(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0164824
(43) 공개일자 2024년11월20일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C12N 15/113 (2010.01) *A61K 31/7088* (2006.01)
A61K 48/00 (2006.01) *A61P 21/04* (2006.01)
A61P 25/14 (2006.01) *C12N 15/86* (2006.01)
(52) CPC특허분류
C12N 15/113 (2013.01)
A61K 31/7088 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2024-7032973
(22) 출원일자(국제) 2023년03월06일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2024년10월02일
(86) 국제출원번호 PCT/US2023/063798
(87) 국제공개번호 WO 2023/168458
국제공개일자 2023년09월07일
(30) 우선권주장
63/316,659 2022년03월04일 미국(US)
63/379,983 2022년10월18일 미국(US)

(71) 출원인
로카나바이오 인크.
미국 92121 캘리포니아주 샌디에이고 3545 존 홉킨스 코트 스위트 200
(72) 발명자
라델리 마크밀러 리아
미국 92121 캘리포니아주 샌디에이고 3545 존 홉킨스 코트 스위트 200 로카나바이오 인크. 내
로스 다니엘라
미국 92121 캘리포니아주 샌디에이고 3545 존 홉킨스 코트 스위트 200 로카나바이오 인크. 내
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
김진희, 김태홍

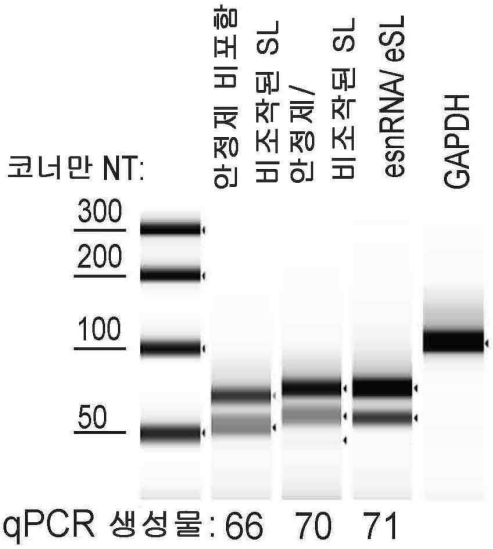
전체 청구항 수 : 총 37 항

(54) 발명의 명칭 **조작된 소형 핵 RNA(SNRNA)를 포함하는 조성물 및 방법**

(57) 요 약

조작된 스템 루프를 포함하는 SnRNA 시스템이 본원에 개시된다.

대 표 도 - 도1a



(52) CPC특허분류
A61K 48/005 (2013.01)
A61P 21/04 (2018.01)
A61P 25/14 (2018.01)
C12N 15/86 (2013.01)
C12N 2310/531 (2013.01)
C12N 2750/14143 (2013.01)
(72) 발명자
노울랜드 다니엘 에이
미국 92121 캘리포니아주 샌디에이고 3545 존 홉킨스 코트 스위트 200 로카나바이오 인크. 내
바트라 란잔
미국 92121 캘리포니아주 샌디에이고 3545 존 홉킨스 코트 스위트 200 로카나바이오 인크. 내
아담스 레이철 에이
미국 92121 캘리포니아주 샌디에이고 3545 존 홉킨스 코트 스위트 200 로카나바이오 인크. 내

명 세 서

청구범위

청구항 1

조작된 snRNA인 esnRNA를 포함하는 RNA 표적화 핵산 분자로서, esnRNA 시스템은 서열 번호 1-서열 번호 11, 서열 번호 146-서열 번호 148, 서열 번호 163, 또는 서열 번호 186-205로부터 선택되는 하나 이상의 핵산 서열을 포함하는 조작된 스템 루프(eSL)를 포함하는 RNA 표적화 핵산 분자.

청구항 2

제1항에 있어서, esnRNA가 관심 표적 RNA를 표적화하는 표적화 서열(TS)을 포함하는 RNA 표적화 핵산 분자.

청구항 3

제2항에 있어서, 표적 RNA가 프리-mRNA 또는 mRNA 서열인 RNA 표적화 핵산 분자.

청구항 4

제2항에 있어서, 관심 표적 RNA가 미소부수체 반복 RNA인 RNA 표적화 핵산 분자.

청구항 5

제4항에 있어서, 미소부수체 반복 RNA가 CUG, CAG, 및 GGGGCC+CCCCGG로 이루어진 군에서 선택되는 RNA 표적화 핵산 분자.

청구항 6

제2항에 있어서, 표적 RNA가 DMD를 코딩하는 서열인 RNA 표적화 핵산 분자.

청구항 7

제6항에 있어서, 표적화 서열이 서열 번호 206 또는 서열 번호 207로부터 선택되는 RNA 표적화 핵산 분자.

청구항 8

제6항에 있어서, 표적화 서열이 서열 번호 208-서열 번호 227에 기재된 하나 이상의 핵산 서열을 포함하는 RNA 표적화 핵산 분자.

청구항 9

제1항에 있어서, esnRNA가 2개의 관심 RNA를 표적화하는 2개의 표적화 서열을 포함하는 RNA 표적화 핵산 분자.

청구항 10

제9항에 있어서, 2개의 TS가 융합 서열인 RNA 표적화 핵산 분자.

청구항 11

제1항에 있어서, esnRNA가 U1, U2, U4, 및 U5 Sm 결합 도메인(SmBD)으로 이루어진 군에서 선택되는 SmBD를 포함하는 RNA 표적화 핵산 분자.

청구항 12

제11항에 있어서, SmBD가 서열 번호 31-서열 번호 38, 또는 서열 번호 164 중 어느 하나에 기재된 핵산 서열을 포함하는 RNA 표적화 핵산 분자.

청구항 13

제1항에 있어서, esnRNA가 서열 번호 12 -서열 번호 23 중 어느 하나로부터 선택되는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 5' 상호작용 안정제 도메인(5'ISD)을 포함하는 RNA 표적화 핵산 분자.

청구항 14

제1항에 있어서, esnRNA가 서열 번호 65-서열 번호 119 또는 서열 번호 179-서열 번호 185 중 어느 하나에 기재된 핵산 서열을 포함하는 RNA 표적화 핵산.

청구항 15

하나 이상의 제1항의 esnRNA를 포함하는 벡터.

청구항 16

제15항에 있어서, 바이러스 벡터가 AAV 벡터인 벡터.

청구항 17

제16항에 있어서, snRNA가 프로모터에 작동가능하게 연결되는 AAV 벡터.

청구항 18

제16항에 있어서, snRNA가 U7 프로모터 또는 U1 프로모터에 작동가능하게 연결되는 AAV 벡터.

청구항 19

제6항에 있어서, snRNA가 하류 종결인자(DT)에 작동가능하게 연결되는 AAV 벡터.

청구항 20

제16항에 있어서, snRNA가 U7 하류 종결인자 또는 U1 하류 종결인자에 작동가능하게 연결되는 AAV 벡터.

청구항 21

제16항에 있어서, 벡터가 적어도 1개, 적어도 2개, 적어도 3개, 적어도 4개, 또는 적어도 5개의 esnRNA를 포함하는 AAV 벡터.

청구항 22

제21항에 있어서, 적어도 1개, 적어도 2개, 적어도 3개, 적어도 4개, 또는 적어도 5개의 esnRNA가 각각 동일한 표적 RNA 서열을 표적화하는 AAV 벡터.

청구항 23

제21항에 있어서, 적어도 1개, 적어도 2개, 적어도 3개, 적어도 4개, 또는 적어도 5개의 esnRNA가 2개 이상의 표적 RNA 서열을 표적화하는 AAV 벡터.

청구항 24

제21항에 있어서, 각각의 esnRNA가 버퍼 서열에 의해 분리되어 있는 AAV 벡터.

청구항 25

제24항에 있어서, 버퍼 서열이 서열 번호 24-서열 번호 30 중 어느 하나에 기재된 핵산 서열을 포함하는 AAV 벡터.

청구항 26

제20항에 있어서, 벡터가 서열 번호 123-서열 번호 143, 서열 번호 168-서열 번호 178, 또는 서열 번호 231-서열 번호 233 중 어느 하나에 기재된 핵산 서열을 포함하는 AAV 벡터.

청구항 27

제1항의 esnRNA를 하나 이상의 표적 RNA를 포함하는 세포와 접촉시키는 단계를 포함하는, 하나 이상의 관심 표적 RNA를 표적화하고, 하나 이상의 표적 RNA를 차단, 녹 다운, 편집, 엑손 스키핑(exon-skipping) 또는 스플라이싱하는 방법.

청구항 28

서열 번호 206-서열 번호 230 중 어느 하나에 기재된 스페이서 서열을 포함하는 DMD 엑손 51 RNA 표적화 핵산 분자.

청구항 29

제1항의 RNA 표적화 핵산 분자 또는 제15항의 AAV 벡터를 투여하는 단계를 포함하는, 피험체에서 질환 또는 장애를 치료하는 방법.

청구항 30

제29항에 있어서, 질환 또는 장애가 독성 반복 RNA 서열과 연관되는 방법.

청구항 31

제29항에 있어서, 독성 반복 RNA 서열이 CAG, CUG, GGCCCC, CCGGG, 또는 GGCCC+CCGGGG RNA 반복부인 방법.

청구항 32

제29항에 있어서, 질환 또는 장애가 근긴장성 이영양증(DM1) 또는 헌팅턴병(HD: Huntington's disease)인 방법.

청구항 33

제29항에 있어서, 질환 또는 장애가 듀센 근이영양증(Duchenne Muscular Dystrophy)인 방법.

청구항 34

제33항에 있어서, RNA 표적화 핵산 분자 또는 AAV 벡터가 디스트로핀(DMD)을 코딩하는 RNA 서열을 표적화하는 방법.

청구항 35

제34항에 있어서, DMD를 코딩하는 RNA 서열이 인트론 또는 엑손 서열을 포함하는 방법.

청구항 36

제35항에 있어서, 엑손 서열이 DMD의 엑손 51, 또는 그의 플랭킹 영역을 포함하는 방법.

청구항 37

제29항에 있어서, 투여가 정맥내, 근육내, 연막하, 척수강내, 실질내, 척수강내, 선조체내, 피하, 진피내, 복강내, 종양내, 정맥내, 안구내, 및/또는 비경구 투여인 방법.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] **전자 서열 목록에 대한 참조**

[0002] 전자 서열 목록(LOCN_020_001WO_SeqList_ST26.xml; 크기: 289,776 바이트; 작성일: 2023년 3월 6일)의 내용은 그 전문이 본원에서 참조로 포함된다.

[0003] **관련 출원**

[0004] 본 출원은 2022년 3월 4일 출원된 미국 가출원 제63/316,659호 및 2022년 10월 18일 출원된 미국 가출원 제63/379,983호에 대한 우선권 및 이익을 주장한다. 상기 출원 각각의 내용은 그 전문이 본원에서 참조로 포함된다.

[0005] **본 개시내용의 분야**

[0006] 본 개시내용은 분자 생물학, 유전자 요법, 및 RNA 분자의 발현 및 활성을 변형시키기 위한 조성물 및 방법에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0007] 당업계에서는 기능장애가 있는 메신저 RNA를 보정하기 위한 효과적인 요법을 제공하는 것에 관하여 장기간 요구되어 왔지만, 충족되지 않은 상태이다.

[0008] 소형 핵 RNA(snRNA: small nuclear RNA)는 평균 크기가 약 150개의 뉴클레오티드인 가장 작은 RNA 유형 중 하나이다. snRNA는 기능성 비코딩 RNA이다. 진핵성 게놈은 핵에 국한되어 인트론 스플라이싱 및 RNA 프로세싱에서 중요한 기능을 하는 고도로 풍부한 RNA의 한 부류인 예컨대, snRNA와 같은 다양한 비코딩 RNA를 코딩한다. snRNA는 프리-mRNA 스플라이싱 프로세스에서 다른 단백질과 함께 리보핵단백질 입자(snRNP)를 형성할 수 있다. 이러한 snRNP 및 추가 단백질은 스플라이싱되지 않은 프리-mRNA 전사체에 결합된 큰 미립자 복합체 (스플라이세오솜)를 형성한다. 스플라이싱 외에도, snRNA는 신생 전사체의 핵 성숙화에서, 유전자 발현 조절에서, 비정규 시스템에서 스플라이스 공여자로서, 및 복제 의존적 히스톤 mRNA의 3' 말단 프로세싱에서 작용한다. U7 snRNA는 외인성 단백질 발현 없이 mRNA에 결합하고, 조정하도록 프로그래밍될 수 있지만, 면역원성 위험을 최소화하는 고도로 특이적인 mRNA 표적화 치료제 개발이 여전히 요구되고 있다. 추가로, 이러한 프로그래밍된 snRNA는 크기가 작기 때문에 단일 벡터, 고도로 특이적인(대립 유전자 특이적), 단일 표적 및 다중 표적화 유전자 요법 접근법을 개발할 수 있는 기회가 창출된다.

[0009] 따라서, 본 개시내용은 조작된 snRNA로 이루어진 신규한 치료 RNA 표적화 플랫폼을 포함하는 조성물 및 방법을 제공한다.

발명의 내용

[0010] **요약**

[0011] 본 개시내용은 조작된 snRNA 스템 루프(eSL: engineered snRNA stem loop)를 포함하는 조작된 snRNA(esnRNA: engineered snRNA)로 이루어진 신규한 치료 RNA 표적화 플랫폼을 포함하는 유전자 요법 조성물을 제공한다.

[0012] 본원에서는 조작된 snRNA(esnRNA)를 포함하는 핵산 분자, 및 벡터를 포함하는 조성물을 개시한다.

[0013] 본원에서는 조작된 snRNA(esnRNA) 시스템을 포함하는 RNA 표적화 핵산 분자로서, 여기서, esnRNA 시스템은 조작된 스템 루프(eSL)를 포함하는 것인 RNA 표적화 핵산 분자를 개시한다.

[0014] 한 실시양태에서, esnRNA는 5' 상호작용 안정제 도메인(5'ISD: 5' interaction stabilizer domain)을 포함한다.

[0015] 한 실시양태에서, esnRNA는 관심 RNA를 표적화하는 표적화 서열(TS: targeting sequence)(또는 스페이서)을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 관심 표적 RNA는 미소부수체 반복 RNA 또는 비반복 RNA이다. 또 다른 실시양태에서, 관심 미소부수체 반복 RNA는 CUG, CAG, GGGGCC, 및 CCCCGG로 이루어진 군에서 선택된다. 한 실시양태에서, esnRNA는 GGGGCC 및 CCCCGG인, 2개의 관심 표적 RNA를 표적화하는 표적화 서열(TS)을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 2개의 관심 표적 RNA는 미소부수체 반복 RNA 및 비반복 RNA이다. 또 다른 실시양태에서, 비반복 RNA는 미소부수체 반복 RNA에 대한 플랭킹 서열이다. 또 다른 실시양태에서, esnRNA는 2개 이상의 관심 RNA를 표적화하는 표적화 서열(TS)을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, esnRNA는 2개 이상의 관심 RNA를 표적화하는 2개 이상의 표적화 서열(TS)을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, esnRNA는 2개 이상의 TS의 융합체를 포함한다.

[0016] 한 실시양태에서, esnRNA는 Sm 결합 도메인(SmBD: Sm binding domain)을 포함한다. 한 실시양태에서, SmBD는 U1, U2, U4, 및 U5 snRNA로 이루어진 군에서 선택된다. 또 다른 실시양태에서, SmBD는 슈도 snRNA로부터 유래된 것이다.

[0017] 한 실시양태에서, esnRNA는 snRNA 프로모터에 작동가능하게 연결된다. 또 다른 실시양태에서, snRNA 프로모터는 U7 프로모터이다. 또 다른 실시양태에서, U7 프로모터는 내인성 U7 프로모터이다. 또 다른 실시양태에서, U7 프로모터는 인간 U7 프로모터(hU7) 또는 마우스 U7 프로모터(mU7)이다. 또 다른 실시양태에서, U7 프로모터는 서열 번호 43의 내인성 인간 U7 프로모터이다. 한 실시양태에서, snRNA 프로모터는 U1 프로모터이다. 또 다른 실

시양태에서, U1 프로모터는 인간 U1 프로모터 또는 마우스 U1 프로모터이다. 또 다른 실시양태에서, snRNA 프로모터는 인간 U7 프로모터, 인간 U1 프로모터, 인간 U2 프로모터, 인간 U4 프로모터, 인간 U5 프로모터, 인간 U6 프로모터, 인간 7sk 프로모터, tRNA(Val) 프로모터, 마우스 U1 프로모터, 및 마우스 U7 프로모터로 이루어진 군에서 선택된다. 또 다른 실시양태에서, 벡터는 하나 이상의 snRNA 프로모터에 의해 구동되는, 하나 이상의 esnRNA, 또는 하나 이상의 esnRNA 카피를 포함한다. 한 실시양태에서, 벡터는 2개의(2x) esnRNA 카피를 포함한다. 한 실시양태에서, 벡터는 2개의 snRNA 프로모터를 포함하고, 여기서, 각 프로모터는 2x esnRNA 카피를 구동시킨다. 또 다른 실시양태에서, 2개의 snRNA 프로모터는 U7 프로모터 및 U1 프로모터이다. 또 다른 실시양태에서, 2개의 snRNA 프로모터는 인간 U7 프로모터, 인간 U1 프로모터, 인간 U2 프로모터, 인간 U4 프로모터, 인간 U5 프로모터, 인간 U6 프로모터, 인간 7sk 프로모터, tRNA(Val) 프로모터, 마우스 U1 프로모터, 마우스 U2 프로모터, 마우스 U5 프로모터, 마우스 U6 프로모터, 마우스 U7 프로모터, 및 마우스 H1 프로모터로 이루어진 군에서 선택된다. 또 다른 실시양태에서, 2개의 snRNA 프로모터는 마우스 U7 프로모터 및 마우스 U1 프로모터이다.

[0018] 한 실시양태에서, esnRNA는 snRNA 하류 종결인자(DT: downstream terminator)에 작동가능하게 연결된다. 또 다른 실시양태에서, snRNA DT는 U7 DT이다.

[0019] 한 실시양태에서, esnRNA는 eSL, U7 프로모터, TS, SmBD, 5'ISD, 및 DT를 포함한다. 또 다른 실시양태에서, esnRNA는 eSL, U7 프로모터, U1 프로모터, TS, SmBD, 5'ISD, 및 DT를 포함한다.

[0020] 한 실시양태에서, esnRNA는 eSL, U7 프로모터, TS, SmBD, 5'ISD, 및 DT를 포함한다. 또 다른 실시양태에서, esnRNA는 eSL, U7 프로모터, U1 프로모터, TS, SmBD, 5'ISD, 및 DT를 포함한다.

[0021] 본원에서는 또한 esnRNA를 포함하는 벡터를 개시한다. 일부 실시양태에서, 벡터는 다중의 esnRNA 카피를 포함한다. 일부 실시양태에서, 다중의 esnRNA 카피는 2, 3, 또는 4개의(2x, 3x, 또는 4x) esnRNA 카피이다. 일부 실시양태에서, 다중의 esnRNA 카피는 4개 이상의(4x 이상의) esnRNA 카피이다. 일부 실시양태에서, 다중의 esnRNA 카피의 각 esnRNA는 snRNA의 하류의 인간 비코딩 게놈 서열로부터 유래된 핵산 버퍼 서열에 의해 분리된다. 한 실시양태에서, 버퍼 서열은 U7의 하류의 인간 게놈 서열로부터 유래된 것이다. 한 실시양태에서, 버퍼 서열은 버퍼 1(30 bp, 100 bp, 또는 500 bp), 버퍼 2(30 bp, 100 bp, 또는 500 bp), 버퍼 3(30 bp, 100 bp, 또는 500 bp), 및 그의 조합으로 이루어진 군에서 선택된다. 한 실시양태에서, 벡터는 바이러스 벡터 또는 비바이러스 벡터이다. 또 다른 실시양태에서, 바이러스 벡터는 AAV 벡터이다. 또 다른 실시양태에서, AAV 벡터는 scAAV 벡터 또는 ssAAV 벡터이다. 또 다른 실시양태에서, AAV 벡터는 AAV9 벡터이다. 또 다른 실시양태에서, AAV9 벡터는 ssAAV9 벡터 또는 scAAV9 벡터이다.

[0022] 본원에서는 또한 본 개시내용의 esnRNA를 하나 이상의 표적 RNA를 포함하는 세포와 접촉시키는 단계를 포함하는, 하나 이상의 관심 표적 RNA를 표적화하고, 하나 이상의 표적 RNA를 차단, 녹 다운, 편집, 엑손 스키핑, 엑손 포함 또는 스플라이싱하는 방법을 개시한다.

[0023] 본 개시내용은 조작된 snRNA esnRNA를 포함하는 RNA 표적화 핵산 분자로서, 여기서, esnRNA 시스템은 서열 번호 1-서열 번호 11, 서열 번호 146-서열 번호 148, 서열 번호 163, 또는 서열 번호 186-205로부터 선택되는 하나 이상의 핵산 서열을 포함하는 조작된 스템 루프(eSL)를 포함하는 것인 RNA 표적화 핵산 분자를 제공한다.

[0024] 일부 실시양태에서, esnRNA는 관심 표적 RNA를 표적화하는 표적화 서열(TS)을 포함한다.

[0025] 일부 실시양태에서, 표적 RNA는 프리-mRNA 또는 mRNA 서열이다. 일부 실시양태에서, 관심 표적 RNA는 미소부수체 반복 RNA이다. 일부 실시양태에서, 미소부수체 반복 RNA는 CUG, CAG, 및 GGGGCC+CCCCGG로 이루어진 군에서 선택된다.

[0026] 일부 실시양태에서, 표적 RNA는 DMD를 코딩하는 서열이다. 일부 실시양태에서, 표적화 서열은 서열 번호 206 또는 서열 번호 207로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 표적화 서열은 서열 번호 208-서열 번호 227에 기재된 하나 이상의 핵산 서열을 포함한다.

[0027] 일부 실시양태에서, esnRNA는 2개의 관심 RNA를 표적화하는 2개의 표적화 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 2개의 TS는 융합 서열이다.

[0028] 일부 실시양태에서, esnRNA는 U1, U2, U4, 및 U5 SmBD로 이루어진 군에서 선택되는 Sm 결합 도메인(SmBD)을 포함한다.

[0029] 일부 실시양태에서, SmBD는 서열 번호 31-서열 번호 38, 또는 서열 번호 164 중 어느 하나에 기재된 핵산 서열

을 포함한다.

[0030] 일부 실시양태에서, esnRNA는 서열 번호 12 -서열 번호 23 중 어느 하나로부터 선택되는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 5' 상호작용 안정제 도메인(5'ISD)을 포함한다.

[0031] 일부 실시양태에서, esnRNA는 서열 번호 65-서열 번호 119 또는 서열 번호 179-서열 번호 185 중 어느 하나에 기재된 핵산 서열을 포함한다.

[0032] 본 개시내용은 본 개시내용의 하나 이상의 esnRNA를 포함하는 벡터를 제공한다. 일부 실시양태에서, 바이러스 벡터는 AAV 벡터이다. 일부 실시양태에서, esnRNA는 프로모터에 작동가능하게 연결된다.

[0033] 일부 실시양태에서, esnRNA는 U7 프로모터 또는 U1 프로모터에 작동가능하게 연결된다.

[0034] 일부 실시양태에서, esnRNA는 하류 종결인자(DT)에 작동가능하게 연결된다. 일부 실시양태에서, esnRNA는 U7 하류 종결인자 또는 U1 하류 종결인자에 작동가능하게 연결된다.

[0035] 일부 실시양태에서, 벡터는 적어도 1개, 적어도 2개, 적어도 3개, 적어도 4개, 또는 적어도 5개의 esnRNA를 포함한다. 일부 실시양태에서, 적어도 1개, 적어도 2개, 적어도 3개, 적어도 4개, 또는 적어도 5개의 esnRNA는 각각 동일한 표적 RNA 서열을 표적화한다.

[0036] 일부 실시양태에서, 적어도 1개, 적어도 2개, 적어도 3개, 적어도 4개, 또는 적어도 5개의 esnRNA는 2개 이상의 표적 RNA 서열을 표적화한다. 일부 실시양태에서, 각 esnRNA는 버퍼 서열에 의해 분리되어 있다. 일부 실시양태에서, 버퍼 서열은 서열 번호 24-서열 번호 30 중 어느 하나에 기재된 핵산 서열을 포함한다.

[0037] 일부 실시양태에서, 벡터는 서열 번호 123-서열 번호 143, 서열 번호 168-서열 번호 178, 또는 서열 번호 231-서열 번호 233 중 어느 하나에 기재된 핵산 서열을 포함한다.

[0038] 서열 번호 206-서열 번호 230 중 어느 하나에 기재된 스페이서 서열을 포함하는 DMD 엑손 51 RNA 표적화 핵산 분자.

[0039] 본 개시내용은 본 개시내용의 RNA 표적화 핵산 분자 또는 본 개시내용의 AAV 벡터를 투여하는 단계를 포함하는, 피험체에서 질환 또는 장애를 치료하는 방법을 제공한다.

[0040] 일부 실시양태에서, 질환 또는 장애는 독성 반복 RNA 서열과 연관되어 있다. 일부 실시양태에서, 독성 반복 RNA 서열은 CAG, CUG, GGCCCC, CCGGG, 또는 GGCCC+CCGGGG RNA 반복부이다.

[0041] 일부 실시양태에서, 질환 또는 장애는 근긴장성 이영양증(DM1: myotonic dystrophy) 또는 헌팅턴병(HD: Huntington's disease)이다.

[0042] 일부 실시양태에서, 질환 또는 장애는 듀센 근이영양증(Duchenne Muscular Dystrophy)이다. 일부 실시양태에서, RNA 표적화 핵산 분자 또는 AAV 벡터는 디스트로핀(DMD)을 코딩하는 RNA 서열을 표적화한다.

[0043] 일부 실시양태에서, DMD를 코딩하는 RNA 서열은 인트론 또는 엑손 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 엑손 서열은 DMD의 엑손 51, 또는 그의 플랭킹 영역을 포함한다. 일부 실시양태에서, 투여는 정맥내, 근육내, 연막하, 척수강내, 실질내, 척수강내, 선조체내, 피하, 진피내, 복강내, 종양내, 정맥내, 안구내, 및/또는 비경구 투여이다.

도면의 간단한 설명

[0044] 특허 또는 출원 파일은 컬러로 작성된 적어도 하나의 도면을 포함한다. 컬러 도면(들)이 포함된 본 특허 또는 특허 출원 공보의 사본은 청구 및 필요한 수수료 납부시 해당 관청에 의해 제공될 것이다.

도 1a-d. 도 1a는 본원에 개시된 esnRNA의 안정성이 증가했음을 나타내는 조작된 SL에 대한 존재비가 증가하는 PCR 생성물의 테이프 스테이션 이미지를 보여주는 것이다. 예상 PCR 생성물 크기는 이미지 아래에 제시되어 있다. 도 1b는 비조작된 스템 루프와 함께 본원에 개시된 조작된 스템 루프(eSL)를 포함하는 조작된 snRNA(esnRNA)의 개략도를 도시한 것이다. 도 1c는 상호작용 안정제 도메인(ISD)을 사용하지 않고 이루어지는 snRNA의 5' 말단을 보호하는 대안적 메커니즘을 보여주는 것이다. 도 1d는 snRNA 카세트의 대략적인 크기를 보여주는 것이다.

도 2a-c. 도 2a-2b는 NT(비표적화) esnRNA와 비교하여 본원에 개시된 CUG를 표적화하는 esnRNA의 CUG RNA 초점(RNA Foci)의 FISH 정량화 및 이미지를 보여주는 것이다. y축은 NT에 대해 정규화된 세포당 평균 초점의 비율

(%)을 나타내고, x축은 처리를 나타낸다. 세포 핵은 DAPI로 염색하였고, CUG RNA 초점은 특정 표지된 프로브로 표지하였다. 도 2c는 CUG 반복 확장을 표적화하고, 차단하여 MBLN을 방출하고, DM1 질환에서 특징적인 스플라이싱 결함을 회복시키는 esnRNA MOA의 개략도를 보여주는 것이다.

도 3a-c. 도 3a는 기준선 수준으로 CAG80 리포터 mRNA를 용량에 의존하는 방식으로 녹다운한 qPCR 결과를 보여주는 것이다. y축은 참조 유전자 GAPDH 대비 CAG 반복 RNA 발현 수준을 나타내고, x축은 snRNA 처리 CAG 표적화(CUG15) 또는 비표적화(nt: non-targeting))(상이한 용량 250 ng, 500 ng 또는 1000 ng 사용)를 나타낸다. 도 3b는 CCAG80 리포터 폴리Q 단백질 발현에 대한 웨스턴 블롯을 보여주는 것이다. 상단 레인은 CAG 리포터 폴리Q 발현을 보여주는 것이고, 하단 레인은 GAPDH 로딩 대조군을 보여주는 것이다. 도 3c는 헌팅턴병에서 돌연변이체 HTT 중의 CAG 반복 확장 및 CAG 반복부를 차단하는 esnRNA MOA를 보여주는 것이다.

도 4a-d. 도 4a는 esnRNA로 처리한 후 USH2A 엑손 13 포함(상단 밴드) 또는 배제(하단 밴드)를 검출하기 위한 PCR 생성물의 테이프 스테이션 이미지를 보여주는 것이다. 도 4c는 (a에 제시된) NT esnRNA 대조군과 비교하여 esnRNA 처리 후 엑손 13 배제의 비율(%)의 정량화를 보여주는 것이다. 도 4B는 비조작된 snRNA와 비교하여 eSL을 포함하는 조작된 snRNA의 개략도를 보여주는 것이다. 도 4d는 어셔 증후군 및 DMD(듀센 근이영양증)에서의 스플라이싱 조정 개략도를 보여주는 것이다.

도 5a-f는 DM1 환자 유래 근관 중 CUG 반복부를 표적화하는 esnRNA로 처리한 후 (DM1 환자 세포에서 잘못 스플라이싱된) BIN1, DMD 및 LBD3에 대한 스플라이싱 이소폼의 회복에 대한 PCR 결과를 보여주는 것이다. 도 a-c는 도 d-f에 제시된 테이프 스테이션 이미지로부터 건강한 스플라이스 이소폼으로의 회복율(%)의 정량화를 보여주는 것이다. y축은 보정율(%)을 나타내고, x축은 처리(knt는 비표적화 음성 대조군을 지칭하고; CAGx15는 CUG 표적화 esnRNA를 지칭하고; unt는 비처리를 지칭한다)를 나타낸다.

도 6a-6b는 CTG480 HeLa 세포에서의 합성 snRNA 형질감염 후, 이어서, CUG RNA 초점에 대한 형광 계내 하이브리드화하여 CUG RNA 초점 녹 다운에서의 대안적 5' 상호작용 안정화 도메인(ISD)을 포함하는 esnRNA의 효능의 정량화를 보여주는 것이다(담청색 = 상응하는 5' ISD를 포함하는 대안적 조작된 스템 루프. 암청색 = 선택된 조작된 스템 루프 및 상응하는 5' ISD. sR220004 = 비표적화 snRNA). 합성 snRNA를 33 nM(a) 또는 11 nM(b) 용량으로 형질감염시켰다.

도 7a-7b는 다른 ISD가 시간이 지남에 따라 다양한 수준의 안정성을 유도한다는 것을 보여주는 것이다. 도 7a 및 b는 대안적 5' 안정화 도메인을 포함하는 합성 조작된 snRNA의 시간 경과에 따른 상대적 존재비를 보여주는 것이다. 다양한 안정화 도메인을 포함하는 합성 snRNA를 형질감염시킨 후 24 hr, 48 hr, 및 72 hr 시점에 RNA를 수집하여 snRNA의 상대적 안정성을 확인하였다.

도 8은 snRNA가 뚜렷이 다른 별개의 PolIII 및 PolII 프로모터하에서 발현될 때 CTG480 HeLa 세포에서의 qPCR에 의한 snRNA 발현 수준을 보여주는 것이다. y축은 GAPDH 참조 유전자 대비 snRNA 발현 수준을 나타내고, x축은 snRNA를 발현시키는 데 사용된 상이한 snRNA 프로모터(Pol II U1 및 U7 프로모터 또는 PolIII: U6, tRNA 및 7SK)를 나타낸다. 다양한 프로모터를 갖는 플라스미드는 2개의 상이한 용량(250 및 500 ng)으로 형질감염시켰다.

도 9a-9b는 다양한 Pol III 및 Pol II 프로모터 및 각각의 DT 서열을 포함하는 500 ng (a) 또는 250 ng (b) 조작된 snRNA 구축물 형질감염 후 CTG480 HeLa 세포에서의 RNA FISH에 의한 CUG 초점의 정량화를 보여주는 것이다. 조작된 snRNA의 발현을 구동시키는 Pol II 프로모터를 포함하는 구축물(P02225 및 P03557)은 snRNA를 구동시키는 Pol III 프로모터를 포함하는 구축물보다 미소부수체 반복부 함유 초점을 고갈시키는 데 있어서 더욱 효과적이다. 회색 막대는 NT esnRNA를 나타내고, 청색 막대는 CUG 표적화 esnRNA를 나타낸다.

도 10은 snRNA가 PolIII(U6, tRNA 및 7SK) 또는 PolII 프로모터(U7 및 U1) 하에서 발현되고, SmOpt 또는 U1 Sm 결합 부위를 함유할 때, HEK293T 세포에서의 qPCR에 의한 snRNA 발현 수준을 보여주는 것이다.

도 11a-11b는 HEK293 세포로의 형질감염 후의 GAPDH 참조 유전자 대비 snRNA 발현 수준을 보여주는 것이다. qPCR을 위해 각 snRNA(z)에 대해 특이적인 프라이머를 사용하여 상대적인 프로모터 강도를 결정하였다. y축은 GAPDH 대비 snRNA 발현 수준을 나타내고, x축은 snRNA 뚜렷이 다른 별개의 프로모터(U1, U2, U4, U5 및 U7; unt는 비처리를 지칭)하에 발현될 때, snRNA 스페이서 znt(비표적화 대조군, a에서) 및 z38(표적화 스페이서, b에서)을 나타낸다. z-nt(도 a) 또는 z-38(도 b)에 특이적인 프라이머 세트를 사용하였다.

도 12a-12b는 본원에 개시된 snRNA(A03980: 2x z38/42 융합 snRNA 카세트; A03981: 하나는 z42 TS를 갖는 것이고, 나머지 다른 하나는 z38 TS를 갖는 것인 2개의 snRNA 카세트)로의 인간 델타 엑손 52 근관 형질도입 후 엑

손 51 스키핑에 대한 결과를 보여주는 것이다. 도 12a는 엑손 51 포함 및 배제된 이소폼을 나타내는 PCR 생성물의 테이프 스테이션 이미지 및 예측된 단편 크기를 나타낸 개략도를 보여주는 것이다. 도 12b는 도 12a 반정량적 PCR에서의 밴드 강도의 정량화를 보여주는 것이다. y축은 엑손 51 스키핑 비율(%)을 나타내고, x축은 처리(합성 snRNA 또는 상이한 MOI하의 AO3980 또는 AO3981에 대해 형질도입된 AAV)를 나타낸다.

도 13a-13b는 엑손 51 스키핑을 위해 snRNA로 처리한 후의 인간 델타 엑손 52 근관의 디스트로핀 염색 및 회복을 보여주는 것이다. 도 13a는 비처리 근관, 합성 snRNA로 처리된 근관 또는 1e6 또는 5e6의 MOI로 AO3980(2x z38/z42 융합 snRNA 카세트)로 처리된 근관에서 데스민 또는 디스트로핀에 대한 면역형광을 보여주는 것이다. 도 13b는 1e6 또는 5e6의 MOI로 AO3981(z42 TS 및 z38 TS를 포함하는 2개의 snRNA 카세트)로 형질도입된 근관에서의 데스민 또는 디스트로핀에 대한 면역형광을 보여주는 것이다.

도 14a는 도 14b에 도시된 바와 같이, 동일한 서열의 2개의 융합 snRNA를 발현하는 AO4569의 벡터 게놈을 도시한 것이다. 도 14c는 z38 표적화 서열이 안티센스 서열에서 맨 5'측 위치에 존재하고, z42 표적화 서열은 z38 서열 하류에 위치하거나(z73), 또는 반대 배향으로 z42 표적화 서열이 맨 5'측 위치에 존재하고, z38이 하류에 위치하도록(z187) 엑손 51 엑손 스플라이싱 인핸서(ESE: Exon Splicing Enhancer) 표적화 융합 snRNA가 구축될 수 있다는 것을 보여주는 것이다. 두 경우 모두, snRNA의 안티센스 서열은 2개의 표적화 서열로 이루어지며, 이는 각각 엑손 51에서 별개의 고유한 ESE를 표적화한다(도 14c에서 하단 다이어그램).

도 15a-d는 엑손 52가 결실된 인간 골격 근관 및 del52hDMD/mdx 마우스에서 엑손 51 ESE 표적화 융합 snRNA의 활성을 보여주는 것이다. (a) 융합 안티센스 서열 z73(z38/z42) 및 z187(z42/z38)을 보유하는 저용량의 합성 snRNA로의 형질감염 24시간 후 *DMD* 엑손 52가 결실된 인간 골격 근관에서의 엑손 51 스키핑의 테이프 스테이션 이미지 및 정량화. 저용량에서 합성 snRNA z187을 형질도입하면 z73보다 더 높은 수준의 엑손 51 스키핑이 유도된다. (도 15b)는 AAV9-AO4526(각각 z73을 발현하는 2개의 esnRNA 카세트 보유) 및 AO4569(각각 z187을 발현하는 2개의 카세트 보유)를 2.5e4, 1e5 및 5e5의 MOI로 7일 동안 형질도입한 후, DMD 엑손 52가 결실된 인간 골격 근관에서의 엑손 51 스키핑의 정량화를 보여주는 것이다. (도 15c) 는 인간화 엑손 52 결실 DMD (del52hDMD/mdx) 마우스 모델에서의 엑손 51 스키핑의 정량화를 보여주는 것이다. 마우스에 AO4526 및 AO4569를 3e12 벡터 게놈으로 후안와로 주사하였다. 3주간의 생존 후, RNA를 전경골근(TA: tibialis anterior muscle), 비복근(Gc: Gastrocnemius) 및 심장으로부터 추출하였다. 반정량적 RT-PCR을 수행하여 엑손 51 포함 및 배제된 밴드를 검출하였다. (도 15d)는 del52hDMD/mdx 마우스의 비복근에의 3e11 vg/근육 용량의 AO4526 또는 ESE 표적화 비보-모르폴리노(ViM: Vivo-Morpholino)의 근육내 전달 4주 후의 디스트로핀 양성 섬유의 정량화를 보여주는 것이다. 야생형 인간 디스트로핀을 발현하는 hDMD/mdx 마우스(회색 막대)는 디스트로핀 발현에 대한 양성 대조군 역할을 한다. U = 비처리.

도 16a-d는 (1700개의 CUG 반복부를 함유하는) 환자 유래 근관에서 CUG 반복부를 표적화하는 snRNA로 처리한 후의 DMD 및 LBD3 스플라이스 이소폼의 스플라이싱 역전 및 DMPK의 녹다운을 보여주는 것이다. (5일 동안) myoD 아데노바이러스 벡터로의 형질도입에 의해 DM1 환자 섬유아세포를 근관으로 분화시켰다. 이어서, 세포에 AO4233 및 AO4234(CUG 반복부를 표적화하는 scAAV9 이중 snRNA)를 다중 MOI로 형질도입하고, 형질도입 후 7일째에 수확하였다. 도 16a는 정상 WT 세포에서 보이는 스플라이싱 보정의 마커인 DMD 엑손 78 포함(상단 밴드) 및 LBD3 엑손 11 배제(하단 밴드)를 검출하기 위해 특정 프라이머를 사용한 RT-PCR 생성물의 테이프 스테이션 이미지를 보여주는 것이다. DMD 엑손 78 포함(도 16b) 및 LBD3 엑손 11 배제(도 16c)의 정량화. x축은 처리(벡터 및 MOI)를 나타낸다. y축은 DMD 엑손 78에 대한 엑손 포함 또는 LBD3 엑손 11에 대한 배제인 스플라이스 보정(%)을 나타낸다. 도 16d는 상이한 MOI로 snRNA(AAV9 AO4233 및 AAV9 AO4234)로의 처리 후, ddPCR에 의한 DMPK RNA 발현 수준을 보여주는 것이다. x축은 처리를 나타낸다. y축은 UNT(비처리 세포)에 대해 정규화된 GAPDH 참조 유전자 카피 1000개당 DMPK 카피를 도시한 것이다.

도 17a-b는 상이한 MOI로 AAV9 AO4233 및 AAV9 AO4234가 형질도입된 환자 유래 근관으로부터의 핵 RNA 초점의 이미지 및 정량화를 보여주는 것이다. (5일 동안) myoD 아데노바이러스 벡터로의 형질도입에 의해 DM1 환자 섬유아세포를 근관으로 분화시켰다. 이어서, 세포에 다중 MOI로 AO4233 및 AO4234(CUG 반복부를 표적화하는 scAAV9 이중 snRNA)로 형질도입하고, (CUG 초점을 검출하기 위해) RNA FISH를 위해 형질도입 후 7일째에 수확하였다. 도 17a는 비처리 근관 및 AAV9 snRNA 벡터 AO4233 및 AO4234로 처리된 근관으로부터 수득된 CUG RNA 초점 이미지를 보여주는 것이다. 세포 핵은 DAPI로 염색하고, CUG 표지 프로브로 CUG FISH를 수행하였다. 세포를 형질도입 후 7일째 프로세싱하였다. 도 17b는 세포당 CUG 초점의 평균 개수에 대한 정량화를 보여주는 것이다. x축은 사용된 처리 및 MOI를 나타낸다. y축은 UNT(비처리 세포)로 정규화된 세포당 평균 CUG 초점을 나타낸다.

도 18a-c는 처리, 타임라인, CAG 반복부를 표적화하는 AAV-snRNA로의 처리 후의 HTT 돌연변이체 가용성 단백질의 정량화를 도시한 것이다. 도 18a는 사용된 벡터 AAV-A04390(CAG 반복부를 표적화하는 2x hU7/hU1 snRNA), 두 MOI 및 돌연변이체(mut) HTT 가용성 단백질을 검출하는 종점 검정법에 대한 실험 설계를 보여주는 것이다. 도 18b는 본 실험에 대한 타임라인을 보여주는 것이다. (66개의 CAG 반복부를 함유하는) HD 환자 iPS를 2주 동안 피질 뉴런으로 분화시킨 후, 이어서, 추가로 2주 동안 AAV-A04390 snRNA 벡터로 형질도입시켰다. 이어서, 피질 뉴런을 수확하고, 돌연변이체 가용성 HTT 단백질을 메조 스케일 디스커버리 면역검정법(MSD: Meso scale discovery, 도 18c에 제시)에 의해 정량화하였다. y축은 단백질 용해물 mg당 돌연변이체 가용성 HTT fmol을 나타내고, x축은 처리 및 MOI를 나타낸다.

도 19a-b는 R6/2 HD 마우스 모델에서의 CAG 반복부를 표적화하는 생체내 연구 설계 및 CAG 반복부를 표적화하는 AAV-snRNA(A03081)로의 처리 후의 돌연변이체 HTT 가용성 단백질의 정량화를 도시한 것이다. 도 19a 다이어그램은 선조체내 주사에 의해 투여된 AAVrh10-snRNA(4x CAGx15 표적화 snRNA 벡터)의 투여량(2e10 벡터 게놈)을 보여준다. 비처리 또는 비주사된 대측 선조체 측을 대조군으로 사용하였다. (도 19b)는 비처리 마우스 및 snRNA 처리 마우스(n=10)에서 메조 스케일 디스커버리 면역검정법(MSD)에 의한 가용성 HTT 단백질의 정량화를 보여주는 것이다. y축은 전체 단백질 용해물 mg당 돌연변이체 가용성 HTT fmol을 도시한 것이고, x축은 처리를 나타낸다.

도 20a는 A04527로부터 발현된 snRNA와 A04526으로부터 발현된 snRNA 사이의 차이를 도시한 것으로, 여기서, A04526은 5'ISD 및 조작된 마우스 SL을 갖는 조작된 snRNA를 발현하고, A04527은 5'ISD 및 마우스 천연 SL을 갖지 않는다. 도 20b는 AAV9-A04527 또는 A04526 바이러스에 대해 MOI 1e6으로 CHO-Lec2 세포를 형질도입한 후 2일째 z38/42 발현(snRNA 카피수/나노그램)의 막대 그래프를 보여주는 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0045] **상세한 설명**

[0046] 본 개시내용은 조작된 snRNA 스템 루프(eSL)를 포함하는 조작된 snRNA(esnRNA)로 이루어진 신규한 치료 RNA 표적화 플랫폼을 포함하는 유전자 요법 조성물을 제공한다.

[0047] 본원에서는 조작된 snRNA(esnRNA)를 포함하는 핵산 분자, 및 벡터를 포함하는 조성물을 개시한다.

[0048] 소형 핵 리보핵산(snRNA)은, 추가의 단백질과 함께 어셈블리되었을 때, 전체 mRNA 성숙화 프로세스를 매개하도록 지정된 세포 기구인 스플라이세오솜로 공지된 큰 리보핵단백질 복합체를 형성하는 소형 핵 리보핵단백질 복합체(snRNP)의 필수 성분이다. 스플라이세오솜은 단백질 생산 전체 RNA 전사체로부터 인트론을 제거하는 프로세스인 전구체 mRNA 스플라이싱을 담당한다. 개별 snRNA는 크기가 일반적으로 약 250개 이하의 뉴클레오티드 크기이다. 예를 들어, U1 snRNA는 길이가 164개의 뉴클레오티드 길이이고, 인간 게놈 내에 수개의 카피로 존재하는 유전자에 의해 코딩된다. U1 snRNA는 핵 입자 U1 snRNP의 리보핵산 성분을 나타낸다. U1 snRNA는 스템 및 루프의 3차원 구조를 가지고 있으며, 5' 영역 내에 일반적으로 길이가 약 9개의 뉴클레오티드 길이이며, 프리-mRNA 분자 상의 스플라이싱 공여자 부위에 상보적 염기쌍 형성에 의해 결합할 수 있는 단일 가닥 서열이 존재한다(문헌 [Horowitz et al., 1994, Trends Genet., 10(3):100-6.]). 다양한 스플라이세오솜 snRNA는 이들이 함유하는 우리딜산의 양이 많기 때문에 U1, U2, U4, U5, U6, U4ATAC, U6ATAC, U7, U11 및 U12로 지정되었다(문헌 [Mattaj et al., 1993, FASEB J, 15, 7:47-53.]).

[0049] snRNA 시스템은 독성 돌연변이를 치료하는 데 사용될 수 있다. 예를 들어, 독성 돌연변이를 포함하는 엑손 내의 스플라이스 부위 및 조절 요소를 방해하는 안티센스 올리고뉴클레오티드는 프리-RNA 수준에서 특정 엑손의 스키핑을 유도할 수 있다. 상기 안티센스 서열은 snRNA의 전사 기점이 될 수 있는 핵산 서열을 보유하는 바이러스 벡터를 사용하여 전달되는 snRNA 서열에 패키징될 수 있다. U7 snRNA는 내인적으로 히스톤 프리-mRNA 3'-말단 프로세싱에 관여하지만, Sm/Lsm 단백질에 대한 결합 부위에서의 작은 변화를 통해 스플라이싱 조정을 위한 다용도 도구로 전환될 수 있다. 듀센 근이영양증을 치료하기 위한 상기 치료 전략법 중 하나는 변형된 U7 snRNA를 사용하여 프레임 외부 돌연변이를 프레임 내부 돌연변이로 전환하여 내부적으로 결실된 독성 RNA를 생성하지만, 여전히 기능성인 디스트로핀을 생성한다(문헌 [Goyenvalle et al., 2009, 17(7): 1234-1240.]).

[0050] 대부분의 U가 풍부한 snRNP는 프리-mRNA의 스플라이싱을 매개하는 복합체이다. U7 snRNP는 예외이다. U7은 스플라이싱에 관여하지 않고, 오히려 복제 의존적 히스톤 mRNA의 고유한 3'-말단 프로세싱에서 중요한 요소이다. U7 snRNA 히스톤 결합 서열 및 Sm 모티프를 변형시킴으로써 U7은 더 이상 히스톤 프리-mRNA 프로세싱에 관여할 수 없으며, 대신 차단 또는 스플라이싱 조정을 위해 프리-mRNA 또는 smRNA를 표적화한다. 이러한 방식으로, U7

snRNA는 효과적인 유전자 요법 플랫폼으로 사용될 수 있다. U7 snRNA 플랫폼은 또한 크기가 작고, 세포 독성을 일으키지 않고 핵에 축적될 수 있는 능력이 있으며, 면역반응성이 거의 없거나, 전혀 없다는 추가적인 이점이 있다(문헌 [Gadgil et al., 2021, J Gene Med, 23(4): e3321.]).

[0051] 본원에서는 1) 조작된 스템 루프(eSL)를 포함하는, 새로 조작되고, 재설계된 snRNA 플랫폼(또는 본원에서 esnRNA 플랫폼으로 공지)을 개시한다. 천연 스템 루프 서열에 대한 보상적 변형을 통해 snRNA 상호작용 안정화 도메인(ISD)과 더욱 효과적으로 소통하여(폴딩하고, 어닐링하여), 결과적으로는 안정성이 증가된 snRNA 플랫폼을 생성하는 조작된 스템 루프(eSL)가 생성된다. 도 1을 참조한다. U7 snRNA는 이전에 mRNA를 조정하도록 프로그래밍 가능한 것으로 나타났다. 본원에서는 유전자 요법 도구로 사용될 수 있는 프로그래밍된 조작된 snRNA 개선안을 개시한다. 상기 조작된 snRNA 시스템은 본원에서 미소부수체 반복 확장을 차단하고(본원에서 근긴장성 이영양증(DM1) 또는 헌팅턴병(HD)을 치료하기 위한 것으로 제시), 엑손 스키핑을 유도하고(DMD 치료), 스플라이싱 조정을 유도하는 것(본원에서 USH2A(제2형 어셔 증후군: Usher Syndrome type 2)를 치료하기 위한 것으로 제시)으로 제시되어 있다. 한 실시양태에서, 상기 snRNA는 인간 snRNA이다. 또 다른 실시양태에서, 상기 snRNA는 마우스 snRNA이다. 또 다른 실시양태에서, snRNA는 인간 snRNA 및 마우스 snRNA의 조합이다. 한 실시양태에서, U7은 인간 U7 또는 마우스 U7이다. 본원에 개시된 또 다른 실시양태에서, 조작된 snRNA는 플랫폼의 안정화를 미세 조정하고/거나, 오프-타겟 효과를 감소시키기 위해 내인성 snRNA의 도메인을 조합함으로써 다양한 유형의 snRNA(U1-U12 등)를 포함한다. 예를 들어, 한 실시양태에서, 조작된 snRNA 시스템은 인간 또는 마우스 U7 및 인간 또는 마우스 U1 snRNA 성분의 조합을 포함한다.

[0052] RNA의 프로세싱 및 존재비를 조정할 수 있는 추가 요소는 eSL을 포함하는 esnRNA로 추가로 조작될 수 있다. 도 1c를 참조한다. 한 실시양태에서, esnRNA의 프로세싱, 안정성, 및 존재비를 조정할 수 있는 추가 요소는 5' 또는 3' 말단에서 esnRNA로 추가로 조작될 수 있다. 또 다른 실시양태에서, 상기 요소는 스템 루프, 헤어핀, G-C 클램프, 키싱 루프, 삼중 나선, 사중 나선, 및 단백질 결합 부위를 포함할 수 있지만, 이에 제한되지 않는다.

[0053] 본원에 개시된 esnRNA 플랫폼 및 그의 일부는 적합한 스페이서(들)(또는 TS(들))가 esnRNA 치료 조성물의 설계에 포함되는 한, 임의의 치료 환경 및 맥락에서 사용될 수 있다. 특정 실시양태에서, 치료 esnRNA 조성물은 듀센 근이영양증, DM1, 및 HD로 이루어진 군에서 선택되는 질환을 치료하는 데 사용된다. 또 다른 실시양태에서, esnRNA 조성물은 엑손 51 돌연변이에 의해 유발된 DMD를 치료하는 데 사용된다.

[0054] **조작된 스템 루프**

[0055] 본원에 개시된 조작된 snRNA(esnRNA) 시스템은 천연 snRNA 스템 루프에 대한 보상적 변형을 포함하는 조작된 스템 루프(eSL)를 포함한다. 이러한 변형을 통해 esnRNP의 안정성은 변형되지 않은 스템 루프를 포함하는 snRNP와 비교하여 증가된다. 본원에 개시된 eSL은 임의의 snRNP, 예컨대, U1-U12로부터 유래될 수 있다. 한 실시양태에서, eSL은 인간 또는 마우스 U7 eSL이다. 한 실시양태에서, eSL은 인간 또는 마우스 eSL이다. 일부 실시양태에서, eSL은 인간 및 마우스 eSL이다. 일부 실시양태에서, eSL은 마우스, 돼지, 양, 염소, 소, 개, 고양이, 말, 또는 그의 조합으로 이루어진 군에서 선택되는 비인간 eSL이다. 일부 실시양태에서, eSL은 인간, 마우스, 돼지, 양, 염소, 소, 개, 고양이, 말, 또는 그의 조합으로 이루어진 군에서 선택되는 eSL이다. 일부 실시양태에서, eSL 서열은 천연 스템 루프 서열이 아니다. 일부 실시양태에서, eSL의 핵산 서열은 적어도 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%(또는 그 사이의 모든 비율(%))가 천연 스템 루프 서열이 아니다.

[0056] 일부 실시양태에서, 인간 eSL은 하기 뉴클레오티드 서열 중 하나 이상의 것과 적어도 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%(또는 그 사이의 모든 비율(%)) 동일한 핵산 서열을 포함하거나, 본질적으로 그로 이루어지거나, 또는 그로 이루어진다:

ggctttctggctccttaccggaaagcc (서열 번호 1),
ggctttctgggaggttaccggaaagcc (서열 번호 2),
ggctttctggcctccttaccggaaagcc (서열 번호 3),
ggctttctggggaggttaccggaaagcc (서열 번호 4),
ggctttctggctggctaccggaaagcc (서열 번호 5),
ggctttctggcttccccggaaagcc (서열 번호 6),
ggctttctggcttcttcccggaaagcc (서열 번호 7),
ggctttctggcaacttaccggaaagcc (서열 번호 8),
ggctttctggttcggtaccggaaagcc (서열 번호 9),
ggctttctggaagccttaccggaaagcc (서열 번호 10),
ggctttctggcttcttaccggaaagcc (서열 번호 11), 또는
GGCTTTCTGGCCTCCGCCGGAAAGCCCCT (서열 번호 186).

[0057]

[0058] 일부 실시양태에서, 뮤린 eSL은 하기 뉴클레오티드 서열 중 하나 이상의 것과 적어도 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%(또는 그 사이의 모든 비율(%)) 동일한 핵산 서열을 포함하거나, 본질적으로 그로 이루어지거나, 또는 그로 이루어진다:

ggctttctggctccttaccggaaagcccct (서열 번호 163)
Ggttttctgacctccgtcggaaaaccccct (서열 번호 146),
ggttttctgacctccttcggtcggaaaaccccct (서열 번호 147),
Ggttttctgacctccgtcggaaaacc (서열 번호 148),
GGTTTTCTGACACTCCGTCGGAAAACCCCT (서열 번호 228),
GGTTTTCTGATCTCCATCGGAAAACCCCT (서열 번호 229), 또는
GGTTTTCCGACCTCCGTCGGAAAACCCCT (서열 번호 230).

[0059]

[0060] 일부 실시양태에서, 인간 또는 뮤린 eSL은 하기 뉴클레오티드 서열 중 하나 이상의 것과 적어도 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%(또는 그 사이의 모든 비율(%)) 동일한 핵산 서열을 포함하거나, 본질적으로 그로 이루어지거나, 또는 그로 이루어진다:

GGCTTTCTGGCACTCCACCGGAAAGCCCCT (서열 번호 190),
GGCTTTCTGGCACTCCGCCGGAAAGCCCCT (서열 번호 191), 또는
GGCTTTCTGGCCTCCACCGGAAAGCCCCT (서열 번호 192).

[0061]

[0062] 일부 실시양태에서, 개 또는 고양이은 하기 뉴클레오티드 서열 중 하나 이상의 것과 적어도 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%(또는 그 사이의 모든 비율(%)) 동일한 핵산 서열을 포함하거나, 본질적으로 그로 이루어지거나, 또는 그로 이루어진다:

[0063] GGTTTTCCGGTCTCCACCGGAAAGCCCCC (서열 번호 193).

[0064] 일부 실시양태에서, 소, 양, 또는 염소 eSL은 하기 뉴클레오티드 서열 중 하나 이상의 것과 적어도 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%(또는 그 사이의 모든 비율(%)) 동일한 핵산 서열을 포함하거나, 본질적으로 그로 이루어지거나, 또는 그로 이루어진다:

GGCTTTCCGGTCTCCACCGGAAAGCCCCT (서열 번호 194), 또는
GGCTTTCCGGCCTCCGCCGGAAAGCCCCT (서열 번호 195).

[0065]

[0066] 일부 실시양태에서, 돼지 eSL은 하기 뉴클레오티드 서열 중 하나 이상의 것과 적어도 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%(또는 그 사이의 모든 비율(%)) 동일한 핵산 서열을 포함하거나, 본질적으로 그로 이루어지거나, 또는 그로 이루어진다:

GGTTTTCCGGTCTCCACCGGAAAACCCTT (서열 번호 196),

GGTTTTCCGTGCTCCCACGGAAAACCCTT (서열 번호 197),

GGTTTTCCGGCCTCCGCCGGAAAACCCTT (서열 번호 198),

GGTTTTCCGTGACTCCCACGGAAAACCCTT (서열 번호 199), 또는

GGTTTTCCGGCACTCCGCCGGAAAACCCTT (서열 번호 200).

[0067]

[0068] 일부 실시양태에서, 말 eSL은 하기 뉴클레오티드 서열 중 하나 이상의 것과 적어도 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%(또는 그 사이의 모든 비율(%)) 동일한 핵산 서열을 포함하거나, 본질적으로 그로 이루어지거나, 또는 그로 이루어진다:

GGTCTTCCGGTCTCCTCCGGAAGGCCCCC (서열 번호 201), 또는

GGTCTTCCGGCTCCCCGGAAGGCCCCC (서열 번호 202).

[0069]

[0070] 일부 실시양태에서, 양 eSL은 하기 뉴클레오티드 서열 중 하나 이상의 것과 적어도 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%(또는 그 사이의 모든 비율(%)) 동일한 핵산 서열을 포함하거나, 본질적으로 그로 이루어지거나, 또는 그로 이루어진다:

GGCTTTCCGTGCTCCCACGGAAAGCCCCT (서열 번호 203),

GGCTTTCCGTGACTCCCACGGAAAGCCCCT (서열 번호 204), 또는

GGCTTTCCGGCACTCCGCCGGAAAGCCCCT (서열 번호 205).

[0071]

[0072] 일부 실시양태에서, 조작된 스템 루프은 천연 스템 루프를 포함하는 snRNA 대비 snRNA으 안정성을 증진시킨다. 일부 실시양태에서, 천연 snRNA 스템 루프는 하기 뉴클레오티드 서열 중 하나 이상의 것과 적어도 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%(또는 그 사이의 모든 비율(%)) 동일한 핵산 서열을 포함하거나, 본질적으로 그로 이루어지거나, 또는 그로 이루어진다:

Ggttttctgacttcggtcggaaaacccct (서열 번호 145),

ggttttctgacttcggtcggaaaacc (서열 번호 206),

Ggctttctggctttttaccggaaagcc (서열 번호 235), 또는

ggctttctggctttttaccggaaagccCCT (서열 번호 236).

[0073]

[0074] **5' 상호작용 안정성 도메인**

[0075] 본원에 개시된 eSL은 5' 상호작용 안정성 도메인(5'ISD)과 더 효과적으로 폴디 및 어닐링하는 특성을 갖고, 결국에는 그 결과로 esnRNA의 안정성은 비조작된 snRNA와 비교하여 증가된다. 5' ISD는 조작된 SL 내의 뉴클레오티드와 상보적인 뉴클레오티드를 갖고, 이론에 얽매이는 것을 원하지 않으면서, 5'ISD와 eSL 사이의 상호작용은 snRNA의 5' 말단을 보호하는 2차 구조를 형성하는 것으로 예측된다. 일부 측면에서, 5' ISD는 본 개시내용의 eSL에 어닐링되고/거나, 하이브리드화한다. 일부 측면에서, 5'ISD는 본 개시내용의 eSL에 존재하는 서열과 상보성 및/또는 역 상보성을 갖는 서열이다. 일부 측면에서, 본원에 개시된 5'ISD는 하기 뉴클레오티드 서열로부터 선택되는 5'ISD 중 하나일 수 있다:

ggagt (서열 번호 12),

cctct (서열 번호 13),

ggaggt (서열 번호 14),

cctcct (서열 번호 15),

agccag (서열 번호 16),

ggaag (서열 번호 17),

gaagaag (서열 번호 18),

[0076]

gttg (서열 번호 19),

ccgaa (서열 번호 20),

taaggag (서열 번호 21),

gaag (서열 번호 22), 또는

ggctt (서열 번호 23).

[0077]

[0078] **표적화 서열**

[0079] esnRNA 시스템은 표적화 서열(TS)(이는 또한 스페이서로도 명명)을 포함하도록 프로그래밍될 수 있다. 일부 측면에서, 표적화 서열은 하나 이상의 관심 RNA를 표적화하는 5' 표적화 서열(5'TS)(이는 또한 스페이서로도 명명)이다. 이 맥락에서, 5'는 snRNA 인서트의 5' 말단에 관한 것이며, 반드시 snRNA 인서트 또는 인서트들을 포함하는 전체 벡터 구성에 관한 것일 필요는 없다. 그리고 TS는 snRNA의 5' 말단 또는 그 근처에 위치할 수 있다. 대안적 실시양태에서, 표적화 서열(들)(TS)은 snRNA 구축물의 3' 위치 또는 그 근처에 위치하여 3' 표적화 서열(3' TS)을 생성할 수 있으며, 특히, snRNA 구축물이 U7 기반 snRNA가 아닌 경우에 그러하다.

[0080] 5' TS, 및 3'TS를 포함하는, 본 개시내용의 표적화 서열의 길이는 약 1 내지 약 200개의 뉴클레오티드 길이일 수 있다. 일부 측면에서, 본 개시내용의 표적화 서열의 길이는 약 10 내지 약 150개의 뉴클레오티드 길이이다. 일부 측면에서, 본 개시내용의 표적화 서열의 길이는 약 10 내지 약 100개의 뉴클레오티드 길이이다. 일부 측면에서, 본 개시내용의 표적화 서열의 길이는 약 20 내지 약 60개의 뉴클레오티드 길이이다. 일부 측면에서, 본 개시내용의 표적화 서열의 길이는 적어도 약 10, 20, 30, 40, 50, 60, 또는 약 70개의 뉴클레오티드 길이이다.

[0081] 한 예에서, U7 snRNA는 히스톤 mRNA 결합 서열을 관심 표적에 상보적인 서열로 대체함으로써 프로그래밍될 수 있다. 일부 측면에서, 본 개시내용의 esnRNA 시스템은 관심 표적 mRNA 또는 프리-mRNA 서열에 결합한다. 본원에 제시된 예시적인 esnRNA 시스템은 미소부수체 반복 확장을 차단 또는 녹 다운하거나(근긴장성 이영양증(DM1) 또는 헌팅턴병(HD) 치료), 헥사뉴클레오티드 반복 확장을 차단 또는 녹 다운하거나(C9/ALS 치료), 스플라이싱 조정을 유도하거나(USH2A(제2형 어셔 증후군) 치료), 또는 하나 이상의 엑손 스플라이싱 인핸서(ESE)를 표적화하여 엑손 스키핑을 유도한다(DMD, 예컨대, DMD 엑손 51 스키핑 치료). 한 실시양태에서, 관심 표적 RNA는 미소부수체 또는 헥사뉴클레오티드 반복 RNA 또는 비반복 RNA이다. 또 다른 실시양태에서, 관심 반복 RNA는 CUG, CAG, GGGGCC, 및 CCCCGG로 이루어진 군에서 선택된다. 한 실시양태에서, esnRNA는 GGGGCC 및 CCCCGG인 2개의 관심 표적 RNA를 표적화하는 표적화 서열(TS)을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 2개의 관심 표적 RNA는 미소부수체 반복 RNA 및 비반복 RNA이다. 또 다른 실시양태에서, 비반복 RNA는 반복 RNA에 대한 플랭킹 서열이다.

[0082] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 esnRNA는 DMD 유전자를 코딩하는 프리-mRNA 또는 mRNA 서열을 표적화한다. DMD는 단백질 디스트로핀을 코딩하는 유전자이다. DMD의 돌연변이는 듀센 근이영양증과 연관이 있다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 esnRNA 조성물에 의해 표적화되는 DMD RNA 서열은 엑손 51 DMD RNA 서열이다.

[0083] DMD에 결합하는 표적 서열은 하기 표에 기재된 하기 뉴클레오티드 서열 중 하나 이상의 것과 적어도 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%(또는 그 사이의 모든 비율(%)) 동일한 핵산 서열을 포함하거나, 본질적으로 그로 이루어지거나, 또는 그로 이루어질 수 있다:

DMD 엑손 51 RNA 표적화 서열

UID	표적화 서열	서열 번호
z38	TACCTCCAACATCAAGGAAGATGGCA	206
z42	GTAACCACAGGTTGTGTCACCAGAGTAACA	207
융합 서열		
z70	catacCTTCTGCTTGATGATCATCTCGCACCAGAGTAACAGTCTGAGTAGGAGctaaa	208
z71	catacCTTCTGCTTGATGATCATCTCGTGCCGCTGCCCAATGCCATCCTGGAG	209
z72	catacCTTCTGCTTGATGATCATCTCGGCCCAATGCCATCCTGGAGTTCctg	210
z73(z38/z42)	TACCTCCAACATCAAGGAAGATGGCAGTAACCACAGGTTGTGTCACCAGAGTAACA	211
z74	AACATCAAGGAAGATGGCATTTCTAGGTAACCACAGGTTGTGTCACCAGAGTAACA	212
z75	AACATCAAGGAAGATGGCATTTCTAGTGCCGCTGCCCAATGCCATCCTGGAG	213
z76	TTTTTCTCATACCTTCTGCTTGATGTCTGAGTAGGAGCTAAAATATTTTGGG	214
Z187 (z42/z38)	GTAACCACAGGTTGTGTCACCAGAGTAACATACCTCCAACATCAAGGAAGATGGCA	215
z230	CGAGATGATCATCAAGCAGAAGgtatgCACCAGAGTAACAGTCTGAGTAGGAGctaaa	216
z231	CACCAGAGTAACAGTCTGAGTAGGAGctaaaTACCTCCAACATCAAGGAAGATGGCA	217
z232	TACCTCCAACATCAAGGAAGATGGCACACCAGAGTAACAGTCTGAGTAGGAGctaaa	218
z233	GTCTGAGTAGGAGctaaaatattttgggTACCTCCAACATCAAGGAAGATGGCA	219
z234	TACCTCCAACATCAAGGAAGATGGCAGTCTGAGTAGGAGctaaaatattttggg	220
z235	GTCTGAGTAGGAGctaaaatattttgggtttttctcatacCTTCTGCTTGAT	221
z237	cCTTCTGCTTGATGATCATCTCGGAGTAACAGTCTGAGTAGGAGc	222
z238	cCTTCTGCTTGATGATCATCTCGCCAGAGTAACAGTCTGAGTAGGAGc	223
z239	cCTTCTGCTTGATGATCATCTCGCAGTCTGAGTAGGAGctaaa	224
z240	ctcatacCTTCTGCTTGATGGAGTAACAGTCTGAGTAGGAGc	225
z241	ctcatacCTTCTGCTTGATGCCAGAGTAACAGTCTGAGTAGGAGc	226
z242	ctcatacCTTCTGCTTGATGCAGTCTGAGTAGGAGctaaa	227

[0084]

[0085] 한 실시양태에서, 상기 표의 것과 같은 융합체인 TS는 융합 서열 내에 포함된 단일 TS 서열일 수 있다.

[0086] 또 다른 실시양태에서, 표적화 서열(TS)은 2개 이상의 관심 RNA를 표적화한다. 또 다른 실시양태에서, 2개 이상의 관심 RNA를 표적화하는 TS는 동일한 전-mRNA 분자를 표적화하는 상이한 서열이다. 한 실시양태에서, 스페이서 또는 TS는 융합 서열이다. 또 다른 실시양태에서, 융합 서열은 DMD 엑손 51을 표적화하는 스페이서이고, 여기서, 융합 서열은 상기 표에 기재되어 있다.

[0087] 일부 실시양태에서, CUG 반복 표적화 서열은 핵산 서열: CAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAG(서열 번호 165)를 포함한다.

[0088] 일부 실시양태에서, CAG 반복 표적화 서열은 핵산 서열: CTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTG(서열 번호 167)를 포함한다.

[0089] **Sm 결합 도메인**

[0090] 본원에 개시된 esnRNA 시스템은 Sm 결합 도메인(SmBD)을 이용한다. Sm 결합 도메인(SmBD) 주위에서 어셈블리하여 snRNP를 형성하는 Sm 단백질 고리는 SmB/B', SmD1, SmD2, SmD3, SmE, SmF, 및 SmG를 포함한다. U7 Sm 결합 부위는 내인성 RNA 결합 인자를 동원하고, esnRNA를 더욱 안정적으로 만들기 위해 비U7 snRNA로 대체될 수 있다. 한 실시양태에서, SmBD는 U1, U2, U4, 및 U5 snRNA로 이루어진 군에서 선택된다. 또 다른 실시양태에서, SmBD는 슈도 snRNA로부터 유래된 것이다. 또 다른 실시양태에서, SmBD는 서열 번호 31(ATTTTT)을 포함하는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, SmBD는 서열 번호 32(AATTTTTGG), 서열 번호 33(AATTTGTGG), 서열 번호 34(AATTTGTGG), 서열 번호 35(AATTTCTGG), 서열 번호 36 (GATTTTTGG), 서열 번호 37(AATTTTTGA), 서열 번호 38(AATTTTTTG), 서열 번호 161(AATTTTTGGAGCA), 및 서열 번호 163(AATTTTTGGAGTA)으

로 이루어진 군에서 선택되는 뉴클레오티드 서열을 포함한다.

[0091] **프로모터 서열**

[0092] 본원에 개시된 esnRNA 시스템은 U1-U12 중 임의의 것으로부터의 snRNA 프로모터를 포함한다. 한 실시양태에서, snRNA 프로모터는 U7 프로모터이다. 또 다른 실시양태에서, U7 프로모터는 인간 U7 프로모터(hU7) 또는 마우스 U7 프로모터(mU7)이다. 또 다른 실시양태에서, U7 프로모터는 하기 서열 번호 39를 포함하는 내인성 인간 U7 프로모터이다:

TACTGCCGAATCCAGGTCTCCGGGCTTAACAACAACGAAGGGGCTGTGACTGGC
TGCTTTCTCAACCAATCAGCACCGAACTCATTTGCATGGGCTGAGAACAAATGTT
CGCGAACTCTAGAAATGAATGACTTAAGTAAGTTCCTTAGAATATTATTTTTCCT
ACTGAAAGTTACCACATGCGTCGTTGTTTATACAGTAATAGGAACAAGAAAAAA
GTCACCTAAGCTCACCCTCATCAATTGTGGAGTTCCTTTATATCCCATCTTCTCTC
CAAACACATACGCA.

[0093]

[0094] 한 실시양태에서, snRNA 프로모터는 U1 프로모터이다. 또 다른 실시양태에서, U1 프로모터는 인간 U1 프로모터 또는 마우스 U1 프로모터이다.

[0095] 또 다른 실시양태에서, snRNA 프로모터는 snRNA 인서트의 카피를 구동시킨다. 또 다른 실시양태에서, snRNA 인서트의 각 카피는 동일한 것이다. 또 다른 실시양태에서, 상이한 snRNA 프로모터는 snRNA 인서트의 각 카피를 구동시킨다. 한 실시양태에서, 2x snRNA는 snRNA 인서트의 한 카피를 구동시키는 마우스 U7 프로모터를 포함하고, 마우스 U1 프로모터는 snRNA 인서트의 나머지 다른 한 카피를 구동시킨다.

[0096] 다른 측면에서, snRNA 프로모터는 PolII 프로모터 또는 PolIII 프로모터이다. 다른 측면에서, snRNA 프로모터는 하기 예시적인 프로모터 표에 열거된 프로모터 및/또는 프로모터 서열과 적어도 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%(또는 그 사이의 모든 비율(%)) 동일한 핵산 서열을 포함하거나, 본질적으로 그로 이루어지거나, 또는 그로 이루어진다:

예시적인 프로모터	프로모터 서열
hU1	AAGGACCAGCTTCTTTGGGAGAGAACAGACGCAGGGGCGGGAGGGA AAAAGGGAGAGGCAGACGTCACTTCCCCTTGGCGGCTCTGGCAGCAG ATTGGTCGGTTGAGTGGCAGAAAGGCAGACGGGGACTGGGCAAGGC ACTGTCGGTGACATCACGGACAGGGCGACTTCTATGTAGATGAGGCA GCGCAGAGGCTGACGTCTTCGCCACTTGCTGCTTCACCACGAAGGAG TTCCCGTGCCCTGGGAGCGGGTTCAGGACCGCTGATCGGAAGTGAGA ATCCCAGCTGTGTGTCAGGGCTGGAAAGGGCTCGGGAGTGCGCGGGG

[0097]

	CAAGTGACCGTGTGTGTAAAGAGTGAGGCGTATGAGGCTGTGTCGGG GCAGAGGCacaacgtttc (서열 번호 40)
hU2	CCACGCCCTCTGTGAAAGGGCGGGGCATGCAAATTCGAAATGAAAGC CCGGGAACGCCGGAAGAAGCACGGGTGTAAGATTTCCCTTTTCAAAG GCAGAGAATAAGAAATCAGCCCGAGAGTGTAAGGGCGTCAATAGCG CTGTGGACGAGACAGAGGGAATGGGGCAAGGAGCGAGGCTGGGGCT CTCACCGCGACTTGAATGTGGATGAGAGTGGGACGGTGACGGCGGGC GCGAAGGCGAGCGC (서열 번호 41)
hU4	TTCGCAGTCTCTGAATTAAGTCTATTAGCATGTTCCTCCCATAGTGCT TTGCTTCATATCAACAAAAACCTAGCTAAGTGAAATCAGCAACGATA TGCAGAAACCACCTACGCAGGTCACAAACATCTTTCTATGATTGTATA ATTTTCAAGCAAGCAATAAGTGAAGATTTTTCCATAGGCCCTAAACTC ACCTTTGCGAAATAGGAAGCTGGTTTATTGGGAGTGATGAGCAGGGG GCGTAACAAATT (서열 번호 42)
hU5	GCAGCAAGGCCTCCACTTCACCCCCTAAAGGTTGCCCCAAGAGCACC GTGTGACTGCTAAGGTATTTCCGGAGTCTAAAGACGATTATTCAGGTC TCATTTGCATACCCATAATACACTGCAAACAGTATTTTTTTCGGAAAA ACATTTATATATTGCTTGACATTTTTAAGTATGAGAATTTTGCATGCA GAATTTTTTTGTATAAACTTTCTCAGGTAGTAACCCTTGGGATTAGTA GACACCATCAGTGTACTAGGAATTGCAGTTACCCGAAAATTGAGTTA CAGAAGTAACTGGT (서열 번호 43)
hU6	Gtttattacagggacagcagagatccagtttggttaattaaggtaccgagggcctatttcccatgattccttcatatttg catatacgatacaaggctgttagagagataattagaattaatttgactgtaaacacaaagatattagtacaaaatacgt gacgtagaaagtaataatttcttgggtagtttgcagttttaaaattatgttttaaaatggactatcatatgcttaccgtaact tgaaagtatttcgatttcttggctttatatatcttgtggaaaggacgaaacacc (서열 번호 44)
h7sk	CTGCAGTATTTAGCATGCCCCACCCATCTGCAAGGCATTCTGGATAGT GTCAAAACAGCCGGAAATCAAGTCCGTTTATCTCAAACTTTAGCATTT TGGGAATAAATGATATTTGCTATGCTGGTTAAATTAGATTTTAGTTAA ATTTCCTGCTGAAGCTCTAGTACGATAAGTAACTTGACCTAAGTGTAA AGTTGAGATTTCCTTCAGGTTTATATAGCTTGTGCGCCGCCTGGGTAC CTC (서열 번호 45)
tRNA(Val)	CAGGACTAGTCTTTTAGGTCAAAAAGAAGAAGCTTTGTAACCGTTGG TTTCCGTAGTGTAGTGGTTATCACGTTCGCCTAACACGCGAAAGGTCC CCGGTTCGAAG (서열 번호 46)
mU1	TTGTTCCTCTTAGTGTTAATTCACACTAAAGACTGTGCATCCGACTCC TACATTTATGAAAGTAAATGCCTGTTGTTAGAACAAAAAAGGCTACA GAACAAAAAACAAAGCGAAATACCATCTGCTTTAGGTTCAGTGTGGT ATTTTCCCGCTGACAGGGAGGCGGGTTTTTGGGTACAGGAAACGAGT CACTATGGAGGCGGTACTATGTAGATGAGAATTCAGGTGCAAACTGG GAAAAGCAACTGCTTCCAAATATTTGTGATTTTTACAGTGTAGTTTTG GAAAAACTCTTAGCCTACCAATTCTTCTAAGTGTTTTAAAATGTGGGA

[0098]

	GCCAGTACACATGAAGTTATAGAGTGTTTTAATGAGGCTTAAATATTT ACCGTAACTATGAAATGCTACGCATATCATGCTGTTCAGGCTCCGTGG CCACGCAACTC (서열 번호 47)
mU7+ 엑스트라 3'	TaacaacataggagctgtgattggctgttttcagccaatcagcactgActcatttgcatagcctttacaagcggtcac aaactcaagaaacgagcggttttaatagtcttttagaatattgtttatcgaaccgaataaggaactgtgctttgtgattca catatcagtggaggggtgtggaaatggcaccttgatctcaccctcatcgaaagtggagttgatgtcctTccctggct cgctacagacgcacttccgcaa (서열 번호 48)
mU7	taacaacataggagctgtgattggctgttttcagccaatcagcactgActcatttgcatagcctttacaagcggtcac aaactcaagaaacgagcggttttaatagtcttttagaatattgtttatcgaaccgaataaggaactgtgctttgtgattca catatcagtggaggggtgtggaaatggcaccttgatctcaccctcatcgaaagtggagttgatgtcctTccctggct cgctacagacgcacttccgc (서열 번호 151)
hU7	TACTGCCGAATCCAGGTCTCCGGGCTTAACAACAACGAAGGGGCTGT GACTGGCTGCTTTCTCAACCAATCAGCACCGAACTCATTTGCATGGGC TGAGAACAAATGTTCGCGAACTCTAGAAATGAATGACTTAAGTAAGT TCCTTAGAATATTATTTTTCCTACTGAAAGTTACCACATGCGTCGTTG TTTATACAGTAATAGGAACAAGAAAAAAGTCACCTAAGCTCACCCTC ATCAATTGTGGAGTTCCTTTATATCCCATCTTCTCTCCAAACACATAC GCA (서열 번호 39)
mU5	TGCCAACAGCTTTGAAATCCTCTGTGCTCTTGTGCCAATCCCACCCTC AGAACAGGGAGTCTGTCGGTTATGTTTTCGTCCTTTACAGTTCTTCGC CGTCTAATCCATTGGAAACCTCCTTTATTTAAAGGAAACCGTGTCCAA ATTCAGTGTACAGAGGTGCAAACCTCCGCCCCGCTCCTTGTAGGAAG CCCACGGGAACTGGGCCAATCGGACGGCGCTTACTCGGCTCATTTAC ATACCCATAACACACCGCGGCTAATGCAAATATTTTCGTGAAAAGAT CTTCCATTACTCGAAGTTTTAAAACTAAAAACAAAATATTATTTCAAA AGATCATGAAGAAATTTCTGTCGGTAACAGCAGTTTCAATTGATAAA TCACCATCACTTATCTAGGAGGTTCTGTTACTCTAGAAGTGAATTAAG CAGGACAGCTGT (서열 번호 152)
mU2	Gggcggggcatgcaaataactgctctgtggaactctgggagcaaaaacaaaaaactgcaaccaaaacttctcggc ctccttgaatcttacaggcttttcgtggcgtaaaggtggtgtactcaatgaagaggagagtctgtgttggctgcatgttt gagtcggttggttggtgactgtgaatTAAAGGTGTGGtcggtgttgagtgtatggggcgtgtgggcgtagt tcggt (서열 번호 153)
mU6	cgacgccgccatctctaggcccgcgccggcccccctcgcacagacttgtgggagaagctcggctactcccctgccc cggttaatttgcatataatatttcctagtaactatagaggcttaatgtgcgataaaagacagataatctgttctttttaatac tagctacattttacatgataggcttggatttctataagagatacaaatactaaattattattttaaaaaacagcacaaaag gaaactcaccctaactgtaaagtaattgtgtgttttgagactataaatatcccttggagaaaagccttgttt (서열 번호 154)
mH1	CATgCAAATTACGCGCTgTGCTTTGTGGGAAATCACCCTAAACGTAAA ATTTATTCCTCTTTcGAGCCTTATAGTGGcGGCCGGTCTACACCCTAAA (서열 번호 155)

[0099]

[0100] **종결인자 서열**

[0101] 본원에 개시된 esnRNA 시스템은 snRNA 하류 종결인자(DT)를 포함한다. 하류 종결인자는 전사 단위, 예컨대, esnRNA 또는 snRNA의 말단을 정의한다. 또 다른 실시양태에서, snRNA DT는

[0102] CCTCTTATGATGTTTGTTGCCAATGATAGATTGTTTTCACTGTGCAAAAATTATGG GTAGTTTTGGTGGTCTTGATGCAGTTGTAAGCTTGGAG (서열 번호 49) 를 포함하는 U7 DT이다.

[0103] 한 실시양태에서, esnRNA는 eSL, 하나 이상의 프로모터, TS, SmBD, 5'ISD, 및 DT를 포함한다. 한 측면에서, 프로모터 및 DT 조합은 혼합되고, 매칭된다.

[0104] 또 다른 실시양태에서, DT는 하기 예시적인 DT 표에 열거된 예시적인 DT 및/또는 DT 서열로부터 선택된다:

예시적인 DT	DT 서열
hU1	ACTTTCTGGAGTTTCAAAAACAGACTGTACGCCAAGGGTCATATCTTTTT (서열 번호 50)
hU2	CCGGGGATACAACGTGTTTCCTAAAAGTAGAGGGAGGTAAGAGACGGTAG (서열 번호 51)
hU4	CTGAATTTTCTTGCAGTTGAACAACAGAGGCTTTTTTTGTGTGTGTGGGG (서열 번호 52)
hU5	ATATGTGGTAATCCAACAATAGAAATTATTTTTAAGTTTGTGTGTTCCTT (서열 번호 53)
hU6	TTTTTT (서열 번호 54)
h7sk	TTTTTT (서열 번호 55)
tRNA(Val)	TTTTTT (서열 번호 56)
mU1	GTTTACTTGGTTTTAAAAATAGCTTGCACTAGCGATACGGAATATGGTTATTAGGTTTGTTAGGCATCATGTCGTGTCTTACTATAGAAAAATAACGTAGTGTTCATTTTAGCCTGCCTGTATGTGTTAATTTGTCCTTATTGCGCATTGTTCTTGTTAAGTCTTCTGTAAGGAGTTGCGGGTTTCAAACTGTCAGTCTGAGAGCA (서열 번호 57)
mU7+	Cccaatttcactggtctacaatgaaagcaaaacagttctcttccccgctccccggtgtgtgagaggggctttgatccttctctggtttcctaggaaacgcgtatgtgtac (서열 번호 58)
mU7	Cccaatttcactggtctacaatgaaagcaaaacagttctcttccccgctccccggtgtgtgagaggggctttgatccttctctggtttcctaggaaacgcgtatgtg (서열 번호 156)
hU7	CCTCTTATGATGTTTGTTGCCAATGATAGATTGTTTTCACTGTGCAAAAATTATGGGTAGTTTTGGTGGTCTTGATGCAGTTGTAAGCTTGGAG (서열 번호 49)
hU7	CTTATGATGTTTGTTGCCAATGATAGATTGTTTTCACTGTGCAAAAATTATGGGTAGTTTTGGTGGTCTTGATGCAGTTGTAAGCTTGGAG (서열 번호 234)
mU5	CCACATTTTGTGTTTAAAAATAGAAATATTTAAGTGAGATCAGTTTAAATCTGCTTTATCTAGGGTGTCTAACTGCTTGCATCTTTTTAACTTTTCCTTATTTGTGAGAAGGTCTGTAAAACTTATTATATGTTAGTACACTGTAGCTGTCTTCAGACACTCCAGAAGAGGGATTCAGATCACCTTACAGATGGTTTTGA (서열 번호 157)
mU2	CCCTCTGGGGAgtaaagttggttttaaagtcagagcatggtgattgtagggcagtccaacttttttaaatatgctgtg (서열 번호 158)
mU6	TTTTTT (서열 번호 XX)
mH1	TTTTTT (서열 번호 XX)

[0105]

[0106] 한 실시양태에서, esnRNA는 AAV 벡터로 전달된다.

[0107] 일부 실시양태에서, AAV 벡터는 다중의 esnRNA 카피를 포함한다. 일부 실시양태에서, 다중의 esnRNA 카피는 2, 3, 또는 4개의(2x, 3x, 또는 4x) esnRNA 카피이다. 일부 실시양태에서, 다중의 esnRNA 카피는 4개 이상의 esnRNA 카피이다.

[0108] 일부 실시양태에서, 다중의 esnRNA 카피의 각 esnRNA는 snRNA의 하류의 인간 비코딩 게놈 서열로부터 유래된 핵산 버퍼 서열에 의해 분리된다. 한 실시양태에서, 버퍼 서열은 U7의 하류의 인간 게놈 서열로부터 유래된다.

[0109] 한 실시양태에서, 버퍼 서열은 하기 핵산 서열:

버퍼 1 (30bp) CAAACTACAGAGCCAAGTGCTATCCACAGA (서열 번호 24),

버퍼 2 (30bp)

GAGCTTTCTGGGTTGCCATCTCAAGCAGAC (서열 번호 25),

버퍼 3 (30bp) TACAAGGCCATCAGCTCATACTCACAATTG (서열 번호 26),

[0110] 및 그의 조합으로 이루어진 군에서 선택된다.

[0111] 또 다른 실시양태에서, 버퍼 서열은 하기 핵산 서열:

버퍼 1 (100bp)
CAAACTACAGAGCCAAGTGCTATCCACAGAGAGCTTTCTGGGTTGCCATCTCAAG
CAGACTACAAGGCCATCAGCTCATACTCACAATTGACTTTGAGAG
(서열 번호 27),
버퍼 2 (100bp)
TTGACCACATACGTGCTCTTTCAAAGTTCTGTGTTTGAAGTTATGTTAGTAACAAC
TGATGCCCATCCTGCAATGACAAATCCAATTCTCAGTGCAGCTC (서열 번호 28),

[0112] 및 그의 조합으로 이루어진 군에서 선택된다.

[0113] 또 다른 실시양태에서, 버퍼 서열은 하기 핵산 서열:

버퍼 1 (500bp)
CAAACTACAGAGCCAAGTGCTATCCACAGAGAGCTTTCTGGGTTGCCATCTCAAG
CAGACTACAAGGCCATCAGCTCATACTCACAATTGACTTTGAGAGTCATTTTCCA
ATGCTCCTACACACCCCTTCTTCACAATCCCCAACAAATCTGAGGCTGGAACTTG
GTACCATAACAATCATTACATTATTTCACCAGAAGTACACCTTGCCTGGAAGATT
GGCATTATAGCATCTTCTAACATTGTGAAAGTTAGTGACCAATGAGGAGATCCAA
GTCAGTTCCAGTTGGATTTCTCTATACTCTATAATAAATATATATGGTGTCTTCAA
CAATAGGACTTTGCCATCCAGTGATGCTAAAAATCAATAACAATGGCAATAACC
TGCCCTGTTTGGAAAGCCTCTGGCTTCCATGACTAACAATTCAAGGCAGGTCTCC
TATACCTAGTACTGAGATTTTTATTTGATAAACTATATCTTCTGGGAGGAGAAGC
ATTGT (서열 번호 29),
버퍼 2 (500bp)
TTGACCACATACGTGCTCTTTCAAAGTTCTGTGTTTGAAGTTATGTTAGTAACAAC
TGATGCCCATCCTGCAATGACAAATCCAATTCTCAGTGCAGCTCTCTGAAATAGT
TTTGCTTTCTCTCTCTAGGTCTGTTCTATACTCCTAACTCTCCAGGAGTTTACAAG
GAATAAAATCTCTTCCAAATGCTTTCTGTTGCAACAACTGGACCATACTGAAAGC
TGAGGCCCACAATTGCAATCTAGGTTAGCAGGTAATCATTGTTGGTGAGGTCCTC
CCTTTCCCCAGGCTCGTGTTTGTATTGGGGAGCAGGAAATTTTTGCTAGAGCAGC
ACTGCCATCTCTCTACACTCCACCTGATTGGTGGGATGGACCAGAGAAATGGACA
TTCCCAACACAGTCCCTCCTTTCACATCTGCTCACCTGCCCACAGGATACTTTCCA
CCATGCATACTGGGCTCTGCACCAACCATTCAGCAGTGATGAAGAGGAAACTTG
AAC (서열 번호 30),

[0114] 및/또는 그의 조합으로 이루어진 군에서 선택된다.

[0115] 100 bp 및 500 bp 버퍼 1 서열은 무스 무스쿨루스(*mus musculus*) U7 슈도진 8(위치 염색체 14: 4,409,359-4,409,421 역 가닥. GRCm39:CM001007.3)의 하류 100 bp에서 시작하는 서열로부터 유래한다. 100 bp 및 500 bp 버퍼 2 서열은 인간 U7 슈도진 5(염색체 X: 140,451,148-140,451,208 정방향 가닥. GRCh38:CM000685.2)의 하류 130 bp에서 시작하는 서열로부터 유래한다. 두 100 bp 버퍼 모두 상응하는 500 bp 버퍼의 처음 100 bp이다. 30 bp 버퍼 1, 2, 및 3은 무스 무스쿨루스 U7 슈도진 8의 하류 "100 bp 버퍼 1" 내의 순차적 30 bp 서열이다. 상기 하류 서열은 반복 서열이 없고, 전체 버퍼에 대한 GC 함량이 40-60%이고, 버퍼 양측 단부의 20 bp 영역 중 GC 함량이 40-60%이고, 서열 복잡성이 최소인 것 이외에도, 상기 하류 서열 내에 또는 그 인근에 어떤 공지된 조절 부위 또는 유전자가 없기 때문에(Gencode/Ensembl 사용) 선택하였다.

[0116] **esnRNA 서열**

[0117] 본 개시내용의 예시적인 esnRNA 서열은 본원에 기술된 esnRNA 특징의 임의의 조합을 포함할 수 있다. 일부 측면에서, esnRNA는 하기 esnRNA 표에 열거된 esnRNA와 적어도 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%(또는 그 사이의 모든 비율(%)) 동일한 핵산 서열을 포함하거나, 본질적으로 그로 이루어지

거나, 또는 그로 이루어진다:

본 개시내용의 esnRNA 서열

ID	설명	표적반복부 또는 유전자 기호	서열 번호	서열
	u7 snRNA CUG	CUG	65	ggagtCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc
	u7 snRNA NT	비표적화	66	ggagtTCACCAGAAGCGTACCATACTCACGAAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc
	u7 snRNA CAG	CAG	67	ggagtCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc
	z38/42 esnRNA 표적화 디스트로핀 엑손 51	DMD 엑손 51	68	ggagtTACCTCCAACATCAAGGAAGATGGCAGTAACCACAGGTTGTGTCACCAGAGTAACAAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc
	z42 esnRNA	DMD 엑손 51	69	ggagtGTAACCACAGGTTGTGTCACCAGAGTAACAAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc
	z38 esnRNA	DMD 엑손 51	70	ggagtTACCTCCAACATCAAGGAAGATGGCAAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc
sR200231	U7CUGx15-U1 Sm부위_U7 term opt sl	CUG	71	ggagtCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGAATTTGTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc
sR200232	U7CUGx15-Sm mut 1_U7 term opt sl	CUG	72	ggagtCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGTCGAGTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc
sR200233	U7CAGx15-no Sm_U7 term opt sl	CUG	73	ggagtCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc
sR200234	U7knt-U1 Sm 부위_U7 term opt sl	비표적화	74	ggagtTCACCAGAAGCGTACCATACTCACGAAATTTGTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc
sR200235	U7knt-Sm mut 1_U7 term opt sl	비표적화	75	ggagtTCACCAGAAGCGTACCATACTCACGATCGAGTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc
sR200236	U7knt-no Sm_U7 term opt sl	비표적화	76	ggagtTCACCAGAAGCGTACCATACTCACGAAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc

[0118]

sR2200037	U7CAGx15-U1 Sm부위_U7 term opt sl	CAG	77	ggagtCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGAATTTGTGGAGTAggctttctggctcctaccggaaagcc
sR2200038	U7CAGx15-Sm mut 1_U7 term opt sl	CAG	78	ggagtCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGTCGAGTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc
sR2200039	U7CAGx15-no Sm_U7 term opt sl	CAG	79	ggagtCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc
sR2200040	U7CAGx5-U1 Sm부위_U7 term opt sl	CAG	80	ggagtCTGCTGCTGCTGCTGAATTTGTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc
sR2200041	U7CAGx5-Sm mut 1_U7 term opt sl	CAG	81	ggagtCTGCTGCTGCTGCTGTCGAGTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc
sR2200042	U7CAGx5-no Sm_U7 term opt sl	CAG	82	ggagtCTGCTGCTGCTGCTGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc
sR2200056	U7-z38-delSm	DMD	83	ggagtTACCTCCAACATCAAGGAAGATGGCAggctttctggctccttaccggaaagcc
sR2200087	ISD를 포함하는 U7 5'SL; 비표적화 NT (비제조)	비표적화	84	GTTCCCGAAGTAACCCTTCGGGAACggagtTCACCAGAAGCGTACCATACTCACGAAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc
sR2200088	ISD를 포함하지 않는 U7 5'SL; 비표적화 NT (비제조)	비표적화	85	GTTCCCGAAGTAACCCTTCGGGAACTCACCAGAAGCGTACCATACTCACGAAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc
sR2200089	ISD를 포함하지 않는 U7 5'키싱 SL; 비표적화 NT (비제조)	비표적화	86	GTTCCCGAAGggagtCTTCGGGAACTCACCAGAAGCGTACCATACTCACGAAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc
sR2200090	ISD를 포함하지 않는 U7 5'GC 클램프; 비표적화 NT (비제조)	비표적화	87	GGGCCCTCACCAGAAGCGTACCATACTCACGAAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc
sR2200091	ISD를 포함하지 않는 U7 5'삼중 나선; 비표적화 NT (비제조)	비표적화	88	GAGAAGATTCGTCTTCTCTCTCTCTCTTCTTCACCAGAAGCGTACCATACTCACGAAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc
sR2200092	ISD를 포함하는 U7 5'SL; CUGx15	CUG	89	GTTCCCGAAGTAACCCTTCGGGAACggagtCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc
sR2200093	ISD를 포함하지 않는 U7 5'SL; CUGx15	CUG	90	GTTCCCGAAGTAACCCTTCGGGAACCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc
sR2200094	ISD를 포함하지 않는 U7 5'키싱 SL; CUGx15	CUG	91	GTTCCCGAAGggagtCTTCGGGAACCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc
sR2200095	ISD를 포함하지 않는 U7 5'GC 클램프; CUGx15	CUG	92	GGGCCCCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc
sR2200096	ISD를 포함하지 않는 U7 5'삼중 나선; CUGx15	CUG	93	GAGAAGATTCGTCTTCTCTCTCTCTCTTCTCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc

[0119]

sR2 20004	U7-nt	비표적화	94	ggagtTCACCAGAAGCGTACCATACTCACGAAATTTT TGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc
sR2 20097	U7 alt ISD SEQID16 비표적화 nt1	비표적화	95	cctctTCACCAGAAGCGTACCATACTCACGAAATTTT TGGAGTAggctttctgggaggttaccggaaagcc
sR2 20098	U7 alt ISD SEQID17 비표적화 nt1	비표적화	96	ggaggtTCACCAGAAGCGTACCATACTCACGAAATTT TTGGAGTAggctttctggcctccttaccggaaagcc
sR2 20099	U7 alt ISD SEQID18 비표적화 nt1	비표적화	97	cctcctTCACCAGAAGCGTACCATACTCACGAAATTTT TGGAGTAggctttctggggaggttaccggaaagcc
sR2 20100	U7 alt ISD SEQID19 비표적화 nt1	비표적화	98	agccagTCACCAGAAGCGTACCATACTCACGAAATTT TTGGAGTAggctttctggctggctaccggaaagcc
sR2 20101	U7 alt ISD SEQID20 비표적화 nt1	비표적화	99	ggaagTCACCAGAAGCGTACCATACTCACGAAATTTT TGGAGTAggctttctggcttccccggaaagcc
sR2 20102	U7 alt ISD SEQID21 비표적화 nt1	비표적화	100	gaagaagTCACCAGAAGCGTACCATACTCACGAAATT TTTGGAGTAggctttctggcttcttcccggaaagcc
sR2 20103	U7 alt ISD SEQID22 비표적화 nt1	비표적화	101	gttgTCACCAGAAGCGTACCATACTCACGAAATTTTT GGAGTAggctttctggcaacttaccggaaagcc
sR2 20104	U7 alt ISD SEQID23 비표적화 nt1	비표적화	102	ccgaaTCACCAGAAGCGTACCATACTCACGAAATTTT TGGAGTAggctttctggttcggtaccggaaagcc
sR2 20105	U7 alt ISD SEQID24 비표적화 nt1	비표적화	103	taaggagTCACCAGAAGCGTACCATACTCACGAAATT TTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc
sR2 20106	U7 alt ISD SEQID25 비표적화 nt1	비표적화	104	gaagTCACCAGAAGCGTACCATACTCACGAAATTTT TGGAGTAggctttctggcttcttcccggaaagcc
sR2 20107	U7 alt ISD SEQID26 비표적화 nt1	비표적화	105	ggcttTCACCAGAAGCGTACCATACTCACGAAATTTT TGGAGTAggctttctggaagccttaccggaaagcc
sR2 20108	U7 alt ISD SEQID27 비표적화 nt1	비표적화	106	gaagTCACCAGAAGCGTACCATACTCACGAAATTTT TGGAGTAggctttctggcttcttaccggaaagcc
sR2 20010	U7-CUGx15	CUG	107	ggagtCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGC AGCAGCAGCAGCAGAATTTTTGGAGTAggctttctggctc cttaccggaaagcc
sR2 20109	U7 alt ISD SEQID16 CUGx15	CUG	108	cctctCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGC AGCAGCAGCAGCAGAATTTTTGGAGTAggctttctgggag gttaccggaaagcc
sR2 20110	U7 alt ISD SEQID17 CUGx15	CUG	109	ggaggtCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAG CAGCAGCAGCAGCAGAATTTTTGGAGTAggctttctggcc tccttaccggaaagcc
sR2 20111	U7 alt ISD SEQID18 CUGx15	CUG	110	cctcctCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGC AGCAGCAGCAGCAGAATTTTTGGAGTAggctttctgggga ggttaccggaaagcc
sR2 20112	U7 alt ISD SEQID19 CUGx15	CUG	111	agccagCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAG CAGCAGCAGCAGCAGAATTTTTGGAGTAggctttctggct ggctaccggaaagcc
sR2 20113	U7 alt ISD SEQID20 CUGx15	CUG	112	ggaagCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAG CAGCAGCAGCAGCAGAATTTTTGGAGTAggctttctggct tccccggaaagcc

[0120]

sR2 201 14	U7 alt ISD SEQID21 CUGx15	CUG	113	gaagaagCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCA GCAGCAGCAGCAGCAGAATTTTTGGAGTAggctttctgg cttcttcccggaaagcc
sR2 201 15	U7 alt ISD SEQID22 CUGx15	CUG	114	gttgCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCA GCAGCAGCAGCAGAATTTTTGGAGTAggctttctggcaact taccggaaagcc
sR2 201 16	U7 alt ISD SEQID23 CUGx15	CUG	115	ccgaaCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGC AGCAGCAGCAGCAGAATTTTTGGAGTAggctttctggttcg gtaccggaaagcc
sR2 201 17	U7 alt ISD SEQID24 CUGx15	CUG	116	taaggagCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCA GCAGCAGCAGCAGCAGAATTTTTGGAGTAggctttctgg ctccttaccggaaagcc
sR2 201 18	U7 alt ISD SEQID25 CUGx15	CUG	117	gaagCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGC AGCAGCAGCAGCAGAATTTTTGGAGTAggctttctggcttc ttcccggaaagcc
sR2 201 19	U7 alt ISD SEQID26 CUGx15	CUG	118	ggcttCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGC AGCAGCAGCAGCAGAATTTTTGGAGTAggctttctggaag ccttaccggaaagcc
sR2 201 20	U7 alt ISD SEQID27 CUGx15	CUG	119	gaagCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGC AGCAGCAGCAGCAGAATTTTTGGAGTAggctttctggcttc ttaccggaaagcc
	DMD z42/38 역방향 융합체	DMD 엑손 51	179	ggagtGTAACCACAGGTTGTGTCACCAGAGTAACAT ACCTCCAACATCAAGGAAGATGGCAaATTTTTGGA Gcaggttttctgacctccgtcggaaaaccccct
	DMD z38/42 정방향 융합체	DMD 엑손 51	180	ggagtTACCTCCAACATCAAGGAAGATGGCAGTAAC CACAGGTTGTGTCACCAGAGTAACAaATTTTTGGA Gcaggttttctgacctccgtcggaaaaccccct
	z42/38 역방향 융합체, CCU 테일 비포함	DMD 엑손 51	181	ggagtGTAACCACAGGTTGTGTCACCAGAGTAACAT ACCTCCAACATCAAGGAAGATGGCAaATTTTTGGA Gcaggttttctgacctccgtcggaaaacc
	z38/42 융합체, ISD 비포함, eSL 비포함	DMD 엑손 51	182	TACCTCCAACATCAAGGAAGATGGCAGTAACCAC AGGTTGTGTCACCAGAGTAACAaATTTTTGGAGcagg ttttctgacttcggtcggaaaaccccct
	ISD 및 eSL을 포함하는 z38/42 정방향 융합 인간 루프	DMD 엑손 51	183	ggagtTACCTCCAACATCAAGGAAGATGGCAGTAAC CACAGGTTGTGTCACCAGAGTAACAAATTTTTGGA GTAggctttctggctccttaccggaaagcc
	ISD 및 eSL을 포함하고, CCU 테일이 부가된 z38/42 정방향 융합 인간 루프	DMD 엑손 51	184	ggagtTACCTCCAACATCAAGGAAGATGGCAGTAAC CACAGGTTGTGTCACCAGAGTAACAAATTTTTGGA GTAggctttctggctccttaccggaaagcccct
	5' ISD 및 eSL을 포함하는 Z38/z42 정방향 융합 긴 마우스 루프	DMD 엑손 51	185	ggagtTACCTCCAACATCAAGGAAGATGGCAGTAAC CACAGGTTGTGTCACCAGAGTAACAaATTTTTGGA GcaGgttttctgacctccttcggtcggaaaaccccct

[0121]

[0122] **벡터**

[0123] 재조합 발현 벡터의 맥락에서, "작동가능하게 연결된"이라는 용어는 하이브리드 프로모터가 예를 들어, 벡터가 숙주 세포에 도입되었을 때(또는 그와 접촉하였을 때), 상기 숙주 세포에서 뉴클레오티드 서열의 발현을 허용하는 방식으로 NOI에 연결되어 있다는 것을 의미하는 것으로 의도된다.

[0124] 본 개시내용의 조성물 및 방법의 일부 실시양태에서, 벡터는 조작된 snRNA를 포함한다. 일부 실시양태에서, 치료 snRN는 단일 또는 단위 벡터에 있다.

[0125] 본 개시내용의 조성물 및 방법의 일부 실시양태에서, 독성 CAG, CUG, GGCCCC, CCGGG, 또는 GGCCC+CCGGGG RNA 반복부(또는 그의 플랭킹 서열)를 표적화할 수 있는 RNA-결합 snRNA 시스템은 단일 벡터에 있다. 본 개시내용의 조성물 및 방법의 일부 실시양태에서, RNA 표적화 시스템은 관심 비반복 RNA를 표적화할 수 있다. 본 개시내용의 조성물 및 방법의 일부 실시양태에서, RNA 표적화 시스템은 하나 이상의 DMD 서열을 표적화할 수 있다. 일부 측면에서, snRNA 시스템은 다중의 (즉, 2개 이상의) 관심 RNA를 표적화할 수 있다. 일부 실시양태에서, 2개 이상의 관심 RNA는 동일한 프리-mRNA 분자일 수 있지만, 프리-mRNA 분자 내의 상이한 서열일 수 있다.

[0126] 벡터의 한 유형은 예컨대, 표준 분자 클로닝 기술에 의해 추가 DNA 세그먼트가 삽입될 수 있는 고리형 이중 가닥 DNA 루프를 지칭하는 "플라스미드"이다. 벡터의 또 다른 유형은 바이러스 유래 DNA 또는 RNA 서열이 바이러스(예컨대, 레트로바이러스, 복제 결함 레트로바이러스, 아데노바이러스, 복제 결함 아데노바이러스, 및 아데노 연관 바이러스)로 패키징하기 위한 벡터에 존재하는 것인 바이러스 벡터이다. 바이러스 벡터는 또한 숙주 세포로의 형질감염을 위해 바이러스에 의해 운반되는 폴리뉴클레오티드를 포함한다. 일부 실시양태에서, 벡터는 렌

티바이러스(예컨대, 통합 결핍 렌티바이러스 벡터) 또는 아데노 연관 바이러스(AAV) 벡터이다. 예를 들어, 예컨대, 박테리아 복제 기점을 갖는 박테리아 벡터 및 에피솜 포유동물 벡터와 같은 벡터는 이들이 도입되는 숙주 세포에서 자율 복제가 가능하고, 예를 들어, 예컨대, 비에피솜 포유동물 벡터와 같은 다른 벡터는 숙주 세포로의 도입시 숙주 세포의 게놈에 통합됨으로써 숙주 게놈과 함께 복제된다.

[0127] 일부 실시양태에서, 벡터, 예를 들어, 예컨대, 발현 벡터는 작동적으로 연결되는 유전자의 발현을 지시할 수 있다. 일반적인 발현 벡터는 종종 플라스미드 형태이다. 일부 실시양태에서, 재조합 발현 벡터는 본원에 제공된 핵산, 예를 들어, 예컨대, esnRNA를 숙주 세포에서 단백질의 발현에 적합한 형태로 포함한다. 재조합 발현 벡터는 발현시키고자 하는 핵산 서열에 작동적으로 연결된 하나 이상의 조절 요소를 포함하며, 이는 발현을 위해 사용하고자 하는 숙주 세포에 기초하여 선택될 수 있다. 재조합 발현 벡터 내에서, "작동가능하게 연결된"이란, 관심 뉴클레오티드 서열이 예를 들어, 예컨대, 시험관내 전사/번역 시스템에서 또는 벡터가 숙주 세포에 도입되었을 때, 숙주 세포에서 뉴클레오티드 서열의 발현을 허용하는 방식으로 조절 요소(들)에 연결된 것을 의미하는 것으로 의도된다. 벡터의 특정 실시양태는 예컨대, 형질전환시키고자 하는 숙주 세포의 선택, 및 원하는 발현 수준과 같은 인자에 의존한다. 벡터는 숙주 세포 내로 도입되어 예를 들어, 예컨대, CRISPR 전사체, 단백질, 효소, 그의 돌연변이체 형태, 그의 융합 단백질 등과 같은 본원에 기술된 바와 같은 핵산, snRNA에 의해 코딩되는 융합 단백질 또는 펩티드를 포함하는 전사체, 단백질, 또는 펩티드를 생성할 수 있다.

[0128] **바이러스 벡터**

[0129] 본 개시내용의 조성물 및 방법의 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 벡터는 바이러스 벡터이다. 일부 실시양태에서, 바이러스 벡터는 레트로바이러스로부터 단리되거나, 또는 유래된 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 바이러스 벡터는 렌티바이러스로부터 단리되거나, 또는 유래된 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 바이러스 벡터는 아데노바이러스로부터 단리되거나, 또는 유래된 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 바이러스 벡터는 아데노 연관 바이러스(AAV: adeno-associated virus)로부터 단리되거나, 또는 유래된 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 바이러스 벡터는 복제 불능이다. 일부 실시양태에서, 바이러스 벡터는 단리되거나, 또는 재조합된다. 일부 실시양태에서, 바이러스 벡터는 자기 상보적이다.

[0130] **아데노 연관 바이러스 벡터**

[0131] 본원에서 사용되는 바, "AAV 벡터"는 하나 이상의 핵산 분자 및 하나 이상의 AAV 역위 말단 반복 서열(ITR: inverted terminal repeat sequence)을 포함하거나, 본질적으로 그로 이루어지거나, 또는 그로 이루어진 벡터를 지칭한다. 일부 측면에서, 핵산 분자는 본 개시내용의 esnRNA를 코딩한다. 상기 AAV 벡터는 예를 들어, 숙주 세포의 형질감염에 의해 rep 및 cap 유전자 생성물의 기능을 제공하는 숙주 세포에 존재할 때 복제되고, 감염성 바이러스 입자로 패키징될 수 있다. 일부 측면에서, AAV 벡터는 프로모터, 적어도 하나의 단백질 또는 RNA를 코딩할 수 있는 적어도 하나의 핵산, 및/또는 감염성 AAV 입자로 패키징되는 플랭킹 ITR 내의 인핸서 및/또는 종결인자를 함유한다. 캡슐화된 핵산 부분은 AAV 벡터 게놈으로 지칭될 수 있다. AAV 벡터를 포함하는 플라스미드는 또한 제조 목적을 위한 요소, 예컨대, 항생제 내성 유전자, 복제 기점 서열 등을 포함할 수 있지만, 이들은 캡슐화되지 않으므로 AAV 입자의 일부를 형성하지 않는다.

[0132] 일부 측면에서, AAV 벡터는 본 개시내용의 esnRNA 조성물을 코딩하는 적어도 하나의 핵산을 포함할 수 있다. 일부 측면에서, AAV 벡터는 적어도 하나의 조절 서열을 포함할 수 있다. 일부 측면에서, AAV 벡터는 적어도 하나의 AAV 역위 말단(ITR) 서열을 포함할 수 있다. 일부 측면에서, AAV 벡터는 제1 ITR 서열 및 제2 ITR 서열을 포함할 수 있다. 일부 측면에서, AAV 벡터는 적어도 하나의 프로모터 서열을 포함할 수 있다. 일부 측면에서, AAV 벡터는 적어도 하나의 인핸서 서열을 포함할 수 있다. 일부 측면에서, AAV 벡터는 적어도 하나의 종결인자 서열을 포함할 수 있다. 일부 측면에서, AAV 벡터는 적어도 하나의 폴리A 서열을 포함할 수 있다. 일부 측면에서, AAV 벡터는 적어도 하나의 링커 서열을 포함할 수 있다. 일부 측면에서, AAV 벡터는 적어도 하나의 버퍼 서열을 포함할 수 있다. 일부 측면에서, 본 개시내용의 AAV 벡터는 적어도 하나의 핵 국재화 신호, 또는 핵 외수송 신호 및/또는 그 둘 모두를 포함할 수 있다.

[0133] 일부 측면에서, AAV 벡터는 제1 AAV ITR 서열, 프로모터 서열, esnRNA 서열, 종결인자 서열 및 제2 AAV ITR 서열을 포함할 수 있다. 일부 측면에서, AAV 벡터는 5'에서 3' 방향으로 제1 AAV ITR 서열, 프로모터 서열, esnRNA 서열, 종결인자 서열, 및 제2 AAV ITR 서열을 포함할 수 있다.

[0134] 일부 측면에서, AAV 벡터는 제1 AAV ITR 서열, 제1 프로모터 서열, 제1 esnRNA 서열, 제2 프로모터 서열, 제2 esnRNA 서열, 및 제2 AAV ITR 서열을 포함할 수 있다. 일부 측면에서, AAV 벡터는 제1 AAV ITR 서열, 제1 프로

모터 서열, 제1 esnRNA 서열, 제2 프로모터 서열, 제2 esnRNA 서열, 제3 프로모터 서열, 제3 esnRNA 서열, 및 제2 AAV ITR 서열을 포함할 수 있다. 일부 측면에서, AAV 벡터는 제1 AAV ITR 서열, 제1 프로모터 서열, 제1 esnRNA 서열, 제2 프로모터 서열, 제2 esnRNA 서열, 및 제2 AAV ITR 서열을 포함할 수 있다. 일부 측면에서, AAV 벡터는 제1 AAV ITR 서열, 제1 프로모터 서열, 제1 esnRNA 서열, 제2 프로모터 서열, 제2 esnRNA 서열, 제3 프로모터 서열, 제3 esnRNA 서열, 제4 프로모터 서열, 제4 esnRNA 서열, 및 제2 AAV ITR 서열을 포함할 수 있다.

[0135] 본원에서 사용되는 바, 용어 "아데노 연관 바이러스" 또는 "AAV"는 이 명칭과 연관되고, 파르보비리데(*Parvoviridae*) 과 디펜도파르보바이러스(*Dependoparvovirus*) 속에 속하는 바이러스 부류의 구성원을 지칭한다. 아데노 연관 바이러스는 특정 기능이 공동 감염 헬퍼 바이러스에 의해 제공되는 세포에서 성장하는 단일 가닥 DNA 바이러스이다. AAV에 관한 일반 정보 및 리뷰는 예를 들어 문헌 [Carter, 1989, Handbook of Parvoviruses, Vol. 1, pp. 169-228] 및 [Berns, 1990, Virology, pp. 1743-1764, Raven Press, (New York)]에서 살펴볼 수 있다. 다양한 혈청형이 심지어 유전자 수준에서도 구조적으로나 기능적으로 모두 매우 밀접하게 관련되어 있다는 것이 잘 알려져 있기 때문에 이러한 리뷰에서 설명된 동일한 원리가 리뷰 공개일 이후에 특징화되는 추가 AAV 혈청형에 적용될 것으로 충분히 예상된다(예를 들어, 문헌 [Blacklowe, 1988, pp. 165-174 of Parvoviruses and Human Disease, J. R. Pattison, ed.]; 및 [Rose, Comprehensive Virology 3: 1-61 (1974)] 참조). 예를 들어, 모든 AAV 혈청형은 분명히 상동성 rep 유전자에 의해 매개되는 매우 유사한 복제 특성을 나타내고; 모두 AAV2에서 발현되는 것과 같은 3개의 관련 캡시드 단백질을 보유한다. 관련성 정도는 게놈 길이를 따라 혈청형 사이의 광범위한 교차 하이브리드화; 및 "역위 말단 반복 서열"(ITR)에 상응하는 말단에 유사한 자기 어닐링 세그먼트의 존재를 나타내는 이종이중체 분석에 의해 추가로 시사된다. 유사한 감염성 패턴은 또한 각 혈청형의 복제 기능이 유사한 조절 제어하에 있다는 것을 시사한다. 상기 바이러스의 여러 혈청형은 유전자 전달에 적합한 것으로 알려져 있으며; 알려진 모든 혈청형은 다양한 조직 유형의 세포를 감염시킬 수 있다.

[0136] AAV는 예를 들어, 유전자 요법에서 외래 DNA를 세포에 전달하기 위한 벡터로서 관심의 대상이 될 수 있도록 하는 고유한 특징을 가지고 있다. 배양 중인 세포의 AAV 감염은 비세포변성이며, 인간 및 다른 동물의 자연 감염은 침묵적이고, 무증상이다. 또한, AAV는 많은 포유동물 세포를 감염시켜 생체내에서 많은 상이한 조직을 표적화할 수 있도록 한다. 또한, AAV는 느린 분열 또는 비분열 세포를 형질도입하고, 본질적으로 전사적으로 활성인 핵 에피솜(염색체외 요소)으로서 이들 세포의 수명 동안 지속될 수 있다. AAV 프로바이러스 게놈은 플라스미드에 클로닝된 DNA로 삽입되고, 이로써, 재조합 게놈 구축이 가능해질 수 있다. 추가로, AAV 복제 및 게놈 캡슐화를 지시하는 신호가 AAV 게놈의 ITR 내에 포함되어 있기 때문에, 게놈의 내부 대략 4.3 kb의 게놈(복제 및 구조적 캡시드 단백질, rep-cap을 코딩)의 일부 또는 전부가 외래 DNA로 대체되어 AAV 벡터를 생성할 수 있다. rep 및 cap 단백질은 트랜스로 제공될 수 있다. AAV의 또 다른 중요한 특징은 매우 안정적이고, 왕성한 바이러스라는 것이다. 아데노바이러스를 불활성화하는 데 사용되는 조건(몇 시간 동안 56℃ 내지 65℃)을 쉽게 견디므로 AAV의 저온 보존이 덜 중요하다. AAV는 심지어 동결건조될 수 있다. 마지막으로, AAV에 감염된 세포는 중복 감염에 내성이 없다.

[0137] 본 발명의 재조합 AAV(rAAV: 재조합 AAV) 게놈은 적어도 하나의 esnRNA를 코딩하는 핵산 분자 및 핵산 분자에 플랭킹된 하나 이상의 AAV ITR을 포함하거나, 본질적으로 그로 이루어지거나, 또는 그로 이루어진다. 슈도타입 rAAV의 생산은 예를 들어, WO2001083692에 개시되어 있다. 다른 유형의 rAAV 변이체, 예를 들어, 캡시드 돌연변이를 갖는 rAAV 또한 고려된다. 예컨대, 문헌 [Marsic et al., Molecular Therapy, 22(11): 1900-1909 (2014)]를 참조한다. 다양한 AAV 혈청형의 게놈의 뉴클레오티드 서열은 당업계에 공지되어 있다.

[0138] 본 개시내용의 조성물 및 방법의 일부 실시양태에서, 바이러스 벡터는 아데노 연관 바이러스(AAV)로부터 단리되거나, 또는 유래된 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 바이러스 벡터는 혈청형 AAV1, AAV2, AAV3, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAV9, AAV10, AAVrh10, AAV11 또는 AAV12의 AAV로부터 단리되거나, 또는 유래된 역위 말단 반복 서열 또는 캡시드 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, AAV 혈청형은 AAVrh.74이다. 한 실시양태에서, AAV 벡터는 변형된 캡시드를 포함한다. 한 실시양태에서, AAV 벡터는 AAV2-Tyr 돌연변이체 벡터이다. 한 실시양태에서, AAV 벡터는 야생형 AAV2의 위치 Tyr252, Tyr272, Tyr275, Tyr281, Tyr508, Tyr612, Tyr704, Tyr720, Tyr730 또는 Tyr673에서 표면 노출된 티로신 잔기에 상응하는 위치에서 비티로신 아미노산을 갖는 캡시드를 포함한다. WO 2008/124724(그의 전문이 본원에 포함) 또한 참조한다. 일부 실시양태에서, AAV 벡터는 조작된 캡시드를 포함한다. 조작된 캡시드를 포함하는 AAV 벡터는 제한 없이 AAV2.7m8, AAV9.7m8, AAV2 2tYF, 및 AAV8 Y733F를 포함한다. 일부 실시양태에서, 캡시드는 유비퀴틴화 내성 캡시드이다. 또 다른 실시양태에서, 유비퀴틴화 캡시드는 티로신(Y) 및 세린(S) 돌연변이를 포함하는 AAV2 캡시드이다. 또 다른 실시양태에서, AAV2

캡시드는 Y, S 및 트레오닌(T) 돌연변이를 포함한다. 또 다른 실시양태에서, AAV2 캡시드는 제한 없이, AAV2 캡시드 돌연변이체, 예컨대, T455V, T491V, T550V, T659V, Y444+500+730F, 및 Y444+500+730F+T491V를 포함한다. 일부 실시양태에서, 바이러스 벡터는 벡터는 복제 불능이다. 일부 실시양태에서, 바이러스 벡터는 단리되거나, 또는 재조합(rAAV)이다. 일부 실시양태에서, 바이러스 벡터는 자기 상보적(scAAV)이다. 일부 실시양태에서, 바이러스 벡터는 단일 가닥(ssAAV)이다.

[0139] **AAV ITR 서열**

[0140] 본 개시내용의 조성물 및 방법의 일부 실시양태에서, AAV 역위 말단 반복 서열은 당업계에 공지된 임의의 AAV ITR 서열을 포함할 수 있다. 일부 측면에서, AAV ITR 서열은 AAV1 ITR 서열, AAV2 ITR 서열, AAV3 ITR 서열, AAV4 ITR 서열, AAV5 ITR 서열, AAV6 ITR 서열, AAV7 ITR 서열, AAV8 ITR 서열, AAV9 ITR 서열, AAV10 ITR 서열, AAVrh10 ITR 서열, AAV11 ITR 서열, AAV12 ITR 서열, AAV13 ITR 서열, 또는 AAVrh74 ITR 서열을 포함하거나, 또는 그로 이루어질 수 있다.

[0141] 일부 측면에서, ITR 서열은 변형된 AAV ITR 서열을 포함할 수 있다.

[0142] 일부 측면에서, AAV ITR 서열은 서열 번호 59, 서열 번호 60, 서열 번호 61, 서열 번호 162, 또는 서열 번호 166과 적어도 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%(또는 그 사이의 모든 비율(%)) 동일한 핵산 서열을 포함하거나, 본질적으로 그로 이루어지거나, 또는 그로 이루어질 수 있다.

[0143] 일부 측면에서, 제1 AAV ITR 서열은 서열 번호 59, 서열 번호 60, 서열 번호 61, 서열 번호 162, 또는 서열 번호 166과 적어도 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%(또는 그 사이의 모든 비율(%)) 동일한 핵산 서열을 포함하거나, 본질적으로 그로 이루어지거나, 또는 그로 이루어질 수 있고, 제2 AAV ITR 서열은 서열 번호 59, 서열 번호 60, 서열 번호 61, 서열 번호 162, 또는 서열 번호 166과 적어도 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%(또는 그 사이의 모든 비율(%)) 동일한 핵산 서열을 포함하거나, 본질적으로 그로 이루어지거나, 또는 그로 이루어질 수 있다. 일부 측면에서, 제1 AAV ITR 서열은 AAV 벡터의 5'에 위치한다. 일부 측면에서, 제2 AAV ITR 서열은 AAV 벡터의 3'에 위치한다.

[0144] 본 개시내용의 조성물 및 방법의 일부 실시양태에서, 바이러스 벡터는 아데노 연관 바이러스(AAV)로부터 단리 또는 유래된 서열을 포함한다.

[0145] 본 개시내용의 조성물 및 방법의 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 벡터는 비바이러스 벡터이다. 일부 실시양태에서, 벡터는 나노입자, 미셀, 리포솜 또는 리포플렉스, 폴리머솜, 폴리플렉스 또는 덴드리머를 포함하거나, 또는 그로 이루어진다. 일부 실시양태에서, 벡터는 발현 벡터 또는 재조합 발현 시스템. 본원에서 사용되는 바, 용어 "재조합 발현 시스템"은 재조합에 의해 형성된 특정 유전 물질의 발현을 위한 유전자 구축물을 지칭한다

[0146] **esnRNA 벡터 구축물**

[0147] 본 개시내용의 예시적인 esnRNA AAV 벡터는 본 개시내용의 하나 이상의 esnRNA 서열을 포함할 수 있다. 일부 측면에서, esnRNA AAV 벡터는 하기 esnRNA AAV 벡터 표에 열거된 esnRNA AAV 벡터와 적어도 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%(또는 그 사이의 모든 비율(%)) 동일한 핵산 서열을 포함하거나, 본질적으로 그로 이루어지거나, 또는 그로 이루어진다:

ID	설명	서열 번호
A02962	CUG 반복부를 표적화하는 ss pAAV-4X U7(15XCUG) (P00369의 유도체)	120
A02963	ss pAAV-4X U7(NT1) (P00369의 유도체)	121
A02967	CUG 반복부를 표적화하는 ss pAAV-4X U7(15XCUG)	122
A03079	CAG 반복부를 표적화하는 sc pAAV-4X U7(15XCUG) (P00369의 유도체)	123
A03080	sc pAAV-4X U7(NT1) (P00369의 유도체)	124
A03081	CUG 반복부를 표적화하는 sc pAAV-4X U7(15XCTG)	125
A02888	CUG 반복부를 표적화하는 pAAV_1xU7(15xCUG)_CMV_GFP (버퍼 비포함)	126
A02889	pAAV_1xU7(NT1)_CMV_GFP (버퍼 비포함)	127
A02925	CAG 반복부를 표적화하는 pAAV_1xU7(15xCAG)_CMV_GFP (버퍼 비포함)	128
A02894	CUG 반복부를 표적화하는 pAAV_3xU7(15xCUG)_CMV_GFP (100bp 버퍼)	129
A02895	pAAV_3xU7(NT1)_CMV_GFP (100bp 버퍼)	130
A02968	CAG 반복부를 표적화하는 pAAV_3xU7(15XCAG)_CMV_GFP (100bp 버퍼)	131
A02896	pAAV_3xU7(15xCUG)_CMV_GFP (500bp 버퍼)	132
A02897	pAAV_3xU7(NT1)_CMV_GFP (500bp 버퍼)	133
A02969	CAG 반복부를 표적화하는 pAAV_3xU7(15xCAG)_CMV_GFP (500bp 버퍼)	134
A03980	pAAV(ssAAV) U7프로모터-esnRNA-z38/42-U7 종결-U1프로모터-esnRNAz38/z42-U1 종결	135
A03981	pAAV(ssAAV)_U7프로모터-esnRNA-z42-U7종결-U1프로모터-esnRNA-z38-U1 종결	136
A04229	pAAV(scAAV) U7프로모터-esnRNA-z38/42-U7 종결-U1프로모터-esnRNAz38/z42-U1 종결-mut ITR	137
A04184	pAAV(ssAAV)-U7프로모터-z38/42-U7term_U1프로모터-z38/42-U1term_버퍼 조합 서열 스터퍼	138
A03681	pAAV(ssAAV)-U7 프로모터-zCUGx15-U7 term_U1 프로모터-zCUGx15-U1 term-eCMV-eGFP	139
A03682	pAAV(ssAAV)-U1 프로모터-zCUGx15-U1 term_U7 프로모터-zCUGx15-U7 term-eCMV-eGFP	140
A03683	pAAV(ssAAV)-U7 프로모터-znt-U7 term_U1 프로모터-znt-U1 term-eCMV-eGFP	141
A03864	pAAV(ssAAV)-U7 프로모터-zCUGx15-U7 term_U1 프로모터-zCUGx15-U1 term (GFP 비포함 - 3681의 유도체)	142
A04233	pAAV(scAAV)-U7프로모터-zCUGx15-U7종결-U1프로모터-zCUGx15-U1종결 (scAAV 중 GFP를 포함하지 않는 A03681의 유도체)	143
A04569	scAAVmU7p-z42/38 rev fus-mU7term_mU1p-z42/38 rev fus-mU1term; 5’ ISD 및 eSL을 포함하는 마우스 루프	168
A04526	scAAVmU7p-z38/42 정방향 fus-mU7term_mU1p-z38/42 정방향 fus-mU1term; 5’ ISD 및 eSL을 포함하는 마우스 루프	169
A04771	scAAVmU7p-z42/38 역방향 fus-mU7term_mU1p-z42/38 역방향 fus-mU1term; 5’ ISD 및 eSL을 포함하고, CCU 테일을 포함하지 않는 마우스 루프	170
A04525	scAAV-mU7p-z38/42-mU7term_mU7p-z38/42-mU7term; ISD를 포함하지 않고, eSL을 포함하지 않는 마우스 루프	171

[0148]

A04527	scAAV-mU7p-z38/42-mU7term_mU1p-z38/42-mU1term; ISD를 포함하지 않고, eSL을 포함하지 않는 마우스 루프	172
A04528	scAAV-mU7p-z38/42-mU7term_mU1p-z38/42-mU1term; ISD 및 eSL을 포함하는 인간 루프	173
A04529	scAAV-mU7p-z38/42-mU7term_mU1p-z38/42-mU1term; ISD 및 eSL을 포함하고, CCU 테일이 부가된 인간 루프	174
A04537	scAAV-mU7p-z38/42-mU7term_mU1prom- p-z38/42-mU1term; 5’ ISD 및 eSL을 포함하는 긴 마우스 루프	175
A04233	scAAV- hU7-CUGx15-hU1-CUGx15 (3’mut ITR)	176
A04234	scAAV- hU7-CUGx15-hU1-CUGx15 (5’ mut ITR)	177
A04390	scAAV 5'mITR hU7-CAG15X-hU1-CAGx15	178
A04530	scAAV- mU7p-CUGx15-mU1p-CUGx15; ISD 및 eSL을 포함하는 마우스 루프	231
A04940	scAAV- mU7p-CUGx10-mU1p-CUGx10; ISD 및 eSL을 포함하고, CCU를 포함하지 않는 마우스 루프	232
A04533	scAAV- mU7p-CAGx15-mU1p-CAGx15; ISD 및 eSL을 포함하는 마우스 루프	233

[0149]

[0150] 본 개시내용의 예시적인 AAV 벡터는 5'에서 3'으로 제1 역위 말단 반복(ITR) 서열, U7 프로모터 서열, DMD 엑손 51 표적화 U7 esnRNA 서열, U7 하류 종결인자 서열, U1 프로모터 서열, DMD 엑손 51 표적화 U7 esnRNA 서열, U1 하류 종결인자 서열, 및 제2 ITR 서열을 포함한다. 일부 측면에서, DMD 엑손 51 표적화 snRNA 서열을 코딩하

는 AAV 벡터 A04569를 코딩하는 핵산 서열은 서열 번호 168을 포함한다.

A04569: scAAVmU7p-z42/38 rev fus-mU7term_mU1p-z42/38 rev fus-mU1term;
5' ISD 및 eSL을 포함하는 마우스 루프

플라스미드 요소	뉴클레오티드 서열 **5'→3'**
5' ITR	ctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgcccgggcaaagcccgggcgtcgggcgacctttggtcgcccggcctcagtgagcgag cgagcgcgcagagagggagtgggggtt (서열 번호 162)
마우스 U7 프로모터	taacaacataggagctgtgattggctgtttttcagccaatcagcactgActcatttgcatagcctttacaagcggtcacaaactcaagaaa cgagcggttttaatagtcttttagaatattgtttatcgaaccgaataaggaactgtgctttgtgattcacatatcagtggaggggtgtggaa atggcaccttgatctcaccctcatcgaaagtggagttgatgtcctTccctggctcgctacagacgcacttccgcaa (서열 번호 48)
ISD	ggagt (서열 번호 12)
Z42/z38 역방향 융합 스페이서	GTAACCACAGGTTGTGTCACCAGAGTAACATACCTCCAACATCAAGGAAGATGG CA (서열 번호 149)
SMOPT	aATTTTTGGAGca (서열 번호 161)
마우스 스템 루프 (eSL) 짧은 루프	ggttttctgacctccgtcggaaaaccct (서열 번호 146)
마우스 U7 종결인자	cccaatttcactggtctacaatgaaagcaaaacagttctcttcccgctcccggtgtgtgagaggggctttgatccttctctggtttcctag gaaacgcgtatgtg (서열 번호 156)
마우스 U1 프로모터	TTGTTCCTCTTAGTGTTAATTCACACTAAAGACTGTGCATCCGACTCCTACATTTA TGAAAGTAAATGCCTGTTGTTAGAACAAAAAAGGCTACAGAACAAAAAACAAA GCGAAATACCATCTGCTTTAGGTTCAGTGTGGTATTTTCCCGCTGACAGGGAGGC GGGTTTTTGGGTACAGGAAACGAGTCACTATGGAGGCGGTACTATGTAGATGAG AATTCAGGTGCAAACTGGGAAAAGCAACTGCTTCCAAATATTTGTGATTTTTACA GTGTAGTTTTGGAAAAACTCTTAGCCTACCAATTCTTCTAAGTGTTTTAAAATGT GGGAGCCAGTACACATGAAGTTATAGAGTGTTTTAATGAGGCTTAAATATTTACC
	GTAACTATGAAATGCTACGCATATCATGCTGTTCAGGCTCCGTGGCCACGCAACT C (서열 번호 47)
ISD	ggagt (서열 번호 12)
Z42/z38 역방향 융합 스페이서	GTAACCACAGGTTGTGTCACCAGAGTAACATACCTCCAACATCAAGGAAGATGG CA (서열 번호 149)
SMOPT	aATTTTTGGAGca (서열 번호 161)
마우스 스템 루프 (eSL) 짧은 루프	ggttttctgacctccgtcggaaaaccct (서열 번호 146)
마우스 U1 종결인자	GTTTACTTGGTTTTAAAAATAGCTTGCACTAGCGATACGGAATATGGTTATTAGG TTTGTTAGGCATCATGTCGTGTCTTACTATAGAAAAATAACGTAGTGTTCATTTT AGCCTGCCTGTATGTGTTAATTTGTCCTTATTGCGCATTGTTCTTGTTAAGTCTTC TGTAAGGAGTTGCGGGTTTCAAACTGTCAGTCTGAGAGCA (서열 번호 57)
3' ITR	Aggaacccctagtgatggagttggccactccctctctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgggcgaccaaaggtcgcccgacg cccgggctttgcccgggcggcctcagtgagcgagcgagcgcgcagctgcctgcagg (서열 번호 60)

[0151]

[0152] 본 개시내용의 예시적인 AAV 벡터는 5'에서 3'으로 제1 역위 말단 반복(ITR) 서열, U7 프로모터 서열, DMD 엑손 51 표적화 U7 esnRNA 서열, U7 하류 종결인자 서열, U1 프로모터 서열, DMD 엑손 51 표적화 U7 esnRNA 서열, U1 하류 종결인자 서열, 및 제2 ITR 서열을 포함한다. 일부 측면에서, DMD 엑손 51 표적화 snRNA 서열을 코딩하는 AAV 벡터 A04526을 코딩하는 핵산 서열은 서열 번호 169를 포함한다.

A04526: scAAVmU7p-z82/42 정방향 fus-mU7term_mU1p-z38/42 정방향 fus-mU1term;
5' ISD 및 eSL을 포함하는 마우스 루프

플라스미드 요소	뉴클레오티드 서열 **5'→3'**
5' ITR	ctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgcccgggcaaagcccgggcgtcgggcgaccttggtcgcccggcctcagtgagcgag cgagcgcgcagagagggagtgggggtt (서열 번호 162)
마우스 U7 프로모터	taacaacataggagctgtgattggctgttttcagccaatcagcactgActcatttgcatagcctttacaagcggtcacaaactcaagaaa cgagcggttttaatagtcttttagaatattgtttatcgaaccgaataaggaactgtgctttgtgattcacatatcagtggaggggtgtggaa atggcaccttgatctcaccctcatcgaaagtggagttgatgtcctTccctggctcgctacagacgcacttccgcaa (서열 번호 48)
ISD	ggagt (서열 번호 12)
Z38/z42 정방향 융합 스페이서	TACCTCCAACATCAAGGAAGATGGCAGTAACCACAGGTTGTGTCACCAGAGTAA CA (서열 번호 150)
SMOPT	aATTTTTGGAGca (서열 번호 161)
마우스 스템 루프 (eSL) 짧은 루프	ggttttctgacctccgtcggaaaacccct (서열 번호 146)
마우스 U7 종결인자	cccaatttcactggtctacaatgaaagcaaaacagttctcttccccgctccccggtgtgtgagaggggctttgatccttctctggtttccta ggaaacgcgtatgtg (서열 번호 156)
마우스 U1 프로모터	TTGTTCCTCTTAGTGTTAATTCACACTAAAGACTGTGCATCCGACTCCTACATTTA TGAAAGTAAATGCCTGTTGTTAGAACAAAAAAGGCTACAGAACAAAAAACAAA GCGAAATACCATCTGCTTTAGGTTCAGTGTGGTATTTTCCCGCTGACAGGGAGGC GGGTTTTTGGGTACAGGAAACGAGTCACTATGGAGGCGGTACTATGTAGATGAG AATTCAGGTGCAAACTGGGAAAAGCAACTGCTTCCAAATATTTGTGATTTTTACA GTGTAGTTTTGGAAAAACTCTTAGCCTACCAATTCTTCTAAGTGTTTTAAAATGT GGGAGCCAGTACACATGAAGTTATAGAGTGTTTTAATGAGGCTTAAATATTTACC GTAACTATGAAATGCTACGCATATCATGCTGTTCAGGCTCCGTGGCCACGCAACT C (서열 번호 47)
ISD	ggagt (서열 번호 12)
Z38/z42 정방향 융합 스페이서	TACCTCCAACATCAAGGAAGATGGCAGTAACCACAGGTTGTGTCACCAGAGTAA CA (서열 번호 150)
SMOPT	aATTTTTGGAGca (서열 번호 161)
마우스 스템 루프 (eSL) 짧은 루프	ggttttctgacctccgtcggaaaacccct (서열 번호 146)
마우스 U1 종결인자	GTTTACTTGGTTTTAAAAATAGCTTGCACTAGCGATACGGAATATGGTTATTAGG TTTGTTAGGCATCATGTCGTGTCTTACTATAGAAAAATAACGTAGTGTTCATTTT AGCCTGCCTGTATGTGTTAATTTGTCCTTATTGCGCATTGTTCTTGTTAAGTCTTC TGTAAGGAGTTGCGGGTTTCAAACTGTCAGTCTGAGAGCA (서열 번호 57)
3' ITR	aggaacccctagtgatggagttggccactccctctctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgggcgaccaaaggtcgcccgacgc ccgggctttgcccgggcggcctcagtgagcgagcgagcgcgcagctgcctgcagg (서열 번호 60)

[0153]

[0154] 본 개시내용의 예시적인 AAV 벡터는 5'에서 3'으로 제1 역위 말단 반복(ITR) 서열, U7 프로모터 서열, DMD 엑손 51 표적화 U7 esnRNA 서열, U7 하류 종결인자 서열, U1 프로모터 서열, DMD 엑손 51 표적화 U7 esnRNA 서열, U1 하류 종결인자 서열, 및 제2 ITR 서열을 포함한다. 일부 측면에서, DMD 엑손 51 표적화 snRNA 서열을 코딩하는 AAV 벡터 A04771을 코딩하는 핵산 서열은 서열 번호 170을 포함한다.

A04771: scAAVmU7p-z42/38 역방향 fus-mU7term_mU1p-z42/38 역방향 fus-mU1term;
5' ISD 및 eSL을 포함하고, CCU 테일을 포함하지 않는 마우스 루프

플라스미드 요소	뉴클레오티드 서열 **5'→3'**
5' ITR	ctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgcccgggcaaagcccgggcgtcgggcgaccttggtcgcccggcctcagtgagcgagc gagcgcgcagagagggagtgggggtt (서열 번호 162)
마우스 U7 프로모터	taacaacataggagctgtgattggctgttttcagccaatcagcactgActcatttgcatagcctttacaagcggtcacaaactcaagaaac gagcggttttaatagtcttttagaatattgtttatcgaaccgaataaggaactgtgctttgtgattcacatatcagtggaggggtgtggaaatg gcaccttgatctcaccctcatcgaaagtggagttgatgtcctTccctggctcgctacagacgcacttccgcaa (서열 번호 48)
ISD	ggagt (서열 번호 12)
Z42/z38 역방향 융합 스페이서	GTAACCACAGGTTGTGTCACCAGAGTAACATACCTCCAACATCAAGGAAGATGGC A (서열 번호 149)
SMOPT	aATTTTTGGAGca (서열 번호 161)
CCU를 포함하지 않는 마우스 스템 루프 (eSL) 짧은 루프	ggttttctgacctccgtcggaaaacc (서열 번호 148)
마우스 U7 종결인자	cccaatttcactggtctacaatgaaagcaaaacagttctcttccccgctcccggtgtgtgagaggggctttgatccttctctggtttcctag gaaacgcgtatgtg (서열 번호 156)
마우스 U1 프로모터	TTGTTCCTCTTAGTGTTAATTCACACTAAAGACTGTGCATCCGACTCCTACATTTAT GAAAGTAAATGCCTGTTGTTAGAACAAAAAAGGCTACAGAACAAAAAACAAAGC GAAATACCATCTGCTTTAGGTTCAGTGTGGTATTTTCCCGCTGACAGGGAGGCGG GTTTTTGGGTACAGGAAACGAGTCACTATGGAGGCGGTACTATGTAGATGAGAAT TCAGGTGCAAACTGGGAAAAGCAACTGCTTCCAAATATTTGTGATTTTTACAGTGT AGTTTTGGAAAAACTCTTAGCCTACCAATTCTTCTAAGTGTTTTAAAATGTGGGAG CCAGTACACATGAAGTTATAGAGTGTTTTAATGAGGCTTAAATATTTACCGTAACT ATGAAATGCTACGCATATCATGCTGTTCAGGCTCCGTGGCCACGCAACTC (서열 번호 47)
ISD	ggagt (서열 번호 12)
Z42/z38 역방향 융합 스페이서	GTAACCACAGGTTGTGTCACCAGAGTAACATACCTCCAACATCAAGGAAGATGGC A (서열 번호 149)
SMOPT	aATTTTTGGAGca (서열 번호 161)
CCU를 포함하지 않는 마우스 스템 루프 (eSL) 짧은 루프	ggttttctgacctccgtcggaaaacc (서열 번호 148)
마우스 U1 종결인자	GTTTACTTGGTTTTAAAAATAGCTTGCACTAGCGATACGGAATATGGTTATTAGGT TTGTTAGGCATCATGTCGTGTCTTACTATAGAAAAATAACGTAGTGTTCATTTTAG CCTGCCTGTATGTGTTAATTTGTCCTTATTGCGCATTGTTCTTGTTAAGTCTTCTGT AAGGAGTTGCGGGTTTCAAACTGTCAGTCTGAGAGCA (서열 번호 57)
3' ITR	aggaacccctagtgatggagttggccactccctctctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgggcgaccaaaggtcgcccgacgcc cgggctttgcccgggcggcctcagtgagcgagcgagcgcgcagctgcctgcagg (서열 번호 60)

[0155]

[0156] 본 개시내용의 예시적인 AAV 벡터는 5'에서 3'으로 제1 역위 말단 반복(ITR) 서열, U7 프로모터 서열, DMD 엑손 51 표적화 U7 esnRNA 서열, U7 하류 종결인자 서열, U7 프로모터 서열, DMD 엑손 51 표적화 U7 esnRNA 서열, U7 하류 종결인자 서열, 및 제2 ITR 서열을 포함한다. 일부 측면에서, DMD 엑손 51 표적화 snRNA 서열을 코딩하는 AAV 벡터 A04525를 코딩하는 핵산 서열은 서열 번호 171을 포함한다.

A04525: scAAV-mU7p-z38/42-mU7term_mU7p-z38/42-mU7term;
ISD를 포함하지 않고, **eSL**을 포함하지 않는 마우스 루프

플라스미드 요소	뉴클레오티드 서열 **5'→3'**
5' ITR	ctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgcccgggcaaagcccgggcgtcgggcgacctttggtcgcccggcctcagtgagcgagc gagcgcgcagagagggagtgggggtt (서열 번호 162)
마우스 U7 프로모터	taacaacataggagctgtgattggctgttttcagccaatcagcactgActcatttgcatagcctttacaagcggtcacaaactcaagaaac gagcggttttaatagtctttagaatattgtttatcgaaccgaataaggaactgtgctttgtgattcacatatcagtggaggggtgtggaaatg gcaccttgatctcaccctcatcgaaagtggagttgatgtcctTccctggctcgctacagacgcacttccgcaa (서열 번호 48)
Z38/z42 정방향 융합 스페이서	TACCTCCAACATCAAGGAAGATGGCAGTAACCACAGGTTGTGTCACCAGAGTAAC A (서열 번호 150)
SMOPT	aATTTTTGGAGca (서열 번호 161)
마우스 스템 루프 (WT) 짧은 루프	ggttttctgacttcggtcggaaaaccct (서열 번호 145)
마우스 U7 종결인자	cccaatttcactggtctacaatgaaagcaaaacagttctcttccccgctccccggtgtgtgagaggggctttgatccttctctggtttcctag gaaacgcgtatgtg (서열 번호 156)
마우스 U7 프로모터	taacaacataggagctgtgattggctgttttcagccaatcagcactgActcatttgcatagcctttacaagcggtcacaaactcaagaaac gagcggttttaatagtctttagaatattgtttatcgaaccgaataaggaactgtgctttgtgattcacatatcagtggaggggtgtggaaatg gcaccttgatctcaccctcatcgaaagtggagttgatgtcctTccctggctcgctacagacgcacttccgcaa (서열 번호 48)
Z38/z42 정방향 융합 스페이서	TACCTCCAACATCAAGGAAGATGGCAGTAACCACAGGTTGTGTCACCAGAGTAAC A (서열 번호 150)
SMOPT	aATTTTTGGAGca (서열 번호 161)
마우스 스템 루프 (WT) 짧은 루프	ggttttctgacttcggtcggaaaaccct (서열 번호 145)
마우스 U7 종결인자	cccaatttcactggtctacaatgaaagcaaaacagttctcttccccgctccccggtgtgtgagaggggctttgatccttctctggtttcctag gaaacgcgtatgtg (서열 번호 156)
3' ITR	aggaacccctagtgatggagttggccactccctctctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgggcgaccaaaggtcgcccgacgcc cgggctttgcccgggcggcctcagtgagcgagcgagcgcgcagctgcctgcagg (서열 번호 60)

[0157]

[0158] 본 개시내용의 예시적인 AAV 벡터는 5'에서 3'으로 제1 역위 말단 반복(ITR) 서열, U7 프로모터 서열, DMD 엑손 51 표적화 U7 esnRNA 서열, U7 하류 종결인자 서열, U1 프로모터 서열, DMD 엑손 51 표적화 U7 esnRNA 서열, U1 하류 종결인자 서열, 및 제2 ITR 서열을 포함한다. 일부 측면에서, DMD 엑손 51 표적화 snRNA 서열을 코딩하는 AAV 벡터 A04527을 코딩하는 핵산 서열은 서열 번호 172를 포함한다.

A04527: scAAV-mU7p-z38/42-mU7term_mU1p-z38/42-mU1term;
ISD를 포함하지 않고, **eSL**을 포함하지 않는 마우스 루프

플라스미드 요소	뉴클레오티드 서열 **5'→3'**
5' ITR	ctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgcccgggcaaagcccgggcgtcgggcgacctttggtcgcccggcctcagtgagcgagc gagcgcgcagagagggagtggggtt (서열 번호 162)
마우스 U7 프로모터	taacaacataggagctgtgattggctgttttcagccaatcagcactgActcatttgcatagcctttacaagcggtcacaaactcaagaaac gagcggttttaatagtctttagaatattgtttatcgaaccgaataaggaactgtgctttgtgattcacatatcagtggaggggtgtggaaatg gcaccttgatctcaccctcatcgaaagtggagttgatgtcctTccctggctcgctacagacgcacttccgcaa (서열 번호 48)
Z38/z42 정방향 융합 스페이서	TACCTCCAACATCAAGGAAGATGGCAGTAACCACAGGTTGTGTCACCAGAGTAAC A (서열 번호 150)
SMOPT	aATTTTTGGAGca (서열 번호 161)
마우스 스템 루프 (WT) 짧은 루프	ggttttctgacttcggtcggaaaacccct (서열 번호 145)
마우스 U7 종결인자	cccaatttcactggtctacaatgaaagcaaaacagttctcttccccgctccccggtgtgtgagaggggctttgatccttctctggtttcctag gaaacgcgtatgtg (서열 번호 156)
마우스 U1 프로모터	TTGTTCCTCTTAGTGTTAATTCACACTAAAGACTGTGCATCCGACTCCTACATTTAT GAAAGTAAATGCCTGTTGTTAGAACAAAAAAGGCTACAGAACAAAAAACAAAGC GAAATACCATCTGCTTTAGGTTCAGTGTGGTATTTTCCCGCTGACAGGGAGGCGG GTTTTTGGGTACAGGAAACGAGTCACTATGGAGGCGGTACTATGTAGATGAGAAT TCAGGTGCAAACTGGGAAAAGCAACTGCTTCCAAATATTTGTGATTTTTACAGTGT AGTTTTGGAAAAACTCTTAGCCTACCAATTCTTCTAAGTGTTTTAAAATGTGGGAG CCAGTACACATGAAGTTATAGAGTGTTTTAATGAGGCTTAAATATTTACCGTAACT ATGAAATGCTACGCATATCATGCTGTTCAGGCTCCGTGGCCACGCAACTC (서열 번호 47)
Z38/z42 정방향 융합 스페이서	TACCTCCAACATCAAGGAAGATGGCAGTAACCACAGGTTGTGTCACCAGAGTAAC A (서열 번호 150)
SMOPT	aATTTTTGGAGca (서열 번호 161)
마우스 스템 루프 (WT) 짧은 루프	ggttttctgacttcggtcggaaaacccct (서열 번호 145)
마우스 U1 종결인자	GTTTACTTGGTTTTAAAAATAGCTTGCACTAGCGATACGGAATATGGTTATTAGGT TTGTTAGGCATCATGTCGTGTCTTACTATAGAAAAATAACGTAGTGTTCATTTTAG CCTGCCTGTATGTGTTAATTTGTCCTTATTGCGCATTGTTCTTGTTAAGTCTTCTGT AAGGAGTTGCGGGTTTCAAACTGTCAGTCTGAGAGCA (서열 번호 57)
3' ITR	aggaacccctagtgatggagttggccactccctctctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgggcgaccaaaggtcgcccgacgcc cgggctttgcccgggcggcctcagtgagcgagcgagcgcgcagctgcctgcagg (서열 번호 60)

[0159]

[0160] 본 개시내용의 예시적인 AAV 벡터는 5'에서 3'으로 제1 역위 말단 반복(ITR) 서열, U7 프로모터 서열, DMD 엑손 51 표적화 U7 esnRNA 서열, U7 하류 종결인자 서열, U1 프로모터 서열, DMD 엑손 51 표적화 U7 esnRNA 서열, U1 하류 종결인자 서열, 및 제2 ITR 서열을 포함한다. 일부 측면에서, DMD 엑손 51 표적화 snRNA 서열을 코딩하는 AAV 벡터 A04528을 코딩하는 핵산 서열은 서열 번호 173을 포함한다.

A04528: scAAV-mU7p-z38/42-mU7term_mU1p-z38/42-mU1term;
ISD 및 eSL을 포함하는 인간 루프

플라스미드 요소	뉴클레오티드 서열 **5'→3'**
5' ITR	ctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgcccgggcaaagcccgggcgtcgggcgacctttggtcgcccggcctcagtgagcgag cgagcgcgcagagagggagtgggggtt (서열 번호 162)
마우스 U7 프로모터	taacaacatagagctgtgattggctgttttcagccaatcagcactgActcatttgcatagccttacaagcggtcacaaactcaagaaa cgagcggttttaatagtcttttagaatattgtttatcgaaccgaataaggaactgtgctttgtgattcacatatcagtggaggggtgtggaa atggcaccttgatctcaccctcatcgaaagtggagttgatgtcctTccctggctcgctacagacgcacttccgcaa (서열 번호 48)
ISD	ggagt (서열 번호 12)
Z38/z42 정방향 융합 스페이서	TACCTCCAACATCAAGGAAGATGGCAGTAACCACAGGTTGTGTCACCAGAGTAA CA (서열 번호 150)
SMOPT	AATTTTTGGAGTA (서열 번호 164)
인간 스템 루프 (eSL)	ggctttctggctccttaccggaaagcc (서열 번호 1)
마우스 U7 종결인자	cccaatttcactggtctacaatgaaagcaaaacagttctcttcccgctccccggtgtgtgagaggggctttgatccttctctggtttccta ggaaacgcgtatgtg (서열 번호 156)
마우스 U1 프로모터	TTGTTCCTCTTAGTGTTAATTCACACTAAAGACTGTGCATCCGACTCCTACATTTA TGAAAGTAAATGCCTGTTGTTAGAACAAAAAAGGCTACAGAACAAAAAACAAA GCGAAATACCATCTGCTTTAGGTTCAGTGTGGTATTTTCCCGCTGACAGGGAGGC GGGTTTTTGGGTACAGGAAACGAGTCACTATGGAGGCGGTACTATGTAGATGAG AATTCAGGTGCAAACTGGGAAAAGCAACTGCTTCCAAATATTTGTGATTTTTACA GTGTAGTTTTGGAAAAACTCTTAGCCTACCAATTCTTCTAAGTGTTTTAAAATGT GGGAGCCAGTACACATGAAGTTATAGAGTGTTTTAATGAGGCTTAAATATTTACC GTAACTATGAAATGCTACGCATATCATGCTGTTCAGGCTCCGTGGCCACGCAACT C (서열 번호 47)
ISD	ggagt (서열 번호 12)
Z38/z42 정방향 융합 스페이서	TACCTCCAACATCAAGGAAGATGGCAGTAACCACAGGTTGTGTCACCAGAGTAA CA (서열 번호 150)
SMOPT	AATTTTTGGAGTA (서열 번호 164)
인간 스템 루프 (eSL)	ggctttctggctccttaccggaaagcc (서열 번호 1)
마우스 U1 종결인자	GTTTACTTGGTTTTAAAAATAGCTTGCACTAGCGATACGGAATATGGTTATTAGG TTTGTTAGGCATCATGTCGTGTCTTACTATAGAAAAATAACGTAGTGTTCATTTT AGCCTGCCTGTATGTGTTAATTTGTCCTTATTGCGCATTGTTCTTGTTAAGTCTTC TGTAAGGAGTTGCGGGTTTCAAACTGTCAGTCTGAGAGCA (서열 번호 57)
3' ITR	aggaacccctagtgatggagttggccactccctctctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgggcgaccaaaggtcgcccgacgc ccgggctttgcccgggcggcctcagtgagcgagcgagcgcgcagctgcctgcagg (서열 번호 60)

[0161]

[0162] 본 개시내용의 예시적인 AAV 벡터는 5'에서 3'으로 제1 역위 말단 반복(ITR) 서열, U7 프로모터 서열, DMD 엑손 51 표적화 U7 esnRNA 서열, U7 하류 종결인자 서열, U1 프로모터 서열, DMD 엑손 51 표적화 U7 esnRNA 서열, U1 하류 종결인자 서열, 및 제2 ITR 서열을 포함한다. 일부 측면에서, DMD 엑손 51 표적화 snRNA 서열을 코딩하는 AAV 벡터 A04529를 코딩하는 핵산 서열은 서열 번호 174를 포함한다.

A04529: scAAV-mU7p-z38/42-mU7term_mU1p-z38/42-mU1term;
ISD 및 eSL을 포함하고, CCU 테일이 부가된 인간 루프

플라스미드 요소	뉴클레오티드 서열 **5'→3'**
5' ITR	ctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgcccgggcaaagcccgggcgtcgggcgacctttggtcgcccggcctcagtgagcgag cgagcgcgcagagagggagtgggggtt (서열 번호 162)
마우스 U7 프로모터	taacaacataggagctgtgattggctgttttcagccaatcagcactgActcatttgcatagcctttacaagcggtcacaaactcaagaaa cgagcggttttaatagtcttttagaatattgtttatcgaaccgaataaggaactgtgctttgtgattcacatatcagtggaggggtgtggaa atggcaccttgatctcaccctcatcgaaagtggagttgatgtcctTccctggctcgctacagacgcacttccgcaa (서열 번호 48)
ISD	ggagt (서열 번호 12)
Z38/z42 정방향 융합 스페이서	TACCTCCAACATCAAGGAAGATGGCAGTAACCACAGGTTGTGTCACCAGAGTAA CA (서열 번호 150)
SMOPT	AATTTTTGGAGTA (서열 번호 164)
CCU 테일을 포함하는 인간 스템 루프 (eSL)	ggctttctggctccttaccggaaagcccct (서열 번호 163)
마우스 U7 종결인자	cccaatttcactggtctacaatgaaagcaaaacagttctcttccccgctccccggtgtgtgagaggggctttgatccttctctggtttccta ggaaacgcgtatgtg (서열 번호 156)
마우스 U1 프로모터	TTGTTCCTCTTAGTGTTAATTCACACTAAAGACTGTGCATCCGACTCCTACATTTA TGAAAGTAAATGCCTGTTGTTAGAACAAAAAAGGCTACAGAACAAAAAACAAA GCGAAATACCATCTGCTTTAGGTTCAGTGTGGTATTTTCCCGCTGACAGGGAGGC GGGTTTTTGGGTACAGGAAACGAGTCACTATGGAGGCGGTACTATGTAGATGAG AATTCAGGTGCAAACTGGGAAAAGCAACTGCTTCCAAATATTTGTGATTTTTACA GTGTAGTTTTGGAAAAACTCTTAGCCTACCAATTCTTCTAAGTGTTTTAAAATGT GGGAGCCAGTACACATGAAGTTATAGAGTGTTTTAATGAGGCTTAAATATTTACC GTAACTATGAAATGCTACGCATATCATGCTGTTCAGGCTCCGTGGCCACGCAACT C (서열 번호 47)
ISD	ggagt (서열 번호 12)
Z38/z42 정방향 융합 스페이서	TACCTCCAACATCAAGGAAGATGGCAGTAACCACAGGTTGTGTCACCAGAGTAA CA (서열 번호 150)
SMOPT	AATTTTTGGAGTA (서열 번호 164)
CCU 테일을 포함하는 인간 스템 루프 (eSL)	ggctttctggctccttaccggaaagcccct (서열 번호 163)
마우스 U1 종결인자	GTTTACTTGGTTTTAAAAATAGCTTGCACTAGCGATACGGAATATGGTTATTAGG TTTGTTAGGCATCATGTCGTGTCTTACTATAGAAAAATAACGTAGTGTTCATTTT AGCCTGCCTGTATGTGTTAATTTGTCCTTATTGCGCATTGTTCTTGTTAAGTCTTC TGTAAGGAGTTGCGGGTTTCAAACTGTCAGTCTGAGAGCA (서열 번호 57)
3' ITR	aggaacccctagtgatggagttggccactccctctctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgggcgaccaaaggtcgcccgacgc ccgggctttgcccgggcggcctcagtgagcgagcgagcgcgcagctgcctgcagg (서열 번호 60)

[0163]

[0164] 본 개시내용의 예시적인 AAV 벡터는 5'에서 3'으로 제1 역위 말단 반복(ITR) 서열, U7 프로모터 서열, DMD 엑손 51 표적화 U7 esnRNA 서열, U7 하류 종결인자 서열, U1 프로모터 서열, DMD 엑손 51 표적화 U7 esnRNA 서열, U1 하류 종결인자 서열, 및 제2 ITR 서열을 포함한다. 일부 측면에서, DMD 엑손 51 표적화 snRNA 서열을 코딩하는 AAV 벡터 A04537을 코딩하는 핵산 서열은 서열 번호 175를 포함한다.

A04537: scAAV-mU7p-z38/42-mU7term_mU1prom- p-z38/42-mU1term;
5’ ISD 및 eSL을 포함하는 긴 마우스 루프

플라스미드 요소	뉴클레오티드 서열 **5’→3’**
5’ ITR	ctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgcccgggcaaagcccgggcgtcgggcgacctttggtcgcccggcctcagtgagcgag cgagcgcgcagagagggagtggggtt （서열 번호 162)
마우스 U7 프로모터	taacaacataggagctgtgattggctgtttttcagccaatcagcactgActcatttgcatagcctttacaagcggtcacaaactcaagaaa cgagcggttttaatagtctttagaatattgtttatcgaaccgaataaggaactgtgctttgtgattcacatatcagtggaggggtgtggaa atggcaccttgatctcaccctcatcgaaagtggagttgatgtcctTccctggctcgctacagacgcacttccgcaa（서열 번호 48)
ISD	ggagt （서열 번호 12)
Z38/z42 정방향 융합 스페이서	TACCTCCAACATCAAGGAAGATGGCAGTAACCACAGGTTGTGTCACCAGAGTAA CA （서열 번호 150)
SMOPT	aATTTTTGGAGca （서열 번호 161)
CCU 테일을 포함하는 마우스 스템 루프 （eSL) (긴 연장 루프)	Ggttttctgacctccttcggtcggaaaacccct （서열 번호 147)
마우스 U7 종결인자	Cccaatttcactggtctacaatgaaagcaaaacagttctcttccccgctcccggtgtgtgagaggggctttgatccttctctggtttcct aggaaacgcgtatgtg （서열 번호 156)
마우스 U1 프로모터	TTGTTCCTCTTAGTGTTAATTCACACTAAAGACTGTGCATCCGACTCCTACATTTA TGAAAGTAAATGCCTGTTGTTAGAACAAAAAAGGCTACAGAACAAAAAACAAA GCGAAATACCATCTGCTTTAGGTTCAGTGTGGTATTTTCCCGCTGACAGGGAGGC GGGTTTTTGGGTACAGGAAACGAGTCACTATGGAGGCGGTACTATGTAGATGAG AATTCAGGTGCAAACTGGGAAAAGCAACTGCTTCCAAATATTTGTGATTTTTACA GTGTAGTTTTGGAAAAACTCTTAGCCTACCAATTCTTCTAAGTGTTTTAAAATGT GGGAGCCAGTACACATGAAGTTATAGAGTGTTTTAATGAGGCTTAAATATTTACC GTAACTATGAAATGCTACGCATATCATGCTGTTCAGGCTCCGTGGCCACGCAACT C （서열 번호 47)
ISD	ggagt （서열 번호 12)
Z38/z42 정방향 융합 스페이서	TACCTCCAACATCAAGGAAGATGGCAGTAACCACAGGTTGTGTCACCAGAGTAA CA （서열 번호 150)
SMOPT	aATTTTTGGAGca （서열 번호 161)
CCU 테일을 포함하는 마우스 스템 루프 （eSL) (긴 연장 루프)	ggttttctgacctccttcggtcggaaaacccct （서열 번호 147)
마우스 U1 종결인자	GTTTACTTGGTTTTAAAAATAGCTTGCACTAGCGATACGGAATATGGTTATTAGG TTTGTTAGGCATCATGTCGTGTCTTACTATAGAAAAATAACGTAGTGTTCATTTT AGCCTGCCTGTATGTGTTAATTTGTCCTTATTGCGCATTGTTCTTGTTAAGTCTTC TGTAAGGAGTTGCGGGTTTCAAACTGTCAGTCTGAGAGCA（서열 번호 57)
3’ ITR	aggaacccctagtgatggagttggccactccctctctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgggcgaccaaaggtcgcccgacgc ccgggctttgcccgggcggcctcagtgagcgagcgagcgcgcagctgcctgcagg （서열 번호 60)

[0165]

[0166] 본 개시내용의 예시적인 AAV 벡터는 5'에서 3'으로 제1 역위 말단 반복(ITR) 서열, U7 프로모터 서열, CUG 반복 표적화 U7 esnRNA 서열, U7 하류 종결인자 서열, U1 프로모터 서열, CUG 반복 표적화 U7 esnRNA 서열, U1 하류 종결인자 서열, 및 제2 ITR 서열을 포함한다. 일부 측면에서, CUG 반복 표적화 snRNA 서열을 코딩하는 AAV 벡터 A04233을 코딩하는 핵산 서열은 서열 번호 176을 포함한다.

A04233: scAAV- hU7-CUGx15-hU1-CUGx15 (3'mut ITR)

플라스미드 요소	뉴클레오티드 서열 **5'→3'**
5' ITR	cctgcaggcagctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgcccgggcgtcgggcgacctttggtcgcccggcctcagtgagcgagc gagcgcgcagagagggagtggccaactccatcactagggggttcct (서열 번호 59)
인간 U7 프로모터	TACTGCCGAATCCAGGTCTCCGGGCTTAACAACAACGAAGGGGCTGTGACTGGC TGCTTTCTCAACCAATCAGCACCGAACTCATTTGCATGGGCTGAGAACAAATGTT CGCGAACTCTAGAAATGAATGACTTAAGTAAGTTCCTTAGAATATTATTTTTCCT ACTGAAAGTTACCACATGCGTCGTTGTTTATACAGTAATAGGAACAAGAAAAAA GTCACCTAAGCTCACCCTCATCAATTGTGGAGTTCCTTTATATCCCATCTTCTCTC CAAACACATACGCA (서열 번호 39)
ISD	ggagt (서열 번호 12)
CUG 반복부 표적화 서열	CAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAG (서열 번호 165)
SMOPT	AATTTTTGGAGTA (서열 번호 164)
인간 스템 루프 (eSL)	ggctttctggctccttaccggaaagcc (서열 번호 1)
인간 U7 종결인자	CCTCTTATGATGTTTGTTGCCAATGATAGATTGTTTTCACTGTGCAAAAATTATGG GTAGTTTTGGTGGTCTTGATGCAGTTGTAAGCTTGGAG (서열 번호 49)
인간 U1 프로모터	TAAGGACCAGCTTCTTTGGGAGAGAACAGACGCAGGGGCGGGAGGGAAAAAGG GAGAGGCAGACGTCACTTCCCCTTGGCGGCTCTGGCAGCAGATTGGTCGGTTGA GTGGCAGAAAGGCAGACGGGGACTGGGCAAGGCACTGTCGGTGACATCACGGA CAGGGCGACTTCTATGTAGATGAGGCAGCGCAGAGGCTGACGTCTTCGCCACTT GCTGCTTCACCACGAAGGAGTTCCCGTGCCCTGGGAGCGGGTTCAGGACCGCTG ATCGGAAGTGAGAATCCCAGCTGTGTGTCAGGGCTGGAAAGGGCTCGGGAGTGC GCGGGGCAAGTGACCGTGTGTGTAAAGAGTGAGGCGTATGAGGCTGTGTCGGGG CAGAGGCacaacgtttc (서열 번호 40)
ISD	ggagt (서열 번호 12)
스페이서	CAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAG (서열 번호 165)
SMOPT	AATTTTTGGAGTA (서열 번호 164)
인간 스템 루프 (eSL)	ggctttctggctccttaccggaaagcc (서열 번호 1)
인간 U1 종결인자	ACTTTCTGGAGTTTCAAAAACAGACTGTACGCCAAGGGTCATATCTTTTT (SEQ (서열 번호 50)
3'mut ITR	CCACTCCCTCTCTGCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGGCCGGGCGACCAAAGGTCGC CCGACGCCCGGGCTTTGCCCGGGCGGCCTCAGTGAGCGAGCGAGCGCGCAGAGA GGGA (서열 번호 61)

[0167]

[0168] 본 개시내용의 예시적인 AAV 벡터는 5'에서 3'으로 제1 역위 말단 반복(ITR) 서열, U7 프로모터 서열, CUG 반복 표적화 U7 esnRNA 서열, U7 하류 종결인자 서열, U1 프로모터 서열, CUG 반복 표적화 U7 esnRNA 서열, U1 하류 종결인자 서열, 및 제2 ITR 서열을 포함한다. 일부 측면에서, CUG 반복 표적화 snRNA 서열을 코딩하는 AAV 벡터 A04234를 코딩하는 핵산 서열은 서열 번호 177을 포함한다.

A04234: scAAV- hU7-CUGx15-hU1-CUGx15 (5' mut ITR)

플라스미드 요소	뉴클레오티드 서열 **5'→3'**
5' mut ITR	ctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgcccgggcaaagcccgggcgtcgggcgacctttggtcgcccggcctcagtgagcgag cgagcgcgcagagagggagtggggtt (서열 번호 162)
인간 U7 프로모터	TACTGCCGAATCCAGGTCTCCGGGCTTAACAACAACGAAGGGGCTGTGACTGGC TGCTTTCTCAACCAATCAGCACCGAACTCATTTGCATGGGCTGAGAACAAATGTT CGCGAACTCTAGAAATGAATGACTTAAGTAAGTTCCTTAGAATATTATTTTTCCT ACTGAAAGTTACCACATGCGTCGTTGTTTATACAGTAATAGGAACAAGAAAAAA GTCACCTAAGCTCACCCTCATCAATTGTGGAGTTCCTTTATATCCCATCTTCTCTC CAAACACATACGCA (서열 번호 39)
스페이서	CAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAG (서열 번호 165)
SMOPT	AATTTTTGGAGTA (서열 번호 164)
인간 스템 루프 (eSL)	ggctttctggctccttaccggaaagcc (서열 번호 1)
인간 U7 종결인자	CCTCTTATGATGTTTGTTGCCAATGATAGATTGTTTTCACTGTGCAAAAATTATGG GTAGTTTTGGTGGTCTTGATGCAGTTGTAAGCTTGGAG (서열 번호 49)
인간 U1 프로모터	TAAGGACCAGCTTCTTTGGGAGAGAACAGACGCAGGGGCGGGAGGGAAAAAGG GAGAGGCAGACGTCACTTCCCCTTGGCGGCTCTGGCAGCAGATTGGTCGGTTGA GTGGCAGAAAGGCAGACGGGGACTGGGCAAGGCACTGTCGGTGACATCACGGA CAGGGCGACTTCTATGTAGATGAGGCAGCGCAGAGGCTGACGTCTTCGCCACTT GCTGCTTCACCACGAAGGAGTTCCCGTGCCCTGGGAGCGGGTTCAGGACCGCTG ATCGGAAGTGAGAATCCCAGCTGTGTGTCAGGGCTGGAAAGGGCTCGGGAGTGC GCGGGGCAAGTGACCGTGTGTGTAAAGAGTGAGGCGTATGAGGCTGTGTCGGGG CAGAGGCacaacgtttc (서열 번호 40)
ISD	ggagt (서열 번호 12)
스페이서	CAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAG (서열 번호 165)
SMOPT	AATTTTTGGAGTA (서열 번호 164)
인간 스템 루프 (eSL)	ggctttctggctccttaccggaaagcc (서열 번호 1)
인간 U1 종결인자	ACTTTCTGGAGTTTCAAAAACAGACTGTACGCCAAGGGTCATATCTTTTT (서열 번호 50)
3'ITR	aaggaaccctagtgatggagttggccactccctctctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgggcgaccaaaggtcgcccgacg cccgggctttgcccgggcggcctcagtgagcgagcgagcgcgccagc (서열 번호 166)

[0169]

[0170] 본 개시내용의 예시적인 AAV 벡터는 5'에서 3'으로 제1 역위 말단 반복(ITR) 서열, U7 프로모터 서열, CAG 반복 표적화 U7 esnRNA 서열, U7 하류 종결인자 서열, U1 프로모터 서열, CAG 반복 표적화 U7 esnRNA 서열, U1 하류 종결인자 서열, 및 제2 ITR 서열을 포함한다. 일부 측면에서, CAG 반복 표적화 snRNA 서열을 코딩하는 AAV 벡터 A04390을 코딩하는 핵산 서열은 서열 번호 178을 포함한다.

A04390: scAAV 5'mITR hU7-CAG15X-hU1-CAGx15

플라스미드 요소	뉴클레오티드 서열 **5'→3'**
5' mut ITR	ctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgcccgggcaaagcccgggcgtcgggcgacctttggtcgcccggcctcagtgagcgag cgagcgcgcagagagggagtggggtt (서열 번호 162)
인간 U7 프로모터	TACTGCCGAATCCAGGTCTCCGGGCTTAACAACAACGAAGGGGCTGTGACTGGC TGCTTTCTCAACCAATCAGCACCGAACTCATTTGCATGGGCTGAGAACAAATGTT CGCGAACTCTAGAAATGAATGACTTAAGTAAGTTCCTTAGAATATTATTTTTCCT ACTGAAAGTTACCACATGCGTCGTTGTTTATACAGTAATAGGAACAAGAAAAAA GTCACCTAAGCTCACCCTCATCAATTGTGGAGTTCCTTTATATCCCATCTTCTCTC CAAACACATACGCA (서열 번호 39)
ISD	ggagt (서열 번호 12)
CAG 표적화 서열	CTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTG (서열 번호 167)
SMOPT	AATTTTTGGAGTA (서열 번호 164)
인간 스템 루프 (eSL)	ggctttctggctccttaccggaaagcc (서열 번호 1)
인간 U7 종결인자	CCTCTTATGATGTTTGTTGCCAATGATAGATTGTTTTCACTGTGCAAAAATTATGG GTAGTTTTGGTGGTCTTGATGCAGTTGTAAGCTTGGAG (서열 번호 49)
인간 U1 프로모터	TAAGGACCAGCTTCTTTGGGAGAGAACAGACGCAGGGGCGGGAGGGAAAAAGG GAGAGGCAGACGTCACTTCCCCTTGGCGGCTCTGGCAGCAGATTGGTCGGTTGA GTGGCAGAAAGGCAGACGGGGACTGGGCAAGGCACTGTCGGTGACATCACGGA CAGGGCGACTTCTATGTAGATGAGGCAGCGCAGAGGCTGACGTCTTCGCCACTT GCTGCTTCACCACGAAGGAGTTCCCGTGCCCTGGGAGCGGGTTCAGGACCGCTG ATCGGAAGTGAGAATCCCAGCTGTGTGTCAGGGCTGGAAAGGGCTCGGGAGTGC GCGGGGCAAGTGACCGTGTGTGTAAAGAGTGAGGCGTATGAGGCTGTGTCGGGG CAGAGGCacaacgtttc (서열 번호 40)
ISD	ggagt (서열 번호 12)
CAG 표적화 서열	CTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTG (서열 번호 167)
SMOPT	AATTTTTGGAGTA (서열 번호 164)
인간 스템 루프 (eSL)	ggctttctggctccttaccggaaagcc (서열 번호 1)
인간 U1 종결인자	ACTTTCTGGAGTTTCAAAAACAGACTGTACGCCAAGGGTCATATCTTTTT (서열 번호 50)
3'ITR	aaggaaccctagtgatggagttggccactccctctctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgggcgaccaaaggtcgcccgacg cccgggctttgcccgggcggcctcagtgagcgagcgagcgcgccagc (서열 번호 166)

[0171]

[0172] 본 개시내용의 예시적인 AAV 벡터는 5'에서 3'으로 제1 역위 말단 반복(ITR) 서열, U7 프로모터 서열, CUG 반복 표적화 U7 esnRNA 서열, U7 하류 종결인자 서열, U1 프로모터 서열, CUG 반복 표적화 U7 esnRNA 서열, U1 하류 종결인자 서열, 및 제2 ITR 서열을 포함한다. 일부 측면에서, CUG 반복 표적화 snRNA 서열을 코딩하는 AAV 벡터 A04530을 코딩하는 핵산 서열은 서열 번호 231을 포함한다.

A04530: scAAV- mU7p-CUGx15-mU1p-CUGx15; ISD 및 eSL을 포함하는 마우스 루프

플라스미드 요소	뉴클레오티드 서열 **5'→3'**
5' mut ITR	ctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgcccgggcaaagcccgggcgtcgggcgacctttggtc gcccggcctcagtgagcgagcgagcgcgcagagagggagtggggtt (서열 번호 162)
마우스 U7 프로모터	taacaacataggagctgtgattggctgttttcagccaatcagcactgActcatttgcatagcctttac aagcggtcacaaactcaagaaacgagcggttttaatagtcttttagaatattgtttatcgaaccgaata aggaactgtgctttgtgattcacatatcagtggaggggtgtggaaatggcaccttgatctcaccctc atcgaaagtggagttgatgtcctTccctggctcgctacagacgcacttccgcaa (서열 번호 48)
ISD	ggagt (서열 번호 12)
스페이서	CAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAG CAGCAG (서열 번호 165)
SMOPT	aATTTTTGGAGca (서열 번호 161)
마우스 스템 루프 (eSL)	ggttttctgacctccgtcggaaaacccct (서열 번호 12)
마우스 U7 종결인자	cccaatttcactggtctacaatgaaagcaaaacagttctcttccccgctccccggtgtgtgagaggg gctttgatccttctctggtttcctaggaaacgcgtatgtg (서열 번호 156)
마우스 U1 프로모터	TTGTTCCTCTTAGTGTTAATTCACACTAAAGACTGTGCATCC GACTCCTACATTTATGAAAGTAAATGCCTGTTGTTAGAACA AAAAAGGCTACAGAACAAAAAACAAAGCGAAATACCATCT GCTTTAGGTTCAGTGTGGTATTTTCCCGCTGACAGGGAGGC GGGTTTTTGGGTACAGGAAACGAGTCACTATGGAGGCGGT ACTATGTAGATGAGAATTCAGGTGCAAACTGGGAAAAGCA ACTGCTTCCAAATATTTGTGATTTTTACAGTGTAGTTTTGGA AAAACTCTTAGCCTACCAATTCTTCTAAGTGTTTTAAAATG TGGGAGCCAGTACACATGAAGTTATAGAGTGTTTTAATGAG GCTTAAATATTTACCGTAACTATGAAATGCTACGCATATCA TGCTGTTCAGGCTCCGTGGCCACGCAACTC (서열 번호 47)
ISD	ggagt (서열 번호 12)
스페이서	CAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAG CAGCAG (서열 번호 165)
SMOPT	aATTTTTGGAGca (서열 번호 161)
마우스 스템 루프 (eSL)	ggttttctgacctccgtcggaaaacccct (서열 번호 12)
마우스 U1 종결인자	GTTTACTTGGTTTTAAAAATAGCTTGCACTAGCGATACGGA ATATGGTTATTAGGTTTGTTAGGCATCATGTCGTGTCTTACT ATAGAAAAATAACGTAGTGTTCATTTTAGCCTGCCTGTATG TGTTAATTTGTCCTTATTGCGCATTGTTCTTGTTAAGTCTTC TGTAAGGAGTTGCGGGTTTCAAACTGTCAGTCTGAGAGCA (서열 번호 57)
3'ITR	aggaacccctagtgatggagttggccactccctctctgcgcgctcgctcgctcactgaggccggg cgaccaaaggtcgcccgacgcccgggctttgcccgggcggcctcagtgagcgagcgagcgcg cagctgcctgcagg (서열 번호 60)

[0173]

[0174] 본 개시내용의 예시적인 AAV 벡터는 5'에서 3'으로 제1 역위 말단 반복(ITR) 서열, U7 프로모터 서열, CUG 반복 표적화 U7 esnRNA 서열, U7 하류 종결인자 서열, U1 프로모터 서열, CUG 반복 표적화 U7 esnRNA 서열, U1 하류 종결인자 서열, 및 제2 ITR 서열을 포함한다. 일부 측면에서, CUG 반복 표적화 snRNA 서열을 코딩하는 AAV 벡터 A04940을 코딩하는 핵산 서열은 서열 번호 232를 포함한다.

A04940: scAAV- mU7p-CUGx10-mU1p-CUGx10;
ISD 및 **eSL**을 포함하고, **CCU**를 포함하지 않는 마우스 루프

플라스미드 요소	뉴클레오티드 서열 **5'→3'**
5' mut ITR	ctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgcccgggcaaagcccgggcgtcgggcgacctttggtc gcccggcctcagtgagcgagcgagcgcgcagagagggagtggggtt (서열 번호 162)
마우스 U7 프로모터	taacaacataggagctgtgattggctgttttcagccaatcagcactgActcatttgcatagcctttac aagcggtcacaaactcaagaaacgagcggttttaatagtcttttagaatattgtttatcgaaccgaata aggaactgtgctttgtgattcacatatcagtggaggggtgtggaaatggcaccttgatctcaccctc atcgaaagtggagttgatgtcctTccctggctcgctacagacgcacttccgcaa (서열 번호 48)
ISD	ggagt (서열 번호 12)
스페이서	CAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAG (서열 번호 165)
SMOPT	aATTTTTGGAGca (서열 번호 161)
마우스 스템 루프 (eSL)	ggttttctgacctccgtcggaaaacc (서열 번호 148)
마우스 U7 종결인자	cccaatttcactggtctacaatgaaagcaaaacagttctcttccccgctccccggtgtgtgagaggg gctttgatccttctctggtttcctaggaaacgcgtatgtg (서열 번호 156)
마우스 U1 프로모터	TTGTTCCTCTTAGTGTTAATTCACACTAAAGACTGTGCATCC GACTCCTACATTTATGAAAGTAAATGCCTGTTGTTAGAACA AAAAAGGCTACAGAACAAAAAACAAAGCGAAATACCATCT GCTTTAGGTTCAGTGTGGTATTTTCCCGCTGACAGGGAGGC GGGTTTTTGGGTACAGGAAACGAGTCACTATGGAGGCGGT ACTATGTAGATGAGAATTCAGGTGCAAACTGGGAAAAGCA ACTGCTTCCAAATATTTGTGATTTTTACAGTGTAGTTTTGGA AAAACTCTTAGCCTACCAATTCTTCTAAGTGTTTTAAAATG TGGGAGCCAGTACACATGAAGTTATAGAGTGTTTTAATGAG GCTTAAATATTTACCGTAACTATGAAATGCTACGCATATCA TGCTGTTCAGGCTCCGTGGCCACGCAACTC (서열 번호 47)
ISD	ggagt (서열 번호 12)
스페이서	CAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAG (서열 번호 165)
SMOPT	aATTTTTGGAGca (서열 번호 161)
마우스 스템 루프 (eSL)	ggttttctgacctccgtcggaaaacccct (서열 번호 12)
마우스 U1 종결인자	GTTTACTTGGTTTTAAAAATAGCTTGCACTAGCGATACGGA ATATGGTTATTAGGTTTGTTAGGCATCATGTCGTGTCTTACT ATAGAAAAATAACGTAGTGTTCATTTTAGCCTGCCTGTATG TGTTAATTTGTCCTTATTGCGCATTGTTCTTGTTAAGTCTTC TGTAAGGAGTTGCGGGTTTCAAACTGTCAGTCTGAGAGCA (서열 번호 57)
3'ITR	aggaacccctagtgatggagttggccactccctctctgcgcgctcgctcgctcactgaggccggg cgaccaaaggtcgcccgacgcccgggctttgcccgggcggcctcagtgagcgagcgagcgcg cagctgcctgcagg (서열 번호 60)

[0175]

[0176] 본 개시내용의 예시적인 AAV 벡터는 5'에서 3'으로 제1 역위 말단 반복(ITR) 서열, U7 프로모터 서열, CAG 반복 표적화 U7 esnRNA 서열, U7 하류 종결인자 서열, U1 프로모터 서열, CAG 반복 표적화 U7 esnRNA 서열, U1 하류 종결인자 서열, 및 제2 ITR 서열을 포함한다. 일부 측면에서, CAG 반복 표적화 snRNA 서열을 코딩하는 AAV 벡터 A04533을 코딩하는 핵산 서열은 서열 번호 233을 포함한다.

A04533: scAAV- mU7p-CAGx15-mU1p-CAGx15; ISD 및 eSL을 포함하는 마우스 루프

플라스미드 요소	뉴클레오티드 서열 **5'→3'**
5' mut ITR	ctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgcccgggcaaagcccgggcgtcgggcgacctttggtcgcccggcctcagtgagcgagcgagcgcgcagagagggagtggggtt (서열 번호 162)
마우스 U7 프로모터	taacaacataggagctgtgattggctgttttcagccaatcagcactgActcatttgcatagcctttacaagcggtcacaaactcaagaaacgagcggttttaatagtcttttagaatattgtttatcgaaccgaataaggaactgtgctttgtgattcacatatcagtggaggggtgtggaaatggcaccttgatctcaccctcatcgaaagtggagttgatgtcctTccctggctcgctacagacgcacttccgcaa (서열 번호 48)
ISD	ggagt (서열 번호 12)
스페이서	CTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTG CTG (서열 번호 167)
SMOPT	aATTTTTGGAGca (서열 번호 161)
마우스 스템 루프 (eSL)	ggttttctgacctccgtcggaaaaccccct (서열 번호 12)
마우스 U7 종결인자	cccaatttcactggtctacaatgaaagcaaaacagttctcttccccgctccccggtgtgtgagagggggctttgatccttctctggtttcctaggaaacgcgtatgtg (서열 번호 156)
마우스 U1 프로모터	TTGTTCCTCTTAGTGTTAATTCACACTAAAGACTGTGCATCCGACTCCTACATTTATGAAAGTAAATGCCTGTTGTTAGAACAAAAAAGGCTACAGAACAAAAAACAAAGCGAAATACCATCTGCTTTAGGTTCAGTGTGGTATTTTCCCGCTGACAGGGAGGCGGGTTTTTGGGTACAGGAAACGAGTCACTATGGAGGCGGTACTATGTAGATGAGAATTCAGGTGCAAACTGGGAAAAGCAACTGCTTCCAAATATTTGTGATTTTTACAGTGTAGTTTTGGAAAAACTCTTAGCCTACCAATTCTTCTAAGTGTTTTAAAATGTGGGAGCCAGTACACATGAAGTTATAGAGTGTTTTAATGAGGCTTAAATATTTACCGTAACTATGAAATGCTACGCATATCATGCTGTTCAGGCTCCGTGGCCACGCAACTC (서열 번호 47)
ISD	ggagt (서열 번호 12)
스페이서	CTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTG CTG (서열 번호 167)
SMOPT	aATTTTTGGAGca (서열 번호 161)
마우스 스템 루프 (eSL)	ggttttctgacctccgtcggaaaaccccct (서열 번호 12)
마우스 U1 종결인자	GTTTACTTGGTTTTAAAAATAGCTTGCACTAGCGATACGGAATATGGTTATTAGGTTTGTTAGGCATCATGTCGTGTCTTACTATAGAAAAATAACGTAGTGTTCATTTTAGCCTGCCTGTATGTGTTAATTTGTCCTTATTGCGCATTGTTCTTGTTAAGTCTTCTGTAAGGAGTTGCGGGTTTCAAACTGTCAGTCTGAGAGCA (서열 번호 57)
3' ITR	Aggaacccctagtgatggagttggccactccctctctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgggcgaccaaaggtcgcccgacgcccgggctttgcccgggcggcctcagtgagcgagcgagcgcgcagctgcctgcagg (서열 번호 60)

[0177]

[0178] 본 개시내용의 예시적인 AAV 벡터는 5'에서 3'으로 제1 역위 말단 반복(ITR) 서열, U7 프로모터 서열, CUG 반복 표적화 U7 esnRNA 서열, U7 하류 종결인자 서열, 버퍼 서열, U7 프로모터 서열, CUG 반복 표적화 U7 esnRNA 서열, U7 하류 종결인자 서열, 버퍼 서열, U7 프로모터 서열, CUG 반복 표적화 U7 esnRNA 서열, U7 하류 종결인자 서열, 버퍼 서열, U7 프로모터 서열, CUG 반복 표적화 U7 esnRNA 서열, U7 하류 종결인자 서열, 버퍼 서열, 및 제2 ITR 서열을 포함한다. 일부 측면에서, CUG 반복 표적화 snRNA 서열을 코딩하는 AAV 벡터 A02962를 코딩하는 핵산 서열은 서열 번호 120을 포함한다. CUG 반복부를 표적화하는 A02962ss pAAV-4X U7(15XCUG)(P00369의 유도체).

[0179]

ITR	Cctgcaggcagctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgcccgggcgtcgggcgacctttggtcgc ccggcctcagtgagcgagcgagcgcgcagagagggagtggccaactccatcactaggggttcct (서열 번호 59)
U7 프로모터	TACTGCCGAATCCAGGTCTCCGGGCTTAACAACAACGAAGGG GCTGTGACTGGCTGCTTTCTCAACCAATCAGCACCGAACTCAT TTGCATGGGCTGAGAACAAATGTTCGCGAACTCTAGAAATGA ATGACTTAAGTAAGTTCCTTAGAATATTATTTTTCCTACTGAA AGTTACCACATGCGTCGTTGTTTATACAGTAATAGGAACAAG AAAAAAGTCACCTAAGCTCACCCTCATCAATTGTGGAGTTCC TTTATATCCCATCTTCTCTCCAAACACATACGCA (서열 번호 39)
U7 snRNA	ggagtCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCA GCAGCAGAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc (서열 번호 65)
U7 하류 (종결인자)	CCTCTTATGATGTTTGTTGCCAATGATAGATTGTTTTCACTGT GCAAAAATTATGGGTAGTTTTGGTGGTCTTGATGCAGTTGTA AGCTTGGAG (서열 번호 49)
30bp 버퍼 1	CAAACTACAGAGCCAAGTGCTATCCACAGA (서열 번호 24)
U7 프로모터	TACTGCCGAATCCAGGTCTCCGGGCTTAACAACAACGAAGGG GCTGTGACTGGCTGCTTTCTCAACCAATCAGCACCGAACTCAT TTGCATGGGCTGAGAACAAATGTTCGCGAACTCTAGAAATGA ATGACTTAAGTAAGTTCCTTAGAATATTATTTTTCCTACTGAA AGTTACCACATGCGTCGTTGTTTATACAGTAATAGGAACAAG AAAAAAGTCACCTAAGCTCACCCTCATCAATTGTGGAGTTCC

	TTTATATCCCATCTTCTCTCCAAACACATACGCA (서열 번호 39)
U7 snRNA	ggagtCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc (서열 번호 65)
U7 하류 (종결인자)	CCTCTTATGATGTTTGTTGCCAATGATAGATTGTTTTCACTGTGCAAAAATTATGGGTAGTTTTGGTGGTCTTGATGCAGTTGTAAGCTTGGAG (서열 번호 49)
30bp 버퍼 2	GAGCTTTCTGGGTTGCCATCTCAAGCAGAC (서열 번호 25)
U7 프로모터	TACTGCCGAATCCAGGTCTCCGGGCTTAACAACAACGAAGGGGCTGTGACTGGCTGCTTTCTCAACCAATCAGCACCGAACTCATTTGCATGGGCTGAGAACAAATGTTCGCGAACTCTAGAAATGAATGACTTAAGTAAGTTCCTTAGAATATTATTTTTCCTACTGAAAGTTACCACATGCGTCGTTGTTTATACAGTAATAGGAACAAGAAAAAAGTCACCTAAGCTCACCCTCATCAATTGTGGAGTTCCTTTATATCCCATCTTCTCTCCAAACACATACGCA (서열 번호 39)
U7 snRNA	ggagtCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc (서열 번호 65)
U7 하류 (종결인자)	CCTCTTATGATGTTTGTTGCCAATGATAGATTGTTTTCACTGTGCAAAAATTATGGGTAGTTTTGGTGGTCTTGATGCAGTTGTAAGCTTGGAG (서열 번호 49)
30bp 버퍼 3	TACAAGGCCATCAGCTCATACTCACAATTG (서열 번호 26)
U7 프로모터	TACTGCCGAATCCAGGTCTCCGGGCTTAACAACAACGAAGGGGCTGTGACTGGCTGCTTTCTCAACCAATCAGCACCGAACTCATTTGCATGGGCTGAGAACAAATGTTCGCGAACTCTAGAAATGAATGACTTAAGTAAGTTCCTTAGAATATTATTTTTCCTACTGAAAGTTACCACATGCGTCGTTGTTTATACAGTAATAGGAACAAGAAAAAAGTCACCTAAGCTCACCCTCATCAATTGTGGAGTTCCTTTATATCCCATCTTCTCTCCAAACACATACGCA (SEQ ID NO: (서열 번호 39)
U7 snRNA	ggagtCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc (서열 번호 65)
U7 하류 (종결인자)	CCTCTTATGATGTTTGTTGCCAATGATAGATTGTTTTCACTGTGCAAAAATTATGGGTAGTTTTGGTGGTCTTGATGCAGTTGTAAGCTTGGAG (서열 번호 49)
ITR	Aggaacccctagtgatggagttggccactccctctctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgggcgaccaaaggtcgcccgacgcccgggctttgcccgggcggcctcagtgagcgagcgagcgcgcagctgcctgcagg (서열 번호 60)

[0180]

[0181] 본 개시내용의 예시적인 AAV 벡터는 5'에서 3'으로 제1 역위 말단 반복(ITR) 서열, U7 프로모터 서열, 비표적화 U7 esnRNA 서열, U7 하류 종결인자 서열, 버퍼 서열, U7 프로모터 서열, 비표적화 U7 esnRNA 서열, U7 하류 종결인자 서열, 버퍼 서열, U7 프로모터 서열, 비표적화 U7 esnRNA 서열, U7 하류 종결인자 서열, 버퍼 서열, U7 프로모터 서열, 비표적화 U7 esnRNA 서열, U7 하류 종결인자 서열, 버퍼 서열, 및 제2 ITR 서열을 포함한다. 일부 측면에서, 비표적화 snRNA 서열을 코딩하는 AAV 벡터 A02963을 코딩하는 핵산 서열은 서열 번호 121을 포함한다.

A02963 ss pAAV-4X U7(NT1) (P00369의 유도체)

ITR	Cctgcaggcagctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgcccgggcgtcgggcgacctttggtcgcc cggcctcagtgagcgagcgagcgcgcagagagggagtggccaactccatcactaggggttcct (서열 번호 59)
U7 프로모터	TACTGCCGAATCCAGGTCTCCGGGCTTAACAACAACGAAGGGG CTGTGACTGGCTGCTTTCTCAACCAATCAGCACCGAACTCATTT GCATGGGCTGAGAACAAATGTTCGCGAACTCTAGAAATGAATG ACTTAAGTAAGTTCCTTAGAATATTATTTTTCCTACTGAAAGTT ACCACATGCGTCGTTGTTTATACAGTAATAGGAACAAGAAAAA AGTCACCTAAGCTCACCCTCATCAATTGTGGAGTTCCTTTATAT CCCATCTTCTCTCCAAACACATACGCA (서열 번호 39)
U7 snRNA	ggagtTCACCAGAAGCGTACCATACTCACGAAATTTTTGGAGTAgg ctttctggctccttaccggaaagcc (서열 번호 66)
U7 하류 (종결인자)	CCTCTTATGATGTTTGTTGCCAATGATAGATTGTTTTCACTGTG CAAAAATTATGGGTAGTTTTGGTGGTCTTGATGCAGTTGTAAGC TTGGAG (서열 번호 49)
30bp 버퍼 1	CAAACTACAGAGCCAAGTGCTATCCACAGA (서열 번호 24)
U7 프로모터	TACTGCCGAATCCAGGTCTCCGGGCTTAACAACAACGAAGGGG CTGTGACTGGCTGCTTTCTCAACCAATCAGCACCGAACTCATTT GCATGGGCTGAGAACAAATGTTCGCGAACTCTAGAAATGAATG ACTTAAGTAAGTTCCTTAGAATATTATTTTTCCTACTGAAAGTT ACCACATGCGTCGTTGTTTATACAGTAATAGGAACAAGAAAAA AGTCACCTAAGCTCACCCTCATCAATTGTGGAGTTCCTTTATAT CCCATCTTCTCTCCAAACACATACGCA (서열 번호 39)
U7 snRNA	ggagtTCACCAGAAGCGTACCATACTCACGAAATTTTTGGAGTAgg ctttctggctccttaccggaaagcc (서열 번호 66)
U7 하류 (종결인자)	CCTCTTATGATGTTTGTTGCCAATGATAGATTGTTTTCACTGTG CAAAAATTATGGGTAGTTTTGGTGGTCTTGATGCAGTTGTAAGC TTGGAG (서열 번호 49)
30bp 버퍼 2	GAGCTTTCTGGGTTGCCATCTCAAGCAGAC (서열 번호 25)
U7 프로모터	TACTGCCGAATCCAGGTCTCCGGGCTTAACAACAACGAAGGGG CTGTGACTGGCTGCTTTCTCAACCAATCAGCACCGAACTCATTT GCATGGGCTGAGAACAAATGTTCGCGAACTCTAGAAATGAATG ACTTAAGTAAGTTCCTTAGAATATTATTTTTCCTACTGAAAGTT ACCACATGCGTCGTTGTTTATACAGTAATAGGAACAAGAAAAA

[0182]

	AGTCACCTAAGCTCACCCTCATCAATTGTGGAGTTCCTTTATAT CCCATCTTCTCTCCAAACACATACGCA (서열 번호 39)
U7 snRNA	ggagtTCACCAGAAGCGTACCATACTCACGAAATTTTTGGAGTAgg ctttctggctccttaccggaaagcc (서열 번호 66)
U7 하류 (종결인자)	CCTCTTATGATGTTTGTTGCCAATGATAGATTGTTTTCACTGTG CAAAAATTATGGGTAGTTTTGGTGGTCTTGATGCAGTTGTAAGC TTGGAG (서열 번호 49)
30bp 버퍼 3	TACAAGGCCATCAGCTCATACTCACAATTG (서열 번호 26)
U7 프로모터	TACTGCCGAATCCAGGTCTCCGGGCTTAACAACAACGAAGGGG CTGTGACTGGCTGCTTTCTCAACCAATCAGCACCGAACTCATTT GCATGGGCTGAGAACAAATGTTCGCGAACTCTAGAAATGAATG ACTTAAGTAAGTTCCTTAGAATATTATTTTTCCTACTGAAAGTT ACCACATGCGTCGTTGTTTATACAGTAATAGGAACAAGAAAAA AGTCACCTAAGCTCACCCTCATCAATTGTGGAGTTCCTTTATAT CCCATCTTCTCTCCAAACACATACGCA (서열 번호 39)
U7 snRNA	ggagtTCACCAGAAGCGTACCATACTCACGAAATTTTTGGAGTAgg ctttctggctccttaccggaaagcc (서열 번호 66)
U7 하류 (종결인자)	CCTCTTATGATGTTTGTTGCCAATGATAGATTGTTTTCACTGTG CAAAAATTATGGGTAGTTTTGGTGGTCTTGATGCAGTTGTAAGC TTGGAG (서열 번호 49)
ITR	Aggaacccctagtgatggagttggccactccctctctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgggcga ccaaaggtcgcccgacgcccgggctttgcccgggcggcctcagtgagcgagcgagcgcgcagctgc ctgcagg (서열 번호 60)

[0183]

[0184] 본 개시내용의 예시적인 AAV 벡터는 5'에서 3'으로 제1 역위 말단 반복(ITR) 서열, U7 프로모터 서열, CAG 반복 표적화 U7 esnRNA 서열, U7 하류 종결인자 서열, 버퍼 서열, U7 프로모터 서열, CAG 반복 표적화 U7 esnRNA 서열, U7 하류 종결인자 서열, 버퍼 서열, U7 프로모터 서열, CAG 반복 표적화 U7 esnRNA 서열, U7 하류 종결인자 서열, 버퍼 서열, U7 프로모터 서열, CAG 반복 표적화 U7 esnRNA 서열, U7 하류 종결인자 서열, 버퍼 서열, 및 제2 ITR 서열을 포함한다. 일부 측면에서, CAG 반복 표적화 snRNA 서열을 코딩하는 AAV 벡터 A02967을 코딩하는 핵산 서열은 서열 번호 122를 포함한다.

A02967 CAG 반복부를 표적화하는 ss pAAV-4X U7(15XCAG)

ITR	Cctgcaggcagctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgcccgggcgtcgggcgacctttggtcgc ccggcctcagtgagcgagcgagcgcgcagagagggagtggccaactccatcactagggggttcct (서열 번호 59)
U7 프로모터	TACTGCCGAATCCAGGTCTCCGGGCTTAACAACAACGAAGGG GCTGTGACTGGCTGCTTTCTCAACCAATCAGCACCGAACTCAT TTGCATGGGCTGAGAACAAATGTTCGCGAACTCTAGAAATGA ATGACTTAAGTAAGTTCCTTAGAATATTATTTTTCCTACTGAAA GTTACCACATGCGTCGTTGTTTATACAGTAATAGGAACAAGAA AAAAGTCACCTAAGCTCACCCTCATCAATTGTGGAGTTCCTTT ATATCCCATCTTCTCTCCAAACACATACGCA (서열 번호 39)
U7 snRNA	ggagtCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGC TGCTGAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc (서열 번호 67)
U7 하류 (종결인자)	CCTCTTATGATGTTTGTTGCCAATGATAGATTGTTTTCACTGTG CAAAAATTATGGGTAGTTTTGGTGGTCTTGATGCAGTTGTAAG CTTGGAG (서열 번호 49)
30bp 버퍼 1	CAAACTACAGAGCCAAGTGCTATCCACAGA (서열 번호 24)
U7 프로모터	TACTGCCGAATCCAGGTCTCCGGGCTTAACAACAACGAAGGG GCTGTGACTGGCTGCTTTCTCAACCAATCAGCACCGAACTCAT TTGCATGGGCTGAGAACAAATGTTCGCGAACTCTAGAAATGA ATGACTTAAGTAAGTTCCTTAGAATATTATTTTTCCTACTGAAA GTTACCACATGCGTCGTTGTTTATACAGTAATAGGAACAAGAA AAAAGTCACCTAAGCTCACCCTCATCAATTGTGGAGTTCCTTT ATATCCCATCTTCTCTCCAAACACATACGCA (서열 번호 39)
U7 snRNA	ggagtCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGC TGCTGAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc (서열 번호 67)
U7 하류 (종결인자)	CCTCTTATGATGTTTGTTGCCAATGATAGATTGTTTTCACTGTG CAAAAATTATGGGTAGTTTTGGTGGTCTTGATGCAGTTGTAAG CTTGGAG (서열 번호 49)
30bp 버퍼 2	GAGCTTTCTGGGTTGCCATCTCAAGCAGAC (서열 번호 25)
U7 프로모터	TACTGCCGAATCCAGGTCTCCGGGCTTAACAACAACGAAGGG GCTGTGACTGGCTGCTTTCTCAACCAATCAGCACCGAACTCAT TTGCATGGGCTGAGAACAAATGTTCGCGAACTCTAGAAATGA ATGACTTAAGTAAGTTCCTTAGAATATTATTTTTCCTACTGAAA GTTACCACATGCGTCGTTGTTTATACAGTAATAGGAACAAGAA AAAAGTCACCTAAGCTCACCCTCATCAATTGTGGAGTTCCTTT ATATCCCATCTTCTCTCCAAACACATACGCA (서열 번호 39)
U7 snRNA	ggagtCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGC TGCTGAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc (서열 번호 67)
U7 하류 (종결인자)	CCTCTTATGATGTTTGTTGCCAATGATAGATTGTTTTCACTGTG CAAAAATTATGGGTAGTTTTGGTGGTCTTGATGCAGTTGTAAG CTTGGAG (서열 번호 49)
30bp 버퍼 3	TACAAGGCCATCAGCTCATACTCACAATTG (서열 번호 26)
U7 프로모터	TACTGCCGAATCCAGGTCTCCGGGCTTAACAACAACGAAGGG GCTGTGACTGGCTGCTTTCTCAACCAATCAGCACCGAACTCAT TTGCATGGGCTGAGAACAAATGTTCGCGAACTCTAGAAATGA ATGACTTAAGTAAGTTCCTTAGAATATTATTTTTCCTACTGAAA GTTACCACATGCGTCGTTGTTTATACAGTAATAGGAACAAGAA

[0185]

	AAAAGTCACCTAAGCTCACCCTCATCAATTGTGGAGTTCCTTT ATATCCCATCTTCTCTCCAAACACATACGCA (서열 번호 39)
U7 snRNA	ggagtCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGC TGCTGAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc (서열 번호 67)
U7 하류 (종결인자)	CCTCTTATGATGTTTGTTGCCAATGATAGATTGTTTTCACTGTG CAAAAATTATGGGTAGTTTTGGTGGTCTTGATGCAGTTGTAAG CTTGGAG (서열 번호 49)
ITR	Aggaacccctagtgatggagttggccactccctctctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgggcg accaaaggtcgcccgacgcccgggctttgcccgggcggcctcagtgagcgagcgagcgcgcagct gcctgcagg (서열 번호 60)

[0186]

[0187] 본 개시내용의 예시적인 AAV 벡터는 5'에서 3'으로 제1 역위 말단 반복(ITR) 서열, U7 프로모터 서열, CUG 반복 표적화 U7 esnRNA 서열, U7 하류 종결인자 서열, 버퍼 서열, U7 프로모터 서열, CUG 반복 표적화 U7 esnRNA 서열, U7 하류 종결인자 서열, 버퍼 서열, U7 프로모터 서열, CUG 반복 표적화 U7 esnRNA 서열, U7 하류 종결인자 서열, 버퍼 서열, U7 프로모터 서열, CUG 반복 표적화 U7 esnRNA 서열, U7 하류 종결인자 서열, 버퍼 서열, 및 제2 ITR 서열을 포함한다. 일부 측면에서, CUG 반복 표적화 snRNA 서열을 코딩하는 AAV 벡터 A03079를 코딩하는

핵산 서열은 서열 번호 123을 포함한다.

A03079 **CUG 반복부를 표적화하는 sc pAAV-4X U7(15XCUG) (P00369의 유도체)**

ITR	Cctgcaggcagctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgcccgggcgtcgggcgacctttggtcgcc cggcctcagtgagcgagcgagcgcgcagagagggagtggccaactccatcactagggggttcct (서열 번호 59)
U7 프로모터	TACTGCCGAATCCAGGTCTCCGGGCTTAACAACAACGAAGGGG CTGTGACTGGCTGCTTTCTCAACCAATCAGCACCGAACTCATTT GCATGGGCTGAGAACAAATGTTCGCGAACTCTAGAAATGAATG ACTTAAGTAAGTTCCTTAGAATATTATTTTTCCTACTGAAAGTT ACCACATGCGTCGTTGTTTATACAGTAATAGGAACAAGAAAAA AGTCACCTAAGCTCACCCTCATCAATTGTGGAGTTCCTTTATAT CCCATCTTCTCTCCAAACACATACGCA (서열 번호 39)
U7 snRNA	ggagtCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAG CAGCAGAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc (서열 번호 65)
U7 하류 (종결인자)	CCTCTTATGATGTTTGTTGCCAATGATAGATTGTTTTCACTGTGC AAAAATTATGGGTAGTTTTGGTGGTCTTGATGCAGTTGTAAGCT TGGAG (서열 번호 49)
30bp 버퍼 1	CAAACTACAGAGCCAAGTGCTATCCACAGA (서열 번호 24)

[0188]

U7 프로모터	TACTGCCGAATCCAGGTCTCCGGGCTTAACAACAACGAAGGGG CTGTGACTGGCTGCTTTCTCAACCAATCAGCACCGAACTCATTT GCATGGGCTGAGAACAAATGTTCGCGAACTCTAGAAATGAATG ACTTAAGTAAGTTCCTTAGAATATTATTTTTCCTACTGAAAGTT ACCACATGCGTCGTTGTTTATACAGTAATAGGAACAAGAAAAA AGTCACCTAAGCTCACCCTCATCAATTGTGGAGTTCCTTTATAT CCCATCTTCTCTCCAAACACATACGCA (서열 번호 39)
U7 snRNA	ggagtCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAG CAGCAGAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc (서열 번호 65)
U7 하류 (종결인자)	CCTCTTATGATGTTTGTTGCCAATGATAGATTGTTTTCACTGTGC AAAAATTATGGGTAGTTTTGGTGGTCTTGATGCAGTTGTAAGCT TGGAG (서열 번호 49)
30bp 버퍼 2	GAGCTTTCTGGGTTGCCATCTCAAGCAGAC (서열 번호 25)
U7 프로모터	TACTGCCGAATCCAGGTCTCCGGGCTTAACAACAACGAAGGGG CTGTGACTGGCTGCTTTCTCAACCAATCAGCACCGAACTCATTT GCATGGGCTGAGAACAAATGTTCGCGAACTCTAGAAATGAATG ACTTAAGTAAGTTCCTTAGAATATTATTTTTCCTACTGAAAGTT ACCACATGCGTCGTTGTTTATACAGTAATAGGAACAAGAAAAA AGTCACCTAAGCTCACCCTCATCAATTGTGGAGTTCCTTTATAT CCCATCTTCTCTCCAAACACATACGCA (서열 번호 39)
U7 snRNA	ggagtCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAG CAGCAGAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc (서열 번호 65)
U7 하류 (종결인자)	CCTCTTATGATGTTTGTTGCCAATGATAGATTGTTTTCACTGTGC AAAAATTATGGGTAGTTTTGGTGGTCTTGATGCAGTTGTAAGCT TGGAG (서열 번호 49)
30bp 버퍼 3	TACAAGGCCATCAGCTCATACTCACAATTG (서열 번호 26)
U7 프로모터	TACTGCCGAATCCAGGTCTCCGGGCTTAACAACAACGAAGGGG CTGTGACTGGCTGCTTTCTCAACCAATCAGCACCGAACTCATTT GCATGGGCTGAGAACAAATGTTCGCGAACTCTAGAAATGAATG ACTTAAGTAAGTTCCTTAGAATATTATTTTTCCTACTGAAAGTT ACCACATGCGTCGTTGTTTATACAGTAATAGGAACAAGAAAAA AGTCACCTAAGCTCACCCTCATCAATTGTGGAGTTCCTTTATAT CCCATCTTCTCTCCAAACACATACGCA (서열 번호 39)
U7 snRNA	ggagtCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAG CAGCAGAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc (서열 번호 65)
U7 하류 (종결인자)	CCTCTTATGATGTTTGTTGCCAATGATAGATTGTTTTCACTGTGC AAAAATTATGGGTAGTTTTGGTGGTCTTGATGCAGTTGTAAGCT TGGAG (서열 번호 49)
ITR	CCACTCCCTCTCTGCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGGCCGGGCGA CCAAAGGTCGCCCGACGCCCGGGCTTTGCCCGGGCGGCCTCAG TGAGCGAGCGAGCGCGCAGAGAGGGA (서열 번호 61)

[0189]

[0190] 본 개시내용의 예시적인 AAV 벡터는 5'에서 3'으로 제1 역위 말단 반복(ITR) 서열, U7 프로모터 서열, 비표적화 U7 esnRNA 서열, U7 하류 종결인자 서열, 버퍼 서열, U7 프로모터 서열, 비표적화 U7 esnRNA 서열, U7 하류 종결인자 서열, 버퍼 서열, U7 프로모터 서열, 비표적화 U7 esnRNA 서열, U7 하류 종결인자 서열, 버퍼 서열, 및 제2 ITR 서열을 포함한다. 일부 측면에서, 비반복 표적화 snRNA 서열을 코딩하는 AAV 벡터 A03080을 코딩하는 핵산 서열은 서열 번호 124를 포함한다.

A03080 sc pAAV-4X U7(NT1) (P00369의 유도체)

ITR	Cctgcaggcagctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgcccgggcgtcgggcgacctttggtcgcccggcctcagtgagcgagcgagcgcgcagagagggagtggccaactccatcactagggg ttcct (서열 번호 59)
U7 프로모터	TACTGCCGAATCCAGGTCTCCGGGCTTAACAACAACGAAGGGGCTGTGACTGGCTGCTTTCTCAACCAATCAGCACCGAACTCATTTGCATGGGCTGAGAACAAATGTTCGCGAACTCTAGAAATGAATGACTTAAGTAAGTTCCTTAGAATATTATTTTTCCTACTGAAAGTTACCACATGCGTCGTTGTTTATACAGTAATAGGAACAAGAAAAAAGTCACCTAAGCTCACCCTCATCAATTGTGGAGTTCCTTTATATCCCATCTTCTCTCCAAACACATACGCA (서열 번호 39)
U7 snRNA	ggagtTCACCAGAAGCGTACCATACTCACGAAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc (서열 번호 66)
U7 하류 (종결인자)	CCTCTTATGATGTTTGTTGCCAATGATAGATTGTTTTCACTGTGCAAAAATTATGGGTAGTTTTGGTGGTCTTGATGCAGTTGTAAGCTTGGAG (서열 번호 49)
30bp 버퍼 1	CAAACTACAGAGCCAAGTGCTATCCACAGA (서열 번호 24)
U7 프로모터	TACTGCCGAATCCAGGTCTCCGGGCTTAACAACAACGAAGGGGCTGTGACTGGCTGCTTTCTCAACCAATCAGCACCGAACTCATTTGCATGGGCTGAGAACAAATGTTCGCGAACTCTAGAAATGAATGACTTAAGTAAGTTCCTTAGAATATTATTTTTCCTACTGAAAGTTACCACATGCGTCGTTGTTTATACAGTAATAGGAACAAGAAAAAAGTCACCTAAGCTCACCCTCATCAATTGTGGAGTTCCTTTATATCCCATCTTCTCTCCAAACACATACGCA (서열 번호 39)
U7 snRNA	ggagtTCACCAGAAGCGTACCATACTCACGAAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc (서열 번호 66)
U7 하류 (종결인자)	CCTCTTATGATGTTTGTTGCCAATGATAGATTGTTTTCACTGTGCAAAAATTATGGGTAGTTTTGGTGGTCTTGATGCAGTTGTAAGCTTGGAG (서열 번호 49)
30bp 버퍼 2	GAGCTTTCTGGGTTGCCATCTCAAGCAGAC (서열 번호 25)
U7 프로모터	TACTGCCGAATCCAGGTCTCCGGGCTTAACAACAACGAAGGGGCTGTGACTGGCTGCTTTCTCAACCAATCAGCACCGAACTCATTTGCATGGGCTGAGAACAAATGTTCGCGAACTCTAGAAATGAATGACTTAAGTAAGTTCCTTAGAATATTATTTTTCCTACTGAAAGTTACCACATGCGTCGTTGTTTATACAGTAATAGGAACAAGAAAAAA

[0191]

	GTCACCTAAGCTCACCCTCATCAATTGTGGAGTTCCTTTATATCC CATCTTCTCTCCAAACACATACGCA (서열 번호 39)
U7 snRNA	ggagtTCACCAGAAGCGTACCATACTCACGAAATTTTTGGAGTAggc tttctggctccttaccggaaagcc (서열 번호 66)
U7 하류 (종결인자)	CCTCTTATGATGTTTGTTGCCAATGATAGATTGTTTTCACTGTGC AAAAATTATGGGTAGTTTTGGTGGTCTTGATGCAGTTGTAAGCT TGGAG (서열 번호 : 49)
30bp 버퍼 3	TACAAGGCCATCAGCTCATACTCACAATTG (서열 번호 26)
U7 프로모터	TACTGCCGAATCCAGGTCTCCGGGCTTAACAACAACGAAGGGG CTGTGACTGGCTGCTTTCTCAACCAATCAGCACCGAACTCATTT GCATGGGCTGAGAACAAATGTTCGCGAACTCTAGAAATGAATG ACTTAAGTAAGTTCCTTAGAATATTATTTTTCCTACTGAAAGTTA CCACATGCGTCGTTGTTTATACAGTAATAGGAACAAGAAAAAA GTCACCTAAGCTCACCCTCATCAATTGTGGAGTTCCTTTATATCC CATCTTCTCTCCAAACACATACGCA (서열 번호 39)
U7 snRNA	ggagtTCACCAGAAGCGTACCATACTCACGAAATTTTTGGAGTAggc tttctggctccttaccggaaagcc (서열 번호 66)
U7 하류 (종결인자)	CCTCTTATGATGTTTGTTGCCAATGATAGATTGTTTTCACTGTGC AAAAATTATGGGTAGTTTTGGTGGTCTTGATGCAGTTGTAAGCT TGGAG (서열 번호 49)
ITR	CCACTCCCTCTCTGCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGGCCGGGCGA CCAAAGGTCGCCCGACGCCCGGGCTTTGCCCGGGCGGCCTCAGT GAGCGAGCGAGCGCGCAGAGAGGGA (서열 번호 61)

[0192]

[0193] 본 개시내용의 예시적인 AAV 벡터는 5'에서 3'으로 제1 역위 말단 반복(ITR) 서열, U7 프로모터 서열, CAG 반복 표적화 U7 esnRNA 서열, U7 하류 종결인자 서열, 버퍼 서열, U7 프로모터 서열, CAG 반복 표적화 U7 esnRNA 서열, U7 하류 종결인자 서열, 버퍼 서열, U7 프로모터 서열, CAG 반복 표적화 U7 esnRNA 서열, U7 하류 종결인자 서열, 버퍼 서열, U7 프로모터 서열, CAG 반복 표적화 U7 esnRNA 서열, U7 하류 종결인자 서열, 버퍼 서열, 및 제2 ITR 서열을 포함한다. 일부 측면에서, CAG 반복 표적화 snRNA 서열을 코딩하는 AAV 벡터 A03081을 코딩하는 핵산 서열은 서열 번호 125를 포함한다.

A03081 CAG 반복부를 표적화 하는 sc pAAV-4X U7(15XCAG)

ITR	Cctgcaggcagctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgcccgggcgtcgggcgacctttggtcgccc ggcctcagtgagcgagcgagcgcgcagagagggagtggccaactccatcactaggggttcct (서열 번호 59)
U7 프로모터	TACTGCCGAATCCAGGTCTCCGGGCTTAACAACAACGAAGGGG CTGTGACTGGCTGCTTTCTCAACCAATCAGCACCGAACTCATTT GCATGGGCTGAGAACAAATGTTCGCGAACTCTAGAAATGAATG ACTTAAGTAAGTTCCTTAGAATATTATTTTTCCTACTGAAAGTTA CCACATGCGTCGTTGTTTATACAGTAATAGGAACAAGAAAAAA GTCACCTAAGCTCACCCTCATCAATTGTGGAGTTCCTTTATATCC CATCTTCTCTCCAAACACATACGCA (서열 번호 39)
U7 snRNA	ggagtCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTG CTGAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc (서열 번호 67)
U7 하류 (종결인자)	CCTCTTATGATGTTTGTTGCCAATGATAGATTGTTTTCACTGTGC AAAAATTATGGGTAGTTTTGGTGGTCTTGATGCAGTTGTAAGCT TGGAG (서열 번호 49)
30bp 버퍼 1	CAAACTACAGAGCCAAGTGCTATCCACAGA (서열 번호 24)
U7 프로모터	TACTGCCGAATCCAGGTCTCCGGGCTTAACAACAACGAAGGGG CTGTGACTGGCTGCTTTCTCAACCAATCAGCACCGAACTCATTT GCATGGGCTGAGAACAAATGTTCGCGAACTCTAGAAATGAATG ACTTAAGTAAGTTCCTTAGAATATTATTTTTCCTACTGAAAGTTA CCACATGCGTCGTTGTTTATACAGTAATAGGAACAAGAAAAAA GTCACCTAAGCTCACCCTCATCAATTGTGGAGTTCCTTTATATCC CATCTTCTCTCCAAACACATACGCA (서열 번호 39)
U7 snRNA	ggagtCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTG CTGAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc (서열 번호 67)
U7 하류 (종결인자)	CCTCTTATGATGTTTGTTGCCAATGATAGATTGTTTTCACTGTGC AAAAATTATGGGTAGTTTTGGTGGTCTTGATGCAGTTGTAAGCT TGGAG (서열 번호 49)
30bp 버퍼 2	GAGCTTTCTGGGTTGCCATCTCAAGCAGAC (서열 번호 25)
U7 프로모터	TACTGCCGAATCCAGGTCTCCGGGCTTAACAACAACGAAGGGG CTGTGACTGGCTGCTTTCTCAACCAATCAGCACCGAACTCATTT GCATGGGCTGAGAACAAATGTTCGCGAACTCTAGAAATGAATG ACTTAAGTAAGTTCCTTAGAATATTATTTTTCCTACTGAAAGTTA CCACATGCGTCGTTGTTTATACAGTAATAGGAACAAGAAAAAA GTCACCTAAGCTCACCCTCATCAATTGTGGAGTTCCTTTATATCC CATCTTCTCTCCAAACACATACGCA (서열 번호 39)
U7 snRNA	ggagtCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTG CTGAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc (서열 번호 67)
U7 하류 (종결인자)	CCTCTTATGATGTTTGTTGCCAATGATAGATTGTTTTCACTGTGC AAAAATTATGGGTAGTTTTGGTGGTCTTGATGCAGTTGTAAGCT TGGAG (서열 번호 49)
30bp 버퍼 3	TACAAGGCCATCAGCTCATACTCACAATTG (서열 번호 26)
U7 프로모터	TACTGCCGAATCCAGGTCTCCGGGCTTAACAACAACGAAGGGG CTGTGACTGGCTGCTTTCTCAACCAATCAGCACCGAACTCATTT GCATGGGCTGAGAACAAATGTTCGCGAACTCTAGAAATGAATG ACTTAAGTAAGTTCCTTAGAATATTATTTTTCCTACTGAAAGTTA CCACATGCGTCGTTGTTTATACAGTAATAGGAACAAGAAAAAA GTCACCTAAGCTCACCCTCATCAATTGTGGAGTTCCTTTATATCC CATCTTCTCTCCAAACACATACGCA (서열 번호 39)
U7 snRNA	ggagtCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTG CTGAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc (서열 번호 67)
U7 하류 (종결인자)	CCTCTTATGATGTTTGTTGCCAATGATAGATTGTTTTCACTGTGC AAAAATTATGGGTAGTTTTGGTGGTCTTGATGCAGTTGTAAGCT TGGAG (서열 번호 49)

[0194]

ITR	CCACTCCCTCTCTGCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGGCCGGGCGA CCAAAGGTCGCCCGACGCCCGGGCTTTGCCCGGGCGGCCTCAGT GAGCGAGCGAGCGCGCAGAGAGGGA (서열 번호 61)

[0195]

[0196] 본 개시내용의 예시적인 AAV 벡터는 5'에서 3'으로 제1 역위 말단 반복(ITR) 서열, U7 프로모터 서열, CUG 반복 표적화 U7 esnRNA 서열, U7 하류 종결인자 서열, CMV 프로모터 서열, 녹색 형광 단백질(GFP: green fluorescent protein)을 코딩하는 서열, sv40 폴리A 서열, 및 제2 ITR 서열을 포함한다. 일부 측면에서, CUG 반복 표적화 snRNA 서열을 코딩하는 AAV 벡터 A02888을 코딩하는 핵산 서열은 서열 번호 126을 포함한다.

A02888 CUG 반복부를 표적화하는 pAAV_1xU7(15xCUG)_CMV_GFP(버퍼 비포함)

ITR	Cctgcaggcagctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgcccgggcgtcgggcgacctttggtcgcccggcctcagtgagcgagcgagcgcgcagagagggagtggccaactccatcactagggttcct (서열 번호 59)
U7 프로모터	TACTGCCGAATCCAGGTCTCCGGGCTTAACAACAACGAAGGGGCTGTGACTGGCTGCTTTCTCAACCAATCAGCACCGAACTCATTTGCATGGGCTGAGAACAAATGTTCGCGAACTCTAGAAATGAATGACTTAAGTAAGTTCCTTAGAATATTATTTTTCCTACTGAAAGTTACCACATGCGTCGTTGTTTATACAGTAATAGGAACAAGAAAAAAGTCACCTAAGCTCACCCTCATCAATTGTGGAGTTCCTTTATATCCCATCTTCTCTCCAAACACATACGCA (서열 번호 39)
U7 snRNA	ggagtCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc (서열 번호 65)
U7 하류 (종결인자)	CCTCTTATGATGTTTGTTGCCAATGATAGATTGTTTTCACTGTGCAAAAATTATGGGTAGTTTTGGTGGTCTTGATGCAGTTGTAAGCTTGGAG (서열 번호 49)
CMV 프로모터	Cgttacataacttacggtaaatggcccgcctggctgaccgcccaacgacccccgcccattgacgtcaataatgacgtatgttcccatagtaacgccaatagggactttccattgacgtcaatgggtggagtatttacggtaaactgcccacttggcagtacatcaagtgtatcatatgccaagtacgccccctattgacgtcaatgacggtaaatggcccgcctggcattatgcccagtacatgaccttatgggactttcctacttggcagtacatctacgtattagtcatcgctattaccatggtgatgcggttttggcagtacatcaatgggcgtggatagcggtttgactcacggggatttccaagtctccaccccattgacgtcaatgggagtttgttttggcaccaaaatcaacgggactttccaaaatgtcgtaacaactccgccccattgacgcaaatgggcggtaggcgtgtacggtgggaggtctatataagcagagct (서열 번호 62)
eGFP	ATGgtgagcaagggcgaggagctgttcaccggggtggtgcccatcctggtcgagctggacggcgacgtaaacggccacaagttcagcgtgtccggcgagggcgagggcgatgccacctacggcaagctgaccctgaagttcatctgcaccaccggcaagctgcccgtgccctggcccaccctcgtgaccaccctgacctacggcgtgcagtgcttcagccgctaccccgaccacatgaagcagcacgacttcttcaagtccgccatgcccgaaggctacgtccaggagcgcaccatcttcttcaaggacgacggcaactacaagacccgcgccgaggtgaagttcgagggcgacaccctggtgaaccgcatcgagctgaagggcatcgacttcaaggaggacggcaacatcctggggcacaagctggagtacaactacaacagccacaacgtctatatcatggccgacaagcagaagaacggcatcaaggtgaacttcaagatccgccacaacatcgaggacggcagcgtgcagctcgccgaccactaccagcagaacaccccatcggcgacggccccgtgctgctgcccgacaaccactacctgagcacccagtccgccctgagcaaagaccccaacgagaagcgcgatcacatggtcctgctggagttcgtgaccgccgccgggatcactctcggcatggacgagctgtacaagTAA (서열 번호 63)
SV40 폴리A	Aacttgtttattgcagcttataatggttacaaataaagcaatagcatcacaaatttcacaaataaagcatttttttcactgcattctagttgtggtttgtccaaactcatcaatgtatctta (서열 번호 64)
ITR	Aggaacccctagtgatggagttggccactccctctctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgggcgaccaaaggtcgcccgacgcccgggctttgcccgggcggcctcagtgagcgagcgagcgcgcagctgcctgcagg (서열 번호 60)

[0197]

[0198] 본 개시내용의 예시적인 AAV 벡터는 5'에서 3'으로 제1 역위 말단 반복(ITR) 서열, U7 프로모터 서열, 비표적화 U7 esnRNA 서열, U7 하류 종결인자 서열, CMV 프로모터 서열, 녹색 형광 단백질(GFP)을 코딩하는 서열, sv40 폴리A 서열, 및 제2 ITR 서열을 포함한다. 일부 측면에서, 비표적화 반복 표적화 snRNA 서열을 코딩하는 AAV 벡터 A02889를 코딩하는 핵산 서열은 서열 번호 127을 포함한다.

A02889 pAAV_1xU7(NT1)_CMV_GFP (버퍼 비포함)

ITR	Cctgcaggcagctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgcccgggcgtcgggcgacctttggtcgcccggcctcagtgagcgagcgagcgcgcagagagggagtggccaactccatcactagggttcct (서열 번호 59)
U7 프로모터	TACTGCCGAATCCAGGTCTCCGGGCTTAACAACAACGAAGGGGCTGTGACTGGCTGCTTTCTCAACCAATCAGCACCGAACTCATTTGCATGGGCTGAGAACAAATGTTCGCGAACTCTAGAAATGAATGACTTAAGTAAGTTCCTTAGAATATTATTTTTCCTACTGAAAGTTACCACATGCGTCGTTGTTTATACAGTAATAGGAACAAGAAAAAAGTCACCTAAGCTCACCCTCATCAATTGTGGAGTTCCTTTATATCCCATCTTCTCTCCAAACACATACGCA (서열 번호 39)
U7 snRNA	ggagtTCACCAGAAGCGTACCATACTCACGAAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc (서열 번호 66)
U7 하류 (종결인자)	CCTCTTATGATGTTTGTTGCCAATGATAGATTGTTTTCACTGTGCAAAAATTATGGGTAGTTTTGGTGGTCTTGATGCAGTTGTAAGCTTGGAG. (서열 번호 49)
CMV 프로모터	Cgttacataacttacggtaaatggcccgcctggctgaccgcccaacgacccccgcccattgacgtcaataatgacgtatgttcccatagtaacgccaatagggactttccattgacgtcaatgggtggagtatttacggtaaactgcccacttggcagtacatcaagtgtatcatatgccaagtacgccccctattgacgtcaatgacggtaaatggcccgcctggcattatgcccagtacatgaccttatgggactttcctacttggcagtacatctacgtattagtcatcgctattaccatggtgatgcggttttggcagtacatcaatgggcgtggatagcggtttgactcacggggatttccaagtctccaccccattgacgtcaatgggagtttgttttggcaccaaaatcaacgggactttccaaaatgtcgtaacaactccgccccattgacgcaaatgggcggtaggcgtgtacggtgggaggtctatataagcagagct (서열 번호 62)
eGFP	ATGgtgagcaagggcgaggagctgttcaccggggtggtgcccatcctggtcgagctggacggcgacgtaaacggccacaagttcagcgtgtccggcgagggcgagggcgatgccacctacggcaagctgaccctgaagttcatctgcaccaccggcaagctgcccgtgccctggcccaccctcgtgaccaccctgacctacggcgtgcagtgcttcagccgctaccccgaccacatgaagcagcacgacttcttcaagtccgccatgcccgaag
	gctacgtccaggagcgcaccatcttcttcaaggacgacggcaactacaagacccgcgccgaggtgaagttcgagggcgacaccctggtgaaccgcatcgagctgaagggcatcgacttcaaggaggacggcaacatcctggggcacaagctggagtacaactacaacagccacaacgtctatatcatggccgacaagcagaagaacggcatcaaggtgaacttcaagatccgccacaacatcgaggacggcagcgtgcagctcgccgaccactaccagcagaacaccccatcggcgacggccccgtgctgctgcccgacaaccactacctgagcacccagtccgccctgagcaaagaccccaacgagaagcgcgatcacatggtcctgctggagttcgtgaccgccgccgggatcactctcggcatggacgagctgtacaagTAA (서열 번호 63)
SV40 폴리A	Aacttgtttattgcagcttataatggttacaaataaagcaatagcatcacaaatttcacaaataaagcatttttttcactgcattctagttgtggtttgtccaaactcatcaatgtatctta (서열 번호 64)
ITR	Aggaacccctagtgatggagttggccactccctctctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgggcgaccaaaggtcgcccgacgcccgggctttgcccgggcggcctcagtgagcgagcgagcgcgcagctgcctgcagg (서열 번호 60)

[0199]

[0200] 본 개시내용의 예시적인 AAV 벡터는 5'에서 3'으로 제1 역위 말단 반복(ITR) 서열, U7 프로모터 서열, CAG 반복 표적화 U7 esnRNA 서열, U7 하류 종결인자 서열, CMV 프로모터 서열, 녹색 형광 단백질(GFP)을 코딩하는 서열, sv40 폴리A 서열, 및 제2 ITR 서열을 포함한다. 일부 측면에서, CAG 반복 표적화 반복 표적화 snRNA 서열을 코딩하는 AAV 벡터 A02925를 코딩하는 핵산 서열은 서열 번호 128을 포함한다.

A02925 CAG 반복부를 표적화 하는 pAAV_1xU7(15xCAG)_CMV_GFP (버퍼 비포함)

ITR	Cctgcaggcagctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgcccgggcgtcgggcgacctttggtcgcccggcctcagtgagcgagcgagcgcgcagagagggagtggccaactccatcactagggggttcct (서열 번호 59)
U7 프로모터	TACTGCCGAATCCAGGTCTCCGGGCTTAACAACAACGAAGGGGCTGTGACTGGCTGCTTTCTCAACCAATCAGCACCGAACTCATTTGCATGGGCTGAGAACAAATGTTCGCGAACTCTAGAAATGAATGACTTAAGTAAGTTCCTTAGAATATTATTTTTCCTACTGAAAGTTACCACATGCGTCGTTGTTTATACAGTAATAGGAACAAGAAAAAAGTCACCTAAGCTCACCCTCATCAATTGTGGAGTTCCTTTATATCCCATCTTCTCTCCAAACACATACGCA (서열 번호 39)
U7 snRNA	ggagtCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc (서열 번호 67)
U7 하류 (종결인자)	CCTCTTATGATGTTTGTTGCCAATGATAGATTGTTTTCACTGTGCAAAAATTATGGGTAGTTTTGGTGGTCTTGATGCAGTTGTAAGCTTGGAG (서열 번호 49)
CMV 프로모터	Cgttacataacttacggtaaatggcccgcctggctgaccgcccaacgacccccgcccattgacgtcaataatgacgtatgttcccatagtaacgccaatagggactttccattgacgtcaatgggtggagtatttacggtaaactgcccacttggcagtacatcaagtgtatcatatgccaagtacgccccctattgacgtcaatgacggtaaatggcccgcctggcattatgcccagtacatgaccttatgggactttcctacttggcagtacatctacgtattagtcatcgctattaccatggtgatgcggttttggcagtacatcaatgggcgtggatagcggtttgactcacggggatttccaagtctccaccccattgacgtcaatgggagtttgttttggcaccaaaatcaacgggactttccaaaatgtcgtaacaactccgccccattgacgcaaatgggcggtaggcgtgtacggtgggaggtctatataagcagagct (서열 번호 62)
eGFP	ATGgtgagcaagggcgaggagctgttcaccggggtggtgcccatcctggtcgagctggacggcgacgtaaacggccacaagttcagcgtgtccggcgagggcgagggcgatgccacctacggcaagctgaccctgaagttcatctgcaccaccggcaagctgcccgtgccctggcccaccctcgtgaccaccctgacctacggcgtgcagtgcttcagccgctaccccgaccacatgaagcagcacgacttcttcaagtccgccatgcccgaaggctacgtccaggagcgcaccatcttcttcaaggacgacggcaactacaagacccgcgccgaggtgaagttcgagggcgacaccctggtgaaccgcatcgagctgaagggcatcgacttcaaggaggacggcaacatcctggggcacaagctggagtacaactacaacagccacaacgtctatatcatggccgacaagcagaagaacggcatcaaggtgaacttcaagatccgccacaacatcgaggacggcagcgtgcagctcgccgaccactaccagcagaacaccccatcggcgacggccccgtgctgctgcccgacaaccactacctgagcacccagtccgccctgagcaaagaccccaacgagaagcgcgatcacatggtcctgctggagttcgtgaccgccgccgggatcactctcggcatggacgagctgtacaagTAA (서열 번호 63)
SV40 폴리A	Aacttgtttattgcagcttataatggttacaaataaagcaatagcatcacaaatttcacaaataaagcatttttttcactgcattctagttgtggtttgtccaaactcatcaatgtatctta (서열 번호 64)
ITR	Aggaacccctagtgatggagttggccactccctctctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgggcgaccaaaggtcgcccgacgcccgggctttgcccgggcggcctcagtgagcgagcgagcgcgcagctgcctgcagg (서열 번호 60)

[0201]

[0202] 본 개시내용의 예시적인 AAV 벡터는 5'에서 3'으로 제1 역위 말단 반복(ITR) 서열, U7 프로모터 서열, CUG 반복 표적화 U7 esnRNA 서열, U7 하류 종결인자 서열, 버퍼 서열, U7 프로모터 서열, CUG 반복 표적화 U7 esnRNA 서열, U7 하류 종결인자 서열, 버퍼 서열, U7 프로모터 서열, CUG 반복 표적화 U7 esnRNA 서열, U7 하류 종결인자 서열, CMV 프로모터 서열, 녹색 형광 단백질(GFP)을 코딩하는 서열, sv40 폴리A 서열, 및 제2 ITR 서열을 포함한다. 일부 측면에서, CUG 반복 표적화 반복 표적화 snRNA 서열을 코딩하는 AAV 벡터 A02894를 코딩하는 핵산 서열은 서열 번호 129를 포함한다.

A02894 CUG 반복부를 표적화하는 pAAV_3xU7(15xCUG)_CMV_GFP (100bp 버퍼)

ITR	Cctgcaggcagctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgcccgggcgtcgggcgacctttggtcgcccggcctcagtgagcgagcgagcgcgcagagagggagtggccaactccatcactagggggttcct (서열 번호 59)
U7 프로모터	TACTGCCGAATCCAGGTCTCCGGGCTTAACAACAACGAAGGGGCTGTGACTGGCTGCTTTCTCAACCAATCAGCACCGAACTCATTTGCATGGGCTGAGAACAAATGTTCGCGAACTCTAGAAATGAATGACTTAAGTAAGTTCCTTAGAATATTATTTTTCCTACTGAAAGTTACCACATGCGTCGTTGTTTATACAGTAATAGGAACAAGAAAAAAGTCACCTAAGCTCACCCTCATCAATTGTGGAGTTCCTTTATATCCCATCTTCTCTCCAAACACATACGCA (서열 번호 39)
U7 snRNA	ggagtCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc (서열 번호 65)
U7 하류 (종결인자)	CCTCTTATGATGTTTGTTGCCAATGATAGATTGTTTTCACTGTGCAAAAATTATGGGTAGTTTTGGTGGTCTTGATGCAGTTGTAAGCTTGGAG (서열 번호 49)
100bp 버퍼 1	CAAACTACAGAGCCAAGTGCTATCCACAGAGAGCTTTCTGGGTTGCCATCTCAAGCAGACTACAAGGCCATCAGCTCATACTCACAATTGACTTTGAGAG (서열 번호 31)
U7 프로모터	TACTGCCGAATCCAGGTCTCCGGGCTTAACAACAACGAAGGGGCTGTGACTGGCTGCTTTCTCAACCAATCAGCACCGAACTCATTTGCATGGGCTGAGAACAAATGTTCGCGAACTCTAGAAATGAATGACTTAAGTAAGTTCCTTAGAATATTATTTTTCCTACTGAAAGTTACCACATGCGTCGTTGTTTATACAGTAATAGGAACAAGAAAAAAGTCACCTAAGCTCACCCTCATCAATTGTGGAGTTCCTTTATATCCCATCTTCTCTCCAAACACATACGCA (서열 번호 39)
U7 snRNA	ggagtCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc (서열 번호 65)
U7 하류 (종결인자)	CCTCTTATGATGTTTGTTGCCAATGATAGATTGTTTTCACTGTGCAAAAATTATGGGTAGTTTTGGTGGTCTTGATGCAGTTGTAAGCTTGGAG (서열 번호 49)
100bp 버퍼 2	TTGACCACATACGTGCTCTTTCAAAGTTCTGTGTTTGAAGTTATGTTAGTAACAACTGATGCCCATCCTGCAATGACAAATCCAATTCTCAGTGCAGCTC (서열 번호 28)
U7 프로모터	TACTGCCGAATCCAGGTCTCCGGGCTTAACAACAACGAAGGGGCTGTGACTGGCTGCTTTCTCAACCAATCAGCACCGAACTCATTTGCATGGGCTGAGAACAAATGTTCGCGAACTCTAGAAATGAATGACTTAAGTAAGTTCCTTAGAATATTATTTTTCCTACTGAAAGTTACCACATGCGTCGTTGTTTATACAGTAATAGGAACAAGAAAAAAGTCACCTAAGCTCACCCTCATCAATTGTGGAGTTCCTTTATATCCCATCTTCTCTCCAAACACATACGCA (서열 번호 39)
U7 snRNA	ggagtCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc (서열 번호 65)
U7 하류 (종결인자)	CCTCTTATGATGTTTGTTGCCAATGATAGATTGTTTTCACTGTGCAAAAATTATGGGTAGTTTTGGTGGTCTTGATGCAGTTGTAAGCTTGGAG (서열 번호 49)

[0203]

CMV 프로모터	Cgttacataacttacggtaaatggcccgcctggctgaccgcccaacgacccccgcccattgacgtcaataatgacgtatgttcccatagtaacgccaatagggactttccattgacgtcaatgggtggagtatttacggtaaactgcccacttggcagtacatcaagtgtatcatatgccaagtacgcccccctattgacgtcaatgacggtaaatggcccgcctggcattatgcccagtacatgaccttatgggactttcctacttggcagtacatctacgtattagtcatcgctattaccatggtgatgcggttttggcagtacatcaatgggcgtggatagcggtttgactcacggggatttccaagtctccaccccattgacgtcaatgggagtttgttttggcaccaaaatcaacgggactttccaaaatgtcgtaacaactccgccccattgacgcaaatgggcggtaggcgtgtacggtgggaggtctatataagcagagct (서열 번호 62)
eGFP	ATGgtgagcaagggcgaggagctgttcaccggggtggtgcccatcctggtcgagctggacggcgacgtaaacggccacaagttcagcgtgtccggcgagggcgagggcgatgccacctacggcaagctgaccctgaagttcatctgcaccaccggcaagctgcccgtgccctggcccaccctcgtgaccaccctgacctacggcgtgcagtgcttcagccgctaccccgaccacatgaagcagcacgacttcttcaagtccgccatgcccgaaggctacgtccaggagcgcaccatcttcttcaaggacgacggcaactacaagacccgcgccgaggtgaagttcgagggcgacaccctggtgaaccgcatcgagctgaagggcatcgacttcaaggaggacggcaacatcctggggcacaagctggagtacaactacaacagccacaacgtctatatcatggccgacaagcagaagaacggcatcaaggtgaacttcaagatccgccacaacatcgaggacggcagcgtgcagctcgccgaccactaccagcagaacaccccatcggcgacggccccgtgctgctgcccgacaaccactacctgagcacccagtccgccctgagcaaagaccccaacgagaagcgcgatcacatggtcctgctggagttcgtgaccgccgccgggatcactctcggcatggacgagctgtacaagTAA (서열 번호 63)
SV40 폴리A	Aacttgtttattgcagcttataatggttacaaataaagcaatagcatcacaaatttcacaaataaagcatttttttcactgcattctagttgtggtttgtccaaactcatcaatgtatctta (서열 번호 64)
ITR	Aggaacccctagtgatggagttggccactccctctctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgggcgaccaaaggtcgcccgacgcccgggctttgcccgggcggcctcagtgagcgagcgagcgcgcagctgcctgcagg (서열 번호 60)

[0204]

[0205] 본 개시내용의 예시적인 AAV 벡터는 5'에서 3'으로 제1 역위 말단 반복(ITR) 서열, U7 프로모터 서열, 비표적화 U7 esnRNA 서열, U7 하류 종결인자 서열, 버퍼 서열, U7 프로모터 서열, 비표적화 U7 esnRNA 서열, U7 하류 종결인자 서열, 버퍼 서열, U7 프로모터 서열, 비표적화 U7 esnRNA 서열, U7 하류 종결인자 서열, CMV 프로모터 서열, 녹색 형광 단백질(GFP)을 코딩하는 서열, sv40 폴리A 서열, 및 제2 ITR 서열을 포함한다. 일부 측면에서, 비표적화 snRNA 서열을 코딩하는 AAV 벡터 A02895를 코딩하는 핵산 서열은 서열 번호 130을 포함한다.

A02895 pAAV_3xU7(NT1)_CMV_GFP (100 bp 버퍼)

ITR	Cctgcaggcagctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgcccgggcgtcgggcgacctttggtcgcccggcctcagtgagcgagcgagcgcgcagagagggagtggccaactccatcactaggggttcct (서열 번호 59)
U7 프로모터	TACTGCCGAATCCAGGTCTCCGGGCTTAACAACAACGAAGGGGCTGTGACTGGCTGCTTTCTCAACCAATCAGCACCGAACTCATTTGCATGGGCTGAGAACAAATGTTCGCGAACTCTAGAAATGAATGACTTAAGTAAGTTCCTTAGAATATTATTTTTCCTACTGAAAGTTACCACATGCGTCGTTGTTTATACAGTAATAGGAACAAGAAAAAAGTCACCTAAGCTCACCCTCATCAATTGTGGAGTTCCTTTATATCCCATCTTCTCTCCAAACACATACGCA (서열 번호 39)
U7 snRNA	ggagtTCACCAGAAGCGTACCATACTCACGAAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc (서열 번호 66)
U7 하류 (종결인자)	CCTCTTATGATGTTTGTTGCCAATGATAGATTGTTTTCACTGTGCAAAAATTATGGGTAGTTTTGGTGGTCTTGATGCAGTTGTAAGCTTGGAG (서열 번호 49)
100bp 버퍼 1	CAAACTACAGAGCCAAGTGCTATCCACAGAGAGCTTTCTGGGTTGCCATCTCAAGCAGACTACAAGGCCATCAGCTCATACTCACAATTGACTTTGAGAG (서열 번호 27)
U7 프로모터	TACTGCCGAATCCAGGTCTCCGGGCTTAACAACAACGAAGGGGCTGTGACTGGCTGCTTTCTCAACCAATCAGCACCGAACTCATTTGCATGGGCTGAGAACAAATGTTCGCGAACTCTAGAAATGAATGACTTAAGTAAGTTCCTTAGAATATTATTTTTCCTACTGAAAGTTACCACATGCGTCGTTGTTTATACAGTAATAGGAACAAGAAAAAAGTCACCTAAGCTCACCCTCATCAATTGTGGAGTTCCTTTATATCCCATCTTCTCTCCAAACACATACGCA (서열 번호 39)
U7 snRNA	ggagtTCACCAGAAGCGTACCATACTCACGAAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc (서열 번호 66)
U7 하류 (종결인자)	CCTCTTATGATGTTTGTTGCCAATGATAGATTGTTTTCACTGTGCAAAAATTATGGGTAGTTTTGGTGGTCTTGATGCAGTTGTAAGCTTGGAG (서열 번호 49)
100bp 버퍼 2	TTGACCACATACGTGCTCTTTCAAAGTTCTGTGTTTGAAGTTATGTTAGTAACAACTGATGCCCATCCTGCAATGACAAATCCAATTCTCAGTGCAGCTC (서열 번호 28)
U7 프로모터	TACTGCCGAATCCAGGTCTCCGGGCTTAACAACAACGAAGGGGCTGTGACTGGCTGCTTTCTCAACCAATCAGCACCGAACTCATTTGCATGGGCTGAGAACAAATGTTCGCGAACTCTAGAAATGAATGACTTAAGTAAGTTCCTTAGAATATTATTTTTCCTACTGAAAGTTACCACATGCGTCGTTGTTTATACAGTAATAGGAACAAGAAAAAAGTCACCTAAGCTCACCCTCATCAATTGTGGAGTTCCTTTATATCCCATCTTCTCTCCAAACACATACGCA (서열 번호 39)
U7 snRNA	ggagtTCACCAGAAGCGTACCATACTCACGAAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc (서열 번호 66)
U7 하류 (종결인자)	CCTCTTATGATGTTTGTTGCCAATGATAGATTGTTTTCACTGTGCAAAAATTATGGGTAGTTTTGGTGGTCTTGATGCAGTTGTAAGCTTGGAG (서열 번호 49)
CMV 프로모터	Cgttacataacttacggtaaatggcccgcctggctgaccgcccaacgacccccgcccattgacgtcaataatgacgtatgttcccatagtaacgccaatagggactttccattgacgtcaatgggtggagtatttacggtaaactgcccacttggcagtacatcaagtgtatcatatgccaagtacgccccctattgacgtcaatgacggtaaatggcccgcctggcattatgcccagtacatgaccttatgggactttcctacttggcagtacatctacgtattagtcatcgctattaccatggtgatgcggttttggcagtacatcaatgggcgtggatagcggtttgactcacggggatttccaagtctccaccccattgacgtcaatgggagtttgttttggcaccaaaatcaacgggactttccaaaatgtcgtaacaactccgccccattgacgcaaatgggcggtaggcgtgtacggtgggaggtctatataagcagagct (서열 번호 62)
eGFP	ATGgtgagcaagggcgaggagctgttcaccggggtggtgcccatcctggtcgagctggacggcgacgtaaacggccacaagttcagcgtgtccggcgagggcgagggcgatgccacctacggcaagctgaccct

[0206]

	gaagttcatctgcaccaccggcaagctgcccgtgccctggcccaccctcgtgaccaccctgacctacggcgtgcagtgcttcagccgctaccccgaccacatgaagcagcacgacttcttcaagtccgccatgcccgaaggctacgtccaggagcgcaccatcttcttcaaggacgacggcaactacaagacccgcgccgaggtgaagttcgagggcgacaccctggtgaaccgcatcgagctgaagggcatcgacttcaaggaggacggcaacatcctggggcacaagctggagtacaactacaacagccacaacgtctatatcatggccgacaagcagaagaacggcatcaaggtgaacttcaagatccgccacaacatcgaggacggcagcgtgcagctcgccgaccactaccagcagaacaccccatcggcgacggccccgtgctgctgcccgacaaccactacctgagcacccagtccgccctgagcaaagaccccaacgagaagcgcgatcacatggtcctgctggagttcgtgaccgccgccgggatcactctcggcatggacgagctgtacaagTAA (서열 번호 63)
SV40 폴리A	Aacttgtttattgcagcttataatggttacaaataaagcaatagcatcacaaatttcacaaataaagcatttttttcactgcattctagttgtggtttgtccaaactcatcaatgtatctta (서열 번호 64)
ITR	Aggaaccctagtgatggagttggccactccctctctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgggcgaccaaaggtcgcccgacgcccgggctttgcccgggcggcctcagtgagcgagcgagcgcgcagctgcctgcagg (서열 번호 60)

[0207]

[0208] 본 개시내용의 예시적인 AAV 벡터는 5'에서 3'으로 제1 역위 말단 반복(ITR) 서열, U7 프로모터 서열, CAG 반복 표적화 U7 esnRNA 서열, U7 하류 종결인자 서열, 버퍼 서열, U7 프로모터 서열, CAG 반복 표적화 U7 esnRNA 서열, U7 하류 종결인자 서열, 버퍼 서열, U7 프로모터 서열, CAG 반복 표적화 U7 esnRNA 서열, U7 하류 종결인자

서열, CMV 프로모터 서열, 녹색 형광 단백질(GFP)을 코딩하는 서열, sv40 폴리A 서열, 및 제2 ITR 서열을 포함한다. 일부 측면에서, CAG 반복 표적화 반복 표적화 snRNA 서열을 코딩하는 AAV 벡터 A02968을 코딩하는 핵산 서열은 서열 번호 131을 포함한다.

A02968 CAG 반복부를 표적화 하는 pAAV_3xU7(15XCAG)_CMV_GFP(100 bp 버퍼)

ITR	Cctgcaggcagctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgcccgggcgtcgggcgacctttggtcgcc cggcctcagtgagcgagcgagcgcgcagagagggagtggccaactccatcactaggggttcct (서열 번호 59)
U7 프로모터	TACTGCCGAATCCAGGTCTCCGGGCTTAACAACAACGAAGGGG CTGTGACTGGCTGCTTTCTCAACCAATCAGCACCGAACTCATTT GCATGGGCTGAGAACAAATGTTCGCGAACTCTAGAAATGAATG ACTTAAGTAAGTTCCTTAGAATATTATTTTTCCTACTGAAAGTT ACCACATGCGTCGTTGTTTATACAGTAATAGGAACAAGAAAAA AGTCACCTAAGCTCACCCTCATCAATTGTGGAGTTCCTTTATAT CCCATCTTCTCTCCAAACACATACGCA (서열 번호 39)
U7 snRNA	ggagtCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCT GCTGAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc (서열 번호 67)
U7 하류 (종결인자)	CCTCTTATGATGTTTGTTGCCAATGATAGATTGTTTTCACTGTGC AAAAATTATGGGTAGTTTTGGTGGTCTTGATGCAGTTGTAAGCT TGGAG (서열 번호 49)

[0209]

100bp 버퍼 1	CAAACTACAGAGCCAAGTGCTATCCACAGAGAGCTTTCTGGGT TGCCATCTCAAGCAGACTACAAGGCCATCAGCTCATACTCACA ATTGACTTTGAGAG (서열 번호 27)
U7 프로모터	TACTGCCGAATCCAGGTCTCCGGGCTTAACAACAACGAAGGGG CTGTGACTGGCTGCTTTCTCAACCAATCAGCACCGAACTCATTT GCATGGGCTGAGAACAAATGTTCGCGAACTCTAGAAATGAATG ACTTAAGTAAGTTCCTTAGAATATTATTTTTCCTACTGAAAGTT ACCACATGCGTCGTTGTTTATACAGTAATAGGAACAAGAAAAA AGTCACCTAAGCTCACCCTCATCAATTGTGGAGTTCCTTTATAT CCCATCTTCTCTCCAAACACATACGCA (서열 번호 39)
U7 snRNA	ggagtCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCT GCTGAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc (서열 번호 67)
U7 하류 (종결인자)	CCTCTTATGATGTTTGTTGCCAATGATAGATTGTTTTCACTGTGC AAAAATTATGGGTAGTTTTGGTGGTCTTGATGCAGTTGTAAGCT TGGAG (서열 번호 49)
100bp 버퍼 2	TTGACCACATACGTGCTCTTTCAAAGTTCTGTGTTTGAAGTTAT GTTAGTAACAACTGATGCCCATCCTGCAATGACAAATCCAATT CTCAGTGCAGCTC (서열 번호 28)
U7 프로모터	TACTGCCGAATCCAGGTCTCCGGGCTTAACAACAACGAAGGGG CTGTGACTGGCTGCTTTCTCAACCAATCAGCACCGAACTCATTT GCATGGGCTGAGAACAAATGTTCGCGAACTCTAGAAATGAATG ACTTAAGTAAGTTCCTTAGAATATTATTTTTCCTACTGAAAGTT ACCACATGCGTCGTTGTTTATACAGTAATAGGAACAAGAAAAA AGTCACCTAAGCTCACCCTCATCAATTGTGGAGTTCCTTTATAT CCCATCTTCTCTCCAAACACATACGCA (서열 번호 39)
U7 snRNA	ggagtCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCT GCTGAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc (서열 번호 67)
U7 하류 (종결인자)	CCTCTTATGATGTTTGTTGCCAATGATAGATTGTTTTCACTGTGC AAAAATTATGGGTAGTTTTGGTGGTCTTGATGCAGTTGTAAGCT TGGAG (서열 번호 49)
CMV 프로모터	Cgttacataacttacggtaaatggcccgcctggctgaccgcccaacgacccccgcccattgacgtcaat aatgacgtatgttcccatagtaacgccaatagggactttccattgacgtcaatgggtggagtatttacggta aactgcccacttggcagtacatcaagtgtatcatatgccaagtacgccccctattgacgtcaatgacggta aatggcccgcctggcattatgcccagtacatgaccttatgggactttcctacttggcagtacatctacgtatt agtcatcgctattaccatggtgatgcggttttggcagtacatcaatgggcgtggatagcggtttgactcacg gggatttccaagtctccaccccattgacgtcaatgggagtttgttttggcaccaaaatcaacgggactttcc aaaatgtcgtaacaactccgccccattgacgcaaatgggcggtaggcgtgtacggtgggaggtctatata agcagagct (서열 번호 62)
eGFP	ATGgtgagcaagggcgaggagctgttcaccggggtggtgcccatcctggtcgagctggacggcga cgtaaacggccacaagttcagcgtgtccggcgagggcgagggcgatgccacctacggcaagctgacc ctgaagttcatctgcaccaccggcaagctgcccgtgccctggcccaccctcgtgaccaccctgacctac ggcgtgcagtgcttcagccgctaccccgaccacatgaagcagcacgacttcttcaagtccgccatgccc gaaggctacgtccaggagcgcaccatcttcttcaaggacgacggcaactacaagacccgcgccgaggt gaagttcgagggcgacaccctggtgaaccgcatcgagctgaagggcatcgacttcaaggaggacggc aacatcctggggcacaagctggagtacaactacaacagccacaacgtctatatcatggccgacaagcag aagaacggcatcaaggtgaacttcaagatccgccacaacatcgaggacggcagcgtgcagctcgccg accactaccagcagaacacccccatcggcgacggccccgtgctgctgcccgacaaccactacctgagc acccagtccgccctgagcaaagaccccaacgagaagcgcgatcacatggtcctgctggagttcgtgac cgccgccgggatcactctcggcatggacgagctgtacaagTAA (서열 번호 63)
SV40 폴리A	Aacttgtttattgcagcttataatggttacaaataaagcaatagcatcacaaatttcacaaataaagcatttttt tcactgcattctagttgtggtttgtccaaactcatcaatgtatctta (서열 번호 64)
ITR	Aggaacccctagtgatggagttggccactccctctctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgggcga ccaaaggtcgcccgacgcccgggctttgcccgggcggcctcagtgagcgagcgagcgcgcagctgc ctgcagg (서열 번호 60)

[0210]

[0211] 본 개시내용의 예시적인 AAV 벡터는 5'에서 3'으로 제1 역위 말단 반복(ITR) 서열, U7 프로모터 서열, CUG 반복 표적화 U7 esnRNA 서열, U7 하류 종결인자 서열, 버퍼 서열, U7 프로모터 서열, CUG 반복 표적화 U7 esnRNA 서열, U7 하류 종결인자 서열, 버퍼 서열, U7 프로모터 서열, CUG 반복 표적화 U7 esnRNA 서열, U7 하류 종결인자 서열, CMV 프로모터 서열, 녹색 형광 단백질(GFP)을 코딩하는 서열, sv40 폴리A 서열, 및 제2 ITR 서열을 포함한다. 일부 측면에서, CUG 반복 표적화 반복 표적화 snRNA 서열을 코딩하는 AAV 벡터 A02896을 코딩하는 핵산 서열은 서열 번호 132를 포함한다.

A02896 pAAV_3xU7(15xCUG)_CMV_GFP (500 bp 버퍼)

ITR	Cctgcaggcagctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgcccgggcgtcgggcgacctttggtcgcccggcctcagtgagcgagcgagcgcgcagagagggagtggccaactccatcactagggttcct (서열 번호 59)
U7 프로모터	TACTGCCGAATCCAGGTCTCCGGGCTTAACAACAACGAAGGGGCTGTGACTGGCTGCTTTCTCAACCAATCAGCACCGAACTCATTTGCATGGGCTGAGAACAAATGTTCGCGAACTCTAGAAATGAATGACTTAAGTAAGTTCCTTAGAATATTATTTTTCCTACTGAAAGTTACCACATGCGTCGTTGTTTATACAGTAATAGGAACAAGAAAAAAGTCACCTAAGCTCACCCTCATCAATTGTGGAGTTCCTTTATATCCCATCTTCTCTCCAAACACATACGCA (서열 번호 39)
U7 snRNA	ggagtCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc (서열 번호 65)
U7 하류 (종결인자)	CCTCTTATGATGTTTGTTGCCAATGATAGATTGTTTTCACTGTGCAAAAATTATGGGTAGTTTTGGTGGTCTTGATGCAGTTGTAAGCTTGGAG (서열 번호 49)
500bp 버퍼 1	CAAACTACAGAGCCAAGTGCTATCCACAGAGAGCTTTCTGGGTTGCCATCTCAAGCAGACTACAAGGCCATCAGCTCATACTCACAATTGACTTTGAGAGTCATTTTCCAATGCTCCTACACACCCCTTCTTCACAATCCCCAACAAATCTGAGGCTGGAACTTGGTACCATAACAATCATTACATTATTTCACCAGAAGTACACCTTGCCTGGAAGATTGGCATTATAGCATCTTCTAACATTGTGAAAGTTAGTGACCAATGAGGAGATCCAAGTCAGTTCCAGTTGGATTTCTCTATACTCTATAAT

[0212]

	AAATATATATGGTGTCTTCAACAATAGGACTTTGCCATCCAGTG ATGCTAAAAATCAATAACAATGGCAATAACCTGCCCTGTTTGGA AAGCCTCTGGCTTCCATGACTAACAATTCAAGGCAGGTCTCCTA TACCTAGTACTGAGATTTTTATTTGATAAACTATATCTTCTGGGA GGAGAAGCATTGT (서열 번호 29)
U7 프로모터	TACTGCCGAATCCAGGTCTCCGGGCTTAACAACAACGAAGGGG CTGTGACTGGCTGCTTTCTCAACCAATCAGCACCGAACTCATTT GCATGGGCTGAGAACAAATGTTCGCGAACTCTAGAAATGAATG ACTTAAGTAAGTTCCTTAGAATATTATTTTTCCTACTGAAAGTTA CCACATGCGTCGTTGTTTATACAGTAATAGGAACAAGAAAAAA GTCACCTAAGCTCACCCTCATCAATTGTGGAGTTCCTTTATATCC CATCTTCTCTCCAAACACATACGCA (서열 번호 39)
U7 snRNA	ggagtCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAG CAGCAGAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc (서열 번호 65)
U7 하류 (종결인자)	CCTCTTATGATGTTTGTTGCCAATGATAGATTGTTTTCACTGTGC AAAAATTATGGGTAGTTTTGGTGGTCTTGATGCAGTTGTAAGCT TGGAG (서열 번호 49)
500bp 버퍼 2	TTGACCACATACGTGCTCTTTCAAAGTTCTGTGTTTGAAGTTATG TTAGTAACAACTGATGCCCATCCTGCAATGACAAATCCAATTCT CAGTGCAGCTCTCTGAAATAGTTTTGCTTTCTCTCTCTAGGTCTG TTCTATACTCCTAACTCTCCAGGAGTTTACAAGGAATAAAATCT CTTCCAAATGCTTTCTGTTGCAACAACTGGACCATACTGAAAGC TGAGGCCCACAATTGCAATCTAGGTTAGCAGGTAATCATTGTTG GTGAGGTCCTCCCTTTCCCCAGGCTCGTGTTTGTATTGGGGAGC AGGAAATTTTTGCTAGAGCAGCACTGCCATCTCTCTACACTCCA CCTGATTGGTGGGATGGACCAGAGAAATGGACATTCCCAACAC AGTCCCTCCTTTCACATCTGCTCACCTGCCCACAGGATACTTTCC ACCATGCATACTGGGCTCTGCACCAACCATTCAGCAGTGATGAA GAGGAAACTTGAAC (서열 번호 30)
U7 프로모터	TACTGCCGAATCCAGGTCTCCGGGCTTAACAACAACGAAGGGG CTGTGACTGGCTGCTTTCTCAACCAATCAGCACCGAACTCATTT GCATGGGCTGAGAACAAATGTTCGCGAACTCTAGAAATGAATG ACTTAAGTAAGTTCCTTAGAATATTATTTTTCCTACTGAAAGTTA CCACATGCGTCGTTGTTTATACAGTAATAGGAACAAGAAAAAA GTCACCTAAGCTCACCCTCATCAATTGTGGAGTTCCTTTATATCC CATCTTCTCTCCAAACACATACGCA (서열 번호 39)
U7 snRNA	ggagtCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAG CAGCAGAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc (서열 번호 65)
U7 하류 (종결인자)	CCTCTTATGATGTTTGTTGCCAATGATAGATTGTTTTCACTGTGC AAAAATTATGGGTAGTTTTGGTGGTCTTGATGCAGTTGTAAGCT TGGAG (서열 번호 49)

[0213]

CMV 프로모터	Cgttacataacttacggtaaatggcccgcctggctgaccgcccaacgacccccgcccattgacgtcaataatgacgtatgttcccatagtaacgccaatagggactttccattgacgtcaatgggtggagtatttacggtaaactgcccacttggcagtacatcaagtgtatcatatgccaagtacgccccctattgacgtcaatgacggtaaatggcccgcctggcattatgcccagtacatgaccttatgggactttcctacttggcagtacatctacgtattagtcatcgctattaccatggtgatgcggttttggcagtacatcaatgggcgtggatagcggtttgactcacggggatttccaagtctccaccccattgacgtcaatgggagtttgttttggcaccaaaatcaacgggactttccaaaatgtcgtaacaactccgccccattgacgcaaatgggcggtaggcgtgtacggtgggaggtctatataagcagagct (서열 번호 62)
eGFP	ATGgtgagcaagggcgaggagctgttcaccggggtggtgcccatcctggtcgagctggacggcgacgtaaacggccacaagttcagcgtgtccggcgagggcgagggcgatgccacctacggcaagctgaccctgaagttcatctgcaccaccggcaagctgcccgtgccctggcccaccctcgtgaccaccctgacctacggcgtgcagtgcttcagccgctaccccgaccacatgaagcagcacgacttcttcaagtccgccatgcccgaaggctacgtccaggagcgcaccatcttcttcaaggacgacggcaactacaagacccgcgccgaggtgaagttcgagggcgacaccctggtgaaccgcatcgagctgaagggcatcgacttcaaggaggacggcaacatcctggggcacaagctggagtacaactacaacagccacaacgtctatatcatggccgacaagcagaagaacggcatcaaggtgaacttcaagatccgccacaacatcgaggacggcagcgtgcagctcgccgaccactaccagcagaacaccccatcggcgacggccccgtgctgctgcccgacaaccactacctgagcacccagtccgccctgagcaaagaccccaacgagaagcgcgatcacatggtcctgctggagttcgtgaccgccgccgggatcactctcggcatggacgagctgtacaagTAA (서열 번호 63)
SV40 폴리A	Aacttgtttattgcagcttataatggttacaaataaagcaatagcatcacaaatttcacaaataaagcatttttttcactgcattctagttgtggtttgtccaaactcatcaatgtatctta (서열 번호 64)
ITR	Aggaacccctagtgatggagttggccactccctctctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgggcgaccaaaggtcgcccgacgcccgggctttgcccgggcggcctcagtgagcgagcgagcgcgcagctgcctgcagg (서열 번호 60)

[0214]

[0215] 본 개시내용의 예시적인 AAV 벡터는 5'에서 3'으로 제1 역위 말단 반복(ITR) 서열, U7 프로모터 서열, 비표적화 U7 esnRNA 서열, U7 하류 종결인자 서열, 버퍼 서열, U7 프로모터 서열, 비표적화 U7 esnRNA 서열, U7 하류 종결인자 서열, 버퍼 서열, U7 프로모터 서열, 비표적화 U7 esnRNA 서열, U7 하류 종결인자 서열, CMV 프로모터 서열, 녹색 형광 단백질(GFP)을 코딩하는 서열, sv40 폴리A 서열, 및 제2 ITR 서열을 포함한다. 일부 측면에서, 비표적화 반복 표적화 snRNA 서열을 코딩하는 AAV 벡터 A02897을 코딩하는 핵산 서열은 서열 번호 133을 포함한다.

A02897 pAAV_3xU7(NT1)_CMV_GFP（500 bp 버퍼）

ITR	Cctgcaggcagctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgcccgggcgtcgggcgacctttggtcgcc cggcctcagtgagcgagcgagcgcgcagagagggagtggccaactccatcactagggggttcct （서열 번호 59)
U7 프로모터	TACTGCCGAATCCAGGTCTCCGGGCTTAACAACAACGAAGGGG CTGTGACTGGCTGCTTTCTCAACCAATCAGCACCGAACTCATTT GCATGGGCTGAGAACAAATGTTCGCGAACTCTAGAAATGAATG ACTTAAGTAAGTTCCTTAGAATATTATTTTTCCTACTGAAAGTT ACCACATGCGTCGTTGTTTATACAGTAATAGGAACAAGAAAAA AGTCACCTAAGCTCACCCTCATCAATTGTGGAGTTCCTTTATAT CCCATCTTCTCTCCAAACACATACGCA （서열 번호 39)
U7 snRNA	ggagtTCACCAGAAGCGTACCATACTCACGAAATTTTTGGAGTAgg ctttctggctccttaccggaaagcc （서열 번호 66)
U7 하류 (종결인자)	CCTCTTATGATGTTTGTTGCCAATGATAGATTGTTTTCACTGTGC AAAAATTATGGGTAGTTTTGGTGGTCTTGATGCAGTTGTAAGCT TGGAG （서열 번호 49)
500bp 버퍼 1	CAAACTACAGAGCCAAGTGCTATCCACAGAGAGCTTTCTGGGT TGCCATCTCAAGCAGACTACAAGGCCATCAGCTCATACTCACA ATTGACTTTGAGAGTCATTTTCCAATGCTCCTACACACCCCTTC TTCACAATCCCCAACAAATCTGAGGCTGGAACTTGGTACCATA ACAATCATTACATTATTTCACCAGAAGTACACCTTGCCTGGAAG ATTGGCATTATAGCATCTTCTAACATTGTGAAAGTTAGTGACCA ATGAGGAGATCCAAGTCAGTTCCAGTTGGATTTCTCTATACTCT ATAATAAATATATATGGTGTCTTCAACAATAGGACTTTGCCATC CAGTGATGCTAAAAATCAATAACAATGGCAATAACCTGCCCTG TTTGGAAAGCCTCTGGCTTCCATGACTAACAATTCAAGGCAGG TCTCCTATACCTAGTACTGAGATTTTTATTTGATAAACTATATCT TCTGGGAGGAGAAGCATTGT （서열 번호 29)
U7 프로모터	TACTGCCGAATCCAGGTCTCCGGGCTTAACAACAACGAAGGGG CTGTGACTGGCTGCTTTCTCAACCAATCAGCACCGAACTCATTT GCATGGGCTGAGAACAAATGTTCGCGAACTCTAGAAATGAATG ACTTAAGTAAGTTCCTTAGAATATTATTTTTCCTACTGAAAGTT ACCACATGCGTCGTTGTTTATACAGTAATAGGAACAAGAAAAA AGTCACCTAAGCTCACCCTCATCAATTGTGGAGTTCCTTTATAT CCCATCTTCTCTCCAAACACATACGCA （서열 번호 39)
U7 snRNA	ggagtTCACCAGAAGCGTACCATACTCACGAAATTTTTGGAGTAgg ctttctggctccttaccggaaagcc （서열 번호 66)
U7 하류 (종결인자)	CCTCTTATGATGTTTGTTGCCAATGATAGATTGTTTTCACTGTGC AAAAATTATGGGTAGTTTTGGTGGTCTTGATGCAGTTGTAAGCT TGGAG （서열 번호 49)
500bp 버퍼 2	TTGACCACATACGTGCTCTTTCAAAGTTCTGTGTTTGAAGTTAT GTTAGTAACAACTGATGCCCATCCTGCAATGACAAATCCAATT CTCAGTGCAGCTCTCTGAAATAGTTTTGCTTTCTCTCTCTAGGTC TGTTCTATACTCCTAACTCTCCAGGAGTTTACAAGGAATAAAAT CTCTTCCAAATGCTTTCTGTTGCAACAACTGGACCATACTGAAA GCTGAGGCCCACAATTGCAATCTAGGTTAGCAGGTAATCATTG TTGGTGAGGTCCTCCCTTTCCCCAGGCTCGTGTTTGTATTGGGG AGCAGGAAATTTTTGCTAGAGCAGCACTGCCATCTCTCTACACT CCACCTGATTGGTGGGATGGACCAGAGAAATGGACATTCCCAA CACAGTCCCTCCTTTCACATCTGCTCACCTGCCCACAGGATACT TTCCACCATGCATACTGGGCTCTGCACCAACCATTCAGCAGTGA TGAAGAGGAAACTTGAAC （서열 번호 30)
U7 프로모터	TACTGCCGAATCCAGGTCTCCGGGCTTAACAACAACGAAGGGG CTGTGACTGGCTGCTTTCTCAACCAATCAGCACCGAACTCATTT GCATGGGCTGAGAACAAATGTTCGCGAACTCTAGAAATGAATG ACTTAAGTAAGTTCCTTAGAATATTATTTTTCCTACTGAAAGTT

[0216]

	ACCACATGCGTCGTTGTTTATACAGTAATAGGAACAAGAAAAA AGTCACCTAAGCTCACCCTCATCAATTGTGGAGTTCCTTTATAT CCCATCTTCTCTCCAAACACATACGCA (서열 번호 39)
U7 snRNA	ggagtTCACCAGAAGCGTACCATACTCACGAAATTTTTGGAGTAgg ctttctggctccttaccggaaagcc (서열 번호: 66)
U7 하류 (종결인자)	CCTCTTATGATGTTTGTTGCCAATGATAGATTGTTTTCACTGTGC AAAAATTATGGGTAGTTTTGGTGGTCTTGATGCAGTTGTAAGCT TGGAG (서열 번호 49)
CMV 프로모터	Cgttacataacttacggtaaatggcccgcctggctgaccgcccaacgacccccgcccattgacgtcaat aatgacgtatgttcccatagtaacgccaatagggactttccattgacgtcaatgggtggagtatttacggta aactgcccacttggcagtacatcaagtgtatcatatgccaagtacgcccccctattgacgtcaatgacggta aatggcccgcctggcattatgcccagtacatgaccttatgggactttcctacttggcagtacatctacgtatt agtcatcgctattaccatggtgatgcggttttggcagtacatcaatgggcgtggatagcggtttgactcacg gggatttccaagtctccaccccattgacgtcaatgggagtttgttttggcaccaaaatcaacgggactttcc aaaatgtcgtaacaactccgccccattgacgcaaatgggcggtaggcgtgtacggtgggaggtctatata agcagagct (서열 번호 62)
eGFP	ATGgtgagcaagggcgaggagctgttcaccggggtggtgcccatcctggtcgagctggacggcga cgtaaacggccacaagttcagcgtgtccggcgagggcgagggcgatgccacctacggcaagctgacc ctgaagttcatctgcaccaccggcaagctgcccgtgccctggcccaccctcgtgaccaccctgacctac ggcgtgcagtgcttcagccgctaccccgaccacatgaagcagcacgacttcttcaagtccgccatgccc gaaggctacgtccaggagcgcaccatcttcttcaaggacgacggcaactacaagacccgcgccgaggt gaagttcgagggcgacaccctggtgaaccgcatcgagctgaagggcatcgacttcaaggaggacggc aacatcctggggcacaagctggagtacaactacaacagccacaacgtctatatcatggccgacaagcag aagaacggcatcaaggtgaacttcaagatccgccacaacatcgaggacggcagcgtgcagctcgccg accactaccagcagaacaccccatcggcgacggccccgtgctgctgcccgacaaccactacctgagc acccagtccgccctgagcaaagaccccaacgagaagcgcgatcacatggtcctgctggagttcgtgac cgccgccgggatcactctcggcatggacgagctgtacaagTAA (서열 번호 63)
SV40 폴리A	Aacttgtttattgcagcttataatggttacaaataaagcaatagcatcacaaatttcacaaataaagcatttttt tcactgcattctagttgtggtttgtccaaactcatcaatgtatctta (서열 번호 64)
ITR	Aggaacccctagtgatggagttggccactccctctctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgggcga ccaaaggtcgcccgacgcccgggctttgcccgggcggcctcagtgagcgagcgagcgcgcagctgc ctgcagg (서열 번호 60)

[0217]

[0218] 본 개시내용의 예시적인 AAV 벡터는 5'에서 3'으로 제1 역위 말단 반복(ITR) 서열, U7 프로모터 서열, CAG 반복 표적화 U7 esnRNA 서열, U7 하류 종결인자 서열, 버퍼 서열, U7 프로모터 서열, CAG 반복 표적화 U7 esnRNA 서열, U7 하류 종결인자 서열, 버퍼 서열, U7 프로모터 서열, CAG 반복 표적화 U7 esnRNA 서열, U7 하류 종결인자 서열, CMV 프로모터 서열, 녹색 형광 단백질(GFP)을 코딩하는 서열, sv40 폴리A 서열, 및 제2 ITR 서열을 포함한다. 일부 측면에서, CAG 반복 표적화 반복 표적화 snRNA 서열을 코딩하는 AAV 벡터 A02969를 코딩하는 핵산 서열은 서열 번호 134를 포함한다.

A02969 CAG 반복부를 표적화하는 pAAV_3xU7(15xCAG)_CMV_GFP (500 bp 버퍼)

ITR	Cctgcaggcagctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgcccgggcgtcgggcgacctttggtcgccc ggcctcagtgagcgagcgagcgcgcagagagggagtggccaactccatcactagggg ttcct (서열 번호 59)
U7 프로모터	TACTGCCGAATCCAGGTCTCCGGGCTTAACAACAACGAAGGGG CTGTGACTGGCTGCTTTCTCAACCAATCAGCACCGAACTCATTT GCATGGGCTGAGAACAAATGTTCGCGAACTCTAGAAATGAATG ACTTAAGTAAGTTCCTTAGAATATTATTTTTCCTACTGAAAGTTA CCACATGCGTCGTTGTTTATACAGTAATAGGAACAAGAAAAAA GTCACCTAAGCTCACCCTCATCAATTGTGGAGTTCCTTTATATCC CATCTTCTCTCCAAACACATACGCA (서열 번호 39)
U7 snRNA	ggagtCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTG CTGAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc (서열 번호 67)
U7 하류 (종결인자)	CCTCTTATGATGTTTGTTGCCAATGATAGATTGTTTTCACTGTGC AAAAATTATGGGTAGTTTTGGTGGTCTTGATGCAGTTGTAAGCT TGGAG (서열 번호 49)
500bp 버퍼 1	CAAACTACAGAGCCAAGTGCTATCCACAGAGAGCTTTCTGGGTT GCCATCTCAAGCAGACTACAAGGCCATCAGCTCATACTCACAAT TGACTTTGAGAGTCATTTTCCAATGCTCCTACACACCCCTTCTTC ACAATCCCCAACAAATCTGAGGCTGGAACTTGGTACCATAACAA TCATTACATTATTTCACCAGAAGTACACCTTGCCTGGAAGATTG GCATTATAGCATCTTCTAACATTGTGAAAGTTAGTGACCAATGA GGAGATCCAAGTCAGTTCCAGTTGGATTTCTCTATACTCTATAAT AAATATATATGGTGTCTTCAACAATAGGACTTTGCCATCCAGTG ATGCTAAAAATCAATAACAATGGCAATAACCTGCCCTGTTTGGA AAGCCTCTGGCTTCCATGACTAACAATTCAAGGCAGGTCTCCTA TACCTAGTACTGAGATTTTTATTTGATAAACTATATCTTCTGGGA GGAGAAGCATTGT (서열 번호 29)
U7 프로모터	TACTGCCGAATCCAGGTCTCCGGGCTTAACAACAACGAAGGGG CTGTGACTGGCTGCTTTCTCAACCAATCAGCACCGAACTCATTT GCATGGGCTGAGAACAAATGTTCGCGAACTCTAGAAATGAATG ACTTAAGTAAGTTCCTTAGAATATTATTTTTCCTACTGAAAGTTA CCACATGCGTCGTTGTTTATACAGTAATAGGAACAAGAAAAAA GTCACCTAAGCTCACCCTCATCAATTGTGGAGTTCCTTTATATCC CATCTTCTCTCCAAACACATACGCA (서열 번호 39)
U7 snRNA	ggagtCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTG CTGAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc (서열 번호 67)
U7 하류 (종결인자)	CCTCTTATGATGTTTGTTGCCAATGATAGATTGTTTTCACTGTGC AAAAATTATGGGTAGTTTTGGTGGTCTTGATGCAGTTGTAAGCT TGGAG (서열 번호 49)
500bp 버퍼 2	TTGACCACATACGTGCTCTTTCAAAGTTCTGTGTTTGAAGTTATG TTAGTAACAACTGATGCCCATCCTGCAATGACAAATCCAATTCT CAGTGCAGCTCTCTGAAATAGTTTTGCTTTCTCTCTCTAGGTCTG TTCTATACTCCTAACTCTCCAGGAGTTTACAAGGAATAAAATCT CTTCCAAATGCTTTCTGTTGCAACAACTGGACCATACTGAAAGC TGAGGCCCACAATTGCAATCTAGGTTAGCAGGTAATCATTGTTG GTGAGGTCCTCCCTTTCCCCAGGCTCGTGTTTGTATTGGGGAGC AGGAAATTTTTGCTAGAGCAGCACTGCCATCTCTCTACACTCCA

[0219]

	CCTGATTGGTGGGATGGACCAGAGAAATGGACATTCCCAACAC AGTCCCTCCTTTCACATCTGCTCACCTGCCCACAGGATACTTTCC ACCATGCATACTGGGCTCTGCACCAACCATTCAGCAGTGATGAA GAGGAAACTTGAAC (서열 번호 30)
U7 프로모터	TACTGCCGAATCCAGGTCTCCGGGCTTAACAACAACGAAGGGG CTGTGACTGGCTGCTTTCTCAACCAATCAGCACCGAACTCATTT GCATGGGCTGAGAACAAATGTTCGCGAACTCTAGAAATGAATG ACTTAAGTAAGTTCCTTAGAATATTATTTTTCCTACTGAAAGTTA CCACATGCGTCGTTGTTTATACAGTAATAGGAACAAGAAAAAA GTCACCTAAGCTCACCCTCATCAATTGTGGAGTTCCTTTATATCC CATCTTCTCTCCAAACACATACGCA (서열 번호 39)
U7 snRNA	ggagtCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTG CTGAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc (서열 번호 67)
U7 하류 (종결인자)	CCTCTTATGATGTTTGTTGCCAATGATAGATTGTTTTCACTGTGC AAAAATTATGGGTAGTTTTGGTGGTCTTGATGCAGTTGTAAGCT TGGAG (서열 번호 49)
CMV 프로모터	Cgttacataacttacggtaaatggcccgcctggctgaccgcccaacgacccccgcccattgacgtcaata atgacgtatgttcccatagtaacgccaatagggactttccattgacgtcaatgggtggagtatttacggtaaa ctgcccacttggcagtacatcaagtgtatcatatgccaagtacgcccccctattgacgtcaatgacggtaaat ggcccgcctggcattatgcccagtacatgaccttatgggactttcctacttggcagtacatctacgtattagtc atcgctattaccatggtgatgcggttttggcagtacatcaatgggcgtggatagcggtttgactcacggggga tttccaagtctccaccccattgacgtcaatgggagtttgttttggcaccaaaatcaacgggactttccaaaatg tcgtaacaactccgccccattgacgcaaatgggcggtaggcgtgtacggtgggaggtctatataagcaga gct (서열 번호 62)
eGFP	ATGgtgagcaagggcgaggagctgttcaccggggtggtgcccatcctggtcgagctggacggcgac gtaaacggccacaagttcagcgtgtccggcgagggcgagggcgatgccacctacggcaagctgaccct gaagttcatctgcaccaccggcaagctgcccgtgccctggcccaccctcgtgaccaccctgacctacggc gtgcagtgcttcagccgctaccccgaccacatgaagcagcacgacttcttcaagtccgccatgcccgaag gctacgtccaggagcgcaccatcttcttcaaggacgacggcaactacaagacccgcgccgaggtgaagt tcgagggcgacaccctggtgaaccgcatcgagctgaagggcatcgacttcaaggaggacggcaacatc ctggggcacaagctggagtacaactacaacagccacaacgtctatatcatggccgacaagcagaagaac ggcatcaaggtgaacttcaagatccgccacaacatcgaggacggcagcgtgcagctcgccgaccactac cagcagaacaccccatcggcgacggccccgtgctgctgcccgacaaccactacctgagcacccagtc cgccctgagcaaagaccccaacgagaagcgcgatcacatggtcctgctggagttcgtgaccgccgccg ggatcactctcggcatggacgagctgtacaagTAA (서열 번호 63)
SV40 폴리A	Aacttgtttattgcagcttataatggttacaaataaagcaatagcatcacaaatttcacaaataaagcatttttttt cactgcattctagttgtggtttgtccaaactcatcaatgtatctta (서열 번호 64)
ITR	Aggaacccctagtgatggagttggccactccctctctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgggcgac caaaggtcgcccgacgcccgggctttgcccgggcggcctcagtgagcgagcgagcgcgcagctgcct gcagg (서열 번호 60)

[0220]

[0221] 본 개시내용의 예시적인 AAV 벡터는 5'에서 3'으로 제1 역위 말단 반복(ITR) 서열, U7 프로모터 서열, DMD 엑손 51 표적화 U7 esnRNA 서열, U7 하류 종결인자 서열, U1 프로모터 서열, DMD 엑손 51 표적화 U7 esnRNA 서열, U1 하류 종결인자 서열, 및 제2 ITR 서열을 포함한다. 일부 측면에서, DMD 엑손 51 표적화 snRNA 서열을 코딩하는 AAV 벡터 A03980을 코딩하는 핵산 서열은 서열 번호 135를 포함한다.

A03980: pAAV(ssAAV) U7프로모터-esnRNA-z38/42-U7 종결-U1프로모터-esnRNAz38/z42-U1 종결

ITR	cctgcaggcagctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgcccgggcgtcgggcgacctttggtcgcccggcc tcagtgagcgagcgagcgcgcagagagggagtggccaactccatcactaggggttcct (서열 번호 59)
U7 프로모터	TACTGCCGAATCCAGGTCTCCGGGCTTAACAACAACGAAGGGGCTG TGACTGGCTGCTTTCTCAACCAATCAGCACCGAACTCATTTGCATGG GCTGAGAACAAATGTTCGCGAACTCTAGAAATGAATGACTTAAGTA AGTTCCTTAGAATATTATTTTTCCTACTGAAAGTTACCACATGCGTC GTTGTTTATACAGTAATAGGAACAAGAAAAAAGTCACCTAAGCTCA CCCTCATCAATTGTGGAGTTCCTTTATATCCCATCTTCTCTCCAAAC ACATACGCA (서열 번호 39)
z38/42 esnRNA (DMD 엑손 51)	ggagtTACCTCCAACATCAAGGAAGATGGCAGTAACCACAGGTTGTGT CACCAGAGTAACAAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc (서열 번호 68)
U7 종결	CCTCTTATGATGTTTGTTGCCAATGATAGATTGTTTTCACTGTGCAA AAATTATGGGTAGTTTTGGTGGTCTTGATGCAGTTGTAAGCTTGGAG (서열 번호 49)
U1 프로모터	TAAGGACCAGCTTCTTTGGGAGAGAACAGACGCAGGGGCGGGAGG GAAAAAGGGAGAGGCAGACGTCACTTCCCCTTGGCGGCTCTGGCAG CAGATTGGTCGGTTGAGTGGCAGAAAGGCAGACGGGGACTGGGCA AGGCACTGTCGGTGACATCACGGACAGGGCGACTTCTATGTAGATG AGGCAGCGCAGAGGCTGACGTCTTCGCCACTTGCTGCTTCACCACG AAGGAGTTCCCGTGCCCTGGGAGCGGGTTCAGGACCGCTGATCGGA AGTGAGAATCCCAGCTGTGTGTCAGGGCTGGAAAGGGCTCGGGAGT GCGCGGGGCAAGTGACCGTGTGTGTAAAGAGTGAGGCGTATGAGG CTGTGTCGGGGCAGAGGCacaacgtttc (서열 번호 40)
z38/42 esnRNA (DMD 엑손 51)	ggagtTACCTCCAACATCAAGGAAGATGGCAGTAACCACAGGTTGTGT CACCAGAGTAACAAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc (서열 번호 68)
U1 종결	ACTTTCTGGAGTTTCAAAAACAGACTGTACGCCAAGGGTCATATCTT TTT (서열 번호 50)
ITR	aggaacccctagtgatggagttggccactccctctctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgggcgaccaaa ggtcgcccgacgcccgggctttgcccgggcggcctcagtgagcgagcgagcgcgcagctgcctgcagg (서열 번호 60)

[0222]

[0223] 본 개시내용의 예시적인 AAV 벡터는 5'에서 3'으로 제1 역위 말단 반복(ITR) 서열, U7 프로모터 서열, DMD 엑손 51 표적화 U7 esnRNA 서열, U7 하류 종결인자 서열, U1 프로모터 서열, DMD 엑손 51 표적화 U7 esnRNA 서열, U1 하류 종결인자 서열, 및 제2 ITR 서열을 포함한다. 일부 측면에서, DMD 엑손 51 표적화 snRNA 서열을 코딩하는 AAV 벡터 A03981을 코딩하는 핵산 서열은 서열 번호 136을 포함한다.

A03981: pAAV(ssAAV)_U7프로모터-esnRNA-z42-U7종결-U1프로모터-esnRNA-z38-U1 종결

ITR	cctgcaggcagctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgcccgggcgtcgggcgacctttggtcgcccggcctcagtgagcgagcgagcgcgcagagagggagtggccaactccatcactagggggttcct (서열 번호 59)
U7 프로모터	TACTGCCGAATCCAGGTCTCCGGGCTTAACAACAACGAAGGGGCTGTGACTGGCTGCTTTCTCAACCAATCAGCACCGAACTCATTTGCATGGGCTGAGAACAAATGTTCGCGAACTCTAGAAATGAATGACTTAAGTAAGTTCCTTAGAATATTATTTTTCCTACTGAAAGTTACCACATGCGTCGTTGTTTATACAGTAATAGGAACAAGAAAAAAGTCACCTAAGCTCACCCTCATCAATTGTGGAGTTCCTTTATATCCCATCTTCTCTCCAAACACATACGCA (서열 번호 39)
z42 esnRNA (DMD 엑손 51)	ggagtGTAACCACAGGTTGTGTCACCAGAGTAACAAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc (서열 번호 69)
U7 종결	CCTCTTATGATGTTTGTTGCCAATGATAGATTGTTTTCACTGTGCAAAAATTATGGGTAGTTTTGGTGGTCTTGATGCAGTTGTAAGCTTGGAG (서열 번호 49)
U1 프로모터	TAAGGACCAGCTTCTTTGGGAGAGAACAGACGCAGGGGCGGGAGGGAAAAAGGGAGAGGCAGACGTCACTTCCCCTTGGCGGCTCTGGCAGCAGATTGGTCGGTTGAGTGGCAGAAAGGCAGACGGGGACTGGGCAAGGCACTGTCGGTGACATCACGGACAGGGCGACTTCTATGTAGATGAGGCAGCGCAGAGGCTGACGTCTTCGCCACTTGCTGCTTCACCACGAAGGAGTTCCCGTGCCCTGGGAGCGGGTTCAGGACCGCTGATCGGAAGTGAGAATCCCAGCTGTGTGTCAGGGCTGGAAAGGGCTCGGGAGTGCGCGGGGCAAGTGACCGTGTGTGTAAAGAGTGAGGCGTATGAGGCTGTGTCGGGGCAGAGGCacaacgtttc (서열 번호 40)
z38 esnRNA (DMD 엑손 51)	ggagtTACCTCCAACATCAAGGAAGATGGCAAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc (서열 번호 70)
U1 종결	ACTTTCTGGAGTTTCAAAAACAGACTGTACGCCAAGGGTCATATCTTTTTT (서열 번호 50)
ITR	aggaacccctagtgatggagttggccactccctctctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgggcgaccaaaggtcgcccgacgcccgggctttgcccgggcggcctcagtgagcgagcgagcgcgcagctgcctgcagg (서열 번호 60)

[0224]

[0225] 본 개시내용의 예시적인 AAV 벡터는 5'에서 3'으로 제1 역위 말단 반복(ITR) 서열, U7 프로모터 서열, DMD 엑손 51 표적화 U7 esnRNA 서열, U7 하류 종결인자 서열, U1 프로모터 서열, DMD 엑손 51 표적화 U7 esnRNA 서열, U1 하류 종결인자 서열, 및 제2 ITR 서열을 포함한다. 일부 측면에서, DMD 엑손 51 표적화 snRNA 서열을 코딩하는 AAV 벡터 A04229를 코딩하는 핵산 서열은 서열 번호 137을 포함한다.

A04229: pAAV(scAAV) U7프로모터-esnRNA-z38/42-U7 종결-U1프로모터-esnRNAz38/z42-U1 종결-mut ITR

ITR	cctgcaggcagctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgcccgggcgtcgggcgacctttggtcgcccggc ctcagtgagcgagcgagcgcgcagagagggagtggccaactccatcactagggggttcct (서열 번호 59)
U7 프로모터	TACTGCCGAATCCAGGTCTCCGGGCTTAACAACAACGAAGGGGCT GTGACTGGCTGCTTTCTCAACCAATCAGCACCGAACTCATTTGCAT GGGCTGAGAACAAATGTTCGCGAACTCTAGAAATGAATGACTTAA GTAAGTTCCTTAGAATATTATTTTTCCTACTGAAAGTTACCACATGC GTCGTTGTTTATACAGTAATAGGAACAAGAAAAAAGTCACCTAAG CTCACCCTCATCAATTGTGGAGTTCCTTTATATCCCATCTTCTCTCC AAACACATACGCA (서열 번호 39)
z38/42 esnRNA (DMD 엑손 51)	ggagtTACCTCCAACATCAAGGAAGATGGCAGTAACCACAGGTTGTG TCACCAGAGTAACAAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc (서열 번호 68)
U7 종결	CCTCTTATGATGTTTGTTGCCAATGATAGATTGTTTTCACTGTGCAA AAATTATGGGTAGTTTTGGTGGTCTTGATGCAGTTGTAAGCTTGGA G (서열 번호 49)
U1 프로모터	TAAGGACCAGCTTCTTTGGGAGAGAACAGACGCAGGGGCGGGAGG GAAAAAGGGAGAGGCAGACGTCACTTCCCCTTGGCGGCTCTGGCA GCAGATTGGTCGGTTGAGTGGCAGAAAGGCAGACGGGGACTGGGC AAGGCACTGTCGGTGACATCACGGACAGGGCGACTTCTATGTAGA TGAGGCAGCGCAGAGGCTGACGTCTTCGCCACTTGCTGCTTCACCA CGAAGGAGTTCCCGTGCCCTGGGAGCGGGTTCAGGACCGCTGATC GGAAGTGAGAATCCCAGCTGTGTGTCAGGGCTGGAAAGGGCTCGG GAGTGCGCGGGGCAAGTGACCGTGTGTGTAAAGAGTGAGGCGTAT GAGGCTGTGTCGGGGCAGAGGCacaacgtttc (서열 번호 40)
z38/42 esnRNA (DMD 엑손 51)	ggagtTACCTCCAACATCAAGGAAGATGGCAGTAACCACAGGTTGTG TCACCAGAGTAACAAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc (서열 번호 68)
U1 종결	ACTTTCTGGAGTTTCAAAAACAGACTGTACGCCAAGGGTCATATCT TTTT (서열 번호 50)
mITR	CCACTCCCTCTCTGCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGGCCGGGCGACC AAAGGTCGCCCGACGCCCGGGCTTTGCCCGGGCGGCCTCAGTGAG CGAGCGAGCGCGCAGAGAGGGA (서열 번호 61)

[0226]

[0227] 본 개시내용의 예시적인 AAV 벡터는 5'에서 3'으로 제1 역위 말단 반복(ITR) 서열, U7 프로모터 서열, DMD 엑손 51 표적화 U7 esnRNA 서열, U7 하류 종결인자 서열, 버퍼 서열, U1 프로모터 서열, DMD 엑손 51 표적화 U7 esnRNA 서열, U1 하류 종결인자 서열, 버퍼 서열, 및 제2 ITR 서열을 포함한다. 일부 측면에서, DMD 엑손 51 표적화 snRNA 서열을 코딩하는 AAV 벡터 A04184를 코딩하는 핵산 서열은 서열 번호 138을 포함한다.

A04184: pAAV(ssAAV)-U7프로모터-z38/42-U7term_U1프로모터-z38/42-U1term_버퍼 조합서열

ITR	cctgcaggcagctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgcccgggcgtcgggcgacctttggtcgcccggcctcagtgagcgagcgagcgcgcagagagggagtggccaactccatcactagggggttcct (서열 번호 59)
U7 프로모터	TACTGCCGAATCCAGGTCTCCGGGCTTAACAACAACGAAGGGGCTGTGACTGGCTGCTTTCTCAACCAATCAGCACCGAACTCATTTGCATGGGCTGAGAACAAATGTTCGCGAACTCTAGAAATGAATGACTTAAGTAAGTTCCTTAGAATATTATTTTTCCTACTGAAAGTTACCACATGCGTCGTTGTTTATACAGTAATAGGAACAAGAAAAAAGTCACCTAAGCTCACCCTCATCAATTGTGGAGTTCCTTTATATCCCATCTTCTCTCCAAACACATACGCA (서열 번호 39)
z38/42 esnRNA (DMD 엑손 51)	ggagtTACCTCCAACATCAAGGAAGATGGCAGTAACCACAGGTTGTGTCACCAGAGTAACAAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc (서열 번호 68)
U7 종결	CCTCTTATGATGTTTGTTGCCAATGATAGATTGTTTTCACTGTGCAAAAATTATGGGTAGTTTTGGTGGTCTTGATGCAGTTGTAAGCTTGGAG (서열 번호 49)
U1 프로모터	TAAGGACCAGCTTCTTTGGGAGAGAACAGACGCAGGGGCGGGAGGGAAAAAGGGAGAGGCAGACGTCACTTCCCCTTGGCGGCTCTGGCAGCAGATTGGTCGGTTGAGTGGCAGAAAGGCAGACGGGGACTGGGCAAGGCACTGTCGGTGACATCACGGACAGGGCGACTTCTATGTAGATGAGGCAGCGCAGAGGCTGACGTCTTCGCCACTTGCTGCTTCACCACGAAGGAGTTCCCGTGCCCTGGGAGCGGGTTCAGGACCGCTGATCGGAAGTGAGAATCCCAGCTGTGTGTCAGGGCTGGAAAGGGCTCGGGAGTGCGCGGGGCAAGTGACCGTGTGTGTAAAGAGTGAGGCGTATGAGGCTGTGTCGGGGCAGAGGCacaacgtttc (서열 번호 40)
z38/42 esnRNA (DMD 엑손 51)	ggagtTACCTCCAACATCAAGGAAGATGGCAGTAACCACAGGTTGTGTCACCAGAGTAACAAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc (서열 번호 68)
U1 종결	ACTTTCTGGAGTTTCAAAAACAGACTGTACGCCAAGGGTCATATCTTTTT (서열 번호 50)
버퍼 조합 서열	CAAACTACAGAGCCAAGTGCTATCCACAGAGAGCTTTCTGGGTTGCCATCTCAAGCAGACTACAAGGCCATCAGCTCATACTCACAATTGACTTTGAGAGTCATTTTCCAATGCTCCTACACACCCCTTCTTCACAATCCCCAACAAATCTGAGGCTGGAACTTGGTACCATAACAATCATTACATTATTTCACCAGAAGTACACCTTGCCTGGAAGATTGGCATTATAGCATCTTCTAACATTGTGAAAGTTAGTGACCAATGAGGAGATCCAAGTCAGTTCCAGTTGGATTTCTCTATACTCTATAATAAATATATATGGTGTCTTCAACAATAGGACTTTGCCATCCAGTGATGCTAAAAATCAATAACAATGGCAATAACCTGCCCTGTTTGGAAAGCCTCTGGCTTCCATGACTAACAATTCAAGGCAGGTCTCCTATACCTAGTACTGAGATTTTTATTTGATAAACTATATCTTCTGGGAGGAGAAGCATTGTTTGACCACATACGTGCTCTTTCAAAGTTCTGTGTTTGAAGTTATGTTAGTAACAACTGATGCCCATCCTGCAATGACAAATCCAATTCTCAGTGCAGCTCTCTGAAATAGTTTTGCTTTCTCTCTCTAGGTCTGTTCTATACTCCTAACTCTCCAGGAGTTTACAAGGAATAAAATCTCTTCCAAATGCTTTCTGTTGCAACAACTGGACCATACTGAAAGCTGAGGCCCACAATTGCAATCTAGGTTAGCAGGTAATCATTGTTGGTGAGGTCCTCCCTTTCCCCAGG

[0228]

	CTCGTGTTTGTATTGGGGAGCAGGAAATTTTTGCTAGAGCAGCA CTGCCATCTCTCTACACTCCACCTGATTGGTGGGATGGACCAGA GAAATGGACATTCCCAACACAGTCCCTCCTTTCACATCTGCTCA CCTGCCCACAGGATACTTTCCACCATGCATACTGGGCTCTGCAC CAACCATTCAGCAGTGATGAAGAGGAAACTTGAACCCATGCAG AGTACCTCTAGAGAAAAGTTTCTAAAGTTGGTTTTGCCTTGCTT AGAAAGGAGGTCAAAGGTGAAGCCTAGGAGAAACATTCAGCA ATGTTGCACAAAGACATGAGAATAAATGATTTTAGCATCCTGA AATGAAGAGCATAGTGATCTCACCATAGCTACCCACCTACCCA GAGAACTTCCAGGCTTTCACTGTCTCTTTTCTGAATCACCCACA TTACAGAATATCAGTCATTGTGTAATTAGATAACAGATTGTGAG GTGCCCAAACAGAAACAAACTTTACAGGAGGAGAGAGAAAAT CAAGGTGATGACTATGGAGAACAAAATGAGAAGGAGAGGTGG AGTTCCTGCTGCATGAACACCTATCCTGCTATAGAGCCCATTTC TTCCATAAATAATACAACTCTGTAACTCCATAGGTCAGAAAGA AACAGTGTTCTGTGTCTTCCCATCTAGCACCACAAACCCCCACA AGATTAATTTGTTTCTAGGGACCCTTAAATCTCTATCAAAATTC TGGAAACCTCTACTTTAGAAAATCTTATATTTATTATTCAGGCT ACTTTCCAGAGTGATAAGCTACTGAGTCTCCTAAGTGTCATCTA TGGTACACAGGGATAAGATCAGGAATAAACCTGGG (서열 번호 144)
ITR	aggaacccctagtgatggagttggccactccctctctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgggcgac caaaggtcgcccgacgcccgggctttgcccgggcggcctcagtgagcgagcgagcgcgcagctgcct gcagg (서열 번호 60)

[0229]

[0230] 본 개시내용의 예시적인 AAV 벡터는 5'에서 3'으로 제1 역위 말단 반복(ITR) 서열, U7 프로모터 서열, CUG 반복 표적화 U7 esnRNA 서열, U7 하류 종결인자 서열, 버퍼 서열, U1 프로모터 서열, CUG 반복 표적화 U7 esnRNA 서열, U1 하류 종결인자 서열, eCMV 프로모터 서열, GFP를 코딩하는 서열, 폴리A 서열, 및 제2 ITR 서열을 포함한다. 일부 측면에서, CUG 반복 표적화 snRNA 서열을 코딩하는 AAV 벡터 A03681을 코딩하는 핵산 서열은 서열 번호 139를 포함한다.

A03681: pAAV(ssAAV)-U7 프로모터-zCUGx15-U7 term_U1 프로모터-zCUGx15-U1 term-eCMV-eGFP

ITR	cctgcaggcagctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgcccgggcgtcgggcgacctttggtcgcccggcct cagtgagcgagcgagcgcgcagagagggagtggccaactccatcactaggggttcct (서열 번호 59)
U7 프로모터	TACTGCCGAATCCAGGTCTCCGGGCTTAACAACAACGAAGGGGCTG TGACTGGCTGCTTTCTCAACCAATCAGCACCGAACTCATTTGCATGG GCTGAGAACAAATGTTCGCGAACTCTAGAAATGAATGACTTAAGTA AGTTCCTTAGAATATTATTTTTCCTACTGAAAGTTACCACATGCGTCG TTGTTTATACAGTAATAGGAACAAGAAAAAAGTCACCTAAGCTCAC CCTCATCAATTGTGGAGTTCCTTTATATCCCATCTTCTCTCCAAACAC ATACGCA (서열 번호 39)
zCUGx15 esnRNA	ggagtCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAG CAGAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc (서열 번호 65)
U7 종결	CCTCTTATGATGTTTGTTGCCAATGATAGATTGTTTTCACTGTGCAAA AATTATGGGTAGTTTTGGTGGTCTTGATGCAGTTGTAAGCTTGGAG ((서열 번호 49)
U1 프로모터	TAAGGACCAGCTTCTTTGGGAGAGAACAGACGCAGGGGCGGGAGGG AAAAAGGGAGAGGCAGACGTCACTTCCCCTTGGCGGCTCTGGCAGC AGATTGGTCGGTTGAGTGGCAGAAAGGCAGACGGGGACTGGGCAAG GCACTGTCGGTGACATCACGGACAGGGCGACTTCTATGTAGATGAG GCAGCGCAGAGGCTGACGTCTTCGCCACTTGCTGCTTCACCACGAAG GAGTTCCCGTGCCCTGGGAGCGGGTTCAGGACCGCTGATCGGAAGT GAGAATCCCAGCTGTGTGTCAGGGCTGGAAAGGGCTCGGGAGTGCG CGGGGCAAGTGACCGTGTGTGTAAAGAGTGAGGCGTATGAGGCTGT GTCGGGGCAGAGGCacaacgtttc (서열 번호 40)
zCUGx15 esnRNA	ggagtCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAG CAGAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc (서열 번호 65)
U1 종결	ACTTTCTGGAGTTTCAAAAACAGACTGTACGCCAAGGGTCATATCTT TTT (서열 번호 50)
eCMV 프로모터	cgttacataacttacggtaaatggcccgcctggctgaccgcccaacgacccccgcccattgacgtcaataatgac gtatgttcccatagtaacgccaatagggactttccattgacgtcaatgggtggagtatttacggtaaactgcccactt ggcagtacatcaagtgtatcatatgccaagtacgccccctattgacgtcaatgacggtaaatggcccgcctggcatt atgcccagtacatgaccttatgggactttcctacttggcagtacatctacgtattagtcatcgctattaccatg (서열 번호 62)
eGFP	ATGgtgagcaagggcgaggagctgttcaccggggtggtgcccatcctggtcgagctggacggcgacgtaaa cggccacaagttcagcgtgtccggcgagggcgagggcgatgccacctacggcaagctgaccctgaagttcatct gcaccaccggcaagctgcccgtgccctggcccaccctcgtgaccaccctgacctacggcgtgcagtgcttcagc cgctaccccgaccacatgaagcagcacgacttcttcaagtccgccatgcccgaaggctacgtccaggagcgcac catcttcttcaaggacgacggcaactacaagacccgcgccgaggtgaagttcgagggcgacaccctggtgaacc gcatcgagctgaagggcatcgacttcaaggaggacggcaacatcctggggcacaagctggagtacaactacaa cagccacaacgtctatatcatggccgacaagcagaagaacggcatcaaggtgaacttcaagatccgccacaacа tcgaggacggcagcgtgcagctgccgaccactaccagcagaacaccccatcggcgacggccccgtgctgc tgcccgacaaccactacctgagcacccagtccgccctgagcaaagaccccaacgagaagcgcgatcacatggt cctgctggagttcgtgaccgccgccgggatcactctcggcatggacgagctgtacaagTAA (서열 번호 63)
SV40 pA	aacttgtttattgcagcttataatggttacaaataaagcaatagcatcacaaatttcacaaataaagcatttttttcactg cattctagttgtggtttgtccaaactcatcaatgtatctta (서열 번호 64)
ITR	aggaacccctagtgatggagttggccactccctctctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgggcgaccaaag gtcgcccgacgcccgggctttgcccgggcggcctcagtgagcgagcgagcgcgcagctgcctgcagg (서열 번호 60)

[0231]

[0232] 본 개시내용의 예시적인 AAV 벡터는 5'에서 3'으로 제1 역위 말단 반복(ITR) 서열, U1 프로모터 서열, CUG 반복 표적화 U7 esnRNA 서열, U1 하류 종결인자 서열, 버퍼 서열, U7 프로모터 서열, CUG 반복 표적화 U7 esnRNA 서열, U7 하류 종결인자 서열, eCMV 프로모터 서열, GFP를 코딩하는 서열, 폴리A 서열, 및 제2 ITR 서열을 포함한다. 일부 측면에서, CUG 반복 표적화 snRNA 서열을 코딩하는 AAV 벡터 A03682를 코딩하는 핵산 서열은 서열 번호 140을 포함한다.

A03682: pAAV(ssAAV)-U1 프로모터-zCUGx15-U1 term_U7 프로모터-zCUGx15-U7 term-eCMV-eGFP

ITR	cctgcaggcagctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgcccgggcgtcgggcgacctttggtcgcccggcc tcagtgagcgagcgagcgcgcagagagggagtggccaactccatcactagggggttcct (서열 번호 59)
U1 프로모터	TAAGGACCAGCTTCTTTGGGAGAGAACAGACGCAGGGGCGGGAGG GAAAAAGGGAGAGGCAGACGTCACTTCCCCTTGGCGGCTCTGGCAG CAGATTGGTCGGTTGAGTGGCAGAAAGGCAGACGGGGACTGGGCA AGGCACTGTCGGTGACATCACGGACAGGGCGACTTCTATGTAGATG AGGCAGCGCAGAGGCTGACGTCTTCGCCACTTGCTGCTTCACCACG AAGGAGTTCCCGTGCCCTGGGAGCGGGTTCAGGACCGCTGATCGGA AGTGAGAATCCCAGCTGTGTGTCAGGGCTGGAAAGGGCTCGGGAGT GCGCGGGGCAAGTGACCGTGTGTGTAAAGAGTGAGGCGTATGAGG CTGTGTCGGGGCAGAGGCacaacgtttc (서열 번호 40)
zCUGx15 esnRNA	ggagtCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAG CAGAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc (서열 번호 65)
U1 종결	ACTTTCTGGAGTTTCAAAAACAGACTGTACGCCAAGGGTCATATCTT TTT (서열 번호 50)
U7 프로모터	AATCCAGGTCTCCGGGCTTAACAACAACGAAGGGGCTGTGACTGGC TGCTTTCTCAACCAATCAGCACCGAACTCATTTGCATGGGCTGAGA ACAAATGTTCGCGAACTCTAGAAATGAATGACTTAAGTAAGTTCCT TAGAATATTATTTTTCCTACTGAAAGTTACCACATGCGTCGTTGTTT ATACAGTAATAGGAACAAGAAAAAAGTCACCTAAGCTCACCCTCAT CAATTGTGGAGTTCCTTTATATCCCATCTTCTCTCCAAACACATACG CA (서열 번호 39)
zCUGx15 esnRNA	ggagtCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAG CAGAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc (서열 번호 65)
U7 종결	CCTCTTATGATGTTTGTTGCCAATGATAGATTGTTTTCACTGTGCAA AAATTATGGGTAGTTTTGGTGGTCTTGATGCAGTTGTAAGCTTGGAG (서열 번호 49)
eCMV 프로모터	cgttacataacttacggtaaatggcccgcctggctgaccgcccaacgacccccgcccattgacgtcaataatgac gtatgttcccatagtaacgccaatagggactttccattgacgtcaatgggtggagtatttacggtaaactgcccactt ggcagtacatcaagtgtatcatatgccaagtacgccccctattgacgtcaatgacggtaaatggcccgcctggca ttatgcccagtacatgaccttatgggactttcctacttggcagtacatctacgtattagtcatcgctattaccatg (S (서열 번호 62)
eGFP	ATGgtgagcaagggcgaggagctgttcaccggggtggtgcccatcctggtcgagctggacggcgacgtaa acggccacaagttcagcgtgtccggcgagggcgagggcgatgccacctacggcaagctgaccctgaagttca tctgcaccaccggcaagctgcccgtgccctggcccaccctcgtgaccaccctgacctacggcgtgcagtgcttc agccgctaccccgaccacatgaagcagcacgacttcttcaagtccgccatgcccgaaggctacgtccaggagc gcaccatcttcttcaaggacgacggcaactacaagacccgcgccgaggtgaagttcgagggcgacaccctggt gaaccgcatcgagctgaagggcatcgacttcaaggaggacggcaacatcctggggcacaagctggagtacaa ctacaacagccacaacgtctatatcatggccgacaagcagaagaacggcatcaaggtgaacttcaagatccgc cacaacatcgaggacggcagcgtgcagctcgccgaccactaccagcagaacaccccatcggcgacggccc cgtgctgctgcccgacaaccactacctgagcacccagtccgccctgagcaaagaccccaacgagaagcgcga tcacatggtcctgctggagttcgtgaccgccgccgggatcactctcggcatggacgagctgtacaagTAA (서열 번호 63)
SV40 pA	aacttgtttattgcagcttataatggttacaaataaagcaatagcatcacaaatttcacaaataaagcatttttttcactg cattctagttgtggtttgtccaaactcatcaatgtatctta (서열 번호 64)
ITR	aggaacccctagtgatggagttggccactccctctctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgggcgaccaaa ggtcgcccgacgcccgggctttgcccgggcggcctcagtgagcgagcgagcgcgcagctgcctgcagg (서열 번호 60)

[0233]

[0234] 본 개시내용의 예시적인 AAV 벡터는 5'에서 3'으로 제1 역위 말단 반복(ITR) 서열, U7 프로모터 서열, 비표적화 U7 esnRNA 서열, U7 하류 종결인자 서열, 버퍼 서열, U1 프로모터 서열, 비표적화 U7 esnRNA 서열, U1 하류 종결인자 서열, eCMV 프로모터 서열, GFP를 코딩하는 서열, 폴리A 서열, 및 제2 ITR 서열을 포함한다. 일부 측면에서, 비표적화 snRNA 서열을 코딩하는 AAV 벡터 A03683을 코딩하는 핵산 서열은 서열 번호 141을 포함한다.

A03683: pAAV(ssAAV)-U7 프로모터-znt-U7 term_U1 프로모터-znt-U1 term-eCMV-eGFP

ITR	cctgcaggcagctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgcccgggcgtcgggcgacctttggtcgcccggcctcagtgagcgagcgagcgcgcagagagggagtggccaactccatcactagggggttcct (서열 번호 59)
U7 프로모터	TACTGCCGAATCCAGGTCTCCGGGCTTAACAACAACGAAGGGGCTGTGACTGGCTGCTTTCTCAACCAATCAGCACCGAACTCATTTGCATGGGCTGAGAACAAATGTTCGCGAACTCTAGAAATGAATGACTTAAGTAAGTTCCTTAGAATATTATTTTTCCTACTGAAAGTTACCACATGCGTCGTTGTTTATACAGTAATAGGAACAAGAAAAAAGTCACCTAAGCTCACCCTCATCAATTGTGGAGTTCCTTTATATCCCATCTTCTCTCCAAACACATACGCA (서열 번호 39)
z-nt esnRNA	ggagtTCACCAGAAGCGTACCATACTCACGAAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc (서열 번호 66)
U7 종결	CCTCTTATGATGTTTGTTGCCAATGATAGATTGTTTTCACTGTGCAAAAATTATGGGTAGTTTTGGTGGTCTTGATGCAGTTGTAAGCTTGGAG (서열 번호 49)
U1 프로모터	TAAGGACCAGCTTCTTTGGGAGAGAACAGACGCAGGGGCGGGAGGGAAAAAGGGAGAGGCAGACGTCACTTCCCCTTGGCGGCTCTGGCAGCAGATTGGTCGGTTGAGTGGCAGAAAGGCAGACGGGGACTGGGCAAGGCACTGTCGGTGACATCACGGACAGGGCGACTTCTATGTAGATGAGGCAGCGCAGAGGCTGACGTCTTCGCCACTTGCTGCTTCACCACGAAGGAGTTCCCGTGCCCTGGGAGCGGGTTCAGGACCGCTGATCGGAAGTGAGAATCCCAGCTGTGTGTCAGGGCTGGAAAGGGCTCGGGAGTGCGCGGGGCAAGTGACCGTGTGTGTAAAGAGTGAGGCGTATGAGGCTGTGTCGGGGCAGAGGCacaacgtttc (서열 번호 40)
z-nt esnRNA	ggagtTCACCAGAAGCGTACCATACTCACGAAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc (서열 번호 66)
U1 종결	ACTTTCTGGAGTTTCAAAAACAGACTGTACGCCAAGGGTCATATCTTTTT (서열 번호 50)
eCMV 프로모터	cgttacataacttacggtaaatggcccgcctggctgaccgcccaacgacccccgcccattgacgtcaataatgacgtatgttcccatagtaacgccaatagggactttccattgacgtcaatgggtggagtatttacggtaaactgcccacttggcagtacatcaagtgtatcatatgccaagtacgccccctattgacgtcaatgacggtaaatggcccgcctggcattatgcccagtacatgaccttatgggactttcctacttggcagtacatctacgtattagtcatcgctattaccatg (서열 번호 62)
eGFP	ATGgtgagcaagggcgaggagctgttcaccggggtggtgcccatcctggtcgagctggacggcgacgtaaacggccacaagttcagcgtgtccggcgagggcgagggcgatgccacctacggcaagctgaccctgaagttcatctgcaccaccggcaagctgcccgtgccctggcccaccctcgtgaccaccctgacctacggcgtgcagtgcttcagccgctaccccgaccacatgaagcagcacgacttcttcaagtccgccatgcccgaaggctacgtccaggagcgcaccatcttcttcaaggacgacggcaactacaagacccgcgccgaggtgaagttcgagggcgacaccctggtgaaccgcatcgagctgaagggcatcgacttcaaggaggacggcaacatcctggggcacaagctggagtacaactacaacagccacaacgtctatatcatggccgacaagcagaagaacggcatcaaggtgaacttcaagatccgccacaacatcgaggacggcagcgtgcagctcgccgaccactaccagcagaacaccccatcggcgacggccccgtgctgctgcccgacaaccactacctgagcacccagtccgccctgagcaaagaccccaacgagaagcgcgatcacatggtcctgctggagttcgtgaccgccgccgggatcactctcggcatggacgagctgtacaagTAA (서열 번호 63)
SV40 pA	aacttgtttattgcagcttataatggttacaaataaagcaatagcatcacaaatttcacaaataaagcatttttttcactgcattctagttgtggtttgtccaaactcatcaatgtatctta (서열 번호 64)
ITR	Aggaacccctagtgatggagttggccactccctctctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgggcgaccaaaggtcgcccgacgcccgggctttgcccgggcggcctcagtgagcgagcgagcgcgcagctgcctgcagg (서열 번호 60)

[0235]

[0236] 본 개시내용의 예시적인 AAV 벡터는 5'에서 3'으로 제1 역위 말단 반복(ITR) 서열, U7 프로모터 서열, CUG 반복 표적화 U7 esnRNA 서열, U7 하류 종결인자 서열, 버퍼 서열, U1 프로모터 서열, CUG 반복 표적화 U7 esnRNA 서열, U1 하류 종결인자 서열, 및 제2 ITR 서열을 포함한다. 일부 측면에서, CUG 반복 표적화 snRNA 서열을 코딩하는 AAV 벡터 A03684를 코딩하는 핵산 서열은 서열 번호 142를 포함한다.

A03864: pAAV(ssAAV)-U7 프로모터-zCUGx15-U7 term_U1 프로모터-zCUGx15-U1 term (GFP 비포함 - 3681의 유도체)

ITR	cctgcaggcagctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgcccgggcgtcgggcgacctttggtcgcccggcc tcagtgagcgagcgagcgcgcagagagggagtggccaactccatcactagggg ttcct (서열 번호 59)
U7 프로모터	TACTGCCGAATCCAGGTCTCCGGGCTTAACAACAACGAAGGGGCTG TGACTGGCTGCTTTCTCAACCAATCAGCACCGAACTCATTTGCATGG GCTGAGAACAAATGTTCGCGAACTCTAGAAATGAATGACTTAAGTA AGTTCCTTAGAATATTATTTTTCCTACTGAAAGTTACCACATGCGTC GTTGTTTATACAGTAATAGGAACAAGAAAAAAGTCACCTAAGCTCA CCCTCATCAATTGTGGAGTTCCTTTATATCCCATCTTCTCTCCAAAC ACATACGCA (서열 번호 39)
zCUGx15 esnRNA	ggagtCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAG CAGAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc (서열 번호 65)
U7 종결	CCTCTTATGATGTTTGTTGCCAATGATAGATTGTTTTCACTGTGCAA AAATTATGGGTAGTTTTGGTGGTCTTGATGCAGTTGTAAGCTTGGAG (서열 번호 49)
U1 프로모터	TAAGGACCAGCTTCTTTGGGAGAGAACAGACGCAGGGGCGGGAGG GAAAAAGGGAGAGGCAGACGTCACTTCCCCTTGGCGGCTCTGGCAG CAGATTGGTCGGTTGAGTGGCAGAAAGGCAGACGGGGACTGGGCA AGGCACTGTCGGTGACATCACGGACAGGGCGACTTCTATGTAGATG AGGCAGCGCAGAGGCTGACGTCTTCGCCACTTGCTGCTTCACCACG AAGGAGTTCCCGTGCCCTGGGAGCGGGTTCAGGACCGCTGATCGGA AGTGAGAATCCCAGCTGTGTGTCAGGGCTGGAAAGGGCTCGGGAGT GCGCGGGGCAAGTGACCGTGTGTGTAAAGAGTGAGGCGTATGAGG CTGTGTCGGGGCAGAGGCacaacgtttc (서열 번호 40)
zCUGx15 esnRNA	ggagtCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAG CAGAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc (서열 번호 65)
U1 종결	ACTTTCTGGAGTTTCAAAAACAGACTGTACGCCAAGGGTCATATCTT TTT (서열 번호 50)
ITR	aggaacccctagtgatggagttggccactccctctctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgggcgaccaaa ggtcgcccgacgcccgggctttgcccgggcggcctcagtgagcgagcgagcgcgcagctgcctgcagg (서열 번호 60)

[0237]

[0238] 본 개시내용의 예시적인 AAV 벡터는 5'에서 3'으로 제1 역위 말단 반복(ITR) 서열, U7 프로모터 서열, CUG 반복 표적화 U7 esnRNA 서열, U7 하류 종결인자 서열, 버퍼 서열, U1 프로모터 서열, CUG 반복 표적화 U7 esnRNA 서열, U1 하류 종결인자 서열, 및 제2 ITR 서열을 포함한다. 일부 측면에서, CUG 반복 표적화 snRNA 서열을 코딩하는 AAV 벡터 A04233을 코딩하는 핵산 서열은 서열 번호 143을 포함한다.

A04233: pAAV(scAAV)-U7프로모터-zCUGx15-U7종결-U1프로모터-zCUGx15-U1종결 (scAAV 중 GFP를 포함하지 않는 A03681의 유도체)

ITR	cctgcaggcagctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgcccgggcgtcgggcgacctttggtcgcccggcctcagtgagcgagcgagcgcgcagagagggagtggccaactccatcactagggggttcct (서열 번호 59)
U7 프로모터	TACTGCCGAATCCAGGTCTCCGGGCTTAACAACAACGAAGGGGCTGTGACTGGCTGCTTTCTCAACCAATCAGCACCGAACTCATTTGCATGGGCTGAGAACAAATGTTCGCGAACTCTAGAAATGAATGACTTAAGTAAGTTCCTTAGAATATTATTTTTCCTACTGAAAGTTACCACATGCGTCGTTGTTTATACAGTAATAGGAACAAGAAAAAAGTCACCTAAGCTCACCCTCATCAATTGTGGAGTTCCTTTATATCCCATCTTCTCTCCAAACACATACGCA (서열 번호 39)
zCUGx15 esnRNA	ggagtCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc (서열 번호 65)
U7 종결	CCTCTTATGATGTTTGTTGCCAATGATAGATTGTTTTCACTGTGCAAAAATTATGGGTAGTTTTGGTGGTCTTGATGCAGTTGTAAGCTTGGAG (서열 번호: 49)
U1 프로모터	TAAGGACCAGCTTCTTTGGGAGAGAACAGACGCAGGGGCGGGAGGGAAAAAGGGAGAGGCAGACGTCACTTCCCCTTGGCGGCTCTGGCAGCAGATTGGTCGGTTGAGTGGCAGAAAGGCAGACGGGGACTGGGCAAGGCACTGTCGGTGACATCACGGACAGGGCGACTTCTATGTAGATGAGGCAGCGCAGAGGCTGACGTCTTCGCCACTTGCTGCTTCACCACGAAGGAGTTCCCGTGCCCTGGGAGCGGGTTCAGGACCGCTGATCGGAAGTGAGAATCCCAGCTGTGTGTCAGGGCTGGAAAGGGCTCGGGAGTGCGCGGGGCAAGTGACCGTGTGTGTAAAGAGTGAGGCGTATGAGGCTGTGTCGGGGCAGAGGCacaacgtttc (서열 번호 40)
zCUGx15 esnRNA	ggagtCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGAATTTTTGGAGTAggctttctggctccttaccggaaagcc (서열 번호 65)
U1 종결	ACTTTCTGGAGTTTCAAAAACAGACTGTACGCCAAGGGTCATATCTTTTTT (서열 번호 50)
mITR	CCACTCCCTCTCTGCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGGCCGGGCGACCAAAGGTCGCCCGACGCCCGGGCTTTGCCCGGGCGGCCTCAGTGAGCGAGCGAGCGCGCAGAGAGGGA (서열 번호 61)

[0239]

[0240] **프로모터 서열**

[0241] 본 개시내용의 유전자 요법 및 RNA 표적화 snRNA 유전자 요법 조성물은 snRNA로부터 유래된 프로모터 서열을 포함한다.

[0242] "프로모터"는 전사 개시 및 전사 속도가 제어되는 폴리뉴클레오티드 서열의 영역인 제어 서열이다. 이는 예컨대, RNA 폴리머라제 및 다른 전사 인자와 같이, 조절 단백질 및 분자가 결합할 수 있는 유전적 요소를 포함할 수 있다.

[0243] 본 개시내용의 조성물 및 방법의 일부 실시양태에서, 본원에 제공된 발현 벡터, 바이러스 벡터 또는 비바이러스 벡터는 제한 없이, 발현 제어 요소를 포함한다. 본원에서 사용되는 바, "발현 제어 요소"는 예컨대, 유전자와 같은 코딩 서열의 발현을 조절하는 임의의 서열을 지칭한다. 예시적인 발현 제어 요소는 프로모터, 인핸서, 마이크로RNA, 전사 후 조절 요소, 폴리아데닐화 신호 서열, 및 인트론을 포함하나, 이에 제한되지 않는다. 발현 제어 요소는 예를 들어, 구성적, 유도성, 억제성 또는 조직 특이적일 수 있다. "프로모터"는 전사 개시 및 전사 속도가 제어되는 폴리뉴클레오티드 서열의 영역인 제어 서열이다. 이는 예컨대, RNA 폴리머라제 및 다른 전사 인자와 같이, 조절 단백질 및 분자가 결합할 수 있는 유전적 요소를 포함할 수 있다. "인핸서"는 전사의 가능성 또는 빈도를 증가시키기 위해 활성화 단백질에 의해 결합될 수 있는 DNA의 영역이다.

[0244] 본 개시내용의 조성물 및 방법의 일부 실시양태에서, 본원에 제공된 발현 벡터, 바이러스 벡터 또는 비바이러스 벡터는 제한 없이, snRNA 하류의 인간 게놈 서열에서 유래된 완충 서열과 같은 벡터 요소를 포함하며, 따라서, 단일 구축물로부터 여러 snRNA를 코딩하는 기능을 가질 것이다.

[0245] 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 조성물에 코딩 서열을 도입함으로써, 멀티시스트론 벡터는 동일한 mRNA로부터 2개 이상의 개별 단백질을 동시에 발현할 수 있다. 멀티시스트론 구성을 구축하는 데 가장 널리 사용되는 두 전략법은 IRES 또는 2A 자기 절단 부위 사용을 통해 이루어진다. "IRES"는 폴리시스트론 벡터 구축물 내에서 사용되는 바이러스, 원핵생물 또는 진핵생물 기원의 내부 리보솜 진입 부위 또는 그 일부를 지칭한다. 일부 실시양태에서, IRES는 캡 비의존적 방식으로 번역 개시를 허용하는 RNA 요소이다. 용어 "자기 절단 펩티드" 또는 "자기 절단 펩티드를 코딩하는 서열" 또는 "2A 자기 절단 부위"는 리보솜 스키핑을 촉진하는 부위를 도입하고,

이로써, 단일 프로모터로부터 2개의 폴리펩티드를 생성하기 위해 벡터 구축물 내에서 사용되는 연결 서열을 지칭하며, 상기 자기 절단 펩티드로는 제한 없이, T2A 및 P2A 펩티드 또는 자기 절단 펩티드를 코딩하는 다른 서열을 포함한다.

[0246] 또 다른 실시양태에서, 벡터 구성은 링커(들), 신호 서열(들), 및 태그(들)를 포함할 수 있다.

[0247] 일부 실시양태에서, 벡터는 바이러스 벡터이다. 일부 실시양태에서, 벡터는 아데노바이러스 벡터, 아데노 연관 바이러스(AAV) 벡터, 또는 렌티바이러스 벡터이다. 일부 실시양태에서, 벡터는 레트로바이러스 벡터, 아데노바이러스/레트로바이러스 키메라 벡터, 단순 헤르페스 바이러스 I 또는 II 벡터, 파르보바이러스 벡터, 세망내피증 바이러스 벡터, 폴리오바이러스 벡터, 유두종바이러스 벡터, 백시니아 바이러스 벡터, 또는 2개 이상의 바이러스 벡터의 유리한 측면을 포함하는 임의의 하이브리드 또는 키메라 벡터이다. 일부 실시양태에서, 벡터는 폴리뉴클레오티드에 작동가능하게 연결된 하나 이상의 발현 제어 요소를 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 벡터는 하나 이상의 선별가능한 마커를 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, AAV 벡터는 독성이 낮다. 일부 실시양태에서, AAV 벡터는 숙주 게놈에 도입되지 않는 바, 삽입 돌연변이유발 가능성이 낮다. 일부 실시양태에서, AAV 벡터는 4.5 kb 내지 4.75 kb 범위의 전체 폴리뉴클레오티드를 코딩할 수 있다. 일부 실시양태에서, 본원에 기술된 조성물, 시스템, 방법, 및 키트 중 임의의 것에서 사용될 수 있는 예시적인 AAV 벡터는 AAV1 벡터, 변형된 AAV1 벡터, AAV2 벡터, 변형된 AAV2 벡터, AAV2-Tyr 돌연변이체 벡터, AAV3 벡터, 변형된 AAV3 벡터, AAV4 벡터, 변형된 AAV4 벡터, AAV5 벡터, 변형된 AAV5 벡터, AAV6 벡터, 변형된 AAV6 벡터, AAV7 벡터, 변형된 AAV7 벡터, AAV8 벡터, AAVrh8 벡터, AAV9 벡터, AAV.rh10 벡터, 변형된 AAV.rh10 벡터, AAVrh.74, AAV.rh32/33 벡터, 변형된 AAV.rh32/33 벡터, AAV.rh43 벡터, 변형된 AAV.rh43 벡터, AAV.rh64R1 벡터, 및 변형된 AAV.rh64R1 벡터, AAV-Tyr 돌연변이체 벡터, AAV-Tyr-Ser 돌연변이체 벡터, AAV-Tyr-Ser-Thr 돌연변이체 벡터 및 그의 임의의 조합 또는 등가물을 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 렌티바이러스 벡터는 인테그라제-적격 렌티바이러스 벡터(ICLV: integrase-competent lentiviral vector)이다. 일부 실시양태에서, 렌티바이러스 벡터는 트랜스진 플라스미드 벡터 뿐만 아니라, 관련 플라스미드(예컨대, 패키징 플라스미드, rev 발현 플라스미드, 외피 플라스미드)와 함께 트랜스진 플라스미드 벡터 뿐만 아니라, 바이러스 또는 바이러스 유사 진입 메커니즘을 통해 외인성 핵산을 세포 내로 도입할 수 있는 렌티바이러스 기반 입자를 지칭할 수 있다.

[0248] 렌티바이러스 벡터는 당업계에 널리 공지되어 있다(예컨대, 문헌 [Trono D. (2002) Lentiviral vectors, New York: Spring-Verlag Berlin Heidelberg] 및 [Durand et al. (2011) *Viruses* 3(2):132-159 doi: 10.3390/v3020132] 참조). 일부 실시양태에서, 본원에 기술된 조성물, 시스템, 방법, 및 키트 중 임의의 것에서 사용될 수 있는 예시적인 렌티바이러스 벡터는 인간 면역결핍 바이러스(HIV: human immunodeficiency virus) 1 벡터, 변형된 인간 면역결핍 바이러스(HIV) 1 벡터, 인간 면역결핍 바이러스(HIV) 2 벡터, 변형된 인간 면역결핍 바이러스(HIV) 2 벡터, 수티 망가베이 시미안 면역결핍 바이러스(SIV_{SM}) 벡터, 변형된 수티 망가베이 시미안 면역결핍 바이러스(SIV_{SM}) 벡터, 아프리카 녹색 원숭이 시미안 면역결핍 바이러스(SIV_{AGM}) 벡터, 변형된 아프리카 녹색 원숭이 시미안 면역결핍 바이러스(SIV_{AGM}) 벡터, 말 전염성 빈혈 바이러스(EIAV: equine infectious anemia virus) 벡터, 변형된 말 전염성 빈혈 바이러스 (EIAV) 벡터, 고양이 면역결핍 바이러스(FIV: feline immunodeficiency virus) 벡터, 변형된 고양이 면역결핍 바이러스(FIV) 벡터, 비스나/메디(Visna/maedi) 바이러스(VNV/VMV) 벡터, 변형된 비스나/메디 바이러스(VNV/VMV) 벡터, 염소 관절염-뇌염 바이러스(CAEV: caprine arthritis-encephalitis virus) 벡터, 변형된 염소 관절염-뇌염 바이러스(CAEV) 벡터, 소 면역결핍 바이러스(BIV: bovine immunodeficiency virus), 또는 변형된 소면역결핍 바이러스(BIV)를 포함할 수 있다.

[0249] ***핵산***

[0250] NOI(관심 뉴클레오티드 서열: nucleotide sequence of interest)는 제한 없이, 벡터에 의해 전달될 수 있는 임의의 뉴클레오티드 서열 또는 트랜스진을 포함한다. NOI는 합성, 자연적으로 발생된 DNA 또는 RNA로부터 유래, 코돈 최적화, 재조합 RNA/DNA, cDNA, 부분 게놈 DNA, 및/또는 그의 조합일 수 있다. NOI는 코딩 영역 또는 부분 코딩 영역일 수 있지만, 코딩 영역일 필요는 없다. NOI는 센스 또는 안티센스 배향의 RNA/DNA일 수 있다. NOI는 snRNA일 수 있다. NOI는 또한 제한 없이, 트랜스진, 이종 서열, 유전자, 치료 유전자로 본원에서 지칭된다. NOI는 또한 RNA(리보핵산단백질 복합체), POI(관심 단백질: protein of interest), 부분 POI, POI의 돌연변이화된 버전 또는 변이체를 코딩할 수 있다. POI는 야생형 단백질과 유사하거나, 또는 이에 상응할 수 있다. POI는 또한 융합 단백질 또는 리보핵단백질 복합체, 예컨대, snRNP일 수 있다. 일부 측면에서, 본원에 개시된 RNA 서열은 DNA 서열로 표현될 수 있으며, DNA 서열으로부터 RNA 서열의 서열을 유도하는 능력은 숙련된 기술자의 능력 범위 내에 있다.

[0251] **코돈 최적화**

[0252] 일부 실시양태에서, NOI 또는 트랜스진 또는 GOI, 예컨대, 본 개시내용의 RNA 표적화 snRNA를 코딩하는 핵산 서열은 코돈 최적화된 핵산 서열이다. 일부 실시양태에서, 코돈 최적화된 서열은 인간 피험체에서 야생형 또는 코돈 최적화되지 않은 핵산 서열과 비교하여 적어도 5%, 적어도 10%, 적어도 20%, 적어도 30%, 적어도 50%, 적어도 75%, 적어도 100%, 적어도 200%, 적어도 300%, 적어도 500%, 또는 적어도 1000% 증가된 전사 또는 번역을 나타낸다.

[0253] 일부 측면에서, 코돈 최적화된 핵산 서열은 증가된 안정성을 나타낸다. 일부 측면에서, 코돈 최적화된 핵산 서열은 가수분해에 대한 증가된 내성을 통해 증가된 안정성을 나타낸다. 일부 실시양태에서, 코돈 최적화된 서열은 야생형 또는 코돈 최적화되지 않은 핵산 서열과 비교하여 적어도 5%, 적어도 10%, 적어도 20%, 적어도 30%, 적어도 50%, 적어도 75%, 적어도 100%, 적어도 200%, 적어도 300%, 적어도 500%, 또는 적어도 1000% 증가된 안정성을 나타낸다. 일부 실시양태에서, 코돈 최적화된 서열은 인간 피험체에서 야생형 또는 코돈 최적화되지 않은 핵산 서열과 비교하여 적어도 5%, 적어도 10%, 적어도 20%, 적어도 30%, 적어도 50%, 적어도 75%, 적어도 100%, 적어도 200%, 적어도 300%, 적어도 500%, 또는 적어도 1000% 증가된, 가수분해에 대한 내성을 나타낸다.

[0254] 일부 측면에서, 코돈 최적화된 핵산 서열은 공여자 스플라이스 부위를 포함하지 않을 수 있다. 일부 측면에서, 코돈 최적화된 핵산 서열은 약 1개, 또는 약 2개, 또는 약 3개, 또는 약 4개, 또는 약 5개, 또는 약 6개, 또는 약 7개, 또는 약 8개, 또는 약 9개, 또는 약 10개 이하의 공여자 스플라이스 부위를 포함할 수 있다. 일부 측면에서, 코돈 최적화된 핵산 서열은 코돈 최적화되지 않은 핵산 서열과 비교하여 적어도 1개, 또는 적어도 2개, 또는 적어도 3개, 또는 적어도 4개, 또는 적어도 5개, 또는 적어도 6개, 또는 적어도 7개, 또는 적어도 8개, 또는 적어도 9개, 또는 적어도 10개 더 적은 공여자 스플라이스 부위를 포함한다.

[0255] 이론에 얽매이는 것을 원하지 않으면서, 코돈 최적화된 핵산 서열 중 공여자 스플라이스 부위 제거는 잠재적 스플라이싱이 방지됨에 따라 생체내에서 관심 단백질의 발현을 예상외로 예측 불가능하게 증가시킬 수 있다. 또한, 잠재적 스플라이싱은 상이한 피험체 간에 다를 수 있으며, 이는 공여자 스플라이스 부위를 포함하는 단백질의 발현 수준이 상이한 피험체 간에 예측 불가능하게 다를 수 있다는 것을 의미한다. 이러한 예측 불가능성은 인간 요법의 맥락에서 용인될 수 없다. 따라서, 공여자 스플라이스 부위가 결여된 코돈 최적화된 핵산 서열은 예상외로 놀랍게도 인간 피험체에서 단백질의 증가된 발현을 허용하고 상이한 인간 피험체에 걸쳐 단백질의 발현을 정규화한다.

[0256] 일부 측면에서, 코돈 최적화된 핵산 서열은 RNA 표적화 snRNA를 코딩하는 코돈 최적화되지 않은 핵산 서열의 GC 함량과 상이한 GC 함량을 가질 수 있다. 일부 측면에서, 코돈 최적화된 핵산 서열의 GC 함량은 코돈 최적화되지 않은 핵산 서열과 비교하여 전체 핵산 서열에 걸쳐 더 고르게 분포된다.

[0257] 이론에 얽매이는 것을 원하지 않으면서, 전체 핵산 서열에 걸쳐 GC 함량을 더욱더 고르게 분포시킴으로써, 코돈 최적화된 핵산 서열은 전사체 길이에 걸쳐 더욱 균일한 용융 온도("Tm")를 나타낸다. 용융 온도의 균일성은 핵산 서열의 전사 및/또는 번역이 폴리머라제 및/또는 리보솜의 지연을 덜 일으키면서 일어나기 때문에 인간 피험체에서 코돈 최적화된 핵산의 발현을 예상외로 증가시킨다.

[0258] 일부 측면에서, 코돈 최적화된 핵산 서열은 코돈 최적화되지 않은 핵산 서열과 비교하여 더 적은 억제성 마이크로RNA 표적 결합 부위를 가질 수 있다. 일부 측면에서, 코돈 최적화된 핵산 서열은 코돈 최적화되지 않은 핵산 서열과 비교하여 적어도 1개, 또는 적어도 2개, 또는 적어도 3개, 또는 적어도 4개, 또는 적어도 5개, 또는 적어도 6개, 또는 적어도 7개, 또는 적어도 8개, 또는 적어도 9개, 또는 적어도 10개, 또는 적어도 10개 더 적은 억제성 마이크로RNA 표적 결합 부위를 가질 수 있다.

[0259] 이론에 얽매이는 것을 원하지 않으면서, 더 적은 억제성 마이크로RNA 표적 결합 부위를 가짐으로써, 코돈 최적화된 핵산 서열은 예상외로 인간 피험체에서 증가된 발현을 나타낸다.

[0260] 본원에서는 본원에 기술된 유전자 전달 및 발현 기술에 사용하기 위한 유전자 요법 조성물 또는 RNA 표적화 snRNA 시스템을 코딩하는 핵산 서열을 제공한다. 본원에 제공된 서열이 RNA를 코딩하거나, 또는 동일한 생물학적 특성을 갖는 단백질을 발현하고, 생산하는 실질적으로 동일한 서열 뿐만 아니라, 발현 생성물을 제공하기 위해 사용될 수 있다는 것을 항상 명시적으로 언급하지는 않지만 이해되어야 한다. 이러한 "생물학적으로 등가인" 또는 "생물학적으로 활성인" 또는 "등가인" 폴리펩티드는 본원에 기술된 바와 같은 등가인 폴리뉴클레오티드에 의해 코딩된다. 이는 디폴트 조건하에서 실행되는 서열 동일성 방법을 사용하여 비교할 때 참조 폴리펩티드와 적어도 60%, 또는 대안적으로, 적어도 65%, 또는 대안적으로, 적어도 70%, 또는 대안적으로, 적어도 75%, 또는

대안적으로, 적어도 80%, 또는 대안적으로 적어도 85%, 또는 대안적으로 적어도 90%, 또는 대안적으로 적어도 95% 또는 대안적으로 적어도 98% 동일한 1차 아미노산 서열을 가질 수 있다. 특정 폴리펩티드 서열은 특정 실시양태의 예로서 제공된다. 유사한 전하를 갖는 대체 아미노산을 갖는 아미노산에 대한 서열 변형. 추가로, 등가인 폴리뉴클레오티드는 엄격한 조건하에서 참조 폴리뉴클레오티드 또는 그의 상보체에 하이브리드화하는 것이거나, 폴리펩티드와 관련하여 엄격한 조건하에서 참조 코딩 폴리뉴클레오티드 또는 그의 상보 가닥에 하이브리드화하는 폴리뉴클레오티드에 의해 코딩되는 폴리펩티드이다. 대안적으로, 등가의 폴리펩티드 또는 단백질은 등가의 폴리뉴클레오티드로부터 발현되는 것이다.

[0261] 본원에 개시된 NOI 또는 핵산 서열(예컨대, 폴리뉴클레오티드 서열)은 당업계에 널리 공지된 기술인 코돈 최적화될 수 있다. 코돈 최적화는 상이한 세포가 특정 코돈의 사용에서 상이하다는 사실을 지칭한다. 이러한 코돈 편향은 세포 유형에서 특정 tRNA의 상대적 존재비의 편향에 상응한다. 상응하는 tRNA의 상대적 존재비와 매칭되도록 서열의 코돈을 변경함으로써 발현을 증가시킬 수 있다. 특정 세포 유형에서 상응하는 tRNA가 드문 것으로 알려진 코돈을 의도적으로 선택하여 발현을 감소시키는 것도 가능하다. 코돈 사용빈도 표는 포유동물 세포 뿐만 아니라, 다양한 다른 유기체에 대해 당업계에 공지되어 있다. 유전자 코드에 기초하여, 예컨대, esnRNA와 같은 것을 코딩하는 핵산 서열이 생성될 수 있다. 일부 실시양태에서, 이러한 서열은 숙주 또는 표적 세포, 예컨대, esnRNA를 발현하는 데 사용되는 숙주 세포 또는 개시된 방법이 실시되는 세포(예컨대, 포유동물 세포, 예컨대, 인간 세포)에서의 발현에 대해 최적화된다. 특정 종에 대한 코돈 선호도 및 코돈 사용빈도 표를 사용하여 상기 특정 종의 코돈 사용빈도 선호도를 이용하는 esnRNA를 코딩하는 단리된 핵산 분자를 조작할 수 있다. 예를 들어, 본원에 개시된 esnRNA는 특정 관심 유기체에 의해 우선적으로 사용되는 코돈을 갖도록 설계될 수 있다. 한 예에서, esnRNA 핵산 서열은 그의 상응하는 야생형 또는 기원 핵산 서열과 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 92%, 적어도 95%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 것과 같이 인간 세포에서의 발현을 위해 최적화된다. 일부 실시양태에서, 적어도 하나의 esnRNA(벡터의 일부일 수 있음)를 코딩하는 단리된 핵산 분자는 진핵 세포에서의 발현을 위해 코돈 최적화된 적어도 하나의 esnRNA 코딩 서열, 또는 인간 세포에서의 발현을 위해 코돈 최적화된 적어도 하나의 esnRNA 코딩 서열을 포함한다. 한 실시양태에서, 상기 코돈 최적화된 esnRNA 코딩 서열은 그의 상응하는 야생형 또는 기원 서열과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 92%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%의 서열 동일성을 갖는다. 또 다른 실시양태에서, 진핵 세포 코돈 최적화된 핵산 서열은 그의 상응하는 야생형 또는 기원 서열과 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 92%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 esnRNA를 코딩한다. 또 다른 실시양태에서, 서열은 다르지만, 동일한 esnRNA 서열을 코딩하는 핵산과 같이 기능적으로 등가인 핵산을 포함하는 다양한 클론이 통상적으로 생성될 수 있다. 코딩 서열의 침묵 돌연변이는 유전자 코드의 축퇴성(즉, 중복)로 인해 발생하며, 이에 따라 1 초과의 코돈이 동일한 아미노산 잔기를 코딩할 수 있다. 따라서, 예를 들어, 류신은 CTT, CTC, CTA, CTG, TTA, 또는 TTG에 의해 코딩될 수 있고; 세린은 TCT, TCC, TCA, TCG, AGT, 또는 AGC에 의해 코딩될 수 있고; 아스파라긴은 AAT 또는 AAC에 의해 코딩될 수 있고; 아스파르트산은 GAT 또는 GAC에 의해 코딩될 수 있고; 시스테인은 TGT 또는 TGC에 의해 코딩될 수 있고; 알라닌은 GCT, GCC, GCA, 또는 GCG에 의해 코딩될 수 있고; 글루타민은 CAA 또는 CAG에 의해 코딩될 수 있고; 티로신은 TAT 또는 TAC에 의해 코딩될 수 있고; 이소류신은 ATT, ATC, 또는 ATA에 의해 코딩될 수 있다. 표준 유전자 코드를 보여주는 표는 다양한 출처에서 살펴볼 수 있다(예를 들어, 문헌 [Stryer, 1988, Biochemistry, 3.sup.rd Edition, W.H. 5 Freeman and Co., NY] 참조).

[0262] "하이브리드화"는 하나 이상의 폴리뉴클레오티드가 반응하여 뉴클레오티드 잔기의 염기 사이의 수소 결합을 통해 안정화되는 복합체를 형성하는 반응을 지칭한다. 수소 결합은 왓슨 크릭(Watson-Crick) 염기쌍 형성, 후그스틴(Hoogstein) 결합, 또는 임의의 다른 서열 특이적 방식에 의해 발생할 수 있다. 복합체는 이중체 구조를 형성하는 2개 가닥, 다중 가닥 복합체를 형성하는 3개 이상의 가닥, 단일 자기 하이브리드화 가닥, 또는 이들의 임의의 조합을 포함할 수 있다. 하이브리드화 반응은 예컨대, PC 반응의 개시, 또는 리보자임에 의한 폴리뉴클레오티드의 효소 절단과 같은 보다 광범위한 프로세스의 한 단계를 구성할 수 있다.

[0263] 엄격한 하이브리드화 조건의 예는 약 25℃ 내지 약 37℃의 인큐베이션 온도; 약 6x SSC 내지 약 10x SSC의 하이브리드화 완충제 농도; 약 0% 내지 약 25%의 포름아미드 농도; 및 약 4x SSC 내지 약 8x SSC의 세척 용액을 포함한다. 중등도 하이브리드화 조건의 예는 약 40℃ 내지 약 50℃의 인큐베이션 온도; 약 9x SSC 내지 약 2x SSC의 완충제 농도; 약 30% 내지 약 50%의 포름아미드 농도; 및 약 5x SSC 내지 약 2x SSC의 세척 용액을 포함한다. 높은 엄격성 조건의 예는 약 55℃ 내지 약 68℃의 인큐베이션 온도; 약 1x SSC 내지 약 0.1x SSC의 완충제 농도; 약 55% 내지 약 75%의 포름아미드 농도; 및 약 1x SSC, 0.1x SSC, 또는 탈이온수의 세척 용액을 포함한다. 일반적으로, 하이브리드화 인큐베이션 시간은 5분 내지 24시간이며, 여기서, 1, 2회 이상의 세척 단

계가 있고, 세척 인큐베이션 시간은 약 1, 2 또는 15분이다. SSC는 0.15 M NaCl 및 15 mM 시트레이트 완충제이다. 다른 완충제 시스템을 사용하는 SSC의 등가물이 사용될 수 있는 것으로 이해된다.

[0264] "상동성" 또는 "동일성" 또는 "유사성"은 두 펩티드 사이 또는 두 핵산 분자 사이의 서열 유사성을 지칭한다. 상동성은 비교를 위해 정렬될 수 있는 각각의 서열에서 위치를 비교함으로써 결정될 수 있다. 비교되는 서열의 위치가 동일한 염기 또는 아미노산에 의해 점유된다면, 이때 분자는 상응하는 위치에서 상동성인 것이다. 서열 사이의 상동성 정도는 서열에 의해 공유되는 매칭 또는 상동성 위치의 개 수의 함수이다. "비관련" 또는 "비상동성" 서열은 본 발명의 서열 중 하나와 40% 미만의 동일성, 또는 대안적으로, 25% 미만의 동일성을 공유한다.

[0265] ***세포***

[0266] 본 개시내용의 조성물 및 방법의 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 세포는 원핵 세포이다.

[0267] 본 개시내용의 조성물 및 방법의 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 세포는 진핵 세포이다. 일부 실시양태에서, 세포는 포유동물 세포이다. 일부 실시양태에서, 세포는 소, 뮤린, 고양이, 말, 돼지, 개, 시미안, 또는 인간 세포이다. 일부 실시양태에서, 세포는 비인간 포유동물 세포, 예컨대, 비인간 영장류 세포이다.

[0268] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 세포는 체세포이다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 세포는 생식계열 세포이다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 생식계열 세포는 인간 세포가 아니다.

[0269] 본 개시내용의 조성물 및 방법의 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 세포는 줄기 세포. 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 세포는 배아 줄기 세포이다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 배아 줄기 세포는 인간 세포가 아니다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 세포는 다능성 줄기 세포 또는 만능성 줄기 세포이다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 세포는 성체 줄기 세포이다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 세포는 유도 만능성 줄기 세포(iPSC: induced pluripotent stem cell)이다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 세포는 조혈 줄기 세포(HSC: hematopoietic stem cell)이다.

[0270] 본 개시내용의 조성물 및 방법의 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 체세포는 신경 세포이다. 한 실시양태에서, 본원에 개시된 조성물로 치료되는 환자의 세포 또는 세포들로는 제한 없이, 중추 신경계(뉴런), 말초 신경계(뉴런), 말초 운동 뉴런 및/또는 감각 뉴런을 포함한다. 한 실시양태에서, 신경 세포는 신경교 세포이다.

[0271] 본 개시내용의 조성물 및 방법의 일부 실시양태에서,본 개시내용의 체세포는 섬유아세포 또는 상피 세포이다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 상피 세포는 편평 세포 상피, 입방 세포 상피, 원주 세포 상피, 중층 세포 상피, 가중층 원주 세포 상피 또는 전이 세포 상피를 형성한다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 상피 세포는 송과선, 흉선, 뇌하수체, 갑상선, 부신, 아포크린선, 홀로크린선, 메로크린선, 장액선, 점액선 및 피지선을 포함하나, 이에 제한되지 않는 선을 형성한다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 상피 세포는 폐, 비장, 위, 췌장, 방광, 장, 신장, 담낭, 간, 후두 또는 인두를 포함하나, 이에 제한되지 않는 기관의 외부 표면과 접촉한다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 상피 세포는 혈관 또는 정맥의 외부 표면과 접촉한다.

[0272] 본 개시내용의 일부 실시양태에서, 체세포는 안구 세포이다. 안구 세포로는 제한 없이, 각막 상피 세포, 각막세포, 망막 색소 상피(RPE: retinal pigment epithelial) 세포, 수정체 상피 세포, 홍채 색소 상피 세포, 결막 섬유아세포, 비색소 섬모 상피 세포, 섬유주 세포, 안구 맥락막 섬유아세포, 결막 상피 세포를 포함한다. 일부 실시양태에서, 안구 세포는 망막 세포 또는 각막 세포이다. 한 실시양태에서, 망막 세포는 광수용체 세포 또는 망막 색소 상피 세포이다. 또 다른 실시양태에서, 망막 세포는 신경절 세포, 아마크린 세포, 양극 세포, 수평 세포, 뮐러 신경교 세포, 간상 세포 또는 추상 세포이다. 본 개시내용의 조성물 및 방법의 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 체세포는 일차 세포이다.

[0273] 본 개시내용의 조성물 및 방법의 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 체세포는 배양된 세포이다.

[0274] 본 개시내용의 조성물 및 방법의 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 체세포는 생체내, 시험관내, 생체외, 또는 계내 체세포이다.

[0275] 본 개시내용의 조성물 및 방법의 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 체세포는 자기유래 또는 동종이계 체세포이다.

[0276] ***사용 방법***

[0277] 본 개시내용은 본원에 개시된 snRNA 시스템을 사용하여 세포에서 RNA 코딩하거나, 또는 NOI를 발현하는 방법을 제공한다. 한 실시양태에서, 본 개시내용은 본 개시내용의 조성물 및 표적 RNA 분자를 상기 RNA 분자에의 결합

에 적합한 조건하에서 접촉시키는 단계를 포함하는, RNA, 또는 RNA에 의해 코딩되는 단백질의 활성을 변형시키는 방법을 제공한다.

[0278] 본 개시내용은 본 개시내용의 조성물 및 RNA 분자를 포함하는 세포를 상기 RNA 분자에의 결합에 적합한 조건하에서 접촉시키는 단계를 포함하는, 본 개시내용의 RNA 분자 또는 RNA 분자에 의해 코딩되는 단백질의 발현 수준을 변형시키는 방법을 제공한다. 일부 실시양태에서, 세포는 생체내, 시험관내, 생체외, 또는 계내 세포이다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 조성물은 snRNA 서열을 포함하는 벡터를 포함한다. 일부 실시양태에서, 벡터는 AAV 벡터이다.

[0279] 본 개시내용은 본 개시내용의 조성물 및 RNA 분자를, 표적 RNA를 녹 다운, 차단, 스플라이싱, 다중 표적화, 또는 편집하는 데 적합한 조건하에서 접촉시키는 단계를 포함하는, 본 개시내용의 RNA 분자 또는 RNA 분자에 의해 코딩되는 단백질의 발현 수준을 변형시키는 방법을 제공한다. 일부 실시양태에서, 벡터는 AAV 벡터이다.

[0280] 본 개시내용은 조성물 및 RNA 분자를 포함하는 세포를, 표적 RNA를 녹 다운, 차단, 스플라이싱, 다중 표적화, 또는 편집하는 데 적합한 조건하에서 접촉시키는 단계를 포함하는, 표적 RNA, 또는 RNA 분자에 의해 코딩되는 단백질의 활성을 변형시키는 방법을 제공한다. 일부 실시양태에서, 세포는 생체내, 시험관내, 생체외, 또는 계내 세포이다. 일부 실시양태에서, 조성물은 본원에 개시된 snRNA 서열을 포함하는 벡터를 포함한다. 일부 실시양태에서, 벡터는 AAV 벡터이다.

[0281] 본 개시내용은 피험체에게 치료 유효량의 본 개시내용의 snRNA 조성물을 투여하는 단계를 포함하는, 질환 또는 장애를 치료하는 방법을 제공한다.

[0282] 본 개시내용은 질환 치료를 필요로 하는 환자에게 치료 유효량의 본 개시내용의 snRNA 조성물을 투여하는 단계를 포함하고, 여기서, 조성물은 본원에 개시된 snRNA 서열을 포함하는 벡터를 포함하고, 여기서, 조성물은 (비표적화(NT) 대조군으로 처리된 독성 반복 RNA의 발현 수준과 비교하여, 또는 비처리와 비교하여) 독성 반복 RNA의 발현 수준을 변형시키거나, 감소시키거나, 파괴시키거나, 녹 다운시키거나, 또는 제거하는 것인, 질환 치료를 필요로 하는 환자에서 질환을 치료하는 방법을 제공한다. 또 다른 실시양태에서, 감소 수준은 1배 이상이다. 또 다른 실시양태에서, 감소 수준은 2배, 3배, 4배, 5배, 6배, 7배, 8배, 9배 또는 10배이다. 또 다른 실시양태에서, 감소 수준은 10배 이상이다. 또 다른 실시양태에서, 감소 수준은 10배 내지 20배이다. 또 다른 실시양태에서, 감소 수준은 11배, 12배, 13배, 14배, 15배, 16배, 17배, 18배, 19배, 또는 20배이다. 또 다른 실시양태에서, 본원에 개시된 유전자 요법 조성물은 환자에게 투여되었을 때, 독성 반복 RNA를 20%-100% 파괴시킨다. 한 실시양태에서, 독성 반복 RNA의 제거율(%)은 20-99%, 25%-99%, 50%-99%, 80%-99%, 90%-99%, 95%-99% 중 임의의 것이다. 한 실시양태에서, 제거율(%)은 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%이다. 또 다른 실시양태에서, 제거율(%)은 독성 반복 RNA의 완전 제거이거나, 또는 100% 제거이다.

[0283] 본 개시내용은 RNA 표적화 핵산 분자(즉, 본 개시내용의 esnRNA) 또는 본 개시내용의 esnRNA를 포함하는 AAV 벡터를 투여하는 단계를 포함하는, 피험체에서 질환 또는 장애를 치료하는 방법을 제공한다.

[0284] 일부 측면에서, 질환 또는 장애는 독성 반복 RNA 서열과 연관된 것이다. 일부 측면에서, 독성 반복 RNA 서열은 CAG, CUG, GGCCCC, CCGGG, 또는 GGCCC+CCGGGG RNA 반복부이다.

[0285] 일부 측면에서, 질환 또는 장애는 근긴장성 이영양증(DM1) 또는 헌팅턴병(HD)이다.

[0286] 일부 측면에서, 질환 또는 장애는 듀센 근이영양증이다. 일부 측면에서, RNA 표적화 핵산 분자 또는 AAV 벡터는 디스트로핀(DMD)을 코딩하는 RNA 서열을 표적화한다. 일부 측면에서, DMD를 코딩하는 RNA 서열은 인트론 또는 엑손 서열을 포함한다. 일부 측면에서, 엑손 서열은 DMD의 엑손 51, 또는 그의 플랭킹 영역을 포함한다.

[0287] 본 개시내용의 방법의 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 피험체는 치료하고자 하는 질환 진단을 받은 피험체이다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 피험체는 치료하고자 하는 장애 또는 질환의 적어도 하나의 징후 또는 증상을 나타낸다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 피험체는 질환의 적어도 하나의 징후 또는 증상을 나타낸다.

[0288] 본 개시내용의 방법의 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 피험체는 여성 피험체이다. 본 개시내용의 방법의 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 피험체는 남성 피험체이다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 피험체는 2개의 XX 또는 XY 염색체를 갖는 피험체이다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 피험체는 2개의 XX 또는 XY 염색체 및 X 또는 Y인 제3 염색체를 갖는 피험체이다.

[0289] 본 개시내용의 방법의 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 피험체는 신생아, 유아, 아동, 성인, 중년기 성인 또

는 고령자 피험체이다. 본 개시내용의 방법의 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 피험체는 적어도 1, 2, 3, 4, 5,6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30 또는 31세 피험체이다. 본 개시내용의 방법의 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 피험체는 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 또는 12개월된 피험체이다. 본 개시내용의 방법의 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 피험체는 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100세 또는 상기 연령 사이의 임의의 연령 또는 부분 연령인 피험체이다.

[0290] 본 개시내용의 방법의 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 피험체는 포유동물이다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 피험체는 비인간 포유동물이다.

[0291] 본 개시내용의 방법의 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 피험체는 인간이다.

[0292] 본 개시내용의 방법의 일부 실시양태에서, 치료 유효량은 본 개시내용의 조성물의 단일 용량을 포함한다. 일부 실시양태에서, 치료 유효량은 본 개시내용의 조성물의 적어도 1회 용량을 포함한다. 일부 실시양태에서, 치료 유효량은 본 개시내용의 조성물의 1회 이상의 용량(들)을 포함한다.

[0293] 본 개시내용의 방법의 일부 실시양태에서, 치료 유효량은 질환 또는 장애의 징후 또는 증상을 제거한다. 일부 실시양태에서, 치료 유효량은 질환 또는 장애의 징후 또는 증상의 중증도를 감소시킨다.

[0294] 본 개시내용의 방법의 일부 실시양태에서, 치료 유효량은 질환 또는 장애를 제거한다.

[0295] 본 개시내용의 방법의 일부 실시양태에서, 치료 유효량은 질환 또는 장애의 발병을 예방한다. 일부 실시양태에서, 치료 유효량은 질환 또는 장애의 발병을 지연시킨다. 일부 실시양태에서, 치료 유효량은 질환 또는 장애의 징후 또는 증상의 중증도를 감소시킨다. 일부 실시양태에서, 치료 유효량은 피험체에 대한 예후를 개선시킨다.

[0296] 본 개시내용의 방법의 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 조성물은 피험체에게 뇌내 투여를 통해 투여된다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 조성물은 피험체에게 선조체내 경로에 의해 투여된다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 조성물은 피험체에게 정위 주사 또는 주입에 의해 투여된다. 일부 실시양태에서, 조성물은 뇌에 투여된다. 본 개시내용의 방법의 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 조성물은 피험체에게 국소 투여된다.

[0297] 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 조성물은 약학적 조성물로 제제화된다. 간략하면, 본원에 개시된 바와 같이 사용하기 위한 약학적 조성물은 하나 이상의 약학적으로 또는 생리학적으로 허용 가능한 담체, 희석제 또는 부형제와 함께 임의적으로 또한 면역 직교성인 AAV에 임의적으로 포함되는 단백질(들) 또는 단백질(들)을 코딩하는 폴리뉴클레오티드를 포함할 수 있다. 상기 조성물은 완충제, 예컨대, 중성 완충처리된 염수, 포스페이트 완충처리된 염수; 탄수화물, 예컨대, 글루코스, 만노스, 수크로스 또는 덱스트란, 만니톨; 단백질; 폴리펩티드 또는 아미노산, 예컨대, 글리신; 항산화제; 킬레이트제, 예컨대, EDTA 또는 글루타티온; 애주번트(예컨대, 수산화알루미늄); 및 보존제를 포함할 수 있다. 본 개시내용의 조성물은 예를 들어, 예컨대, 경구, 장내, 국부, 경피, 비내 및/또는 흡입과 같은 투여 경로; 및 예를 들어, 예컨대, 정맥내, 근육내, 연막하, 척수강내, 실질내, 척수강내, 선조체내, 피하, 진피내, 복강내, 종양내, 정맥내, 안구내, 및/또는 비경구 투여와 같은 주사 또는 주입을 통한 투여 경로용 제제화될 수 있다. 특정 실시양태에서, 본 개시내용의 조성물은 뇌내 또는 선조체내 투여용으로 제제화된다.

[0298] **실시예**

[0299] **실시예 1: DM1 세포 모델에 CUG 반복부를 표적화하는 esnRNA**

[0300] 물질 및 방법:

[0301] CTG480 HeLa 세포를 12 웰 플레이트에 1100,000개의 세포/ml로 시딩하였다. 다음 날, 리포펙타민(2 ㎕ P3000 및 2.5 ㎕ 리포펙타민/샘플)을 이용하여 snRNA를 형질감염시켰다. 24 시간 후, 세포를 트립신으로 처리하고, 세포 중 ½은 FISH를 위해 챔버 슬라이드에 시딩하고, 나머지 다른 ½은 RNA 분석을 위해 24 웰 플레이트에 시딩하였다.

[0302] 다음 날, RNA 분석을 RNA를 추출하고, FISH를 위해 세포를 고정시켰다. FISH를 위해, CUG 초점을 CUG 형광 프로브로 표지하고, 세포 핵을 DAPI로 염색하였다.

[0303] 목적: 조작된 스템 루프를 포함하는 조작된 snRNP가 CUG 확장을 녹 다운시킬 수 있고, 이로써, DM1 세포 모델에서 RNA 초점의 개수를 감소시킬 수 있는지 여부를 확인하고자 한다.

[0304] 이론적 설명: U7 snRNA는 히스톤 mRNA 어닐링 서열을 관심 표적에 상보적인 서열로 대체함으로써 mRNA를 표적화하도록 프로그래밍시킬 수 있다. 15x CAG 반복부를 포함하는 U7은 DM1을 유발하는 CUG 반복 확장을 감소시키는 것으로 다른 연구에서 밝혀졌다(문헌 [Francois et al., NSMB 2011]). 본 발명자들은 세포에서 U7 snRNA의 2차 구조를 더욱 잘 안정화시키도록 스템 루프(서열 번호 1)를 조작함으로써 상기 snRNA 시스템을 최적화하였다. 본 발명자들은 본 발명자들의 조작된 U7 스템 루프를 당업계에 공지된 U7 스템 루프(문헌 [Francois et al., NSMB 2011])와 비교하였다. 구축물은 15x CAG 반복부, 및 추가로 프로그래밍된 U7을 안정화시키는 데 도움이 되는 최적화된 Sm 결합 도메인을 함유한다. 적절한 세포 모델에서 CUG 반복부에 결합시키고, 그를 차단하고, 비표적화(NT) 서열을 함유하지 않는 U7과 비교함으로써 CUG 표적화 구축물을 시험하여 CUG 초점을 고갈시킬 수 있는지 여부를 확인하였다. 도 1a-d 및 2a-c를 참조한다.

[0305] 모델 DM1에 대한 CRISPR에 의해 그의 게놈 내로 480개의 CTG 반복부가 삽입되고, 계내 하이브리드화에 의해 제시되는 바와 같이 CUG 초점을 발현하는 HeLa(CTG480)에 일시적으로 구축물 및 대조군을 형질감염시켰다. 세포를 챔버 슬라이드에 시딩 및 고정시키고, CUG에 대해 프로브 및 핵 염색을 위해 dapi를 사용하여 세포에 대해 RNA 계내 하이브리드화를 수행하였다. 할로(Halo)를 이용하여 CUG 프로브 및 DAPI 신호의 국재화를 정량화하였다.

[0306] (CUG 반복부를 표적/차단하는) 15xCAG esnRNA 구축물로 처리하였을 때, CUG RNA 초점이 유의적으로 감소하였다.

[0307] 비조작된 snRNA 및 esnRNA 구축물은 그의 각각의 비표적화 대조군과 비교하여 세포당 평균 초점 개수를 각각 39% 및 68% 감소시켰다.

[0308] **실시예 2: CAG 반복부를 표적화하는 esnRNA**

[0309] 물질 및 방법:

[0310] HEK293T 세포를 12 웰 플레이트에 150,000개의 세포/ml로 시딩하였다. 다음 날, 리포펙타민(2 ㎕ P3000 및 2.5 ㎕ 리포펙타민/샘플)을 이용하여 snRNA를 형질감염시켰다. 세포를 CAG 리포터 구축물(80개의 CAG 반복부 함유)로, 및 용량을 증가시키면서 (100 내지 1000 ng) (CUG-15로 지칭되는) CAG 반복부를 표적화하는 snRNA 플라스미드 또는 대조군 비표적화(nt)로 형질감염시켰다.

[0311] 형질감염 후 48 h째에 RNA 분석을 위해 퀴아큐브 컨넥트(Qiacube connect)를 이용하여 RNA를 추출하였다. qRT-PCR을 수행하여 CAG 리포터 발현 수준을 검출하고, GAPDH 참조 유전자의 발현 수준에 대해 정규화하였다.

[0312] myc 태그 항체를 이용하여 웨스턴 블롯 분석하기 위해 또 다른 세포 세트를 이용하여 폴리Q CAG 함유 리포터의 단백질 수준을 검출하였다. GAPDH를 로딩 대조군으로 사용하였다.

[0313] 목적: 돌연변이체 HTT는 HTT의 엑손 1 중의 미소부수체 반복부 존재에 의해 유발된다. 여기서, 본 발명자들은 조작된 스템 루프를 포함하는 조작된 snRNP가 CAG80 리포터 검정에서 CAG 미소부수체 반복 RNA를 녹 다운시킬 수 있는지 여부를 조사하였다.

[0314] 이론적 설명:

[0315] U7 snRNA는 히스톤 mRNA 어닐링 서열을 관심 표적에 상보적인 서열로 대체함으로써 mRNA를 표적화하도록 프로그래밍시킬 수 있다. CAG 반복부를 표적하도록 리프로그래밍된 esnRNA 시스템은 세포에서 U7 snRNA의 2차 구조를 더욱 잘 안정화시키도록 서열 번호 1의 eSL을 포함한다. 구축물은 CAG 확장을 표적화하는 15x CUG 반복부를 함유한다. 상기 구축물은 또한 추가로 프로그래밍된 U7을 안정화시키는 데 도움이 되는 최적화된 Sm 결합 도메인을 함유하였다. CAG 표적화 구축물을 시험하여 상기 구축물이 비표적화 서열을 함유하는 eSL과 비교하여 CAG 반복부 및 폴리Q 함유 단백질을 녹 다운시킬 수 있는지 여부를 확인하였다.

[0316] 3개의 최고 용량의 U7에 의해 검출가능한 폴리Q 단백질의 완전한 녹다운이 달성되었다. 최저 용량의 U7에서 거의 완전한 녹다운이 달성되었다. 따라서, 본 발명자들은 본원에서 용량에 의존하는 방식으로 이루어지는 CAG80 리포터 mRNA의 기준선 수준으로의 녹다운을 보여준다. 도 3a-3c를 참조한다.

[0317] **실시예 3: USH2A 미니유전자 엑손 13 스플라이싱의 esnRNA 조정**

[0318] 물질 및 방법:

[0319] HEK293T 세포를 12 웰 플레이트에 150,000/ml로 시딩하였다. 다음 날, 리포펙타민을 이용하여 비표적화 esnRNA 또는 USH2A 엑손 13 표적화 esnRNA를 발현하는 총 250 ng, 500 ng, 1 ug의 pcDNA를 포함하는 50 ng의 USH2A 미니유전자로 세포를 형질감염시켰다.

[0320] 형질감염 후 48 h째에 세포를 수확하였다. 퀴아큐브 컨넥트를 이용하여 RNA를 추출하고, 역전사시키고, USH2A 엑손 12 및 14에 어닐링하는 프라이머를 이용하여 반정량적 PCR을 수행하였다.

[0321] 비표적화 esnRNA에 어닐링하는 프라이머를 사용하여 PCR에 의해 U7의 정량화를 수행하였다.

[0322] 이론적 설명: USH2A 엑손 13 돌연변이는 어셔 증후군 타입 2A를 초래한다. 엑손 13은 프레임내 엑손이고, 치료 전략법은 엑손 13 스키핑을 포함한다. 본 발명자들은 USH2A의 엑손 13 상의 엑손 스플라이싱 인핸서를 표적화하고, 그에 어닐링하고, 엑손 13 포함을 차단하는 본원에 개시된 eSL를 포함하는 esnRNA를 설계하였다. USH2A 엑손 13을 표적화하는 본 발명자들의 프로그래밍된 esnRNA 시스템은 미니유전자에서 효율적으로 엑손 13을 스키핑한다. PCR 결과는 비조작된 SL과 비교하여 esnRNA 시스템의 정상 상태 수준이 더 높다는 것을 시사한다. 도 4a-4d를 참조한다. 또한 도 1a도 참조한다.

[0323] **실시예 4: DM1 환자 근관에서의 esnRNA 매개 CUG 반복부 차단에 의한 스플라이싱 보정**

[0324] 물질 및 방법:

[0325] *DMPK*의 3'UTR에 2600개의 CUG 반복부를 포함하는 DM1 환자 근관을 15xCUG 반복부를 표적화하는 본원에서 개시된 eSL을 포함하는 esnRNA를 도입하기 전 13일 동안 분화시켰다. 처리 24시간 후에 세포로부터 RNA를 추출하고, RNA를 역전사시키고, DM1 질환 스플라이싱 바이오마커 *LDB3* 엑손 11, *BIN1* 엑손 11 및 *DMD* 엑손 78에 대해 반정량적 PCR을 수행하였다. 질환 및 건강한 이소폼, 둘 모두로부터의 전체 신호 대비 건강한 스플라이스 이소폼(*LDB3* 엑손 11 배제, *BIN1* 엑손 11 포함 및 *DMD* 엑손 78 포함)의 비율(%)을 계산하여 스플라이싱 이소폼 분석을 수행하였다.

[0326] 이론적 설명:

[0327] DM1은 MBNL 단백질을 격리시키고, 그 결과로 선택적 스플라이싱의 조절 이상을 초래하는 DMPK 유전자의 3'UTR 중의 CUG 반복 확장에 의해 유발된다. 본원에 개시된 eSL을 포함하는 esnRNA는 CUG(15xCUG)를 표적화하도록 프로그래밍되었으며, 그 결과로 비표적화 대조군과 비교하여 시험된 3개의 모든 질환 스플라이싱 바이오마커에 대한 건강한 스플라이스 이소폼이 용량에 의존하는 방식으로 증가하였다. 도 5a-5f를 참조한다. 도 2c 또한 참조한다.

[0328] **실시예 5: U7 기반 eSL 및 ISD에서 대안적 5' 안정화 모티프 시험**

[0329] RNA 초점을 감소시키는 데 있어서의 대안적 5' 상호작용 안정화 도메인(ISD)을 포함하는 CUGx15 표적화 snRNA의 효능은 CTG480 HeLa 세포에서 합성 snRNA 형질감염하고, CUG RNA 초점에 대해 형광성 계내 하이브리드화하여 입증하고, 확인하였다. 도 6a-6b를 참조한다. (담청색 = 상응하는 5' ISD를 포함하는 대안적 조작된 스템 루프. 암청색 = 선택된 조작된 스템 루프 및 상응하는 5' ISD. sR220004 = 비표적화 snRNA.)

[0330] 합성 snRNA의 형질감염 후 24 hr, 48 hr, 및 72 hr 시점에 대안적 5' 안정화 도메인을 포함하는 비표적화 snRNA의 발현 수준을 평가하였다. 도 7a-7b를 참조한다. sR220004는 모든 시점에서 가장 높은 발현을 보였다. sR220088은 검출가능한 발현을 보이지 않았다. 004에서 발견된 eSL/5'ISD는 향후 구축물을 위해 선택하였다. sR220004 및 sR220091은 48 hr 및 72 hr 시점에서 가장 높은 발현 유지를 보였다.

[0331] **실시예 6: PolIII 및 PolII 프로모터에 의한 U7 snRNA 효능 및 발현**

[0332] snRNA 발현을 상이한 인간 PolIII 및 PolII 프로모터에 의해 구동시켰을 때, CTG480 HeLa 세포에서 qPCR에 의해 snRNA 발현을 평가하였다. 도 8을 참조한다. U1 프로모터는 가장 높은 수준의 snRNA를 구동시키고, 그 다음이 U7 프로모터에 의해 이루어진다. PolIII 프로모터 U6 및 7SK의 경우, 발현이 낮았고, PolIII tRNA 프로모터의 경우, 가장 낮은 발현을 보였다.

[0333] CTG480 HeLa 세포에서 RNA FISH에 의해 CUG 초점 정량화를 평가하였다. 도 9a-9b를 참조한다. U1 및 U7 프로모터만이 CUG 초점 개수를 감소시키는 데 명확한 효능을 보였고, 여기서, U1이 U7보다 효능이 더욱 컸다(청색=CUG 표적화; 회색 = 비표적화).

UID	프로모터, 표적
P03490	tRNA (CUGx15)
P03462	U6 (CUGx15)
P03465	7SK (CUGx15)
P03557	U1 (CUGx15)
P02225	U7 (CUGx15)
P03491	tRNA (nt)
P03463	U6 (nt)
P03466	7SK (nt)
P03561	U1 (nt)
P02313	U7 (nt)

[0334]

[0335] snRNA 발현은 HEK293T 세포에서 qPCR로 확인하였다(도 10 참조). SmOpt가 U1 Sm 결합 부위로 전환되었을 때, PolIII 프로모터하의 U7 snRNA 발현은 최대 25x 증가하였다. Sm 부위가 U1 Sm으로 전환되었을 때, PolII U1 및 U7 프로모터에 의한 발현은 감소하였다. U1 및 U7 프로모터에 의한 발현은 Pol III 프로모터보다 우수하였다.

[0336] HEK293T 세포로의 snRNA 형질감염을 수행하였다. 도 11a-11b를 참조한다. 여기서 znt esnRNA 및 z38 esnRNA 발현은 뚜렷이 다른 별개의 snRNA 프로모터에 의해 구동되었다. 상기 구축물을 HEK293T에 형질감염시켰다. 형질감염 후 48 h째에 RNA를 추출하고 cDNA를 생성하였다. qPCR을 위해 각 snRNA(z)에 대해 특이적인 프라이머를 사용하여 snRNA 발현 및 상대적인 프로모터 강도를 결정하였다.

[0337] **실시예 7: esnRNA 구축물은 환자 근관에서 엑손 51의 DMD 엑손 스키핑을 초래한다.**

[0338] 본원에 개시된 snRNA로 인간 델타 엑손 52 근관의 형질 도입을 수행하였다. 도 12a-12b를 참조한다. 증폭 프라이머를 사용하여 밴드 강도를 정량화하여 엑손 51 스키핑(%)을 결정하였다.

[0339] 본원에 개시된 snRNA를 보유하는 AAV9를 인간 델타 엑손 52 근관에 형질도입하였다. 데스민 및 디스트로핀에 대해 면역형광을 수행하였다. 엑손 51 표적화 snRNA로 처리한 후, 디스트로핀을 검출할 수 있다. 도 13a-13b를 참조한다.

[0340] **실시예 8: 엑손 51 스키핑 골격 근관 및 DMD 마우스 모델**

[0341] 엑손 스플라이싱 인핸서(ESE)를 표적화하는 융합 안티센스 서열을 보유하는 엑손 51 RNA 표적화 snRNA(z73=z38/z42 및 z187=z42/z38)로 엑손 52가 결실된 인간 골격 근관을 형질감염시켰다. 저용량의 snRNA 형질감염 24시간 후, 엑손 51 스키핑 수준을 정량화하였다(테이프 스테이션 이미지 도 15a). (DMD 엑손 52가 결실된) 인간 골격 근관은 AAV9-A04526(2x z73) 및 A04569(2x z187)로 형질도입시켰다. 2.5e4, 1e5 및 5e5 MOI로 7일 동안 근관에 형질도입하였다. AAV9 기반 엑손 51 스키핑을 정량화하였다(도 15b). 엑손 52가 결실된 hDMD(del52hDMD/mdx)를 보유하는 마우스에 A04526 및 A04569를 3e12 벡터 게놈으로 후안와로 주사하였다. 3주간의 생존 후, RNA를 전경골근(TA), 비복근 (Gc) 및 심장으로부터 추출하였다. 반정량적 RT-PCR을 수행하여 엑손 51 포함 및 배제된 밴드를 검출하였다. (도 15c)는 인간화 DMD 마우스 모델에서의 엑손 51 스키핑의 정량화를 보여주는 것이다. del52hDMD/mdx 마우스의 비복근에의 3e11 vg/근육 용량의 A04526 또는 엑손 51 ESE 표적화 모르폴리노(ViM)의 근육내 전달. 도 15d는 4주 후의 디스트로핀 양성 섬유의 정량화를 보여주는 것이다. 야생형 인간 디스트로핀을 발현하는 hDMD/mdx 마우스(회색 막대)는 디스트로핀 발현에 대한 양성 대조군 역할을 한다. U = 비처리.

[0342] **실시예 9: DM1 환자 유래 근관에서의 AAV9 기반 스플라이싱 역전 및 CUG 반복부 녹다운**

[0343] (5일 동안) myoD 아데노바이러스 벡터로의 형질도입에 의해 DM1 환자 섬유아세포를 근관으로 분화시켰다. 세포에 A04233 및 A04234(CUG 반복부를 표적화하는 이중 snRNA 카세트를 포함하는 scAAV9)를 5e4, 2e5 및 1e6의 MOI로 형질도입하고, 형질도입 후 7일째에 수확하였다. (1700개의 CUG 반복부를 함유하는) 환자 유래 근관에서 CUG 반복부를 표적화하는 U7 snRNA로 처리 7일 후 DMD 및 LBD3 RNA의 스플라이싱 역전 및 DMPK의 녹다운. 도 16a-d를 참조한다. 세포 핵은 DAPI로 염색하고, CUG 표지 프로브로 CUG FISH를 수행하였다. 세포당 CUG 초점의

평균 개수에 대한 정량화를 위해 세포를 형질도입 후 7일째 프로세싱하였다. 도 17a-b를 참조한다.

[0344] **실시예 10: HD 환자 세포 및 HD 마우스 모델에서의 AAV9 기반 HTT 녹다운**

[0345] (66개의 CAG 반복부를 함유하는) HD 환자 iPS를 2주 동안 피질 뉴런으로 분화시킨 후, 이어서, 추가로 2주 동안 AAV-A04390 snRNA 벡터(CAG 반복부를 표적화하는 2x snRNA 카세트)로 2개의 상이한 상이한 MOI로 형질도입시켰다. 이어서, 피질 뉴런을 수확하고, 돌연변이체 가용성 HTT를 메조 스케일 디스커버리 면역검정법에 의해 정량화하였다. 도 18a-18c를 참조한다. 이어서, R6/2 HD 마우스 모델에서 CAG 반복부를 표적화하는 생체내 연구를 설계하였다. CAG 반복부를 표적화하는 AAV-snRNA 벡터(A03081: AAVrh10-snRNA(CAGx15 TS를 포함하는 4x snRNA))를 2e10 벡터 게놈으로 선조체내로 투여하고, 처리 후 돌연변이체 가용성 HTT 단백질을 비처리 마우스 및 snRNA 처리 마우스(n=10)에서 메조 스케일 디스커버리 면역검정법(MSD)을 통해 정량화하였다. 도 19a-b를 참조한다.

[0346] **실시예 11: 천연 스템 루프 snRNA 벡터 대비 조작된 스템 루프 snRNA 벡터 사용시 더 높은 발현 수준.**

[0347] CHO-Lec2 세포에 AAV9-A04527 벡터(DMD 엑손 51 ESE를 표적화하는 z38/42를 발현하는 천연 스템 루프) 또는 AAV9-A04526 벡터(DMD 엑손 51 ESE를 표적화하는 z38/42를 발현하는 조작된 스템 루프)를 1e6의 MOI로 형질도입하였다. 천연 스템 루프 snRNA 벡터가 형질도입된 세포에서의 z38/42 발현과 비교하여 조작된 snRNA 벡터가 형질도입된 세포에서 z38/42 발현이 더 높다. 도 20a-b를 참조한다.

[0348] **참조에 의한 원용**

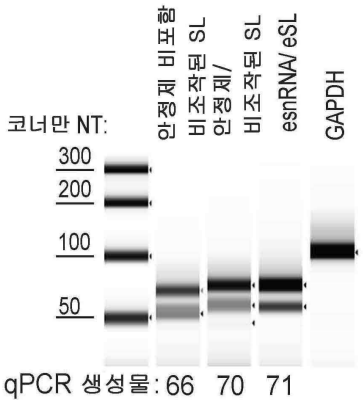
[0349] 임의의 상호 참조되거나, 또는 관련된 특허 또는 출원을 포함하여 본원에 인용된 모든 문서는 명시적으로 제외되거나, 또는 달리 제한되지 않는 한, 그 전문이 본원에 참조로 포함된다. 어떠한 문서의 인용도 그가 본원에 개시되거나, 또는 구현된 발명에 대한 선행 기술이라는 것, 또는 그가 단독으로 또는 임의의 다른 참고 문헌 또는 참고 문헌들과 조합하여 그러한 발명을 교시, 시사 또는 개시한다는 것을 인정하는 것은 아니다. 추가로, 이 문서에 있는 용어의 임의의 의미 또는 정의가 참조로 포함된 문서에 있는 동일한 용어의 임의의 의미 또는 정의와 충돌하는 경우, 본 문서에서 상기 용어에 할당된 의미 또는 정의가 우선한다.

[0350] **다른 실시양태**

[0351] 본 개시내용의 특정 실시양태가 예시되고, 설명되었지만, 본 개시내용의 정신 및 범주를 벗어나지 않으면서, 다양한 다른 변경 및 변형이 이루어질 수 있다. 첨부된 청구범위의 범주는 본 개시내용의 범주 내에 있는 그러한 모든 변경 및 변형을 포함한다.

도면

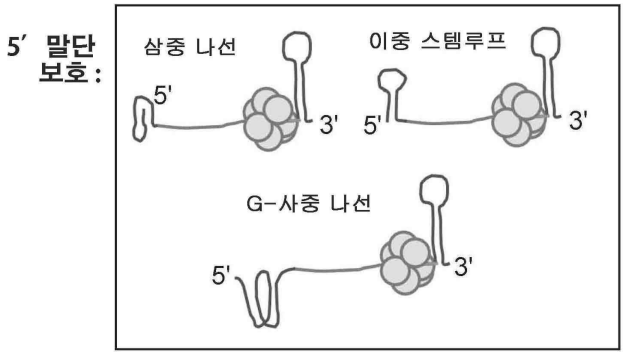
도면1a



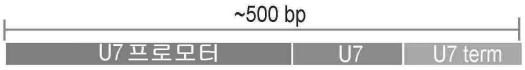
도면1b



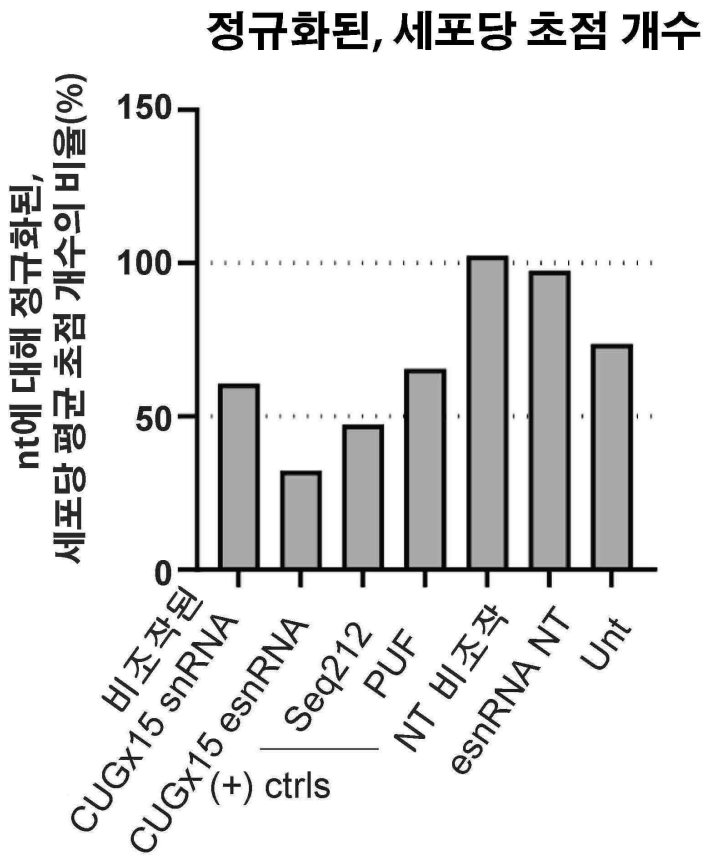
도면1c



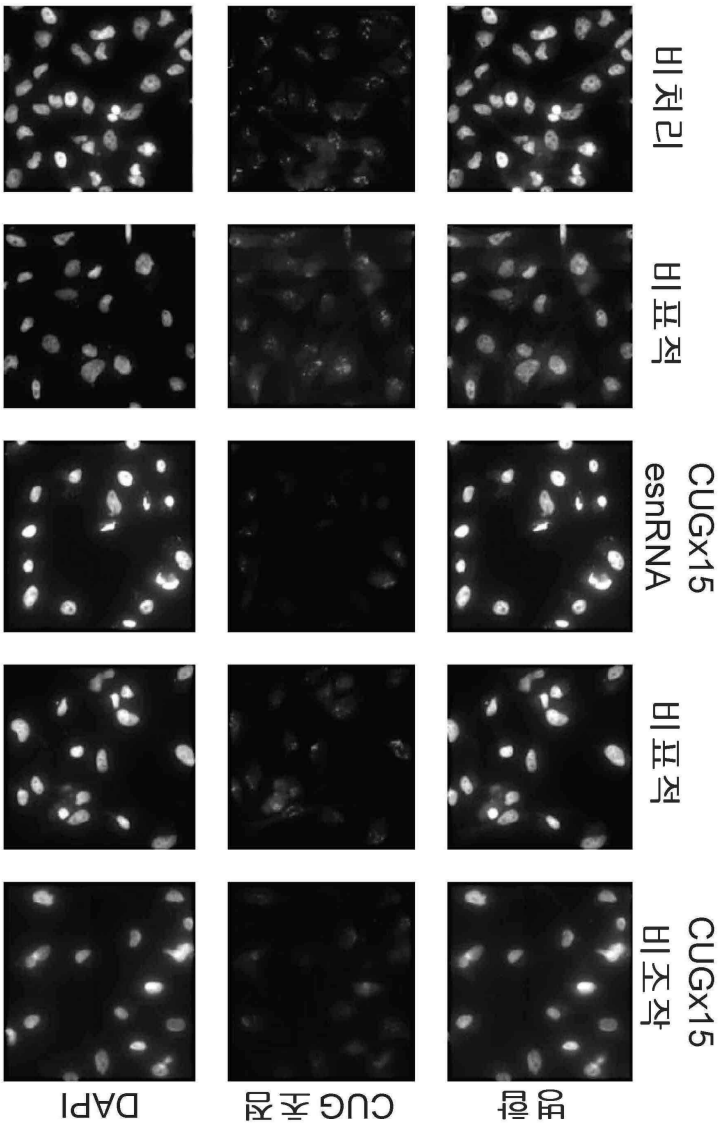
도면1d



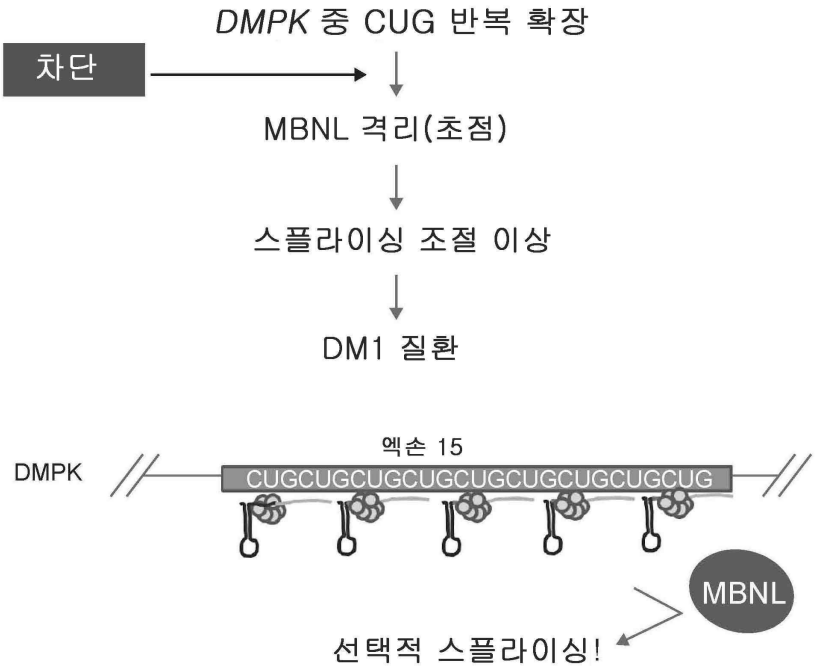
도면2a



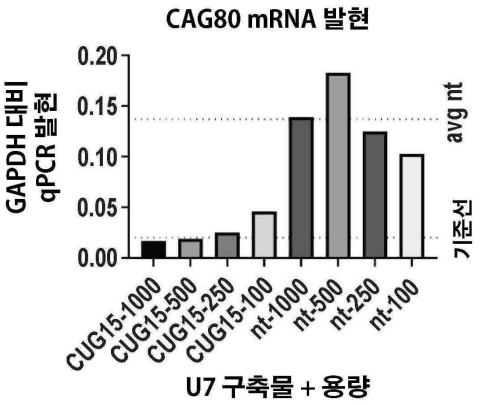
도면2b



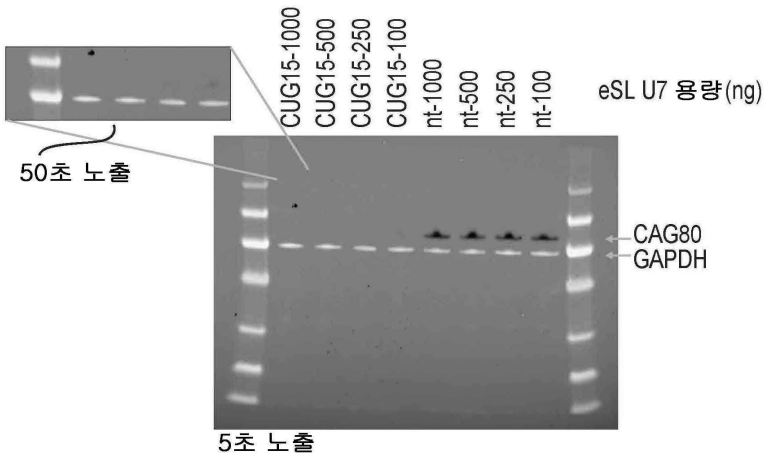
도면2c



도면3a



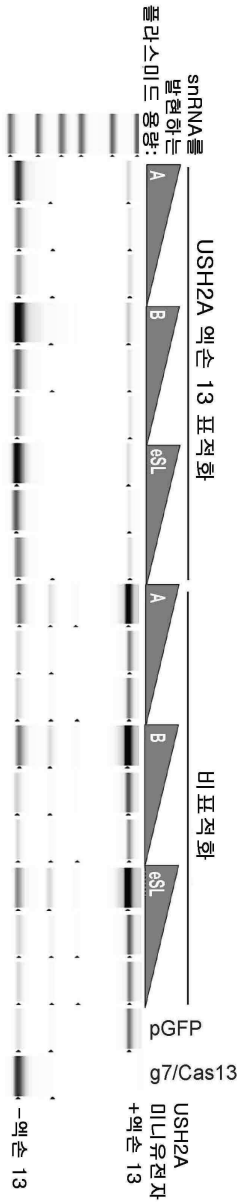
도면3b



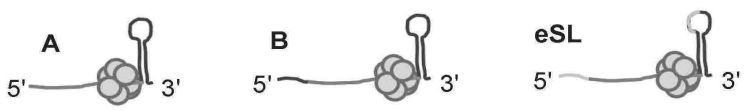
도면3c



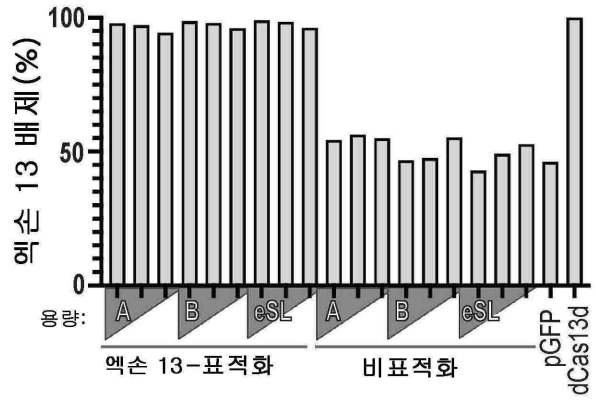
도면4a



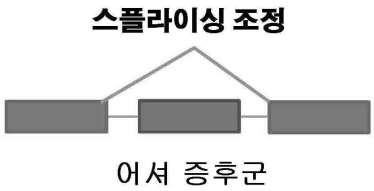
도면4b



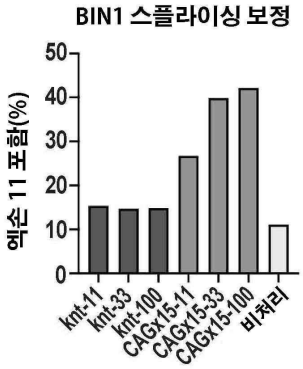
도면4c



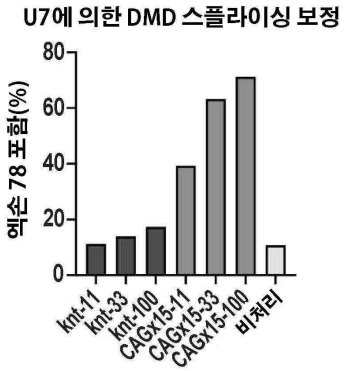
도면4d



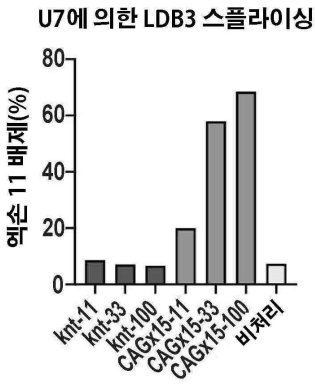
도면5a



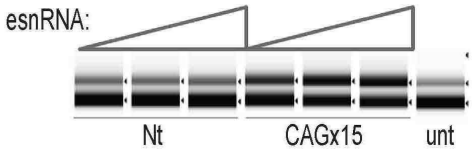
도면5b



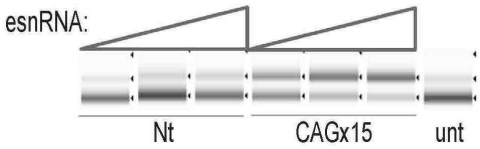
도면5c



도면5d

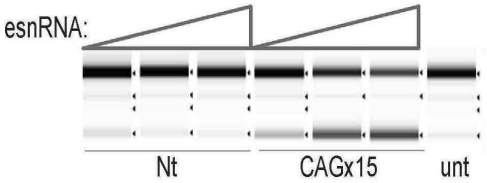


도면5e

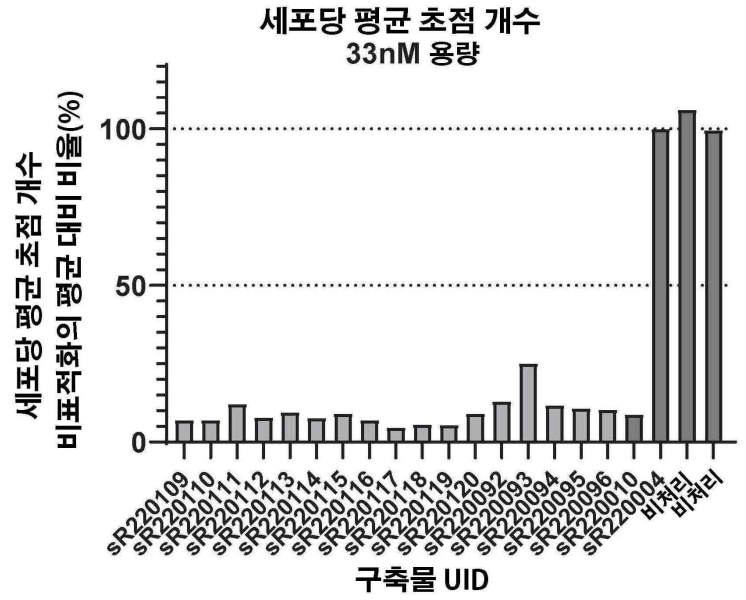


*eSL을 포함하는 esnRNA

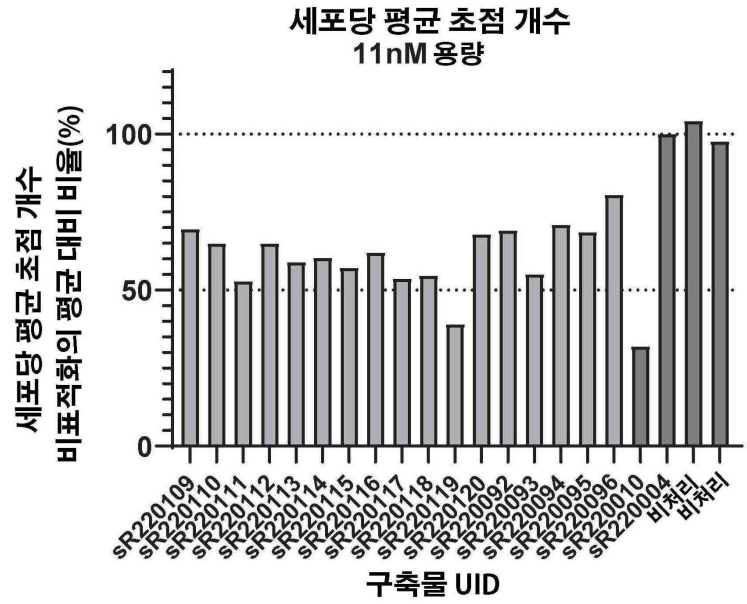
도면5f



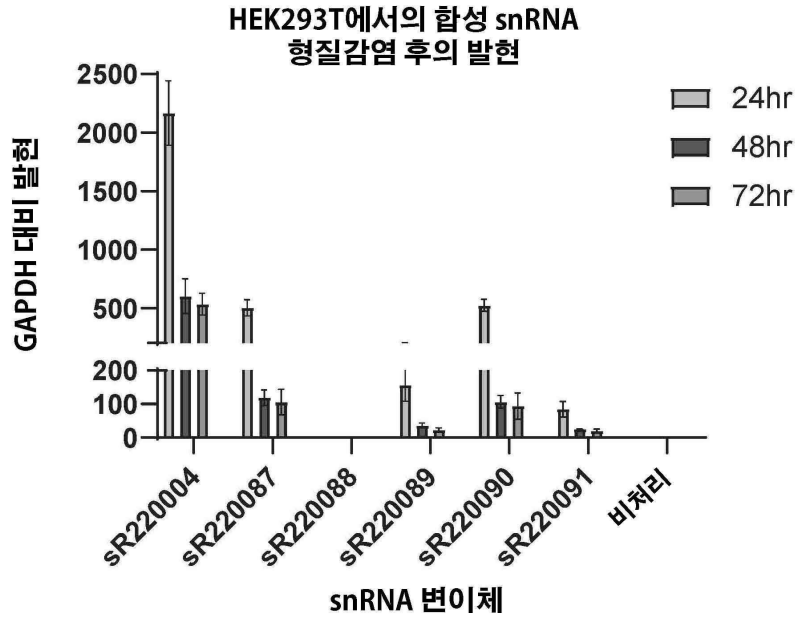
도면6a


세포당 평균 초점 개수
33nM 용량
세포당 평균 초점 개수
비표적화의 평균 대비 비율(%)
100
50
0
sR220109
sR220110
sR220111
sR220112
sR220113
sR220114
sR220115
sR220116
sR220117
sR220118
sR220119
sR220120
sR220092
sR220093
sR220094
sR220095
sR220096
sR220010
sR220004
비처리
비처리
구축물 UID

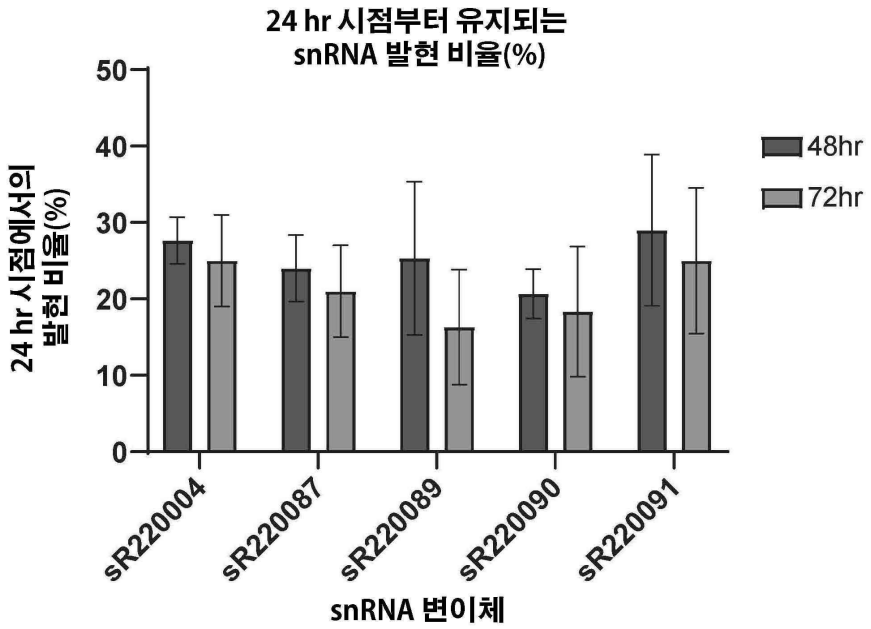
도면6b


세포당 평균 초점 개수
11nM 용량
세포당 평균 초점 개수
비표적화의 평균 대비 비율(%)
100
50
0
sR220109
sR220110
sR220111
sR220112
sR220113
sR220114
sR220115
sR220116
sR220117
sR220118
sR220119
sR220120
sR220092
sR220093
sR220094
sR220095
sR220096
sR220010
sR220004
비처리
비처리
구축물 UID

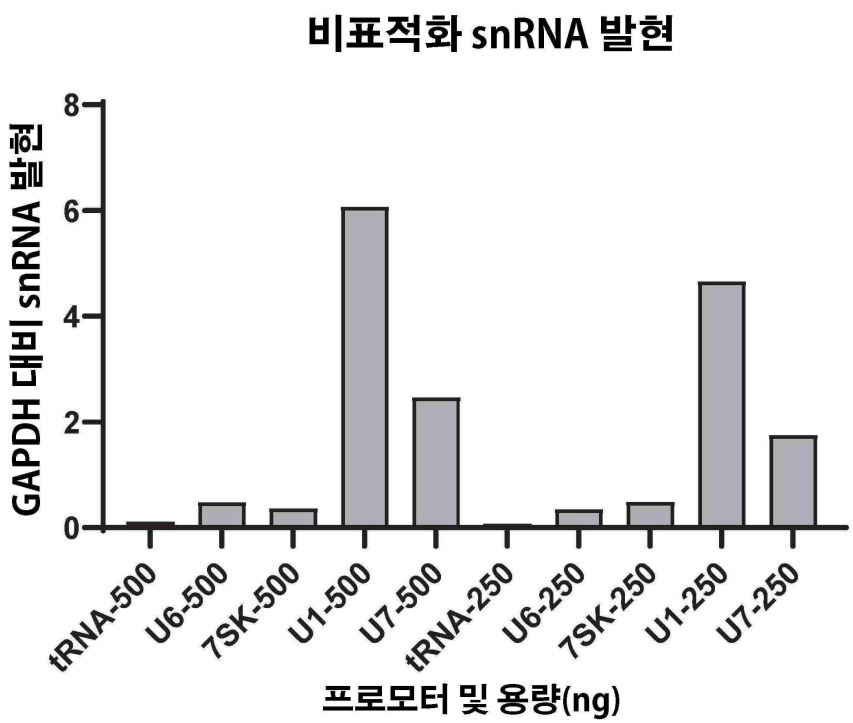
도면7a


HEK293T에서의 합성 snRNA
형질감염 후의 발현
GAPDH 대비 발현
2500
2000
1500
1000
500
200
100
0
24hr
48hr
72hr
sR220004
sR220087
sR220088
sR220089
sR220090
sR220091
비처리
snRNA 변이체

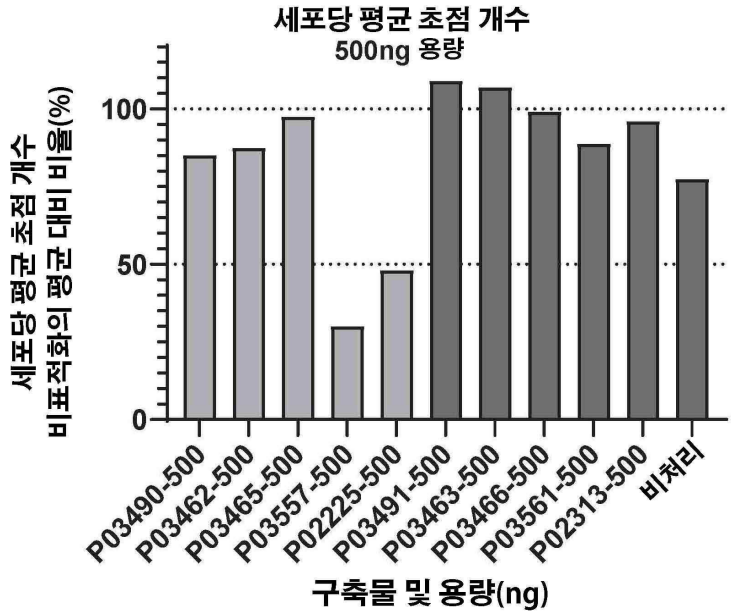
도면7b


24 hr 시점부터 유지되는
snRNA 발현 비율(%)
24 hr 시점에서의
발현 비율(%)
50
40
30
20
10
0
48hr
72hr
sR220004
sR220087
sR220089
sR220090
sR220091
snRNA 변이체

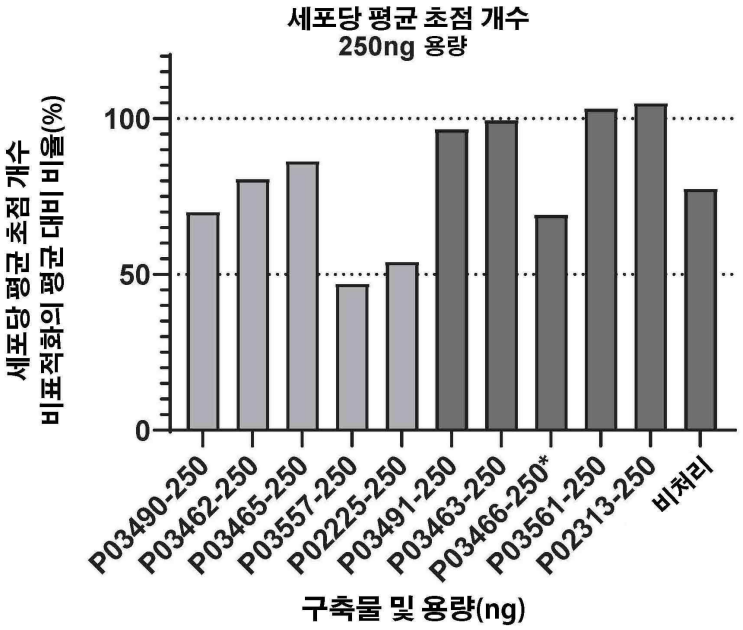
도면8


비표적화 snRNA 발현
GAPDH 대비 snRNA 발현
8
6
4
2
0
tRNA-500
U6-500
7SK-500
U1-500
U7-500
tRNA-250
U6-250
7SK-250
U1-250
U7-250
프로모터 및 용량(ng)

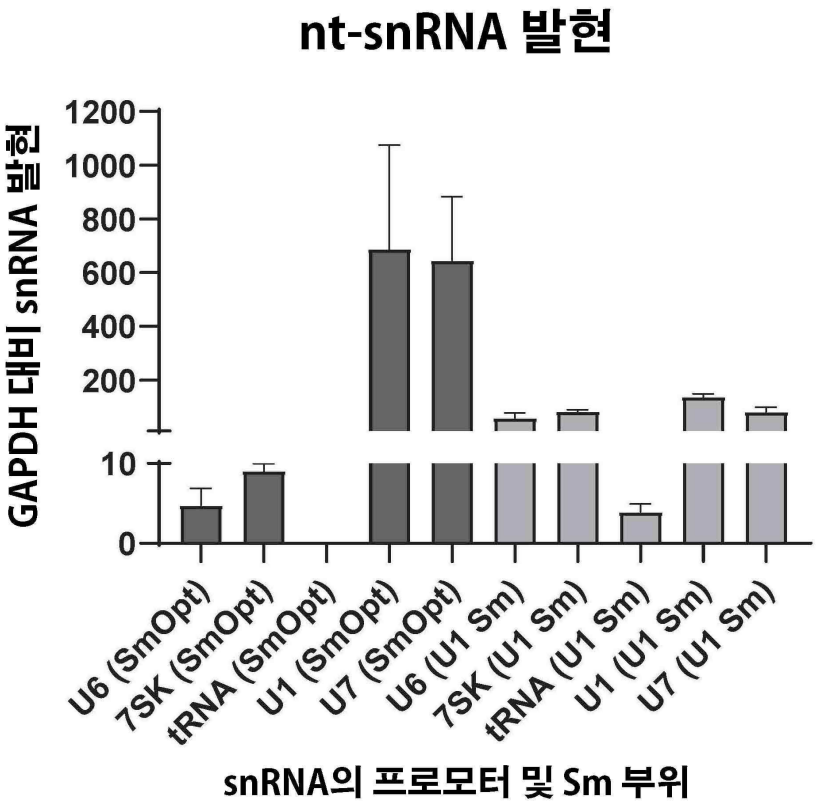
도면9a


세포당 평균 초점 개수
500ng 용량
세포당 평균 초점 개수
비표적화의 평균 대비 비율(%)
100
50
0
P03490-500
P03462-500
P03465-500
P03557-500
P02225-500
P03491-500
P03463-500
P03466-500
P03561-500
P02313-500
비처리
구축물 및 용량(ng)

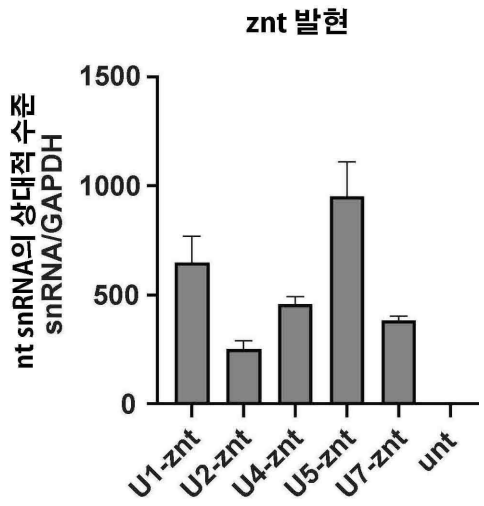
도면9b


세포당 평균 초점 개수
250ng 용량
세포당 평균 초점 개수
비표적화의 평균 대비 비율(%)
100
50
0
P03490-250
P03462-250
P03465-250
P03557-250
P02225-250
P03491-250
P03463-250
P03466-250*
P03561-250
P02313-250
비처리
구축물 및 용량(ng)

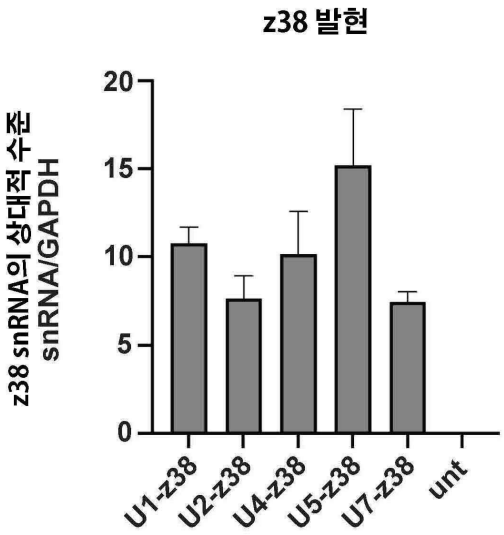
도면10


nt-snRNA 발현
GAPDH 대비 snRNA 발현
1200
1000
800
600
400
200
10
0
U6 (SmOpt)
7SK (SmOpt)
tRNA (SmOpt)
U1 (SmOpt)
U7 (SmOpt)
U6 (U1 Sm)
7SK (U1 Sm)
tRNA (U1 Sm)
U1 (U1 Sm)
U7 (U1 Sm)
snRNA의 프로모터 및 Sm 부위

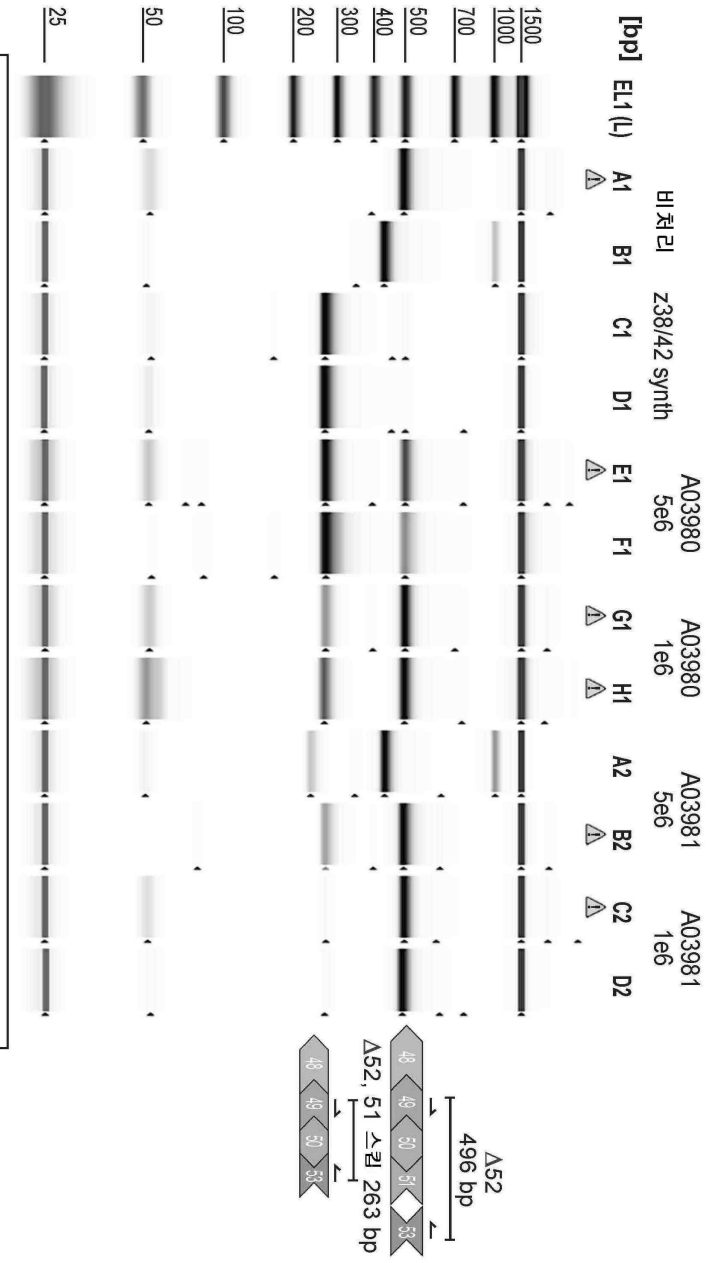
도면11a


znt 발현
nt snRNA의 상대적 수준
snRNA/GAPDH
1500
1000
500
0
U1-znt
U2-znt
U4-znt
U5-znt
U7-znt
unt

도면11b

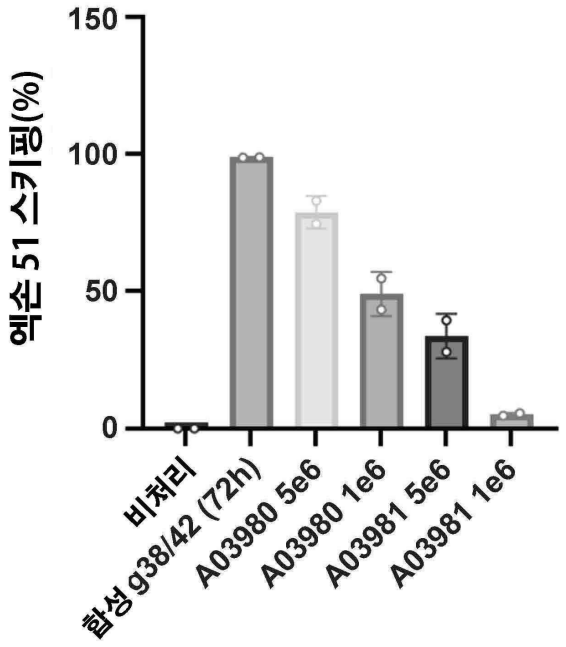

z38 발현
z38 snRNA의 상대적 수준
snRNA/GAPDH
20
15
10
5
0
U1-z38
U2-z38
U4-z38
U5-z38
U7-z38
unt

도면12a



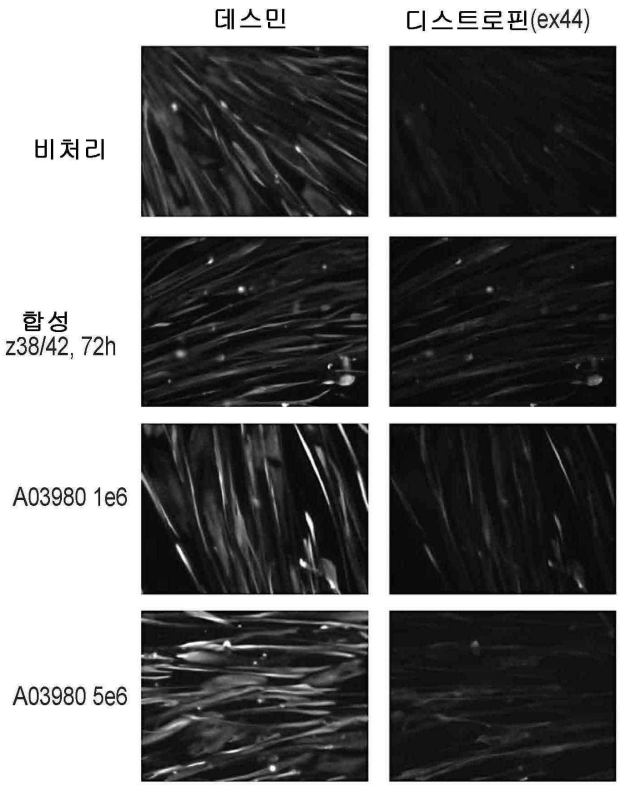
A03980: U1 및 U7 구동 z38/42 융합 스페이서
A03981: U7-z42, U1-z38

도면12b

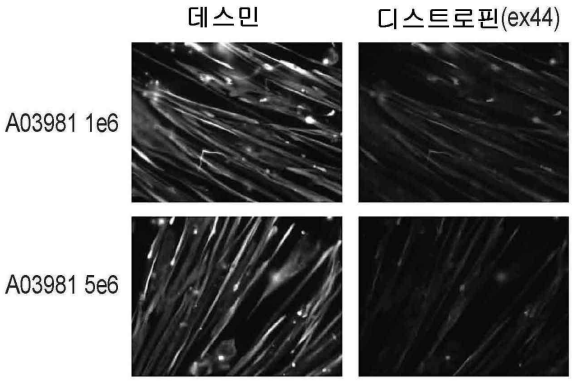


> 고용량 A03980 ~79% 스플라이싱
> 고용량 A03981 ~49% 스플라이싱

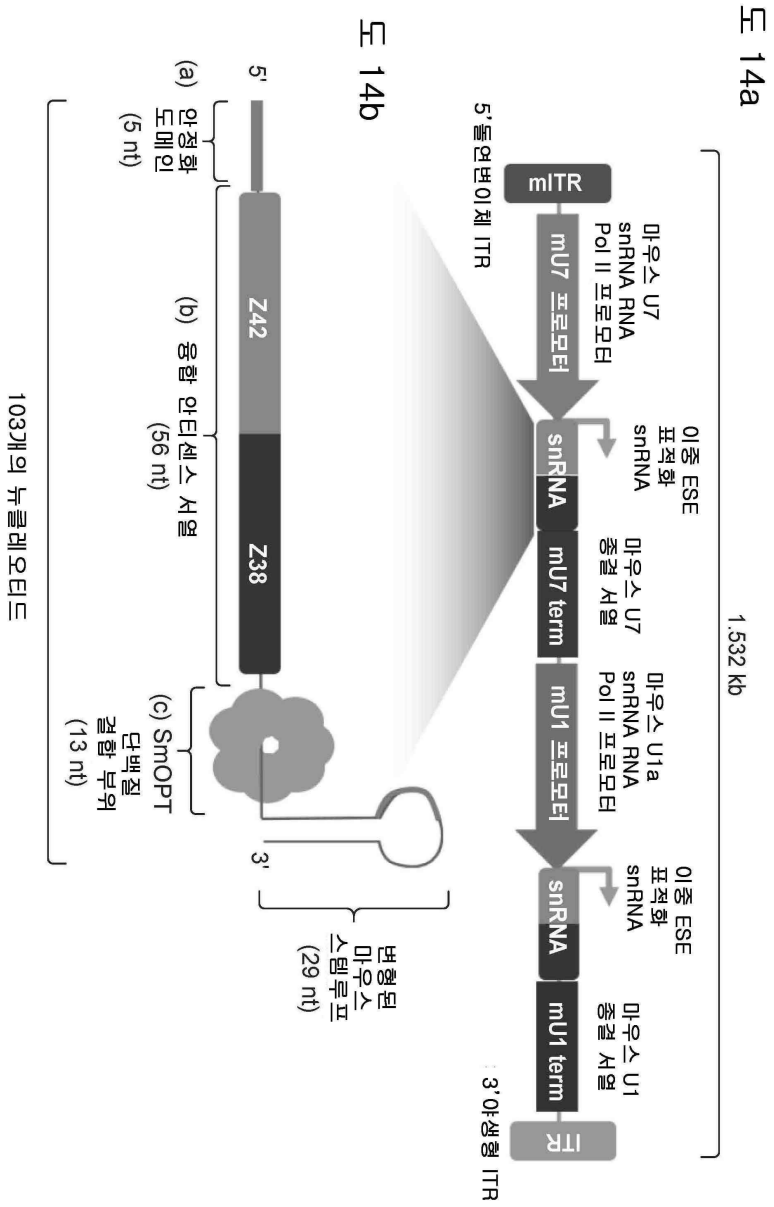
도면13a



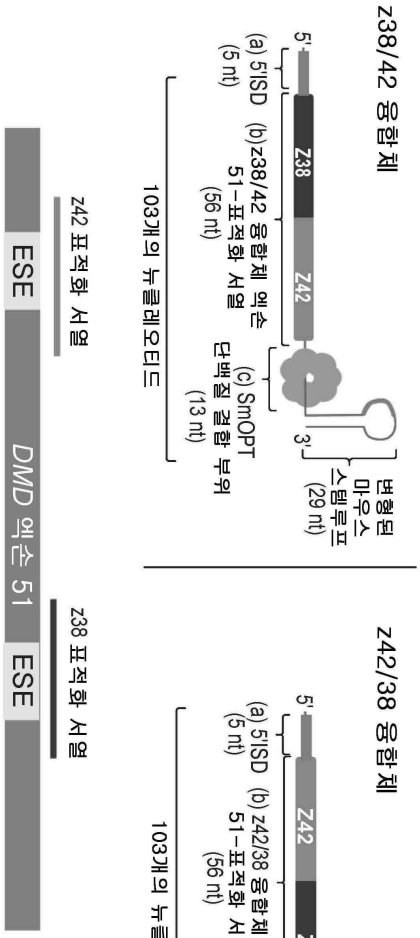
도면13b



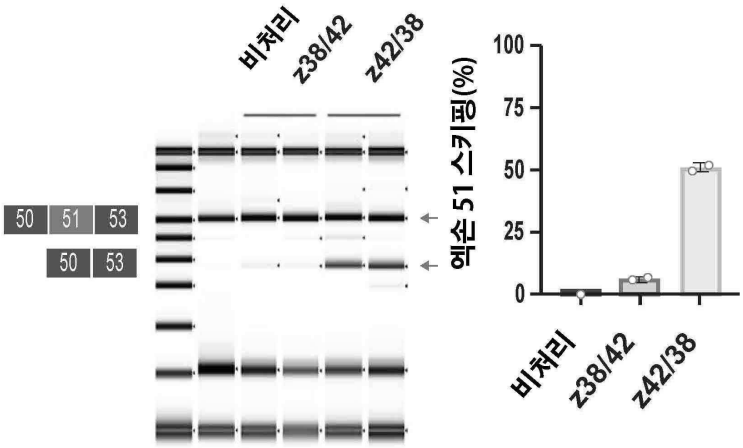
도면14ab



도면14c

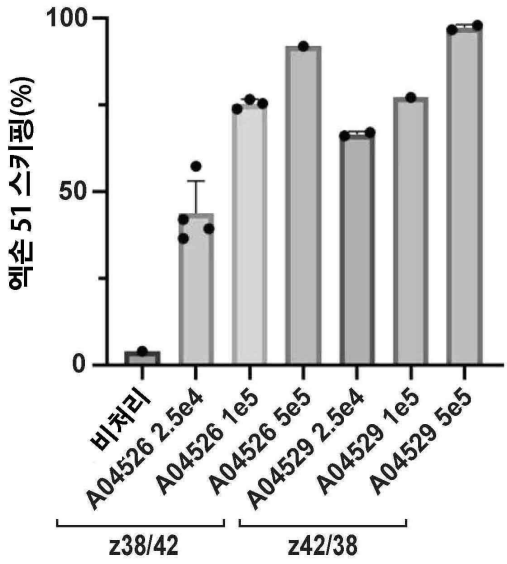

z38/42 융합체
5'
Z38
Z42
3'
(a) 5'ISD (5 nt)
(b) z38/42 융합체 엑손 51-표적화 서열 (56 nt)
(c) SmOPT 단백질 결합 부위 (13 nt)
변형된 마우스 스템루프 (29 nt)
103개의 뉴클레오티드
z42/38 융합체
5'
Z42
Z38
3'
(a) 5'ISD (5 nt)
(b) z42/38 융합체 엑손 51-표적화 서열 (56 nt)
(c) SmOPT 단백질 결합 부위 (13 nt)
변형된 마우스 스템루프 (29 nt)
103개의 뉴클레오티드
z42 표적화 서열
z38 표적화 서열
ESE
DMD 엑손 51
ESE

도면15a

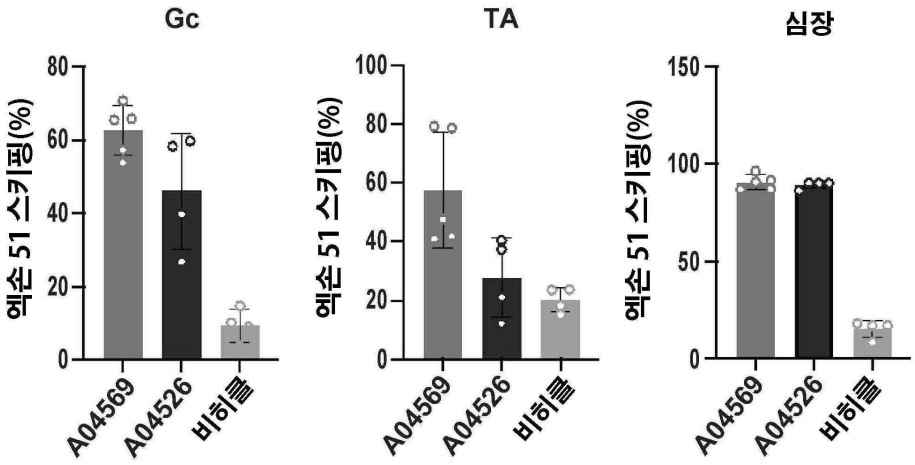


처리 24 hr 후 수확된
25 nM 합성 snRNA

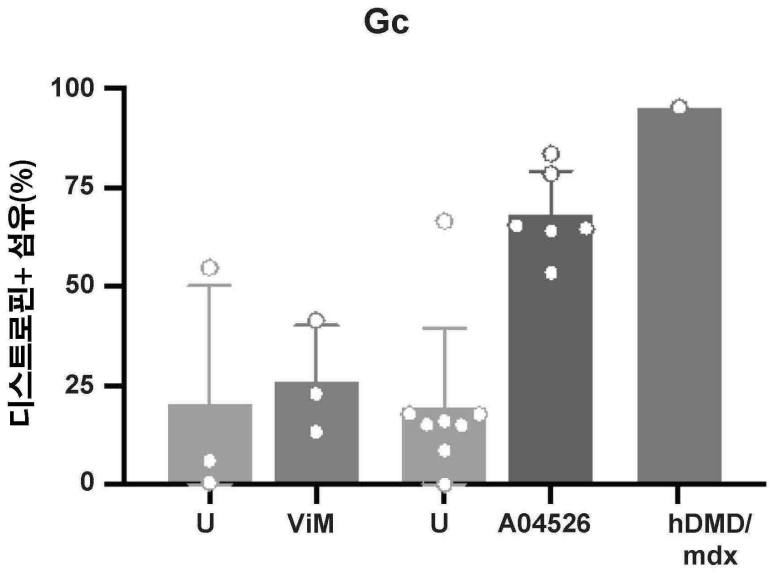
도면15b



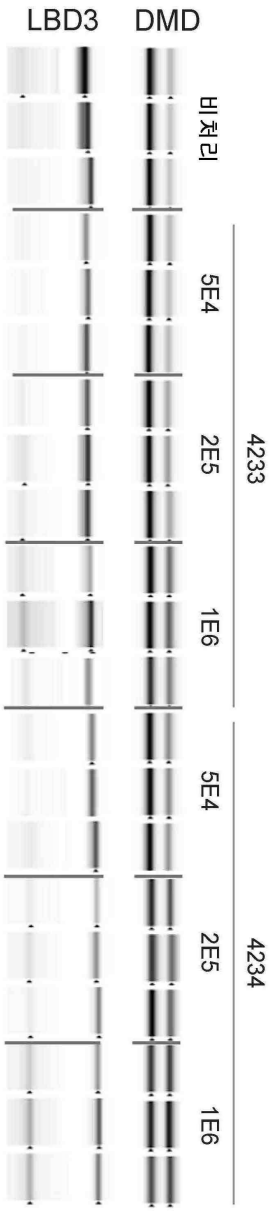
도면15c



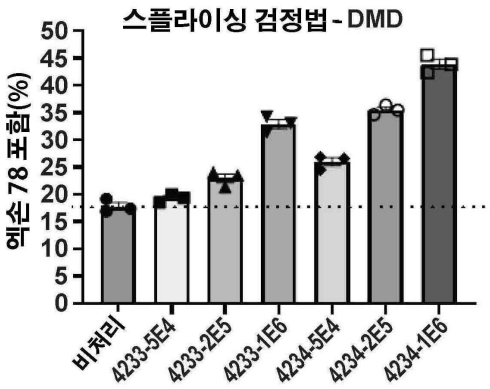
도면15d



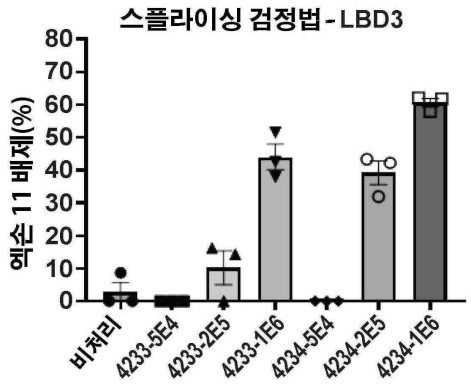
도면16a


LBD3
DMD
비처리
5E4
2E5
1E6
4233
5E4
2E5
1E6
4234

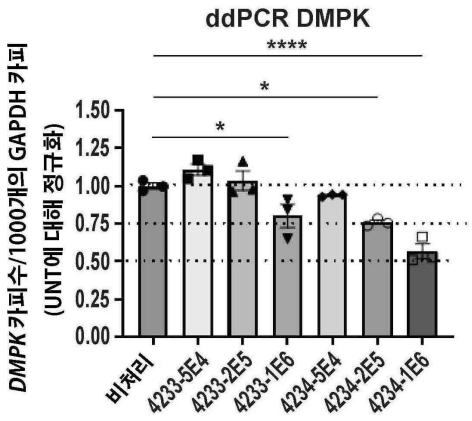
도면16b


스플라이싱 검정법 - DMD
엑손 78 포함(%)
50
45
40
35
30
25
20
15
10
5
0
비처리
4233-5E4
4233-2E5
4233-1E6
4234-5E4
4234-2E5
4234-1E6

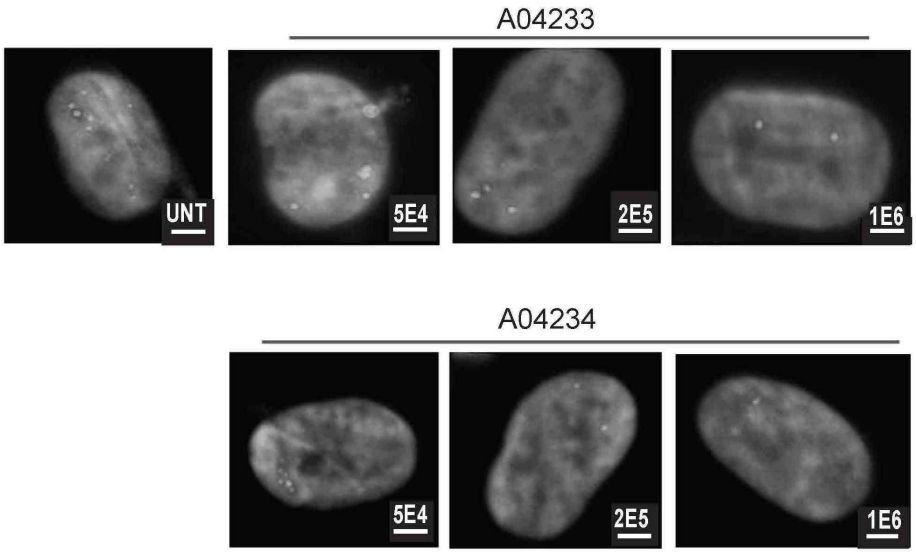
도면16c



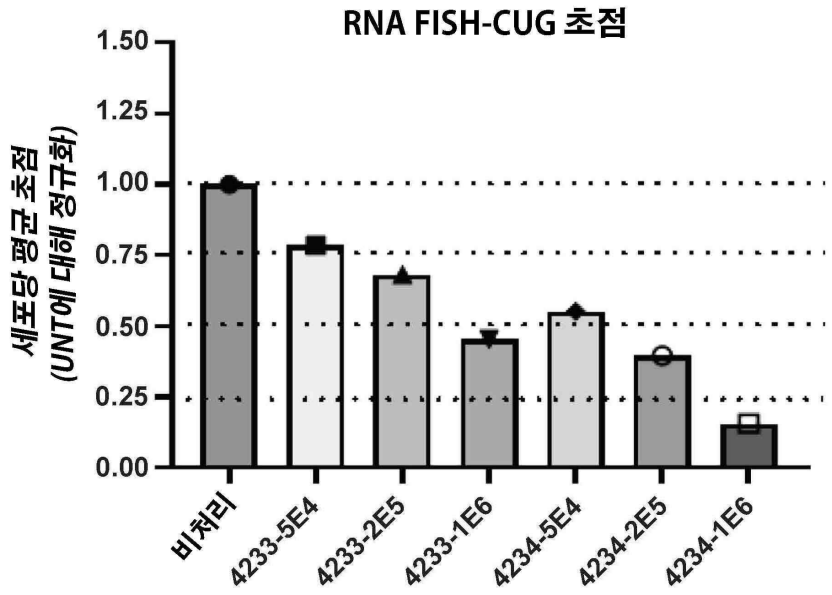
도면16d



도면17a



도면17b



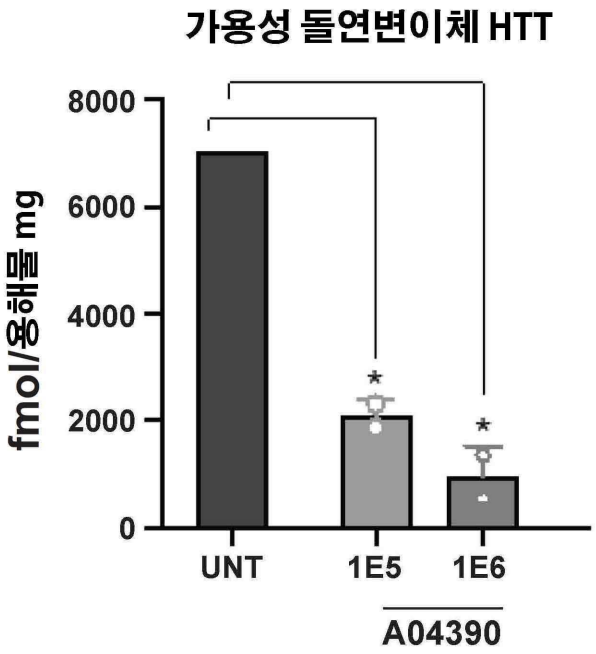
도면18a

벡터	MOI	판독
A04390: hU7p_U7CAG15_ hU1p_U7CAG15 snRNA	MOI 1e6, 1e5	형질도입 후 2주째 가용성 HTT에 대한 MSD

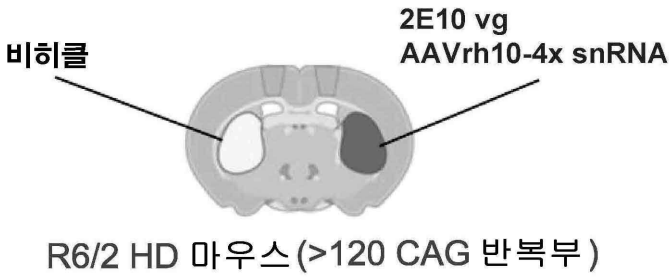
도면18b



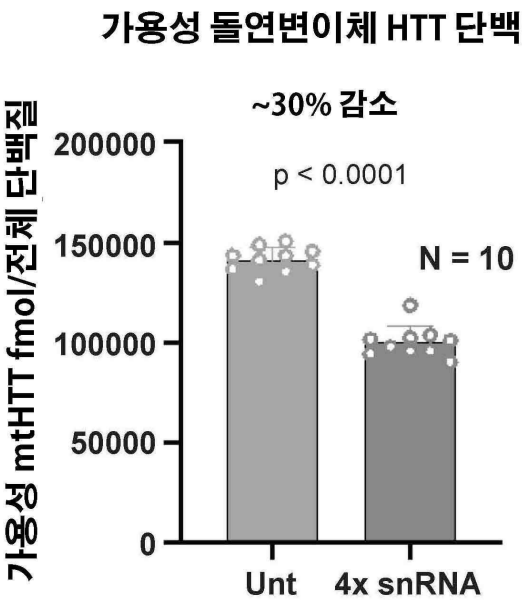
도면18c



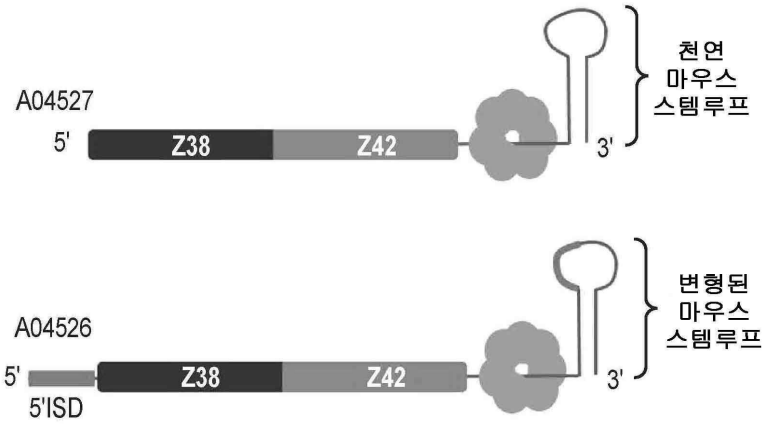
도면19a



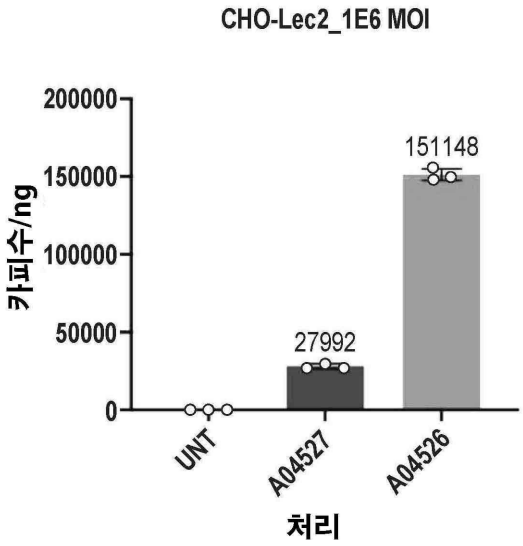
도면19b



도면20a


A04527
5'
Z38
Z42
3'
천연
마우스
스템루프
A04526
5'
5'ISD
Z38
Z42
3'
변형된
마우스
스템루프

도면20b


CHO-Lec2_1E6 MOI
200000
150000
100000
50000
0
카피수/ng
151148
27992
UNT
A04527
A04526
처리

서 열 목 록 (첨부)



아이콘을 클릭하시면 서열목록 파일이 열립니다.

본 공보 PDF는 첨부파일을 가지고 있습니다. Acrobat Reader PDF뷰어를 제공하지 않는 브라우저(크롬, 파이어폭스, 사파리 등)의 경우 첨부파일 열기가 제한되어 있으므로 Acrobat Reader PDF뷰어 설치 후 공보 PDF를 다운로드 받아 해당 뷰어에서 조회해주시기 바랍니다.