

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 公表特許公報 (A)

(11) 特許出願公表番号

特表2020-518266

(P2020-518266A)

(43) 公表日 令和2年6月25日 (2020.6.25)

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
C 1 2 N 15/864 (2006.01)	C 1 2 N 15/864	1 0 0 Z 4 C 0 8 4
A 6 1 K 48/00 (2006.01)	A 6 1 K 48/00	Z N A 4 C 0 8 6
A 6 1 K 31/713 (2006.01)	A 6 1 K 31/713	
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P 43/00	1 1 1
C 1 2 N 15/113 (2010.01)	C 1 2 N 15/113	Z

審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 432 頁)

(21) 出願番号 特願2019-560388 (P2019-560388)
 (86) (22) 出願日 平成30年5月4日 (2018.5.4)
 (85) 翻訳文提出日 令和1年12月26日 (2019.12.26)
 (86) 国際出願番号 PCT/US2018/031108
 (87) 国際公開番号 W02018/204797
 (87) 国際公開日 平成30年11月8日 (2018.11.8)
 (31) 優先権主張番号 62/520,093
 (32) 優先日 平成29年6月15日 (2017.6.15)
 (33) 優先権主張国・地域又は機関
 米国 (US)
 (31) 優先権主張番号 62/507,923
 (32) 優先日 平成29年5月18日 (2017.5.18)
 (33) 優先権主張国・地域又は機関
 米国 (US)

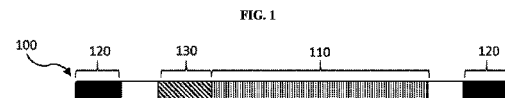
(71) 出願人 517157204
 ボイジャー セラピューティクス インコ
 ーポレイテッド
 VOYAGER THERAPEUTIC
 S, INC.
 アメリカ合衆国 02139 マサチュー
 セッツ州 ケンブリッジ シドニー スト
 リート 75
 (74) 代理人 100105957
 弁理士 恩田 誠
 (74) 代理人 100068755
 弁理士 恩田 博宣
 (74) 代理人 100142907
 弁理士 本田 淳

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 調節性ポリヌクレオチド

(57) 【要約】

本発明は、アデノ随伴ウイルス (AAV) 粒子、少なくとも1つの siRNA 分子をコードする調節性ポリヌクレオチドおよびその使用方法に関する。



【特許請求の範囲】

【請求項 1】

2つの末端逆位配列（ITR）間に位置する核酸配列を含むアデノ随伴ウイルス（AAV）ウイルスゲノムであって、前記核酸が、発現すると細胞における標的遺伝子の発現を阻害または抑制し、前記核酸配列が、5'から3'の順に、第1のセンス鎖配列をコードする第1の領域と、第1のアンチセンス鎖配列をコードする第2の領域と、第2のセンス鎖をコードする第3の領域と、第2のアンチセンス鎖配列をコードする第4の領域とを含み、前記第1および第2のセンス鎖配列が、少なくとも15連続ヌクレオチドを含み、ならびに前記第1および第2のアンチセンス鎖配列が、前記標的遺伝子によって産生されるmRNAに相補的であり、および少なくとも15連続ヌクレオチドを含み、ならびに前記第1のセンス鎖配列と前記第1のアンチセンス鎖配列とが、少なくとも4ヌクレオチド長の相補性の領域を共有し、および前記第2のセンス鎖配列と前記第2のアンチセンス鎖配列とが、少なくとも4ヌクレオチド長の相補性の領域を共有する、アデノ随伴ウイルス（AAV）ウイルスゲノム。

10

【請求項 2】

2つの末端逆位配列（ITR）間に位置する核酸配列を含むアデノ随伴ウイルス（AAV）ウイルスゲノムであって、前記核酸が、発現すると細胞における第1の標的遺伝子および第2の標的遺伝子の発現を阻害または抑制し、前記核酸配列が、5'から3'の順に、第1のセンス鎖配列をコードする第1の領域と、第1のアンチセンス鎖配列をコードする第2の領域と、第2のセンス鎖をコードする第3の領域と、第2のアンチセンス鎖配列をコードする第4の領域とを含み、前記第1および第2のセンス鎖配列が、少なくとも15連続ヌクレオチドを含み、ならびに前記第1のアンチセンス鎖配列が、前記第1の標的遺伝子によって産生されるmRNAに相補的であり、および前記第2のアンチセンス鎖配列が、前記第2の標的遺伝子によって産生されるmRNAに相補的であり、および少なくとも15連続ヌクレオチドを含み、ならびに前記第1のセンス鎖配列と前記第1のアンチセンス鎖配列とが、少なくとも4ヌクレオチド長の相補性の領域を共有し、および前記第2のセンス鎖配列と前記第2のアンチセンス鎖配列とが、少なくとも4ヌクレオチド長の相補性の領域を共有する、アデノ随伴ウイルス（AAV）ウイルスゲノム。

20

【請求項 3】

5'から3'の順に、第3のセンス鎖配列をコードする第5の領域と、第3のアンチセンス鎖配列をコードする第6の領域とを更に含み、前記第3のセンス鎖配列が、少なくとも15連続ヌクレオチドを含み、ならびに前記第3のアンチセンス鎖配列が、第3の標的遺伝子によって産生されるmRNAに相補的であり、および少なくとも15連続ヌクレオチドを含み、ならびに前記第3のセンス鎖配列と前記第3のアンチセンス鎖配列とが、少なくとも4ヌクレオチドの相補性の領域を共有する、請求項2に記載のAAVウイルスゲノム。

30

【請求項 4】

5'から3'の順に、第4のセンス鎖配列をコードする第7の領域と、第4のアンチセンス鎖配列をコードする第8の領域とを更に含み、前記第4のセンス鎖配列が、少なくとも15連続ヌクレオチドを含み、ならびに前記第4のアンチセンス鎖配列が、第4の標的遺伝子によって産生されるmRNAに相補的であり、および少なくとも15連続ヌクレオチドを含み、ならびに前記第4のセンス鎖配列と前記第4のアンチセンス鎖配列とが、少なくとも4ヌクレオチドの相補性の領域を共有する、請求項3に記載のAAVウイルスゲノム。

40

【請求項 5】

前記第1の標的遺伝子が、前記第2の標的遺伝子と同じである、請求項2に記載のAAVウイルスゲノム。

【請求項 6】

前記第3の標的遺伝子が、前記第1の標的遺伝子と同じである、請求項3に記載のAAVウイルスゲノム。

50

【請求項 7】

前記第 3 の標的遺伝子が、前記第 2 の標的遺伝子と同じである、請求項 3 に記載の A A V ウイルスゲノム。

【請求項 8】

前記第 1 の標的遺伝子、前記第 2 の標的遺伝子および前記第 3 の標的遺伝子が、同じである、請求項 3 に記載の A A V ウイルスゲノム。

【請求項 9】

前記第 4 の標的遺伝子が、前記第 1 の標的遺伝子と同じである、請求項 4 に記載の A A V ウイルスゲノム。

【請求項 10】

前記第 4 の標的遺伝子が、前記第 2 の標的遺伝子と同じである、請求項 4 に記載の A A V ウイルスゲノム。

【請求項 11】

前記第 4 の標的遺伝子が、前記第 3 の標的遺伝子と同じである、請求項 4 に記載の A A V ウイルスゲノム。

【請求項 12】

前記第 4 の標的遺伝子が、前記第 1 の標的遺伝子および前記第 2 の標的遺伝子と同じである、請求項 4 に記載の A A V ウイルスゲノム。

【請求項 13】

前記第 4 の標的遺伝子が、前記第 2 の標的遺伝子および前記第 3 の標的遺伝子と同じである、請求項 4 に記載の A A V ウイルスゲノム。

【請求項 14】

前記第 4 の標的遺伝子が、前記第 1 の標的遺伝子、前記第 2 の標的遺伝子および前記第 3 の標的遺伝子と同じである、請求項 4 に記載の A A V ウイルスゲノム。

【請求項 15】

前記第 1 の標的遺伝子、前記第 2 の標的遺伝子、前記第 3 の標的遺伝子および／または前記第 4 の標的遺伝子が、ハンチンチンである、請求項 1 ～ 14 のいずれか一項に記載の A A V ウイルスゲノム。

【請求項 16】

前記第 1 の標的遺伝子、前記第 2 の標的遺伝子、前記第 3 の標的遺伝子および／または前記第 4 の標的遺伝子が、S O D 1 である、請求項 1 ～ 14 のいずれか一項に記載の A A V ウイルスゲノム。

【請求項 17】

前記第 1 の標的遺伝子、前記第 2 の標的遺伝子、前記第 3 の標的遺伝子および／または前記第 4 の標的遺伝子が、ハンチンチンまたは S O D 1 である、請求項 1 ～ 14 のいずれか一項に記載の A A V ウイルスゲノム。

【請求項 18】

前記第 1 のセンス鎖と前記第 1 のアンチセンス鎖との間の相補性の領域が、少なくとも 12 ヌクレオチド長である、請求項 1 または 2 に記載の A A V ウイルスゲノム。

【請求項 19】

前記第 1 のセンス鎖と前記第 1 のアンチセンス鎖との間の相補性の領域が、14 ～ 21 ヌクレオチド長である、請求項 18 に記載の A A V ウイルスゲノム。

【請求項 20】

前記第 1 のセンス鎖と前記第 1 のアンチセンス鎖との間の相補性の領域が、19 ヌクレオチド長である、請求項 19 に記載の A A V ウイルスゲノム。

【請求項 21】

前記第 2 のセンス鎖と前記第 2 のアンチセンス鎖との間の相補性の領域が、少なくとも 12 ヌクレオチド長である、請求項 1 または 2 に記載の A A V ウイルスゲノム。

【請求項 22】

前記第 2 のセンス鎖と前記第 2 のアンチセンス鎖との間の相補性の領域が、14 ～ 21

10

20

30

40

50

ヌクレオチド長である、請求項 2 1 に記載の A A V ウイルスゲノム。

【請求項 2 3】

前記第 2 のセンス鎖と前記第 2 のアンチセンス鎖との間の相補性の領域が、1 9 ヌクレオチド長である、請求項 2 2 に記載の A A V ウイルスゲノム。

【請求項 2 4】

前記第 3 のセンス鎖と前記第 3 のアンチセンス鎖との間の相補性の領域が、少なくとも 1 2 ヌクレオチド長である、請求項 3 に記載の A A V ウイルスゲノム。

【請求項 2 5】

前記第 3 のセンス鎖と前記第 3 のアンチセンス鎖との間の相補性の領域が、1 4 ～ 2 1 ヌクレオチド長である、請求項 2 4 に記載の A A V ウイルスゲノム。

10

【請求項 2 6】

前記第 3 のセンス鎖と前記第 3 のアンチセンス鎖との間の相補性の領域が、1 9 ヌクレオチド長である、請求項 2 5 に記載の A A V ウイルスゲノム。

【請求項 2 7】

前記第 4 のセンス鎖と前記第 4 のアンチセンス鎖との間の相補性の領域が、少なくとも 1 2 ヌクレオチド長である、請求項 4 に記載の A A V ウイルスゲノム。

【請求項 2 8】

前記第 4 のセンス鎖と前記第 4 のアンチセンス鎖との間の相補性の領域が、1 4 ～ 2 1 ヌクレオチド長である、請求項 2 7 に記載の A A V ウイルスゲノム。

【請求項 2 9】

20

前記第 4 のセンス鎖と前記第 4 のアンチセンス鎖との間の相補性の領域が、1 9 ヌクレオチド長である、請求項 2 5 に記載の A A V ウイルスゲノム。

【請求項 3 0】

前記第 1 のセンス鎖配列、前記第 2 のセンス鎖配列、前記第 1 のアンチセンス鎖配列、および前記第 2 のアンチセンス鎖配列が、独立に 3 0 ヌクレオチド以下である、請求項 1 または 2 に記載の A A V ウイルスゲノム。

【請求項 3 1】

前記第 1 のセンス鎖配列、前記第 2 のセンス鎖配列、前記第 3 のセンス鎖配列、前記第 1 のアンチセンス鎖配列、前記第 2 のアンチセンス鎖配列および前記第 3 のアンチセンス鎖配列が、独立に 3 0 ヌクレオチド以下である、請求項 3 に記載の A A V ウイルスゲノム。

30

【請求項 3 2】

前記第 1 のセンス鎖配列、前記第 2 のセンス鎖配列、前記第 3 のセンス鎖配列、前記第 4 のセンス鎖配列、前記第 1 のアンチセンス鎖配列、前記第 2 のアンチセンス鎖配列、前記第 3 のアンチセンス鎖配列および前記第 4 のアンチセンス鎖配列が、独立に 3 0 ヌクレオチド以下である、請求項 4 に記載の A A V ウイルスゲノム。

【請求項 3 3】

前記第 1 のセンス鎖配列および前記第 1 のアンチセンス鎖配列または前記第 2 のセンス鎖配列および前記第 2 のアンチセンス鎖配列の少なくとも 1 つが、少なくとも 1 ヌクレオチドの 3 ' オーバハングを含む、請求項 1 または 2 に記載の A A V ウイルスゲノム。

40

【請求項 3 4】

前記第 1 のセンス鎖配列および前記第 1 のアンチセンス鎖配列または前記第 2 のセンス鎖配列および前記第 2 のアンチセンス鎖配列の少なくとも 1 つが、少なくとも 2 ヌクレオチドの 3 ' オーバハングを含む、請求項 1 または 2 に記載の A A V ウイルスゲノム。

【請求項 3 5】

前記第 3 のセンス鎖配列および前記第 3 のアンチセンス鎖配列が、少なくとも 1 ヌクレオチドの 3 ' オーバハングを含む、請求項 3 に記載の A A V ウイルスゲノム。

【請求項 3 6】

前記第 3 のセンス鎖配列および前記第 3 のアンチセンス鎖配列が、少なくとも 2 ヌクレオチドの 3 ' オーバハングを含む、請求項 3 に記載の A A V ウイルスゲノム。

50

【請求項 37】

前記第4のセンス鎖配列および前記第4のアンチセンス鎖配列が、少なくとも1ヌクレオチドの3'オーバハングを含む、請求項4に記載のAAVウイルスゲノム。

【請求項 38】

前記第4のセンス鎖配列および前記第4のアンチセンス鎖配列が、少なくとも2ヌクレオチドの3'オーバハングを含む、請求項4に記載のAAVウイルスゲノム。

【請求項 39】

前記第1の領域が、前記第1のセンス鎖配列の5'にあるプロモータ、およびそれに続く前記第1のセンス鎖配列を含み、ならびに前記第2の領域が、前記第1のアンチセンス鎖配列、およびそれに続く前記第1のアンチセンス鎖配列の3'にあるプロモータターミネータを含み、または前記第3の領域が、前記第2のセンス鎖配列の5'にあるプロモータ、およびそれに続く前記第2のセンス鎖配列を含み、ならびに前記第4の領域が、前記第2のアンチセンス鎖配列、およびそれに続く前記第2のアンチセンス鎖配列の3'にあるプロモータターミネータを含む、請求項1～38のいずれか一項に記載のAAVウイルスゲノム。

10

【請求項 40】

前記第1の領域が、前記第1のセンス鎖配列の5'にあるプロモータ、およびそれに続く前記第1のセンス鎖配列を含み、ならびに前記第2の領域が、前記第1のアンチセンス鎖配列、およびそれに続く前記第1のアンチセンス鎖配列の3'にあるプロモータターミネータを含み、ならびに前記第3の領域が、前記第2のセンス鎖配列の5'にあるプロモータ、およびそれに続く前記第2のセンス鎖配列を含み、ならびに前記第4の領域が、前記第2のアンチセンス鎖配列、およびそれに続く前記第2のアンチセンス鎖配列の3'にあるプロモータターミネータを含む、請求項1～38のいずれか一項に記載のAAVウイルスゲノム。

20

【請求項 41】

前記第5の領域が、前記第3のセンス鎖配列の5'にあるプロモータ、およびそれに続く前記第3のセンス鎖配列を含み、ならびに前記第6の領域が、前記第3のアンチセンス鎖配列、およびそれに続く前記第3のアンチセンス鎖配列の3'にあるプロモータターミネータを含む、請求項3～40のいずれか一項に記載のAAVウイルスゲノム。

【請求項 42】

前記第7の領域が、前記第4のセンス鎖配列の5'にあるプロモータ、およびそれに続く前記第4のセンス鎖配列を含み、ならびに前記第8の領域が、前記第4のアンチセンス鎖配列、およびそれに続く前記第4のアンチセンス鎖配列の3'にあるプロモータターミネータを含む、請求項4～41のいずれか一項に記載のAAVウイルスゲノム。

30

【請求項 43】

前記第5の領域が、前記第4の領域の3'にある、請求項3に記載のAAVウイルスゲノム。

【請求項 44】

前記第7の領域が、前記第6の領域の3'にある、請求項4に記載のAAVウイルスゲノム。

40

【請求項 45】

プロモータが、P o l I I Iプロモータであり、および前記プロモータターミネータが、P o l I I Iプロモータターミネータである、請求項39～44のいずれか一項に記載のAAVウイルスゲノム。

【請求項 46】

前記P o l I I Iプロモータが、U3、U6、U7、7SK、H1、またはMRP、EBER、セレノーステインtRNA、7SL、アデノウイルスVA-1、またはテロメラーゼ遺伝子プロモータであり、および前記P o l I I Iプロモータターミネータが、それぞれ、U3、U6、U7、7SK、H1、またはMRP、EBER、セレノーステインtRNA、7SL、アデノウイルスVA-1、またはテロメラーゼ遺伝子プロモータ

50

タターミネータである、請求項 45 に記載の AAV ウイルスゲノム。

【請求項 47】

前記 Pol I I I プロモータが、H1 プロモータであり、および前記 Pol I I I プロモータターミネータが、H1 プロモータターミネータである、請求項 46 に記載の AAV ウイルスゲノム。

【請求項 48】

単一特異的ポリシストロン性 AAV ウイルスゲノムである、請求項 1～47 のいずれか一項に記載の AAV ウイルスゲノム。

【請求項 49】

二特異的ポリシストロン性 AAV ウイルスゲノムである、請求項 1～47 のいずれか一項に記載の AAV ウイルスゲノム。

10

【請求項 50】

前記第 1 の領域と前記第 2 の領域とが、第 1 の siRNA 分子をコードし、および前記第 3 の領域と前記第 4 の領域とが、第 2 の siRNA 分子をコードし、前記第 1 および第 2 の siRNA 分子が、異なる標的遺伝子を標的とする、請求項 1 または 2 に記載の AAV ウイルスゲノム。

【請求項 51】

前記第 5 の領域と前記第 6 の領域とが、第 3 の siRNA 分子をコードし、前記第 1 の siRNA 分子、前記第 2 の siRNA 分子および前記第 3 の siRNA 分子が各々、異なる標的遺伝子を標的とする、請求項 3 に記載の AAV ウイルスゲノム。

20

【請求項 52】

前記第 7 の領域と前記第 8 の領域とが、第 4 の siRNA 分子をコードし、前記第 1 の siRNA 分子、前記第 2 の siRNA 分子、前記第 3 の siRNA 分子および前記第 4 の siRNA 分子が各々、異なる標的遺伝子を標的とする、請求項 4 に記載の AAV ウイルスゲノム。

【請求項 53】

2 つの末端逆位配列 (ITR) 間に位置する核酸配列を含むアデノ随伴ウイルス (AAV) ウイルスゲノムであって、前記核酸配列が、第 1 の分子足場領域および第 2 の分子足場領域を含み、前記第 1 の分子足場領域が、

(f) 第 1 のステムループ構造を形成する第 1 のステムおよびループであって、前記第 1 のステムループ構造の配列が、5' から 3' に、

30

x. 前記第 1 のステムループ構造の第 1 の 5' ステムの基部またはその近傍における第 1 の UG モチーフ；

x i. 第 1 のセンス鎖と任意選択で第 1 の 5' スペーサ領域とを含む第 1 の 5' ステムアームであって、存在する場合には前記第 1 の 5' スペーサ領域が前記第 1 の UG モチーフと前記第 1 のセンス鎖との間に位置する、第 1 の 5' ステムアーム；

x i i. その 5' 末端に第 1 の UGUG モチーフを含む第 1 のループ領域；

x i i i. 第 1 のアンチセンス鎖と任意選択で第 1 の 3' スペーサ領域とを含む第 1 の 3' ステムアームであって、前記第 1 のアンチセンス鎖の 5' 末端にウリジンが存在し、および存在する場合には前記第 1 の 3' スペーサ領域が、1 ヘリカルターンを形成するのに十分な長さを有する、第 1 の 3' ステムアームを含む、第 1 のステムおよびループ；

40

(g) 前記第 1 のステムループ構造の 5' に位置する第 1 の 5' フランキング領域；および

(h) 前記第 1 のステムループ構造の 3' に位置する第 1 の 3' フランキング領域であって、CNNC モチーフを含む、第 1 の 3' フランキング領域をコードする第 1 の分子足場核酸配列を含み、ならびに

第 2 の分子足場領域が、

(i) 第 2 のステムループ構造を形成する第 2 のステムおよびループであって、前記第 2 のステムループ構造の配列が、5' から 3' に、

50

x i v. 前記第 2 のステムループ構造の第 2 の 5' ステムの基部またはその近傍における第 2 の U G モチーフ；

x v. 第 2 のセンス鎖と任意選択で第 2 の 5' スペーサ領域とを含む第 2 の 5' ステムアームであって、存在する場合には前記第 2 の 5' スペーサ領域が、前記第 2 の U G モチーフと前記第 2 のセンス鎖との間に位置する、第 2 の 5' ステムアーム；

x v i. その 5' 末端に第 2 の U G U G モチーフを含む第 2 のループ領域；

x v i i. 第 2 のアンチセンス鎖と任意選択で第 2 の 3' スペーサ領域とを含む第 2 の 3' ステムアームであって、前記第 2 のアンチセンス鎖の 5' 末端にウリジンが存在し、および存在する場合には前記第 2 の 3' スペーサ領域が、1 ヘリカルターンを形成するのに十分な長さを有する、第 2 の 3' ステムアーム

を含む、第 2 のステムおよびループ；

(j) 前記第 2 のステムループ構造の 5' に位置する第 2 の 5' フランキング領域；および

(k) 前記第 2 のステムループ構造の 3' に位置する第 2 の 3' フランキング領域であって、C N N C モチーフを含む第 2 の 3' フランキング領域をコードする第 2 の分子足場核酸配列を含み、ならびに

前記第 1 のアンチセンス鎖と前記第 1 のセンス鎖とが、第 1 の s i R N A 二重鎖を形成し、および前記第 2 のアンチセンス鎖と前記第 2 のセンス鎖とが、第 2 の s i R N A 二重鎖を形成し、前記第 1 の s i R N A 二重鎖が、発現すると細胞における第 1 の標的遺伝子の発現を阻害または抑制し、および前記第 2 の s i R N A 二重鎖が、発現すると細胞における第 2 の標的遺伝子の発現を阻害または抑制し、前記第 1 および第 2 のセンス鎖配列が、少なくとも 15 ヌクレオチドを含み、前記第 1 のアンチセンス鎖配列が、前記第 1 の標的遺伝子によって産生される m R N A に相補的であり、および第 2 のアンチセンス鎖配列が、前記第 2 の標的遺伝子によって産生される m R N A に相補的であり、ならびに前記第 1 のセンス鎖配列と前記第 1 のアンチセンス鎖配列とが、少なくとも 4 ヌクレオチド長の相補性の領域を共有し、および前記第 2 のセンス鎖配列と前記第 2 のアンチセンス鎖配列とが、少なくとも 4 ヌクレオチド長の相補性の領域を共有する、アデノ随伴ウイルス (A A V) ウイルスゲノム。

【請求項 54】

2 つの末端逆位配列 (I T R) 間に位置する核酸配列を含むアデノ随伴ウイルス (A A V) ウイルスゲノムであって、前記核酸配列が、第 1 の分子足場領域および第 2 の分子足場領域を含み、前記第 1 の分子足場領域が、

(m) 第 1 のステムループ構造を形成する第 1 のステムおよびループであって、前記第 1 のステムループ構造の配列が、5' から 3' に、

x v i i. 前記第 1 のステムループ構造の第 1 の 5' ステムの基部またはその近傍における第 1 の U G モチーフ；

x v i i i. 第 1 のアンチセンス鎖と任意選択で第 1 の 5' スペーサ領域とを含む第 1 の 5' ステムアームであって、存在する場合には前記第 1 の 5' スペーサ領域が前記第 1 の U G モチーフと前記第 1 のアンチセンス鎖との間に位置する、第 1 の 5' ステムアーム；

x i x. その 5' 末端に第 1 の U G U G モチーフを含む第 1 のループ領域；

x x. 第 1 のセンス鎖と任意選択で第 1 の 3' スペーサ領域とを含む第 1 の 3' ステムアームであって、前記第 1 のセンス鎖の 5' 末端にウリジンが存在し、および存在する場合には前記第 1 の 3' スペーサ領域が、1 ヘリカルターンを形成するのに十分な長さを有する、第 1 の 3' ステムアーム；

を含む、第 1 のステムおよびループ；

(n) 前記第 1 のステムループ構造の 5' に位置する第 1 の 5' フランキング領域；および

(o) 前記第 1 のステムループ構造の 3' に位置する第 1 の 3' フランキング領域であって、C N N C モチーフを含む第 1 の 3' フランキング領域

をコードする第 1 の分子足場核酸配列を含み、ならびに

第 2 の分子足場領域が、

(p) 第 2 のステムループ構造を形成する第 2 のステムおよびループであって、前記第 2 のステムループ構造の配列が、5' から 3' に、

x x i. 前記第 2 のステムループ構造の第 2 の 5' ステムの基部またはその近傍における U G モチーフ；

x x i i. 第 2 のアンチセンス鎖と任意選択で第 2 の 5' スペーサ領域とを含む第 2 の 5' ステムアームであって、存在する場合には前記 5' スペーサ領域が、前記第 2 の U G モチーフと前記第 2 のアンチセンス鎖との間に位置する、第 2 の 5' ステムアーム；

x x i i i. その 5' 末端に第 2 の U G U G モチーフを含む第 2 のループ領域；

x x i v. 第 2 のセンス鎖と任意選択で第 2 の 3' スペーサ領域とを含む第 2 の 3' ステムアームであって、前記第 2 のセンス鎖の 5' 末端にウリジンが存在し、および存在する場合には前記第 2 の 3' スペーサ領域が、1 ヘリカルターンを形成するのに十分な長さを有する、第 2 の 3' ステムアームを含む、第 2 のステムおよびループ；

(q) 前記第 2 のステムループ構造の 5' に位置する第 2 の 5' フランキング領域；および

(r) 前記第 2 のステムループ構造の 3' に位置する第 2 の 3' フランキング領域であって、C N N C モチーフを含む第 2 の 3' フランキング領域をコードする第 2 の分子足場核酸配列を含み、ならびに

前記第 1 のアンチセンス鎖と前記第 1 のセンス鎖とが、第 1 の s i R N A 二重鎖を形成し、および前記第 2 のアンチセンス鎖と前記第 2 のセンス鎖とが、第 2 の s i R N A 二重鎖を形成し、前記第 1 の s i R N A 二重鎖が、発現すると細胞における第 1 の標的遺伝子の発現を阻害または抑制し、および前記第 2 の s i R N A 二重鎖が、発現すると細胞における第 2 の標的遺伝子の発現を阻害または抑制し、前記第 1 および第 2 のセンス鎖配列が、少なくとも 15 ヌクレオチドを含み、前記第 1 のアンチセンス鎖配列が、前記第 1 の標的遺伝子によって産生される m R N A に相補的であり、および第 2 のアンチセンス鎖配列が、前記第 2 の標的遺伝子によって産生される m R N A に相補的であり、ならびに前記第 1 のセンス鎖配列と前記第 1 のアンチセンス鎖配列とが、少なくとも 4 ヌクレオチド長の相補性の領域を共有し、および前記第 2 のセンス鎖配列と前記第 2 のアンチセンス鎖配列とが、少なくとも 4 ヌクレオチド長の相補性の領域を共有する、アデノ随伴ウイルス (A A V) ウイルスゲノム。

【請求項 5 5】

前記第 1 のアンチセンス鎖配列または前記第 2 のアンチセンス鎖配列が、ハンチンチンの発現を阻害または抑制する、請求項 5 3 または 5 4 に記載の A A V ウイルスゲノム。

【請求項 5 6】

前記第 1 のアンチセンス鎖配列および前記第 2 のアンチセンス鎖配列が、ハンチンチンの発現を阻害または抑制する、請求項 5 3 または 5 4 に記載の A A V ウイルスゲノム。

【請求項 5 7】

前記第 1 のアンチセンス鎖配列または前記第 2 のアンチセンス鎖配列が、S O D 1 の発現を阻害または抑制する、請求項 5 3 または 5 4 に記載の A A V ウイルスゲノム。

【請求項 5 8】

前記第 1 のアンチセンス鎖配列および前記第 2 のアンチセンス鎖配列が、S O D 1 の発現を阻害または抑制する、請求項 5 3 または 5 4 に記載の A A V ウイルスゲノム。

【請求項 5 9】

前記第 1 の 5' フランキング領域が、表 1 0 に挙げられる配列から選択される、請求項 5 3 または 5 4 に記載の A A V ウイルスゲノム。

【請求項 6 0】

前記第 2 の 5' フランキング領域が、表 1 0 に挙げられる配列から選択される、請求項 5 3 または 5 4 に記載の A A V ウイルスゲノム。

【請求項 6 1】

前記第 2 の 5' フランキンク領域が、表 1 0 に挙げられる配列から選択される、請求項 5 9 に記載の A A V ウイルスゲノム。

【請求項 6 2】

前記第 1 のループ領域が、表 1 1 に挙げられる配列から選択される、請求項 5 3 または 5 4 に記載の A A V ウイルスゲノム。

【請求項 6 3】

前記第 2 のループ領域が、表 1 1 に挙げられる配列から選択される、請求項 5 3 または 5 4 に記載の A A V ウイルスゲノム。

【請求項 6 4】

前記第 2 のループ領域が、表 1 1 に挙げられる配列から選択される、請求項 6 2 に記載の A A V ウイルスゲノム。

【請求項 6 5】

前記第 1 の 3' フランキンク領域が、表 1 2 に挙げられる配列から選択される、請求項 5 3 または 5 4 に記載の A A V ウイルスゲノム。

【請求項 6 6】

前記第 2 の 3' フランキンク領域が、表 1 2 に挙げられる配列から選択される、請求項 5 3 または 5 4 に記載の A A V ウイルスゲノム。

【請求項 6 7】

前記第 2 の 3' フランキンク領域が、表 1 2 に挙げられる配列から選択される、請求項 6 5 に記載の A A V ウイルスゲノム。

【請求項 6 8】

前記核酸配列が、前記第 1 の分子足場核酸配列と前記第 2 の分子足場核酸配列との間にプロモータ配列を含む、請求項 5 3 または 5 4 に記載の A A V ウイルスゲノム。

【請求項 6 9】

(b) において前記第 1 の 5' フランキンク領域の 5' にあるプロモータ、およびそれに続く前記第 1 の 5' フランキンク領域を、ならびに (c) において前記第 1 の 3' フランキンク領域、およびそれに続く前記第 1 の 3' フランキンク領域の 3' にあるプロモータターミネータを、ならびに (d) において前記第 2 の 5' フランキンク領域の 5' にあるプロモータ、およびそれに続く前記第 2 の 5' フランキンク領域を、ならびに (e) において前記第 2 の 3' フランキンク領域、およびそれに続く前記第 2 の 3' フランキンク領域の 3' にあるプロモータターミネータを更に含む、請求項 5 3 または 5 4 に記載の A A V ウイルスゲノム。

【請求項 7 0】

前記プロモータが、P o l I I I プロモータである、請求項 6 9 に記載の A A V ウイルスゲノム。

【請求項 7 1】

前記 P o l I I I プロモータ配列が、U 3、U 6、U 7、7 S K、H 1、または M R P、E B E R、セレノシステイン t R N A、7 S L、アデノウイルス V A - 1、またはテロメラーゼ遺伝子プロモータである、請求項 7 0 に記載の A A V ウイルスゲノム。

【請求項 7 2】

前記 P o l I I I プロモータが、H 1 プロモータである、請求項 7 1 に記載の A A V ウイルスゲノム。

【請求項 7 3】

前記核酸配列が、

(s) 第 3 のステムループ構造を形成する第 3 のステムおよびループであって、前記第 3 のステムループ構造の配列が、5' から 3' に、

x x v. 前記第 3 のステムループ構造の第 3 の 5' ステムの基部またはその近傍における U G モチーフ；

x x v i. 第 3 のセンス鎖と任意選択で第 3 の 5' スペーサ領域とを含む第 3 の 5'

10

20

30

40

50

ステムアームであって、存在する場合には前記第 3 の 5' スペーサ領域が、前記第 3 の U G モチーフと前記第 3 のセンス鎖との間に位置する、第 3 の 5' ステムアーム；

x x v i i . その 5' 末端に第 3 の U G U G モチーフを含む第 3 のループ領域；

x x v i i i . 第 3 のアンチセンス鎖と任意選択で第 3 の 3' スペーサ領域とを含む第 3 の 3' ステムアームであって、前記第 3 のアンチセンス鎖の 5' 末端にウリジンが存在し、および存在する場合には前記第 3 の 3' スペーサ領域が、1 ヘリカルターンを形成するのに十分な長さを有する、第 3 の 3' ステムアーム

を含む、第 3 のステムおよびループ；

(t) 前記第 3 のステムループ構造の 5' に位置する第 3 の 5' フランキンク領域；
および

(u) 前記第 3 のステムループ構造の 3' に位置する第 3 の 3' フランキンク領域であって、C N N C モチーフを含む第 3 の 3' フランキンク領域

をコードする第 3 の分子足場核酸配列を含む第 3 の分子足場領域を更に含み、ならびに

前記第 3 のアンチセンス鎖と前記第 3 のセンス鎖とが、第 3 の s i R N A 二重鎖を成形し、前記第 3 の s i R N A 二重鎖が、発現すると細胞における第 3 の標的遺伝子の発現を阻害または抑制し、前記第 3 のセンス鎖配列が、少なくとも 15 ヌクレオチドを含み、前記第 3 のアンチセンス鎖配列が、前記第 3 の標的遺伝子によって産生される m R N A に相補的であり、および前記第 3 のセンス鎖配列と前記第 3 のアンチセンス鎖配列とが、少なくとも 4 ヌクレオチド長の相補性の領域を共有する、請求項 53 に記載の A A V ウイルスゲノム。

【請求項 74】

(h) において前記第 3 の 5' フランキンク領域の 5' にあるプロモータ、およびそれに続く前記第 3 の 5' フランキンク領域を、ならびに (i) において前記第 3 のフランキンク領域、およびそれに続く前記第 3 のフランキンク領域の 3' にあるプロモータターミネータを更に含む、請求項 73 に記載の A A V ウイルスゲノム。

【請求項 75】

前記プロモータが、P o l I I I プロモータである、請求項 74 に記載の A A V ウイルスゲノム。

【請求項 76】

前記 P o l I I I プロモータ配列が、U 3、U 6、U 7、7 S K、H 1、または M R P、E B E R、セレノシステイン t R N A、7 S L、アデノウイルス V A - 1、またはテロメラゼ遺伝子プロモータである、請求項 75 に記載の A A V ウイルスゲノム。

【請求項 77】

前記 P o l I I I プロモータが、H 1 プロモータである、請求項 76 に記載の A A V ウイルスゲノム。

【請求項 78】

前記核酸配列が、

(v) 第 4 のステムループ構造を形成する第 4 のステムおよびループであって、前記第 4 のステムループ構造の配列が、5' から 3' に、

x x i x . 前記第 4 のステムループ構造の第 4 の 5' ステムの基部またはその近傍における第 4 の U G モチーフ；

x x x . 第 4 のセンス鎖と任意選択で第 4 の 5' スペーサ領域とを含む第 4 の 5' ステムアームであって、存在する場合には前記第 4 の 5' スペーサ領域が、前記第 4 の U G モチーフと前記第 4 のセンス鎖との間に位置する、第 4 の 5' ステムアーム；

x x x i . その 5' 末端に第 4 の U G U G モチーフを含む第 4 のループ領域；

x x x i i . 第 4 のアンチセンス鎖と任意選択で第 4 の 3' スペーサ領域とを含む第 4 の 3' ステムアームであって、前記第 4 のアンチセンス鎖の 5' 末端にウリジンが存在し、および存在する場合には前記第 4 の 3' スペーサ領域が 1 ヘリカルターンを形成するのに十分な長さを有する、第 4 の 3' ステムアーム

を含む、第 4 のステムおよびループ；

10

20

30

40

50

(w) 前記第 4 のステムループ構造の 5' に位置する第 4 の 5' フランキング領域；
および

(x) 前記第 4 のステムループ構造の 3' に位置する第 4 の 3' フランキング領域であって、C N N C モチーフを含む第 4 の 3' フランキング領域
をコードする第 4 の分子足場核酸配列を含む第 4 の分子足場領域を更に含み、ならびに

前記第 4 のアンチセンス鎖と前記第 4 のセンス鎖とが、第 4 の s i R N A 二重鎖を形成し、前記第 4 の s i R N A 二重鎖が、発現すると細胞における第 4 の標的遺伝子の発現を阻害または抑制し、前記第 4 のセンス鎖配列が、少なくとも 15 ヌクレオチドを含み、前記第 4 のアンチセンス鎖配列が、前記第 4 の標的遺伝子によって産生される m R N A に相補的であり、および前記第 4 のセンス鎖配列と前記第 4 のアンチセンス鎖配列とが、少なくとも 4 ヌクレオチド長の相補性の領域を共有する、請求項 73 に記載の A A V ウイルスゲノム。

10

【請求項 79】

(k) において前記第 4 の 5' フランキング領域の 5' にあるプロモータ、およびそれに続く前記第 4 の 5' フランキング領域を、ならびに (l) において前記第 4 の 3' フランキング領域、およびそれに続く前記第 4 の 3' フランキング領域の 3' にあるプロモータターミネータを更に含む、請求項 78 に記載の A A V ウイルスゲノム。

【請求項 80】

前記プロモータが、P o l I I I プロモータである、請求項 79 に記載の A A V ウイルスゲノム。

20

【請求項 81】

前記 P o l I I I プロモータ配列が、U 3、U 6、U 7、7 S K、H 1、または M R P、E B E R、セレノシステイン t R N A、7 S L、アデノウイルス V A - 1、またはテロメラゼ遺伝子プロモータである、請求項 80 に記載の A A V ウイルスゲノム。

【請求項 82】

前記 P o l I I I プロモータが、H 1 プロモータである、請求項 81 に記載の A A V ウイルスゲノム。

【請求項 83】

前記第 1 の標的遺伝子が、前記第 2 の標的遺伝子と同じである、請求項 53 ～ 82 のいずれか一項に記載の A A V ウイルスゲノム。

30

【請求項 84】

前記第 3 の標的遺伝子が、前記第 1 の標的遺伝子と同じである、請求項 53 ～ 82 のいずれか一項に記載の A A V ウイルスゲノム。

【請求項 85】

前記第 3 の標的遺伝子が、前記第 2 の標的遺伝子と同じである、請求項 53 ～ 82 のいずれか一項に記載の A A V ウイルスゲノム。

【請求項 86】

前記第 1 の標的遺伝子と、前記第 2 の標的遺伝子と、前記第 3 の標的遺伝子とが、同じである、請求項 53 ～ 82 のいずれか一項に記載の A A V ウイルスゲノム。

【請求項 87】

前記第 4 の標的遺伝子が、前記第 1 の標的遺伝子と同じである、請求項 53 ～ 82 のいずれか一項に記載の A A V ウイルスゲノム。

40

【請求項 88】

前記第 4 の標的遺伝子が、前記第 2 の標的遺伝子と同じである、請求項 53 ～ 82 のいずれか一項に記載の A A V ウイルスゲノム。

【請求項 89】

前記第 4 の標的遺伝子が、前記第 3 の標的遺伝子と同じである、請求項 53 ～ 82 のいずれか一項に記載の A A V ウイルスゲノム。

【請求項 90】

前記第 4 の標的遺伝子が、前記第 1 の標的遺伝子および前記第 2 の標的遺伝子と同じで

50

ある、請求項 53～82 のいずれか一項に記載の AAV ウイルスゲノム。

【請求項 91】

前記第 4 の標的遺伝子が、前記第 2 の標的遺伝子および前記第 3 の標的遺伝子と同じである、請求項 53～82 のいずれか一項に記載の AAV ウイルスゲノム。

【請求項 92】

前記第 4 の標的遺伝子が、前記第 1 の標的遺伝子および前記第 3 の標的遺伝子と同じである、請求項 53～82 のいずれか一項に記載の AAV ウイルスゲノム。

【請求項 93】

前記第 4 の標的遺伝子が、前記第 1 の標的遺伝子、前記第 2 の標的遺伝子および前記第 3 の標的遺伝子と同じである、請求項 53～82 のいずれか一項に記載の AAV ウイルスゲノム。

10

【請求項 94】

前記第 1 の標的遺伝子、前記第 2 の標的遺伝子、前記第 3 の標的遺伝子、および／または前記第 4 の標的遺伝子が、ハンチンチンである、請求項 53～93 のいずれか一項に記載の AAV ウイルスゲノム。

【請求項 95】

前記第 1 の標的遺伝子、前記第 2 の標的遺伝子、前記第 3 の標的遺伝子および／または前記第 4 の標的遺伝子が、SOD1 である、請求項 53～93 のいずれか一項に記載の AAV ウイルスゲノム。

【請求項 96】

20

前記第 1 の標的遺伝子、前記第 2 の標的遺伝子、前記第 3 の標的遺伝子および／または前記第 4 の標的遺伝子が、ハンチンチンまたは SOD1 である、請求項 53～93 のいずれか一項に記載の AAV ウイルスゲノム。

【請求項 97】

細胞における標的遺伝子の発現を阻害する方法であって、請求項 1～96 のいずれか一項に記載の AAV ウイルスゲノムを含む組成物を前記細胞に投与することを含む方法。

【請求項 98】

前記細胞が哺乳類細胞である、請求項 97 に記載の方法。

【請求項 99】

前記哺乳類細胞が中型有棘ニューロンである、請求項 98 に記載の方法。

30

【請求項 100】

前記哺乳類細胞が皮質ニューロンである、請求項 98 に記載の方法。

【請求項 101】

前記哺乳類細胞が運動ニューロンである、請求項 98 に記載の方法。

【請求項 102】

前記哺乳類細胞がアストロサイトである、請求項 98 に記載の方法。

【請求項 103】

それを必要とする対象の疾患および／または障害を治療する方法であって、前記対象に、請求項 1～96 のいずれか一項に記載の AAV ウイルスゲノムを含む組成物の治療有効量を投与することを含む方法。

40

【請求項 104】

標的遺伝子の発現が阻害または抑制される、請求項 103 に記載の方法。

【請求項 105】

目的の標的遺伝子の発現が約 30%～約 70% 阻害または抑制される、請求項 104 に記載の方法。

【請求項 106】

標的遺伝子の発現が約 50%～約 90% 阻害または抑制される、請求項 104 に記載の方法。

【請求項 107】

細胞における標的遺伝子の発現を阻害する方法であって、前記標的遺伝子は前記細胞の

50

内部で機能獲得効果を引き起こすものであり、請求項1～96のいずれか一項に記載のAAVウイルスゲノムを含む組成物を前記細胞に投与することを含む方法。

【請求項108】

前記細胞が哺乳類細胞である、請求項107に記載の方法。

【請求項109】

前記哺乳類細胞が中型有棘ニューロンである、請求項108に記載の方法。

【請求項110】

前記哺乳類細胞が皮質ニューロンである、請求項108に記載の方法。

【請求項111】

前記哺乳類細胞が運動ニューロンである、請求項108に記載の方法。

10

【請求項112】

前記哺乳類細胞がアストロサイトである、請求項108に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、調節性ポリヌクレオチド、例えば、少なくとも1つの目的の遺伝子を標的とする少なくとも1つの低分子干渉RNA (siRNA) 分子をコードするポリヌクレオチドを設計、調製、製造、使用および／または製剤化するための組成物、方法およびプロセスに関する。目的の遺伝子のターゲティングは、遺伝子発現および結果として生じるタンパク質産生に干渉し得る。少なくとも1つのsiRNA分子をコードする調節性ポリヌクレオチドを含むAAV粒子は、組換えアデノ随伴ウイルス(AAV)ベクターに挿入されてもよい。対象において目的の遺伝子の発現を阻害するためのAAV粒子の使用方法もまた開示される。

20

【背景技術】

【0002】

マイクロRNA (microRNA) (またはmiRNAまたはmiR) は、小型非コード一本鎖リボ核酸分子(RNA)であり、通常は19～25ヌクレオチド長である。1000個よりも多くのmicroRNAが、哺乳類ゲノムで同定されている。成熟microRNAは、標的mRNAの相補的配列と部分的にまたは完全に対合することによって標的メッセンジャーRNA (mRNA) の3'非翻訳領域(3'-UTR)に主に結合し、転写後レベルで標的mRNAの分解を促進し、一部の場合では翻訳開始を阻害する。microRNAは、細胞周期および成長の制御、アポトーシス、細胞増殖および組織発生など、多数の主要な生物学的過程に重大な役割を果たす。

30

【0003】

miRNA遺伝子は、一般的に、miRNAの長鎖一次転写産物(すなわち、pri-miRNA)として転写される。pri-miRNAは、miRNAの前駆体(すなわち、pre-miRNA)へと切断され、更にプロセシングされて、成熟および機能的miRNAが生成される。

【0004】

多数の標的発現戦略では、核酸に基づくモダリティが使用されるが、より高い特異性を有し、オフターゲット効果がより少ない、向上した核酸モダリティの必要性が依然として存在する。

40

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0005】

本発明は、人工pri-、pre-および成熟microRNAコンストラクトの形態のかかる向上したモダリティならびにそれらの設計方法を提供する。これらの新規コンストラクトは、合成独立型分子であってもよく、または細胞に送達するためにプラスミドもしくは発現ベクターにコードされていてもよい。かかるベクターとしては、限定はされないが、いずれかのAAV血清型のベクターゲノムなど、アデノ随伴ウイルスベクター、ま

50

たはレンチウイルスなどの他のウイルス送達媒体が挙げられる。

【課題を解決するための手段】

【0006】

本明細書には、疾患および／または障害を治療、予防、緩和および／または改善するための少なくとも1つの siRNA 分子をコードする調節性ポリヌクレオチドを含む AAV 粒子を投与する方法、プロセス、組成物、キットおよびデバイスが記載される。

【0007】

本発明の種々の実施形態の詳細が下記の説明に示される。本発明の他の特徴、目的、および利点は、説明および図面から、ならびに特許請求の範囲から明らかになるであろう。

本明細書の主題を説明する代表的なものである非限定的な実施形態を下記に示す。

10

【0008】

1. 2つの末端逆位配列 (ITR) 間に位置する核酸配列を含むアデノ随伴ウイルス (AAV) ウイルスゲノムであって、前記核酸が、発現すると細胞における標的遺伝子の発現を阻害または抑制し、前記核酸配列が、5' から 3' の順に、第1のセンス鎖配列をコードする第1の領域と、第1のアンチセンス鎖配列をコードする第2の領域と、第2のセンス鎖をコードする第3の領域と、第2のアンチセンス鎖配列をコードする第4の領域とを含み、前記第1および第2のセンス鎖配列が、少なくとも15連続ヌクレオチドを含み、ならびに前記第1および第2のアンチセンス鎖配列が、前記標的遺伝子によって産生される mRNA に相補的であり、および少なくとも15連続ヌクレオチドを含み、ならびに前記第1のセンス鎖配列と前記第1のアンチセンス鎖配列とが、少なくとも4ヌクレオチド長の相補性の領域を共有し、および前記第2のセンス鎖配列と前記第2のアンチセンス鎖配列とが、少なくとも4ヌクレオチド長の相補性の領域を共有する、アデノ随伴ウイルス (AAV) ウイルスゲノム。

20

【0009】

2. 2つの末端逆位配列 (ITR) 間に位置する核酸配列を含むアデノ随伴ウイルス (AAV) ウイルスゲノムであって、前記核酸が、発現すると細胞における第1の標的遺伝子および第2の標的遺伝子の発現を阻害または抑制し、前記核酸配列が、5' から 3' の順に、第1のセンス鎖配列をコードする第1の領域と、第1のアンチセンス鎖配列をコードする第2の領域と、第2のセンス鎖をコードする第3の領域と、第2のアンチセンス鎖配列をコードする第4の領域とを含み、前記第1および第2のセンス鎖配列が、少なくとも15連続ヌクレオチドを含み、ならびに前記第1のアンチセンス鎖配列が、前記第1の標的遺伝子によって産生される mRNA に相補的であり、および前記第2のアンチセンス鎖配列が、前記第2の標的遺伝子によって産生される mRNA に相補的であり、および少なくとも15連続ヌクレオチドを含み、ならびに前記第1のセンス鎖配列と前記第1のアンチセンス鎖配列とが、少なくとも4ヌクレオチド長の相補性の領域を共有し、および前記第2のセンス鎖配列と前記第2のアンチセンス鎖配列とが、少なくとも4ヌクレオチド長の相補性の領域を共有する、アデノ随伴ウイルス (AAV) ウイルスゲノム。

30

【0010】

3. 5' から 3' の順に、第3のセンス鎖配列をコードする第5の領域と、第3のアンチセンス鎖配列をコードする第6の領域とを更に含み、前記第3のセンス鎖配列が、少なくとも15連続ヌクレオチドを含み、ならびに前記第3のアンチセンス鎖配列が、第3の標的遺伝子によって産生される mRNA に相補的であり、および少なくとも15連続ヌクレオチドを含み、ならびに前記第3のセンス鎖配列と前記第3のアンチセンス鎖配列とが、少なくとも4ヌクレオチドの相補性の領域を共有する、実施形態2に記載の AAV ウイルスゲノム。

40

【0011】

4. 5' から 3' の順に、第4のセンス鎖配列をコードする第7の領域と、第4のアンチセンス鎖配列をコードする第8の領域とを更に含み、前記第4のセンス鎖配列が、少なくとも15連続ヌクレオチドを含み、ならびに前記第4のアンチセンス鎖配列が、第4の標的遺伝子によって産生される mRNA に相補的であり、および少なくとも15連続ヌク

50

レオチドを含み、ならびに前記第 4 のセンス鎖配列と前記第 4 のアンチセンス鎖配列とが、少なくとも 4 ヌクレオチドの相補性の領域を共有する、実施形態 3 に記載の A A V ウイルスゲノム。

【0012】

5. 前記第 1 の標的遺伝子が、前記第 2 の標的遺伝子と同じである、実施形態 2 に記載の A A V ウイルスゲノム。

6. 前記第 3 の標的遺伝子が、前記第 1 の標的遺伝子と同じである、実施形態 3 に記載の A A V ウイルスゲノム。

【0013】

7. 前記第 3 の標的遺伝子が、前記第 2 の標的遺伝子と同じである、実施形態 3 に記載の A A V ウイルスゲノム。

8. 前記第 1 の標的遺伝子、前記第 2 の標的遺伝子および前記第 3 の標的遺伝子が、同じである、実施形態 3 に記載の A A V ウイルスゲノム。

【0014】

9. 前記第 4 の標的遺伝子が、前記第 1 の標的遺伝子と同じである、実施形態 4 に記載の A A V ウイルスゲノム。

10. 前記第 4 の標的遺伝子が、前記第 2 の標的遺伝子と同じである、実施形態 4 に記載の A A V ウイルスゲノム。

【0015】

11. 前記第 4 の標的遺伝子が、前記第 3 の標的遺伝子と同じである、実施形態 4 に記載の A A V ウイルスゲノム。

12. 前記第 4 の標的遺伝子が、前記第 1 の標的遺伝子および前記第 2 の標的遺伝子と同じである、実施形態 4 に記載の A A V ウイルスゲノム。

【0016】

13. 前記第 4 の標的遺伝子が、前記第 2 の標的遺伝子および前記第 3 の標的遺伝子と同じである、実施形態 4 に記載の A A V ウイルスゲノム。

14. 前記第 4 の標的遺伝子が、前記第 1 の標的遺伝子、前記第 2 の標的遺伝子および前記第 3 の標的遺伝子と同じである、実施形態 4 に記載の A A V ウイルスゲノム。

【0017】

15. 前記第 1 の標的遺伝子、前記第 2 の標的遺伝子、前記第 3 の標的遺伝子および／または前記第 4 の標的遺伝子が、ハンチンチンである、実施形態 1 ～ 14 のいずれか一項に記載の A A V ウイルスゲノム。

【0018】

16. 前記第 1 の標的遺伝子、前記第 2 の標的遺伝子、前記第 3 の標的遺伝子および／または前記第 4 の標的遺伝子が、S O D 1 である、実施形態 1 ～ 14 のいずれか一項に記載の A A V ウイルスゲノム。

【0019】

17. 前記第 1 の標的遺伝子、前記第 2 の標的遺伝子、前記第 3 の標的遺伝子および／または前記第 4 の標的遺伝子が、ハンチンチンまたは S O D 1 である、実施形態 1 ～ 14 のいずれか一項に記載の A A V ウイルスゲノム。

【0020】

18. 前記第 1 のセンス鎖と前記第 1 のアンチセンス鎖との間の相補性の領域が、少なくとも 12 ヌクレオチド長である、実施形態 1 または 2 に記載の A A V ウイルスゲノム。

19. 前記第 1 のセンス鎖と前記第 1 のアンチセンス鎖との間の相補性の領域が、14 ～ 21 ヌクレオチド長である、実施形態 18 に記載の A A V ウイルスゲノム。

【0021】

20. 前記第 1 のセンス鎖と前記第 1 のアンチセンス鎖との間の相補性の領域が、19 ヌクレオチド長である、実施形態 19 に記載の A A V ウイルスゲノム。

21. 前記第 2 のセンス鎖と前記第 2 のアンチセンス鎖との間の相補性の領域が、少なくとも 12 ヌクレオチド長である、実施形態 1 または 2 に記載の A A V ウイルスゲノム。

10

20

30

40

50

【0022】

22. 前記第2のセンス鎖と前記第2のアンチセンス鎖との間の相補性の領域が、14～21ヌクレオチド長である、実施形態21に記載のAAVウイルスゲノム。

23. 前記第2のセンス鎖と前記第2のアンチセンス鎖との間の相補性の領域が、19ヌクレオチド長である、実施形態22に記載のAAVウイルスゲノム。

【0023】

24. 前記第3のセンス鎖と前記第3のアンチセンス鎖との間の相補性の領域が、少なくとも12ヌクレオチド長である、実施形態3に記載のAAVウイルスゲノム。

25. 前記第3のセンス鎖と前記第3のアンチセンス鎖との間の相補性の領域が、14～21ヌクレオチド長である、実施形態24に記載のAAVウイルスゲノム。

10

【0024】

26. 前記第3のセンス鎖と前記第3のアンチセンス鎖との間の相補性の領域が、19ヌクレオチド長である、実施形態25に記載のAAVウイルスゲノム。

27. 前記第4のセンス鎖と前記第4のアンチセンス鎖との間の相補性の領域が、少なくとも12ヌクレオチド長である、実施形態4に記載のAAVウイルスゲノム。

【0025】

28. 前記第4のセンス鎖と前記第4のアンチセンス鎖との間の相補性の領域が、14～21ヌクレオチド長である、実施形態27に記載のAAVウイルスゲノム。

29. 前記第4のセンス鎖と前記第4のアンチセンス鎖との間の相補性の領域が、19ヌクレオチド長である、実施形態25に記載のAAVウイルスゲノム。

20

【0026】

30. 前記第1のセンス鎖配列、前記第2のセンス鎖配列、前記第1のアンチセンス鎖配列、および前記第2のアンチセンス鎖配列が、独立に30ヌクレオチド以下である、実施形態1または2に記載のAAVウイルスゲノム。

【0027】

31. 前記第1のセンス鎖配列、前記第2のセンス鎖配列、前記第3のセンス鎖配列、前記第1のアンチセンス鎖配列、前記第2のアンチセンス鎖配列および前記第3のアンチセンス鎖配列が、独立に30ヌクレオチド以下である、実施形態3に記載のAAVウイルスゲノム。

【0028】

30

32. 前記第1のセンス鎖配列、前記第2のセンス鎖配列、前記第3のセンス鎖配列、前記第4のセンス鎖配列、前記第1のアンチセンス鎖配列、前記第2のアンチセンス鎖配列、前記第3のアンチセンス鎖配列および前記第4のアンチセンス鎖配列が、独立に30ヌクレオチド以下である、実施形態4に記載のAAVウイルスゲノム。

【0029】

33. 前記第1のセンス鎖配列および前記第1のアンチセンス鎖配列または前記第2のセンス鎖配列および前記第2のアンチセンス鎖配列の少なくとも1つが、少なくとも1ヌクレオチドの3'オーバハングを含む、実施形態1または2に記載のAAVウイルスゲノム。

【0030】

40

34. 前記第1のセンス鎖配列および前記第1のアンチセンス鎖配列または前記第2のセンス鎖配列および前記第2のアンチセンス鎖配列の少なくとも1つが、少なくとも2ヌクレオチドの3'オーバハングを含む、実施形態1または2に記載のAAVウイルスゲノム。

【0031】

35. 前記第3のセンス鎖配列および前記第3のアンチセンス鎖配列が、少なくとも1ヌクレオチドの3'オーバハングを含む、実施形態3に記載のAAVウイルスゲノム。

36. 前記第3のセンス鎖配列および前記第3のアンチセンス鎖配列が、少なくとも2ヌクレオチドの3'オーバハングを含む、実施形態3に記載のAAVウイルスゲノム。

【0032】

50

37. 前記第4のセンス鎖配列および前記第4のアンチセンス鎖配列が、少なくとも1ヌクレオチドの3'オーバーハングを含む、実施形態4に記載のAAVウイルスゲノム。

38. 前記第4のセンス鎖配列および前記第4のアンチセンス鎖配列が、少なくとも2ヌクレオチドの3'オーバーハングを含む、実施形態4に記載のAAVウイルスゲノム。

【0033】

39. 前記第1の領域が、前記第1のセンス鎖配列の5'にあるプロモータ、およびそれに続く前記第1のセンス鎖配列を含み、ならびに前記第2の領域が、前記第1のアンチセンス鎖配列、およびそれに続く前記第1のアンチセンス鎖配列の3'にあるプロモータターミネータを含み、または前記第3の領域が、前記第2のセンス鎖配列の5'にあるプロモータ、およびそれ、およびそれに続く前記第2のセンス鎖配列を含み、ならびに前記第4の領域が、前記第2のアンチセンス鎖配列、およびそれに続く前記第2のアンチセンス鎖配列の3'にあるプロモータターミネータを含む、実施形態1～38のいずれか一項に記載のAAVウイルスゲノム。

10

【0034】

40. 前記第1の領域が、前記第1のセンス鎖配列の5'にあるプロモータ、およびそれに続く前記第1のセンス鎖配列を含み、ならびに前記第2の領域が、前記第1のアンチセンス鎖配列、およびそれに続く前記第1のアンチセンス鎖配列の3'にあるプロモータターミネータを含み、ならびに前記第3の領域が、前記第2のセンス鎖配列の5'にあるプロモータ、およびそれに続く前記第2のセンス鎖配列を含み、ならびに前記第4の領域が、前記第2のアンチセンス鎖配列、およびそれに続く前記第2のアンチセンス鎖配列の3'にあるプロモータターミネータを含む、実施形態1～38のいずれか一項に記載のAAVウイルスゲノム。

20

【0035】

41. 前記第5の領域が、前記第3のセンス鎖配列の5'にあるプロモータ、およびそれに続く前記第3のセンス鎖配列を含み、ならびに前記第6の領域が、前記第3のアンチセンス鎖配列、およびそれに続く前記第3のアンチセンス鎖配列の3'にあるプロモータターミネータを含む、実施形態3～40のいずれか一項に記載のAAVウイルスゲノム。

【0036】

42. 前記第7の領域が、前記第4のセンス鎖配列の5'にあるプロモータ、およびそれに続く前記第4のセンス鎖配列を含み、ならびに前記第8の領域が、前記第4のアンチセンス鎖配列、およびそれに続く前記第4のアンチセンス鎖配列の3'にあるプロモータターミネータを含む、実施形態4～41のいずれか一項に記載のAAVウイルスゲノム。

30

【0037】

43. 前記第5の領域が、前記第4の領域の3'にある、実施形態3に記載のAAVウイルスゲノム。

44. 前記第7の領域が、前記第6の領域の3'にある、実施形態4に記載のAAVウイルスゲノム。

【0038】

45. プロモータが、P o l I I Iプロモータであり、および前記プロモータターミネータが、P o l I I Iプロモータターミネータである、実施形態39～44のいずれか一項に記載のAAVウイルスゲノム。

40

【0039】

46. 前記P o l I I Iプロモータが、U3、U6、U7、7SK、H1、またはMRP、EBER、セレノシステインtRNA、7SL、アデノウイルスVA-1、またはテロメラーゼ遺伝子プロモータであり、および前記P o l I I Iプロモータターミネータが、それぞれ、U3、U6、U7、7SK、H1、またはMRP、EBER、セレノシステインtRNA、7SL、アデノウイルスVA-1、またはテロメラーゼ遺伝子プロモータターミネータである、実施形態45に記載のAAVウイルスゲノム。

【0040】

47. 前記P o l I I Iプロモータが、H1プロモータであり、および前記P o l

50

I I I プロモーターターミネータが、H I プロモーターターミネータである、実施形態 4 6 に記載の A A V ウイルスゲノム。

【0041】

48. 単一特異的ポリシストロン性 A A V ウイルスゲノムである、実施形態 1 ~ 4 7 のいずれか一項に記載の A A V ウイルスゲノム。

49. 二特異的ポリシストロン性 A A V ウイルスゲノムである、実施形態 1 ~ 4 7 のいずれか一項に記載の A A V ウイルスゲノム。

【0042】

50. 前記第 1 の領域と前記第 2 の領域とが、第 1 の s i R N A 分子をコードし、および前記第 3 の領域と前記第 4 の領域とが、第 2 の s i R N A 分子をコードし、前記第 1 および第 2 の s i R N A 分子が、異なる標的遺伝子を標的とする、実施形態 1 または 2 に記載の A A V ウイルスゲノム。

【0043】

51. 前記第 5 の領域と前記第 6 の領域とが、第 3 の s i R N A 分子をコードし、前記第 1 の s i R N A 分子、前記第 2 の s i R N A 分子および前記第 3 の s i R N A 分子が各々、異なる標的遺伝子を標的とする、実施形態 3 に記載の A A V ウイルスゲノム。

【0044】

52. 前記第 7 の領域と前記第 8 の領域とが、第 4 の s i R N A 分子をコードし、前記第 1 の s i R N A 分子、前記第 2 の s i R N A 分子、前記第 3 の s i R N A 分子および前記第 4 の s i R N A 分子が各々、異なる標的遺伝子を標的とする、実施形態 4 に記載の A A V ウイルスゲノム。

【0045】

53. 2 つの末端逆位配列 (I T R) 間に位置する核酸配列を含むアデノ随伴ウイルス (A A V) ウイルスゲノムであって、前記核酸配列が、第 1 の分子足場領域および第 2 の分子足場領域を含み、前記第 1 の分子足場領域が、

(a) 第 1 のステムループ構造を形成する第 1 のステムおよびループであって、前記第 1 のステムループ構造の配列が、5' から 3' に、

i. 前記第 1 のステムループ構造の第 1 の 5' ステムの基部またはその近傍における第 1 の U G モチーフ；

i i. 第 1 のセンス鎖と任意選択で第 1 の 5' スペーサ領域とを含む第 1 の 5' ステムアームであって、存在する場合には前記第 1 の 5' スペーサ領域が前記第 1 の U G モチーフと前記第 1 のセンス鎖との間に位置する、第 1 の 5' ステムアーム；

i i i. その 5' 末端に第 1 の U G U G モチーフを含む第 1 のループ領域；

i v. 第 1 のアンチセンス鎖と任意選択で第 1 の 3' スペーサ領域とを含む第 1 の 3' ステムアームであって、前記第 1 のアンチセンス鎖の 5' 末端にウリジンが存在し、および存在する場合には前記第 1 の 3' スペーサ領域が、1 ヘリカルターンを形成するのに十分な長さを有する、第 1 の 3' ステムアーム

を含む、第 1 のステムおよびループ；

(b) 前記第 1 のステムループ構造の 5' に位置する第 1 の 5' フランキング領域；および

(c) 前記第 1 のステムループ構造の 3' に位置する第 1 の 3' フランキング領域であって、C N N C モチーフを含む、第 1 の 3' フランキング領域をコードする第 1 の分子足場核酸配列を含み、ならびに

第 2 の分子足場領域が、

(d) 第 2 のステムループ構造を形成する第 2 のステムおよびループであって、前記第 2 のステムループ構造の配列が、5' から 3' に、

v. 前記第 2 のステムループ構造の第 2 の 5' ステムの基部またはその近傍における第 2 の U G モチーフ；

v i. 第 2 のセンス鎖と任意選択で第 2 の 5' スペーサ領域とを含む第 2 の 5' ステムアームであって、存在する場合には前記第 2 の 5' スペーサ領域が、前記第 2 の U G

10

20

30

40

50

モチーフと前記第2のセンス鎖との間に位置する、第2の5'ステムアーム；

v i i . その5'末端に第2のUGUGモチーフを含む第2のループ領域；

v i i i . 第2のアンチセンス鎖と任意選択で第2の3'スぺーサ領域とを含む第2の3'ステムアームであって、前記第2のアンチセンス鎖の5'末端にウリジンが存在し、および存在する場合には前記第2の3'スぺーサ領域が、1ヘリカルターンを形成するのに十分な長さを有する、第2の3'ステムアーム；

i x . 前記第2のステムループ構造の5'に位置する第2の5'フランキンク領域を含む、第2のステムおよびループ；および

(e) 前記第2のステムループ構造の3'に位置する第2の3'フランキンク領域であって、CNNCモチーフを含む第2の3'フランキンク領域

をコードする第2の分子足場核酸配列を含み、ならびに

前記第1のアンチセンス鎖と前記第1のセンス鎖とが、第1のs i R N A二重鎖を形成し、および前記第2のアンチセンス鎖と前記第2のセンス鎖とが、第2のs i R N A二重鎖を形成し、前記第1のs i R N A二重鎖が、発現すると細胞における第1の標的遺伝子の発現を阻害または抑制し、および前記第2のs i R N A二重鎖が、発現すると細胞における第2の標的遺伝子の発現を阻害または抑制し、前記第1および第2のセンス鎖配列が、少なくとも15ヌクレオチドを含み、前記第1のアンチセンス鎖配列が、前記第1の標的遺伝子によって産生されるm R N Aに相補的であり、および第2のアンチセンス鎖配列が、前記第2の標的遺伝子によって産生されるm R N Aに相補的であり、ならびに前記第1のセンス鎖配列と前記第1のアンチセンス鎖配列とが、少なくとも4ヌクレオチド長の相補性の領域を共有し、および前記第2のセンス鎖配列と前記第2のアンチセンス鎖配列とが、少なくとも4ヌクレオチド長の相補性の領域を共有する、アデノ随伴ウイルス(AAV)ウイルスゲノム。

【0046】

54. 2つの末端逆位配列(ITR)間に位置する核酸配列を含むアデノ随伴ウイルス(AAV)ウイルスゲノムであって、前記核酸配列が、第1の分子足場領域および第2の分子足場領域を含み、前記第1の分子足場領域が、

(a) 第1のステムループ構造を形成する第1のステムおよびループであって、前記第1のステムループ構造の配列が、5'から3'に、

i . 前記第1のステムループ構造の第1の5'ステムの基部またはその近傍における第1のUGモチーフ；

i i . 第1のアンチセンス鎖と任意選択で第1の5'スぺーサ領域とを含む第1の5'ステムアームであって、存在する場合には前記第1の5'スぺーサ領域が前記第1のUGモチーフと前記第1のアンチセンス鎖との間に位置する、第1の5'ステムアーム；

i i i . その5'末端に第1のUGUGモチーフを含む第1のループ領域；

i v . 第1のセンス鎖と任意選択で第1の3'スぺーサ領域とを含む第1の3'ステムアームであって、前記第1のセンス鎖の5'末端にウリジンが存在し、および存在する場合には前記第1の3'スぺーサ領域が、1ヘリカルターンを形成するのに十分な長さを有する、第1の3'ステムアーム；

を含む、第1のステムおよびループ；

(b) 前記第1のステムループ構造の5'に位置する第1の5'フランキンク領域；および

(c) 前記第1のステムループ構造の3'に位置する第1の3'フランキンク領域であって、CNNCモチーフを含む第1の3'フランキンク領域

をコードする第1の分子足場核酸配列を含み、ならびに

第2の分子足場領域が、

(d) 第2のステムループ構造を形成する第2のステムおよびループであって、前記第2のステムループ構造の配列が、5'から3'に、

v . 前記第2のステムループ構造の第2の5'ステムの基部またはその近傍におけるUGモチーフ；

10

20

30

40

50

v i . 第 2 の アンチセンス鎖と任意選択で第 2 の 5 ' スペーサ領域とを含む第 2 の 5 ' ステムアームであって、存在する場合には前記 5 ' スペーサ領域が、前記第 2 の U G モチーフと前記第 2 の アンチセンス鎖との間に位置する、第 2 の 5 ' ステムアーム；

v i i . その 5 ' 末端に第 2 の U G U G モチーフを含む第 2 の ループ領域；

v i i i . 第 2 の センス鎖と任意選択で第 2 の 3 ' スペーサ領域とを含む第 2 の 3 ' ステムアームであって、前記第 2 の センス鎖の 5 ' 末端にウリジンが存在し、および存在する場合には前記第 2 の 3 ' スペーサ領域が、1 ヘリカルターンを形成するのに十分な長さを有する、第 2 の 3 ' ステムアームを含む、第 2 の ステムおよびループ；

(e) 前記第 2 の ステムループ構造の 5 ' に位置する第 2 の 5 ' フランキング領域；
および

(f) 前記第 2 の ステムループ構造の 3 ' に位置する第 2 の 3 ' フランキング領域であって、C N N C モチーフを含む第 2 の 3 ' フランキング領域をコードする第 2 の 分子足場核酸配列を含み、ならびに

前記第 1 の アンチセンス鎖と前記第 1 の センス鎖とが、第 1 の s i R N A 二重鎖を形成し、および前記第 2 の アンチセンス鎖と前記第 2 の センス鎖とが、第 2 の s i R N A 二重鎖を形成し、前記第 1 の s i R N A 二重鎖が、発現すると細胞における第 1 の 標的遺伝子の発現を阻害または抑制し、および前記第 2 の s i R N A 二重鎖が、発現すると細胞における第 2 の 標的遺伝子の発現を阻害または抑制し、前記第 1 および第 2 の センス鎖配列が、少なくとも 1 5 ヌクレオチドを含み、前記第 1 の アンチセンス鎖配列が、前記第 1 の 標的遺伝子によって産生される m R N A に相補的であり、および第 2 の アンチセンス鎖配列が、前記第 2 の 標的遺伝子によって産生される m R N A に相補的であり、ならびに前記第 1 の センス鎖配列と前記第 1 の アンチセンス鎖配列とが、少なくとも 4 ヌクレオチド長の相補性の領域を共有し、および前記第 2 の センス鎖配列と前記第 2 の アンチセンス鎖配列とが、少なくとも 4 ヌクレオチド長の相補性の領域を共有する、アデノ随伴ウイルス (A A V) ウイルスゲノム。

【 0 0 4 7 】

5 5 . 前記第 1 の アンチセンス鎖配列または前記第 2 の アンチセンス鎖配列が、ハンチンチンの発現を阻害または抑制する、実施形態 5 3 または 5 4 に記載の A A V ウイルスゲノム。

【 0 0 4 8 】

5 6 . 前記第 1 の アンチセンス鎖配列および前記第 2 の アンチセンス鎖配列が、ハンチンチンの発現を阻害または抑制する、実施形態 5 3 または 5 4 に記載の A A V ウイルスゲノム。

【 0 0 4 9 】

5 7 . 前記第 1 の アンチセンス鎖配列または前記第 2 の アンチセンス鎖配列が、S O D 1 の発現を阻害または抑制する、実施形態 5 3 または 5 4 に記載の A A V ウイルスゲノム。

【 0 0 5 0 】

5 8 . 前記第 1 の アンチセンス鎖配列および前記第 2 の アンチセンス鎖配列が、S O D 1 の発現を阻害または抑制する、実施形態 5 3 または 5 4 に記載の A A V ウイルスゲノム。

【 0 0 5 1 】

5 9 . 前記第 1 の 5 ' フランキング領域が、表 1 0 に挙げられる配列から選択される、実施形態 5 3 または 5 4 に記載の A A V ウイルスゲノム。

6 0 . 前記第 2 の 5 ' フランキング領域が、表 1 0 に挙げられる配列から選択される、実施形態 5 3 または 5 4 に記載の A A V ウイルスゲノム。

【 0 0 5 2 】

6 1 . 前記第 2 の 5 ' フランキング領域が、表 1 0 に挙げられる配列から選択される、実施形態 5 9 に記載の A A V ウイルスゲノム。

10

20

30

40

50

62. 前記第1のループ領域が、表11に挙げられる配列から選択される、実施形態53または54に記載のAAVウイルスゲノム。

【0053】

63. 前記第2のループ領域が、表11に挙げられる配列から選択される、実施形態53または54に記載のAAVウイルスゲノム。

64. 前記第2のループ領域が、表11に挙げられる配列から選択される、実施形態62に記載のAAVウイルスゲノム。

【0054】

65. 前記第1の3'フランキンク領域が、表12に挙げられる配列から選択される、実施形態53または54に記載のAAVウイルスゲノム。

66. 前記第2の3'フランキンク領域が、表12に挙げられる配列から選択される、実施形態53または54に記載のAAVウイルスゲノム。

【0055】

67. 前記第2の3'フランキンク領域が、表12に挙げられる配列から選択される、実施形態65に記載のAAVウイルスゲノム。

68. 前記核酸配列が、前記第1の分子足場核酸配列と前記第2の分子足場核酸配列との間にプロモータ配列を含む、実施形態53または54に記載のAAVウイルスゲノム。

【0056】

69. (b)において前記第1の5'フランキンク領域の5'にあるプロモータ、およびそれに続く前記第1の5'フランキンク領域を、ならびに(c)において前記第1の3'フランキンク領域、およびそれに続く前記第1の3'フランキンク領域の3'にあるプロモータターミネータを、ならびに(d)において前記第2の5'フランキンク領域の5'にあるプロモータ、およびそれに続く前記第2の5'フランキンク領域を、ならびに(e)において前記第2の3'フランキンク領域、およびそれに続く前記第2の3'フランキンク領域の3'にあるプロモータターミネータを更に含む、実施形態53または54に記載のAAVウイルスゲノム。

【0057】

70. 前記プロモータが、Pol IIIプロモータである、実施形態69に記載のAAVウイルスゲノム。

71. 前記Pol IIIプロモータ配列が、U3、U6、U7、7SK、H1、またはMRP、EBER、セレノシステインtRNA、7SL、アデノウイルスVA-1、またはテロメラーゼ遺伝子プロモータである、実施形態70に記載のAAVウイルスゲノム。

【0058】

72. 前記Pol IIIプロモータが、H1プロモータである、実施形態71に記載のAAVウイルスゲノム。

73. 前記核酸配列が、

(g)第3のステムループ構造を形成する第3のステムおよびループであって、前記第3のステムループ構造の配列が、5'から3'に、

ix. 前記第3のステムループ構造の第3の5'ステムの基部またはその近傍におけるUGモチーフ；

x. 第3のセンス鎖と任意選択で第3の5'スペーサ領域とを含む第3の5'ステムアームであって、存在する場合には前記第3の5'スペーサ領域が、前記第3のUGモチーフと前記第3のセンス鎖との間に位置する、第3の5'ステムアーム；

xi. その5'末端に第3のUGUGモチーフを含む第3のループ領域；

xii. 第3のアンチセンス鎖と任意選択で第3の3'スペーサ領域とを含む第3の3'ステムアームであって、前記第3のアンチセンス鎖の5'末端にウリジンが存在し、および存在する場合には前記第3の3'スペーサ領域が、1ヘリカルターンを形成するのに十分な長さを有する、第3の3'ステムアームを含む、第3のステムおよびループ；

10

20

30

40

50

(h) 前記第3のステムループ構造の5'に位置する第3の5'フランキング領域；
および

(i) 前記第3のステムループ構造の3'に位置する第3の3'フランキング領域であって、CNNCモチーフを含む第3の3'フランキング領域をコードする第3の分子足場核酸配列を含む第3の分子足場領域を更に含み、ならびに

前記第3のアンチセンス鎖と前記第3のセンス鎖とが、第3のsiRNA二重鎖を形成し、前記第3のsiRNA二重鎖が、発現すると細胞における第3の標的遺伝子の発現を阻害または抑制し、前記第3のセンス鎖配列が、少なくとも15ヌクレオチドを含み、前記第3のアンチセンス鎖配列が、前記第3の標的遺伝子によって産生されるmRNAに相補的であり、および前記第3のセンス鎖配列と前記第3のアンチセンス鎖配列とが、少なくとも4ヌクレオチド長の相補性の領域を共有する、実施形態53に記載のAAVウイルスゲノム。

10

【0059】

74. (h)において前記第3の5'フランキング領域の5'にあるプロモータ、およびそれに続く前記第3の5'フランキング領域を、ならびに(i)において前記第3のフランキング領域、およびそれに続く前記第3のフランキング領域の3'にあるプロモータターミネータを更に含む、実施形態73に記載のAAVウイルスゲノム。

【0060】

75. 前記プロモータが、Pol IIIプロモータである、実施形態74に記載のAAVウイルスゲノム。

20

76. 前記Pol IIIプロモータ配列が、U3、U6、U7、7SK、H1、またはMRP、EBER、セレノシステインtRNA、7SL、アデノウイルスVA-1、またはテロメラーゼ遺伝子プロモータである、実施形態75に記載のAAVウイルスゲノム。

【0061】

77. 前記Pol IIIプロモータが、H1プロモータである、実施形態76に記載のAAVウイルスゲノム。

78. 前記核酸配列が、

(j) 第4のステムループ構造を形成する第4のステムおよびループであって、前記第4のステムループ構造の配列が、5'から3'に、

30

xiii. 前記第4のステムループ構造の第4の5'ステムの基部またはその近傍における第4のUGモチーフ；

xiv. 第4のセンス鎖と任意選択で第4の5'スペーサ領域とを含む第4の5'ステムアームであって、存在する場合には前記第4の5'スペーサ領域が、前記第4のUGモチーフと前記第4のセンス鎖との間に位置する、第4の5'ステムアーム；

xv. その5'末端に第4のUGUGモチーフを含む第4のループ領域；

xvi. 第4のアンチセンス鎖と任意選択で第4の3'スペーサ領域とを含む第4の3'ステムアームであって、前記第4のアンチセンス鎖の5'末端にウリジンが存在し、および存在する場合には前記第4の3'スペーサ領域が1ヘリカルターンを形成するのに十分な長さを有する、第4の3'ステムアームを含む、第4のステムおよびループ；

40

(k) 前記第4のステムループ構造の5'に位置する第4の5'フランキング領域；
および

(l) 前記第4のステムループ構造の3'に位置する第4の3'フランキング領域であって、CNNCモチーフを含む第4の3'フランキング領域をコードする第4の分子足場核酸配列を含む第4の分子足場領域を更に含み、ならびに

前記第4のアンチセンス鎖と前記第4のセンス鎖とが、第4のsiRNA二重鎖を形成し、前記第4のsiRNA二重鎖が、発現すると細胞における第4の標的遺伝子の発現を阻害または抑制し、前記第4のセンス鎖配列が、少なくとも15ヌクレオチドを含み、前記第4のアンチセンス鎖配列が、前記第4の標的遺伝子によって産生されるmRNAに相

50

補的であり、および前記第4のセンス鎖配列と前記第4のアンチセンス鎖配列とが、少なくとも4ヌクレオチド長の相補性の領域を共有する、実施形態73に記載のAAVウイルスゲノム。

【0062】

79. (k)において前記第4の5'フランキング領域の5'にあるプロモータ、およびそれに続く前記第4の5'フランキング領域を、ならびに(1)において前記第4の3'フランキング領域、およびそれに続く前記第4の3'フランキング領域の3'にあるプロモーターミネータを更に含む、実施形態78に記載のAAVウイルスゲノム。

【0063】

80. 前記プロモータが、Pol IIIプロモータである、実施形態79に記載のAAVウイルスゲノム。

81. 前記Pol IIIプロモータ配列が、U3、U6、U7、7SK、H1、またはMRP、EBER、セレノシステインtRNA、7SL、アデノウイルスVA-1、またはテロメラーゼ遺伝子プロモータである、実施形態80に記載のAAVウイルスゲノム。

【0064】

82. 前記Pol IIIプロモータが、H1プロモータである、実施形態81に記載のAAVウイルスゲノム。

83. 前記第1の標的遺伝子が、前記第2の標的遺伝子と同じである、実施形態53～82のいずれか一項に記載のAAVウイルスゲノム。

【0065】

84. 前記第3の標的遺伝子が、前記第1の標的遺伝子と同じである、実施形態53～82のいずれか一項に記載のAAVウイルスゲノム。

85. 前記第3の標的遺伝子が、前記第2の標的遺伝子と同じである、実施形態53～82のいずれか一項に記載のAAVウイルスゲノム。

【0066】

86. 前記第1の標的遺伝子と、前記第2の標的遺伝子と、前記第3の標的遺伝子とが、同じである、実施形態53～82のいずれか一項に記載のAAVウイルスゲノム。

87. 前記第4の標的遺伝子が、前記第1の標的遺伝子と同じである、実施形態53～82のいずれか一項に記載のAAVウイルスゲノム。

【0067】

88. 前記第4の標的遺伝子が、前記第2の標的遺伝子と同じである、実施形態53～82のいずれか一項に記載のAAVウイルスゲノム。

89. 前記第4の標的遺伝子が、前記第3の標的遺伝子と同じである、実施形態53～82のいずれか一項に記載のAAVウイルスゲノム。

【0068】

90. 前記第4の標的遺伝子が、前記第1の標的遺伝子および前記第2の標的遺伝子と同じである、実施形態53～82のいずれか一項に記載のAAVウイルスゲノム。

91. 前記第4の標的遺伝子が、前記第2の標的遺伝子および前記第3の標的遺伝子と同じである、実施形態53～82のいずれか一項に記載のAAVウイルスゲノム。

【0069】

92. 前記第4の標的遺伝子が、前記第1の標的遺伝子および前記第3の標的遺伝子と同じである、実施形態53～82のいずれか一項に記載のAAVウイルスゲノム。

93. 前記第4の標的遺伝子が、前記第1の標的遺伝子、前記第2の標的遺伝子および前記第3の標的遺伝子と同じである、実施形態53～82のいずれか一項に記載のAAVウイルスゲノム。

【0070】

94. 前記第1の標的遺伝子、前記第2の標的遺伝子、前記第3の標的遺伝子、および／または前記第4の標的遺伝子が、ハンチンチンである、実施形態53～93のいずれか一項に記載のAAVウイルスゲノム。

10

20

30

40

50

【0071】

95. 前記第1の標的遺伝子、前記第2の標的遺伝子、前記第3の標的遺伝子および／または前記第4の標的遺伝子が、SOD1である、実施形態53～93のいずれか一項に記載のAAVウイルスゲノム。

【0072】

96. 前記第1の標的遺伝子、前記第2の標的遺伝子、前記第3の標的遺伝子および／または前記第4の標的遺伝子が、ハンチンチンまたはSOD1である、実施形態53～93のいずれか一項に記載のAAVウイルスゲノム。

【0073】

97. 細胞における標的遺伝子の発現を阻害する方法であって、実施形態1～96のいずれか一項に記載のAAVウイルスゲノムを含む組成物を前記細胞に投与することを含む方法。

10

【0074】

98. 前記細胞が哺乳類細胞である、実施形態97に記載の方法。

99. 前記哺乳類細胞が中型有棘ニューロンである、実施形態98に記載の方法。

100. 前記哺乳類細胞が皮質ニューロンである、実施形態98に記載の方法。

【0075】

101. 前記哺乳類細胞が運動ニューロンである、実施形態98に記載の方法。

102. 前記哺乳類細胞がアストロサイトである、実施形態98に記載の方法。

103. それを必要とする対象の疾患および／または障害を治療する方法であって、前記対象に、実施形態1～96のいずれか一項に記載のAAVウイルスゲノムを含む組成物の治療有効量を投与することを含む方法。

20

【0076】

104. 標的遺伝子の発現が阻害または抑制される、実施形態103に記載の方法。

105. 目的の標的遺伝子の発現が、約30%～約70%阻害または抑制される、実施形態104に記載の方法。

【0077】

106. 標的遺伝子の発現が、約50%～約90%阻害または抑制される、実施形態104に記載の方法。

107. 細胞における標的遺伝子の発現を阻害する方法であって、標的遺伝子は細胞内で機能獲得効果を引き起こすものであり、前記方法は、実施形態1～96のいずれか一項に記載のAAVウイルスゲノムを含む組成物を前記細胞に投与することを含む、方法。

30

【0078】

108. 前記細胞が哺乳類細胞である、実施形態107に記載の方法。

109. 前記哺乳類細胞が中型有棘ニューロンである、実施形態108に記載の方法。

110. 前記哺乳類細胞が皮質ニューロンである、実施形態108に記載の方法。

【0079】

111. 前記哺乳類細胞が運動ニューロンである、実施形態108に記載の方法。

112. 前記哺乳類細胞がアストロサイトである、実施形態108に記載の方法。

前出の目的、特徴、および利点ならびに他の目的、特徴、および利点は、付属の図面において例示される、本発明の特定の実施形態についての以下の説明から明らかになるであろう。図面は、必ずしも縮尺通りではなく、本発明の多様な実施形態についての原理を例示することに強調を置いている。

40

【図面の簡単な説明】

【0080】

【図1】本発明のウイルスゲノムの概略図。

【図2】本発明のウイルスゲノムの概略図。

【図3】本発明のウイルスゲノムの概略図。

【図4】本発明のウイルスゲノムの概略図。

【図5】本発明のウイルスゲノムの概略図。

50

【図 6】本発明のウイルスゲノムの概略図。

【図 7】本発明のウイルスゲノムの概略図。

【図 8】本発明のウイルスゲノムの概略図。

【図 9】本発明のウイルスゲノムの概略図。

【発明を実施するための形態】

【0081】

本発明の1つ以上の実施形態の詳細が下記の添付の説明に示される。本発明の実施または試験においては本明細書に記載されるものと同様のまたは等価な任意の材料および方法を使用し得るが、ここで好ましい材料および方法について説明する。本発明の他の特徴、目的および利点が、この説明から明らかになるであろう。説明においては、文脈上特に明確に指示されない限り、単数形に複数形も含まれる。特に定義されない限り、本明細書で使用される全ての科学技術用語は、本発明が属する技術分野の当業者が一般的に理解するのと同じ意味を有する。矛盾が生じた場合、本説明が優先するものとする。

【0082】

I. 本発明の組成物

本発明によれば、アデノ随伴ウイルス(AAV)によって、調節性ポリヌクレオチドおよび/または調節性ポリヌクレオチドに基づく組成物を送達するための組成物が提供される。本発明のAAV粒子は、インビボ、エクシボまたはインビトロにて、幾つかの投与経路のいずれかを介して、細胞、組織、臓器、または生物に提供することができる。

【0083】

本明細書で使用されるとき、「AAV粒子」は、少なくとも1つのペイロード領域および少なくとも1つの末端逆位配列(ITR)領域を有するウイルスゲノムを含むウイルスである。

【0084】

本明細書で使用されるとき、「ウイルスゲノム」または「ベクターゲノム」または「ウイルスベクター」は、AAV粒子に被包された核酸配列を指す。ウイルスゲノムは、ポリペプチドまたはそれらの断片をコードする少なくとも1つのペイロード領域を含む。

【0085】

本明細書で使用されるとき、「ペイロード」または「ペイロード領域」は、本発明の1つ以上のポリペプチドをコードする任意の核酸分子である。ペイロード領域は、最低限、センス配列およびアンチセンス配列、siRNAに基づく組成物、またはその断片をコードする核酸配列を含むが、任意選択で、転写発現および/またはポリペプチド翻訳を促進する1つ以上の機能性または調節エレメントも含み得る。

【0086】

本明細書で開示される核酸配列およびポリペプチドは、本発明の調節性ポリヌクレオチドおよび/または調節性ポリヌクレオチドに基づく組成物の発現を可能にするようにアセンブルされたモジュール型のエレメントおよび/または配列モチーフを含有するように操作されていてもよい。一部の実施形態において、ペイロード領域を含む核酸配列は、プロモータ領域、イントロン、コザック配列、エンハンサーまたはポリアデニル化配列の1つ以上を含み得る。本発明のペイロード領域は、典型的には、少なくとも1つのセンス配列およびアンチセンス配列、siRNAに基づく組成物、または前述のものの断片を、互いに組み合わせてまたは他のポリペプチド部分と組み合わせてコードする。

【0087】

AAV粒子のウイルスゲノム内の本発明のペイロード領域は、1つ以上の標的細胞、組織、臓器または生物に送達され得る

アデノ随伴ウイルス(AAV)およびAAV粒子

パルボウイルス科のウイルスは、一本鎖DNAゲノムによって特徴付けられる小型非エンベロープ二十面体カプシドウイルスである。パルボウイルス科ウイルスは、2つの亜科：脊椎動物に感染するパルボウイルス亜科および無脊椎動物に感染するデソウイルス亜科で構成される。このウイルスファミリーは、その構造が比較的で単純であり、標準的分

子生物学技法を使用して容易に操られるため、生物学的ツールとして有用である。ウイルスのゲノムは、所望のペイロードが担持されているかまたは所望のペイロードを発現もしくは送達するように操作されている機能的組換えウイルスまたはウイルス粒子をアセンブリするための最低限の成分を含有するように修飾することができ、所望のペイロードを、標的細胞、組織、臓器、または生物に送達することができる。

【0088】

パルボウイルスおよびパルボウイルス科の他のメンバーは、ケネス I. ベルン (Kenneth I. Berns)、「パルボウイルス科：ウイルスおよびそれらの複製 (The Viruses and Their Replication)」、フィールズ・バイロロジー (FIELDS VIROLOGY) (第3版、1996年)の第69章に概説されている。その内容は全体として参照により援用される。

10

【0089】

パルボウイルス科は、限定はされないが、ヒト、霊長類、ウシ、イヌ、ウマ、およびヒツジ種を含む脊椎動物宿主において複製可能なアデノ随伴ウイルス (AAV) を含むディペンドウイルス属を含む。

【0090】

AAVウイルスゲノムは、およそ5,000ヌクレオチド (nt) 長の線形一本鎖DNA (ssDNA) 分子である。AAVウイルスゲノムは、ペイロード領域および少なくとも1つの末端逆位配列 (ITR) またはITR領域を含み得る。ITRは、伝統的には、非構造タンパク質 (Rep遺伝子によってコードされる) および構造タンパク質 (カプシド遺伝子またはCap遺伝子によってコードされる) のコードヌクレオチド配列に隣接する。理論によって束縛されることを望むものではないが、AAVウイルスゲノムは、典型的には、2つのITR配列を含む。AAVウイルスゲノムは、エネルギー的に安定した二本鎖領域を形成するssDNAの5'末端および3'末端の自己相補的な末端145ntによって規定される特徴的なT形ヘアピン構造を含む。二本鎖ヘアピン構造は、限定はされないが、宿主ウイルス複製細胞の内因性DNAポリメラーゼ複合体のプライマーとして機能することによってDNA複製の起点として働くことを含む、複数の機能を含む。

20

【0091】

コード化異種性ペイロードに加えて、AAVベクターは、全体または一部が、任意の天然に存在するおよび／または組換えのAAV血清型ヌクレオチド配列または変異体のウイルスゲノムを含み得る。AAVバリエーションは、概して物理的および機能的等価物であるコンストラクトを産生し、同様の機序によって複製し、および同様の機序によってアセンブルするように、核酸レベル (ゲノムまたはカプシド) およびアミノ酸レベル (カプシド) において有意に相同性である配列を有し得る。チオリニ (Chiorini) ら著、ジャーナル・オブ・バイロロジー (J. Vir.)、第71巻、p. 6823~33 (1997年)；スリバスタバ (Srivastava) ら著、ジャーナル・オブ・バイロロジー (J. Vir.)、第45巻、p. 555~64 (1983年)；チオリニ (Chiorini) ら著、ジャーナル・オブ・バイロロジー (J. Vir.)、第73巻、p. 1309~1319 (1999年)；ラトリッジ (Rutledge) ら著、ジャーナル・オブ・バイロロジー (J. Vir.)、第72巻、p. 309~319 (1998年)；およびウー (Wu) ら著、ジャーナル・オブ・バイロロジー (J. Vir.)、第74巻、p. 8635~47 (2000年)。これらの各々の内容は、本明細書において全体として参照により援用される。

30

40

【0092】

一実施形態において、本発明のAAV粒子は、複製欠損型である組換えAAVベクターであり、それらのウイルスゲノム内に機能的RepおよびCapタンパク質をコードする配列を欠如する。これらの欠損AAVベクターは、ほとんどのまたは全ての親コード配列を欠如してもよく、本質的に、1つまたは2つのAAV ITR配列および細胞、組織、臓器または生物に送達するための目的の核酸のみを有していてもよい。

【0093】

50

一実施形態において、本発明のAAV粒子のウイルスゲノムは、そこにコードされたコード配列の複製、転写および翻訳を提供する少なくとも1つの制御エレメントを含む。コード配列が適切な宿主細胞中で複製、転写および／または翻訳されることが可能である限り、制御エレメントは全てが常に存在する必要があるわけではない。発現制御エレメントの非限定的な例としては、転写開始および／もしくは終結のための配列、プロモータおよび／もしくはエンハンサー配列、スプライシングおよびポリアデニル化シグナルなどの効率的RNAプロセッシングシグナル、細胞質mRNAを安定させる配列、翻訳有効性を増強する配列（例えば、コザックコンセンサス配列）、タンパク質安定性を増強する配列、ならびに／またはタンパク質プロセッシングおよび／もしくは分泌を増強する配列が挙げられる。

10

【0094】

本発明によれば、療法および／または診断に使用されるAAV粒子は、目的の核酸ペイロードまたはカーゴの形質導入に必要な最低限の成分へと純化または縮小されているウイルスを含む。このように、AAV粒子は、野生型ウイルスに見られる有害な複製および／または組込み特徴を欠きながらも、特異的送達媒体として操作される。

【0095】

本発明のAAVベクターは、組換え的に産生されてもよく、アデノ随伴ウイルス(AAV)親または参照配列に基づいていてもよい。本明細書で使用されるとき、「ベクター」は、本明細書に記載される核酸などの異種分子を輸送し、形質導入し、またはその他担体として働く任意の分子または部分を意味する。

20

【0096】

一本鎖AAVウイルスゲノム（例えば、ssAAV）に加えて、本発明はまた、自己相補的AAV（scAAV）ウイルスゲノムも提供する。scAAVウイルスゲノムは、共にアニーリングして二本鎖DNAを形成するDNA鎖を含有する。第2鎖の合成をスキップすることにより、scAAVは、細胞において迅速に発現することが可能である。

【0097】

一実施形態において、本発明のAAV粒子はscAAVである。

一実施形態において、本発明のAAV粒子はssAAVである。

AAV粒子を作製および／または修飾する方法は、シュードタイプAAVベクターなど、当該技術分野において開示されている（国際公開第200028004号パンフレット、同第200123001号パンフレット、同第2004112727号パンフレット、同第2005005610号パンフレットおよび同第2005072364号パンフレット、これらの各々の内容は全体として参照により本明細書に援用される）。

30

【0098】

AAV粒子は、送達効率が増強されるように修飾されてもよい。かかる修飾されたAAV粒子は、効率的にパッケージングすることができ、高頻度でおよび最低限の毒性で標的細胞への感染を成功させるために使用することができる。一部の実施形態において、AAV粒子のカプシドは、米国特許出願公開第20130195801号明細書に記載される方法に従って操作される。この内容は、本明細書において全体として参照によって援用される。

40

【0099】

一実施形態において、本発明のポリペプチドをコードするペイロード領域を含むAAV粒子は、哺乳類細胞に導入することができる。

AAV血清型

本発明のAAV粒子は任意の天然または組換えAAV血清型を含んでもよく、またはそれに由来してもよい。本発明によれば、AAV粒子は以下のいずれか、AAV1、AAV2、AAV2G9、AAV3、AAV3a、AAV3b、AAV3-3、AAV4、AAV4-4、AAV5、AAV6、AAV6.1、AAV6.2、AAV6.1.2、AAV7、AAV7.2、AAV8、AAV9、AAV9.11、AAV9.13、AAV9.16、AAV9.24、AAV9.45、AAV9.47、AAV9.61、AAV9

50

. 68、AAV9. 84、AAV9. 9、AAV10、AAV11、AAV12、AAV16. 3、AAV24. 1、AAV27. 3、AAV42. 12、AAV42-1b、AAV42-2、AAV42-3a、AAV42-3b、AAV42-4、AAV42-5a、AAV42-5b、AAV42-6b、AAV42-8、AAV42-10、AAV42-11、AAV42-12、AAV42-13、AAV42-15、AAV42-a、AAV43-1、AAV43-12、AAV43-20、AAV43-21、AAV43-23、AAV43-25、AAV43-5、AAV44. 1、AAV44. 2、AAV44. 5、AAV223. 1、AAV223. 2、AAV223. 4、AAV223. 5、AAV223. 6、AAV223. 7、AAV1-7/rh. 48、AAV1-8/rh. 49、AAV2-15/rh. 62、AAV2-3/rh. 61、AAV2-4/rh. 50、AAV2-5/rh. 51、AAV3. 1/hu. 6、AAV3. 1/hu. 9、AAV3-9/rh. 52、AAV3-11/rh. 53、AAV4-8/rh. 1. 64、AAV4-9/rh. 54、AAV4-19/rh. 55、AAV5-3/rh. 57、AAV5-22/rh. 58、AAV7. 3/hu. 7、AAV16. 8/hu. 10、AAV16. 12/hu. 11、AAV29. 3/bb. 1、AAV29. 5/bb. 2、AAV106. 1/hu. 37、AAV114. 3/hu. 40、AAV127. 2/hu. 41、AAV127. 5/hu. 42、AAV128. 3/hu. 44、AAV130. 4/hu. 48、AAV145. 1/hu. 53、AAV145. 5/hu. 54、AAV145. 6/hu. 55、AAV161. 10/hu. 60、AAV161. 6/hu. 61、AAV33. 12/hu. 17、AAV33. 4/hu. 15、AAV33. 8/hu. 16、AAV52/hu. 19、AAV52. 1/hu. 20、AAV58. 2/hu. 25、AAVA3. 3、AAVA3. 4、AAVA3. 5、AAVA3. 7、AAVC1、AAVC2、AAVC5、AAV-DJ、AAV-DJ8、AAVF3、AAVF5、AAVH2、AAVrh. 72、AAVhu. 8、AAVrh. 68、AAVrh. 70、AAVpi. 1、AAVpi. 3、AAVpi. 2、AAVrh. 60、AAVrh. 44、AAVrh. 65、AAVrh. 55、AAVrh. 47、AAVrh. 69、AAVrh. 45、AAVrh. 59、AAVhu. 12、AAVH6、AAVLK03、AAVH-1/hu. 1、AAVH-5/hu. 3、AAVLG-10/rh. 40、AAVLG-4/rh. 38、AAVLG-9/hu. 39、AAVN721-8/rh. 43、AAVCh. 5、AAVCh. 5R1、AAVcy. 2、AAVcy. 3、AAVcy. 4、AAVcy. 5、AAVCy. 5R1、AAVCy. 5R2、AAVCy. 5R3、AAVCy. 5R4、AAVcy. 6、AAVhu. 1、AAVhu. 2、AAVhu. 3、AAVhu. 4、AAVhu. 5、AAVhu. 6、AAVhu. 7、AAVhu. 9、AAVhu. 10、AAVhu. 11、AAVhu. 13、AAVhu. 15、AAVhu. 16、AAVhu. 17、AAVhu. 18、AAVhu. 20、AAVhu. 21、AAVhu. 22、AAVhu. 23. 2、AAVhu. 24、AAVhu. 25、AAVhu. 27、AAVhu. 28、AAVhu. 29、AAVhu. 29R、AAVhu. 31、AAVhu. 32、AAVhu. 34、AAVhu. 35、AAVhu. 37、AAVhu. 39、AAVhu. 40、AAVhu. 41、AAVhu. 42、AAVhu. 43、AAVhu. 44、AAVhu. 44R1、AAVhu. 44R2、AAVhu. 44R3、AAVhu. 45、AAVhu. 46、AAVhu. 47、AAVhu. 48、AAVhu. 48R1、AAVhu. 48R2、AAVhu. 48R3、AAVhu. 49、AAVhu. 51、AAVhu. 52、AAVhu. 54、AAVhu. 55、AAVhu. 56、AAVhu. 57、AAVhu. 58、AAVhu. 60、AAVhu. 61、AAVhu. 63、AAVhu. 64、AAVhu. 66、AAVhu. 67、AAVhu. 14/9、AAVhu. t 19、AAVrh. 2、AAVrh. 2R、AAVrh. 8、AAVrh. 8R、AAVrh. 10、AAVrh. 12、AAVrh. 13、AAVrh. 13R、AAVrh. 14、AAVrh. 17、AAVrh. 18、AAVrh. 19、AAVrh. 20、AAVrh. 21、AAVrh. 22、AAVrh. 23、AAVrh. 24、AAVrh.

25、AAVrh. 31、AAVrh. 32、AAVrh. 33、AAVrh. 34、AAVrh. 35、AAVrh. 36、AAVrh. 37、AAVrh. 37R2、AAVrh. 38、AAVrh. 39、AAVrh. 40、AAVrh. 46、AAVrh. 48、AAVrh. 48. 1、AAVrh. 48. 1. 2、AAVrh. 48. 2、AAVrh. 49、AAVrh. 51、AAVrh. 52、AAVrh. 53、AAVrh. 54、AAVrh. 56、AAVrh. 57、AAVrh. 58、AAVrh. 61、AAVrh. 64、AAVrh. 64R1、AAVrh. 64R2、AAVrh. 67、AAVrh. 73、AAVrh. 74、AAVrh8R、AAVrh8R A586R突然変異体、AAVrh8R R533A突然変異体、AAAV、BAAV、ヤギAAV、ウシAAV、ヒツジAAV、AAVhE1. 1、AAVhEr1. 5、AAVhEr1. 14、AAVhEr1. 8、AAVhEr1. 16、AAVhEr1. 18、AAVhEr1. 35、AAVhEr1. 7、AAVhEr1. 36、AAVhEr2. 29、AAVhEr2. 4、AAVhEr2. 16、AAVhEr2. 30、AAVhEr2. 31、AAVhEr2. 36、AAVhEr1. 23、AAVhEr3. 1、AAV2. 5T、AAV-PAEC、AAV-LK01、AAV-LK02、AAV-LK03、AAV-LK04、AAV-LK05、AAV-LK06、AAV-LK07、AAV-LK08、AAV-LK09、AAV-LK10、AAV-LK11、AAV-LK12、AAV-LK13、AAV-LK14、AAV-LK15、AAV-LK16、AAV-LK17、AAV-LK18、AAV-LK19、AAV-PAEC2、AAV-PAEC4、AAV-PAEC6、AAV-PAEC7、AAV-PAEC8、AAV-PAEC11、AAV-PAEC12、AAV-2-pre-miRNA-101、AAV-8h、AAV-8b、AAV-h、AAV-b、AAV SM 10-2、AAVシャッフル100-1、AAVシャッフル100-3、AAVシャッフル100-7、AAVシャッフル100-2、AAVシャッフル10-6、AAVシャッフル10-8、AAVシャッフル100-2、AAV SM 10-1、AAV SM 10-8、AAV SM 100-3、AAV SM 100-10、BNP61 AAV、BNP62 AAV、BNP63 AAV、AAVrh. 50、AAVrh. 43、AAVrh. 62、AAVrh. 48、AAVhu. 19、AAVhu. 11、AAVhu. 53、AAV4-8/rh. 64、AAV LG-9/hu. 39、AAV54. 5/hu. 23、AAV54. 2/hu. 22、AAV54. 7/hu. 24、AAV54. 1/hu. 21、AAV54. 4R/hu. 27、AAV46. 2/hu. 28、AAV46. 6/hu. 29、AAV128. 1/hu. 43、ツールタイプAAV (ttAAV)、UPENN AAV10、ジヤパニーズAAV10血清型、AAV CBr-7. 1、AAV CBr-7. 10、AAV CBr-7. 2、AAV CBr-7. 3、AAV CBr-7. 4、AAV CBr-7. 5、AAV CBr-7. 7、AAV CBr-7. 8、AAV CBr-B7. 3、AAV CBr-B7. 4、AAV CBr-E1、AAV CBr-E2、AAV CBr-E3、AAV CBr-E4、AAV CBr-E5、AAV CBr-e5、AAV CBr-E6、AAV CBr-E7、AAV CBr-E8、AAV CHt-1、AAV CHt-2、AAV CHt-3、AAV CHt-6. 1、AAV CHt-6. 10、AAV CHt-6. 5、AAV CHt-6. 6、AAV CHt-6. 7、AAV CHt-6. 8、AAV CHt-P1、AAV CHt-P2、AAV CHt-P5、AAV CHt-P6、AAV CHt-P8、AAV CHt-P9、AAV CKd-1、AAV CKd-10、AAV CKd-2、AAV CKd-3、AAV CKd-4、AAV CKd-6、AAV CKd-7、AAV CKd-8、AAV CKd-B1、AAV CKd-B2、AAV CKd-B3、AAV CKd-B4、AAV CKd-B5、AAV CKd-B6、AAV CKd-B7、AAV CKd-B8、AAV CKd-H1、AAV CKd-H2、AAV CKd-H3、AAV CKd-H4、AAV CKd-H5、AAV CKd-H6、AAV CKd-N3、AAV CKd-N4、AAV CKd-N9、AAV CLg-F1、AAV CLg-F2、AAV CLg-F3、AAV CLg-F4、AAV

CLg-F5、AAV CLg-F6、AAV CLg-F7、AAV CLg-F8、AAV CLv-1、AAV CLv1-1、AAV CLv1-10、AAV CLv1-2、AAV CLv-12、AAV CLv1-3、AAV CLv-13、AAV CLv1-4、AAV CLv1-7、AAV CLv1-8、AAV CLv1-9、AAV CLv-2、AAV CLv-3、AAV CLv-4、AAV CLv-6、AAV CLv-8、AAV CLv-D1、AAV CLv-D2、AAV CLv-D3、AAV CLv-D4、AAV CLv-D5、AAV CLv-D6、AAV CLv-D7、AAV CLv-D8、AAV CLv-E1、AAV CLv-K1、AAV CLv-K3、AAV CLv-K6、AAV CLv-L4、AAV CLv-L5、AAV CLv-L6、AAV CLv-M1、AAV CLv-M11、AAV CLv-M2、AAV CLv-M5、AAV CLv-M6、AAV CLv-M7、AAV CLv-M8、AAV CLv-M9、AAV CLv-R1、AAV CLv-R2、AAV CLv-R3、AAV CLv-R4、AAV CLv-R5、AAV CLv-R6、AAV CLv-R7、AAV CLv-R8、AAV CLv-R9、AAV CSp-1、AAV CSp-10、AAV CSp-11、AAV CSp-2、AAV CSp-3、AAV CSp-4、AAV CSp-6、AAV CSp-7、AAV CSp-8、AAV CSp-8.10、AAV CSp-8.2、AAV CSp-8.4、AAV CSp-8.5、AAV CSp-8.6、AAV CSp-8.7、AAV CSp-8.8、AAV CSp-8.9、AAV CSp-9、AAV hu.48R3、AAV VR-355、AAV3B、AAV4、AAV5、AAVF1/HSC1、AAVF11/HSC11、AAVF12/HSC12、AAVF13/HSC13、AAVF14/HSC14、AAVF15/HSC15、A

VF16/HSC16、AAVF17/HSC17、AAVF2/HSC2、AAVF3/HSC3、AAVF4/HSC4、AAVF5/HSC5、AAVF6/HSC6、AAVF7/HSC7、AAVF8/HSC8、AAVF9/HSC9、AAV-PHP.B(PHP.B)、AAV-PHP.A(PHP.A)、G2B-26、G2B-13、TH1.1-32、TH1.1-35、AAVPHP.B2、AAVPHP.B3、AAVPHP.N/PHP.B-DGT、AAVPHP.B-EST、AAVPHP.B-GGT、AAVPHP.B-ATP、AAVPHP.B-ATT-T、AAVPHP.B-DGT-T、AAVPHP.B-GGT-T、AAVPHP.B-SGS、AAVPHP.B-AQP、AAVPHP.B-QQP、AAVPHP.B-SNP(3)、AAVPHP.B-SNP、AAVPHP.B-QGT、AAVPHP.B-NQT、AAVPHP.B-EGS、AAVPHP.B-SGN、AAVPHP.B-EGT、AAVPHP.B-DST、AAVPHP.B-DST、AAVPHP.B-STP、AAVPHP.B-PQP、AAVPHP.B-SQP、AAVPHP.B-QLP、AAVPHP.B-TMP、AAVPHP.B-TTP、AAVPHP.S/G2A12、AAVG2A15/G2A3、AAVG2B4、AAVG2B5およびこれらのバリエーションから選択される血清型を利用してもよく、またはそれをベースとしてもよい。

【0100】

一部の実施形態において、AAV血清型は、限定はされないが、AAV1（米国特許出願公開第20030138772号明細書の配列番号6および64）、AAV2（米国特許出願公開第20030138772号明細書の配列番号7および70）、AAV3（米国特許出願公開第20030138772号明細書の配列番号8および71）、AAV4（米国特許出願公開第20030138772号明細書の配列番号63）、AAV5（米国特許出願公開第20030138772号明細書の配列番号114）、AAV6（米国特許出願公開第20030138772号明細書の配列番号65）、AAV7（米国特許出願公開第20030138772号明細書の配列番号1～3）、AAV8（米国特許出願公開第20030138772号明細書の配列番号4および95）、AAV9（米国特

許出願公開第20030138772号明細書の配列番号5および100)、AAV10
(米国特許出願公開第20030138772号明細書の配列番号117)、AAV11
(米国特許出願公開第20030138772号明細書の配列番号118)、AAV12
(米国特許出願公開第20030138772号明細書の配列番号119)、AAVrh
10(米国特許出願公開第20030138772号明細書の配列番号81のアミノ酸1
~738)、AAV16.3(米国特許出願公開第20030138772号明細書配列
番号10)、AAV29.3/bb.1(米国特許出願公開第20030138772号
明細書配列番号11)、AAV29.4(米国特許出願公開第20030138772号
明細書配列番号12)、AAV29.5/bb.2(米国特許出願公開第2003013
8772号明細書配列番号13)、AAV1.3(米国特許出願公開第20030138
772号明細書配列番号14)、AAV13.3(米国特許出願公開第20030138
772号明細書配列番号15)、AAV24.1(米国特許出願公開第20030138
772号明細書配列番号16)、AAV27.3(米国特許出願公開第20030138
772号明細書配列番号17)、AAV7.2(米国特許出願公開第200301387
72号明細書配列番号18)、AAVC1(米国特許出願公開第20030138772
号明細書配列番号19)、AAVC3(米国特許出願公開第20030138772号明
細書配列番号20)、AAVC5(米国特許出願公開第20030138772号明細書
配列番号21)、AAVF1(米国特許出願公開第20030138772号明細書配列
番号22)、AAVF3(米国特許出願公開第20030138772号明細書配列番号
23)、AAVF5(米国特許出願公開第20030138772号明細書配列番号24
20)、AAVH6(米国特許出願公開第20030138772号明細書配列番号25)、
AAVH2(米国特許出願公開第20030138772号明細書配列番号26)、AA
V42-8(米国特許出願公開第20030138772号明細書配列番号27)、AA
V42-15(米国特許出願公開第20030138772号明細書配列番号28)、A
AV42-5b(米国特許出願公開第20030138772号明細書配列番号29)、
AAV42-1b(米国特許出願公開第20030138772号明細書配列番号30)
、AAV42-13(米国特許出願公開第20030138772号明細書配列番号31
)、AAV42-3a(米国特許出願公開第20030138772号明細書配列番号3
2)、AAV42-4(米国特許出願公開第20030138772号明細書配列番号3
3)、AAV42-5a(米国特許出願公開第20030138772号明細書配列番号
34)、AAV42-10(米国特許出願公開第20030138772号明細書配列番
号35)、AAV42-3b(米国特許出願公開第20030138772号明細書配列
番号36)、AAV42-11(米国特許出願公開第20030138772号明細書配
列番号37)、AAV42-6b(米国特許出願公開第20030138772号明細書
配列番号38)、AAV43-1(米国特許出願公開第20030138772号明細書
配列番号39)、AAV43-5(米国特許出願公開第20030138772号明細書
配列番号40)、AAV43-12(米国特許出願公開第20030138772号明細
書配列番号41)、AAV43-20(米国特許出願公開第20030138772号明
細書配列番号42)、AAV43-21(米国特許出願公開第20030138772号
明細書配列番号43)、AAV43-23(米国特許出願公開第20030138772
40号明細書配列番号44)、AAV43-25(米国特許出願公開第2003013877
2号明細書配列番号45)、AAV44.1(米国特許出願公開第2003013877
2号明細書配列番号46)、AAV44.5(米国特許出願公開第2003013877
2号明細書配列番号47)、AAV223.1(米国特許出願公開第200301387
72号明細書配列番号48)、AAV223.2(米国特許出願公開第20030138
772号明細書配列番号49)、AAV223.4(米国特許出願公開第2003013
8772号明細書配列番号50)、AAV223.5(米国特許出願公開第200301
38772号明細書配列番号51)、AAV223.6(米国特許出願公開第20030
138772号明細書配列番号52)、AAV223.7(米国特許出願公開第2003
0138772号明細書配列番号53)、AAVA3.4(米国特許出願公開第2003
50

0138772号明細書配列番号54)、AAVA3.5(米国特許出願公開第20030138772号明細書配列番号55)、AAVA3.7(米国特許出願公開第20030138772号明細書配列番号56)、AAVA3.3(米国特許出願公開第20030138772号明細書配列番号57)、AAV42.12(米国特許出願公開第20030138772号明細書配列番号58)、AAV44.2(米国特許出願公開第20030138772号明細書配列番号59)、AAV42-2(米国特許出願公開第20030138772号明細書配列番号9)、またはこれらのバリエーションなど、米国特許出願公開第20030138772号明細書(この内容は本明細書において全体として参照により援用される)に記載されたとおりの配列であってもよく、またはそれを有してもよい。

10

【0101】

一部の実施形態において、AAV血清型は、限定はされないが、AAV2(米国特許出願公開第20150159173号明細書の配列番号7および23)、rh20(米国特許出願公開第20150159173号明細書の配列番号1)、rh32/33(米国特許出願公開第20150159173号明細書の配列番号2)、rh39(米国特許出願公開第20150159173号明細書の配列番号3、20および36)、rh46(米国特許出願公開第20150159173号明細書の配列番号4および22)、rh73(米国特許出願公開第20150159173号明細書の配列番号5)、rh74(米国特許出願公開第20150159173号明細書の配列番号6)、AAV6.1(米国特許出願公開第20150159173号明細書の配列番号29)、rh.8(米国特許出願公開第20150159173号明細書の配列番号41)、rh.48.1(米国特許出願公開第20150159173号明細書の配列番号44)、hu.44(米国特許出願公開第20150159173号明細書の配列番号45)、hu.29(米国特許出願公開第20150159173号明細書の配列番号42)、hu.48(米国特許出願公開第20150159173号明細書の配列番号38)、rh54(米国特許出願公開第20150159173号明細書の配列番号49)、AAV2(米国特許出願公開第20150159173号明細書の配列番号7)、cy.5(米国特許出願公開第20150159173号明細書の配列番号8および24)、rh.10(米国特許出願公開第20150159173号明細書の配列番号9および25)、rh.13(米国特許出願公開第20150159173号明細書の配列番号10および26)、AAV1(米国特許出願公開第20150159173号明細書の配列番号11および27)、AAV3(米国特許出願公開第20150159173号明細書の配列番号12および28)、AAV6(米国特許出願公開第20150159173号明細書の配列番号13および29)、AAV7(米国特許出願公開第20150159173号明細書の配列番号14および30)、AAV8(米国特許出願公開第20150159173号明細書の配列番号15および31)、hu.13(米国特許出願公開第20150159173号明細書の配列番号16および32)、hu.26(米国特許出願公開第20150159173号明細書の配列番号17および33)、hu.37(米国特許出願公開第20150159173号明細書の配列番号18および34)、hu.53(米国特許出願公開第20150159173号明細書の配列番号19および35)、rh.43(米国特許出願公開第20150159173号明細書の配列番号21および37)、rh2(米国特許出願公開第20150159173号明細書の配列番号39)、rh.37(米国特許出願公開第20150159173号明細書の配列番号40)、rh.64(米国特許出願公開第20150159173号明細書の配列番号43)、rh.48(米国特許出願公開第20150159173号明細書の配列番号44)、ch.5(米国特許出願公開第20150159173号明細書の配列番号46)、rh.67(米国特許出願公開第20150159173号明細書の配列番号47)、rh.58(米国特許出願公開第20150159173号明細書の配列番号48)、またはこれらのバリエーションなど、限定はされないが、Cy5R1、Cy5R2、Cy5R3、Cy5R4、rh.13R、rh.37R2、rh.2R、rh.8R、rh.48.1、rh.48.2、rh.48.1.2、hu.4

20

30

40

50

4 R 1、h u. 4 4 R 2、h u. 4 4 R 3、h u. 2 9 R、c h. 5 R 1、r h 6 4 R 1、r h 6 4 R 2、A A V 6. 2、A A V 6. 1、A A V 6. 1 2、h u. 4 8 R 1、h u. 4 8 R 2、および h u. 4 8 R 3を含め、米国特許出願公開第 2 0 1 5 0 1 5 9 1 7 3 号明細書（この内容は本明細書において全体として参照により援用される）に記載されたとおりの配列であってもよく、またはそれを有してもよい。

【0102】

一部の実施形態において、A A V 血清型は、限定はされないが、A A V 9（米国特許第 7 1 9 8 9 5 1 号明細書の配列番号 1～3）、A A V 2（米国特許第 7 1 9 8 9 5 1 号明細書の配列番号 4）、A A V 1（米国特許第 7 1 9 8 9 5 1 号明細書の配列番号 5）、A A V 3（米国特許第 7 1 9 8 9 5 1 号明細書の配列番号 6）、および A A V 8（米国特許第 7 1 9 8 9 5 1 号明細書の配列番号 7）など、米国特許第 7 1 9 8 9 5 1 号明細書（この内容は本明細書において全体として参照により援用される）に記載されたとおりの配列であってもよく、またはそれを有してもよい。

10

【0103】

一部の実施形態において、A A V 血清型は、限定はされないが、A A V 9. 9、A A V 9. 1 1、A A V 9. 1 3、A A V 9. 1 6、A A V 9. 2 4、A A V 9. 4 5、A A V 9. 4 7、A A V 9. 6 1、A A V 9. 6 8、A A V 9. 8 4 など、N・プリチャーラ（N P u l l i c h e r l a）ら（モレキュラー・セラピー（M o l e c u l a r T h e r a p y）、第 1 9 巻、第 6 号、p. 1 0 7 0～1 0 7 8、2 0 1 1 年、本明細書において全体として参照により援用される）により記載されたとおりの A A V 9 配列における突然変異であってもよく、またはそれを有してもよい。

20

【0104】

一部の実施形態において、A A V 血清型は、限定はされないが、A A V 3 B（米国特許第 6 1 5 6 3 0 3 号明細書の配列番号 1 および 1 0）、A A V 6（米国特許第 6 1 5 6 3 0 3 号明細書の配列番号 2、7 および 1 1）、A A V 2（米国特許第 6 1 5 6 3 0 3 号明細書の配列番号 3 および 8）、A A V 3 A（米国特許第 6 1 5 6 3 0 3 号明細書の配列番号 4 および 9）、またはこれらの誘導体など、米国特許第 6 1 5 6 3 0 3 号明細書（この内容は本明細書において全体として参照により援用される）に記載されたとおりの配列であってもよく、またはそれを有してもよい。

【0105】

一部の実施形態において、A A V 血清型は、限定はされないが、A A V 8（米国特許出願公開第 2 0 1 4 0 3 5 9 7 9 9 号明細書の配列番号 1）、A A V D J（米国特許出願公開第 2 0 1 4 0 3 5 9 7 9 9 号明細書の配列番号 2 および 3）、またはこれらのバリエーションなど、米国特許出願公開第 2 0 1 4 0 3 5 9 7 9 9 号明細書（この内容は本明細書において全体として参照により援用される）に記載されたとおりの配列であってもよく、またはそれを有してもよい。

30

【0106】

一部の実施形態において、血清型は、グリム（G r i m m）ら（ジャーナル・オブ・バイロロジー（J o u r n a l o f V i r o l o g y）、第 8 2 巻、第 1 2 号、p. 5 8 8 7～5 9 1 1、2 0 0 8 年、本明細書において全体として参照により援用される）により記載されたとおり、A A V D J（A A V－D J）またはそのバリエーション、例えば A A V D J 8（または A A V－D J 8）などであってもよい。A A V D J 8 のアミノ酸配列は、ヘパリン結合ドメイン（H B D）を除去するため 2 つ以上の突然変異を含み得る。非限定的な例として、米国特許第 7, 5 8 8, 7 7 2 号明細書（この内容は本明細書において全体として参照により援用される）に配列番号 1 として記載される A A V－D J 配列は、2 つの突然変異：（1）R 5 8 7 Q [アミノ酸 5 8 7 のアルギニン（R；A r g）がグルタミン（Q；G l n）に変更される] および（2）R 5 9 0 T [アミノ酸 5 9 0 のアルギニン（R；A r g）がスレオニン（T；T h r）に変更される] を含み得る。別の非限定的な例として、3 つの突然変異：（1）K 4 0 6 R [アミノ酸 4 0 6 のリジン（K；L y s）がアルギニン（R；A r g）に変更される]、（2）R 5 8 7 Q [アミノ酸 5 8 7 の

40

50

アルギニン（R；A r g）がグルタミン（Q；G l n）に変更される］および（３）R 5 9 0 T［アミノ酸 5 9 0 のアルギニン（R；A r g）がスレオニン（T；T h r）に変更される］を含み得る。

【0107】

一部の実施形態において、A A V 血清型は、限定はされないが、A A V 4（国際公開第 1 9 9 8 0 1 1 2 4 4 号パンフレットの配列番号 1～20）など、国際公開第 1 9 9 8 0 1 1 2 4 4 号パンフレット（この内容は本明細書において全体として参照により援用される）に記載されるとおりの A A V 4 の配列であってもよく、またはそれを有してもよい。

【0108】

一部の実施形態において、A A V 血清型は、国際公開第 2 0 1 4 1 4 4 2 2 9 号パンフレットに記載されおよび本明細書において全体として参照により援用されるとおりの A A V 2 G 9 を生じさせる A A V 2 配列における突然変異であってもよく、またはそれを有してもよい。

【0109】

一部の実施形態において、A A V 血清型は、限定はされないが、A A V 3－3（国際公開第 2 0 0 5 0 3 3 3 2 1 号パンフレットの配列番号 2 1 7）、A A V 1（国際公開第 2 0 0 5 0 3 3 3 2 1 号パンフレットの配列番号 2 1 9 および 2 0 2）、A A V 1 0 6．1／h u．3 7（国際公開第 2 0 0 5 0 3 3 3 2 1 号パンフレットの配列番号 1 0）、A A V 1 1 4．3／h u．4 0（国際公開第 2 0 0 5 0 3 3 3 2 1 号パンフレットの配列番号 1 1）、A A V 1 2 7．2／h u．4 1（国際公開第 2 0 0 5 0 3 3 3 2 1 号パンフレットの配列番号 6 および 8）、A A V 1 2 8．3／h u．4 4（国際公開第 2 0 0 5 0 3 3 3 2 1 号パンフレットの配列番号 8 1）、A A V 1 3 0．4／h u．4 8（国際公開第 2 0 0 5 0 3 3 3 2 1 号パンフレットの配列番号 7 8）、A A V 1 4 5．1／h u．5 3（国際公開第 2 0 0 5 0 3 3 3 2 1 号パンフレットの配列番号 1 7 6 および 1 7 7）、A A V 1 4 5．6／h u．5 6（国際公開第 2 0 0 5 0 3 3 3 2 1 号パンフレットの配列番号 1 6 8 および 1 9 2）、A A V 1 6．1 2／h u．1 1（国際公開第 2 0 0 5 0 3 3 3 2 1 号パンフレットの配列番号 1 5 3 および 5 7）、A A V 1 6．8／h u．1 0（国際公開第 2 0 0 5 0 3 3 3 2 1 号パンフレットの配列番号 1 5 6 および 5 6）、A A V 1 6 1．1 0／h u．6 0（国際公開第 2 0 0 5 0 3 3 3 2 1 号パンフレットの配列番号 1 7 0）、A A V 1 6 1．6／h u．6 1（国際公開第 2 0 0 5 0 3 3 3 2 1 号パンフレットの配列番号 1 7 4）、A A V 1－7／r h．4 8（国際公開第 2 0 0 5 0 3 3 3 2 1 号パンフレットの配列番号 3 2）、A A V 1－8／r h．4 9（国際公開第 2 0 0 5 0 3 3 3 2 1 号パンフレットの配列番号 1 0 3 および 2 5）、A A V 2（国際公開第 2 0 0 5 0 3 3 3 2 1 号パンフレットの配列番号 2 1 1 および 2 2 1）、A A V 2－1 5／r h．6 2（国際公開第 2 0 0 5 0 3 3 3 2 1 号パンフレットの配列番号 3 3 および 1 1 4）、A A V 2－3／r h．6 1（国際公開第 2 0 0 5 0 3 3 3 2 1 号パンフレットの配列番号 2 1）、A A V 2－4／r h．5 0（国際公開第 2 0 0 5 0 3 3 3 2 1 号パンフレットの配列番号 2 3 および 1 0 8）、A A V 2－5／r h．5 1（国際公開第 2 0 0 5 0 3 3 3 2 1 号パンフレットの配列番号 1 0 4 および 2 2）、A A V 3．1／h u．6（国際公開第 2 0 0 5 0 3 3 3 2 1 号パンフレットの配列番号 5 および 8 4）、A A V 3．1／h u．9（国際公開第 2 0 0 5 0 3 3 3 2 1 号パンフレットの配列番号 1 5 5 および 5 8）、A A V 3－1 1／r h．5 3（国際公開第 2 0 0 5 0 3 3 3 2 1 号パンフレットの配列番号 1 8 6 および 1 7 6）、A A V 3－3（国際公開第 2 0 0 5 0 3 3 3 2 1 号パンフレットの配列番号 2 0 0）、A A V 3 3．1 2／h u．1 7（国際公開第 2 0 0 5 0 3 3 3 2 1 号パンフレットの配列番号 4）、A A V 3 3．4／h u．1 5（国際公開第 2 0 0 5 0 3 3 3 2 1 号パンフレットの配列番号 5 0）、A A V 3 3．8／h u．1 6（国際公開第 2 0 0 5 0 3 3 3 2 1 号パンフレットの配列番号 5 1）、A A V 3－9／r h．5 2（国際公開第 2 0 0 5 0 3 3 3 2 1 号パンフレットの配列番号 9 6 および 1 8）、A A V 4－1 9／r h．5 5（国際公開第 2 0 0 5 0 3 3 3 2 1 号パンフレットの配列番号 1 1 7）、A A V 4－4（国際公開第 2 0 0 5 0 3 3 3 2 1 号パンフレットの配列番号 2 0 1 および 2 1

10

20

30

40

50

8)、AAV4-9/rh.54(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号116)、AAV5(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号199および216)、AAV52.1/hu.20(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号63)、AAV52/hu.19(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号133)、AAV5-22/rh.58(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号27)、AAV5-3/rh.57(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号105)、AAV5-3/rh.57(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号26)、AAV58.2/hu.25(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号49)、AAV6(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号203および220)10
)、AAV7(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号222および213)、AAV7.3/hu.7(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号55)、AAV8(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号223および214)、AAVH-1/hu.1(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号46)、AAVH-5/hu.3(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号44)、AAVhu.1(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号144)、AAVhu.10(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号156)、AAVhu.11(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号153)、AAVhu.12(国際公開第2005033321号パンフレット配列番号59)、AAVhu.13(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号129)、AAVhu.14/AAV9(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号123および3)、AAVhu.15(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号147)、AAVhu.16(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号148)、AAVhu.17(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号83)、AAVhu.18(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号149)、AAVhu.19(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号133)、AAVhu.2(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号143)、AAVhu.20(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号134)、AAVhu.21(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号135)、AAVhu.22(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号138)、AAVhu.23.2(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号137)、AAVhu.24(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号136)、AAVhu.25(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号146)、AAVhu.27(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号140)、AAVhu.29(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号132)、AAVhu.3(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号145)、AAVhu.31(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号121)、AAVhu.32(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号122)、AAVhu.34(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号125)、AAVhu.35(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号164)、AAVhu.37(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号88)、AAVhu.39(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号102)、AAVhu.4(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号141)、AAVhu.40(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号87)、AAVhu.41(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号91)、AAVhu.42(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号85)、AAVhu.43(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号160)、AAVhu.44(国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号144)、AAVhu.45(国際公開第2005033321号パンフレッ20
30
40
50

トの配列番号127)、AAVhu. 46 (国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号159)、AAVhu. 47 (国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号128)、AAVhu. 48 (国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号157)、AAVhu. 49 (国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号189)、AAVhu. 51 (国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号190)、AAVhu. 52 (国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号191)、AAVhu. 53 (国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号186)、AAVhu. 54 (国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号188)、AAVhu. 55 (国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号187)、AAVhu. 56 (国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号192)、AAVhu. 57 (国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号193)、AAVhu. 58 (国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号194)、AAVhu. 6 (国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号84)、AAVhu. 60 (国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号184)、AAVhu. 61 (国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号185)、AAVhu. 63 (国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号195)、AAVhu. 64 (国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号196)、AAVhu. 66 (国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号197)、AAVhu. 67 (国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号198)、AAVhu. 7 (国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号150)、AAVhu. 8 (国際公開第2005033321号パンフレット配列番号12)、AAVhu. 9 (国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号155)、AAVLG-10/rh. 40 (国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号14)、AAVLG-4/rh. 38 (国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号86)、AAVLG-4/rh. 38 (国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号7)、AAVN721-8/rh. 43 (国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号163)、AAVN721-8/rh. 43 (国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号43)、AAVpi. 1 (国際公開第2005033321号パンフレット配列番号28)、AAVpi. 2 (国際公開第2005033321号パンフレット配列番号30)、AAVpi. 3 (国際公開第2005033321号パンフレット配列番号29)、AAVrh. 38 (国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号86)、AAVrh. 40 (国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号92)、AAVrh. 43 (国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号163)、AAVrh. 44 (国際公開第2005033321号パンフレット配列番号34)、AAVrh. 45 (国際公開第2005033321号パンフレット配列番号41)、AAVrh. 47 (国際公開第2005033321号パンフレット配列番号38)、AAVrh. 48 (国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号115)、AAVrh. 49 (国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号103)、AAVrh. 50 (国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号108)、AAVrh. 51 (国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号104)、AAVrh. 52 (国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号96)、AAVrh. 53 (国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号97)、AAVrh. 55 (国際公開第2005033321号パンフレット配列番号37)、AAVrh. 56 (国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号152)、AAVrh. 57 (国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号105)、AAVrh. 58 (国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号106)、AAVrh. 59 (国際公開第2005033321号パン

フレット配列番号42)、AAVrh. 60 (国際公開第2005033321号パンフレット配列番号31)、AAVrh. 61 (国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号107)、AAVrh. 62 (国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号114)、AAVrh. 64 (国際公開第2005033321号パンフレットの配列番号99)、AAVrh. 65 (国際公開第2005033321号パンフレット配列番号35)、AAVrh. 68 (国際公開第2005033321号パンフレット配列番号16)、AAVrh. 69 (国際公開第2005033321号パンフレット配列番号39)、AAVrh. 70 (国際公開第2005033321号パンフレット配列番号20)、AAVrh. 72 (国際公開第2005033321号パンフレット配列番号9)、またはこれらのバリエーションなど、限定はされないが、AAVcy. 2、AAVcy. 3、AAVcy. 4、AAVcy. 5、AAVcy. 6、AAVrh. 12、AAVrh. 17、AAVrh. 18、AAVrh. 19、AAVrh. 21、AAVrh. 22、AAVrh. 23、AAVrh. 24、AAVrh. 25、AAVrh. 25/42 15、AAVrh. 31、AAVrh. 32、AAVrh. 33、AAVrh. 34、AAVrh. 35、AAVrh. 36、AAVrh. 37、AAVrh. 14を含め、国際公開第2005033321号パンフレット (この内容は本明細書において全体として参照により援用される) に記載されたとおりの配列であってもよく、またはそれを有してもよい。バリエーションの非限定的な例としては、国際公開第2005033321号パンフレット (この内容は本明細書において全体として参照により援用される) の配列番号13、15、17、19、24、36、40、45、47、48、51~54、60~62、64~77、79、80、82、89、90、93~95、98、100、101、109~113、118~120、124、126、131、139、142、151、154、158、161、162、165~183、202、204~212、215、219、224~236が挙げられる。

【0110】

一部の実施形態において、AAV血清型は、限定はされないが、AAVrh8R (国際公開第2015168666号パンフレットの配列番号9)、AAVrh8R A586R突然変異体 (国際公開第2015168666号パンフレットの配列番号10)、AAVrh8R R533A突然変異体 (国際公開第2015168666号パンフレットの配列番号11)、またはこれらのバリエーションなど、国際公開第2015168666号パンフレット (この内容は本明細書において全体として参照により援用される) に記載されたとおりの配列であってもよく、またはそれを有してもよい。

【0111】

一部の実施形態において、AAV血清型は、限定はされないが、AAVhE1. 1 (米国特許第9233131号明細書の配列番号44)、AAVhEr1. 5 (米国特許第9233131号明細書の配列番号45)、AAVhEr1. 14 (米国特許第9233131号明細書の配列番号46)、AAVhEr1. 8 (米国特許第9233131号明細書の配列番号47)、AAVhEr1. 16 (米国特許第9233131号明細書の配列番号48)、AAVhEr1. 18 (米国特許第9233131号明細書の配列番号49)、AAVhEr1. 35 (米国特許第9233131号明細書の配列番号50)、AAVhEr1. 7 (米国特許第9233131号明細書の配列番号51)、AAVhEr1. 36 (米国特許第9233131号明細書の配列番号52)、AAVhEr2. 29 (米国特許第9233131号明細書の配列番号53)、AAVhEr2. 4 (米国特許第9233131号明細書の配列番号54)、AAVhEr2. 16 (米国特許第9233131号明細書の配列番号55)、AAVhEr2. 30 (米国特許第9233131号明細書の配列番号56)、AAVhEr2. 31 (米国特許第9233131号明細書の配列番号58)、AAVhEr2. 36 (米国特許第9233131号明細書の配列番号57)、AAVhEr1. 23 (米国特許第9233131号明細書の配列番号53)、AAVhEr3. 1 (米国特許第9233131号明細書の配列番号59)、AAV2. 5T (米国特許第9233131号明細書の配列番号42)、またはこれらのバリエーション

など、米国特許第 9 2 3 3 1 3 1 号明細書（この内容は本明細書において全体として参照により援用される）に記載されるとおりの配列であってもよく、またはそれを有してもよい。

【0112】

一部の実施形態において、AAV 血清型は、限定はされないが、AAV-P A E C（米国特許出願公開第 2 0 1 5 0 3 7 6 6 0 7 号明細書の配列番号 1）、AAV-L K 0 1（米国特許出願公開第 2 0 1 5 0 3 7 6 6 0 7 号明細書の配列番号 2）、AAV-L K 0 2（米国特許出願公開第 2 0 1 5 0 3 7 6 6 0 7 号明細書の配列番号 3）、AAV-L K 0 3（米国特許出願公開第 2 0 1 5 0 3 7 6 6 0 7 号明細書の配列番号 4）、AAV-L K 0 4（米国特許出願公開第 2 0 1 5 0 3 7 6 6 0 7 号明細書の配列番号 5）、AAV-L K 0 5（米国特許出願公開第 2 0 1 5 0 3 7 6 6 0 7 号明細書の配列番号 6）、AAV-L K 0 6（米国特許出願公開第 2 0 1 5 0 3 7 6 6 0 7 号明細書の配列番号 7）、AAV-L K 0 7（米国特許出願公開第 2 0 1 5 0 3 7 6 6 0 7 号明細書の配列番号 8）、AAV-L K 0 8（米国特許出願公開第 2 0 1 5 0 3 7 6 6 0 7 号明細書の配列番号 9）、AAV-L K 0 9（米国特許出願公開第 2 0 1 5 0 3 7 6 6 0 7 号明細書の配列番号 10）、AAV-L K 1 0（米国特許出願公開第 2 0 1 5 0 3 7 6 6 0 7 号明細書の配列番号 11）、AAV-L K 1 1（米国特許出願公開第 2 0 1 5 0 3 7 6 6 0 7 号明細書の配列番号 12）、AAV-L K 1 2（米国特許出願公開第 2 0 1 5 0 3 7 6 6 0 7 号明細書の配列番号 13）、AAV-L K 1 3（米国特許出願公開第 2 0 1 5 0 3 7 6 6 0 7 号明細書の配列番号 14）、AAV-L K 1 4（米国特許出願公開第 2 0 1 5 0 3 7 6 6 0 7 号明細書の配列番号 15）、AAV-L K 1 5（米国特許出願公開第 2 0 1 5 0 3 7 6 6 0 7 号明細書の配列番号 16）、AAV-L K 1 6（米国特許出願公開第 2 0 1 5 0 3 7 6 6 0 7 号明細書の配列番号 17）、AAV-L K 1 7（米国特許出願公開第 2 0 1 5 0 3 7 6 6 0 7 号明細書の配列番号 18）、AAV-L K 1 8（米国特許出願公開第 2 0 1 5 0 3 7 6 6 0 7 号明細書の配列番号 19）、AAV-L K 1 9（米国特許出願公開第 2 0 1 5 0 3 7 6 6 0 7 号明細書の配列番号 20）、AAV-P A E C 2（米国特許出願公開第 2 0 1 5 0 3 7 6 6 0 7 号明細書の配列番号 21）、AAV-P A E C 4（米国特許出願公開第 2 0 1 5 0 3 7 6 6 0 7 号明細書の配列番号 22）、AAV-P A E C 6（米国特許出願公開第 2 0 1 5 0 3 7 6 6 0 7 号明細書の配列番号 23）、AAV-P A E C 7（米国特許出願公開第 2 0 1 5 0 3 7 6 6 0 7 号明細書の配列番号 24）、AAV-P A E C 8（米国特許出願公開第 2 0 1 5 0 3 7 6 6 0 7 号明細書の配列番号 25）、AAV-P A E C 1 1（米国特許出願公開第 2 0 1 5 0 3 7 6 6 0 7 号明細書の配列番号 26）、AAV-P A E C 1 2（米国特許出願公開第 2 0 1 5 0 3 7 6 6 0 7 号明細書の配列番号 27）、またはこれらのバリエーションなど、米国特許出願公開第 2 0 1 5 0 3 7 6 6 0 7 号明細書（この内容は本明細書において全体として参照により援用される）に記載されるとおりの配列であってもよく、またはそれを有してもよい。

【0113】

一部の実施形態において、AAV 血清型は、限定はされないが、AAV-2-pre-m i R N A-1 0 1（配列番号 1 米国特許第 9 1 6 3 2 6 1 号明細書）、またはそのバリエーションなど、米国特許第 9 1 6 3 2 6 1 号明細書（この内容は本明細書において全体として参照により援用される）に記載されるとおりの配列であってもよく、またはそれを有してもよい。

【0114】

一部の実施形態において、AAV 血清型は、限定はされないが、AAV-8 h（米国特許出願公開第 2 0 1 5 0 3 7 6 2 4 0 号明細書の配列番号 6）、AAV-8 b（米国特許出願公開第 2 0 1 5 0 3 7 6 2 4 0 号明細書の配列番号 5）、AAV-h（米国特許出願公開第 2 0 1 5 0 3 7 6 2 4 0 号明細書の配列番号 2）、AAV-b（米国特許出願公開第 2 0 1 5 0 3 7 6 2 4 0 号明細書の配列番号 1）、またはこれらのバリエーションなど、米国特許出願公開第 2 0 1 5 0 3 7 6 2 4 0 号明細書（この内容は本明細書において全体として参照により援用される）に記載されるとおりの配列であってもよく、またはそれを有

してもよい。

【0115】

一部の実施形態において、AAV血清型は、限定はされないが、AAV SM 10-2 (米国特許出願公開第20160017295号明細書の配列番号22)、AAVシャッフル100-1 (米国特許出願公開第20160017295号明細書の配列番号23)、AAVシャッフル100-3 (米国特許出願公開第20160017295号明細書の配列番号24)、AAVシャッフル100-7 (米国特許出願公開第20160017295号明細書の配列番号25)、AAVシャッフル10-2 (米国特許出願公開第20160017295号明細書の配列番号34)、AAVシャッフル10-6 (米国特許出願公開第20160017295号明細書の配列番号35)、AAVシャッフル10-8 (米国特許出願公開第20160017295号明細書の配列番号36)、AAVシャッフル100-2 (米国特許出願公開第20160017295号明細書の配列番号37)、AAV SM 10-1 (米国特許出願公開第20160017295号明細書の配列番号38)、AAV SM 10-8 (米国特許出願公開第20160017295号明細書の配列番号39)、AAV SM 100-3 (米国特許出願公開第20160017295号明細書の配列番号40)、AAV SM 100-10 (米国特許出願公開第20160017295号明細書の配列番号41)、またはこれらのバリエーションなど、米国特許出願公開第20160017295号明細書(この内容は本明細書において全体として参照により援用される)に記載されるとおりの配列であってもよく、またはそれを有してもよい。

10

20

【0116】

一部の実施形態において、AAV血清型は、限定はされないが、BNP61 AAV (米国特許出願公開第20150238550号明細書の配列番号1)、BNP62 AAV (米国特許出願公開第20150238550号明細書の配列番号3)、BNP63 AAV (米国特許出願公開第20150238550号明細書の配列番号4)、またはこれらのバリエーションなど、米国特許出願公開第20150238550号明細書(この内容は本明細書において全体として参照により援用される)に記載されるとおりの配列であってもよく、またはそれを有してもよい。

【0117】

一部の実施形態において、AAV血清型は、限定はされないが、AAVrh. 50 (米国特許出願公開第20150315612号明細書の配列番号108)、AAVrh. 43 (米国特許出願公開第20150315612号明細書の配列番号163)、AAVrh. 62 (米国特許出願公開第20150315612号明細書の配列番号114)、AAVrh. 48 (米国特許出願公開第20150315612号明細書の配列番号115)、AAVhu. 19 (米国特許出願公開第20150315612号明細書の配列番号133)、AAVhu. 11 (米国特許出願公開第20150315612号明細書の配列番号153)、AAVhu. 53 (米国特許出願公開第20150315612号明細書の配列番号186)、AAV4-8/rh. 64 (米国特許出願公開第20150315612号明細書の配列番号15)、AAVLG-9/hu. 39 (米国特許出願公開第20150315612号明細書の配列番号24)、AAV54. 5/hu. 23 (米国特許出願公開第20150315612号明細書の配列番号60)、AAV54. 2/hu. 22 (米国特許出願公開第20150315612号明細書の配列番号67)、AAV54. 7/hu. 24 (米国特許出願公開第20150315612号明細書の配列番号66)、AAV54. 1/hu. 21 (米国特許出願公開第20150315612号明細書の配列番号65)、AAV54. 4R/hu. 27 (米国特許出願公開第20150315612号明細書の配列番号64)、AAV46. 2/hu. 28 (米国特許出願公開第20150315612号明細書の配列番号68)、AAV46. 6/hu. 29 (米国特許出願公開第20150315612号明細書の配列番号69)、AAV128. 1/hu. 43 (米国特許出願公開第20150315612号明細書の配列番号80)、またはこれらのバリエーションなど、米国特許出願公開第20150315612号明細

30

40

50

書（この内容は本明細書において全体として参照により援用される）に記載されるとおりの配列であってもよく、またはそれを有してもよい。

【0118】

一の実施形態において、AAV血清型は、限定はされないが、トゥルータイプAAV（ttAAV）（国際公開第2015121501号パンフレットの配列番号2）、「ユーペンAAV10」（国際公開第2015121501号パンフレットの配列番号8）、「ジャパニーズAAV10」（国際公開第2015121501号パンフレットの配列番号9）、またはこれらのバリエーションなど、国際公開第2015121501号パンフレット（この内容は本明細書において全体として参照により援用される）に記載されるとおりの配列であってもよく、またはそれを有してもよい。

10

【0119】

本発明によれば、AAVカプシド血清型の選択または使用は様々な種からであってもよい。一実施形態において、AAVは鳥類AAV（AAAV）であってもよい。AAAV血清型は、限定はされないが、AAAV（米国特許第9,238,800号明細書の配列番号1、2、4、6、8、10、12、および14）、またはそのバリエーションなど、米国特許第9,238,800号明細書（この内容は本明細書において全体として参照により援用される）に記載されるとおりの配列であってもよく、またはそれを有してもよい。

【0120】

一実施形態において、AAVはウシAAV（BAAV）であってもよい。BAAV血清型は、限定はされないが、BAAV（米国特許第9,193,769号明細書の配列番号1および6）、またはそのバリエーションなど、米国特許第9,193,769号明細書（この内容は本明細書において全体として参照により援用される）に記載されるとおりの配列であってもよく、またはそれを有してもよい。BAAV血清型は、限定はされないが、BAAV（米国特許第7,427,396号明細書の配列番号5および6）、またはそのバリエーションなど、米国特許第7,427,396号明細書（この内容は本明細書において全体として参照により援用される）に記載されるとおりの配列であってもよく、またはそれを有してもよい。

20

【0121】

一実施形態において、AAVはヤギAAVであってもよい。ヤギAAV血清型は、限定はされないが、ヤギAAV（米国特許第7,427,396号明細書の配列番号3）、またはそのバリエーションなど、米国特許第7,427,396号明細書（この内容は本明細書において全体として参照により援用される）に記載されるとおりの配列であってもよく、またはそれを有してもよい。

30

【0122】

他の実施形態において、AAVは2つ以上の親血清型からハイブリッドAAVとして操作されてもよい。一実施形態において、このAAVは、AAV2およびAAV9からの配列を含むAAV2G9であってもよい。AAV2G9 AAV血清型は、米国特許出願公開第20160017005号明細書（この内容は本明細書において全体として参照により援用される）に記載されるとおりの配列であってもよく、またはそれを有してもよい。

【0123】

一実施形態において、AAVは、プリチャーラ（Pulicherla）ら（モレキュラー・セラピー（Molecular Therapy）、第19巻、第6号、p. 1070～1078、2011年（この内容は本明細書において全体として参照により援用される）により記載されるとおりのアミノ酸390～627（VP1付番）に突然変異を有するAAV9カプシドライブラリによって生成された血清型であってもよい。血清型ならびに対応するヌクレオチドおよびアミノ酸置換は、限定はされないが、AAV9.1（G1594C；D532H）、AAV9.2（T1418AおよびT1436X；V473DおよびI479K）、AAV9.3（T1238A；F413Y）、AAV9.4（T1250CおよびA1617T；F417S）、AAV9.5（A1235G、A1314T、A1642G、C1760T；Q412R、T548A、A587V）、AAV9

40

50

. 6 (T 1 2 3 1 A ; F 4 1 1 I) 、 A A V 9 . 9 (G 1 2 0 3 A 、 G 1 7 8 5 T ; W 5 9 5 C) 、 A A V 9 . 1 0 (A 1 5 0 0 G 、 T 1 6 7 6 C ; M 5 5 9 T) 、 A A V 9 . 1 1 (A 1 4 2 5 T 、 A 1 7 0 2 C 、 A 1 7 6 9 T ; T 5 6 8 P 、 Q 5 9 0 L) 、 A A V 9 . 1 3 (A 1 3 6 9 C 、 A 1 7 2 0 T ; N 4 5 7 H 、 T 5 7 4 S) 、 A A V 9 . 1 4 (T 1 3 4 0 A 、 T 1 3 6 2 C 、 T 1 5 6 0 C 、 G 1 7 1 3 A ; L 4 4 7 H) 、 A A V 9 . 1 6 (A 1 7 7 5 T ; Q 5 9 2 L) 、 A A V 9 . 2 4 (T 1 5 0 7 C 、 T 1 5 2 1 G ; W 5 0 3 R) 、 A A V 9 . 2 6 (A 1 3 3 7 G 、 A 1 7 6 9 C ; Y 4 4 6 C 、 Q 5 9 0 P) 、 A A V 9 . 3 3 (A 1 6 6 7 C ; D 5 5 6 A) 、 A A V 9 . 3 4 (A 1 5 3 4 G 、 C 1 7 9 4 T ; N 5 1 2 D) 、 A A V 9 . 3 5 (A 1 2 8 9 T 、 T 1 4 5 0 A 、 C 1 4 9 4 T 、 A 1 5 1 5 T 、 C 1 7 9 4 A 、 G 1 8 1 6 A ; Q 4 3 0 L 、 Y 4 8 4 N 、 N 9 8 K 、 V 6 0 6 I) 、 A A V 9 . 4 0 (A 1 6 9 4 T 、 E 5 6 5 V) 、 A A V 9 . 4 1 (A 1 3 4 8 T 、 T 1 3 6 2 C ; T 4 5 0 S) 、 A A V 9 . 4 4 (A 1 6 8 4 C 、 A 1 7 0 1 T 、 A 1 7 3 7 G ; N 5 6 2 H 、 K 5 6 7 N) 、 A A V 9 . 4 5 (A 1 4 9 2 T 、 C 1 8 0 4 T ; N 4 9 8 Y 、 L 6 0 2 F) 、 A A V 9 . 4 6 (G 1 4 4 1 C 、 T 1 5 2 5 C 、 T 1 5 4 9 G ; G 4 8 1 R 、 W 5 0 9 R 、 L 5 1 7 V) 、 9 . 4 7 (G 1 2 4 1 A 、 G 1 3 5 8 A 、 A 1 6 6 9 G 、 C 1 7 4 5 T ; S 4 1 4 N 、 G 4 5 3 D 、 K 5 5 7 E 、 T 5 8 2 I) 、 A A V 9 . 4 8 (C 1 4 4 5 T 、 A 1 7 3 6 T ; P 4 8 2 L 、 Q 5 7 9 L) 、 A A V 9 . 5 0 (A 1 6 3 8 T 、 C 1 6 8 3 T 、 T 1 8 0 5 A ; Q 5 4 6 H 、 L 6 0 2 H) 、 A A V 9 . 5 3 (G 1 3 0 1 A 、 A 1 4 0 5 C 、 C 1 6 6 4 T 、 G 1 8 1 1 T ; R 1 3 4 Q 、 S 4 6 9 R 、 A 5 5 5 V 、 G 6 0 4 V) 、 A A V 9 . 5 4 (C 1 5 3 1 A 、 T 1 6 0 9 A ; L 5 1 1 I 、 L 5 3 7 M) 、 A A V 9 . 5 5 (T 1 6 0 5 A ; F 5 3 5 L) 、 A A V 9 . 5 8 (C 1 4 7 5 T 、 C 1 5 7 9 A ; T 4 9 2 I 、 H 5 2 7 N) 、 A A V . 5 9 (T 1 3 3 6 C ; Y 4 4 6 H) 、 A A V 9 . 6 1 (A 1 4 9 3 T ; N 4 9 8 I) 、 A A V 9 . 6 4 (C 1 5 3 1 A 、 A 1 6 1 7 T ; L 5 1 1 I) 、 A A V 9 . 6 5 (C 1 3 3 5 T 、 T 1 5 3 0 C 、 C 1 5 6 8 A ; A 5 2 3 D) 、 A A V 9 . 6 8 (C 1 5 1 0 A ; P 5 0 4 T) 、 A A V 9 . 8 0 (G 1 4 4 1 A 、 ; G 4 8 1 R) 、 A A V 9 . 8 3 (C 1 4 0 2 A 、 A 1 5 0 0 T ; P 4 6 8 T 、 E 5 0 0 D) 、 A A V 9 . 8 7 (T 1 4 6 4 C 、 T 1 4 6 8 C ; S 4 9 0 P) 、 A A V 9 . 9 0 (A 1 1 9 6 T ; Y 3 9 9 F) 、 A A V 9 . 9 1 (T 1 3 1 6 G 、 A 1 5 8 3 T 、 C 1 7 8 2 G 、 T 1 8 0 6 C ; L 4 3 9 R 、 K 5 2 8 I) 、 A A V 9 . 9 3 (A 1 2 7 3 G 、 A 1 4 2 1 G 、 A 1 6 3 8 C 、 C 1 7 1 2 T 、 G 1 7 3 2 A 、 A 1 7 4 4 T 、 A 1 8 3 2 T ; S 4 2 5 G 、 Q 4 7 4 R 、 Q 5 4 6 H 、 P 5 7 1 L 、 G 5 7 8 R 、 T 5 8 2 S 、 D 6 1 1 V) 、 A A V 9 . 9 4 (A 1 6 7 5 T ; M 5 5 9 L) および A A V 9 . 9 5 (T 1 6 0 5 A ; F 5 3 5 L) であってもよい。

【0124】

一部の実施形態において、A A V 血清型は、限定はされないが、A A V F 1 / H S C 1 (国際公開第 2 0 1 6 0 4 9 2 3 0 号パンフレットの配列番号 2 および 2 0) 、 A A V F 2 / H S C 2 (国際公開第 2 0 1 6 0 4 9 2 3 0 号パンフレットの配列番号 3 および 2 1) 、 A A V F 3 / H S C 3 (国際公開第 2 0 1 6 0 4 9 2 3 0 号パンフレットの配列番号 5 および 2 2) 、 A A V F 4 / H S C 4 (国際公開第 2 0 1 6 0 4 9 2 3 0 号パンフレットの配列番号 6 および 2 3) 、 A A V F 5 / H S C 5 (国際公開第 2 0 1 6 0 4 9 2 3 0 号パンフレットの配列番号 1 1 および 2 5) 、 A A V F 6 / H S C 6 (国際公開第 2 0 1 6 0 4 9 2 3 0 号パンフレットの配列番号 7 および 2 4) 、 A A V F 7 / H S C 7 (国際公開第 2 0 1 6 0 4 9 2 3 0 号パンフレットの配列番号 8 および 2 7) 、 A A V F 8 / H S C 8 (国際公開第 2 0 1 6 0 4 9 2 3 0 号パンフレットの配列番号 9 および 2 8) 、 A A V F 9 / H S C 9 (国際公開第 2 0 1 6 0 4 9 2 3 0 号パンフレットの配列番号 1 0 および 2 9) 、 A A V F 1 1 / H S C 1 1 (国際公開第 2 0 1 6 0 4 9 2 3 0 号パンフレットの配列番号 4 および 2 6) 、 A A V F 1 2 / H S C 1 2 (国際公開第 2 0 1 6 0 4 9 2 3 0 号パンフレットの配列番号 1 2 および 3 0) 、 A A V F 1 3 / H S C 1 3 (国際公開第 2 0 1 6 0 4 9 2 3 0 号パンフレットの配列番号 1 4 および 3 1) 、 A A V F 1 4 / H S C 1 4 (国際公開第 2 0 1 6 0 4 9 2 3 0 号パンフレットの配列番号 1 5 および 3 2)

、AAVF15/HSC15（国際公開第2016049230号パンフレットの配列番号16および33）、AAVF16/HSC16（国際公開第2016049230号パンフレットの配列番号17および34）、AAVF17/HSC17（国際公開第2016049230号パンフレットの配列番号13および35）、またはこれらのバリエーションもしくは誘導体など、国際公開第2016049230号パンフレット（この内容は本明細書において全体として参照により援用される）に記載されたとおりの配列であってもよく、またはそれを有してもよい。

【0125】

一部の実施形態において、AAV血清型は、限定はされないが、AAV CBr-E1（米国特許第8734809号明細書の配列番号13および87）、AAV CBr-E2（米国特許第8734809号明細書の配列番号14および88）、AAV CBr-E3（米国特許第8734809号明細書の配列番号15および89）、AAV CBr-E4（米国特許第8734809号明細書の配列番号16および90）、AAV CBr-E5（米国特許第8734809号明細書の配列番号17および91）、AAV CBr-e5（米国特許第8734809号明細書の配列番号18および92）、AAV CBr-E6（米国特許第8734809号明細書の配列番号19および93）、AAV CBr-E7（米国特許第8734809号明細書の配列番号20および94）、AAV CBr-E8（米国特許第8734809号明細書の配列番号21および95）、AAV CLv-D1（米国特許第8734809号明細書の配列番号22および96）、AAV CLv-D2（米国特許第8734809号明細書の配列番号23および97）、AAV CLv-D3（米国特許第8734809号明細書の配列番号24および98）、AAV CLv-D4（米国特許第8734809号明細書の配列番号25および99）、AAV CLv-D5（米国特許第8734809号明細書の配列番号26および100）、AAV CLv-D6（米国特許第8734809号明細書の配列番号27および101）、AAV CLv-D7（米国特許第8734809号明細書の配列番号28および102）、AAV CLv-D8（米国特許第8734809号明細書の配列番号29および103）、AAV CLv-E1（米国特許第8734809号明細書の配列番号13および87）、AAV CLv-R1（米国特許第8734809号明細書の配列番号30および104）、AAV CLv-R2（米国特許第8734809号明細書の配列番号31および105）、AAV CLv-R3（米国特許第8734809号明細書の配列番号32および106）、AAV CLv-R4（米国特許第8734809号明細書の配列番号33および107）、AAV CLv-R5（米国特許第8734809号明細書の配列番号34および108）、AAV CLv-R6（米国特許第8734809号明細書の配列番号35および109）、AAV CLv-R7（米国特許第8734809号明細書の配列番号36および110）、AAV CLv-R8（米国特許第8734809号明細書の配列番号37および111）、AAV CLv-R9（米国特許第8734809号明細書の配列番号38および112）、AAV CLg-F1（米国特許第8734809号明細書の配列番号39および113）、AAV CLg-F2（米国特許第8734809号明細書の配列番号40および114）、AAV CLg-F3（米国特許第8734809号明細書の配列番号41および115）、AAV CLg-F4（米国特許第8734809号明細書の配列番号42および116）、AAV CLg-F5（米国特許第8734809号明細書の配列番号43および117）、AAV CLg-F6（米国特許第8734809号明細書の配列番号43および117）、AAV CLg-F7（米国特許第8734809号明細書の配列番号44および118）、AAV CLg-F8（米国特許第8734809号明細書の配列番号43および117）、AAV CSp-1（米国特許第8734809号明細書の配列番号45および119）、AAV CSp-10（米国特許第8734809号明細書の配列番号46および120）、AAV CSp-11（米国特許第8734809号明細書の配列番号47および121）、AAV CSp-2（米国特許第8734809号明細書の配列番号48および122）、AAV CSp-3（米国特許第8734809号明細書の配

列番号49および123)、AAV CSp-4 (米国特許第8734809号明細書の
 配列番号50および124)、AAV CSp-6 (米国特許第8734809号明細書
 の配列番号51および125)、AAV CSp-7 (米国特許第8734809号明細
 書の配列番号52および126)、AAV CSp-8 (米国特許第8734809号明
 細書の配列番号53および127)、AAV CSp-9 (米国特許第8734809号
 明細書の配列番号54および128)、AAV CHt-2 (米国特許第8734809
 号明細書の配列番号55および129)、AAV CHt-3 (米国特許第873480
 9号明細書の配列番号56および130)、AAV CKd-1 (米国特許第87348
 09号明細書の配列番号57および131)、AAV CKd-10 (米国特許第873
 4809号明細書の配列番号58および132)、AAV CKd-2 (米国特許第87
 34809号明細書の配列番号59および133)、AAV CKd-3 (米国特許第8
 734809号明細書の配列番号60および134)、AAV CKd-4 (米国特許第
 8734809号明細書の配列番号61および135)、AAV CKd-6 (米国特許
 第8734809号明細書の配列番号62および136)、AAV CKd-7 (米国特
 許第8734809号明細書の配列番号63および137)、AAV CKd-8 (米国
 特許第8734809号明細書の配列番号64および138)、AAV CLv-1 (米
 国特許第8734809号明細書の配列番号35および139)、AAV CLv-12
 (米国特許第8734809号明細書の配列番号66および140)、AAV CLv-
 13 (米国特許第8734809号明細書の配列番号67および141)、AAV CL
 v-2 (米国特許第8734809号明細書の配列番号68および142)、AAV C
 Lv-3 (米国特許第8734809号明細書の配列番号69および143)、AAV
 CLv-4 (米国特許第8734809号明細書の配列番号70および144)、AAV
 CLv-6 (米国特許第8734809号明細書の配列番号71および145)、AA
 V CLv-8 (米国特許第8734809号明細書の配列番号72および146)、A
 AV CKd-B1 (米国特許第8734809号明細書の配列番号73および147)
 、AAV CKd-B2 (米国特許第8734809号明細書の配列番号74および14
 8)、AAV CKd-B3 (米国特許第8734809号明細書の配列番号75およ
 び149)、AAV CKd-B4 (米国特許第8734809号明細書の配列番号76お
 よび150)、AAV CKd-B5 (米国特許第8734809号明細書の配列番号7
 7および151)、AAV CKd-B6 (米国特許第8734809号明細書の配列番
 号78および152)、AAV CKd-B7 (米国特許第8734809号明細書の配
 列番号79および153)、AAV CKd-B8 (米国特許第8734809号明細書
 の配列番号80および154)、AAV CKd-H1 (米国特許第8734809号明
 細書の配列番号81および155)、AAV CKd-H2 (米国特許第8734809
 号明細書の配列番号82および156)、AAV CKd-H3 (米国特許第87348
 09号明細書の配列番号83および157)、AAV CKd-H4 (米国特許第873
 4809号明細書の配列番号84および158)、AAV CKd-H5 (米国特許第8
 734809号明細書の配列番号85および159)、AAV CKd-H6 (米国特許
 第8734809号明細書の配列番号77および151)、AAV CHt-1 (米国特
 許第8734809号明細書の配列番号86および160)、AAV CLv1-1 (米
 国特許第8734809号明細書の配列番号171)、AAV CLv1-2 (米国特許
 第8734809号明細書の配列番号172)、AAV CLv1-3 (米国特許第87
 34809号明細書の配列番号173)、AAV CLv1-4 (米国特許第87348
 09号明細書の配列番号174)、AAV Clv1-7 (米国特許第8734809号
 明細書の配列番号175)、AAV Clv1-8 (米国特許第8734809号明細書
 の配列番号176)、AAV Clv1-9 (米国特許第8734809号明細書の配列
 番号177)、AAV Clv1-10 (米国特許第8734809号明細書の配列番号
 178)、AAV. VR-355 (米国特許第8734809号明細書の配列番号181
)、AAV. hu. 48R3 (米国特許第8734809号明細書の配列番号183)、
 またはこれらのバリエーションもしくは誘導体など、米国特許第8734809号明細書(こ

の内容は本明細書において全体として参照により援用される)に記載されたとおりの配列であってもよく、またはそれを有してもよい。

【0126】

一部の実施形態において、AAV血清型は、限定はされないが、AAV CHt-P2 (国際公開第2016065001号パンフレットの配列番号1および51)、AAV CHt-P5 (国際公開第2016065001号パンフレットの配列番号2および52)、AAV CHt-P9 (国際公開第2016065001号パンフレットの配列番号3および53)、AAV CBr-7.1 (国際公開第2016065001号パンフレットの配列番号4および54)、AAV CBr-7.2 (国際公開第2016065001号パンフレットの配列番号5および55)、AAV CBr-7.3 (国際公開第2016065001号パンフレットの配列番号6および56)、AAV CBr-7.4 (国際公開第2016065001号パンフレットの配列番号7および57)、AAV CBr-7.5 (国際公開第2016065001号パンフレットの配列番号8および58)、AAV CBr-7.7 (国際公開第2016065001号パンフレットの配列番号9および59)、AAV CBr-7.8 (国際公開第2016065001号パンフレットの配列番号10および60)、AAV CBr-7.10 (国際公開第2016065001号パンフレットの配列番号11および61)、AAV CKd-N3 (国際公開第2016065001号パンフレットの配列番号12および62)、AAV CKd-N4 (国際公開第2016065001号パンフレットの配列番号13および63)、AAV CKd-N9 (国際公開第2016065001号パンフレットの配列番号14および64)、AAV CLv-L4 (国際公開第2016065001号パンフレットの配列番号15および65)、AAV CLv-L5 (国際公開第2016065001号パンフレットの配列番号16および66)、AAV CLv-L6 (国際公開第2016065001号パンフレットの配列番号17および67)、AAV CLv-K1 (国際公開第2016065001号パンフレットの配列番号18および68)、AAV CLv-K3 (国際公開第2016065001号パンフレットの配列番号19および69)、AAV CLv-K6 (国際公開第2016065001号パンフレットの配列番号20および70)、AAV CLv-M1 (国際公開第2016065001号パンフレットの配列番号21および71)、AAV CLv-M1.1 (国際公開第2016065001号パンフレットの配列番号22および72)、AAV CLv-M2 (国際公開第2016065001号パンフレットの配列番号23および73)、AAV CLv-M5 (国際公開第2016065001号パンフレットの配列番号24および74)、AAV CLv-M6 (国際公開第2016065001号パンフレットの配列番号25および75)、AAV CLv-M7 (国際公開第2016065001号パンフレットの配列番号26および76)、AAV CLv-M8 (国際公開第2016065001号パンフレットの配列番号27および77)、AAV CLv-M9 (国際公開第2016065001号パンフレットの配列番号28および78)、AAV CHt-P1 (国際公開第2016065001号パンフレットの配列番号29および79)、AAV CHt-P6 (国際公開第2016065001号パンフレットの配列番号30および80)、AAV CHt-P8 (国際公開第2016065001号パンフレットの配列番号31および81)、AAV CHt-6.1 (国際公開第2016065001号パンフレットの配列番号32および82)、AAV CHt-6.10 (国際公開第2016065001号パンフレットの配列番号33および83)、AAV CHt-6.5 (国際公開第2016065001号パンフレットの配列番号34および84)、AAV CHt-6.6 (国際公開第2016065001号パンフレットの配列番号35および85)、AAV CHt-6.7 (国際公開第2016065001号パンフレットの配列番号36および86)、AAV CHt-6.8 (国際公開第2016065001号パンフレットの配列番号37および87)、AAV CSp-8.10 (国際公開第2016065001号パンフレットの配列番号38および88)、AAV CSp-8.2 (国際公開第2016065001号パンフレットの配列番号39および89)、AAV CS

p-8. 4 (国際公開第2016065001号パンフレットの配列番号40および90)、AAV CSp-8. 5 (国際公開第2016065001号パンフレットの配列番号41および91)、AAV CSp-8. 6 (国際公開第2016065001号パンフレットの配列番号42および92)、AAV CSp-8. 7 (国際公開第2016065001号パンフレットの配列番号43および93)、AAV CSp-8. 8 (国際公開第2016065001号パンフレットの配列番号44および94)、AAV CSp-8. 9 (国際公開第2016065001号パンフレットの配列番号45および95)、AAV CBr-B7. 3 (国際公開第2016065001号パンフレットの配列番号46および96)、AAV CBr-B7. 4 (国際公開第2016065001号パンフレットの配列番号47および97)、AAV3B (国際公開第2016065001号パンフレットの配列番号48および98)、AAV4 (国際公開第2016065001号パンフレットの配列番号49および99)、AAV5 (国際公開第2016065001号パンフレットの配列番号50および100)、またはこれらのバリエーションもしくは誘導体など、国際公開第2016065001号パンフレット (この内容は本明細書において全体として参照により援用される) に記載されたとおりの配列であってもよく、またはそれを有してもよい。

【0127】

一部の実施形態において、AAV血清型は、限定はされないが、野生型AAV1、AAV2、AAV3、AAV4、AAV5、AAV6、AAV7、AAV8、AAV9、AAV10、AAV11、AAV12、およびそれらのハイブリッドのY252F、Y272F、Y444F、Y500F、Y700F、Y704F、Y730F、Y275F、Y281F、Y508F、Y576F、Y612G、Y673F、およびY720Fなどの、米国特許出願公開第20160361439号明細書 (その内容は本明細書において全体として参照によって援用される) に記載されたとおりの修飾であってもよくまたはそれを有してしてもよい。

【0128】

一部の実施形態において、AAV血清型は、限定はされないが、AAV6 (米国特許第9546112号明細書の配列番号4)、AAV1 (米国特許第9546112号明細書の配列番号6)、AAV2、AAV3、AAV4、AAV5、AAV7、AAV9、AAV10またはAAV11またはそれらの誘導体の配列における、F129L、D418E、K531E、L584F、V598AおよびH642N突然変異の少なくとも2つ、しかしながら全てではないものなど、米国特許第9546112号明細書 (その内容は本明細書において全体として参照によって援用される) に記載されたとおりの突然変異であってもよくまたはそれを有してしてもよい。更に別の実施形態において、AAV血清型は、K531E突然変異を含むAAV6配列 (米国特許第9546112号明細書の配列番号5) であってもよくまたはそれを有していてもよい。

【0129】

一部の実施形態において、AAV血清型は、限定はされないが、別のアミノ酸、好ましくはフェニルアラニン残基に置換された、好ましくは、AAV1 (米国特許出願公開第20130224836号明細書の配列番号2) の252、273、445、701、705および731位の表面露出チロシン残基の少なくとも1つなど、米国特許出願公開第20130224836号明細書 (その内容は本明細書において全体として参照によって援用される) に記載されたとおりの、AAV1配列における突然変異であってもよくまたはそれを有していてもよい。一実施形態において、AAV血清型は、限定はされないが、別のアミノ酸、好ましくはフェニルアラニン残基に置換された、好ましくは、AAV2 (米国特許出願公開第20130224836号明細書の配列番号4) の252、272、444、500、700、704および730位の表面露出チロシン残基の少なくとも1つなど、AAV9配列における突然変異であってもよくまたはそれを有してしてもよい。一実施形態において、AAV9 (米国特許出願公開第20130224836号明細書の配列番号6) の446位のチロシン残基は、フェニルアラニン残基に置換されている。

【0130】

一実施形態において、AAV血清型は、本明細書において全体として参照により援用される国際公開第2016130589号パンフレットに記載されるとおりのAAV2またはそのバリエーションであってもよい。AAV2のアミノ酸配列は、N587A、E548A、またはN708A突然変異を含み得る。一実施形態において、任意のAAVのアミノ酸配列は、V708K突然変異を含み得る。

【0131】

一実施形態において、AAVは、表1に挙げられるもののいずれかから選択される血清型であってもよい。

一実施形態において、AAVは、表1にある配列の配列、その断片または変異体を含んでもよい。

10

【0132】

一実施形態において、AAVは、表1に記載されるとおりの配列、断片または変異体によってコードされてもよい。

【0133】

【表 1 - 1】

表 1. AAV 血清型

血清型	配列番号	参照情報
AAV1	1	米国特許出願公開第 20150159173 号明細書 配列番号 11、米国特許出願公開第 20150315612 号明細書 配列番号 202
AAV1	2	米国特許出願公開第 20160017295 号明細書 配列番号 1 米国特許出願公開第 20030138772 号明細書 配列番号 64、米国特許出願公開第 20150159173 号明細書 配列番号 27、米国特許出願公開第 20150315612 号明細書 配列番号 219、米国特許第 7198951 号明細書 配列番号 5
AAV1	3	米国特許出願公開第 20030138772 号明細書 配列番号 6
AAV1.3	4	米国特許出願公開第 20030138772 号明細書 配列番号 14
AAV10	5	米国特許出願公開第 20030138772 号明細書 配列番号 117
AAV10	6	国際公開第 2015121501 号 配列番号 9
AAV10	7	国際公開第 2015121501 号 配列番号 8
AAV11	8	米国特許出願公開第 20030138772 号明細書 配列番号 118
AAV12	9	米国特許出願公開第 20030138772 号明細書 配列番号 119
AAV2	10	米国特許出願公開第 20150159173 号明細書 配列番号 7、米国特許出願公開第 20150315612 号明細書 配列番号 211
AAV2	11	米国特許出願公開第 20030138772 号明細書 配列番号 70、米国特許出願公開第 20150159173 号明細書 配列番号 23、米国特許出願公開第 20150315612 号明細書 配列番号 221、米国特許出願公開第 20160017295 号明細書 配列番号 2、米国特許第 6156303 号明細書 配列番号 4、米国特許第 7198951 号明細書 配列番号 4、国際公開第 2015121501 号 配列番号 1
AAV2	12	米国特許第 6156303 号明細書 配列番号 8
AAV2	13	米国特許出願公開第 20030138772 号明細書 配列番号 7
AAV2	14	米国特許第 6156303 号明細書 配列番号 3
AAV2.5T	15	米国特許第 9233131 号明細書 配列番号 42
AAV223.10	16	米国特許出願公開第 20030138772 号明細書 配列番号 75
AAV223.2	17	米国特許出願公開第 20030138772 号明細書 配列番号 49
AAV223.2	18	米国特許出願公開第 20030138772 号明細書 配列番号 76
AAV223.4	19	米国特許出願公開第 20030138772 号明細書 配列番号 50
AAV223.4	20	米国特許出願公開第 20030138772 号明細書 配列番号 73
AAV223.5	21	米国特許出願公開第 20030138772 号明細書 配列番号 51
AAV223.5	22	米国特許出願公開第 20030138772 号明細書 配列番号 74
AAV223.6	23	米国特許出願公開第 20030138772 号明細書 配列番号 52
AAV223.6	24	米国特許出願公開第 20030138772 号明細書 配列番号 78
AAV223.7	25	米国特許出願公開第 20030138772 号明細書 配列番号 53
AAV223.7	26	米国特許出願公開第 20030138772 号明細書 配列番号 77
AAV29.3	27	米国特許出願公開第 20030138772 号明細書 配列番号 82
AAV29.4	28	米国特許出願公開第 20030138772 号明細書 配列番号 12
AAV29.5	29	米国特許出願公開第 20030138772 号明細書 配列番号 83
AAV29.5 (AAVbb.2)	30	米国特許出願公開第 20030138772 号明細書 配列番号 13
AAV3	31	米国特許出願公開第 20150159173 号明細書 配列番号 12
AAV3	32	米国特許出願公開第 20030138772 号明細書 配列番号 71、米国特許出願公開第 20150159173 号明細書 配列番号 28、米国特許出願公開第

【表 1 - 2】

		20160017295 号明細書 配列番号 3、米国特許第 7198951 号明細書 配列番号 6
AAV3	33	米国特許出願公開第 20030138772 号明細書 配列番号 8
AAV3.3b	34	米国特許出願公開第 20030138772 号明細書 配列番号 72
AAV3-3	35	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書 配列番号 200
AAV3-3	36	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書 配列番号 217
AAV3a	37	米国特許第 6156303 号明細書 配列番号 5
AAV3a	38	米国特許第 6156303 号明細書 配列番号 9
AAV3b	39	米国特許第 6156303 号明細書 配列番号 6
AAV3b	40	米国特許第 6156303 号明細書 配列番号 10
AAV3b	41	米国特許第 6156303 号明細書 配列番号 1
AAV4	42	米国特許出願公開第 20140348794 号明細書 配列番号 17
AAV4	43	米国特許出願公開第 20140348794 号明細書 配列番号 5
AAV4	44	米国特許出願公開第 20140348794 号明細書 配列番号 3
AAV4	45	米国特許出願公開第 20140348794 号明細書 配列番号 14
AAV4	46	米国特許出願公開第 20140348794 号明細書 配列番号 15
AAV4	47	米国特許出願公開第 20140348794 号明細書 配列番号 19
AAV4	48	米国特許出願公開第 20140348794 号明細書 配列番号 12
AAV4	49	米国特許出願公開第 20140348794 号明細書 配列番号 13
AAV4	50	米国特許出願公開第 20140348794 号明細書 配列番号 7
AAV4	51	米国特許出願公開第 20140348794 号明細書 配列番号 8
AAV4	52	米国特許出願公開第 20140348794 号明細書 配列番号 9
AAV4	53	米国特許出願公開第 20140348794 号明細書 配列番号 2
AAV4	54	米国特許出願公開第 20140348794 号明細書 配列番号 10
AAV4	55	米国特許出願公開第 20140348794 号明細書 配列番号 11
AAV4	56	米国特許出願公開第 20140348794 号明細書 配列番号 18
AAV4	57	米国特許出願公開第 20030138772 号明細書 配列番号 63、米国特許出願公開第 20160017295 号明細書 配列番号 4、米国特許出願公開第 20140348794 号明細書 配列番号 4
AAV4	58	米国特許出願公開第 20140348794 号明細書 配列番号 16
AAV4	59	米国特許出願公開第 20140348794 号明細書 配列番号 20
AAV4	60	米国特許出願公開第 20140348794 号明細書 配列番号 6
AAV4	61	米国特許出願公開第 20140348794 号明細書 配列番号 1
AAV42.2	62	米国特許出願公開第 20030138772 号明細書 配列番号 9
AAV42.2	63	米国特許出願公開第 20030138772 号明細書 配列番号 102
AAV42.3b	64	米国特許出願公開第 20030138772 号明細書 配列番号 36
AAV42.3B	65	米国特許出願公開第 20030138772 号明細書 配列番号 107
AAV42.4	66	米国特許出願公開第 20030138772 号明細書 配列番号 33
AAV42.4	67	米国特許出願公開第 20030138772 号明細書 配列番号 88
AAV42.8	68	米国特許出願公開第 20030138772 号明細書 配列番号 27
AAV42.8	69	米国特許出願公開第 20030138772 号明細書 配列番号 85
AAV43.1	70	米国特許出願公開第 20030138772 号明細書 配列番号 39
AAV43.1	71	米国特許出願公開第 20030138772 号明細書 配列番号 92
AAV43.12	72	米国特許出願公開第 20030138772 号明細書 配列番号 41
AAV43.12	73	米国特許出願公開第 20030138772 号明細書 配列番号 93
AAV43.20	74	米国特許出願公開第 20030138772 号明細書 配列番号 42
AAV43.20	75	米国特許出願公開第 20030138772 号明細書 配列番号 99
AAV43.21	76	米国特許出願公開第 20030138772 号明細書 配列番号 43
AAV43.21	77	米国特許出願公開第 20030138772 号明細書 配列番号 96

【表 1 - 3】

AAV43.23	78	米国特許出願公開第 20030138772 号明細書 配列番号 44
AAV43.23	79	米国特許出願公開第 20030138772 号明細書 配列番号 98
AAV43.25	80	米国特許出願公開第 20030138772 号明細書 配列番号 45
AAV43.25	81	米国特許出願公開第 20030138772 号明細書 配列番号 97
AAV43.5	82	米国特許出願公開第 20030138772 号明細書 配列番号 40
AAV43.5	83	米国特許出願公開第 20030138772 号明細書 配列番号 94
AAV4-4	84	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書 配列番号 201
AAV4-4	85	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書 配列番号 218
AAV44.1	86	米国特許出願公開第 20030138772 号明細書 配列番号 46
AAV44.1	87	米国特許出願公開第 20030138772 号明細書 配列番号 79
AAV44.5	88	米国特許出願公開第 20030138772 号明細書 配列番号 47
AAV44.5	89	米国特許出願公開第 20030138772 号明細書 配列番号 80
AAV4407	90	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書 配列番号 90
AAV5	91	米国特許第 7427396 号明細書 配列番号 1
AAV5	92	米国特許出願公開第 20030138772 号明細書 配列番号 114
AAV5	93	米国特許出願公開第 20160017295 号明細書 配列番号 5、米国特許第 7427396 号明細書 配列番号 2、米国特許出願公開第 20150315612 号明細書 配列番号 216
AAV5	94	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書 配列番号 199
AAV6	95	米国特許出願公開第 20150159173 号明細書 配列番号 13
AAV6	96	米国特許出願公開第 20030138772 号明細書 配列番号 65、米国特許出願公開第 20150159173 号明細書 配列番号 29、米国特許出願公開第 20160017295 号明細書 配列番号 6、米国特許第 6156303 号明細書 配列番号 7
AAV6	97	米国特許第 6156303 号明細書 配列番号 11
AAV6	98	米国特許第 6156303 号明細書 配列番号 2
AAV6	99	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書 配列番号 203
AAV6	100	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書 配列番号 220
AAV6.1	101	米国特許出願公開第 20150159173 号明細書
AAV6.12	102	米国特許出願公開第 20150159173 号明細書
AAV6.2	103	米国特許出願公開第 20150159173 号明細書
AAV7	104	米国特許出願公開第 20150159173 号明細書 配列番号 14
AAV7	105	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書 配列番号 183
AAV7	106	米国特許出願公開第 20030138772 号明細書 配列番号 2、米国特許出願公開第 20150159173 号明細書 配列番号 30、米国特許出願公開第 20150315612 号明細書 配列番号 181、米国特許出願公開第 20160017295 号明細書 配列番号 7
AAV7	107	米国特許出願公開第 20030138772 号明細書 配列番号 3
AAV7	108	米国特許出願公開第 20030138772 号明細書 配列番号 1、米国特許出願公開第 20150315612 号明細書 配列番号 180
AAV7	109	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書 配列番号 213
AAV7	110	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書 配列番号 222
AAV8	111	米国特許出願公開第 20150159173 号明細書 配列番号 15
AAV8	112	米国特許出願公開第 20150376240 号明細書 配列番号 7
AAV8	113	米国特許出願公開第 20030138772 号明細書 配列番号 4、米国特許出願公開第 20150315612 号明細書 配列番号 182
AAV8	114	米国特許出願公開第 20030138772 号明細書 配列番号 95、米国特許出願公開第 20140359799 号明細書 配列番号 1、米国特許出願公開第 20150159173 号明細書 配列番号 31、米国特許出願公開第 20160017295 号明細書 配列番号 8、米国特許第 7198951 号明細書 配列番号 7、米国特許出願公開第 20150315612 号明細書 配列番号 223

【表 1 - 4】

AAV8	115	米国特許出願公開第 20150376240 号明細書	配列番号 8
AAV8	116	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 214
AAV-8b	117	米国特許出願公開第 20150376240 号明細書	配列番号 5
AAV-8b	118	米国特許出願公開第 20150376240 号明細書	配列番号 3
AAV-8h	119	米国特許出願公開第 20150376240 号明細書	配列番号 6
AAV-8h	120	米国特許出願公開第 20150376240 号明細書	配列番号 4
AAV9	121	米国特許出願公開第 20030138772 号明細書	配列番号 5
AAV9	122	米国特許第 7198951 号明細書	配列番号 1
AAV9	123	米国特許出願公開第 20160017295 号明細書	配列番号 9
AAV9	124	米国特許出願公開第 20030138772 号明細書	配列番号 100、米国特許第 7198951 号明細書
AAV9	125	米国特許第 7198951 号明細書	配列番号 3
AAV9 (AAVhu.14)	126	米国特許第 7906111 号明細書	配列番号 3; 国際公開第 2015038958 号
AAV9 (AAVhu.14)	127	米国特許第 7906111 号明細書	配列番号 123; 国際公開第 2015038958 号
AAVA3.1	128	米国特許出願公開第 20030138772 号明細書	配列番号 120
AAVA3.3	129	米国特許出願公開第 20030138772 号明細書	配列番号 57
AAVA3.3	130	米国特許出願公開第 20030138772 号明細書	配列番号 66
AAVA3.4	131	米国特許出願公開第 20030138772 号明細書	配列番号 54
AAVA3.4	132	米国特許出願公開第 20030138772 号明細書	配列番号 68
AAVA3.5	133	米国特許出願公開第 20030138772 号明細書	配列番号 55
AAVA3.5	134	米国特許出願公開第 20030138772 号明細書	配列番号 69
AAVA3.7	135	米国特許出願公開第 20030138772 号明細書	配列番号 56
AAVA3.7	136	米国特許出願公開第 20030138772 号明細書	配列番号 67
AAV29.3 (AAVbb.1)	137	米国特許出願公開第 20030138772 号明細書	配列番号 11
AAVC2	138	米国特許出願公開第 20030138772 号明細書	配列番号 61
AAVCh.5	139	米国特許出願公開第 20150159173 号明細書	配列番号 46、米国特許出願公開第 20150315612 号明細書
AAVcy.2 (AAV13.3)	140	米国特許出願公開第 20030138772 号明細書	配列番号 15
AAV24.1	141	米国特許出願公開第 20030138772 号明細書	配列番号 101
AAVcy.3 (AAV24.1)	142	米国特許出願公開第 20030138772 号明細書	配列番号 16
AAV27.3	143	米国特許出願公開第 20030138772 号明細書	配列番号 104
AAVcy.4 (AAV27.3)	144	米国特許出願公開第 20030138772 号明細書	配列番号 17
AAVcy.5	145	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 227
AAV7.2	146	米国特許出願公開第 20030138772 号明細書	配列番号 103
AAVcy.5 (AAV7.2)	147	米国特許出願公開第 20030138772 号明細書	配列番号 18
AAV16.3	148	米国特許出願公開第 20030138772 号明細書	配列番号 105
AAVcy.6 (AAV16.3)	149	米国特許出願公開第 20030138772 号明細書	配列番号 10
AAVcy.5	150	米国特許出願公開第 20150159173 号明細書	配列番号 8
AAVcy.5	151	米国特許出願公開第 20150159173 号明細書	配列番号 24
AAVCy.5R1	152	米国特許出願公開第 20150159173	
AAVCy.5R2	153	米国特許出願公開第 20150159173	
AAVCy.5R3	154	米国特許出願公開第 20150159173	
AAVCy.5R4	155	米国特許出願公開第 20150159173	
AAVDJ	156	米国特許出願公開第 20140359799 号明細書	配列番号 3、米国特許第 7588772 号明細書
			配列番号 2

【表 1 - 5】

AAVDJ	157	米国特許出願公開第 20140359799 号明細書 配列番号 2、米国特許第 7588772 号明細書 配列番号 1
AAVDJ-8	158	米国特許第 7588772; グリム(Grimm)ら、2008 年
AAVDJ-8	159	米国特許第 7588772; グリム(Grimm)ら、2008 年
AAVF5	160	米国特許出願公開第 20030138772 号明細書 配列番号 110
AAVH2	161	米国特許出願公開第 20030138772 号明細書 配列番号 26
AAVH6	162	米国特許出願公開第 20030138772 号明細書 配列番号 25
AAVhE1.1	163	米国特許第 9233131 号明細書 配列番号 44
AAVhEr1.14	164	米国特許第 9233131 号明細書 配列番号 46
AAVhEr1.16	165	米国特許第 9233131 号明細書 配列番号 48
AAVhEr1.18	166	米国特許第 9233131 号明細書 配列番号 49
AAVhEr1.23 (AAVhEr2.29)	167	米国特許第 9233131 号明細書 配列番号 53
AAVhEr1.35	168	米国特許第 9233131 号明細書 配列番号 50
AAVhEr1.36	169	米国特許第 9233131 号明細書 配列番号 52
AAVhEr1.5	170	米国特許第 9233131 号明細書 配列番号 45
AAVhEr1.7	171	米国特許第 9233131 号明細書 配列番号 51
AAVhEr1.8	172	米国特許第 9233131 号明細書 配列番号 47
AAVhEr2.16	173	米国特許第 9233131 号明細書 配列番号 55
AAVhEr2.30	174	米国特許第 9233131 号明細書 配列番号 56
AAVhEr2.31	175	米国特許第 9233131 号明細書 配列番号 58
AAVhEr2.36	176	米国特許第 9233131 号明細書 配列番号 57
AAVhEr2.4	177	米国特許第 9233131 号明細書 配列番号 54
AAVhEr3.1	178	米国特許第 9233131 号明細書 配列番号 59
AAVhu.1	179	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書 配列番号 46
AAVhu.1	180	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書 配列番号 144
AAVhu.10 (AAV16.8)	181	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書 配列番号 56
AAVhu.10 (AAV16.8)	182	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書 配列番号 156
AAVhu.11 (AAV16.12)	183	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書 配列番号 57
AAVhu.11 (AAV16.12)	184	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書 配列番号 153
AAVhu.12	185	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書 配列番号 59
AAVhu.12	186	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書 配列番号 154
AAVhu.13	187	米国特許出願公開第 20150159173 号明細書 配列番号 16、米国特許出願公開第 20150315612 号明細書 配列番号 71
AAVhu.13	188	米国特許出願公開第 20150159173 号明細書 配列番号 32、米国特許出願公開第 20150315612 号明細書 配列番号 129
AAVhu.136.1	189	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書 配列番号 165
AAVhu.140.1	190	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書 配列番号 166
AAVhu.140.2	191	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書 配列番号 167
AAVhu.145.6	192	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書 配列番号 178
AAVhu.15	193	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書 配列番号 147
AAVhu.15 (AAV33.4)	194	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書 配列番号 50
AAVhu.156.1	195	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書 配列番号 179
AAVhu.16	196	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書 配列番号 148
AAVhu.16 (AAV33.8)	197	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書 配列番号 51
AAVhu.17	198	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書 配列番号 83

【表 1 - 6】

AAVhu.17 (AAV33.12)	199	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 4
AAVhu.172.1	200	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 171
AAVhu.172.2	201	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 172
AAVhu.173.4	202	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 173
AAVhu.173.8	203	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 175
AAVhu.18	204	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 52
AAVhu.18	205	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 149
AAVhu.19	206	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 62
AAVhu.19	207	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 133
AAVhu.2	208	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 48
AAVhu.2	209	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 143
AAVhu.20	210	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 63
AAVhu.20	211	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 134
AAVhu.21	212	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 65
AAVhu.21	213	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 135
AAVhu.22	214	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 67
AAVhu.22	215	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 138
AAVhu.23	216	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 60
AAVhu.23.2	217	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 137
AAVhu.24	218	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 66
AAVhu.24	219	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 136
AAVhu.25	220	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 49
AAVhu.25	221	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 146
AAVhu.26	222	米国特許出願公開第 20150159173 号明細書 願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 17、米国特許出 配列番号 61
AAVhu.26	223	米国特許出願公開第 20150159173 号明細書 願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 33、米国特許出 配列番号 139
AAVhu.27	224	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 64
AAVhu.27	225	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 140
AAVhu.28	226	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 68
AAVhu.28	227	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 130
AAVhu.29	228	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 69
AAVhu.29	229	米国特許出願公開第 20150159173 号明細書 願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 42、米国特許出 配列番号 132
AAVhu.29	230	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 225
AAVhu.29R	231	米国特許出願公開第 20150159173	
AAVhu.3	232	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 44
AAVhu.3	233	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 145
AAVhu.30	234	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 70
AAVhu.30	235	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 131
AAVhu.31	236	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 1
AAVhu.31	237	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 121
AAVhu.32	238	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 2
AAVhu.32	239	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 122
AAVhu.33	240	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 75
AAVhu.33	241	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 124
AAVhu.34	242	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 72
AAVhu.34	243	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 125
AAVhu.35	244	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 73

【表 1 - 7】

AAVhu.35	245	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 164
AAVhu.36	246	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 74
AAVhu.36	247	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 126
AAVhu.37	248	米国特許出願公開第 20150159173 号明細書 願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 34、米国特許出 配列番号 88
AAVhu.37 (AAV106.1)	249	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書 願公開第 20150159173 号明細書	配列番号 10、米国特許出 配列番号 18
AAVhu.38	250	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 161
AAVhu.39	251	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 102
AAVhu.39 (AAVLG-9)	252	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 24
AAVhu.4	253	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 47
AAVhu.4	254	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 141
AAVhu.40	255	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 87
AAVhu.40 (AAV114.3)	256	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 11
AAVhu.41	257	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 91
AAVhu.41 (AAV127.2)	258	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 6
AAVhu.42	259	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 85
AAVhu.42 (AAV127.5)	260	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 8
AAVhu.43	261	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 160
AAVhu.43	262	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 236
AAVhu.43 (AAV128.1)	263	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 80
AAVhu.44	264	米国特許出願公開第 20150159173 号明細書 願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 45、米国特許出 配列番号 158
AAVhu.44 (AAV128.3)	265	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 81
AAVhu.44R1	266	米国特許出願公開第 20150159173	
AAVhu.44R2	267	米国特許出願公開第 20150159173	
AAVhu.44R3	268	米国特許出願公開第 20150159173	
AAVhu.45	269	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 76
AAVhu.45	270	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 127
AAVhu.46	271	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 82
AAVhu.46	272	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 159
AAVhu.46	273	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 224
AAVhu.47	274	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 77
AAVhu.47	275	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 128
AAVhu.48	276	米国特許出願公開第 20150159173 号明細書	配列番号 38
AAVhu.48	277	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 157
AAVhu.48 (AAV130.4)	278	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 78
AAVhu.48R1	279	米国特許出願公開第 20150159173	
AAVhu.48R2	280	米国特許出願公開第 20150159173	
AAVhu.48R3	281	米国特許出願公開第 20150159173	
AAVhu.49	282	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 209
AAVhu.49	283	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 189
AAVhu.5	284	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 45
AAVhu.5	285	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 142
AAVhu.51	286	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 208
AAVhu.51	287	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 190

【表 1 - 8】

AAVhu.52	288	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 210
AAVhu.52	289	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 191
AAVhu.53	290	米国特許出願公開第 20150159173 号明細書	配列番号 19
AAVhu.53	291	米国特許出願公開第 20150159173 号明細書	配列番号 35
AAVhu.53 (AAV145.1)	292	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 176
AAVhu.54	293	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 188
AAVhu.54 (AAV145.5)	294	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 177
AAVhu.55	295	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 187
AAVhu.56	296	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 205
AAVhu.56 (AAV145.6)	297	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 168
AAVhu.56 (AAV145.6)	298	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 192
AAVhu.57	299	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 206
AAVhu.57	300	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 169
AAVhu.57	301	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 193
AAVhu.58	302	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 207
AAVhu.58	303	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 194
AAVhu.6 (AAV3.1)	304	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 5
AAVhu.6 (AAV3.1)	305	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 84
AAVhu.60	306	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 184
AAVhu.60 (AAV161.10)	307	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 170
AAVhu.61	308	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 185
AAVhu.61 (AAV161.6)	309	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 174
AAVhu.63	310	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 204
AAVhu.63	311	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 195
AAVhu.64	312	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 212
AAVhu.64	313	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 196
AAVhu.66	314	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 197
AAVhu.67	315	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 215
AAVhu.67	316	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 198
AAVhu.7	317	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 226
AAVhu.7	318	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 150
AAVhu.7 (AAV7.3)	319	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 55
AAVhu.71	320	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 79
AAVhu.8	321	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 53
AAVhu.8	322	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 12
AAVhu.8	323	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 151
AAVhu.9 (AAV3.1)	324	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 58
AAVhu.9 (AAV3.1)	325	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 155
AAV-LK01	326	米国特許出願公開第 20150376607 号明細書	配列番号 2
AAV-LK01	327	米国特許出願公開第 20150376607 号明細書	配列番号 29
AAV-LK02	328	米国特許出願公開第 20150376607 号明細書	配列番号 3
AAV-LK02	329	米国特許出願公開第 20150376607 号明細書	配列番号 30
AAV-LK03	330	米国特許出願公開第 20150376607 号明細書	配列番号 4

【表 1 - 9】

AAV-LK03	331	国際公開第 2015121501 号 配列番号 12、米国特許出願公開第 20150376607 号明細書 配列番号 31
AAV-LK04	332	米国特許出願公開第 20150376607 号明細書 配列番号 5
AAV-LK04	333	米国特許出願公開第 20150376607 号明細書 配列番号 32
AAV-LK05	334	米国特許出願公開第 20150376607 号明細書 配列番号 6
AAV-LK05	335	米国特許出願公開第 20150376607 号明細書 配列番号 33
AAV-LK06	336	米国特許出願公開第 20150376607 号明細書 配列番号 7
AAV-LK06	337	米国特許出願公開第 20150376607 号明細書 配列番号 34
AAV-LK07	338	米国特許出願公開第 20150376607 号明細書 配列番号 8
AAV-LK07	339	米国特許出願公開第 20150376607 号明細書 配列番号 35
AAV-LK08	340	米国特許出願公開第 20150376607 号明細書 配列番号 9
AAV-LK08	341	米国特許出願公開第 20150376607 号明細書 配列番号 36
AAV-LK09	342	米国特許出願公開第 20150376607 号明細書 配列番号 10
AAV-LK09	343	米国特許出願公開第 20150376607 号明細書 配列番号 37
AAV-LK10	344	米国特許出願公開第 20150376607 号明細書 配列番号 11
AAV-LK10	345	米国特許出願公開第 20150376607 号明細書 配列番号 38
AAV-LK11	346	米国特許出願公開第 20150376607 号明細書 配列番号 12
AAV-LK11	347	米国特許出願公開第 20150376607 号明細書 配列番号 39
AAV-LK12	348	米国特許出願公開第 20150376607 号明細書 配列番号 13
AAV-LK12	349	米国特許出願公開第 20150376607 号明細書 配列番号 40
AAV-LK13	350	米国特許出願公開第 20150376607 号明細書 配列番号 14
AAV-LK13	351	米国特許出願公開第 20150376607 号明細書 配列番号 41
AAV-LK14	352	米国特許出願公開第 20150376607 号明細書 配列番号 15
AAV-LK14	353	米国特許出願公開第 20150376607 号明細書 配列番号 42
AAV-LK15	354	米国特許出願公開第 20150376607 号明細書 配列番号 16
AAV-LK15	355	米国特許出願公開第 20150376607 号明細書 配列番号 43
AAV-LK16	356	米国特許出願公開第 20150376607 号明細書 配列番号 17
AAV-LK16	357	米国特許出願公開第 20150376607 号明細書 配列番号 44
AAV-LK17	358	米国特許出願公開第 20150376607 号明細書 配列番号 18
AAV-LK17	359	米国特許出願公開第 20150376607 号明細書 配列番号 45
AAV-LK18	360	米国特許出願公開第 20150376607 号明細書 配列番号 19
AAV-LK18	361	米国特許出願公開第 20150376607 号明細書 配列番号 46
AAV-LK19	362	米国特許出願公開第 20150376607 号明細書 配列番号 20
AAV-LK19	363	米国特許出願公開第 20150376607 号明細書 配列番号 47
AAV-PAEC	364	米国特許出願公開第 20150376607 号明細書 配列番号 1
AAV-PAEC	365	米国特許出願公開第 20150376607 号明細書 配列番号 48
AAV-PAEC11	366	米国特許出願公開第 20150376607 号明細書 配列番号 26
AAV-PAEC11	367	米国特許出願公開第 20150376607 号明細書 配列番号 54
AAV-PAEC12	368	米国特許出願公開第 20150376607 号明細書 配列番号 27
AAV-PAEC12	369	米国特許出願公開第 20150376607 号明細書 配列番号 51
AAV-PAEC13	370	米国特許出願公開第 20150376607 号明細書 配列番号 28
AAV-PAEC13	371	米国特許出願公開第 20150376607 号明細書 配列番号 49
AAV-PAEC2	372	米国特許出願公開第 20150376607 号明細書 配列番号 21
AAV-PAEC2	373	米国特許出願公開第 20150376607 号明細書 配列番号 56
AAV-PAEC4	374	米国特許出願公開第 20150376607 号明細書 配列番号 22
AAV-PAEC4	375	米国特許出願公開第 20150376607 号明細書 配列番号 55
AAV-PAEC6	376	米国特許出願公開第 20150376607 号明細書 配列番号 23
AAV-PAEC6	377	米国特許出願公開第 20150376607 号明細書 配列番号 52
AAV-PAEC7	378	米国特許出願公開第 20150376607 号明細書 配列番号 24

【表 1 - 1 0】

AAV-PAEC7	379	米国特許出願公開第 20150376607 号明細書	配列番号 53
AAV-PAEC8	380	米国特許出願公開第 20150376607 号明細書	配列番号 25
AAV-PAEC8	381	米国特許出願公開第 20150376607 号明細書	配列番号 50
AAVpi.1	382	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 28
AAVpi.1	383	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 93
AAVpi.2	384	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 30
AAVpi.2	385	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 95
AAVpi.3	386	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 29
AAVpi.3	387	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 94
AAVrh.10	388	米国特許出願公開第 20150159173 号明細書	配列番号 9
AAVrh.10	389	米国特許出願公開第 20150159173 号明細書	配列番号 25
AAV44.2	390	米国特許出願公開第 20030138772 号明細書	配列番号 59
AAVrh.10 (AAV44.2)	391	米国特許出願公開第 20030138772 号明細書	配列番号 81
AAV42.1B	392	米国特許出願公開第 20030138772 号明細書	配列番号 90
AAVrh.12 (AAV42.1b)	393	米国特許出願公開第 20030138772 号明細書	配列番号 30
AAVrh.13	394	米国特許出願公開第 20150159173 号明細書	配列番号 10
AAVrh.13	395	米国特許出願公開第 20150159173 号明細書	配列番号 26
AAVrh.13	396	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 228
AAVrh.13R	397	米国特許出願公開第 20150159173	
AAV42.3A	398	米国特許出願公開第 20030138772 号明細書	配列番号 87
AAVrh.14 (AAV42.3a)	399	米国特許出願公開第 20030138772 号明細書	配列番号 32
AAV42.5A	400	米国特許出願公開第 20030138772 号明細書	配列番号 89
AAVrh.17 (AAV42.5a)	401	米国特許出願公開第 20030138772 号明細書	配列番号 34
AAV42.5B	402	米国特許出願公開第 20030138772 号明細書	配列番号 91
AAVrh.18 (AAV42.5b)	403	米国特許出願公開第 20030138772 号明細書	配列番号 29
AAV42.6B	404	米国特許出願公開第 20030138772 号明細書	配列番号 112
AAVrh.19 (AAV42.6b)	405	米国特許出願公開第 20030138772 号明細書	配列番号 38
AAVrh.2	406	米国特許出願公開第 20150159173 号明細書	配列番号 39
AAVrh.2	407	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 231
AAVrh.20	408	米国特許出願公開第 20150159173 号明細書	配列番号 1
AAV42.10	409	米国特許出願公開第 20030138772 号明細書	配列番号 106
AAVrh.21 (AAV42.10)	410	米国特許出願公開第 20030138772 号明細書	配列番号 35
AAV42.11	411	米国特許出願公開第 20030138772 号明細書	配列番号 108
AAVrh.22 (AAV42.11)	412	米国特許出願公開第 20030138772 号明細書	配列番号 37
AAV42.12	413	米国特許出願公開第 20030138772 号明細書	配列番号 113
AAVrh.23 (AAV42.12)	414	米国特許出願公開第 20030138772 号明細書	配列番号 58
AAV42.13	415	米国特許出願公開第 20030138772 号明細書	配列番号 86
AAVrh.24 (AAV42.13)	416	米国特許出願公開第 20030138772 号明細書	配列番号 31
AAV42.15	417	米国特許出願公開第 20030138772 号明細書	配列番号 84
AAVrh.25 (AAV42.15)	418	米国特許出願公開第 20030138772 号明細書	配列番号 28
AAVrh.2R	419	米国特許出願公開第 20150159173	
AAVrh.31 (AAV223.1)	420	米国特許出願公開第 20030138772 号明細書	配列番号 48

【表 1 - 1 1】

AAVC1	421	米国特許出願公開第 20030138772 号明細書	配列番号 60
AAVrh.32 (AAVC1)	422	米国特許出願公開第 20030138772 号明細書	配列番号 19
AAVrh.32/33	423	米国特許出願公開第 20150159173 号明細書	配列番号 2
AAVrh.33 (AAVC3)	424	米国特許出願公開第 20030138772 号明細書	配列番号 20
AAVC5	425	米国特許出願公開第 20030138772 号明細書	配列番号 62
AAVrh.34 (AAVC5)	426	米国特許出願公開第 20030138772 号明細書	配列番号 21
AAVF1	427	米国特許出願公開第 20030138772 号明細書	配列番号 109
AAVrh.35 (AAVF1)	428	米国特許出願公開第 20030138772 号明細書	配列番号 22
AAVF3	429	米国特許出願公開第 20030138772 号明細書	配列番号 111
AAVrh.36 (AAVF3)	430	米国特許出願公開第 20030138772 号明細書	配列番号 23
AAVrh.37	431	米国特許出願公開第 20030138772 号明細書	配列番号 24
AAVrh.37	432	米国特許出願公開第 20150159173 号明細書	配列番号 40
AAVrh.37	433	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 229
AAVrh.37R2	434	米国特許出願公開第 20150159173	
AAVrh.38 (AAVLG-4)	435	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 7
AAVrh.38 (AAVLG-4)	436	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 86
AAVrh.39	437	米国特許出願公開第 20150159173 号明細書	配列番号 20、米国特許出願公開第 20150315612 号明細書
AAVrh.39	438	米国特許出願公開第 20150159173 号明細書	配列番号 3、米国特許出願公開第 20150159173 号明細書
AAVrh.40	439	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 92
AAVrh.40 (AAVLG-10)	440	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 14
AAVrh.43 (AAVN721-8)	441	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 43、米国特許出願公開第 20150159173 号明細書
AAVrh.43 (AAVN721-8)	442	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 163、米国特許出願公開第 20150159173 号明細書
AAVrh.44	443	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 34
AAVrh.44	444	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 111
AAVrh.45	445	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 41
AAVrh.45	446	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 109
AAVrh.46	447	米国特許出願公開第 20150159173 号明細書	配列番号 22、米国特許出願公開第 20150315612 号明細書
AAVrh.46	448	米国特許出願公開第 20150159173 号明細書	配列番号 4、米国特許出願公開第 20150315612 号明細書
AAVrh.47	449	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 38
AAVrh.47	450	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 118
AAVrh.48	451	米国特許出願公開第 20150159173 号明細書	配列番号 44、米国特許出願公開第 20150315612 号明細書
AAVrh.48.1	452	米国特許出願公開第 20150159173	
AAVrh.48.1.2	453	米国特許出願公開第 20150159173	
AAVrh.48.2	454	米国特許出願公開第 20150159173	
AAVrh.48 (AAV1-7)	455	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 32
AAVrh.49 (AAV1-8)	456	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 25
AAVrh.49 (AAV1-8)	457	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 103

【表 1 - 1 2】

AAVrh.50 (AAV2-4)	458	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書 配列番号 23
AAVrh.50 (AAV2-4)	459	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書 配列番号 108
AAVrh.51 (AAV2-5)	460	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書 配列番号 22
AAVrh.51 (AAV2-5)	461	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書 配列番号 104
AAVrh.52 (AAV3-9)	462	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書 配列番号 18
AAVrh.52 (AAV3-9)	463	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書 配列番号 96
AAVrh.53	464	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書 配列番号 97
AAVrh.53 (AAV3-11)	465	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書 配列番号 17
AAVrh.53 (AAV3-11)	466	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書 配列番号 186
AAVrh.54	467	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書 配列番号 40
AAVrh.54	468	米国特許出願公開第 20150159173 号明細書 配列番号 49、米国特許出願公開第 20150315612 号明細書 配列番号 116
AAVrh.55	469	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書 配列番号 37
AAVrh.55 (AAV4-19)	470	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書 配列番号 117
AAVrh.56	471	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書 配列番号 54
AAVrh.56	472	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書 配列番号 152
AAVrh.57	473	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書 配列番号 26
AAVrh.57	474	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書 配列番号 105
AAVrh.58	475	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書 配列番号 27
AAVrh.58	476	米国特許出願公開第 20150159173 号明細書 配列番号 48、米国特許出願公開第 20150315612 号明細書 配列番号 106
AAVrh.58	477	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書 配列番号 232
AAVrh.59	478	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書 配列番号 42
AAVrh.59	479	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書 配列番号 110
AAVrh.60	480	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書 配列番号 31
AAVrh.60	481	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書 配列番号 120
AAVrh.61	482	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書 配列番号 107
AAVrh.61 (AAV2-3)	483	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書 配列番号 21
AAVrh.62 (AAV2-15)	484	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書 配列番号 33
AAVrh.62 (AAV2-15)	485	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書 配列番号 114
AAVrh.64	486	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書 配列番号 15
AAVrh.64	487	米国特許出願公開第 20150159173 号明細書 配列番号 43、米国特許出願公開第 20150315612 号明細書 配列番号 99
AAVrh.64	488	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書 配列番号 233
AAVRh.64R1	489	米国特許出願公開第 20150159173
AAVRh.64R2	490	米国特許出願公開第 20150159173
AAVrh.65	491	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書 配列番号 35
AAVrh.65	492	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書 配列番号 112
AAVrh.67	493	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書 配列番号 36
AAVrh.67	494	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書 配列番号 230
AAVrh.67	495	米国特許出願公開第 20150159173 号明細書 配列番号 47、米国特許出願公開第 20150315612 号明細書 配列番号 113
AAVrh.68	496	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書 配列番号 16

【表 1 - 1 3】

AAVrh.68	497	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 100
AAVrh.69	498	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 39
AAVrh.69	499	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 119
AAVrh.70	500	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 20
AAVrh.70	501	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 98
AAVrh.71	502	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 162
AAVrh.72	503	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 9
AAVrh.73	504	米国特許出願公開第 20150159173 号明細書	配列番号 5
AAVrh.74	505	米国特許出願公開第 20150159173 号明細書	配列番号 6
AAVrh.8	506	米国特許出願公開第 20150159173 号明細書	配列番号 41
AAVrh.8	507	米国特許出願公開第 20150315612 号明細書	配列番号 235
AAVrh.8R	508	米国特許出願公開第 20150159173 号明細書、国際公開第 2015168666 号	配列番号 9
AAVrh.8R A586R 突然変異 体	509	国際公開第 2015168666 号	配列番号 10
AAVrh.8R R533A 突然変異 体	510	国際公開第 2015168666 号	配列番号 11
BAAV (ウシ AAV)	511	米国特許第 9193769 号明細書	配列番号 8
BAAV (ウシ AAV)	512	米国特許第 9193769 号明細書	配列番号 10
BAAV (ウシ AAV)	513	米国特許第 9193769 号明細書	配列番号 4
BAAV (ウシ AAV)	514	米国特許第 9193769 号明細書	配列番号 2
BAAV (ウシ AAV)	515	米国特許第 9193769 号明細書	配列番号 6
BAAV (ウシ AAV)	516	米国特許第 9193769 号明細書	配列番号 1
BAAV (ウシ AAV)	517	米国特許第 9193769 号明細書	配列番号 5
BAAV (ウシ AAV)	518	米国特許第 9193769 号明細書	配列番号 3
BAAV (ウシ AAV)	519	米国特許第 9193769 号明細書	配列番号 11
BAAV (ウシ AAV)	520	米国特許第 7427396 号明細書	配列番号 5
BAAV (ウシ AAV)	521	米国特許第 7427396 号明細書	配列番号 6
BAAV (ウシ AAV)	522	米国特許第 9193769 号明細書	配列番号 7
BAAV (ウシ AAV)	523	米国特許第 9193769 号明細書	配列番号 9
BNP61 AAV	524	米国特許出願公開第 20150238550 号明細書	配列番号 1
BNP61 AAV	525	米国特許出願公開第 20150238550 号明細書	配列番号 2
BNP62 AAV	526	米国特許出願公開第 20150238550 号明細書	配列番号 3
BNP63 AAV	527	米国特許出願公開第 20150238550 号明細書	配列番号 4
ヤギ AAV	528	米国特許第 7427396 号明細書	配列番号 3
ヤギ AAV	529	米国特許第 7427396 号明細書	配列番号 4
トゥルータイプ (true type)AAV (ttAAV)	530	国際公開第 2015121501 号	配列番号 2
AAAV (トリ AAV)	531	米国特許第 9238800 号明細書	配列番号 12

【表 1 - 1 4】

AAAV (トリ AAV)	532	米国特許第 9238800 号明細書 配列番号 2
AAAV (トリ AAV)	533	米国特許第 9238800 号明細書 配列番号 6
AAAV (トリ AAV)	534	米国特許第 9238800 号明細書 配列番号 4
AAAV (トリ AAV)	535	米国特許第 9238800 号明細書 配列番号 8
AAAV (トリ AAV)	536	米国特許第 9238800 号明細書 配列番号 14
AAAV (トリ AAV)	537	米国特許第 9238800 号明細書 配列番号 10
AAAV (トリ AAV)	538	米国特許第 9238800 号明細書 配列番号 15
AAAV (トリ AAV)	539	米国特許第 9238800 号明細書 配列番号 5
AAAV (トリ AAV)	540	米国特許第 9238800 号明細書 配列番号 9
AAAV (トリ AAV)	541	米国特許第 9238800 号明細書 配列番号 3
AAAV (トリ AAV)	542	米国特許第 9238800 号明細書 配列番号 7
AAAV (トリ AAV)	543	米国特許第 9238800 号明細書 配列番号 11
AAAV (トリ AAV)	544	米国特許第 9238800 号明細書 配列番号 13
AAAV (トリ AAV)	545	米国特許第 9238800 号明細書 配列番号 1
AAV シャッフ ル 100-1	546	米国特許出願公開第 20160017295 号明細書 配列番号 23
AAV シャッフ ル 100-1	547	米国特許出願公開第 20160017295 号明細書 配列番号 11
AAV シャッフ ル 100-2	548	米国特許出願公開第 20160017295 号明細書 配列番号 37
AAV シャッフ ル 100-2	549	米国特許出願公開第 20160017295 号明細書 配列番号 29
AAV シャッフ ル 100-3	550	米国特許出願公開第 20160017295 号明細書 配列番号 24
AAV シャッフ ル 100-3	551	米国特許出願公開第 20160017295 号明細書 配列番号 12
AAV シャッフ ル 100-7	552	米国特許出願公開第 20160017295 号明細書 配列番号 25
AAV シャッフ ル 100-7	553	米国特許出願公開第 20160017295 号明細書 配列番号 13
AAV シャッフ ル 10-2	554	米国特許出願公開第 20160017295 号明細書 配列番号 34
AAV シャッフ ル 10-2	555	米国特許出願公開第 20160017295 号明細書 配列番号 26
AAV シャッフ ル 10-6	556	米国特許出願公開第 20160017295 号明細書 配列番号 35
AAV シャッフ ル 10-6	557	米国特許出願公開第 20160017295 号明細書 配列番号 27
AAV シャッフ ル 10-8	558	米国特許出願公開第 20160017295 号明細書 配列番号 36
AAV シャッフ ル 10-8	559	米国特許出願公開第 20160017295 号明細書 配列番号 28
AAV SM 100-10	560	米国特許出願公開第 20160017295 号明細書 配列番号 41
AAV SM 100-10	561	米国特許出願公開第 20160017295 号明細書 配列番号 33

【表 1 - 1 5】

AAV SM 100-3	562	米国特許出願公開第 20160017295 号明細書	配列番号 40
AAV SM 100-3	563	米国特許出願公開第 20160017295 号明細書	配列番号 32
AAV SM 10-1	564	米国特許出願公開第 20160017295 号明細書	配列番号 38
AAV SM 10-1	565	米国特許出願公開第 20160017295 号明細書	配列番号 30
AAV SM 10-2	566	米国特許出願公開第 20160017295 号明細書	配列番号 10
AAV SM 10-2	567	米国特許出願公開第 20160017295 号明細書	配列番号 22
AAV SM 10-8	568	米国特許出願公開第 20160017295 号明細書	配列番号 39
AAV SM 10-8	569	米国特許出願公開第 20160017295 号明細書	配列番号 31
AAV SM 100-10	560	米国特許出願公開第 20160017295 号明細書	配列番号 41
AAV SM 100-10	561	米国特許出願公開第 20160017295 号明細書	配列番号 33
AAV SM 100-3	562	米国特許出願公開第 20160017295 号明細書	配列番号 40
AAV SM 100-3	563	米国特許出願公開第 20160017295 号明細書	配列番号 32
AAV SM 10-1	564	米国特許出願公開第 20160017295 号明細書	配列番号 38
AAV SM 10-1	565	米国特許出願公開第 20160017295 号明細書	配列番号 30
AAV SM 10-2	566	米国特許出願公開第 20160017295 号明細書	配列番号 10
AAV SM 10-2	567	米国特許出願公開第 20160017295 号明細書	配列番号 22
AAV SM 10-8	568	米国特許出願公開第 20160017295 号明細書	配列番号 39
AAV SM 10-8	569	米国特許出願公開第 20160017295 号明細書	配列番号 31
AAVF1/HSC1	570	国際公開第 2016049230 号	配列番号 20
AAVF2/HSC2	571	国際公開第 2016049230 号	配列番号 21
AAVF3/HSC3	572	国際公開第 2016049230 号	配列番号 22
AAVF4/HSC4	573	国際公開第 2016049230 号	配列番号 23
AAVF5/HSC5	574	国際公開第 2016049230 号	配列番号 25
AAVF6/HSC6	575	国際公開第 2016049230 号	配列番号 24
AAVF7/HSC7	576	国際公開第 2016049230 号	配列番号 27
AAVF8/HSC8	577	国際公開第 2016049230 号	配列番号 28
AAVF9/HSC9	578	国際公開第 2016049230 号	配列番号 29
AAVF11/HSC11	579	国際公開第 2016049230 号	配列番号 26
AAVF12/HSC12	580	国際公開第 2016049230 号	配列番号 30
AAVF13/HSC13	581	国際公開第 2016049230 号	配列番号 31
AAVF14/HSC14	582	国際公開第 2016049230 号	配列番号 32
AAVF15/HSC15	583	国際公開第 2016049230 号	配列番号 33
AAVF16/HSC16	584	国際公開第 2016049230 号	配列番号 34
AAVF17/HSC17	585	国際公開第 2016049230 号	配列番号 35
AAVF1/HSC1	586	国際公開第 2016049230 号	配列番号 2
AAVF2/HSC2	587	国際公開第 2016049230 号	配列番号 3
AAVF3/HSC3	588	国際公開第 2016049230 号	配列番号 5
AAVF4/HSC4	589	国際公開第 2016049230 号	配列番号 6
AAVF5/HSC5	590	国際公開第 2016049230 号	配列番号 11
AAVF6/HSC6	591	国際公開第 2016049230 号	配列番号 7
AAVF7/HSC7	592	国際公開第 2016049230 号	配列番号 8
AAVF8/HSC8	593	国際公開第 2016049230 号	配列番号 9
AAVF9/HSC9	594	国際公開第 2016049230 号	配列番号 10
AAVF11/HSC11	595	国際公開第 2016049230 号	配列番号 4
AAVF12/HSC12	596	国際公開第 2016049230 号	配列番号 12
AAVF13/HSC13	597	国際公開第 2016049230 号	配列番号 14
AAVF14/HSC14	598	国際公開第 2016049230 号	配列番号 15
AAVF15/HSC15	599	国際公開第 2016049230 号	配列番号 16

【表 1 - 1 6】

AAVF16/HSC16	600	国際公開第 2016049230 号 配列番号 17
AAVF17/HSC17	601	国際公開第 2016049230 号 配列番号 13
AAV CBr-E1	602	米国特許第 8734809 号明細書 配列番号 13
AAV CBr-E2	603	米国特許第 8734809 号明細書 配列番号 14
AAV CBr-E3	604	米国特許第 8734809 号明細書 配列番号 15
AAV CBr-E4	605	米国特許第 8734809 号明細書 配列番号 16
AAV CBr-E5	606	米国特許第 8734809 号明細書 配列番号 17
AAV CBr-e5	607	米国特許第 8734809 号明細書 配列番号 18
AAV CBr-E6	608	米国特許第 8734809 号明細書 配列番号 19
AAV CBr-E7	609	米国特許第 8734809 号明細書 配列番号 20
AAV CBr-E8	610	米国特許第 8734809 号明細書 配列番号 21
AAV CLv-D1	611	米国特許第 8734809 号明細書 配列番号 22
AAV CLv-D2	612	米国特許第 8734809 号明細書 配列番号 23
AAV CLv-D3	613	米国特許第 8734809 号明細書 配列番号 24
AAV CLv-D4	614	米国特許第 8734809 号明細書 配列番号 25
AAV CLv-D5	615	米国特許第 8734809 号明細書 配列番号 26
AAV CLv-D6	616	米国特許第 8734809 号明細書 配列番号 27
AAV CLv-D7	617	米国特許第 8734809 号明細書 配列番号 28
AAV CLv-D8	618	米国特許第 8734809 号明細書 配列番号 29
AAV CLv-E1	619	米国特許第 8734809 号明細書 配列番号 13
AAV CLv-R1	620	米国特許第 8734809 号明細書 配列番号 30
AAV CLv-R2	621	米国特許第 8734809 号明細書 配列番号 31
AAV CLv-R3	622	米国特許第 8734809 号明細書 配列番号 32
AAV CLv-R4	623	米国特許第 8734809 号明細書 配列番号 33
AAV CLv-R5	624	米国特許第 8734809 号明細書 配列番号 34
AAV CLv-R6	625	米国特許第 8734809 号明細書 配列番号 35
AAV CLv-R7	626	米国特許第 8734809 号明細書 配列番号 36
AAV CLv-R8	627	米国特許第 8734809 号明細書 配列番号 37
AAV CLv-R9	628	米国特許第 8734809 号明細書 配列番号 38
AAV CLg-F1	629	米国特許第 8734809 号明細書 配列番号 39
AAV CLg-F2	630	米国特許第 8734809 号明細書 配列番号 40
AAV CLg-F3	631	米国特許第 8734809 号明細書 配列番号 41
AAV CLg-F4	632	米国特許第 8734809 号明細書 配列番号 42
AAV CLg-F5	633	米国特許第 8734809 号明細書 配列番号 43
AAV CLg-F6	634	米国特許第 8734809 号明細書 配列番号 43
AAV CLg-F7	635	米国特許第 8734809 号明細書 配列番号 44
AAV CLg-F8	636	米国特許第 8734809 号明細書 配列番号 43
AAV CSp-1	637	米国特許第 8734809 号明細書 配列番号 45
AAV CSp-10	638	米国特許第 8734809 号明細書 配列番号 46
AAV CSp-11	639	米国特許第 8734809 号明細書 配列番号 47
AAV CSp-2	640	米国特許第 8734809 号明細書 配列番号 48
AAV CSp-3	641	米国特許第 8734809 号明細書 配列番号 49
AAV CSp-4	642	米国特許第 8734809 号明細書 配列番号 50
AAV CSp-6	643	米国特許第 8734809 号明細書 配列番号 51
AAV CSp-7	644	米国特許第 8734809 号明細書 配列番号 52
AAV CSp-8	645	米国特許第 8734809 号明細書 配列番号 53
AAV CSp-9	646	米国特許第 8734809 号明細書 配列番号 54
AAV CHt-2	647	米国特許第 8734809 号明細書 配列番号 55

【表 1 - 1 7】

AAV CHt-3	648	米国特許第 8734809 号明細書	配列番号 56
AAV CKd-1	649	米国特許第 8734809 号明細書	配列番号 57
AAV CKd-10	650	米国特許第 8734809 号明細書	配列番号 58
AAV CKd-2	651	米国特許第 8734809 号明細書	配列番号 59
AAV CKd-3	652	米国特許第 8734809 号明細書	配列番号 60
AAV CKd-4	653	米国特許第 8734809 号明細書	配列番号 61
AAV CKd-6	654	米国特許第 8734809 号明細書	配列番号 62
AAV CKd-7	655	米国特許第 8734809 号明細書	配列番号 63
AAV CKd-8	656	米国特許第 8734809 号明細書	配列番号 64
AAV CLv-1	657	米国特許第 8734809 号明細書	配列番号 65
AAV CLv-12	658	米国特許第 8734809 号明細書	配列番号 66
AAV CLv-13	659	米国特許第 8734809 号明細書	配列番号 67
AAV CLv-2	660	米国特許第 8734809 号明細書	配列番号 68
AAV CLv-3	661	米国特許第 8734809 号明細書	配列番号 69
AAV CLv-4	662	米国特許第 8734809 号明細書	配列番号 70
AAV CLv-6	663	米国特許第 8734809 号明細書	配列番号 71
AAV CLv-8	664	米国特許第 8734809 号明細書	配列番号 72
AAV CKd-B1	665	米国特許第 8734809 号明細書	配列番号 73
AAV CKd-B2	666	米国特許第 8734809 号明細書	配列番号 74
AAV CKd-B3	667	米国特許第 8734809 号明細書	配列番号 75
AAV CKd-B4	668	米国特許第 8734809 号明細書	配列番号 76
AAV CKd-B5	669	米国特許第 8734809 号明細書	配列番号 77
AAV CKd-B6	670	米国特許第 8734809 号明細書	配列番号 78
AAV CKd-B7	671	米国特許第 8734809 号明細書	配列番号 79
AAV CKd-B8	672	米国特許第 8734809 号明細書	配列番号 80
AAV CKd-H1	673	米国特許第 8734809 号明細書	配列番号 81
AAV CKd-H2	674	米国特許第 8734809 号明細書	配列番号 82
AAV CKd-H3	675	米国特許第 8734809 号明細書	配列番号 83
AAV CKd-H4	676	米国特許第 8734809 号明細書	配列番号 84
AAV CKd-H5	677	米国特許第 8734809 号明細書	配列番号 85
AAV CKd-H6	678	米国特許第 8734809 号明細書	配列番号 77
AAV CHt-1	679	米国特許第 8734809 号明細書	配列番号 86
AAV CLv1-1	680	米国特許第 8734809 号明細書	配列番号 171
AAV CLv1-2	681	米国特許第 8734809 号明細書	配列番号 172
AAV CLv1-3	682	米国特許第 8734809 号明細書	配列番号 173
AAV CLv1-4	683	米国特許第 8734809 号明細書	配列番号 174
AAV Clv1-7	684	米国特許第 8734809 号明細書	配列番号 175
AAV Clv1-8	685	米国特許第 8734809 号明細書	配列番号 176
AAV Clv1-9	686	米国特許第 8734809 号明細書	配列番号 177
AAV Clv1-10	687	米国特許第 8734809 号明細書	配列番号 178
AAV.VR-355	688	米国特許第 8734809 号明細書	配列番号 181
AAV.hu.48R3	689	米国特許第 8734809 号明細書	配列番号 183
AAV CBr-E1	690	米国特許第 8734809 号明細書	配列番号 87
AAV CBr-E2	691	米国特許第 8734809 号明細書	配列番号 88
AAV CBr-E3	692	米国特許第 8734809 号明細書	配列番号 89
AAV CBr-E4	693	米国特許第 8734809 号明細書	配列番号 90
AAV CBr-E5	694	米国特許第 8734809 号明細書	配列番号 91
AAV CBr-e5	695	米国特許第 8734809 号明細書	配列番号 92

【表 1 - 1 8】

AAV CBr-E6	696	米国特許第 8734809 号明細書	配列番号 93
AAV CBr-E7	697	米国特許第 8734809 号明細書	配列番号 94
AAV CBr-E8	698	米国特許第 8734809 号明細書	配列番号 95
AAV CLv-D1	699	米国特許第 8734809 号明細書	配列番号 96
AAV CLv-D2	700	米国特許第 8734809 号明細書	配列番号 97
AAV CLv-D3	701	米国特許第 8734809 号明細書	配列番号 98
AAV CLv-D4	702	米国特許第 8734809 号明細書	配列番号 99
AAV CLv-D5	703	米国特許第 8734809 号明細書	配列番号 100
AAV CLv-D6	704	米国特許第 8734809 号明細書	配列番号 101
AAV CLv-D7	705	米国特許第 8734809 号明細書	配列番号 102
AAV CLv-D8	706	米国特許第 8734809 号明細書	配列番号 103
AAV CLv-E1	707	米国特許第 8734809 号明細書	配列番号 87
AAV CLv-R1	708	米国特許第 8734809 号明細書	配列番号 104
AAV CLv-R2	709	米国特許第 8734809 号明細書	配列番号 105
AAV CLv-R3	710	米国特許第 8734809 号明細書	配列番号 106
AAV CLv-R4	711	米国特許第 8734809 号明細書	配列番号 107
AAV CLv-R5	712	米国特許第 8734809 号明細書	配列番号 108
AAV CLv-R6	713	米国特許第 8734809 号明細書	配列番号 109
AAV CLv-R7	714	米国特許第 8734809 号明細書	配列番号 110
AAV CLv-R8	715	米国特許第 8734809 号明細書	配列番号 111
AAV CLv-R9	716	米国特許第 8734809 号明細書	配列番号 112
AAV CLg-F1	717	米国特許第 8734809 号明細書	配列番号 113
AAV CLg-F2	718	米国特許第 8734809 号明細書	配列番号 114
AAV CLg-F3	719	米国特許第 8734809 号明細書	配列番号 115
AAV CLg-F4	720	米国特許第 8734809 号明細書	配列番号 116
AAV CLg-F5	721	米国特許第 8734809 号明細書	配列番号 117
AAV CLg-F6	722	米国特許第 8734809 号明細書	配列番号 117
AAV CLg-F7	723	米国特許第 8734809 号明細書	配列番号 118
AAV CLg-F8	724	米国特許第 8734809 号明細書	配列番号 117
AAV CSp-1	725	米国特許第 8734809 号明細書	配列番号 119
AAV CSp-10	726	米国特許第 8734809 号明細書	配列番号 120
AAV CSp-11	727	米国特許第 8734809 号明細書	配列番号 121
AAV CSp-2	728	米国特許第 8734809 号明細書	配列番号 122
AAV CSp-3	729	米国特許第 8734809 号明細書	配列番号 123
AAV CSp-4	730	米国特許第 8734809 号明細書	配列番号 124
AAV CSp-6	731	米国特許第 8734809 号明細書	配列番号 125
AAV CSp-7	732	米国特許第 8734809 号明細書	配列番号 126
AAV CSp-8	733	米国特許第 8734809 号明細書	配列番号 127
AAV CSp-9	734	米国特許第 8734809 号明細書	配列番号 128
AAV CHt-2	735	米国特許第 8734809 号明細書	配列番号 129
AAV CHt-3	736	米国特許第 8734809 号明細書	配列番号 130
AAV CKd-1	737	米国特許第 8734809 号明細書	配列番号 131
AAV CKd-10	738	米国特許第 8734809 号明細書	配列番号 132
AAV CKd-2	739	米国特許第 8734809 号明細書	配列番号 133
AAV CKd-3	740	米国特許第 8734809 号明細書	配列番号 134
AAV CKd-4	741	米国特許第 8734809 号明細書	配列番号 135
AAV CKd-6	742	米国特許第 8734809 号明細書	配列番号 136
AAV CKd-7	743	米国特許第 8734809 号明細書	配列番号 137

【表 1 - 1 9】

AAV CKd-8	744	米国特許第 8734809 号明細書	配列番号 138
AAV CLv-1	745	米国特許第 8734809 号明細書	配列番号 139
AAV CLv-12	746	米国特許第 8734809 号明細書	配列番号 140
AAV CLv-13	747	米国特許第 8734809 号明細書	配列番号 141
AAV CLv-2	748	米国特許第 8734809 号明細書	配列番号 142
AAV CLv-3	749	米国特許第 8734809 号明細書	配列番号 143
AAV CLv-4	750	米国特許第 8734809 号明細書	配列番号 144
AAV CLv-6	751	米国特許第 8734809 号明細書	配列番号 145
AAV CLv-8	752	米国特許第 8734809 号明細書	配列番号 146
AAV CKd-B1	753	米国特許第 8734809 号明細書	配列番号 147
AAV CKd-B2	754	米国特許第 8734809 号明細書	配列番号 148
AAV CKd-B3	755	米国特許第 8734809 号明細書	配列番号 149
AAV CKd-B4	756	米国特許第 8734809 号明細書	配列番号 150
AAV CKd-B5	757	米国特許第 8734809 号明細書	配列番号 151
AAV CKd-B6	758	米国特許第 8734809 号明細書	配列番号 152
AAV CKd-B7	759	米国特許第 8734809 号明細書	配列番号 153
AAV CKd-B8	760	米国特許第 8734809 号明細書	配列番号 154
AAV CKd-H1	761	米国特許第 8734809 号明細書	配列番号 155
AAV CKd-H2	762	米国特許第 8734809 号明細書	配列番号 156
AAV CKd-H3	763	米国特許第 8734809 号明細書	配列番号 157
AAV CKd-H4	764	米国特許第 8734809 号明細書	配列番号 158
AAV CKd-H5	765	米国特許第 8734809 号明細書	配列番号 159
AAV CKd-H6	766	米国特許第 8734809 号明細書	配列番号 151
AAV CHt-1	767	米国特許第 8734809 号明細書	配列番号 160
AAV CHt-P2	768	国際公開第 2016065001 号	配列番号 1
AAV CHt-P5	769	国際公開第 2016065001 号	配列番号 2
AAV CHt-P9	770	国際公開第 2016065001 号	配列番号 3
AAV CBr-7.1	771	国際公開第 2016065001 号	配列番号 4
AAV CBr-7.2	772	国際公開第 2016065001 号	配列番号 5
AAV CBr-7.3	773	国際公開第 2016065001 号	配列番号 6
AAV CBr-7.4	774	国際公開第 2016065001 号	配列番号 7
AAV CBr-7.5	775	国際公開第 2016065001 号	配列番号 8
AAV CBr-7.7	776	国際公開第 2016065001 号	配列番号 9
AAV CBr-7.8	777	国際公開第 2016065001 号	配列番号 10
AAV CBr-7.10	778	国際公開第 2016065001 号	配列番号 11
AAV CKd-N3	779	国際公開第 2016065001 号	配列番号 12
AAV CKd-N4	780	国際公開第 2016065001 号	配列番号 13
AAV CKd-N9	781	国際公開第 2016065001 号	配列番号 14
AAV CLv-L4	782	国際公開第 2016065001 号	配列番号 15
AAV CLv-L5	783	国際公開第 2016065001 号	配列番号 16
AAV CLv-L6	784	国際公開第 2016065001 号	配列番号 17
AAV CLv-K1	785	国際公開第 2016065001 号	配列番号 18
AAV CLv-K3	786	国際公開第 2016065001 号	配列番号 19
AAV CLv-K6	787	国際公開第 2016065001 号	配列番号 20
AAV CLv-M1	788	国際公開第 2016065001 号	配列番号 21
AAV CLv-M11	789	国際公開第 2016065001 号	配列番号 22
AAV CLv-M2	790	国際公開第 2016065001 号	配列番号 23
AAV CLv-M5	791	国際公開第 2016065001 号	配列番号 24

【表 1 - 2 0】

AAV CLv-M6	792	国際公開第 2016065001 号	配列番号 25
AAV CLv-M7	793	国際公開第 2016065001 号	配列番号 26
AAV CLv-M8	794	国際公開第 2016065001 号	配列番号 27
AAV CLv-M9	795	国際公開第 2016065001 号	配列番号 28
AAV CHt-P1	796	国際公開第 2016065001 号	配列番号 29
AAV CHt-P6	797	国際公開第 2016065001 号	配列番号 30
AAV CHt-P8	798	国際公開第 2016065001 号	配列番号 31
AAV CHt-6.1	799	国際公開第 2016065001 号	配列番号 32
AAV CHt-6.10	800	国際公開第 2016065001 号	配列番号 33
AAV CHt-6.5	801	国際公開第 2016065001 号	配列番号 34
AAV CHt-6.6	802	国際公開第 2016065001 号	配列番号 35
AAV CHt-6.7	803	国際公開第 2016065001 号	配列番号 36
AAV CHt-6.8	804	国際公開第 2016065001 号	配列番号 37
AAV CSp-8.10	805	国際公開第 2016065001 号	配列番号 38
AAV CSp-8.2	806	国際公開第 2016065001 号	配列番号 39
AAV CSp-8.4	807	国際公開第 2016065001 号	配列番号 40
AAV CSp-8.5	808	国際公開第 2016065001 号	配列番号 41
AAV CSp-8.6	809	国際公開第 2016065001 号	配列番号 42
AAV CSp-8.7	810	国際公開第 2016065001 号	配列番号 43
AAV CSp-8.8	811	国際公開第 2016065001 号	配列番号 44
AAV CSp-8.9	812	国際公開第 2016065001 号	配列番号 45
AAV CBr-B7.3	813	国際公開第 2016065001 号	配列番号 46
AAV CBr-B7.4	814	国際公開第 2016065001 号	配列番号 47
AAV3B	815	国際公開第 2016065001 号	配列番号 48
AAV4	816	国際公開第 2016065001 号	配列番号 49
AAV5	817	国際公開第 2016065001 号	配列番号 50
AAV CHt-P2	818	国際公開第 2016065001 号	配列番号 51
AAV CHt-P5	819	国際公開第 2016065001 号	配列番号 52
AAV CHt-P9	820	国際公開第 2016065001 号	配列番号 53
AAV CBr-7.1	821	国際公開第 2016065001 号	配列番号 54
AAV CBr-7.2	822	国際公開第 2016065001 号	配列番号 55
AAV CBr-7.3	823	国際公開第 2016065001 号	配列番号 56
AAV CBr-7.4	824	国際公開第 2016065001 号	配列番号 57
AAV CBr-7.5	825	国際公開第 2016065001 号	配列番号 58
AAV CBr-7.7	826	国際公開第 2016065001 号	配列番号 59
AAV CBr-7.8	827	国際公開第 2016065001 号	配列番号 60
AAV CBr-7.10	828	国際公開第 2016065001 号	配列番号 61
AAV CKd-N3	829	国際公開第 2016065001 号	配列番号 62
AAV CKd-N4	830	国際公開第 2016065001 号	配列番号 63
AAV CKd-N9	831	国際公開第 2016065001 号	配列番号 64
AAV CLv-L4	832	国際公開第 2016065001 号	配列番号 65
AAV CLv-L5	833	国際公開第 2016065001 号	配列番号 66
AAV CLv-L6	834	国際公開第 2016065001 号	配列番号 67
AAV CLv-K1	835	国際公開第 2016065001 号	配列番号 68
AAV CLv-K3	836	国際公開第 2016065001 号	配列番号 69
AAV CLv-K6	837	国際公開第 2016065001 号	配列番号 70
AAV CLv-M1	838	国際公開第 2016065001 号	配列番号 71
AAV CLv-M11	839	国際公開第 2016065001 号	配列番号 72

【表 1 - 2 1】

AAV CLv-M2	840	国際公開第 2016065001 号	配列番号 73
AAV CLv-M5	841	国際公開第 2016065001 号	配列番号 74
AAV CLv-M6	842	国際公開第 2016065001 号	配列番号 75
AAV CLv-M7	843	国際公開第 2016065001 号	配列番号 76
AAV CLv-M8	844	国際公開第 2016065001 号	配列番号 77
AAV CLv-M9	845	国際公開第 2016065001 号	配列番号 78
AAV CHt-P1	846	国際公開第 2016065001 号	配列番号 79
AAV CHt-P6	847	国際公開第 2016065001 号	配列番号 80
AAV CHt-P8	848	国際公開第 2016065001 号	配列番号 81
AAV CHt-6.1	849	国際公開第 2016065001 号	配列番号 82
AAV CHt-6.10	850	国際公開第 2016065001 号	配列番号 83
AAV CHt-6.5	851	国際公開第 2016065001 号	配列番号 84
AAV CHt-6.6	852	国際公開第 2016065001 号	配列番号 85
AAV CHt-6.7	853	国際公開第 2016065001 号	配列番号 86
AAV CHt-6.8	854	国際公開第 2016065001 号	配列番号 87
AAV CSp-8.10	855	国際公開第 2016065001 号	配列番号 88
AAV CSp-8.2	856	国際公開第 2016065001 号	配列番号 89
AAV CSp-8.4	857	国際公開第 2016065001 号	配列番号 90
AAV CSp-8.5	858	国際公開第 2016065001 号	配列番号 91
AAV CSp-8.6	859	国際公開第 2016065001 号	配列番号 92
AAV CSp-8.7	860	国際公開第 2016065001 号	配列番号 93
AAV CSp-8.8	861	国際公開第 2016065001 号	配列番号 94
AAV CSp-8.9	862	国際公開第 2016065001 号	配列番号 95
AAV CBr-B7.3	863	国際公開第 2016065001 号	配列番号 96
AAV CBr-B7.4	864	国際公開第 2016065001 号	配列番号 97
AAV3B	865	国際公開第 2016065001 号	配列番号 98
AAV4	866	国際公開第 2016065001 号	配列番号 99
AAV5	867	国際公開第 2016065001 号	配列番号 100
AAVPHP.B or G2B-26	868	国際公開第 2015038958 号	配列番号 8 および 13; GenBankALU85156.1
AAVPHP.B	869	国際公開第 2015038958 号	配列番号 9
AAVG2B-13	870	国際公開第 2015038958 号	配列番号 12
AAVTH1.1-32	871	国際公開第 2015038958 号	配列番号 14
AAVTH1.1-35	872	国際公開第 2015038958 号	配列番号 15
PHP.N/PHP.B-DGT	1859	国際公開第 2017100671 号	配列番号 46
PHP.S/G2A12	1860	国際公開第 2017100671 号	配列番号 47
AAV9/hu.14 K449R	1861	国際公開第 2017100671 号	配列番号 45
GPV	1862	米国特許第 9624274 号 B2 明細書	配列番号 192
B19	1863	米国特許第 9624274 号 B2 明細書	配列番号 193
MVM	1864	米国特許第 9624274 号 B2 明細書	配列番号 194
FPV	1865	米国特許第 9624274 号 B2 明細書	配列番号 195
CPV	1866	米国特許第 9624274 号 B2 明細書	配列番号 196
AAV6	1867	米国特許第 9546112 号 B2 明細書	配列番号 5
AAV6	1868	米国特許第 9457103 号 B2 明細書	配列番号 1
AAV2	1869	米国特許第 9457103 号 B2 明細書	配列番号 2
ShH10	1870	米国特許第 9457103 号 B2 明細書	配列番号 3
ShH13	1871	米国特許第 9457103 号 B2 明細書	配列番号 4
ShH10	1872	米国特許第 9457103 号 B2 明細書	配列番号 5

【表 1 - 2 2】

ShH10	1873	米国特許第 9457103 号 B2 明細書 配列番号 6
ShH10	1874	米国特許第 9457103 号 B2 明細書 配列番号 7
ShH10	1875	米国特許第 9457103 号 B2 明細書 配列番号 8
ShH10	1876	米国特許第 9457103 号 B2 明細書 配列番号 9
rh74	1877	米国特許第 9434928 号 B2 明細書 配列番号 1、米国特許出願第 2015023924 号 A1 明細書 配列番号 2
rh74	1878	米国特許第 9434928 号 B2 明細書 配列番号 2、米国特許出願第 2015023924 号 A1 明細書 配列番号 1
AAV8	1879	米国特許第 9434928 号 B2 明細書 配列番号 4
rh74	1880	米国特許第 9434928 号 B2 明細書 配列番号 5
rh74 (RHM4-1)	1881	米国特許出願第 2015023924 号 A1 明細書 配列番号 5、米国特許出願公開第 20160375110 号 A1 明細書 配列番号 4
rh74 (RHM15-1)	1882	米国特許出願第 2015023924 号 A1 明細書 配列番号 6、米国特許出願公開第 20160375110 号 A1 明細書 配列番号 5
rh74 (RHM15-2)	1883	米国特許出願第 2015023924 号 A1 明細書 配列番号 7、米国特許出願公開第 20160375110 号 A1 明細書 配列番号 6
rh74 (RHM15-3/RHM15-5)	1884	米国特許出願第 2015023924 号 A1 明細書 配列番号 8、米国特許出願公開第 20160375110 号 A1 明細書 配列番号 7
rh74 (RHM15-4)	1885	米国特許出願第 2015023924 号 A1 明細書 配列番号 9、米国特許出願公開第 20160375110 号 A1 明細書 配列番号 8
rh74 (RHM15-6)	1886	米国特許出願第 2015023924 号 A1 明細書 配列番号 10、米国特許出願公開第 20160375110 号 A1 明細書 配列番号 9
rh74 (RHM4-1)	1887	米国特許出願第 2015023924 号 A1 明細書 配列番号 11
rh74 (RHM15-1)	1888	米国特許出願第 2015023924 号 A1 明細書 配列番号 12
rh74 (RHM15-2)	1889	米国特許出願第 2015023924 号 A1 明細書 配列番号 13
rh74 (RHM15-3/RHM15-5)	1890	米国特許出願第 2015023924 号 A1 明細書 配列番号 14
rh74 (RHM15-4)	1891	米国特許出願第 2015023924 号 A1 明細書 配列番号 15
rh74 (RHM15-6)	1892	米国特許出願第 2015023924 号 A1 明細書 配列番号 16
AAV2 (肺特異的ポリペプチドを含む)	1893	米国特許出願公開第 20160175389 号 A1 明細書 配列番号 9
AAV2 (特異的ポリペプチドを含む)	1894	米国特許出願公開第 20160175389 号 A1 明細書 配列番号 10
Anc80	1895	米国特許出願公開第 20170051257 号 A1 明細書 配列番号 1
Anc80	1896	米国特許出願公開第 20170051257 号 A1 明細書 配列番号 2
Anc81	1897	米国特許出願公開第 20170051257 号 A1 明細書 配列番号 3
Anc80	1898	米国特許出願公開第 20170051257 号 A1 明細書 配列番号 4
Anc82	1899	米国特許出願公開第 20170051257 号 A1 明細書 配列番号 5
Anc82	1900	米国特許出願公開第 20170051257 号 A1 明細書 配列番号 6
Anc83	1901	米国特許出願公開第 20170051257 号 A1 明細書 配列番号 7
Anc83	1902	米国特許出願公開第 20170051257 号 A1 明細書 配列番号 8
Anc84	1903	米国特許出願公開第 20170051257 号 A1 明細書 配列番号 9
Anc84	1904	米国特許出願公開第 20170051257 号 A1 明細書 配列番号 10
Anc94	1905	米国特許出願公開第 20170051257 号 A1 明細書 配列番号 11
Anc94	1906	米国特許出願公開第 20170051257 号 A1 明細書 配列番号 12
Anc113	1907	米国特許出願公開第 20170051257 号 A1 明細書 配列番号 13
Anc113	1908	米国特許出願公開第 20170051257 号 A1 明細書 配列番号 14
Anc126	1909	米国特許出願公開第 20170051257 号 A1 明細書 配列番号 15
Anc126	1910	米国特許出願公開第 20170051257 号 A1 明細書 配列番号 16
Anc127	1911	米国特許出願公開第 20170051257 号 A1 明細書 配列番号 17

【表 1 - 2 3】

Anc127	1912	米国特許出願公開第 20170051257 号 A1 明細書	配列番号 18
Anc80L27	1913	米国特許出願公開第 20170051257 号 A1 明細書	配列番号 19
Anc80L59	1914	米国特許出願公開第 20170051257 号 A1 明細書	配列番号 20
Anc80L60	1915	米国特許出願公開第 20170051257 号 A1 明細書	配列番号 21
Anc80L62	1916	米国特許出願公開第 20170051257 号 A1 明細書	配列番号 22
Anc80L65	1917	米国特許出願公開第 20170051257 号 A1 明細書	配列番号 23
Anc80L33	1918	米国特許出願公開第 20170051257 号 A1 明細書	配列番号 24
Anc80L36	1919	米国特許出願公開第 20170051257 号 A1 明細書	配列番号 25
Anc80L44	1920	米国特許出願公開第 20170051257 号 A1 明細書	配列番号 26
Anc80L1	1921	米国特許出願公開第 20170051257 号 A1 明細書	配列番号 35
Anc80L1	1922	米国特許出願公開第 20170051257 号 A1 明細書	配列番号 36
AAV-X1	1923	米国特許第 8283151 号 B2 明細書	配列番号 11
AAV-X1b	1924	米国特許第 8283151 号 B2 明細書	配列番号 12
AAV-X5	1925	米国特許第 8283151 号 B2 明細書	配列番号 13
AAV-X19	1926	米国特許第 8283151 号 B2 明細書	配列番号 14
AAV-X21	1927	米国特許第 8283151 号 B2 明細書	配列番号 15
AAV-X22	1928	米国特許第 8283151 号 B2 明細書	配列番号 16
AAV-X23	1929	米国特許第 8283151 号 B2 明細書	配列番号 17
AAV-X24	1930	米国特許第 8283151 号 B2 明細書	配列番号 18
AAV-X25	1931	米国特許第 8283151 号 B2 明細書	配列番号 19
AAV-X26	1932	米国特許第 8283151 号 B2 明細書	配列番号 20
AAV-X1	1933	米国特許第 8283151 号 B2 明細書	配列番号 21
AAV-X1b	1934	米国特許第 8283151 号 B2 明細書	配列番号 22
AAV-X5	1935	米国特許第 8283151 号 B2 明細書	配列番号 23
AAV-X19	1936	米国特許第 8283151 号 B2 明細書	配列番号 24
AAV-X21	1937	米国特許第 8283151 号 B2 明細書	配列番号 25
AAV-X22	1938	米国特許第 8283151 号 B2 明細書	配列番号 26
AAV-X23	1939	米国特許第 8283151 号 B2 明細書	配列番号 27
AAV-X24	1940	米国特許第 8283151 号 B2 明細書	配列番号 28
AAV-X25	1941	米国特許第 8283151 号 B2 明細書	配列番号 29
AAV-X26	1942	米国特許第 8283151 号 B2 明細書	配列番号 30
AAVrh8	1943	国際公開第 2016054554 号 A1	配列番号 8
AAVrh8VP2FC5	1944	国際公開第 2016054554 号 A1	配列番号 9
AAVrh8VP2FC4 4	1945	国際公開第 2016054554 号 A1	配列番号 10
AAVrh8VP2Apo B100	1946	国際公開第 2016054554 号 A1	配列番号 11
AAVrh8VP2RV G	1947	国際公開第 2016054554 号 A1	配列番号 12
AAVrh8VP2Ang iopep-2 VP2	1948	国際公開第 2016054554 号 A1	配列番号 13
AAV9.47VP1.3	1949	国際公開第 2016054554 号 A1	配列番号 14
AAV9.47VP2IC AMg3	1950	国際公開第 2016054554 号 A1	配列番号 15
AAV9.47VP2RV G	1951	国際公開第 2016054554 号 A1	配列番号 16
AAV9.47VP2An giopep-2	1952	国際公開第 2016054554 号 A1	配列番号 17
AAV9.47VP2A- ストリング	1953	国際公開第 2016054554 号 A1	配列番号 18
AAVrh8VP2FC5 VP2	1954	国際公開第 2016054554 号 A1	配列番号 19

【表 1 - 2 4】

AAVrh8VP2FC4 4 VP2	1955	国際公開第 2016054554 号 A1 配列番号 20
AAVrh8VP2Apo B100 VP2	1956	国際公開第 2016054554 号 A1 配列番号 21
AAVrh8VP2RV G VP2	1957	国際公開第 2016054554 号 A1 配列番号 22
AAVrh8VP2Ang iopep-2 VP2	1958	国際公開第 2016054554 号 A1 配列番号 23
AAV9.47VP2IC AMg3 VP2	1959	国際公開第 2016054554 号 A1 配列番号 24
AAV9.47VP2RV G VP2	1960	国際公開第 2016054554 号 A1 配列番号 25
AAV9.47VP2An giopep-2 VP2	1961	国際公開第 2016054554 号 A1 配列番号 26
AAV9.47VP2A- ストリング VP2	1962	国際公開第 2016054554 号 A1 配列番号 27
rAAV-B1	1963	国際公開第 2016054557 号 A1 配列番号 1
rAAV-B2	1964	国際公開第 2016054557 号 A1 配列番号 2
rAAV-B3	1965	国際公開第 2016054557 号 A1 配列番号 3
rAAV-B4	1966	国際公開第 2016054557 号 A1 配列番号 4
rAAV-B1	1967	国際公開第 2016054557 号 A1 配列番号 5
rAAV-B2	1968	国際公開第 2016054557 号 A1 配列番号 6
rAAV-B3	1969	国際公開第 2016054557 号 A1 配列番号 7
rAAV-B4	1970	国際公開第 2016054557 号 A1 配列番号 8
rAAV-L1	1971	国際公開第 2016054557 号 A1 配列番号 9
rAAV-L2	1972	国際公開第 2016054557 号 A1 配列番号 10
rAAV-L3	1973	国際公開第 2016054557 号 A1 配列番号 11
rAAV-L4	1974	国際公開第 2016054557 号 A1 配列番号 12
rAAV-L1	1975	国際公開第 2016054557 号 A1 配列番号 13
rAAV-L2	1976	国際公開第 2016054557 号 A1 配列番号 14
rAAV-L3	1977	国際公開第 2016054557 号 A1 配列番号 15
rAAV-L4	1978	国際公開第 2016054557 号 A1 配列番号 16
AAV9	1979	国際公開第 2016073739 号 A1 配列番号 3
rAAV	1980	国際公開第 2016081811 号 A1 配列番号 1
rAAV	1981	国際公開第 2016081811 号 A1 配列番号 2
rAAV	1982	国際公開第 2016081811 号 A1 配列番号 3
rAAV	1983	国際公開第 2016081811 号 A1 配列番号 4
rAAV	1984	国際公開第 2016081811 号 A1 配列番号 5
rAAV	1985	国際公開第 2016081811 号 A1 配列番号 6
rAAV	1986	国際公開第 2016081811 号 A1 配列番号 7
rAAV	1987	国際公開第 2016081811 号 A1 配列番号 8
rAAV	1988	国際公開第 2016081811 号 A1 配列番号 9
rAAV	1989	国際公開第 2016081811 号 A1 配列番号 10
rAAV	1990	国際公開第 2016081811 号 A1 配列番号 11
rAAV	1991	国際公開第 2016081811 号 A1 配列番号 12
rAAV	1992	国際公開第 2016081811 号 A1 配列番号 13
rAAV	1993	国際公開第 2016081811 号 A1 配列番号 14
rAAV	1994	国際公開第 2016081811 号 A1 配列番号 15
rAAV	1995	国際公開第 2016081811 号 A1 配列番号 16
rAAV	1996	国際公開第 2016081811 号 A1 配列番号 17
rAAV	1997	国際公開第 2016081811 号 A1 配列番号 18
rAAV	1998	国際公開第 2016081811 号 A1 配列番号 19

【表 1 - 2 5】

rAAV	1999	国際公開第 2016081811 号 A1	配列番号 20
rAAV	2000	国際公開第 2016081811 号 A1	配列番号 21
rAAV	2001	国際公開第 2016081811 号 A1	配列番号 22
rAAV	2002	国際公開第 2016081811 号 A1	配列番号 23
rAAV	2003	国際公開第 2016081811 号 A1	配列番号 24
rAAV	2004	国際公開第 2016081811 号 A1	配列番号 25
rAAV	2005	国際公開第 2016081811 号 A1	配列番号 26
rAAV	2006	国際公開第 2016081811 号 A1	配列番号 27
rAAV	2007	国際公開第 2016081811 号 A1	配列番号 28
rAAV	2008	国際公開第 2016081811 号 A1	配列番号 29
rAAV	2009	国際公開第 2016081811 号 A1	配列番号 30
rAAV	2010	国際公開第 2016081811 号 A1	配列番号 31
rAAV	2011	国際公開第 2016081811 号 A1	配列番号 32
rAAV	2012	国際公開第 2016081811 号 A1	配列番号 33
rAAV	2013	国際公開第 2016081811 号 A1	配列番号 34
rAAV	2014	国際公開第 2016081811 号 A1	配列番号 35
rAAV	2015	国際公開第 2016081811 号 A1	配列番号 36
rAAV	2016	国際公開第 2016081811 号 A1	配列番号 37
rAAV	2017	国際公開第 2016081811 号 A1	配列番号 38
rAAV	2018	国際公開第 2016081811 号 A1	配列番号 39
rAAV	2019	国際公開第 2016081811 号 A1	配列番号 40
rAAV	2020	国際公開第 2016081811 号 A1	配列番号 41
rAAV	2021	国際公開第 2016081811 号 A1	配列番号 42
rAAV	2022	国際公開第 2016081811 号 A1	配列番号 43
rAAV	2023	国際公開第 2016081811 号 A1	配列番号 44
rAAV	2024	国際公開第 2016081811 号 A1	配列番号 45
rAAV	2025	国際公開第 2016081811 号 A1	配列番号 46
rAAV	2026	国際公開第 2016081811 号 A1	配列番号 47
rAAV	2027	国際公開第 2016081811 号 A1	配列番号 48
rAAV	2028	国際公開第 2016081811 号 A1	配列番号 49
rAAV	2029	国際公開第 2016081811 号 A1	配列番号 50
rAAV	2030	国際公開第 2016081811 号 A1	配列番号 51
rAAV	2031	国際公開第 2016081811 号 A1	配列番号 52
rAAV	2032	国際公開第 2016081811 号 A1	配列番号 53
rAAV	2033	国際公開第 2016081811 号 A1	配列番号 54
rAAV	2034	国際公開第 2016081811 号 A1	配列番号 55
rAAV	2035	国際公開第 2016081811 号 A1	配列番号 56
rAAV	2036	国際公開第 2016081811 号 A1	配列番号 57
rAAV	2037	国際公開第 2016081811 号 A1	配列番号 58
rAAV	2038	国際公開第 2016081811 号 A1	配列番号 59
rAAV	2039	国際公開第 2016081811 号 A1	配列番号 60
rAAV	2040	国際公開第 2016081811 号 A1	配列番号 61
rAAV	2041	国際公開第 2016081811 号 A1	配列番号 62
rAAV	2042	国際公開第 2016081811 号 A1	配列番号 63
rAAV	2043	国際公開第 2016081811 号 A1	配列番号 64
rAAV	2044	国際公開第 2016081811 号 A1	配列番号 65
rAAV	2045	国際公開第 2016081811 号 A1	配列番号 66
rAAV	2046	国際公開第 2016081811 号 A1	配列番号 67

【表 1 - 2 6】

rAAV	2047	国際公開第 2016081811 号 A1	配列番号 68
rAAV	2048	国際公開第 2016081811 号 A1	配列番号 69
rAAV	2049	国際公開第 2016081811 号 A1	配列番号 70
rAAV	2050	国際公開第 2016081811 号 A1	配列番号 71
rAAV	2051	国際公開第 2016081811 号 A1	配列番号 72
rAAV	2052	国際公開第 2016081811 号 A1	配列番号 73
rAAV	2053	国際公開第 2016081811 号 A1	配列番号 74
rAAV	2054	国際公開第 2016081811 号 A1	配列番号 75
rAAV	2055	国際公開第 2016081811 号 A1	配列番号 76
rAAV	2056	国際公開第 2016081811 号 A1	配列番号 77
rAAV	2057	国際公開第 2016081811 号 A1	配列番号 78
rAAV	2058	国際公開第 2016081811 号 A1	配列番号 79
rAAV	2059	国際公開第 2016081811 号 A1	配列番号 80
rAAV	2060	国際公開第 2016081811 号 A1	配列番号 81
rAAV	2061	国際公開第 2016081811 号 A1	配列番号 82
rAAV	2062	国際公開第 2016081811 号 A1	配列番号 83
rAAV	2063	国際公開第 2016081811 号 A1	配列番号 84
rAAV	2064	国際公開第 2016081811 号 A1	配列番号 85
rAAV	2065	国際公開第 2016081811 号 A1	配列番号 86
rAAV	2066	国際公開第 2016081811 号 A1	配列番号 87
rAAV	2067	国際公開第 2016081811 号 A1	配列番号 88
rAAV	2068	国際公開第 2016081811 号 A1	配列番号 89
rAAV	2069	国際公開第 2016081811 号 A1	配列番号 90
rAAV	2070	国際公開第 2016081811 号 A1	配列番号 91
rAAV	2071	国際公開第 2016081811 号 A1	配列番号 92
rAAV	2072	国際公開第 2016081811 号 A1	配列番号 93
rAAV	2073	国際公開第 2016081811 号 A1	配列番号 94
rAAV	2074	国際公開第 2016081811 号 A1	配列番号 95
rAAV	2075	国際公開第 2016081811 号 A1	配列番号 96
rAAV	2076	国際公開第 2016081811 号 A1	配列番号 97
rAAV	2077	国際公開第 2016081811 号 A1	配列番号 98
rAAV	2078	国際公開第 2016081811 号 A1	配列番号 99
rAAV	2079	国際公開第 2016081811 号 A1	配列番号 100
rAAV	2080	国際公開第 2016081811 号 A1	配列番号 101
rAAV	2081	国際公開第 2016081811 号 A1	配列番号 102
rAAV	2082	国際公開第 2016081811 号 A1	配列番号 103
rAAV	2083	国際公開第 2016081811 号 A1	配列番号 104
rAAV	2084	国際公開第 2016081811 号 A1	配列番号 105
rAAV	2085	国際公開第 2016081811 号 A1	配列番号 106
rAAV	2086	国際公開第 2016081811 号 A1	配列番号 107
rAAV	2087	国際公開第 2016081811 号 A1	配列番号 108
rAAV	2088	国際公開第 2016081811 号 A1	配列番号 109
rAAV	2089	国際公開第 2016081811 号 A1	配列番号 110
rAAV	2090	国際公開第 2016081811 号 A1	配列番号 111
rAAV	2091	国際公開第 2016081811 号 A1	配列番号 112
rAAV	2092	国際公開第 2016081811 号 A1	配列番号 113
rAAV	2093	国際公開第 2016081811 号 A1	配列番号 114
rAAV	2094	国際公開第 2016081811 号 A1	配列番号 115

【表 1 - 2 7】

rAAV	2095	国際公開第 2016081811 号 A1	配列番号 116
rAAV	2096	国際公開第 2016081811 号 A1	配列番号 117
rAAV	2097	国際公開第 2016081811 号 A1	配列番号 118
rAAV	2098	国際公開第 2016081811 号 A1	配列番号 119
rAAV	2099	国際公開第 2016081811 号 A1	配列番号 120
rAAV	2100	国際公開第 2016081811 号 A1	配列番号 121
rAAV	2101	国際公開第 2016081811 号 A1	配列番号 122
rAAV	2102	国際公開第 2016081811 号 A1	配列番号 123
rAAV	2103	国際公開第 2016081811 号 A1	配列番号 124
rAAV	2104	国際公開第 2016081811 号 A1	配列番号 125
rAAV	2105	国際公開第 2016081811 号 A1	配列番号 126
rAAV	2106	国際公開第 2016081811 号 A1	配列番号 127
rAAV	2107	国際公開第 2016081811 号 A1	配列番号 128
AAV8 E532K	2108	国際公開第 2016081811 号 A1	配列番号 133
AAV8 E532K	2109	国際公開第 2016081811 号 A1	配列番号 134
rAAV4	2110	国際公開第 2016115382 号 A1	配列番号 2
rAAV4	2111	国際公開第 2016115382 号 A1	配列番号 3
rAAV4	2112	国際公開第 2016115382 号 A1	配列番号 4
rAAV4	2113	国際公開第 2016115382 号 A1	配列番号 5
rAAV4	2114	国際公開第 2016115382 号 A1	配列番号 6
rAAV4	2115	国際公開第 2016115382 号 A1	配列番号 7
rAAV4	2116	国際公開第 2016115382 号 A1	配列番号 8
rAAV4	2117	国際公開第 2016115382 号 A1	配列番号 9
rAAV4	2118	国際公開第 2016115382 号 A1	配列番号 10
rAAV4	2119	国際公開第 2016115382 号 A1	配列番号 11
rAAV4	2120	国際公開第 2016115382 号 A1	配列番号 12
rAAV4	2121	国際公開第 2016115382 号 A1	配列番号 13
rAAV4	2122	国際公開第 2016115382 号 A1	配列番号 14
rAAV4	2123	国際公開第 2016115382 号 A1	配列番号 15
rAAV4	2124	国際公開第 2016115382 号 A1	配列番号 16
rAAV4	2125	国際公開第 2016115382 号 A1	配列番号 17
rAAV4	2126	国際公開第 2016115382 号 A1	配列番号 18
rAAV4	2127	国際公開第 2016115382 号 A1	配列番号 19
rAAV4	2128	国際公開第 2016115382 号 A1	配列番号 20
rAAV4	2129	国際公開第 2016115382 号 A1	配列番号 21
AAV11	2130	国際公開第 2016115382 号 A1	配列番号 22
AAV12	2131	国際公開第 2016115382 号 A1	配列番号 23
rh32	2132	国際公開第 2016115382 号 A1	配列番号 25
rh33	2133	国際公開第 2016115382 号 A1	配列番号 26
rh34	2134	国際公開第 2016115382 号 A1	配列番号 27
rAAV4	2135	国際公開第 2016115382 号 A1	配列番号 28
rAAV4	2136	国際公開第 2016115382 号 A1	配列番号 29
rAAV4	2137	国際公開第 2016115382 号 A1	配列番号 30
rAAV4	2138	国際公開第 2016115382 号 A1	配列番号 31
rAAV4	2139	国際公開第 2016115382 号 A1	配列番号 32
rAAV4	2140	国際公開第 2016115382 号 A1	配列番号 33
AAV2/8	2141	国際公開第 2016131981 号 A1	配列番号 47
AAV2/8	2142	国際公開第 2016131981 号 A1	配列番号 48

【表 1 - 2 8】

先祖 AAV	2143	国際公開第 2016154344 号 A1 配列番号 7
先祖 AAV バリ アント C4	2144	国際公開第 2016154344 号 A1 配列番号 13
先祖 AAV バリ アント C7	2145	国際公開第 2016154344 号 A1 配列番号 14
先祖 AAV バリ アント G4	2146	国際公開第 2016154344 号 A1 配列番号 15
先祖 AAV バリ アント C4、C7 および G4 のコ ンセンサスアミ ノ酸配列	2147	国際公開第 2016154344 号 A1 配列番号 16
先祖 AAV バリ アント C4 およ び C7 のコンセ ンサスアミノ酸 配列	2148	国際公開第 2016154344 号 A1 配列番号 17
AAV8(AAV2 ホ スホリパーゼド メインを有す る)	2149	国際公開第 2016150403 号 A1 配列番号 13
AAV VR-942n	2150	米国特許出願公開第 20160289275 号 A1 明細書 配列番号 10
AAV5-A (M569V)	2151	米国特許出願公開第 20160289275 号 A1 明細書 配列番号 13
AAV5-A (M569V)	2152	米国特許出願公開第 20160289275 号 A1 明細書 配列番号 14
AAV5-A (Y585V)	2153	米国特許出願公開第 20160289275 号 A1 明細書 配列番号 16
AAV5-A (Y585V)	2154	米国特許出願公開第 20160289275 号 A1 明細書 配列番号 17
AAV5-A (L587T)	2155	米国特許出願公開第 20160289275 号 A1 明細書 配列番号 19
AAV5-A (L587T)	2156	米国特許出願公開第 20160289275 号 A1 明細書 配列番号 20
AAV5-A (Y585V/L587T)	2157	米国特許出願公開第 20160289275 号 A1 明細書 配列番号 22
AAV5-A (Y585V/L587T)	2158	米国特許出願公開第 20160289275 号 A1 明細書 配列番号 23
AAV5-B (D652A)	2159	米国特許出願公開第 20160289275 号 A1 明細書 配列番号 25
AAV5-B (D652A)	2160	米国特許出願公開第 20160289275 号 A1 明細書 配列番号 26
AAV5-B (T362M)	2161	米国特許出願公開第 20160289275 号 A1 明細書 配列番号 28
AAV5-B (T362M)	2162	米国特許出願公開第 20160289275 号 A1 明細書 配列番号 29
AAV5-B (Q359D)	2163	米国特許出願公開第 20160289275 号 A1 明細書 配列番号 31
AAV5-B (Q359D)	2164	米国特許出願公開第 20160289275 号 A1 明細書 配列番号 32
AAV5-B (E350Q)	2165	米国特許出願公開第 20160289275 号 A1 明細書 配列番号 34
AAV5-B (E350Q)	2166	米国特許出願公開第 20160289275 号 A1 明細書 配列番号 35
AAV5-B (P533S)	2167	米国特許出願公開第 20160289275 号 A1 明細書 配列番号 37
AAV5-B (P533S)	2168	米国特許出願公開第 20160289275 号 A1 明細書 配列番号 38
AAV5-B (P533G)	2169	米国特許出願公開第 20160289275 号 A1 明細書 配列番号 40

【表 1 - 2 9】

AAV5-B (P533G)	2170	米国特許出願公開第 20160289275 号 A1 明細書 配列番号 41
ループ VII における AAV5 突然変異	2171	米国特許出願公開第 20160289275 号 A1 明細書 配列番号 43
ループ VII における AAV5 突然変異	2172	米国特許出願公開第 20160289275 号 A1 明細書 配列番号 44
AAV8	2173	米国特許出願公開第 20160289275 号 A1 明細書 配列番号 47
Mut A (LK03/AAV8)	2174	国際公開第 2016181123 号 A1 配列番号 1
Mut B (LK03/AAV5)	2175	国際公開第 2016181123 号 A1 配列番号 2
Mut C (AAV8/AAV3B)	2176	国際公開第 2016181123 号 A1 配列番号 3
Mut D (AAV5/AAV3B)	2177	国際公開第 2016181123 号 A1 配列番号 4
Mut E (AAV8/AAV3B)	2178	国際公開第 2016181123 号 A1 配列番号 5
Mut F (AAV3B/AAV8)	2179	国際公開第 2016181123 号 A1 配列番号 6
AAV44.9	2180	国際公開第 2016183297 号 A1 配列番号 4
AAV44.9	2181	国際公開第 2016183297 号 A1 配列番号 5
AAVrh8	2182	国際公開第 2016183297 号 A1 配列番号 6
AAV44.9 (S470N)	2183	国際公開第 2016183297 号 A1 配列番号 9
rh74 VP1	2184	米国特許出願公開第 20160375110 号 A1 明細書 配列番号 1
AAV-LK03 (L125I)	2185	国際公開第 2017015102 号 A1 配列番号 5
AAV3B (S663V+T492V)	2186	国際公開第 2017015102 号 A1 配列番号 6
Anc80	2187	国際公開第 2017019994 号 A2 配列番号 1
Anc80	2188	国際公開第 2017019994 号 A2 配列番号 2
Anc81	2189	国際公開第 2017019994 号 A2 配列番号 3
Anc81	2190	国際公開第 2017019994 号 A2 配列番号 4
Anc82	2191	国際公開第 2017019994 号 A2 配列番号 5
Anc82	2192	国際公開第 2017019994 号 A2 配列番号 6
Anc83	2193	国際公開第 2017019994 号 A2 配列番号 7
Anc83	2194	国際公開第 2017019994 号 A2 配列番号 8
Anc84	2195	国際公開第 2017019994 号 A2 配列番号 9
Anc84	2196	国際公開第 2017019994 号 A2 配列番号 10
Anc94	2197	国際公開第 2017019994 号 A2 配列番号 11
Anc94	2198	国際公開第 2017019994 号 A2 配列番号 12
Anc113	2199	国際公開第 2017019994 号 A2 配列番号 13
Anc113	2200	国際公開第 2017019994 号 A2 配列番号 14
Anc126	2201	国際公開第 2017019994 号 A2 配列番号 15
Anc126	2202	国際公開第 2017019994 号 A2 配列番号 16
Anc127	2203	国際公開第 2017019994 号 A2 配列番号 17
Anc127	2204	国際公開第 2017019994 号 A2 配列番号 18
Anc80L27	2205	国際公開第 2017019994 号 A2 配列番号 19
Anc80L59	2206	国際公開第 2017019994 号 A2 配列番号 20
Anc80L60	2207	国際公開第 2017019994 号 A2 配列番号 21
Anc80L62	2208	国際公開第 2017019994 号 A2 配列番号 22

【表 1 - 3 0】

Anc80L65	2209	国際公開第 2017019994 号 A2	配列番号 23
Anc80L33	2210	国際公開第 2017019994 号 A2	配列番号 24
Anc80L36	2211	国際公開第 2017019994 号 A2	配列番号 25
Anc80L44	2212	国際公開第 2017019994 号 A2	配列番号 26
Anc80L1	2213	国際公開第 2017019994 号 A2	配列番号 35
Anc80L1	2214	国際公開第 2017019994 号 A2	配列番号 36
AAVrh10	2215	国際公開第 2017019994 号 A2	配列番号 41
Anc110	2216	国際公開第 2017019994 号 A2	配列番号 42
Anc110	2217	国際公開第 2017019994 号 A2	配列番号 43
AAVrh32.33	2218	国際公開第 2017019994 号 A2	配列番号 45
AAVrh74	2219	国際公開第 2017049031 号 A1	配列番号 1
AAV2	2220	国際公開第 2017053629 号 A2	配列番号 49
AAV2	2221	国際公開第 2017053629 号 A2	配列番号 50
AAV2	2222	国際公開第 2017053629 号 A2	配列番号 82
バルボ様ウイルス	2223	国際公開第 2017070476 号 A2	配列番号 1
バルボ様ウイルス	2224	国際公開第 2017070476 号 A2	配列番号 2
バルボ様ウイルス	2225	国際公開第 2017070476 号 A2	配列番号 3
バルボ様ウイルス	2226	国際公開第 2017070476 号 A2	配列番号 4
バルボ様ウイルス	2227	国際公開第 2017070476 号 A2	配列番号 5
バルボ様ウイルス	2228	国際公開第 2017070476 号 A2	配列番号 6
AAVrh.10	2229	国際公開第 2017070516 号 A1	配列番号 7
AAVrh.10	2230	国際公開第 2017070516 号 A1	配列番号 14
AAV2tYF	2231	国際公開第 2017070491 号 A1	配列番号 1
AAV-SPK	2232	国際公開第 2017075619 号 A1	配列番号:28
AAV2.5	2233	米国特許出願公開第 20170128528 号 A1 明細書	配列番号 13
AAV1.1	2234	米国特許出願公開第 20170128528 号 A1 明細書	配列番号 15
AAV6.1	2235	米国特許出願公開第 20170128528 号 A1 明細書	配列番号 17
AAV6.3.1	2236	米国特許出願公開第 20170128528 号 A1 明細書	配列番号 18
AAV2i8	2237	米国特許出願公開第 20170128528 号 A1 明細書	配列番号 28
AAV2i8	2238	米国特許出願公開第 20170128528 号 A1 明細書	配列番号 29
ttAAV	2239	米国特許出願公開第 20170128528 号 A1 明細書	配列番号 30
ttAAV-S312N	2240	米国特許出願公開第 20170128528 号 A1 明細書	配列番号 32
ttAAV-S312N	2241	米国特許出願公開第 20170128528 号 A1 明細書	配列番号 33
AAV6 (Y705、Y731、および T492)	2242	国際公開第 2016134337 号 A1	配列番号 24
AAV2	2243	国際公開第 2016134375 号 A1	配列番号 9
AAV2	2244	国際公開第 2016134375 号 A1	配列番号 10

10

20

30

40

50

表 1 に挙げられる特許、出願および／または公報の各々は、本明細書によって全体として参照により援用される。

【0163】

一実施形態において、AAV 血清型は、限定はされないが、AAV9（国際公開第 2015038958 号パンフレットの配列番号 2 および 11 または本明細書におけるそれぞれ配列番号 127 および 126）、PHP.B（国際公開第 2015038958 号パン

フレットの配列番号8および9、本明細書における配列番号868および869)、G2B-13(国際公開第2015038958号パンフレットの配列番号12、本明細書における配列番号870)、G2B-26(国際公開第2015038958号パンフレットの配列番号13、本明細書における配列番号868および869)、TH1.1-32(国際公開第2015038958号パンフレットの配列番号14、本明細書における配列番号871)、TH1.1-35(国際公開第2015038958号パンフレットの配列番号15、本明細書における配列番号872)またはこれらのバリエーションなど、国際公開第2015038958号パンフレット(この内容は本明細書において全体として参照により援用される)に記載されるとおりの配列であってもよく、またはそれを有してもよい。更に、国際公開第2015038958号パンフレットに記載されるターゲティングペプチドまたはアミノ酸インサートのいずれかが、限定はされないが、AAV9(DNA配列について配列番号126およびアミノ酸配列について配列番号127)など、任意の親AAV血清型に挿入されてもよい。一実施形態において、アミノ酸インサートは親AAV(例えばAAV9)のアミノ酸586~592に挿入される。別の実施形態において、アミノ酸インサートは親AAV配列のアミノ酸588~589に挿入される。アミノ酸インサートは、限定はされないが、以下のアミノ酸配列、TLAVPFK(国際公開第2015038958号パンフレットの配列番号1;本明細書における配列番号873)、KFPVALT(国際公開第2015038958号パンフレットの配列番号3;本明細書における配列番号874)、LAVPFK(国際公開第2015038958号パンフレットの配列番号31;本明細書における配列番号875)、AVPFK(国際公開第2015038958号パンフレットの配列番号32;本明細書における配列番号876)、VPFK(国際公開第2015038958号パンフレットの配列番号33;本明細書における配列番号877)、TLAVPF(国際公開第2015038958号パンフレットの配列番号34;本明細書における配列番号878)、TLAVP(国際公開第2015038958号パンフレットの配列番号35;本明細書における配列番号879)、TLAV(国際公開第2015038958号パンフレットの配列番号36;本明細書における配列番号880)、SVSKPFL(国際公開第2015038958号パンフレットの配列番号28;本明細書における配列番号881)、FTLTTPK(国際公開第2015038958号パンフレットの配列番号29;本明細書における配列番号882)、MNATKNV(国際公開第2015038958号パンフレットの配列番号30;本明細書における配列番号883)、QSSQTPr(国際公開第2015038958号パンフレットの配列番号54;本明細書における配列番号884)、ILGTGTS(国際公開第2015038958号パンフレットの配列番号55;本明細書における配列番号885)、TRTNPEA(国際公開第2015038958号パンフレットの配列番号56;本明細書における配列番号886)、NGGTSSS(国際公開第2015038958号パンフレットの配列番号58;本明細書における配列番号887)、またはYTL SQGW(国際公開第2015038958号パンフレットの配列番号60;本明細書における配列番号888)のいずれかであってもよい。アミノ酸インサートをコードし得るヌクレオチド配列の非限定的な例としては、以下、AAGTTTCTCTGTGGCGTTGACT(国際公開第2015038958号パンフレットの配列番号3について;本明細書における配列番号889)、ACTTTGGCGGTGCTTTTAAAG(国際公開第2015038958号パンフレットの配列番号24および49;本明細書における配列番号890)、AGTG TGA GTAA GCGCTTTT T TG(国際公開第2015038958号パンフレットの配列番号25;本明細書における配列番号891)、TTTACGT TGA CGAC GCGCTAAAG(国際公開第2015038958号パンフレットの配列番号26;本明細書における配列番号892)、ATGAATGCTACGAAGAATGTG(国際公開第2015038958号パンフレットの配列番号27;本明細書における配列番号893)、CAGTCGTCTGCA GAC GCGCTAGG(国際公開第2015038958号パンフレットの配列番号48;本明細書における配列番号894)、ATTCTGGGGACTGGTACTTCG(国際公開第20150

38958号パンフレットの配列番号50および52；本明細書における配列番号895）、ACGCGGACTAATCCTGAGGCT（国際公開第2015038958号パンフレットの配列番号51；本明細書における配列番号896）、AATGGGGGAGCTAGTAGTTCT（国際公開第2015038958号パンフレットの配列番号53；本明細書における配列番号897）、またはTATACTTTGTCGCAGGTTGG（国際公開第2015038958号パンフレットの配列番号59；本明細書における配列番号898）が挙げられる。

【0164】

一実施形態において、AAV血清型は、限定はされないが、SADNNNSEY（配列番号899）、LIDQYLYYL（配列番号900）、VPQYGYLTL（配列番号901）、TTSTRTWAL（配列番号902）、YHLNGRDSL（配列番号903）、SQA VGRSSF（配列番号904）、VPANPSTTF（配列番号905）、FPQSGVLIF（配列番号906）、YFDFNRFHCHFS PRD（配列番号907）、VGNS SGNWHCDSTWM（配列番号908）、QFSQAGASDIRDQSR（配列番号909）、GASDIRQSRNWL P（配列番号910）およびGNRQAATADVNTQGV（配列番号911）など、AAV2の少なくとも1つのAAVカプシドCD8+ T細胞エピトープを含むように操作されてもよい。

【0165】

一実施形態において、AAV血清型は、限定はされないが、LDRLMNPLI（配列番号912）、TTSTRTWAL（配列番号902）、およびQPAKKRLNF（配列番号913）など、AAV1の少なくとも1つのAAVカプシドCD8+ T細胞エピトープを含むように操作されてもよい。

【0166】

一実施形態において、AAV血清型は、限定はされないが、AAV9（国際公開第2017100671号パンフレットの配列番号45、本明細書における配列番号1861）、PHP.N（国際公開第2017100671号パンフレットの配列番号46、本明細書における配列番号1859）、PHP.S（国際公開第2017100671号パンフレットの配列番号47、本明細書における配列番号1860）、またはそれらのバリエーションなど、国際公開第2017100671号パンフレット（その内容は本明細書において全体として参照によって援用される）に記載されるとおりの配列であってもよくまたはそれを有してしてもよい。更に、国際公開第2017100671号パンフレットに記載されるターゲティングペプチドまたはアミノ酸インサートのいずれかが、限定はされないが、AAV9（配列番号127または配列番号1861）など、任意の親AAV血清型に挿入されてもよい。一実施形態において、アミノ酸インサートは、親AAV（例えば、AAV9）のアミノ酸586～592に挿入される。別の実施形態において、アミノ酸インサートは、親AAV配列のアミノ酸588～589に挿入される。アミノ酸インサートは、限定はされないが、以下のアミノ酸配列、AQT LAVPFKAQ（国際公開第2017100671号パンフレットの配列番号1；本明細書における配列番号2245）、AQSVSKPFLAQ（国際公開第2017100671号パンフレットの配列番号2；本明細書における配列番号2246）、AQFTLTTPKAQ（国際公開第2017100671号パンフレットの配列表の配列番号3；本明細書における配列番号2247）、DGT LAVPFKAQ（国際公開第2017100671号パンフレットの配列表の配列番号4；本明細書における配列番号2248）、EST LAVPFKAQ（国際公開第2017100671号パンフレットの配列番号5；本明細書における配列番号2249）、GGT LAVPFKAQ（国際公開第2017100671号パンフレットの配列番号6；本明細書における配列番号2250）、AQT LATPFKAQ（国際公開第2017100671号パンフレットの配列番号7および33；本明細書における配列番号2251）、ATTLATPFKAQ（国際公開第2017100671号パンフレットの配列番号8；本明細書における配列番号2252）、DGT LATPFKAQ（国際公開第2017100671号パンフレットの配列番号9；本明細書における配列番号225

10

20

30

40

50

3)、GGTLATPFKAQ (国際公開第2017100671号パンフレットの配列番号10; 本明細書における配列番号2254)、SGSLAVPFKAQ (国際公開第2017100671号パンフレットの配列番号11; 本明細書における配列番号2255)、AQTLAQPFKAQ (国際公開第2017100671号パンフレットの配列番号12; 本明細書における配列番号2256)、AQTLQQPFKAQ (国際公開第2017100671号パンフレットの配列番号13; 本明細書における配列番号2257)、AQTL SNPFKAQ (国際公開第2017100671号パンフレットの配列番号14; 本明細書における配列番号2258)、AQTLAVPF SNP (国際公開第2017100671号パンフレットの配列番号15; 本明細書における配列番号2259)、QGTLAVPFKAQ (国際公開第2017100671号パンフレットの配列番号16; 本明細書における配列番号2260)、NQTLAVPFKAQ (国際公開第2017100671号パンフレットの配列番号17; 本明細書における配列番号2261)、EGSLAVPFKAQ (国際公開第2017100671号パンフレットの配列番号18; 本明細書における配列番号2262)、SGNLAVPFKAQ (国際公開第2017100671号パンフレットの配列番号19; 本明細書における配列番号2263)、EGTLAVPFKAQ (国際公開第2017100671号パンフレットの配列番号20; 本明細書における配列番号2264)、DSTLAVPFKAQ (国際公開第2017100671号パンフレットの表1の配列番号21; 本明細書における配列番号2265)、AVTLAVPFKAQ (国際公開第2017100671号パンフレットの配列番号22; 本明細書における配列番号2266)、AQTLSTPFKAQ (国際公開第2017100671号パンフレットの配列番号23; 本明細書における配列番号2267)、AQTL PQPFKAQ (国際公開第2017100671号パンフレットの配列番号24および32; 本明細書における配列番号2268)、AQTL SQPFKAQ (国際公開第2017100671号パンフレットの配列番号25; 本明細書における配列番号2269)、AQTLQLPFKAQ (国際公開第2017100671号パンフレットの配列番号26; 本明細書における配列番号2270)、AQTLTMPFKAQ (国際公開第2017100671号パンフレットの配列番号27および34、ならびに国際公開第2017100671号パンフレットの配列表の配列番号35; 本明細書における配列番号2271)、AQTLTTPFKAQ (国際公開第2017100671号パンフレットの配列番号28; 本明細書における配列番号2272)、AQYTL SQGWAQ (国際公開第2017100671号パンフレットの配列番号29; 本明細書における配列番号2273)、AQMNATKNVAQ (国際公開第2017100671号パンフレットの配列番号30; 本明細書における配列番号2274)、AQVSGGHHS AQ (国際公開第2017100671号パンフレットの配列番号31; 本明細書における配列番号2275)、AQTLTAPFKAQ (国際公開第2017100671号パンフレットの表1の配列番号35; 本明細書における配列番号2276)、AQTL SKPFKAQ (国際公開第2017100671号パンフレットの配列番号36; 本明細書における配列番号2277)、QAVRTSL (国際公開第2017100671号パンフレットの配列番号37; 本明細書における配列番号2278)、YTL SQGW (国際公開第2017100671号パンフレットの配列番号38; 本明細書における配列番号888)、LAKERLS (国際公開第2017100671号パンフレットの配列番号39; 本明細書における配列番号2279)、TLAVPFK (国際公開第2017100671号パンフレットの配列表の配列番号40; 本明細書における配列番号873)、SVSKPFL (国際公開第2017100671号パンフレットの配列番号41; 本明細書における配列番号881)、FTLTTPK (国際公開第2017100671号パンフレットの配列番号42; 本明細書における配列番号882)、MNSTKNV (国際公開第2017100671号パンフレットの配列番号43; 本明細書における配列番号2280)、VSGGHS (国際公開第2017100671号パンフレットの配列番号44; 本明細書における配列番号2281)、SAQTLAVPFKAQAQ (国際公開第2017100671号パンフレットの配列番号48; 本明細書における配列

番号2282)、SXXXXLAVPFKAQAQ(国際公開第2017100671号パンフレットの配列番号49、式中Xは任意のアミノ酸であってもよい；本明細書における配列番号2283)、SAQXXXVPFKAQAQ(国際公開第2017100671号パンフレットの配列番号50、式中Xは任意のアミノ酸であってもよい；本明細書における配列番号2284)、SAQTLXXXXFKAQAQ(国際公開第2017100671号パンフレットの配列番号51、式中Xは任意のアミノ酸であってもよい；本明細書における配列番号2285)、SAQTLAVXXXXAQAQ(国際公開第2017100671号パンフレットの配列番号52、式中Xは任意のアミノ酸であってもよい；本明細書における配列番号2286)、SAQTLAVPFXXXXAQAQ(国際公開第2017100671号パンフレットの配列番号53、式中Xは任意のアミノ酸であってもよい；本明細書における配列番号2287)、TNHQSAQ(国際公開第2017100671号パンフレットの配列番号65；本明細書における配列番号2288)、AQAQTGW(国際公開第2017100671号パンフレットの配列番号66；本明細書における配列番号2289)、DGTLATPFK(国際公開第2017100671号パンフレットの配列番号67；本明細書における配列番号2290)、DGTLATPFKXX(国際公開第2017100671号パンフレットの配列番号68、式中Xは任意のアミノ酸であってもよい；本明細書における配列番号2291)、LAVPFKAQ(国際公開第2017100671号パンフレットの配列番号80；本明細書における配列番号2292)、VPFKAQ(国際公開第2017100671号パンフレットの配列番号81；本明細書における配列番号2293)、FKAQ(国際公開第2017100671号パンフレットの配列番号82；本明細書における配列番号2294)、AQTLAV(国際公開第2017100671号パンフレットの配列番号83；本明細書における配列番号2295)、AQTLAVPF(国際公開第2017100671号パンフレットの配列番号84；本明細書における配列番号2296)、QAVR(国際公開第2017100671号パンフレットの配列番号85；本明細書における配列番号2297)、AVRT(国際公開第2017100671号パンフレットの配列番号86；本明細書における配列番号2298)、VRTS(国際公開第2017100671号パンフレットの配列番号87；本明細書における配列番号2299)、RTSL(国際公開第2017100671号パンフレットの配列番号88；本明細書における配列番号2300)、QAVRT(国際公開第2017100671号パンフレットの配列番号89；本明細書における配列番号2301)、AVRTS(国際公開第2017100671号パンフレットの配列番号90；本明細書における配列番号2302)、VRTSL(国際公開第2017100671号パンフレットの配列番号91；本明細書における配列番号2303)、QAVRTS(国際公開第2017100671号パンフレットの配列番号92；本明細書における配列番号2304)、またはAVRTSL(国際公開第2017100671号パンフレットの配列番号93；本明細書における配列番号2305)のいずれであってもよい。

【0167】

アミノ酸インサートをコードし得るヌクレオチド配列の非限定的な例としては、以下、GATGGGACTTTGGCGGTGCCCTTTTAAGGCACAG(国際公開第2017100671号パンフレットの配列番号54；本明細書における配列番号2306)、GATGGGACGTTGGCGGTGCCCTTTTAAGGCACAG(国際公開第2017100671号パンフレットの配列番号55；本明細書における配列番号2307)、CAGGCGGTTAGGACGTCCTTTG(国際公開第2017100671号パンフレットの配列番号56；本明細書における配列番号2308)、CAGGTCCTTCACGGACTCAGACTATCAG(国際公開第2017100671号パンフレットの配列番号57および78；本明細書における配列番号2309)、CAAGTAAACCTCTACAAATGTGGTAAAAATCG(国際公開第2017100671号パンフレットの配列番号58；本明細書における配列番号2310)、ACTCATCGACCAATACCTTGTACTATCTCTCTAGAAC(国際公開第20

10

20

30

40

50

30

40

50

号1866)、またはそれらのバリエーションなど、米国特許第9624274号明細書(その内容は本明細書において本明細書において全体として参照によって援用される)に記載されるとおりの配列であってもよくまたはそれを有していてもよい。更に、米国特許第9624274号明細書に記載される構造タンパク質インサートのいずれかが、限定はされないが、AAV2(米国特許第9624274号明細書の配列番号183)などの任意の親AAV血清型の、限定はされないが、I-453およびI-587に挿入されてもよい。アミノ酸インサートは、限定はされないが、以下のアミノ酸配列、VNLTWSRASG(米国特許第9624274号明細書の配列番号50;本明細書における配列番号2321)、EFCINHRGYWVC GD(米国特許第9624274号明細書の配列番号55;本明細書における配列番号2322)、EDGQVMDVDLS(米国特許第9624274号明細書の配列番号85;本明細書における配列番号2323)、EKQRNGTLT(米国特許第9624274号明細書の配列番号86;本明細書における配列番号2324)、TYQCRVTHPHLPRALMR(米国特許第9624274号明細書の配列番号87;本明細書における配列番号2325)、RHSTTQPRKTKGS(米国特許第9624274号明細書の配列番号88;本明細書における配列番号2326)、DSNPRGVSA YLSR(米国特許第9624274号明細書の配列番号89;本明細書における配列番号2327)、TITCLWDLAPSK(米国特許第9624274号明細書の配列番号90;本明細書における配列番号2328)、KTKGS GFFVF(米国特許第9624274号明細書の配列番号91;本明細書における配列番号2329)、THPHLPRALMRS(米国特許第9624274号明細書の配列番号92;本明細書における配列番号2330)、GETYQCRVTHPHLPRALMRSTTK(米国特許第9624274号明細書の配列番号93;本明細書における配列番号2331)、LPRALMRS(米国特許第9624274号明細書の配列番号94;本明細書における配列番号2332)、INHRGYWV(米国特許第9624274号明細書の配列番号95;本明細書における配列番号2333)、CDAGSVRTNAPD(米国特許第9624274号明細書の配列番号60;本明細書における配列番号2334)、AKAVSNLTESRSESLQS(米国特許第9624274号明細書の配列番号96;本明細書における配列番号2335)、SLTGDEFK KVL ET(米国特許第9624274号明細書の配列番号97;本明細書における配列番号2336)、REAVAYRFEED(米国特許第9624274号明細書の配列番号98;本明細書における配列番号2337)、INPEIITLDG(米国特許第9624274号明細書の配列番号99;本明細書における配列番号2338)、DISVTGAPVITATYL(米国特許第9624274号明細書の配列番号100;本明細書における配列番号2339)、DISVTGAPVITATA(米国特許第9624274号明細書の配列番号101;本明細書における配列番号2340)、PKTVSNLTESSESVQS(米国特許第9624274号明細書の配列番号102;本明細書における配列番号2341)、SLMGDEFKAVLET(米国特許第9624274号明細書の配列番号103;本明細書における配列番号2342)、QHSVAYTFEED(米国特許第9624274号明細書の配列番号104;本明細書における配列番号2343)、INPEIITRDG(米国特許第9624274号明細書の配列番号105;本明細書における配列番号2344)、DISLTGDPVITASYL(米国特許第9624274号明細書の配列番号106;本明細書における配列番号2345)、DISLTGDPVITATA(米国特許第9624274号明細書の配列番号107;本明細書における配列番号2346)、DQSIDFEIDSA(米国特許第9624274号明細書の配列番号108;本明細書における配列番号2347)、KNVSEDLPLPTFSPTLLGDS(米国特許第9624274号明細書の配列番号109;本明細書における配列番号2348)、KNVSEDLPLPT(米国特許第9624274号明細書の配列番号110;本明細書における配列番号2349)、CDSGRVVRTDAPD(米国特許第9624274号明細書の配列番号111;本明細書における配列番号2350)、FPEHLLVDFLQSL S(米国特許第9624274号明細書の配列番号112;本明細書

10

20

30

40

50

における配列番号2351)、DAEFRHDSG(米国特許第9624274号明細書の配列番号65;本明細書における配列番号2352)、HYAAQWDFGNMCQL(米国特許第9624274号明細書の配列番号113;本明細書における配列番号2353)、YAAQWDFGNMCQ(米国特許第9624274号明細書の配列番号114;本明細書における配列番号2354)、RSQKEGLHYT(米国特許第9624274号明細書の配列番号115;本明細書における配列番号2355)、SSRTPSDKPVAHWANPQAE(米国特許第9624274号明細書の配列番号116;本明細書における配列番号2356)、SRTTPSDKPVAHWANP(米国特許第9624274号明細書の配列番号117;本明細書における配列番号2357)、SSRTPSDKP(米国特許第9624274号明細書の配列番号118;本明細書における配列番号2358)、NADGNVDYHMNSVP(米国特許第9624274号明細書の配列番号119;本明細書における配列番号2359)、DGNVDYHMNSV(米国特許第9624274号明細書の配列番号120;本明細書における配列番号2360)、RSFKEFLQSSLRALRQ(米国特許第9624274号明細書の配列番号121;本明細書における配列番号2361)、FKEFLQSSLRA(米国特許第9624274号明細書の配列番号122;本明細書における配列番号2362)、またはQMWA PQWGP D(米国特許第9624274号明細書の配列番号123;本明細書における配列番号2363)のいずれであってもよい。

【0169】

一実施形態において、AAV血清型は、限定はされないが、天然AAV2カプシドタンパク質のアミノ酸585～590位に1つ以上のアミノ酸の修飾を含むAAVカプシドタンパク質など、米国特許第9475845号明細書(その内容は本明細書において全体として参照によって援用される)に記載されるとおりの配列であってもよくまたはそれを有していてもよい。更に、修飾は、限定はされないが、以下のアミノ酸配列、RGNRQA(米国特許第9475845号明細書の配列番号3;本明細書における配列番号2364)、SSSTD P(米国特許第9475845号明細書の配列番号4;本明細書における配列番号2365)、SSNTAP(米国特許第9475845号明細書の配列番号5;本明細書における配列番号2366)、SNSNLP(米国特許第9475845号明細書の配列番号6;本明細書における配列番号2367)、SSTTAP(米国特許第9475845号明細書の配列番号7;本明細書における配列番号2368)、AANTAA(米国特許第9475845号明細書の配列番号8;本明細書における配列番号2369)、QQNTAP(米国特許第9475845号明細書の配列番号9;本明細書における配列番号2370)、SAQAQA(米国特許第9475845号明細書の配列番号10;本明細書における配列番号2371)、QANTGP(米国特許第9475845号明細書の配列番号11;本明細書における配列番号2372)、NATTAP(米国特許第9475845号明細書の配列番号12;本明細書における配列番号2373)、SSTAGP(米国特許第9475845号明細書の配列番号13および20;本明細書における配列番号2374)、QQNTAA(米国特許第9475845号明細書の配列番号14;本明細書における配列番号2375)、PSTAGP(米国特許第9475845号明細書の配列番号15;本明細書における配列番号2376)、NQNTAP(米国特許第9475845号明細書の配列番号16;本明細書における配列番号2377)、QANAAP(米国特許第9475845号明細書の配列番号17;本明細書における配列番号2378)、SIVGLP(米国特許第9475845号明細書の配列番号18;本明細書における配列番号2379)、AASTAA(米国特許第9475845号明細書の配列番号19および27;本明細書における配列番号2380)、SQNTTA(米国特許第9475845号明細書の配列番号21;本明細書における配列番号2381)、QQDTAP(米国特許第9475845号明細書の配列番号22;本明細書における配列番号2382)、QTNTGP(米国特許第9475845号明細書の配列番号23;本明細書における配列番号2383)、QTNGAP(米国特許第9475845号明細書の配列番号24;本明細書における配列番号2384)、QQNAAP(米国特許第94

10

20

30

40

50

7 5 8 4 5 号明細書の配列番号 2 5 ; 本明細書における配列番号 2 3 8 5) 、または A A N T Q A (米国特許第 9 4 7 5 8 4 5 号明細書の配列番号 2 6 ; 本明細書における配列番号 2 3 8 6) をもたらし得る。一実施形態において、アミノ酸修飾は、天然 A A V 2 カプシドタンパク質のアミノ酸 2 6 2 ~ 2 6 5 位、またはターゲティング配列を有する別の A A V のカプシドタンパク質の対応する位置における置換である。ターゲティング配列は、限定はされないが、以下のアミノ酸配列、N G R A H A (米国特許第 9 4 7 5 8 4 5 号明細書の配列番号 3 8 ; 本明細書における配列番号 2 3 8 7) 、Q P E H S S T (米国特許第 9 4 7 5 8 4 5 号明細書の配列番号 3 9 および 5 0 ; 本明細書における配列番号 2 3 8 8) 、V N T A N S T (米国特許第 9 4 7 5 8 4 5 号明細書の配列番号 4 0 ; 本明細書における配列番号 2 3 8 9) 、H G P M Q K S (米国特許第 9 4 7 5 8 4 5 号明細書の配列番号 4 1 ; 本明細書における配列番号 2 3 9 0) 、P H K P P L A (米国特許第 9 4 7 5 8 4 5 号明細書の配列番号 4 2 ; 本明細書における配列番号 2 3 9 1) 、I K N N E M W (米国特許第 9 4 7 5 8 4 5 号明細書の配列番号 4 3 ; 本明細書における配列番号 2 3 9 2) 、R N L D T P M (米国特許第 9 4 7 5 8 4 5 号明細書の配列番号 4 4 ; 本明細書における配列番号 2 3 9 3) 、V D S H R Q S (米国特許第 9 4 7 5 8 4 5 号明細書の配列番号 4 5 ; 本明細書における配列番号 2 3 9 4) 、Y D S K T K T (米国特許第 9 4 7 5 8 4 5 号明細書の配列番号 4 6 ; 本明細書における配列番号 2 3 9 5) 、S Q L P H Q K (米国特許第 9 4 7 5 8 4 5 号明細書の配列番号 4 7 ; 本明細書における配列番号 2 3 9 6) 、S T M Q Q N T (米国特許第 9 4 7 5 8 4 5 号明細書の配列番号 4 8 ; 本明細書における配列番号 2 3 9 7) 、T E R Y M T Q (米国特許第 9 4 7 5 8 4 5 号明細書の配列番号 4 9 ; 本明細書における配列番号 2 3 9 8) 、D A S L S T S (米国特許第 9 4 7 5 8 4 5 号明細書の配列番号 5 1 ; 本明細書における配列番号 2 3 9 9) 、D L P N K K T (米国特許第 9 4 7 5 8 4 5 号明細書の配列番号 5 2 ; 本明細書における配列番号 2 4 0 0) 、D L T A A R L (米国特許第 9 4 7 5 8 4 5 号明細書の配列番号 5 3 ; 本明細書における配列番号 2 4 0 1) 、E P H Q F N Y (米国特許第 9 4 7 5 8 4 5 号明細書の配列番号 5 4 ; 本明細書における配列番号 2 4 0 2) 、E P Q S N H T (米国特許第 9 4 7 5 8 4 5 号明細書の配列番号 5 5 ; 本明細書における配列番号 2 4 0 3) 、M S S W P S Q (米国特許第 9 4 7 5 8 4 5 号明細書の配列番号 5 6 ; 本明細書における配列番号 2 4 0 4) 、N P K H N A T (米国特許第 9 4 7 5 8 4 5 号明細書の配列番号 5 7 ; 本明細書における配列番号 2 4 0 5) 、P D G M R T T (米国特許第 9 4 7 5 8 4 5 号明細書の配列番号 5 8 ; 本明細書における配列番号 2 4 0 6) 、P N N N K T T (米国特許第 9 4 7 5 8 4 5 号明細書の配列番号 5 9 ; 本明細書における配列番号 2 4 0 7) 、Q S T T H D S (米国特許第 9 4 7 5 8 4 5 号明細書の配列番号 6 0 ; 本明細書における配列番号 2 4 0 8) 、T G S K Q K Q (米国特許第 9 4 7 5 8 4 5 号明細書の配列番号 6 1 ; 本明細書における配列番号 2 4 0 9) 、S L K H Q A L (米国特許第 9 4 7 5 8 4 5 号明細書の配列番号 6 2 ; 本明細書における配列番号 2 4 1 0) 、S P I D G E Q (米国特許第 9 4 7 5 8 4 5 号明細書の配列番号 6 3 ; 本明細書における配列番号 2 4 1 1) 、W I F P W I Q L (米国特許第 9 4 7 5 8 4 5 号明細書の配列番号 6 4 および 1 1 2 ; 本明細書における配列番号 2 4 1 2) 、C D C R G D C F C (米国特許第 9 4 7 5 8 4 5 号明細書の配列番号 6 5 ; 本明細書における配列番号 2 4 1 3) 、C N G R C (米国特許第 9 4 7 5 8 4 5 号明細書の配列番号 6 6 ; 本明細書における配列番号 2 4 1 4) 、C P R E C E S (米国特許第 9 4 7 5 8 4 5 号明細書の配列番号 6 7 ; 本明細書における配列番号 2 4 1 5) 、C T T H W G F T L C (米国特許第 9 4 7 5 8 4 5 号明細書の配列番号 6 8 および 1 2 3 ; 本明細書における配列番号 2 4 1 6) 、C G R R A G G S C (米国特許第 9 4 7 5 8 4 5 号明細書の配列番号 6 9 ; 本明細書における配列番号 2 4 1 7) 、C K G G R A K D C (米国特許第 9 4 7 5 8 4 5 号明細書の配列番号 7 0 ; 本明細書における配列番号 2 4 1 8) 、C V P E L G H E C (米国特許第 9 4 7 5 8 4 5 号明細書の配列番号 7 1 および 1 1 5 ; 本明細書における配列番号 2 4 1 9) 、C R R E T A W A K (米国特許第 9 4 7 5 8 4 5 号明細書の配列番号 7 2 ; 本明細書における配列番号 2 4 2 0) 、V S W F S H R Y S P F A V S (米国特許第 9 4 7 5 8 4 5 号明細書の配列番号 7 3 ; 本明細書における

配列番号 2 4 2 1)、GYRDGYAGPILYN (米国特許第 9 4 7 5 8 4 5 号明細書の配列番号 7 4 ; 本明細書における配列番号 2 4 2 2)、XXXYYXX (米国特許第 9 4 7 5 8 4 5 号明細書の配列番号 7 5 ; 本明細書における配列番号 2 4 2 3)、YXNW (米国特許第 9 4 7 5 8 4 5 号明細書の配列番号 7 6 ; 本明細書における配列番号 2 4 2 4)、RPLPLPL (米国特許第 9 4 7 5 8 4 5 号明細書の配列番号 7 7 ; 本明細書における配列番号 2 4 2 5)、APPLPPR (米国特許第 9 4 7 5 8 4 5 号明細書の配列番号 7 8 ; 本明細書における配列番号 2 4 2 6)、DVFYPYPYASGS (米国特許第 9 4 7 5 8 4 5 号明細書の配列番号 7 9 ; 本明細書における配列番号 2 4 2 7)、MYWYPY (米国特許第 9 4 7 5 8 4 5 号明細書の配列番号 8 0 ; 本明細書における配列番号 2 4 2 8)、DITWDQLWDLMK (米国特許第 9 4 7 5 8 4 5 号明細書の配列番号 8 1 ; 本明細書における配列番号 2 4 2 9)、CWDDXLWC (米国特許第 9 4 7 5 8 4 5 号明細書の配列番号 8 2 ; 本明細書における配列番号 2 4 3 0)、EWCEYLGGYLR CYA (米国特許第 9 4 7 5 8 4 5 号明細書の配列番号 8 3 ; 本明細書における配列番号 2 4 3 1)、YXCXXGPXTWXCXP (米国特許第 9 4 7 5 8 4 5 号明細書の配列番号 8 4 ; 本明細書における配列番号 2 4 3 2)、IEGPTLRQWL AAR A (米国特許第 9 4 7 5 8 4 5 号明細書の配列番号 8 5 ; 本明細書における配列番号 2 4 3 3)、LWXXX (米国特許第 9 4 7 5 8 4 5 号明細書の配列番号 8 6 ; 本明細書における配列番号 2 4 3 4)、XFXXYLW (米国特許第 9 4 7 5 8 4 5 号明細書の配列番号 8 7 ; 本明細書における配列番号 2 4 3 5)、SSII SHFRWGLCD (米国特許第 9 4 7 5 8 4 5 号明細書の配列番号 8 8 ; 本明細書における配列番号 2 4 3 6)、MSR PACPPNDKYE (米国特許第 9 4 7 5 8 4 5 号明細書の配列番号 8 9 ; 本明細書における配列番号 2 4 3 7)、CLRSGRGC (米国特許第 9 4 7 5 8 4 5 号明細書の配列番号 9 0 ; 本明細書における配列番号 2 4 3 8)、CHWMFSPWC (米国特許第 9 4 7 5 8 4 5 号明細書の配列番号 9 1 ; 本明細書における配列番号 2 4 3 9)、WXXF (米国特許第 9 4 7 5 8 4 5 号明細書の配列番号 9 2 ; 本明細書における配列番号 2 4 4 0)、CSSRLDAC (米国特許第 9 4 7 5 8 4 5 号明細書の配列番号 9 3 ; 本明細書における配列番号 2 4 4 1)、CLPVASC (米国特許第 9 4 7 5 8 4 5 号明細書の配列番号 9 4 ; 本明細書における配列番号 2 4 4 2)、CGFECVRQC PERC (米国特許第 9 4 7 5 8 4 5 号明細書の配列番号 9 5 ; 本明細書における配列番号 2 4 4 3)、CVALCREACGEGC (米国特許第 9 4 7 5 8 4 5 号明細書の配列番号 9 6 ; 本明細書における配列番号 2 4 4 4)、SWCEPGWCR (米国特許第 9 4 7 5 8 4 5 号明細書の配列番号 9 7 ; 本明細書における配列番号 2 4 4 5)、YSGKWGW (米国特許第 9 4 7 5 8 4 5 号明細書の配列番号 9 8 ; 本明細書における配列番号 2 4 4 6)、GLSGGRS (米国特許第 9 4 7 5 8 4 5 号明細書の配列番号 9 9 ; 本明細書における配列番号 2 4 4 7)、LMLPRAD (米国特許第 9 4 7 5 8 4 5 号明細書の配列番号 1 0 0 ; 本明細書における配列番号 2 4 4 8)、CSCFRDVCC (米国特許第 9 4 7 5 8 4 5 号明細書の配列番号 1 0 1 ; 本明細書における配列番号 2 4 4 9)、CRDVVSVIC (米国特許第 9 4 7 5 8 4 5 号明細書の配列番号 1 0 2 ; 本明細書における配列番号 2 4 5 0)、MARSGL (米国特許第 9 4 7 5 8 4 5 号明細書の配列番号 1 0 3 ; 本明細書における配列番号 2 4 5 1)、MARAKE (米国特許第 9 4 7 5 8 4 5 号明細書の配列番号 1 0 4 ; 本明細書における配列番号 2 4 5 2)、MSRTMS (米国特許第 9 4 7 5 8 4 5 号明細書の配列番号 1 0 5 ; 本明細書における配列番号 2 4 5 3)、KCCYSL (米国特許第 9 4 7 5 8 4 5 号明細書の配列番号 1 0 6 ; 本明細書における配列番号 2 4 5 4)、MYWGD SHWLQYWYE (米国特許第 9 4 7 5 8 4 5 号明細書の配列番号 1 0 7 ; 本明細書における配列番号 2 4 5 5)、MQLPLAT (米国特許第 9 4 7 5 8 4 5 号明細書の配列番号 1 0 8 ; 本明細書における配列番号 2 4 5 6)、EMLS (米国特許第 9 4 7 5 8 4 5 号明細書の配列番号 1 0 9 ; 本明細書における配列番号 2 4 5 7)

)、SNEW (米国特許第 9 4 7 5 8 4 5 号明細書の配列番号 1 1 0 ; 本明細書における

配列番号 2 4 5 8)、T N Y L (米国特許第 9 4 7 5 8 4 5 号明細書の配列番号 1 1 1 ;
 本明細書における配列番号 2 4 5 9)、W D L A W M F R L P V G (米国特許第 9 4 7 5
 8 4 5 号明細書の配列番号 1 1 3 ; 本明細書における配列番号 2 4 6 0)、C T V A L P
 G G Y V R V C (米国特許第 9 4 7 5 8 4 5 号明細書の配列番号 1 1 4 ; 本明細書におけ
 る配列番号 2 4 6 1)、C V A Y C I E H H C W T C (米国特許第 9 4 7 5 8 4 5 号明細
 書の配列番号 1 1 6 ; 本明細書における配列番号 2 4 6 2)、C V F A H N Y D Y L V C
 (米国特許第 9 4 7 5 8 4 5 号明細書の配列番号 1 1 7 ; 本明細書における配列番号 2 4
 6 3)、C V F T S N Y A F C (米国特許第 9 4 7 5 8 4 5 号明細書の配列番号 1 1 8 ;
 本明細書における配列番号 2 4 6 4)、V H S P N K K (米国特許第 9 4 7 5 8 4 5 号明
 細書の配列番号 1 1 9 ; 本明細書における配列番号 2 4 6 5)、C R G D G W C (米国特
 許第 9 4 7 5 8 4 5 号明細書の配列番号 1 2 0 ; 本明細書における配列番号 2 4 6 6)、
 X R G C D X (米国特許第 9 4 7 5 8 4 5 号明細書の配列番号 1 2 1 ; 本明細書における
 配列番号 2 4 6 7)、P X X X (米国特許第 9 4 7 5 8 4 5 号明細書の配列番号 1 2 2 ;
 本明細書における配列番号 2 4 6 8)、S G K G P R Q I T A L (米国特許第 9 4 7 5 8
 4 5 号明細書の配列番号 1 2 4 ; 本明細書における配列番号 2 4 6 9)、A A A A A A A
 A A X X X X X (米国特許第 9 4 7 5 8 4 5 号明細書の配列番号 1 2 5 ; 本明細書におけ
 る配列番号 2 4 7 0)、V Y M S P F (米国特許第 9 4 7 5 8 4 5 号明細書の配列番号 1
 2 6 ; 本明細書における配列番号 2 4 7 1)、A T W L P P R (米国特許第 9 4 7 5 8 4
 5 号明細書の配列番号 1 2 7 ; 本明細書における配列番号 2 4 7 2)、H T M Y Y H H Y
 Q H H L (米国特許第 9 4 7 5 8 4 5 号明細書の配列番号 1 2 8 ; 本明細書における配列
 番号 2 4 7 3)、S E V G C R A G P L Q W L C E K Y F G (米国特許第 9 4 7 5 8 4 5
 号明細書の配列番号 1 2 9 ; 本明細書における配列番号 2 4 7 4)、C G L L P V G R P
 D R N V W R W L C (米国特許第 9 4 7 5 8 4 5 号明細書の配列番号 1 3 0 ; 本明細書に
 おける配列番号 2 4 7 5)、C K G Q C D R F K G L P W E C (米国特許第 9 4 7 5 8 4
 5 号明細書の配列番号 1 3 1 ; 本明細書における配列番号 2 4 7 6)、S G R S A (米国
 特許第 9 4 7 5 8 4 5 号明細書の配列番号 1 3 2 ; 本明細書における配列番号 2 4 7 7)
 、W G F P (米国特許第 9 4 7 5 8 4 5 号明細書の配列番号 1 3 3 ; 本明細書における配
 列番号 2 4 7 8)、A E P M P H S L N F S Q Y L W Y T (米国特許第 9 4 7 5 8 4 5 号
 明細書の配列番号 1 3 4 ; 本明細書における配列番号 2 4 7 9)、W A Y X S P (米国特
 許第 9 4 7 5 8 4 5 号明細書の配列番号 1 3 5 ; 本明細書における配列番号 2 4 8 0)、
 I E L L Q A R (米国特許第 9 4 7 5 8 4 5 号明細書の配列番号 1 3 6 ; 本明細書におけ
 る配列番号 2 4 8 1)、A Y T K C S R Q W R T C M T T H (米国特許第 9 4 7 5 8 4 5
 号明細書の配列番号 1 3 7 ; 本明細書における配列番号 2 4 8 2)、P Q N S K I P G P
 T F L D P H (米国特許第 9 4 7 5 8 4 5 号明細書の配列番号 1 3 8 ; 本明細書における
 配列番号 2 4 8 3)、S M E P A L P D W W W K M F K (米国特許第 9 4 7 5 8 4 5 号明
 細書の配列番号 1 3 9 ; 本明細書における配列番号 2 4 8 4)、A N T P C G P Y T H D
 C P V K R (米国特許第 9 4 7 5 8 4 5 号明細書の配列番号 1 4 0 ; 本明細書における配
 列番号 2 4 8 5)、T A C H Q H V R M V R P (米国特許第 9 4 7 5 8 4 5 号明細書の配
 列番号 1 4 1 ; 本明細書における配列番号 2 4 8 6)、V P W M E P A Y Q R F L (米国
 特許第 9 4 7 5 8 4 5 号明細書の配列番号 1 4 2 ; 本明細書における配列番号 2 4 8 7)
 、D P R A T P G S (米国特許第 9 4 7 5 8 4 5 号明細書の配列番号 1 4 3 ; 本明細書に
 おける配列番号 2 4 8 8)、F R P N R A Q D Y N T N (米国特許第 9 4 7 5 8 4 5 号明
 細書の配列番号 1 4 4 ; 本明細書における配列番号 2 4 8 9)、C T K N S Y L M C (米
 国特許第 9 4 7 5 8 4 5 号明細書の配列番号 1 4 5 ; 本明細書における配列番号 2 4 9 0
)、C X X T X X X G X G C (米国特許第 9 4 7 5 8 4 5 号明細書の配列番号 1 4 6 ; 本
 明細書における配列番号 2 4 9 1)、C P I E D R P M C (米国特許第 9 4 7 5 8 4 5 号
 明細書の配列番号 1 4 7 ; 本明細書における配列番号 2 4 9 2)、H E W S Y L A P Y P
 W F (米国特許第 9 4 7 5 8 4 5 号明細書の配列番号 1 4 8 ; 本明細書における配列番号
 2 4 9 3)、M C P K H P L G C (米国特許第 9 4 7 5 8 4 5 号明細書の配列番号 1 4 9
 ; 本明細書における配列番号 2 4 9 4)、R M W P S S T V N L S A G R R (米国特許第

9 4 7 5 8 4 5 号明細書の配列番号 1 5 0 ; 本明細書における配列番号 2 4 9 5) 、 S A K T A V S Q R V W L P S H R G G E P (米国特許第 9 4 7 5 8 4 5 号明細書の配列番号 1 5 1 ; 本明細書における配列番号 2 4 9 6) 、 K S R E H V N N S A C P S K R I T A A L (米国特許第 9 4 7 5 8 4 5 号明細書の配列番号 1 5 2 ; 本明細書における配列番号 2 4 9 7) 、 E G F R (米国特許第 9 4 7 5 8 4 5 号明細書の配列番号 1 5 3 ; 本明細書における配列番号 2 4 9 8) 、 A G L G V R (米国特許第 9 4 7 5 8 4 5 号明細書の配列番号 1 5 4 ; 本明細書における配列番号 2 4 9 9) 、 G T R Q G H T M R L G V S D G (米国特許第 9 4 7 5 8 4 5 号明細書の配列番号 1 5 5 ; 本明細書における配列番号 2 5 0 0) 、 I A G L A T P G W S H W L A L (米国特許第 9 4 7 5 8 4 5 号明細書の配列番号 1 5 6 ; 本明細書における配列番号 2 5 0 1) 、 S M S I A R L (米国特許第 9 4 7 5 8 4 5 号明細書の配列番号 1 5 7 ; 本明細書における配列番号 2 5 0 2) 、 H T F E P G V (米国特許第 9 4 7 5 8 4 5 号明細書の配列番号 1 5 8 ; 本明細書における配列番号 2 5 0 3) 、 N T S L K R I S N K R I R R K (米国特許第 9 4 7 5 8 4 5 号明細書の配列番号 1 5 9 ; 本明細書における配列番号 2 5 0 4) 、 L R I K R K R R K R K K T R K (米国特許第 9 4 7 5 8 4 5 号明細書の配列番号 1 6 0 ; 本明細書における配列番号 2 5 0 5) 、 G G G 、 G F S 、 L W S 、 E G G 、 L L V 、 L S P 、 L B S 、 A G G 、 G R R 、 G G H および G T V のいずれであってもよい。

【0170】

一実施形態において、A A V 血清型は、限定はされないが、A A V 2 (米国特許出願公開第 2 0 1 6 0 3 6 9 2 9 8 号明細書の配列番号 9 7 ; 本明細書における配列番号 2 5 0 6) またはそのバリエーションの部位特異的突然変異カプシドタンパク質であって、特異的部位が、V P 1 またはその断片の部位 R 4 4 7 、G 4 5 3 、S 5 7 8 、N 5 8 7 、N 5 8 7 + 1 、S 6 6 2 から選択される少なくとも 1 つの部位であるものなど、米国特許出願公開第 2 0 1 6 0 3 6 9 2 9 8 号明細書 (その内容は本明細書において本明細書において全体として参照によって援用される) に記載されるとおりの配列であってもよくまたはそれを有してしてもよい。

【0171】

更に、米国特許出願公開第 2 0 1 6 0 3 6 9 2 9 8 号明細書に記載される突然変異配列のいずれかが、限定はされないが、以下の配列、S D S G A S N (米国特許出願公開第 2 0 1 6 0 3 6 9 2 9 8 号明細書の配列番号 1 および配列番号 2 3 1 ; 本明細書における配列番号 2 5 0 7) 、S P S G A S N (米国特許出願公開第 2 0 1 6 0 3 6 9 2 9 8 号明細書の配列番号 2 ; 本明細書における配列番号 2 5 0 8) 、S H S G A S N (米国特許出願公開第 2 0 1 6 0 3 6 9 2 9 8 号明細書の配列番号 3 ; 本明細書における配列番号 2 5 0 9) 、S R S G A S N (米国特許出願公開第 2 0 1 6 0 3 6 9 2 9 8 号明細書の配列番号 4 ; 本明細書における配列番号 2 5 1 0) 、S K S G A S N (米国特許出願公開第 2 0 1 6 0 3 6 9 2 9 8 号明細書の配列番号 5 ; 本明細書における配列番号 2 5 1 1) 、S N S G A S N (米国特許出願公開第 2 0 1 6 0 3 6 9 2 9 8 号明細書の配列番号 6 ; 本明細書における配列番号 2 5 1 2) 、S G S G A S N (米国特許出願公開第 2 0 1 6 0 3 6 9 2 9 8 号明細書の配列番号 7 ; 本明細書における配列番号 2 5 1 3) 、S A S G A S N (米国特許出願公開第 2 0 1 6 0 3 6 9 2 9 8 号明細書の配列番号 8 、1 7 5 、および 2 2 1 ; 本明細書における配列番号 2 5 1 4) 、S E S G T S N (米国特許出願公開第 2 0 1 6 0 3 6 9 2 9 8 号明細書の配列番号 9 ; 本明細書における配列番号 2 5 1 5) 、S T T G G S N (米国特許出願公開第 2 0 1 6 0 3 6 9 2 9 8 号明細書の配列番号 1 0 ; 本明細書における配列番号 2 5 1 6) 、S S A G S T N (米国特許出願公開第 2 0 1 6 0 3 6 9 2 9 8 号明細書の配列番号 1 1 ; 本明細書における配列番号 2 5 1 7) 、N N D S Q A (米国特許出願公開第 2 0 1 6 0 3 6 9 2 9 8 号明細書の配列番号 1 2 ; 本明細書における配列番号 2 5 1 8) 、N N R N Q A (米国特許出願公開第 2 0 1 6 0 3 6 9 2 9 8 号明細書の配列番号 1 3 ; 本明細書における配列番号 2 5 1 9) 、N N N K Q A (米国特許出願公開第 2 0 1 6 0 3 6 9 2 9 8 号明細書の配列番号 1 4 ; 本明細書における配列番号 2 5 2 0) 、N A K R Q A (米国特許出願公開第 2 0 1 6 0 3 6 9 2 9 8 号明細書の配列番号 1

10

20

30

40

50

5 ; 本明細書における配列番号 2 5 2 1) 、 N D E H Q A (米国特許出願公開第 2 0 1 6
 0 3 6 9 2 9 8 号明細書の配列番号 1 6 ; 本明細書における配列番号 2 5 2 2) 、 N T S
 Q K A (米国特許出願公開第 2 0 1 6 0 3 6 9 2 9 8 号明細書の配列番号 1 7 ; 本明細書
 における配列番号 2 5 2 3) 、 Y Y L S R T N T P S G T D T Q S R L V F S Q A G A (米
 国特許出願公開第 2 0 1 6 0 3 6 9 2 9 8 号明細書の配列番号 1 8 ; 本明細書における
 配列番号 2 5 2 4) 、 Y Y L S R T N T D S G T E T Q S G L D F S Q A G A (米国特許
 出願公開第 2 0 1 6 0 3 6 9 2 9 8 号明細書の配列番号 1 9 ; 本明細書における配列番号
 2 5 2 5) 、 Y Y L S R T N T E S G T P T Q S A L E F S Q A G A (米国特許出願公開
 第 2 0 1 6 0 3 6 9 2 9 8 号明細書の配列番号 2 0 ; 本明細書における配列番号 2 5 2 6
) 、 Y Y L S R T N T H S G T H T Q S P L H F S Q A G A (米国特許出願公開第 2 0 1
 6 0 3 6 9 2 9 8 号明細書の配列番号 2 1 ; 本明細書における配列番号 2 5 2 7) 、 Y Y
 L S R T N T S S G T I T I S H L I F S Q A G A (米国特許出願公開第 2 0 1 6 0 3 6
 9 2 9 8 号明細書の配列番号 2 2 ; 本明細書における配列番号 2 5 2 8) 、 Y Y L S R T
 N T R S G I M T K S S L M F S Q A G A (米国特許出願公開第 2 0 1 6 0 3 6 9 2 9 8
 号明細書の配列番号 2 3 ; 本明細書における配列番号 2 5 2 9) 、 Y Y L S R T N T K S
 G R K T L S N L S F S Q A G A (米国特許出願公開第 2 0 1 6 0 3 6 9 2 9 8 号明細書
 の配列番号 2 4 ; 本明細書における配列番号 2 5 3 0) 、 Y Y L S R T N D G S G P V T
 P S K L R F S Q R G A (米国特許出願公開第 2 0 1 6 0 3 6 9 2 9 8 号明細書の配列番
 号 2 5 ; 本明細書における配列番号 2 5 3 1) 、 Y Y L S R T N A A S G H A T H S D L
 K F S Q P G A (米国特許出願公開第 2 0 1 6 0 3 6 9 2 9 8 号明細書の配列番号 2 6 ;
 本明細書における配列番号 2 5 3 2) 、 Y Y L S R T N G Q A G S L T M S E L G F S Q
 V G A (米国特許出願公開第 2 0 1 6 0 3 6 9 2 9 8 号明細書の配列番号 2 7 ; 本明細書
 における配列番号 2 5 3 3) 、 Y Y L S R T N S T G G N Q T T S Q L L F S Q L S A (米
 国特許出願公開第 2 0 1 6 0 3 6 9 2 9 8 号明細書の配列番号 2 8 ; 本明細書における
 配列番号 2 5 3 4) 、 Y F L S R T N N N T G L N T N S T L N F S Q G R A (米国特許
 出願公開第 2 0 1 6 0 3 6 9 2 9 8 号明細書の配列番号 2 9 ; 本明細書における配列番号
 2 5 3 5) 、 S K T G A D N N N S E Y S W T G (米国特許出願公開第 2 0 1 6 0 3 6 9
 2 9 8 号明細書の配列番号 3 0 ; 本明細書における配列番号 2 5 3 6) 、 S K T D A D N
 N N S E Y S W T G (米国特許出願公開第 2 0 1 6 0 3 6 9 2 9 8 号明細書の配列番号 3
 1 ; 本明細書における配列番号 2 5 3 7) 、 S K T E A D N N N S E Y S W T G (米国特
 許出願公開第 2 0 1 6 0 3 6 9 2 9 8 号明細書の配列番号 3 2 ; 本明細書における配列番
 号 2 5 3 8) 、 S K T P A D N N N S E Y S W T G (米国特許出願公開第 2 0 1 6 0 3 6
 9 2 9 8 号明細書の配列番号 3 3 ; 本明細書における配列番号 2 5 3 9) 、 S K T H A D
 N N N S E Y S W T G (米国特許出願公開第 2 0 1 6 0 3 6 9 2 9 8 号明細書の配列番号
 3 4 ; 本明細書における配列番号 2 5 4 0) 、 S K T Q A D N N N S E Y S W T G (米国
 特許出願公開第 2 0 1 6 0 3 6 9 2 9 8 号明細書の配列番号 3 5 ; 本明細書における配列
 番号 2 5 4 1) 、 S K T I A D N N N S E Y S W T G (米国特許出願公開第 2 0 1 6 0 3
 6 9 2 9 8 号明細書の配列番号 3 6 ; 本明細書における配列番号 2 5 4 2) 、 S K T M A
 D N N N S E Y S W T G (米国特許出願公開第 2 0 1 6 0 3 6 9 2 9 8 号明細書の配列番
 号 3 7 ; 本明細書における配列番号 2 5 4 3) 、 S K T R A D N N N S E Y S W T G (米
 国特許出願公開第 2 0 1 6 0 3 6 9 2 9 8 号明細書の配列番号 3 8 ; 本明細書における配
 列番号 2 5 4 4) 、 S K T N A D N N N S E Y S W T G (米国特許出願公開第 2 0 1 6 0
 3 6 9 2 9 8 号明細書の配列番号 3 9 ; 本明細書における配列番号 2 5 4 5) 、 S K T V
 G R N N N S E Y S W T G (米国特許出願公開第 2 0 1 6 0 3 6 9 2 9 8 号明細書の配列
 番号 4 0 ; 本明細書における配列番号 2 5 4 6) 、 S K T A D R N N N S E Y S W T G (米
 国特許出願公開第 2 0 1 6 0 3 6 9 2 9 8 号明細書の配列番号 4 1 ; 本明細書における
 配列番号 2 5 4 7) 、 S K K L S Q N N N S K Y S W Q G (米国特許出願公開第 2 0 1 6
 0 3 6 9 2 9 8 号明細書の配列番号 4 2 ; 本明細書における配列番号 2 5 4 8) 、 S K P
 T T G N N N S D Y S W P G (米国特許出願公開第 2 0 1 6 0 3 6 9 2 9 8 号明細書の配
 列番号 4 3 ; 本明細書における配列番号 2 5 4 9) 、 S T Q K N E N N N S N Y S W P G

(米国特許出願公開第20160369298号明細書の配列番号44; 本明細書における配列番号2550)、HKDDDEGKF (米国特許出願公開第20160369298号明細書の配列番号45; 本明細書における配列番号2551)、HKDDNRKF (米国特許出願公開第20160369298号明細書の配列番号46; 本明細書における配列番号2552)、HKDDTNKF (米国特許出願公開第20160369298号明細書の配列番号47; 本明細書における配列番号2553)、HEDSDKNF (米国特許出願公開第20160369298号明細書の配列番号48; 本明細書における配列番号2554)、HRDGA DSF (米国特許出願公開第20160369298号明細書の配列番号49; 本明細書における配列番号2555)、HGDNKS RF (米国特許出願公開第20160369298号明細書の配列番号50; 本明細書における配列番号2556)、KQGSEKTNVDFEEV (米国特許出願公開第20160369298号明細書の配列番号51; 本明細書における配列番号2557)、KQGSEKTNVDS E EV (米国特許出願公開第20160369298号明細書の配列番号52; 本明細書における配列番号2558)、KQGSEKTNVDVEEV (米国特許出願公開第20160369298号明細書の配列番号53; 本明細書における配列番号2559)、KQGS DKTNVDDAGV (米国特許出願公開第20160369298号明細書の配列番号54; 本明細書における配列番号2560)、KQGS SKTNVDPREV (米国特許出願公開第20160369298号明細書の配列番号55; 本明細書における配列番号2561)、KQGS RKTNVDHKQV (米国特許出願公開第20160369298号明細書の配列番号56; 本明細書における配列番号2562)、KQGS KG G NVDTNRV (米国特許出願公開第20160369298号明細書の配列番号57; 本明細書における配列番号2563)、KQGS GEANVDNGDV (米国特許出願公開第20160369298号明細書の配列番号58; 本明細書における配列番号2564)、KQDA A ADNIDYDHV (米国特許出願公開第20160369298号明細書の配列番号59; 本明細書における配列番号2565)、KQSG TRSN A A A SSV (米国特許出願公開第20160369298号明細書の配列番号60; 本明細書における配列番号2566)、KENTNTNDTELTNV (米国特許出願公開第20160369298号明細書の配列番号61; 本明細書における配列番号2567)、QRGN NV A ATADVNT (米国特許出願公開第20160369298号明細書の配列番号62; 本明細書における配列番号2568)、QRGNNE A ATADVNT (米国特許出願公開第20160369298号明細書の配列番号63; 本明細書における配列番号2569)、QRGN NP A ATADVNT (米国特許出願公開第20160369298号明細書の配列番号64; 本明細書における配列番号2570)、QRGN N H A ATADVNT (米国特許出願公開第20160369298号明細書の配列番号65; 本明細書における配列番号2571)、QEENNI A ATPGVNT (米国特許出願公開第20160369298号明細書の配列番号66; 本明細書における配列番号2572)、QP P NNMAATHEVNT (米国特許出願公開第20160369298号明細書の配列番号67; 本明細書における配列番号2573)、QH H NNS A AT T I VNT (米国特許出願公開第20160369298号明細書の配列番号68; 本明細書における配列番号2574)、QT T NNRAAFNMVET (米国特許出願公開第20160369298号明細書の配列番号69; 本明細書における配列番号2575)、QK K NNN A ASKKVAT (米国特許出願公開第20160369298号明細書の配列番号70; 本明細書における配列番号2576)、QGGNNKAADDAVK T (米国特許出願公開第20160369298号明細書の配列番号71; 本明細書における配列番号2577)、QAAKGGAADDAVK T (米国特許出願公開第20160369298号明細書の配列番号72; 本明細書における配列番号2578)、QDDRA A A ANESVD T (米国特許出願公開第20160369298号明細書の配列番号73; 本明細書における配列番号2579)、QQQHDDAAYQRVHT (米国特許出願公開第20160369298号明細書の配列番号74; 本明細書における配列番号2580)、QSSSSSLA AVSTVQT (米国特許出願公開第20160369298

号明細書の配列番号75；本明細書における配列番号2581）、QNNQT TA AIR
NVTT（米国特許出願公開第20160369298号明細書の配列番号76；本明細
書における配列番号2582）、NYNKKSDNVDF T（米国特許出願公開第201
60369298号明細書の配列番号77；本明細書における配列番号2583）、NY
NKKSENVDFT（米国特許出願公開第20160369298号明細書の配列番号
7

8；本明細書における配列番号2584）、NYNKKSLNVDF T（米国特許出願公
開第20160369298号明細書の配列番号79；本明細書における配列番号258
5）、NYNKKSPNVDF T（米国特許出願公開第20160369298号明細書
の配列番号80；本明細書における配列番号2586）、NYSKKSHCVDF T（米
国特許出願公開第20160369298号明細書の配列番号81；本明細書における配
列番号2587）、NYRKTIYVDF T（米国特許出願公開第2016036929
8号明細書の配列番号82；本明細書における配列番号2588）、NYKEKKKDVH
FT（米国特許出願公開第20160369298号明細書の配列番号83；本明細書に
おける配列番号2589）、NYGHRAIVQFT（米国特許出願公開第201603
69298号明細書の配列番号84；本明細書における配列番号2590）、NYANH
QFVVCT（米国特許出願公開第20160369298号明細書の配列番号85；本
明細書における配列番号2591）、NYDDDP TGVLL T（米国特許出願公開第2
0160369298号明細書の配列番号86；本明細書における配列番号2592）、
NYDDP TGVLL T（米国特許出願公開第20160369298号明細書の配列番
号87；本明細書における配列番号2593）、NFEQQNSVEWT（米国特許出願
公開第20160369298号明細書の配列番号88；本明細書における配列番号25
94）、SQSGASN（米国特許出願公開第20160369298号明細書の配列番
号89および配列番号241；本明細書における配列番号2595）、NNGSQA（米
国特許出願公開第20160369298号明細書の配列番号90；本明細書における配
列番号2596）、YYLSRTNTPSGTTTWSRLQFSQAGA（米国特許出
願公開第20160369298号明細書の配列番号91；本明細書における配列番号2
597）、SKTSA DNNNSEYSWTG（米国特許出願公開第201603692
98号明細書の配列番号92；本明細書における配列番号2598）、HKDDEEK F
（米国特許出願公開第20160369298号明細書の配列番号93、209、214
、219、224、234、239、および244；本明細書における配列番号2599
）、KQGS EKTNV D I E E V（米国特許出願公開第20160369298号明細
書の配列番号94；本明細書における配列番号2600）、Q R G N N Q A A T A D V N
T（米国特許出願公開第20160369298号明細書の配列番号95；本明細書にお
ける配列番号2601）、NYNKKSVNVDF T（米国特許出願公開第201603
69298号明細書の配列番号96；本明細書における配列番号2602）、SQSGA
SNYNTPSGTTTQ SRLQFSTSA DNNNSEYSWTGATKYH（米国
特許出願公開第20160369298号明細書の配列番号106；本明細書における配
列番号2603）、SASGASN FNSEGGSLTQSSSLGFST DGENNNS
DFSWTGATKYH（米国特許出願公開第20160369298号明細書の配列番
号107；本明細書における配列番号2604）、SQSGASN YNTPSGTTTQ
SRLQFST DGENNNS D F S W T G A T K Y H（米国特許出願公開第20160
369298号明細書の配列番号108；本明細書における配列番号2605）、SAS
GASN YNTPSGTTTQ SRLQFSTSA DNNNSE F S W P G A T T Y H（
米国特許出願公開第20160369298号明細書の配列番号109；本明細書におけ
る配列番号2606）、SQSGASN FNSEGGSLTQSSSLGFST DGENN
N S D F S W T G A T K Y H（米国特許出願公開第20160369298号明細書の配
列番号110；本明細書における配列番号2607）、SASGASN YNTPSGSL
TQSSSLGFST DGENNNS D F S W T G A T K Y H（米国特許出願公開第201

10

20

30

40

50

60369298号明細書の配列番号111；本明細書における配列番号2608）、S
 QSGASNYNTPSGTTTQSRLQFSTSA DNNNSDFSWTGATKY
 H（米国特許出願公開第20160369298号明細書の配列番号112；本明細書に
 おける配列番号2609）、SGAGASN FNSEGGSLTQSSSLGFST DGE
 NNNNSDFSWTGATKYH（米国特許出願公開第20160369298号明細書
 の配列番号113；本明細書における配列番号2610）、SGAGASN（米国特許出
 願公開第20160369298号明細書の配列番号176；本明細書における配列番号
 2611）、NSEGGSLTQSSSLGF S（米国特許出願公開第201603692
 98号明細書の配列番号177、185、193、および202；本明細書における配列
 番号2612）、TDGENNNNSDFS（米国特許出願公開第20160369298
 号明細書の配列番号178；本明細書における配列番号2613）、SEFSWP GAT
 T（米国特許出願公開第20160369298号明細書の配列番号179；本明細書に
 おける配列番号2614）、TSADNNNSDFS WT（米国特許出願公開第2016
 0369298号明細書の配列番号180；本明細書における配列番号2615）、SQ
 SGASNY（米国特許出願公開第20160369298号明細書の配列番号181、
 187、および198；本明細書における配列番号2616）、NTPSGTTTQSRL
 LQFS（米国特許出願公開第20160369298号明細書の配列番号182、18
 8、191、および199；本明細書における配列番号2617）、TSADNNNSE
 YSWTGATKYH（米国特許出願公開第20160369298号明細書の配列番号
 183；本明細書における配列番号2618）、SASGASN F（米国特許出願公開第
 20160369298号明細書の配列番号184；本明細書における配列番号2619
 ）、TDGENNNNSDFS WTGATKYH（米国特許出願公開第201603692
 98号明細書の配列番号186、189、194、197、および203；本明細書にお
 ける配列番号2620）、SASGASNY（米国特許出願公開第2016036929
 8号明細書の配列番号190および配列番号195；本明細書における配列番号2621
 ）、TSADNNNSEFSWP GATTYH（米国特許出願公開第201603692
 98号明細書の配列番号192；本明細書における配列番号2622）、NTPSGSL
 TQSSSLGF S（米国特許出願公開第20160369298号明細書の配列番号19
 6、；本明細書における配列番号2623）、TSADNNNSDFS WTGATKYH
 （米国特許出願公開第20160369298号明細書の配列番号200；本明細書にお
 ける配列番号2624）、SGAGASN F（米国特許出願公開第2016036929
 8号明細書の配列番号201；本明細書における配列番号2625）、CTCCAGVV
 SVVSMRSRVCVNSGCAGCTDHCVVSRNSGTCVMSACACAA
 （米国特許出願公開第20160369298号明細書の配列番号204；本明細書にお
 ける配列番号2626）、CTCCAGAGAGGCAACAGACAA G CAGCTA
 CCGCAGATGTCAACACACAA（米国特許出願公開第2016036929
 8号明細書の配列番号205；本明細書における配列番号2627）、SAGASN（
 米国特許出願公開第20160369298号明細書の配列番号206；本明細書におけ
 る配列番号2628）、YFLSRTNTESGSTTQSTLRF SQA G（米国特許
 出願公開第20160369298号明細書の配列番号207；本明細書における配列番
 号2629）、SKTSADNNNSDFS（米国特許出願公開第2016036929
 8号明細書の配列番号208、228、および253；本明細書における配列番号263
 0）、KQGSEKTDVDIDKV（米国特許出願公開第20160369298号明
 細書の配列番号210；本明細書における配列番号2631）、STAGASN（米国特
 許出願公開第20160369298号明細書の配列番号211；本明細書における配列
 番号2632）、YFLSRTNTTSGIETQSTLRF SQA G（米国特許出願公
 開第20160369298号明細書の配列番号212および配列番号247；本明細書
 における配列番号2633）、SKTDGENNNNSDFS（米国特許出願公開第201
 60369298号明細書の配列番号213および配列番号248；本明細書における配
 列番号2634）、KQGAAD DVEIDGV（米国特許出願公開第2016036

9298号明細書の配列番号215および配列番号250；本明細書における配列番号2635）、SEAGASN（米国特許出願公開第20160369298号明細書の配列番号216；本明細書における配列番号2636）、YYLSRTNTTPSGTTTQSR LQFSQAG（米国特許出願公開第20160369298号明細書の配列番号217、232および242；本明細書における配列番号2637）、SKTSA DNNNS EYS（米国特許出願公開第20160369298号明細書の配列番号218、233、238、および243；本明細書における配列番号2638）、KQGSEKTNVD IEKV（米国特許出願公開第20160369298号明細書の配列番号220、225および245；本明細書における配列番号2639）、YFLSRTNDASGSDTKSTLLFSQAG（米国特許出願公開第20160369298号明細書の配列番号222；本明細書における配列番号2640）、STTPSENNNSEYS（米国特許出願公開第20160369298号明細書の配列番号223；本明細書における配列番号2641）、SAAGATN（米国特許出願公開第20160369298号明細書の配列番号226および配列番号251；本明細書における配列番号2642）、YFLSRTNGEAGSATLSELRF S QAG（米国特許出願公開第20160369298号明細書の配列番号227；本明細書における配列番号2643）、HGDDADRF（米国特許出願公開第20160369298号明細書の配列番号229および配列番号254；本明細書における配列番号2644）、KQGA EKSDVEVD RV（米国特許出願公開第20160369298号明細書の配列番号230および配列番号255；本明細書における配列番号2645）、KQDSGGDNIDIDQV（米国特許出願公開第20160369298号明細書の配列番号235；本明細書における配列番号2646）、SDAGASN（米国特許出願公開第20160369298号明細書の配列番号236；本明細書における配列番号2647）、YFLSRTNTEGGHDTQSTLRF S QAG（米国特許出願公開第20160369298号明細書の配列番号237；本明細書における配列番号2648）、KEDGGGSDVA IDEV（米国特許出願公開第20160369298号明細書の配列番号240；本明細書における配列番号2649）、SNAGASN（米国特許出願公開第20160369298号明細書の配列番号246；本明細書における配列番号2650）、およびYFLSRTNGEAGSATLSELRF S QPG（米国特許出願公開第20160369298号明細書の配列番号252；本明細書における配列番号2651）のいずれであってもよく、またはいずれを有していてもよい。アミノ酸突然変異部位をコードし得るヌクレオチド配列の非限定的な例としては、以下、AGCVVMDCAGGARSCASCAAC（米国特許出願公開第20160369298号明細書の配列番号97；本明細書における配列番号2652）、AACRACRRSMRSMAGGCA（米国特許出願公開第20160369298号明細書の配列番号98；本明細書における配列番号2653）、CACRRGGACR

RCRMSRRSARSTTT（米国特許出願公開第20160369298号明細書の配列番号99；本明細書における配列番号2654）、TATTTCTTGAGCAGAACAAACRV CVVSRSCGGAMNCVHSACGMHSTCAVVSCTTV DSTTTTCTCAGSBCRGSGCG（米国特許出願公開第20160369298号明細書の配列番号100；本明細書における配列番号2655）、TCAAMAMMAVNSRVCSRSAAACAACAACAGTRASTTCTCGTGGMMAAGGA（米国特許出願公開第20160369298号明細書の配列番号101；本明細書における配列番号2656）、AAGSAAARRCRSCRVS RVARVCRA TRYCGMSNHCRVMVRS GTC（米国特許出願公開第20160369298号明細書の配列番号102；本明細書における配列番号2657）、CAGVVS VVSMR SRVCVNSGCAGCTDHC VVSRNSGTCVMSACCA（米国特許出願公開第20160369298号明細書の配列番号103；本明細書における配列番号2658）、AACTWC RVSVASMVSVHSDDTGTG SWSTKSACT（米国特許出願

公開第20160369298号明細書の配列番号104；本明細書における配列番号2659）、TTGTTGAACATCACCACTGACGCACTTC（米国特許出願公開第20160369298号明細書の配列番号256、；本明細書における配列番号2660）、TCCCCGTGGTTCTACTACATAATGTGGCCG（米国特許出願公開第20160369298号明細書の配列番号257；本明細書における配列番号2661）、TTCACACCTCCGTTTGTGGAATAATGTGTAAC（米国特許出願公開第20160369298号明細書の配列番号258；本明細書における配列番号2662）、AGGGACATCCCCAGCTCCATGCTGTGGTTCG（米国特許出願公開第20160369298号明細書の配列番号259；本明細書における配列番号2663）、AGGGACAACCCCTCCGACCTCGCCCTATAATCC（米国特許出願公開第20160369298号明細書の配列番号260；本明細書における配列番号2664）、TCCTAGTAGAAGACACCCCTCTCACCTGCCCG（米国特許出願公開第20160369298号明細書の配列番号261；本明細書における配列番号2665）、AGTACCATGTACACCCCACTCTCCAGTGGC（米国特許出願公開第20160369298号明細書の配列番号262、；本明細書における配列番号2666）、ATATGGACGTTCATGCTGATCACCATACCG（米国特許出願公開第20160369298号明細書の配列番号263；本明細書における配列番号2667）、AGCAGGAGCTCCCTTGGCCCTCAGCGTGGAG（米国特許出願公開第20160369298号明細書の配列番号264；本明細書における配列番号2668）、ACAAAGCAGCTTCACATAATGACAACCACTGAC（米国特許出願公開第20160369298号明細書の配列番号265；本明細書における配列番号2669）、CAGCCTAGGAACCTGGCTTCTCTGGACCCCTGTTACCGCCAGCAGAGAGTCTCAAMAMMAVNSRVCSRSAACAACAACAAGTRASTTCTCTCTGGMMAAGGAGCTACCAAGTACCACTCAATGGCAGAGACTCTCTGGTGAATCCCGGACCAAGCTATGGCAAGCCACRRGGACRRCRMSSRRSARSSTTTTTTCTCTCAGAGCGGGGTCTCTCATCTTTGGGAAGSAAARRCRSCRVSRAVARVCRA TRYCGMSNHCRVMVRS GTCATGATTACAGACGAAGAGGAGATCTGGAC（米国特許出願公開第20160369298号明細書の配列番号266；本明細書における配列番号2670）、TGGGACAATGGCGGTCGTCTCTCAGAGTTKTKKT（米国特許出願公開第20160369298号明細書の配列番号267；本明細書における配列番号2671）、AGAGGACCKKTCCTCGATGGTTTCATGGTTGAGTTA（米国特許出願公開第20160369298号明細書の配列番号268；本明細書における配列番号2672）、CCACTTAGGGCTGGTCGATACCGTTTCGGTG（米国特許出願公開第20160369298号明細書の配列番号269；本明細書における配列番号2673）、およびTCTCGCCCCAAGAGTAGAAACCCCTTCTSTTYYG（米国特許出願公開第20160369298号明細書の配列番号270；本明細書における配列番号2674）が挙げられる。

【0172】

一部の実施形態において、AAV血清型は、限定はされないが、国際公開第2016134375号パンフレットの配列番号9および配列番号10など、国際公開第2016134375号パンフレット（その内容は本明細書において全体として参照により援用される）に記載されるとおりの眼細胞ターゲティングペプチドを含み得る。更に、国際公開第2016134375号パンフレットに記載される眼細胞ターゲティングペプチドまたはアミノ酸のいずれかが、限定はされないが、AAV2（国際公開第2016134375号パンフレットの配列番号8；本明細書における配列番号2675）、またはAAV9（国際公開第2016134375号パンフレットの配列番号11；本明細書における配列番号2676）など、任意の親AAV血清型に挿入されていてもよい。一部の実施形態において、挿入などの修飾は、AAV2タンパク質のP34～A35、T138～A139

、A 1 3 9～P 1 4 0、G 4 5 3～T 4 5 4、N 5 8 7～R 5 8 8、および／または R 5 8 8～Q 5 8 9 になされる。特定の実施形態において、挿入は、A A V 9 の D 3 8 4、G 3 8 5、1 5 6 0、T 5 6 1、N 5 6 2、E 5 6 3、E 5 6 4、E 5 6 5、N 7 0 4、および／または Y 7 0 5 になされる。眼細胞ターゲティングペプチドは、限定はされないが、以下のアミノ酸配列、G S T P P M（国際公開第 2 0 1 6 1 3 4 3 7 5 号パンフレットの配列番号 1；本明細書における配列番号 2 6 7 7）、または G E T R A P L（国際公開第 2 0 1 6 1 3 4 3 7 5 号パンフレットの配列番号 4；本明細書における配列番号 2 6 7 8）のいずれであってもよい。

【0173】

一部の実施形態において、A A V 血清型は、米国特許出願公開第 2 0 1 7 0 1 4 5 4 0 5 号明細書（その内容は本明細書において全体として参照により援用される）に記載されるとおりに修飾されていてもよい。A A V 血清型としては、修飾 A A V 2（例えば、Y 4 4 4 F、Y 5 0 0 F、Y 7 3 0 F および／または S 6 6 2 V の修飾）、修飾 A A V 3（例えば、Y 7 0 5 F、Y 7 3 1 F および／または T 4 9 2 V の修飾）、および修飾 A A V 6（例えば、S 6 6 3 V および／または T 4 9 2 V の修飾）が挙げられる。

【0174】

一部の実施形態において、A A V 血清型は、国際公開第 2 0 1 7 0 8 3 7 2 2 号パンフレット（その内容は本明細書において全体として参照により援用される）に記載されるとおりに修飾されていてもよい。A A V 血清型としては、A A V 1（Y 7 0 5 + 7 3 1 F + T 4 9 2 V）、A A V 2（Y 4 4 4 + 5 0 0 + 7 3 0 F + T 4 9 1 V）、A A V 3（Y 7 0 5 + 7 3 1 F）、A A V 5、A A V 5（Y 4 3 6 + 6 9 3 + 7 1 9 F）、A A V 6（V P 3 バリエーション Y 7 0 5 F / Y 7 3 1 F / T 4 9 2 V）、A A V 8（Y 7 3 3 F）、A A V 9、A A V 9（V P 3 バリエーション Y 7 3 1 F）、および A A V 1 0（Y 7 3 3 F）が挙げられ得る。

【0175】

一部の実施形態において、A A V 血清型は、国際公開第 2 0 1 7 0 1 5 1 0 2 号パンフレット（その内容は本明細書において全体として参照により援用される）に記載されるとおりに、アミノ酸 S P A K F A（国際公開第 2 0 1 7 0 1 5 1 0 2 号パンフレットの配列番号 2 4；本明細書における配列番号 2 6 7 9）または N K D K L N（国際公開第 2 0 1 7 0 1 5 1 0 2 号パンフレットの配列番号 2；本明細書における配列番号 2 6 8 0）を含む操作されたエピトープを含み得る。エピトープは、A A V 8（国際公開第 2 0 1 7 0 1 5 1 0 2 号パンフレットの配列番号 3）の V P 1 カプシドの付番に基づきアミノ酸 6 6 5～6 7 0 の領域および／または A A V 3 B（配列番号 3）の残基 6 6 4～6 6 8 の領域に挿入されていてもよい。

【0176】

一実施形態において、A A V 血清型は、限定はされないが、いずれかの組合せで、A A V 1 のアミノ酸残基 2 6 2～2 6 8、3 7 0～3 7 9、4 5 1～4 5 9、4 7 2～4 7 3、4 9 3～5 0 0、5 2 8～5 3 4、5 4 7～5 5 2、5 8 8～5 9 7、7 0 9～7 1 0、7 1 6～7 2 2 の 1 つ以上（例えば、2、3、4、5、6、または 7 つ）に、または A A V 2、A A V 3、A A V 4、A A V 5、A A V 6、A A V 7、A A V 8、A A V 9、A A V 1 0、A A V 1 1、A A V 1 2、A A V r h 8、A A V r h 1 0、A A V r h 3 2、3 3、ウシ A A V、もしくはトリ A A V の等価なアミノ酸残基に置換を含み得るカプシドタンパク質を有する A A V バリエーションなど、国際公開第 2 0 1 7 0 5 8 8 9 2 号パンフレット（その内容は本明細書において全体として参照により援用される）に記載のとおり配列であってもよくまたはそれを有していてもよい。アミノ酸置換は、限定はされないが、国際公開第 2 0 1 7 0 5 8 8 9 2 号パンフレットに記載されるアミノ酸配列のいずれであってもよい。一実施形態において、A A V は、以下の残基、A A V 1（国際公開第 2 0 1 7 0 5 8 8 9 2 号パンフレットの配列番号 1）の残基 2 5 6 L、2 5 8 K、2 5 9 Q、2 6 1 S、2 6 3 A、2 6 4 S、2 6 5 T、2 6 6 G、2 7 2 H、3 8 5 S、3 8 6 Q、S 4 7 2 R、V 4 7 3 D、N 5 0 0 E、5 4 7 S、7 0 9 A、7 1 0 N、7 1 6 D、7 1

7 N、7 1 8 N、7 2 0 L、A 4 5 6 T、Q 4 5 7 T、N 4 5 8 Q、K 4 5 9 S、T 4 9 2 S、K 4 9 3 A、S 5 8 6 R、S 5 8 7 G、S 5 8 8 N、T 5 8 9 R および／または 7 2 2 T のいずれかの組合せ、A V V 5（国際公開第 2 0 1 7 0 5 8 8 9 2 号パンフレットの配列番号 5）の 2 4 4 N、2 4 6 Q、2 4 8 R、2 4 9 E、2 5 0 I、2 5 1 K、2 5 2 S、2 5 3 G、2 5 4 S、2 5 5 V、2 5 6 D、2 6 3 Y、3 7 7 E、3 7 8 N、4 5 3 L、4 5 6 R、5 3 2 Q、5 3 3 P、5 3 5 N、5 3 6 P、5 3 7 G、5 3 8 T、5 3 9 T、5 4 0 A、5 4 1 T、5 4 2 Y、5 4 3 L、5 4 6 N、6 5 3 V、6 5 4 P、6 5 6 S、6 9 7 Q、6 9 8 F、7 0 4 D、7 0 5 S、7 0 6 T、7 0 7 G、7 0 8 E、7 0 9 Y および／または 7 1 0 R のいずれかの組合せ、A A V 5（国際公開第 2 0 1 7 0 5 8 8 9 2 号パンフレットの配列番号 5）の 2 4 8 R、3 1 6 V、3 1 7 Q、3 1 8 D、3 1 9 S、4 4 3 N、5 3 0 N、5 3 1 S、5 3 2 Q、5 3 3 P、5 3 4 A、5 3 5 N、5 4 0 A、5 4 1 T、5 4 2 Y、5 4 3 L、5 4 5 G、5 4 6 N、6 9 7 Q、7 0 4 D、7 0 6 T、7 0 8 E、7 0 9 Y および／または 7 1 0 R のいずれかの組合せ、A A V 6（国際公開第 2 0 1 7 0 5 8 8 9 2 号パンフレットの配列番号 6）の 2 6 4 S、2 6 6 G、2 6 9 N、2 7 2 H、4 5 7 Q、5 8 8 S および／または 5 8 9 I のいずれかの組合せ、A A V 8（国際公開第 2 0 1 7 0 5 8 8 9 2 号パンフレットの配列番号 8）の 4 5 7 T、4 5 9 N、4 9 6 G、4 9 9 N、5 0 0 N、5 8 9 Q、5 9 0 N および／または 5 9 2 A のいずれかの組合せ、A A V 9（国際公開第 2 0 1 7 0 5 8 8 9 2 の配列番号 9）の 4 5 1 I、4 5 2 N、4 5 3 G、4 5 4 S、4 5 5 G、4 5 6 Q、4 5 7 N および／または 4 5 8 Q のいずれかの組合せでアミノ酸置換を含み得る。

10

20

【0177】

一部の実施形態において、A A V は、国際公開第 2 0 1 7 0 6 6 7 6 4 号パンフレット（その内容は本明細書において全体として参照により援用される）に記載されるとおり、V P 1 の 1 5 5、1 5 6 および 1 5 7 位または V P 2 の 1 7、1 8、1 9 および 2 0 位にアミノ酸の配列を含み得る。アミノ酸の配列は、限定はされないが、N-S-S、S-X-S、S-S-Y、N-X-S、N-S-Y、S-X-Y および N-X-Y、式中 N、X および Y は、限定はされないが、独立に、非セリンまたは非トレオニンアミノ酸であり、A A V は、限定はされないが、A A V 1、A A V 2、A A V 3、A A V 4、A A V 5、A A V 6、A A V 7、A A V 8、A A V 9、A A V 10、A A V 11 および A A V 12 であってもよい。一部の実施形態において、A A V は、V P 1 の 1 5 6、1 5 7 もしくは 1 5 8 位または V P 2 の 1 9、2 0 もしくは 2 1 位に少なくとも 1 つのアミノ酸の欠失を含んでいてもよく、A A V は、限定はされないが、A A V 1、A A V 2、A A V 3、A A V 4、A A V 5、A A V 6、A A V 7、A A V 8、A A V 9、A A V 10、A A V 11 および A A V 12 であってもよい。

30

【0178】

一実施形態において、A A V 血清型に含めるペプチドは、ホイ（Hui）ら（モレキュラー・セラピー・メソッド・アンド・クリニカル・デベロップメント（Molecular Therapy-Methods & Clinical Development）、2015 年、第 2 巻、p. 15029、doi:10.1038/mtm.2015.29；これらの内容は本明細書において全体として参照により援用される）により記載される方法を用いて同定されてもよい。非限定的な例として、手順には、ヒト脾細胞を単離すること、インビトロで A A V カプシドタンパク質のアミノ酸配列にわたって個々のペプチドを用いて脾細胞を再刺激すること、インビトロ再刺激に使用した個々のペプチドによる I F N- γ E L I S p o t、バイオインフォマティクス解析による I F N- γ E L I S p o t によって同定された 15mer の H L A 拘束性の決定、所与の H L A 対立遺伝子に対する候補反応性 9mer エピトープの同定、候補 9mer の合成、同定された A A V エピトープが結合すると予測される H L A 対立遺伝子を有する対象からの脾細胞の第 2 の I F N- γ E L I S p o t スクリーニング、A A V カプシド反応性 C D 8 + T 細胞エピトープを決定すること、および所与の A A V エピトープに反応する対象の頻度を決定することが含まれる。

40

50

【0179】

一実施形態において、AAVは、デバーマン（Deverman）ら（ネイチャー・バイオテクノロジー（Nature Biotechnology）、第34巻、第2号、p. 204～209、2016年）（この内容は本明細書において全体として参照により援用される）により記載されるとおりのCre組換えに基づくAAVターゲット進化（CREATE: Cre-recombination-based AAV targeted evolution）によって生成された血清型であってもよい。一実施形態において、このように作成されたAAV血清型は、他のAAV血清型と比較したとき向上したCNS形質導入および／またはニューロンおよびアストロサイト向性を有する。非限定的な例として、AAV血清型は、PHP. B、PHP. B2、PHP. B3、PHP. A、G2A12、G2A15であってもよい。一実施形態において、これらのAAV血清型は、アミノ酸588～589に7アミノ酸インサートを有するAAV9（配列番号126および127）誘導体であってもよい。これらの7アミノ酸インサートの非限定的な例としては、TLAVPFK（配列番号873）、SVSKPFL（配列番号1249）、FTLTPK（配列番号882）、YTLSQGW（配列番号888）、QAVRTSL（配列番号914）および／またはLAKERLS（配列番号915）が挙げられる。

10

【0180】

一実施形態において、AAV血清型は、ジャクソン（Jackson）ら（フロンティア・イン・モレキュラー・ニューロサイエンス（Frontiers in Molecular Neuroscience）、第9巻、p. 154、2016年）（この内容は本明細書において全体として参照により援用される）に記載されるとおりであってもよい。一部の実施形態において、AAV血清型はPHP. BまたはAAV9である。一部の実施形態において、AAV血清型はシナプシンプロモータと対を成すことにより、遍在性の高いプロモータを使用する場合（すなわち、CBAまたはCMV）と比較したときニューロン形質導入を増強する。

20

【0181】

一実施形態において、AAV血清型に含めるペプチドは、ヒト脾細胞を単離すること、インビトロでAAVカプシドタンパク質のアミノ酸配列にわたって個々のペプチドを用いて脾細胞を再刺激すること、インビトロ再刺激に使用した個々のペプチドによるIFN- γ ELISpot、バイオインフォマティクス解析によるIFN- γ ELISpotによって同定された15merの所与の対立遺伝子拘束性の決定、所与の対立遺伝子に対する候補反応性9merエピトープの同定、候補9merの合成、同定されたAAVエピトープが結合すると予測される特異的対立遺伝子を有する対象からの脾細胞の第2のIFN- γ ELISpotスクリーニング、AAVカプシド反応性CD8+ T細胞エピトープを決定すること、および所与のAAVエピトープに反応する対象の頻度を決定することにより同定されてもよい。

30

【0182】

s iRNA分子をコードする調節性ポリヌクレオチドを含むAAV粒子は、限定はされないが、AAV1、AAV2、AAV3、AAV4、AAV5、AAV6、AAV7、AAV8、AAV9、AAV9.47、AAV9(hu14)、AAV10、AAV11、AAV12、AAVrh8、AAVrh10、AAV-DJ8およびAAV-DJを含む、AAVの種々の血清型から調製されてもよく、またはそれに由来してもよい。ある場合には、異なるAAV血清型が共に、または他のタイプのウイルスと混合されることにより、キメラAAVベクターが作製されてもよい。非限定的な例として、AAV粒子はAAV9血清型に由来する。

40

【0183】

ウイルスゲノム

一実施形態において、に示されるように、AAV粒子は、ペイロード領域を有するウイルスゲノムを含む。

【0184】

50

一実施形態において、ウイルスゲノムは、図1に示されるような成分を含み得る。ペイロード領域110は、ウイルスゲノム100内に位置する。ウイルスゲノム100の5'末端および／または3'末端には、少なくとも1つの末端逆位配列(ITS)120が存在していてもよい。5'ITS120とペイロード領域110との間には、プロモータ領域130が存在していてもよい。一実施形態において、ペイロード領域は、少なくとも1つの調節性ポリヌクレオチドを含み得る。

【0185】

一実施形態において、ウイルスゲノム100は、図2に示されるような成分を含み得る。ペイロード領域110は、ウイルスゲノム100内に位置する。ウイルスゲノム100の5'末端および／または3'末端には、少なくとも1つの末端逆位配列(ITS)120が存在していてもよい。5'ITS120とペイロード領域110との間には、プロモータ領域130が存在していてもよい。プロモータ領域130とペイロード領域110との間には、イントロン領域140が存在していてもよい。一実施形態において、ペイロード領域は、少なくとも1つの調節性ポリヌクレオチドを含み得る。

【0186】

一実施形態において、ウイルスゲノム100は、図3に示されるような成分を含み得る。ウイルスゲノム100の5'末端および／または3'末端には、少なくとも1つの末端逆位配列(ITS)120が存在していてもよい。ウイルスゲノム100内には、エンハンサー領域150、プロモータ領域130、イントロン領域140、およびペイロード領域110が存在していてもよい。一実施形態において、ペイロード領域は、少なくとも1つの調節性ポリヌクレオチドを含み得る。

【0187】

一実施形態において、ウイルスゲノム100は、図4に示されるような成分を含み得る。ウイルスゲノム100の5'末端および／または3'末端には、少なくとも1つの末端逆位配列(ITS)120が存在していてもよい。ウイルスゲノム100内には、エンハンサー領域150、プロモータ領域130、イントロン領域140、ペイロード領域110、およびポリアデニル化シグナル配列領域160が存在していてもよい。一実施形態において、ペイロード領域は、少なくとも1つの調節性ポリヌクレオチドを含み得る。

【0188】

一実施形態において、ウイルスゲノム100は、図5に示されるような成分を含み得る。ウイルスゲノム100の5'末端および／または3'末端には、少なくとも1つの末端逆位配列(ITS)120が存在していてもよい。ウイルスゲノム100内には、少なくとも1つのMCS領域170、エンハンサー領域150、プロモータ領域130、イントロン領域140、ペイロード領域110、およびポリアデニル化シグナル配列領域160が存在していてもよい。一実施形態において、ペイロード領域は、少なくとも1つの調節性ポリヌクレオチドを含み得る。

【0189】

一実施形態において、ウイルスゲノム100は、図6に示されるような成分を含み得る。ウイルスゲノム100の5'末端および／または3'末端には、少なくとも1つの末端逆位配列(ITS)120が存在していてもよい。ウイルスゲノム100内には、少なくとも1つのMCS領域170、エンハンサー領域150、プロモータ領域130、少なくとも1つのエクソン領域180、少なくとも1つのイントロン領域140、ペイロード領域110、およびポリアデニル化シグナル配列領域160が存在していてもよい。一実施形態において、ペイロード領域は、少なくとも1つの調節性ポリヌクレオチドを含み得る。

【0190】

一実施形態において、ウイルスゲノム100は、図7および図8に示されるような成分を含み得る。ウイルスゲノム100内には、少なくとも1つのプロモータ領域130およびペイロード領域110が存在していてもよい。一実施形態において、ペイロード領域は、少なくとも1つの調節性ポリヌクレオチドを含み得る。

【0191】

一実施形態において、ウイルスゲノム100は、図9に示されるような成分を含み得る。ウイルスゲノム100内には、少なくとも1つのプロモータ領域130、ペイロード領域110、およびポリアデニル化シグナル配列領域160が存在していてもよい。一実施形態において、ペイロード領域は、少なくとも1つの調節性ポリヌクレオチドを含み得る。

【0192】

ウイルスゲノムサイズ

一実施形態において、本明細書に記載されるペイロードを含むウイルスゲノムは、一本鎖または二本鎖ウイルスゲノムであってもよい。ウイルスゲノムのサイズは、小型、中型、大型または最大サイズであってもよい。加えて、ウイルスゲノムはプロモータおよびポリAテールを含み得る。

10

【0193】

一実施形態において、本明細書に記載されるペイロードを含むウイルスゲノムは、小型一本鎖ウイルスゲノムであってもよい。小型一本鎖ウイルスゲノムは、約2.7、2.8、2.9、3.0、3.1、3.2、3.3、3.4、および3.5 kb サイズなど、2.7~3.5 kb サイズであってもよい。非限定的な例として、小型一本鎖ウイルスゲノムは3.2 kb サイズであってもよい。加えて、ウイルスゲノムはプロモータおよびポリAテールを含み得る。

20

【0194】

一実施形態において、本明細書に記載されるペイロードを含むウイルスゲノムは、小型二本鎖ウイルスゲノムであってもよい。小型二本鎖ウイルスゲノムは、約1.3、1.4、1.5、1.6、および1.7 kb サイズなど、1.3~1.7 kb サイズであってもよい。非限定的な例として、小型二本鎖ウイルスゲノムは1.6 kb サイズであってもよい。加えて、ウイルスゲノムはプロモータおよびポリAテールを含み得る。

【0195】

一実施形態において、本明細書に記載されるペイロードを含むウイルスゲノムは、中型一本鎖ウイルスゲノムであってもよい。中型一本鎖ウイルスゲノムは、約3.6、3.7、3.8、3.9、4.0、4.1、4.2および4.3 kb サイズなど、3.6~4.3 kb サイズであってもよい。非限定的な例として、中型一本鎖ウイルスゲノムは4.0 kb サイズであってもよい。加えて、ウイルスゲノムはプロモータおよびポリAテールを含み得る。

30

【0196】

一実施形態において、本明細書に記載されるペイロードを含むウイルスゲノムは、中型二本鎖ウイルスゲノムであってもよい。中型二本鎖ウイルスゲノムは、約1.8、1.9、2.0、および2.1 kb サイズなど、1.8~2.1 kb サイズであってもよい。非限定的な例として、中型二本鎖ウイルスゲノムは2.0 kb サイズであってもよい。加えて、ウイルスゲノムはプロモータおよびポリAテールを含み得る。

【0197】

一実施形態において、本明細書に記載されるペイロードを含むウイルスゲノムは、大型一本鎖ウイルスゲノムであってもよい。大型一本鎖ウイルスゲノムは、約4.4、4.5、4.6、4.7、4.8、4.9、5.0、5.1、5.2、5.3、5.4、5.5、5.6、5.7、5.8、5.9および6.0 kb サイズなど、4.4~6.0 kb サイズであってもよい。非限定的な例として、大型一本鎖ウイルスゲノムは4.7 kb サイズであってもよい。別の非限定的な例として、大型一本鎖ウイルスゲノムは4.8 kb サイズであってもよい。更に別の非限定的な例として、大型一本鎖ウイルスゲノムは6.0 kb サイズであってもよい。加えて、ウイルスゲノムはプロモータおよびポリAテールを含み得る。

40

【0198】

一実施形態において、本明細書に記載されるペイロードを含むウイルスゲノムは、大型

50

二本鎖ウイルスゲノムであってもよい。大型二本鎖ベクターゲノムは、約 2.2、2.3、2.4、2.5、2.6、2.7、2.8、2.9 および 3.0 kb サイズなど、2.2～3.0 kb サイズであってもよい。非限定的な例として、大型二本鎖ウイルスゲノムは 2.4 kb サイズであってもよい。加えて、ウイルスゲノムはプロモータおよびポリ A テールを含み得る。

【0199】

ウイルスゲノム成分：末端逆位配列 (ITR)

本発明の AAV 粒子は、少なくとも 1 つの ITR 領域とペイロード領域とを有するウイルスゲノムを含む。一実施形態において、ウイルスゲノムは 2 つの ITR を有する。これらの 2 つの ITR は 5' 末端および 3' 末端でペイロード領域に隣接する。ITR は、複製のための認識部位を含む複製起点として働く。ITR は、相補的でかつ対称に配置され得る配列領域を含む。本発明のウイルスゲノムに組み込まれる ITR は、天然に存在するポリヌクレオチド配列または組換え的に誘導されたポリヌクレオチド配列を含み得る。

【0200】

ITR は、表 1 に挙げられる血清型のいずれか、またはその誘導體から選択される、カプシドと同じ血清型に由来してもよい。ITR はカプシドと異なる血清型であってもよい。一実施形態において、AAV 粒子は 2 つ以上の ITR を有する。非限定的な例では、AAV 粒子は、2 つの ITR を含むウイルスゲノムを有する。一実施形態において、ITR は互いに同じ血清型である。別の実施形態において、ITR は異なる血清型である。非限定的な例としては、ITR のうちゼロ個、一方または両方がカプシドと同じ血清型を有することが挙げられる。一実施形態において、AAV 粒子のウイルスゲノムの両方の ITR が AAV2 ITR である。

【0201】

独立に、各 ITR は約 100～約 150 ヌクレオチド長であってもよい。ITR は、約 100～105 ヌクレオチド長、106～110 ヌクレオチド長、111～115 ヌクレオチド長、116～120 ヌクレオチド長、121～125 ヌクレオチド長、126～130 ヌクレオチド長、131～135 ヌクレオチド長、136～140 ヌクレオチド長、141～145 ヌクレオチド長または 146～150 ヌクレオチド長であってもよい。一実施形態において、ITR は 140～142 ヌクレオチド長である。ITR 長さの非限定的な例は、102、140、141、142、145 ヌクレオチド長、およびそれと少なくとも 95% の同一性を有するものである。

【0202】

一実施形態において、AAV 粒子は、発現ベクターにおいてフリップ ITR の 5' 末端の近傍に位置してもよい siRNA 分子をコードする核酸配列を含む。別の実施形態において、AAV 粒子は、発現ベクターにおいてフリップ ITR の 3' 末端の近傍に位置してもよい siRNA 分子をコードする核酸配列を含む。更に別の実施形態において、AAV 粒子は、発現ベクターにおいてフロップ ITR の 5' 末端の近傍に位置してもよい siRNA 分子をコードする核酸配列を含む。更に別の実施形態において、AAV 粒子は、発現ベクターにおいてフロップ ITR の 3' 末端の近傍に位置してもよい siRNA 分子をコードする核酸配列を含む。一実施形態において、AAV 粒子は、発現ベクターにおいてフリップ ITR の 5' 末端とフロップ ITR の 3' 末端との間に位置してもよい siRNA 分子をコードする核酸配列を含む。一実施形態において、AAV 粒子は、発現ベクターにおいてフリップ ITR の 3' 末端とフリップ ITR の 5' 末端との間に（例えば、フリップ ITR の 5' 末端とフロップ ITR の 3' 末端との間またはフロップ ITR の 3' 末端とフリップ ITR の 5' 末端との間の中間に）位置してもよい siRNA 分子をコードする核酸配列を含む。非限定的な例として、AAV 粒子は、発現ベクターにおいて ITR（例えばフリップまたはフロップ ITR）の 5' または 3' 末端から下流に 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 ヌクレオチドまたは 30 ヌクレオチド超以内に位置してもよい siRNA 分子をコードする核酸配列を含

む。非限定的な例として、AAV粒子は、発現ベクターにおいてITR（例えばフリップまたはフロップITR）の5'または3'末端から上流に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ヌクレオチドまたは30ヌクレオチド超以内に位置してもよいsiRNA分子をコードする核酸配列を含む。別の非限定的な例として、AAV粒子は、発現ベクターにおいてITR（例えばフリップまたはフロップITR）の5'または3'末端から下流に1～5、1～10、1～15、1～20、1～25、1～30、5～10、5～15、5～20、5～25、5～30、10～15、10～20、10～25、10～30、15～20、15～25、15～30、20～25、20～30または25～30ヌクレオチド以内に位置してもよいsiRNA分子をコードする核酸配列を含む。別の非限定的な例として、AAV粒子は、発現ベクターにおいてITR（例えばフリップまたはフロップITR）の5'または3'末端から上流に1～5、1～10、1～15、1～20、1～25、1～30、5～10、5～15、5～20、5～25、5～30、10～15、10～20、10～25、10～30、15～20、15～25、15～30、20～25、20～30または25～30以内に位置してもよいsiRNA分子をコードする核酸配列を含む。非限定的な例として、AAV粒子は、発現ベクターにおいてITR（例えばフリップまたはフロップITR）の5'または3'末端から上流にあるヌクレオチドの最初の1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、15%、20%、25%または25%超以内に位置してもよいsiRNA分子をコードする核酸配列を含む。別の非限定的な例として、AAV粒子は、発現ベクターにおいてITR（例えばフリップまたはフロップITR）の5'または3'末端から下流に最初の1～5%、1～10%、1～15%、1～20%、1～25%、5～10%、5～15%、5～20%、5～25%、10～15%、10～20%、10～25%、15～20%、15～25%、または20～25%で位置してもよいsiRNA分子をコードする核酸配列を含む。

【0203】

ウイルスゲノム成分：プロモータ

一実施形態において、ウイルスゲノムのペイロード領域は、トランス遺伝子標的特異性および発現を増強する少なくとも1つのエレメントを含む（例えば、パウエル（Powell）ら著、「遺伝子療法におけるトランス遺伝子標的特異性および発現を増強するウイルス発現カセットエレメント（Viral Expression Cassette Elements to Enhance Transgene Target Specificity and Expression in Gene Therapy）」、2015年を参照のこと；この内容は本明細書において全体として参照により援用される）。トランス遺伝子標的特異性および発現を増強するエレメントの非限定的な例としては、プロモータ、内因性miRNA、転写後調節エレメント（PRE）、ポリアデニル化（ポリA）シグナル配列および上流エンハンサー（USE）、CMVエンハンサーおよびイントロンが挙げられる。

【0204】

当業者であれば、標的細胞中での本発明のポリペプチドの発現には、限定はされないが、種特異的な、誘導可能な、組織特異的な、または細胞周期特異的なプロモータを含む、特異的なプロモータが必要とされ得ることを認識し得る（パー（Parr）ら著、ネイチャー・メディシン（Nat. Med.）、第3巻、p. 1145～9（1997年）；この内容は本明細書において全体として参照により援用される）。

【0205】

一実施形態において、プロモータは、AAV粒子のウイルスゲノムのペイロード領域にコードされたポリペプチドの発現をドライブする場合、有効と見なされる。

一実施形態において、プロモータは、調節性ポリヌクレオチドの発現をドライブするのに有効と見なされるプロモータである。

【0206】

一実施形態において、プロモータは、標的とされている細胞中で発現をドライブする場合、有効と見なされるプロモータである。

一実施形態において、プロモータは、標的組織においてペイロードの発現をある期間ドライブする。プロモータによりドライブされた発現は、1時間、2時間、3時間、4時間、5時間、6時間、7時間、8時間、9時間、10時間、11時間、12時間、13時間、14時間、15時間、16時間、17時間、18時間、19時間、20時間、21時間、22時間、23時間、1日、2日、3日、4日、5日、6日、1週間、8日、9日、10日、11日、12日、13日、2週間、15日、16日、17日、18日、19日、20日、3週間、22日、23日、24日、25日、26日、27日、28日、29日、30日、31日、1ヵ月、2ヵ月、3ヵ月、4ヵ月、5ヵ月、6ヵ月、7ヵ月、8ヵ月、9ヵ月、10ヵ月、11ヵ月、1年、13ヵ月、14ヵ月、15ヵ月、16ヵ月、17ヵ月、18ヵ月、19ヵ月、20ヵ月、21ヵ月、22ヵ月、23ヵ月、2年、3年、4年、5年、6年、7年、8年、9年、10年または10年超の期間であってもよい。発現は、1～5時間、1～12時間、1～2日、1～5日、1～2週間、1～3週間、1～4週間、1～2ヵ月、1～4ヵ月、1～6ヵ月、2～6ヵ月、3～6ヵ月、3～9ヵ月、4～8ヵ月、6～12ヵ月、1～2年、1～5年、2～5年、3～6年、3～8年、4～8年または5～10年であってもよい。

【0207】

一実施形態において、プロモータは、少なくとも1ヵ月、2ヵ月、3ヵ月、4ヵ月、5ヵ月、6ヵ月、7ヵ月、8ヵ月、9ヵ月、10ヵ月、11ヵ月、1年、2年、3年、4年、5年、6年、7年、8年、9年、10年、11年、12年、13年、14年、15年、16年、17年、18年、19年、20年、21年、22年、23年、24年、25年、26年、27年、28年、29年、30年、31年、32年、33年、34年、35年、36年、37年、38年、39年、40年、41年、42年、43年、44年、45年、46年、47年、48年、49年、50年、55年、60年、65年、または65年超にわたって、ペイロードの発現をドライブする。

【0208】

プロモータは、天然に存在してもよくまたは天然に存在しなくともよい。プロモータの非限定的な例としては、ウイルスプロモータ、植物プロモータおよび哺乳類プロモータが挙げられる。一部の実施形態において、プロモータは、ヒトプロモータであってもよい。一部の実施形態において、プロモータは、トランケート型であってもよい。

【0209】

ほとんどの組織で発現をドライブまたは促進するプロモータとしては、限定はされないが、ヒト伸長因子1 α -サブユニット(EF1 α)、サイトメガロウイルス(CMV)前初期エンハンサーおよび／もしくはプロモータ、ニワトリ β -アクチン(CBA)およびその誘導体CAG、 β グルクロニダーゼ(GUSB)、またはユビキチンC(UBC)が挙げられる。限定はされないが、筋肉特異的プロモータ、B細胞プロモータ、単球プロモータ、白血球プロモータ、マクロファージプロモータ、膵腺房細胞プロモータ、内皮細胞プロモータ、肺組織プロモータ、アストロサイトプロモータ、またはニューロン、アストロサイト、もしくはオリゴデンドロサイトに発現を制限するために使用することができる神経系プロモータなど、組織特異的発現エレメントを使用して、発現を特定の細胞型に限定することができる。

【0210】

筋肉特異的プロモータの非限定的な例としては、哺乳類筋肉クレアチンキナーゼ(MCK)プロモータ、哺乳類デスミン(DES)プロモータ、哺乳類トロポニンI(TNNI2)プロモータ、および哺乳類骨格筋型アルファ α -アクチン(ASKA)プロモータ(例えば、米国特許出願公開第20110212529号明細書を参照。その内容は本明細書において全体として参照により援用される)。

【0211】

ニューロンの組織特異的発現エレメントの非限定的な例としては、ニューロン特異的エ

ノラーゼ (NSE)、血小板由来増殖因子 (PDGF)、血小板由来増殖因子B鎖 (PDGF-β)、シナプシン (Syn)、メチル-CpG結合タンパク質 (MeCP2)、Ca²⁺/カルモジュリン依存性プロテインキナーゼII (CaMKII)、代謝調節型グルタミン酸受容体2 (mGluR2)、ニューロフィラメント軽鎖 (NFL) または重鎖 (NFH)、β-グロビンミニ遺伝子nβ2、プレプロエンケファリン (PPE)、エンケファリン (Enk) および興奮性アミノ酸トランスポーター2 (EAAT2) プロモータが挙げられる。アストロサイトに対する組織特異的発現エレメントの非限定的な例としては、グリア線維性酸性タンパク質 (GFAP) およびEAAT2プロモータが挙げられる。オリゴデンドロサイトに対する組織特異的発現エレメントの非限定的な例としては、ミエリン塩基性タンパク質 (MBP) プロモータが挙げられる。

10

【0212】

一実施形態において、プロモータは、1 kb未満であってもよい。プロモータは、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、310、320、330、340、350、360、370、380、390、400、410、420、430、440、450、460、470、480、490、500、510、520、530、540、550、560、570、580、590、600、610、620、630、640、650、660、670、680、690、700、710、720、730、740、750、760、770、780、790、800または800ヌクレオチド超の長さを有してもよい。プロモータは、200~300、200~400、200~500、200~600、200~700、200~800、300~400、300~500、300~600、300~700、300~800、400~500、400~600、400~700、400~800、500~600、500~700、500~800、600~700、600~800または700~800の長さを有してもよい。

20

【0213】

一実施形態において、プロモータは、限定はされないが、CMVおよびCBAなど、同じまたは異なる開始または親プロモータの2つ以上の成分の組合せであってもよい。各成分は、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、310、320、330、340、350、360、370、380、381、382、383、384、385、386、387、388、389、390、400、410、420、430、440、450、460、470、480、490、500、510、520、530、540、550、560、570、580、590、600、610、620、630、640、650、660、670、680、690、700、710、720、730、740、750、760、770、780、790、800または800超の長さを有してもよい。各成分は、200~300、200~400、200~500、200~600、200~700、200~800、300~400、300~500、300~600、300~700、300~800、400~500、400~600、400~700、400~800、500~600、500~700、500~800、600~700、600~800または700~800の長さを有してもよい。一実施形態において、プロモータは、382ヌクレオチドCMVエンハンサー配列と260ヌクレオチドCBAプロモータ配列との組合せである。

30

【0214】

一実施形態において、ウイルスゲノムはユビキタスプロモータを含む。ユビキタスプロモータの非限定的な例としては、CMV、CBA (誘導体CAG、CBh等を含む)、EF-1α、PGK、UBC、GUSB (hGBp)、およびUCOE (HNRPA2B1-CBX3のプロモータ) が挙げられる。

40

【0215】

ユー (Yu) ら (モレキュラー・ペイン (Molecular Pain)、2011年、第7巻、p. 63; これらの内容は本明細書において全体として参照により援用される) は、レンチウイルスベクターを使用してラットDRG細胞および初代DRG細胞にお

50

けるCAG、EF1 α 、PGKおよびUBCプロモータ下のeGFPの発現を評価し、UBCが他の3つのプロモータよりも弱い発現を示し、全てのプロモータについて僅か10～12%のグリア細胞発現しか見られなかったことを見出した。セーデルブロム (Soderblom) ら (イー・ニューロ (E. Neuro)、2015年; これらの内容は本明細書において全体として参照により援用される) は、運動皮質における注射後のCMVおよびUBCプロモータを含むAAV8およびCMVプロモータを含むAAV2におけるeGFPの発現を評価した。UBCまたはEF1 α プロモータを含むプラスミドの鼻腔内投与は、CMVプロモータによる発現よりも高い持続的気道発現を示した (例えば、ギル (Gill) ら著、ジーン・セラピー (Gene Therapy)、2001年、第8巻、p. 1539～1546 (この内容は本明細書において全体として参照により援用される) を参照のこと)。フセイン (Husain) ら (ジーン・セラピー (Gene Therapy)、2009年; これらの内容は本明細書において全体として参照により援用される) は、hGUSBプロモータ、HSV-1LATプロモータおよびNSEプロモータを含むH β Hコンストラクトを評価し、このH β Hコンストラクトがマウス脳においてNSEよりも弱い発現を示したことを見出した。パッシーニ (Passini) およびウォルフ (Wolfe) (ジャーナル・オブ・バイロロジー (J. Virol.)、2001年、p. 12382～12392、これらの内容は本明細書において全体として参照により援用される) は、新生仔マウスにおける脳室内注射後のH β Hベクターの長期効果を評価し、少なくとも1年間にわたり持続的発現があったことを見出した。スー (Xu) ら (ジーン・セラピー (Gene Therapy)、2001年、第8巻、p. 1323～1332; これらの内容は本明細書において全体として参照により援用される) により、NFLおよびNFHプロモータを使用したとき、CMV-lacZ、CMV-luc、EF、GFAP、hENK、nAChR、PPE、PPE+wpre、NSE (0.3 kb)、NSE (1.8 kb) およびNSE (1.8 kb+wpre) と比較して全ての脳領域で低発現が見出された。スー (Xu) らは、プロモータ活性が、降順に、NSE (1.8 kb)、EF、NSE (0.3 kb)、GFAP、CMV、hENK、PPE、NFLおよびNFHであることを見出した。NFLは650ヌクレオチドプロモータであり、NFHは920ヌクレオチドプロモータであり、両方とも肝臓には存在しないが、NFHは固有受容感覚ニューロン、脳および脊髄に豊富にあり、NFHは心臓に存在する。Scn8aは、DRG、脊髄および脳全体にわたって発現する470ヌクレオチドプロモータであり、特に海馬ニューロンおよび小脳プルキンエ細胞、皮質、視床および視床下部に高発現が見られる (例えば、ドレウス (Drews) ら著、「ナトリウムチャネル遺伝子SCN8Aにおける、進化的に保存された機能性非コードエレメントの同定」 (Identification of evolutionary conserved, functional noncoding elements in the promoter region of the sodium channel gene SCN8A)、マンマリアン・ゲノム (Mamm Genome) (2007年)、第18巻、p. 723～731; およびレイモンド (Raymond) ら著、「選択的スプライスによるナトリウムチャネル α -サブユニット遺伝子」の発現 (Expression of Alternatively Spliced Sodium Channel α -subunit genes)、ジャーナル・オブ・バイオロジカル・ケミストリー (Journal of Biological Chemistry) 2004年、279 (44)、p. 46234～46241を参照のこと; この各々の内容は本明細書において全体として参照により援用される)。

【0216】

前述のユー (Yu)、セーデルブロム (Soderblom)、ギル (Gill)、フセイン (Husain)、パッシーニ (Passini)、スー (Xu)、ドレウス (Drews) またはレイモンド (Raymond) によって教示されるプロモータはいずれも、本発明に使用することができる。

【0217】

一実施形態において、プロモータは細胞特異的ではない。

一実施形態において、プロモータはユビキチンc (UBC) プロモータである。UBC プロモータは、300~350ヌクレオチドのサイズを有し得る。非限定的な例として、UBC プロモータは332ヌクレオチドである。

【0218】

一実施形態において、プロモータは、 β -グルクロニダーゼ (GUSB) プロモータである。GUSB プロモータは、350~400ヌクレオチドのサイズを有し得る。非限定的な例として、GUSB プロモータは378ヌクレオチドである。

【0219】

一実施形態において、プロモータはニューロフィラメント軽鎖 (NFL) プロモータである。NFL プロモータはサイズが600~700ヌクレオチドであり得る。非限定的な例として、NFL プロモータは650ヌクレオチドである。非限定的な例として、コンストラクトはAAV-プロモーターCMV/グロビンイントロン-調節性ポリヌクレオチド-RBGであってもよく、ここでAAVは自己相補的であってもよく、およびAAVはDJ血清型であってもよい。

10

【0220】

一実施形態において、プロモータはニューロフィラメント重鎖 (NFH) プロモータである。NFH プロモータはサイズが900~950ヌクレオチドであり得る。非限定的な例として、NFH プロモータは920ヌクレオチドである。非限定的な例として、コンストラクトはAAV-プロモーターCMV/グロビンイントロン-調節性ポリヌクレオチド-RBGであってもよく、ここでAAVは自己相補的であってもよく、およびAAVはDJ血清型であってもよい。

20

【0221】

一実施形態において、プロモータはscn8a プロモータである。scn8a プロモータはサイズが450~500ヌクレオチドであり得る。非限定的な例として、scn8a プロモータは470ヌクレオチドである。非限定的な例として、コンストラクトはAAV-プロモーターCMV/グロビンイントロン-調節性ポリヌクレオチド-RBGであってもよく、ここでAAVは自己相補的であってもよく、およびAAVはDJ血清型であってもよい。

【0222】

30

一実施形態において、ウイルスゲノムはPol III プロモータを含む。

一実施形態において、ウイルスゲノムはP1 プロモータを含む。

一実施形態において、ウイルスゲノムはFXN プロモータを含む。

【0223】

一実施形態において、プロモータは、ホスホグリセリン酸キナーゼ1 (PGK) プロモータである。

一実施形態において、プロモータは、ニワトリ β -アクチン (CBA) プロモータである。

【0224】

一実施形態において、プロモータは、ニワトリベーターアクチン (CBA) プロモータに融合されたサイトメガロウイルス (CMV) エンハンサーを含むコンストラクトであるCAG プロモータである。

40

【0225】

一実施形態において、プロモータは、サイトメガロウイルス (CMV) プロモータである。

一実施形態において、ウイルスゲノムは、Pol III プロモータ、例えばPol III 3型プロモータを含む。

【0226】

一実施形態において、U3、U6、U7、7SK、H1、またはMRP、EBER、セレノシステインtRNA、7SL、アデノウイルスVA-1、またはテロメラーゼ遺伝

50

子プロモータを含む。

【0227】

一実施形態において、ウイルスゲノムは、H1プロモータを含む。

一実施形態において、ウイルスゲノムは、U6プロモータを含む。

一実施形態において、プロモータは、肝臓または骨格筋プロモータである。肝臓プロモータの非限定的な例としては、ヒト α -1-抗トリプシン(hAAT)およびチロキシン結合グロブリン(TBG)が挙げられる。骨格筋プロモータの非限定的な例としては、デスミン、MCKまたは合成C5-12が挙げられる。

【0228】

一実施形態において、プロモータは、RNA pol IIIプロモータである。非限定的な例として、RNA pol IIIプロモータはU6である。非限定的な例として、RNA pol IIIプロモータはH1である。

【0229】

一実施形態において、プロモータは、例えば、トランケート型RNA Pol IIプロモータを含むRNA Pol IIプロモータである。

一実施形態において、ウイルスゲノムは、2つのプロモータを含む。非限定的な例として、プロモータは、EF1 α プロモータおよびCMVプロモータである。

【0230】

一実施形態において、ウイルスゲノムは、エンハンサーエレメント、プロモータおよび／または5' UTRイントロンを含む。また、エンハンサーエレメントは、本明細書では「エンハンサー」とも称され、限定はされないが、CMVエンハンサーであってもよく、プロモータは、限定はされないが、CMV、CBA、UBC、GUSB、NSE、シナプシン、MeCP2、およびGFAPプロモータであってもよく、および5' UTR／イントロンは、限定はされないが、SV40およびCBA-MVMであってもよい。非限定的な例として、組合せで使用されるエンハンサー、プロモータおよび／またはイントロンは、(1) CMVエンハンサー、CMVプロモータ、SV40 5' UTRイントロン；(2) CMVエンハンサー、CBAプロモータ、SV40 5' UTRイントロン；(3) CMVエンハンサー、CBAプロモータ、CBA-MVM 5' UTRイントロン；(4) UBCプロモータ；(5) GUSBプロモータ；(6) NSEプロモータ；(7) シナプシンプロモータ；(8) MeCP2プロモータ、(9) GFAPプロモータ、(10) H1プロモータ；および(11) U6プロモータであってもよい。

【0231】

一実施形態において、ウイルスゲノムは、操作されたプロモータを含む。

別の実施形態において、ウイルスゲノムは、天然に発現されるタンパク質のプロモータを含む。

【0232】

ウイルスゲノム成分：非翻訳領域(UTR)

定義上、遺伝子の野生型非翻訳領域(UTR)は、転写されるが翻訳されない。一般的には、5' UTRは、転写開始部位から始まり、開始コドンで終了し、3' UTRは、終止コドンの直後から始まり、転写の終結シグナルまで継続する。

【0233】

特定の標的臓器の、豊富に発現される遺伝子に典型的に見出される特徴を、UTR内に操作して、安定性およびタンパク質産生を増強することができる。非限定的な例として、肝臓において通常発現されるmRNA(例えば、アルブミン、血清アミロイドA、アポリポタンパク質A/B/E、トランスフェリン、アルファフェトプロテイン、エリスロポエチン、または第VII因子)に由来する5' UTRを、本発明のAAV粒子のウイルスゲノムに使用して、肝細胞株または肝臓での発現を増強することができる。

【0234】

理論によって束縛されることを望むものではないが、野生型5' 非翻訳領域(UTR)は、翻訳開始に役割を果たす特徴を含む。コザック配列は、リボソームが多数の遺伝子の

10

20

30

40

50

翻訳を開始させる過程に関与することが広く知られており、通常は5' UTRに含まれている。コザック配列は、コンセンサスCCR (A/G) CCAUGGを有し、式中Rは、開始コドン(ATG)の3塩基上流にあるプリン(アデニンまたはグアニン)であり、別の「G」がその後に続く。

【0235】

一実施形態において、ウイルスゲノムの5' UTRは、コザック配列を含む。

一実施形態において、ウイルスゲノムの5' UTRは、コザック配列を含まない。

理論によって束縛されることを望むものではないが、野生型3' UTRは、アデノシンおよびウリジンのストレッチがそこに埋め込まれていることが知られている。これらのAUリッチシグネチャーは、高いターンオーバー率を有する遺伝子において特に広く見受けられる。それらの配列特徴および機能的特性に基づき、AUリッチエレメント(ARE)は、3つのクラスに分離することができる(チェン(Chen)ら著、1995年。その内容は本明細書において全体として参照により援用される): 限定はされないが、c-MycおよびMyoDなどのクラスI AREは、Uリッチ領域内にAUUU Aモチーフの幾つかの分散コピーを含有する。限定はされないが、GM-CSFおよびTNF- α などのクラスII AREは、2つ以上のオーバーラップUUAUUUA (U/A) (U/A) ノナマーを有する。限定はされないが、c-JunおよびミオゲニンなどのクラスIII AREは、それほど十分に規定されていない。これらのUリッチ領域は、AUUU Aモチーフを含有しない。AREに結合するほとんどのタンパク質は、メッセンジャーを不安定化することが知られているが、ELAVファミリーのメンバーである最も顕著にはHuRは、mRNAの安定性を増加させることが実証されている。HuRは、3つ全てのクラスのAREに結合する。HuR特異的結合部位を核酸分子の3' UTR内に、操作により加えることは、インビボにて、HuR結合を、したがってメッセージの安定化をもたらすことになる。

【0236】

3' UTR AUリッチエレメント(ARE)の導入、除去または修飾を使用して、ポリヌクレオチドの安定性を調節することができる。特異的なポリヌクレオチド、例えばウイルスゲノムのペイロード領域を操作する場合、AREの1つ以上のコピーを導入して、ポリヌクレオチドをより不安定にし、それにより、翻訳を減らし、結果として生じるタンパク質の産生を減少させることができる。同様に、AREを、同定および除去または突然変異させて、細胞内安定性を増加させ、したがって結果として生じるタンパク質の翻訳および産生を増加させることができる。

【0237】

一実施形態において、ウイルスゲノムの3' UTRは、ポリAテールを鋳型付加するためのオリゴ(dT)配列を含み得る。

一実施形態において、ウイルスゲノムは、少なくとも1つのmiRNAシード、結合部位または完全な配列を含み得る。microRNA (またはmiRNAまたはmiR) は、核酸標的の部位に結合し、核酸分子安定性を低減することまたは翻訳を阻害することのいずれかによって遺伝子発現を下方制御する19~25ヌクレオチド非コードRNAである。microRNA配列は、「シード」領域、すなわち成熟microRNAの2~8位の領域の配列を含む。この配列は、核酸のmiRNA標的配列に対して完全なワトソンクリック型相補性を有する。

【0238】

一実施形態において、ウイルスゲノムは、少なくとも1つのmiRNA結合部位、配列またはシード領域を含む、変更するまたは除去するように操作されていてもよい。

当該技術分野で公知の任意の遺伝子に由来する任意のUTRを、AAV粒子のウイルスゲノムに組み込むことができる。これらのUTRまたはそれらの部分は、それらが選択されたかまたはそれらの配向性もしくは位置が変更され得る遺伝子と同じ配向性に配置され得る。一実施形態において、AAV粒子のウイルスゲノムに使用されるUTRは、逆位化、短縮化、延長化、当該技術分野で公知の1つ以上の他の5' UTRまたは3' UTRで

当該技術分野で公知の任意の遺伝子に由来する任意のUTRを、AAV粒子のウイルスゲノムに組み込むことができる。これらのUTRまたはそれらの部分は、それらが選択されたかまたはそれらの配向性もしくは位置が変更され得る遺伝子と同じ配向性に配置され得る。一実施形態において、AAV粒子のウイルスゲノムに使用されるUTRは、逆位化、短縮化、延長化、当該技術分野で公知の1つ以上の他の5' UTRまたは3' UTRで

作製され得る。本明細書で使用されるとき、用語「変更される」は、U T Rに関する場合、U T Rが、参照配列に対して何らかの点で変化していることを意味する。例えば、3'または5' U T Rは、上記で教示されるような配向性または位置の変化によって野生型または天然U T Rに対して変更されていてもよく、または追加ヌクレオチドの介在、ヌクレオチドの欠失、ヌクレオチドの交換もしくは転位によって変更されていてもよい。

【0239】

一実施形態において、A A V粒子のウイルスゲノムは、野生型U T Rの変異体でない少なくとも1つの人工U T Rを含む。

一実施形態において、A A V粒子のウイルスゲノムは、そのタンパク質が、共通の機能、構造、特徴、または特性を共有する転写物のファミリーから選択されているU T Rを含む。

10

【0240】

ウイルスゲノム成分：ポリアデニル化配列

一実施形態において、本発明のA A V粒子のウイルスゲノムは少なくとも1つのポリアデニル化配列を含む。A A V粒子のウイルスゲノムは、ペイロードコード配列の3'末端と3' I T Rの5'末端との間にポリアデニル化配列を含み得る。

【0241】

一実施形態において、ポリアデニル化配列または「ポリA配列」は、存在しない～約500ヌクレオチド長の範囲であってもよい。ポリアデニル化配列は、限定はされないが、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、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、141、142、143、144、145、146、147、148、149、150、151、152、153、154、155、156、157、158、159、160、161、162、163、164、165、166、167、168、169、170、171、172、173、174、175、176、177、178、179、180、181、182、183、184、185、186、187、188、189、190、191、192、193、194、195、196、197、198、199、200、201、202、203、204、205、206、207、208、209、210、211、212、213、214、215、216、217、218、219、220、221、222、223、224、225、226、227、228、229、230、231、232、233、234、235、236、237、238、239、240、241、242、243、244、245、246、247、248、249、250、251、252、253、254、255、256、257、258、259、260、261、262、263、264、265、266、267、268、269、270、271、272、273、274、275、276、277、278、279、280、281、282、283、284、285、286、287、288、289、290、291、292、293、294、295、296、297、298、299、300、301、302、303、304、305、306、307、308、309、310、311、312、313、314、315、316、317、318、319、320、321、322、323、324、325、326、327、328、329、330、331、332、333、334、335、336、337、

20

30

40

50

338、339、340、341、342、343、344、345、346、347、
 348、349、350、351、352、353、354、355、356、357、
 358、359、360、361、362、363、364、365、366、367、
 368、369、370、371、372、373、374、375、376、377、
 378、379、380、381、382、383、384、385、386、387、
 388、389、390、391、392、393、394、395、396、397、
 398、399、400、401、402、403、404、405、406、407、
 408、409、410、411、412、413、414、415、416、417、
 418、419、420、421、422、423、424、425、426、427、
 428、429、430、431、432、433、434、435、436、437、
 438、439、440、441、442、443、444、445、446、447、
 448、449、450、451、452、453、454、455、456、457、
 458、459、460、461、462、463、464、465、466、467、
 468、469、470、471、472、473、474、475、476、477、
 478、479、480、481、482、483、484、485、486、487、
 488、489、490、491、492、493、494、495、496、497、
 498、499、および500ヌクレオチド長であってもよい。

10

【0242】

- 一実施形態において、ポリアデニル化配列は50～100ヌクレオチド長である。
- 一実施形態において、ポリアデニル化配列は50～150ヌクレオチド長である。
- 一実施形態において、ポリアデニル化配列は50～160ヌクレオチド長である。

20

【0243】

- 一実施形態において、ポリアデニル化配列は50～200ヌクレオチド長である。
- 一実施形態において、ポリアデニル化配列は60～100ヌクレオチド長である。
- 一実施形態において、ポリアデニル化配列は60～150ヌクレオチド長である。

【0244】

- 一実施形態において、ポリアデニル化配列は60～160ヌクレオチド長である。
- 一実施形態において、ポリアデニル化配列は60～200ヌクレオチド長である。
- 一実施形態において、ポリアデニル化配列は70～100ヌクレオチド長である。

【0245】

- 一実施形態において、ポリアデニル化配列は70～150ヌクレオチド長である。
- 一実施形態において、ポリアデニル化配列は70～160ヌクレオチド長である。
- 一実施形態において、ポリアデニル化配列は70～200ヌクレオチド長である。

30

【0246】

- 一実施形態において、ポリアデニル化配列は80～100ヌクレオチド長である。
- 一実施形態において、ポリアデニル化配列は80～150ヌクレオチド長である。
- 一実施形態において、ポリアデニル化配列は80～160ヌクレオチド長である。

【0247】

- 一実施形態において、ポリアデニル化配列は80～200ヌクレオチド長である。
- 一実施形態において、ポリアデニル化配列は90～100ヌクレオチド長である。
- 一実施形態において、ポリアデニル化配列は90～150ヌクレオチド長である。

40

【0248】

- 一実施形態において、ポリアデニル化配列は90～160ヌクレオチド長である。
- 一実施形態において、ポリアデニル化配列は90～200ヌクレオチド長である。
- 一実施形態において、AAV粒子は、発現ベクターにおいてポリアデニル化配列の上流に位置してもよい、siRNA分子をコードする核酸配列を含む。更に、AAV粒子は、限定はされないが、CMV、U6、CAG、CBA、またはSV40イントロンもしくはヒトβグロビンイントロンを伴うCBAプロモータなど、発現ベクターにおいてプロモータの下流に位置してもよいsiRNA分子をコードする核酸配列を含む。非限定的な例として、AAV粒子は、発現ベクターにおいてプロモータから下流および／またはポリアデ

50

ニル化配列の上流に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ヌクレオチドまたは30ヌクレオチド超以内に位置してもよい*s i R N A*分子をコードする核酸配列を含む。別の非限定的な例として、*A A V*粒子は、発現ベクターにおいてプロモータから下流および／またはポリアデニル化配列の上流に1～5、1～10、1～15、1～20、1～25、1～30、5～10、5～15、5～20、5～25、5～30、10～15、10～20、10～25、10～30、15～20、15～25、15～30、20～25、20～30または25～30ヌクレオチド以内に位置してもよい*s i R N A*分子をコードする核酸配列を含む。非限定的な例として、*A A V*粒子は、発現ベクターにおいてプロモータから下流および／またはポリアデニル化配列の上流にあるヌクレオチドの最初の1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、15%、20%、25%または25%超以内に位置してもよい*s i R N A*分子をコードする核酸配列を含む。別の非限定的な例として、*A A V*粒子は、発現ベクターにおいてプロモータから下流および／またはポリアデニル化配列の上流に最初の1～5%、1～10%、1～15%、1～20%、1～25%、5～10%、5～15%、5～20%、5～25%、10～15%、10～20%、10～25%、15～20%、15～25%、または20～25%で位置してもよい*s i R N A*分子をコードする核酸配列を含む。

10

【0249】

一実施形態において、*A A V*粒子は、ウサギグロビンポリアデニル化（ポリA）シグナル配列を含む。

20

一実施形態において、*A A V*粒子は、ヒト成長ホルモンポリアデニル化（ポリA）シグナル配列を含む。

【0250】

ウイルスゲノム成分：イントロン

一実施形態において、ペイロード領域は、1つ以上のイントロンまたはそれらの部分など、発現を増強するための少なくとも1つのエレメントを含む。イントロンの非限定的な例としては、MVM（67～97 b p s）、F. I Xトランケート型イントロン1（300 b p）、 β -グロビンSD/免疫グロブリン重鎖スプライスアクセプター（250 b p）、アデノウイルススプライスドナー/イムノグロビンスプライスアクセプター（500 b p）、SV40後期スプライスドナー/スプライスアクセプター（19 S/16 S）（180 b p）およびハイブリッドアデノウイルススプライスドナー/I g Gスプライスアクセプター（230 b p）が挙げられる。

30

【0251】

一実施形態において、イントロンまたはイントロン部分は100～500ヌクレオチド長であってもよい。イントロンは、80、90、100、110、120、130、140、150、160、170、171、172、173、174、175、176、177、178、179、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、310、320、330、340、350、360、370、380、390、400、410、420、430、440、450、460、470、480、490または500の長さを有してもよい。イントロンは、80～100、80～120、80～140、80～160、80～180、80～200、80～250、80～300、80～350、80～400、80～450、80～500、200～300、200～400、200～500、300～400、300～500、または400～500の長さを有してもよい。

40

【0252】

一実施形態において、*A A V*ウイルスゲノムは、限定はされないが、CMVまたはU6などのプロモータを含み得る。非限定的な例として、本発明の*s i R N A*分子の核酸配列を含む*A A V*のプロモータは、CMVプロモータである。別の非限定的な例として、本発明の*s i R N A*分子の核酸配列を含む*A A V*のプロモータは、U6プロモータである。

50

【0253】

- 一実施形態において、AAVウイルスゲノムはCMVプロモータを含み得る。
- 一実施形態において、AAVウイルスゲノムはU6プロモータを含み得る。
- 一実施形態において、AAVウイルスゲノムはCMVおよびU6プロモータを含み得る。

【0254】

- 一実施形態において、AAVウイルスゲノムは、Pol IIIプロモータを含み得る。
- 一実施形態において、AAVウイルスゲノムは、Pol III 3型プロモータを含み得る。

【0255】

- 一実施形態において、AAVウイルスゲノムは、H1プロモータを含み得る。
- 一実施形態において、AAVウイルスゲノムは、U6プロモータを含み得る。
- 一実施形態において、AAVウイルスゲノムはCBAプロモータを含み得る。

【0256】

- 一実施形態において、コード化siRNA分子は、限定はされないが、CMV、U6、H1、CBA、CAG、またはSV40もしくは当該技術分野において公知の他のものなどのイントロンを伴うCBAプロモータなど、発現ベクターにおいてプロモータの下流に位置してもよい。更に、コード化siRNA分子はまた、発現ベクターにおいてポリアデニル化配列の上流に位置してもよい。非限定的な例として、コード化siRNA分子は、発現ベクターにおいてプロモータから下流および／またはポリアデニル化配列の上流に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ヌクレオチドまたは30ヌクレオチド超以内に位置してもよい。別の非限定的な例として、コード化siRNA分子は、発現ベクターにおいてプロモータから下流および／またはポリアデニル化配列の上流に1～5、1～10、1～15、1～20、1～25、1～30、5～10、5～15、5～20、5～25、5～30、10～15、10～20、10～25、10～30、15～20、15～25、15～30、20～25、20～30または25～30ヌクレオチド以内に位置してもよい。非限定的な例として、コード化siRNA分子は、発現ベクターにおいてプロモータから下流および／またはポリアデニル化配列の上流にあるヌクレオチドの最初の1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、15%、20%、25%または25%超以内に位置してもよい。別の非限定的な例として、コード化siRNA分子は、発現ベクターにおいてプロモータから下流および／またはポリアデニル化配列の上流に最初の1～5%、1～10%、1～15%、1～20%、1～25%、5～10%、5～15%、5～20%、5～25%、10～15%、10～20%、10～25%、15～20%、15～25%、または20～25%で位置してもよい。

【0257】

ウイルスゲノム成分：フィラー配列

- 一実施形態において、ウイルスゲノムは、1つ以上のフィラー配列を含む。
- 一実施形態において、ウイルスゲノムは、ウイルスゲノムの長さをパッケージングに最適なサイズにするために、1つ以上のフィラー配列を含む。非限定的な例として、ウイルスゲノムは、ウイルスゲノムの長さを約2.3 kbにするために、少なくとも1つのフィラー配列を含む。非限定的な例として、ウイルスゲノムは、ウイルスゲノムの長さを約4.6 kbにするために、少なくとも1つのフィラー配列を含む。

【0258】

- 一実施形態において、ウイルスゲノムは、ベクターゲノムのヘアピン構造（例えば、本明細書に記載される調節性ポリヌクレオチド）が、発現および／またはパッケージング中に末端逆位配列（ITR）として読み取られ得る可能性を低減させるために、1つ以上のフィラー配列を含む。非限定的な例として、ウイルスゲノムは、ウイルスゲノムの長さを

約 2.3 kb にするために、少なくとも 1 つのフィラー配列を含む。非限定的な例として、ウイルスゲノムは、ウイルスゲノムの長さを約 4.6 kb にするために、少なくとも 1 つのフィラー配列を含む。

【0259】

一実施形態において、ウイルスゲノムは、一本鎖 (ss) ウイルスゲノムであり、限定はされないが、0.1 kb、0.2 kb、0.3 kb、0.4 kb、0.5 kb、0.6 kb、0.7 kb、0.8 kb、0.9 kb、1 kb、1.1 kb、1.2 kb、1.3 kb、1.4 kb、1.5 kb、1.6 kb、1.7 kb、1.8 kb、1.9 kb、2 kb、2.1 kb、2.2 kb、2.3 kb、2.4 kb、2.5 kb、2.6 kb、2.7 kb、2.8 kb、2.9 kb、3 kb、3.1 kb、3.2 kb、3.3 kb、3.4 kb、3.5 kb、3.6 kb、3.7 kb、または 3.8 kb などの、約 0.1 kb ~ 3.8 kb の長さを有する 1 つ以上のフィラー配列を含む。非限定的な例として、ベクターゲノム中のフィラー配列の合計長は、3.1 kb である。非限定的な例として、ベクターゲノム中のフィラー配列の合計長は、2.7 kb である。非限定的な例として、ベクターゲノム中のフィラー配列の合計長は、0.8 kb である。非限定的な例として、ベクターゲノム中のフィラー配列の合計長は、0.4 kb である。非限定的な例として、ベクターゲノム中の各フィラー配列の長さは、0.8 kb である。非限定的な例として、ベクターゲノム中の各フィラー配列の長さは、0.4 kb である。

10

【0260】

一実施形態において、ウイルスゲノムは、自己相補的 (sc) ウイルスゲノムであり、限定はされないが、0.1 kb、0.2 kb、0.3 kb、0.4 kb、0.5 kb、0.6 kb、0.7 kb、0.8 kb、0.9 kb、1 kb、1.1 kb、1.2 kb、1.3 kb、1.4 kb、または 1.5 kb などの、約 0.1 kb ~ 1.5 kb の長さを有する 1 つ以上のフィラー配列を含む。非限定的な例として、ベクターゲノム中のフィラー配列の合計長は、0.8 kb である。非限定的な例として、ベクターゲノム中のフィラー配列の合計長は、0.4 kb である。非限定的な例として、ベクターゲノム中の各フィラー配列の長さは、0.8 kb である。非限定的な例として、ベクターゲノム中の各フィラー配列の長さは、0.4 kb である。

20

【0261】

一実施形態において、ウイルスゲノムは、フィラー配列の任意の部分を含む。ウイルスゲノムは、フィラー配列の 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%、または 99% を含んでいてもよい。

30

【0262】

一実施形態において、ウイルスゲノムは、一本鎖 (ss) ウイルスゲノムであり、ウイルスゲノムの長さを約 4.6 kb にするために、1 つ以上のフィラー配列を含む。非限定的な例として、ウイルスゲノムは、少なくとも 1 つのフィラー配列を含み、フィラー配列は、5' ITR 配列の 3' に位置する。非限定的な例として、ウイルスゲノムは、少なくとも 1 つのフィラー配列を含み、フィラー配列は、プロモータ配列の 5' に位置する。非限定的な例として、ウイルスゲノムは、少なくとも 1 つのフィラー配列を含み、フィラー配列は、ポリアデニル化シグナル配列の 3' に位置する。非限定的な例として、ウイルスゲノムは、少なくとも 1 つのフィラー配列を含み、フィラー配列は、3' ITR 配列の 5' に位置する。非限定的な例として、ウイルスゲノムは、少なくとも 1 つのフィラー配列を含み、フィラー配列は、2 つのイントロン配列間に位置する。非限定的な例として、ウイルスゲノムは、少なくとも 1 つのフィラー配列を含み、フィラー配列は、イントロン配列内に位置する。非限定的な例として、ウイルスゲノムは、2 つのフィラー配列を含み、第 1 のフィラー配列は、5' ITR 配列の 3' に位置し、第 2 のフィラー配列は、ポリアデニル化シグナル配列の 3' に位置する。非限定的な例として、ウイルスゲノムは、2 つのフィラー配列を含み、第 1 のフィラー配列は、プロモータ配列の 5' に位置し、第 2 の

40

50

フィラー配列は、ポリアデニル化シグナル配列の3'に位置する。非限定的な例として、ウイルスゲノムは、2つのフィラー配列を含み、第1のフィラー配列は、5' I T R配列の3'に位置し、第2のフィラー配列は、5' I T R配列の5'に位置する。

【0263】

一実施形態において、ウイルスゲノムは、自己相補的 (s c) ウイルスゲノムであり、ウイルスゲノムの長さを約2.3 kbにするために、1つ以上のフィラー配列を含む。非限定的な例として、ウイルスゲノムは、少なくとも1つのフィラー配列を含み、フィラー配列は、5' I T R配列の3'に位置する。非限定的な例として、ウイルスゲノムは、少なくとも1つのフィラー配列を含み、フィラー配列は、プロモータ配列の5'に位置する。非限定的な例として、ウイルスゲノムは、少なくとも1つのフィラー配列を含み、フィラー配列は、ポリアデニル化シグナル配列の3'に位置する。非限定的な例として、ウイルスゲノムは、少なくとも1つのフィラー配列を含み、フィラー配列は、3' I T R配列の5'に位置する。非限定的な例として、ウイルスゲノムは、少なくとも1つのフィラー配列を含み、フィラー配列は、2つのイントロン配列間に位置する。非限定的な例として、ウイルスゲノムは、少なくとも1つのフィラー配列を含み、フィラー配列は、イントロン配列内に位置する。非限定的な例として、ウイルスゲノムは、2つのフィラー配列を含み、第1のフィラー配列は、5' I T R配列の3'に位置し、第2のフィラー配列は、ポリアデニル化シグナル配列の3'に位置する。非限定的な例として、ウイルスゲノムは、2つのフィラー配列を含み、第1のフィラー配列は、プロモータ配列の5'に位置し、第2のフィラー配列は、ポリアデニル化シグナル配列の3'に位置する。非限定的な例として、ウイルスゲノムは、2つのフィラー配列を含み、第1のフィラー配列は、5' I T R配列の3'に位置し、第2のフィラー配列は、5' I T R配列の5'に位置する。

【0264】

一実施形態において、ウイルスゲノムは、ウイルスゲノムのより多くの領域の1つの間に1つ以上のフィラー配列を含み得る。一実施形態において、フィラー領域は、限定はされないが、ペイロード領域、末端逆位配列 (I T R)、プロモータ領域、イントロン領域、エンハンサー領域、ポリアデニル化シグナル配列領域、多重クローニング部位 (M C S) 領域、および／またはエクソン領域などの領域の前に位置していてもよい。一実施形態において、フィラー領域は、限定はされないが、ペイロード領域、末端逆位配列 (I T R)、プロモータ領域、イントロン領域、エンハンサー領域、ポリアデニル化シグナル配列領域、多重クローニング部位 (M C S) 領域、および／またはエクソン領域などの領域の後に位置していてもよい。一実施形態において、フィラー領域は、限定はされないが、ペイロード領域、末端逆位配列 (I T R)、プロモータ領域、イントロン領域、エンハンサー領域、ポリアデニル化シグナル配列領域、多重クローニング部位 (M C S) 領域、および／またはエクソン領域などの領域の前および後に位置していてもよい。

【0265】

一実施形態において、ウイルスゲノムは、ウイルスゲノムの少なくとも1つの領域を二分する (b i f u r c a t e) 1つ以上のフィラー配列を含み得る。ウイルスゲノムの二分された領域は、フィラー配列領域の5'にある領域の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%、または99%を含んでいてもよい。非限定的な例として、フィラー配列は、領域の10%がフィラー配列の5'に位置し、領域の90%がフィラー配列の3'に位置するように、少なくとも1つの領域を二分してもよい。非限定的な例として、フィラー配列は、領域の20%がフィラー配列の5'に位置し、領域の80%がフィラー配列の3'に位置するように、少なくとも1つの領域を二分してもよい。非限定的な例として、フィラー配列は、領域の30%がフィラー配列の5'に位置し、領域の70%がフィラー配列の3'に位置するように、少なくとも1つの領域を二分してもよい。非限定的な例として、フィラー配列は、領域の40%がフィラー配列の5'に位置し、領域の60%がフィラー配列の3'に位置するように、少なくとも1つの領域を二分してもよい。非限定的な例とし

10

20

30

40

50

フィラー配列は、限定はされないが、プロモータ領域およびM C S領域などの、2つの領域間に位置していてもよい。一実施形態において、フィラー配列は、限定はされないが、プロモータ領域およびエクソン領域などの、2つの領域間に位置していてもよい。一実施形態において、フィラー配列は、限定はされないが、プロモータ領域および3' I T Rなどの、2つの領域間に位置していてもよい。

【0270】

一実施形態において、フィラー配列は、限定はされないが、ペイロード領域およびイントロン領域などの、2つの領域間に位置していてもよい。一実施形態において、フィラー配列は、限定はされないが、ペイロード領域およびエンハンサー領域などの、2つの領域間に位置していてもよい。一実施形態において、フィラー配列は、限定はされないが、ペイロード領域およびポリアデニル化シグナル配列領域などの、2つの領域間に位置していてもよい。一実施形態において、フィラー配列は、限定はされないが、ペイロード領域およびM C S領域などの、2つの領域間に位置していてもよい。一実施形態において、フィラー配列は、限定はされないが、ペイロード領域およびエクソン領域などの、2つの領域間に位置していてもよい。

10

【0271】

一実施形態において、フィラー配列は、限定はされないが、ペイロード領域および3' I T Rなどの、2つの領域間に位置していてもよい。

一実施形態において、フィラー配列は、限定はされないが、イントロン領域およびエンハンサー領域などの、2つの領域間に位置していてもよい。一実施形態において、フィラー配列は、限定はされないが、イントロン領域およびポリアデニル化シグナル配列領域などの、2つの領域間に位置していてもよい。一実施形態において、フィラー配列は、限定はされないが、イントロン領域およびM C S領域などの、2つの領域間に位置していてもよい。一実施形態において、フィラー配列は、限定はされないが、イントロン領域およびエクソン領域などの、2つの領域間に位置していてもよい。一実施形態において、フィラー配列は、限定はされないが、イントロン領域および3' I T Rなどの、2つの領域間に位置していてもよい。一実施形態において、フィラー配列は、限定はされないが、エンハンサー領域およびポリアデニル化シグナル配列領域などの、2つの領域間に位置していてもよい。一実施形態において、フィラー配列は、限定はされないが、エンハンサー領域およびM C S領域などの、2つの領域間に位置していてもよい。一実施形態において、フィラー配列は、限定はされないが、エンハンサー領域およびエクソン領域などの、2つの領域間に位置していてもよい。一実施形態において、フィラー配列は、限定はされないが、エンハンサー領域および3' I T Rなどの、2つの領域間に位置していてもよい。

20

30

【0272】

一実施形態において、フィラー配列は、限定はされないが、ポリアデニル化シグナル配列領域およびM C S領域などの、2つの領域間に位置していてもよい。一実施形態において、フィラー配列は、限定はされないが、ポリアデニル化シグナル配列領域およびエクソン領域などの、2つの領域間に位置していてもよい。一実施形態において、フィラー配列は、限定はされないが、ポリアデニル化シグナル配列領域および3' I T Rなどの、2つの領域間に位置していてもよい。

40

【0273】

一実施形態において、フィラー配列は、限定はされないが、M C S領域およびエクソン領域などの、2つの領域間に位置していてもよい。一実施形態において、フィラー配列は、限定はされないが、M C S領域および3' I T Rなどの、2つの領域間に位置していてもよい。

【0274】

一実施形態において、フィラー配列は、限定はされないが、エクソン領域および3' I T Rなどの、2つの領域間に位置していてもよい。

一実施形態において、ウイルスゲノムは、2つのフィラー配列を含み得、第1のフィラー配列は、5' I T Rとプロモータ領域との間に位置していてもよく、第2のフィラー配

50

50

20

30

50

50

【 0 2 7 6 】

一配列は、5' ITRとイントロン領域との間に位置していてもよく、第2のフィラー配 10

て、ウイルスゲノムは、2つのフィラー配列を含み得、第1のフィラー配列は、5' I T

域とイントロン領域との間に位置していてもよい。一実施形態において、ウイルスゲノム

との間に位置していてもよく、第2のフィラー配列は、プロモータ領域とエンハンサー領

一配列を含み得、第1のフィラー配列は、5' ITRとイントロン領域との間に位置して

との間に位置していてもよい。一実施形態において、ウイルスゲノムは、2つのフィラー 20

てもよく、第2のフィラー配列は、プロモータ領域とMCS領域との間に位置していても

ィラー配列は、5' ITRとイントロン領域との間に位置していてもよく、第2のフィラ

いて、ウイルスゲノムは、2つのフィラー配列を含み得、第1のフィラー配列は、5' I

領域と 3' ITRとの間に位置していてもよい。一実施形態において、ウイルスゲノムは

の間に位置していてもよく、第2のフィラー配列は、ペイロード領域とイントロン領域と 30

列を含み得、第1のフィラー配列は、5' I T Rとイントロン領域との間に位置して

てもよい。一実施形態において、ウイルスゲノムは、2つのフィラー配列を含み得、第1

イラー配列は、ペイロード領域とポリアデニル化シグナル配列領域との間に位置して

フィラー配列は、5' ITRとイントロン領域との間に位置していてもよく、第2のフィ

いて、ウイルスゲノムは、2つのフィラー配列を含み得、第1のフィラー配列は、5'140

領域とエクソン領域との間に位置していてもよい。一実施形態において、ウイルスゲノム

との間に位置していてもよく、第2のフィラー配列は、ペイロード領域と3'LTRとの

を含み得、第1のフィラー配列は、5'LTRとイントロン領域との間に位置していても

もよい。一実施形態において、ウイルスゲノムは、2つのフィラー配列を含み得、第1の

ラー配列は、イントロン領域とホリアチニル化シグナル配列領域との間に位置していても

30

40

50

50

10

20

30

40

50

50

【 0 2 7 9 】

[illegible]

一実施形態において、ウイルスゲノムは、2つのフィラー配列を含み得、第1のフィラー 50

30

40

50

50

10

20

30

40

50

20

30

50

30

40

50

40

50

一実施形態において、ウイルスゲノムは、2つのフィラー配列を含み得、第1のフィラー配列は、プロモータ領域とポリアデニル化シグナル配列領域との間に位置していてもよく、第2のフィラー配列は、ペイロード領域とイントロン領域との間に位置していてもよ

50

10

20

30

40

50

20

30

40

30

40

50

40

50

一実施形態において、ウイルスゲノムは、2つのフィラー配列を含み得、第1のフィラー配列は、ペイロード領域とイントロン領域との間に位置していてもよく、第2のフィラー配列は、イントロン領域とエンハンサー領域との間に位置していてもよい。一実施形態において、ウイルスゲノムは、2つのフィラー配列を含み得、第1のフィラー配列は、ペイロード領域とイントロン領域との間に位置していてもよく、第2のフィラー配列は、イントロン領域とポリアデニル化シグナル配列領域との間に位置していてもよい。一実施形

30

40

50

30

40

50

20

30

50

20

30

50

10

20

30

40

50

10

20

30

40

50

20

30

50

10

20

30

40

50

【 0 3 0 1 】

【 0 3 0 2 】

【 0 3 0 3 】

一実施形態において、ウイルスゲノムは、2つのフィラー配列を含み得、第1のフィラー配列は、ポリアデニル化シグナル配列領域とMCS領域との間に位置していてもよく、第2のフィラー配列は、MCS領域とエクソン領域との間に位置していてもよい。一実施形態において、ウイルスゲノムは、2つのフィラー配列を含み得、第1のフィラー配列は、ポリアデニル化シグナル配列領域とMCS領域との間に位置していてもよく、第2のフィラー配列は、MCS領域と3' ITRとの間に位置していてもよい。一実施形態において、ウイルスゲノムは、2つのフィラー配列を含み得、第1のフィラー配列は、ポリアデニル化シグナル配列領域とMCS領域との間に位置していてもよく、第2のフィラー配列は、エクソン領域と3' ITRとの間に位置していてもよい。

【0304】

一実施形態において、ウイルスゲノムは、2つのフィラー配列を含み得、第1のフィラー配列は、ポリアデニル化シグナル配列領域とエクソン領域との間に位置していてもよく、第2のフィラー配列は、MCS領域とエクソン領域との間に位置していてもよい。一実施形態において、ウイルスゲノムは、2つのフィラー配列を含み得、第1のフィラー配列は、ポリアデニル化シグナル配列領域とエクソン領域との間に位置していてもよく、第2のフィラー配列は、MCS領域と3' ITRとの間に位置していてもよい。一実施形態において、ウイルスゲノムは、2つのフィラー配列を含み得、第1のフィラー配列は、ポリアデニル化シグナル配列領域とエクソン領域との間に位置していてもよく、第2のフィラー配列は、エクソン領域と3' ITRとの間に位置していてもよい。

10

【0305】

一実施形態において、ウイルスゲノムは、2つのフィラー配列を含み得、第1のフィラー配列は、ポリアデニル化シグナル配列領域と3' ITRとの間に位置していてもよく、第2のフィラー配列は、MCS領域とエクソン領域との間に位置していてもよい。一実施形態において、ウイルスゲノムは、2つのフィラー配列を含み得、第1のフィラー配列は、ポリアデニル化シグナル配列領域と3' ITRとの間に位置していてもよく、第2のフィラー配列は、MCS領域と3' ITRとの間に位置していてもよい。一実施形態において、ウイルスゲノムは、2つのフィラー配列を含み得、第1のフィラー配列は、ポリアデニル化シグナル配列領域と3' ITRとの間に位置していてもよく、第2のフィラー配列は、エクソン領域と3' ITRとの間に位置していてもよい。

20

【0306】

一実施形態において、ウイルスゲノムは、2つのフィラー配列を含み得、第1のフィラー配列は、MCS領域とエクソン領域との間に位置していてもよく、第2のフィラー配列は、エクソン領域と3' ITRとの間に位置していてもよい。

【0307】

本発明のペイロード

本開示のAAV粒子は、少なくとも1つのペイロード領域を含む。本明細書で使用されるとき、「ペイロード」または「ペイロード領域」は、ウイルスゲノムによりもしくはその内にコードされる1つ以上のポリヌクレオチドもしくはポリヌクレオチド領域、またはかかるポリヌクレオチドもしくはポリヌクレオチド領域、例えばトランス遺伝子、ポリペプチドもしくはマルチポリペプチドをコードするポリヌクレオチドの発現産物、または調節性核酸もしくは制御性核酸を指す。本発明のペイロードは、典型的には、調節性ポリヌクレオチドまたはその断片もしくは変異体をコードする。

30

【0308】

ペイロード領域は、mRNAの天然構成と同様のまたは反映した領域を再現するように構築され得る。

ペイロード領域は、コードおよび非コード核酸配列の組合せを含み得る。

【0309】

一部の実施形態では、AAVペイロード領域は、コードまたは非コードRNAをコードし得る。

40

一実施形態において、AAV粒子は、siRNA、miRNAまたは他のRNAi剤をコードする核酸配列を含むペイロード領域を有するウイルスゲノムを含む。かかる実施形態において、2つ以上のポリペプチドをコードするウイルスゲノムが、ウイルス粒子へと複製およびパッケージングされ得る。ウイルス粒子で形質導入された標的細胞は、単一細胞内部において、コード化siRNA、miRNAまたは他のRNAi剤を発現し得る。

【0310】

調節性ポリヌクレオチド

一実施形態では、調節性ポリヌクレオチド、例えばRNAまたはDNA分子が、少なくとも1つの神経変性疾患の治療に用いられ得る。本明細書で使用されるとき、「調節性ポリヌクレオチド」は、標的遺伝子のレベルまたは量、例えばmRNAまたはタンパク質レ

50

ベルを調節する（増加させるかまたは減少させるかのいずれか）働きをする任意の核酸配列である。

【0311】

一実施形態において、調節性ポリヌクレオチドは、少なくとも1つのs i R N A分子をコードする少なくとも1つの核酸配列を含み得る。核酸は、2つ以上ある場合には独立して、1、2、3、4、5、6、7、8、9個、または9個超のs i R N A分子をコードし得る。

【0312】

一実施形態において、分子足場は、C M Vプロモータ、その断片または変異体の下流に位置してもよい。

一実施形態において、分子足場は、C B Aプロモータ、その断片または変異体の下流に位置してもよい。

【0313】

一実施形態において、分子足場は、C M Vプロモータの下流に位置する天然p r i - m i R N A足場であってもよい。非限定的な例として、天然p r i - m i R N A足場はヒトm i R 1 5 5足場に由来する。

【0314】

一実施形態において、分子足場は、C B Aプロモータの下流に位置する天然p r i - m i R N A足場であってもよい。

一実施形態において、分子足場および調節性ポリヌクレオチドの選択は、p r i - m i R N A内での調節性ポリヌクレオチドを比較する方法によって決定される（例えば、ミニアリコバ（M i n i a r i k o v a）ら著、「ハンチントン病に対する遺伝子療法を開発するためのハンチンチンを標的とする治療用m i R N Aの設計、特徴付け、およびリード選択（Design, Characterization, and Lead Selection of Therapeutic miRNAs Targeting Huntingtin for Development of Gene Therapy for Huntington's Disease）」、モレキュラー・セラピー・ヌクレイック・アシッド（M o l e c u l a r T h e r a p y - N u c l e i c A c i d s）、2016年、第5巻、p. e 2 9 7および国際公開第2016102664号パンフレット（これらの各々の内容は本明細書において全体として参照により援用される）により記載される方法を参照のこと）。調節性ポリヌクレオチドの活性を評価するため、使用し得る使用される分子足場は、ヒトp r i - m i R N A足場（例えば、m i R 1 5 5足場）であり、プロモータはC M Vであってもよい。活性はインビトロでH E K 2 9 3 T細胞およびレポータ（例えばルシフェラーゼ）を用いて決定されてもよい。

【0315】

調節性ポリヌクレオチドに最適な分子足場を評価するため、調節性ポリヌクレオチドがp r i - m i R N A足場においてC A Gプロモータと共に使用される。このコンストラクトには50ngのレポータ（例えば、ルシフェラーゼレポータ）がコトランスフェクトされる。50ngコトランスフェクションで80%より高いノックダウンのコンストラクトが有効と見なされる。一態様では、強力なガイド鎖活性を有するコンストラクトが好ましい。分子足場をH E K 2 9 3 T細胞においてN G Sによって処理して、ガイドーパッセンジャー比、およびプロセッシング変動性を決定することができる。

【0316】

一実施形態において、治療しようとする疾患はH Dであり、調節性ポリヌクレオチドは、限定はされないが、エクソン1、C A Gリピート、エクソン50のS N P r s 3 6 2 3 3 1および／またはエクソン67のS N P r s 3 6 2 3 0 7を標的とし得る。エクソン1のターゲティングについては、ノックダウンが80%以上である場合に、その調節性ポリヌクレオチドはH T Tノックダウンに有効であると決定される。C A Gのターゲティングについては、ノックダウンが少なくとも60%である場合に、その調節性ポリヌクレオチドはH T Tノックダウンに有効であると決定される。S N Pのターゲティングについ

10

20

30

40

50

ては、ノックダウンが少なくとも60%である場合に、その調節性ポリヌクレオチドはHTTノックダウンに有効であると決定される。CAGリピートまたはSNPターゲティングに関する対立遺伝子選択性のため、調節性ポリヌクレオチドは、対立遺伝子選択性を改善するため少なくとも1つの置換を含み得る。非限定的な例として、置換は、GまたはCをTまたは対応するUに置き換えるもの、およびAまたはT/UをCによって置き換えるものであり得る。

【0317】

インビボでの分子足場および調節性ポリヌクレオチドの評価には、調節性ポリヌクレオチドを含む分子足場がAAVにパッケージングされて（例えば、血清型はAAV5であってもよい（例えば、国際公開第2015060722号パンフレットに記載される方法およびコンストラクトを参照のこと、この内容は本明細書において全体として参照により援用される））、インビボモデル（例えば、HDにはHu128/21 HDマウスを使用することができる）に投与され、モデルの種々の範囲においてガイドーパッセンジャー比、5'および3'末端プロセッシング、ガイド鎖およびパッセンジャー鎖の逆転、およびノックダウンを決定することができる。

【0318】

一実施形態において、分子足場および調節性ポリヌクレオチドの選択は、天然primRNAおよび合成primRNAでの調節性ポリヌクレオチドを比較する方法によって決定される。調節性ポリヌクレオチドは、限定はされないが、エクソン1以外のエクソンを標的とし得る。調節性ポリヌクレオチドの活性の評価には、分子足場がCBAプロモータと共に使用される。一態様では、活性はインビトロでHEK293T細胞、HeLa細胞およびレポータ（例えば、ルシフェラーゼ）を用いて決定されてもよく、およびノックダウン効率的な調節性ポリヌクレオチドは、試験した細胞において少なくとも80%の目的の遺伝子ノックダウンを示した。加えて、最も効率的と見なされる調節性ポリヌクレオチドは有意なパッセンジャー鎖（p鎖）活性が低い乃至全くないことを示した。別の態様では、目的の内因性遺伝子ノックダウン有効性はインビトロでHEK293T細胞、HeLa細胞およびレポータを用いてトランスフェクションにより評価される。効率的な調節性ポリヌクレオチドは50%より高い目的の内因性遺伝子ノックダウンを示す。更に別の態様では、目的の内因性遺伝子ノックダウン有効性は、種々の細胞型（例えば、HEK293、HeLa、初代アストロサイト、U251アストロサイト、SH-SY5Yニューロン細胞および治療しようとする疾患を有する患者に由来する線維芽細胞）において感染（例えば、AAV2）によって評価される。効率的な調節性ポリヌクレオチドは60%より高い目的の内因性遺伝子ノックダウンを示す。

【0319】

インビボでの分子足場および調節性ポリヌクレオチドの評価には、調節性ポリヌクレオチドを含む分子足場がAAVにパッケージングされてインビボモデル（例えば、HDを治療する場合は、YAC128 HDマウスモデルを使用することができる）に投与され、モデルの種々の範囲（例えば組織領域）においてガイドーパッセンジャー比、5'および3'末端プロセッシング、ガイド鎖のパッセンジャー鎖に対する比、およびノックダウンを決定することができる。分子足場をNGSによってインビボ試料から処理して、ガイドーパッセンジャー比、およびプロセッシング変動性を決定することができる。

【0320】

一実施形態において、調節性ポリヌクレオチドは以下の特性のうちの少なくとも1つを用いて設計される：ループ変異体、シードミスマッチ／バルジ／ゆらぎ変異体、ステムミスマッチ、ループ変異体およびヴァッサルステム（*vassal stem*）ミスマッチ変異体、シードミスマッチおよびベーサルステム（*basal stem*）ミスマッチ変異体、ステムミスマッチおよびベーサルステム（*basal stem*）ミスマッチ変異体、シードゆらぎおよびベーサルステム（*basal stem*）ゆらぎ変異体、またはステム配列変異体。

【0321】

10

20

30

40

50

s i R N A 分子

本発明は、神経変性障害を治療するためのRNA干渉（RNAi）誘導性の遺伝子発現阻害に関する。本明細書には、目的の遺伝子を標的とするs i R N A二重鎖またはコード化d s R N A（本明細書では、まとめて「s i R N A分子」と称される）が提供される。そのようなs i R N A二重鎖またはコード化d s R N Aは、限定はされないが、中型有棘ニューロン、皮質ニューロンおよび／またはアストロサイトなどの細胞の遺伝子発現を軽減またはサイレンシングすることができる。

【0322】

RNAi（転写後遺伝子サイレンシング（PTGS）、クエリング、または共抑制としても知られる）は、RNA分子が典型的には特異的mRNA分子の破壊を引き起こすことにより遺伝子発現を配列特異的に阻害する転写後遺伝子サイレンシング過程である。RNAiの活性成分は低分子干渉RNA（s i R N A）と呼ばれる短鎖／低分子二本鎖RNA（d s R N A）であり、これは典型的には15～30ヌクレオチド（例えば、19～25、19～24または19～21ヌクレオチド）および2ヌクレオチドの3'オーバーハングを含有し、かつ標的遺伝子の核酸配列と一致する。これらの低分子RNA種は、天然ではインビボでより大きいd s R N Aのダイサー媒介性切断によって産生されることができ、および哺乳類細胞で機能性である。

【0323】

microRNA（miRNA）と称される、天然で発現する低分子RNA分子は、mRNAの発現を調節することにより遺伝子サイレンシングを誘発する。RNA誘導サイレンシング複合体（RISC）を含有するmiRNAは、シード領域と呼ばれるmiRNAの5'領域におけるヌクレオチド2～7と完全な配列相補性を呈し、かつその3'領域と他の塩基対を呈するmRNAを標的とする。miRNA媒介性の遺伝子発現下方制御は、標的mRNAの切断、標的mRNAの翻訳阻害、またはmRNA崩壊によって引き起こされ得る。miRNAターゲティング配列は、通常、標的mRNAの3'-UTRに位置する。単一のmiRNAが様々な遺伝子の100より多くの転写物を標的とすることができ、および1つのmRNAが異なるmiRNAの標的となることができる。

【0324】

特異的mRNAを標的とするs i R N A二重鎖またはd s R N Aがインビトロで設計および合成されて、RNAi過程を活性化させるため細胞に導入されてもよい。エルバシール（Elbashir）らは、21ヌクレオチドs i R N A二重鎖（低分子干渉RNAと称される）が哺乳類細胞において免疫応答を誘導することなく強力かつ特異的な遺伝子ノックダウンを生じさせる能力を有したことを実証した（エルバシール・SM（Elbashir SM）ら著、ネイチャー（Nature）、2001年、第411巻、p. 494～498）。この最初の報告以来、s i R N Aによる転写後遺伝子サイレンシングは哺乳類細胞における強力な遺伝子解析ツールとして急速に浮上しており、新規療法を生み出す可能性を秘めている。

【0325】

ハンチントン病などのポリグルタミン伸長疾患を引き起こすポリグルタミンリピートタンパク質をコードする核酸配列を標的とするように設計されたRNAi分子が、米国特許第9,169,483号明細書および同第9,181,544号明細書ならびに国際公開第2015179525号パンフレット（これらの各々の内容は本明細書において全体として参照により援用される）に記載されている。米国特許第9,169,483号明細書および同第9,181,544号明細書ならびに国際公開第2015179525号パンフレットは、各々が、第1のRNA鎖（例えば、15連続ヌクレオチド）と第2のRNA鎖（例えば、第1の鎖の少なくとも12連続ヌクレオチドと相補的）とを含む単離RNA二重鎖を提供し、ここでRNA二重鎖は約15～30塩基対長である。第1のRNA鎖と第2のRNA鎖とはRNAループ（約4～50ヌクレオチド）により作動可能に連結されてヘアピン構造を形成してもよく、これが発現カセットに挿入され得る。ループ部分の非限定的な例としては、米国特許第9,169,483号明細書の配列番号9～14（この

内容は本明細書において全体として参照により援用される)が挙げられる。完全配列または配列の一部のいずれかの、RNA二重鎖の形成に使用し得るRNA鎖の非限定的な例としては、米国特許第9, 169, 483号明細書の配列番号1~8ならびに米国特許第9, 181, 544号明細書の配列番号1~11、33~59、208~210、213~215および218~221(これらの各々の内容は本明細書において全体として参照により援用される)が挙げられる。RNA i分子の非限定的な例としては、米国特許第9, 169, 483号明細書の配列番号1~8、米国特許第9, 181, 544号明細書の配列番号1~11、33~59、208~210、213~215および218~221ならびに国際公開第2015179525号パンフレットの配列番号1、6、7、および35~38(これらの各々の内容は本明細書において全体として参照により援用される)が

10

【0326】

RNA iを活性化させるため、インビトロ合成したsiRNA分子が細胞に導入されてもよい。外因性siRNA二重鎖は、細胞に導入されると、内因性dsRNAと同様にアセンブルして、siRNA二重鎖の2本の鎖のうち的一方(すなわちアンチセンス鎖)に相補的なRNA配列と相互作用する多ユニット複合体であるRNA誘導サイレンシング複合体(RISC)を形成することができる。この過程でsiRNAのセンス鎖(またはパッセンジャー鎖)が複合体から失われ、一方でsiRNAのアンチセンス鎖(またはガイド鎖)はその相補RNAとマッチする。詳細には、siRNAを含有するRISCの標的は、完全な配列相補性を呈するmRNAである。次に、標的の切断、放出および分解によ

20

【0327】

標的mRNAに相同なセンス鎖と標的mRNAに相補的なアンチセンス鎖とを含むsiRNA二重鎖は、標的RNAの破壊効率の点で、一本鎖(ss)-siRNA(例えばアンチセンス鎖RNAまたはアンチセンスオリゴヌクレオチド)の使用と比較してはるかに大きい利点をもたらす。多くの場合に、ss-siRNAの使用は、対応する二重鎖の有効な遺伝子サイレンシング効力を達成するのに、より高い濃度のss-siRNAを必要とする。

【0328】

前述の分子のいずれも、ウイルスゲノムによってコードされてもよい。

30

目的の遺伝子を標的とするsiRNA二重鎖の設計および配列

本発明は、遺伝子発現および/またはタンパク質産生に干渉するためにmRNAを標的とする低分子干渉RNA(siRNA)二重鎖(およびそれらをコードする調節性ポリヌクレオチド)を提供する。

【0329】

本発明のコード化siRNA二重鎖は、共にハイブリダイズして二重鎖構造を形成するアンチセンス鎖およびセンス鎖を含有し、ここでアンチセンス鎖は標的遺伝子の核酸配列に相補的であり、センス鎖は標的遺伝子の核酸配列と相同である。一部の態様において、アンチセンス鎖の5'末端は5'リン酸基を有し、センス鎖の3'末端は3'ヒドロキシル基を含む。他の態様において、各鎖の3'末端にはヌクレオチドオーバハングがない、1つある、または2つある。

40

【0330】

当該技術分野では、siRNAの設計に関して幾つかの指針が提案されている。これらの指針は、概して、サイレンシングしようとする遺伝子中の領域を標的とする19ヌクレオチド二重鎖形成領域、対称2~3ヌクレオチド3'オーバハング、5'-リン酸基および3'-ヒドロキシル基を作成することを推奨している。siRNA配列の好ましさを左右し得る他の規則としては、限定はされないが、(i)アンチセンス鎖の5'末端におけるA/U;(ii)センス鎖の5'末端におけるG/C;(iii)アンチセンス鎖の5'端側3分の1にある少なくとも5個のA/U残基;および(iv)9ヌクレオチド長より長いかなるGCストレッチも存在しないことが挙げられる。標的遺伝子の具体的な配

50

10

20

30

40

50

50

一実施形態において、本発明の s i R N A 分子は、両方の鎖が共にハイブリダイズして二重鎖構造を形成するセンス鎖と相補的アンチセンス鎖とを含み、ここで m R N A とのハイブリダイゼーションの開始部位は、m R N A 配列上のヌクレオチド 1 0 ～ 7 0 0 0 にある。非限定的な例として、開始部位は、標的 m R N A 配列上のヌクレオチド 1 0 ～ 2 0、2 0 ～ 3 0、3 0 ～ 4 0、4 0 ～ 5 0、6 0 ～ 7 0、7 0 ～ 8 0、8 0 ～ 9 0、9 0 ～ 1 0 0、1 0 0 ～ 1 5 0、1 5 0 ～ 2 0 0、2 0 0 ～ 2 5 0、2 5 0 ～ 3 0 0、3 0 0 ～ 3 5 0、3 5 0 ～ 4 0 0、4 0 0 ～ 4 5 0、4 5 0 ～ 5 0 0、5 0 0 ～ 5 5 0、5 5 0 ～ 6 0 0、6 0 0 ～ 6 5 0、6 5 0 ～ 7 0 0、7 0 0 ～ 7 0、7 5 0 ～ 8 0 0、8 0 0 ～ 8 5 0、8 5 0 ～ 9 0 0、9 0 0 ～ 9 5 0、9 5 0 ～ 1 0 0 0、1 0 0 0 ～ 1 0 5 0、1 0 5 0 ～ 1 1 0 0、1 1 0 0 ～ 1 1 5 0、1 1 5 0 ～ 1 2 0 0、1 2 0 0 ～ 1 2 5 0、1 2 5 0 ～ 1 3 0 0、1 3 0 0 ～ 1 3 5 0、1 3 5 0 ～ 1 4 0 0、1 4 0 0 ～ 1 4 5 0、1 4 5 0 ～ 1 5 0 0、1 5 0 0 ～ 1 5 5 0、1 5 5 0 ～ 1 6 0 0、1 6 0 0 ～ 1 6 5 0、1 6 5 0 ～ 1 7 0 0、1 7 0 0 ～ 1 7 5 0、1 7 5 0 ～ 1 8 0 0、1 8 0 0 ～ 1 8 5 0、1 8 5 0 ～ 1 9 0 0、1 9 0 0 ～ 1 9 5 0、1 9 5 0 ～ 2 0 0 0、2 0 0 0 ～ 2 0 5 0、2 0 5 0 ～ 2 1 0 0、2 1 0 0 ～ 2 1 5 0、2 1 5 0 ～ 2 2 0 0、2 2 0 0 ～ 2 2 5 0、2 2 5 0 ～ 2 3 0 0、2 3 0 0 ～ 2 3 5 0、2 3 5 0 ～ 2 4 0 0、2 4 0 0 ～ 2 4 5 0、2 4 5 0 ～ 2 5 0 0、2 5 0 0 ～ 2 5 5 0、2 5 5 0 ～ 2 6 0 0、2 6 0 0 ～ 2 6 5 0、2 6 5 0 ～ 2 7 0 0、2 7 0 0 ～ 2 7 5 0、2 7 5 0 ～ 2 8 0 0、2 8 0 0 ～ 2 8 5 0、2 8 5 0 ～ 2 9 0 0、2 9 0 0 ～ 2 9 5 0、2 9 5 0 ～ 3 0 0 0、3 0 0 0 ～ 3 0 5 0、3 0 5 0 ～ 3 1 0 0、3 1 0 0 ～ 3 1 5 0、3 1 5 0 ～ 3 2 0 0、3 2 0 0 ～ 3 2 5 0、3 2 5 0 ～ 3 3 0 0、3 3 0 0 ～ 3 3 5 0、3 3 5 0 ～ 3 4 0 0、3 4 0 0 ～ 3 4 5 0、3 4 5 0 ～ 3 5 0 0、3 5 0 0 ～ 3 5 5 0、3 5 5 0 ～ 3 6 0 0、3 6 0 0 ～ 3 6 5 0、3 6 5 0 ～ 3 7 0 0、3 7 0 0 ～ 3 7 5 0、3 7 5 0 ～ 3 8 0 0、3 8 0 0 ～ 3 8 5 0、3 8 5 0 ～ 3 9 0 0、3 9 0 0 ～ 3 9 5 0、3 9 5 0 ～ 4 0 0 0、4 0 0 0 ～ 4 0 5 0、4 0 5 0 ～ 4 1 0 0、4 1 0 0 ～ 4 1 5 0、4 1 5 0 ～ 4 2 0 0、4 2 0 0 ～ 4 2 5 0、4 2 5 0 ～ 4 3 0 0、4 3 0 0 ～ 4 3 5 0、4 3 5 0 ～ 4 4 0 0、4 4 0 0 ～ 4 4 5 0、4 4 5 0 ～ 4 5 0 0、4 5 0 0 ～ 4 5 5 0、4 5 5 0 ～ 4 6 0 0、4 6 0 0 ～ 4 6 5 0、4 6 5 0 ～ 4 7 0 0、4 7 0 0 ～ 4 7 5 0、4 7 5 0 ～ 4 8 0 0、4 8 0 0 ～ 4 8 5 0、4 8 5 0 ～ 4 9 0 0、4 9 0 0 ～ 4 9 5 0、4 9 5 0 ～ 5 0 0 0、5 0 0 0 ～ 5 0 5 0、5 0 5 0 ～ 5 1 0 0、5 1 0 0 ～ 5 1 5 0、5 1 5 0 ～ 5 2 0 0、5 2 0 0 ～ 5 2 5 0、5 2 5 0 ～ 5 3 0 0、5 3 0 0 ～ 5 3 5 0、5 3 5 0 ～ 5 4 0 0、5 4 0 0 ～ 5 4 5 0、5 4 5 0 ～ 5 5 0 0、5 5 0 0 ～ 5 5 5 0、5 5 5 0 ～ 5 6 0 0、5 6 0 0 ～ 5 6 5 0、5 6 5 0 ～ 5 7 0 0、5 7 0 0 ～ 5 7 5 0、5 7 5 0 ～ 5 8 0 0、5 8 0 0 ～ 5 8 5 0、5 8 5 0 ～ 5 9 0 0、5 9 0 0 ～ 5 9 5 0、5 9 5 0 ～ 6 0 0 0、6 0 0 0 ～ 6 0 5 0、6 0 5 0 ～ 6 1 0 0、6 1 0 0 ～ 6 1 5 0、6 1 5 0 ～ 6 2 0 0、6 2 0 0 ～ 6 2 5 0、6 2 5 0 ～ 6 3 0 0、6 3 0 0 ～ 6 3 5 0、6 3 5 0 ～ 6 4 0 0、6 4 0 0 ～ 6 4 5 0、6 4 5 0 ～ 6 5 0 0、6 5 0 0 ～ 6 5 5 0、6 5 5 0 ～ 6 6 0 0、6 6 0 0 ～ 6 6 5 0、6 6 5 0 ～ 6 7 0 0、6 7 0 0 ～ 6 7 5 0、6 7 5 0 ～ 6 8 0 0、6 8 0 0 ～ 6 8 5 0、6 8 5 0 ～ 6 9 0 0、6 9 0 0 ～ 6 9 5 0、6 9 5 0 ～ 7 0 0 0、7 0 0 0 ～ 7 0 5 0、7 0 5 0 ～ 7 1 0 0、7 1 0 0 ～ 7 1 5 0、7 1 5 0 ～ 7 2 0 0、7 2 0 0 ～ 7 2 5 0、7 2 5 0 ～ 7 3 0 0、7 3 0 0 ～ 7 3 5 0、7 3 5 0 ～ 7 4 0 0、7 4 0 0 ～ 7 4 5 0、7 4 5 0 ～ 7 5 0 0、7 5 0 0 ～ 7 5 5 0、7 5 5 0 ～ 7 6 0 0、7 6 0 0 ～ 7 6 5 0、7 6 5 0 ～ 7 7 0 0、7 7 0 0 ～ 7 7 5 0、7 7 5 0 ～ 7 8 0 0、7 8 0 0 ～ 7 8 5 0、7 8 5 0 ～ 7 9 0 0、7 9 0 0 ～ 7 9 5 0、7 9 5 0 ～ 8 0 0 0、8 0 0 0 ～ 8 0 5 0、8 0 5 0 ～ 8 1 0 0、8 1 0 0 ～ 8 1 5 0、8 1 5 0 ～ 8 2 0 0、8 2 0 0 ～ 8 2 5 0、8 2 5 0 ～ 8 3 0 0、8 3 0 0 ～ 8 3 5 0、8 3 5 0 ～ 8 4 0 0、8 4 0 0 ～ 8 4 5 0、8 4 5 0 ～ 8 5 0 0、8 5 0 0 ～ 8 5 5 0、8 5 5 0 ～ 8 6 0 0、8 6 0 0 ～ 8 6 5 0、8 6 5 0 ～ 8 7 0 0、8 7 0 0 ～ 8 7 5 0、8 7 5 0 ～ 8 8 0 0、8 8 0 0 ～ 8 8 5 0、8 8 5 0 ～ 8 9 0 0、8 9 0 0 ～ 8 9 5 0、8 9 5 0 ～ 9 0 0 0、9 0 0 0 ～ 9 0 5 0、9 0 5 0 ～ 9 1 0 0、9 1 0 0 ～ 9 1 5 0、9 1 5 0 ～ 9 2 0 0、9 2 0 0 ～ 9 2 5 0、9 2 5 0 ～ 9 3 0 0、9 3 0 0 ～ 9 3 5 0、9 3 5 0 ～ 9 4 0 0、9 4 0 0 ～ 9 4 5 0、9 4 5 0 ～ 9 5 0 0、9 5 0 0 ～ 9 5 5 0、9 5 5 0 ～ 9 6 0 0、9 6 0 0 ～ 9 6 5 0、9 6 5 0 ～ 9 7 0 0、9 7 0 0 ～ 9 7 5 0、9 7 5 0 ～ 9 8 0 0、9 8 0 0 ～ 9 8 5 0、9 8 5 0 ～ 9 9 0 0、9 9 0 0 ～ 9 9 5 0、9 9 5 0 ～ 1 0 0 0、1 0 0 0 ～ 1 0 0 5、1 0 0 5 ～ 1 0 1 0、1 0 1 0 ～ 1 0 1 5、1 0 1 5 ～ 1 0 2 0、1 0 2 0 ～ 1 0 2 5、1 0 2 5 ～ 1 0 3 0、1 0 3 0 ～ 1 0 3 5、1 0 3 5 ～ 1 0 4 0、1 0 4 0 ～ 1 0 4 5、1 0 4 5 ～ 1 0 5 0、1 0 5 0 ～ 1 0 5 5、1 0 5 5 ～ 1 0 6 0、1 0 6 0 ～ 1 0 6 5、1 0 6 5 ～ 1 0 7 0、1 0 7 0 ～ 1 0 7 5、1 0 7 5 ～ 1 0 8 0、1 0 8 0 ～ 1 0 8 5、1 0 8 5 ～ 1 0 9 0、1 0 9 0 ～ 1 0 9 5、1 0 9 5 ～ 1 1 0 0、1 1 0 0 ～ 1 1 0 5、1 1 0 5 ～ 1 1 1 0、1 1 1 0 ～ 1 1 1 5、1 1 1 5 ～ 1 1 2 0、1 1 2 0 ～ 1 1 2 5、1 1 2 5 ～ 1 1 3 0、1 1 3 0 ～ 1 1 3 5、1 1 3 5 ～ 1 1 4 0、1 1 4 0 ～ 1 1 4 5、1 1 4 5 ～ 1 1 5 0、1 1 5 0 ～ 1 1 5 5、1 1 5 5 ～ 1 1 6 0、1 1 6 0 ～ 1 1 6 5、1 1 6 5 ～ 1 1 7 0、1 1 7 0 ～ 1 1 7 5、1 1 7 5 ～

0～5700、5700～5750、5750～5800、5800～5850、5850～5900、5900～5950、5950～6000、6000～6050、6050～6100、6100～6150、6150～6200、6200～6250、6250～6300、6300～6350、6350～6400、6400～6450、6450～6500、6500～6550、6550～6600、6600～6650、6650～6700、6700～6750、6750～6800、6800～6850、6850～6900、6900～6950、6950～7000、7000～7050、7050～7100、7100～7150、7150～7200、7200～7250、7250～7300、7300～7350、7350～7400、7400～7450、7450～7500、7500～7550、7550～7600、7600～7650、7650～7700、7700～7750、7750～7800、7800～7850、7850～7900、7900～7950、7950～8000、8000～8050、8050～8100、8100～8150、8150～8200、8200～8250、8250～8300、8300～8350、8350～8400、8400～8450、8450～8500、8500～8550、8550～8600、8600～8650、8650～8700、8700～8750、8750～8800、8800～8850、8850～8900、8900～8950、8950～9000、9000～9050、9050～9100、9100～9150、9150～9200、9200～9250、9250～9300、9300～9350、9350～9400、9400～9450、9450～9500、9500～9550、9550～9600、9600～9650、9650～9700、9700～9750、9750～9800、9800～9850、9850～9900、9900～9950、9950～10000、10000～10050、10050～10100、10100～10150、10150～10200、10200～10250、10250～10300、10300～10350、10350～10400、10400～10450、10450～10500、10500～10550、10550～10600、10600～10650、10650～10700、10700～10750、10750～10800、10800～10850、10850～10900、10900～10950、10950～11000、11000～11050、11050～11100、11100～11150、11150～11200、11200～11250、11250～11300、11300～11350、11350～11400、11400～11450、11450～11500、11500～11550、11550～11600、11600～11650、11650～11700、11700～11750、11750～11800、11800～11850、11850～11900、11900～11950、11950～12000、12000～12050、12050～12100、12100～12150、12150～12200、12200～12250、12250～12300、12300～12350、12350～12400、12400～12450、12450～12500、12500～12550、12550～12600、12600～12650、12650～12700、12700～12750、12750～12800、12800～12850、12850～12900、12900～12950、12950～13000、13000～13050、13050～13100、13100～13150、13150～13200、13200～13250、13250～13300、13300～13350、13350～13400、13400～13450、および13450～13500にあってもよい。更に別の非限定的な例として、開始部位は、標的mRNA配列上のヌクレオチド10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、

40

50

80、	581、	582、	583、	584、	585、	586、	587、	588、	589、	5	
90、	591、	592、	593、	594、	595、	596、	597、	598、	599、	6	
00、	601、	602、	603、	604、	605、	606、	607、	608、	609、	6	
10、	611、	612、	613、	614、	615、	616、	617、	618、	619、	6	
20、	621、	622、	623、	624、	625、	626、	627、	628、	629、	6	
30、	631、	632、	633、	634、	635、	636、	637、	638、	639、	6	
40、	641、	642、	643、	644、	645、	646、	647、	648、	649、	6	
50、	651、	652、	653、	654、	655、	656、	657、	658、	659、	6	
60、	661、	662、	663、	664、	665、	666、	667、	668、	669、	6	
70、	671、	672、	673、	674、	675、	676、	677、	678、	679、	6	10
80、	681、	682、	683、	684、	685、	686、	687、	688、	689、	6	
90、	691、	692、	693、	694、	695、	696、	697、	698、	699、	7	
00、	701、	702、	703、	704、	705、	706、	707、	708、	709、	7	
10、	711、	712、	713、	714、	715、	716、	717、	718、	719、	7	
20、	721、	722、	723、	724、	725、	726、	727、	728、	729、	7	
30、	731、	732、	733、	734、	735、	736、	737、	738、	739、	7	
40、	741、	742、	743、	744、	745、	746、	747、	748、	749、	7	
50、	751、	752、	753、	754、	755、	756、	757、	758、	759、	7	
60、	761、	762、	763、	764、	765、	766、	767、	768、	769、	7	
70、	771、	772、	773、	774、	775、	776、	777、	778、	779、	7	20
80、	781、	782、	783、	784、	785、	786、	787、	788、	789、	7	
90、	791、	792、	793、	794、	795、	796、	797、	798、	799、	8	
00、	801、	802、	803、	804、	805、	806、	807、	808、	809、	8	
10、	811、	812、	813、	814、	815、	816、	817、	818、	819、	8	
20、	821、	822、	823、	824、	825、	826、	827、	828、	829、	8	
30、	831、	832、	833、	834、	835、	836、	837、	838、	839、	8	
40、	841、	842、	843、	844、	845、	846、	847、	848、	849、	8	
50、	851、	852、	853、	854、	855、	856、	857、	858、	859、	8	
60、	861、	862、	863、	864、	865、	866、	867、	868、	869、	8	
70、	871、	872、	873、	874、	875、	876、	877、	878、	879、	8	30
80、	881、	882、	883、	884、	885、	886、	887、	888、	889、	8	
90、	891、	892、	893、	894、	895、	896、	897、	898、	899、	9	
00、	901、	902、	903、	904、	905、	906、	907、	908、	909、	9	
10、	911、	912、	913、	914、	915、	916、	917、	918、	919、	9	
20、	921、	922、	923、	924、	925、	926、	927、	928、	929、	9	
30、	931、	932、	933、	934、	935、	936、	937、	938、	939、	9	
40、	941、	942、	943、	944、	945、	946、	947、	948、	949、	9	
50、	951、	952、	953、	954、	955、	956、	957、	958、	959、	9	
60、	961、	962、	963、	964、	965、	966、	967、	968、	969、	9	
70、	971、	972、	973、	974、	975、	976、	977、	978、	979、	9	40
80、	981、	982、	983、	984、	985、	986、	987、	988、	989、	9	
90、	991、	992、	993、	994、	995、	996、	997、	998、	999、	1	
000、	1375、	1376、	1377、	1378、	1379、	1380、	1381、	1382、	1383、	1	
382、	1383、	1384、	1385、	1386、	1387、	1388、	1389、	1390、	1391、	1	
390、	1391、	1392、	1393、	1394、	1395、	1396、	1397、	1398、	1399、	1	
398、	1399、	1400、	1401、	1402、	1403、	1404、	1405、	1406、	1407、	1	
406、	1407、	1408、	1409、	1410、	1411、	1412、	1413、	1414、	1415、	1	
414、	1415、	1416、	1417、	1418、	1419、	1420、	1421、	1422、	1423、	1	
422、	1423、	1424、	1425、	1426、	1427、	1428、	1429、	1430、	1431、	1	
430、	1431、	1432、	1433、	1434、	1435、	1436、	1437、	1438、	1439、	1	50

4 3 8、	1 4 3 9、	1 4 4 0、	1 4 4 1、	1 4 4 2、	1 4 4 3、	1 4 4 4、	1 4 4 5、	1	
4 4 6、	1 4 4 7、	1 4 4 8、	1 4 4 9、	1 4 5 0、	1 6 6 0、	1 6 6 1、	1 6 6 2、	1	
6 6 3、	1 6 6 4、	1 6 6 5、	1 6 6 6、	1 6 6 7、	1 6 6 8、	1 6 6 9、	1 6 7 0、	1	
6 7 1、	1 6 7 2、	1 6 7 3、	1 6 7 4、	1 6 7 5、	2 0 5 0、	2 0 5 1、	2 0 5 2、	2	
0 5 3、	2 0 5 4、	2 0 5 5、	2 0 5 6、	2 0 5 7、	2 0 5 8、	2 0 5 9、	2 0 6 0、	2	
0 6 1、	2 0 6 2、	2 0 6 3、	2 0 6 4、	2 0 6 5、	2 0 6 6、	2 0 6 7、	2 0 6 8、	2	
0 6 9、	2 0 7 0、	2 0 7 1、	2 0 7 2、	2 0 7 3、	2 0 7 4、	2 0 7 5、	2 0 7 6、	2	
0 7 7、	2 0 7 8、	2 0 7 9、	2 0 8 0、	2 0 8 1、	2 0 8 2、	2 0 8 3、	2 0 8 4、	2	
0 8 5、	2 0 8 6、	2 0 8 7、	2 0 8 8、	2 0 8 9、	2 0 9 0、	2 0 9 1、	2 0 9 2、	2	
0 9 3、	2 0 9 4、	2 0 9 5、	2 0 9 6、	2 0 9 7、	2 0 9 8、	2 0 9 9、	2 1 0 0、	2	10
5 8 0、	2 5 8 1、	2 5 8 2、	2 5 8 3、	2 5 8 4、	2 5 8 5、	2 5 8 6、	2 5 8 7、	2	
5 8 8、	2 5 8 9、	2 5 9 0、	2 5 9 1、	2 5 9 2、	2 5 9 3、	2 5 9 4、	2 5 9 5、	2	
5 9 6、	2 5 9 7、	2 5 9 8、	2 5 9 9、	2 6 0 0、	2 6 0 1、	2 6 0 2、	2 6 0 3、	2	
6 0 4、	2 6 0 5、	4 5 2 5、	4 5 2 6、	4 5 2 7、	4 5 2 8、	4 5 2 9、	4 5 3 0、	4	
5 3 1、	4 5 3 2、	4 5 3 3、	4 5 3 4、	4 5 3 5、	4 5 3 6、	4 5 3 7、	4 5 3 8、	4	
5 3 9、	4 5 4 0、	4 5 4 1、	4 5 4 2、	4 5 4 3、	4 5 4 4、	4 5 4 5、	4 5 4 6、	4	
5 4 7、	4 5 4 8、	4 5 4 9、	4 5 5 0、	4 5 7 5、	4 5 7 6、	4 5 7 7、	4 5 7 8、	4	
5 7 9、	4 5 8 0、	4 5 8 1、	4 5 8 2、	4 5 8 3、	4 5 8 4、	4 5 8 5、	4 5 8 6、	4	
5 8 7、	4 5 8 8、	4 5 8 9、	4 5 9 0、	4 5 9 1、	4 5 9 2、	4 5 9 3、	4 5 9 4、	4	
5 9 5、	4 5 9 6、	4 5 9 7、	4 5 9 8、	4 5 9 9、	4 6 0 0、	4 8 5 0、	4 8 5 1、	4	20
8 5 2、	4 8 5 3、	4 8 5 4、	4 8 5 5、	4 8 5 6、	4 8 5 7、	4 8 5 8、	4 8 5 9、	4	
8 6 0、	4 8 6 1、	4 8 6 2、	4 8 6 3、	4 8 6 4、	4 8 6 5、	4 8 6 6、	4 8 6 7、	4	
8 6 8、	4 8 6 9、	4 8 7 0、	4 8 7 1、	4 8 7 2、	4 8 7 3、	4 8 7 4、	4 8 7 5、	4	
8 7 6、	4 8 7 7、	4 8 7 8、	4 8 7 9、	4 8 8 0、	4 8 8 1、	4 8 8 2、	4 8 8 3、	4	
8 8 4、	4 8 8 5、	4 8 8 6、	4 8 8 7、	4 8 8 8、	4 8 8 9、	4 8 9 0、	4 8 9 1、	4	
8 9 2、	4 8 9 3、	4 8 9 4、	4 8 9 5、	4 8 9 6、	4 8 9 7、	4 8 9 8、	4 8 9 9、	4	
9 0 0、	5 4 6 0、	5 4 6 1、	5 4 6 2、	5 4 6 3、	5 4 6 4、	5 4 6 5、	5 4 6 6、	5	
4 6 7、	5 4 6 8、	5 4 6 9、	5 4 7 0、	5 4 7 1、	5 4 7 2、	5 4 7 3、	5 4 7 4、	5	
4 7 5、	5 4 7 6、	5 4 7 7、	5 4 7 8、	5 4 7 9、	5 4 8 0、	6 1 7 5、	6 1 7 6、	6	
1 7 7、	6 1 7 8、	6 1 7 9、	6 1 8 0、	6 1 8 1、	6 1 8 2、	6 1 8 3、	6 1 8 4、	6	30
1 8 5、	6 1 8 6、	6 1 8 7、	6 1 8 8、	6 1 8 9、	6 1 9 0、	6 1 9 1、	6 1 9 2、	6	
1 9 3、	6 1 9 4、	6 1 9 5、	6 1 9 6、	6 1 9 7、	6 1 9 8、	6 1 9 9、	6 2 0 0、	6	
3 1 5、	6 3 1 6、	6 3 1 7、	6 3 1 8、	6 3 1 9、	6 3 2 0、	6 3 2 1、	6 3 2 2、	6	
3 2 3、	6 3 2 4、	6 3 2 5、	6 3 2 6、	6 3 2 7、	6 3 2 8、	6 3 2 9、	6 3 3 0、	6	
3 3 1、	6 3 3 2、	6 3 3 3、	6 3 3 4、	6 3 3 5、	6 3 3 6、	6 3 3 7、	6 3 3 8、	6	
3 3 9、	6 3 4 0、	6 3 4 1、	6 3 4 2、	6 3 4 3、	6 3 4 4、	6 3 4 5、	6 6 0 0、	6	
6 0 1、	6 6 0 2、	6 6 0 3、	6 6 0 4、	6 6 0 5、	6 6 0 6、	6 6 0 7、	6 6 0 8、	6	
6 0 9、	6 6 1 0、	6 6 1 1、	6 6 1 2、	6 6 1 3、	6 6 1 4、	6 6 1 5、	6 7 2 5、	6	
7 2 6、	6 7 2 7、	6 7 2 8、	6 7 2 9、	6 7 3 0、	6 7 3 1、	6 7 3 2、	6 7 3 3、	6	
7 3 4、	6 7 3 5、	6 7 3 6、	6 7 3 7、	6 7 3 8、	6 7 3 9、	6 7 4 0、	6 7 4 1、	6	40
7 4 2、	6 7 4 3、	6 7 4 4、	6 7 4 5、	6 7 4 6、	6 7 4 7、	6 7 4 8、	6 7 4 9、	6	
7 5 0、	6 7 5 1、	6 7 5 2、	6 7 5 3、	6 7 5 4、	6 7 5 5、	6 7 5 6、	6 7 5 7、	6	
7 5 8、	6 7 5 9、	6 7 6 0、	6 7 6 1、	6 7 6 2、	6 7 6 3、	6 7 6 4、	6 7 6 5、	6	
7 6 6、	6 7 6 7、	6 7 6 8、	6 7 6 9、	6 7 7 0、	6 7 7 1、	6 7 7 2、	6 7 7 3、	6	
7 7 4、	6 7 7 5、	7 6 5 5、	7 6 5 6、	7 6 5 7、	7 6 5 8、	7 6 5 9、	7 6 6 0、	7	
6 6 1、	7 6 6 2、	7 6 6 3、	7 6 6 4、	7 6 6 5、	7 6 6 6、	7 6 6 7、	7 6 6 8、	7	
6 6 9、	7 6 7 0、	7 6 7 1、	7 6 7 2、	8 5 1 0、	8 5 1 1、	8 5 1 2、	8 5 1 3、	8	
5 1 4、	8 5 1 5、	8 5 1 6、	8 7 1 5、	8 7 1 6、	8 7 1 7、	8 7 1 8、	8 7 1 9、	8	
7 2 0、	8 7 2 1、	8 7 2 2、	8 7 2 3、	8 7 2 4、	8 7 2 5、	8 7 2 6、	8 7 2 7、	8	
7 2 8、	8 7 2 9、	8 7 3 0、	8 7 3 1、	8 7 3 2、	8 7 3 3、	8 7 3 4、	8 7 3 5、	8	50

7 3 6、8 7 3 7、8 7 3 8、8 7 3 9、8 7 4 0、8 7 4 1、8 7 4 2、8 7 4 3、8
7 4 4、8 7 4 5、9 2 5 0、9 2 5 1、9 2 5 2、9 2 5 3、9 2 5 4、9 2 5 5、9
2 5 6、9 2 5 7、9 2 5 8、9 2 5 9、9 2 6 0、9 2 6 1、9 2 6 2、9 2 6 3、9
2 6 4、9 2 6 5、9 2 6 6、9 2 6 7、9 2 6 8、9 2 6 9、9 2 7 0、9 4 8 0、9
4 8 1、9 4 8 2、9 4 8 3、9 4 8 4、9 4 8 5、9 4 8 6、9 4 8 7、9 4 8 8、9
4 8 9、9 4 9 0、9 4 9 1、9 4 9 2、9 4 9 3、9 4 9 4、9 4 9 5、9 4 9 6、9
4 9 7、9 4 9 8、9 4 9 9、9 5 0 0、9 5 7 5、9 5 7 6、9 5 7 7、9 5 7 8、9
5 7 9、9 5 8 0、9 5 8 1、9 5 8 2、9 5 8 3、9 5 8 4、9 5 8 5、9 5 8 6、9
5 8 7、9 5 8 8、9 5 8 9、9 5 9 0、1 0 5 2 5、1 0 5 2 6、1 0 5 2 7、1 0 5
2 8、1 0 5 2 9、1 0 5 3 0、1 0 5 3 1、1 0 5 3 2、1 0 5 3 3、1 0 5 3 4、1 1 0 5 3 5、1 0 5 3 6、1 0 5 3 7、1 0 5 3 8、1 0 5 3 9、1 0 5 4 0、1 1 5 4 5
、1 1 5 4 6、1 1 5 4 7、1 1 5 4 8、1 1 5 4 9、1 1 5 5 0、1 1 5 5 1、1 1 5
5 2、1 1 5 5 3、1 1 5 5 4、1 1 5 5 5、1 1 5 5 6、1 1 5 5 7、1 1 5 5 8、1
1 5 5 9、1 1 5 6 0、1 1 8 7 5、1 1 8 7 6、1 1 8 7 7、1 1 8 7 8、1 1 8 7 9
、1 1 8 8 0、1 1 8 8 1、1 1 8 8 2、1 1 8 8 3、1 1 8 8 4、1 1 8 8 5、1 1 8
8 6、1 1 8 8 7、1 1 8 8 8、1 1 8 8 9、1 1 8 9 0、1 1 8 9 1、1 1 8 9 2、1
1 8 9 3、1 1 8 9 4、1 1 8 9 5、1 1 8 9 6、1 1 8 9 7、1 1 8 9 8、1 1 8 9 9
、1 1 9 0 0、1 1 9 1 5、1 1 9 1 6、1 1 9 1 7、1 1 9 1 8、1 1 9 1 9、1 1 9
2 0、1 1 9 2 1、1 1 9 2 2、1 1 9 2 3、1 1 9 2 4、1 1 9 2 5、1 1 9 2 6、1
1 9 2 7、1 1 9 2 8、1 1 9 2 9、1 1 9 3 0、1 1 9 3 1、1 1 9 3 2、1 1 9 3 3
、1 1 9 3 4、1 1 9 3 5、1 1 9 3 6、1 1 9 3 7、1 1 9 3 8、1 1 9 3 9、1 1 9
4 0、1 3 3 7 5、1 3 3 7 6、1 3 3 7 7、1 3 3 7 8、1 3 3 7 9、1 3 3 8 0、1
3 3 8 1、1 3 3 8 2、1 3 3 8 3、1 3 3 8 4、1 3 3 8 5、1 3 3 8 6、1 3 3 8 7
、1 3 3 8 8、1 3 3 8 9 および 1 3 3 9 0 にあってもよい。

【0334】

一部の実施形態において、アンチセンス鎖と標的mRNA配列とは100%の相補性を有する。アンチセンス鎖は標的mRNA配列の任意の一部と相補的であってもよい。

他の実施形態において、アンチセンス鎖と標的mRNA配列とは少なくとも1つのミスマッチを含む。非限定的な例として、アンチセンス鎖と標的mRNA配列とは、少なくとも30%、40%、50%、60%、70%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%または99%または少なくとも20~30%、20~40%、20~50%、20~60%、20~70%、20~80%、20~90%、20~95%、20~99%、30~40%、30~50%、30~60%、30~70%、30~80%、30~90%、30~95%、30~99%、40~50%、40~60%、40~70%、40~80%、40~90%、40~95%、40~99%、50~60%、50~70%、50~80%、50~90%、50~95%、50~99%、60~70%、60~80%、60~90%、60~95%、60~99%、70~80%、70~90%、70~95%、70~99%、80~90%、80~95%、80~99%、90~95%、90~99%または95~99%の相補性を有する。

【0335】

一実施形態において、siRNAまたはdsRNAは、互いに相補的な少なくとも2つの配列を含む。

本発明によれば、siRNA分子は長さが約10~50ヌクレオチドまたはそれ以上であり、すなわち、各鎖が10~50ヌクレオチド（またはヌクレオチド類似体）を含む。好ましくは、siRNA分子は長さが各鎖約15~30、例えば、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、または30ヌクレオチドであり、ここで鎖の一方は標的領域と十分に相補的である。一実施形態において、siRNA分子の各鎖は、約19~25、19~24または19~21ヌクレオチドの長さを有する。一実施形態において、siRNA分子の少なくとも一方の鎖は、19

ヌクレオチド長である。一実施形態において、s i R N A分子の少なくとも一方の鎖は、20ヌクレオチド長である。一実施形態において、s i R N A分子の少なくとも一方の鎖は、21ヌクレオチド長である。一実施形態において、s i R N A分子の少なくとも一方の鎖は、22ヌクレオチド長である。一実施形態において、s i R N A分子の少なくとも一方の鎖は、23ヌクレオチド長である。一実施形態において、s i R N A分子の少なくとも一方の鎖は、24ヌクレオチド長である。一実施形態において、s i R N A分子の少なくとも一方の鎖は、25ヌクレオチド長である。＼

一部の実施形態において、本発明のs i R N A分子は、約19ヌクレオチド～約25ヌクレオチド、および3'末端に2オーバーハングヌクレオチドを含む合成RNA二重鎖であり得る。一部の態様において、s i R N A分子は非修飾RNA分子であってもよい。他の態様において、s i R N A分子は、塩基、糖または骨格修飾などの少なくとも1つの修飾ヌクレオチドを含有し得る。

10

【0336】

一実施形態において、本発明のs i R N A分子は、アンチセンス配列およびセンス配列またはその断片もしくは変異体を含み得る。非限定的な例として、アンチセンス配列およびセンス配列は、少なくとも30%、40%、50%、60%、70%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%または99%または少なくとも20～30%、20～40%、20～50%、20～60%、20～70%、20～80%、20～90%、20～95%、20～99%、30～40%、30～50%、30～60%、30～70%、30～80%、30～90%、30～95%、30～99%、40～50%、40～60%、40～70%、40～80%、40～90%、40～95%、40～99%、50～60%、50～70%、50～80%、50～90%、50～95%、50～99%、60～70%、60～80%、60～90%、60～95%、60～99%、70～80%、70～90%、70～95%、70～99%、80～90%、80～95%、80～99%、90～95%、90～99%または95～99%の相補性を有する。

20

【0337】

他の実施形態において、本発明のs i R N A分子は、細胞への送達用のプラスミドベクター、AAV粒子、ウイルスゲノムまたは他の核酸発現ベクターにコードすることができる。

30

【0338】

DNA発現プラスミドを使用して本発明のs i R N A二重鎖またはdsRNAを細胞で安定に発現させ、標的遺伝子発現の長期阻害を実現することができる。一態様において、s i R N A二重鎖のセンス鎖とアンチセンス鎖とは、典型的には短いスペーサ配列によって連結され、低分子ヘアピンRNA (shRNA) と呼ばれるステムループ構造の発現をもたらす。ヘアピンはダイサーによって認識および切断され、そのようにして成熟s i R N A分子が生じる。

【0339】

本発明によれば、mRNAを標的とするs i R N A分子をコードする核酸を含むAAV粒子が産生され、AAV血清型は、表1に挙げられる血清型のいずれであってもよい。AAV血清型の非限定的な例としては、AAV1、AAV2、AAV3、AAV4、AAV5、AAV6、AAV7、AAV8、AAV9、AAV9.47、AAV9(hu14)、AAV10、AAV11、AAV12、AAVrh8、AAVrh10、AAV-DJ8、AAV-DJ、AAV-PHP.A、および／またはAAV-PHP.B、AAV-PHP.B2、AAV-PHP.B3、AAV-PHP.N/PHP.B-DGT、AAV-PHP.B-EST、AAV-PHP.B-GGT、AAV-PHP.B-ATP、AAV-PHP.B-ATT-T、AAV-PHP.B-DGT-T、AAV-PHP.B-GGT-T、AAV-PHP.B-SGS、AAV-PHP.B-AQP、AAV-PHP.B-QQP、AAV-PHP.B-SNP(3)、AAV-PHP.B-SNP、AAV-PHP.B-QGT、

40

50

AAV PHP. B-NQT、AAV PHP. B-EGS、AAV PHP. B-SGN、AAV PHP. B-EGT、AAV PHP. B-DST、AAV PHP. B-DST、AAV PHP. B-STP、AAV PHP. B-PQP、AAV PHP. B-SQP、AAV PHP. B-QLP、AAV PHP. B-TMP、AAV PHP. B-TTP、AAV PHP. S/G2A12、AAVG2A15/G2A3、AAVG2B4、AAVG2B5 およびそれらのバリエーションが挙げられる。

【0340】

一部の実施形態において、本発明の siRNA 二重鎖またはコード化 dsRNA は標的 mRNA を抑制（または分解）する。したがって、本 siRNA 二重鎖またはコード化 dsRNA を使用して、細胞、例えばニューロンにおける遺伝子発現を実質的に阻害することができる。一部の態様において、遺伝子発現の阻害とは、少なくとも約 20%、好ましくは少なくとも約 30%、40%、50%、60%、70%、80%、85%、90%、95% および 100%、または少なくとも 20~30%、20~40%、20~50%、20~60%、20~70%、20~80%、20~90%、20~95%、20~100%、30~40%、30~50%、30~60%、30~70%、30~80%、30~90%、30~95%、30~100%、40~50%、40~60%、40~70%、40~80%、40~90%、40~95%、40~100%、50~60%、50~70%、50~80%、50~90%、50~95%、50~100%、60~70%、60~80%、60~90%、60~95%、60~100%、70~80%、70~90%、70~95%、70~100%、80~90%、80~95%、80~100%、90~95%、90~100% または 95~100% の阻害を指す。したがって、標的遺伝子のタンパク質産物が少なくとも約 20%、好ましくは少なくとも約 30%、40%、50%、60%、70%、80%、85%、90%、95% および 100%、または少なくとも 20~30%、20~40%、20~50%、20~60%、20~70%、20~80%、20~90%、20~95%、20~100%、30~40%、30~50%、30~60%、30~70%、30~80%、30~90%、30~95%、30~100%、40~50%、40~60%、40~70%、40~80%、40~90%、40~95%、40~100%、50~60%、50~70%、50~80%、50~90%、50~95%、50~100%、60~70%、60~80%、60~90%、60~95%、60~100%、70~80%、70~90%、70~95%、70~100%、80~90%、80~95%、80~100%、90~95%、90~100% または 95~100% 阻害され得る。

【0341】

一実施形態において、siRNA 分子は、ガイド鎖に位置する標的に対する miRNA シードマッチを含む。別の実施形態において、siRNA 分子は、パッセンジャー鎖に位置する標的に対する miRNA シードマッチを含む。更に別の実施形態において、目的の遺伝子を標的とする siRNA 二重鎖またはコード化 dsRNA は、ガイド鎖またはパッセンジャー鎖に位置する標的に対するシードマッチを含まない。

【0342】

一実施形態において、目的の遺伝子を標的とする siRNA 二重鎖またはコード化 dsRNA は、ガイド鎖について有意な完全長オフターゲット効果をほぼ有しないものであり得る。別の実施形態において、目的の遺伝子を標的とする siRNA 二重鎖またはコード化 dsRNA は、パッセンジャー鎖について有意な完全長オフターゲット効果をほぼ有しないものであり得る。目的の遺伝子を標的とする siRNA 二重鎖またはコード化 dsRNA は、パッセンジャー鎖について 1% 未満、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、1~5%、2~6%、3~7%、4~8%、5~9%、5~10%、6~10%、5~15%、5~20%、5~25%、5~30%、10~20%、10~30%、10~40%、10~50%、15~30%、15~40%、15~45%、20~40%、20~50%、25~50%、30~40%、30~50

%、35～50%、40～50%、45～50%の完全長オフターゲット効果を有し得る。更に別の実施形態において、目的の遺伝子を標的とする siRNA 二重鎖またはコード化 dsRNA は、ガイド鎖またはパッセンジャー鎖について有意な完全長オフターゲット効果をほぼ有しないものであり得る。目的の遺伝子を標的とする siRNA 二重鎖またはコード化 dsRNA は、ガイド鎖またはパッセンジャー鎖について 1%未満、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、1～5%、2～6%、3～7%、4～8%、5～9%、5～10%、6～10%、5～15%、5～20%、5～25%、5～30%、10～20%、10～30%、10～40%、10～50%、15～30%、15～40%、15～45%、20～40%、20～50%、25～50%、30～40%、30～50%、35～50%、40～50%、45～50%の完全長オフターゲット効果を有し得る。

10

【0343】

一実施形態において、目的の遺伝子を標的とする siRNA 二重鎖またはコード化 dsRNA はインビトロで高い活性を有し得る。別の実施形態において、siRNA 分子はインビトロで低い活性を有し得る。更に別の実施形態において、目的の遺伝子を標的とする siRNA 二重鎖または dsRNA はインビトロで高いガイド鎖活性および低いパッセンジャー鎖活性を有し得る。

【0344】

一実施形態において、siRNA 分子はインビトロで高いガイド鎖活性および低いパッセンジャー鎖活性を有する。ガイド鎖による標的のノックダウン (KD) は少なくとも 40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、99%、99.5% または 100% であり得る。ガイド鎖による標的のノックダウンは 40～50%、45～50%、50～55%、50～60%、60～65%、60～70%、60～75%、60～80%、60～85%、60～90%、60～95%、60～99%、60～99.5%、60～100%、65～70%、65～75%、65～80%、65～85%、65～90%、65～95%、65～99%、65～99.5%、65～100%、70～75%、70～80%、70～85%、70～90%、70～95%、70～99%、70～99.5%、70～100%、75～80%、75～85%、75～90%、75～95%、75～99%、75～99.5%、75～100%、80～85%、80～90%、80～95%、80～99%、80～99.5%、80～100%、85～90%、85～95%、85～99%、85～99.5%、85～100%、90～95%、90～99%、90～99.5%、90～100%、95～99%、95～99.5%、95～100%、99～99.5%、99～100% または 99.5～100% であり得る。非限定的な例として、ガイド鎖による標的のノックダウン (KD) は 70% より高い。非限定的な例として、ガイド鎖による標的のノックダウン (KD) は 60% より高い。

20

30

【0345】

一実施形態において、siRNA 二重鎖は、センス配列またはアンチセンス配列について、目的の遺伝子ではない配列に対する miRNA シードマッチがないように設計される。

40

【0346】

一実施形態において、最も近いオフターゲットに対するガイド鎖の IC_{50} は、オンターゲット遺伝子に対するガイド鎖の IC_{50} の 100 倍よりも高い。非限定的な例として、最も近いオフターゲットに対するガイド鎖の IC_{50} が標的に対するガイド鎖の IC_{50} の 100 倍よりも高い場合、その siRNA 分子は、インビトロでの目的の遺伝子の阻害に高いガイド鎖選択性を有すると言われる。

【0347】

一実施形態において、ガイド鎖の 5' プロセッシングは、インビトロまたはインビボで少なくとも 75%、80%、85%、90%、95%、99% または 100% の確率で 5'

50

末端に正しい開始 (n) を有する。非限定的な例として、ガイド鎖の 5' プロセッシングは正確であり、インビトロで少なくとも 99% の確率で 5' 末端に正しい開始 (n) を有する。非限定的な例として、ガイド鎖の 5' プロセッシングは正確であり、インビボで少なくとも 99% の確率で 5' 末端に正しい開始 (n) を有する。非限定的な例として、ガイド鎖の 5' プロセッシングは正確であり、インビトロで少なくとも 90% の確率で 5' 末端に正しい開始 (n) を有する。非限定的な例として、ガイド鎖の 5' プロセッシングは正確であり、インビボで少なくとも 90% の確率で 5' 末端に正しい開始 (n) を有する。非限定的な例として、ガイド鎖の 5' プロセッシングは正確であり、インビトロで少なくとも 85% の確率で 5' 末端に正しい開始 (n) を有する。非限定的な例として、ガイド鎖の 5' プロセッシングは正確であり、インビボで少なくとも 85% の確率で 5' 末端に正しい開始 (n) を有する。

10

【0348】

一実施形態において、ガイド鎖対パッセンジャー鎖 (G:P) (アンチセンス鎖対センス鎖とも称される) の発現比は、インビトロまたはインビボで 1:10、1:9、1:8、1:7、1:6、1:5、1:4、1:3、1:2、1:1、2:10、2:9、2:8、2:7、2:6、2:5、2:4、2:3、2:2、2:1、3:10、3:9、3:8、3:7、3:6、3:5、3:4、3:3、3:2、3:1、4:10、4:9、4:8、4:7、4:6、4:5、4:4、4:3、4:2、4:1、5:10、5:9、5:8、5:7、5:6、5:5、5:4、5:3、5:2、5:1、6:10、6:9、6:8、6:7、6:6、6:5、6:4、6:3、6:2、6:1、7:10、7:9、7:8、7:7、7:6、7:5、7:4、7:3、7:2、7:1、8:10、8:9、8:8、8:7、8:6、8:5、8:4、8:3、8:2、8:1、9:10、9:9、9:8、9:7、9:6、9:5、9:4、9:3、9:2、9:1、10:10、10:9、10:8、10:7、10:6、10:5、10:4、10:3、10:2、10:1、1:99、5:95、10:90、15:85、20:80、25:75、30:70、35:65、40:60、45:55、50:50、55:45、60:40、65:35、70:30、75:25、80:20、85:15、90:10、95:5、または 99:1 である。ガイド対パッセンジャー比とは、primary microRNA の細胞内プロセッシング後のガイド鎖対パッセンジャー鎖の比を指す。例えば、80:20 のガイド対パッセンジャー比であれば、前駆体からプロセッシングされるパッセンジャー鎖 2 つにつき 8 つのガイド鎖を有し得る。非限定的な例として、ガイド鎖対パッセンジャー鎖比はインビトロで 8:2 である。非限定的な例として、ガイド鎖対パッセンジャー鎖比はインビボで 8:2 である。非限定的な例として、ガイド鎖対パッセンジャー鎖比はインビトロで 9:1 である。非限定的な例として、ガイド鎖対パッセンジャー鎖比はインビボで 9:1 である。

20

30

【0349】

一実施形態において、ガイド鎖対パッセンジャー鎖 (G:P) (アンチセンス鎖対センス鎖とも称される) の発現比は 1 より大きい。

一実施形態において、ガイド鎖対パッセンジャー鎖 (G:P) (アンチセンス鎖対センス鎖とも称される) の発現比は 2 より大きい。

40

【0350】

一実施形態において、ガイド鎖対パッセンジャー鎖 (G:P) (アンチセンス鎖対センス鎖とも称される) の発現比は 5 より大きい。

一実施形態において、ガイド鎖対パッセンジャー鎖 (G:P) (アンチセンス鎖対センス鎖とも称される) の発現比は 10 より大きい。

【0351】

一実施形態において、ガイド鎖対パッセンジャー鎖 (G:P) (アンチセンス鎖対センス鎖とも称される) の発現比は 20 より大きい。

一実施形態において、ガイド鎖対パッセンジャー鎖 (G:P) (アンチセンス鎖対センス鎖とも称される) の発現比は 50 より大きい。

50

【0352】

一実施形態において、ガイド鎖対パッセンジャー鎖（G：P）（アンチセンス鎖対センス鎖とも称される）の発現比は少なくとも3：1である。

一実施形態において、ガイド鎖対パッセンジャー鎖（G：P）（アンチセンス鎖対センス鎖とも称される）の発現比は少なくとも5：1である。

【0353】

一実施形態において、ガイド鎖対パッセンジャー鎖（G：P）（アンチセンス鎖対センス鎖とも称される）の発現比は少なくとも10：1である。

一実施形態において、ガイド鎖対パッセンジャー鎖（G：P）（アンチセンス鎖対センス鎖とも称される）の発現比は少なくとも20：1である。

10

【0354】

一実施形態において、ガイド鎖対パッセンジャー鎖（G：P）（アンチセンス鎖対センス鎖とも称される）の発現比は少なくとも50：1である。

一実施形態において、パッセンジャー鎖対ガイド鎖（P：G）（センス鎖対アンチセンス鎖とも称される）の発現比は、インビトロまたはインビボで1：10、1：9、1：8、1：7、1：6、1：5、1：4、1：3、1：2、1：1、2：10、2：9、2：8、2：7、2：6、2：5、2：4、2：3、2：2、2：1、3：10、3：9、3：8、3：7、3：6、3：5、3：4、3：3、3：2、3：1、4：10、4：9、4：8、4：7、4：6、4：5、4：4、4：3、4：2、4：1、5：10、5：9、5：8、5：7、5：6、5：5、5：4、5：3、5：2、5：1、6：10、6：9、6：8、6：7、6：6、6：5、6：4、6：3、6：2、6：1、7：10、7：9、7：8、7：7、7：6、7：5、7：4、7：3、7：2、7：1、8：10、8：9、8：8、8：7、8：6、8：5、8：4、8：3、8：2、8：1、9：10、9：9、9：8、9：7、9：6、9：5、9：4、9：3、9：2、9：1、10：10、10：9、10：8、10：7、10：6、10：5、10：4、10：3、10：2、10：1、1：99、5：95、10：90、15：85、20：80、25：75、30：70、35：65、40：60、45：55、50：50、55：45、60：40、65：35、70：30、75：25、80：20、85：15、90：10、95：5、または99：1である。パッセンジャー対ガイド比とは、*pr i m i c r o* RNAの細胞内プロセッシング後の、ガイド鎖に対するパッセンジャー鎖の比を指す。例えば、80：20のパッセンジャー対ガイド比であれば、前駆体からプロセッシングされるガイド鎖2つにつき8つのパッセンジャー鎖を有し得る。非限定的な例として、パッセンジャー鎖対ガイド鎖比はインビトロで80：20である。非限定的な例として、パッセンジャー鎖対ガイド鎖比はインビボで80：20である。非限定的な例として、パッセンジャー鎖対ガイド鎖比はインビトロで8：2である。非限定的な例として、パッセンジャー鎖対ガイド鎖比はインビボで8：2である。非限定的な例として、パッセンジャー鎖対ガイド鎖比はインビトロで9：1である。非限定的な例として、パッセンジャー鎖対ガイド鎖比はインビボで9：1である。

20

30

【0355】

一実施形態において、パッセンジャー鎖対ガイド鎖（P：G）（センス鎖対アンチセンス鎖とも称される）の発現比は1より大きい。

一実施形態において、パッセンジャー鎖対ガイド鎖（P：G）（センス鎖対アンチセンス鎖とも称される）の発現比は2より大きい。

40

【0356】

一実施形態において、パッセンジャー鎖対ガイド鎖（P：G）（センス鎖対アンチセンス鎖とも称される）の発現比は5より大きい。

一実施形態において、パッセンジャー鎖対ガイド鎖（P：G）（センス鎖対アンチセンス鎖とも称される）の発現比は10より大きい。

【0357】

一実施形態において、パッセンジャー鎖対ガイド鎖（P：G）（センス鎖対アンチセン

50

ス鎖とも称される)の発現比は20より大きい。

一実施形態において、パッセンジャー鎖対ガイド鎖(P:G)(センス鎖対アンチセンス鎖とも称される)の発現比は50より大きい。

【0358】

一実施形態において、パッセンジャー鎖対ガイド鎖(P:G)(センス鎖対アンチセンス鎖とも称される)の発現比は少なくとも3:1である。

一実施形態において、パッセンジャー鎖対ガイド鎖(P:G)(センス鎖対アンチセンス鎖とも称される)の発現比は少なくとも5:1である。

【0359】

一実施形態において、パッセンジャー鎖対ガイド鎖(P:G)(センス鎖対アンチセンス鎖とも称される)の発現比は少なくとも10:1である。

一実施形態において、パッセンジャー鎖対ガイド鎖(P:G)(センス鎖対アンチセンス鎖とも称される)の発現比は少なくとも20:1である。

【0360】

一実施形態において、パッセンジャー鎖対ガイド鎖(P:G)(センス鎖対アンチセンス鎖とも称される)の発現比は少なくとも50:1である。

一実施形態において、パッセンジャー鎖ーガイド鎖二重鎖は、*p r i - m i c r o*または*p r e - m i c r o R N A*が、しかし当該技術分野において公知のおよび本明細書に記載される方法、プロセッシングを測定したとき2倍より高いガイド鎖対パッセンジャー鎖比を示す場合に有効と見なされる。非限定的な例として、*p r i - m i c r o*または*p r e - m i c r o R N A*は、プロセッシングを測定したとき、2倍、3倍、4倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、11倍、12倍、13倍、14倍、15倍より高い、または2~5倍、2~10倍、2~15倍、3~5倍、3~10倍、3~15倍、4~5倍、4~10倍、4~15倍、5~10倍、5~15倍、6~10倍、6~15倍、7~10倍、7~15倍、8~10倍、8~15倍、9~10倍、9~15倍、10~15倍、11~15倍、12~15倍、13~15倍、または14~15倍のガイド鎖対パッセンジャー鎖比を示す。

【0361】

一実施形態において、*d s R N A*をコードするベクターゲノムは、コンストラクトの完全長の少なくとも60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、99%または99%超である配列を含む。非限定的な例として、ベクターゲノムは、コンストラクトの完全長配列の少なくとも80%である配列を含む。

【0362】

一実施形態において、*s i R N A*分子を使用して、目的の遺伝子配列上の少なくとも1つのエクソンを標的とすることにより、目的の遺伝子の野生型または突然変異バージョンをサイレンシングすることができる。エクソンは、エクソン1、エクソン2、エクソン3、エクソン4、エクソン5、エクソン6、エクソン7、エクソン8、エクソン9、エクソン10、エクソン11、エクソン12、エクソン13、エクソン14、エクソン15、エクソン16、エクソン17、エクソン18、エクソン19、エクソン20、エクソン21、エクソン22、エクソン23、エクソン24、エクソン25、エクソン26、エクソン27、エクソン28、エクソン29、エクソン30、エクソン31、エクソン32、エクソン33、エクソン34、エクソン35、エクソン36、エクソン37、エクソン38、エクソン39、エクソン40、エクソン41、エクソン42、エクソン43、エクソン44、エクソン45、エクソン46、エクソン47、エクソン48、エクソン49、エクソン50、エクソン51、エクソン52、エクソン53、エクソン54、エクソン55、エクソン56、エクソン57、エクソン58、エクソン59、エクソン60、エクソン61、エクソン62、エクソン63、エクソン64、エクソン65、エクソン66、および/またはエクソン67であってもよい。

【0363】

H T T 遺伝子を標的とする *s i R N A* 二重鎖の設計および配列

10

20

30

40

50

本発明は、H T T 遺伝子発現および／またはH T T タンパク質産生に干渉するためH T T m R N A を標的とする低分子干渉R N A (s i R N A) 二重鎖（およびそれをコードする調節性ポリヌクレオチド）を提供する。

【0364】

本発明のコードされる s i R N A 二重鎖は、共にハイブリダイズして二重鎖構造を形成するアンチセンス鎖およびセンス鎖を含有し、ここでアンチセンス鎖は標的H T T 遺伝子の核酸配列に相補的であり、センス鎖は標的H T T 遺伝子の核酸配列に相同である。一部の態様において、アンチセンス鎖の5'末端は5'リン酸基を有し、センス鎖の3'末端は3'ヒドロキシル基を含む。他の態様において、各鎖の3'末端にはヌクレオチドオーバーハングがない、1つある、または2つある。

【0365】

当該技術分野では、s i R N A の設計に関して幾つかの指針が提案されている。これらの指針は、概して、サイレンシングしようとする遺伝子中の領域を標的とする19ヌクレオチド二重鎖形成領域、対称2〜3ヌクレオチド3'オーバーハング、5'ーリン酸基および3'ーヒドロキシル基を作成することを推奨している。s i R N A 配列の好ましさを左右し得る他の規則としては、限定はされないが、(i) アンチセンス鎖の5'末端におけるA/U；(ii) センス鎖の5'末端におけるG/C；(iii) アンチセンス鎖の5'端側3分の1にある少なくとも5個のA/U残基；および(iv) 9ヌクレオチド長より長いかなるGCストレッチも存在しないことが挙げられる。標的遺伝子の具体的な配列と合わせて、かかる考慮点に従い、H t t 遺伝子発現の抑制に不可欠な極めて有効な s i R N A 分子を容易に設計し得る。

【0366】

本発明によれば、H T T 遺伝子を標的とする s i R N A 分子（例えば、s i R N A 二重鎖またはコード化 d s R N A ）が設計される。かかる s i R N A 分子は、特異的にH T T 遺伝子発現およびタンパク質産生を抑制することができる。一部の態様において、s i R N A 分子は、細胞のH T T 遺伝子変異体、すなわちH D 疾患を有する患者に同定される突然変異型H T T 転写物を選択的に「ノックアウト」するように設計および使用される。一部の態様において、s i R N A 分子は、細胞のH T T 遺伝子変異体を選択的に「ノックダウン」するように設計および使用される。他の態様において、s i R N A 分子は、野生型および突然変異型の両方のH T T 遺伝子を阻害または抑制することが可能である。

【0367】

一実施形態において、本発明の s i R N A 分子は、両方の鎖が共にハイブリダイズして二重鎖構造を形成するセンス鎖と相補的アンチセンス鎖とを含む。アンチセンス鎖は標的的特異的R N A i を導くのに十分な、H T T m R N A 配列との相補性を有し、すなわち s i R N A 分子は、R N A i 機構または過程による標的m R N A の破壊を惹起するのに十分な配列を有する。

【0368】

一実施形態において、本発明の s i R N A 分子は、両方の鎖が共にハイブリダイズして二重鎖構造を形成するセンス鎖と相補的アンチセンス鎖とを含み、ここでH T T m R N A とのハイブリダイゼーションの開始部位は、H T T m R N A 配列上のヌクレオチド100〜7000にある。非限定的な例として、開始部位は、H T T m R N A 配列上のヌクレオチド100〜150、150〜200、200〜250、250〜300、300〜350、350〜400、400〜450、450〜500、500〜550、550〜600、600〜650、650〜700、700〜750、750〜800、800〜850、850〜900、900〜950、950〜1000、1000〜1050、1050〜1100、1100〜1150、1150〜1200、1200〜1250、1250〜1300、1300〜1350、1350〜1400、1400〜1450、1450〜1500、1500〜1550、1550〜1600、1600〜1650、1650〜1700、1700〜1750、1750〜1800、1800〜1850、1850〜1900、1900〜1950、1950〜2000、2000〜2050、2

0 5 0 ~ 2 1 0 0、	2 1 0 0 ~ 2 1 5 0、	2 1 5 0 ~ 2 2 0 0、	2 2 0 0 ~ 2 2 5 0、	2	
2 5 0 ~ 2 3 0 0、	2 3 0 0 ~ 2 3 5 0、	2 3 5 0 ~ 2 4 0 0、	2 4 0 0 ~ 2 4 5 0、	2	
4 5 0 ~ 2 5 0 0、	2 5 0 0 ~ 2 5 5 0、	2 5 5 0 ~ 2 6 0 0、	2 6 0 0 ~ 2 6 5 0、	2	
6 5 0 ~ 2 7 0 0、	2 7 0 0 ~ 2 7 5 0、	2 7 5 0 ~ 2 8 0 0、	2 8 0 0 ~ 2 8 5 0、	2	
8 5 0 ~ 2 9 0 0、	2 9 0 0 ~ 2 9 5 0、	2 9 5 0 ~ 3 0 0 0、	3 0 0 0 ~ 3 0 5 0、	3	
0 5 0 ~ 3 1 0 0、	3 1 0 0 ~ 3 1 5 0、	3 1 5 0 ~ 3 2 0 0、	3 2 0 0 ~ 3 2 5 0、	3	
2 5 0 ~ 3 3 0 0、	3 3 0 0 ~ 3 3 5 0、	3 3 5 0 ~ 3 4 0 0、	3 4 0 0 ~ 3 4 5 0、	3	
4 5 0 ~ 3 5 0 0、	3 5 0 0 ~ 3 5 5 0、	3 5 5 0 ~ 3 6 0 0、	3 6 0 0 ~ 3 6 5 0、	3	
6 5 0 ~ 3 7 0 0、	3 7 0 0 ~ 3 7 5 0、	3 7 5 0 ~ 3 8 0 0、	3 8 0 0 ~ 3 8 5 0、	3	
8 5 0 ~ 3 9 0 0、	3 9 0 0 ~ 3 9 5 0、	3 9 5 0 ~ 4 0 0 0、	4 0 0 0 ~ 4 0 5 0、	4	10
0 5 0 ~ 4 1 0 0、	4 1 0 0 ~ 4 1 5 0、	4 1 5 0 ~ 4 2 0 0、	4 2 0 0 ~ 4 2 5 0、	4	
2 5 0 ~ 4 3 0 0、	4 3 0 0 ~ 4 3 5 0、	4 3 5 0 ~ 4 4 0 0、	4 4 0 0 ~ 4 4 5 0、	4	
4 5 0 ~ 4 5 0 0、	4 5 0 0 ~ 4 5 5 0、	4 5 5 0 ~ 4 6 0 0、	4 6 0 0 ~ 4 6 5 0、	4	
6 5 0 ~ 4 7 0 0、	4 7 0 0 ~ 4 7 5 0、	4 7 5 0 ~ 4 8 0 0、	4 8 0 0 ~ 4 8 5 0、	4	
8 5 0 ~ 4 9 0 0、	4 9 0 0 ~ 4 9 5 0、	4 9 5 0 ~ 5 0 0 0、	5 0 0 0 ~ 5 0 5 0、	5	
0 5 0 ~ 5 1 0 0、	5 1 0 0 ~ 5 1 5 0、	5 1 5 0 ~ 5 2 0 0、	5 2 0 0 ~ 5 2 5 0、	5	
2 5 0 ~ 5 3 0 0、	5 3 0 0 ~ 5 3 5 0、	5 3 5 0 ~ 5 4 0 0、	5 4 0 0 ~ 5 4 5 0、	5	
4 5 0 ~ 5 5 0 0、	5 5 0 0 ~ 5 5 5 0、	5 5 5 0 ~ 5 6 0 0、	5 6 0 0 ~ 5 6 5 0、	5	
6 5 0 ~ 5 7 0 0、	5 7 0 0 ~ 5 7 5 0、	5 7 5 0 ~ 5 8 0 0、	5 8 0 0 ~ 5 8 5 0、	5	
8 5 0 ~ 5 9 0 0、	5 9 0 0 ~ 5 9 5 0、	5 9 5 0 ~ 6 0 0 0、	6 0 0 0 ~ 6 0 5 0、	6	20
0 5 0 ~ 6 1 0 0、	6 1 0 0 ~ 6 1 5 0、	6 1 5 0 ~ 6 2 0 0、	6 2 0 0 ~ 6 2 5 0、	6	
2 5 0 ~ 6 3 0 0、	6 3 0 0 ~ 6 3 5 0、	6 3 5 0 ~ 6 4 0 0、	6 4 0 0 ~ 6 4 5 0、	6	
4 5 0 ~ 6 5 0 0、	6 5 0 0 ~ 6 5 5 0、	6 5 5 0 ~ 6 6 0 0、	6 6 0 0 ~ 6 6 5 0、	6	
6 5 0 ~ 6 7 0 0、	6 7 0 0 ~ 6 7 5 0、	6 7 5 0 ~ 6 8 0 0、	6 8 0 0 ~ 6 8 5 0、	6	
8 5 0 ~ 6 9 0 0、	6 9 0 0 ~ 6 9 5 0、	6 9 5 0 ~ 7 0 0 0、	7 0 0 0 ~ 7 0 5 0、	7	
0 5 0 ~ 7 1 0 0、	7 1 0 0 ~ 7 1 5 0、	7 1 5 0 ~ 7 2 0 0、	7 2 0 0 ~ 7 2 5 0、	7	
2 5 0 ~ 7 3 0 0、	7 3 0 0 ~ 7 3 5 0、	7 3 5 0 ~ 7 4 0 0、	7 4 0 0 ~ 7 4 5 0、	7	
4 5 0 ~ 7 5 0 0、	7 5 0 0 ~ 7 5 5 0、	7 5 5 0 ~ 7 6 0 0、	7 6 0 0 ~ 7 6 5 0、	7	
6 5 0 ~ 7 7 0 0、	7 7 0 0 ~ 7 7 5 0、	7 7 5 0 ~ 7 8 0 0、	7 8 0 0 ~ 7 8 5 0、	7	
8 5 0 ~ 7 9 0 0、	7 9 0 0 ~ 7 9 5 0、	7 9 5 0 ~ 8 0 0 0、	8 0 0 0 ~ 8 0 5 0、	8	30
0 5 0 ~ 8 1 0 0、	8 1 0 0 ~ 8 1 5 0、	8 1 5 0 ~ 8 2 0 0、	8 2 0 0 ~ 8 2 5 0、	8	
2 5 0 ~ 8 3 0 0、	8 3 0 0 ~ 8 3 5 0、	8 3 5 0 ~ 8 4 0 0、	8 4 0 0 ~ 8 4 5 0、	8	
4 5 0 ~ 8 5 0 0、	8 5 0 0 ~ 8 5 5 0、	8 5 5 0 ~ 8 6 0 0、	8 6 0 0 ~ 8 6 5 0、	8	
6 5 0 ~ 8 7 0 0、	8 7 0 0 ~ 8 7 5 0、	8 7 5 0 ~ 8 8 0 0、	8 8 0 0 ~ 8 8 5 0、	8	
8 5 0 ~ 8 9 0 0、	8 9 0 0 ~ 8 9 5 0、	8 9 5 0 ~ 9 0 0 0、	9 0 0 0 ~ 9 0 5 0、	9	
0 5 0 ~ 9 1 0 0、	9 1 0 0 ~ 9 1 5 0、	9 1 5 0 ~ 9 2 0 0、	9 2 0 0 ~ 9 2 5 0、	9	
2 5 0 ~ 9 3 0 0、	9 3 0 0 ~ 9 3 5 0、	9 3 5 0 ~ 9 4 0 0、	9 4 0 0 ~ 9 4 5 0、	9	
4 5 0 ~ 9 5 0 0、	9 5 0 0 ~ 9 5 5 0、	9 5 5 0 ~ 9 6 0 0、	9 6 0 0 ~ 9 6 5 0、	9	
6 5 0 ~ 9 7 0 0、	9 7 0 0 ~ 9 7 5 0、	9 7 5 0 ~ 9 8 0 0、	9 8 0 0 ~ 9 8 5 0、	9	
8 5 0 ~ 9 9 0 0、	9 9 0 0 ~ 9 9 5 0、	9 9 5 0 ~ 1 0 0 0 0、	1 0 0 0 0 ~ 1 0 0 5		40
0、	1 0 0 5 0 ~ 1 0 1 0 0、	1 0 1 0 0 ~ 1 0 1 5 0、	1 0 1 5 0 ~ 1 0 2 0 0、	1 0	
2 0 0 ~ 1 0 2 5 0、	1 0 2 5 0 ~ 1 0 3 0 0、	1 0 3 0 0 ~ 1 0 3 5 0、	1 0 3 5 0 ~		
1 0 4 0 0、	1 0 4 0 0 ~ 1 0 4 5 0、	1 0 4 5 0 ~ 1 0 5 0 0、	1 0 5 0 0 ~ 1 0 5 5		
0、	1 0 5 5 0 ~ 1 0 6 0 0、	1 0 6 0 0 ~ 1 0 6 5 0、	1 0 6 5 0 ~ 1 0 7 0 0、	1 0	
7 0 0 ~ 1 0 7 5 0、	1 0 7 5 0 ~ 1 0 8 0 0、	1 0 8 0 0 ~ 1 0 8 5 0、	1 0 8 5 0 ~		
1 0 9 0 0、	1 0 9 0 0 ~ 1 0 9 5 0、	1 0 9 5 0 ~ 1 1 0 0 0、	1 1 0 5 0 ~ 1 1 1 0		
0、	1 1 1 0 0 ~ 1 1 1 5 0、	1 1 1 5 0 ~ 1 1 2 0 0、	1 1 2 0 0 ~ 1 1 2 5 0、	1 1	
2 5 0 ~ 1 1 3 0 0、	1 1 3 0 0 ~ 1 1 3 5 0、	1 1 3 5 0 ~ 1 1 4 0 0、	1 1 4 0 0 ~		
1 1 4 5 0、	1 1 4 5 0 ~ 1 1 5 0 0、	1 1 5 0 0 ~ 1 1 5 5 0、	1 1 5 5 0 ~ 1 1 6 0		
0、	1 1 6 0 0 ~ 1 1 6 5 0、	1 1 6 5 0 ~ 1 1 7 0 0、	1 1 7 0 0 ~ 1 1 7 5 0、	1 1	50

750～11800、11800～11850、11850～11900、11900～
 11950、11950～12000、12000～12050、12050～1210
 0、12100～12150、12150～12200、12200～12250、12
 250～12300、12300～12350、12350～12400、12400～
 12450、12450～12500、12500～12550、12550～1260
 0、12600～12650、12650～12700、12700～12750、12
 750～12800、12800～12850、12850～12900、12900～
 12950、12950～13000、13050～13100、13100～1315
 0、13150～13200、13200～13250、13250～13300、13
 300～13350、13350～13400、13400～13450、および134 10
 50～13500にあってもよい。更に別の非限定的な例として、開始部位は、HTT
 mRNA配列上のヌクレオチド315、316、317、318、319、320、32
 1、322、323、324、325、326、327、328、329、330、33
 1、332、333、334、335、336、337、338、339、340、34
 1、342、343、344、345、346、347、348、349、350、59
 5、596、597、598、599、600、601、602、603、604、60
 5、606、607、608、609、610、611、612、613、614、61
 5、616、617、618、619、620、621、622、623、624、62
 5、715、716、717、718、719、720、721、722、723、72 20
 4、725、875、876、877、878、879、880、881、882、88
 3、884、885、886、887、888、889、890、891、892、89
 3、894、895、896、897、898、899、900、1375、1376、
 1377、1378、1379、1380、1381、1382、1383、1384、
 1385、1386、1387、1388、1389、1390、1391、1392、
 1393、1394、1395、1396、1397、1398、1399、1400、
 1401、1402、1403、1404、1405、1406、1407、1408、
 1409、1410、1411、1412、1413、1414、1415、1416、
 1417、1418、1419、1420、1421、1422、1423、1424、
 1425、1426、1427、1428、1429、1430、1431、1432、
 1433、1434、1435、1436、1437、1438、1439、1440、 30
 1441、1442、1443、1444、1445、1446、1447、1448、
 1449、1450、1660、1661、1662、1663、1664、1665、
 1666、1667、1668、1669、1670、1671、1672、1673、
 1674、1675、2050、2051、2052、2053、2054、2055、
 2056、2057、2058、2059、2060、2061、2062、2063、
 2064、2065、2066、2067、2068、2069、2070、2071、
 2072、2073、2074、2075、2076、2077、2078、2079、
 2080、2081、2082、2083、2084、2085、2086、2087、
 2088、2089、2090、2091、2092、2093、2094、2095、
 2096、2097、2098、2099、2100、2580、2581、2582、 40
 2583、2584、2585、2586、2587、2588、2589、2590、
 2591、2592、2593、2594、2595、2596、2597、2598、
 2599、2600、2601、2602、2603、2604、2605、4525、
 4526、4527、4528、4529、4530、4531、4532、4533、
 4534、4535、4536、4537、4538、4539、4540、4541、
 4542、4543、4544、4545、4546、4547、4548、4549、
 4550、4575、4576、4577、4578、4579、4580、4581、
 4582、4583、4584、4585、4586、4587、4588、4589、
 4590、4591、4592、4593、4594、4595、4596、4597、
 4598、4599、4600、4850、4851、4852、4853、4854、 50

4 8 5 5、4 8 5 6、4 8 5 7、4 8 5 8、4 8 5 9、4 8 6 0、4 8 6 1、4 8 6 2、
4 8 6 3、4 8 6 4、4 8 6 5、4 8 6 6、4 8 6 7、4 8 6 8、4 8 6 9、4 8 7 0、
4 8 7 1、4 8 7 2、4 8 7 3、4 8 7 4、4 8 7 5、4 8 7 6、4 8 7 7、4 8 7 8、
4 8 7 9、4 8 8 0、4 8 8 1、4 8 8 2、4 8 8 3、4 8 8 4、4 8 8 5、4 8 8 6、
4 8 8 7、4 8 8 8、4 8 8 9、4 8 9 0、4 8 9 1、4 8 9 2、4 8 9 3、4 8 9 4、
4 8 9 5、4 8 9 6、4 8 9 7、4 8 9 8、4 8 9 9、4 9 0 0、5 4 6 0、5 4 6 1、
5 4 6 2、5 4 6 3、5 4 6 4、5 4 6 5、5 4 6 6、5 4 6 7、5 4 6 8、5 4 6 9、
5 4 7 0、5 4 7 1、5 4 7 2、5 4 7 3、5 4 7 4、5 4 7 5、5 4 7 6、5 4 7 7、
5 4 7 8、5 4 7 9、5 4 8 0、6 1 7 5、6 1 7 6、6 1 7 7、6 1 7 8、6 1 7 9、
6 1 8 0、6 1 8 1、6 1 8 2、6 1 8 3、6 1 8 4、6 1 8 5、6 1 8 6、6 1 8 7、
6 1 8 8、6 1 8 9、6 1 9 0、6 1 9 1、6 1 9 2、6 1 9 3、6 1 9 4、6 1 9 5、
6 1 9 6、6 1 9 7、6 1 9 8、6 1 9 9、6 2 0 0、6 3 1 5、6 3 1 6、6 3 1 7、
6 3 1 8、6 3 1 9、6 3 2 0、6 3 2 1、6 3 2 2、6 3 2 3、6 3 2 4、6 3 2 5、
6 3 2 6、6 3 2 7、6 3 2 8、6 3 2 9、6 3 3 0、6 3 3 1、6 3 3 2、6 3 3 3、
6 3 3 4、6 3 3 5、6 3 3 6、6 3 3 7、6 3 3 8、6 3 3 9、6 3 4 0、6 3 4 1、
6

3 4 2、6 3 4 3、6 3 4 4、6 3 4 5、6 6 0 0、6 6 0 1、6 6 0 2、6 6 0 3、6
6 0 4、6 6 0 5、6 6 0 6、6 6 0 7、6 6 0 8、6 6 0 9、6 6 1 0、6 6 1 1、6
6 1 2、6 6 1 3、6 6 1 4、6 6 1 5、6 7 2 5、6 7 2 6、6 7 2 7、6 7 2 8、6
7 2 9、6 7 3 0、6 7 3 1、6 7 3 2、6 7 3 3、6 7 3 4、6 7 3 5、6 7 3 6、6
7 3 7、6 7 3 8、6 7 3 9、6 7 4 0、6 7 4 1、6 7 4 2、6 7 4 3、6 7 4 4、6
7 4 5、6 7 4 6、6 7 4 7、6 7 4 8、6 7 4 9、6 7 5 0、6 7 5 1、6 7 5 2、6
7 5 3、6 7 5 4、6 7 5 5、6 7 5 6、6 7 5 7、6 7 5 8、6 7 5 9、6 7 6 0、6
7 6 1、6 7 6 2、6 7 6 3、6 7 6 4、6 7 6 5、6 7 6 6、6 7 6 7、6 7 6 8、6
7 6 9、6 7 7 0、6 7 7 1、6 7 7 2、6 7 7 3、6 7 7 4、6 7 7 5、7 6 5 5、7
6 5 6、7 6 5 7、7 6 5 8、7 6 5 9、7 6 6 0、7 6 6 1、7 6 6 2、7 6 6 3、7
6 6 4、7 6 6 5、7 6 6 6、7 6 6 7、7 6 6 8、7 6 6 9、7 6 7 0、7 6 7 1、7
6 7 2、8 5 1 0、8 5 1 1、8 5 1 2、8 5 1 3、8 5 1 4、8 5 1 5、8 5 1 6、8
7 1 5、8 7 1 6、8 7 1 7、8 7 1 8、8 7 1 9、8 7 2 0、8 7 2 1、8 7 2 2、8
7 2 3、8 7 2 4、8 7 2 5、8 7 2 6、8 7 2 7、8 7 2 8、8 7 2 9、8 7 3 0、8
7 3 1、8 7 3 2、8 7 3 3、8 7 3 4、8 7 3 5、8 7 3 6、8 7 3 7、8 7 3 8、8
7 3 9、8 7 4 0、8 7 4 1、8 7 4 2、8 7 4 3、8 7 4 4、8 7 4 5、9 2 5 0、9
2 5 1、9 2 5 2、9 2 5 3、9 2 5 4、9 2 5 5、9 2 5 6、9 2 5 7、9 2 5 8、9
2 5 9、9 2 6 0、9 2 6 1、9 2 6 2、9 2 6 3、9 2 6 4、9 2 6 5、9 2 6 6、9
2 6 7、9 2 6 8、9 2 6 9、9 2 7 0、9 4 8 0、9 4 8 1、9 4 8 2、9 4 8 3、9
4 8 4、9 4 8 5、9 4 8 6、9 4 8 7、9 4 8 8、9 4 8 9、9 4 9 0、9 4 9 1、9
4 9 2、9 4 9 3、9 4 9 4、9 4 9 5、9 4 9 6、9 4 9 7、9 4 9 8、9 4 9 9、9
5 0 0、9 5 7 5、9 5 7 6、9 5 7 7、9 5 7 8、9 5 7 9、9 5 8 0、9 5 8 1、9
5 8 2、9 5 8 3、9 5 8 4、9 5 8 5、9 5 8 6、9 5 8 7、9 5 8 8、9 5 8 9、9
5 9 0、1 0 5 2 5、1 0 5 2 6、1 0 5 2 7、1 0 5 2 8、1 0 5 2 9、1 0 5 3 0、
1 0 5 3 1、1 0 5 3 2、1 0 5 3 3、1 0 5 3 4、1 0 5 3 5、1 0 5 3 6、1 0 5 3
7、1 0 5 3 8、1 0 5 3 9、1 0 5 4 0、1 1 5 4 5、1 1 5 4 6、1 1 5 4 7、1 1
5 4 8、1 1 5 4 9、1 1 5 5 0、1 1 5 5 1、1 1 5 5 2、1 1 5 5 3、1 1 5 5 4、
1 1 5 5 5、1 1 5 5 6、1 1 5 5 7、1 1 5 5 8、1 1 5 5 9、1 1 5 6 0、1 1 8 7
5、1 1 8 7 6、1 1 8 7 7、1 1 8 7 8、1 1 8 7 9、1 1 8 8 0、1 1 8 8 1、1 1
8 8 2、1 1 8 8 3、1 1 8 8 4、1 1 8 8 5、1 1 8 8 6、1 1 8 8 7、1 1 8 8 8、
1 1 8 8 9、1 1 8 9 0、1 1 8 9 1、1 1 8 9 2、1 1 8 9 3、1 1 8 9 4、1 1 8 9
5、1 1 8 9 6、1 1 8 9 7、1 1 8 9 8、1 1 8 9 9、1 1 9 0 0、1 1 9 1 5、1 1
9 1 6、1 1 9 1 7、1 1 9 1 8、1 1 9 1 9、1 1 9 2 0、1 1 9 2 1、1 1 9 2 2、

1 1 9 2 3、1 1 9 2 4、1 1 9 2 5、1 1 9 2 6、1 1 9 2 7、1 1 9 2 8、1 1 9 2 9、1 1 9 3 0、1 1 9 3 1、1 1 9 3 2、1 1 9 3 3、1 1 9 3 4、1 1 9 3 5、1 1 9 3 6、1 1 9 3 7、1 1 9 3 8、1 1 9 3 9、1 1 9 4 0、1 3 3 7 5、1 3 3 7 6、1 3 3 7 7、1 3 3 7 8、1 3 3 7 9、1 3 3 8 0、1 3 3 8 1、1 3 3 8 2、1 3 3 8 3、1 3 3 8 4、1 3 3 8 5、1 3 3 8 6、1 3 3 8 7、1 3 3 8 8、1 3 3 8 9および1 3 3 9 0であってもよい。

【0369】

一部の実施形態において、アンチセンス鎖と標的H t t m R N A配列とは100%の相補性を有する。アンチセンス鎖は標的H t t m R N A配列の任意の一部と相補的であってもよい。

10

【0370】

他の実施形態において、アンチセンス鎖と標的H t t m R N A配列とは少なくとも1つのミスマッチを含む。非限定的な例として、アンチセンス鎖と標的H t t m R N A配列とは、少なくとも30%、40%、50%、60%、70%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%または99%または少なくとも20~30%、20~40%、20~50%、20~60%、20~70%、20~80%、20~90%、20~95%、20~99%、30~40%、30~50%、30~60%、30~70%、30~80%、30~90%、30~95%、30~99%、40~50%、40~60%、40~70%、40~80%、40~90%、40~95%、40~99%、50~60%、50~70%、50~80%、50~90%、50~95%、50~99%、60~70%、60~80%、60~90%、60~95%、60~99%、70~80%、70~90%、70~95%、70~99%、80~90%、80~95%、80~99%、90~95%、90~99%または95~99%の相補性を有する。

20

【0371】

一実施形態において、H t tを標的とするs i R N Aまたはd s R N Aは、互いに相補的な少なくとも2つの配列を含む。

本発明によれば、H t tを標的とするs i R N A分子は長さが約10~50ヌクレオチドまたはそれ以上であり、すなわち、各鎖が10~50ヌクレオチド（またはヌクレオチド類似体）を含む。好ましくは、s i R N A分子は長さが各鎖約15~30、例えば、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、または30ヌクレオチドであり、ここで鎖の一方は標的領域と十分に相補的である。一実施形態において、s i R N A分子の各鎖は長さが約19~25、19~24または19~21ヌクレオチドである。一実施形態において、s i R N A分子の少なくとも一方の鎖は、19ヌクレオチド長である。一実施形態において、s i R N A分子の少なくとも一方の鎖は、20ヌクレオチド長である。一実施形態において、s i R N A分子の少なくとも一方の鎖は、21ヌクレオチド長である。一実施形態において、s i R N A分子の少なくとも一方の鎖は、22ヌクレオチド長である。一実施形態において、s i R N A分子の少なくとも一方の鎖は、23ヌクレオチド長である。一実施形態において、s i R N A分子の少なくとも一方の鎖は、24ヌクレオチド長である。一実施形態において、s i R N A分子の少なくとも一方の鎖は、25ヌクレオチド長である。

30

40

【0372】

一部の実施形態において、H t tを標的とする本発明のs i R N A分子は、約19ヌクレオチド~約25ヌクレオチド、および3'末端に2オーバーハングヌクレオチドを含む合成RNA二重鎖であり得る。一部の態様において、s i R N A分子は非修飾RNA分子であってもよい。他の態様において、s i R N A分子は、塩基、糖または骨格修飾などの少なくとも1つの修飾ヌクレオチドを含有し得る。

【0373】

一実施形態において、H t tを標的とする本発明のs i R N A分子は、限定はされない

50

が、表2のアンチセンス（ガイド）配列またはそれらの断片もしくは変異体などのヌクレオチド配列を含み得る。非限定的な例として、本発明の siRNA 分子に使用されるアンチセンス配列は、表2のヌクレオチド配列の少なくとも30%、40%、50%、60%、70%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%または99%または少なくとも20~30%、20~40%、20~50%、20~60%、20~70%、20~80%、20~90%、20~95%、20~99%、30~40%、30~50%、30~60%、30~70%、30~80%、30~90%、30~95%、30~99%、40~50%、40~60%、40~70%、40~80%、40~90%、40~95%、40~99%、50~60%、50~70%、50~80%、50~90%、50~95%、50~99%、60~70%、60~80%、60~90%、60~95%、60~99%、70~80%、70~90%、70~95%、70~99%、80~90%、80~95%、80~99%、90~95%、90~99%または95~99%である。別の非限定的な例として、本発明の siRNA 分子に使用されるアンチセンス配列は、表2のヌクレオチド配列の少なくとも3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21または21超の連続ヌクレオチドを含む。更に別の非限定的な例として、本発明の siRNA 分子に使用されるアンチセンス配列は、表2の配列のヌクレオチド1~22、1~21、1~20、1~19、1~18、1~17、1~16、1~15、1~14、1~13、1~12、1~11、1~10、1~9、1~8、2~22、2~21、2~20、2~19、2~18、2~17、2~16、2~15、2~14、2~13、2~12、2~11、2~10、2~9、2~8、3~22、3~21、3~20、3~19、3~18、3~17、3~16、3~15、3~14、3~13、3~12、3~11、3~10、3~9、3~8、4~22、4~21、4~20、4~19、4~18、4~17、4~16、4~15、4~14、4~13、4~12、4~11、4~10、4~9、4~8、5~22、5~21、5~20、5~19、5~18、5~17、5~16、5~15、5~14、5~13、5~12、5~11、5~10、5~9、5~8、6~22、6~21、6~20、6~19、6~18、6~17、6~16、6~15、6~14、6~13、6~12、6~11、6~10、7~22、7~21、7~20、7~19、7~18、7~17、7~16、7~15、7~14、7~13、7~12、8~22、8~21、8~20、8~19、8~18、8~17、8~16、8~15、8~14、8~13、8~12、9~22、9~21、9~20、9~19、9~18、9~17、9~16、9~15、9~14、10~22、10~21、10~20、10~19、10~18、10~17、10~16、10~15、10~14、11~22、11~21、11~20、11~19、11~18、11~17、11~16、11~15、11~14、12~22、12~21、12~20、12~19、12~18、12~17、12~16、13~22、13~21、13~20、13~19、13~18、13~17、13~16、14~22、14~21、14~20、14~19、14~18、14~17、15~22、15~21、15~20、15~19、15~18、16~22、16~21、16~20、17~22、17~21、または18~22を含む。

【0374】

10

20

30

40

【表 2 - 1】

表 2. アンチセンス配列

アンチセンス ID	配列	配列番号
A-2000	UUAACGUCAGUUCAUAAACUU	916
A-2000dt	UUAACGUCAGUUCAUAAACdTdT	917
A-2001	UGUCGGUACCGUCUAAACACUU	918
A-2001dt	UGUCGGUACCGUCUAAACACdTdT	919
A-2002	UAAGCAUGGAGCUAGCAGGUU	920
A-2002dt	UAAGCAUGGAGCUAGCAGGdTdT	921
A-2003	UACAACGAGACUGAAUUGCUU	922
A-2003dt	UACAACGAGACUGAAUUGCdTdT	923
A-2004	UUCAGUUCAUAAACCUGGAUU	924
A-2004dt	UUCAGUUCAUAAACCUGGAdTdT	925
A-2005	UAACGUCAGUUCAUAAACCUU	926
A-2005dt	UAACGUCAGUUCAUAAACCdTdT	927
A-2006	UCCGGUCACAACAUUGUGGUU	928
A-2006dt	UCCGGUCACAACAUUGUGGdTdT	929
A-2007	UUGCACGGUUCUUUGUGACUU	930
A-2007dt	UUGCACGGUUCUUUGUGACdTdT	931
A-2008	UUUUUAUACAAGAGGUUCAUU	932
A-2008dt	UUUUUAUACAAGAGGUUCAdTdT	933
A-2009	UCCAAAUACUGGUUGUCGGUU	934
A-2009dt	UCCAAAUACUGGUUGUCGGdTdT	935
A-2010	UAUUUUAGGAAUCCAAUGUU	936

【 0 3 7 5】

【表 2 - 2】

A-2010dt	UAUUUUAGGAAUCCAAUGdTdT	937
A-2011	UUUAGGAAUCCAAUGAUCUU	938
A-2011dt	UUUAGGAAUCCAAUGAUCdTdT	939
A-2012dt	UUAUUCUCUUUACUGAUAUdTdT	940
A-2013dt	GAUUUUAGGAAUCCAAUGdTdT	941
A-2014	UAAGCAUGGAGCUAGCAGGCUU	942
A-2015	UAAGCAUGGAGCUAGCAGGGU	943
A-2016	AAGGACUUGAGGGACUCGAAGU	944
A-2017	AAGGACUUGAGGGACUCGAAG	945
A-2018	AAGGACUUGAGGGACUCGA	946
A-2019	AGGACUUGAGGGACUCGAAGU	947
A-2020	GAGGACUUGAGGGACUCGAAGU	948
A-2021	AAGGACUUGAGGGACUCGAAGU	949
A-2022	AAGGACUUGAGGGACUCGAAGUU	950
A-2023	AAGGACUUGAGGGACUCGAAG	951
A-2024	AAGGACUUGAGGGACUCGA	952
A-2025	AAGGACUUGAGGGACUCGAAGG	953
A-2026	AAGGACUUGAGGGACUCGAAU	954
A-2027	AAGGACUUGAGGGACUCGAAGA	955
A-2028	AAGGACUUGAGGGACUCGAAGG	956
A-2029	AAGGACUUGAGGGACUCGAAGGU	957
A-2030	AAGGACUUGAGGGACUCGAAGGA	958
A-2031	AAGGACUUGAGGGACUCGAAG	959
A-2032	AAGGACUUGAGGGACUCGAAGU	960
A-2033	AAGGACUUGAGGGACUCGA	961

【表 2 - 3】

A-2034	AAGGACUUGAGGGACUCGAAGGA	962
A-2035	AAGGACUUGAGGGACUCGAAGG	963
A-2036	AAGGACUUGAGGGACUCGAAGGAU	964
A-2037	AAGGACUUGAGGGACUCGAAGGAUU	965
A-2038	AAGGACUUGAGGGACUCGAAG	966
A-2039	AAGGACUUGAGGGACUCGAAGGAA	967
A-2040	GAUGAAGUGCACACAUUGGAUGA	968
A-2041	GAUGAACUGCACACAUUGGAUG	969
A-2042	GAUGAAUUGCACACAGUAGAUGA	970
A-2043	AAGGACUUGAGGGACUCGAAGGUU	971
A-2044	AAGGACUUGAGGGACUCGAAGGUUU	972
A-2045	AAGGACUUGAGGGACUCGAAGGU	973
A-2046	AAGGACUUGAGGGACUCGAAGGUUUU	974
A-2047	AAGGACUUGAGGGACUCGAAGGUUUUU	975
A-2048	AAGGACUUGAGGGACUCGAAGG	976
A-2049	UAAGGACUUGAGGGACUCGAAG	977
A-2050	AAGGACUUGAGGGACUCGAAG	978
A-2051	AAGGACUUGAGGGACUCGAAGU	979
A-2052	AAGGACUUGAGGGACUCGAAGACGAGUCCC	980
A-2053	AAGGACUUGAGGGACUCGAAGACGAGUCCCA	981
A-2054	AAGGACUUGAGGGACUCGAAGACGAGUCCCU	982
A-2055	GAUGAAGUGCACACAUUGGAUAC	983
A-2056	GAUGAAGUGCACACAUUGGAUACA	984
A-2057	GAUGAAGUGCACACAUUGGAUACAAUGUGU	985
A-2058	GAUGAAGUGCACACAUUGGAU	986

【表 2 - 4】

A-2059	GAUGAAGUGCACACAUUGGAUA	987
A-2060	GAUGAAUUGCACACAGUAGAUAU	988
A-2061	GAUGAAUUGCACACAGUAGAUAUAC	989
A-2062	GAUGAAUUGCACACAGUAGAUAUACUGUGU	990
A-2063	GAUGAAUUGCACACAGUAGAUUA	991
A-2064	AUGAAUUGCACACAGUAGAUAUAC	992
A-2065	GAUGAAUUGCACACAGUAGUA	993
A-2066	GAUGAAUUGCACACAGUAGAUAUACUGUGU	994
A-2067	UACAACGAGACUGAAUUGCU	995
A-2068	ACAACGAGACUGAAUUGCUU	996
A-2069	UCCGGUCACAACAUUGUGGUUC	997
A-2070	UCCGGUCACAACAUUGUGGU	998
A-2071	UCCGGUCACAACAUUGUG	999
A-2072	CCGGUCACAACAUUGUGGUU	1000
A-2073	UUUUAUAACAAGAGGUUCAU	1001
A-2074	UUUUAUAACAAGAGGUUCAU	1002
A-2075	UAAGCAUGGAGCUAGCAGGU	1003
A-2076	AAGCAUGGAGCUAGCAGGUU	1004
A-2077	CCAAUACUGGUUGUCGGUU	1005
A-2078	UACAACGAGACUGAAUUGCUUU	1006
A-2079	UAACGUCAGUUCAUAAACCUUU	1007
A-2080	GUCCGGUCACAACAUUGUGGUU	1008
A-2081	UCCGGUCACAACAUUGUGGUUUG	1009
A-2082	UCCGGUCACAACAUUGUGGUUU	1010
A-2083	UCCGGUCACAACAUUGUGG	1011

【表 2 - 5】

A-2084	UAAGCAUGGAGCUAGCAGGUUU	1012
A-2085	AAGCAUGGAGCUAGCAGGUUU	1013
A-2086	UCCAAAUACUGGUUGUCGGUUU	1014
A-2087	CCAAAUACUGGUUGUCGGUUU	1015

10

一実施形態において、H t tを標的とする本発明の s i R N A 分子は、限定はされないが、表 3 のセンス（パッセンジャー）配列またはそれらの断片もしくは変異体などのヌクレオチド配列を含み得る。非限定的な例として、本発明の s i R N A 分子に使用されるセンス配列は、表 3 のヌクレオチド配列の少なくとも 3 0 %、4 0 %、5 0 %、6 0 %、7 0 %、8 0 %、8 1 %、8 2 %、8 3 %、8 4 %、8 5 %、8 6 %、8 7 %、8 8 %、8 9 %、9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 % または 9 9 % または少なくとも 2 0 ~ 3 0 %、2 0 ~ 4 0 %、2 0 ~ 5 0 %、2 0 ~ 6 0 %、2 0 ~ 7 0 %、2 0 ~ 8 0 %、2 0 ~ 9 0 %、2 0 ~ 9 5 %、2 0 ~ 9 9 %、3 0 ~ 4 0 %、3 0 ~ 5 0 %、3 0 ~ 6 0 %、3 0 ~ 7 0 %、3 0 ~ 8 0 %、3 0 ~ 9 0 %、3 0 ~ 9 5 %、3 0 ~ 9 9 %、4 0 ~ 5 0 %、4 0 ~ 6 0 %、4 0 ~ 7 0 %、4 0 ~ 8 0 %、4 0 ~ 9 0 %、4 0 ~ 9 5 %、4 0 ~ 9 9 %、5 0 ~ 6 0 %、5 0 ~ 7 0 %、5 0 ~ 8 0 %、5 0 ~ 9 0 %、5 0 ~ 9 5 %、5 0 ~ 9 9 %、6 0 ~ 7 0 %、6 0 ~ 8 0 %、6 0 ~ 9 0 %、6 0 ~ 9 5 %、6 0 ~ 9 9 %、7 0 ~ 8 0 %、7 0 ~ 9 0 %、7 0 ~ 9 5 %、7 0 ~ 9 9 %、8 0 ~ 9 0 %、8 0 ~ 9 5 %、8 0 ~ 9 9 %、9 0 ~ 9 5 %、9 0 ~ 9 9 % または 9 5 ~ 9 9 % である。別の非限定的な例として、本発明の s i R N A 分子に使用されるセンス配列は、表 3 のヌクレオチド配列の少なくとも 3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21 または 21 超の連続ヌクレオチドを含む。更に別の非限定的な例として、本発明の s i R N A 分子に使用されるセンス配列は、表 3 の配列のヌクレオチド 1 ~ 22、1 ~ 21、1 ~ 20、1 ~ 19、1 ~ 18、1 ~ 17、1 ~ 16、1 ~ 15、1 ~ 14、1 ~ 13、1 ~ 12、1 ~ 11、1 ~ 10、1 ~ 9、1 ~ 8、2 ~ 22、2 ~ 21、2 ~ 20、2 ~ 19、2 ~ 18、2 ~ 17、2 ~ 16、2 ~ 15、2 ~ 14、2 ~ 13、2 ~ 12、2 ~ 11、2 ~ 10、2 ~ 9、2 ~ 8、3 ~ 22、3 ~ 21、3 ~ 20、3 ~ 19、3 ~ 18、3 ~ 17、3 ~ 16、3 ~ 15、3 ~ 14、3 ~ 13、3 ~ 12、3 ~ 11、3 ~ 10、3 ~ 9、3 ~ 8、4 ~ 22、4 ~ 21、4 ~ 20、4 ~ 19、4 ~ 18、4 ~ 17、4 ~ 16、4 ~ 15、4 ~ 14、4 ~ 13、4 ~ 12、4 ~ 11、4 ~ 10、4 ~ 9、4 ~ 8、5 ~ 22、5 ~ 21、5 ~ 20、5 ~ 19、5 ~ 18、5 ~ 17、5 ~ 16、5 ~ 15、5 ~ 14、5 ~ 13、5 ~ 12、5 ~ 11、5 ~ 10、5 ~ 9、5 ~ 8、6 ~ 22、6 ~ 21、6 ~ 20、6 ~ 19、6 ~ 18、6 ~ 17、6 ~ 16、6 ~ 15、6 ~ 14、6 ~ 13、6 ~ 12、6 ~ 11、6 ~ 10、7 ~ 22、7 ~ 21、7 ~ 20、7 ~ 19、7 ~ 18、7 ~ 17、7 ~ 16、7 ~ 15、7 ~ 14、7 ~ 13、7 ~ 12、8 ~ 22、8 ~ 21、8 ~ 20、8 ~ 19、8 ~ 18、8 ~ 17、8 ~ 16、8 ~ 15、8 ~ 14、8 ~ 13、8 ~ 12、9 ~ 22、9 ~ 21、9 ~ 20、9 ~ 19、9 ~ 18、9 ~ 17、9 ~ 16、9 ~ 15、9 ~ 14、10 ~ 22、10 ~ 21、10 ~ 20、10 ~ 19、10 ~ 18、10 ~ 17、10 ~ 16、10 ~ 15、10 ~ 14、11 ~ 22、11 ~ 21、11 ~ 20、11 ~ 19、11 ~ 18、11 ~ 17、11 ~ 16、11 ~ 15、11 ~ 14、12 ~ 22、12 ~ 21、12 ~ 20、12 ~ 19、12 ~ 18、12 ~ 17、12 ~ 16、13 ~ 22、13 ~ 21、13 ~ 20、13 ~ 19、13 ~ 18、13 ~ 17、13 ~ 16、

20

30

40

50

14～22、14～21、14～20、14～19、14～18、14～17、15～22、15～21、15～20、15～19、15～18、16～22、16～21、16～20、17～22、17～21、または18～22を含む。

【0379】

【表 3 - 1】

表 3. センス配列

センス ID	配列	配列番号
S-1000	GUUUAUGAACUGAUCUUACCC	1016
S-1001	GUGUUAGACGGUACUGAUCCC	1017
S-1002	CCUGCUAGCUCCAUGCUUCCC	1018
S-1003	GUUUAUGAACUGAUCUUAGCC	1019
S-1004	GUGUUAGACGGUACUGAUGCC	1020
S-1005	CCUGCUAGCUCCAUGCUUGCC	1021
S-1006	GUUUAUGAAGUGAUCUUAACC	1022
S-1007	GUGUUAGACCGUACUGAUACC	1023
S-1008	CCUGCUAGCACCAUGCUUACC	1024
S-1009	GUUUAUGAACUGAUCUUAACC	1025
S-1010	GUGUUAGACGGUACUGAUACC	1026
S-1011	CCUGCUAGCUCCAUGCUUACC	1027
S-1011dt	CCUGCUAGCUCCAUGCUUAdTdT	1028
S-1012	GUUUAUGAACUGAUCUUGCCC	1029
S-1013	GUUUAUGAACUGAUCUUGGCC	1030
S-1014	GUUUAUGAACUGAUCUUGACC	1031
S-1015	GCAAUUCAGUCUCGUUGUCCC	1032
S-1016	UCCAGGUUUAUGAACUGACCC	1033
S-1017	GGUUUAUGAACUGACGUUCCC	1034
S-1018	CCACAAUGUUGUGACUGGCC	1035
S-1019	GUCACAAAGAACCGUGUACCC	1036
S-1020	UGAACCUCUUGUUUAAAACCC	1037
S-1021	CCGACAACCAGUAUUUGGCC	1038
S-1022	GCAAUUCAGUCUCGUUGUGCC	1039
S-1023	UCCAGGUUUAUGAACUGAGCC	1040
S-1024	GGUUUAUGAACUGACGUUGCC	1041
S-1025	CCACAAUGUUGUGACUGGGCC	1042
S-1026	GUCACAAAGAACCGUGUAGCC	1043
S-1027	UGAACCUCUUGUUUAAAAGCC	1044
S-1028	CCGACAACCAGUAUUUGGGCC	1045
S-1029	GCAAUUCAGUCUCGUUGUACC	1046

【表 3 - 2】

S-1029dt	GCAAUUCAGUCUCGUUGUAdTdT	1047
S-1030	UCCAGGUUUAUGAACUGAACC	1048
S-1030dt	UCCAGGUUUAUGAACUGAAdTdT	1049
S-1031	GGUUUAUGAACUGACGUUACC	1050
S-1032	CCACAAUGUUGUGACUGGACC	1051
S-1033	GUCACAAAGAACCGUGUAACC	1052
S-1034	UGAACCUCUUGUUAUAAAACC	1053
S-1034dt	UGAACCUCUUGUUAUAAAAdTdT	1054
S-1035	CCGACAACCAGUAUUUGGACC	1055
S-1035dt	CCGACAACCAGUAUUUGGAdTdT	1056
S-1036	GCAAUUCAGACUCGUUGUACC	1057
S-1037	UCCAGGUUUUUGAACUGAACC	1058
S-1038	GGUUUAUGAUCUGACGUUACC	1059
S-1039	CCACAAUGUAGUGACUGGACC	1060
S-1040	GUCACAAAGUACCGUGUAACC	1061
S-1041	UGAACCUCUAGUUAUAAAACC	1062
S-1042	CCGACAACCUGUAUUUGGACC	1063
S-1043	CAUUGGAAUUCCUAAAAUCC	1064
S-1044	GAUCAUUGGAAUUCCUAAUCC	1065
S-1045	CAUUGGAAUUCCUAAAAUGCC	1066
S-1046	GAUCAUUGGAAUUCCUAAGCC	1067
S-1047	CAUUGGAAUUCCUAAAAUACC	1068
S-1047dt	CAUUGGAAUUCCUAAAAUAdTdT	1069
S-1048	GAUCAUUGGAAUUCCUAAACC	1070
S-1048dt	GAUCAUUGGAAUUCCUAAAdTdT	1071
S-1049	CAUUGGAAUACCUAAAAUACC	1072
S-1050	GAUCAUUGGUAUUCCUAAACC	1073
S-1051dt	GUUUAUGAACUGACGUUAAdTdT	1074
S-1052dt	GUGUUAGACGGUACCGACAdTdT	1075
S-1053dt	AUAUCAGUAAAGAGAUUAAdTdT	1076
S-1054dt	GGUUUAUGAACUGACGUUAAdTdT	1077
S-1055dt	CCACAAUGUUGUGACCGGAdTdT	1078
S-1056dt	GUCACAAAGAACCGUGCAAdTdT	1079
S-1057dt	CAUUGGAAUUCCUAAAAUCdTdT	1080
S-1058	CCUGCUAGCUCCAUGCUUGCU	1081

【表 3 - 3】

S-1059	CCUGCUAGCUCCAUGCUUGAU	1082
S-1060	CCUGCUAGCUCCAUGCUUAUU	1083
S-1061	CCUGCUAGCUCCAUGCUUGUU	1084
S-1062	UUCGAGUCCCUCAAGUAGCU	1085
S-1063	UUCGAGUCCCUCAAGUAGCUUU	1086
S-1064	UCGAGUCCCUCAAGUCCAUUCU	1087
S-1065	UUCCAGUCCAUCAAGUCAAUU	1088
S-1066	UUCCGAGUCUAAAAGUCCUUGG	1089
S-1067	UUCCGAGUCUAAAAGUCCUUGGC	1090
S-1068	CUUCCGAGUCUAAAAGUCCUUGG	1091
S-1069	UUCCGAGUCUAAAAGUCCUUGGU	1092
S-1070	UUCCGAGUCUAAAAGUCCUUGGCU	1093
S-1071	UCCAAUGUGAAACUUCAUCGGCU	1094
S-1072	UCCAAUGUGAAACUUCAUCGGC	1095
S-1073	AUCCAAUGUGAAACUUCAUCGU	1096
S-1074	AUCCAAUGUGAAACUUCAUCGGU	1097
S-1075	UCCAAUGUGAAACUUCAUCGGU	1098
S-1076	UCCAAUGUGAAACUUCAUCGGCUU	1099
S-1077	AUCUACUGUGAAAAUUCAUCGG	1100
S-1078	UCUACUGUGAAAAUUCAUCGG	1101
S-1079	UCUACUGUGAAAAUUCAUCGGC	1102
S-1080	AUCUACUGUGAAAAUUCAUCGGU	1103
S-1081	UCUACUGUGAAAAUUCAUCGGU	1104
S-1082	UCUACUGUGAAAAUUCAUCGGCU	1105
S-1083	CCUUCGGUCCUCAAGUCCUUCA	1106
S-1084	UUCGAGUCCAUCAAAUCCUAUAGU	1107
S-1085	UACAAUGUGUGCACUUCAUUAU	1108
S-1086	UAUACUGUGUGCAAUUCAUUUCU	1109
S-1087	GCAAUUCAGUCUCGUUGUCC	1110
S-1088	GCAAUUCAGUCUCGUUGUC	1111
S-1089	CAAUUCAGUCUCGUUGUCCC	1112
S-1090	CAAUUCAGUCUCGUUGUCC	1113
S-1091	GCAAUUCAGUCUCGUUGUGC	1114
S-1092	CAAUUCAGUCUCGUUGUGCC	1115
S-1093	CCACAAUGUUGUGACUGGGCCU	1116

【表 3 - 4】

S-1094	CCACAAUGUUGUGACUGGGC	1117
S-1095	CACAAUGUUGUGACUGGGCC	1118
S-1096	UGAACCUCUUGUUAUAAAGCCU	1119
S-1097	UGAACCUCUUGUUAUAAAGC	1120
S-1098	GAACCUCUUGUUAUAAAGCC	1121
S-1099	CCUGCUAGCUCCAUGCUUGCCU	1122
S-1100	CCUGCUAGCUCCAUGCUUGC	1123
S-1101	CCUGCUAGCUCCAUGCUUG	1124
S-1102	CUGCUAGCUCCAUGCUUGCC	1125
S-1103	CCGACAACCAGUAUUUGGGCCU	1126
S-1104	CCGACAACCAGUAUUUGGGC	1127
S-1105	CCGACAACCAGUAUUUGGG	1128
S-1106	CGACAACCAGUAUUUGGGCC	1129
S-1107	CGACAACCAGUAUUUGGGC	1130
S-1108	GCAAUUCAGUCUCGUUGUACCU	1131
S-1109	GCAAUUCAGUCUCGUUGUAC	1132
S-1110	GCAAUUCAGUCUCGUUGUA	1133
S-1111	CAAUUCAGUCUCGUUGUACC	1134
S-1112	GCAAUUCAGACUCGUUGUACCU	1135
S-1113	GCAAUUCAGACUCGUUGUAC	1136
S-1114	GCAAUUCAGACUCGUUGUA	1137
S-1115	CAAUUCAGACUCGUUGUACC	1138
S-1116	AGCAAUUCAGUCUCGUUGUACC	1139
S-1117	AGCAAUUCAGUCUCGUUGUAC	1140
S-1118	AGGUUUAUGAACUGACGUUAC	1141
S-1119	AGGUUUAUGAACUGACGUUACC	1142
S-1120	ACCACAAUGUUGUGACUGGAC	1143
S-1121	ACCACAAUGUUGUGACUGGACC	1144
S-1122	CCACAAUGUUGUGACUGGACCGU	1145
S-1123	CCACAAUGUUGUGACUGGACCG	1146
S-1124	CCACAAUGUUGUGACUGGAC	1147
S-1125	CACAAUGUUGUGACUGGACC	1148
S-1126	ACCUGCUAGCUCCAUGCUUCCC	1149
S-1127	ACCUGCUAGCUCCAUGCUUCC	1150
S-1128	ACCUGCUAGCUCCAUGCUUC	1151

【表 3 - 5】

S-1129	CCUGCUAGCUCCAUGCUUCC	1152
S-1130	CCUGCUAGCUCCAUGCUUC	1153
S-1131	CUGCUAGCUCCAUGCUUCCC	1154
S-1132	CUGCUAGCUCCAUGCUUCC	1155
S-1133	ACCGACAACCAGUAUUUGGACC	1156
S-1134	ACCGACAACCAGUAUUUGGAC	1157
S-1135	CCGACAACCAGUAUUUGGACCGU	1158
S-1136	CCGACAACCAGUAUUUGGACCGU	1159
S-1137	CCGACAACCAGUAUUUGGAC	1160
S-1138	CGACAACCAGUAUUUGGACC	1161
S-1139	CCUGCUAGCACCGUGCUUACC	1162

10

一実施形態において、Httを標的とする本発明のsiRNA分子は、表2からのアンチセンス配列および表3からのセンス配列、またはそれらの断片もしくは変異体を含み得る。非限定的な例として、アンチセンス配列およびセンス配列は、少なくとも30%、40%、50%、60%、70%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%または99%または少なくとも20~30%、20~40%、20~50%、20~60%、20~70%、20~80%、20~90%、20~95%、20~99%、30~40%、30~50%、30~60%、30~70%、30~80%、30~90%、30~95%、30~99%、40~50%、40~60%、40~70%、40~80%、40~90%、40~95%、40~99%、50~60%、50~70%、50~80%、50~90%、50~95%、50~99%、60~70%、60~80%、60~90%、60~95%、60~99%、70~80%、70~90%、70~95%、70~99%、80~90%、80~95%、80~99%、90~95%、90~99%または95~99%の相補性を有する。

20

30

【0384】

一実施形態において、Httを標的とする本発明のsiRNA分子は、表4~表6に記載されるとおりのセンスおよびアンチセンスsiRNA二重鎖を含み得る。非限定的な例として、これらのsiRNA二重鎖は、内因性HTT遺伝子発現に対するインビトロ阻害活性に関して試験されてもよい。センス配列およびアンチセンス配列の開始部位は、NCBIのNM_002111.7（配列番号1163）として公知であるHTT遺伝子配列と比較される。

【0385】

40

【表 4 - 1】

表 4. HTT dsRNA のセンス鎖およびアンチセンス鎖の配列

siRNA 二重鎖 ID	SS ID	開始 SS	センス鎖配列 (5'-3')	SS 配列 ID	AS ID	開始 AS	アンチセンス鎖 配列 (5'-3')	AS 配列 ID
D-3566	S- 1058	6751	CCUGCUAGCUCCA UGCUUGCU	1081	A-2002	6751	UAAGCAUGGAGC UAGCAGGUU	920
D-3567	S- 1058	6751	CCUGCUAGCUCCA UGCUUGCU	1081	A-2014	6748	UAAGCAUGGAGC UAGCAGGCUU	942
D-3568	S- 1059	6751	CCUGCUAGCUCCA UGCUUGAU	1082	A-2002	6751	UAAGCAUGGAGC UAGCAGGUU	920
D-3569	S- 1060	6751	CCUGCUAGCUCCA UGCUUAUU	1083	A-2015	6751	UAAGCAUGGAGC UAGCAGGGU	943
D-3570	S- 1061	6751	CCUGCUAGCUCCA UGCUUGUU	1084	A-2002	6751	UAAGCAUGGAGC UAGCAGGUU	920
D-3500	S- 1016	1386	UCCAGGUUUAUG AACUGACCC	1033	A-2004	1386	UUCAGUUAUAA ACCUGGAUU	924
D-3501	S- 1023	1386	UCCAGGUUUAUG AACUGAGCC	1040	A-2004	1386	UUCAGUUAUAA ACCUGGAUU	924
D-3502	S- 1030	1386	UCCAGGUUUAUG AACUGAACC	1048	A-2004	1386	UUCAGUUAUAA ACCUGGAUU	924
D-3503	S- 1037	1386	UCCAGGUUUUUG AACUGAACC	1058	A-2004	1386	UUCAGUUAUAA ACCUGGAUU	924
D-3504	S- 1030	1386	UCCAGGUUUAUG AACUGAACC	1048	A-2001	2066	UGUCGGUACCGU CUAACACUU	918
D-3505	S- 1017	1390	GGUUUAUGAACU GACGUUCCC	1034	A-2005	1389	UAACGUCAGUUC AUAAACCUU	926
D-3506	S- 1024	1390	GGUUUAUGAACU GACGUUGCC	1041	A-2005	1389	UAACGUCAGUUC AUAAACCUU	926
D-3507	S- 1031	1390	GGUUUAUGAACU GACGUUACC	1050	A-2005	1389	UAACGUCAGUUC AUAAACCUU	926
D-3508	S- 1038	1390	GGUUUAUGAACU GACGUUACC	1059	A-2005	1389	UAACGUCAGUUC AUAAACCUU	926
D-3509	S- 1000	1391	GUUUUAUGAACUG AUCUUACCC	1016	A-2000	1391	UUAACGUCAGUU CAUAAACUU	916
D-3510	S- 1003	1391	GUUUUAUGAACUG AUCUUAGCC	1019	A-2000	1391	UUAACGUCAGUU CAUAAACUU	916
D-3511	S- 1006	1391	GUUUUAUGAAGUG AUCUUAACC	1022	A-2000	1391	UUAACGUCAGUU CAUAAACUU	916
D-3512	S- 1009	1391	GUUUUAUGAACUG AUCUUAACC	1025	A-2000	1391	UUAACGUCAGUU CAUAAACUU	916
D-3513	S- 1012	1391	GUUUUAUGAACUG AUCUUGCCC	1029	A-2000	1391	UUAACGUCAGUU CAUAAACUU	916
D-3514	S- 1013	1391	GUUUUAUGAACUG AUCUUGGCC	1030	A-2000	1391	UUAACGUCAGUU CAUAAACUU	916
D-3515	S- 1014	1391	GUUUUAUGAACUG AUCUUGACC	1031	A-2000	1391	UUAACGUCAGUU CAUAAACUU	916
D-3516	S- 1018	1429	CCACAAUGUUGU GACUGGCCC	1035	A-2006	1428	UCCGGUCACAACA UUGUGGUU	928
D-3517	S- 1025	1429	CCACAAUGUUGU GACUGGGCC	1042	A-2006	1428	UCCGGUCACAACA UUGUGGUU	928
D-3518	S- 1032	1429	CCACAAUGUUGU GACUGGACC	1051	A-2006	1428	UCCGGUCACAACA UUGUGGUU	928
D-3519	S- 1039	1429	CCACAAUGUAGU GACUGGACC	1060	A-2006	1428	UCCGGUCACAACA UUGUGGUU	928

【表 4 - 2】

D-3520	S-1001	2066	GUGUUAGACGGU ACUGAUCCC	1017	A-2001	2066	UGUCGGUACCGU CUAACACUU	918
D-3521	S-1004	2066	GUGUUAGACGGU ACUGAUGCC	1020	A-2001	2066	UGUCGGUACCGU CUAACACUU	918
D-3522	S-1007	2066	GUGUUAGACCGU ACUGAUACC	1023	A-2001	2066	UGUCGGUACCGU CUAACACUU	918
D-3523	S-1010	2066	GUGUUAGACGGU ACUGAUACC	1026	A-2001	2066	UGUCGGUACCGU CUAACACUU	918
D-3524	S-1021	2079	CCGACAACCAGUA UUUGGCC	1038	A-2009	2078	UCCAAAUACUGG UUGUCGGUU	934
D-3525	S-1028	2079	CCGACAACCAGUA UUUGGGCC	1045	A-2009	2078	UCCAAAUACUGG UUGUCGGUU	934
D-3526	S-1035	2079	CCGACAACCAGUA UUUGGACC	1055	A-2009	2078	UCCAAAUACUGG UUGUCGGUU	934
D-3527	S-1042	2079	CCGACAACCUGUA UUUGGACC	1063	A-2009	2078	UCCAAAUACUGG UUGUCGGUU	934
D-3528	S-1019	4544	GUCACAAAGAACC GUGUACCC	1036	A-2007	4544	UUGCACGGUUCU UUGUGACUU	930
D-3529	S-1026	4544	GUCACAAAGAACC GUGUAGCC	1043	A-2007	4544	UUGCACGGUUCU UUGUGACUU	930
D-3530	S-1033	4544	GUCACAAAGAACC GUGUAACC	1052	A-2007	4544	UUGCACGGUUCU UUGUGACUU	930
D-3531	S-1040	4544	GUCACAAAGUACC GUGUAACC	1061	A-2007	4544	UUGCACGGUUCU UUGUGACUU	930
D-3532	S-1020	4597	UGAACCUUCUUGU UAUAAAACC	1037	A-2008	4597	UUUUUAUACAAG AGGUUCAUU	932
D-3533	S-1027	4597	UGAACCUUCUUGU UAUAAAACC	1044	A-2008	4597	UUUUUAUACAAG AGGUUCAUU	932
D-3534	S-1034	4597	UGAACCUUCUUGU UAUAAAACC	1053	A-2008	4597	UUUUUAUACAAG AGGUUCAUU	932
D-3535	S-1041	4597	UGAACCUUCUAGU UAUAAAACC	1062	A-2008	4597	UUUUUAUACAAG AGGUUCAUU	932
D-3536	S-1044	4861	GAUCAUUGGAAU UCCUAAUCC	1065	A-2011	4860	UUUAGGAAUUC AAUGAUCUU	938
D-3537	S-1046	4861	GAUCAUUGGAAU UCCUAAUCC	1067	A-2011	4860	UUUAGGAAUUC AAUGAUCUU	938
D-3538	S-1048	4861	GAUCAUUGGAAU UCCUAAUCC	1070	A-2011	4860	UUUAGGAAUUC AAUGAUCUU	938
D-3539	S-1050	4861	GAUCAUUGGAAU UCCUAAUCC	1073	A-2011	4860	UUUAGGAAUUC AAUGAUCUU	938
D-3540	S-1043	4864	CAUUGGAAUUC UAAAAUUC	1064	A-2010	4864	UAUUUUAGGAAU UCCAAUGUU	936
D-3541	S-1045	4864	CAUUGGAAUUC UAAAAUUC	1066	A-2010	4864	UAUUUUAGGAAU UCCAAUGUU	936
D-3542	S-1047	4864	CAUUGGAAUUC UAAAAUUC	1068	A-2010	4864	UAUUUUAGGAAU UCCAAUGUU	936
D-3543	S-1049	4864	CAUUGGAAUAC UAAAAUUC	1072	A-2010	4864	UAUUUUAGGAAU UCCAAUGUU	936
D-3544	S-1015	6188	GCAAUUCAGUCUC GUUGUCCC	1032	A-2003	6188	UACAACGAGACUG AAUUGCUU	922
D-3545	S-1022	6188	GCAAUUCAGUCUC GUUGUGCC	1039	A-2003	6188	UACAACGAGACUG AAUUGCUU	922
D-3546	S-1029	6188	GCAAUUCAGUCUC GUUGUACC	1046	A-2003	6188	UACAACGAGACUG AAUUGCUU	922
D-3547	S-1036	6188	GCAAUUCAGACUC GUUGUACC	1057	A-2003	6188	UACAACGAGACUG AAUUGCUU	922
D-3548	S-1002	6751	CCUGCUAGCUCCA UGCUUCCC	1018	A-2002	6751	UAAGCAUGGAGC UAGCAGGUU	920
D-3549	S-1005	6751	CCUGCUAGCUCCA UGCUUGCC	1021	A-2002	6751	UAAGCAUGGAGC UAGCAGGUU	920

【表 4 - 3】

D-3550	S-1008	6751	CCUGCUAGCACCA UGCUUACC	1024	A-2002	6751	UAAGCAUGGAGC UAGCAGGUU	920
D-3551	S-1011	6751	CCUGCUAGCUCCA UGCUUACC	1027	A-2002	6751	UAAGCAUGGAGC UAGCAGGUU	920

【 0 3 8 8 】

【表 5】

表 5. HTT dsRNA のセンス鎖およびアンチセンス鎖の配列

siRNA 二重鎖 ID	SS ID	開始 SS	センス鎖配列 (5'- 3')	SS 配 列 ID	AS ID	開始 AS	アンチセンス鎖配 列 (5'-3')	AS 配列 ID
D-3552	S-1051dt	1391	GUUUAUGAACUGAC GUUAAAdTdT	107 4	A- 2000dt	1391	UUAACGUCAGUUC AUAAACdTdT	917
D-3553	S-1052dt	2066	GUGUUAGACGGUAC CGACAdTdT	107 5	A- 2001dt	2066	UGUCGGUACCGUC UAACACdTdT	919
D-3554	S-1011dt	6751	CCUGCUAGCUCCAU GCUUAdTdT	102 8	A- 2002dt	6751	UAAGCAUGGAGCU AGCAGGdTdT	921
D-3555	S-1053dt	1032 2	AUAUCAGUAAAGAG AUUAAAdTdT	107 6	A- 2012dt	1032 2	UUAUUCUCUUUAC UGAUAUdTdT	940
D-3556	S-1030dt	1386	UCCAGGUUUUGAA CUGAAAdTdT	104 9	A- 2004dt	1386	UUCAGUUCAUAAA CCUGGAdTdT	925
D-3557	S-1054dt	1390	GGUUUAUGAACUGA CGUUAdTdT	107 7	A- 2005dt	1390	UAACGUCAGUUCA UAAACdTdT	927
D-3558	S-1055dt	1429	CCACAAUGUUGUGA CCGGAdTdT	107 8	A- 2006dt	1429	UCCGGUCACAACA UUGUGGdTdT	929
D-3559	S-1035dt	2079	CCGACAACCAGUAU UUGGAdTdT	105 6	A- 2009dt	2079	UCCAAUACUGGU UGUCGGdTdT	935
D-3560	S-1056dt	4544	GUCACAAAGAACCG UGCAAdTdT	107 9	A- 2007dt	4544	UUGCACGGUUCUU UGUGACdTdT	931
D-3561	S-1034dt	4597	UGAACCUUUGUUA UAAAdTdT	105 4	A- 2008dt	4597	UUUUUAACAAGA GGUUCAdTdT	933
D-3562	S-1029dt	6188	GCAAUUCAGUCUCG UUGUAdTdT	104 7	A- 2003dt	6188	UACAACGAGACUG AAUUGCdTdT	923
D-3563	S-1047dt	4864	CAUUGGAAUCCUA AAAUAdTdT	106 9	A- 2010dt	4864	UAUUUUAGGAAUU CCAAUGdTdT	937
D-3564	S-1048dt	4861	GAUCAUUGGAAUUC CUAAAdTdT	107 1	A- 2011dt	4861	UUUAGGAAUCCA AUGAUCdTdT	939
D-3565	S-1057dt	4864	CAUUGGAAUCCUA AAAUcTdT	108 0	A- 2013dt	4864	GAUUUUAGGAAUU CCAAUGdTdT	941

【 0 3 8 9 】

10

20

30

【表 6】

表 6. HTT dsRNA のセンス鎖およびアンチセンス鎖の配列

siRNA 二重鎖 ID	AS ID	開始 AS	アンチセンス鎖 配列 (5'-3')	AS 配列 ID	SS ID	開始 SS	センス鎖配列 (5'-3')	SS 配列 ID
D-3569	S- 106 0	675 1	CCUGCUAGCUCCA UGCUUAUU	1083	A- 2015	6751	UAAGCAUGGAGC UAGCAGGGU	943
D-3570	S- 106 1	675 1	CCUGCUAGCUCCA UGCUUGUU	1084	A- 2002	6751	UAAGCAUGGAGC UAGCAGGUU	920

10

他の実施形態において、H t t を標的とする本発明の s i R N A 分子は、細胞への送達用のプラスミドベクター、A A V 粒子、ウイルスゲノムまたは他の核酸発現ベクターにコードすることができる。

【0390】

D N A 発現プラスミドを使用して、H t t を標的とする本発明の s i R N A 二重鎖または d s R N A を細胞内で安定的に発現させ、標的遺伝子発現の長期阻害を実現することができる。一態様において、s i R N A 二重鎖のセンス鎖とアンチセンス鎖とは、典型的には、短いスペーサ配列によって連結され、低分子ヘアピン R N A (s h R N A) と呼ばれるステムループ構造の発現をもたらす。ヘアピンはダイサーによって認識および切断され、そのようにして成熟 s i R N A 分子が生じる。

20

【0391】

本発明によれば、H T T m R N A を標的とする s i R N A 分子をコードする核酸を含む A A V 粒子が産生され、A A V 血清型は、表 1 に挙げられる血清型のいずれであってもよい。A A V 血清型の非限定的な例としては、A A V 1、A A V 2、A A V 3、A A V 4、A A V 5、A A V 6、A A V 7、A A V 8、A A V 9、A A V 9. 47、A A V 9 (h u 1 4)、A A V 1 0、A A V 1 1、A A V 1 2、A A V r h 8、A A V r h 1 0、A A V - D J 8、A A V - D J、A A V - P H P . A、および／または A A V - P H P . B、およびこれらのバリエーションが挙げられる。

30

【0392】

一部の実施形態において、本発明の s i R N A 二重鎖またはコード化 d s R N A は、H T T m R N A を抑制（または分解）する。したがって、本 s i R N A 二重鎖またはコード化 d s R N A を使用して、細胞、例えばニューロンにおける H T T 遺伝子発現を実質的に阻害することができる。一部の態様において、H T T 遺伝子発現の阻害とは、少なくとも約 20%、好ましくは少なくとも約 30%、40%、50%、60%、70%、80%、85%、90%、95% および 100%、または少なくとも 20~30%、20~40%、20~50%、20~60%、20~70%、20~80%、20~90%、20~95%、20~100%、30~40%、30~50%、30~60%、30~70%、30~80%、30~90%、30~95%、30~100%、40~50%、40~60%、40~70%、40~80%、40~90%、40~95%、40~100%、50~60%、50~70%、50~80%、50~90%、50~95%、50~100%、60~70%、60~80%、60~90%、60~95%、60~100%、70~80%、70~90%、70~95%、70~100%、80~90%、80~95%、80~100%、90~95%、90~100% または 95~100% の阻害を指す。したがって、標的遺伝子のタンパク質産物は、少なくとも約 20%、好ましくは少なくとも約 30%、40%、50%、60%、70%、80%、85%、90%、95% および 100%、または少なくとも 20~30%、20~40%、20~50%、20~60%、20~70%、20~80%、20~90%、20~95%、20~100%、30~40%、30~50%、30~60%、30~70%、30~80%、30~90%、3

40

50

0～95%、30～100%、40～50%、40～60%、40～70%、40～80%、40～90%、40～95%、40～100%、50～60%、50～70%、50～80%、50～90%、50～95%、50～100%、60～70%、60～80%、60～90%、60～95%、60～100%、70～80%、70～90%、70～95%、70～100%、80～90%、80～95%、80～100%、90～95%、90～100%または95～100%阻害され得る。

【0393】

本発明によれば、siRNA分子は、培養細胞でのHTT mRNAレベルを低下させるように設計され、それらの能力に関して試験される。かかるsiRNA分子は、限定はされないが、表4、表5または表6に挙げられるものを含め、二重鎖を形成し得る。非限定

10

【0394】

一実施形態において、siRNA分子は、ガイド鎖に位置するHTTに対するmiRNAシードマッチを含む。別の実施形態において、siRNA分子は、パッセンジャー鎖に位置するHTTに対するmiRNAシードマッチを含む。更に別の実施形態において、HTT遺伝子を標的とするsiRNA二重鎖またはコード化dsRNAは、ガイド鎖またはパッセンジャー鎖に位置するHTTに対するシードマッチを含まない。

【0395】

一実施形態において、HTT遺伝子を標的とするsiRNA二重鎖またはコード化dsRNAは、ガイド鎖について有意な完全長オフターゲット効果をほぼ有しないものであり得る。別の実施形態において、HTT遺伝子を標的とするsiRNA二重鎖またはコード化dsRNAは、パッセンジャー鎖について有意な完全長オフターゲット効果をほぼ有しないものであり得る。HTT遺伝子を標的とするsiRNA二重鎖またはコード化dsRNAは、パッセンジャー鎖について1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、1～5%、2～6%、3～7%、4～8%、5～9%、5～10%、6～10%、5～15%、5～20%、5～25%、5～30%、10～20%、10～30%、10～40%、10～50%、15～30%、15～40%、15～45%、20～40%、20～50%、25～50%、30～40%、30～50%、35～50%、40～50%、45～50%未満の完全長オフターゲット効果を有し得る。更に別の実施形態において、HTT遺伝子を標的とするsiRNA二重鎖またはコード化dsRNAは、ガイド鎖またはパッセンジャー鎖について有意な完全長オフターゲット効果をほぼ有しないものであり得る。HTT遺伝子を標的とするsiRNA二重鎖またはコード化dsRNAは、ガイド鎖またはパッセンジャー鎖について、1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、1～5%、2～6%、3～7%、4～8%、5～9%、5～10%、6～10%、5～15%、5～20%、5～25%、5～30%、10～20%、10～30%、10～40%、10～50%、15～30%、15～40%、15～45%、20～40%、20～50%、25～50%、30～40%、30～50%、35～50%、40～50%、45～50%未満の完全長オフターゲット効果を有し得る。

20

30

40

【0396】

一実施形態において、HTT遺伝子を標的とするsiRNA二重鎖またはコード化dsRNAは、インビトロで高い活性を有し得る。別の実施形態において、siRNA分子は、インビトロで低い活性を有し得る。更に別の実施形態において、HTT遺伝子を標的とするsiRNA二重鎖またはdsRNAは、インビトロで高いガイド鎖活性および低いパッセンジャー鎖活性を有し得る。

【0397】

一実施形態において、HTT遺伝子を標的とするsiRNA分子はインビトロで高いガ

50

イド鎖活性および低いパッセンジャー鎖活性を有する。ガイド鎖による標的ノックダウン (KD) は、少なくとも 40 %、50 %、60 %、65 %、70 %、75 %、80 %、85 %、90 %、95 %、99 %、99.5 % または 100 % であり得る。ガイド鎖による標的ノックダウンは、40 ~ 50 %、45 ~ 50 %、50 ~ 55 %、50 ~ 60 %、60 ~ 65 %、60 ~ 70 %、60 ~ 75 %、60 ~ 80 %、60 ~ 85 %、60 ~ 90 %、60 ~ 95 %、60 ~ 99 %、60 ~ 99.5 %、60 ~ 100 %、65 ~ 70 %、65 ~ 75 %、65 ~ 80 %、65 ~ 85 %、65 ~ 90 %、65 ~ 95 %、65 ~ 99 %、65 ~ 99.5 %、65 ~ 100 %、70 ~ 75 %、70 ~ 80 %、70 ~ 85 %、70 ~ 90 %、70 ~ 95 %、70 ~ 99 %、70 ~ 99.5 %、70 ~ 100 %、75 ~ 80 %、75 ~ 85 %、75 ~ 90 %、75 ~ 95 %、75 ~ 99 %、75 ~ 99.5 %、75 ~ 100 %、80 ~ 85 %、80 ~ 90 %、80 ~ 95 %、80 ~ 99 %、80 ~ 99.5 %、80 ~ 100 %、85 ~ 90 %、85 ~ 95 %、85 ~ 99 %、85 ~ 99.5 %、85 ~ 100 %、90 ~ 95 %、90 ~ 99 %、90 ~ 99.5 %、90 ~ 100 %、95 ~ 99 %、95 ~ 99.5 %、95 ~ 100 %、99 ~ 99.5 %、99 ~ 100 % または 99.5 ~ 100 % であり得る。非限定的な例として、ガイド鎖による標的ノックダウン (KD) は、70 % よりも大きい。非限定的な例として、ガイド鎖による標的ノックダウン (KD) は、60 % よりも大きい。

【0398】

一実施形態において、s i R N A 二重鎖標的 H T T は、センス配列またはアンチセンス配列について非 H t t 配列に対する m i R N A シードマッチがないように設計される。

一実施形態において、最も近いオフターゲットに対する、H T T を標的とする s i R N A 二重鎖のガイド鎖の IC_{50} は、オンターゲット遺伝子、H t t に対するガイド鎖の IC_{50} の 100 倍よりも高い。非限定的な例として、最も近いオフターゲットに対するガイド鎖の IC_{50} が標的に対するガイド鎖の IC_{50} の 100 倍よりも高い場合、その s i R N A 分子は、インビトロでの H t t の阻害に高いガイド鎖選択性を有すると言われる。

【0399】

一実施形態において、H T T 遺伝子を標的とする s i R N A 二重鎖のガイド鎖の 5' プロセッシングは、インビトロまたはインビボで、少なくとも 75 %、80 %、85 %、90 %、95 %、99 % または 100 % の確率で 5' 末端に正しい開始 (n) を有する。非限定的な例として、ガイド鎖の 5' プロセッシングは正確であり、インビトロで少なくとも 99 % の確率で 5' 末端に正しい開始 (n) を有する。非限定的な例として、ガイド鎖の 5' プロセッシングは正確であり、インビボで少なくとも 99 % の確率で 5' 末端に正しい開始 (n) を有する。非限定的な例として、ガイド鎖の 5' プロセッシングは正確であり、インビトロで少なくとも 90 % の確率で 5' 末端に正しい開始 (n) を有する。非限定的な例として、ガイド鎖の 5' プロセッシングは正確であり、インビボで少なくとも 90 % の確率で 5' 末端に正しい開始 (n) を有する。非限定的な例として、ガイド鎖の 5' プロセッシングは正確であり、インビボで少なくとも 85 % の確率で 5' 末端に正しい開始 (n) を有する。

【0400】

一実施形態において、H T T に対するパッセンジャー鎖ーガイド鎖二重鎖は、p r i - m i c r o または p r e - m i c r o R N A が、当該技術分野において公知のおよび本明細書に記載される方法により、プロセッシングを測定したとき 2 倍より高いガイド鎖対パッセンジャー鎖比を示す場合に有効と見なされる。非限定的な例として、p r i - m i c r o または p r e - m i c r o R N A は、プロセッシングを測定したとき、2 倍、3 倍、4 倍、5 倍、6 倍、7 倍、8 倍、9 倍、10 倍、11 倍、12 倍、13 倍、14 倍、15 倍より高い、または 2 ~ 5 倍、2 ~ 10 倍、2 ~ 15 倍、3 ~ 5 倍、3 ~ 10 倍、3 ~ 15 倍、4 ~ 5 倍、4 ~ 10 倍、4 ~ 15 倍、5 ~ 10 倍、5 ~ 15 倍、6 ~ 10 倍、6 ~ 15 倍、7 ~ 10 倍、7 ~ 15 倍、8 ~ 10 倍、8 ~ 15 倍、9 ~ 10 倍、9 ~ 15 倍、10

～15倍、11～15倍、12～15倍、13～15倍、または14～15倍のガイド鎖対パッセンジャー鎖比を示す。

【0401】

一実施形態では、s i R N A分子を使用して、h t t配列上の少なくとも1つのエクソンを標的とすることにより野生型または突然変異H T Tがサイレンシングされ得る。エクソンは、エクソン1、エクソン2、エクソン3、エクソン4、エクソン5、エクソン6、エクソン7、エクソン8、エクソン9、エクソン10、エクソン11、エクソン12、エクソン13、エクソン14、エクソン15、エクソン16、エクソン17、エクソン18、エクソン19、エクソン20、エクソン21、エクソン22、エクソン23、エクソン24、エクソン25、エクソン26、エクソン27、エクソン28、エクソン29、エクソン30、エクソン31、エクソン32、エクソン33、エクソン34、エクソン35、エクソン36、エクソン37、エクソン38、エクソン39、エクソン40、エクソン41、エクソン42、エクソン43、エクソン44、エクソン45、エクソン46、エクソン47、エクソン48、エクソン49、エクソン50、エクソン51、エクソン52、エクソン53、エクソン54、エクソン55、エクソン56、エクソン57、エクソン58、エクソン59、エクソン60、エクソン61、エクソン62、エクソン63、エクソン64、エクソン65、エクソン66、および／またはエクソン67であってもよい。非限定的な例として、s i R N A分子を使用して、エクソン1を標的とすることにより野生型または突然変異H T Tがサイレンシングされ得る。別の非限定的な例として、s i R N A分子を使用して、エクソン1以外のエクソンを標的とすることにより野生型または突然変異H T Tがサイレンシングされ得る。別の非限定的な例として、s i R N A分子を使用して、エクソン50を標的とすることにより野生型または突然変異H T Tがサイレンシングされ得る。別の非限定的な例として、s i R N A分子を使用して、エクソン67を標的とすることにより野生型または突然変異H T Tがサイレンシングされ得る。

【0402】

一実施形態では、s i R N A分子を使用して、h t t配列上の少なくとも1つのエクソンを標的とすることにより野生型および／または突然変異H T Tがサイレンシングされ得る。エクソンは、エクソン1、エクソン2、エクソン3、エクソン4、エクソン5、エクソン6、エクソン7、エクソン8、エクソン9、エクソン10、エクソン11、エクソン12、エクソン13、エクソン14、エクソン15、エクソン16、エクソン17、エクソン18、エクソン19、エクソン20、エクソン21、エクソン22、エクソン23、エクソン24、エクソン25、エクソン26、エクソン27、エクソン28、エクソン29、エクソン30、エクソン31、エクソン32、エクソン33、エクソン34、エクソン35、エクソン36、エクソン37、エクソン38、エクソン39、エクソン40、エクソン41、エクソン42、エクソン43、エクソン44、エクソン45、エクソン46、エクソン47、エクソン48、エクソン49、エクソン50、エクソン51、エクソン52、エクソン53、エクソン54、エクソン55、エクソン56、エクソン57、エクソン58、エクソン59、エクソン60、エクソン61、エクソン62、エクソン63、エクソン64、エクソン65、エクソン66、および／またはエクソン67であってもよい。非限定的な例として、s i R N A分子を使用して、エクソン1を標的とすることにより野生型および／または突然変異H T Tがサイレンシングされ得る。別の非限定的な例として、s i R N A分子を使用して、エクソン1以外のエクソンを標的とすることにより野生型および／または突然変異H T Tがサイレンシングされ得る。別の非限定的な例として、s i R N A分子を使用して、エクソン50を標的とすることにより野生型および／または突然変異H T Tがサイレンシングされ得る。別の非限定的な例として、s i R N A分子を使用して、エクソン67を標的とすることにより野生型および／または突然変異H T Tがサイレンシングされ得る。

【0403】

S O D 1遺伝子を標的とするs i R N A二重鎖の設計および配列

本発明は、S O D 1遺伝子発現および／またはS O D 1タンパク質産生に干渉するため

SOD1 mRNAを標的とする低分子干渉RNA (siRNA) 二重鎖 (およびそれらをコードする調節性ポリヌクレオチド) を提供する。

【0404】

本発明のコード化siRNA二重鎖は、共にハイブリダイズして二重鎖構造を形成するアンチセンス鎖とセンス鎖とを含有し、ここでアンチセンス鎖は、標的SOD1遺伝子の核酸配列に相補的であり、センス鎖は標的SOD1遺伝子の核酸配列に相同である。一部の態様において、アンチセンス鎖の5'末端は5'リン酸基を有し、センス鎖の3'末端は3'ヒドロキシル基を含有する。他の態様において、各鎖の3'末端にはヌクレオチドオーバーハングがない、1つある、または2つある。

【0405】

当該技術分野では、siRNAの設計に関して幾つかの指針が提案されている。これらの指針は、概して、サイレンシングしようとする遺伝子中の領域を標的とする19ヌクレオチド二重鎖形成領域、対称2~3ヌクレオチド3'オーバーハング、5'ーリン酸基および3'ーヒドロキシル基を作成することを推奨している。siRNA配列の好ましさを左右し得る他の規則としては、限定はされないが、(i) アンチセンス鎖の5'末端におけるA/U；(ii) センス鎖の5'末端におけるG/C；(iii) アンチセンス鎖の5'端側3分の1にある少なくとも5個のA/U残基；および(iv) 9ヌクレオチド長より長いかなるGCストレッチも存在しないことが挙げられる。標的遺伝子の具体的な配列と合わせて、かかる考慮点に従い、SOD1遺伝子発現の抑制に不可欠な極めて有効なsiRNA分子を容易に設計し得る。

【0406】

本発明によれば、SOD1遺伝子を標的とするsiRNA分子 (例えば、siRNA二重鎖またはコード化dsRNA) が設計される。かかるsiRNA分子は、特異的にSOD1遺伝子発現およびタンパク質産生を抑制することができる。一部の態様において、siRNA分子は、細胞のSOD1遺伝子変異体、すなわちALS疾患を有する患者に同定される突然変異型SOD1転写物を選択的に「ノックアウト」するように設計および使用される。一部の態様において、siRNA分子は、細胞のSOD1遺伝子変異体を選択的に「ノックダウン」するように設計および使用される。他の態様において、siRNA分子は、野生型および突然変異型の両方のSOD1遺伝子を阻害または抑制することが可能である。

【0407】

一実施形態において、本発明のsiRNA分子は、両方の鎖が共にハイブリダイズして二重鎖構造を形成するセンス鎖と相補的アンチセンス鎖とを含む。アンチセンス鎖は標的的特異的RNAiを導くのに十分な、SOD1 mRNA配列との相補性を有し、すなわちsiRNA分子は、RNAi機構または過程による標的mRNAの破壊を惹起するのに十分な配列を有する。

【0408】

一実施形態において、本発明のsiRNA分子は、両方の鎖が共にハイブリダイズして二重鎖構造を形成するセンス鎖と相補的アンチセンス鎖とを含み、ここでSOD1 mRNAとのハイブリダイゼーションの開始部位は、SOD1 mRNA配列上のヌクレオチド15~1000である。非限定的な例として、開始部位は、SOD1 mRNA配列上のヌクレオチド15~25、15~50、15~75、15~100、100~150、150~200、200~250、250~300、300~350、350~400、400~450、450~500、500~550、550~600、600~650、650~700、700~750、750~800、800~850、850~900、900~950および950~1000であってもよい。更に別の非限定的な例として、開始部位は、SOD1 mRNA配列上のヌクレオチド26、27、28、29、30、32、33、34、35、36、37、74、76、77、78、149、153、157、160、177、192、193、195、196、197、198、199、206、209、210、239、241、261、263、264、268、269、276

10

20

30

40

50

、 278、281、284、290、291、295、296、316、317、329
 、 330、337、350、351、352、354、357、358、364、375
 、 378、383、384、390、392、395、404、406、417、418
 、 469、470、475、476、480、487、494、496、497、501
 、 504、515、518、522、523、524、552、554、555、562
 、 576、577、578、579、581、583、584、585、587、588
 、 589、593、594、595、596、597、598、599、602、607
 、 608、609、610、611、612、613、616、621、633、635
 、 636、639、640、641、642、643、644、645、654、660
 、 661、666、667、668、669、673、677、692、698、699
 、 700、701、706、749、770、772、775、781、800、804
 、 819、829、832、833、851、854、855、857、858、859
 、 861、869、891、892、906、907、912、913、934、944
 、 および947であってもよい。

10

【0409】

一部の実施形態において、アンチセンス鎖と標的SOD1 mRNA配列とは100%の相補性を有する。アンチセンス鎖は標的SOD1 mRNA配列の任意の一部と相補的であってもよい。

【0410】

他の実施形態において、アンチセンス鎖と標的SOD1 mRNA配列とは少なくとも1つのミスマッチを含む。非限定的な例として、アンチセンス鎖と標的SOD1 mRNA配列とは、少なくとも30%、40%、50%、60%、70%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%または99%または少なくとも20~30%、20~40%、20~50%、20~60%、20~70%、20~80%、20~90%、20~95%、20~99%、30~40%、30~50%、30~60%、30~70%、30~80%、30~90%、30~95%、30~99%、40~50%、40~60%、40~70%、40~80%、40~90%、40~95%、40~99%、50~60%、50~70%、50~80%、50~90%、50~95%、50~99%、60~70%、60~80%、60~90%、60~95%、60~99%、70~80%、70~90%、70~95%、70~99%、80~90%、80~95%、80~99%、90~95%、90~99%または95~99%の相補性を有する。

20

30

【0411】

一実施形態において、SOD1を標的とするsiRNAまたはdsRNAは、互いに相補的な少なくとも2つの配列を含む。

本発明によれば、SOD1を標的とするsiRNA分子は長さが約10~50ヌクレオチドまたはそれ以上であり、すなわち、各鎖が10~50ヌクレオチド（またはヌクレオチド類似体）を含む。好ましくは、siRNA分子は長さが各鎖約15~30、例えば、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、または30ヌクレオチドであり、ここで鎖の一方は標的領域と十分に相補的である。一実施形態において、siRNA分子の各鎖は長さが約19~25、19~24または19~21ヌクレオチドである。一実施形態において、siRNA分子の少なくとも一方の鎖は、19ヌクレオチド長である。一実施形態において、siRNA分子の少なくとも一方の鎖は、20ヌクレオチド長である。一実施形態において、siRNA分子の少なくとも一方の鎖は、21ヌクレオチド長である。一実施形態において、siRNA分子の少なくとも一方の鎖は、22ヌクレオチド長である。一実施形態において、siRNA分子の少なくとも一方の鎖は、23ヌクレオチド長である。一実施形態において、siRNA分子の少なくとも一方の鎖は、24ヌクレオチド長である。一実施形態において、siRNA分子の少なくとも一方の鎖は、25ヌクレオチド長である。

40

50

【0412】

一部の実施形態において、SOD1を標的とする本発明のsiRNA分子は、約19ヌクレオチド～約25ヌクレオチド、および3'末端に2オーバーハングヌクレオチドを含む合成RNA二重鎖であり得る。一部の態様において、siRNA分子は非修飾RNA分子であってもよい。他の態様において、siRNA分子は、塩基、糖または骨格修飾などの少なくとも1つの修飾ヌクレオチドを含有し得る。

【0413】

一実施形態において、SOD1を標的とする本発明のsiRNA分子は、限定はされないが、表7のアンチセンス（ガイド）配列またはそれらの断片もしくは変異体などのヌクレオチド配列を含み得る。非限定的な例として、本発明のsiRNA分子に使用されるアンチセンス配列は、表7のヌクレオチド配列の少なくとも30%、40%、50%、60%、70%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%または99%または少なくとも20～30%、20～40%、20～50%、20～60%、20～70%、20～80%、20～90%、20～95%、20～99%、30～40%、30～50%、30～60%、30～70%、30～80%、30～90%、30～95%、30～99%、40～50%、40～60%、40～70%、40～80%、40～90%、40～95%、40～99%、50～60%、50～70%、50～80%、50～90%、50～95%、50～99%、60～70%、60～80%、60～90%、60～95%、60～99%、70～80%、70～90%、70～95%、70～99%、80～90%、80～95%、80～99%、90～95%、90～99%または95～99%である。別の非限定的な例として、本発明のsiRNA分子に使用されるアンチセンス配列は、表7のヌクレオチド配列の少なくとも3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21または21超の連続ヌクレオチドを含む。更に別の非限定的な例として、本発明のsiRNA分子に使用されるアンチセンス配列は、表7の配列のヌクレオチド1～22、1～21、1～20、1～19、1～18、1～17、1～16、1～15、1～14、1～13、1～12、1～11、1～10、1～9、1～8、2～22、2～21、2～20、2～19、2～18、2～17、2～16、2～15、2～14、2～13、2～12、2～11、2～10、2～9、2～8、3～22、3～21、3～20、3～19、3～18、3～17、3～16、3～15、3～14、3～13、3～12、3～11、3～10、3～9、3～8、4～22、4～21、4～20、4～19、4～18、4～17、4～16、4～15、4～14、4～13、4～12、4～11、4～10、4～9、4～8、5～22、5～21、5～20、5～19、5～18、5～17、5～16、5～15、5～14、5～13、5～12、5～11、5～10、5～9、5～8、6～22、6～21、6～20、6～19、6～18、6～17、6～16、6～15、6～14、6～13、6～12、6～11、6～10、7～22、7～21、7～20、7～19、7～18、7～17、7～16、7～15、7～14、7～13、7～12、8～22、8～21、8～20、8～19、8～18、8～17、8～16、8～15、8～14、8～13、8～12、9～22、9～21、9～20、9～19、9～18、9～17、9～16、9～15、9～14、10～22、10～21、10～20、10～19、10～18、10～17、10～16、10～15、10～14、11～22、11～21、11～20、11～19、11～18、11～17、11～16、11～15、11～14、12～22、12～21、12～20、12～19、12～18、12～17、12～16、13～22、13～21、13～20、13～19、13～18、13～17、13～16、14～22、14～21、14～20、14～19、14～18、14～17、15～22、15～21、15～20、15～19、15～18、16～22、16～21、16～20、17～22、17～21、または18～22を含む。

【0414】

【表 7 - 1】

表 7. アンチセンス配列

アンチセンス ID	配列	配列番号
A-3000	UUUAUAGGCCAGACCUCCGdTdT	1164
A-3001	UUUUUAGGCCAGACCUCCdTdT	1165
A-3002	UCUUUAUAGGCCAGACCUCdTdT	1166
A-3003	UACUUUAUAGGCCAGACCUdTdT	1167
A-3004	UUACUUUAUAGGCCAGACCdTdT	1168
A-3005	UACUACUUUAUAGGCCAGAdTdT	1169
A-3006	UGACUACUUUAUAGGCCAGdTdT	1170
A-3007	UCGACUACUUUAUAGGCCAdTdT	1171
A-3008	UGCGACUACUUUAUAGGCCdTdT	1172
A-3009	UCGCGACUACUUUAUAGGCdTdT	1173
A-3010	UCCGCGACUACUUUAUAGGdTdT	1174
A-3011	UGCUGCAGGAGACUACGACdTdT	1175
A-3012	UACGCUGCAGGAGACUACGdTdT	1176
A-3013	UGACGCUGCAGGAGACUACdTdT	1177
A-3014	UAGACGCUGCAGGAGACUAdTdT	1178
A-3015	UCACGGCCUUCGUCGCAUdTdT	1179
A-3016	UCGCACACGGCCUUCGUCGdTdT	1180
A-3017	UAGCACGCACACGGCCUUCdTdT	1181
A-3018	UUUCAGCACGCACACGGCCdTdT	1182
A-3019	UGCACUGGGCCGUCGCCCdTdT	1183
A-3020	UAAUUGAUGAUGCCCUGCAdTdT	1184

【表 7 - 2】

A-3021	UAAAUUGAUGAUGCCCUGCdTdT	1185
A-3022	UCGAAAUUGAUGAUGCCCUdTdT	1186
A-3023	UUCGAAAUUGAUGAUGCCCdTdT	1187
A-3024	UCUCGAAAUUGAUGAUGCCdTdT	1188
A-3025	UGCUCGAAAUUGAUGAUGCdTdT	1189
A-3026	UUGCUCGAAAUUGAUGAUGdTdT	1190
A-3027	UUUCCUUCUGCUCGAAAUdTdT	1191
A-3028	UACUUUCCUUCUGCUCGAAdTdT	1192
A-3029	UUACUUUCCUUCUGCUCGAdTdT	1193
A-3030	UAAUGCUUCCCCACACCUdTdT	1194
A-3031	UUUAAUGCUUCCCCACCCdTdT	1195
A-3032	UGCAGGCCUUCAGUCAGUCdTdT	1196
A-3033	UAUGCAGGCCUUCAGUCAGdTdT	1197
A-3034	UCAUGCAGGCCUUCAGUCAdTdT	1198
A-3035	UAAUCCAUGCAGGCCUUCAdTdT	1199
A-3036	UGAAUCCAUGCAGGCCUUCdTdT	1200
A-3037	UGAACAUGGAAUCCAUGCAdTdT	1201
A-3038	UAUGAACAUGGAAUCCAUGdTdT	1202
A-3039	UCUCAUGAACAUGGAAUCCdTdT	1203
A-3040	UAAACUCAUGAACAUGGAAdTdT	1204
A-3041	UAUCUCCAAACUCAUGAACdTdT	1205
A-3042	UUAUCUCCAAACUCAUGAAdTdT	1206
A-3043	UGUAUUAUCUCCAAACUCAdTdT	1207
A-3044	UUGUAUUAUCUCCAAACUCdTdT	1208
A-3045	UCCUGCACUGGUACAGCCUdTdT	1209

【表 7 - 3】

A-3046	UACCUGCACUGGUACAGCCdTdT	1210
A-3047	UAUUAAAGUGAGGACCUGCdTdT	1211
A-3048	UGAUUAAAGUGAGGACCUGdTdT	1212
A-3049	UGAUAGAGGAUUAAAGUGAdTdT	1213
A-3050	UACCGUGUUUUCUGGAUAGdTdT	1214
A-3051	UCACCGUGUUUUCUGGAUAdTdT	1215
A-3052	UCCACCGUGUUUUCUGGAUdTdT	1216
A-3053	UGCCCACCGUGUUUUCUGGdTdT	1217
A-3054	UUUGGCCACCGUGUUUUCdTdT	1218
A-3055	UUUUGGCCACCGUGUUUUDdTdT	1219
A-3056	UUCAUCCUUUGGCCACCGdTdT	1220
A-3057	UCAUGCCUCUCUUCAUCCdTdT	1221
A-3058	UCAACAUGCCUCUCUUAUdTdT	1222
A-3059	UGUCUCCAACAUGCCUCUCdTdT	1223
A-3060	UAGUCUCCAACAUGCCUCUdTdT	1224
A-3061	UUGCCCAAGUCUCCAACAUDdTdT	1225
A-3062	UAUUGCCCAAGUCUCCAACdTdT	1226
A-3063	UCACAUUGCCCAAGUCUCCdTdT	1227
A-3064	UGUCAGCAGUCACAUUGCCdTdT	1228
A-3065	UUUGUCAGCAGUCACAUUGdTdT	1229
A-3066	UCCACACCAUCUUUGUCAGdTdT	1230
A-3067	UGCCACACCAUCUUUGUCAdTdT	1231
A-3068	UAUGCAAUGGUCUCCUGAGdTdT	1232
A-3069	UGAUGCAAUGGUCUCCUGAdTdT	1233
A-3070	UCCAAUGAUGCAAUGGUCUdTdT	1234

【表 7 - 4】

A-3071	UGCCAAUGAUGCAAUGGUCdTdT	1235
A-3072	UUGCGGCCAAUGAUGCAAUdTdT	1236
A-3073	UACCAGUGUGCGGCCAAUGdTdT	1237
A-3074	UAUGGACCACCAGUGUGCGdTdT	1238
A-3075	UUCAUGGACCACCAGUGUGdTdT	1239
A-3076	UUUCAUGGACCACCAGUGUdTdT	1240
A-3077	UCUUUUUCAUGGACCACCAdTdT	1241
A-3078	UCUGCUUUUUUCAUGGACCAdTdT	1242
A-3079	UGCCCAAGUCAUCUGCUUdTdT	1243
A-3080	UUUUGCCCAAGUCAUCUGCdTdT	1244
A-3081	UCACCUUUGCCCAAGUCAUdTdT	1245
A-3082	UCCACCUUUGCCCAAGUCAdTdT	1246
A-3083	UUCCACCUUUGCCCAAGUCdTdT	1247
A-3084	UCGUUUCCUGUCUUUGUACdTdT	1248
A-3085	UAGCGUUUCCUGUCUUUGUdTdT	1249
A-3086	UCAGCGUUUCCUGUCUUUGdTdT	1250
A-3087	UCGACUUCCAGCGUUUCCUdTdT	1251
A-3088	UCACCACAAGCCAAACGACdTdT	1252
A-3089	UACACCACAAGCCAAACGAdTdT	1253
A-3090	UUACACCACAAGCCAAACGdTdT	1254
A-3091	UUUACACCACAAGCCAAACdTdT	1255
A-3092	UAAUUACACCACAAGCCAAdTdT	1256
A-3093	UCCAAUUACACCACAAGCCdTdT	1257
A-3094	UCCCAUUUACACCACAAGCdTdT	1258
A-3095	UUCCCAUUUACACCACAAGdTdT	1259

【表 7 - 5】

A-3096	UGAUCCCAAUUACACCACAdTdT	1260
A-3097	UCGAUCCCAAUUACACCACdTdT	1261
A-3098	UGCGAUCCCAAUUACACCAdTdT	1262
A-3099	UUUGGGCGAUCCCAAUUACdTdT	1263
A-3100	UAUUGGGCGAUCCCAAUUAdTdT	1264
A-3101	UUAUUGGGCGAUCCCAAUUdTdT	1265
A-3102	UUUAUUGGGCGAUCCCAAUdTdT	1266
A-3103	UUUUAUUGGGCGAUCCCAAdTdT	1267
A-3104	UGUUUAUUGGGCGAUCCCAdTdT	1268
A-3105	UUGUUUAUUGGGCGAUCCCdTdT	1269
A-3106	UGAAUGUUUAUUGGGCGAUdTdT	1270
A-3107	UCAAGGGAAUGUUUAUUGGdTdT	1271
A-3108	UCCAAGGGAAUGUUUAUUGdTdT	1272
A-3109	UUCAAGGGAAUGUUUAUdTTdT	1273
A-3110	UAUCCAAGGGAAUGUUUAUdTdT	1274
A-3111	UCAUCCAAGGGAAUGUUUAdTdT	1275
A-3112	UACAUCCAAGGGAAUGUUUdTdT	1276
A-3113	UUACAUCCAAGGGAAUGUUdTdT	1277
A-3114	UGACUACAUCCAAGGGAAUdTdT	1278
A-3115	UCCUCAGACUACAUCCAAGdTdT	1279
A-3116	UUGAGUUAAGGGGCCUCAGdTdT	1280
A-3117	UGAUGAGUUAAGGGGCCUCdTdT	1281
A-3118	UAGAUGAGUUAAGGGGCCUdTdT	1282
A-3119	UACAGAUGAGUUAAGGGGdTdT	1283
A-3120	UUAACAGAUGAGUUAAGGGdTdT	1284

【表 7 - 6】

A-3121	UAUAAACAGAUGAGUUAAGdTdT	1285
A-3122	UGAUAAACAGAUGAGUUAAGdTdT	1286
A-3123	UGGAUAAACAGAUGAGUUAAdTdT	1287
A-3124	UAGGAUAAACAGAUGAGUUAAdTdT	1288
A-3125	UCAGGAUAAACAGAUGAGUUDTdT	1289
A-3126	UUACAGCUAGCAGGAUAAAdTdT	1290
A-3127	UCAUUUCUACAGCUAGCAGdTdT	1291
A-3128	UACAUUUCUACAGCUAGCAdTdT	1292
A-3129	UAGGAUACAUUUCUACAGCdTdT	1293
A-3130	UCAGGAUACAUUUCUACAGdTdT	1294
A-3131	UUCAGGAUACAUUUCUACAdTdT	1295
A-3132	UAUCAGGAUACAUUUCUACdTdT	1296
A-3133	UGUUUAUCAGGAUACAUUUDTdT	1297
A-3134	UUAAUGUUUAUCAGGAUACdTdT	1298
A-3135	UUAAGAUUACAGUGUUUAAdTdT	1299
A-3136	UCACUUUUUAAGAUUACAGUDTdT	1300
A-3137	UACACUUUUUAAGAUUACAGdTdT	1301
A-3138	UUACACUUUUUAAGAUUACAdTdT	1302
A-3139	UUUACACUUUUUAAGAUUACdTdT	1303
A-3140	UCACAAUUACACUUUUUAAGdTdT	1304
A-3141	UAGUUUCUCACUACAGGUAdTdT	1305
A-3142	UUCUUCCAAGUGAUCAUAAAdTdT	1306
A-3143	UAAUCUCCAAGUGAUCAUdTdT	1307
A-3144	UACAAAUCUCCAAGUGAUdTdT	1308
A-3145	UAACUAUACAAAUCUCCAdTdT	1309

【表 7 - 7】

A-3146	UUUUUAAACUGAGUUUUUAUAdTdT	1310
A-3147	UGACAUUUUAAACUGAGUUUdTdT	1311
A-3148	UCAGGUCAUUGAAACAGACdTdT	1312
A-3149	UUGGCAAAAUACAGGUCAUdTdT	1313
A-3150	UGUCUGGCAAAAUACAGGUdTdT	1314
A-3151	UAGUCUGGCAAAAUACAGGdTdT	1315
A-3152	UAUACCCAUCUGUGAUUUAdTdT	1316
A-3153	UUUAAUACCCAUCUGUGAUdTdT	1317
A-3154	UUUUAAUACCCAUCUGUGAdTdT	1318
A-3155	UAGUUAAUACCCAUCUGUdTdT	1319
A-3156	UAAGUUAAUACCCAUCUGdTdT	1320
A-3157	UCAAGUUAAUACCCAUCUdTdT	1321
A-3158	UGACAAGUUAAUACCCAUdTdT	1322
A-3159	UGAAAUUCUGACAAGUUUAdTdT	1323
A-3160	UAUUCACAGGCUUGAAUGAdTdT	1324
A-3161	UUAUUCACAGGCUUGAAUGdTdT	1325
A-3162	UCCAUACAGGGUUUUUAUdTdT	1326
A-3163	UGCCAUACAGGGUUUUUAUdTdT	1327
A-3164	UUAAGUGCCAUACAGGGUdTdT	1328
A-3165	UAUAAGUGCCAUACAGGGUdTdT	1329
A-3166	UGAUUCUUUUAAUAGCCUCdTdT	1330
A-3167	UUUUGAAUUUGGAUUCUUUdTdT	1331
A-3168	UUAGUUUGAAUUUGGAUUCdTdT	1332

10

20

30

40

50

一実施形態において、SOD1を標的とする本発明の siRNA 分子は、限定はされないが、表 8 のセンス（パッセンジャー）配列またはそれらの断片もしくは変異体などのヌクレオチド配列を含み得る。非限定的な例として、本発明の siRNA 分子に使用されるセンス配列は、表 8 のヌクレオチド配列の少なくとも 30 %、40 %、50 %、60 %、

70%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%または99%または少なくとも20~30%、20~40%、20~50%、20~60%、20~70%、20~80%、20~90%、20~95%、20~99%、30~40%、30~50%、30~60%、30~70%、30~80%、30~90%、30~95%、30~99%、40~50%、40~60%、40~70%、40~80%、40~90%、40~95%、40~99%、50~60%、50~70%、50~80%、50~90%、50~95%、50~99%、60~70%、60~80%、60~90%、60~95%、60~99%、70~80%、70~90%、70~95%、70~99%、80~90%、80~95%、80~99%、90~95%、90~99%
または95~99%である。別の非限定的な例として、本発明の siRNA 分子に使用されるセンス配列は、表8のヌクレオチド配列の少なくとも3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21または21超の連続ヌクレオチドを含む。更に別の非限定的な例として、本発明の siRNA 分子に使用されるセンス配列は、表8の配列のヌクレオチド1~22、1~21、1~20、1~19、1~18、1~17、1~16、1~15、1~14、1~13、1~12、1~11、1~10、1~9、1~8、2~22、2~21、2~20、2~19、2~18、2~17、2~16、2~15、2~14、2~13、2~12、2~11、2~10、2~9、2~8、3~22、3~21、3~20、3~19、3~18、3~17、3~16、3~15、3~14、3~13、3~12、3~11、3~10、3~9、3~8、4~22、4~21、4~20、4~19、4~18、4~17、4~16、4~15、4~14、4~13、4~12、4~11、4~10、4~9、4~8、5~22、5~21、5~20、5~19、5~18、5~17、5~16、5~15、5~14、5~13、5~12、5~11、5~10、5~9、5~8、6~22、6~21、6~20、6~19、6~18、6~17、6~16、6~15、6~14、6~13、6~12、6~11、6~10、7~22、7~21、7~20、7~19、7~18、7~17、7~16、7~15、7~14、7~13、7~12、8~22、8~21、8~20、8~19、8~18、8~17、8~16、8~15、8~14、8~13、8~12、9~22、9~21、9~20、9~19、9~18、9~17、9~16、9~15、9~14、10~22、10~21、10~20、10~19、10~18、10~17、10~16、10~15、10~14、11~22、11~21、11~20、11~19、11~18、11~17、11~16、11~15、11~14、12~22、12~21、12~20、12~19、12~18、12~17、12~16、13~22、13~21、13~20、13~19、13~18、13~17、13~16、14~22、14~21、14~20、14~19、14~18、14~17、15~22、15~21、15~20、15~19、15~18、16~22、16~21、16~20、17~22、17~21、または18~22を含む。

【0421】

【表 8 - 1】

表 8. センス配列

センス ID	配列	配列番号
S-3000	CGGAGGUCUGGCCUAUAACdTdT	1333
S-3001	GGAGGUCUGGCCUAUAAACdTdT	1334
S-3002	GAGGUCUGGCCUAUAAAGCdTdT	1335
S-3003	AGGUCUGGCCUAUAAAGUCdTdT	1336
S-3004	GGUCUGGCCUAUAAAGUACdTdT	1337
S-3005	UCUGGCCUAUAAAGUAGUCdTdT	1338
S-3006	CUGGCCUAUAAAGUAGUCCdTdT	1339
S-3007	UGGCCUAUAAAGUAGUCGCdTdT	1340
S-3008	GGCCUAUAAAGUAGUCGCCdTdT	1341
S-3009	GCCUAUAAAGUAGUCGCGCdTdT	1342
S-3010	CCUAUAAAGUAGUCGCGGCdTdT	1343
S-3011	GUCGUAGUCUCCUGCAGCCdTdT	1344
S-3012	CGUAGUCUCCUGCAGCUCdTdT	1345
S-3013	GUAGUCUCCUGCAGCGUCCdTdT	1346
S-3014	UAGUCUCCUGCAGCGUCUCdTdT	1347
S-3015	AUGGCGACGAAGGCCGUGCdTdT	1348
S-3016	CGACGAAGGCCGUGUGCGCdTdT	1349
S-3017	GAAGGCCGUGUGCGUGCUCdTdT	1350
S-3018	GGCCGUGUGCGUGCUGAACdTdT	1351
S-3019	AGGGCGACGGCCAGUGCCdTdT	1352
S-3020	UGCAGGGCAUCAUAUUCdTdT	1353

【 0 4 2 2】

【表 8 - 2】

S-3021	GCAGGGCAUCAUCAAUUUCdTdT	1354
S-3022	AGGGCAUCAUCAAUUUCGdCdT	1355
S-3023	GGGCAUCAUCAAUUUCGACdTdT	1356
S-3024	GGCAUCAUCAAUUUCGAGCdTdT	1357
S-3025	GCAUCAUCAAUUUCGAGCCdTdT	1358
S-3026	CAUCAUCAAUUUCGAGCACdTdT	1359
S-3027	AAUUUCGAGCAGAAGGAACdTdT	1360
S-3028	UUCGAGCAGAAGGAAAGUCdTdT	1361
S-3029	UCGAGCAGAAGGAAAGUACdTdT	1362
S-3030	AAGGUGUGGGGAAGCAUUCdTdT	1363
S-3031	GGUGUGGGGAAGCAUUAACdTdT	1364
S-3032	GACUGACUGAAGGCCUGCCdTdT	1365
S-3033	CUGACUGAAGGCCUGCAUCdTdT	1366
S-3034	UGACUGAAGGCCUGCAUGCdTdT	1367
S-3035	UGAAGGCCUGCAUGGAUUCdTdT	1368
S-3036	GAAGGCCUGCAUGGAUUCdTdT	1369
S-3037	UGCAUGGAUUGCAUGUCCdTdT	1370
S-3038	CAUGGAUUGCAUGUUAUCdTdT	1371
S-3039	GGAUUGCAUGUUAUGAGCdTdT	1372
S-3040	UUGCAUGUUAUGAGUUUCdTdT	1373
S-3041	GUUCAUGAGUUUGGAGAUUCdTdT	1374
S-3042	UUCAUGAGUUUGGAGAUACdTdT	1375
S-3043	UGAGUUUGGAGAUAAUACdTdT	1376
S-3044	GAGUUUGGAGAUAAUACdTdT	1377
S-3045	AGGCUGUACCAGUGCAGGCdTdT	1378

10

20

30

40

【表 8 - 3】

S-3046	GGCUGUACCAGUGCAGGUCdTdT	1379
S-3047	GCAGGUCCUCACUUUAAUCdTdT	1380
S-3048	CAGGUCCUCACUUUAAUCCdTdT	1381
S-3049	UCACUUUAAUCCUCUAUCCdTdT	1382
S-3050	CUAUCCAGAAAACACGGUCdTdT	1383
S-3051	UAUCCAGAAAACACGGUGCdTdT	1384
S-3052	AUCCAGAAAACACGGUGGCdTdT	1385
S-3053	CCAGAAAACACGGUGGGCCdTdT	1386
S-3054	GAAAACACGGUGGGCCAACdTdT	1387
S-3055	AAAACACGGUGGGCCAAACdTdT	1388
S-3056	CGGUGGGCCAAAGGAUGACdTdT	1389
S-3057	AGGAUGAAGAGAGGCAUGCdTdT	1390
S-3058	AUGAAGAGAGGCAUGUUGCdTdT	1391
S-3059	GAGAGGCAUGUUGGAGACCdTdT	1392
S-3060	AGAGGCAUGUUGGAGACUCdTdT	1393
S-3061	AUGUUGGAGACUUGGGCACdTdT	1394
S-3062	GUUGGAGACUUGGGCAAUCdTdT	1395
S-3063	GGAGACUUGGGCAAUGUGCdTdT	1396
S-3064	GGCAAUGUGACUGCUGACCdTdT	1397
S-3065	CAAUGUGACUGCUGACAACdTdT	1398
S-3066	CUGACAAAGAUGGUGUGGCdTdT	1399
S-3067	UGACAAAGAUGGUGUGGCCdTdT	1400
S-3068	CUCAGGAGACCAUUGCAUCdTdT	1401
S-3069	UCAGGAGACCAUUGCAUCCdTdT	1402
S-3070	AGACCAUUGCAUCAUUGGCdTdT	1403

【表 8 - 4】

S-3071	GACCAUUGCAUCAUUGGCCdTdT	1404
S-3072	AUUGCAUCAUUGGCCGCACdTdT	1405
S-3073	CAUUGGCCGCACACUGGUCdTdT	1406
S-3074	CGCACACUGGUGGUCCAUCdTdT	1407
S-3075	CACACUGGUGGUCCAUGACdTdT	1408
S-3076	ACACUGGUGGUCCAUGAACdTdT	1409
S-3077	UGGUGGUCCAUGAAAAAGCdTdT	1410
S-3078	UGGUCCAUGAAAAAGCAGCdTdT	1411
S-3079	AAAGCAGAUAGACUUGGGCCdTdT	1412
S-3080	GCAGAUAGACUUGGGCAAACdTdT	1413
S-3081	AUGACUUGGGCAAAGGUGCdTdT	1414
S-3082	UGACUUGGGCAAAGGUGGCdTdT	1415
S-3083	GACUUGGGCAAAGGUGGACdTdT	1416
S-3084	GUACAAAGACAGGAAACGCdTdT	1417
S-3085	ACAAAGACAGGAAACGCUCdTdT	1418
S-3086	CAAAGACAGGAAACGCUGCdTdT	1419
S-3087	AGGAAACGCUGGAAGUCGCdTdT	1420
S-3088	GUCGUUUGGCUUGUGGUGCdTdT	1421
S-3089	UCGUUUGGCUUGUGGUGUCdTdT	1422
S-3090	CGUUUGGCUUGUGGUGUACdTdT	1423
S-3091	GUUUGGCUUGUGGUGUAAACdTdT	1424
S-3092	UUGGCUUGUGGUGUAAUUCdTdT	1425
S-3093	GGCUUGUGGUGUAAUUGGCdTdT	1426
S-3094	GCUUGUGGUGUAAUUGGGCdTdT	1427
S-3095	CUUGUGGUGUAAUUGGGACdTdT	1428

【表 8 - 5】

S-3096	UGUGGUGUAAUUGGGAUCCdTdT	1429
S-3097	GUGGUGUAAUUGGGAUCGCdTdT	1430
S-3098	UGGUGUAAUUGGGAUCGCCdTdT	1431
S-3099	GUAAUUGGGAUCGCCCCAACdTdT	1432
S-3100	UAAUUGGGAUCGCCCCAAUCdTdT	1433
S-3101	AAUUGGGAUCGCCCCAAUACdTdT	1434
S-3102	AUUGGGAUCGCCCCAAUACdTdT	1435
S-3103	UUGGGAUCGCCCCAAUAAACdTdT	1436
S-3104	UGGGAUCGCCCCAAUAAACCdTdT	1437
S-3105	GGGAUCGCCCCAAUAAACACdTdT	1438
S-3106	AUCGCCCCAAUAAACAUUCCdTdT	1439
S-3107	CCAAUAAACAUUCCCUUGCdTdT	1440
S-3108	CAAUAAACAUUCCCUUGGCdTdT	1441
S-3109	AAUAAACAUUCCCUUGGACdTdT	1442
S-3110	AUAAACAUUCCCUUGGAUCdTdT	1443
S-3111	UAAACAUUCCCUUGGAUGCdTdT	1444
S-3112	AAACAUUCCCUUGGAUGUCdTdT	1445
S-3113	AACAUUCCCUUGGAUGUACdTdT	1446
S-3114	AUUCCCUUGGAUGUAGUCCdTdT	1447
S-3115	CUUGGAUGUAGUCUGAGGCdTdT	1448
S-3116	CUGAGGCCCCUUAACUCACdTdT	1449
S-3117	GAGGCCCCUUAACUCAUCCdTdT	1450
S-3118	AGGCCCCUUAACUCAUCUCdTdT	1451
S-3119	CCCCUUAACUCAUCUGUUCdTdT	1452
S-3120	CCCUUAACUCAUCUGUUCdTdT	1453

【表 8 - 6】

S-3121	CCUUAACUCAUCUGUUAUCdTdT	1454
S-3122	CUUAACUCAUCUGUUAUCCdTdT	1455
S-3123	UUAACUCAUCUGUUAUCCdTdT	1456
S-3124	UAACUCAUCUGUUAUCCUCdTdT	1457
S-3125	AACUCAUCUGUUAUCCUGCdTdT	1458
S-3126	GUUAUCCUGCUAGCUGUACdTdT	1459
S-3127	CUGCUAGCUGUAGAAAUGCdTdT	1460
S-3128	UGCUGCUGUAGAAAUGUCdTdT	1461
S-3129	GCUGUAGAAAUGUAUCCUCdTdT	1462
S-3130	CUGUAGAAAUGUAUCCUGCdTdT	1463
S-3131	UGUAGAAAUGUAUCCUGACdTdT	1464
S-3132	GUAGAAAUGUAUCCUGAUCdTdT	1465
S-3133	AAAUGUAUCCUGAUAAACdTdT	1466
S-3134	GUAUCCUGAUAAACAUUACdTdT	1467
S-3135	UUAAACACUGUAAUCUACdTdT	1468
S-3136	ACUGUAAUCUAAAAGUGCdTdT	1469
S-3137	CUGUAAUCUAAAAGUGUCdTdT	1470
S-3138	UGUAAUCUAAAAGUGUACdTdT	1471
S-3139	GUAAUCUAAAAGUGUACdTdT	1472
S-3140	CUUAAAAGUGUAAUUGUGCdTdT	1473
S-3141	UACCUGUAGUGAGAAACUCdTdT	1474
S-3142	UUAUGAUCACUUGGAAGACdTdT	1475
S-3143	AUGAUCACUUGGAAGAUUCdTdT	1476
S-3144	AUCACUUGGAAGAUUUGUCdTdT	1477
S-3145	UGGAAGAUUUGUAUAGUUCdTdT	1478

【表 8 - 7】

S-3146	UAUAAAACUCAGUUAACdTdT	1479
S-3147	AAACUCAGUUAUUAUGUCCdTdT	1480
S-3148	GUCUGUUUCAAUGACCGCdTdT	1481
S-3149	AUGACCGUAUUUUGCCACdTdT	1482
S-3150	ACCGUAUUUUGCCAGACdTdT	1483
S-3151	CCUGUAUUUUGCCAGACUCdTdT	1484
S-3152	UAAAUACAGAUUGGUAUCdTdT	1485
S-3153	AUCACAGAUUGGUAUUAACdTdT	1486
S-3154	UCACAGAUUGGUAUUAACdTdT	1487
S-3155	ACAGAUUGGUAUUAACUCdTdT	1488
S-3156	CAGAUUGGUAUUAACUUCdTdT	1489
S-3157	AGAUUGGUAUUAACUUGCdTdT	1490
S-3158	AUGGUAUUAACUUGUCCdTdT	1491
S-3159	UAAACUUGUCAGAAUUUCCdTdT	1492
S-3160	UCAUUAAGCCUGUGAAUCdTdT	1493
S-3161	CAUUAAGCCUGUGAAUACdTdT	1494
S-3162	AAUAAAAACCCUGUAUGGCdTdT	1495
S-3163	AUAAAAACCCUGUAUGGCCdTdT	1496
S-3164	AACCCUGUAUGGCACUUAACdTdT	1497
S-3165	ACCCUGUAUGGCACUUAUCdTdT	1498
S-3166	GAGGCUAUUAAAAGAAUCCdTdT	1499
S-3167	AAAGAAUCCAAAUCAAACdTdT	1500
S-3168	GAAUCCAAAUCAAACUACdTdT	1501

一実施形態において、SOD1を標的とする本発明のsiRNA分子は、表7からのアンチセンス配列および表8からのセンス配列、またはそれらの断片もしくは変異体を含み得る。非限定的な例として、アンチセンス配列およびセンス配列は、少なくとも30%、40%、50%、60%、70%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、

10

20

30

40

50

86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%または99%または少なくとも20~30%、20~40%、20~50%、20~60%、20~70%、20~80%、20~90%、20~95%、20~99%、30~40%、30~50%、30~60%、30~70%、30~80%、30~90%、30~95%、30~99%、40~50%、40~60%、40~70%、40~80%、40~90%、40~95%、40~99%、50~60%、50~70%、50~80%、50~90%、50~95%、50~99%、60~70%、60~80%、60~90%、60~95%、60~99%、70~80%、70~90%、70~95%、70~99%、80~90%、80~95%、80~99%、90~95%、90~99%または95~99%の相補性を有する。

10

【0428】

一実施形態において、SOD1を標的とする本発明のsiRNA分子は、表9に記載されるとおりのセンスおよびアンチセンスsiRNA二重鎖を含み得る。非限定的な例として、これらのsiRNA二重鎖は、内因性SOD1遺伝子発現に対するインビトロ阻害活性に関して試験されてもよい。センス配列およびアンチセンス配列の開始部位は、NCBIのNM_000454.4（配列番号1502）として公知であるSOD1遺伝子配列と比較される。

【0429】

【表 9 - 1】

表 9. SOD1 dsRNA のセンス鎖およびアンチセンス鎖配列

siRNA 二重鎖 ID	SS ID	センス鎖配列 (5'-3')	SS 配列 ID	AS ID	アンチセンス鎖 配列 (5'-3')	AS 配列 ID
D-2741	S-3000	CGGAGGUCUGGCCUA UACdTdT	1333	A-3000	UUUAUAGGCCAGA CCUCCGdTdT	1164
D-2742	S-3001	GGAGGUCUGGCCUAU AAACdTdT	1334	A-3001	UUUUUAGGCCAG ACCUCCdTdT	1165
D-2743	S-3002	GAGGUCUGGCCUAUA AAGCdTdT	1335	A-3002	UCUUUAGGCCA GACCUcdTdT	1166
D-2744	S-3003	AGGUCUGGCCUAUAA AGUCdTdT	1336	A-3003	UACUUUAGGCC AGACCUdTdT	1167
D-2745	S-3004	GGUCUGGCCUAUAAA GUACdTdT	1337	A-3004	UUACUUUAGGC CAGACcdTdT	1168
D-2746	S-3005	UCUGGCCUAUAAAGU AGUCdTdT	1338	A-3005	UACUACUUUAG GCCAGAdTdT	1169
D-2747	S-3006	CUGGCCUAUAAAGUA GUCCdTdT	1339	A-3006	UGACUACUUUA GGCCAGdTdT	1170
D-2748	S-3007	UGGCCUAUAAAGUAG UCGcdTdT	1340	A-3007	UCGACUACUUUA AGGCCAdTdT	1171
D-2749	S-3008	GGCCUAUAAAGUAGU CGCCdTdT	1341	A-3008	UGCGACUACUU UAGGCCdTdT	1172
D-2750	S-3009	GCCUAUAAAGUAGUC GCGcdTdT	1342	A-3009	UCGCGACUACUU AUAGGCdTdT	1173
D-2751	S-3010	CCUAUAAAGUAGUCG CGGcdTdT	1343	A-3010	UCCGCGACUACU UAUAGGdTdT	1174
D-2752	S-3011	GUCGUAGUCUCCUGC AGCCdTdT	1344	A-3011	UGCUGCAGGAGAC UACGACdTdT	1175
D-2753	S-3012	CGUAGUCUCCUGCAG CGUCdTdT	1345	A-3012	UACGUGCAGGAG ACUACGdTdT	1176
D-2754	S-3013	GUAGUCUCCUGCAGC GUCCdTdT	1346	A-3013	UGACGUGCAGGA GACUAdTdT	1177
D-2755	S-3014	UAGUCUCCUGCAGCG UCUCdTdT	1347	A-3014	UAGACGUGCAGG AGACUAdTdT	1178
D-2756	S-3015	AUGGCGACGAAGGCC GUGCdTdT	1348	A-3015	UCAGGCCUUCGU CGCCAUdTdT	1179
D-2757	S-3016	CGACGAAGGCCGUGU GCGcdTdT	1349	A-3016	UCGCACGCGCCU UCGUCGdTdT	1180
D-2758	S-3017	GAAGGCCGUGUGCGU GCUcdTdT	1350	A-3017	UAGCACGCACAG GCCUUCdTdT	1181
D-2759	S-3018	GGCCGUGUGCGUGCU GAACdTdT	1351	A-3018	UUUCAGCACGCAC ACGGCCdTdT	1182
D-2760	S-3019	AGGGCGACGGCCAG UGCCdTdT	1352	A-3019	UGCACUGGGCCGU CGCCUdTdT	1183
D-2761	S-3020	UGCAGGGCAUCAUCA AUUCdTdT	1353	A-3020	UAAUUGAUGAUG CCCUGCdTdT	1184
D-2762	S-3021	GCAGGGCAUCAUCAA UUUCdTdT	1354	A-3021	UAAUUGAUGAU GCCUGCdTdT	1185
D-2763	S-3022	AGGGCAUCAUCAAUU UCGcdTdT	1355	A-3022	UCGAAUUGAUGA UGCCUdTdT	1186
D-2764	S-3023	GGGCAUCAUCAAUUU CGACdTdT	1356	A-3023	UUCGAAUUGAU GAUGCCdTdT	1187
D-2765	S-3024	GGCAUCAUCAAUUUC GAGCdTdT	1357	A-3024	UCUCGAAUUGAU GAUGCCdTdT	1188

【表 9 - 2】

D-2766	S-3025	GCAUCAUCAAUUUCG AGCCdTdT	1358	A-3025	UGCUCGAAAUUGA UGAUGCdTdT	1189
D-2767	S-3026	CAUCAUCAAUUUCGA GCACdTdT	1359	A-3026	UUGCUCGAAAUUG AUGAUGdTdT	1190
D-2768	S-3027	AAUUUCGAGCAGAAG GAACdTdT	1360	A-3027	UUUCCUUCUGCUC GAAAUdTdT	1191
D-2769	S-3028	UUCGAGCAGAAGGAA AGUCdTdT	1361	A-3028	UACUUUCCUUCUG CUCGAAdTdT	1192
D-2770	S-3029	UCGAGCAGAAGGAAA GUACdTdT	1362	A-3029	UUACUUUCCUUCU GCUCGAdTdT	1193
D-2771	S-3030	AAGGUGUGGGGAAGC AUUCdTdT	1363	A-3030	UAAUGCUUCCCCA CACCUdTdT	1194
D-2772	S-3031	GGUGUGGGGAAGCAU UAACdTdT	1364	A-3031	UUUAAUGCUUCCC CACACdTdT	1195
D-2773	S-3032	GACUGACUGAAGGCC UGCCdTdT	1365	A-3032	UGCAGGCCUUCAG UCAGUCdTdT	1196
D-2774	S-3033	CUGACUGAAGGCCUG CAUCdTdT	1366	A-3033	UAUGCAGGCCUUC AGUCAGdTdT	1197
D-2775	S-3034	UGACUGAAGGCCUGC AUGCdTdT	1367	A-3034	UCAUGCAGGCCUU CAGUCAdTdT	1198
D-2776	S-3035	UGAAGGCCUGCAUGG AUUCdTdT	1368	A-3035	UAAUCCAUGCAGG CCUUCAdTdT	1199
D-2777	S-3036	GAAGGCCUGCAUGGA UUCdTdT	1369	A-3036	UGAAUCCAUGCAG GCCUUCdTdT	1200
D-2778	S-3037	UGCAUGGAUCCAUG UUCdTdT	1370	A-3037	UGAACAUGGAAUC CAUGCAdTdT	1201
D-2779	S-3038	CAUGGAUCCAUGUU CAUCdTdT	1371	A-3038	UAUGAACAUGGAA UCCAUGdTdT	1202
D-2780	S-3039	GGAUUCCAUGUUCAU GAGCdTdT	1372	A-3039	UCUCAUGAACAU GAAUCCdTdT	1203
D-2781	S-3040	UUCCAUGUUCAGAG UUUCdTdT	1373	A-3040	UAAACUCAUGAAC AUGGAAdTdT	1204
D-2782	S-3041	GUUCAUGAGUUUGGA GAUCdTdT	1374	A-3041	UAUCUCAAACUC AUGAACdTdT	1205
D-2783	S-3042	UUCAUGAGUUUGGAG AUACdTdT	1375	A-3042	UUAUUCCAAACU CAUGAAdTdT	1206
D-2784	S-3043	UGAGUUUGGAGAUAA UACCdTdT	1376	A-3043	UGUAUUUUCUCCA AACUCAdTdT	1207
D-2785	S-3044	GAGUUUGGAGAUAAU ACACdTdT	1377	A-3044	UUGUAUUUUCUCC AAACUCdTdT	1208
D-2786	S-3045	AGGCGUACAGUGC AGGCdTdT	1378	A-3045	UCCUGCACUGGUA CAGCCUdTdT	1209
D-2787	S-3046	GGCUGUACAGUGCA GGUCdTdT	1379	A-3046	UACCUGCACUGGU ACAGCCdTdT	1210
D-2788	S-3047	GCAGGUCCUCACUUU AAUCdTdT	1380	A-3047	UAUUAAAGUGAG GACCUGCdTdT	1211
D-2789	S-3048	CAGGUCCUCACUUUA AUCCdTdT	1381	A-3048	UGAUUAAAGUGA GGACCUGdTdT	1212
D-2790	S-3049	UCACUUUAAUCCUCU AUCCdTdT	1382	A-3049	UGAUAGAGGAUU AAAGUGAdTdT	1213
D-2791	S-3050	CUAUCCAGAAAACAC GGUCdTdT	1383	A-3050	UACCGUGUUUUC UGGAUAGdTdT	1214
D-2792	S-3051	UAUCCAGAAAACACG GUGCdTdT	1384	A-3051	UCACCGUGUUUUC UGGAUAdTdT	1215
D-2793	S-3052	AUCCAGAAAACACGG UGGCdTdT	1385	A-3052	UCCACCGUGUUUU CUGGAUdTdT	1216
D-2794	S-3053	CCAGAAAACACGGUG GGCCdTdT	1386	A-3053	UGCCACCGUGUU UUCUGGdTdT	1217
D-2795	S-3054	GAAAACACGGUGGGC CAACdTdT	1387	A-3054	UUUGGCCACCGU GUUUUCdTdT	1218

【表 9 - 3】

D-2796	S-3055	AAAACACGGUGGGCC AAACdTdT	1388	A-3055	UUUUGGCCACCG UGUUUdTdT	1219
D-2797	S-3056	CGGUGGGCCAAAGGA UGACdTdT	1389	A-3056	UUCAUCCUUUGGC CCACCGdTdT	1220
D-2798	S-3057	AGGAUGAAGAGAGGC AUGCdTdT	1390	A-3057	UCAUGCCUCUCUU CAUCCdTdT	1221
D-2799	S-3058	AUGAAGAGAGGCAUG UUGCdTdT	1391	A-3058	UCAACAUGCCUCU CUUCAdTdT	1222
D-2800	S-3059	GAGAGGCAUGUUGGA GACCdTdT	1392	A-3059	UGUCUCCAACAUG CCUCUCdTdT	1223
D-2801	S-3060	AGAGGCAUGUUGGAG ACUCdTdT	1393	A-3060	UAGUCUCCAACAU GCCUCdTdT	1224
D-2802	S-3061	AUGUUGGAGACUUGG GCACdTdT	1394	A-3061	UUGCCCAAGUCUC CAACAdTdT	1225
D-2803	S-3062	GUUGGAGACUUGGGC AAUCdTdT	1395	A-3062	UAUUGCCCAAGUC UCCAACdTdT	1226
D-2804	S-3063	GGAGACUUGGGCAAU GUGCdTdT	1396	A-3063	UCACAUUGCCCAA GUCUCCdTdT	1227
D-2805	S-3064	GGCAAUGUGACUGCU GACCdTdT	1397	A-3064	UGUCAGCAGUCAC AUUGCCdTdT	1228
D-2806	S-3065	CAAUGUGACUGCUGA CAACdTdT	1398	A-3065	UUUGUCAGCAGUC ACAUUGdTdT	1229
D-2807	S-3066	CUGACAAAGAUGGUG UGGCdTdT	1399	A-3066	UCCACACCAUCUU UGUCAGdTdT	1230
D-2808	S-3067	UGACAAAGAUGGUGU GGCCdTdT	1400	A-3067	UGCCACCAUCAU UUGUCdTdT	1231
D-2809	S-3068	CUCAGGAGACCAUUG CAUCdTdT	1401	A-3068	UAUGCAAUGGUCU CCUGAGdTdT	1232
D-2810	S-3069	UCAGGAGACCAUUGC AUCCdTdT	1402	A-3069	UGAUGCAAUGGUC UCCUGAdTdT	1233
D-2811	S-3070	AGACCAUUGCAUCAU UGGCdTdT	1403	A-3070	UCCAAUGAUGCAA UGGUCdTdT	1234
D-2812	S-3071	GACCAUUGCAUCAUU GGCCdTdT	1404	A-3071	UGCCAAUGAUGCA AUGGUCdTdT	1235
D-2813	S-3072	AUUGCAUCAUUGGCC GCACdTdT	1405	A-3072	UUGCGGCCAAUGA UGCAAUdTdT	1236
D-2814	S-3073	CAUUGGCCGCACACU GGUCdTdT	1406	A-3073	UACCAGUGUGCGG CCAAUGdTdT	1237
D-2815	S-3074	CGCACACUGGUGGUC CAUCdTdT	1407	A-3074	UAUGGACCACCAG UGUGCGdTdT	1238
D-2816	S-3075	CACACUGGUGGUCCA UGACdTdT	1408	A-3075	UUCAUGGACCACC AGUGUGdTdT	1239
D-2817	S-3076	ACACUGGUGGUCCA GAACdTdT	1409	A-3076	UUUCAUGGACCAC CAGUGdTdT	1240
D-2818	S-3077	UGGUGGUCCAUGAAA AAGCdTdT	1410	A-3077	UCUUUUUCAUGG ACCACCdTdT	1241
D-2819	S-3078	UGGUCCAUGAAAAAG CAGCdTdT	1411	A-3078	UCUGCUUUUUA UGGACCdTdT	1242
D-2820	S-3079	AAAGCAGAUACUUG GGCCdTdT	1412	A-3079	UGCCCAAGUCAUC UGCUUdTdT	1243
D-2821	S-3080	GCAGAUACUUGGGC AAACdTdT	1413	A-3080	UUUUGCCCAAGUC AUCUGCdTdT	1244
D-2822	S-3081	AUGACUUGGGCAAAG GUGCdTdT	1414	A-3081	UCACCUUUGCCCA AGUCAUdTdT	1245
D-2823	S-3082	UGACUUGGGCAAAGG UGGCdTdT	1415	A-3082	UCCACCUUUGCCC AAGUCdTdT	1246
D-2824	S-3083	GACUUGGGCAAAGGU GGACdTdT	1416	A-3083	UCCACCUUUGCC CAAGUCdTdT	1247
D-2825	S-3084	GUACAAAGACAGGAA ACGCdTdT	1417	A-3084	UCGUUCCUGUCU UUGUACdTdT	1248

【表 9 - 4】

D-2826	S-3085	ACAAAGACAGGAAAC GCUCdTdT	1418	A-3085	UAGCGUUUCCUGU CUUUGdTdT	1249
D-2827	S-3086	CAAAGACAGGAAACG CUGCdTdT	1419	A-3086	UCAGCGUUUCCUG UCUUUGdTdT	1250
D-2828	S-3087	AGGAAACGUGGAAG UCGCdTdT	1420	A-3087	UCGACUUCAGCG UUUCCdTdT	1251
D-2829	S-3088	GUCGUUUGGCUUGU GGUGCdTdT	1421	A-3088	UCACCACAAGCCA AACGACdTdT	1252
D-2830	S-3089	UCGUUUGGCUUGUG GUGUCdTdT	1422	A-3089	UACACCACAAGCC AAACGAdTdT	1253
D-2831	S-3090	CGUUUGGCUUGUGG UGUACdTdT	1423	A-3090	UUACACCACAAGC CAAACGdTdT	1254
D-2832	S-3091	GUUUGGCUUGUGGU GUAACdTdT	1424	A-3091	UUUACACCACAAG CCAACdTdT	1255
D-2833	S-3092	UUGGCUUGUGUGU AAUUCdTdT	1425	A-3092	UAAUUACACCACA AGCCAAdTdT	1256
D-2834	S-3093	GGCUUGUGGUGUAA UUGGCdTdT	1426	A-3093	UCCAAUUACACCA CAAGCCdTdT	1257
D-2835	S-3094	GCUUGUGGUGUAAU UGGGCdTdT	1427	A-3094	UCCCAUUACACC ACAAGCdTdT	1258
D-2836	S-3095	CUUGUGGUGUAAU GGGACdTdT	1428	A-3095	UUCCCAUUACAC CACAAGdTdT	1259
D-2837	S-3096	UGUGGUGUAAUUGG GAUCCdTdT	1429	A-3096	UGAUCCCAUUAC ACCACAdTdT	1260
D-2838	S-3097	GUGGUGUAAUUGGG AUCGCdTdT	1430	A-3097	UCGAUCCCAUUA CACCACdTdT	1261
D-2839	S-3098	UGGUGUAAUUGGGA UCGCCdTdT	1431	A-3098	UGCGAUCCCAUUA ACACCAdTdT	1262
D-2840	S-3099	GUAAUUGGGAUCGCC CAACdTdT	1432	A-3099	UUUGGGCGAUCCC AAUUAAdTdT	1263
D-2841	S-3100	UAAUUGGGAUCGCC AAUCdTdT	1433	A-3100	UAUUGGGCGAUCC CAAUUAAdTdT	1264
D-2842	S-3101	AAUUGGGAUCGCCCA AUACdTdT	1434	A-3101	UUUUUGGGCGAU CCCAUUAAdTdT	1265
D-2843	S-3102	AUUGGGAUCGCCCAA UAACdTdT	1435	A-3102	UUUAUUGGGCGA UCCCAUAdTdT	1266
D-2844	S-3103	UUGGGAUCGCCCAAU AAACdTdT	1436	A-3103	UUUUUUGGGCG AUCCCAAdTdT	1267
D-2845	S-3104	UGGGAUCGCCCAAUA AACCdTdT	1437	A-3104	UGUUUUUUGGGC GAUCCCAAdTdT	1268
D-2846	S-3105	GGGAUCGCCCAAUA ACACdTdT	1438	A-3105	UUGUUUUUUGGG CGAUCCCAAdTdT	1269
D-2847	S-3106	AUCGCCCAAUAACA UUCdTdT	1439	A-3106	UGAAUGUUUAUU GGGCGAUdTdT	1270
D-2848	S-3107	CCAUAACAUAUCCCU UGCdTdT	1440	A-3107	UCAAGGGAAUGU UUUUUGdTdT	1271
D-2849	S-3108	CAUAACAUAUCCCU UGGCdTdT	1441	A-3108	UCCAAGGGAAUGU UUUUUGdTdT	1272
D-2850	S-3109	AAUAAACAUAUCCCU GGACdTdT	1442	A-3109	UUCCAAGGGAAUG UUUUUAdTdT	1273
D-2851	S-3110	AUAAACAUAUCCCUUG GAUCdTdT	1443	A-3110	UAUCCAAGGGAAU GUUUUAdTdT	1274
D-2852	S-3111	UAAACAUAUCCCUUGG AUGCdTdT	1444	A-3111	UCAUCCAAGGGAA UGUUUAdTdT	1275
D-2853	S-3112	AAACAUAUCCCUUGGA UGUCdTdT	1445	A-3112	UACAUCCAAGGGGA AUGUUUAdTdT	1276
D-2854	S-3113	AACAUAUCCCUUGGAU GUACdTdT	1446	A-3113	UUACAUCCAAGGG AAUGUUAdTdT	1277
D-2855	S-3114	AUUCUUUGGAUGUA GUCCdTdT	1447	A-3114	UGACUACAUCCAA GGGAUAdTdT	1278

【表 9 - 5】

D-2856	S-3115	CUUGGAUGUAGUCUG AGGCdTdT	1448	A-3115	UCCUCAGACUACA UCCAAGdTdT	1279
D-2857	S-3116	CUGAGGCCCUAAC UCACdTdT	1449	A-3116	UUGAGUUAAGGG GCCUCAGdTdT	1280
D-2858	S-3117	GAGGCCCUAACUC AUCCdTdT	1450	A-3117	UGAUGAGUUAAG GGGCCUCdTdT	1281
D-2859	S-3118	AGGCCCUUAACUCA UCUCdTdT	1451	A-3118	UAGAUGAGUUA GGGGCCUdTdT	1282
D-2860	S-3119	CCCCUUAACUCAUCU GUUCdTdT	1452	A-3119	UAACAGAUAGUU AAGGGdTdT	1283
D-2861	S-3120	CCCUUAACUCAUCUG UUACdTdT	1453	A-3120	UUAACAGAUAGU UAAGGGdTdT	1284
D-2862	S-3121	CCUUAACUCAUCUGU UAUCdTdT	1454	A-3121	UAUAACAGAUAG UUAAGdTdT	1285
D-2863	S-3122	CUUAACUCAUCUGUU AUCCdTdT	1455	A-3122	UGAUAAACAGAGA GUUAAGdTdT	1286
D-2864	S-3123	UUAACUCAUCUGUUA UCCdTdT	1456	A-3123	UGGAUAACAGAU AGUUAAdTdT	1287
D-2865	S-3124	UAACUCAUCUGUUAU CCUCdTdT	1457	A-3124	UAGGAUAACAGAU GAGUUAAdTdT	1288
D-2866	S-3125	AACUCAUCUGUUAUC CUGCdTdT	1458	A-3125	UCAGGAUAACAGA UGAGUUAAdTdT	1289
D-2867	S-3126	GUUAUCCUGCUAGCU GUACdTdT	1459	A-3126	UUACAGCUAGCAG GAUAACdTdT	1290
D-2868	S-3127	CUGCUAGCUAGAGAA AUGCdTdT	1460	A-3127	UCAUUUCUACAGC UAGCAGdTdT	1291
D-2869	S-3128	UGCUAGCUGUAGAAA UGUCdTdT	1461	A-3128	UACAUUUCUACAG CUAGCAdTdT	1292
D-2870	S-3129	GCUGUAGAAUGUAU CCUCdTdT	1462	A-3129	UAGGAUACAUUUC UACAGCdTdT	1293
D-2871	S-3130	CUGUAGAAUGUAUC CUGCdTdT	1463	A-3130	UCAGGAUACAUUU CUACAGdTdT	1294
D-2872	S-3131	UGUAGAAUGUAUCC UGACdTdT	1464	A-3131	UUCAGGAUACAUU UCUACAdTdT	1295
D-2873	S-3132	GUAGAAUGUAUCCU GAUCdTdT	1465	A-3132	UAUCAGGAUACAU UUCUACdTdT	1296
D-2874	S-3133	AAAUUGUAUCCUGAUA AACdTdT	1466	A-3133	UGUUUAUCAGGA UACAUUUAAdTdT	1297
D-2875	S-3134	GUAUCCUGUAAACA UUACdTdT	1467	A-3134	UUAAUGUUUAUC AGGAUACdTdT	1298
D-2876	S-3135	UUAACACUGUAAUC UUACdTdT	1468	A-3135	UUAAGAUUACAGU GUUUAAdTdT	1299
D-2877	S-3136	ACUGUAAUCUAAAA GUGCdTdT	1469	A-3136	UCACUUUAAGAU UACAGUdTdT	1300
D-2878	S-3137	CUGUAAUCUAAAAAG UGUCdTdT	1470	A-3137	UACACUUUAAGA UUACAGdTdT	1301
D-2879	S-3138	UGUAAUCUAAAAAGU GUACdTdT	1471	A-3138	UUACACUUUAAG AUUACAdTdT	1302
D-2880	S-3139	GUAAUCUAAAAAGUG UAACdTdT	1472	A-3139	UUUACACUUUAAG GAUUACdTdT	1303
D-2881	S-3140	CUUAAAAGUGUAAUU GUGCdTdT	1473	A-3140	UCACAAUUACACU UUUAAGdTdT	1304
D-2882	S-3141	UACCUGUAGUGAGAA ACUCdTdT	1474	A-3141	UAGUUUCUCACUA CAGGUAdTdT	1305
D-2883	S-3142	UUAUGAUCACUUGGA AGACdTdT	1475	A-3142	UUCUCCAAGUGA UCAUAAdTdT	1306
D-2884	S-3143	AUGAUCACUUGGAAG AUUCdTdT	1476	A-3143	UAAUCUCCAAGU GAUCAUdTdT	1307
D-2885	S-3144	AUCACUUGGAAGAUU UGUCdTdT	1477	A-3144	UACAAAUCUCCA AGUGAUdTdT	1308

【表 9 - 6】

D-2886	S-3145	UGGAAGAUUUGUAUA GUUCdTdT	1478	A-3145	UAACUAUACAAAU CUUCCdTdT	1309
D-2887	S-3146	UAUAAAACUCAGUUA AAACdTdT	1479	A-3146	UUUUUAACUGAG UUUUUAUAdTdT	1310
D-2888	S-3147	AAACUCAGUUAUUUU GUCCdTdT	1480	A-3147	UGACAUUUUAACU GAGUUUdTdT	1311
D-2889	S-3148	GUCUGUUUCAAUGAC CUGCdTdT	1481	A-3148	UCAGGUCAUUGAA ACAGCdTdT	1312
D-2890	S-3149	AUGACCUGUAUUUUUG CCACdTdT	1482	A-3149	UUGGCAAAAUACA GGUCAUdTdT	1313
D-2891	S-3150	ACCUGUAUUUUUGCCA GACCdTdT	1483	A-3150	UGUCUGGCAAAAU ACAGGUdTdT	1314
D-2892	S-3151	CCUGUAUUUUUGCCAG ACUCdTdT	1484	A-3151	UAGUCUGGCAAAA UACAGGdTdT	1315
D-2893	S-3152	UAAAUACAGAUUGGG UAUCdTdT	1485	A-3152	UAUACCAUCUGU GAUUUAdTdT	1316
D-2894	S-3153	AUCACAGAUUGGGUAU UAACdTdT	1486	A-3153	UUUAAUACCAUC UGUGAUdTdT	1317
D-2895	S-3154	UCACAGAUUGGGUAUU AAACdTdT	1487	A-3154	UUUUAAUACCAU CUGUGAdTdT	1318
D-2896	S-3155	ACAGAUUGGGUAUUAA ACUCdTdT	1488	A-3155	UAGUUUAAUACCC AUCUGUdTdT	1319
D-2897	S-3156	CAGAUUGGGUAUUAAA CUUCdTdT	1489	A-3156	UAAGUUUAAUACC CAUCUGdTdT	1320
D-2898	S-3157	AGAUGGGUAUUAAAC UUGCdTdT	1490	A-3157	UCAAGUUUAAUAC CCAUCdTdT	1321
D-2899	S-3158	AUGGGUAUUAAACUU GUCCdTdT	1491	A-3158	UGACAAGUUUAAU ACCAUdTdT	1322
D-2900	S-3159	UAAACUUGUCAGAAU UUCCdTdT	1492	A-3159	UGAAAUUCUGACA AGUUUAdTdT	1323
D-2901	S-3160	UCAUUCAGCCUGUG AAUCdTdT	1493	A-3160	UAUUCACAGGCUU GAAUGAdTdT	1324
D-2902	S-3161	CAUUCAGCCUGUGA AUACdTdT	1494	A-3161	UUAUUCACAGGCU UGAAUGdTdT	1325
D-2903	S-3162	AAUAAAAACCCUGUA UGGCdTdT	1495	A-3162	UCCAUCAGGGUU UUUAUUdTdT	1326
D-2904	S-3163	AUAAAAACCCUGUAU GGCCdTdT	1496	A-3163	UGCAUACAGGGU UUUUAUdTdT	1327
D-2905	S-3164	AACCCUGUAUGGCAC UUACdTdT	1497	A-3164	UUAAGUGCCAUAC AGGGUUdTdT	1328
D-2906	S-3165	ACCCUGUAUGGCACU UAUCdTdT	1498	A-3165	UAUAAGUGCCAU CAGGGUdTdT	1329
D-2907	S-3166	GAGGCUAUUAAAAGA AUCCdTdT	1499	A-3166	UGAUUCUUUUAA UAGCCUCdTdT	1330
D-2908	S-3167	AAAGAAUCCAAUUC AAACdTdT	1500	A-3167	UUUUGAAUUUGG AUUCUUUdTdT	1331
D-2909	S-3168	GAAUCCAAAUUCAA CUACdTdT	1501	A-3168	UUAGUUUGAAUU UGGAUUCdTdT	1332

10

20

30

40

他の実施形態において、SOD1を標的とする本発明のsiRNA分子は、細胞への送達用のプラスミドベクター、AAV粒子、ウイルゲノムまたは他の核酸発現ベクターにコードすることができる。

【0435】

DNA発現プラスミドを使用して、SOD1を標的とする本発明のsiRNA二重鎖またはdsRNAを細胞内で安定的に発現させ、標的遺伝子発現の長期阻害を実現することができる。一態様において、siRNA二重鎖のセンス鎖とアンチセンス鎖とは、典型的には、短いスペーサ配列によって連結され、低分子ヘアピンRNA（shRNA）と呼ばれるステムループ構造の発現をもたらす。ヘアピンはダイサーによって認識および切断

50

され、そのようにして成熟 s i R N A 分子が生じる。

【0436】

本発明によれば、S O D 1 mRNA を標的とする s i R N A 分子をコードする核酸を含む A A V 粒子が産生され、A A V 血清型は、表 1 に挙げられる血清型のいずれであってもよい。A A V 血清型の非限定的な例としては、A A V 1、A A V 2、A A V 3、A A V 4、A A V 5、A A V 6、A A V 7、A A V 8、A A V 9、A A V 9. 47、A A V 9 (h u 1 4)、A A V 10、A A V 11、A A V 12、A A V r h 8、A A V r h 10、A A V - D J 8、A A V - D J、A A V - P H P. A、A A V - P H P. B、A A V P H P. B 2、A A V P H P. B 3、A A V P H P. N / P H P. B - D G T、A A V P H P. B - E S T、A A V P H P. B - G G T、A A V P H P. B - A T P、A A V P H P. B - A T T - T、A A V P H P. B - D G T - T、A A V P H P. B - G G T - T、A A V P H P. B - S G S、A A V P H P. B - A Q P、A A V P H P. B - Q Q P、A A V P H P. B - S N P (3)、A A V P H P. B - S N P、A A V P H P. B - Q G T、A A V P H P. B - N Q T、A A V P H P. B - E G S、A A V P H P. B - S G N、A A V P H P. B - E G T、A A V P H P. B - D S T、A A V P H P. B - D S T、A A V P H P. B - S T P、A A V P H P. B - P Q P、A A V P H P. B - S Q P、A A V P H P. B - Q L P、A A V P H P. B - T M P、A A V P H P. B - T T P、A A V P H P. S / G 2 A 1 2、A A V G 2 A 1 5 / G 2 A 3、A A V G 2 B 4、A A V G 2 B 5 およびそれらのバリエーションが挙げられる。

【0437】

一部の実施形態において、本発明の s i R N A 二重鎖またはコード化 d s R N A は、S O D 1 mRNA を抑制（または分解）する。したがって、本 s i R N A 二重鎖またはコード化 d s R N A を使用して、細胞における S O D 1 遺伝子発現を実質的に阻害することができる。一部の態様において、S O D 1 遺伝子発現の阻害とは、少なくとも約 20 %、好ましくは少なくとも約 30 %、40 %、50 %、60 %、70 %、80 %、85 %、90 %、95 % および 100 %、または少なくとも 20 ~ 30 %、20 ~ 40 %、20 ~ 50 %、20 ~ 60 %、20 ~ 70 %、20 ~ 80 %、20 ~ 90 %、20 ~ 95 %、20 ~ 100 %、30 ~ 40 %、30 ~ 50 %、30 ~ 60 %、30 ~ 70 %、30 ~ 80 %、30 ~ 90 %、30 ~ 95 %、30 ~ 100 %、40 ~ 50 %、40 ~ 60 %、40 ~ 70 %、40 ~ 80 %、40 ~ 90 %、40 ~ 95 %、40 ~ 100 %、50 ~ 60 %、50 ~ 70 %、50 ~ 80 %、50 ~ 90 %、50 ~ 95 %、50 ~ 100 %、60 ~ 70 %、60 ~ 80 %、60 ~ 90 %、60 ~ 95 %、60 ~ 100 %、70 ~ 80 %、70 ~ 90 %、70 ~ 95 %、70 ~ 100 %、80 ~ 90 %、80 ~ 95 %、80 ~ 100 %、90 ~ 95 %、90 ~ 100 % または 95 ~ 100 % の阻害を指す。したがって、標的遺伝子のタンパク質産物は、少なくとも約 20 %、好ましくは少なくとも約 30 %、40 %、50 %、60 %、70 %、80 %、85 %、90 %、95 % および 100 %、または少なくとも 20 ~ 30 %、20 ~ 40 %、20 ~ 50 %、20 ~ 60 %、20 ~ 70 %、20 ~ 80 %、20 ~ 90 %、20 ~ 95 %、20 ~ 100 %、30 ~ 40 %、30 ~ 50 %、30 ~ 60 %、30 ~ 70 %、30 ~ 80 %、30 ~ 90 %、30 ~ 95 %、30 ~ 100 %、40 ~ 50 %、40 ~ 60 %、40 ~ 70 %、40 ~ 80 %、40 ~ 90 %、40 ~ 95 %、40 ~ 100 %、50 ~ 60 %、50 ~ 70 %、50 ~ 80 %、50 ~ 90 %、50 ~ 95 %、50 ~ 100 %、60 ~ 70 %、60 ~ 80 %、60 ~ 90 %、60 ~ 95 %、60 ~ 100 %、70 ~ 80 %、70 ~ 90 %、70 ~ 95 %、70 ~ 100 %、80 ~ 90 %、80 ~ 95 %、80 ~ 100 %、90 ~ 95 %、90 ~ 100 % または 95 ~ 100 % 阻害され得る。

【0438】

本発明によれば、s i R N A 分子は、培養細胞での S O D 1 mRNA レベルを低下させるように設計され、それらの能力に関して試験される。かかる s i R N A 分子は、限定はされないが、表 9 に挙げられるものなどが挙げられ、二重鎖を形成し得る。非限定的な例として、s i R N A 二重鎖は s i R N A 二重鎖 I D : D - 2741 ~ D - 2909 であ

ってもよい。

【0439】

一実施形態において、s i R N A分子は、ガイド鎖に位置するS O D 1に対するm i R N Aシードマッチを含む。別の実施形態において、s i R N A分子は、パッセンジャー鎖に位置するS O D 1に対するm i R N Aシードマッチを含む。更に別の実施形態において、S O D 1遺伝子を標的とするs i R N A二重鎖またはコード化d s R N Aは、ガイド鎖またはパッセンジャー鎖に位置するS O D 1に対するシードマッチを含まない。

【0440】

一実施形態において、S O D 1遺伝子を標的とするs i R N A二重鎖またはコード化d s R N Aは、ガイド鎖について有意な完全長オフターゲット効果をほぼ有しないものであり得る。別の実施形態において、S O D 1遺伝子を標的とするs i R N A二重鎖またはコード化d s R N Aは、パッセンジャー鎖について有意な完全長オフターゲット効果をほぼ有しないものであり得る。S O D 1遺伝子を標的とするs i R N A二重鎖またはコード化d s R N Aは、パッセンジャー鎖について1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、1~5%、2~6%、3~7%、4~8%、5~9%、5~10%、6~10%、5~15%、5~20%、5~25%、5~30%、10~20%、10~30%、10~40%、10~50%、15~30%、15~40%、15~45%、20~40%、20~50%、25~50%、30~40%、30~50%、35~50%、40~50%、45~50%未満の完全長オフターゲット効果を有し得る。更に別の実施形態において、S O D 1遺伝子を標的とするs i R N A二重鎖またはコード化d s R N Aは、ガイド鎖またはパッセンジャー鎖について有意な完全長オフターゲット効果をほぼ有しないものであり得る。S O D 1遺伝子を標的とするs i R N A二重鎖またはコード化d s R N Aは、ガイド鎖またはパッセンジャー鎖について、1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、1~5%、2~6%、3~7%、4~8%、5~9%、5~10%、6~10%、5~15%、5~20%、5~25%、5~30%、10~20%、10~30%、10~40%、10~50%、15~30%、15~40%、15~45%、20~40%、20~50%、25~50%、30~40%、30~50%、35~50%、40~50%、45~50%未満の完全長オフターゲット効果を有し得る。

【0441】

一実施形態において、S O D 1遺伝子を標的とするs i R N A二重鎖またはコード化d s R N Aは、インビトロで高い活性を有し得る。別の実施形態において、s i R N A分子は、インビトロで低い活性を有し得る。更に別の実施形態において、S O D 1遺伝子を標的とするs i R N A二重鎖またはd s R N Aは、インビトロで高いガイド鎖活性および低いパッセンジャー鎖活性を有し得る。

【0442】

一実施形態において、S O D 1を標的とするs i R N A分子はインビトロで高いガイド鎖活性および低いパッセンジャー鎖活性を有する。ガイド鎖による標的ノックダウン(K D)は、少なくとも40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、99%、99.5%または100%であり得る。ガイド鎖による標的ノックダウンは、40~50%、45~50%、50~55%、50~60%、60~65%、60~70%、60~75%、60~80%、60~85%、60~90%、60~95%、60~99%、60~99.5%、60~100%、65~70%、65~75%、65~80%、65~85%、65~90%、65~95%、65~99%、65~99.5%、65~100%、70~75%、70~80%、70~85%、70~90%、70~95%、70~99%、70~99.5%、70~100%、75~80%、75~85%、75~90%、75~95%、75~99%、75~99.5%、75~100%、80~85%、80~90%、80~95%、80~99%、80~99.5%、80~100%、

10

20

30

40

50

5 %、80～100 %、85～90 %、85～95 %、85～99 %、85～99.5 %、85～100 %、90～95 %、90～99 %、90～99.5 %、90～100 %、95～99 %、95～99.5 %、95～100 %、99～99.5 %、99～100 %または99.5～100 %であり得る。非限定的な例として、ガイド鎖による標的ノックダウン (KD) は、70 %よりも大きい。非限定的な例として、ガイド鎖による標的ノックダウン (KD) は、60 %よりも大きい。

【0443】

一実施形態において、siRNA二重鎖標的SOD1は、センス配列またはアンチセンス配列について非SOD1配列に対するmiRNAシードマッチがないように設計される。

10

【0444】

一実施形態において、最も近いオフターゲットに対する、SOD1を標的とするsiRNA二重鎖のガイド鎖のIC₅₀は、オンターゲット遺伝子、SOD1に対するガイド鎖のIC₅₀の100倍よりも高い。非限定的な例として、最も近いオフターゲットに対するガイド鎖のIC₅₀が標的に対するガイド鎖のIC₅₀の100倍よりも高い場合、そのsiRNA分子は、インビトロでのSOD1の阻害に高いガイド鎖選択性を有すると言われる。

【0445】

一実施形態において、SOD1を標的とするsiRNA二重鎖のガイド鎖の5'プロセシングは、インビトロまたはインビボで、少なくとも75 %、80 %、85 %、90 %、95 %、99 %または100 %の確率で5'末端に正しい開始(n)を有する。非限定的な例として、ガイド鎖の5'プロセシングは正確であり、インビトロで少なくとも99 %の確率で5'末端に正しい開始(n)を有する。非限定的な例として、ガイド鎖の5'プロセシングは正確であり、インビボで少なくとも99 %の確率で5'末端に正しい開始(n)を有する。非限定的な例として、ガイド鎖の5'プロセシングは正確であり、インビボで少なくとも90 %の確率で5'末端に正しい開始(n)を有する。非限定的な例として、ガイド鎖の5'プロセシングは正確であり、インビボで少なくとも90 %の確率で5'末端に正しい開始(n)を有する。非限定的な例として、ガイド鎖の5'プロセシングは正確であり、インビボで少なくとも85 %の確率で5'末端に正しい開始(n)を有する。非限定的な例として、ガイド鎖の5'プロセシングは正確であり、インビボで少なくとも85 %の確率で5'末端に正しい開始(n)を有する。

20

30

【0446】

一実施形態において、SOD1に対するパッセンジャー鎖ーガイド鎖二重鎖は、pri-miRNAまたはpre-miRNAが、当該技術分野において公知のおよび本明細書に記載される方法により、プロセシングを測定したとき2倍より高いガイド鎖対パッセンジャー鎖比を示す場合に有効と見なされる。非限定的な例として、pri-miRNAまたはpre-miRNAは、プロセシングを測定したとき、2倍、3倍、4倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、11倍、12倍、13倍、14倍、15倍より高い、または2～5倍、2～10倍、2～15倍、3～5倍、3～10倍、3～15倍、4～5倍、4～10倍、4～15倍、5～10倍、5～15倍、6～10倍、6～15倍、7～10倍、7～15倍、8～10倍、8～15倍、9～10倍、9～15倍、10～15倍、11～15倍、12～15倍、13～15倍、または14～15倍のガイド鎖対パッセンジャー鎖比を示す。

40

【0447】

一実施形態において、siRNA分子を使用して、SOD1配列上の少なくとも1つのエクソンを標的とすることにより野生型または突然変異型SOD1をサイレンシングすることができる。エクソンは、エクソン1、エクソン2、エクソン3、エクソン4、エクソン5、エクソン6、エクソン7、エクソン8、エクソン9、エクソン10、エクソン11、エクソン12、エクソン13、エクソン14、エクソン15、エクソン16、エクソン17、エクソン18、エクソン19、エクソン20、エクソン21、エクソン22、エク

50

ソン23、エクソン24、エクソン25、エクソン26、エクソン27、エクソン28、エクソン29、エクソン30、エクソン31、エクソン32、エクソン33、エクソン34、エクソン35、エクソン36、エクソン37、エクソン38、エクソン39、エクソン40、エクソン41、エクソン42、エクソン43、エクソン44、エクソン45、エクソン46、エクソン47、エクソン48、エクソン49、エクソン50、エクソン51、エクソン52、エクソン53、エクソン54、エクソン55、エクソン56、エクソン57、エクソン58、エクソン59、エクソン60、エクソン61、エクソン62、エクソン63、エクソン64、エクソン65、エクソン66、および／またはエクソン67であってもよい。

【0448】

s i R N A 修飾

一部の実施形態において、本発明の s i R N A 分子は、前駆体または D N A として送達されるのでない場合、限定はされないがインビボでの s i R N A の安定性の増加など、R N A 分子の幾つかの特徴を調節するように化学的に修飾されてもよい。化学的に修飾された s i R N A 分子はヒトの治療適用において使用することができ、s i R N A 分子の R N A i 活性を損なうことなく改良される。非限定的な例として、センス鎖およびアンチセンス鎖の両方の 3' 末端および 5' 末端の両方で修飾された s i R N A 分子。

【0449】

一部の態様において、本発明の s i R N A 二重鎖は、限定はされないが、糖修飾ヌクレオチド、核酸塩基修飾および／または骨格修飾など、1つ以上の修飾ヌクレオチドを含み得る。一部の態様において、s i R N A 分子は、組合せの修飾、例えば組合せの核酸塩基および骨格修飾を含み得る。

【0450】

一実施形態において、修飾ヌクレオチドは糖修飾ヌクレオチドであってもよい。糖修飾ヌクレオチドとしては、限定はされないが、2'-フルオロ、2'-アミノおよび2'-チオ修飾リボヌクレオチド、例えば2'-フルオロ修飾リボヌクレオチドが挙げられる。修飾ヌクレオチドは糖部分、ならびにリボシルでない糖類またはその類似体を有するヌクレオチドが修飾されてもよい。例えば、糖部分は、マンノース、アラビノース、グルコピラノース、ガラクトピラノース、4'-チオリボース、および他の糖類、複素環、または炭素環であってもよく、またはそれをベースとしてもよい。

【0451】

一実施形態において、修飾ヌクレオチドは核酸塩基修飾ヌクレオチドであってもよい。

一実施形態において、修飾ヌクレオチドは骨格修飾ヌクレオチドであってもよい。一部の実施形態において、本発明の s i R N A 二重鎖は骨格に他の修飾を更に含み得る。通常の「骨格」は、本明細書で使用されるとき、D N A または R N A 分子における交互に繰り返す糖-リン酸配列を指す。デオキシリボース／リボース糖が3'-ヒドロキシル基および5'-ヒドロキシル基の両方においてエステル結合でリン酸基につながり合わせられ、これは「リン酸ジエステル」結合／リンカーとしても知られる（P O 連結）。P O 骨格は「ホスホロチオエート骨格」として修飾されてもよい（P S 連結）。ある場合には、天然のリン酸ジエステル結合がアミド結合によって置き換えられてもよく、但し2つの糖単位間の4つの原子は保たれる。かかるアミド修飾は、オリゴヌクレオチドの固相合成を促進し、s i R N A 相補体と形成された二重鎖の熱力学的安定性を増加させることができる。例えばメスマエカー（Mesmaecker）ら著、ピュア・アンド・アプライド・ケミストリー（Pure & Appl. Chem.）、1997年、第3巻、p. 437～440を参照のこと；この内容は全体として参照により本明細書に援用される。

【0452】

修飾塩基とは、1つ以上の原子または基の置換または付加によって修飾された、例えば、アデニン、グアニン、シトシン、チミン、ウラシル、キサンチン、イノシン、およびキューオシンなどのヌクレオチド塩基を指す。核酸塩基部分に対する修飾の幾つかの例としては、限定はされないが、アルキル化、ハロゲン化、チオール化、アミノ化、アミド化、

10

20

30

40

50

またはアセチル化塩基が、個別にまたは組合せで挙げられる。より具体的な例としては、例えば、5-プロピニルウリジン、5-プロピニルシチジン、6-メチルアデニン、6-メチルグアニン、N, N, -ジメチルアデニン、2-プロピルアデニン、2-プロピルグアニン、2-アミノアデニン、1-メチルイノシン、3-メチルウリジン、5-メチルシチジン、5-メチルウリジンおよび5位に修飾を有する他のヌクレオチド、5-(2-アミノ)プロピルウリジン、5-ハロシチジン、5-ハロウリジン、4-アセチルシチジン、1-メチルアデノシン、2-メチルアデノシン、3-メチルシチジン、6-メチルウリジン、2-メチルグアノシン、7-メチルグアノシン、2, 2-ジメチルグアノシン、5-メチルアミノエチルウリジン、5-メチルオキシウリジン、デアザヌクレオチド、例えば7-デアザアデノシン、6-アゾウリジン、6-アゾシチジン、6-アゾチミジン、5-メチル-2-チオウリジン、他のチオ塩基、例えば2-チオウリジンおよび4-チオウリジンおよび2-チオシチジン、ジヒドロウリジン、プソイドウリジン、キューオシン、アーケオシン、ナフチルおよび置換ナフチル基、任意のO-およびN-アルキル化プリンおよびピリミジン、例えばN6-メチルアデノシン、5-メチルカルボニルメチルウリジン、ウリジン5-オキシ酢酸、ピリジン-4-オン、ピリジン-2-オン、フェニルおよび修飾フェニル基、例えばアミノフェノールまたは2, 4, 6-トリメトキシベンゼン、Gクランプヌクレオチドとして働く修飾シトシン、8-置換アデニンおよびグアニン、5-置換ウラシルおよびチミン、アザピリミジン、カルボキシヒドロキシルヌクレオチド、カルボキシルアルキルアミノアルキルヌクレオチド、およびアルキルカルボニルアルキル化ヌクレオチドが挙げられる。

10

20

【0453】

一実施形態において、修飾ヌクレオチドはセンス鎖上にだけあってもよい。

別の実施形態において、修飾ヌクレオチドはアンチセンス鎖上にだけあってもよい。

一部の実施形態において、修飾ヌクレオチドはセンス鎖およびアンチセンス鎖の両方にあってもよい。

【0454】

一部の実施形態において、化学的に修飾されたヌクレオチドは、アンチセンス鎖が標的mRNA配列と対を形成する能力に影響を及ぼさない。

一実施形態において、本発明のsiRNA分子をコードする核酸配列を含むAAV粒子は、ポリシストロン性分子であるsiRNA分子をコードし得る。加えてsiRNA分子はsiRNA分子の領域間に1つ以上のリンカーを含んでもよい。

30

【0455】

分子足場

一実施形態において、siRNA分子は、分子足場もまた含む調節性ポリヌクレオチドにコードされてもよい。本明細書で使用されるとき「分子足場」は、それに対して後続の分子を設計または作製する配列または構造基盤を形成するフレームワークまたは出発分子である。

【0456】

一実施形態において、分子足場は少なくとも1つの5'フランキング領域を含む。非限定的な例として、5'フランキング領域は、任意の長さであってよい、かつ全体または一部が野生型microRNA配列に由来し得るか、または完全に人工的な配列であり得る5'フランキング配列を含み得る。

40

【0457】

一実施形態において、分子足場は少なくとも1つの3'フランキング領域を含む。非限定的な例として、3'フランキング領域は、任意の長さであってよい、かつ全体または一部が野生型microRNA配列に由来し得るか、または完全に人工的な配列であり得る3'フランキング配列を含み得る。

【0458】

一実施形態において、分子足場は少なくとも1つのループモチーフ領域を含む。非限定的な例として、ループモチーフ領域は、任意の長さであってよい配列を含み得る。

50

一実施形態において、分子足場は、5'フランキング領域、ループモチーフ領域および／または3'フランキング領域を含む。

【0459】

一実施形態において、本明細書に記載される少なくとも1つのs i R N A、m i R N Aまたは他のR N A i 剤は、少なくとも1つの分子足場もまた含む調節性ポリヌクレオチドによってコードされてもよい。分子足場は、任意の長さであってよい、かつ全体または一部が野生型m i c r o R N A 配列に由来し得るか、または完全に人工的な配列であり得る5'フランキング配列を含み得る。3'フランキング配列はサイズおよび由来の点で5'フランキング配列および／またはある3'フランキング配列を反映し得る。いずれのフランキング配列も存在しないこともある。3'フランキング配列は任意選択で1つ以上のC N N Cモチーフ（式中、「N」は任意のヌクレオチドを表す）を含有し得る。

10

【0460】

ステムループ構造のステムを形成することが、本明細書に記載される少なくとも1つのs i R N A、m i R N Aまたは他のR N A i 剤をコードする調節性ポリヌクレオチドの最低条件（m i n i m u m）である。一部の実施形態において、本明細書に記載されるs i R N A、m i R N Aまたは他のR N A i 剤は、標的配列に部分的に相補性であるかまたはハイブリダイズすることになる少なくとも1つの核酸配列を含む。一部の実施形態において、ペイロードはs i R N A 分子またはs i R N A 分子の断片である。

【0461】

一部の実施形態において、調節性ポリヌクレオチドのステムループ構造の5'アームは、センス配列をコードする核酸配列を含む。調節性ポリヌクレオチドによってコードされ得るセンス配列、またはその断片もしくは変異体の非限定的な例は表3および表8に記載する。

20

【0462】

一部の実施形態において、調節性ポリヌクレオチドのステムループの3'アームは、アンチセンス配列をコードする核酸配列を含む。アンチセンス配列は、一部の例では、最も5'側の末端に「G」ヌクレオチドを含む。調節性ポリヌクレオチドによってコードされ得るアンチセンス配列、またはその断片もしくは変異体の非限定的な例は表2および表7に記載する。

【0463】

他の実施形態では、センス配列が調節性ポリヌクレオチドのステムループ構造のステムの3'アームにあってもよく、一方アンチセンス配列が5'アームにある。調節性ポリヌクレオチドによってコードされ得るセンス配列およびアンチセンス配列の非限定的な例は表2、表3、表7および表8に記載する。

30

【0464】

一実施形態において、センス配列とアンチセンス配列とは、それらの長さの実質的な部分にわたって完全に相補的であってもよい。他の実施形態においてセンス配列とアンチセンス配列とは、独立にそれらの鎖の長さの少なくとも50、60、70、80、85、90、95、または99%にわたって少なくとも70、80、90、95または99%相補的であってもよい。

40

【0465】

センス配列の同一性も、アンチセンス配列の相同性も、標的配列と100%相補的である必要はない。

一実施形態において、調節性ポリヌクレオチドのステムループ構造のセンス配列とアンチセンス配列とをループ配列（ループモチーフ、リンカーまたはリンカーモチーフとしても知られる）が分離している。ループ配列は、任意の長さ、4～30ヌクレオチド、4～20ヌクレオチド、4～15ヌクレオチド、5～15ヌクレオチド、6～12ヌクレオチド、6ヌクレオチド、7ヌクレオチド、8ヌクレオチド、9ヌクレオチド、10ヌクレオチド、11ヌクレオチド、12ヌクレオチド、13ヌクレオチド、14ヌクレオチド、および／または15ヌクレオチドであってもよい。

50

【0466】

一実施形態において、ループ配列は、少なくとも1つのUGUGモチーフをコードする核酸配列を含む。一実施形態において、UGUGモチーフをコードする核酸配列は、ループ配列の5'末端に位置する。

【0467】

一実施形態において、調節性ポリヌクレオチドには、1つ以上のモジュール（例えば、5'フランキング領域、ループモチーフ領域、3'フランキング領域、センス配列、アンチセンス配列）を互いに分離するスペーサ領域が存在してもよい。かかるスペーサ領域は1つ以上存在してもよい。

【0468】

一実施形態において、センス配列とフランキング領域配列との間には、8～20、すなわち、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、または20ヌクレオチドのスペーサ領域が存在してもよい。

【0469】

一実施形態において、スペーサ領域の長さは13ヌクレオチドであり、センス配列の5'末端とフランキング配列の3'末端との間に位置する。一実施形態において、スペーサは配列の約1ヘリカルターンを形成するのに十分な長さである。

【0470】

一実施形態において、アンチセンス配列とフランキング配列との間には、8～20、すなわち、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、または20ヌクレオチドのスペーサ領域が存在してもよい。

【0471】

一実施形態において、スペーサ配列は10～13、すなわち、10、11、12または13ヌクレオチドであり、アンチセンス配列の3'末端とフランキング配列の5'末端との間に位置する。一実施形態において、スペーサは配列の約1ヘリカルターンを形成するのに十分な長さである。

【0472】

一実施形態において、調節性ポリヌクレオチドの分子足場は、5'から3'方向に、5'フランキング配列、5'アーム、ループモチーフ、3'アームおよび3'フランキング配列を含む。非限定的な例として、5'アームが、センス配列をコードする核酸配列を含んでいてもよく、3'アームが、アンチセンス配列をコードする核酸配列を含む。別の非限定的な例では、5'アームがアンチセンス配列をコードする核酸配列を含み、3'アームがセンス配列をコードする核酸配列を含む。

【0473】

一実施形態において、5'アーム、センスおよび／またはアンチセンス配列、ループモチーフおよび／または3'アーム配列は改変されてもよい（例えば、1ヌクレオチド以上の置換、ヌクレオチドの付加および／またはヌクレオチドの欠失）。改変はコンストラクトの機能に有益な変化を生じさせ得る（例えば、標的配列のノックダウンを増加させ、コンストラクトの分解を低減し、オフターゲット効果を低減し、ペイロードの効率を増加させ、およびペイロードの分解を低減し得る）。

【0474】

一実施形態において、ガイド鎖（本明細書ではアンチセンス鎖とも称される）の切出し率をパッセンジャー鎖（本明細書ではセンス鎖とも称される）の切出し率よりも高くするため、調節性ポリヌクレオチドの分子足場が配列される。ガイド鎖またはパッセンジャー鎖の切出し率は、独立に、1%、2%、3%、4%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、99%または99%超であり得る。非限定的な例として、ガイド鎖の切出し率は少なくとも80%である。別の非限定的な例として、ガイド鎖の切出し率は少なくとも90%である。

【0475】

一実施形態において、ガイド鎖の切出し率はパッセンジャー鎖の切出し率よりも高い。
一態様において、ガイド鎖の切出し率は、パッセンジャー鎖よりも少なくとも1%、2%、3%、4%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、99%または99%超高くてもよい。

【0476】

一実施形態において、ガイド鎖の切出し効率は、少なくとも60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、99%または99%超である。非限定的な例として、ガイド鎖の切出し効率は80%よりも高い。

【0477】

一実施形態において、分子足場からのガイド鎖の切出し効率はパッセンジャー鎖の切出しよりも高い。分子足場からのガイド鎖の切出しは、パッセンジャー鎖の切出しよりも2、3、4、5、6、7、8、9、10倍または10倍超高効率であり得る。

【0478】

一実施形態において、分子足場は二重機能ターゲティング調節性ポリヌクレオチドを含む。本明細書で使用されるとき、「二重機能ターゲティング」調節性ポリヌクレオチドは、ガイド鎖およびパッセンジャー鎖の両方が同じ標的をノックダウンするポリヌクレオチド、またはガイド鎖およびパッセンジャー鎖が異なる標的をノックダウンするポリヌクレオチドである。

【0479】

一実施形態において、本明細書に記載される調節性ポリヌクレオチドの分子足場は、5'フランキング領域、ループモチーフ領域および3'フランキング領域を含み得る。本明細書に記載される調節性ポリヌクレオチドに使用され得るまたは使用されるそれらの断片であり得る5'フランキング領域、ループモチーフ領域（リンカー領域とも称され得る）および3'フランキング領域の配列の非限定的な例は、表10～表12に示される。

【0480】

10

20

【表 10 - 1】

表 10. 分子足場の 5'フランキング領域

5'フランキン グ領域名	5'フランキング領域配列	5'フランキン グ領域配列 ID
5F3	GTGCTGGGCGGGGGGCGGCGGGCCCT CCCGCAGAACACCATGCGCTCCACGG AA	1503
5F1	GTGCTGGGCGGGGGGCGGCGGGCCCT CCCGCAGAACACCATGCGCTCTTCGG AA	1504
5F2	GAAGCAAAGAAGGGGCAGAGGGAGC CCGTGAGCTGAGTGGGCCAGGGACTG GGAGAAGGAGTGAGGAGGCAGGGCC GGCATGCCTCTGCTGCTGGCCAGA	1505
5F4	GGGCCCTCCCGCAGAACACCATGCGC TCCACGGAA	1506
5F5	CTCCCGCAGAACACCATGCGCTCCAC GGAA	1507
5F6	GTGCTGGGCGGGGGGCGGCGGGCCCT CCCGCAGAACACCATGCGCTCCACGG AAG	1508
5F7	GTGCTGGGCGGGGGGCGGCGGGCCCT CCCGCAGAACACCATGCGCTCCTCGG AA	1509
5F8	TTTATGCCTCATCCTCTGAGTGCTGAA GGCTTGCTGTAGGCTGTATGCTG	1692

【0481】

【表 10 - 2】

5F9	GTGCTGGGCGGGGGGCGGCGGGCCCT CCCGCAGAACACCATGCGCTCTTCGG GA	1782

【0482】

【表 11】

10

表 11. 分子足場のループモチーフ領域

ループモチーフ領域名	ループモチーフ領域配列	ループモチーフ領域配列 ID
L5	GTGGCCACTGAGAAG	1510
L1	TGTGACCTGG	1511
L2	TGTGATTGG	1512
L3	GTCTGCACCTGTCCTAG	1513
L4	GTGACCCAAG	1514
L6	GTGACCCAAT	1515
L7	GTGACCCAAC	1516
L8	GTGGCCACTGAGAAA	1517
L9	TATAATTGG	1693
L10	CCTGACCCAGT	1694

20

30

【0483】

40

【表 1 2】

表 12. 3' 分子足場の 3'フランキング領域

3' フランキン グ領域名	3' フランキング領域配列	3' フラ ンキン グ領域配列 ID
3F1	CTGAGGAGCGCCTTGACAGCAGCCATG GGAGGGCCGCCCCCTACCTCAGTGA	1518
3F2	CTGTGGAGCGCCTTGACAGCAGCCATG GGAGGGCCGCCCCCTACCTCAGTGA	1519
3F3	TGGCCGTGTAGTGCTACCCAGCGCTGG CTGCCTCCTCAGCATTGCAATTCTCTC CCATCTGGGCACCAAGTCAGCTACCCTG GTGGGAATCTGGGTAGCC	1520
3F4	CTGAGGAGCGCCTTGACAGCAGCCATG GGAGGGCC	1521
3F5	CTGCGGAGCGCCTTGACAGCAGCCATG GGAGGGCCGCCCCCTACCTCAGTGA	1522
3F6	AGTGTATGATGCCTGTTACTAGCATTC ACATGGAACAAATTGCTGCCGTG	1695
3F7	TCCTGAGGAGCGCCTTGACAGCAGCCA TGGGAGGGCCGCCCCCTACCTCAGTGA	1783

一実施形態において、分子足場は、表 10 に挙げられる少なくとも 1 つの 5' フランキン
グ領域、断片、またはその変異体を含み得る。非限定的な例として、5' フランキン
グ領域は、5 F 1、5 F 2、5 F 3、5 F 4、5 F 5、5 F 6、5 F 7、5 F 8 または 5 F
9 であってもよい。

【0484】

一実施形態において、分子足場は、少なくとも 1 つの 5 F 1 フランキング領域を含み得
る。

一実施形態において、分子足場は、少なくとも 1 つの 5 F 2 フランキング領域を含み得
る。

【0485】

一実施形態において、分子足場は、少なくとも 1 つの 5 F 3 フランキング領域を含み得
る。

一実施形態において、分子足場は、少なくとも1つの5 F 4 フランキング領域を含み得る。

【0486】

一実施形態において、分子足場は、少なくとも1つの5 F 5 フランキング領域を含み得る。

一実施形態において、分子足場は、少なくとも1つの5 F 6 フランキング領域を含み得る。

【0487】

一実施形態において、分子足場は、少なくとも1つの5 F 7 フランキング領域を含み得る。

10

一実施形態において、分子足場は、少なくとも1つの5 F 8 フランキング領域を含み得る。

【0488】

一実施形態において、分子足場は、少なくとも1つの5 F 9 フランキング領域を含み得る。

一実施形態において、分子足場は、表11に挙げられる少なくとも1つのループモチーフ領域、その断片または変異体を含み得る。非限定的な例として、ループモチーフ領域は、L1、L2、L3、L4、L5、L6、L7、L8、L9、またはL10であってもよい。

【0489】

20

一実施形態において、分子足場は、少なくとも1つのL1 ループモチーフ領域を含み得る。

一実施形態において、分子足場は、少なくとも1つのL2 ループモチーフ領域を含み得る。

【0490】

一実施形態において、分子足場は、少なくとも1つのL3 ループモチーフ領域を含み得る。

一実施形態において、分子足場は、少なくとも1つのL4 ループモチーフ領域を含み得る。

【0491】

30

一実施形態において、分子足場は、少なくとも1つのL5 ループモチーフ領域を含み得る。

一実施形態において、分子足場は、少なくとも1つのL6 ループモチーフ領域を含み得る。

【0492】

一実施形態において、分子足場は、少なくとも1つのL7 ループモチーフ領域を含み得る。

一実施形態において、分子足場は、少なくとも1つのL8 ループモチーフ領域を含み得る。

【0493】

40

一実施形態において、分子足場は、少なくとも1つのL9 ループモチーフ領域を含み得る。

一実施形態において、分子足場は、少なくとも1つのL10 ループモチーフ領域を含み得る。

【0494】

一実施形態において、分子足場は、表12に挙げられる少なくとも1つの3' フランキング領域、断片、またはその変異体を含み得る。非限定的な例として、3' フランキング領域は、3 F 1、3 F 2、3 F 3、3 F 4、3 F 5、3 F 6、または3 F 7であってもよい。

【0495】

50

一実施形態において、分子足場は、少なくとも1つの3 F 1 フランキン グ領域を含み得る。

一実施形態において、分子足場は、少なくとも1つの3 F 2 フランキン グ領域を含み得る。

【0496】

一実施形態において、分子足場は、少なくとも1つの3 F 3 フランキン グ領域を含み得る。

一実施形態において、分子足場は、少なくとも1つの3 F 4 フランキン グ領域を含み得る。

【0497】

10

一実施形態において、分子足場は、少なくとも1つの3 F 5 フランキン グ領域を含み得る。

一実施形態において、分子足場は、少なくとも1つの3 F 6 フランキン グ領域を含み得る。

【0498】

一実施形態において、分子足場は、少なくとも1つの3 F 7 フランキン グ領域を含み得る。

一実施形態において、分子足場は、表10および表11に記載されるとおりの、少なくとも1つの5' フランキン グ領域、その断片または変異体と、少なくとも1つのループモチー フ領域、その断片または変異体とを含み得る。非限定的な例として、5' フランキン グ領域およびループモチー フ領域は、5 F 1 および L 1、5 F 1 および L 2、5 F 1 および L 3、5 F 1 および L 4、5 F 1 および L 5、5 F 1 および L 6、5 F 1 および L 7、5 F 1 および L 8、5 F 1 および L 9、5 F 1 および L 10、5 F 2 および L 1、5 F 2 および L 2、5 F 2 および L 3、5 F 2 および L 4、5 F 2 および L 5、5 F 2 および L 6、5 F 2 および L 7、5 F 2 および L 8、5 F 2 および L 9、5 F 2 および L 10、5 F 3 および L 1、5 F 3 および L 2、5 F 3 および L 3、5 F 3 および L 4、5 F 3 および L 5、5 F 3 および L 6、5 F 3 および L 7、5 F 3 および L 8、5 F 3 および L 9、5 F 3 および L 10、5 F 4 および L 1、5 F 4 および L 2、5 F 4 および L 3、5 F 4 および L 4、5 F 4 および L 5、5 F 4 および L 6、5 F 4 および L 7、5 F 4 および L 8、5 F 4 および L 9、5 F 4 および L 10、5 F 5 および L 1、5 F 5 および L 2、5 F 5 および L 3、5 F 5 および L 4、5 F 5 および L 5、5 F 5 および L 6、5 F 5 および L 7、5 F 5 および L 8、5 F 5 および L 9、5 F 5 および L 10、5 F 6 および L 1、5 F 6 および L 2、5 F 6 および L 3、5 F 6 および L 4、5 F 6 および L 5、5 F 6 および L 6、5 F 6 および L 7、5 F 6 および L 8、5 F 6 および L 9、5 F 6 および L 10、5 F 7 および L 1、5 F 7 および L 2、5 F 7 および L 3、5 F 7 および L 4、5 F 7 および L 5、5 F 7 および L 6、5 F 7 および L 7、5 F 7 および L 8、5 F 7 および L 9、5 F 7 および L 10、5 F 8 および L 1、5 F 8 および L 2、5 F 8 および L 3、5 F 8 および L 4、5 F 8 および L 5、5 F 8 および L 6、5 F 8 および L 7、5 F 8 および L 8、5 F 8 および L 9、5 F 8 および L 10、5 F 9 および L 1、5 F 9 および L 2、5 F 9 および L 3、5 F 9 および L 4、5 F 9 および L 5、5 F 9 および L 6、5 F 9 および L 7、5 F 9 および L 8、5 F 9 および L 9、ならびに5 F 9 および L 10であってよい。

20

30

40

【0499】

一実施形態において、分子足場は、少なくとも1つの5 F 2 フランキン グ領域および少なくとも1つのL 1 ループモチー フ領域を含み得る。

一実施形態において、分子足場は、少なくとも1つの5 F 1 フランキン グ領域および少なくとも1つのL 4 ループモチー フ領域を含み得る。

【0500】

一実施形態において、分子足場は、少なくとも1つの5 F 7 フランキン グ領域および少なくとも1つのL 8 ループモチー フ領域を含み得る。

50

一実施形態において、分子足場は、少なくとも1つの5 F 3 フランキング領域および少なくとも1つのL 4 ループモチーフ領域を含み得る。

【0501】

一実施形態において、分子足場は、少なくとも1つの5 F 3 フランキング領域および少なくとも1つのL 5 ループモチーフ領域を含み得る。

一実施形態において、分子足場は、少なくとも1つの5 F 4 フランキング領域および少なくとも1つのL 4 ループモチーフ領域を含み得る。

【0502】

一実施形態において、分子足場は、少なくとも1つの5 F 3 フランキング領域および少なくとも1つのL 7 ループモチーフ領域を含み得る。

一実施形態において、分子足場は、少なくとも1つの5 F 5 フランキング領域および少なくとも1つのL 4 ループモチーフ領域を含み得る。

【0503】

一実施形態において、分子足場は、少なくとも1つの5 F 6 フランキング領域および少なくとも1つのL 4 ループモチーフ領域を含み得る。

一実施形態において、分子足場は、少なくとも1つの5 F 3 フランキング領域および少なくとも1つのL 6 ループモチーフ領域を含み得る。

【0504】

一実施形態において、分子足場は、少なくとも1つの5 F 7 フランキング領域および少なくとも1つのL 4 ループモチーフ領域を含み得る。

一実施形態において、分子足場は、少なくとも1つの5 F 2 フランキング領域および少なくとも1つのL 2 ループモチーフ領域を含み得る。

【0505】

一実施形態において、分子足場は、少なくとも1つの5 F 1 フランキング領域および少なくとも1つのL 1 ループモチーフ領域を含み得る。

一実施形態において、分子足場は、少なくとも1つの5 F 1 フランキング領域および少なくとも1つのL 2 ループモチーフ領域を含み得る。

【0506】

一実施形態において、分子足場は、表11および表12に記載されたとおりの、少なくとも1つの3' フランキング領域、その断片または変異体と、少なくとも1つのループモチーフ領域、その断片または変異体とを含み得る。非限定的な例として、3' フランキング領域およびループモチーフ領域は、3 F 1 および L 1、3 F 1 および L 2、3 F 1 および L 3、3 F 1 および L 4、3 F 1 および L 5、3 F 1 および L 6、3 F 1 および L 7、3 F 1 および L 8、3 F 1 および L 9、3 F 1 および L 10、3 F 2 および L 1、3 F 2 および L 2、3 F 2 および L 3、3 F 2 および L 4、3 F 2 および L 5、3 F 2 および L 6、3 F 2 および L 7、3 F 2 および L 8、3 F 2 および L 9、3 F 2 および L 10、3 F 3 および L 1、3 F 3 および L 2、3 F 3 および L 3、3 F 3 および L 4、3 F 3 および L 5、3 F 3 および L 6、3 F 3 および L 7、3 F 3 および L 8、3 F 3 および L 9、3 F 3 および L 10、3 F 4 および L 1、3 F 4 および L 2、3 F 4 および L 3、3 F 4 および L 4、3 F 4 および L 5、3 F 4 および L 6、3 F 4 および L 7、3 F 4 および L 8、3 F 4 および L 9、3 F 4 および L 10、3 F 5 および L 1、3 F 5 および L 2、3 F 5 および L 3、3 F 5 および L 4、3 F 5 および L 5、3 F 5 および L 6、3 F 5 および L 7、3 F 5 および L 8、3 F 5 および L 9、3 F 5 および L 10、3 F 6 および L 1、3 F 6 および L 2、3 F 6 および L 3、3 F 6 および L 4、3 F 6 および L 5、3 F 6 および L 6、3 F 6 および L 7、3 F 6 および L 8、3 F 6 および L 9、3 F 6 および L 10、3 F 7 および L 1、3 F 7 および L 2、3 F 7 および L 3、3 F 7 および L 4、3 F 7 および L 5、3 F 7 および L 6、3 F 7 および L 7、3 F 7 および L 8、3 F 7 および L 9、ならびに3 F 7 および L 10であってもよい。

【0507】

一実施形態において、分子足場は、少なくとも1つのL 1 ループモチーフ領域および少

10

20

30

40

50

なくとも1つの3 F 2 フランキング領域を含み得る。

一実施形態において、分子足場は、少なくとも1つのL 4 ループモチーフ領域および少なくとも1つの3 F 1 フランキング領域を含み得る。

【0508】

一実施形態において、分子足場は、少なくとも1つのL 8 ループモチーフ領域および少なくとも1つの3 F 5 フランキング領域を含み得る。

一実施形態において、分子足場は、少なくとも1つのL 5 ループモチーフ領域および少なくとも1つの3 F 1 フランキング領域を含み得る。

【0509】

一実施形態において、分子足場は、少なくとも1つのL 4 ループモチーフ領域および少なくとも1つの3 F 4 フランキング領域を含み得る。

一実施形態において、分子足場は、少なくとも1つのL 7 ループモチーフ領域および少なくとも1つの3 F 1 フランキング領域を含み得る。

【0510】

一実施形態において、分子足場は、少なくとも1つのL 6 ループモチーフ領域および少なくとも1つの3 F 1 フランキング領域を含み得る。

一実施形態において、分子足場は、少なくとも1つのL 4 ループモチーフ領域および少なくとも1つの3 F 5 フランキング領域を含み得る。

【0511】

一実施形態において、分子足場は、少なくとも1つのL 2 ループモチーフ領域および少なくとも1つの3 F 2 フランキング領域を含み得る。

一実施形態において、分子足場は、少なくとも1つのL 1 ループモチーフ領域および少なくとも1つの3 F 3 フランキング領域を含み得る。

【0512】

一実施形態において、分子足場は、少なくとも1つのL 5 ループモチーフ領域および少なくとも1つの3 F 4 フランキング領域を含み得る。

一実施形態において、分子足場は、少なくとも1つのL 1 ループモチーフ領域および少なくとも1つの3 F 1 フランキング領域を含み得る。

【0513】

一実施形態において、分子足場は、少なくとも1つのL 2 ループモチーフ領域および少なくとも1つの3 F 1 フランキング領域を含み得る。

一実施形態において、分子足場は、表10および表12に記載されたとおりの、少なくとも1つの5'フランキング領域、その断片または変異体と、少なくとも1つの3'フランキング領域、その断片または変異体とを含み得る。非限定的な例として、フランキング領域は、5 F 1 および 3 F 1、5 F 1 および 3 F 2、5 F 1 および 3 F 3、5 F 1 および 3 F 4、5 F 1 および 3 F 5、5 F 1 および 3 F 6、5 F 1 および 3 F 7、5 F 2 および 3 F 1、5 F 2 および 3 F 2、5 F 2 および 3 F 3、5 F 2 および 3 F 4、5 F 2 および 3 F 5、5 F 2 および 3 F 6、5 F 2 および 3 F 7、5 F 3 および 3 F 1、5 F 3 および 3 F 2、5 F 3 および 3 F 3、5 F 3 および 3 F 4、5 F 3 および 3 F 5、5 F 3 および 3 F 6、5 F 3 および 3 F 7、5 F 4 および 3 F 1、5 F 4 および 3 F 2、5 F 4 および 3 F 3、5 F 4 および 3 F 4、5 F 4 および 3 F 5、5 F 4 および 3 F 6、5 F 4 および 3 F 7、5 F 5 および 3 F 1、5 F 5 および 3 F 2、5 F 5 および 3 F 3、5 F 5 および 3 F 4、5 F 5 および 3 F 5、5 F 5 および 3 F 6、5 F 5 および 3 F 7、5 F 6 および 3 F 1、5 F 6 および 3 F 2、5 F 6 および 3 F 3、5 F 6 および 3 F 4、5 F 6 および 3 F 5、5 F 6 および 3 F 6、5 F 6 および 3 F 7、5 F 7 および 3 F 1、5 F 7 および 3 F 2、5 F 7 および 3 F 3、5 F 7 および 3 F 4、5 F 7 および 3 F 5、5 F 7 および 3 F 6、5 F 7 および 3 F 7、5 F 8 および 3 F 1、5 F 8 および 3 F 2、5 F 8 および 3 F 3、5 F 8 および 3 F 4、5 F 8 および 3 F 5、5 F 8 および 3 F 6、および 5 F 8 および 3 F 7。5 F 9 および 3 F 1、5 F 9 および 3 F 2、5 F 9 および 3 F 3、5 F 9 および 3 F 4、5 F 9 および 3 F 5、5 F 9 および 3 F 6、ならびに 5 F 9 および 3 F

10

20

30

40

50

7であってもよい。

【0514】

一実施形態において、分子足場は、少なくとも1つの5F2 5'フランキング領域および少なくとも1つの3F2 3'フランキング領域を含み得る。

一実施形態において、分子足場は、少なくとも1つの5F1 5'フランキング領域および少なくとも1つの3F1 3'フランキング領域を含み得る。

【0515】

一実施形態において、分子足場は、少なくとも1つの5F7 5'フランキング領域および少なくとも1つの3F5 3'フランキング領域を含み得る。

一実施形態において、分子足場は、少なくとも1つの5F3 5'フランキング領域および少なくとも1つの3F1 3'フランキング領域を含み得る。

10

【0516】

一実施形態において、分子足場は、少なくとも1つの5F4 5'フランキング領域および少なくとも1つの3F4 3'フランキング領域を含み得る。

一実施形態において、分子足場は、少なくとも1つの5F5 5'フランキング領域および少なくとも1つの3F4 3'フランキング領域を含み得る。

【0517】

一実施形態において、分子足場は、少なくとも1つの5F6 5'フランキング領域および少なくとも1つの3F1 3'フランキング領域を含み得る。

一実施形態において、分子足場は、少なくとも1つの5F2 5'フランキング領域および少なくとも1つの3F3 3'フランキング領域を含み得る。

20

【0518】

一実施形態において、分子足場は、少なくとも1つの5F3 5'フランキング領域および少なくとも1つの3F4 3'フランキング領域を含み得る。

一実施形態において、分子足場は、少なくとも1つの5F1 5'フランキング領域および少なくとも1つの3F2 3'フランキング領域を含み得る。

【0519】

一実施形態において、分子足場は、表10～表12に記載されたとおりの、少なくとも1つの5'フランキング領域、その断片または変異体と、少なくとも1つのループモチーフ領域、その断片または変異体と、少なくとも1つの3'フランキング領域、その断片または変異体とを含み得る。非限定的な例として、フランキング領域およびループモチーフ領域は、5F1、L1および3F1；5F1、L1および3F2；5F1、L1および3F3；5F1、L1および3F4；5F1、L1および3F5；5F1、L1および3F6；5F1、L1および3F7；5F2、L1および3F1；5F2、L1および3F2；5F2、L1および3F3；5F2、L1および3F4；5F2、L1および3F5；5F2、L1および3F6；5F2、L1および3F7；5F3、L1および3F1；5F3、L1および3F2；5F3、L1および3F3；5F3、L1および3F4；5F3、L1および3F5；5F3、L1および3F6；5F3、L1および3F7；5F4、L1および3F1；5F4、L1および3F2；5F4、L1および3F3；5F4、L1および3F4；5F4、L1および3F5；5F4、L1および3F6；5F4、L1および3F7；5F5、L1および3F1；5F5、L1および3F2；5F5、L1および3F3；5F5、L1および3F4；5F5、L1および3F5；5F5、L1および3F6；5F5、L1および3F7；5F6、L1および3F1；5F6、L1および3F2；5F6、L1および3F3；5F6、L1および3F4；5F6、L1および3F5；5F6、L1および3F6；5F6、L1および3F7；5F7、L1および3F1；5F7、L1および3F2；5F7、L1および3F3；5F7、L1および3F4；5F7、L1および3F5；5F7、L1および3F6；5F7、L1および3F7；5F8、L1および3F1；5F8、L1および3F2；5F8、L1および3F3；5F8、L1および3F4；5F8、L1および3F5；5F8、L1および3F6；5F8、L1および3F7；5F9、L1および3F1；5F9、L1および3F2；5F

30

40

50

50

50

[illegible]

50

よび 3 F 3 ; 5 F 2、L 9 および 3 F 4 ; 5 F 2、L 9 および 3 F 5 ; 5 F 2、L 9 およ
 び 3 F 6 ; 5 F 2、L 9 および 3 F 7 ; 5 F 3、L 9 および 3 F 1 ; 5 F 3、L 9 および
 3 F 2 ; 5 F 3、L 9 および 3 F 3 ; 5 F 3、L 9 および 3 F 4 ; 5 F 3、L 9 および 3
 F 5 ; 5 F 3、L 9 および 3 F 6 ; 5 F 3、L 9 および 3 F 7 ; 5 F 4、L 9 および 3 F
 1 ; 5 F 4、L 9 および 3 F 2 ; 5 F 4、L 9 および 3 F 3 ; 5 F 4、L 9 および 3 F 4
 ; 5 F 4、L 9 および 3 F 5 ; 5 F 4、L 9 および 3 F 6 ; 5 F 4、L 9 および 3 F 7 ;
 5 F 5、L 9 および 3 F 1 ; 5 F 5、L 9 および 3 F 2 ; 5 F 5、L 9 および 3 F 3 ; 5
 F 5、L 9 および 3 F 4 ; 5 F 5、L 9 および 3 F 5 ; 5 F 5、L 9 および 3 F 6 ; 5 F
 5、L 9 および 3 F 7 ; 5 F 6、L 9 および 3 F 1 ; 5 F 6、L 9 および 3 F 2 ; 5 F 6
 、L 9 および 3 F 3 ; 5 F 6、L 9 および 3 F 4 ; 5 F 6、L 9 および 3 F 5 ; 5 F 6、
 L 9 および 3 F 6 ; 5 F 6、L 9 および 3 F 7 ; 5 F 7、L 9 および 3 F 1 ; 5 F 7、L
 9 および 3 F 2 ; 5 F 7、L 9 および 3 F 3 ; 5 F 7、L 9 および 3 F 4 ; 5 F 7、L 9
 および 3 F 5 ; 5 F 7、L 9 および 3 F 6 ; 5 F 7、L 9 および 3 F 7 ; 5 F 8、L 9 お
 よび 3 F 1 ; 5 F 8、L 9 および 3 F 2 ; 5 F 8、L 9 および 3 F 3 ; 5 F 8、L 9 およ
 び 3 F 4 ; 5 F 8、L 9 および 3 F 5 ; 5 F 8、L 9 および 3 F 6 ; 5 F 8、L 9 およ
 び 3 F 7 ; 5 F 9、L 9 および 3 F 1 ; 5 F 9、L 9 および 3 F 2 ; 5 F 9、L 9 および 3
 F 3 ; 5 F 9、L 9 および 3 F 4 ; 5 F 9、L 9 および 3 F 5 ; 5 F 9、L 9 および 3 F
 6 ; 5 F 9、L 9 および 3 F 7 ; 5 F 1、L 10 および 3 F 1 ; 5 F 1、L 10 および 3
 F 2 ; 5 F 1、L 10 および 3 F 3 ; 5 F 1、L 10 および 3 F 4 ; 5 F 1、L 10 およ
 び 3 F 5 ; 5 F 1、L 10 および 3 F 6 ; 5 F 1、L 10 および 3 F 7 ; 5 F 2、L 10
 および 3 F 1 ; 5 F 2、L 10 および 3 F 2 ; 5 F 2、L 10 および 3 F 3 ; 5 F 2、L
 10 および 3 F 4 ; 5 F 2、L 10 および 3 F 5 ; 5 F 2、L 10 および 3 F 6 ; 5 F 2
 、L 10 および 3 F 7 ; 5 F 3、L 10 および 3 F 1 ; 5 F 3、L 10 および 3 F 2 ; 5
 F 3、L 10 および 3 F 3 ; 5 F 3、L 10 および 3 F 4 ; 5 F 3、L 10 および 3 F 5
 ; 5 F 3、L 10 および 3 F 6 ; 5 F 3、L 10 および 3 F 7 ; 5 F 4、L 10 および 3
 F 1 ; 5 F 4、L 10 および 3 F 2 ; 5 F 4、L 10 および 3 F 3 ; 5 F 4、L 10 およ
 び 3 F 4 ; 5 F 4、L 10 および 3 F 5 ; 5 F 4、L 10 および 3 F 6 ; 5 F 4、L 10
 および 3 F 7 ; 5 F 5、L 10 および 3 F 1 ; 5 F 5、L 10 および 3 F 2 ; 5 F 5、L
 10 および 3 F 3 ; 5 F 5、L 10 および 3 F 4 ; 5 F 5、L 10 および 3 F 5 ; 5 F 5
 、L 10 および 3 F 6 ; 5 F 5、L 10 および 3 F 7 ; 5 F 6、L 10 および 3 F 1 ; 5
 F 6、L 10 および 3 F 2 ; 5 F 6、L 10 および 3 F 3 ; 5 F 6、L 10 および 3 F 4
 ; 5 F 6、L 10 および 3 F 5 ; 5 F 6、L 10 および 3 F 6 ; 5 F 6、L 10 および 3
 F 7 ; 5 F 7、L 10 および 3 F 1 ; 5 F 7、L 10 および 3 F 2 ; 5 F 7、L 10 およ
 び 3 F 3 ; 5 F 7、L 10 および 3 F 4 ; 5 F 7、L 10 および 3 F 5 ; 5 F 7、L 10
 および 3 F 6 ; 5 F 7、L 10 および 3 F 7 ; 5 F 8、L 10 および 3 F 1 ; 5 F 8、L
 10 および 3 F 2 ; 5 F 8、L 10 および 3 F 3 ; 5 F 8、L 10 および 3 F 4 ; 5 F 8
 、L 10 および 3 F 5 ; 5 F 8、L 10 および 3 F 6 ; 5 F 8、L 10 および 3 F 7 ; 5
 F 9、L 10 および 3 F 1 ; 5 F 9、L 10 および 3 F 2 ; 5 F 9、L 10 および 3 F 3
 ; 5 F 9、L 10 および 3 F 4 ; 5 F 9、L 10 および 3 F 5 ; 5 F 9、L 10 および 3
 F 6 ; ならびに 5 F 9、L 10 および 3 F 7 であってもよい。

10

20

30

40

【0520】

一実施形態において、分子足場は、少なくとも1つの5 F 2 5'フランキン
 グ領域と、少なくとも1つのL 1ループモチーフ領域と、少なくとも1つの3 F 2 3'
 フランキン
 グ領域とを含み得る。

【0521】

一実施形態において、分子足場は、少なくとも1つの5 F 1 5'フランキン
 グ領域と、少なくとも1つのL 4ループモチーフ領域と、少なくとも1つの3 F 1 3'
 フランキン
 グ領域とを含み得る。

【0522】

一実施形態において、分子足場は、少なくとも1つの5 F 7 5'フランキン
 グ領域と

50

、少なくとも1つのL8ループモチーフ領域と、少なくとも1つの3F5 3'フランキン
グ領域とを含み得る。

【0523】

一実施形態において、分子足場は、少なくとも1つの5F3 5'フランキン
グ領域と、少なくとも1つのL4ループモチーフ領域と、少なくとも1つの3F1 3'フラン
グ領域とを含み得る。

【0524】

一実施形態において、分子足場は、少なくとも1つの5F3 5'フランキン
グ領域と、少なくとも1つのL5ループモチーフ領域と、少なくとも1つの3F1 3'フラン
グ領域とを含み得る。

10

【0525】

一実施形態において、分子足場は、少なくとも1つの5F4 5'フランキン
グ領域と、少なくとも1つのL4ループモチーフ領域と、少なくとも1つの3F4 3'フラン
グ領域とを含み得る。

【0526】

一実施形態において、分子足場は、少なくとも1つの5F3 5'フランキン
グ領域と、少なくとも1つのL7ループモチーフ領域と、少なくとも1つの3F1 3'フラン
グ領域とを含み得る。

【0527】

一実施形態において、分子足場は、少なくとも1つの5F5 5'フランキン
グ領域と、少なくとも1つのL4ループモチーフ領域と、少なくとも1つの3F4 3'フラン
グ領域とを含み得る。

20

【0528】

一実施形態において、分子足場は、少なくとも1つの5F6 5'フランキン
グ領域と、少なくとも1つのL4ループモチーフ領域と、少なくとも1つの3F1 3'フラン
グ領域とを含み得る。

【0529】

一実施形態において、分子足場は、少なくとも1つの5F3 5'フランキン
グ領域と、少なくとも1つのL6ループモチーフ領域と、少なくとも1つの3F1 3'フラン
グ領域とを含み得る。

30

【0530】

一実施形態において、分子足場は、少なくとも1つの5F7 5'フランキン
グ領域と、少なくとも1つのL4ループモチーフ領域と、少なくとも1つの3F5 3'フラン
グ領域とを含み得る。

【0531】

一実施形態において、分子足場は、少なくとも1つの5F2 5'フランキン
グ領域と、少なくとも1つのL2ループモチーフ領域と、少なくとも1つの3F2 3'フラン
グ領域とを含み得る。

【0532】

一実施形態において、分子足場は、少なくとも1つの5F2 5'フランキン
グ領域と、少なくとも1つのL1ループモチーフ領域と、少なくとも1つの3F3 3'フラン
グ領域とを含み得る。

40

【0533】

一実施形態において、分子足場は、少なくとも1つの5F3 5'フランキン
グ領域と、少なくとも1つのL5ループモチーフ領域と、少なくとも1つの3F4 3'フラン
グ領域とを含み得る。

【0534】

一実施形態において、分子足場は、少なくとも1つの5F1 5'フランキン
グ領域と、少なくとも1つのL1ループモチーフ領域と、少なくとも1つの3F1 3'フラン
グ領域とを含み得る。

50

【0535】

一実施形態において、分子足場は、少なくとも1つの5 F 1 5'フランキング領域と、少なくとも1つのL 2ループモチーフ領域と、少なくとも1つの3 F 1 3'フランキング領域とを含み得る。

【0536】

一実施形態において、分子足場は、少なくとも1つの5 F 1 5'フランキング領域と、少なくとも1つのL 1ループモチーフ領域と、少なくとも1つの3 F 2 3'フランキング領域とを含み得る。

【0537】

一実施形態において、分子足場は、少なくとも1つの5 F 2 5'フランキング領域と、少なくとも1つのL 3ループモチーフ領域と、少なくとも1つの3 F 3 3'フランキング領域とを含み得る。

10

【0538】

一実施形態において、分子足場は天然のpri-miRNA足場であってもよい。非限定的な例として、分子足場は、ヒトmiR155足場に由来する足場であってもよい。

一実施形態において、分子足場は当該技術分野において公知の1つ以上のリンカーを含み得る。リンカーは、領域間を、または1つの分子足場を別の分子足場と分離し得る。非限定的な例として、分子足場はポリシストロン性であってもよい。

【0539】

分子足場と、HTTを標的とするsiRNA分子とを含む調節性ポリヌクレオチド

20

一実施形態において、調節性ポリヌクレオチドは、表13および表14に記載されたとおりの、5'および3'フランキング領域と、ループモチーフ領域と、センス配列およびアンチセンス配列をコードする核酸配列とを含み得る。表13および表14には、パッセンジャー鎖およびガイド鎖ならびに5'および3'フランキング領域およびループ領域（リンカー領域とも称される）のDNA配列識別名が記載される。表13および表14において、配列名の「miR」成分は必ずしもmiRNA遺伝子の配列の付番に対応するわけではない（例えば、VOYHTmiR-102が配列名であるが、必ずしもmiR-102がその配列の一部であることを意味するわけではない）。

【0540】

【表 1 3 - 1】

表 13. 調節性ポリヌクレオチド配列領域(5'から 3')

調節性ポリヌ クレオチドコンスト ラクト名	5' フランキン グから 3' フランキン グ配列番号	5' フランキン グ 配列番 号	パ ッセンジ ャー 配 列番号	ル ープ 配 列番号	イド 配列 番号	3' フランキン グ 配列番 号
VOYHTmiR- 102.214	152 3	150 4	1 636	15 11	677	151 8
VOYHTmiR- 104.214	152 4	150 4	1 643	15 11	677	151 8
VOYHTmiR- 109.214	152 5	150 4	1 650	15 12	677	151 8
VOYHTmiR- 114.214	152 6	150 4	1 657	15 11	677	151 9
VOYHTmiR- 116.214	152 7	150 4	1 650	15 11	677	151 9
VOYHTmiR- 127.214	152 8	150 5	1 650	15 13	674	152 0
VOYHTmiR- 102.218	152 9	150 4	1 637	15 11	678	151 8
VOYHTmiR- 104.218	153 0	150 4	1 644	15 11	678	151 8
VOYHTmiR- 109.218	153 1	150 4	1 651	15 12	678	151 8
VOYHTmiR- 114.218	153 2	150 4	1 658	15 11	678	151 9
VOYHTmiR- 116.218	153 3	150 4	1 651	15 11	678	151 9
VOYHTmiR- 127.218	153 4	150 5	1 651	15 13	678	152 0
VOYHTmiR- 102.219.o	153 5	150 4	1 620	15 11	673	151 8
VOYHTmiR- 104.219.o	153 6	150 4	1 623	15 11	673	151 8
VOYHTmiR- 109.219.o	153 7	150 4	1 620	15 12	673	151 8
VOYHTmiR- 114.219	153 8	150 4	1 626	15 11	673	151 9

【 0 5 4 1】

【表 1 3 - 2】

VOYHTmiR- 116.219.o	153 9	150 4	1 629	15 11	673	151 9
VOYHTmiR- 127.219.o	154 0	150 5	1 620	15 13	673	152 0
VOYHTmiR- 102.219.n	154 1	150 4	1 632	15 11	673	151 8
VOYHTmiR- 104.219.n	154 2	150 4	1 633	15 11	673	151 8
VOYHTmiR- 109.219.n	154 3	150 4	1 632	15 12	673	151 8
VOYHTmiR- 116.219.n	154 4	150 4	1 634	15 11	673	151 9
VOYHTmiR- 127.219.n	154 5	150 5	1 632	15 13	673	152 0
VOYHTmiR- 102.257	154 6	150 4	1 638	15 11	679	151 8
VOYHTmiR- 104.257	154 7	150 4	1 645	15 11	679	151 8
VOYHTmiR- 109.257	154 8	150 4	1 652	15 12	679	151 8
VOYHTmiR- 114.257	154 9	150 4	1 659	15 11	679	151 9
VOYHTmiR- 116.257	155 0	150 4	1 652	15 11	679	151 9
VOYHTmiR- 127.257	155 1	150 5	1 652	15 13	679	152 0
VOYHTmiR- 102.894	155 2	150 4	1 621	15 11	674	151 8
VOYHTmiR- 104.894	155 3	150 4	1 624	15 11	674	151 8
VOYHTmiR- 109.894	155 4	150 4	1 621	15 12	674	151 8
VOYHTmiR- 114.894	155 5	150 4	1 627	15 11	674	151 9
VOYHTmiR- 116.894	155 6	150 4	1 630	15 11	674	151 9
VOYHTmiR- 127.894	155 7	150 5	1 621	15 13	674	152 0
VOYHTmiR- 102.907	155 8	150 4	1 641	15 11	682	151 8
VOYHTmiR- 104.907	155 9	150 4	1 648	15 11	682	151 8

【表 1 3 - 3】

VOYHTmiR- 109.907	156 0	150 4	1 655	15 12	682	151 8
VOYHTmiR- 114.907	156 1	150 4	1 662	15 11	682	151 9
VOYHTmiR- 116.907	156 2	150 4	1 655	15 11	682	151 9
VOYHTmiR- 127.907	156 3	150 5	1 655	15 13	682	152 0
VOYHTmiR- 102.372	156 4	150 4	1 639	15 11	680	151 8
VOYHTmiR- 104.372	156 5	150 4	1 646	15 11	680	151 8
VOYHTmiR- 109.372	156 6	150 4	1 653	15 12	680	151 8
VOYHTmiR- 114.372	156 7	150 4	1 660	15 11	680	151 9
VOYHTmiR- 116.372	156 8	150 4	1 653	15 11	680	151 9
VOYHTmiR- 127.372	156 9	150 5	1 653	15 13	680	152 0
VOYHTmiR- 102.425	157 0	150 4	1 640	15 11	681	151 8
VOYHTmiR- 104.425	157 1	150 4	1 647	15 11	681	151 8
VOYHTmiR- 109.425	157 2	150 4	1 654	15 12	681	151 8
VOYHTmiR- 114.425	157 3	150 4	1 661	15 11	681	151 9
VOYHTmiR- 116.425	157 4	150 4	1 654	15 11	681	151 9
VOYHTmiR- 127.425	157 5	150 5	1 654	15 13	681	152 0
VOYHTmiR- 102.032	157 6	150 4	1 664	15 11	684	151 8
VOYHTmiR- 104.032	157 7	150 4	1 666	15 11	684	151 8
VOYHTmiR- 109.032	157 8	150 4	1 668	15 12	684	151 8
VOYHTmiR- 114.032	157 9	150 4	1 670	15 11	684	151 9
VOYHTmiR- 116.032	158 0	150 4	1 668	15 11	684	151 9

【表 1 3 - 4】

VOYHTmiR- 127.032	158 1	150 5	1 668	15 13	684	152 0
VOYHTmiR- 102.020	158 2	150 4	1 663	15 11	683	151 8
VOYHTmiR- 104.020	158 3	150 4	1 665	15 11	683	151 8
VOYHTmiR- 109.020	158 4	150 4	1 667	15 12	683	151 8
VOYHTmiR- 114.020	158 5	150 4	1 669	15 11	683	151 9
VOYHTmiR- 116.020	158 6	150 4	1 667	15 11	683	151 9
VOYHTmiR- 127.020	158 7	150 5	1 667	15 13	683	152 0
VOYHTmiR- 102.016	158 8	150 4	1 635	15 11	676	151 8
VOYHTmiR- 104.016	158 9	150 4	1 642	15 11	676	151 8
VOYHTmiR- 109.016	159 0	150 4	1 649	15 12	676	151 8
VOYHTmiR- 114.016	159 1	150 4	1 656	15 11	676	151 9
VOYHTmiR- 116.016	159 2	150 4	1 649	15 11	676	151 9
VOYHTmiR- 127.016	159 3	150 5	1 649	15 13	676	152 0
VOYHTmiR- 102.579	159 4	150 4	1 622	15 11	675	151 8
VOYHTmiR- 104.579	159 5	150 4	1 625	15 11	675	151 8
VOYHTmiR- 109.579	159 6	150 4	1 622	15 12	675	151 8
VOYHTmiR- 114.579	159 7	150 4	1 628	15 11	675	151 9
VOYHTmiR- 116.579	159 8	150 4	1 631	15 11	675	151 9
VOYHTmiR- 127.579	159 9	150 5	1 622	15 13	675	152 0
VOYHTmiR- 104.579.1	160 0	150 4	1 671	15 14	675	151 8
VOYHTmiR- 104.579.2	160 1	150 3	1 671	15 14	675	151 8

【表 1 3 - 5】

VOYHTmiR- 104.579.3	2	160	3	150	1	15	671	10	675	8	151
VOYHTmiR- 104.579.4	3	160	6	150	1	15	671	14	675	1	152
VOYHTmiR- 104.579.6	4	160	7	150	1	15	671	14	675	1	152
VOYHTmiR- 104.579.7	5	160	8	150	1	15	671	14	685	8	151
VOYHTmiR- 104.579.8	6	160	3	150	1	15	672	15	675	8	151
VOYHTmiR- 104.579.9	7	160	9	150	1	15	671	14	675	2	152
VOYHTmiR- 102.020	8	160	4	150	1	15	663	11	683	8	151
VOYHTmiR- 102.032	9	160	4	150	1	15	664	11	684	8	151
VOYHTmiR- 104.020	0	161	4	150	1	15	665	11	683	8	151
VOYHTmiR- 104.032	1	161	4	150	1	15	666	11	684	8	151
VOYHTmiR- 109.020	2	161	4	150	1	15	667	12	683	8	151
VOYHTmiR- 109.032	3	161	4	150	1	15	668	12	684	8	151
VOYHTmiR- 114.020	4	161	4	150	1	15	669	11	683	9	151
VOYHTmiR- 114.032	5	161	4	150	1	15	670	11	684	9	151
VOYHTmiR- 116.020	6	161	4	150	1	15	667	11	683	9	151
VOYHTmiR- 116.032	7	161	4	150	1	15	668	11	684	9	151
VOYHTmiR- 127.020	8	161	5	150	1	15	667	13	683	0	152
VOYHTmiR- 127.032	9	161	5	150	1	15	668	13	684	0	152

10

20

30

40

【表 1 4】

表 14. HTT 調節性ポリヌクレオチド配列領域(5'から 3')

名称	5 'フラン キングか ら 3'フラ ンキング 配列番号	5 'フラン キング 配列番号	パ ッセンジ ャー 配 列番号	ル ープ 配 列番号	ガ イド 配 列番号	3'フ ランキング 配列番号
VOYHTmi R-104.579.5	1 686	1 503	16 88	15 16	1 690	1518
VOYHTmi R-104.579.10	1 687	1 509	168 9	15 17	1 691	1532

10

【 0 5 4 6】

【表 15 - 1】

表 15. SOD1 調節性ポリヌクレオチド配列領域(5'から 3')

調節性ポリヌ クレオチドコンスト ラクト名	5' フランキン グから 3' フランキン グ 配列番 号	5' フランキン グ 配列番 号	パ ッセンジ ャー 配 列番号	ル ープ 配 列番号	ガ イド 配列番 号	3' フランキン グ 配列番 号
VOYSOD1mi R-101	169 6	169 2	1 746	1 510	747	169 5
VOYSOD1mi R-102	169 7	150 3	1 746	1 510	747	151 8
VOYSOD1mi R-103	169 8	150 3	1 748	1 510	747	151 8
VOYSOD1mi R-104	169 9	150 3	1 749	1 510	747	151 8
VOYSOD1mi R-105	170 0	150 3	1 750	1 510	747	151 8
VOYSOD1mi R-106	170 1	150 3	1 751	1 510	747	151 8
VOYSOD1mi R-107	170 2	150 3	1 752	1 510	747	151 8
VOYSOD1mi R-108	170 3	150 3	1 754	1 510	747	151 8
VOYSOD1mi R-109	170 4	150 3	1 746	1 511	747	151 8
VOYSOD1mi R-110	170 5	150 3	1 746	1 693	747	151 8
VOYSOD1mi R-111	170 6	150 3	1 753	1 694	747	151 8
VOYSOD1mi R-112	170 7	150 3	1 746	1 510	747	151 9
VOYSOD1mi R-113	170 8	150 3	1 748	1 510	747	151 9
VOYSOD1mi R-114	170 9	150 3	1 751	1 510	747	151 9
VOYSOD1mi R-115	171 0	150 3	1 753	1 694	747	151 9

【 0 5 4 7 】

【表 1 5 - 2】

VOYSOD1mi	171	150	1	1		151
R-116	1	3	749	510	747	9
VOYSOD1mi	171	150	1	1		151
R-117	2	3	755	510	756	8
VOYSOD1mi	171	150	1	1		151
R-118	3	3	757	510	758	8
VOYSOD1mi	171	150	1	1		151
R-119	4	3	759	510	760	8
VOYSOD1mi	171	150	1	1		152
R-127	5	4	746	512	747	0
VOYSOD1mi	171	150	1	1		151
R-102.860	6	3	761	510	762	8
VOYSOD1mi	171	150	1	1		151
R-102.861	7	3	763	510	764	8
VOYSOD1mi	171	150	1	1		151
R-102.866	8	3	765	510	760	8
VOYSOD1mi	171	150	1	1		151
R-102.870	9	3	766	510	767	8
VOYSOD1mi	172	150	1	1		151
R-102.823	0	3	768	510	758	8
VOYSOD1mi	172	150	1	1		151
R-104.860	1	3	769	510	762	8
VOYSOD1mi	172	150	1	1		151
R-104.861	2	3	770	510	764	8
VOYSOD1mi	172	150	1	1		151
R-104.866	3	3	771	510	760	8
VOYSOD1mi	172	150	1	1		151
R-104.870	4	3	772	510	767	8
VOYSOD1mi	172	150	1	1		151
R-104.823	5	3	773	510	758	8
VOYSOD1mi	172	150	1	1		151
R-109.860	6	3	761	511	762	8
VOYSOD1mi	172	150	1	1		151
R-104.861	7	3	763	511	764	8
VOYSOD1mi	172	150	1	1		151
R-104.866	8	3	765	511	760	8
VOYSOD1mi	172	150	1	1		151
R-109.870	9	3	766	511	767	8
VOYSOD1mi	173	150	1	1		151
R-109.823	0	3	768	511	758	8
VOYSOD1mi	173	150	1	1		151
R-114.860	1	3	774	510	762	9

【表 1 5 - 3】

VOYSOD1mi R-114.861	2	173	3	150	1	1	775	510	764	9	151
VOYSOD1mi R-114.866	3	173	3	150	1	1	776	510	760	9	151
VOYSOD1mi R-114.870	4	173	3	150	1	1	777	510	767	9	151
VOYSOD1mi R-114.823	5	173	3	150	1	1	778	510	758	9	151
VOYSOD1mi R-116.860	6	173	3	150	1	1	769	510	762	9	151
VOYSOD1mi R-116.861	7	173	3	150	1	1	770	510	764	9	151
VOYSOD1mi R-116.866	8	173	3	150	1	1	779	510	760	9	151
VOYSOD1mi R-116.870	9	173	3	150	1	1	772	510	767	9	151
VOYSOD1mi R-116.823	0	174	3	150	1	1	773	510	758	9	151
VOYSOD1mi R-127.860	1	174	4	150	1	1	780	512	762	0	152
VOYSOD1mi R-127.861	2	174	4	150	1	1	763	512	764	0	152
VOYSOD1mi R-127.866	3	174	4	150	1	1	765	512	760	0	152
VOYSOD1mi R-127.870	4	174	4	150	1	1	766	512	767	0	152
VOYSOD1mi R-127.823	5	174	4	150	1	1	781	512	758	0	152

10

20

30

【 0 5 4 9 】

【表 16】

表 16. SOD1 調節性ポリヌクレオチド配列領域(5'から 3')

名称	5 'フラン キングか ら 3'フラ ンキング 配列番号	5 'フラン キング 配列番号	パ ッセンジ ャー 配 列番号	ル ープ 配 列番号	ガ イド 配 列番号	3'フ ランキング 配列番号
VOYSOD1	1	1	17	15	1	1783
miR-120	784	782	85	11	786	

調節性ポリヌクレオチドを含む A A V 粒子

一実施形態において、A A V 粒子は、調節性ポリヌクレオチド配列を含むペイロード領域を有するウイルスゲノムを含む。かかる実施形態において、2 つ以上のポリペプチドをコードするウイルスゲノムが、ウイルス粒子へと複製またはパッケージングされ得る。調節性ポリヌクレオチドを含むウイルス粒子で形質導入された標的細胞は、単一細胞中でコード化センスおよび／またはアンチセンス配列を発現し得る。

【0550】

一実施形態において、A A V 粒子は、神経学的疾患および／または障害を治療、予防、緩和、または改善するための医学分野に有用である。

一実施形態において、少なくとも 1 つの s i R N A 分子をコードする核酸配列を含む調節性ポリヌクレオチド配列を含む A A V 粒子を、哺乳類細胞に導入し得る。

【0551】

A A V 粒子ペイロード領域が調節性ポリヌクレオチドを含む場合、調節性ポリヌクレオチドは、標的遺伝子をノックダウンするためのセンス配列および／またはアンチセンス配列を含み得る。本明細書に記載される調節性ポリヌクレオチドをコードする A A V ウイルスゲノムは、ヒト疾患、ウイルス、感染症、獣医学的応用の分野、ならびに様々なインビボおよびインビトロ設定において有用であり得る。

【0552】

一実施形態において、A A V 粒子ウイルスゲノムは、少なくとも 1 つの末端逆位配列 (I T R) 領域を含み得る。I T R 領域は、独立に、限定はされないが、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、141、142、143、144、145、146、147、148、149、150、151、152、153、154、155、156、157、158、159、160、161、162、163、164、165、166、167、168、169、170、171、172、173、174、および 175 ヌクレオチドなどの長さを有していてもよい。ウイルスゲノムの I T R 領域の長さは、75～80、75～85、75～100、80～85、80～90、80～105、85～90、85～95、85～110、90～95、90～100、90～115、95～100、95～105、95～120、100～105、100～110、100～125、105～110、105～115、105～130、110～115、110～120、110～135、115～120、115～125、11

5～140、120～125、120～130、120～145、125～130、125～135、125～150、130～135、130～140、130～155、135～140、135～145、135～160、140～145、140～150、140～165、145～150、145～155、145～170、150～155、150～160、150～175、155～160、155～165、160～165、160～170、165～170、165～175、および170～175ヌクレオチドであってもよい。非限定的な例として、ウイルスゲノムは、約105ヌクレオチド長であるITRを含む。非限定的な例として、ウイルスゲノムは、約141ヌクレオチド長であるITRを含む。非限定的な例として、ウイルスゲノムは、約130ヌクレオチド長であるITRを含む。

10

【0553】

一実施形態において、AAV粒子ウイルスゲノムは、2つの末端逆位配列（ITR）領域を含み得る。ITR領域の各々は、独立に、限定はされないが、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、141、142、143、144、145、146、147、148、149、150、151、152、153、154、155、156、157、158、159、160、161、162、163、164、165、166、167、168、169、170、171、172、173、174、および175ヌクレオチドなどの長さを有していてもよい。ウイルスゲノムのITR領域の長さは、75～80、75～85、75～100、80～85、80～90、80～105、85～90、85～95、85～110、90～95、90～100、90～115、95～100、95～105、95～120、100～105、100～110、100～125、105～110、105～115、105～130、110～115、110～120、110～135、115～120、115～125、115～140、120～125、120～130、120～145、125～130、125～135、125～150、130～135、130～140、130～155、135～140、135～145、135～160、140～145、140～150、140～165、145～150、145～155、145～170、150～155、150～160、150～175、155～160、155～165、160～165、160～170、165～170、165～175、および170～175ヌクレオチドであってもよい。非限定的な例として、ウイルスゲノムは、約105ヌクレオチド長および141ヌクレオチド長であるITRを含む。非限定的な例として、ウイルスゲノムは、約105ヌクレオチド長および130ヌクレオチド長であるITRを含む。非限定的な例として、ウイルスゲノムは、約130ヌクレオチド長および141ヌクレオチド長であるITRを含む。

20

30

【0554】

一実施形態において、AAV粒子ウイルスゲノムは、表17～表24に記載されたとおりの少なくとも1つの配列領域を含み得る。領域は、本明細書に記載される他の配列領域のいずれかの前または後に位置していてもよい。

40

【0555】

一実施形態において、AAV粒子ウイルスゲノムは、少なくとも1つの末端逆位配列（ITR）領域を含み得る。ITR配列領域の非限定的な例は、表17に記載される。

【0556】

【表 17】

表 17. 末端逆位配列(ITR)領域

配列領域名	配列番号
ITR1	1787
ITR2	1788
ITR3	1789
ITR4	1790

10

一実施形態において、AAV粒子ウイルスゲノムは、2つのITR領域を含む。一実施形態において、ITR配列領域は、ITR1配列領域およびITR3配列領域である。一実施形態において、ITR配列領域は、ITR1配列領域およびITR4配列領域である。一実施形態において、ITR配列領域は、ITR2配列領域およびITR3配列領域である。一実施形態において、ITR配列領域は、ITR2配列領域およびITR4配列領域である。

【0557】

一実施形態において、AAV粒子ウイルスゲノムは、少なくとも1つの多重クローニング部位(MCS)配列領域を含み得る。MCS領域は、独立に、限定はされないが、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、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、141、142、143、144、145、146、147、148、149、および150ヌクレオチドなどの長さを有していてもよい。ウイルスゲノムのMCS領域の長さは、2~10、5~10、5~15、10~20、10~30、10~40、15~20、15~25、20~30、20~40、20~50、25~30、25~35、30~40、30~50、30~60、35~40、35~45、40~50、40~60、40~70、45~50、45~55、50~60、50~70、50~80、55~60、55~65、60~70、60~80、60~90、65~70、65~75、70~80、70~90、70~100、75~80、75~85、80~90、80~100、80~110、85~90、85~95、90~100、90~110、90~120、95~100、95~105、100~110、100~120、100~130、105~110、105~115、110~120、110~130、110~140、115~120、115~125、120~130、120~140、120~150、125~130、125~135、130~140、130~150、135~140、135~145、140~150、および145~150ヌクレオチドであってもよい。非限定的な例として、ウイルスゲノムは、約5ヌクレオチド長であるMCS領域を含む。非限定的な例として、ウイルスゲノムは、約10ヌクレオチド長であるMCS領域を含む。非限定的な例として、ウイルスゲノムは、約14ヌクレオチド長であるMCS領域を含む。非限定的な例として、ウイルスゲノムは、約18ヌクレオチド長であるMCS領域を含む。非限定的な例として、ウイルスゲノムは、約73ヌクレオチド長であるMCS領域を含む。非限定的な例として、ウイルスゲノムは、約121ヌクレオチド長

20

30

40

50

であるMCS領域を含む。

【0558】

一実施形態において、AAV粒子ウイルスゲノムは、少なくとも1つの多重クローニング部位(MCS)配列領域を含む。MCS配列領域の非限定的な例は、表18に記載される。

【0559】

【表18】

表 18. 多重クローニング部位(MCS)配列領域

配列領域名	配列番号または配列
MCS1	1791
MCS2	1792
MCS3	1793
MCS4	1794
MCS5	TCGAG
MCS6	1795

一実施形態において、AAV粒子ウイルスゲノムは、1つのMCS配列領域を含む。一実施形態において、MCS配列領域は、MCS1配列領域である。一実施形態において、MCS配列領域は、MCS2配列領域である。一実施形態において、MCS配列領域は、MCS3配列領域である。一実施形態において、MCS配列領域は、MCS4配列領域である。一実施形態において、MCS配列領域は、MCS5配列領域である。一実施形態において、MCS配列領域は、MCS6配列領域である。

【0560】

一実施形態において、AAV粒子ウイルスゲノムは、2つのMCS領域を含む。一実施形態において、2つのMCS配列領域は、MCS1配列領域およびMCS2配列領域である。一実施形態において、2つのMCS配列領域は、MCS1配列領域およびMCS3配列領域である。一実施形態において、2つのMCS配列領域は、MCS1配列領域およびMCS4配列領域である。一実施形態において、2つのMCS配列領域は、MCS1配列領域およびMCS5配列領域である。一実施形態において、2つのMCS配列領域は、MCS1配列領域およびMCS6配列領域である。一実施形態において、2つのMCS配列領域は、MCS2配列領域およびMCS3配列領域である。一実施形態において、2つのMCS配列領域は、MCS2配列領域およびMCS4配列領域である。一実施形態において、2つのMCS配列領域は、MCS2配列領域およびMCS5配列領域である。一実施形態において、2つのMCS配列領域は、MCS2配列領域およびMCS6配列領域である。一実施形態において、2つのMCS配列領域は、MCS3配列領域およびMCS4配列領域である。一実施形態において、2つのMCS配列領域は、MCS3配列領域およびMCS5配列領域である。一実施形態において、2つのMCS配列領域は、MCS3配列領域およびMCS6配列領域である。一実施形態において、2つのMCS配列領域は、MCS4配列領域およびMCS5配列領域である。一実施形態において、2つのMCS配列領域は、MCS4配列領域およびMCS6配列領域である。一実施形態において、2つのMCS配列領域は、MCS5配列領域およびMCS6配列領域である。

【0561】

一実施形態において、AAV粒子ウイルスゲノムは、2つ以上のMCS配列領域を含む。

一実施形態において、AAV粒子ウイルスゲノムは、3つのMCS配列領域を含む。一実施形態において、3つのMCS配列領域は、MCS1配列領域、MCS2配列領域、およびMCS3配列領域である。一実施形態において、3つのMCS配列領域は、MCS1配列領域、MCS2配列領域、およびMCS4配列領域である。一実施形態において、3つのMCS配列領域は、MCS1配列領域、MCS2配列領域、およびMCS5配列領域

である。一実施形態において、3つのMCS配列領域は、MCS1配列領域、MCS2配列領域、およびMCS6配列領域である。一実施形態において、3つのMCS配列領域は、MCS1配列領域、MCS3配列領域、およびMCS4配列領域である。一実施形態において、3つのMCS配列領域は、MCS1配列領域、MCS3配列領域、およびMCS5配列領域である。一実施形態において、3つのMCS配列領域は、MCS1配列領域、MCS3配列領域、およびMCS6配列領域である。一実施形態において、3つのMCS配列領域は、MCS1配列領域、MCS4配列領域、およびMCS5配列領域である。一実施形態において、3つのMCS配列領域は、MCS1配列領域、MCS4配列領域、およびMCS6配列領域である。一実施形態において、3つのMCS配列領域は、MCS1配列領域、MCS5配列領域、およびMCS6配列領域である。一実施形態において、3つのMCS配列領域は、MCS2配列領域、MCS3配列領域、およびMCS4配列領域である。一実施形態において、3つのMCS配列領域は、MCS2配列領域、MCS3配列領域、およびMCS5配列領域である。一実施形態において、3つのMCS配列領域は、MCS2配列領域、MCS4配列領域、およびMCS5配列領域である。一実施形態において、3つのMCS配列領域は、MCS2配列領域、MCS4配列領域、およびMCS6配列領域である。一実施形態において、3つのMCS配列領域は、MCS2配列領域、MCS5配列領域、およびMCS6配列領域である。一実施形態において、3つのMCS配列領域は、MCS3配列領域、MCS4配列領域、およびMCS5配列領域である。一実施形態において、3つのMCS配列領域は、MCS3配列領域、MCS5配列領域、およびMCS6配列領域である。一実施形態において、3つのMCS配列領域は、MCS4配列領域、MCS5配列領域、およびMCS6配列領域である。

【0562】

一実施形態において、AAV粒子ウイルスゲノムは、少なくとも1つの多重フィラー配列領域を含み得る。フィラー領域は、独立に、限定はされないが、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、141、142、143、144、145、146、147、148、149、150、151、152、153、154、155、156、157、158、159、160、161、162、163、164、165、166、167、168、169、170、171、172、173、174、175、176、177、178、179、180、181、182、183、184、185、186、187、188、189、190、191、192、193、194、195、196、197、198、199、200、201、202、203、204、205、206、207、208、209、210、211、212、213、214、215、216、217、218、219、220、221、222、223、224、225、226、227、228、229、230、231、232、233、234、235、236、237、238、239、240、241、242、243、244、245、246、247、248、249、250、251、252、253、254、255、256、257、258、259、260、261、262、263、264、265、266、267、268、269、270、271、272、273、274、275、276、277、278、279、280、281、282、283、284、285、286、287、288、289、290、291、292、293、294、

50

7 9 5、7 9 6、7 9 7、7 9 8、7 9 9、8 0 0、8 0 1、8 0 2、8 0 3、8 0 4、
8 0 5、8 0 6、8 0 7、8 0 8、8 0 9、8 1 0、8 1 1、8 1 2、8 1 3、8 1 4、
8 1 5、8 1 6、8 1 7、8 1 8、8 1 9、8 2 0、8 2 1、8 2 2、8 2 3、8 2 4、
8 2 5、8 2 6、8 2 7、8 2 8、8 2 9、8 3 0、8 3 1、8 3 2、8 3 3、8 3 4、
8 3 5、8 3 6、8 3 7、8 3 8、8 3 9、8 4 0、8 4 1、8 4 2、8 4 3、8 4 4、
8 4 5、8 4 6、8 4 7、8 4 8、8 4 9、8 5 0、8 5 1、8 5 2、8 5 3、8 5 4、
8 5 5、8 5 6、8 5 7、8 5 8、8 5 9、8 6 0、8 6 1、8 6 2、8 6 3、8 6 4、
8 6 5、8 6 6、8 6 7、8 6 8、8 6 9、8 7 0、8 7 1、8 7 2、8 7 3、8 7 4、
8 7 5、8 7 6、8 7 7、8 7 8、8 7 9、8 8 0、8 8 1、8 8 2、8 8 3、8 8 4、
8 8 5、8 8 6、8 8 7、8 8 8、8 8 9、8 9 0、8 9 1、8 9 2、8 9 3、8 9 4、
8 9 5、8 9 6、8 9 7、8 9 8、8 9 9、9 0 0、9 0 1、9 0 2、9 0 3、9 0 4、
9 0 5、9 0 6、9 0 7、9 0 8、9 0 9、9 1 0、9 1 1、9 1 2、9 1 3、9 1 4、
9 1 5、9 1 6、9 1 7、9 1 8、9 1 9、9 2 0、9 2 1、9 2 2、9 2 3、9 2 4、
9 2 5、9 2 6、9 2 7、9 2 8、9 2 9、9 3 0、9 3 1、9 3 2、9 3 3、9 3 4、
9 3 5、9 3 6、9 3 7、9 3 8、9 3 9、9 4 0、9 4 1、9 4 2、9 4 3、9 4 4、
9 4 5、9 4 6、9 4 7、9 4 8、9 4 9、9 5 0、9 5 1、9 5 2、9 5 3、9 5 4、
9 5 5、9 5 6、9 5 7、9 5 8、9 5 9、9 6 0、9 6 1、9 6 2、9 6 3、9 6 4、
9 6 5、9 6 6、9 6 7、9 6 8、9 6 9、9 7 0、9 7 1、9 7 2、9 7 3、9 7 4、
9 7 5、9 7 6、9 7 7、9 7 8、9 7 9、9 8 0、9 8 1、9 8 2、9 8 3、9 8 4、
9 8 5、9 8 6、9 8 7、9 8 8、9 8 9、9 9 0、9 9 1、9 9 2、9 9 3、9 9 4、
9 9 5、9 9 6、9 9 7、9 9 8、9 9 9、1 0 0 0、1 0 0 1、1 0 0 2、1 0 0 3、
1 0 0 4、1 0 0 5、1 0 0 6、1 0 0 7、1 0 0 8、1 0 0 9、1 0 1 0、1 0 1 1、
1 0 1 2、1 0 1 3、1 0 1 4、1 0 1 5、1 0 1 6、1 0 1 7、1 0 1 8、1 0 1 9、
1 0 2 0、1 0 2 1、1 0 2 2、1 0 2 3、1 0 2 4、1 0 2 5、1 0 2 6、1 0 2 7、
1 0 2 8、1 0 2 9、1 0 3 0、1 0 3 1、1 0 3 2、1 0 3 3、1 0 3 4、1 0 3 5、
1 0 3 6、1 0 3 7、1 0 3 8、1 0 3 9、1 0 4 0、1 0 4 1、1 0 4 2、1 0 4 3、
1 0 4 4、1 0 4 5、1 0 4 6、1 0 4 7、1 0 4 8、1 0 4 9、1 0 5 0、1 0 5 1、
1 0 5 2、1 0 5 3、1 0 5 4、1 0 5 5、1 0 5 6、1 0 5 7、1 0 5 8、1 0 5 9、
1 0 6 0、1 0 6 1、1 0 6 2、1 0 6 3、1 0 6 4、1 0 6 5、1 0 6 6、1 0 6 7、
1 0 6 8、1 0 6 9、1 0 7 0、1 0 7 1、1 0 7 2、1 0 7 3、1 0 7 4、1 0 7 5、
1 0 7 6、1 0 7 7、1 0 7 8、1 0 7 9、1 0 8 0、1 0 8 1、1 0 8 2、1 0 8 3、
1 0 8 4、1 0 8 5、1 0 8 6、1 0 8 7、1 0 8 8、1 0 8 9、1 0 9 0、1 0 9 1、
1 0 9 2、1 0 9 3、1 0 9 4、1 0 9 5、1 0 9 6、1 0 9 7、1 0 9 8、1 0 9 9、
1 1 0 0、1 1 0 1、1 1 0 2、1 1 0 3、1 1 0 4、1 1 0 5、1 1 0 6、1 1 0 7、
1 1 0 8、1 1 0 9、1 1 1 0、1 1 1 1、1 1 1 2、1 1 1 3、1 1 1 4、1 1 1 5、
1 1 1 6、1 1 1 7、1 1 1 8、1 1 1 9、1 1 2 0、1 1 2 1、1 1 2 2、1 1 2 3、
1 1 2 4、1 1 2 5、1 1 2 6、1 1 2 7、1 1 2 8、1 1 2 9、1 1 3 0、1 1 3 1、
1 1 3 2、1 1 3 3、1 1 3 4、1 1 3 5、1 1 3 6、1 1 3 7、1 1 3 8、1 1 3 9、
1 1 4 0、1 1 4 1、1 1 4 2、1 1 4 3、1 1 4 4、1 1 4 5、1 1 4 6、1 1 4 7、
1 1 4 8、1 1 4 9、1 1 5 0、1 1 5 1、1 1 5 2、1 1 5 3、1 1 5 4、1 1 5 5、
1 1 5 6、1 1 5 7、1 1 5 8、1 1 5 9、1 1 6 0、1 1 6 1、1 1 6 2、1 1 6 3、
1 1 6 4、1 1 6 5、1 1 6 6、1 1 6 7、1 1 6 8、1 1 6 9、1 1 7 0、1 1 7 1、
1 1 7 2、1 1 7 3、1 1 7 4、1 1 7 5、1 1 7 6、1 1 7 7、1 1 7 8、1 1 7 9、
1 1 8 0、1 1 8 1、1 1 8 2、1 1 8 3、1 1 8 4、1 1 8 5、1 1 8 6、1 1 8 7、
1 1 8 8、1 1 8 9、1 1 9 0、1 1 9 1、1 1 9 2、1 1 9 3、1 1 9 4、1 1 9 5、
1 1 9 6、1 1 9 7、1 1 9 8、1 1 9 9、1 2 0 0、1 2 0 1、1 2 0 2、1 2 0 3、
1 2 0 4、1 2 0 5、1 2 0 6、1 2 0 7、1 2 0 8、1 2 0 9、1 2 1 0、1 2 1 1、
1 2 1 2、1 2 1 3、1 2 1 4、1 2 1 5、1 2 1 6、1 2 1 7、1 2 1 8、1 2 1 9、
1 2 2 0、1 2 2 1、1 2 2 2、1 2 2 3、1 2 2 4、1 2 2 5、1 2 2 6、1 2 2 7、
1 2 2 8、1 2 2 9、1 2 3 0、1 2 3 1、1 2 3 2、1 2 3 3、1 2 3 4、1 2 3 5、

1 2 3 6、1 2 3 7、1 2 3 8、1 2 3 9、1 2 4 0、1 2 4 1、1 2 4 2、1 2 4 3、
 1 2 4 4、1 2 4 5、1 2 4 6、1 2 4 7、1 2 4 8、1 2 4 9、1 2 5 0、1 2 5 1、
 1 2 5 2、1 2 5 3、1 2 5 4、1 2 5 5、1 2 5 6、1 2 5 7、1 2 5 8、1 2 5 9、
 1

2 6 0、1 2 6 1、1 2 6 2、1 2 6 3、1 2 6 4、1 2 6 5、1 2 6 6、1 2 6 7、1
 2 6 8、1 2 6 9、1 2 7 0、1 2 7 1、1 2 7 2、1 2 7 3、1 2 7 4、1 2 7 5、1
 2 7 6、1 2 7 7、1 2 7 8、1 2 7 9、1 2 8 0、1 2 8 1、1 2 8 2、1 2 8 3、1
 2 8 4、1 2 8 5、1 2 8 6、1 2 8 7、1 2 8 8、1 2 8 9、1 2 9 0、1 2 9 1、1
 2 9 2、1 2 9 3、1 2 9 4、1 2 9 5、1 2 9 6、1 2 9 7、1 2 9 8、1 2 9 9、1 10
 3 0 0、1 3 0 1、1 3 0 2、1 3 0 3、1 3 0 4、1 3 0 5、1 3 0 6、1 3 0 7、1
 3 0 8、1 3 0 9、1 3 1 0、1 3 1 1、1 3 1 2、1 3 1 3、1 3 1 4、1 3 1 5、1
 3 1 6、1 3 1 7、1 3 1 8、1 3 1 9、1 3 2 0、1 3 2 1、1 3 2 2、1 3 2 3、1
 3 2 4、1 3 2 5、1 3 2 6、1 3 2 7、1 3 2 8、1 3 2 9、1 3 3 0、1 3 3 1、1
 3 3 2、1 3 3 3、1 3 3 4、1 3 3 5、1 3 3 6、1 3 3 7、1 3 3 8、1 3 3 9、1
 3 4 0、1 3 4 1、1 3 4 2、1 3 4 3、1 3 4 4、1 3 4 5、1 3 4 6、1 3 4 7、1
 3 4 8、1 3 4 9、1 3 5 0、1 3 5 1、1 3 5 2、1 3 5 3、1 3 5 4、1 3 5 5、1
 3 5 6、1 3 5 7、1 3 5 8、1 3 5 9、1 3 6 0、1 3 6 1、1 3 6 2、1 3 6 3、1
 3 6 4、1 3 6 5、1 3 6 6、1 3 6 7、1 3 6 8、1 3 6 9、1 3 7 0、1 3 7 1、1
 3 7 2、1 3 7 3、1 3 7 4、1 3 7 5、1 3 7 6、1 3 7 7、1 3 7 8、1 3 7 9、1 20
 3 8 0、1 3 8 1、1 3 8 2、1 3 8 3、1 3 8 4、1 3 8 5、1 3 8 6、1 3 8 7、1
 3 8 8、1 3 8 9、1 3 9 0、1 3 9 1、1 3 9 2、1 3 9 3、1 3 9 4、1 3 9 5、1
 3 9 6、1 3 9 7、1 3 9 8、1 3 9 9、1 4 0 0、1 4 0 1、1 4 0 2、1 4 0 3、1
 4 0 4、1 4 0 5、1 4 0 6、1 4 0 7、1 4 0 8、1 4 0 9、1 4 1 0、1 4 1 1、1
 4 1 2、1 4 1 3、1 4 1 4、1 4 1 5、1 4 1 6、1 4 1 7、1 4 1 8、1 4 1 9、1
 4 2 0、1 4 2 1、1 4 2 2、1 4 2 3、1 4 2 4、1 4 2 5、1 4 2 6、1 4 2 7、1
 4 2 8、1 4 2 9、1 4 3 0、1 4 3 1、1 4 3 2、1 4 3 3、1 4 3 4、1 4 3 5、1
 4 3 6、1 4 3 7、1 4 3 8、1 4 3 9、1 4 4 0、1 4 4 1、1 4 4 2、1 4 4 3、1
 4 4 4、1 4 4 5、1 4 4 6、1 4 4 7、1 4 4 8、1 4 4 9、1 4 5 0、1 4 5 1、1
 4 5 2、1 4 5 3、1 4 5 4、1 4 5 5、1 4 5 6、1 4 5 7、1 4 5 8、1 4 5 9、1 30
 4 6 0、1 4 6 1、1 4 6 2、1 4 6 3、1 4 6 4、1 4 6 5、1 4 6 6、1 4 6 7、1
 4 6 8、1 4 6 9、1 4 7 0、1 4 7 1、1 4 7 2、1 4 7 3、1 4 7 4、1 4 7 5、1
 4 7 6、1 4 7 7、1 4 7 8、1 4 7 9、1 4 8 0、1 4 8 1、1 4 8 2、1 4 8 3、1
 4 8 4、1 4 8 5、1 4 8 6、1 4 8 7、1 4 8 8、1 4 8 9、1 4 9 0、1 4 9 1、1
 4 9 2、1 4 9 3、1 4 9 4、1 4 9 5、1 4 9 6、1 4 9 7、1 4 9 8、1 4 9 9、1
 5 0 0、1 5 0 1、1 5 0 2、1 5 0 3、1 5 0 4、1 5 0 5、1 5 0 6、1 5 0 7、1
 5 0 8、1 5 0 9、1 5 1 0、1 5 1 1、1 5 1 2、1 5 1 3、1 5 1 4、1 5 1 5、1
 5 1 6、1 5 1 7、1 5 1 8、1 5 1 9、1 5 2 0、1 5 2 1、1 5 2 2、1 5 2 3、1
 5 2 4、1 5 2 5、1 5 2 6、1 5 2 7、1 5 2 8、1 5 2 9、1 5 3 0、1 5 3 1、1
 5 3 2、1 5 3 3、1 5 3 4、1 5 3 5、1 5 3 6、1 5 3 7、1 5 3 8、1 5 3 9、1 40
 5 4 0、1 5 4 1、1 5 4 2、1 5 4 3、1 5 4 4、1 5 4 5、1 5 4 6、1 5 4 7、1
 5 4 8、1 5 4 9、1 5 5 0、1 5 5 1、1 5 5 2、1 5 5 3、1 5 5 4、1 5 5 5、1
 5 5 6、1 5 5 7、1 5 5 8、1 5 5 9、1 5 6 0、1 5 6 1、1 5 6 2、1 5 6 3、1
 5 6 4、1 5 6 5、1 5 6 6、1 5 6 7、1 5 6 8、1 5 6 9、1 5 7 0、1 5 7 1、1
 5 7 2、1 5 7 3、1 5 7 4、1 5 7 5、1 5 7 6、1 5 7 7、1 5 7 8、1 5 7 9、1
 5 8 0、1 5 8 1、1 5 8 2、1 5 8 3、1 5 8 4、1 5 8 5、1 5 8 6、1 5 8 7、1
 5 8 8、1 5 8 9、1 5 9 0、1 5 9 1、1 5 9 2、1 5 9 3、1 5 9 4、1 5 9 5、1
 5 9 6、1 5 9 7、1 5 9 8、1 5 9 9、1 6 0 0、1 6 0 1、1 6 0 2、1 6 0 3、1
 6 0 4、1 6 0 5、1 6 0 6、1 6 0 7、1 6 0 8、1 6 0 9、1 6 1 0、1 6 1 1、1
 6 1 2、1 6 1 3、1 6 1 4、1 6 1 5、1 6 1 6、1 6 1 7、1 6 1 8、1 6 1 9、1 50

6 2 0、	1 6 2 1、	1 6 2 2、	1 6 2 3、	1 6 2 4、	1 6 2 5、	1 6 2 6、	1 6 2 7、	1	
6 2 8、	1 6 2 9、	1 6 3 0、	1 6 3 1、	1 6 3 2、	1 6 3 3、	1 6 3 4、	1 6 3 5、	1	
6 3 6、	1 6 3 7、	1 6 3 8、	1 6 3 9、	1 6 4 0、	1 6 4 1、	1 6 4 2、	1 6 4 3、	1	
6 4 4、	1 6 4 5、	1 6 4 6、	1 6 4 7、	1 6 4 8、	1 6 4 9、	1 6 5 0、	1 6 5 1、	1	
6 5 2、	1 6 5 3、	1 6 5 4、	1 6 5 5、	1 6 5 6、	1 6 5 7、	1 6 5 8、	1 6 5 9、	1	
6 6 0、	1 6 6 1、	1 6 6 2、	1 6 6 3、	1 6 6 4、	1 6 6 5、	1 6 6 6、	1 6 6 7、	1	
6 6 8、	1 6 6 9、	1 6 7 0、	1 6 7 1、	1 6 7 2、	1 6 7 3、	1 6 7 4、	1 6 7 5、	1	
6 7 6、	1 6 7 7、	1 6 7 8、	1 6 7 9、	1 6 8 0、	1 6 8 1、	1 6 8 2、	1 6 8 3、	1	
6 8 4、	1 6 8 5、	1 6 8 6、	1 6 8 7、	1 6 8 8、	1 6 8 9、	1 6 9 0、	1 6 9 1、	1	
6 9 2、	1 6 9 3、	1 6 9 4、	1 6 9 5、	1 6 9 6、	1 6 9 7、	1 6 9 8、	1 6 9 9、	1	10
7 0 0、	1 7 0 1、	1 7 0 2、	1 7 0 3、	1 7 0 4、	1 7 0 5、	1 7 0 6、	1 7 0 7、	1	
7 0 8、	1 7 0 9、	1 7 1 0、	1 7 1 1、	1 7 1 2、	1 7 1 3、	1 7 1 4、	1 7 1 5、	1	
7 1 6、	1 7 1 7、	1 7 1 8、	1 7 1 9、	1 7 2 0、	1 7 2 1、	1 7 2 2、	1 7 2 3、	1	
7 2 4、	1 7 2 5、	1 7 2 6、	1 7 2 7、	1 7 2 8、	1 7 2 9、	1 7 3 0、	1 7 3 1、	1	
7 3 2、	1 7 3 3、	1 7 3 4、	1 7 3 5、	1 7 3 6、	1 7 3 7、	1 7 3 8、	1 7 3 9、	1	
7 4 0、	1 7 4 1、	1 7 4 2、	1 7 4 3、	1 7 4 4、	1 7 4 5、	1 7 4 6、	1 7 4 7、	1	
7 4 8、	1 7 4 9、	1 7 5 0、	1 7 5 1、	1 7 5 2、	1 7 5 3、	1 7 5 4、	1 7 5 5、	1	
7 5 6、	1 7 5 7、	1 7 5 8、	1 7 5 9、	1 7 6 0、	1 7 6 1、	1 7 6 2、	1 7 6 3、	1	
7 6 4、	1 7 6 5、	1 7 6 6、	1 7 6 7、	1 7 6 8、	1 7 6 9、	1 7 7 0、	1 7 7 1、	1	
7 7 2、	1 7 7 3、	1 7 7 4、	1 7 7 5、	1 7 7 6、	1 7 7 7、	1 7 7 8、	1 7 7 9、	1	20
7 8 0、	1 7 8 1、	1 7 8 2、	1 7 8 3、	1 7 8 4、	1 7 8 5、	1 7 8 6、	1 7 8 7、	1	
7 8 8、	1 7 8 9、	1 7 9 0、	1 7 9 1、	1 7 9 2、	1 7 9 3、	1 7 9 4、	1 7 9 5、	1	
7 9 6、	1 7 9 7、	1 7 9 8、	1 7 9 9、	1 8 0 0、	1 8 0 1、	1 8 0 2、	1 8 0 3、	1	
8 0 4、	1 8 0 5、	1 8 0 6、	1 8 0 7、	1 8 0 8、	1 8 0 9、	1 8 1 0、	1 8 1 1、	1	
8 1 2、	1 8 1 3、	1 8 1 4、	1 8 1 5、	1 8 1 6、	1 8 1 7、	1 8 1 8、	1 8 1 9、	1	
8 2 0、	1 8 2 1、	1 8 2 2、	1 8 2 3、	1 8 2 4、	1 8 2 5、	1 8 2 6、	1 8 2 7、	1	
8 2 8、	1 8 2 9、	1 8 3 0、	1 8 3 1、	1 8 3 2、	1 8 3 3、	1 8 3 4、	1 8 3 5、	1	
8 3 6、	1 8 3 7、	1 8 3 8、	1 8 3 9、	1 8 4 0、	1 8 4 1、	1 8 4 2、	1 8 4 3、	1	
8 4 4、	1 8 4 5、	1 8 4 6、	1 8 4 7、	1 8 4 8、	1 8 4 9、	1 8 5 0、	1 8 5 1、	1	
8 5 2、	1 8 5 3、	1 8 5 4、	1 8 5 5、	1 8 5 6、	1 8 5 7、	1 8 5 8、	1 8 5 9、	1	30
8 6 0、	1 8 6 1、	1 8 6 2、	1 8 6 3、	1 8 6 4、	1 8 6 5、	1 8 6 6、	1 8 6 7、	1	
8 6 8、	1 8 6 9、	1 8 7 0、	1 8 7 1、	1 8 7 2、	1 8 7 3、	1 8 7 4、	1 8 7 5、	1	
8 7 6、	1 8 7 7、	1 8 7 8、	1 8 7 9、	1 8 8 0、	1 8 8 1、	1 8 8 2、	1 8 8 3、	1	
8 8 4、	1 8 8 5、	1 8 8 6、	1 8 8 7、	1 8 8 8、	1 8 8 9、	1 8 9 0、	1 8 9 1、	1	
8 9 2、	1 8 9 3、	1 8 9 4、	1 8 9 5、	1 8 9 6、	1 8 9 7、	1 8 9 8、	1 8 9 9、	1	
9 0 0、	1 9 0 1、	1 9 0 2、	1 9 0 3、	1 9 0 4、	1 9 0 5、	1 9 0 6、	1 9 0 7、	1	
9 0 8、	1 9 0 9、	1 9 1 0、	1 9 1 1、	1 9 1 2、	1 9 1 3、	1 9 1 4、	1 9 1 5、	1	
9 1 6、	1 9 1 7、	1 9 1 8、	1 9 1 9、	1 9 2 0、	1 9 2 1、	1 9 2 2、	1 9 2 3、	1	
9 2 4、	1 9 2 5、	1 9 2 6、	1 9 2 7、	1 9 2 8、	1 9 2 9、	1 9 3 0、	1 9 3 1、	1	
9 3 2、	1 9 3 3、	1 9 3 4、	1 9 3 5、	1 9 3 6、	1 9 3 7、	1 9 3 8、	1 9 3 9、	1	40
9 4 0、	1 9 4 1、	1 9 4 2、	1 9 4 3、	1 9 4 4、	1 9 4 5、	1 9 4 6、	1 9 4 7、	1	
9 4 8、	1 9 4 9、	1 9 5 0、	1 9 5 1、	1 9 5 2、	1 9 5 3、	1 9 5 4、	1 9 5 5、	1	
9 5 6、	1 9 5 7、	1 9 5 8、	1 9 5 9、	1 9 6 0、	1 9 6 1、	1 9 6 2、	1 9 6 3、	1	
9 6 4、	1 9 6 5、	1 9 6 6、	1 9 6 7、	1 9 6 8、	1 9 6 9、	1 9 7 0、	1 9 7 1、	1	
9 7 2、	1 9 7 3、	1 9 7 4、	1 9 7 5、	1 9 7 6、	1 9 7 7、	1 9 7 8、	1 9 7 9、	1	
9 8 0、	1 9 8 1、	1 9 8 2、	1 9 8 3、	1 9 8 4、	1 9 8 5、	1 9 8 6、	1 9 8 7、	1	
9 8 8、	1 9 8 9、	1 9 9 0、	1 9 9 1、	1 9 9 2、	1 9 9 3、	1 9 9 4、	1 9 9 5、	1	
9 9 6、	1 9 9 7、	1 9 9 8、	1 9 9 9、	2 0 0 0、	2 0 0 1、	2 0 0 2、	2 0 0 3、	2	
0 0 4、	2 0 0 5、	2 0 0 6、	2 0 0 7、	2 0 0 8、	2 0 0 9、	2 0 1 0、	2 0 1 1、	2	
0 1 2、	2 0 1 3、	2 0 1 4、	2 0 1 5、	2 0 1 6、	2 0 1 7、	2 0 1 8、	2 0 1 9、	2	50

0 2 0、	2 0 2 1、	2 0 2 2、	2 0 2 3、	2 0 2 4、	2 0 2 5、	2 0 2 6、	2 0 2 7、	2	
0 2 8、	2 0 2 9、	2 0 3 0、	2 0 3 1、	2 0 3 2、	2 0 3 3、	2 0 3 4、	2 0 3 5、	2	
0 3 6、	2 0 3 7、	2 0 3 8、	2 0 3 9、	2 0 4 0、	2 0 4 1、	2 0 4 2、	2 0 4 3、	2	
0 4 4、	2 0 4 5、	2 0 4 6、	2 0 4 7、	2 0 4 8、	2 0 4 9、	2 0 5 0、	2 0 5 1、	2	
0 5 2、	2 0 5 3、	2 0 5 4、	2 0 5 5、	2 0 5 6、	2 0 5 7、	2 0 5 8、	2 0 5 9、	2	
0 6 0、	2 0 6 1、	2 0 6 2、	2 0 6 3、	2 0 6 4、	2 0 6 5、	2 0 6 6、	2 0 6 7、	2	
0 6 8、	2 0 6 9、	2 0 7 0、	2 0 7 1、	2 0 7 2、	2 0 7 3、	2 0 7 4、	2 0 7 5、	2	
0 7 6、	2 0 7 7、	2 0 7 8、	2 0 7 9、	2 0 8 0、	2 0 8 1、	2 0 8 2、	2 0 8 3、	2	
0 8 4、	2 0 8 5、	2 0 8 6、	2 0 8 7、	2 0 8 8、	2 0 8 9、	2 0 9 0、	2 0 9 1、	2	
0 9 2、	2 0 9 3、	2 0 9 4、	2 0 9 5、	2 0 9 6、	2 0 9 7、	2 0 9 8、	2 0 9 9、	2	10
1 0 0、	2 1 0 1、	2 1 0 2、	2 1 0 3、	2 1 0 4、	2 1 0 5、	2 1 0 6、	2 1 0 7、	2	
1 0 8、	2 1 0 9、	2 1 1 0、	2 1 1 1、	2 1 1 2、	2 1 1 3、	2 1 1 4、	2 1 1 5、	2	
1 1 6、	2 1 1 7、	2 1 1 8、	2 1 1 9、	2 1 2 0、	2 1 2 1、	2 1 2 2、	2 1 2 3、	2	
1 2 4、	2 1 2 5、	2 1 2 6、	2 1 2 7、	2 1 2 8、	2 1 2 9、	2 1 3 0、	2 1 3 1、	2	
1 3 2、	2 1 3 3、	2 1 3 4、	2 1 3 5、	2 1 3 6、	2 1 3 7、	2 1 3 8、	2 1 3 9、	2	
1 4 0、	2 1 4 1、	2 1 4 2、	2 1 4 3、	2 1 4 4、	2 1 4 5、	2 1 4 6、	2 1 4 7、	2	
1 4 8、	2 1 4 9、	2 1 5 0、	2 1 5 1、	2 1 5 2、	2 1 5 3、	2 1 5 4、	2 1 5 5、	2	
1 5 6、	2 1 5 7、	2 1 5 8、	2 1 5 9、	2 1 6 0、	2 1 6 1、	2 1 6 2、	2 1 6 3、	2	
1 6 4、	2 1 6 5、	2 1 6 6、	2 1 6 7、	2 1 6 8、	2 1 6 9、	2 1 7 0、	2 1 7 1、	2	
1 7 2、	2 1 7 3、	2 1 7 4、	2 1 7 5、	2 1 7 6、	2 1 7 7、	2 1 7 8、	2 1 7 9、	2	20
1 8 0、	2 1 8 1、	2 1 8 2、	2 1 8 3、	2 1 8 4、	2 1 8 5、	2 1 8 6、	2 1 8 7、	2	
1 8 8、	2 1 8 9、	2 1 9 0、	2 1 9 1、	2 1 9 2、	2 1 9 3、	2 1 9 4、	2 1 9 5、	2	
1 9 6、	2 1 9 7、	2 1 9 8、	2 1 9 9、	2 2 0 0、	2 2 0 1、	2 2 0 2、	2 2 0 3、	2	
2 0 4、	2 2 0 5、	2 2 0 6、	2 2 0 7、	2 2 0 8、	2 2 0 9、	2 2 1 0、	2 2 1 1、	2	
2 1 2、	2 2 1 3、	2 2 1 4、	2 2 1 5、	2 2 1 6、	2 2 1 7、	2 2 1 8、	2 2 1 9、	2	
2 2 0、	2 2 2 1、	2 2 2 2、	2 2 2 3、	2 2 2 4、	2 2 2 5、	2 2 2 6、	2 2 2 7、	2	
2 2 8、	2 2 2 9、	2 2 3 0、	2 2 3 1、	2 2 3 2、	2 2 3 3、	2 2 3 4、	2 2 3 5、	2	
2 3 6、	2 2 3 7、	2 2 3 8、	2 2 3 9、	2 2 4 0、	2 2 4 1、	2 2 4 2、	2 2 4 3、	2	
2 4 4、	2 2 4 5、	2 2 4 6、	2 2 4 7、	2 2 4 8、	2 2 4 9、	2 2 5 0、	2 2 5 1、	2	
2 5 2、	2 2 5 3、	2 2 5 4、	2 2 5 5、	2 2 5 6、	2 2 5 7、	2 2 5 8、	2 2 5 9、	2	30
2 6 0、	2 2 6 1、	2 2 6 2、	2 2 6 3、	2 2 6 4、	2 2 6 5、	2 2 6 6、	2 2 6 7、	2	
2 6 8、	2 2 6 9、	2 2 7 0、	2 2 7 1、	2 2 7 2、	2 2 7 3、	2 2 7 4、	2 2 7 5、	2	
2 7 6、	2 2 7 7、	2 2 7 8、	2 2 7 9、	2 2 8 0、	2 2 8 1、	2 2 8 2、	2 2 8 3、	2	
2									
8 4、	2 2 8 5、	2 2 8 6、	2 2 8 7、	2 2 8 8、	2 2 8 9、	2 2 9 0、	2 2 9 1、	2 2	
9 2、	2 2 9 3、	2 2 9 4、	2 2 9 5、	2 2 9 6、	2 2 9 7、	2 2 9 8、	2 2 9 9、	2 3	
0 0、	2 3 0 1、	2 3 0 2、	2 3 0 3、	2 3 0 4、	2 3 0 5、	2 3 0 6、	2 3 0 7、	2 3	
0 8、	2 3 0 9、	2 3 1 0、	2 3 1 1、	2 3 1 2、	2 3 1 3、	2 3 1 4、	2 3 1 5、	2 3	
1 6、	2 3 1 7、	2 3 1 8、	2 3 1 9、	2 3 2 0、	2 3 2 1、	2 3 2 2、	2 3 2 3、	2 3	40
2 4、	2 3 2 5、	2 3 2 6、	2 3 2 7、	2 3 2 8、	2 3 2 9、	2 3 3 0、	2 3 3 1、	2 3	
3 2、	2 3 3 3、	2 3 3 4、	2 3 3 5、	2 3 3 6、	2 3 3 7、	2 3 3 8、	2 3 3 9、	2 3	
4 0、	2 3 4 1、	2 3 4 2、	2 3 4 3、	2 3 4 4、	2 3 4 5、	2 3 4 6、	2 3 4 7、	2 3	
4 8、	2 3 4 9、	2 3 5 0、	2 3 5 1、	2 3 5 2、	2 3 5 3、	2 3 5 4、	2 3 5 5、	2 3	
5 6、	2 3 5 7、	2 3 5 8、	2 3 5 9、	2 3 6 0、	2 3 6 1、	2 3 6 2、	2 3 6 3、	2 3	
6 4、	2 3 6 5、	2 3 6 6、	2 3 6 7、	2 3 6 8、	2 3 6 9、	2 3 7 0、	2 3 7 1、	2 3	
7 2、	2 3 7 3、	2 3 7 4、	2 3 7 5、	2 3 7 6、	2 3 7 7、	2 3 7 8、	2 3 7 9、	2 3	
8 0、	2 3 8 1、	2 3 8 2、	2 3 8 3、	2 3 8 4、	2 3 8 5、	2 3 8 6、	2 3 8 7、	2 3	
8 8、	2 3 8 9、	2 3 9 0、	2 3 9 1、	2 3 9 2、	2 3 9 3、	2 3 9 4、	2 3 9 5、	2 3	
9 6、	2 3 9 7、	2 3 9 8、	2 3 9 9、	2 4 0 0、	2 4 0 1、	2 4 0 2、	2 4 0 3、	2 4	50

0 4、	2 4 0 5、	2 4 0 6、	2 4 0 7、	2 4 0 8、	2 4 0 9、	2 4 1 0、	2 4 1 1、	2 4	
1 2、	2 4 1 3、	2 4 1 4、	2 4 1 5、	2 4 1 6、	2 4 1 7、	2 4 1 8、	2 4 1 9、	2 4	
2 0、	2 4 2 1、	2 4 2 2、	2 4 2 3、	2 4 2 4、	2 4 2 5、	2 4 2 6、	2 4 2 7、	2 4	
2 8、	2 4 2 9、	2 4 3 0、	2 4 3 1、	2 4 3 2、	2 4 3 3、	2 4 3 4、	2 4 3 5、	2 4	
3 6、	2 4 3 7、	2 4 3 8、	2 4 3 9、	2 4 4 0、	2 4 4 1、	2 4 4 2、	2 4 4 3、	2 4	
4 4、	2 4 4 5、	2 4 4 6、	2 4 4 7、	2 4 4 8、	2 4 4 9、	2 4 5 0、	2 4 5 1、	2 4	
5 2、	2 4 5 3、	2 4 5 4、	2 4 5 5、	2 4 5 6、	2 4 5 7、	2 4 5 8、	2 4 5 9、	2 4	
6 0、	2 4 6 1、	2 4 6 2、	2 4 6 3、	2 4 6 4、	2 4 6 5、	2 4 6 6、	2 4 6 7、	2 4	
6 8、	2 4 6 9、	2 4 7 0、	2 4 7 1、	2 4 7 2、	2 4 7 3、	2 4 7 4、	2 4 7 5、	2 4	
7 6、	2 4 7 7、	2 4 7 8、	2 4 7 9、	2 4 8 0、	2 4 8 1、	2 4 8 2、	2 4 8 3、	2 4	10
8 4、	2 4 8 5、	2 4 8 6、	2 4 8 7、	2 4 8 8、	2 4 8 9、	2 4 9 0、	2 4 9 1、	2 4	
9 2、	2 4 9 3、	2 4 9 4、	2 4 9 5、	2 4 9 6、	2 4 9 7、	2 4 9 8、	2 4 9 9、	2 5	
0 0、	2 5 0 1、	2 5 0 2、	2 5 0 3、	2 5 0 4、	2 5 0 5、	2 5 0 6、	2 5 0 7、	2 5	
0 8、	2 5 0 9、	2 5 1 0、	2 5 1 1、	2 5 1 2、	2 5 1 3、	2 5 1 4、	2 5 1 5、	2 5	
1 6、	2 5 1 7、	2 5 1 8、	2 5 1 9、	2 5 2 0、	2 5 2 1、	2 5 2 2、	2 5 2 3、	2 5	
2 4、	2 5 2 5、	2 5 2 6、	2 5 2 7、	2 5 2 8、	2 5 2 9、	2 5 3 0、	2 5 3 1、	2 5	
3 2、	2 5 3 3、	2 5 3 4、	2 5 3 5、	2 5 3 6、	2 5 3 7、	2 5 3 8、	2 5 3 9、	2 5	
4 0、	2 5 4 1、	2 5 4 2、	2 5 4 3、	2 5 4 4、	2 5 4 5、	2 5 4 6、	2 5 4 7、	2 5	
4 8、	2 5 4 9、	2 5 5 0、	2 5 5 1、	2 5 5 2、	2 5 5 3、	2 5 5 4、	2 5 5 5、	2 5	
5 6、	2 5 5 7、	2 5 5 8、	2 5 5 9、	2 5 6 0、	2 5 6 1、	2 5 6 2、	2 5 6 3、	2 5	20
6 4、	2 5 6 5、	2 5 6 6、	2 5 6 7、	2 5 6 8、	2 5 6 9、	2 5 7 0、	2 5 7 1、	2 5	
7 2、	2 5 7 3、	2 5 7 4、	2 5 7 5、	2 5 7 6、	2 5 7 7、	2 5 7 8、	2 5 7 9、	2 5	
8 0、	2 5 8 1、	2 5 8 2、	2 5 8 3、	2 5 8 4、	2 5 8 5、	2 5 8 6、	2 5 8 7、	2 5	
8 8、	2 5 8 9、	2 5 9 0、	2 5 9 1、	2 5 9 2、	2 5 9 3、	2 5 9 4、	2 5 9 5、	2 5	
9 6、	2 5 9 7、	2 5 9 8、	2 5 9 9、	2 6 0 0、	2 6 0 1、	2 6 0 2、	2 6 0 3、	2 6	
0 4、	2 6 0 5、	2 6 0 6、	2 6 0 7、	2 6 0 8、	2 6 0 9、	2 6 1 0、	2 6 1 1、	2 6	
1 2、	2 6 1 3、	2 6 1 4、	2 6 1 5、	2 6 1 6、	2 6 1 7、	2 6 1 8、	2 6 1 9、	2 6	
2 0、	2 6 2 1、	2 6 2 2、	2 6 2 3、	2 6 2 4、	2 6 2 5、	2 6 2 6、	2 6 2 7、	2 6	
2 8、	2 6 2 9、	2 6 3 0、	2 6 3 1、	2 6 3 2、	2 6 3 3、	2 6 3 4、	2 6 3 5、	2 6	
3 6、	2 6 3 7、	2 6 3 8、	2 6 3 9、	2 6 4 0、	2 6 4 1、	2 6 4 2、	2 6 4 3、	2 6	30
4 4、	2 6 4 5、	2 6 4 6、	2 6 4 7、	2 6 4 8、	2 6 4 9、	2 6 5 0、	2 6 5 1、	2 6	
5 2、	2 6 5 3、	2 6 5 4、	2 6 5 5、	2 6 5 6、	2 6 5 7、	2 6 5 8、	2 6 5 9、	2 6	
6 0、	2 6 6 1、	2 6 6 2、	2 6 6 3、	2 6 6 4、	2 6 6 5、	2 6 6 6、	2 6 6 7、	2 6	
6 8、	2 6 6 9、	2 6 7 0、	2 6 7 1、	2 6 7 2、	2 6 7 3、	2 6 7 4、	2 6 7 5、	2 6	
7 6、	2 6 7 7、	2 6 7 8、	2 6 7 9、	2 6 8 0、	2 6 8 1、	2 6 8 2、	2 6 8 3、	2 6	
8 4、	2 6 8 5、	2 6 8 6、	2 6 8 7、	2 6 8 8、	2 6 8 9、	2 6 9 0、	2 6 9 1、	2 6	
9 2、	2 6 9 3、	2 6 9 4、	2 6 9 5、	2 6 9 6、	2 6 9 7、	2 6 9 8、	2 6 9 9、	2 7	
0 0、	2 7 0 1、	2 7 0 2、	2 7 0 3、	2 7 0 4、	2 7 0 5、	2 7 0 6、	2 7 0 7、	2 7	
0 8、	2 7 0 9、	2 7 1 0、	2 7 1 1、	2 7 1 2、	2 7 1 3、	2 7 1 4、	2 7 1 5、	2 7	
1 6、	2 7 1 7、	2 7 1 8、	2 7 1 9、	2 7 2 0、	2 7 2 1、	2 7 2 2、	2 7 2 3、	2 7	40
2 4、	2 7 2 5、	2 7 2 6、	2 7 2 7、	2 7 2 8、	2 7 2 9、	2 7 3 0、	2 7 3 1、	2 7	
3 2、	2 7 3 3、	2 7 3 4、	2 7 3 5、	2 7 3 6、	2 7 3 7、	2 7 3 8、	2 7 3 9、	2 7	
4 0、	2 7 4 1、	2 7 4 2、	2 7 4 3、	2 7 4 4、	2 7 4 5、	2 7 4 6、	2 7 4 7、	2 7	
4 8、	2 7 4 9、	2 7 5 0、	2 7 5 1、	2 7 5 2、	2 7 5 3、	2 7 5 4、	2 7 5 5、	2 7	
5 6、	2 7 5 7、	2 7 5 8、	2 7 5 9、	2 7 6 0、	2 7 6 1、	2 7 6 2、	2 7 6 3、	2 7	
6 4、	2 7 6 5、	2 7 6 6、	2 7 6 7、	2 7 6 8、	2 7 6 9、	2 7 7 0、	2 7 7 1、	2 7	
7 2、	2 7 7 3、	2 7 7 4、	2 7 7 5、	2 7 7 6、	2 7 7 7、	2 7 7 8、	2 7 7 9、	2 7	
8 0、	2 7 8 1、	2 7 8 2、	2 7 8 3、	2 7 8 4、	2 7 8 5、	2 7 8 6、	2 7 8 7、	2 7	
8 8、	2 7 8 9、	2 7 9 0、	2 7 9 1、	2 7 9 2、	2 7 9 3、	2 7 9 4、	2 7 9 5、	2 7	
9 6、	2 7 9 7、	2 7 9 8、	2 7 9 9、	2 8 0 0、	2 8 0 1、	2 8 0 2、	2 8 0 3、	2 8	50

0 4、	2 8 0 5、	2 8 0 6、	2 8 0 7、	2 8 0 8、	2 8 0 9、	2 8 1 0、	2 8 1 1、	2 8	
1 2、	2 8 1 3、	2 8 1 4、	2 8 1 5、	2 8 1 6、	2 8 1 7、	2 8 1 8、	2 8 1 9、	2 8	
2 0、	2 8 2 1、	2 8 2 2、	2 8 2 3、	2 8 2 4、	2 8 2 5、	2 8 2 6、	2 8 2 7、	2 8	
2 8、	2 8 2 9、	2 8 3 0、	2 8 3 1、	2 8 3 2、	2 8 3 3、	2 8 3 4、	2 8 3 5、	2 8	
3 6、	2 8 3 7、	2 8 3 8、	2 8 3 9、	2 8 4 0、	2 8 4 1、	2 8 4 2、	2 8 4 3、	2 8	
4 4、	2 8 4 5、	2 8 4 6、	2 8 4 7、	2 8 4 8、	2 8 4 9、	2 8 5 0、	2 8 5 1、	2 8	
5 2、	2 8 5 3、	2 8 5 4、	2 8 5 5、	2 8 5 6、	2 8 5 7、	2 8 5 8、	2 8 5 9、	2 8	
6 0、	2 8 6 1、	2 8 6 2、	2 8 6 3、	2 8 6 4、	2 8 6 5、	2 8 6 6、	2 8 6 7、	2 8	
6 8、	2 8 6 9、	2 8 7 0、	2 8 7 1、	2 8 7 2、	2 8 7 3、	2 8 7 4、	2 8 7 5、	2 8	
7 6、	2 8 7 7、	2 8 7 8、	2 8 7 9、	2 8 8 0、	2 8 8 1、	2 8 8 2、	2 8 8 3、	2 8	10
8 4、	2 8 8 5、	2 8 8 6、	2 8 8 7、	2 8 8 8、	2 8 8 9、	2 8 9 0、	2 8 9 1、	2 8	
9 2、	2 8 9 3、	2 8 9 4、	2 8 9 5、	2 8 9 6、	2 8 9 7、	2 8 9 8、	2 8 9 9、	2 9	
0 0、	2 9 0 1、	2 9 0 2、	2 9 0 3、	2 9 0 4、	2 9 0 5、	2 9 0 6、	2 9 0 7、	2 9	
0 8、	2 9 0 9、	2 9 1 0、	2 9 1 1、	2 9 1 2、	2 9 1 3、	2 9 1 4、	2 9 1 5、	2 9	
1 6、	2 9 1 7、	2 9 1 8、	2 9 1 9、	2 9 2 0、	2 9 2 1、	2 9 2 2、	2 9 2 3、	2 9	
2 4、	2 9 2 5、	2 9 2 6、	2 9 2 7、	2 9 2 8、	2 9 2 9、	2 9 3 0、	2 9 3 1、	2 9	
3 2、	2 9 3 3、	2 9 3 4、	2 9 3 5、	2 9 3 6、	2 9 3 7、	2 9 3 8、	2 9 3 9、	2 9	
4 0、	2 9 4 1、	2 9 4 2、	2 9 4 3、	2 9 4 4、	2 9 4 5、	2 9 4 6、	2 9 4 7、	2 9	
4 8、	2 9 4 9、	2 9 5 0、	2 9 5 1、	2 9 5 2、	2 9 5 3、	2 9 5 4、	2 9 5 5、	2 9	
5 6、	2 9 5 7、	2 9 5 8、	2 9 5 9、	2 9 6 0、	2 9 6 1、	2 9 6 2、	2 9 6 3、	2 9	20
6 4、	2 9 6 5、	2 9 6 6、	2 9 6 7、	2 9 6 8、	2 9 6 9、	2 9 7 0、	2 9 7 1、	2 9	
7 2、	2 9 7 3、	2 9 7 4、	2 9 7 5、	2 9 7 6、	2 9 7 7、	2 9 7 8、	2 9 7 9、	2 9	
8 0、	2 9 8 1、	2 9 8 2、	2 9 8 3、	2 9 8 4、	2 9 8 5、	2 9 8 6、	2 9 8 7、	2 9	
8 8、	2 9 8 9、	2 9 9 0、	2 9 9 1、	2 9 9 2、	2 9 9 3、	2 9 9 4、	2 9 9 5、	2 9	
9 6、	2 9 9 7、	2 9 9 8、	2 9 9 9、	3 0 0 0、	3 0 0 1、	3 0 0 2、	3 0 0 3、	3 0	
0 4、	3 0 0 5、	3 0 0 6、	3 0 0 7、	3 0 0 8、	3 0 0 9、	3 0 1 0、	3 0 1 1、	3 0	
1 2、	3 0 1 3、	3 0 1 4、	3 0 1 5、	3 0 1 6、	3 0 1 7、	3 0 1 8、	3 0 1 9、	3 0	
2 0、	3 0 2 1、	3 0 2 2、	3 0 2 3、	3 0 2 4、	3 0 2 5、	3 0 2 6、	3 0 2 7、	3 0	
2 8、	3 0 2 9、	3 0 3 0、	3 0 3 1、	3 0 3 2、	3 0 3 3、	3 0 3 4、	3 0 3 5、	3 0	
3 6、	3 0 3 7、	3 0 3 8、	3 0 3 9、	3 0 4 0、	3 0 4 1、	3 0 4 2、	3 0 4 3、	3 0	30
4 4、	3 0 4 5、	3 0 4 6、	3 0 4 7、	3 0 4 8、	3 0 4 9、	3 0 5 0、	3 0 5 1、	3 0	
5 2、	3 0 5 3、	3 0 5 4、	3 0 5 5、	3 0 5 6、	3 0 5 7、	3 0 5 8、	3 0 5 9、	3 0	
6 0、	3 0 6 1、	3 0 6 2、	3 0 6 3、	3 0 6 4、	3 0 6 5、	3 0 6 6、	3 0 6 7、	3 0	
6 8、	3 0 6 9、	3 0 7 0、	3 0 7 1、	3 0 7 2、	3 0 7 3、	3 0 7 4、	3 0 7 5、	3 0	
7 6、	3 0 7 7、	3 0 7 8、	3 0 7 9、	3 0 8 0、	3 0 8 1、	3 0 8 2、	3 0 8 3、	3 0	
8 4、	3 0 8 5、	3 0 8 6、	3 0 8 7、	3 0 8 8、	3 0 8 9、	3 0 9 0、	3 0 9 1、	3 0	
9 2、	3 0 9 3、	3 0 9 4、	3 0 9 5、	3 0 9 6、	3 0 9 7、	3 0 9 8、	3 0 9 9、	3 1	
0 0、	3 1 0 1、	3 1 0 2、	3 1 0 3、	3 1 0 4、	3 1 0 5、	3 1 0 6、	3 1 0 7、	3 1	
0 8、	3 1 0 9、	3 1 1 0、	3 1 1 1、	3 1 1 2、	3 1 1 3、	3 1 1 4、	3 1 1 5、	3 1	
1 6、	3 1 1 7、	3 1 1 8、	3 1 1 9、	3 1 2 0、	3 1 2 1、	3 1 2 2、	3 1 2 3、	3 1	40
2 4、	3 1 2 5、	3 1 2 6、	3 1 2 7、	3 1 2 8、	3 1 2 9、	3 1 3 0、	3 1 3 1、	3 1	
3 2、	3 1 3 3、	3 1 3 4、	3 1 3 5、	3 1 3 6、	3 1 3 7、	3 1 3 8、	3 1 3 9、	3 1	
4 0、	3 1 4 1、	3 1 4 2、	3 1 4 3、	3 1 4 4、	3 1 4 5、	3 1 4 6、	3 1 4 7、	3 1	
4 8、	3 1 4 9、	3 1 5 0、	3 1 5 1、	3 1 5 2、	3 1 5 3、	3 1 5 4、	3 1 5 5、	3 1	
5 6、	3 1 5 7、	3 1 5 8、	3 1 5 9、	3 1 6 0、	3 1 6 1、	3 1 6 2、	3 1 6 3、	3 1	
6 4、	3 1 6 5、	3 1 6 6、	3 1 6 7、	3 1 6 8、	3 1 6 9、	3 1 7 0、	3 1 7 1、	3 1	
7 2、	3 1 7 3、	3 1 7 4、	3 1 7 5、	3 1 7 6、	3 1 7 7、	3 1 7 8、	3 1 7 9、	3 1	
8 0、	3 1 8 1、	3 1 8 2、	3 1 8 3、	3 1 8 4、	3 1 8 5、	3 1 8 6、	3 1 8 7、	3 1	
8 8、	3 1 8 9、	3 1 9 0、	3 1 9 1、	3 1 9 2、	3 1 9 3、	3 1 9 4、	3 1 9 5、	3 1	
9 6、	3 1 9 7、	3 1 9 8、	3 1 9 9、	3 2 0 0、	3 2 0 1、	3 2 0 2、	3 2 0 3、	3 2	50

04、3205、3206、3207、3208、3209、3210、3211、3212、3213、3214、3215、3216、3217、3218、3219、3220、3221、3222、3223、3224、3225、3226、3227、3228、3229、3230、3231、3232、3233、3234、3235、3236、3237、3238、3239、3240、3241、3242、3243、3244、3245、3246、3247、3248、3249、および3250ヌクレオチドなどの長さを有していてもよい。ウイルスゲノムの任意のフィラー領域の長さは、50～100、100～150、150～200、200～250、250～300、300～350、350～400、400～450、450～500、500～550、550～600、600～650、650～700、700～750、750～800、800～850、850～900、900～950、950～1000、1000～1050、1050～1100、1100～1150、1150～1200、1200～1250、1250～1300、1300～1350、1350～1400、1400～1450、1

450～1500、1500～1550、1550～1600、1600～1650、1650～1700、1700～1750、1750～1800、1800～1850、1850～1900、1900～1950、1950～2000、2000～2050、2050～2100、2100～2150、2150～2200、2200～2250、2250～2300、2300～2350、2350～2400、2400～2450、2450～2500、2500～2550、2550～2600、2600～2650、2650～2700、2700～2750、2750～2800、2800～2850、2850～2900、2900～2950、2950～3000、3000～3050、3050～3100、3100～3150、3150～3200、および3200～3250ヌクレオチドであってもよい。非限定的な例として、ウイルスゲノムは、約55ヌクレオチド長であるフィラー領域を含む。非限定的な例として、ウイルスゲノムは、約56ヌクレオチド長であるフィラー領域を含む。非限定的な例として、ウイルスゲノムは、約97ヌクレオチド長であるフィラー領域を含む。非限定的な例として、ウイルスゲノムは、約103ヌクレオチド長であるフィラー領域を含む。非限定的な例として、ウイルスゲノムは、約105ヌクレオチド長であるフィラー領域を含む。非限定的な例として、ウイルスゲノムは、約357ヌクレオチド長であるフィラー領域を含む。非限定的な例として、ウイルスゲノムは、約363ヌクレオチド長であるフィラー領域を含む。非限定的な例として、ウイルスゲノムは、約712ヌクレオチド長であるフィラー領域を含む。非限定的な例として、ウイルスゲノムは、約714ヌクレオチド長であるフィラー領域を含む。非限定的な例として、ウイルスゲノムは、約1203ヌクレオチド長であるフィラー領域を含む。非限定的な例として、ウイルスゲノムは、約1209ヌクレオチド長であるフィラー領域を含む。非限定的な例として、ウイルスゲノムは、約1512ヌクレオチド長であるフィラー領域を含む。非限定的な例として、ウイルスゲノムは、約1519ヌクレオチド長であるフィラー領域を含む。非限定的な例として、ウイルスゲノムは、約2395ヌクレオチド長であるフィラー領域を含む。非限定的な例として、ウイルスゲノムは、約2403ヌクレオチド長であるフィラー領域を含む。非限定的な例として、ウイルスゲノムは、約2405ヌクレオチド長であるフィラー領域を含む。非限定的な例として、ウイルスゲノムは、約3013ヌクレオチド長であるフィラー領域を含む。非限定的な例として、ウイルスゲノムは、約3021ヌクレオチド長であるフィラー領域を含む。

【0563】

一実施形態において、AAV粒子ウイルスゲノムは、少なくとも1つの多重フィラー配列領域を含み得る。フィラー領域は、独立に、限定はされないが、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、9

[illegible]

5 9 5、5 9 6、5 9 7、5 9 8、5 9 9、6 0 0、6 0 1、6 0 2、6 0 3、6 0 4、	
6 0 5、6 0 6、6 0 7、6 0 8、6 0 9、6 1 0、6 1 1、6 1 2、6 1 3、6 1 4、	
6 1 5、6 1 6、6 1 7、6 1 8、6 1 9、6 2 0、6 2 1、6 2 2、6 2 3、6 2 4、	
6 2 5、6 2 6、6 2 7、6 2 8、6 2 9、6 3 0、6 3 1、6 3 2、6 3 3、6 3 4、	
6 3 5、6 3 6、6 3 7、6 3 8、6 3 9、6 4 0、6 4 1、6 4 2、6 4 3、6 4 4、	
6 4 5、6 4 6、6 4 7、6 4 8、6 4 9、6 5 0、6 5 1、6 5 2、6 5 3、6 5 4、	
6 5 5、6 5 6、6 5 7、6 5 8、6 5 9、6 6 0、6 6 1、6 6 2、6 6 3、6 6 4、	
6 6 5、6 6 6、6 6 7、6 6 8、6 6 9、6 7 0、6 7 1、6 7 2、6 7 3、6 7 4、	
6 7 5、6 7 6、6 7 7、6 7 8、6 7 9、6 8 0、6 8 1、6 8 2、6 8 3、6 8 4、	
6 8 5、6 8 6、6 8 7、6 8 8、6 8 9、6 9 0、6 9 1、6 9 2、6 9 3、6 9 4、	10
6 9 5、6 9 6、6 9 7、6 9 8、6 9 9、7 0 0、7 0 1、7 0 2、7 0 3、7 0 4、	
7 0 5、7 0 6、7 0 7、7 0 8、7 0 9、7 1 0、7 1 1、7 1 2、7 1 3、7 1 4、	
7 1 5、7 1 6、7 1 7、7 1 8、7 1 9、7 2 0、7 2 1、7 2 2、7 2 3、7 2 4、	
7 2 5、7 2 6、7 2 7、7 2 8、7 2 9、7 3 0、7 3 1、7 3 2、7 3 3、7 3 4、	
7 3 5、7 3 6、7 3 7、7 3 8、7 3 9、7 4 0、7 4 1、7 4 2、7 4 3、7 4 4、	
7 4 5、7 4 6、7 4 7、7 4 8、7 4 9、7 5 0、7 5 1、7 5 2、7 5 3、7 5 4、	
7 5 5、7 5 6、7 5 7、7 5 8、7 5 9、7 6 0、7 6 1、7 6 2、7 6 3、7 6 4、	
7 6 5、7 6 6、7 6 7、7 6 8、7 6 9、7 7 0、7 7 1、7 7 2、7 7 3、7 7 4、	
7 7 5、7 7 6、7 7 7、7 7 8、7 7 9、7 8 0、7 8 1、7 8 2、7 8 3、7 8 4、	
7 8 5、7 8 6、7 8 7、7 8 8、7 8 9、7 9 0、7 9 1、7 9 2、7 9 3、7 9 4、	20
7 9 5、7 9 6、7 9 7、7 9 8、7 9 9、8 0 0、8 0 1、8 0 2、8 0 3、8 0 4、	
8 0 5、8 0 6、8 0 7、8 0 8、8 0 9、8 1 0、8 1 1、8 1 2、8 1 3、8 1 4、	
8 1 5、8 1 6、8 1 7、8 1 8、8 1 9、8 2 0、8 2 1、8 2 2、8 2 3、8 2 4、	
8 2 5、8 2 6、8 2 7、8 2 8、8 2 9、8 3 0、8 3 1、8 3 2、8 3 3、8 3 4、	
8 3 5、8 3 6、8 3 7、8 3 8、8 3 9、8 4 0、8 4 1、8 4 2、8 4 3、8 4 4、	
8 4 5、8 4 6、8 4 7、8 4 8、8 4 9、8 5 0、8 5 1、8 5 2、8 5 3、8 5 4、	
8 5 5、8 5 6、8 5 7、8 5 8、8 5 9、8 6 0、8 6 1、8 6 2、8 6 3、8 6 4、	
8 6 5、8 6 6、8 6 7、8 6 8、8 6 9、8 7 0、8 7 1、8 7 2、8 7 3、8 7 4、	
8 7 5、8 7 6、8 7 7、8 7 8、8 7 9、8 8 0、8 8 1、8 8 2、8 8 3、8 8 4、	
8 8 5、8 8 6、8 8 7、8 8 8、8 8 9、8 9 0、8 9 1、8 9 2、8 9 3、8 9 4、	30
8 9 5、8 9 6、8 9 7、8 9 8、8 9 9、9 0 0、9 0 1、9 0 2、9 0 3、9 0 4、	
9 0 5、9 0 6、9 0 7、9 0 8、9 0 9、9 1 0、9 1 1、9 1 2、9 1 3、9 1 4、	
9 1 5、9 1 6、9 1 7、9 1 8、9 1 9、9 2 0、9 2 1、9 2 2、9 2 3、9 2 4、	
9 2 5、9 2 6、9 2 7、9 2 8、9 2 9、9 3 0、9 3 1、9 3 2、9 3 3、9 3 4、	
9 3 5、9 3 6、9 3 7、9 3 8、9 3 9、9 4 0、9 4 1、9 4 2、9 4 3、9 4 4、	
9 4 5、9 4 6、9 4 7、9 4 8、9 4 9、9 5 0、9 5 1、9 5 2、9 5 3、9 5 4、	
9 5 5、9 5 6、9 5 7、9 5 8、9 5 9、9 6 0、9 6 1、9 6 2、9 6 3、9 6 4、	
9 6 5、9 6 6、9 6 7、9 6 8、9 6 9、9 7 0、9 7 1、9 7 2、9 7 3、9 7 4、	
9 7 5、9 7 6、9 7 7、9 7 8、9 7 9、9 8 0、9 8 1、9 8 2、9 8 3、9 8 4、	
9 8 5、9 8 6、9 8 7、9 8 8、9 8 9、9 9 0、9 9 1、9 9 2、9 9 3、9 9 4、	40
9 9 5、9 9 6、9 9 7、9 9 8、9 9 9、1 0 0 0、1 0 0 1、1 0 0 2、1 0 0 3、	
1 0 0 4、1 0 0 5、1 0 0 6、1 0 0 7、1 0 0 8、1 0 0 9、1 0 1 0、1 0 1 1、	
1 0 1 2、1 0 1 3、1 0 1 4、1 0 1 5、1 0 1 6、1 0 1 7、1 0 1 8、1 0 1 9、	
1 0 2 0、1 0 2 1、1 0 2 2、1 0 2 3、1 0 2 4、1 0 2 5、1 0 2 6、1 0 2 7、	
1 0 2 8、1 0 2 9、1 0 3 0、1 0 3 1、1 0 3 2、1 0 3 3、1 0 3 4、1 0 3 5、	
1 0 3 6、1 0 3 7、1 0 3 8、1 0 3 9、1 0 4 0、1 0 4 1、1 0 4 2、1 0 4 3、	
1 0 4 4、1 0 4 5、1 0 4 6、1 0 4 7、1 0 4 8、1 0 4 9、1 0 5 0、1 0 5 1、	
1 0 5 2、1 0 5 3、1 0 5 4、1 0 5 5、1 0 5 6、1 0 5 7、1 0 5 8、1 0 5 9、	
1 0 6 0、1 0 6 1、1 0 6 2、1 0 6 3、1 0 6 4、1 0 6 5、1 0 6 6、1 0 6 7、	
1 0 6 8、1 0 6 9、1 0 7 0、1 0 7 1、1 0 7 2、1 0 7 3、1 0 7 4、1 0 7 5、	50

1 0 7 6、1 0 7 7、1 0 7 8、1 0 7 9、1 0 8 0、1 0 8 1、1 0 8 2、1 0 8 3、
1 0 8 4、1 0 8 5、1 0 8 6、1 0 8 7、1 0 8 8、1 0 8 9、1 0 9 0、1 0 9 1、
1 0 9 2、1 0 9 3、1 0 9 4、1 0 9 5、1 0 9 6、1 0 9 7、1 0 9 8、1 0 9 9、
1 1 0 0、1 1 0 1、1 1 0 2、1 1 0 3、1 1 0 4、1 1 0 5、1 1 0 6、1 1 0 7、
1 1 0 8、1 1 0 9、1 1 1 0、1 1 1 1、1 1 1 2、1 1 1 3、1 1 1 4、1 1 1 5、
1 1 1 6、1 1 1 7、1 1 1 8、1 1 1 9、1 1 2 0、1 1 2 1、1 1 2 2、1 1 2 3、
1 1 2 4、1 1 2 5、1 1 2 6、1 1 2 7、1 1 2 8、1 1 2 9、1 1 3 0、1 1 3 1、
1 1 3 2、1 1 3 3、1 1 3 4、1 1 3 5、1 1 3 6、1 1 3 7、1 1 3 8、1 1 3 9、
1 1 4 0、1 1 4 1、1 1 4 2、1 1 4 3、1 1 4 4、1 1 4 5、1 1 4 6、1 1 4 7、
1 1 4 8、1 1 4 9、1 1 5 0、1 1 5 1、1 1 5 2、1 1 5 3、1 1 5 4、1 1 5 5、
1 1 5 6、1 1 5 7、1 1 5 8、1 1 5 9、1 1 6 0、1 1 6 1、1 1 6 2、1 1 6 3、
1 1 6 4、1 1 6 5、1 1 6 6、1 1 6 7、1 1 6 8、1 1 6 9、1 1 7 0、1 1 7 1、
1 1 7 2、1 1 7 3、1 1 7 4、1 1 7 5、1 1 7 6、1 1 7 7、1 1 7 8、1 1 7 9、
1 1 8 0、1 1 8 1、1 1 8 2、1 1 8 3、1 1 8 4、1 1 8 5、1 1 8 6、1 1 8 7、
1 1 8 8、1 1 8 9、1 1 9 0、1 1 9 1、1 1 9 2、1 1 9 3、1 1 9 4、1 1 9 5、
1 1 9 6、1 1 9 7、1 1 9 8、1 1 9 9、1 2 0 0、1 2 0 1、1 2 0 2、1 2 0 3、
1 2 0 4、1 2 0 5、1 2 0 6、1 2 0 7、1 2 0 8、1 2 0 9、1 2 1 0、1 2 1 1、
1 2 1 2、1 2 1 3、1 2 1 4、1 2 1 5、1 2 1 6、1 2 1 7、1 2 1 8、1 2 1 9、
1 2 2 0、1 2 2 1、1 2 2 2、1 2 2 3、1 2 2 4、1 2 2 5、1 2 2 6、1 2 2 7、
1 2 2 8、1 2 2 9、1 2 3 0、1 2 3 1、1 2 3 2、1 2 3 3、1 2 3 4、1 2 3 5、
1 2 3 6、1 2 3 7、1 2 3 8、1 2 3 9、1 2 4 0、1 2 4 1、1 2 4 2、1 2 4 3、
1 2 4 4、1 2 4 5、1 2 4 6、1 2 4 7、1 2 4 8、1 2 4 9、1 2 5 0、1 2 5 1、
1 2 5 2、1 2 5 3、1 2 5 4、1 2 5 5、1 2 5 6、1 2 5 7、1 2 5 8、1 2 5 9、
1

10

20

2 6 0、1 2 6 1、1 2 6 2、1 2 6 3、1 2 6 4、1 2 6 5、1 2 6 6、1 2 6 7、1
2 6 8、1 2 6 9、1 2 7 0、1 2 7 1、1 2 7 2、1 2 7 3、1 2 7 4、1 2 7 5、1
2 7 6、1 2 7 7、1 2 7 8、1 2 7 9、1 2 8 0、1 2 8 1、1 2 8 2、1 2 8 3、1
2 8 4、1 2 8 5、1 2 8 6、1 2 8 7、1 2 8 8、1 2 8 9、1 2 9 0、1 2 9 1、1
2 9 2、1 2 9 3、1 2 9 4、1 2 9 5、1 2 9 6、1 2 9 7、1 2 9 8、1 2 9 9、1
3 0 0、1 3 0 1、1 3 0 2、1 3 0 3、1 3 0 4、1 3 0 5、1 3 0 6、1 3 0 7、1
3 0 8、1 3 0 9、1 3 1 0、1 3 1 1、1 3 1 2、1 3 1 3、1 3 1 4、1 3 1 5、1
3 1 6、1 3 1 7、1 3 1 8、1 3 1 9、1 3 2 0、1 3 2 1、1 3 2 2、1 3 2 3、1
3 2 4、1 3 2 5、1 3 2 6、1 3 2 7、1 3 2 8、1 3 2 9、1 3 3 0、1 3 3 1、1
3 3 2、1 3 3 3、1 3 3 4、1 3 3 5、1 3 3 6、1 3 3 7、1 3 3 8、1 3 3 9、1
3 4 0、1 3 4 1、1 3 4 2、1 3 4 3、1 3 4 4、1 3 4 5、1 3 4 6、1 3 4 7、1
3 4 8、1 3 4 9、1 3 5 0、1 3 5 1、1 3 5 2、1 3 5 3、1 3 5 4、1 3 5 5、1
3 5 6、1 3 5 7、1 3 5 8、1 3 5 9、1 3 6 0、1 3 6 1、1 3 6 2、1 3 6 3、1
3 6 4、1 3 6 5、1 3 6 6、1 3 6 7、1 3 6 8、1 3 6 9、1 3 7 0、1 3 7 1、1
3 7 2、1 3 7 3、1 3 7 4、1 3 7 5、1 3 7 6、1 3 7 7、1 3 7 8、1 3 7 9、1
3 8 0、1 3 8 1、1 3 8 2、1 3 8 3、1 3 8 4、1 3 8 5、1 3 8 6、1 3 8 7、1
3 8 8、1 3 8 9、1 3 9 0、1 3 9 1、1 3 9 2、1 3 9 3、1 3 9 4、1 3 9 5、1
3 9 6、1 3 9 7、1 3 9 8、1 3 9 9、1 4 0 0、1 4 0 1、1 4 0 2、1 4 0 3、1
4 0 4、1 4 0 5、1 4 0 6、1 4 0 7、1 4 0 8、1 4 0 9、1 4 1 0、1 4 1 1、1
4 1 2、1 4 1 3、1 4 1 4、1 4 1 5、1 4 1 6、1 4 1 7、1 4 1 8、1 4 1 9、1
4 2 0、1 4 2 1、1 4 2 2、1 4 2 3、1 4 2 4、1 4 2 5、1 4 2 6、1 4 2 7、1
4 2 8、1 4 2 9、1 4 3 0、1 4 3 1、1 4 3 2、1 4 3 3、1 4 3 4、1 4 3 5、1
4 3 6、1 4 3 7、1 4 3 8、1 4 3 9、1 4 4 0、1 4 4 1、1 4 4 2、1 4 4 3、1
4 4 4、1 4 4 5、1 4 4 6、1 4 4 7、1 4 4 8、1 4 4 9、1 4 5 0、1 4 5 1、1
4 5 2、1 4 5 3、1 4 5 4、1 4 5 5、1 4 5 6、1 4 5 7、1 4 5 8、1 4 5 9、1

30

40

50

4 6 0、	1 4 6 1、	1 4 6 2、	1 4 6 3、	1 4 6 4、	1 4 6 5、	1 4 6 6、	1 4 6 7、	1	
4 6 8、	1 4 6 9、	1 4 7 0、	1 4 7 1、	1 4 7 2、	1 4 7 3、	1 4 7 4、	1 4 7 5、	1	
4 7 6、	1 4 7 7、	1 4 7 8、	1 4 7 9、	1 4 8 0、	1 4 8 1、	1 4 8 2、	1 4 8 3、	1	
4 8 4、	1 4 8 5、	1 4 8 6、	1 4 8 7、	1 4 8 8、	1 4 8 9、	1 4 9 0、	1 4 9 1、	1	
4 9 2、	1 4 9 3、	1 4 9 4、	1 4 9 5、	1 4 9 6、	1 4 9 7、	1 4 9 8、	1 4 9 9、	1	
5 0 0、	1 5 0 1、	1 5 0 2、	1 5 0 3、	1 5 0 4、	1 5 0 5、	1 5 0 6、	1 5 0 7、	1	
5 0 8、	1 5 0 9、	1 5 1 0、	1 5 1 1、	1 5 1 2、	1 5 1 3、	1 5 1 4、	1 5 1 5、	1	
5 1 6、	1 5 1 7、	1 5 1 8、	1 5 1 9、	1 5 2 0、	1 5 2 1、	1 5 2 2、	1 5 2 3、	1	
5 2 4、	1 5 2 5、	1 5 2 6、	1 5 2 7、	1 5 2 8、	1 5 2 9、	1 5 3 0、	1 5 3 1、	1	
5 3 2、	1 5 3 3、	1 5 3 4、	1 5 3 5、	1 5 3 6、	1 5 3 7、	1 5 3 8、	1 5 3 9、	1	10
5 4 0、	1 5 4 1、	1 5 4 2、	1 5 4 3、	1 5 4 4、	1 5 4 5、	1 5 4 6、	1 5 4 7、	1	
5 4 8、	1 5 4 9、	1 5 5 0、	1 5 5 1、	1 5 5 2、	1 5 5 3、	1 5 5 4、	1 5 5 5、	1	
5 5 6、	1 5 5 7、	1 5 5 8、	1 5 5 9、	1 5 6 0、	1 5 6 1、	1 5 6 2、	1 5 6 3、	1	
5 6 4、	1 5 6 5、	1 5 6 6、	1 5 6 7、	1 5 6 8、	1 5 6 9、	1 5 7 0、	1 5 7 1、	1	
5 7 2、	1 5 7 3、	1 5 7 4、	1 5 7 5、	1 5 7 6、	1 5 7 7、	1 5 7 8、	1 5 7 9、	1	
5 8 0、	1 5 8 1、	1 5 8 2、	1 5 8 3、	1 5 8 4、	1 5 8 5、	1 5 8 6、	1 5 8 7、	1	
5 8 8、	1 5 8 9、	1 5 9 0、	1 5 9 1、	1 5 9 2、	1 5 9 3、	1 5 9 4、	1 5 9 5、	1	
5 9 6、	1 5 9 7、	1 5 9 8、	1 5 9 9、	1 6 0 0、	1 6 0 1、	1 6 0 2、	1 6 0 3、	1	
6 0 4、	1 6 0 5、	1 6 0 6、	1 6 0 7、	1 6 0 8、	1 6 0 9、	1 6 1 0、	1 6 1 1、	1	
6 1 2、	1 6 1 3、	1 6 1 4、	1 6 1 5、	1 6 1 6、	1 6 1 7、	1 6 1 8、	1 6 1 9、	1	20
6 2 0、	1 6 2 1、	1 6 2 2、	1 6 2 3、	1 6 2 4、	1 6 2 5、	1 6 2 6、	1 6 2 7、	1	
6 2 8、	1 6 2 9、	1 6 3 0、	1 6 3 1、	1 6 3 2、	1 6 3 3、	1 6 3 4、	1 6 3 5、	1	
6 3 6、	1 6 3 7、	1 6 3 8、	1 6 3 9、	1 6 4 0、	1 6 4 1、	1 6 4 2、	1 6 4 3、	1	
6 4 4、	1 6 4 5、	1 6 4 6、	1 6 4 7、	1 6 4 8、	1 6 4 9、	1 6 5 0、	1 6 5 1、	1	
6 5 2、	1 6 5 3、	1 6 5 4、	1 6 5 5、	1 6 5 6、	1 6 5 7、	1 6 5 8、	1 6 5 9、	1	
6 6 0、	1 6 6 1、	1 6 6 2、	1 6 6 3、	1 6 6 4、	1 6 6 5、	1 6 6 6、	1 6 6 7、	1	
6 6 8、	1 6 6 9、	1 6 7 0、	1 6 7 1、	1 6 7 2、	1 6 7 3、	1 6 7 4、	1 6 7 5、	1	
6 7 6、	1 6 7 7、	1 6 7 8、	1 6 7 9、	1 6 8 0、	1 6 8 1、	1 6 8 2、	1 6 8 3、	1	
6 8 4、	1 6 8 5、	1 6 8 6、	1 6 8 7、	1 6 8 8、	1 6 8 9、	1 6 9 0、	1 6 9 1、	1	
6 9 2、	1 6 9 3、	1 6 9 4、	1 6 9 5、	1 6 9 6、	1 6 9 7、	1 6 9 8、	1 6 9 9、	1	30
7 0 0、	1 7 0 1、	1 7 0 2、	1 7 0 3、	1 7 0 4、	1 7 0 5、	1 7 0 6、	1 7 0 7、	1	
7 0 8、	1 7 0 9、	1 7 1 0、	1 7 1 1、	1 7 1 2、	1 7 1 3、	1 7 1 4、	1 7 1 5、	1	
7 1 6、	1 7 1 7、	1 7 1 8、	1 7 1 9、	1 7 2 0、	1 7 2 1、	1 7 2 2、	1 7 2 3、	1	
7 2 4、	1 7 2 5、	1 7 2 6、	1 7 2 7、	1 7 2 8、	1 7 2 9、	1 7 3 0、	1 7 3 1、	1	
7 3 2、	1 7 3 3、	1 7 3 4、	1 7 3 5、	1 7 3 6、	1 7 3 7、	1 7 3 8、	1 7 3 9、	1	
7 4 0、	1 7 4 1、	1 7 4 2、	1 7 4 3、	1 7 4 4、	1 7 4 5、	1 7 4 6、	1 7 4 7、	1	
7 4 8、	1 7 4 9、	1 7 5 0、	1 7 5 1、	1 7 5 2、	1 7 5 3、	1 7 5 4、	1 7 5 5、	1	
7 5 6、	1 7 5 7、	1 7 5 8、	1 7 5 9、	1 7 6 0、	1 7 6 1、	1 7 6 2、	1 7 6 3、	1	
7 6 4、	1 7 6 5、	1 7 6 6、	1 7 6 7、	1 7 6 8、	1 7 6 9、	1 7 7 0、	1 7 7 1、	1	
7 7 2、	1 7 7 3、	1 7 7 4、	1 7 7 5、	1 7 7 6、	1 7 7 7、	1 7 7 8、	1 7 7 9、	1	40
7 8 0、	1 7 8 1、	1 7 8 2、	1 7 8 3、	1 7 8 4、	1 7 8 5、	1 7 8 6、	1 7 8 7、	1	
7 8 8、	1 7 8 9、	1 7 9 0、	1 7 9 1、	1 7 9 2、	1 7 9 3、	1 7 9 4、	1 7 9 5、	1	
7 9 6、	1 7 9 7、	1 7 9 8、	1 7 9 9、	1 8 0 0、	1 8 0 1、	1 8 0 2、	1 8 0 3、	1	
8 0 4、	1 8 0 5、	1 8 0 6、	1 8 0 7、	1 8 0 8、	1 8 0 9、	1 8 1 0、	1 8 1 1、	1	
8 1 2、	1 8 1 3、	1 8 1 4、	1 8 1 5、	1 8 1 6、	1 8 1 7、	1 8 1 8、	1 8 1 9、	1	
8 2 0、	1 8 2 1、	1 8 2 2、	1 8 2 3、	1 8 2 4、	1 8 2 5、	1 8 2 6、	1 8 2 7、	1	
8 2 8、	1 8 2 9、	1 8 3 0、	1 8 3 1、	1 8 3 2、	1 8 3 3、	1 8 3 4、	1 8 3 5、	1	
8 3 6、	1 8 3 7、	1 8 3 8、	1 8 3 9、	1 8 4 0、	1 8 4 1、	1 8 4 2、	1 8 4 3、	1	
8 4 4、	1 8 4 5、	1 8 4 6、	1 8 4 7、	1 8 4 8、	1 8 4 9、	1 8 5 0、	1 8 5 1、	1	
8 5 2、	1 8 5 3、	1 8 5 4、	1 8 5 5、	1 8 5 6、	1 8 5 7、	1 8 5 8、	1 8 5 9、	1	50

8 6 0、	1 8 6 1、	1 8 6 2、	1 8 6 3、	1 8 6 4、	1 8 6 5、	1 8 6 6、	1 8 6 7、	1	
8 6 8、	1 8 6 9、	1 8 7 0、	1 8 7 1、	1 8 7 2、	1 8 7 3、	1 8 7 4、	1 8 7 5、	1	
8 7 6、	1 8 7 7、	1 8 7 8、	1 8 7 9、	1 8 8 0、	1 8 8 1、	1 8 8 2、	1 8 8 3、	1	
8 8 4、	1 8 8 5、	1 8 8 6、	1 8 8 7、	1 8 8 8、	1 8 8 9、	1 8 9 0、	1 8 9 1、	1	
8 9 2、	1 8 9 3、	1 8 9 4、	1 8 9 5、	1 8 9 6、	1 8 9 7、	1 8 9 8、	1 8 9 9、	1	
9 0 0、	1 9 0 1、	1 9 0 2、	1 9 0 3、	1 9 0 4、	1 9 0 5、	1 9 0 6、	1 9 0 7、	1	
9 0 8、	1 9 0 9、	1 9 1 0、	1 9 1 1、	1 9 1 2、	1 9 1 3、	1 9 1 4、	1 9 1 5、	1	
9 1 6、	1 9 1 7、	1 9 1 8、	1 9 1 9、	1 9 2 0、	1 9 2 1、	1 9 2 2、	1 9 2 3、	1	
9 2 4、	1 9 2 5、	1 9 2 6、	1 9 2 7、	1 9 2 8、	1 9 2 9、	1 9 3 0、	1 9 3 1、	1	
9 3 2、	1 9 3 3、	1 9 3 4、	1 9 3 5、	1 9 3 6、	1 9 3 7、	1 9 3 8、	1 9 3 9、	1	10
9 4 0、	1 9 4 1、	1 9 4 2、	1 9 4 3、	1 9 4 4、	1 9 4 5、	1 9 4 6、	1 9 4 7、	1	
9 4 8、	1 9 4 9、	1 9 5 0、	1 9 5 1、	1 9 5 2、	1 9 5 3、	1 9 5 4、	1 9 5 5、	1	
9 5 6、	1 9 5 7、	1 9 5 8、	1 9 5 9、	1 9 6 0、	1 9 6 1、	1 9 6 2、	1 9 6 3、	1	
9 6 4、	1 9 6 5、	1 9 6 6、	1 9 6 7、	1 9 6 8、	1 9 6 9、	1 9 7 0、	1 9 7 1、	1	
9 7 2、	1 9 7 3、	1 9 7 4、	1 9 7 5、	1 9 7 6、	1 9 7 7、	1 9 7 8、	1 9 7 9、	1	
9 8 0、	1 9 8 1、	1 9 8 2、	1 9 8 3、	1 9 8 4、	1 9 8 5、	1 9 8 6、	1 9 8 7、	1	
9 8 8、	1 9 8 9、	1 9 9 0、	1 9 9 1、	1 9 9 2、	1 9 9 3、	1 9 9 4、	1 9 9 5、	1	
9 9 6、	1 9 9 7、	1 9 9 8、	1 9 9 9、	2 0 0 0、	2 0 0 1、	2 0 0 2、	2 0 0 3、	2	
0 0 4、	2 0 0 5、	2 0 0 6、	2 0 0 7、	2 0 0 8、	2 0 0 9、	2 0 1 0、	2 0 1 1、	2	
0 1 2、	2 0 1 3、	2 0 1 4、	2 0 1 5、	2 0 1 6、	2 0 1 7、	2 0 1 8、	2 0 1 9、	2	20
0 2 0、	2 0 2 1、	2 0 2 2、	2 0 2 3、	2 0 2 4、	2 0 2 5、	2 0 2 6、	2 0 2 7、	2	
0 2 8、	2 0 2 9、	2 0 3 0、	2 0 3 1、	2 0 3 2、	2 0 3 3、	2 0 3 4、	2 0 3 5、	2	
0 3 6、	2 0 3 7、	2 0 3 8、	2 0 3 9、	2 0 4 0、	2 0 4 1、	2 0 4 2、	2 0 4 3、	2	
0 4 4、	2 0 4 5、	2 0 4 6、	2 0 4 7、	2 0 4 8、	2 0 4 9、	2 0 5 0、	2 0 5 1、	2	
0 5 2、	2 0 5 3、	2 0 5 4、	2 0 5 5、	2 0 5 6、	2 0 5 7、	2 0 5 8、	2 0 5 9、	2	
0 6 0、	2 0 6 1、	2 0 6 2、	2 0 6 3、	2 0 6 4、	2 0 6 5、	2 0 6 6、	2 0 6 7、	2	
0 6 8、	2 0 6 9、	2 0 7 0、	2 0 7 1、	2 0 7 2、	2 0 7 3、	2 0 7 4、	2 0 7 5、	2	
0 7 6、	2 0 7 7、	2 0 7 8、	2 0 7 9、	2 0 8 0、	2 0 8 1、	2 0 8 2、	2 0 8 3、	2	
0 8 4、	2 0 8 5、	2 0 8 6、	2 0 8 7、	2 0 8 8、	2 0 8 9、	2 0 9 0、	2 0 9 1、	2	
0 9 2、	2 0 9 3、	2 0 9 4、	2 0 9 5、	2 0 9 6、	2 0 9 7、	2 0 9 8、	2 0 9 9、	2	30
1 0 0、	2 1 0 1、	2 1 0 2、	2 1 0 3、	2 1 0 4、	2 1 0 5、	2 1 0 6、	2 1 0 7、	2	
1 0 8、	2 1 0 9、	2 1 1 0、	2 1 1 1、	2 1 1 2、	2 1 1 3、	2 1 1 4、	2 1 1 5、	2	
1 1 6、	2 1 1 7、	2 1 1 8、	2 1 1 9、	2 1 2 0、	2 1 2 1、	2 1 2 2、	2 1 2 3、	2	
1 2 4、	2 1 2 5、	2 1 2 6、	2 1 2 7、	2 1 2 8、	2 1 2 9、	2 1 3 0、	2 1 3 1、	2	
1 3 2、	2 1 3 3、	2 1 3 4、	2 1 3 5、	2 1 3 6、	2 1 3 7、	2 1 3 8、	2 1 3 9、	2	
1 4 0、	2 1 4 1、	2 1 4 2、	2 1 4 3、	2 1 4 4、	2 1 4 5、	2 1 4 6、	2 1 4 7、	2	
1 4 8、	2 1 4 9、	2 1 5 0、	2 1 5 1、	2 1 5 2、	2 1 5 3、	2 1 5 4、	2 1 5 5、	2	
1 5 6、	2 1 5 7、	2 1 5 8、	2 1 5 9、	2 1 6 0、	2 1 6 1、	2 1 6 2、	2 1 6 3、	2	
1 6 4、	2 1 6 5、	2 1 6 6、	2 1 6 7、	2 1 6 8、	2 1 6 9、	2 1 7 0、	2 1 7 1、	2	
1 7 2、	2 1 7 3、	2 1 7 4、	2 1 7 5、	2 1 7 6、	2 1 7 7、	2 1 7 8、	2 1 7 9、	2	40
1 8 0、	2 1 8 1、	2 1 8 2、	2 1 8 3、	2 1 8 4、	2 1 8 5、	2 1 8 6、	2 1 8 7、	2	
1 8 8、	2 1 8 9、	2 1 9 0、	2 1 9 1、	2 1 9 2、	2 1 9 3、	2 1 9 4、	2 1 9 5、	2	
1 9 6、	2 1 9 7、	2 1 9 8、	2 1 9 9、	2 2 0 0、	2 2 0 1、	2 2 0 2、	2 2 0 3、	2	
2 0 4、	2 2 0 5、	2 2 0 6、	2 2 0 7、	2 2 0 8、	2 2 0 9、	2 2 1 0、	2 2 1 1、	2	
2 1 2、	2 2 1 3、	2 2 1 4、	2 2 1 5、	2 2 1 6、	2 2 1 7、	2 2 1 8、	2 2 1 9、	2	
2 2 0、	2 2 2 1、	2 2 2 2、	2 2 2 3、	2 2 2 4、	2 2 2 5、	2 2 2 6、	2 2 2 7、	2	
2 2 8、	2 2 2 9、	2 2 3 0、	2 2 3 1、	2 2 3 2、	2 2 3 3、	2 2 3 4、	2 2 3 5、	2	
2 3 6、	2 2 3 7、	2 2 3 8、	2 2 3 9、	2 2 4 0、	2 2 4 1、	2 2 4 2、	2 2 4 3、	2	
2 4 4、	2 2 4 5、	2 2 4 6、	2 2 4 7、	2 2 4 8、	2 2 4 9、	2 2 5 0、	2 2 5 1、	2	
2 5 2、	2 2 5 3、	2 2 5 4、	2 2 5 5、	2 2 5 6、	2 2 5 7、	2 2 5 8、	2 2 5 9、	2	50

8 4、	2 2 8 5、	2 2 8 6、	2 2 8 7、	2 2 8 8、	2 2 8 9、	2 2 9 0、	2 2 9 1、	2 2 9 2、
2 2 9 3、	2 2 9 4、	2 2 9 5、	2 2 9 6、	2 2 9 7、	2 2 9 8、	2 2 9 9、	2 3 0 0、	2 3 0 1、
2 3 0 2、	2 3 0 3、	2 3 0 4、	2 3 0 5、	2 3 0 6、	2 3 0 7、	2 3 0 8、	2 3 0 9、	2 3 1 0、
2 3 1 1、	2 3 1 2、	2 3 1 3、	2 3 1 4、	2 3 1 5、	2 3 1 6、	2 3 1 7、	2 3 1 8、	2 3 1 9、
2 3 2 0、	2 3 2 1、	2 3 2 2、	2 3 2 3、	2 3 2 4、	2 3 2 5、	2 3 2 6、	2 3 2 7、	2 3 2 8、
2 3 2 9、	2 3 3 0、	2 3 3 1、	2 3 3 2、	2 3 3 3、	2 3 3 4、	2 3 3 5、	2 3 3 6、	2 3 3 7、
2 3 3 8、	2 3 3 9、	2 3 4 0、	2 3 4 1、	2 3 4 2、	2 3 4 3、	2 3 4 4、	2 3 4 5、	2 3 4 6、
2 3 4 7、	2 3 4 8、	2 3 4 9、	2 3 5 0、	2 3 5 1、	2 3 5 2、	2 3 5 3、	2 3 5 4、	2 3 5 5、
2 3 5 6、	2 3 5 7、	2 3 5 8、	2 3 5 9、	2 3 6 0、	2 3 6 1、	2 3 6 2、	2 3 6 3、	2 3 6 4、
2 3 6 5、	2 3 6 6、	2 3 6 7、	2 3 6 8、	2 3 6 9、	2 3 7 0、	2 3 7 1、	2 3 7 2、	2 3 7 3、
2 3 7 4、	2 3 7 5、	2 3 7 6、	2 3 7 7、	2 3 7 8、	2 3 7 9、	2 3 8 0、	2 3 8 1、	2 3 8 2、
2 3 8 3、	2 3 8 4、	2 3 8 5、	2 3 8 6、	2 3 8 7、	2 3 8 8、	2 3 8 9、	2 3 9 0、	2 3 9 1、
2 3 9 2、	2 3 9 3、	2 3 9 4、	2 3 9 5、	2 3 9 6、	2 3 9 7、	2 3 9 8、	2 3 9 9、	2 4 0 0、
2 4 0 1、	2 4 0 2、	2 4 0 3、	2 4 0 4、	2 4 0 5、	2 4 0 6、	2 4 0 7、	2 4 0 8、	2 4 0 9、
2 4 1 0、	2 4 1 1、	2 4 1 2、	2 4 1 3、	2 4 1 4、	2 4 1 5、	2 4 1 6、	2 4 1 7、	2 4 1 8、
2 4 1 9、	2 4 2 0、	2 4 2 1、	2 4 2 2、	2 4 2 3、	2 4 2 4、	2 4 2 5、	2 4 2 6、	2 4 2 7、
2 4 2 8、	2 4 2 9、	2 4 3 0、	2 4 3 1、	2 4 3 2、	2 4 3 3、	2 4 3 4、	2 4 3 5、	2 4 3 6、
2 4 3 7、	2 4 3 8、	2 4 3 9、	2 4 4 0、	2 4 4 1、	2 4 4 2、	2 4 4 3、	2 4 4 4、	2 4 4 5、
2 4 4 6、	2 4 4 7、	2 4 4 8、	2 4 4 9、	2 4 5 0、	2 4 5 1、	2 4 5 2、	2 4 5 3、	2 4 5 4、
2 4 5 5、	2 4 5 6、	2 4 5 7、	2 4 5 8、	2 4 5 9、	2 4 6 0、	2 4 6 1、	2 4 6 2、	2 4 6 3、
2 4 6 4、	2 4 6 5、	2 4 6 6、	2 4 6 7、	2 4 6 8、	2 4 6 9、	2 4 7 0、	2 4 7 1、	2 4 7 2、
2 4 7 3、	2 4 7 4、	2 4 7 5、	2 4 7 6、	2 4 7 7、	2 4 7 8、	2 4 7 9、	2 4 8 0、	2 4 8 1、
2 4 8 2、	2 4 8 3、	2 4 8 4、	2 4 8 5、	2 4 8 6、	2 4 8 7、	2 4 8 8、	2 4 8 9、	2 4 9 0、
2 4 9 1、	2 4 9 2、	2 4 9 3、	2 4 9 4、	2 4 9 5、	2 4 9 6、	2 4 9 7、	2 4 9 8、	2 4 9 9、
2 5 0 0、	2 5 0 1、	2 5 0 2、	2 5 0 3、	2 5 0 4、	2 5 0 5、	2 5 0 6、	2 5 0 7、	2 5 0 8、
2 5 0 9、	2 5 1 0、	2 5 1 1、	2 5 1 2、	2 5 1 3、	2 5 1 4、	2 5 1 5、	2 5 1 6、	2 5 1 7、
2 5 1 8、	2 5 1 9、	2 5 2 0、	2 5 2 1、	2 5 2 2、	2 5 2 3、	2 5 2 4、	2 5 2 5、	2 5 2 6、
2 5 2 7、	2 5 2 8、	2 5 2 9、	2 5 3 0、	2 5 3 1、	2 5 3 2、	2 5 3 3、	2 5 3 4、	2 5 3 5、
2 5 3 6、	2 5 3 7、	2 5 3 8、	2 5 3 9、	2 5 4 0、	2 5 4 1、	2 5 4 2、	2 5 4 3、	2 5 4 4、
2 5 4 5、	2 5 4 6、	2 5 4 7、	2 5 4 8、	2 5 4 9、	2 5 5 0、	2 5 5 1、	2 5 5 2、	2 5 5 3、
2 5 5 4、	2 5 5 5、	2 5 5 6、	2 5 5 7、	2 5 5 8、	2 5 5 9、	2 5 6 0、	2 5 6 1、	2 5 6 2、
2 5 6 3、	2 5 6 4、	2 5 6 5、	2 5 6 6、	2 5 6 7、	2 5 6 8、	2 5 6 9、	2 5 7 0、	2 5 7 1、
2 5 7 2、	2 5 7 3、	2 5 7 4、	2 5 7 5、	2 5 7 6、	2 5 7 7、	2 5 7 8、	2 5 7 9、	2 5 8 0、
2 5 8 1、	2 5 8 2、	2 5 8 3、	2 5 8 4、	2 5 8 5、	2 5 8 6、	2 5 8 7、	2 5 8 8、	

4 4、	2 6 4 5、	2 6 4 6、	2 6 4 7、	2 6 4 8、	2 6 4 9、	2 6 5 0、	2 6 5 1、	2 6	
5 2、	2 6 5 3、	2 6 5 4、	2 6 5 5、	2 6 5 6、	2 6 5 7、	2 6 5 8、	2 6 5 9、	2 6	
6 0、	2 6 6 1、	2 6 6 2、	2 6 6 3、	2 6 6 4、	2 6 6 5、	2 6 6 6、	2 6 6 7、	2 6	
6 8、	2 6 6 9、	2 6 7 0、	2 6 7 1、	2 6 7 2、	2 6 7 3、	2 6 7 4、	2 6 7 5、	2 6	
7 6、	2 6 7 7、	2 6 7 8、	2 6 7 9、	2 6 8 0、	2 6 8 1、	2 6 8 2、	2 6 8 3、	2 6	
8 4、	2 6 8 5、	2 6 8 6、	2 6 8 7、	2 6 8 8、	2 6 8 9、	2 6 9 0、	2 6 9 1、	2 6	
9 2、	2 6 9 3、	2 6 9 4、	2 6 9 5、	2 6 9 6、	2 6 9 7、	2 6 9 8、	2 6 9 9、	2 7	
0 0、	2 7 0 1、	2 7 0 2、	2 7 0 3、	2 7 0 4、	2 7 0 5、	2 7 0 6、	2 7 0 7、	2 7	
0 8、	2 7 0 9、	2 7 1 0、	2 7 1 1、	2 7 1 2、	2 7 1 3、	2 7 1 4、	2 7 1 5、	2 7	
1 6、	2 7 1 7、	2 7 1 8、	2 7 1 9、	2 7 2 0、	2 7 2 1、	2 7 2 2、	2 7 2 3、	2 7	10
2 4、	2 7 2 5、	2 7 2 6、	2 7 2 7、	2 7 2 8、	2 7 2 9、	2 7 3 0、	2 7 3 1、	2 7	
3 2、	2 7 3 3、	2 7 3 4、	2 7 3 5、	2 7 3 6、	2 7 3 7、	2 7 3 8、	2 7 3 9、	2 7	
4 0、	2 7 4 1、	2 7 4 2、	2 7 4 3、	2 7 4 4、	2 7 4 5、	2 7 4 6、	2 7 4 7、	2 7	
4 8、	2 7 4 9、	2 7 5 0、	2 7 5 1、	2 7 5 2、	2 7 5 3、	2 7 5 4、	2 7 5 5、	2 7	
5 6、	2 7 5 7、	2 7 5 8、	2 7 5 9、	2 7 6 0、	2 7 6 1、	2 7 6 2、	2 7 6 3、	2 7	
6 4、	2 7 6 5、	2 7 6 6、	2 7 6 7、	2 7 6 8、	2 7 6 9、	2 7 7 0、	2 7 7 1、	2 7	
7 2、	2 7 7 3、	2 7 7 4、	2 7 7 5、	2 7 7 6、	2 7 7 7、	2 7 7 8、	2 7 7 9、	2 7	
8 0、	2 7 8 1、	2 7 8 2、	2 7 8 3、	2 7 8 4、	2 7 8 5、	2 7 8 6、	2 7 8 7、	2 7	
8 8、	2 7 8 9、	2 7 9 0、	2 7 9 1、	2 7 9 2、	2 7 9 3、	2 7 9 4、	2 7 9 5、	2 7	
9 6、	2 7 9 7、	2 7 9 8、	2 7 9 9、	2 8 0 0、	2 8 0 1、	2 8 0 2、	2 8 0 3、	2 8	20
0 4、	2 8 0 5、	2 8 0 6、	2 8 0 7、	2 8 0 8、	2 8 0 9、	2 8 1 0、	2 8 1 1、	2 8	
1 2、	2 8 1 3、	2 8 1 4、	2 8 1 5、	2 8 1 6、	2 8 1 7、	2 8 1 8、	2 8 1 9、	2 8	
2 0、	2 8 2 1、	2 8 2 2、	2 8 2 3、	2 8 2 4、	2 8 2 5、	2 8 2 6、	2 8 2 7、	2 8	
2 8、	2 8 2 9、	2 8 3 0、	2 8 3 1、	2 8 3 2、	2 8 3 3、	2 8 3 4、	2 8 3 5、	2 8	
3 6、	2 8 3 7、	2 8 3 8、	2 8 3 9、	2 8 4 0、	2 8 4 1、	2 8 4 2、	2 8 4 3、	2 8	
4 4、	2 8 4 5、	2 8 4 6、	2 8 4 7、	2 8 4 8、	2 8 4 9、	2 8 5 0、	2 8 5 1、	2 8	
5 2、	2 8 5 3、	2 8 5 4、	2 8 5 5、	2 8 5 6、	2 8 5 7、	2 8 5 8、	2 8 5 9、	2 8	
6 0、	2 8 6 1、	2 8 6 2、	2 8 6 3、	2 8 6 4、	2 8 6 5、	2 8 6 6、	2 8 6 7、	2 8	
6 8、	2 8 6 9、	2 8 7 0、	2 8 7 1、	2 8 7 2、	2 8 7 3、	2 8 7 4、	2 8 7 5、	2 8	
7 6、	2 8 7 7、	2 8 7 8、	2 8 7 9、	2 8 8 0、	2 8 8 1、	2 8 8 2、	2 8 8 3、	2 8	30
8 4、	2 8 8 5、	2 8 8 6、	2 8 8 7、	2 8 8 8、	2 8 8 9、	2 8 9 0、	2 8 9 1、	2 8	
9 2、	2 8 9 3、	2 8 9 4、	2 8 9 5、	2 8 9 6、	2 8 9 7、	2 8 9 8、	2 8 9 9、	2 9	
0 0、	2 9 0 1、	2 9 0 2、	2 9 0 3、	2 9 0 4、	2 9 0 5、	2 9 0 6、	2 9 0 7、	2 9	
0 8、	2 9 0 9、	2 9 1 0、	2 9 1 1、	2 9 1 2、	2 9 1 3、	2 9 1 4、	2 9 1 5、	2 9	
1 6、	2 9 1 7、	2 9 1 8、	2 9 1 9、	2 9 2 0、	2 9 2 1、	2 9 2 2、	2 9 2 3、	2 9	
2 4、	2 9 2 5、	2 9 2 6、	2 9 2 7、	2 9 2 8、	2 9 2 9、	2 9 3 0、	2 9 3 1、	2 9	
3 2、	2 9 3 3、	2 9 3 4、	2 9 3 5、	2 9 3 6、	2 9 3 7、	2 9 3 8、	2 9 3 9、	2 9	
4 0、	2 9 4 1、	2 9 4 2、	2 9 4 3、	2 9 4 4、	2 9 4 5、	2 9 4 6、	2 9 4 7、	2 9	
4 8、	2 9 4 9、	2 9 5 0、	2 9 5 1、	2 9 5 2、	2 9 5 3、	2 9 5 4、	2 9 5 5、	2 9	
5 6、	2 9 5 7、	2 9 5 8、	2 9 5 9、	2 9 6 0、	2 9 6 1、	2 9 6 2、	2 9 6 3、	2 9	40
6 4、	2 9 6 5、	2 9 6 6、	2 9 6 7、	2 9 6 8、	2 9 6 9、	2 9 7 0、	2 9 7 1、	2 9	
7 2、	2 9 7 3、	2 9 7 4、	2 9 7 5、	2 9 7 6、	2 9 7 7、	2 9 7 8、	2 9 7 9、	2 9	
8 0、	2 9 8 1、	2 9 8 2、	2 9 8 3、	2 9 8 4、	2 9 8 5、	2 9 8 6、	2 9 8 7、	2 9	
8 8、	2 9 8 9、	2 9 9 0、	2 9 9 1、	2 9 9 2、	2 9 9 3、	2 9 9 4、	2 9 9 5、	2 9	
9 6、	2 9 9 7、	2 9 9 8、	2 9 9 9、	3 0 0 0、	3 0 0 1、	3 0 0 2、	3 0 0 3、	3 0	
0 4、	3 0 0 5、	3 0 0 6、	3 0 0 7、	3 0 0 8、	3 0 0 9、	3 0 1 0、	3 0 1 1、	3 0	
1 2、	3 0 1 3、	3 0 1 4、	3 0 1 5、	3 0 1 6、	3 0 1 7、	3 0 1 8、	3 0 1 9、	3 0	
2 0、	3 0 2 1、	3 0 2 2、	3 0 2 3、	3 0 2 4、	3 0 2 5、	3 0 2 6、	3 0 2 7、	3 0	
2 8、	3 0 2 9、	3 0 3 0、	3 0 3 1、	3 0 3 2、	3 0 3 3、	3 0 3 4、	3 0 3 5、	3 0	
3 6、	3 0 3 7、	3 0 3 8、	3 0 3 9、	3 0 4 0、	3 0 4 1、	3 0 4 2、	3 0 4 3、	3 0	50

44、3045、3046、3047、3048、3049、3050、3051、30
 52、3053、3054、3055、3056、3057、3058、3059、30
 60、3061、3062、3063、3064、3065、3066、3067、30
 68、3069、3070、3071、3072、3073、3074、3075、30
 76、3077、3078、3079、3080、3081、3082、3083、30
 84、3085、3086、3087、3088、3089、3090、3091、30
 92、3093、3094、3095、3096、3097、3098、3099、31
 00、3101、3102、3103、3104、3105、3106、3107、31
 08、3109、3110、3111、3112、3113、3114、3115、31
 16、3117、3118、3119、3120、3121、3122、3123、31 10
 24、3125、3126、3127、3128、3129、3130、3131、31
 32、3133、3134、3135、3136、3137、3138、3139、31
 40、3141、3142、3143、3144、3145、3146、3147、31
 48、3149、3150、3151、3152、3153、3154、3155、31
 56、3157、3158、3159、3160、3161、3162、3163、31
 64、3165、3166、3167、3168、3169、3170、3171、31
 72、3173、3174、3175、3176、3177、3178、3179、31
 80、3181、3182、3183、3184、3185、3186、3187、31
 88、3189、3190、3191、3192、3193、3194、3195、31
 96、3197、3198、3199、3200、3201、3202、3203、32 20
 04、3205、3206、3207、3208、3209、3210、3211、32
 12、3213、3214、3215、3216、3217、3218、3219、32
 20、3221、3222、3223、3224、3225、3226、3227、32
 28、3229、3230、3231、3232、3233、3234、3235、32
 36、3237、3238、3239、3240、3241、3242、3243、32
 44、3245、3246、3247、3248、3249、および3250ヌクレオチ
 ドなどの長さを有していてもよい。ウイルスゲノムの任意のフィラー領域の長さは、50
 ～100、100～150、150～200、200～250、250～300、300
 ～350、350～400、400～450、450～500、500～550、550
 ～600、600～650、650～700、700～750、750～800、800 30
 ～850、850～900、900～950、950～1000、1000～1050、
 1050～1100、1100～1150、1150～1200、1200～1250、
 1250～1300、1300～1350、1350～1400、1400～1450、
 1

450～1500、1500～1550、1550～1600、1600～1650、1
 650～1700、1700～1750、1750～1800、1800～1850、1
 850～1900、1900～1950、1950～2000、2000～2050、2
 050～2100、2100～2150、2150～2200、2200～2250、2 40
 250～2300、2300～2350、2350～2400、2400～2450、2
 450～2500、2500～2550、2550～2600、2600～2650、2
 650～2700、2700～2750、2750～2800、2800～2850、2
 850～2900、2900～2950、2950～3000、3000～3050、3
 050～3100、3100～3150、3150～3200、および3200～325
 0ヌクレオチドであってもよい。非限定的な例として、ウイルスゲノムは、約55ヌクレ
 オチド長であるフィラー領域を含む。非限定的な例として、ウイルスゲノムは、約56ヌ
 クレオチド長であるフィラー領域を含む。非限定的な例として、ウイルスゲノムは、約9
 7ヌクレオチド長であるフィラー領域を含む。非限定的な例として、ウイルスゲノムは、
 約103ヌクレオチド長であるフィラー領域を含む。非限定的な例として、ウイル 50
 ムは、約105ヌクレオチド長であるフィラー領域を含む。非限定的な例として、ウイル

スゲノムは、約 3 5 7 ヌクレオチド長であるフィラー領域を含む。非限定的な例として、ウイルスゲノムは、約 3 6 3 ヌクレオチド長であるフィラー領域を含む。非限定的な例として、ウイルスゲノムは、約 7 1 2 ヌクレオチド長であるフィラー領域を含む。非限定的な例として、ウイルスゲノムは、約 7 1 4 ヌクレオチド長であるフィラー領域を含む。非限定的な例として、ウイルスゲノムは、約 1 2 0 3 ヌクレオチド長であるフィラー領域を含む。非限定的な例として、ウイルスゲノムは、約 1 2 0 9 ヌクレオチド長であるフィラー領域を含む。非限定的な例として、ウイルスゲノムは、約 1 5 1 2 ヌクレオチド長であるフィラー領域を含む。非限定的な例として、ウイルスゲノムは、約 1 5 1 9 ヌクレオチド長であるフィラー領域を含む。非限定的な例として、ウイルスゲノムは、約 2 3 9 5 ヌクレオチド長であるフィラー領域を含む。非限定的な例として、ウイルスゲノムは、約 2 4 0 3 ヌクレオチド長であるフィラー領域を含む。非限定的な例として、ウイルスゲノムは、約 2 4 0 5 ヌクレオチド長であるフィラー領域を含む。非限定的な例として、ウイルスゲノムは、約 3 0 1 3 ヌクレオチド長であるフィラー領域を含む。非限定的な例として、ウイルスゲノムは、約 3 0 2 1 ヌクレオチド長であるフィラー領域を含む。

【0564】

一実施形態において、AAV粒子ウイルスゲノムは、少なくとも1つのフィラー配列領域を含む。フィラー配列領域の非限定的な例は、表19に記載される。

【0565】

【表19】

表 19. フィラー配列領域

配列領域名	配列番号
FILL1	1796
FILL2	1797
FILL3	1798
FILL4	1799
FILL5	1800
FILL6	1801
FILL7	1802
FILL8	1803
FILL9	1804
FILL10	1805
FILL11	1806
FILL12	1807
FILL13	1808
FILL14	1809
FILL15	1810
FILL16	1811
FILL17	1812
FILL18	1813

一実施形態において、AAV粒子ウイルスゲノムは、1つのフィラー配列領域を含む。一実施形態において、フィラー配列領域は、FILL1配列領域である。一実施形態において、フィラー配列領域は、FILL2配列領域である。一実施形態において、フィラー配列領域は、FILL3配列領域である。一実施形態において、フィラー配列領域は、FILL4配列領域である。一実施形態において、フィラー配列領域は、FILL5配列領域である。一実施形態において、フィラー配列領域は、FILL6配列領域である。一実施形態において、フィラー配列領域は、FILL7配列領域である。一実施形態において、フィラー配列領域は、FILL8配列領域である。一実施形態において、フィラー配列領域は、FILL9配列領域である。一実施形態において、フィラー配列領域は、FILL10配列領域である。一実施形態において、フィラー配列領域は、FILL11配列領域である。一実施形態において、フィラー配列領域は、FILL12配列領域である。一実施形態において、フィラー配列領域は、FILL13配列領域である。一実施形態において、フィラー配列領域は、FILL14配列領域である。一実施形態において、フィラ

【 0 5 6 6 】

50

50

30

50

10

20

30

40

50

50

40

50

50

50

20

50

50

50

[illegible]

50

50

30

50

50

50

10

20

30

40

50

50

40

50

50

50

20

50

50

50

域である。一実施形態において、フィラー配列領域は、F I L L 9 配列領域、F I L L 1 1 配列領域、およびF I L L 1 8 配列領域である。一実施形態において、フィラー配列領域は、F I L L 9 配列領域、F I L L 1 2 配列領域、およびF I L L 1 3 配列領域である。一実施形態において、フィラー配列領域は、F I L L 9 配列領域、F I L L 1 2 配列領域、およびF I L L 1 4 配列領域である。一実施形態において、フィラー配列領域は、F I L L 9 配列領域、F I L L 1 2 配列領域、およびF I L L 1 5 配列領域である。一実施形

[illegible]

10

20

30

40

50

50

30

50

は、F I L L 1 4 配列領域、F I L L 1 6 配列領域、およびF I L L 1 7 配列領域である。一実施形態において、フィラー配列領域は、F I L L 1 4 配列領域、F I L L 1 6 配列領域、およびF I L L 1 8 配列領域である。一実施形態において、フィラー配列領域は、F I L L 1 4 配列領域、F I L L 1 7 配列領域、およびF I L L 1 8 配列領域である。一実施形態において、フィラー配列領域は、F I L L 1 5 配列領域、F I L L 1 6 配列領域、およびF I L L 1 7 配列領域である。一実施形態において、フィラー配列領域は、F I L L 1 5 配列領域、F I L L 1 6 配列領域、およびF I L L 1 8 配列領域である。一実施形態において、フィラー配列領域は、F I L L 1 5 配列領域、F I L L 1 7 配列領域、およびF I L L 1 8 配列領域である。一実施形態において、フィラー配列領域は、F I L L 1 6 配列領域、F I L L 1 7 配列領域、およびF I L L 1 8 配列領域である。

10

【0568】

一実施形態において、A A V粒子ウイルスゲノムは、少なくとも1つのエンハンサー配列領域を含み得る。エンハンサー配列領域は、独立に、限定はされないが、300、301、302、303、304、305、306、307、308、309、310、311、312、313、314、315、316、317、318、319、320、321、322、323、324、325、326、327、328、329、330、331、332、333、334、335、336、337、338、339、340、341、342、343、344、345、346、347、348、349、350、351、352、353、354、355、356、357、358、359、360、361、362、363、364、365、366、367、368、369、370、371、372、373、374、375、376、377、378、379、380、381、382、383、384、385、386、387、388、389、390、391、392、393、394、395、396、397、398、399、および400ヌクレオチドなどの長さを有していてもよい。ウイルスゲノムのエンハンサー領域の長さは、300～310、300～325、305～315、310～320、315～325、320～330、325～335、325～350、330～340、335～345、340～350、345～355、350～360、350～375、355～365、360～370、365～375、370～380、375～385、375～400、380～390、385～395、および390～400ヌクレオチドであってもよい。非限定的な例として、ウイルスゲノムは、約303ヌクレオチド長であるエンハンサー領域を含む。非限定的な例として、ウイルスゲノムは、約382ヌクレオチド長であるエンハンサー領域を含む。

20

30

【0569】

一実施形態において、A A V粒子ウイルスゲノムは、少なくとも1つのエンハンサー配列領域を含む。エンハンサー配列領域の非限定的な例は、表20に記載される。

【0570】

【表20】

表 20. エンハンサー配列領域

配列領域名	配列番号
エンハンサー1	1814
エンハンサー2	1815

40

一実施形態において、A A V粒子ウイルスゲノムは、1つのエンハンサー配列領域を含む。一実施形態において、エンハンサー配列領域は、エンハンサー1配列領域である。一実施形態において、エンハンサー配列領域は、エンハンサー2配列領域である。

【0571】

一実施形態において、A A V粒子ウイルスゲノムは、2つのエンハンサー配列領域を含む。一実施形態において、エンハンサー配列領域は、エンハンサー1配列領域およびエン

50

ハンサー 2 配列領域である。

【0572】

一実施形態において、AAV粒子ウィルスゲノムは、少なくとも1つのプロモータ配列領域を含み得る。プロモータ配列領域は、独立に、限定はされないが、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、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、141、142、143、144、145、146、147、148、149、150、151、152、153、154、155、156、157、158、159、160、161、162、163、164、165、166、167、168、169、170、171、172、173、174、175、176、177、178、179、180、181、182、183、184、185、186、187、188、189、190、191、192、193、194、195、196、197、198、199、200、201、202、203、204、205、206、207、208、209、210、211、212、213、214、215、216、217、218、219、220、221、222、223、224、225、226、227、228、229、230、231、232、233、234、235、236、237、238、239、240、241、242、243、244、245、246、247、248、249、250、251、252、253、254、255、256、257、258、259、260、261、262、263、264、265、266、267、268、269、270、271、272、273、274、275、276、277、278、279、280、281、282、283、284、285、286、287、288、289、290、291、292、293、294、295、296、297、298、299、300、301、302、303、304、305、306、307、308、309、310、311、312、313、314、315、316、317、318、319、320、321、322、323、324、325、326、327、328、329、330、331、332、333、334、335、336、337、338、339、340、341、342、343、344、345、346、347、348、349、350、351、352、353、354、355、356、357、358、359、360、361、362、363、364、365、366、367、368、369、370、371、372、373、374、375、376、377、378、379、380、381、382、383、384、385、386、387、388、389、390、391、392、393、394、395、396、397、398、399、400、401、402、403、404、405、406、407、408、409、410、411、412、413、414、415、416、417、418、419、420、421、422、423、424、425、426、427、428、429、430、431、432、433、434、435、436、437、438、439、440、441、442、443、444、445、446、447、448、449、450、451、452、453、454、455、456、457、458、459、460、461、462、463、464、465、466、467、468、469、470、471、472、473、474、475、476、477、478、479、480、481、482、483、484、485、486、487、488、489、490、491

10

20

30

40

50

1、492、493、494、495、496、497、498、499、500、50
 1、502、503、504、505、506、507、508、509、510、51
 1、512、513、514、515、516、517、518、519、520、52
 1、522、523、524、525、526、527、528、529、530、53
 1、532、533、534、535、536、537、538、539、540、54
 1、542、543、544、545、546、547、548、549、550、55
 1、552、553、554、555、556、557、558、559、560、56
 1、562、563、564、565、566、567、568、569、570、57
 1、572、573、574、575、576、577、578、579、580、58
 1、582、583、584、585、586、587、588、589、590、59
 1、592、593、594、595、596、597、598、599、および600
 ヌクレオチドなどの長さを有していてもよい。ウイルスゲノムのプロモータ領域の長さは
 、4～10、10～20、10～50、20～30、30～40、40～50、50～6
 0、50～100、60～70、70～80、80～90、90～100、100～11
 0、100～150、110～120、120～130、130～140、140～15
 0、150～160、150～200、160～170、170～180、180～19
 0、190～200、200～210、200～250、210～220、220～23
 0、230～240、240～250、250～260、250～300、260～27
 0、270～280、280～290、290～300、300～310、300～35
 0、310～320、320～330、330～340、340～350、350～36
 0、350～400、360～370、370～380、380～390、390～40
 0、400～410、400～450、410～420、420～430、430～44
 0、440～450、450～460、450～500、460～470、470～48
 0、480～490、490～500、500～510、500～550、510～52
 0、520～530、530～540、540～550、550～560、550～60
 0、560～570、570～580、580～590、および590～600ヌクレオ
 チドであってもよい。非限定的な例として、ウイルスゲノムは、約4ヌクレオチド長であ
 るプロモータ領域を含む。非限定的な例として、ウイルスゲノムは、約17ヌクレオチド
 長であるプロモータ領域を含む。非限定的な例として、ウイルスゲノムは、約204ヌク
 レオチド長であるプロモータ領域を含む。非限定的な例として、ウイルスゲノムは、約2
 19ヌクレオチド長であるプロモータ領域を含む。非限定的な例として、ウイルスゲノム
 は、約260ヌクレオチド長であるプロモータ領域を含む。非限定的な例として、ウイル
 スゲノムは、約303ヌクレオチド長であるプロモータ領域を含む。非限定的な例として
 、ウイルスゲノムは、約382ヌクレオチド長であるプロモータ領域を含む。非限定的な
 例として、ウイルスゲノムは、約588ヌクレオチド長であるプロモータ領域を含む。

10

20

30

【0573】

一実施形態において、AAV粒子ウイルスゲノムは、少なくとも1つのプロモータ配列領域を含む。プロモータ配列領域の非限定的な例は、表21に記載される。

【0574】

【表 2 1】

表 21. プロモータ配列領域

配列領域名	配列番号または配列
プロモータ 1	1816
プロモータ 2	1817
プロモータ 3	GTTG
プロモータ 4	1818
プロモータ 5	1819
プロモータ 6	1820

10

一実施形態において、AAV粒子ウイルスゲノムは、1つのプロモータ配列領域を含む。一実施形態において、プロモータ配列領域はプロモータ1である。一実施形態において、プロモータ配列領域はプロモータ2である。一実施形態において、プロモータ配列領域はプロモータ3である。一実施形態において、プロモータ配列領域はプロモータ4である。一実施形態において、プロモータ配列領域はプロモータ5である。一実施形態において、プロモータ配列領域はプロモータ6である。

【0575】

一実施形態において、AAV粒子ウイルスゲノムは、2つのプロモータ配列領域を含む。一実施形態において、プロモータ配列領域は、プロモータ1配列領域およびプロモータ2配列領域である。一実施形態において、プロモータ配列領域は、プロモータ1配列領域およびプロモータ3配列領域である。一実施形態において、プロモータ配列領域は、プロモータ1配列領域およびプロモータ4配列領域である。一実施形態において、プロモータ配列領域は、プロモータ1配列領域およびプロモータ5配列領域である。一実施形態において、プロモータ配列領域は、プロモータ1配列領域およびプロモータ6配列領域である。一実施形態において、プロモータ配列領域は、プロモータ2配列領域およびプロモータ3配列領域である。一実施形態において、プロモータ配列領域は、プロモータ2配列領域およびプロモータ4配列領域である。一実施形態において、プロモータ配列領域は、プロモータ2配列領域およびプロモータ5配列領域である。一実施形態において、プロモータ配列領域は、プロモータ2配列領域およびプロモータ6配列領域である。一実施形態において、プロモータ配列領域は、プロモータ3配列領域およびプロモータ4配列領域である。一実施形態において、プロモータ配列領域は、プロモータ3配列領域およびプロモータ5配列領域である。一実施形態において、プロモータ配列領域は、プロモータ3配列領域およびプロモータ6配列領域である。一実施形態において、プロモータ配列領域は、プロモータ4配列領域およびプロモータ5配列領域である。一実施形態において、プロモータ配列領域は、プロモータ4配列領域およびプロモータ6配列領域である。一実施形態において、プロモータ配列領域は、プロモータ5配列領域およびプロモータ6配列領域である。

20

30

【0576】

一実施形態において、AAV粒子ウイルスゲノムは、少なくとも1つのエクソン配列領域を含み得る。エクソン領域は、独立に、限定はされないが、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、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、11

40

50

1、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、141、142、143、144、145、146、147、148、149、および150ヌクレオチドなどの長さを有していてもよい。ウイルスゲノムのエクソン領域の長さは、2～10、5～10、5～15、10～20、10～30、10～40、15～20、15～25、20～30、20～40、20～50、25～30、25～35、30～40、30～50、30～60、35～40、35～45、40～50、40～60、40～70、45～50、45～55、50～60、50～70、50～80、55～60、55～65、60～70、60～80、60～90、65～70、65～75、70～80、70～90、70～100、75～80、75～85、80～90、80～100、80～110、85～90、85～95、90～100、90～110、90～120、95～100、95～105、100～110、100～120、100～130、105～110、105～115、110～120、110～130、110～140、115～120、115～125、120～130、120～140、120～150、125～130、125～135、130～140、130～150、135～140、135～145、140～150、および145～150ヌクレオチドであってもよい。非限定的な例として、ウイルスゲノムは、約53ヌクレオチド長であるエクソン領域を含む。非限定的な例として、ウイルスゲノムは、約134ヌクレオチド長であるエクソン領域を含む。

10

20

【0577】

一実施形態において、AAV粒子ウイルスゲノムは、少なくとも1つのエクソン配列領域を含む。エクソン配列領域の非限定的な例は、表22に記載される。

【0578】

【表22】

表 22. エクソン配列領域

配列領域名	配列番号
エクソン1	1821
エクソン2	1822

30

一実施形態において、AAV粒子ウイルスゲノムは、1つのエクソン配列領域を含む。一実施形態において、エクソン配列領域は、エクソン1配列領域である。一実施形態において、エクソン配列領域は、エクソン2配列領域である。

【0579】

一実施形態において、AAV粒子ウイルスゲノムは、2つのエクソン領域を含む。一実施形態において、エクソン配列領域は、エクソン1配列領域およびエクソン2配列領域である。

【0580】

一実施形態において、AAV粒子ウイルスゲノムは、少なくとも1つのイントロン配列領域を含み得る。イントロン領域は、独立に、限定はされないが、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、1

40

50

26、127、128、129、130、131、132、133、134、135、1
 36、137、138、139、140、141、142、143、144、145、1
 46、147、148、149、150、151、152、153、154、155、1
 56、157、158、159、160、161、162、163、164、165、1
 66、167、168、169、170、171、172、173、174、175、1
 76、177、178、179、180、181、182、183、184、185、1
 86、187、188、189、190、191、192、193、194、195、1
 96、197、198、199、200、201、202、203、204、205、2
 06、207、208、209、210、211、212、213、214、215、2
 16、217、218、219、220、221、222、223、224、225、2
 26、227、228、229、230、231、232、233、234、235、2
 36、237、238、239、240、241、242、243、244、245、2
 46、247、248、249、250、251、252、253、254、255、2
 56、257、258、259、260、261、262、263、264、265、2
 66、267、268、269、270、271、272、273、274、275、2
 76、277、278、279、280、281、282、283、284、285、2
 86、287、288、289、290、291、292、293、294、295、2
 96、297、298、299、300、301、302、303、304、305、3
 06、307、308、309、310、311、312、313、314、315、3
 16、317、318、319、320、321、322、323、324、325、3
 26、327、328、329、330、331、332、333、334、335、3
 36、337、338、339、340、341、342、343、344、345、3
 46、347、348、349、および350ヌクレオチドなどの長さを有していてもよい。ウイルスゲノムのイントロン領域の長さは、25～35、25～50、35～45、
 45～55、50～75、55～65、65～75、75～85、75～100、85～
 95、95～105、100～125、105～115、115～125、125～13
 5、125～150、135～145、145～155、150～175、155～16
 5、165～175、175～185、175～200、185～195、195～20
 5、200～225、205～215、215～225、225～235、225～25
 0、235～245、245～255、250～275、255～265、265～27
 5、275～285、275～300、285～295、295～305、300～32
 5、305～315、315～325、325～335、325～350、および335
 ～345ヌクレオチドであってもよい。非限定的な例として、ウイルスゲノムは、約32
 ヌクレオチド長であるイントロン領域を含む。非限定的な例として、ウイルスゲノムは、
 約172ヌクレオチド長であるイントロン領域を含む。非限定的な例として、ウイルスゲ
 ノムは、約201ヌクレオチド長であるイントロン領域を含む。非限定的な例として、ウ
 イルスゲノムは、約347ヌクレオチド長であるイントロン領域を含む。

10

20

30

【0581】

一実施形態において、AAV粒子ウイルスゲノムは、少なくとも1つのイントロン配列領域を含む。イントロン配列領域の非限定的な例は、表23に記載される。

40

【0582】

【表 2 3】

表 23. インترون配列領域

配列領域名	配列番号
イントロン 1	1823
イントロン 2	1824
イントロン 3	1825
イントロン 4	1826

10

一実施形態において、A A V 粒子ウイルスゲノムは、1つのイントロン配列領域を含む。一実施形態において、イントロン配列領域は、イントロン 1 配列領域である。一実施形態において、イントロン配列領域は、イントロン 2 配列領域である。一実施形態において、イントロン配列領域は、イントロン 3 配列領域である。一実施形態において、イントロン配列領域は、イントロン 4 配列領域である。

【0 5 8 3】

一実施形態において、A A V 粒子ウイルスゲノムは、2つのイントロン配列領域を含む。一実施形態において、イントロン配列領域は、イントロン 1 配列領域およびイントロン 2 配列領域である。一実施形態において、イントロン配列領域は、イントロン 1 配列領域およびイントロン 3 配列領域である。一実施形態において、イントロン配列領域は、イントロン 1 配列領域およびイントロン 4 配列領域である。一実施形態において、イントロン配列領域は、イントロン 2 配列領域およびイントロン 3 配列領域である。一実施形態において、イントロン配列領域は、イントロン 2 配列領域およびイントロン 4 配列領域である。一実施形態において、イントロン配列領域は、イントロン 3 配列領域およびイントロン 4 配列領域である。

20

【0 5 8 4】

一実施形態において、A A V 粒子ウイルスゲノムは、3つのイントロン配列領域を含む。一実施形態において、イントロン配列領域は、イントロン 1 配列領域、イントロン 2 配列領域、およびイントロン 3 配列領域である。一実施形態において、イントロン配列領域は、イントロン 1 配列領域、イントロン 2 配列領域、およびイントロン 4 配列領域である。一実施形態において、イントロン配列領域は、イントロン 1 配列領域、イントロン 3 配列領域、およびイントロン 4 配列領域である。一実施形態において、イントロン配列領域は、イントロン 2 配列領域、イントロン 3 配列領域、およびイントロン 4 配列領域である。

30

【0 5 8 5】

一実施形態において、A A V 粒子ウイルスゲノムは、少なくとも1つのポリアデニル化シグナル配列領域を含み得る。ポリアデニル化シグナル領域配列領域は、独立に、限定はされないが、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、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、141、142、143、144、145、146、147、148、149、150、151、152、153、154、155、156、157、

40

50

158、159、160、161、162、163、164、165、166、167、
168、169、170、171、172、173、174、175、176、177、
178、179、180、181、182、183、184、185、186、187、
188、189、190、191、192、193、194、195、196、197、
198、199、200、201、202、203、204、205、206、207、
208、209、210、211、212、213、214、215、216、217、
218、219、220、221、222、223、224、225、226、227、
228、229、230、231、232、233、234、235、236、237、
238、239、240、241、242、243、244、245、246、247、
248、249、250、251、252、253、254、255、256、257、 10
258、259、260、261、262、263、264、265、266、267、
268、269、270、271、272、273、274、275、276、277、
278、279、280、281、282、283、284、285、286、287、
288、289、290、291、292、293、294、295、296、297、
298、299、300、301、302、303、304、305、306、307、
308、309、310、311、312、313、314、315、316、317、
318、319、320、321、322、323、324、325、326、327、
328、329、330、331、332、333、334、335、336、337、
338、339、340、341、342、343、344、345、346、347、
348、349、350、351、352、353、354、355、356、357、 20
358、359、360、361、362、363、364、365、366、367、
368、369、370、371、372、373、374、375、376、377、
378、379、380、381、382、383、384、385、386、387、
388、389、390、391、392、393、394、395、396、397、
398、399、400、401、402、403、404、405、406、407、
408、409、410、411、412、413、414、415、416、417、
418、419、420、421、422、423、424、425、426、427、
428、429、430、431、432、433、434、435、436、437、
438、439、440、441、442、443、444、445、446、447、
448、449、450、451、452、453、454、455、456、457、 30
458、459、460、461、462、463、464、465、466、467、
468、469、470、471、472、473、474、475、476、477、
478、479、480、481、482、483、484、485、486、487、
488、489、490、491、492、493、494、495、496、497、
498、499、500、501、502、503、504、505、506、507、
508、509、510、511、512、513、514、515、516、517、
518、519、520、521、522、523、524、525、526、527、
528、529、530、531、532、533、534、535、536、537、
538、539、540、541、542、543、544、545、546、547、
548、549、550、551、552、553、554、555、556、557、 40
558、559、560、561、562、563、564、565、566、567、
568、569、570、571、572、573、574、575、576、577、
578、579、580、581、582、583、584、585、586、587、
588、589、590、591、592、593、594、595、596、597、
598、599、および600ヌクレオチドなどの長さを有していてもよい。ウイルスゲ
ノムのポリアデニル化シグナル配列領域の長さは、4～10、10～20、10～50、
20～30、30～40、40～50、50～60、50～100、60～70、70～
80、80～90、90～100、100～110、100～150、110～120、
120～130、130～140、140～150、150～160、150～200、
160～170、170～180、180～190、190～200、200～210、 50

200～250、210～220、220～230、230～240、240～250、
250～260、250～300、260～270、270～280、280～290、
290～300、300～310、300～350、310～320、320～330、
330～340、340～350、350～360、350～400、360～370、
370～380、380～390、390～400、400～410、400～450、
410～420、420～430、430～440、440～450、450～460、
450～500、460～470、470～480、480～490、490～500、
500～510、500～550、510～520、520～530、530～540、
540～550、550～560、550～600、560～570、570～580、
580～590、および590～600ヌクレオチドであってもよい。非限定的な例とし
て、ウイルスゲノムは、約127ヌクレオチド長であるポリアデニル化シグナル配列領域
を含む。非限定的な例として、ウイルスゲノムは、約225ヌクレオチド長であるポリア
デニル化シグナル配列領域を含む。非限定的な例として、ウイルスゲノムは、約476ヌ
クレオチド長であるポリアデニル化シグナル配列領域を含む。非限定的な例として、ウイ
ルスゲノムは、約477ヌクレオチド長であるポリアデニル化シグナル配列領域を含む。

10

【0586】

一実施形態において、AAV粒子ウイルスゲノムは、少なくとも1つのポリアデニル化
(ポリA)シグナル配列領域を含む。ポリAシグナル配列領域の非限定的な例は、表24
に記載される。

【0587】

20

【表24】**表 24. ポリ A シグナル配列領域**

配列領域名	配列番号
ポリ A1	1827
ポリ A2	1828
ポリ A3	1829
ポリ A4	1830

30

一実施形態において、AAV粒子ウイルスゲノムは、1つのポリAシグナル配列領域を
含む。一実施形態において、ポリAシグナル配列領域は、ポリA1配列領域である。一実
施形態において、ポリAシグナル配列領域は、ポリA2配列領域である。一実施形態にお
いて、ポリAシグナル配列領域は、ポリA3配列領域である。一実施形態において、ポリ
Aシグナル配列領域は、ポリA4配列領域である。

【0588】

一実施形態において、AAV粒子ウイルスゲノムは、2つ以上のポリAシグナル配列領
域を含む。

AAV粒子は、送達効率が增強されるように修飾されてもよい。本発明のsiRNA分
子をコードする核酸配列を含むかかる修飾AAVベクターは、効率的にパッケージングす
ることができ、高頻度でおよび最低限の毒性でおよび標的細胞への感染を成功させるため
に使用することができる。

40

【0589】

一部の実施形態において、本発明のsiRNA分子をコードする核酸配列を含むAAV
粒子は、ヒト血清型AAV粒子であってもよい。かかるヒトAAV粒子は、任意の既知の
血清型、例えば血清型AAV1～AAV11のいずれか1つに由来し得る。非限定的な例
として、AAV粒子は、AAV1由来カプシドにAAV1由来ゲノムを含むベクター；A
AV2由来カプシドにAAV2由来ゲノムを含むベクター；AAV4由来カプシドにA
AV4由来ゲノムを含むベクター；AAV6由来カプシドにAAV6由来ゲノムを含むベク
ターまたはAAV9由来カプシドにAAV9由来ゲノムを含むベクターであってもよい。

50

【0590】

他の実施形態において、本発明の s i R N A 分子をコードする核酸配列を含む A A V 粒子は、少なくとも2つの異なる A A V 血清型を起源とする配列および／または成分を含有するシュードタイプハイブリッドまたはキメラ A A V 粒子であってもよい。シュードタイプ A A V 粒子は、ある A A V 血清型に由来する A A V ゲノムと、少なくとも一部が異なる A A V 血清型に由来するカプシドタンパク質とを含むベクターであってもよい。非限定的な例として、かかるシュードタイプ A A V 粒子は、A A V 1 由来カプシドに A A V 2 由来ゲノムを含むベクター；または A A V 6 由来カプシドに A A V 2 由来ゲノムを含むベクター；または A A V 4 由来カプシドに A A V 2 由来ゲノム；もしくは A A V 9 由来カプシドに A A V 2 由来ゲノムを含むベクターであってもよい。同様に、本発明は、任意のハイブリッドまたはキメラ A A V 粒子を企図する。

【0591】

他の実施形態において、本発明の s i R N A 分子をコードする核酸配列を含む A A V 粒子は、中枢神経系への s i R N A 分子の送達に使用されてもよい（例えば、米国特許第 6, 180, 613 号明細書；この内容は本明細書において全体として参照により援用される）。

【0592】

一部の態様において、本発明の s i R N A 分子をコードする核酸配列を含む A A V 粒子は、非ウイルス起源のペプチドを含む修飾カプシドを更に含み得る。他の態様において、コード化 s i R N A 二重鎖の脳および脊髄への送達を促進するため、A A V 粒子は C N S 特異的キメラカプシドを含んでもよい。例えば、C N S 向性を呈する A A V バリエーションからの c a p ヌクレオチド配列のアラインメントを作成することにより可変領域（V R）配列および構造を同定してもよい。

調節性ポリヌクレオチドを含むポリシストロニック A A V 粒子

一実施形態において、A A V ベクターは、2つ以上の調節性ポリヌクレオチドをコードする核酸配列を含む。一実施形態において、A A V ベクターは、2つ以上の s i R N A 分子をコードする核酸配列を含む。A A V ベクターは、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、または9個超の調節性ポリヌクレオチドをコードする核酸配列を含み得る。A A V ベクターは、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、または9個超の s i R N A 分子をコードする核酸配列を含み得る。

【0593】

A A V ベクターが、2つ以上の調節性ポリヌクレオチド、例えば、s i R N A 分子をコードする、少なくとも1つの核酸配列を含む場合、A A V ベクターは、ポリシストロニックと称され得る。A A V ベクターの核酸配列が、単一の標的を標的とする調節性ポリヌクレオチド分子、例えば、s i R N A 分子をコードする場合、A A V ベクターは、「単一特異性のポリシストロニック」A A V ベクターと称され得る。A A V ベクターの核酸配列が、2つ以上の標的を標的とする調節性ポリヌクレオチド分子、例えば、s i R N A 分子をコードする場合、A A V ベクターは、「多特異性のポリシストロニック」A A V ベクターと称され得る。A A V ベクターの核酸配列が、2つの標的を標的とする s i R N A 分子をコードする場合、A A V ベクターは、「二特異性のポリシストロニック」A A V ベクターと称され得る。

【0594】

一実施形態において、A A V ベクターは、単一の標的遺伝子を標的とする調節性ポリヌクレオチド、例えば、s i R N A 分子をコードする、少なくとも1つの核酸配列を含む。A A V ベクターは、単一の標的遺伝子を標的とする、単一の調節性ポリヌクレオチド、例えば、s i R N A 分子をコードする、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、または9個超の核酸配列を含み得る。非限定的な例として、標的遺伝子は、H T T である。別の非限定的な例として、標的遺伝子は、S O D 1 である。

【0595】

一実施形態において、A A V ベクターは、単一特異性のポリシストロニック A A V ベク

ターであり、標的遺伝子を標的とする、2つの調節性ポリヌクレオチド、例えば、s i R N A分子をコードする核酸配列を含む。一態様において、調節性ポリヌクレオチド、例えば、s i R N A分子は、同じセンス鎖を含む。別の態様において、調節性ポリヌクレオチド、例えば、s i R N A分子は、異なるセンス鎖を含む。一態様において、調節性ポリヌクレオチド、例えば、s i R N A分子は、標的遺伝子配列上の同じ領域と、少なくとも80%の相補性（例えば、80%、85%、90%、95%、99%、または99%超、80~85%、80~90%、85~90%、85~95%、90~95%、90~100%）を有する、異なるセンス鎖を含む。一態様において、調節性ポリヌクレオチド、例えば、s i R N A分子は、標的遺伝子配列の異なる領域との相補性を有する、異なるセンス鎖を含む。非限定的な例として、標的遺伝子は、H T Tである。別の非限定的な例として、標的遺伝子は、S O D 1である。

10

【0596】

一実施形態において、A A Vベクターは、単一特異性のポリシストロニックA A Vベクターであり、標的遺伝子を標的とする3つの調節性ポリヌクレオチド、例えば、s i R N A分子をコードする核酸配列を含む。一態様において、調節性ポリヌクレオチド、例えば、s i R N A分子は、同じセンス鎖を含む。別の態様において、調節性ポリヌクレオチド、例えば、s i R N A分子の各々は、異なるセンス鎖を含む。別の態様において、調節性ポリヌクレオチド、例えば、s i R N A分子のうちの2つは、同じセンス鎖を含み、第3の調節性ポリヌクレオチド、例えば、s i R N A分子は、異なるセンス鎖を含む。一態様において、調節性ポリヌクレオチド、例えば、s i R N A分子の各々は、標的遺伝子配列上の同じ領域と、少なくとも80%の相補性（例えば、80%、85%、90%、95%、99%、または99%超、80~85%、80~90%、85~90%、85~95%、90~95%、90~100%）を有する、異なるセンス鎖を含む。一態様において、調節性ポリヌクレオチド、例えば、s i R N A分子のうちの2つは、標的遺伝子配列上の同じ領域と、少なくとも80%の相補性（例えば、80%、85%、90%、95%、99%、または99%超、80~85%、80~90%、85~90%、85~95%、90~95%、90~100%）を有する、異なるセンス鎖を含む。一態様において、調節性ポリヌクレオチド、例えば、s i R N A分子は、標的遺伝子配列の異なる領域との相補性を有する、異なるセンス鎖を含む。非限定的な例として、標的遺伝子は、H T Tである。別の非限定的な例として、標的遺伝子は、S O D 1である。

20

30

【0597】

一実施形態において、A A Vベクターは、単一特異性のポリシストロニックA A Vベクターであり、標的遺伝子を標的とする、4つの調節性ポリヌクレオチド、例えば、s i R N A分子をコードする核酸配列を含む。一態様において、調節性ポリヌクレオチド、例えば、s i R N A分子は、同じセンス鎖を含む。別の態様において、調節性ポリヌクレオチド、例えば、s i R N A分子の各々は、異なるセンス鎖を含む。別の態様において、調節性ポリヌクレオチド、例えば、s i R N A分子のうちの2つは、第1のセンス鎖配列を含み、他の2つの調節性ポリヌクレオチド、例えば、s i R N A分子は、第2のセンス鎖配列を含む。別の態様において、調節性ポリヌクレオチド、例えば、s i R N A分子のうちの3つは、第1のセンス鎖配列を含み、他の調節性ポリヌクレオチド、例えば、s i R N A分子は、第2のセンス鎖配列を含む。一態様において、調節性ポリヌクレオチド、例えば、s i R N A分子の各々は、標的遺伝子配列上の同じ領域と、少なくとも80%の相補性（例えば、80%、85%、90%、95%、99%、または99%超、80~85%、80~90%、85~90%、85~95%、90~95%、90~100%）を有する、異なるセンス鎖を含む。一態様において、調節性ポリヌクレオチド、例えば、s i R N A分子のうちの2つは、標的遺伝子配列上の同じ領域と、少なくとも80%の相補性（例えば、80%、85%、90%、95%、99%、または99%超、80~85%、80~90%、85~90%、85~95%、90~95%、90~100%）を有する、異なるセンス鎖を含む。一態様において、調節性ポリヌクレオチド、例えば、s i R N A分子は、標的遺伝子配列の異なる領域との相補性を有する、異なるセンス鎖を含む。非限

40

50

定的な例として、標的遺伝子は、H T Tである。別の非限定的な例として、標的遺伝子は、S O D 1である。

【0598】

一実施形態において、A A V粒子は、二特異性のポリシストロニックA A V粒子であり、2つの調節性ポリヌクレオチド、例えば、s i R N A分子をコードする核酸配列を含む。一態様において、調節性ポリヌクレオチド、例えば、s i R N A分子のうちの1つは、第1の標的遺伝子を標的とし、他の調節性ポリヌクレオチド、例えば、s i R N A分子は、第2の標的遺伝子を標的とし、中枢神経系の疾患または障害を治療するように、中枢神経系の、少なくとも1つの領域における、タンパク質および／またはm R N Aの発現を低下させ得る。非限定的な例として、標的遺伝子は、H T TおよびS O D 1であり、疾患は、H DおよびA L Sである。

10

【0599】

一実施形態において、A A V粒子は、多特異性のポリシストロニックA A V粒子であり、2つ以上の調節性ポリヌクレオチド、例えば、s i R N A分子をコードする核酸配列を含む。一態様において、調節性ポリヌクレオチド、例えば、s i R N A分子のうちの1つは、第1の標的遺伝子を標的とし、他の調節性ポリヌクレオチド、例えば、s i R N A分子は、第2の標的遺伝子を標的とし、中枢神経系の疾患または障害を治療するように、中枢神経系の、少なくとも1つの領域における、タンパク質および／またはm R N Aの発現を低下させ得る。一態様において、調節性ポリヌクレオチド、例えば、s i R N A分子の各々は、異なるm R N Aを標的として、中枢神経系の疾患または障害を治療するように、中枢神経系の、少なくとも1つの領域における、タンパク質および／またはm R N Aの発現を低下させる。非限定的な例として、標的遺伝子は、H T TおよびS O D 1であり、疾患は、H DおよびA L Sである。

20

【0600】

一実施形態において、A A V粒子は、2つ以上の分子足場配列を含む調節性ポリヌクレオチドを含み得る。A A V粒子は、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、または9個超の分子足場配列を含み得る。

【0601】

一実施形態において、ポリシストロニックA A V粒子のウイルスゲノムは、少なくとも1つの末端逆位配列（I T R）領域、少なくとも1つのエンハンサー配列領域、少なくとも1つのプロモータ配列領域、2つの調節性ポリヌクレオチド領域、および少なくとも1つのポリアデニル化シグナル配列領域を含む。

30

【0602】

一実施形態において、ポリシストロニックA A V粒子のウイルスゲノムは、5'末端逆位配列（I T R）領域および3' I T R配列領域、C M Vエンハンサー配列領域、C B Aプロモータ配列領域、同じ目的の遺伝子（H T T）を標的とする、2つの調節性ポリヌクレオチド配列領域、ならびにウサギグロビンのポリアデニル化シグナル配列領域を含む。上記の配列モジュールの全てを有する、本発明のポリシストロニックA A V粒子における使用のためのI T R間配列の非限定的な例を、表25に記載する。表25において、配列識別子または配列領域の配列（領域の配列番号）および配列領域の長さ（領域長）、ならびにI T R間配列の名称および配列識別子（例えば、V O Y P C 1（配列番号1831））を記載する。

40

【0603】

【表 25】

表 25. ITR 間配列内の配列領域

配列領域	VOYPC1 (配列番号1831)	
	領域の配列番号	領域長
5' ITR	1788	105
CMVエンハンサー	1814	382
CBAプロモータ	1816	260
調節性ポリヌクレオチド(VOYHTmiR-104.579)	1595	158
調節性ポリヌクレオチド(VOYHTmiR-104.579)	1595	158
ウサギグロビンのポリAシグナル	1827	127
3' ITR	1790	130

10

20

一実施形態において、ポリシストロニックAAV粒子のウイルスゲノムは、5'末端逆位配列(ITR)領域および3'ITR配列領域、CMVエンハンサー配列領域、CBAプロモータ配列領域、同じ目的の遺伝子(HTT)を標的とする、2つの調節性ポリヌクレオチド領域、ならびにウサギグロビンのポリアデニル化シグナル配列領域を含む配列番号1831(VOYPC1)を含む。

【0604】

一実施形態において、ポリシストロニックAAV粒子のウイルスゲノムは、少なくとも1つの末端逆位配列(ITR)領域、少なくとも1つのエンハンサー配列領域、少なくとも1つのプロモータ配列領域、少なくとも1つのイントロン配列領域、2つの調節性ポリヌクレオチド領域、および少なくとも1つのポリアデニル化シグナル配列領域を含む。

30

【0605】

一実施形態において、ポリシストロニックAAV粒子のウイルスゲノムは、5'末端逆位配列(ITR)領域および3'ITR配列領域、CMVエンハンサー配列領域、CBAプロモータ配列領域、SV40イントロン配列領域、同じ目的の遺伝子(HTT)を標的とする、2つの調節性ポリヌクレオチド配列領域、ならびにウサギグロビンのポリアデニル化シグナル配列領域を含む。上記の配列モジュールの全てを有する、本発明のポリシストロニックAAV粒子における使用のためのITR間配列の非限定的な例を、表26および27に記載する。表26および27において、配列識別子または配列領域の配列(領域の配列番号)および配列領域の長さ(領域長)、ならびにITR間配列の名称および配列識別子(例えば、VOYPC2(配列番号1832))を記載する。

40

【0606】

【表 2 6】

表 26. 配列領域 in ITR to ITR 配列 s

配列領域	VOYPC2 (配列番号 1832)		VOYPC3 (配列番号 1833)		VOYPC4 (配列番号 1834)		VOYPC5 (配列番号 1835)	
	領域の配列番号	領域長	領域の配列番号	領域長	領域の配列番号	領域長	領域の配列番号	領域長
5' ITR	1788	105	1788	105	1788	105	1788	105
CMV エンハンサー	1814	382	1814	382	1814	382	1814	382
CBA プロモーター	1816	260	1816	260	1816	260	1816	260
SV40 イントロン	1823	172	1823	172	1823	172	1823	172
調節性ポリヌクレオチド (VOYHTmiR-104.016)	1589	158	-	-	1589	158	-	-
調節性ポリヌクレオチド (VOYHTmiR-127.579)	-	-	1599	260	-	-	1599	260
調節性ポリヌクレオチド (VOYHTmiR-104.016)	1589	158	1589	158	-	-	-	-
調節性ポリヌクレオチド (VOYHTmiR-127.579)	-	-	-	-	1599	260	1599	260
ウサギグロビンのポリA シグナル	1827	127	1827	127	1827	127	1827	127
3' ITR	1790	130	1790	130	1790	130	1790	130

【0607】

10

20

30

【表 27】

表 27. ITR 間配列内の配列領域

配列領域	VOYPC6 (配列番号 1836)		VOYPC7 (配列番号 1837)		VOYPC8 (配列番号 1838)	
	領域の配列番号	領域長	領域の配列番号	領域長	領域の配列番号	領域長
5' ITR	1788	105	1788	105	1788	105
CMV エンハンサー	1814	382	1814	382	1814	382
CBA プロモータ	1816	260	1816	260	1816	260
SV40 イントロン	1826	201	1826	201	1826	201
調節性ポリヌクレオチド (VOYHTmiR-127.016)	1593	260	-	-	1593	260
調節性ポリヌクレオチド (VOYHTmiR-104.579)	-	-	1595	158	-	-
調節性ポリヌクレオチド (VOYHTmiR-127.016)	1593	260	1593	260	-	-
調節性ポリヌクレオチド (VOYHTmiR-104.579)	-	-	-	-	1595	158
ウサギグロビンのポリ A シグナル	1827	127	1827	127	1827	127
3' ITR	1790	130	1790	130	1790	130

一実施形態において、ポリシストロニック AAV 粒子のウイルスゲノムは、5' 末端逆位配列 (ITR) 領域および 3' ITR 配列領域、CMV エンハンサー配列領域、CBA プロモータ配列領域、SV40 イントロン配列領域、同じ目的の遺伝子 (HTT) を標的とする、2つの調節性ポリヌクレオチド領域、ならびにウサギグロビンのポリアデニル化シグナル配列領域を含む配列番号 1832 (VOYPC2) を含む。

【0608】

一実施形態において、ポリシストロニック AAV 粒子のウイルスゲノムは、5' 末端逆位配列 (ITR) 領域および 3' ITR 配列領域、CMV エンハンサー配列領域、CBA プロモータ配列領域、SV40 イントロン配列領域、同じ目的の遺伝子 (HTT) を標的とする、2つの調節性ポリヌクレオチド領域、ならびにウサギグロビンのポリアデニル化シグナル配列領域を含む配列番号 1833 (VOYPC3) を含む。

【0609】

一実施形態において、ポリシストロニック AAV 粒子のウイルスゲノムは、5' 末端逆位配列 (ITR) 領域および 3' ITR 配列領域、CMV エンハンサー配列領域、CBA プロモータ配列領域、SV40 イントロン配列領域、同じ目的の遺伝子 (HTT) を標的とする、2つの調節性ポリヌクレオチド領域、ならびにウサギグロビンのポリアデニル化

シグナル配列領域を含む配列番号1834 (VOYPC4)を含む。

【0610】

一実施形態において、ポリシストロニックAAV粒子のウイルスゲノムは、5'末端逆位配列(ITR)領域および3' ITR配列領域、CMVエンハンサー配列領域、CBAプロモータ配列領域、SV40イントロン配列領域、同じ目的の遺伝子(HTT)を標的とする、2つの調節性ポリヌクレオチド領域、ならびにウサギグロビンのポリアデニル化シグナル配列領域を含む配列番号1835 (VOYPC5)を含む。

【0611】

一実施形態において、ポリシストロニックAAV粒子のウイルスゲノムは、5'末端逆位配列(ITR)領域および3' ITR配列領域、CMVエンハンサー配列領域、CBAプロモータ配列領域、SV40イントロン配列領域、同じ目的の遺伝子(HTT)を標的とする、2つの調節性ポリヌクレオチド領域、ならびにウサギグロビンのポリアデニル化シグナル配列領域を含む配列番号1836 (VOYPC6)を含む。

【0612】

一実施形態において、ポリシストロニックAAV粒子のウイルスゲノムは、5'末端逆位配列(ITR)領域および3' ITR配列領域、CMVエンハンサー配列領域、CBAプロモータ配列領域、SV40イントロン配列領域、同じ目的の遺伝子(HTT)を標的とする、2つの調節性ポリヌクレオチド領域、ならびにウサギグロビンのポリアデニル化シグナル配列領域を含む配列番号1837 (VOYPC7)を含む。

【0613】

一実施形態において、ポリシストロニックAAV粒子のウイルスゲノムは、5'末端逆位配列(ITR)領域および3' ITR配列領域、CMVエンハンサー配列領域、CBAプロモータ配列領域、SV40イントロン配列領域、同じ目的の遺伝子(HTT)を標的とする、2つの調節性ポリヌクレオチド領域、ならびにウサギグロビンのポリアデニル化シグナル配列領域を含む配列番号1838 (VOYPC8)を含む。

【0614】

一実施形態において、ポリシストロニックAAV粒子のウイルスゲノムは、少なくとも1つの末端逆位配列(ITR)領域、少なくとも1つのプロモータ配列領域、2つの調節性ポリヌクレオチド領域、および少なくとも1つのポリアデニル化シグナル配列領域を含む。

【0615】

一実施形態において、ポリシストロニックAAV粒子のウイルスゲノムは、少なくとも1つの末端逆位配列(ITR)領域、少なくとも1つのプロモータ配列領域、および2つの調節性ポリヌクレオチド領域を含む。

【0616】

一実施形態において、ポリシストロニックAAV粒子のウイルスゲノムは、5'末端逆位配列(ITR)領域および3' ITR配列領域、CBAプロモータ配列領域、H1プロモータ配列領域、および同じ目的の遺伝子(HTT)を標的とする、2つの調節性ポリヌクレオチド配列領域を含む。上記の配列モジュールの全てを有する、本発明のポリシストロニックAAV粒子における使用のためのITR間配列の非限定的な例を、表28に記載する。表28において、配列識別子または配列領域の配列(領域の配列番号)および配列領域の長さ(領域長)、ならびにITR間配列の名称および配列識別子(例えば、VOYPC1(配列番号1831))を記載する。

【0617】

10

20

30

40

【表 28】

表 28. ITR 間配列内の配列領域

配列領域	VOYPC9 (配列番号 1839)		VOYPC10 (配列番号 1840)		VOYPC11 (配列番号 1841)		VOYPC12 (配列番号 1842)	
	領域の配列番号	領域長	領域の配列番号	領域長	領域の配列番号	領域長	領域の配列番号	領域長
5' ITR	1788	105	1788	105	1788	105	1788	105
CBA プロモータ	1819	219	1819	219	1819	219	1819	219
調節性ポリヌクレオチド (VOYHTmiR-104.016)	1589	158	-	-	-	-	1589	158
調節性ポリヌクレオチド (VOYHTmiR-127.579)	-	-	1599	260	1599	260	-	-
H1 プロモータ	1819	219	1819	219	1819	219	1819	219
調節性ポリヌクレオチド (VOYHTmiR-104.016)	1589	158	-	-	1589	158	-	-
調節性ポリヌクレオチド (VOYHTmiR-127.579)	-	-	1599	260	-	-	1599	260
3' ITR	1790	130	1790	130	1790	130	1790	130

一実施形態において、ポリシストロニック AAV 粒子のウイルスゲノムは、P o l I I I プロモータを含む。一実施形態において、ポリシストロニック AAV 粒子のウイルスゲノムは、3 型 P o l I I I プロモータを含む。一実施形態において、ポリシストロニック AAV 粒子のウイルスゲノムは、H 1 プロモータを含む。一実施形態において、ポリシストロニック AAV 粒子のウイルスゲノムは、U 6 プロモータを含む。一実施形態において、ポリシストロニック AAV 粒子のウイルスゲノムは、U 3 プロモータを含む。一実施形態において、ポリシストロニック AAV 粒子のウイルスゲノムは、U 7 プロモータを含む。一実施形態において、ポリシストロニック AAV 粒子のウイルスゲノムは、7 S K プロモータを含む。一実施形態において、ポリシストロニック AAV 粒子のウイルスゲノムは、M R P プロモータを含む。一実施形態において、ポリシストロニック AAV 粒子のウイルスゲノムは、P o l I I I プロモータを含む。一実施形態において、ポリシストロニック AAV 粒子のウイルスゲノムは、切断型 P o l I I I プロモータを含む。

【0618】

一実施形態において、ポリシストロニック AAV 粒子のウイルスゲノムは、5' 末端逆位配列 (ITR) 領域および 3' ITR 配列領域、CBA プロモータ配列領域、H1 プロモータ配列領域、ならびに同じ目的の遺伝子 (HTT) を標的とする、2つの調節性ポリヌクレオチド領域を含む配列番号 1839 (VOYPC9) を含む。

【0619】

一実施形態において、ポリシストロニック AAV 粒子のウイルスゲノムは、5' 末端逆位配列 (ITR) 領域および 3' ITR 配列領域、CBA プロモータ配列領域、H1 プロ

モータ配列領域、ならびに同じ目的の遺伝子（H T T）を標的とする、2つの調節性ポリヌクレオチド領域を含む配列番号1840（V O Y P C 1 0）を含む。

【0620】

一実施形態において、ポリシストロニックA A V粒子のウイルスゲノムは、5'末端逆位配列（I T R）領域および3' I T R配列領域、C B Aプロモータ配列領域、H 1プロモータ配列領域、ならびに同じ目的の遺伝子（H T T）を標的とする、2つの調節性ポリヌクレオチド領域を含む配列番号1841（V O Y P C 1 1）を含む。

【0621】

一実施形態において、ポリシストロニックA A V粒子のウイルスゲノムは、5'末端逆位配列（I T R）領域および3' I T R配列領域、C B Aプロモータ配列領域、H 1プロモータ配列領域、ならびに同じ目的の遺伝子（H T T）を標的とする、2つの調節性ポリヌクレオチド領域を含む配列番号1842（V O Y P C 1 2）を含む。

【0622】

一実施形態において、ポリシストロニックA A V粒子のウイルスゲノムは、5'末端逆位配列（I T R）領域および3' I T R配列領域、2つのH 1プロモータ配列領域、同じ目的の遺伝子を標的とする、2つの調節性ポリヌクレオチド配列領域、ならびに2つのH 1ターミネータ配列を含み、ここで、各調節性ポリヌクレオチド配列領域は、その固有のP o l I I Iプロモータ、例えば、3型P o l I I Iプロモータ、例えば、H 1プロモータにより駆動され、これに続き、その固有のプロモータターミネータ配列、例えば、H 1ターミネータ配列により駆動される。これらの配列モジュールを有する、本発明のポリシストロニックA A V粒子における使用のためのI T R間配列の非限定的な例を、表29に記載する。表29において、配列識別子または配列領域の配列（領域の配列番号）および配列領域の長さ（領域長）、ならびにI T R間配列の名称および配列識別子（例えば、V O Y P C 5 9（配列番号2682））を記載する。

【0623】

10

20

【表 29】

表 29. ITR 間配列内の配列領域

配列領域	VOYPC59 (配列番号 2682)		VOYPC60 (配列番号 2683)		VOYPC61 (配列番号 2684)		VOYPC62 (配列番号 2685)	
	領域の配列番号	領域長	領域の配列番号	領域長	領域の配列番号	領域長	領域の配列番号	領域長
5' ITR	1788	105	1788	105	1788	105	1788	105
H1 プロモータ	1819	219	1819	219				
調節性ポリヌクレオチド (VOYHTmiR-104.016)	1589	158	1589	158				
H1 ターミネータ	2681	5	2681	5				
H1 プロモータ			1819	219	1819	219	1819	219
調節性ポリヌクレオチド (VOYHTmiR-127.579)			1599	260	1599	260	1599	260
H1 ターミネータ			2681	5	2681	5	2681	5
H1 プロモータ	1819	219			1819	219		
調節性ポリヌクレオチド (VOYHTmiR-104.016)	1589	158			1589	158		
H1 ターミネータ	2681	5			2681	5		
H1 プロモータ							1819	219
調節性ポリヌクレオチド (VOYHTmiR-127.579)							1599	260
H1 ターミネータ							2681	5
3' ITR	1790	130	1790	130	1790	130	1790	130

一実施形態において、ポリシストロニック AAV 粒子のウイルスゲノムは、5' 末端逆位配列 (ITR) 領域および 3' ITR 配列領域、2つの H1 プロモータ配列領域、同じ目的の遺伝子 (HTT) を標的とする、2つの調節性ポリヌクレオチド領域、ならびに2つの H1 ターミネータ配列領域を含む配列番号 2682 (VOYPC59) を含み、ここで、各調節性ポリヌクレオチド領域は、その固有の H1 プロモータにより駆動されるのに続き、その固有の H1 ターミネータにより駆動される。

【0624】

一実施形態において、ポリシストロニック AAV 粒子のウイルスゲノムは、5' 末端逆位配列 (ITR) 領域および 3' ITR 配列領域、2つの H1 プロモータ配列領域、同じ目的の遺伝子 (HTT) を標的とする、2つの調節性ポリヌクレオチド領域、ならびに2つの H1 ターミネータ配列領域を含む配列番号 2683 (VOYPC60) を含み、こ

で、各調節性ポリヌクレオチド領域は、その固有のH1プロモータにより駆動されるのに続き、その固有のH1ターミネータにより駆動される。

【0625】

一実施形態において、ポリシストロニックAAV粒子のウイルスゲノムは、5'末端逆位配列(ITR)領域および3' ITR配列領域、2つのH1プロモータ配列領域、同じ目的の遺伝子(HTT)を標的とする、2つの調節性ポリヌクレオチド領域、ならびに2つのH1ターミネータ配列領域を含む配列番号2684(VOYPC61)を含み、ここで、各調節性ポリヌクレオチド領域は、その固有のH1プロモータにより駆動されるのに続き、その固有のH1ターミネータにより駆動される。

【0626】

一実施形態において、ポリシストロニックAAV粒子のウイルスゲノムは、5'末端逆位配列(ITR)領域および3' ITR配列領域、2つのH1プロモータ配列領域、同じ目的の遺伝子(HTT)を標的とする、2つの調節性ポリヌクレオチド領域、ならびに2つのH1ターミネータ配列領域を含む配列番号2685(VOYPC62)を含み、ここで、各調節性ポリヌクレオチド領域は、その固有のH1プロモータにより駆動されるのに続き、その固有のH1ターミネータにより駆動される。

【0627】

一実施形態において、ポリシストロニックAAV粒子のウイルスゲノムは、2つのプロモータ配列領域、2つの調節性ポリヌクレオチド領域、および少なくとも1つのポリアデニル化配列領域を含む。

【0628】

一実施形態において、ポリシストロニックAAV粒子のウイルスゲノムは、CMVプロモータ配列領域、T7プライマー結合部位、同じ目的の遺伝子(HTT)を標的とする、2つの調節性ポリヌクレオチド配列領域ならびにポリアデニル化配列領域を含む。上記の配列モジュールの全てを有する、本発明のポリシストロニックAAV粒子における使用のための配列の非限定的な例を、表30および31に記載する。表30および31において、配列識別子または配列領域の配列(領域の配列番号)および配列領域の長さ(領域長)、ならびに配列の名称(例えば、VOYPC13)を記載する。

【0629】

10

20

【表 30】

表 30. 配列領域

配列領域	VOYPC13 (配列番号 2686)		VOYPC14 (配列番号 2687)		VOYPC15 (配列番号 2688)		VOYPC16 (配列番号 2689)	
	領域の配列番号	領域長	領域の配列番号	領域長	領域の配列番号	領域長	領域の配列番号	領域長
CMV プロモーター	1817	588	1817	588	1817	588	1817	588
T7 プライマーの結合部位	1820	17	1820	17	1820	17	1820	17
調節性ポリヌクレオチド (VOYHTmiR-104.016)	1589	158	-	-	1589	158	-	-
調節性ポリヌクレオチド (VOYHTmiR-127.579)	-	-	1599	260	1599	260	1599	260
調節性ポリヌクレオチド (VOYHTmiR-104.016)	1589	158	1589	158	-	-	-	-
調節性ポリヌクレオチド (VOYHTmiR-127.579)	-	-	-	-	-	-	1599	260
ポリ A	1828	225	1828	225	1828	225	1828	225

【0630】

10

20

30

【表 3 1】

表 31. 配列領域

配列領域	VOYPC17		VOYPC18		VOYPC19		VOYPC20	
	領域の 配列番 号	領域長	領域の 配列番 号	領域長	領域の 配列番 号	領域長	領域の 配列番 号	領域長
CMV プロモ ータ	1817	588	1817	588	1817	588	1817	588
T7 プライマ ーの結合部 位	1820	17	1820	17	1820	17	1820	17
調節性ポリ ヌクレオチ ド (VOYHTmiR -104.579)	1595	158	-	-	1595	158	-	-
調節性ポリ ヌクレオチ ド (VOYHTmiR -127.016)	-	-	1593	260	1593	260	1593	260
調節性ポリ ヌクレオチ ド (VOYHTmiR -104.579)	1595	158	-	-	-	-	1595	158
調節性ポリ ヌクレオチ ド (VOYHTmiR -127.016)	-	-	1593	260	-	-	-	-
ポリ A	1828	225	1828	225	1828	225	1828	225

一実施形態において、ポリシストロニック AAV 粒子のウイルスゲノムは、CMV プロモータ配列領域、T7 プライマー結合部位、同じ目的の遺伝子 (HTT) を標的とする、2つの調節性ポリヌクレオチド領域、およびポリアデニル化配列領域を含む VOYPC13 において記載される配列モジュールを含む。

【0631】

一実施形態において、ポリシストロニック AAV 粒子のウイルスゲノムは、CMV プロモータ配列領域、T7 プライマー結合部位、同じ目的の遺伝子 (HTT) を標的とする、2つの調節性ポリヌクレオチド領域、およびポリアデニル化配列領域を含む VOYPC14 において記載される配列モジュールを含む。

【0632】

一実施形態において、ポリシストロニック AAV 粒子のウイルスゲノムは、CMV プロモータ配列領域、T7 プライマー結合部位、同じ目的の遺伝子 (HTT) を標的とする、2つの調節性ポリヌクレオチド領域、およびポリアデニル化配列領域を含む VOYPC15 において記載される配列モジュールを含む。

【0633】

一実施形態において、ポリシストロニック AAV 粒子のウイルスゲノムは、CMV プロモータ配列領域、T7 プライマー結合部位、同じ目的の遺伝子 (HTT) を標的とする、2つの調節性ポリヌクレオチド領域、およびポリアデニル化配列領域を含む VOYPC16 において記載される配列モジュールを含む。

【0634】

一実施形態において、ポリシストロニック A A V 粒子のウイルスゲノムは、C M V プロモータ配列領域、T 7 プライマー結合部位、同じ目的の遺伝子 (H T T) を標的とする、2 つの調節性ポリヌクレオチド領域、およびポリアデニル化配列領域を含む V O Y P C 1 7 において記載される配列モジュールを含む。

【0635】

一実施形態において、ポリシストロニック A A V 粒子のウイルスゲノムは、C M V プロモータ配列領域、T 7 プライマー結合部位、同じ目的の遺伝子 (H T T) を標的とする、2 つの調節性ポリヌクレオチド領域、およびポリアデニル化配列領域を含む V O Y P C 1 8 において記載される配列モジュールを含む。

【0636】

一実施形態において、ポリシストロニック A A V 粒子のウイルスゲノムは、C M V プロモータ配列領域、T 7 プライマー結合部位、同じ目的の遺伝子 (H T T) を標的とする、2 つの調節性ポリヌクレオチド領域、ならびにポリアデニル化配列領域を含む V O Y P C 1 9 において記載される配列モジュールを含む。

【0637】

一実施形態において、ポリシストロニック A A V 粒子のウイルスゲノムは、C M V プロモータ配列領域、T 7 プライマー結合部位、同じ目的の遺伝子 (H T T) を標的とする、2 つの調節性ポリヌクレオチド領域、およびポリアデニル化配列領域を含む V O Y P C 2 0 において記載される配列モジュールを含む。

【0638】

一実施形態において、ポリシストロニック A A V 粒子のウイルスゲノムは、C M V プロモータ配列領域、T 7 プライマー結合部位、および異なる目的の遺伝子 (H T T および S O D 1) を標的とする、2 つの調節性ポリヌクレオチド配列領域、ならびにポリアデニル化配列領域を含む。上記の配列モジュールの全てを有する、本発明のポリシストロニック A A V 粒子における使用のための配列の非限定的な例を、表 3 2 に記載する。表 3 2 において、配列識別子または配列領域の配列 (領域の配列番号) および配列領域の長さ (領域長)、ならびに配列の名称 (例えば、V O Y P C 2 5) を記載する。

【0639】

10

20

【表 3 2】

表 32. 配列領域

配列領域	VOYPC25		VOYPC26	
	領域の 配列番 号	領域長	領域の 配列番 号	領域長
CMV プロモ ーター	1817	588	1817	588
T7 プライマ ーの結合部 位	1820	17	1820	17
調節性ポリ ヌクレオチ ド (VOYSOD1 miR-104)	1699	158	1599	260
調節性ポリ ヌクレオチ ド (VOYHTmiR -127.579)	1599	260	-	-
調節性ポリ ヌクレオチ ド (VOYSOD1 miR-104)	-	-	1699	158
ポリ A	1828	225	1828	225

10

20

一実施形態において、ポリシストロニック AAV 粒子のウイルスゲノムは、CMV プロモーター配列領域、T7 プライマー結合部位、異なる目的の遺伝子（HTT および SOD1）を標的とする、2つの調節性ポリヌクレオチド領域、およびポリアデニル化配列領域を含む VOYPC25 において記載される配列モジュールを含む。

30

【0640】

一実施形態において、ポリシストロニック AAV 粒子のウイルスゲノムは、CMV プロモーター配列領域、T7 プライマー結合部位、異なる目的の遺伝子（HTT および SOD1）を標的とする、2つの調節性ポリヌクレオチド配列領域、およびポリアデニル化配列領域を含む VOYPC26 において記載される配列モジュールを含む。

【0641】

一実施形態において、ポリシストロニック AAV 粒子のウイルスゲノムは、3つのプロモーター配列領域、2つの調節性ポリヌクレオチド領域、および少なくとも1つのポリアデニル化配列領域を含む。

【0642】

一実施形態において、ポリシストロニック AAV 粒子のウイルスゲノムは、GTTG 領域、2つの H1 プロモーター配列領域、および同じ目的の遺伝子（HTT）を標的とする、2つの調節性ポリヌクレオチド領域を含む。上記の配列モジュールの全てを有する、本発明のポリシストロニック AAV 粒子における使用のための配列の非限定的な例を、表 33 に記載する。表 33 において、配列識別子または配列領域の配列（領域の配列番号）および配列領域の長さ（領域長）、ならびに配列の名称（例えば、VOYPC21）を記載する。

40

【0643】

【表 3 3】

表 33. 配列領域

配列領域	VOYPC21		VOYPC22		VOYPC23		VOYPC24	
	領域の 配列番 号	領域長	領域の 配列番 号	領域長	領域の 配列番 号	領域長	領域の 配列番 号	領域長
GTTG	---	4	---	4	---	4	---	4
H1 プロモ ータ	1819	219	1819	219	1819	219	1819	219
調節性ポリ ヌクレオチ ド (VOYHTmiR -127.579)	1599	260	1599	260	-	-	-	-
調節性ポリ ヌクレオチ ド (VOYHTmiR -104.016)	-	-	-	-	1589	158	1589	158
H1 プロモ ータ	1819	219	1819	219	1819	219	1819	219
調節性ポリ ヌクレオチ ド (VOYHTmiR -127.579)	1599	260	-	-	1599	260	-	-
調節性ポリ ヌクレオチ ド (VOYHTmiR -104.016)	-	-	1589	158	-	-	1589	158

一実施形態において、ポリシストロニック AAV 粒子のウイルスゲノムは、GTTG 領
域、2つのH1プロモータ配列領域、および同じ目的の遺伝子（HTT）を標的とする、
2つの調節性ポリヌクレオチド領域を含むVOYPC21において記載される配列モジュ
ールを含む。

【0644】

一実施形態において、ポリシストロニック AAV 粒子のウイルスゲノムは、GTTG 領
域、2つのH1プロモータ配列領域、および同じ目的の遺伝子（HTT）を標的とする、
2つの調節性ポリヌクレオチド領域を含むVOYPC22において記載される配列モジュ
ールを含む。

【0645】

一実施形態において、ポリシストロニック AAV 粒子のウイルスゲノムは、GTTG 領
域、2つのH1プロモータ配列領域、および同じ目的の遺伝子（HTT）を標的とする、
2つの調節性ポリヌクレオチド領域を含むVOYPC23において記載される配列モジュ
ールを含む。

【0646】

一実施形態において、ポリシストロニック AAV 粒子のウイルスゲノムは、GTTG 領
域、2つのH1プロモータ配列領域、および同じ目的の遺伝子（HTT）を標的とする、
2つの調節性ポリヌクレオチド領域を含むVOYPC24において記載される配列モジュ
ールを含む。

【0647】

一実施形態において、ポリシストロニック AAV 粒子のウイルスゲノムは、少なくとも

1つの末端逆位配列（ITR）領域、少なくとも1つのエンハンサー配列領域、少なくとも1つのプロモータ配列領域、少なくとも1つのイントロン配列領域、3つの調節性ポリヌクレオチド領域、ならびに少なくとも1つのポリアデニル化シグナル配列領域を含む。

【0648】

一実施形態において、ポリシストロニックAAV粒子のウイルスゲノムは、5'末端逆位配列（ITR）領域および3' ITR配列領域、CMVエンハンサー配列領域、GTTG領域、SV40イントロン配列領域、同じ目的の遺伝子（HTT）を標的とする、3つの調節性ポリヌクレオチド領域、ならびにウサギグロビンのポリアデニル化シグナル配列領域を含む。上記の配列モジュールの全てを有する、本発明のポリシストロニックAAV粒子における使用のためのITR間配列の非限定的な例を、表34に記載する。表34において、配列識別子または配列領域の配列（領域の配列番号）および配列領域の長さ（領域長）、ならびにITR間配列の名称および配列識別子（例えば、VOYPC27（配列番号1843））を記載する。

【0649】

【表34】

表 34. ITR 間配列内の配列領域

配列領域	VOYPC27 (配列番号 1843)		VOYPC28 (配列番号 1844)	
	領域の配列番号	領域長	領域の配列番号	領域長
5' ITR	1788	105	1788	105
CMV エンハンサー	1814	382	1814	382
CBA プロモータ	1816	260	1816	260
SV40 イントロン	1826	201	1826	201
調節性ポリヌクレオチド (VOYHTmiR-127.579)	1599	260	1599	260
調節性ポリヌクレオチド (VOYHTmiR-104.016)	1589	158	1589	158
調節性ポリヌクレオチド (VOYHTmiR-104.016)	1589	158	-	-
調節性ポリヌクレオチド (VOYHTmiR-127.579)	-	-	1599	260
ウサギグロビンのポリAシグナル	1827	127	1827	127
3' ITR	1790	130	1790	130

一実施形態において、ポリシストロニックAAV粒子のウイルスゲノムは、5'末端逆位配列（ITR）領域および3' ITR配列領域、CMVエンハンサー配列領域、CBA

プロモータ配列領域、SV40イントロン配列領域、同じ目的の遺伝子（HTT）を標的とする、3つの調節性ポリヌクレオチド領域、ならびにウサギグロビンのポリアデニル化シグナル配列領域を含む配列番号1843（VOYPC27）を含む。

【0650】

一実施形態において、ポリシストロニックAAV粒子のウイルスゲノムは、5'末端逆位配列（ITR）領域および3'ITR配列領域、CMVエンハンサー配列領域、CBAプロモータ配列領域、SV40イントロン配列領域、同じ目的の遺伝子（HTT）を標的とする、3つの調節性ポリヌクレオチド領域、ならびにウサギグロビンのポリアデニル化シグナル配列領域を含む配列番号1844（VOYPC28）を含む。

【0651】

一実施形態において、ポリシストロニックAAV粒子のウイルスゲノムは、少なくとも1つの末端逆位配列（ITR）領域、少なくとも1つのプロモータ配列領域、および3つの調節性ポリヌクレオチド領域を含む。

【0652】

一実施形態において、ポリシストロニックAAV粒子のウイルスゲノムは、5'末端逆位配列（ITR）領域および3'ITR配列領域、3つのH1プロモータ配列領域、ならびに同じ目的の遺伝子（HTT）を標的とする、3つの調節性ポリヌクレオチド領域を含む。上記の配列モジュールの全てを有する、本発明のポリシストロニックAAV粒子における使用のためのITR間配列の非限定的な例を、表35および36に記載する。表35および36において、配列識別子または配列領域の配列（領域の配列番号）および配列領域の長さ（領域長）、ならびにITR間配列の名称および配列識別子（例えば、VOYPC29（配列番号1845））を記載する。

【0653】

10

20

【表 3 5】

表 35. ITR 間配列内の配列領域

配列領域	VOYPC29 (配列番号 1845)		VOYPC31 (配列番号 1847)		VOYPC32 (配列番号 1848)	
	領域の配列番号	領域長	領域の配列番号	領域長	領域の配列番号	領域長
5' ITR	1788	105	1788	105	1788	105
H1 プロモータ	1819	219	1819	219	1819	219
調節性ポリヌクレオチド (VOYHTmiR-127.579)	1599	260	1599	260	1599	260
H1 ターミネータ	2681	5	2681	5	2681	5
H1 プロモータ	1819	219	1819	219	1819	219
調節性ポリヌクレオチド (VOYHTmiR-104.016)	1589	158	-	-	-	-
調節性ポリヌクレオチド (VOYHTmiR-127.579)	-	-	1599	260	1599	260
H1 ターミネータ	2681	5	2681	5	2681	5
H1 プロモータ	1819	219	1819	219	1819	219
調節性ポリヌクレオチド (VOYHTmiR-127.579)	1599	260	1599	260	-	-
調節性ポリヌクレオチド (VOYHTmiR-104.016)	-	-	-	-	1589	158
H1 ターミネータ	2681	5	2681	5	2681	5
3' ITR	1790	130	1790	130	1790	130

【0 6 5 4】

【表 3 6】

表 36. ITR 間配列内の配列領域

配列領域	VOYPC30 (配列番号 1846)		VOYPC33 (配列番号 1849)		VOYPC34 (配列番号 1850)	
	領域の配列番号	領域長	領域の配列番号	領域長	領域の配列番号	領域長
5' ITR	1788	105	1788	105	1788	105
H1 プロモータ	1819	219	1819	219	1819	219
調節性ポリヌクレオチド (VOYHTmiR-104.016)	1589	158	1589	158	1589	158
H1 ターミネータ	2681	5	2681	5	2681	5
H1 プロモータ	1819	219	1819	219	1819	219
調節性ポリヌクレオチド (VOYHTmiR-127.579)	1599	260	-	-	-	-
調節性ポリヌクレオチド (VOYHTmiR-104.016)	-	-	1589	158	1589	158
H1 ターミネータ	2681	5	2681	5	2681	5
H1 プロモータ	1819	219	1819	219	1819	219
調節性ポリヌクレオチド (VOYHTmiR-127.579)			-	-	1599	260
調節性ポリヌクレオチド (VOYHTmiR-104.016)	1589	158	1589	158		
H1 ターミネータ	2681	5	2681	5	2681	5
3' ITR	1790	130	1790	130	1790	130

一実施形態において、ポリシストロニック AAV 粒子のウイルスゲノムは、5' 末端逆位配列 (ITR) 領域および 3' ITR 配列領域、3つの H1 プロモータ配列領域、同じ目的の遺伝子 (HTT) を標的とする、3つの調節性ポリヌクレオチド領域、ならびに3つの H1 ターミネータ配列領域を含む配列番号 1845 (VOYPC29) を含み、ここで、各調節性ポリヌクレオチド領域は、その固有の H1 プロモータにより駆動されるの続き、その固有の H1 ターミネータにより駆動される。

【0655】

一実施形態において、ポリシストロニック AAV 粒子のウイルスゲノムは、5' 末端逆位配列 (ITR) 領域および 3' ITR 配列領域、3つの H1 プロモータ配列領域、同じ目的の遺伝子 (HTT) を標的とする、3つの調節性ポリヌクレオチド領域、ならびに3

つのH1ターミネータ配列領域、ならびに3つのH1ターミネータ配列領域を含む配列番号1846 (VOYPC30)を含み、ここで、各調節性ポリヌクレオチド領域は、その固有のH1プロモータにより駆動されるのに続き、その固有のH1ターミネータにより駆動される。

【0656】

一実施形態において、ポリシストロニックAAV粒子のウイルスゲノムは、5'末端逆位配列(ITR)領域および3' ITR配列領域、3つのH1プロモータ配列領域、同じ目的の遺伝子(HTT)を標的とする、3つの調節性ポリヌクレオチド領域、ならびに3つのH1ターミネータ配列領域を含む配列番号1847 (VOYPC31)を含み、ここで、各調節性ポリヌクレオチド領域は、その固有のH1プロモータにより駆動されるのに続き、その固有のH1ターミネータにより駆動される。

10

【0657】

一実施形態において、ポリシストロニックAAV粒子のウイルスゲノムは、5'末端逆位配列(ITR)領域および3' ITR配列領域、3つのH1プロモータ配列領域、同じ目的の遺伝子(HTT)を標的とする、3つの調節性ポリヌクレオチド領域、ならびに3つのH1ターミネータ配列領域を含む配列番号1848 (VOYPC32)を含み、ここで、各調節性ポリヌクレオチド領域は、その固有のH1プロモータにより駆動されるのに続き、その固有のH1ターミネータにより駆動される。

【0658】

一実施形態において、ポリシストロニックAAV粒子のウイルスゲノムは、5'末端逆位配列(ITR)領域および3' ITR配列領域、3つのH1プロモータ配列領域、同じ目的の遺伝子(HTT)を標的とする、3つの調節性ポリヌクレオチド領域、ならびに3つのH1ターミネータ配列領域を含む配列番号1849 (VOYPC33)を含み、ここで、各調節性ポリヌクレオチド領域は、その固有のH1プロモータにより駆動されるのに続き、その固有のH1ターミネータにより駆動される。

20

【0659】

一実施形態において、ポリシストロニックAAV粒子のウイルスゲノムは、5'末端逆位配列(ITR)領域および3' ITR配列領域、3つのH1プロモータ配列領域、同じ目的の遺伝子(HTT)を標的とする、3つの調節性ポリヌクレオチド領域、ならびに3つのH1ターミネータ配列領域を含む配列番号1850 (VOYPC34)を含み、ここで、各調節性ポリヌクレオチド領域は、その固有のH1プロモータにより駆動されるのに続き、その固有のH1ターミネータにより駆動される。

30

【0660】

一実施形態において、ポリシストロニックAAV粒子のウイルスゲノムは、2つのプロモータ配列領域、3つの調節性ポリヌクレオチド領域、および少なくとも1つのポリアデニル化配列領域を含む。

【0661】

一実施形態において、ポリシストロニックAAV粒子のウイルスゲノムは、CMVプロモータ配列領域、T7プライマー結合部位、同じ目的の遺伝子(HTT)を標的とする、3つの調節性ポリヌクレオチド配列領域、およびポリアデニル化配列領域を含む。上記の配列モジュールの全てを有する、本発明のポリシストロニックAAV粒子における使用のための配列の非限定的な例を、表37に記載する。表37において、配列識別子または配列領域の配列(領域の配列番号)および配列領域の長さ(領域長)、ならびに配列の名称(例えば、VOYPC35)を記載する。

40

【0662】

【表 37】

表 37. 配列領域

配列領域	VOYPC35		VOYPC36	
	領域の 配列番 号	領域長	領域の 配列番 号	領域長
CMV プロモ ーター	1817	588	1817	588
T7 プライマ ーの結合部 位	1820	17	1820	17
調節性ポリ ヌクレオチ ド (VOYHTmiR -127.579)	1599	260	1599	260
調節性ポリ ヌクレオチ ド (VOYHTmiR -104.016)	1589	158	1589	158
調節性ポリ ヌクレオチ ド (VOYHTmiR -104.016)	1589	158	-	-
調節性ポリ ヌクレオチ ド (VOYHTmiR -127.579)	-	-	1599	260
ポリ A	1828	225	1828	225

一実施形態において、ポリシストロニック A A V 粒子のウイルスゲノムは、CMV プロモーター配列領域、T7 プライマー結合部位、同じ目的の遺伝子 (H T T) を標的とする、3つの調節性ポリヌクレオチド領域、およびポリアデニル化配列領域を含む VOYPC35 において記載される配列モジュールを含む。

【0663】

一実施形態において、ポリシストロニック A A V 粒子のウイルスゲノムは、3つのプロモーター配列領域および3つの調節性ポリヌクレオチド領域を含む。

一実施形態において、ポリシストロニック A A V 粒子のウイルスゲノムは、G T T G 領域、2つの H 1 プロモーター配列領域、および同じ目的の遺伝子 (H T T) を標的とする、3つの調節性ポリヌクレオチド配列領域を含む。上記の配列モジュールの全てを有する、本発明のポリシストロニック A A V 粒子における使用のための配列の非限定的な例を、表 38 および 39 に記載する。表 38 および 39 において、配列識別子または配列領域の配列 (領域の配列番号) および配列領域の長さ (領域長)、ならびに配列の名称 (例えば、VOYPC37) を記載する。

【0664】

【表 38】

表 38. 配列領域

配列領域	VOYPC37		VOYPC38		VOYPC41	
	領域の 配列番 号	領域長	領域の 配列番 号	領域長	領域の 配列番 号	領域長
GTTG	---	4	---	4	---	4
H1 プロモー タ	1819	219	1819	219	1819	219
調節性ポリ ヌクレオチ ド (VOYHTmiR -127.579)	1599	260	1599	260	1599	260
H1 プロモー タ	1819	219	1819	219	1819	219
調節性ポリ ヌクレオチ ド (VOYHTmiR -127.579)	1599	260	1599	260	-	-
調節性ポリ ヌクレオチ ド (VOYHTmiR -104.016)	-	-	-	-	1589	158
H1 プロモー タ	1819	219	1819	219	1819	219
調節性ポリ ヌクレオチ ド (VOYHTmiR -127.579)	1599	260	-	-	1599	260
調節性ポリ ヌクレオチ ド (VOYHTmiR -104.016)	-	-	1589	158	-	-

【0665】

【表 39】

表 39. 配列領域

配列領域	VOYPC39		VOYPC40		VOYPC42	
	領域の 配列番 号	領域長	領域の 配列番 号	領域長	領域の 配列番 号	領域長
GTTG	---	4	---	4	---	4
H1 プロモー タ	1819	219	1819	219	1819	219
調節性ポリ ヌクレオチ ド (VOYHTmiR -104.016)	1589	158	1589	158	1589	158
H1 プロモー タ	1819	219	1819	219	1819	219
調節性ポリ ヌクレオチ ド (VOYHTmiR -104.016)	1589	158	1589	158	-	-
調節性ポリ ヌクレオチ ド (VOYHTmiR -127.579)	-	-	-	-	1599	260
H1 プロモー タ	1819	219	1819	219	1819	219
調節性ポリ ヌクレオチ ド (VOYHTmiR -127.579)	-	-	1599	260	-	-
調節性ポリ ヌクレオチ ド (VOYHTmiR -104.016)	1589	158	-	-	1589	158

【0666】

【表 40】

表 40. ITR 間配列内の配列領域

配列領域	VOYPC43 (配列番号 1851)		VOYPC44 (配列番号 1852)		VOYPC45 (配列番号 1853)	
	領域の配列番号	領域長	領域の配列番号	領域長	領域の配列番号	領域長
5' ITR	1788	105	1788	105	1788	105
H1 プロモータ	1819	219	1819	219	1819	219
調節性ポリヌクレオチド (VOYHTmiR-127.579)	1599	260	1599	260	1599	260
H1 ターミネータ	2681	5	2681	5	2681	5
H1 プロモータ	1819	219	1819	219	1819	219
調節性ポリヌクレオチド (VOYHTmiR-127.579)	1599	260	-	-	-	-
調節性ポリヌクレオチド (VOYHTmiR-104.016)	-	-	1589	158	1589	158
H1 ターミネータ	2681	5	2681	5	2681	5
H1 プロモータ	1819	219	1819	219	1819	219
調節性ポリヌクレオチド (VOYHTmiR-127.579)	1599	260	1599	260	-	-
調節性ポリヌクレオチド (VOYHTmiR-104.016)	-	-	-	-	1589	158
H1 ターミネータ	2681	5	2681	5	2681	5
H1 プロモータ	1819	219	1819	219	1819	219
調節性ポリヌクレオチド (VOYHTmiR-127.579)	1599	260	-	-	1599	260
調節性ポリヌクレオチド (VOYHTmiR-104.016)	-	-	1589	158	-	-
H1 ターミネータ	2681	5	2681	5	2681	5
3' ITR	1790	130	1790	130	1790	130

10

20

30

【0667】

【表 4 1】

表 41. ITR 間配列内の配列領域

配列領域	VOYPC46 (配列番号 1854)		VOYPC47 (配列番号 1855)		VOYPC48 (配列番号 1856)	
	領域の配列番号	領域長	領域の配列番号	領域長	領域の配列番号	領域長
5' ITR	1788	105	1788	105	1788	105
H1 プロモータ	1819	219	1819	219	1819	219
調節性ポリヌクレオチド(VOYHTmiR-104.016)	1589	158	1589	158	1589	158
H1 ターミネータ	2681	5	2681	5	2681	5
H1 プロモータ	1819	219	1819	219	1819	219
調節性ポリヌクレオチド(VOYHTmiR-127.579)	1599	260	-	-	1599	260
調節性ポリヌクレオチド(VOYHTmiR-104.016)	-	-	1589	158	-	-
H1 ターミネータ	2681	5	2681	5	2681	5
H1 プロモータ	1819	219	1819	219	1819	219
調節性ポリヌクレオチド(VOYHTmiR-127.579)	1599	260	-	-	-	-
調節性ポリヌクレオチド(VOYHTmiR-104.016)	-	-	1589	158	1589	158
H1 ターミネータ	2681	5	2681	5	2681	5
H1 プロモータ	1819	219	1819	219	1819	219
調節性ポリヌクレオチド(VOYHTmiR-127.579)	-	-	-	-	1599	260
調節性ポリヌクレオチド(VOYHTmiR-104.016)	1589	158	1589	158	-	-
H1 ターミネータ	2681	5	2681	5	2681	5
3' ITR	1790	130	1790	130	1790	130

一実施形態において、ポリシストロニック AAV 粒子のウイルスゲノムは、5' 末端逆位配列 (ITR) 領域および 3' ITR 配列領域、4つの H1 プロモータ配列領域、同じ目的の遺伝子 (HTT) を標的とする、4つの調節性ポリヌクレオチド領域、ならびに 4つの H1 ターミネータ配列領域を含む配列番号 1851 (VOYPC43) を含み、ここで、各調節性ポリヌクレオチド領域は、その固有の H1 プロモータにより駆動されるのに続き、その固有の H1 ターミネータにより駆動される。

【0668】

一実施形態において、ポリシストロニック AAV 粒子のウイルスゲノムは、5' 末端逆位配列 (ITR) 領域および 3' ITR 配列領域、4つの H1 プロモータ配列領域、同じ目的の遺伝子 (HTT) を標的とする、4つの調節性ポリヌクレオチド領域、ならびに 4つの H1 ターミネータ配列領域を含む配列番号 1852 (VOYPC44) を含み、ここで、各調節性ポリヌクレオチド領域は、その固有の H1 プロモータにより駆動されるのに続き、その固有の H1 ターミネータにより駆動される。

【0669】

一実施形態において、ポリシストロニックAAV粒子のウイルスゲノムは、5'末端逆位配列（ITR）領域および3' ITR配列領域、4つのH1プロモータ配列領域、同じ目的の遺伝子（HTT）を標的とする、4つの調節性ポリヌクレオチド領域、ならびに4つのH1ターミネータ配列領域を含む配列番号1853（VOYPC45）を含み、ここで、各調節性ポリヌクレオチド領域は、その固有のH1プロモータにより駆動されるのに続き、その固有のH1ターミネータにより駆動される。

【0670】

一実施形態において、ポリシストロニックAAV粒子のウイルスゲノムは、5'末端逆位配列（ITR）領域および3' ITR配列領域、4つのH1プロモータ配列領域、同じ目的の遺伝子（HTT）を標的とする、4つの調節性ポリヌクレオチド領域、ならびに4つのH1ターミネータ配列領域を含む配列番号1854（VOYPC46）を含み、ここで、各調節性ポリヌクレオチド領域は、その固有のH1プロモータにより駆動されるのに続き、その固有のH1ターミネータにより駆動される。

【0671】

一実施形態において、ポリシストロニックAAV粒子のウイルスゲノムは、5'末端逆位配列（ITR）領域および3' ITR配列領域、4つのH1プロモータ配列領域、同じ目的の遺伝子（HTT）を標的とする、4つの調節性ポリヌクレオチド領域、ならびに4つのH1ターミネータ配列領域を含む配列番号1855（VOYPC47）を含み、ここで、各調節性ポリヌクレオチド領域は、その固有のH1プロモータにより駆動されるのに続き、その固有のH1ターミネータにより駆動される。

【0672】

一実施形態において、ポリシストロニックAAV粒子のウイルスゲノムは、5'末端逆位配列（ITR）領域および3' ITR配列領域、4つのH1プロモータ配列領域、同じ目的の遺伝子（HTT）を標的とする、4つの調節性ポリヌクレオチド領域、ならびに4つのH1ターミネータ配列領域を含む配列番号1856（VOYPC48）を含み、ここで、各調節性ポリヌクレオチド領域は、その固有のH1プロモータにより駆動されるのに続き、その固有のH1ターミネータにより駆動される。

【0673】

一実施形態において、ポリシストロニックAAV粒子のウイルスゲノムは、少なくとも1つの末端逆位配列（ITR）領域、少なくとも1つのエンハンサー配列領域、少なくとも1つのイントロン配列領域、少なくとも1つのプロモータ配列領域、および4つの調節性ポリヌクレオチド領域を含む。

【0674】

一実施形態において、ポリシストロニックAAV粒子のウイルスゲノムは、5'末端逆位配列（ITR）領域および3' ITR配列領域、CMVエンハンサー配列領域、4つのH1プロモータ配列領域、ならびに同じ目的の遺伝子（HTT）を標的とする、4つの調節性ポリヌクレオチド領域を含む。上記の配列モジュールの全てを有する、本発明のポリシストロニックAAV粒子における使用のためのITR間配列の非限定的な例を、表42に記載する。表42において、配列識別子または配列領域の配列（領域の配列番号）および配列領域の長さ（領域長）、ならびにITR間配列の名称および配列識別子（例えば、VOYPC49（配列番号1857））を記載する。

【0675】

【表 4 2】

表 42. ITR 間配列内の配列領域

配列領域	VOYPC49 (配列番号 1857)		VOYPC50 (配列番号 1858)	
	領域の配列番号	領域長	領域の配列番号	領域長
5' ITR	1788	105	1788	105
CMV エンハンサー	1814	382	1814	382
CBA プロモーター	1816	260	1816	260
SV40 イントロン	1826	201	1826	201
調節性ポリヌクレオチド (VOYHTmiR-127.579)	1599	260	1599	260
調節性ポリヌクレオチド (VOYHTmiR-104.016)	1589	158	1589	158
調節性ポリヌクレオチド (VOYHTmiR-127.579)	1599	260	-	-
調節性ポリヌクレオチド (VOYHTmiR-104.016)	-	-	1589	158
調節性ポリヌクレオチド (VOYHTmiR-127.579)	-	-	1599	260
調節性ポリヌクレオチド (VOYHTmiR-104.016)	1589	158	-	-
ポリ A	1827	127	1827	127
3' ITR	1790	130	1790	130

一実施形態において、ポリシストロニック AAV 粒子のウイルスゲノムは、5' 末端逆位配列 (ITR) 領域および 3' ITR 配列領域、CMV エンハンサー、SV40 イントロン、同じ目的の遺伝子 (HTT) を標的とする、4つの調節性ポリヌクレオチド領域、ならびにポリアデニル化配列領域を含む配列番号 1857 (VOYPC49) を含む。

【0676】

一実施形態において、ポリシストロニック AAV 粒子のウイルスゲノムは、5' 末端逆位配列 (ITR) 領域および 3' ITR 配列領域、CMV エンハンサー、SV40 イントロン、同じ目的の遺伝子 (HTT) を標的とする、4つの調節性ポリヌクレオチド領域、ならびにポリアデニル化配列領域を含む配列番号 1858 (VOYPC50) を含む。

【0677】

一実施形態において、ポリシストロニック A A V 粒子のウイルスゲノムは、2つのプロモータ配列領域、4つの調節性ポリヌクレオチド領域、および少なくとも1つのポリアデニル化配列領域を含む。

【0678】

一実施形態において、ポリシストロニック A A V 粒子のウイルスゲノムは、CMVプロモータ配列領域、T7プライマー結合部位領域、同じ目的の遺伝子（HTT）を標的とする、4つの調節性ポリヌクレオチド領域、およびポリアデニル化配列領域を含む。上記の配列モジュールの全てを有する、本発明のポリシストロニック A A V 粒子における使用のための配列の非限定的な例を、表43に記載する。表43において、配列識別子または配列領域の配列（領域の配列番号）および配列領域の長さ（領域長）、ならびに配列の名称（例えば、VOYPC51）を記載する。

【0679】

【表43】

表 43. 配列領域

配列領域	VOYPC51		VOYPC52	
	領域の 配列番 号	領域長	領域の 配列番 号	領域長
CMV プロモ ータ	1817	588	1817	588
T7 プライマ ー結合部位	1820	17	1820	17
調節性ポリ ヌクレオチ ド (VOYHTmiR -127.579)	1599	260	1599	260
調節性ポリ ヌクレオチ ド (VOYHTmiR -104.016)	1589	158	1589	158
調節性ポリ ヌクレオチ ド (VOYHTmiR -104.016)	-	-	1589	158
調節性ポリ ヌクレオチ ド (VOYHTmiR -127.579)	1599	260	-	-
調節性ポリ ヌクレオチ ド (VOYHTmiR -104.016)	1589	158	-	-
調節性ポリ ヌクレオチ ド (VOYHTmiR -127.579)	-	-	1599	260
ポリ A	1828	225	1828	225

一実施形態において、ポリシストロニック A A V 粒子のウイルスゲノムは、CMVプロ

モータ配列領域、T7プライマー結合部位領域、同じ目的の遺伝子（HTT）を標的とする、4つの調節性ポリヌクレオチド領域、およびポリアデニル化配列領域を含むVOYPC51において記載される配列モジュールを含む。

【0680】

一実施形態において、ポリシストロニックAAV粒子のウイルスゲノムは、CMVプロモータ配列領域、T7プライマー結合部位領域、同じ目的の遺伝子（HTT）を標的とする、4つの調節性ポリヌクレオチド領域、およびポリアデニル化配列領域を含むVOYPC52において記載される配列モジュールを含む。

【0681】

一実施形態において、ポリシストロニックAAV粒子のウイルスゲノムは、5つのプロモータ配列領域および4つの調節性ポリヌクレオチド領域を含む。

一実施形態において、ポリシストロニックAAV粒子のウイルスゲノムは、GTTG領域、4つのH1プロモータ配列領域、および同じ目的の遺伝子（HTT）を標的とする、4つの調節性ポリヌクレオチド配列領域を含む。上記の配列モジュールの全てを有する、本発明のポリシストロニックAAV粒子における使用のための配列の非限定的な例を、表44および45に記載する。表44および45において、配列識別子または配列領域の配列（領域の配列番号）および配列領域の長さ（領域長）、ならびに配列の名称（例えば、VOYPC53）を記載する。

【0682】

【表 4 4】

表 44. 配列領域

配列領域	VOYPC53		VOYPC54		VOYPC55	
	領域の 配列番 号	領域長	領域の 配列番 号	領域長	領域の 配列番 号	領域長
GTTG	---	4	---	4	---	4
H1 プロモー タ	1819	219	1819	219	1819	219
調節性ポリ ヌクレオチ ド (VOYHTmiR -127.579)	1599	260	1599	260	1599	260
H1 プロモー タ	1819	219	1819	219	1819	219
調節性ポリ ヌクレオチ ド (VOYHTmiR -127.579)	1599	260	-	-	-	-
調節性ポリ ヌクレオチ ド (VOYHTmiR -104.016)	-	-	1589	158	1589	158
H1 プロモー タ	1819	219	1819	219	1819	219
調節性ポリ ヌクレオチ ド (VOYHTmiR -127.579)	1599	260	1599	260	-	-
調節性ポリ ヌクレオチ ド (VOYHTmiR -104.016)	-	-	-	-	1589	158
H1 プロモー タ	1819	219	1819	219	1819	219
調節性ポリ ヌクレオチ ド (VOYHTmiR -127.579)	1599	260	-	-	1599	260
調節性ポリ ヌクレオチ ド (VOYHTmiR -104.016)	-	-	1589	158	-	-

【0683】

【表 4 5】

表 45. 配列領域

配列領域	VOYPC56		VOYPC57		VOYPC58	
	領域の 配列番 号	領域長	領域の 配列番 号	領域長	領域の 配列番 号	領域長
GTTG	---	4	---	4	---	4
H1 プロモー タ	1819	219	1819	219	1819	219
調節性ポリ ヌクレオチ ド (VOYHTmiR -104.016)	1589	158	1589	158	1589	158
H1 プロモー タ	1819	219	1819	219	1819	219
調節性ポリ ヌクレオチ ド (VOYHTmiR -127.579)	1599	260	1599	260	-	-
調節性ポリ ヌクレオチ ド (VOYHTmiR -104.016)	-	-	-	-	1589	158
H1 プロモー タ	1819	219	1819	219	1819	219
調節性ポリ ヌクレオチ ド (VOYHTmiR -127.579)	-	-	1599	260	-	-
調節性ポリ ヌクレオチ ド (VOYHTmiR -104.016)	1589	158	-	-	1589	158
H1 プロモー タ	1819	219	1819	219	1819	219
調節性ポリ ヌクレオチ ド (VOYHTmiR -127.579)	1599	260	-	-	-	-
調節性ポリ ヌクレオチ ド (VOYHTmiR -104.016)	-	-	1589	158	1589	158

一実施形態において、ポリシストロニック AAV 粒子のウイルスゲノムは、GTTG 領域、4つの H1 プロモータ配列領域、および同じ目的の遺伝子 (HTT) を標的とする、4つの調節性ポリヌクレオチド領域を含む VOYPC53 において記載される配列モジュールを含む。

【0684】

一実施形態において、ポリシストロニック AAV 粒子のウイルスゲノムは、GTTG 領域、4つの H1 プロモータ配列領域、および同じ目的の遺伝子 (HTT) を標的とする、

4つの調節性ポリヌクレオチド領域を含むVOYPC54において記載される配列モジュールを含む。

【0685】

一実施形態において、ポリシストロニックAAV粒子のウイルスゲノムは、GTTG領域、4つのH1プロモータ配列領域、および同じ目的の遺伝子（HTT）を標的とする、4つの調節性ポリヌクレオチド領域を含むVOYPC55において記載される配列モジュールを含む。

【0686】

一実施形態において、ポリシストロニックAAV粒子のウイルスゲノムは、GTTG領域、4つのH1プロモータ配列領域、および同じ目的の遺伝子（HTT）を標的とする、4つの調節性ポリヌクレオチド領域を含むVOYPC56において記載される配列モジュールを含む。

10

【0687】

一実施形態において、ポリシストロニックAAV粒子のウイルスゲノムは、GTTG領域、4つのH1プロモータ配列領域、および同じ目的の遺伝子（HTT）を標的とする、4つの調節性ポリヌクレオチド領域を含むVOYPC57において記載される配列モジュールを含む。

【0688】

一実施形態において、ポリシストロニックAAV粒子のウイルスゲノムは、GTTG領域、4つのH1プロモータ配列領域、および同じ目的の遺伝子（HTT）を標的とする、4つの調節性ポリヌクレオチド領域を含むVOYPC58において記載される配列モジュールを含む。

20

【0689】

ウイルス作製

本開示は、ウイルス複製細胞をAAVポリヌクレオチドまたはAAVゲノムに接触させることを含む、ウイルス複製細胞におけるウイルスゲノム複製によるパルボウイルス粒子、例えばAAV粒子の作成方法を提供する。

【0690】

本開示は、1) コンピテント細菌細胞にバクミドベクターおよびウイルスコンストラクトベクターおよび／またはAAVペイロードコンストラクトベクターのいずれかをコトランスフェクトするステップ、2) 得られたウイルスコンストラクト発現ベクターおよびAAVペイロードコンストラクト発現ベクターを単離し、ウイルス複製細胞を個別にトランスフェクトするステップ、3) ウイルスコンストラクト発現ベクターまたはAAVペイロードコンストラクト発現ベクターを含む得られたペイロードおよびウイルスコンストラクト粒子を単離および精製するステップ、4) ウイルス複製細胞に、ウイルスコンストラクト発現ベクターまたはAAVペイロードコンストラクト発現ベクターを含むAAVペイロードおよびウイルスコンストラクト粒子の両方を共感染させるステップ、5) パルボウイルスゲノムを含むウイルス粒子を回収および精製するステップを含む、形質導入効率が增强された（増加した、向上した）AAV粒子の作製方法を提供する。

30

【0691】

一実施形態において、本発明は、1) 限定はされないがHEK293細胞などの哺乳類細胞にペイロード領域、repおよびcap遺伝子を発現するコンストラクトならびにヘルパーコンストラクトを同時にコトランスフェクトするステップ、2) ウイルスゲノムを含むAAV粒子を回収および精製するステップを含む、AAV粒子の作製方法を提供する。

40

【0692】

細胞

本開示は、AAVポリヌクレオチドおよび／またはAAVゲノムを含む細胞を提供する。

【0693】

50

本明細書に開示されるウイルス作製は、ペイロード分子をコードするポリヌクレオチド配列を含むペイロードコンストラクト、例えば組換えウイルスコンストラクトを送達するため標的細胞に接触するAAV粒子の作製プロセスおよび方法を記載する。

【0694】

一実施形態において、AAV粒子は、昆虫細胞を含むウイルス複製細胞で作製されてもよい。

培養下の昆虫細胞の成長条件、および培養下の昆虫細胞における異種産物の産生は当該技術分野において周知であり、米国特許第6,204,059号明細書（この内容は本明細書において全体として参照により援用される）を参照されたい。

【0695】

本発明においては、パルボウイルスの複製を可能にする、かつ培養下に維持することのできる任意の昆虫細胞を使用することができる。細胞株は、限定はされないがSf9またはSf21細胞株を含めたスポドプテラ・フルギペルダ（*Spodoptera frugiperda*）からの細胞株、ショウジョウバエ属（*Drosophila*）細胞株、またはヒトスジシマカ（*Aedes albopictus*）由来細胞株などの蚊細胞株が用いられてもよい。異種タンパク質を発現させるための昆虫細胞の使用については、ベクター、例えば昆虫細胞適合性ベクターなどの核酸をかか細胞に導入する方法、および培養下のかか細胞を維持する方法と同様に、十分に実証されている。例えば、「分子生物学の方法（*Methods in Molecular Biology*）」、リチャード（Richard）編、ヒューマナ・プレス（*Humana Press*）、ニュージャージー州、1995年；オリリー（O'Reilly）ら著、「バキュロウイルス発現ベクター、実験マニュアル（*Baculovirus Expression Vectors, A Laboratory Manual*）」、オックスフォード大学出版局（*Oxford Univ. Press*）、1994年；サムルスキ（Samulski）ら著、ジャーナル・オブ・バイロロジー（*J. Vir.*）、第63巻、p. 3822～8、1989年；カジガヤ（Kajigaya）ら著、米国科学アカデミー紀要（*Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA*）、第88巻、p. 4646～50、1991年；ラフティング（Ruffing）ら著、ジャーナル・オブ・バイロロジー（*J. Vir.*）、第66巻、p. 6922～30、1992年；キムバウアー（Kimbaue）ら著、バイロロジー（*Vir.*）、第219巻、p. 37～44、1996年；チャオ（Zhao）ら著、バイロロジー（*Vir.*）、第272巻、p. 382～93、2000年；およびサムルスキ（Samulski）ら著、米国特許第6,204,059号明細書を参照されたく、これらの各々の内容は本明細書において全体として参照により援用される。

【0696】

ウイルス複製細胞は、原核生物（例えば細菌）細胞、ならびに昆虫細胞、酵母細胞および哺乳類細胞を含めた真核細胞を含め、任意の生物学的有機体から選択されてもよい。ウイルス複製細胞には、A549、WEH1、3T3、10T1/2、BHK、MDCK、COS 1、COS 7、BSC 1、BSC 40、BMT 10、VERO、W138、HeLa、HEK293、Saos、C2C12、L細胞、HT1080、HepG2ならびに哺乳類に由来する初代線維芽細胞、ヘパトサイトおよび筋芽細胞など、哺乳類細胞が含まれ得る。ウイルス複製細胞には、限定はされないが、ヒト、サル、マウス、ラット、ウサギ、およびハムスターを含めた哺乳類種、または限定はされないが、線維芽細胞、ヘパトサイト、腫瘍細胞、細胞株形質転換細胞等を含めた細胞型に由来する細胞が含まれる。

【0697】

AAV粒子の小規模作製

本明細書に開示されるウイルス作製は、ペイロードをコードするポリヌクレオチド配列を含むペイロード、例えば組換えウイルスコンストラクトを送達するため標的細胞に接触するAAV粒子の作製プロセスおよび方法を記載する。

【0698】

一実施形態において、AAV粒子は、哺乳類細胞を含むウイルス複製細胞で作製されてもよい。

組換えAAV粒子の作製に一般的に使用されるウイルス複製細胞としては、限定はされないが、米国特許第6,156,303号明細書、同第5,387,484号明細書、同第5,741,683号明細書、同第5,691,176号明細書、および同第5,688,676号明細書；米国特許出願公開第2002/0081721号明細書、および国際公開第00/47757号パンフレット、同第00/24916号パンフレット、および同第96/17947号パンフレット（これらの各々の内容は本明細書において全体として参照により援用される）に記載されるとおりの、293細胞、COS細胞、HeLa細胞、KB細胞、および他の哺乳類細胞株が挙げられる。

10

【0699】

一実施形態において、AAV粒子は哺乳類細胞で作製され、ここでは3つ全てのVPタンパク質が1:1:10（VP1:VP2:VP3）に近い化学量論で発現する。この制御された発現レベルを実現する調節機構には、差次的スプライシングによって作製される、一方がVP1用、および他方がVP2およびVP3用の2つのmRNAの作製が含まれる。

【0700】

別の実施形態において、AAV粒子はトリプルトランスフェクション方法を用いて哺乳類細胞で作製され、ここではペイロードコンストラクトとパルボウイルスRepおよびパルボウイルスCapとヘルパーコンストラクトとが3つの異なるコンストラクト内に含まれる。AAV粒子作製の3成分のトリプルトランスフェクション方法を利用して、形質導入効率、標的組織（向性）評価、および安定性を含めたアッセイ用の小規模ロットのウイルスを作製し得る。

20

【0701】

バキュロウイルス

本明細書に開示される粒子作製は、ペイロードをコードするポリヌクレオチド配列を含むペイロードコンストラクトを送達するため標的細胞に接触するAAV粒子の作製プロセスおよび方法を記載する。

【0702】

簡潔に言えば、ウイルスコンストラクトベクターおよびAAVペイロードコンストラクトベクターが、各々、公知の、当業者によって実施されている標準的な分子生物学的技術により、トランスポゾンドナー／アクセプターシステムによってバキュロウイルスプラスミドとしても知られるバクミドに取り込まれる。別個のウイルス複製細胞集団のトランスフェクションにより2つのバキュロウイルスが生じ、一方はウイルスコンストラクト発現ベクターを含み、もう一方はAAVペイロードコンストラクト発現ベクターを含む。これらの2つのバキュロウイルスを使用して単一のウイルス複製細胞集団を感染させて、AAV粒子を作製し得る。

30

【0703】

限定はされないが、スポドプテラ・フルギベルダ（*Spodoptera frugiperda*）（Sf9）細胞を含め、昆虫細胞においてウイルス粒子を作製するためのバキュロウイルス発現ベクターは、高力価のウイルス粒子産物を提供する。ウイルスコンストラクト発現ベクターおよびAAVペイロードコンストラクト発現ベクターをコードする組換えバキュロウイルスは、ウイルス複製細胞の増殖性感染を惹起する。初感染から放出された感染性バキュロウイルス粒子は培養物中の更なる細胞に二次感染し、初期感染多重度の関数である所定回数の感染サイクルで細胞培養物集団全体に指数関数的に感染する。ウラベ・M（Uraibe, M.）ら著、ジャーナル・オブ・バイロロジー（*J Virol.*）、2006年2月、第80巻、第4号、p. 1874～85（この内容は本明細書において全体として参照により援用される）を参照されたい。

40

【0704】

50

昆虫細胞系におけるバキュロウイルスによる A A V 粒子の作製は、公知のバキュロウイルスの遺伝的および物理的不安定性に対処し得る。一実施形態において、この作製システムは、タイターレス感染細胞保存およびスケールアップシステムを利用することにより複数継代をかけてバキュロウイルスの不安定性に対処する。ウイルス作製細胞の小規模シード培養物に、ウイルス粒子の構造、非構成成分をコードするウイルス発現コンストラクトがトランスフェクトされる。バキュロウイルス感染ウイルス作製細胞がアリコートに回収され、それが液体窒素で凍結保存され得る；アリコートは、大規模ウイルス作製細胞培養物の感染のための生存能力および感染力を維持している。ワシルコ・D J (Wasilk o D J) ら著、プロテイン・エクスプレッション・アンド・ピュリフィケーション (P r o t e i n E x p r P u r i f .)、2009年6月、第65巻、第2号、p. 1 22~32、この内容は本明細書において全体として参照により援用される。

10

【0705】

遺伝的に安定したバキュロウイルスを使用して、無脊椎動物細胞において A A V 粒子を作製するための成分のうちの1つ以上の供給源を作製してもよい。一実施形態において、欠損バキュロウイルス発現ベクターが昆虫細胞のエピソームに保持されてもよい。かかる実施形態においてバクミドベクターは、限定はされないが、プロモータ、エンハンサー、および／または細胞周期調節性複製エレメントを含め、複製制御エレメントで操作される。

【0706】

一実施形態において、バキュロウイルスは、キチナーゼ／カテプシン遺伝子座への組換えのため（非）選択可能マーカで操作されてもよい。組織培養におけるバキュロウイルスの増殖に c h i a / v - c a t h 遺伝子座は非必須であり、V - c a t h (E C 3 . 4 . 22 . 50) は、A r g - A r g ジペプチド含有基質上で最も活性が高いシステインエンドプロテアーゼである。A r g - A r g ジペプチドはデンソウイルスおよびパルボウイルスカプシド構造タンパク質に存在するが、ディペンドウイルス V P 1 にはまれにしか見られない。

20

【0707】

一実施形態において、バキュロウイルス感染に許容的な安定ウイルス複製細胞は、限定はされないが、A A V ゲノム全体、R e p および C a p 遺伝子、R e p 遺伝子、C a p 遺伝子、別個の転写カセットとしての各 R e p タンパク質、別個の転写カセットとしての各 V P タンパク質、A A P (アセンブリ活性化タンパク質)、または天然もしくは非天然プロモータを有するバキュロウイルスヘルパー遺伝子のうちの少なくとも1つを含め、A A V 複製およびウイルス粒子産生に必要なエレメントのいずれかの少なくとも1つの安定に組み込まれたコピーで操作される。

30

【0708】

大規模作製

一部の実施形態において、A A V 粒子作製は、作製規模を増加させるように改良されてもよい。本開示に係る大規模ウイルス作製方法には、米国特許第5, 756, 283号明細書、同第6, 258, 595号明細書、同第6, 261, 551号明細書、同第6, 270, 996号明細書、同第6, 281, 010号明細書、同第6, 365, 394号明細書、同第6, 475, 769号明細書、同第6, 482, 634号明細書、同第6, 485, 966号明細書、同第6, 943, 019号明細書、同第6, 953, 690号明細書、同第7, 022, 519号明細書、同第7, 238, 526号明細書、同第7, 291, 498号明細書および同第7, 491, 508号明細書または国際公開第1996039530号パンフレット、同第1998010088号パンフレット、同第1999014354号パンフレット、同第1999015685号パンフレット、同第1999047691号パンフレット、同第2000055342号パンフレット、同第2000075353号パンフレットおよび同第2001023597号パンフレット（これらの各々の内容は本明細書において全体として参照により援用される）に教示されるもののいずれかが含まれてもよい。ウイルス粒子作製規模を増加させる方法は、典型的には、ウイ

40

50

ルス複製細胞の数を増加させることを含む。一部の実施形態において、ウイルス複製細胞は接着細胞を含む。接着ウイルス複製細胞によるウイルス粒子作製規模の増加には、より大きい細胞培養表面が必要である。ある場合には、大規模作製方法は、細胞培養表面を増加させるためのローラボトルの使用を含む。表面積が増加した他の細胞培養基材が当該技術分野において公知である。表面積が増加した更なる接着細胞培養製品の例としては、限定はされないが、セルスタック（登録商標）（CELLSTACK（登録商標））、セルキューブ（登録商標）（CELLCUBE（登録商標））（コーニング社（Corning Corp.））、ニューヨーク州コーニング（Corning））およびヌンク（商標）（NUNC（商標））セル・ファクトリー（商標）（CELL FACTORY（商標））（サーモ・サイエンティフィック（Thermo Scientific）、マサチューセッツ州ウォルサム（Waltham））が挙げられる。ある場合には、大規模接着細胞表面は約 $1,000\text{ cm}^2$ ～約 $100,000\text{ cm}^2$ を含み得る。ある場合には、大規模接着細胞培養物は、約 10^7 ～約 10^9 細胞、約 10^8 ～約 10^{10} 細胞、約 10^9 ～約 10^{12} 細胞または少なくとも 10^{12} 細胞を含み得る。ある場合には、大規模接着培養物は、約 10^9 ～約 10^{12} 、約 10^{10} ～約 10^{13} 、約 10^{11} ～約 10^{14} 、約 10^{12} ～約 10^{15} または少なくとも 10^{15} ウイルス粒子を作製し得る。

【0709】

一部の実施形態において、本開示の大規模ウイルス作製方法は浮遊細胞培養の使用を含み得る。浮遊細胞培養は細胞数の大幅な増加を可能にする。典型的には、約 $10\sim50\text{ cm}^2$ の表面積で成長させることのできる接着細胞数を懸濁液中では約 1 cm^3 の体積で成長させることができる。

【0710】

大規模培養フォーマットでの複製細胞のトランスフェクションは、当該技術分野において公知の任意の方法により行われてもよい。大規模接着細胞培養には、トランスフェクション方法として、限定はされないが、無機化合物（例えばリン酸カルシウム）、有機化合物〔例えばポリエチレンイミン（PEI）〕の使用または非化学的方法（例えば電気穿孔）の使用を挙げることができる。懸濁液中で成長させる細胞では、トランスフェクション方法として、限定はされないが、リン酸カルシウムの使用およびPEIの使用を挙げることができる。ある場合には、大規模浮遊培養物のトランスフェクションは、Feng. L. ら2008年、バイオテクノロジー・アンド・アプライド・バイオケミストリー（Biotechnol Appl. Biochem.）、第50巻、p. 121～32（この内容は本明細書において全体として参照により援用される）に記載される「トランスフェクション手順（Transfection Procedure）」と題される節に従い行われてもよい。かかる実施形態によれば、トランスフェクトしようとするプラスミドの導入用にPEI-DNA複合体が形成され得る。ある場合には、PEI-DNA複合体をトランスフェクトされる細胞に、トランスフェクション前に「ショック」が与えられてもよい。これは、細胞培養物温度を約1時間にわたって 4°C に下げることを含む。ある場合には、約10分～約5時間の時間にわたって細胞培養物にショックが与えられてもよい。ある場合には、約 0°C ～約 20°C の温度で細胞培養物にショックが与えられてもよい。

【0711】

ある場合には、トランスフェクションは、1つ以上のAAVペイロードコンストラクトからの核酸の発現を低下させるため1つ以上のRNAエフェクター分子発現ベクターを含み得る。かかる方法は、ペイロードコンストラクトの発現に浪費される細胞リソースを減少させることによりウイルス粒子の産生を増強し得る。ある場合には、かかる方法は、米国特許出願公開第2014/0099666号明細書（この内容は本明細書において全体として参照により援用される）に教示されるものに従い行われてもよい。

【0712】

バイオリアクター

一部の実施形態において、大規模ウイルス作製には細胞培養バイオリアクターが用いられ得る。ある場合には、バイオリアクターは攪拌槽型リアクターを含む。かかるリアクタ

10

20

30

40

50

一は、概して、典型的には円筒形状の、攪拌機（例えばインペラ）を備えたベッセルを含む。一部の実施形態において、かかるバイオリアクターベッセルは、ベッセル温度を制御し、および／または周囲温度の変化による影響を最小限に抑えるため、ウォータジャケット内に置かれ得る。バイオリアクターベッセル容積は、サイズが約500ml～約2L、約1L～約5L、約2.5L～約20L、約10L～約50L、約25L～約100L、約75L～約500L、約250L～約2,000L、約1,000L～約10,000L、約5,000L～約50,000Lまたは少なくとも50,000Lの範囲であり得る。ベッセルの底は丸底または平底であり得る。ある場合には、動物細胞培養物が丸底ベッセルのバイオリアクターに維持され得る。

【0713】

ある場合には、バイオリアクターベッセルはサーモサーキュレータを用いて温められてもよい。サーモサーキュレータは熱水をウォータジャケットの周りに圧送する。ある場合には、熱水は、バイオリアクターベッセル内に存在する管（例えばコイル管）を通じて圧送されてもよい。ある場合には、限定はされないが、培養培地の真上にある空気層を含め、バイオリアクターの周りに温風が循環してもよい。加えて、細胞生存が最適となるようにpHおよびCO₂レベルが維持され得る。

【0714】

ある場合には、バイオリアクターは中空系リアクターを含み得る。中空系バイオリアクターは、足場依存性および足場非依存性の両方の細胞の培養を支持し得る。更なるバイオリアクターとしては、限定はされないが、充填床または固定床バイオリアクターを挙げることができる。かかるバイオリアクターは、接着細胞の付着用ガラスビーズを有するベッセルを含み得る。更なる充填床リアクターはセラミックビーズを含み得る。

【0715】

ある場合には、ウイルス粒子は使い捨てバイオリアクターを用いて作製される。一部の実施形態において、かかるバイオリアクターとしては、ウェーブ（商標）（WAVE（商標））使い捨てバイオリアクターを挙げることができる。

【0716】

一部の実施形態において、動物細胞バイオリアクター培養物におけるAAV粒子作製は、米国特許第5,064,764号明細書、同第6,194,191号明細書、同第6,566,118号明細書、同第8,137,948号明細書または米国特許出願公開第2011/0229971号明細書（これらの各々の内容は本明細書において全体として参照により援用される）に教示される方法により行われてもよい。

【0717】

細胞溶解

本発明の細胞は、限定はされないがウイルス作製細胞を含め、当該技術分野において公知の任意の方法により細胞溶解に供されてもよい。細胞溶解は、本発明の任意の細胞内に存在する1つ以上の薬剤（例えばウイルス粒子）を入手するために行われ得る。一部の実施形態において、細胞溶解は、米国特許第7,326,555号明細書、同第7,579,181号明細書、同第7,048,920号明細書、同第6,410,300号明細書、同第6,436,394号明細書、同第7,732,129号明細書、同第7,510,875号明細書、同第7,445,930号明細書、同第6,726,907号明細書、同第6,194,191号明細書、同第7,125,706号明細書、同第6,995,006号明細書、同第6,676,935号明細書、同第7,968,333号明細書、同第5,756,283号明細書、同第6,258,595号明細書、同第6,261,551号明細書、同第6,270,996号明細書、同第6,281,010号明細書、同第6,365,394号明細書、同第6,475,769号明細書、同第6,482,634号明細書、同第6,485,966号明細書、同第6,943,019号明細書、同第6,953,690号明細書、同第7,022,519号明細書、同第7,238,526号明細書、同第7,291,498号明細書および同第7,491,508号明細書または国際公開第1996039530号パンフレット、同第1998010088

10

20

30

40

50

号パンフレット、同第1999014354号パンフレット、同第1999015685号パンフレット、同第1999047691号パンフレット、同第2000055342号パンフレット、同第2000075353号パンフレットおよび同第2001023597号パンフレット（これらの各々の内容は本明細書において全体として参照により援用される）に挙げられる方法のいずれかにより行われてもよい。細胞溶解方法は化学的または機械的であってもよい。化学的細胞溶解は、典型的には、1つ以上の細胞を1つ以上の溶解剤と接触させることを含む。機械的溶解は、典型的には、1つ以上の細胞を1つ以上の溶解条件および／または1つ以上の溶解力に供することを含む。

【0718】

一部の実施形態では、化学的溶解を用いて細胞が溶解されてもよい。本明細書で使用されるとき、用語「溶解剤」は、細胞の破壊を助け得る任意の薬剤を指す。ある場合には、溶解剤は溶液中に導入され、溶解溶液または溶解緩衝液と呼ばれる。本明細書で使用されるとき、用語「溶解溶液」は、1つ以上の溶解剤を含む溶液（典型的には水性）を指す。溶解剤に加えて、溶解溶液は、1つ以上の緩衝剤、可溶化剤、界面活性剤、保存剤、凍結保護物質、酵素、酵素阻害薬および／またはキレータを含み得る。溶解緩衝液は、1つ以上の緩衝剤を含む溶解溶液である。溶解溶液の更なる成分としては、1つ以上の可溶化剤を挙げることができる。本明細書で使用されるとき、用語「可溶化剤」は、溶液の1つ以上の成分の溶解度および／または溶液が適用される1つ以上の実体の溶解度を増強する化合物を指す。ある場合には、可溶化剤はタンパク質溶解度を増強する。ある場合には、可溶化剤は、タンパク質のコンホメーションおよび／または活性を維持しながらもタンパク質溶解度を増強するその能力に基づき選択される。

【0719】

例示的溶解剤としては、米国特許第8,685,734号明細書、同第7,901,921号明細書、同第7,732,129号明細書、同第7,223,585号明細書、同第7,125,706号明細書、同第8,236,495号明細書、同第8,110,351号明細書、同第7,419,956号明細書、同第7,300,797号明細書、同第6,699,706号明細書および同第6,143,567号明細書（これらの各々の内容は本明細書において全体として参照により援用される）に記載されるもののいずれかを挙げることができる。ある場合には、溶解剤は、溶解塩、両性薬剤、カチオン性薬剤、イオン性界面活性剤および非イオン性界面活性剤から選択され得る。溶解塩としては、限定はされないが、塩化ナトリウム（NaCl）および塩化カリウム（KCl）を挙げることができる。更なる溶解塩としては、米国特許第8,614,101号明細書、同第7,326,555号明細書、同第7,579,181号明細書、同第7,048,920号明細書、同第6,410,300号明細書、同第6,436,394号明細書、同第7,732,129号明細書、同第7,510,875号明細書、同第7,445,930号明細書、同第6,726,907号明細書、同第6,194,191号明細書、同第7,125,706号明細書、同第6,995,006号明細書、同第6,676,935号明細書および同第7,968,333号明細書（これらの各々の内容は本明細書において全体として参照により援用される）に記載されるもののいずれかを挙げることができる。塩の濃度は、細胞膜を破裂させる有効濃度が得られるように増加または減少させてもよい。両性薬剤とは、本明細書において参照されるとき、酸または塩基として反応する能力を有する化合物である。両性薬剤としては、限定はされないが、リゾホスファチジルコリン、3-（（3-コラミドプロピル）ジメチルアンモニウム）-1-プロパンスルホネート（CHAPS）、ツヴィッタージェント（登録商標）（ZWITTERGENT（登録商標））などを挙げることができる。カチオン性薬剤としては、限定はされないが、臭化セチルトリメチルアンモニウム（C(16)TAB）および塩化ベンザルコニウムを挙げることができる。界面活性剤を含む溶解剤には、イオン性界面活性剤または非イオン性界面活性剤が含まれ得る。界面活性剤は、限定はされないが、細胞膜、細胞壁、脂質、炭水化物、リポタンパク質および糖タンパク質を含めた細胞構造を分解するまたは溶解させる働きをし得る。例示的イオン性界面活性剤としては、米国特許第7,625,570号明細

書および同第6, 593, 123号明細書または米国特許出願公開第2014/0087361号明細書（これらの各々の内容は本明細書において全体として参照により援用される）に教示されるもののいずれかが挙げられる。幾つかのイオン性界面活性剤としては、限定はされないが、ドデシル硫酸ナトリウム（SDS）、コール酸塩およびデオキシコール酸塩を挙げることができる。ある場合には、イオン性界面活性剤は溶解溶液中に可溶化剤として含まれてもよい。非イオン性界面活性剤としては、限定はされないが、オクチルグルコシド、ジギトニン、ルブロール、C12E8、ツイーン（登録商標）-20（TWEEN（登録商標）-20）、ツイーン（登録商標）-80（TWEEN（登録商標）-80）、トリトンX-100（Triton X-100）およびノニデットP-40（Nonidet P-40）を挙げることができる。非イオン性界面活性剤は、典型的には弱溶解剤であるが、細胞性および／またはウイルス性タンパク質を可溶化するための可溶化剤として含まれてもよい。更なる溶解剤としては、酵素および尿素を挙げることができる。ある場合には、細胞溶解およびタンパク質溶解度のうちの1つ以上を増強するため、1つ以上の溶解剤が溶解溶液中に組み合わせられてもよい。ある場合には、細胞膜破壊によって引き起こされ得るタンパク質分解を防ぐため、酵素阻害薬が溶解溶液中に含まれてもよい。

10

【0720】

一部の実施形態において、機械的細胞溶解が行われる。機械的細胞溶解方法としては、1つ以上の溶解条件および／または1つ以上の溶解力の使用を挙げることができる。本明細書で使用されるとき、用語「溶解条件」とは、細胞破壊を促進する状態または状況を指す。溶解条件には、特定の温度、圧力、浸透圧純度、塩分などが含まれ得る。ある場合には、溶解条件には温度の増加または低下が含まれる。一部の実施形態によれば、溶解条件には、細胞破壊を促進する温度の変化が含まれる。かかる実施形態により行われる細胞溶解には、凍結融解溶解が含まれ得る。本明細書で使用されるとき、用語「凍結融解溶解」とは、細胞溶液が1回以上の凍結融解サイクルに供される細胞溶解を指す。凍結融解溶解方法によれば、溶液中の細胞が凍結されて、水の結晶の形成および拡大によって引き起こされる細胞膜の機械的破壊が誘導される。凍結融解溶解方法により用いられる細胞溶液としては、1つ以上の溶解剤、可溶化剤、緩衝剤、凍結保護物質、界面活性剤、保存剤、酵素、酵素阻害薬および／またはキレート剤を更に挙げることができる。凍結に供した細胞溶液を解凍すると、かかる成分が所望の細胞産物の回収を増強し得る。ある場合には、凍結融解溶解を受ける細胞溶液中に1つ以上の凍結保護物質が含まれる。本明細書で使用されるとき、用語「凍結保護物質」は、1つ以上の物質を凍結に起因する損傷から保護するために使用される薬剤を指す。凍結保護物質としては、米国特許出願公開第2013/0323302号明細書または米国特許第6, 503, 888号明細書、同第6, 180, 613号明細書、同第7, 888, 096号明細書、同第7, 091, 030号明細書（これらの各々の内容は本明細書において全体として参照により援用される）に教示されるもののいずれかを挙げることができる。ある場合には、凍結保護物質としては、限定はされないが、ジメチルスルホキシド、1, 2-プロパンジオール、2, 3-ブタンジオール、ホルムアミド、グリセロール、エチレングリコール、1, 3-プロパンジオールおよびn-ジメチルホルムアミド、ポリビニルピロリドン、ヒドロキシエチルデンプン、アガロース、デキストラン類、イノシトール、グルコース、ヒドロキシエチルデンプン、ラクトース、ソルビトール、メチルグルコース、スクロースおよび尿素を挙げることができる。一部の実施形態において、凍結融解溶解は、米国特許第7, 704, 721号明細書（この内容は本明細書において全体として参照により援用される）に記載される方法のいずれかにより行われてもよい。

20

30

40

【0721】

本明細書で使用されるとき、用語「溶解力」は、細胞を破壊するために用いられる物理的活性を指す。溶解力としては、限定はされないが、機械的力、音波的力、重力、光学的力、電気的力などを挙げることができる。機械的力によって行われる細胞溶解は、本明細書では「機械的溶解」と称される。機械的溶解により用いられ得る機械的力としては、高

50

剪断流体力を挙げることができる。かかる機械的溶解方法によれば、マイクロフルイダイザーが使用されてもよい。マイクロフルイダイザーは、典型的には、細胞溶液が適用され得る入力リザーバを含む。次に細胞溶液がポンプ（例えば高圧ポンプ）によって高速および／または高圧で相互作用チャンバに圧送されることにより剪断流体力が生じ得る。次に得られたライセートが1つ以上の出力リザーバに収集され得る。ポンプ速度および／または圧力を調整することにより、細胞溶解を調節し、および産物（例えばウイルス粒子）の回収を増強し得る。他の機械的溶解方法としては、スクレイピングすることによる細胞の物理的破壊を挙げることができる。

【0722】

細胞溶解方法は、溶解させる細胞の細胞培養フォーマットに基づき選択されてもよい。例えば、接着細胞培養物では、幾つかの化学的および機械的溶解方法が用いられてもよい。かかる機械的溶解方法としては、凍結融解溶解またはスクレイピングを挙げることができる。別の例では、トリトンX-100（Triton-X-100）などの界面活性剤を含む溶解溶液とのインキュベーションによって接着細胞培養物の化学的溶解が行われてもよい。ある場合には、遊離DNAによって生じるライセートの粘度を低下させるため、接着細胞培養物から生成された細胞ライセートがもう一つのヌクレアーゼで処理されてもよい。

【0723】

一実施形態において、効率的で規模を調整可能なAAV粒子作製に、溶解のないAAV粒子の回収方法が用いられてもよい。非限定的な例では、AAV粒子は、米国特許出願公開第20090275107号明細書（この内容は全体として参照により本明細書に援用される）に記載されるとおり、ヘパリン結合部位を欠くAAV粒子を培養し、それによりAAV粒子を細胞培養物の上清中に移らせて、培養物から上清を収集し；および上清からAAV粒子を単離することにより作製されてもよい。

【0724】

清澄化

ウイルス粒子を含む細胞ライセートは清澄化に供され得る。清澄化とは、細胞ライセートからのウイルス粒子の精製において行われる最初のステップを指す。清澄化は、より大きい不溶性のデブリを除去することにより更なる精製にかけられるためのライセートを調製する働きをする。清澄化ステップとしては、限定はされないが、遠心およびろ過を挙げることができる。清澄化において、遠心は、より大きいデブリのみを除去するため低速で行われてもよい。同様に、ろ過は、より大きいデブリのみが除去されるように、より大きい孔径のフィルタを使用して行われてもよい。ある場合には、清澄化の間にタンジェンシャルフローろ過が用いられてもよい。ウイルス清澄化の目的には、細胞ライセートのハイスループット処理および最終的なウイルス回収率の最適化が含まれる。清澄化ステップを含める利点には、更に大容積のライセートを処理するため規模を調整可能であることが含まれる。一部の実施形態において、清澄化は、米国特許第8,524,446号明細書、同第5,756,283号明細書、同第6,258,595号明細書、同第6,261,551号明細書、同第6,270,996号明細書、同第6,281,010号明細書、同第6,365,394号明細書、同第6,475,769号明細書、同第6,482,634号明細書、同第6,485,966号明細書、同第6,943,019号明細書、同第6,953,690号明細書、同第7,022,519号明細書、同第7,238,526号明細書、同第7,291,498号明細書、同第7,491,508号明細書、米国特許出願公開第2013/0045186号明細書、同第2011/0263027号明細書、同第2011/0151434号明細書、同第2003/0138772号明細書、および国際公開第2002012455号パンフレット、同第1996039530号パンフレット、同第1998010088号パンフレット、同第1999014354号パンフレット、同第1999015685号パンフレット、同第1999047691号パンフレット、同第2000055342号パンフレット、同第2000075353号パンフレットおよび同第2001023597号パンフレット（これらの各々の内容は本

10

20

30

40

50

明細書において全体として参照により援用される)に提示される方法のいずれかにより行われてもよい。

【0725】

ろ過による細胞ライセート清澄化方法は当該技術分野において十分に理解されており、限定はされないが、受動ろ過およびフローろ過を含め、種々の利用可能な方法により行われてもよい。使用されるフィルタは種々の材料および孔径を含み得る。例えば、細胞ライセートフィルタは、約1 μ M~約5 μ M、約0.5 μ M~約2 μ M、約0.1 μ M~約1 μ M、約0.05 μ M~約0.05 μ Mおよび約0.001 μ M~約0.1 μ Mの孔径を含み得る。細胞ライセートフィルタの例示的孔径としては、限定はされないが、2.0、1.9、1.8、1.7、1.6、1.5、1.4、1.3、1.2、1.1、1.0、0.9、0.8、0.7、0.6、0.5、0.4、0.3、0.2、0.1、0.05、0.09、0.085、0.08、0.075、0.07、0.065、0.06、0.055、0.05、0.045、0.04、0.035、0.03、0.025、0.02、0.015、0.01、0.005、0.022、0.021、0.020、0.019、0.018、0.017、0.016、0.015、0.014、0.013、0.012、0.011、0.01、0.009、0.008、0.007、0.006、0.005、0.004、0.003、0.002、0.001、0.002、0.0019、0.0018、0.0017、0.0016、0.0015、0.0014、0.0013、0.0012、0.0011、0.001、0.0009、0.0008、0.0007、0.0006、0.0005、0.0004、0.0003、0.0002、0.0001および0.001 μ Mを挙げることができる。一実施形態において、清澄化は、大きいデブリを除去するための2.0 μ M孔径のフィルタによるろ過と、続くインタクトな細胞を除去するための0.45 μ M孔径のフィルタへの通過を含み得る。

【0726】

フィルタ材料は種々の材料を含み得る。かかる材料としては、限定はされないが、ポリマー材料および金属材料(例えば焼結金属および有孔アルミニウム)を挙げることができる。例示的材料としては、限定はされないが、ナイロン、セルロース材料(例えば酢酸セルロース)、ポリフッ化ビニリデン(PVDF)、ポリエーテルスルホン、ポリアミド、ポリスルホン、ポリプロピレン、およびポリエチレンテレフタレート(商標)を挙げることができる。ある場合には、細胞ライセートの清澄化に有用なフィルタとしては、限定はされないが、ウルチプリーツ・プロフィール(商標)(ULTIPLEAT PROFILE(商標))フィルタ(ポール・コーポレーション(Pall Corporation)、ニューヨーク州ポートワシントン)、スポー(商標)(SUPOR(商標))メンブレンフィルタ(ポール・コーポレーション(Pall Corporation)、ニューヨーク州ポートワシントン)を挙げることができる。

【0727】

ある場合には、ろ過速度および/または有効性を増加させるためフローろ過が行われてもよい。ある場合には、フローろ過は真空ろ過を含み得る。かかる方法によれば、フィルタのうちろ過される細胞ライセートと反対側に真空が作り出される。ある場合には、細胞ライセートを遠心力によってフィルタに通過させてもよい。ある場合には、ポンプを使用して細胞ライセートが清澄化フィルタに押し通される。1つ以上のフィルタを通る細胞ライセートのフロー速度は、チャンネルサイズおよび/または流圧の一方を調整することにより調節し得る。

【0728】

一部の実施形態によれば、細胞ライセートは遠心によって清澄化されてもよい。遠心を用いると、ライセート中の不溶性粒子をペレット化し得る。清澄化の間、遠心強度[標準重力の倍数を表す重力単位(g)で表される]は続く精製ステップよりも低くてよい。ある場合には、遠心は細胞ライセートに対して約200g~約800g、約500g~約1500g、約1000g~約5000g、約1200g~約10000gまたは約8000g~約15000gで行われてもよい。一部の実施形態において、細胞ライセートの遠心は8000gで15分間行われる。ある場合には、細胞ライセート中の粒子状物質を沈

降速度によって分配するため密度勾配遠心法が行われてもよい。本開示の方法により用いられる勾配としては、限定はされないが、塩化セシウム勾配およびイオジキサノール段階勾配を挙げることができる。

【0729】

精製：クロマトグラフィー

ある場合には、A A V粒子は、清澄化細胞ライセートから1つ以上のクロマトグラフィー方法によって精製されてもよい。クロマトグラフィーとは、混合物から1つ以上の要素を取り分けるための当該技術分野において公知のあらゆる方法を指す。かかる方法としては、限定はされないが、イオン交換クロマトグラフィー（例えば陽イオン交換クロマトグラフィーおよび陰イオン交換クロマトグラフィー）、イムノアフィニティークロマトグラフィーおよびサイズ排除クロマトグラフィーを挙げることができる。一部の実施形態において、ウイルスクロマトグラフィー方法としては、米国特許第5,756,283号明細書、同第6,258,595号明細書、同第6,261,551号明細書、同第6,270,996号明細書、同第6,281,010号明細書、同第6,365,394号明細書、同第6,475,769号明細書、同第6,482,634号明細書、同第6,485,966号明細書、同第6,943,019号明細書、同第6,953,690号明細書、同第7,022,519号明細書、同第7,238,526号明細書、同第7,291,498号明細書および同第7,491,508号明細書または国際公開第1996039530号パンフレット、同第1998010088号パンフレット、同第1999014354号パンフレット、同第1999015685号パンフレット、同第1999047691号パンフレット、同第2000055342号パンフレット、同第2000075353号パンフレットおよび同第2001023597号パンフレット（これらの各々の内容は本明細書において全体として参照により援用される）に教示されるもののいずれかを挙げることができる。

【0730】

一部の実施形態では、イオン交換クロマトグラフィーを用いてウイルス粒子が単離されてもよい。イオン交換クロマトグラフィーを用いると、カプシドタンパク質と、固定相、典型的にはウイルス調製物（例えば清澄化ライセート）を通過させるカラムに存在する荷電部位との間の電荷間相互作用に基づきウイルス粒子が結合する。ウイルス調製物を加えた後、次に溶出溶液を加えることにより電荷間相互作用が破壊されて、結合したウイルス粒子が溶出し得る。溶出溶液は、結合したウイルス粒子の回収が促進されるように塩濃度および／またはpHを調整することにより最適化されてもよい。単離されるウイルスカプシドの電荷に応じて、陽イオンまたは陰イオン交換クロマトグラフィー方法が選択される。イオン交換クロマトグラフィー方法としては、限定はされないが、米国特許第7,419,817号明細書、同第6,143,548号明細書、同第7,094,604号明細書、同第6,593,123号明細書、同第7,015,026号明細書および同第8,137,948号明細書（これらの各々の内容は本明細書において全体として参照により援用される）に教示されるもののいずれかを挙げることができる。

【0731】

一部の実施形態において、イムノアフィニティークロマトグラフィーが用いられてもよい。イムノアフィニティークロマトグラフィーは、1つ以上の免疫化合物（例えば抗体または抗体関連構造）を利用してウイルス粒子を保持するクロマトグラフィーの一形態である。免疫化合物は、限定はされないが、1つ以上のウイルスコートタンパク質を含め、ウイルス粒子表面上の1つ以上の構造に特異的に結合し得る。ある場合には、免疫化合物は特定のウイルス変種に特異的であってもよい。ある場合には、免疫化合物は複数のウイルス変種に結合してもよい。一部の実施形態において、免疫化合物は組換え一本鎖抗体を含んでもよい。かかる組換え一本鎖抗体としては、スミス・R・H（Smith, R. H.）ら著、2009年、モレキュラー・セラピー（Mol. Ther.）、第17巻、第11号、p. 1888～96（この内容は本明細書において全体として参照により援用される）に記載されるものを挙げることができる。かかる免疫化合物は、限定はされないが、

AAV1、AAV2、AAV6およびAAV8を含め、幾つかのAAVカプシド変種への結合能を有する。

【0732】

一部の実施形態において、サイズ排除クロマトグラフィー（SEC）が用いられてもよい。SECは、ゲルを使用したサイズによる粒子の分離を含み得る。ウイルス粒子精製では、SECろ過は時に「ポリッシング」と称されることもある。ある場合には、SECは、ほぼ均一な最終産物を生じさせるために行われ得る。かかる最終産物は、ある場合には、前臨床試験および／または臨床試験で使用され得る（コーチン・R・M（Kotlin, R. M.）、2011年、ヒューマン・モレキュラー・ジェネティクス（Human Molecular Genetics）、第20巻、第1号、p. R2～R6、この内容は本明細書において全体として参照により援用される）。ある場合には、SECは、米国特許第6,143,548号明細書、同第7,015,026号明細書、同第8,476,418号明細書、同第6,410,300号明細書、同第8,476,418号明細書、同第7,419,817号明細書、同第7,094,604号明細書、同第6,593,123号明細書、および同第8,137,948号明細書（これらの各々の内容は本明細書において全体として参照により援用される）に教示される方法のいずれかにより行われてもよい。

10

【0733】

一実施形態において、少なくとも1つのAAV粒子を含む組成物は、米国特許第6146874号明細書（この内容は本明細書において全体として参照により援用される）に記載される方法を用いて単離または精製されてもよい。

20

【0734】

一実施形態において、少なくとも1つのAAV粒子を含む組成物は、米国特許第6660514号明細書（この内容は本明細書において全体として参照により援用される）に記載される方法を用いて単離または精製されてもよい。

【0735】

一実施形態において、少なくとも1つのAAV粒子を含む組成物は、米国特許第8283151号明細書（この内容は本明細書において全体として参照により援用される）に記載される方法を用いて単離または精製されてもよい。

【0736】

一実施形態において、少なくとも1つのAAV粒子を含む組成物は、米国特許第8524446号明細書（この内容は本明細書において全体として参照により援用される）に記載される方法を用いて単離または精製されてもよい。

30

【0737】

II. 製剤および送達

医薬組成物および製剤

医薬組成物（siRNA分子をコードする調節性ポリヌクレオチド配列を含むAAV粒子）に加えて、本明細書にはヒトへの投与に好適な医薬組成物が提供され、当業者は、かかる組成物が概して任意の他の動物、例えば非ヒト動物、例えば非ヒト哺乳類への投与に好適であることを理解するであろう。組成物を種々の動物への投与に好適にするための、ヒトへの投与に好適な医薬組成物の修飾については十分に理解されており、獣医薬理学の当業者は、あったとしても通常どおりに過ぎない実験をもって、かかる修飾を設計および／または実施することができる。医薬組成物の投与が企図される対象としては、限定はされないが、ヒトおよび／または他の霊長類；ウシ、ブタ、ウマ、ヒツジ、ネコ、イヌ、マウス、および／またはラットなど、商業的に関連性のある哺乳類を含めた哺乳類；および／または、家禽、ニワトリ、アヒル、ガチョウ、および／またはシチメンチョウなど、商業的に関連性のある鳥類を含めた鳥類が挙げられる。

40

【0738】

一部の実施形態において、組成物は、ヒト、ヒト患者または対象に投与される。本開示の目的のために、「活性成分」という語句は一般に、合成siRNA二重鎖、siRNA

50

二重鎖をコードする調節性ポリヌクレオチド、または本明細書で記載される s i R N A 二重鎖をコードする調節性ポリヌクレオチドを含む A A V 粒子を指す。

【0739】

本明細書に記載される医薬組成物の製剤は、薬理学の技術分野において公知のまたは今後開発される任意の方法によって調製されてもよい。一般に、かかる調製方法は、活性成分を賦形剤および／または1つ以上の他の補助成分と合わせるステップ、および次に、必要であればおよび／または望ましい場合には、生成物を所望の単回または複数回用量単位に分割、付形および／または包装するステップを含む。

【0740】

本発明に係る医薬組成物中の活性成分、薬学的に許容可能な賦形剤、および／または任意の追加成分の相対量は、治療対象のアイデンティティ、サイズ、および／または状態に応じて、更には組成物が投与される経路に応じて異なることになる。

10

【0741】

本発明の s i R N A 分子をコードする調節性ポリヌクレオチド配列を含む A A V 粒子は、1つ以上の賦形剤を使用して製剤化することにより、(1) 安定性を増加させる；(2) 細胞トランスフェクションまたは形質導入を増加させる；(3) 持続または遅延放出を可能にする；または(4) 体内分布を変化させる（例えば、A A V 粒子を脳およびニューロンなどの特異的組織または細胞型に標的化する）ことができる。

【0742】

本発明の製剤は、限定なしに、生理食塩水、リピドイド、リボソーム、脂質ナノ粒子、ポリマー、リポプレックス、コアシェルナノ粒子、ペプチド、タンパク質、A A V 粒子をトランスフェクトした細胞（例えば、対象への移植用）、ナノ粒子模倣体およびこれらの組合せを含むことができる。更に、本発明の A A V 粒子は、自己集合性核酸ナノ粒子を使用して製剤化されてもよい。

20

【0743】

本明細書に記載される医薬組成物の製剤は、薬理学の技術分野において公知のまたは今後開発される任意の方法によって調製されてもよい。一般に、かかる調製方法は、活性成分を賦形剤および／または1つ以上の他の補助成分と合わせるステップを含む。

【0744】

本開示に係る医薬組成物は、バルクで、単回単位用量として、および／または複数の単回単位用量として調製、包装、および／または販売されてもよい。本明細書で使用される時、「単位用量」は、所定量の活性成分を含む医薬組成物の個別的な量を指す。活性成分の量は、概して対象に投与されるであろう活性成分の投薬量に等しく、および／またはかかる投薬量の好都合な一部、例えばかかる投薬量の2分の1または3分の1である。

30

【0745】

本開示に係る医薬組成物中の活性成分、薬学的に許容可能な賦形剤、および／または任意の追加成分の相対量は、治療下の対象のアイデンティティ、サイズ、および／または状態に応じて、更には組成物が投与される経路に応じて異なり得る。例えば、組成物は、0.1%~99% (w/w) の活性成分を含み得る。例として、組成物は、0.1%~100%、例えば0.5~50%、1~30%、5~80%、少なくとも80% (w/w) の活性成分を含み得る。

40

【0746】

一部の実施形態において、薬学的に許容可能な賦形剤は、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%の純度であってもよい。一部の実施形態において、賦形剤はヒトへの使用および動物への使用が承認されている。一部の実施形態において、賦形剤は米国食品医薬品局によって承認されていてもよい。一部の実施形態において、賦形剤は医薬品グレードであってもよい。一部の実施形態において、賦形剤は、米国薬局方 (U S P)、欧州薬局方 (E P)、英国薬局方、および／または国際薬局方の規格に適合し得る。

【0747】

50

賦形剤には、本明細書で使用されるとき、限定はされないが、所望の特定の剤形に適するとおりのあらゆる溶媒、分散媒、希釈剤、または他の液体媒体、分散液または懸濁液助剤、表面活性剤、等張剤、増粘剤または乳化剤、保存剤などが含まれる。医薬組成物を製剤化するための種々の賦形剤および組成物の調製技法は当該技術分野において公知である（「レミントン：薬学の科学と実践（Remington：The Science and Practice of Pharmacy）」、第21版、A・R・ジェンナロ（A. R. Gennaro）著、リップピンコット・ウィリアムズ・アンド・ウィルキンス（Lippincott, Williams & Wilkins）、メリーランド州ボルチモア（Baltimore）、2006年を参照のこと；全体として参照により本明細書に援用される）。従来の賦形剤媒体の使用は本開示の範囲内に企図され得るが、但し、任意の望ましくない生物学的効果を生じたり、またはその他、医薬組成物の任意の他の1つまたは複数の成分と有害な形で相互作用したりするなどにより、任意の従来の賦形剤媒体が物質またはその誘導体と不適合である場合は除く。

10

【0748】

例示的希釈剤としては、限定はされないが、炭酸カルシウム、炭酸ナトリウム、リン酸カルシウム、リン酸二カルシウム、硫酸カルシウム、リン酸水素カルシウム、リン酸ナトリウム、ラクトース、スクロース、セルロース、微結晶性セルロース、カオリン、マンニトール、ソルビトール、イノシトール、塩化ナトリウム、乾燥デンプン、コーンスターチ、粉末糖等、および／またはこれらの組合せが挙げられる。

【0749】

一部の実施形態において、製剤は少なくとも1つの非活性成分を含み得る。本明細書で使用されるとき、用語「非活性成分」は、製剤に含まれる1つ以上の非活性薬剤を指す。一部の実施形態において、本発明の製剤に使用し得る非活性成分は、全てが米国食品医薬品局（FDA）によって承認されているか、いずれも承認されていないか、または一部が承認されているものであり得る。

20

【0750】

本発明の siRNA 分子の核酸配列を含むベクターの製剤は、カチオンまたはアニオンを含み得る。一実施形態において、製剤は、限定はされないが、 Zn^{2+} 、 Ca^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Mg^{+} およびこれらの組合せなど、金属カチオンを含む。

【0751】

本明細書で使用されるとき、「薬学的に許容可能な塩」は、開示される化合物の誘導体を指し、ここで親化合物は、既存の酸または塩基部分からその塩形態への変換（例えば、遊離塩基を好適な有機酸と反応させることによる）によって修飾される。薬学的に許容可能な塩の例としては、限定はされないが、アミン類などの塩基性残基の鉱酸塩または有機酸塩；カルボン酸などの酸性残基のアルカリ塩または有機塩などが挙げられる。代表的な酸付加塩としては、酢酸塩、酢酸、アジピン酸塩、アルギン酸塩、アスコルビン酸塩、アスパラギン酸塩、ベンゼンスルホン酸塩、ベンゼンスルホン酸、安息香酸塩、重硫酸塩、ホウ酸塩、酪酸塩、カンファー酸塩、カンファースルホン酸塩、クエン酸塩、シクロペンタンプロピオン酸塩、ジグルコン酸塩、ドデシル硫酸塩、エタンスルホン酸塩、フマル酸塩、グルコヘプトン酸塩、グリセロリン酸塩、ヘミ硫酸塩、ヘプトン酸塩、ヘキサン酸塩、臭化水素酸塩、塩酸塩、ヨウ化水素酸塩、2-ヒドロキシエタンスルホン酸塩、ラク

トビオン酸塩、乳酸塩、ラウリン酸塩、ラウリル硫酸塩、リンゴ酸塩、マレイン酸塩、マロン酸塩、メタンスルホン酸塩、2-ナフタレンスルホン酸塩、ニコチン酸塩、硝酸塩、オレイン酸塩、シュウ酸塩、パルミチン酸塩、パモ酸塩、ペクチン酸塩、過硫酸塩、3-フェニルプロピオン酸塩、リン酸塩、ピクリン酸塩、ピバル酸塩、プロピオン酸塩、ステアリン酸塩、コハク酸塩、硫酸塩、酒石酸塩、チオシアン酸塩、トルエンスルホン酸塩、ウンデカン酸塩、吉草酸塩などが挙げられる。代表的なアルカリまたはアルカリ土類金属塩としては、ナトリウム、リチウム、カリウム、カルシウム、マグネシウムなど、ならびに非毒性アンモニウム、第四級アンモニウム、およびアミン陽イオン、例えば、限定はされないが、アンモニウム、テトラメチルアンモニウム、テトラエチルアンモニウム、メチ

30

40

50

ルアミン、ジメチルアミン、トリメチルアミン、トリエチルアミン、エチルアミンなどが挙げられる。本開示の薬学的に許容可能な塩には、例えば非毒性無機酸または有機酸から形成される親化合物の従来の非毒性塩が含まれる。本開示の薬学的に許容可能な塩は、従来の化学的方法により塩基または酸部分を含有する親化合物から合成することができる。概して、かかる塩は、遊離酸または塩基形態のこれらの化合物と、水中または有機溶媒中、またはこれら2つの混合物中（概して、エーテル、酢酸エチル、エタノール、イソプロパノール、またはアセトニトリルなどの非水性媒体が好ましい）にある化学量論量の適切な塩基または酸とを反応させることにより調製し得る。好適な塩の一覧については、「レミントンの薬学科学（Remington's Pharmaceutical Sciences）」、第17版、マック・パブリッシング・カンパニー（Mack Publishing Company）、ペンシルベニア州イーストン（Easton）、1985年、p. 1418、「薬学的塩：特性、選択、および使用（Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use）」、P・H・シュタール（P. H. Stahl）およびC・G・ウェルムス（C. G. Wermuth）編、ワイリー・ブイシー・エイチ（Wiley-VCH）、2008年、およびベルジュ（Berge）ら著、ジャーナル・オブ・ファーマシューティカル・サイエンス（Journal of Pharmaceutical Science）、第66巻、p. 1~19、1977年が参照される；この各々の内容は全体として参照により本明細書に援用される。

10

【0752】

20

用語「薬学的に許容可能な溶媒和物」は、本明細書で使用されるとき、好適な溶媒の分子が結晶格子に取り込まれている本発明の化合物を意味する。好適な溶媒は、投与される投薬量で生理学的に忍容可能である。例えば、溶媒和物は、有機溶媒、水、またはこれらの混合物を含む溶液から結晶化、再結晶化、または沈殿によって調製されてもよい。好適な溶媒の例は、エタノール、水（例えば、一水和物、二水和物、および三水和物）、N-メチルピロリジノン（NMP）、ジメチルスルホキシド（DMSO）、N, N'-ジメチルホルムアミド（DMF）、N, N'-ジメチルアセトアミド（DMAC）、1, 3-ジメチル-2-イミダゾリジノン（DMEU）、1, 3-ジメチル-3, 4, 5, 6-テトラヒドロ-2-(1H)-ピリミジノン（DMPU）、アセトニトリル（ACN）、プロピレングリコール、酢酸エチル、ベンジルアルコール、2-ピロリドン、安息香酸ベンジルなどである。水が溶媒であるとき、その溶媒和物は「水和物」と称される。

30

【0753】

本発明によれば、siRNA分子をコードする調節性ポリヌクレオチド配列を含むAAV粒子は、CNS送達用に製剤化されてもよい。脳血液関門を通過する薬剤が使用されてもよい。例えば、脳血液関門内皮をsiRNA分子の標的とし得る、一部の細胞透過性ペプチドを使用して、目的の遺伝子を標的とするsiRNA二重鎖を製剤化してもよい。

【0754】

非活性成分

一部の実施形態において、製剤は、非活性成分である少なくとも1つの賦形剤を含み得る。本明細書で使用されるとき、用語「非活性成分」は、製剤中に含まれる1つ以上の非活性薬剤を指す。一部の実施形態において、本開示の製剤に使用し得る非活性成分は、全てが米国食品医薬品局（FDA）によって承認されているか、いずれも承認されていないか、または一部が承認されているものであり得る。

40

【0755】

本明細書に記載されるAAV粒子の製剤は、カチオンまたはアニオンを含み得る。一実施形態において、製剤は、限定はされないが、Zn²⁺、Ca²⁺、Cu²⁺、Mg⁺およびこれらの組合せなど、金属カチオンを含む。非限定的な例として、製剤は、金属カチオンと錯体化した本明細書に記載されるポリマーおよび組成物を含み得る（例えば、米国特許第6, 265, 389号明細書および同第6, 555, 525号明細書を参照のこと、これらの各々は全体として参照により本明細書に援用される）。

50

【0756】

送達

一実施形態において、本明細書に記載されるAAV粒子は、欧州特許出願第1857552号明細書（この内容は本明細書において全体として参照により援用される）に記載されるAAVビリオンの送達方法を用いて投与または送達されてもよい。

【0757】

一実施形態において、本明細書に記載されるAAV粒子は、欧州特許出願第2678433号明細書（この内容は本明細書において全体として参照により援用される）に記載されるAAV粒子を用いたタンパク質の送達方法を用いて投与または送達されてもよい。

【0758】

一実施形態において、本明細書に記載されるAAV粒子は、米国特許第5,858,351号明細書（この内容は本明細書において全体として参照により援用される）に記載されるAAV粒子を用いたDNA分子の送達方法を用いて投与または送達されてもよい。

【0759】

一実施形態において、本明細書に記載されるAAV粒子は、米国特許第6,211,163号明細書（この内容は本明細書において全体として参照により援用される）に記載される血流へのDNAの送達方法を用いて投与または送達されてもよい。

【0760】

一実施形態において、本明細書に記載されるAAV粒子は、米国特許第6,325,998号明細書（この内容は本明細書において全体として参照により援用される）に記載されるAAVビリオンの送達方法を用いて投与または送達されてもよい。

【0761】

一実施形態において、本明細書に記載されるAAV粒子は、米国特許第7,588,757号明細書（この内容は本明細書において全体として参照により援用される）に記載される中枢神経系へのペイロードの送達方法を用いて投与または送達されてもよい。

【0762】

一実施形態において、本明細書に記載されるAAV粒子は、米国特許第8283151号明細書（この内容は本明細書において全体として参照により援用される）に記載されるペイロードの送達方法を用いて投与または送達されてもよい。

【0763】

一実施形態において、本明細書に記載されるAAV粒子は、国際公開第2001089583号パンフレット（この内容は本明細書において全体として参照により援用される）に記載されるグルタミン酸デカルボキシラーゼ（GAD）送達ベクターを用いたペイロードの送達方法を用いて投与または送達されてもよい。

【0764】

一実施形態において、本明細書に記載されるAAV粒子は、国際公開第2012057363号パンフレット（この内容は本明細書において全体として参照により援用される）に記載される神経細胞へのペイロードの送達方法を用いて投与または送達されてもよい。

【0765】

細胞への送達

本開示は、上述のAAVポリヌクレオチドまたはAAVゲノムのいずれかを細胞または組織に送達する方法であって、前記AAVポリヌクレオチドまたはAAVゲノムと細胞または組織を接触させることまたは前記AAVポリヌクレオチドまたはAAVゲノムを含む粒子と細胞または組織を接触させること、または医薬組成物を含めた記載される組成物のいずれかと細胞または組織を接触させることを含む方法を提供する。AAVポリヌクレオチドまたはAAVゲノムを細胞または組織に送達する方法は、インビトロ、エキソビボ、またはインビボで達成することができる。

【0766】

細胞への導入－合成dsRNA

siRNA分子（例えば、siRNA二重鎖およびdsRNA）の化学的および生物学

10

20

30

40

50

的安定性を確保するためには、s i R N A分子を標的細胞の内部に送達することが重要である。一部の実施形態において、細胞としては、限定はされないが、哺乳類起源の細胞、ヒト起源の細胞、胚性幹細胞、人工多能性幹細胞、神経幹細胞、および神経前駆細胞を挙げることができる。

【0767】

核酸は、s i R N Aを含め、正常な生理条件下で糖ーリン酸骨格に正味負電荷を有する。細胞に侵入するためには、s i R N A分子は、その頭部基が同様に負電荷である細胞膜の脂質二重層に接触しなければならない。

【0768】

s i R N A二重鎖は、パッケージ粒子など、それが細胞膜を通り抜けることを可能にする担体と複合体化することにより、s i R N Aの細胞取込みを促進し得る。パッケージ粒子としては、限定はされないが、リボソーム、ナノ粒子、カチオン性脂質、ポリエチレンイミン誘導体、デンドリマー、カーボンナノチューブおよび炭素系ナノ粒子とデンドリマーとの組合せを挙げることができる。脂質はカチオン性脂質および／または中性脂質であってもよい。s i R N A分子とカチオン性担体との間の十分に確立された親油性複合体に加えて、s i R N A分子は、コレステロールなど、疎水性部分にコンジュゲートすることができる（例えば、米国特許出願公開第20110110937号明細書；この内容は本明細書において全体として参照により援用される）。この送達方法は、s i R N A分子のインビトロ細胞取込みおよびインビボ薬理特性を改善する可能性がある。本発明のs i R N A分子はまた、M P G、トランスポータンまたはペネトラチンなど、ある種のカチオン性細胞透過性ペプチド（C P P）に共有結合的または非共有結合的にコンジュゲートされてもよい（例えば、米国特許出願公開第20110086425号明細書；この内容は本明細書において全体として参照により援用される）。

【0769】

細胞への導入－A A V粒子

本発明のs i R N A分子（例えばs i R N A二重鎖）は、限定はされないがA A V粒子など、種々の手法のいずれかを用いて細胞に導入されてもよい。これらのA A V粒子は、トランスフェクションに容易には適さない細胞へのs i R N A分子の侵入を促進するように操作および最適化される。また、幾つかの合成A A V粒子はs h R N Aを細胞ゲノムに組み込む能力を有し、それにより安定したs i R N A発現および標的遺伝子の長期ノックダウンがもたらされる。このように、A A V粒子は、野生型ウイルスに見られる有害な複製および／または組み込み特徴を欠きながらも、特異的送達媒体として操作される。

【0770】

一部の実施形態において、細胞を、s i R N A分子をコードする調節性ポリヌクレオチド配列を含むA A V粒子、および親油性担体と接触させることにより、本発明のs i R N A分子を、細胞に導入する。他の実施形態において、s i R N A分子は、細胞において転写されるとs i R N A分子を産生する能力を有する核酸配列を含むA A V粒子を細胞にトランスフェクトするか、または感染させることにより細胞に導入される。一部の実施形態において、s i R N A分子は、細胞において転写されるとs i R N A分子を産生する能力を有する核酸配列を含むA A V粒子を細胞に注入することにより細胞に導入される。

【0771】

一部の実施形態において、トランスフェクション前に、本発明のs i R N A分子をコードする核酸配列を含むA A V粒子は細胞にトランスフェクトされてもよい。

他の実施形態において、本発明のs i R N A分子をコードする核酸配列を含むA A V粒子は、電気穿孔によって細胞に送達されてもよい（例えば米国特許出願公開第20050014264号明細書；この内容は本明細書において全体として参照により援用される）。

【0772】

本明細書に記載されるs i R N A分子をコードする核酸配列を含むA A V粒子を導入する他の方法としては、米国特許出願公開第20120264807号明細書（この内容は

本明細書において全体として参照により援用される)に記載されるとおりの光化学的インターナリゼーションを挙げることができる。

【0773】

一の実施形態において、本明細書に記載される製剤は、本明細書に記載される s i R N A 分子をコードする核酸配列を含む少なくとも 1 つの A A V 粒子を含有し得る。一実施形態において、s i R N A 分子は、1 つの標的部位にある目的の遺伝子を標的としてもよい。別の実施形態において、製剤は、各 A A V 粒子が、異なる標的部位において、目的の遺伝子を標的とする s i R N A 分子をコードする核酸配列を含む、複数の A A V 粒子を含む。目的の遺伝子は、2 個、3 個、4 個、5 個、または 5 個超の部位において、標的とすることができる。

10

【0774】

一実施形態において、限定はされないが、ヒト、イヌ、マウス、ラットまたはサルなど、任意の関連性のある種からの A A V 粒子が細胞に導入されてもよい。

一実施形態において、A A V 粒子は、治療しようとする疾患に関連性のある細胞に導入されてもよい。非限定的な例として、疾患は H D であり、かつ標的細胞はニューロンおよびアストロサイトである。別の非限定的な例として、疾患は H D であり、かつ標的細胞は中型有棘ニューロン、皮質ニューロンおよびアストロサイトである。

【0775】

一実施形態において、A A V 粒子を、治療される疾患と関連する細胞に導入してもよい。非限定的な例として、疾患は、A L S であり、標的細胞は、ニューロンおよびアストロサイトである。別の非限定的な例として、疾患は、A L S であり、標的細胞は、中型有棘ニューロン、皮質ニューロン、およびアストロサイトである。

20

【0776】

一実施形態において、A A V 粒子は、標的配列の内因性発現レベルが高い細胞に導入されてもよい。

別の実施形態において、A A V 粒子は、標的配列の内因性発現レベルが低い細胞に導入されてもよい。

【0777】

一実施形態において、細胞は、高い A A V 形質導入効率を有するものであってもよい。

対象への送達

30

本開示は更に、上述の A A V ポリヌクレオチドまたは A A V ゲノムのいずれかを哺乳類対象を含めた対象に送達する方法であって、前記 A A V ポリヌクレオチドまたは A A V ゲノムを対象に投与すること、または前記 A A V ポリヌクレオチドまたは A A V ゲノムを含む粒子を対象に投与すること、または医薬組成物を含めた記載される組成物のいずれかを対象に投与することを含む方法を提供する。

【0778】

本明細書に記載される A A V 粒子の医薬組成物は、バイオアベイラビリティ、治療ウィンドウおよび／または分布容積のうちの 1 つ以上によって特徴付けることができる。

I I I . 投与および用量設定

投与

40

本発明の s i R N A 分子をコードする核酸配列を含む A A V 粒子は、治療上有効な結果をもたらす任意の経路によって投与されてもよい。それらとしては、限定はされないが、臓器の実質の範囲内、例えば、限定はされないが、脳（例えば実質内）、線条体（線条体内）、経腸（腸の中）、胃腸、硬膜上、経口（口を介して）、経皮、硬膜外、大脳内（大脳の中）、脳室内（脳室の中）、軟膜下（軟膜の下）、皮膚上（皮膚への塗布）、皮内（皮膚それ自体の中）、皮下（皮膚の下）、鼻腔投与（鼻を通じて）、静脈内（静脈の中）、静脈内ボラス、静脈内点滴、動脈内（動脈の中）、筋肉内（筋肉の中）、心臓内（心臓の中）、骨内注入（骨髄の中）、髄腔内（脊柱管の中）、神経節内（神経節の中）、腹腔内（腹膜への注入または注射）、膀胱内注入、硝子体内（眼を通じて）、海綿体内注射（病的腔の中）、腔内（陰茎の基部の中）、腔内投与、子宮内、羊膜外投与、経皮（全身

50

分布のためのインタクトな皮膚を通じた拡散)、経粘膜(粘膜を通じた拡散)、経腔、インサフレーション(鼻から吸い込む)、舌下、唇下、浣腸、点眼薬(結膜上)、点耳薬で、耳介(耳内または耳を介して)、頬側(頬の方に向けて)、結膜、皮膚、歯(1本または複数の歯に対して)、電気浸透、子宮頸管内、副鼻腔内、気管内、体外、血液透析、浸潤、間質内、腹腔内、羊膜内、関節内、胆管内、気管支内、嚢内、軟骨内(軟骨の範囲内)、仙骨内(馬尾(*cauda equine*)の範囲内)、大槽内(大槽小脳延髄槽の範囲内)、角膜内(角膜の範囲内)、歯冠内、冠内(冠動脈の範囲内)、海綿体内(*intracorporus cavernosum*)(陰茎海綿体(*corpus cavernosa*)の可膨張性腔の範囲内)、椎間板内(椎間板の範囲内)、管内(腺管の範囲内)、十二指腸内(十二指腸の範囲内)、硬膜内(硬膜の範囲内または真下)、表皮内(表皮に対して)、食道内(食道に対して)、胃内(胃の範囲内)、歯肉内(歯肉の範囲内)、回腸内(小腸の遠位部分の範囲内)、病巣内(局所病変の範囲内、またはそこに直接導入される)、管腔内(管の管腔の範囲内)、リンパ内(リンパの範囲内)、髄内(骨の髄腔の範囲内)、髄膜内(髄膜の範囲内)、眼内(眼の範囲内)、卵巣内(卵巣の範囲内)、心膜内(心膜の範囲内)、胸膜内(胸膜の範囲内)、前立腺内(前立腺の範囲内)、肺内(肺、またはその気管支の範囲内)、洞内(鼻洞または眼窩周囲洞の範囲内)、脊髓内(脊柱の範囲内)、滑液嚢内(関節の滑膜腔の範囲内)、腱内(腱の範囲内)、精巣内(精巣の範囲内)、髄腔内(脳脊髄軸の任意のレベルにおける脳脊髄液の範囲内)、胸腔内(胸郭の範囲内)、細管内(臓器の細管の範囲内)、腫瘍内(腫瘍の範囲内)、鼓室内(中耳(*aurus media*)の範囲内)、血管内(1つまたは複数の血管の範囲内)、脳室内(脳室の範囲内)、イオントフォoresis(電流を用いるもので、可溶性塩のイオンが体の組織に移動する)、灌注(開放創または体腔を浸すまたはフラッシュする)、喉頭(喉頭に対して直接)、経鼻胃(鼻を通じて胃の中に)、密封包帯療法(局所経路投与、これは次に包帯で覆われ、包帯がその範囲を閉塞する)、眼(外眼部に対して)、中咽頭(口および咽頭に対して直接)、非経口、経皮、関節周囲、硬膜外、神経周囲、歯周、直腸、呼吸器(局所または全身作用のため経口的または鼻腔的に吸入することにより気道の範囲内に)、球後(橋の後ろまたは眼球の後ろ)、軟部組織、くも膜下、結膜下、粘膜下、局所、経胎盤(胎盤を通じてまたは越えて)、経気管(気管の壁を通じて)、経鼓室(鼓室を越えてまたは通じて)、尿管(尿管に対して)、尿道(尿道に対して)、腔、仙骨ブロック、診断的、神経ブロック、胆管灌流、心灌流、フォトフェレーシスまたは脊髄が挙げられる。

【0779】

具体的な実施形態において、本発明の*s i R N A*分子をコードする核酸配列を含む*A A V*粒子の組成物は、ベクターまたは*s i R N A*分子を中枢神経系に侵入させて、中型有棘および／または皮質ニューロンおよび／またはアストロサイトまで入り込ませることを促進する方法で投与されてもよい。

【0780】

一部の実施形態において、本発明の*s i R N A*分子をコードする核酸配列を含む*A A V*粒子は、筋肉内注射によって投与されてもよい。

一実施形態において、本発明の*s i R N A*分子をコードする核酸配列を含む*A A V*粒子は、実質内注射によって投与されてもよい。

【0781】

一実施形態において、本発明の*s i R N A*分子をコードする核酸配列を含む*A A V*粒子は、実質内注射および髄腔内注射によって投与されてもよい。

一実施形態において、本発明の*s i R N A*分子をコードする核酸配列を含む*A A V*粒子は、線条体内注射によって投与されてもよい。

【0782】

一実施形態において、本発明の*s i R N A*分子をコードする核酸配列を含む*A A V*粒子は、線条体内注射および本明細書に記載される別の投与経路によって投与されてもよい。

一部の実施形態において、本発明の*s i R N A*二重鎖を発現する*A A V*粒子は、末梢注

10

20

30

40

50

射（例えば静脈内）および／または鼻腔内送達によって対象に投与されてもよい。当該技術分野では、s i R N A二重鎖のA A V粒子の末梢投与が中枢神経系まで、例えばニューロンまで輸送され得ることが開示された（例えば、米国特許出願公開第2 0 1 0 0 2 4 0 7 3 9号明細書；および同第2 0 1 0 0 1 3 0 5 9 4号明細書；この各々の内容は全体として参照により本明細書に援用される）。

【0783】

他の実施形態において、本発明のs i R N A分子をコードする核酸配列を含む少なくとも1つのA A V粒子を含む組成物は、頭蓋内送達によって対象に投与されてもよい（例えば、米国特許第8, 1 1 9, 6 1 1号明細書を参照のこと；この内容は全体として参照により本明細書に援用される）。

10

【0784】

本発明のs i R N A分子をコードする核酸配列を含むA A V粒子は任意の好適な形態で、液体溶液または懸濁液、液体溶液または液体溶液中の懸濁液に好適な固体形態のいずれとして投与されてもよい。s i R N A二重鎖は、任意の適切なかつ薬学的に許容可能な賦形剤と共に製剤化されてもよい。

【0785】

本発明のs i R N A分子をコードする核酸配列を含むA A V粒子は、「治療上有効な」量、すなわち、疾患に関連する少なくとも1つの症状を軽減および／または予防するのに十分な、または対象の状態の改善をもたらすのに十分な量で投与されてもよい。

【0786】

一実施形態において、A A V粒子は、ハンチントン病（H D）の対象に関する機能および／または生存を改善するのに治療上有効な量でC N Sに投与されてもよい。非限定的な例として、ベクターは線条体への直接注入によって投与されてもよい。

20

【0787】

一実施形態において、A A V粒子は、s i R N A二重鎖またはd s R N Aが中型有棘ニューロン、皮質ニューロンおよび／またはアストロサイトを標的化するのに治療上有効な量で対象に（例えば、髄腔内投与によって対象のC N Sに）投与されてもよい。非限定的な例として、s i R N A二重鎖またはd s R N Aは、H T Tを標的とし、H T Tタンパク質またはm R N Aの発現を低減し得る。別の非限定的な例として、s i R N A二重鎖またはd s R N AはH T Tを標的とし、H T Tを抑制し、およびH T T媒介毒性を低減することができる。H T Tタンパク質および／またはm R N AならびにH T T媒介毒性の低減は、ほぼ炎症の亢進なしに達成され得る。

30

【0788】

一実施形態において、A A V粒子は、対象の機能低下（例えば、統一ハンチントン病評価尺度（U H D R S : u n i f i e d H u n t i n g t o n ' s d i s e a s e r a t i n g s c a l e）などの公知の判定方法を用いて決定される）を遅延させるのに治療上有効な量で対象に（例えば対象のC N Sに）投与されてもよい。非限定的な例として、ベクターは実質内注射によって投与されてもよい。

【0789】

一実施形態において、A A V粒子は、中型有棘ニューロン、皮質ニューロンおよび／またはアストロサイトを形質導入するのに治療上有効な量で大槽に投与されてもよい。非限定的な例として、ベクターは髄腔内投与されてもよい。

40

【0790】

一実施形態において、A A V粒子は、中型有棘ニューロン、皮質ニューロンおよび／またはアストロサイトを形質導入するのに治療上有効な量で髄腔内注入を用いて投与されてもよい。非限定的な例として、ベクターは髄腔内投与されてもよい。

【0791】

一実施形態において、A A V粒子は、中型有棘ニューロン、皮質ニューロンおよび／またはアストロサイトを形質導入するのに治療上有効な量で大槽に投与されてもよい。非限定的な例として、ベクターは実質内注射によって投与されてもよい。

50

【0792】

一実施形態において、調節性ポリヌクレオチドを含むAAV粒子が製剤化されてもよい。非限定的な例として、中枢神経系または中枢神経系の領域もしくは構成要素における最適な薬物分布が確保されるように、製剤のバリシティおよび／またはオスモル濃度が最適化されてもよい。

【0793】

一実施形態において、調節性ポリヌクレオチドを含むAAV粒子は単一経路投与によって対象に送達されてもよい。

一実施形態において、調節性ポリヌクレオチドを含むAAV粒子は多部位投与経路によって対象に送達されてもよい。対象には、調節性ポリヌクレオチドを含むAAV粒子が2、3、4、5または5より多い部位に投与されてもよい。

10

【0794】

一実施形態において、対象には、本明細書に記載される調節性ポリヌクレオチドを含むAAV粒子がボーラス注射を用いて投与されてもよい。

一実施形態において、対象には、本明細書に記載される調節性ポリヌクレオチドを含むAAV粒子が、数分間、数時間または数日間の時間をかけた徐放送達を用いて投与されてもよい。注入速度は、対象、分布、製剤または別の送達パラメータに応じて変更されてもよい。

【0795】

一実施形態において、本明細書に記載されるAAV粒子は被殻および尾状核注入によって投与される。非限定的な例として、二重注入は広範な線条体分布ならびに前頭および側頭皮質分布をもたらす。

20

【0796】

一実施形態において、AAV粒子は、一側性被殻注入によって投与されるAAV-DJ8である。非限定的な例として、投与されたAAV-DJ8の分布は、一側性被殻注入によって送達されたAAV1の分布と同様である。

【0797】

一実施形態において、本明細書に記載されるAAV粒子は、C1における髄腔内(IT)注入によって投与される。注入は、1、2、3、4、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15時間または15時間超であってもよい。

30

【0798】

一実施形態において、本明細書に記載されるAAV粒子を投与する対象の選択および／または用量、投与経路および／または投与ボリュームの有効性が、ウィルヒョウ・ロバン腔としても知られる血管周囲腔(PVS: perivascular spaces)のイメージングを用いて判定されてもよい。PVSは、細動脈および細静脈が脳実質を穿通することに伴いそれらの周囲に存在し、脳脊髄液(CSF)／間質液で満たされている。PVSは中脳、基底核、および半卵円中心によく見られる。理論によって拘束されることを望むものではないが、PVSは代謝産物の正常なクリアランスにおいて役割を果たし得ると共に、認知の悪化およびパーキンソン病を含めた幾つかの病態と関連付けられている。PVSは通常は正常なサイズであるが、幾つもの病態で拡大し得る。ポッター(Potter)ら(セレブロボスキュラー・ディジーズ(Cerebrovasc Dis.))、2015年1月、第39巻、第4号、p. 224~231; これらの内容は本明細書において全体として参照により援用される)は評価方法を開発し、そこでポッター(Potter)らはあらゆるPVSを調べ、基底核、半卵円中心および中脳PVSを評価した。この著者らは、マック(Mac)およびルリッチ(Lüllich)ら(ジャーナル・オブ・ニューロロジー・ニューロサージェリー・アンド・サイキアトリー(J Neurol Neurosurg Psychiatry))、2004年11月、第75巻、第11号、p. 1519~23; これらの内容は本明細書において全体として参照により援用される)によって使用されるPVSの頻度および範囲を使用しており、ポッター(Potter)らは基底核および半卵円中心PVSに5段階評点を与え: 0(無し)、1(1~

40

50

10)、2(11~20)、3(21~40)および4(>40)および中脳PVSに2段階評点を与えた:0(目視不能)または1(目視可能)。ポッター(Potter)らによる評価方式のユーザガイドは、www.sbirr.ac.uk/documents/epvs-rating-scale-user-guide.pdfを参照することができる。

【0799】

用量設定

本発明の医薬組成物は、疾患および/または障害を軽減、予防および/または治療するのに有効な任意の量を用いて対象に投与されてもよい。必要となる正確な量は、対象の種類、年齢、および全身状態、疾患の重症度、詳細な組成物、その投与様式、その活性様式などに応じて対象毎に異なることになる。

【0800】

本発明の組成物は典型的には、投与の簡便性および投薬量の均一性のため、単位剤形で製剤化される。しかしながら、本発明の組成物の1日の総使用量は主治医が妥当な医学的判断の範囲内で決定し得ることは理解されるであろう。任意の特定の患者に対する具体的な治療有効性は、治療下の障害および障害の重症度;用いられる具体的な化合物の活性;用いられる具体的な組成物;患者の年齢、体重、全般的な健康、性別および食事;投与時間、投与経路、および用いられるsiRNA二重鎖の排泄速度;治療継続期間;用いられる具体的な化合物と併用してまたは同時に使用される薬物;および医学分野で周知の同様の要因を含めた種々の要因に依存することになる。

一実施形態において、対象の年齢および性別を用いて本発明の組成物の用量が決定されてもよい。非限定的な例として、年齢が高い対象ほど、年齢が低い対象と比較してより高用量の(例えば、5~10%、10~20%、15~30%、20~50%、25~50%または少なくとも1%、2%、3%、4%、5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%または90%超高い)組成物の投与を受け得る。別の非限定的な例として、年齢が低い対象ほど、年齢が高い対象と比較してより高用量の(例えば、5~10%、10~20%、15~30%、20~50%、25~50%または少なくとも1%、2%、3%、4%、5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%または90%超高い)組成物の投与を受け得る。更に別の非限定的な例として、女性の対象は男性対象と比較してより高用量の(例えば、5~10%、10~20%、15~30%、20~50%、25~50%または少なくとも1%、2%、3%、4%、5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%または90%超高い)組成物の投与を受け得る。更に別の非限定的な例として、男性の対象は女性の対象と比較してより高用量の(例えば、5~10%、10~20%、15~30%、20~50%、25~50%または少なくとも1%、2%、3%、4%、5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%または90%超高い)組成物の投与を受け得る。

【0801】

一部の具体的な実施形態において、本発明のsiRNA二重鎖を送達するためのAAV粒子の用量は、疾患の状態、対象および治療戦略に応じて適合され得る。

一実施形態において、本発明に係る組成物の細胞への送達は、 $[VG/時間 = mL/時間 \times VG/mL]$ (式中、VGはウイルスゲノムであり、VG/mLは組成物濃度であり、およびmL/時間は持続送達速度である)によって定義される送達速度を含む。

【0802】

一実施形態において、本発明に係る組成物の細胞への送達は、対象当たり約 1×10^6 VG~約 1×10^{16} VGの総濃度を含み得る。一部の実施形態において、送達は、約 1×10^6 、 2×10^6 、 3×10^6 、 4×10^6 、 5×10^6 、 6×10^6 、 7×10^6 、 8×10^6 、 9×10^6 、 1×10^7 、 2×10^7 、 3×10^7 、 4×10^7 、 5×10^7 、 6×10^7 、 7×10^7 、 8×10^7 、 9×10^7 、 1×10^8 、 2×10^8 、 3×10^8 、 4×10^8 、 5×10^8 、 6×10^8 、 7×10^8 、 8×10^8 、 9×10^8

30

40

50

$\times 10^{12}$ 、1. 2×10^{12} 、1. 3×10^{12} 、1. 4×10^{12} 、1. 5×10^{12} 、1. 6×10^{12} 、1. 7×10^{12} 、1. 8×10^{12} 、1. 9×10^{12} 、 2×10^{12} 、2. 1×10^{12} 、2. 2×10^{12} 、2. 3×10^{12} 、2. 4×10^{12} 、2. 5×10^{12} 、2. 6×10^{12} 、2. 7×10^{12} 、2. 8×10^{12} 、2. 9×10^{12} 、3. 1×10^{12} 、3. 2×10^{12} 、3. 3×10^{12} 、3. 4×10^{12} 、3. 5×10^{12} 、3. 6×10^{12} 、3. 7×10^{12} 、3. 8×10^{12} 、3. 9×10^{12} 、4. 1×10^{12} 、4. 2×10^{12} 、4. 3×10^{12} 、4. 4×10^{12} 、4. 5×10^{12} 、4. 6×10^{12} 、4. 7×10^{12} 、4. 8×10^{12} 、4. 9×10^{12} 、 5×10^{12} 、 6×10^{12} 、6. 1×10^{12} 、6. 2×10^{12} 、6. 3×10^{12} 、6. 4×10^{12} 、6. 5×10^{12} 、6. 6×10^{12} 、6. 7×10^{12} 、6. 8×10^{12} 、6. 9×10^{12} 、 7×10^{12} 、 8×10^{12} 、8. 1×10^{12} 、8. 2×10^{12} 、8. 3×10^{12} 、8. 4×10^{12} 、8. 5×10^{12} 、8. 6×10^{12} 、8. 7×10^{12} 、8. 8×10^{12} 、8. 9×10^{12} 、 9×10^{12} 、 1×10^{13} 、1. 1×10^{13} 、1. 2×10^{13} 、1. 3×10^{13} 、1. 4×10^{13} 、1. 5×10^{13} 、1. 6×10^{13} 、1. 7×10^{13} 、1. 8×10^{13} 、1. 9×10^{13} 、 2×10^{13} 、 3×10^{13} 、 4×10^{13} 、 5×10^{13} 、 6×10^{13} 、6. 7×10^{13} 、 7×10^{13} 、 8×10^{13} 、 9×10^{13} 、 1×10^{14} 、 2×10^{14} 、 3×10^{14} 、 4×10^{14} 、 5×10^{14} 、 6×10^{14} 、 7×10^{14} 、 8×10^{14} 、 9×10^{14} 、 1×10^{15} 、 2×10^{15} 、 3×10^{15} 、 4×10^{15} 、 5×10^{15} 、 6×10^{15} 、 7×10^{15} 、 8×10^{15} 、 9×10^{15} 、または 1×10^{16} VG/kg の組成物濃度を含み得る。

【0804】

一実施形態において、1用量当たり約 $10^5 \sim 10^6$ ウイルスゲノム（単位）が投与されてもよい。

一実施形態において、本発明に係る組成物の細胞への送達は、約 1×10^6 VG/mL ～ 約 1×10^{16} VG/mL の総濃度を含み得る。一部の実施形態において、送達は、約 1×10^6 、 2×10^6 、 3×10^6 、 4×10^6 、 5×10^6 、 6×10^6 、 7×10^6 、 8×10^6 、 9×10^6 、 1×10^7 、 2×10^7 、 3×10^7 、 4×10^7 、 5×10^7 、 6×10^7 、 7×10^7 、 8×10^7 、 9×10^7 、 1×10^8 、 2×10^8 、 3×10^8 、 4×10^8 、 5×10^8 、 6×10^8 、 7×10^8 、 8×10^8 、 9×10^8 、 1×10^9 、 2×10^9 、 3×10^9 、 4×10^9 、 5×10^9 、 6×10^9 、 7×10^9 、 8×10^9 、 9×10^9 、 1×10^{10} 、 2×10^{10} 、 3×10^{10} 、 4×10^{10} 、 5×10^{10} 、 6×10^{10} 、 7×10^{10} 、 8×10^{10} 、 9×10^{10} 、 1×10^{11} 、1. 1×10^{11} 、1. 2×10^{11} 、1. 3×10^{11} 、1. 4×10^{11} 、1. 5×10^{11} 、1. 6×10^{11} 、1. 7×10^{11} 、1. 8×10^{11} 、1. 9×10^{11} 、 2×10^{11} 、 3×10^{11} 、 4×10^{11} 、 5×10^{11} 、 6×10^{11} 、 7×10^{11} 、 8×10^{11} 、 9×10^{11} 、 1×10^{12} 、1. 1×10^{12} 、1. 2×10^{12} 、1. 3×10^{12} 、1. 4×10^{12} 、1. 5×10^{12} 、1. 6×10^{12} 、1. 7×10^{12} 、1. 8×10^{12} 、1. 9×10^{12} 、 2×10^{12} 、 2.1×10^{12} 、 2.2×10^{12} 、 2.3×10^{12} 、 2.4×10^{12} 、 2.5×10^{12} 、 2.6×10^{12} 、 2.7×10^{12} 、 2.8×10^{12} 、 2.9×10^{12} 、 3×10^{12} 、3. 1×10^{12} 、3. 2×10^{12} 、3. 3×10^{12} 、3. 4×10^{12} 、3. 5×10^{12} 、3. 6×10^{12} 、3. 7×10^{12} 、3. 8×10^{12} 、3. 9×10^{12} 、4. 1×10^{12} 、4. 2×10^{12} 、4. 3×10^{12} 、4. 4×10^{12} 、4. 5×10^{12} 、4. 6×10^{12} 、4. 7×10^{12} 、4. 8×10^{12} 、4. 9×10^{12} 、 5×10^{12} 、 6×10^{12} 、6. 1×10^{12} 、6. 2×10^{12} 、6. 3×10^{12} 、6. 4×10^{12} 、6. 5×10^{12} 、6. 6×10^{12} 、6. 7×10^{12} 、6. 8×10^{12} 、6. 9×10^{12} 、 7×10^{12} 、 8×10^{12} 、 9×10^{12} 、 1×10^{13} 、1. 1×10^{13} 、1. 2×10^{13} 、1. 3×10^{13} 、

1×10^{13} 、 1.4×10^{13} 、 1.5×10^{13} 、 1.6×10^{13} 、 1.7×10^{13} 、 1.8×10^{13} 、 1.9×10^{13} 、 2×10^{13} 、 3×10^{13} 、 4×10^{13} 、 5×10^{13} 、 6×10^{13} 、 6.7×10^{13} 、 7×10^{13} 、 8×10^{13} 、 9×10^{13} 、 1×10^{14} 、 2×10^{14} 、 3×10^{14} 、 4×10^{14} 、 5×10^{14} 、 6×10^{14} 、 7×10^{14} 、 8×10^{14} 、 9×10^{14} 、 1×10^{15} 、 2×10^{15} 、 3×10^{15} 、 4×10^{15} 、 5×10^{15} 、 6×10^{15} 、 7×10^{15} 、 8×10^{15} 、 9×10^{15} 、または 1×10^{16} V G / m L の組成物濃度を含み得る。

【0805】

特定の実施形態において、所望の siRNA 二重鎖投薬量は、複数回の投与（例えば、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14回、またはそれ以上の投与）を用いて送達されてもよい。複数回の投与が利用される場合、本明細書に記載されるような分割用量投与レジメンが用いられてもよい。本明細書で使用されるとき、「分割用量」は、単一単位用量または総1日用量を2つ以上の用量に分割するもの、例えば単一単位用量の2回以上の投与である。本明細書で使用されるとき、「単一単位用量」は、1用量 / 1回 / 単一の経路 / 単一の接触点、すなわち単一の投与イベントで投与される任意の調節性ポリヌクレオチド治療薬の用量である。本明細書で使用されるとき、「総1日用量」は、24時間に与えられるまたは処方される量である。これは単一単位用量として投与されてもよい。一実施形態において、本発明の調節性ポリヌクレオチドを含むAAV粒子は分割用量で対象に投与される。それらの用量は、緩衝液のみに、または本明細書に記載される製剤に製剤化されてもよい。

【0806】

一実施形態において、本明細書に記載される組成物の用量、濃度および / または容積は、投与後の皮質および皮質下分布への尾状核または被殻の寄与に応じて調整されてもよい。投与は、脳室内、被殻内、視床内、実質内、軟膜下、および / または髄腔内投与であってもよい。

【0807】

一実施形態において、本明細書に記載される組成物の用量、濃度および / または容積は、脳室内、被殻内、視床内、実質内、軟膜下、および / または髄腔内送達による投与後の皮質および軸索分布に応じて調整されてもよい。

【0808】

I V. 本発明の組成物の方法および使用

ハンチントン病 (HD)

ハンチントン病 (HD) とは、進行性の舞踏運動、精神神経機能不全、および認知機能不全により特徴付けられる、単一遺伝子性の致死性神経変性疾患である。ハンチントン病は、HTTタンパク質のN末端において、ポリグルタミンをコードする、ハンチンチン (HTT) 遺伝子内の常染色体優性トリプレット (CAG) リピートの伸長によって引き起こされることが公知である。このリピート伸長がHTTの毒性の機能獲得をもたらし、最終的に線条体神経変性につながり、それが広汎性脳萎縮へと進行する。HDでは線条体の中型有棘ニューロンが特に脆弱であるものと見られ、最大95%が消失する一方、介在ニューロンはほぼ保たれている。

【0809】

ハンチントン病はクオリティ・オブ・ライフに深刻な影響を及ぼす。症状は典型的には35~44歳で現れ、発症後の余命は10~25年である。HD集団のごく一部では（約6%）、21歳より前に無動・筋強直症候群の出現を伴い疾患発症が起こる。これらの症例は遅発型と比べて進行が速い傾向があり、若年性またはウェストファール変異型HDに分類されている。現在、米国および欧州で約35,000~70,000人の患者がHDに罹患していると推定される。現在、HDの治療には対症的軽減および支持療法のみが利用可能であり、治療法は未だ同定されていない。最終的に、HD罹患者は、肺炎、心不全またはその他の、転倒による身体的外傷などの合併症に陥る。

【0810】

理論によって拘束されることを望むものではないが、野生型H T Tタンパク質の機能は、他のタンパク質の複合体を協調させる足場として働き得る。H T Tは極めて巨大なタンパク質であり（67エクソン、3144アミノ酸、約350kDa）、広範な翻訳後修飾を受けると共に、特にそのN末端（偶然にもHDにおいてリピートを保因する領域）に、他のタンパク質との相互作用部位を多数有する。H T Tは主に細胞質に局在するが、核にシャトル輸送されて、そこで遺伝子転写を調節し得ることが示されている。また、H T Tは小胞輸送およびRNAトラフィッキングの調節において役割を担うことも示唆されている。

【0811】

非限定的な例として、H T T核酸配列は配列番号1163（NCBI NM_002111.7）である。 10

CAG伸長H T Tが正常なH T T機能を破壊して神経毒性をもたらす機構は、当初ハプロ不全疾患であると考えられたが、この理論は、人におけるH T T遺伝子の末端欠失がHDの発症につながらなかった時点で反証され、H T Tタンパク質の完全な発現は生存にとって重要でないことが示唆された。しかしながら、マウスにおけるH T Tの条件的ノックアウトが神経変性につながったことから、ある量のH T Tが細胞生存に必要であることが示された。ハンチンチンタンパク質はあらゆる細胞に発現し、但しその濃度は脳で最も高く、そこでは神経核に異常なH T Tの凝集体が多量に見られる。HD患者の脳ではH T Tが凝集して異常な核封入体になる。現在では、関連するタンパク質中間体（すなわち可溶性種および毒性N末端断片）に加えて、このミスフォールディングおよび凝集過程が神経毒性をもたらすと考えられている。実際、HDは、9つの更なるヒト遺伝障害（いずれも、CAG伸長遺伝子および結果として生じるポリグルタミン（ポリQ）タンパク質産物と、続く神経細胞内凝集体の形成によって特徴付けられる）のファミリーに属する。興味深いことに、これらの疾患の全てにおいて伸長の長さが発症年齢および疾患進行速度の両方と相関し、伸長が長いほど高い疾患重症度に結び付く。 20

【0812】

CAG伸長H T Tおよび結果として生じるその凝集体の神経毒性の根底にある分子機構に関する仮説としては、広範囲にわたっているものの、カスパーゼ活性化、転写経路の調節異常、活性酸素種の産生増加、ミトコンドリア機能不全、軸索輸送の破壊および／または細胞内のタンパク質分解系の阻害が挙げられる。CAG伸長H T Tは毒性の機能獲得を有するのみならず、他の細胞タンパク質および過程の正常機能に干渉することによりドミナントネガティブ効果もまた及ぼし得る。H T Tはまた、非細胞性自律神経毒性にも関係があり、それによりH T Tをホストする細胞がH T Tを周囲の他のニューロンに広げるとされている。 30

【0813】

一実施形態において、対象は、H T T遺伝子が41回以上のCAGリピート（例えば、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90回または90回超のCAGリピート）を有する完全浸透HDを有する。 40

【0814】

一実施形態において、対象は、H T T遺伝子が36～40回のCAGリピート（例えば、36、37、38、39および40回のCAGリピート）を有する不完全浸透を有する。

【0815】

HDの症状は、限定はされないが、舞踏運動、ジストニア、動作緩慢、協調運動障害、易興奮性および抑鬱、問題解決における困難、人がその通常の日常生活をこなす能力の低下、発話の減少、ならびに嚥下困難など、CNS変性に帰せられる特徴、ならびに限定はされないが、体重減少、筋消耗、代謝機能不全、および内分泌異常など、CNS変性に帰 50

せられない特徴を含み得る。

【0816】

本明細書に記載される調節性ポリヌクレオチドおよびAAV粒子と共に使用され得る、ハンチントン病の研究用モデルシステムは、限定はされないが、細胞モデル（例えば、初代ニューロンおよび人工多能性幹細胞）、無脊椎動物モデル（例えば、ショウジョウバエ属（*Drosophila*）またはカエノラブディティス・エレガンス（*Caenorhabditis elegans*））、マウスモデル（例えば、YAC128マウスモデル；R6／2マウスモデル；BAC、YACおよびノックインマウスモデル）、ラットモデル（例えば、BAC）および大型哺乳類モデル（例えば、ブタ、ヒツジ、またはサル）を含む。

10

【0817】

HD動物モデルにおける研究によれば、例えば調節発現モデルにおける遺伝子遮断後に、表現型の逆転が実現可能であることが示唆されている。94ポリグルタミンリピートHTTタンパク質の発現の遮断が可能なマウスモデルでは、臨床的症候群が好転したのみならず、細胞内凝集体もまた消散した。更に、HTTのサイレンシングを試験した動物モデルにより有望な結果が実証されており、この療法は良好に忍容されたと共に、潜在的な治療利益を示した。

【0818】

かかるsiRNA媒介性HTT発現阻害はHDの治療に用いられ得る。本発明によれば、患者のHDを治療および／または改善する方法は、細胞内への本発明のsiRNA分子をコードする核酸配列を含むAAV粒子の有効量を患者に投与することを含む。かかる核酸配列を含むAAV粒子の投与は、HTT遺伝子発現の阻害／サイレンシングを生じさせるsiRNA分子をコードすることになる。

20

【0819】

一実施形態において、本明細書に記載されるAAV粒子は、それを必要とする対象におけるHTTの量を低減するのに使用することができ、これにより、本明細書に記載される治療利益をもたらす。

【0820】

特定の態様において、HDの症状としては、限定はされないが、無関心または自発性の欠如、不機嫌、易怒、激越または不安、自己管理不足、判断力低下、強情、脱抑制、抑鬱、自殺念慮、多幸症、攻撃性、妄想、強迫、性欲亢進、幻覚、発話能力低下、不明瞭発語、嚥下困難、体重減少、実行機能（例えば、整理する、計画する、調べるまたは代替案を取る、および新規運動技能の獲得の遅れ）を損なう認知機能障害、不安定歩行および不随意運動（舞蹈運動）など、行動上の困難および症状が挙げられる。他の態様において、本発明の組成物は脳および脊髄の一方または両方に適用される。一実施形態において、本明細書に記載されるHDの症状のいずれかを治療することにより、対象の生存が延びる。

30

【0821】

本発明には、治療を必要としている対象のHTTタンパク質に関連するハンチントン病（HD）を治療する方法が開示される。この方法は、任意選択で、本発明のsiRNA分子をコードする核酸配列を含むAAV粒子を少なくとも含む組成物の治療有効量を対象に投与することを含む。非限定的な例として、このsiRNA分子は対象においてHTT遺伝子発現をサイレンシングし、HTTタンパク質産生を阻害し、およびHDの1つ以上の症状を軽減することができ、それによりHDが治療的に処置される。

40

【0822】

ハンチントン病の治療方法

本発明は、HTT遺伝子を標的とするsiRNA分子をコードする調節性ポリヌクレオチドを含むAAV粒子ならびにその設計および製造方法を提供する。単一の実施可能性理論によって拘束されることを望むものではないが、本発明は、HTT突然変異および／または野生型HTT遺伝子発現を含め、HTT発現に干渉するsiRNAを含めた調節性ポリヌクレオチドを提供する。特に、本発明は、本発明のsiRNA分子をコードする調節

50

性ポリヌクレオチド配列を含むアデノ随伴ウイルス（AAV）ウイルスゲノムなどのウイルスゲノムを利用する。本発明の siRNA 分子をコードする調節性ポリヌクレオチドを含む AAV 粒子は、線条体の中型有棘ニューロンおよび皮質ニューロンなど、目的のニューロンへの活性薬剤の送達を増加させ得る。HTT 遺伝子を標的とする siRNA 二重鎖またはコード化 dsRNA は、細胞内部の HTT 遺伝子発現（例えば mRNA レベル）を有意に阻害する；したがって、タンパク質の凝集および封入体の形成、フリーラジカルの増加、ミトコンドリア機能不全および RNA 代謝など、細胞内部の HTT 発現によって引き起こされるストレスを低減することが可能であり得る。

【0823】

本発明には、本発明の siRNA 分子をコードする調節性ポリヌクレオチド配列を含む AAV 粒子を細胞に導入する方法であって、標的 HTT mRNA の分解が起こるのに十分な量で AAV 粒子のいずれかを前記細胞に導入し、それにより細胞において標的特異的 RNAi を活性化させることを含む方法が提供される。一部の態様において、細胞は、幹細胞、中型有棘または皮質ニューロンなどのニューロン、筋細胞およびアストロサイトなどのグリア細胞であってもよい。

【0824】

一部の実施形態において、本発明は、本明細書で記載されるプラスミドまたは AAV 粒子の治療有効量を、それを必要とする対象に投与することにより、ハンチントン病（HD）を治療または改善するための方法を提供する。

【0825】

一部の実施形態において、本発明の siRNA 分子をコードする調節性ポリヌクレオチドを含む AAV 粒子を使用して、HD を治療および／または改善してもよい。

一実施形態において、本発明の siRNA 分子をコードする調節性ポリヌクレオチドを含む AAV 粒子を使用して、HD の対象の認知および／または運動機能低下を軽減してもよく、この場合、減退の量は、限定はされないが、統一ハンチントン病評価尺度（UHDRS: Unified Huntington's Disease Rating Scale）およびサブスコア、ならびに認知機能試験どの標準的な判定方式により決定される。

【0826】

一実施形態において、本発明の siRNA 分子をコードする調節性ポリヌクレオチドを含む AAV 粒子を使用して、限定はされないが、全機能的能力（TFC: Total Functional Capacity）尺度などの標準的な判定方式により測定される、機能的能力および日常生活活動の減退を軽減してもよい。

【0827】

一部の実施形態において、本発明は、治療を必要とする対象における、HTT 遺伝子および／または HTT タンパク質と関連するハンチントン病を治療または改善するための方法であって、HTT 遺伝子を標的とし、HTT 遺伝子の発現および HTT タンパク質の産生を阻害し、対象における HD の症状を改善する、少なくとも 1 つの siRNA 二重鎖をコードする調節性ポリヌクレオチドの薬学的に有効な量を含む AAV 粒子を対象に投与することを含む方法を提供する。

【0828】

一実施形態において、本発明の AAV 粒子を、治療を必要とする対象における、ハンチントン病を治療するための方法として使用してもよい。治療を必要としている対象を定義するための当該技術分野において公知の任意の方法を使用して前記対象を同定してもよい。対象はハンチントン病の臨床診断を有してもよく、または症状が出る前であってもよい。限定はされないが、認知機能評価および／または神経学的もしくは神経精神医学的検査、運動テスト、官能テスト、精神医学的評価、脳イメージング、家族歴および／または遺伝子検査を含め、HD を診断する任意の公知の方法を利用することができる。

【0829】

一実施形態において、HD 対象の選択は、ハンチントン病の予後指標、またはその派生

10

20

30

40

50

指標を使用して決定される（ロング・JD（Long JD）ら著、ムーブメント・ディスオーダーズ（Movement Disorders）、2017年、第32巻、第2号、p. 256～263、この内容は本明細書において全体として参照により援用される）。この予後指標は4つの成分、（1）統一ハンチントン病評価尺度（UHDRS）からの総合運動スコア（TMS：total motor score）、（2）符号・数字モダリティ検査（SDMT：Symbol Digit Modality Test）、（3）ベースライン年齢、および（4）シトシンーアデニンーグアニン（CAG）伸長を使用して運動診断の確率を予測する。

【0830】

一実施形態において、ハンチントン病の予後指標は、以下の式： $P I_{H D} = 51 \times T M S + (-34) \times S D M T + 7 \times \text{年齢} \times (C A G - 34)$ [式中、 $P I_{H D}$ の値が大きいほど症状の診断または発症リスクが高いことを意味する] によって計算される。

10

【0831】

別の実施形態において、ハンチントン病の予後指標は、50%の10年生存率のコンテキストで解釈されるべき標準偏差単位を求める以下の正規化した式によって計算される： $P I N_{H D} = (P I_{H D} - 883) / 1044$ [式中、 $P I N_{H D} < 0$ は50%より高い10年生存率を意味し、および $P I N_{H D} > 0$ は50%未満の10年生存率を示唆する]。

【0832】

一実施形態において、この予後指標を使用して、HDの症状を数年以内に発症するであろうが、しかし臨床的には未だ診断可能な症状を有しない対象が同定されてもよい。更に、これらの無症候患者は、無症候期の間に本発明のAAVベクターおよび組成物を使用した治療に選択され、それを受けてもよい。

20

【0833】

一実施形態において、AAV粒子は、バイオマーカ評価を受けた対象に投与されてもよい。不顕性期および進行初期のHDに関する潜在的な血中バイオマーカとしては、限定はされないが、8-OHdG酸化的ストレスマーカ、代謝マーカ（例えば、クレアチンキナーゼ、分枝鎖アミノ酸）、コレステロール代謝産物（例えば、24-OHコレステロール）、免疫および炎症タンパク質（例えば、クラスタリン、補体成分、インターロイキン6および8）、遺伝子発現変化（例えば、トランスクリプトームマーカ）、内分泌マーカ（例えば、コルチゾール、グレリンおよびレプチン）、BDNF、アデノシン2A受容体が挙げられる。不顕性期および進行初期のHDに関する脳イメージング用の潜在的なバイオマーカとしては、限定はされないが、線条体容積、皮質下白質容積、皮質厚、全脳および脳室容積、機能イメージング（例えば、機能MRI）、PET（例えば、フルオロデオキシグルコースによる）、および磁気共鳴スペクトロスコピー（例えば、乳酸塩）が挙げられる。不顕性期および進行初期のHDに関する定量的臨床ツール用の潜在的なバイオマーカとしては、限定はされないが、定量的運動評価、運動生理機能評価（例えば、経頭蓋磁気刺激）、および定量的眼球運動測定が挙げられる。定量的臨床バイオマーカ評価の非限定的な例としては、舌力の変動、メトロノームに合わせた手拍子、握力、眼球運動評価および認知機能テストが挙げられる。多施設観察研究の非限定的な例としては、PREDC1-HDおよびTRACK-HDが挙げられる。対象はHDの症状を有してもよく、HDと診断されてもよく、またはHDに関して無症候であってもよい。

30

40

【0834】

一実施形態において、AAV粒子は、ニューロイメージングを用いたバイオマーカ評価を受けた対象に投与されてもよい。対象はHDの症状を有してもよく、HDと診断されてもよく、またはHDに関して無症候であってもよい。

【0835】

一実施形態において、AAV粒子は、HDに関して無症候の対象に投与されてもよい。対象は無症候であり得るが、HDのリスクがあるかどうかを判断するための予測的遺伝子検査またはバイオマーカ評価を受けたことがあってもよく、および／または対象は、HD

50

と診断された家系員（例えば、母親、父親、兄弟、姉妹、伯叔母、伯叔父、祖父母）を有してもよい。

【0836】

一実施形態において、AAV粒子は、HDの初期段階にある対象に投与されてもよい。初期段階では、対象は、協調の僅かな変化、一部の不随意運動（舞踏運動）、易怒および抑鬱などの気分の変化、問題解決における困難、人がその通常の日常生活をこなす能力の低下を有する。

【0837】

一実施形態において、AAV粒子は、HDの中期段階にある対象に投与されてもよい。中期段階では、対象は運動障害の増加、発話減少、嚥下困難を有し、通常の活動をこなすのが難しくなり得る。この段階では、対象は随意運動の制御を維持するため作業療法士および理学療法士の助けを借り得ると共に、対象は言語聴覚士を有し得る。

【0838】

一実施形態において、AAV粒子は、HDの後期段階にある対象に投与されてもよい。後期段階では、対象はもはや歩行できず、発話不能であるため、HDの対象はケアをほぼ完全にまたは完全に他者に頼る。対象は概してなおも言語を理解することができ、家族および友人を認識するが、窒息が大きな懸念である。

【0839】

一実施形態において、AAV粒子を使用して、HDの発症が20歳未満、早ければ2歳である若年性型のHDを有する対象が治療されてもよい。

一実施形態において、AAV粒子を使用して、HTT遺伝子が41回以上のCAGリピート（例えば、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90回または90回超のCAGリピート）を有する完全浸透HDを有するHD対象が治療されてもよい。

【0840】

一実施形態において、AAV粒子を使用して、HTT遺伝子が36～40回のCAGリピート（例えば、36、37、38、39および40回のCAGリピート）を有する不完全浸透を有するHD対象が治療されてもよい。

【0841】

一部の実施形態において、本発明のsiRNA分子をコードする調節性ポリヌクレオチドを含むAAV粒子を含む組成物は、対象の中樞神経系に投与される。他の実施形態において、本発明のsiRNA分子をコードする調節性ポリヌクレオチドを含むAAV粒子を含む組成物は、対象の組織（例えば対象の脳）に投与される。

【0842】

一実施形態において、本発明のsiRNA分子をコードする調節性ポリヌクレオチドを含むAAV粒子を、限定はされないが、中型有棘ニューロンまたは皮質ニューロンを含むニューロン；オリゴデンドロサイト、アストロサイト、およびミクログリアを含むグリア細胞；ならびに／またはT細胞など、ニューロンを取り囲む他の細胞を含む、特定のタイプの標的細胞に送達してもよい。

【0843】

一実施形態において、本発明のsiRNA分子をコードする調節性ポリヌクレオチドを含むAAV粒子を、線条体内のニューロンおよび／または皮質のニューロンに送達してもよい。

【0844】

一部の実施形態において、HD治療用の本発明の組成物は、必要としている対象に静脈内、筋肉内、皮下、腹腔内、実質内、軟膜下、髄腔内および／または脳室内投与され、siRNA分子またはsiRNA分子を含むベクターが血液脳関門および血液脊髄関門の一

10

20

30

40

50

方または両方を通して、または脳および／または脊髄に直接到達することが可能となる。一部の態様において、この方法は、本発明の s i R N A 分子の核酸配列をコードする A A V 粒子を含む組成物の治療有効量を（例えば、輸液ポンプおよび／または送達足場を使用して）対象の中枢神経系（C N S）に直接投与（例えば、実質内投与、軟膜下投与、脳室内投与および／または髄腔内投与）することを含む。ベクターは対象において H T T 遺伝子発現をサイレンシングまたは抑制し、および／または H D の 1 つ以上の症状を軽減するために使用されてもよく、それにより H D が治療的に処置される。

【0845】

一の実施形態において、s i R N A 分子、またはかかる s i R N A 分子を含む A A V 粒子は、対象の中枢神経系に直接、例えば対象の白質への注入によって導入されてもよい。理論によって拘束されることを望むものではないが、白質への直接注入による分布は、ハンチントン病の対象において損なわれていることもある軸索輸送機構と独立している可能性があり、これは白質注入が一層の A A V 粒子輸送を実現し得ることを意味する。

【0846】

一実施形態において、本発明の s i R N A 分子をコードする調節性ポリヌクレオチドを含む A A V 粒子を含む組成物は、実質内注射によって対象の中枢神経系に投与される。

一実施形態において、本発明の s i R N A 分子をコードする調節性ポリヌクレオチドを含む A A V 粒子組成物は、実質内注射および髄腔内注射によって対象の中枢神経系に投与される。

【0847】

一実施形態において、本発明の s i R N A 分子をコードする調節性ポリヌクレオチドを含む A A V 粒子組成物は、実質内注射および脳室内注射によって対象の中枢神経系に投与される。

【0848】

一の実施形態において、本発明の H D 治療用組成物は、実質内投与によって必要としている対象に投与される。

一の実施形態において、本発明の s i R N A 分子をコードする調節性ポリヌクレオチドを含む A A V 粒子組成物は、例えば、被殻への注入により、対象の中枢神経系へと、直接導入してもよい。

【0849】

一の実施形態において、本発明の s i R N A 分子をコードする調節性ポリヌクレオチドを含む A A V 粒子組成物は、対象の中枢神経系に直接、例えば対象の視床への注入によって導入されてもよい。理論によって拘束されることを望むものではないが、視床はハンチントン病の対象において比較的保たれている脳領域であり、これは A A V 粒子の軸索輸送を通じたより広範な皮質形質導入が可能となり得ることを意味する。

【0850】

一の実施形態において、本発明の s i R N A 分子をコードする調節性ポリヌクレオチドを含む A A V 粒子組成物を、例えば、静脈内投与により、対象の中枢神経系へと、間接的に導入してもよい。

H T T の発現を調節する

一実施形態において、A A V 粒子の、対象への投与は、対象における H T T の発現を低下させ、H T T の発現の低減は、対象における H D の影響を低下させるであろう。

【0851】

一実施形態において、本明細書で記載される方法によりアッセイされる場合などにおいて、コード化 d s R N A が発現し、H T T タンパク質を発現する細胞と接触すると、H T T タンパク質の発現を、少なくとも 10 %、少なくとも 20 %、少なくとも 25 %、少なくとも 30 %、少なくとも 35 %、もしくは少なくとも 40 %、またはこれを超えて阻害する。

【0852】

一実施形態において、本発明の s i R N A をコードする調節性ポリヌクレオチド配列を

含む A A V 粒子の、対象への投与は、対象における H T T（例えば、突然変異体 H T T、野生型 H T T および／または突然変異体および野生型の H T T）を低減し得る。一実施形態において、A A V 粒子を対象に投与すると、対象の野生型 H T T が減少し得る。更に別の実施形態において、A A V 粒子を対象に投与すると、対象の突然変異 H T T および野生型 H T T の両方が減少し得る。突然変異および／または野生型 H T T は、限定はされないが、対象の C N S、C N S の一領域、または C N S の特定の細胞など、対象において約 20 %、30 %、40 %、50 %、60 %、70 %、80 %、85 %、90 %、95 % および 100 %、または少なくとも 20 ~ 30 %、20 ~ 40 %、20 ~ 50 %、20 ~ 60 %、20 ~ 70 %、20 ~ 80 %、20 ~ 90 %、20 ~ 95 %、20 ~ 100 %、30 ~ 40 %、30 ~ 50 %、30 ~ 60 %、30 ~ 70 %、30 ~ 80 %、30 ~ 90 %、30 ~ 95 %、30 ~ 100 %、40 ~ 50 %、40 ~ 60 %、40 ~ 70 %、40 ~ 80 %、40 ~ 90 %、40 ~ 95 %、40 ~ 100 %、50 ~ 60 %、50 ~ 70 %、50 ~ 80 %、50 ~ 90 %、50 ~ 95 %、50 ~ 100 %、60 ~ 70 %、60 ~ 80 %、60 ~ 90 %、60 ~ 95 %、60 ~ 100 %、70 ~ 80 %、70 ~ 90 %、70 ~ 95 %、70 ~ 100 %、80 ~ 90 %、80 ~ 95 %、80 ~ 100 %、90 ~ 95 %、90 ~ 100 % または 95 ~ 100 % 減少し得る。突然変異体 H T T は、限定はされないが、対象の C N S、C N S の領域、または C N S の特定の細胞など、対象において、約 20 %、30 %、40 %、50 %、60 %、70 %、80 %、85 %、90 %、95 %、および 100 %、または少なくとも 20 ~ 30 %、20 ~ 40 %、20 ~ 50 %、20 ~ 60 %、20 ~ 70 %、20 ~ 80 %、20 ~ 90 %、20 ~ 95 %、20 ~ 100 %、30 ~ 40 %、30 ~ 50 %、30 ~ 60 %、30 ~ 70 %、30 ~ 80 %、30 ~ 90 %、30 ~ 95 %、30 ~ 100 %、40 ~ 50 %、40 ~ 60 %、40 ~ 70 %、40 ~ 80 %、40 ~ 90 %、40 ~ 95 %、40 ~ 100 %、50 ~ 60 %、50 ~ 70 %、50 ~ 80 %、50 ~ 90 %、50 ~ 95 %、50 ~ 100 %、60 ~ 70 %、60 ~ 80 %、60 ~ 90 %、60 ~ 95 %、60 ~ 100 %、70 ~ 80 %、70 ~ 90 %、70 ~ 95 %、70 ~ 100 %、80 ~ 90 %、80 ~ 95 %、80 ~ 100 %、90 ~ 95 %、90 ~ 100 %、もしくは 95 ~ 100 % 低減され得る。野生型 H T T は、限定はされないが、対象の C N S、C N S の領域、または C N S の特定の細胞など、対象において、約 20 %、30 %、40 %、50 %、60 %、70 %、80 %、85 %、90 %、95 %、および 100 %、または少なくとも 20 ~ 30 %、20 ~ 40 %、20 ~ 50 %、20 ~ 60 %、20 ~ 70 %、20 ~ 80 %、20 ~ 90 %、20 ~ 95 %、20 ~ 100 %、30 ~ 40 %、30 ~ 50 %、30 ~ 60 %、30 ~ 70 %、30 ~ 80 %、30 ~ 90 %、30 ~ 95 %、30 ~ 100 %、40 ~ 50 %、40 ~ 60 %、40 ~ 70 %、40 ~ 80 %、40 ~ 90 %、40 ~ 95 %、40 ~ 100 %、50 ~ 60 %、50 ~ 70 %、50 ~ 80 %、50 ~ 90 %、50 ~ 95 %、50 ~ 100 %、60 ~ 70 %、60 ~ 80 %、60 ~ 90 %、60 ~ 95 %、60 ~ 100 %、70 ~ 80 %、70 ~ 90 %、70 ~ 95 %、70 ~ 100 %、80 ~ 90 %、80 ~ 95 %、80 ~ 100 %、90 ~ 95 %、90 ~ 100 %、もしくは 95 ~ 100 % 低減され得る。突然変異体および野生型の H T T は、限定はされないが、対象の C N S、C N S の領域、または C N S の特定の細胞など、対象において、約 20 %、30 %、40 %、50 %、60 %、70 %、80 %、85 %、90 %、95 %、および 100 %、または少なくとも 20 ~ 30 %、20 ~ 40 %、20 ~ 50 %、20 ~ 60 %、20 ~ 70 %、20 ~ 80 %、20 ~ 90 %、20 ~ 95 %、20 ~ 100 %、30 ~ 40 %、30 ~ 50 %、30 ~ 60 %、30 ~ 70 %、30 ~ 80 %、30 ~ 90 %、30 ~ 95 %、30 ~ 100 %、40 ~ 50 %、40 ~ 60 %、40 ~ 70 %、40 ~ 80 %、40 ~ 90 %、40 ~ 95 %、40 ~ 100 %、50 ~ 60 %、50 ~ 70 %、50 ~ 80 %、50 ~ 90 %、50 ~ 95 %、50 ~ 100 %、60 ~ 70 %、60 ~ 80 %、60 ~ 90 %、60 ~ 95 %、60 ~ 100 %、70 ~ 80 %、70 ~ 90 %、70 ~ 95 %、70 ~ 100 %、80 ~ 90 %、80 ~ 95 %、80 ~ 100 %、90 ~ 95 %、90 ~ 100 %、もしくは 95 ~ 100 % 低減され得る。非限定的な例として、A A V 粒子は、中型有棘ニューロンにおいて、H

TTの発現を、少なくとも50%低減し得る。非限定的な例として、AAV粒子は、中型有棘ニューロンにおいて、HTTの発現を、少なくとも40%低減し得る。非限定的な例として、AAV粒子は、被殻の中型有棘ニューロンにおいて、HTTの発現を、少なくとも40%低減し得る。非限定的な例として、AAV粒子は、被殻の中型有棘ニューロンにおいて、HTTの発現を、少なくとも30%低減し得る。更に別の非限定的な例として、AAV粒子は、被殻および皮質におけるHTTの発現を、少なくとも40%低減し得る。更に別の非限定的な例として、AAV粒子は、被殻および皮質におけるHTTの発現を、少なくとも30%低減し得る。更に別の非限定的な例として、AAV粒子は、被殻におけるHTTの発現を、少なくとも30%低減し得る。更に別の非限定的な例として、AAV粒子は、被殻におけるHTTの発現を、少なくとも30%低減することが可能であり、皮質におけるHTTの発現を、少なくとも15%低減し得る。

10

【0853】

一実施形態において、AAV粒子を使用して、HTTタンパク質の発現を、少なくとも約30%、31%、32%、33%、34%、35%、36%、37%、38%、39%、40%、41%、42%、43%、44%、45%、46%、47%、48%、49%、50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、85%、90%、95%、および100%、または少なくとも20~30%、20~40%、20~50%、20~60%、20~70%、20~80%、20~90%、20~95%、20~100%、30~40%、30~50%、30~60%、30~70%、30~80%、30~90%、30~95%、30~100%、40~50%、40~60%、40~70%、40~80%、40~90%、40~95%、40~100%、50~60%、50~70%、50~80%、50~90%、50~95%、50~100%、55~60%、55~70%、55~80%、55~90%、55~95%、55~100%、60~70%、60~80%、60~90%、60~95%、60~100%、70~80%、70~90%、70~95%、70~100%、80~90%、80~95%、80~100%、90~95%、90~100%、もしくは95~100%低下させてもよい。非限定的な例として、HTTタンパク質の発現は、50~90%低下し得る。非限定的な例として、HTTタンパク質の発現は、30~70%低下し得る。

20

30

【0854】

一実施形態において、siRNA二重鎖またはコード化dsRNAを使用して、HTT mRNAの発現を、少なくとも約30%、31%、32%、33%、34%、35%、36%、37%、38%、39%、40%、41%、42%、43%、44%、45%、46%、47%、48%、49%、50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、85%、90%、95%、および100%、または少なくとも20~30%、20~40%、20~50%、20~60%、20~70%、20~80%、20~90%、20~95%、20~100%、30~40%、30~50%、30~60%、30~70%、30~80%、30~90%、30~95%、30~100%、40~50%、40~60%、40~70%、40~80%、40~90%、40~95%、40~100%、50~60%、50~70%、50~80%、50~90%、50~95%、50~100%、55~60%、55~70%、55~80%、55~90%、55~95%、55~100%、60~70%、60~80%、60~90%、60~95%、60~100%、70~80%、70~90%、70~95%、70~100%、80~90%、80~95%、80~100%、90~95%、90~100%、もしくは95~100%低下させてもよい。非限定的な例として、HTT mRNAの発現は、50~90%低下し得る。

40

50

【0855】

一実施形態において、AAV粒子を使用して対象のHTTタンパク質を減少させてもよい。この減少は、独立に、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、または95%超、5~15%、5~20%、5~25%、5~30%、5~35%、5~40%、5~45%、5~50%、5~55%、5~60%、5~65%、5~70%、5~75%、5~80%、5~85%、5~90%、5~95%、10~20%、10~25%、10~30%、10~35%、10~40%、10~45%、10~50%、10~55%、10~60%、10~65%、10~70%、10~75%、10~80%、10~85%、10~90%、10~95%、15~25%、15~30%、15~35%、15~40%、15~45%、15~50%、15~55%、15~60%、15~65%、15~70%、15~75%、15~80%、15~85%、15~90%、15~95%、20~30%、20~35%、20~40%、20~45%、20~50%、20~55%、20~60%、20~65%、20~70%、20~75%、20~80%、20~85%、20~90%、20~95%、25~35%、25~40%、25~45%、25~50%、25~55%、25~60%、25~65%、25~70%、25~75%、25~80%、25~85%、25~90%、25~95%、30~40%、30~45%、30~50%、30~55%、30~60%、30~65%、30~70%、30~75%、30~80%、30~85%、30~90%、30~95%、35~45%、35~50%、35~55%、35~60%、35~65%、35~70%、35~75%、35~80%、35~85%、35~90%、35~95%、40~50%、40~55%、40~60%、40~65%、40~70%、40~75%、40~80%、40~85%、40~90%、40~95%、45~55%、45~60%、45~65%、45~70%、45~75%、45~80%、45~85%、45~90%、45~95%、50~60%、50~65%、50~70%、50~75%、50~80%、50~85%、50~90%、50~95%、55~65%、55~70%、55~75%、55~80%、55~85%、55~90%、55~95%、60~70%、60~75%、60~80%、60~85%、60~90%、60~95%、65~75%、65~80%、65~85%、65~90%、65~95%、70~80%、70~85%、70~90%、70~95%、75~85%、75~90%、75~95%、80~90%、80~95%、または90~95%であり得る。非限定的な例として、対象はHTTタンパク質の50%の減少を有し得る。非限定的な例として、対象はHTTタンパク質の70%の減少および野生型HTTタンパク質の10%の減少を有し得る。非限定的な例として、被殻の中型有棘ニューロンにおけるHTTの減少は約40%であり得る。非限定的な例として、被殻および皮質におけるHTTの減少は約40%であり得る。非限定的な例として、被殻の中型有棘ニューロンにおけるHTTの減少は40%~70%であり得る。非限定的な例として、被殻および皮質におけるHTTの減少は40%~70%であり得る。

【0856】

一実施形態において、AAV粒子を使用して対象の野生型HTTタンパク質を減少させてもよい。この減少は、独立に、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、または95%超、5~15%、5~20%、5~25%、5~30%、5~35%、5~40%、5~45%、5~50%、5~55%、5~60%、5~65%、5~70%、5~75%、5~80%、5~85%、5~90%、5~95%、10~20%、10~25%、10~30%、10~35%、10~40%、10~45%、10~50%、10~55%、10~60%、10~65%、10~70%、10~75%、10~80%、10~85%、10~90%、10~95%、15~25%、15~30%、15~35%、15~40%、15~45%、15~50%、15~55%、15~60%、15~65%、15~70%、15~75%、15~80%、15~85%、15~90%、15~95%、20~30%、20~35%、20~40%、20~45%、20~50%、20~55%、20~60%、20~65%、20~70%、20~75%、20~80%、20~85%、20~90%、20~95%、25~35%、25~40%、25~45%、25~50%、25~55%、25~60%、25~65%、25~70%、25~75%、25~80%、25~85%、25~90%、25~95%、30~40%、30~45%、30~50%、30~55%、30~60%、30~65%、30~70%、30~75%、30~80%、30~85%、30~90%、30~95%、35~45%、35~50%、35~55%、35~60%、35~65%、35~70%、35~75%、35~80%、35~85%、35~90%、35~95%、40~50%、40~55%、40~60%、40~65%、40~70%、40~75%、40~80%、40~85%、40~90%、40~95%、45~55%、45~60%、45~65%、45~70%、45~75%、45~80%、45~85%、45~90%、45~95%、50~60%、50~65%、50~70%、50~75%、50~80%、50~85%、50~90%、50~95%、55~65%、55~70%、55~75%、55~80%、55~85%、55~90%、55~95%、60~70%、60~75%、60~80%、60~85%、60~90%、60~95%、65~75%、65~80%、65~85%、65~90%、65~95%、70~80%、70~85%、70~90%、70~95%、75~85%、75~90%、75~95%、80~90%、80~95%、または90~95%であり得る。非限定的な例として、対象は野生型HTTタンパク質の50%の減少を有し得る。非限定的な例として、対象は野生型HTTタンパク質の70%の減少および野生型HTTタンパク質の10%の減少を有し得る。非限定的な例として、被殻の中型有棘ニューロンにおけるHTTの減少は約40%であり得る。非限定的な例として、被殻および皮質におけるHTTの減少は約40%であり得る。非限定的な例として、被殻の中型有棘ニューロンにおけるHTTの減少は40%~70%であり得る。非限定的な例として、被殻および皮質におけるHTTの減少は40%~70%であり得る。

5 %、15～90 %、15～95 %、20～30 %、20～35 %、20～40 %、20～45 %、20～50 %、20～55 %、20～60 %、20～65 %、20～70 %、20～75 %、20～80 %、20～85 %、20～90 %、20～95 %、25～35 %、25～40 %、25～45 %、25～50 %、25～55 %、25～60 %、25～65 %、25～70 %、25～75 %、25～80 %、25～85 %、25～90 %、25～95 %、30～40 %、30～45 %、30～50 %、30～55 %、30～60 %、30～65 %、30～70 %、30～75 %、30～80 %、30～85 %、30～90 %、30～95 %、35～45 %、35～50 %、35～55 %、35～60 %、35～65 %、35～70 %、35～75 %、35～80 %、35～85 %、35～90 %、35～95 %、40～50 %、40～55 %、40～60 %、40～65 %、40～70 %、40～75 %、40～80 %、40～85 %、40～90 %、40～95 %、45～55 %、45～60 %、45～65 %、45～70 %、45～75 %、45～80 %、45～85 %、45～90 %、45～95 %、50～60 %、50～65 %、50～70 %、50～75 %、50～80 %、50～85 %、50～90 %、50～95 %、55～65 %、55～70 %、55～75 %、55～80 %、55～85 %、55～90 %、55～95 %、60～70 %、60～75 %、60～80 %、60～85 %、60～90 %、60～95 %、65～75 %、65～80 %、65～85 %、65～90 %、65～95 %、70～80 %、70～85 %、70～90 %、70～95 %、75～85 %、75～90 %、75～95 %、80～90 %、80～95 %、または90～95 %であり得る。

非限定的な例として、対象は野生型HTTタンパク質の50 %の減少を有し得る。非限定的な例として、被殻の中型有棘ニューロンにおける野生型HTTの減少は約40 %であり得る。非限定的な例として、被殻および皮質における野生型HTTの減少は約40 %であり得る。非限定的な例として、被殻の中型有棘ニューロンにおける野生型HTTの減少は40 %～70 %であり得る。非限定的な例として、被殻および皮質における野生型HTTの減少は40 %～70 %であり得る。

【0857】

一実施形態において、AAV粒子を使用して対象の突然変異HTTタンパク質を減少させてもよい。この減少は、独立に、5 %、10 %、15 %、20 %、25 %、30 %、35 %、40 %、45 %、50 %、55 %、60 %、65 %、70 %、75 %、80 %、85 %、90 %、95 %、または95 %超、5～15 %、5～20 %、5～25 %、5～30 %、5～35 %、5～40 %、5～45 %、5～50 %、5～55 %、5～60 %、5～65 %、5～70 %、5～75 %、5～80 %、5～85 %、5～90 %、5～95 %、10～20 %、10～25 %、10～30 %、10～35 %、10～40 %、10～45 %、10～50 %、10～55 %、10～60 %、10～65 %、10～70 %、10～75 %、10～80 %、10～85 %、10～90 %、10～95 %、15～25 %、15～30 %、15～35 %、15～40 %、15～45 %、15～50 %、15～55 %、15～60 %、15～65 %、15～70 %、15～75 %、15～80 %、15～85 %、15～90 %、15～95 %、20～30 %、20～35 %、20～40 %、20～45 %、20～50 %、20～55 %、20～60 %、20～65 %、20～70 %、20～75 %、20～80 %、20～85 %、20～90 %、20～95 %、25～35 %、25～40 %、25～45 %、25～50 %、25～55 %、25～60 %、25～65 %、25～70 %、25～75 %、25～80 %、25～85 %、25～90 %、25～95 %、30～40 %、30～45 %、30～50 %、30～55 %、30～60 %、30～65 %、30～70 %、30～75 %、30～80 %、30～85 %、30～90 %、30～95 %、35～45 %、35～50 %、35～55 %、35～60 %、35～65 %、35～70 %、35～75 %、35～80 %、35～85 %、35～90 %、35～95 %、40～50 %、40～55 %、40～60 %、40～65 %、40～70 %、40～75 %、40～80 %、40～85 %、40～90 %、40～95 %、45～55 %、45～60 %、45～65 %、45～70 %、45～75 %、45～80 %、45～85 %、45～90 %、45～95 %、50～60 %、50～65 %、50～70 %

%、50～75%、50～80%、50～85%、50～90%、50～95%、55～65%、55～70%、55～75%、55～80%、55～85%、55～90%、55～95%、60～70%、60～75%、60～80%、60～85%、60～90%、60～95%、65～75%、65～80%、65～85%、65～90%、65～95%、70～80%、70～85%、70～90%、70～95%、75～85%、75～90%、75～95%、80～90%、80～95%、または90～95%であり得る。非限定的な例として、対象は突然変異HTTタンパク質の50%の減少を有し得る。非限定的な例として、被殻の中型有棘ニューロンにおける突然変異HTTの減少は約40%であり得る。非限定的な例として、被殻および皮質における突然変異HTTの減少は約40%であり得る。非限定的な例として、被殻の中型有棘ニューロンにおける突然変異HTTの減少は40%～70%であり得る。非限定的な例として、被殻および皮質における突然変異HTTの減少は40%～70%であり得る。＼

一部の実施形態において、本発明は、細胞におけるHTT遺伝子発現を阻害／サイレンシングする方法を提供する。したがって、siRNA二重鎖またはコード化dsRNAを使用して、細胞、詳細にはニューロンにおけるHTT遺伝子発現を実質的に阻害することができる。一部の態様において、HTT遺伝子発現の阻害とは、少なくとも約20%、例えば少なくとも約30%、31%、32%、33%、34%、35%、36%、37%、38%、39%、40%、41%、42%、43%、44%、45%、46%、47%、48%、49%、50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、85%、90%、95%および100%、または少なくとも20～30%、20～40%、20～50%、20～60%、20～70%、20～80%、20～90%、20～95%、20～100%、30～40%、30～50%、30～60%、30～70%、30～80%、30～90%、30～95%、30～100%、40～50%、40～60%、40～70%、40～80%、40～90%、40～95%、40～100%、50～60%、50～70%、50～80%、50～90%、50～95%、50～100%、55～60%、55～70%、55～80%、55～90%、55～95%、55～100%、60～70%、60～80%、60～90%、60～95%、60～100%、70～80%、70～90%、70～95%、70～100%、80～90%、80～95%、80～100%、90～95%、90～100%または95～100%の阻害を指す。したがって、標的遺伝子のタンパク質産物が、少なくとも約20%、好ましくは少なくとも約30%、31%、32%、33%、34%、35%、36%、37%、38%、39%、40%、41%、42%、43%、44%、45%、46%、47%、48%、49%、50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、85%、90%、95%および100%、または少なくとも20～30%、20～40%、20～50%、20～60%、20～70%、20～80%、20～90%、20～95%、20～100%、30～40%、30～50%、30～60%、30～70%、30～80%、30～90%、30～95%、30～100%、40～50%、40～60%、40～70%、40～80%、40～90%、40～95%、40～100%、50～60%、50～70%、50～80%、50～90%、50～95%、50～100%、60～70%、60～80%、60～90%、60～95%、60～100%、70～80%、70～90%、70～95%、70～100%、80～90%、80～95%、80～100%、90～95%、90～100%または95～100%阻害され得る。

【0858】

一部の実施形態において、本発明は、細胞、詳細には中型有棘ニューロンにおけるHTT遺伝子発現を阻害／サイレンシングする方法を提供する。一部の態様において、HTT

遺伝子発現の阻害とは、少なくとも約20%、例えば少なくとも約30%、31%、32%、33%、34%、35%、36%、37%、38%、39%、40%、41%、42%、43%、44%、45%、46%、47%、48%、49%、50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、85%、90%、95%および100%、または少なくとも20~30%、20~40%、20~50%、20~60%、20~70%、20~80%、20~90%、20~95%、20~100%、30~40%、30~50%、30~60%、30~70%、30~80%、30~90%、30~95%、30~100%、40~50%、40~60%、40~70%、40~80%、40~90%、40~95%、40~100%、50~60%、50~70%、50~80%、50~90%、50~95%、50~100%、55~60%、55~70%、55~80%、55~90%、55~95%、55~100%、60~70%、60~80%、60~90%、60~95%、60~100%、70~80%、70~90%、70~95%、70~100%、80~90%、80~95%、80~100%、90~95%、90~100%または95~100%の阻害を指す。したがって、標的遺伝子のタンパク質産物が、少なくとも約20%、好ましくは少なくとも約30%、31%、32%、33%、34%、35%、36%、37%、38%、39%、40%、41%、42%、43%、44%、45%、46%、47%、48%、49%、50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、85%、90%、95%および100%、または少なくとも20~30%、20~40%、20~50%、20~60%、20~70%、20~80%、20~90%、20~95%、20~100%、30~40%、30~50%、30~60%、30~70%、30~80%、30~90%、30~95%、30~100%、40~50%、40~60%、40~70%、40~80%、40~90%、40~95%、40~100%、50~60%、50~70%、50~80%、50~90%、50~95%、50~100%、55~60%、55~70%、55~80%、55~90%、55~95%、55~100%、60~70%、60~80%、60~90%、60~95%、60~100%、70~80%、70~90%、70~95%、70~100%、80~90%、80~95%、80~100%、90~95%、90~100%または95~100%阻害され得る。

【0859】

一部の実施形態において、本発明は、細胞、詳細にはアストロサイトにおけるHTT遺伝子発現を阻害／サイレンシングする方法を提供する。一部の態様において、HTT遺伝子発現の阻害とは、少なくとも約20%、例えば少なくとも約30%、31%、32%、33%、34%、35%、36%、37%、38%、39%、40%、41%、42%、43%、44%、45%、46%、47%、48%、49%、50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、85%、90%、95%および100%、または少なくとも20~30%、20~40%、20~50%、20~60%、20~70%、20~80%、20~90%、20~95%、20~100%、30~40%、30~50%、30~60%、30~70%、30~80%、30~90%、30~95%、30~100%、40~50%、40~60%、40~70%、40~80%、40~90%、40~95%、40~100%、50~60%、50~70%、50~80%、50~90%、50~95%、50~100%、55~60%、55~70%、55~80%、55~90%、55~95%、55~100%、60~70%、60~80%、60~90%、60~95%、60~100%、70~80%、7

0～90%、70～95%、70～100%、80～90%、80～95%、80～100%、90～95%、90～100%または95～100%の阻害を指す。したがって、標的遺伝子のタンパク質産物が、少なくとも約20%、好ましくは少なくとも約30%、31%、32%、33%、34%、35%、36%、37%、38%、39%、40%、41%、42%、43%、44%、45%、46%、47%、48%、49%、50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、85%、90%、95%および100%、または少なくとも20～30%、20～40%、20～50%、20～60%、20～70%、20～80%、20～90%、20～95%、20～100%、30～40%、30～50%、30～60%、30～70%、30～80%、30～90%、30～95%、30～100%、40～50%、40～60%、40～70%、40～80%、40～90%、40～95%、40～100%、50～60%、50～70%、50～80%、50～90%、50～95%、50～100%、55～60%、55～70%、55～80%、55～90%、55～95%、55～100%、60～70%、60～80%、60～90%、60～95%、60～100%、70～80%、70～90%、70～95%、70～100%、80～90%、80～95%、80～100%、90～95%、90～100%または95～100%阻害され得る。

10

【0860】

20

一実施形態では、本 siRNA 二重鎖またはコード化 dsRNA を使用して、限定はされないが中脳など、CNS の少なくとも1つの領域における HTT タンパク質および／または mRNA の発現を低下させてもよい。HTT タンパク質および／または mRNA の発現は CNS の少なくとも1つの領域において少なくとも約30%、31%、32%、33%、34%、35%、36%、37%、38%、39%、40%、41%、42%、43%、44%、45%、46%、47%、48%、49%、50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、85%、90%、95%および100%、または少なくとも20～30%、20～40%、20～50%、20～60%、20～70%、20～80%、20～90%、20～95%、20～100%、30～40%、30～50%、30～60%、30～70%、30～80%、30～90%、30～95%、30～100%、40～50%、40～60%、40～70%、40～80%、40～90%、40～95%、40～100%、50～60%、50～70%、50～80%、50～90%、50～95%、50～100%、55～60%、55～70%、55～80%、55～90%、55～95%、55～100%、60～70%、60～80%、60～90%、60～95%、60～100%、70～80%、70～90%、70～95%、70～100%、80～90%、80～95%、80～100%、90～95%、90～100%または95～100%低下する。非限定的な例として、線条体および／または皮質における HTT タンパク質および mRNA の発現が50～90%低下する。非限定的な例として、線条体における HTT タンパク質および mRNA の発現が40～50%低下する。非限定的な例として、皮質における HTT タンパク質および mRNA の発現が40～50%低下する。非限定的な例として、皮質における HTT タンパク質および mRNA の発現が30～70%低下する。非限定的な例として、線条体および／または皮質における HTT タンパク質および mRNA の発現が40～70%低下する。非限定的な例として、線条体および／または皮質における HTT タンパク質および mRNA の発現が40～50%低下する。非限定的な例として、線条体および／または皮質における HTT タンパク質および mRNA の発現が50～70%低下する。非限定的な例として、線条体および／または皮質における HTT タンパク質および mRNA の発現が50～60%低下する。非限定的な例として、線条体および／または皮質における HTT タン

30

40

50

パク質およびmRNAの発現が50%低下する。非限定的な例として、線条体および／または皮質におけるHTTタンパク質およびmRNAの発現が51%低下する。非限定的な例として、線条体および／または皮質におけるHTTタンパク質およびmRNAの発現が52%低下する。非限定的な例として、線条体および／または皮質におけるHTTタンパク質およびmRNAの発現が53%低下する。非限定的な例として、線条体および／または皮質におけるHTTタンパク質およびmRNAの発現が54%低下する。非限定的な例として、線条体および／または皮質におけるHTTタンパク質およびmRNAの発現が55%低下する。非限定的な例として、線条体および／または皮質におけるHTTタンパク質およびmRNAの発現が56%低下する。非限定的な例として、線条体および／または皮質におけるHTTタンパク質およびmRNAの発現が57%低下する。非限定的な例として、線条体および／または皮質におけるHTTタンパク質およびmRNAの発現が58%低下する。非限定的な例として、線条体および／または皮質におけるHTTタンパク質およびmRNAの発現が59%低下する。非限定的な例として、線条体および／または皮質におけるHTTタンパク質およびmRNAの発現が60%低下する。

10

【0861】

一実施形態では、本siRNA二重鎖またはコード化dsRNAを使用して、限定はされないが前脳など、CNSの少なくとも1つの領域におけるHTTタンパク質および／またはmRNAの発現を低下させてもよい。HTTタンパク質および／またはmRNAの発現はCNSの少なくとも1つの領域において少なくとも約30%、31%、32%、33%、34%、35%、36%、37%、38%、39%、40%、41%、42%、43%、44%、45%、46%、47%、48%、49%、50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、85%、90%、95%および100%、または少なくとも20~30%、20~40%、20~50%、20~60%、20~70%、20~80%、20~90%、20~95%、20~100%、30~40%、30~50%、30~60%、30~70%、30~80%、30~90%、30~95%、30~100%、40~50%、40~60%、40~70%、40~80%、40~90%、40~95%、40~100%、50~60%、50~70%、50~80%、50~90%、50~95%、50~100%、55~60%、55~70%、55~80%、55~90%、55~95%、55~100%、60~70%、60~80%、60~90%、60~95%、60~100%、70~80%、70~90%、70~95%、70~100%、80~90%、80~95%、80~100%、90~95%、90~100%または95~100%低下する。非限定的な例として、被殻におけるHTTタンパク質およびmRNAの発現が50~90%低下する。非限定的な例として、線条体におけるHTTタンパク質およびmRNAの発現が40~50%低下する。非限定的な例として、皮質におけるHTTタンパク質およびmRNAの発現が40~50%低下する。非限定的な例として、皮質におけるHTTタンパク質およびmRNAの発現が30~70%低下する。非限定的な例として、線条体および／または皮質におけるHTTタンパク質およびmRNAの発現が40~70%低下する。非限定的な例として、線条体および／または皮質におけるHTTタンパク質およびmRNAの発現が40~50%低下する。非限定的な例として、線条体および／または皮質におけるHTTタンパク質およびmRNAの発現が50~70%低下する。非限定的な例として、線条体および／または皮質におけるHTTタンパク質およびmRNAの発現が50~60%低下する。非限定的な例として、線条体および／または皮質におけるHTTタンパク質およびmRNAの発現が50%低下する。非限定的な例として、線条体および／または皮質におけるHTTタンパク質およびmRNAの発現が51%低下する。非限定的な例として、線条体および／または皮質におけるHTTタンパク質およびmRNAの発現が52%低下する。非限定的な例として、線条体および／または皮質におけるHTTタンパク質およびmRNAの発現が53%低下する。非限定的な例として、線条体および／または皮質におけるHTT

20

30

40

50

タンパク質およびmRNAの発現が54%低下する。非限定的な例として、線條体および／または皮質におけるHTTタンパク質およびmRNAの発現が55%低下する。非限定的な例として、線條体および／または皮質におけるHTTタンパク質およびmRNAの発現が56%低下する。非限定的な例として、線條体および／または皮質におけるHTTタンパク質およびmRNAの発現が57%低下する。非限定的な例として、線條体および／または皮質におけるHTTタンパク質およびmRNAの発現が58%低下する。非限定的な例として、線條体および／または皮質におけるHTTタンパク質およびmRNAの発現が59%低下する。非限定的な例として、線條体および／または皮質におけるHTTタンパク質およびmRNAの発現が60%低下する。

【0862】

一実施形態において、siRNA二重鎖またはコード化dsRNAを使用して、線條体におけるHTTタンパク質および／またはmRNAの発現を低下させてもよい。HTTタンパク質およびmRNAの発現は、少なくとも約30%、31%、32%、33%、34%、35%、36%、37%、38%、39%、40%、41%、42%、43%、44%、45%、46%、47%、48%、49%、50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、85%、90%、95%、および100%、または少なくとも20~30%、20~40%、20~50%、20~60%、20~70%、20~80%、20~90%、20~95%、20~100%、30~40%、30~50%、30~60%、30~70%、30~80%、30~90%、30~95%、30~100%、40~50%、40~60%、40~70%、40~80%、40~90%、40~95%、40~100%、50~60%、50~70%、50~80%、50~90%、50~95%、50~100%、60~70%、60~80%、60~90%、60~95%、60~100%、70~80%、70~90%、70~95%、70~100%、80~90%、80~95%、80~100%、90~95%、90~100%、もしくは95~100%低下する。非限定的な例として、線條体におけるHTTタンパク質およびmRNAの発現は、40~50%低下する。非限定的な例として、線條体におけるHTTタンパク質およびmRNAの発現は、30~70%低下する。非限定的な例として、線條体におけるHTTタンパク質およびmRNAの発現は、少なくとも30%低下する。非限定的な例として、線條体におけるHTTタンパク質およびmRNAの発現は、40~70%低下する。非限定的な例として、線條体におけるHTTタンパク質およびmRNAの発現は、40~50%低下する。非限定的な例として、線條体におけるHTTタンパク質およびmRNAの発現は、50~70%低下する。非限定的な例として、線條体におけるHTTタンパク質およびmRNAの発現は、50%低下する。非限定的な例として、線條体におけるHTTタンパク質およびmRNAの発現は、51%低下する。非限定的な例として、線條体におけるHTTタンパク質およびmRNAの発現は、52%低下する。非限定的な例として、線條体におけるHTTタンパク質およびmRNAの発現は、53%低下する。非限定的な例として、線條体におけるHTTタンパク質およびmRNAの発現は、54%低下する。非限定的な例として、線條体におけるHTTタンパク質およびmRNAの発現は、55%低下する。非限定的な例として、線條体におけるHTTタンパク質およびmRNAの発現は、56%低下する。非限定的な例として、線條体におけるHTTタンパク質およびmRNAの発現は、57%低下する。非限定的な例として、線條体におけるHTTタンパク質およびmRNAの発現は、58%低下する。非限定的な例として、線條体におけるHTTタンパク質およびmRNAの発現は、59%低下する。非限定的な例として、線條体におけるHTTタンパク質およびmRNAの発現は、60%低下する。

【0863】

一の実施形態において、本発明のsiRNA分子をコードする調節性ポリヌクレオチ

【 0 8 6 4 】

におけるH T Tタンパク質の抑制は、独立に、	5 %、1 0 %、1 5 %、2 0 %、2 5 %、 3 0 %、3 5 %、4 0 %、4 5 %、5 0 %、5 5 %、6 0 %、6 5 %、7 0 %、7 5 %、 8 0 %、8 5 %、9 0 %、9 5 %、または9 5 %超、5 ~ 1 5 %、5 ~ 2 0 %、5 ~ 2 5 %、5 ~ 3 0 %、5 ~ 3 5 %、5 ~ 4 0 %、5 ~ 4 5 %、5 ~ 5 0 %、5 ~ 5 5 %、5 ~ 6 0 %、5 ~ 6 5 %、5 ~ 7 0 %、5 ~ 7 5 %、5 ~ 8 0 %、5 ~ 8 5 %、5 ~ 9 0 %、 5 ~ 9 5 %、1 0 ~ 2 0 %、1 0 ~ 2 5 %、1 0 ~ 3 0 %、1 0 ~ 3 5 %、1 0 ~ 4 0 % 、1 0 ~ 4 5 %、1 0 ~ 5 0 %、1 0 ~ 5 5 %、1 0 ~ 6 0 %、1 0 ~ 6 5 %、1 0 ~ 7 0 %、1 0 ~ 7 5 %、1 0 ~ 8 0 %、1 0 ~ 8 5 %、1 0 ~ 9 0 %、1 0 ~ 9 5 %、1 5 ~ 2 5 %、1 5 ~ 3 0 %、1 5 ~ 3 5 %、1 5 ~ 4 0 %、1 5 ~ 4 5 %、1 5 ~ 5 0 %、 1 5 ~ 5 5 %、1 5 ~ 6 0 %、1 5 ~ 6 5 %、1 5 ~ 7 0 %、1 5 ~ 7 5 %、1 5 ~ 8 0 %、1 5 ~ 8 5 %、1 5 ~ 9 0 %、1 5 ~ 9 5 %、2 0 ~ 3 0 %、2 0 ~ 3 5 %、2 0 ~ 4 0 %、2 0 ~ 4 5 %、2 0 ~ 5 0 %、2 0 ~ 5 5 %、2 0 ~ 6 0 %、2 0 ~ 6 5 %、2 0 ~ 7 0 %、2 0 ~ 7 5 %、2 0 ~ 8 0 %、2 0 ~ 8 5 %、2 0 ~ 9 0 %、2 0 ~ 9 5 % 、2 5 ~ 3 5 %、2 5 ~ 4 0 %、2 5 ~ 4 5 %、2 5 ~ 5 0 %、2 5 ~ 5 5 %、2 5 ~ 6 0 %、2 5 ~ 6 5 %、2 5 ~ 7 0 %、2 5 ~ 7 5 %、2 5 ~ 8 0 %、2 5 ~ 8 5 %、2 5 ~ 9 0 %、2 5 ~ 9 5 %、3 0 ~ 4 0 %、3 0 ~ 4 5 %、3 0 ~ 5 0 %、3 0 ~ 5 5 %、 3 0 ~ 6 0 %、3 0 ~ 6 5 %、3 0 ~ 7 0 %、3 0 ~ 7 5 %、3 0 ~ 8 0 %、3 0 ~ 8 5 %、3 0 ~ 9 0 %、3 0 ~ 9 5 %、3 5 ~ 4 5 %、3 5 ~ 5 0 %、3 5 ~ 5 5 %、3 5 ~ 6 0 %、3 5 ~ 6 5 %、3 5 ~ 7 0 %、3 5 ~ 7 5 %、3 5 ~ 8 0 %、3 5 ~ 8 5 %、3 5 ~ 9 0 %、3 5 ~ 9 5 %、4 0 ~ 5 0 %、4 0 ~ 5 5 %、4 0 ~ 6 0 %、4 0 ~ 6 5 % 、4 0 ~ 7 0 %、4 0 ~ 7 5 %、4 0 ~ 8 0 %、4 0 ~ 8 5 %、4 0 ~ 9 0 %、4 0 ~ 9 5 %、4 5 ~ 5 5 %、4 5 ~ 6 0 %、4 5 ~ 6 5 %、4 5 ~ 7 0 %、4 5 ~ 7 5 %、4 5 ~ 8 0 %、4 5 ~ 8 5 %、4 5 ~ 9 0 %、4 5 ~ 9 5 %、5 0 ~ 6 0 %、5 0 ~ 6 5 %、 5 0 ~ 7 0 %、5 0 ~ 7 5 %、5 0 ~ 8 0 %、5 0 ~ 8 5 %、5 0 ~ 9 0 %、5 0 ~ 9 5 %、5 5 ~ 6 5 %、5 5 ~ 7 0 %、5 5 ~ 7 5 %、5 5 ~ 8 0 %、5 5 ~ 8 5 %、5 5 ~ 9 0 %、5 5 ~ 9 5 %、6 0 ~ 7 0 %、6 0 ~ 7 5 %、6 0 ~ 8 0 %、6 0 ~ 8 5 %、6 0 ~ 9 0 %、6 0 ~ 9 5 %、6 5 ~ 7 5 %、6 5 ~ 8 0 %、6 5 ~ 8 5 %、6 5 ~ 9 0 % 、6 5 ~ 9 5 %、7 0 ~ 8 0 %、7 0 ~ 8 5 %、7 0 ~ 9 0 %、7 0 ~ 9 5 %、7 5 ~ 8 5 %、7 5 ~ 9 0 %、7 5 ~ 9 5 %、8 0 ~ 9 0 %、8 0 ~ 9 5 %、または9 0 ~ 9 5 % の抑制であってもよい。関連するニューロン毒性の低下は、5 %、1 0 %、1 5 %、2 0 %、2 5 %、3 0 %、3 5 %、4 0 %、4 5 %、5 0 %、5 5 %、6 0 %、6 5 %、7 0 %、7 5 %、8 0 %、8 5 %、9 0 %、9 5 %、または9 5 %超、5 ~ 1 5 %、5 ~ 2 0 %、5 ~ 2 5 %、5 ~ 3 0 %、5 ~ 3 5 %、5 ~ 4 0 %、5 ~ 4 5 %、5 ~ 5 0 %、5 ~ 5 5 %、5 ~ 6 0 %、5 ~ 6 5 %、5 ~ 7 0 %、5 ~ 7 5 %、5 ~ 8 0 %、5 ~ 8 5 %、 5 ~ 9 0 %、5 ~ 9 5 %、1 0 ~ 2 0 %、1 0 ~ 2 5 %、1 0 ~ 3 0 %、1 0 ~ 3 5 %、 1 0 ~ 4 0 %、1 0 ~ 4 5 %、1 0 ~ 5 0 %、1 0 ~ 5 5 %、1 0 ~ 6 0 %、1 0 ~ 6 5 %、1 0 ~ 7 0 %、1 0 ~ 7 5 %、1 0 ~ 8 0 %、1 0 ~ 8 5 %、1 0 ~ 9 0 %、1 0 ~ 9 5 %、1 5 ~ 2 5 %、1 5 ~ 3 0 %、1 5 ~ 3 5 %、1 5 ~ 4 0 %、1 5 ~ 4 5 %、1 5 ~ 5 0 %、1 5 ~ 5 5 %、1 5 ~ 6 0 %、1 5 ~ 6 5 %、1 5 ~ 7 0 %、1 5 ~ 7 5 % 、1 5 ~ 8 0 %、1 5 ~ 8 5 %、1 5 ~ 9 0 %、1 5 ~ 9 5 %、2 0 ~ 3 0 %、2 0 ~ 3 5 %、2 0 ~ 4 0 %、2 0 ~ 4 5 %、2 0 ~ 5 0 %、2 0 ~ 5 5 %、2 0 ~ 6 0 %、2 0

～65%、20～70%、20～75%、20～80%、20～85%、20～90%、
 20～95%、25～35%、25～40%、25～45%、25～50%、25～55%
 %、25～60%、25～65%、25～70%、25～75%、25～80%、25～
 85%、25～90%、25～95%、30～40%、30～45%、30～50%、3
 0～55%、30～60%、30～65%、30～70%、30～75%、30～80%
 、30～85%、30～90%、30～95%、35～45%、35～50%、35～5
 5%、35～60%、35～65%、35～70%、35～75%、35～80%、35
 ～85%、35～90%、35～95%、40～50%、40～55%、40～60%、
 40～65%、40～70%、40～75%、40～80%、40～85%、40～90
 %、40～95%、45～55%、45～60%、45～65%、45～70%、45～
 75%、45～80%、45～85%、45～90%、45～95%、50～60%、5
 0～65%、50～70%、50～75%、50～80%、50～85%、50～90%
 、50～95%、55～65%、55～70%、55～75%、55～80%、55～8
 5%、55～90%、55～95%、60～70%、60～75%、60～80%、60
 ～85%、60～90%、60～95%、65～75%、65～80%、65～85%、
 65～90%、65～95%、70～80%、70～85%、70～90%、70～95
 %、75～85%、75～90%、75～95%、80～90%、80～95%、または
 90～95%であってもよい。

10

【0865】

一実施形態では、本 siRNA 二重鎖またはコード化 dsRNA を使用して皮質におけ
 る H T T タンパク質および／または mRNA の発現を低下させてもよい。H T T タンパク
 質および／または mRNA の発現は少なくとも約 30%、31%、32%、33%、34
 %、35%、36%、37%、38%、39%、40%、41%、42%、43%、44
 %、45%、46%、47%、48%、49%、50%、51%、52%、53%、54
 %、55%、56%、57%、58%、59%、60%、61%、62%、63%、64
 %、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74
 %、75%、76%、77%、78%、79%、80%、85%、90%、95% および
 100%、または少なくとも 20～30%、20～40%、20～50%、20～60%
 、20～70%、20～80%、20～90%、20～95%、20～100%、30～
 40%、30～50%、30～60%、30～70%、30～80%、30～90%、3
 0～95%、30～100%、40～50%、40～60%、40～70%、40～80
 %、40～90%、40～95%、40～100%、50～60%、50～70%、50
 ～80%、50～90%、50～95%、50～100%、60～70%、60～80%
 、60～90%、60～95%、60～100%、70～80%、70～90%、70～
 95%、70～100%、80～90%、80～95%、80～100%、90～95%
 、90～100% または 95～100% 低下する。非限定的な例として、皮質における H
 T T タンパク質および mRNA の発現は 40～50% 低下する。非限定的な例として、皮
 質における H T T タンパク質および mRNA の発現は 30～70% 低下する。非限定的な
 例として、皮質における H T T タンパク質および mRNA の発現は少なくとも 30% 低下
 する。非限定的な例として、皮質における H T T タンパク質および mRNA の発現は 40
 ～70% 低下する。非限定的な例として、皮質における H T T タンパク質および mRNA
 の発現は 40～50% 低下する。非限定的な例として、皮質における H T T タンパク質お
 よび mRNA の発現は 50～70% 低下する。非限定的な例として、皮質における H T T
 タンパク質および mRNA の発現は 50% 低下する。非限定的な例として、皮質におけ
 る H T T タンパク質および mRNA の発現は 51% 低下する。非限定的な例とし
 て、皮質における H T T タンパク質および mRNA の発現は 52% 低下する。非限定的
 な例として、皮質における H T T タンパク質および mRNA の発現は 53% 低下する。非
 限定的な例として、皮質における H T T タンパク質および mRNA の発現は 54% 低下す
 る。非限定的な例として、皮質における H T T タンパク質および mRNA の発現は 55%

20

30

40

50

低下する。非限定的な例として、皮質におけるH T Tタンパク質およびm R N Aの発現は5 6 %低下する。非限定的な例として、皮質におけるH T Tタンパク質およびm R N Aの発現は5 7 %低下する。非限定的な例として、皮質におけるH T Tタンパク質およびm R N Aの発現は5 8 %低下する。非限定的な例として、皮質におけるH T Tタンパク質およびm R N Aの発現は5 9 %低下する。非限定的な例として、皮質におけるH T Tタンパク質およびm R N Aの発現は6 0 %低下する。

【0 8 6 6】

一実施形態では、本 s i R N A 二重鎖またはコード化 d s R N A を使用して運動皮質におけるH T Tタンパク質および／またはm R N Aの発現を低下させてもよい。H T Tタンパク質および／またはm R N Aの発現は少なくとも約3 0 %、3 1 %、3 2 %、3 3 %、3 4 %、3 5 %、3 6 %、3 7 %、3 8 %、3 9 %、4 0 %、4 1 %、4 2 %、4 3 %、4 4 %、4 5 %、4 6 %、4 7 %、4 8 %、4 9 %、5 0 %、5 1 %、5 2 %、5 3 %、5 4 %、5 5 %、5 6 %、5 7 %、5 8 %、5 9 %、6 0 %、6 1 %、6 2 %、6 3 %、6 4 %、6 5 %、6 6 %、6 7 %、6 8 %、6 9 %、7 0 %、7 1 %、7 2 %、7 3 %、7 4 %、7 5 %、7 6 %、7 7 %、7 8 %、7 9 %、8 0 %、8 5 %、9 0 %、9 5 %および1 0 0 %、または少なくとも2 0 ~ 3 0 %、2 0 ~ 4 0 %、2 0 ~ 5 0 %、2 0 ~ 6 0 %、2 0 ~ 7 0 %、2 0 ~ 8 0 %、2 0 ~ 9 0 %、2 0 ~ 9 5 %、2 0 ~ 1 0 0 %、3 0 ~ 4 0 %、3 0 ~ 5 0 %、3 0 ~ 6 0 %、3 0 ~ 7 0 %、3 0 ~ 8 0 %、3 0 ~ 9 0 %、3 0 ~ 9 5 %、3 0 ~ 1 0 0 %、4 0 ~ 5 0 %、4 0 ~ 6 0 %、4 0 ~ 7 0 %、4 0 ~ 8 0 %、4 0 ~ 9 0 %、4 0 ~ 9 5 %、4 0 ~ 1 0 0 %、5 0 ~ 6 0 %、5 0 ~ 7 0 %、5 0 ~ 8 0 %、5 0 ~ 9 0 %、5 0 ~ 9 5 %、5 0 ~ 1 0 0 %、6 0 ~ 7 0 %、6 0 ~ 8 0 %、6 0 ~ 9 0 %、6 0 ~ 9 5 %、6 0 ~ 1 0 0 %、7 0 ~ 8 0 %、7 0 ~ 9 0 %、7 0 ~ 9 5 %、7 0 ~ 1 0 0 %、8 0 ~ 9 0 %、8 0 ~ 9 5 %、8 0 ~ 1 0 0 %、9 0 ~ 9 5 %、9 0 ~ 1 0 0 %または9 5 ~ 1 0 0 %低下する。非限定的な例として、運動皮質におけるH T Tタンパク質およびm R N Aの発現は4 0 ~ 5 0 %低下する。非限定的な例として、運動皮質におけるH T Tタンパク質およびm R N Aの発現は3 0 ~ 7 0 %低下する。非限定的な例として、運動皮質におけるH T Tタンパク質およびm R N Aの発現は少なくとも3 0 %低下する。非限定的な例として、運動皮質におけるH T Tタンパク質およびm R N Aの発現は4 0 ~ 7 0 %低下する。非限定的な例として、運動皮質におけるH T Tタンパク質およびm R N Aの発現は5 0 ~ 7 0 %低下する。非限定的な例として、運動皮質におけるH T Tタンパク質およびm R N Aの発現は5 0 ~ 6 0 %低下する。非限定的な例として、運動皮質におけるH T Tタンパク質およびm R N Aの発現は5 0 %低下する。非限定的な例として、運動皮質におけるH T Tタンパク質およびm R N Aの発現は5 1 %低下する。非限定的な例として、運動皮質におけるH T Tタンパク質およびm R N Aの発現は5 2 %低下する。非限定的な例として、運動皮質におけるH T Tタンパク質およびm R N Aの発現は5 3 %低下する。非限定的な例として、運動皮質におけるH T Tタンパク質およびm R N Aの発現は5 4 %低下する。非限定的な例として、運動皮質におけるH T Tタンパク質およびm R N Aの発現は5 5 %低下する。非限定的な例として、運動皮質におけるH T Tタンパク質およびm R N Aの発現は5 6 %低下する。非限定的な例として、運動皮質におけるH T Tタンパク質およびm R N Aの発現は5 7 %低下する。非限定的な例として、運動皮質におけるH T Tタンパク質およびm R N Aの発現は5 8 %低下する。非限定的な例として、運動皮質におけるH T Tタンパク質およびm R N Aの発現は5 9 %低下する。非限定的な例として、運動皮質におけるH T Tタンパク質およびm R N Aの発現は6 0 %低下する。

【0 8 6 7】

一実施形態では、本 s i R N A 二重鎖またはコード化 d s R N A を使用して体性感覚皮質におけるH T Tタンパク質および／またはm R N Aの発現を低下させてもよい。H T Tタンパク質および／またはm R N Aの発現は少なくとも約3 0 %、3 1 %、3 2 %、3 3 %、3 4 %、3 5 %、3 6 %、3 7 %、3 8 %、3 9 %、4 0 %、4 1 %、4 2 %、4 3 %、4 4 %、4 5 %、4 6 %、4 7 %、4 8 %、4 9 %、5 0 %、5 1 %、5 2 %、5 3

%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、85%、90%、95%および100%、または少なくとも20~30%、20~40%、20~50%、20~60%、20~70%、20~80%、20~90%、20~95%、20~100%、30~40%、30~50%、30~60%、30~70%、30~80%、30~90%、30~95%、30~100%、40~50%、40~60%、40~70%、40~80%、40~90%、40~95%、40~100%、50~60%、50~70%、50~80%、50~90%、50~95%、50~100%、60~70%、60~80%、60~90%、60~95%、60~100%、70~80%、70~90%、70~95%、70~100%、80~90%、80~95%、80~100%、90~95%、90~100%または95~100%低下する。非限定的な例として、体性感覚皮質におけるHTTタンパク質およびmRNAの発現は40~50%低下する。非限定的な例として、体性感覚皮質におけるHTTタンパク質およびmRNAの発現は30~70%低下する。非限定的な例として、体性感覚皮質におけるHTTタンパク質およびmRNAの発現は少なくとも30%低下する。非限定的な例として、体性感覚皮質におけるHTTタンパク質およびmRNAの発現は40~70%低下する。非限定的な例として、体性感覚皮質におけるHTTタンパク質およびmRNAの発現は40~50%低下する。非限定的な例として、体性感覚皮質におけるHTTタンパク質およびmRNAの発現は50~70%低下する。非限定的な例として、体性感覚皮質におけるHTTタンパク質およびmRNAの発現は50%低下する。非限定的な例として、体性感覚皮質におけるHTTタンパク質およびmRNAの発現は51%低下する。非限定的な例として、体性感覚皮質におけるHTTタンパク質およびmRNAの発現は52%低下する。非限定的な例として、体性感覚皮質におけるHTTタンパク質およびmRNAの発現は53%低下する。非限定的な例として、体性感覚皮質におけるHTTタンパク質およびmRNAの発現は54%低下する。非限定的な例として、体性感覚皮質におけるHTTタンパク質およびmRNAの発現は55%低下する。非限定的な例として、体性感覚皮質におけるHTTタンパク質およびmRNAの発現は56%低下する。非限定的な例として、体性感覚皮質におけるHTTタンパク質およびmRNAの発現は57%低下する。非限定的な例として、体性感覚皮質におけるHTTタンパク質およびmRNAの発現は58%低下する。非限定的な例として、体性感覚皮質におけるHTTタンパク質およびmRNAの発現は59%低下する。非限定的な例として、体性感覚皮質におけるHTTタンパク質およびmRNAの発現は60%低下する。

10

20

30

【0868】

一実施形態では、本siRNA二重鎖またはコード化dsRNAを使用して側頭皮質におけるHTTタンパク質および／またはmRNAの発現を低下させてもよい。HTTタンパク質および／またはmRNAの発現は少なくとも約30%、31%、32%、33%、34%、35%、36%、37%、38%、39%、40%、41%、42%、43%、44%、45%、46%、47%、48%、49%、50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、85%、90%、95%および100%、または少なくとも20~30%、20~40%、20~50%、20~60%、20~70%、20~80%、20~90%、20~95%、20~100%、30~40%、30~50%、30~60%、30~70%、30~80%、30~90%、30~95%、30~100%、40~50%、40~60%、40~70%、40~80%、40~90%、40~95%、40~100%、50~60%、50~70%、50~80%、50~90%、50~95%、50~100%、60~70%、60~80%、60~90%、60~95%、60~100%、70~80%、70~90%、7

40

50

0～95%、70～100%、80～90%、80～95%、80～100%、90～95%、90～100%または95～100%低下する。非限定的な例として、側頭皮質におけるHTTタンパク質およびmRNAの発現は40～50%低下する。非限定的な例として、側頭皮質におけるHTTタンパク質およびmRNAの発現は30～70%低下する。非限定的な例として、側頭皮質におけるHTTタンパク質およびmRNAの発現は少なくとも30%低下する。非限定的な例として、側頭皮質におけるHTTタンパク質およびmRNAの発現は40～70%低下する。非限定的な例として、側頭皮質におけるHTTタンパク質およびmRNAの発現は、40～50%低下する。非限定的な例として、側頭皮質におけるHTTタンパク質およびmRNAの発現は50～70%低下する。非限定的な例として、側頭皮質におけるHTTタンパク質およびmRNAの発現は50～60%低下する。非限定的な例として、側頭皮質におけるHTTタンパク質およびmRNAの発現は50%低下する。非限定的な例として、側頭皮質におけるHTTタンパク質およびmRNAの発現は51%低下する。非限定的な例として、側頭皮質におけるHTTタンパク質およびmRNAの発現は52%低下する。非限定的な例として、側頭皮質におけるHTTタンパク質およびmRNAの発現は53%低下する。非限定的な例として、側頭皮質におけるHTTタンパク質およびmRNAの発現は54%低下する。非限定的な例として、側頭皮質におけるHTTタンパク質およびmRNAの発現は55%低下する。非限定的な例として、側頭皮質におけるHTTタンパク質およびmRNAの発現は56%低下する。非限定的な例として、側頭皮質におけるHTTタンパク質およびmRNAの発現は57%低下する。非限定的な例として、側頭皮質におけるHTTタンパク質およびmRNAの発現は58%低下する。非限定的な例として、側頭皮質におけるHTTタンパク質およびmRNAの発現は59%低下する。非限定的な例として、側頭皮質におけるHTTタンパク質およびmRNAの発現は60%低下する。

【0869】

一実施形態において、siRNA二重鎖またはコード化dsRNAを使用して、被殻におけるHTTタンパク質および／またはmRNAの発現を低下させてもよい。HTTタンパク質およびmRNAの発現は、CNSの少なくとも1つの領域において、少なくとも約30%、31%、32%、33%、34%、35%、36%、37%、38%、39%、40%、41%、42%、43%、44%、45%、46%、47%、48%、49%、50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、85%、90%、95%、および100%、または少なくとも20～30%、20～40%、20～50%、20～60%、20～70%、20～80%、20～90%、20～95%、20～100%、30～40%、30～50%、30～60%、30～70%、30～80%、30～90%、30～95%、30～100%、40～50%、40～60%、40～70%、40～80%、40～90%、40～95%、40～100%、50～60%、50～70%、50～80%、50～90%、50～95%、50～100%、55～60%、55～70%、55～80%、55～90%、55～95%、55～100%、60～70%、60～80%、60～90%、60～95%、60～100%、70～80%、70～90%、70～95%、70～100%、80～90%、80～95%、80～100%、90～95%、90～100%、もしくは95～100%低下する。非限定的な例として、被殻におけるHTTタンパク質およびmRNAの発現は、40～70%低下する。非限定的な例として、被殻におけるHTTタンパク質およびmRNAの発現は、40～50%低下する。非限定的な例として、被殻におけるHTTタンパク質およびmRNAの発現は、50～70%低下する。非限定的な例として、被殻におけるHTTタンパク質およびmRNAの発現は、50～60%低下する。非限定的な例として、被殻におけるHTTタンパク質およびmRNAの発現は、50%低下する。非限定的な例として、被殻におけるHTTタンパク質およびmRNAの発現は、51%低下する。非限定的な例として、被殻におけるHTTタンパク質およびmRNAの発現は、5

2 % 低下する。非限定的な例として、被殻における H T T タンパク質および m R N A の発現は、5 3 % 低下する。非限定的な例として、被殻における H T T タンパク質および m R N A の発現は、5 4 % 低下する。非限定的な例として、被殻における H T T タンパク質および m R N A の発現は、5 5 % 低下する。非限定的な例として、被殻における H T T タンパク質および m R N A の発現は、5 6 % 低下する。非限定的な例として、被殻における H T T タンパク質および m R N A の発現は、5 7 % 低下する。非限定的な例として、被殻における H T T タンパク質および m R N A の発現は、5 8 % 低下する。非限定的な例として、被殻における H T T タンパク質および m R N A の発現は、5 9 % 低下する。非限定的な例として、被殻における H T T タンパク質および m R N A の発現は、6 0 % 低下する。

単剤療法および組合せ療法

一部の実施形態において、本組成物は、H D の治療用の単独治療薬または併用治療薬として投与される。

【0870】

一部の実施形態において、本発明の医薬組成物は単独療法として使用される。他の実施形態において、本発明の医薬組成物は併用療法で使用される。併用療法は、ニューロン変性に対するその神経保護効果に関して試験済みの、小分子化合物、成長因子およびホルモンなどの1つ以上の神経保護剤との併用であってもよい。

【0871】

H T T 遺伝子を標的とする s i R N A 二重鎖をコードする A A V 粒子は、1つ以上の他の治療用薬剤と併用して使用されてもよい。「～と併用して」とは、その薬剤が同じ時点で投与されなければならない、および／または一緒に送達されるように製剤化されなければならないことを含意するよう意図するものではなく、しかしながらこれらの送達方法は本開示の範囲内にある。組成物は、1つ以上の他の所望の治療薬または医療手技と同時に、その前に、またはその後に投与することができる。一般に、各薬剤は、当該の薬剤について決定された用量および／またはタイムスケジュールで投与されることになる。

【0872】

本発明の s i R N A 分子の核酸配列をコードする A A V 粒子と併用して使用し得る治療剤は、抗酸化剤、抗炎症剤、抗アポトーシス剤、カルシウム調節剤、抗グルタミン酸剤、構造タンパク質阻害薬、筋機能に関与する化合物、および金属イオン調節に関与する化合物である小分子化合物であり得る。

【0873】

本明細書に記載されるベクターと併用して使用し得る H D 治療用に試験される化合物としては、限定はされないが、ドーパミン枯渇剤（例えば、舞踏運動に対するテトラベナジン）、ベンゾジアゼピン系（例えば、ミオクロノス、舞踏運動、ジストニア、硬直、および／または痙縮に対するクロナゼパム）、抗痙攣薬（例えば、ミオクロノスに対するバルプロ酸ナトリウムおよびレベチラセタム）、ドーパミンのアミノ酸前駆物質（例えば、特に若年性 H D または若年成人発症型パーキンソン病表現型に関連する硬直に対するレボドパ）、骨格筋弛緩薬（例えば、硬直および／または痙縮に対するバクロフェン、チザニジン）、筋筋麻痺を引き起こす神経筋接合部におけるアセチルコリン（a c e t y c h o l i n e）放出に対する阻害薬（例えば、ブラキシズムおよび／またはジストニアに対するボツリヌス毒素）、非定型神経遮断薬（例えば、精神病および／または易怒に対するオランザピンおよびクエチアピン、精神病、舞踏運動および／または易怒に対するリスペリドン、スルピリドおよびハロペリドール、治療抵抗性精神病に対するクロザピン、顕著な陰性症状を有する精神病に対するアリピプラゾール）、A T P / 細胞エナジェティクス（例えばクレアチン）を増加させる薬剤、選択的セロトニン再取込み阻害薬（S S R I）（例えば、抑鬱、不安、妄想強迫行動および／または易怒に対するシタロプラム、フルオキセチン、パロキセチン、セルトラリン、ミルタザピン、ベンラファキシン）、催眠剤（例えば、睡眠・覚醒サイクルの変化に対するゾピクロン（x o p i c l o n e）および／またはゾルピデム）、抗痙攣薬（例えば、躁病または軽躁病に対するバルプロ酸ナトリウムおよびカルバマゼピン）および気分安定剤（例えば、躁病または軽躁病に対するリチウ

10

20

30

40

50

ム)が挙げられる。

【0874】

HDの治療のため、本発明の siRNA 分子の核酸配列をコードする AA V 粒子との併用療法で神経栄養因子が使用されてもよい。概して、神経栄養因子は、ニューロンの生存、成長、分化、増殖および／または成熟を促進し、またはニューロンの活性増加を刺激する物質として定義される。一部の実施形態において、本方法は、治療を必要としている対象への1つ以上の栄養因子の送達を更に含む。栄養因子としては、限定はされないが、IGF-I、GDNF、BDNF、CTNF、VEGF、コリベリン、キサリプロデン、甲状腺刺激ホルモン放出ホルモンおよびADNF、およびこれらのバリエーションを挙げることができる。

10

【0875】

一態様において、HTT遺伝子を標的とする siRNA 二重鎖をコードする、調節性ポリヌクレオチドを含む AA V 粒子は、AAV-IGF-I (例えば、ヴィンセント (Vincent) ら著、ニューロモレキュラー・メディシン (Neuromolecular medicine)、2004年、第6巻、p. 79~85を参照のこと；この内容は全体として参照により本明細書に援用される) および AAV-GDNF (例えば、ワン (Wang) ら著、ジャーナル・オブ・ニューロサイエンス (J Neurosci.)、2002年、第22巻、p. 6920~6928を参照のこと；この内容は全体として参照により本明細書に援用される) などの神経栄養因子を発現する AA V 粒子と共投与されてもよい。

20

筋萎縮性側索硬化症 (ALS)

筋萎縮性側索硬化症 (ALS)

成人発症型神経変性障害である筋萎縮性側索硬化症 (ALS) とは、運動皮質、脳幹、および脊髄における運動ニューロンの選択的死を特徴とする、進行性かつ致死性の疾患である。ALSの発生率は、100,000人当たり約1.9人である。ALSと診断された患者は、痙縮、反射亢進または反射低下、線維束性攣縮、筋肉萎縮、および麻痺を特徴とする、進行性の筋肉表現型を発現する。これらの運動機能障害は、運動ニューロンの喪失に起因する、筋肉の除神経により引き起こされる。ALSの、主要な病理学的特徴は、皮質脊髄路の変性および下位運動ニューロン (LMN) または前角細胞の広範囲にわたる喪失 (ガタクラ (Ghatk et al.)、J Neuropathol Exp Neurol、1986、45、385~395)、一次運動野内のベッツ細胞および他の錐体細胞の変性および喪失 (宇高ら (Udaka et al.)、Acta Neuropathol、1986、70、289~295；前川ら (Maekawa et al.)、Brain、2004、127、1237~1251)、ならびに運動皮質および脊髄における反応性のグリオシス (川又ら (Kawamata et al.)、Am J Pathol、1992、140、691~707；およびシッファーら (Schiffer et al.)、J Neurol Sci、1996、139、27~33)を含む。ALSは通例、呼吸器の不全および／または炎症に起因する診断後3~5年以内に致死性となる (ローランド LP および シュナイダー NA (Rowland LP および Shneider NA)、N Engl J Med、2001、344、1688~1700)。

30

40

【0876】

ALSの細胞の特徴は、変性しつつある運動ニューロンおよび周囲の細胞 (例えば、アストロサイト) における、タンパク質性封入体、ユビキチン化封入体、細胞質性封入体の存在である。ユビキチン化封入体 (すなわち、レビー小体様封入体または糸くず様封入体) は、ALSにおいて、最も一般的かつ特異的なタイプの封入体であり、脊髄および脳幹の LMN 内、ならびに皮質脊髄の上位運動ニューロン (UMN) 内において見出される (松本ら (Matsumoto et al.)、J Neurol Sci、1993、115、208~213；および佐々木および丸山 (Sasak and Maruyama)、Acta Neuropathol、1994、87、578~585)。

50

ユビキチン、Cu/Znスーパーオキシドジスムターゼ1 (SOD1)、ペリフェリン、およびドルフィンを含む、少数のタンパク質が、封入体の構成要素であると同定されている。神経フィラメント性封入体は、ALSの脊髄運動ニューロン内の、集塊状ヒアリン封入体(HCI)および軸索「スフェロイド」において見出されることが多い。他のタイプの、それほど特殊ではない封入体は、皮質の上層における、ブニナ小体(シスタチンC含有封入体)および三日月形封入体(SCI)を含む。ALSにおいて見られる、他の神経病理学的特徴は、ゴルジ装置の断片化、ミトコンドリア空胞変性、およびシナプス末端の超構造的異常を含む(藤田ら(Fujita et al.)、Acta Neuropathol.、2002、103、243~247)。

【0877】

加えて、前頭側頭型認知症性ALS (FTD-ALS)において、FTD-ALS患者において、認知機能障害を引き起こし得る皮質萎縮(前頭葉および側頭葉を含む)もまた観察される。

【0878】

ALSは、複雑かつ多因子性の疾患であり、ALSの発症機序の一因となると仮定された複数の機構は、限定はされないが、タンパク質分解の機能不全、グルタミン酸興奮毒性、ミトコンドリアの機能不全、アポトーシス、酸化ストレス、炎症、タンパク質のミスフォールディングおよび凝集、RNA代謝の異常、および遺伝子発現の変更を含む。

【0879】

ALS症例のうちの約10%~15%は、疾患の家族歴を有し、これらの患者を、一般に、メンデルの優性遺伝方式および高浸透度を伴う、家族性ALS (fALS)患者または遺伝性患者と称する。残り(約85%~95%)は、家族歴の記録と関連せず、限定はされないが、環境因子、遺伝子的多型、体細胞の突然変異、および、おそらく、遺伝子-環境相互作用を含む、他の危険性因子に起因すると考えられるので、孤発性ALS (sALS)として分類される。大半の症例において、家族性(または遺伝性)ALSは、常染色体優性疾患として、遺伝性であるが、常染色体劣性遺伝およびX連鎖遺伝ならびに不完全な浸透度を伴う家系も存在する。孤発性形態と家族性形態とは、臨床的に識別不可能であることから、共通の発症機序が示唆される。ALSにおける、運動ニューロンの選択的死の正確な原因は、理解しがたいままである。fALSにおける遺伝的因子の理解が進むと、疾患の両方の形態に対して、光を投げかけ得る。

【0880】

近年、ALSの遺伝的原因に対する探索は、fALSを引き起こすことが公知の、10超の、異なる遺伝子における突然変異を発見した。最も一般的な突然変異は、Cu/Znスーパーオキシドジスムターゼ1 (SOD1; 約20%) (ローゼンDRら(Rosen DR et al.)、Nature、1993、362、59~62)、FUS/TLS (fused in sarcoma/translated in liposarcoma; 1~5%)、およびTDP-43 (TARDBP; 1~5%)をコードする遺伝子内に見出される。近年、C9orf72遺伝子内の、ヘキサヌクレオチドリピート(GGGGCC)_nの伸長が、欧米人口において、fALSの最も高頻度(約40%)の原因として同定された(レントンら(Renton et al.)、Nat. Neurosci.、2014、17、17~23により総説されている)。ALSにおいて突然変異している他の遺伝子は、アルシン(ALS2)、セナタキシン(SETX)、小胞関連膜タンパク質(VAPB)、およびアンギオゲニン(ANG)を含む。fALS遺伝子は、異なる細胞機構を制御することから、ALSの発症機序が、複雑であり、最終的に、運動ニューロン変性をもたらす、幾つかの異なる過程に関し得ることが示唆される。

【0881】

SOD1は、哺乳動物において同定され、特徴付けられた、3つのヒトスーパーオキシドジスムターゼ:銅-亜鉛スーパーオキシドジスムターゼ(Cu/ZnSODまたはSOD1)、マンガンスーパーオキシドジスムターゼ(MnSODまたはSOD2)、および細胞外スーパーオキシドジスムターゼ(EC SODまたはSOD3)のうちの1つである

。SOD1は、ヒト第21染色体上のSOD1遺伝子（GeneBank受託番号：NM_000454.4；配列番号1502）によりコードされる、サブユニット1つ当たり1つの銅結合部位と、1つの亜鉛結合部位とを伴う、32kDaのホモ二量体による、153残基のポリペプチドである。SOD1は、結合した銅イオンにおける、スーパーオキシドアニオン（ O_2^- ）の、酸素分子（ O_2 ）および過酸化水素（ H_2O_2 ）への反応を触媒する。SOD1の細胞内濃度は、高濃度（10～100 μ Mの範囲）であり、中枢神経系（CNS）内の全タンパク質含量のうちの1%を占める。タンパク質は、真核細胞内の細胞質だけでなく、また、核、リソソーム、ペルオキシソーム、およびミトコンドリア膜間腔においても局在化する（リンデナウ Jら（Lindenau J et al.）、Glia、2000、29、25～34）。

10

【0882】

SOD1遺伝子内の突然変異は、fALS患者のうちの15～20%および、全てのALS症例のうちの1～2%により保有されている。現在のところ、153アミノ酸のSOD1ポリペプチド全体にわたって分布する、少なくとも170の異なる突然変異が、ALSを引き起こすことが見出されており、ALS Online Genetic Databaseにおいて、最新のリストを見出すことができる（ALSOD）（ローラ（Wroe R et al.）、Amyotroph Lateral Scler.、2008、9、249～250）。表46は、ALSにおけるSOD1内の突然変異の一部の例を列挙する。これらの突然変異は、欠失、挿入、およびC末端の切断もまた生じるが、主に、単一のアミノ酸置換（すなわち、ミスセンス突然変異）である。異なるSOD1突然変異は、異なる領域的分布パターンを提示する。例えば、SOD1遺伝子の突然変異により引き起こされるALSを伴う、全ての米国人のうちの40～50%は、特定の突然変異であるAla4Val（またはA4V）を有する。A4V突然変異は、典型的に、より重度の徴候と関連し、症状および生存期間は、典型的に、2～3年間である。I113T突然変異は、英国において、極めて一般的な突然変異である。欧州において最も蔓延する突然変異は、D90A置換であり、生存期間は、通例、10年間超である。

20

【0883】

【表 4 6】

表 46. ALS における SOD1 突然変異の例

位置		突然変異
エクソン 1 (220bp)		Q22L; E21K,G; F20C;N19S; G16A,S; V14M,S; G12R; G10G,V,R; L8Q,V; V7E; C6G,F; V5L; A4T,V,S
エクソン 2 (97bp)		T54R; E49K; H48R,Q; V47F,A; H46R; F45C; H43R; G41S,D; G37R; V29,insA
エクソン 3 (70bp)		D76Y,V; G72S,C; L67R; P66A; N65S; S59L,S
エクソン 4 (118bp)		D124G,V; V118L,insAAAAC; L117V; T116T; R115G; G114A; I113T,F; I112M,T; G108V; L106V,F; S106L,delTCACTC; I104F; D101G,Y,H,N; E100G,K; I99V; V97L,M; D96N,V; A95T,V; G93S,V,A, C,R,D; D90V,A; A89T,V; T88delACTGCTGAC; V87A,M; N86I,S,D,K; G85R,S; L84V,F; H80R
エクソン 5 (461bp)		I151T,S; I149T; V148I,G; G147D,R; C146R, stop; A145T,G; L144F,S; G141E,stop; A140A,G; N139D,K,H,N; G138E; T137R; S134N; E133V,delGAA,insTT; E132insTT; G127R,insTGGG; L126S,delITT,stop; D126,delTT

SOD1 遺伝子の欠損と関連するニューロン死の機構について研究するため、当技術分野では、SOD1 と関連する ALS についての幾つかの齧歯動物モデルであって、ミスセンス突然変異、小規模な欠失、または挿入を含む、様々な突然変異を伴うヒト SOD1 遺伝子を発現する齧歯動物モデルが開発された。ALS マウスモデルの非限定的な例は、SOD1^{G93A}、SOD1^{A4V}、SOD1^{G37R}、SOD1^{G85R}、SOD1^{D90A}、SOD1^{L84V}、SOD1^{I113T}、SOD1^{H36R/H48Q}、SOD1^{G127X}、SOD1^{L126X}、および SOD1^{L126delTT}を含む。2つの異なるヒト SOD1 突然変異：SOD1^{H46R} および SOD1^{G93R} を保有する、2つのトランスジェニックラットモデルが存在する。これらの齧歯動物 ALS モデルは、ヒト ALS 患者と同様の筋力低下、およびヒト疾患の幾つの特徴、特に、脊髄運動ニューロンの選択的死、タンパク質封入体の、運動ニューロン内の凝集、およびマイクログリアの活性化を反映する、他の病原性の特徴を発症し得る。当技術分野では、トランスジェニック齧歯動物が、ヒト SOD1 関連 ALS 疾患の良好なモデルであり、疾患の発症機序につ

いて研究し、疾患の治療を開発するためのモデルをもたらすことが周知である。

【0884】

動物モデルおよび細胞モデルにおける研究は、SOD1の病原性バリエーションが、機能獲得により、ALSを引き起こすことを示した。すなわち、スーパーオキシドジスムターゼ酵素は、SOD1突然変異により変更されると、新規であるが有害な特性を獲得する。例えば、ALSにおける、一部のSOD1突然変異バリエーションは、レドックスサイクルの破壊により、酸化ストレスを増大させる（例えば、毒性スーパーオキシドラジカルの蓄積の増大）。他の研究はまた、ALSにおける、一部のSOD1突然変異バリエーションが、その正常な生理学的機能から独立した毒性特性（ミスフォールディングしたSOD1バリエーションの異常な凝集など）を獲得し得ることも指し示す。異常レドックス化学反応モデルにおいて、突然変異体SOD1は、不安定であり、異常化学反応を介して、通常とは異なる基質と相互作用し、反応性酸素分子種（ROS）の過剰産生を引き起こす。タンパク質毒性モデルにおいて、不安定な、ミスフォールディングSOD1は、細胞質性封入体へと凝集し、細胞過程に重要なタンパク質を隔離してしまう。これらの2つの仮説は、相互に排除的ではない。活性部位内の金属に結合する、選択されたヒスチジン残基の酸化が、SOD1の凝集を媒介することが示されている。

10

【0885】

凝集した突然変異体SOD1タンパク質はまた、ミトコンドリア機能不全（ベービライネンら（Vehvilainen P et al.）、Front Cell Neurosci.、2014、8、126）、軸索輸送の機能障害、RNA代謝の異常、グリア細胞病態、およびグルタミン酸興奮毒性も誘導し得る。一部の孤発性ALS症例において、ミスフォールディングした野生型SOD1タンパク質は、家族性ALSと関連するSOD1バリエーションと共に見られる「毒性コンフォメーション」と同様の「毒性コンフォメーション」を形成する、罹患運動ニューロン内に見出される（ロトゥンノMSおよびボスコDA（Rotunno MS and Bosco DA）、Front Cell Neurosci.、2013、16、7、253）。このような証拠は、ALSが、アルツハイマー病およびパーキンソン病など、他の神経変性疾患と類似する、タンパク質フォールディングの疾患であることを示唆する。

20

【0886】

現在のところ、ALSを患う患者には、治療的治療が利用可能でない。グルタミン酸放出の阻害剤である、唯一のFDA承認薬のリルゾールは、ALSに対して、中程度の効果を及ぼすが、18ヵ月間にわたり服用した場合に、生存を、2～3ヵ月間延長するに過ぎない。残念ながら、リルゾールを服用する患者は、疾患進行の緩徐化または筋肉機能の改善を一切経ない。したがって、リルゾールは、治療も、有効な治療すらも提示しない。研究者らは、より良好な治療剤の探求を続けている。

30

【0887】

SOD1の凝集を防止または改善し得る治療法については、以前に調べられている。例えば、ヒドロキシルアミン誘導体であるアリモクロモールは、これらの凝集物に対する細胞防御機構である、熱ショックタンパク質を標的とする薬物である。研究は、アリモクロモールによる治療が、SOD1マウスモデルにおける筋肉機能を改善することを実証した。ALSにおける1つ以上の細胞欠損を標的とする他の薬物は、運動ニューロンに対する、グルタミン酸誘導性興奮毒性を低下させ得るベータラクトラム抗生剤である、タラムパネルなどのAMPAアンタゴニスト；酸化誘導性運動ニューロン死を阻害し得るプロモクリプチン（例えば、その内容が、参照によりその全体において本明細書に援用される、米国特許公開第20110105517号明細書）；SOD1遺伝子の発現を低下させ得る、1,3-ジフェニルウレア誘導体またはマルチキナーゼ阻害剤（例えば、その内容が、参照によりその全体において本明細書に援用される、米国特許公開第20130225642号明細書）；ミトコンドリア内の酸化応答を改善し得る、ドーパミンアゴニストであるプラミベキソール、およびその光学異性体であるデクスプラミベキソール；シクロオキシゲナーゼ酵素を阻害するニメスリド（例えば、その内容が、参照によりその全体におい

40

50

て本明細書に援用される、米国特許公開第20060041022号明細書)；フリーラジカルスカベンジャーとして作用する薬物(例えば、それらの各々の内容が、参照によりそれらの全体において本明細書に援用される、米国特許第6,933,310号明細書およびPCT特許公開第WO2006075434号公報)を含み得る。

【0888】

異常なSOD1タンパク質凝集を阻害するための別の手法は、ALSにおけるSOD1遺伝子の発現をサイレンシングする／阻害することである。突然変異対立遺伝子の特異的な遺伝子サイレンシングのための低分子干渉RNAが、ALSの治療に治療的に有益であることが報告されている(例えば、それらの各々の内容が、参照によりそれらの全体において本明細書に援用される、ラルフGSら(Ralph GS et al.)、Nat. Medicine、2005、11(4)、429～433；およびラウルCら(Raoul C et al.)、Nat. Medicine、2005、11(4)、423～428；およびマックスウェルMMら(Maxwell MM et al.)、PNAS、2004、101(9)、3178～3183；およびディングHら(Ding H et al.)、Chinese Medical J.、2011、124(1)、106～110；およびシュワルツDSら(Scharz DS et al.)、Plos Genet.、2006、2(9)、e140)。

【0889】

当技術分野では、SOD1遺伝子を標的とし、ALSにおけるSOD1の発現を調節する他の多くのRNA治療剤も教示されている。このようなRNAベースの薬剤は、アンチセンスオリゴヌクレオチドおよび二本鎖低分子干渉RNAを含む。例えば、それらの各々の内容が、参照によりその全体において本明細書に援用される、ワンHら(Wang H et al.)、J Biol. Chem.、2008、283(23)、15845～15852；米国特許第7,498,316号明細書；同第7,632,938号明細書；同第7,678,895号明細書；同第7,951,784号明細書；同第7,977,314号明細書；同第8,183,219号明細書；同第8,309,533号明細書および同第8,586,554号明細書；および米国特許公開第2006/0229268号明細書および同第2011/0263680号明細書を参照されたい。

【0890】

本発明は、SOD1遺伝子を標的とするsiRNA分子をコードする配列を含む調節性ポリヌクレオチドを含むAAV粒子と、それらのデザインおよび製造のための方法とを提供する。本発明のsiRNA分子をコードする核酸配列を含むAAV粒子は、活性薬剤の、運動ニューロンへの送達を増大させ得る。SOD1遺伝子を標的とするsiRNA二重鎖またはコードdsRNAは、細胞内のSOD1遺伝子の発現(例えば、mRNAレベル)を、著明に阻害することが可能であってもよく；したがって、タンパク質の凝集および封入体の形成、フリーラジカルの増大、ミトコンドリア機能不全、ならびにRNA代謝など、SOD1の発現に誘導される、細胞内のストレスを改善する。

【0891】

このようなsiRNAにより媒介されるSOD1発現の阻害を、ALSを治療するために使用してもよい。本発明に従い、患者におけるALSを治療および／または改善するための方法は、患者の細胞に、本発明のsiRNA分子をコードする核酸配列を含むAAV粒子の有効量を投与することを含む。このような核酸配列を含むAAV粒子の投与は、SOD1遺伝子の発現の阻害／サイレンシングを引き起こすsiRNA分子をコードするであろう。

【0892】

一実施形態において、調節性ポリヌクレオチドを含むAAV粒子は、対象における突然変異体SOD1の発現を低下させる。突然変異体SOD1の低下はまた、限定はされないが、酸化ストレス、ミトコンドリアの機能不全、軸索輸送の機能障害、RNA代謝の異常、グリア細胞の病態、および／またはグルタミン酸興奮毒性などの毒性機構を引き起こし得る毒性凝集物の形成も低下させ得る。

【0893】

一実施形態において、ベクター、例えば、AAV粒子は、それを必要とする対象におけるSOD1の量を低下させ、これにより、本明細書で記載される治療利益をもたらす。

ALSの治療法

本発明においては、本発明のsiRNA分子をコードする核酸配列を含む配列を含む調節性ポリヌクレオチドを含むAAV粒子を、細胞に導入するための方法であって、ベクターのうちのいずれかを前記細胞に、標的SOD1 mRNAの分解が生じるのに十分な量で導入し、これにより、細胞内の、標的特異的RNAiを活性化させることを含む方法が提供される。一部の態様において、細胞は、幹細胞、運動ニューロンなどのニューロン、筋細胞、およびアストロサイトなどのグリア細胞であり得る。

10

【0894】

本発明においては、治療を必要とする対象における、SOD1機能の異常と関連するALSを治療するための方法が開示される。方法は、任意選択で、本発明のsiRNA分子をコードする核酸配列を含む調節性ポリヌクレオチドを含むAAV粒子を少なくとも含む組成物の治療有効量を対象に投与することを含む。非限定的な例として、siRNA分子は、ALSを、治療的に処置するように、SOD1遺伝子の発現をサイレンシングし、SOD1タンパク質の産生を阻害し、対象における、ALSの1つ以上の症状を軽減し得る。

【0895】

一の実施形態において、本発明のsiRNA分子をコードする核酸配列を含む調節性ポリヌクレオチドを含むAAV粒子を含む組成物を、対象の中樞神経系へと投与する。他の実施形態において、本発明のsiRNA分子をコードする核酸配列を含む調節性ポリヌクレオチドを含むAAV粒子を含む組成物を、対象の筋肉へと投与する。

20

【0896】

特に、本発明のsiRNA分子をコードする核酸配列を含む調節性ポリヌクレオチドを含むAAV粒子を、運動ニューロン；オリゴデンドロサイト、アストロサイト、およびミクログリアを含むグリア細胞；ならびに／またはT細胞など、ニューロンを取り囲む他の細胞を含む、特定のタイプの標的細胞に送達してもよい。ヒトALS患者および動物SOD1 ALSモデルにおける研究は、グリア細胞を、運動ニューロンの機能不全および死において、早期の役割を果たすものとして示唆する。突然変異体のSOD1が、運動ニューロン内に存在してもなお、周囲の保護的グリア細胞内の正常なSOD1は、運動ニューロンが、死滅することを防止し得る（例えば、その内容が、参照によりその全体において本明細書に援用される、フィリップスおよびロートシュタイン（Phillips and Rothstein）、Exp. Neurol.、2014、May 22、pii: S0014-4886(14)00157-5により総説されている）。

30

【0897】

一部の具体的実施形態において、本発明のsiRNA分子をコードする核酸配列を含む調節性ポリヌクレオチドを含むAAV粒子を、ALSのための治療として使用してもよい。

【0898】

一の実施形態において、本発明の組成物を、ALSの治療のための、単剤療法剤または組合せ療法剤として投与する。

40

SOD1遺伝子を標的とするsiRNA二重鎖をコードする核酸配列を含む調節性ポリヌクレオチドを含むAAV粒子は、1つ以上の他の治療用薬剤と組み合わせて使用してもよい。「～と組み合わせて」とは、その薬剤を同時に投与しなければならない、かつ／または併せた送達のために製剤化されなければならないことを含意するように意図するものではないが、これらの送達方法も、本開示の範囲内にある。組成物は、1つ以上の他の所望の治療剤または医療手技と共時的に、この前に、またはこの後で投与することができる。一般に、各薬剤は、この薬剤について決定された用量および／またはタイムスケジュールで投与されることになる。

50

【0899】

本発明の siRNA 分子をコードする核酸配列を含む調節性ポリヌクレオチドを含む AAV 粒子と組み合わせて使用され得る治療剤は、抗酸化剤である低分子化合物、抗炎症性薬剤、抗アポトーシス薬剤、カルシウム調節剤、抗グルタミン酸作動性薬剤、構造的タンパク質阻害剤、および金属イオンの調節に関与する化合物であり得る。

【0900】

ALS を治療するための被験化合物であって、本明細書に記載されるベクターと組み合わせて使用され得る被験化合物は、限定はされないが、抗グルタミン酸作動剤：リルゾール、トピラマート、タランパネル、ラモトリギン、デキストロメトルファン、ガバペンチン、および AMPA アンタゴニスト；抗アポトーシス剤：ミノサイクリン、フェニル酪酸ナトリウム、およびアリモクロモール；抗炎症剤：ガングリオシド、セレコキシブ、シクロスポリン、アザチオプリン、シクロホスファミド、血漿分離交換法、酢酸グラチラメル、およびサリドマイド；セフトリアキソン（ベリーら（Berry et al.）、Plos One、2013、8（4））；ベータラクタム抗生剤；プラミペキソール（ドーパミンアゴニスト）（ワンら（Wang et al.）、Amyotrophic Lateral Scler.、2008、9（1）、50～58）；それらの各々の内容が、参照によりそれらの全体において本明細書に援用される、米国特許公開第 20060074991 号明細書におけるニメスリド；米国特許公開第 20130143873 号明細書において開示されているジアゾキシド；米国特許公開第 20080161378 号明細書において開示されているピラゾロン誘導体；プロモクリプチンなど、酸化ストレス誘導性細胞死を阻害するフリーラジカルスカベンジャー（米国特許公開第 20110105517 号明細書）；PCT 特許公開第 2013100571 号公報において論じられているフェニルカルバメート化合物；米国特許第 6,933,310 号明細書および同第 8,399,514 号明細書ならびに米国特許公開第 20110237907 号明細書および同第 20140038927 号明細書において開示されている神経保護化合物；ならびに米国特許公開第 20070185012 号明細書において教示されている糖ペプチドを含む。

【0901】

本発明の siRNA 分子をコードする核酸配列を含む調節性ポリヌクレオチドを含む AAV 粒子との組合せ療法において使用され得る治療剤は、それらの各々の内容が、参照によりそれらの全体において本明細書に援用される、副腎皮質刺激ホルモン（ACTH）またはその断片など、ニューロンの喪失を保護し得るホルモンまたはバリエーション（例えば、米国特許公開第 20130259875 号明細書）；エストロゲン（例えば、米国特許第 6,334,998 号明細書および同第 6,592,845 号明細書）であり得る。

【0902】

ALS を治療するために、本発明の siRNA 分子をコードする核酸配列を含む調節性ポリヌクレオチドを含む AAV 粒子を伴う組合せ療法において、神経栄養因子を使用してもよい。一般に、神経栄養因子は、ニューロンの生存、成長、分化、増殖、および／もしくは成熟を促進するか、またはニューロンの活性の増大を刺激する物質として規定される。一部の実施形態において、本発明の方法は、1 つ以上の栄養因子の、治療を必要とする対象への送達を更に含む。栄養因子は、限定はされないが、IGF-I、GDNF、BDNF、CNTF、VEGF、コリベリン、キサリプロデン、サイロトロフィン放出ホルモン、および ADNF、ならびにこれらのバリエーションを含み得る。

【0903】

一態様において、SOD1 遺伝子を標的とする、少なくとも 1 つの siRNA 二重鎖のための核酸配列をコードするベクター、例えば、AAV 粒子を、AAV-IGF-I（その内容が、参照によりその全体において本明細書に援用される、ビンセントら（Vincent et al.）、Neuromolecular Medicine、2004、6、79～85）および AAV-GDNF（その内容が、参照によりその全体において本明細書に援用される、ワンら（Wang et al.）、J Neurosci.、

10

20

30

40

50

2002、22、6920～6928)などの神経栄養因子を発現させるAAV粒子と共に共投与してもよい。

【0904】

一部の実施形態において、ALSを治療するための本発明の組成物を、それを必要とする対象に、静脈内投与、筋内投与、皮下投与、腹腔内投与、髄腔内投与、および／または脳室内投与し、siRNA分子またはsiRNA分子を含むベクターが、血液脳関門および血液脊髄関門の一方または両方を通過することを可能とする。一部の態様において、方法は、対象の中枢神経系(CNS)へと、直接、本発明のsiRNA分子をコードする核酸配列を含む調節性ポリヌクレオチドを含むAAV粒子を含む組成物の治療有効量を投与すること(例えば、脳室内投与すること、および／または髄腔内投与すること)(例えば、注入ポンプおよび／または送達足場を使用して)を含む。ベクターを使用して、ALSを、治療的に処置するように、SOD1遺伝子の発現をサイレンシングもしくは抑制し、かつ／または対象における、ALSの1つ以上の症状を軽減してもよい。

10

【0905】

ある特定の態様において、ALSの症状は、限定はされないが、運動ニューロンの変性、筋力低下、筋萎縮、筋肉の硬直、呼吸困難、発話の不明瞭、線維束性攣縮の発症、前頭側頭型認知症、および／または若年死を含み、これらは、治療される対象において改善される。他の態様において、本発明の組成物を、脳および脊髄の一方または両方へと適用する。他の態様において、筋肉の協調運動および筋肉の機能の一方または両方を改善する。他の態様において、対象の生存を延長する。

20

【0906】

一実施形態において、本発明のsiRNA分子をコードする核酸配列を含む調節性ポリヌクレオチドを含むAAV粒子の、対象への投与は、対象のCNS内の、突然変異体SOD1を低減し得る。別の実施形態において、AAV粒子の、対象への投与は、対象のCNS内の、野生型SOD1を低減し得る。更に別の実施形態において、AAV粒子の、対象への投与は、対象のCNS内の、突然変異体SOD1および野生型SOD1の両方を低減し得る。突然変異体SOD1および／または野生型SOD1は、対象のCNS、CNSの領域、またはCNSの特定の細胞において、約30%、40%、50%、60%、70%、80%、85%、90%、95%、および100%、または少なくとも20～30%、20～40%、20～50%、20～60%、20～70%、20～80%、20～90%、20～95%、20～100%、30～40%、30～50%、30～60%、30～70%、30～80%、30～90%、30～95%、30～100%、40～50%、40～60%、40～70%、40～80%、40～90%、40～95%、40～100%、50～60%、50～70%、50～80%、50～90%、50～95%、50～100%、60～70%、60～80%、60～90%、60～95%、60～100%、70～80%、70～90%、70～95%、70～100%、80～90%、80～95%、80～100%、90～95%、90～100%、もしくは95～100%低減され得る。非限定的な例として、AAV粒子は、運動ニューロン(例えば、前角運動ニューロン)内および／またはアストロサイト内の野生型SOD1の発現を、少なくとも50%低減し得る。別の実施形態において、AAV粒子は、運動ニューロン(例えば、前角運動ニューロン)内および／またはアストロサイト内の突然変異体SOD1の発現を、少なくとも50%低減し得る。更に別の実施形態において、AAV粒子は、運動ニューロン(例えば、前角運動ニューロン)内および／またはアストロサイト内の野生型SOD1および突然変異体SOD1の発現を、少なくとも50%低減し得る。

30

40

【0907】

一実施形態において、AAV粒子の、対象への投与は、脊髄における突然変異体SOD1および／または野生型SOD1の発現を低下させ、突然変異体SOD1および／または野生型SOD1の発現の低下は、対象におけるALSの影響を軽減するであろう。

【0908】

一実施形態において、AAV粒子を、ALSの早期にある対象に投与してもよい。早期

50

症状は、限定はされないが、筋力の低下および筋肉の軟化、または硬化、強直、および痙攣、筋肉の痙攣および収縮（線維束性攣縮）、筋肉量の低下（萎縮）、疲労感、平衡感覚の不良、発語の不明瞭、握力の低下、ならびに／または歩行時のつまづきを含む。症状は、単一の身体領域に限定される場合もあり、軽度の症状が、2つ以上の領域に影響する場合もある。非限定的な例として、AAV粒子の投与は、ALSの症状の重症度を軽減し、かつ／または症状の発生を低下させ得る。

【0909】

一実施形態において、AAV粒子を、ALSの中期にある対象に投与してもよい。ALSの中期は、限定はされないが、早期と比較して、より広範な筋肉症状、一部の筋肉が麻痺する一方で、他の筋肉は筋力が低下するか、または影響を受けないこと、筋収縮の持続（線維束性攣縮）、使用されない筋肉が、拘縮を引き起こす場合があり、この場合、関節がこわばり、痛み、場合によって、変形すること、嚥下筋の筋力低下が、窒息ならびに食物摂取および唾液管理の困難の増大を引き起こし得ること、呼吸筋の筋力低下が、呼吸器不全を引き起こす場合があり、これは、仰臥したときに顕著になること、および／または対象が、制御不能かつ不適切な笑いまたは泣き叫びの発作（仮性球情動）を示し得ることを含む。非限定的な例として、AAV粒子の投与は、ALSの症状の重症度を軽減し、かつ／または症状の発生を低下させ得る。

10

【0910】

一実施形態において、AAV粒子を、ALSの後期にある対象に投与してもよい。ALSの後期は、限定はされないが、随意筋の大半の麻痺、肺の内外における空気の移動を支援する筋肉が重度に損なわれること、運動が極度に限定されること、呼吸不良が疲労感を引き起こし得ること、思考の散漫、頭痛および感染または疾患（例えば、肺炎）への易罹患性、発話が困難であり、口腔による飲食が不可能な場合があることを含む。

20

【0911】

一実施形態において、AAV粒子を使用して、ALSを伴う対象であって、C9orf72突然変異を有する対象を治療してもよい。

一実施形態において、AAV粒子を使用して、ALSを伴う対象であって、TDP-43突然変異を有する対象を治療してもよい。

【0912】

一実施形態において、AAV粒子を使用して、ALSを伴う対象であって、FUS突然変異を有する対象を治療してもよい。

30

一実施形態において、本発明のAAV粒子は、AAVrh10カプシド、ならびにH1プロモータを含む、自己相補的なAAVウイルスゲノム、pLKO.1レンチウイルスベクターに由来するスタッファー配列、およびSOD1を標的とするペイロードを含む。

【0913】

一実施形態において、本発明のAAV粒子は、AAV2カプシドおよび自己相補的なAAVウイルスゲノムを含む。

一実施形態において、本発明のAAV粒子は、AAV2カプシド、ならびにH1プロモータを含む、自己相補的なAAVウイルスゲノム、pLKO.1レンチウイルスベクターに由来するスタッファー配列、およびSOD1を標的とするペイロードを含む。

40

【0914】

V. 定義

特に明記しない限り、以下の用語および語句は以下に説明する意味を有する。これらの定義は、本質的に限定するよう意図するものでなく、本発明の特定の態様のより明確な理解を提供するために供される。

【0915】

本明細書で使用されるとき、用語「核酸」、「ポリヌクレオチド」および「オリゴヌクレオチド」は、ポリデオキシリボヌクレオチド（2-デオキシ-D-リボースを含有する）、またはポリリボヌクレオチド（D-リボースを含有する）のいずれか、またはプリンもしくはピリミジン塩基、または修飾プリンもしくはピリミジン塩基のNグリコシドであ

50

る任意の他のタイプのポリヌクレオチドで構成される任意の核酸ポリマーを指す。用語「核酸」、「ポリヌクレオチド」および「オリゴヌクレオチド」の間で長さに意図される違いはなく、これらの用語は同義的に用いられ得る。これらの用語は分子の一次構造のみを指す。したがって、これらの用語には、二本鎖および一本鎖DNA、ならびに二本鎖および一本鎖RNAが含まれる。

【0916】

本明細書で使用されるとき、用語「RNA」または「RNA分子」または「リボ核酸分子」は、リボヌクレオチドのポリマーを指す；用語「DNA」または「DNA分子」または「デオキシリボ核酸分子」は、デオキシリボヌクレオチドのポリマーを指す。DNAおよびRNAは、例えばそれぞれDNA複製およびDNAの転写により、天然で合成されることもでき；または化学的に合成されることもできる。DNAおよびRNAは、一本鎖（すなわち、それぞれssRNAまたはssDNA）または多重鎖（例えば、二本鎖、すなわち、それぞれdsRNAおよびdsDNA）であり得る。用語「mRNA」または「メッセンジャーRNA」は、本明細書で使用されるとき、1つ以上のポリペプチド鎖のアミノ酸配列をコードする一本鎖RNAを指す。

【0917】

本明細書で使用されるとき、用語「RNA干渉」または「RNAi」は、対応するタンパク質コード遺伝子の発現の阻害または干渉または「サイレンシング」をもたらすRNA分子によって媒介される配列特異的調節機構を指す。RNAiは、植物、動物および真菌を含めた多くの種類の生物で観察されている。RNAiは細胞において天然で外来性RNA（例えばウイルスRNA）を除去するために起こる。天然RNAiは、遊離dsRNAから切断された、分解機構を他の類似のRNA配列に仕向ける断片によって進行する。RNAiはRNA誘導サイレンシング複合体（RISC）によって制御され、細胞質において短鎖／低分子dsRNA分子によって開始され、そこでdsRNA分子は触媒RISC成分アルゴノートと相互作用する。dsRNA分子は細胞に外因的に導入されることができ。外因性dsRNAはリボヌクレアーゼタンパク質ダイサーを活性化させることによってRNAiを開始し、ダイサーはdsRNAに結合してそれを切断することにより、数個の対を成さないオーバハング塩基を各末端に有する21～25塩基対の二本鎖断片を生じさせる。これらの短鎖二本鎖断片は低分子干渉RNA（siRNA）と呼ばれる。

【0918】

本明細書で使用されるとき、用語「短鎖干渉性RNA」、「低分子干渉RNA」または「siRNA」は、RNAiを誘導または媒介する能力を有する約5～60ヌクレオチド（またはヌクレオチド類似体）を含むRNA分子（またはRNA類似体）を指す。好ましくは、siRNA分子は、約15～30ヌクレオチドまたはヌクレオチド類似体、例えば約16～25ヌクレオチド（またはヌクレオチド類似体）、約18～23ヌクレオチド（またはヌクレオチド類似体）、約19～22ヌクレオチド（またはヌクレオチド類似体）（例えば、19、20、21または22ヌクレオチドまたはヌクレオチド類似体）、約19～25ヌクレオチド（またはヌクレオチド類似体）および約19～24ヌクレオチド（またはヌクレオチド類似体）を含む。用語「短鎖」siRNAは、5～23ヌクレオチド、好ましくは21ヌクレオチド（またはヌクレオチド類似体）、例えば、19、20、21または22ヌクレオチドを含むsiRNAを指す。用語「長鎖」siRNAは、24～60ヌクレオチド、好ましくは約24～25ヌクレオチド、例えば、23、24、25または26ヌクレオチドを含むsiRNAを指す。短鎖siRNAは、一部の例では、19ヌクレオチド未満、例えば、16、17または18ヌクレオチド、または僅か5ヌクレオチドを含んでもよく、但し、これらの短いsiRNAはRNAiを媒介する能力を保持しているものとする。同様に、長鎖siRNAは、一部の例では、26ヌクレオチド超、例えば、27、28、29、30、35、40、45、50、55、または更には60ヌクレオチドを含んでもよく、但し、これらの長いsiRNAは、短鎖siRNAへの更なるプロセッシング、例えば酵素的プロセッシングがない限りRNAiまたは翻訳抑制を媒介する能力を保持しているものとする。siRNAは、一本鎖RNA分子（ss-siRNA）

またはハイブリダイズして s i R N A 二重鎖と呼ばれる二重鎖構造を形成するセンス鎖およびアンチセンス鎖を含む二本鎖 R N A 分子 (d s - s i R N A) であってもよい。

【0919】

本明細書で使用されるとき、s i R N A 分子の「アンチセンス鎖」または「第1鎖」または「ガイド鎖」という用語は、サイレンシングの標的となる遺伝子の m R N A の約 10 ～ 50 ヌクレオチド、例えば、約 15 ～ 30、16 ～ 25、18 ～ 23 または 19 ～ 22 ヌクレオチドの一部分と実質的に相補的な鎖を指す。アンチセンス鎖または第1鎖は、標的特異的サイレンシングを誘導するのに所望の標的 m R N A 配列と十分に相補的な、例えば、R N A i 機構または過程によって所望の標的 m R N A の破壊を引き起こすのに十分に相補的な配列を有する。

10

【0920】

本明細書で使用されるとき、s i R N A 分子の「センス鎖」または「第2鎖」または「パッセンジャー鎖」という用語は、アンチセンス鎖または第1鎖と相補的な鎖を指す。s i R N A 分子のアンチセンス鎖とセンス鎖とはハイブリダイズして二重鎖構造を形成する。本明細書で使用されるとき、「s i R N A 二重鎖」は、サイレンシングの標的となる遺伝子の m R N A の約 10 ～ 50 ヌクレオチドの一部分と十分な相補性を有する s i R N A 鎖と、他方の s i R N A 鎖と二重鎖を形成するのに十分な相補性を有する s i R N A 鎖とを含む。

【0921】

本明細書で使用されるとき、用語「相補」は、ポリヌクレオチドが互いに塩基対を形成する能力を指す。塩基対は、典型的には逆平行ポリヌクレオチド鎖におけるヌクレオチド単位間の水素結合によって形成される。相補ポリヌクレオチド鎖は、ワトソン・クリック方式（例えば、AとT、AとU、CとG）、または二重鎖の形成を可能にする任意の他の方式で塩基対を形成することができる。当業者は認識しているとおり、DNAと対照的にRNAを使用するとき、チミンでなくウラシルがアデノシンと相補的と見なされる塩基である。しかしながら、本発明の文脈でUと表記されるとき、特に指定されない限り、Tに置き換え可能であることが含意される。完全な相補性または100%の相補性とは、一方のポリヌクレオチド鎖の各ヌクレオチド単位が第2のポリヌクレオチド鎖のヌクレオチド単位と水素結合を形成することができる状況を指す。完全でない相補性とは、2本の鎖の全てではないものの一部のヌクレオチド単位が互いに水素結合を形成することができる状況を指す。例えば、2本の20merについて、各鎖の2個の塩基対のみが互いに水素結合を形成することができる場合、このポリヌクレオチド鎖は10%の相補性を呈する。同じ例で、各鎖の18個の塩基対が互いに水素結合を形成することができる場合、このポリヌクレオチド鎖は90%の相補性を呈する。

20

30

【0922】

本明細書で使用されるとき、用語「実質的に相補的」とは、s i R N A が、所望の標的 m R N A に結合して標的 m R N A の R N A サイレンシングを引き起こすのに十分な配列を（例えばアンチセンス鎖に）有することを意味する。

【0923】

本明細書で使用されるとき、「ターゲティング」は、標的核酸にハイブリダイズして所望の効果を誘導するであろう核酸配列の設計および選択過程を意味する。

40

用語「遺伝子発現」は、核酸配列が首尾よく転写およびほとんどの場合に翻訳を受けてタンパク質またはペプチドを産生する過程を指す。明確にするため、「遺伝子発現」の測定に言及するとき、それは、測定が核酸転写産物、例えばRNAもしくはmRNAの測定またはアミノ酸翻訳産物、例えばポリペプチドもしくはペプチドの測定であり得ることを意味するものと理解されなければならない。RNA、mRNA、ポリペプチドおよびペプチドの量またはレベルの測定方法は当該技術分野において周知である。

【0924】

本明細書で使用されるとき、用語「突然変異」は、後続の世代に伝達され得る変異型（「突然変異型」とも称される）をもたらす遺伝子の構造の任意の変化を指す。遺伝子の突

50

然変異は、DNAにおける一塩基の変化、または遺伝子もしくは染色体のより大きい一部分の欠失、挿入、もしくは再配列によって引き起こされ得る。

【0925】

本明細書で使用されるとき、用語「ベクター」は、本発明の siRNA 分子などの異種分子を輸送し、形質導入し、またはその他担体として働く任意の分子または部分を意味する。「ウイルスゲノム」または「ベクターゲノム」または「ウイルスベクター」は、目的の分子、例えば、トランス遺伝子をコードするか、もしくは含む、1つ以上のポリヌクレオチド領域、ポリペプチドもしくはマルチポリペプチドをコードするポリヌクレオチド、または低分子干渉 RNA (siRNA) などの調節性核酸を含む配列を指す。ウイルスゲノムは一般に、遺伝物質を細胞に送達するのに使用される。ウイルスゲノムは、具体的適用のために修飾されることが多い。ウイルスゲノム配列の種類は、レトロウイルスのウイルスゲノム配列、レンチウイルスのウイルスゲノム配列、アデノウイルスのウイルスゲノム配列、およびアデノ随伴ウイルスのゲノム配列を含む。

10

【0926】

用語「アデノ随伴ウイルス」または「AAV」は、本明細書で使用されるとき、アデノ随伴ベクターの成分を含む、またはそれに由来する任意のベクターを指し、哺乳類細胞、好ましくはヒト細胞を感染させるのに好適である。用語の AAV ベクターは、典型的には、ペイロードを含む AAV 型ウイルス粒子またはビリオンを意味する。AAV ベクターは、血清型の組合せ（すなわち「シュードタイプ」AAV）を含めた様々な血清型または様々なゲノム（例えば一本鎖または自己相補的）に由来し得る。加えて、AAV ベクターは複製欠損型および／またはターゲット型であってもよい。

20

【0927】

本明細書で使用されるとき、語句「遺伝子の発現を阻害する」は、遺伝子の発現産物量の減少を生じさせることを意味する。発現産物は、遺伝子から転写された RNA 分子（例えば、mRNA）または遺伝子から転写された mRNA から翻訳されたポリペプチドであり得る。典型的には、mRNA のレベルが減少することにより、そこから翻訳されるポリペプチドのレベルが減少することになる。発現レベルは標準的な mRNA またはタンパク質測定技法を用いて決定し得る。

【0928】

本明細書で使用されるとき、用語「インビトロ」は、生物（例えば、動物、植物、または微生物）の中でなく、むしろ人工環境、例えば試験管または反応槽、細胞培養物、ペトリ皿等で起こるイベントを指す。

30

【0929】

本明細書で使用されるとき、用語「インビボ」は、生物（例えば、動物、植物、または微生物またはその細胞もしくは組織）の中で起こるイベントを指す。

本明細書で使用されるとき、用語「修飾された」は、本発明の分子の変化した状態または構造を指す。分子は、化学的、構造的、および機能的に修飾することを含め、多くの方法で修飾し得る。

【0930】

本明細書で使用されるとき、用語「合成」は、人間の手で作製、調製、および／または製造されることを意味する。本発明のポリヌクレオチドまたはポリペプチドまたは他の分子の合成は化学的または酵素的であってもよい。

40

【0931】

本明細書で使用されるとき、用語「トランスフェクション」は、外因性核酸を細胞に導入する方法を指す。トランスフェクション方法としては、限定はされないが、化学的方法、物理的处理およびカチオン性脂質または混合が挙げられる。細胞にトランスフェクトし得る薬剤の一覧は広範であり、限定はされないが、siRNA、センスおよび／またはアンチセンス配列、1つ以上の遺伝子をコードし、かつ発現プラスミドに編成される DNA、タンパク質、タンパク質断片などが含まれる。

【0932】

50

本明細書で使用されるとき、「オフターゲット」は、任意の1つ以上の標的、遺伝子、または細胞転写物に対する任意の意図しない効果を指す。

本明細書で使用されるとき、語句「薬学的に許容可能」は、本明細書では、妥当な医学的判断の範囲内で、過度の毒性、刺激作用、アレルギー反応、または他の問題もしくは合併症のない、妥当なリスク対効果比に相応の、ヒトおよび動物の組織との接触における使用に好適な化合物、材料、組成物、および／または剤形を指して用いられる。

【0933】

本明細書で使用されるとき、薬剤の「有効量」という用語は、有益なまたは所望の結果、例えば臨床結果を生じさせるのに十分な量であり、そのため「有効量」は、それが適用されるコンテキストに依存する。例えば、HDを治療する薬剤を投与するコンテキストでは、薬剤の有効量は、例えば、その薬剤の投与なしに達成される応答と比較して、本明細書に定義されるとおりのHDの治療を実現するのに十分な量である。例えば、ALSを治療する薬剤を投与する文脈では、薬剤の有効量は、例えば、薬剤の投与を伴わずに得られる応答と比較して、本明細書に規定される、ALSの治療を達成するのに十分な量である。

10

【0934】

本明細書で使用されるとき、用語「治療有効量」は、送達される薬剤（例えば、核酸、薬物、治療用薬剤、診断用薬剤、予防用薬剤等）についての、感染、疾患、障害、および／または病態に罹患しているまたはそれに罹り易い対象に投与したとき感染、疾患、障害、および／または病態を治療し、その症状を改善し、それを診断し、予防し、および／またはその発症を遅延させるのに十分な量を意味する。

20

【0935】

本明細書で使用されるとき、用語「対象」または「患者」は、例えば実験的、診断的、予防的、および／または治療的目的で本発明に係る組成物を投与し得る任意の生物を指す。典型的な対象としては、動物（例えば、マウス、ラット、ウサギ、チンパンジーならびに他の類人猿およびサル種などの非ヒト霊長類、およびヒトなど、哺乳類）および／または植物が挙げられる。

【0936】

本明細書で使用されるとき、用語「予防する」または「予防」は、数週間、数ヶ月間、または数年間を含めたある期間にわたり病態または疾患の発生、展開または進行を遅延させるまたは未然に防ぐことを指す。

30

【0937】

用語「治療」または「治療する」は、本明細書で使用されるとき、疾患の治療または改善に用いられる1つ以上の特定の手順の適用を指す。特定の実施形態において、特定の手順は1つ以上の医薬品の投与である。本発明との関連において、特定の手順は1つ以上のsiRNA分子の投与である。

【0938】

本明細書で使用されるとき、用語「改善」または「改善する」は、病態または疾患の少なくとも1つの指標の重症度を低下させることを指す。例えば、神経変性障害のコンテキストでは、改善には、ニューロン喪失の低減が含まれる。

40

【0939】

本明細書で使用されるとき、用語「投与する」は、対象に医薬品または組成物を提供することを指す。

本明細書で使用されるとき、用語「神経変性」は、神経細胞死をもたらす病的状態を指す。多数の神経障害が共通の病的状態として神経変性を共有する。例えば、アルツハイマー病、パーキンソン病、ハンチントン病、および筋萎縮性側索硬化症（ALS）は、いずれも慢性神経変性を引き起こし、慢性神経変性は数年の期間にわたる緩慢な進行性の神経細胞死によって特徴付けられる一方、急性神経変性は、脳卒中などの虚血、または外傷性脳傷害などの外傷の結果としての、または例えば脊髄損傷もしくは多発性硬化症によって引き起こされる脱髄または外傷による軸索切断の結果としての、神経細胞死の突発的な発

50

生によって特徴付けられる。一部の神経障害では、例えば初期HDにおける中型有棘ニューロン変性など、主に1つのタイプの神経細胞が変性する。

【0940】

V I . 均等物および範囲

当業者は、本明細書に記載される本発明に係る具体的な実施形態の多くの均等物を認識し、またはルーチンに過ぎない実験を用いて確かめることが可能であろう。本発明の範囲が上記の説明に限定されることは意図されず、それはむしろ添付の特許請求の範囲に示されるとおりである。

【0941】

特許請求の範囲では、「a」、「an」、および「the」などの冠詞は、反する旨が示されない限り、または文脈上特に明らかでない限り、1つまたは2つ以上を意味し得る。ある群の1つ以上のメンバーの間に「または」を含むクレームまたは説明は、反する旨が示されない限り、または文脈上特に明らかでない限り、その群メンバーの1つ、2つ以上、または全てが所与の製品または方法に存在する、それに用いられる、または他の形でそれに関連する場合に満たされるものと見なされる。本発明は、群の正確に1つのメンバーが所与の製品または方法に存在する、それに用いられる、または他の形でそれに関連する実施形態を含む。本発明は、2つ以上の、または全部の群メンバーが所与の製品または方法に存在する、それに用いられる、または他の形でそれに関連する実施形態を含む。

【0942】

また、用語「～を含んでいる (comprising)」は非限定的 (open) であることが意図され、追加の要素または工程の包含を許容するが必須ではないことも注記される。用語「～を含んでいる (comprising)」が本明細書で使用されるとき、したがって用語「～からなる (consisting of)」もまた包含され、開示される。

【0943】

範囲が提供されるとき、端点は含まれる。更に、特に指示されない限り、または文脈および当業者の理解から特に明らかでない限り、範囲として表される値は、文脈上特に明確に指示されない限り、その範囲の下限の単位の10分の1に至るまでの、本発明の種々の実施形態において明示される範囲内にある任意の具体的な値または部分的範囲を想定し得ることが理解されるべきである。

【0944】

加えて、先行技術に含まれる本発明の任意の特定の実施形態は、クレームの任意の1つ以上から明示的に除外され得ることが理解されるべきである。かかる実施形態は当業者に公知であると思なされるため、除外が本明細書に明示的に示されないとしても、それらは除外され得る。本発明の組成物の任意の詳細な実施形態（例えば、任意の抗生物質、治療薬または活性成分；任意の作製方法；任意の使用方法等）が、先行技術の存在に関係するか否かに関わらず、何らかの理由で任意の1つ以上のクレームから除外されることがある。

【0945】

使用した文言は、限定でなく、むしろ説明の文言であること、およびその広義の態様における本発明の真の範囲および趣旨から逸脱することなく、添付の特許請求の範囲内で変更が行われ得ることが理解されるべきである。

【0946】

本発明をかなり詳しく、幾つかの説明される実施形態に関するある具体性をもって説明したが、それが任意のかかる具体例もしくは実施形態または任意の具体的な実施形態に限定されるべきであることを意図するものではなく、しかし先行技術を考慮してかかる特許請求の範囲の最も広義の可能な解釈を提供し、したがって本発明の意図される範囲を有効に包含するように添付の特許請求の範囲を参照して解釈されるべきである。

【0947】

(実施例)

V I I . 実施例

実施例 1 . A A V - m i R N A 発現ベクター

H T T を標的にするガイド鎖とパッセンジャー鎖とを含む p r i - m i R N A カセットを含むコンストラクトを A A V - m i R N A 発現ベクター (s s または s c のいずれか) となるように操作した。5 ' から 3 ' へと列挙される、I T R 間の A A V - m i R N A 発現ベクターコンストラクトは、I T R (突然変異体または野生型)、C M V プロモータ (S V 4 0 イントロンを含む)、U 6 プロモータ、H 1 プロモータ、C B A プロモータ (C M V エンハンサー、C B プロモータ、および S V 4 0 イントロンを含む)、または C A G プロモータ (C M V エンハンサー、C B プロモータ、およびウサギベータグロビンイントロンを含む) を含むプロモータ、p r i - m i R N A カセット、ウサギグロビンポリ A、またはヒト成長ホルモン、および野生型 I T R を含む。i n v i t r o および i n v i v o における試験を実施して、A A V - m i R N A 発現ベクターの薬理学的活性を評価する。

10

【0948】

実施例 2 . A A V - m i R N A のインビボ試験

A . 有効性のインビボ試験

Y A C 1 2 8 マウスにおける H T T 抑制、ガイド対パッセンジャー比、および 5 ' 末端プロセシング精度に基づき、選択された A A V - m i R N A 発現ベクターを A A V 1 (s s または s c のいずれかとしての) に C B A プロモータと共にパッケージングし (A A V 1 . C B A . i H t t)、0 . 0 0 1 % F - 6 8 含有リン酸緩衝生理食塩水 (P B S) 中に製剤化し、Y A C 1 2 8 マウスに投与して、有効性を評価する。A A V 1 ベクターは 7 ~ 1 2 週齢の Y A C 1 2 8 マウスに半球当たり 5 u L 中約 1 E 1 0 ~ 3 E 1 0 v g の用量で 1 0 分かけて両側性線条体内注入によって投与する。対照群は媒体 (0 . 0 0 1 % F - 6 8 含有 P B S) で処置する。被験物質投与後、ロータロッドおよびポーソルト (P o r s o l t) 水泳試験を含む行動試験を所定の時間間隔で実施して、有効性を評価する。投与後所定の日数で動物を安楽死させ、線条体組織パンチを収集し、スナップ凍結する。組織試料をホモジナイズし、全 R N A を精製する。H T T の相対発現を q R T - P C R によって決定する。正規化用のハウスキーピング遺伝子にはマウス X P N P E P 1 が含まれた。H T T はハウスキーピング遺伝子発現に対して正規化し、次に媒体群に対して更に正規化する。試料はまた、H T T タンパク質の定量化にも使用する。

20

30

【0949】

B . H T T 抑制、ガイド対パッセンジャー比および 5 ' 末端プロセシング精度の N H P におけるインビボ試験

Y A C 1 2 8 マウスにおける H T T 抑制、ガイド対パッセンジャー比、および 5 ' 末端プロセシング精度に基づき、選択された A A V - m i R N A 発現ベクターを C B A プロモータと共に A A V 1 にパッケージングし (A A V 1 . C B A . i H t t)、0 . 0 0 1 % F - 6 8 含有リン酸緩衝生理食塩水 (P B S) 中に製剤化して、非ヒト霊長類に実質内脳注入によって投与する。対照群は媒体 (0 . 0 0 1 % F - 6 8 含有 P B S) で処置する。投与後所定の時間で様々な組織試料において H T T m R N A の相対発現、ガイド対パッセンジャー比、および 5 ' 末端プロセシング精度を決定する。

40

【0950】

実施例 3 . H E K 2 9 3 T 細胞内および H e L a 細胞内のポリシストロニックコンストラクトの活性

V O Y H T m i R - 1 0 4 . 0 1 6 (配列番号 1 5 8 9) および V O Y H T m i R - 1 2 7 . 5 7 9 (配列番号 1 5 9 9) をコードする、ポリシストロニックの m i R N A 発現ベクターを、A A V 2 内にパッケージングし、H E K 2 9 3 T 細胞および H e L a 細胞に、これらを感染させた。H E K 2 9 3 T について、細胞を、9 6 ウェルプレートへと播種し (ウェル 1 つ当たりの細胞培養培地 1 0 0 u l 中の細胞 2 . 5 E 4 個)、これらに、ポリシストロニックの m i R N A 発現ベクターを感染させた。H e L a 細胞を、9 6 ウェルプレートへと播種した (ウェル 1 つ当たりの細胞培養培地 1 0 0 u l 中の細胞 1 E 4 個)

50

。感染の24時間後、細胞を、速やかな細胞溶解およびルシフェラーゼ活性の測定またはqRT-PCRのためのRNAの単離のために採取した。

A. ポリシストロニックコンストラクト（125 pMおよび250 pM）の活性

125 pMおよび250 pMにおけるトランスフェクションの48時間後における、ポリシストロニックコンストラクトの相対活性（相対ルシフェラーゼ）を、HEK293T細胞およびHeLa細胞についてのルシフェラーゼ活性により決定した。相対活性は、デュオルシフェラーゼアッセイにより決定される通り、ウミシイタケ属（*Renilla*）ルシフェラーゼレベルを、内部対照のホタルルシフェラーゼレベルに照らして正規化することにより得た。

【0951】

ポリシストロニックコンストラクトについてのRLUおよび被験コンストラクトについての記載を、表47に示す。表47において、2つの調節性ポリヌクレオチドを、各ベクター内で調べたが、調節性ポリヌクレオチドは、タンデムであった。表において、ベクターは、B調節性ポリヌクレオチドの前に、A調節性ポリヌクレオチドをコードする。

【0952】

HEK293T細胞について、対照は、125 pMにおける1、および250 pMにおける1.11のRLUを有した。1つのVOYHTmiR-104.016調節性ポリヌクレオチド（配列番号1589）をコードするコンストラクトは、125 pMでトランスフェクトされた場合、0.13のRLUをもたらし、250 pMでトランスフェクトされた場合、0.14のRLUをもたらしした。VOYHTmiR-127.579調節性ポリヌクレオチド（配列番号1599）をコードするコンストラクトは、125 pMでトランスフェクトされた場合、0.14のRLUをもたらし、250 pMでトランスフェクトされた場合、0.14のRLUをもたらしした。各々が、2つの調節性ポリヌクレオチド（VOYHTmiR-104.016（配列番号1589）およびVOYHTmiR-127.579（配列番号1599））のうちの1つをコードする2つのベクターを、125 pMずつで、同時にトランスフェクトしたところ、0.06のRLUが見られた。

【0953】

HeLa細胞について、対照は、125 pMにおける1、および250 pMにおける0.99のRLUを有した。VOYHTmiR-104.016調節性ポリヌクレオチド（配列番号1589）をコードするコンストラクトは、125 pMでトランスフェクトされた場合は、0.26のRLUをもたらし、250 pMでトランスフェクトされた場合、0.27のRLUをもたらしした。VOYHTmiR-127.579調節性ポリヌクレオチド（配列番号1599）をコードするコンストラクトは、125 pMでトランスフェクトされた場合、0.20のRLUをもたらし、250 pMでトランスフェクトされた場合、0.12のRLUをもたらしした。各々が、2つの調節性ポリヌクレオチド（VOYHTmiR-104.016（配列番号1589）およびVOYHTmiR-127.579（配列番号1599））のうちの1つをコードする2つのコンストラクトを、125 pMずつで、同時にトランスフェクトしたところ、0.22のRLUが見られた。

【0954】

10

20

30

【表 4 7】

表 47. ポリシストロニック活性

調節性ポリヌクレオチドの名称	調節性ポリヌクレオチドの配列番号	配列名	RLU			
			HEK293T		HeLa	
			125pM	250pM	125pM	250pM
A: VOYHTmiR-104.016 B: VOYHTmiR-104.016	A: 1589 B: 1589	VOYPC13	0.13	0.17	0.23	0.26
A: VOYHTmiR-127.579 B: VOYHTmiR-104.016	A: 1599 B: 1589	VOYPC14	0.05	0.06	0.08	0.09
A: VOYHTmiR-104.016 B: VOYHTmiR-127.579	A: 1589 B: 1599	VOYPC15	0.05	0.06	0.16	0.17
A: VOYHTmiR-127.579 B: VOYHTmiR-127.579	A: 1599 B: 1599	VOYPC16	0.13	0.14	0.18	0.17

VOYHTmiR-104.016およびVOYHTmiR-127.579の両方を、タンデムでコードするベクターは、対照と比較して、最良の活性を示した。

B. ポリシストロニックコンストラクト（62.5 pMおよび125 pM）の活性およびベクターの長さ

62.5 pMおよび125 pMにおけるトランスフェクションの40時間後における、フィラーDNA（各状態において、全DNA含量を同じとするための）を伴うポリシストロニックコンストラクト、およびこれを伴わないポリシストロニックコンストラクトの相対活性（相対ルシフェラーゼ）を、HeLa細胞についてのDuoluciferaseアッセイにより決定した。相対活性は、デュオルシフェラーゼアッセイにより決定される通り、ウミシイタケ属（Renilla）ルシフェラーゼレベルを、内部対照のホタルルシフェラーゼレベルに照らして正規化することにより得た。ポリシストロニックコンストラクトについてのRLUおよび被験コンストラクトについての記載を、表48に示す。表48において、2つの調節性ポリヌクレオチドを、各コンストラクト内で調べたが、調

節性ポリヌクレオチドは、タンデムであった。表において、コンストラクトは、B調節性ポリヌクレオチドの前に、A調節性ポリヌクレオチドをコードする。

【0955】

フィラーDNAを伴うコンストラクトについて、対照は、62.5 pMおよび125 pMにおける1のRLUを有した。VOYHTmiR-104.016調節性ポリヌクレオチド（配列番号1589）をコードするコンストラクトは、62.5 pMでトランスフェクトされた場合、0.45のRLUをもたらし、125 pMでトランスフェクトされた場合、0.31のRLUをもたらした。VOYHTmiR-127.579調節性ポリヌクレオチド（配列番号1599）をコードするコンストラクトは、62.5 pMでトランスフェクトされた場合、0.25のRLUをもたらし、125 pMでトランスフェクトされた場合、0.20のRLUをもたらした。各々が、2つの調節性ポリヌクレオチド（VOYHTmiR-104.016（配列番号1589）およびVOYHTmiR-127.579（配列番号1599））のうちの1つをコードする2つのコンストラクトを、62.5 pMずつで、同時にトランスフェクトしたところ、0.26のRLUが見られた。

10

【0956】

フィラーDNAを伴わないコンストラクトについて、対照は、62.5 pMおよび125 pMにおける1のRLUを有した。VOYHTmiR-104.016調節性ポリヌクレオチド（配列番号1589）をコードするコンストラクトは、62.5 pMでトランスフェクトされた場合、0.31のRLUをもたらし、125 pMでトランスフェクトされた場合、0.24のRLUをもたらした。VOYHTmiR-127.579調節性ポリヌクレオチド（配列番号1599）をコードするコンストラクトは、62.5 pMでトランスフェクトされた場合、0.29のRLUをもたらし、125 pMでトランスフェクトされた場合、0.24のRLUをもたらした。各々が、2つの調節性ポリヌクレオチド（VOYHTmiR-104.016（配列番号1589）およびVOYHTmiR-127.579（配列番号1599））のうちの1つをコードする2つのコンストラクトを、62.5 pMずつで、同時にトランスフェクトしたところ、0.23のRLUが見られた。

20

【0957】

【表 4 8】

表 48. ポリシストロニック活性

調節性ポリヌクレオチドの名称	調節性ポリヌクレオチドの配列番号	配列名	RLU			
			フィラーDNAを伴う		フィラーDNAを伴わない	
			62.5pM	125pM	62.5pM	125pM
A: VOYHTmiR-104.016 B: VOYHTmiR-104.016	A: 1589 B: 1589	VOYPC13	0.41	0.38	0.36	0.37
A: VOYHTmiR-127.579 B: VOYHTmiR-104.016	A: 1599 B: 1589	VOYPC14	0.17	0.15	0.16	0.15
A: VOYHTmiR-104.016 B: VOYHTmiR-127.579	A: 1589 B: 1599	VOYPC15	0.36	0.24	0.35	0.23
A: VOYHTmiR-127.579 B: VOYHTmiR-127.579	A: 1599 B: 1599	VOYPC16	0.30	0.23	0.29	0.23

より高用量およびより低用量のコンストラクトは、フィラーDNAを伴う場合と、これを伴わない場合とで同様の発現を示した。VOYHTmiR-127.579調節性ポリヌクレオチドおよびVOYHTmiR-104.016調節性ポリヌクレオチドを、タンデムで伴うコンストラクトは、いずれのトランスフェクション条件についても、最低のRLUを示した。

C. ポリシストロニックコンストラクトのトランスフェクション後における、HTTの抑制

125pMおよび250pMにおけるトランスフェクションの48時間後における、HTT mRNAの相対発現を、HeLaについてのqRT-PCRにより決定した。相対HTT mRNA発現は、qRT-PCRにより決定される通り、HTT mRNAレベルを、ハウスキーピング遺伝子のmRNAレベルに照らして正規化することにより得、次いで、この正規化されたHTT mRNAレベルを、対照で処理された細胞における、正規化されたHTT mRNAレベルに対して表した。ポリシストロニックコンストラクトについての結果および被験コンストラクトについての記載を、表49に示す。表49において、2つの調節性ポリヌクレオチドを、各コンストラクト内で調べたが、調節性ポリヌクレオチドは、タンデムであった。表において、コンストラクトは、B調節性ポリヌクレオチドの前に、A調節性ポリヌクレオチドをコードする。

【0958】

VOYHTmiR-104.016 調節性ポリヌクレオチド（配列番号1589）をコードするコンストラクトは、125 pMでトランスフェクトされた場合、50%の相対Htt mRNAレベル（対照に対して正規化された）をもたらし、250 pMでトランスフェクトされた場合、61%の相対Htt mRNAレベル（対照に対して正規化された）をもたらした。VOYHTmiR-127.579 調節性ポリヌクレオチド（配列番号1599）をコードするコンストラクトは、125 pMでトランスフェクトされた場合、52%の相対Htt mRNAレベル（対照に対して正規化された）をもたらし、250 pMでトランスフェクトされた場合、56%のHtt mRNAレベル（対照に対して正規化された）をもたらした。各々が、2つの調節性ポリヌクレオチド（VOYHTmiR-104.016（配列番号1589）およびVOYHTmiR-127.579（配列番号1599））のうちの1つをコードする2つのコンストラクトを、125 pMずつで、同時にトランスフェクトしたところ、49%の相対Htt mRNAレベル（対照に対して正規化された）が見られた。

【0959】

【表49】

表 49. HTT のノックダウン

調節性ポリヌクレオチドの名称	調節性ポリヌクレオチドの配列番号	配列名	相対 HTT mRNA レベル(%)(対照に照らして正規化された)	
			HeLa	
			125pM	250pM
A: VOYHTmiR-104.016 B: VOYHTmiR-104.016	A: 1589 B: 1589	VOYPC13	43	50
A: VOYHTmiR-127.579 B: VOYHTmiR-104.016	A: 1599 B: 1589	VOYPC14	43	36
A: VOYHTmiR-104.016 B: VOYHTmiR-127.579	A: 1589 B: 1599	VOYPC15	49	50
A: VOYHTmiR-127.579 B: VOYHTmiR-127.579	A: 1599 B: 1599	VOYPC16	55	50

VOYHTmiR-104.016およびVOYHTmiR-127.579の両方を、タンデムでコードするコンストラクトは、いずれのトランスフェクション条件について

も、対照と比較して、最良の活性を示した。

D. 細胞 1 個当たり 1 E 4 および 1 E 5 v g の M O I での感染後における、H T T の抑制

細胞 1 個当たり 1 E 4 または 1 E 5 v g の M O I での感染の 2 4 時間後における、H T T m R N A の相対発現を、H E K 2 9 3 T 細胞および H e L a 細胞についての q R T - P C R により決定した。相対 H T T m R N A 発現は、q R T - P C R により決定して、H T T m R N A レベルをハウスキーピング遺伝子 m R N A レベルに対して正規化することにより得て；次にこの正規化 H T T m R N A レベルを m C h e r r y 処理細胞における正規化 H T T m R N A レベルと比べて表した。結果を表 5 0 および表 5 1 に示す。

【 0 9 6 0 】

【表 5 0 】

10

表 50. HTT のノックダウン

調節性ポリヌクレオチドの 名称	調節性ポリヌクレ オチドの配列番号	相対 HTT mRNA レベル (%)(対照に照らして正 規化された)			
		HEK293T		HeLa	
		1E4	1E5	1E4	1E5
VOYHTmiR-104.016	1589	42	28	75	47
VOYHTmiR-127.579	1599	44	29	67	45
コンストラクト 1: VOYHTmiR-104.016 コンストラクト 2: VOYHTmiR-127.579	コンストラクト 1: 1589 コンストラクト 2: 1599	35	27	67	46
未処理	-	86	91	67	96

20

30

【 0 9 6 1 】

【表 5 1】

表 51. HTT のノックダウン

調節性ポリヌクレオチドの名称	調節性ポリヌクレオチドの配列番号	配列名	相対 HTT mRNA レベル(%(対照に照らして正規化された))			
			HEK293T		HeLa	
			1E4	1E5	1E4	1E5
A: VOYHTmiR-104.016 B: VOYHTmiR-104.016	A: 1589 B: 1589	VOYPC13	48	27	47	46
A: VOYHTmiR-127.579 B: VOYHTmiR-104.016	A: 1599 B: 1589	VOYPC14	32	22	46	28
A: VOYHTmiR-104.016 B: VOYHTmiR-127.579	A: 1589 B: 1599	VOYPC15	30	23	60	26
A: VOYHTmiR-127.579 B: VOYHTmiR-127.579	A: 1599 B: 1599	VOYPC16	39	28	67	34

VOYHTmiR-104.016およびVOYHTmiR-127.579の両方を、タンデムでコードするベクターは、両方の細胞型において、両方の感染レベルについて、対照と比較して、最良の活性を示した。

E. ポリシストロニックコンストラクト（62.5 pMおよび125 pM）の活性

62.5 pMおよび125 pMにおけるトランスフェクションの48時間後における、ポリシストロニックコンストラクトの相対活性（相対ルシフェラーゼ）を、HEK293T細胞およびHeLa細胞についてのデュオルシフェラーゼアッセイにより決定した。相対活性は、デュオルシフェラーゼアッセイにより決定される通り、ウミシイタケ属（*Renilla*）ルシフェラーゼレベルを、内部対照のホタルルシフェラーゼレベルに照らして正規化することにより得た。ポリシストロニックコンストラクトについてのRLUおよび被験コンストラクトについての記載を、表52～53に示す。表53において、2つ、3つ、または4つの調節性ポリヌクレオチドを、各コンストラクト内で調べたが、調節性ポリヌクレオチドは、タンデムであった。例えば、2つの調節性ポリヌクレオチドが存在する場合、コンストラクトは、B調節性ポリヌクレオチドの前に、A調節性ポリヌクレオチドをコードする。

【0962】

【表 5 2】

表 52. HTT のノックダウン

調節性ポリヌクレオチドの名称	調節性ポリヌクレオチドの配列番号	RLU			
		HEK293T		HEK293T	
		62.5pM	62.5pM	62.5pM	62.5pM
VOYHTmiR-104.016	1589	0.24	0.2	0.59	0.3
VOYHTmiR-127.579	1599	0.31	0.23	0.84	0.27
コンストラクト 1: VOYHTmiR-104.016 コンストラクト 2: VOYHTmiR-127.579	コンストラクト 1: 1589 コンストラクト 2: 1599	0.1	0.11	0.25	0.2
未処理	-	0.24	0.2	0.59	0.3

10

20

【 0 9 6 3 】

【表 5 3 - 1】

表 53. ポリシストロニック活性

調節性ポリヌクレオチドの名称	調節性ポリヌクレオチドの配列番号	配列名	RLU			
			293T		HeLa	
			62.5pM	125pM	62.5pM	125pM
A: VOYHTmiR-127.579 B: VOYHTmiR-104.016	A: 1599 B: 1589	VOYPC14	0.11	0.09	0.26	0.11
A: VOYHTmiR-127.579 B: VOYHTmiR-104.016 C: VOYHTmiR-104.016	A: 1599 B: 1589 C: 1589	VOYPC35	0.11	0.11	0.28	0.28
A: VOYHTmiR-127.579 B: VOYHTmiR-104.016 C: VOYHTmiR-127.579	A: 1599 B: 1589 C: 1599	VOYPC36	0.07	0.07	0.16	0.10
A: VOYHTmiR-127.579 B: VOYHTmiR-104.016 C: VOYHTmiR-127.579 D: VOYHTmiR-104.016	A: 1599 B: 1589 C: 1599 D: 1589	VOYPC51	0.08	0.07	0.18	0.12
A: VOYHTmiR-127.579 B: VOYHTmiR-104.016	A: 1599 B: 1589 C: 1589 D: 1599	VOYPC52	0.07	0.07	0.16	0.10

【 0 9 6 4 】

【表 5 3 - 2】

C: VOYHTmiR- 104.016 D: VOYHTmiR- 127.579						

22個超の調節性ポリヌクレオチドをコードするコンストラクトは、両方の細胞型内の、両方のトランスフェクション条件について、最低のRLU値をもたらした。 10

【0965】

実施例4. HEK293T細胞内およびHeLa細胞内のポリシストロニックコンストラクトの活性

VOYHTmiR-104.579（配列番号1595）およびVOYHTmiR-127.016（配列番号1593）をコードする、ポリシストロニックのmiRNA発現コンストラクトを、scAAV2内にパッケージングし、HEK293T細胞およびHeLa細胞に、これらを感染させた。HEK293Tについて、細胞を、96ウェルプレートへと播種し（ウェル1つ当たりの細胞培養培地100ul中の細胞2.5E4個）、これらに、ポリシストロニックのmiRNA発現ベクターを感染させた。HeLa細胞を、96ウェルプレートへと播種した（ウェル1つ当たりの細胞培養培地100ul中の細胞1E4個）。感染の24時間後、細胞を、速やかな細胞溶解およびルシフェラーゼ活性の測定またはqRT-PCRのための単離のために採取した。 20

A. ポリシストロニックコンストラクト（62.5pMおよび125pM）の活性

62.5pMおよび125pMにおけるトランスフェクションの48時間後における、ポリシストロニックコンストラクトの相対活性（相対ルシフェラーゼ）を、HEK293T細胞およびHeLa細胞についてのqRT-PCRにより決定した。相対活性は、デュオルシフェラーゼアッセイにより決定される通り、ウミシイタケ属（Renilla）ルシフェラーゼレベルを、内部対照のホタルルシフェラーゼレベルに照らして正規化することにより得た。ポリシストロニックコンストラクトについてのRLUおよび被験コンストラクトについての記載を、表54～55に示す。表55において、2つの調節性ポリヌクレオチドを、各コンストラクト内で調べたが、調節性ポリヌクレオチドは、タンデムであった。表において、コンストラクトは、B調節性ポリヌクレオチドの前に、A調節性ポリヌクレオチドをコードする。 30

【0966】

【表 5 4】

表 54. HTT のノックダウン

調節性ポリヌクレオチドの名称	調節性ポリヌクレオチドの配列番号	RLU			
		HEK293T		HeLa	
		62.5pM	125pM	62.5pM	125pM
VOYHTmiR-104.579	1595	0.24	0.13	0.51	0.25
VOYHTmiR-127.016	1593	0.33	0.16	0.23	0.22
コンストラクト 1: VOYHTmiR-104.579 コンストラクト 2: VOYHTmiR-127.016	コンストラクト 1: 1595 コンストラクト 2: 1593	0.07	0.06	0.08	0.12

10

【 0 9 6 7 】

【表 5 5】

表 55. ポリシストロニック活性

調節性ポリヌクレオチドの名称	調節性ポリヌクレオチドの配列番号	配列名	RLU			
			HEK293T		HeLa	
			62.5pM	125pM	62.5pM	125pM
A: VOYHTmiR-127.579 B: VOYHTmiR-104.016	A: 1599 B: 1589	VOYPC14	0.12	0.09	0.19	0.27
A: VOYHTmiR-104.579 B: VOYHTmiR-104.579	A: 1595 B: 1595	VOYPC17	0.33	0.18	0.55	0.93
A: VOYHTmiR-127.016 B: VOYHTmiR-127.016	A: 1593 B: 1593	VOYPC18	0.21	0.15	0.16	0.21
A: VOYHTmiR-104.579 B: VOYHTmiR-127.016	A: 1595 B: 1593	VOYPC19	0.09	0.05	0.10	0.07
A: VOYHTmiR-127.016 B: VOYHTmiR-104.579	A: 1593 B: 1595	VOYPC20	0.07	0.04	0.09	0.09

VOYHTmiR-127.016 調節性ポリヌクレオチドおよび VOYHTmiR-104.579 調節性ポリヌクレオチドを、任意の順序において、タンデムで伴うコンストラクトは、いずれのトランスフェクション条件についても、最低の RLU を示した。B. 48 および 72 時間後における、HeLa 内の、ポリシストロニックコンストラクト (62.5 pM および 125 pM) の活性

62.5 pM および 125 pM におけるトランスフェクションの 48 および 72 時間後における、HTT mRNA の相対発現を、HeLa 細胞についての qRT-PCR により決定した。相対 HTT mRNA 発現は、qRT-PCR により決定される通り、HTT mRNA レベルを、ハウスキーピング遺伝子の mRNA レベルに照らして正規化することにより得、次いで、この正規化された HTT mRNA レベルを、mCherry で処理された細胞における、正規化された HTT mRNA レベルに対して表した。被験コンストラクトについての結果および記載を、表 56 ~ 57 に示す。表 57 において、2 つの調節性ポリヌクレオチドを、各ベクター内で調べたが、調節性ポリヌクレオチドは、タ

ンデムであった。表において、ベクターは、B 調節性ポリヌクレオチドの前に、A 調節性ポリヌクレオチドをコードする。

【0968】

【表56】

表 56. HTT のノックダウン

調節性ポリヌクレオチドの 名称	調節性ポリヌ クレオチドの 配列番号	相対 HTT mRNA レベル (%)(対照に照らして正規 化された)	
		48 hours	
		62.5pM	125pM
VOYHTmiR-104.579	1595	73	91
VOYHTmiR-127.016	1593	52	51
コンストラクト 1: VOYHTmiR-104.579 コンストラクト 2: VOYHTmiR-127.016	コンストラク ト 1: 1595 コンストラク ト 2: 1593	43	23

10

20

【0969】

【表 57】

表 57. HTT のノックダウン

調節性ポリヌクレオチドの名称	調節性ポリヌクレオチドの配列番号	ポリシストロニックの miRNA 発現ベクター配列番号	相対 HTT mRNA レベル(%) (対照に照らして正規化された)	
			62.5pM	
			48 時間	72 時間
A: VOYHTmiR-104.579 B: VOYHTmiR-104.579	A: 1595 B: 1595	VOYPC17	97	88
A: VOYHTmiR-127.016 B: VOYHTmiR-127.016	A: 1593 B: 1593	VOYPC18	36	39
A: VOYHTmiR-104.579 B: VOYHTmiR-127.016	A: 1595 B: 1593	VOYPC19	37	37
A: VOYHTmiR-127.016 B: VOYHTmiR-104.579	A: 1593 B: 1595	VOYPC20	49	51

10

20

30

VOYHTmiR-127.016 調節性ポリヌクレオチドおよび VOYHTmiR-104.579 調節性ポリヌクレオチドを、任意の順序において、タンデムで伴うコンストラクトは、いずれの時点についても、最低の相対 Htt mRNA レベルを示した。

【0970】

実施例 5. HEK293T 細胞内の、ポリシストロニックコンストラクトの活性

標的遺伝子を阻害するための相対活性を決定するために、単独で、または 2 つ、3 つ、もしくは 4 つの調節性ポリヌクレオチドを、多様なタンデムの組合せで含む、VOYHTmiR-104.016 (配列番号 1589) および/または VOYHTmiR-127.579 (配列番号 1599) をコードする miRNA 発現ベクターを構築し、HEK293T 細胞に、プラスミドとしてトランスフェクトするか、または AAV2 内にパッケージングし、HEK293T 細胞にこれを感染させ、次いで、標的遺伝子の mRNA レベルを測定した。

A. プラスミドトランスフェクションの後における、2 つ以下の調節性ポリヌクレオチドを伴うポリシストロニックコンストラクトの活性

HEK293T 細胞を、96 ウェルプレートへと播種し (ウェル 1 つ当たりの細胞培養培地 100 μ l 中の細胞 2.5E4 個)、これらに、miRNA 発現プラスミド (62.

40

50

5 または 125 pM)、ならびにトランスフェクションの効率を正規化するためのホタルルシフェラーゼ遺伝子と、ウミシイタケ属 (*Renillia*) ルシフェラーゼ遺伝子のための終止コドンの下流にクローニングされた、ハンチンティン (HTT) 遺伝子の、VOYHTmiR-104.016 および VOYHTmiR-127.579 による標的領域とを含有する二重ルシフェラーゼプラスミドを共トランスフェクトした。トランスフェクションの 24 または 36 時間後に、Dual-Glo (商標) Luciferase Assay System により、ウミシイタケ属 (*Renillia*) ルシフェラーゼおよびホタルルシフェラーゼの活性を測定し、ウミシイタケ属 (*Renillia*) ルシフェラーゼ活性を、内部対照であるホタルルシフェラーゼ活性に照らして正規化することにより、HTT 標的 mRNA を阻害するための、ポリシストロニックコンストラクトの相対活性を決定した。次いで、これらの正規化されたウミシイタケ属 (*Renillia*) ルシフェラーゼ活性 (RLU、相対光度単位) を、同じ濃度で、対照プラスミド (pcDNA) をトランスフェクトした HEK293T 細胞内の正規化されたウミシイタケ属 (*Renillia*) ルシフェラーゼ活性 (1 を平均とする) に対して表した。

10

【0971】

多様なコンストラクトについての相対 RLU (平均±標準偏差) および被験コンストラクトについての記載を、トランスフェクションの 24 および 36 時間後について、表 58 に示す。各々が、単一の調節性ポリヌクレオチド (VOYHTmiR-104.016 (配列番号 1589) または VOYHTmiR-127.579 (配列番号 1599)) をコードする、2 つのコンストラクトは、各々が、2 つの調節性ポリヌクレオチド (VOYHTmiR-104.016 (配列番号 1589) および/または VOYHTmiR-127.579 (配列番号 1599)) を、タンデムでコードし、各ポリヌクレオチドが、その固有の H1 プロモータにより駆動され、これに続き、その固有の H1 ターミネータにより駆動される、4 つのコンストラクトのための基準として用いられた。表 58 において、コンストラクトは、B 調節性ポリヌクレオチドの前において、A 調節性ポリヌクレオチドをコードする。N/A とは、該当なしを意味する。

20

【0972】

【表 58-1】

表 58. HEK293T 細胞のトランスフェクション後におけるポリシストロニック活性

調節性ポリ ヌクレオチ ドの名称	調節性ポリ ヌクレオチ ドの配列番 号	配列名	24 時間におけ る相対 RLU		36 時間におけ る相対 RLU	
			62.5pM	125pM	62.5pM	125pM
コンストラ クト 1: VOYHTmiR- 104.016	1589 (ITR 間配 列:配列番 号 2691)	N/A	0.15 ± 0.01	0.15 ± 0.01	0.07 ± 0.00	0.07 ± 0.00
コンストラ クト 2: VOYHTmiR- 127.579	1599 (ITR 間配 列:配列番 号 2690)	N/A	0.15 ±0.02	0.14 ±0.01	0.08 ±0.00	0.07 ±0.00
コンストラ クト 1: VOYHTmiR- 104.016 コンストラ クト 2: VOYHTmiR- 127.579	コンストラ クト 1: 1589 コンストラ クト 2: 1599	N/A	0.11 ±0.01	0.09 ±0.01	0.03 ±0.00	0.03 ±0.00
A: VOYHTmiR- 104.016 B: VOYHTmiR- 104.016	A: 1589 B: 1589	VOYPC59	0.08 ±0.02	0.10 ±0.03	0.03 ±0.00	0.03 ±0.00

【表 58-2】

A: VOYHTmiR- 127.579 B: VOYHTmiR- 104.016	A: 1599 B: 1589	VOYPC61	0.08 ±0.02	0.08 ±0.02	0.03 ±0.00	0.03 ±0.00
A: VOYHTmiR- 104.016 B: VOYHTmiR- 127.579	A: 1589 B: 1599	VOYPC60	0.09 ±0.02	0.10 ±0.02	0.03 ±0.00	0.03 ±0.00
A: VOYHTmiR- 127.579 B: VOYHTmiR- 127.579	A: 1599 B: 1599	VOYPC62	0.15 ±0.03	0.13 ±0.02	0.07 ±0.00	0.07 ±0.00

これらの結果は、各々が、2つずつの調節性ポリヌクレオチドを、タンデムで含有する配列 VOYPC59、VOYPC60、および VOYPC61 (VOYHTmiR-104.016 (配列番号1589) の2つのコピー、または VOYHTmiR-104.016 (配列番号1589) の1つのコピーと、VOYHTmiR-127.579 (配列番号1599) の1つのコピーとの組合せ) が、単一の調節性ポリヌクレオチド (VOYHTmiR-104.016 (配列番号1589) または VOYHTmiR-127.579 (配列番号1599)) を含有するコンストラクトより大きな標的の低減をもたらすことを実証する。

B. AAVの感染後における、4つ以下の調節性ポリヌクレオチドを伴う、ポリシストロニックコンストラクトの活性

HEK293T細胞を、96ウェルプレートへと播種し (ウェル1つ当たりの細胞培養培地100ul中の細胞2.5E4個)、これらに、AAV2内に、細胞1個当たりのベクターゲノム 1×10^3 のMOIでパッケージングされたmiRNA発現ベクターを感染させ、トランスフェクションの効率を正規化するためのホタルルシフェラーゼ遺伝子と、ウミシイタケ属 (Renilla) ルシフェラーゼ遺伝子のための終止コドンの下流にクローニングされた、HTT遺伝子の、VOYHTmiR-104.016およびVOYHTmiR-127.579による標的領域とを含有する二重ルシフェラーゼプラスミドをトランスフェクトした。感染の48時間後に、Dual-Glo (商標) Luciferase Assay Systemにより、ウミシイタケ属 (Renilla) ルシフェラーゼおよびホタルルシフェラーゼの活性を測定し、ウミシイタケ属 (Renilla) ルシフェラーゼ活性を、内部対照であるホタルルシフェラーゼ活性に照らして正規化することにより、HTT標的mRNAを阻害するための、コンストラクトの相対活性を決定し

た。次いで、これらの正規化されたウミシイタケ属 (*Renillia*) ルシフェラーゼ活性 (RLU、相対光度単位) を、同じMOIで、対照ベクター (AAV2. mCherry) を感染させたHEK293T細胞内、または非感染HEK293T細胞内の正規化されたウミシイタケ属 (*Renillia*) ルシフェラーゼ活性 (1を平均とする) に対して表した。

【0974】

多様なコンストラクトについての相対RLU (平均±標準偏差) および被験コンストラクトについての記載を、表59に示す。各々が、単一の調節性ポリヌクレオチド (VOYHTmiR-104.016 (配列番号1589) またはVOYHTmiR-127.579 (配列番号1599)) をコードする、2つのAAVベクターは、2つ、3つ、または4つの調節性ポリヌクレオチド (VOYHTmiR-104.016 (配列番号1589) および/またはVOYHTmiR-127.579 (配列番号1599)) を、タンデムで含有し、各ポリヌクレオチドが、その固有のPol III H1プロモータにより駆動され、これに続き、その固有のH1ターミネータ配列により駆動される、16のAAVベクターのための基準として用いられた。表59において、コンストラクトは、D調節性ポリヌクレオチドの前にある、C調節性ポリヌクレオチドの前にある、B調節性ポリヌクレオチドの前において、A調節性ポリヌクレオチドをコードする。N/Aとは、該当なしを意味する。

【0975】

【表 59 - 1】

表 59. HEK293T 細胞の AAV 感染後におけるポリシストロニック活性

調節性ポリヌクレオチドの名称	調節性ポリヌクレオチドの配列番号	配列名	RLU (非感染に対する)
mCherry	N/A	N/A	0.99 ± 0.02
非感染	N/A	N/A	1.00 ± 0.03
VOYHTmiR-104.016	1589 (ITR 間配列:配列番号 2691)	N/A	0.25 ± 0.01
A: VOYHTmiR-104.016 B: VOYHTmiR-104.016	A: 1589 B: 1589	VOYPC59	0.25 ± 0.01
A: VOYHTmiR-104.016 B: VOYHTmiR-104.016 C: VOYHTmiR-104.016	A: 1589 B: 1589 C: 1589	VOYPC33	0.21 ± 0.01
A: VOYHTmiR-104.016 B: VOYHTmiR-104.016 C: VOYHTmiR-104.016 D: VOYHTmiR-104.016	A: 1589 B: 1589 C: 1589 D: 1589	VOYPC47	0.19 ± 0.01
VOYHTmiR-127.579	1599 (ITR 間配列:配列番号 2690)	N/A	0.48 ± 0.01
A: VOYHTmiR-127.579 B: VOYHTmiR-127.579	A: 1599 B: 1599	VOYPC62	0.42 ± 0.01
A: VOYHTmiR-127.579 B: VOYHTmiR-127.579 C: VOYHTmiR-127.579	A: 1599 B: 1599 C: 1599	VOYPC31	0.34 ± 0.03
A: VOYHTmiR-127.579 B: VOYHTmiR-127.579 C: VOYHTmiR-127.579 D: VOYHTmiR-127.579	A: 1599 B: 1599 C: 1599 D: 1599	VOYPC43	0.32 ± 0.02
A: VOYHTmiR-104.016 B: VOYHTmiR-127.579	A: 1589 B: 1599	VOYPC60	0.27 ± 0.01
A: VOYHTmiR-127.579	A: 1599	VOYPC61	0.24 ± 0.03

【表 5 9 - 2】

B: VOYHTmiR-104.016	B: 1589		
A: VOYHTmiR-127.579	A: 1599		
B: VOYHTmiR-104.016	B: 1589	VOYPC29	0.28 ± 0.01
C: VOYHTmiR-127.579	C: 1599		
A: VOYHTmiR-104.016	A: 1589		
B: VOYHTmiR-104.016	B: 1589	VOYPC34	0.20 ± 0.00
C: VOYHTmiR-127.579	C: 1599		
A: VOYHTmiR-104.016	A: 1589		
B: VOYHTmiR-127.579	B: 1599	VOYPC30	0.26 ± 0.03
C: VOYHTmiR-104.016	C: 1589		
A: VOYHTmiR-127.579	A: 1599		
B: VOYHTmiR-127.579	B: 1599	VOYPC32	0.23 ± 0.01
C: VOYHTmiR-104.016	C: 1589		
A: VOYHTmiR-127.579	A: 1599		
B: VOYHTmiR-104.016	B: 1589	VOYPC44	0.17 ± 0.01
C: VOYHTmiR-127.579	C: 1599		
D: VOYHTmiR-104.016	D: 1589		
A: VOYHTmiR-104.016	A: 1589		
B: VOYHTmiR-127.579	B: 1599	VOYPC48	0.20 ± 0.01
C: VOYHTmiR-104.016	C: 1589		
D: VOYHTmiR-127.579	D: 1599		
A: VOYHTmiR-104.016	A: 1589		
B: VOYHTmiR-127.579	B: 1599	VOYPC46	0.19 ± 0.01
C: VOYHTmiR-127.579	C: 1599		
D: VOYHTmiR-104.016	D: 1589		
A: VOYHTmiR-127.579	A: 1599		
B: VOYHTmiR-104.016	B: 1589	VOYPC45	0.21 ± 0.01
C: VOYHTmiR-104.016	C: 1589		
D: VOYHTmiR-127.579	D: 1599		

結果は、4つの同一な調節性ポリヌクレオチド（VOYHTmiR-104.016（配列番号1589））を、タンデムで含有する配列VOYPC47が、同じ調節性ポリヌクレオチドのうちの3つ（VOYHTmiR-104.016（配列番号1589））を、タンデムで含有するVOYPC33より大きな標的の低減をもたらすことを示す。これらの結果はまた、3つの同一の調節性ポリヌクレオチド（VOYHTmiR-104.016（配列番号1589））を、タンデムで含有するVOYPC33が、同じ調節性ポリヌクレオチドのうちの2つ（VOYHTmiR-104.016（配列番号1589））を、タンデムで含有するVOYPC59より大きな標的の低減をもたらすことも示す。

【0977】

結果は、4つの同一な調節性ポリヌクレオチド（VOYHTmiR-127.579（配列番号1599））を、タンデムで含有する配列VOYPC43が、同じ調節性ポリヌクレオチドのうちの3つ（VOYHTmiR-127.579（配列番号1599））を、タンデムで含有するVOYPC31より大きな標的の低減をもたらすことを示す。これらの結果はまた、3つの同一の調節性ポリヌクレオチド（VOYHTmiR-127.579（配列番号1599））を、タンデムで含有するVOYPC31が、同じ調節性ポリヌクレオチドのうちの2つ（VOYHTmiR-127.579（配列番号1599））を、タンデムで含有するVOYPC62より大きな標的の低減をもたらすことも示す。

【0978】

まとめると、VOYHTmiR-104.016（配列番号1589）およびVOYHTmiR-127.579（配列番号1599）を伴う、これらの結果は、タンデムの、4つの同一な調節性ポリヌクレオチドが、タンデムの、同じ調節性ポリヌクレオチドのうちの3つより大きな阻害活性（標的の低減活性）をもたらす、同じ調節性ポリヌクレオチドのうちの3つが、タンデムの、同じ調節性ポリヌクレオチドのうちの2つより大きな阻害活性（標的の低減活性）をもたらすことを実証する。

【0979】

結果は、VOYHTmiR-104.016（配列番号1589）の2つのコピーに続き、VOYHTmiR-127.579（配列番号1599）の1つのコピーを含有する配列VOYPC34が、VOYPC30より大きな阻害活性（標的の低減活性）をもたらすことを示す。いずれの配列も、VOYHTmiR-104.016（配列番号1589）の2つのコピーと、VOYHTmiR-127.579（配列番号1599）の1つのコピーとを含有するが、これらの調節性ポリヌクレオチドの順序は異なり；VOYPC34が、VOYHTmiR-104.016（配列番号1589）の2つのコピーに続き、VOYHTmiR-127.579（配列番号1599）の1つのコピーを含有するのに対し、VOYPC30は、VOYHTmiR-104.016（配列番号1589）の1つのコピーに続き、VOYHTmiR-127.579（配列番号1599）の1つのコピーに続き、VOYHTmiR-104.016（配列番号1589）の1つのコピーを含有する。

【0980】

結果は、2つの、異なる調節性ポリヌクレオチドを含む、4つの調節性ポリヌクレオチドを含有する配列のうち、配列VOYPC44が、VOYPC48、VOYPC46、またはVOYPC45より大きな阻害活性（標的の低減活性）をもたらすことを示す。

【0981】

実施例6. HEK293T細胞内のポリシストロニックコンストラクトの、primiRNAによるプロセッシング

primiRNAによるプロセッシングの精度および効率を決定するために、単独で、または2つの調節性ポリヌクレオチドを、多様なタンデムの組合せで含む、VOYHTmiR-104.016（配列番号1589）および／またはVOYHTmiR-127.579（配列番号1599）をコードするmiRNA発現ベクターを構築し、1つのCMVプロモータまたは2つのH1プロモータと共に、AAV2内にパッケージングし、HEK293T細胞にこれを感染させ、次いで、primiRNAによるプロセッシングの精度および効率を、ディープシーケンシングにより評価した。

【0982】

HEK293T細胞を、6ウェルプレートへと播種し（細胞培養培地2mL中の細胞2E6個）、これらにAAV2内に、細胞1個当たりのベクターゲノム 1×10^4 のMOIでパッケージングされたmiRNA発現ベクターを、二連（Rep1およびRep2）で感染させた；表60～65を参照されたい。感染の48時間後に、細胞培養物を、ディープシーケンシングにより、primiRNAプロセッシングについて評価し、ガイド鎖存在量を、miRNAの全内因性プール（表60～61）、ガイド：パッセンジャー鎖比（表62～63）、およびガイド鎖の5'末端におけるプロセッシング精度（表64～65）

に対して評価した。表 60～65において、コンストラクトは、B調節性ポリヌクレオチドの前において、A調節性ポリヌクレオチドをコードする。N/Aとは、該当なしを意味する。

【0983】

CMVプロモータ（表 60）の場合、VOYHTmiR-104.016のガイド鎖存在量は、AAVゲノム内の、第2の調節性ポリヌクレオチドの存在の影響を受けた。ガイド鎖存在量は、VOYHTmiR-104.016（配列番号1589）の2つのコピーを含有するAAVゲノム（VOYPC13、全内因性miRNAプールに対する、0.26および0.27%）の場合に、VOYHTmiR-104.016（配列番号1589）の単一のコピーを含有するAAVゲノム（全内因性miRNAプールに対して、0.49および0.43%）の場合より低かった。しかし、VOYHTmiR-104.016についてのガイド鎖存在量は、第2の、異なる調節性ポリヌクレオチドである、VOYHTmiR-127.579を含有するAAVゲノムの場合、より高量であった。VOYPC14についてのガイド鎖存在量は、全内因性miRNAプールに対して、1.69および1.52%であり、VOYPC15についてのガイド鎖存在量は、全内因性miRNAプールに対して、2.17および2.11%であり、全内因性miRNAプールに対して0.49および0.43%である、単一の調節性ポリヌクレオチド（VOYHTmiR-104.016（配列番号1589））の場合のガイド鎖存在量と対照的であった。CMVプロモータを利用する配列は、調節性ポリヌクレオチドの転写が、単一のCMVプロモータの制御下にあるように、タンデムの調節性ポリヌクレオチドがCMVプロモータに対して3'側になるように構成した。CMVプロモータを使用して得られた結果を、表 60に示す。

【0984】

10

20

【表 60 - 1】

表 60. AAV 感染後における、HEK293T 培養物中の pri-miRNA プロセッシング
(CMV プロモータ):ガイド鎖存在量

調節性ポリヌクレオチドの名称	調節性ポリヌクレオチドの配列番号	配列名	内因性 miRNA プールに対するガイド鎖存在量(%)			
			127.579		104.016	
			Rep1	Rep2	Rep1	Rep2
VOYHTmiR-127.579	1599 (ITR 間配列:配列番号 2692)	N/A	1.92	0.85	N/A	N/A
VOYHTmiR-104.016	1589 (ITR 間配列:配列番号 2693)	N/A	N/A	N/A	0.49	0.43
コンストラクト 1: VOYHTmiR-104.016 コンストラクト 2: VOYHTmiR-127.579	コンストラクト 1: 1589 (ITR 間配列:配列番号 2693) コンストラクト 2: 1599 (ITR 間配列:配列番号 2692)	N/A	0.98	0.72	0.24	0.23
A: VOYHTmiR-104.016 B: VOYHTmiR-104.016	A: 1589 B: 1589	VOYPC13	N/A	N/A	0.26	0.27
A: VOYHTmiR-127.579 B: VOYHTmiR-104.016	A: 1599 B: 1589	VOYPC14	0.26	0.24	1.69	1.52

【0985】

【表 6 0 - 2】

A: VOYHTmiR-104.016 B: VOYHTmiR-127.579	A: 1589 B: 1599	VOYPC15	0.31	0.28	2.17	2.11
A: VOYHTmiR-127.579 B: VOYHTmiR-127.579	A: 1599 B: 1599	VOYPC16	0.93	0.72	N/A	N/A

10

Pol III プロモータである H1 を利用する配列は、各調節性ポリヌクレオチドがその固有の H1 プロモータによる制御下になるように構成した。表 6 1 において示す通り、H1 プロモータの場合、ガイド鎖存在量は、AAV ゲノム内の、対応する調節性ポリヌクレオチドの数と比例した。VOYHTmiR-104.016 (配列番号 1589) のガイド鎖存在量は、VOYHTmiR-104.016 の 2 つのコピーを含有する AAV ゲノム (VOYPC59、全内因性 miRNA プールに対する、3.81 および 3.84 %) の場合、VOYHTmiR-104.016 の単一のコピーを含有する AAV ゲノム (全内因性 miRNA プールに対する、2.19 および 2.13 %) の場合より 1.77 倍高かった。VOYHTmiR-104.016 (配列番号 1589) のガイド鎖存在量は、異なる調節性ポリヌクレオチドである、VOYHTmiR-127.579 (配列番号 1599) のコピーが、AAV ゲノム内に存在するのであれ、存在しないのであれ、VOYHTmiR-104.016 の 1 つのコピーを含有する AAV ゲノムと同様であった。全内因性 miRNA プールに対する、VOYHTmiR-104.016 のガイド鎖存在量は、VOYHTmiR-104.016 (配列番号 1589) の 1 つのコピーを含有する AAV ゲノム、VOYHTmiR-104.016 (配列番号 1589) の 1 つのコピーに続いて、VOYHTmiR-127.579 (配列番号 1599) の 1 つのコピーを含有する AAV ゲノム (VOYPC60)、および VOYHTmiR-127.579 (配列番号 1599) の 1 つのコピーに続いて、VOYHTmiR-104.016 (配列番号 1589) の 1 つのコピーを含有する AAV ゲノム (VOYPC61) の場合に、それぞれ、2.19 および 2.13 %、2.61 および 2.52 %、ならびに 2.21 および 2.3 % であった。

20

30

【0986】

同様に、別の調節性ポリヌクレオチドについて、H1 プロモータ (表 6 1) の場合、VOYHTmiR-127.579 (配列番号 1599) のガイド鎖存在量は、VOYHTmiR-127.579 の 2 つのコピーを含有する AAV ゲノム (VOYPC62、全内因性 miRNA プールに対する、2.05 および 1.74 %) の場合、VOYHTmiR-127.579 の単一のコピーを含有する AAV ゲノム (全内因性 miRNA プールに対する、0.75 および 0.67 %) の場合より 2.67 倍高かった。VOYHTmiR-127.579 (配列番号 1599) のガイド鎖存在量は、異なる調節性ポリヌクレオチドである、VOYHTmiR-104.016 (配列番号 1589) のコピーが、AAV ゲノム内に存在するのであれ、存在しないのであれ、VOYHTmiR-127.579 の 1 つのコピーを含有する AAV ゲノムと同様であった。全内因性 miRNA プールに対する、VOYHTmiR-127.579 のガイド鎖存在量は、VOYHTmiR-127.579 (配列番号 1599) の 1 つのコピーを含有する AAV ゲノム、VOYHTmiR-104.016 (配列番号 1589) の 1 つのコピーに続いて、VOYHTmiR-127.579 (配列番号 1599) の 1 つのコピーを含有する AAV ゲノム (VOYPC60)、および VOYHTmiR-127.579 (配列番号 1599) の 1 つの

40

50

コピーに続いて、VOYHTmiR-104.016（配列番号1589）の1つのコピーを含むAAVゲノム（VOYPC61）の場合に、それぞれ、0.75および0.67%、1.0および1.05%、ならびに0.97および0.99%であった。

【0987】

【表61-1】

表 61. AAV 感染後における、HEK293T 培養物中の pri-miRNA プロセッシング(H1
プロモータ):ガイド鎖存在量

調節性ポリヌクレオチドの名称	調節性ポリヌクレオチドの配列番号	配列名	内因性 miRNA プールに対するガイド鎖存在量(%)			
			127.579		104.016	
			Rep1	Rep2	Rep1	Rep2
VOYHTmiR-127.579	1599 (ITR 間配列:配列番号2690)	N/A	0.75	0.67	N/A	N/A
VOYHTmiR-104.016	1589 (ITR 間配列:配列番号2691)	N/A	N/A	N/A	2.19	2.13
コンストラクト 1: VOYHTmiR-104.016 コンストラクト 2: VOYHTmiR-127.579	コンストラクト 1: 1589 (ITR 間配列:配列番号2691) コンストラクト 2: 1599 (ITR 間配列:配列番号2690)	N/A	0.32	0.29	1.54	1.56
A: VOYHTmiR-104.016 B: VOYHTmiR-104.016	A: 1589 B: 1589	VOYPC59	N/A	N/A	3.81	3.84
A: VOYHTmiR-127.579 B: VOYHTmiR-104.016	A: 1599 B: 1589	VOYPC61	0.97	0.99	2.21	2.3

【0988】

【表 6 1 - 2】

A: VOYHTmiR-104.016 B: VOYHTmiR-127.579	A: 1589 B: 1599	VOYPC60	1	1.05	2.61	2.52
A: VOYHTmiR-127.579 B: VOYHTmiR-127.579	A: 1599 B: 1599	VOYPC62	2.05	1.74	N/A	N/A

10

CMVプロモータ（表 6 2）の場合、VOYHTmiR-104.016についてのガイド／パッセンジャー鎖比は、VOYHTmiR-104.016の単一のコピーだけを含有するAAVゲノムについての71.1および83に対して、VOYHTmiR-104.016（配列番号1589）の1つのコピーに続いて、VOYHTmiR-127.579（配列番号1599）の1つのコピーを含有するAAVゲノム（VOYPC15）、およびVOYHTmiR-127.579（配列番号1599）の1つのコピーに続いて、VOYHTmiR-104.016（配列番号1589）の1つのコピーを含有するAAVゲノム（VOYPC14）について、それぞれ、114.2および121.6、ならびに99.2および105.8であった。

20

【0989】

【表 6 2 - 1】

表 62. AAV 感染後における、HEK293T 培養物中の pri-miRNA プロセッシング
(CMV プロモータ): ガイド/パッセンジャー比

調節性ポリヌクレオチドの名称	調節性ポリヌクレオチドの配列番号	配列名	ガイド/パッセンジャー比			
			127.579		104.016	
			Rep1	Rep2	Rep1	Rep2
VOYHTmiR-127.579	1599 (ITR 間配列: 配列番号 2692)	N/A	16.6	4.6	N/A	N/A
VOYHTmiR-104.016	1589 (ITR 間配列: 配列番号 2693)	N/A	N/A	N/A	71.1	83
コンストラクト 1: VOYHTmiR-104.016 コンストラクト 2: VOYHTmiR-127.579	コンストラクト 1: 1589 (ITR 間配列: 配列番号 2693) コンストラクト 2: 1599 (ITR 間配列: 配列番号 2692)	N/A	9.4	6	45.2	66.9
A: VOYHTmiR-104.016 B: VOYHTmiR-104.016	A: 1589 B: 1589	VOYPC13	N/A	N/A	45.8	126.3
A: VOYHTmiR-127.579 B: VOYHTmiR-104.016	A: 1599 B: 1589	VOYPC14	6.8	6.7	99.2	105.8
A: VOYHTmiR-104.016 B: VOYHTmiR-127.579	A: 1589 B: 1599	VOYPC15	6.7	6.7	114.2	121.6

【0990】

【表 6 2 - 2】

A: VOYHTmiR- 127.579	A: 1599	VOYPC16	7.8	6.6	N/A	N/A
B: VOYHTmiR- 127.579	B: 1599					

P o l I I I H 1 プロモータ（表 6 3）を利用する場合、VOYHTmiR-104.016（配列番号1589）のガイド／パッセンジャー比は、AAVゲノム内の、第2の調節性ポリヌクレオチドの存在の影響を受けなかった。VOYHTmiR-104.016についてのガイド／パッセンジャー比は、VOYHTmiR-104.016（配列番号1589）の1つのコピーを含有するAAVゲノム、VOYHTmiR-104.016（配列番号1589）の2つのコピーを含有するAAVゲノム（VOYPC59）、VOYHTmiR-104.016（配列番号1589）の1つのコピーに続いて、VOYHTmiR-127.579（配列番号1599）の1つのコピーを含有するAAVゲノム（VOYPC60）、およびVOYHTmiR-127.579（配列番号1599）の1つのコピーに続いて、VOYHTmiR-104.016（配列番号1589）の1つのコピーを含有するAAVゲノム（VOYPC61）について、それぞれ、16.9および20.2、14.3および18.6、16.3および16.3、ならびに17.7および17.8であった。

【0991】

同様に、P o l I I I H 1 プロモータ（表 6 3）の場合、VOYHTmiR-127.579（配列番号1599）のガイド／パッセンジャー比は、AAVゲノム内の、第2の調節性ポリヌクレオチドの存在の影響を受けなかった。VOYHTmiR-127.579についてのガイド／パッセンジャー比は、VOYHTmiR-127.579（配列番号1599）の1つのコピーを含有するAAVゲノム、VOYHTmiR-127.579（配列番号1599）の2つのコピーを含有するAAVゲノム（VOYPC62）、VOYHTmiR-104.016（配列番号1589）の1つのコピーに続いて、VOYHTmiR-127.579（配列番号1599）の1つのコピーを含有するAAVゲノム（VOYPC60）、およびVOYHTmiR-127.579（配列番号1599）の1つのコピーに続いて、VOYHTmiR-104.016（配列番号1589）の1つのコピーを含有するAAVゲノム（VOYPC61）について、それぞれ、6.4および5.9、5.7および6.4、5.6および6.2、ならびに6.2および5.8であった。

【0992】

これらの結果は、P o l I I I H 1 プロモータ（表 6 3）の場合、ガイド／パッセンジャー比が、第2の調節性ポリヌクレオチドが存在するのであれ、存在しないのであれ、同じであったことを実証する。

【0993】

40

【表 6 3 - 1】

表 63. AAV 感染後における、HEK293T 培養物中の pri-miRNA プロセッシング(H1
プロモータ):ガイド/パッセンジャー比

調節性ポリヌクレオチドの名称	調節性ポリヌクレオチドの配列番号	配列名	ガイド/パッセンジャー比			
			127.579		104.016	
			Rep1	Rep2	Rep1	Rep2
VOYHTmiR-127.579	1599 (ITR 間配列:配列番号 2690)	N/A	6.4	5.9	N/A	N/A
VOYHTmiR-104.016	1589 (ITR 間配列:配列番号 2691)	N/A	N/A	N/A	16.9	20.2
コンストラクト 1: VOYHTmiR-104.016 コンストラクト 2: VOYHTmiR-127.579	コンストラクト 1: 1589 (ITR 間配列:配列番号 2691) コンストラクト 2: 1599 (ITR 間配列:配列番号 2690)	N/A	6.3	6	17.6	19.5

【0994】

【表 6 3 - 2】

A: VOYHTmiR-104.016 B: VOYHTmiR-104.016	A: 1589 B: 1589	VOYPC59	N/A	N/A	14.3	18.6
A: VOYHTmiR-127.579 B: VOYHTmiR-104.016	A: 1599 B: 1589	VOYPC61	6.2	5.8	17.7	17.8
A: VOYHTmiR-104.016 B: VOYHTmiR-127.579	A: 1589 B: 1599	VOYPC60	5.6	6.2	16.3	16.3
A: VOYHTmiR-127.579 B: VOYHTmiR-127.579	A: 1599 B: 1599	VOYPC62	5.7	6.4	N/A	N/A

CMVプロモータ（表 6 4）の場合、ガイド鎖の 5' 末端におけるプロセシング精度は、第 2 の調節性ポリヌクレオチドが、AAVゲノム内に存在するのであれ、存在しないのであれ、同じであった。CMVプロモータの場合、VOYHTmiR-104.016（配列番号 1589）についての、ガイド鎖の 5' 末端におけるプロセシング精度は、VOYHTmiR-104.016（配列番号 1589）の 1 つのコピーを含有する AAVゲノム、VOYHTmiR-104.016（配列番号 1589）の 2 つのコピーを含有する AAVゲノム（VOYPC13）、VOYHTmiR-104.016（配列番号 1589）の 1 つのコピーに続いて、VOYHTmiR-127.579（配列番号 1599）の 1 つのコピーを含有する AAVゲノム（VOYPC15）、および VOYHTmiR-127.579（配列番号 1599）の 1 つのコピーに続いて、VOYHTmiR-104.016（配列番号 1589）の 1 つのコピーを含有する AAVゲノム（VOYPC14）について、それぞれ、95.5 および 95%、94.9 および 95.4%、95.7 および 95.7%、ならびに 95.6 および 95.3% であった。CMVプロモータの場合、VOYHTmiR-127.579（配列番号 1599）についての、ガイド鎖の 5' 末端におけるプロセシング精度は、VOYHTmiR-127.579（配列番号 1599）の 1 つのコピーを含有する AAVゲノム VOYHTmiR-127.579（配列番号 1599）の 2 つのコピーを含有する AAVゲノム（VOYPC16）、VOYHTmiR-104.016（配列番号 1589）の 1 つのコピーに続いて、VOYHTmiR-127.579（配列番号 1599）の 1 つのコピーを含有する AAVゲノム（VOYPC15）、および VOYHTmiR-127.579（配列番号 1599）の 1 つのコピーに続いて、VOYHTmiR-104.016（配列番号 1589）の 1 つのコピーを含有する AAVゲノム（VOYPC14）について、それぞれ、59 および 59

． 8 %、 6 0 . 1 および 6 0 . 8 %、 5 9 . 9 および 6 1 . 5 %、ならびに 6 1 および 6 1 . 2 %であった。

【 0 9 9 5 】

【 表 6 4 】

表64. AAV感染後における、HEK293T培養物中のpri-miRNAプロセシング(CMVプロモータ):ガイド鎖5'プロセシングの精度

調節性ポリヌクレオチドの名称	調節性ポリヌクレオチドの配列番号	配列名	例数%(ガイド)			
			127.579		104.016	
			Rep1	Rep2	Rep1	Rep2
VOYHTmiR-127.579	1599 (ITR 間配列:配列番号 2692)	N/A	59	59.8	N/A	N/A
VOYHTmiR-104.016	1589 (ITR 間配列:配列番号 2693)	N/A	N/A	N/A	95.5	95
コンストラクト 1: VOYHTmiR-104.016 コンストラクト 2: VOYHTmiR-127.579	コンストラクト 1: 1589 (ITR 間配列:配列番号 2693) コンストラクト 2: 1599 (ITR 間配列:配列番号 2692)	N/A	58.9	60	95.3	94.6
A: VOYHTmiR-104.016 B: VOYHTmiR-104.016	A: 1589 B: 1589	VOYPC13	N/A	N/A	94.9	95.4
A: VOYHTmiR-127.579 B: VOYHTmiR-104.016	A: 1599 B: 1589	VOYPC14	61	61.2	95.6	95.3
A: VOYHTmiR-104.016 B: VOYHTmiR-127.579	A: 1589 B: 1599	VOYPC15	59.9	61.5	95.7	95.7
A: VOYHTmiR-127.579 B: VOYHTmiR-127.579	A: 1599 B: 1599	VOYPC16	60.1	60.8	N/A	N/A

H 1 プロモータ（表 6 5）の場合、ガイド鎖の 5' 末端におけるプロセシング精度は、

第2の調節性ポリヌクレオチドが、AAVゲノム内に存在するのであれ、存在しないのであれ、同じであった。H1プロモータの場合、VOYHTmiR-104.016についての、ガイド鎖の5'末端におけるプロセシング精度は、VOYHTmiR-104.016（配列番号1589）の1つのコピーを含有するAAVゲノム、VOYHTmiR-104.016（配列番号1589）の2つのコピーを含有するAAVゲノム（VOYPC59）、VOYHTmiR-104.016（配列番号1589）の1つのコピーに続いて、VOYHTmiR-127.579（配列番号1599）の1つのコピーを含有するAAVゲノム（VOYPC60）、およびVOYHTmiR-127.579（配列番号1599）の1つのコピーに続いて、VOYHTmiR-104.016（配列番号1589）の1つのコピーを含有するAAVゲノム（VOYPC61）について、それぞれ、92.6および92.6%、92.6および92.1%、92.1および91.8%、ならびに93および92.9%であった。H1プロモータの場合、VOYHTmiR-127.579（配列番号1599）についての、ガイド鎖の5'末端におけるプロセシング精度は、VOYHTmiR-127.579（配列番号1599）の1つのコピーを含有するAAVゲノム VOYHTmiR-127.579（配列番号1599）の2つのコピーを含有するAAVゲノム（VOYPC62）、VOYHTmiR-104.016（配列番号1589）の1つのコピーに続いて、VOYHTmiR-127.579（配列番号1599）の1つのコピーを含有するAAVゲノム（VOYPC60）、およびVOYHTmiR-127.579（配列番号1599）の1つのコピーに続いて、VOYHTmiR-104.016（配列番号1589）の1つのコピーを含有するAAVゲノム（VOYPC61）について、それぞれ、59.5および59.6%、58.5および59.3%、59および59.8%、ならびに58.5および58.7%であった。

【0996】

これらの結果は、CMVプロモータ（表64）またはH1プロモータ（表65）の場合、ガイド鎖の5'末端におけるプロセシング精度が、第2の調節性ポリヌクレオチドが存在するのであれ、存在しないのであれ、同じであったことを実証する。

【0997】

【表 6 5】

表65: AAV感染後における、HEK293T培養物中のpri-miRNAプロセッシング(H1プロモータ)
: ガイド鎖5'プロセッシングの精度

調節性ポリヌクレオチドの名称	調節性ポリヌクレオチドの配列番号	配列名	例数%(ガイド)			
			127.579		104.016	
			Rep1	Rep2	Rep1	Rep2
VOYHTmiR-127.579	1599 (ITR 間配列:配列番号2690)	N/A	59.5	59.6	N/A	N/A
VOYHTmiR-104.016	1589 (ITR 間配列:配列番号2691)	N/A	N/A	N/A	92.6	92.6
コンストラクト 1: VOYHTmiR-104.016 コンストラクト 2: VOYHTmiR-127.579	コンストラクト 1: 1589 (ITR 間配列:配列番号2691) コンストラクト 2: 1599 (ITR 間配列:配列番号2690)	N/A	59.5	60	92.6	92.4
A: VOYHTmiR-104.016 B: VOYHTmiR-104.016	A: 1589 B: 1589	VOYPC59	N/A	N/A	92.6	92.1
A: VOYHTmiR-127.579 B: VOYHTmiR-104.016	A: 1599 B: 1589	VOYPC61	58.5	58.7	93	92.9
A: VOYHTmiR-104.016 B: VOYHTmiR-127.579	A: 1589 B: 1599	VOYPC60	59	59.8	92.1	91.8
A: VOYHTmiR-127.579 B: VOYHTmiR-127.579	A: 1599 B: 1599	VOYPC62	58.5	59.3	N/A	N/A

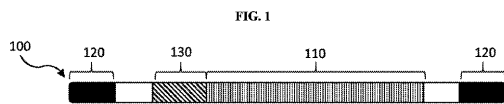
本発明をかなり詳しく、幾つかの説明される実施形態に関するある具体性をもって説明したが、それが任意のかかる具体例もしくは実施形態または任意の具体的な実施形態に限定されるべきであることを意図するものではなく、しかし先行技術を考慮してかかる特許請求の範囲の最も広義の可能な解釈を提供し、したがって本発明の意図される範囲を有効

に包含するように添付の特許請求の範囲を参照して解釈されるべきである。

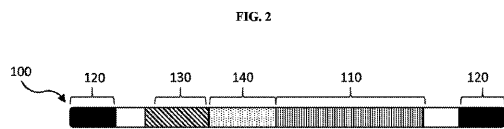
【0998】

本明細書において言及される刊行物、特許出願、特許、および他の参考文献は全て、全体として参照により援用される。矛盾が生じる場合、定義を含め、本明細書が優先するものとする。加えて、節の見出し、材料、方法、および例は例示に過ぎず、限定を意図するものではない。

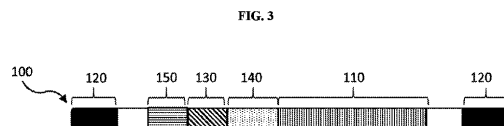
【図 1】



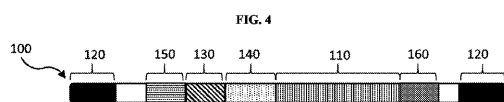
【図 2】



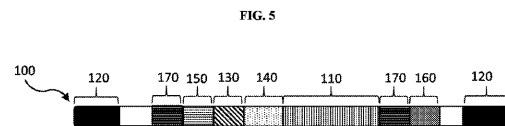
【図 3】



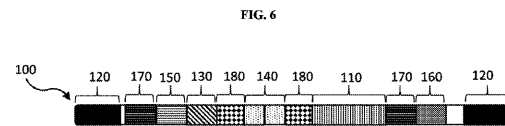
【図 4】



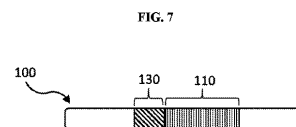
【図 5】



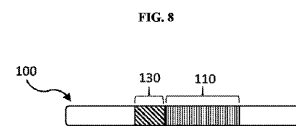
【図 6】



【図 7】

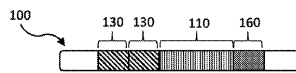


【図 8】



【図 9】

FIG. 9



【配列表】

2020518266000001.app

【手続補正書】

【提出日】 令和2年2月14日 (2020.2.14)

【手続補正 1】

【補正対象書類名】 明細書

【補正対象項目名】 配列表

【補正方法】 変更

【補正の内容】

【配列表】

2020518266000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US2018/031108

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC(8) - C12N 15/11; C12N 15/113; C12N 15/86 (2018.01)

CPC - C12N 15/86; C12N 2310/14; C12N 2750/14141 (2018.05)

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

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

See Search History document

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

USPC - 435/235.1; 536/24.1; 536/24.5 (keyword delimited)

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

See Search History document

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 2016/077689 A1 (VOYAGER THERAPEUTICS, INC.) 19 May 2016 (19.05.2016) entire document	1-38, 43, 44, 50-76, 78-81
Y	US 2010/0036107 A1 (CLAWSON et al) 11 February 2010 (11.02.2010) entire document	1-38, 43, 44, 50-76, 78-81
Y	US 2008/0015158 A1 (ICHIRO et al) 17 January 2008 (17.01.2008) entire document	15, 55, 56
Y	US 2008/0020992 A1 (RAO et al) 24 January 2008 (24.01.2008) entire document	50-52, 73-76, 78-81
Y	US 2005/0054489 A1 (ZHANG et al) 24 March 2005 (24.03.2005) entire document	72
P, X	WO 2017/189963 A1 (VOYAGER THERAPEUTICS, INC.) 02 November 2017 (02.11.2017) entire document	1-38, 43, 44, 50-82
A	WO 2016/077689 A1 (VOYAGER THERAPEUTICS, INC.) 19 May 2016 (19.05.2016) entire document	1-38, 43, 44, 50-82

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

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

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

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

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

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

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

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

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

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

15 August 2018

Date of mailing of the international search report

11 SEP 2018

Name and mailing address of the ISA/US

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

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

Facsimile No. 571-273-8300

Authorized officer

Blaine R. Copenheaver

PCT Helpdesk: 571-272-4300
PCT OSP: 571-272-7774

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (January 2015)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US2018/031108

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

3. Additional comments:

SEQ ID NOs: 1503-1522, 1692-1695, 1782, 1783, 1839, 1849, and 2682-2685 were searched.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US2018/031108

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

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

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☒ Claims Nos.: 39-42, 45-49, 83-112
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

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

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

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

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

フロントページの続き

(31)優先権主張番号 62/501,787

(32)優先日 平成29年5月5日(2017.5.5)

(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)

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

(特許庁注：以下のものは登録商標)

1. T R I T O N
2. ノニデット
3. N o n i o d e t

(74)代理人 100152489

弁理士 中村 美樹

(72)発明者 ホウ、ジンジャオ

アメリカ合衆国 0 2 1 3 9 マサチューセッツ州 ケンブリッジ シドニー ストリート 7 5

(72)発明者 ワン、シン

アメリカ合衆国 0 2 1 3 9 マサチューセッツ州 ケンブリッジ シドニー ストリート 7 5

(72)発明者 ジョウ、ペンチェン

アメリカ合衆国 0 2 1 3 9 マサチューセッツ州 ケンブリッジ シドニー ストリート 7 5

(72)発明者 レン、シャオーチン

アメリカ合衆国 0 2 1 3 9 マサチューセッツ州 ケンブリッジ シドニー ストリート 7 5

(72)発明者 サー、ディナー ウェンイー

アメリカ合衆国 0 2 1 3 9 マサチューセッツ州 ケンブリッジ シドニー ストリート 7 5

Fターム(参考) 4C084 AA13 NA14 ZC02

4C086 AA01 AA02 EA16 MA01 MA04 NA14 ZC02