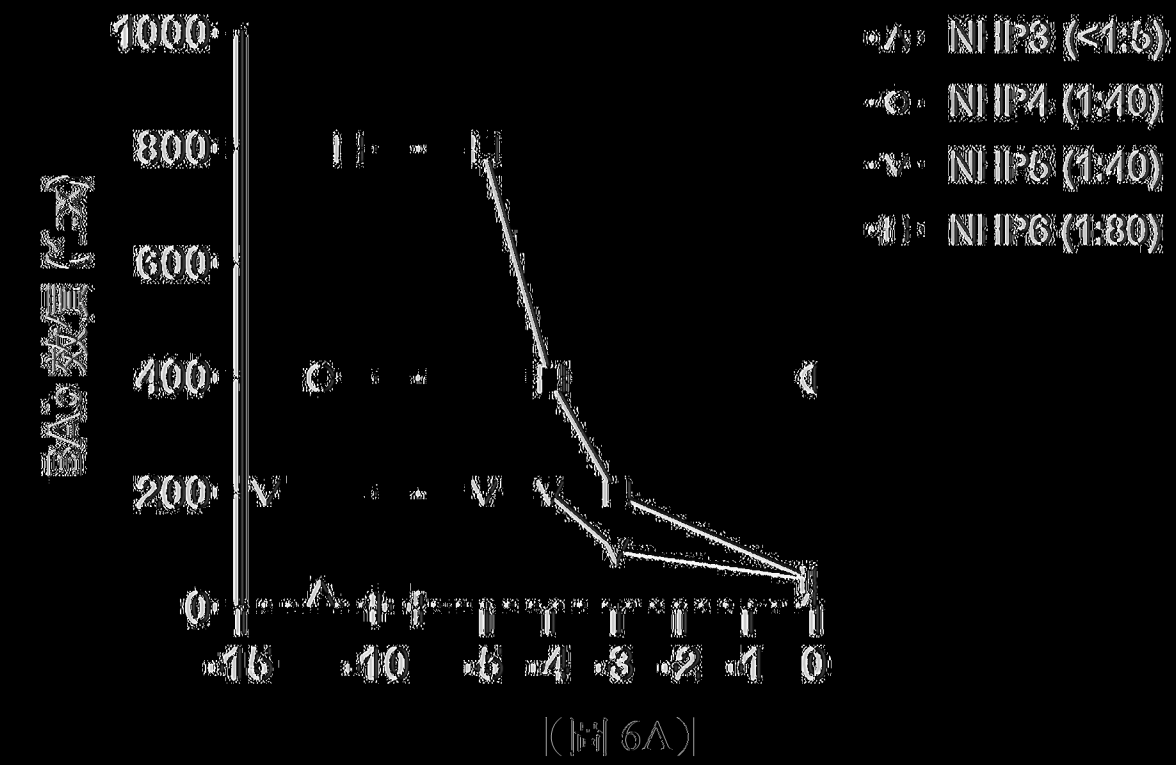


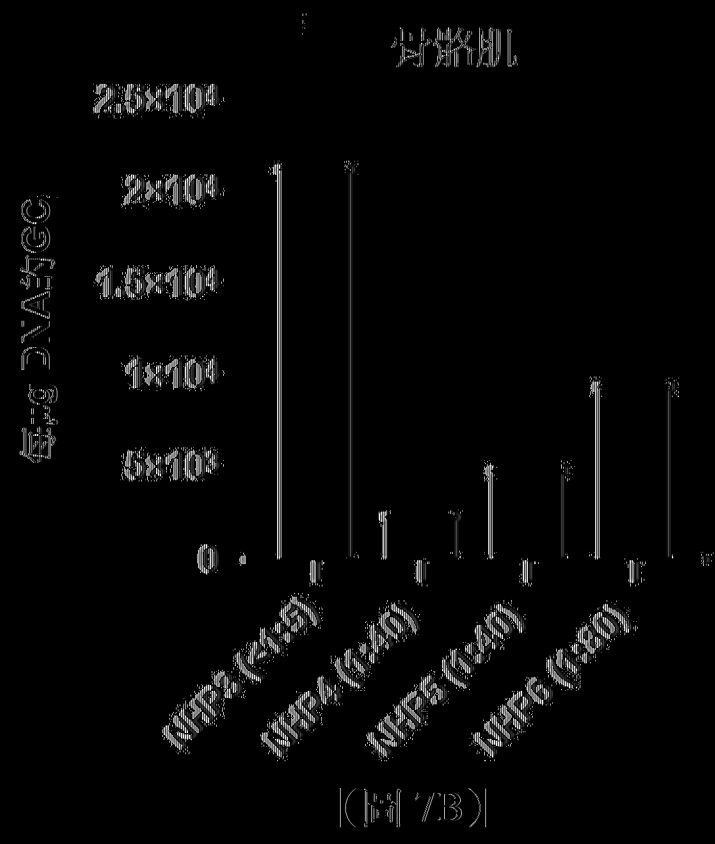
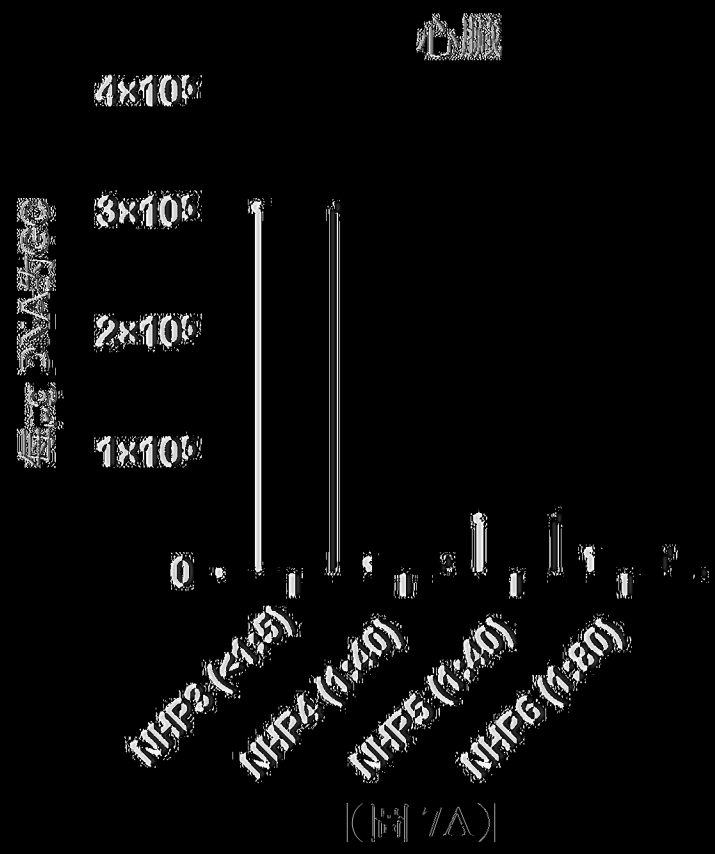


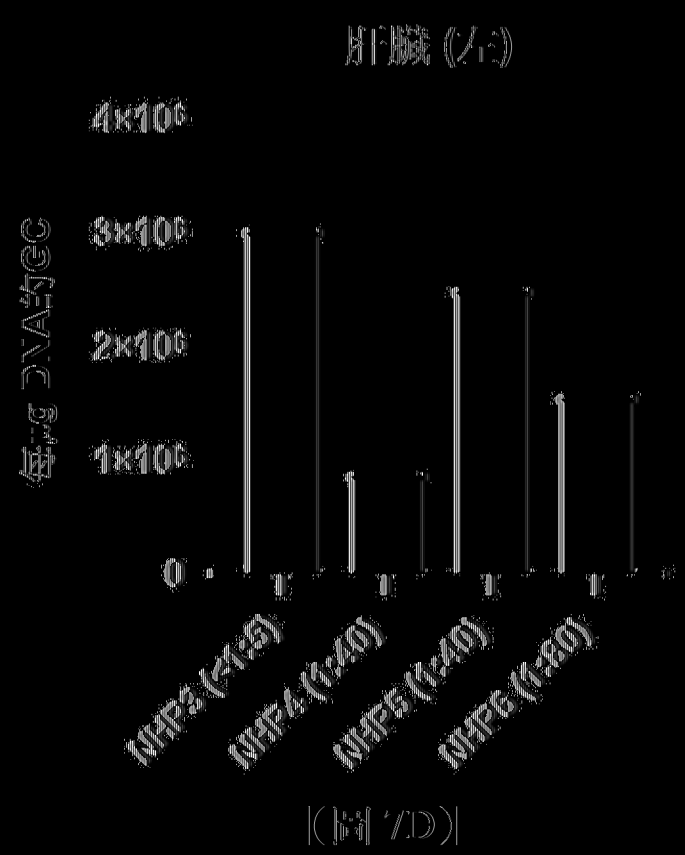
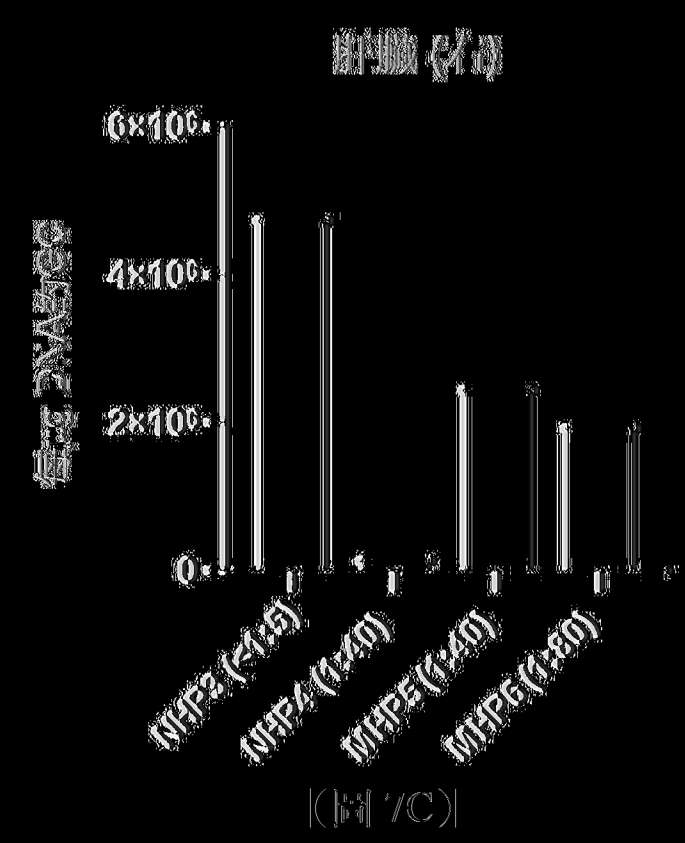


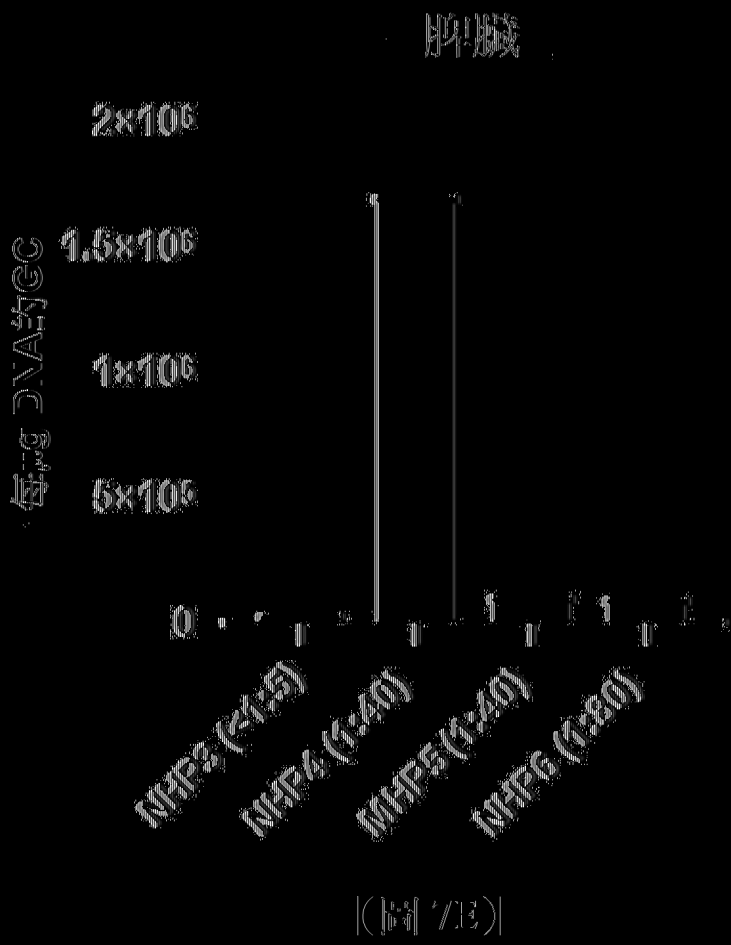


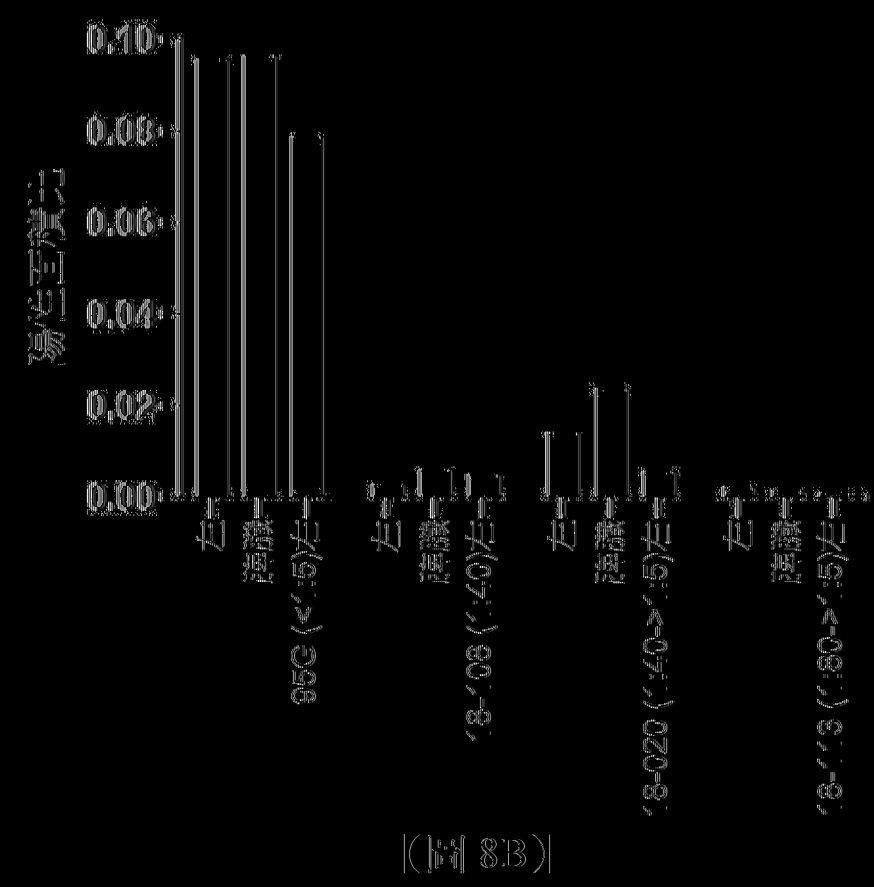
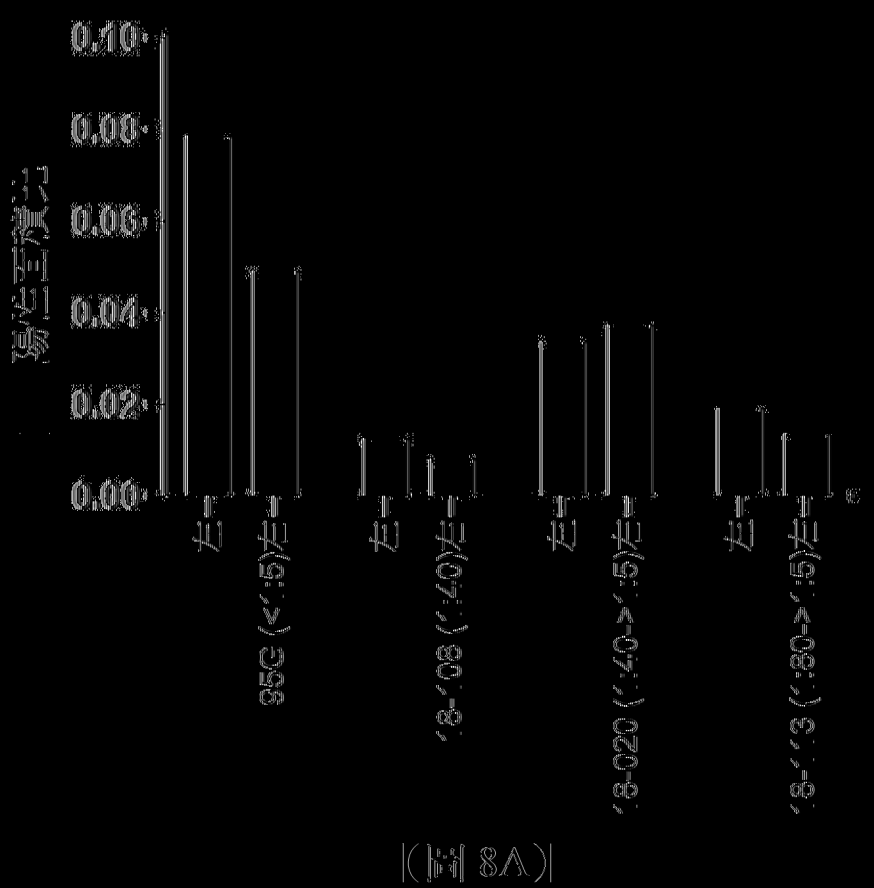




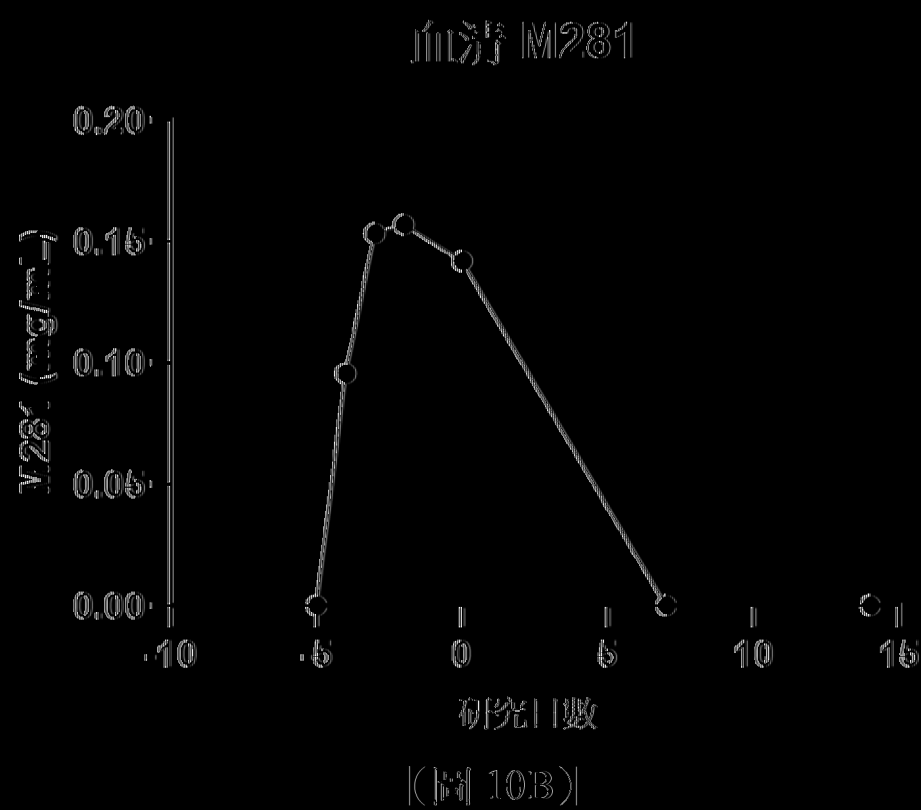
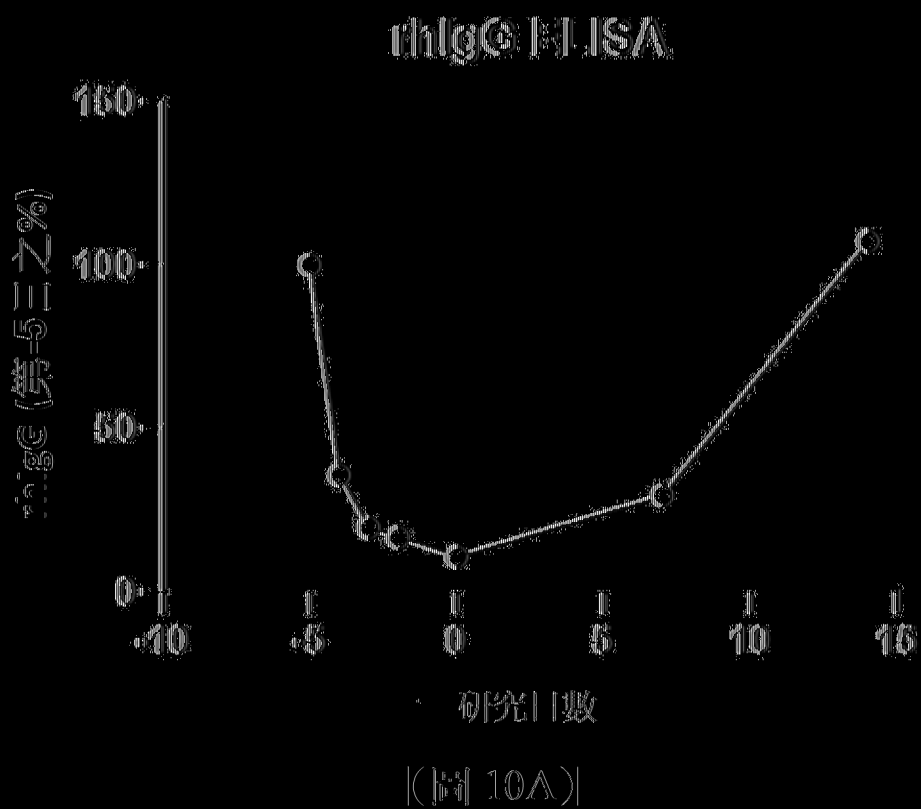


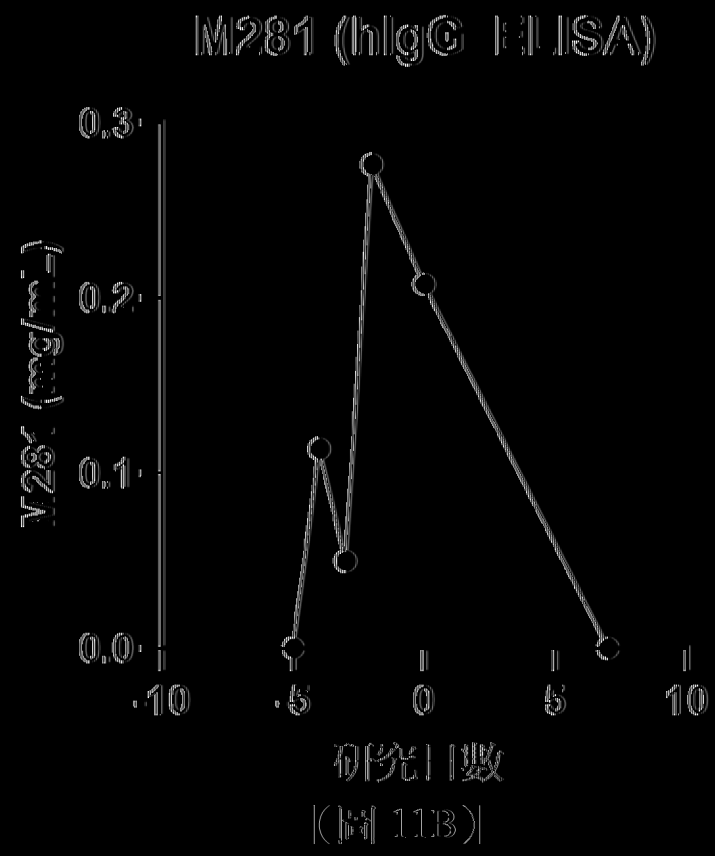
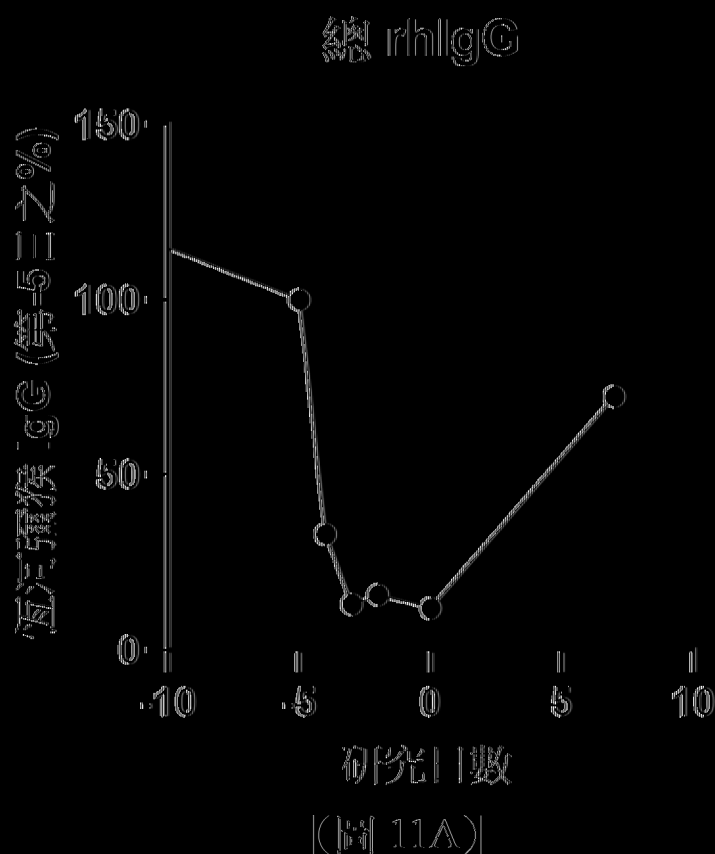


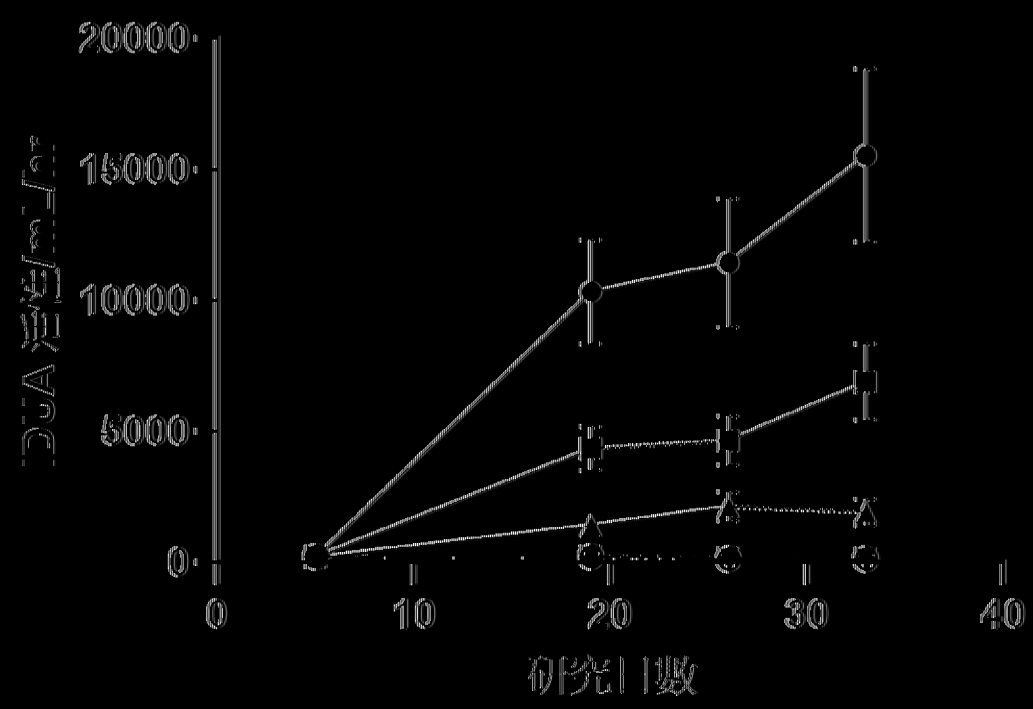





$$\left| \left(\begin{bmatrix} \mathbb{I}_n & R \\ 0 & 0 \end{bmatrix} \otimes \mathbb{I}_9 \right) \right|$$







- PBS+载体 1e11 GC
- PBS+载体 3e10 GC
- △ PBS+载体 1e10 GC
- ▽ IMG+载体 1e11 GC
- ◇ IMG+载体 3e10 GC
- ⊙ IMG+载体 1e10 GC

[(図 12)]