(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2025-0092292
(43) 공개일자 2025년06월23일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 48/00 (2006.01) *A61P 21/00* (2006.01)
C07K 14/47 (2006.01) *C12N 15/86* (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 48/005 (2013.01)
A61K 48/0058 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2025-7019635(분할)
(22) 출원일자(국제) 2019년06월17일
심사청구일자 없음
(62) 원출원 특허 10-2021-7000421
원출원일자(국제) 2019년06월17일
심사청구일자 2022년06월14일
(85) 번역문제출일자 2025년06월13일
(86) 국제출원번호 PCT/US2019/037489
(87) 국제공개번호 WO 2019/245973
국제공개일자 2019년12월26일
(30) 우선권주장
62/686,668 2018년06월18일 미국(US)
(뒷면에 계속)

(71) 출원인
더 리서치 인스티튜트 앳 네이션와이드 칠드런스 하스피탈
미국 43205 오하이오주 콜럼버스 칠드런스 드라이브 700 룸 더블유172
(72) 발명자
로디노-클라팍 루이스
미국, 오하이오 43125, 이. 그로브포트, 4912 빅스비 릿지 드라이브
멘델 제리 알.
미국, 오하이오 43235, 콜롬버스, 8176 코퍼필드 드라이브
(74) 대리인
특허법인한얼

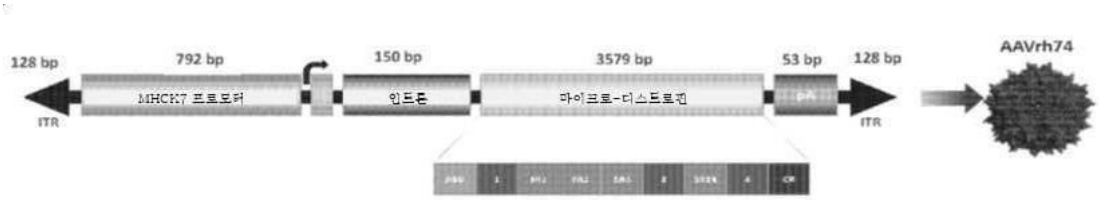
전체 청구항 수 : 총 78 항

(54) 발명의 명칭 **근육 이영양증을 치료하기 위한 근육 특이적 마이크로-디스트로핀의 아데노-연관 바이러스 벡터 전달**

(57) 요 약

본 발명은 소형화된 인간 마이크로-디스트로핀 유전자를 발현하는 아데노-연관 바이러스(AAV, adeno-associated virus) 벡터와 같은 유전자 치료 벡터 및 이러한 벡터를 사용하여 횡격막 및 심근을 포함한 골격근에서 마이크로-디스트로핀(micro-dystrophin)을 발현하고, 근섬유를 손상으로부터 보호하고, 근육 강도를 증가시키고, 근육 이영양증(muscular dystrophy)을 앓고 있는 대상체에서 섬유증을 감소 및/또는 예방하는 방법을 제공한다.

대 표 도



(52) CPC특허분류
A61K 48/0075 (2013.01)
A61K 48/0083 (2013.01)
A61P 21/00 (2018.01)
C07K 14/4716 (2013.01)
C12N 15/86 (2013.01)
C12N 2750/14141 (2013.01)

(30) 우선권주장
62/740,402 2018년10월02일 미국(US)
62/752,841 2018년10월30일 미국(US)
62/823,649 2019년03월25일 미국(US)
62/860,220 2019년06월11일 미국(US)

명 세 서

청구범위

청구항 1

재조합 아데노-바이러스 연관 (rAAV) rAAV.MHCK7.microdystrophin을 투여하는 단계를 포함하는, 이를 필요로 하는 인간 대상체에서 근육 이영양증을 치료하는 방법으로서,

상기 rAAV는 전신 투여 경로를 사용하여 약 $5.0x10^{12}$ vg/kg 내지 약 $1.0x10^{15}$의 투여량으로 투여되는, 방법.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 전신 투여 경로는 정맥내 경로이고, 투여된 rAAV의 투여량은 약 $2x\ 10^{14}$ vg/kg인, 방법.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, rAAV의 투여량은 약 10 mL/kg의 농도로 투여되는, 방법.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 rAAV는 주사, 주입 또는 이식에 의해 투여되는, 방법.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 rAAV는 약 1시간에 걸쳐 주입에 의해 투여되는, 방법.

청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 rAAV는 말초 사지 정맥을 통한 정맥내 경로에 의해 투여되는, 방법.

청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 rAAV는 서열번호 1의 인간 마이크로-디스트로핀 뉴클레오티드 서열을 포함하는, 방법.

청구항 8

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 rAAV는 서열번호 2 또는 서열번호 7의 MHCK7 프로모터 서열을 포함하는, 방법.

청구항 9

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 rAAV는 혈청형 AAVrh.74인, 방법.

청구항 10

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 rAAV는 서열번호 9의 AAVrh74.MHCK7.micro-dystrophin 작제물 뉴클레오티드 서열 또는 서열번호 3의 뉴클레오티드 55-5021를 포함하는, 방법.

청구항 11

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 근육 이영양증은 듀시엔형 근육 이영양증 또는 베커형 근육 이영양증인, 방법.

청구항 12

제1항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 인간 대상체는 듀시엔형 근육 이영양증을 앓고 있고, 상기

rAAV는 약 2x 10^{14} vg/kg의 투여량으로 약 1시간에 걸쳐 정맥내 주입에 의해 투여되고, 여기서 상기 rAAV는 서열번호 9의 AAVrh74.MHCK7.micro-dystrophin 작제물 뉴클레오티드 서열 또는 서열번호 3의 뉴클레오티드 55-5021을 포함하는, 방법.

청구항 13

제1항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대상체의 세포에서 마이크로-디스트로핀 유전자 발현의 수준은 rAAV의 투여 전 마이크로-디스트로핀 유전자 발현의 수준에 비해 rAAV의 투여 후에 증가되는, 방법.

청구항 14

제13항에 있어서, 상기 세포에서 마이크로-디스트로핀 유전자의 발현은 상기 rAAV의 투여 전후 생검된 근육에서 웨스턴 블롯으로 상기 마이크로-디스트로핀 단백질 수준을 측정함으로써 검출되는, 방법.

청구항 15

제14항에 있어서, 상기 마이크로-디스트로핀 단백질의 수준은 rAAV의 투여 전 마이크로-디스트로핀의 수준에 비해 rAAV의 투여 후에 적어도 72% 증가되는, 방법.

청구항 16

제13항에 있어서, 상기 세포에서 마이크로-디스트로핀 유전자의 발현은 상기 rAAV의 투여 전후 근육 생검에서 면역조직화학법으로 상기 마이크로-디스트로핀 단백질 수준을 측정함으로써 검출되는, 방법.

청구항 17

제16항에 있어서, 상기 마이크로-디스트로핀 단백질의 수준은 rAAV의 투여 전 마이크로-디스트로핀의 수준에 비해 rAAV의 투여 후에 적어도 72% 증가되는, 방법.

청구항 18

제1항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대상체에서의 혈청 CK 수준은 rAAV의 투여 전 혈청 CK 수준에 비해 rAAV의 투여 후에 감소되는, 방법.

청구항 19

제18항에 있어서, 상기 대상체에서의 혈청 CK 수준은 rAAV의 투여 전 혈청 CK 수준에 비해 rAAV의 투여 후 60일까지 87% 감소되는, 방법.

청구항 20

제1항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대상체의 근육 조직 내 마이크로-디스트로핀 양성 섬유의 수는 rAAV의 투여 전 마이크로-디스트로핀 양성 섬유의 수에 비해 rAAV의 투여 후에 증가되는, 방법.

청구항 21

제20항에 있어서, 상기 마이크로-디스트로핀 양성 섬유의 수는 rAAV의 투여 전후 근육 생검에서 웨스턴 블롯으로 상기 마이크로-디스트로핀 단백질 수준을 측정함으로써 검출되는, 방법.

청구항 22

제20항에 있어서, 상기 마이크로-디스트로핀 양성 섬유의 수는 rAAV의 투여 전후 근육 생검에서 면역조직화학법으로 상기 마이크로-디스트로핀 단백질 수준을 측정함으로써 검출되는, 방법.

청구항 23

제1항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대상체에서의 알파-사르코글리칸의 수준은 rAAV의 투여 전 알파-사르코글리칸의 수준에 비해 rAAV의 투여 후에 증가되는, 방법.

청구항 24

제23항에 있어서, 상기 알파-사르코글리칸의 수준은 rAAV의 투여 전후 근육 생검에서 웨스턴 블롯으로 알파-사르코글리칸 단백질 수준을 측정함으로써 검출되는, 방법.

청구항 25

제23항에 있어서, 상기 알파-사르코글리칸의 수는 rAAV의 투여 전후 근육 생검에서 면역조직화학법으로 상기 알파-사르코글리칸 단백질 수준을 측정함으로써 검출되는, 방법.

청구항 26

제1항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대상체에서의 베타-사르코글리칸의 수준은 rAAV의 투여 전 베타-사르코글리칸의 수준에 비해 rAAV의 투여 후에 증가되는, 방법.

청구항 27

제26항에 있어서, 상기 베타-사르코글리칸의 수준은 rAAV의 투여 전후 근육 생검에서 웨스턴 블롯으로 상기 베타-사르코글리칸 단백질 수준을 측정함으로써 검출되는, 방법.

청구항 28

제26항에 있어서, 상기 베타-사르코글리칸의 수는 상기 rAAV의 투여 전후 근육 생검에서 면역조직화학법으로 상기 베타-사르코글리칸 단백질 수준을 측정함으로써 검출되는, 방법.

[청구항 25]

제1항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대상체의 질병 진행은, 다음 중 어느 하나로 측정될 때 rAAV의 투여 후에 지연되는, 방법: 6분 보행 검사, 상승까지의 시간(time to rise), 4단계 상승(ascend 4 steps), 4단계 상승 및 하강(ascend and descend 4 steps), 노스 스타 보행 평가(NSAA, North Star Ambulatory Assessment), 10미터 시간 검사(10 meter timed test), 100미터 시간 검사, 휴대용 악력계(HHD), 일어나서 걷기 검사(Timed Up and Go) 및/또는 대근육 운동 척도(Bayley-III) 점수.

[청구항 26]

제25항에 있어서, 상기 대상체는 상기 rAAV의 투여 전 NSAA 점수와 비교하여 rAAV의 투여 후 적어도 270일에 적어도 6점의 NSAA 점수 개선을 갖는, 방법.

[청구항 27]

제25항에 있어서, 상기 대상체는 상기 rAAV의 투여 전 상승까지의 시간과 비교하여 rAAV의 투여 후 적어도 270일에 상승까지의 시간이 적어도 약 0.8초 개선된, 방법.

[청구항 28]

제25항에 있어서, 상기 대상체는 상기 rAAV의 투여 전 4단계 상승 시간과 비교하여 rAAV의 투여 후 적어도 270일에 4단계 상승 시간이 적어도 약 1.2초 개선된, 방법.

청구항 29

제25항에 있어서, 상기 대상체는 상기 rAAV 투여 전 100m 시간 검사와 비교하여 rAAV 투여 후 적어도 270일에 100m 시간 검사에서 적어도 약 7초 개선된, 방법.

청구항 30

환자 세포에서 마이크로-디스트로핀 유전자를 발현시키는 방법으로서, 서열번호 9의 AAVrh74.MHCK7.micro-dystrophin 작제물 뉴클레오티드 서열 또는 서열번호 3의 뉴클레오티드 55-5021을 상기 환자에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 31

제30항에 있어서, 상기 환자 세포에서 마이크로-디스트로핀 유전자의 발현은 상기 rAAV.MHCK7.micro-dystrophin 작제물의 투여 전후 근육 생검에서 웨스턴 블롯으로 상기 마이크로-디스트로핀 단백질 수준을 측정함으로써 검

출되는, 방법.

청구항 32

제30항에 있어서, 상기 환자 세포에서 마이크로-디스트로핀 유전자의 발현은 상기 rAAV.MHCK7.micro-dystrophin 작제물의 투여 전후 근육 생검에서 면역조직화학법으로 상기 마이크로-디스트로핀 단백질 수준을 측정함으로써 검출되는, 방법.

청구항 33

제30항에 있어서, 상기 마이크로-디스트로핀 유전자의 발현은 1 초과의 핵 당 rAAV 벡터 게놈 사본을 검출함으로써 상기 환자에서 측정되는, 방법.

청구항 34

이를 필요로 하는 환자의 혈청 CK 수준을 감소시키는 방법으로서, 상기 방법은 서열번호 9의 AAVrh74.MHCK7.micro-dystrophin 작제물 뉴클레오티드 서열 또는 서열번호 3의 뉴클레오티드 55-5021을 상기 환자에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 35

제34항에 있어서, 상기 환자의 혈청 CK 수준은 rAAV의 투여 전 혈청 CK 수준에 비해 rAAV의 투여 후 60일까지 적어도 87% 감소되는, 방법.

청구항 36

환자 근육 조직에서 마이크로-디스트로핀 양성 섬유를 증가시키는 방법으로서, 서열번호 9의 AAVrh74.MHCK7.micro-dystrophin 작제물 뉴클레오티드 서열 또는 서열번호 3의 뉴클레오티드 55-5021을 상기 환자에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 37

제36항에 있어서, 상기 마이크로-디스트로핀 양성 섬유의 수는 rAAV의 투여 전후 근육 생검에서 웨스턴 블롯으로 상기 디스트로핀 단백질 수준을 측정함으로써 검출되는, 방법.

청구항 38

제36항에 있어서, 상기 마이크로-디스트로핀 양성 섬유의 수는 rAAV의 투여 전후 근육 생검에서 면역조직화학법으로 상기 디스트로핀 단백질 수준을 측정함으로써 검출되는, 방법.

청구항 39

제36항에 있어서, 상기 마이크로-디스트로핀 양성 섬유의 수는 1 초과의 핵 당 rAAV 벡터 게놈 사본을 검출함으로써 측정되는, 방법.

청구항 40

이를 필요로 하는 환자에서 알파-사르코글리칸의 발현을 증가시키는 방법으로서, 서열번호 9의 AAVrh74.MHCK7.micro-dystrophin 작제물 뉴클레오티드 서열 또는 서열번호 3의 뉴클레오티드 55-5021을 상기 환자에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 41

제40항에 있어서, 상기 알파-사르코글리칸의 수준은 rAAV의 투여 전후 근육 생검에서 웨스턴 블롯으로 상기 알파-사르코글리칸 단백질 수준을 측정함으로써 검출되는, 방법.

청구항 42

제40항에 있어서, 상기 알파-사르코글리칸의 수는 rAAV의 투여 전후 근육 생검에서 면역조직화학법으로 상기 알파-사르코글리칸 단백질 수준을 측정함으로써 검출되는, 방법.

청구항 43

이를 필요로 하는 환자에서 베타-사르코글리칸의 발현을 증가시키는 방법으로서, 서열번호 9의 AAVrh74.MHCK7.micro-dystrophin 작제물 뉴클레오티드 서열 또는 서열번호 3의 뉴클레오티드 55-5021을 상기 환자에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 44

제43항에 있어서, 상기 베타-사르코글리칸의 수준은 rAAV의 투여 전후 근육 생검에서 웨스턴 블롯으로 상기 베타-사르코글리칸 단백질 수준을 측정함으로써 검출되는, 방법.

청구항 45

제43항에 있어서, 상기 베타-사르코글리칸의 수는 rAAV의 투여 전후 근육 생검에서 면역조직화학법으로 상기 베타-사르코글리칸 단백질 수준을 측정함으로써 검출되는, 방법.

청구항 46

듀시엔형 근육 이영양증 또는 베커형 근육 이영양증을 가진 환자를 치료하는 방법으로서, 상기 방법은 서열번호 9의 AAVrh74.MHCK7.micro-dystrophin 작제물 뉴클레오티드 서열 또는 서열번호 3의 뉴클레오티드 55-5021를 상기 환자에게 투여해서, 환자의 질병 진행이 다음 중 어느 하나로 측정될 때 지연되도록 하는 단계를 포함하는, 방법: 6분 보행 검사, 상승까지의 시간(time to rise), 4단계 상승(ascend 4 steps), 4단계 상승 및 하강(ascend and descend 4 steps), 노스 스타 보행 평가(NSAA, North Star Ambulatory Assessment), 10미터 시간 검사(10 meter timed test), 100미터 시간 검사, 휴대용 악력계(HHD), 일어나서 걷기 검사(Timed Up and Go) 및/또는 대근육 운동 척도(Bayley-III) 점수.

청구항 47

제46항에 있어서, 상기 대상체는 상기 rAAV의 투여 전 NSAA 점수와 비교하여 rAAV의 투여 후 적어도 90일에 적어도 6점의 NSAA 점수 개선을 갖는, 방법.

청구항 48

제46항에 있어서, 상기 대상체는 상기 rAAV의 투여 전 상승까지의 시간과 비교하여 rAAV의 투여 후 적어도 90일에 상승까지의 시간이 적어도 약 0.8초 개선된, 방법.

청구항 49

제46항에 있어서, 상기 대상체는 상기 rAAV의 투여 전 4단계 상승 시간과 비교하여 rAAV의 투여 후 적어도 90일에 4단계 상승 시간이 적어도 약 1.2초 개선된, 방법.

청구항 50

제46항에 있어서, 상기 대상체는 상기 rAAV 투여 전 100m 시간 검사와 비교하여 rAAV 투여 후 적어도 90일에 100m 시간 검사에서 적어도 약 7초 개선된, 방법.

청구항 51

이를 필요로 하는 인간 대상체에서 근육 이영양증을 치료하기 위한 조성물로, 상기 조성물은 재조합 아데노-바이러스 연관(rAAV) rAAV.MHCK7.microdystrophin을 포함하고, 여기서 상기 조성물은 전신 투여 경로를 위해 제형화되고 rAAV의 투여량은 약 $5x10^{12}$ vg/kg 내지 약 $1.0x\ 10^{15}$인, 조성물.

청구항 52

제51항에 있어서, 상기 전신 투여 경로는 정맥내 경로이고 상기 rAAV의 투여량은 약 $2x\ 10^{14}$ vg/kg인, 조성물.

청구항 53

제51항 또는 제52항에 있어서, 상기 rAAV의 투여량은 약 10 mL/kg인, 조성물.

청구항 54

제51항 내지 제53항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 조성물은 주사, 주입 또는 이식에 의해 투여되도록 제형화된, 조성물.

청구항 55

제51항 내지 제53항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 조성물은 약 1시간에 걸쳐 주입에 의해 투여되도록 제형화된, 조성물.

청구항 56

제51항 내지 제53항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 조성물의 투여량은 말초 사지 정맥을 통한 정맥내 투여를 위해 제형화되는, 조성물.

청구항 57

제51항 내지 제56항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 rAAV는 서열번호 1의 인간 마이크로-디스트로핀 뉴클레오티드 서열을 포함하는, 조성물.

청구항 58

제51항 내지 제57항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 rAAV는 서열번호 2 또는 서열번호 7의 MHCK7 프로모터 서열을 포함하는, 조성물.

청구항 59

제51항 내지 제58항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 rAAV는 혈청형 AAVrh.74인, 조성물.

청구항 60

제51항 내지 제59항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 rAAV는 서열번호 9의 AAVrh74.MHCK7.micro-dystrophin 작제물 뉴클레오티드 서열 또는 서열번호 3의 뉴클레오티드 55-5021를 포함하는, 조성물.

청구항 61

제51항 내지 제60항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 근육 이영양증은 듀시엔형 근육 이영양증 또는 베커형 근육 이영양증인, 조성물.

청구항 62

이를 필요로 하는 인간 대상체에서 듀시엔형 근육 이영양증을 치료하기 위한 조성물로, 상기 조성물은 재조합 아데노-바이러스 연관 (rAAV) rAAV.MHCK7.microdystrophin을 포함하고, 여기서

상기 조성물은 약 2x 10^{14} vg/kg의 투여량으로 약 1시간에 걸쳐 정맥내 주입에 의해 투여되도록 제형화되고, 그리고

여기서 상기 rAAV는 서열번호 9의 AAVrh7.4.MHCK7.micro-dystrophin 작제물 뉴클레오티드 서열 또는 서열번호 3의 뉴클레오티드 55-5021을 포함하는, 조성물.

청구항 63

이를 필요로 하는 인간 대상체의 근육 이영양증 치료를 위한 약제의 제조를 위한 재조합 아데노-바이러스 연관 (rAAV) rAAV.MHCK7.microdystrophin의 용도로, 상기 약제는 전신 투여 경로를 위해 제형화되고 약 1x10^{14} vg/kg 내지 약 4x 10^{14} vg/kg의 rAAV 투여량을 포함하는, 용도.

청구항 64

제55항에 있어서, 상기 약제는 정맥내 투여용으로 제형화되고, 상기 rAAV의 투여량은 약 2x 10^{14} vg/kg인, 용도.

청구항 65

제63항 또는 제64항에 있어서, 상기 rAAV의 투여량은 약 10 mL/kg인, 용도.

청구항 66

제63항 내지 제65항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 약제는 주사, 주입 또는 이식에 의해 투여되도록 제형화되는, 용도.

청구항 67

제63항 내지 제65항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 약제는 약 1시간에 걸쳐 주입에 의해 투여되도록 제형화된, 용도.

청구항 68

제63항 내지 제65항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 약제는 말초 사지 정맥을 통한 정맥내 투여를 위해 제형화된, 용도.

청구항 69

제63항 내지 제68항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 rAAV는 서열번호 1의 인간 마이크로-디스트로핀 뉴클레오티드 서열을 포함하는, 용도.

청구항 70

제63항 내지 제69항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 rAAV는 서열번호 2 또는 서열번호 7의 MHCK7 프로모터 서열을 포함하는, 용도.

청구항 71

제63항 내지 제70항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 rAAV는 혈청형 AAVrh.74인, 용도.

청구항 72

제63항 내지 제70항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 rAAV는 서열번호 9의 AAVrh74.MHCK7.micro-dystrophin 작제물 뉴클레오티드 서열 또는 서열번호 3의 뉴클레오티드 55-5021를 포함하는, 용도.

청구항 73

제63항 내지 제71항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 근육 이영양증은 듀시엔형 근육 이영양증 또는 베커형 근육 이영양증인, 용도.

청구항 74

이를 필요로 하는 인간 대상체의 듀시엔형 근육 이영양증 치료를 위한 약제의 제조를 위한 재조합 아데노-바이러스 연관(rAAV) rAAV.MHCK7.microdystrophin의 용도로, 상기 약제는 약 1시간에 걸쳐 정맥내 주입에 의해 투여되도록 제형화되고 약 $2x\ 10^{14}$ vg/kg의 rAAV 투여량을 포함하고, 여기서 상기 rAAV는 서열번호 9의 AAVrh74.MHCK7.micro-dystrophin 작제물 뉴클레오티드 서열 또는 서열번호 3의 뉴클레오티드 55-5021을 포함하는, 용도.

청구항 75

제1항 내지 제50항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대상체에서의 혈청 CK 수준은 rAAV의 투여 전 혈청 CK 수준과 비교하여 rAAV의 투여 후 다음으로 이루어진 군으로부터 선택되는 백분율 수준만큼 감소되는, 방법:

a) 투여 후 90, 180 또는 270일까지 적어도 78%;

b) 투여 후 270일까지 적어도 46, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70 또는 85%;

c) 투여 후 180일까지 적어도 72, 73, 74 또는 95%;

d) 투여 후 90일까지 적어도 87, 88, 93 또는 95%;

e) 투여 후 270일까지 적어도 70%;

f) 투여 후 90일, 180일 또는 270일까지 70 내지 95%;

g) 투여 후 90, 180 또는 270일까지 적어도 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 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 또는 95%; 및

h) 투여 후 90, 180 또는 270일까지 적어도 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 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 또는 95%.

청구항 76

제51항 내지 제62항 중 어느 한 항에 있어서, 근육 이영양증 치료를 필요로 하는 인간 대상체에게 상기 조성물을 투여한 후에, 상기 대상체에서의 혈청 CK 수준은 상기 조성물의 투여 전 혈청 CK 수준과 비교하여 다음으로 이루어진 군으로부터 선택되는 백분율 수준만큼 감소되는, 조성물:

a) 투여 후 90, 180 또는 270일까지 적어도 78%;

b) 투여 후 270일까지 적어도 46, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70 또는 85%;

c) 투여 후 180일까지 적어도 72, 73, 74 또는 95%;

d) 투여 후 90일까지 적어도 87, 88, 93 또는 95%;

e) 투여 후 270일까지 적어도 70%;

f) 투여 후 90일, 180일 또는 270일까지 70 내지 95%;

g) 투여 후 90, 180 또는 270일까지 적어도 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 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 또는 95%; 및

h) 투여 후 90, 180 또는 270일까지 적어도 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 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 또는 95%.

청구항 77

제63항 내지 제74항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대상체에서의 혈청 CK 수준은 rAAV의 투여 전 혈청 CK 수준과 비교하여 rAAV를 대상체에게 투여한 후에 다음으로 이루어진 군으로부터 선택되는 백분율 수준만큼 감소되는, 용도:

a) 투여 후 90, 180 또는 270일까지 적어도 78%;

b) 투여 후 270일까지 적어도 46, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70 또는 85%;

c) 투여 후 180일까지 적어도 72, 73, 74 또는 95%;

d) 투여 후 90일까지 적어도 87, 88, 93 또는 95%;

e) 투여 후 270일까지 적어도 70%;

f) 투여 후 90일, 180일 또는 270일까지 70 내지 95%;

g) 투여 후 90, 180 또는 270일까지 적어도 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 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

또는 95%; 및

h) 투여 후 90, 180 또는 270일까지 적어도 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 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 또는 95%.

청구항 78

a) 서열번호 3의 뉴클레오티드 서열,

b) 서열번호 8의 뉴클레오티드 서열,

c) 서열번호 9의 뉴클레오티드 서열,

d) 서열번호 3의 뉴클레오티드 55-5021을 포함하는 rAAV,

e) 서열번호 9의 핵산 서열을 포함하는 rAAV,

f) 서열번호 8의 뉴클레오티드 1-4977을 포함하는 rAAV,

g) 서열번호 3의 뉴클레오티드 55-5021을 포함하는 rAAV 입자,

h) 서열번호 9의 핵산 서열을 포함하는 rAAV 입자, 또는

i) 서열번호 8의 뉴클레오티드 1-4977을 포함하는 rAAV 입자,를 포함하는 조성물.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 출원은 2018년 6월 18일자로 출원된 미국 가특허 출원 번호 제62/686,668호; 2018년 10월 2일자로 출원된 미국 가특허 출원 번호 제62/740,402호; 2018년 10월 30일자로 출원된 미국 가특허 출원 번호 제62/752,841호; 2019년 3월 25일자로 출원된 미국 가특허 출원 번호 제62/823,649호 및 2018년 6월 11일자로 출원된 미국 가특허 출원 번호 제62/860,220호에 대한 우선권을 주장하며, 이들 각각은 그 전문이 본원에 참조로서 통합된다.

[0002] [전자적으로 제출된 자료의 참조에 의한 통합]

[0003] 본 출원은, 본 개시의 별도의 부분으로서, 그 전체가 참조로서 통합되고 다음과 같이 식별되는 컴퓨터 판독 가능 형태의 서열 목록을 포함한다: 파일명: 53169_Seqlisting.txt; 크기: 60,056 바이트, 생성일자; 2019년 6월 17일.

[0004] [발명의 분야]

[0005] 본 발명은 소형화된 인간 마이크로-디스트로핀 유전자를 발현하는 아데노-연관 바이러스(AAV, adeno-associated virus) 벡터와 같은 유전자 치료 벡터 및 이러한 벡터를 사용하여 횡격막 및 심근을 포함한 골격근에서 마이크로-디스트로핀(micro-dystrophin)을 발현하고, 근섬유를 손상으로부터 보호하고, 근육 강도를 증가시키고, 근육 이영양증(muscular dystrophy)을 앓고 있는 대상체에서 섬유증을 감소 및/또는 예방하는 방법을 제공한다.

배 경 기 술

[0006] 운동 및 호흡과 같은 일상 활동과 전신 대사를 위한 근육량과 근력의 중요성은 분명하다. 근육 기능 결핍은 근육 쇠약과 소모를 특징으로 하는 근육 이영양증(MD, muscular dystrophy)을 생성하며 삶의 질에 심각한 영향을 미친다. 가장 잘 특성화된 MD는 디스트로핀-연관 단백질 복합체(DAPC, dystrophin-associated protein complex)의 구성원들을 암호화하는 유전자의 돌연변이에서 기인한다. 이러한 MD는 DAPC에 의한 근형질막-세포골격 결합(tethering)의 소실과 관련된 막 취약성으로 인해 발생한다. 듀시엔형 근육 이영양증(DMD, Duchenne Muscular Dystrophy)은 신생아 남아 5000명 중 1명에 영향을 미치는 가장 치명적인 근육 질환 중 하나다.

[0007] DMD는 디스트로핀-연관 단백질 복합체(DAPC)와 연관된 427 kD 근형질막 단백질인, 디스트로핀의 부재 및 mRNA 감소로 이어지는 DMD 유전자의 돌연변이에 의해 유발된다(Hoffman *외*, *Cell* 51(6):919-28, 1987). DAPC는 세포외 기질(ECM)과 세포골격 사이에 디스트로핀을 통한 구조적 연결을 형성하는 근형질막에 있는 다수의 단백질, 액틴 결합 단백질, 및 알파-디스트로글리칸, 라미닌 결합 단백질로 구성된다. 이러한 구조적 연결은 수축 중에 근육 세포막을 안정화하고 수축-유도 손상으로부터 보호하는 역할을 한다. 디스트로핀 손실로 인해, 막 취약성

은 근형질막 파열과 칼슘 유입을 초래하여, 칼슘 활성화 프로테아제 및 분절 섬유 괴사를 유발한다(Straub *외*, *Curr Opin. Neurol.* 10(2): 168-75, 1997). 이러한 근육 변성 및 재생의 제어되지 않는 사이클은 궁극적으로 근육 줄기 세포 집단을 소진시키며(Sacco 외, *Cell*, 2010. 143(7): p. 1059-71; Wallace *외*, *Annu Rev Physiol*, 2009. 71: p. 37-57), 진행성 근육 약화, 근내막 염증 및 섬유성 흉터를 초래한다.

[0008] 디스트로핀 또는 마이크로-디스트로핀에의 막 안정화없이, DMD는 조직 손상과 수복의 제어되지 않은 사이클을 명시하고 궁극적으로 결합 조직 증식을 통해 손실된 근육 섬유를 섬유성 흉터 조직으로 교체할 것이다. 섬유증은 콜라겐 및 엘라스틴을 포함한 ECM 기질 단백질의 과도한 침착을 특징으로 한다. ECM 단백질은 주로 스트레스와 염증에 반응하는 활성화된 섬유아세포에 의해 방출되는 TGFβ와 같은 사이토카인으로부터 생산된다. DMD의 주요 병리학적 특징은 근섬유 변성 및 괴사이지만, 병리학적 결과로서의 섬유증은 동일한 영향을 미친다. 섬유성 조직의 과잉 생산은 근육 재생을 제한하고 DMD 환자의 진행성 근육 약화에 기여한다. 한 시험에서, 초기 DMD 근육 생검 시 섬유증의 존재는 10년 추적관찰 시 불량한 운동 결과와 높은 상관관계가 있었다(Desguerre *외*, *J Neuropathol Exp Neurol*, 2009. 68(7): p. 762-7). 이러한 결과는 DMD 근육 기능장애의 주요 기여인자로서 섬유증을 가리키며 명백한 섬유증 이전에 조기 중재의 필요성을 강조한다.

[0009] DMD를 앓고 있는 환자에서 근력을 높이고 근육 손상으로부터 보호하는 치료가 필요하다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0010] 본 발명은 근육 섬유를 손상으로부터 보호하고, 근력을 증가시키고, 섬유증을 감소 및/또는 예방하기 위해 횡격막 및 심장근을 포함하는 골격근에 마이크로-디스트로핀 유전자를 발현하는, 유전자 치료 벡터, 예를 들어 AAV에 관한 것이다.

[0011] 본 발명은 DMD에서 관찰된 유전자 결함을 해결하기 위해 마이크로-디스트로핀을 전달하기 위해 유전자 치료 벡터를 사용하여 근력 증가 및/또는 근육량 증가를 위한 치료법 및 접근법을 제공한다. 예 2는 듀시엔형 근육 이영양증에 대한 전신 유전자 전달 임상시험을 기술하며, 본 연구에서 대상체는 2x1014 vg/kg AAVrh74.MHCK7.micro-dystrophin을 받았다. 예 3에 기술된 임상 연구는 무작위 이중 맹검 위약 제어 설계를 포함하는 새로운 중추 임상 프로토콜을 제공한다. 연구 개시 시, 대상체는 무작위로 배정되어 $2x10^{14}$ vg/kg AAVrh74.MHCK7.micro-dystrophin 또는 젖산 링거를 받는다.

[0012] 본 발명은 서열번호 3, 8 또는 9의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산 분자를 제공한다. 본 발명은 또한 서열번호 9의 핵산 서열 또는 서열번호 8의 뉴클레오티드 1-4977 또는 서열번호 3의 뉴클레오티드 55-5021을 포함하는 rAAV, 및 서열번호 9의 핵산 서열 또는 서열번호 8의 뉴클레오티드 1-4977 또는 서열번호 3의 뉴클레오티드 55-5021을 포함하는 rAAV 입자를 제공한다.

[0013] 본 발명의 또 다른 측면은 서열번호 3, 8 또는 9의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산 분자, 서열번호 9의 핵산 서열 또는 서열번호 8의 뉴클레오티드 1-4977 또는 서열번호 3의 뉴클레오티드 55-5021을 포함하는 rAAV, 및 서열번호 9의 핵산 서열 또는 서열번호 8의 뉴클레오티드 1-4977 또는 서열번호 3의 뉴클레오티드 55-5021을 포함하는 rAAV 입자를 제공한다. 본원에 개시된 임의의 방법은 이들 조성물로 수행될 수 있다.

[0014] 본 발명은 재조합 아데노-바이러스 연관 (rAAV) rAAV.MHCK7.microdystrophin을 투여하는 단계를 포함하는, 이를 필요로 하는 인간 대상체에서의 근육 이영양증을 치료하는 방법을 제공하며, 여기서 rAAV는 약 $5.0x10^{12}$ vg/kg 내지 약 $1.0x10^{15}$vg/kg의 투여량으로 전신 투여 경로에 의해 투여된다. 근육 이영양증은 듀시엔형(Duchenne) 근육 이영양증 또는 베커형(Becker) 근육 이영양증일 수 있다.

[0015] 예를 들어, 투여된 rAAV 투여량은 약 $5.0x10^{12}$ vg/kg 내지 약 $1.0x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $5.0x10^{12}$ vg/kg to$1.0x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $5.0x10^{12}$ vg/kg 내지 약 $2.0x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $5.0x10^{12}$ vg/kg 내지 약 $1.0x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $5.0x10^{12}$ vg/kg 내지 약 $5.0x10^{13}$ vg/kg, 또는 약 $5.0x10^{12}$ vg/kg 내지 약 $2.0x10^{13}$ vg/kg, 또는 약 $5.0x10^{12}$ vg/kg 내지 약 $1.0x10^{13}$ vg/kg, 또는 $1.0x10^{14}$ vg/kg 내지 약 $1.0x10^{15}$ vg/kg, 또는 $1.0x10^{13}$ vg/kg 내지 약 $1.0x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $1.0x10^{13}$ vg/kg to$1.0x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $1.0x10^{13}$ vg/kg 내지 약 $2.0x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $1.0x10^{13}$ vg/kg 내지 약 $1.0x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $1.0x10^{13}$ vg/kg 내지 약 $5.0x10^{13}$ vg/kg, 또는

약 $1.0x10^{13}$ vg/kg 내지 약 $3.0x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $1.0x10^{13}$ vg/kg 내지 약 $5.0x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $1.0x10^{13}$ vg/kg 내지 약 $6.0x10^{14}$ vg/kg, 또는 $1.0x10^{13}$ vg/kg 내지 약 $1.0x10^{15}$ vg/kg, 또는 $5.0x10^{13}$ vg/kg 내지 약 $1.0x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $5.0x10^{13}$ vg/kg to$1.0x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $5.0x10^{13}$ vg/kg 내지 약 $2.0x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $5.0x10^{13}$ vg/kg 내지 약 $1.0x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $5.0x10^{13}$ vg/kg 내지 약 $3.0x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $5.0x10^{13}$ vg/kg 내지 약 $5.0x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $5.0x10^{13}$ vg/kg 내지 약 $6.0x10^{14}$ vg/kg, 또는 $5.0x10^{13}$ vg/kg 내지 약 $1.0x10^{15}$ vg/kg, 또는 $1.0x10^{14}$ vg/kg 내지 약 $6.0x10^{14}$ vg/kg, 또는 $1.0x10^{14}$ vg/kg 내지 약 $5.0x10^{14}$ vg/kg, 또는 $1.0x10^{14}$ vg/kg 내지 약 $4.0x10^{14}$ vg/kg, 또는 $1.0x10^{14}$ vg/kg 내지 약 $1.0x10^{15}$ vg/kg, 또는 $1.0x10^{14}$ vg/kg 내지 약 $3.0x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $1.0x10^{14}$ vg/kg 내지 약 $2.5x10^{14}$ vg/kg, 또는 $1.0x10^{14}$ vg/kg 내지 약 $2.0x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $1.25x10^{14}$ vg/kg 내지 약 $3.75x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $1.25x10^{14}$ vg/kg 내지 $6.0x10^{14}$, 또는 약 $1.25x10^{14}$ vg/kg 내지 $5.0x10^{14}$, 또는 약 $1.25x10^{14}$ vg/kg 내지 $4.0x10^{14}$, 또는 약 $1.25x10^{14}$ vg/kg 내지 $1.0x10^{15}$, 또는 약 $1.25x10^{14}$ vg/kg 내지 약 3.5 $x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $1.25x10^{14}$ vg/kg 내지 약 $3.0x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $1.25x10^{14}$ vg/kg 내지 약 $2.75x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $1.25x10^{14}$ vg/kg 내지 약 $2.5x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $1.25x10^{14}$ vg/kg 내지 약 $2.0x10^{14}$ vg/kg, 또는 $1.25x10^{14}$ vg/kg 내지 약 $3.75x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $1.25x10^{14}$ vg/kg 내지 약 3.5 $x10^{14}$ vg/kg, 또는 $1.5x10^{14}$ vg/kg 내지 약 $1.0x10^{15}$ vg/kg, 또는 약 $1.5x10^{14}$ vg/kg 내지 $6.0x10^{14}$, 또는 약 $1.5x10^{14}$ vg/kg 내지 $5.0x10^{14}$, 또는 약 $1.5x10^{14}$ vg/kg 내지 $4.0x10^{14}$, 또는 약 $1.5x10^{14}$ vg/kg 내지 약 $3.75x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $1.5x10^{14}$ vg/kg 내지 약 $3.5x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $1.5x10^{14}$ vg/kg 내지 약 $3.25x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $1.5x10^{14}$ vg/kg 내지 약 $3.0x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $1.5x10^{14}$ vg/kg 내지 약 $2.75x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $1.5x10^{14}$ vg/kg 내지 약 $2.5x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $1.5x10^{14}$ vg/kg 내지 약 $2.0x10^{14}$ vg/kg, 또는 $1.75x10^{14}$ vg/kg 내지 약 $1.0x10^{15}$ vg/kg, 또는 약 $1.75x10^{14}$ vg/kg 내지 $6.0x10^{14}$, 또는 약 $1.75x10^{14}$ vg/kg 내지 $5.0x10^{14}$, 또는 약 $1.75x10^{14}$ vg/kg 내지 $4.0x10^{14}$,또* 약 $1.75x10^{14}$ vg/kg 내지 약 $3.75x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $1.75x10^{14}$ vg/kg 내지 약 $3.5x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $1.75x10^{14}$ vg/kg 내지 약 $3.25x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $1.75x10^{14}$ vg/kg 내지 약 $3.0x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $1.75x10^{14}$ vg/kg 내지 약 $2.75x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $1.75x10^{14}$ vg/kg 내지 약 $2.5x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $1.75x10^{14}$ vg/kg 내지 약 $2.25x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $1.75x10^{14}$ vg/kg 내지 약 $2.0x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $2.0x10^{14}$ vg/kg 내지 $1.0x10^{15}$, 또는 약 $2.0x10^{14}$ vg/kg 내지 $6.0x10^{14}$, 또는 약 $2.0x10^{14}$ vg/kg 내지 $5.0x10^{14}$, 또는 약 $2.0x10^{14}$ vg/kg 내지 약 $4.0x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $2.0x10^{14}$ vg/kg 내지 약 $3.75x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $2.0x10^{14}$ vg/kg 내지 약 $3.5x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $2.0x10^{14}$ vg/kg 내지 약 $3.25x10^{14}$ vg/kg이다.

[0016] 일 실시예에서, 본 발명의 방법은 rAAV를 전신 투여하는 단계를 포함하고, 여기서 전신 투여 경로는 정맥내 경로이고 투여된 rAAV의 투여량은 약 2.0 $x10^{14}$ vg/kg이다. 다른 실시예에서, 본 발명의 방법은 rAAV를 전신 투여하는 단계를 포함하고, 여기서 전신 투여 경로는 정맥내 경로이고 투여된 rAAV의 투여량은 약 $5.0x10^{12}$ vg/kg, 또는 약 $6.0x10^{12}$ vg/kg, 또는 약 $7.0x10^{12}$ vg/kg, 또는 약 $8.0x10^{12}$ vg/kg, 또는 약 $9.0x10^{12}$ vg/kg, 또는 약 $1.0x10^{13}$ vg/kg, 또는 약 $1.25x10^{13}$ vg/kg, 또는 약 $1.5x10^{13}$ vg/kg, 또는 약 $1.75x10^{13}$ vg/kg, 또는 약 $2.25x10^{13}$ vg/kg, 또는 약 $2.5x10^{13}$ vg/kg, 또는 약 $2.75x10^{13}$ vg/kg, 또는 약 $3.0x10^{13}$ vg/kg, 또는 약 $3.25x10^{13}$ vg/kg, 또는 약 $3.5x10^{13}$ vg/kg, 또는 약 $3.75x10^{13}$ vg/kg, 또는 약 $4.0x10^{13}$ vg/kg, 또는 약 $5.0x10^{13}$ vg/kg, 또는 약 $6.0x10^{13}$ vg/kg, 또는 약 $7.0x10^{13}$ vg/kg, 또는 약 $8.0x10^{13}$ vg/kg, 또는 약 $9.0x10^{13}$ vg/kg, 또는 약 $1.0x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $1.25x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $1.5x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $1.75x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $2.25x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $2.5x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $2.75x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $3.0x10^{14}$ vg/kg, 또는 약

$3.25x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $3.5x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $3.75x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $4.0x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $5.0x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $6.0x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $1x10^{15}$ vg/kg이다. 일 실시예에서, 상기 rAAV는 AAVrh74.MHCK7.microdystrophin 또는 AAVrh74.MCK.microdystrophin이다. 일 실시예에서, 상기 rAAV는 서열번호 9의 AAVrh74.MHCK7.microdystrophin, 서열번호 3의 뉴클레오티드 55-5021, 서열번호 8의 뉴클레오티드 1-4977 또는 서열번호 6의 뉴클레오티드 56-5022이다. 일 실시예에서, 상기 rAAV는 서열번호 5의 뉴클레오티드 56-4820의 AAVrh74.MCK.microdystrophin이다.

[0017] 본 발명의 방법 중 어느 하나에서, 상기 rAAV의 투여량은 약 5 mL/kg 내지 약 15 mL/kg, 또는 약 8 mL/kg 내지 약 12 mL/kg, 또는 8 mL/kg 내지 약 10 mL/kg, 또는 5 mL/kg 내지 약 10 mL/kg 또는 약 10 mL/kg 내지 12 mL/k, 또는 약 10 mL/kg 내지 15 mL/kg 또는 10 mL/kg 내지 약 20 mL/kg으로 투여될 수 있다. 특정 실시예에서, 상기 투여량 또는 rAAV는 약 10 mL/kg으로 투여된다. 일 실시예에서, 상기 rAAV는 AAVrh74.MHCK7.microdystrophin 또는 AAVrh74.MCK.microdystrophin이다. 일 실시예에서, 상기 rAAV는 서열번호 9의 AAVrh74.MHCK7.microdystrophin, 서열번호 3의 뉴클레오티드 55-5021, 서열번호 8의 뉴클레오티드 1-4977 또는 서열번호 6의 뉴클레오티드 56-5022이다. 일 실시예에서, 상기 rAAV는 서열번호 5의 뉴클레오티드 56-4820의 AAVrh74.MCK.microdystrophin이다.

[0018] 본 발명의 방법 중 어느 하나에서, 상기 rAAV의 투여량은 주사, 주입 또는 이식에 의해 투여될 수 있다. 예를 들어, 상기 rAAV 투여량은 약 1시간에 걸쳐 주입으로 투여한다. 또한 상기 rAAV 투여량은 말초 팔 정맥 또는 말초 다리 정맥과 같은, 말초 사지 정맥을 통해 정맥내 경로로 투여한다. 대안적으로, 주입은 약 30분, 약 1.5시간, 약 2시간, 약 2.5시간 또는 약 3시간에 걸쳐 투여할 수 있다. 일 실시예에서, 상기 rAAV는 AAVrh74.MHCK7.microdystrophin이다. 일 실시예에서, 상기 AAVrh74.MHCK7.microdystrophin은 서열번호 9의 AAVrh74.MHCK7.microdystrophin, 서열번호 3의 뉴클레오티드 55-5021, 서열번호 8의 뉴클레오티드 1-4977 또는 서열번호 6의 뉴클레오티드 56-5022이다. 일 실시예에서, 상기 rAAV는 AAVrh74.MCK.microdystrophin이다. 일 실시예에서, 상기 AAVrh74.MCK.microdystrophin은 서열번호 5의 뉴클레오티드 56-4820의 AAVrh74.MCK.microdystrophin이다.

[0019] 본 발명의 방법 중 어느 하나에 의해 투여되는 rAAV는 서열번호 1의 인간 마이크로-디스트로핀 뉴클레오티드 서열, 서열번호 2 또는 서열번호 7의 MHCK7 프로모터 서열을 포함할 수 있다. 또한, 본 발명의 방법 중 어느 하나에 의해 투여되는 rAAV는 서열번호 1의 인간 마이크로-디스트로핀 뉴클레오티드 서열 및 서열번호 2 또는 서열번호 7의 MHCK7 프로모터 서열을 포함한다. 예를 들어, 상기 rAAV는 서열번호 9의 AAVrh74.MHCK7.micro-dystrophin 작제물 뉴클레오티드 서열, 서열번호 3의 뉴클레오티드 55-5021, 서열번호 8의 뉴클레오티드 1-4977, 또는 서열번호 6의 뉴클레오티드 56-5022을 포함할 수 있다. 일 실시예에서, 상기 rAAV는 AAVrh74.MHCK7.microdystrophin이다. 일 실시예에서, 상기 AAVrh74.MHCK7.microdystrophin은 서열번호 9의 AAVrh74.MHCK7.microdystrophin, 서열번호 3의 뉴클레오티드 55-5021, 서열번호 8의 뉴클레오티드 1-4977, 또는 서열번호 6의 뉴클레오티드 56-5022이다.

[0020] 일 실시예에서, 상기 rAAV는 AAVrh74.MCK.microdystrophin이다. 일 실시예에서, 상기 AAVrh74.MCK.microdystrophin은 서열번호 5의 뉴클레오티드 56-4820의 AAVrh74.MCK.microdystrophin이다.

[0021] 본 발명의 방법 중 어느 하나에서, 투여된 rAAV는 혈청형 AAVrh7.4이다.

[0022] 일부 실시예에서, 본 발명의 방법은 듀시엔형 근육 이영양증 또는 베커형 근육 이영양증을 치료한다. 예시적인 실시예는 재조합 아데노-바이러스 연관 (rAAV) rAAV.MHCK7.microdystrophin 투여량을 투여하는 단계를 포함하는, 이를 필요로 하는 인간 대상체에서 듀시엔형 근육 이영양증 또는 베커형 근육 이영양증을 치료하는 방법이며, 여기서 투여 경로는 정맥내 주입이고 투여된 rAAV의 투여량은 약 1시간에 걸쳐 약 $2x10^{14}$ vg/kg이고, 여기서 rAAV 벡터는 서열번호 9의 AAVrh74.MHCK7.micro-dystrophin 작제물 뉴클레오티드 서열 또는 서열번호 3의 뉴클레오티드 55-5021 또는 서열번호 8의 뉴클레오티드 1-4977, 또는 서열번호 6의 뉴클레오티드 56-5022를 포함한다. 일 실시예에서, 상기 rAAV는 AAVrh74.MHCK7.microdystrophin이다. 일 실시예에서, 상기 AAVrh74.MHCK7.microdystrophin은 서열번호 9의 AAVrh74.MHCK7.microdystrophin 또는 서열번호 3의 뉴클레오티드 55-5021, 서열번호 8의 뉴클레오티드 1-4977, 또는 서열번호 6의 뉴클레오티드 56-5022이다. 일 실시예에서, 상기 rAAV는 AAVrh74.MCK.microdystrophin이다. 일 실시예에서, 상기 AAVrh74.MCK.microdystrophin은 서열번호 5의 뉴클레오티드 56-4820의 AAVrh74.MCK.microdystrophin이다.

[0023] 일 실시예에서, 본 발명은 근육 특이적 제어 요소 뉴클레오티드 서열, 및 마이크로-디스트로핀 단백질을 암호화

하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 rAAV를 제공한다. 예를 들어, 뉴클레오티드 서열은 기능성 마이크로-디스트로핀 단백질을 암호화하며, 여기서 뉴클레오티드는 예를 들어, 서열번호 1과 적어도 65%, 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88% 또는 89%, 더욱 전형적으로 적어도 90%, 91%, 92%, 93% 또는 94%, 및 더욱 더 전형적으로 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 가지고, 여기서 단백질은 마이크로-디스트로핀 활성을 보유한다. 마이크로-디스트로핀 단백질은 근육 수축 중에 근육 막에 안정성을 제공한다, 예를 들어, 마이크로-디스트로핀은 근육 수축 중에 충격 흡수제로 작용한다. 일 실시예에서, 상기 rAAV는 AAVrh74.MHCK7.microdystrophin이다. 일 실시예에서, AAVrh74.MHCK7.microdystrophin은 서열번호 9의 AAVrh74.MHCK7.microdystrophin 또는 서열번호 3의 뉴클레오티드 55-5021, 서열번호 8의 뉴클레오티드 1-4977, 또는 서열번호 6의 뉴클레오티드 56-5022이다. 일 실시예에서, 상기 rAAV는 AAVrh74.MCK.microdystrophin이다. 일 실시예에서, 상기 AAVrh74.MCK.microdystrophin은 서열번호 5의 뉴클레오티드 56-4820의 AAVrh74.MCK.microdystrophin이다.

[0024] 본 발명은 또한 rAAV를 제공하며, 여기서 뉴클레오티드 서열은 엄격한 조건 하에서 서열번호 1의 핵산 서열, 이의 보체에 혼성화되는 뉴클레오티드 서열을 포함하고, 기능성 마이크로-디스트로핀 단백질을 암호화한다.

[0025] 일 실시예에서, 상기 rAAV는 서열번호 9의 AAVrh74.MHCK7.micro-dystrophin, 서열번호 3의 뉴클레오티드 55-5021, 서열번호 8의 뉴클레오티드 1-4977, 또는 서열번호 6의 뉴클레오티드 56-5022으로 불리는 비-복제, 재조합 아데노-연관 바이러스 (AAV)이다. 이 벡터 게놈은 유전자 발현에 필요한 최소 요소를 포함하며, 여기에는 AAV2 ITR(inverted terminal repeats), 마이크로-디스트로핀, SV40 인트론(SD/SA), 및 합성 폴리아데닐화(폴리A) 신호가, 모두 MHCK7 프로모터/인핸서의 조절 하에 포함된다. 벡터 게놈 및 발현 카세트의 개략도가 도 1에 도시되어 있다. AAVrh74 혈청형은 IV 투여 후에 골격근 및 심장근에서 효율적인 유전자 전달을 달성하기 위해 사용될 수 있다.

[0026] 용어 "엄격한(stringent)"은 당업계에서 흔히 엄격한 것으로 이해되는 조건을 지칭하기 위해 사용된다. 혼성화 엄격도는 주로 온도, 이온 세기, 및 포름아미드 같은 변성제의 농도에 의해 결정된다. 혼성화 및 세척에 대한 엄격한 조건의 예는, 65-68℃에서 0.015 M 염화나트륨, 0.0015 M 구연산나트륨 또는 42℃에서 0.015 M 염화나트륨, 0.0015 M 구연산나트륨, 및 50% 포름아미드이다. Sambrook *외*, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2nd Ed., Cold Spring Harbor Laboratory, (Cold Spring Harbor, N.Y. 1989) 참조. 보다 엄격한 조건(예컨대 보다 높은 온도, 보다 낮은 이온 세기, 보다 높은 포름아미드, 또는 다른 변성제)이 또한 사용될 수 있지만, 혼성화 속도가 영향을 받을 것이다. 데옥시올리고뉴클레오티드의 혼성화가 관여하는 예시들에서, 추가 예시적인 엄격한 혼성화 조건은 37℃(14-염기 올리고의 경우), 48℃(17-염기 올리고의 경우), 55℃(20-염기 올리고의 경우), 및 60℃(23-염기 올리고의 경우)에서 6x SSC 0.05% 피로인산 나트륨에서 세척하는 것을 포함한다.

[0027] 비특이적 및/또는 배경 혼성화를 감소시킬 목적으로 다른 제제가 혼성화 및 세척 완충액에 포함될 수 있다. 예로는 0.1% 소 혈청 알부민, 0.1% 폴리비닐-피롤리돈, 0.1% 피로인산 나트륨, 0.1% 도데실황산나트륨, NaDodSO4, (SDS), 피콜(ficoll), 덴하르트 용액, 초음파 처리 연어 정자 DNA (또는 다른 비-보체 DNA), 및 덱스트란 황산염이 있지만, 다른 적합한 제제가 또한 사용될 수 있다. 이들 첨가제의 농도 및 유형은 혼성화 조건의 엄격도에 실질적으로 영향을 미치지 않으면서 변경될 수 있다. 혼성화 실험은 일반적으로 pH 6.8-7.4에서 수행되지만, 전형적인 이온 세기 조건에서, 혼성화 속도는 pH와 거의 무관하다. 앤더슨 *외*, Nucleic Acid Hybridisation: A Practical Approach, Ch. 4, IRL Press Limited (Oxford, England) 참조. 혼성화 조건은 이들 파라미터를 수용하고 상이한 서열 관련성의 DNA들이 혼성체를 형성할 수 있도록 하기 위해 당업자에 의해 조정될 수 있다.

[0028] 용어 "근육 특이적 제어 요소"는 근육 조직에서의 발현에 특이적인 코딩 서열의 발현을 조절하는 뉴클레오티드 서열을 지칭한다. 이들 제어 요소는 인핸서 및 프로모터를 포함한다. 본 발명은 근육 특이적 제어 요소 MCKH7 프로모터, MCK 프로모터 및 MCK 인핸서를 포함하는 작제물을 제공한다.

[0029] 용어 "작동 가능하게 연결된"은 상기 조절 요소에 의한 상기 뉴클레오티드 서열의 발현을 부여하기 위한, 조절 요소 뉴클레오티드 서열, 예를 들어 프로모터 뉴클레오티드 서열의 위치설정을 지칭한다.

[0030] 일 측면에서, 본 발명은 rAAV를 제공하며, 여기서 상기 근육 특이적 제어 요소는 인간 골격 액틴 유전자 요소, 심장 액틴 유전자 요소, 근세포-특이적 인핸서 결합 인자(MEF), 근육 크레아틴 키나아제(MCK), 절단된(truncated) MCK(tMCK), 미오신 중쇄(MHC), 하이브리드 α-미오신 중쇄 인핸서-/MCK 인핸서-프로모터(MHCK7), C5-12, 뮤린 크레아틴 키나아제 인핸서 요소, 골격 빠른-연축(fast-twitch) 트로포닌 c 유전자 요소, 느린-연축(slow-twitch) 심장 트로포닌 c 유전자 요소, 느린-연축 트로포닌 i 유전자 요소, 저산소증-유도성 핵 인자, 스테로이드-유도성 요소 또는 당질코르티코이드 반응 요소(GRE)다.

[0031] 예를 들어, 근육 특이적 제어 요소는 MHCK7 프로모터 뉴클레오티드 서열 서열번호 2 또는 서열번호 7이거나, 근육 특이적 제어 요소는 MCK 뉴클레오티드 서열 서열번호 4다. 또한, 본 발명의 rAAV 벡터 중 어느 하나에서, 근육 특이적 제어 요소 뉴클레오티드 서열, 예를 들어 MHCK7 또는 MCK 뉴클레오티드 서열은, 마이크로-디스트로핀 단백질을 암호화하는 뉴클레오티드 서열에 작동 가능하게 연결된다. 예를 들어, MHCK7 프로모터 뉴클레오티드 서열 (서열번호 2 또는 서열번호 7)은 도 1 또는 도 2 (서열번호 3) 또는 도 13 (서열번호 9)에 제공된 작제물에 제시된 바와 같이 인간 마이크로-디스트로핀 코딩 서열(서열번호 1)에 작동 가능하게 연결된다. 다른 예에서, MCK 프로모터(서열번호 4)는 도 5 또는 도 6(서열번호 5)에 제공된 작제물에 제시된 바와 같이 인간 마이크로-디스트로핀 코딩 서열(서열번호 1)에 작동가능하게 연결된다. 또 다른 측면에서, 본 발명은 서열번호 1 및 서열번호 2, 또는 서열번호 1 및 서열번호 7의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 rAAV 벡터를 제공한다. 본 발명은 또한 서열번호 1 및 서열번호 4의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 rAAV 벡터를 제공한다.

[0032] 또 다른 측면에서, 본 발명은 서열번호 3, 서열번호 5, 서열번호 6, 또는 서열번호 8의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 플라스미드에 함유된 rAAV 작제물을 제공한다. 예를 들어, AAVrh74.MHCK7.microdystrophin 벡터는 서열번호 3의 ITR 내에 있고 이를 포함하는 뉴클레오티드 서열을 포함하며, 도 2에 도시되어 있다. rAAV 벡터는 5' ITR, MHCK7 프로모터, 키메라 인트론 서열, 인간 마이크로-디스트로핀 유전자에 대한 코딩 서열, 폴리A, 및 3' ITR을 포함한다. 일 실시예에서, 벡터는 서열번호 3의 뉴클레오티드 55-5021을 포함한다. 서열번호 3에 제시된 플라스미드는 암피실린 내성 및 pBR322 복제 기원이 있는 pGEX 플라스미드 골격을 더 포함한다.

[0033] 또 다른 측면에서, 본 발명은 서열번호 9의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 rAAV 벡터를 제공한다. 예를 들어, AAVrh74.MHCK7.microdystrophin 벡터 작제물은 서열번호 9의 뉴클레오티드 서열을 포함하고 도 13에 도시되어 있다. 이러한 rAAV 벡터 작제물은 MHCK7 프로모터, 키메라 인트론 서열, 인간 마이크로-디스트로핀 유전자에 대한 코딩 서열, 및 폴리A를 포함한다. 일 실시예에서, rAAV 벡터 작제물은 프로모터에 대한 ITR 5', 및 폴리A에 대한 ITR 3'을 더 포함한다. 일 실시예에서, rAAV는 AAVrh74이다.

[0034] 또 다른 측면에서, AAVrh74.MHCK7.microdystrophin 벡터는 서열번호 8의 ITR 내에 있고 이를 포함하는 뉴클레오티드 서열을 포함하며, 도 15에 도시되어 있다. rAAV 벡터는 5' ITR, MHCK7 프로모터, 키메라 인트론 서열, 인간 마이크로-디스트로핀 유전자에 대한 코딩 서열, 폴리A, 및 3' ITR을 포함한다. 일 실시예에서, 벡터는 서열번호 9의 뉴클레오티드 1-4977을 포함한다. 서열번호 3에 제시된 플라스미드는 카나마이신 내성 및 pBR322 복제 기원이 있는 pGEX 플라스미드 골격을 더 포함한다.

[0035] 또 다른 측면에서, 본 발명은 AAVrh74.MHCK7.microdystrophin 벡터 작제물을 포함하는 플라스미드를 제공한다. 일 실시예에서, 플라스미드는 5' ITR, MHCK7 프로모터, 키메라 인트론 서열, 인간 마이크로-디스트로핀 유전자에 대한 코딩 서열, 폴리A, 및 3' ITR을 포함한다. 일 실시예에서, 플라스미드는 카나마이신 내성을 포함하고, pBR322 복제 기원이 있는 pGEX 플라스미드 골격을 선택적으로 포함한다. 특정 실시예에서, 플라스미드는 서열번호 8에 제시되고, 도 14 및 도 15에 도시되어 있다.

[0036] 본 발명은 서열번호 1의 인간 마이크로-디스트로핀 뉴클레오티드 서열 및 서열번호 2 또는 서열번호 7의 MHCK7 프로모터 뉴클레오티드 서열을 포함하는 재조합 AAV 벡터를 제공한다. 이 rAAV 벡터는 AAV 혈청형 AAVrh.74이다.

[0037] 본 발명은 또한 서열번호 3의 ITR 내에 있고 이를 포함하는 AAVrh74.MHCK7.micro-dystrophin 작제물 뉴클레오티드 서열, 서열번호 8의 ITR 내에 있고 이를 포함하는 뉴클레오티드 서열 또는 서열번호 9에 제시된 뉴클레오티드 서열을 포함하는 rAAV를 제공한다. 이 rAAV 벡터는 AAV 혈청형 AAVrh.74이다.

[0038] 본 발명의 rAAV 벡터는 임의의 AAV 혈청형, 예컨대 혈청형 AAVrh.74, AAV1, AAV2, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAV9, AAV10, AAV11, AAV12 또는 AAV13일 수 있다.

[0039] 본 발명은 또한 본 발명의 임의의 rAAV 벡터를 포함하는 약제학적 조성물(또는 때때로 본원에서 단순히 "조성물"로 지칭됨)을 제공한다.

[0040] 또 다른 실시예에서, 본 발명은 본 발명의 임의의 rAAV 벡터로 형질감염된 세포를 배양하는 단계 및 상기 형질감염된 세포의 상청액으로부터 rAAV 입자를 회수하는 단계를 포함하는 rAAV 벡터 입자의 생산 방법을 제공한다. 본 발명은 또한 본 발명의 임의의 재조합 AAV 벡터를 포함하는 바이러스 입자를 제공한다.

[0041] 근육 이영양증을 치료하는 임의의 방법에서, 대상체의 세포에서 마이크로-디스트로핀 유전자 발현의 수준은 rAAV의 투여 후 증가된다. rAAV 투여 전후 생검된 근육에서 웨스턴 블롯으로 마이크로-디스트로핀 단백질 수준

을 측정하여 세포 내 마이크로-디스트로핀 유전자의 발현을 검출한다. 특히, 마이크로-디스트로핀 단백질의 수준은 rAAV의 투여 전 마이크로-디스트로핀의 수준과 비교하여 rAAV의 투여 후에 적어도 약 70% 내지 적어도 약 80%, 또는 적어도 약 70% 내지 적어도 약 90%, 또는 적어도 약 80% 내지 적어도 약 90% 증가된다. 예를 들어, 마이크로-디스트로핀 단백질의 수준은 rAAV의 투여 전 마이크로-디스트로핀의 수준과 비교하여 rAAV의 투여 후에 적어도 약 70% 또는 적어도 약 71% 또는 적어도 약 72% 또는 적어도 약 73% 또는 적어도 약 74% 또는 적어도 약 75% 또는 적어도 약 76% 또는 적어도 약 77% 또는 적어도 약 78% 또는 적어도 약 79% 또는 적어도 약 80% 또는 적어도 약 81% 또는 적어도 약 82% 또는 적어도 약 83% 또는 적어도 약 84% 또는 적어도 약 85% 증가된다.

[0042] 또한 rAAV 투여 전후 근육 생검에서 면역조직화학법으로 마이크로-디스트로핀 단백질 수준을 측정하여 세포 내 마이크로-디스트로핀 유전자의 발현을 검출한다. 마이크로-디스트로핀 단백질의 수준은 rAAV의 투여 전 마이크로-디스트로핀의 수준과 비교하여 rAAV의 투여 후에 적어도 약 70% 내지 적어도 약 80%, 또는 적어도 약 70% 내지 적어도 약 90%, 또는 적어도 약 80% 내지 적어도 약 90% 증가된다. 예를 들어, 마이크로-디스트로핀 단백질의 수준은 rAAV의 투여 전 마이크로-디스트로핀의 수준과 비교하여 rAAV의 투여 후에 적어도 약 70% 또는 적어도 약 71% 또는 적어도 약 72% 또는 적어도 약 73% 또는 적어도 약 74% 또는 적어도 약 75% 또는 적어도 약 76% 또는 적어도 약 77% 또는 적어도 약 78% 또는 적어도 약 79% 또는 적어도 약 80% 또는 적어도 약 81% 또는 적어도 약 82% 또는 적어도 약 83% 또는 적어도 약 84% 또는 적어도 약 85% 증가된다.

[0043] 근육 이영양증을 치료하는 방법 중 어느 하나에서, 대상체의 혈청 CK 수준은 rAAV 투여 전 혈청 CK 수준과 비교하여 rAAV 투여 후에 감소된다. 예를 들어, 대상체의 혈청 CK 수준은 rAAV의 투여 전 혈청 CK 수준과 비교하여 rAAV의 투여 후에 60일까지 약 65 % 내지 약 90% 또는 약 65% 내지 약 95% 또는 약 75% 내지 약 90% 또는 약 80% 내지 약 90% 또는 약 85% 내지 약 95% 또는 약 87% 내지 약 95% 또는 약 87% 내지 약 90% 감소된다. 특히, 본 발명의 근육 이영양증을 치료하는 방법 중 어느 하나에서, 대상체의 혈청 CK 수준은 rAAV의 투여 전 혈청 CK 수준과 비교하여 rAAV의 투여 후에 60일까지 약 87% 감소되고, 또는 본 발명의 근육 이영양증을 치료하는 방법 중 어느 하나에서, 대상체의 혈청 CK 수준은 rAAV의 투여 전 혈청 CK 수준과 비교하여 rAAV의 투여 후에 60일까지 약 72% 감소되고, 또는 본 발명의 근육 이영양증을 치료하는 방법 중 어느 하나에서, 대상체의 혈청 CK 수준은 rAAV의 투여 전 혈청 CK 수준과 비교하여 rAAV의 투여 후에 60일까지 약 73% 감소되고, 또는 본 발명의 근육 이영양증을 치료하는 방법 중 어느 하나에서, 대상체의 혈청 CK 수준은 rAAV의 투여 전 혈청 CK 수준과 비교하여 rAAV의 투여 후에 60일까지 약 78% 감소되고, 또는 본 발명의 근육 이영양증을 치료하는 방법 중 어느 하나에서, 대상체의 혈청 CK 수준은 rAAV의 투여 전 혈청 CK 수준과 비교하여 rAAV의 투여 후에 60일까지 약 95% 감소된다. 근육 이영양증을 치료하는 방법 중 어느 하나에서, 대상체의 근육 조직 내 마이크로-디스트로핀 양성 섬유의 수는 rAAV의 투여 전 마이크로-디스트로핀 양성 섬유의 수와 비교하여 rAAV의 투여 후에 증가된다. 예를 들어, 마이크로-디스트로핀 양성 섬유의 수는 rAAV의 투여 전후 근육 생검에서 웨스턴 블롯 또는 면역조직화학법으로 마이크로-디스트로핀 단백질 수준을 측정하여 검출한다.

[0044] 근육 이영양증을 치료하는 방법 중 어느 하나에서, rAAV의 투여는 알파-사르코글리칸 또는 베타-사르코글리칸과 같은 DAPC 단백질의 발현을 상향조절한다. 예를 들어, 대상체에서 알파-사르코글리칸의 수준은 rAAV의 투여 전 알파-사르코글리칸의 수준과 비교하여 rAAV의 투여 후에 증가된다. 또한, 대상체에서 베타-사르코글리칸의 수준은 rAAV의 투여 전 베타-사르코글리칸의 수준과 비교하여 rAAV의 투여 후에 증가된다. 알파-사르코글리칸 또는 베타-사르코글리칸 수준은 rAAV 투여 전후 근육 생검에서 웨스턴 블롯 또는 면역조직화학법으로 알파-사르코글리칸 또는 베타-사르코글리칸 단백질 수준을 측정하여 검출한다.

[0045] 근육 이영양증을 치료하는 방법 중 어느 하나에서, rAAV 투여 후 대상체의 질병 진행이 다음 중 하나로 측정하는 경우 지연된다: 6분 보행 검사, 상승까지의 시간(time to rise), 4단계 상승(ascend 4 steps), 4단계 상승 및 하강(ascend and descend 4 steps), 노스 스타 보행 평가(NSAA, North Star Ambulatory Assessment), 10미터 시간 검사(10 meter timed test), 100미터 시간 검사, 휴대용 악력계(HHD), 일어나서 걷기 검사(Timed Up and Go) 및/또는 대근육 운동 척도(Bayley-III) 점수.

[0046] 예를 들어, 방법 중 어느 하나에서, 대상체는 rAAV의 투여 전 NSAA 점수와 비교하여 rAAV의 투여 후 적어도 270일에 적어도 6점의 NSAA 점수 개선을 갖는다. 또한, 방법 중 어느 하나에서, 대상체는 rAAV의 투여 전 상승까지의 시간과 비교하여 rAAV의 투여 후 적어도 270일에 상승하는 시간이 적어도 약 0.8초 개선된다. 또한, 방법 중 어느 하나에서, 대상체는 rAAV의 투여 전 4단계 상승 시간과 비교하여 rAAV의 투여 후 적어도 270일에 4단계 상승 시간이 적어도 약 1.2초 개선된다. 또한, 방법 중 어느 하나에서, 대상체는 rAAV 투여 전 100m 시간 검사와 비교하여 rAAV 투여 후 적어도 270일에 100m 시간 검사에서 적어도 약 7초 개선된다.

[0047] 다른 실시예에서, 본 발명은 환자 세포에서 마이크로-디스트로핀 유전자를 발현시키는 방법을 제공하며, 상기 방법은 서열번호 9의 AAVrh74.MHCK7.micro-dystrophin 작제물 뉴클레오티드 서열, 서열번호 3의 뉴클레오티드 55-5021, 서열번호 8의 뉴클레오티드 1-4977 또는 서열번호 6의 뉴클레오티드 56-5022를 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다. 예를 들어, 환자 세포에서 마이크로-디스트로핀 유전자의 발현은 rAAV.MHCK7.micro-dystrophin 작제물의 투여 전후 근육 생검에서 웨스턴 블롯 또는 면역조직화학법으로 마이크로-디스트로핀 단백질 수준을 측정함으로써 검출한다. 또한, 핵 당 벡터 게놈의 수를 더 많이 검출함으로써 마이크로-디스트로핀 유전자의 발현을 환자에서 측정하며, 여기서 핵 당 1벡터 게놈은 약 50%의 마이크로-디스트로핀 발현이고 핵당 1 초과 사본은 마이크로-디스트로핀 발현 수준과 일치한다. 예를 들어, 세포는 핵 당 1.2 벡터 사본, 또는 핵 당 1.3 벡터 사본, 또는 핵 당 1.4 벡터 사본, 또는 핵 당 1.5 벡터 사본, 또는 핵 당 1.6 벡터 사본, 또는 핵 당 1.7 벡터 사본, 또는 핵 당 1.8 벡터 사본, 또는 핵 당 1.9 벡터 사본을 갖는다.

[0048] 추가 실시예에서, 본 발명은 이를 필요로 하는 환자에서 혈청 CK 수준을 감소시키는 방법을 제공하며, 상기 방법은 서열번호 9의 AAVrh74.MHCK7.micro-dystrophin 작제물 뉴클레오티드 서열, 서열번호 3의 뉴클레오티드 55-5021, 서열번호 8의 뉴클레오티드 1-4977, 또는 서열번호 6의 뉴클레오티드 56-5022를 환자에게 투여하는 단계를 포함한다. 예를 들어, 환자의 혈청 CK 수준은 rAAV의 투여 전 혈청 CK 수준과 비교하여 rAAV의 투여 후 60일까지 적어도 약 65% 내지 약 90% 또는 약 65% 내지 약 95% 또는 약 75% 내지 약 90% 또는 약 80% 내지 약 90% 또는 약 85% 내지 약 95% 또는 약 87% 내지 약 95% 또는 약 87% 내지 약 90% 감소된다. 특히, 대상체에서 혈청 CK 수준은 rAAV의 투여 전 혈청 CK 수준과 비교하여 rAAV의 투여 후 60일까지 약 87% 감소되고, 또는 본 발명의 근육 이영양증 치료 방법 중 어느 하나에서, 대상체에서 혈청 CK 수준은 rAAV의 투여 전 혈청 CK 수준과 비교하여 rAAV의 투여 후 60일까지 약 72% 감소되고, 또는 본 발명의 근육 이영양증 치료 방법 중 어느 하나에서, 대상체에서 혈청 CK 수준은 rAAV의 투여 전 혈청 CK 수준과 비교하여 rAAV의 투여 후 60일까지 약 73% 감소되고, 또는 본 발명의 근육 이영양증 치료 방법 중 어느 하나에서, 대상체에서 혈청 CK 수준은 rAAV의 투여 전 혈청 CK 수준과 비교하여 rAAV의 투여 후 60일까지 약 78% 감소되고, 또는 본 발명의 근육 이영양증 치료 방법 중 어느 하나에서, 대상체에서 혈청 CK 수준은 rAAV의 투여 전 혈청 CK 수준과 비교하여 rAAV의 투여 후 60일까지 약 95% 감소된다.

[0049] 본 발명은 또한 환자 근육 조직에서 마이크로-디스트로핀 양성 섬유를 증가시키는 방법을 제공하며, 상기 방법은 서열번호 9의 AAVrh74.MHCK7.micro-dystrophin 작제물 뉴클레오티드 서열, 서열번호 3의 뉴클레오티드 55-5021, 서열번호 8의 뉴클레오티드 1-4977, 또는 서열번호 6의 뉴클레오티드 56-5022를 환자에게 투여하는 단계를 포함한다. 예를 들어, 마이크로-디스트로핀 양성 섬유의 수는 rAAV의 투여 전후 근육 생검에서 웨스턴 블롯 또는 면역조직화학법으로 디스트로핀 단백질 수준을 측정함으로써 검출한다. 또한, 핵 당 벡터 게놈의 수를 더 많이 검출함으로써 마이크로-디스트로핀 유전자의 발현을 환자에서 측정하며, 여기서 핵 당 1벡터 게놈은 약 50%의 마이크로-디스트로핀 발현이고 핵당 1 초과 사본은 마이크로-디스트로핀 발현 수준과 일치한다. 예를 들어, 세포는 핵 당 1.2 벡터 사본, 또는 핵 당 1.3 벡터 사본, 또는 핵 당 1.4 벡터 사본, 또는 핵 당 1.5 벡터 사본, 또는 핵 당 1.6 벡터 사본, 또는 핵 당 1.7 벡터 사본, 또는 핵 당 1.8 벡터 사본, 또는 핵 당 1.9 벡터 사본을 갖는다.

[0050] 다른 실시예에서, 본 발명은 이를 필요로 하는 환자에서 알파-사르코글리칸의 발현을 증가시키는 방법을 제공하며, 상기 방법은 서열번호 9의 AAVrh74.MHCK7.micro-dystrophin 작제물 뉴클레오티드 서열, 서열번호 3의 뉴클레오티드 55-5021, 서열번호 8의 뉴클레오티드 1-4977, 또는 서열번호 6의 뉴클레오티드 56-5022를 환자에게 투여하는 단계를 포함한다. 예를 들어, 알파-사르코글리칸 수준은 rAAV 투여 전후 근육 생검에서 웨스턴 블롯 또는 면역조직화학법으로 알파-사르코글리칸 단백질 수준을 측정함으로써 검출한다.

[0051] 또한, 본 발명은 이를 필요로 하는 환자에서 베타-사르코글리칸의 발현을 증가시키는 방법을 제공하며, 상기 방법은 서열번호 9의 AAVrh74.MHCK7.micro-dystrophin 작제물 뉴클레오티드 서열, 서열번호 3의 뉴클레오티드 55-5021, 서열번호 8의 뉴클레오티드 1-4977, 또는 서열번호 6의 뉴클레오티드 56-5022를 환자에게 투여하는 단계를 포함한다. 예를 들어, 베타-사르코글리칸 수준은 rAAV 투여 전후 근육 생검에서 웨스턴 블롯 또는 면역조직화학법으로 베타-사르코글리칸 단백질 수준을 측정함으로써 검출한다.

[0052] 본 발명은 또한 듀시엔형 근육 이영양증 또는 베커형 근육 이영양증을 가진 환자를 치료하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 서열번호 9의 AAVrh74.MHCK7.micro-dystrophin 작제물 뉴클레오티드 서열, 서열번호 3의 뉴클레오티드 55-5021, 서열번호 8의 뉴클레오티드 1-4977, 또는 서열번호 6의 뉴클레오티드 56-5022를 환자에게 투여해서, 환자의 질병 진행이 다음 중 하나로 측정될 때 지연되도록 하는 단계를 포함한다: 6분 보행 검사, 상승까지의 시간(time to rise), 4단계 상승(ascend 4 steps), 4단계 상승 및 하강(ascend and descend 4 steps), 노스

스타 보행 평가(NSAA, North Star Ambulatory Assessment), 10미터 시간 검사(10 meter timed test), 100미터 시간 검사, 휴대용 악력계(HHD), 일어나서 걷기 검사(Timed Up and Go) 및/또는 대근육 운동 척도(Bayley-III) 점수.

[0053] 예를 들어, 방법 중 어느 하나에서, 대상체는 rAAV의 투여 전 NSAA 점수와 비교하여 rAAV의 투여 후 적어도 270일에 적어도 6점의 NSAA 점수 개선을 갖는다. 또한, 방법 중 어느 하나에서, 대상체는 rAAV의 투여 전 상승까지의 시간과 비교하여 rAAV의 투여 후 적어도 270일에 상승하는 시간이 적어도 약 0.8초 개선된다. 또한, 방법 중 어느 하나에서, 대상체는 rAAV의 투여 전 4단계 상승 시간과 비교하여 rAAV의 투여 후 적어도 270일에 4단계 상승 시간이 적어도 약 1.2초 개선된다. 또한, 방법 중 어느 하나에서, 대상체는 rAAV 투여 전 100m 시간 검사와 비교하여 rAAV 투여 후 적어도 270일에 100m 시간 검사에서 적어도 약 7초 개선된다.

[0054] "섬유증"은 골격근, 심장근, 간, 폐, 신장, 췌장을 포함한, 손상 시 세포외 기질(ECM) 성분의 과도한 또는 조절되지 않은 침착과 조직 내 비정상적 수복 과정을 가리킨다. 침착되는 ECM 성분으로는 피브로넥틴 및 콜라겐, 예를 들어 콜라겐 1, 콜라겐 2 또는 콜라겐 3이 포함된다.

[0055] 본 발명은 또한 근육 이영양증을 앓고 있는 대상체에서 섬유증을 감소시키거나 예방하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 서열번호 1의 인간 마이크로-디스트로핀 뉴클레오티드 서열 및 서열번호 2 또는 서열번호 7의 MHCK7 프로모터 뉴클레오티드 서열을 포함하는 rAAV; 또는 서열번호 9의 AAVrh74.MHCK7.micro-dystrophin 작제물 뉴클레오티드 서열, 서열번호 3의 뉴클레오티드 55-5021, 서열번호 8의 뉴클레오티드 1-4977, 또는 서열번호 6의 뉴클레오티드 56-5022를 포함하는 rAAV 벡터의 치료 유효량을 투여하는 단계를 포함한다. 일 실시예에서, 상기 rAAV는 AAVrh74.MHCK7.microdystrophin이다. 일 실시예에서, 상기 AAVrh74.MHCK7.microdystrophin은 서열번호 3의 뉴클레오티드 55-5021의 AAVrh74.MHCK7.microdystrophin이다. 다른 실시예에서, 상기 AAVrh74.MHCK7.microdystrophin은 서열번호 9의 AAVrh74.MHCK7.microdystrophin이다. 다른 실시예에서, 상기 AAVrh74.MHCK7.microdystrophin은 서열번호 8의 뉴클레오티드 1-4977 또는 서열번호 6의 뉴클레오티드 56-5066의 AAVrh74.MHCK7.microdystrophin이다. 추가 실시예에서, 상기 rAAV는 AAVrh74.MCK.microdystrophin이다. 일 실시예에서, 상기 AAVrh74.MCK.microdystrophin은 서열번호 5의 뉴클레오티드 56-4820의 AAVrh74.MCK.microdystrophin이다.

[0056] 다른 실시예에서, 본 발명은 이를 필요로 하는 대상체에서 섬유증을 예방하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 서열번호 1의 인간 마이크로-디스트로핀 뉴클레오티드 서열 및 서열번호 2 또는 서열번호 7의 MHCK7 프로모터 뉴클레오티드 서열; 또는 서열번호 9의 AAVrh74.MHCK7.micro-dystrophin 작제물 뉴클레오티드 서열, 서열번호 3의 뉴클레오티드 55-5021, 서열번호 8의 뉴클레오티드 1-4977, 또는 서열번호 6의 뉴클레오티드 56-5022를 포함하는 rAAV 벡터의 치료 유효량을 투여하는 단계를 포함한다. 예를 들어, 본 발명의 임의의 rAAV는 섬유증을 예방하기 위해 근육 이영양증을 앓고 있는 대상체에게 투여될 수 있는데, 예를 들어, 대상체에서 섬유증이 관찰되기 전에 투여된 인간 마이크로-디스트로핀 단백질을 발현하는 본 발명의 rAAV가 이에 해당된다. 또한, 인간 마이크로-디스트로핀 유전자를 발현하는 본 발명의 rAAV는 예를 들어, DMD인, 근육 이영양증을 앓고 있거나 진단받은 사람들과 같이, 섬유증이 발생할 위험이 있는 대상체에게 투여될 수 있다. 본 발명의 rAAV는 이들 대상체에서 새로운 섬유증을 예방하기 위해 근육 이영양증을 앓고 있는 대상체에게 투여될 수 있다.

[0057] 본 발명은 대상체에서 섬유증이 관찰되기 전에 rAAV를 투여하는 것을 고려한다. 또한, rAAV는 예를 들어, DMD인, 근육 이영양증을 앓고 있거나 진단받은 사람들과 같이, 섬유증이 발생할 위험이 있는 대상체에게 투여될 수 있다. rAAV는 새로운 섬유증을 예방하기 위해 이미 섬유증이 발생한 근육 이영양증을 앓고 있는 대상체에게 투여될 수 있다.

[0058] 본 발명은 또한 근육 이영양증을 앓고 있는 대상체에서 근력 및/또는 근육 질량을 증가시키는 방법을 제공하며, 상기 방법은 서열번호 1의 인간 마이크로-디스트로핀 뉴클레오티드 서열 및 서열번호 2 또는 서열번호 7의 MHCK7 프로모터 뉴클레오티드 서열; 또는 서열번호 9의 AAVrh74.MHCK7.micro-dystrophin 작제물 뉴클레오티드 서열, 서열번호 3의 뉴클레오티드 55-5021, 서열번호 8의 뉴클레오티드 1-4977, 또는 서열번호 6의 뉴클레오티드 56-5022를 포함하는 rAAV 벡터의 치료 유효량을 투여하는 단계를 포함한다.

[0059] 본 발명은 대상체에서 섬유증이 관찰되기 전에 또는 근력이 감소되기 전에 또는 근육 질량이 감소되기 전에 DMD로 진단받은 대상체에게 rAAV 벡터를 투여하는 것을 고려한다.

[0060] 본 발명은 또한 이 대상체들에서 새로운 섬유증을 예방하거나 이 대상체들에서 섬유증을 줄이기 위해, 서열번호 1의 인간 마이크로-디스트로핀 뉴클레오티드 서열 및 서열번호 2 또는 서열번호 7의 MHCK7 프로모터 뉴클레오티

드 서열; 또는 서열번호 9의 AAVrh74.MHCK7.micro-dystrophin 작제물 뉴클레오티드 서열, 서열번호 3의 뉴클레오티드 55-5021, 서열번호 8의 뉴클레오티드 1-4977, 또는 서열번호 6의 뉴클레오티드 56-5022를 포함하는 rAAV 벡터를 이미 섬유증이 발생한 근육 이영양증을 앓고 있는 대상체에게 투여하는 것을 고려한다. 본 발명은 또한 추가 손상으로부터 근육을 보호하기 위해, 서열번호 1의 인간 마이크로-디스트로핀 뉴클레오티드 서열 및 서열번호 2 또는 서열번호 7의 MHCK7 프로모터 뉴클레오티드 서열; 또는 서열번호 9의 AAVrh74.MHCK7.micro-dystrophin 작제물 뉴클레오티드 서열, 서열번호 3의 뉴클레오티드 55-5021, 서열번호 8의 뉴클레오티드 1-4977, 또는 서열번호 6의 뉴클레오티드 56-5022를 포함하는 rAAV 벡터를 이미 근력이 감소되었거나 근육 질량이 감소한 근육 이영양증을 앓고 있는 대상체에게 투여하는 것을 고려한다.

[0061] 본 발명의 방법 중 어느 하나에서, 대상체는 DMD 또는 임의의 다른 디스트로핀-연관 근육 이영양증과 같은, 근육 이영양증을 앓고 있을 수 있다.

[0062] 본원에 기술된 본 발명의 방법 중 어느 하나의 다른 실시예에서, 대상체에서의 혈청 CK 수준은 rAAV의 투여 전 혈청 CK 수준과 비교하여 rAAV의 투여 후 다음으로 이루어진 군으로부터 선택되는 백분율 수준만큼 감소된다:

[0063] a) 투여 후 90, 180 또는 270일까지 적어도 78%;

[0064] b) 투여 후 270일까지 적어도 46, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70 또는 85%;

[0065] c) 투여 후 180일까지 적어도 72, 73, 74 또는 95%;

[0066] d) 투여 후 90일까지 적어도 87, 88, 93 또는 95%;

[0067] e) 투여 후 270일까지 적어도 70%;

[0068] f) 투여 후 90일, 180일 또는 270일까지 70 내지 95%;

[0069] g) 투여 후 90, 180 또는 270일까지 적어도 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 또는 95%; 및

[0070] h) 투여 후 90, 180 또는 270일까지 적어도 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 또는 95%.

[0071] 다른 실시예에서, 본 발명은 이를 필요로 하는 인간 대상체에서 근육 이영양증을 치료하기 위한 조성물을 제공하며, 여기서 상기 조성물은 재조합 아데노-바이러스 연관 (rAAV) rAAV.MHCK7.microdystrophin의 투여량을 포함하고, 여기서 조성물은 전신 투여 경로를 위해 제형화되고 rAAV의 투여량은 약 $1x10^{14}$ vg/kg 내지 약 $4x\ 10^{14}$ vg/kg이다. 일 실시예에서, 상기 rAAV는 AAVrh74.MHCK7.microdystrophin이다. 일 실시예에서, 상기 AAVrh74.MHCK7.microdystrophin은 서열번호 9의 AAVrh74.MHCK7.microdystrophin, 서열번호 3의 뉴클레오티드 55-5021, 서열번호 8의 뉴클레오티드 1-4977, 또는 서열번호 6의 뉴클레오티드 56-5022이다. 일 실시예에서, 상기 rAAV는 AAVrh74.MCK.microdystrophin이다. 일 실시예에서, 상기 AAVrh74.MCK.microdystrophin은 서열번호 5의 뉴클레오티드 56-4820의 AAVrh74.MCK.microdystrophin이다.

[0072] 예를 들어, 본 발명의 조성물은 약 $5.0x10^{12}$ vg/kg 내지 약 $1.0x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $5.0x10^{12}$ vg/kg 내지 $1.0x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $5.0x10^{12}$ vg/kg 내지 약 $2.0x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $5.0x10^{12}$ vg/kg 내지 약 $1.0x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $5.0x10^{12}$ vg/kg 내지 약 $5.0x10^{13}$ vg/kg, 또는 약 $5.0x10^{12}$ vg/kg 내지 약 $2.0x10^{13}$ vg/kg, 또는 약 $5.0x10^{12}$ vg/kg 내지 약 $1.0x10^{13}$ vg/kg, 또는 $1.0x10^{14}$ vg/kg 내지 약 $1.0x10^{15}$ vg/kg, 또는 $1.0x10^{13}$ vg/kg 내지 약 $1.0x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $1.0x10^{13}$ vg/kg 내지 $1.0x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $1.0x10^{13}$ vg/kg 내지 약 $2.0x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $1.0x10^{13}$ vg/kg 내지 약 $1.0x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $1.0x10^{13}$ vg/kg 내지 약 $5.0x10^{13}$ vg/kg, 또는 약 $1.0x10^{13}$ vg/kg 내지 약 $3.0x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $1.0x10^{13}$ vg/kg 내지 약 $5.0x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $1.0x10^{13}$ vg/kg 내지 약 $6.0x10^{14}$ vg/kg, 또는 $1.0x10^{13}$ vg/kg 내지 약 $1.0x10^{15}$ vg/kg, 또는 $5.0x10^{13}$ vg/kg 내지 약 $1.0x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $5.0x10^{13}$ vg/kg 내지 $1.0x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $5.0x10^{13}$ vg/kg 내지 약 $2.0x10^{14}$ vg/kg,

또는 약 $5.0x10^{13}$ vg/kg 내지 약 $1.0x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $5.0x10^{13}$ vg/kg 내지 약 $3.0x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $5.0x10^{13}$ vg/kg 내지 약 $5.0x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $5.0x10^{13}$ vg/kg 내지 약 $6.0x10^{14}$ vg/kg, 또는 $5.0x10^{13}$ vg/kg 내지 약 $1.0x10^{15}$ vg/kg, 또는 $1.0x10^{14}$ vg/kg 내지 약 $6.0x10^{14}$ vg/kg, 또는 $1.0x10^{14}$ vg/kg 내지 약 $5.0x10^{14}$ vg/kg, 또는 $1.0x10^{14}$ vg/kg 내지 약 $4.0x10^{14}$ vg/kg, 또는 $1.0x10^{14}$ vg/kg 내지 약 $1.0x10^{15}$ vg/kg, 또는 $1.0x10^{14}$ vg/kg 내지 약 $3.0x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $1.0x10^{14}$ vg/kg 내지 약 $2.5x10^{14}$ vg/kg, 또는 $1.0x10^{14}$ vg/kg 내지 약 $2.0x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $1.25x10^{14}$ vg/kg 내지 약 $3.75x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $1.25x10^{14}$ vg/kg 내지 $6.0x10^{14}$, 또는 약 $1.25x10^{14}$ vg/kg 내지 $5.0x10^{14}$, 또는 약 $1.25x10^{14}$ vg/kg 내지 $4.0x10^{14}$, 또는 약 $1.25x10^{14}$ vg/kg 내지 $1.0x10^{15}$, 또는 약 $1.25x10^{14}$ vg/kg 내지 약 3.5 $x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $1.25x10^{14}$ vg/kg 내지 약 $3.0x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $1.25x10^{14}$ vg/kg 내지 약 $2.75x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $1.25x10^{14}$ vg/kg 내지 약 $2.5x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $1.25x10^{14}$ vg/kg 내지 약 $2.0x10^{14}$ vg/kg, 또는 $1.25x10^{14}$ vg/kg 내지 약 $3.75x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $1.25x10^{14}$ vg/kg 내지 약 3.5 $x10^{14}$ vg/kg, 또는 $1.5x10^{14}$ vg/kg 내지 약 $1.0x10^{15}$ vg/kg, 또는 약 $1.5x10^{14}$ vg/kg 내지 $6.0x10^{14}$, 또는 약 $1.5x10^{14}$ vg/kg 내지 $5.0x10^{14}$, 또는 약 $1.5x10^{14}$ vg/kg 내지 $4.0x10^{14}$, 또는 약 $1.5x10^{14}$ vg/kg 내지 약 $3.75x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $1.5x10^{14}$ vg/kg 내지 약 $3.5x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $1.5x10^{14}$ vg/kg 내지 약 $3.25x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $1.5x10^{14}$ vg/kg 내지 약 $3.0x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $1.5x10^{14}$ vg/kg 내지 약 $2.75x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $1.5x10^{14}$ vg/kg 내지 약 $2.5x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $1.5x10^{14}$ vg/kg 내지 약 $2.0x10^{14}$ vg/kg, 또는 $1.75x10^{14}$ vg/kg 내지 약 $1.0x10^{15}$ vg/kg, 또는 약 $1.75x10^{14}$ vg/kg 내지 $6.0x10^{14}$, 또는 약 $1.75x10^{14}$ vg/kg 내지 $5.0x10^{14}$, 또는 약 $1.75x10^{14}$ vg/kg 내지 $4.0x10^{14}$, 또는 약 $1.75x10^{14}$ vg/kg 내지 약 $3.75x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $1.75x10^{14}$ vg/kg 내지 약 $3.5x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $1.75x10^{14}$ vg/kg 내지 약 $3.25x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $1.75x10^{14}$ vg/kg 내지 약 $3.0x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $1.75x10^{14}$ vg/kg 내지 약 $2.75x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $1.75x10^{14}$ vg/kg 내지 약 $2.5x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $1.75x10^{14}$ vg/kg 내지 약 $2.25x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $1.75x10^{14}$ vg/kg 내지 약 $2.0x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $2.0x10^{14}$ vg/kg 내지 $1.0x10^{15}$, 또는 약 $2.0x10^{14}$ vg/kg 내지 $6.0x10^{14}$, 또는 약 $2.0x10^{14}$ vg/kg 내지 $5.0x10^{14}$, 또는 약 $2.0x10^{14}$ vg/kg 내지 약 $4.0x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $2.0x10^{14}$ vg/kg 내지 약 $3.75x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $2.0x10^{14}$ vg/kg 내지 약 $3.5x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $2.0x10^{14}$ vg/kg 내지 약 $3.25x10^{14}$ vg/kg의 rAAV 투여량을 포함한다. 일 실시예에서, 상기 rAAV는 AAVrh74.MHCK7.microdystrophin이다. 일 실시예에서, 상기 AAVrh74.MHCK7.microdystrophin은 서열번호 9의 AAVrh74.MHCK7.microdystrophin, 서열번호 3의 뉴클레오티드 55-5021, 서열번호 8의 뉴클레오티드 1-4977, 또는 서열번호 6의 뉴클레오티드 56-5022이다. 일 실시예에서, 상기 rAAV는 AAVrh74.MCK.microdystrophin이다. 일 실시예에서, 상기 AAVrh74.MCK.microdystrophin은 서열번호 5의 뉴클레오티드 56-4820의 AAVrh74.MCK.microdystrophin이다.

[0073] 일 실시예에서, 본 발명의 조성물은 정맥내 투여용으로 제형화되고 약 2.0 $x10^{14}$ vg/kg인 rAAV의 투여량을 포함한다. 다른 실시예에서, 본 발명의 조성물은 정맥내 투여용으로 제형화되고 약 $5.0x10^{12}$ vg/kg, 또는 약 $6.0x10^{12}$ vg/kg, 또는 약 $7.0x10^{12}$ vg/kg, 또는 약 $8.0x10^{12}$ vg/kg, 또는 약 $9.0x10^{12}$ vg/kg, 또는 약 $1.0x10^{13}$ vg/kg, 또는 약 $1.25x10^{13}$ vg/kg, 또는 약 $1.5x10^{13}$ vg/kg, 또는 약 $1.75x10^{13}$ vg/kg, 또는 약 $2.25x10^{13}$ vg/kg, 또는 약 $2.5x10^{13}$ vg/kg, 또는 약 $2.75x10^{13}$ vg/kg, 또는 약 $3.0x10^{13}$ vg/kg, 또는 약 $3.25x10^{13}$ vg/kg, 또는 약 $3.5x10^{13}$ vg/kg, 또는 약 $3.75x10^{13}$ vg/kg, 또는 약 $4.0x10^{13}$ vg/kg, 또는 약 $5.0x10^{13}$ vg/kg, 또는 약 $6.0x10^{13}$ vg/kg, 또는 약 $7.0x10^{13}$ vg/kg, 또는 약 $8.0x10^{13}$ vg/kg, 또는 약 $9.0x10^{13}$ vg/kg, 또는 약 $1.0x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $1.25x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $1.5x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $1.75x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $2.25x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $2.5x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $2.75x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $3.0x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $3.25x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $3.5x10^{14}$

vg/kg, 또는 약 $3.75x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $4.0x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $5.0x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $6.0x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $1x10^{15}$인 rAAV의 투여량을 포함한다. 일 실시예에서, 상기 rAAV는 AAVrh74.MHCK7.microdystrophin이다. 일 실시예에서, 상기 AAVrh74.MHCK7.microdystrophin은 서열번호 9의 AAVrh74.MHCK7.microdystrophin, 서열번호 3의 뉴클레오티드 55-5021, 서열번호 8의 뉴클레오티드 1-4977, 또는 서열번호 6의 뉴클레오티드 56-5022이다. 다른 실시예에서, 상기 rAAV는 AAVrh74.MCK.microdystrophin이다. 일 실시예에서, 상기 AAVrh74.MCK.microdystrophin은 서열번호 5의 뉴클레오티드 56-4820의 AAVrh74.MCK.microdystrophin이다.

[0074] 본 발명의 조성물 중 어느 하나에서, rAAV의 투여량은 약 5 mL/kg 내지 약 15 mL/kg, 또는 약 8 mL/kg 내지 약 12 mL/kg, 또는 8 mL/kg 내지 약 10 mL/kg, 또는 5 mL/kg 내지 약 10 mL/kg 또는 약 10 mL/kg 내지 12 mL/kg, 또는 약 10 mL/kg 내지 15 mL/kg, 또는 약 10 mL/kg 내지 약 20 mL/kg으로 전달된다. 특정 실시예에서, 조성물은 약 10 mL/kg으로 전달되는 rAAV의 투여량을 포함한다. 일 실시예에서, 상기 rAAV는 AAVrh74.MHCK7.microdystrophin이다. 일 실시예에서, 상기 AAVrh74.MHCK7.microdystrophin은 서열번호 9의 AAVrh74.MHCK7.microdystrophin, 서열번호 3의 뉴클레오티드 55-5021, 서열번호 8의 뉴클레오티드 1-4977, 또는 서열번호 6의 뉴클레오티드 56-5022이다. 다른 실시예에서, 상기 rAAV는 AAVrh74.MCK.microdystrophin이다. 일 실시예에서, 상기 AAVrh74.MCK.microdystrophin은 서열번호 5의 뉴클레오티드 56-4820의 AAVrh74.MCK.microdystrophin이다.

[0075] 본 발명의 조성물은 주사, 주입 또는 이식에 의해 투여되도록 제형화된다. 예를 들어, 조성물은 약 1시간에 걸쳐 주입에 의해 투여되도록 제형화된다. 또한, 본 발명의 조성물은 말초 팔 정맥 또는 말초 다리 정맥과 같은 말초 사지 정맥을 통한 정맥내 투여를 위해 제형화된다. 대안적으로, 주입은 약 30분, 약 1.5시간, 약 2시간, 약 2.5시간 또는 약 3시간에 걸쳐 투여할 수 있다.

[0076] 본 발명의 조성물 중 어느 하나는 서열번호 1의 인간 마이크로-디스트로핀 뉴클레오티드 서열 및 서열번호 2 또는 서열번호 7의 MHCK7 프로모터 뉴클레오티드 서열을 포함하는 rAAV 또는 서열번호 9의 AAVrh74.MHCK7.micro-dystrophin 작제물 뉴클레오티드 서열, 서열번호 3의 뉴클레오티드 55-5021, 서열번호 8의 뉴클레오티드 1-4977, 또는 서열번호 6의 뉴클레오티드 56-5022를 포함하는 rAAV 벡터를 포함한다.

[0077] 특히, 본 발명의 조성물은 듀시엔형 근육 이영양증 또는 베커형 근육 이영양증을 치료하기 위한 것이다. 예를 들어, 본 발명은 이를 필요로 하는 인간 대상체에서 듀시엔형 근육 이영양증 또는 베커형 근육 이영양증을 치료하기 위한 조성물을 제공하며, 여기서 상기 조성물은 재조합 아데노-바이러스 연관(rAAV) rAAV.MHCK7.microdystrophin의 투여량을 포함하고, 여기서 상기 조성물은 대략 1시간에 걸쳐 정맥내 주입에 의해 투여되도록 제형화되고, 투여되는 rAAV의 투여량은 약 $2x\ 10^{14}$ vg/kg이고, 여기서 상기 rAAV는 서열번호 9의 AAVrh74.MHCK7.micro-dystrophin 작제물 뉴클레오티드 서열, 서열번호 3의 뉴클레오티드 55-5021, 서열번호 8의 뉴클레오티드 1-4977, 또는 서열번호 6의 뉴클레오티드 56-5022를 포함한다.

[0078] 다른 실시예에서, 본 발명은 또한 이를 필요로 하는 대상체에서 섬유증을 감소시키기 위해 rAAV를 포함하는 조성물을 제공한다. 또한, 본 발명은 근육 이영양증을 앓고 있는 대상체에서 섬유증을 예방하기 위해 rAAV 벡터를 포함하는 조성물을 제공한다.

[0079] 본 발명은 또한 근육 이영양증을 앓고 있는 대상체에서 근력 및/또는 근육 질량을 증가시키기 위해 rAAV를 포함하는 조성물을 제공한다. 추가의 실시예에서, 본 발명은 근육 이영양증의 치료를 위해 본 발명의 rAAV 중 임의의 것을 포함하는 조성물을 제공한다.

[0080] 본원에 기술된 본 발명의 방법 중 어느 하나의 다른 실시예에서, 상기 조성물을 이를 필요로 하는 인간 대상체에게 투여한 후에, 대상체에서의 혈청 CK 수준은 상기 조성물의 투여 전 혈청 CK 수준과 비교하여 다음으로 이루어진 군으로부터 선택되는 백분율 수준만큼 감소된다:

[0081] a) 투여 후 90, 180 또는 270일까지 적어도 78%;

[0082] b) 투여 후 270일까지 적어도 46, 55, 70 또는 85%;

[0083] c) 투여 후 180일까지 적어도 72, 73, 74 또는 95%;

[0084] d) 투여 후 90일까지 적어도 87, 99, 93 또는 95%;

[0085] e) 투여 후 270일까지 적어도 70%;

[0086] f) 투여 후 90일, 180일 또는 270일까지 70 내지 95%;

[0087] g) 투여 후 90, 180 또는 270일까지 적어도 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 또는 95%; 및

[0088] h) 투여 후 90, 180 또는 270일까지 적어도 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 또는 95%.

[0089] 다른 실시예에서, 본 발명은 이를 필요로 하는 인간 대상체에서 근육 이영양증을 치료하기 위한 약제의 제조를 위한 재조합 아데노-바이러스 연관 (rAAV) rAAV.MHCK7.microdystrophin의 투여량의 사용을 제공하며, 여기서 상기 약제는 전신 투여 경로를 위해 제형화되고 rAAV의 투여량은 약 $1x10^{14}$ vg/kg 내지 약 $4x\ 101^{4}$ vg/kg이다. 일 실시예에서, 상기 rAAV는 AAVrh74.MHCK7.microdystrophin이다. 일 실시예에서, 상기 AAVrh74.MHCK7.microdystrophin는 서열번호 9의 AAVrh74.MHCK7.microdystrophin, 서열번호 3의 뉴클레오티드 55-5021, 서열번호 8의 뉴클레오티드 1-4977 또는 서열번호 6의 뉴클레오티드 56-5022이다. 일 실시예에서, 상기 rAAV는 AAVrh74.MCK.microdystrophin이다. 일 실시예에서, 상기 AAVrh74.MCK.microdystrophin은 서열번호 5의 뉴클레오티드 56-4820의 AAVrh74.MCK.microdystrophin이다.

[0090] 예를 들어, 상기 약제는 약 $5.0x10^{12}$ vg/kg 내지 약 $1.0x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $5.0x10^{12}$ vg/kg 내지 $1.0x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $5.0x10^{12}$ vg/kg 내지 약 $2.0x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $5.0x10^{12}$ vg/kg 내지 약 $1.0x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $5.0x10^{12}$ vg/kg 내지 약 $5.0x10^{13}$ vg/kg, 또는 약 $5.0x10^{12}$ vg/kg 내지 약 $2.0x10^{13}$ vg/kg, 또는 약 $5.0x10^{12}$ vg/kg 내지 약 $1.0x10^{13}$ vg/kg, 또는 $1.0x10^{14}$ vg/kg 내지 약 $1.0x10^{15}$ vg/kg, 또는 $1.0x10^{13}$ vg/kg 내지 약 $1.0x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $1.0x10^{13}$ vg/kg 내지 $1.0x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $1.0x10^{13}$ vg/kg 내지 약 $2.0x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $1.0x10^{13}$ vg/kg 내지 약 $1.0x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $1.0x10^{13}$ vg/kg 내지 약 $5.0x10^{13}$ vg/kg, 또는 약 $1.0x10^{13}$ vg/kg 내지 약 $3.0x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $1.0x10^{13}$ vg/kg 내지 약 $5.0x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $1.0x10^{13}$ vg/kg 내지 약 $6.0x10^{14}$ vg/kg, 또는 $1.0x10^{13}$ vg/kg 내지 약 $1.0x10^{15}$ vg/kg, 또는 $5.0x10^{13}$ vg/kg 내지 약 $1.0x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $5.0x10^{13}$ vg/kg 내지 $1.0x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $5.0x10^{13}$ vg/kg 내지 약 $2.0x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $5.0x10^{13}$ vg/kg 내지 약 $1.0x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $5.0x10^{13}$ vg/kg 내지 약 $3.0x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $5.0x10^{13}$ vg/kg 내지 약 $5.0x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $5.0x10^{13}$ vg/kg 내지 약 $6.0x10^{14}$ vg/kg, 또는 $5.0x10^{13}$ vg/kg 내지 약 $1.0x10^{15}$ vg/kg, 또는 $1.0x10^{14}$ vg/kg 내지 약 $6.0x10^{14}$ vg/kg, 또는 $1.0x10^{14}$ vg/kg 내지 약 $5.0x10^{14}$ vg/kg, 또는 $1.0x10^{14}$ vg/kg 내지 약 $4.0x10^{14}$ vg/kg, 또는 $1.0x10^{14}$ vg/kg 내지 약 $1.0x10^{15}$ vg/kg, 또는 $1.0x10^{14}$ vg/kg 내지 약 $3.0x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $1.0x10^{14}$ vg/kg 내지 약 $2.5x10^{14}$ vg/kg, 또는 $1.0x10^{14}$ vg/kg 내지 약 $2.0x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $1.25x10^{14}$ vg/kg 내지 약 $3.75x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $1.25x10^{14}$ vg/kg 내지 $6.0x10^{14}$, 또는 약 $1.25x10^{14}$ vg/kg 내지 $5.0x10^{14}$, 또는 약 $1.25x10^{14}$ vg/kg 내지 $4.0x10^{14}$, 또는 약 $1.25x10^{14}$ vg/kg 내지 $1.0x10^{15}$, 또는 약 $1.25x10^{14}$ vg/kg 내지 약 $3.5\ x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $1.25x10^{14}$ vg/kg 내지 약 $3.0x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $1.25x10^{14}$ vg/kg 내지 약 $2.75x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $1.25x10^{14}$ vg/kg 내지 약 $2.5x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $1.25x10^{14}$ vg/kg 내지 약 $2.0x10^{14}$ vg/kg, 또는 $1.25x10^{14}$ vg/kg 내지 약 $3.75x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $1.25x10^{14}$ vg/kg 내지 약 $3.5\ x10^{14}$ vg/kg, 또는 $1.5x10^{14}$ vg/kg 내지 약 $1.0x10^{15}$ vg/kg, 또는 약 $1.5x10^{14}$ vg/kg 내지 $6.0x10^{14}$, 또는 약 $1.5x10^{14}$ vg/kg 내지 $5.0x10^{14}$, 또는 약 $1.5x10^{14}$ vg/kg 내지 $4.0x10^{14}$, 또는 약 $1.5x10^{14}$ vg/kg 내지 약 $3.75x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $1.5x10^{14}$ vg/kg 내지 약 $3.5x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $1.5x10^{14}$ vg/kg 내지 약 $3.25x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $1.5x10^{14}$ vg/kg 내지 약 $3.0x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $1.5x10^{14}$ vg/kg 내지 약 $2.75x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $1.5x10^{14}$ vg/kg 내지 약 $2.5x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $1.5x10^{14}$ vg/kg 내지 약 $2.0x10^{14}$ vg/kg, 또는 $1.75x10^{14}$ vg/kg 내지 약 $1.0x10^{15}$ vg/kg, 또는 약 $1.75x10^{14}$ vg/kg 내지 $6.0x10^{14}$, 또는 약 $1.75x10^{14}$ vg/kg 내지 $5.0x10^{14}$, 또는 약 $1.75x10^{14}$ vg/kg 내지 $4.0x10^{14}$, 또는 약 $1.75x10^{14}$ vg/kg 내지 약

$3.75x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $1.75x10^{14}$ vg/kg 내지 약 $3.5x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $1.75x10^{14}$ vg/kg 내지 약 $3.25x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $1.75x10^{14}$ vg/kg 내지 약 $3.0x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $1.75x10^{14}$ vg/kg 내지 약 $2.75x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $1.75x10^{14}$ vg/kg 내지 약 $2.5x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $1.75x10^{14}$ vg/kg 내지 약 $2.25x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $1.75x10^{14}$ vg/kg 내지 약 $2.0x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $2.0x10^{14}$ vg/kg 내지 $1.0x10^{15}$, 또는 약 $2.0x10^{14}$ vg/kg 내지 $6.0x10^{14}$, 또는 약 $2.0x10^{14}$ vg/kg 내지 $5.0x10^{14}$, 또는 약 $2.0x10^{14}$ vg/kg 내지 약 $4.0x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $2.0x10^{14}$ vg/kg 내지 약 $3.75x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $2.0x10^{14}$ vg/kg 내지 약 $3.5x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $2.0x10^{14}$ vg/kg 내지 약 $3.25x10^{14}$ vg/kg의 rAAV 투여량을 포함한다. 일 실시예에서, 상기 rAAV는 AAVrh74.MHCK7.microdystrophin이다. 일 실시예에서, 상기 AAVrh74.MHCK7.microdystrophin는 서열번호 9의 AAVrh74.MHCK7.microdystrophin, 서열번호 3의 뉴클레오티드 55-5021, 서열번호 8의 뉴클레오티드 1-4977 또는 서열번호 6의 뉴클레오티드 56-5022이다. 일 실시예에서, 상기 rAAV는 AAVrh74.MCK.microdystrophin이다. 일 실시예에서, 상기 AAVrh74.MCK.microdystrophin은 서열번호 5의 뉴클레오티드 56-4820의 AAVrh74.MCK.microdystrophin이다.

[0091] 일 실시예에서, 본 발명의 약제는 rAAV의 투여량의 전신 투여 경로를 위해 제형화되고 여기서 상기 전신 투여 경로는 정맥내 투여이고 투여되는 rAAV의 투여량은 약 $2.0 x10^{14}$ vg/kg이다. 다른 실시예에서, 본 발명의 약제는 rAAV의 투여량의 전신 투여 경로를 위해 제형화되고 여기서 상기 전신 투여 경로는 정맥내 투여이고 투여되는 rAAV의 투여량은 약 $5.0x10^{12}$ vg/kg, 또는 약 $6.0x10^{12}$ vg/kg, 또는 약 $7.0x10^{12}$ vg/kg, 또는 약 $8.0x10^{12}$ vg/kg, 또는 약 $9.0x10^{12}$ vg/kg, 또는 약 $1.0x10^{13}$ vg/kg, 또는 약 $1.25x10^{13}$ vg/kg, 또는 약 $1.5x10^{13}$ vg/kg, 또는 약 $1.75x10^{13}$ vg/kg, 또는 약 $2.25x10^{13}$ vg/kg, 또는 약 $2.5x10^{13}$ vg/kg, 또는 약 $2.75x10^{13}$ vg/kg, 또는 약 $3.0x10^{13}$ vg/kg, 또는 약 $3.25x10^{13}$ vg/kg, 또는 약 $3.5x10^{13}$ vg/kg, 또는 약 $3.75x10^{13}$ vg/kg, 또는 약 $4.0x10^{13}$ vg/kg, 또는 약 $5.0x10^{13}$ vg/kg, 또는 약 $6.0x10^{13}$ vg/kg, 또는 약 $7.0x10^{13}$ vg/kg, 또는 약 $8.0x10^{13}$ vg/kg, 또는 약 $9.0x10^{13}$ vg/kg, 또는 약 $1.0x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $1.25x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $1.5x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $1.75x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $2.25x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $2.5x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $2.75x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $3.0x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $3.25x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $3.5x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $3.75x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $4.0x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $5.0x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $6.0x10^{14}$ vg/kg, 또는 약 $1x10^{15}$이다. 일 실시예에서, 상기 rAAV는 AAVrh74.MHCK7.microdystrophin이다. 일 실시예에서, 상기 AAVrh74.MHCK7.microdystrophin는 서열번호 9의 AAVrh74.MHCK7.microdystrophin, 서열번호 3의 뉴클레오티드 55-5021, 서열번호 8의 뉴클레오티드 1-4977 또는 서열번호 6의 뉴클레오티드 56-5022이다. 일 실시예에서, 상기 rAAV는 AAVrh74.MCK.microdystrophin이다. 일 실시예에서, 상기 AAVrh74.MCK.microdystrophin는 서열번호 5의 뉴클레오티드 56-4820의 AAVrh74.MCK.microdystrophin이다.

[0092] 본 발명의 방법 중 어느 하나에서, 상기 약제는 약 5 mL/kg 내지 약 15 mL/kg, 또는 약 8 mL/kg 내지 약 12 mL/kg, 또는 8 mL/kg 내지 약 10 mL/kg, 또는 5 mL/kg 내지 약 10 mL/kg 또는 약 10 mL/kg 내지 12 mL/k, 또는 약 10 mL/kg 내지 15 mL/kg 또는 10 mL/kg 내지 약 20 mL/kg으로 rAAV의 투여량을 포함한다. 특정 실시예에서, 상기 투여량 또는 rAAV는 약 10 mL/kg으로 된다. 일 실시예에서, 상기 rAAV는 AAVrh74.MHCK7.microdystrophin이다. 일 실시예에서, 상기 AAVrh74.MHCK7.microdystrophin는 서열번호 9의 AAVrh74.MHCK7.microdystrophin, 서열번호 3의 뉴클레오티드 55-5021, 서열번호 8의 뉴클레오티드 1-4977 또는 서열번호 6의 뉴클레오티드 56-5022이다. 일 실시예에서, 상기 rAAV는 AAVrh74.MCK.microdystrophin이다. 일 실시예에서, 상기 AAVrh74.MCK.microdystrophin는 서열번호 5의 뉴클레오티드 56-4820의 AAVrh74.MCK.microdystrophin이다.

[0093] 본 발명의 방법 중 어느 하나에서, 상기 약제는 주사, 주입 또는 이식에 의해 투여하도록 제형화된다. 예를 들어, 상기 약제는 약 1시간에 걸쳐 주입으로 투여하도록 제형화된다. 또한 상기 약제는 말초 팔 정맥 또는 말초 다리 정맥과 같은, 말초 사지 정맥을 통해 정맥내 투여하도록 제형화된다. 대안적으로, 주입은 약 30분, 약 1.5시간, 약 2시간, 약 2.5시간 또는 약 3시간에 걸쳐 투여할 수 있다.

[0094] 본 발명의 용도 중 어느 하나에서, 상기 약제는 서열번호 1의 인간 마이크로-디스트로핀 뉴클레오티드 서열 및 서열번호 2 또는 서열번호 7의 MHCK7 프로모터 뉴클레오티드 서열을 포함하는 rAAV 또는 서열번호 9의

AAVrh74.MHCK7.micro-dystrophin 작제물 뉴클레오티드 서열, 서열번호 3의 뉴클레오티드 55-5021, 서열번호 8의 뉴클레오티드 1-4977, 또는 서열번호 6의 뉴클레오티드 56-5022를 포함한다.

[0095] 본 발명의 특정 용도는 듀시엔형 근육 이영양증 또는 베커형 근육 이영양증을 치료하기 위한 약제의 제조를 위한 것이다. 예를 들어, 본 발명은 이를 필요로 하는 인간 대상체에서 듀시엔형 근육 이영양증 또는 베커형 근육 이영양증을 치료하기 위한 약제의 제조를 위한 재조합 아데노-바이러스 연관(rAAV) rAAV.MHCK7.microdystrophin의 투여량의 용도를 제공하며, 여기서 상기 약제는 대략 1시간에 걸쳐 정맥내 주입에 의해 투여되도록 제형화되고, 투여되는 rAAV의 투여량은 약 2x 10^{14} vg/kg이고, 여기서 상기 rAAV는 서열번호 9의 AAVrh74.MHCK7.micro-dystrophin 작제물 뉴클레오티드 서열, 서열번호 3의 뉴클레오티드 55-5021, 서열번호 8의 뉴클레오티드 1-4977, 또는 서열번호 6의 뉴클레오티드 56-5022를 포함한다.

[0096] 추가 실시예에서, 본 발명은 이를 필요로 하는 대상체에서 섬유증을 감소시키기 위해 약제의 제조를 위한 rAAV의 용도를 제공한다. 예를 들어, 도움이 필요한 대상체는 DMD 또는 임의의 다른 디스트로핀-연관 근육 이영양증과 같은, 근육 이영양증을 앓고 있을 수 있다.

[0097] 다른 실시예에서, 본 발명은 근육 이영양증을 앓고 있는 대상체에서 섬유증을 예방하기 위한 약제의 제조를 위한 rAAV의 용도를 제공한다.

[0098] 또한, 본 발명은 근육 이영양증을 앓고 있는 대상체에서 근력 및/또는 근육 질량을 증가시키기 위한 약제의 제조를 위한 rAAV의 용도를 제공한다.

[0099] 본 발명은 또한 근육 이영양증의 치료를 위한 약제의 제조를 위한 rAAV의 용도를 제공한다.

[0100] 본 발명은 근육 이영양증의 치료를 위한 약제의 제조를 위한 서열번호 1의 인간 마이크로-디스트로핀 뉴클레오티드 서열 및 서열번호 2 또는 서열번호 7의 MHCK7 프로모터 뉴클레오티드 서열을 포함하는 rAAV 벡터 또는 근육 이영양증의 치료를 위한 서열번호 9의 AAVrh74.MHCK7.micro-dystrophin 작제물 뉴클레오티드 서열, 서열번호 3의 뉴클레오티드 55-5021, 서열번호 8의 뉴클레오티드 1-4977, 또는 서열번호 6의 뉴클레오티드 56-5022를 포함하는 rAAV 벡터의 용도를 제공한다.

[0101] 본 발명의 용도 중 어느 하나의 다른 실시예에서, 대상체에서의 혈청 CK 수준은 rAAV의 투여 전 혈청 CK 수준과 비교하여 rAAV를 대상체에게 투여한 후에 다음으로 이루어진 군으로부터 선택되는 백분율 수준만큼 감소된다:

[0102] a) 투여 후 90, 180 또는 270일까지 적어도 78%;

[0103] b) 투여 후 270일까지 적어도 46, 55, 70 또는 95%;

[0104] c) 투여 후 180일까지 적어도 72, 73, 74 또는 95%;

[0105] d) 투여 후 90일까지 적어도 87, 88, 93 또는 95%;

[0106] e) 투여 후 270일까지 적어도 70%;

[0107] f) 투여 후 90일, 180일 또는 270일까지 70 내지 95%;

[0108] g) 투여 후 90, 180 또는 270일까지 적어도 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 또는 95%; 및

[0109] h) 투여 후 90, 180 또는 270일까지 적어도 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 또는 95%.

[0110] 근육 이영양증을 치료하기 위한 조성물 또는 근육 이영양증을 치료하기 위한 약제의 용도 중 어느 하나에서, 대상체의 세포 내 마이크로-디스트로핀 유전자 발현의 수준은 조성물 또는 약제의 투여 후 증가된다. 세포 내 마이크로-디스트로핀 유전자의 발현은 조성물 또는 약제의 투여 전후에 생검된 근육에서 웨스턴 블롯에 의해 마이크로-디스트로핀 단백질 수준을 측정함으로써 검출된다. 특히, 마이크로-디스트로핀 단백질의 수준은 조성물 또는 약제의 투여 전 마이크로-디스트로핀의 수준과 비교하여 조성물 또는 약제의 투여 후에 적어도 약 70% 내지 적어도 약 80%, 또는 적어도 약 70% 내지 적어도 약 90%, 또는 적어도 약 80% 내지 적어도 약 90% 증가된다. 예를 들어, 마이크로-디스트로핀 단백질의 수준은 조성물 또는 약제의 투여 전 마이크로-디스트로핀의 수준과 비교하여 조성물의 투여 후에 적어도 약 70% 또는 적어도 약 71% 또는 적어도 약 72% 또는 적어도 약 73% 또는 적어도 약 74% 또는 적어도 약 75% 또는 적어도 약 76% 또는 적어도 약 77% 또는 적어도 약 78% 또는 적어도 약 79% 또는 적어도 약 80%, 또는 적어도 약 81%, 또는 적어도 약 82%, 또는 적어도 약 83%, 또는 적어도 약 84%,

또는 적어도 약 85% 증가된다.

[0111] 또한, 세포 내 마이크로-디스트로핀 유전자의 발현은 조성물 또는 약제의 투여 전후 근육 생검에서 면역조직화학법으로 마이크로-디스트로핀 단백질 수준을 측정하여 검출한다. 마이크로-디스트로핀 단백질의 수준은 조성물 또는 약제의 투여 전 마이크로-디스트로핀의 수준과 비교하여 rAAV의 투여 후에 적어도 약 70% 내지 적어도 약 80%, 또는 적어도 약 70% 내지 적어도 약 90%, 또는 적어도 약 80% 내지 적어도 약 90% 증가된다. 예를 들어, 상기 마이크로-디스트로핀 단백질의 수준은 조성물 또는 약제의 투여 전 마이크로-디스트로핀의 수준과 비교하여 조성물 또는 약제의 투여 후에 적어도 약 70% 또는 적어도 약 71% 또는 적어도 약 72% 또는 적어도 약 73% 또는 적어도 약 74% 또는 적어도 약 75% 또는 적어도 약 76% 또는 적어도 약 77% 또는 적어도 약 78% 또는 적어도 약 79% 또는 적어도 약 80%, 또는 적어도 약 81%, 또는 적어도 약 82%, 또는 적어도 약 83%, 또는 적어도 약 84%, 또는 적어도 약 85% 증가된다.

[0112] 근육 이영양증을 치료하기 위한 조성물 중 어느 하나에서, 대상체에서 혈청 CK 수준은 조성물 또는 약제의 투여 전 혈청 CK 수준과 비교하여 rAAV의 투여 후에 감소된다. 예를 들어, 대상체에서 혈청 CK 수준은 조성물 또는 약제의 투여 전 혈청 CK 수준과 비교하여 조성물 또는 약제의 투여 후 60일까지 약 65 % 내지 약 90% 또는 약 65% 내지 약 95% 또는 약 75% 내지 약 90% 또는 약 80% 내지 약 90%, 또는 약 85% 내지 약 95% 또는 약 87% 내지 약 95% 또는 약 87% 내지 약 90% 감소된다. 특히, 본 발명의 근육 이영양증을 치료하기 위한 조성물 중 어느 하나에서, 대상체에서 혈청 CK 수준은 조성물 또는 약제의 투여 전 혈청 CK 수준과 비교하여 조성물 또는 약제의 투여 후 60일까지 약 87% 감소되고, 또는 근육 이영양증을 치료하기 위한 조성물 또는 본 발명의 근육 이영양증을 치료하기 위한 약제의 용도 중 어느 하나에서, 대상체에서 혈청 CK 수준은 조성물 또는 약제의 투여 전 혈청 CK 수준과 비교하여 조성물 또는 약제의 투여 후 60일까지 약 72% 감소되고, 또는 본 발명의 근육 이영양증을 치료하기 위한 조성물 중 어느 하나에서, 대상체에서 혈청 CK 수준은 조성물 또는 약제의 투여 전 혈청 CK 수준과 비교하여 조성물 또는 약제의 투여 후 60일까지 약 73% 감소되고, 또는 근육 이영양증을 치료하기 위한 조성물 또는 본 발명의 근육 이영양증을 치료하기 위한 약제의 용도 중 어느 하나에서, 대상체에서 혈청 CK 수준은 조성물 또는 약제의 투여 전 혈청 CK 수준과 비교하여 조성물 또는 약제의 투여 후 60일까지 약 78% 감소되고, 또는 근육 이영양증을 치료하기 위한 조성물 또는 본 발명의 근육 이영양증을 치료하기 위한 약제의 용도 중 어느 하나에서, 대상체에서 혈청 CK 수준은 조성물 또는 약제의 투여 전 혈청 CK 수준과 비교하여 조성물 또는 약제의 투여 후 60일까지 약 95% 감소된다. 근육 이영양증을 치료하기 위한 조성물 또는 근육 이영양증을 치료하기 위한 약제의 용도 중 어느 하나에서, 대상체의 근육 조직 내 마이크로-디스트로핀 양성 섬유의 수는 조성물 또는 약제의 투여 전 마이크로-디스트로핀 양성 섬유의 수와 비교하여 조성물 또는 약제의 투여 후에 증가된다. 예를 들어, 마이크로-디스트로핀 양성 섬유의 수는 조성물 또는 약제의 투여 전후 근육 생검에서 웨스턴 블롯 또는 면역조직화학으로 마이크로-디스트로핀 단백질 수준을 측정함으로써 검출한다.

[0113] 근육 이영양증을 치료하기 위한 조성물 또는 근육 이영양증을 치료하기 위한 약제의 용도 중 어느 하나에서, 조성물 또는 약제의 투여는 알파-사르코글리칸 또는 베타-사르코글리칸과 같은 DAPC 단백질의 발현을 상향조절한다. 예를 들어, 대상체에서 알파-사르코글리칸의 수준은 조성물 또는 약제의 투여 전 알파-사르코글리칸의 수준과 비교하여 조성물 또는 약제의 투여 후에 증가된다. 또한, 대상체에서 베타-사르코글리칸의 수준은 조성물 또는 약제의 투여 전 베타-사르코글리칸의 수준과 비교하여 조성물 또는 약제의 투여 후에 증가된다. 알파-사르코글리칸 또는 베타-사르코글리칸의 수준은 조성물 또는 약제의 투여 전후 근육 생검에서 웨스턴 블롯 또는 면역조직화학법으로 알파-사르코글리칸 또는 베타-사르코글리칸 단백질 수준을 측정하여 검출한다.

[0114] 근육 이영양증을 치료하기 위한 조성물 또는 근육 이영양증을 치료하기 위한 약제의 용도 중 어느 하나에서, 환자의 질병 진행이 다음 중 하나로 측정될 때 지연된다: 6분 보행 검사, 상승까지의 시간(time to rise), 4단계 상승(ascend 4 steps), 4단계 상승 및 하강(ascend and descend 4 steps), 노스 스타 보행 평가(NSAA, North Star Ambulatory Assessment), 10미터 시간 검사(10 meter timed test), 100미터 시간 검사, 휴대용 악력계(HHD), 일어나서 걷기 검사(Timed Up and Go) 및/또는 대근육 운동 척도(Bayley-III) 점수.

[0115] 예를 들어, 근육 이영양증을 치료하기 위한 조성물 또는 근육 이영양증을 치료하기 위한 약제의 용도 중 어느 하나의 투여 후에, 대상체는 rAAV의 투여 전 NSAA 점수와 비교하여 조성물 또는 약제의 투여 후 적어도 270일에 적어도 6점의 NSAA 점수 개선을 갖는다. 또한, 방법 중 어느 하나에서, 대상체는 조성물 또는 약제의 투여 전 상승까지의 시간과 비교하여 조성물 또는 약제의 투여 후 적어도 270일에 상승하는 시간이 적어도 약 0.8초 개선된다. 또한, 본 발명의 방법 또는 용도 중 어느 하나에서, 대상체는 조성물 또는 약제의 투여 전 4단계 상승 시간과 비교하여 조성물 또는 약제의 투여 후 적어도 270일에 4단계 상승 시간이 적어도 약 1.2초 개선된다. 또한, 본 발명의 방법 또는 용도 중 어느 하나에서, 대상체는 조성물 또는 약제의 투여 전 100m 시간 검사와 비교

하여 조성물 또는 약제의 투여 후 적어도 270일에 100m 시간 검사에서 적어도 약 7초 개선된다.

[0116] 다른 실시예에서, 본 발명은 서열번호 9의 AAVrh74.MHCK7.micro-dystrophin 작제물 뉴클레오티드 서열, 서열번호 3의 뉴클레오티드 55-5021, 서열번호 8의 뉴클레오티드 1-4977 또는 서열번호 6의 뉴클레오티드 56-5022를 포함하는 환자 세포에서 마이크로-디스트로핀 유전자를 발현시키기 위한 조성물을 제공한다. 추가의 실시예에서, 본 발명은 환자 세포에서 마이크로-디스트로핀 유전자를 발현시키기 위한 약제의 제조를 위해 서열번호 9의 AAVrh74.MHCK7.micro-dystrophin 작제물 뉴클레오티드 서열, 서열번호 3의 뉴클레오티드 55-5021, 서열번호 8의 뉴클레오티드 1-4977 또는 서열번호 6의 뉴클레오티드 56-5022의 투여량의 용도를 제공한다. 예를 들어, 환자 세포에서 마이크로-디스트로핀 유전자의 발현은 rAAV.MHCK7.micro-dystrophin 작제물의 투여 전후 근육 생검에서 웨스턴 블롯 또는 면역조직화학법으로 마이크로-디스트로핀 단백질 수준을 측정함으로써 검출한다. 또한, 핵 당 벡터 게놈의 수를 더 많이 검출함으로써 마이크로-디스트로핀 유전자의 발현을 환자에서 측정하며, 여기서 핵 당 1 벡터 게놈은 약 50%의 마이크로-디스트로핀 발현이고 핵당 1 초과 사본은 마이크로-디스트로핀 발현 수준과 일치한다. 예를 들어, 세포는 핵 당 1.2 벡터 사본, 또는 핵 당 1.3 벡터 사본, 또는 핵 당 1.4 벡터 사본, 또는 핵 당 1.5 벡터 사본, 또는 핵 당 1.6 벡터 사본, 또는 핵 당 1.7 벡터 사본, 또는 핵 당 1.8 벡터 사본, 또는 핵 당 1.9 벡터 사본을 갖는다.

[0117] 다른 실시예에서, 본 발명은 이를 필요로 하는 환자에서 혈청 CK 수준을 감소시키기 위한 조성물을 제공하며, 상기 조성물은 서열번호 9의 AAVrh74.MHCK7.micro-dystrophin 작제물 뉴클레오티드 서열, 서열번호 3의 뉴클레오티드 55-5021, 서열번호 8의 뉴클레오티드 1-4977, 또는 서열번호 6의 뉴클레오티드 56-5022를 포함한다. 또한, 본 발명은 이를 필요로 하는 환자에서 혈청 CK 수준을 감소시키기 위한 약제의 제조를 위한 서열번호 9의 AAVrh74.MHCK7.micro-dystrophin 작제물 뉴클레오티드 서열, 서열번호 3의 뉴클레오티드 55-5021, 서열번호 8의 뉴클레오티드 1-4977, 또는 서열번호 6의 뉴클레오티드 56-5022의 투여량의 용도를 제공한다. 예를 들어, 환자에서 혈청 CK 수준은 조성물 또는 약제의 투여 전 혈청 CK 수준과 비교하여 조성물 또는 약제의 투여 후 60일까지 적어도 약 65% 내지 약 90% 또는 약 65% 내지 약 95% 또는 약 75% 내지 약 90% 또는 약 80% 내지 약 90% 또는 약 85% 내지 약 95% 또는 약 87% 내지 약 95% 또는 약 87% 내지 약 90% 감소된다. 특히, 환자에서 혈청 CK 수준은 조성물 또는 약제의 투여 전 혈청 CK 수준과 비교하여 조성물 또는 약제의 투여 후 60일까지 약 87% 감소하고, 또는 조성물 또는 약제의 투여 전 혈청 CK 수준과 비교하여 조성물 또는 약제의 투여 후 60일까지 약 72% 감소되고, 또는 조성물 또는 약제의 투여 전 혈청 CK 수준과 비교하여 조성물 또는 약제의 투여 후 60일까지 약 73% 감소되고, 또는 조성물 또는 약제의 투여 전 혈청 CK 수준과 비교하여 조성물 또는 약제의 투여 후 60일까지 약 78% 감소되고, 또는 조성물 또는 약제의 투여 전 혈청 CK 수준과 비교하여 조성물 또는 약제의 투여 후 60일까지 약 95% 감소된다.

[0118] 본 발명은 또한 서열번호 9의 AAVrh74.MHCK7.micro-dystrophin 작제물 뉴클레오티드 서열, 서열번호 3의 뉴클레오티드 55-5021, 서열번호 8의 뉴클레오티드 1-4977, 또는 서열번호 6의 뉴클레오티드 56-5022을 포함하는 근육 조직 내 마이크로-디스트로핀 양성 섬유를 증가시키기 위한 조성물을 제공한다. 또한, 본 발명은 환자 근육 조직 내 마이크로-디스트로핀 양성 섬유를 증가시키기 위한 약제의 제조를 위한 서열번호 9의 AAVrh74.MHCK7.micro-dystrophin 작제물 뉴클레오티드 서열, 서열번호 3의 뉴클레오티드 55-5021, 서열번호 8의 뉴클레오티드 1-4977, 또는 서열번호 6의 뉴클레오티드 56-5022의 투여량의 용도를 제공한다. 예를 들어, 마이크로-디스트로핀 양성 섬유의 수는 조성물 또는 약제의 투여 전후 근육 생검에서 웨스턴 블롯 또는 면역조직화학법으로 디스트로핀 단백질 수준을 측정함으로써 검출한다. 또한, 핵 당 벡터 게놈의 수를 더 많이 검출함으로써 마이크로-디스트로핀 유전자의 발현을 환자에서 측정하며, 여기서 핵 당 1 벡터 게놈은 약 50%의 마이크로-디스트로핀 발현이고 핵당 1 초과 사본은 마이크로-디스트로핀 발현 수준과 일치한다. 예를 들어, 세포는 핵 당 1.2 벡터 사본, 또는 핵 당 1.3 벡터 사본, 또는 핵 당 1.4 벡터 사본, 또는 핵 당 1.5 벡터 사본, 또는 핵 당 1.6 벡터 사본, 또는 핵 당 1.7 벡터 사본, 또는 핵 당 1.8 벡터 사본, 또는 핵 당 1.9 벡터 사본을 갖는다.

[0119] 다른 실시예에서, 본 발명은 서열번호 9의 AAVrh74.MHCK7.micro-dystrophin 작제물 뉴클레오티드 서열, 서열번호 3의 뉴클레오티드 55-5021, 서열번호 8의 뉴클레오티드 1-4977, 또는 서열번호 6의 뉴클레오티드 56-5022을 포함하는 이를 필요로 하는 환자에서 알파-사르코글리칸의 발현을 증가시키기 위한 조성물을 제공한다. 본 발명은 또한 이를 필요로 하는 환자에서 알파-사르코글리칸의 발현을 증가시키기 위한 약제의 제조를 위해 서열번호 9의 AAVrh74.MHCK7.micro-dystrophin 작제물 뉴클레오티드 서열, 서열번호 3의 뉴클레오티드 55-5021, 서열번호 8의 뉴클레오티드 1-4977, 또는 서열번호 6의 뉴클레오티드 56-5022의 투여량의 용도를 제공한다. 예를 들어, 알파-사르코글리칸의 수준은 조성물 또는 약제의 투여 전후 근육 생검에서 웨스턴 블롯 또는 면역조직화학법으로 알파-사르코글리칸 단백질 수준을 측정함으로써 검출한다.

[0120] 또한, 본 발명은 서열번호 9의 AAVrh74.MHCK7.micro-dystrophin 작제물 뉴클레오티드 서열, 서열번호 3의 뉴클레오티드 55-5021, 서열번호 8의 뉴클레오티드 1-4977, 또는 서열번호 6의 뉴클레오티드 56-5022을 포함하는 이를 필요로 하는 환자에서 베타-사르코글리칸의 발현을 증가시키기 위한 조성물을 제공한다. 본 발명은 또한 이를 필요로 하는 환자에서 베타-사르코글리칸의 발현을 증가시키기 위한 약제의 제조를 위해 서열번호 9의 AAVrh74.MHCK7.micro-dystrophin 작제물 뉴클레오티드 서열, 서열번호 3의 뉴클레오티드 55-5021, 서열번호 8의 뉴클레오티드 1-4977, 또는 서열번호 6의 뉴클레오티드 56-5022의 용도를 제공한다. 예를 들어, 베타-사르코글리칸의 수준은 조성물 또는 약제의 투여 전후 근육 생검에서 웨스턴 블롯 또는 면역조직화학법으로 베타-사르코글리칸 단백질 수준을 측정함으로써 검출한다.

[0121] 본 발명은 또한 듀시엔형 근육 이영양증 또는 베커형 근육 이영양증을 가진 환자를 치료하기 위한 약제의 제조를 위한 서열번호 9의 AAVrh74.MHCK7.micro-dystrophin 작제물 뉴클레오티드 서열, 서열번호 3의 뉴클레오티드 55-5021, 서열번호 8의 뉴클레오티드 1-4977, 또는 서열번호 6의 뉴클레오티드 56-5022의 투여량의 용도를 제공해서, 약제의 투여 결과 환자의 질병 진행이 다음 중 하나로 측정될 때 지연되도록 한다: 6분 보행 검사, 상승까지의 시간(time to rise), 4단계 상승(ascend 4 steps), 4단계 상승 및 하강(ascend and descend 4 steps), 노스 스타 보행 평가(NSAA, North Star Ambulatory Assessment), 10미터 시간 검사(10 meter timed test), 100미터 시간 검사, 휴대용 악력계(HHD), 일어나서 걷기 검사(Timed Up and Go) 및/또는 대근육 운동 척도(Bayley-III) 점수.

[0122] 예를 들어, 대상체는 조성물 또는 약제의 투여 전 NSAA 점수와 비교하여 조성물 또는 약제의 투여 후 적어도 270일에 적어도 6점의 NSAA 점수 개선을 갖는다. 또한, 대상체는 조성물 또는 약제의 투여 전 상승까지의 시간과 비교하여 조성물 또는 약제의 투여 후 적어도 270일에 상승하는 시간이 적어도 약 0.8초 개선된다. 또한, 대상체는 조성물 또는 약제의 투여 전 4단계 상승 시간과 비교하여 조성물 또는 약제의 투여 후 적어도 270일에 4단계 상승 시간이 적어도 약 1.2초 개선된다. 또한, 대상체는 조성물 또는 약제의 투여 전 100m 시간 검사와 비교하여 조성물 또는 약제의 투여 후 적어도 270일에 100m 시간 검사에서 적어도 약 7초 개선된다.

과제의 해결 수단

[0123] 본 발명은 인간마이크로-디스트로핀을 과발현하는 유전자 치료 벡터, 예를 들어 rAAV 벡터, 및 근육 이영양증 환자에서 섬유증을 감소시키고 예방하는 방법을 제공한다. DMD의 진단의 가장 초기에 얻은 근육 생검은 현저한 결합 조직 증식을 보여준다. 근육 섬유증은 여러 가지 방식으로 유해하다. 그것은 결합 조직 장벽을 통해 내분비 영양소의 정상적인 전달을 줄이고 혈류를 감소시키고 근육에서 혈관 유래 영양 성분을 박탈하고, 기능적으로 사지 구축(limb contracture)을 통한 보행의 조기 상실에 기여한다. 시간이 지남에 따라, 근육의 현저한 섬유증의 결과로 치료 과제가 배가된다. 이는 연속 시점에서 결합 조직 증식을 비교하는 근육 생검에서 관찰될 수 있다. 이 과정은 계속 악화되어 특히 휠체어에 의존하는 환자에서 보행 상실과 통제 불능으로 이어지게 된다.

[0124] 섬유증을 줄이기 위한 평행 접근법을 포함한 조기 치료 없이, 엑손 스키핑(exon skipping), 정지-코돈 판독, 또는 유전자 대체 요법의 이점을 완전히 달성할 가능성은 거의 없다. 작은 분자 또는 단백질 대체 전략도 근육 섬유증을 줄이기 위한 접근법 없이는 실패할 가능성이 높다. AAV.micro-dystropin으로 치료한 기존의 섬유증을 갖는 노화된 *mdx* 마우스에서의 이전 연구는 완전한 기능적 복원을 달성할 수 없음을 보여주었다(Liu, M., *외,Mol Ther* 11, 245-256 (2005)). DMD 심근병증의 진행은 심실 벽의 흉터와 섬유증을 동반하는 것으로도 알려져 있다.

[0125] 본원에 사용된 용어 "AAV"는 아데노-연관 바이러스에 대한 표준 약어이다. 아데노-연관 바이러스는 단일 가닥 DNA 파보바이러스로, 공동 감염 헬퍼 바이러스가 특정 기능을 제공하는 세포에서만 성장한다. 현재 특성화된 13개의 AAV 혈청형이 있다. AAV에 대한 일반 정보 및 검토는, 예를 들어, Carter, 1989, Handbook of Parvoviruses, Vol. 1, pp. 169-228, and Berns, 1990, Virology, pp. 1743-1764, Raven Press, (뉴욕)에서 찾아볼 수 있다. 그러나, 다양한 혈청형이 구조적 및 기능적으로, 심지어 유전적 수준에서도 상당히 밀접한 관련이 있다는 것이 잘 알려져 있으므로, 이러한 동일한 원칙이 추가 AAV 혈청형에 적용될 것으로 충분히 예상된다. (예를 들어, Blacklowe, 1988, pp. 165-174 of Parvoviruses and Human Disease, J. R. Pattison, ed.; 및 Rose, Comprehensive Virology 3:1-61 (1974) 참조). 예를 들어, 모든 AAV 혈청형은 명백히 상동성 rep 유전자에 의해 매개되는 매우 유사한 복제 특성을 나타내며; 모두 AAV2에서 발현된 것과 같은 3개의 관련된 캡시드 단백질을 보유한다. 관련성의 정도는 게놈의 길이를 따라 혈청형 간의 광범위한 교차-혼성화를 보여주는 이중이중체(heteroduplex) 분석; 그리고 "반전 말단 반복 서열"(ITR)에 상응하는 말단에서의 유사한 자가-어닐링 분절의 존재에 의해 추가로 시사된다. 유사한 감염성 양상 또한 각 혈청형의 복제 기능이 유사한 규제 통제 하에 있음을 시사한다.

[0126] 본원에 사용된 "AAV 벡터"는 AAV 말단 반복 서열(ITR)이 측부에 위치하는 하나 이상의 관심 폴리뉴클레오티드(또는 트랜스젠)를 포함하는 벡터를 지칭한다. 이러한 AAV 벡터는 rep 및 cap 유전자 산물을 암호화하고 발현하는 벡터로 형질감염된 숙주 세포 내에 존재할 때 복제되고 감염성 바이러스 입자로 패키징될 수 있다.

[0127] "AAV 비리온" 또는 "AAV 바이러스 입자" 또는 "AAV 벡터 입자"는 적어도 하나의 AAV 캡시드 단백질 및 캡슐화된 폴리뉴클레오티드 AAV 벡터로 이루어진 바이러스 입자를 지칭한다. 입자가 이종 폴리뉴클레오티드(즉, 포유류 세포에 전달될 트랜스젠과 같은 야생형 AAV 게놈 이외의 폴리뉴클레오티드)를 포함하는 경우, 이는 전형적으로 "AAV 벡터 입자" 또는 단순히 "AAV 벡터"로 지칭된다. 따라서, AAV 벡터 입자의 생산은 AAV 벡터의 생산을 반드시 포함하며, 이러한 벡터는 AAV 벡터 입자 내에 포함되어 있다.

[0128] **AAV**

[0129] 아데노-연관 바이러스(AAV)는 복제-결핍 파보바이러스로, 단일-가닥 DNA 게놈은 145개 뉴클레오티드 반전 말단 반복(ITR)을 포함하여 약 4.7 kb 길이이다. AAV에는 여러 혈청형이 있다. AAV 혈청형의 게놈의 뉴클레오티드 서열은 알려져 있다. 예를 들어, AAV 혈청형 2(AAV2) 게놈의 뉴클레오티드 서열은 Ruffing *외, J Gen Virol,* 75: 3385-3392 (1994)에 의해 수정된 Srivastava *외, J Virol,* 45: 555-564 (1983)에 제시되어 있다. 다른 예로서, AAV-1의 완전한 게놈은 GenBank 수탁 번호 NC_002077에 제공되고; AAV-3의 완전한 게놈은 GenBank 수탁 번호 NC_1829에 제공되고; AAV-4의 완전한 게놈은 GenBank 수탁 번호 NC_001829에 제공되고; AAV-5 게놈은 GenBank 수탁 번호 AF085716에 제공되고; AAV-6의 완전한 게놈은 GenBank 수탁 번호 NC_00 1862에 제공되고; AAV-7 및 AAV-8 게놈의 적어도 일부는 각각 GenBank 수탁 번호 AX753246 및 AX753249에 제공되고 (또한 AAV-8에 관한 미국 특허 번호 7,282,199 및 7,790,449 참조); AAV-9 게놈은 Gao *외, J. Virol., 78*: 6381-6388 (2004)에 제공되고; AAV-10 게놈은 *Mol. Ther.,* 13(1): 67-76 (2006)에 제공되고; AAV-11 게놈은 *Virology,* 330(2): 375-383 (2004)에 제공된다. AAVrh.74 혈청형의 클로닝은 Rodino-Klapac., *외 Journal of translational medicine*5, 45 (2007)에 설명되어 있다. 바이러스 DNA 복제(rep), 캡슐화/패키징 및 숙주 세포 염색체 통합을 지시하는 *시스-*작용 서열은 ITR 내에 포함되어 있다. 3개의 AAV 프로모터(상대 맵 위치에 대해 p5, p19 및 p40으로 명명됨)는 rep 및 cap 유전자를 인코딩하는 2개의 AAV 내부 개방 판독 프레임의 발현을 유도한다. 2개의 rep 프로모터(p5 및 p19)는 단일 AAV 인트론(*예*, AAV2 뉴클레오티드 2107 및 2227에서)의 차동 스플라이싱과 결합되어 rep 유전자로부터 4개의 rep 단백질(rep 78, rep 68, rep 52 및 rep 40)을 생산한다. Rep 단백질은 바이러스 게놈 복제를 궁극적으로 담당하는 여러 효소 특성을 가지고 있다. cap 유전자는 p40 프로모터로부터 발현되며, 3개의 캡시드 단백질 VP1, VP2 및 VP3을 암호화한다. 대안적인 스플라이싱 및 논-컨센서스 번역 시작 부위는 3개의 관련 캡시드 단백질의 생산을 담당한다. 단일 컨센서스 폴리아데닐화 부위가 AAV 게놈의 맵 위치 95에 위치한다. AAV의 수명 주기 및 유전학은 Muzyczka, *Current Topics in Microbiology and Immunology, 158*: 97-129 (1992)에서 검토된다.

[0130] AAV는, 예를 들어 유전자 치료에서 세포에 외래 DNA를 전달하기 위한 벡터로서 매력적이게 하는 독특한 특징을 갖는다. 배양에서 세포의 AAV 감염은 비세포변성이며, 인간 및 다른 동물의 자연 감염은 침묵하고 무증상이다. 또한, AAV는 많은 포유류 세포를 감염시켜 *생체 내* 많은 상이한 조직을 표적화할 가능성을 허용한다. 또한, AAV는 천천히 분열하고 비분열하는 세포를 형질도입하며, 전사 활성인 핵 에피솜(염색체외 요소)으로서 이들 세포의 수명 동안 본질적으로 지속될 수 있다. AAV 프로바이러스 게놈은 재조합 게놈의 구축을 가능하게 하는 플라스미드에서 클로닝된 DNA로서 감염성이 있다. 또한, AAV 복제, 게놈 캡슐화 및 통합을 지시하는 신호가 AAV 게놈의 ITR 내에 포함되어 있기 때문에, 게놈의 내부 약 4.3 kb의 일부 또는 전부(암호화 복제 및 구조적 캡시드 단백질, rep-cap)는 프로모터, 관심 DNA 및 폴리아데닐화 신호를 함유하는 유전자 카세트와 같은 외래 DNA로 대체될 수 있다. rep 및 cap 단백질은 *이동 중에* 제공될 수 있다. AAV의 또 다른 중요한 특징은 이 바이러스가 매우 안정적이고 왕성한 바이러스라는 것이다. 아데노바이러스를 비활성화하는 데 사용되는 조건 (56℃ 내지 65℃에서 몇 시간 동안)을 쉽게 견디어 AAV의 저온 보존을 덜 중요하게 한다. AAV는 심지어 동결건조될 수도 있다. 마지막으로, AAV-감염된 세포는 과감염(superinfection)에 내성이 없다.

[0131] 여러 연구에서 근육에서 장기간(> 1.5년) 재조합 AAV 매개 단백질 발현이 입증되었다. Clark *외, Hum Gene Ther, 8*: 659-669 (1997); Kessler *외, Proc Nat. Acad Sc. USA, 93*: 14082-14087 (1996); 및 Xiao *외, J Virol, 70*: 8098-8108 (1996) 참조. 또한, Chao *외*, *Mol Ther*, *2*:619-623 (2000) and Chao *외*, *Mol Ther*, *4*:217-222 (2001) 참조. 또한, 근육이 고도로 혈관화되어 있기 때문에, 재조합 AAV 형질도입은 Herzog *외*, *Proc Natl Acad Sci USA, 94*: 5804-5809 (1997) 및 Murphy *외, Proc Natl Acad Sci USA, 94*: 13921-13926 (1997)에 기술된 것과 같이 근육 내 주사 후 전신 순환에서 트랜스젠 산물의 출현을 초래했다. 또한, Lewis *외, J Virol, 76*: 8769-8775 (2002)은 골격 근섬유가 정확한 항체 당질화, 접힘 및 분비에 필요한 세포 인자를 보유

하고 있음을 입증하였으며, 이는 근육이 분비된 단백질 치료제의 안정적인 발현이 가능함을 나타낸다.

[0132] 본 발명의 재조합 AAV 게놈은 본 발명의 핵산 분자 및 핵산 분자의 측부에 위치하는 하나 이상의 AAV ITR을 포함한다. rAAV 게놈 내의 AAV DNA는 AAV 혈청형 AAVrh.74, AAV-1, AAV-2, AAV-3, AAV-4, AAV-5, AAV-6, AAV-7, AAV-8, AAV-9, AAV-10, AAV-11, AAV-12 및 AAV-13을 포함하지만 이에 한정되지 않는 재조합 바이러스가 유도될 수 있는 임의의 AAV 혈청형으로부터 유래될 수 있다. 유사형 rAAV의 생산은, 예를 들어 WO 01/83692에 개시되어 있다. 다른 유형의 rAAV 변이체, 예를 들어 캡시드 돌연변이를 갖는 rAAV가 또한 고려된다. 예를 들어, Marsic *외, Molecular Therapy*, 22(11): 1900-1909 (2014)를 참조한다. 상기 배경 섹션에서 언급된 바와 같이, 다양한 AAV 혈청형의 게놈의 뉴클레오티드 서열은 당업계에 공지되어 있다. 골격근 특이적 발현을 촉진하기 위해, AAV1, AAV6, AAV8 또는 AAVrh.74가 사용될 수 있다.

[0133] 본 발명의 DNA 플라스미드는 본 발명의 rAAV 게놈을 포함한다. DNA 플라스미드는 rAAV 게놈을 감염성 바이러스 입자로 조립하기 위해 AAV의 헬퍼 바이러스(예, 아데노바이러스, E1-결실 아데노바이러스 또는 헤르페스바이러스)에 감염될 수 있는 세포로 전달된다. 패키징될 AAV 게놈, rep 및 cap 유전자, 및 헬퍼 바이러스 기능이 세포에 제공되는 rAAV 입자를 생산하는 기술이 당업계에서 표준이다. rAAV의 생산은 다음의 성분이 단일 세포(본원에서 패키징 세포로서 지칭됨) 내에 존재할 것을 요구한다: rAAV 게놈, rAAV 게놈과 별도의 (즉, 내부에 있지 않은) AAV rep 및 cap 유전자, 및 헬퍼 바이러스 기능. AAV rep 및 cap 유전자는 재조합 바이러스가 유도될 수 있는 임의의 AAV 혈청형으로부터 유래될 수 있고, AAV 혈청형 AAV-1, AAV-2, AAV-3, AAV-4, AAV-5, AAV-6, AAV-7, AAVrh.74, AAV-8, AAV-9, AAV-10, AAV-11, AAV-12 및 AAV-13을 포함하지만 이에 한정되지 않는 rAAV 게놈 ITR과 상이한 AAV 혈청형으로부터 유래될 수 있다. 유사형 rAAV의 생산은, 예를 들어, 그 전체가 참조로서 본원에 통합되는 WO 01/83692에 개시되어 있다.

[0134] 패키징 세포를 생성하는 방법은 AAV 입자 생산에 필요한 모든 성분을 안정적으로 발현하는 세포주를 생성하는 것이다. 예를 들어, AAV rep 및 cap 유전자가 결여된 rAAV 게놈, rAAV 게놈과 별도의 AAV rep 및 cap 유전자, 및 네오마이신 내성 유전자와 같은 선택성 마커를 포함하는 플라스미드(또는 다수의 플라스미드)가 세포의 게놈에 통합된다. AAV 게놈은 GC 테일링(tailing) (Samulski *외*, 1982, *Proc. Natl. Acad. S6. USA*, 79:2077-2081), 제한 엔도뉴클레아제 절단 부위를 포함하는 합성 링커 추가 (Laughlin *외*, 1983, Gene, 23:65-73) 또는 직접 무딘 말단 결찰 (Senapathy & Carter, 1984, J. Biol. Chem., 259:4661-4666)과 같은 절차에 의해 박테리아 플라스미드 내로 도입되었다. 그런 다음, 패키징 세포주를 아데노바이러스와 같은 헬퍼 바이러스에 감염시킨다. 이 방법의 장점은 세포가 선택 가능하고 rAAV의 대규모 생산에 적합하다는 것이다. 적합한 방법의 다른 예는 rAAV 게놈 및/또는 rep 및 cap 유전자를 패키징 세포에 도입하기 위해 플라스미드보다는 아데노바이러스 또는 바큘로바이러스를 사용한다.

[0135] rAAV 생산의 일반 원칙은 예를 들어 Carter, 1992, Current Opinions in Biotechnology, 1533-539; and Muzyczka, 1992, Curr. Topics in Microbial. and Immunol., 158:97-129)에서 검토된다. 다양한 접근법이 Ratschin *외*, *Mol. Cell. Biol.* 4:2072 (1984); Hermonat *외*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 81:6466 (1984); Tratschin 외, *Mol. Cell. Biol.* 5:3251 (1985); McLaughlin *외*, *J. Virol.*, 62:1963 (1988); 및 Lebkowski *외*, *Mol. Cell. Biol.*, 7:349 (1988). Samulski *외*, J. Virol., 63:3822-3828 (1989); 미국 특허 번호 5,173,414; WO 95/13365 및 대응하는 미국 특허 번호 5,658.776 ; WO 95/13392; WO 96/17947; PCT/US98/18600; WO 97/09441 (PCT/US96/14423); WO 97/08298 (PCT/US96/13872); WO 97/21825 (PCT/US96/20777); WO 97/06243 (PCT/FR96/01064); WO 99/11764; Perrin *외 Vaccine* 13:1244-1250 (1995); Paul *외 Human Gene Therapy* 4:609-615 (1993); Clark *외 Gene Therapy* 3:1124-1132 (1996); 미국 특허 번호 5,786,211; 미국 특허 번호 5,871,982; 및 미국 특허 번호 6,258,595에 기술되어 있다. 전술한 문서들은, rAAV 생산과 관련된 문서들의 섹션들을 특히 강조하면서, 그 전문이 본원에 참조로 포함된다.

[0136] 따라서 본 발명은 감염성 rAAV를 생산하는 패키징 세포를 제공한다. 일 실시예에서, 패키징 세포는 HeLa 세포, 293 세포 및 PerC.6 세포(동족 293 계통)와 같은 안정적으로 형질전환된 암세포일 수 있다. 또 다른 실시예에서, 패키징 세포는 저 계대 293 세포(아데노바이러스의 E1로 형질전환된 인간 태아 신장 세포), MRC-5 세포(인간 태아 섬유아세포), WI-38 세포(인간 태아 섬유아세포), Vero 세포(원숭이 신장 세포) 및 FRhL-2 세포(레수스(rhesus) 태아 폐 세포)와 같은, 형질전환된 암세포가 아닌 세포이다.

[0137] 본 발명의 재조합 AAV(즉, 감염성 캡슐화된 rAAV 입자)는 rAAV 게놈을 포함한다. 예시적인 실시예에서, rAAV 모두의 게놈은 AAV rep 및 cap DNA가 결여되어 있다, 즉, 게놈의 ITR 사이에 AAV rep 또는 cap DNA가 없다. 본 발명의 핵산 분자를 포함하도록 구성될 수 있는 rAAV의 예는 그 전체가 참조로서 본원에 통합된 국제 특허 출원

PCT/US2012/047999(WO 2013/016352)에 기재되어 있다.

[0138] 예시적인 실시예에서, 본 발명의 재조합 AAV 벡터는 AAV 벡터 플라스미드 rAAV.MHCK7.micro-dystrophin, pNLRep2-Caprh74 및 pHelp를 사용하는 삼중 형질감염 방법에 의해 생산되며(Xiao 외, *J Virol* **72**, 2224-2232 (1998), rAAV는 AAV2 반전 터미널 반복 서열 (ITR)이 측부에 있는 마이크로-디스트로핀 유전자 발현 카세트를 포함한다. AAVrh74 비리온으로 캡슐화된 것이 이 서열이다. 플라스미드는 유전자 발현을 유도하기 위해 근육 특이적 프로모터의 마이크로-디스트로핀 서열 및 MHCK7 인핸서 및 코어 프로모터 요소를 함유한다. 발현 카세트는 또한 높은 수준의 유전자 발현을 촉진하는 SV40 인트론(SD/SA)을 포함하고, 효율적인 전사 종결을 위해 소 성장 호르몬 폴리아데닐화 신호를 사용한다.

[0139] pNLREP2-Caprh74는 혈청형 rh74로부터 4개의 야생형 AAV2 rep 단백질 및 3개의 야생형 AAV VP 캡시드 단백질을 암호화하는 AAV 헬퍼 플라스미드이다. pNLREP2-Caprh74 플라스미드의 개략적인 맵이 도 3에 나와 있다.

[0140] pHELP 아데노바이러스 헬퍼 플라스미드는 11,635 bp이며 Applied Viromics로부터 얻었다. 플라스미드는 AAV 복제에 중요한 아데노바이러스 게놈 영역, 즉 E2A, E4ORF6, 및 VA RNA를 함유한다(아데노바이러스 E1 기능은 293 세포에 의해 제공된다). 이 플라스미드에 존재하는 아데노바이러스 서열은 아데노바이러스 게놈의 ~40%만을 나타내며, 아데노바이러스 말단 반복과 같은 복제에 중요한 *시스* 요소를 포함하지 않는다. 따라서 이러한 생산 시스템에서는 감염성 아데노바이러스가 발생하지 않을 것으로 예상된다. pHELP 플라스미드의 개략적인 맵이 도 4에 나와 있다.

[0141] rAAV는 컬럼 크로마토그래피 또는 염화 세슘 구배와 같은 당업계의 표준 방법으로 정제될 수 있다. 헬퍼 바이러스로부터 rAAV 벡터를 정제하는 방법은 당업계에 공지되어 있으며, 예를 들어, Clark *외, Hum. Gene Ther., 10*(6): 1031-1039 (1999); Schenpp and Clark, *Methods Mol. Med., 69* 427-443 (2002); 미국 특허 번호 6,566,118 및 WO 98/09657에 개시된 방법들을 포함한다.

[0142] 다른 실시예에서, 본 발명은 본 발명의 rAAV를 포함하는 조성물을 고려한다. 본 발명의 조성물은 rAAV 및 약제학적으로 허용되는 담체를 포함한다. 조성물은 또한 희석제 및 보조제와 같은 다른 성분을 포함할 수 있다. 허용되는 담체, 희석제 및 보조제는 수용자에게 무독성이며, 바람직하게는 사용되는 투여량 및 농도에서 불활성이고, 완충제 및 계면활성제, 예를 들어 플루로닉을 포함한다.

[0143] 본 발명의 방법에서 투여될 rAAV의 역가는, 예를 들어 특정 rAAV, 투여 방식, 치료 목표, 개체, 및 표적화되는 세포 유형(들)에 따라 달라질 것이며, 당업계에서 표준인 방법에 의해 결정될 수 있다. rAAV의 역가는 ml 당 약 $1x10^{6}$, 약 $1x10^{7}$, 약 $1x10^{8}$, 약 $1x10^{9}$, 약 $1x10^{10}$, 약 $1x10^{11}$, 약 $1x10^{12}$, 약 $1x10^{13}$ 내지 약 $1x10^{14}$ 또는 그 이상의 DNase 저항성 입자(DRP)의 범위일 수 있다. 용량은 또한 바이러스 게놈 (vg) 단위로 표현될 수 있다. 캡슐화된 벡터 게놈 역가를 결정하는 하나의 예시적인 방법은 (Pozsgai 외, Mol. Ther. 25(4): 855-869, 2017)에 기재된 방법과 같은 정량적 PCR을 사용한다.

[0144] rAAV로 표적 세포를 *생체 내* 또는 *시험관* 내에서 형질도입하는 방법이 본 발명에 의해 고려된다. *생체 내* 방법은 본 발명의 rAAV를 포함하는 조성물의 유효 투여량 또는 유효 다중 투여량을 이를 필요로 하는 동물(인간을 포함함)에게 투여하는 단계를 포함한다. 장애/질환 발생 전에 용량을 투여하는 경우, 투여는 예방적이다. 장애/질환 발생 후 투여량을 투여하는 경우, 투여는 치료적이다. 본 발명의 실시예에서, 유효 투여량은, 치료되는 장애/질환 상태와 관련된 적어도 하나의 증상을 완화시키고 (제거하거나 감소시키고), 장애/질환 상태로의 진행을 늦추거나 예방하고, 장애/질환의 진행을 늦추거나 예방하고, 질병의 정도를 감소시키고, 질환의 관해(부분 또는 전체)를 초래하고, 그리고/또는 생존을 연장시키는 투여량이다. 본 발명의 방법으로 예방 또는 치료하기 위해 고려되는 질환의 예는 DMD이다.

[0145] 병용 요법 또한 본 발명에 의해 고려된다. 본원에서 사용되는 바와 같은 병용은 동시 치료 및 순차적 치료 둘 모두를 포함한다. 본 발명의 방법과 표준 의학적 치료(*예*, 코르티코스테로이드)의 병용은 새로운 요법과의 조합과 마찬가지로 구체적으로 고려된다.

[0146] 유효 투여량의 조성물의 투여는, 근육내, 비경구, 정맥내, 경구, 협측, 비강, 폐, 두개내, 골내, 안구내, 직장, 또는 질 등을 포함하지만 이에 한정되지 않는, 당 기술분야의 표준 경로로 이루어질 수 있다. 본 발명의 rAAV의 AAV 성분(특히, AAV ITR 및 캡시드 단백질)의 투여 경로(들) 및 혈청형(들)은 치료 중인 감염 및/또는 질환 상태와 마이크로-디스트로핀 단백질을 발현하기 위한 표적 세포/조직(들)을 고려하여 당업자에 의해 선택 및/또는 매칭될 수 있다.

[0147] 본 발명은 본 발명의 유효 투여량의 rAAV 및 조성물의 국소 투여 및 전신 투여를 제공한다. 예를 들어, 전신 투여는 순환계로 투여하여 전신이 영향을 받도록 하는 것이다. 전신 투여에는 위장관을 통한 흡수 및 주사, 주입 또는 이식을 통한 비경구 투여와 같은 장내 투여가 포함된다.

[0148] 특히, 본 발명의 rAAV의 실제 투여는 rAAV 재조합 벡터를 동물의 표적 조직 내로 수송할 임의의 물리적 방법을 사용함으로써 달성될 수 있다. 본 발명에 따른 투여는 근육 내로의 주사 및 혈류 내로의 주사를 포함하지만, 이에 한정되지 않는다. 인산염 완충 식염수에 rAAV를 단순히 재현탁하는 것은 근육 조직 발현에 유용한 비히클을 제공하기에 충분한 것으로 입증되었으며, rAAV와 동시 투여될 수 있는 담체 또는 다른 성분에 대해 알려진 제한은 없다(단, DNA를 분해하는 조성물은 rAAV와 정상적인 방식으로 피해야 함). rAAV의 캡시드 단백질은 rAAV가 근육과 같은 관심 특정 표적 조직을 표적으로 하도록 변형될 수 있다. 예를 들어, 그 개시 내용이 본 명세서에 참고로 포함된 WO 02/053703을 참조한다. 약제학적 조성물은 주사 가능한 제형으로서 또는 경피 수송에 의해 근육에 전달되는 국소 제형으로서 제조될 수 있다. 근육내 주사 및 경피 수송 모두를 위한 다수의 제형이 이전에 개발되어 왔으며, 본 발명의 실시에 사용될 수 있다. rAAV는 용이한 투여 및 취급을 위해 임의의 약제학적으로 허용되는 담체와 함께 사용될 수 있다.

[0149] 본 발명의 일 실시예에서, 본원에 기술된 AAVrh74.MHCK7.microdystrophin은 20 mM 트리스(pH 8.0), 1 mM 염화마그네슘($MgCl_2$), 200 mM 염화나트륨(NaCl), 및 0.001% 폴록사머 188을 함유하는 완충액으로 제형화된다.

[0150] 본원에 개시된 방법에서 투여되는 rAAV의 투여량은, 예를 들어 특정 rAAV, 투여 방식, 치료 목표, 개인, 및 표적화되는 세포 유형에 따라 달라질 것이며, 당업계에서 표준인 방법에 의해 결정될 수 있다. 투여된 각 rAAV의 역가는 ml 당 약 $1x10^{6}$, 약 $1x10^{7}$, 약 $1x10^{8}$, 약 $1x10^{9}$, 약 $1x10^{10}$, 약 $1x10^{11}$, 약 $1x10^{12}$, 약 $1x10^{13}$, 약 $1x10^{14}$, 약 $2x10^{14}$, 또는 내지 약 $1x10^{15}$ 또는 그 이상의 DNase 내성 입자(DRP)의 범위일 수 있다. 용량은 또한 바이러스 게놈 (vg)의 단위로 표현될 수 있다(즉, 각각 $1x10^{7}$ vg, $1x10^{8}$ vg, $1x10^{9}$ vg, $1x10^{10}$ vg, $1x10^{11}$ vg, $1x10^{12}$ vg, $1x10^{13}$ vg, $1x10^{14}$ vg, $2x10^{14}$ vg, $1x10^{15}$vg). 용량은 또한 체중 kg 당 바이러스 게놈 (vg)의 단위로 표현될 수 있다(즉, 각각 $1x10^{10}$ vg/kg, $1x10^{11}$ vg/kg, $1x10^{12}$ vg/kg, $1x10^{13}$ vg/kg, $1x10^{14}$ vg/kg, $1.25x10^{14}$ vg/kg, $1.5x10^{14}$ vg/kg, $1.75x10^{14}$ vg/kg, $2.0x10^{14}$ vg/kg, $2.25x10^{14}$ vg/kg, $2.5x10^{14}$ vg/kg, $2.75x10^{14}$ vg/kg, $3.0x10^{14}$ vg/kg, $3.25x10^{14}$ vg/kg, $3.5x10^{14}$ vg/kg, $3.75x10^{14}$ vg/kg, $4.0x10^{14}$ vg/kg, $1x10^{15}$ vg/kg). AAV를 적정하는 방법은 Clark *외*, *Hum. Gene Ther., 10*: 1031-1039 (1999)에 기술되어 있다.

[0151] 특히, 본 발명의 rAAV의 실제 투여는 rAAV 재조합 벡터를 동물의 표적 조직 내로 수송할 임의의 물리적 방법을 사용함으로써 달성될 수 있다. 본 발명에 따른 투여는 근육 내로의 주사 및 혈류 내로의 주사를 포함하지만, 이에 한정되지 않는다. 인산염 완충 식염수에 rAAV를 단순히 재현탁하는 것은 근육 조직 발현에 유용한 비히클을 제공하기에 충분한 것으로 입증되었으며, rAAV와 동시 투여될 수 있는 담체 또는 다른 성분에 대해 알려진 제한은 없다(단, DNA를 분해하는 조성물은 rAAV와 정상적인 방식으로 피해야 함). rAAV의 캡시드 단백질은 rAAV가 근육과 같은 관심 특정 표적 조직을 표적으로 하도록 변형될 수 있다. 예를 들어, 그 개시 내용이 본 명세서에 참고로 포함된 WO 02/053703을 참조한다. 약제학적 조성물은 주사 가능한 제형으로서 또는 경피 수송에 의해 근육에 전달되는 국소 제형으로서 제조될 수 있다. 근육내 주사 및 경피 수송 모두를 위한 다수의 제형이 이전에 개발되어 왔으며, 본 발명의 실시에 사용될 수 있다. rAAV는 용이한 투여 및 취급을 위해 임의의 약제학적으로 허용되는 담체와 함께 사용될 수 있다.

[0152] 근육내 주사의 목적으로, 참기름 또는 땅콩 오일과 같은 보강제 또는 수성 프로필렌 글리콜 중의 용액뿐만 아니라, 멸균 수용액이 사용될 수 있다. 이러한 수성 용액은 필요하다면 완충될 수 있고, 액체 희석제는 먼저 식염수 또는 글루코오스로 등장성이 되도록 한다. 유리 산(DNA는 산성 인산염 기를 함유함) 또는 약리학적으로 허용되는 염으로서의 rAAV 용액은 하이드록스프로필셀룰로오스와 같은 계면활성제와 적절히 혼합된 물에서 제조될 수 있다. rAAV의 분산액은 또한 글리세롤, 액체 폴리에틸렌 글리콜 및 이들의 혼합물 및 오일에서 제조될 수 있다. 일반적인 보관 및 사용 조건 하에서, 이러한 제제는 미생물의 성장을 방지하기 위한 보존제를 함유한다. 이와 관련하여, 사용되는 멸균 수성 매질은 모두 당업자에게 잘 알려진 표준 기술에 의해 용이하게 수득될 수 있다.

[0153] 주사 가능한 용도에 적합한 약제학적 담체, 희석제 또는 부형제는 멸균 주사 가능한 용액 또는 분산액의 즉석 조제를 위한 멸균 수용액 또는 분산액 및 멸균 분말을 포함한다. 모든 경우에 이 양식은 멸균 상태이어야 하며,

주사가 용이할 정도로 유동적이어야 한다. 제조 및 보관조건에서 안정적이어야 하며, 세균 및 진균 등 미생물의 오염작용에 대비하여 보존되어야 한다. 담체는, 예를 들어, 물, 에탄올, 폴리올(예를 들어, 글리세롤, 프로필렌 글리콜, 액체 폴리에틸렌 글리콜 등), 이들의 적합한 혼합물, 및 식물성 오일을 함유하는 용매 또는 분산 매질일 수 있다. 적절한 유동성은, 예를 들어 레시틴과 같은 코팅 물질을 사용함으로써, 분산액의 경우 요구되는 입자 크기를 유지함으로써, 및 계면활성제를 사용함으로써 유지될 수 있다. 미생물의 작용을 방지하는 것은 다양한 항세균제 및 항진균제, 예를 들어 파라벤(paraben), 클로로부탄올, 페놀 소르브산, 티메로살 등에 의해 보장될 수 있다. 많은 경우에, 예를 들어 당 또는 염화나트륨과 같은 등장제를 포함하는 것이 바람직할 것이다. 주사 가능한 조성물의 장기간 흡수는 흡수를 지연시키는 제제, 예를 들어 알루미늄 모노스테아레이트 및 젤라틴의 사용에 의해 이루어질 수 있다.

[0154] 멸균 주사용 용액은 필요에 따라 상기 열거된 다양한 다른 성분과 함께 적절한 용매에 필요한 양으로 rAAV를 통합한 후 필터 멸균하여 조제한다. 일반적으로, 분산액은 멸균된 활성 성분을, 염기성 분산 매질 및 상기 열거된 것들로부터 요구되는 다른 성분들을 함유하는 멸균 비히클에 혼입함으로써 제조된다. 멸균 주사 용액의 제조를 위한 멸균 분말의 경우, 바람직한 제조 방법은 진공 건조 및 활성 성분의 분말과 이전에 멸균 여과된 용액으로부터 임의의 추가의 원하는 성분을 생성하는 동결 건조 기술이다.

[0155] rAAV를 사용한 형질도입은 또한 *시험관 내*에서 수행될 수 있다. 일 실시예에서, 원하는 표적 근육 세포는 대상체로부터 제거되고, rAAV로 형질도입되고, 대상체로 재도입된다. 대안적으로, 동계 또는 이종 근육 세포는 그러한 세포가 대상체에서 부적절한 면역 반응을 생성하지 않을 경우에 사용될 수 있다.

[0156] 형질도입 및 형질도입된 세포를 대상체로 재도입하는 적합한 방법이 당업계에 공지되어 있다. 일 실시예에서, *예를 들어* 적정 배지에서, rAAV를 근육 세포와 조합하고, 서던 블롯 및/또는 PCR과 같은 종래의 기술을 사용하여 관심 DNA를 보유하는 세포를 스크리닝하거나, 선택성 마커를 사용함으로써, 세포를 *시험관* 내에서 형질도입할 수 있다. 그런 다음, 형질도입된 세포는 약제학적 조성물로 제형화될 수 있고, 조성물은 *예를 들어* 카테터를 사용하여, 근육내, 정맥내, 피하 및 복강내 주사, 또는 평활근 및 심장근 내로의 주사에 의한 다양한 기술에 의해 대상체에게 도입될 수 있다.

[0157] 본 발명의 rAAV로 세포를 형질도입하면 마이크로-디스트로핀 단백질의 지속적인 발현이 야기된다. 따라서, 본 발명은 마이크로-디스트로핀 단백질을 발현하는 rAAV를 동물, 바람직하게는 인간에게 투여/전달하는 방법을 제공한다. 이들 방법은 본 발명의 하나 이상의 rAAV를 사용하여 조직(근육과 같은 조직, 간 및 뇌와 같은 기관, 및 침샘과 같은 샘을 포함하지만 이에 한정되지 않음)을 형질도입하는 것을 포함한다. 형질도입은 조직 특이적 제어 요소를 포함하는 유전자 카세트로 수행될 수 있다. 예를 들어, 본 발명의 일 실시예는 액틴 및 미오신 유전자 패밀리, 예컨대 myoD 유전자 패밀리 (Weintraub *외, Science, 251*: 761-766 (1991) 참조), 근세포 특이적 인핸서 결합 인자 MEF-2 (Cserjesi 및 Olson, *Mol Cell Biol* 11: 4854-4862 (1991)), 인간 골격 액틴 유전자 유래 제어 요소 (Muscat *외, Mol Cell Biol, 7*: 4089-4099 (1987)), 심장 액틴 유전자, 근육 크레아틴 키나아제 서열 요소 (Johnson *외, Mol Cell Biol, 9*:3393-3399 (1989) 참조) 및 뮤린 크레아틴 키나아제 인핸서 (mCK) 요소, 골격 빠른-연축(fast-twitch) 트로포닌 C 유전자로부터 유래된 제어 요소, 느린-연축(slow-twitch) 심장 트로포닌 C 유전자와 느린-연축(slow-twitch) 트로포닌 I 유전자: 저산소증 유도성 핵 인자 (Semenza *외, Proc Natl Acad Sci USA,88*: 5680-5684 (1991)), 당질코르티코이드 반응 요소(GRE)를 포함하는 스테로이드-유도성 요소 및 프로모터 (Mader 및 White, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90: 5603-5607 (1993) 참조), 및 기타 제어 요소로부터 유래된 것들을 포함하나 이에 제한되지 않는, 근육 특이적 제어 요소에 의해 유도된 근육 세포 및 근육 조직을 형질도입하는 방법을 제공한다.

[0158] 근육 조직은 *생체 내* DNA 전달을 위한 매력적인 표적인데, 이는 이것이 중요한 장기가 아니고 접근하기 쉽기 때문이다. 본 발명은 형질도입된 근섬유로부터의 마이크로디스트로핀의 지속적인 발현을 고려한다.

[0159] "근육 세포" 또는 "근육 조직"은 모든 종류의 근육(예: 골격근 및 평활근, *예를 들어*, 소화관, 방광, 혈관 또는 심장 조직)에서 유래된 세포 또는 세포군을 의미한다. 이러한 근육 세포는 분화되거나 미분화될 수 있는데, 예를 들어, 근육아세포, 근세포, 근관, 심근세포 및 심근아세포가 있다.

[0160] 용어 "형질도입"은 본 발명의 복제 결핍 rAAV를 통해 *생체 내* 또는시험관 내에서 수용자 세포에 마이크로-디스트로핀의 코딩 영역을 투여/전달하여 수용자 세포에 의한 마이크로-디스트로핀의 발현을 초래하는 것을 지칭하는 데 사용된다.

[0161] 따라서, 본 발명은 마이크로-디스트로핀을 코딩하는 rAAV의 유효 투여량(또는 본질적으로 동시에 투여된 투여량

또는 간격으로 투여된 투여량)을 이를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 방법을 제공한다.

[0162] 하기 예들은 단지 예시로서 제공되며 제한하도록 제공되지 않는다. 기술된 수치 범위는 각 범위 내의 각 정수 값을 포함하고, 명시된 최저 및 최고 정수를 포함한다.

발명의 효과

[0163] 본 발명은 소형화된 인간 마이크로-디스트로핀 유전자를 발현하는 아데노-연관 바이러스(AAV, adeno-associated virus) 벡터와 같은 유전자 치료 벡터 및 이러한 벡터를 사용하여 횡격막 및 심근을 포함한 골격근에서 마이크로-디스트로핀(micro-dystrophin)을 발현하고, 근섬유를 손상으로부터 보호하고, 근육 강도를 증가시키고, 근육 이영양증(muscular dystrophy)을 앓고 있는 대상체에서 섬유증을 감소 및/또는 예방하는 방법을 제공한다.

도면의 간단한 설명

[0164] **도 1**은 rAAV.MHCK7.micro-dystrophin 작제물을 도시한다. 이 작제물에서, cDNA 발현 카세트는 AAV2 반전 말단 반복 서열(ITR, inverted terminal repeat sequences)이 측부에 위치한다. 작제물은 프레임-내 로드 결실(R4-R23)을 특징으로 하는 반면, 힌지 1, 2 및 4(H_1, H_2 및 H_4) 및 시스테인 풍부 도메인이 남아서 138 kDa 단백질을 생산한다. 마이크로-디스트로핀 단백질(3579 bp)의 발현은 MHCK7 프로모터(795 bp)에 의해 가이드된다. 인트론 및 5' UTR은 플라스미드 pCMVß(Clontech)로부터 유래한다. 마이크로-디스트로핀 카세트는 ATG 시작 직전에 컨센서스 코작(Kozak)과 mRNA 종결을 위한 소형 53 bp 합성 폴리A 신호를 가졌다. 인간 마이크로-디스트로핀 카세트는 Harper *외* (*Nature Medicine* 8, 253-261 (2002))에서 이전에 기술한 (R4-R23/Δ71-78) 도메인을 함유했다.

도 2a 내지 도 2d는 핵산 서열 (서열번호 3) AAVrh74.MHCK7.micro-dystrophin을 제공한다.

도 3은 pNLREP2-Caprh74 AAV 헬퍼 플라스미드 맵을 제공한다.

도 4는 Ad 헬퍼 플라스미드 pHELP를 제공한다.

도 5는 rAAV.MCK.micro-dystrophin 플라스미드 작제물을 도시한다.

도 6a 내지 도 6d는 핵산 서열(서열번호 5) rAAVrh74.MCK.micro-디스트로핀을 제공한다.

도 7은 면역세포화학법으로 측정된 바와 같이 장딴지근(gastrocnemius muscle) 생검의 근섬유에서 마이크로-디스트로핀 유전자 발현을 보여준다.

도 8a 내지 도 8c는 정확한 분자량에서 마이크로-디스트로핀 단백질 발현을 나타내는 웨스턴 블롯을 제공한다. 도 8c에서, ULDQ(>80%)가 초기 분석에서 초과함에 따라 대상체 4 시료(*)를 1:4 (선형 범위로)로 희석하고, 평균 값에 최종 값을 위해 희석 보정 계수를 곱하여 정상과 비교하였다. 평균 마이크로-디스트로핀 발현 대 정상은 방법 1에서 182.7%, 방법 2에서 222.0%였다.

도 9a 내지 도 9c는 rAAVrh74.MHCK7. micro-dystrophin의 투여가 DAPC 단백질, 알파-사르코글리칸 및 베타-사르코글리칸의 발현을 상향조절함을 보여준다.

도 10은 rAAVrh74.MHCK7. micro-dystrophin의 투여로 인해 크레아틴 키나아제(CK)의 지속된 극적인 감소를 보여준다.

도 11은 기준선으로부터 270일까지의 평균 CK 변화를 제공한다. 이 데이터는 rAAVrh74.MHCK7.micro-dystrophin 투여 후 시간이 지남에 따라 CK가 유의하게 감소함을 보여주었다.

도 12는 기준선으로부터 270일까지의 평균 NSAA 변화 및 평균 CK 변화를 제공한다. 이 데이터는 rAAVrh74.MHCK7.micro-dystrophin 투여 후 시간이 지남에 따라 NSAA가 유의하게 증가했음을 보여주었다.

도 13a 내지 도 13c는 핵산 서열 (서열번호 9) AAVrh74.MHCK7.micro-dystrophin을 제공한다.

도 14는 AAVrh74.MHCK7.micro-dystrophin 플라스미드 작제물을 도시한다.

도 15a 내지 도 15d는 카나마이신 내성 유전자를 포함하는, AAVrh74.MHCK7.micro-dystrophin 플라스미드 작제물의 핵산 서열(서열번호 8)을 제공한다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0165] **실시예 1**

[0166] **A) AAVrh74.MHCK7.micro-dystrophin 작제물의 생성**

[0167] AAVrh74.MHCK7.micro-dystrophin 플라스미드는 AAV2 반전 말단 반복 서열(ITR)이 측부에 위치한 인간 마이크로-디스트로핀 cDNA 발현 카세트를 함유한다(도 1 참조). 작제물은 프레임-내 로드 결실(R4-R23)을 특징으로 한 반면, 힌지 1, 2 및 4 및 시스테인 풍부 도메인이 남아서 138 kDa 단백질을 생산한다. 마이크로-디스트로핀 단백질(3579 bp)의 발현은 MHCK7 프로모터(792 bp)에 의해 가이드되었다. MCK 프로모터를 제거하고 MHCK7 프로모터를 삽입하여 rAAV.MCK.micro-dystrophin 플라스미드로부터 플라스미드를 구축하였다. 상기 코어 프로모터 뒤에, 효율적인 전사 개시를 위해 53 bp 내인성 마우스 MCK Exon1(비번역)이 존재하고, 이어서 SV40 후기 16S/19S 스플라이스 신호(150 bp) 및 소형 5'UTR(61 bp)이 존재한다. 인트론 및 5' UTR은 플라스미드 pCMVß(Clontech)로부터 유래된다. 마이크로-디스트로핀 카세트는 ATG 시작 직전에 컨센서스 코작(Kozak)과 mRNA 종결을 위한 소형 53 bp 합성 폴리A 신호를 가졌다. 인간 마이크로-디스트로핀 카세트는 Harper *외*(*Nature Medicine* **8**, 253-261 (2002))에서 이전에 기술한 (R4-R23/Δ71-78) 도메인을 함유했다. 상보적 DNA는 인간 사용에 최적화된 코돈이며 GenScript(Piscataway, NJ)(*Mol Ther* **18**, 109-117 (2010))에 의해 합성하였다. 이 벡터에 포함된 유일한 바이러스 서열은 바이러스 DNA 복제 및 패키징 모두에 필요한 AAV2의 반전 말단 반복이었다. 마이크로-디스트로핀 카세트에는 mRNA 종결을 위한 소형의 53 bp 합성 폴리A 신호가 있다.

[0168] 이전 연구에서는 골격, 횡격막 및 심장근 발현을 달성하는 MHCK7 프로모터(Salva *외 Mol Ther* **15**, 320-329 (2007) 및 AAVrh74를 사용하여 심장 발현을 검증했다(Sondergaard *외 Annals of clinical and Transl Neurology* **2**, 256-270 (2015)), 도 1의 작제물의 서열을 AAVrh.74 비리온으로 캡슐화하였다. AAVrh.74 혈청형의 분자 클론은 레수스 원숭이(rhesus macaque) 림프절에서 클로닝되었으며, Rodino-Klapac *외 Journal of Translational medicine* **5**, 45 (2007)에서 논의되고 있다.

[0169] **표** 1은 플라스미드 AAVrh74.MHCK7.micro-dystrophin (서열번호 3)의 분자적 특징을 나타낸다.

표 1

[0170] **플라스미드 rAAV.MHCK7.micro-dystrophin의 분자적 특징**

표 1. 플라스미드rAAV.MHCK7.micro-dystrophin의 분자적 특징

유형	시작	종료	명칭	설명
영역	55	182	5’ ITR	야생형 AAV2 반전 말단 반복
영역	244	1035	MHCK7	마우스 미오신 중쇄 복합체- E 박스 근육 크레아틴 키나아제 융합 인핸서/프로모터
영역	1045	1194	키메라 인트론	인간 β-글로빈 유전자로부터의 5’ 공여자부위 및 분기점 및 중쇄 가변 영역으로부터의 3’ 스플라이스 수용자 부위
유전자	1205	4783	huDys cDNA	인간 마이크로-디스트로핀 cDNA
영역	4786	4838	폴리A	합성 폴리A
영역	4894	5021	3’ ITR	야생형 AAV2 반전 말단 반복
유전자	6760	7619	AmpR	β-락타마제 유전자
영역	7823	8442	Ori	플라스미드 복제 기점

[0172] **B) 카나마이신(Kan) 내성을 암호화하는 플라스미드로부터 AAVrh74.MHCK7.micro-dystrophin 작제물 생성**

[0173] MHCK7.μDys.KAN의 클로닝은 MHCK7.μDys 단편을 MHCK7.μDys.AMP 플라스미드 및 카나마이신 백본으로부터 분리시키고, NEBuilder 클로닝 워크플로우를 사용하여 이를 어닐링함으로써 달성되었다. MHCK7.μDys 단편은 SnaBI를 이용한 제한 효소 소화를 통해 단리하였다. 소화는 1x CutSmart Buffer (NEB) 및 1μL SnaBI 중 50μL 총반응에서, 37℃에서 1시간 동안 수행하였다. 생성된 단편을 1.5시간 동안 105 볼트로 실행되는, 1% 아가로오스 겔을 사용하여 전기영동을 통해 단리하였다. MHCK7.μDys 인서트에 대응하는 밴드를 절단해내고 겔 정제 키트(Macherey-Nagel)를 사용하여 정제하였다. 생성된 단편은 10ng/μL의 DNA 농도를 가졌다. Kan 백본 단편을 1시간 동안 37℃에서, 1x CutSmart Buffer(NEB) 및 1μL XbaI로 50μL 반응에서 XbaI 제한 효소 소화를 통해 단리하였다. 생성된 단편을 1.5시간 동안 105 볼트로 실행되는, 1% 아가로오스 겔을 사용하여 전기영동을 통해 단리하였다. Kan 백본에 대응하는 밴드를 절단해내고 겔 정제 키트(Macherey-Nagel)를 통해 정제하였다. 생성된 단

편은 8.1ng/μL의 DNA 농도를 가졌다. 두 개의 단편을 중첩된 서열과 함께 결합시키는 능력을 갖는, NEB 빌더 클로닝 워크플로우를 사용하여 두 개의 단편을 어닐링하였다. NEBuilder 클로닝 반응은 총 반응 부피가 20μL가 되도록 1x NEBuilder HiFi DNA Assembly Master Mix에서 1:1 비율의 MHCK7.μDys 대 카나마이신 백본을 사용하여, 50℃에서 15분 동안 제조자 프로토콜에 따라 수행하였다. 생성된 클론을 세포에 2.5μL 클로닝 산물을 첨가한 다음, 얼음에서 30분, 그 후 42℃에서 30초, 얼음에서 추가로 5분을 진행하여 NEB® Stable Competent E. coli (C3040) 내로 형질전환시켰다. 형질전환 후, 950μL의 생육 배지를 세포에 첨가하고, 30℃에서 1.5시간 동안 성장하게 하고, 225rpm에서 진탕시켰다. 생육 후에, 450μL의 이들 세포를 50μg/mL 카나마이신 LB 한천 플레이트 상에 도말하고, 건조 인큐베이터에서 30℃에서 밤새 인큐베이팅하였다. 이 플레이트로부터 콜로니를 집어 50μg/mL 카나마이신을 함유하는 LB에서 밤새 성장시켰다. QIAprep® Spin Miniprep 키트(Qiagen)를 사용하여 이 배양물 3mL에서 DNA를 단리하였다. 이 DNA를 사용하여 클로닝 산물을 확인하였다. PmeI, MscI, 및 SmaI로 제한 효소 소화 후 겔 전기영동을 통해 클로닝 산물을 확인하였다. 클로닝 산물은 서열분석을 통해 추가로 확인되었다. 생성된 플라스미드는 서열번호 8에 제시되고, 도 14 및 도 15에 도시되어 있다. 서열번호 9의 작제물에 상응하는 도 13의 작제물, 및 서열번호 8의 뉴클레오티드 1-4977의 서열을 전술한 바와 같이 AAVrh.74 비리온으로 캡슐화하였다.

[0175] **실시예 2**

[0176] **듀시엔형 근육 이영양증에 대한 전신 유전자 전달 임상 시험**

[0177] 본 시험은 DMD 대상체에 대한, 서열번호 3의 rAAVrh74.MHCK7.micro-dystrophin, 뉴클레오티드 55-5021을 사용하는 단일 투여량 제어 시험이다. 코호트 A는 3개월 내지 3세인 6명의 대상체를 포함하며, 코호트 B는 4세 내지 7세인 6명의 대상체를 포함할 것이다. 모든 대상체는 정맥 내 마이크로-디스트로핀 벡터(10mL/kg 중 $2x10^{14}$ vg/kg)를 투여받는다. rAAVrh74.MHCK7.micro-dystrophin은 20 mM 트리스(pH 8.0), 1 mM 염화마그네슘($MgCl_2$), 200 mM 염화나트륨(NaCl), 0.001% 폴록사머 188을 함유하는 완충액에서 제형화된다.

[0178] 이 연구에서, rAAVrh74.MHCK7.micro-dystropin을 신체의 모든 근육에 도달할 수 있도록 말초 팔 정맥을 통해 주입시켰다. 코호트 A에서 3개월 내지 3세인 DMD 대상체 6명과, 코호트 B에서 4세 내지 7세인 DMD 대상체 6명이 등록되었다. 모든 대상체가 정맥 내 마이크로-디스트로핀 벡터(10mL/kg 중 $2x10^{14}$ vg/kg)를 투여받았다. 투여된 용량에 대한 캡슐화된 벡터 게놈 역가는 수퍼코일 DNA 플라스미드 표준과 비교하여 MHCK7 프로모터에 대한 프라이머를 사용한 Prism 7500 Taqman 검출기 시스템(PE Applied Biosystems)을 사용하여 정량적 PCR을 사용하여 결정하였다(Pozsgai 외 Mol. Ther. 25(4): 855- 869, 2017).

[0179] 대상체들은 Nationwide Children's Hospital의 소아 집중 치료실(PICU)에서 1시간에 걸쳐 주입을 받았다. 유전자 치료 전, 스크리닝 방문에서 근육 생검을 시행하였다. 대상체들은 유전자가 전달-후 90일에 누락된 디스트로핀 단백질 대체를 허용하는지 여부를 확인하기 위해 두 번째 근육 생검을 받게 된다. 유전자 전달 후, 일체의 치료 부작용에 대해 환자들을 주의 깊게 모니터링했다. 이 모니터링에는 유전자 주사에 의한 부작용이 없는지 확인하기 위해 혈액 및 소변 검사, 그리고 스크리닝 방문 동안과 0, 1, 7, 14, 30, 60, 90, 180일, 9, 12, 18, 24, 30, 36개월에 신체검사가 포함되었다.

[0180] 코호트 A(n=6)의 대상체는 3개월 내지 3세였으며, 정맥내 rAAVrh74.MHCK7.micro-dystrophin 벡터(10 mL/kg 중 $2x10^{14}$)를 투여받았다. 유전자 전달 1일 전에 코호트 A의 대상체들은 프레드니손(prednisone) 또는 데플라자코르트(deflazacort) 1 mg/kg로 시작했고 면역반응을 모니터링하면서 30일 동안 유지되었다. 30일차에 음성인 경우, 1주 동안 스테로이드를 뗐다. AAV 또는 micro-dys에 대한 T 세포 반응이 >125 SFC/106 PBMC인 경우, 수치가 이 역치 아래로 떨어질 때까지 스테로이드를 유지했다.

[0181] 코호트 B(n=6)의 대상체는 4세 내지 7세였으며, 정맥내 rAAVrh74.MHCK7.micro-dystrophin 벡터(10 mL/kg 중 $2x10^{14}$ vg/kg)를 투여받았다. 이 대상체들은 전체 임상시험 기간 동안 코르티코스테로이드의 안정적인 용량으로 유지했으나, AAV 또는 마이크로-디스트로핀에 대한 T 세포 반응이 >125 SFC/106 PBMC인 경우 단기간 동안 증량했을 수 있다.

[0182] **선정 기준**

[0183] 본 연구의 선정 기준은 다음과 같았다:

[0184] · 등록 연령: 코호트 A: 3개월 내지 7세 연령, 코호트 B: 만 4-7세.

[0185] · 프레임시프트(결실 또는 복제), 또는 엑손 18 내지 58 사이의 조기 종결 코돈 돌연변이를 가진 DMD 유전자의 분자 특징화.

[0186] · CK 상승 >1000 U/L

[0187] · 코호트 A 대상체: 척도 점수 ≤9로 정의되는 대근육 운동에 대한 베일리-III 운동 평가에서 평균 미만

[0188] · 코호트 B: < 80% 예측치로 정의되는 100미터 시간 검사에서 평균 미만

[0189] · 모든 인종 그룹의 남자.

[0190] · 운동 평가 검사에 협조할 수 있는 능력.

[0191] · 코호트 A 대상체: 이전에 코르티코스테로이드 치료 받은 적이 없음.

[0192] · 코호트 B 대상체: 스크리닝 전 최소 12주 동안 안정적인 용량의 구강 코르티코스테로이드 등가량으로 투여하며 용량은 전체 연구 기간 동안 일정하게 유지될 것으로 예상된다(체중 변화를 수용하기 위한 변형은 제외)

[0193] 본 연구에 대한 제외 기준은 다음과 같았다:

[0194] · 임상 관찰에 기반한 활동성 바이러스 감염.

[0195] · 심박출률이 40% 미만인 심초음파를 포함한 심근병증의 징후.

[0196] · HIV 감염, 또는 B형 또는 C형 간염의 혈청학적 증거.

[0197] · 자가면역 질환의 진단(또는 치료 진행 중).

[0198] · 임상적으로 유의한 것으로 간주되는 실험실 검사수치 이상

[0199] · PI가 판단하기에 유전자 전달에 불필요한 위험을 야기하는 동반 질병 또는 만성 약물 치료 요건.

[0200] · ELISA 면역분석법으로 측정한 AAVrh74 또는 AAV8 항체 역가가 > 1:400인 대상체.

[0201] · 검사자가 판단하기에, 대상체가, 요구하는 검사 또는 절차를 준수할 능력을 저해하거나 대상체의 복지, 안전성 또는 임상적 해석가능성을 저해할 수 있는 의학적 상태 또는 참작이 가능한 상황.

[0202] · 유전자 전달 방문 전 4주 이내에 중증 감염(예: 폐렴, 신우신염 또는 수막염)(등록을 연기할 수도 있음).

[0203] · 본 연구의 스크리닝 전 마지막 6개월 내에, 임의의 임상시험용 약물(코르티코스테로이드 외) 또는 엑손 스키핑 약물(ExonDys 51® 포함), 실험적 또는 기타 약물을 받았음.

[0204] · 일체의 유형의 유전자 치료, 세포 기반 치료(예, 줄기세포 이식) 또는 CRISPR/Cas9 요법을 받았음.

[0205] · 가족이 주치의 및 기타 의료 서비스 제공자와 환자의 임상시험 참여 사실을 공개하고 싶어하지 않음.

[0206] **결과 척도**

[0207] 1차 결과 척도는 부작용이 있는 참가자 수에 기반한 안전성이었다 (시간 프레임: 3년). 심각도 및 연구 논문과의 관련성에 대해 부작용을 모니터링하고 점수를 매겼다.

[0208] 2차 결과 척도는 다음과 같았다:

[0209] 대근육 운동 하위검사 척도(베일리-III) 점수 (시간 프레임: 스크리닝, 30일-3년): 대근육 운동 척도 점수로 운동 발달 측정. 베일리-III 대근육 운동 하위검사는 30일부터 3년까지 모든 추적관찰 방문에서 코호트 A에 대해 점수를 매겼다. 스크리닝 시점에 만 43-47개월령인 모든 대상체는 42개월 소아에 대한 표준 자료와 비교하여 계산된 척도 점수를 가지고 있었다. 베일리-III은 1-42개월의 소아에 대한 표준 데이터를 제공했다.

[0210] 물리 치료 평가 100미터 시간 검사 (100m)(시간 프레임: 스크리닝, 30일-3년): 100m는 코호트 B의 1차 운동 결과였다. 100미터 시간 검사는 소아가 3세가 되자마자 코호트 A에 대해 시작된 탐색적 결과였다.

[0211] 물리 치료 평가 노스 스타 보행 평가(NSAA) (시간 프레임: 스크리닝, 30일-3년): 노스 스타 보행 평가(NSAA)는 소아가 4세가 되자마자 코호트 A와 코호트 B에 대해 시작된 탐색적 결과였다. NSAA는 듀시엔형 근육 이영양증이 있는 남아들에서 보행의 질을 측정한다.

[0212] 소아를 위해 변형된 물리 치료 평가 일어나서 걷기 변경(TUG) (시간 프레임: 스크리닝, 30일-3세): 코호트 B의 탐색적 결과에는 소아를 위해 변형된 일어나서 걷기(TUG)가 포함되었다.

[0213] 물리 치료 평가 4단계 상승 및 하강 (시간 프레임: 스크리닝, 30일-3년): 코호트 B의 탐색적 결과에는 4단계 상승 및 하강이 포함된다.

[0214] 물리 치료 평가 휴대용 악력계(HHD) (시간 프레임: 스크리닝, 30일-3년): 코호트 B의 탐색적 결과에는 무릎 신근과 무릎 굴근, 팔꿈치 굴근과 팔꿈치 신근의 휴대용 악력계(HHD)가 포함되었다.

[0215] 면역형광법에 의한 마이크로-디스트로핀 유전자 발현 정량화 (시간 프레임: 스크리닝, 90일): 마이크로-디스트로핀 유전자 발현 수준은 면역형광법으로 정량화하고 근육 생검 전후에서 비교했다.

[0216] 웨스턴 블롯에 의한 마이크로-디스트로핀 유전자 발현 정량화 (시간 프레임: 스크리닝, 90일): 마이크로-디스트로핀 유전자 발현 수준을 웨스턴 블롯 분석에 의해 정량화하고 근육 생검 전후에서 비교하였다.

[0217] 유전자 치료 후 CK 감소 (시간 프레임: 3년): 순환 혈액 내 CK 수준 감소.

[0218] 심장 자기공명 영상 (1년 시점).

[0219] **마이크로-디스트로핀 유전자 발현**

[0220] 면역형광(IF) 섬유 강도를 통한 마이크로-디스트로핀 발현의 기준선 대비 변화를 분석하고 정량화했다. 도 7에 도시된 바와 같이, 대상체 1(5세)은 rAAVrh74.MHCK7.micro-dystrophin 투여 후 장딴지근 생검의 근섬유에서 마이크로-디스트로핀 단백질의 78% 발현을 보여주었고, 대상체 2(4세)은 rAAVrh74.MHCK7.micro-dystrophin 투여 후 장딴지근 생검의 근섬유에서 마이크로-디스트로핀 단백질의 73.5% 발현을 보여주었고, 대상체 3(6세)은 rAAVrh74.MHCK7.micro-dystrophin 투여 후 장딴지근 생검의 근섬유에서 마이크로-디스트로핀 단백질의 77.0% 발현을 보여주었다. 대상체 4(4세)은 rAAVrh74.MHCK7.micro-dystrophin 투여 후 장딴지근 생검의 근섬유에서 마이크로-디스트로핀 단백질의 96.2% 발현을 보여주었다. 모든 환자는 면역조직화학법으로 측정했을 때 근형질막에 적절하게 국한되는, 형질도입된 마이크로-디스트로핀의 강력한 발현을 보였다. 마이크로-디스트로핀 양성 섬유의 백분율로 측정한 평균 유전자 발현은 76.2%였고, 섬유의 평균 강도는 정상 대조군과 비교해 74.5%였다.

[0221]

대상체	평균 강도	디스트로핀 양성 섬유 백분율
1	82.0%	78.0%
2	59.0%	73.5%
3	83.0%	77.0%
4	160.0%	96.2%
평균	96.0%	81.2%

[0222] 기준선에서 60일까지 마이크로-디스트로핀 유전자 발현의 변화는 또한 생검된 근육 조직의 웨스턴 블롯으로 측정한 마이크로-디스트로핀 단백질 발현을 정량화하여 평가했다. 도 8a 및 도 8b에 도시된 바와 같이, 웨스턴 블롯 분석은 대상체 1(5세), 대상체 2(4세) 및 대상체 3(6세)에서 마이크로-디스트로핀 단백질 발현을 검출하였다. 도 8c는 대상체 4(4세)에서 마이크로-디스트로핀 단백질 발현을 검출하는 웨스턴 블롯 분석을 제공한다. 모든 치료 후 생검은 웨스턴 블롯으로 측정했을 때 강력한 마이크로-디스트로핀 수준을 보였으며, 대상체 1-4에서 평균은 지방 및 섬유 조직에 대해 조정한 방법 1을 이용하는 정상에 비해 74.3, 그리고 방법 2에 따는 정상에 비해 95.8%이었다.

[0223] 각각의 대상체에 대해, 근섬유의 핵 당 벡터 게놈 사본을 측정하였다. 표 2에 나타낸 바와 같이, rAAVrh74.MHCK7.micro-dystropin 투여 후 뉴클레아제 당 벡터 게놈 사본은 각각의 대상체에 대해 1보다 컸다. 벡터의 한 사본은 마이크로-디스트로핀 유전자의 약 50% 발현을 나타낸다. 1-3 대상체에서 세포 핵 당 평균 1.6 벡터 사본이 측정되었으며, 이는 관찰된 높은 마이크로-디스트로핀 발현 수준과 일치한다. 대상체 4에 대한 값을 포함시켰을 때, 평균 벡터 사본/μg DNA는 $>10^5$이고 세포 핵 당 평균 3.3 벡터 사본이다.

표 2

[0224]

대상체	벡터 사본/μg DNA	핵 당 사본
1	$>10^5$	1.7
2	$>10^5$	1.3
3	$>10^5$	1.9

[0226] rAAVrh74.MHCK7.micro-dystropin 투여 전후 면역조직화학법으로 근육 생검 조직에서 알파-사르코글리칸 및 베타-사르코글리칸의 단백질 수준을 측정했다. rAAVrh74.MHCK7 투여는 또한 대상체에서 DAPC 단백질의 상향조절을 초래했다. 도 9에서 도시된 바와 같이, 대상체 1(도 9A), 대상체 2(도 9B) 및 대상체 3(도 9C)에서 rAAVrh74.MHCK7 투여 전 근육 생검에서 이러한 단백질이 해당하는 수준에 비해 근육 생검 조직에서의 알파-사르코글리칸 및 베타-사르코글리칸의 발현이 증가하였다.

[0227] **순환 혈청 CK 수준**

[0228] rAAVrh74.MHCK7.micro-dystrophin 벡터(10 mL/kg 내 $2x10^{14}$ vg/kg)의 정맥내 주입 투여 후 30일마다 혈액 검체를 채취했다. CK 수준은 각 방문 시 측정하여 rAAVrh74.MHCK7.micro-dystropin 투여 전 측정한 기준선 수준과 비교하였다(방문일 0). 기준선 혈청 CK 수준(단위/리터)는 아래 표 3에 제시되어 있다. 도 10에 도시된 바와 같이, 순환 혈청 CK의 수준은 rAAVrh74.MHCK7.micro-dystrophin 투여 후 2개월에 약 87% 감소하였다. 모든 대상체들이 혈청 크레아틴 키나아제(CK) 수준의 유의한 감소를 보였으며, 치료 후 2개월에 CK가 평균 87% 넘게 감소했다 (n=3). CK는 근육 손상과 관련된 효소이며 DMD 환자는 균일하게 높은 수준의 CK를 보인다. 실제로, 유의하게 상승된 CK는 종종 DMD에 대한 예비 진단 도구로 사용되며, 이후 확인 유전자 검사가 이어진다.

[0229] 표 4 및 도 10은 각 대상체에 대한 CK 수준을 제공한다. 도 11은 시간 경과에 따른 평균 CK 수준을 제공하고, rAAVrh74.MHCK7.micro-dystrophin 투여 후 시간 경과에 따라 평균 CK 수준이 유의하게 감소함을 입증한다. 27,064 U/L의 평균 기준선 CK 수준(표 3의 평균)는 약 63% 감소하여 평균 9,982 U/L가 된다(평균, 270일, 표 4).

표 3

[0230]

대상체	연령(세)	기준선 단위리터에서의CK 수준
1	5	20691
2	4	23414
3	6	34942
4	4	29210

표 4

[0231] 270일까지 기준선 대비 CK 수준 변화

대상체	기준선	30일	60일	90일	180일	270일	360일
1		-	2984	2444	18476	6317	-
2	23414	10427	4283	41920	6209	10494	-
3	34942	10430	2966	2546	9650	18855	6410
4	29210	7215	908	1382	2580	4262	-

[0233] **효능 평가**

[0234] 마이크로-디스트로핀 및 CK 수준 외에, 다음 기능 검사를 통해 유효성을 측정했다: 바닥에서 일어나기까지의 시

간 검사, 4단계 상승, 노스 스타 보행 평가(NSAA), 상승 시간 검사, 4 계단 올라가기 검사, 10미터 시간 검사(10m), 100미터 시간 검사 (100m). 데이터는 아래 표 5와 표 6에 나와 있으며, 이 데이터는 rAAVrh74.MHCK7.micro-dystrophin 투여 후 9개월에 지속적인 개선을 일관되게 보여준다. 시간 경과에 따른 NSAA 개선도 도 12에 나와 있다.

표 5

[0235] 270일까지 기준선 대비 NSAA 변화

대상체	기준선	30일	60일	90일	180일	270일	기준선대비 변화
1	18	22	24	23	25	26	8
2	19	21	23	25	27	27	8
3	26	28	28	30	30	28	2
4	19	20	20	25	25	27	8
평균개선	20.5	22.75	23.75	25.75	26.75	27	6.5

표 6

[0236] 270일까지 기준선 대비 변화

대상체	평가	NSAA	일어나기까지의 시간	4 계단 올라가기	100m (초)	10분
1	기준선	18	3.7	3.4	49.3	5.1
	270일	26	3	2.3	43.2	4.3
2	기준선	19	3	3.8	49.9	4.3
	180일	27	3.7	2.6	48.6	3.9
	270일	27	3.3	2.7	50.3	
3	기준선	26	3.9	1.9	59.3	4.7
	180일	30	3.4	1.8	48.4	4.1
	270일	28	2.8	1.9	50.7	
4	기준선	19	4.1	4.8	67.2	5.4
	90일	25	2.3	2.2	50.7	4.4
	270일	27	2.4	2.2	49.7	
평균	기준선대비 변화	6.5점 개선	0.8초 개선	1.2초 개선	7.95초 개선	14% 개선

[0238] **안전성 평가**

[0239] 연구에서 심각한 부작용 (SAE)은 관찰되지 않았다. 3명의 대상체가 감마-글루타밀 전이효소(GGT) 상승을 경험했으며, 이는 1주일 이내에 스테로이드 증가로 해소되었고 기준선 수준으로 회복되었다. 다른 임상적으로 유의한 실험실 소견은 없었다. 환자들은 일반적으로 치료 첫 주 동안 스테로이드 투여량 증가와 동시에 일시적인 오심을 경험했다. 이는 간 효소 상승 또는 다른 이상과 상관관계가 없었다.

[0241] **실시예 3**

[0242] **무작위 배정 이중 맹검 위약 대조 전신 유전자 전달 I/IIa 상 임상시험**

[0243] 본 시험은 DMD 대상체를 대상으로 rAAVrh74.MHCK7.micro-dystrophin을 사용한 무작위 이중 맹검 단일 용량 시험이다. 이 임상시험에는 4-7세의 대상체 24명이 포함된다. 대상체는 등록 시점에 치료제 또는 위약에 무작위 배정된다. 12명의 대상체가 정맥내 rAAVrh74.MHCK7.micro-dystrophin 벡터(약 10mL/kg에서 $2x10^{14}$ vg/kg)를 투여받고 12명의 대상체가 10 mL/kg 위약(젖산 링거(lactated ringers))을 투여받는다. 위약 대상체는 마지막으로 치료받은 대상체가 투여된 후 1년 시점에 이전에 치료받은12명의 대상체와 동일한 방식으로 주어질 치료제로 전환될 것이다. 대상체는 약 1시간에 걸쳐 마이크로-디스트로핀 또는 젖산 링거를 담은 rAAV 주입을 받는다. 치료

전과 후(90일) 장딴지근에 대한 바늘 근육 생검을 실시한다.

[0244] 본 연구의 일차 목적은 말초 사지 정맥을 통한 DMD 대상체에 대한 rAAVrh74.MHCK7.micro-dystrophin 정맥내 투여의 안전성 평가이다. 안전성 평가변수는 혈액학, 혈청 화학, 소변검사, rAAVrh74 및 마이크로-디스트로핀에 대한 면역 반응의 변화, 보고된 병력 및 증상 관찰에 의해 평가한다. 디스트로핀 유전자 발현은 안전성과 함께 일차 결과 척도의 역할을 한다. 정량화는 검증된 면역형광법 및 면역블롯 분석법을 사용하여 실시한다. 유전자 치료 후 CK 감소는 이차 결과로 작용한다. 효능은 다음 기능 검사로 측정한다: 일어나기까지의 시간, 4 단계 상승, 노스 스타 보행 평가(NSAA), 10미터 시간 검사(10m), 100미터 시간 검사(100m). 탐색적 척도에는 무릎 신근과 무릎 굴근, 팔꿈치 굴근과 팔꿈치 신근에 대한 휴대용 악력계(HHD)가 포함된다.

[0245] 본 연구의 선정 기준은 다음과 같다:

[0246] · 등록 연령: 만 4-7세.

[0247] · 프레임시프트(결실 또는 복제), 또는 엑손 18 내지 58 사이의 조기 종결 코돈 돌연변이를 가진 DMD 유전자의 분자 특징화.

[0248] · 증상성 근육 이영양증의 적응증: CK 상승 >1000 U/L 및 100미터 보행 검사에서 예측된 평균 백분율 시간 미만

[0249] · 모든 인종 그룹의 남자가 선정 가능하다.

[0250] · 운동 평가 검사에 협조할 수 있는 능력.

[0251] · 스크리닝 전 최소 12주 동안 안정적인 용량의 구강 코르티코스테로이드 등가량으로 투여하며 용량은 전체 연구 기간 동안 일정하게 유지될 것으로 예상된다(체중 변화를 수용하기 위한 잠재적 변형은 제외).

[0252] 본 연구에 대한 제외 기준은 다음과 같다:

[0253] · 임상 관찰에 기반한 활동성 바이러스 감염.

[0254] · 심박출률이 40% 미만인 심초음파를 포함한 심근병증의 징후.

[0255] · HIV 감염, 또는 B형 또는 C형 간염의 혈청학적 증거.

[0256] · 자가면역 질환의 진단(또는 치료 진행 중).

[0257] · 임상적으로 유의한 것으로 간주되는 실험실 검사수치 이상 (GGT > 3XULN, 빌리루빈 ≥ 3.0 mg/dL, 크레아티닌 ≥ 1.8 mg/dL, Hgb < 8 또는 > 18 g/Dl; WBC > 18,500/cmm), 혈소판 ≤ 50,000.

[0258] · PI가 판단하기에 유전자 전달에 불필요한 위험을 야기하는 동반 질병 또는 만성 약물 치료 요건.

[0259] · ELISA 면역분석법으로 측정한 AAVrh74 또는 AAV8 항체 역가가 > 1:400인 대상체. 스크리닝 시 평가변수 역가가 양성인 경우, 제외 전에 검사를 반복할 수도 있다.

[0260] · 검사자가 판단하기에, 대상체가, 요구하는 검사 또는 절차를 준수할 능력을 저해하거나 대상체의 복지, 안전성 또는 임상적 해석가능성을 저해할 수 있는 의학적 상태 또는 참작이 가능한 상황이 있음.

[0261] · 유전자 전달 방문 전 4주 이내에 중증 감염(예: 폐렴, 신우신염 또는 수막염)(등록을 연기할 수도 있음).

[0262] · 본 연구의 스크리닝 전 마지막 6개월 내에, 임의의 임상시험용 약물(코르티코스테로이드 외) 또는 엑손 스키핑 약물(ExonDys 51® 포함), 실험적 또는 기타 약물을 받았음.

[0263] · 일체의 유형의 유전자 치료, 세포 기반 치료(예, 줄기세포 이식) 또는 CRISPR/Cas9 요법을 받았음.

[0264] · 가족이 주치의 및 기타 의료 서비스 제공자와 환자의 임상시험 참여 사실을 공개하고 싶어하지 않음.

[0265] **효능 평가**

[0266] 디스트로핀 유전자 발현은 안전성과 함께 일차 결과 척도의 역할을 한다. 정량화는 검증된 면역형광법 및 면역블롯 분석법을 사용하여 실시한다. 유전자 치료 후 CK 감소는 이차 결과로 작용한다. 또한, 효능은 다음 기능 검사로 측정된다: 바닥에서 일어나기까지의 시간, 4 단계 상승, 노스 스타 보행 평가(NSAA), 10미터 시간 검사(10m), 100미터 시간 검사(100m)]. 탐색적 척도에는 무릎 신근과 무릎 굴근, 팔꿈치 굴근과 팔꿈치 신근에 대한 휴대용 악력계(HHD)가 포함된다.

[0267] 초음파 유도를 이용한 근육 생검은 기준선과 90일을 비교하여 트랜스젠 발현을 정량화하기 위해 사용된다. 생검은 원래 생검과 동일한 근육에 대해 실시되지만 반대쪽 다리에 대해 실시한다. 모든 대상체가 투여를 받은 후 1년 시점에, 위약 교차 대상체는 1차 방문에서 연구 일정을 다시 시작한다. 위약 대상체는 두 번째 기준선 스크리닝 시 다음을 실시하지 않는다: 심장 MRI 및 근육 생검. 위약 대상체는 90일에 근육 생검을 받는다(총 3회 근육 생검). 냉동 절편을 간접 면역 형광 (IF)를 사용하여 디스트로핀에 대해 염색시킨다. 전체 슬라이드 스캔을 실시하고, 검증된 영상 스캐닝과 MuscleMapTM 분석 알고리즘을 사용하여 마이크로-디스트로핀 강도와 양성 섬유 백분율을 정량화한다. 근육 형태계측은 섬유 크기 히스토그램을 포함하여 블라인드로 실시한다. 블라인드된 냉동 근육 생검 웨이빙은 검증된 웨스턴 블롯 방법을 사용하여 마이크로-디스트로핀에 대한 정량적 단백질 분석을 수행하는 데 사용된다.

[0268] 마이크로-디스트로핀 발현을 정량화하기 위해 장딴지근의 근육 바늘 생검(PI가 특정 대상체에서 금기로 간주하지 않는 한, PI가 생검에 대한 대체 근육을 선택할 것임)을 사용한다.

[0269] **효능 분석**

[0270] 일차 효능 평가변수는 기준선부터 90일까지 생검된 근육 조직의 웨스턴 블롯으로 측정한 마이크로-디스트로핀 단백질 발현량의 변화이다. 일차 효능 평가변수에 대한 치료군 차이는 치료를 고정 인자로 하고 기준선 값을 공변량으로 하는 공분산 분석(ANCOVA) 모델을 이용하여 평가한다. Wilcoxon 순위 합계 검정을 보조 분석으로 실시한다. 면역형광(IF) 섬유 강도를 통한 마이크로-디스트로핀 발현의 기준선 대비 변화를 유사하게 분석한다.

[0271] 보조 효능 평가변수에는 바닥에서 일어나기까지의 시간, 4 단계 상승, NSAA, 10미터 시간 검사(10m), 100미터 시간 검사(100m), CK의 변화에 대한 각 예정된 평가까지 기준선 대비 변화가 포함된다. 탐색적 척도에는 무릎 신근과 무릎 굴근, 팔꿈치 굴근과 팔꿈치 신근에 대한 HHD이 포함된다. 치료군 차이는 치료를 고정 인자로, 기준선 값을 공변량으로 하는 ANCOVA 모델을 사용하여 평가한다. Wilcoxon 순위 합계 검정을 보조 분석으로 실시한다.

[0273] **실시예 4**

[0274] 상기 예 2 및 3에 기술된 시험 및 연구는 대안적으로 서열번호 9에 기재된rAAVrh74.MHCK7.micro-dystrophin 작제물; 서열번호 8에 기재된, 뉴클레오티드 1-4977; 또는 서열번호 6에 기재된; 뉴클레오티드 56-5022를 사용하여 수행된다.

[0276] **실시예 5**

[0277] **pAAV.MCK.micro-dystrophin 작제물의 생성**

[0278] 코돈 최적화된 인간 마이크로-디스트로핀 cDNA 서열을 유도하는 MCK 발현 카세트를 AAV 클로닝 벡터 psub201 내로 삽입하여 pAAV.MCK.micro-dystrophin 플라스미드를 구축하였다(Samulski *외*, *J. Virol.* 61(10):3096-3101). 근육 특이적 유전자 발현을 유도하기 위해 근육 특이적 조절 요소를 작제물에 포함시켰다. 이러한 조절 요소는 351 bp MCK 코어 프로모터(근위)에 융합된 마우스 MCK 코어 인핸서(206 bp)를 포함하였다. 상기 코어 프로모터 뒤에, 작제물은 효율적인 전사 개시를 위해 53 bp 내인성 마우스 MCK Exon1(비번역)을 포함하고, 이어서 SV40 후기 16S/19S 스플라이스 신호(97 bp) 및 소형 5'UTR(61 bp)을 포함한다. 인트론 및 5' UTR은 플라스미드 pCMV ß (Clontech)로부터 유래되었다. 마이크로-디스트로핀 카세트는 ATG 시작 직전에 컨센서스 코작(Kozak)과 mRNA 종결을 위한 소형 53 bp 합성 폴리A 신호를 갖는다. 인간 마이크로-디스트로핀 카세트는 Harper *외* *Nat. Med.* 8(3):253-61, 2002에서 이전에 기술한 (R4-R23/Δ71-78) 도메인을 함유한다

[0279] pAAV.MCK.micro-dystropin 플라스미드는 AAV2 반전 말단 반복 서열(ITR)이 측부에 위치한 인간 마이크로-디스트로핀 cDNA 발현 카세트를 함유하였다(도 5 참조). 이 서열을 AAVrh.74 비리온으로 캡슐화하였다. AAVrh.74 혈청형의 분자 클론은 레수스 원숭이(rhesus macaque) 림프절에서 클로닝되었으며, Rodino-Klapac *외* *Journal of Tran. Med.* 45 (2007)에서 논의되고 있다.

[0281] **참조 문헌**

[0282] 1. Hoffman, E.P., Brown, R.H., Jr. & Kunkel, L.M. Dystrophin: the protein product of the Duchenne muscular dystrophy locus. *Cell* **51**, 919-928 (1987).

[0283] 2. Straub, V. & Campbell, K.P. Muscular dystrophies and the dystrophin-glycoprotein complex. *Curr Opin Neurol* **10**, 168-175 (1997).

[0284] 3. Sacco, A., *외* Short telomeres and stem cell exhaustion model Duchenne muscular dystrophy in mdx/mTR mice. *Cell* **143**, 1059-1071 (2010).

[0285] 4. Wallace, G.Q. & McNally, E.M. Mechanisms of muscle degeneration, regeneration, and repair in the muscular dystrophies. *Annu Rev Physiol* **71**, 37-57 (2009).

[0286] 5. Zhou, L. & Lu, H. Targeting fibrosis in Duchenne muscular dystrophy. *J Neuropathol Exp Neurol* **69**, 771-776 (2010).

[0287] 6. Desguerre, I., *외* Endomysial fibrosis in Duchenne muscular dystrophy: a marker of poor outcome associated with macrophage alternative activation. *J Neuropathol Exp Neurol* **68**, 762-773 (2009).

[0288] 7. DiPrimio, N., McPhee, S.W. & Samulski, R.J. Adeno-associated virus for the treatment of muscle diseases: toward clinical trials. *Curr Opin Mol Ther* **12**, 553-560 (2010).

[0289] 8. Mendell, J.R., *외* Sustained alpha-sarcoglycan gene expression after gene transfer in limb-girdle muscular dystrophy, type 2D. *Ann Neurol* **68**, 629-638 (2010).

[0290] 9. Mendell, J.R., *외* Limb-girdle muscular dystrophy type 2D gene therapy restores alpha-sarcoglycan and associated proteins. *Ann Neurol* **66**, 290-297 (2009).

[0291] 10. Mendell, J.R., *외* A phase 1/2a follistatin gene therapy trial for becker muscular dystrophy. *Molecular therapy : the journal of the American Society of Gene Therapy* **23**, 192-201 (2015).

[0292] 11. Carnwath, J.W. & Shotton, D.M. Muscular dystrophy in the mdx mouse: histopathology of the soleus and extensor digitorum longus muscles. *J Neurol Sci* **80**, 39-54 (1987).

[0293] 12. Coulton, G.R., Morgan, J.E., Partridge, T.A. & Sloper, J.C. The mdx mouse skeletal muscle myopathy: I. A histological, morphometric and biochemical investigation. *Neuropathol Appl Neurobiol* **14**, 53-70 (1988).

[0294] 13. Cullen, M.J. & Jaros, E. Ultrastructure of the skeletal muscle in the X chromosome-linked dystrophic (mdx) mouse. Comparison with Duchenne muscular dystrophy. *Acta Neuropathol* **77**, 69-81 (1988).

[0295] 14. Dupont-Versteegden, E.E. & McCarter, R.J. Differential expression of muscular dystrophy in diaphragm versus hindlimb muscles of mdx mice. *Muscle Nerve* **15**, 1105-1110 (1992).

[0296] 15. Stedman, H.H., *외* The mdx mouse diaphragm reproduces the degenerative changes of Duchenne muscular dystrophy. *Nature* **352**, 536-539 (1991).

[0297] 16. Deconinck, A.E., *외* Utrophin-dystrophin-deficient mice as a model for Duchenne muscular dystrophy. *Cell* **90**, 717-727 (1997).

[0298] 17. Grady, R.M., *외* Skeletal and cardiac myopathies in mice lacking utrophin and dystrophin: a model for Duchenne muscular dystrophy. *Cell* **90**, 729-738 (1997).

[0299] 18. Love, D.R., *외* An autosomal transcript in skeletal muscle with homology to dystrophin. *Nature* **339**, 55-58 (1989).

[0300] 19. Tinsley, J.M., *외* Primary structure of dystrophin-related protein. *Nature* **360**, 591-593 (1992).

[0301] 20. Tinsley, J., *외* Expression of full-length utrophin prevents muscular dystrophy in mdx mice. *Nat Med* **4**, 1441-1444 (1998).

[0302] 21. Squire, S., *외* Prevention of pathology in mdx mice by expression of utrophin: analysis using an

inducible transgenic expression system. *Hum Mol Genet* **11**, 3333-3344 (2002).

[0303] 22. Rafael, J.A., Tinsley, J.M., Potter, A.C., Deconinck, A.E. & Davies, K.E. Skeletal muscle-specific expression of a utrophin transgene rescues utrophin-dystrophin deficient mice. *Nat Genet* **19**, 79-82 (1998).

[0304] 23. Zhou, L., *외* Haploinsufficiency of utrophin gene worsens skeletal muscle inflammation and fibrosis in mdx mice. *J Neurol Sci* **264**, 106-111 (2008).

[0305] 24. Gutpell, K.M., Hrinivich, W.T. & Hoffman, L.M. Skeletal Muscle Fibrosis in the mdx/utrn+/- Mouse Validates Its Suitability as a Murine Model of Duchenne Muscular Dystrophy. *PloS one* **10**, e0117306 (2015).

[0306] 25. Rodino-Klapac, L.R., *외* Micro-dystrophin and follistatin co-delivery restores muscle function in aged DMD model. *Human molecular genetics* **22**, 4929-4937 (2013).

[0307] 26. Nevo, Y., *외* The Ras antagonist, farnesylthiosalicylic acid (FTS), decreases fibrosis and improves muscle strength in dy/dy mouse model of muscular dystrophy. *PloS one* **6**, e18049 (2011).

[0308] 27. Rodino-Klapac, L.R., *외* A translational approach for limb vascular delivery of the micro-dystrophin gene without high volume or high pressure for treatment of Duchenne muscular dystrophy. *J Transl Med* **5**, 45 (2007).

[0309] 28. Mulieri, L.A., Hasenfuss, G., Ittleman, F., Blanchard, E.M. & Alpert, N.R. Protection of human left ventricular myocardium from cutting injury with 2,3-butanedione monoxime. *Circ Res* **65**, 1441-1449 (1989).

[0310] 29. Rodino-Klapac, L.R., *외* Persistent expression of FLAG-tagged micro dystrophin in nonhuman primates following intramuscular and vascular delivery. *Molecular therapy : the journal of the American Society of Gene Therapy* **18**, 109-117 (2010).

[0311] 30. Grose, W.E., *외* Homologous recombination mediates functional recovery of dysferlin deficiency following AAV5 gene transfer. *PloS one* **7**, e39233 (2012).

[0312] 31. Liu, M., *외* Adeno-associated virus-mediated microdystrophin expression protects young mdx muscle from contraction-induced injury. *Mol Ther* **11**, 245-256 (2005).

[0313] 32. Harper, S.Q., *외* Modular flexibility of dystrophin: implications for gene therapy of Duchenne muscular dystrophy. *Nature medicine* **8**, 253-261 (2002).

[0314] 33. Rodino-Klapac, L.R., *외* Persistent expression of FLAG-tagged micro dystrophin in nonhuman primates following intramuscular and vascular delivery. *Mol Ther* **18**, 109-117 (2010).

[0315] 34. Salva, M.Z., *외* Design of tissue-specific regulatory cassettes for high-level rAAV-mediated expression in skeletal and cardiac muscle. *Mol Ther* **15**, 320-329 (2007).

[0316] 35. Sondergaard, P.C., *외* AAV.Dysferlin Overlap Vectors Restore Function in Dysferlinopathy Animal Models. *Annals of clinical and translational neurology* **2**, 256-270 (2015).

[0317] 36. De, B.P., *외* High levels of persistent expression of alpha1-antitrypsin mediated by the nonhuman primate serotype rh.10 adeno-associated virus despite preexisting immunity to common human adeno-associated viruses. *Mol Ther* **13**, 67-76 (2006).

[0318] 37. Rodino-Klapac, L.R., *외* A translational approach for limb vascular delivery of the micro-dystrophin gene without high volume or high pressure for treatment of Duchenne muscular dystrophy. *Journal of translational medicine* **5**, 45 (2007).

[0319] 38. Bulfield *외*, X chromosome-linked muscular dystrophy (mdx) in the mouse. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1984; **81**(4): 1189-1192.

[0320] 39. Sicinski *외*, The molecular basis of muscular dystrophy in the mdx mouse: a point mutation.

Science. 1989 30;244(4912):1578-80

서열목록 자유텍스트

[0323] <110> RESEARCH INSTITUTE AT NATIONWIDE CHILDREN'S HOSPITAL

<120> ADENO-ASSOCIATED VIRUS VECTOR DELIVERY OF MUSCLE SPECIFIC MICRO-DYSTROPHIN TO TREAT MUSCULAR DYSTROPHY

<130> 28335/53169

<160> 9

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 3579

<212> DNA

<213> 호모 사피엔스

<400> 1

atgctgtggt gggaggaggt ggaggattgt tatgaaaggg aggacgtgca gaagaagact 60

tttaccaagt gggtgaacgc tcagttcagc aaatttggga agcagcacat cgagaatctg 120

ttttccgacc tgcaggatgg gagacggctg ctggatctgc tggaaggact gactggccag 180

aagctgccca aagagaaggg gagcactagg gtgcacgccc tgaacaacgt gaacaaagct 240

ctgagagtgc tgcagaacaa caacgtggat ctggtgaata ttggcagtac tgatatcgtg 300

gacgggaacc acaaactgac actgggcctg atctggaaca ttattctgca ctggcaggtg 360

aaaaatgtga tgaagaacat catggccggg ctgcagcaga ccaattccga gaagatcctg 420

ctgtcttggg tgcggcagag cacccgcaac tatccccagg tgaacgtgat taacttcact 480

acatcctgga gcgacgggct ggccctgaat gctctgattc acagccacag gcctgatctg 540

ttcgactgga atagcgtggt gtgccagcag tctgccacac agcgcctgga acatgccttc 600

aatatcgctc ggtaccagct ggggatcgaa aaactgctgg acccagagga tgtggacact 660

acatacccag ataaaaagtc tattctgatg tacattacta gcctgttcca ggtgctgcca 720

cagcaggtgt ctattgaagc cattcaggag gtggaaatgc tgccccgccc ccccaaagtg 780

actaaagagg agcattttca gctgcatcat cagatgcatt acagccagca gattaccgtg 840

agcctggctc agggatatga gcgcaccagt agtccaaaac cacggttcaa gtcctacgct 900

tatacccagg ctgcctacgt gacaactagc gaccctacta gatccccctt tccatcccag 960

cacctggagg ccccagagga caagagcttt gggtccagcc tgatggaaag cgaggtgaat 1020

ctggatcggt accagacagc cctggaggag gtgctgagct ggctgctgag tgctgaagac 1080

acactgcagg cccagggcga aatttccaat gacgtggaag tggtgaagga tcagttccac 1140

acacacgagg gctatatgat ggacctgaca gctcaccagg ggcgcgtggg caatatcctg 1200

cagctgggct ctaaactgat cggcaccggg aaactgagtg aggacgagga aacagaagtg 1260

caggagcaga tgaacctgct gaacagccgc tgggagtgtc tgagagtggc tagtatggag 1320

aagcagtcca acctgcaccg ggtgctgatg gacctgcaga accagaaact gaaagagctg 1380

aacgactggc tgacaaagac tgaggaacgc acaaggaaga tggaggagga gccactggga 1440

cccgacctgg aggatctgaa gagacaggtg cagcagcata aggtgctgca ggaggatctg 1500

gaacaggagc aggtgcgggt gaactccctg acacatatgg tggtggtggt ggacgaatct 1560

agtggagatc acgccaccgc cgccctggag gaacagctga aggtgctggg ggaccggtgg 1620

gccaacattt gccggtggac cgaggacagg tgggtgctgc tgcaggacat cctgctgaaa 1680

tggcagaggc tgaccgagga gcagtgtctg tttagtgctt ggctgagcga gaaagaggac 1740

gccgtgaaca agatccacac aaccggcttt aaggatcaga acgaaatgct gtctagcctg 1800

cagaaactgg ctgtgctgaa ggccgatctg gagaaaaaga agcagagcat gggcaaactg 1860

tatagcctga aacaggacct gctgagcacc ctgaagaaca agagcgtgac ccagaagaca 1920

gaagcctggc tggataactt tgcccgctgc tgggacaacc tggtgcagaa actggagaaa 1980

agtacagctc agatctctca ggctgtgacc acaacccagc ctagcctgac ccagacaacc 2040

gtgatggaaa ccgtgaccac cgtgacaacc cgcgaacaga tcctggtgaa acatgcccag 2100

gaagagctgc cacctccacc tccccagaag aagagaaccc tggagcggct gcaggagctg 2160

caggaagcca ctgacgaact ggacctgaag ctgaggcagg ccgaagtgat taaggggtct 2220

tggcagcctg tgggcgatct gctgattgat tccctgcagg accacctgga aaaggtgaag 2280

gctctgagag gcgaaattgc tccactgaag gagaacgtga gtcatgtgaa cgatctggct 2340

agacagctga caacactggg catccagctg agcccataca atctgagcac actggaggac 2400

ctgaatacca ggtggaagct gctgcaggtg gctgtggaag accgggtgcg gcagctgcat 2460

gaggcccatc gcgacttcgg accagccagc cagcactttc tgagcacatc cgtgcagggg 2520

ccctgggaga gggccatttc tcccaacaag gtgccctact atattaatca cgagacccag 2580

accacttgtt gggaccatcc caagatgaca gaactgtacc agtccctggc cgatctgaac 2640

aacgtgaggt ttagcgctta cagaaccgct atgaagctga gacggctgca gaaggccctg 2700

tgcctggatc tgctgtccct gtccgccgcc tgcgatgccc tggatcagca taatctgaag 2760

cagaacgatc agccaatgga tatcctgcag atcatcaact gcctgaccac tatctacgac 2820

aggctggagc aggagcacaa caacctggtg aacgtgcctc tgtgcgtgga tatgtgcctg 2880

aactggctgc tgaacgtgta tgacactggg cgcaccggcc ggatcagagt gctgagtttt 2940

aaaactggga ttatctccct gtgtaaggcc cacctggagg acaagtacag gtacctgttc 3000

aagcaggtgg ctagtagcac tggattttgt gaccagcgcc gcctgggact gctgctgcat 3060

gatagtatcc agattcctag acagctggga gaggtggcta gtttcggagg atctaacatc 3120

gaacccagcg tgcgcagctg tttccagttt gccaataaca aacctgaaat cgaggctgct 3180

ctgttcctgg attggatgcg cctggaacca cagagcatgg tgtggctgcc tgtgctgcac 3240

agagtggctg ccgccgaaac tgccaagcac caggctaaat gcaacatctg caaggaatgt 3300

cccattatcg gctttcgcta caggagtctg aaacatttta actacgatat ttgccagagc 3360

tgcttctttt ccggaagagt ggccaaagga cacaagatgc actaccctat ggtggaatat 3420

tgcaccccaa ctacatctgg cgaagatgtg cgcgattttg ccaaggtgct gaagaataag 3480

tttcggacta agaggtactt cgccaagcac ccccgcatgg ggtatctgcc agtgcagaca 3540

gtgctggaag gagacaatat ggagaccgat acaatgtga 3579

<210> 2

<211> 810

<212> DNA

<213> 아데노-연관 바이러스

<400> 2

gtttaaacaa gcttgcatgt ctaagctaga cccttcagat taaaaataac tgaggtaagg 60

gcctgggtag gggaggtggt gtgagacgct cctgtctctc ctctatctgc ccatcggccc 120

tttggggagg aggaatgtgc ccaaggacta aaaaaaggcc atggagccag aggggcgagg 180

gcaacagacc tttcatgggc aaaccttggg gccctgctgt ctagcatgcc ccactacggg 240

tctaggctgc ccatgtaagg aggcaaggcc tggggacacc cgagatgcct ggttataatt 300

aacccagaca tgtggctgcc ccccccccccc caacacctgc tgcctctaaa aataaccctg 360

tccctggtgg atcccctgca tgcgaagatc ttcgaacaag gctgtggggg actgagggca 420

ggctgtaaca ggcttggggg ccagggctta tacgtgcctg ggactcccaa agtattactg 480

ttccatgttc ccggcgaagg gccagctgtc ccccgccagc tagactcagc acttagttta 540

ggaaccagtg agcaagtcag cccttggggc agcccataca aggccatggg gctgggcaag 600

ctgcacgcct gggtccgggg tgggcacggt gcccgggcaa cgagctgaaa gctcatctgc 660

tctcaggggc ccctccctgg ggacagcccc tcctggctag tcacaccctg taggctcctc 720

tatataaccc aggggcacag gggctgccct cattctacca ccacctccac agcacagaca 780

gacactcagg agccagccag cggcgcgccc 810

<210> 3

<211> 8562

<212> DNA

<213> 아데노-연관 바이러스

<400> 3

gcccaatacg caaaccgcct ctccccgcgc gttggccgat tcattaatgc agctgcgcgc 60

tcgctcgctc actgaggccg cccgggcaaa gcccgggcgt cgggcgacct ttggtcgccc 120

ggcctcagtg agcgagcgag cgcgcagaga gggagtggcc aactccatca ctaggggttc 180

cttgtagtta atgattaacc cgccatgcta cttatctacg tagccatgct ctagagttta 240

aacaagcttg catgtctaag ctagaccctt cagattaaaa ataactgagg taagggcctg 300

ggtaggggag gtggtgtgag acgctcctgt ctctcctcta tctgcccatc ggccctttgg 360

ggaggaggaa tgtgcccaag gactaaaaaa aggccatgga gccagagggg cgagggcaac 420

agacctttca tgggcaaacc ttggggccct gctgtctagc atgccccact acgggtctag 480

gctgcccatg taaggaggca aggcctgggg acacccgaga tgcctggtta taattaaccc 540

agacatgtgg ctgccccccc ccccccaaca cctgctgcct ctaaaaataa ccctgtccct 600

ggtggatccc ctgcatgcga agatcttcga acaaggctgt gggggactga gggcaggctg 660

taacaggctt gggggccagg gcttatacgt gcctgggact cccaaagtat tactgttcca 720

tgttcccggc gaagggccag ctgtcccccg ccagctagac tcagcactta gtttaggaac 780

cagtgagcaa gtcagccctt ggggcagccc atacaaggcc atggggctgg gcaagctgca 840

cgcctgggtc cggggtgggc acggtgcccg ggcaacgagc tgaaagctca tctgctctca 900

ggggcccctc cctggggaca gcccctcctg gctagtcaca ccctgtaggc tcctctatat 960

aacccagggg cacaggggct gccctcattc taccaccacc tccacagcac agacagacac 1020

tcaggagcag ccagcggcgc gcccaggtaa gtttagtctt tttgtctttt atttcaggtc 1080

ccggatccgg tggtggtgca aatcaaagaa ctgctcctca gtggatgttg cctttacttc 1140

taggcctgta cggaagtgtt acttctgctc taaaagctgc ggaattgtac ccgcggccgc 1200

caccatgctg tggtgggagg aggtggagga ttgttatgaa agggaggacg tgcagaagaa 1260

gacttttacc aagtgggtga acgctcagtt cagcaaattt gggaagcagc acatcgagaa 1320

tctgttttcc gacctgcagg atgggagacg gctgctggat ctgctggaag gactgactgg 1380

ccagaagctg cccaaagaga aggggagcac tagggtgcac gccctgaaca acgtgaacaa 1440

agctctgaga gtgctgcaga acaacaacgt ggatctggtg aatattggca gtactgatat 1500

cgtggacggg aaccacaaac tgacactggg cctgatctgg aacattattc tgcactggca 1560

ggtgaaaaat gtgatgaaga acatcatggc cgggctgcag cagaccaatt ccgagaagat 1620

cctgctgtct tgggtgcggc agagcacccg caactatccc caggtgaacg tgattaactt 1680

cactacatcc tggagcgacg ggctggccct gaatgctctg attcacagcc acaggcctga 1740

tctgttcgac tggaatagcg tggtgtgcca gcagtctgcc acacagcgcc tggaacatgc 1800

cttcaatatc gctcggtacc agctggggat cgaaaaactg ctggacccag aggatgtgga 1860

cactacatac ccagataaaa agtctattct gatgtacatt actagcctgt tccaggtgct 1920

gccacagcag gtgtctattg aagccattca ggaggtggaa atgctgcccc gccccccccaa 1980

agtgactaaa gaggagcatt ttcagctgca tcatcagatg cattacagcc agcagattac 2040

cgtgagcctg gctcagggat atgagcgcac cagtagtcca aaaccacggt tcaagtccta 2100

cgcttatacc caggctgcct acgtgacaac tagcgaccct actagatccc cctttccatc 2160

ccagcacctg gaggccccag aggacaagag ctttgggtcc agcctgatgg aaagcgaggt 2220

gaatctggat cggtaccaga cagccctgga ggaggtgctg agctggctgc tgagtgctga 2280

agacacactg caggcccagg gcgaaatttc caatgacgtg gaagtggtga aggatcagtt 2340

ccacacacac gagggctata tgatggacct gacagctcac caggggcgcg tgggcaatat 2400

cctgcagctg ggctctaaac tgatcggcac cgggaaactg agtgaggacg aggaaacaga 2460

agtgcaggag cagatgaacc tgctgaacag ccgctgggag tgtctgagag tggctagtat 2520

ggagaagcag tccaacctgc accgggtgct gatggacctg cagaaccaga aactgaaaga 2580

gctgaacgac tggctgacaa agactgagga acgcacaagg aagatggagg aggagccact 2640

gggacccgac ctggaggatc tgaagagaca ggtgcagcag cataaggtgc tgcaggagga 2700

tctggaacag gagcaggtgc gggtgaactc cctgacacat atggtggtgg tggtggacga 2760

atctagtgga gatcacgcca ccgccgccct ggaggaacag ctgaaggtgc tgggggaccg 2820

gtgggccaac atttgccggt ggaccgagga caggtgggtg ctgctgcagg acatcctgct 2880

gaaatggcag aggctgaccg aggagcagtg tctgtttagt gcttggctga gcgagaaaga 2940

ggacgccgtg aacaagatcc acacaaccgg ctttaaggat cagaacgaaa tgctgtctag 3000

cctgcagaaa ctggctgtgc tgaaggccga tctggagaaa aagaagcaga gcatgggcaa 3060

actgtatagc ctgaaacagg acctgctgag caccctgaag aacaagagcg tgacccagaa 3120

gacagaagcc tggctggata actttgcccg ctgctgggac aacctggtgc agaaactgga 3180

gaaaagtaca gctcagatct ctcaggctgt gaccacaacc cagcctagcc tgacccagac 3240

aaccgtgatg gaaaccgtga ccaccgtgac aacccgcgaa cagatcctgg tgaaacatgc 3300

ccaggaagag ctgccacctc cacctcccca gaagaagaga accctggagc ggctgcagga 3360

gctgcaggaa gccactgacg aactggacct gaagctgagg caggccgaag tgattaaggg 3420

gtcttggcag cctgtgggcg atctgctgat tgattccctg caggaccacc tggaaaaggt 3480

gaaggctctg agaggcgaaa ttgctccact gaaggagaac gtgagtcatg tgaacgatct 3540

ggctagacag ctgacaacac tgggcatcca gctgagccca tacaatctga gcacactgga 3600

ggacctgaat accaggtgga agctgctgca ggtggctgtg gaagaccggg tgcggcagct 3660

gcatgaggcc catcgcgact tcggaccagc cagccagcac tttctgagca catccgtgca 3720

ggggccctgg gagagggcca tttctcccaa caaggtgccc tactatatta atcacgagac 3780

ccagaccact tgttgggacc atcccaagat gacagaactg taccagtccc tggccgatct 3840

gaacaacgtg aggtttagcg cttacagaac cgctatgaag ctgagacggc tgcagaaggc 3900

cctgtgcctg gatctgctgt ccctgtccgc cgcctgcgat gccctggatc agcataatct 3960

gaagcagaac gatcagccaa tggatatcct gcagatcatc aactgcctga ccactatcta 4020

cgacaggctg gagcaggagc acaacaacct ggtgaacgtg cctctgtgcg tggatatgtg 4080

cctgaactgg ctgctgaacg tgtatgacac tgggcgcacc ggccggatca gagtgctgag 4140

ttttaaaact gggattatct ccctgtgtaa ggcccacctg gaggacaagt acaggtacct 4200

gttcaagcag gtggctagta gcactggatt ttgtgaccag cgccgcctgg gactgctgct 4260

gcatgatagt atccagattc ctagacagct gggagaggtg gctagtttcg gaggatctaa 4320

catcgaaccc agcgtgcgca gctgtttcca gtttgccaat aacaaacctg aaatcgaggc 4380

tgctctgttc ctggattgga tgcgcctgga accacagagc atggtgtggc tgcctgtgct 4440

gcacagagtg gctgccgccg aaactgccaa gcaccaggct aaatgcaaca tctgcaagga 4500

atgtcccatt atcggctttc gctacaggag tctgaaacat tttaactacg atatttgcca 4560

gagctgcttc ttttccggaa gagtggccaa aggacacaag atgcactacc ctatggtgga 4620

atattgcacc ccaactacat ctggcgaaga tgtgcgcgat tttgccaagg tgctgaagaa 4680

taagtttcgg actaagaggt acttcgccaa gcacccccgc atggggtatc tgccagtgca 4740

gacagtgctg gaaggagaca atatggagac cgatacaatg tgagcggccg caataaaaga 4800

tctttatttt cattagatct gtgtgttggt tttttgtgtg tctagagcat ggctacgtag 4860

ataagtagca tggcgggtta atcattaact acaaggaacc cctagtgatg gagttggcca 4920

ctccctctct gcgcgctcgc tcgctcactg aggccgggcg accaaaggtc gcccgacgcc 4980

cgggctttgc ccgggcggcc tcagtgagcg agcgagcgcg cagctggcgt aatagcgaag 5040

aggcccgcac cgatcgccct tcccaacagt tgcgcagcct gaatggcgaa tggcgattcc 5100

gttgcaatgg ctggcggtaa tattgttctg gatattacca gcaaggccga tagtttgagt 5160

tcttctactc aggcaagtga tgttattact aatcaaagaa gtattgcgac aacggttaat 5220

ttgcgtgatg gacagactct tttactcggt ggcctcactg attataaaaa cacttctcag 5280

gattctggcg taccgttcct gtctaaaatc cctttaatcg gcctcctgtt tagctcccgc 5340

tctgattcta acgaggaaag cacgttatac gtgctcgtca aagcaaccat agtacgcgcc 5400

ctgtagcggc gcattaagcg cggcgggtgt ggtggttacg cgcagcgtga ccgctacact 5460

tgccagcgcc ctagcgcccg ctcctttcgc tttcttccct tcctttctcg ccacgttcgc 5520

cggctttccc cgtcaagctc taaatcgggg gctcccttta gggttccgat ttagtgcttt 5580

acggcacctc gaccccaaaa aacttgatta gggtgatggt tcacgtagtg ggccatcgcc 5640

ctgatagacg gtttttcgcc ctttgacgtt ggagtccacg ttctttaata gtggactctt 5700

gttccaaact ggaacaacac tcaaccctat ctcggtctat tcttttgatt tataagggat 5760

tttgccgatt tcggcctatt ggttaaaaaa tgagctgatt taacaaaaat ttaacgcgaa 5820

ttttaacaaa atattaacgc ttacaattta aatatttgct tatacaatct tcctgttttt 5880

ggggctttc tgattatcaa ccggggtaca tatgattgac atgctagttt tacgattacc 5940

gttcatcgat tctcttgttt gctccagact ctcaggcaat gacctgatag cctttgtaga 6000

gacctctcaa aaatagctac cctctccggc atgaatttat cagctagaac ggttgaatat 6060

catattgatg gtgatttgac tgtctccggc ctttctcacc cgtttgaatc tttacctaca 6120

cattactcag gcattgcatt taaaatatat gagggttcta aaaatttta tccttgcgtt 6180

gaaataaagg cttctcccgc aaaagtatta cagggtcata atgtttttgg tacaaccgat 6240

ttagctttat gctctgaggc tttattgctt aattttgcta attctttgcc ttgcctgtat 6300

gatttattgg atgttggaat cgcctgatgc ggtattttct ccttacgcat ctgtgcggta 6360

tttcacaccg catatggtgc actctcagta caatctgctc tgatgccgca tagttaagcc 6420

agccccgaca cccgccaaca cccgctgacg cgccctgacg ggcttgtctg ctcccggcat 6480

ccgcttacag acaagctgtg accgtctccg ggagctgcat gtgtcagagg ttttcaccgt 6540

catcaccgaa acgcgcgaga cgaaagggcc tcgtgatacg cctatttta taggttaatg 6600

tcatgataat aatggtttct tagacgtcag gtggcacttt tcggggaaat gtgcgcggaa 6660

cccctatttg tttatttttc taaatacatt caaatatgta tccgctcatg agacaataac 6720

cctgataaat gcttcaataa tattgaaaaa ggaagagtat gagtattcaa catttccgtg 6780

tcgcccttat tccctttttt gcggcatttt gccttcctgt ttttgctcac ccagaaacgc 6840

tggtgaaagt aaaagatgct gaagatcagt tgggtgcacg agtgggttac atcgaactgg 6900

atctcaacag cggtaagatc cttgagagtt ttcgccccga agaacgtttt ccaatgatga 6960

gcacttttaa agttctgcta tgtggcgcgg tattatcccg tattgacgcc gggcaagagc 7020

aactcggtcg ccgcatacac tattctcaga atgacttggt tgagtactca ccagtcacag 7080

aaaagcatct tacggatggc atgacagtaa gagaattatg cagtgctgcc ataaccatga 7140

gtgataacac tgcggccaac ttacttctga caacgatcgg aggaccgaag gagctaaccg 7200

ctttttgca caacatgggg gatcatgtaa ctcgccttga tcgttgggaa ccggagctga 7260

atgaagccat accaaacgac gagcgtgaca ccacgatgcc tgtagcaatg gcaacaacgt 7320

tgcgcaaact attaactggc gaactactta ctctagcttc ccggcaacaa ttaatagact 7380

ggatggaggc ggataaagtt gcaggaccac ttctgcgctc ggcccttccg gctggctggt 7440

ttattgctga taaatctgga gccggtgagc gtgggtctcg cggtatcatt gcagcactgg 7500

ggccagatgg taagccctcc cgtatcgtag ttatctacac gacggggagt caggcaacta 7560

tggatgaacg aaatagacag atcgctgaga taggtgcctc actgattaag cattggtaac 7620

tgtcagacca agtttactca tatatacttt agattgattt aaaacttcat ttttaattta 7680

aaaggatcta ggtgaagatc ctttttgata atctcatgac caaaatccct taacgtgagt 7740

tttcgttcca ctgagcgtca gaccccgtag aaaagatcaa aggatcttct tgagatcctt 7800

tttttctgcg cgtaatctgc tgcttgcaaa caaaaaaacc accgctacca gcggtggttt 7860

gtttgccgga tcaagagcta ccaactcttt ttccgaaggt aactggcttc agcagagcgc 7920

agataccaaa tactgttctt ctagtgtagc cgtagttagg ccaccacttc aagaactctg 7980

tagcaccgcc tacatacctc gctctgctaa tcctgttacc agtggctgct gccagtggcg 8040

ataagtcgtg tcttaccggg ttggactcaa gacgatagtt accggataag gcgcagcggt 8100

cgggctgaac gggggttcg tgcacacagc ccagcttgga gcgaacgacc tacaccgaac 8160

tgagatacct acagcgtgag ctatgagaaa gcgccacgct tcccgaaggg agaaaggcgg 8220

acaggtatcc ggtaagcggc agggtcggaa caggagagcg cacgagggag cttccagggg 8280

gaaacgcctg gtatctttat agtcctgtcg ggtttcgcca cctctgactt gagcgtcgat 8340

ttttgtgatg ctcgtcaggg gggcggagcc tatggaaaaa cgccagcaac gcggcctttt 8400

tacggttcct ggccttttgc tggccttttg ctcacatgtt ctttcctgcg ttatcccctg 8460

attctgtgga taaccgtatt accgccttg agtgagctga taccgctcgc cgcagccgaa 8520

cgaccgagcg cagcgagtca gtgagcgagg aagcggaaga gc 8562

<210> 4

<211> 564

<212> DNA

<213> 아데노-연관 바이러스

<400> 4

cagccactat gggtctaggc tgcccatgta aggaggcaag gcctggggac acccgagatg 60

cctggttata attaacccag acatgtggct gctccccccc cccaacacct gctgcctgag 120

cctcaccccc accccggtgc ctgggtctta ggctctgtac accatggagg agaagctcgc 180

tctaaaaata accctgtccc tggtgggctg tgggggactg agggcaggct gtaacaggct 240

tgggggccag ggcttatacg tgcctgggac tcccaaagta ttactgttcc atgttcccgg 300

cgaagggcca gctgtccccc gccagctaga ctcagcactt agtttaggaa ccagtgagca 360

agtcagccct tggggcagcc catacaaggc catggggctg ggcaagctgc acgcctgggt 420

ccggggtggg cacggtgccc gggcaacgag ctgaaagctc atctgctctc aggggcccct 480

ccctggggac agcccctcct ggctagtcac accctgtagg ctcctctata taacccaggg 540

gcacaggggc tgcccccggg tcac 564

<210> 5

<211> 8409

<212> DNA

<213> 아데노-연관 바이러스

<400> 5

gcccaatacg caaaccgcct ctccccgcgc gttggccgat tcattaatgc agctggcgcg 60

ctcgctcgct cactgaggcc gcccgggcaa agcccgggcg tcgggcgacc tttggtcgcc 120

cggcctcagt gagcgagcga gcgcgcagag agggagtggc caactccatc actaggggtt 180

ccttgtagtt aatgattaac ccgccatgct aattatctac gtagccatgt ctagacagcc 240

actatgggtc taggctgccc atgtaaggag gcaaggcctg gggacacccg agatgcctgg 300

ttataattaa cccagacatg tggctgctcc ccccccccaa cacctgctgc ctgagcctca 360

cccccacccc ggtgcctggg tcttaggctc tgtacaccat ggaggagaag ctcgctctaa 420

aaataaccct gtccctggtg ggctgtgggg gactgagggc aggctgtaac aggcttgggg 480

gccagggctt atacgtgcct gggactccca aagtattact gttccatgtt cccggcgaag 540

ggccagctgt cccccgccag ctagactcag cacttagttt aggaaccagt gagcaagtca 600

gcccttgggg cagcccatac aaggccatgg ggctgggcaa gctgcacgcc tgggtccggg 660

gtgggcacgg tgcccgggca acgagctgaa agctcatctg ctctcagggg cccctccctg 720

gggacagccc ctcctggcta gtcacaccct gtaggctcct ctatataacc caggggcaca 780

ggggctgccc ccgggtcacc accacctcca cagcacagac agacactcag gagccagcca 840

gccaggtaag tttagtcttt ttgtctttta tttcaggtcc cggatccggt ggtggtgcaa 900

atcaaagaac tgctcctcag tggatgttgc ctttacttct aggcctgtac ggaagtgtta 960

cttctgctct aaaagctgcg gaattgtacc cgcggccgcc accatgctgt ggtgggagga 1020

ggtggaggat tgttatgaaa gggaggacgt gcagaagaag acttttacca agtgggtgaa 1080

cgctcagttc agcaaatttg ggaagcagca catcgagaat ctgttttccg acctgcagga 1140

tgggagacgg ctgctggatc tgctggaagg actgactggc cagaagctgc ccaaagagaa 1200

ggggagcact agggtgcacg ccctgaacaa cgtgaacaaa gctctgagag tgctgcagaa 1260

caacaacgtg gatctggtga atattggcag tactgatatc gtggacggga accacaaact 1320

gacactgggc ctgatctgga acattattct gcactggcag gtgaaaaatg tgatgaagaa 1380

catcatggcc gggctgcagc agaccaattc cgagaagatc ctgctgtctt gggtgcggca 1440

gagcacccgc aactatcccc aggtgaacgt gattaacttc actacatcct ggagcgacgg 1500

gctggccctg aatgctctga ttcacagcca caggcctgat ctgttcgact ggaatagcgt 1560

ggtgtgccag cagtctgcca cacagcgcct ggaacatgcc ttcaatatcg ctcggtacca 1620

gctggggatc gaaaaactgc tggacccaga ggatgtggac actacatacc cagataaaaa 1680

gtctattctg atgtacatta ctagcctgtt ccaggtgctg ccacagcagg tgtctattga 1740

agccattcag gaggtggaaa tgctgccccg ccccccccaaa gtgactaaag aggagcattt 1800

tcagctgcat catcagatgc attacagcca gcagattacc gtgagcctgg ctcagggata 1860

tgagcgcacc agtagtccaa aaccacggtt caagtcctac gcttataccc aggctgccta 1920

cgtgacaact agcgacccta ctagatcccc ctttccatcc cagcacctgg aggccccaga 1980

ggacaagagc tttgggtcca gcctgatgga aagcgaggtg aatctggatc ggtaccagac 2040

agccctggag gaggtgctga gctggctgct gagtgctgaa gacacactgc aggcccaggg 2100

cgaaatttcc aatgacgtgg aagtggtgaa ggatcagttc cacacacacg agggctatat 2160

gatggacctg acagctcacc aggggcgcgt gggcaatatc ctgcagctgg gctctaaact 2220

gatcggcacc gggaaactga gtgaggacga ggaaacagaa gtgcaggagc agatgaacct 2280

gctgaacagc cgctgggagt gtctgagagt ggctagtatg gagaagcagt ccaacctgca 2340

ccgggtgctg atggacctgc agaaccagaa actgaaagag ctgaacgact ggctgacaaa 2400

gactgaggaa cgcacaagga agatggagga ggagccactg ggacccgacc tggaggatct 2460

gaagagacag gtgcagcagc ataaggtgct gcaggaggat ctggaacagg agcaggtgcg 2520

ggtgaactcc ctgacacata tggtggtggt ggtggacgaa tctagtggag atcacgccac 2580

cgccgccctg gaggaacagc tgaaggtgct gggggaccgg tgggccaaca tttgccggtg 2640

gaccgaggac aggtgggtgc tgctgcagga catcctgctg aaatggcaga ggctgaccga 2700

ggagcagtgt ctgtttagtg cttggctgag cgagaaagag gacgccgtga acaagatcca 2760

cacaaccggc tttaaggatc agaacgaaat gctgtctagc ctgcagaaac tggctgtgct 2820

gaaggccgat ctggagaaaa agaagcagag catgggcaaa ctgtatagcc tgaaacagga 2880

cctgctgagc accctgaaga acaagagcgt gacccagaag acagaagcct ggctggataa 2940

ctttgcccgc tgctgggaca acctggtgca gaaactggag aaaagtacag ctcagatctc 3000

tcaggctgtg accacaaccc agcctagcct gacccagaca accgtgatgg aaaccgtgac 3060

caccgtgaca acccgcgaac agatcctggt gaaacatgcc caggaagagc tgccacctcc 3120

acctccccag aagaagagaa ccctggagcg gctgcaggag ctgcaggaag ccactgacga 3180

actggacctg aagctgaggc aggccgaagt gattaagggg tcttggcagc ctgtgggcga 3240

tctgctgatt gattccctgc aggaccacct ggaaaaggtg aaggctctga gaggcgaaat 3300

tgctccactg aaggagaacg tgagtcatgt gaacgatctg gctagacagc tgacaacact 3360

gggcatccag ctgagcccat acaatctgag cacactggag gacctgaata ccaggtggaa 3420

gctgctgcag gtggctgtgg aagaccgggt gcggcagctg catgaggccc atcgcgactt 3480

cggaccagcc agccagcact ttctgagcac atccgtgcag gggccctggg agagggccat 3540

ttctcccaac aaggtgccct actatattaa tcacgagacc cagaccactt gttgggacca 3600

tcccaagatg acagaactgt accagtccct ggccgatctg aacaacgtga ggtttagcgc 3660

ttacagaacc gctatgaagc tgagacggct gcagaaggcc ctgtgcctgg atctgctgtc 3720

cctgtccgcc gcctgcgatg ccctggatca gcataatctg aagcagaacg atcagccaat 3780

ggatatcctg cagatcatca actgcctgac cactatctac gacaggctgg agcaggagca 3840

caacaacctg gtgaacgtgc ctctgtgcgt ggatatgtgc ctgaactggc tgctgaacgt 3900

gtatgacact gggcgcaccg gccggatcag agtgctgagt tttaaaactg ggattatctc 3960

cctgtgtaag gcccacctgg aggacaagta caggtacctg ttcaagcagg tggctagtag 4020

cactggattt tgtgaccagc gccgcctggg actgctgctg catgatagta tccagattcc 4080

tagacagctg ggagaggtgg ctagtttcgg aggatctaac atcgaaccca gcgtgcgcag 4140

ctgtttccag tttgccaata acaaacctga aatcgaggct gctctgttcc tggattggat 4200

gcgcctggaa ccacagagca tggtgtggct gcctgtgctg cacagagtgg ctgccgccga 4260

aactgccaag caccaggcta aatgcaacat ctgcaaggaa tgtcccatta tcggctttcg 4320

ctacaggagt ctgaaacatt ttaactacga tatttgccag agctgcttct tttccggaag 4380

agtggccaaa ggacacaaga tgcactaccc tatggtggaa tattgcaccc caactacatc 4440

tggcgaagat gtgcgcgatt ttgccaaggt gctgaagaat aagtttcgga ctaagaggta 4500

cttcgccaag caccccccgca tggggtatct gccagtgcag acagtgctgg aaggagacaa 4560

tatggagacc gatacaatgt gagcggccgc aataaaagat ctttattttc attagatctg 4620

tgtgttggtt ttttgtgtgt ctagagcatg gctacgtaga taagtagcat ggcgggttaa 4680

tcattaacta caaggaaccc ctagtgatgg agttggccac tccctctctg cgcgctcgct 4740

cgctcactga ggccgggcga ccaaaggtcg cccgacgccc gggctttgcc cgggcggcct 4800

cagtgagcga gcgagcgcgc cagctggcgt aatagcgaag aggcccgcac cgatcgccct 4860

tcccaacagt tgcgcagcct gaatggcgaa tggaagttcc agacgattga gcgtcaaaat 4920

gtaggtattt ccatgagcgt ttttcctgtt gcaatggctg gcggtaatat tgttctggat 4980

attaccagca aggccgatag tttgagttct tctactcagg caagtgatgt tattactaat 5040

caaagaagta ttgcgacaac ggttaatttg cgtgatggac agactctttt actcggtggc 5100

ctcactgatt ataaaaacac ttctcaggat tctggcgtac cgttcctgtc taaaatccct 5160

ttaatcggcc tcctgtttag ctcccgctct gattctaacg aggaaagcac gttatacgtg 5220

ctcgtcaaag caaccatagt acgcgccctg tagcggcgca ttaagcgcgg cgggtgtggt 5280

ggttacgcgc agcgtgaccg ctacacttgc cagcgcccta gcgcccgctc ctttcgcttt 5340

cttcccttcc tttctcgcca cgttcgccgg ctttccccgt caagctctaa atcgggggct 5400

ccctttaggg ttccgattta gtgatttacg gcacctcgac cccaaaaaac ttgattaggg 5460

tgatggttca cgtagtgggc catcgccctg atagacggtt tttcgccctt tgacgttgga 5520

gtccacgttc tttaatagtg gactcttgtt ccaaactgga acaacactca accctatctc 5580

ggtctattct tttgatttat aagggatttt gccgatttcg gcctattggt taaaaaatga 5640

gctgatttaa caaaaattta acgcgaattt taacaaaata ttaacgttta caatttaaat 5700

atttgcttat acaatcttcc tgtttttggg gcttttctga ttatcaaccg gggtacatat 5760

gattgacatg ctagttttac gattaccgtt catcgattct cttgtttgct ccagactctc 5820

aggcaatgac ctgatagcct ttgtagagac ctctcaaaaa tagctaccct ctccggcatg 5880

aatttatcag ctagaacggt tgaatatcat attgatggtg atttgactgt ctccggcctt 5940

tctcacccgt ttgaatcttt acctacacat tactcaggca ttgcatttaa aatatatgag 6000

ggttctaaaa atttttatcc ttgcgttgaa ataaaggctt ctcccgcaaa agtattacag 6060

ggtcataatg tttttggtac aaccgattta gctttatgct ctgaggcttt attgcttaat 6120

tttgctaatt ctttgccttg cctgtatgat ttattggatg ttggaagttc ctgatgcggt 6180

attttctcct tacgcatctg tgcggtattt cacaccgcat atggtgcact ctcagtacaa 6240

tctgctctga tgccgcatag ttaagccagc cccgacaccc gccaacaccc gctgacgcgc 6300

cctgacgggc ttgtctgctc ccggcatccg cttacagaca agctgtgacc gtctccggga 6360

gctgcatgtg tcagaggttt tcaccgtcat caccgaaacg cgcgagacga aagggcctcg 6420

tgatacgcct atttttatag gttaatgtca tgataataat ggtttcttag acgtcaggtg 6480

gcacttttcg gggaaatgtg cgcggaaccc ctatttgttt atttttctaa atacattcaa 6540

atatgtatcc gctcatgaga caataaccct gataaatgct tcaataatat tgaaaaagga 6600

agagtatgag tattcaacat ttccgtgtcg cccttattcc ctttttgcg gcattttgcc 6660

ttcctgtttt tgctcaccca gaaacgctgg tgaaagtaaa agatgctgaa gatcagttgg 6720

gtgcacgagt gggttacatc gaactggatc tcaacagcgg taagatcctt gagagttttc 6780

gccccgaaga acgttttcca atgatgagca cttttaaagt tctgctatgt ggcgcggtat 6840

tatcccgtat tgacgccggg caagagcaac tcggtcgccg catacactat tctcagaatg 6900

acttggttga gtactcacca gtcacagaaa agcatcttac ggatggcatg acagtaagag 6960

aattatgcag tgctgccata accatgagtg ataacactgc ggccaactta cttctgacaa 7020

cgatcggagg accgaaggag ctaaccgctt ttttgcacaa catgggggat catgtaactc 7080

gccttgatcg ttgggaaccg gagctgaatg aagccatacc aaacgacgag cgtgacacca 7140

cgatgcctgt agcaatggca acaacgttgc gcaaactatt aactggcgaa ctacttactc 7200

tagcttcccg gcaacaatta atagactgga tggaggcgga taaagttgca ggaccacttc 7260

tgcgctcggc ccttccggct ggctggttta ttgctgataa atctggagcc ggtgagcgtg 7320

ggtctcgcgg tatcattgca gcactggggc cagatggtaa gccctcccgt atcgtagtta 7380

tctacacgac ggggagtcag gcaactatgg atgaacgaaa tagacagatc gctgagatag 7440

gtgcctcact gattaagcat tggtaactgt cagaccaagt ttactcatat atactttaga 7500

ttgatttaaa acttcatttt taatttaaaa ggatctaggt gaagatcctt tttgataatc 7560

tcatgaccaa aatcccttaa cgtgagtttt cgttccactg agcgtcagac cccgtagaaa 7620

agatcaaagg atcttcttga gatccttttt ttctgcgcgt aatctgctgc ttgcaaacaa 7680

aaaaaccacc gctaccagcg gtggtttgtt tgccggatca agagctacca actcttttc 7740

cgaaggtaac tggcttcagc agagcgcaga taccaaatac tgtccttcta gtgtagccgt 7800

agttaggcca ccacttcaag aactctgtag caccgcgtac atacctcgct ctgctaatcc 7860

tgttaccagt ggctgctgcc agtggcgata agtcgtgtct taccgggttg gactcaagac 7920

gatagttacc ggataaggcg cagcggtcgg gctgaacggg gggttcgtgc acacagccca 7980

gcttggagcg aacgacctac accgaactga gatacctaca gcgtgagcta tgagaaagcg 8040

ccacgcttcc cgaagggaga aaggcggaca ggtatccggt aagcggcagg gtcggaacag 8100

gagagcgcac gagggagctt ccaggggaa acgcctggta tctttatagt cctgtcgggt 8160

ttcgccacct ctgacttgag cgtcgatttt tgtgatgctc gtcaggggg cggagcctat 8220

ggaaaaacgc cagcaacgcg gccttttac ggttcctggc cttttgctgg ccttttgctc 8280

acatgttctt tcctgcgtta tcccctgatt ctgtggataa ccgtattacc gggtttgagt 8340

gagctgatac cgctcgccgc agccgaacga ccgagcgcag cgagtcagtg agcgaccaag 8400

cggaagagc 8409

<210> 6

<211> 8611

<212> DNA

<213> 아데노-연관 바이러스

<400> 6

gcccaatacg caaaccgcct ctccccgcgc gttggccgat tcattaatgc agctggcgcg 60

ctcgctcgct cactgaggcc gcccgggcaa agcccgggcg tcgggcgacc tttggtcgcc 120

cggcctcagt gagcgagcga gcgcgcagag agggagtggc caactccatc actaggggtt 180

ccttgtagtt aatgattaac ccgccatgct aattatctac gtagccatgt ctagagttta 240

aacaagcttg catgtctaag ctagaccctt cagattaaaa ataactgagg taagggcctg 300

ggtaggggag gtggtgtgag acgctcctgt ctctcctcta tctgcccatc ggccctttgg 360

ggaggaggaa tgtgcccaag gactaaaaaa aggccatgga gccagagggg cgagggcaac 420

agacctttca tgggcaaacc ttggggccct gctgtctagc atgccccact acgggtctag 480

gctgcccatg taaggaggca aggcctgggg acacccgaga tgcctggtta taattaaccc 540

agacatgtgg ctgccccccc ccccccaaca cctgctgcct ctaaaaataa ccctgtccct 600

ggtggatccc ctgcatgcga agatcttcga acaaggctgt gggggactga gggcaggctg 660

taacaggctt gggggccagg gcttatacgt gcctgggact cccaaagtat tactgttcca 720

tgttcccggc gaagggccag ctgtcccccg ccagctagac tcagcactta gtttaggaac 780

cagtgagcaa gtcagccctt ggggcagccc atacaaggcc atggggctgg gcaagctgca 840

cgcctgggtc cggggtgggc acggtgcccg ggcaacgagc tgaaagctca tctgctctca 900

ggggcccctc cctggggaca gcccctcctg gctagtcaca ccctgtaggc tcctctatat 960

aacccagggg cacaggggct gccctcattc taccaccacc tccacagcac agacagacac 1020

tcaggagcca gccagcggcg cgcccaggta agtttagtct ttttgtcttt tatttcaggt 1080

cccggatccg gtggtggtgc aaatcaaaga actgctcctc agtggatgtt gcctttactt 1140

ctaggcctgt acggaagtgt tacttctgct ctaaaagctg cggaattgta cccgcggccg 1200

ccaccatgct gtggtgggag gaggtggagg attgttatga aagggaggac gtgcagaaga 1260

agacttttac caagtgggtg aacgctcagt tcagcaaatt tgggaagcag cacatcgaga 1320

atctgttttc cgacctgcag gatgggagac ggctgctgga tctgctggaa ggactgactg 1380

gccagaagct gcccaaagag aaggggagca ctagggtgca cgccctgaac aacgtgaaca 1440

aagctctgag agtgctgcag aacaacaacg tggatctggt gaatattggc agtactgata 1500

tcgtggacgg gaaccacaaa ctgacactgg gcctgatctg gaacattatt ctgcactggc 1560

aggtgaaaaa tgtgatgaag aacatcatgg ccgggctgca gcagaccaat tccgagaaga 1620

tcctgctgtc ttgggtgcgg cagagcaccc gcaactatcc ccaggtgaac gtgattaact 1680

tcactacatc ctggagcgac gggctggccc tgaatgctct gattcacagc cacaggcctg 1740

atctgttcga ctggaatagc gtggtgtgcc agcagtctgc cacacagcgc ctggaacatg 1800

ccttcaatat cgctcggtac cagctgggga tcgaaaaact gctggaccca gaggatgtgg 1860

acactacata cccagataaa aagtctattc tgatgtacat tactagcctg ttccaggtgc 1920

tgccacagca ggtgtctatt gaagccattc aggaggtgga aatgctgccc cgccccccca 1980

aagtgactaa agaggagcat tttcagctgc atcatcagat gcattacagc cagcagatta 2040

ccgtgagcct ggctcaggga tatgagcgca ccagtagtcc aaaaccacgg ttcaagtcct 2100

acgcttatac ccaggctgcc tacgtgacaa ctagcgaccc tactagatcc ccctttccat 2160

cccagcacct ggaggcccca gaggacaaga gctttgggtc cagcctgatg gaaagcgagg 2220

tgaatctgga tcggtaccag acagccctgg aggaggtgct gagctggctg ctgagtgctg 2280

aagacacact gcaggcccag ggcgaaattt ccaatgacgt ggaagtggtg aaggatcagt 2340

tccacacaca cgagggctat atgatggacc tgacagctca ccaggggcgc gtgggcaata 2400

tcctgcagct gggctctaaa ctgatcggca ccgggaaact gagtgaggac gaggaaacag 2460

aagtgcagga gcagatgaac ctgctgaaca gccgctggga gtgtctgaga gtggctagta 2520

tggagaagca gtccaacctg caccgggtgc tgatggacct gcagaaccag aaactgaaag 2580

agctgaacga ctggctgaca aagactgagg aacgcacaag gaagatggag gaggagccac 2640

tgggacccga cctggaggat ctgaagagac aggtgcagca gcataaggtg ctgcaggagg 2700

atctggaaca ggagcaggtg cgggtgaact ccctgacaca tatggtggtg gtggtggacg 2760

aatctagtgg agatcacgcc accgccgccc tggaggaaca gctgaaggtg ctgggggacc 2820

ggtgggccaa catttgccgg tggaccgagg acaggtgggt gctgctgcag gacatcctgc 2880

tgaaatggca gaggctgacc gaggagcagt gtctgtttag tgcttggctg agcgagaaag 2940

aggacgccgt gaacaagatc cacacaaccg gctttaagga tcagaacgaa atgctgtcta 3000

gcctgcagaa actggctgtg ctgaaggccg atctggagaa aaagaagcag agcatgggca 3060

aactgtatag cctgaaacag gacctgctga gcaccctgaa gaacaagagc gtgacccaga 3120

agacagaagc ctggctggat aactttgccc gctgctggga caacctggtg cagaaactgg 3180

agaaaagtac agctcagatc tctcaggctg tgaccacaac ccagcctagc ctgacccaga 3240

caaccgtgat ggaaaccgtg accaccgtga caacccgcga acagatcctg gtgaaacatg 3300

cccaggaaga gctgccacct ccacctcccc agaagaagag aaccctggag cggctgcagg 3360

agctgcagga agccactgac gaactggacc tgaagctgag gcaggccgaa gtgattaagg 3420

ggtcttggca gcctgtgggc gatctgctga ttgattccct gcaggaccac ctggaaaagg 3480

tgaaggctct gagaggcgaa attgctccac tgaaggagaa cgtgagtcat gtgaacgatc 3540

tggctagaca gctgacaaca ctgggcatcc agctgagccc atacaatctg agcacactgg 3600

aggacctgaa taccaggtgg aagctgctgc aggtggctgt ggaagaccgg gtgcggcagc 3660

tgcatgaggc ccatcgcgac ttcggaccag ccagccagca ctttctgagc acatccgtgc 3720

aggggccctg ggagagggcc atttctccca acaaggtgcc ctactatatt aatcacgaga 3780

cccagaccac ttgttgggac catcccaaga tgacagaact gtaccagtcc ctggccgatc 3840

tgaacaacgt gaggtttagc gcttacagaa ccgctatgaa gctgagacgg ctgcagaagg 3900

ccctgtgcct ggatctgctg tccctgtccg ccgcctgcga tgccctggat cagcataatc 3960

tgaagcagaa cgatcagcca atggatatcc tgcagatcat caactgcctg accactatct 4020

acgacaggct ggagcaggag cacaacaacc tggtgaacgt gcctctgtgc gtggatatgt 4080

gcctgaactg gctgctgaac gtgtatgaca ctgggcgcac cggccggatc agagtgctga 4140

gttttaaaac tgggattatc tccctgtgta aggcccacct ggaggacaag tacaggtacc 4200

tgttcaagca ggtggctagt agcactggat tttgtgacca gcgccgcctg ggactgctgc 4260

tgcatgatag tatccagatt cctagacagc tgggagaggt ggctagtttc ggaggatcta 4320

acatcgaacc cagcgtgcgc agctgtttcc agtttgccaa taacaaacct gaaatcgagg 4380

ctgctctgtt cctggattgg atgcgcctgg aaccacagag catggtgtgg ctgcctgtgc 4440

tgcacagagt ggctgccgcc gaaactgcca agcaccaggc taaatgcaac atctgcaagg 4500

aatgtcccat tatcggcttt cgctacagga gtctgaaaca ttttaactac gatatttgcc 4560

agagctgctt cttttccgga agagtggcca aaggacacaa gatgcactac cctatggtgg 4620

aatattgcac cccaactaca tctggcgaag atgtgcgcga ttttgccaag gtgctgaaga 4680

ataagtttcg gactaagagg tacttcgcca agcacccccg catggggtat ctgccagtgc 4740

agacagtgct ggaaggagac aatatggaga ccgatacaat gtgagcggcc gcaataaaag 4800

atctttattt tcattagatc tgtgtgttgg ttttttgtgt gtctagagca tggctacgta 4860

gataagtagc atggcgggtt aatcattaac tacaaggaac ccctagtgat ggagttggcc 4920

actccctctc tgcgcgctcg ctcgctcact gaggccgggc gaccaaaggt cgcccgacgc 4980

ccgggctttg cccgggcggc ctcagtgagc gagcgagcgc gccagctggc gtaatagcga 5040

agaggcccgc accgatcgcc cttcccaaca gttgcgcagc ctgaatggcg aatggaagtt 5100

ccagacgatt gagcgtcaaa atgtaggtat ttccatgagc gtttttcctg ttgcaatggc 5160

tggcggtaat attgttctgg atattaccag caaggccgat agtttgagtt cttctactca 5220

ggcaagtgat gttattacta atcaaagaag tattgcgaca acggttaatt tgcgtgatgg 5280

acagactctt ttactcggtg gcctcactga ttataaaaac acttctcagg attctggcgt 5340

accgttcctg tctaaaatcc ctttaatcgg cctcctgttt agctcccgct ctgattctaa 5400

cgaggaaagc acgttatacg tgctcgtcaa agcaaccata gtacgcgccc tgtagcggcg 5460

cattaagcgc ggcgggtgtg gtggttacgc gcagcgtgac cgctacactt gccagcgccc 5520

tagcgcccgc tcctttcgct ttcttcccttcctttctcgc cacgttcgcc ggctttcccc 5580

gtcaagctct aaatcggggg ctcccctttag ggttccgatt tagtgattta cggcacctcg 5640

accccaaaaa acttgattag ggtgatggtt cacgtagtgg gccatcgccc tgatagacgg 5700

tttttcgccc tttgacgttg gagtccacgt tctttaatag tggactcttg ttccaaactg 5760

gaacaacact caaccctatc tcggtctatt cttttgattt ataagggatt ttgccgattt 5820

cggcctattg gttaaaaaat gagctgattt aacaaaaatt taacgcgaat tttaacaaaa 5880

tattaacgtt tacaatttaa atatttgctt atacaatctt cctgtttttg gggcttttct 5940

gattatcaac cggggtacat atgattgaca tgctagtttt acgattaccg ttcatcgatt 6000

ctcttgtttg ctccagactc tcaggcaatg acctgatagc ctttgtagag acctctcaaa 6060

aatagctacc ctctccggca tgaatttatc agctagaacg gttgaatatc atattgatgg 6120

tgatttgact gtctccggcc tttctcaccc gtttgaatct ttacctacac attactcagg 6180

cattgcattt aaaatatatg agggttctaa aaatttttat ccttgcgttg aaataaaggc 6240

ttctcccgca aaagtattac agggtcataa tgtttttggt acaaccgatt tagctttatg 6300

ctctgaggct ttattgctta attttgctaa ttctttgcct tgcctgtatg atttattgga 6360

tgttggaagt tcctgatgcg gtattttctc cttacgcatc tgtgcggtat ttcacaccgc 6420

atatggtgca ctctcagtac aatctgctct gatgccgcat agttaagcca gccccgacac 6480

ccgccaacac ccgctgacgc gccctgacgg gcttgtctgc tcccggcatc cgcttacaga 6540

caagctgtga ccgtctccgg gagctgcatg tgtcagaggt tttcaccgtc atcaccgaaa 6600

cgcgcgagac gaaagggcct cgtgatacgc ctatttttat aggttaatgt catgataata 6660

atggtttctt agacgtcagg tggcactttt cggggaaatg tgcgcggaac ccctatttgt 6720

ttatttttct aaatacattc aaatatgtat ccgctcatga gacaataacc ctgataaatg 6780

cttcaataat attgaaaaag gaagagtatg agtattcaac atttccgtgt cgcccttatt 6840

ccctttttg cggcattttg ccttcctgtt tttgctcacc cagaaacgct ggtgaaagta 6900

aaagatgctg aagatcagtt gggtgcacga gtgggttaca tcgaactgga tctcaacagc 6960

ggtaagatcc ttgagagttt tcgccccgaa gaacgttttc caatgatgag cacttttaaa 7020

gttctgctat gtggcgcggt attatcccgt attgacgccg ggcaagagca actcggtcgc 7080

cgcatacact attctcagaa tgacttggtt gagtactcac cagtcacaga aaagcatctt 7140

acggatggca tgacagtaag agaattatgc agtgctgcca taaccatgag tgataacact 7200

gcggccaact tacttctgac aacgatcgga ggaccgaagg agctaaccgc ttttttgcac 7260

aacatggggg atcatgtaac tcgccttgat cgttgggaac cggagctgaa tgaagccata 7320

ccaaacgacg agcgtgacac cacgatgcct gtagcaatgg caacaacgtt gcgcaaacta 7380

ttaactggcg aactacttac tctagcttcc cggcaacaat taatagactg gatggaggcg 7440

gataaagttg caggaccact tctgcgctcg gcccttccgg ctggctggtt tattgctgat 7500

aaatctggag ccggtgagcg tgggtctcgc ggtatcattg cagcactggg gccagatggt 7560

aagccctccc gtatcgtagt tatctacacg acggggagtc aggcaactat ggatgaacga 7620

aatagacaga tcgctgagat aggtgcctca ctgattaagc attggtaact gtcagaccaa 7680

gtttactcat atatacttta gattgattta aaacttcatt tttaatttaa aaggatctag 7740

gtgaagatcc tttttgataa tctcatgacc aaaatccctt aacgtgagtt ttcgttccac 7800

tgagcgtcag accccgtaga aaagatcaaa ggatcttctt gagatccttt ttttctgcgc 7860

gtaatctgct gcttgcaaac aaaaaaacca ccgctaccag cggtggtttg tttgccggat 7920

caagagctac caactctttt tccgaaggta actggcttca gcagagcgca gataccaaat 7980

actgtccttc tagtgtagcc gtagttaggc caccacttca agaactctgt agcaccgcgt 8040

acatacctcg ctctgctaat cctgttacca gtggctgctg ccagtggcga taagtcgtgt 8100

cttaccgggt tggactcaag acgatagtta ccggataagg cgcagcggtc gggctgaacg 8160

gggggttcgt gcacacagcc cagcttggag cgaacgacct acaccgaact gagataccta 8220

cagcgtgagc tatgagaaag cgccacgctt cccgaaggga gaaaggcgga caggtatccg 8280

gtaagcggca gggtcggaac aggagagcgc acgagggagc ttccaggggg aaacgcctgg 8340

tatctttata gtcctgtcgg gtttcgccac ctctgacttg agcgtcgatt tttgtgatgc 8400

tcgtcagggg ggcggagcct atggaaaaac gccagcaacg cggccttttt acggttcctg 8460

gccttttgct ggccttttgc tcacatgttc tttcctgcgt tatcccctga ttctgtggat 8520

aaccgtatta ccgggtttga gtgagctgat accgctcgcc gcagccgaac gaccgagcgc 8580

agcgagtcag tgagcgacca agcggaagag c 8611

<210> 7

<211> 792

<212> DNA

<213> 아데노-연관 바이러스

<400> 7

aagcttgcat gtctaagcta gacccttcag attaaaaata actgaggtaa gggcctgggt 60

aggggaggtg gtgtgagacg ctcctgtctc tcctctatct gcccatcggc cctttgggga 120

ggaggaatgt gcccaaggac taaaaaaagg ccatggagcc agaggggcga gggcaacaga 180

cctttcatgg gcaaaccttg gggccctgct gtctagcatg ccccactacg ggtctaggct 240

gcccatgtaa ggaggcaagg cctggggaca cccgagatgc ctggttataa ttaacccaga 300

catgtggctg ccccccccc cccaacacct gctgcctcta aaaataaccc tgtccctggt 360

ggatcccctg catgcgaaga tcttcgaaca aggctgtggg ggactgaggg caggctgtaa 420

caggcttggg ggccagggct tatacgtgcc tgggactccc aaagtattac tgttccatgt 480

tcccggcgaa gggccagctg tcccccgcca gctagactca gcacttagtt taggaaccag 540

tgagcaagtc agcccttggg gcagcccata caaggccatg gggctgggca agctgcacgc 600

ctgggtccgg ggtgggcacg gtgcccgggc aacgagctga aagctcatct gctctcaggg 660

gcccctccct ggggacagcc cctcctggct agtcacaccc tgtaggctcc tctatataac 720

ccaggggcac aggggctgcc ctcattctac caccacctcc acagcacaga cagacactca 780

ggagcagcca gc 792

<210> 8

<211> 8629

<212> DNA

<213> 카나마이신 플라스미드

<400> 8

gcgcgctcgc tcgctcactg aggccgcccg ggcaaagccc gggcgtcggg cgacctttgg 60

tcgcccggcc tcagtgagcg agcgagcgcg cagagaggga gtggccaact ccatcactag 120

gggttccttg tagttaatga ttaacccgcc atgctactta tctacgtagc catgctctag 180

agtttaaaca agcttgcatg tctaagctag acccttcaga ttaaaaataa ctgaggtaag 240

ggcctgggta ggggaggtgg tgtgagacgc tcctgtctct cctctatctg cccatcggcc 300

ctttggggag gaggaatgtg cccaaggact aaaaaaaggc catggagcca gaggggcgag 360

ggcaacagac ctttcatggg caaaccttgg ggccctgctg tctagcatgc cccactacgg 420

gtctaggctg cccatgtaag gaggcaaggc ctggggacac ccgagatgcc tggttataat 480

taacccagac atgtggctgc ccccccccc ccaacacctg ctgcctctaa aaataaccct 540

gtccctggtg gatcccctgc atgcgaagat cttcgaacaa ggctgtgggg gactgagggc 600

aggctgtaac aggcttgggg gccagggctt atacgtgcct gggactccca aagtattact 660

gttccatgtt cccggcgaag ggccagctgt cccccgccag ctagactcag cacttagttt 720

aggaaccagt gagcaagtca gcccttgggg cagcccatac aaggccatgg ggctgggcaa 780

gctgcacgcc tgggtccggg gtgggcacgg tgcccgggca acgagctgaa agctcatctg 840

ctctcagggg cccctccctg gggacagccc ctcctggcta gtcacaccct gtaggctcct 900

ctatataacc caggggcaca ggggctgccc tcattctacc accacctcca cagcacagac 960

agacactcag gagcagccag cggcgcgccc aggtaagttt agtctttttg tcttttattt 1020

caggtcccgg atccggtggt ggtgcaaatc aaagaactgc tcctcagtgg atgttgcctt 1080

tacttctagg cctgtacgga agtgttactt ctgctctaaa agctgcggaa ttgtacccgc 1140

ggccgccacc atgctgtggt gggaggaggt ggaggattgt tatgaaaggg aggacgtgca 1200

gaagaagact tttaccaagt gggtgaacgc tcagttcagc aaatttggga agcagcacat 1260

cgagaatctg ttttccgacc tgcaggatgg gagacggctg ctggatctgc tggaaggact 1320

gactggccag aagctgccca aagagaaggg gagcactagg gtgcacgccc tgaacaacgt 1380

gaacaaagct ctgagagtgc tgcagaacaa caacgtggat ctggtgaata ttggcagtac 1440

tgatatcgtg gacgggaacc acaaactgac actgggcctg atctggaaca ttattctgca 1500

ctggcaggtg aaaaatgtga tgaagaacat catggccggg ctgcagcaga ccaattccga 1560

gaagatcctg ctgtcttggg tgcggcagag cacccgcaac tatccccagg tgaacgtgat 1620

taacttcact acatcctgga gcgacgggct ggccctgaat gctctgattc acagccacag 1680

gcctgatctg ttcgactgga atagcgtggt gtgccagcag tctgccacac agcgcctgga 1740

acatgccttc aatatcgctc ggtaccagct ggggatcgaa aaactgctgg acccagagga 1800

tgtggacact acatacccag ataaaaagtc tattctgatg tacattacta gcctgttcca 1860

ggtgctgcca cagcaggtgt ctattgaagc cattcaggag gtggaaatgc tgccccgccc 1920

ccccaaagtg actaaagagg agcattttca gctgcatcat cagatgcatt acagccagca 1980

gattaccgtg agcctggctc agggatatga gcgcaccagt agtccaaaac cacggttcaa 2040

gtcctacgct tatacccagg ctgcctacgt gacaactagc gaccctacta gatccccctt 2100

tccatcccag cacctggagg ccccagagga caagagcttt gggtccagcc tgatggaaag 2160

cgaggtgaat ctggatcggt accagacagc cctggaggag gtgctgagct ggctgctgag 2220

tgctgaagac acactgcagg cccagggcga aatttccaat gacgtggaag tggtgaagga 2280

tcagttccac acacacgagg gctatatgat ggacctgaca gctcaccagg ggcgcgtggg 2340

caatatcctg cagctgggct ctaaactgat cggcaccggg aaactgagtg aggacgagga 2400

aacagaagtg caggagcaga tgaacctgct gaacagccgc tgggagtgtc tgagagtggc 2460

tagtatggag aagcagtcca acctgcaccg ggtgctgatg gacctgcaga accagaaact 2520

gaaagagctg aacgactggc tgacaaagac tgaggaacgc acaaggaaga tggaggagga 2580

gccactggga cccgacctgg aggatctgaa gagacaggtg cagcagcata aggtgctgca 2640

ggaggatctg gaacaggagc aggtgcgggt gaactccctg acacatatgg tggtggtggt 2700

ggacgaatct agtggagatc acgccaccgc cgccctggag gaacagctga aggtgctggg 2760

ggaccggtgg gccaacattt gccggtggac cgaggacagg tgggtgctgc tgcaggacat 2820

cctgctgaaa tggcagaggc tgaccgagga gcagtgtctg tttagtgctt ggctgagcga 2880

gaaagaggac gccgtgaaca agatccacac aaccggcttt aaggatcaga acgaaatgct 2940

gtctagcctg cagaaactgg ctgtgctgaa ggccgatctg gagaaaaaga agcagagcat 3000

gggcaaactg tatagcctga aacaggacct gctgagcacc ctgaagaaca agagcgtgac 3060

ccagaagaca gaagcctggc tggataactt tgcccgctgc tgggacaacc tggtgcagaa 3120

actggagaaa agtacagctc agatctctca ggctgtgacc acaacccagc ctagcctgac 3180

ccagacaacc gtgatggaaa ccgtgaccac cgtgacaacc cgcgaacaga tcctggtgaa 3240

acatgcccag gaagagctgc cacctccacc tccccagaag aagagaaccc tggagcggct 3300

gcaggagctg caggaagcca ctgacgaact ggacctgaag ctgaggcagg ccgaagtgat 3360

taaggggtct tggcagcctg tgggcgatct gctgattgat tccctgcagg accacctgga 3420

aaaggtgaag gctctgagag gcgaaattgc tccactgaag gagaacgtga gtcatgtgaa 3480

cgatctggct agacagctga caacactggg catccagctg agcccataca atctgagcac 3540

actggaggac ctgaatacca ggtggaagct gctgcaggtg gctgtggaag accgggtgcg 3600

gcagctgcat gaggcccatc gcgacttcgg accagccagc cagcactttc tgagcacatc 3660

cgtgcagggg ccctgggaga gggccatttc tcccaacaag gtgccctact atattaatca 3720

cgagacccag accacttgtt gggaccatcc caagatgaca gaactgtacc agtccctggc 3780

cgatctgaac aacgtgaggt ttagcgctta cagaaccgct atgaagctga gacggctgca 3840

gaaggccctg tgcctggatc tgctgtccct gtccgccgcc tgcgatgccc tggatcagca 3900

taatctgaag cagaacgatc agccaatgga tatcctgcag atcatcaact gcctgaccac 3960

tatctacgac aggctggagc aggagcacaa caacctggtg aacgtgcctc tgtgcgtgga 4020

tatgtgcctg aactggctgc tgaacgtgta tgacactggg cgcaccggcc ggatcagagt 4080

gctgagtttt aaaactggga ttatctccct gtgtaaggcc cacctggagg acaagtacag 4140

gtacctgttc aagcaggtgg ctagtagcac tggattttgt gaccagcgcc gcctgggact 4200

gctgctgcat gatagtatcc agattcctag acagctggga gaggtggcta gtttcggagg 4260

atctaacatc gaacccagcg tgcgcagctg tttccagttt gccaataaca aacctgaaat 4320

cgaggctgct ctgttcctgg attggatgcg cctggaacca cagagcatgg tgtggctgcc 4380

tgtgctgcac agagtggctg ccgccgaaac tgccaagcac caggctaaat gcaacatctg 4440

caaggaatgt cccattatcg gctttcgcta caggagtctg aaacatttta actacgatat 4500

ttgccagagc tgcttctttt ccggaagagt ggccaaagga cacaagatgc actaccctat 4560

ggtggaatat tgcaccccaa ctacatctgg cgaagatgtg cgcgattttg ccaaggtgct 4620

gaagaataag tttcggacta agaggtactt cgccaagcac ccccgcatgg ggtatctgcc 4680

agtgcagaca gtgctggaag gagacaatat ggagaccgat acaatgtgag cggccgcaat 4740

aaaagatctt tattttcatt agatctgtgt gttggttttt tgtgtgtcta gagtcgacca 4800

gagcatggct acgtagataa gtagcatggc gggttaatca ttaactacaa ggaaccccta 4860

gtgatggagt tggccactcc ctctctgcgc gctcgctcgc tcactgaggc cgggcgacca 4920

aaggtcgccc gacgcccggg ctttgcccgg gcggcctcag tgagcgagcg agcgcgcagc 4980

tgcattaatg aatcggccaa cgcgcgggga gaggcggttt gcgtattggg cgctcttccg 5040

cttcctcgct cactgactcg ctgcgctcgg tcgttcggct gcggcgagcg gtatcagctc 5100

actcaaaggc ggtaatacgg ttatccacag aatcagggga taacgcagga aagaacatgt 5160

gagcaaaagg ccagcaaaag gccaggaacc gtaaaaaggc cgcgttgctg gcgtttttcc 5220

ataggctccg ccccccctgac gagcatcaca aaaatcgacg ctcaagtcag aggtggcgaa 5280

acccgacagg actataaaga taccaggcgt ttcccccctgg aagctccctc gtgcgctctc 5340

ctgttccgac cctgccgctt accggatacc tgtccgcctt tctcccttcg ggaagcgtgg 5400

cgctttctca tagctcacgc tgtaggtatc tcagttcggt gtaggtcgtt cgctccaagc 5460

tgggctgtgt gcacgaaccc cccgttcagc ccgaccgctg cgccttatcc ggtaactatc 5520

gtcttgagtc caacccggta agacacgact tatcgccact ggcagcagcc actggtaaca 5580

ggattagcag agcgaggtat gtaggcggtg ctacagagtt cttgaagtgg tggcctaact 5640

acggctacac tagaagaaca gtatttggta tctgcgctct gctgaagcca gttaccttcg 5700

gaaaaagagt tggtagctct tgatccggca aacaaaccac cgctggtagc ggtggttttt 5760

ttgtttgcaa gcagcagatt acgcgcagaa aaaaaggatc tcaagaagat cctttgatct 5820

tttctacggg gtctgacgct cagtggaacg aaaactcacg ttaagggatt ttggtcatga 5880

gattatcaaa aaggatcttc acctagatcc ttttaaatta aaaatgaagt tttaaatcaa 5940

tctaaagtat atatgagtaa aaatattccg gaattgccag ctggggcgcc ctctggtaag 6000

gttgggaagc cctgcaaagt aaactggatg gctttcttgc cgccaaggat ctgatggcgc 6060

aggggatcaa gatctgatca agagacagga tgaggatcgt ttcgcatgat tgaacaagat 6120

ggattgcacg caggttctcc ggccgcttgg gtggagaggc tattcggcta tgactgggca 6180

caacagacaa tcggctgctc tgatgccgcc gtgttccggc tgtcagcgca ggggcgcccg 6240

gttcttttttg tcaagaccga cctgtccggt gccctgaatg aactgcagga cgaggcagcg 6300

cggctatcgt ggctggccac gacgggcgtt ccttgcgcag ctgtgctcga cgttgtcact 6360

gaagcgggaa gggactggct gctattgggc gaagtgccgg ggcaggatct cctgtcatcc 6420

caccttgctc ctgccgagaa agtatccatc atggctgatg caatgcggcg gctgcatacg 6480

cttgatccgg ctacctgccc attcgaccac caagcgaaac atcgcatcga gcgagcacgt 6540

actcggatgg aagccggtct tgtcgatcag gatgatctgg acgaagagca tcaggggctc 6600

gcgccagccg aactgttcgc caggctcaag gcgcgcatgc ccgacggcga ggatctcgtc 6660

gtgacccatg gcgatgcctg cttgccgaat atcatggtgg aaaatggccg cttttctgga 6720

ttcatcgact gtggccggct gggtgtggcg gaccgctatc aggacatagc gttggctacc 6780

cgtgatattg ctgaagagct tggcggcgaa tgggctgacc gcttcctcgt gctttacggt 6840

atcgccgctc ccgattcgca gcgcatcgcc ttctatcgcc ttcttgacga gttcttctga 6900

accggtaata ttattgaagc atttatcagg gttattgtct catgagcgga tacatatttg 6960

aatgtattta gaaaaataaa caaatagggg ttccgcgcac atttccccga aaagtgccac 7020

ctgacgtcta agaaaccatt attatcatga cattaaccta taaaaatagg cgtatcacga 7080

ggccctttcg tctcgcgcgt ttcggtgatg acggtgaaaa cctctgacac atgcagctcc 7140

cggagacggt cacagcttgt ctgtaagcgg atgccgggag cagacaagcc cgtcagggcg 7200

cgtcagcggg tgttggcggg tgtcggggct ggcttaacta tgcggcatca gagcagattg 7260

tactgagagt gcaccatatg cggtgtgaaa taccgcacag atgcgtaagg agaaaataccc 7320

gcatcaggcg attccaacat ccaataaatc atacaggcaa ggcaaagaat tagcaaaatt 7380

aagcaataaa gcctcagagc ataaagctaa atcggttgta ccaaaaacat tatgaccctg 7440

taatactttt gcgggagaag cctttatttc aacgcaagga taaaaatttt tagaaccctc 7500

atatatttta aatgcaatgc ctgagtaatg tgtaggtaaa gattcaaacg ggtgagaaag 7560

gccggagaca gtcaaatcac catcaatatg atattcaacc gttctagctg ataaattcat 7620

gccggagagg gtagctattt ttgagaggtc tctacaaagg ctatcaggtc attgcctgag 7680

agtctggagc aaacaagaga atcgatgaac ggtaatcgta aaactagcat gtcaatcata 7740

tgtaccccgg ttgataatca gaaaagcccc aaaaacagga agattgtata agcaaatatt 7800

taaattgtaa gcgttaatat tttgttaaaa ttcgcgttaa atttttgtta aatcagctca 7860

ttttttaacc aataggccga aatcggcaaa atcccttata aatcaaaaga atagaccgag 7920

atagggttga gtgttgttcc agtttggaac aagagtccac tattaaagaa cgtggactcc 7980

aacgtcaaag ggcgaaaaac cgtctatcag ggcgatggcc cactacgtga accatcaccc 8040

taatcaagtt ttttggggtc gaggtgccgt aaagcactaa atcggaaccc taaagggagc 8100

ccccgattta gagcttgacg gggaaagccg gcgaacgtgg cgagaaagga agggaagaaa 8160

gcgaaaggag cgggcgctag ggcgctggca agtgtagcgg tcacgctgcg cgtaaccacc 8220

acacccgccg cgcttaatgc gccgctacag ggcgcgtact atggttgctt tgacgagcac 8280

gtataacgtg ctttcctcgt tagaatcaga gcgggagcta aacaggaggc cgattaaagg 8340

gattttagac aggaacggta cgccagaatc ctgagaagtg tttttataat cagtgaggcc 8400

accgagtaaa agagtctgtc catcacgcaa attaaccgtt gtcgcaatac ttctttgatt 8460

agtaataaca tcacttgcct gagtagaaga actcaaacta tcggccttgc tggtaatatc 8520

cagaacaata ttaccgccag ccattgcaac ggaatcgcca ttcgccattc aggctgcgca 8580

actgttggga agggcgatcg gtgcgggcct cttcgctatt acgccagct 8629

<210> 9

<211> 4977

<212> DNA

<213> 카나마이신 카세트

<400> 9

gcgcgctcgc tcgctcactg aggccgcccg ggcaaagccc gggcgtcggg cgacctttgg 60

tcgcccggcc tcagtgagcg agcgagcgcg cagagaggga gtggccaact ccatcactag 120

gggttccttg tagttaatga ttaacccgcc atgctactta tctacgtagc catgctctag 180

agtttaaaca agcttgcatg tctaagctag acccttcaga ttaaaaataa ctgaggtaag 240

ggcctgggta ggggaggtgg tgtgagacgc tcctgtctct cctctatctg cccatcggcc 300

ctttggggag gaggaatgtg cccaaggact aaaaaaaggc catggagcca gaggggcgag 360

ggcaacagac ctttcatggg caaaccttgg ggccctgctg tctagcatgc cccactacgg 420

gtctaggctg cccatgtaag gaggcaaggc ctggggacac ccgagatgcc tggttataat 480

taacccagac atgtggctgc ccccccccc ccaacacctg ctgcctctaa aaataaccct 540

gtccctggtg gatcccctgc atgcgaagat cttcgaacaa ggctgtgggg gactgagggc 600

aggctgtaac aggcttgggg gccagggctt atacgtgcct gggactccca aagtattact 660

gttccatgtt cccggcgaag ggccagctgt cccccgccag ctagactcag cacttagttt 720

aggaaccagt gagcaagtca gcccttgggg cagcccatac aaggccatgg ggctgggcaa 780

gctgcacgcc tgggtccggg gtgggcacgg tgcccgggca acgagctgaa agctcatctg 840

ctctcagggg cccctccctg gggacagccc ctcctggcta gtcacaccct gtaggctcct 900

ctatataacc caggggcaca ggggctgccc tcattctacc accacctcca cagcacagac 960

agacactcag gagcagccag cggcgcgccc aggtaagttt agtctttttg tcttttattt 1020

caggtcccgg atccggtggt ggtgcaaatc aaagaactgc tcctcagtgg atgttgcctt 1080

tacttctagg cctgtacgga agtgttactt ctgctctaaa agctgcggaa ttgtacccgc 1140

ggccgccacc atgctgtggt gggaggaggt ggaggattgt tatgaaaggg aggacgtgca 1200

gaagaagact tttaccaagt gggtgaacgc tcagttcagc aaatttggga agcagcacat 1260

cgagaatctg ttttccgacc tgcaggatgg gagacggctg ctggatctgc tggaaggact 1320

gactggccag aagctgccca aagagaaggg gagcactagg gtgcacgccc tgaacaacgt 1380

gaacaaagct ctgagagtgc tgcagaacaa caacgtggat ctggtgaata ttggcagtac 1440

tgatatcgtg gacgggaacc acaaactgac actgggcctg atctggaaca ttattctgca 1500

ctggcaggtg aaaaatgtga tgaagaacat catggccggg ctgcagcaga ccaattccga 1560

gaagatcctg ctgtcttggg tgcggcagag cacccgcaac tatccccagg tgaacgtgat 1620

taacttcact acatcctgga gcgacgggct ggccctgaat gctctgattc acagccacag 1680

gcctgatctg ttcgactgga atagcgtggt gtgccagcag tctgccacac agcgcctgga 1740

acatgccttc aatatcgctc ggtaccagct ggggatcgaa aaactgctgg acccagagga 1800

tgtggacact acatacccag ataaaaagtc tattctgatg tacattacta gcctgttcca 1860

ggtgctgcca cagcaggtgt ctattgaagc cattcaggag gtggaaatgc tgccccgccc 1920

ccccaaagtg actaaagagg agcattttca gctgcatcat cagatgcatt acagccagca 1980

gattaccgtg agcctggctc agggatatga gcgcaccagt agtccaaaac cacggttcaa 2040

gtcctacgct tatacccagg ctgcctacgt gacaactagc gaccctacta gatccccctt 2100

tccatcccag cacctggagg ccccagagga caagagcttt gggtccagcc tgatggaaag 2160

cgaggtgaat ctggatcggt accagacagc cctggaggag gtgctgagct ggctgctgag 2220

tgctgaagac acactgcagg cccagggcga aatttccaat gacgtggaag tggtgaagga 2280

tcagttccac acacacgagg gctatatgat ggacctgaca gctcaccagg ggcgcgtggg 2340

caatatcctg cagctgggct ctaaactgat cggcaccggg aaactgagtg aggacgagga 2400

aacagaagtg caggagcaga tgaacctgct gaacagccgc tgggagtgtc tgagagtggc 2460

tagtatggag aagcagtcca acctgcaccg ggtgctgatg gacctgcaga accagaaact 2520

gaaagagctg aacgactggc tgacaaagac tgaggaacgc acaaggaaga tggaggagga 2580

gccactggga cccgacctgg aggatctgaa gagacaggtg cagcagcata aggtgctgca 2640

ggaggatctg gaacaggagc aggtgcgggt gaactccctg acacatatgg tggtggtggt 2700

ggacgaatct agtggagatc acgccaccgc cgccctggag gaacagctga aggtgctggg 2760

ggaccggtgg gccaacattt gccggtggac cgaggacagg tgggtgctgc tgcaggacat 2820

cctgctgaaa tggcagaggc tgaccgagga gcagtgtctg tttagtgctt ggctgagcga 2880

gaaagaggac gccgtgaaca agatccacac aaccggcttt aaggatcaga acgaaatgct 2940

gtctagcctg cagaaactgg ctgtgctgaa ggccgatctg gagaaaaaga agcagagcat 3000

gggcaaactg tatagcctga aacaggacct gctgagcacc ctgaagaaca agagcgtgac 3060

ccagaagaca gaagcctggc tggataactt tgcccgctgc tgggacaacc tggtgcagaa 3120

actggagaaa agtacagctc agatctctca ggctgtgacc acaacccagc ctagcctgac 3180

ccagacaacc gtgatggaaa ccgtgaccac cgtgacaacc cgcgaacaga tcctggtgaa 3240

acatgcccag gaagagctgc cacctccacc tccccagaag aagagaaccc tggagcggct 3300

gcaggagctg caggaagcca ctgacgaact ggacctgaag ctgaggcagg ccgaagtgat 3360

taaggggtct tggcagcctg tgggcgatct gctgattgat tccctgcagg accacctgga 3420

aaaggtgaag gctctgagag gcgaaattgc tccactgaag gagaacgtga gtcatgtgaa 3480

cgatctggct agacagctga caacactggg catccagctg agcccataca atctgagcac 3540

actggaggac ctgaatacca ggtggaagct gctgcaggtg gctgtggaag accgggtgcg 3600

gcagctgcat gaggcccatc gcgacttcgg accagccagc cagcactttc tgagcacatc 3660

cgtgcagggg ccctgggaga gggccatttc tcccaacaag gtgccctact atattaatca 3720

cgagacccag accacttgtt gggaccatcc caagatgaca gaactgtacc agtccctggc 3780

cgatctgaac aacgtgaggt ttagcgctta cagaaccgct atgaagctga gacggctgca 3840

gaaggccctg tgcctggatc tgctgtccct gtccgccgcc tgcgatgccc tggatcagca 3900

taatctgaag cagaacgatc agccaatgga tatcctgcag atcatcaact gcctgaccac 3960

tatctacgac aggctggagc aggagcacaa caacctggtg aacgtgcctc tgtgcgtgga 4020

tatgtgcctg aactggctgc tgaacgtgta tgacactggg cgcaccggcc ggatcagagt 4080

gctgagtttt aaaactggga ttatctccct gtgtaaggcc cacctggagg acaagtacag 4140

gtacctgttc aagcaggtgg ctagtagcac tggattttgt gaccagcgcc gcctgggact 4200

gctgctgcat gatagtatcc agattcctag acagctggga gaggtggcta gtttcggagg 4260

atctaacatc gaacccagcg tgcgcagctg tttccagttt gccaataaca aacctgaaat 4320

cgaggctgct ctgttcctgg attggatgcg cctggaacca cagagcatgg tgtggctgcc 4380

tgtgctgcac agagtggctg ccgccgaaac tgccaagcac caggctaaat gcaacatctg 4440

caaggaatgt cccattatcg gctttcgcta caggagtctg aaacatttta actacgatat 4500

ttgccagagc tgcttctttt ccggaagagt ggccaaagga cacaagatgc actaccctat 4560

ggtggaatat tgcaccccaa ctacatctgg cgaagatgtg cgcgattttg ccaaggtgct 4620

gaagaataag tttcggacta agaggtactt cgccaagcac ccccgcatgg ggtatctgcc 4680

agtgcagaca gtgctggaag gagacaatat ggagaccgat acaatgtgag cggccgcaat 4740

aaaagatctt tattttcatt agatctgtgt gttggttttt tgtgtgtcta gagtcgacca 4800

gagcatggct acgtagataa gtagcatggc gggttaatca ttaactacaa ggaaccccta 4860

gtgatggagt tggccactcc ctctctgcgc gctcgctcgc tcactgaggc cgggcgacca 4920

aaggtcgccc gacgcccggg ctttgcccgg gcggcctcag tgagcgagcg agcgcgc 4977

도면

도면1



도면2a

서열번호 3

rAAVrh74.MHCK7.microdystrophin

주요 특징:

ITR
MHCK7 프로모터
키메라 인트론 서열
인간 마이크로-디스트로핀 서열
폴리 A 꼬리
암피실린 내성

GCCCAATACGCAAACCGCCTCTCCCCGCGCGTTGGCCGATTCATTAATGCAGCT**GCG**
CGCTCGCTCGCTCACTGAGGCCGCCCGGGCAAAGCCCGGGCGTCGGGCGACC
TTTGGTCGCCCGGCCTCAGTGAGCGAGCGAGCGCGCAGAGAGGGAGTGGCCA
ACTCCATCACTAGGGGTTCCTTGTAGTTAATGATTAACCCGCCATGCTACTTATCT
ACGTAGCCATGCTCTAGAgtttaaacaagcttgcatgtctaagctagaccctcagattaaaaataactgaggtaagggcct
gggtagggaggtggtgtgagacgctcctgtctctcctctatctgcccatcggccctttgggaggaggaatgtgcccaaggactaaaaaa
aggccatggagccagagggcgagggcaacagaccctttcatgggcaaaccttgggggccctgctgtctagcatgccccactacgggtcta
ggctgcccatgtaaggaggcaaggcctggggacacccgagatgcctggttataattaacccagacatgtggctgccccccccccccccaac
acctgctgcctctaaaaataacctgtccctggtggatcccctgcatgcgaagatcttcgaacaaggctgtgggggactgagggcaggctg
taacaggcttgggggccaaggcttatacgtgcctgggactcccaaagtattactgttccatgttcccggcgaaggggccagctgtcccccgc
cagctagactcagcacttagtttaggaaccagtgagcaagtcagcccttggggcagcccatacaaggccatgggctgggcaagctgcac
gcctgggtccggggtgggcacggtgcccgggcaacgagctgaaagctcatctgctctcaggggcccctcccctggggacagcccctcctg
gctagtcacaccctgtaggctcctctatataacccagggcacagggctgccctcattctaccaccacctccacagcacagacagacact
caggagcagccagcggcgcgcccAGGTAAGTTTAGTCTTTTTGTCTTTTATTTCAGGTCCCGGAT
CCGGTGGTGGTGCAAATCAAAGAACTGCTCCTCAGTGGATGTTGCCTTTACTTCTAG
GCCTGTACGGAAGTGTTACTTCTGCTCTAAAAGCTGCGGAATTGTACCCGCGGCCGC
CACCATGCTGTGGTGGGAGGAGGTGGAGGATTGTTATGAAAGGGAGGACGTGCAGA
AGAAGACTTTTACCAAGTGGGTGAACGCTCAGTTCAGCAAATTTGGGAAGCAGCAC
ATCGAGAATCTGTTTTCCGACCTGCAGGATGGGAGACGGCTGCTGGATCTGCTGGAA
GGACTGACTGGCCAGAAGCTGCCCAAAGAGAAGGGGAGCACTAGGGTGCACGCCCT
GAACAACGTGAACAAAGCTCTGAGAGTGCTGCAGAACAACAACGTGGATCTGGTGA
ATATTGGCAGTACTGATATCGTGGACGGGAACCACAAACTGACACTGGGCCTGATCT
GGAACATTATTCTGCACTGGCAGGTGAAAAATGTGATGAAGAACATCATGGCCGGG
CTGCAGCAGACCAATTCCGAGAAGATCCTGCTGTCTTGGGTGCGGCAGAGCACCCG
CAACTATCCCCAGGTGAACGTGATTAACTTCACTACATCCTGGAGCGACGGGCTGGC
CCTGAATGCTCTGATTCACAGCCACAGGCCTGATCTGTTCGACTGGAATAGCGTGGT
GTGCCAGCAGTCTGCCACACAGCGCCTGGAACATGCCTTCAATATCGCTCGGTACCA
GCTGGGGATCGAAAAACTGCTGGACCCAGAGGATGTGGACACTACATACCCAGATA
AAAAGTCTATTCTGATGTACATTACTAGCCTGTTCCAGGTGCTGCCACAGCAGGTGT

도면2b


CTATTGAAGCCATTCAGGAGGTGGAAATGCTGCCCCGCCCCCCCAAAGTGACTAAA
GAGGAGCATTTTCAGCTGCATCATCAGATGCATTACAGCCAGCAGATTACCGTGAGC
CTGGCTCAGGGATATGAGCGCACCAGTAGTCCAAAACCACGGTTCAAGTCCTACGC
TTATACCCAGGCTGCCTACGTGACAACTAGCGACCCTACTAGATCCCCCTTTCCATC
CCAGCACCTGGAGGCCCCAGAGGACAAGAGCTTTGGGTCCAGCCTGATGGAAAGCG
AGGTGAATCTGGATCGGTACCAGACAGCCCTGGAGGAGGTGCTGAGCTGGCTGCTG
AGTGCTGAAGACACACTGCAGGCCCAGGGCGAAATTTCCAATGACGTGGAAGTGGT
GAAGGATCAGTTCCACACACACGAGGGCTATATGATGGACCTGACAGCTCACCAGG
GGCGCGTGGGCAATATCCTGCAGCTGGGCTCTAAACTGATCGGCACCGGGAAACTG
AGTGAGGACGAGGAAACAGAAGTGCAGGAGCAGATGAACCTGCTGAACAGCCGCT
GGGAGTGTCTGAGAGTGGCTAGTATGGAGAAGCAGTCCAACCTGCACCGGGTGCTG
ATGGACCTGCAGAACCAGAAACTGAAAGAGCTGAACGACTGGCTGACAAAGACTGA
GGAACGCACAAGGAAGATGGAGGAGGAGCCACTGGGACCCGACCTGGAGGATCTG
AAGAGACAGGTGCAGCAGCATAAGGTGCTGCAGGAGGATCTGGAACAGGAGCAGG
TGCGGGTGAACTCCCTGACACATATGGTGGTGGTGGTGGACGAATCTAGTGGAGAT
CACGCCACCGCCGCCCTGGAGGAACAGCTGAAGGTGCTGGGGGACCGGTGGGCCAA
CATTTGCCGGTGGACCGAGGACAGGTGGGTGCTGCTGCAGGACATCCTGCTGAAAT
GGCAGAGGCTGACCGAGGAGCAGTGTCTGTTTAGTGCTTGGCTGAGCGAGAAAGAG
GACGCCGTGAACAAGATCCACACAACCGGCTTTAAGGATCAGAACGAAATGCTGTC
TAGCCTGCAGAAACTGGCTGTGCTGAAGGCCGATCTGGAGAAAAAGAAGCAGAGCA
TGGGCAAACTGTATAGCCTGAAACAGGACCTGCTGAGCACCCTGAAGAACAAGAGC
GTGACCCAGAAGACAGAAGCCTGGCTGGATAACTTTGCCCGCTGCTGGGACAACCT
GGTGCAGAAACTGGAGAAAAGTACAGCTCAGATCTCTCAGGCTGTGACCACAACCC
AGCCTAGCCTGACCCAGACAACCGTGATGGAAACCGTGACCACCGTGACAACCCGC
GAACAGATCCTGGTGAAACATGCCCAGGAAGAGCTGCCACCTCCACCTCCCCAGAA
GAAGAGAACCCTGGAGCGGCTGCAGGAGCTGCAGGAAGCCACTGACGAACTGGAC
CTGAAGCTGAGGCAGGCCGAAGTGATTAAGGGGTCTTGGCAGCCTGTGGGCGATCT
GCTGATTGATTCCCTGCAGGACCACCTGGAAAAGGTGAAGGCTCTGAGAGGCGAAA
TTGCTCCACTGAAGGAGAACGTGAGTCATGTGAACGATCTGGCTAGACAGCTGACA
ACACTGGGCATCCAGCTGAGCCCATACAATCTGAGCACACTGGAGGACCTGAATAC
CAGGTGGAAGCTGCTGCAGGTGGCTGTGGAAGACCGGGTGCGGCAGCTGCATGAGG
CCCATCGCGACTTCGGACCAGCCAGCCAGCACTTTCTGAGCACATCCGTGCAGGGGC
CCTGGGAGAGGGCCATTTCTCCCAACAAGGTGCCCTACTATATTAATCACGAGACCC
AGACCACTTGTTGGGACCATCCCAAGATGACAGAACTGTACCAGTCCCTGGCCGATC
TGAACAACGTGAGGTTTAGCGCTTACAGAACCGCTATGAAGCTGAGACGGCTGCAG
AAGGCCCTGTGCCTGGATCTGCTGTCCCTGTCCGCCGCCTGCGATGCCCTGGATCAG
CATAATCTGAAGCAGAACGATCAGCCAATGGATATCCTGCAGATCATCAACTGCCTG
ACCACTATCTACGACAGGCTGGAGCAGGAGCACAACAACCTGGTGAACGTGCCTCT
GTGCGTGGATATGTGCCTGAACTGGCTGCTGAACGTGTATGACACTGGGCGCACCGG
CCGGATCAGAGTGCTGAGTTTTAAAACTGGGATTATCTCCCTGTGTAAGGCCCACCT
GGAGGACAAGTACAGGTACCTGTTCAAGCAGGTGGCTAGTAGCACTGGATTTTGTG
ACCAGCGCCGCCTGGGACTGCTGCTGCATGATAGTATCCAGATTCCTAGACAGCTGG
GAGAGGTGGCTAGTTTCGGAGGATCTAACATCGAACCCAGCGTGCGCAGCTGTTTCC
AGTTTGCCAATAACAAACCTGAAATCGAGGCTGCTCTGTTCCTGGATTGGATGCGCC
TGGAACCACAGAGCATGGTGTGGCTGCCTGTGCTGCACAGAGTGGCTGCCGCCGAA
ACTGCCAAGCACCAGGCTAAATGCAACATCTGCAAGGAATGTCCCATTATCGGCTTT

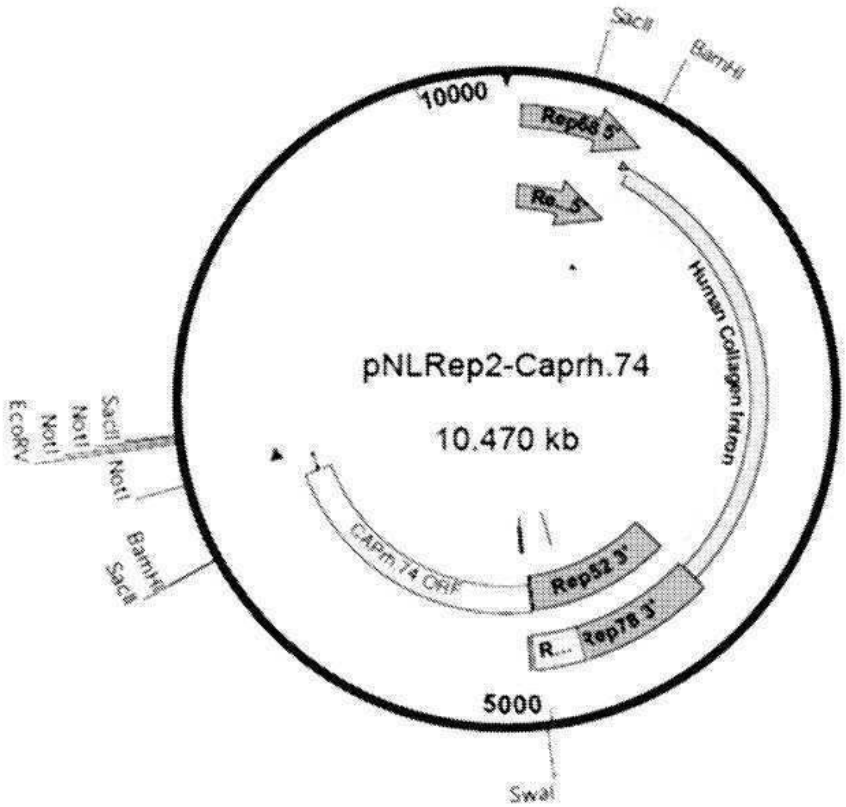
도면2c

CGCTACAGGAGTCTGAAACATTTTAACTACGATATTTGCCAGAGCTGCTTCTTTTCCG
GAAGAGTGGCCAAAGGACACAAGATGCACTACCCTATGGTGGAATATTGCACCCCA
ACTACATCTGGCGAAGATGTGCGCGATTTTGCCAAGGTGCTGAAGAATAAGTTTCGG
ACTAAGAGGTACTTCGCCAAGCACCCCCGCATGGGGTATCTGCCAGTGCAGACAGT
GCTGGAAGGAGACAATATGGAGACCGATACAATGtgaGCGGCCGCAATAAAAGATCT
TTATTTTCATTAGATCTGTGTGTTGGTTTTTTGTGTGTCTAGAGCATGGCTACGTAGA
TAAGTAGCATGGCGGGTTAATCATTAACTACA**AGGAACCCCTAGTGATGGAGTTG**
GCCACTCCCTCTCTGCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGGCCGGGCGACCAAAGGT
CGCCCGACGCCCGGGCTTTGCCCGGGGCGGCCTCAGTGAGCGAGCGAGCGCGC
AGCTGGCGTAATAGCGAAGAGGCCCGCACCGATCGCCCTTCCCAACAGTTGCGCAG
CCTGAATGGCGAATGGCGATTCCGTTGCAATGGCTGGCGGTAATATTGTTCTGGATA
TTACCAGCAAGGCCGATAGTTTGAGTTCTTCTACTCAGGCAAGTGATGTTATTACTA
ATCAAAGAAGTATTGCGACAACGGTTAATTTGCGTGATGGACAGACTCTTTTACTCG
GTGGCCTCACTGATTATAAAAACACTTCTCAGGATTCTGGCGTACCGTTCCTGTCTA
AAATCCCTTTAATCGGCCTCCTGTTTAGCTCCCGCTCTGATTCTAACGAGGAAAGCA
CGTTATACGTGCTCGTCAAAGCAACCATAGTACGCGCCCTGTAGCGGCGCATTAAGC
GCGGCGGGTGTGGTGGTTACGCGCAGCGTGACCGCTACACTTGCCAGCGCCCTAGC
GCCCGCTCCTTTCGCTTTCTTCCCTTCCTTTCTCGCCACGTTCGCCGGCTTTCCCCGTC
AAGCTCTAAATCGGGGGCTCCCTTTAGGGTTCCGATTTAGTGCTTTACGGCACCTCG
ACCCCAAAAAACTTGATTAGGGTGATGGTTCACGTAGTGGGCCATCGCCCTGATAGA
CGGTTTTTCGCCCTTTGACGTTGGAGTCCACGTTCTTTAATAGTGGACTCTTGTTCCA
AACTGGAACAACACTCAACCCTATCTCGGTCTATTCTTTTGATTTATAAGGGATTTTG
CCGATTTCGGCCTATTGGTTAAAAAATGAGCTGATTTAACAAAAATTTAACGCGAAT
TTTAACAAAATATTAACGCTTACAATTTAAATATTTGCTTATACAATCTTCCTGTTTT
TGGGGCTTTTCTGATTATCAACCGGGGTACATATGATTGACATGCTAGTTTTACGATT
ACCGTTCATCGATTCTCTTGTTTGCTCCAGACTCTCAGGCAATGACCTGATAGCCTTT
GTAGAGACCTCTCAAAAATAGCTACCCTCTCCGGCATGAATTTATCAGCTAGAACGG
TTGAATATCATATTGATGGTGATTTGACTGTCTCCGGCCTTTCTCACCCGTTTGAATC
TTTACCTACACATTACTCAGGCATTGCATTTAAAATATATGAGGGTTCTAAAAATTTT
TATCCTTGCGTTGAAATAAAGGCTTCTCCCGCAAAAGTATTACAGGGTCATAATGTT
TTTGGTACAACCGATTTAGCTTTATGCTCTGAGGCTTTATTGCTTAATTTTGCTAATT
CTTTGCCTTGCCTGTATGATTTATTGGATGTTGGAATCGCCTGATGCGGTATTTTCTC
CTTACGCATCTGTGCGGTATTTCACACCGCATATGGTGCACTCTCAGTACAATCTGCT
CTGATGCCGCATAGTTAAGCCAGCCCCGACACCCGCCAACACCCGCTGACGCGCCCT
GACGGGCTTGTCTGCTCCCGGCATCCGCTTACAGACAAGCTGTGACCGTCTCCGGGA
GCTGCATGTGTCAGAGGTTTTCACCGTCATCACCGAAACGCGCGAGACGAAAGGGC
CTCGTGATACGCCTATTTTTATAGGTTAATGTCATGATAATAATGGTTTCTTAGACGT
CAGGTGGCACTTTTCGGGGAAATGTGCGCGGAACCCCTATTTGTTTATTTTTCTAAAT
ACATTCAAATATGTATCCGCTCATGAGACAATAACCCTGATAAATGCTTCAATAATA
TTGAAAAAGGAAGAGTATGAGTATTCAACATTTCCGTGTCGCCCTTATTCCCTTTTT
GCGGCATTTTGCCTTCCTGTTTTTGCTCACCCAGAAACGCTGGTGAAAGTAAAAGAT
GCTGAAGATCAGTTGGGTGCACGAGTGGGTTACATCGAACTGGATCTCAACAGCGG
TAAGATCCTTGAGAGTTTTCGCCCCGAAGAACGTTTTCCAATGATGAGCACTTTTAA
AGTTCTGCTATGTGGCGCGGTATTATCCCGTATTGACGCCGGGCAAGAGCAACTCGG
TCGCCGCATACACTATTCTCAGAATGACTTGGTTGAGTACTCACCAGTCACAGAAAA
GCATCTTACGGATGGCATGACAGTAAGAGAATTATGCAGTGCTGCCATAACCATGA

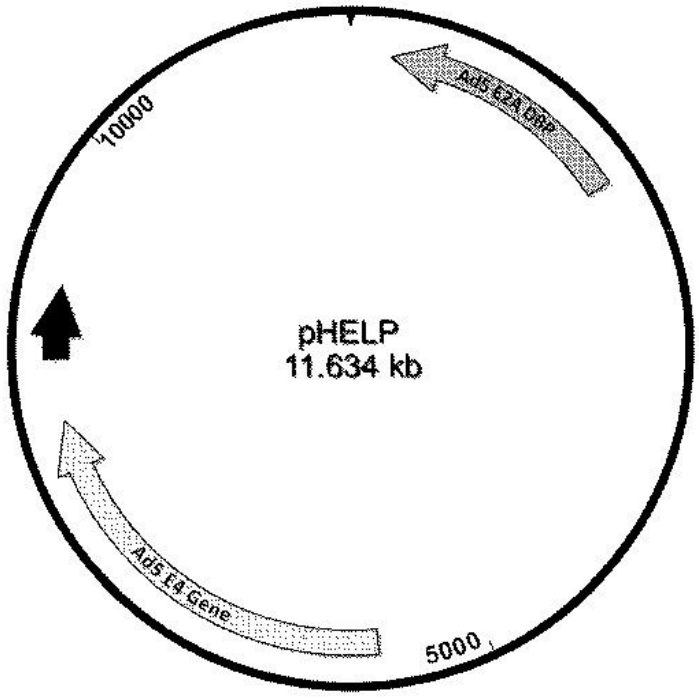
도면2d

GTGATAACACTGCGGCCAACTTACTTCTGACAACGATCGGAGGACCGAAGGAGCTA
ACCGCTTTTTTGCACAACATGGGGGATCATGTAACTCGCCTTGATCGTTGGGAACCG
GAGCTGAATGAAGCCATACCAAACGACGAGCGTGACACCACGATGCCTGTAGCAAT
GGCAACAACGTTGCGCAAACTATTAACTGGCGAACTACTTACTCTAGCTTCCCGGCA
ACAATTAATAGACTGGATGGAGGCGGATAAAGTTGCAGGACCACTTCTGCGCTCGG
CCCTTCCGGCTGGCTGGTTTATTGCTGATAAATCTGGAGCCGGTGAGCGTGGGTCTC
GCGGTATCATTGCAGCACTGGGGCCAGATGGTAAGCCCTCCCGTATCGTAGTTATCT
ACACGACGGGGAGTCAGGCAACTATGGATGAACGAAATAGACAGATCGCTGAGATA
GGTGCCTCACTGATTAAGCATTGGTAACTGTCAGACCAAGTTTACTCATATATACTTT
AGATTGATTTAAAACTTCATTTTTAATTTAAAAGGATCTAGGTGAAGATCCTTTTTGA
TAATCTCATGACCAAAATCCCTTAACGTGAGTTTTCGTTCCACTGAGCGTCAGACCC
CGTAGAAAAGATCAAAGGATCTTCTTGAGATCCTTTTTTTCTGCGCGTAATCTGCTGC
TTGCAAACAAAAAAACCACCGCTACCAGCGGTGGTTTGTTTGCCGGATCAAGAGCT
ACCAACTCTTTTTCCGAAGGTAACTGGCTTCAGCAGAGCGCAGATACCAAATACTGT
TCTTCTAGTGTAGCCGTAGTTAGGCCACCACTTCAAGAACTCTGTAGCACCGCCTAC
ATACCTCGCTCTGCTAATCCTGTTACCAGTGGCTGCTGCCAGTGGCGATAAGTCGTG
TCTTACCGGGTTGGACTCAAGACGATAGTTACCGGATAAGGCGCAGCGGTCGGGCT
GAACGGGGGGTTCGTGCACACAGCCCAGCTTGGAGCGAACGACCTACACCGAACTG
AGATACCTACAGCGTGAGCTATGAGAAAGCGCCACGCTTCCCGAAGGGAGAAAGGC
GGACAGGTATCCGGTAAGCGGCAGGGTCGGAACAGGAGAGCGCACGAGGGAGCTT
CCAGGGGGAAACGCCTGGTATCTTTATAGTCCTGTCGGGTTTCGCCACCTCTGACTT
GAGCGTCGATTTTTGTGATGCTCGTCAGGGGGGCGGAGCCTATGGAAAAACGCCAG
CAACGCGGCCTTTTTACGGTTCCTGGCCTTTTGCTGGCCTTTTGCTCACATGTTCTTTC
CTGCGTTATCCCCTGATTCTGTGGATAACCGTATTACCGCCTTTGAGTGAGCTGATAC
CGCTCGCCGCAGCCGAACGACCGAGCGCAGCGAGTCAGTGAGCGAGGAAGCGGAA
GAGC

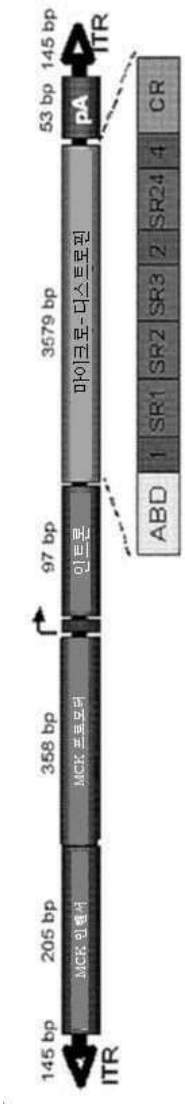
도면3


SacII
BamHI
10000
Rep68 3'
Rep_3'
Human Collagen Intron
pNLRep2-Caprh.74
10.470 kb
SacII
NotI
NotI
EcoRV
NotI
BamHI
SacII
CAPrh.74 ORF
Rep52 3'
R...
Rep78 3'
5000
SwaI

도면4


10000
Ad5 E2A DBP
pHELP
11.634 kb
Ad5 E4 Gene
5000

도면5


145 bp
ITR
205 bp
MCK 인핸서
358 bp
MCK 프로모터
97 bp
인트론
3579 bp
마이크로-디스트로핀
53 bp
pA
145 bp
ITR
ABD
1
SR1
SR2
SR3
2
SR24
4
CR

도면6a

서열번호 5

rAAVrh74.MCK.micro-dystrophin

주요 특징:
ITR
MCK 프로모터
키메라 인트론 서열
인간 코돈 최적화 마이크로-디스트로핀 서열 -
폴리 A 꼬리
암피실린 내성
pBR322 복제 기점이 있는 pGEX 플라스미드 백본

GCCCAATACGCAAACCGCCTCTCCCCGCGCGTTGGCCGATTCATTAATGCAGCTG**GCGCGCTCGCTCGCTCACTGA**
GGCCGCCCGGGCAAAGCCCGGGCGTCGGGCGACCTTTGGTCGCCCGGCCTCAGTGAGCGAGCGAGCGCGCAGA
GAGGGAGTGGCCAACTCCATCACTAGGGGTTCCTTGTAGTTAATGATTAACCCGCCATGCTAATTATCTACGTAGC
CATGTCTAGACAGCCACTATGGGTCTAGGCTGCCCATGTAAGGAGGCAAGGCCTGGGGACACCCGAGATGCCTG
GTTATAATTAACCCAGACATGTGGCTGCTCCCCCCCCCCAACACCTGCTGCCTGAGCCTCACCCCCACCCCGGTGCC
TGGGTCTTAGGCTCTGTACACCATGGAGGAGAAGCTCGCTCTAAAAATAACCCTGTCCCTGGTGGGCTGTGGGGG
ACTGAGGGCAGGCTGTAACAGGCTTGGGGGCCAGGGCTTATACGTGCCTGGGACTCCCAAAGTATTACTGTTCCA
TGTTCCCGGCGAAGGGCCAGCTGTCCCCCGCCAGCTAGACTCAGCACTTAGTTTAGGAACCAGTGAGCAAGTCAG
CCCTTGGGGCAGCCCATACAAGGCCATGGGGCTGGGCAAGCTGCACGCCTGGGTCCGGGGGTGGGCACGGTGCCC
GGGCAACGAGCTGAAAGCTCATCTGCTCTCAGGGGCCCCTCCCTGGGGACAGCCCCTCCTGGCTAGTCACACCCT
GTAGGCTCCTCTATATAACCCAGGGGCACAGGGGCTGCCCCCGGGTCACCACCACCTCCACAGCACAGACAGACA
CTCAGGAGCCAGCCAGCCAGGTAAGTTTAGTCTTTTTGTCTTTTATTTCAGGTCCCGGATCCGGTGGTGGTGCAAA
TCAAAGAACTGCTCCTCAGTGGATGTTGCCTTTACTTCTAGGCCTGTACGGAAGTGTTACTTCTGCTCTAAAAGCTG
CGGAATTGTACCCGCGGCCGCCACC**ATGCTGTGGTGGGAGGAGGTGGAGGATTGTTATGAAAGGGAGGACGTGC**
AGAAGAAGACTTTTACCAAGTGGGTGAACGCTCAGTTCAGCAAATTTGGGAAGCAGCACATCGAGAATCTGTTTT
CCGACCTGCAGGATGGGAGACGGCTGCTGGATCTGCTGGAAGGACTGACTGGCCAGAAGCTGCCCAAAGAGAAG
GGGAGCACTAGGGTGCACGCCCTGAACAACGTGAACAAAGCTCTGAGAGTGCTGCAGAACAACAACGTGGATCT
GGTGAATATTGGCAGTACTGATATCGTGGACGGGAACCACAAACTGACACTGGGCCTGATCTGGAACATTATTCT
GCACTGGCAGGTGAAAAATGTGATGAAGAACATCATGGCCGGGCTGCAGCAGACCAATTCCGAGAAGATCCTGC

도면6b

TGTCTTGGGTGCGGCAGAGCACCCGCAACTATCCCCAGGTGAACGTGATTAACTTCACTACATCCTGGAGCGACG
GGCTGGCCCTGAATGCTCTGATTCACAGCCACAGGCCTGATCTGTTCGACTGGAATAGCGTGGTGTGCCAGCAGT
CTGCCACACAGCGCCTGGAACATGCCTTCAATATCGCTCGGTACCAGCTGGGGATCGAAAAACTGCTGGACCCAG
AGGATGTGGACACTACATACCCAGATAAAAAGTCTATTCTGATGTACATTACTAGCCTGTTCCAGGTGCTGCCACA
GCAGGTGTCTATTGAAGCCATTCAGGAGGTGGAAATGCTGCCCCGCCCCCCCAAAGTGACTAAAGAGGAGCATTT
TCAGCTGCATCATCAGATGCATTACAGCCAGCAGATTACCGTGAGCCTGGCTCAGGGATATGAGCGCACCAGTAG
TCCAAAACCACGGTTCAAGTCCTACGCTTATACCCAGGCTGCCTACGTGACAACTAGCGACCCTACTAGATCCCCCT
TTCCATCCCAGCACCTGGAGGCCCCAGAGGACAAGAGCTTTGGGTCCAGCCTGATGGAAAGCGAGGTGAATCTG
GATCGGTACCAGACAGCCCTGGAGGAGGTGCTGAGCTGGCTGCTGAGTGCTGAAGACACACTGCAGGCCCAGGG
CGAAATTTCCAATGACGTGGAAGTGGTGAAGGATCAGTTCCACACACACGAGGGCTATATGATGGACCTGACAGC
TCACCAGGGGCGCGTGGGCAATATCCTGCAGCTGGGCTCTAAACTGATCGGCACCGGGAAACTGAGTGAGGACG
AGGAAACAGAAGTGCAGGAGCAGATGAACCTGCTGAACAGCCGCTGGGAGTGTCTGAGAGTGGCTAGTATGGA
GAAGCAGTCCAACCTGCACCGGGTGCTGATGGACCTGCAGAACCAGAAACTGAAAGAGCTGAACGACTGGCTGA
CAAAGACTGAGGAACGCACAAGGAAGATGGAGGAGGAGCCACTGGGACCCGACCTGGAGGATCTGAAGAGACA
GGTGCAGCAGCATAAGGTGCTGCAGGAGGATCTGGAACAGGAGCAGGTGCGGGTGAACTCCCTGACACATATGG
TGGTGGTGGTGGACGAATCTAGTGGAGATCACGCCACCGCCGCCCTGGAGGAACAGCTGAAGGTGCTGGGGGAC
CGGTGGGCCAACATTTGCCGGTGGACCGAGGACAGGTGGGTGCTGCTGCAGGACATCCTGCTGAAATGGCAGAG
GCTGACCGAGGAGCAGTGTCTGTTTAGTGCTTGGCTGAGCGAGAAAGAGGACGCCGTGAACAAGATCCACACAA
CCGGCTTTAAGGATCAGAACGAAATGCTGTCTAGCCTGCAGAAACTGGCTGTGCTGAAGGCCGATCTGGAGAAAA
AGAAGCAGAGCATGGGCAAACTGTATAGCCTGAAACAGGACCTGCTGAGCACCCTGAAGAACAAGAGCGTGACC
CAGAAGACAGAAGCCTGGCTGGATAACTTTGCCCGCTGCTGGGACAACCTGGTGCAGAAACTGGAGAAAAGTAC
AGCTCAGATCTCTCAGGCTGTGACCACAACCCAGCCTAGCCTGACCCAGACAACCGTGATGGAAACCGTGACCACC
GTGACAACCCGCGAACAGATCCTGGTGAAACATGCCCAGGAAGAGCTGCCACCTCCACCTCCCCAGAAGAAGAGA
ACCCTGGAGCGGCTGCAGGAGCTGCAGGAAGCCACTGACGAACTGGACCTGAAGCTGAGGCAGGCCGAAGTGAT
TAAGGGGTCTTGGCAGCCTGTGGGCGATCTGCTGATTGATTCCCTGCAGGACCACCTGGAAAAGGTGAAGGCTCT
GAGAGGCGAAATTGCTCCACTGAAGGAGAACGTGAGTCATGTGAACGATCTGGCTAGACAGCTGACAACACTGG
GCATCCAGCTGAGCCCATACAATCTGAGCACACTGGAGGACCTGAATACCAGGTGGAAGCTGCTGCAGGTGGCTG
TGGAAGACCGGGTGCGGCAGCTGCATGAGGCCCATCGCGACTTCGGACCAGCCAGCCAGCACTTTCTGAGCACAT
CCGTGCAGGGGCCCTGGGAGAGGGCCATTTCTCCCAACAAGGTGCCCTACTATATTAATCACGAGACCCAGACCA
CTTGTTGGGACCATCCCAAGATGACAGAACTGTACCAGTCCCTGGCCGATCTGAACAACGTGAGGTTTAGCGCTTA
CAGAACCGCTATGAAGCTGAGACGGCTGCAGAAGGCCCTGTGCCTGGATCTGCTGTCCCTGTCCGCCGCCTGCGA
TGCCCTGGATCAGCATAATCTGAAGCAGAACGATCAGCCAATGGATATCCTGCAGATCATCAACTGCCTGACCACT

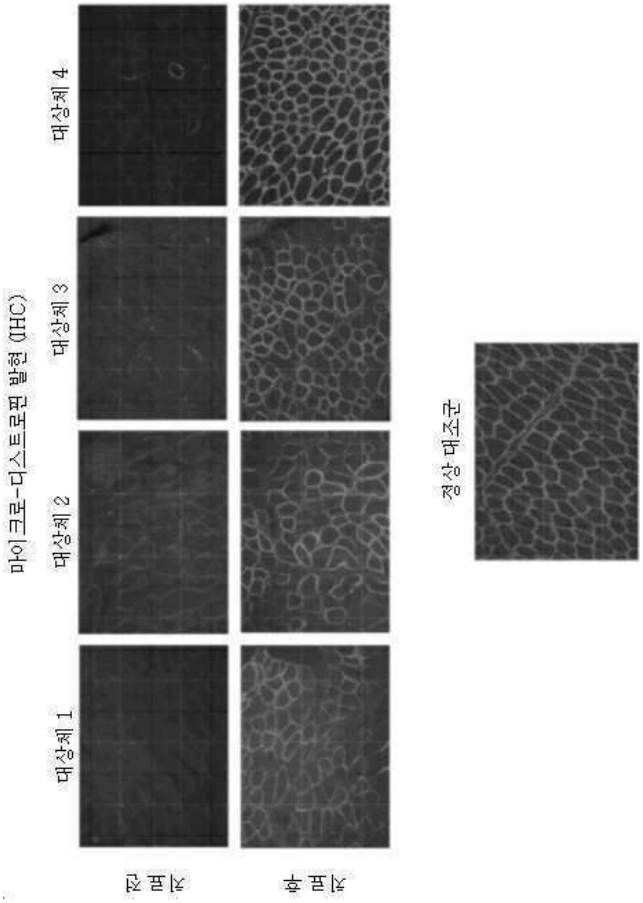
도면6c

ATCTACGACAGGCTGGAGCAGGAGCACAACAACCTGGTGAACGTGCCTCTGTGCGTGGATATGTGCCTGAACTGG
CTGCTGAACGTGTATGACACTGGGGCGCACCGGCCGGATCAGAGTGCTGAGTTTTAAAACTGGGATTATCTCCCTGT
GTAAGGCCCACCTGGAGGACAAGTACAGGTACCTGTTCAAGCAGGTGGCTAGTAGCACTGGATTTTGTGACCAGC
GCCGCCTGGGACTGCTGCTGCATGATAGTATCCAGATTCCTAGACAGCTGGGAGAGGTGGCTAGTTTCGGAGGAT
CTAACATCGAACCCAGCGTGCGCAGCTGTTTCCAGTTTGCCAATAACAAACCTGAAATCGAGGCTGCTCTGTTCCT
GGATTGGATGCGCCTGGAACCACAGAGCATGGTGTGGCTGCCTGTGCTGCACAGAGTGGCTGCCGCCGAAACTG
CCAAGCACCAGGCTAAATGCAACATCTGCAAGGAATGTCCCATTATCGGCTTTCGCTACAGGAGTCTGAAACATTT
TAACTACGATATTTGCCAGAGCTGCTTCTTTTCCGGAAGAGTGGCCAAAGGACACAAGATGCACTACCCTATGGTG
GAATATTGCACCCCAACTACATCTGGCGAAGATGTGCGCGATTTTGCCAAGGTGCTGAAGAATAAGTTTCGGACTA
AGAGGTACTTCGCCAAGCACCCCCGCATGGGGTATCTGCCAGTGCAGACAGTGCTGGAAGGAGACAATATGGAG
ACCGATACAATGTGAGC**GGCCGCAATAAAAGATCTTTATTTTCATTAGATCTGTGTGTTGGTTTTTTGTGTG**TCTA
GAGCATGGCTACGTAGATAAGTAGCATGGCGGGTTAATCATTAACTACA**AGGAACCCCTAGTGATGGAGTTGGC**
CACTCCCTCTCTGCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGGCCGGGCGACCAAAGGTCGCCCGACGCCCGGGCTTTGCCCG
GGCGGCCTCAGTGAGCGAGCGAGCGCGCCAGCTGGCGTAATAGCGAAGAGGCCCGCACCGATCGCCCTTCCCAA
CAGTTGCGCAGCCTGAATGGCGAATGGAAGTTCCAGACGATTGAGCGTCAAAATGTAGGTATTTCCATGAGCGTT
TTTCCTGTTGCAATGGCTGGCGGTAATATTGTTCTGGATATTACCAGCAAGGCCGATAGTTTGAGTTCTTCTACTCA
GGCAAGTGATGTTATTACTAATCAAAGAAGTATTGCGACAACGGTTAATTTGCGTGATGGACAGACTCTTTTACTC
GGTGGCCTCACTGATTATAAAAACACTTCTCAGGATTCTGGCGTACCGTTCCTGTCTAAAATCCCTTTAATCGGCCT
CCTGTTTAGCTCCCGCTCTGATTCTAACGAGGAAAGCACGTTATACGTGCTCGTCAAAGCAACCATAGTACGCGCC
CTGTAGCGGCGCATTAAGCGCGGCGGGTGTGGTGGTTACGCGCAGCGTGACCGCTACACTTGCCAGCGCCCTAGC
GCCCGCTCCTTTCGCTTTCTTCCCTTCCTTTCTCGCCACGTTCGCCGGCTTTCCCCGTCAAGCTCTAAATCGGGGGCT
CCCTTTAGGGTTCCGATTTAGTGATTTACGGCACCTCGACCCCAAAAAACTTGATTAGGGTGATGGTTCACGTAGT
GGGCCATCGCCCTGATAGACGGTTTTTCGCCCTTTGACGTTGGAGTCCACGTTCTTTAATAGTGGACTCTTGTTCCA
AACTGGAACAACACTCAACCCTATCTCGGTCTATTCTTTTGATTTATAAGGGATTTTGCCGATTTCGGCCTATTGGTT
AAAAAATGAGCTGATTTAACAAAAATTTAACGCGAATTTTAACAAAATATTAACGTTTACAATTTAAATATTTGCTT
ATACAATCTTCCTGTTTTTGGGGCTTTTCTGATTATCAACCGGGGTACATATGATTGACATGCTAGTTTTACGATTAC
CGTTCATCGATTCTCTTGTTTGCTCCAGACTCTCAGGCAATGACCTGATAGCCTTTGTAGAGACCTCTCAAAAATAG
CTACCCTCTCCGGCATGAATTTATCAGCTAGAACGGTTGAATATCATATTGATGGTGATTTGACTGTCTCCGGCCTT
TCTCACCCGTTTGAATCTTTACCTACACATTACTCAGGCATTGCATTTAAAATATATGAGGGTTCTAAAAATTTTTAT
CCTTGCGTTGAAATAAAGGCTTCTCCCGCAAAAGTATTACAGGGTCATAATGTTTTTGGTACAACCGATTTAGCTTT
ATGCTCTGAGGCTTTATTGCTTAATTTTGCTAATTCTTTGCCTTGCCTGTATGATTTATTGGATGTTGGAAGTTCCTG
ATGCGGTATTTTCTCCTTACGCATCTGTGCGGTATTTCACACCGCATATGGTGCACTCTCAGTACAATCTGCTCTGAT

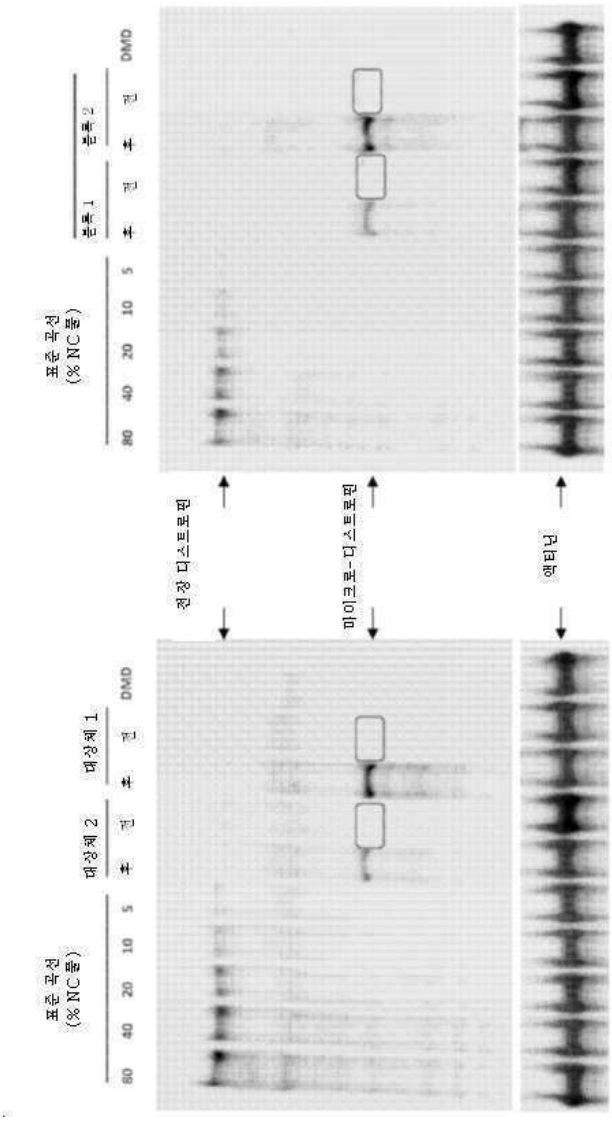
도면6d

GCCGCATAGTTAAGCCAGCCCCGACACCCGCCAACACCCGCTGACGCGCCCTGACGGGCTTGTCTGCTCCCGGCAT
CCGCTTACAGACAAGCTGTGACCGTCTCCGGGAGCTGCATGTGTCAGAGGTTTTCACCGTCATCACCGAAACGCGC
GAGACGAAAGGGCCTCGTGATACGCCTATTTTTATAGGTTAATGTCATGATAATAATGGTTTCTTAGACGTCAGGT
GGCACTTTTCGGGGAAATGTGCGCGGAACCCCTATTTGTTTATTTTTCTAAATACATTCAAATATGTATCCGCTCAT
GAGACAATAACCCTGATAAATGCTTCAATAATATTGAAAAAGGAAGAGTATGAGTATTCAACATTTCCGTGTCGCC
CTTATTCCCTTTTTTGCGGCATTTTGCCTTCCTGTTTTTGCTCACCCAGAAACGCTGGTGAAAGTAAAAGATGCTGAA
GATCAGTTGGGTGCACGAGTGGGTTACATCGAACTGGATCTCAACAGCGGTAAGATCCTTGAGAGTTTTCGCCCC
GAAGAACGTTTTCCAATGATGAGCACTTTTAAAGTTCTGCTATGTGGCGCGGTATTATCCCGTATTGACGCCGGGC
AAGAGCAACTCGGTCGCCGCATACACTATTCTCAGAATGACTTGGTTGAGTACTCACCAGTCACAGAAAAGCATCT
TACGGATGGCATGACAGTAAGAGAATTATGCAGTGCTGCCATAACCATGAGTGATAACACTGCGGCCAACTTACTT
CTGACAACGATCGGAGGACCGAAGGAGCTAACCGCTTTTTTGCACAACATGGGGGATCATGTAACTCGCCTTGAT
CGTTGGGAACCGGAGCTGAATGAAGCCATACCAAACGACGAGCGTGACACCACGATGCCTGTAGCAATGGCAAC
AACGTTGCGCAAACTATTAACTGGCGAACTACTTACTCTAGCTTCCCGGCAACAATTAATAGACTGGATGGAGGCG
GATAAAGTTGCAGGACCACTTCTGCGCTCGGCCCTTCCGGCTGGCTGGTTTATTGCTGATAAATCTGGAGCCGGTG
AGCGTGGGTCTCGCGGTATCATTGCAGCACTGGGGCCAGATGGTAAGCCCTCCCGTATCGTAGTTATCTACACGAC
GGGGAGTCAGGCAACTATGGATGAACGAAATAGACAGATCGCTGAGATAGGTGCCTCACTGATTAAGCATTGGT
AACTGTCAGACCAAGTTTACTCATATATACTTTAGATTGATTTAAAACTTCATTTTTAATTTAAAAGGATCTAGGTGA
AGATCCTTTTTGATAATCTCATGACCAAAATCCCTTAACGTGAGTTTTCGTTCCACTGAGCGTCAGACCCCGTAGAA
AAGATCAAAGGATCTTCTTGAGATCCTTTTTTTCTGCGCGTAATCTGCTGCTTGCAAACAAAAAAACCACCGCTACC
AGCGGTGGTTTGTTTGCCGGATCAAGAGCTACCAACTCTTTTTCCGAAGGTAACTGGCTTCAGCAGAGCGCAGATA
CCAAATACTGTCCTTCTAGTGTAGCCGTAGTTAGGCCACCACTTCAAGAACTCTGTAGCACCGCGTACATACCTCGC
TCTGCTAATCCTGTTACCAGTGGCTGCTGCCAGTGGCGATAAGTCGTGTCTTACCGGGTTGGACTCAAGACGATAG
TTACCGGATAAGGCGCAGCGGTCGGGCTGAACGGGGGGTTCGTGCACACAGCCCAGCTTGGAGCGAACGACCTA
CACCGAACTGAGATACCTACAGCGTGAGCTATGAGAAAGCGCCACGCTTCCCGAAGGGAGAAAGGCGGACAGGT
ATCCGGTAAGCGGCAGGGTCGGAACAGGAGAGCGCACGAGGGAGCTTCCAGGGGGAAACGCCTGGTATCTTTAT
AGTCCTGTCGGGTTTCGCCACCTCTGACTTGAGCGTCGATTTTTGTGATGCTCGTCAGGGGGGCGGAGCCTATGGA
AAAACGCCAGCAACGCGGCCTTTTTACGGTTCCTGGCCTTTTGCTGGCCTTTTGCTCACATGTTCTTTCCTGCGTTAT
CCCCTGATTCTGTGGATAACCGTATTACCGGGTTTGAGTGAGCTGATACCGCTCGCCGCAGCCGAACGACCGAGC
GCAGCGAGTCAGTGAGCGACCAAGCGGAAGAGC

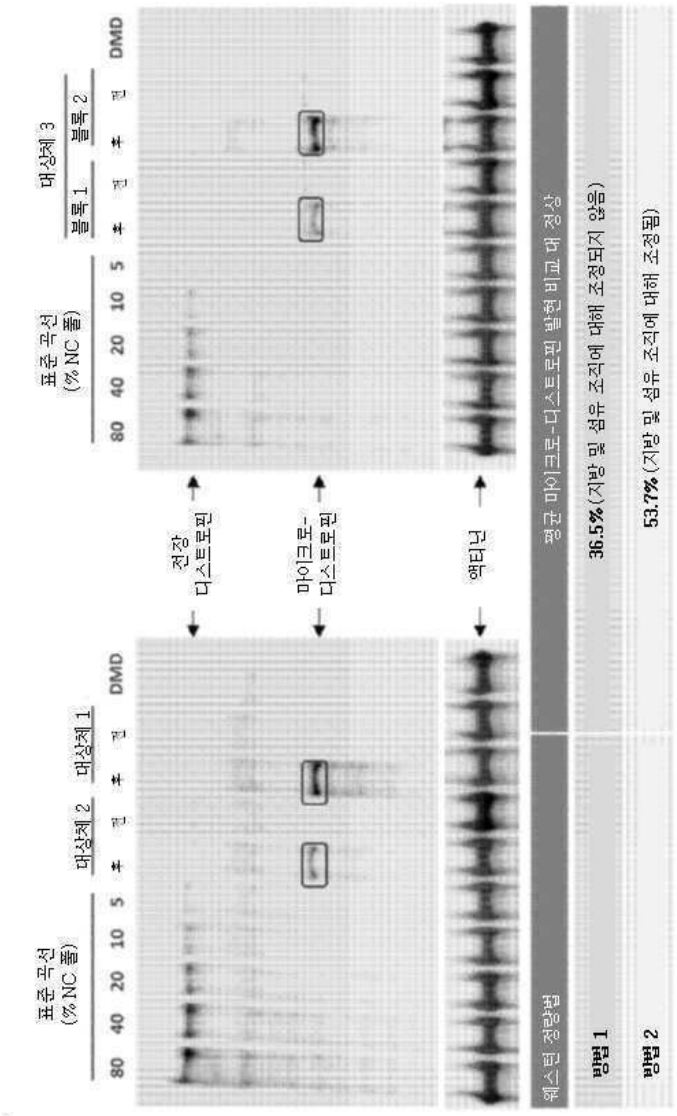
도면7



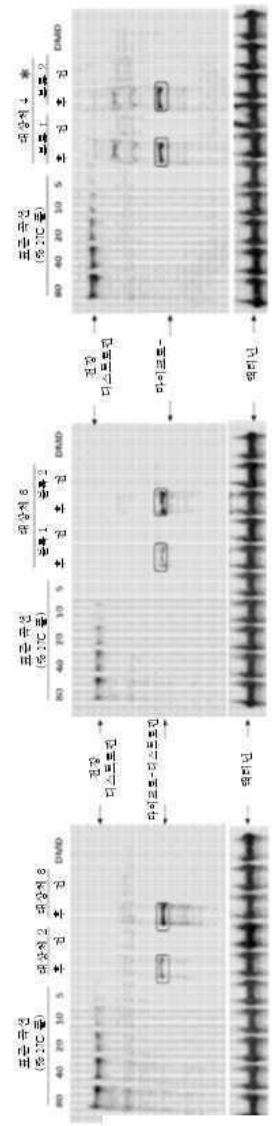
도면8a



도면8b

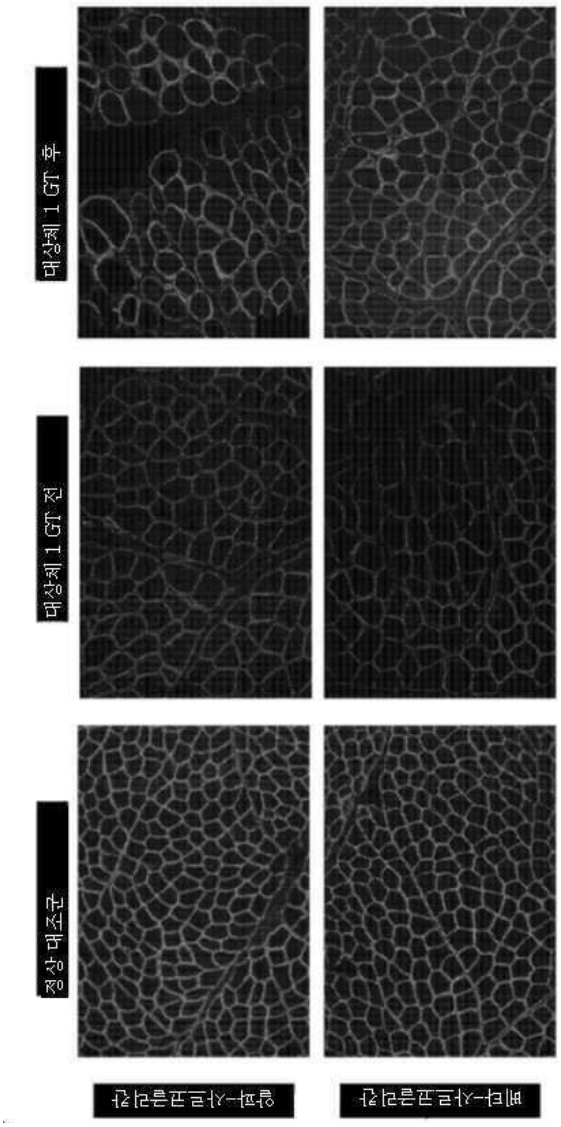

표준 곡선
(% NC 돌)
80 40 20 10 5
대상체 2
대상체 1
DMD
전장
디스트로핀
마이크로-
디스트로핀
액티닌
대상체 3
블록 1
블록 2
DMD
웨스턴 정량법
평균 마이크로-디스트로핀 발현 비교 대 정상
방법 1
36.5% (지방 및 섬유 조직에 대해 조정되지 않음)
방법 2
53.7% (지방 및 섬유 조직에 대해 조정됨)

도면8c

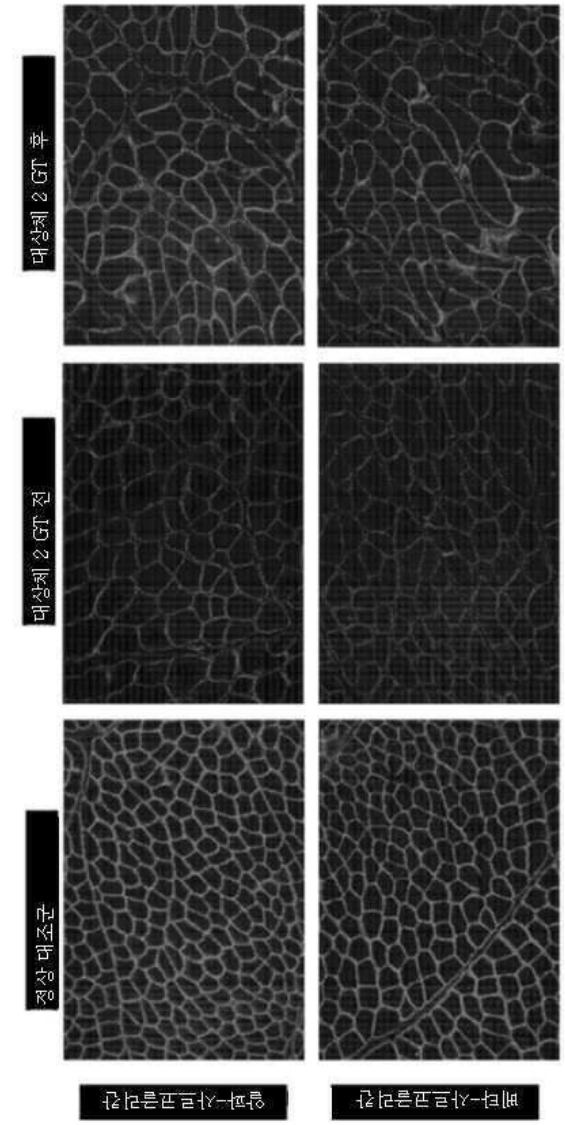


웨스턴 정량법	평균 마이크로-디스트로핀 발현 (N=4) 대 정상
방법 1	**74.3%** (지방 및 섬유 조직에 대해 조정되지 않음)
방법 2	**95.8%** (지방 및 섬유 조직에 대해 조정됨)

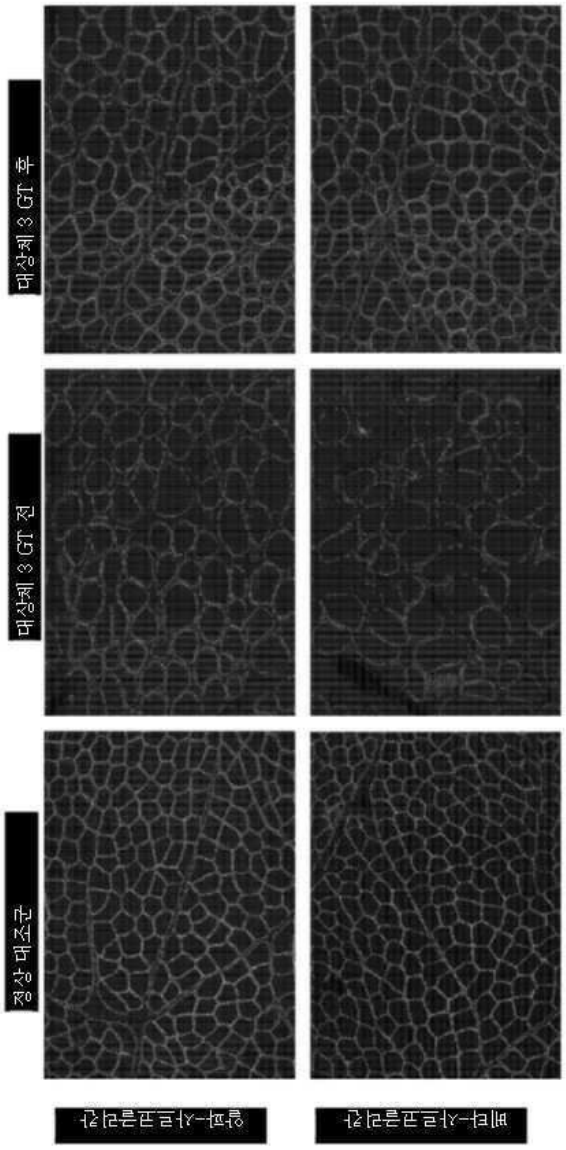
도면9a



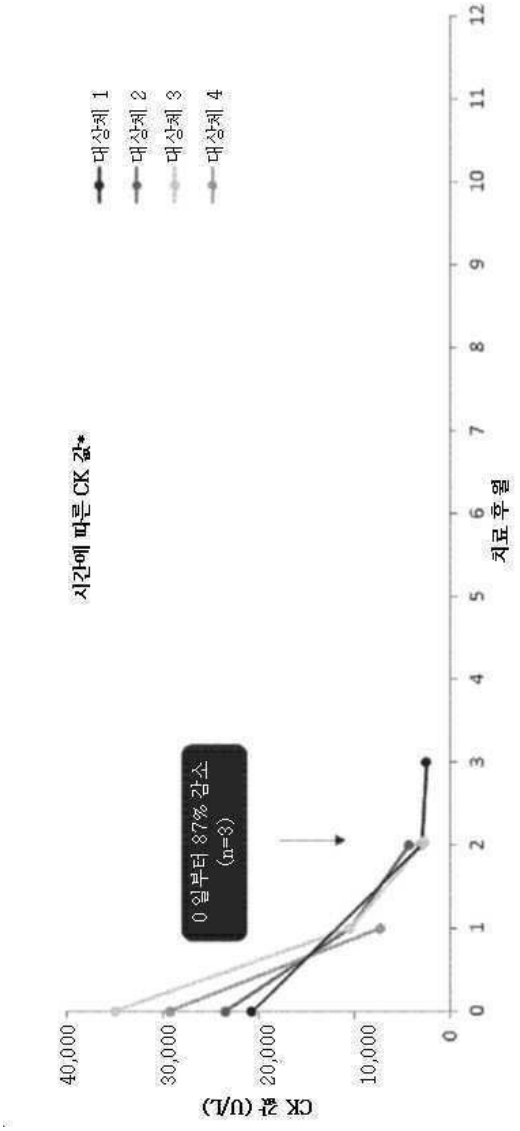
도면9b



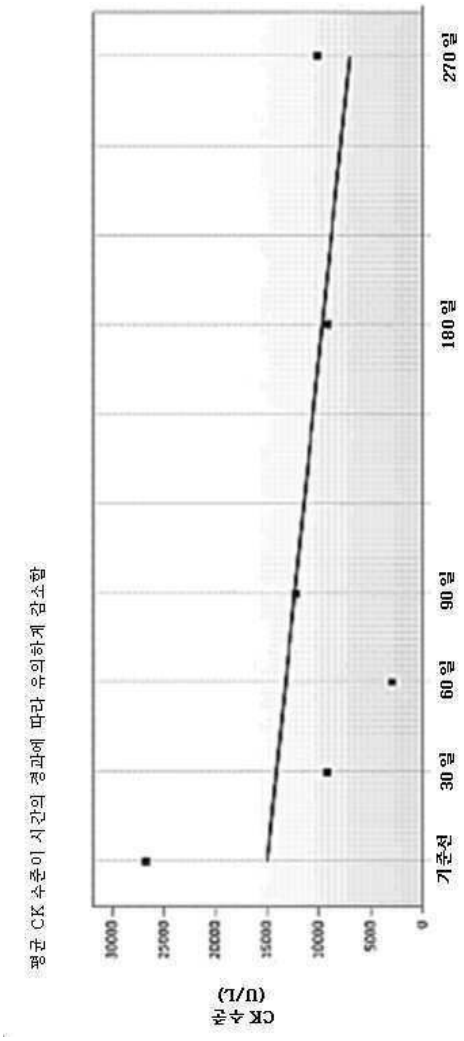
도면9c



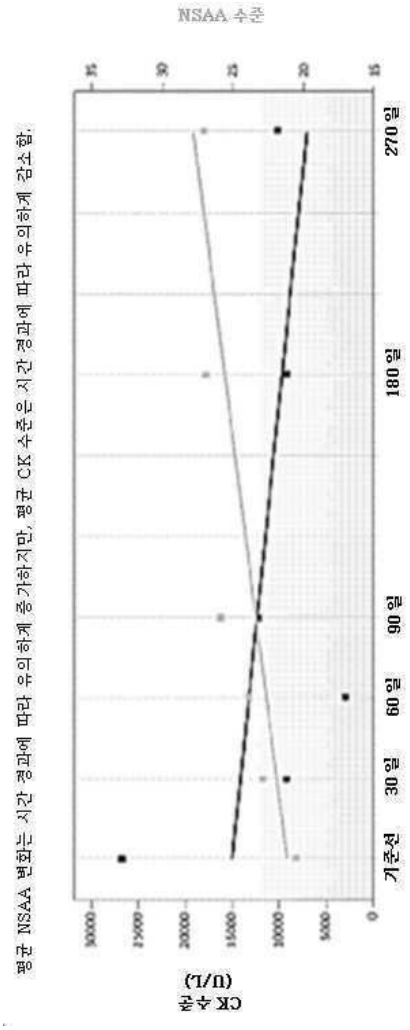
도면10


시간에 따른 CK 값*
대상체 1
대상체 2
대상체 3
대상체 4
0 일부터 87% 감소
(n=3)
CK 값 (U/L)
40,000
30,000
20,000
10,000
0
0
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
치료 후 월

도면11


평균 CK 수준이 시간의 경과에 따라 유의하게 감소함
CK 수준
(U/L)
30000
25000
20000
15000
10000
5000
0
기준선
30 일
60 일
90 일
180 일
270 일

도면12


NSAA 수준
CK 수준 (U/L)
기준선
30 일
60 일
90 일
180 일
270 일
평균 NSAA 변화는 시간 경과에 따라 유의하게 증가하지만, 평균 CK 수준은 시간 경과에 따라 유의하게 감소함.

도면13a

서열번호 9
rAAVrh74.MHCK7.microdystrophin

주요 특징:
ITR
MHCK7 프로모터
키메라 인트론 서열
인간 마이크로-디스트로핀 서열
폴리 A 꼬리

GCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGGCCGCCCGGGCAAAGCCCGGGCGTCGGGCG
ACCTTTGGTCGCCCGGCCTCAGTGAGCGAGCGAGCGCGCAGAGAGGGAGTGG
CCAACTCCATCACTAGGGGTTCCTTGTAGTTAATGATTAACCCGCCATGCTACTT
ATCTACGTAGCCATGCTCTAGAgtttaaacaagcttgcatgtctaagctagaccctttcagattaaaaataactgaggtaa
gggcctgggtagggaggtggtgtgagacgctcctgtctctcctctatctgcccatcggccctttgggagaggaatgtgcccaaggact
aaaaaaaggccatggagccagagggcgagggcaacagaccttttcatgggcaaaccttgggggccctgctgtctagcatgccccactacg
ggtctaggctgcccatgtaaggaggcaaggcctgggacacccgagatgcctggttataattaacccagacatgtggctgccccccccc
cccaacacctgctgcctctaaaaataacccctgtccctggtggatccccctgcatgcgaagatcttcgaacaaggctgtgggggactgaggac
aggctgtaacaggcttgggggccagggcttatacgtgcctgggactcccaaagtattactgttccatgttcccggcgaagggccagctgtcc
cccgccagctagactcagcacttagtttaggaaccagtgagcaagtcagcccttgggcagcccatacaaggccatgggctgggcaag
ctgcacgcctgggtccgggtgggcacggtgcccgggcaacgagctgaaagctcatctgctctcaggggcccctcccctgggacagcc
cctcctggctagtcacaccctgtaggctcctctatataacccagggcacaggggctgccctcattctaccaccacctccacagcacagaca
gacactcaggagcagccagcggcgccgcccAGGTAAGTTTAGTCTTTTTGTCTTTTATTTCAGGTCCCG
GATCCGGTGGTGGTGCAAATCAAAGAACTGCTCCTCAGTGGATGTTGCCTTTACTTC
TAGGCCTGTACGGAAGTGTTACTTCTGCTCTAAAAGCTGCGGAATTGTACCCGCGGC
CGCCACCATGCTGTGGTGGGAGGAGGTGGAGGATTGTTATGAAAGGGAGGACGTGC
AGAAGAAGACTTTTACCAAGTGGGTGAACGCTCAGTTCAGCAAATTTGGGAAGCAG
CACATCGAGAATCTGTTTTCCGACCTGCAGGATGGGAGACGGCTGCTGGATCTGCTG
GAAGGACTGACTGGCCAGAAGCTGCCCAAAGAGAAGGGGAGCACTAGGGTGCACG
CCCTGAACAACGTGAACAAAGCTCTGAGAGTGCTGCAGAACAACAACGTGGATCTG
GTGAATATTGGCAGTACTGATATCGTGGACGGGAACCACAAACTGACACTGGGCCT
GATCTGGAACATTATTCTGCACTGGCAGGTGAAAAATGTGATGAAGAACATCATGG
CCGGGCTGCAGCAGACCAATTCCGAGAAGATCCTGCTGTCTTGGGGTGCGGCAGAGC
ACCCGCAACTATCCCCAGGTGAACGTGATTAACTTCACTACATCCTGGAGCGACGGG
CTGGCCCTGAATGCTCTGATTCACAGCCACAGGCCTGATCTGTTCGACTGGAATAGC
GTGGTGTGCCAGCAGTCTGCCACACAGCGCCTGGAACATGCCTTCAATATCGCTCGG
TACCAGCTGGGGATCGAAAAACTGCTGGACCCAGAGGATGTGGACACTACATACCC
AGATAAAAAGTCTATTCTGATGTACATTACTAGCCTGTTCCAGGTGCTGCCACAGCA
GGTGTCTATTGAAGCCATTCAGGAGGTGGAAATGCTGCCCCGCCCCCCCAAAGTGA
CTAAAGAGGAGCATTTTCAGCTGCATCATCAGATGCATTACAGCCAGCAGATTACCG
TGAGCCTGGCTCAGGGATATGAGCGCACCAGTAGTCCAAAACCACGGTTCAAGTCC
TACGCTTATACCCAGGCTGCCTACGTGACAACTAGCGACCCTACTAGATCCCCCTTT
CCATCCCAGCACCTGGAGGCCCCAGAGGACAAGAGCTTTGGGTCCAGCCTGATGGA

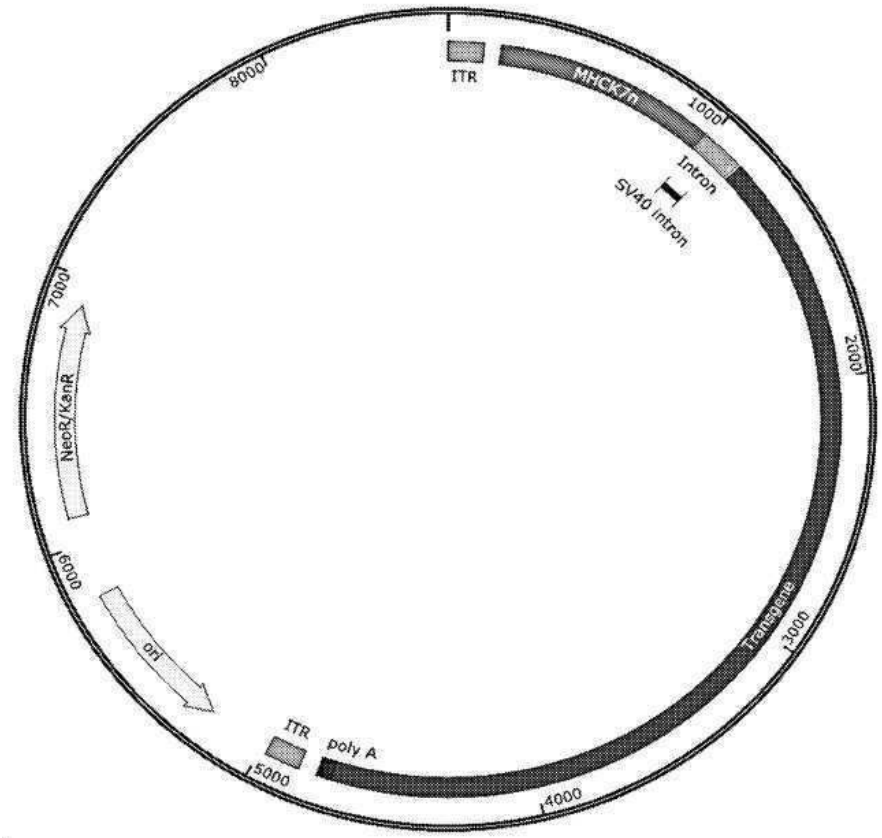
도면13b

AAGCGAGGTGAATCTGGATCGGTACCAGACAGCCCTGGAGGAGGTGCTGAGCTGGC
TGCTGAGTGCTGAAGACACACTGCAGGCCCAGGGCGAAATTTCCAATGACGTGGAA
GTGGTGAAGGATCAGTTCCACACACACGAGGGCTATATGATGGACCTGACAGCTCA
CCAGGGGCGCGTGGGCAATATCCTGCAGCTGGGCTCTAAACTGATCGGCACCGGGA
AACTGAGTGAGGACGAGGAAACAGAAGTGCAGGAGCAGATGAACCTGCTGAACAG
CCGCTGGGAGTGTCTGAGAGTGGCTAGTATGGAGAAGCAGTCCAACCTGCACCGGG
TGCTGATGGACCTGCAGAACCAGAAACTGAAAGAGCTGAACGACTGGCTGACAAAG
ACTGAGGAACGCACAAGGAAGATGGAGGAGGAGCCACTGGGACCCGACCTGGAGG
ATCTGAAGAGACAGGTGCAGCAGCATAAGGTGCTGCAGGAGGATCTGGAACAGGA
GCAGGTGCGGGTGAACTCCCTGACACATATGGTGGTGGTGGTGGACGAATCTAGTG
GAGATCACGCCACCGCCGCCCTGGAGGAACAGCTGAAGGTGCTGGGGGACCGGTGG
GCCAACATTTGCCGGTGGACCGAGGACAGGTGGGTGCTGCTGCAGGACATCCTGCT
GAAATGGCAGAGGCTGACCGAGGAGCAGTGTCTGTTTAGTGCTTGGCTGAGCGAGA
AAGAGGACGCCGTGAACAAGATCCACACAACCGGCTTTAAGGATCAGAACGAAATG
CTGTCTAGCCTGCAGAAACTGGCTGTGCTGAAGGCCGATCTGGAGAAAAAGAAGCA
GAGCATGGGCAAACTGTATAGCCTGAAACAGGACCTGCTGAGCACCCTGAAGAACA
AGAGCGTGACCCAGAAGACAGAAGCCTGGCTGGATAACTTTGCCCGCTGCTGGGAC
AACCTGGTGCAGAAACTGGAGAAAAGTACAGCTCAGATCTCTCAGGCTGTGACCAC
AACCCAGCCTAGCCTGACCCAGACAACCGTGATGGAAACCGTGACCACCGTGACAA
CCCGCGAACAGATCCTGGTGAAACATGCCCAGGAAGAGCTGCCACCTCCACCTCCC
CAGAAGAAGAGAACCCTGGAGCGGCTGCAGGAGCTGCAGGAAGCCACTGACGAAC
TGGACCTGAAGCTGAGGCAGGCCGAAGTGATTAAGGGGTCTTGGCAGCCTGTGGGC
GATCTGCTGATTGATTCCCTGCAGGACCACCTGGAAAAGGTGAAGGCTCTGAGAGG
CGAAATTGCTCCACTGAAGGAGAACGTGAGTCATGTGAA
CGATCTGGCTAGACAGCTGACAACACTGGGCATCCAGCTGAGCCCATACAATCTGA
GCACACTGGAGGACCTGAATACCAGGTGGAAGCTGCTGCAGGTGGCTGTGGAAGAC
CGGGTGCGGCAGCTGCATGAGGCCCATCGCGACTTCGGACCAGCCAGCCAGCACTT
TCTGAGCACATCCGTGCAGGGGCCCTGGGAGAGGGCCATTTCTCCCAACAAGGTGC
CCTACTATATTAATCACGAGACCCAGACCACTTGTTGGGACCATCCCAAGATGACAG
AACTGTACCAGTCCCTGGCCGATCTGAACAACGTGAGGTTTAGCGCTTACAGAACCG
CTATGAAGCTGAGACGGCTGCAGAAGGCCCTGTGCCTGGATCTGCTGTCCCTGTCCG
CCGCCTGCGATGCCCTGGATCAGCATAATCTGAAGCAGAACGATCAGCCAATGGAT
ATCCTGCAGATCATCAACTGCCTGACCACTATCTACGACAGGCTGGAGCAGGAGCA
CAACAACCTGGTGAACGTGCCTCTGTGCGTGGATATGTGCCTGAACTGGCTGCTGAA
CGTGTATGACACTGGGCGCACCGGCCGGATCAGAGTGCTGAGTTTTAAAACTGGGA
TTATCTCCCTGTGTAAGGCCCACCTGGAGGACAAGTACAGGTACCTGTTCAAGCAGG
TGGCTAGTAGCACTGGATTTTGTGACCAGCGCCGCCTGGGACTGCTGCTGCATGATA
GTATCCAGATTCCTAGACAGCTGGGAGAGGTGGCTAGTTTCGGAGGATCTAACATCG
AACCCAGCGTGCGCAGCTGTTTCCAGTTTGCCAATAACAAACCTGAAATCGAGGCTG
CTCTGTTCCTGGATTGGATGCGCCTGGAACCACAGAGCATGGTGTGGCTGCCTGTGC
TGCACAGAGTGGCTGCCGCCGAAACTGCCAAGCACCAGGCTAAATGCAACATCTGC
AAGGAATGTCCCATTATCGGCTTTCGCTACAGGAGTCTGAAACATTTTAACTACGAT
ATTGCCAGAGCTGCTTCTTTTCCGGAAGAGTGGCCAAAGGACACAAGATGCACTAC
CCTATGGTGGAATATTGCACCCCAACTACATCTGGCGAAGATGTGCGCGATTTTGCC
AAGGTGCTGAAGAATAAGTTTCGGACTAAGAGGTACTTCGCCAAGCACCCCCGCAT
GGGGTATCTGCCAGTGCAGACAGTGCTGGAAGGAGACAATATGGAGACCGATACAA

도면13c

TGTGAGCGGCCGCAATAAAAGATCTTTATTTTCATTAGATCTGTGTGTTGGTTTTTTG
TGTGtctagagtcgaccagagcatggctacgtagataagtagcatggcgg**gttaatcattaactaca**AGGAACCCCTAG
TGATGGAGTTGGCCACTCCCTCTCTGCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGGCCGGG
CGACCAAAGGTCGCCCGACGCCCGGGCTTTGCCCGGGCGGCCTCAGTGAGCG
AGCGAGCGCGC

도면14


ITR
MHCK7n
1000
Intron
SV40 intron
2000
Transgene
3000
4000
poly A
ITR
5000
ori
6000
NeoR/KanR
7000
8000

도면15a

서열번호 8

주요 특징:
ITR
MHCK7 프로모터
키메라 인트론 서열
인간 마이크로-디스트로핀 서열
폴리 A 꼬리
카나마이신 내성

GCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGGCCGCCCGGGCAAAGCCCGGGCGTCGGGCG
ACCTTTGGTCGCCCGGCCTCAGTGAGCGAGCGAGCGCGCAGAGAGGGAGTGG
CCAACTCCATCACTAGGGGTTCCTTGTAGTTAATGATTAACCCGCCATGCTACTT
ATCTACGTAGCCATGCTCTAGAgtttaaacaagcttgcatgtctaagctagaccctttcagattaaaaataactgaggtaa
gggcctgggtagggggaggtgtgtgagacgctcctgtctctcctctatctgcccatcggccctttgggggaggaggaatgtgcccaaggact
aaaaaaggccatggagccagagggcgagggcaacagaccttttcatgggcaaaccttgggggccctgctgtctagcatgccccactacg
gatctaggctgcccatgtaaggagggcaaggcctgggacacccgagatgcctggttataattaacccagacatgtggctgccccccccccc
cccaacacctgctgcctctaaaaataaccctgtccctggtggatccccctgcatgcgaagatcttcgaacaaggctgtgggggactgagggc
aggctgtaacaggcttgggggccagggcttatacgtgcctgggactcccaaagtattactgttccatgttcccggcgaagggccagctgtcc
cccgccagctagactcagcacttagtttaggaaccagtgagcaagtcagcccttgggcagcccatacaaggccatgggctgggcaag
ctgcacgcctgggtccggggtgggcacggtgcccgggcaacgagctgaaagctcatctgctctcaggggcccctccctgggacagcc
cctcctggctagtcacaccctgtaggctcctctatataacccagggcacaggggctgcccttcattctaccaccacctccacagcacagaca
gacactcaggagcagccagcgcgcgcccAGGTAAGTTTAGTCTTTTTGTCTTTTATTTCAGGTCCCG
GATCCGGTGGTGGTGCAAATCAAAGAACTGCTCCTCAGTGGATGTTGCCTTTACTTC
TAGGCCTGTACGGAAGTGTTACTTCTGCTCTAAAAGCTGCGGAATTGTACCCGCGGC
CGCCACCATGCTGTGGTGGGAGGAGGTGGAGGATTGTTATGAAAGGGAGGACGTGC
AGAAGAAGACTTTTACCAAGTGGGTGAACGCTCAGTTCAGCAAATTTGGGAAGCAG
CACATCGAGAATCTGTTTTCCGACCTGCAGGATGGGAGACGGCTGCTGGATCTGCTG
GAAGGACTGACTGGCCAGAAGCTGCCCAAAGAGAAGGGGAGCACTAGGGTGCACG
CCCTGAACAACGTGAACAAAGCTCTGAGAGTGCTGCAGAACAACAACGTGGATCTG
GTGAATATTGGCAGTACTGATATCGTGGACGGGAACCACAAACTGACACTGGGCCT
GATCTGGAACATTATTCTGCACTGGCAGGTGAAAAATGTGATGAAGAACATCATGG
CCGGGCTGCAGCAGACCAATTCCGAGAAGATCCTGCTGTCTTGGGTGCGGCAGAGC
ACCCGCAACTATCCCCAGGTGAACGTGATTAACTTCACTACATCCTGGAGCGACGGG
CTGGCCCTGAATGCTCTGATTCACAGCCACAGGCCTGATCTGTTCGACTGGAATAGC
GTGGTGTGCCAGCAGTCTGCCACACAGCGCCTGGAACATGCCTTCAATATCGCTCGG
TACCAGCTGGGGATCGAAAAACTGCTGGACCCAGAGGATGTGGACACTACATACCC
AGATAAAAAGTCTATTCTGATGTACATTACTAGCCTGTTCCAGGTGCTGCCACAGCA
GGTGTCTATTGAAGCCATTCAGGAGGTGGAAATGCTGCCCCGCCCCCCCAAAGTGA
CTAAAGAGGAGCATTTTCAGCTGCATCATCAGATGCATTACAGCCAGCAGATTACCG

도면15b


TGAGCCTGGCTCAGGGATATGAGCGCACCAGTAGTCCAAAACCACGGTTCAAGTCC
TACGCTTATACCCAGGCTGCCTACGTGACAACTAGCGACCCTACTAGATCCCCCTTT
CCATCCCAGCACCTGGAGGCCCCAGAGGACAAGAGCTTTGGGTCCAGCCTGATGGA
AAGCGAGGTGAATCTGGATCGGTACCAGACAGCCCTGGAGGAGGTGCTGAGCTGGC
TGCTGAGTGCTGAAGACACACTGCAGGCCCAGGGCGAAATTTCCAATGACGTGGAA
GTGGTGAAGGATCAGTTCCACACACACGAGGGCTATATGATGGACCTGACAGCTCA
CCAGGGGCGCGTGGGCAATATCCTGCAGCTGGGCTCTAAACTGATCGGCACCGGGA
AACTGAGTGAGGACGAGGAAACAGAAGTGCAGGAGCAGATGAACCTGCTGAACAG
CCGCTGGGAGTGTCTGAGAGTGGCTAGTATGGAGAAGCAGTCCAACCTGCACCGGG
TGCTGATGGACCTGCAGAACCAGAAACTGAAAGAGCTGAACGACTGGCTGACAAAG
ACTGAGGAACGCACAAGGAAGATGGAGGAGGAGCCACTGGGACCCGACCTGGAGG
ATCTGAAGAGACAGGTGCAGCAGCATAAGGTGCTGCAGGAGGATCTGGAACAGGA
GCAGGTGCGGGTGAACTCCCTGACACATATGGTGGTGGTGGTGGACGAATCTAGTG
GAGATCACGCCACCGCCGCCCTGGAGGAACAGCTGAAGGTGCTGGGGGACCGGTGG
GCCAACATTTGCCGGTGGACCGAGGACAGGTGGGTGCTGCTGCAGGACATCCTGCT
GAAATGGCAGAGGCTGACCGAGGAGCAGTGTCTGTTTAGTGCTTGGCTGAGCGAGA
AAGAGGACGCCGTGAACAAGATCCACACAACCGGCTTTAAGGATCAGAACGAAATG
CTGTCTAGCCTGCAGAAACTGGCTGTGCTGAAGGCCGATCTGGAGAAAAAGAAGCA
GAGCATGGGCAAACTGTATAGCCTGAAACAGGACCTGCTGAGCACCCTGAAGAACA
AGAGCGTGACCCAGAAGACAGAAGCCTGGCTGGATAACTTTGCCCGCTGCTGGGAC
AACCTGGTGCAGAAACTGGAGAAAAGTACAGCTCAGATCTCTCAGGCTGTGACCAC
AACCCAGCCTAGCCTGACCCAGACAACCGTGATGGAAACCGTGACCACCGTGACAA
CCCGCGAACAGATCCTGGTGAAACATGCCCAGGAAGAGCTGCCACCTCCACCTCCC
CAGAAGAAGAGAACCCTGGAGCGGCTGCAGGAGCTGCAGGAAGCCACTGACGAAC
TGGACCTGAAGCTGAGGCAGGCCGAAGTGATTAAGGGGTCTTGGCAGCCTGTGGGC
GATCTGCTGATTGATTCCCTGCAGGACCACCTGGAAAAGGTGAAGGCTCTGAGAGG
CGAAATTGCTCCACTGAAGGAGAACGTGAGTCATGTGAACGATCTGGCTAGACAGC
TGACAACACTGGGCATCCAGCTGAGCCCATACAATCTGAGCACACTGGAGGACCTG
AATACCAGGTGGAAGCTGCTGCAGGTGGCTGTGGAAGACCGGGTGCGGCAGCTGCA
TGAGGCCCATCGCGACTTCGGACCAGCCAGCCAGCACTTTCTGAGCACATCCGTGCA
GGGGCCCTGGGAGAGGGCCATTTCTCCCAACAAGGTGCCCTACTATATTAATCACGA
GACCCAGACCACTTGTTGGGACCATCCCAAGATGACAGAACTGTACCAGTCCCTGG
CCGATCTGAACAACGTGAGGTTTAGCGCTTACAGAACCGCTATGAAGCTGAGACGG
CTGCAGAAGGCCCTGTGCCTGGATCTGCTGTCCCTGTCCGCCGCCTGCGATGCCCTG
GATCAGCATAATCTGAAGCAGAACGATCAGCCAATGGATATCCTGCAGATCATCAA
CTGCCTGACCACTATCTACGACAGGCTGGAGCAGGAGCACAACAACCTGGTGAACG
TGCCTCTGTGCGTGGATATGTGCCTGAACTGGCTGCTGAACGTGTATGACACTGGGC
GCACCGGCCGGATCAGAGTGCTGAGTTTTAAAACTGGGATTATCTCCCTGTGTAAGG
CCCACCTGGAGGACAAGTACAGGTACCTGTTCAAGCAGGTGGCTAGTAGCACTGGA
TTTTGTGACCAGCGCCGCCTGGGACTGCTGCTGCATGATAGTATCCAGATTCCTAGA

도면15c

CAGCTGGGAGAGGTGGCTAGTTTCGGAGGATCTAACATCGAACCCAGCGTGCGCAG
CTGTTTCCAGTTTGCCAATAACAAACCTGAAATCGAGGCTGCTCTGTTCCTGGATTG
GATGCGCCTGGAACCACAGAGCATGGTGTGGCTGCCTGTGCTGCACAGAGTGGCTG
CCGCCGAAACTGCCAAGCACCAGGCTAAATGCAACATCTGCAAGGAATGTCCCATT
ATCGGCTTTCGCTACAGGAGTCTGAAACATTTTAACTACGATATTTGCCAGAGCTGC
TTCTTTTCCGGAAGAGTGGCCAAAGGACACAAGATGCACTACCCTATGGTGGAATAT
TGCACCCCAACTACATCTGGCGAAGATGTGCGCGATTTTGCCAAGGTGCTGAAGAAT
AAGTTTCGGACTAAGAGGTACTTCGCCAAGCACCCCCGCATGGGGTATCTGCCAGTG
CAGACAGTGCTGGAAGGAGACAATATGGAGACCGATACAATGTGAGCGGCCGCAAT
AAAAGATCTTTATTTTCATTAGATCTGTGTGTTGGTTTTTTGTGTctagagtcgaccagagcat
ggctacgtagataagtagcatggcgg**gttaatcattaactaca**AGGAACCCCTAGTGATGGAGTTGGCCA
CTCCCTCTCTGCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGGCCGGGCGACCAAAGGTCGCC
CGACGCCCGGGCTTTGCCCGGGCGGCCTCAGTGAGCGAGCGAGCGCGCagctgcat
taatgaatcggccaacgcgcggggagaggcggtttgcgtattgggcgctcttccgcttcctcgctcactgactcgctgcgctcggtcgttcg
gctgcggcgagcggtatcagctcactcaaaggcggtaatacggttatccacagaatcaggggataacgcaggaaagaaCATGTGA
GCAAAAGGCCAGCAAAAGGCCAGGAACCGTAAAAAGGCCGCGTTGCTGGCGTTTTT
CCATAGGCTCCGCCCCCCTGACGAGCATCACAAAAATCGACGCTCAAGTCAGAGGT
GGCGAAACCCGACAGGACTATAAAGATACCAGGCGTTTCCCCCTGGAAGCTCCCTC
GTGCGCTCTCCTGTTCCGACCCTGCCGCTTACCGGATACCTGTCCGCCTTTCTCCCTT
CGGGAAGCGTGGCGCTTTCTCATAGCTCACGCTGTAGGTATCTCAGTTCGGTGTAGG
TCGTTCGCTCCAAGCTGGGCTGTGTGCACGAACCCCCCGTTCAGCCCGACCGCTGCG
CCTTATCCGGTAACTATCGTCTTGAGTCCAACCCGGTAAGACACGACTTATCGCCAC
TGGCAGCAGCCACTGGTAACAGGATTAGCAGAGCGAGGTATGTAGGCGGTGCTACA
GAGTTCTTGAAGTGGTGGCCTAACTACGGCTACACTAGAAGAACAGTATTTGGTATC
TGCGCTCTGCTGAAGCCAGTTACCTTCGGAAAAAGAGTTGGTAGCTCTTGATCCGGC
AAACAAACCACCGCTGGTAGCGGTGGTTTTTTTGTTTGCAAGCAGCAGATTACGCGC
AGAAAAAAAGGATCTCAAGAAGATCCTTTGATCTTTTCTACGGGGTCTGACGCTCAG
TGGAACGAAAACTCACGTTAAGGGATTTTGGTCATGAGATTATCAAAAAGGATCTTC
ACCTAGATCCTTTTAAATTAAAAATGAAGTTTTAAATCAATCTAAAGTATATATGAG
TAAAAATATTCCGGAATTGCCAGCTGGGGCGCCCTCTGGTAAGGTTGGGAAGCCCTG
CAAAGTAAACTGGATGGCTTTCTTGCCGCCAAGGATCTGATGGCGCAGGGGATCAA
GATCTGATCAAGAGACAGGATGAGGATCGTTTCGCATGATTGAACAAGATGGATTG
CACGCAGGTTCTCCGGCCGCTTGGGTGGAGAGGCTATTCGGCTATGACTGGGCACAA
CAGACAATCGGCTGCTCTGATGCCGCCGTGTTCCGGCTGTCAGCGCAGGGGCGCCCG
GTTCTTTTTGTCAAGACCGACCTGTCCGGTGCCCTGAATGAACTGCAGGACGAGGCA
GCGCGGCTATCGTGGCTGGCCACGACGGGCGTTCCTTGCGCAGCTGTGCTCGACGTT
GTCACTGAAGCGGGAAGGGACTGGCTGCTATTGGGCGAAGTGCCGGGGCAGGATCT
CCTGTCATCCCACCTTGCTCCTGCCGAGAAAGTATCCATCATGGCTGATGCAATGCG
GCGGCTGCATACGCTTGATCCGGCTACCTGCCCATTCGACCACCAAGCGAAACATCG
CATCGAGCGAGCACGTACTCGGATGGAAGCCGGTCTTGTCGATCAGGATGATCTGG

도면15d

ACGAAGAGCATCAGGGGCTCGCGCCAGCCGAACTGTTCGCCAGGCTCAAGGCGCGC
ATGCCCGACGGCGAGGATCTCGTCGTGACCCATGGCGATGCCTGCTTGCCGAATATC
ATGGTGGAAAATGGCCGCTTTTCTGGATTCATCGACTGTGGCCGGCTGGGTGTGGCG
GACCGCTATCAGGACATAGCGTTGGCTACCCGTGATATTGCTGAAGAGCTTGGCGGC
GAATGGGCTGACCGCTTCCTCGTGCTTTACGGTATCGCCGCTCCCGATTCGCAGCGC
ATCGCCTTCTATCGCCTTCTTGACGAGTTCTTCTGAACCGGTAATATTATTGAAGCAT
TTATCAGGGTTATTGTCTCATGAGCGGATACATATTTGAATGTATTTAGAAAAATAA
ACAAATAGGGGTTCCGCGCACATTTCCCCGAAAAGTGCCACCTGACGTctaagaaaccattat
tatcatgacattaacctataaaaataggcgtatcacgaggccctttcgtctcgcgcgtttcggtgatgacggtgaaaacctctgacacatgcag
ctcccggagacggtcacagcttgtctgtaagcggatgccgggagcagacaagcccgtcagggcgcgtcagcgggtgttggcgggtgtc
ggggctggcttaactatgcggcatcagagcagattgtactgagagtgcaccatatgcggtgtgaaataccgcacagatgcgtaaggagaa
aataccgcatcaggCGAttccaacatccaataaatcatacaggcaaggcaaagaattagcaaaattaagcaataaagcctcagagcataa
agctaaatcggttgtaccaaaaacattatgaccctgtaatactttgcgggagaagcctttatttcaacgcaaggataaaaatttttagaaccctc
atatattttaaatgcaatgcctgagtaatgtgtaggtaaagattcaaacgggtgagaaaggccggagacagtcaaatcaccatcaatatgatat
tcaaccgttctagctgataaattcatgccggagagggtagctatttttgagaggtctctacaaaggctatcaggtcattgcctgagagtctgga
gcaaacaagagaatcgatgaacggtaatcgtaaaactagcatgtcaatcatatgtaccccggttgataatcagaaaagccccaaaaacagg
aagattgtataagcaaatatttaaattgtaaGcgttaatatttttgttaaaattcgcgttaaatttttgttaaatcagctcatttttttaaccaataggccg
aaatcggcaaaatcccttataaatcaaaagaatagaccgagatagggttgagtgttgttccagtttggaacaagagtccactattaaagaacg
tggactccaacgtcaaagggcgaaaaaccgtctatcagggcgatggcccactacgtgaaccatcaccctaatcaagttttttggggtcgag
gtgccgtaaaGcactaaatcggaacccctaaagggagcccccgattttagagcttgacggggaaagccggcgaacgtggcgagaaagga
agggaagaaagcgaaaggagcgggcgctagggcgctggcaagtgtagcggtcacgctgcgcgtaaccaccacacccgccgcgcttaa
tgcgccgctacagggcgcgtactatggttgctttgacgagcacgtataacgtgcttttcctcgttagaatcagagcgggagctaaacaggagg
ccgattaaagggatttttagacaggaacggtacgccagaatcctgagaagtgtttttataatcagtgaggccaccgagtaaaagagtctgtcca
tcacgcaaattaaccgttgtcgcaatacttctttgattagtaataacatcacttgcctgagtagaagaactcaaactatcggccttgctggtaatat
ccagaacaatattaccgccagccattgcaacggaatcgccattcgccattcaggctgcgcaactgttgggaagggcgatcggtgcgggcc
tcttcgctattacgccagct

서 열 목 록

SEQUENCE LISTING

<110> RESEARCH INSTITUTE AT NATIONWIDE CHILDREN'S HOSPITAL

<120> ADENO-ASSOCIATED VIRUS VECTOR DELIVERY OF MUSCLE SPECIFIC MICRO-DYSTROPHIN TO TREAT MUSCULAR DYSTROPHY

<130> IPA201661-US-D1-1

<150> US 62/686,668

<151> 2018-06-18

<150> US 62/740,402

<151> 2018-10-02

<150> US 62/752,841

<151> 2018-10-30

<150> US 62/823,649

<151> 2019-03-25

<150> US 62/860,220

<151> 2019-06-11

<160> 9

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 3579

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 1

atgctgtggt gggaggaggt ggaggattgt tatgaaaggg aggacgtgca gaagaagact 60

tttaccaagt gggtgaacgc tcagttcagc aaatttggga agcagcacat cgagaatctg 120

ttttccgacc tgcaggatgg gagacggctg ctggatctgc tggaaggact gactggccag 180

aagctgccca aagagaaggg gagcactagg gtgcacgccc tgaacaacgt gaacaaagct 240

ctgagagtgc tgcagaacaa caacgtggat ctggtgaata ttggcagtac tgatatcgtg 300

gacgggaacc acaaactgac actgggcctg atctggaaca ttattctgca ctggcaggtg 360

aaaaatgtga tgaagaacat catggccggg ctgcagcaga ccaattccga gaagatcctg 420

ctgtcttggg tgcggcagag cacccgcaac tatccccagg tgaacgtgat taacttcact 480

acatcctgga gcgacgggct ggccctgaat gctctgattc acagccacag gcctgatctg 540

ttcgactgga atagcgtggt gtgccagcag tctgccacac agcgcctgga acatgccttc 600

aatatcgctc ggtaccagct ggggatcgaa aaactgctgg acccagagga tgtggacact 660

acatacccag ataaaaagtc tattctgatg tacattacta gcctgttcca ggtgctgcca 720

cagcaggtgt ctattgaagc cattcaggag gtggaaatgc tgccccgccc ccccaaagtg 780

actaaagagg agcattttca gctgcatcat cagatgcatt acagccagca gattaccgtg 840

agcctggctc agggatatga gcgcaccagt agtccaaaac cacggttcaa gtcctacgct 900

tatacccagg ctgcctacgt gacaactagc gaccctacta gatccccctt tccatcccag 960

cacctggagg ccccagagga caagagcttt gggtccagcc tgatggaaag cgaggtgaat 1020

ctggatcggt accagacagc cctggaggag gtgctgagct ggctgctgag tgctgaagac 1080

acactgcagg cccagggcga aatttccaat gacgtggaag tggtgaagga tcagttccac 1140

acacacgagg gctatatgat ggacctgaca gctcaccagg ggcgcgtggg caatatcctg 1200

cagctgggct ctaaactgat cggcaccggg aaactgagtg aggacgagga aacagaagtg 1260

caggagcaga tgaacctgct gaacagccgc tgggagtgtc tgagagtggc tagtatggag 1320

aagcagtcca acctgcaccg ggtgctgatg gacctgcaga accagaaact gaaagagctg 1380

aacgactggc tgacaaagac tgaggaacgc acaaggaaga tggaggagga gccactggga 1440

cccgacctgg aggatctgaa gagacaggtg cagcagcata aggtgctgca ggaggatctg 1500

gaacaggagc aggtgcgggt gaactccctg acacatatgg tggtggtggt ggacgaatct 1560

agtggagatc acgccaccgc cgccctggag gaacagctga aggtgctggg ggaccggtgg 1620

gccaacattt gccggtggac cgaggacagg tgggtgctgc tgcaggacat cctgctgaaa 1680

tggcagaggc tgaccgagga gcagtgtctg tttagtgctt ggctgagcga gaaagaggac 1740
gccgtgaaca agatccacac aaccggcttt aaggatcaga acgaaatgct gtctagcctg 1800
cagaaactgg ctgtgctgaa ggccgatctg gagaaaaaga agcagagcat gggcaaactg 1860
tatagcctga aacaggacct gctgagcacc ctgaagaaca agagcgtgac ccagaagaca 1920
gaagcctggc tggataactt tgcccgctgc tgggacaacc tggtgcagaa actggagaaa 1980
agtacagctc agatctctca ggctgtgacc acaacccagc ctagcctgac ccagacaacc 2040
gtgatggaaa ccgtgaccac cgtgacaacc cgcgaacaga tcctggtgaa acatgcccag 2100

gaagagctgc cacctccacc tccccagaag aagagaaccc tggagcggct gcaggagctg 2160
caggaagcca ctgacgaact ggacctgaag ctgaggcagg ccgaagtgat taaggggtct 2220
tggcagcctg tgggcgatct gctgattgat tccctgcagg accacctgga aaaggtgaag 2280
gctctgagag gcgaaattgc tccactgaag gagaacgtga gtcatgtgaa cgatctggct 2340
agacagctga caacactggg catccagctg agcccataca atctgagcac actggaggac 2400
ctgaatacca ggtggaagct gctgcaggtg gctgtggaag accgggtgcg gcagctgcat 2460
gaggcccatc gcgacttcgg accagccagc cagcactttc tgagcacatc cgtgcagggg 2520

ccctgggaga gggccatttc tcccaacaag gtgccctact atattaatca cgagacccag 2580
accacttgtt gggaccatcc caagatgaca gaactgtacc agtccctggc cgatctgaac 2640
aacgtgaggt ttagcgctta cagaaccgct atgaagctga gacggctgca gaaggccctg 2700
tgcctggatc tgctgtccct gtccgccgcc tgcgatgccc tggatcagca taatctgaag 2760
cagaacgatc agccaatgga tatcctgcag atcatcaact gcctgaccac tatctacgac 2820
aggctggagc aggagcacaa caacctggtg aacgtgcctc tgtgcgtgga tatgtgcctg 2880
aactggctgc tgaacgtgta tgacactggg cgcaccggcc ggatcagagt gctgagtttt 2940

aaaactggga ttatctccct gtgtaaggcc cacctggagg acaagtacag gtacctgttc 3000
aagcaggtgg ctagtagcac tggattttgt gaccagcgcc gcctgggact gctgctgcat 3060
gatagtatcc agattcctag acagctggga gaggtggcta gtttcggagg atctaacatc 3120
gaacccagcg tgcgcagctg tttccagttt gccaataaca aacctgaaat cgaggctgct 3180
ctgttcctgg attggatgcg cctggaacca cagagcatgg tgtggctgcc tgtgctgcac 3240
agagtggctg ccgccgaaac tgccaagcac caggctaaat gcaacatctg caaggaatgt 3300
cccattatcg gctttcgcta caggagtctg aaacatttta actacgatat ttgccagagc 3360

tgcttctttt ccggaagagt ggccaaagga cacaagatgc actaccctat ggtggaatat 3420

tgcaccccaa ctacatctgg cgaagatgtg cgcgattttg ccaaggtgct gaagaataag 3480

tttcggacta agaggtactt cgccaagcac ccccgcatgg ggtatctgcc agtgcagaca 3540

gtgctggaag gagacaatat ggagaccgat acaatgtga 3579

<210> 2

<211> 810

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Promoter

<400> 2

gtttaaacaa gcttgcatgt ctaagctaga cccttcagat taaaaataac tgaggtaagg 60

gcctgggtag gggaggtggt gtgagacgct cctgtctctc ctctatctgc ccatcggccc 120

tttggggagg aggaatgtgc ccaaggacta aaaaaaggcc atggagccag aggggcgagg 180

gcaacagacc tttcatgggc aaaccttggg gccctgctgt ctagcatgcc ccactacggg 240

tctaggctgc ccatgtaagg aggcaaggcc tggggacacc cgagatgcct ggttataatt 300

aacccagaca tgtggctgcc ccccccccccc caacacctgc tgcctctaaa aataaccctg 360

tccctggtgg atcccctgca tgcgaagatc ttcgaacaag gctgtggggg actgagggca 420

ggctgtaaca ggcttggggg ccagggctta tacgtgcctg ggactcccaa agtattactg 480

ttccatgttc ccggcgaagg gccagctgtc ccccgccagc tagactcagc acttagttta 540

ggaaccagtg agcaagtcag cccttggggc agcccataca aggccatggg gctgggcaag 600

ctgcacgcct gggtccgggg tgggcacggt gcccgggcaa cgagctgaaa gctcatctgc 660

tctcaggggc ccctccctgg ggacagcccc tcctggctag tcacaccctg taggctcctc 720

tatataaccc aggggcacag gggctgccct cattctacca ccacctccac agcacagaca 780

gacactcagg agccagccag cggcgcgccc 810

<210> 3

<211> 8562

<212> DNA

<213> Adeno-associated virus

<400> 3

gcccaatacg caaaccgcct ctccccgcgc gttggccgat tcattaatgc agctgcgcgc 60

tcgctcgctc actgaggccg cccgggcaaa gcccgggcgt cgggcgacct ttggtcgccc 120

ggcctcagtg agcgagcgag cgcgcagaga gggagtggcc aactccatca ctaggggttc 180

cttgtagtta atgattaacc cgccatgcta cttatctacg tagccatgct ctagagttta 240

aacaagcttg catgtctaag ctagaccctt cagattaaaa ataactgagg taagggcctg 300

ggtaggggag gtggtgtgag acgctcctgt ctctcctcta tctgcccatc ggccctttgg 360

ggaggaggaa tgtgcccaag gactaaaaaa aggccatgga gccagagggg cgagggcaac 420

agacctttca tgggcaaacc ttggggccct gctgtctagc atgccccact acgggtctag 480

gctgcccatg taaggaggca aggcctgggg acacccgaga tgcctggtta taattaaccc 540

agacatgtgg ctgccccccc ccccccaaca cctgctgcct ctaaaaataa ccctgtccct 600

ggtggatccc ctgcatgcga agatcttcga acaaggctgt gggggactga gggcaggctg 660

taacaggctt gggggccagg gcttatacgt gcctgggact cccaaagtat tactgttcca 720

tgttcccggc gaagggccag ctgtcccccg ccagctagac tcagcactta gtttaggaac 780

cagtgagcaa gtcagccctt ggggcagccc atacaaggcc atggggctgg gcaagctgca 840

cgcctgggtc cggggtgggc acggtgcccg ggcaacgagc tgaaagctca tctgctctca 900

ggggcccctc cctggggaca gcccctcctg gctagtcaca ccctgtaggc tcctctatat 960

aacccagggg cacaggggct gccctcattc taccaccacc tccacagcac agacagacac 1020

tcaggagcag ccagcggcgc gcccaggtaa gtttagtctt tttgtctttt atttcaggtc 1080

ccggatccgg tggtggtgca aatcaaagaa ctgctcctca gtggatgttg cctttacttc 1140

taggcctgta cggaagtgtt acttctgctc taaaagctgc ggaattgtac ccgcggccgc 1200

caccatgctg tggtgggagg aggtggagga ttgttatgaa agggaggacg tgcagaagaa 1260

gacttttacc aagtgggtga acgctcagtt cagcaaattt gggaagcagc acatcgagaa 1320

tctgttttcc gacctgcagg atgggagacg gctgctggat ctgctggaag gactgactgg 1380

ccagaagctg cccaaagaga aggggagcac tagggtgcac gccctgaaca acgtgaacaa 1440

agctctgaga gtgctgcaga acaacaacgt ggatctggtg aatattggca gtactgatat 1500

cgtggacggg aaccacaaac tgacactggg cctgatctgg aacattattc tgcactggca 1560

ggtgaaaaat gtgatgaaga acatcatggc cgggctgcag cagaccaatt ccgagaagat 1620

cctgctgtct tgggtgcggc agagcacccg caactatccc caggtgaacg tgattaactt 1680

cactacatcc tggagcgacg ggctggccct gaatgctctg attcacagcc acaggcctga 1740

tctgttcgac tggaatagcg tggtgtgcca gcagtctgcc acacagcgcc tggaacatgc 1800

cttcaatatc gctcggtacc agctggggat cgaaaaactg ctggacccag aggatgtgga 1860

cactacatac ccagataaaa agtctattct gatgtacatt actagcctgt tccaggtgct 1920

gccacagcag gtgtctattg aagccattca ggaggtggaa atgctgcccc gccccccccaa 1980

agtgactaaa gaggagcatt ttcagctgca tcatcagatg cattacagcc agcagattac 2040

cgtgagcctg gctcagggat atgagcgcac cagtagtcca aaaccacggt tcaagtccta 2100

cgcttatacc caggctgcct acgtgacaac tagcgaccct actagatccc cctttccatc 2160

ccagcacctg gaggccccag aggacaagag ctttgggtcc agcctgatgg aaagcgaggt 2220

gaatctggat cggtaccaga cagccctgga ggaggtgctg agctggctgc tgagtgctga 2280

agacacactg caggcccagg gcgaaatttc caatgacgtg gaagtggtga aggatcagtt 2340

ccacacacac gagggctata tgatggacct gacagctcac caggggcgcg tgggcaatat 2400

cctgcagctg ggctctaaac tgatcggcac cgggaaactg agtgaggacg aggaaacaga 2460

agtgcaggag cagatgaacc tgctgaacag ccgctgggag tgtctgagag tggctagtat 2520

ggagaagcag tccaacctgc accgggtgct gatggacctg cagaaccaga aactgaaaga 2580

gctgaacgac tggctgacaa agactgagga acgcacaagg aagatggagg aggagccact 2640

gggacccgac ctggaggatc tgaagagaca ggtgcagcag cataaggtgc tgcaggagga 2700

tctggaacag gagcaggtgc gggtgaactc cctgacacat atggtggtgg tggtggacga 2760

atctagtgga gatcacgcca ccgccgccct ggaggaacag ctgaaggtgc tgggggaccg 2820

gtgggccaac atttgccggt ggaccgagga caggtgggtg ctgctgcagg acatcctgct 2880

gaaatggcag aggctgaccg aggagcagtg tctgtttagt gcttggctga gcgagaaaga 2940

ggacgccgtg aacaagatcc acacaaccgg ctttaaggat cagaacgaaa tgctgtctag 3000

cctgcagaaa ctggctgtgc tgaaggccga tctggagaaa aagaagcaga gcatgggcaa 3060

actgtatagc ctgaaacagg acctgctgag caccctgaag aacaagagcg tgacccagaa 3120

gacagaagcc tggctggata actttgcccg ctgctgggac aacctggtgc agaaactgga 3180

gaaaagtaca gctcagatct ctcaggctgt gaccacaacc cagcctagcc tgacccagac 3240

aaccgtgatg gaaaccgtga ccaccgtgac aacccgcgaa cagatcctgg tgaaacatgc 3300

ccaggaagag ctgccacctc cacctcccca gaagaagaga accctggagc ggctgcagga 3360

gctgcaggaa gccactgacg aactggacct gaagctgagg caggccgaag tgattaaggg 3420

gtcttggcag cctgtgggcg atctgctgat tgattccctg caggaccacc tggaaaaggt 3480

gaaggctctg agaggcgaaa ttgctccact gaaggagaac gtgagtcatg tgaacgatct 3540

ggctagacag ctgacaacac tgggcatcca gctgagccca tacaatctga gcacactgga 3600

ggacctgaat accaggtgga agctgctgca ggtggctgtg gaagaccggg tgcggcagct 3660

gcatgaggcc catcgcgact tcggaccagc cagccagcac tttctgagca catccgtgca 3720

ggggccctgg gagagggcca tttctcccaa caaggtgccc tactatatta atcacgagac 3780

ccagaccact tgttgggacc atcccaagat gacagaactg taccagtccc tggccgatct 3840

gaacaacgtg aggtttagcg cttacagaac cgctatgaag ctgagacggc tgcagaaggc 3900
cctgtgcctg gatctgctgt ccctgtccgc cgcctgcgat gccctggatc agcataatct 3960
gaagcagaac gatcagccaa tggatatcct gcagatcatc aactgcctga ccactatcta 4020
cgacaggctg gagcaggagc acaacaacct ggtgaacgtg cctctgtgcg tggatatgtg 4080
cctgaactgg ctgctgaacg tgtatgacac tgggcgcacc ggccggatca gagtgctgag 4140
ttttaaaact gggattatct ccctgtgtaa ggcccacctg gaggacaagt acaggtacct 4200
gttcaagcag gtggctagta gcactggatt ttgtgaccag cgccgcctgg gactgctgct 4260

gcatgatagt atccagattc ctagacagct gggagaggtg gctagtttcg gaggatctaa 4320
catcgaaccc agcgtgcgca gctgtttcca gtttgccaat aacaaacctg aaatcgaggc 4380
tgctctgttc ctggattgga tgcgcctgga accacagagc atggtgtggc tgcctgtgct 4440
gcacagagtg gctgccgccg aaactgccaa gcaccaggct aaatgcaaca tctgcaagga 4500
atgtcccatt atcggctttc gctacaggag tctgaaacat tttaactacg atatttgcca 4560
gagctgcttc ttttccggaa gagtggccaa aggacacaag atgcactacc ctatggtgga 4620
atattgcacc ccaactacat ctggcgaaga tgtgcgcgat tttgccaagg tgctgaagaa 4680

taagtttcgg actaagaggt acttcgccaa gcacccccgc atggggtatc tgccagtgca 4740
gacagtgctg gaaggagaca atatggagac cgatacaatg tgagcggccg caataaaaga 4800
tctttatttt cattagatct gtgtgttggt tttttgtgtg tctagagcat ggctacgtag 4860
ataagtagca tggcgggtta atcattaact acaaggaacc cctagtgatg gagttggcca 4920
ctccctctct gcgcgctcgc tcgctcactg aggccgggcg accaaaggtc gcccgacgcc 4980
cgggctttgc ccgggcggcc tcagtgagcg agcgagcgcg cagctggcgt aatagcgaag 5040
aggcccgcac cgatcgccct tcccaacagt tgcgcagcct gaatggcgaa tggcgattcc 5100

gttgcaatgg ctggcggtaa tattgttctg gatattacca gcaaggccga tagtttgagt 5160
tcttctactc aggcaagtga tgttattact aatcaaagaa gtattgcgac aacggttaat 5220
ttgcgtgatg gacagactct tttactcggt ggcctcactg attataaaaa cacttctcag 5280
gattctggcg taccgttcct gtctaaaatc cctttaatcg gcctcctgtt tagctcccgc 5340
tctgattcta acgaggaaag cacgttatac gtgctcgtca aagcaaccat agtacgcgcc 5400
ctgtagcggc gcattaagcg cggcgggtgt ggtggttacg cgcagcgtga ccgctacact 5460
tgccagcgcc ctagcgcccg ctcctttcgc tttcttccct tcctttctcg ccacgttcgc 5520

cggctttccc cgtcaagctc taaatcgggg gctcccttta gggttccgat ttagtgcttt 5580

acggcacctc gaccccaaaa aacttgatta gggtgatggt tcacgtagtg ggccatcgcc 5640

ctgatagacg gtttttcgcc ctttgacgtt ggagtccacg ttctttaata gtggactctt 5700

gttccaaact ggaacaacac tcaaccctat ctcggtctat tcttttgatt tataagggat 5760

tttgccgatt tcggcctatt ggttaaaaaa tgagctgatt taacaaaaat ttaacgcgaa 5820

ttttaacaaa atattaacgc ttacaattta aatatttgct tatacaatct tcctgttttt 5880

ggggctttc tgattatcaa ccggggtaca tatgattgac atgctagttt tacgattacc 5940

gttcatcgat tctcttgttt gctccagact ctcaggcaat gacctgatag cctttgtaga 6000

gacctctcaa aaatagctac cctctccggc atgaatttat cagctagaac ggttgaatat 6060

catattgatg gtgatttgac tgtctccggc ctttctcacc cgtttgaatc tttacctaca 6120

cattactcag gcattgcatt taaaatatat gagggttcta aaaatttta tccttgcgtt 6180

gaaataaagg cttctcccgc aaaagtatta cagggtcata atgtttttgg tacaaccgat 6240

ttagctttat gctctgaggc tttattgctt aattttgcta attctttgcc ttgcctgtat 6300

gatttattgg atgttggaat cgcctgatgc ggtattttct ccttacgcat ctgtgcggta 6360

tttcacaccg catatggtgc actctcagta caatctgctc tgatgccgca tagttaagcc 6420

agccccgaca cccgccaaca cccgctgacg cgccctgacg ggcttgtctg ctcccggcat 6480

ccgcttacag acaagctgtg accgtctccg ggagctgcat gtgtcagagg ttttcaccgt 6540

catcaccgaa acgcgcgaga cgaaagggcc tcgtgatacg cctatttta taggttaatg 6600

tcatgataat aatggtttct tagacgtcag gtggcacttt tcggggaaat gtgcgcggaa 6660

cccctatttg tttatttttc taaatacatt caaatatgta tccgctcatg agacaataac 6720

cctgataaat gcttcaataa tattgaaaaa ggaagagtat gagtattcaa catttccgtg 6780

tcgcccttat tccctttttt gcggcatttt gccttcctgt ttttgctcac ccagaaacgc 6840

tggtgaaagt aaaagatgct gaagatcagt tgggtgcacg agtgggttac atcgaactgg 6900

atctcaacag cggtaagatc cttgagagtt ttcgccccga agaacgtttt ccaatgatga 6960

gcacttttaa agttctgcta tgtggcgcgg tattatcccg tattgacgcc gggcaagagc 7020

aactcggtcg ccgcatacac tattctcaga atgacttggt tgagtactca ccagtcacag 7080

aaaagcatct tacggatggc atgacagtaa gagaattatg cagtgctgcc ataaccatga 7140

gtgataacac tgcggccaac ttacttctga caacgatcgg aggaccgaag gagctaaccg 7200

ctttttgca caacatgggg gatcatgtaa ctcgccttga tcgttgggaa ccggagctga 7260

atgaagccat accaaacgac gagcgtgaca ccacgatgcc tgtagcaatg gcaacaacgt 7320

tgcgcaaact attaactggc gaactactta ctctagcttc ccggcaacaa ttaatagact 7380

ggatggaggc ggataaagtt gcaggaccac ttctgcgctc ggcccttccg gctggctggt 7440

ttattgctga taaatctgga gccggtgagc gtgggtctcg cggtatcatt gcagcactgg 7500

ggccagatgg taagccctcc cgtatcgtag ttatctacac gacggggagt caggcaacta 7560

tggatgaacg aaatagacag atcgctgaga taggtgcctc actgattaag cattggtaac 7620

tgtcagacca agtttactca tatatacttt agattgattt aaaacttcat ttttaattta 7680

aaaggatcta ggtgaagatc ctttttgata atctcatgac caaaatccct taacgtgagt 7740

tttcgttcca ctgagcgtca gaccccgtag aaaagatcaa aggatcttct tgagatcctt 7800

tttttctgcg cgtaatctgc tgcttgcaaa caaaaaaacc accgctacca gcggtggttt 7860

gtttgccgga tcaagagcta ccaactcttt ttccgaaggt aactggcttc agcagagcgc 7920

agataccaaa tactgttctt ctagtgtagc cgtagttagg ccaccacttc aagaactctg 7980

tagcaccgcc tacatacctc gctctgctaa tcctgttacc agtggctgct gccagtggcg 8040

ataagtcgtg tcttaccggg ttggactcaa gacgatagtt accggataag gcgcagcggt 8100

cgggctgaac gggggttcg tgcacacagc ccagcttgga gcgaacgacc tacaccgaac 8160

tgagatacct acagcgtgag ctatgagaaa gcgccacgct tcccgaaggg agaaaggcgg 8220

acaggtatcc ggtaagcggc agggtcggaa caggagagcg cacgagggag cttccagggg 8280

gaaacgcctg gtatctttat agtcctgtcg ggtttcgcca cctctgactt gagcgtcgat 8340

ttttgtgatg ctcgtcaggg gggcggagcc tatggaaaaa cgccagcaac gcggcctttt 8400

tacggttcct ggccttttgc tggccttttg ctcacatgtt ctttcctgcg ttatcccctg 8460

attctgtgga taaccgtatt accgccttg agtgagctga taccgctcgc cgcagccgaa 8520

cgaccgagcg cagcgagtca gtgagcgagg aagcggaaga gc 8562

<210> 4

<211> 564

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Promoter

<400> 4

cagccactat gggtctaggc tgcccatgta aggaggcaag gcctggggac acccgagatg 60

cctggttata attaacccag acatgtggct gctccccccc cccaacacct gctgcctgag 120

cctcaccccc accccggtgc ctgggtctta ggctctgtac accatggagg agaagctcgc 180

tctaaaaata accctgtccc tggtgggctg tgggggactg agggcaggct gtaacaggct 240

tgggggccag ggcttatacg tgcctgggac tcccaaagta ttactgttcc atgttcccgg 300

cgaagggcca gctgtccccc gccagctaga ctcagcactt agtttaggaa ccagtgagca 360

agtcagccct tggggcagcc catacaaggc catggggctg ggcaagctgc acgcctgggt 420

ccggggtggg cacggtgccc gggcaacgag ctgaaagctc atctgctctc aggggcccct 480

ccctggggac agcccctcct ggctagtcac accctgtagg ctcctctata taacccaggg 540

gcacaggggc tgcccccggg tcac 564

<210> 5

<211> 8409

<212> DNA

<213> Adeno-associated virus

<400> 5

gcccaatacg caaaccgcct ctccccgcgc gttggccgat tcattaatgc agctggcgcg 60

ctcgctcgct cactgaggcc gcccgggcaa agcccgggcg tcgggcgacc tttggtcgcc 120

cggcctcagt gagcgagcga gcgcgcagag agggagtggc caactccatc actaggggtt 180

ccttgtagtt aatgattaac ccgccatgct aattatctac gtagccatgt ctagacagcc 240

actatgggtc taggctgccc atgtaaggag gcaaggcctg gggacacccg agatgcctgg 300

ttataattaa cccagacatg tggctgctcc ccccccccaa cacctgctgc ctgagcctca 360

cccccacccc ggtgcctggg tcttaggctc tgtacaccat ggaggagaag ctcgctctaa 420

aaataaccct gtccctggtg ggctgtgggg gactgagggc aggctgtaac aggcttgggg 480

gccagggctt atacgtgcct gggactccca aagtattact gttccatgtt cccggcgaag 540

ggccagctgt cccccgccag ctagactcag cacttagttt aggaaccagt gagcaagtca 600

gcccttgggg cagcccatac aaggccatgg ggctgggcaa gctgcacgcc tgggtccggg 660

gtgggcacgg tgcccgggca acgagctgaa agctcatctg ctctcagggg cccctccctg 720

gggacagccc ctcctggcta gtcacaccct gtaggctcct ctatataacc caggggcaca 780

ggggctgccc ccgggtcacc accacctcca cagcacagac agacactcag gagccagcca 840

gccaggtaag tttagtcttt ttgtctttta tttcaggtcc cggatccggt ggtggtgcaa 900

atcaaagaac tgctcctcag tggatgttgc ctttacttct aggcctgtac ggaagtgtta 960

cttctgctct aaaagctgcg gaattgtacc cgcggccgcc accatgctgt ggtgggagga 1020

ggtggaggat tgttatgaaa gggaggacgt gcagaagaag acttttacca agtgggtgaa 1080

cgctcagttc agcaaatttg ggaagcagca catcgagaat ctgttttccg acctgcagga 1140

tgggagacgg ctgctggatc tgctggaagg actgactggc cagaagctgc ccaaagagaa 1200

ggggagcact agggtgcacg ccctgaacaa cgtgaacaaa gctctgagag tgctgcagaa 1260

caacaacgtg gatctggtga atattggcag tactgatatc gtggacggga accacaaact 1320

gacactgggc ctgatctgga acattattct gcactggcag gtgaaaaatg tgatgaagaa 1380

catcatggcc gggctgcagc agaccaattc cgagaagatc ctgctgtctt gggtgcggca 1440

gagcacccgc aactatcccc aggtgaacgt gattaacttc actacatcct ggagcgacgg 1500

gctggccctg aatgctctga ttcacagcca caggcctgat ctgttcgact ggaatagcgt 1560

ggtgtgccag cagtctgcca cacagcgcct ggaacatgcc ttcaatatcg ctcggtacca 1620

gctggggatc gaaaaactgc tggacccaga ggatgtggac actacatacc cagataaaaa 1680

gtctattctg atgtacatta ctagcctgtt ccaggtgctg ccacagcagg tgtctattga 1740

agccattcag gaggtggaaa tgctgccccg ccccccccaaa gtgactaaag aggagcattt 1800

tcagctgcat catcagatgc attacagcca gcagattacc gtgagcctgg ctcagggata 1860

tgagcgcacc agtagtccaa aaccacggtt caagtcctac gcttataccc aggctgccta 1920

cgtgacaact agcgacccta ctagatcccc ctttccatcc cagcacctgg aggccccaga 1980

ggacaagagc tttgggtcca gcctgatgga aagcgaggtg aatctggatc ggtaccagac 2040

agccctggag gaggtgctga gctggctgct gagtgctgaa gacacactgc aggcccaggg 2100

cgaaatttcc aatgacgtgg aagtggtgaa ggatcagttc cacacacacg agggctatat 2160

gatggacctg acagctcacc aggggcgcgt gggcaatatc ctgcagctgg gctctaaact 2220

gatcggcacc gggaaactga gtgaggacga ggaaacagaa gtgcaggagc agatgaacct 2280

gctgaacagc cgctgggagt gtctgagagt ggctagtatg gagaagcagt ccaacctgca 2340

ccgggtgctg atggacctgc agaaccagaa actgaaagag ctgaacgact ggctgacaaa 2400

gactgaggaa cgcacaagga agatggagga ggagccactg ggacccgacc tggaggatct 2460

gaagagacag gtgcagcagc ataaggtgct gcaggaggat ctggaacagg agcaggtgcg 2520

ggtgaactcc ctgacacata tggtggtggt ggtggacgaa tctagtggag atcacgccac 2580

cgccgccctg gaggaacagc tgaaggtgct gggggaccgg tgggccaaca tttgccggtg 2640

gaccgaggac aggtgggtgc tgctgcagga catcctgctg aaatggcaga ggctgaccga 2700

ggagcagtgt ctgtttagtg cttggctgag cgagaaagag gacgccgtga acaagatcca 2760

cacaaccggc tttaaggatc agaacgaaat gctgtctagc ctgcagaaac tggctgtgct 2820

gaaggccgat ctggagaaaa agaagcagag catgggcaaa ctgtatagcc tgaaacagga 2880

cctgctgagc accctgaaga acaagagcgt gacccagaag acagaagcct ggctggataa 2940

ctttgcccgc tgctgggaca acctggtgca gaaactggag aaaagtacag ctcagatctc 3000

tcaggctgtg accacaaccc agcctagcct gacccagaca accgtgatgg aaaccgtgac 3060

caccgtgaca acccgcgaac agatcctggt gaaacatgcc caggaagagc tgccacctcc 3120

acctccccag aagaagagaa ccctggagcg gctgcaggag ctgcaggaag ccactgacga 3180

actggacctg aagctgaggc aggccgaagt gattaagggg tcttggcagc ctgtgggcga 3240

tctgctgatt gattccctgc aggaccacct ggaaaaggtg aaggctctga gaggcgaaat 3300

tgctccactg aaggagaacg tgagtcatgt gaacgatctg gctagacagc tgacaacact 3360

gggcatccag ctgagcccat acaatctgag cacactggag gacctgaata ccaggtggaa 3420

gctgctgcag gtggctgtgg aagaccgggt gcggcagctg catgaggccc atcgcgactt 3480

cggaccagcc agccagcact ttctgagcac atccgtgcag gggccctggg agagggccat 3540

ttctcccaac aaggtgccct actatattaa tcacgagacc cagaccactt gttgggacca 3600

tcccaagatg acagaactgt accagtccct ggccgatctg aacaacgtga ggtttagcgc 3660

ttacagaacc gctatgaagc tgagacggct gcagaaggcc ctgtgcctgg atctgctgtc 3720

cctgtccgcc gcctgcgatg ccctggatca gcataatctg aagcagaacg atcagccaat 3780

ggatatcctg cagatcatca actgcctgac cactatctac gacaggctgg agcaggagca 3840

caacaacctg gtgaacgtgc ctctgtgcgt ggatatgtgc ctgaactggc tgctgaacgt 3900

gtatgacact gggcgcaccg gccggatcag agtgctgagt tttaaaactg ggattatctc 3960

cctgtgtaag gcccacctgg aggacaagta caggtacctg ttcaagcagg tggctagtag 4020

cactggattt tgtgaccagc gccgcctggg actgctgctg catgatagta tccagattcc 4080

tagacagctg ggagaggtgg ctagtttcgg aggatctaac atcgaaccca gcgtgcgcag 4140

ctgtttccag tttgccaata acaaacctga aatcgaggct gctctgttcc tggattggat 4200

gcgcctggaa ccacagagca tggtgtggct gcctgtgctg cacagagtgg ctgccgccga 4260

aactgccaag caccaggcta aatgcaacat ctgcaaggaa tgtcccatta tcggctttcg 4320

ctacaggagt ctgaaacatt ttaactacga tatttgccag agctgcttct tttccggaag 4380

agtggccaaa ggacacaaga tgcactaccc tatggtggaa tattgcaccc caactacatc 4440

tggcgaagat gtgcgcgatt ttgccaaggt gctgaagaat aagtttcgga ctaagaggta 4500

cttcgccaag caccccccgca tggggtatct gccagtgcag acagtgctgg aaggagacaa 4560

tatggagacc gatacaatgt gagcggccgc aataaaagat ctttattttc attagatctg 4620

tgtgttggtt ttttgtgtgt ctagagcatg gctacgtaga taagtagcat ggcgggttaa 4680

tcattaacta caaggaaccc ctagtgatgg agttggccac tccctctctg cgcgctcgct 4740

cgctcactga ggccgggcga ccaaaggtcg cccgacgccc gggctttgcc cgggcggcct 4800

cagtgagcga gcgagcgcgc cagctggcgt aatagcgaag aggcccgcac cgatcgccct 4860

tcccaacagt tgcgcagcct gaatggcgaa tggaagttcc agacgattga gcgtcaaaat 4920

gtaggtattt ccatgagcgt ttttcctgtt gcaatggctg gcggtaatat tgttctggat 4980

attaccagca aggccgatag tttgagttct tctactcagg caagtgatgt tattactaat 5040

caaagaagta ttgcgacaac ggttaatttg cgtgatggac agactctttt actcggtggc 5100
ctcactgatt ataaaaacac ttctcaggat tctggcgtac cgttcctgtc taaaatccct 5160
ttaatcggcc tcctgtttag ctcccgctct gattctaacg aggaaagcac gttatacgtg 5220
ctcgtcaaag caaccatagt acgcgccctg tagcggcgca ttaagcgcgg cgggtgtggt 5280
ggttacgcgc agcgtgaccg ctacacttgc cagcgcccta gcgcccgctc ctttcgcttt 5340
cttcccttcc tttctcgcca cgttcgccgg ctttccccgt caagctctaa atcgggggct 5400
ccctttaggg ttccgattta gtgatttacg gcacctcgac cccaaaaaac ttgattaggg 5460

tgatggttca cgtagtgggc catcgccctg atagacggtt tttcgccctt tgacgttgga 5520
gtccacgttc tttaatagtg gactcttgtt ccaaactgga acaacactca accctatctc 5580
ggtctattct tttgatttat aagggatttt gccgatttcg gcctattggt taaaaaatga 5640
gctgatttaa caaaaattta acgcgaattt taacaaaata ttaacgttta caatttaaat 5700
atttgcttat acaatcttcc tgtttttggg gcttttctga ttatcaaccg gggtacatat 5760
gattgacatg ctagttttac gattaccgtt catcgattct cttgtttgct ccagactctc 5820
aggcaatgac ctgatagcct ttgtagagac ctctcaaaaa tagctaccct ctccggcatg 5880

aatttatcag ctagaacggt tgaatatcat attgatggtg atttgactgt ctccggcctt 5940
tctcacccgt ttgaatcttt acctacacat tactcaggca ttgcatttaa aatatatgag 6000
ggttctaaaa atttttatcc ttgcgttgaa ataaaggctt ctcccgcaaa agtattacag 6060
ggtcataatg tttttggtac aaccgattta gctttatgct ctgaggcttt attgcttaat 6120
tttgctaatt ctttgccttg cctgtatgat ttattggatg ttggaagttc ctgatgcggt 6180
attttctcct tacgcatctg tgcggtattt cacaccgcat atggtgcact ctcagtacaa 6240
tctgctctga tgccgcatag ttaagccagc cccgacaccc gccaacaccc gctgacgcgc 6300

cctgacgggc ttgtctgctc ccggcatccg cttacagaca agctgtgacc gtctccggga 6360
gctgcatgtg tcagaggttt tcaccgtcat caccgaaacg cgcgagacga aagggcctcg 6420
tgatacgcct atttttatag gttaatgtca tgataataat ggtttcttag acgtcaggtg 6480
gcacttttcg gggaaatgtg cgcggaaccc ctatttgttt atttttctaa atacattcaa 6540
atatgtatcc gctcatgaga caataaccct gataaatgct tcaataatat tgaaaaagga 6600
agagtatgag tattcaacat ttccgtgtcg cccttattcc ctttttgcg gcattttgcc 6660
ttcctgtttt tgctcaccca gaaacgctgg tgaaagtaaa agatgctgaa gatcagttgg 6720

gtgcacgagt gggttacatc gaactggatc tcaacagcgg taagatcctt gagagttttc 6780

gccccgaaga acgttttcca atgatgagca cttttaaagt tctgctatgt ggcgcggtat 6840

tatcccgtat tgacgccggg caagagcaac tcggtcgccg catacactat tctcagaatg 6900

acttggttga gtactcacca gtcacagaaa agcatcttac ggatggcatg acagtaagag 6960

aattatgcag tgctgccata accatgagtg ataacactgc ggccaactta cttctgacaa 7020

cgatcggagg accgaaggag ctaaccgctt ttttgcacaa catgggggat catgtaactc 7080

gccttgatcg ttgggaaccg gagctgaatg aagccatacc aaacgacgag cgtgacacca 7140

cgatgcctgt agcaatggca acaacgttgc gcaaactatt aactggcgaa ctacttactc 7200

tagcttcccg gcaacaatta atagactgga tggaggcgga taaagttgca ggaccacttc 7260

tgcgctcggc ccttccggct ggctggttta ttgctgataa atctggagcc ggtgagcgtg 7320

ggtctcgcgg tatcattgca gcactggggc cagatggtaa gccctcccgt atcgtagtta 7380

tctacacgac ggggagtcag gcaactatgg atgaacgaaa tagacagatc gctgagatag 7440

gtgcctcact gattaagcat tggtaactgt cagaccaagt ttactcatat atactttaga 7500

ttgatttaaa acttcatttt taatttaaaa ggatctaggt gaagatcctt tttgataatc 7560

tcatgaccaa aatcccttaa cgtgagtttt cgttccactg agcgtcagac cccgtagaaa 7620

agatcaaagg atcttcttga gatccttttt ttctgcgcgt aatctgctgc ttgcaaacaa 7680

aaaaaccacc gctaccagcg gtggtttgtt tgccggatca agagctacca actcttttc 7740

cgaaggtaac tggcttcagc agagcgcaga taccaaatac tgtccttcta gtgtagccgt 7800

agttaggcca ccacttcaag aactctgtag caccgcgtac atacctcgct ctgctaatcc 7860

tgttaccagt ggctgctgcc agtggcgata agtcgtgtct taccgggttg gactcaagac 7920

gatagttacc ggataaggcg cagcggtcgg gctgaacggg gggttcgtgc acacagccca 7980

gcttggagcg aacgacctac accgaactga gatacctaca gcgtgagcta tgagaaagcg 8040

ccacgcttcc cgaagggaga aaggcggaca ggtatccggt aagcggcagg gtcggaacag 8100

gagagcgcac gagggagctt ccagggggaa acgcctggta tctttatagt cctgtcgggt 8160

ttcgccacct ctgacttgag cgtcgatttt tgtgatgctc gtcaggggggg cggagcctat 8220

ggaaaaacgc cagcaacgcg gccttttttac ggttcctggc cttttgctgg ccttttgctc 8280

acatgttctt tcctgcgtta tcccctgatt ctgtggataa ccgtattacc gggtttgagt 8340

gagctgatac cgctcgccgc agccgaacga ccgagcgcag cgagtcagtg agcgaccaag 8400

cggaagagc 8409

<210> 6

<211> 8611

<212> DNA

<213> Adeno-associated virus

<400> 6

gcccaatacg caaaccgcct ctccccgcgc gttggccgat tcattaatgc agctggcgcg 60

ctcgctcgct cactgaggcc gcccgggcaa agcccgggcg tcgggcgacc tttggtcgcc 120

cggcctcagt gagcgagcga gcgcgcagag agggagtggc caactccatc actaggggtt 180

ccttgtagtt aatgattaac ccgccatgct aattatctac gtagccatgt ctagagttta 240

aacaagcttg catgtctaag ctagaccctt cagattaaaa ataactgagg taagggcctg 300

ggtaggggag gtggtgtgag acgctcctgt ctctcctcta tctgcccatc ggccctttgg 360

ggaggaggaa tgtgcccaag gactaaaaaa aggccatgga gccagagggg cgagggcaac 420

agacctttca tgggcaaacc ttggggccct gctgtctagc atgccccact acgggtctag 480

gctgcccatg taaggaggca aggcctgggg acacccgaga tgcctggtta taattaaccc 540

agacatgtgg ctgccccccc ccccccaaca cctgctgcct ctaaaaataa ccctgtccct 600

ggtggatccc ctgcatgcga agatcttcga acaaggctgt gggggactga gggcaggctg 660

taacaggctt gggggccagg gcttatacgt gcctgggact cccaaagtat tactgttcca 720

tgttcccggc gaagggccag ctgtcccccg ccagctagac tcagcactta gtttaggaac 780

cagtgagcaa gtcagccctt ggggcagccc atacaaggcc atggggctgg gcaagctgca 840

cgcctgggtc cggggtgggc acggtgcccg ggcaacgagc tgaaagctca tctgctctca 900

ggggcccctc cctggggaca gcccctcctg gctagtcaca ccctgtaggc tcctctatat 960

aacccagggg cacaggggct gccctcattc taccaccacc tccacagcac agacagacac 1020

tcaggagcca gccagcggcg cgcccaggta agtttagtct ttttgtcttt tatttcaggt 1080

cccggatccg gtggtggtgc aaatcaaaga actgctcctc agtggatgtt gcctttactt 1140

ctaggcctgt acggaagtgt tacttctgct ctaaaagctg cggaattgta cccgcggccg 1200

ccaccatgct gtggtgggag gaggtggagg attgttatga aagggaggac gtgcagaaga 1260

agacttttac caagtgggtg aacgctcagt tcagcaaatt tgggaagcag cacatcgaga 1320

atctgttttc cgacctgcag gatgggagac ggctgctgga tctgctggaa ggactgactg 1380

gccagaagct gcccaaagag aaggggagca ctagggtgca cgccctgaac aacgtgaaca 1440

aagctctgag agtgctgcag aacaacaacg tggatctggt gaatattggc agtactgata 1500

tcgtggacgg gaaccacaaa ctgacactgg gcctgatctg gaacattatt ctgcactggc 1560

aggtgaaaaa tgtgatgaag aacatcatgg ccgggctgca gcagaccaat tccgagaaga 1620

tcctgctgtc ttgggtgcgg cagagcaccc gcaactatcc ccaggtgaac gtgattaact 1680

tcactacatc ctggagcgac gggctggccc tgaatgctct gattcacagc cacaggcctg 1740

atctgttcga ctggaatagc gtggtgtgcc agcagtctgc cacacagcgc ctggaacatg 1800

ccttcaatat cgctcggtac cagctgggga tcgaaaaact gctggaccca gaggatgtgg 1860

acactacata cccagataaa aagtctattc tgatgtacat tactagcctg ttccaggtgc 1920

tgccacagca ggtgtctatt gaagccattc aggaggtgga aatgctgccc cgccccccca 1980

aagtgactaa agaggagcat tttcagctgc atcatcagat gcattacagc cagcagatta 2040

ccgtgagcct ggctcaggga tatgagcgca ccagtagtcc aaaaccacgg ttcaagtcct 2100

acgcttatac ccaggctgcc tacgtgacaa ctagcgaccc tactagatcc ccctttccat 2160

cccagcacct ggaggcccca gaggacaaga gctttgggtc cagcctgatg gaaagcgagg 2220

tgaatctgga tcggtaccag acagccctgg aggaggtgct gagctggctg ctgagtgctg 2280

aagacacact gcaggcccag ggcgaaattt ccaatgacgt ggaagtggtg aaggatcagt 2340

tccacacaca cgagggctat atgatggacc tgacagctca ccaggggcgc gtgggcaata 2400

tcctgcagct gggctctaaa ctgatcggca ccgggaaact gagtgaggac gaggaaacag 2460

aagtgcagga gcagatgaac ctgctgaaca gccgctggga gtgtctgaga gtggctagta 2520

tggagaagca gtccaacctg caccgggtgc tgatggacct gcagaaccag aaactgaaag 2580

agctgaacga ctggctgaca aagactgagg aacgcacaag gaagatggag gaggagccac 2640

tgggacccga cctggaggat ctgaagagac aggtgcagca gcataaggtg ctgcaggagg 2700

atctggaaca ggagcaggtg cgggtgaact ccctgacaca tatggtggtg gtggtggacg 2760

aatctagtgg agatcacgcc accgccgccc tggaggaaca gctgaaggtg ctgggggacc 2820

ggtgggccaa catttgccgg tggaccgagg acaggtgggt gctgctgcag gacatcctgc 2880

tgaaatggca gaggctgacc gaggagcagt gtctgtttag tgcttggctg agcgagaaag 2940

aggacgccgt gaacaagatc cacacaaccg gctttaagga tcagaacgaa atgctgtcta 3000

gcctgcagaa actggctgtg ctgaaggccg atctggagaa aaagaagcag agcatgggca 3060

aactgtatag cctgaaacag gacctgctga gcaccctgaa gaacaagagc gtgacccaga 3120

agacagaagc ctggctggat aactttgccc gctgctggga caacctggtg cagaaactgg 3180

agaaaagtac agctcagatc tctcaggctg tgaccacaac ccagcctagc ctgacccaga 3240

caaccgtgat ggaaaccgtg accaccgtga caacccgcga acagatcctg gtgaaacatg 3300

cccaggaaga gctgccacct ccacctcccc agaagaagag aaccctggag cggctgcagg 3360

agctgcagga agccactgac gaactggacc tgaagctgag gcaggccgaa gtgattaagg 3420

ggtcttggca gcctgtgggc gatctgctga ttgattccct gcaggaccac ctggaaaagg 3480

tgaaggctct gagaggcgaa attgctccac tgaaggagaa cgtgagtcat gtgaacgatc 3540

tggctagaca gctgacaaca ctgggcatcc agctgagccc atacaatctg agcacactgg 3600

aggacctgaa taccaggtgg aagctgctgc aggtggctgt ggaagaccgg gtgcggcagc 3660

tgcatgaggc ccatcgcgac ttcggaccag ccagccagca ctttctgagc acatccgtgc 3720

aggggccctg ggagagggcc atttctccca acaaggtgcc ctactatatt aatcacgaga 3780

cccagaccac ttgttgggac catcccaaga tgacagaact gtaccagtcc ctggccgatc 3840

tgaacaacgt gaggtttagc gcttacagaa ccgctatgaa gctgagacgg ctgcagaagg 3900

ccctgtgcct ggatctgctg tccctgtccg ccgcctgcga tgccctggat cagcataatc 3960

tgaagcagaa cgatcagcca atggatatcc tgcagatcat caactgcctg accactatct 4020

acgacaggct ggagcaggag cacaacaacc tggtgaacgt gcctctgtgc gtggatatgt 4080

gcctgaactg gctgctgaac gtgtatgaca ctgggcgcac cggccggatc agagtgctga 4140

gttttaaaac tgggattatc tccctgtgta aggcccacct ggaggacaag tacaggtacc 4200

tgttcaagca ggtggctagt agcactggat tttgtgacca gcgccgcctg ggactgctgc 4260

tgcatgatag tatccagatt cctagacagc tgggagaggt ggctagtttc ggaggatcta 4320

acatcgaacc cagcgtgcgc agctgtttcc agtttgccaa taacaaacct gaaatcgagg 4380

ctgctctgtt cctggattgg atgcgcctgg aaccacagag catggtgtgg ctgcctgtgc 4440

tgcacagagt ggctgccgcc gaaactgcca agcaccaggc taaatgcaac atctgcaagg 4500

aatgtcccat tatcggcttt cgctacagga gtctgaaaca ttttaactac gatatttgcc 4560

agagctgctt cttttccgga agagtggcca aaggacacaa gatgcactac cctatggtgg 4620

aatattgcac cccaactaca tctggcgaag atgtgcgcga ttttgccaag gtgctgaaga 4680

ataagtttcg gactaagagg tacttcgcca agcacccccg catggggtat ctgccagtgc 4740

agacagtgct ggaaggagac aatatggaga ccgatacaat gtgagcggcc gcaataaaag 4800

atctttattt tcattagatc tgtgtgttgg ttttttgtgt gtctagagca tggctacgta 4860

gataagtagc atggcgggtt aatcattaac tacaaggaac ccctagtgat ggagttggcc 4920

actccctctc tgcgcgctcg ctcgctcact gaggccgggc gaccaaaggt cgcccgacgc 4980

ccgggctttg cccgggcggc ctcagtgagc gagcgagcgc gccagctggc gtaatagcga 5040

agaggcccgc accgatcgcc cttcccaaca gttgcgcagc ctgaatggcg aatggaagtt 5100

ccagacgatt gagcgtcaaa atgtaggtat ttccatgagc gtttttcctg ttgcaatggc 5160

tggcggtaat attgttctgg atattaccag caaggccgat agtttgagtt cttctactca 5220

ggcaagtgat gttattacta atcaaagaag tattgcgaca acggttaatt tgcgtgatgg 5280

acagactctt ttactcggtg gcctcactga ttataaaaac acttctcagg attctggcgt 5340

accgttcctg tctaaaatcc ctttaatcgg cctcctgttt agctcccgct ctgattctaa 5400
cgaggaaagc acgttatacg tgctcgtcaa agcaaccata gtacgcgccc tgtagcggcg 5460
cattaagcgc ggcgggtgtg gtggttacgc gcagcgtgac cgctacactt gccagcgccc 5520
tagcgcccgc tcctttcgct ttcttcccct cctttctcgc cacgttcgcc ggctttcccc 5580
gtcaagctct aaatcggggg ctccctttag ggttccgatt tagtgattta cggcacctcg 5640
accccaaaaa acttgattag ggtgatggtt cacgtagtgg gccatcgccc tgatagacgg 5700
tttttcgccc tttgacgttg gagtccacgt tctttaatag tggactcttg ttccaaactg 5760

gaacaacact caaccctatc tcggtctatt cttttgattt ataagggatt ttgccgattt 5820
cggcctattg gttaaaaaat gagctgattt aacaaaaatt taacgcgaat tttaacaaaa 5880
tattaacgtt tacaatttaa atatttgctt atacaatctt cctgtttttg gggcttttct 5940
gattatcaac cggggtacat atgattgaca tgctagtttt acgattaccg ttcatcgatt 6000
ctcttgtttg ctccagactc tcaggcaatg acctgatagc ctttgtagag acctctcaaa 6060
aatagctacc ctctccggca tgaatttatc agctagaacg gttgaatatc atattgatgg 6120
tgatttgact gtctccggcc tttctcaccc gtttgaatct ttacctacac attactcagg 6180

cattgcattt aaaatatatg agggttctaa aaatttttat ccttgcgttg aaataaaggc 6240
ttctcccgca aaagtattac agggtcataa tgtttttggt acaaccgatt tagctttatg 6300
ctctgaggct ttattgctta attttgctaa ttctttgcct tgcctgtatg atttattgga 6360
tgttggaagt tcctgatgcg gtattttctc cttacgcatc tgtgcggtat ttcacaccgc 6420
atatggtgca ctctcagtac aatctgctct gatgccgcat agttaagcca gccccgacac 6480
ccgccaacac ccgctgacgc gccctgacgg gcttgtctgc tcccggcatc cgcttacaga 6540
caagctgtga ccgtctccgg gagctgcatg tgtcagaggt tttcaccgtc atcaccgaaa 6600

cgcgcgagac gaaagggcct cgtgatacgc ctatttttat aggttaatgt catgataata 6660
atggtttctt agacgtcagg tggcactttt cggggaaatg tgcgcggaac ccctatttgt 6720
ttatttttct aaatacattc aaatatgtat ccgctcatga gacaataacc ctgataaatg 6780
cttcaataat attgaaaaag gaagagtatg agtattcaac atttccgtgt cgcccttatt 6840
cccttttttg cggcattttg ccttcctgtt tttgctcacc cagaaacgct ggtgaaagta 6900
aaagatgctg aagatcagtt gggtgcacga gtgggttaca tcgaactgga tctcaacagc 6960
ggtaagatcc ttgagagttt tcgccccgaa gaacgttttc caatgatgag cacttttaaa 7020

gttctgctat gtggcgcggt attatcccgt attgacgccg ggcaagagca actcggtcgc 7080

cgcatacact attctcagaa tgacttggtt gagtactcac cagtcacaga aaagcatctt 7140

acggatggca tgacagtaag agaattatgc agtgctgcca taaccatgag tgataacact 7200

gcggccaact tacttctgac aacgatcgga ggaccgaagg agctaaccgc ttttttgcac 7260

aacatggggg atcatgtaac tcgccttgat cgttgggaac cggagctgaa tgaagccata 7320

ccaaacgacg agcgtgacac cacgatgcct gtagcaatgg caacaacgtt gcgcaaacta 7380

ttaactggcg aactacttac tctagcttcc cggcaacaat taatagactg gatggaggcg 7440

gataaagttg caggaccact tctgcgctcg gcccttccgg ctggctggtt tattgctgat 7500

aaatctggag ccggtgagcg tgggtctcgc ggtatcattg cagcactggg gccagatggt 7560

aagccctccc gtatcgtagt tatctacacg acggggagtc aggcaactat ggatgaacga 7620

aatagacaga tcgctgagat aggtgcctca ctgattaagc attggtaact gtcagaccaa 7680

gtttactcat atatacttta gattgattta aaacttcatt tttaatttaa aaggatctag 7740

gtgaagatcc tttttgataa tctcatgacc aaaatccctt aacgtgagtt ttcgttccac 7800

tgagcgtcag accccgtaga aaagatcaaa ggatcttctt gagatccttt ttttctgcgc 7860

gtaatctgct gcttgcaaac aaaaaaacca ccgctaccag cggtggtttg tttgccggat 7920

caagagctac caactctttt tccgaaggta actggcttca gcagagcgca gataccaaat 7980

actgtccttc tagtgtagcc gtagttaggc caccacttca agaactctgt agcaccgcgt 8040

acatacctcg ctctgctaat cctgttacca gtggctgctg ccagtggcga taagtcgtgt 8100

cttaccgggt tggactcaag acgatagtta ccggataagg cgcagcggtc gggctgaacg 8160

gggggttcgt gcacacagcc cagcttggag cgaacgacct acaccgaact gagataccta 8220

cagcgtgagc tatgagaaag cgccacgctt cccgaaggga gaaaggcgga caggtatccg 8280

gtaagcggca gggtcggaac aggagagcgc acgagggagc ttccaggggg aaacgcctgg 8340

tatctttata gtcctgtcgg gtttcgccac ctctgacttg agcgtcgatt tttgtgatgc 8400

tcgtcagggg ggcggagcct atggaaaaac gccagcaacg cggccttttt acggttcctg 8460

gccttttgct ggccttttgc tcacatgttc tttcctgcgt tatcccctga ttctgtggat 8520

aaccgtatta ccgggtttga gtgagctgat accgctcgcc gcagccgaac gaccgagcgc 8580

agcgagtcag tgagcgacca agcggaagag c 8611

<210> 7

<211> 792

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Promoter

<400> 7

aagcttgcat gtctaagcta gacccttcag attaaaaata actgaggtaa gggcctgggt 60

aggggaggtg gtgtgagacg ctcctgtctc tcctctatct gcccatcggc cctttgggga 120

ggaggaatgt gcccaaggac taaaaaaagg ccatggagcc agaggggcga gggcaacaga 180

cctttcatgg gcaaaccttg gggccctgct gtctagcatg ccccactacg ggtctaggct 240

gcccatgtaa ggaggcaagg cctggggaca cccgagatgc ctggttataa ttaacccaga 300

catgtggctg ccccccccc cccaacacct gctgcctcta aaaataaccc tgtccctggt 360

ggatcccctg catgcgaaga tcttcgaaca aggctgtggg ggactgaggg caggctgtaa 420

caggcttggg ggccagggct tatacgtgcc tgggactccc aaagtattac tgttccatgt 480

tcccggcgaa gggccagctg tcccccgcca gctagactca gcacttagtt taggaaccag 540

tgagcaagtc agcccttggg gcagcccata caaggccatg gggctgggca agctgcacgc 600

ctgggtccgg ggtgggcacg gtgcccgggc aacgagctga aagctcatct gctctcaggg 660

gcccctccct ggggacagcc cctcctggct agtcacaccc tgtaggctcc tctatataac 720

ccaggggcac aggggctgcc ctcattctac caccacctcc acagcacaga cagacactca 780

ggagcagcca gc 792

<210> 8

<211> 8629

<212> DNA

<213> Adeno-associated virus

<400> 8

gcgcgctcgc tcgctcactg aggccgcccg ggcaaagccc gggcgtcggg cgacctttgg 60

tcgcccggcc tcagtgagcg agcgagcgcg cagagaggga gtggccaact ccatcactag 120

gggttccttg tagttaatga ttaacccgcc atgctactta tctacgtagc catgctctag 180

agtttaaaca agcttgcatg tctaagctag acccttcaga ttaaaaataa ctgaggtaag 240

ggcctgggta ggggaggtgg tgtgagacgc tcctgtctct cctctatctg cccatcggcc 300

ctttggggag gaggaatgtg cccaaggact aaaaaaaggc catggagcca gaggggcgag 360

ggcaacagac ctttcatggg caaaccttgg ggccctgctg tctagcatgc cccactacgg 420

gtctaggctg cccatgtaag gaggcaaggc ctggggacac ccgagatgcc tggttataat 480

taacccagac atgtggctgc ccccccccc ccaacacctg ctgcctctaa aaataaccct 540

gtccctggtg gatcccctgc atgcgaagat cttcgaacaa ggctgtgggg gactgagggc 600

aggctgtaac aggcttgggg gccagggctt atacgtgcct gggactccca aagtattact 660

gttccatgtt cccggcgaag ggccagctgt cccccgccag ctagactcag cacttagttt 720

aggaaccagt gagcaagtca gcccttgggg cagcccatac aaggccatgg ggctgggcaa 780

gctgcacgcc tgggtccggg gtgggcacgg tgcccgggca acgagctgaa agctcatctg 840

ctctcagggg cccctccctg gggacagccc ctcctggcta gtcacaccct gtaggctcct 900

ctatataacc caggggcaca ggggctgccc tcattctacc accacctcca cagcacagac 960

agacactcag gagcagccag cggcgcgccc aggtaagttt agtctttttg tcttttattt 1020

caggtcccgg atccggtggt ggtgcaaatc aaagaactgc tcctcagtgg atgttgcctt 1080

tacttctagg cctgtacgga agtgttactt ctgctctaaa agctgcggaa ttgtacccgc 1140

ggccgccacc atgctgtggt gggaggaggt ggaggattgt tatgaaaggg aggacgtgca 1200

gaagaagact tttaccaagt gggtgaacgc tcagttcagc aaatttggga agcagcacat 1260

cgagaatctg ttttccgacc tgcaggatgg gagacggctg ctggatctgc tggaaggact 1320

gactggccag aagctgccca aagagaaggg gagcactagg gtgcacgccc tgaacaacgt 1380

gaacaaagct ctgagagtgc tgcagaacaa caacgtggat ctggtgaata ttggcagtac 1440

tgatatcgtg gacgggaacc acaaactgac actgggcctg atctggaaca ttattctgca 1500

ctggcaggtg aaaaatgtga tgaagaacat catggccggg ctgcagcaga ccaattccga 1560

gaagatcctg ctgtcttggg tgcggcagag cacccgcaac tatccccagg tgaacgtgat 1620

taacttcact acatcctgga gcgacgggct ggccctgaat gctctgattc acagccacag 1680

gcctgatctg ttcgactgga atagcgtggt gtgccagcag tctgccacac agcgcctgga 1740

acatgccttc aatatcgctc ggtaccagct ggggatcgaa aaactgctgg acccagagga 1800

tgtggacact acatacccag ataaaaagtc tattctgatg tacattacta gcctgttcca 1860

ggtgctgcca cagcaggtgt ctattgaagc cattcaggag gtggaaatgc tgccccgccc 1920

ccccaaagtg actaaagagg agcattttca gctgcatcat cagatgcatt acagccagca 1980

gattaccgtg agcctggctc agggatatga gcgcaccagt agtccaaaac cacggttcaa 2040

gtcctacgct tatacccagg ctgcctacgt gacaactagc gaccctacta gatccccctt 2100

tccatcccag cacctggagg ccccagagga caagagcttt gggtccagcc tgatggaaag 2160

cgaggtgaat ctggatcggt accagacagc cctggaggag gtgctgagct ggctgctgag 2220

tgctgaagac acactgcagg cccagggcga aatttccaat gacgtggaag tggtgaagga 2280

tcagttccac acacacgagg gctatatgat ggacctgaca gctcaccagg ggcgcgtggg 2340

caatatcctg cagctgggct ctaaactgat cggcaccggg aaactgagtg aggacgagga 2400

aacagaagtg caggagcaga tgaacctgct gaacagccgc tgggagtgtc tgagagtggc 2460

tagtatggag aagcagtcca acctgcaccg ggtgctgatg gacctgcaga accagaaact 2520

gaaagagctg aacgactggc tgacaaagac tgaggaacgc acaaggaaga tggaggagga 2580

gccactggga cccgacctgg aggatctgaa gagacaggtg cagcagcata aggtgctgca 2640

ggaggatctg gaacaggagc aggtgcgggt gaactccctg acacatatgg tggtggtggt 2700

ggacgaatct agtggagatc acgccaccgc cgccctggag gaacagctga aggtgctggg 2760

ggaccggtgg gccaacattt gccggtggac cgaggacagg tgggtgctgc tgcaggacat 2820

cctgctgaaa tggcagaggc tgaccgagga gcagtgtctg tttagtgctt ggctgagcga 2880

gaaagaggac gccgtgaaca agatccacac aaccggcttt aaggatcaga acgaaatgct 2940

gtctagcctg cagaaactgg ctgtgctgaa ggccgatctg gagaaaaaga agcagagcat 3000

gggcaaactg tatagcctga aacaggacct gctgagcacc ctgaagaaca agagcgtgac 3060

ccagaagaca gaagcctggc tggataactt tgcccgctgc tgggacaacc tggtgcagaa 3120

actggagaaa agtacagctc agatctctca ggctgtgacc acaacccagc ctagcctgac 3180

ccagacaacc gtgatggaaa ccgtgaccac cgtgacaacc cgcgaacaga tcctggtgaa 3240

acatgcccag gaagagctgc cacctccacc tccccagaag aagagaaccc tggagcggct 3300

gcaggagctg caggaagcca ctgacgaact ggacctgaag ctgaggcagg ccgaagtgat 3360

taaggggtct tggcagcctg tgggcgatct gctgattgat tccctgcagg accacctgga 3420

aaaggtgaag gctctgagag gcgaaattgc tccactgaag gagaacgtga gtcatgtgaa 3480

cgatctggct agacagctga caacactggg catccagctg agcccataca atctgagcac 3540

actggaggac ctgaatacca ggtggaagct gctgcaggtg gctgtggaag accgggtgcg 3600

gcagctgcat gaggcccatc gcgacttcgg accagccagc cagcactttc tgagcacatc 3660

cgtgcagggg ccctgggaga gggccatttc tcccaacaag gtgccctact atattaatca 3720

cgagacccag accacttgtt gggaccatcc caagatgaca gaactgtacc agtccctggc 3780

cgatctgaac aacgtgaggt ttagcgctta cagaaccgct atgaagctga gacggctgca 3840

gaaggccctg tgcctggatc tgctgtccct gtccgccgcc tgcgatgccc tggatcagca 3900

taatctgaag cagaacgatc agccaatgga tatcctgcag atcatcaact gcctgaccac 3960

tatctacgac aggctggagc aggagcacaa caacctggtg aacgtgcctc tgtgcgtgga 4020

tatgtgcctg aactggctgc tgaacgtgta tgacactggg cgcaccggcc ggatcagagt 4080

gctgagtttt aaaactggga ttatctccct gtgtaaggcc cacctggagg acaagtacag 4140

gtacctgttc aagcaggtgg ctagtagcac tggattttgt gaccagcgcc gcctgggact 4200

gctgctgcat gatagtatcc agattcctag acagctggga gaggtggcta gtttcggagg 4260

atctaacatc gaacccagcg tgcgcagctg tttccagttt gccaataaca aacctgaaat 4320

cgaggctgct ctgttcctgg attggatgcg cctggaacca cagagcatgg tgtggctgcc 4380

tgtgctgcac agagtggctg ccgccgaaac tgccaagcac caggctaaat gcaacatctg 4440

caaggaatgt cccattatcg gctttcgcta caggagtctg aaacatttta actacgatat 4500

ttgccagagc tgcttctttt ccggaagagt ggccaaagga cacaagatgc actaccctat 4560

ggtggaatat tgcaccccaa ctacatctgg cgaagatgtg cgcgattttg ccaaggtgct 4620

gaagaataag tttcggacta agaggtactt cgccaagcac ccccgcatgg ggtatctgcc 4680

agtgcagaca gtgctggaag gagacaatat ggagaccgat acaatgtgag cggccgcaat 4740

aaaagatctt tattttcatt agatctgtgt gttggttttt tgtgtgtcta gagtcgacca 4800

gagcatggct acgtagataa gtagcatggc gggttaatca ttaactacaa ggaacccCta 4860

gtgatggagt tggccactcc ctctctgcgc gctcgctcgc tcactgaggc cgggcgacca 4920

aaggtcgccc gacgcccggg ctttgcccgg gcggcctcag tgagcgagcg agcgcgcagc 4980

tgcattaatg aatcggccaa cgcgcgggga gaggcggttt gcgtattggg cgctcttccg 5040

cttcctcgct cactgactcg ctgcgctcgg tcgttcggct gcggcgagcg gtatcagctc 5100

actcaaaggc ggtaatacgg ttatccacag aatcagggga taacgcagga aagaacatgt 5160

gagcaaaagg ccagcaaaag gccaggaacc gtaaaaaggc cgcgttgctg gcgtttttcc 5220

ataggctccg cccccctgac gagcatcaca aaaatcgacg ctcaagtcag aggtggcgaa 5280

acccgacagg actataaaga taccaggcgt ttcccccctgg aagctccctc gtgcgctctc 5340

ctgttccgac cctgccgctt accggatacc tgtccgcctt tctcccttcg ggaagcgtgg 5400

cgctttctca tagctcacgc tgtaggtatc tcagttcggt gtaggtcgtt cgctccaagc 5460

tgggctgtgt gcacgaaccc cccgttcagc ccgaccgctg cgccttatcc ggtaactatc 5520

gtcttgagtc caacccggta agacacgact tatcgccact ggcagcagcc actggtaaca 5580

ggattagcag agcgaggtat gtaggcggtg ctacagagtt cttgaagtgg tggcctaact 5640

acggctacac tagaagaaca gtatttggta tctgcgctct gctgaagcca gttaccttcg 5700

gaaaaagagt tggtagctct tgatccggca aacaaaccac cgctggtagc ggtggttttt 5760

ttgtttgcaa gcagcagatt acgcgcagaa aaaaaggatc tcaagaagat cctttgatct 5820

tttctacggg gtctgacgct cagtggaacg aaaactcacg ttaagggatt ttggtcatga 5880

gattatcaaa aaggatcttc acctagatcc ttttaaatta aaaatgaagt tttaaatcaa 5940

tctaaagtat atatgagtaa aaatattccg gaattgccag ctggggcgcc ctctggtaag 6000

gttgggaagc cctgcaaagt aaactggatg gctttcttgc cgccaaggat ctgatggcgc 6060

aggggatcaa gatctgatca agagacagga tgaggatcgt ttcgcatgat tgaacaagat 6120

ggattgcacg caggttctcc ggccgcttgg gtggagaggc tattcggcta tgactgggca 6180

caacagacaa tcggctgctc tgatgccgcc gtgttccggc tgtcagcgca ggggcgcccg 6240

gttctttttg tcaagaccga cctgtccggt gccctgaatg aactgcagga cgaggcagcg 6300

cggctatcgt ggctggccac gacgggcgtt ccttgcgcag ctgtgctcga cgttgtcact 6360

gaagcgggaa gggactggct gctattgggc gaagtgccgg ggcaggatct cctgtcatcc 6420

caccttgctc ctgccgagaa agtatccatc atggctgatg caatgcggcg gctgcatacg 6480

cttgatccgg ctacctgccc attcgaccac caagcgaaac atcgcatcga gcgagcacgt 6540

actcggatgg aagccggtct tgtcgatcag gatgatctgg acgaagagca tcaggggctc 6600

gcgccagccg aactgttcgc caggctcaag gcgcgcatgc ccgacggcga ggatctcgtc 6660

gtgacccatg gcgatgcctg cttgccgaat atcatggtgg aaaatggccg cttttctgga 6720

ttcatcgact gtggccggct gggtgtggcg gaccgctatc aggacatagc gttggctacc 6780

cgtgatattg ctgaagagct tggcggcgaa tgggctgacc gcttcctcgt gctttacggt 6840

atcgccgctc ccgattcgca gcgcatcgcc ttctatcgcc ttcttgacga gttcttctga 6900

accggtaata ttattgaagc atttatcagg gttattgtct catgagcgga tacatatttg 6960

aatgtattta gaaaaataaa caaatagggg ttccgcgcac atttccccga aaagtgccac 7020

ctgacgtcta agaaaccatt attatcatga cattaaccta taaaaatagg cgtatcacga 7080

ggcccctttcg tctcgcgcgt ttcggtgatg acggtgaaaa cctctgacac atgcagctcc 7140

cggagacggt cacagcttgt ctgtaagcgg atgccgggag cagacaagcc cgtcagggcg 7200

cgtcagcggg tgttggcggg tgtcggggct ggcttaacta tgcggcatca gagcagattg 7260

tactgagagt gcaccatatg cggtgtgaaa taccgcacag atgcgtaagg agaaaatacc 7320

gcatcaggcg attccaacat ccaataaatc atacaggcaa ggcaaagaat tagcaaaatt 7380

aagcaataaa gcctcagagc ataaagctaa atcggttgta ccaaaaacat tatgaccctg 7440

taatactttt gcgggagaag cctttatttc aacgcaagga taaaaatttt tagaaccctc 7500

atatatttta aatgcaatgc ctgagtaatg tgtaggtaaa gattcaaacg ggtgagaaag 7560

gccggagaca gtcaaatcac catcaatatg atattcaacc gttctagctg ataaattcat 7620

gccggagagg gtagctattt ttgagaggtc tctacaaagg ctatcaggtc attgcctgag 7680

agtctggagc aaacaagaga atcgatgaac ggtaatcgta aaactagcat gtcaatcata 7740

tgtaccccgg ttgataatca gaaaagcccc aaaaacagga agattgtata agcaaatatt 7800

taaattgtaa gcgttaatat tttgttaaaa ttcgcgttaa atttttgtta aatcagctca 7860

tttttttaacc aataggccga aatcggcaaa atcccttata aatcaaaaga atagaccgag 7920

atagggttga gtgttgttcc agtttggaac aagagtccac tattaaagaa cgtggactcc 7980

aacgtcaaag ggcgaaaaac cgtctatcag ggcgatggcc cactacgtga accatcaccc 8040

taatcaagtt ttttggggtc gaggtgccgt aaagcactaa atcggaaccc taaagggagc 8100

ccccgattta gagcttgacg gggaaagccg gcgaacgtgg cgagaaagga agggaagaaa 8160

gcgaaaggag cgggcgctag ggcgctggca agtgtagcgg tcacgctgcg cgtaaccacc 8220

acacccgccg cgcttaatgc gccgctacag ggcgcgtact atggttgctt tgacgagcac 8280

gtataacgtg ctttcctcgt tagaatcaga gcgggagcta aacaggaggc cgattaaagg 8340

gattttagac aggaacggta cgccagaatc ctgagaagtg tttttataat cagtgaggcc 8400

accgagtaaa agagtctgtc catcacgcaa attaaccgtt gtcgcaatac ttctttgatt 8460

agtaataaca tcacttgcct gagtagaaga actcaaacta tcggccttgc tggtaatatc 8520

cagaacaata ttaccgccag ccattgcaac ggaatcgcca ttcgccattc aggctgcgca 8580

actgttggga agggcgatcg gtgcgggcct cttcgctatt acgccagct 8629

<210> 9

<211> 4977

<212> DNA

<213> Adeno-associated virus

<400> 9

gcgcgctcgc tcgctcactg aggccgcccg ggcaaagccc gggcgtcggg cgacctttgg 60

tcgcccggcc tcagtgagcg agcgagcgcg cagagaggga gtggccaact ccatcactag 120

gggttccttg tagttaatga ttaacccgcc atgctactta tctacgtagc catgctctag 180

agtttaaaca agcttgcatg tctaagctag acccttcaga ttaaaaataa ctgaggtaag 240

ggcctgggta ggggaggtgg tgtgagacgc tcctgtctct cctctatctg cccatcggcc 300

ctttggggag gaggaatgtg cccaaggact aaaaaaaggc catggagcca gaggggcgag 360

ggcaacagac ctttcatggg caaaccttgg ggccctgctg tctagcatgc cccactacgg 420

gtctaggctg cccatgtaag gaggcaaggc ctggggacac ccgagatgcc tggttataat 480

taacccagac atgtggctgc ccccccccc ccaacacctg ctgcctctaa aaataaccct 540

gtccctggtg gatcccctgc atgcgaagat cttcgaacaa ggctgtgggg gactgagggc 600

aggctgtaac aggcttgggg gccagggctt atacgtgcct gggactccca aagtattact 660

gttccatgtt cccggcgaag ggccagctgt cccccgccag ctagactcag cacttagttt 720

aggaaccagt gagcaagtca gcccttgggg cagcccatac aaggccatgg ggctgggcaa 780

gctgcacgcc tgggtccggg gtgggcacgg tgcccgggca acgagctgaa agctcatctg 840

ctctcagggg cccctccctg gggacagccc ctcctggcta gtcacaccct gtaggctcct 900

ctatataacc caggggcaca ggggctgccc tcattctacc accacctcca cagcacagac 960

agacactcag gagcagccag cggcgcgccc aggtaagttt agtctttttg tcttttattt 1020

caggtcccgg atccggtggt ggtgcaaatc aaagaactgc tcctcagtgg atgttgcctt 1080

tacttctagg cctgtacgga agtgttactt ctgctctaaa agctgcggaa ttgtacccgc 1140

ggccgccacc atgctgtggt gggaggaggt ggaggattgt tatgaaaggg aggacgtgca 1200

gaagaagact tttaccaagt gggtgaacgc tcagttcagc aaatttggga agcagcacat 1260

cgagaatctg ttttccgacc tgcaggatgg gagacggctg ctggatctgc tggaaggact 1320

gactggccag aagctgccca aagagaaggg gagcactagg gtgcacgccc tgaacaacgt 1380

gaacaaagct ctgagagtgc tgcagaacaa caacgtggat ctggtgaata ttggcagtac 1440

tgatatcgtg gacgggaacc acaaactgac actgggcctg atctggaaca ttattctgca 1500

ctggcaggtg aaaaatgtga tgaagaacat catggccggg ctgcagcaga ccaattccga 1560

gaagatcctg ctgtcttggg tgcggcagag cacccgcaac tatccccagg tgaacgtgat 1620

taacttcact acatcctgga gcgacgggct ggccctgaat gctctgattc acagccacag 1680

gcctgatctg ttcgactgga atagcgtggt gtgccagcag tctgccacac agcgcctgga 1740

acatgccttc aatatcgctc ggtaccagct ggggatcgaa aaactgctgg acccagagga 1800

tgtggacact acatacccag ataaaaagtc tattctgatg tacattacta gcctgttcca 1860

ggtgctgcca cagcaggtgt ctattgaagc cattcaggag gtggaaatgc tgccccgccc 1920

ccccaaagtg actaaagagg agcattttca gctgcatcat cagatgcatt acagccagca 1980

gattaccgtg agcctggctc agggatatga gcgcaccagt agtccaaaac cacggttcaa 2040

gtcctacgct tatacccagg ctgcctacgt gacaactagc gaccctacta gatccccctt 2100

tccatcccag cacctggagg ccccagagga caagagcttt gggtccagcc tgatggaaag 2160

cgaggtgaat ctggatcggt accagacagc cctggaggag gtgctgagct ggctgctgag 2220

tgctgaagac acactgcagg cccagggcga aatttccaat gacgtggaag tggtgaagga 2280

tcagttccac acacacgagg gctatatgat ggacctgaca gctcaccagg ggcgcgtggg 2340

caatatcctg cagctgggct ctaaactgat cggcaccggg aaactgagtg aggacgagga 2400

aacagaagtg caggagcaga tgaacctgct gaacagccgc tgggagtgtc tgagagtggc 2460

tagtatggag aagcagtcca acctgcaccg ggtgctgatg gacctgcaga accagaaact 2520

gaaagagctg aacgactggc tgacaaagac tgaggaacgc acaaggaaga tggaggagga 2580

gccactggga cccgacctgg aggatctgaa gagacaggtg cagcagcata aggtgctgca 2640
ggaggatctg gaacaggagc aggtgcgggt gaactccctg acacatatgg tggtggtggt 2700
ggacgaatct agtggagatc acgccaccgc cgccctggag gaacagctga aggtgctggg 2760
ggaccggtgg gccaacattt gccggtggac cgaggacagg tgggtgctgc tgcaggacat 2820
cctgctgaaa tggcagaggc tgaccgagga gcagtgtctg tttagtgctt ggctgagcga 2880
gaaagaggac gccgtgaaca agatccacac aaccggcttt aaggatcaga acgaaatgct 2940
gtctagcctg cagaaactgg ctgtgctgaa ggccgatctg gagaaaaaga agcagagcat 3000

gggcaaactg tatagcctga aacaggacct gctgagcacc ctgaagaaca agagcgtgac 3060
ccagaagaca gaagcctggc tggataactt tgcccgctgc tgggacaacc tggtgcagaa 3120
actggagaaa agtacagctc agatctctca ggctgtgacc acaacccagc ctagcctgac 3180
ccagacaacc gtgatggaaa ccgtgaccac cgtgacaacc cgcgaacaga tcctggtgaa 3240
acatgcccag gaagagctgc cacctccacc tccccagaag aagagaaccc tggagcggct 3300
gcaggagctg caggaagcca ctgacgaact ggacctgaag ctgaggcagg ccgaagtgat 3360
taaggggtct tggcagcctg tgggcgatct gctgattgat tccctgcagg accacctgga 3420

aaaggtgaag gctctgagag gcgaaattgc tccactgaag gagaacgtga gtcatgtgaa 3480
cgatctggct agacagctga caacactggg catccagctg agcccataca atctgagcac 3540
actggaggac ctgaatacca ggtggaagct gctgcaggtg gctgtggaag accgggtgcg 3600
gcagctgcat gaggcccatc gcgacttcgg accagccagc cagcactttc tgagcacatc 3660
cgtgcagggg ccctgggaga gggccatttc tcccaacaag gtgccctact atattaatca 3720
cgagacccag accacttgtt gggaccatcc caagatgaca gaactgtacc agtccctggc 3780
cgatctgaac aacgtgaggt ttagcgctta cagaaccgct atgaagctga gacggctgca 3840

gaaggccctg tgcctggatc tgctgtccct gtccgccgcc tgcgatgccc tggatcagca 3900
taatctgaag cagaacgatc agccaatgga tatcctgcag atcatcaact gcctgaccac 3960
tatctacgac aggctggagc aggagcacaa caacctggtg aacgtgcctc tgtgcgtgga 4020
tatgtgcctg aactggctgc tgaacgtgta tgacactggg cgcaccggcc ggatcagagt 4080
gctgagtttt aaaactggga ttatctccct gtgtaaggcc cacctggagg acaagtacag 4140
gtacctgttc aagcaggtgg ctagtagcac tggattttgt gaccagcgcc gcctgggact 4200
gctgctgcat gatagtatcc agattcctag acagctggga gaggtggcta gtttcggagg 4260

atctaacatc gaacccagcg tgcgcagctg tttccagttt gccaataaca aacctgaaat 4320

cgaggctgct ctgttcctgg attggatgcg cctggaacca cagagcatgg tgtggctgcc 4380

tgtgctgcac agagtggctg ccgccgaaac tgccaagcac caggctaaat gcaacatctg 4440

caaggaatgt cccattatcg gctttcgcta caggagtctg aaacatttta actacgatat 4500

ttgccagagc tgcttctttt ccggaagagt ggccaaagga cacaagatgc actaccctat 4560

ggtggaatat tgcaccccaa ctacatctgg cgaagatgtg cgcgattttg ccaaggtgct 4620

gaagaataag tttcggacta agaggtactt cgccaagcac ccccgcatgg ggtatctgcc 4680

agtgcagaca gtgctggaag gagacaatat ggagaccgat acaatgtgag cggccgcaat 4740

aaaagatctt tattttcatt agatctgtgt gttggttttt tgtgtgtcta gagtcgacca 4800

gagcatggct acgtagataa gtagcatggc gggttaatca ttaactacaa ggaaccccta 4860

gtgatggagt tggccactcc ctctctgcgc gctcgctcgc tcactgaggc cgggcgacca 4920

aaggtcgccc gacgcccggg ctttgcccgg gcggcctcag tgagcgagcg agcgcgc 4977