



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2023-0127263
(43) 공개일자 2023년08월31일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 14/705 (2006.01) A61K 48/00 (2006.01)
A61P 27/02 (2006.01) A61P 27/16 (2006.01)
C12N 15/86 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C07K 14/705 (2013.01)
A61K 48/005 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2023-7025236
(22) 출원일자(국제) 2021년12월22일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2023년07월24일
(86) 국제출원번호 PCT/US2021/064924
(87) 국제공개번호 WO 2022/146839
국제공개일자 2022년07월07일
(30) 우선권주장
63/131,413 2020년12월29일 미국(US)

(71) 출원인
아카우오스, 인크.
미국 02210 매사추세츠주 보스턴 써머 스트리트
645 스위트 200
(72) 발명자
시몬스, 엠마뉴엘 존
미국 02446 매사추세츠 브루클린 스탯슨 스트리트
7
웅, 로버트
미국 02458 매사추세츠 뉴튼 엠에이 유에스 뉴튼
링컨 로드47 유닛 1
(74) 대리인
양영준, 이상남

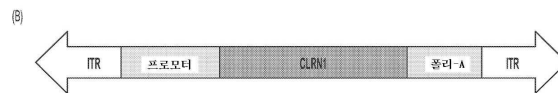
전체 청구항 수 : 총 38 항

(54) 발명의 명칭 CLRN1-연관된 청력손실 및/또는 시력손실을 치료하기위한 조성물 및 방법

(57) 요약

본 개시내용은 프로모터에 작동 가능하게 연결된 코딩 서열을 포함하는 작제물을 제공하되, 여기서 코딩 서열은 클라린 1 단백질을 인코딩한다. 예시적인 작제물은 AAV 작제물을 포함한다. 또한 청력손실 및/또는 귀먹음의 치료를 위하여 개시된 작제물을 사용하는 방법이 제공된다. 또한 시력손실의 치료를 위하여 개시된 작제물을 사용하는 방법이 제공된다.

대표도



도 1

(52) CPC특허분류

A61K 48/0075 (2013.01)

A61P 27/02 (2018.01)

A61P 27/16 (2018.01)

C12N 15/86 (2013.01)

C12N 2750/14143 (2013.01)

C12N 2830/008 (2013.01)

C12N 2830/50 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

작제물로서, 프로모터에 작동 가능하게 연결된 코딩 서열을 포함하되, 상기 코딩 서열은 클라린 1 단백질 (clarin 1 protein)을 인코딩하는, 작제물.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 코딩 서열은 CLRN1 유전자인, 작제물.

청구항 3

제2항에 있어서, 상기 CLRN1 유전자는 인간 CLRN1 유전자인, 작제물.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 클라린 1 단백질은 인간 클라린 1 단백질인, 작제물.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 프로모터는 유도성 프로모터, 구성적 프로모터 또는 조직-특이적 프로모터인, 작제물.

청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 프로모터는 내이 세포-특이적 프로모터이고, 선택적으로 상기 내이 세포-특이적 프로모터는 GJB2 프로모터, GJB6 프로모터, CLRN1 프로모터,TECTA 프로모터, DFNA5 프로모터, COCH 프로모터, NDP 프로모터, SYN1 프로모터, GFAP 프로모터, PLP 프로모터, TAK1 프로모터, SOX21 프로모터, SOX2 프로모터, FGFR3 프로모터, PROX1 프로모터, GLAST1 프로모터, LGR5 프로모터, HES1 프로모터, HES5 프로모터, NOTCH1 프로모터, JAG1 프로모터, CDKN1A 프로모터, CDKN1B 프로모터, SOX10 프로모터, P75 프로모터, CD44 프로모터, HEY2 프로모터, LFNG 프로모터 또는 S100b 프로모터인, 작제물.

청구항 7

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 프로모터는 안구 세포-특이적 프로모터이고, 선택적으로 상기 안구 세포-특이적 프로모터는 CLRN1 프로모터, RPE65 프로모터, RLBP1 프로모터, VMD2 프로모터, IRBP 프로모터, GNAT2 프로모터, PR1.7 프로모터, PR2.1 프로모터, HB569 프로모터, CAR 프로모터, GRK1 프로모터, RK 프로모터, B-PDE 프로모터, GRM6 프로모터, Nefh 프로모터, Tyh1 프로모터, SYN 프로모터, GFAP 프로모터, 또는 다른 옵신 또는 로돕신 프로모터인, 작제물.

청구항 8

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 프로모터는 CAG 프로모터, CBA 프로모터, CMV 프로모터 또는 CB7 프로모터인, 작제물.

청구항 9

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, 폴리아데닐화 서열을 더 포함하는, 작제물.

청구항 10

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, 2개의 AAV 역위 말단 반복부(ITR)를 더 포함하되, 2개의 AAV ITR은 상기 코딩 서열 및 프로모터에 측접하는, 작제물.

청구항 11

제1항에 있어서, 상기 작제물은 서열번호 64 또는 68에 따른 핵산 서열을 포함하는, 작제물.

청구항 12

제1항 내지 제11항 중 어느 한 항의 작제물을 포함하는 AAV 입자.

청구항 13

제12항에 있어서, AAV 캡시드를 더 포함하되, 상기 AAV 캡시드는 AAV2, AAV3, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAV9, AAV10, AAV-rh8, AAV-rh10, AAV-rh39, AAV-rh43 또는 AAV Anc80 캡시드이거나 또는 이로부터 유래되는, AAV 입자.

청구항 14

제1항 내지 제11항 중 어느 한 항의 작제물 또는 제12항 또는 제13항의 AAV 입자를 포함하는 조성물.

청구항 15

제14항에 있어서, 상기 조성물은 약제학적 조성물인, 조성물.

청구항 16

제14항 또는 제15의 조성물을 포함하는 생체 외 세포.

청구항 17

방법으로서, 생체 외 세포를

(i) 제10항 또는 제11항의 작제물; 및

(ii) AAV Rep 유전자, AAV Cap 유전자, AAV VA 유전자, AAV E2a 유전자 및 AAV E4 유전자를 일괄적으로 포함하는 하나 이상의 헬퍼 플라스미드

로 형질주입시키는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 18

방법으로서,

제1항 내지 제11항 중 어느 한 항의 작제물, 제12항 또는 제13항의 AAV 입자 또는 제14항 또는 제15항의 조성물을 대상체의 내이 또는 눈에 도입하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 19

치료 방법으로서,

제1항 내지 제11항 중 어느 한 항의 작제물, 제12항 또는 제13항의 AAV 입자 또는 제14항 또는 제15항의 조성물을 대상체의 내이 또는 눈에 도입하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 20

어서 증후군 유형 III을 치료하는 방법으로서,

제1항 내지 제11항 중 어느 한 항의 작제물, 제12항 또는 제13항의 AAV 입자 또는 제14항 또는 제15항의 조성물을 대상체의 내이 또는 눈에 도입하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 21

청력손실을 치료하는 방법으로서,

제1항 내지 제11항 중 어느 한 항의 작제물, 제12항 또는 제13항의 AAV 입자 또는 제14항 또는 제15항의 조성물을 대상체의 내이에 도입하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 22

귀먹음을 치료하는 방법으로서,

제1항 내지 제11항 중 어느 한 항의 작제물, 제12항 또는 제13항의 AAV 입자 또는 제14항 또는 제15항의 조성물을 대상체의 내이에 도입하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 23

시력손실을 치료하는 방법으로서,

제1항 내지 제11항 중 어느 한 항의 작제물, 제12항 또는 제13항의 AAV 입자 또는 제14항 또는 제15항의 조성물을 대상체의 눈에 도입하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 24

망막색소변성증을 치료하는 방법으로서,

제1항 내지 제11항 중 어느 한 항의 작제물, 제12항 또는 제13항의 AAV 입자 또는 제14항 또는 제15항의 조성물을 대상체의 눈에 도입하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 25

청력손실을 앓고 있거나 이의 위험이 있는 대상체에서 청력손실의 치료를 위한, 제1항 내지 제11항 중 어느 한 항의 작제물, 제12항 또는 제13항의 AAV 입자 또는 제14항 또는 제15항의 조성물의 용도.

청구항 26

청력손실의 치료를 위한 의약의 제조에서의, 제1항 내지 제11항 중 어느 한 항의 작제물, 제12항 또는 제13항의 AAV 입자 또는 제14항 또는 제15항의 조성물의 용도.

청구항 27

시력손실을 앓고 있거나 이의 위험이 있는 대상체에서 시력손실의 치료를 위한, 제1항 내지 제11항 중 어느 한 항의 작제물, 제12항 또는 제13항의 AAV 입자 또는 제14항 또는 제15항의 조성물의 용도.

청구항 28

시력손실의 치료를 위한 의약의 제조에서의, 제1항 내지 제11항 중 어느 한 항의 작제물, 제12항 또는 제13항의 AAV 입자 또는 제14항 또는 제15항의 조성물의 용도.

청구항 29

어서 증후군 유형 III을 앓고 있거나 이의 위험이 있는 대상체에서 어서 증후군 유형 III의 치료를 위한, 제1항 내지 제11항 중 어느 한 항의 작제물, 제12항 또는 제13항의 AAV 입자 또는 제14항 또는 제15항의 조성물의 용도.

청구항 30

어서 증후군 유형 III의 치료를 위한 의약의 제조에서의, 제1항 내지 제11항 중 어느 한 항의 작제물, 제12항 또는 제13항의 AAV 입자 또는 제14항 또는 제15항의 조성물의 용도.

청구항 31

망막색소변성증을 앓고 있거나 이의 위험이 있는 대상체에서 망막색소변성증의 치료를 위한, 제1항 내지 제11항 중 어느 한 항의 작제물, 제12항 또는 제13항의 AAV 입자 또는 제14항 또는 제15항의 조성물의 용도.

청구항 32

망막색소변성증의 치료를 위한 의약의 제조에서의, 제1항 내지 제11항 중 어느 한 항의 작제물, 제12항 또는 제13항의 AAV 입자 또는 제14항 또는 제15항의 조성물의 용도.

청구항 33

의약으로서 사용하기 위한, 제1항 내지 제11항 중 어느 한 항의 작제물, 제12항 또는 제13항의 AAV 입자 또는 제14항 또는 제15항의 조성물.

청구항 34

청력손실의 치료에 사용하기 위한, 제1항 내지 제11항 중 어느 한 항의 작제물, 제12항 또는 제13항의 AAV 입자 또는 제14항 또는 제15항의 조성물.

청구항 35

시력손실의 치료에 사용하기 위한, 제1항 내지 제11항 중 어느 한 항의 작제물, 제12항 또는 제13항의 AAV 입자 또는 제14항 또는 제15항의 조성물.

청구항 36

어서 증후군 유형 III의 치료에 사용하기 위한, 제1항 내지 제11항 중 어느 한 항의 작제물, 제12항 또는 제13항의 AAV 입자 또는 제14항 또는 제15항의 조성물.

청구항 37

망막색소변성증의 치료에 사용하기 위한, 제1항 내지 제11항 중 어느 한 항의 작제물, 제12항 또는 제13항의 AAV 입자 또는 제14항 또는 제15항의 조성물.

청구항 38

제14항 또는 제15항의 조성물을 포함하는 키트.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 관련 출원에 대한 상호 참조

[0002] 본 출원은 2020년 12월 29일자로 출원된 미국 특허 가출원 제63/131,413호에 대한 우선권을 주장하며, 이에 의해서 이의 전체 내용은 참조에 의해 원용된다.

배경 기술

[0003] 난청, 즉, 청력손실(hearing loss)은 전음성(외이도 또는 중이에서 발생), 감각신경성(내이 또는 청신경에서 발생) 또는 혼합형일 수 있다. 대부분 형태의 비증후군성 귀먹음은 내이의 구조 손상(감각신경성 귀먹음)으로 인한 영구 청력손실과 관련이 있지만, 일부 형태는 중이의 변화(전음성 청력손실)를 수반할 수 있다. 인간의 감각신경성 청력손실의 대부분은 달팽이관 또는 와우에 있는 코르티(Corti) 기관의 유모세포(hair cell)의 이상(유모세포 기능 불량)으로 인해 발생된다. 유모세포는 출생 시 비정상일 수 있거나 개인의 일생 동안 (예를 들어, 소음 외상 또는 감염의 결과로써) 손상될 수 있다.

[0004] 시각 장애 또는 시력 장애로도 알려진 시력손실은, 예컨대, 안경과 같은 수단으로 교정할 수 없는 정도로 볼 수 있는 능력의 감소이다. 시력손실의 원인은 눈에 영향을 미치는 상태에서부터 뇌의 시각 처리 센터에 영향을 미치는 상태에 이르기까지 매우 다양하다. 예를 들어, 어서 III 증후군(Usher III syndrome) 또는 망막색소변성증(retinitis pigmentosa)을 앓고 있는 환자의 시력손실은 망막의 광-감지 세포가 점차 악화되고 궁극적으로 위축됨에 따라 발생한다. 시력손실의 다른 예는 당뇨병성 망막병증, 녹내장, 연령 관련 황반 변성 및 백내장을 포함한다.

발명의 내용

[0005] 본 개시내용은, 청력손실과 연관된 질환 또는 병태가, 예컨대, 소정의 유전자 산물의 대체 또는 추가를 통해서 치료될 수 있다는 인식을 제공한다. 본 개시내용은, 또한 내이 세포의 발달, 기능 및/또는 유지에 관련된 유전자 산물이 유모세포 및/또는 지지세포(예컨대, 지지 유모세포) 손실과 연관된 질환 또는 병태의 치료에 유용할

수 있음을 제공한다. 따라서, 본 개시내용은 지지세포 및 유모세포를 포함하는 내이 세포의 발달, 기능, 유지에 관련된 유전자 산물의 발현을 조절하는 조성물의 투여, 및/또는 청력손실, 또는 청력손실과 연관된 질환 또는 병태의 치료에서의 이러한 조성물의 용도를 제공한다. 일부 실시형태에서, 유전자 산물은 CLRN1 유전자 또는 이의 특징적인 부분에 의해 인코딩될 수 있다. 일부 실시형태에서, 유전자 산물은 클라린 1 단백질(clarin 1 protein) 또는 이의 특징적인 부분일 수 있다.

[0006] 본 개시내용은 또한 시력손실과 연관된 질환 또는 병태가, 예컨대, 소정의 유전자 산물의 대체 또는 추가를 통해서 치료될 수 있다는 인식을 제공한다. 본 개시내용은 또한 안구 세포의 발달, 기능 및/또는 유지에 관련된 유전자 산물이 안구 세포 및/또는 지지세포(예컨대, 지지 안구 세포) 손실과 연관된 질환 또는 병태의 치료에 유용할 수 있음을 제공한다. 따라서 본 개시내용은 지지세포를 포함하는 안구 세포의 발달, 기능 및/또는 유지와 관련된 유전자 산물의 발현을 조절하는 조성물의 투여, 및/또는 시력손실, 또는 시력손실과 연관된 질환 또는 병태의 치료에서의 이러한 조성물의 용도를 제공한다. 일부 실시형태에서, 유전자 산물은 CLRN1 유전자 또는 이의 특징적인 부분에 의해 인코딩될 수 있다. 일부 실시형태에서, 유전자 산물은 클라린 1 단백질 또는 이의 특징적인 부분일 수 있다.

[0007] 본 개시내용은 또한 AAV 입자가 내이 세포의 발달, 기능 및/또는 유지와 관련된 유전자 산물의 발현을 조절하는 조성물의 투여, 및/또는 청력손실, 청력손실과 연관된 질환 또는 병태의 치료에 유용할 수 있음을 제공한다. 본 개시내용은 또한 AAV 입자가 안구 세포의 발달, 기능 및/또는 유지와 관련된 유전자 산물의 발현을 조절하는 조성물의 투여, 및/또는 시력손실, 또는 시력손실과 연관된 질환 또는 병태의 치료에 유용할 수 있음을 제공한다. 본 명세서에 기재된 바와 같이, AAV 입자는 (i) AAV 폴리뉴클레오타이드 작제물(예컨대, 재조합 AAV 폴리뉴클레오타이드 작제물) 및 (ii) 캡시드 단백질을 포함하는 캡시드를 포함한다. 일부 실시형태에서, AAV 폴리뉴클레오타이드 작제물은 CLRN1 유전자 또는 이의 특징적인 부분을 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 AAV 입자는 rAAV-CLRN1 또는 rAAV-CLRN1 입자를 지칭한다. 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 AAV 입자는 rAAV Anc80-CLRN1 또는 rAAV Anc80-CLRN1 입자를 지칭한다.

[0008] 본 개시내용은 또한 CLRN1 유전자 또는 이의 특징적인 부분을 포함하는 폴리뉴클레오타이드 작제물을 포함하는 조성물을 제공한다. 일부 실시형태에서, 작제물은 코딩 서열에 작동 가능하게 부착된 조절 요소를 더 포함할 수 있다. 소정의 실시형태에서, 포함된 조절 요소는 조직 특이적 발현을 생리학적으로 적합한 수준으로 용이하게 한다.

[0009] 또한 본 명세서에서는 본 명세서에 기재된 작제물 및 조성물을 투여하는 방법이 제공된다. 소정의 실시형태에서, 투여는 외과적(즉, 수술적) 개입 및 치료용 작제물을 포함하는 rAAV 입자의 전달을 수반한다. 소정의 실시형태에서, AAV 입자는 정원창막(round window membrane)을 통한 외과적 도입에 의해 이를 필요로 하는 대상체의 내이에 전달될 수 있다. 일부 실시형태에서, 개입의 효능은 확립된 시험을 통해 결정되고, 측정치는 대조 또는 참조 측정치와 비교된다.

[0010] 정의

[0011] 본 개시내용의 범위는 첨부된 청구범위에 의해 정의되며 본 명세서에 기재된 소정의 실시형태에 의해 제한되지 않는다. 본 명세서를 읽는 당업자라면, 이러한 설명된 실시형태와 동등할 수 있거나 또는 다르게는 청구범위의 범주 내에서 다양한 수정이 가능함을 알 것이다. 일반적으로, 본 명세서에서 사용되는 용어는 달리 명백히 나타내지 않는 한 당업계에서 이해되는 의미에 따른다. 특정 용어에 대한 명확한 정의는 아래에 제공되며; 본 명세서 전반에 걸쳐 특정한 경우에 이러한 용어 및 다른 용어의 의미는 문맥으로부터 당업자에게 명백할 것이다.

[0012] 청구범위 요소를 조정하기 위하여 "제1", "제2", "제3" 등과 같은 서수 용어를 사용하는 것은, 그 자체로 하나의 청구 요소가 다른 것에 대한 임의의 우선 순위, 절차 또는 순서, 또는 방법의 동작이 수행되는 일시적인 순서를 함축하지 않지만, 소정의 명칭을 갖는 하나의 청구 요소를 청구 요소를 구별하기 위하여 (서수 용어의 사용을 제외하고) 동일한 명칭을 갖는 다른 요소와 구별하기 위한 레이블로서만 사용된다.

[0013] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 단수 표현은 명백히 반대로 나타내지 않는 한 복수의 지시대상을 포함하는 것으로 이해되어야 한다. 그룹의 하나 이상의 구성원 사이에 "또는"을 포함하는 청구범위 또는 설명은, 그룹의 구성원 중 하나, 하나 초과 또는 전부가 반대로 나타내지 않는 한 또는 달리 문맥으로부터 자명하다면 주어진 제품 또는 공정에 존재하거나 이용되거나 또는 다르게는 관련되는 경우 충족되는 것으로 간주된다. 일부 실시형태에서, 그룹의 정확하게 하나의 구성원이 주어진 제품 또는 공정에 존재하거나 이용되거나 또는 다르게는 관련된다. 일부 실시형태에서, 하나 초과와 또는 모든 그룹 구성원이 주어진 제품 또는 공정에 존재하거나 이용되거나

나 또는 다르게는 관련된다. 본 개시내용은, 하나 이상의 열거된 청구항으로부터의 하나 이상의 제한, 요소, 조항, 설명 용어 등이 달리 나타내지 않는 한 또는 모든 또는 불일치가 일어나는 것이 당업자에게 자명하지 않는 한 동일한 기본 청구항에(또는 관련된 임의의 다른 청구항으로서) 종속되는 다른 청구항에 도입되는 모든 변형, 조합 또는 치환을 망라하는 것으로 이해되어야 한다. 요소가 목록으로 (예컨대, 마쿠시 그룹 또는 유사한 형태로) 제시되는 경우, 요소의 각 하위 그룹도 개시되고, 임의의 요소(들)가 그룹으로부터 제거될 수 있음이 이해되어야 한다. 일반적으로, 실시예 또는 양상이 특정 요소, 특징 등을 "포함하는" 것으로 언급되는 경우, 소정의 실시형태 또는 양상은 그러한 요소, 특징 등으로 "이루어지는" 또는 "본질적으로 이루어지는" 것임을 이해해야 한다. 단순화를 목적으로, 이들 실시형태는 모든 경우에 본 명세서에 그렇게 많은 단어로 구체적으로 제시되지 않았다. 또한, 특정한 배제가 명세서에 인용되었는지의 여부에 관계없이, 임의의 실시형태 또는 양상이 청구범위로부터 명시적으로 배제될 수 있음을 이해해야 한다.

[0014] 명세서 전반에 걸쳐서, 폴리뉴클레오타이드 또는 폴리펩타이드가 일련의 문자(예컨대, 폴리뉴클레오타이드의 경우에 각각 아데노신, 시티딘, 구아노신 및 티미딘을 나타내는 A, C, G 및 T)로 표시될 때마다, 이러한 폴리뉴클레오타이드 또는 폴리펩타이드는 좌측에서 우측으로 5'에서 3'로 또는 N-말단에서 C-말단 순서로 제시된다.

[0015] **투여:** 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "투여"는 전형적으로 대상체 또는 시스템에 제제의 전달을 달성하기 위하여 대상체 또는 시스템에 조성물을 투여하는 것을 지칭한다. 일부 실시형태에서, 제제는 조성물이거나 조성물에 포함되고; 일부 실시형태에서, 제제는 조성물 또는 이의 하나 이상의 성분의 대사를 통해 생성된다. 당업자라면 적절한 상황에서 대상체, 예를 들어, 인간에게 투여하기 위해 사용될 수 있는 다양한 경로를 알고 있을 것이다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 투여는 전신적 또는 국소적일 수 있다. 일부 실시형태에서, 전신적 투여는 정맥 내일 수 있다. 일부 실시형태에서, 투여는 국소적일 수 있다. 국소 투여는, 예컨대, 정원창막을 통한 주사를 통해서 달팽이관 외림프로, 또는 내림프, 외림프 및/또는 관절개 후 내림프를 통한 고실계(scalatympani), 중간계(scala-media) 주사로의 전달을 수반할 수 있다. 국소 투여는 또한 예컨대, 안구 내 주사(예컨대, 유리체 주사, 유리체 내 주사, 망막하 주사, 맥락막 위 주사(예컨대, Orbit™ 망막하 전달 시스템(Orbit SDS)(Gyroscope Therapeutics)의 사용), 또는 망막 주사)를 통한 눈으로의 전달을 수반할 수 있다. 예컨대, 문헌[Ochakovski et al., "Retinal Gene Therapy: Surgical Vector Delivery in the Translation to Clinical Trials", Front. Neurosci. April 3, 2017 또는 "OCT - Assisted Delivery of Luxturna" by Ninel Z Gregori and Janet Louise David, <https://www.aao.org/clinical-video/oct-assisted-delivery-of-luxturna> (July 19, 2018)]을 참조하고, 이들 각각의 개시내용은 전문이 본 명세서에 참조에 의해 인용된다. 일부 실시형태에서, 투여는 단일 용량만을 수반할 수 있다. 일부 실시형태에서, 투여는 고정된 횟수의 용량의 적용을 수반할 수 있다. 일부 실시형태에서, 투여는 간헐적(예컨대, 시간적으로 분리된 복수의 용량) 및/또는 주기적(예컨대, 공통 기간에 의해 분리된 개별 용량) 투약인 투약을 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 투여는 적어도 선택된 시간 기간 동안 연속 투약(예를 들어, 관류)을 수반할 수 있다.

[0016] **대립유전자:** 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "대립유전자"는 특이적 다형성 게놈 좌위의 둘 이상의 기존의 유전자 변이체 중 하나를 지칭한다.

[0017] **개선:** 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "개선"은 대상체의 상태의 예방, 감소 또는 완화, 또는 상태의 향상을 지칭한다. 개선은 질환, 장애 또는 병태의 완전한 회복 또는 완전한 예방을 포함할 수 있지만 필수는 아니다.

[0018] **아미노산:** 가장 넓은 의미에서, 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어 "아미노산"은, 예컨대, 하나 이상의 펩타이드 결합의 형성을 통해 폴리펩타이드 사슬에 혼입될 수 있는 임의의 화합물 및/또는 물질을 지칭한다. 일부 실시형태에서, 아미노산은 일반 구조, 예컨대, $H_2N-C(H)(R)-COOH$ 를 갖는다. 일부 실시형태에서, 아미노산은 천연 발생 아미노산이다. 일부 실시형태에서, 아미노산은 비-천연 아미노산이고; 일부 실시형태에서, 아미노산은 D-아미노산이고; 일부 실시형태에서, 아미노산은 L-아미노산이다. "표준 아미노산"은 천연 발생 펩타이드에서 통상적으로 발견되는 20개의 표준 L-아미노산 중 임의의 것을 지칭한다. "비표준 아미노산"은, 합성적으로 제조된 것이든 또는 천연 공급원에서 얻어진 것이든 상관 없이, 표준 아미노산 이외의 모든 아미노산을 지칭한다. 일부 실시형태에서, 폴리펩타이드 내의 카복시- 및/또는 아미노-말단 아미노산을 비롯한 아미노산은 위에서 나 타낸 바와 같은 일반 구조와 비교하여 구조적 변형을 함유할 수 있다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 아미노산은 일반적인 구조와 비교하여 (예컨대, 아미노기, 카복실산기, 하나 이상의 양성자, 및/또는 수산기의) 메틸화, 아마이드화, 아세틸화, 페닐화, 글리코실화, 인산화, 및/또는 치환에 의해 변형될 수 있다. 일부 실시형태에서, 이러한 변형은, 예를 들어, 다른 동일한 비변형 아미노산과 비교하여 변형된 아미노산을 함유하는 폴리펩타이드

의 순환 반감기를 변화시킬 수 있다. 일부 실시형태에서, 이러한 변형은 다른 동일한 비변형 아미노산을 함유하는 것과 비교하여 변형된 아미노산을 함유하는 폴리펩타이드의 관련 활성을 유의하게 변화시키지 않는다.

[0019] **대략 또는 약:** 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "대략" 또는 "약"은, 명시된 기준값과 유사한 값을 비롯한, 하나 이상의 관심 값에 적용될 수 있다. 일부 실시형태에서, 용어 "대략" 또는 "약"은 달리 기술되지 않거나 문맥으로부터 달리 명백하지 않는 한(그러한 숫자가 가능한 값의 100%를 초과하는 경우 제외) 기술된 기준값의 10%(초과 또는 미만)에 속하는 값의 범위를 지칭한다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 용어 "대략" 또는 "약"은 기준값의 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1%, 또는 그 미만 이내인 값의 범위를 포괄할 수 있다.

[0020] **연관된:** 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "연관된"은, 하나의 존재, 수준 및/또는 형태가 다른 것과 상관관계가 있는 경우 두 이벤트 또는 실체를 서로 "연관된" 것으로 기재한다. 예를 들어, 특정 실체(예컨대, 폴리펩타이드, 유전자 시그니처, 대사산물, 미생물 등)는, 그 존재, 수준 및/또는 형태가 (예컨대, 관련 모집에 걸쳐서) 질환, 장애 또는 상태의 발생 및/또는 감수성과 상관이 있다면, 특정 질환, 장애 또는 상태와 연관된 것으로 간주된다. 일부 실시형태에서, 둘 이상의 실체는, 이들이 직접적으로 또는 간접적으로 상호작용하여 서로 물리적으로 근접하고 그리고/또는 유지하는 경우 서로 물리적으로 "연관"된다. 일부 실시형태에서, 서로 물리적으로 회합된 2개 이상의 실체는 서로 공유 결합되고; 일부 실시형태에서, 물리적으로 서로 회합된 2개 이상의 실체는 서로 공유 결합되지 않고, 예를 들어, 수소 결합, 반데르발스 상호작용, 소수성 상호작용, 자성 및 이들의 조합에 의해 비공유 회합된다.

[0021] **생물학적으로 활성:** 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "생물학적으로 활성"은 관찰 가능한 생물학적 효과 또는 관심 제제 또는 실체에 의해 달성되는 결과를 지칭한다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 특이적 결합 상호작용은 생물학적 활성이다. 일부 실시형태에서, 생물학적 경로 또는 사건의 조절(예를 들어, 유도, 증대 또는 저해)은 생물학적 활성이다. 일부 실시형태에서, 생물학적 활성의 존재 또는 정도는 관심 생물학적 경로 또는 사건에 의해 생성된 직접적 또는 간접적 생성물의 검출을 통해 평가된다.

[0022] **특징적인 부분:** 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "특징적인 부분"은 가장 넓은 의미에서 그 존재(또는 부재)가 물질의 특정 특징, 속성 또는 활성의 존재(또는 부재)와 상관관계가 있는 물질의 일부를 지칭한다. 일부 실시형태에서, 물질의 특징적인 부분은 주어진 물질에서 그리고 특정 특징, 속성 또는 활성을 공유하는 관련 물질에서 발견되지만, 특정 특징, 속성 또는 활성을 공유하지 않는 것에서는 발견되지 않는 부분이다. 일부 실시형태에서, 특징적인 부분은 온전한 물질과 적어도 하나의 기능적 특징을 공유한다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 단백질 또는 폴리펩타이드의 "특징적인 부분"은 함께 단백질 또는 폴리펩타이드의 특징인 아미노산의 연속 스트레치 또는 아미노산의 연속 스트레치의 집합을 함유하는 것이다. 일부 실시형태에서, 각각의 이러한 연속 스트레치는 일반적으로 적어도 2, 5, 10, 15, 20, 50개 또는 그 초과인 아미노산을 함유한다. 일반적으로, 물질(예컨대, 단백질, 항체 등)의 특징적인 부분은, 위에 명시된 서열 및/또는 구조적 동일성 외에, 관련된 온전한 물질과 적어도 하나의 기능적 특징을 공유하는 것이다. 일부 실시형태에서, 특징적인 부분은 생물학적 활성일 수 있다.

[0023] **특징적인 서열:** 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "특징적인 서열"은 폴리펩타이드 또는 핵산 패밀리 모든 구성원에서 발견되는 서열이며, 따라서 패밀리의 구성원을 정의하기 위해 당업자에 의해 사용될 수 있다.

[0024] **특징적인 서열 요소:** 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 어구 "특징적인 서열 요소"는, 중합체의 특징적인 부분을 나타내는 중합체(예컨대, 폴리펩타이드 또는 핵산)에서 발견되는 서열 요소를 의미한다. 일부 실시형태에서, 특징적인 서열 요소의 존재는 중합체의 특정 활성 또는 특성의 존재 또는 수준과 상관관계가 있다. 일부 실시형태에서, 특징적인 서열 요소의 존재(또는 부재)는 특정 중합체를 이러한 중합체의 특정 패밀리 또는 그룹의 구성원(또는 구성원이 아님)으로 정의한다. 특징적인 서열 요소는 전형적으로 적어도 2개의 단량체(예를 들어, 아미노산 또는 뉴클레오타이드)를 포함한다. 일부 실시형태에서, 특징적인 서열 요소는 적어도 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 또는 그 초과인 단량체(예컨대, 연속적으로 연결된 단량체)를 포함한다. 일부 실시형태에서, 특징적인 서열 요소는 길이가 서열 요소를 공유하는 중합체에 걸쳐 변할 수 있거나 변하지 않을 수 있는 하나 이상의 스페이스 영역에 의해 이격된 연속 단량체의 적어도 제1 및 제2 스트레치를 포함한다.

[0025] **조합 요법:** 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "조합 요법"은 대상체가 2개 이상의 치료 요법(예를 들어, 2개 이상의 치료제)에 동시에 노출되는 상황을 지칭한다. 일부 실시형태에서, 2개 이상의 제제가 동시에 투여될 수 있다. 일부 실시형태에서, 2개 이상의 제제가 순차적으로 투여될 수 있다. 일부 실시형태에서, 2개 이상의

약제가 중복 투약 요법으로 투여될 수 있다.

[0026]

비교 가능한: 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "비교 가능한"은, 서로 동일하지 않을 수 있지만 이들 간의 비교를 허용하기에 충분히 유사하므로, 당업자라면 관찰된 차이점 또는 유사점을 기반으로 결론이 합리적으로 도출될 수 있음을 이해할 수 있는, 둘 이상의 제제, 실체, 상황, 조건 집합, 대상체, 집단 등을 지칭한다. 일부 실시형태에서, 제제, 실체, 상황, 조건 집합, 대상체, 집단 등의 비교 가능한 세트는 복수의 실질적으로 동일한 특징 및 하나 또는 소수의 다양한 특징을 특징으로 한다. 당업자라면 2개 이상의 이러한 작용제, 개체, 상황, 조건 집단, 대상체, 집단 등이 비교 가능한 것으로 간주되기 위해 임의의 주어진 상황에서 어느 정도의 동일성이 필요한지를 맥락에서 이해할 것이다. 예를 들어, 당업자라면, 일련의 작용제, 개체, 상황, 조건 집단, 대상체, 집단 등이 상이한 세트의 상황, 자극, 작용제, 개체, 상황, 조건 집단, 대상체, 집단 등 하에 또는 이들로 얻어진 결과 또는 관찰된 현상의 차이가 달라진 이들 특성의 변화로 인해 발생하거나 이를 나타내는 합리적인 결론을 보증하기에 충분한 수 및 유형의 실질적으로 동일한 특징을 특징으로 할 때 서로 비교할 수 있음을 인식할 것이다.

[0027]

작제물: 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "작제물"은 적어도 하나의 이중 폴리뉴클레오타이드를 보유할 수 있는 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 조성물을 의미한다. 일부 실시예에서, 작제물은 플라스미드, 트랜스포존, 코스미드, 인공 염색체(예컨대, 인간 인공 염색체(HAC), 효모 인공 염색체(YAC), 박테리아 인공 염색체(BAC) 또는 P1-유래 인공 염색체(PAC)) 또는 바이러스 구조 및 임의의 Gateway® 플라스미드일 수 있다. 작제물은, 예컨대, 발현을 위한 충분한 시스 작용 요소를 포함할 수 있고; 발현을 위한 다른 요소는 숙주 영양류 세포에 의해 또는 시험관 내 발현 시스템에서 공급될 수 있다. 작제물은 적절한 제어 요소와 회합될 때 복제 가능한 임의의 유전 요소(예컨대, 플라스미드, 트랜스포존, 코스미드, 인공 염색체 또는 바이러스 작제물 등)를 포함할 수 있다. 따라서, 일부 실시형태에서, "작제물"은 클로닝 및/또는 발현 작제물 및/또는 바이러스 작제물(예컨대, 아데노-연관 바이러스(AAV) 작제물, 아데노바이러스 작제물, 렌티바이러스 작제물 또는 레트로바이러스 작제물)를 포함할 수 있다.

[0028]

보존적: 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "보존적"은, 아미노산 잔기를 유사한 화학적 특성(예컨대, 전하 또는 소수성)을 가진 측쇄 R기를 갖는 다른 아미노산 잔기로 치환하는 것을 비롯한 보존적 아미노산 치환을 기술하는 예를 지칭한다. 일반적으로, 보존적 아미노산 치환은, 단백질의 관심 기능적 특성, 예를 들어, 리간드에 결합하는 수용체의 능력을 실질적으로 변화시키지 않을 것이다. 화학적 성질이 유사한 측쇄를 갖는 아미노산 그룹의 예는 글리신(Gly, G), 알라닌(Ala, A), 발린(Val, V), 류신(Leu, L) 및 아이소류신(Ile, I)과 같은 지방족 측쇄; 세린(Ser, S) 및 트레오닌(Thr, T)과 같은 지방족-하이드록실 측쇄; 아스파라긴(Asn, N) 및 글루타민(Gln, Q)과 같은 아마이드-함유 측쇄; 페닐알라닌(Phe, F), 티로신(Tyr, Y), 및 트립토판(Trp, W)과 같은 방향족 측쇄; 라이신(Lys, K), 아르기닌(Arg, R) 및 히스티딘(His, H)과 같은 염기성 측쇄; 아스파르트산(Asp, D) 및 글루탐산(Glu, E)과 같은 산성 측쇄; 및 시스테인(Cys, C) 및 메티오닌(Met, M)과 같은 황-함유 측쇄를 포함한다. 보존적 아미노산 치환 그룹은, 예를 들어, 발린/류신/아이소류신(Val/Leu/Ile, V/L/I), 페닐알라닌/티로신(Phe/Tyr, F/Y), 라이신/아르기닌(Lys/Arg, K/R), 알라닌/발린(Ala/Val, A/V), 글루타메이트/아스파테이트(Glu/Asp, E/D), 및 아스파라긴/글루타민(Asn/Gln, N/Q)을 포함한다. 일부 실시형태에서, 보존적 아미노산 치환은, 예를 들어, 알라닌 스캐닝 돌연변이유발에 사용되는 바와 같이 단백질의 임의의 천연 잔기를 알라닌으로 치환하는 것일 수 있다. 일부 실시형태에서, 치환은 PAM250 로그-우도 행렬에서 치환이 음이 아닌 값을 갖는 적당히 보존적인 치환이다. 당업자라면 상이한 종으로부터의 동일한 단백질 사이에 보존되지 않은 아미노산의 변화(예컨대, 치환, 부가, 결실 등)가 단백질의 기능에 영향을 미칠 가능성이 적고 따라서 이들 아미노산은 돌연변이를 위해 선택되어야 한다고 이해할 것이다. 서로 다른 종으로부터 동일한 단백질 간에 보존된 아미노산은 변화(예컨대, 결실, 부가, 치환 등)되지 않아야 하는데, 그 이유는 이러한 돌연변이는 단백질의 기능에 변화를 일으킬 가능성이 더 높기 때문이다.

보존적 아미노산 치환		
아미노산에 대해서	코드	하기의 것으로 대체
알라닌	A	D-ala, Gly, Aib, β -Ala, Acp, L-Cys, D-Cys
아르기닌	R	D-Arg, Lys, D-Lys, 호모-Arg, D-호모-Arg, Met, Ile, D-Met, D-Ile, Orn, D-Orn
아스파라긴	N	D-Asn, Asp, D-Asp, Glu, D-Glu, Gln, D-Gln
아스파르트산	D	D-Asp, D-Asn, Asn, Glu, D-Glu, Gln, D-Gln
시스테인	C	D-Cys, S-Me-Cys, Met, D-Met, Thr, D-Thr
글루타민	Q	D-Gln, Asn, D-Asn, Glu, D-Glu, Asp, D-Asp
글루탐산	E	D-Glu, D-Asp, Asp, Asn, D-Asn, Gln, D-Gln
글리신	G	Ala, D-Ala, Pro, D-Pro, Aib, β -Ala, Acp
Iso 류신	I	D-Ile, Val, D-Val, AdaA, AdaG, Leu, D-Leu, Met, D-Met
류신	L	D-Leu, Val, D-Val, AdaA, AdaG, Leu, D-Leu, Met, D-Met
라이신	K	D-Lys, Arg, D-Arg, 호모-Arg, D-호모-Arg, Met, D-Met, Ile, D-Ile, Orn, D-Orn
메티오닌	M	D-Met, S-Me-Cys, Ile, D-Ile, Leu, D-Leu, Val, D-Val
페닐알라닌	F	D-Phe, Tyr, D-Thr, L-Dopa, His, D-His, Trp, D-Trp, 트랜스-3,4 또는 5-페닐 프롤린, AdaA, AdaG, cis-3,4 또는 5-페닐 프롤린, Bpa, D-Bpa
프롤린	P	D-Pro, L-I-티오아졸리딘-4-카복실산, D-또는-L-1-옥사졸리딘-4-카복실산 (Kauer, 미국 특허 제 4,511,390 호)
세린	S	D-Ser, Thr, D-Thr, allo-Thr, Met, D-Met, Met (O), D-Met (O), L-Cys, D-Cys
트레오닌	T	D-Thr, Ser, D-Ser, allo-Thr, Met, D-Met, Met (O), D-Met (O), Val, D-Val
티로신	Y	D-Tyr, Phe, D-Phe, L-Dopa, His, D-His
발린	V	D-Val, Leu, D-Leu, Ile, D-Ile, Met, D-Met, AdaA, AdaG

[0029]

[0030]

대조군: 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "대조군"은 결과가 비교되는 표준인 "대조군"의 당업계에서 이해되는 의미를 지칭한다. 전형적으로, 대조군은 이러한 변수에 대한 결론을 내리기 위해 변수를 분리하여 실험에서 무결성을 강화하는 데 사용된다. 일부 실시형태에서, 대조군은 대조자를 제공하기 위해 시험 반응 또는 검정과 동시에 수행되는 반응 또는 검정이다. 예를 들어, 하나의 실험에서, "시험"(즉, 시험 중인 변수)이 적용된다. 두 번째 실험 "대조군"에서는, 시험 중인 변수가 적용되지 않다. 일부 실시형태에서, 대조군은 과거 대조군(예컨대, 이전에 수행된 시험 또는 검정, 또는 이전에 알려진 양 또는 결과)이다. 일부 실시형태에서, 대조군은 인쇄된 또는 다르게는 저장된 기록이거나 이를 포함한다. 일부 실시형태에서, 대조군은 양성 대조군이다. 일부 실시형태에서, 대조군은 음성 대조군이다.

[0031]

결정하는, 측정하는, 평가하는(evaluating), 평가하는(assessing), 검정하는 및 분석하는: 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "결정하는", "측정하는", "평가하는", "평가하는", "검정하는" 및 "분석하는"은 임의의 측정 형태를 지칭하기 위하여 호환 가능하게 사용되고, 요소가 존재하는지 여부를 결정하는 것을 포함한다. 이들 용어는 정량적 및/또는 정성적 결정 둘 다를 포함한다. 검정하는 것은 상대적이거나 절대적일 수 있다. 예를 들어, 일부 실시형태에서 "의 존재에 대해 검정하는"은 존재하는 무언가의 양을 결정하고/하거나 그것이 존재하는지의 여부를 결정하는 것일 수 있다.

[0032]

조작된: 일반적으로, 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "조작된"은 사람의 손에 의해 조작된 양상을 지칭한다. 예를 들어, 세포 또는 유기체는 유전 정보가 변경되도록 조작된 경우(예컨대, 이전에 존재하지 않았던 새로운 유전 물질이, 예를 들어, 형질전환, 교배, 체세포 혼성화, 형질주입, 형질도입 또는 다른 기작에 의해 도입되었거나, 또는 이전에 존재하는 유전 물질이, 예를 들어, 치환 또는 결실 돌연변이에 의해, 또는 교배 프로토콜에 의해 변경되거나 제거된 경우) "조작된" 것으로 간주된다. 통상적인 판례이고 당업자에 의해 이해되는 바와 같이, 조작된 폴리뉴클레오타이드 또는 세포의 자손은 실제 조작이 이전 실체에서 수행되었음에도 불구하고

고 전형적으로 여전히 "조작된" 것으로 지칭된다.

[0033] **부형제:** 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "부형제"는, 예를 들어, 목적하는 점조도 또는 안정화 효과를 제공하거나 그에 기여하기 위해 약제학적 조성물에 포함될 수 있는 불활성(예컨대, 비치료적) 작용제를 지칭한다. 일부 실시형태에서, 적합한 약제학적 부형제는, 예를 들어, 전분, 글루코스, 락토스, 수크로스, 젤라틴, 맥아, 쌀, 밀가루, 백악, 실리카겔, 스테아르산나트륨, 글리세롤 모노스테아레이트, 탭크, 염화나트륨, 건조 탈지유, 글리세롤, 프로필렌, 글리콜, 물, 에탄올 등을 포함할 수 있다.

[0034] **발현:** 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 핵산 서열의 "발현"이라는 용어는 핵산 서열로부터 임의의 유전자 산물(예컨대, 전사체, 예컨대, mRNA, 예컨대, 폴리펩타이드 등)의 생성을 지칭한다. 일부 실시형태에서, 유전자 산물은 전사물일 수 있다. 일부 실시형태에서, 유전자 산물은 폴리펩타이드일 수 있다. 일부 실시형태에서, 핵산 서열의 발현은 다음 중 하나 이상을 수반한다: (1) (예컨대, 전사에 의한) DNA 서열로부터 RNA 주형의 생산; (2) (예컨대, 스플라이싱, 편집, 5' 캡 형성 및/또는 3' 말단 형성에 의한) RNA 전사물의 처리; (3) RNA를 폴리펩타이드 또는 단백질로의 번역; 및/또는 (4) 폴리펩타이드 또는 단백질의 번역 후 변형.

[0035] **기능적:** 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "기능적"은 특성규명되는 특성 및/또는 활성을 나타내는 형태로 존재하는 것을 설명한다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, "기능적" 생물학적 분자는 특성규명되는 특성 및/또는 활성을 나타내는 형태의 생물학적 분자이다. 이러한 일부 실시형태에서, 기능적 생물학적 분자는 "비-기능적" 버전이 "기능적" 분자와 동일하거나 동등한 특성 및/또는 활성을 나타내지 않는다는 점에서 비-기능적인 또 다른 생물학적 분자에 대해 특성규명된다. 생물학적 분자는 하나의 기능, 두 가지 기능(즉, 이기능) 또는 많은 기능(즉, 다기능)을 가질 수 있다.

[0036] **유전자:** 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "유전자"는 유전자 산물(예컨대, RNA 산물, 예컨대, 폴리펩타이드 산물)을 코딩하는 염색체의 DNA 서열을 지칭한다. 일부 실시형태에서, 유전자는 코딩 서열(즉, 특정 산물을 코딩하는 서열)을 포함한다. 일부 실시형태에서, 유전자는 비-코딩 서열을 포함한다. 일부 특정 실시예에서, 유전자는 코딩(예를 들어, 엑손) 및 비-코딩(예를 들어, 인트론) 서열 둘 다를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 유전자는, 예를 들어 유전자 발현의 하나 이상의 양상(예컨대, 세포-유형-특이적 발현, 유도성 발현 등)을 제어하거나 영향을 미칠 수 있는 하나 이상의 조절 서열(예컨대, 프로모터, 인핸서 등) 및/또는 인트론 서열을 포함할 수 있다. 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "유전자"는 일반적으로 폴리펩타이드 또는 이의 단편을 코딩하는 핵산의 일부를 지칭하고; 용어는 선택적으로 조절 서열을 포함할 수 있으며, 이는 문맥으로부터 당업자에게 명백할 것이다. 이 정의는 "유전자"라는 용어를 비-단백질-코딩 발현 단위에 적용하는 것을 배제하려는 것이 아니라 대부분의 경우에 이 문서에서 사용된 용어가 폴리펩타이드-코딩 핵산을 지칭함을 명확히 하기 위한 것이다. 일부 실시형태에서, 유전자는 폴리펩타이드를 코딩할 수 있지만, 그 폴리펩타이드는 기능적이지 않을 수 있고, 예컨대, 유전자 변이체는 야생형 유전자에 비해 동일한 방식으로 또는 전혀 기능하지 않는 폴리펩타이드를 인코딩할 수 있다. 일부 실시형태에서, 유전자는 일부 실시형태에서 역치 수준 이상으로 독성일 수 있는 전사물을 인코딩할 수 있다. 일부 실시형태에서, 유전자는 폴리펩타이드를 인코딩할 수 있지만, 그 폴리펩타이드는 기능적이지 않을 수 있고/있거나 역치 수준 이상으로 독성이 있을 수 있다.

[0037] **청력손실:** 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "청력손실"은 살아있는 유기체가 부분적으로 또는 전체적으로 들을 수 없는 무능력에 사용될 수 있다. 일부 실시형태에서, 청력손실이 획득될 수 있다. 일부 실시형태에서, 청력손실은 유전성(hereditary)일 수 있다. 일부 실시형태에서, 청력손실은 유전적(genetic)일 수 있다. 일부 실시형태에서, 청력손실은 질환 또는 외상(예컨대, 신체적 외상, 청력손실을 초래하는 1종 이상의 체제를 사용한 치료 등)의 결과로서일 수 있다. 일부 실시형태에서, 청력손실은 하나 이상의 알려진 유전적 원인 및/또는 증후군으로 인한 것일 수 있다. 일부 실시형태에서, 청력손실은 알려지지 않은 병인일 수 있다. 일부 실시형태에서, 청력손실은 보청기 또는 다른 치료의 사용에 의해 완화될 수 있거나 완화되지 않을 수 있다.

[0038] **이종성:** 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "이종성"은 다른 영역 및/또는 또 다른 분자와 비교하여 특정 분자의 하나 이상의 영역과 관련하여 사용될 수 있다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 이종성 폴리펩타이드 도메인은 폴리펩타이드 도메인이 (예컨대, 동일한 폴리펩타이드에서) 자연적으로 함께 발생하지 않는다는 사실을 지칭한다. 예를 들어, 인간의 손에 의해 생성된 융합 단백질에서, 하나의 폴리펩타이드로부터의 폴리펩타이드 도메인은 상이한 폴리펩타이드로부터의 폴리펩타이드 도메인에 융합될 수 있다. 이러한 융합 단백질에서, 2개의 폴리펩타이드 도메인은 자연적으로 함께 발생하지 않기 때문에 서로에 관하여 "이종성"인 것으로 간주될 것이다.

[0039] **동일성:** 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "동일성"은 중합체 분자 사이, 예컨대, 핵산 분자(예컨대, DNA 분자 및/또는 RNA 분자) 사이 및/또는 폴리펩타이드 분자 사이의 전반적인 관련성을 지칭한다. 일부 실시형태에서, 중합체 분자는 이들의 서열이 적어도 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 또는 99% 동일하다면 서로 "실질적으로 동일하다"고 간주된다. 예를 들어, 2개의 핵산 또는 폴리펩타이드 서열의 퍼센트 동일성의 계산은 최적의 비교 목적을 위해 2개의 서열을 정렬함으로써 수행될 수 있다(예컨대, 최적 정렬을 위해 제1 및 제2 서열 중 하나 또는 둘 다에 갭이 도입될 수 있고 비-동일한 서열은 비교 목적으로 무시될 수 있다). 일부 실시형태에서, 비교 목적을 위해 정렬된 서열의 길이는 참조 서열의 길이의 적어도 30%, 적어도 40%, 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90%, 적어도 95%, 또는 실질적으로 100%이고; 그런 다음 대응하는 위치에서의 뉴클레오타이드가 비교된다. 첫 번째 서열의 위치가 두 번째 서열의 대응하는 위치와 동일한 잔기(예컨대, 뉴클레오타이드 또는 아미노산)에 의해 점유되면, 두 분자(즉, 첫 번째 및 두 번째)는 그 위치에서 동일하다. 2개의 서열 사이의 퍼센트 동일성은 갭의 수, 및 2개의 서열의 최적 정렬을 위해 도입될 필요가 있는 각 갭의 길이를 고려하여, 비교되는 2개의 서열에 의해 공유되는 동일한 위치의 수의 함수이다. 서열의 비교 및 2개의 서열 사이의 퍼센트 동일성의 결정은 수학적 알고리즘을 사용하여 달성될 수 있다. 예를 들어, 2개의 뉴클레오타이드 서열 간의 퍼센트 동일성은 ALIGN 프로그램(버전 2.0)에 통합된 Meyers 및 Miller의 알고리즘(CABIOS, 1989, 4: 11-17, 이는 그 전문이 본 명세서에 참조에 의해 인용됨)을 사용하여 결정될 수 있다. 일부 실시형태에서, ALIGN 프로그램으로 이루어진 핵산 서열 비교는 PAM120 중앙 잔기 표, 갭 길이 페널티 12 및 갭 페널티 4를 사용한다.

[0040] **개선시키다, 증가시키다, 증대시키다, 저해하다 또는 감소시키다:** 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 "개선시키다", "증가시키다", "증대시키다", "저해하다", "감소시키다" 또는 이들의 문법적 등가어는 기준선 또는 다른 참조 측정치에 대한 값을 나타낸다. 일부 실시형태에서, 값은 그 기준선 또는 다른 참조 측정치와 통계적으로 유의미한 차이가 있다. 일부 실시형태에서, 적절한 참조 측정치는 특정 제제 또는 치료의 존재가 없는(예컨대, 이전 및/또는 이후) 달리 비교 가능한 조건하에서 또는 적절한 비교 참조 제제의 존재하에서 특정 시스템에서(예컨대, 단일 개체에서)의 측정치이거나 이를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 적절한 참조 측정치는 관련 제제 또는 치료의 존재하에 특정 방식으로 반응하는 것으로 알려지거나 예상되는 비교 가능한 시스템에서의 측정치거나 이를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 적절한 참조는 부정적인 참조이고; 일부 실시형태에서, 적절한 기준은 긍정적인 기준이다.

[0041] **핵산:** 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "핵산"은, 가장 넓은 의미에서, 올리고뉴클레오타이드 사슬에 혼입되거나 혼입될 수 있는 임의의 화합물 및/또는 물질을 지칭한다. 일부 실시형태에서, 핵산은 포스포다이에스터 결합을 통해서 올리고뉴클레오타이드 사슬에 통합되거나 통합될 수 있는 화합물 및/또는 물질이다. 문맥으로부터 명백한 바와 같이, 일부 실시형태에서 "핵산"은 개별 핵산 잔기(예를 들어, 뉴클레오타이드 및/또는 뉴클레오사이드)를 지칭하고; 일부 실시형태에서, "핵산"은 개별 핵산 잔기를 포함하는 올리고뉴클레오타이드 사슬을 지칭한다. 일부 실시형태에서, "핵산"은 RNA이거나 이를 포함하고; 일부 실시형태에서, "핵산"은 DNA이거나 이를 포함한다. 일부 실시형태에서, 핵산은 하나 이상의 천연 핵산 잔기이거나, 이를 포함하거나, 이로 이루어진다. 일부 실시형태에서, 핵산은 하나 이상의 핵산 유사체이거나, 이를 포함하거나, 이로 이루어진다. 일부 실시형태에서, 핵산 유사체는 포스포다이에스터 백본을 이용하지 않는다는 점에서 핵산과는 상이하다. 대안적으로 또는 부가적으로, 일부 실시형태에서, 핵산은 포스포다이에스터 결합보다는 하나 이상의 포스포로티오에이트 및/또는 5'-N-포스포르아미다이트 연결을 갖는다. 일부 실시형태에서, 핵산은 하나 이상의 천연 뉴클레오사이드(예컨대, 아데노신, 티미딘, 구아노신, 시티딘, 우라실, 테옥시아데노신, 테옥시티미딘, 테옥시 구아노신 및 테옥시시티딘)이거나, 이를 포함하거나, 이로 이루어진다. 일부 실시형태에서, 핵산은 하나 이상의 뉴클레오사이드 유사체(예컨대, 2-아미노아데노신, 2-티오티미딘, 이노신, 피롤로-피리미딘, 3-메틸 아데노신, 5-메틸시티딘, C-5 프로핀일-시티딘, C-5 프로핀일-우라실, 2-아미노아데노신, C5-브로모우라실, C5-플루오로우라실, C5-아이오도우라실, C5-프로핀일-우라실, C5-프로핀일-시티딘, C5-메틸시티딘, 2-아미노아데노신, 7-데아자아데노신, 7-데아자구아노신, 8-옥소아데노신, 8-옥소구아노신, 0(6)-메틸구아닌, 2-티오시티딘, 메틸화된 염기, 삽입된 염기 및 이들의 조합)이거나, 이를 포함하거나, 이로 이루어진다. 일부 실시형태에서, 핵산은 천연 핵산과 비교하여 하나 이상의 변형된 당(예를 들어, 2'-플루오로리보스, 리보스, 2'-데옥시리보스, 아라비노스 및 핵소스)을 포함한다. 일부 실시형태에서, 핵산은 RNA 또는 단백질과 같은 기능적 유전자 산물을 인코딩하는 뉴클레오타이드 서열을 갖는다. 일부 실시형태에서, 핵산은 하나 이상의 인트론을 포함한다. 일부 실시형태에서, 핵산은 천연 공급원으로부터의 분리, 상보적 주형에 기초한 중합에 의한 효소 합성(생체 내 또는 시험관 내), 재조합 세포 또는 시스템에서의 재생산, 및 화학적 합성 중 하나 이상에 의해 제조된다. 일부 실시형태에서, 핵산은 적어도 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75,

80, 85, 90, 95, 100, 1 10, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190, 20, 225, 250, 275, 300, 325, 350, 375, 400, 425, 450, 475, 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 1500, 2000, 2500, 3000, 3500, 4000, 4500, 5000 개 또는 그 초과와 잔기 길이이다. 일부 실시형태에서, 핵산은 부분적으로 또는 전체적으로 단일 가닥이고; 일부 실시형태에서, 핵산은 부분적으로 또는 전체적으로 이중 가닥이다. 일부 실시형태에서, 핵산은 폴리펩타이드를 코딩하거나 코딩하는 서열에 상보적인 적어도 하나의 요소를 포함하는 뉴클레오타이드 서열을 갖는다. 일부 실시형태에서, 핵산은 효소 활성을 갖는다.

[0042] **작동 가능하게 연결된:** 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 설명된 구성 요소가 의도된 방식으로 기능하도록 허용하는 관계에 있는 병치를 지칭한다. 기능 요소에 "작동 가능하게 연결된" 제어 요소는 기능 요소의 발현 및/또는 활성이 제어 요소와 호환되는 조건에서 달성되는 방식으로 연결된다. 일부 실시형태에서, "작동 가능하게 연결된" 제어 요소는 관심 코딩 요소와 인접(예를 들어, 공유 연결)되고; 일부 실시형태에서, 제어 요소는 관심 기능 요소와 트랜스로 또는 다르게는 그로부터 작용한다. 일부 실시형태에서, "작동 가능하게 연결된"은 조절 서열과 이중 핵산 서열 사이의 기능적 연결을 의미하며 후자의 발현을 야기한다. 예를 들어, 제1 핵산 서열이 제2 핵산 서열과 기능적 관계로 놓일 때 제1 핵산 서열은 제2 핵산 서열에 작동 가능하게 연결된다. 일부 실시형태에서, 예를 들어, 기능적 연결은 전사 조절을 포함할 수 있다. 예를 들어, 프로모터가 코딩 서열의 전사 또는 발현에 영향을 미친다면 프로모터는 코딩 서열에 작동 가능하게 연결된 것이다. 작동 가능하게 연결된 DNA 서열은 서로 인접할 수 있고, 예컨대, 2개의 단백질 코딩 영역을 연결하는 데 필요한 경우 동일한 리딩 프레임에 있다.

[0043] **약제학적 조성물:** 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "약제학적 조성물"은 활성제가 하나 이상의 약제학적으로 허용 가능한 담체와 함께 제형화되는 조성물을 지칭한다. 일부 실시형태에서, 활성제는 관련 집단에 투여될 때 예정된 치료 효과를 달성할 통계적으로 유의한 확률을 나타내는 치료 요법으로 투여하기에 적절한 단위 투여량으로 존재한다. 일부 실시형태에서, 약제학적 조성물은, 예컨대, 투여, 예를 들어, 수성 또는 비수성 용액 또는 현탁액 또는 외도에 투여하도록 설계된 액체 점적제인 주사 가능한 제형에 적합한 것들을 비롯한, 고체 또는 액체 형태로 투여를 위하여 특별히 제형화될 수 있다. 일부 실시형태에서, 약제학적 조성물은 특정 기관 또는 구획에, 예컨대, 귀에 직접적으로, 또는 전신에, 예컨대, 정맥 내로 주사를 통한 투여를 위해 제형화될 수 있다. 일부 실시형태에서, 제형은 드렌지(수성 또는 비수성 용액 또는 현탁액), 정제, 볼루스, 분말, 과립, 페이스트, 캡슐, 분말 등일 수 있거나 이를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 활성제는 분리된, 정제된 또는 순수한 화합물일 수 있거나 이를 포함할 수 있다.

[0044] **약제학적으로 허용 가능한:** 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 예를 들어, 본 명세서에 개시된 바와 같은 약제학적 조성물을 제형화하는 데 사용되는 담체, 희석제 또는 부형제와 관련하여 사용될 수 있는 용어 "약제학적으로 허용 가능한"은, 담체, 희석제 또는 부형제가 조성물의 다른 성분과 상용성이고 이의 수용자에게 유해하지 않음을 의미한다.

[0045] **약제학적으로 허용 가능한 담체:** 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "약제학적으로 허용 가능한 담체"는, 하나의 기관 또는 신체의 일부로부터 다른 기관 또는 신체의 부분으로 대상 화합물을 운반하거나 수송하는 것과 관련된 액체 또는 고체 충전제, 희석제, 부형제 또는 용매 캡슐화 물질과 같은 약제학적으로-허용 가능한 물질, 조성물 또는 비히클을 의미한다. 각각의 담체는 제제의 다른 성분과 상용성이고 환자에게 해롭지 않다는 의미에서 "허용 가능"해야 한다. 약제학적으로-허용 가능한 담체로 작용할 수 있는 물질의 몇 가지 예는 다음을 포함한다: 락토스, 글루코스 및 수크로스와 같은 당류; 옥수수 전분, 감자 전분과 같은 전분; 셀룰로스 및 이의 유도체, 예컨대, 카복시메틸 셀룰로스 나트륨, 에틸 셀룰로스 및 셀룰로스 아세테이트; 분말화된 트래거캔스; 맥아; 젤라틴; 탭크; 코코아 버터 및 좌약 왁스와 같은 부형제; 낙화생유, 면실유, 홍화유, 참기름, 올리브유, 옥수수유, 대두유와 같은 오일; 프로필렌 글리콜과 같은 글리콜; 글리세린, 소르비톨, 만니톨 및 폴리에틸렌 글리콜과 같은 폴리올; 에틸 올레이트 및 에틸 라우레이트와 같은 에스터; 한천; 수산화마그네슘 및 수산화알루미늄과 같은 완충제; 알긴산; 발열원 무함유수; 등장성 식염수; 링거액; 에틸 알코올; pH 완충 용액; 폴리에스터, 폴리카보네이트 및/또는 폴리무수물; 및 약제학적 제형에 사용되는 기타 무독성 호환 물질.

[0046] **폴리아데닐화:** 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, "폴리아데닐화"는 메신저 RNA 분자에 대한 폴리아데닐릴 잔기 또는 이의 변형된 변이체의 공유 결합을 지칭한다. 진핵 유기체에서, 대부분의 메신저 RNA(mRNA) 분자는 3' 말단에서 폴리아데닐화된다. 일부 실시형태에서, 3' 폴리(A) 꼬리는 효소인 폴리아데닐레이트 폴리머라제의 작용을 통해서 pre-mRNA에 부가된 아데닌 뉴클레오타이드(예컨대, 50, 60, 70, 100, 200, 500, 1000, 2000, 3000, 4000 또는 5000개)의 긴 서열이다. 고등 진핵생물에서, 폴리(A) 꼬리는 특정 서열, 폴리아데닐화 신호 또는 "폴리(A) 서열"을 함유하는 전사물에 부가될 수 있다. 폴리(A) 꼬리 및 이에 결합된 단백질은 엑소뉴클레아

제에 의한 분해로부터 mRNA를 보호하는 데 도움이 된다. 폴리아데닐화는 전사 종결, 핵으로부터 mRNA의 유출 및 번역에 영향을 미칠 수 있다. 전형적으로, 폴리아데닐화는 DNA가 RNA로 전사된 직후 핵에서 일어나지만, 부가적으로 나중에 세포질에서도 일어날 수 있다. 전사가 종료된 후, mRNA 사슬은 RNA 폴리머라제와 연관된 엔도뉴클레아제 복합체의 작용을 통해 절단될 수 있다. 절단 부위는 절단 부위 근처의 염기 서열 AAUAAA의 존재를 특징으로 할 수 있다. mRNA가 절단된 후, 아데노신 잔기가 절단 부위에서 자유 3' 말단에 부가될 수 있다. 본 명세서에 사용되는 바와 같이, "폴리(A) 서열"은 mRNA의 엔도뉴클레아제 절단 및 절단된 mRNA의 3' 말단에 일련의 아데노신을 추가로 축발하는 서열이다.

[0047]

폴리펩타이드: 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "폴리펩타이드"는 전형적으로 펩타이드 결합에 의해 연결된 잔기(예컨대, 아미노산)의 임의의 중합체 사슬을 지칭한다. 일부 실시형태에서, 폴리펩타이드는 자연에서 발생하는 아미노산 서열을 갖는다. 일부 실시형태에서, 폴리펩타이드는 자연에서 발생하지 않는 아미노산 서열을 갖는다. 일부 실시형태에서, 폴리펩타이드는 사람의 손의 작용을 통해 설계 및/또는 생성된다는 점에서 조작된 아미노산 서열을 갖는다. 일부 실시형태에서, 폴리펩타이드는 천연 아미노산, 비천연 아미노산, 또는 둘 다를 포함할 수 있거나 이로 이루어질 수 있다. 일부 실시형태에서, 폴리펩타이드는, 예컨대, 폴리펩타이드의 N-말단에서, 폴리펩타이드의 C-말단에서, 또는 이들의 임의의 조합에서 하나 이상의 아미노산 측쇄에 변형 또는 부착된 하나 이상의 펜던트기 또는 다른 변형을 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 이러한 펜던트 기 또는 변형은 아세틸화, 아마이드화, 지질화, 메틸화, 페길화 등(이들의 조합 포함)일 수 있다. 일부 실시형태에서, 폴리펩타이드는 L-아미노산, D-아미노산, 또는 둘 다를 함유할 수 있고 당업계에 공지된 임의의 다양한 아미노산 변형 또는 유사체를 함유할 수 있다. 일부 실시형태에서, 유용한 변형은, 예컨대, 말단 아세틸화, 아마이드화, 메틸화 등일 수 있거나 이를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 단백질은 천연 아미노산, 비-천연 아미노산, 합성 아미노산 및 이들의 조합을 포함할 수 있다. 용어 "펩타이드"는 일반적으로 약 100개 미만의 아미노산, 약 50개 미만의 아미노산, 20개 미만의 아미노산 또는 10개 미만의 아미노산 길이를 갖는 폴리펩타이드를 지칭하기 위해 사용된다. 일부 실시형태에서, 단백질은 항체, 항체 단편, 이의 생물학적 활성 부분 및/또는 그의 특징적인 부분이다.

[0048]

폴리뉴클레오타이드: 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "폴리뉴클레오타이드"는 핵산의 임의의 중합체 사슬을 지칭한다. 일부 실시형태에서, 폴리뉴클레오타이드는 RNA이거나 이를 포함하며; 일부 실시형태에서, 폴리뉴클레오타이드는 DNA이거나 이를 포함한다. 일부 실시형태에서, 폴리뉴클레오타이드는 하나 이상의 천연 핵산 잔기이거나, 이를 포함하거나 또는 이로 이루어진다. 일부 실시형태에서, 폴리뉴클레오타이드는 하나 이상의 핵산 유사체이거나, 이를 포함하거나 또는 이로 이루어진다. 일부 실시형태에서, 폴리뉴클레오타이드 유사체는 포스포다이에스터 백본을 이용하지 않는다는 점에서 핵산과는 상이하다. 대안적으로 또는 부가적으로, 일부 실시형태에서, 폴리뉴클레오타이드는 포스포다이에스터 결합보다는 하나 이상의 포스포로티오에이트 및/또는 5'-N-포스포르아미다이트 결합을 갖는다. 일부 실시형태에서, 폴리뉴클레오타이드는 하나 이상의 천연 뉴클레오타이드(예를 들어, 아데노신, 티미딘, 구아노신, 시티딘, 우리딘, 데옥시아데노신, 데옥시티미딘, 데옥시 구아노신 및 데옥시시티딘)이거나, 이를 포함하거나, 이로 이루어진다. 일부 실시형태에서, 폴리뉴클레오타이드는 하나 이상의 뉴클레오타이드 유사체(예컨대, 2-아미노아데노신, 2-티오티미딘, 이노신, 피콜로-피리미딘, 3-메틸아데노신, 5-메틸시티딘, C-5 프로핀일-시티딘, C-5 프로핀일-우리딘, 2-아미노아데노신, C5-브로모우리딘, C5-플루오로우리딘, C5-아이오도우리딘, C5-프로핀일-우리딘, C5-프로핀일-시티딘, C5-메틸시티딘, 2-아미노아데노신, 7-데아자아데노신, 7-데아자구아노신, 8-옥소아데노신, 8-옥소구아노신, 0(6)-메틸구아닌, 2-티오시티딘, 메틸화된 염기, 삽입된 염기 및 이들의 조합)이거나, 이를 포함하거나, 이로 이루어진다. 일부 실시형태에서, 폴리뉴클레오타이드는 천연 핵산에 있는 것과 비교하여 하나 이상의 변형된 당(예를 들어, 2'-플루오로리보스, 리보스, 2'-데옥시리보스, 아라비노스 및 핵소스)을 포함한다. 일부 실시형태에서, 폴리뉴클레오타이드는 RNA 또는 단백질과 같은 기능적 유전자 산물을 인코딩하는 뉴클레오타이드 서열을 갖는다. 일부 실시형태에서, 폴리뉴클레오타이드는 하나 이상의 인트론을 포함한다. 일부 실시형태에서, 폴리뉴클레오타이드는 천연 공급원으로부터의 단리, 상보적 주형에 기초한 중합에 의한 효소 합성(생체 내 또는 시험관 내), 재조합 세포 또는 시스템에서의 재생산, 및 화학적 합성 중 하나 이상에 의해 제조된다. 일부 실시형태에서, 폴리뉴클레오타이드는 적어도 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190, 200, 225, 250, 275, 300, 325, 350, 375, 400, 425, 450, 475, 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 1500, 2000, 2500, 3000, 3500, 4000, 4500, 5000개 이상의 잔기 길이이다. 일부 실시형태에서, 폴리뉴클레오타이드는 부분적으로 또는 전체적으로 단일 가닥이고; 일부 실시형태에서, 폴리뉴클레오타이드는 부분적으로 또는 전체적으로 이중 가닥이다. 일부 실시형태에서, 폴리뉴클레오타이드는 폴리펩타이드를 인코딩하거나 인코딩하는 서열의 상보체인 적어도 하나의 요소를 포함하는 뉴클레오타이드 서열을

갖는다. 일부 실시형태에서, 폴리뉴클레오타이드는 효소 활성을 갖는다.

[0049]

단백질: 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "단백질"은 폴리펩타이드(즉, 펩타이드 결합에 의해 서로 연결된 적어도 2개의 아미노산의 스트링)를 지칭한다. 단백질은 아미노산 이외의 모이어티(예를 들어, 당단백질, 프로테오글리칸 등일 수 있음)를 포함할 수 있고/있거나 달리 처리되거나 변형될 수 있다. 당업자라면, "단백질"이 세포에 의해 생산된 바와 같이 완전한 폴리펩타이드 사슬(신호 서열을 갖거나 갖지 않음)이거나 그의 특징적인 부분일 수 있음을 이해할 것이다. 당업자라면, 단백질이 때때로 예를 들어 하나 이상의 이황화 결합에 의해 연결되거나 다른 수단에 의해 회합된 하나 이상의 폴리펩타이드 사슬을 포함할 수 있음을 이해할 것이다.

[0050]

제조합: 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "제조합"은 숙주 세포에 형질주입된 제조합 발현 구조물을 사용하여 발현된 폴리펩타이드; 제조합, 조합 인간 폴리펩타이드 라이브러리로부터 분리된 폴리펩타이드; 폴리펩타이드 또는 이의 하나 이상의 구성 요소(들), 부분(들), 요소(들) 또는 도메인(들)을 코딩 및/또는 이를 직접 발현하는 유전자 또는 유전자들, 또는 유전자 성분을 발현하도록 형질전환되었거나 또는 다르게는 조작된 동물(예컨대, 마우스, 토끼, 양, 어류 등)에서 단리된 폴리펩타이드; 및/또는 선택된 핵산 서열 요소를 서로 스플라이싱 또는 절찰하고, 선택된 서열 요소를 화학적으로 합성하고, 그리고/또는 다르게는 폴리펩타이드 또는 이의 하나 이상의 구성 요소(들), 부분(들), 요소(들) 또는 도메인(들)을 코딩 및/또는 이의 발현을 지시하는 핵산을 생성하는 것을 수반하는 임의의 다른 수단에 의해 제조, 발현, 생성 또는 분리된 폴리펩타이드와 같이 제조합 수단에 의해 절개, 조작, 제조, 발현, 생성, 제작 및/또는 단리된 폴리펩타이드를 지칭하는 것으로 의도된다. 일부 실시형태에서, 이러한 선택된 서열 요소 중 하나 이상은 자연에서 발견된다. 일부 실시형태에서, 이러한 선택된 서열 요소 중 하나 이상은 인실리코 절개된다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 그러한 선택된 서열 요소는, 예를 들어, 관심 공급원 유기체의 생식세포계열에서와 같은 천연 또는 합성 공급원으로부터의, 예컨대, 공지된 서열 요소의 돌연변이 유발(예를 들어, 생체 내 또는 시험관 내)의 결과이다.

[0051]

참조: 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "참조"는 비교가 수행되는 기준 또는 대조군을 설명한다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 관심 제제, 동물, 개체, 집단, 샘플, 서열 또는 값이 참조 또는 대조군 제제, 동물, 개체, 집단, 샘플, 서열 또는 값과 비교된다. 일부 실시형태에서, 참조 또는 대조군은 관심 시험 또는 결정과 실질적으로 동시에 시험 및/또는 결정된다. 일부 실시형태에서, 참조 또는 대조군은 선택적으로 유형의 매체에서 구체화된 과거 참조 또는 대조군이다. 전형적으로, 당업자에 의해 이해되는 바와 같이, 참조 또는 대조군은 평가하에 있는 것에 대한 비교 가능한 조건 또는 환경 하에서 결정되거나 특성규명된다. 당업자라면 특정한 가능한 참조 또는 대조군에 대한 의존 및/또는 비교를 정당화하기에 충분한 유사성이 존재하는 경우를 이해할 것이다. 일부 실시형태에서, 참조는 음성 대조군 참조이고; 일부 실시형태에서 참조는 양성 대조군 참조이다.

[0052]

조절 요소: 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "조절 요소" 또는 "조절 서열"은, 어떤 방식으로, 하나 이상의 특정 유전자의 발현을 조절하는 DNA의 비코딩 영역을 지칭한다. 일부 실시형태에서, 이러한 유전자는 주어진 조절 요소의 "이웃에" 배치되거나 인접한다. 일부 실시형태에서, 이러한 유전자는 주어진 조절 요소로부터 상당히 멀리 위치된다. 일부 실시형태에서, 조절 요소는 하나 이상의 유전자의 전사를 손상시키거나 증대시킨다. 일부 실시형태에서, 조절 요소는 조절되는 유전자에 대해 시스로 위치될 수 있다. 일부 실시형태에서, 조절 요소는 조절되는 유전자에 대해 트랜스에 위치될 수 있다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 조절 서열은 조절 서열에 작동 가능하게 연결된 유전자 산물의 발현을 조절하는 핵산 서열을 지칭한다. 이러한 일부 실시형태에서, 이 서열은 인핸서 서열 및 유전자 산물의 발현을 조절하는 다른 조절 요소일 수 있다.

[0053]

샘플: 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "샘플"은 전형적으로 관심 공급원으로부터 얻어지거나 유래된 물질의 분취량을 지칭한다. 일부 실시형태에서, 관심 공급원은 생물학적 또는 환경적 공급원이다. 일부 실시형태에서, 관심 공급원은 미생물(예를 들어, 바이러스), 식물 또는 동물(예컨대, 인간)과 같은 세포 또는 유기체일 수 있거나 이를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 관심 공급원은 생물학적 조직 또는 유체이거나 이를 포함한다. 일부 실시형태에서, 생물학적 조직 또는 유체는 양수, 안방수, 복수, 담즙, 골수, 혈액, 모유, 뇌척수액, 귀지, 유미, 차임(chime), 사정액, 내림프액, 삼출물, 대변, 위산, 위액, 림프액, 점액, 심낭액, 외림프액, 복막액, 흉수, 고름, 유액, 타액, 피지, 정액, 혈청, 치구(smegma), 가래, 활액, 땀, 눈물, 소변, 질 분비물, 유리액, 구토물, 및/또는 이들의 조합 또는 성분(들)일 수 있거나 또는 이들을 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 생물학적 유체는 세포내액, 세포외액, 혈관내액(혈장), 간질액, 림프액 및/또는 체강액(transcellular fluid)일 수 있거나 이를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 생물학적 유체는 식물 삼출물일 수 있거나 이를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 생물학적 조직 또는 샘플은, 예를 들어, 흡인, 생검(예컨대, 미세-바늘 또는 조직 생검), 면봉(예컨대, 구강, 비강, 피부 또는 질 면봉), 긁기, 수술, 세척 또는 세척(예컨대, 기관지 폐

포, 관, 비강, 안구, 구강, 자궁, 질 또는 기타 세정 또는 세척)에 의해 얻어질 수 있다. 일부 실시형태에서, 생물학적 샘플은 개체로부터 얻어진 세포이거나 이를 포함한다. 일부 실시형태에서, 샘플은 임의의 적절한 수단에 의해 관심 공급원으로부터 직접 얻어진 "1차 샘플"이다. 일부 실시형태에서, 문맥으로부터 명백한 바와 같이, 용어 "샘플"은 1차 샘플을 가공처리함으로써(예컨대, 하나 이상의 구성요소를 제거하고/하거나 1종 이상의 체제를 첨가함으로써) 얻어진 체제를 지칭한다. 예를 들어, 반투막을 사용한 여과. 이러한 "가공처리된 샘플"은 예를 들어 샘플로부터 추출되거나 1차 샘플에 핵산의 증폭 또는 역전사, 특정 성분의 단리 및/또는 정제 등과 같은 하나 이상의 기술을 적용하여 얻어진 핵산 또는 단백질을 포함할 수 있다.

[0054] **대상체:** 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "대상체"는 유기체, 전형적으로 포유동물(예컨대, 인간, 일부 실시형태에서 태아기 인간 형태를 포함함)을 지칭한다. 일부 실시형태에서, 대상체는 관련 질환, 장애 또는 병태를 앓고 있다. 일부 실시형태에서, 대상체는 질환, 장애 또는 병태에 걸리기 쉽다. 일부 실시형태에서, 대상체는 질환, 장애 또는 병태의 하나 이상의 증상 또는 특징을 나타낸다. 일부 실시형태에서, 대상체는 질환, 장애 또는 병태의 어떠한 증상이나 특징도 나타내지 않는다. 일부 실시형태에서, 대상체는 질환, 장애 또는 병태에 대한 감수성 또는 위험의 특징적인 하나 이상의 특징을 가진 사람이다. 일부 실시형태에서, 대상은 환자이다. 일부 실시형태에서, 대상체는 진단 및/또는 요법이 투여되고/되거나 투여된 개인이다.

[0055] **실질적으로:** 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "실질적으로"는 관심 특징 또는 특성의 전체 또는 거의 전체 범위 또는 정도를 나타내는 정성적 조건을 지칭한다. 당업자라면, 생물학적 및 화학적 현상이, 설사 있다고 해도, 거의 완료되지 않고 그리고/또는 완전하게 진행되거나 절대적인 결과를 달성하거나 회피한다는 것을 이해할 것이다. 따라서 용어 "실질적으로"는 많은 생물학적 및 화학적 현상에 내재된 완전성의 잠재적 결여를 포착하기 위해 본 명세서에서 사용된다.

[0056] **치료:** 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "치료"(또한 "치료하다" 또는 "치료하는")는 특정 질환, 장애 및/또는 병태의 하나 이상의 증상, 특징 및/또는 원인을 부분적으로 또는 완전히 경감, 개선, 제거, 역전, 완화, 저해, 발병 지연, 중증도 저감 및/또는 발생 저감시키는 요법의 임의의 투여를 지칭한다. 일부 실시형태에서, 이러한 치료는 관련 질환, 장애 및/또는 상태의 징후를 나타내지 않는 대상체 및/또는 질환, 장애 및/또는 상태의 초기 징후만을 나타내는 대상체에 대한 것일 수 있다. 대안적으로 또는 부가적으로, 이러한 치료는 관련 질환, 장애 및/또는 병태의 하나 이상의 확립된 징후를 나타내는 대상체에 대한 것일 수 있다. 일부 실시형태에서, 치료는 관련 질환, 장애 및/또는 병태를 앓는 것으로 진단된 대상체에 대한 것일 수 있다. 일부 실시형태에서, 치료는 주어진 질환, 장애 및/또는 병태의 발병 위험 증가와 통계적으로 상관관계가 있는 하나 이상의 감수성 인자를 갖는 것으로 알려진 대상체에 대한 것일 수 있다.

[0057] **변이체:** 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "변이체"는 어떤 것의 버전, 예컨대, 다른 버전과는 어떤 면에서 상이한 유전자 서열을 지칭한다. 무언가가 변형인지 결정하기 위하여, 전형적으로 참조 버전이 선택되고 변이체는 해당 참조 버전에 대해서 상이하다. 일부 실시형태에서, 변이체는 야생형 서열과 동일하거나 상이한(예를 들어, 증가 또는 감소) 수준의 활성 또는 기능을 가질 수 있다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 변이체는, 예컨대, 저해성 핵산, 예컨대, miRNA에 의한 분해에 저항하도록, 예컨대, 코돈 최적화된 경우 야생형 서열과 비교하여 향상된 기능성을 가질 수 있다. 이러한 변이체는 본 명세서에서 기능 획득 변형으로 지칭된다. 일부 실시형태에서, 변이체는 활성 또는 기능의 감소 또는 제거, 또는 부정적인 결과(예를 들어, 세포 사멸을 초래하는 만성 탈분극을 초래하는 증가된 전기적 활성)를 초래하는 활성의 변화를 갖는다. 그러한 변이체는 본 명세서에서 기능 소실 변이체로 지칭된다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, CLRN1 유전자 서열은 기능성 단백질을 인코딩하고 CLRN1 유전자를 함유하는 게놈을 갖는 종의 대부분의 구성원에 존재하는 야생형 서열이다. 이러한 일부 실시형태에서, 기능 획득 변이체는 야생형 CLRN1 유전자 서열에 비해서 하나 이상의 뉴클레오타이드 차이를 포함하는 CLRN1의 유전자 서열일 수 있다. 일부 실시형태에서, 기능 획득 변이체는 이의 대응하는 야생형(예를 들어, 코돈 최적화되지 않은) 버전보다 향상된 특성(예를 들어, 분해에 대한 더 낮은 감수성, 예컨대, miRNA 매개 분해에 대한 더 낮은 감수성)을 가질 수 있는 전사물 또는 폴리펩타이드를 인코딩하는 코돈-최적화된 서열이다. 일부 실시형태에서, 기능 상실 변이체는 야생형 전사물 및/또는 폴리펩타이드에 비해서 어떤 방식으로 결함이 있는(예를 들어, 기능 감소, 비기능) 전사물 또는 폴리펩타이드를 초래하는 하나 이상의 변화를 갖는다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, CLRN1 서열의 돌연변이는 비기능적이거나 또는 다르게는 결함성 클라린 1 단백질을 초래한다.

도면의 간단한 설명

[0058] **도 1A**는 단순화된 내인성 AAV 게놈을 묘사하고; **도 1B**는 CLRN1 유전자를 발현 가능한 단순화된 재조합

AAV(rAAV) 작제물을 묘사한다.

도 2는 CLRN1 유전자를 포함하는 예시적인 rAAV 작제물을 묘사한다.

도 3은 CLRN1 유전자를 포함하는 예시적인 rAAV 작제물을 묘사한다.

도 4는 CLRN1 유전자를 포함하는 예시적인 rAAV 작제물을 묘사한다.

도 5는 CLRN1 유전자를 포함하는 예시적인 rAAV 작제물을 묘사한다.

도 6은 CLRN1 유전자를 포함하는 예시적인 rAAV 작제물을 묘사한다.

도 7은 CLRN1 유전자를 포함하는 예시적인 rAAV 작제물을 묘사한다.

도 8은 눈의 망막 구조의 예시적인 개략도를 묘사한다.

도 9는 사람 귀의 대표적인 해부구조의 개략도이다.

도 10은 왼쪽의 전정계와 오른쪽의 달팽이관(고실계, 전정계) 사이의 외림프의 유체 연속성을 나타내는 내이의 개략도이다. **도 10A**는 나선형 달팽이관의 개략도이다. 나타난 달팽이관 회전수는 마우스 내이를 나타낸다. **도 10B**는 달팽이관의 단면을 도시하는 개략도이다. 이 개략도에서, 고실계와 전정계는 외림프로 채워져 있는 반면 중간계(scala media)는 내림프로 채워져 있다(Talaei 2019, 전체 내용이 본 명세서에 참조에 의해 원용됨).

도 11은 본 명세서에 기재된 바와 같은 투여 방법의 개략도이다. **도 11A**는 본 명세서에 기재된 바와 같은 전달 디바이스의 이미지를 포함한다(예컨대, WO 2021/242926 참조, 전체 내용이 본 명세서에 참조에 의해 원용됨). 도시된 바와 같은 전달 디바이스는 삽입 깊이를 안내하는 스톱퍼가 있는 정원창막을 통해 주입된 유체를 달팽이관 내 투여하기 위한 것이다. **도 11B**는 고실계를 통해 전정계로 (달팽이관 정점의 달팽이구멍에서의 연통을 통해), 이어서 난원창 내의 전달 디바이스의 등골 족판(stapes footplate)에 배치된 통기구를 통해 달팽이관 밖으로의 주사된 유체의 예상되는 흐름을 나타내는 이미지를 포함한다(Talei 2019, 전체 내용이 본 명세서에 참조에 의해 원용됨).

도 12는 정원창막 전달을 통한 신생아 마우스에서 자연 발생 AAV 혈청형 및 AAV Anc80 변이체의 생체 내 달팽이관 형질도입을 묘사하는 대표적인 형광 이미지를 포함한다. 마우스(P1)에게는 향상된 GFP(eGFP)를 인코딩하는 작제물을 포함하는 상이한 AAV 캡시드(AAV1, AAV2, AAV8, AAV6[미도시] 및 AAV Anc80)를 주사하였다. 팔로이딘은 액틴을 표지하는 데 사용하였다. eGFP-양성 내부 유모세포(IHC) 및 외부 유모세포(OHC)의 정량화는 향상된 GFP를 인코딩하는 작제물을 포함하는 rAAV Anc80(rAAV Anc80-eGFP)의 전달 후에 기저에서 정점으로 대략 90 내지 100%의 형질도입 효율을 나타내었다(Landegger 2017, 전체 내용이 본 명세서에 참조에 의해 원용됨).

도 13은 정원창막 전달을 통해서 신생아 마우스에서 rAAV Anc80 입자의 생체 내 전정 형질도입을 묘사하는 대표적인 형광 이미지를 포함한다. 마우스(P1)에게는 AAV Anc80-eGFP를 주사하였다. 팔로이딘 염색은 액틴을 표지하는 데 사용하였다. 형질도입은 난형낭(utricle)의 유형 I 및 유형 II 두 유모세포(**도 13A**)뿐만 아니라 반고리관 크리스테의 세포(**도 13B**)에서 관찰되었다(Landegger 2017, 전체 내용이 본 명세서에 참조에 의해 원용됨).

도 14는 후반고리관 전달을 통해서 성체 마우스에서 rAAV Anc80 입자의 생체 내 달팽이관 형질도입을 묘사하는 대표적인 형광 이미지를 포함한다. 마우스(7주령)에게는 rAAV Anc80-eGFP 입자를 주사하였다. **도 14A**는 (I)로 지칭되는 IHC, (O)로 지칭되는 OHC, (SL)로 지칭되는 나선관 가장자리, (RM)으로 지칭되는 라이스너막(Reissner's membrane) 및 (SG)로 표시되는 나선 신경절에서의 eGFP 신호를 나타내는, 주사된 달팽이관의 중간-달팽이축 단면의 저배율도를 포함한다. **도 14B1** 및 **도 14B2**는 달팽이관의 정점(**도 14B1**) 및 중간(**도 14B2**) 영역으로부터의 코르티 기관의 고배율도를 포함한다. eGFP-양성 세포의 정량화는 IHC의 대략 100%가 형질도입된 반면, OHC 형질도입은 정점에서 기저로 감소된 것을 나타내었다. **도 14C**는 eGFP 신호가 나선 신경절 내 세포의 서브세트(뉴런 및 위성 신경교 세포)에서 검출된 것을 나타내는 저배율도이다(Suzuki 2017, 전체 내용이 본 명세서에 참조에 의해 원용됨).

도 15는 후반고리관 전달을 통해서 성체 마우스에서 rAAV Anc80-eGFP의 생체 내 전정 형질도입을 묘사하는 대표적인 형광 이미지를 포함한다. 마우스(7주령)에게는 rAAV Anc80-eGFP를 주사하였다. **도 15A1** 및 **도 15A2**는 난형낭 및 구형낭(sacculle) 둘 다에서의 eGFP 신호를 나타내는, 전정을 통한 단면의 저배율도를 포함한다. **도 15B** 및 **도 15C**는 지지세포 및 유모세포에서 eGFP 발현을 나타내는, 전정 종말-기관(**도 15B**: 난형낭; **도 15C**: 팽대부릉(crista ampularis))을 통한 단면의 고배율도를 포함한다. 채워진 화살표는 형질도입된 지지세포의 예를 나타낸다(유모세포는 나타내지 않음) (Suzuki 2017, 전체 내용이 본 명세서에 참조에 의해 원용됨).

도 16은 관 개창(canal fenestration)을 이용하여 정원창막 전달을 통해서 성체 마우스에서의 rAAV Anc80 변이체에 비해서 자연 발생 AAV2 혈청형의 생체 내 달팽이관 및 전정 형질도입을 묘사하는 대표적인 형광 이미지를 포함한다. 마우스(4주령)에게는 eGFP를 인코딩하는 상이한 AAV 입자(AAV2 및 rAAV Anc80는 여기에 표시되고; AAV1, AAV8 및 AAV9는 표시되지 않음)를 주사하였다. AAV2와 비교하여, rAAV Anc80 매개 형질도입은 비슷한 비율의 IHC 및 OHC 형질도입(도 16A1 대 도 16A2)을 나타냈지만, 나선 신경절 세포(도 16B1 대 도 16B2) 및 구형낭의 유모세포(도 16C1 대 도 16C2: 홀 마운트(whole mount); 도 16D1 대 도 16D2: 단면)의 보다 넓은 형질도입을 나타내었다(Omichi 2020, 전체 내용이 본 명세서에 참조에 의해 인용됨).

도 17은 본 명세서에 기재된 예시적인 rAAV-CLRN1 작제물의 형질도입을 사용하여, CLRN1 단백질의 HEK 세포 발현을 나타내는 웨스턴 블롯을 포함한다. 레인은 도면의 상단에 표시되어 있고, 예상되는 단백질 크기는 도면의 왼쪽에 표시되어 있다. "+"로 표시된 레인은 PNGase F 처리를 나타낸다. 레인 1: 사전 염색된PageRuler™ 단백질 래더. 레인 2: 미형질주입/음성 대조군. 레인 3: 미형질주입/음성 대조군 (+). 레인 4: 6.7×10^4 의 감염 다중도(MOI)로 rAAV-CLRN1야생형 (wt) 입자를 사용한 형질도입. 레인 5: 6.7×10^4 의 감염 다중도(MOI)로 rAAV-CLRN1wt 입자 (+)를 사용한 형질도입. 레인 6: 1.3×10^5 의 감염 다중도(MOI)로 rAAV Anc80-CLRN1wt 입자를 사용한 형질도입. 레인 7: 1.3×10^5 의 감염 다중도(MOI)로 rAAV Anc80-CLRN1wt 입자 (+)를 사용한 형질도입. 레인 8: 2.3×10^5 의 감염 다중도(MOI)로 rAAV Anc80-CLRN1wt 입자를 사용한 형질도입. 레인 9: 2.3×10^5 의 감염 다중도(MOI)로 rAAV Anc80-CLRN1wt 입자 (+)를 사용한 형질도입. 레인 10: 2.3×10^5 의 감염 다중도(MOI)로 rAAV Anc80-CLRN1-코돈 변형된 입자를 사용한 형질도입. 레인 11: 2.3×10^5 의 감염 다중도(MOI)로 rAAV Anc80-CLRN1-코돈 변형된 입자 (+)를 사용한 형질도입. 밴드는 또한 CLRN1 "iso1" 또는 아이소형 A가 글리코실화 또는 탈글리코실화되었는지의 여부를 나타낸다.

도 18A는 본 명세서에 개시된 바와 같은 클라린 1 단백질을 포함하는 rAAV Anc80 입자(rAAV Anc80-CLRN1)로 야생형(WT) 신생아(P2) 마우스 달팽이관 외식편의 형질도입 후 달팽이관 외식편에서의 RNA 발현의 그래프 표현이다. 도 18A는 RNA 발현 분석을 묘사하고, rAAV Anc80-CLRN1 입자(서열번호 64에 따른 작제물)를 투여받은 외식편의 세포에서 CLRN1을 인코딩하는 mRNA의 발현을 입증한다. 비히클을 투여받은 외식편("모의")에서 발현은 검출되지 않았다. 결과는 평균 발현을 나타낸다. 도 18B는 CLRN1 단백질 발현 WT 신생아 마우스를 나타내는 형광 이미지를 묘사한다.

도 19는, 본 개시내용의 양상에 따라, 유체를 내이로 전달하기 위한 디바이스의 사시도를 예시한다.

도 20은, 본 개시내용의 양상에 따라, 구부러진 바늘 하위조립체의 측면도를 예시한다.

도 21은, 본 개시내용의 양상에 따라, 유체를 내이로 전달하기 위한 디바이스의 사시도를 예시한다.

도 22는, 본 개시내용의 양상에 따라, 디바이스의 원위 단부에 결합된 구부러진 바늘 하위조립체의 사시도를 예시한다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

청력손실

일반적으로 귀는 외이, 중이, 내이, 청각(음향) 신경 및 청각 시스템(소리가 귀에서 뇌로 이동함에 따라 처리함)을 포함하는 것으로 설명될 수 있다. 소리를 검출하는 것 외에도, 귀는 균형을 유지하는 것을 돕는다. 따라서, 일부 실시형태에서, 내이의 장애는 청력손실, 이명, 현기증, 불균형, 또는 이들의 조합을 야기할 수 있다.

청력손실은 유전적 인자, 환경적 인자 또는 유전적 인자와 환경적 인자의 조합의 결과일 수 있다. 이명(청각 시스템의 환상 소음(벨소리, 앵앵거리는 소리(buzzing), 짹짹거리는 소리, 웅웅거리는 소리(humming) 또는 뛰는 소리))이 있는 모든 사람의 약 절반은 또한 특정 소리 주파수 및 음량 범위에 대해 과민하거나 내성이 감소하며, 이는 청각과민(hyperacusis)(청각과민증(hyperacusis)이라고도 기재함)으로 공지되어 있다. 다양한 비증후군성 및 증후군성-관련 청력손실(예컨대, 각각 어서 증후군, DFNB4 및 펜드레드 증후군(Pendred syndrome))이 당업자에게 알려져 있을 것이다. 청각 장애 또는 손실의 환경적 원인은, 예컨대, 특정 약물, 출생 전후의 특정 감염 및/또는 장기간에 걸친 큰 소음에 대한 노출을 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 청력손실은 귀의 특정 부분에 영향을 미치는 소음, 이독성 제제(ototoxic agent), 노인성 난청, 질환, 감염 또는 암으로

인해 발생할 수 있다. 일부 실시형태에서, 허혈성 손상은 병태생리학적 기전을 통해 청력손실을 야기할 수 있다. 일부 실시형태에서, 달팽이관 해부학 또는 생리학에서 중요한 역할을 하는 유전자에 대한 선천적 돌연변이, 또는 지지세포 및/또는 유모세포에서의 유전적 또는 해부학적 변화와 같은 내재적 이상은 청력손실의 원인이 되거나 이에 기여할 수 있다.

[0062] 청력손실 및/또는 귀먹음은 인간의 가장 흔한 감각 결함 중 하나이며 여러 가지 이유로 발생할 수 있다. 일부 실시형태에서, 대상체는 청력손실 또는 청력 없이 태어날 수 있는 반면, 다른 대상체는 시간이 지남에 따라 천천히 청력을 손실할 수 있다. 약 3천6백만 명의 미국 성인이 어느 정도의 청력 손실을 보고하고 있으며, 60세 이상 인구의 삼분의 일, 85세 이상 인구의 절반이 청력손실을 경험한다. 대략 1,000명 중 1.5명의 어린이가 심도 청력손실을 가지고 태어나고, 1,000명 중 또 다른 2 내지 3명의 어린이는 부분적인 청력손실을 가지고 태어난다(Smith et al., 2005, Lancet 365:879-890, 이는 전문이 본 명세서에 참조에 의해 원용됨). 이러한 사례의 절반 이상이 유전적 기반에 기인한다(Di Domenico, et al., 2011, J. Cell. Physiol. 226:2494-2499, 이는 전문이 본 명세서에 참조에 의해 원용됨).

[0063] 청력손실에 대한 치료는 현재 정도에서 중증 손실에 대한 청력 증폭과 중증에서 심도 손실에 대한 달팽이관 이식으로 이루어진다(Kral and O'Donoghue, 2010, N. Engl. J. Med. 363:1438-1450, 이는 전문이 본 명세서에 참조에 의해 원용됨). 이 분야의 최근 연구는 노인성 난청, 소음 손상, 감염 및 이독성을 포함하여 가장 일반적인 형태의 청력손실에 적용할 수 있는 달팽이관 유모세포 재생에 초점을 맞추고 있다. 청력 문제의 원인을 복구 및/또는 완화할 수 있는 유전자 요법과 같은 효과적인 치료에 대한 필요성이 남아 있다(예컨대, WO 2018/039375, WO 2019/165292 및 WO 2020/097372를 참조하며, 이들 각각은 전문이 본 명세서에 참조에 의해 원용된다).

[0064] 일부 실시형태에서, 비증후군성 청력손실 및/또는 귀먹음은 다른 징후 및 증상과 연관되지 않는다. 일부 실시형태에서, 증후군성 청력손실 및/또는 귀먹음은 신체의 다른 부분의 이상과 함께 발생한다. 유전성 청력손실 및/또는 귀먹음 사례의 대략 70 퍼센트 내지 80 퍼센트는 비증후군성이고; 나머지 사례는 종종 특정 유전 증후군에 의해 발생한다. 비증후군성 귀먹음 및/또는 청력손실은 상이한 유전 패턴을 가질 수 있고, 모든 연령에서 발생할 수 있다. 비증후군성 귀먹음 및/또는 청력손실의 유형은 일반적으로 유전 패턴에 따라서 명명된다. 예를 들어, 상염색체 우성 형태는 DFNA로 지정되고, 상염색체 열성 형태는 DFNB로 지정되며, X-연관 형태는 DFN으로 지정된다. 각 유형은 처음 설명된 순서대로 번호가 매겨져 있다. 예를 들어, DFNA1은 처음으로 설명된 상염색체 우성 유형의 비증후군성 귀먹음이었다. 유전적으로 원인이 되는 청력손실 및/또는 귀먹음 사례의 75 퍼센트 내지 80 퍼센트 사이는 상염색체 열성 패턴으로 유전되는데, 이는 각 세포에 있는 유전자의 두 카피가 (예를 들어, 어서 증후군에서) 모두 돌연변이를 가지고 있음을 의미한다. 통상 상염색체 열성 청력손실 및/또는 귀먹음이 있는 개인의 각 부모는 돌연변이된 유전자의 하나의 카피의 보인자(carrier)이지만, 이러한 형태의 청력손실에 의해 영향을 받지 않는다. 비증후군성 청력손실 및/또는 귀먹음 사례의 또 다른 20 퍼센트 내지 25 퍼센트는 상염색체 우성이며, 이는 각 세포에서 변경된 유전자의 한 카피가 귀먹음 및/또는 청력손실을 초래하기에 충분한 것을 의미한다. 상염색체 우성 귀먹음 및/또는 청력손실이 있는 사람은 대부분 귀먹음 및/또는 청력손실을 가진 부모로부터 변경된 유전자 카피를 물려받는다. 귀먹음 및/또는 청력손실 사례의 1 내지 2 퍼센트는 X-연관 유전 패턴을 나타내는데, 이는 이러한 상태를 담당하는 돌연변이 유전자가 X 염색체(두 성염색체 중 하나)에 위치됨을 의미한다. X-연관 비증후군성 청력손실 및/또는 귀먹음이 있는 남성은 동일한 유전자 돌연변이 복제본을 물려받은 여성보다 더 일찍 심각한 청력손실이 발생하는 경향이 있다. X-연관 유전의 특징은 아버지가 아들에게 X-연관 특성을 물려줄 수 없다. 미토콘드리아 DNA의 변화로 인한 미토콘드리아성 비증후군성 귀먹음은 미국에서 1% 미만에서 발생한다. 변경된 미토콘드리아 DNA는 어머니로부터 모든 아들과 딸에게 전달된다. 이러한 유형의 귀먹음은 아버지로부터 유전되지 않는다. 증후군성 및 비증후군성 귀먹음 및/또는 청력손실의 원인은 복잡하다. 연구자들은, 변형될 때, 증후군성 및/또는 비증후군성 귀먹음 및/또는 청력손실과 연관된 30개 초과 유전자를 식별하였지만; 이들 유전자 중 일부는 완전히 특성규명되지 않았다. 동일한 유전자의 다른 돌연변이는 다른 유형의 귀먹음 및/또는 청력손실과 연관될 수 있으며, 일부 유전자는 증후성 및 비증후군성 귀먹음 및/또는 청력손실과 연관된다.

[0065] 일부 실시형태에서, 귀먹음 및/또는 청력손실은 전음성(외이도 또는 중이에서 발생), 감각신경성(내이 또는 청신경에서 발생) 또는 혼합성일 수 있다. 일부 실시형태에서, 비증후군성 귀먹음 및/또는 청력손실은 내이의 구조 손상(감각신경성 귀먹음)으로 인한 영구적 청력손실과 연관된다. 일부 실시형태에서, 감각신경성 청력손실은 불량한 유모세포 기능으로 인한 것일 수 있다. 일부 실시형태에서, 감각신경성 청력 손상은 제8 뇌신경(전정와우 신경) 또는 뇌의 청각 부분과 연루된다. 이러한 일부 실시형태에서, 뇌의 청각 중추만이 영향을 받는다. 이러한 상황에서, 피질 귀먹음이 발생할 수 있으며, 여기서 소리는 정상 역치에서 들릴 수 있지만, 인지되는 소리

의 품질이 너무 나빠서 말을 이해할 수 없다. 중이의 변화로 인한 청력손실을 전음성 청력손실이라 불린다. 일부 형태의 비증후군성 귀먹음 및/또는 청력손실은, 혼합성 청력손실이라고 하는, 내이와 중이 둘 다의 변화를 수반한다. 아동이 말하기를 배우기 전에 존재하는 청력손실 및/또는 귀먹음은 언어습득전 또는 선천성으로 분류될 수 있다. 언어 발달 이후에 발생하는 청력손실 및/또는 귀먹음은 언어습득후로 분류될 수 있다. 증후군성 또는 비증후군성 청력손실과 관련된 대부분의 상업색체 열성 유전자좌는 언어습득전 중증 내지 심도 청력손실을 유발한다.

[0066] 당업자에게 공지된 바와 같이, 유모세포는 척추동물 귀의 청각 및 전정 시스템 둘 다에 대한 감각 수용체이다. 유모세포는 환경에서 움직임을 검출하고, 포유동물에서 유모세포는 귀의 달팽이관 내 코르티 기관에 위치된다. 포유동물의 귀는 내유모세포와 외유모세포의 두 가지 유형의 유모세포가 있는 것으로 알려져 있다. 외유모세포는 유모세포 다발의 기계적 이동 또는 유모세포 소마(soma)의 전기 구동 이동을 통해 낮은 수준의 사운드 주파수를 증폭할 수 있다. 내유모세포는 달팽이관 유체의 진동을 청신경이 뇌로 전달하는 전기 신호로 변환한다. 일부 실시형태에서, 유모세포는 출생 시 비정상적이거나 개인의 일생 동안 손상될 수 있다. 일부 실시형태에서, 외유모세포는 재생될 수 있다. 일부 실시형태에서, 내유모세포는 질병 또는 상해 후에 재생될 수 없다. 일부 실시형태에서, 감각신경성 청력손실은 유모세포의 이상으로 인한 것이다.

[0067] 당업자에게 공지된 바와 같이, 유모세포는 별개로 발생하지 않으며, 그의 기능은 집합적으로 지지세포로 지칭될 수 있는 다양한 세포에 의해 지지된다. 지지세포는 다양한 기능을 수행할 수 있으며, 헨센 세포(Hensen's cell), 다이테르스 세포(Deiters' cell), 주상 세포(pillar cell), 클라우디우스 세포(Claudian cell), 내부 지골 세포 및 경계 세포를 포함하지만 이에 제한되지 않는 많은 세포 유형을 포함한다. 일부 실시형태에서, 감각신경성 청력손실은 지지세포의 이상으로 인한 것이다. 일부 실시형태에서, 지지세포는 출생 시 비정상적이거나 개인의 일생 동안 손상될 수 있다. 일부 실시형태에서, 지지세포는 재생될 수 있다. 일부 실시형태에서, 특정 지지세포는 재생이 불가능할 수 있다.

[0068] 시력손실

[0069] 눈은 동물에게 시력을 제공하고 시각적 세부 사항을 수신 및 처리하며, 시력과는 독립적인 여러 광 반응 기능을 가능하게 하는 시각 시스템의 기관이다. 일반적으로, 눈은 광을 감지하고 뉴런에서 전기-화학적 자극으로 변환한다. 포유류와 같은 고등 유기체에서, 눈은 주변 환경에서 광을 수집하고, 다이어프램을 통해 광의 강도를 조절하고, 이미지를 형성하기 위해 조정 가능한 렌즈의 조립체를 통과하도록 강제하고, 이 이미지를 일련의 이미지로 변환시키고, 시신경을 통해 눈을 시각 피질 및 뇌의 다른 영역에 연결하는 복잡한 신경 경로를 통해 이러한 신호를 뇌로 전송하는 복잡한 광학 시스템이다. 안구 해부학은 일반적으로 각막, 동공, 홍채, 수정체, 전방, 후방, 누액, 연막(limbus), 모양체근, 현수 인대, 유리체방, 공막, 맥락막, 망막, 황반/중심와, 시신경 및 맹점을 포함한다.

[0070] 시력손실은 유전적 요인, 환경적 요인, 또는 유전적 요인과 환경적 요인의 조합의 결과일 수 있다. 시력손실은 흐릿한 시야(blurred vision), 혼탁한 시야(cloudy vision), 복시(double vision), 맹점, 야간 시력 저하 및 주변 시력 상실(터널 시야)을 비롯한, 볼 수 있는 능력의 임의의 감소이다. 시력손실은 한쪽 또는 양쪽 눈에 영향을 미칠 수 있고, 점진적으로 또는 갑자기 발생할 수 있으며, 부분적이거나 완전할 수 있다. 시력장애 또는 손실의 환경적 원인은, 예컨대, 소정 약물, 출생 전후의 특정 감염 및/또는 물체와 눈의 물리적 접촉에 대한 노출을 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 안구 해부학 또는 생리학에서 중요한 역할을 하는 유전자에 대한 선천적 돌연변이, 또는 지지세포 및/또는 안구 세포에서의 유전적 또는 해부학적 변화와 같은 내재적 이상은 청력손실의 원인이 되거나 이에 기여할 수 있다.

[0071] 시력손실은 인간 감각 장애의 한 유형이며, 여러 이유로 발생할 수 있다. 일부 실시형태에서, 대상체는 시력손실을 가진 채 또는 시력 없이 태어날 수 있는 반면, 다른 대상체는 시간 경과에 따라서 천천히 시력을 상실할 수 있다. 대략 2,690만명의 미국 성인이 어느 정도의 시력손실을 보고하고, 65세 이상의 미국 성인 780만명이 심각한 시력손실을 경험했다고 보고하고 있다.

[0072] 망막색소변성증은 망막 세포(예컨대, 광수용체 세포)의 악화로 인해 시력손실을 유발하는 유전 질환이다. 통상, 망막의 간상세포가 먼저 영향을 받아, 조기 야맹증(야맹증)과 주변 시력의 점진적인 손실로 이어진다. 다른 경우에는 황반에 있는 원추 세포의 조기 변성이 발생하여 중심 시력을 잃게 된다. 어떤 경우에는 중심와 시력이 손상되어, "도넛형 시력"으로 이어지고; 중앙 및 주변 시력은 무손상이지만, 시력이 손상된 중앙 영역 주변에는 환형(annulus)이 존재한다.

[0073] 망막색소변성증의 증상은 야간 시력 저하 및 주변 시력 감소(측면 시력)를 포함한다. 주변 시력이 악화됨에 따라서, 사람들은 "터널 시야"를 경험할 수 있다. 완전한 실명은 가능하지만 흔하지는 않다. 증상의 시작은 일반적으로 점진적이며 종종 어린 시절에 발생한다. 망막염은 일반적으로 사람의 부모로부터 유전된다. 50개 초과 유전자에 돌연변이가 관련되어 있다. 기본 메커니즘은 눈 뒤쪽에 있는 간상 광수용체 세포의 점진적인 손실을 수반한다. 이것은 일반적으로 원추 광수용체 세포의 손실로 이어진다. 진단은 망막을 검사하여 어두운 색소 침착물을 찾는 것이다. 다른 보조 테스트는 망막전위도, 시야 테스트 또는 유전자 검사를 포함할 수 있다(예컨대, 문헌["Facts About Retinitis Pigmentosa". National Eye Institute. May 2014, retrieved 18 April 2020] 참조, 이의 내용은 본 명세서에 참조에 의해 원용됨.)

[0074] 현재 망막색소변성증에 대한 치료법은 없다. 이 문제를 관리하기 위한 노력은 저시력 보조기구, 휴대용 조명 또는 배향 및 이동성 훈련의 사용을 포함할 수 있다. 비타민 A 팔미테이트 보충제는 악화를 늦추는 데 유용할 수 있다. 시각 보철(visual prosthesis)은 중증 질환이 있는 일부 사람들에게 선택사항일 수 있다. 망막색소변성증은 4,000명 중 1명에게 영향을 미치는 것으로 추정된다(예컨대, 문헌["Facts About Retinitis Pigmentosa". National Eye Institute. May 2014, retrieved 18 April 2020](이의 내용은 본 명세서에 참조에 의해 원용됨) 및 Openshaw, Amanda (Feb 2008), "Understanding Retinitis Pigmentosa," University of Michigan Kellogg Eye Center. Archived from the original on 2017-08-29(이의 내용은 본 명세서에 참조에 의해 원용됨)] 참조).

[0075] 당업자에게 공지된 바와 같이, 눈은 다양한 세포 유형으로 구성된다. 눈과 뇌를 연결하는 시신경에 위치한 세포는 전기 신호를 뇌로 전달하여 뇌가 신호를 이미지로 이해할 수 있도록 하는 세포이다. 망막 세포(예컨대, 광수용체 세포)는 눈의 뒤쪽에 위치되어 광을 전기 신호로 변환한다. 다른 세포는 사람들이 색상과 모양을 인지할 수 있게 해주는 간상 및 원추 세포를 포함한다. 눈에서의 CLRN1 발현은 다음과 같이 눈의 하기 예시적인 층 및/또는 세포에서 확인되었다:

눈에서의 CLRN1 발현(도 8)			
내핵층(INL), 물러 아교세포	마우스	mRNA, IHC	Geller et al., PLoS Genet 2009, 전문이 참조에 의해 본 명세서에 원용됨
광수용체(PR), 시냅틱 및 연결 세포	마우스	웨스턴, RT-PCR, IHC	Zallocchi et al., Hear Res 2009, 전문이 참조에 의해 본 명세서에 원용됨
PR 및 INL	제브라피시	웨스턴 블롯	Phillips et al., Gene Expr Patterns 2013, 전문이 참조에 의해 본 명세서에 원용됨
물러 세포	마우스	RNAscope, scRNA	Xu et al., J Pathol 2019, 전문이 참조에 의해 본 명세서에 원용됨

[0076]

[0077] 어서 증후군

[0078] 어서 증후군은 청력과 시각 둘 다에 영향을 미치는 병태이다. 어서 증후군은 또한 균형에 영향을 미칠 수 있다. 어서 증후군의 일부 주요 증상은 귀먹음 또는 청력손실 및 망막색소변성증과 같은 안구 질환이다.

[0079] 어서 증후군에서의 귀먹음 또는 청력손실은 내이의 유모세포(음성 수용체 세포)의 비정상적인 발달로 인해 초래될 수 있다. 어서 증후군이 있는 소아는 통상 어서 증후군 유형에 따라서 중등도 내지 심도 청력손실을 가지고 태어난다. 흔하지는 않지만, 어서 증후군으로 인한 청력손실은 청소년기 또는 그 이후에 나타난다. 어서 증후군은 또한 중력과 머리 움직임을 검출하는 감각 세포인 전정 유모세포의 비정상적인 발달로 인해 심각한 균형 문제를 일으킬 수 있다.

[0080] 망막색소변성증은, 처음에는 눈 뒤쪽의 광--민감성 조직이고 시력에 중요한 망막 세포의 점진적 퇴행을 통해 야맹증과 주변 시력손실을 초래한다. 망막색소변성증이 진행됨에 따라서, 중심 시야만 남을 때까지 시야가 좁아지게 되는데, 이를 터널 시야라 칭한다. 황반의 낭종과 백내장(수정체 혼탁)은 때때로 어서 증후군 환자의 중심 시력을 조기에 저하시킬 수 있다.

[0081] 어서 증후군은 100,000명당 대략 4 내지 17명에게 영향을 미치며 모든 유전성 귀머거리-실명 사례의 약 50%를 차지한다. 이 상태는 모든 청각 장애 아동의 3 내지 6%, 난청 아동의 3 내지 6%를 차지하는 것으로 여겨진다. (예컨대, 문헌[Boughman, J.A., et al. (1983), "Usher syndrome: definition and estimate of prevalence from two high-risk populations," Journal of Chronic Diseases, 36(8), 595-603; Kimberling, W., et al.

(2010), "Frequency of Usher syndrome in two pediatric populations: implications for genetic screening of deaf and hard of hearing children," *Genetics in Medicine*, 12(8), 512-516; Berson, E.L. (1998), "Treatment of retinitis pigmentosa with vitamin A", *Digital Journal of Ophthalmology*, 4(7)] 참조, 이의 개시내용은 전문이 본 명세서에 참조에 의해 원용된다).

- [0082] 어서 증후군은 유전되는데, 이는 유전자를 통해 부모로부터 자녀에게 전달된다는 것을 의미한다. 각 사람은 각 부모로부터 하나씩 두 개의 유전자 카피를 물려받는다. 때때로 유전자가 변경되거나 돌연변이된다. 돌연변이 유전자는 세포가 비정상적으로 발달하거나 행동하게 할 수 있다.
- [0083] 어서 증후군은 상염색체 열성 장애로서 유전된다. "상염색체"는 남성과 여성이 장애를 가질 가능성이 동등하고 성별의 어린이에게 유전될 가능성이 동등함을 의미한다. "열성"은 자녀가 각 부모로부터 하나씩 동일한 결함 유전자의 두 카피를 물려받은 경우에만 병태가 발생함을 의미한다. 하나의 비정상 어서 유전자를 가진 사람은 장애가 없지만 각 어린이에게 비정상 유전자를 물려줄 확률이 50%인 보인자이다.
- [0084] 어서 증후군의 진단은 개인의 병력과 청력, 균형 및 시력 검사에 관한 관련 질문을 수반한다. 치료 성공률을 향상시키기 때문에 조기 진단이 중요하다. 안과 전문의는 망막색소변성증의 징후에 대해서 망막을 검사하기 위해 확장용 점안액(dilating drops)을 사용할 수 있다. 시야 검사는 주변 시력을 측정하고 어서 증후군 진단에 도움이 될 수 있다. 망막전위도는 망막에 있는 눈의 광-민감성 세포의 전기적 반응을 측정한다. 광 간섭 단층 촬영은 황반 낭성 변화를 평가하는 데 도움이 될 수 있다. 비디오 안진 검사기(Videonystagmography)는 균형 문제를 나타낼 수 있는 비자발적 안구 운동을 측정한다. 청력 검사는 주파수 범위에서 청력 민감도를 측정한다.
- [0085] 어서 증후군에는 유형 I, 유형 II 및 유형 III의 세 가지 유형이 있다. 어서 증후군 III을 가진 사람들은 선천적으로 귀머거리가 아니지만 점진적인 청력 상실을 경험하며 대략 절반이 균형을 잡는 데 어려움을 겪는다. 예를 들어, 어서 증후군 유형 III이 있는 소아는 출생 시 정상적인 청력을 갖고 있으며 정상 내지 거의 정상에 가까운 균형을 유지하며 나이가 들면서 감퇴될 수 있다. 청력과 시력의 감퇴는 다양하다. 어서 증후군 유형 III이 있는 소아는 종종 청소년기에 청력손실이 전개되어, 성인 중후반까지 보청기를 필요로 한다. 야맹증도 보통 청소년기에 시작된다. 맹점은 10대 후반에서 20대 초반에 나타난다. 법적 실명은 또한 중년에 발생한다.
- [0086] 유전자 검사는 어서 증후군을 진단하는 데 도움이 될 수 있다. 예를 들어, CLRN1 유전자의 돌연변이는 어서 증후군 III과 관련이 있다. CLRN1은 내이와 망막의 발달과 유지에 중요한 단백질인 클라린-1을 인코딩한다. 그러나, 단백질의 기능과 클라린-1의 돌연변이가 청력손실 및 시력손실을 유발하는 방식은 잘 이해되지 않았다.
- [0087] 현재, 어서 증후군에 대한 치료법은 없다. 치료는 청력, 시력 및 균형 문제의 관리를 수반한다. 조기 진단은 청력손실 및 시력손실의 심각성과 소아의 나이 및 능력을 고려하는 맞춤형 교육 프로그램을 돕는다. 치료 및 소통 서비스는 보청기, 보조 청취 장치, 인공달팽이관(인공와우), 청각(청력) 훈련 및/또는 미국 수화 학습을 포함할 수 있다. 독립 생활 훈련은 균형 문제에 대한 오리엔테이션 및 이동성 훈련, 점자 교육 및 저시력 서비스를 포함할 수 있다.
- [0088] National Eye Institute 및 Foundation Fighting Blindness가 지원하는 장기 임상 시험 결과에 따르면, 비타민 A는 망막색소변성증의 진행을 늦출 수 있다. 연구에 따르면, 일반적인 형태의 망막색소변성증이 있는 성인은 매일 15,000 IU(국제 단위)의 팔미트산 형태의 비타민 A를 보충하면 유익할 수 있다.
- [0089] **CLRN1**
- [0090] CLRN1 유전자는 내이의 유모세포(예컨대, 내이 유모세포, 외이 유모세포)에서 그리고 망막에서 발현되는 단백질인 "클라린 1"(CLRN1)을 인코딩한다.
- [0091] 예를 들어, CLRN1 유전자는 사이토졸 N-말단, 다수의 나선형 막관통 도메인, 및 C-말단에서 소포체 막 체류 신호인 TKGH를 함유하는 단백질을 인코딩한다. CLRN1은 유모세포 및/안구 세포 기능에 필요하고 신경 활성화와 연관되는 것으로 여겨진다(예컨대, 문헌[Geng et al., "Usher syndrome IIIA gene clarin-1 is essential for hair cell function and associated neural activation" *Hum Mol Genet.* 2009 Aug 1;18(15):2748-60. doi: 10.1093/hmg/ddp210. Epub 2009 May 3] 참조, 이의 내용은 전문이 본 명세서에 참조에 의해 원용됨; 예컨대, 문헌[Dinculescu et al., "AAV-mediated Clarin-1 expression in the mouse retina: implications for USH3A gene therapy" *PLoS One.* 2016; 11(2): e0148874, Published online 2016 Feb 16] 참조, 이의 내용은 전문이 본 명세서에 참조에 의해 원용됨).
- [0092] 인간 CLRN1 유전자는 염색체 3q25.1에 위치된다. 이것은 대략 47 킬로염기(kb)를 포함하는 적어도 8개(엑손 0,

Ob, 1, 1b, 2, 2b, 3a 및 3b라 명명됨)의 엑손을 함유한다(예컨대, 전문이 본 명세서에 참조에 의해 원용되는 문헌[Vastinsalo et al. (2011) Eur J Hum Genet 19(1): 30-35]; 전문이 본 명세서에 참조에 의해 원용되는 NCBI 수탁 번호 NG_009168.1). 별개의 아이소형을 인코딩하는 다수의 전사체 변이체가 이 유전자에 대해 식별되었다(예컨대, NCBI 유전자 ID: 7401 참조, 전문이 본 명세서에 참조에 의해 원용됨).

[0093] CLRN1 유전자의 다양한 돌연변이는 어서 증후군 유형 III(예컨대, 어서 증후군 유형 IIIA(MIM#606397; 전문이 본 명세서에 참조에 의해 원용되는 문헌[Fields et al. (2002) Am J Hum Genet 71: 607-617]; 및 전문이 본 명세서에 참조에 의해 원용되는 문헌[Joensuu et al. (2001) Am J Hum Genet 69: 673-684]) 및 망막색소변성증(예컨대, 문헌[Khan et al. (2011) Ophthalmology 118: 1444-1448] 참조, 전문이 본 명세서에 참조에 의해 원용됨) 참조)과 연관되어 있다. 어서 증후군 유형 III-유발 돌연변이는 CLRN1의 엑손 3에서 주로 발견되었다. 어서 증후군 유형 III-귀먹음은 CLRN1-결핍 마우스를 생성함으로써 모델링될 수 있다(예컨대, 문헌[Geng et al. (2017) Sci Rep 7(1): 13480] 참조, 전문이 본 명세서에 참조에 의해 원용됨). 어서 증후군 유형 III과 연관된 예시적인 돌연변이 CLRN1은 T528G, M120K, M44K, N48K 및 C40G를 포함한다.

[0094] 망막색소변성증과 연관된 예시적인 돌연변이 CLRN1은 L154W 및 P31L을 포함한다(예컨대, 문헌[Khan et al. (2011) Ophthalmology 118: 1444-1448] 참조, 전문이 본 명세서에 참조에 의해 원용됨).

[0095] 청력손실을 가진 대상체에서 검출된 CLRN1 유전자의 추가의 예시적인 돌연변이 및 CLRN1을 인코딩하는 핵산의 시퀀싱 방법은, 예컨대, 문헌[Fields et al. (2002) Am J Hum Genet 71: 607-617, Joensuu et al. (2001) Am J Hum Genet 69: 673-684, Adato et al. (2002) Europ J Hum Genet 10: 339-350, Aller et al. (2004), Clin Genet 66: 525-529]에 기재되어 있으며, 이들 각각은 전문이 본 명세서에 참조에 의해 원용된다. 유전자에서 돌연변이를 검출하는 방법은 당업계에 잘 알려져 있다. 이러한 기술의 비제한적 예는 실시간 폴리머라제 연쇄 반응(RT-PCR), PCR, 시퀀싱, 서던 블로팅 및 노던 블로팅을 포함한다.

[0096] 클라린 1은 유모세포라 불리는 내이에서의 감각 세포를 포함하는, 신체의 여러 영역에서 발견되었다. 이러한 세포는 소리 신호와 움직임 신호를 뇌로 전달하는 데 도움을 준다. 이 단백질은 또한 눈 뒤쪽을 감싸고 있는 광-감지 조직인 망막에서도 활성이다. 클라린 1의 기능은 결정되어 있지 않았지만, 내이와 망막에 있는 신경 세포(뉴런) 간의 통신에 역할을 한다는 연구 결과가 있다. 클라린 1은 세포 간 통신이 일어나는 뉴런 사이의 접합부인 시냅스의 발달과 기능에 중요할 수 있다. CLRN1 유전자의 다른 이름은 USH3, USH3A, USH3A_Human, 어서 증후군 3A 및 어서 증후군 유형 3 단백질을 포함한다.

[0097] CLRN1의 돌연변이는 청력손실 및 귀먹음과 연관되어 있다(예컨대, 문헌[Albert et al., Eur. J. Hum. Genet. 14:773-779, 2006; 및 Qing et al., Genet. Test Mol. Biomarkers 19(1):52-58, 2015] 참조, 이들 각각은 전문이 본 명세서에 참조에 의해 원용됨). CLRN1 유전자의 돌연변이는 클라린 1의 구조 또는 기능을 변경하여, 내인성 기능을 방해한다. 청력 손실과 연관된 CLRN1에서의 몇 가지 보고된 돌연변이가 있다. 예를 들어, 점 돌연변이 A123D, N48K, Y176X 및 L54P는 USH3 환자에서 보고되었다(예컨대, 문헌[Isosomppi et al., "Disease-causing mutations in the CLRN1 gene alter normal CLRN1 protein trafficking to the plasma membrane" Molecular vision 15(191-121):1806-18, published September 2009] 참조, 전문이 본 명세서에 참조에 의해 원용됨). 유전자에서 돌연변이를 검출하는 방법은 당업계에 잘 알려져 있다. 이러한 기술의 비제한적 예는 실시간 폴리머라제 연쇄 반응(RT-PCR), PCR, Sanger 시퀀싱, 차세대 시퀀싱, 서던 블로팅 및 노던 블로팅을 포함한다.

[0098] CLRN1 유전자 및 인코딩된 클라린 1 단백질의 돌연변이는 어서 증후군 유형 III과 관련이 있다. 어서 증후군 유형 III은 진행성 감각신경성 청력손실, 전정 기능 장애 및 망막색소변성증을 특징으로 하는 상염색체 열성 장애이다. 어서 증후군 유형 III(USH3 [MIM #276902])은, 진행성 청력손실 및 망막색소변성증(RP)의 후기 개시뿐만 아니라, 전정 기능의 진행성 상실을 나타낸다는 점에서, 어서 증후군의 임상적 아형 중에서 고유하다(예컨대, 문헌[Kimberling WJ, Orten D, Pieke-Dahl S (2000) Genetic heterogeneity of Usher syndrome. Adv Otorhinolaryngol 56:11-18] 참조, 이의 내용은 전문이 본 명세서에 참조에 의해 원용됨). 질환 유전자좌는 원래 대략 700kb의 영역인 마커 WI-17533과 486D12SP6 사이의 염색체 3q25에 매핑되었다(예컨대, 문헌[Joensuu et al. 1996] 참조, 전문이 본 명세서에 참조에 의해 원용됨). 최근 간행물(예컨대, 문헌[Joensuu T, Blanco G, Pakarinen L, Sistonen P, Kaariainen H, Brown S, Chapelle A, Sankila EM (1996) Refined mapping of the Usher syndrome type III locus on chromosome 3, exclusion of candidate genes, and identification of the putative mouse homologous region. Genomics 38:255-263] 참조, 이의 내용은 전문이 본 명세서에 참조에 의해 원용됨)에서, USH3 유전자좌는, 추정되는 창시자 돌연변이의 핀란드 보인자에서 일배체형 및 연관 불균형 분석에 의해, 107G19CA7과 D3S3625 사이의 250kb 영역에 지정되었다.

[0099] 야생형 CLRN1은 형질주입된 BHK-21 세포의 원형질막에 국재화된 당단백질이다. 돌연변이 CLRN1 단백질은 잘못 국재화되어 있다. USH3의 발병기전의 일부가 돌연변이 CLRN1 단백질의 안정성 감소뿐만 아니라 결함 있는 세포 내 이동능과 연관될 수 있다고 제안되었다(예컨대, 문헌[Isosomppi et al., "Disease-causing mutations in the CLRN1 gene alter normal CLRN1 protein trafficking to the plasma membrane" Molecular vision 15(191-121):1806-18, published September 2009] 참조, 전문이 본 명세서에 참조에 의해 인용됨).

[0100] CLRN1 폴리뉴클레오타이드

[0101] 특히, 본 개시내용은 폴리뉴클레오타이드, 예컨대, CLRN1 유전자 또는 이의 특징적인 부분을 포함하는 폴리뉴클레오타이드뿐만 아니라, 이러한 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 조성물 및 이러한 폴리뉴클레오타이드 및/또는 조성물을 활용하는 방법을 제공한다.

[0102] 일부 실시형태에서, CLRN1 유전자 또는 이의 특징적인 부분을 포함하는 폴리뉴클레오타이드는 DNA 또는 RNA일 수 있다. 일부 실시형태에서, DNA는 게놈 DNA 또는 cDNA일 수 있다. 일부 실시형태에서, RNA는 mRNA일 수 있다. 일부 실시형태에서, 폴리뉴클레오타이드는 CLRN1 유전자의 엑손 및/또는 인트론을 포함한다.

[0103] 일부 실시형태에서, 유전자 산물은 CLRN1 유전자 또는 이의 특징적인 부분을 포함하는 폴리뉴클레오타이드로부터 발현된다. 일부 실시형태에서, 이러한 폴리뉴클레오타이드의 발현은 하나 이상의 제어 요소(예컨대, 프로모터, 인핸서, 스플라이스 부위, 폴리-아데닐화 부위, 번역 시작 부위 등)를 활용할 수 있다. 따라서, 일부 실시형태에서, 본 명세서에서 제공되는 폴리뉴클레오타이드는 하나 이상의 제어 요소를 포함할 수 있다.

[0104] 일부 실시형태에서, CLRN1 유전자는 포유동물 CLRN1 유전자이다. 일부 실시형태에서, CLRN1 유전자는 무린 CLRN1 유전자이다. 일부 실시형태에서, CLRN1 유전자는 영장류 CLRN1 유전자이다. 일부 실시형태에서, CLRN1 유전자는 인간 CLRN1 유전자이다. 일부 실시형태에서, CLRN1 유전자는 인간 CLRN1 아이소형이다. 인간 CLRN1 아이소형 변이체는, 예컨대, 문헌[Vastinsalo et al. (2011) Eur J Hum Genet 19(1): 30-35]에 기재되어 있고, 이의 전문은 본 명세서에 참조에 의해 인용되고; NCBI 수탁 번호 NG_009168.1, 이의 전문은 본 명세서에 참조에 의해 인용된다. 예시적인 인간 CLRN1 cDNA 서열은 서열번호 1, 서열번호 2, 서열번호 3 또는 서열번호 4의 서열이거나 이를 포함한다. 예시적인 인간 CLRN1 게놈 DNA 서열은 서열번호 5에서 발견될 수 있다. 비번역 영역을 포함하는 예시적인 인간 CLRN1 cDNA 서열은 서열번호 6, 7, 8 또는 9의 서열이거나 이를 포함한다.

[0105] **예시적인 인간 CLRN1 cDNA 코딩 서열(아이소형 A)(서열번호 1)**

ATGCCAAGCCAAACAGAAGAAATCATTTTTTGCATGGCCGAGTGTTTCAGTTTTGCATGTGCC
TCGGAGTTGTGACAGCCTTGGGGACACCGTTGTGGATCAAAGCCACTGTCCTCTGCAAAACGGG
AGCTCTGCTCGTCAATGCCTCAGGGCAGGAGCTGGACAAGTTTATGGGTGAAATGCAGTACGGG
CTTTTCCACGGAGAGGGTGTGAGGCAGTGTGGTTGGGAGCAAGGCCCTTTCGGTTCTCATTTT
TTCCAGATTTTGCTCAAAGCAATCCCAGTGAGCATCCACGTCAATGTCATTCTCTCTGCCAT
CCTTATTGTGTTAACCATGGTGGGGACAGCCTTCTTCATGTACAATGCTTTTGGAAAACCTTTT
GAAACTCTGCATGGTCCCTAGGGCTGTACCTTTTGTAGCTTCATTTTCAGGCTCCTGTGGCTGTC
TTGTCATGATATTGTTTGCCTCTGAAGTGAAATCCATCACCTCTCAGAAAAATTGCAAATTA
TAAAGAAGGGACTTATGTCTACAAAACGCAAAGTGAAAAATATACCACCTCATTCTGGGTCATT
TTCTTTTGCTTTTTTGTTCATTTTCTGAATGGGCTCCTAATACGACTTGCTGGATTTCAGTTCC
CTTTTGCAAAATCTAAAGACGCAGAAACAATAATGTAGCTGCAGATCTAATGTAC

[0107]

[0108] **예시적인 인간 CLRN1 cDNA 코딩 서열(아이소형 C)(서열번호 2)**

ATGCAGGCCCTGCAGCAGCAACCAGTTTTTCCAGATTTGCTCAAAGCAATCCCAGTGAGCATCC
ACGTCATATGTCATTCTCTTCTCTGCCATCCTTATTGTGTTAACCATGGTGGGGACAGCCTTCTT
CATGTACAATGCTTTTGGAAAACCTTTTGAACTCTGCATGGTCCCTAGGGCTGTACCTTTTG
AGCTTCATTTTCAGGCTCCTGTGGCTGTCTTGTGCATGATATTGTTTGCCTCTGAAGTGAAATCC
ATCACCTCTCAGAAAAATTGCAAATATATAAGAAGGGACTTATGTCTACAAAACGCAAAGTGA
AAAATATACCACCTCATTCTGGCTGACTAAAGGCCACAGCTGA

[0109]

[0110] 예시적인 인간 CLRN1 cDNA 코딩 서열(아이소형 D)(서열번호 3)

ATGCCAAGCCAACAGAAGAAAATCATTTTTTGCATGGCCGGAGTGTTTCAGTTTTGCATGTGCCC
TCGGAGTTGTGACAGCCTTGGGGACACCGTTGTGGATCAAAGCCACTGTCCTCTGCAAAACGGG
AGCTCTGCTCGTCAATGCCTCAGGGCAGGAGCTGGACAAGTTTATGGGTGAAATGCAGTACGGG
CTTTTCCACGGAGAGGGTGTGAGGCAGTGTGGGTTGGGAGCAAGGCCCTTTTCGGTTCTCATTTT
TTCCAGATTTGCTCAAAGCAATCCCAGTGAGCATCCACGTCAATGTCATTCTCTTCTCTGCCAT
CCTTATTGTGTTAAACCATGGTGGGGACAGCCTTCTTCATGTACAATGCTTTTGAAAACCTTTT
GAAACTCTGCATGGTCCCCTAGGGCTGTACCTTTTGAGCTTCATTTTCAGTTGCCCTTTGGCTGC
CAGCTACCAGGCACCAGGCTCAAGGCTCCTGTGGCTGTCTTGTCTATGATATTGTTTGCCTCTGA
AGTGAATCCATCACCTCTCAGAAAAAATGCAATTATAAAGAAGGGACTTATGTCTACAAA
ACGCAAGTGAAAAATATACCACCTCATTCTGGGTCAATTTCTTTTGCTTTTTTGTTCATTTTC
TGAATGGGCTCCTAATACGACTTGCTGGATTTCAGTTCCCTTTTGCAAAATCTAAAGACGCAGA
AACAACTAATGTAGCTGCAGATCTAATGTACTGA

[0111]

[0112] 예시적인 인간 CLRN1 cDNA 코딩 서열(아이소형 E)(서열번호 4)

ATGCCAAGCCAACAGAAGAAAATCATTTTTTGCATGGCCGGAGTGTTTCAGTTTTGCATGTGCCC
TCGGAGTTGTGACAGCCTTGGGGACACCGTTGTGGATCAAAGCCACTGTCCTCTGCAAAACGGG
AGCTCTGCTCGTCAATGCCTCAGGGCAGGAGCTGGACAAGTTTATGGGTGAAATGCAGTACGGG
CTTTTCCACGGAGAGGGTGTGAGGCAGTGTGGGTTGGGAGCAAGGCCCTTTTCGGTTCTCATGCT
ATTTTCTTGACCCCTTCATGGGACTCCCAACAGGGGTACCCCATTTACTCAGCCTGCCCTGCTC

[0113]

AACCTCTTGACAGGAGGGAGCACAGAGTGAACGAGTGCAGGAACCAGCTGGCTGCTTTAGTGCT
GTGAGGAGTAACTCCATGCAGGCCCTGCAGCAGCAACCAGTTTTTCCAGATTTGCTCAAAGCA
ATCCCAGTGAGCATCCACGTCAATGTCATTCTCTTCTCTGCCATCCTTATTGTGTTAACCATGG
TGGGGACAGCCTTCTTCATGTACAATGCTTTTGAAAACCTTTTGA

[0114]

[0115] 예시적인 인간 CLRN1 cDNA 코딩 서열(코돈 최적화됨)(서열번호 19)

ATGCCTAGCCAGCAGAAGAAAATCATCTTCTGCATGGCCGGCGTGTTTCAGCTTCGCCTGTGCTC
TGGGAGTTGTGACAGCCCTGGGAACCCCTCTGTGGATCAAAGCCACAGTGCTGTGCAAGACAGG
CGCCCTGCTGGTTAATGCCTCTGGCCAAGAGCTGGACAAGTTTCATGGGCGAGATGCAGTACGGC
CTGTTCCATGGCGAAGGCGTCAGACAGTGTGGCCTGGGAGCCAGACCTTTCAGATTTCAGCTTCT
TCCCAGACCTGCTGAAGGCTATCCCCGTGTCCATCCACGTGAACGTGATCCTGTTTCAGCGCCAT
CCTGATCGTGCTGACAATGGTCGGAACCGCCTTCTTCATGTACAACGCCTTCGGCAAGCCCTTC
GAGACACTGCATGGACCTCTGGGCCTGTACCTGCTGAGCTTTATCAGCGGCAGCTGTGGCTGCC
TGGTCATGATTCTGTTTCGCCAGCGAAGTGAAGATCCACCACCTGAGCGAGAAGATCGCCAACTA
CAAAGAGGGCACCTACGTCTACAAGACCCAGTCCGAGAAGTACACCACAGCTTTTGGGTTATC
TTCTTCTGTTTCTTCGTGCACTTCCTGAACGGCCTGCTGATCAGACTGGCCGGCTTCAGTTTC
CATTTCGCAAGAGCAAGGACGCCGAAACCACAAACGTGGCCGCCGATCTGATGTAC

[0116]

[0117] 예시적인 인간 CLRN1 게놈 DNA 서열(서열번호 5)

AGGAGATACTTGAAGGCAGTTTGAAAGACTTGTGTTTACAGATTCTTAGTCCAAAGATTTCCAAT
TAGGGAGAAGAAGCAGCAGAAAAGGAGAAAAGCCAAGTATGAGTGATGATGAGGCCTTCATCTA
CTGACATTTAACCTGGCGAGAACCGTCGATGGTGAAGTTGCCTTTTCAGCTGGGAGCTGTCCGT
TCAGCTTCCGTAATAAATGCAGTCAAAGAGGCAGTCCCTTCCCATTGCTCACAAAGGTCTTGTT
TTTGAACCTCGCCCTCACAGAAGCCGTTTCTCATCATGCCAAGCCAACAGAAGAAAATCATTTT
TTGCATGGCCGGAGTGTTGAGTTTGTGATGTGCCCTCGGAGTTGTGACAGCCTTGGGGACACCG
TTGTGGATCAAAGCCACTGTCTCTGCAAAACGGGAGCTCTGCTCGTCAATGCCTCAGGGCAGG
AGCTGGACAAGTTTATGGGTGAAATGCAGTACGGGCTTTTCCACGGAGAGGGTGTGAGGCAGTG
TGGGTTGGGAGCAAGGCCCTTTTCGGTTCTCATGTAAGTAGCAATTGCATTTGAGTTATTTAATG
CTTTAGGCAGACTCTTCCAGTGTTGCGAGGAATTATATTTGAGAATTTTGCCGTGTTACTGC
AGGACTTTTTAAATCGGTGTGAACCATATGAAAACCTATGACTCTGAGCAATTTCTTCTTCCT
AGTTTTTATTATTTTATACTTGCTTTTTATTATAATATAGAGTTAATTCATTGTTACATAATTA

[0118]

AGGTTTTTGAAATATTGGCAATTAAGATGCTTAAGTATTAATATTTATGTAAAAAATTATGGA
GTCTTTTTTAAAAAGTAAACTTGGGGAAATAGGAAAGCTGTAAAGAATGATCTTTATGCTTTTT
GTTCTTTATAAAAAAGAACCAAGGTCATGGGCTCCGTATTTAACCAGGTTGCCACCTTTCTCATG
ATTTTGTTTCTGCTCCCCACTCCCTCCCATTTATTCCTGCTAAGACCTTTCTGCTGCTAAATA
TTCAGTTTTCATTTTTAACTAATTTGGAATCATTTGGCTATAGAAATTTAAATGATCTGCTGT
GCTAACTGGGAAAGAAATGGATGCCTATTTAGTATAGAACATTTTAACTGATTGACCTGCAAA
TCATGTAGAGAATATGAGAGAGATTTTCTGTTGTGATTTTGTGAAATGGAAGTGAATCCAC
AGTATTTATAACCTGTTTATCTTAAGAAGAGAATTTTTAAAAATTACCATGTGAATAGGCAACT
CATTAAATGAAATTAATAGGAAGTCATTTGTTATATCTCTTACAACACACATTCAGAAGTTAT
TATTATTTTCAAGAGGGCTGGTTTGAACAACCTTATGAAGACACAGTCAGTAAATTACTGCATA
AATCACTCTTCAGGAAAGGAGGTTACCAACTGAAGCATTTAAATGAATTATTATTTGCCCAG
GTTTTTTTTTTCTTTCTAGTATAGGTAGAAGGCTAAATTAATTGAATTTATTATTAACATATGC
AGTGCCTAATTAATTTTCACTGCTGGTCTATTTATATTTCTGCAACATTCCTTATATCTTCTTA
GCAGTCATTGGACACCAACCTTCAGCTCACATAGGTTACTAAGTGATATGAATTTTCATAGGGC
TCCAGAAAATTTCCAAGAATTGGTTGTTAGCTTTTTAATTGATGAAGTGGATACCAGTTCTTTT
CACTGAATGGCTTTTATTCATTAAGGTAATGGGGCTGTTAGAGTTGCTTAGTTTTCTGGGGAA
GGGGAAGGAAGAAAACAAAGCAGAATGTCATGTGATATGCAACTGTATTAAAAAACCAGAAAGG
AAAAAAGTTGAGAGAGATGATTTAACCGTGAGTCACCGGCAGCCAAAGCGTGAGTAAAGCTTCT
CACAGATGAATTTAGACAAAAGCGGAGAAGGTAAGTGGTGAATTTTCTGGAGCCTTTACATTTTC
TACAGTGAAATGGAGATAAACTTTACTCATGCCATAGGACATGTTTCAAAACAATAATAAGATG
TTTTCTGAACACTTACTACATACTAAGCACTTTATATGCTTTGTCTCATTTAATCCTTACACAG
CCACATTCCTTCTGGGGTTTAGCGAATGATTTTTGTGGTTGTGTCTATGCTTGCTCCTGTCTAAG
GATGAAGTTGTTCTAATTTGGGTGCCCCCTCCTTTTGCTTTCTGTGAGGACTTGCAAGCTGGTGG
GGTTTAAACAGTACCCTCACTTATCTCACAGAATTTTATTAGCTCCCAGATACCCCTGACATTC
TCCCCCTAGCCTAGTGAAGAAAATCTTCCATTTACTTGTTTCTGTCAGTGACAGCTCCATCA
ATATACAATAGACTATACATATTAAGTGTACTGTATATACTATACATGTTAAAAATCTCATTCA
TTTTGGTGAGGCCAGCTAAGAATACTTACAGTAGAGCTTTTTTTTTTTTCTAAGCATAAAAG
TATCTTTTTCAATGCAGCATGAGACAGAGTTGGGAAAACCAAAATAAATAGATCCAAATGGACTC
CCCAAAGAGGATAATATTCATTTAAATAAACACCCCTCTCAGTGTTAAACTTTCTAATCAACA
TGCCCTTTGGGACACATTGCACCCCTCAAAGTTTACACTCCCATTGCAACGCAGCTTTGTGGTTCA
CGTTTTTTCCATTCAGAATGTCATTACCCTGTCAATGATGTTTCATCAACGTTTGCTTGATGA
GAATCCTCTGATATTCTTCTGATAGAAATGTATAAGCCCTGTTTCATATAAATGAATAAAGAT

[0119]

CTAACCTTACTTTTCTCAGTAGTGGCTTCCTTGGAGCAAAAAGCAGGGACCTCCAGAGAGCTCAG
GTGGATGACTCTTTTCTGTTTCTTCCAGAGCTCAACTTACAATTAGTGCACAATTCATTTCCCA
GAATGTCTTCTTTCTTATTGTGCCTTTAGAAAGTTATTAAGCAAACATTTGAATTCACAGAATC
TTACCAGTGTAAGAGGAATGGAAAAGGTAACCTTATCAAGGTAACAATCACTTCGTGGCCAGTTT
TTTCGGCTCACTGCAACTACCCCTCCTGGGTTCAAGCGATTCTCCTGCCTCAGCCTCCCAAGTA
GCTGGGACTACAGGCGTGCACCACCATGCCAGCTAATTTTTTTTTTGTATTTTAGTAAAGAC
AGGGTTTCACCATGTGGGCCAGGCTGGTCTCATGGCAAGTTTTCTTTGTGTTGTCATGTTATTA
TCAATTAATAGGAATTTATATTTTCAGTTCTGTTAGGTGGATAAACACTATTTTGCATACCTAAA
TGTTTTCATTTATATCAGCACTGGCCAATAAAAAATATACTATAAGCAGGCCGGGTGCAGTGGCTC
ACGCCTGTAATCCCAACTTTTGGGAGGCCAACACTTTGGGAGGACACAGGGTCAGGAGATCGAG
ACCATCCTGGCTAACCTGGTGAATCCCGTCTCTACTAAAAATACAAAAAATTAGCCGGGCGTG
GCGGGGGCGCCTGTAGTCCCAGCTACTTGGGAGGCTGAGGCAGGAGAATGGCACGAACCCGGA
GGTGGAGCTTGCACTGAGCCGAGATCTCGCCACTGCACTCCAGCCTTGGTGACAGAGCAAGACT
CTGTCTCAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAATATATATATATATATATATTACAA
GCCACAAGCCACATATGTACTTTTAAATGTCTAGTAGCCATATTAGAAAACAAAAGTAAAAAG
GAATAGATGAAATTAATTTTAAATGATTTTTTTAAACCCAAGATATCCAAAATATTATCATTTTA
ACATATAATTAATAATTTATTGAGATGTTTTACATTGTTTTTTTTTTTCTTGACGCTGTCTTGG
AAATCTAGAGTGTATTTTACATTTACATTACATCTAATTCAGTCTAGCCACATTTACATGCTC
ATTTTTTTGTGTGTGGTTTTATGGAGCAGAGAGTTAATAGGCAAGAAAGAAAAGAGAAGGCAG
AAGAAAATGGCTCCCTGTACAGAGACGCGGGGTGGGGCGCTCCAAGCCAAAAGAGGAGGTC
CCTAAGTATGGTAGACACCAGCCAGGAATATATGCAGTGTCTGGAGGAGGGGATGTCTGATTTG
CATAGGGTCACATGCTCATTTTTTATGGCTACTGTATTGGTCAGTACAGATTTAGATGGGGATTT
GCTCTGAACAAGTTGGTGATTGATGGTGTTCATATTTAATTGAATTTTCTGGGTTCTGCTG
TACACTTGTATGTGTGTAGTTTTCATGTGCAATGCTTGTGTCACTTTTAAAACCCAGATATATG
GCATAACATGAGAATGAAAAATGGACCAGAAAAATAGTTTGGCAATGTAGTCATGTTGTTTCCT
ATTAAATGTTCCCTATTGACCACCTCTATCTCTTTTAAATTATAACAAGAATCTGCCCTGCCAGCA
TGCCCAGTTACGCTGGGAAAACCTTCTGCCTCATTTACTCTGGCTGATTCTCATCCACTTATGGG
TCAGTGGTTCAATTTTCTAGAGGTCACCAGCATTACATACCTAGCATACAATTTCAATTCATTATAA
TGAAGGAATGTTTTCCCTTCAAAGAGACACAACCTAGTGGGCTTAATTTTTCTTGATATGTCACC
TGTAATAATTTTAAATGATGATGTTTAACTCTAAATGTAGCCATCAAGACAAAACTGCAAAATTT
TGAGCCTCAGTGTGTGGGTGGGTTTCTGTTTCGGTAATTTGAAACATTGCAGAATATCATCA
AAATATGATACCCAAGAATCATATGGTATCAATCATTCCTAGATATACTGATCTATTTCATTGCC

[0120]

AAGATAGTTCAATGAGCTGGCAAAAACATATGGAATTATTTTCTTAAAATGTGAAAAATAAAAT
TTAACCAATCATGTATCACAGCTTGCAACTTTAGTCATACTTTGAAAAGCATTTTAATTTGGAC
CTCATGATTGAAAATTTATAAAAAGCTGAACAGAAATTAGTTCACCTTCATATTTTAGAAAAGCA
GAGTTTCTTTACTAAATGAGGCATTTGACCCAAATTGGAGAGAAAATGTTGAACTACTTCTGT
GAGCAAGCAGGTGGCTTCTCAAACACATGTTGGGATGAAATGGTTGGGCCTCAGGGTCTCAGTG
CCTGTCACTGAGAGTTGGCACTCTCTATCTCCATGGTCTCCTCCAAGTGTGACTCTTGTCTCTT
GCTGACCTGACCTGCCCCAAGTGACTCACTGGTCATGACCCTGCACACCTTGCGTCTCTCCTAT
CACCTGCGGATGGCAGAGCTACAAAGGTCTTTGATGTAGCTCTGTCTGATATCCTGTGTTTCC
CCCTATGGTCTGTGTGGAAGCAGGTATGGGGGTGTGTAAAGGGGAAGCCTATGAAGTTCATCTG
CAAAGACTACCTGGTTAGGGGAGGAGAGGAAGAAGCTATATGCACCATTTCACCAGCAAGCATG
GGCTCTTCTGCCTTTTAGCTTAGGGGTCTGTGTCTAGTCTCACTCACCTATTAACACAGTCC
AGCAAATAGAGGTTTTGTTTACCTCCCATTAAAAAAAAGCAATTAATGGAATAGAAGATAATA
ATGTATGAGAAGCACTATTGTGAAAGAAAAACCTTCAACTTCTCTCAGCCAAATAATTGCTTCC
TCCTCTGTCTTCCCAGACCTTGATGTTTGCTCTATTATTTCAAACAACCTATATTATAAATAT
TTGAGAATGTGTATTTCCCTGCAAGGAGATCTTAATCCCCAAGAAGGCAGGAGCTGTGTATTAT
TCATCCCAGTGCTCCTTCAAACAGGGCCTCAGACAGTGCATGGCCCAAAGAGGTACTTAATAA
ACGTTTGGTAACTGACACTATTGAAATTAAGCAACCTGGATTGAGGTGGGTCTCTGCCACTC
ACAAGAGATTACGCTTTGAGAAAATTCATCACTTCATTGATTTTCAGTTCTTGCATCTGTATA
TGGGAGACGATACTAGGTGATTTCTGACATCTCTCACCGTTTAAATGCTCTGTGATCTATACAA
CGAGGGGCTCGTGTTCTAGACAAGTTCCTTCCAGCTTTACAGTTGCATAACCCTTCTAATCTT
AGTCACATGATGACTCCACTGACAGATTTTGGCCACCATCATTAGACATGCTGAGTTACGTGT
GCCTTTGCTCTGATCCTCAAACTCATGATTTTTTAAAGTTTTCTGAAATATCTACCATTTATCA
GGATCCAGATGGATTTTCATGACCAAAGTGGATGTTTCTTTTCTCTCCCATTAACATCTTTTACT
TTTTGTGTGGGAAATTGCATGTTAAAGAAAGGAAATTGAAGAATGGGATGCTTTGGAATTCTG
GCAAGATGGATTAGTGGGTCCAGAAAGTAGGGGCAGCCACAAATACCGAAATAAATGAGATCG
TATTATTGAGAAAGCACAAATGGAAGAAGTCAAAGCAAGAAGAAGCTGACATCCTGCTTCCT
CCAATTTTTGCTTTCTCTGTTTTTCCAAGAACTCCTCTTCCAAGCCTTGCTGAAAACTCCAC
TTTCCTAAATCTAACTTCTTAACTGATAATGGCAAGAAGTTAGGAATGACCAATATGTTTAAC
ACTCCAAGAGTATTTGTTTTGTTTTGTTTTGAGACTGGGTCTCACTCTGTCTGTCAGCCTGGAG
TGCAGTGGTGTGATCACAGCTCACTGCAGCCTTGACCTCTCCTGCCCAGGAATCCTCCACCT
CAGCCTCCTGAGTAGAAGGGACCACAGGCATGTGCCACTACACCTGGCTAACTTTTAAAAAATT
TTTTTGTAGAGATGGGGTTGCCAGGCAGGTCTCAAACCTGCTGGGCTCAAGCAATCCTCCTGCA

[0121]

TTGGCCTCCCAAAGTGCTGGAATTATGGGCATAAGCCACTACGCCTGACCTCTCCAAGGGCATT
 CTTTACCCAGAAGAGGAACTTGGCAGAACTTATCCTCCAATTGGTGAGGAATATGGAGAAAATG
 ACTTTAAGCAAAGGAACTTCTGGTTCTGCCTACCTAATCCAGAAAAAGAAGTTTTATTTCTCCC
 TCCCCCTAGTAACCTATCTTCCCATATTCACATAAAAAAGTACAGAATCAACATTGTTCAAGAAT
 TATAATTTTACTTGTAAGCACATGTGCACACGCACACCCATATACCTTCCTTCCCTTTAAATCA
 TCCCACACCCTAATAGTAGTAAAATCATTGACCCGAGCATACCTGGGAGAGGAAGAGGAGTCTG
 ACAGGGGCAGGTTCTAAGTGGCACTCCTGGAACCTTAACCCTGGTGTATATGAACTTTACCTATT
 GAAGGATGACTCCTCAACTGTTCTCACAATTTGCTGCTCTGCTTTCTTTTCTAATTTCTGAAGG
 TGACTCATCTTCCCCAAGGACTTTTCAAGACTTCTCAGAAGAAAAAATATTGGGTGGGTCTCTGC
 CACTGGCAAAAGATTAGACTTTGAGAATCATAAAAGTATATCAGTATATACTCATTAAATATTGA
 ATTACTATAATTAATATTATGATATTGATATAATGATAGAATGATATTGATAAAAGCAATATTC
 AATAATGAATATTATTTTCAGCTGCCCCTTATTGGGTGCCTCATAGGTGCCAGGCATTTTGTAT
 GTATTATCTACAACCCCTTACATGGGACATATTATGATGCTGTTTCTCTTGAAGAAATATGGAAA
 CTGGAAACAGAGAGGTCAACACAATTTTCCAAAGTCACATAGCTAATAGGTAGCAGACTTGGGA
 TTCAAATTCATATGCATATGGTAAATCATGCTCTTCTCTGCTACATTTTGCCCCCTTAGAATA
 TGAAAAAGGGATACAAAGAGATGAAGAAAATATGTAAGATTATCCTTCAATTTCACTATCTTTT
 TTAAAGTTTTTTTTTATTATACTTTAAATCTGAAATACATGTGCAGAACATGCAGGTTTGTTAC
 ATAGGTATACACGTGCCATGATGGTTTGTGTCACCCATCAACCTGTCATCTACATTAGGTATTT
 TTCCTAATGCTATCCCTCCCTTAGTCCCCCACCACCCGACAAGCCCCGGTGTGTGATATTCCCC
 TCCCTGTGTCCATGTGTTCTCATTGTTCAACTCCCACTTATGAGTGAGAACATGCGGTGTTTGG
 TTTTCTGTTCTGCTGCTCAGTTTGCTGAGAATGATGGTTTCCAGCTTCATTCATGTTCTCTGCAA
 AGGCATGAACTCATTTTATGGCTGCATACCATTCTATGGTATACATGTGCCACATTTTCTTAAT
 CTAGTCTATCATTGATGGGCATTTGGCTTAGTTCCAAGTCCTTGCTATTGTGAACAGTGCTGCA
 ATAAACATATGTGGGCATATGTCTTTATAGTAGAATGATTTATAATCCTTTGGGTATAGACCCA
 GTAATGGGATTGCTGGGTCAAATGGCATTTCTGGTTCTAGGTCCTTCAGGAATTGCCACACTGT
 CTTCCACAATAGCTGAACTAGTTTACACTCCCACCAACAGTGTAAGCGTTTCTATTTCTCCA
 CATCCTCTCCAACATCTGTTGCTTCCCTGACTTTTTAATGATTGCCATTCTAATTGGAGTGAGAT
 GGTATCTCAGTGTGTTTTGATTAGCATTTCTTTAATGACAAGTGATGATGAGCTTTTTTTCAT
 GTTTGTTGGCCGTATAAATGTCTCTTTTGAGAAGTGTCGTTTCATATCCTTTGCCCACTTTTT
 AACGGGTTTTTTTCTTGTAATTTGTTTAACTTCCCTGTAGATTCTGGATATTAGTCCTTTGTC
 AGATGGGTAGATTGCAAAAATTTCTTCCATTCTGCAGGTTGCCCGTTCACTCTGATAATAGTT
 TCTTTTGTCTGCGCAGAAGTTTTTTTAGTTTAATTAGATCCCATTTGTCAATTTTGGCTTTTGTT

[0122]

GCCATTGCTTTTGGTGTTTAGTCATGAAGTCTTTGCCACGCCTATGTCCTGAATGGTAATGCC
TAGGTTTTCTCTAGGATTTTATGGTTTTAGGTCTTATGTTTAAATCTTTAATCCATCTTGAG
TTAATTTTGTATAAGGTATAAGGAAGGGTCCAGTTTAGTTTTCTGCATATGGCTAGCCAGTT
TTCCCAACACCATTATTAATAGGGAATCCTTTCCCGTTGCTTGTGTTTGTGTCAGGTTGTCA
AAGAGCAGATGGTTGTAGATGTGTGGCATTATTTCTGAGGCCTCTGTTCTGTTTCATTGGTCTC
TGTATCTGTTTTGATACAAGTACCATGCTGTTTTGGTTACTGTAGACTTGTAGTATAATTTGAA
GTCAGGTAGCGTAATACCTCCAGTTTTGTTCTTTTGGCTTAGGATTGTCTTGACTATTCAGGCT
CTTTTTTGGTTCCATATGAAATTTAAAGTAGTTTTTCTAATTCTGTGAAGAAAGTCAATGGTA
GCTTGATGGGAAAAGCATTGAATCTATAAGTTACTTTGGGCAGTATGGCCATTTTCATGATATT
AATTCCTTCCTATCCGTGAGCATGGAATGTTTTCCATTGTTTGTGTCCTTTCTTATTTCCCTG
AGCAGTAGTTTGTAGTTCTCCTTGAAGAGGTCCATCACATCCCTTGAAGTTGTATTCCTAGGT
ATTTTGTCTCTTTGTAGCAATTGTGAATGGAAGTCACTCATAAGTTTGCTCTCTGTTTGTCT
GTTATTGGTGTATAGGAATGCTTGTGATTTTGCACATTGATTTTGTATCCTGAGACTTTGCCG
AAGTTGCTTATCAGCTTAAGGAGATTTTGGGCTGAGACGACAGGGTTTTCTAAATATACAATCA
TCTCATCTGCAAACAGAGACAATTTGACTTCTCTCTCTCTATTGAATACGCTTTATTTCTTT
CTCTTGCCCTGTTTGCCCTGGCCAGAACTTCCAATACTGTGTTGAATAGGAGTGTTCACCACCTA
TTTTAAGAATAGTATTGAAGCCTCACAAAAGCTGGTTCTCATGTAACCATCTGAGAATATTTGG
CCTTATGACTTGAATTCATTTCATTGCCTTTTTTATTTACATTTTAGTGATCCTGATGTCTAAAT
CTTAATCTTTGATCCTTGCAAGGTAAAATAGCCAAGTCAAGCCTGTTAATAATATTGGTTGAG
GAAGTCACATGCTTATGATCAATCTTTGGGTATGTAATTATATTACCTTAATGTTGGCAGTTT
AGGTGTAAGGCAGAGATATCTGATCACATGTGTGGTTAGCTAATTTAAGATCACTGCCAACTAA
AATCTTCATGGTATGATCTTCAAAGTTAGCTACTTTGACCACAGCAATGATTTCAACACAGCAA
TTAACAAAATGGCAGACTCTTTCCTGAGGTGGCATGAACAGTTTTAAAACAAAGTCAAGGACCA
AAGAAAAGCAGGCACATGGCATTGATTTCATTTCAAAAAGTAGTATTGTATTAGAGCCAAGG
GGATAGAATTGTAGCATCAATTAATCTTGTGTTTTGAAAAAATAAAAAACAAACGTCCATTTTT
ATCTCTCAAATATATTAGGGTTTTCATAAAGTTATAGGTGTATTTTAAAAAAACAAAACATCAT
ATACATTAGACTGAAAAATTTGCCTGTCATCTCATCATGCAGCTAAATGCAATTGTCTATGGCG
AGATACACTCTTATTAGAGGTATGATAGCACTAACTAATAGCAAACCTTTGTACCTGGTAGTCTA
ATTTATGCAGGGTTCATATTTGCTCCCTCTCAGCATGCTGTAAGTGTGGCAAAGCCATTCTCA
GGAGTTATTACCCCAACATAATCATACCCCTGTGGATTAGGAGCAGTTAAATGGGTCTGTTAT
CAGAGACACATATGTGCCACAGCCGCTGTCATCCCTAAGCCACCGTGGGTGATTAAGACTCACT
GATGGGACTACCTCTGAATAGGCTTGAGTGAGGTGGATACACTTCAGCTGAGAGAAATTCAGGT

[0123]

AAGGGGCTGAGAAAATCAGATTTTGAATGGTTTTATCATAACCATCAGGTCTCCTTTTAAAGTGCT
 GGGGTCATGGATTTTCAATCAACCTGACCACATAGCCTTTGGAAGCTTGGCTCAATACCTGAGTG
 TGAGATTATGGGTGATATTAAAGGAGATGAATGCATTGAGCTGATGTCAGAGAATGTCTTTTAC
 TGGATTTTTCATAATGACTGGCTGCAGATGGGCTGAGGGGAAAGTCAGATCAAGAGCATTTCTGT
 AAGAAGAAAGAAATCTTCCCTCTTATTCTCTTTCAAGAAAATGAATAGCTGAGCACCAAGAGGC
 CAAATACTTTTTTAAAAACACATCCTTTTATGTAGAGAAGGACAGGTTGAGACGAAAAACAGG
 ACCTCTGAAACTGTCTTTATAGCTTTAATCTAGGAAGAAATTGCGGCACCATTGCTGACATCAT
 TATCAGAGGCTGCCTTAGTTCTGAGAGCTTCACAGATGGCCTTTTCTGCATTTTACATCTGGCC
 AGATGAAGGCAAAAAGGTTGATGAAACCAAACTATTAGATCAGTGGTCCATAACTCTGGCTGC
 ACTTTAGAATCATCTGGGGAGTCCTTAAACTACTGATCCTGAGGCTCCATCCCAGACCAATTG
 AATCAGGATCTCTGGGGGTGGGACCTGAGCATTGGAATGCTTTAAAGTTCCCTCAGGGACTCTA
 ATGTGCAGCCAAGGCTGAGAATGACTGAGGTGGATGGTGGCCAAGACAGGTGAGGCCAAGAGTT
 AGAAGCCCTTACTGTTAGGAAGGCAGAAGCCACAAGGAGGAGGGGAGGGGAAGGAGCAGTAT
 TTAGCATTTCTTCCACACAGTTGGGGGGTTTTCTGATCAAAATTAGGCTGGGATCTTTCGCTTC
 CATTTTCATGAAGGTCTTATGCTTTGTCCACAGCCACCTGGCCTCAGGGCAATGAGCAATCTGA
 TTGATGAATTTTCAGTAAGAACTGAGCACACTTGGCTCTCAGCCCCAGTGGCTTCCCCTGTTT
 CCAAATCTGCCACCCAGTTACAGGAGCCTGCTCACCAACTGGTTGGGTAAAGAAGTCGGCTCT
 GTCCTTGGCAGGGAGGCCTTCAGCTGTCTGGCCCTGTCTGTGACTGCGTGGGTGAAGCTGCCTA
 ATTTGGGGAACTTGATGGAAGATCTAAGCTATGTTCTCTAACAGTTTATCAGAAATAAGTTA
 ACTTTTGACCTCCATCTGCCTGTCTCCTGTGGAAGGGCTCTGCTCCTTCCAAAGAGACTCTCAG
 GGGTTCTCCTTAGAGGTGTGTTATCAGTCCAAAGATCATTTTAGACCAGCCATTACAGAGGATG
 TCCAAGAAATTGCACAAGGGAAATAGAAGTAAGAATGAGAGCAATATATCAGATAGTAAGGAAA
 GTATGTGACTGGTTTCAAATAAGTAATTAACCATAAATCCAAAGTTCCTGCATTAGTTATAGCA
 ATAGTCATCCACCTGGTCAGGAAAAAAAAGTAAAAGACTGAGCTGCAAGATAGAAAGTTTGCC
 TGAATTCACGTACTTCAAGGACTACTATGGAGGATTCTTGGTCCCAATGCAGAGACATGTAC
 TCTGACCACCCATGGGCCAAATCCCTCTTACCCACCCCTCAGTGATTCTCCTGGGACCTCACTA
 CATTGAGTTCTTACATTCCCCACTCTTTTCGGGGGAAATATAACCCTTCTGCTCTTCTCATGAT
 GTTAAAAATATTTAGACAATTACTTAAATTTTACAACAATCTTCCACATAAATGATCTCACTTA
 TGTTTCTTGTGAGCTCTGTGATTTATTTCTATTATCATCTATGCTGATAGTTAAGGAACTGAG
 ATATCGAGACCAACATGCATAGTAAATGGCAAAACCAGATGAATTTTAACTTTCTAACTCCA
 AAAGCCACATCCTGCCCAACCCGCCATGCTGCCGCTCAGTTAATGCCTGGCTGTTTGTCTCCCC
 ATTGGCCCTCTACCCATTGTGCTTTGATGGCACACTGTATTCCAAGTGCCTGAGACTCCTGGT

[0124]

TAATGCCATTACGTACAGACTTAGGTTGAATTTACTAGGATTTTAAAGATTTGTAGGATAAGAG
 ATATGACTGTTAGACTGGAATCAGCAATAGATAAAAAGGTTAACAAAGTTTCAGAATAAAATATA
 ATAGAAAACCCAGCAGATAGAAGTAAATGAATGGTAAGACAACCTGAAATGAAAGCCATACAT
 TTAGAAATATCAAATAAAACACAGATTAATGGCAGACAATAAAGGAACATACTTAGCAGTTAGT
 AAAACACTTTTTTACCTTATTCTTATTACCCTCCAGTAACCTTTTTTTTTTTTTTTTGTAGAC
 AAAGTCTCGCTGTGTCTGTCAGGCTGGAGGGTAGTGATGTGATCTCGGCTCACTGCAACTTCTG
 CCTCTTGGGCTGAAGAGATTCTCCTGCCCCAGCCTCCTGAGTAGCTGGGACTATAGGGGCCCAT
 CACTGCACCTGGCTAATTTTTGTATTTTAGTAGAGACGGGGTTTCACCATGTTGGCCAGGCTG
 GTCTTGAACCTCCTGGCCTCAGGTGATCCACCCGCCTCAGCCTCCCAAAGTGCTGAGATTACAAG
 CGTGAGCCACCAAGCCCGGCTGTAACCTATTGAAAATAACATTACTTGACATGTGAGACAAATT
 ATTTGTAAGTTAAAGAGTTTATGTGCCTTCAATGCTCCCACCCTTCCCTCCCTAAAAAGATTA
 TTGAGTGCCCATGATGTGCCTAAGCCTTCTGGTAGACTCTGAGAATGTGAAGAGAGTTAGAGGA
 TACTTGTTCAACAACCCAGAATCTAGCAGAAGTGTTTTGAAATGACCAGCCACTTGGGAGAGCT
 ATGCTAGCATATCATTAGGATGGGCTGGGTCATGTTTTAATAACAAGTAAGTTTGAACTTTAT
 AGGTTTGAACAAAAAAGATGTGTTTCTTGCTCACAGTTCATATTTTTTGGAGATTGGCTGGAG
 CTTCATTCCAGGATACTGCCACCATCTGGAATGTTGACAGTTACCGTAACAGAGAAAGAGTTGT
 GGAGGCTGTCACTGGCAATTAAATTCGCTGACCTGGAAGTACACATGCCACCTCCACTTAT
 ATTTTATTGGCCAAGGCTTGTTACACAGCCACATCTAACTTCAGAGAGGTCAAGATGAGCAAAT
 CCTACCACGAGCTATAGATGGATGAGTAGCACTCATTATTATCACAATTATTTTATTTGTTATA
 AAAACTCCAAGAAGGAGAGGTACTCTATGTGAGGAATAGGCATAGGAAAATCAGAGGGAAGTTC
 TTAAGATGAGCTAGATTTCACTAGATGGCATTGAAGAAACATTCCAAGTAAATGAACAGCATA
 AGCAAATGCATGAAGAACTTATTGTGGTCCTAGTACAGACGATGCGTGAGAGTGTGGAGGAGGG
 AAAAGGTAAGACTGGAGAGGAAGGCAGGAACAGACAGACTGTGTTCACTGTCAGGCA
 GTTAAGTCTATCTTGTAGGCAACATGAAGCCTTTTAAGGAAGGCAAGCAGCTATGTGACAGGAC
 AGAAGATGGATTGGAAGAAAATCAAAAGAGAAGTGGGGACCAGTCATAAGGCTCCTCCAATATT
 TGGGGATCCAAACCAAAGCACTGGCAGAGAAATAGAAAGGAAGGAAATATTTCCAAAATATTC
 AAAACAGAAACCAAGAGAACTTGATGACAGAAGATGAACCCAGGTTTCTACTGAATGGACAGTT
 GTTACATTCTCTGAGATAAGGAATACAGAAGGAAAAAGTTGAGAGGGAATATGAAATTATTTTT
 AATCATGTTTAATTTGATCACTTGTGGAACATCAACCAGAGATGTCCATCAGTTACACCAATTT
 GTAGGTTTTGAGAGAGGCTGAGGTAGAGGCAGAGAAGTGGGAATCAGCAGATTAGCGGCAGTA
 GTTGAACCATAACTGAAGATGAGATTTCCAGGGAGGGAGTTGAACAGGAAGGTAGACAAAG
 GCTGAGTGCAGTGGCTCATACCTGTAATCCAGCACTTTGGGAGGCTGCAGTGGGTAGATCACA

[0125]

AACAAAGATCAGGAGTTCAAGACCAGCCTGGCCAACATGGTGAAACCCCGTCTCTACTAAAAAA
 CACAAAAATTAGCCGGGCGTGGTGGCACACACTTGTAATCCCAGCCTCAGGAGGCTGAGGCAGG
 AGAATTGCTTGAACCCGGGAGGCAGAGGTTGCAGTGAGCCAAGATCGTGCCATTGCACTCCAGC
 CTGGGCGACAGAGCGAGACTCCGTCCCCACCGACCCCTAAAAAGAAAGTAGACAAAGATGTG
 TCCTAGAAAACACTAATATGAATGGGTAGAGAGGGGAGACTTGTCAAGGAGATCGAGGGGAGAG
 TCAGTGAGGTGAAACCTTAGAGGATAGACCTTCACCAAGGAAGTAACAGTCAACAGGCCTAAAT
 GCCACAGAGATGTCAAATGAGAGACACTGGAAATGGTTCTTTGAATATTACAGCCAGAACATCA
 CAGGAGACCATTTCCAAAGCAGTCTTGATGAAGTGGTGGGAAGGGAGGTCCCTGAAGGAGCTA
 AGGAGGGACTGGGAGATCATGACCCAGAGATAAGTGTTCAGGTATAAAAGGGAAAGACTGAGA
 TCAGGAAATAGCCACAGGATCCCTAAGGCCAGGCTTCGGGTGGGGTGGTGTGTGTGTGTGTGTG
 TGTGTGTGTGTGTGTGTATAAAATGGGAAGACCTTGAGTATAATTCTGTACTAAGAAGATAGAG
 CAGTAGAGAGGAAAAGGCTGAAGACAGATGGGAGGGTAAATAGTGAATTAGAAAGGTCTGTGCA
 AAGATGAGAAAGGATGAGTCTGAAAGCACAGGGAGAAGGGCCAGCCTTGACAGGAGAAAACAT
 TTCTTTCCTAAGAATAAAGGGAAGGTTGGGTATACACCACAAAGAAGGTGTAGATGGGTGGCA
 ATGGAGTTCTGTCAAGTTGAGGGCATTCCATGATAGCCTCACCTTTCTCTGTGAAATGAGAGAG
 TTTAGTTTACAAGATATTTCTGAGCACTTCATAAGCCAGGTTTCATAGACTGAAAGAAGTGGAGG
 TGGAGTGTGATAGGTCCTTAAGAATAGGGGAAGTTTGGAAATATCTGACAAGGGACAGAGAGGAA
 AAACTAGAAAAGGCTTTGCAGAATGTGGGCCACAGATCAGAGGCTAAGGGGTCCCCATTTGT
 GCAGGAGAGTAAGGGCAGGGAGGCAAGGCTCACAGCCAAAATATAGAGCCCTCACCAAATGA
 CTGCAGGAGGGCAGCTTTCCTATGAGAGCATCCCTATCACTGTTTTCACTCCGAGTCATTAAC
 TACGACTTACTCAGCTCTGTTTCGTAATAGCAGACTCGAGTAATGAGGGTATGACAGCCTCTCT
 CTGCATGCCAAGGTATGCAGCGTGGATTTCTTTTTCGCTTTCTCTCTCTCTGTGGCTTAGGTGC
 CTTCTGTTCTGCTACCAGGATAGAGAACCCAGTGACTAGTTTCTTCTAGCTCTCTTTTTCTGAC
 TAGGTATCTTGTGCAAAATTTCTGCTTACCAGACTTCATGGAGAGGGAATCAAGCTTTGAATCA
 GGGTTGAAAAAGTAGAGCTTAATATATATATTACAAAATGCCACTCACGTTCTTGAGGTTACCT
 TGTATCTATACCACAAC TAGCATTCTTTTAGAAAGCACCATTACCGAAGTAATCCCTTTCTTG
 GAATTCACCCAAAAAGGTTATTCCCCTTATCCCCATCTCCAAAATAAAAAAGAAAAATGTGT
 GTGCTTAGAGATGTTTCTGGAAGCATGAGCTGTAATACTGAACCAATAGAAGACGAACTAACAG
 ATTGCAGGGCATCCGTTTGGCAAAAACTTATGCAGTTATCTAAATGATAGTTATGAAGACAAT
 ATGTATAACACATTATATTCTGAGTGAAAAGAACAGAAGGTGATTTCAAACTGCATTGGGATA
 ATAGTAATATAGGAAATAGTGAGATGAACAAAGATTTCAAAGGAACAAAAATAAGAAAAATTT
 TGCTTTTTATATTGGTAGGCGTATGGGTGAAATTTCAATTTTAATTTTATTCATAGTTATAA

[0126]

AATTGTTTATAAAAAAGGTCCCCATAGACAGTTGGGCTTTGGGACAACTAACAGAAACAGA
 GTAGGAAGAAAATTTCATCTTCCTTCAATCCCCCTTTCTCTGCTTAAACAAAACAAAAAGAGCT
 TTGTCATGTTTCAGGTGTGCAACGAATTCTTTTCCAAATCTGGAACCTTACATCTGCTATTAAA
 CAGGAGTCAGTTTCCATGTAACATGTTGACAAATCCCCAAGTGTGTTGGAATAATTTTTTTTAA
 TGAGGAGATTTGAAATTCCATTTCAATTGCCAACCTGCCTCTTTCAACTTCTAAAAACAAAGTA
 AAACAAAACAAAACACACTGGGTCCCTATCACCCCCTCTTGCTACTACTATTTTATCTCCATTG
 CCCTGAATTCTTTCCAAACTTCTTTCCACCCAGCTTTGATTGTGTTTCAGTCGGGTTTATTGAG
 GCATAATTTACGTACAGTAAATTCATCCTTCTTAGATTTAGAGGTCTATGCATTTTGACTAAT
 GCATATTGGCTTATAATGACTACCACAACAAAGATATAGAACACACCCATCACTCCCGGGTTCT
 CCCTGTCCCTTTTTTGGTCCATCTCCTCTCCTACCCCCAACCCCTTGGAACCACTGATCTGTT
 TTCTGTCCCTTATCATTTTGCTTTTTCCAGGATGTTGTATATAAGGAATCATGCAGCATGCAGCC
 TCTCGAGTCTGACTTCTTCCAGTTAGCACAGTTATTTAAGATCTATCCGAGTTATTGTGAGTAG
 CAGCATCTTTTTTATTGCTGACTAGTATTTTCATCACATGGATGGGCCACAACCTGTTTATCTGT
 TCACCTGTCAATGGATACTAAGTTGTTTCCAGTTTTTGGCAAATATGAATAAAGTAAACATTTG
 CATAACAGATTTTGTGTGGACACATGTTTTCAATTCTCTTAGGTAAATACTGAGCAATGGGATT
 GCTGGGTTATATGTTAAGTCTATGTTTCAGTTTCTAAGTTCTGAAACAATTGGATATCTATATG
 CAAAAATACAAATTAACCTTGACTCAAACCTGTACCATACACAAAAATAACCTGAAAGAGAT
 CACAGGTGTAAATGTAAACCTAGAACTAAAACTTCAAGGAGAGAAACATAGCAGAAAATATTT
 GTGACCTTGCAATAGGCAAAGACTTCTTAGATTTGACATTTGAAACATGATACATAAAAAATCT
 TGATAAATTGGAGTTTATAAAAAATAAGAACTACTCTTCAAAGACACTGATAAGAGAATGAAAA
 TACAAGCCACAGACAGAGAAAATATTTGTGAATTTCTTATCTGATAAAGGGTTTGTATCCAGCA
 TGCATAAAGACTTTTCAAACCTCAATAATAACAATCCAATAAGAAATGCACAAAAGATACAAA
 CACATCATCGAAAATGACCTATGAAAGGCAAATAAGCCACAAAAAAATTTCTCAACATCATTAG
 ACCTTTGGGAAATGCAAATTAACAACACTGAGATAAACTACATATCTATTAAATGGCTACCA
 CTTTAAAAACCTGTCAAGTGCCAGCCAGAATGTGGAACAAGTAGGACTCTCTTACATTGCTAGT
 GGGAAAGGTGAATGGTACAGCCACTTTGGAAAACACTCCGCAGCTTCTTATAGTTACACATAGGA
 CCTGGGGGTAGAGGATGGATTGACTGTAAAGGGGCAAACTTCTGGTAGGGGTGGGGAAAGTT
 TTTAGAAGGGTGAATTTGTTCTATATCTTGATTATTGTGGTGGTTACACAACTGTCTGCATTTG
 TCAAACTCACAGAACTGTACACTAAAAAGGTATATTTTTATGCTCTGCTAATTTTACTTTAAT
 CTTAAAAATAGGAAGGAAAAATAAAATCAATGCCACTGTGCGACTTTGGGCAAGTTACTTCAC
 TTCTCTGTGCCTTGGTCTTTTGAAATCTATACATTAAGGATAAAATAATACCTTCCTCATACTG
 TTAGAATTAAATGTGCTAATTTATGTTTTATATATATAAAGTACTTGGCCGGGTGTGGTGACTC

[0127]

ACACCTGTAATCCCAGCACTGTGGGAGGCCGAGGTGGGCAGATCACTTGAGGACAGGAGTTCAA
 GACTAGCCTGGTCAACATGGTGAAACCCCTGTCTCTACTAAAAATACAAAAATTAGCTGGGCTTG
 GTGGTGCGTGCTTGTAATCCCAGCTACTTGAGTGGCTGAGGTGGGAGGATCACTTGAAGTCCAG
 AGGTGGAGGCTGCAGTGGGCTCCACCCACTGCCTGGGTGACAGAGCTAGACTCCATCTCGAAGA
 AAAAATAAGTACTTGAAACATAGCAAATGTTTTATAATTATTGGCTTTTTTTTCTTATTGTTAT
 TACTTGCATTATTGCTGTTTTGAAGAAGTTTGGTGATAATGGAGAGAAAAGGGCAATTAGGGGTC
 TGGGATGGTTTTAAGTATGAGGAGACCGAGACACATTGACTCAGAGTGAAGAAATCAAAGATAAG
 AGAATGAAAGAAAGGGAGGGTAATTCTGAACGCACAGACAAAGTTATGTTACTAACGTGGCATC
 GGCTGTGTGTTGTAATAAATAACTCCCTTTCACCTGTCAATAGCTAATCAAATACTTTCTGGAG
 ACCAGAAGTGACTTGCTGGATCAATGACAACTCCTCCACAGATCAAAATGTTCAAATCCTTTTT
 CTGTGTTGTAATCCTAAATCTAAAAGAACAGAGAGACCAAGCAAATCTACCTCCCAACATCATT
 AAAGTGACAACCTCTCAGTATTTATTTGAATGGTCTGCTCTCAGCTTCAACCAAGGAAAAGTCAA
 ATTAGTGTTGGTCAGAAAACAGAAGGTGTTACGAGAGTTCTGGCTGGTCATTACAGACTTGGG
 GATTTTTGATTAAAAGAAGAAGAAGAAGAAACCTGATAAAGTGTAATATAGCAAGCAGGG
 ATTAGTGTCCTGCTGGGTCATGTTCTCACAACAGTGAGAATTTAGAGATTTTATAAGAATTAA
 ACTGCTCCACATGACAATTTATTTTACCTTCTGGCTTTTCCAGGAGGCAAATCAGTGCAACTTC
 TTTCTGCCTTTGTTTCAATTTGGTAACAACCCCTCAATTTTAGGACAGGCTAAACCTAGCCACCC
 TATCAGAGATGATGAAGTAGCCATCTTTTTAACAGGTGGGGAGATGAATGGAATCAGGGTTTGT
 TTGTTTGTGTTTAAATACTGCTAGTAAAAACCAAGTCAATAGCTGACTGAGTGTAAGGGAGG
 CTCGAGAAGGCAGGTTATTGTAGTATAGATGTGACTCGACTTATGATGATGTTACTTCCCGATA
 AACCCGTCATAAGTTGAAATATCGTTAAATTGAAAATGCTTTTAAATACACCGAATCTACCGAAC
 ATCATAGCTTAGCTCAGCCTACGTTAAATGTGCTCAGGACGCACATTGCCTACAGCTGAGCCAA
 ATCACCTGGCAACACAGGACACTGTAGAGTATCGGTTGCTGGCCCTTGTGATGCTGTGACTGAC
 TGGGAGCTGCGCTTAGTGCTCTACCCAGCATTGAGAGTTTCTTATCGCTTATTACTAGCCTGG
 GAAAAGACCAAAATTCAAACTCAAAGTGCGGTTTCTACCGAATGCTTATAACTTTCAGACCAT
 CATGATGTTGAAAAATCGAACCATCGTAGGTTGGGATCCATCCTATAAGACGAGCTACACTGCC
 GGAAGTGTAAGACTGCTATGCTGCCGGAAGATGGGGCATAGTGGACAACCTGCAAGTCCTGACAA
 CAGGAGGTGAGCATCTGCGACCTTTAACATCCACATTGACACTACCACAGTCTTCCAAACAGAG
 CTGATGATATAGTTTGGATGTCGTCCCTGCCCAAATCTCATGTGGAATCGTAATCCCCAGTGTT
 GGAGGTGGGGCCTGGTGGGAGGTGATTGGGTCATGGGGCAGAGTTCTTATGAATGGTTTAGCA
 CGGTCCCCCTTGGTACTGTATAGTGAGTGAGTTCTCATGCGATCTGGTTGTTTAAAAGTGTGT
 GGCACCTCCCCTCTCTCTCTTCTCCTACTCTGGCCATGTGAAGTGTGGCTCCCGCTTTGCCT

[0128]

TCCACCATGATTGTTAAATTCCCAGAGGTCTCCCTAGAAGCTAATGCTGCCACGTACAGCCTGG
 AGAACTGTGAGCCAATTAAACCTCATCTCTTTTTAAATTACCCAGTCTCAGGCCGGGCGCGGTG
 ACTGACACCTGTAATCTCAGCACTTTGGGAGGCTCAGGCAGGAAGATGATTTGAGGTCAGGAGT
 TCGAGACCAGCCTGGCCAACATGGTGAAACCCCATCTCTACTGAAAATATAAAAATTAGCCAGG
 CATGGTGGCGGGTGCCTGTAATCCCAGCTACTTGGGAGGCTGAGGCAGGAGAATCGCTTGAACC
 TGGGAGTCAGAGGTTGCAGAGAGCCAAAATGGAGCCACTGTACTCCAGCCTGGGCAATGGAGTG
 AGACCCTGTCTCAAAAAATATATATATATTACCCAGACTCAGGTATTTCTTTACCTGAGACTAT
 GAGAGAATGGACTAATATAGCTGAAGAATTTATTTTATTTTAAAAAACTTTTACGTTTGGGG
 GTACCTGTAAAAGTCTGTTACATAGGTAACTCCTGTCTATGAGGATTTGTTGTACAGATTCTTT
 CCTGCTCCTCCCCCTCCTCCACCCCTCCATCCTCAAGAAGATCCCAGTGTCTGTTGTTTCCTTC
 TTTGTGTTTCGTAAGTTCTCATCATGTAGCTCCACGTATAAGTGAGAACATGCAGTATTTGGTT
 TTCTGTCCCTGTGTTAGTTTGCTAAGGATGATAGCCTCCAACCTCCATCTATCTTCTGCAAAAG
 ACATGATCTCATTCAATTTTTATTGCTGCATAGTATTCCATGGTGTATATGTACCACATTTTCTT
 TATCCAGTCTGTCATTGATGGGCATTTAGGTTGATTCTGTGTCTTCAGAATTGTGAATAGTGCT
 GCAACGAACATTCGTGTGCTTGTGTCTTTATAGTAGAATGATTTCTATTCTTCTGGTAGTAATG
 GGATTGCTGGGTCAAATGGTCGTCTGTCTTTAGCTCTTGCAGAATCACCATACTGCTTTCCA
 CAGTGGTTGAACTAATTTACACTCCCACTAACAGTGTATAAGTGTTCCCTTTTCTCTGCAACCT
 TGCCAGCCTCTGTTATCTTTTGACTTTTTAATAAAAACCATTTCTAATTAGTGTGATGGTATTTT
 ATTGTTGTTTTGATTTGCATTTCTCTAATGATCAGTGATGTTGAGCTTTTTTTCATGTTTCGTTG
 GCTGCAGGTACATCTTCTTTTGAAGTGTCTGCTCATGTCCTTTGCCCACTTTTAAATGGGGT
 TGTTTTTCTCTTGTAATTTAAGTTCCCTCATAGATGCTGGGTATTAGACCTTTGTCAGATGTAT
 AGCTTGCAAATATTTTCTCCCATTTCTGTAGGTTGTCTGCTTACTCTTTTGATTGTTTCTTTTAC
 CATGCAGAAGCTCCTAAGTTTAATTAGATCCCATTGTCAATTTTTGCTTTTGTGCAATTGCT
 TTTGGTGTCTTTGTCATGAAATCTTTGCCAGGTCCTATGTCCAGAATGATATTGCCTAGGTTGT
 CTTCTAGGGTTTTATAGTTTTGGGTTTTACATTTAAATCTTTAATCCATCTTGAGTTGATTTT
 TGTGTTTGGTGTAAAGGAAGGGTCCAGTTTCAATATTCTGCATATGGCTAGCCAGTTATCCAG
 CATTATTTATTGAGTAAGGAGTATCTCCTCCGTTGCTTGTTTTTCCAGGTTTGTGGAAGATCA
 GATGGTTGTAGGTGTGTGGCCTTATTTTGGGGCTCTCTATCCTGTTTCAATTTGGTCTATGTGCCT
 GTTTTTGTACCAGTACCATTCTGTTTTGGTTACTGTAGCCCTATAGCATATTTCAAAGTTGGGT
 AACATGATGCCTCCAGCTTTATTCTTTTTGCTTAGAATTACCTTGCCATTTGGGCTCTTTTTG
 GTACCATATGAAGTTTAAATAGTTTTTTTTCTAGTTATGTGAAGAATGTCGTTGGTAATTTGA
 TAGGAATAACATGTAATGATATTGATTCTTCCATCCATGAGCATGGGATGTTTTTCCATTTGT

[0129]

TTGTGTCTTCTCTGATTTCTTCAAGCAGTGTTTTGTAACTCATATTGTAGAGATTATTCACCTC
 CTTGCTTAGCTGTATTCCCTAGGTATTGTATTCTTTCTGTAGTAATTGTGAATGGGATTGCTTTT
 CTGATTTGGCCCTCAGCTTGGTATTGTTGGTGTATAGGAATGCTAGTGATTTTTTGTATCCTGA
 GACTTTGCTGAAGTTATTTATCAGCTGAAGGAGCTTTTGGGCTGAGACTAGGGGGTTTTTTAGA
 TATAGAATCATGTTCTCTGCAAACAGATTTAGTTTGACTTCCTCTCTTCCCTACTTGGATGCCCT
 TTATTTCTTTCTCTTGCCGTGATTTCCCTGGCCAGGACTTCCAGTACCATGTTGAATAGGCGTGG
 TGAGAGAGGGCATTCTTGTCTTGTGCCAGTTTTCAGGGAGAATGCTTCCACCTTTTGCCCATTC
 AGTACGATGTTTGTGGTGGTTTGTTCATATATGGCTATTATTATTTTGGAGTGTGTTCCCTTAAT
 ACCTAGTTTTATTGACAGTTTTTAAACATGAAGCAGTGTTAATTTTATTAAAAGTCTTTTCTGCC
 TCTGTTGAGATAGTCATGTGGCTTTTGTCTTTAGTTCTGTTTATGTGATGAATCACATTTGTTG
 ATTTCCCTTATGTTGGACCAACCTTGCCATCCAGGGATGAAGCCTACTTGATTGTGGTGGTTTAG
 CTTTTTGATATACTACTGGATTCAAGTTTGAAGTATTTTGTGAGGATTTTTGCATTGATGTTT
 ATCACGGATATCGGCCTGAAGTTTCTTTTTTTGTTGTGTCTCTGTGAGGTTTTGGTATCAGAAT
 GATGCTGGCCTCCTAGAATGAGTTGGGGAGGAGTTCCCTCCTCCTCAATTTTTTTTGAATAGGTT
 CTGTAGGAATGGTACCAGCTCTTCTTTATACATCTGGTAGAGTTTGGCTGTGAAGCCATCAGGT
 CCTGGGATTTTTTAGTTGGTAGGGTATTTATTACTGATCCCTAAATAGACCGATAATGATTTT
 AGAAGTGGAGTCGGTTTTTTTCTGGTCCAGTCTTGGGAAGGTGTATGTATCCAGGAATTTATTT
 AGCTCTTCTAGGTTTTCTAGTTTGTGTGCATATGGGTGTTTCATAGTAGTTTCTGATGGTTGTTT
 TTATTTCCGTGGGATCAGTGGTAACATTCTCTTCATCATTTCTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTT
 TTTTGAGACGGAGTCTCGCTCTGTGCGCCAGGCTGGAGTGCAGTGGCGCGATCTCGGCTCACTG
 CAAGCTCCGCCCTCCCGGGTTCACGCCATTCTCCTGCCCTCAGCCTCCCGAGTAGCTGGGACTACA
 GCGCGCCGCTACCACGTCCGGCTAATTTTTTGTATTTTTTAGTAGAGACGGGGTTTACCCTGTT
 AGCCAGGATGGTCTCGATCTCCTGACCTCGTGATCCGCCCCGCTCGGCCTCCCAAAGTGCTGGG
 ATTACAGGCGTGAGCCACCGCGCCCGGCCCATTTCTAATTGTGTTTATTTGAATCCTCTCTCTT
 CTCTTCTTTATTAGGCTAGCTAGTGGCCTATCTATCTTATTAATTTTTTCAAAAACCAGCTCC
 TGGATTTCTTGATCTTTTGAATGGTTTTTCATGTATCAATCCTTCAGTTCAGCTCTGATTTTGG
 TTATTTCTTGCTTGTGCTAGCTTTGGGGTTGACTTGTCTTGCTTCTCTAATTCCTTCAGTTC
 TGATGTTAGTTTGTAGTTTGTAGATCTAACTTTTTGTATGTGGACATTTAGTGCTATAAATTTAA
 CTCTTAACACTGCCTTAGCTGTGTCCCAGAGAGTCTGGTATGTTGTATCTTTGTTCTCATTAGT
 TTGAAAAAATTCTTGATTTCTGTCTTAATTTAATTATTTATCCAAAGTCATTCAGGAACATGT
 TGTTTAATTTCCATGTAATTGCATGGTTTTGAGCGATTTTCTTAGTCTTGACTTCTATTTTAT
 TGTACCGTGGTCTGAGGGTGTGATATGACTTTGGTTCTTTTGCATTTGCTGAGGATTGTTTT

[0130]

ATGTCCAATTATGTGGTTGATTTTAGAGTATGTGCCATGTGGTGATGAGAAGAATGTATATTCT
 GTTGGTTTTGGGTACAGAGTTCTGTAGAGGCTATTAGATCCATTTGGTCCAATGTTGAGTTCA
 GATCCTGAATATCTTTGCTAATTCCTGCCTCCATGATCTAATACTGTCAGTAAAGCACTGAAG
 TCTCCTACTACTATTGTGTGGGAGTCTATGTCTCTTTATAGGTCTCTAAGAACTTGCTTTATGA
 ATCTGGGTGCTTCTGTGTTGGATGCATATATATTTAGGATAGTTAGATCTTCTTGTGAATTGA
 ACCCTTTACCATTATGTAACGCCCTTCTTTGTCTTTTTTTTTCTTTGTTGGTTTGAAGTCTTCT
 TTGTCTGAAATTAGGATTGCAACCCCTGCTTTTTCTGTTTTCTGTTTGGTTGGTAGATTTTCC
 TCCATCCCTTTATTTTGGACCTATGGGTGTCCTTACATATTTTATCTTTATCTATCCATCCAGC
 CATCCAGCCATCCATTCATCCGTATCATTTTTAACAATAAGGACTTTTAAAAGCGCAACCACA
 ACACCATTAACATAACCAATAAAATCTATAACAATGATAAAATATCATCTAATACTCAGTCCAT
 GTCCAATTTTCCCTCGCTATCTCAAAATCGTCTTCTTAGAAATGGTCTGTTCAAATGAGATCAC
 ATGGACAGAGGAAGGCGAACCTCACACTGTGGGGACTGTTGTGGGGTGGGGGGAGGGGGAGGG
 ATAGCATTGGGAGATATACCTAATGCTAGATGACAAGTTAGTGGGTGCAGCGCACCAGCATGGC
 ACATGTATATGTATGTAACCTGCACAATGTGCACATGTACCCTAAACTTAAAGTATAAT
 AATAAAAAATAAAAAATAAAAAAGTGAAAAAGAAAAAAAAAAAAAAAAAGAAATGGTC
 TGTTCAAATCACAACCGAGATTCAGAAACAATAGCCATACATTACATTTTATTAATATGTCTCT
 TAAATTTCTTTTAACTATTACAGTCTTTGGAATTTTTATGTCTTCGTTTATCCTTCCAATTAT
 TAAAAAAAAGTATTTTGTATTCAATTGAATAGACAATGCTTGCAGAAAAGTAAAAAAAAAAAA
 ATTTAGTACAAAAAGGTACATAGTGAGCTGTTCCCTAGTCTCCCTTCCCAGAAGCAATGTTACC
 ACTTTTGTACAAATAGTCTCTGCCTAGACACACATGCCAGTCCCTAAGGTGGCTGTAACAAGGT
 GGTTAAGAGTGAGAACATGAATTCAAATTCCTATTATGCCACTCACTAAGTATAAATCTTGGTC
 ATGGTACATGCCTCTGTGCCTCAGTTTTTAATAATGGTACCTACCTCATAGGGCTGTTGAGAGA
 ATTAAATCAGATAAGTGCTTAAATAACTATTAATATTTATTATTATTCACATTCCCTTTTGGCT
 TTTTCCCAAATAGCAGAGTGGTGCACATATGTCTTCATTTATTTGGCTTGTTTTTTCACCTCA
 CATCACATTTTGATGAATAATCCATACATGTTGTTATAGATTTGCTTCATTCTTTGTAATCAT
 TGACTAATATTCCATTGTATGAATATGCTACTGCTAAACATGTACGTTATTTCCAACCTCTTAT
 TATCAAGAAATGCTGCAATGAATATCCTTGTAATACTTTAGTGGATTGATGTGCAAAAAATATTC
 ATAGGATAAAATCCTGAAAGTTAAATTGCTGAGCTAAAGGGTATGTGCATTTTAAATGCTTTATA
 GATTGCCCAGCTGCCTCAAAGGAGGTTATAACAATTTACACTCCCAAGAAAAATGCACAAGGGT
 CCCCATTTCCCATAACCTAGCTAACACAGGATATTGCTAAATGCTTTTCATCTTTGTAAACATG
 ATGTATTGAAAATGGTATCTCAAAGTTTTAATGTGCATTTTCTGATTGTGAGAAGATAAAGGA
 AATGTAGTACAATAACATCAGCAGTCAAATGACCTGGCCATGACTCCTGAGTGAGGACACTG

[0131]

GTAAACACCATCAGGATCCAAACACCTCTGTATTTACGAAGAGGATGCTCCCTATTGGATAGCA
CTAAGCTTATTTTCATGTATGTACATATGTAGTTAGTTAATTACATCCAGCGGTGGCAAAGGGCT
TGTTCAGACCAATGAACTTTCTCTCCTGGCCCCCTCCAGCATGTGGTCAGGAGTAGAGTGT
TGTGGCCATGAGGCATGCATTTGTACAGATGACTACTTACTCCTCCTTGAACATTTTTTTTCCA
TTTGCTTCCCTGCTGTCTCACTCATGGGTCTGCTCCTAATTCACAAATCACTCTTTTCCCAGTC
TTCTTGGTTGGGTTTTCTCCTCTTCTGTGCTTGTAGACATGGGGGAGCCCCAGGGCTTCTCTCT
TGAACACAGCTTCTCCCTGGGTTTCATCTCCTTGGGATGTCTGTTCCAATGGGTTTAAATACTA
GGGCTAGGACTAGGGAGAGGTCATTGAGGCACCTTAGCACATAAAGTTTAAGGAAACATTCTTTA
TCAGGCCCATGCAAGTGCAGGACTGGCCCTGGAGGGTGACTACCACCTTACCTTTTCCACCCTA
GGCACCTTGTTCCTTACCCTAGCCCCAGTCCTCTTTAACACCCAGTCCTTCTCCCTGGACCT
CCAGAAACATAAATCCTATTTGACATTTCTACTTGGAGGTTTTAAGGTAACCTCAAACGTAAAAT
ATCTAAGACAGAACTCTTGCATCACTTCCCATCCTGGGGCCCAAGCCTGTCTCTTCTACTAGTC
TATCTCAGTTAACAGCATCACCATTTATTCAGTTGCTCAGGACAAAAAATTTGAAGTAATCCTT
GACTCTTCTTTTTTTTTTTTTTGTAGACGGATTCTCACTCTGTTGCCAGGCTGGAGTGCAGTGGT
GGGACCTTGGCTCACTGCAACCTCTGCCTCCTGGGTTCAAGCAATTCTCCTGCCTCAGTCTTCT
GACCTCGTGATCCACTCGCCTCGGCCTCCCAAAGTGCTGGGATTACAGGCGTGAGCCACCGCAC
CCGGCCTGGATTCTTTTTTTTTTTTTTAAACAAGTCCTATCTTCCATCTCCAAAATGTATCCCA
AATCTGACAACCTCTCCACCGTAGGCCAGCCCCATCTCTCCCTCTGAAAATAGCCTCCCTT
AGATCTCTGGACATTTGTTCTTCCCCACCCCTTGTGATCACTATTCAGCATTGAGAATGATCT
TTTAATATTATGAAGGAGACTGTGTTCCCTCTCCTACTTAAAATTCTCTAGTGGCTTCCTAATAA
ATTTAGAATAAAAAGCCAACCTCTCGCCATGGTCACCAGGCCAGGATCCAGTGGGTACAACAAT
CTGTTCCCAGCACAAATAATCCCACTTCTGCCTCCCCACCATTCACCAGGCTCCACTGCACTGGC
TCATTCCCTGCCTCAGTTGTGCTTCTTTCCCTGGAAAGTTCTTTCTGTAGATCTTTAAAGGGTG
ATTTCCCTTCTCAACATTGAGTGTGAGTCTGTTTCACTTTCCCTGACCATGCCCATCCACTCAGA
GATCACTCAAAATCCCATTACCCTATTTTATTTCTCCATCATATGTATCACTATCTGAACTAT
CTTGTTGTTGATGCAGGCTATTTTCTTGACCCCTTCATGGGACTCCCAACAGGGGTACCCCAT
TACTCAGCCTGCCCTGCTCAACCTCTTGCAGGAGGGAGCACACGAGTGAACGAGTGCAGGAACC
AGCTGGCTGCTTTAGTGCTGTGAGGAGTAACTCCATGCAGGCCCTGCAGCAGCAACCAGGTAG
GGGTGCTGCAACCCAGGGCCCCAGAGGGTGTGTTACAATGCTCTCGTAGCTCTGCCATCTGT
GGACAGCAGTGTGTTGTGAGTCACTGAGTGGGCCCTTGTCTCATCATGTAGGGTGGCTGCCCTCTG
CCTGTGAGGGCAAAGGGCCAGGGTGACAGTCTTTTGGGTACCCACAATTTGTGCATCCTGAAT
TCTTGTGTTGGTGCCTCAAGAAGTGGGGTCACACAGATGAACTGAAGGATGGTGAATGCAGAGA

[0132]

ATTAGCAATGAAAGTGGCTCTCAGCAGAGAGAGAAGCTGAAAAGGGAATGGGAAGGGCAGGTCA
CTCTCCCCTGAAGTCAAGTCAATCTCTCCAATGTCCAGCCACCATCTCTGAAGTCAAGTTTCC
TCTCTCTGATGTCCAGCCACTTCTCCTCTCTACTGGCTGAGTCTGGGGTATTTATAGGCAGAGG
ATAGGTGGTGGGGCAGGCCATACATAATTTGGAAAAGGCAACATTCTATTGGTAAAAAGACAT
TATTCATAAAGAACCAATTGGGAAAGAGCGGGCACACAGGGATGGAAGTTCTCACTTTGGGCTG
CAGGTTTCAGGCTTTTCAGCTCAAAAGTGAAGTTTTTCCAGGGACCTGCCCCGTCTGCCTAAAA
TTTCTACACTTCTGTCAATTGATACCGCTGGATAACAGCTCTCCTATAAAGTTTCAGGGGCTTAAA
ACAAAAATTTACTAATTCACCCGGACAGTTCTTGATAGGGTCTCTCCTAACTGTTGCAGTTACA
TAGCAACTGGGTTGGAGTCATCTTTTCTGGGCTTGACATCCAGGACAGCTTCTTCCCTTGTGTG
TCTGGTGCCTCAGTGCTCCTCCAGGCAGCCTTTCTCTCCAGAAGAGTAGCCTGGACTTCTTGGC
AACTCAAGCTTCCAAAAGAAAAAAGCAGAGACTGCTGGTTCTCTTATCAAACAGGCCTGGAA
CTGGCACAATGTACTTCTGCTGCCATATTCAGGAGGTCAAAGCAATCGAAGGCCAATCCAAGTT
CAAAGGCATTGGAGAAAAATGAGAAGTGTCACTTAAATGAGAAGTGACACATGCGTAAAAGGGG
GAAAAGCATTGATTGTGGCCATTTTTGGAGATAAGCTATCACGTTTATTTGTTTGTGCTTTTC
TAATGGTCTGCTTCTCCCATTAGGTTATAAGCTCTGTGAGACAACAGGAATCTTGTCCATCTT
GTTTTATGGCTCTACTTCCAACACCTAGAATAATGCCTGGCACATAGTAGGTGCTCAGTGAATA
ACTTAAGCACTTGATACATGTTTGGGGAACATAAATGAACAGAATTAACTTCCCCAGATTGGT
CCTGCCAGATTTGCTGATGCCAAGCATGCTGATGCCTCACCAGATGAAAGAAGCCCTAAAATGT
AGGGTTTTCGCTTTCTCTGCAAAACAAGAAAACTTGCCCTGAACACAAAATCTAGAAATAGATTT
GGCGTGTTTTCTACATTGAAATATTTCCCGTAGTACCAGAAATTATTTTCCACAGCTTTGTGC
TACATTAATAATTTGAAGTTGACTGAAAATATCTCCATTCTTTAATCTTGGTGTAGACTAGAAA
CAATTTTTTTGTAACAAAGTAAATATGAAAACCTCCTAATATTTGAACTCCCCAGATATCCCCA
GATATCTCCAACTTAAAATATCATTGCAAGTTAAGATAAATTTTTTTAAATGACTACCGAGAA
AGGTCATTAAAGGCTTGGTTATTAATAATGTACAGATTTGGGTATATAAGCCAGAACTTATTTGT
TTAAATCATTACATATGACCAAGCACAGAAAAATAATTACCTCAAATCTCCTCTTTGCTAATTT
TTACTGGTAACTCTATAAAATGATCCTATCTTTAAACCTTTTTGTAAACCCCTTATAAGTTAG
TAAGTGAGAATGTATTCATCAGAAGGATTTTAGTGATGTTTGAAATTAAAAAAGAGAGATTTGA
TTTTTAAATTATACCTTGCACTACTGCTAATGAACTTCTTCTAACCCCTAGTTTTGTCTTAT
CTTCAGTTTTTCCAGATTTGCTCAAAGCAATCCCAGTGAGCATCCACGTCAATGTCAATCTCTT
CTCTGCCATCCTTATTGTGTTAACCATGGTGGGGACAGCCTTCTTCATGTACAATGCTTTTGGAA
AAACCTTTTGAACCTCTGCATGGTCCCCTAGGGCTGTACCTTTTGAGCTTCATTTTCAGGTAAGT
ACAAAATTCTACCTCTGAAGACAAATGTGCTTTTCAATATGTCAAAAAGACCGTCTACCTAAAT

[0133]

ATAAAGTTATAATCTTAACATATATACATGGATGCACACTGTAGTATTATACATAATAACAAAA
 AGTGTGGAAATACCACACTTGCTCAACAGTAGGGAATCAATAAACTCTTATGGACATCTATA
 TGAATAACTGTGATGCTGACATTAAATTATATTTTTGAAGATGTAATCAAGAGGATAAACGCTT
 GTCTCAAAAAGTTACATGGGAAAAGCAGTATGTAACTTATATAAACATTGTGAACCTAATTTG
 ATTATATATATAAAATATAGGGAATATACATATAAAATACATATATGTATATATGGGGGCTATA
 TATATATATATATGAAAGAGATAGATAGATAGATAGATAGATAGATAGACAGACAGACAG
 ACAATACAGACTCCAATCTGTTGGTCGTGGTTGTCTCTGACCCATGACACTATGGGGGACTTTT
 ATTTTTGCTCATACTTTTCAATATTTCTTAGTGTTCAATAATGTGCTATTATTTATACATAATA
 ATAAAAATAAAATAAATGGCATCAAAAAAGAGTAAAGGGCCAGTGTCCGCCACATATGAGCAG
 CCATATTCAAGCCTGTAGACACTTTGTGTAGCCTAATGCTAGGTGTATCTGGGCAAGGATAAAC
 TCTAAAGCCAGAAATTAGTTCATCAATAAACATGTGCTACTCAATAGCTAGGGCTGATGGAAAA
 GAATATAAAACCCAGTCTGTGCCAAATGGTGCTTACTATCTGCAAGTGGGAGAAGGAGAAAGAC
 GAGAAAATGAAAAATGTGTGTATAATTTATATGTAGCTGTTCTGTAGGAGATCTCTGACTTCAC
 CCCATTCTAACTTTGCAAAAAGATCCAACACTTTGTGAGATTCTGGGAGGCAAGTAATTTTAT
 TGATGGTTTTCATGGAGGGATACAGAACGATAACAACCTCACACAAAGCAAACAATGTAATGAAAA
 TCTCTATTGCTGTTTCTTTTTCTCCTGAAGTTGCCCTTTGGCTGCCAGCTACCAGGCACCAG
 GCTCAAGGTACTTTCTTGCTCTTGACACTACTCCCTTCTCTCATACAATTCAACCCCAACCACA
 AACGTGTATAGATCTCTCTCTCTATAAAACAAAGGCCTGTAGTTAACAGGAGGTCACCTGCAGT
 GTAGCCTCTGTTCAATTGTTACTTGTGCACACTGCTTAGGGTCTCACCCTCATCCACATTCTGCTA
 ATCACATTATTCACCCATCCAATGTAGATCTCTCCAGTGGAGATTCTGCTAATATTTTCTTTAG
 ATTTGTGACAAAGTATATAATACAGTTTTAAATTGTACAGATGATTATCCTATAACAGAAGAGTC
 TAAGCCTTTTACATCTTTGTATCTCTAACGAAAGCATTCAGCATGAAGCTCTGTACACAGCAGA
 CAATTCAATATGAATTTGCTGACTTGAAACAGCAAGCCTAGAAAGGAGATGTTAACTTGGTCAC
 TTAGACAGAACAGGTTTCAGCAATCAGAATTCAGATGACATGGAACCTGGTAGAACAGGCGCTTT
 GAAGCAATAGGACATGAGCCAGTGAGGAGAGGGATGGAATATCATAAAACAAAGGCCAAGGGCTT
 TGCAATCAGAGCTGAAGAGCCAAGAGCACAGGCTCAGGGTGTGGGCAGACTGAATGAGAAAGTG
 ATTCATCACATGTGAAAGTCCAGATGAGAAGAGAGAGTTGGGATTACTTCTGCTCACCACAAACA
 TCCAAAACCAACAGGTGGATCCGGGTGGTGTGCTGTTTTACTGATGACCATTACACAGAATTT
 TAACAGAAGGAATGTAAAGCAGTGGTTCTCAAACTGGAGTTCCCAGATGAGCAGCGTCTGCATC
 ATCTGGAAACCTGATAAAGCAGCAAATTCAGGCCCTACCCAGACCCACTGAATCAGAAACT
 TGGGGGTCTGGGGGAAGATGGCCATCTGTATTTTAAACAATCTCCCTTCAGGAGATTCTGAGGCT
 GGCTCAAGTTTGAACCTACAGGTAGTTGGTTCAACAGGTGTTGGTGGACTGACAAACAAAAAGAG

[0134]

ACTCCGAGGTAAGTCCAAGATGGTAATGTGAGAAAGCAGCTACCACCCCTAGGGCTTGGGGGAA
 CCAACAAAAGAGTTTGGCATTGCCAGAACCTAGAATCTTGAGGAGAGGCCCCAGAGCATTGTGT
 CTCAGACCTTGAGGACTTGGCACTGGGACACCATGAGGGGTTTCTGGGTGTGGGAAAGGGCTGG
 AAAGTCCCCAGTTGCTGCCACCAGGGAGAACTACAAGTGAAGTGAAGGTGTGGGCCTTTCTCC
 CTTTTCTTTCTCGTCTTCTCTCTCCCCCTGGTGCTCATGTTTGACAGAAAACAGCTGAAAAGG
 CAGAACTAGTTTGGGGAGTCTTGACCTGGCATCATAAAGCAGAGAAAAGCAAAGCTGGAGTGAA
 GGTGAGACACAACAGCTCATTAGCAGCAACAGCCGTCTAGCGCTCCAGCTTCTGAATGAAATTC
 TGAAGAACAGCGCACTTGGAAGACAAATTATTTGACAGTTCTGACAGACGACCAAACCTAACAGC
 ATTTGAAAAGCAAGATGACTCAGAGAATACAGAATTTAATCCAAATCCCAGATCCTATCTCTGC
 CTTTGGCCAGGCCTAATGCAAGGAGAACCTGAGCACACAAATATATGCAGGAATGATCAGGACC
 TGTGCCTGCATTCTATTCTGTCTCACCCACCTTCAAATTTGTTGTAAAAACATGGGCTCAATAA
 AGGTTTGTGAATCAGGGAAGGAAGAGAAGGGGAGAAAGGAAGGAGCCAGCTCCAGATCT
 GTGTCTTGCAGAGGATAAAGGCCAGTGTTTTATAGATCACCCAGTGTTTTCTAAGCCCCCAATA
 CTTATTTTGAATATCAAAATGTTCAATAACTAAAAAAAACCGTTACAACAATAAAACATGT
 TTGAGGGTGCAGATGGACTGGCAGTTTGTGACCTCTGGGGATAAACAGGTCACTTTGGAATCACA
 GACTTCCTCATTTCCCTTAAATCTCATATGGTACCCAGAAGCCCTTGGAACTTTGGAAGGTGTT
 TATTCACAGTTGTAATGTCCATGCAGACCCCTGGCTCTAAGACCCAATTGTGTAAGGGTAGGTTT
 GTAGCCCTTATCCCAAACATTCTAAGTGTGAGCCAATGCGTCACACACTCAGAGGCCAGAGACT
 GTATTGGGGTCCCTTTATTTACGTACGAGTCACATTCCATTAAAGAGACCCAGAAAGTCAGCTCT
 CTTCCACTGACTGGTTCTCTTCCCTTGTCTCTTGCCAATGTGTGCTGCCCAGGTGGCAGTGC
 TCACTGTGAGCAGAGAAGAAAAATGCTTTCCTCCTTGGACCTCTTTTCTCTTTTCTCCTCCCT
 ACTCACATTGAGGTTCCCTAAGCTTCCCCGCTCCTTGTGCTGAAGTCATTCTATGGTCATTTCT
 TCAACTGTCTACTTCCCTGCTGGATGGGCACCCAAGACTTGGCATCCTGGGGCATGTAGAAAGG
 GGAAAGGGAAGGGAAGGGAAGGAAGAGTCCCTCCCAATTGTCTATCTGGACCTTTCCACACTGCCC
 AGAGTACTGCTATGGGCATCTCCTTATGTCTCCCGATGTGGTGCATGCCAGACCCCTGCAGGTAG
 AAAAGGAAAGAAAGCAACCCATTGGACCAGGCCAGCAAAGGCTTCAGTCACACAGCTGGCTCAT
 ACTTATGGCTTCATATTCTGTTGCCTCTTGAACCAGACATTTCTTCCACTCTCATAACCTCCAG
 TTTAGCTCGTATTCCCTCAGCATTCTCCATGTAATATTGTTGCATGAAACCCATGCAAGTCAGCC
 AATTTGCTCTTTCTCATCTTGTCAATTTATAAATTGATGCTGAGAAGTCTTTTCCCAAGGTTTT
 TAGTAATACCTTCATCATCCCCATAGTTTCAATTTGGGCAGTGATTGCTTCTTTGACTGTACA
 TTAGAATCATCTGAAGAACTTTCTAAACTACTGATCTCAGGTCTCACACAACCTAATTAAAT
 TATAGTCTCTGGTGGGGTAGGGCTTGGGCACTGCTATTTTACCTTAAGCTCTCTGGAGTCATTC

[0135]

TAATTTGTAGCCAGTGCTAAGGGTTGCAATATAAGTGAATATATTTACGTATTTGTCAAACAT
TGACTGAGTGCCCATTTATGTGCCAGCCATTATAATAGGCACTGGTGATCCACAGTGAATCAGG
CACACAATGCTGTCTTCACGGAGCTTGTGTCTAGTGGGAGAGTCAAACAAAAGTGTATATCAA
TAATTAAGTGATTACAGATTGCAATAATTACAATAAGGGTGATAAACAGGTTGCTATAATATAC
AATAGTATTGCCTTTTACCAGACATTTCTTAAAGAGGTAAATCATCTATCAGACACCTTTTAAA
AATCTCATCTAATTTCAAAGGTGACATAAATAATTAAGTGATTACAGTTTGCAATAATTACAA
TGAGGGTGATAAACAAAGTTGCTATGAAAGAGAAAGATAGCAGAGATCTGGCTTTGAGATGGTGG
TCAGGGAAGACTGCTCCAATAGCTGAGTTCTAAAGCTAAGAAGGAAGTGAAGACCTTCACAGAA
CGTCCCAAGTAGAAGAGAAAGCACACTGAAGACTCTAGGGAAAGAGGTCTGCTTGTGTAGGAA
CCGAAAGAAGGCCAATGTGGCTAGGTGCTGGGTAGTGAGGGGAAATGGCACAAGGAAAAAATGA
GGTTAGAGAGATCAGTTGATACCAGTTAATGTTGGACCTAAACATTAACCATGGTAAGTCTTT
TAGAATTGATTCTAATTGCAATGAAAACCTTTTGAAAGATTTTAAAAAGATATCTGATAGCTGA
TTTACCTCTCTAAGAAATGTCTGGTGAAAGACAATACCATCACATTGGAGATGGAAAAAGATGA
ATGGATTCTAAAAACATTCTGAAAGTACATTCAAATGTTTTTCAGGTAGCTTATGCAACTAAT
AAATAGTGGTGGCATTCTGGGTAAAGACAAGGGAGGAGCAGGCTTGCAAGTTAGGGCAAGAAAGG
GGTGGGGAGAAGAGCTCAGCACTAAAATCATGTGTTCCATTTGGGGCACATCGAGTCTGAGTTG
CTATGAGACCACCAAGTGGAGATGCCAAGTAAATAGTCAGTTACATGAATCTGGAGTTTCAAGTGA
AGAGGTCTAGAAGAAAGATGTATATTTGGGCATTATTCGGATATAGATATTATGTAAAGCAATA
AAATTGGATGAGATCACCTAGGGAGAGAATGCACATAGATAAAAACTGACCTAGGACCACTTCA
TGTCTAAAACACCAAAAGCAATGTCAACAAAAGCCAAAATTGACAAATGGGATCTAATTAACT
AAAGAGCTTCTGCACAGCAAAAAGAAATCAGAGTGAACAGGCAACCCACAAAATGGAAAGAAATTT
TCACAACCTACTCATCTGACAAAGGGCTAATATCCAGAATCTACAGTGAACCTCAAACAAATTTA
CAAGAAAAAACAAACAACCCCATCAAAAAGTGGGTGAAGGACATGAACAGACACTTCTCAAAA
GAAGACATTTATGCAGCCAAAAACACATGAAAAAATGCTCACCATCACTGGCCATCAGAGAAA
TGCAAAATCAAAACCACAATGAGATACCATCTCACACCAGTTCAAATGGCAATCATTTAAAAGTC
AGGAAACAACAGGTGCTGGAGAGGATCTGGAGAAATAGGAACACTTTTACACTGTTGGTGGGAC
TATAAACTAGTTCAACCATTGGGGAAAGTCATTGTGGCGATTCTCAGGGATCTAGAACTAGAAA
TACCATTTGACCCAGCCATCCCATTTACTGGGTATATACCCAAAGGACTATAAATCATGCTGCTA
TAAAGACACATGCACATGTATGTTTATTGCGGCACTATTCACAATAGCAAAGACTTGGAACCAA
CCTAAATGTCCAACAATGATAGACTGGATTAAAGAAAATGTGGCACATATACACCATGGAATACT
ATGCAGCCATAAAAAATGATGAGTTTCATGTCCTTTGTAGGGACATGGATGAAGCTGGAAACCAT
CATCCTCAGCAAACCTATCGCAAGGACAAAAAACCAACACCGCATGTTCTCACCATAGGTGGG

[0136]

AATTGAACGATGAGAACACATGGACACGGGAAGGGGAACATCACACACTGGGGACTGTTGTGGG
 GTGGGAAGAGGGGGGAGGGATAGCATTAGGAGATATACCTAATGCTAAATGACGAGTTATTGGG
 TGCAGCACACCAGCATGGCACATGTATACATATGTACCTAACCTGCACATTGAGCACACGTACC
 CTAAACTTAAAGTATAATAATAATAAAATAAAATAAAATAAAAAACAAAAATTGATGTAGGA
 CCAATTCCTGAAGAACACTGACAGTTAATTTTTTGGTTTAGGAGGAGGAGAAGCCAGCAAACGA
 CACTGAGTAGCAATATCCAAAGAAAAAGAGGAAAAAGGAAAAGCTGGGAGATTATGAGTGTCCCA
 GAGGGAATGTTTCAAGATTACCATCAGCAGTGAGCTTTGTGTAAAGGTGGCCTCCTGTAATAGA
 GGTGCGGGCAGGAGAAGGCAGAATAGGGAAAAGGGGTGAAAAAGCTTCCCTCAAGATTATATA
 TACAGTGGAAGAGAGAGACAGAGAGAGAGAAAAGAGAAAGAGAGAGAGAGAACTTAAGGAGGTAG
 AGGAAGAGAGAGAACCAAAAAAGAGGGAGCTGAGTATAGAAGCAATTAGATTCATAGTTTTTAG
 TTGCGGCAGTGATATTTGAGTGGGGGCCTTTTATATATTCCATTCTAGGTGTTTCCAGTTGAT
 GGGAGAGGGTCTTACCTAGATCTGCATGTAAAAGGGAGTAGGCCAGCTGGCAGACTTGACATGG
 ATCAGTGGTAGAACATCCTAGCAGTTCTGTGAATACTCTCTGAGAATGACATGAAAGGTATTGG
 TTCAGGCCTTTTGGAGGTGATAAAAAACCACCAAAATGTGGACTTATTGCAAATTGTATTTGTTA
 CCATTTGCAATGATTATAATTATTCTCTTATATATAGGCTTTCTTACATATAGCTTCTCTTACA
 CATAGCGTCATGAGTTATGCCTTCTCTTACATATAGTGTCTGCTATGAGTTATGCCAAGCAGGG
 CAAACAAAATTGCTGCCTTTCTTTAAAAAGAGGACGCTCCTAGTATGGGCCTAATTAATTATGA
 TAATTACAGCTATGGCATGGAACATAAGCACATTCATATACACAAAGACAATAAAATAAAGAAC
 AGTTCAAAAACAGAACAGTTACATTATATATCAGTTTCAGTATGAATAATACCCTGGACTCTGA
 AATATGTCTGGGGCACATTATTCTGTAATTGGTGGTGAAAAAAATCTGCATCTTATCTCTACG
 CCAATCCTTATGAAGGAGCTGTTTTTCAGGAGTTCGAGAAAAGAGACACAGGGATGTCCAGTCAT
 CAAAGCCGCAGAGCCTGAGGAAGAATAAAGGATTTGTGGCAGGAAAACCCAGTAATGAATGTAT
 TCTGCTAGTTTCTCAGCATAGAACTTAGAAAAAGAGGCCACAGAAGGAAAAGAGAAGTAATGTTA
 GACAGCTGATGTTGGCAATGGGCAAAGAATTTCAATCTCATATGCAGGGCAGTGGCTAAAGGGG
 CAGTGTGTGAGGAATCACATTCCAGGTCATTCATGTCCAGGGTGTGGTAGGAGGACTGTGTTT
 CATTTATTTTGTACATGGCCCAGCTATGACCTTGTGCAAGGAAATGCTTAATCATTTTCTATCA
 CAGTTGCAAAGAGATTCTTATCCTACTCAGAATGTACGTCTTCTCTTCTGTTTCATTTACAGTC
 ACAACCCAAGTCCTTGCTTTGACCTCCAAAGCACCATTGATGTATCCACTTCAGAAACACACA
 CAGACAGCTCACCTCTTTCTATCCCTTACCTTCCCTCCCTCTTCACTCAAACCACCTACTTCCT
 TTGCATTCACTCTTCTTCAGCCTGAAATAATCTTCTCCAAATATCTACCTTCTCACTCCCTC
 ACTTCTCTCAAGATACACTTAAATGTTATATTCCCTATGAGGCCTCCCTGGCCATCCCTCCCC
 AGCCTTCCTATCCCCCTCTCTGCTTTATTTTATTCTCCTTAATATATATCACACTCTGATAAA

[0137]

CCATTGAATGTACTTATCAAGTTATTGCCTCTCTCCCTTTCCATTGTCTCCATCACTGAGAG
CTCTGTGAAGAAAAGGATTTGTACCTGTTTCATTTAGTGCTGTACCCCAGTCCCACAACAGC
GCAACAGGCACTCAATAAATAGTTGTTGAATAAGTGAATAAAACAGAAGTAGCTGCATATTTTC
TGGTAACAAATGATATTCTTCTGAAAATGTCATATTTTCAGACATATTTCCGAAAATAAATTCA
AATTAGATAAACATTGTATTTTTTAGACCATTCTTCTTTGCATTAATCATCCTTCTCAATAATA
TAACATTTGTAAACCTTAGGTTAGATATGGGCTCTTCAACTTTCCATTACAGAAGATAAAGTGA
AAAGGCTAGACCCAATGGTGTTATTCCTTCATCTACATCTATCCTTTGGAAACACATGACCAAA
TTGCTTGCCATCACAATCTCAAAATCTACCTTTTGGTATTAACCTCACTTCACTTGTCCCTCTGT
CCCTTTTTTAGATGGTAGCCATCGGTCTCTGGAGCAGTGTAGAGTCAGAACAACCTTCTATTGGG
GAAGAAATCATTGCTGGTGACCTTACTTTCAATTACTAAGTTCTAGTGACATTTACATAATTT
TAGAGAAAATTAACACCTACACTTGTAAAGTTGTGGCTTTCCACACCTATTTATCATCTCTCA
ATATTCCTTGAAAAGGAAATATCAATTTATCATTCTATATTGGCAATGAAATGCCCCAATAT
CTGTCACCTATAAGACAATTGAAGATGATGTGTTGAAAGCTTTCTGAAAATGCTGATCATTACT
TTAAATGGAATTGAAATCCAGTTTATTATTTCCAAAAATATGATCTTACTGATCATAGGATAA
CATTTTCATAACATTTTCAGAGATTTCTTCCCCTTCGAGGAGCCAAACCCATAGGACCTCTGGACT
CCCACAGATCCTGGCAGGGAGTTCCCACTCATAAAAGCACAGGTGCCCTCAGAGTCATTACAGGG
ATGAAGAAGCAACCCTCATTGGCCATGTCTACGTTCCCATATAGTAAGGACTGGAGGAGACC
AGTGCTCAATTCTGCAGTCTCAGACAGCTGTCAGAGGAGAGTCATGAATGTGCAGTGTCTAGCA
CATTACAAACGTTTGTAAATTGACTGATCATTATGGTGTGACAGCCCTATAAAGTACAGCTATCC
TATTCAGTCAGAAATTAAGTCAAGTCAAAAGTCAATTAAGGAAGAAAAAACCCTACAGT
ACCAGACAGATGGTGGGAAATCAGACAGATGAAAGGAAAAATGGCTGTAGGTCATTGAGTAAG
ACACTGGGCAGCAAAACCTGGGCCTTGTGCCTGGTTATACTCCACATTATAGCTCCAGCAAGGT
TTGGCAGGATTTCCACAGTCCTGGCTTATTCTAACCTTTCTTGGGAGCAGGAGCAGTGTGGTC
AGATAGACAGACACATAAGGAATCTGTCCAAGTGGCACCCTGTGAATTTGGGCTCTTGGTGTAC
ATGGATAACTGGGAAAAAGAGGAGAGAGACATGTAGGACTGATCCTACCGTTTGTGAAGTCTTG
GGCAAGAGTATGAATGAAAACCCACTTCTCTTCCCTGCCTGGCTCCACTGCACACAGTAAAGA
GCCTCAAGCATAGGTGTGTGGACATTGCACCATGTATCCAAGCTCTGACCATGCCTCTTGAAAC
AGCTATTCTCAGCCACCTCTGACCATGGGAGGAATGACCCAGGAGAAATGACCACATAGGTC
TTGAAAATGGGCTCAGGGCTATTTACGAAGTCAATTCGGGGTCCCAGGAGTATGGACTAAAAT
GTGAGTCAGGCATGCCAGATGGGTATGTTCTATTGACTTCAAGGATTCTCATGCTGTGGGAAG
GAACCTCTCCAGAAGAGAGACAGAGCAGAACCCTCTAAATGTGGGGCACAAAGCAGGAGCCCCCT
CTTGCTGGATTCAAAGGTCATACCTGGAAGAGTGTAGGTTGAGTCTTATTCTCACATCACTCAT

[0138]

ATCACTTACACACTTCTTTTATAGCCTTAGCAGCCATGCCACAAAGAGAACTCTTCATGCATA
TCTTTTGGTCCATAAGTCATAAATAGTTATCCTTGATCCCATGTCTTTTTTAGAGCCATGGACA
GAGAGAAGCAAAAATATACCAAGTTCACACTGAGTTGTCTCCCTTCATATCTCTTAGCAGTCAC
TGAAAGGTTATGAGACTCAGGCTGGGTTTCTATCCTCTGTCCCTGAAACGACAACGTTGACCTC
GTGATCAACCCTAGAATCCAGAGCAAGATCTCAGACTGTCTCTCTACTACCAGACAGCACACT
TTGTTTTGGGGGCTGTGTGCTTGAAATATTAGCTATGGCAAAGGCTTTGAGTCTTATGACACC
CCAAGTAACCTTTACTTTTAGGAATTTGAAATACAGCCTTGCTGTAATGCTGTCTCCTTAACAAA
GCAGTACCTTTGAAATATTTAACAACCTGAAAAGGAAACCGAGCTTGAATTTTCCTTTCAGGTG
CTCAGGAAATAATGTTTCACTTCTGTCTGAAATTCACCATCTCCTCAGACAAAGAAGGCTCTTA
TGGTAAAAGGAATGGCATTCTCTCCACAATTTTCGAATAAAAGATAAAGAGAAAACAGCACTGC
AGCCTTTTTGTTAGGATCTAACAATAAAGAAATAATACGGTTTTTGCCAGGGGAGAGCTCTGGTT
TTAAGCTCAGAATACAAAAATAGGCTGACAAAATTTTACAAAGGAATATTCTCAGCTACCACTC
TGAGGATGGTAGAAAGTGAATTTCAAGAAAATTATATTATTTGATTATTTGATGATGATTAAG
CTGATTGGCCAGTCTTATGTGAAATTCTAAAGTAGAAGAAATGTGATGTTGTCTTTTCTGCTCA
CCTCTCCCTCATTCCTACCCCCAAATCTCTGCCTCTACCCCAAACCCAGCCTGACCTTTGGGA
AAGGAATGGGGGCTGTCACTTGCACCGTAGCTCCTCCTGCCTGCAGTACTCTCCCCCACAGTC
CAGCCTCCCTCTGCTCAGCTAACTTTTCTATAGCTCCTTCTGGCTACTTCTAAGGAACCTTCC
ATAATGCTGCCCACCCTCTCAGTAACAGCCCCCTCTACTATCCCTTGATTACATGCACTGTAATT
GGTTAGTAATTGATTTTATGTCTCTGCCAAATTATACTCCATGAGAGCAAAAATCATGAGTAT
TATCTTTAATGTTTAAATCTCCACAACATATCCCCATATAAGTCTAGAGAATAAATGAATGAGT
GAATTAATGAATAGAACTCAAGCCATTATGTTGCCACTCCTAGGATATTTGGATTAACCTTAA
CTGAAGAGTAAAAAGCATTACCTGTCCTAAAGGAGACATAAAATTAGTGGGAGAGTATTTGGA
GAAAAAAAAGACACTGTAATACATTCTTTTGTGTTGCCTACCCTGATGTAGTCAGGTGTCCCTG
ATATGGGGTGGGCTGAGGATTTGAAATAAAATACCTAATTTGACATTGTAAGTGGAGGAATCAG
GATTTGAAACCAAATTGGTTTGACCTAAATCAAGCTATTATGATAAGGACTTGCAAGAAAAAAG
GAATCCATAAAAAACCATATGAATAGCTACCAATTAGTAAGCATTATATGTGTCAATTACAAAG
CCAAATGCAATCATGCTTTATTTATATTAGCCACCTTTTATAGATGAAGAAATTGAGACCTGA
ATATTAATAATTGCCTACTTTTACATAGTAAGTAAAGGAATCAGGTTTGAACCCAAATTGGTTT
CACCTAAGGTAGAAAACCATCCCAGCAAGTCTCCTATTAAGTGAACCCATTTGTGGTGGCCTG
AGATATAACAGTAGCTGTGGAAGCGCTGTAGAGTCTGGCCATCCTATGTGCTCCTGATCTGGT
CCCTCCTGCCACCTGCTTCTGCTCCCTGTGCCATCCACCCATCTGGAAGTCTCCAGTGTCCAT
CTTCGGGGGAGACACTCACCAGAGTTTCCAGCTTCCAGCCAGTATGGAGTGCCCTGTCCACA

[0139]

TTTCCTCCCGTGCCTGAGTCCCAATTACATTACAGACAGTACTTTCAATGAACATAATTGTTAG
GACCACTGAGGAATCATGAAAAATGATCTCTGCTTAGTACATTTGATGCAAAATGACTTATTAG
GGGCTGTTTTTCTAGCTATAGTGTCTCGAGTACTAATATGCAATTATGAAAATTATATTAAATC
TGGGATTATGACGGTATCACTGTATCATCTTGGTCTTGTCTGGCTGTACCAAGCATGACCCA
GGTCAACTTTTTTTTTTCCCTGAATTACCCATCAAATTGATCTGCAGCTGACTAAAGGCCACAG
CTGAGCCTGGAACTGACCCTTCCTTCATCCTCAACCTGCTGTCTCCAGAAAGCACCAGGAAA
AAGCAGAGAATGACAGCAAACAGATCACTAGGCCTCTGACCACAGGTGCTGAGTACTCAGCAGC
CCTCATATAATAGGTTTGAAAGTACTCCTTAAATAAAACACTGTTTCCCTTTGAACTATTTA
CAAGGATGAAACAACCGTATACCTGAGAAATAACTTGCTCTGGTGTCAATTCGCTATTGCGCAG
CAGACATCAGAACACACCGAGTTTCCAGATGCTGGTTTTTCCCCTTAAATCAGGAAATACACCT
GGACAATTTCTAGAAGACTACAATTCAGTCTAGCCACAAAGGGGATTTTTTTTTTTTGGTAACA
GGCTAGAGCCCGGTTCTGTAAGTCTTTAGCTGAAATGGTCCAGTACAAAGCACTGGAAATGAG
TGGGCTAGGAGGACAAGGACCGTCTCCTGCGTGAGGAGTTGGTTGGAGGTCCCAAGGCCAGGT
ACCCCTGCACTCTTATTGGATTCTCTCTGTCTTCTTGGAGTTTGA AAAACTCCTTCGAACA
CCAGGCTTTTTTCTTTAGAAAAACAAGTCTCCAATCGTTCTCTGTTCCTAGAAAGAGAAAGAAA
ACCTGGAGCAGCTGCTGAAAAATCTAATGAGGAAC TAAGAGGCAAACCCACCA

[0141]

[0142]

비번역 영역을 포함하는 예시적인 인간 CLRN1 cDNA 서열(아이소형 A)(서열번호 6)

ACAGAAGCCGTTTCTCATCATGCCAAGCCAACAGAAGAAAATCATTTTTTG CATGGCCGGAGTG
TTCAGTTTTGCATGTGCCCTCGGAGTTGTGACAGCCTTGGGGACACCGTTGTGGATCAAAGCCA
CTGTCTCTGCAAAACGGGAGCTCTGCTCGTCAATGCCTCAGGGCAGGAGCTGGACAAGTTTAT
GGGTGAAATGCAGTACGGGCTTTTCCACGGAGAGGGTGTGAGGCAGTGTGGGTGGGAGCAAGG
CCCTTTTCGGTTCTCATTTTTTCCAGATTGCTCAAAGCAATCCCAGTGAGCATCCACGTCAATG
TCATTCTCTCTCTGCCATCCTTATTGTGTTAACCATGGTGGGGACAGCCTTCTTCATGTACAA
TGCTTTTGAAAAACCTTTTGAAACTCTGCATGGTCCCCTAGGGCTGTACCTTTTGAGCTTCATT
TCAGGCTCCTGTGGCTGTCTTGTCTATGATATTGTTTGCTCTGAAGTGAAATCCATCACCTCT
CAGAAAAAATGCAAAATTATAAAGAAGGGACTTATGTCTACAAAACGCAAAGTGAAAAATATAC
CACCTCATTTCTGGGTCAATTTTCTTTTGCTTTTTTGTTCATTTTCTGAATGGGCTCCTAATACGA
CTTGCTGGATTTTCAGTTCCTTTTGCAAAATCTAAAGACGCAGAAACAATAATGTAGCTGCAG
ATCTAATGTACTGAAAGGCAAACCTTTCTATAATTTTACAAGGGAGTAGACTTGCTTTGGTCAC
TTTTAGATGTGGTTAATTTTGCATATCCTTTTAGTCTGCATATATTAAAGCATCAGGACCCTTC

[0143]

[0145]

[0146]

[0147]

•

五

CLRN1 유전자에 의해 인코딩된 폴리펩타이드

[0156] 특히, 본 개시내용은 CLRN1 유전자 또는 이의 특징적인 부분에 의해 인코딩된 폴리펩타이드를 제공한다. 일부 실시형태에서, CLRN1 유전자는 포유동물 CLRN1 유전자이다. 일부 실시형태에서, CLRN1 유전자는 무린 CLRN1 유전자이다. 일부 실시형태에서, CLRN1 유전자는 영장류 CLRN1 유전자이다. 일부 실시형태에서, CLRN1 유전자는 인간 CLRN1 유전자이다.

[0157] 일부 실시형태에서, 폴리펩타이드는 클라린 1 단백질 또는 이의 특징적인 부분을 포함한다. 일부 실시형태에서, 클라린 1 단백질 또는 이의 특징적인 부분은 포유동물 클라린 1 단백질 또는 이의 특징적인 부분, 예컨대, 영장류 클라린 1 단백질 또는 이의 특징적인 부분이다. 일부 실시형태에서, 클라린 1 단백질 또는 이의 특징적인 부분은 인간 클라린 1 단백질 또는 이의 특징적인 부분이다.

[0158] 일부 실시형태에서, 본 명세서에서 제공되는 폴리펩타이드는 번역후 변형을 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 명세서에서 제공되는 클라린 1 단백질 또는 이의 특징적인 부분은 번역후 변형을 포함한다. 일부 실시형태에서, 번역후 변형은 글리코실화(예컨대, N-연결된 글리코실화, O-연결된 글리코실화), 인산화, 아세틸화, 아마이드화, 하이드록실화, 메틸화, 유비퀴틴화, 설폰화, 및/또는 이들의 조합을 포함할 수 있지만, 이들로 제한되지 않는다.

[0159] 예시적인 인간 클라린 1 단백질 서열은 서열번호 10, 11, 12 또는 13의 서열이거나 이를 포함한다. c-말단 플레그 태그를 가진 예시적인 인간 클라린 1 단백질 서열은 서열번호 14의 서열이거나 이를 포함한다.

[0160] **예시적인 인간 클라린 1 단백질 서열(아이소형 A)(서열번호 10)**

[0161] `MPSQQKKIIFCMAGVFSFACALGVVTALGTPLWIKATVLCKTGALLVNASGQELDKFMGEMQYG
LFHGEQVRQCGLGARPFRRFSFFPDLLKAIPVSIHVNILFSAILIVLTMVGTAFMYNAFGKPF
ETLHGPLGLYLLSFISGSCGCLVMILFASEVKIHHLSEKIANYPEGYVYKTQSEKYTTSFVVI
FFCFFVHFLNGLLIRLAGFQFPFAKSKDAETTNAADLMY`

[0162] **예시적인 인간 클라린 1 단백질 서열(아이소형 C)(서열번호 11)**

[0163] `MQALQQQPVFPDLLKAIPVSIHVNILFSAILIVLTMVGTAFMYNAFGKPFETLHGPLGLYLL
SFISGSCGCLVMILFASEVKIHHLSEKIANYPEGYVYKTQSEKYTTSFVLTGHS`

[0164] **예시적인 인간 클라린 1 단백질 서열(아이소형 D)(서열번호 12)**

[0165] `MPSQQKKIIFCMAGVFSFACALGVVTALGTPLWIKATVLCKTGALLVNASGQELDKFMGEMQYG
LFHGEQVRQCGLGARPFRRFSFFPDLLKAIPVSIHVNILFSAILIVLTMVGTAFMYNAFGKPF
ETLHGPLGLYLLSFISVALWLPATRHQAQSGCGLVMILFASEVKIHHLSEKIANYPEGYVYK
TQSEKYTTSFVVIFFCFFVHFLNGLLIRLAGFQFPFAKSKDAETTNAADLMY`

[0166] **예시적인 인간 클라린 1 단백질 서열(아이소형 E)(서열번호 13)**

[0167] `MPSQQKKIIFCMAGVFSFACALGVVTALGTPLWIKATVLCKTGALLVNASGQELDKFMGEMQYG
LFHGEQVRQCGLGARPFRRFSFYFLDPFMGLPTGVPHLLSLPCSTSCRREHTSERVQEPAGCFSA
VRSKLHAGPAAATSFRRFAQSNPSEHPRQCHSLLCHPYCVNHGGDSLLHVQCFWKTF`

[0168] **C-말단 플레그 태그를 가진 예시적인 인간 클라린 1 단백질 서열(아이소형 A)(서열번호 14)**

[0169] `MPSQQKKIIFCMAGVFSFACALGVVTALGTPLWIKATVLCKTGALLVNASGQELDKFMGEMQYG
LFHGEQVRQCGLGARPFRRFSFFPDLLKAIPVSIHVNILFSAILIVLTMVGTAFMYNAFGKPF
ETLHGPLGLYLLSFISGSCGCLVMILFASEVKIHHLSEKIANYPEGYVYKTQSEKYTTSFVVI
FFCFFVHFLNGLLIRLAGFQFPFAKSKDAETTNAADLMYGRADYKDHDGDYKDHDIDYKDDD
DK`

[0170] 본 개시내용은 본 명세서에 기재된 폴리펩타이드(예컨대, 클라린 1 또는 이의 특징적인 부분을 포함함)의 아미노산 서열에서의 소정의 돌연변이가 폴리펩타이드의 발현, 접힘 또는 활성에 영향을 미치지 않을 것임을 인식한다. 일부 실시형태에서, 폴리펩타이드(예컨대, 클라린 1 또는 이의 특징적인 부분을 포함함)는 하나 이상의 돌연변이를 포함하는데, 여기서 하나 이상의 돌연변이는 보존적 아미노산 치환이다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용에 따른 폴리펩타이드는 서열번호 8, 9, 10 또는 11의 서열과 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 클라린 1 또는 이의 특징적인 부분을 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용에 따른 폴리펩타이드는 서열번호 8, 9, 10 또는 11의 서열과 동일한 클라린 1 또는 이의 특징적인 부분을 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용에 따른 폴리펩타이드는 서열번호 14의 서열과 적어도 85%, 적어도 90%,

적어도 95%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 클라린 1 또는 이의 특징적인 부분을 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용에 따른 폴리펩타이드는 서열번호 14의 서열과 동일한 클라린 1 단백질 또는 이의 특징적인 부분을 포함한다.

[0171] **작제물**

[0172] 특히, 본 개시내용은 본 명세서에 기재된 바와 같은 일부 폴리뉴클레오타이드가 폴리뉴클레오타이드 작제물인 것을 제공한다. 본 개시내용에 따른 폴리뉴클레오타이드 작제물은 CLRN1 유전자 또는 이의 특징적인 부분을 포함하는 폴리뉴클레오타이드를 혼입하고 있는 코스미드, 플라스미드(예컨대, 리포솜에 내이크기되거나 함유됨) 및 바이러스 작제물(예컨대, 렌티바이러스, 레트로바이러스, 아데노바이러스 및 아데노-연관 바이러스 작제물)을 포함하는, 당업계에 공지된 모든 것들을 포함한다. 당업자라면, 본 명세서에 기재된 폴리뉴클레오타이드 중 임의의 것을 제조하기 위한, 세포뿐만 아니라 적합한 작제물을 선택 가능할 것이다. 일부 실시형태에서, 작제물은 플라스미드(즉, 세포 내부에 자체적으로 복제될 수 있는 원형 DNA 분자)이다. 일부 실시형태에서, 작제물은 코스미드(예컨대, pWE 또는 sCos 계열)일 수 있다.

[0173] 일부 실시형태에서, 작제물은 바이러스 작제물이다. 일부 실시형태에서, 바이러스 작제물은 렌티바이러스, 레트로바이러스, 아데노바이러스, 또는 아데노-연관 바이러스 작제물이다. 일부 실시형태에서, 작제물은 아데노-연관 바이러스(AAV) 작제물이다(예컨대, 문헌[Asokan et al., Mol. Ther. 20: 699-7080, 2012] 참조, 이는 전문이 본 명세서에 참조에 의해 인용됨). 일부 실시형태에서, 바이러스 작제물은 아데노바이러스 작제물. 일부 실시형태에서, 바이러스 작제물은 또한 알파바이러스에 기초할 수 있거나 이로부터 유래될 수 있다. 알파바이러스는 신드비스(및 VEEV) 바이러스, 아우라 바이러스(Aura virus), 바방키 바이러스(Babanki virus), 바마포레스트 바이러스(Barmah Forest virus), 베바루 바이러스(Bebaru virus), 카바소우 바이러스(Cabassou virus), 치쿤군야 바이러스(Chikungunya virus), 동부말 뇌염 바이러스(Eastern equine encephalitis virus), 에버글레이즈 바이러스(Everglades virus), 포트 모르간 바이러스(Fort Morgan virus), 게타 바이러스(Getah virus), 하이랜드 제이 바이러스(Highlands J virus), 키질라가크 바이러스(Kyzylagach virus), 마야로 바이러스(Mayaro virus), 메 트리 바이러스(Me Tri virus), 미델부르크 바이러스(Middelburg virus), 모썸 다스 페드라스 바이러스(Mosso das Pedras virus), 무캄보 바이러스(Mucambo virus), 엔두무 바이러스(Ndumu virus), 옹농 바이러스(O'nyong-nyong virus), 픽수나 바이러스(Pixuna virus), 리오 네그로 바이러스(Rio Negro virus), 로스 리버 바이러스(Ross River virus), 연어 췌장병 바이러스(Salmon pancreas disease virus), 썸리키 삼림열 바이러스, 썸턴 엘리펀트 썸 바이러스(Southern elephant seal virus), 토네이트 바이러스(Tonate virus), 트로카라 바이러스(Trocar virus), 우나 바이러스(Una virus), 베네수엘라 말뇌염 바이러스, 서부말뇌염 바이러스 및 와타로아 바이러스(Whataroa virus)를 포함한다. 일반적으로, 이러한 바이러스의 게놈은 숙주 세포의 세포질에서 번역될 수 있는 비구조(예컨대, 레플리콘) 및 구조 단백질(예컨대, 캡시드 및 외피)을 인코딩한다. 로스 리버 바이러스, 신드비스 바이러스, 썸리키 삼림열 바이러스(SFV) 및 베네수엘라 말뇌염 바이러스(VEEV)는 모두 코딩 서열 전달을 위하여 바이러스 작제물을 개발하는 데 사용되어 왔다. 위형 바이러스(pseudotyped 바이러스)는 알파바이러스 외피 당단백질과 레트로바이러스 캡시드를 배합함으로써 형성될 수 있다. 알파바이러스 작제물의 예는 미국 특허 공개 제20150050243호, 제20090305344호 및 제20060177819호에서 찾을 수 있고; 작제물 및 이의 제조 방법은 각각 전문이 참조에 의해 본 명세서에 인용된다.

[0174] 본 명세서에서 제공되는 작제물은 상이한 크기일 수 있다. 일부 실시형태에서, 작제물은 플라스미드이고 최대 약 1 kb, 최대 약 2 kb, 최대 약 3 kb, 최대 약 4 kb, 최대 약 5 kb, 최대 약 6 kb, 최대 약 7 kb, 최대 약 8kb, 최대 약 9 kb, 최대 약 10 kb, 최대 약 11 kb, 최대 약 12 kb, 최대 약 13 kb, 최대 약 14 kb, 또는 최대 약 15 kb의 총 길이를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 작제물은 플라스미드이고 약 1 kb 내지 약 2 kb, 약 1 kb 내지 약 3 kb, 약 1 kb 내지 약 4 kb, 약 1 kb 내지 약 5 kb, 약 1 kb 내지 약 6 kb, 약 1 kb 내지 약 7 kb, 약 1 kb 내지 약 8 kb, 약 1 kb 내지 약 9 kb, 약 1 kb 내지 약 10 kb, 약 1 kb 내지 약 11 kb, 약 1 kb 내지 약 12 kb, 약 1 kb 내지 약 13 kb, 약 1 kb 내지 약 14 kb, 또는 약 1 kb 내지 약 15 kb의 범위의 총길이를 가질 수 있다.

[0175] 일부 실시형태에서, 작제물은 바이러스 작제물이고 최대 10 kb의 뉴클레오타이드의 총수를 가질 수 있다. 일부 실시형태에서, 바이러스 작제물은 약 1 kb 내지 약 2 kb, 1 kb 내지 약 3 kb, 약 1 kb 내지 약 4 kb, 약 1 kb 내지 약 5 kb, 약 1 kb 내지 약 6 kb, 약 1 kb 내지 약 7 kb, 약 1 kb 내지 약 8 kb, 약 1 kb 내지 약 9 kb, 약 1 kb 내지 약 10 kb, 약 2 kb 내지 약 3 kb, 약 2 kb 내지 약 4 kb, 약 2 kb 내지 약 5 kb, 약 2 kb 내지 약 6 kb, 약 2 kb 내지 약 7 kb, 약 2 kb 내지 약 8 kb, 약 2 kb 내지 약 9 kb, 약 2 kb 내지 약 10 kb, 약 3 kb 내지 약 4 kb, 약 3 kb 내지 약 5 kb, 약 3 kb 내지 약 6 kb, 약 3 kb 내지 약 7 kb, 약 3 kb 내지 약 8

kb, 약 3 kb 내지 약 9 kb, 약 3 kb 내지 약 10 kb, 약 4 kb 내지 약 5 kb, 약 4 kb 내지 약 6 kb, 약 4 kb 내지 약 7 kb, 약 4 kb 내지 약 8 kb, 약 4 kb 내지 약 9 kb, 약 4 kb 내지 약 10 kb, 약 5 kb 내지 약 6 kb, 약 5 kb 내지 약 7 kb, 약 5 kb 내지 약 8 kb, 약 5 kb 내지 약 9 kb, 약 5 kb 내지 약 10 kb, 약 6 kb 내지 약 7 kb, 약 6 kb 내지 약 8 kb, 약 6 kb 내지 약 9 kb, 약 6 kb 내지 약 10 kb, 약 7 kb 내지 약 8 kb, 약 7 kb 내지 약 9 kb, 약 7 kb 내지 약 10 kb, 약 8 kb 내지 약 9 kb, 약 8 kb 내지 약 10 kb, 또는 약 9 kb 내지 약 10 kb의 범위의 뉴클레오타이드의 총수를 가질 수 있다.

[0176] 일부 실시형태에서, 작제물은 렌티바이러스 작제물이고 최대 8 kb의 뉴클레오타이드의 총수를 가질 수 있다. 일부 예에서, 렌티바이러스 작제물은 약 1 kb 내지 약 2 kb, 약 1 kb 내지 약 3 kb, 약 1 kb 내지 약 4 kb, 약 1 kb 내지 약 5 kb, 약 1 kb 내지 약 6 kb, 약 1 kb 내지 약 7 kb, 약 1 kb 내지 약 8 kb, 약 2 kb 내지 약 3 kb, 약 2 kb 내지 약 4 kb, 약 2 kb 내지 약 5 kb, 약 2 kb 내지 약 6 kb, 약 2 kb 내지 약 7 kb, 약 2 kb 내지 약 8 kb, 약 3 kb 내지 약 4 kb, 약 3 kb 내지 약 5 kb, 약 3 kb 내지 약 6 kb, 약 3 kb 내지 약 7 kb, 약 3 kb 내지 약 8 kb, 약 4 kb 내지 약 5 kb, 약 4 kb 내지 약 6 kb, 약 4 kb 내지 약 7 kb, 약 4 kb 내지 약 8 kb, 약 5 kb 내지 약 6 kb, 약 5 kb 내지 약 7 kb, 약 5 kb 내지 약 8 kb, 약 6 kb 내지 약 8 kb, 약 6 kb 내지 약 7 kb, 또는 약 7 kb 내지 약 8 kb의 뉴클레오타이드의 총수를 가질 수 있다.

[0177] 일부 실시형태에서, 작제물은 아데노바이러스 작제물이고, 최대 8 kb의 뉴클레오타이드의 총수를 가질 수 있다. 일부 실시형태에서, 아데노바이러스 작제물은 약 1 kb 내지 약 2 kb, 약 1 kb 내지 약 3 kb, 약 1 kb 내지 약 4 kb, 약 1 kb 내지 약 5 kb, 약 1 kb 내지 약 6 kb, 약 1 kb 내지 약 7 kb, 약 1 kb 내지 약 8 kb, 약 2 kb 내지 약 3 kb, 약 2 kb 내지 약 4 kb, 약 2 kb 내지 약 5 kb, 약 2 kb 내지 약 6 kb, 약 2 kb 내지 약 7 kb, 약 2 kb 내지 약 8 kb, 약 3 kb 내지 약 4 kb, 약 3 kb 내지 약 5 kb, 약 3 kb 내지 약 6 kb, 약 3 kb 내지 약 7 kb, 약 3 kb 내지 약 8 kb, 약 4 kb 내지 약 5 kb, 약 4 kb 내지 약 6 kb, 약 4 kb 내지 약 7 kb, 약 4 kb 내지 약 8 kb, 약 5 kb 내지 약 6 kb, 약 5 kb 내지 약 7 kb, 약 5 kb 내지 약 8 kb, 약 6 kb 내지 약 7 kb, 약 6 kb 내지 약 8 kb, 또는 약 7 kb 내지 약 8 kb의 범위의 뉴클레오타이드의 총수를 가질 수 있다.

[0178] 본 명세서에 기재된 작제물 중 임의의 것은 제어 서열, 예컨대, 전사 개시 서열, 전사 종결 서열, 프로모터 서열, 인핸서 서열, RNA 스플라이싱 서열, 폴리아데닐화(폴리(A)) 서열, Kozak 공통 서열, 및/또는 전사전 또는 전사후 조절 및/또는 제어 요소를 수용할 수 있는 추가의 비번역 영역의 군으로부터 선택된 제어 서열을 더 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 프로모터 천연 프로모터, 구성적 프로모터, 유도성 프로모터, 및/또는 조직-특이적 프로모터일 수 있다. 제어 서열의 비제한적인 예는 본 명세서에 기재되어 있다.

[0179] **예시적인 작제물 성분**

[0180] 역 말단 반복 서열(ITR)

[0181] 작제물의 AAV 유래 서열은 전형적으로 시스-작용성 5' 및 3' ITR을 포함한다(예컨대, 문헌[B. J. Carter, in "Handbook of Parvoviruses", ed., P. Tijsser, CRC Press, pp. 155 168 (1990)] 참조, 이는 전문이 본 명세서에 참조에 의해 원용됨). 일반적으로, ITR은 헤어핀을 형성할 수 있다. 헤어핀을 형성하는 능력은 자가-프라이밍하는 ITR 능력에 기여하여, 제2 DNA 가닥의 프리마제-독립적 합성을 허용할 수 있다. ITR은 또한 AAV 입자에서 AAV 작제물의 효율적인 캡슐화를 도울 수 있다.

[0182] 본 개시내용의 rAAV 입자(예컨대, AAV2/Anc80 입자)는 코딩 서열을 포함하는 rAAV 작제물(예컨대, CLRN1 유전자) 및 5' 및 3' AAV ITR 서열에 의해 축적된 관련 요소를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, ITR은 약 145개의 핵산이거나 이를 포함한다. 일부 실시형태에서, ITR을 인코딩하는 서열의 전부 또는 실질적으로 전부가 사용된다. AAV ITR 서열은 현재 식별된 포유동물 AAV 유형을 비롯한, 임의의 공지된 AAV로부터 얻어질 수 있다. 일부 실시형태에서 ITR은 AAV2 ITR이다.

[0183] 본 개시내용에서 사용되는 작제물 분자의 예는 트랜스진(transgene)을 함유하는 "시스-작용성" 작제물이며, 여기서 선택된 트랜스진 서열 및 연관된 조절 요소는 5' 또는 "좌측" 및 3' 또는 "우측" AAV ITR 서열에 의해 축적된다. 5' 및 좌측이란 명칭은, 센스 방향에서, 좌측에서 우측으로 읽어서 전체 작제물에 대해서 ITR 서열의 위치를 지칭한다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 5' 또는 좌측 ITR은, 작제물이 센스 배향으로 선형으로 묘사될 때, 주어진 작제물에 대해서 (폴리아데닐화 서열과는 반대로) 프로모터에 가장 가까운 ITR이다. 동시에, 3' 및 우측이란 명칭은, 센스 방향에서, 좌측에서 우측으로 읽어서 전체 작제물에 대해서 ITR 서열의 위치를 지칭한다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 3' 또는 우측 ITR은, 작제물이 센스 배향으로 선형으로 묘사될 때, 주어진 작제물에 대해서 (프로모터 서열과는 반대로) 폴리아데닐화 서열에 가장 가까운 ITR이다. 본 명세서에서 제

공되는 바와 같은 ITR은 센스 가닥에 따라서 5'에서 3' 순서로 묘사된다. 따라서, 당업자라면 5' 또는 "좌측" 배향 ITR이 또한 센스에서 안티센스 방향으로 전환될 때 3' 또는 "우측" ITR으로 묘사될 수 있음을 이해할 것이다. 또한, 주어진 센스 ITR 서열(예컨대, 5'/좌측 AAV ITR)을 안티센스 서열(예컨대, 3'/우측 ITR 서열)로 변형시키는 것은 충분히 당업자의 능력 이내이다. 당업자라면 5'/좌측 또는 3'/우측 ITR, 또는 이의 안티센스 버전으로서 사용하기 위한 주어진 ITR 서열을 변형시키는 방법을 이해할 것이다.

[0184] 예를 들어, ITR(예컨대, 5' ITR)은 서열번호 15, 17, 20 또는 21에 따른 서열을 가질 수 있다. 일부 실시형태에서, ITR(예컨대, 3' ITR)은 서열번호 16, 18, 20 또는 22에 따른 서열을 가질 수 있다. 일부 실시형태에서, ITR은 당업계에 공지된 바와 같이, 하나 이상의 변형, 예컨대, 절단, 결실, 치환 또는 삽입을 포함한다. 일부 실시형태에서, ITR은 145개 미만 뉴클레오타이드, 예컨대, 127, 130, 134 또는 141개의 뉴클레오타이드를 포함한다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, ITR은 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143 144 또는 145개의 뉴클레오타이드를 포함한다. 일부 실시형태에서, ITR(예컨대, 5' ITR)은 서열번호 15에 따른 서열을 가질 수 있다. 일부 실시형태에서, ITR(예컨대, 5' ITR)은 서열번호 17에 따른 서열을 가질 수 있다. 일부 실시형태에서, ITR(예컨대, 5' ITR)은 서열번호 20에 따른 서열을 가질 수 있다. 일부 실시형태에서, ITR(예컨대, 5' ITR)은 서열번호 21에 따른 서열을 가질 수 있다. 일부 실시형태에서, ITR(예컨대, 3' ITR)은 서열번호 16에 따른 서열을 가질 수 있다. 일부 실시형태에서, ITR(예컨대, 3' ITR)은 서열번호 18에 따른 서열을 가질 수 있다. 일부 실시형태에서, ITR(예컨대, 3' ITR)은 서열번호 20에 따른 서열을 가질 수 있다. 일부 실시형태에서, ITR(예컨대, 3' ITR)은 서열번호 22에 따른 서열을 가질 수 있다.

[0185] 5' AAV ITR 서열의 비제한적인 예는 서열번호 15, 17, 20 또는 21이다. 3' AAV ITR 서열의 비제한적인 예는 서열번호 16, 18, 20 또는 22이다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 rAAV 작제물은 5' AAV ITR 및/또는 3' AAV ITR을 포함한다. 일부 실시형태에서, ITR(예컨대, 5' ITR)은 서열번호 17에 따른 서열을 가질 수 있다. 일부 실시형태에서, 5' AAV ITR 서열은 서열번호 20에 따른 서열을 가질 수 있다. 일부 실시형태에서, 5' AAV ITR 서열은 서열번호 21에 따른 서열을 가질 수 있다. 일부 실시형태에서, 3' AAV ITR 서열은 서열번호 16이다. 일부 실시형태에서, 3' AAV ITR 서열은 서열번호 18이다. 일부 실시형태에서, 3' AAV ITR 서열은 서열번호 20이다. 일부 실시형태에서, 3' AAV ITR 서열은 서열번호 22이다. 일부 실시형태에서, 5' 및 3' AAV ITR(예컨대, 서열번호 15, 17 또는 21, 또는 16, 18, 20 또는 22)은 코딩 서열의 일부, 예컨대, CLRN1 유전자(예컨대, 서열번호 1, 2, 3, 또는 4)의 일부 또는 전부에 축적한다. 이들 ITR 서열을 변형시키는 능력은 당업계의 기술 이내이다. (예컨대, 문헌[Sambrook et al. "Molecular Cloning. A Laboratory Manual", 2d ed., Cold Spring Harbor Laboratory, New York (1989); 및 K. Fisher et al., J Virol., 70:520 532 (1996)]과 같은 텍스트 참조, 이들 각각은 전문이 본 명세서에 참조에 의해 인용됨). 일부 실시형태에서, 5' ITR 서열은 서열번호 15, 17, 20 또는 21로 표시되는 5' ITR 서열과 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99% 동일하다. 일부 실시형태에서, 3' ITR 서열은 서열번호 16, 18, 20 또는 22로 표시되는 3' ITR 서열과 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99% 동일하다.

[0186] 예시적인 5' AAV ITR(서열번호 15)

```
TTGGCCACTCCCTCTCTGCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGGCCGCCGGGCAAGCCCGGGCGTC
GGGCGACCTTTGGTCGCCCCGGCCTCAGTGAGCGAGCGAGCGCGCAGAGAGGGAGTGGCCAATC
CATCACTAGGGGTTCTT
```

[0188] 예시적인 3' AAV ITR(서열번호 16)

```
AGGAACCCCTAGTGATGGAGTTGGCCACTCCCTCTCTGCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGGCCGG
GCGACCAAAGGTGCGCCGACGCCCGGGCTTTGCCCGGGCGGCCTCAGTGAGCGAGCGAGCGCGC
AGAGAGGGAGTGGCCAA
```

[0190] 예시적인 5' AAV ITR(서열번호 17)

```
CTGCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGGCCGCCGGGCGTCGGGCGACCTTTGGTCGCCCCGGCCTCA
GTGAGCGAGCGAGCGCGCAGAGAGGGAGTGGCCAATCCATCACTAGGGGTTCTT
```

[0192] 예시적인 3' AAV ITR(서열번호 18)

AGGAACCCCTAGTGATGGAGTTGGCCACTCCCTCTCTGCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGGCCGG
GCGACCAAAGGTCGCCCCGACGCCCGGGCTTTGCCCGGGCGGCCTCAGTGAGCGAGCGAGCGCGC
AG

[0193]

[0194] 예시적인 5' AAV ITR(서열번호 20)

CTGCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGGCCGCCCGGGCAAAGCCCGGGCGTCGGGCGACCTTTGGTC
GCCCGGCCTCAGTGAGCGAGCGAGCGCGCAGAGAGGGAGTGGCCAACTCCATCACTAGGGGTTTC
CT

[0195]

[0196] 예시적인 5' AAV ITR(서열번호 21)

TTGGCCACTCCCTCTCTGCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGGCCGGGCGACCAAAGGTCGCCCCGAC
GCCCGGGCTTTGCCCGGGCGGCCTCAGTGAGCGAGCGAGCGCGCAGAGAGGGAGTGGCCAACTC
CATCACTAGGGGTTTCCT

[0197]

[0198] 예시적인 3' AAV ITR(서열번호 22)

AGGAACCCCTAGTGATGGAGTTGGCCACTCCCTCTCTGCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGGCCGC
CCGGGCAAAGCCCGGGCGTCGGGCGACCTTTGGTCGCCCGGCCTCAGTGAGCGAGCGAGCGCGC
AGAGAGGGAGTGGCCAA

[0199]

[0200] 프로모터

[0201]

일부 실시형태에서, 작제물(예컨대, rAAV 작제물)은 프로모터를 포함한다. 용어 "프로모터"는 작동 가능하게 연결된 유전자(예컨대, CLRN1 유전자)의 전사를 촉진 및/또는 개시시킬 수 있는 효소/단백질에 의해 인식된 DNA 서열을 지칭한다. 예를 들어, 프로모터는 전형적으로, 예컨대, RNA 폴리머라제 및/또는 임의의 연관된 인자가 결합하여 전사를 개시할 수 있는 뉴클레오타이드 서열을 지칭한다. 따라서, 일부 실시형태에서, 작제물(예컨대, rAAV 작제물)은 본 명세서에 기재된 비제한적인 예시적인 프로모터들 중 하나에 작동 가능하게 연결된 프로모터를 포함한다.

[0202]

일부 실시형태에서, 프로모터는 유도성 프로모터, 구성적 프로모터, 포유동물 세포 프로모터, 바이러스 프로모터, 키메라 프로모터, 조작된 프로모터, 조직-특이적 프로모터, 또는 당업계에 공지된 임의의 기타 유형의 프로모터이다. 일부 실시형태에서, 프로모터는 RNA 폴리머라제 II 프로모터, 예컨대, 포유동물 RNA 폴리머라제 II 프로모터. 일부 실시형태에서, 프로모터는 HI 프로모터, 인간 U6 프로모터, 마우스 U6 프로모터, 또는 돼지 U6 프로모터를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 RNA 폴리머라제 III 프로모터이다. 프로모터는 일반적으로 내이 세포에서 전사를 촉진시킬 수 있는 것일 것이다. 일부 실시형태에서, 프로모터는 달팽이관-특이적 프로모터 또는 달팽이관-배향 프로모터이다. 일부 실시형태에서, 프로모터는 유모세포 특이적 프로모터, 또는 지지세포 특이적 프로모터이다.

[0203]

본 명세서에서 사용될 수 있는 다양한 프로모터가 당업계에 공지되어 있다. 본 명세서에서 사용될 수 있는 프로모터의 비제한적인 예는 인간 EF1 α , 인간 사이토메갈로바이러스(CMV)(전문이 본 명세서에 참조에 의해 인용되는 미국 특허 제5,168,062호), 인간 유비퀴틴 C(UBC), 마우스 포스포글리세레이트 키나제 1, 폴리오마 아데노바이러스, 시미안 바이러스 40(SV40), β -글로빈, β -액틴, α -태아단백질, γ -글로빈, β -인터페론, γ -글루타밀 트랜스퍼라제, 마우스 유선 종양 바이러스(MMTV), 라우스 육종 바이러스, 래트 인슐린, 글리세르알데하이드-3-포스페이트 데하이드로게나제, 메탈로티오네인 II(MT II), 아밀라제, 카텝신, MI 무스카린 수용체, 레트로바이러스 LTR(예컨대, 인간 T-세포 백혈병 바이러스 HTLV), AAV ITR, 인터류킨-2, 콜라게나제, 혈소판-유래 성장 인자, 아데노바이러스 5 E2, 스트로멜리신, 뮤린 MX 유전자, 글루코스 조절 단백질(GRP78 및 GRP94), α -2-마크로글로불린, 비멘틴, MHC 부류 I 유전자 H-2 k b, HSP70, 프롤리페린, 종양 괴사 인자, 갑상선 자극 호르몬 α 유전자, 면역글로불린 경쇄, T-세포 수용체, HLA DQ α 및 DQ, 인터류킨-2 수용체, MHC 부류 II, MHC 부류 II HLA-DRA, 근육 크레아틴 키나제, 프레알부민(트랜스타이레틴), 엘라스타제 I, 알부민 유전자, c-fos, c-HA-ras, 신경 세포 부착 분자(NCAM), H2B(TH2B) 히스톤, 래트 성장 호르몬, 인간 혈청 아밀로이드(SAA), 트로포닌 I(TNI), 뒤센 근육 영양장애, 인간 면역결핍 바이러스 및 긴팔원숭이 백혈병 바이러스(GALV) 프로모터를 포함한다. 프로모터의 추가의 예는 당업계에 공지되어 있다. 예컨대, 문헌[Lodish, Molecular Cell Biology, Freeman and

Company, New York 2007]을 참조하며, 이는 전문이 본 명세서에 참조에 의해 원용된다. 일부 실시형태에서, 프로모터는 CMV 급초기 프로모터이다. 일부 실시형태에서, 프로모터는 CAG 프로모터 또는 CAG/CBA 프로모터이다. 일부 실시형태에서, 프로모터는 서열번호 14를 포함하거나 이로 이루어진다. 일부 실시형태에서, 프로모터는 서열번호 15를 포함하거나 이로 이루어진다. 소정의 실시형태에서, 프로모터는 서열번호 16으로 예시되는 CMV/CBA 인핸서/프로모터 작제물을 포함한다. 소정의 실시형태에서, 프로모터는 서열번호 17로 예시된 CMV/CBA 인핸서/프로모터 작제물을 포함한다. 소정의 실시형태에서, 프로모터는 서열번호 43으로 예시된 CAG 프로모터 또는 CMV/CBA/SV-40 인핸서/프로모터 작제물을 포함한다. 소정의 실시형태에서, 프로모터는 서열번호 44로 예시된 CAG 프로모터 또는 CMV/CBA/SV-40 인핸서/프로모터 작제물을 포함한다. 일부 실시형태에서, 프로모터 서열은 서열번호 14 또는 15로 표시된 프로모터 서열과 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99% 동일하다. 일부 실시형태에서, 인핸서-프로모터 서열은 서열번호 16, 17, 43 또는 44로 표시된 인핸서-프로모터 서열과 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99% 동일하다.

[0204] 용어 "구성적" 프로모터는 단백질(예컨대, 클라린 1 단백질)을 인코딩하는 핵산과 작동 가능하게 연결될 때, 대부분 또는 모든 생리적 조건 하에서 세포에서 핵산으로부터 RNA가 전사되도록 하는 뉴클레오타이드 서열을 지칭한다.

[0205] 구성적 프로모터의 예는, 제한 없이, 레트로바이러스 라우스 육종 바이러스(RSV) LTR 프로모터, 사이토메갈로바이러스(CMV) 프로모터(예컨대, 문헌[Boshart et al, 세포 41:521-530, 1985] 참조, 이는 참조에 의해 본 명세서에 전문이 원용됨), SV40 프로모터, 다이하이드로폴레이트 환원효소 프로모터, 베타-액틴 프로모터, 포스포글리세롤 키나제(PGK) 프로모터, 및 EF1-알파 프로모터(Invitrogen)를 포함한다.

[0206] 유도성 프로모터는 유전자 발현의 조절을 가능하게 하고, 외인적으로 공급된 화합물, 온도와 같은 환경적 요인, 또는 특정 생리학적 상태, 예를 들어 급성기, 세포의 특정 분화 상태의 존재에 의해, 또는 복제 중인 세포에서만 조절될 수 있다. 유도성 프로모터 및 유도성 시스템은, Invitrogen, Clontech 및 Ariad를 포함하지만, 이에 제한되지 않는 다양한 상업적 공급원으로부터 입수 가능하다. 유도성 프로모터의 추가의 예는 당업계에 공지되어 있다.

[0207] 외인적으로 공급된 화합물에 의해 조절되는 유도성 프로모터의 예는 아연-유도성 양 메탈로티오네인(MT) 프로모터, 텍사메타손(Dex)-유도성 마우스 유선 종양 바이러스(MMTV) 프로모터, T7 폴리머라제 프로모터 시스템(WO 98/10088, 이는 전문이 본 명세서에 참조에 의해 원용됨); 액티손 곤충 프로모터(예컨대, 문헌[No et al, Proc. Natl. Acad. Sci. US.A. 93:3346-3351, 1996] 참조, 이는 전문이 본 명세서에 참조에 의해 원용됨), 테트라사이클린-억제 시스템(예컨대, 문헌[Gossen et al, Proc. Natl. Acad. Sci. US.A. 89:5547-5551, 1992] 참조, 이는 전문이 본 명세서에 참조에 의해 원용됨), 테트라사이클린-유도성 시스템(예컨대, 문헌[Gossen et al, Science 268:1766-1769, 1995 및 [Harvey et al, Curr. Opin. Chem. Biol. 2:512-518, 1998] 참조, 이들의 각각은 전문이 본 명세서에 참조에 의해 원용됨), RU486-유도성 시스템(예컨대, 문헌[Wang et al, Nat. Biotech. 15:239-243, 1997 및 Wang et al, Gene Ther. 4:432-441, 1997] 참조, 이들의 각각은 전문이 본 명세서에 참조에 의해 원용됨), 및 라파마이신-유도성 시스템(예컨대, 문헌[Magari et al. J Clin. Invest. 100:2865-2872, 1997] 참조, 이는 전문이 본 명세서에 참조에 의해 원용됨)을 포함한다.

[0208] 용어 "조직-특이적" 프로모터는 소정의 특이적 세포 유형 및/또는 조직에서만 활성적인 프로모터를 지칭한다(예컨대, 특이적 유전자의 전사가 조직-특이적 프로모터에 결합하는 전사 조절 및/또는 제어 단백질을 발현하는 세포 내에서만 일어난다).

[0209] 일부 실시형태에서, 조절 및/또는 제어 서열은 조직-특이적 유전자 발현 능력을 부여한다. 일부 경우에, 조직-특이적 조절 및/또는 제어 서열은 조직-특이적 방식으로 전사를 유도하는 조직-특이적 전사 인자에 결합한다.

[0210] 일부 실시형태에서, 조직-특이적 프로모터는 달팽이관-특이적 프로모터이다. 일부 실시형태에서, 조직-특이적 프로모터는 달팽이관 유모세포-특이적 프로모터이다. 달팽이관 유모세포-특이적 프로모터의 비제한적인 예는 ATOH1 프로모터, POU4F3 프로모터, LHX3 프로모터, MYO7A 프로모터, MYO6 프로모터, α 9ACHR 프로모터 및 α 10ACHR 프로모터를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 일부 실시형태에서, 프로모터는 달팽이관 유모세포-특이적 프로모터, 예컨대, PRESTIN 프로모터 또는 ONCOMOD 프로모터이다. (예컨대, 문헌[Zheng et al., Nature 405:149-155, 2000; Tian et al. Dev. Dyn. 231: 199-203, 2004; 및 Ryan et al., Adv. Otorhinolaryngol. 66: 99-115, 2009] 참조, 이들 각각은 전문이 본 명세서에 참조에 의해 원용된다).

[0211] 일부 실시형태에서, 조직-특이적 프로모터는 귀 세포 특이적 프로모터이다. 일부 실시형태에서, 조직-특이적 프

로모터는 내이 세포 특이적 프로모터이다. 내이 비감각세포-특이적 프로모터의 비제한적인 예는 GJB2, GJB6, SLC26A4,TECTA, DFNA5, COCH, NDP, SYN1, GFAP, PLP, TAK1 또는 SOX21를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 일부 실시형태에서, 달팽이관 비감각세포 특이적 프로모터는 내이 지지세포 특이적 프로모터일 수 있다. 내이 지지세포 특이적 프로모터의 비제한적인 예는 SOX2, FGFR3, PROX1, GLAST1, LGR5, HES1, HES5, NOTCH1, JAG1, CDKN1A, CDKN1B, SOX10, P75, CD44, HEY2, LFNG 또는 S100b를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.

[0212] 일부 실시형태에서, 조직-특이적 프로모터는 안구 세포 특이적 프로모터이다. 안구 세포 특이적 프로모터의 비제한적인 예는 RPE65, RLBP1, VMD2, IRBP, GNAT2, PR1.7, PR2.1, HB569, CAR, GRK1, RK, B-PDE, GRM6, Nefh, Tyh1, SYN, GFAP, 또는 다른 옵신 또는 로돕신 프로모터를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 안구 세포 특이적 프로모터의 비제한적인 예 및 이러한 프로모터를 기술하는 예시적인 콘텐츠는 다음과 같다:

망막 유전자 요법에서의 프로모터		
RPE		
망막색소상피 65	RPE	Bainbridge et al., NEJM 2008, Bainbridge et al., NEJM 2015, 각각은 전문이 본 명세서에 참조에 의해 원용됨
레티날데하이드-결합단백질 1	RLBP1	Choi et al., Mol Ther Methods Clin Dev 2015, 전문이 본 명세서에 참조에 의해 원용됨
난환형 황반 이영양증	VMD2	Esumi et al, JBC 2004, 전문이 본 명세서에 참조에 의해 원용됨
광수용체		
광수용체간 레티노이드 결합 단백질	IRBP	Dyka et al., Adv Exp Med Biol 2014, 전문이 본 명세서에 참조에 의해 원용됨
트랜스듀신 알파-서브유닛	GNAT2	Dyka et al., Adv Exp Med Biol 2014, 전문이 본 명세서에 참조에 의해 원용됨
적색/녹색 옵신	PR1.7, PR2.1	Alexander et al. Nat Med 2007, Komaromy et al., Hum Mol Genet 2010, Ye et al., Hum Gene Ther 2016, 각각은 전문이 본 명세서에 참조에 의해

[0213]

		원용됨
S 옵신	HB569	Glushakova et al., Invest Ophthalmol Vis Sci 2006, 전문이 본 명세서에 참조에 의해 원용됨
원추체 어레스틴(Cone arrestin)	CAR	Dyka et al., Adv Exp Med Biol 2014, 전문이 본 명세서에 참조에 의해 원용됨
G-결합된 수용체 키나제 로돕신 키나제 프로모터	GRK1 RK	Beltran et al., Gene Ther 2010, 전문이 본 명세서에 참조에 의해 원용됨 Khani et al., Invest Ophthalmol Vis Sci 2007, 전문이 본 명세서에 참조에 의해 원용됨
GMP 포스포다이에스테라제 β -서브유닛	B-PDE	Ogueta et al., Invest Ophthalmol Vis Sci 2000, 전문이 본 명세서에 참조에 의해 원용됨
양극 세포		
글루타메이트 수용체 6	GRM6	Cronin et al., EMBO Mol Med 2014, van Wyk et al., PLoS Biol 2015, Hulliger et al., Mol Ther: Methods Clin Dev 2020, 각각은 전문이 본 명세서에 참조에 의해 원용됨
신경절 세포		
신경필라멘트 중질	Nefh	Hanlon et al., Front Neurosci 2017, 전문이 본 명세서에 참조에 의해 원용됨
Thy1 표면 항원	Tyh1	Alic et al., Neurosci Lett 2016, 전문이 본 명세서에 참조에 의해 원용됨
시냅신	SYN	Gaub et al., PNAS 2014, 전문이 본 명세서에 참조에 의해 원용됨
물리 세포		
아교세포 섬유산성 단백질	GFAP	Kuzmanovic et al., Invest Ophthalmol Vis Sci 2003, 전문이 본 명세서에 참조에 의해 원용됨

[0214]

[0215]

일부 실시형태에서, 제공된 AAV 작제물은 CAG, CBA, CMV 또는 CB7 프로모터로부터 선택된 프로모터 서열을 포함한다. 본 명세서에 기재된 임의의 치료용 조성물의 일부 실시형태에서, 제1 또는 단독 AAV 작제물은 달팽이관 및/또는 내이 특이적 프로모터로부터 선택된 적어도 하나의 프로모터 서열을 더 포함한다.

[0216]

소정의 실시형태에서, 프로모터는 서열번호 23에 제시된 바와 같은 CBA 프로모터이다. 일부 실시형태에서, 인헨서-프로모터 서열은 서열번호 23으로 표시된 인헨서-프로모터 서열과 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99% 동일하다.

[0217]

예시적인 CBA 프로모터(서열번호 23)

```

GTCGAGGTGAGCCCCACGTTCTGCTTCACTCTCCCCATCTCCCCCCCCTCCCCACCCCCAATTT
TGTATTTATTTATTTTAAATTATTTTGTGCAGCGATGGGGCGGGGGGGGGGGGGGGCGCGC
GCCAGGCGGGGCGGGGCGGGGCGAGGGCGGGGCGGGGCGAGGCGGAGAGGTGCGGCGGCAGCC
AATCAGAGCGGCGCGCTCCGAAAGTTTCTTTTATGGCGAGGCGGGCGGCGGCGGCGGCCCTATA
AAAAGCGAAGCGCGCGGGCGG

```

[0218]

[0219] 예시적인 CBA 프로모터(서열번호 24)

GTCTGAGGTGAGCCCCACGTTCTGCTTCACTCTCCCCATCTCCCCCCCCCTCCCCACCCCCAATTT
TGTATTTATTTATTTTAAATTATTTTGTGCAGCGATGGGGGCGGGGGGGGGGGGGCGCGCGC
CAGGCGGGGCGGGGCGGGGCGAGGGGCGGGGCGGGGCGAGGCGGAGAGGTGCGGCGGCAGCCAA
TCAGAGCGGCGCGCTCCGAAAGTTTCCTTTTATGGCGAGGCGGCGGCGGCGGCGGCCCTATAAA
AAGCGAAGCGCGCGGGGCG

[0220]

[0221] 소정의 실시형태에서, 프로모터는 서열번호 25에 제시된 바와 같은 CMV/CBA 인핸서/프로모터이다. 일부 실시형태에서, 인핸서-프로모터 서열은 서열번호 25로 표시된 인핸서-프로모터 서열과 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99% 동일하다.

[0222] 예시적인 CMV/CBA 인핸서/프로모터(서열번호 25)

GACATTGATTATTGACTAGTTATTAATAGTAATCAATTACGGGGTCATTAGTTCATAGCCCATA
TATGGAGTTCCGCGTTACATAACTTACGGTAAATGGCCCGCCTGGCTGACCGCCCAACGACCCC
CGCCCATTTGACGTCAATAATGACGTATGTTCCCATAGTAACGCCAATAGGGACTTTCCATTGAC
GTCAATGGGTGGACTATTTACGGTAAACTGCCCACTTGGCAGTACATCAAGTGTATCATATGCC
AAGTACGCCCCCTATTGACGTCAATGACGGTAAATGGCCCGCCTGGCATTATGCCAGTACATG
ACCTTATGGGACTTTTCCTACTTGGCAGTACATCTACGTATTAGTCATCGCTATTACCATGGGTC

[0223]

GAGGTGAGCCCCACGTTCTGCTTCACTCTCCCCATCTCCCCCCCCCTCCCCACCCCCAATTTTGT
ATTTATTTATTTTAAATTATTTTGTGCAGCGATGGGGGCGGGGGGGGGGGGGGGCGCGCGCC
AGGCGGGGCGGGGCGGGGCGAGGGGCGGGGCGGGGCGAGGCGGAGAGGTGCGGCGGCAGCCAA
CAGAGCGGCGCGCTCCGAAAGTTTCCTTTTATGGCGAGGCGGCGGCGGCGGCCCTATAAAA
AGCGAAGCGCGCGGGGCG

[0224]

[0225] 예시적인 CMV/CBA 인핸서/프로모터(서열번호 26)

GACATTGATTATTGACTAGTTATTAATAGTAATCAATTACGGGGTCATTAGTTCATAGCCCATA
TATGGAGTTCCGCGTTACATAACTTACGGTAAATGGCCCGCCTGGCTGACCGCCCAACGACCCC
CGCCCATTTGACGTCAATAATGACGTATGTTCCCATAGTAACGCCAATAGGGACTTTCCATTGAC
GTCAATGGGTGGACTATTTACGGTAAACTGCCCACTTGGCAGTACATCAAGTGTATCATATGCC
AAGTACGCCCCCTATTGACGTCAATGACGGTAAATGGCCCGCCTGGCATTATGCCAGTACATG
ACCTTATGGGACTTTTCCTACTTGGCAGTACATCTACGTATTAGTCATCGCTATTACCATGGGTC
GAGGTGAGCCCCACGTTCTGCTTCACTCTCCCCATCTCCCCCCCCCTCCCCACCCCCAATTTTGT
ATTTATTTATTTTAAATTATTTTGTGCAGCGATGGGGGCGGGGGGGGGGGGGGGCGCGCGCCAG
GCGGGGCGGGGCGGGGCGAGGGGCGGGGCGGGGCGAGGCGGAGAGGTGCGGCGGCAGCCAAATCA
GAGCGGCGCGCTCCGAAAGTTTCCTTTTATGGCGAGGCGGCGGCGGCGGCGGCCCTATAAAAAG
CGAAGCGCGCGGGGCG

[0226]

[0227]

예시적인 CAG 인핸서/프로모터(서열번호 27)

GACATTGATTATTGACTAGTTATTAATAGTAATCAATTACGGGGTCATTAGTTCATAGCCCATA
TATGGAGTTCGCCGTTACATAACTTACGGTAAATGGCCCGCCTGGCTGACCGCCCAACGACCCC
CGCCCATTGACGTCAATAATGACGTATGTTCCCATAGTAACGCCAATAGGGACTTTCATTGAC
GTCAATGGGTGGACTATTTACGGTAACTGCCCACTTGGCAGTACATCAAGTGTATCATATGCC
AAGTACGCCCCCTATTGACGTCAATGACGGTAAATGGCCCGCCTGGCATTATGCCAGTACATG
ACCTTATGGGACTTTCCTACTTGGCAGTACATCTACGTATTAGTCATCGCTATTACCATGGGTC
GAGGTGAGCCCCACGTTCTGCTTCACTCTCCCCATCTCCCCCCCCCTCCCCACCCCAATTTTGT
ATTTATTTATTTTAAATTATTTTGTGCAGCGATGGGGGCGGGGGGGGGGGGGGGCGCGGCC
AGGCGGGGCGGGGCGGGGCGAGGGGCGGGGCGGGGCGAGGCGGAGAGGTGCGGCGGCAGCCAAT
CAGAGCGGCGGCTCCGAAAGTTTCCTTTTATGGCGAGGCGGCGGGCGGCGGCCCTATAAAA
AGCGAAGCGCGGGCGGGGCGGGAGTCGCTGCGTTGCCTTCGCCCCGTGCCCCGTCCGCGCCGC
CTCGCGCGCCCCCGGGCTCTGACTGACCGCGTTACTCCACAGGTGAGCGGGCGGGACGGC

[0228]

CCTTCTCCTCCGGGCTGTAATTAGCGCTTGGTTTAAATGACGGCTCGTTTCTTTCTGTGGCTGC
GTGAAAGCCTTAAAGGGCTCCGGGAGGGCCCTTTGTGCGGGGGGAGCGGCTCGGGGGGTGCGT
GCGTGTGTGTGCGTGGGGAGCGCCGCGTGCGGCCCGCGCTGCCCGGCGGCTGTGAGCGCTGC
GGGCGGCGCGGGGCTTTGTGCGCTCCGCGTGTGCGCGAGGGGAGCGCGCCGGGGCGGTGC
CCCGCGGTGCGGGGGGGCTGCGAGGGGAACAAAGGCTGCGTGCGGGTGTGTGCGTGGGGGGT
GAGCAGGGGGTGTGGGCGCGGCGGTTCGGGCTGTAACCCCCCTGCACCCCCCTCCCGAGTTG
CTGAGCACGGCCCCGGCTTCGGGTGCGGGGCTCCGTGCGGGGCGTGGCGCGGGGCTCGCCGTGCC
GGGCGGGGGGTGGCGGCAGGTGGGGGTGCGGGGCGGGGCGGGGCCGCTCGGGCGGGGAGGGC
TCGGGGGAGGGGCGCGGCGGCCCCGAGCGCCGGCGGCTGTGAGGCGGCGGAGCCGCAGCC
ATTGCCTTTTATGGTAATCGTGCGAGAGGGCGCAGGGACTTCCTTTGTCCCAAATCTGTGCGGA
GCCGAAATCTGGGAGGCGCCGCCGACCCCCCTAGCGGGCGCGGGGGAAGCGGTGCGGCGCC
GGCAGGAAGGAAATGGGCGGGGAGGGCCTTCGTGCGTGC CGCGCGCCGCTCCCTTCTCCCTC
TCCAGCCTCGGGGCTGTCCGCGGGGGGACGGCTGCCTTCGGGGGGGACGGGCGAGGCGGGGT
CGGCTTCTGCGGTGTGACCGCGGCTCTAGAGCCTCTGCTAACCATGTTTCATGCCTTCTTCTTT
TTCCTACAG

[0229]

[0230]

예시적인 CAG 인핸서/프로모터(서열번호 28)

GACATTGATTATTGACTAGTTATTAATAGTAATCAATTACGGGGTCATTAGTTCATAGCCCATA
TATGGAGTTCGCCGTTACATAACTTACGGTAAATGGCCCGCCTGGCTGACCGCCCAACGACCCC
CGCCCATTGACGTCAATAATGACGTATGTTCCCATAGTAACGCCAATAGGGACTTTCATTGAC
GTCAATGGGTGGACTATTTACGGTAACTGCCCACTTGGCAGTACATCAAGTGTATCATATGCC
AAGTACGCCCCCTATTGACGTCAATGACGGTAAATGGCCCGCCTGGCATTATGCCAGTACATG
ACCTTATGGGACTTTCCTACTTGGCAGTACATCTACGTATTAGTCATCGCTATTACCATGGGTC
GAGGTGAGCCCCACGTTCTGCTTCACTCTCCCCATCTCCCCCCCCCTCCCCACCCCAATTTTGT
ATTTATTTATTTTAAATTATTTTGTGCAGCGATGGGGGCGGGGGGGGGGGGGGGCGCGCCAG
GCGGGGCGGGGCGGGGCGAGGGGCGGGGCGGGGCGAGGCGGAGAGGTGCGGCGGCAGCCAATCA
GAGCGGCGGCTCCGAAAGTTTCCTTTTATGGCGAGGCGGCGGCGGCGGCGGCCCTATAAAAAG
CGAAGCGCGCGGCGGGGCGGGAGTCGCTGCGTTGCCTTCGCCCCGTGCCCCGTCCGCGCCGCT
CGCGCCGCCCGCCCCGGCTCTGACTGACCGCGTTACTCCACAGGTGAGCGGGCGGGACGGCCC
TTCTCCTCCGGGCTGTAATTAGCGCTTGGTTTAAATGACGGCTCGTTTCTTTTCTGTGGCTGCGT
GAAAGCCTTAAAGGGCTCCGGGAGGGCCCTTTGTGCGGGGGGAGCGGCTCGGGGGGTGCGTGC
GTGTGTGTGCGTGGGGAGCGCCGCGTGC GGCCCGCGCTGCCCGGCGGCTGTGAGCGCTGCGG

[0231]

GCGCGGCGCGGGGCTTTGTGCGCTCCGCGTGTGCGCGAGGGGAGCGCGGCCGGGGGCGGTGCCCG
CGCGGTGCGGGGGGGCTGCGAGGGGAACAAAGGCTGCGTGCGGGGTGTGTGCGTGGGGGGTGA
GCAGGGGGTGTGGGCGCGGCGGTGCGGGCTGTAAACCCCCCTGCACCCCCCTCCCGAGTTGCT
GAGCACGGCCCCGGCTTCGGGTGCGGGGCTCCGTGCGGGGCGTGGCGCGGGGCTCGCCGTGCCGG
GCGGGGGGTGGCGGCAGGTGGGGGTGCCGGGCGGGGCGGGGCCCTCGGGCCGGGAGGGCTC
GGGGGAGGGGCGCGGCGGCCCCGAGCGCCGGCGGCTGTGAGGCGCGGCGAGCCGAGCCAT
TGCCTTTTATGGTAATCGTGCGAGAGGGGCGCAGGGAATTCTTTGTCCCAAATCTGTGCGGAGC
CGAAATCTGGGAGGCGCCGCCGACCCCCCTCTAGCGGGCGCGGGGCGAAGCGGTGCGGCGCCGG
CAGGAAGGAAATGGGCGGGGAGGGCCTTCGTGCGTCGCCGCGCGCGTCCCTTCTCCCTCTC
CAGCCTCGGGGCTGTCCGCGGGGGACGGCTGCCTTCGGGGGGACGGGGCAGGGCGGGGTTTCG
GCTTCTGGCGTGTGACCGGCGGCTCTAGAGCCTCTGCTAACCATGTTTCATGCCTTCTTCTTTT
CCTACAG

[0232]

[0233]

소정의 실시형태에서, 프로모터는 서열번호 29에 제시된 바와 같은 내인성 인간 ATOH1 인핸서-프로모터이다. 일부 실시형태에서, 인핸서-프로모터 서열은 서열번호 29로 표시된 인핸서-프로모터 서열과 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99% 동일하다.

[0234]

예시적인 인간 ATOH1 인핸서-프로모터(서열번호 29)

CTATGGAGTTTGCATAACAAACGTTTGGCAGCTCGCTCTCTTACACTCCATTAACAAGCTGTAA
CATATAGCTGCAGGTGCTATAATCTCATTAAATTTTGGAAACTTGAATATTGAGTATTTCTG
AGTGCTCATTCCCATATGCCAGCCACTTCTGCCATGCTGACTGGTTCTTTCTCTCCATTATT
AGCAATTAGCTTCTTACCTTCCAAAGTCAGATCCAAGGTATCCAAGATACTAGCAAAGGAATCA
ACTATGTGTGCAAGTTAAGCATGCTTAATATCACCCAAACAAACAAAGAGGCAGCATTTCTTAA
AGTAATGAAGATAGATAAATCGGGTTAGTCCTTTGCGACACTGCTGGTGCTTTCTAGAGTTTAA
TATATTTTAAGCAGCTTGCTTTATATTTGTGCTTTTGCTCCACCCACCAGCACTTTTATTTG
TGGAGGGTTTTGGCTCGCCACACTTTGGGAACTTATTTGATTTACGGAGAGCTGAAGGAAGA
TCATTTTTGGCAACAGACAAGTTTAAACACGATTTCTATGGGACATTGCTAACTGGGGCCCCTA
AGGAGAAAGGGGAACTGAGCGGAGAATGGGTAAATCCTTGAAGCAGGGGAGAGGCAGGGGA
GGAGAGAAGTCGGAGGAGTATAAAGAAAAGGACAGGAACCAAGAAGCGTGGGGGTGGTTTGCCG
TAATGTGAGTGTTTCTTAATTAGAGAACGGTTGACAATAGAGGGTCTGGCAGAGGCTCCTGGCC
GCGGTGCGGAGCGTCTGGAGCGGAGCACGCGCTGTCAGCTGGTGAGCGCACTCTCCTTTTCAGGC
AGCTCCCCGGGGAGCTGTGCGGCCACATTTAACACCATCATCACCCCTCCCCGGCCTCCTCAAC

[0235]

CTCGGCCTCCTCCTCGTCGACAGCCTTCTTTGGCCCCCACCAGCAGAGCTCACAGTAGCGAGCG
TCTCTCGCCGTCTCCCGCACTCGGCCGGGGCCTCTCTCTCCCCAGCTGCGCAGCGGGAGCCG
CCACTGCCCACTGCACCTCCAGCAACCAGCCAGCACGCAAGAAGCTGCGCAAAGTTAAAGC
CAAGCAATGCCAAGGGGAGGGGAAGCTGGAGGCGGGCTTTGAGTGGCTTCTGGGCGCCTGGCGG
GTCCAGAATCGCCAGAGCCGCCCGCGTGTGACATCTGACCCGAGTCAGCTTGGGCACCAG
CCGAGAGCCGGCTCCGCACCGCTCCCGACCCAGCCCGGGGTGGTGACACACACCGGAGTC
GAATTACAGCCCTGCAATTAACATATGAATCTGACGAATTTAAAGAAAGGAAAAAAAAAAAAA
ACCTGAGCAGGCTTGGGAGTCCTCTGCACACAAGAACTTTTCTCGGGGTGTAAAACTCTTTGA
TTGGCTGCTCGCACGCGCCTGCCCGCGCCTCCATTGGCTGAGAAGACACGCGACCGGCGCGAG
GAGGGGTTGGGAGAGGAGCGGGGGAGACTGAGTGGCGCGTGCCGCTTTTTAAAGGGGCGCAG
CGCCTTCAGCAACCGGAGAAGCATAGTTGCACGCGACCTGGTGTGTGATCTCCGAGTGGGTGGG
GGAGGGTCGAGGAGGGAATAAGACGTTGCAGAAGAGACCCGAAAGGGCCTTTTTTT
TGGTTGAGCTGGTGTCCCAGTGCTGCCTCCGATCCTGAGCCTCCGAGCCTTTGCAGTGCAA

[0236]

[0237]

소정의 실시형태에서, 프로모터는 서열번호 30 또는 31에 제시된 바와 같은 내인성 인간 SLC26A4 급(immediate) 프로모터이다. 소정의 실시형태에서, 프로모터는 서열번호 32, 33 또는 34에 제시된 바와 같은 내인성 인간 SLC26A4 인핸서-프로모터이다. 일부 실시형태에서, 인핸서-프로모터 서열은 서열번호 30, 31, 32, 33 또는 34로

표시된 프로모터 또는 인핸서-프로모터 서열과 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99% 동일하다. 소정의 실시형태에서, 프로모터는 서열번호 32, 33 또는 34 내에 포함된 인간 SLC26A4 내인성 인핸서-프로모터 서열이다.

[0238] 예시적인 인간 SLC26A4 급 프로모터(서열번호 30)

[0239] CTGCCTTCTGAGAGCGCTATAAAGGCAGCGGAAGGGTAGTCCGCGGGGCATTCCGGGCGG

[0240] 예시적인 인간 SLC26A4 급 프로모터(서열번호 31)

[0241] CTCTAGGCGGGCTCTGCTCTTCTTTAAGGAGTCCCACAGGGCCTGGCCCCGCCCTGACCT

[0242] 예시적인 인간 SLC26A4 인핸서-프로모터(서열번호 32)

[0243] TAAAGAGTTGTGAGTTGTGTAGGTGAGTTGCCATGGAGCTACAAATATGAGTTGATATTCTGAA
ATCCTAGACAGCCATCTCCAAGGTTAAGAAAAATCCTTATGCACTCACTTGCAAAGATATCCAC
AGCATGCTCTTAATGGAGAAAAACAAAGCCTTAGATCAAATATGTAAAGTAATTTTGTAGTTTTT
TGAAAAGGTATGTTTGGGCTATAGATAAATCTGTTCAAAAAACATGAGAGAAGATAATAATGGT

TGAAAGGAGACACAGTGCTTGCCCTCAAGAAGTTTTTGTCTAGTGAGGGAGAGAGAACTTGAT
GTAAATAAAATTGTGTACTAAGGTAGATAGTGAGAAGTAACTTAAGAGAGGATCAGATAAGGT
ATTAAGAGAATACAGAAAAGGCTCTGGATTAAATCTGAACAGCATCAAAGAATGTTCTTGCAAG
AGATAGTGTTTTACCAGATCTTGAAGGTATGGATGAGGGTATACAGAGTGAGTATATTGAGAT
TCTACTTTAAAACAAATACTTTCTCTGTTGTAGTGAGTTGAGCTATACATCCAACAATAATG
AAAAATACACGCATATATACATATATGGAGAGAGATACATATTTAGTACATGTAGCAATTGA
TTAATAAATGTACAGTTTAAAGTCGCATGCAAAACCTTGAGTGATAGCAAACCTTCATTGTAGGA
TGTTTAGCAGCATCTCTGGTCTCTACTCACTAGATCCCAATAGCATCTCCCTAGGTGTGACAAC
CAAAAATGTCTCCAGGCATTGACCTCTGGAGGCAAAAAAGCCCTTTATTAAGAACCAGTGGA
TACATAAGTAAACATACACAAGAGATTCCCTCCCTCTTCTGTATGTGAATAAAATTGCAA
AGTTCATGACCTGGATTTTCTTTTAGGTTTCTCTTTAGTGGTTCTTAACCTTCATTGGGTGAA
GTAAGCCTTTGAAGATCTGTTGAAAGCTGTTGACTCATTCACTTCTCAGGAAAACGCACATGCT
GACTACCATTTAGAGAATTTGCATCAGGGTTCTCTGGGGAGGAGTTCTGAGTTCTGTTTCCAG
GAGCTCGTAGAATTGTCATGGTCTGCATATGCAAGGCAGGTGGATTACGGAAGGTTGATGTACA
GAGGTCTGTATTTTGAGCCTCTTCTGTATTTACTTCAGAACACTAACAATCAGGCGAGAATGT
TCTGGTTTATCAAACCCTTCCTTCTGCCTTTCATCTTAACCATGCATTAGTTTTAACAAAGTTC
ATCCCAACAGAAGACAAAACACTGATGAGGTAGGATAGCTCCAGCTCCTCCTCCTCTCTTCTA
GTCTTGATTTCCATGTAGTCCAGTTTATTCCTTCCCTGATTGTCCAGGAGAATGAGAAAAAGAA
AAAACAGAGTCTAGTGGGTAAGAAAGGGCCACCTGGACGGCTTGATTTGGATTGTGAAATAAAA
CACACACACATGCACACGTAGAATAAGTGGCTAAAATCTGAGTAAATCGTGAACCTCTCTGTATC
CTCCACCCATTGAATACTCCTAAAAGACTTTCTAGAAATTCAGGACTTATTAATATAGAAACC
TGGCCATTGTTCTCTCTCTCCTCCCATGTGGTATGAGAGCACCTGTGGCAGGCTCCAGAGAC
CACGGACCTCTTCTCTAGGCGGGCTCTGCTCTTCTTTAAGGAGTCCCACAGGGCCTGGCCCGC
CCCTGACCTCGCAACCCTTGAGATTAGTAACGGGATGAGTGAGGATCCGGGTGGCCCTGCGTG
GCAGCCAGTAAGAGTCTCAGCCTTCCCGGTTCCGGAAAGGGGAAGAATGCAGGAGGGGTAGGAT
TTCTTTCTGATAGGATCGGTTGGGAAAGACCGCAGCCTGTGTGTGTCTTTCCCTTCGACCAAG
GTGTCTGTTGCTCCGTAAATAAAACGTCCCACTGCCTTCTGAGAGCGCTATAAAGGCAGCGGAA
GGGTAGTCCGCGGGGC

[0244]

[0245] 예시적인 인간 SLC26A4 인핸서-프로모터(서열번호 33)

[0246] GGCTGCTCGGAAAAAGGACGAGGGGAGAGACTTGCTCAATAAGCTGAAAGTTCTGCCCCGAG
AGGGCTGCGACAGCTGCTGGAATGTGCCTGCAGCGTCCGCCTCTTGGGGACCCGCGGAGCGCGC

CCTGACGGTTCCACGCCTGGCCCGGGGGTCTGCACCTCTCCTCCAGTGCGCACCTGGAGCTGCG
TCCCGGGTCAGGTGCGGGGAGGGAGGGAATCTCAGTGTCCCCTTCCAGCCTTGCAAGCGCCTTT
GGCCCTGCCCCAGCCCTCGGTTTGGGGGAGATTTAGAACGCGGACAGCGCCCTGGCTGCGG
GCCATAGGGGACTGGGTGGAACTCGGGAAGCCCCAGAGCAGGGGCTTACTCGCTTCAAGTTTG
GGGAACCCCGGGCAGCGGGTGCAGGCCACGAGACCCGAAGGTTCTCAGGTGCCCCCTGCAGGC
TGGCCGTGCGCGCCGTGGGGCGCTTGTGCGGAGCGCCGAGGGCTGCAGGACGCGGACCAGACTC
GCGGTGCAGGGGGGCTGGCTGCAGCTAACAGGTGATCCCGTTCTTTCTGTTCTCGCTCTTCC
CCTCCGATCGTCTCGCTTACCAGGTGTCTCCCTCCTCGCTGTCTCTGGCTCGCAGGTCATG
GCAGCGCCAGGCGGAGGTGCGGAGCCGCCGAGCTCCCGAGTACAGCTGCAGCTACATGGTGT
CGCGGCCGGTCTACAGCGAGCTCGCTTTCCAGCAACAGCACGAGCGGCGCCTGCAGGAGCGCAA
GACGTGCGGGAGAGCCTGGCCAAAGTGCTGCAGGTAGCGGCCGCGGGGCTGCGTAGAGAGAA
GCGGAGCGGGGCGTCCACGCCTTGGGGAGGGAAGGGCGTCCCAGCGGGCGAGAGTGGGGTGGG
GGCGGCGGAGCCCCTGGGCGCCAGCTGCTTCTCCAGAGGCCCGACTTTCGGTCTCCGGTCTC
CACGCCGCCCTTCTGGTGGGAGGGTGGCTCCATCAGTCTCGGGCCCGAAATGAACCTACCTGGG
AAACTCGCCTTTGGGGAGAGTGGGTCTTAGGAGCCCCGTCTCTCTTTTCTCTCTGAAGGAAA
CTTGAGTGCCTCTTGGGGTACAGTGGGTCCCTGTTGCCTTCTTGGGAGCTTGTTTAAATGAAA
TGAATAGGGAACCCAGCTCTTGACCAGGAGGAGTCTTGAACACTCAAGCTAAGTAGGCGGG
CTACCATTAGTTAGAGACCAGGATGCAAGCTAGAACCCAGGGGAGCGCGGGGTGTGCCAAGTA
CTTCATCAGCAGGCTGTGGGACCCCTGGGGAAAGCCACCCTCAGTCTCTAAACCCAAACATGCC
GTAAC TAGATGTCACAAACATAAAGAAATTAGAGTTTCTAAACCTTTTCATTATAG

[0247]

[0248]

예시적인 인간 SLC26A4 인핸서-프로모터(서열번호 34)

CGGAAGGTTGATGTACAGAGGTCTGTATTTTGAGCCTCTTCTGTATTTACTTCAGAACACTAA
CAATCAGGCGAGAATGTTCTGGTTTATCAAACCTTCTTCTGCCTTTTCATCTTAACCATGCAT
TAGTTTTAAACAAAGTTCATCCCAACAGAAGACAAAACACTGATGAGGTAGGATAGCTCCAGCTC
CTCCTCCCTCTCTTCTAGTCTTGATTTCCATGTAGTCCAGTTTATTCCTTCCCTGATTGTCCAG
GAGAATGAGAAAAAGAAAAACAGAGTCTAGTGGGTAAGAAAGGGCCACCTGGACGGCTTGATT
TGGATTGTGAAATAAAACACACACATGCACACGTAGAATAAGTGGCTAAAATCTGAGTAAAT
CGTGAACCTCTGTATCCTCCACCCATTGAATACTCCTAAAAGACTTTCTAGAAATTCAAGGAC
TTATTAATATAGAAACCTGGCCATTGTTCTCTTCTCTCCCATGTGGTATGAGAGCACCTGT
GGCAGGCTCCAGAGACCACGGACCTCTTCTCTAGGCGGGCTCTGCTCTCTTTAAGGAGTCC
CACAGGGCCTGGCCCGCCCTGACCTCGCAACCCCTGAGATTAGTAACGGGATGAGTGAGGATC

[0249]

CGGGTGGCCCTGCGTGGCAGCCAGTAAGAGTCTCAGCCTTCCCGGTTGCGGAAAGGGGAAGAA
TGCAGGAGGGGTAGGATTTCTTTCTGATAGGATCGGTTGGGAAAGACCGCAGCCTGTGTGTGT
CTTTCCCTTCGACCAAGGTGTCTGTGCTCCGTAAATAAAACGTCCCACTGCCTTCTGAGAGCG
CTATAAAGGCAGCGGAAGGGTAGTCCGCGGGGCATTCCGGGCGGGGCGCGAGCAGAGACAGGTG
AGTT

[0250]

[0251]

소정의 실시형태에서, 프로모터는 서열번호 35에 제시된 바와 같은 인간 LGR5 인핸서-프로모터이다. 일부 실시 형태에서, 인핸서-프로모터 서열은 서열번호 35로 표시된 인핸서-프로모터 서열과 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99% 동일하다. 일부 실시형태에서, 프로모터는 서열번호 35 내에 포함된 인간 LGR5 내인성 인핸서-프로모터 서열이다.

[0252] 예시적인 인간 LGR5 인핸서-프로모터(서열번호 35)

AGGGCTATTTGTACCTCAACGAGGGCTTCTCTCCAAGAAAGCCCTGAATCCTTTTCCTCCTTTT
TCCTGCAGATTCACTATAGGACACTTTTTGAAGCAAGAGCATGCATTTTCCCCCTGGCGCTCTG
CAGCGGTTCTCAGAGCCAGTGTCACTCACATAGGTGGGACTGCTCTCAGTTCAGAGAGCGCTG
GGACACTTAAGATGAAAAGTCCCTGGAAGTTAGCAAACAGCCATCTGTCACTCTGGCATCGATT
TACTAAAAGTGACTTCTAGGGTATTCTAAACCACTTTTAAAAAACAAATGAGTCACTTCGACTT
CCTCACCCCGCAAGAGATAGGAAGGCAGCAGTGGAGTGTCTCGCTCAGGAGCTGTATTTGTTTAG
CGATTAGCCTAGAGCTTTGATTTTAGGGCAAAAGCGAGCCAGACAGTGCAGCAGACGTAAGGAT
CAAAAAGGCCACCTATCATTCGCCGGGGACGCCTGCCTCCTTACCCTGATAACGTAACATATTTT
TCTGCATAGGATTTTAGTTTTTGTGTTTTTGTGTTTTTATTCTGTTTAATCACTTCAAGTAT
CTCATCCATTATTTGAAGCGGGCTCGGAGGAAACGTGCCGCATCCTCCAGTCCTTGTGCGTCTG
TTTAGGTCTCTCCGAAGCAGGTCCCTCTCGACTCTTAGATCTGGGTCTCCAGCACGCATGAAGG
GGTAAGGTGGGGGGTCCCCATTCCGGCGCGCGGCGTTGAGCACTGAATCTTCCAGGCGGAG
GCTCAGTGGGAGCGCCGAGAACTCGCCAGTACCGCGCGCTGCCTGCTGCCTGCCTCCCAGC
CCAGGACTTGGGAAAGGAGGGAGGGGACAAGTGGAGGGAAAGTGGGGCCGGGCGGGGGTGCCT
GGGAAGCCAGGCTGCGCTGACGTCACTGGGCGCGCAATTCGGGCTGGAGCGCTTTAAAAACGA
GCGTGCAAGCAGAGATGTCTGCCACACCGCTCAGGCCGCGAGCAGCAGCAAGGCGCACCGCCA
CTGTCCGCGCTGCGACCCAGGGCTGTCTCCGAAGGCCGCGTGGCGGCAACCGGCACCTCTGTCCC
CGCCGCGCTTCTCTCGCCGCCACGCCGTGGGGTCAAGAACGCGGCGTCTGGCGCTGCAGACG
CCCGTGTAGTTGCGAAGCCACGAGCGCGCGCCGCGGCCACGGCCCGTAGCAGTCCGGTG
CTGCTCTCCGCCCGCGTCCGGCTCGTGGCCCCCTACTTCGGGCACCGACCGGT

[0253]

[0254] 소정의 실시형태에서, 프로모터는 서열번호 36에 제시된 바와 같은 인간 SYN1 인핸서-프로모터이다. 일부 실시 형태에서, 인핸서-프로모터 서열은 서열번호 36으로 표시된 인핸서-프로모터 서열과 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99% 동일하다. 일부 실시형태에서, 프로모터는 서열번호 36 내에 포함된 인간 SYN1 내인성 인핸서-프로모터 서열이다.

[0255] 예시적인 인간 SYN1 인핸서-프로모터(서열번호 36)

TGCGTATGAGTGCAAGTGGGTTTTAGGACCAGGATGAGGCGGGTGGGGTGCCTACCTGACGA
CCGACCCCGACCCACTGGACAAGCACCCAAACCCCATTCCCCAAATTGCGCATCCCCATCAGA
GAGGGGGAGGGAAACAGGATGCGGCGAGGCGCGTGCCTGAGTCCAGCTTCAAGCAGCGCGACA
GTGCCTTCGCCCCCGCTGGCGGCGCGGCCACCGCCGCTCAGCACTGAAGGCGCGCTGACGT
CACTCGCCGGTCCCCCGCAAACCTCCCTTCCCGGCCACCTTGGTTCGCGTCCGCGCCGCGCGG
CCCAGCCGACCGCACACGCGAGGCGGAGATAGGGGGGCACGGGCGCGACCATCTGCGCTGC
GGCGCCGCGCACTCAGCGCTGCCTCAGTCTGCGGTGGGCAGCGGAGGATCGTGTCTGCTGCCTGA
GAGCGCAGTCGAGAA

[0256]

[0257] 소정의 실시형태에서, 프로모터는 서열번호 37에 제시된 바와 같은 인간 GFAP 인핸서-프로모터이다. 일부 실시 형태에서, 인핸서-프로모터 서열은 서열번호 37로 표시된 인핸서-프로모터 서열과 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99% 동일하다. 일부 실시형태에서, 프로모터는 서열번호 37 내에 포함된 인간 GFAP 내인성 인핸서-프로모터 서열이다.

[0258] 예시적인 인간 GFAP 인핸서-프로모터(서열번호 37)

CCCACCTCCCTCTCTGTGCTGGGACTCACAGAGGGAGACCTCAGGAGGCAGTCTGTCCATCACA
TGTCCAAATGCAGAGCATACCTTGGGCTGGGCGCAGTGGCGCACAACTGTAATTCCAGCACTTT
GGGAGGCTGATGTGAAGGATCACTTGAGCCCAGAAGTTCTAGACCAGCCTGGGCAACATGGCA
AGACCTATCTCTACAAAAAAGTTAAAAAATCAGCCACGTGTGGTGACACACACCTGTAGTCC
CAGCTATTCAGGAGGCTGAGGTGAGGGGATCACTTAAGGCTGGGAGGTTGAGGCTGCAGTGAGT
CGTGGTTGCGCCACTGCACTCCAGCCTGGGCAACAGTGAGACCCTGTCTCAAAAGACAAAAAA
AAAAAAAAAAAAAAAAAAGAACATATCCTGGTGTGGAGTAGGGGACGCTGCTCTGACAGAGGCTCG
GGGGCTGAGCTGGCTCTGTGAGCTGGGGAGGAGGCAGACAGCCAGGCCTTGTCTGCAAGCAGA
CCTGGCAGCATTGGGCTGGCCGCCCCCAGGGCCTCCTCTTCATGCCAGTGAATGACTCACCT
TGGCACAGACACAATGTTTCGGGTGGGCACAGTGCCTGCTTCCGCGCCACCCCAGCCCCCTC

[0259]

AAATGCCTTCCGAGAAGCCATTGAGCAGGGGGCTTGCAATTGCACCCAGCCTGACAGCCTGGC
ATCTTGGGATAAAAGCAGCACAGCCCCCTAGGGGCTGCCCTTGCTGTGTGGCGCCACCGGCGGT
GGAGAACAAGGCTCTATTGAGCCTGTGCCAGGAAAGGGGATCAGGGGATGCCAGGCATGGAC
AGTGGGTGGCAGGGGGGAGAGGAGGGCTGTCTGCTTCCCAGAACTCCAAGGACACAAATGGGT
GAGGGGACTGGGCAGGGTTCTGACCCTGTGGGACCAGAGTGGAGGGCTAGATGGACCTGAAGT
CTCCAGGGACAACAGGGCCCAGGTCTCAGGCTCCTAGTTGGGCCCAGTGGCTCCAGCGTTTCCA
AACCCTCCATCCCCAGAGGTTCCTCCCATCTCTCCAGGCTGATGTGTGGGAACTCGAGGAAAT
AAATCTCCAGTGGGAGACGGAGGGGTGGCCAGGGAAACGGGGCGCTGCAGGAATAAAGACGAGC
CAGCACAGCCAGCTCATGTGTAACGGCTTGTGGAGCTGTCAAGGCCTGGTCTCTGGGAGAGAG
GCACAGGGAGGCCAGACAAGGAAGGGGTGACCTGGAGGGACAGATCCAGGGGCTAAAGTCCTGA
TAAGGCAAGAGAGTGC CGGCCCCCTCTTGCCCTATCAGGACCTCCACTGCCACATAGAGGCCAT
GATTGACCCTTAGACAAAGGGCTGGTGTCCAATCCCAGCCCCAGCCCCAGAACTCCAGGGAAT
GAATGGGCAGAGAGCAGGAATGTGGGACATCTGTGTTCAAGGGAAGGACTCCAGGAGTCTGCTG
GGAATGAGGCCTAGTAGGAAATGAGGTGGCCCTTGAGGGTACAGAACAGGTTTCATTCTTCGCCA
AATTCACAGCACCTTGCAAGGCACCTTACAGCTGAGTGAGATAATGCCTGGGTTATGAAATCAAAA
AGTTGGAAAGCAGGTCAGAGGTCATCTGGTACAGCCCTTCCTTCCCTTTTTTTTTTTTTTTTTT
GTGAGACAAGGTCTCTCTCTGTTGCCAGGCTGGAGTGGCGCAACACAGCTCACTGCAGCCTC
AACCTACTGGGCTCAAGCAATCCTCCAGCCTCAGCCTCCCAAAGTGCTGGGATTACAAGCATGA
GCCACCCCACTCAGCCCTTTCCTTCCCTTTTAAATTGATGCATAATAATTGTAAGTATTCATCAT
GGTCCAACCAACCCTTCTTGACCCACCTTCCTAGAGAGAGGGTCCTCTTGCTTCAGCGGTGAG
GGCCCCAGACCATGGTCTGGCTCCAGGTACCACCTGCCTCATGCAGGAGTTGGCGTGCCAGG
AAGCTCTGCCTCTGGGCACAGTGACCTCAGTGGGTGAGGGGAGCTCTCCCATAGCTGGGCTG
CGGCCCAACCCACCCCTCAGGCTATGCCAGGGGTGTTGCCAGGGGACCCGGGCATCGCCA
GTCTAGCCCACTCCTTCATAAAGCCCTCGCATCCAGGAGCGAGCAGAGCCAGAGCAGGTTGGA
GAGGAGACGCATCACCTCCGCTGCTCGC

[0260]

[0261] 인핸서

[0262]

일부 경우에, 작제물은 인핸서 서열을 포함할 수 있다. 용어 "인핸서"는 관심 단백질(예컨대, 클라린 1 단백질을 인코딩하는 핵산의 전사 수준을 증가시킬 수 있는 뉴클레오타이드 서열을 지칭한다. 인핸서 서열(일반적으로 50 내지 1500 bp 길이)은 일반적으로 전사-연관 단백질(예컨대, 전사 인자)에 대해서 추가의 결합 부위를 제공함으로써 전사 수준을 증가시킨다. 일부 실시형태에서, 인핸서 서열은 인트론 서열 내에서 발견된다. 프로모터 서열과 달리, 인핸서 서열은 (예컨대, 프로모터와 비교해서) 전사 시작 부위로부터 떨어진 훨씬 더 큰 거리에서 작용할 수 있다. 인핸서의 비제한적인 예는 RSV 인핸서, CMV 인핸서 및/또는 SV40 인핸서를 포함한다. 일부 실시형태에서, 작제물은 서열번호 38에 의해 예시된 CMV 인핸서를 포함한다. 일부 실시형태에서, 인핸서 서열은 서열번호 38로 표시되는 인핸서 서열과 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99% 동일하다. 일부 실시형태에서, SV-40 유래 인핸서는 서열번호 39에 의해 예시되는 SV-40 T 인트론 서열이다. 일부 실시형태에서, 인핸서

서열은 서열번호 39로 표시되는 인헨서 서열과 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99% 동일하다.

[0263] 예시적인 CMV 인헨서(서열번호 38)

GACATTGATTATTGACTAGTTATTAATAGTAATCAATTACGGGGTCATTAGTTCATAGCCCATA
TATGGAGTTCGCGTTACATAACTTACGGTAAATGGCCCGCCTGGCTGACCGCCCAACGACCCC
CGCCCATGACGTCAATAATGACGTATGTTCCCATAGTAACGCCAATAGGGACTTTCATTGAC
GTCAATGGGTGGACTATTTACGGTAACTGCCCACTTGGCAGTACATCAAGTGTATCATATGCC
AAGTACGCCCCCTATTGACGTCAATGACGGTAAATGGCCCGCCTGGCATTATGCCAGTACATG
ACCTTATGGGACTTTCCTACTTGGCAGTACATCTACGTATTAGTCATCGCTATTACCATGG

[0264]

[0265] 예시적인 SV-40 합성 인트론(서열번호 39)

GGAGTCGCTGCGTTGCCTTCGCCCCGTGCCCCGCTCCGCGCCGCTCGCGCCGCCCGCCCCGGC
TCTGACTGACCGGTTACTCCACAGGTGAGCGGGCGGGACGGCCCTTCTCCTCCGGGCTGTAA
TTAGCGCTTGTTTAAATGACGGCTCGTTTCTTTCTGTGGCTGCGTGAAAGCCTTAAAGGGCTC
CGGGAGGGCCCTTGTGCGGGGGGAGCGGCTCGGGGGTGCCTGCGTGTGTGTGTGCGTGGGG
AGCGCCGCGTGCGGCCCGCGCTGCCCGCGGCTGTGAGCGCTGCGGGCGCGGCGCGGGGCTTTG
TGCGCTCCGCGTGTGCGCGAGGGGAGCGCGGCCGGGGCGGTGCCCCGCGGTGCGGGGGGCTG
CGAGGGGAACAAAGGCTGCGTGCGGGGTGTGTGCGTGGGGGGTGTGAGAGGGGTGTGGGCGCG
GCGGTGCGGGCTGTAAACCCCCCTGCACCCCCCTCCCGAGTTGCTGAGCACGGCCCGGCTTCG
GGTGCGGGGCTCCGTGCGGGCGTGGCGCGGGGCTCGCCGTGCGGGCGGGGGTGGCGGCAGG
TGGGGGTGCCGGGCGGGGCGGGGCCCTCGGGCCGGGAGGGCTCGGGGGAGGGGCGCGGCGG
CCCCCGAGCGCCGGCGGCTGTGAGGCGCGGCGAGCCGAGCCATTGCCTTTTATGGTAATCG
TGCGAGAGGGCGCAGGGACTTCCTTTGTCCCAATCTGTGCGGAGCCGAAATCTGGGAGGCGCC
GCCGACCCCCCTCTAGCGGGCGGGGGCGAAGCGGTGCGGCGCCGCGAGGAAGGAAATGGGCGG
GGAGGGCCTTCGTGCGTGCCTGCGCGCGCGCCGCTCCCTTCTCCCTCTCCAGCCTCGGGGCTGTCCG
CGGGGGGACGGCTGCCTTCGGGGGGGACGGGGCAGGGCGGGGTTCGGCTTCTGGCGTGTGACCG
GCGGCTCTAGAGCTCTGCTAACCATTGTCATGCCTTCTCTTTTCTACAG

[0266]

[0267]

[0268] 측정하는 비번역 영역, 5' UTR 및 3' UTR

[0269] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 임의의 작제물은 비번역 영역(UTR), 예컨대, 5' UTR 또는 3' UTR을 포함할 수 있다. 유전자의 UTR은 전사되지만 번역되지는 않는다. 5' UTR은 전사 시작 부위에서 시작하여 시작 코돈까지 계속되지만 시작 코돈을 포함하지 않는다. 3' UTR은 정지 코돈 바로 뒤에서 시작하여 전사 종료 신호까지 계속된다. UTR의 조절 및/또는 제어 특징부는 본 명세서에 기재된 바와 같은 작제물, 조성물, 키트 또는 방법 중 임의의 것에 혼입되어 클라린 1 단백질의 발현을 증대시키거나 또는 다르게는 조절될 수 있다.

[0270] 천연 5' UTR은 번역 개시 역할을 하는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 5' UTR은, 리보솜이 많은 유전자의 번역을 개시하는 과정에 관여되는 것으로 통상적으로 알려진 Kozak 서열과 같은 서열을 포함할 수 있다. Kozak 서열은 공통 서열 CCR(A/G)CCAUGG를 가지며, 여기서 R은 시작 코돈의 상류의 퓨린(A 또는 G)의 3개의 염기(AU G)이고, 시작 코돈 다음에 또 다른 "G"가 이어진다. 5' UTR은 또한 신장 인자 결합(elongation factor binding)에 관여되는 2차 구조를 형성하는 것으로 알려져 있다.

[0271] 일부 실시형태에서, 5' UTR은 본 명세서에 기재된 임의의 작제물에 포함된다. 다음의 유전자, 즉, 알부민, 혈청 아밀로이드 A, 아포지질단백질 A/B/E, 트랜스페린, 알파 태아단백질, 에리트로포이에틴 및 인자 VIII로부터의 것들을 포함하는 5' UTR의 비제한적인 예는, mRNA와 같은 핵산 분자의 발현을 증대시키는 데 사용될 수 있다.

[0272] 일부 실시형태에서, 달팽이관 내 세포에 의해 전사되는 mRNA로부터의 5' UTR은 본 명세서에 기재된 임의의 작제물, 조성물, 키트 및 방법에 포함될 수 있다. 일부 실시형태에서, 5' UTR은 내인성 CLRN1 유전자 좌위로부터 유래되고, 서열번호 40에 의해 예시된 내인성 서열의 전부 또는 일부를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 5' UTR 서열은 서열번호 40으로 표시된 5' UTR 서열과 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99% 동일하다.

[0273] 3' UTR은 관심 유전자의 정지 코돈에 대한 바로 3'에서 발견된다. 일부 실시형태에서, 달팽이관 내 세포에 의해

전사되는 mRNA로부터의 3' UTR은 본 명세서에 기재된 임의의 작제물, 조성물, 키트 및 방법에 포함된다. 일부 실시형태에서, 3' UTR은 내인성 CLRN1 유전자 좌위로부터 유래되고, 서열번호 41에 의해 예시된 내인성 서열의 전부 또는 일부를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 3' UTR 서열은 서열번호 41로 표시되는 3' UTR 서열과 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99% 동일하다.

[0274] 3' UTR은 아데노신과 우리딘(RNA 형태) 또는 티미딘(DNA 형태)의 스트레치를 그 속에 내포하고 있는 것으로 알려져 있다. 이들 AU-풍부 시그니처는 특히 회전률(turnover)이 높은 유전자에 널리 퍼져 있다. AU-풍부 요소(ARE)는, 이의 서열 특성 및 기능적 특성에 기초하여, 3가지 부류로 분리될 수 있다(예컨대, 문헌[Chen et al., *Mal. Cell. Biol.* 15:5777-5788, 1995; Chen et al., *Mal. Cell Biol.* 15:2010-2018, 1995] 참조, 이들 각각은 전문이 본 명세서에 참조에 의해 인용됨): 부류 I ARE는 U-풍부 영역 내에 AUUUA 모티프의 여러 분산된 카피를 함유한다. 예를 들어, c-Myc 및 MyoD mRNA는 부류 I ARE를 함유한다. 부류 II ARE는 2개 이상의 중첩하는 UUAUUUA(U/A)(U/A) 노나머를 소유한다. GM-CSF 및 TNF-알파 mRNA는 부류 II ARE를 함유하는 예이다. 부류 III ARE는 잘 정의되어 있지 않다. 이들 U-풍부 영역은 AUUUA 모티프를 함유하지 않는다. 이 부류의 두 가지 잘 연구된 예는 c-Jun 및 미오게닌(myogenin) mRNA이다.

[0275] ARE에 결합하는 대부분의 단백질은 메신저를 불안정하게 하는 것으로 알려진 반면, ELAV 계열의 구성원, 특히 HuR은 mRNA의 안정성을 증가시키는 것으로 문서화되어 있다. HuR은 세 가지 부류 모두의 ARE에 결합한다. HuR 특이적 결합 부위를 핵산 분자의 3' UTR 내에 조작하면, HuR 결합이 초래되어, 생체 내에서 메시지가 안정화될 것이다.

[0276] 일부 실시형태에서, 3' UTR ARE의 도입, 제거 또는 변형은 클라린 1 단백질을 인코딩하는 mRNA의 안정성을 조절하는 데 사용될 수 있다. 다른 실시형태에서, ARE는 제거되거나 돌연변이되어 세포 내 안정성을 증가시키고, 따라서 클라린 1 단백질의 번역 및 생산을 증가시킬 수 있다.

[0277] 다른 실시형태에서, 비-ARE 서열은 5' 또는 3' UTR에 혼입될 수 있다. 일부 실시형태에서, 인트론 또는 인트론 서열의 일부는 본 명세서에 제공된 임의의 작제물, 조성물, 키트 및 방법에서 폴리뉴클레오타이드의 측접 영역에 혼입될 수 있다. 인트론 서열의 혼입은 mRNA 수준뿐만 아니라 단백질 생산을 증가시킬 수 있다.

[0278] 예시적인 5' UTR 서열(서열번호 40)

```
AGGAGATACTTGAAGGCAGTTTGAAAGACTTGTTTTACAGATTCTTAGTCCAAAGATTTCCAAT
TAGGGAGAAGAAGCAGCAGAGAAAAGGAGAAAAGCCAAGTATGAGTGATGATGAGGCCTTCATCTA
CTGACATTTTAACCTGGCGAGAACCGTCGATGGTGAAGTTGCCTTTTCAGCTGGGAGCTGTCCGT
TCAGCTTCCGTAATAAATGCAGTCAAAGAGGCAGTCCCTTCCCATTGCTCACAAAGGTCTTGTT
TTTGAACCTCGCCCTCACAGAAGCCGTTTCTCATC
```

[0279]

작제물을 포함하는 조성물의 일부일 수 있다. 일부 실시형태에서, IRES는 단일 유전자 전사체로부터 하나 초과
의 폴리펩타이드를 생산하는 데 사용된다.

[0288] 스플라이스 부위

[0289] 일부 실시형태에서, 본 명세서에서 제공되는 임의의 작제물은, 전사 동안 일어나는 RNA 처리과정 동안
기능성인, 스플라이스 공여체 및/또는 스플라이스 수용체 서열을 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 스플라이
스 부위는 트랜스-스플라이싱에 관여한다.

[0290] **예시적인 스플라이스 공여자 인트론(서열번호 서열번호 42)**

[0291] GTAAGTATCAAGGTTACAAGACAGGTTTAAGGAGACCAATAGAACTGGGCTTGTCTGAGACAGA
GAAGACTCTTGCCTTTCT

[0292] **예시적인 스플라이스 수용자 인트론(서열번호 서열번호 43)**

[0293] GATAGGCACCTATTGGTCTTACTGACATCCACTTTGCCTTTCTCTCCACAG

[0294] 폴리아데닐화 서열

[0295] 일부 실시형태에서, 본 명세서에서 제공되는 작제물은 폴리아데닐화(폴리(A)) 신호 서열을 포함할 수 있다. 대
부분의 초기 진핵생물 mRNA는 3'-말단에 폴리(A) 꼬리를 가지며, 이는 1차 전사체의 절단 및 폴리(A) 신호 서열
에 의해 구동되는 커플링된 폴리아데닐화 반응을 포함하는 복합 과정 동안 첨가된다(예컨대, 문헌[Proudfoot et
al., Cell 108:501-512, 2002] 참조, 이는 전문이 본 명세서에 참조에 의해 원용됨). 폴리(A) 꼬리는 mRNA 안
정성 및 이동성을 부여한다(예컨대, 문헌[Molecular Biology of the Cell, Third Edition by B. Alberts et
al., Garland Publishing, 1994] 참조, 이는 전문이 본 명세서에 참조에 의해 원용됨). 일부 실시형태에서, 폴
리(A) 신호 서열은 코딩 서열에 대해서 3'에 위치된다.

[0296] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, "폴리아데닐화"는 메신저 RNA 분자에 대한 폴리아데닐릴 모이어티, 또는 이
의 변형된 변이체의 공유 결합을 지칭한다. 진핵생물에서, 대부분의 메신저 RNA(mRNA) 분자는 3' 말단에서 폴리
아데닐화된다. 3' 폴리(A) 꼬리는 효소인 폴리아데닐레이트 폴리머라제의 작용을 통해 pre-mRNA에 첨가된 긴 서
열의 아데닌 뉴클레오타이드(예컨대, 50, 60, 70, 100, 200, 500, 1000, 2000, 3000, 4000 또는 5000개)이다.
일부 실시형태에서, 폴리(A) 꼬리는 특정 서열, 예컨대, 폴리(A) 신호를 함유하는 전사체에 첨가된다. 폴리(A)
꼬리 및 연관된 단백질은 엑소뉴클레아제에 의한 분해로부터 mRNA를 보호하는 것을 돕는다. 폴리아데닐화는 또
한 전사 종결, 핵으로부터 mRNA의 유출, 및 번역에 역할한다. 폴리아데닐화는 전형적으로 DNA에서의 RNA로의 전
사 직후 핵에서 일어나지만, 또한 이후에 세포질에서 일어날 수 있다. 전사가 종결된 후, mRNA 사슬은 RNA 폴리
머라제와 연관된 엔도뉴클레아제 복합체의 작용을 통해 절단된다. 절단 부위는 통상 절단 부위 근처의 염기 서
열 AAUAAA의 존재를 특징으로 한다. mRNA가 절단된 후, 아데노신 잔기는 절단 부위에서 자유 3' 말단에 첨가된
다.

[0297] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, "폴리(A) 신호 서열" 또는 "폴리아데닐화 신호 서열"은 mRNA의 엔도뉴클레
아제 절단 및 절단된 mRNA의 3' 말단에 일련의 아데노신의 첨가를 촉발시키는 서열이다.

[0298] 소 성장 호르몬(bGH)(예컨대, 문헌[Woychik et al., Proc. Natl. Acad. Sci. US.A. 81(13):3944-3948, 1984];
미국 특허 제5,122,458호 참조, 이들의 각각은 전문이 본 명세서에 참조에 의해 원용됨), 마우스-β-글로빈, 마
우스-α-글로빈(예컨대, 문헌[Orkin et al., EMBO J 4(2):453-456, 1985; Thein et al., Blood 71(2):313-319,
1988] 참조, 이들의 각각은 전문이 본 명세서에 참조에 의해 원용됨), 인간 콜라겐, 폴리오마 바이러스(예컨대,
문헌[Batt et al., Mol. Cell Biol. 15(9):4783-4790, 1995] 참조, 이는 전문이 본 명세서에 참조에 의해 원용
됨), 단순포진 바이러스 티미딘 키나제 유전자(HSV TK), IgG 중쇄 유전자 폴리아데닐화 신호(US 2006/0040354,
이는 전문이 본 명세서에 참조에 의해 원용됨), 인간 성장 호르몬(hGH)(예컨대, 문헌[Szymanski et al., Mol.
Therapy 15(7):1340-1347, 2007] 참조, 이는 전문이 본 명세서에 참조에 의해 원용됨), SV40 폴리(A) 부위, 예
컨대, SV40 후기 및 초기 폴리(A) 부위로 이루어진 군(예컨대, 문헌[Schek et al., Mol. Cell Biol.
12(12):5386-5393, 1992] 참조, 이는 전문이 본 명세서에 참조에 의해 원용됨)으로부터 유래된 것들을
포함하여, 사용될 수 있는 여러 폴리(A) 신호 서열이 있다.

[0299] 폴리(A) 신호 서열은 AATAAA일 수 있다. AATAAA 서열은, AATAAA와 상동성을 갖고 ATATAA, AGTAAA, CATAAA,
TATAAA, GATAAA, ACTAAA, AATATA, AAGAAA, AATAAT, AAAAAA, AATGAA, AATCAA, AACAAA, AATCAA, AATAAC,

AATAGA, AATTAA 또는 AATAAG를 포함하는 폴리아데닐화의 신호전달을 가능하게 하는 다른 핵산뉴클레오타이드 서열로 치환될 수 있다(예컨대, WO 06/12414 참조, 이는 전문이 본 명세서에 참조에 의해 인용됨).

[0300] 일부 실시형태에서, 폴리(A) 신호 서열은 합성 폴리아데닐화 부위(예컨대, 문헌[Levitt et al, Genes Dev. 3(7):1019-1025, 1989](이는 전문이 본 명세서에 참조에 의해 인용됨)에 기초한 프로모터의 pCl-네오 발현 작제물)일 수 있다. 일부 실시형태에서, 폴리(A) 신호 서열은 가용성 뉴로필린-1(sNRP)의 폴리아데닐화 신호(AAATAAAATACGAAATG)이다(예컨대, WO 05/073384 참조, 이는 전문이 본 명세서에 참조에 의해 인용됨). 일부 실시형태에서, 폴리(A) 신호 서열은 SV40 폴리(A) 부위를 포함하거나 이로 이루어진다. 일부 실시형태에서, 폴리(A) 신호는 서열번호 45를 포함하거나 이로 이루어진다. 일부 실시형태에서, 폴리(A) 신호 서열은 bGHPA를 포함하거나 이로 이루어진다. 일부 실시형태에서, 폴리(A) 신호는 서열번호 44를 포함하거나 이로 이루어진다. 폴리(A) 신호 서열의 추가의 예는 당업계에 공지되어 있다. 일부 실시형태에서, 폴리(A) 서열은 서열번호 44 또는 45로 표시되는 폴리(A) 서열과 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99% 동일하다.

[0301] 예시적인 bGH 폴리(A) 신호 서열(서열번호 44)

```
CTGTGCCTTCTAGTTGCCAGCCATCTGTGTTTGCCCTCCCCCGTGCCTTCCTTGACCCTGGA
AGGTGCCACTCCCACTGTCCTTTCTAATAAAATGAGGAAATTGCATCGCATTGTCTGAGTAGG
TGTCATTCTATTCTGGGGGTGGGGTGGGGCAGGACAGCAAGGGGGAGGATTGGGAAGACAATA
GCAGGCATGCTGGGGATGCGGTGGGCTCTATGG
```

[0302]

[0303] 예시적인 SV40 폴리(A) 신호 서열(서열번호 45)

```
AACTTGTTTATTGCAGCTTATAATGGTTACAAATAAAGCAATAGCATCACAAATTTACAAATA
AAGCATTTTTTTCACTGCATTCTAGTTGTGGTTTGTCCAACTCATCAATGTATCTTA
```

[0304]

[0305] 추가 서열

[0306] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 작제물은 T2A 요소 또는 서열을 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 작제물은 하나 이상의 클로닝 부위를 포함할 수 있다. 이러한 일부 실시형태에서, 클로닝 부위는 대상체에게 투여하기 위하여 제조 전에 완전히 제거되지 않을 수 있다. 일부 실시형태에서, 클로닝 부위는 링커 서열로서 또는 Kozak 부위의 일부로서 포함하는 기능적 역할을 가질 수 있다. 당업자가 이해하는 바와 같이, 클로닝 부위는 목적하는 기능을 유지하면서 1차 서열을 상당히 변화시킬 수 있다. 일부 실시형태에서, 작제물은 클로닝 부위의 임의의 조합을 함유할 수 있고, 예시적인 클로닝 부위는 서열번호 46 내지 56으로 표시된다.

[0307] 예시적인 클로닝 부위 A(서열번호 46)

[0308] TTGTGACGCGGCCGACGCGT

[0309] 예시적인 클로닝 부위 B(서열번호 47)

[0310] CTCCTGGGCAACGTGCTGCTTATTGTGACCGGTCGCTAGCCACC

[0311] 예시적인 클로닝 부위 C(서열번호 48)

[0312] TAAGAGCTCGCTGATCAGCCTCGA

[0313] 예시적인 클로닝 부위 D(서열번호 49)

[0314] AAGCTTGAATTCAGCTGACGTGCCTCGGACCGTCTAGG

[0315] 예시적인 클로닝 부위 E(서열번호 50)

[0316] GCGGCCGACGCGT

[0317] 예시적인 클로닝 부위 F(서열번호 51)

[0318] CTCCTGGGCAACGTGCTGCTTATTGTGACCGGTGCCACC

[0319] 예시적인 클로닝 부위 G(서열번호 52)

[0320] TAAGAGCTCGCTGATCAGCCTCGA

- [0321] 예시적인 클로닝 부위 H(서열번호 53)
- [0322] AAGCTTGAATTCAGCTGACGTGCCTCGGACCGCT
- [0323] 예시적인 클로닝 부위 I(서열번호 54)
- [0324] CTCCTGGGCAACGTGCTGGTTATTGTGACCGGT
- [0325] 예시적인 클로닝 부위 J(서열번호 55)
- [0326] GCCACC
- [0327] 예시적인 클로닝 부위 K(서열번호 56)
- [0328] TAAGAGCTC
- [0329] 불안정화 도메인
- [0330] 일부 실시형태에서, 본 명세서에서 제공되는 임의의 작제물은 선택적으로 단백질 발현의 일시적 제어를 위한 불안정화 도메인을 인코딩하는 서열("불안정화 서열")을 포함할 수 있다. 불안정화 서열의 비제한적인 예는 FK506 서열, 다이하이드로폴레이트 환원효소(DHFR) 서열, 또는 다른 예시적인 불안정화 서열을 인코딩하는 서열을 포함한다.
- [0331] 안정화 리간드의 부재 시에, 불안정화 서열에 작동 가능하게 연결된 단백질 서열은 유비퀴틴화에 의해 분해된다. 이와 대조적으로, 안정화 리간드의 존재 시에, 단백질 분해가 저해됨으로써, 불안정화 서열에 작동 가능하게 연결된 단백질 서열이 활동적으로 발현될 수 있게 한다. 단백질 발현의 안정화를 위한 양성 대조군으로서, 단백질 발현은 효소, 방사선 촬영, 비색, 형광 또는 기타 분광사진 검정; 형광 활성화 세포 분류(FACS) 검정; 면역학적 검정(예컨대, 효소 결합 면역흡착 검정(ELISA), 방사선면역검정(RIA) 및 면역조직화학)을 포함하는 통상적인 수단에 의해 검출될 수 있다.
- [0332] 불안정화 서열의 추가의 예는 당업계에 공지되어 있다. 일부 실시형태에서, 불안정화 서열은 FK506- 및 라파마이신-결합 단백질(FKBP12) 서열이고, 안정화 리간드는 Shield-1(Shld1)이다(문헌[Banaszynski et al. (2012) Cell 126(5): 995-1004] 참조, 이는 전문이 본 명세서에 참조에 의해 인용됨). 일부 실시형태에서, 불안정화 서열은 DHFR 서열이고, 안정화 리간드는 트라이메토프림(TMP)이다(문헌[Iwamoto et al. (2010) Chem Biol 17:981-988] 참조, 이는 전문이 본 명세서에 참조에 의해 인용됨).
- [0333] 일부 실시형태에서, 불안정화 서열은 FKBP12 서열이고, 대상체 세포(예컨대, 지지 달팽이관 외유모세포)에서 FKBP12 유전자를 운반하는 AAV 작제물의 존재는 웨스턴 블로팅에 의해 검출된다. 일부 실시형태에서, 불안정화 서열은 본 명세서에 기재된 임의의 AAV 작제물의 일시적으로-특이적 활성을 검증하기 위해 사용될 수 있다.
- [0334] 예시적인 DHFR 불안정화 아미노산 서열(서열번호 57)
- MISLIAALAVDYVIGMENAMPWNLPADLAWFKRNTLNKPVIMGRHTWESIGRPLPGRKNIILSS
QPSTDDRVTWVKSVDIAIAACGDVPEIMVIGGGRVIEQFLPKAQKLYLTHIDAEVEGDTHFPDY
EPDDWESVFSEFHDADAQNSHSYCFEILERR
- [0335]
- [0336] 예시적인 DHFR 불안정화 뉴클레오타이드 서열(서열번호 58)
- GGTACCATCAGTCTGATTGCGGCGTTAGCGGTAGATTACGTTATCGGCATGGAAAACGCCATGC
CGTGGAACCTGCCTGCCGATCTCGCCTGGTTTAAACGCAACACCTTAAATAAACCCGTGATTAT
GGGCGGCCATACCTGGGAATCAATCGGTCGTCCTGTCAGGACGCAAAAATATTATCCTCAGC
AGTCAACCGAGTACGGACGATCGCGTAACGTGGGTGAAGTCGGTGGATGAAGCCATCGCGGCGT
GTGGTGACGTACCAGAAATCATGGTGATTGGCGGCGGTGCGGTTATTGAACAGTTCTTGCCAAA
AGCGCAAAACTGTATCTGACGCATATCGACGCAGAAAGTGAAGGCGACACCCATTTCCCGGAT
TACGAGCCGGATGACTGGGAATCGGTATTCAGCGAATTCACGATGCTGATGCGCAGAACTCTC
ACAGCTATTGCTTTGAGATTCTGGAGCGGCGATAA
- [0337]

[0338] 예시적인 불안정화 도메인(서열번호 59)

ATCAGTCTGATTGCGGCGTTAGCGGTAGATTACGTTATCGGCATGGAACGCCATGCCGTGGA
ACCTGCCTGCCGATCTCGCCTGGTTTAAACGCAACACCTTAAATAAACCCGTGATTATGGGCGG
CCATACCTGGGAATCAATCGGTTCGTCGTTGCCAGGACGCAAAAATATTATCCTCAGCAGTCAA
CCGAGTACGGACGATCGCGTAACGTGGGTGAAGTCGGTGGATGAAGCCATCGCGGCGTGTGGTG
ACGTACCAGAAATCATGGTGATTGGCGGCGGTTCGCGTTATTGAACAGTTCTTGCCAAAAGCGCA
AAAATGTATCTGACGCATATCGACGCAGAAGTGAAGGCGACACCCATTTCCCGGATTACGAG
CCGGATGACTGGGAATCGGTATTTCAGCGAATTCACGATGCTGATGCGCAGAACTCTCACAGCT
ATTGCTTTGAGATTCTGGAGCGGCGA

[0339]

[0340] 예시적인 FKBP12 불안정화 펩타이드 아미노산 서열(서열번호 60)

MGVEKQVIRPGNGPKPAPGQTVTVHCTGFGKDGDLSQLFWSTKDEGQKPFQIGKGAIVIKGWD
EGVIGMQIGEVARLRCSSDYAYGAGGFPAWGIQPNVLDLFEIEVLSVQ

[0341]

[0342] 리포터 서열 또는 요소

[0343] 일부 실시형태에서, 본 명세서에서 제공되는 작제물은 선택적으로 리포터 폴리펩타이드 및/또는 단백질("리포터 서열")을 인코딩하는 서열을 포함할 수 있다. 리포터 서열의 비제한적인 예는 하기를 인코딩하는 DNA 서열을 포함한다: 베타-락타마제, 베타-갈락토시다제(LacZ), 알칼리성 포스파타제, 티미딘 키나제, 녹색 형광 단백질(GFP), 적색 형광 단백질, mCherry 형광 단백질, 황색 형광 단백질, 클로람페니콜 아세틸트랜스퍼라제(CAT), 및 루시퍼라제. 리포터 서열의 추가의 예는 당업계에 공지되어 있다. 발현을 유도하는 제어 요소와 회합되는 경우, 리포터 서열은 효소, 방사선 촬영, 비색, 형광 또는 기타 분광 분석; 형광 활성화 세포 분류(FACS) 검정; 면역학적 검정(예컨대, 효소 결합 면역흡착 검정(ELISA), 방사선면역검정(RIA) 및 면역조직화학)을 포함하는 통상적인 수단에 의해 검출 가능한 신호를 제공할 수 있다.

[0344] 일부 실시형태에서, 리포터 서열은 LacZ 유전자이고, 포유동물 세포(예컨대, 달팽이관 유모세포)에서 LacZ 유전자를 운반하는 작제물의 존재는 베타-갈락토시다제 활성화에 대한 검정에 의해 검출된다. 리포터가 형광 단백질(예컨대, 녹색 형광 단백질) 또는 루시퍼라제인 경우, 포유동물 세포(예컨대, 달팽이관 유모세포)에서 형광 단백질 또는 루시퍼라제를 운반하는 작제물의 존재는 형광 기술(예컨대, 형광 현미경관찰 또는 FACS) 또는 광도계(예컨대, 분광광도계 또는 IVIS 영상화 기기)에서의 광 생산에 의해 측정될 수 있다. 일부 실시형태에서, 리포터 서열은 본 명세서에 기재된 임의의 작제물의 조직-특이적 표적화 능력 및 조직-특이적 프로모터 조절 및/또는 제어 활성을 검증하는 데 사용될 수 있다.

[0345] 일부 실시형태에서, 리포터 서열은 플래그 태그(예컨대, 3x플래그 태그)이고, 포유동물 세포(예컨대, 내이 세포, 예컨대, 달팽이관 유모 또는 지지세포, 예컨대, 안구 세포)에서 플래그 태그를 운반하는 작제물의 존재는 단백질 결합 또는 검출 검정(예컨대, 웨스턴 블롯, 면역조직화학, 방사면역검정(RIA), 질량 분광법)에 의해 검출된다. 예시적인 3x플래그 태그 서열은 서열번호 61로서 제공된다.

[0346] 예시적인 3xFLAG 태그 서열(서열번호 61)

GGATCCCGGGCTGACTACAAAGACCATGACGGTGATTATAAAGATCATGACATCGACTACAAGG
ATGACGATGACAAG

[0347]

[0348] AAV 입자

[0349] 특히, 본 개시내용은 본 명세서에 기재된 CLRN1 유전자 또는 이의 특징 부분을 인코딩하는 작제물, 및 본 명세서에 기재된 캡시드를 포함하는 AAV 입자를 제공한다. 일부 실시형태에서, AAV 입자는, 작제물 변종 및 캡시드 변종의 설명된 형태형을 갖는 것으로 기재될 수 있다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, AAV 입자는 AAV2로서 기재될 수 있는데, 여기서 입자는 AAV2 캡시드 및 특징적인 AAV2 역위 말단 반복부(ITR)를 포함하는 작제물을 갖는다. 일부 실시형태에서, AAV 입자는 위형으로서 기재될 수 있는데, 여기서 캡시드와 작제물은 상이한 AAV 균주로부터 유래되고, 예를 들어, AAV2/9는 AAV2 ITR 및 AAV9 캡시드를 사용하는 작제물을 포함하는 AAV 입자를 지칭할 것이다.

[0350] AAV 작제물

- [0351] 본 개시내용은 CLRN1 유전자 또는 이의 특징적인 부분을 포함하는 폴리뉴클레오타이드 작제물을 제공한다. 본 명세서에 기재된 일부 실시형태에서, CLRN1 유전자 또는 이의 특징적인 부분을 포함하는 폴리뉴클레오타이드는 AAV 입자에 포함될 수 있다.
- [0352] 일부 실시형태에서, 폴리뉴클레오타이드 작제물은 천연 발생 AAV 계통 작제물로부터 유래되거나 또는 이로부터 변형된 하나 이상의 성분을 포함한다. 일부 실시형태에서, AAV 작제물로부터 유래된 서열은 AAV1 작제물, AAV2 작제물, AAV3 작제물, AAV4 작제물, AAV5 작제물, AAV6 작제물, AAV7 작제물, AAV8 작제물, AAV9 작제물, AAV2.7m8 작제물, AAV8BP2 작제물, AAV293 작제물 또는 AAV Anc80 작제물이다. 일부 실시형태에서, rAAV Anc80 캡시드는 rAAV Anc80L65 캡시드이다. 본 명세서에서 사용될 수 있는 추가의 예시적인 AAV 작제물은 당업계에 공지되어 있다(예컨대, 문헌[Kanaan et al., *Mol. Ther. Nucleic Acids* 8:184-197, 2017; Li et al., *Mol. Ther.* 16(7): 1252-1260, 2008; Adachi et al., *Nat. Commun.* 5: 3075, 2014; Isgrig et al., *Nat. Commun.* 10(1): 427, 2019; 및 Gao et al., *J. Virol.* 78(12): 6381-6388, 2004] 참조; 이들 각각은 전문이 본 명세서에 참조에 의해 인용된다).
- [0353] 일부 실시형태에서, 제공된 작제물은 코딩 서열, 예컨대, CLRN1 유전자 또는 이의 특징적인 부분, 하나 이상의 조절 및/또는 제어 서열, 및 선택적으로 5' 및 3' AAV 유래 역위 말단 반복부(ITR)를 포함한다. 5' 및 3' AAV 유래 ITR이 사용되는 일부 실시형태에서, 폴리뉴클레오타이드 작제물은 재조합 AAV(rAAV) 작제물이라 지칭될 수 있다. 일부 실시형태에서, 제공된 rAAV 작제물은 AAV 캡시드에 패키징되어 AAV 입자를 형성한다.
- [0354] 일부 실시형태에서, (폴리뉴클레오타이드 작제물에 포함되는) AAV 유래 서열은 전형적으로 시스-작용 5' 및 3' ITR 서열을 포함한다(예컨대, 문헌[B. J. Carter, in "Handbook of Parvoviruses," ed., P. Tijsser, CRC Press, pp. 155 168, 1990] 참조, 이는 전문이 본 명세서에 참조에 의해 인용됨). 전형적인 AAV2-유래 ITR 서열은 약 145개 뉴클레오타이드 길이이다. 일부 실시형태에서, 전형적인 ITR 서열의 적어도 80%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90% 또는 적어도 95%)가 본 명세서에서 제공되는 작제물에 혼입된다. 이들 ITR 서열을 변형시키는 능력은 당업자의 기술 범위 내이다(예컨대, 문헌[Sambrook et al., "Molecular Cloning. A Laboratory Manual", 2d ed., Cold Spring Harbor Laboratory, New York, 1989; 및 K. Fisher et al., *J Virol.* 70:520 532, 1996]과 같은 텍스트 참조, 이들 각각은 전문이 본 명세서에 참조에 의해 인용된다). 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 코딩 서열 및/또는 작제물 중 임의의 것은 5' 및 3' AAV ITR 서열에 의해 측정된다. AAV ITR 서열은 현재 식별된 AAV 유형을 포함하여, 임의의 공지된 AAV로부터 얻어질 수 있다.
- [0355] 일부 실시형태에서, 본 개시내용에 따라서 그리고 당업계에 공지된 패턴으로 기재된 폴리뉴클레오타이드 작제물(예컨대, 문헌[Asokan et al., *Mol. Ther.* 20: 699-7080, 2012] 참조, 이는 전문이 본 명세서에 참조에 의해 인용됨)은 전형적으로 코딩 서열 또는 이의 일부, 적어도 하나의 및/또는 제어 서열, 및 선택적으로 5' 및 3' AAV 역위 말단 반복부(ITR)로 구성된다. 일부 실시형태에서, 제공된 작제물은 AAV 입자를 생성하기 위하여 캡시드에 패키징될 수 있다. AAV 입자는 선택된 표적 세포에 전달될 수 있다. 일부 실시형태에서, 제공된 작제물은 관심 폴리펩타이드, 단백질, 기능성 RNA 분자(예컨대, miRNA, miRNA 저해제) 또는 기타 유전자 산물을 인코딩하는 자가제물 서열과 이중성인 핵산 서열(예컨대, 저해성 핵산 서열)인 추가의 선택적 코딩 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 핵산 코딩 서열은 표적 조직의 세포에서 코딩 서열 전사, 번역 및/또는 발현을 허용하는 방식으로 성분에 작동 가능하게 연결되고/되거나 당해 성분을 제어한다.
- [0356] 도 1A에 도시된 바와 같이, 비변형 AAV 내인성 계통은, ITR이 측접된 2개의 오픈 리딩 프레임인 "cap" 및 "rep"를 포함한다. 도 1B에 도시된 바와 같이, 예시적인 rAAV 작제물은 유사하게 ITR 측접 코딩 영역, 예컨대, 코딩 서열(예컨대, CLRN1 유전자)을 포함한다. 일부 실시형태에서, rAAV 작제물은 또한 플라스미드 작제물이 형질주입되거나 또는 본 개시내용에 의해 생산된 바이러스로 감염된 세포에서 전사, 번역 및/또는 발현을 허용하는 방식으로 코딩 서열에 작동 가능하게 연결되는 통상의 제어 요소를 포함한다. 일부 실시형태에서, rAAV 작제물은 선택적으로 프로모터(도 1B에 나타냄), 인핸서, 비번역 영역(예컨대, 5' UTR, 3' UTR), Kozak 서열, 내부 리보솜 유입 부위(IRES), 스플라이싱 부위(예컨대, 수용체 부위, 공여체 부위), 폴리아데닐화 부위(도 1B에 나타냄), 또는 이들의 임의의 조합을 포함한다. 이러한 추가의 요소가 본 명세서에서 더욱 기재된다.
- [0357] 일부 실시형태에서, 작제물은 rAAV 작제물이다. 일부 실시형태에서, rAAV 작제물은 적어도 500 bp, 적어도 1 kb, 적어도 1.5 kb, 적어도 2 kb, 적어도 2.5 kb, 적어도 3 kb, 적어도 3.5 kb, 적어도 4 kb, 또는 적어도 4.5 kb를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, AAV 작제물은 최대 7.5 kb, 최대 7 kb, 최대 6.5 kb, 최대 6 kb, 최대 5.5 kb, 최대 5 kb, 최대 4.5 kb, 최대 4 kb, 최대 3.5 kb, 최대 3 kb, 또는 최대 2.5 kb를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, AAV 작제물은 약 1 kb 내지 약 2 kb, 약 1 kb 내지 약 3 kb, 약 1 kb 내지 약 4 kb,

약 1 kb 내지 약 5 kb, 약 2 kb 내지 약 3 kb, 약 2 kb 내지 약 4 kb, 약 2 kb 내지 약 5kb, 약 3 kb 내지 약 4 kb, 약 3 kb 내지 약 5 kb, 또는 약 4 kb 내지 약 5 kb를 포함할 수 있다.

[0358] 본 명세서에 기재된 임의의 작제물은 조절 및/또는 제어 서열, 예컨대, 전사 개시 서열, 전사 종결 서열, 프로모터 서열, 인핸서 서열, RNA 스플라이싱 서열, 폴리아데닐화(폴리(A)) 서열, Kozak 공통 서열, 및/또는 이들의 임의의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 제어 서열을 더 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 프로모터는 천연 프로모터, 구성적 프로모터, 유도성 프로모터 및/또는 조직-특이적 프로모터일 수 있다. 제어 서열의 비제한적인 예가 본 명세서에 기재되어 있다.

[0359] AAV 캡시드

[0360] 본 개시내용은 AAV 캡시드에 패키징된 하나 이상의 폴리뉴클레오타이드 작제물을 제공한다. 일부 실시형태에서, AAV 캡시드는 AAV2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, rh8, rh10, rh39, rh43 또는 Anc80 혈청형의 AAV 캡시드, 또는 이의 하나 이상의 하이브리드로부터의 것이거나 또는 이로부터 유래된다. 일부 실시형태에서, AAV 캡시드는 AAV 선조 혈청형으로부터 유래된다. 일부 실시형태에서, AAV 캡시드는 선조(Anc) AAV 캡시드이다. Anc 캡시드는 가능한 선조 서열을 결정하도록 점진적 개연성 및 점진적 모델화를 사용하여 작제된 작제물 서열로부터 생성된다. 따라서, Anc 캡시드/작제물 서열은 자연에 존재한 것으로 알려져 있지 않다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, AAV 캡시드는 Anc80 캡시드(예컨대, Anc80L65 캡시드)이다.

[0361] 일부 실시형태에서, AAV 캡시드는 서열번호 62를 포함하는 주형 뉴클레오타이드 코딩 서열을 사용해서 생성된다. 일부 실시형태에서, 캡시드는 서열번호 63으로 표시되는 폴리펩타이드를 포함한다. 일부 실시형태에서, 캡시드는 서열번호 63으로 표시되는 폴리펩타이드와 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99% 서열 동일성을 갖는 폴리펩타이드를 포함한다.

[0362] 본 명세서에서 제공되는 바와 같이, (예컨대, AAV ITR을 포함하는) AAV 캡시드와 AAV 작제물의 임의의 조합물이 본 개시내용의 재조합 AAV(rAAV) 입자에서 사용될 수 있다. 예를 들어, 야생형 또는 변이체 AAV2 ITR 및 Anc80 캡시드, 야생형 또는 변이체 AAV2 ITR 및 AAV6 캡시드 등. 본 개시내용의 일부 실시형태에서, AAV 입자는 전적으로 AAV2 성분으로 구성된다(예컨대, 캡시드 및 ITR는 AAV2 혈청형이다). 일부 실시형태에서, AAV 입자는 AAV2/6, AAV2/8 또는 AAV2/9 입자(예컨대, AAV2 ITR를 가진 AAV 작제물을 갖는 AAV6, AAV8 또는 AAV9 캡시드)이다. 본 개시내용의 일부 실시형태에서, AAV 입자는 코딩 서열의 부분, 예를 들어, CLRN1 유전자 또는 이의 특징적인 부분(예컨대, 서열번호 1, 2, 3 또는 4)에 측접하는 AAV2 ITR을 갖는 AAV 작제물(예컨대, 서열번호 15 내지 22)을 캡슐화하는 (예컨대, 서열번호 63의 폴리펩타이드를 포함하는) Anc80 캡시드를 포함하는 AAV2/Anc80 입자이다. 기타 AAV 입자는 당업계에 공지되어 있고, 예컨대, 문헌[Sharma et al., Brain Res Bull. 2010 Feb 15; 81(2-3): 273](이는 전문이 본 명세서에 참조에 의해 인용됨)에 기재되어 있다. 일부 실시형태에서, 캡시드 서열은 서열번호 62 또는 63으로 각각 표시되는 캡시드 뉴클레오타이드 또는 아미노산 서열과 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99% 동일하다.

[0363] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 플랫폼 전달 접근법은 현재의 자연 발생 바이러스의 진화 계통을 재현하는 선조 AAV(AAVAnc) 캡시드로 알려진 합성 AAV 캡시드의 라이브러리를 조합한다. 일부 실시형태에서, 이들 AAV 캡시드는 산물 후보를 달팽이관에 직접 전달하기 위한 신규한 최소 침습 투여 절차와 결합된다. 일부 실시형태에서, 전달 접근법은 이 라이브러리(예를 들어, Anc80L65)로부터의 AAV Anc80 캡시드 변이체를 이용한다. 일부 실시형태에서, 이러한 캡시드는 rAAV 입자를 생성하기 위해 이용되며, 여기서 이러한 입자는 본 명세서에 기재된 바와 같은 작제물, 예컨대, 본 명세서에 기재된 바와 같은 CLRN1 단백질을 인코딩하는 CLRN1 cDNA를 포함하는 작제물의 첨가를 통해 생성되어 rAAV Anc80-CLRN1을 생성한다.

[0364] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 조성물은 AAV Anc80 캡시드를 포함하며, 이는 그의 서열이 선조 서열 재구성에 의해 추론된, 합리적으로 설계된 합성 AAV 캡시드이다. 선조 서열 재구성은 자연 발생 아데노-연관 바이러스로부터의 입수 가능한 서열 정보를 사용하고, 계통발생학적 및 통계학적 예측의 결과로서, 다양한 중간 진화 노드에서 서열의 선조 상태를 식별한다. AAV Anc80을 생성하는 동안, 9개의 노드가 재구성되었고 AAV 계통에 걸쳐서 인 실리코(*in silico*) 유래 시퀀스가 새로 합성되고 특성 규명되었다. 이로 인해 널리 연구된 AAV 혈청형 1, 2, 8 및 9의 추정 선조인 Anc80 라이브러리 노드(Anc80Lib)가 식별되었다. Anc80Lib 단백질 서열은 이후에 역번역되고 유전자 합성에 의해 생성되었으며, 개별 클론은 패키징, 감염성 및 생물학적 특성에 대해 분리하여 평가되었다. 일부 실시형태에서, 그리고 이들 결과에 기초하여, AAV Anc80, 65번째 Anc80Lib 클론(Anc80L65)을 추가의 특성규명을 위해 선택하였다. AAV Anc80 캡시드 변종은 독특한 조성을 가지고 있고; AAV8 및 AAV2의 서열이 각각 AAV Anc80와는 대략 9% 및 12%만 상이하지만, AAV Anc80의 구조 모델링은 입자 외부 표

면의 대략 20%가 캡시드 표면에 걸쳐 분포되는 방식으로 알려진 순환 AAV로부터 분기되는 것을 나타내었다(예컨대, 문헌[Zinn 2015] 참조, 전체 내용이 본 명세서에 참조에 의해 원용됨).

[0365] 일부 실시형태에서, 생체 내 유전자 요법 입자로서의 AAV Anc80의 성능이 특성규명되었고, AAV Anc80을 포함하는 rAAV 입자는 광범위하게 적용 가능한 유전자 요법 입자로서 작용할 가능성을 입증하였다. 일부 실시형태에서, 마우스 및 비인간 영장류(NHP)에서 수행된 연구는 AAV Anc80이 전신 독성의 명백한 징후 없이 정맥 주사 후 간을 표적화할 때 AAV8과 유사한 형질도입 효율을 지니는 것을 나타내었다(예컨대, 문헌[Zinn 2015; Murillo 2019] 참조, 이들의 각각은 전체 내용이 본 명세서에 참조에 의해 원용됨). 또한, 일부 실시형태에서, AAV Anc80은 마우스 안구 전안부(Wang 2017, 전체 내용이 본원에 참조로 포함됨), 마우스 및 NHP 망막(예컨대, 문헌[Zinn 2015; Carvalho 2018] 참조, 이들 각각은 전체 내용이 본 명세서에 참조에 의해 원용됨), 마우스 골격근(예컨대, 문헌[Zinn 2015] 참조, 전체 내용이 본 명세서에 참조에 의해 원용됨), 전신 및 뇌실질 내 전달에 의한 마우스 중추신경계(CNS)(Hudry 2018, 전체가 참조로 본원에 포함됨) 및 유리 신경(예컨대, 문헌[Ikeda 2018] 참조, 전체 내용이 본 명세서에 참조에 의해 원용됨)에 대한 향성(tropism) 및 이의 효율적인 형질도입을 나타냈다.

[0366] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 바와 같은 조성물(예컨대, rAAV-CLRN1을 포함함)은 AAV Anc80 캡시드를 포함한다. 일부 실시형태에서, rAAV Anc80 캡시드는 rAAV Anc80L65 캡시드이다. 일부 실시형태에서, AAV Anc80 캡시드는 달팽이관 및 전정 세포에 대한 높은 형질도입 효율을 입증한다. 일부 실시형태에서, AAV Anc80 캡시드는 안구 세포에 대한 높은 형질도입 효율을 입증한다.

[0367] AAV Anc80은 그의 서열이 선조 서열 재구성에 의해 추론된 합리적으로 설계된 AAV 캡시드이다(예컨대, 문헌[Zinn 2015] 참조, 전체 내용이 본 명세서에 참조에 의해 원용됨). 선조 서열 재구성은 자연 발생 AAV로부터의 입수 가능한 서열 정보를 사용하고, 계통발생학적 및 통계학적 예측의 결과로서, 다양한 중간 진화 노드에서 서열의 선조 상태를 식별한다. 문헌에 기재된 바와 같이, AAV 계통에 걸쳐서 인 실리코 유래 시퀀스의 새로운 합성 및 특성 규명은 Anc80 라이브러리(Anc80Lib) 노드의 식별 및 널리 연구된 AAV 혈청형 1, 2, 8 및 9의 추정 선조를 초래하였다. Anc80Lib 서열의 후속 평가는 AAV Anc80, 65번째 Anc80Lib 클론(Anc80L65)의 추가의 특성 규명을 초래하였다. 이들 연구는 AAV Anc80 캡시드 변이체가 AAV8과 유사한 형질도입 효율을 갖는 안정하고 기능적인 AAV 변이체를 산출하는 다양한 외부 표면 입자 분포를 갖는 독특한 조성을 갖는다는 것을 나타내었다(예컨대, 문헌[Zinn 2015] 참조, 전체 내용이 본 명세서에 참조에 의해 원용됨). 포유류 내에서 AAV Anc80의 최초 보고된 사용은 달팽이관 및 전정 유모세포에서 높은 형질도입 효율을 드러내었다(예컨대, 문헌[Landegger 2017] 참조, 전체 내용이 본 명세서에 참조에 의해 원용됨). 여러 후속 독립적 조사는, 다른 AAV 혈청형에 비해서 AAV Anc80의 증가된 달팽이관 및 전정 세포 형질도입 효율을 확인하고; 다양한 연령의 마우스(예컨대, 문헌[Landegger 2017; Tao 2018; Yoshimura 2018; 및 Omichi 2020] 참조, 이들 각각은 전문이 본 명세서에 참조에 의해 원용됨) 및 비인간 영장류(예컨대, 문헌[Andres-Mateos 2019] 참조, 전체 내용이 본 명세서에 참조에 의해 원용됨)에서, AAV Anc80은 다수의 다른 AAV 캡시드에 비해서 더 높은 형질도입 효율 및 더 넓은 향성을 갖는다.

[0368] AAV 입자를 사용하는 유전자 요법은 다음과 같은 여러 가지 이유로 내이 장애에 대한 유망한 치료 방식이다: (1) 청각 및 전정 감각 상피를 포함하는 내이가 중추 신경계와 유사한 변형된 면역 감시를 갖는 것(Fujioka 2014, 전체 내용이 본 명세서에 참조에 의해 원용됨); (2) 달팽이관 코르티 기관의 감각 세포와 지지세포가 유사분열 후, AAV의 단일 투여 후 장기간 발현 가능성을 허용하는 것; 및 (3) 여러 투여 경로를 통해, 성인과 어린이 둘 다에서 rAAV 전달에 대한 총체적 임상 경험이 특히 국소 전달 및/또는 저용량 내지 중등도 용량으로 전달 비히클로서 AAV에 대한 강력한 안전성 프로파일을 제안하는 것.

[0369] 20여 년 전에 초기 임상 시험을 시작으로, rAAV 입자는 전신 투여를 위해 최대 대략 1E15 vg 이상의 용량으로 수십 건의 임상 시험에서 수백 명의 참가자에게 투여되었다(예컨대, 문헌[Flotte 1996; Flotte 2013; Parente 2018; 및 Wang 2019] 참조, 이들의 각각은 전체 내용이 본 명세서에 참조에 의해 원용됨). AAV 입자가 생체 내 유전자 전달에 사용된 시도의 수는 꾸준히 증가하였다. 안전성 프로파일은, 광범위한 표적 조직의 고효율의 형질도입과 함께, rAAV 입자를 생체 내 유전자 요법을 위한 선택 플랫폼으로서 확립하였다(예컨대, 문헌[Wang 2019] 참조, 전체 내용이 본 명세서에 참조에 의해 원용됨). rAAV 기술의 성공적인 적용은 응고 장애, 유전성 실명 및 신경퇴행성 질환을 비롯한 다양한 병태에 대한 임상에서 달성되었다(예컨대, 문헌[Colella 2018; 및 Wang 2019] 참조, 이들의 각각은 전체 내용이 본 명세서에 참조에 의해 원용됨).

[0370] rAAV 입자 제품(alipogene tiparvovec; Glybera[®])은 2012년 유럽 의약품청(EMA)에서 리포단백질 리파제 결핍증의 치료용으로 처음 승인되었다. 이어서, 2가지 rAAV 제품인, 이중대립유전자 RPE65 돌연변이-연관 망막 이영양

중의 치료를 위한 voretigene neparvovec-rzyl(Luxturna[®]) 및 SMVI 유전자에 이중대립유전자 돌연변이가 있는 척수성 근위축증(SMA) 치료를 위한 onasemnogene abeparvovec-xioi(Zolgensma[®])가 각각 2017년과 2019년에 미국 식품의약국(FDA)에 의해 승인되었고; voretigene neparvovec-rzyl(Luxturna[®])은 또한, 질환이 유전자 RPE65의 돌연변이에 의해 야기될 때, 유전성 망막 이영양증으로 인한 시력손실의 치료를 위해 EMA에 의해 승인되었다.

[0371] 일부 실시형태에서, rAAV 입자를 포함하는 약물 및 생물학적 제제는 이들을 외림프에 전달함으로써 내이의 많은 표적 세포에 도달할 수 있다. 외림프는, 뇌척수액(CSF)과 조성이 매우 유사하고(예컨대, 문헌[Lysaght 2011] 참조, 전체 내용이 본 명세서에 참조에 의해 원용됨), 이와 확산 연속성이다. 외림프는 내이의 뼈 미로에 수용된 달팽이관 및 전정계의 감각, 신경 및 지지세포의 대부분을 수용한다(도 11 및 도 12). 일부 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 조성물, 예컨대, rAAV-CLRN1이 전달되는 달팽이관의 외림프 공간은, 2개의 비계 또는 통로인 고실계 및 전정계를 포함하는데, 이들은 달팽이구멍을 통해서 달팽이관 나선형의 정점에서 서로 연속적이다. 내이의 많은 세포는 조직의 간질 공간을 통해 외림프와 유체 연속성을 유지한다.

[0372] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 조성물, 예를 들어 rAAV-CLRN1을 등골 측판에 위치한 통기구를 갖는 원형창막을 통해 내이의 외림프액에 전달하기 위한 달팽이관 내 투여용의 멸균 1회 사용 전달 디바이스가 본 명세서에 또한 개시되어 있다. 일부 실시형태에서, 이 달팽이관 내 투여 접근법에서, 본 명세서에 개시된 조성물, 예컨대, rAAV-CLRN1은, 난원창 내 등골 측판에 통기가 있는 정원창막을 통해서 고실계에 투여되어, 조성물이 고실계를 통해 관류한 다음, 달팽이구멍에서 연결을 통해 전정계를 통해 관류하고, 등골 측판의 통기구로 유체 경로를 따르게 한다(도 11). 일부 실시형태에서, 주입구와 구별되는 통기구의 존재는 달팽이관의 길이를 따라 약물의 보다 균일한 분포를 허용하고 내이 내의 추가적인 유체 압력의 유해한 축적을 방지한다. 일부 실시형태에서, 이러한 이중-모공(dual-fenestrae)인 주입 + 통기 기술을 사용하는 전정 세포의 형질도입에 의해 입증되는 바와 같이, 이 전달 접근법은 또한 본 명세서에 개시된 조성물, 예컨대, 주입물의 전정계로의 확산을 허용한다. 일부 실시형태에서, 전체 과정은 외이도를 통한 상대적으로 비외상적인 접근법으로 대상체에서 달성될 수 있고; 도 9, 및 외과적 투여 절차에 관한 추가의 정보에 대한 실시예를 참조한다.

[0373] 마우스에서 AAV Anc80 형질도입에 대한 많은 연구가 공개되었다. 상이한 유형의 바이러스 벡터(예컨대, 아데노 바이러스 벡터, 단순 헤르페스 바이러스 벡터)는 동물 모델에서 내이로의 유전자 전달을 위해 고려되었지만(Chen 2001; Wenzel 2007; Husseman 2009, 이들 각각은 전체 내용이 본 명세서에 참조에 의해 원용됨); rAAV 입자는 녹아웃(knock-out) 및 녹인(knock-in) 마우스 모델에서 청각, 달팽이관 및 전정 기능의 회복을 포함하여 허용 가능한 안전성 프로필과 장기 지속성 트랜스진 발현을 고려할 때 달팽이관에 직접 유전자 전달을 위한 유망한 도구인 것으로 보인다(예컨대, 문헌[Akil 2012; Kim 2016; Pan 2017; Akil 2019; Al-Moyed 2019; György 2019] 참조, 이들 각각은 전체 내용이 본 명세서에 참조에 의해 원용됨). 여러 AAV 혈청형은 신생아 및 성체 마우스 둘 다에서 상이한 외과적 접근법 및 투여량을 사용하여 내이로 전달되었다(예컨대, 문헌[Akil 2012; Askew 2015; Chien 2016; Landegger 2017; Suzuki 2017; Tao 2018; Yoshimura 2018; Akil 2019; Al-Moyed 2019; György 2019; Kim 2019; Omichi 2020] 참조, 이들 각각은 전체 내용이 본 명세서에 참조에 의해 원용됨). 형질도입 효율은, 달팽이관 및 전정 기관의 다른 세포 유형에서 GFP 발현에 의해 평가된 바와 같이, 마우스 출생 후 연령, 입자를 전달하기 위한 방법 사용, 및 평가된 혈청형 또는 캡시드 변이체에 따라 다르다.

[0374] 일부 실시형태에서, AAV Anc80 변이체는 다른 AAV 캡시드와 비교하여 신생아 및 성체 마우스에서 달팽이관 및 전정 기관 감각 세포(유모세포) 및 달팽이관 및 전정 기관의 보조 세포의 고효율 표적화를 나타내었다(예컨대, 문헌[Landegger 2017; Suzuki 2017; Omichi 2020] 참조, 이들 각각은 전체 내용이 본 명세서에 참조에 의해 원용됨). Anc80 신생아 형성 및 유전자 전달 효율은 생후 1일(P1)에 주사된 C57BL/6 마우스에서 정원창 투여에 의해 생체 내에서 평가되었다(예컨대, 문헌[Landegger 2017] 참조, 전체 내용이 본 명세서에 참조에 의해 원용됨). 이전 연구와 일치하여, AAV2, AAV6 및 AAV8은 낮은 비율의 IHC를 표적화하였고, AAV1은 더 높은 효율로 IHC를 형질도입할 수 있지만, OHC 형질도입은 미미했고; 대조적으로, AAV Anc80(1.7E9 vg/달팽이관)은 달팽이관 또는 청각 기능에 어떠한 유해한 영향도 없이 대략 100%의 IHC 및 대략 90%의 OHC를 형질도입할 수 있었다(도 12)(예컨대, 문헌[Landegger 2017], 전체 내용이 본 명세서에 참조에 의해 원용됨). 일부 실시형태에서, 전정계에서, AAV Anc80은 전정 기능에 영향을 미치지 않으면서 난형낭의 유형 I 및 유형 II 유모세포뿐만 아니라 반고리관 크리스테(cristae)의 세포를 형질도입하였다(도 13)(예컨대, 문헌[Landegger 2017] 참조, 전체 내용이 본 명세서에 참조에 의해 원용됨).

[0375] 후반고리관을 통한 상이한 투여 경로를 사용하여, AAV Anc80 항성 및 유전자 전달 효율을 성체(7주) CBA/CaJ 마우스에서 평가하였다(예컨대, 문헌[Suzuki 2017] 참조, 전체 내용이 본 명세서에 참조에 의해 원용됨). AAV Anc80(9.6×10^8 vg/달팽이관)은, 정상적인 달팽이관 및 청각 기능을 유지하면서 달팽이관 길이 전체에 걸쳐서 대략 100%의 IHC뿐만 아니라 상당한 부분의 OHC, 나선관 가장자리 및 라이스너막의 세포, 및 달팽이관 축의 세포(예컨대, 나선 신경절 뉴런 및 위성 신경교 세포)를 포함하는 달팽이관의 감각 및 보조 세포를 표적화하였다(도 14)(예컨대, 문헌[Suzuki 2017] 참조, 전체 내용이 본 명세서에 참조에 의해 원용됨). 유모세포의 서브세트와 난형낭 및 반고리관 크리스테뿐만 아니라 구형낭에 있는 지지세포의 거의 100%를 비롯한(도 15), 전정계의 여러 세포 유형이 또한 모두 전정 기능에 유해한 영향을 미치지 않고 형질도입되었다(예컨대, 문헌[Suzuki 2017] 참조, 전체 내용이 본 명세서에 참조에 의해 원용됨).

[0376] 보다 최근에, 성체(4주) C3H/FeJ 마우스에서 AAV Anc80 생체 내 형질도입을 본 명세서에서 이용되는 전달 경로를 사용하여(후반고리관 개창을 이용한 정원창막 전달을 통해서) 평가하고 자연 발생 혈청형 AAV1, AAV2, AAV8 및 AAV9에 의한 형질도입과 직접 비교하였다(예를 들어, 문헌[Omichi 2020] 참조, 그 전체 내용이 참조로 본 명세서에 포함됨). 모든 입자는, 제어와 유사한(주입되지 않은) ABR 역치에 의해 입증된 바와 같이, 청각 기능에 유해한 영향 없이 어느 정도의 형질도입을 생성하였다. AAV Anc80(5.5×10^9 vg/달팽이관)은 달팽이관 길이를 따라 사실상 IHC의 100%, 그리고 달팽이관 위치에 따라 OHC의 대략 27 내지 66%를 형질도입하였다(도 16). AAV Anc80 과 비교하여 AAV2(3.68×10^9 vg/달팽이관)에 의한 OHC에 대한 약간 더 높은 형질도입 효율에도 불구하고, AAV Anc80은 구형낭의 eGFP-양성 유모세포 및 달팽이관의 나선 신경절 뉴런에 의해 입증되는 바와 같이 AAV2보다 상당히 더 넓은 항성을 유지하였고; 이러한 동일한 세포 유형에서, AAV2는 형질도입을 거의 내지 전혀 생성하지 않았다(도 16) (예컨대, 문헌[Omichi 2020] 참조, 전체 내용이 본 명세서에 참조에 의해 원용됨).

[0377] 일부 실시형태에서, AAV Anc80이 신생아 내지 성체 마우스에서 달팽이관 IHC 및 OHC, 지지세포, 달팽이관 나선 신경절의 세포, 난형낭, 구형낭 및 팽대부릉의 전정 유모세포, 및 달팽이관 및 전정 지지/보조 세포를 포함하는 광범위한 내이 세포 유형을 표적화하는 능력은, 예컨대, AAV Anc80이 내이 장애에 대한 유전자 요법 접근법의 개발을 용이하게 할 수 있었음을 시사한다.

[0378] 예시적인 AAV Anc80 캡시드 DNA 서열(서열번호 62)

```
ATGGCTGCCGATGGTTATCTTCCAGATTGGCTCGAGGACAACCTCTCTGAGGGCATTCGCGAGT
GGTGGGACTTGAAACCTGGAGCCCCGAAACCCAAAGCCAACCAGCAAAAGCAGGACGACGGCCG
GGGTCTGGTGCTTCTTGGCTACAAGTACCTCGGACCTTCAACGGACTCGACAAGGGGGAGCCC
GTCAACGCGGCGGACGCGAGCGGCCCTCGAGCACGACAAGGCCTACGACCAGCAGCTCAAAGCGG
GTGACAATCCGTACCTGCGGTATAACCACGCCGACGCCGAGTTTCAGGAGCGTCTGCAAGAAGA
```

[0379]

TACGTCTTTTGGGGCAACCTCGGGCGAGCAGTCTTCCAGGCCAAGAAGCGGGTTCTCGAACCT
CTCGGTCTGGTTGAGGAAGGCGCTAAGACGGCTCCTGGAAAGAAGAGACCGGTAGAGCAATCAC
CCCAGGAACCAGACTCCTCTTTCGGGCATCGGCAAGAAAGGCCAGCAGCCCCGGAAGAAGAGACT
CAACTTTGGGCAGACAGGCGACTCAGAGTCAGTGCCCGACCTCAACCACTCGGAGAACCCCC
GCAGCCCCCTCTGGTGTGGGATCTAATACAATGGCAGCAGGCGGTGGCGCTCCAATGGCAGACA
ATAACGAAGGCGCCGACGGAGTGGGTAACGCTCAGGAAATTGGCATTGCGATTCCACATGGCT
GGGCGACAGAGTCATCACCACCAGCACCAGAACCTGGGCCCTCCCCACCTACAACAACCACCTC
TACAAGCAAATCTCCAGCCAATCGGGAGCAAGCACCAACGACAACACCTACTTCGGCTACAGCA
CCCCCTGGGGGTATTTTGACTTTAACAGATTCCACTGCCACTTCTCACCACGTGACTGGCAGCG
ACTCATCAACAACAACTGGGGATTCCGGCCCAAGAGACTCAACTTCAAGCTCTTCAACATCCAG
GTCAAGGAGGTACGACGAATGATGGCACCACGACCATCGCCAATAACCTTACCAGCACGGTTC
AGGTCTTTACGAGCTCGGAATACCAGCTCCCGTACGTCTCGGCTCTGCGCACCAGGGCTGCCT
GCCTCCGTTCCCGGCGGACGTCTTCATGATTCCCTCAGTACGGGTACCTGACTCTGAACAATGGC
AGTCAGGCCGTGGGCCGTTTCTCCTTCTACTGCCTGGAGTACTTTCCTTCTCAAATGCTGAGAA
CGGGCAACAACCTTTGAGTTACGTACACGTTTGGAGACGTGCCTTTTACAGCAGCTACGCGCA
CAGCCAAAGCCTGGACCGGTGATGAACCCCTCATCGACCAGTACCTGTACTACCTGTCTCGG
ACTCAGACCACGAGTGGTACCGCAGGAAATCGGACGTTGCAATTTTCTCAGGCCGGGCTAGTA
GCATGGCGAATCAGGCCAAAACTGGCTACCCGGGCCCTGCTACCGGCAGCAACGCGTCTCCAA
GACAGCGAATCAAAATAACAACAGCAACTTTGCTGGACCGGTGCCACCAAGTATCATCTGAAT
GGCAGAGACTCTCTGGTAAATCCCGGTCCCGCTATGGCAACCCACAAGGACGACGAAGACAAAT
TTTTTCCGATGAGCGGAGTCTTAATATTTGGGAAACAGGGAGCTGGAAATAGCAACGTGGACCT
TGACAACGTTATGATAACCAGTGAGGAAGAAATTTAAACCACCAACCCAGTGGCCACAGAACAG
TACGGCACGGTGGCCACTAACCTGCAATCGTCAAACACCGCTCCTGCTACAGGGACCGTCAACA
GTCAAGGAGCCTTACCTGGCATGGTCTGGCAGAACCGGGACGTGTACCTGCAGGGTCTATCTG
GGCCAAGATTCTCAGACGGACGACACTTTCATCCCTCGCCGCTGATGGGAGGCTTTGGACTG
AAACACCCGCTCTCAGATCCTGATTAAGAATACACCTGTTCCCGGAATCCTCCAACCTACCT
TCAGTCCAGCTAAGTTTGGCTCGTTTCATCACGAGTACAGCACCGGACAGGTACGCGTGGAAT
TGAATGGGAGCTGCAGAAAGAAAACAGCAAACGCTGGAACCCAGAGATTCAATACACTTCCAAC
TACAACAAATCTACAAATGTGGACTTTGCTGTTGACACAAATGGCGTTTATTCTGAGCCTCGCC
CCATCGGCACCCGTTACCTCACCCGTAATCTG

[0380]

[0381]

예시적인 AAV Anc80L65 캡시드 아미노산 서열(서열번호 63)

MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWDLKPGAPKPKANQQKQDDGRGLVLPGYKYLGPFNGLDKGEP
VNAADAAALEHDKAYDQQLKAGDNPYLRYNHADAQERLQEDTSFGGNLGRAVFAQKRVLEP
LGLVEEGAKTAPGKKRPVEQSPQEPDSSSGIGKKGQPAKKRLNFGQTGDSESVDPQPLGEPP
AAPSGVGSNTMAAGGGAPMADNNEGADGVGNASGNWHCDSTWLGDRVITSTRTWALPTYNNHL
YKQISSQSGASTNDNTYFGYSTPWFYFDNRFHCHFSRQWLINNNWGFRPKRLNFKLFNIQ
VKEVTNDGTTTIANLSTVQVFTDSEYQLPYVLGSAHQGLPPFPADVFMIPQYGYLTLNNG
SQAVGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNFEFSYTFEDVPFHSSYAHQS LDRLMNPLIDQYLYLSR
TQTTSGTAGNRTLQFSQAGPSSMANQAKNWLPGPCYRQQRVSKTANQNNNSNFAWTGATKYHLN
GRDSLVPNGPAMATHKDEDEKFFPMGVLIFGKQGAGNSNVDLDNVMITSEEEIKTTNPVATEQ
YGTVATNLQSSNTAPATGTVNSQGALPGMVWQNRDVYLQGPWAKIPHTDGHFHPSPLMGGFGL
KHPPPQILIKNTPVPANPPTTFSPAKFASFITQYSTGQVSVEIEWELQKENS KRWNPEIQYTSN
YNKSTNVDFAVDTNGVYSEPRPIGTRYLTRL*

[0382]

[0383] 예시적인 AAV Anc80 스캐폴드 아미노산 서열(서열번호 XX)

MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWWDLPKPGAPKPKANQQKQDDGRGLVLPGYKYLGPFGNLDKGEP
VNAADAAALEHDKAYDQQLKAGDNPYLRYNHADAQERLQEDTSFGGNLGRAVFQAKKRVLEP
LGLVEEGAKTAPGKKRPVEQSPQEPDSSSGIGKKGQQPAX₁KRLNFGQTGDSESVDPQPPLGEP
AAPSGVGSNTMX₂AGGGAPMADNNEGADGVGNASGNWHCDSTWLGDRTVITSTRTWALPTYNNHL
YKQISSQSGX₃STNDNTYFGYSTPWGYFDNFRHCHFSRQDWQRLINNNWGFPRPX₄LNFKLFNI
QVKEVTNDGTTTTIANNLTSTVQVFTDSEYQLPYVLGSAHQGCLPPFPADVFMIPQYGYLTLNN
GSQAVGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNFX₅FSYTFEDVPFHSSYAHSQSLDRLMNPLIDQYLYLS
RTQTSTGTAGNRX₆LQFSQAGPSSMANQAKNWLPGPCYRQQRVSKTX₇NQNNNSNFAWTGATKYH
LNGRDSLVPNGPAMATHKDDDEKFFPMGVLIFGKQAGNSNVDLDNVMITX₈EEEIKTTNPVAT
EX₉YGTVATNLQXS₁₀NTAPATGTVNSQGALPGMVWQX₁₁RDVYLQGPWIWAKIPHTDGHFHPSPLM
GGFGLKHPPPQILIKNTVPANPPTTFSPAKFASFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSQRWNPEI
QYTSYNKSTNVDFAVDTNGVYSEPRPIGTRYLTRNL

[0384]

기준	아미노산
X ₁	K 또는 R
X ₂	A 또는 S
X ₃	A 또는 G
X ₄	R 또는 k
X ₅	E 또는 Q
X ₆	T 또는 E
X ₇	A 또는 T
X ₈	S 또는 N
X ₉	Q 또는 E
X ₁₀	S 또는 A
X ₁₁	N 또는 D

[0385]

[0386]

조성물

[0387]

특히, 본 개시내용은 조성물을 제공한다. 일부 실시형태에서, 조성물은 본 명세서에 기재된 작제물을 포함한다. 일부 실시형태에서, 조성물은 본 명세서에 기재된 바와 같은 하나 이상의 작제물을 포함한다. 일부 실시형태에서, 조성물은 본 명세서에 기재된 바와 같은 복수의 작제물을 포함한다. 일부 실시형태에서, 하나 초과와 작제물이 조성물에 포함될 경우, 작제물은 서로 상이하다.

[0388]

일부 실시형태에서, 조성물은 본 명세서에 기재된 바와 같은 AAV 입자를 포함한다. 일부 실시형태에서, 조성물은 본 명세서에 기재된 바와 같은 하나 이상의 AAV 입자를 포함한다. 일부 실시형태에서, 조성물은 복수의 AAV 입자를 포함한다. 일부 실시형태에서, 하나 초과와 AAV 입자가 조성물에 포함될 경우, AAV 입자는 서로 상이하다.

[0389]

일부 실시형태에서, 조성물은 클라린 1 단백질을 포함한다. 일부 실시형태에서, 조성물은 세포를 포함한다.

[0390]

일부 실시형태에서, 조성물은 약제학적 조성물이거나 이를 포함한다.

[0391]

단일 AAV 작제물 조성물

[0392]

일부 실시형태에서, 본 개시내용은 단일 작제물로 구성된 AAV 입자를 포함하는 조성물 또는 시스템을 포함한다. 이러한 일부 실시형태에서, 단일 작제물은 CLRN1 유전자의 기능성(예컨대, 야생형 또는 다른 기능성, 예컨대, 코돈 최적화된) 카피를 인코딩하는 폴리뉴클레오타이드를 전달할 수 있다. 일부 실시형태에서, 작제물은 rAAV 작제물이거나 이를 포함한다. 본 명세서에 기재된 일부 실시형태에서, 단일 rAAV 작제물은 표적 세포(예컨대, 내이 세포, 예컨대, 안구 세포)에서 전장 CLRN1 메신저 RNA 또는 이의 특징적인 단백질을 발현 가능하다. 일부 실시형태에서, 단일 작제물(예컨대, 본 명세서에 기재된 임의의 작제물)은 기능성 클라린 1 단백질을 생성하는 임의의 작제물(예컨대, 기능성 클라린 1 단백질을 생성하는 임의의 작제물)을 인코딩하는 서열을 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 단

일 작제물(예컨대, 본 명세서에 기재된 임의의 작제물)은 기능성 클라린 1 단백질(예컨대, 기능성 클라린 1 단백질을 생성하는 임의의 작제물)을 인코딩하는 서열 및 선택적으로 추가의 폴리펩타이드 서열(예컨대, 조절 서열 및/또는 리포터 서열)을 포함할 수 있다.

[0393] 일부 실시형태에서, 단일 작제물 조성물 또는 시스템은 본 명세서에 기재된 임의의 또는 모든 예시적인 작제물 성분을 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 예시적인 단일 작제물은 서열번호 64로 표시된다. 일부 실시형태에서, 예시적인 단일 작제물은 서열번호 64로 표시되는 서열과 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99% 동일하다. 당업자라면, 작제물이 코돈-최적화, 신규하지만 기능성 등가물(예컨대, 침묵 돌연변이)의 도입, 리포터 서열의 부가, 및/또는 다른 일상적인 변형을 포함하는 추가의 변형을 겪을 수 있음을 인지할 것이다.

[0394] 일부 실시형태에서, 단일 작제물 조성물 또는 시스템은 본 명세서에 기재된 임의의 또는 모든 예시적인 작제물 성분을 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 예시적인 단일 작제물은 서열번호 68로 표시된다. 일부 실시형태에서, 예시적인 단일 작제물은 서열번호 68로 표시되는 서열과 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99% 동일하다. 당업자라면, 작제물이 코돈-최적화, 신규하지만 기능성 등가물(예컨대, 침묵 돌연변이)의 도입, 리포터 서열의 부가, 및/또는 다른 일상적인 변형을 포함하는 추가의 변형을 겪을 수 있음을 인지할 것이다.

[0395] 일부 실시형태에서, 예시적인 작제물은 서열번호 21에 의해 예시된 5' ITR, 선택적으로 서열번호 46에 의해 예시된 클로닝 부위, 서열번호 38에 의해 예시된 CMV 인핸서, 서열번호 23에 의해 예시된 CBA 프로모터, 서열번호 39에 의해 예시된 키메라 인트론, 선택적으로 서열번호 54에 의해 예시된 클로닝 부위, 선택적으로 서열번호 40에 의해 예시된 5' ITR, 서열번호 1에 의해 예시된 CLRN1 코딩 영역, 선택적으로 서열번호 41에 의해 예시된 3' ITR, 서열번호 44에 의해 예시된 폴리(A) 부위, 선택적으로 서열번호 49에 의해 예시된 클로닝 부위, 및 서열번호 22에 의해 예시된 3' ITR을 포함한다(하기 표 1 참조).

표 1

예시적인 작제물 및 성분				
성분 (5'에서 3'로의 순서)	크기 (nt)	기원 및 주석	예시적인 단일 작제물 서열(서열번호 64)에서의 위치	서열번호
5' ITR	145	야생형 AAV2 ITR (AF043303.1)	1-145	21
클로닝 부위	22	해당없음 (Sali/NotI/MluI)	146-167	46
CMV 인핸서	381	NCBI K03104.1 (140...520)	168-548	38
CBA 프로모터	279	NCBI X00182.1 (268...543)	549-827	23
키메라 인트론	1013	NCBI X00182.1 (544...1503) NCBI V00882.1 (1250...1317); XbaI 클로닝 부위	828-1840	39
클로닝 부위	33	해당없음; AgeI	1841-1873	54
5' UTR	291	NCBI NG_009168.1(5001- 5291)	1874-2164	40
CLRN1	696	NCBI NM_174878.3(20-715)	2171-2866	1
3' UTR	1369	NCBI NG_009168.1(50065- 51433)	2876-4244	41
bGHpA	225	NCBI M57764.1(2326- 2550)	4245-4469	44
클로닝 부위	39	해당없음; HindIII/EcoRI/PvuII /RsrII/AvrII	4470-4508	49
3' ITR	145	야생형 AAV2 ITR (AF043303.1)	4509-4653	22

[0396]

[0397] 일부 실시형태에서, 예시적인 작제물은 서열번호 21에 의해 예시된 5' ITR, 선택적으로 서열번호 46에 의해 예시된 클로닝 부위, 서열번호 38에 의해 예시된 CMV 인핸서, 서열번호 23에 의해 예시된 CBA 프로모터, 서열번호 39에 의해 예시된 키메라 인트론, 선택적으로 서열번호 54에 의해 예시된 클로닝 부위, 선택적으로 서열번호 40에 의해 예시된 5' UTR, 서열번호 19에 의해 예시된 CLRN1 코딩 영역, 선택적으로 서열번호 41에 의해 예시된 3' UTR, 서열번호 44에 의해 예시된 예시된 폴리(A) 부위, 선택적으로 서열번호 49에 의해 예시된 클로닝 부위, 및 서열번호 22에 의해 예시된 3' ITR을 포함한다(하기 표 2 참조).

표 2

예시적인 작제물 및 성분				
성분 (5'에서 3'로의 순서)	크기 (nt)	기원 및 주석	예시적인 단일 작제물 서열(서열번호 68)에서의 위치	서열번호
5' ITR	145	야생형 AAV2 ITR (AF043303.1)	1-145	21
클로닝 부위	22	해당없음 (SalI/NotI/MluI)	146-167	46
CMV 인핸서	381	NCBI K03104.1 (140...520)	168-548	38
CBA 프로모터	279	NCBI X00182.1 (268...543)	549-827	23
키메라 인트론	1013	NCBI X00182.1 (544...1503) NCBI V00882.1 (1250...1317); XbaI 클로닝 부위	828-1840	39
클로닝 부위	33	해당없음; AgeI	1841-1873	54
5' UTR	291	NCBI NG_009168.1(5001- 5291)	1874-2164	40
CLRN1	696	NCBI NM_174878.3(20- 715)	2171-2866	19
3' UTR	1369	NCBI NG_009168.1(50065- 51433)	2876-4244	41
bGHpA	225	NCBI M57764.1(2326- 2550)	4245-4469	44
클로닝 부위	39	해당없음; HindIII/EcoRI/PvuII/ RsrII/AvrII	4470-4508	49
3' ITR	145	야생형 AAV2 ITR (AF043303.1)	4509-4653	22

[0398]

[0399] 예시적인 단일 작제물 서열 1(서열번호 64)

TTGGCCACTCCCTCTCTGCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGGCCGGGCGACCAAAGGTCGCCCCGAC
GCCCCGGGCTTTGCCCGGGCGGCCTCAGTGAGCGAGCGAGCGCGCAGAGAGGGAGTGCCCAACTC
CATCACTAGGGGTTCCCTTTGTGCGACGCGGCCGCACGCGTGACATTGATTATTGACTAGTTATTA
ATAGTAATCAATTACGGGGTCATTAGTTCATAGCCCATATATGGAGTTCCGCGTTACATAACTT
ACGGTAAATGGCCCGCCTGGCTGACCGCCCAACGACCCCGCCCATTTGACGTCAATAATGACGT
ATGTTCCCATAGTAACGCCAATAGGGACTTTCCATTGACGTCAATGGGTGGACTATTTACGGTA
AACTGCCCACTTGGCAGTACATCAAGTGTATCATATGCCAAGTACGCCCCCTATTGACGTCAAT

[0400]

GACGGTAAATGGCCCGCCTGGCATTATGCCAGTACATGACCTTATGGGACTTTCCTACTTGGC
 AGTACATCTACGTATTAGTCATCGCTATTACCATGGGTGAGGTGAGCCCCACGTTCTGCTTCA
 CTCTCCCCATCTCCCCCCCCCTCCCCACCCCAATTTTGTATTTATTTATTTTAAATTATTTTG
 TGCAGCGATGGGGGCGGGGGGGGGGGGGGGCGCGGCCAGGCGGGGCGGGGCGGGGCGAGGGG
 CGGGGCGGGGCGAGGCGGAGAGGTGCGGCGGCAGCCAATCAGAGCGGCGCGCTCCGAAAGTTTC
 CTTTTATGGCGAGGCGGCGGCGGCGGCCCTATAAAAAGCGAAGCGCGGCGGGGCGGGAGT
 CGCTGCGTTGCCTTCGCCCCGTGCCCCGCTCCGCGCCGCTCGCGCCGCCCCCGGCTCTGA
 CTGACCGCGTTACTCCACAGGTGAGCGGGCGGGACGGCCCTTCTCCTCCGGGCTGTAATTAGC
 GCTTGTTTTAATGACGGCTCGTTTTCTTTCTGTGGCTGCGTGAAAGCCTTAAAGGGCTCCGGGA
 GGGCCCTTTGTGCGGGGGGAGCGGCTCGGGGGGTGCGTGCGTGTGTGTGCGTGCGGAGCGC
 CGCGTGCGGCGCGCTGCGCGGCGGCTGTGAGCGCTGCGGGCGCGGCGCGGGGCTTTGTGCGC
 TCCGCGTGTGCGGAGGGGAGCGCGGCCGGGGCGGTGCCCGCGGTGCGGGGGGCTGCGAGG
 GGAACAAAGGCTGCGTGCGGGGTGTGTGCGTGGGGGGGTGAGCAGGGGTGTGGGCGCGGCGGT
 CGGGCTGTAACCCCCCTGCACCCCCCTCCCGAGTTGCTGAGCACGGCCCGGCTTCGGGTGC
 GGGGCTCCGTGCGGGGCGTGGCGCGGGGCTCGCCGTGCCGGGCGGGGGGTGGCGGCAGGTGGGG
 GTGCCGGGCGGGGCGGGGCCCTCGGGCCGGGAGGGCTCGGGGGAGGGGCGCGGCGGCCCCC
 GGAGCGCCGGCGGCTGTGAGGCGCGGCGAGCCGAGCCATTGCCTTTTATGGTAATCGTGCGA
 GAGGGCGCAGGGACTTCCTTTGTCCCAATCTGTGCGGAGCCGAAATCTGGGAGGCGCCCGCG
 ACCCCCTCTAGCGGGCGCGGGGCGAAGCGGTGCGGCGCCGGCAGGAAGGAAATGGGCGGGGAGG
 GCCTTCGTGCGTGC CGCGCGCGCGCTCCCTTCTCCCTCTCCAGCCTCGGGGCTGTCCGCGGGG
 GGACGGCTGCCTTCGGGGGGGACGGGGCAGGGCGGGGTTCGGCTTCTGGCGTGTGACCGGCGGC
 TCTAGAGCCTCTGCTAACCATGTTTCATGCCTTCTTCTTTTCTACAGCTCCTGGGCAACGTGC
 TGGTTATTGTGACCGGTAGGAGATACTTGAAGGCAGTTTGAAAGACTTGTTTTACAGATTCTTA
 GTCCAAAGATTTCCAATTAGGGAGAAGAAGCAGCAGAAAAGGAGAAAAGCCAAGTATGAGTGAT
 GATGAGGCCTTCATCTACTGACATTTAACCTGGCGAGAACCCTCGATGGTGAAGTTGCCTTTTC
 AGCTGGGAGCTGTCCGTTAGCTTCCGTAATAAATGCAGTCAAAGAGGCAGTCCCTTCCCATTG
 CTCACAAAGGTCTTGTTTTTGAACCTCGCCCTCACAGAAGCCGTTTCTCATCGCCACCATGCCA
 AGCCAACAGAAGAAAATCATTTTTTGCATGGCCGGAGTGTTTCAAGTTTGCATGTGCCCTCGGAG
 TTGTGACAGCCTTGGGGACACCGTTGTGGATCAAAGCCACTGTCTCTGCAAAACGGGAGCTCT
 GCTCGTCAATGCCTCAGGGCAGGAGCTGGACAAGTTTATGGGTGAAATGCAGTACGGGCTTTTC
 CACGGAGAGGGTGTGAGGCAGTGTGGGTGGGAGCAAGGCCCTTTCGGTTCTCATTTTTTCCAG
 ATTTGCTCAAAGCAATCCAGTGAGCATCCACGTCAATGTCAATCTCTTCTCTGCCATCCTTAT

[0401]

[illegible]

[0402]

TGCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGGCCGCCCGGGCAAAGCCCGGGCGTCGGGCGACCTTTGGTCG
CCCGGCCTCAGTGAGCGAGCGAGCGCGCAGAGAGGGAGTGGCCAA

[0403]

[0404]

예시적인 단일 작제물 서열 2(서열번호 68)

TTGGCCACTCCCTCTCTGCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGGCCGGGCGACCAAAGGTCGCCCCGAC
 GCCCGGGCTTTGCCCGGGCGGCCTCAGTGAGCGAGCGAGCGCGCAGAGAGGGAGTGGCCAACTC
 CATCACTAGGGGTTCTTTGTGACGCGGGCCGACGCGTGACATTGATTATTGACTAGTTATTA
 ATAGTAATCAATTACGGGGTCATTAGTTCATAGCCCATATATGGAGTTCCGCGTTACATAACTT
 ACGGTAAATGGCCCGCTGGCTGACCGCCCAACGACCCCGCCATTGACGTCAATAATGACGT
 ATGTTCCCATAGTAACGCCAATAGGGACTTTCCATTGACGTCAATGGGTGGACTATTTACGGTA
 AACTGCCCACCTTGGCAGTACATCAAGTGTATCATATGCCAAGTACGCCCCCTATTGACGTCAAT
 GACGGTAAATGGCCCGCTGGCATTATGCCAGTACATGACCTTATGGGACTTTCCTACTTGGC
 AGTACATCTACGTATTAGTCATCGCTATTACCATGGGTGAGGTGAGCCCCACGTTCTGCTTCA
 CTCTCCCCATCTCCCCCCCCCTCCCCACCCCAATTTTGTATTTATTTATTTTAAATTATTTTG
 TGCAGCGATGGGGGCGGGGGGGGGGGGGGGCGCGCCAGGCGGGGCGGGGCGGGGCGAGGGG
 CGGGGCGGGGCGAGGCGGAGAGGTGCGGCGGCAGCCAATCAGAGCGGCGCGCTCCGAAAGTTTC
 CTTTTATGGCGAGGCGGCGGCGGCGGCGGCCCTATAAAAAGCGAAGCGCGGCGGGCGGGAGT
 CGCTGCGTTGCCTTCGCCCCGTGCCCCGCTCCGCGCCGCTCGCGCGCCCGCCCGGCTCTGA
 CTGACCGCGTTACTCCACAGGTGAGCGGGCGGGACGGCCCTTCTCCTCCGGGCTGTAATTAGC
 GCTTGGTTTAAATGACGGCTCGTTTCTTTTCTGTGGCTGCGTGAAAGCCTTAAAGGGCTCCGGGA
 GGGCCCTTTGTGCGGGGGGAGCGGCTCGGGGGGTGCGTGCGTGTGTGTGTGCGTGGGGAGCGC
 CGCGTGCGGGCCGCGCTGCCCGGCGGCTGTGAGCGCTGCGGGCGCGGCGCGGGGCTTTGTGCGC
 TCCGCGTGTGCGGAGGGGAGCGCGGCCGGGGCGGTGCCCCGCGGTGCGGGGGGCTGCGAGG
 GGAACAAAGGCTGCGTGCGGGGTGTGTGCGTGCGGGGGGTGAGCAGGGGGTGTGGGCGCGCGGT
 CGGGCTGTAACCCCCCTGCACCCCCCTCCCCAGTTGCTGAGCACGGCCCGGCTTCGGGTGC
 GGGGCTCCGTGCGGGGCGTGGCGGGGCTCGCCGTGCCGGGCGGGGGGTGGCGGCAGGTGGGG
 GTGCCGGGCGGGGCGGGGCCGCTCGGGCCGGGAGGGCTCGGGGAGGGGCGCGCGGGCCCCC
 GGAGCGCCGGCGGCTGTGAGGCGCGGCGAGCCGAGCCATTGCCTTTTATGGTAATCGTGCGA
 GAGGGCGCAGGGAATTCTTTGTCCCAAATCTGTGCGGAGCCGAAATCTGGGAGGCGCCCGCG
 ACCCCCTCTAGCGGGCGCGGGGCGAAGCGGTGCGGCGCCGGCAGGAAGGAAATGGGCGGGGAGG
 GCCTTCGTGCGTGCGCGCGCGCGCTCCCTTCTCCCTCTCCAGCCTCGGGGCTGTCCGCGGGG
 GGACGGCTGCCTTCGGGGGGGACGGGGCAGGGCGGGGTTGCGCTTCTGGCGTGTGACCGGCGGC

[0405]

[illegible]

[0406]

GTATCACTGTATCATCTTGGTCTTGGTCTGGCTGTACCAAGCATGACCCAGGTCAACTTTTTT
TTTCCCCTGAATTACCCATCAAATTGATCTGCAGCTGACTAAAGGCCACAGCTGAGCCTGGAAC
TGACCCTTCCTTCATCTCAACCTGCTGTCTCCAGAAAGCACCAAGGAAAAAGCAGAGAATGA
CAGCAAACAGATCACTAGGCCTCTGACCACAGGTGCTGAGTACTCAGCAGCCCTCATATAATAG
GTTTGAAAGTACTCCTTAAATAAAACACTGTTTCCCTTTGGAACTATTTACAAGGATGAAACA
ACCGTATACCTGAGAAATAACTTGCTCTGGTGTCAATTGCTATTGCCAGCAGACATCAGAAC
ACACCGAGTTTCCAGATGCTCTGTGCCTTCTAGTTGCCAGCCATCTGTTGTTTGCCCCCTCCCC
GTGCCTTCCTTGACCCTGGAAGGTGCCACTCCCCTGTCTTTTCTTAATAAAATGAGGAAATTG
CATCGCATTGTCTGAGTAGGTGTCAATTCTATTCTGGGGGTGGGGTGGGGCAGGACAGCAAGGG
GGAGGATTGGGAAGACAATAGCAGGCATGCTGGGGATGCGGTGGGCTCTATGGAAGCTTGAATT
CAGCTGACGTGCCTCGGACCGTCTAGGAGGAACCCCTAGTGATGGAGTTGGCCACTCCCTCTC
TGCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGGCCGCCGGGGCAAAGCCGGGCGTGGGGCGACCTTTGGTCG
CCCGGCCTCAGTGAGCGAGCGAGCGCGCAGAGGGAGTGGCCAA

[0407]

[0408] 다중 AAV 작제물 조성물

[0409]

본 개시내용은 단백질(예컨대, 클라린 1 단백질)을 인코딩하는 일부 코딩 서열이 당해 코딩 서열을 상이한 작제물에 각각 포함되는 다수의 부분으로 분할함으로써 전달될 수 있는 것을 인식한다. 일부 실시형태에서, 본 명세서에서는 적어도 2(예컨대, 2, 3, 4, 5 또는 6)가지 상이한 작제물을 포함하는 조성물 또는 시스템이 제공된다. 일부 실시형태에서, 적어도 2가지 상이한 작제물의 각각은 (예컨대, 표적 단백질, 예컨대, 내이 표적 단백질, 예컨대, 안구 표적 단백질, 예컨대, 클라린 1 단백질인 인코딩하는) 코딩 영역의 상이한 부분을 인코딩하는 코딩 서열을 포함하며, 인코딩된 부분의 각각은 적어도 10개의 아미노산(예컨대, 적어도 약 10개의 아미노산, 적어도 약 20개의 아미노산, 적어도 약 30개의 아미노산, 적어도 약 60개의 아미노산, 적어도 약 70개의 아미노산, 적어도 약 80개의 아미노산, 적어도 약 90개의 아미노산, 적어도 약 100개의 아미노산, 적어도 약 110개의 아미노산, 적어도 약 120개의 아미노산, 적어도 약 130개의 아미노산, 적어도 약 140개의 아미노산, 적어도 약 150개의 아미노산, 적어도 약 160개의 아미노산, 적어도 약 170개의 아미노산, 적어도 약 180개의 아미노산, 적어도 약 190개의 아미노산, 적어도 약 200개의 아미노산, 적어도 약 210개의 아미노산, 적어도 약 220개의 아미노산, 적어도 약 230개의 아미노산, 적어도 약 240개의 아미노산, 적어도 약 250개의 아미노산, 적어도 약 260개의 아미노산, 적어도 약 270개의 아미노산, 적어도 약 280개의 아미노산, 적어도 약 290개의 아미노산, 적어도 약 300개의 아미노산, 적어도 약 310개의 아미노산, 적어도 약 320개의 아미노산, 적어도 약 330개의 아미노산, 적어도 약 340개의 아미노산, 적어도 약 350개의 아미노산, 적어도 약 360개의 아미노산, 적어도 약 370개의 아미노산, 적어도 약 380개의 아미노산, 적어도 약 390개의 아미노산, 적어도 약 400개의 아미노산, 적어도 약 410개의 아미노산, 적어도 약 420개의 아미노산, 적어도 약 430개의 아미노산, 적어도 약 440개의 아미노산, 적어도 약 450개의 아미노산, 적어도 약 460개의 아미노산, 적어도 약 470개의 아미노산, 적어도 약 480개의 아미노산, 적어도 약 490개의 아미노산, 적어도 약 500개의 아미노산, 적어도 약 510개의 아미노산, 적어도 약 520개의 아미노산, 적어도 약 530개의 아미노산, 적어도 약 540개의 아미노산, 적어도 약 550개의 아미노산, 적어도 약 560개의 아미노산, 적어도 약 570개의 아미노산, 적어도 약 580개의 아미노산, 적어도 약 590개의 아미노산, 적어도 약 600개의 아미노산, 적어도 약 610개의 아미노산, 적어도 약 620개의 아미노산, 적어도 약 630개의 아미노산, 적어도 약 640개의 아미노산, 적어도 약 650개의 아미노산, 적어도 약 660개의 아미노산, 적어도 약 670개의 아미노산, 적어도 약 680개의 아미노산, 적어도 약 690개의 아미노산, 적어도 약 700개의 아미노산, 적어도 약 710개의 아미노산, 적어도 약 720개의 아미노산, 적어도 약 730개의 아미노산, 적어도 약 740개의 아미노산, 적어도 약 750개의 아미노산, 적어도 약 760개의 아미노산, 적어도 약 770개의 아미노산, 적어도 약 780개의 아미노산, 적어도 약 790개의 아미노산, 적어도 약 800개의 아미노산, 적어도 약 810개의 아미노산, 또는 적어도 약 820개의 아미노산)이되, 여기서 인코딩된 부분의 각각의 아미노산 서열은 선택적으로 인코딩된 부분의 상이한 것의 아미노산 서열과 부분적으로 중첩될 수 있으며; 적어도 2가지 상이한 작제물의 단일 작제물이 활성 표적 단백질을 인코딩하지 않고; 그리고 대상체 세포(예컨대, 동물 세포, 예컨대, 영장류 세포, 예컨대, 인간 세포)에 도입될 때, 적어도 2가지 상이한 작제물은 서로 동종 재조합을 겪는데, 여기서 재조합 핵산은 활성 표적 단백질(예컨대, CLRN1 유전자 또는 이의 특징적인 부분에 의해 인코딩된 유전자 산물)을 인코딩된다. 일부 실시형태에서, 핵산 작제물 중 하나는 표적 단백질(예컨대, 내이 표적 단백질, 예컨대, 클라린 1 단백질)의 부분을 인코딩하는 코딩 서열을 포함할 수 있는데, 여기서 인코딩된 부분은 최대 약 820개의 아미노산(예컨대, 최대 약 10개의 아미노산, 최대 약 20개의 아미노산, 최대 약 30개의 아미노산, 최대 약 60개의 아미노산, 최대 약 70개의 아미노산, 최대 약 80개의 아미노산, 최대 약 90개의 아미노산, 최대 약 100개의 아미노산, 최대 약 110개의 아미노산, 최대 약 120개의 아미노산, 최대 약 130개의 아미노산, 최대 약 140개의 아미노산, 최대 약 150개의 아미노산, 최대 약 160개의 아미노산, 최대 약 170개의 아미노산, 최대 약 180개의 아미노산, 최대 약 190개의 아미노산, 최대 약 200개의 아미노산, 최대 약 210개의 아미노산, 최대 약 220개의 아미노산, 최대 약 230개의 아미노산, 최대 약 240개의 아미노산, 최대 약 250개의 아미노산, 최대 약 260개의 아미노산, 최대 약 270개의 아미노산, 최대 약 280개의 아미노산, 최대 약 290개의 아미노산, 최대 약 300개의 아미노산, 최대 약 310개의 아미노산, 최대 약 320개의 아미노산, 최대 약 330개의 아미노산, 최대 약 340개의 아미노산, 최대 약 350개의 아미노산, 최대 약 360개의 아미노산, 최대 약 370개의 아미노산, 최대 약 380개의 아미노산, 최대 약 390개의 아미노산, 최대 약 400개의 아미노산, 최대 약 410개의 아미노산, 최대 약 420개의 아미노산, 최대 약 430개의 아미노산, 최대 약 440개의 아미노산, 최대 약 450개의 아미노산, 최대 약 460개의 아미노산, 최대 약 470개의 아미노산, 최대 약 480개의 아미노산, 최대 약 490개의 아미노산, 최대 약 500개의 아미노산, 최대 약 510개의 아미노산, 최대 약 520개의 아미노산, 최대 약 530개의 아미노산, 최대 약 540개의 아미노산, 최대 약 550개의 아미노산, 최대 약 560개의 아미노산, 최대 약 570개의 아미노산, 최대 약 580개의 아미노산, 최대 약 590개의 아미노산, 최대 약 600개의 아미노산, 최대 약 610개의 아미노산, 최대 약 620개의 아미노산, 최대 약 630개의 아미노산, 최대 약 640개의 아미노산, 최대 약 650개의 아미노산, 최대 약 660개의 아미노산, 최대 약 670개의 아미노산, 최대 약 680개의 아미노산, 최대 약 690개의 아미노산, 최대 약 700개의 아

미노산, 최대 약 710개의 아미노산, 최대 약 720개의 아미노산, 최대 약 730개의 아미노산, 최대 약 740개의 아미노산, 최대 약 750개의 아미노산, 최대 약 760개의 아미노산, 최대 약 770개의 아미노산, 최대 약 780개의 아미노산, 최대 약 790개의 아미노산, 최대 약 800개의 아미노산, 최대 약 810개의 아미노산, 또는 최대 약 820개의 아미노산)을 포함할 수 있다.

[0410] 일부 실시형태에서, 작제물 중 적어도 하나는 표적 게놈 DNA(예컨대, 내이 표적 게놈 DNA, 예컨대, CLRN1 게놈 DNA)의 두 이웃한 엑손에 걸쳐 있는 뉴클레오타이드 서열을 포함하고, 두 이웃하는 엑손 사이에 자연적으로 존재하는 인트론 서열을 결여한다.

[0411] 일부 실시형태에서, 작제물의 각각의 인코딩된 부분의 아미노산 서열은, 심지어 부분적으로 인코딩된 부분의 상이한 것의 아미노산 서열과 중첩되지 않는다. 일부 실시형태에서, 작제물의 인코딩된 부분의 아미노산 서열은 상이한 작제물의 인코딩된 부분의 아미노산 서열과 부분적으로 중첩된다. 일부 실시형태에서, 각 작제물의 인코딩된 부분의 아미노산 서열은 적어도 하나의 상이한 작제물의 인코딩된 부분의 아미노산 서열과 부분적으로 중첩된다. 일부 실시형태에서, 중첩하는 아미노산 서열은 약 10개의 아미노산 잔기 내지 약 300개의 아미노산, 또는 이 범위의 하위부분 중 임의의 것(예컨대, 약 10개의 아미노산, 약 20개의 아미노산, 약 30개의 아미노산, 약 60개의 아미노산, 약 70개의 아미노산, 약 80개의 아미노산, 약 90개의 아미노산, 약 100개의 아미노산, 약 110개의 아미노산, 약 120개의 아미노산, 약 130개의 아미노산, 약 140개의 아미노산, 약 150개의 아미노산, 약 160개의 아미노산, 약 170개의 아미노산, 약 180개의 아미노산, 약 190개의 아미노산, 약 200개의 아미노산, 약 210개의 아미노산, 약 220개의 아미노산, 약 230개의 아미노산, 약 240개의 아미노산, 약 250개의 아미노산, 약 260개의 아미노산, 약 270개의 아미노산, 약 280개의 아미노산, 약 290개의 아미노산, 약 300개의 아미노산, 약 310개의 아미노산, 약 320개의 아미노산, 약 330개의 아미노산, 약 340개의 아미노산, 약 350개의 아미노산, 약 360개의 아미노산, 약 370개의 아미노산, 약 380개의 아미노산, 약 390개의 아미노산, 약 400개의 아미노산, 약 410개의 아미노산, 약 420개의 아미노산, 약 430개의 아미노산, 약 440개의 아미노산, 약 450개의 아미노산, 약 460개의 아미노산, 약 470개의 아미노산, 약 480개의 아미노산, 약 490개의 아미노산, 약 500개의 아미노산, 약 510개의 아미노산, 약 520개의 아미노산, 약 530개의 아미노산, 약 540개의 아미노산, 약 550개의 아미노산, 약 560개의 아미노산, 약 570개의 아미노산, 약 580개의 아미노산, 약 590개의 아미노산, 약 600개의 아미노산, 약 610개의 아미노산, 약 620개의 아미노산, 약 630개의 아미노산, 약 640개의 아미노산, 약 650개의 아미노산, 약 660개의 아미노산, 약 670개의 아미노산, 약 680개의 아미노산, 약 690개의 아미노산, 약 700개의 아미노산, 약 710개의 아미노산, 약 720개의 아미노산, 약 730개의 아미노산, 약 740개의 아미노산, 약 750개의 아미노산, 약 760개의 아미노산, 약 770개의 아미노산, 약 780개의 아미노산, 약 790개의 아미노산, 약 800개의 아미노산, 약 810개의 아미노산, 또는 약 820개의 아미노산 길이)이다.

[0412] 일부 예에서, 목적하는 유전자 산물(예컨대, 치료용 유전자 산물)은 적어도 2가지 상이한 작제물에 의해 인코딩된다. 일부 실시형태에서, 적어도 2가지 상이한 작제물의 각각은 인트론의 상이한 세그먼트를 포함하되, 여기서 인트론은 표적 게놈 DNA(예컨대, 내이 세포 표적 게놈 DNA 또는 안구 세포 표적 게놈 DNA(예컨대, CLRN1 게놈 DNA)(예컨대, 본 명세서에 기재된 서열번호 5에서의 임의의 예시적인 인트론)에 존재하는 인트론의 뉴클레오타이드 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 상이한 인트론 세그먼트가 중첩된다. 일부 실시형태에서, 상이한 인트론 세그먼트는 최대 약 12,000개의 뉴클레오타이드(예컨대, 최대 약 100개의 뉴클레오타이드, 최대 약 200개의 뉴클레오타이드, 최대 약 300개의 뉴클레오타이드, 최대 약 600개의 뉴클레오타이드, 최대 약 700개의 뉴클레오타이드, 최대 약 800개의 뉴클레오타이드, 최대 약 900개의 뉴클레오타이드, 최대 약 1,000개의 뉴클레오타이드, 최대 약 1,100개의 뉴클레오타이드, 최대 약 1,200개의 뉴클레오타이드, 최대 약 1,300개의 뉴클레오타이드, 최대 약 1,400개의 뉴클레오타이드, 최대 약 1,500개의 뉴클레오타이드, 최대 약 1,600개의 뉴클레오타이드, 최대 약 1,700개의 뉴클레오타이드, 최대 약 1,800개의 뉴클레오타이드, 최대 약 1,900개의 뉴클레오타이드, 최대 약 2,000개의 뉴클레오타이드, 최대 약 2,100개의 뉴클레오타이드, 최대 약 2,200개의 뉴클레오타이드, 최대 약 2,300개의 뉴클레오타이드, 최대 약 2,400개의 뉴클레오타이드, 최대 약 2,500개의 뉴클레오타이드, 최대 약 2,600개의 뉴클레오타이드, 최대 약 2,700개의 뉴클레오타이드, 최대 약 2,800개의 뉴클레오타이드, 최대 약 2,900개의 뉴클레오타이드, 최대 약 3,000개의 뉴클레오타이드, 최대 약 3,100개의 뉴클레오타이드, 최대 약 3,200개의 뉴클레오타이드, 최대 약 3,300개의 뉴클레오타이드, 최대 약 3,400개의 뉴클레오타이드, 최대 약 3,500개의 뉴클레오타이드, 최대 약 3,600개의 뉴클레오타이드, 최대 약 3,700개의 뉴클레오타이드, 최대 약 3,800개의 뉴클레오타이드, 최대 약 3,900개의 뉴클레오타이드, 최대 약 4,000개의 뉴클레오타이드, 최대 약 4,100개의 뉴클레오타이드, 최대 약 4,200개의 뉴클레오타이드, 최대 약 4,300개의 뉴클레오타이드, 최대 약 4,400개의 뉴클레오타이드, 최대 약 4,500개의 뉴클레오타이드, 최대 약 4,600개의 뉴클레오타이드, 최대 약 4,700개의 뉴클레오타이드, 최대 약 4,800개의 뉴클레오타이드, 최대 약 4,900개의 뉴클레오타이드, 최대 약 5,000개의 뉴클레오타이드, 최대 약 5,100개의 뉴클레오타이드, 최대 약 5,200개의 뉴클레오타이드, 최대 약 5,300개의 뉴클레오타이드, 최대 약 5,400개의 뉴클레오타이드, 최대 약 5,500개의 뉴클레오타이드, 최대 약 5,600개의 뉴클레오타이드, 최대 약 5,700개의 뉴클레오타이드, 최대 약 5,800개의 뉴클레오타이드, 최대 약 5,900개의 뉴클레오타이드, 최대 약 6,000개의 뉴클레오타이드, 최대 약 6,100개의 뉴클레오타이드, 최대 약 6,200개의 뉴클레오타이드, 최대 약 6,300개의 뉴클레오타이드, 최대 약 6,400개의 뉴클레오타이드, 최대 약 6,500개의 뉴클레오타이드, 최대 약 6,600개의 뉴클레오타이드, 최대 약 6,700개의 뉴클레오타이드, 최대 약 6,800개의 뉴클레오타이드, 최대 약 6,900개의 뉴클레오타이드, 최대 약 7,000개의 뉴클레오타이드, 최대 약 7,100개의 뉴클레오타이드, 최대 약 7,200개의 뉴클레오타이드, 최대 약 7,300개의 뉴클레오타이드, 최대 약 7,400개의 뉴클레오타이드, 최대 약 7,500개의 뉴클레오타이드, 최대 약 7,600개의 뉴클레오타이드, 최대 약 7,700개의 뉴클레오타이드, 최대 약 7,800개의 뉴클레오타이드, 최대 약 7,900개의 뉴클레오타이드, 최대 약 8,000개의 뉴클레오타이드, 최대 약 8,100개의 뉴클레오타이드, 최대 약 8,200개의 뉴클레오타이드, 최대 약 8,300개의 뉴클레오타이드, 최대 약 8,400개의 뉴클레오타이드, 최대 약 8,500개의 뉴클레오타이드, 최대 약 8,600개의 뉴클레오타이드, 최대 약 8,700개의 뉴클레오타이드, 최대 약 8,800개의 뉴클레오타이드, 최대 약 8,900개의 뉴클레오타이드, 최대 약 9,000개의 뉴클레오타이드, 최대 약 9,100개의 뉴클레오타이드, 최대 약 9,200개의 뉴클레오타이드, 최대 약 9,300개의 뉴클레오타이드, 최대 약 9,400개의 뉴클레오타이드, 최대 약 9,500개의 뉴클레오타이드, 최대 약 9,600개의 뉴클레오타이드, 최대 약 9,700개의 뉴클레오타이드, 최대 약 9,800개의 뉴클레오타이드, 최대 약 9,900개의 뉴클레오타이드, 최대 약 10,000개의 뉴클레오타이드)를 포함할 수 있다.

타이드, 최대 약 5,000개의 뉴클레오타이드, 최대 약 5,100개의 뉴클레오타이드, 최대 약 5,200개의 뉴클레오타이드, 최대 약 5,300개의 뉴클레오타이드, 최대 약 5,400개의 뉴클레오타이드, 최대 약 5,500개의 뉴클레오타이드, 최대 약 5,600개의 뉴클레오타이드, 최대 약 5,700개의 뉴클레오타이드, 최대 약 5,800개의 뉴클레오타이드, 최대 약 5,900개의 뉴클레오타이드, 최대 약 6,000개의 뉴클레오타이드, 최대 약 6,100개의 뉴클레오타이드, 최대 약 6,200개의 뉴클레오타이드, 최대 약 6,300개의 뉴클레오타이드, 최대 약 6,400개의 뉴클레오타이드, 최대 약 6,500개의 뉴클레오타이드, 최대 약 6,600개의 뉴클레오타이드, 최대 약 6,700개의 뉴클레오타이드, 최대 약 6,800개의 뉴클레오타이드, 최대 약 6,900개의 뉴클레오타이드, 최대 약 7,000개의 뉴클레오타이드, 최대 약 7,100개의 뉴클레오타이드, 최대 약 7,200개의 뉴클레오타이드, 최대 약 7,300개의 뉴클레오타이드, 최대 약 7,400개의 뉴클레오타이드, 최대 약 7,500개의 뉴클레오타이드, 최대 약 7,600개의 뉴클레오타이드, 최대 약 7,700개의 뉴클레오타이드, 최대 약 7,800개의 뉴클레오타이드, 최대 약 7,900개의 뉴클레오타이드, 최대 약 8,000개의 뉴클레오타이드, 최대 약 8,100개의 뉴클레오타이드, 최대 약 8,200개의 뉴클레오타이드, 최대 약 8,300개의 뉴클레오타이드, 최대 약 8,400개의 뉴클레오타이드, 최대 약 8,500개의 뉴클레오타이드, 최대 약 8,600개의 뉴클레오타이드, 최대 약 8,700개의 뉴클레오타이드, 최대 약 8,800개의 뉴클레오타이드, 최대 약 8,900개의 뉴클레오타이드, 최대 약 9,000개의 뉴클레오타이드, 최대 약 9,100개의 뉴클레오타이드, 최대 약 9,200개의 뉴클레오타이드, 최대 약 9,300개의 뉴클레오타이드, 최대 약 9,400개의 뉴클레오타이드, 최대 약 9,500개의 뉴클레오타이드, 최대 약 9,600개의 뉴클레오타이드, 최대 약 9,700개의 뉴클레오타이드, 최대 약 9,800개의 뉴클레오타이드, 최대 약 9,900개의 뉴클레오타이드, 최대 약 10,000개의 뉴클레오타이드, 최대 약 10,100개의 뉴클레오타이드, 최대 약 10,200개의 뉴클레오타이드, 최대 약 10,300개의 뉴클레오타이드, 최대 약 10,400개의 뉴클레오타이드, 최대 약 10,500개의 뉴클레오타이드, 최대 약 10,600개의 뉴클레오타이드, 최대 약 10,700개의 뉴클레오타이드, 최대 약 10,800개의 뉴클레오타이드, 최대 약 10,900개의 뉴클레오타이드, 최대 약 11,000개의 뉴클레오타이드, 최대 약 11,100개의 뉴클레오타이드, 최대 약 11,200개의 뉴클레오타이드, 최대 약 11,300개의 뉴클레오타이드, 최대 약 11,400개의 뉴클레오타이드, 최대 약 11,500개의 뉴클레오타이드, 최대 약 11,600개의 뉴클레오타이드, 최대 약 11,700개의 뉴클레오타이드, 최대 약 11,800개의 뉴클레오타이드, 최대 약 11,900개의 뉴클레오타이드, 또는 최대 약 12,000개의 뉴클레오타이드) 길이만큼 서열이 중첩된다. 일부 실시형태에서, 상이한 작제물 중 임의의 2개에서의 중첩되는 뉴클레오타이드 서열은 표적 유전자(예컨대, 내이 세포 표적 유전자 또는 안구 세포 표적 유전자(예컨대, CLRN1 유전자)의 하나 이상의 엑손의 일부 또는 전부(예컨대, 본 명세에서 기재된 서열번호 5에서의 예시적인 엑손 중 어느 하나 이상)를 포함할 수 있다.

[0413] 일부 실시형태에서, 조성물 또는 시스템은 2, 3, 4 또는 5가지 상이한 작제물이거나 또는 이를 포함한다. 조성물 중 상이한 작제물의 수가 2개인 조성물에서, 2가지 상이한 작제물 중 제1 작제물은 단백질(예컨대, 클라린 1 단백질)의 N-말단 부분을 인코딩하는 코딩 서열을 포함할 수 있고, 리드 부분, 제1 작제물 또는 5' 부분(예컨대, 내이 세포 단백질의 N-말단 부분, 안구 세포 단백질의 N-말단 부분, 예컨대, 클라린 1 단백질의 N-말단 부분)으로 지칭될 수 있다. 일부 예에서, 표적 유전자의 N-말단 부분은 적어도 약 10개의 아미노산(예컨대, 적어도 약 10개의 아미노산, 적어도 약 20개의 아미노산, 적어도 약 30개의 아미노산, 적어도 약 60개의 아미노산, 적어도 약 70개의 아미노산, 적어도 약 80개의 아미노산, 적어도 약 90개의 아미노산, 적어도 약 100개의 아미노산, 적어도 약 110개의 아미노산, 적어도 약 120개의 아미노산, 적어도 약 130개의 아미노산, 적어도 약 140개의 아미노산, 적어도 약 150개의 아미노산, 적어도 약 160개의 아미노산, 적어도 약 170개의 아미노산, 적어도 약 180개의 아미노산, 적어도 약 190개의 아미노산, 적어도 약 200개의 아미노산, 적어도 약 210개의 아미노산, 적어도 약 220개의 아미노산, 적어도 약 230개의 아미노산, 적어도 약 240개의 아미노산, 적어도 약 250개의 아미노산, 적어도 약 260개의 아미노산, 적어도 약 270개의 아미노산, 적어도 약 280개의 아미노산, 적어도 약 290개의 아미노산, 적어도 약 300개의 아미노산, 적어도 약 310개의 아미노산, 적어도 약 320개의 아미노산, 적어도 약 330개의 아미노산, 적어도 약 340개의 아미노산, 적어도 약 350개의 아미노산, 적어도 약 360개의 아미노산, 적어도 약 370개의 아미노산, 적어도 약 380개의 아미노산, 적어도 약 390개의 아미노산, 적어도 약 400개의 아미노산, 적어도 약 410개의 아미노산, 적어도 약 420개의 아미노산, 적어도 약 430개의 아미노산, 적어도 약 440개의 아미노산, 적어도 약 450개의 아미노산, 적어도 약 460개의 아미노산, 적어도 약 470개의 아미노산, 적어도 약 480개의 아미노산, 적어도 약 490개의 아미노산, 적어도 약 500개의 아미노산, 적어도 약 510개의 아미노산, 적어도 약 520개의 아미노산, 적어도 약 530개의 아미노산, 적어도 약 540개의 아미노산, 적어도 약 550개의 아미노산, 적어도 약 560개의 아미노산, 적어도 약 570개의 아미노산, 적어도 약 580개의 아미노산, 적어도 약 590개의 아미노산, 적어도 약 600개의 아미노산, 적어도 약 610개의 아미노산, 적어도 약 620개의 아미노산, 적어도 약 630개의 아미노산, 적어도 약 640개의 아미노산, 적어도 약 650개의 아미노산, 적

어도 약 660개의 아미노산, 적어도 약 670개의 아미노산, 적어도 약 680개의 아미노산, 적어도 약 690개의 아미노산, 적어도 약 700개의 아미노산, 적어도 약 710개의 아미노산, 적어도 약 720개의 아미노산, 적어도 약 730개의 아미노산, 적어도 약 740개의 아미노산, 적어도 약 750개의 아미노산, 적어도 약 760개의 아미노산, 적어도 약 770개의 아미노산, 적어도 약 780개의 아미노산, 적어도 약 790개의 아미노산, 적어도 약 800개의 아미노산, 적어도 약 810개의 아미노산, 또는 적어도 약 820개의 아미노산) 길이다. 일부 예에서, 제1 작제물은 프로모터(예컨대, 본 명세서에 기재되거나 당업계에 공지된 임의의 프로모터) 및 Kozak 서열(예컨대, 본 명세서에 기재되거나 당업계에 공지된 예시적인 임의의 Kozak 서열) 중 하나 또는 둘 다를 포함한다. 일부 예에서, 제1 작제물은 유도성 프로모터, 구성적 프로모터, 또는 조직-특이적 프로모터인 프로모터를 포함한다. 일부 예에서, 2가지 상이한 작제물 중 제2 작제물은 말단 부분, 제2 작제물, 또는 3' 부분(예컨대, 내이 세포 표적 단백질의 C-말단 부분, 예컨대, 안구 세포 표적 단백질의 C-말단 부분, 예컨대, 클라린 1 단백질의 C-말단 부분)으로 지칭될 수 있는 단백질의 C-말단 부분을 인코딩하는 코딩 서열을 포함한다. 일부 예에서, 표적 단백질의 C-말단 부분은 적어도 약 10개의 아미노산(예컨대, 적어도 약 10개의 아미노산, 적어도 약 20개의 아미노산, 적어도 약 30개의 아미노산, 적어도 약 60개의 아미노산, 적어도 약 70개의 아미노산, 적어도 약 80개의 아미노산, 적어도 약 90개의 아미노산, 적어도 약 100개의 아미노산, 적어도 약 110개의 아미노산, 적어도 약 120개의 아미노산, 적어도 약 130개의 아미노산, 적어도 약 140개의 아미노산, 적어도 약 150개의 아미노산, 적어도 약 160개의 아미노산, 적어도 약 170개의 아미노산, 적어도 약 180개의 아미노산, 적어도 약 190개의 아미노산, 적어도 약 200개의 아미노산, 적어도 약 210개의 아미노산, 적어도 약 220개의 아미노산, 적어도 약 230개의 아미노산, 적어도 약 240개의 아미노산, 적어도 약 250개의 아미노산, 적어도 약 260개의 아미노산, 적어도 약 270개의 아미노산, 적어도 약 280개의 아미노산, 적어도 약 290개의 아미노산, 적어도 약 300개의 아미노산, 적어도 약 310개의 아미노산, 적어도 약 320개의 아미노산, 적어도 약 330개의 아미노산, 적어도 약 340개의 아미노산, 적어도 약 350개의 아미노산, 적어도 약 360개의 아미노산, 적어도 약 370개의 아미노산, 적어도 약 380개의 아미노산, 적어도 약 390개의 아미노산, 적어도 약 400개의 아미노산, 적어도 약 410개의 아미노산, 적어도 약 420개의 아미노산, 적어도 약 430개의 아미노산, 적어도 약 440개의 아미노산, 적어도 약 450개의 아미노산, 적어도 약 460개의 아미노산, 적어도 약 470개의 아미노산, 적어도 약 480개의 아미노산, 적어도 약 490개의 아미노산, 적어도 약 500개의 아미노산, 적어도 약 510개의 아미노산, 적어도 약 520개의 아미노산, 적어도 약 530개의 아미노산, 적어도 약 540개의 아미노산, 적어도 약 550개의 아미노산, 적어도 약 560개의 아미노산, 적어도 약 570개의 아미노산, 적어도 약 580개의 아미노산, 적어도 약 590개의 아미노산, 적어도 약 600개의 아미노산, 적어도 약 610개의 아미노산, 적어도 약 620개의 아미노산, 적어도 약 630개의 아미노산, 적어도 약 640개의 아미노산, 적어도 약 650개의 아미노산, 적어도 약 660개의 아미노산, 적어도 약 670개의 아미노산, 적어도 약 680개의 아미노산, 적어도 약 690개의 아미노산, 적어도 약 700개의 아미노산, 적어도 약 710개의 아미노산, 적어도 약 720개의 아미노산, 적어도 약 730개의 아미노산, 적어도 약 740개의 아미노산, 적어도 약 750개의 아미노산, 적어도 약 760개의 아미노산, 적어도 약 770개의 아미노산, 적어도 약 780개의 아미노산, 적어도 약 790개의 아미노산, 적어도 약 800개의 아미노산, 적어도 약 810개의 아미노산, 또는 적어도 약 820개의 아미노산) 길이다. 일부 예에서, 제2 작제물은 폴리(A) 서열을 더 포함한다.

[0414] 조성물 중 상이한 작제물의 수가 2개인 일부 예에서, 2개의 작제물 중 1개로 인코딩된 N-말단 부분은 내이 세포 표적 단백질 또는 안구 세포 표적 단백질(예컨대, 서열번호 10, 11, 12, 13 또는 14)의 아미노산 위치 1 내지 약 아미노산 위치 820, 또는 이 범위의 임의의 하위범위(예컨대, 아미노산 1 내지 적어도 약 아미노산 10, 아미노산 1 내지 적어도 약 아미노산 20, 아미노산 1 내지 적어도 약 아미노산 30, 아미노산 1 내지 적어도 약 아미노산 60, 아미노산 1 내지 적어도 약 아미노산 70, 아미노산 1 내지 적어도 약 아미노산 80, 아미노산 1 내지 적어도 약 아미노산 90, 아미노산 1 내지 적어도 약 아미노산 100, 아미노산 1 내지 적어도 약 아미노산 110, 아미노산 1 내지 적어도 약 아미노산 120, 아미노산 1 내지 적어도 약 아미노산 130, 아미노산 1 내지 적어도 약 아미노산 140, 아미노산 1 내지 적어도 약 아미노산 150, 아미노산 1 내지 적어도 약 아미노산 160, 아미노산 1 내지 적어도 약 아미노산 170, 아미노산 1 내지 적어도 약 아미노산 180, 아미노산 1 내지 적어도 약 아미노산 190, 아미노산 1 내지 적어도 약 아미노산 200, 아미노산 1 내지 적어도 약 아미노산 210, 아미노산 1 내지 적어도 약 아미노산 220, 아미노산 1 내지 적어도 약 아미노산 230, 아미노산 1 내지 적어도 약 아미노산 240, 아미노산 1 내지 적어도 약 아미노산 250, 아미노산 1 내지 적어도 약 아미노산 260, 아미노산 1 내지 적어도 약 아미노산 270, 아미노산 1 내지 적어도 약 아미노산 280, 아미노산 1 내지 적어도 약 아미노산 290, 아미노산 1 내지 적어도 약 아미노산 300, 아미노산 1 내지 적어도 약 아미노산 310, 아미노산 1 내지 적어도 약 아미노산 320, 아미노산 1 내지 적어도 약 아미노산 330, 아미노산 1 내지 적어도 약 아미노산 340, 아미노산 1 내지 적어도 약 아미노산 350, 아미노산 1 내지 적어도 약 아미노산 360, 아미노산 1 내지 적어도 약 아미노산

[illegible]

[0415]

[illegible]

820 내지 최대 약 아미노산 340, 아미노산 820 내지 최대 약 아미노산 350, 아미노산 820 내지 최대 약 아미노산 360, 아미노산 820 내지 최대 약 아미노산 370, 아미노산 820 내지 최대 약 아미노산 380, 아미노산 820 내지 최대 약 아미노산 390, 아미노산 820 내지 최대 약 아미노산 400, 아미노산 820 내지 최대 약 아미노산 410, 아미노산 820 내지 최대 약 아미노산 420, 아미노산 820 내지 최대 약 아미노산 430, 아미노산 820 내지 최대 약 아미노산 440, 아미노산 820 내지 최대 약 아미노산 450, 아미노산 820 내지 최대 약 아미노산 460, 아미노산 820 내지 최대 약 아미노산 470, 아미노산 820 내지 최대 약 아미노산 480, 아미노산 820 내지 최대 약 아미노산 490, 아미노산 820 내지 최대 약 아미노산 500, 아미노산 820 내지 최대 약 아미노산 510, 아미노산 820 내지 최대 약 아미노산 520, 아미노산 820 내지 최대 약 아미노산 530, 아미노산 820 내지 최대 약 아미노산 540, 아미노산 820 내지 최대 약 아미노산 550, 아미노산 820 내지 최대 약 아미노산 560, 아미노산 820 내지 최대 약 아미노산 570, 아미노산 820 내지 최대 약 아미노산 580, 아미노산 820 내지 최대 약 아미노산 590, 아미노산 820 내지 최대 약 아미노산 600, 아미노산 820 내지 최대 약 아미노산 610, 아미노산 820 내지 최대 약 아미노산 620, 아미노산 820 내지 최대 약 아미노산 630, 아미노산 820 내지 최대 약 아미노산 640, 아미노산 820 내지 최대 약 아미노산 650, 아미노산 820 내지 최대 약 아미노산 660, 아미노산 820 내지 최대 약 아미노산 670, 아미노산 820 내지 최대 약 아미노산 680, 아미노산 820 내지 최대 약 아미노산 690, 아미노산 820 내지 최대 약 아미노산 700, 아미노산 820 내지 최대 약 아미노산 710, 아미노산 820 내지 최대 약 아미노산 720, 아미노산 820 내지 최대 약 아미노산 730, 아미노산 820 내지 최대 약 아미노산 740, 아미노산 820 내지 최대 약 아미노산 750, 아미노산 820 내지 최대 약 아미노산 760, 아미노산 820 내지 최대 약 아미노산 770, 아미노산 820 내지 최대 약 아미노산 780, 아미노산 820 내지 최대 약 아미노산 790, 아미노산 820 내지 최대 약 아미노산 800, 아미노산 820 내지 최대 약 아미노산 810, 또는 아미노산 820 내지 최대 약 아미노산 820, 또는 이들 사이의 임의의 길이 서열을 포함하는 부분을 포함할 수 있다.

[0416] 일부 실시형태에서, 스플라이스 부위는 트랜스-스플라이싱과 연관된다. 일부 실시형태에서, 스플라이스 공여체 부위(예컨대, 문헌[Trapani et al. EMBO Mol. Med. 6(2):194-211, 2014] 참조, 이는 전문이 본 명세서에 참조에 의해 원용됨)는 N-말단 작제물 내 코딩 서열에 후행한다. C-말단 작제물에서, 스플라이스 수용체 부위는 CLRN1에 대한 코딩 서열 직전에 서브클로닝될 수 있다. 일부 실시형태에서, 코딩 서열 내에, 제한 소화를 위한 추가의 부위를 생성하는 침묵 돌연변이가 도입될 수 있다.

[0417] 일부 실시형태에서, 본 명세서에서 제공되는 임의의 작제물은 증후군성 및/또는 비증후군성 청력손실과 연관된 증상의 개선을 위하여 동물의 투여에 적합한 조성물에 포함될 수 있다.

[0418] 일부 실시형태에서, 본 명세서에서 제공되는 임의의 작제물은 시력손실과 연관된 증상의 개선을 위하여 동물에게 투여하기에 적합한 조성물에 포함될 수 있다.

[0419] 약제학적 조성물

[0420] 특히, 본 개시내용은 약제학적 조성물을 제공한다. 일부 실시형태에서, 본 명세서에서 제공되는 조성물은 증후군성 및/또는 비증후군성 청력손실과 연관된 증상의 개선을 위하여 동물에 투여하기에 적합하다. 일부 실시형태에서 본 명세서에서 제공되는 조성물은 시력손실과 연관된 증상의 개선을 위하여 동물에게 투여하기에 적합하다.

[0421] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 약제학적 조성물은, 본 명세서에 기재된 바와 같은, 예컨대, 폴리뉴클레오타이드, 예컨대, 하나 이상의 작제물을 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 약제학적 조성물은, 본 명세서에 기재된 바와 같은, 하나 이상의 AAV 입자, 예컨대, 하나 이상의 AAV 혈청형 캡시드에 의해 캡슐화된 하나 이상의 rAAV 작제물을 포함할 수 있다.

[0422] 일부 실시형태에서, 약제학적 조성물은 1종 이상의 약제학적으로 또는 생리학적으로 허용 가능한 담체, 희석제 또는 부형제를 포함한다. 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "약제학적으로 허용 가능한 담체"는 약제학적 투여에 적합한 용매, 분산 매질, 코팅제, 항균제, 항진균제 등을 포함한다. 보충적 활성 화합물은 또한 본 명세서에 기재된 임의의 조성물에 혼입될 수 있다. 이러한 조성물은 1종 이상의 완충제, 예컨대, 중성 완충 식염수, 인산염-완충 식염수 등; 1종 이상의 탄수화물, 예컨대, 글루코스, 만노스, 수크로스 및 텍스트란; 만니톨; 1종 이상의 단백질, 폴리펩타이드, 또는 아미노산, 예컨대, 글리신; 1종 이상의 항산화제; 1종 이상의 킬레이트제, 예컨대, EDTA 또는 글루타티온; 및/또는 1종 이상의 방부제를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 제형은, 예컨대, 주사 가능한 용액, 주사 가능한 젤, 약물-방출 캡슐 등과 같은 투여 형태이다.

[0423] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 조성물은 정맥 내 투여용으로 제형화된다. 일부 실시형태에서 본 개시내용의

조성물은 달팽이관 내 투여용으로 제형화된다. 일부 실시형태에서, 치료용 조성물은 지질 나노입자, 중합체 나노입자, 미니-서클 DNA 및/또는 CELiD DNA를 포함하도록 제형화된다.

[0424] 일부 실시형태에서, 치료용 조성물은 합성 외립프 용액을 포함하도록 제형화된다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 합성 외립프 용액은 20 내지 200mM NaCl; 1 내지 5mM KCl; 0.1 내지 10mM CaCl₂; 1 내지 10mM 글루코스; 및 2 내지 50mM HEPES를 포함하고, pH가 약 6 내지 약 9이다. 일부 실시형태에서, 치료용 조성물은 생리학적으로 적합한 용액을 포함하도록 제형화된다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 생리학적으로 적합한 용액은 8.10mM 이염기성 인산나트륨, 1.5mM 인산일칼륨, 2.7mM 염화칼륨, 172mM 염화나트륨 및 0.001% 플루로닉산(Pluronic Acid) F68의 최종 농도로 제조된 플루로닉산 F68을 가진 상업적으로 입수 가능한 1xPBS를 포함한다. 일부 실시형태에서, 대안적인 플루로닉산이 이용된다. 일부 실시형태에서, 대안적인 이온 농도가 이용된다.

[0425] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 임의의 약제학적 조성물은 포유동물 세포(예컨대, 리포솜 또는 양이온성 지질)에 핵산 또는 본 명세서에 기재된 임의의 작제물의 유입을 촉진시키는 1종 이상의 제제를 더 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 임의의 작제물은 천연 및/또는 합성 중합체를 사용하여 제형화될 수 있다. 본 명세서에 기재된 임의의 조성물에 포함될 수 있는 중합체의 비제한적인 예는, Mirus Bio(위스콘신주 매디슨 소재) 및 Roche Madison(위스콘신주 매디슨 소재)로부터의 제형인 DYNAMIC POLYCONJUGATE® (Arrowhead Research Corp., 캘리포니아주 패서디나 소재), PhaseRX 중합체 제형, 예컨대, 제한 없이, SMARTT POLYMER TECHNOLOGY®(PhaseRX, 위싱턴주 시애틀 소재), DMRI/DOPE, 폴록사머, Vical(캘리포니아주 샌디에고 소재)로부터의 VAXFECTIN® 애주번트, 키토산, Calando Pharmaceuticals(캘리포니아주 패서디나 소재)로부터의 사이클로덱스트린, 덴드리머 및 폴리(락트산-코-글리콜산)(PLGA) 중합체, RONDEL™(RNAi/올리고뉴클레오타이드 나노입자 전달) 중합체(Arrowhead Research Corporation, 캘리포니아주 패서디나 소재), 및 pH 반응성 코-블록 중합체, 예컨대, 제한 없이, PhaseRX(위싱턴주 시애틀 소재)에서 제조된 것들을 포함할 수 있지만, 이들로 제한되지 않는다. 이들 중합체의 다수는 올리고뉴클레오타이드를 생체 내에서 포유동물 세포에 전달함에 있어서 효능이 입증되었다(예컨대, 문헌[deFougerolles, Human Gene Ther. 19:125-132, 2008; Rozema et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 104:12982-12887, 2007; Rozema et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 104:12982-12887, 2007; Hu-Lieskovan et al., Cancer Res. 65:8984-8982, 2005; Heidel et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 104:5715-5721, 2007] 참조, 이들 각각은 전문이 본 명세서에 참조에 의해 인용됨).

[0426] 일부 실시형태에서, 조성물은 약제학적으로 허용 가능한 담체(예컨대, 인산염 완충 식염수, 식염수 또는 정균수)를 포함한다. 제형화 시, 용액은 투여 제형과 양립되는 방식으로 그리고 치료적으로 유효한 양으로 투여될 것이다. 제형은 주사액, 주사겔, 약물-방출 캡슐 등과 같은 다양한 투여 형태로 용이하게 투여된다.

[0427] 일부 실시형태에서, 본 명세서에서 제공되는 조성물은, 예컨대, 의도된 투여 경로와 양립되도록 제형화될 수 있다. 의도된 투여 경로의 비제한적인 예는 국소 투여(예컨대, 달팽이관 내 투여)이다.

[0428] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 바와 같은 전달 접근법은 내이 세포의 형질도입을 위한 합성 AAV 캡시드(예컨대, AAV Anc80) 및/또는 달팽이관에 직접 표적화된 전달을 위한 디바이스를 포함한다. 소정의 실시형태에서, 본 개시내용은 내이 세포의 형질도입에 적합한 방법 및 조성물을 제공한다. 일부 실시형태에서, 내이 세포의 형질도입은 최소한의 전신 노출로 달팽이관에서 CLRN1 단백질의 오래 지속되는 발현을 가능하게 할 수 있다.

[0429] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 바와 같은 전달 접근법은 안구 세포의 형질도입을 위한 합성 AAV 캡시드(예컨대, AAV Anc80), 및/또는 안구에 직접 표적화된 전달을 위한 디바이스를 포함한다. 소정의 실시형태에서, 본 개시내용은 안구 세포의 형질도입에 적합한 방법 및 조성물을 제공한다. 일부 실시형태에서, 안구 세포의 형질도입 최소한의 전신 노출로 눈에서 CLRN1 단백질의 오래 지속되는 발현을 가능하게 할 수 있다.

[0430] 일부 실시형태에서, 제공된 조성물은 1가지 핵산 작제물을 포함한다. 일부 실시형태에서, 제공된 조성물은 2가지 이상의 상이한 작제물을 포함한다. 일부 실시형태에서, 조성물은 클라린 1 단백질 및/또는 이의 기능적 특징 부분을 인코딩하는 코딩 서열을 포함하는 단일 핵산 작제물을 포함한다. 일부 실시형태에서, 조성물은, 포유동물 세포에 도입될 때, 코딩 서열이 포유동물 세포의 게놈에 통합되는, 클라린 1 단백질 및/또는 이의 기능적 특징 부분을 인코딩하는 코딩 서열을 포함하는 단일 핵산 작제물을 포함한다. 일부 실시형태에서, 조성물은 적어도 2가지 상이한 작제물, 예컨대, 클라린 1 단백질의 상이한 부분을 인코딩하는 코딩 서열을 포함하는 작제물을 포함하고, 작제물은 포유동물 세포에서 활성 클라린 1 단백질(예컨대, 전장 클라린 1 단백질)을 인코딩하는 서열을 생성하고, 이에 의해서 이를 필요로 하는 대상체에서 연관된 증후군성 또는 비증후군성 감각신경성 청력손

실을 치료하기 위하여 조합될 수 있다.

[0431] 또한 본 명세서에 기재된 임의의 조성물을 포함하는 키트가 제공된다. 일부 실시형태에서, 키트는 고체 조성물(예컨대, 본 명세서에 기재된 적어도 2가지 상이한 작제물을 포함하는 동결건조된 조성물) 및 동결건조된 조성물을 가용화시키기 위한 액체를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 키트는 본 명세서에 기재된 임의의 조성물을 포함하는 사전-로딩된 주사기를 포함할 수 있다.

[0432] 일부 실시형태에서, 키트는 (예컨대, 수성 조성물, 예컨대, 수성 약제학적 조성물로서 제형화된) 본 명세서에 기재된 임의의 조성물을 포함하는 바이알을 포함한다.

[0433] 일부 실시형태에서, 키트는 본 명세서에 기재된 임의의 방법을 수행하기 위한 설명서를 포함할 수 있다.

[0434] 유전자 변형 세포

[0435] 본 개시내용은 또한 본 명세서에 기재된 임의의 핵산, 작제물 또는 조성물을 포함하는 세포(예컨대, 동물 세포, 예컨대, 포유동물 세포, 예컨대, 영장류 세포, 예컨대, 인간 세포)를 제공한다. 일부 실시형태에서, 동물 세포는 인간 세포(예컨대, 인간 지지세포 또는 인간 유모세포)이다. 다른 실시형태에서, 동물 세포는 비-인간 포유동물(예컨대, 유인원 세포, 고양이과 세포, 개과 세포 등)이다. 당업자라면, 본 명세서에 기재된 핵산 및 작제물이 임의의 동물 세포(예컨대, 수의학적 개입에 적합한 임의의 동물의 지지 또는 유모세포)에 도입될 수 있음을 이해할 것이다. 작제물 및 작제물을 동물 세포에 도입하기 위한 방법의 바람직한 예가 본 명세서에 기재되어 있다.

[0436] 일부 실시형태에서, 동물 세포는 유모 및/또는 지지세포를 비롯한, 내이의 임의의 세포일 수 있다. 이러한 세포의 비제한적인 예는 다음을 포함한다: 헨센 세포, 다이테르스 세포, 내림프낭 및 관의 세포, 구형낭, 난형낭, 및 팽대부에서의 이행 세포, 내 및 외유모세포, 나선 인대 세포, 나선 신경절 세포, 나선융기 세포, 외부 구형낭 세포, 변연 세포, 중간 세포, 기저 세포, 내부 기둥 세포, 외부 기둥 세포, 클라우디우스 세포, 내부 경계 세포, 내부 지골 세포, 또는 맥관 선조 세포.

[0437] 일부 실시형태에서, 동물 세포는 달팽이관의 특화된 세포이다. 일부 실시형태에서, 동물 세포는 유모세포이다. 일부 실시형태에서, 동물 세포는 달팽이관 내유모세포 또는 달팽이관 외유모세포이다. 일부 실시형태에서, 동물 세포는 달팽이관 내유모세포이다. 일부 실시형태에서, 동물 세포는 달팽이관 외유모세포이다.

[0438] 일부 실시형태에서, 동물 세포는 지지세포를 비롯하여 눈의 임의의 세포일 수 있다. 이러한 세포의 비제한적인 예는 간상 세포, 원주 세포, 색소성 세포(pigmented cell), 수평 세포, 양극 세포, 무축삭 세포, 신경절 세포, 광수용체 세포, 물러 세포 또는 망막 세포이다.

[0439] 일부 실시형태에서, 동물 세포는 눈의 특화된 세포이다. 일부 실시형태에서, 동물 세포는 안구 세포이다. 일부 실시형태에서, 동물 세포는 망막 세포이다. 예시.

[0440] 일부 실시형태에서, 동물 세포는 시험관 내이다. 일부 실시형태에서, 동물 세포는 동물에서, 예컨대, 영장류 및/또는 인간에서 내인적으로 존재하는 세포 유형의 것이다. 일부 실시형태에서, 동물 세포는 동물로부터 얻어지고 생체 외에서 배양된 자가 세포이다.

[0441] 방법

[0442] 청력손실

[0443] 특히, 본 개시내용은 방법을 제공한다. 일부 실시형태에서, 방법은 대상체의 내이(예컨대, 달팽이관)에 본 명세서에 기재된 바와 같은 조성물을 도입하는 단계를 포함한다. 예를 들어, 본 명세서에서는, 일부 실시형태에서, 대상체(예컨대, 동물, 예컨대, 포유동물, 예컨대, 영장류, 예컨대, 인간)의 내이(예컨대, 달팽이관)에 치료적 유효량의 본 명세서에 기재된 임의의 조성물을 투여하는 단계를 포함하는 방법이 제공된다. 임의의 이들 방법의 일부 실시형태에서, 대상체는 결합성 내이 세포 표적 유전자(예컨대, 유전자에 의해 인코딩된 지지 및/또는 청력 세포 표적 단백질의 발현 및/또는 활성의 감소를 초래하는 돌연변이를 갖는 지지 및/또는 청력 세포 표적 유전자)를 갖는 것으로 이전에 식별된 적이 있다. 임의의 이들 방법의 일부 실시형태는, 도입 또는 투여 단계 전에, 대상체가 결합성 내이 세포 표적 유전자를 갖는 것을 결정하는 단계를 더 포함한다. 임의의 이들 방법의 일부 실시형태는 대상체에서 내이 세포 표적 유전자 내 돌연변이를 검출하는 단계를 더 포함할 수 있다. 임의의 방법의 일부 실시형태는 대상체를 비증후군성 또는 증후군성 감각신경성 청력손실을 갖는 것으로 식별 또는 진단하는 단계를 더 포함할 수 있다.

- [0444] 일부 실시형태에서, 본 명세서에서는 대상체, 예컨대, 동물, 예컨대, 포유동물, 예컨대, 영장류, 예컨대, 인간의 내이에서 내이 세포 표적 유전자 결함(예컨대, CLRN1 유전자의 결함)을 보정하는 방법이 제공된다. 일부 실시형태에서, 방법은 대상체의 내이에 치료적 유효량의 본 명세서에 기재된 임의의 조성물을 투여하는 단계를 포함하되, 여기서 투여하는 것은 대상체의 내이의 임의의 세포 서브세트의 내이 세포 표적 유전자 결함을 보수 및/또는 개선한다. 일부 실시형태에서, 내이 표적 세포는 감각 세포, 예컨대, 유모세포 및/또는 비감각세포, 예컨대, 지지세포, 및/또는 내이 세포의 모든 또는 임의의 서브세트일 수 있다.
- [0445] 또한 본 명세서에서는, 대상체(예컨대, 동물, 예컨대, 포유동물, 예컨대, 영장류, 예컨대, 인간)의 내이 세포의 임의의 서브세트 내 내이 세포 표적 단백질의 발현 수준을 증가시키는 방법이 제공되되, 해당 방법은 대상체의 내이에 치료적 유효량의 본 명세서에 기재된 임의의 조성물을 투여하는 단계를 포함하고, 여기서 투여하는 것은 대상체의 내이의 임의의 세포 서브세트에서 내이 세포 표적 단백질(예컨대, 클라린 1 단백질)의 발현 수준의 증가를 초래한다. 일부 실시형태에서, 내이 표적 세포는 감각 세포, 예컨대, 유모세포, 및/또는 비감각세포, 예컨대, 지지세포, 및/또는 내이 세포의 모든 또는 임의의 서브세트일 수 있다.
- [0446] 또한 본 명세서에서는 결함성 내이 세포 표적 유전자를 갖는 것을 식별된 대상체(예컨대, 동물, 예컨대, 포유동물, 예컨대, 영장류, 예컨대, 인간)에서 청력손실, 예컨대, 비증후군성 감각신경성 청력손실 또는 증후군성 감각신경성 청력손실을 치료하는 방법이 제공되되, 해당 방법은 대상체의 내이에 치료적 유효량의 본 명세서에 기재된 임의의 조성물을 투여하는 단계를 포함한다. 본 명세서에서 제공되는 임의의 방법의 일부 실시형태에서, 대상체는 어서 증후군 유형 III을 가진다.
- [0447] 또한 본 명세서에서는 내이 장애를 갖는 것으로 식별되었거나 진단된 대상체에서 시냅스를 복구하고/하거나 나선 신경절 신경을 보존하는 방법이 제공되되, 해당 방법은 대상체의 내이에 치료적 유효량의 본 명세서에 기재된 임의의 조성물을 단계를 포함한다.
- [0448] 또한 본 명세서에서는 어서 증후군 유형 III을 가진 대상체, 예컨대, 포유동물, 예컨대, 인간, 예컨대, 환자의 치료를 위한 본 명세서에 개시된 조성물, 예컨대, rAAV-CLRN1을 투여하는 단계를 포함하는 방법이 제공된다. 일부 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 조성물은 외과적 전달을 통해서, 예컨대, 달팽이관에 전달된다.
- [0449] 또한 본 명세서에서는 전정수도관의 크기를 저감시키고/시키거나 이의 크기를 적절한 크기로 복원시키는 방법이 제공된다. 또한 본 명세서에서는 내이 장애를 갖는 것으로 식별되었거나 진단된 대상체에서 내림프 pH를 적절한 그리고/또는 허용 가능한 수준으로 복원시키는 방법이 제공되되, 해당 방법은 대상체의 내이에 치료적 유효량의 본 명세서에 기재된 임의의 조성물을 투여하는 단계를 포함한다.
- [0450] 또한 본 명세서에서는 대상체의 내이에 치료적 유효량의 본 명세서에 기재된 임의의 조성물을 투여하는 단계를 포함하는 방법이 제공된다.
- [0451] 또한 본 명세서에서는 청력손실(예컨대, 비증후군성 감각신경성 청력손실 또는 증후군성 감각신경성 청력손실)의 치료를 위한 외과적 방법이 제공된다. 일부 실시형태에서, 방법은 대상체의 달팽이관에 제1 절개점에서 제1 절개부를 도입하는 단계; 및 치료적 유효량의 본 명세서에서 제공되는 임의의 조성물을 달팽이관 내로 투여하는 단계를 포함한다. 일부 실시형태에서, 조성물은 제1 절개점에서 대상체에게 투여된다. 일부 실시형태에서, 조성물은 제1 절개부 내로 또는 이를 통해 대상체에게 투여된다.
- [0452] 본 명세서에 기재된 임의의 방법의 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 임의의 조성물은 달팽이관 난정원창막에 또는 이를 통해 대상체에게 투여된다. 본 명세서에 기재된 임의의 방법의 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 임의의 조성물은 달팽이관 정원창막에 또는 이를 통해 대상체에게 투여된다. 본 명세서에 기재된 임의의 방법의 일부 실시형태에서, 조성물은 정원창막에 복수의 절개부를 생성할 수 있는 의료 디바이스를 사용하여 투여된다. 일부 실시형태에서, 의료 디바이스는 복수의 미세-바늘을 포함한다. 일부 실시형태에서, 의료 디바이스는 일반적으로 원형인 제1 측면을 포함하는 복수의 미세-바늘을 포함하며, 여기서 각 미세-바늘은 적어도 약 10 마이크로미터의 직경을 갖는다. 일부 실시형태에서, 의료 디바이스는 조성물을 보유할 수 있는 베이스 및/또는 저장소를 포함한다. 일부 실시형태에서, 의료 디바이스는 조성물을 수송할 수 있는 내강을 개별적으로 포함하는 복수의 중공의 미세-바늘을 포함한다. 일부 실시형태에서, 의료 디바이스는 적어도 부분적인 진공을 생성하기 위한 수단을 포함한다.
- [0453] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 기술은 청력손실을 갖거나 가질 위험이 있는 대상체를 치료하는 데 사용된다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 대상체는 CLRN1의 적어도 하나의 병원성 변이체에 기인되는 상염색체 열성 청력손실을 갖는다. 당업자라면 CLRN1에 다수의 상이한 돌연변이가 병원성 변이체를 야기할 수 있음을 이

해할 것이다. 이러한 일부 실시형태에서, 병원성 변이체는 청력손실을 초래하거나 이를 초래할 위험이 있다.

- [0454] 일부 실시형태에서, 청력손실을 경험하는 대상체는, 청력손실을 초래할 수 있는 하나 이상의 돌연변이가 존재할 수 있는지를 결정하기 위하여 평가될 것이다. 이러한 일부 실시형태에서, (예컨대, 단백질 또는 시퀀싱 분석을 통하여) CLRN1 유전자 산물 또는 기능의 상태가 평가될 것이다. 본 명세서에 기재된 임의의 방법의 일부 실시형태에서, 대상체 또는 동물은 포유동물이고, 일부 실시형태에서 포유동물은 가정 동물, 농장 동물, 동물원 동물, 비-인간 영장류, 또는 인간이다. 본 명세서에 기재된 임의의 방법의 일부 실시형태에서, 동물, 대상체 또는 포유동물은 성인, 십대, 청소년, 소아, 유아, 영아 또는 신생아이다. 본 명세서에 기재된 임의의 방법의 일부 실시형태에서, 동물, 대상체 또는 포유동물은 1 내지 5, 1 내지 10, 1 내지 20, 1 내지 30, 1 내지 40, 1 내지 50, 1 내지 60, 1 내지 70, 1 내지 80, 1 내지 90, 1 내지 100, 1 내지 110, 2 내지 5, 2 내지 10, 10 내지 20, 20 내지 30, 30 내지 40, 40 내지 50, 50 내지 60, 60 내지 70, 70 내지 80, 80 내지 90, 90 내지 100, 100 내지 110, 10 내지 30, 10 내지 40, 10 내지 50, 10 내지 60, 10 내지 70, 10 내지 80, 10 내지 90, 10 내지 100, 10 내지 110, 20 내지 40, 20 내지 50, 20 내지 60, 20 내지 70, 20 내지 80, 20 내지 90, 20 내지 100, 20 내지 110, 30 내지 50, 30 내지 60, 30 내지 70, 30 내지 80, 30 내지 90, 30 내지 100, 40 내지 60, 40 내지 70, 40 내지 80, 40 내지 90, 40 내지 100, 50 내지 70, 50 내지 80, 50 내지 90, 50 내지 100, 60 내지 80, 60 내지 90, 60 내지 100, 70 내지 90, 70 내지 100, 70 내지 110, 80 내지 100, 80 내지 110, 또는 90 내지 110세이다. 본 명세서에 기재된 임의의 방법의 일부 실시형태에서, 대상체 또는 포유동물은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 또는 11개월령이다.
- [0455] 본 명세서에 기재된 임의의 방법의 일부 실시형태에서, 방법은 적어도 10일, 적어도 15일, 적어도 20일, 적어도 25일, 적어도 30일, 적어도 35일, 적어도 40일, 적어도 45일, 적어도 50일, 적어도 55일, 적어도 60일, 적어도 65일, 적어도 70일, 적어도 75일, 적어도 80일, 적어도 85일, 적어도 100일, 적어도 105일, 적어도 110일, 적어도 115일, 적어도 120일, 적어도 5개월, 적어도 6개월, 적어도 7개월, 적어도 8개월, 적어도 9개월, 적어도 10개월, 적어도 11개월, 또는 적어도 12개월 동안 이를 필요로 하는 대상체에서 청력 향상(예컨대, 본 명세서에 기재된 청력 개선을 결정하기 위한 임의의 메트릭)을 야기한다.
- [0456] 일부 실시형태에서 대상체(예컨대, 동물, 예컨대, 포유동물, 예컨대, 인간)는 증후군성 또는 비증후군성 감각신경성 청력손실을 갖거나 이를 발병할 위험이 있다. 일부 실시형태에서 대상체(예컨대, 동물, 예컨대, 포유동물, 예컨대, 인간)는 CLRN1 유전자 내 돌연변이를 갖는 것으로 이전에 식별된 적이 있다. 일부 실시형태에서 대상체(예컨대, 동물, 예컨대, 포유동물, 예컨대, 인간)는 증후군성 또는 비증후군성 감각신경성 청력손실과 관련된 것으로 당업계에 공지되어 있거나 본 명세서에 기재된 CLRN1 유전자 내 임의의 돌연변이를 갖는다.
- [0457] 일부 실시형태에서, 대상체(예컨대, 동물, 예컨대, 포유동물, 예컨대, 인간)는 (예컨대, 유전자 검사를 통하여) CLRN1 유전자 내 돌연변이의 보인자를 갖는 것으로 식별된 적이 있다. 일부 실시형태에서, 대상체(예컨대, 동물, 예컨대, 포유동물, 예컨대, 인간)는 CLRN1 유전자 내 돌연변이를 갖는 것으로 식별된 적이 있고 증후군성 또는 비증후군성 감각신경성 청력손실로 진단된 적이 있다. 일부 실시형태에서, 대상체(예컨대, 동물, 예컨대, 포유동물, 예컨대, 인간)는 증후군성 또는 비증후군성 감각신경성 청력손실을 갖는 것으로 식별된 적이 있다.
- [0458] 일부 실시형태에서, 대상체(예컨대, 동물, 예컨대, 포유동물, 예컨대, 인간)는 청력손실의 위험(예컨대, 유전자 돌연변이, 예컨대, CLRN1 돌연변이의 보인자인 위험)이 있는 것으로 식별된 적이 있다. 이러한 일부 실시형태에서, 대상체(예컨대, 동물, 예컨대, 포유동물, 예컨대, 인간)는 청력손실의 소정의 위험 인자 또는 청력손실의 위험(예컨대, 공지된 부모 보인자, 병든 형제자매, 또는 청력손실의 증상)을 가질 수 있다. 이러한 일부 실시형태에서, 대상체(예컨대, 동물, 예컨대, 포유동물, 예컨대, 인간)는 이전에 식별된 적이 없는(즉, CLRN1의 공개된 또는 다른 알려진 변이체가 아닌) (예컨대, 유전자 검사를 통하여) CLRN1 유전자의 돌연변이의 보인자인 것으로 식별된 것이 있다. 이러한 일부 실시형태에서, 식별된 돌연변이는 신규할 수 있고(즉, 문헌에 이전에 기재되지 않았고), 청력손실을 앓고 있거나 이에 취약한 대상체의 치료 방법은 특정 환자의 돌연변이(들)에 대해 개인화될 것이다.
- [0459] 일부 실시형태에서, 증후군성 또는 비증후군성 감각신경성 청력손실의 성공적인 치료는 당업계에서 공지된 통상의 임의의 기능적 청력 검사를 사용하여 대상체에서 결정될 수 있다. 기능적 청력 검사의 비제한적인 예는 청력계측 검정(audiometric assay)(예컨대, 순음 검사(pure-tone testing), 어음 검사(speech testing), 중이 검사, 청성뇌간반응 및 귀음향방사)이다.
- [0460] 본 명세서에서 제공되는 임의의 방법의 일부 실시형태에서, 2회 이상의 용량의 본 명세서에 기재된 임의의 조성물이 대상체의 달팽이관에 도입 또는 투여된다. 이들의 임의의 방법의 일부 실시형태는 제1 용량의 조성물을 대

상체의 달팽이관에 도입하거나 투여하는 단계, 제1 용량의 도입 또는 투여 후 대상체의 청력 기능을 평가하는 단계 및 (예컨대, 당업계에 공지된 청력에 대한 임의의 시험을 사용하여 결정된 바와 같은) 정상 범위 내의 청력 기능을 갖지 않는 것으로 확인된 대상체의 달팽이관에 추가의 용량의 조성물을 투여하는 단계를 포함할 수 있다.

[0461] 본 명세서에서 제공되는 임의의 방법의 일부 실시형태에서, 조성물은 달팽이관 내 투여를 위하여 제형화될 수 있다. 본 명세서에 기재된 임의의 방법의 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 조성물은 달팽이관 내 투여 또는 국소 투여를 통하여 투여될 수 있다. 본 명세서에 기재된 임의의 방법의 일부 실시형태에서, 조성물은 의료 디바이스(예컨대, 본 명세서에 기재된 임의의 예시적인 의료 디바이스)의 사용을 통해서 투여된다.

[0462] 일부 실시형태에서, 달팽이관 내 투여는 본 명세서에 기재되거나 당업계에 공지된 임의의 방법을 사용하여 수행될 수 있다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 조성물은 하기 외과적 기술을 사용하여 달팽이관에 투여 또는 도입될 수 있다: 먼저 0도, 2.5-mm의 강성 내시경을 이용한 시각화를 사용하여, 외이도를 청정시키고, 반월도(round knife)를 사용하여 대략 5-mm 고실외이도 피부판(tympanomeatal flap)을 선명하게 표시한다. 이어서, 고실외이도 피부판을 상승시키고, 뒤쪽에서 중이에 진입한다. 고실끈 신경을 식별하고, 분할하고, 큐렛을 사용해서 방패뼈(scutal bone)를 제거하여, 정원창막을 노출시킨다. 투여 또는 도입된 조성물의 정단부 분포를 증대시키기 위하여, 수술용 레이저를 사용하여 난정원창에서 작은 2-mm의 천공을 만들어 조성물의 정원창 막 관통 주입 동안 외림프 변위를 가능하게 할 수 있다. 이어서, 미세주입 디바이스를 프레이밍하고 수술 영역으로 넣는다. 디바이스를 정원창으로 이동시키고, 미세바늘(microneedle)(들)에 의한 막의 관통이 가능하도록 팁(tip)을 빼가 드러난 정원창 돌출부 내에 착좌시킨다. 조성물의 측정되는 지속적인 주입이 가능하도록 콧폐달을 맞물리게 한다. 이어서, 디바이스를 빼내고, 정원창 및 등골 측판을 겔폼 패치로 밀봉한다.

[0463] 본 명세서에서 제공되는 임의의 방법의 일부 실시형태에서, 대상체는 증후군성 또는 비증후군성 감각신경성 청력손실을 갖거나 또는 이를 발병시킬 위험이 있다. 본 명세서에서 제공되는 임의의 방법의 일부 실시형태에서, 대상체는 지지세포 및/또는 유모세포에서 발현될 수 있는 유전자인 내이 세포 표적 유전자에 돌연변이를 갖는 것으로 이전에 식별된 적이 있다.

[0464] 본 명세서에서 제공되는 임의의 방법의 일부 실시형태에서, 대상체는 (예컨대, 유전자 검사를 통하여) 내이 세포 표적 유전자에 돌연변이의 보인자인 것으로 식별된 적이 있다. 본 명세서에서 제공되는 임의의 방법의 일부 실시형태에서, 대상체는 내이 세포 표적 유전자에 돌연변이를 갖는 것으로 식별된 적이 있고 청력손실(예컨대, 비증후군성 감각신경성 청력손실 또는 증후군성 감각신경성 청력손실, 예컨대, 펜드레드 증후군 또는 DFNB4)로 진단된 적이 있다. 본 명세서에 기재된 임의의 방법의 일부 실시형태에서, 대상체는 청력손실(예컨대, 비증후군성 감각신경성 청력손실 또는 증후군성 감각신경성 청력손실)을 갖는 것으로 식별된 적이 있다. 일부 실시형태에서, 청력손실(예컨대, 비증후군성 감각신경성 청력손실 또는 증후군성 감각신경성 청력손실)의 성공적인 치료는 당업계에서 공지된 통상의 임의의 기능적 청력 검사를 사용하여 대상체에서 결정될 수 있다. 기능적 청력 검사의 비제한적인 예는 다양한 유형의 청력계측 검정(예컨대, 순음 검사, 어음 검사, 중이 검사, 청성뇌간반응 및 귀음향방사)을 포함한다.

[0465] 일부 실시형태에서, 대상체 세포는 시험관 내에 있다. 일부 실시형태에서, 대상체 세포는 원래 대상체로부터 얻어지고 생체 외에서 배양된다. 일부 실시형태에서, 대상체 세포는 결합성 내이 세포 표적 유전자를 갖는 것으로 이전에 결정된 적이 있다. 일부 실시형태에서, 대상체 세포는 결합성 유모세포 표적 유전자를 갖는 것으로 이전에 결정된 적이 있다. 일부 실시형태에서, 대상체 세포는 결합성 지지세포 표적 유전자를 갖는 것으로 이전에 결정된 적이 있다.

[0466] 이들 방법의 일부 실시형태에서, 치료, 예컨대, 본 명세서에 기재된 조성물의 1 또는 2회 이상의 투여 후, 활성 내이 세포 표적 단백질(예컨대, 클라린 1 단백질)의 발현 증가가 있다. 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 바와 같은 활성 내이 표적 단백질(예컨대, 클라린 1 단백질)의 발현 증가는, 대조군 수준과 대비된 것이고, 예컨대, 본 명세서에 기재된 바와 같은 임의의 작제물(들)을 포함하는 조성물의 도입 전에 내이 세포 표적 단백질의 발현 수준과 비교된 것이다.

[0467] 표적 단백질(예컨대, 클라린 1 단백질)의 발현 및/또는 활성을 검출하는 방법이 당업계에 공지되어 있다. 일부 실시형태에서, 내이 세포 표적 단백질의 발현 수준은, (예컨대, 내이 세포 표적 단백질 또는 표적 mRNA를 검출하여) 직접 검출될 수 있다. 표적 RNA 또는 단백질(예컨대, CLRN1 유전자 산물 및/또는 클라린 1 단백질 또는 이의 기능적 특징 부분)의 발현 및/또는 활성을 직접적으로 검출하는 데 사용될 수 있는 기술의 비제한적인 예는 실시간 PCR, 웨스턴 블로팅, 면역침강법, 면역조직화학, 질량 분광법, 또는 면역형광법을 직접 포함한다. 일

부 실시형태에서, 내이 세포 표적 단백질의 발현은 (예컨대, 기능적 청력 검사를 통해) 간접적으로 검출될 수 있다.

[0468] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 조성물의 안전성 및 내약성은 청력손실에서 평가될 수 있다. 일부 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 조성물, 예컨대, rAAV-CLRN1의 안전성 및 내약성은 본 명세서에 개시된 대상체에서 평가될 수 있다.

[0469] 투여

[0470] 본 명세서에서는 청력손실(예컨대, 비증후군성 감각신경성 청력손실 또는 증후군성 감각신경성 청력손실)을 치료하기 위한 치료용 전달 시스템이 제공된다. 일 양상에서, 치료용 전달 시스템은, i) 이를 필요로 하는 대상체의 내이의 정원창막에 하나 또는 복수의 절개부를 생성할 수 있는 의료 디바이스 및 ii) 유효 용량의 조성물(예컨대, 본 명세서에 기재된 임의의 조성물)을 포함한다. 일부 실시형태에서, 의료 디바이스는 복수의 미세-바늘을 포함한다.

[0471] 또한 본 명세서에서는 청력손실(예컨대, 비증후군성 감각신경성 청력손실 또는 증후군성 감각신경성 청력손실)의 치료를 위한 외과적 방법이 제공된다. 일부 실시형태에서, 방법은 대상체의 달팽이관에 제1 절개점에서 제1 절개부를 도입하는 단계; 및 치료적 유효량의 본 명세서에서 제공되는 임의의 조성물을 달팽이관 내로 투여하는 단계를 포함한다. 일부 실시형태에서, 조성물은 제1 절개점에서 대상체에게 투여된다. 일부 실시형태에서, 조성물은 제1 절개부 내로 또는 이를 통해 대상체에게 투여된다.

[0472] 본 명세서에서 제공되는 임의의 방법의 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 임의의 조성물은 달팽이관 난정원창막에 또는 이를 통해 대상체에게 투여된다. 본 명세서에서 제공되는 임의의 방법의 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 임의의 조성물은 달팽이관 정원창막에 또는 이를 통해 대상체에게 투여된다. 본 명세서에서 제공되는 임의의 방법의 일부 실시형태에서, 조성물은 정원창막에 복수의 절개부를 생성할 수 있는 의료 디바이스를 사용하여 투여된다. 일부 실시형태에서, 의료 디바이스는 복수의 미세-바늘을 포함한다. 일부 실시형태에서, 의료 디바이스는 일반적으로 원형인 제1 측면을 포함하는 복수의 미세-바늘을 포함하며, 여기서 각 미세-바늘은 적어도 약 10 미크론의 직경을 갖는다. 일부 실시형태에서, 의료 디바이스는 조성물을 보유할 수 있는 베이스 및/또는 저장소를 포함한다. 일부 실시형태에서, 의료 디바이스는 조성물을 수송할 수 있는 내강을 개별적으로 포함하는 복수의 중공의 미세-바늘을 포함한다. 일부 실시형태에서, 의료 디바이스는 적어도 부분적인 진공을 생성하기 위한 수단을 포함한다.

[0473] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 임의의 방법은, 청력손실을 가진, 대상체, 예컨대, 포유동물, 예컨대, 인간, 예컨대, 환자에서 안전성 및 내약성을 평가하는 용량 증량 연구를 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 조성물, 예컨대, rAAV-CLRN1은 본 명세서에 개시된 투약 요법으로 투여된다. 일부 실시형태에서, 투약 요법은, 예컨대, 본 명세서에 기재된 바와 같이, 본 명세서에 개시된 조성물, 예컨대, rAAV-CLRN1의 용량의 편측성 또는 양측성 달팽이관 내 투여를 포함한다. 일부 실시형태에서, 투약 요법은 달팽이관당 적어도 0.01 mL, 적어도 0.02 mL, 적어도 0.03 mL, 적어도 0.04 mL, 적어도 0.05 mL, 적어도 0.06 mL, 적어도 0.07 mL, 적어도 0.08 mL, 적어도 0.09 mL, 적어도 0.10 mL, 적어도 0.11 mL, 적어도 0.12 mL, 적어도 0.13 mL, 적어도 0.14 mL, 적어도 0.15 mL, 적어도 0.16 mL, 적어도 0.17 mL, 적어도 0.18 mL, 적어도 0.19 mL, 또는 적어도 0.20 mL의 부피로의 전달을 포함한다. 일부 실시형태에서, 투약 요법은 달팽이관당 최대 0.30 mL, 최대 0.25 mL, 최대 0.20 mL, 최대 0.15 mL, 최대 0.14 mL, 최대 0.13 mL, 최대 0.12 mL, 최대 0.11 mL, 최대 0.10 mL, 최대 0.09 mL, 최대 0.08 mL, 최대 0.07 mL, 최대 0.06 mL, 또는 최대 0.05 mL의 부피로의 전달을 포함한다. 일부 실시형태에서, 투약 요법은, 모집단에 따라서, 달팽이관당 약 0.05 mL, 약 0.06 mL, 약 0.07 mL, 약 0.08 mL, 약 0.09 mL, 약 0.10 mL, 약 0.11 mL, 약 0.12 mL, 약 0.13 mL, 약 0.14 mL, 또는 약 0.15 mL의 부피로의 전달을 포함한다. 일부 실시형태에서, 투약 요법은 달팽이관당 적어도 0.01 mL, 적어도 0.02 mL, 적어도 0.03 mL, 적어도 0.04 mL, 적어도 0.05 mL, 적어도 0.06 mL, 적어도 0.07 mL, 적어도 0.08 mL, 적어도 0.09 mL, 적어도 0.10 mL, 적어도 0.11 mL, 적어도 0.12 mL, 적어도 0.13 mL, 적어도 0.14 mL, 적어도 0.15 mL, 적어도 0.16 mL, 적어도 0.17 mL, 적어도 0.18 mL, 적어도 0.19 mL, 또는 적어도 0.20 mL의 부피로의 전달을 포함한다. 일부 실시형태에서, 투약 요법은 달팽이관당 최대 0.30 mL, 최대 0.25 mL, 최대 0.20 mL, 최대 0.15 mL, 최대 0.14 mL, 최대 0.13 mL, 최대 0.12 mL, 최대 0.11 mL, 최대 0.10 mL, 최대 0.09 mL, 최대 0.08 mL, 최대 0.07 mL, 최대 0.06 mL, 또는 최대 0.05 mL의 부피로의 전달을 포함한다. 일부 실시형태에서, 투약 요법은, 모집단에 따라서, 달팽이관당 약 0.05 mL, 약 0.06 mL, 약 0.07 mL, 약 0.08 mL, 약 0.09 mL, 약 0.10 mL, 약 0.11 mL, 약 0.12 mL, 약 0.13 mL, 약 0.14 mL, 또는 약 0.15 mL의 부피로의 전달을 포함한다.

- [0474] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 방법은 청력손실을 가진, 예컨대, 18 내지 80세의 대상체에게 달팽이관 내 주사를 통해서 투여된 본 명세서에 개시된 조성물, 예컨대, rAAV-CLRN1의 증량 용량의 안전성 및 내약성을 평가한다.
- [0475] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 방법은 청력손실을 가진, 예컨대, 18 내지 80세의 대상체에게 안구 내 주사를 통해서 투여된 본 명세서에 개시된 조성물, 예컨대, rAAV-CLRN1의 증량 용량의 안전성 및 내약성을 평가한다.
- [0476] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 임의의 방법은 본 명세서에 개시된 조성물, 예컨대, rAAV-CLRN1의 안전성 및 내약성의 평가를 포함한다. 일부 실시형태에서, 청력손실을 치료하는 본 명세서에 개시된 조성물, 예컨대, rAAV-CLRN1의 효능 평가는 무작위 통제 설정(동시 비개입 관찰 아암 사용)에서 수행된다.
- [0477] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 임의의 방법은 본 명세서에 개시된 조성물, 예컨대, rAAV-CLRN1의 안전성 및 내약성의 평가를 포함한다. 일부 실시형태에서, 청력손실을 치료하는 본 명세서에 개시된 조성물, 예컨대, rAAV-CLRN1의 효능 평가는 무작위 통제 설정(동시 비개입 관찰 아암 사용)에서 수행된다.
- [0478] 디바이스 및 외과적 방법
- [0479] 본 개시내용은 특히, 일부 실시형태에서, 귀먹음 및 기타 청력-연관 질환, 장애 및 병태를 치료하는 데 사용될 수 있는 기술(예컨대, 시스템, 방법, 디바이스 등)을 제공한다. 이러한 기술의 예는 또한 예컨대, W02017223193 및 W02019084145에 포함되며, 이들의 각각은 전문이 본 명세서에 참조에 의해 인용된다. 일부 실시형태에서, 예를 들어, 본 개시내용은 청력손실(예컨대, 비증후군성 감각신경성 청력손실)을 치료하기 위한 치료용 전달 시스템을 포함한다. 이러한 일부 실시형태에서, 치료용 전달 시스템은 (i) 대상체의 내이의 정원창막에 하나 또는 복수의 절개부를 생성할 수 있는 의료 디바이스 및 (ii) 유효 용량의 조성물(예컨대, 본 명세서에 임의의 조성물)을 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 의료 디바이스는 복수의 미세-바늘을 포함한다.
- [0480] AAV 작제물은 내이의 표적 세포에서 전장 청각 폴리펩타이드 메신저 RNA를 구성할 수 있다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용은 외과적 방법을 수행하기 위한 수단을 제공하되, 방법은 유효 용량의 본 개시내용의 치료용 조성물을 이를 필요로 하는 인간 대상체에게 달팽이관 내로 투여하는 단계를 포함한다. 치료용 조성물은 a) 정원창막에 하나 또는 복수의 절개부를 생성하기 위한 수단, 및 b) 유효 용량의 치료용 조성물을 포함하는 의료 디바이스를 사용하여 투여될 수 있다.
- [0481] 본 개시내용은, 특히, 청력손실의 치료(예컨대, 예방, 역전, 완화, 감쇠)를 위한 외과적 방법을 제공한다. 일 양상에서, 방법은 인간 대상체의 달팽이관에 제1 절개점에서 제1 절개부를 도입하는 단계; 및 유효 용량의 본 명세서에서 제공되는 바와 같은 치료용 조성물(예컨대, 본 명세서에 기재된 임의의 조성물)을 달팽이관 내로 투여하는 단계를 포함한다. 일 실시형태에서, 치료용 조성물(예컨대, 본 명세서에 기재된 임의의 조성물)은 제1 절개점에서 대상체에게 투여된다. 일 실시형태에서, 치료용 조성물은 제1 절개부 내로 또는 이를 통해 대상체에게 투여된다. 일 실시형태에서, 치료용 조성물은 달팽이관 난원창막부 내로 또는 이를 통해 대상체에게 투여된다. 일 실시형태에서, 치료용 조성물은 달팽이관 정원창막부 내로 또는 이를 통해 대상체에게 투여된다.
- [0482] 예를 들어, 일부 실시형태에서, 치료용 조성물은 정원창막에 복수의 절개부를 생성할 수 있는 의료 디바이스를 사용하여 투여된다. 일부 실시형태에서, 의료 디바이스는 복수의 미세-바늘을 포함한다. 일부 실시형태에서, 의료 디바이스는 일반적으로 원형인 제1 측면을 포함하는 복수의 미세-바늘을 포함하며, 여기서 각 미세-바늘은 적어도 약 10 미크론의 직경을 갖는다. 일부 실시형태에서, 의료 디바이스는 치료용 조성물을 보유할 수 있는 베이스 및/또는 저장소를 포함한다. 일부 실시형태에서, 의료 디바이스는 치료용 조성물을 수송할 수 있는 내강을 개별적으로 포함하는 복수의 중공의 미세-바늘을 포함한다. 일부 실시형태에서, 의료 디바이스는 적어도 부분적인 진공을 생성하기 위한 수단을 포함한다.
- [0483] 달팽이관 내로의 도입 방법
- [0484] 본 개시내용은, 특히, 치료적 유효량의 본 명세서에 기재된 바와 같은 임의의 조성물 또는 시스템을 포유동물(예컨대, 인간)의 달팽이관에 도입하는 방법을 제공한다. 치료적 유효량의 본 명세서에 기재된 임의의 조성물을 대상체의 달팽이관에 도입하는 단계를 포함하는, 세포(예컨대, 유모세포, 예컨대, 외유모세포, 예컨대, 내이 세포, 예컨대, 포유동물(예컨대, 인간)의 달팽이관 내의 척수 신경절 뉴런(spinal ganglion neuron: SGN))에서 기능성 CLRN1 단백질의 발현을 증가시키는 방법이 또한 제공된다.
- [0485] 또한 결함성(즉, 비기능성) CLRN1 유전자 산물을 갖는 것으로 식별된 대상체(예컨대, 인간)에서 청력손실을 치

료하는 방법이 제공된다. 이러한 일부 실시형태에서, 방법은 치료적 유효량의 본 명세서에 기재된 임의의 조성물을 대상체의 달팽이관에 투여하는 단계를 포함한다. 일부 실시형태에서, 치료하는 방법은 인공달팽이관을 대상체에게 (예컨대, 본 명세서에 기재된 임의의 조성물이 대상체에게 투여되는 것과 실질적으로 동시에) 투여하는 단계를 더 포함할 수 있다.

[0486] 일부 실시형태에서, 치료하는 방법은 2회 이상의 용량의 본 명세서에 기재된 임의의 조성물을 투여하는 단계를 포함한다. 이러한 일부 실시형태에서, 조성물은 포유동물 또는 대상체의 달팽이관으로 도입되거나 투여된다. 일부 실시형태에서, 치료하는 방법은 제1 용량의 조성물을 대상체의 달팽이관에 도입 또는 투여하는 단계, 제1 용량의 도입 또는 투여 후 대상체의 청력 기능을 평가하는 단계, 및 대상체가 (예컨대, 당업계에 공지된 임의의 청력 검사를 사용하여 결정된 바와 같이) 정상 범위 내에서 청력 기능을 갖지 않는 것으로 밝혀진 경우 적어도 1회의 추가의 용량의 조성물을 대상체의 달팽이관에 투여하는 단계를 포함한다.

[0487] 일부 실시형태에서, 치료 방법은 달팽이관 내 투여를 포함한다. 본 명세서에 기재된 임의의 방법의 이러한 일부 실시형태에서, 조성물은 의료 디바이스(예컨대, 본 명세서에 기재된 임의의 예시적인 의료 디바이스)의 사용을 통해서 투여된다. 일부 실시형태에서, 달팽이관 내 투여는 본 명세서에 기재되거나 당업계에 공지된 바와 같이 수행될 수 있다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 조성물은 하기 외과적 기술을 사용하여 달팽이관에 투여 또는 도입될 수 있다: 먼저 0도, 2.5-mm 강성 내시경에 의한 시각화를 사용하여, 외이도를 청소하고 반월도를 사용하여 대략 5-mm의 고실외이도 피부판을 선명하게 윤곽 묘사한다. 이어서, 고실외이도 피부판을 들어 올리고 중이에 후방으로 진입한다. 고각 신경을 식별하여 분할하고, 큐렛(curette)을 사용하여 방패꼴 뼈를 제거하여, 정원창막을 노출시킨다. 투여되거나 도입된 조성물의 정단 분포를 향상시키기 위하여, 외과용 레이저를 사용하여 난원창에 작은 2-mm 개창을 만들어 조성물의 정원창막을 통한 주입 동안 외림프 변위를 허용할 수 있다. 이어서, 미세주입 디바이스를 프라이밍하고, 수술장으로 가져간다. 디바이스를 정원창으로 이동시키고, 틱을 정원창 돌출부 내에 안착시켜, 미세바늘(들)에 의한 막의 침투를 허용한다. 꽃페달을 가동시켜 조성물의 측정된 지속적인 주입을 허용한다. 이어서, 디바이스를 빼내고, 정원창과 등골 족판을 겔폼 패치로 밀봉한다. 당업자라면 달팽이관 내 투여의 기타 변형 또는 방법이 이용 가능하다는 것을 이해할 것이다. 일부 실시형태에서, 임의의 이러한 허용 가능한 방법은 하나 이상의 조성물을 전달하고/하거나 본 명세서에 기재된 바와 같은 하나 이상의 대상체를 치료하는 데 사용될 수 있다.

[0488] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 임의의 방법에 사용하기 위한 예시적인 디바이스는 도 19 내지 도 22에 기재되어 있다. 도 19는 유체를 내이로 전달하기 위한 예시적인 디바이스(10)를 예시한다. 디바이스(10)는 널링 처리된 핸들(knurled handle)(12), 및 텔레스코핑 하이포튜브 니들 지지부(24)에 결합되는 원위 핸들 접착제(14)(예를 들어, Loctite 4014와 같은 에폭시)를 포함한다. 널링 처리된 핸들(12)(또는 핸들 부분)은 컬링 특징 및/또는 또는 그립을 향상시키는 홈을 포함할 수 있다. 널링 처리된 핸들(12)(또는 핸들 부분)은 약 5mm 내지 약 15mm 두께 또는 약 5mm 내지 약 12mm 두께, 또는 약 6mm 내지 약 10mm 두께, 또는 약 6mm 내지 약 9mm 두께, 또는 약 7mm 내지 약 8mm 두께일 수 있다. 널링 처리된 핸들(12)(또는 핸들 부분)은 유체가 사용 중에 디바이스(10)를 통과할 수 있도록 중공일 수 있다. 디바이스(10)는 또한 널링 처리된 핸들(12)의 근위 단부(18)에 근위 핸들 접착제(16), 디바이스(10)의 원위 단부(20)에 스톱퍼(28)(도 20에 도시됨)를 가진 바늘 하위조립체(26)(도 20에 도시됨), 및 변형 완화 특징부(22)를 포함할 수 있다. 변형 완화 특징부(22)는 Santoprene 재료, Pebax 재료, 폴리우레탄 재료, 실리콘 재료, 나일론 재료 및/또는 열가소성 엘라스토머로 구성될 수 있다. 텔레스코핑 하이포튜브 바늘 지지부(24)는 내부에 배치된 구부러진 바늘(38)(도 20에 도시됨)을 둘러싸고 지지한다.

[0489] 여전히 도 20을 참조하면, 스톱퍼(28)는 열가소성 재료 또는 플라스틱 중합체(예를 들어, UV-경화 중합체)뿐만 아니라 다른 적합한 재료로 구성될 수 있고, 구부러진 바늘(38)이 외이도에 너무 멀리 삽입되는 것을 방지하기 위해(예를 들어, 구부러진 바늘(38)이 측면 벽 또는 다른 내이 구조로 삽입되는 것을 방지하기 위해) 사용될 수 있다. 디바이스(10)는 또한 널링 처리된 핸들(12)과 텔레스코핑 하이포튜브 바늘 지지부(24)에 결합된 원위 핸들 접착제(14) 사이에 배치된 테이퍼 부분(23)을 포함할 수 있다. 널링 처리된 핸들(12)(또는 핸들 부분)은 핸들 부분(12)의 원위 단부에서 테이퍼 부분(23)을 포함할 수 있다. 디바이스(10)는 또한 디바이스(10)의 근위 단부(16)에 유체 흐름 가능하게 연결된 튜빙(36)을 포함할 수 있고, 디바이스를 상류 구성요소(예를 들어, 펌프, 주사기 및/또는 일부 실시형태에서 제어 시스템 및/또는 전원 공급 장치(미도시)에 연결될 수 있는 상류 구성요소)에 연결하는 유체 유입 라인으로서 작용한다. 일부 실시형태에서, 구부러진 바늘(38)(도 20에 도시됨)은 원위 단부(20)로부터, 텔레스코핑 하이포튜브 바늘 지지부(24)를 통해, 테이퍼 부분(23)을 통해, 널링 처리된 핸들(12)을 통해 그리고 변형 완화 특징부(22)를 통해 연장되고, 튜빙(36)에 유체 흐름 가능하게 연결된다. 다른 실시형태에서, 구부러진 바늘(38)은 (예를 들어, 텔레스코핑 하이포튜브 바늘 지지부(24)를 통해) 널링 처리된

핸들의 중공 내부와 유체 흐름 가능하에 연결되고, 이어서 근위 단부(16)에서 튜빙(36)과 유체 흐름 가능하에 연결된다. 구부러진 바늘(38)이 디바이스(10)의 내부를 통해 완전히 연장되지 않는 실시형태에서, (예를 들어, 중첩하는 내포된 하이포튜브(42) 사이의) 접촉 영역, 공차, 및/또는 인터페이싱 구성요소 사이의 밀봉체는, 치료 유체가 (상대적으로 낮은 압력(예를 들어, 약 1 파스칼 내지 약 50 Pa, 또는 약 2 Pa 내지 약 20 Pa, 또는 약 3 Pa 내지 약 10 Pa)에서 작동하는) 디바이스(10) 외부로 누출되는 것을 방지하기 위해 충분해야 한다.

[0490] **도 20**은 본 개시된 실시형태의 양상에 따른 구부러진 바늘 하위조립체(26)의 측면도를 예시한다. 구부러진 바늘 하위조립체(26)는 구부러진 부분(32)을 갖는 바늘(38)을 포함한다. 구부러진 바늘 하위조립체(26)는 또한 구부러진 부분(32)에 결합된 스톱퍼(28)를 포함할 수 있다. 구부러진 부분(32)은 귀의 막(예를 들어, RWM)을 뚫기 위해 디바이스(10)의 원위 단부(20)에서 각진 팁(angled tip)(34)을 포함한다. 바늘(38), 구부러진 부분(32) 및 각진 팁(34)은 유체가 그곳을 통해 흐를 수 있도록 중공이다. 구부러진 부분(32)의 각도(46)(**도 22**에 도시된 바와 같음)는 달라질 수 있다. 스톱퍼(28) 형상은 원통형, 디스크형, 고리형, 돔형 및/또는 다른 적합한 형상일 수 있다. 스톱퍼(28)는 구부러진 부분(32) 상에서 제 위치에 몰딩될 수 있다. 예를 들어, 스톱퍼(28)는 접착제 또는 압축 끼워맞춤을 사용하여 구부러진 부분(32) 주위에 동심원으로 위치될 수 있다. 접착제의 예는 UV 경화 접착제(예컨대, Dymax 203A-CTH-F-T), 엘라스토머 접착제, 열경화성 접착제(예컨대, 에폭시 또는 폴리우레탄) 또는 에멀션 접착제(예컨대, 폴리비닐 아세테이트)를 포함한다. 스톱퍼(28)는 각진 팁(34)이 목적하는 삽입 깊이로 귀에 삽입되도록 구부러진 부분(32) 주위에 동심원으로 맞춰진다. 구부러진 바늘(38)은 중분 성형뿐만 아니라 다른 적절한 기술을 사용하여 곧은 바늘로부터 형성될 수 있다.

[0491] **도 21**은 유체를 내이로 전달하기 위한 예시적인 디바이스(10)의 사시도를 예시한다. 튜빙(36)은 길이가 약 1300mm(**도 21**에서의 치수(11)) 내지 약 1600mm, 또는 약 1400mm 내지 약 1500mm, 또는 약 1430mm 내지 약 1450mm일 수 있다. 변형 완화 특징부(22)는 길이가 약 25mm 내지 약 30mm(**도 21**에서의 치수(15)), 또는 길이가 약 20mm 내지 약 35mm일 수 있다. 핸들(12)은 길이가 약 155.4mm(**도 21**에서의 치수(13)), 또는 약 150mm 내지 약 160mm, 또는 약 140mm 내지 약 170mm일 수 있다. 텔레스코핑 하이포튜브 니들 지지부(24)는 2개 이상의 네스팅된 하이포튜브, 예를 들어 3개의 중첩된 하이포튜브(42A, 42B, 42C) 또는 4개의 네스팅된 하이포튜브(42A, 42B, 42C, 42D)를 가질 수 있다. 하이포튜브(42A, 42B, 42C)와 팁 조립체(26)(**도 21**에서의 치수(17))의 총길이는 약 25mm 내지 약 45mm, 또는 약 30mm 내지 약 40mm, 또는 약 35mm일 수 있다. 또한, 텔레스코핑 하이포튜브 바늘 지지부(24)는 약 36mm, 또는 약 25mm 내지 약 45mm, 또는 약 30mm 내지 약 40mm의 길이를 가질 수 있다. 3개의 네스팅된 하이포튜브(42A, 42B 및 42C)는 각각 3.5mm, 8.0mm 및 19.8mm 플러스 또는 마이너스 약 20%의 길이를 가질 수 있다. 텔레스코핑 하이포튜브 바늘 지지부(24)의 가장 안쪽에 네스팅된 하이포튜브(또는 가장 좁은 부분)는 니들(38) 주위에 동심원으로 배치될 수 있다.

[0492] **도 22**는 본 개시된 실시형태의 양상에 따라 디바이스(10)의 원위 단부(20)에 결합된 구부러진 바늘 하위조립체(26)의 사시도를 예시한다. **도 22**에 나타난 바와 같이, 구부러진 바늘 하위조립체(26)는 구부러진 부분(32)에 결합된 바늘(38)을 포함할 수 있다. 다른 실시형태에서, 구부러진 바늘(38)은 단일 바늘(예를 들어, 목적하는 각도(46)를 포함하도록 그 후에 구부러지는 직선 바늘)일 수 있다. 바늘(38)은 33-게이지 바늘일 수 있거나, 또는 약 32 내지 약 34, 또는 약 31 내지 35의 게이지를 포함할 수 있다. 더 가는 게이지에서는, 튜빙(36)이 꼬이거나 손상되지 않는 것을 보증하도록 주의해야 한다. 내이에 바늘(38)을 안전하고 정확하게 배치하기 위해 바늘(38)은 핸들(12)에 부착될 수 있다. **도 22**에 나타난 바와 같이, 구부러진 바늘 하위조립체(26)는 또한 구부러진 부분(32) 주위에 배치된 스톱퍼(28)를 포함할 수 있다. **도 22**는 또한 구부러진 부분(32)이 귀의 막(예를 들어, RWM)을 뚫기 위해 각진 팁(34)을 포함할 수 있는 것을 도시한다. 스톱퍼(28)는 약 0.5mm, 또는 약 0.4mm 내지 약 0.6mm, 또는 약 0.3mm 내지 약 0.7mm의 높이(48)를 가질 수 있다. 구부러진 부분(32)은 약 1.45mm, 또는 약 1.35mm 내지 약 1.55mm, 또는 약 1.2mm 내지 약 1.7mm의 길이(52)를 가질 수 있다. 다른 실시형태에서, 구부러진 부분(32)은, 스톱퍼(28)의 원위 단부와 각진 팁(34)의 원위 단부 사이의 거리가 약 0.5mm 내지 약 1.7mm, 또는 약 0.6mm 내지 약 1.5mm, 또는 약 0.7mm 내지 약 1.3mm, 또는 약 0.8mm 내지 약 1.2mm가 되도록 2.0mm 초과 길이를 가질 수 있다. **도 22**는 스톱퍼(28)가 원통형, 디스크형 및/또는 돔형인 기하학적 구조를 가질 수 있음을 나타낸다. 당업자라면 다른 기하학적 구조가 사용될 수 있음을 이해할 것이다.

[0493] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 바와 같은 전달 접근법은 내이 세포의 형질도입을 위한 합성 AAV 캡시드(예컨대, AAV Anc80) 및/또는 달팽이관으로의 직접 표적화된 전달을 위한 디바이스를 포함한다. 소정의 실시형태에서, 본 개시내용은 내이 세포의 형질도입에 적합한 방법 및 조성물을 제공한다.

[0494] 본 명세서에 기재된 임의의 방법의 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 임의의 조성물은 달팽이관 난원창막 내로 또는 이를 통해서 대상체에게 투여된다. 본 명세서에 기재된 임의의 방법의 일부 실시형태에서, 본 명세서

에 기재된 임의의 조성물은 달팽이관 정원창막 내로 또는 이를 통해서 대상체에게 투여된다. 본 명세서에 기재된 임의의 방법의 일부 실시형태에서, 조성물은 복수의 절개부를 생성할 수 있는 의료 디바이스를 사용하여 투여된다. 일부 실시형태에서, 의료 디바이스는 복수의 미세-바늘을 포함한다. 일부 실시형태에서, 의료 디바이스는 일반적으로 원형인 제1 측면을 포함하는 복수의 미세-바늘을 포함하며, 여기서 각 미세-바늘은 적어도 약 10 마이크론의 직경을 갖는다. 일부 실시형태에서, 의료 디바이스는 조성물을 보유할 수 있는 베이스 및/또는 저장소를 포함한다. 일부 실시형태에서, 의료 디바이스는 조성물을 수송할 수 있는 내강을 개별적으로 포함하는 복수의 중공의 미세-바늘을 포함한다. 일부 실시형태에서, 의료 디바이스는 적어도 부분적인 진공을 생성하기 위한 수단을 포함한다.

[0495] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 조성물, 예를 들어 rAAV-CLRN1을 등골 측판에 위치된 통기구로 갖는 원형창막을 통해 내이의 외림프액에 전달하기 위한 달팽이관 내 투여용의 멸균 1회 사용 전달 디바이스가 본 명세서에 또한 개시되어 있다. 일부 실시형태에서, 이 달팽이관 내 투여 접근법에서, 본 명세서에 개시된 조성물, 예컨대, 예컨대, rAAV-CLRN1은, 난원창 내의 등골 측판의 통기구를 이용해서 정원창막을 통해서 고실계에 투여되어, 조성물이 고실계를 통해 관류된 다음, 달팽이구멍에서 연결을 통해 전정계를 통해 관류되고, 등골 측판의 통기구로 유체 경로를 따르게 한다(도 11A 내지 도 11B).

[0496] 대상체를 치료하는 방법

[0497] 본 개시내용은, 특히, 본 명세서에 기재된 기술이 청력손실을 특징으로 하는 어서 증후군 유형 III을 앓고 있거나 이의 위험이 있는 대상체에서 기저 질환 및/또는 증상을 치료하는 데 사용될 수 있음을 제공한다.

[0498] 일부 실시형태에서, 방법은 본 명세서에 기재된 작제물(예컨대, rAAV 작제물), 입자(예컨대, rAAV 입자), 또는 본 명세서에 기재된 조성물을 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다. 일부 실시형태에서, 방법은 치료 방법이다. 일부 실시형태에서, 대상체는 청력손실을 특징으로 하는 어서 증후군 유형 III을 앓고 있거나 이의 위험이 있는 대상체이다.

[0499] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 작제물(예컨대, rAAV 작제물), 입자(예컨대, rAAV 입자), 또는 본 명세서에 기재된 조성물을 대상체에 투여하는 것은 청력손실을 특징으로 하는 어서 증후군 유형 III과 연관된 하나 이상의 증상을 경감 및/또는 개선시킬 수 있다. 증상은, 예를 들어, 청력손실, 유모세포의 변성, 내이액의 생화학적 환경의 변화, 미로 내 단백질 상승, 내림프 수종, 달팽이관 개구 폐쇄, 미로 내 출혈, 달팽이관 공급 중단(disruption of cochlear vascular supply), 이명, 현기증, 난치성 두통, 안면 신경병증, 삼차 신경병증, 안면 마비, 안면 감각 이상, 뇌수종, 소뇌 탈출증 및/또는 사망을 포함할 수 있다.

[0500] 일부 실시형태에서, 청력손실을 특징으로 하는 어서 증후군 유형 III은 유전자 돌연변이(예컨대, 결실 돌연변이, 프레임시프트 돌연변이, 넌센스 돌연변이, 하이포모르픽(hypomorphic) 돌연변이, 하이퍼모르픽(hypermorphic) 돌연변이, 네오모르픽(neomorphic) 돌연변이, 비정상적 과발현, 비정상적 과소발현 등)과 연관된다. 일부 실시형태에서, 청력손실을 특징으로 하는 어서 증후군 유형 III을 앓고 있거나 이의 위험이 있는 대상체는 본 명세서에 기재된 바와 같이 특성규명될 수 있는 CLRN1 유전자의 돌연변이를 가질 수 있다.

[0501] 일부 실시형태에서, 대상체는 본 명세서에 기재된 기술(예컨대, 실시간 PCR, 정량적 실시간 PCR, 웨스턴 블로팅, 면역침강법, 면역조직화학, 질량 분광법 또는 면역형광법, 유전자 및/또는 단백질 발현의 간접적인 표현형 결정(예컨대, 기능적 청력 검사, ABR, DPOAE 등을 통한) 등)로 치료 전, 동안 및/또는 후에 유전적으로 그리고/또는 증상적으로 특성규명된다. 일부 실시형태에서, 청력손실을 특징으로 하는 어서 증후군 유형 III을 앓고 있거나 이의 위험이 있는 대상체는 조직 샘플링(예컨대, 하나 이상의 유모세포 및/또는 하나 이상의 지지세포를 포함하는, 예컨대, 하나 이상의 내이 세포 포함)을 통해 특성규명된 이의 연관 질환 상태를 가질 수 있다. 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 바와 같은 임의의 기술(예컨대, 방법론, 예컨대, 조성물, 예컨대, 작제물, 및/또는 입자를 포함하는 조성물 등)의 투여 전, 동안 그리고/또는 후에 유모세포 및/또는 지지세포의 형태를 결정하기 위하여 형태학적 분석을 통해서 평가된다. 이러한 일부 실시형태에서, 표준 면역조직화학적 또는 조직학적 분석이 수행될 수 있다. 일부 실시형태에서, 세포가 시험관 내 또는 생체 외에서 사용되는 경우, 추가적인 면역세포화학적 또는 면역조직화학적 분석이 수행될 수 있다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 단백질 또는 전사물의 하나 이상의 검정(예컨대, 웨스턴 블롯, ELISA, 폴리머라제 연쇄 반응)은 대상체 또는 시험관 내 세포 집단으로부터의 하나 이상의 샘플에 대해 수행될 수 있다.

[0502] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 작제물(예컨대, rAAV 작제물), 입자(예컨대, rAAV 입자), 또는 본 명세서에 기재된 조성물을 대상체에게 투여하는 것은, 본 명세서에 기재된 기술로 치료 전에 수행된 면역조직화학

시험과 비교할 때 또는 대조 모집단과 비교할 때 환자의 면역조직화학적 평가(예컨대, 위에서 기재된 바와 같은 시험들)를 개선시킨다.

[0503] 어서 증후군 유형 III의 증상을 개선하기 위한 대상체의 치료

[0504] 일부 실시형태에서, 청력손실을 특징으로 하는 어서 증후군 유형 III을 앓고 있거나 이의 위험이 있는 대상체는 청력 기능을 특징으로 하는 치료 요법을 받을 수 있다. 일부 실시형태에서, 치료 요법의 기능성은 청력 기능을 통해 특성구명되는 데, 여기서 이러한 청력 기능은 본 명세서에 기재된 조성물 및 방법에 의한 치료 전, 후 및/또는 동안 청성뇌간반응 측정(ABR)을 사용하여 개체에서 결정된다. 일부 실시형태에서, 치료 요법의 기능성은 청력 기능을 통해 특성구명되고, 여기서 이러한 청력 기능은 본 명세서에 기재된 조성물 및 방법에 의한 치료 전, 후 및/또는 동안 변조이음향방사(distortion product otoacoustic emission: DPOAE)를 측정함으로써 개체에서 결정된다. 이러한 일부 실시형태에서, 청력 측정치는 대상체의 한쪽 귀 또는 양쪽 귀로부터 취해진다. 이러한 일부 실시형태에서, 기록치(recordings)는 동일한 대상체에 대한 이전의 기록치 및/또는 예컨대, 정상 청력으로 정의되는 허용 가능한 청력 범위에 대해서 청력손실을 정의하는 데 사용되는 이러한 반응 측정에 대한 기지의 역치와 비교된다. 일부 실시형태에서, 대상체는 임의의 치료를 받기 전에 기록된 ABR 및/또는 DPOAE 측정치를 갖는다. 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 하나 이상의 기술로 치료된 대상체는 치료 전과 비교하여 치료 후 ABR 및/또는 DPOAE 측정치에 대한 개선을 가질 것이다. 일부 실시형태에서, ABR 및/또는 DPOAE 측정은 치료가 투여된 후 그리고 치료 후 규칙적인 추적조사 간격으로 취해진다. 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 기술에 의한 치료는 본 명세서에 기재된 기술로 치료하기 전에 수행된 검사와 비교할 때 또는 대조군 집단과 비교할 때 환자 검사 평가(예를 들어, 상기 기술된 바와 같은 검사)를 개선시킨다.

[0505] 청력손실 및 회복 평가

[0506] 일부 실시형태에서, 청력 기능은 청성뇌간반응 측정(ABR)을 사용해서 결정된다. 기준에 비해서 ABR 역치의 감소, ABR 역치의 존재(예컨대, 검출), 및/또는 정상 ABR 형태는 개선된 청력을 나타낸다. 일부 실시형태에서, 청력은 변조이음향방사(distortion product otoacoustic emission: DPOAE)를 측정함으로써 시험된다. A decrease in an 기준에 비해서 DPOAE 역치의 감소, DPOAE 역치의 존재(예컨대, 검출), 및/또는 정상 DPOAE 형태는 개선된 청력을 나타낸다. 이러한 일부 실시형태에서, 측정치는 대상체의 한쪽 또는 양쪽 귀에서 취해진다. 이러한 일부 실시형태에서, 기록치는 동일한 대상체에 대한 이전의 기록치 및/또는 예컨대 정상 청력으로 정의되는 허용 가능한 청력 범위에 대해서 청력손실을 정의하는 데 사용되는 이러한 응답 측정치에 대한 기지의 역치와 비교된다. 일부 실시형태에서, 대상체는 임의의 치료를 받기 전에 기록된 ABR 및/또는 DPOAE 측정치를 갖는다. 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 하나 이상의 기술로 치료된 대상체는 치료 전과 비교하여 치료 후의 ABR 및/또는 DPOAE 측정치에서 개선을 가질 것이다. 일부 실시형태에서, ABR 및/또는 DPOAE 측정치는 치료가 투여된 후 및 치료 후 규칙적인 추적조사 간격으로 취해진다.

[0507] 일부 실시형태에서, 청력 기능은 발화 패턴 인식(speech pattern recognition)을 사용하여 결정되거나 또는 언어치료사에 의해 결정된다. 일부 실시형태에서, 청력 기능은 순음 검사에 의해 결정된다. 일부 실시형태에서, 청력 기능은 골전도 시험에 의해 결정된다. 일부 실시형태에서, 청력 기능은 음향 반사 검사에 의해 결정된다. 일부 실시형태에서 청력 기능은 고막운동성검사에 의해 결정된다. 일부 실시형태에서, 청각 기능은 당업계에 알려진 청력 분석의 임의의 조합에 의해 결정된다. 이러한 일부 실시형태에서, 측정은 전체적으로 그리고/또는 대상체의 한쪽 귀 또는 양쪽 귀에서 취해진다. 그러한 일부 실시형태에서, 기록치 및/또는 전문적인 분석은 동일한 대상체에 대한 이전의 기록치 및/또는 분석, 및/또는 예컨대, 정상 청력으로 정의되는 허용 가능한 청력 범위에 대해서 청력손실을 정의하는 데 사용되는 이러한 반응 측정에 대한 기지의 역치와 비교된다. 일부 실시형태에서, 대상체는 임의의 치료를 받기 전에 음성 패턴 인식, 순음 검사, 골전도 시험, 음향 반사 검사 및/또는 고막운동성검사 측정 및/또는 분석을 수행한다. 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 하나 이상의 기술로 치료된 대상체는 치료 전과 비교하여 치료 후 어음 패턴 인식, 순음 검사, 골전도 시험, 음향 반사 검사 및/또는 고막운동성검사 측정치에 대한 개선을 가질 것이다. 일부 실시형태에서, 어음 패턴 인식, 순음 검사, 골전도 시험, 음향 반사 검사 및/또는 고막운동성검사 측정은 치료가 실시된 후 그리고 치료 후 정기적인 추적조사 간격으로 수행된다.

[0508] 질환 상태의 특성구명 방법

[0509] 용어 "CLRN1 유전자의 돌연변이"는, 공통 기능성 클라린 1 단백질과 비교해서 하나 이상의 아미노산의 결실, 하나 이상의 아미노산 치환 및 하나 이상의 아미노산 삽입 중 하나 이상을 갖는 클라린 1 단백질의 생산을 초래하고/하거나 돌연변이를 갖지 않는 포유동물 세포의 인코딩된 클라린 1 단백질의 발현 수준과 비교해서, 포유동물

세포의 인코딩된 클라린 1 단백질의 발현 수준의 감소를 초래하는 공지된 공통 기능성 CLRN1 유전자의 변형을 지칭한다. 일부 실시형태에서, 돌연변이는 하나 이상의 아미노산(예컨대, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20개, 또는 그 초과)의 아미노산)에 결실을 갖는 클라린 1 단백질의 생산을 초래할 수 있다. 일부 실시형태에서, 돌연변이는 CLRN1 유전자의 프레임시프트를 초래할 수 있다. 용어 "프레임시프트"는 코딩 서열의 리딩 프레임에서 시프트를 초래하는 코딩 서열에서의 임의의 돌연변이를 망라하는 것으로 당업계에 공지되어 있다. 일부 실시형태에서, 프레임시프트는 비기능성 단백질을 초래할 수 있다. 일부 실시형태에서, 점 돌연변이는 넌센스 돌연변이(즉, 유전자의 엑손에서 미성숙 정지 코돈을 초래)일 수 있다. 넌센스 돌연변이는 (대응하는 공통 기능성 단백질과 비교하여) 기능적일 수도 있고 그렇지 않을 수도 있는 절단된 단백질의 생산을 초래할 수 있다. 일부 실시형태에서, 돌연변이는 CLRN1 mRNA 또는 클라린 1 단백질 또는 mRNA와 단백질 둘 다의 발현 손실(또는 수준 감소)을 초래할 수 있다. 일부 실시형태에서, 돌연변이는 공통 기능성 클라린 1 단백질과 비교하여 하나 이상의 생물학적 활성(기능)의 손실 또는 감소를 갖는 변경된 클라린 1 단백질의 생산을 초래할 수 있다.

[0510] 일부 실시형태에서, 돌연변이는 CLRN1 유전자에의 하나 이상의 뉴클레오타이드의 삽입이다. 일부 실시형태에서, 돌연변이는 클라린 1 유전자의 조절 및/또는 제어 서열, 즉, 코딩 서열이 아닌 유전자의 부분에 있다. 일부 실시형태에서, 조절 및/또는 제어 서열의 돌연변이는 프로모터 또는 인핸서 영역에 있을 수 있고 CLRN1 유전자의 적절한 전사를 방지하거나 감소시킬 수 있다. 일부 실시형태에서, 돌연변이는 클라린 1 단백질 또는 CLRN1 유전자와 상호작용하는 것으로 알려진 공지된 이중성 유전자에 있다.

[0511] CLRN1 mRNA 및/또는 클라린 1 단백질의 유전자형 분석 및/또는 발현 또는 활성 검출 방법은 당업계에 공지되어 있다(예컨대, 문헌[Ito et al., World J Otorhinolaryngol. 2013 May 28; 3(2): 26-34, 및 Roesch et al., Int J Mol Sci. 2018 Jan; 19(1): 209] 참조, 이들 각각은 전문이 본 명세서에 참조에 의해 인용됨). 일부 실시형태에서, CLRN1 mRNA 또는 클라린 1 단백질의 발현 수준은 직접적으로 검출될 수 있다(예를 들어, 클라린 1 단백질 검출, CLRN1 mRNA 검출 등). CLRN1 발현 및/또는 활성을 직접적으로 검출하기 위해 사용될 수 있는 기술의 비제한적인 예는, 예컨대, 실시간 PCR, 정량적 실시간 PCR, 웨스턴 블로팅, 면역침강법, 면역조직화학, 질량 분광법 또는 면역형광법을 포함한다. 일부 실시형태에서, CLRN1 및/또는 클라린 1 단백질의 발현은 간접적으로(예컨대, 기능적 청력 검사, ABR, DPOAE 증을 통해) 검출될 수 있다.

[0512] 일부 실시형태에서, 조직 샘플(예컨대, 하나 이상의 내이 세포, 예컨대, 하나 이상의 유모세포 및/또는 하나 이상의 지지세포 포함)은 본 명세서에 기재된 바와 같은 임의의 체계(예컨대, 조성물, 예컨대, 작제물 및/또는 입자를 포함하는 조성물 등)의 투여 전후에 안구 세포 및/또는 유모세포 및/또는 지지세포의 형태를 결정하기 위하여 형태학적 분석을 통해서 평가될 수 있다. 이러한 일부 실시형태에서, 표준 면역조직화학적 또는 조직학적 분석이 수행될 수 있다. 일부 실시형태에서, 세포가 시험관 내 또는 생체 외에서 사용되는 경우, 추가의 면역세포화학적 또는 면역조직화학적 분석이 수행될 수 있다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 단백질 또는 전사물의 하나 이상의 검정(예컨대, 웨스턴 블롯, ELISA, 폴리머라제 연쇄 반응)은 대상체 또는 시험관 내 세포 집단으로부터의 하나 이상의 샘플에 대해 수행될 수 있다.

[0513] 청력손실, 이명, 현기증 및 증상 회복 평가

[0514] 일부 실시형태에서, 청력 기능은 본 명세서에 기재된 조성물 및 방법에 의한 치료 전, 후 및/또는 동안 청성뇌간반응 측정(ABR)을 사용해서 개체에서 결정된다. 일부 실시형태에서, 청력 기능은 본 명세서에 기재된 조성물 및 방법에 의한 치료 전, 후 및/또는 동안 변조음향방사(DPOAE)를 측정함으로써 개체에서 결정된다. 이러한 일부 실시형태에서, 측정은 대상체의 한쪽 귀 또는 양쪽 귀로부터 취해진다. 이러한 일부 실시형태에서, 기록되는 동일한 대상체에 대한 이전의 기록치 및/또는 예컨대, 정상 청력으로 정의되는 허용 가능한 청력 범위에 대해서 청력손실을 정의하는 데 사용되는 이러한 반응 측정에 대한 기지의 역치와 비교된다. 일부 실시형태에서, 대상체는 임의의 치료를 받기 전에 기록된 ABR 및/또는 DPOAE 측정치를 갖는다. 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 하나 이상의 기술로 치료된 대상체는 치료 전과 비교하여 치료 후 ABR 및/또는 DPOAE 측정치에 대한 개선을 가질 것이다. 일부 실시형태에서, ABR 및/또는 DPOAE 측정은 치료가 투여된 후 그리고 치료 후 규칙적인 추적조사 간격으로 취해진다.

[0515] 일부 실시형태에서, 청력 기능은 발화 패턴 인식을 사용하여 결정되거나 또는 언어치료사에 의해 결정된다. 일부 실시형태에서, 청력 기능은 순음 검사에 의해 결정된다. 일부 실시형태에서, 청력 기능은 골전도 검사에 의해 결정된다. 일부 실시형태에서, 청력 기능은 음향 반사 검사에 의해 결정된다. 일부 실시형태에서 청력 기능은 고막운동성검사에 의해 결정된다. 일부 실시형태에서, 청력 기능은 당업계에 공지된 청력 분석의 임의의 조

합에 의해 결정된다. 이러한 일부 실시형태에서, 측정은 전체적으로 그리고/또는 대상체의 한쪽 귀 또는 양쪽 귀로부터 취해진다. 이러한 일부 실시형태에서, 기록치 및/또는 전문적인 분석은 동일한 대상체에 대한 이전의 기록치 및/또는 분석 및/또는, 예컨대, 정상 청력으로 정의되는 허용 가능한 청력 범위에 대해서 청력손실을 정의하는 데 사용되는 이러한 반응 측정에 대한 기지의 역치와 비교된다. 일부 실시형태에서, 대상체는 임의의 치료를 받기 전에 수행된 발화 패턴 인식, 순음 검사, 골전도 검사, 음향 반사 검사 및/또는 고막운동성검사 측정 및/또는 분석을 갖는다. 일부 실시형태에서 본 명세서에 기재된 하나 이상의 기술로 치료된 대상체는 치료 전에 비해서 치료 후에 발화 패턴 인식, 순음 검사, 골전도 검사, 음향 반사 검사 및/또는 고막운동성검사 측정치에 대한 개선을 가질 것이다. 일부 실시형태에서, 발화 패턴 인식, 순음 검사, 골전도 검사, 음향 반사 검사 및/또는 고막운동성검사 측정은 치료가 투여된 후 그리고 치료 후 규칙적인 추적조사 간격으로 취해진다.

[0516] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 임의의 방법은 행동 청력검사(behavioral audiometry) 평가를 포함한다. 일부 실시형태에서, 행동 청력검사 평가는 적절한 마스크와 함께 공기 및 골 곡선을 사용한 순음 청력검사(pure-tone audiometry), 어음 청력검사(Speech audiometry), 고요 속 단어(Words in quiet) 또는 소음 속 단어(words in noise)를 포함한다. 일부 실시형태에서, 행동 청력검사 평가는 청성 뇌간 반응 검사에 의한 전기생리학적 청력검사를 포함한다. 일부 실시형태에서, 행동 청력검사 평가는 표준화된 설문지를 포함한다: HHHIA: 성인용 청각장애인 목록(Hearing Handicap Inventory for Adults), DHI: 현기증 장애 목록(Dizziness Handicap Inventory), THI: 이명 장애 목록(Tinnitus Handicap Inventory), PANQOL: 범 청신경초종 삶의 질(QoL)(Penn Acoustic Neuroma Quality of Life).

[0517] 본 명세서에 개시된 임의의 방법의 일부 실시형태에서, 안전성 및 효능은 혈액학, 임상 화학 및/또는 소변검사 파라미터뿐만 아니라, 귀, 전방 및 전신 부작용의 평가에 의해 모니터링될 수 있다. 본 명세서에 개시된 임의의 방법의 일부 실시형태에서, 평가될 추가의 파라미터는 혈중 CLRN1 단백질 수준 및 귀 면봉, 비강 면봉, 타액 및 혈액 중 작제물 DNA를 포함할 것이다. 본 명세서에 개시된 임의의 방법의 일부 실시형태에서, 캡시드 및 트랜스진 산물에 대한 잠재적인 체액성 면역 반응의 평가를 위해 혈액이 또한 수집될 수 있다.

[0518] ABR 검사는 동물의 달팽이관, 달팽이관 신경 및 뇌간이 각 소리 자극에 대해서 반응하는지의 여부를 측정하고, 종종 귀 건강의 척도로서 사용된다. 이 동일한 기본 검사는 통상 병원에서 신생아 인간의 청력을 검사하는 데 사용되고 실험실 동물에 사용되는 표준 청력 검사이다. 일부 실시형태에서, ABR 검사는 운동 및 근육 아티팩트를 최소화하고 측정 전극의 배치를 돕기 위하여 IP 용량의 케타민/자일라진 마취제를 마우스에게 주사하는 것을 수반한다. 일부 실시형태에서, ABR 검사(DPOAE와 동시에 그리고 양쪽 귀에서 수행될 때)는 완료하는데 대략 45 분이 걸리므로, 부스터 용량의 마취제가 종종 필요로 된다. 일부 실시형태에서, 초기 용량의 마취제는 케타민(100 mg/kg) 및 자일라진(10 mg/kg) IP 및 필요에 따라서, 원래의 케타민 용량의 ¼ 내지 ½로 이루어진 케타민 단독 부스터로 이루어진다. 일부 실시형태에서, 자일라진의 어떠한 재투여도 수의사의 추천에 기초하여 수행되지 않는다. 일부 실시형태에서, 피부 표면을 통한 경피 기록 전극은 3개의 표준 위치에(귀 사이에서 등거리인 두개골 정점에, 검사-귀 상의 귓바퀴 뒤의 유양 돌기 위에, 그리고 접지 전극용의 반대쪽 귀에 대한 귓바퀴 뒤의 유양 돌기 위에) 배치된다. 일부 실시형태에서, 자극은 오름차순 5-dB 단계로 10 내지 80 dB SPL에서 저(8 kHz), 중(16 kHz) 및 고(32 kHz) 주파수 순음 펄스 자극(pure tone pip stimuli)(0.1 ms 상승 하강, 1.5 ms 지속 시간)으로 이루어진다. 일부 실시형태에서, 자극은 30/sec의 속도로 제시될 것이고, 512 아티팩트-없는 평균치가 각 자극 수준에서 획득된다. 일부 실시형태에서, ABR은 그룹에 따라서, 2 내지 3개의 개별 시점에서 수집되었고; 기준선 및 말기 4 내지 6주에 동물의 하위집합도 수술 후 3주에 검사하였다. 일부 실시형태에서, 동물의 뇌간이 안정적으로 처리할 수 있는 각각의 자극 주파수의 최저 강도(역치)를 측정하는 것에 부가해서, 역치상(suprathreshold) 자극에 반응하는 파 I의 진폭은 달팽이관 유모세포에서 청신경로 정보의 구심성 흐름의 온전성을 평가하기 위하여 측정될 수 있다. 일부 실시형태에서, ABR 역치는 동물의 귀가 통과하고 뇌간에 의해 처리되는 가장 낮은 수준의 소리에 대한 중요한 정보를 제공할 수 있으며, ABR 파 I의 진폭에서 역치상 응답은 내부 유모세포의 기저부와 청신경 수상돌기 사이의 리본 시냅스 연결의 무결성에 대한 프록시로서 점점더 많이 사용되었다.

[0519] DPOAE는 달팽이관 외유모세포의 움직임에 의해 생성되는 소리이고, 트랜스듀서 및 마이크 조합을 사용하여 외이도에서 비침습적으로 측정된다. 일부 실시형태에서, 유발된 DPOAE의 크기는 외유모세포 기능의 유용한 척도이다. 이 동일한 기본 검사는 또한 통상 병원에서 신생아 인간의 청력을 검사하는 데 사용되고, 이것은 실험실 동물에 사용되는 표준 청력 검사이다. 일부 실시형태에서, 2개의 기본 톤(f1 및 f2)은 자극 및 왜곡 주파수에서 달팽이관 유체의 압력 변화를 유발하는 기계적 진동을 생성하는 귀에 제공된다. 일부 실시형태에서, 이들 입력 변화는 귀를 반대로 구동하여 중이를 활성화시킨 다음 고막을 활성화시켜 외이도에서 소리를 생성한다.

일부 실시형태에서, DPOAE는 ABR에서 사용되는 동일한 검사 주파수(8, 16, 32 kHz)에서 그리고 ABR에 대한 마취 하에 수집된다. 일부 실시형태에서, f2는 8, 16 및 32 kHz에서 집중되는 한편 $f1=f2*0.8 + 10$ dB이다. 일부 실시형태에서, 각각의 주파수에서, 톤은 5-dB 오름차순 증분으로 10 내지 80dB SPL에서 제시된다. 일부 실시형태에서, DPOAE는 외유모세포 기능을 평가하므로, 전형적으로 왜곡 곱 방출 응답(distortion product emission response)의 진폭으로서 측정되는 응답 강도의 역치상 평가로서 사용된다. 일부 실시형태에서, 3개의 테스트 주파수 모두가 사용된다. 일부 실시형태에서, 테스트된 각 주파수에 대해 신뢰할 수 있는 왜곡 곱 응답을 얻을 수 없을 수 있으며, 이러한 경우 분석이 적절하게 수행될 수 있다.

[0520] 생물학적 샘플에서 CLRN1 단백질 농도의 평가

[0521] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 방법은 본 명세서에 기재된 조성물로 치료 전, 동안 및/또는 후에 개체로부터의 하나 이상의 생물학적 샘플에서 CLRN1 단백질 농도를 평가하는 단계를 포함한다.

[0522] 이들 방법의 일부 실시형태에서, 치료, 예컨대, 본 명세서에 기재된 조성물의 1회 또는 2회 이상의 투여 후, CLRN1 단백질의 발현이 증가한다. 일부 실시형태에서, 대조군 수준에 대비해서 비교할 때, 예컨대, 본 명세서에 기재된 임의의 작제물(들)을 포함하는 조성물의 도입 전에 CLRN1 단백질의 발현 수준과 비교할 때 본 명세서에 기재된 바와 같은 활성 CLRN1 단백질의 발현 증가.

[0523] 표적 RNA 및/또는 단백질의 발현 및/또는 활성을 검출하는 방법은 당업계에 공지되어 있다. 일부 실시형태에서, 내이 세포 표적 단백질의 발현 수준은 직접적으로 검출될 수 있다(예컨대, 세포 표적 단백질 또는 표적 mRNA의 검출). 표적 RNA 또는 단백질의 발현 및/또는 활성을 직접적으로 검출하는 데 사용될 수 있는 기술의 비제한적인 예는 다음을 포함한다: 실시간 PCR, 웨스턴 블로팅, 면역침강법, 면역조직화학, 질량 분광법 또는 면역형광법. 일부 실시형태에서, 내이 세포 표적 단백질의 발현은 간접적으로(예컨대, 기능적 청력 검사를 통해서) 검출될 수 있다.

[0524] 일부 실시형태에서, rAAV 입자의 생체분포 및/또는 발산(shedding) 분석이 수행된다. 일부 실시형태에서, 본 명세서에서는 cDNA를 전달하도록, 예컨대, CLRN1 단백질을 발현하도록 설계된 rAAV-CLRN1 복제-결합성, rAAV 입자를 포함하는 조성물이 개시된다. 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 바와 같은 rAAV 입자는 어서 증후군 유형 III을 가진, 대상체, 예컨대, 인간, 예컨대, 환자를 치료하는 데 사용된다. 일부 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 조성물은 달팽이관 내 경로를 통해서 투여된다. 일부 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 조성물은 (예컨대, 벡터 게놈 qPCR 분석에 의해 측정되는 바와 같이) 저용량의 rAAV 입자로 투여된다. 일부 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 조성물은 신체의 국소 영역에 투여된다. 일부 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 조성물은, 제한된 혈관 확산 및 전신 노출을 초래할 것으로 예상된다. 일부 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 조성물은 달팽이관에서 더 높은 수준의 작제물 서열을 초래한다. 일부 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 조성물은 수집된 대부분의 다른 조직 및 체액에서 더 낮지만 검출 가능한 수준을 초래한다. 일부 실시형태에서, 작제물 서열의 수준은 일반적으로 전체적으로 6개월까지 감소되었다. 일부 실시형태에서, 작제물 서열의 수준은, 예컨대, 본 명세서에 개시된 조성물의 달팽이관 내 투여 후 1개월과 같이, 혈액 샘플에서 시간 경과에 따라 감소한다.

[0525] 본 명세서에 개시된 임의의 방법의 일부 실시형태에서, 생체분포 및 발산을 위한 관련 유체(예를 들어, 혈액, 혈청, 소변, 타액, 비강 및 귀 면봉, 및 CSF 유체)가 수집 및/또는 평가된다. 본 명세서에 개시된 임의의 방법의 일부 실시형태에서, 비표적 조직이 수집 및/또는 평가된다. 일부 실시형태에서, 캡시드 변이체는 항성을 결정할 것으로 예상된다. 일부 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 조성물은 캡시드 변이체, 예컨대, AAV Anc80 캡시드 변이체를 포함한다. 일부 실시형태에서, 예컨대, 동일한 투여 경로를 통해, 동일한 입자 제형으로 그리고/또는 동등한 또는 더 낮은 입자 용량으로 캡시드 변이체를 포함하는 본 명세서에 개시된 조성물의 전달은, 생체분포 및 발산 패턴의 차를 초래할 것으로 예상되지 않는다.

[0526] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 조성물, 예컨대, rAAV-CLRN1은 약 $2E12$ 총 vg/달팽이관 미만의 수준으로 투여된다. 일부 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 조성물의 용량은, 예컨대, 부피 및 rAAV 입자 농도의 제한의 함수이다.

[0527] 이와 대조적으로, rAAV 입자를 사용하는 임상 시험은, 일부 경우에, 6개월령 미만의 참가자에게 전신 투여 경로를 통해 $1E14$ vg/kg 초과를 전달하였다(AveXis 2019, 전체 내용이 본 명세서에 참조에 의해 원용됨). 비교적 낮은 용량의 rAAV 입자를 사용한 다른 국제화된 전달은 표적 영역을 넘어 광범위한 생체분포, 예컨대, 전신 또는 광범위한 rAAV 입자 발산(배설; 일반적으로 qPCR과 같은 방법을 통해 기본 작제물 DNA 농도의 측정)을 보고하지

않았다. 예를 들어, 안구 표적 영역(특히 입자-주입된 눈의 시신경, 시신경교차, 비장 및 간, 그리고 산발적으로 연구 동물의 림프절)을 넘어서는 낮은 수준의 분포가 7.5E11 vg/눈의 용량으로 양측으로 전달된 Luxturna®에 대해 보고되었다. 마찬가지로, 3상 임상 시험에서, rAAV 입자는 참가자의 45%의 눈물에서 일시적으로 그리고 낮은 수준으로 발산되었고; 1.5E11 vg/눈의 용량으로 양측으로 전달된 Luxturna®의 망막하 투여 직후 며칠 동안 참가자의 10%의 혈청(전혈은 아님) 샘플에서도 낮은 수준으로 검출되었다(예컨대, 문헌[Russell 2017; Spark Therapeutics 2017] 참조, 이들 각각은 전체 내용이 본 명세서에 참조에 의해 인용됨).

[0528] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 임의의 방법은, 예컨대, 검증된 qPCR 방법을 사용하여 달팽이관에 일방적 투여 후 시간 경과에 따라서 혈액(예컨대, 혈청 및 전혈)에서 rAAV 입자 서열의 분포를 평가하는 단계를 포함한다. 일부 실시형태에서, 추가의 시편(specimen)(예를 들어, 외이도 면봉, 비강 면봉, 타액 및 소변)은 대상체로부터의 발산 평가를 위해 수집될 것이다. 일부 실시형태에서, 시편은 적어도 3개의 연속적인 음성 샘플이 얻어질 때까지 대상체로부터 수집된다.

[0529] 일부 실시형태에서, 청력손실과 상관이 있는 단백질은 본 명세서에 기재된 조성물 및/또는 방법으로 치료 전, 동안 및/또는 후에 측정된다. 소정의 실시형태에서, 이러한 청력손실 연관 단백질은 다음을 포함한다: μ -크리스탈린(CRYM), 저밀도 지단백 수용체-관련 단백질 2(LRP2), 면역글로불린(Ig) γ -4 사슬 C 영역, Ig κ -사슬 C 영역, 보체 C3, 면역글로불린 중쇄 상수 γ 3, 및/또는 케모카인 수용체-4(CXCR4).

[0530] 일부 실시형태에서, AAV 캡시드 및/또는 입자에 대한 면역원성이 측정된다. 전신 적용에 비해서 상대적으로 저용량으로 국소 부위에 전달된 AAV 캡시드 및/또는 입자에 대한 면역원성은 일반적으로 특정 패턴의 면역 반응을 나타내지 않았고; 중요하게는, 체액 및 세포-매개 면역학적 모니터링을 통해(예컨대, 각각 효소결합면역흡착제 검정법[ELISA]/중화항체[NAb] 및 효소결합면역흡착점적[ELISPOT] 검정을 통해) 관찰된 반응은 주로 일부 면역학적 보호를 제공하는 투여 경로(들)(ROA)(예컨대, 뇌로의 직접 투여)에 대해서 임상적 상관 관계가 없었다.

[0531] 본 명세서에 개시된 임의의 방법의 일부 실시형태에서, 예컨대, 비특히 달팽이관 수관을 가진 종(예컨대, NHP 및 인간)에서의 달팽이관 내 ROA는 유사한 보호 수준을 제공할 것으로 예상된다. 본 명세서에 개시된 임의의 방법의 일부 실시형태에서, 대상체는 본 명세서에 개시된 조성물, 예컨대, rAAV-CLRN1의 투여 3일 전에 시작하여 대략 17일 동안 면역조절 요법, 예컨대, 전신 경구 코르티코스테로이드의 짧은 수술 전후 과정을 받을 것이다. 일부 실시형태에서, 면역조절 요법은 외과적 투여 절차와 관련된 염증을 감소시킨다. 일부 실시형태에서, 면역조절 요법은 또한 캡시드(예를 들어, AAV Anc80) 또는 기본 작제물(예를 들어, 트랜스진 산물, 예컨대, CLRN1 단백질)에 대한 면역 반응에 대한 가능성을 추가로 감소시킬 수 있다.

[0532] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 임의의 방법은 본 명세서에 개시된 조성물의 투여에 반응하여 체액성 면역력(예컨대, 항체 반응)을 평가하는 단계를 더 포함한다. 일부 실시형태에서, 예컨대, 달팽이관 내 ROA를 통해 전달될 때 본 명세서에 개시된 조성물의 혈청도입에 대한, 혈청 NAb 수준에 의해 측정된 기존의 면역력의 효과가 평가된다. 일부 실시형태에서, 기존의 NAb 수준은 달팽이관 내 투여 경로에 의해 전달된 AAV 입자의 혈청도입을 저해하지 않는다. 일부 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 임의의 방법은 AAV 캡시드 및/또는 트랜스진 산물(예컨대, 단백질) 둘 다에 대한 잠재적인 전신 체액 반응에 대해 혈청을 평가하는 단계를 더 포함한다. 일부 실시형태에서, 전신 체액 반응의 평가에 반응하여, 본 명세서에 개시된 조성물, 예컨대, rAAV-CLRN1의 양측 달팽이관 내 투여를 위한 치료 간격이 개발될 수 있다.

[0533] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 임의의 방법은, 예컨대, 국제화된 투여 경로(ROA), 예컨대, 달팽이관 내 투여를 통해 전달된 rAAV 입자로부터의 AAV 입자, 캡시드 및/또는 작제물(예, 기본 트랜스진) 산물에 대한 세포독성 T 세포 반응을 초래하지 않는다. 예를 들어, Luxturna®에 대한 표지화는 대상체가 임상적으로 유의한 세포독성 T 세포 반응을 갖지 않음을 명시하고(Spark Therapeutics 2017, 전체 내용이 본 명세서에 참조에 의해 인용됨); 단리된 양성 인터페론-감마(IFN- γ) ELISPOT 검정 결과는 임상 개발 프로그램 동안 얻어지지 않았지만(Bennett 2012, 전체 내용이 본 명세서에 참조에 의해 인용됨), 이러한 단리된 결과의 유의성은 미지인데, 이는 임상적 염증 반응이 관찰되지 않았고 용량 제한 독성이 임상 프로그램에서 보이지 않았기 때문이다.

[0534] 소정의 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 임의의 조성물 또는 조성물의 생성물의 약동학이 측정되고 수집된다. 본 명세서에 개시된 임의의 방법의 일부 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 조성물은 국소적으로 투여된다. 일부 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 조성물의 국소 전달은 임의의 하나 이상의 유해한 비표적 효과의 가능성을 감소시킨다. 일부 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 조성물의 국소 전달은 임의의 유해한 비표적 효과를 초래하지 않는다. 본 명세서에 개시된 임의의 방법의 일부 실시형태에서, 대상체는 혈청 내 CLRN1 단백질(예컨대, 전기화학발광면역검정법(electrochemiluminescence assay)을 사용함), 활력 징후, 소변검사 및/또는 임상

화학을 모니터링함으로써 추적 검사된다. 일부 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 조성물이 투여된 대상체의 모니터링은 임의의 비표적 효과의 조기 개입 및/또는 최소화를 허용한다.

[0535] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 바와 같은 조성물의 투여 후, 혈청은 CLRN1 단백질 측정을 위하여 수집되고 분석될 수 있다. 일부 실시형태에서, 이러한 측정은 조성물 투여 전(기준선), 투여 후 2주, 및 적절한 지속기간(예컨대, 3개월, 6개월, 1년, 2년, 3년, 4년, 또는 5년 초과) 동안 매월 일어날 수 있다. 일부 실시형태에서, CLRN1 단백질은 기준선에서, 또는 비히클 또는 본 명세서에 기재된 저용량의 rAAV-CLRN1 입자의 달팽이관 내 전달을 받은 개체에서 투여후 임의의 시점에서 개체의 혈청에서 검출되지 않을 것이다. 일부 실시형태에서, 보다 고용량의 rAAV-CLRN1, CLRN1 단백질로 본 명세서에 기재된 바와 같은 방법을 통해서 본 명세서에 기재된 바와 같은 조성물을 받은 개체는 혈청에서 검출 또는 정량 한계 미만의 수준에서 또는 보고된 생물학적 활성 범위(11 ng/mL 내지 27 ng/mL[Genentech 2017, 전문이 본 명세서에 참조에 의해 인용됨]) 미만의 수준에서 검출될 수 있다.

[0536] 본 명세서에 개시된 임의의 방법의 일부 실시형태에서, 방법은 (예컨대, 본 명세서에 기재된 바와 같은 전기화학발광면역검정법)을 사용하여 CLRN1 단백질의 존재에 대한 혈청의 수집 및/또는 평가를 포함한다.

[0537] 생산 방법

[0538] AAV 시스템은 일반적으로 당업계에 잘 알려져 있다(예컨대, 문헌[Kelleher and Vos, Biotechniques, 17(6):1110-17 (1994); Cotten et al., P.N.A.S. U.S.A., 89(13):6094-98 (1992); Curiel, Nat Immun, 13(2-3):141-64 (1994); Muzyczka, Curr Top Microbiol Immunol, 158:97-129 (1992); 및 Asokan A, et al., Mol. Ther., 20(4):699-708 (2012)] 참조, 이들 각각은 전문이 본 명세서에 참조에 의해 인용됨). AAV 작제물을 생성하고 사용하는 방법은, 예를 들어, 미국 특허 제5,139,941호, 제4,797,368호 및 PCT 출원 US2019/060328에 기재되어 있고, 이들의 각각은 전문이 본 명세서에 참조에 의해 인용된다.

[0539] 바이러스 작제물을 얻기 위한 방법은 당업계에 공지되어 있다. 예를 들어, AAV 작제물을 생산하기 위하여, 방법은 전형적으로 AAV 캡시드 단백질 또는 이의 단편을 인코딩하는 핵산 서열; 기능적 대표 유전자; AAV 역위 말단 반복부(ITR) 및 코딩 서열로 구성된 재조합 AAV 작제물; 및/또는 재조합 AAV 작제물의 AAV 캡시드 단백질로의 패키징을 허용하기에 충분한 헬퍼 기능을 함유하는 숙주 세포를 배양하는 단계를 포함한다.

[0540] 일부 실시형태에서, AAV 캡시드에 AAV 작제물을 패키징하기 위해 숙주 세포에서 배양될 성분은 숙주 세포에 트랜스로 제공될 수 있다. 대안적으로, 임의의 하나 이상의 성분(예컨대, 재조합 AAV 작제물, rep 서열, cap 서열 및/또는 헬퍼 기능)은 당업자에게 공지된 방법을 사용하여 하나 이상의 이러한 성분을 함유하도록 조작된 안정적인 숙주 세포에 의해 제공될 수 있다. 일부 실시형태에서, 이러한 안정적인 숙주 세포는 유도성 프로모터의 제어하에 이러한 성분(들)을 함유한다. 일부 실시형태에서, 이러한 성분(들)은 구성적 프로모터의 제어하에 있을 수 있다. 일부 실시형태에서, 선택된 안정적인 숙주 세포는 구성적 프로모터의 제어하에 선택된 성분(들) 및 하나 이상의 유도성 프로모터의 제어하에 다른 선택된 성분(들)을 함유할 수 있다. 예를 들어, (구성적 프로모터의 제어하에 E1 헬퍼 기능을 함유하는) HEK293 세포로부터 유래되지만 유도성 프로모터의 제어하에 rep 및/또는 cap 단백질을 함유하는 안정적인 숙주 세포가 생성될 수 있다. 다른 안정적인 숙주 세포는 통상적인 방법을 사용하여 당업자에 의해 생성될 수 있다.

[0541] 본 개시내용의 AAV를 생성하는 데 필요한 재조합 AAV 작제물, rep 서열, cap 서열 및 헬퍼 기능은 임의의 적절한 유전 요소(예컨대, 작제물)를 사용하여 패키징 숙주 세포에 전달될 수 있다. 선택된 유전 요소는 당업계에 공지된 임의의 적합한 방법에 의해, 예컨대, 핵산 조작에 숙련된 자에게 전달될 수 있으며, 이러한 방법은 유전 공학, 재조합 공학 및 합성 기술을 포함한다(예컨대, 문헌[Sambrook et al, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harbor, N.Y.] 참조, 전문이 본 명세서에 참조에 의해 인용됨). 유사하게, AAV 입자를 생성하는 방법은 잘 알려져 있고 임의의 적합한 방법이 본 개시내용과 함께 사용될 수 있다(예컨대, 문헌[K. Fisher et al, J. Virol., 70:520-532 (1993)] 및 미국 특허 제5,478,745호 참조, 전문이 본 명세서에 참조에 의해 인용됨).

[0542] 일부 실시형태에서, 재조합 AAV는 삼중 형질주입 방법을 사용하여 생성될 수 있다(예를 들어, 미국 특허 제6,001,650호에 기재된 바와 같음, 전문이 본 명세서에 참조에 의해 인용됨). 일부 실시형태에서, 재조합 AAV는 재조합 AAV 작제물(코딩 서열 포함)로 숙주 세포에 형질주입하여 AAV 입자, AAV 헬퍼 기능 작제물, 및 보조 기능 작제물에 패키징됨으로써 생성된다. AAV 헬퍼 기능 작제물은 "AAV 헬퍼 기능" 서열(즉, rep 및 cap)을 인코딩하고, 이는 생산적인 AAV 복제 및 캡슐화를 위해 트랜스로 기능한다. 일부 실시형태에서, AAV 헬퍼 기능 작제

물은 임의의 검출 가능한 야생형 AAV 입자(즉, AAV 입자는 기능적 rep 및 cap 유전자를 함유함)를 생성하지 않고 효과적인 AAV 작제물 생산을 지원한다. 본 개시내용과 사용하기에 적합한 작제물의 비제한적인 예는 pHLP19 (예컨대, 미국 특허 제6,001,650호 참조, 전문이 본 명세서에 참조에 의해 인용됨) 및 pRep6cap6 작제물(예컨대, 미국 특허 제6,156,303호 참조, 전문이 본 명세서에 참조에 의해 인용됨)을 포함한다. 보조 기능 작제물은 AAV가 복제에 의존하는 비-AAV 유래 바이러스 및/또는 세포 기능(즉, "부속 기능")을 위한 뉴클레오타이드 서열을 인코딩한다. 보조 기능은, 제한 없이, AAV 유전자 전사, 단계 특이적 AAV mRNA 스플라이싱, AAV DNA 복제, cap 발현 산물의 합성 및 AAV 캡시드 조립의 활성화에 수반된 모이어티를 비롯하여, AAV 복제에 요구되는 기능을 포함할 수 있다. 바이러스-기반 보조 기능은 아데노바이러스, 헤르페스바이러스(단순 헤르페스 바이러스 1형 제외) 및 백시니아 바이러스와 같은 임의의 공지된 헬퍼 바이러스로부터 유래될 수 있다.

[0543] 대상체에게 전달하기에 적합한 AAV 바이러스 작제물을 생성하고 단리시키기 위한 추가의 방법은, 예컨대, 미국 특허 제7,790,449호; 미국 특허 제7,282,199호; WO 2003/042397; WO 2005/033321, WO 2006/110689; 및 미국 특허 제7,588,772호에 기재되어 있고, 이들의 각각은 전문이 본 명세서에 참조에 의해 인용된다. 하나의 시스템에서, 생산자 세포주는 ITR에 의해 축적된 코딩 서열을 인코딩하는 작제물 및 rep 및 cap을 인코딩하는 작제물(들)로 일시적으로 형질주입된다. 다른 시스템에서, rep 및 cap을 안정적으로 공급하는 패키징 세포주는 ITR에 의해 축적된 코딩 서열을 인코딩하는 작제물로 일시적으로 형질주입된다. 이들 시스템의 각각에서, AAV 입자는 헬퍼 아데노바이러스 또는 헤르페스바이러스에 의한 감염에 반응하여 생산되고, AAV는 오염 바이러스로부터 분리된다. 다른 시스템은 AAV를 복구하기 위하여 헬퍼 바이러스에 의한 감염을 필요로 하지 않고--헬퍼 기능(즉, 아데노바이러스 E1, E2a, VA 및 E4 또는 헤르페스바이러스 UL5, UL8, UL52, 및 UL29, 및 헤르페스바이러스 폴리머라제)은 또한 이 시스템에 의해 트랜스로 공급된다. 이러한 시스템에서, 헬퍼 기능은 헬퍼 기능을 인코딩하는 작제물로 세포의 일시적 형질주입에 의해 제공될 수 있거나, 세포는 헬퍼 기능을 인코딩하는 유전자를 안정적으로 함유하도록 조작될 수 있으며, 이의 발현은 전사 또는 전사 후 수준에서 제어될 수 있다.

[0544] 일부 실시형태에서, 정제 후 바이러스 작제물 역가가 결정된다. 일부 실시형태에서, 역가는 정량적 PCR을 사용하여 결정된다. 소정의 실시형태에서, 작제물에 특이적인 TaqMan 프로브가 작제물 수준을 결정하는 데 사용된다. 소정의 실시형태에서, TaqMan 프로브는 서열번호 65로 표시되는 반면, 정방향 및 역방향 증폭 프라이머는 각각 서열번호 66 및 67로 예시된다.

[0545] **작제물의 정량화를 위한 예시적인 TaqMan 프로브(서열번호 65)**

[0546] /56-FAM/TAATTCCAA/ZEN/CCAGCAGAGTCAGGGC/31ABkFQ/

[0547] **작제물의 정량화를 위한 예시적인 정방향 qPCR 프라이머(서열번호 66)**

[0548] GATACAGCTAGAGTCCTGATTGC

[0549] **작제물의 정량화를 위한 예시적인 역방향 qPCR 프라이머(서열번호 67)**

[0550] GATCTGCCAAGTACCTCACTATG

[0551] 본 명세서에 기재된 바와 같이, 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 바이러스 작제물은 아데노-연관 바이러스(AAV) 작제물이다. AAV1, AAV2, AAV3(예컨대, AAV3B), AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAV9, AAV10, AAV11 및 AAV Anc80뿐만 아니라 이들의 변이체를 포함하는 여러 AAV 혈청형이 특성규명되었다. 일부 실시형태에서, AAV 입자는 AAV2/6, AAV2/8, AAV2/9 또는 AAV2/Anc80 입자(예컨대, AAV6, AAV8, AAV9 또는 Anc80 캡시드 및 AAV2 ITR을 갖는 작제물을 가짐)이다. 다른 AAV 입자 및 작제물은, 예컨대, 문헌[Sharma et al., Brain Res Bull. 2010 Feb 15; 81(2-3): 273]에 기재되어 있고, 이는 전문이 본 명세서에 참조에 의해 인용된다. 일반적으로, 임의의 AAV 입자는 본 명세서에 기재된 코딩 서열을 전달하기 위해 사용될 수 있다. 그러나, 혈청형은 상이한 항성을 가지며, 예컨대, 상이한 조직을 우선적으로 감염시킨다. 일부 실시형태에서, AAV 작제물은 자가-상보적 AAV 작제물이다.

[0552] 본 개시내용은, 특히, AAV-기반 작제물을 제조하는 방법을 제공한다. 일부 실시형태에서, 이러한 방법은 숙주 세포의 사용을 포함한다. 일부 실시형태에서, 숙주 세포는 포유동물 세포이다. 숙주 세포는 AAV 헬퍼 작제물, AAV 미니유전자 플라스미드, 보조 기능 작제물, 및/또는 제조할 AAV의 생산과 연관된 다른 전달 DNA의 수용자로서 사용될 수 있다. 이 용어는 형질주입된 원래 세포의 자손을 포함한다. 따라서, 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 "숙주 세포"는 외인성 DNA 서열로 형질주입된 세포를 지칭할 수 있다. 단일 부모 세포의 자손은 자연적, 우발적 또는 고의적 돌연변이로 인해 원래 부모와 형태학 또는 계통 또는 총 DNA 보체에서 반드시 완전히 동일

하지 않을 수 있음이 이해된다.

[0553] 대상체에게 전달하기에 적합한 AAV 입자를 생성하고 단리시키기 위한 추가의 방법은, 예컨대, 미국 특허 제 7,790,449호; 미국 특허 제 7,282,199호; WO 2003/042397; WO 2005/033321, WO 2006/110689; 및 미국 특허 제 7,588,772호에 기재되어 있고, 이들 각각은 전문이 본 명세서에 참조에 의해 인용된다. 하나의 시스템에서, 생산자 세포주는 ITR에 의해 축적된 코딩 서열을 인코딩하는 작제물 및 rep 및 cap을 인코딩하는 작제물(들)로 일시적으로 형질주입된다. 다른 시스템에서, rep 및 cap을 안정적으로 공급하는 패키징 세포주는 ITR에 의해 축적된 코딩 서열을 인코딩하는 작제물로 일시적으로 형질주입된다. 이들 시스템의 각각에서, AAV 입자는 헬퍼 아데노바이러스 또는 헤르페스바이러스에 의한 감염에 반응하여 생산되고, AAV 입자는 오염 바이러스로부터 분리된다. 다른 시스템은 AAV 입자를 복구하기 위하여 헬퍼 바이러스에 의한 감염을 필요로 하지 않고--헬퍼 기능(즉, 아데노바이러스 E1, E2a, VA 및 E4 또는 헤르페스바이러스 UL5, UL8, UL52 및 UL29, 및 헤르페스바이러스 폴리머라제)은 또한 이 시스템에 의해 트랜스로 공급된다. 이러한 시스템에서, 헬퍼 기능은 헬퍼 기능을 인코딩하는 작제물로 세포의 일시적 형질주입에 의해 제공될 수 있거나, 세포는 헬퍼 기능을 인코딩하는 유전자를 안정적으로 함유하도록 조작될 수 있으며, 이의 발현은 전사 또는 전사 후 수준에서 제어될 수 있다.

[0554] 또 다른 시스템에서, ITR에 의해 축적된 코딩 서열 및 rep/cap 유전자는 바콜로바이러스-기반 작제물에 의한 감염에 의해 곤충 숙주 세포에 도입된다. 이러한 생산 시스템은 당업계에 공지되어 있다(일반적으로, 예컨대, 문헌[Zhang et al., 2009, Human Gene Therapy 20:922-929] 참조, 전문이 본 명세서에 참조에 의해 인용됨). 이들 및 기타 AAV 생산 시스템을 제조하고 사용하는 방법은 또한 미국 특허 제 5,139,941호; 제 5,741,683호; 제 6,057,152호; 제 6,204,059호; 제 6,268,213호; 제 6,491,907호; 제 6,660,514호; 제 6,951,753호; 제 7,094,604호; 제 7,172,893호; 제 7,201,898호; 제 7,229,823호; 및 제 7,439,065호에 기재되어 있고, 이들 각각은 전문이 본 명세서에 참조에 의해 인용된다.

[0555] 시력손실

[0556] 특히, 본 개시내용은 방법을 제공한다. 일부 실시형태에서, 방법은 대상체의 눈에 본 명세서에 기재된 바와 같은 조성물을 도입하는 단계를 포함한다. 예를 들어, 본 명세서에서는, 일부 실시형태에서, 대상체(예컨대, 동물, 예컨대, 포유동물, 예컨대, 영장류, 예컨대, 인간)의 눈에 치료적 유효량의 본 명세서에 기재된 임의의 조성물을 투여하는 단계를 포함하는 방법이 제공된다. 임의의 이들 방법의 일부 실시형태에서, 대상체는 결함성 안구 세포 표적 유전자(예컨대, 유전자에 의해 인코딩된 지지 및/또는 시력 세포 표적 단백질의 발현 및/또는 활성의 감소를 초래하는 돌연변이를 갖는 지지 및/또는 시력 세포 표적 유전자)를 갖는 것으로 이전에 식별된 적이 있다. 임의의 이들 방법의 일부 실시형태는, 도입 또는 투여 단계 전에, 대상체가 결함성 안구 세포 표적 유전자를 갖는 것을 결정하는 단계를 더 포함한다. 임의의 이들 방법의 일부 실시형태는 대상체에서 안구 세포 표적 유전자 내 돌연변이를 검출하는 단계를 더 포함할 수 있다. 임의의 방법의 일부 실시형태는 대상체를 시력 손실을 갖는 것으로 식별 또는 진단하는 단계를 더 포함할 수 있다.

[0557] 일부 실시형태에서, 본 명세서에서는 대상체, 예컨대, 동물, 예컨대, 포유동물, 예컨대, 영장류, 예컨대, 인간의 안구에서 내이 세포 표적 유전자 결함(예컨대, CLRN1 유전자의 결함)을 보정하는 방법이 제공된다. 일부 실시형태에서, 방법은 대상체의 귀에 치료적 유효량의 본 명세서에 기재된 임의의 조성물을 투여하는 단계를 포함하고, 여기서 투여는 대상체의 안구의 임의의 세포 서브세트에서 안구 세포 표적 유전자 결함을 복구 및 또는 개선시킨다. 일부 실시형태에서, 안구 표적 세포는 감각 세포, 예컨대, 안구 세포 및/또는 비감각세포, 예컨대, 지지세포, 및/또는 안구 세포의 모든 또는 임의의 서브세트일 수 있다.

[0558] 또한 본 명세서에서는, 대상체(예컨대, 동물, 예컨대, 포유동물, 예컨대, 영장류, 예컨대, 인간)의 안구 세포의 임의의 서브세트에서 안구 세포 표적 단백질의 발현 수준을 증가시키는 방법이 제공되며, 대상체의 눈에 치료적 유효량의 본 명세서에 기재된 임의의 조성물을 투여하는 단계를 포함하고, 여기서 투여는 대상체의 눈의 임의의 세포 서브세트에서 안구 세포 표적 단백질(예컨대, 클라린 1 단백질)의 발현 수준의 증가를 초래한다. 일부 실시형태에서, 안구 표적 세포는 감각 세포, 예컨대, 안구 세포, 및/또는 비감각세포, 예컨대, 지지세포, 및/또는 안구 세포의 모든 또는 임의의 서브세트일 수 있다.

[0559] 또한 본 명세서에서는, 결함성 안구 세포 표적 유전자를 갖는 것으로 식별된 대상체(예컨대, 동물, 예컨대, 포유동물, 예컨대, 영장류, 예컨대, 인간)에서, 예컨대, 망막색소변성증에 의해 초래된 시력손실을 치료하는 방법이 제공되며, 해당 방법은 대상체의 눈에 치료적 유효량의 본 명세서에 기재된 임의의 조성물을 투여하는 단계를 포함한다. 본 명세서에서 제공되는 임의의 방법의 일부 실시형태에서, 대상체는 어서 중후군 유형 III을 갖는다. 본 명세서에서 제공되는 임의의 방법의 일부 실시형태에서, 대상체는 망막색소변성증을 갖는다. 본 명세

서에서 제공되는 임의의 방법의 일부 실시형태에서, 대상체는 인간이다. 본 명세서에서 제공되는 임의의 방법의 일부 실시형태는, 투여하는 단계 전에, 대상체가 결함성 CLRN1 유전자를 갖는다고 결정하는 단계를 더 포함한다.

- [0560] 또한 본 명세서에서는 안구 장애를 갖는 것으로 식별되었거나 진단된 대상체에서 시냅스를 복구하고/하거나 나선 신경절 신경을 보존하는 방법이 제공되며, 해당 방법은 대상체의 내이에 치료적 유효량의 본 명세서에 기재된 임의의 조성물을 단계를 포함한다.
- [0561] 또한 본 명세서에서는 대상체의 귀에 치료적 유효량의 본 명세서에 기재된 임의의 조성물을 투여하는 단계를 포함하는 방법이 제공된다.
- [0562] 또한 본 명세서에서는 어서 증후군 유형 III을 가진 대상체, 예컨대, 포유동물, 예컨대, 인간, 예컨대, 환자의 치료를 위하여 본 명세서에 개시된 조성물, 예컨대, rAAV-CLRN1을 투여하는 단계를 포함하는 방법이 제공된다. 일부 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 조성물은, 예컨대, 눈에 외과적 전달을 통해서 전달된다.
- [0563] 또한 본 명세서에서는 시력손실을 특징으로 하는 어서 증후군 유형 III 또는 망막색소변성증의 치료를 위한 외과적 방법이 제공된다. 일부 실시형태에서, 방법은 대상체의 귀에 제1 절개점에서 제1 절개부를 도입하는 단계; 및 치료적 유효량의 본 명세서에서 제공되는 임의의 조성물을 안구 내로 투여하는 단계를 포함한다. 일부 실시형태에서, 조성물은 제1 절개점에서 대상체에게 투여된다. 일부 실시형태에서, 조성물은 제1 절개부 내로 또는 이를 통해 대상체에게 투여된다.
- [0564] 본 명세서에 기재된 임의의 방법의 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 임의의 조성물은 망막 내로 또는 이를 통해서 대상체에게 투여된다. 본 명세서에 기재된 임의의 방법의 일부 실시형태에서, 조성물은 망막에 복수의 절개부를 생성할 수 있는 의료 디바이스를 사용하여 투여된다. 일부 실시형태에서, 의료 디바이스는 복수의 미세-바늘을 포함한다. 일부 실시형태에서, 의료 디바이스는 일반적으로 원형인 제1 측면을 포함하는 복수의 미세-바늘을 포함하며, 여기서 각 미세-바늘은 적어도 약 10 미크론의 직경을 갖는다. 일부 실시형태에서, 의료 디바이스는 조성물을 보유할 수 있는 베이스 및/또는 저장소를 포함한다. 일부 실시형태에서, 의료 디바이스는 조성물을 수송할 수 있는 내강을 개별적으로 포함하는 복수의 중공의 미세-바늘을 포함한다. 일부 실시형태에서, 의료 디바이스는 적어도 부분적인 진공을 생성하기 위한 수단을 포함한다.
- [0565] 본 명세서에 기재된 임의의 방법의 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 임의의 조성물은, 예를 들어, 문헌 [Ochakovski et al., "Retinal Gene Therapy: Surgical Vector Delivery in the Translation to Clinical Trials", Front. Neurosci. April 3, 2017, 이의 내용은 전문이 본 명세서에 참조에 의해 인용됨]에 기재된 바와 같이, 유리체 내 주사 또는 망막하 주사를 통해서 대상체에게 투여된다. 본 명세서에 기재된 임의의 방법의 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 임의의 조성물은 문헌 ["OCT - Assisted Delivery of Luxturna" by Ninel Z Gregori and Janet Louise David, <https://www.aaio.org/clinical-video/oct-assisted-delivery-of-luxturna> (July 19, 2018)]에 의해 기재된 바와 같이 대상체에게 투여되고, 이의 내용은 전문이 본 명세서에 참조에 의해 인용된다. 본 명세서에 기재된 임의의 방법의 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 임의의 조성물은 맥락막 위 전달(예컨대, Orbit™ 망막하 전달 시스템(Orbit SDS)(Gyroscope Therapeutics)의 사용)을 통해서 대상체에게 투여된다.
- [0566] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 기술은 시력손실을 갖거나 가질 위험이 있는 대상체를 치료하는 데 사용된다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 대상체는 CLRN1의 적어도 하나의 병원성 변이체에 기인되는 상염색체 열성 시력손실을 갖는다. 당업자라면 CLRN1에 다수의 상이한 돌연변이가 병원성 변이체를 야기할 수 있음을 이해할 것이다. 이러한 일부 실시형태에서, 병원성 변이체는 시력손실을 초래하거나 이를 초래할 위험이 있다.
- [0567] 일부 실시형태에서, 시력손실을 경험하는 대상체는, 시력손실을 초래할 수 있는 하나 이상의 돌연변이가 존재할 수 있는지를 결정하기 위하여 평가될 것이다. 이러한 일부 실시형태에서, (예컨대, 단백질 또는 시퀀싱 분석을 통하여) CLRN1 유전자 산물 또는 기능의 상태가 평가될 것이다. 본 명세서에 기재된 임의의 방법의 일부 실시형태에서, 대상체 또는 동물은 포유동물이고, 일부 실시형태에서 포유동물은 가정 동물, 농장 동물, 동물원 동물, 비-인간 영장류, 또는 인간이다. 본 명세서에 기재된 임의의 방법의 일부 실시형태에서, 동물, 대상체 또는 포유동물은 성인, 십대, 청소년, 소아, 유아, 영아 또는 신생아이다. 본 명세서에 기재된 임의의 방법의 일부 실시형태에서, t동물, 대상체 또는 포유동물은 1 내지 5, 1 내지 10, 1 내지 20, 1 내지 30, 1 내지 40, 1 내지 50, 1 내지 60, 1 내지 70, 1 내지 80, 1 내지 90, 1 내지 100, 1 내지 110, 2 내지 5, 2 내지 10, 10 내지 20, 20 내지 30, 30 내지 40, 40 내지 50, 50 내지 60, 60 내지 70, 70 내지 80, 80 내지 90, 90 내지 100,

100 내지 110, 10 내지 30, 10 내지 40, 10 내지 50, 10 내지 60, 10 내지 70, 10 내지 80, 10 내지 90, 10 내지 100, 10 내지 110, 20 내지 40, 20 내지 50, 20 내지 60, 20 내지 70, 20 내지 80, 20 내지 90, 20 내지 100, 20 내지 110, 30 내지 50, 30 내지 60, 30 내지 70, 30 내지 80, 30 내지 90, 30 내지 100, 40 내지 60, 40 내지 70, 40 내지 80, 40 내지 90, 40 내지 100, 50 내지 70, 50 내지 80, 50 내지 90, 50 내지 100, 60 내지 80, 60 내지 90, 60 내지 100, 70 내지 90, 70 내지 100, 70 내지 110, 80 내지 100, 80 내지 110, 또는 90 내지 110세이다. 본 명세서에 기재된 임의의 방법의 일부 실시형태에서, 대상체 또는 포유동물은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 또는 11개월령이다.

[0568] 본 명세서에 기재된 임의의 방법의 일부 실시형태에서, 방법은 적어도 10일, 적어도 15일, 적어도 20일, 적어도 25일, 적어도 30일, 적어도 35일, 적어도 40일, 적어도 45일, 적어도 50일, 적어도 55일, 적어도 60일, 적어도 65일, 적어도 70일, 적어도 75일, 적어도 80일, 적어도 85일, 적어도 100일, 적어도 105일, 적어도 110일, 적어도 115일, 적어도 120일, 적어도 5개월, 적어도 6개월, 적어도 7개월, 적어도 8개월, 적어도 9개월, 적어도 10개월, 적어도 11개월, 또는 적어도 12개월 동안 이를 필요로 하는 대상체에서 시력 개선(예컨대, 본 명세서에 기재된 시력 개선을 결정하기 위한 임의의 메트릭)을 야기한다.

[0569] 일부 실시형태에서 대상체(예컨대, 동물, 예컨대, 포유동물, 예컨대, 인간)는 시력손실을 지니거나 이를 발병할 위험이 있다. 일부 실시형태에서 대상체(예컨대, 동물, 예컨대, 포유동물, 예컨대, 인간)는 CLRN1 유전자 내 돌연변이를 갖는 것으로 이전에 식별된 적이 있다. 일부 실시형태에서 대상체(예컨대, 동물, 예컨대, 포유동물, 예컨대, 인간)는 본 명세서에 기재된 CLRN1 유전자 내 돌연변이를 갖는 것으로 이전에 식별된 적이 있거나 시력손실과 연관된 것으로 당업계에 공지되어 있다.

[0570] 일부 실시형태에서, 대상체(예컨대, 동물, 예컨대, 포유동물, 예컨대, 인간)는 시력손실의 위험(예컨대, 유전자 돌연변이, 예컨대, CLRN1 돌연변이의 보인자인 위험)이 있는 것으로 식별된 적이 있다. 이러한 일부 실시형태에서, 대상체(예컨대, 동물, 예컨대, 포유동물, 예컨대, 인간)는 시력손실의 소정의 위험 인자 또는 시력손실의 위험(예컨대, 공지된 부모 보인자, 병든 형제자매, 또는 청력손실의 증상)을 가질 수 있다. 이러한 일부 실시형태에서, 대상체(예컨대, 동물, 예컨대, 포유동물, 예컨대, 인간)는 이전에 식별된 적이 없는(즉, CLRN1의 공개된 또는 다른 알려진 변이체가 아닌) (예컨대, 유전자 검사를 통하여) CLRN1 유전자의 돌연변이의 보인자인 것으로 식별된 것이 있다. 이러한 일부 실시형태에서, 식별된 돌연변이는 신규할 수 있고(즉, 문헌에 이전에 기재되지 않았고), 시력손실을 앓고 있거나 이에 취약한 대상체의 치료 방법은 특정 환자의 돌연변이(들)에 대해 개인화될 것이다. 일부 실시형태에서, 대상체(예컨대, 동물, 예컨대, 포유동물, 예컨대, 인간)는 CLRN1 유전자의 돌연변이를 갖는 것으로 식별된 것이 있고 시력손실로 진단된 적이 있다. 일부 실시형태에서, 대상체(예컨대, 동물, 예컨대, 포유동물, 예컨대, 인간)는 시력손실을 갖는 것으로 식별된 것이 있다.

[0571] 일부 실시형태에서, 시력손실의 성공적인 치료는 당업계에서 공지된 통상의 임의의 시력 검사를 사용하여 대상체에서 결정될 수 있다. 기능적 시력 검사의 비제한적인 예는 다양한 유형의 시력 검정(예컨대, 안구 근육 검사, 시력 검사, 굴절 평가, 시야 검사, 색깔 검사 및 망막 검사)이다.

[0572] 본 명세서에서 제공되는 임의의 방법의 일부 실시형태에서, 2회 이상의 용량의 본 명세서에 기재된 임의의 조성물이 대상체의 대상체의 눈에 도입된다. 이들의 임의의 방법의 일부 실시형태는 제1 용량의 조성물을 대상체의 눈에 도입하거나 투여하는 단계, 제1 용량의 도입 또는 투여 후 대상체의 시력 기능을 평가하는 단계, 및 (예컨대, 당업계에 공지된 시력에 대한 임의의 시험을 사용하여 결정된 바와 같은) 정상 범위 내의 시력 기능을 갖지 않는 것으로 확인된 대상체의 눈에 추가의 용량의 조성물을 투여하는 단계를 포함할 수 있다.

[0573] 본 명세서에서 제공되는 임의의 방법의 일부 실시형태에서, 조성물은 안구 내 투여를 위해 제형화될 수 있다. 본 명세서에 기재된 임의의 방법의 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 조성물은 안구 내 투여, 유리체 내 투여, 망막하 투여, 맥락막 위 전달, 또는 국소 투여를 통해서 투여될 수 있다. 본 명세서에 기재된 임의의 방법의 일부 실시형태에서, 조성물은 의료 디바이스(예컨대, 본 명세서에 기재된 임의의 예시적인 의료 디바이스)의 사용을 통해서 투여된다.

[0574] 일부 실시형태에서, 안구 내 투여는 본 명세서에 기재되거나 당업계에 공지된 임의의 방법을 사용하여 수행될 수 있다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 조성물은 하기 외과적 기술을 사용하여 안구에 투여 또는 도입될 수 있다.

[0575] 현미경-통합 수술 중 공간적 단층 촬영(OCT)을 사용하여 (예컨대, 필요에 따라 망막색소상피(RPE)하 주사 또는 맥락막상 주사를 피하기 위해) 바이러스 주입 전에 작은 사전 수포를 생성한다. 먼저 피네스 루프(finesse

loop)를 사용하여 히알로이드를 염색 및 제거하고 부드러운 실리콘 팁으로 상승시킨다. 이어서, 균형을 이룬 염 용액을 망막하 공간에 주사하고 중심와 얇아짐을 확인하기 위해 OCT 스캔을 행한다. 일단 수포가 만들어지면, 25-게이지 노-듀얼 보어 캐놀라(25-gauge no-duel bore cannula)를 사용하여 보레티젠(voretigene)을 도입한다. 이후에 중심와를 주의 깊게 모니터링하여 과도한 스트레칭과 황반 구멍 형성을 방지해야 한다. 공막 만입부는 말초 파손을 배제하는 데 사용될 수 있다. 마지막으로, 공기-유체 교환을 사용하여 바이러스를 제거한다(예컨대, 문헌["OCT - Assisted Delivery of Luxturna" by Ninel Z Gregori and Janet Louise David, <https://www.aao.org/clinical-video/oct-assisted-delivery-of-luxturna> (July 19, 2018)] 참조, 이의 내용은 전문이 본 명세서에 참조에 의해 원용됨).

[0576] 다른 예로서, 본 명세서에 기재된 바와 같이, Orbit™ 망막하 전달 시스템(Orbit SDS)(Gyroscope Therapeutics)은 기재된 조성물을 맥락막 위 주사를 통해서 안구에 투여 또는 도입하는데 사용될 수 있다. 예컨대, 문헌["Orbit Subretinal Delivery System Instructions for Use June 2020", <https://www.orbitsds.com/wp-content/uploads/2020/08/AW1009028-Rev.-D-US-IFU-No-Cut-Lines.pdf>]을 참조하고, 이의 내용은 전문이 본 명세서에 참조에 의해 원용된다.

[0577] 본 명세서에서 제공되는 임의의 방법의 일부 실시형태에서, 대상체는 시력손실을 지니거나 이를 발병할 위험이 있다. 본 명세서에서 제공되는 임의의 방법의 일부 실시형태에서, 대상체는 지지세포 및/또는 안구 세포에서 발현될 수 있는 유전자인 안구 세포 표적 유전자에 돌연변이를 갖는 것으로 이전에 확인되었다.

[0578] 본 명세서에서 제공되는 임의의 방법의 일부 실시형태에서, 대상체는 (예컨대, 유전자 검사를 통하여) 안구 세포 표적 유전자의 돌연변이의 보인자인 것으로 식별된 적이 있다. 본 명세서에서 제공되는 임의의 방법의 일부 실시형태에서, 대상체는 안구 세포 표적 유전자에 돌연변이를 갖는 것으로 식별된 적이 있고 시력손실(예컨대, 어서 유형 III 증후군)로 진단된 적이 있다. 본 명세서에 기재된 임의의 방법의 일부 실시형태에서, 대상체는 시력손실(예컨대, 어서 유형 III 증후군)을 갖는 것으로 식별된 적이 있다. 일부 실시형태에서, 시력손실(예컨대, 어서 유형 III 증후군)의 성공적인 치료는 당업계에서 공지된 통상의 임의의 기능적 시력 검사를 사용하여 대상체에서 결정될 수 있다. 기능적 시력 검사의 비제한적인 예는 다양한 유형의 시력 검정(예컨대, 안구 근육 검사, 시력 검사, 굴절 평가, 시야 검사, 색각 검사 및 망막 검사)을 포함한다.

[0579] 일부 실시형태에서, 대상체 세포는 시험관 내에 있다. 일부 실시형태에서, 대상체 세포는 원래 대상체로부터 얻어지고 생체 외에서 배양된다. 일부 실시형태에서, 대상체 세포는 결합성 안구 표적 유전자를 갖는 것으로 이전에 결정된 적이 있다. 일부 실시형태에서, 대상체 세포는 안구 세포 표적 유전자를 갖는 것으로 이전에 결정된 적이 있다. 일부 실시형태에서, 대상체 세포는 결합성 지지세포 표적 유전자를 갖는 것으로 이전에 결정된 적이 있다.

[0580] 이들 방법의 일부 실시형태에서, 치료, 예컨대, 본 명세서에 기재된 조성물의 1 또는 2회 이상의 투여 후, 활성 안구 세포 표적 단백질(예컨대, 클라린 1 단백질)의 발현 증가가 있다. 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 바와 같은 활성 안구 표적 단백질(예컨대, 클라린 1 단백질)의 발현 증가는, 대조군 수준과 대비된 것이고, 예컨대, 본 명세서에 기재된 바와 같은 임의의 작제물(들)을 포함하는 조성물의 도입 전에 내이 세포 표적 단백질의 발현 수준과 비교된 것이다.

[0581] 표적 단백질(예컨대, 클라린 1 단백질)의 발현 및/또는 활성을 검출하는 방법이 당업계에 공지되어 있다. 일부 실시형태에서, 안구 세포 표적 단백질의 발현 수준은 (예컨대, 안구 세포 표적 단백질 또는 표적 mRNA를 검출하여) 직접 검출될 수 있다. 표적 RNA 또는 단백질(예컨대, CLRN1 유전자 산물 및/또는 클라린 1 단백질 또는 이의 기능적 특징 부분)의 발현 및/또는 활성을 직접적으로 검출하는 데 사용될 수 있는 기술의 비제한적인 예는 실시간 PCR, 웨스턴 블로팅, 면역침강법, 면역조직화학, 질량 분광법, 또는 면역형광법을 직접 포함한다. 일부 실시형태에서, 안구 세포 표적 단백질의 발현은 (예컨대, 기능적 시력 검사를 통해) 간접적으로 검출될 수 있다.

[0582] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 조성물의 안전성 및 내약성은 시력손실에서 평가될 수 있다. 일부 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 조성물, 예컨대, rAAV-CLRN1의 안전성 및 내약성은 본 명세서에 개시된 대상체에서 평가될 수 있다.

[0583] 투여

[0584] 본 명세서에서는 시력손실을 특징으로 하는 어서 증후군 유형 III을 치료하기 위한 치료용 전달 시스템이 제공된다. 일 양상에서, 치료용 전달 시스템은 i) 이를 필요로 하는 대상체의 눈에 하나 또는 복수의 절개부를 생성

할 수 있는 의료 디바이스, 및 ii) 유효 용량의 조성물(예컨대, 본 명세서에 기재된 임의의 조성물)을 포함한다. 일부 실시형태에서, 의료 디바이스는 복수의 미세-바늘을 포함한다.

[0585] 또한 본 명세서에서는 시력손실을 특징으로 하는 망막색소변성증을 치료하기 위한 치료용 전달 시스템이 제공된다. 일 양상에서, 치료용 전달 시스템은 i) 이를 필요로 하는 대상체의 눈에 하나 또는 복수의 절개부를 생성할 수 있는 의료 디바이스, 및 ii) 유효 용량의 조성물(예컨대, 본 명세서에 기재된 임의의 조성물)을 포함한다. 일부 실시형태에서, 의료 디바이스는 복수의 미세-바늘을 포함한다.

[0586] 또한 본 명세서에서는 시력손실을 특징으로 하는 어서 증후군 유형 III 또는 망막색소변성증의 치료를 위한 외과적 방법이 제공된다. 일부 실시형태에서, 방법은 대상체의 귀에 제1 절개점에서 제1 절개부를 도입하는 단계; 및 치료적 유효량의 본 명세서에서 제공되는 임의의 조성물을 안구 내로 투여하는 단계를 포함한다. 일부 실시형태에서, 조성물은 제1 절개점에서 대상체에게 투여된다. 일부 실시형태에서, 조성물은 제1 절개부 내로 또는 이를 통해 대상체에게 투여된다.

[0587] 본 명세서에서 제공되는 임의의 방법의 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 임의의 조성물은 눈 내로 또는 이를 통해서 대상체에게 투여된다. 본 명세서에서 제공되는 임의의 방법의 일부 실시형태에서, 조성물은 눈에 복수의 절개부를 생성할 수 있는 의료 디바이스를 사용하여 투여된다. 일부 실시형태에서, 의료 디바이스는 복수의 미세-바늘을 포함한다. 일부 실시형태에서, 의료 디바이스는 일반적으로 원형인 제1 측면을 포함하는 복수의 미세-바늘을 포함하며, 여기서 각 미세-바늘은 적어도 약 10 미크론의 직경을 갖는다. 일부 실시형태에서, 의료 디바이스는 조성물을 보유할 수 있는 베이스 및/또는 저장소를 포함한다. 일부 실시형태에서, 의료 디바이스는 조성물을 수송할 수 있는 내강을 개별적으로 포함하는 복수의 중공의 미세-바늘을 포함한다. 일부 실시형태에서, 의료 디바이스는 적어도 부분적인 진공을 생성하기 위한 수단을 포함한다.

[0588] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 임의의 방법은, 시력손실을 가진, 대상체, 예컨대, 포유동물, 예컨대, 인간, 예컨대, 환자에서 안전성 및 내약성을 평가하는 용량 증량 연구를 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 조성물, 예컨대, rAAV-CLRN1은 본 명세서에 개시된 투약 요법으로 투여된다. 일부 실시형태에서, 투약 요법은, 예컨대, 본 명세서에 기재된 바와 같이, 본 명세서에 개시된 조성물, 예컨대, rAAV-CLRN1의 용량의 안구 내 투여를 포함한다. 일부 실시형태에서, 투약 요법은 안구당 적어도 0.01 mL, 적어도 0.02 mL, 적어도 0.03 mL, 적어도 0.04 mL, 적어도 0.05 mL, 적어도 0.06 mL, 적어도 0.07 mL, 적어도 0.08 mL, 적어도 0.09 mL, 적어도 0.10 mL, 적어도 0.11 mL, 적어도 0.12 mL, 적어도 0.13 mL, 적어도 0.14 mL, 적어도 0.15 mL, 적어도 0.16 mL, 적어도 0.17 mL, 적어도 0.18 mL, 적어도 0.19 mL, 또는 적어도 0.20 mL의 부피로의 전달을 포함한다. 일부 실시형태에서, 투약 요법은 안구당 최대 0.30 mL, 최대 0.25 mL, 최대 0.20 mL, 최대 0.15 mL, 최대 0.14 mL, 최대 0.13 mL, 최대 0.12 mL, 최대 0.11 mL, 최대 0.10 mL, 최대 0.09 mL, 최대 0.08 mL, 최대 0.07 mL, 최대 0.06 mL, 또는 최대 0.05 mL의 부피로의 전달을 포함한다. 일부 실시형태에서, 투약 요법은, 모집단에 따라서, 안구당 약 0.05 mL, 약 0.06 mL, 약 0.07 mL, 약 0.08 mL, 약 0.09 mL, 약 0.10 mL, 약 0.11 mL, 약 0.12 mL, 약 0.13 mL, 약 0.14 mL, 또는 약 0.15 mL의 부피로의 전달을 포함한다. 일부 실시형태에서, 투약 요법은 안구당 적어도 0.01 mL, 적어도 0.02 mL, 적어도 0.03 mL, 적어도 0.04 mL, 적어도 0.05 mL, 적어도 0.06 mL, 적어도 0.07 mL, 적어도 0.08 mL, 적어도 0.09 mL, 적어도 0.10 mL, 적어도 0.11 mL, 적어도 0.12 mL, 적어도 0.13 mL, 적어도 0.14 mL, 적어도 0.15 mL, 적어도 0.16 mL, 적어도 0.17 mL, 적어도 0.18 mL, 적어도 0.19 mL, 또는 적어도 0.20 mL의 부피로의 전달을 포함한다. 일부 실시형태에서, 투약 요법은 안구당 최대 0.30 mL, 최대 0.25 mL, 최대 0.20 mL, 최대 0.15 mL, 최대 0.14 mL, 최대 0.13 mL, 최대 0.12 mL, 최대 0.11 mL, 최대 0.10 mL, 최대 0.09 mL, 최대 0.08 mL, 최대 0.07 mL, 최대 0.06 mL, 또는 최대 0.05 mL의 부피로의 전달을 포함한다. 일부 실시형태에서, 투약 요법은, 모집단에 따라서, 안구당 약 0.05 mL, 약 0.06 mL, 약 0.07 mL, 약 0.08 mL, 약 0.09 mL, 약 0.10 mL, 약 0.11 mL, 약 0.12 mL, 약 0.13 mL, 약 0.14 mL, 또는 약 0.15 mL의 부피로의 전달을 포함한다.

[0589] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 방법은 시력손실을 가진, 예컨대, 18 내지 80세의 대상체에게 안구 내 주사를 통해서 투여된 본 명세서에 개시된 조성물, 예컨대, rAAV-CLRN1의 증량 용량의 안전성 및 내약성을 평가한다.

[0590] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 임의의 방법은 본 명세서에 개시된 조성물, 예컨대, rAAV-CLRN1의 안전성 및 내약성의 평가를 포함한다. 일부 실시형태에서, 시력손실을 치료하는 본 명세서에 개시된 조성물, 예컨대, rAAV-CLRN1의 효능 평가는 무작위 통제 설정(동시 비개입 관찰 아암 사용)에서 수행된다.

[0591] 대상체를 치료하는 방법

- [0592] 본 개시내용은, 시력손실을 특징으로 하는 어서 증후군 유형 III 또는 망막색소변성증을 앓고 있거나 이의 위험이 있는 대상체에서 기저 질환 및/또는 증상을 치료하는 데 본 명세서에 기재된 기술이 사용될 수 있음을 제공한다.
- [0593] 일부 실시형태에서, 방법은 본 명세서에 기재된 작제물(예컨대, rAAV 작제물), 입자(예컨대, rAAV 입자), 또는 본 명세서에 기재된 조성물을 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다. 일부 실시형태에서, 방법은 치료 방법이다. 일부 실시형태에서, 대상체는 시력손실을 특징으로 하는 어서 증후군 유형 III 또는 망막색소변성증을 앓고 있거나 이의 위험이 있는 대상체이다.
- [0594] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 작제물(예컨대, rAAV 작제물), 입자(예컨대, rAAV 입자), 또는 본 명세서에 기재된 조성물을 대상체에게 투여하는 것은 시력손실을 특징으로 하는 어서 증후군 유형 III 또는 망막색소변성증과 연관된 하나 이상의 증상을 경감 및/또는 개선시킬 수 있다. 증상은, 예를 들어, 시력손실, 주변 시력의 손실, 중앙 시력의 손실, 또는 안구 세포의 변성을 포함할 수 있다.
- [0595] 일부 실시형태에서, 시력손실은 유전자 돌연변이(예컨대, 결실 돌연변이, 프레임시프트 돌연변이, 넌센스 돌연변이, 하이포모르픽 돌연변이, 하이퍼모르픽 돌연변이, 네오모르픽 돌연변이, 비정상적 과발현, 비정상적 과소발현 등)와 연관된다. 일부 실시형태에서, 어서 증후군 유형 III 또는 망막색소변성증을 앓고 있거나 이의 위험이 있는 대상체는 본 명세서에 기재된 바와 같이 특성규명될 수 있는 CLRN1 유전자의 돌연변이를 가질 수 있다.
- [0596] 일부 실시형태에서, 대상체는 본 명세서에 기재된 기술(예컨대, 실시간 PCR, 정량적 실시간 PCR, 웨스턴 블로팅, 면역침강법, 면역조직화학, 질량 분광법, 또는 면역형광법, 유전자 및/또는 단백질의 발현의 간접적인 표현형 결정(예컨대, 기능적 시력 검사, 안구 근육 검사, 시력 검사, 굴절 평가, 시야 검사, 색각 검사 및 망막 검사 등을 통한) 등)로 치료 전, 동안 및/또는 후에 유전적으로 그리고/또는 증상적으로 특성규명된다. 일부 실시형태에서, 시력손실을 앓고 있거나 이의 위험이 있는 대상체는 조직 샘플링(예컨대, 하나 이상의 안구 세포를 포함, 예컨대, 하나 이상의 안구 세포 및/또는 하나 이상의 지지세포를 포함)을 통해 특성규명된 이의 연관 질환 상태를 가질 수 있다. 일부 실시형태에서, 조직은 본 명세서에 기재된 바와 같은 임의의 기술(예컨대, 방법론, 예컨대, 조성물, 예컨대, 작제물, 및/또는 입자를 포함하는 조성물 등)의 투여 전, 동안 그리고/또는 후에 안구 세포 및/또는 지지세포의 형태를 결정하기 위하여 형태학적 분석을 통해서 평가된다. 이러한 일부 실시형태에서, 표준 면역조직화학적 또는 조직학적 분석이 수행될 수 있다. 일부 실시형태에서, 세포가 시험관 내 또는 생체 외에서 사용되는 경우, 추가적인 면역세포화학적 또는 면역조직화학적 분석이 수행될 수 있다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 단백질 또는 전사물의 하나 이상의 검정(예컨대, 웨스턴 블롯, ELISA, 폴리머라제 연쇄 반응)은 대상체 또는 시험관 내 세포 집단으로부터의 하나 이상의 샘플에 대해 수행될 수 있다.
- [0597] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 작제물(예컨대, rAAV 작제물), 입자(예컨대, rAAV 입자), 또는 본 명세서에 기재된 조성물을 대상체에게 투여하는 것은 본 명세서에 기재된 기술로 치료하기 전에 수행된 면역조직화학 검사와 비교할 때 또는 대조군 집단과 비교할 때 환자 면역조직화학 평가(예컨대, 위에서 기재된 바와 같은 검사)를 개선시킨다.
- [0598] 어서 유형 III 증후군 또는 망막색소변성증의 증상을 향상시키기 위한 대상체의 치료
- [0599] 일부 실시형태에서, 시력손실을 특징으로 하는 어서 유형 III 증후군을 앓고 있거나 이의 위험이 있는 대상체는 시력 기능을 특징으로 하는 치료 요법을 받을 수 있다. 일부 실시형태에서, 치료 요법의 기능성은 시력 기능을 통해 특성규명되며, 이러한 시력 기능은 본 명세서에 기재된 조성물 및 방법에 의한 치료 전, 후 및/또는 동안 안구 시력 검사(예컨대, 기능적 시력 검사, 안구 근육 검사, 시력 검사, 굴절 평가, 시야 검사, 색각 검사 및 망막 검사 등)를 사용하여 개체에서 결정된다. 일부 실시형태에서, 치료 요법의 기능성은 시력 기능을 통해 특성규명되는 데, 여기서 이러한 시력 기능은 본 명세서에 기재된 조성물 및 방법에 의한 치료 전, 후 및/또는 동안 본 명세서에 기재된 바와 같은 시력을 측정함으로써 개체에서 결정된다. 이러한 일부 실시형태에서, 시력 측정치는 대상체의 한쪽 또는 양쪽 눈으로부터 취해진다. 이러한 일부 실시형태에서, 측정치는 동일한 대상체에 대한 이전의 기록치 및/또는 예컨대, 정상 시력으로 정의되는 허용 가능한 시력 범위에 대해서 시력손실을 정의하는 데 사용되는 이러한 반응 측정에 대한 기지의 측정치와 비교된다. 일부 실시형태에서, 대상체는 임의의 치료를 받기 전에 취해진 기재된 측정치를 갖는다. 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 하나 이상의 기술로 치료된 대상체는 치료 전에 비해서 치료 후에 시력 측정치에 대한 개선을 가질 것이다. 일부 실시형태에서, 시력 측정은 치료가 투여된 후 그리고 치료 후 규칙적인 추적조사 간격으로 취해진다. 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 기술에 의한 치료는 본 명세서에 기재된 기술로 치료하기 전에 수행된 검사와 비교할 때 또는 대

조군 집단과 비교할 때 환자 검사 평가(예를 들어, 상기 기술된 바와 같은 검사)를 개선시킨다.

[0600] 일부 실시형태에서, 시력손실을 특징으로 하는 망막색소변성증을 앓고 있거나 이의 위험이 있는 대상체는 시력 기능을 특징으로 하는 치료 요법을 받을 수 있다. 일부 실시형태에서, 치료 요법의 기능성은 시력 기능, 이러한 시력 기능은 본 명세서에 기재된 조성물 및 방법에 의한 치료 전, 후 및/또는 동안 안구 시력 검사를 사용하여 (예컨대, 기능적 시력 검사, 안구 근육 검사, 시력 검사, 굴절 평가, 시야 검사, 색각 검사 및 망막 검사 등을 통해서) 개체에서 결정된다. 일부 실시형태에서, 치료 요법의 기능성은 시력 기능을 통해서 특성규명되는데, 여기서 이러한 시력 기능은 본 명세서에 기재된 조성물 및 방법에 의한 치료 전, 후 및/또는 동안 본 명세서에 기재된 바와 같은 시력을 측정함으로써 개체에서 결정된다. 이러한 일부 실시형태에서, 시력 측정치는 대상체의 한쪽 또는 양쪽 눈으로부터 취해진다. 이러한 일부 실시형태에서, 측정치는 동일한 대상체에 대한 이전의 기록 치 및/또는 예컨대, 정상 시력으로 정의되는 허용 가능한 시력 범위에 대해서 시력손실을 정의하는 데 사용되는 이러한 반응 측정에 대한 기지의 측정치와 비교된다. 일부 실시형태에서, 대상체는 대상체는 임의의 치료를 받기 전에 취해진 기재된 측정치를 갖는다. 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 하나 이상의 기술로 치료된 대상체는 치료 전에 비해서 치료 후에 발화 시력 측정치에 대한 개선을 가질 것이다. 일부 실시형태에서, 시력 측정은 치료가 투여된 후 그리고 치료 후 규칙적인 추적조사 간격으로 취해진다. 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 기술에 의한 치료는 본 명세서에 기재된 기술로 치료하기 전에 수행된 검사와 비교할 때 또는 대조군 집단과 비교할 때 환자 검사 평가(예를 들어, 상기 기술된 바와 같은 검사)를 개선시킨다.

[0601] 시력손실 및 회복 평가

[0602] 일부 실시형태에서, 시력 기능은 망막전위도, 시야 테스트, 또는 유전자 검사를 비롯한 측정치를 사용하여 결정된다. 일부 실시형태에서, 대상체의 눈의 망막은 망막의 더 넓고 선명한 시야를 허용하는 도구인 검안경을 사용하여 검사된다. 일부 실시형태에서, 측정치는 대상체의 한쪽 또는 양쪽 눈으로부터 취해진다. 이러한 일부 실시형태에서, 측정치는 동일한 대상체에 대한 이전의 검사 및/또는 예컨대, 정상 시력으로 정의되는 허용 가능한 시력 범위에 대해서 시력손실을 정의하는 데 사용되는 기지의 참조 측정치와 비교된다. 일부 실시형태에서, 대상체는 임의의 치료를 받기 전에 수행된 측정치를 갖는다. 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 하나 이상의 기술로 치료된 대상체는 치료 전에 비해서 치료 후에 수행된 측정치에 대한 개선을 가질 것이다. 일부 실시형태에서, 측정은 치료가 투여된 후 그리고 치료 후 규칙적인 추적조사 간격으로 취해진다.

[0603] 질환 상태의 특성규명 방법

[0604] 용어 "CLRN1 유전자의 돌연변이"는, 공통 기능성 클라린 1 단백질과 비교해서 하나 이상의 아미노산의 결실, 하나 이상의 아미노산 치환 및 하나 이상의 아미노산 삽입 중 하나 이상을 갖는 클라린 1 단백질의 생산을 초래하고/하거나 돌연변이를 갖지 않는 포유동물 세포의 인코딩된 클라린 1 단백질의 발현 수준과 비교해서, 포유동물 세포의 인코딩된 클라린 1 단백질의 발현 수준의 감소를 초래하는 공지된 공통 기능성 CLRN1 유전자의 변형을 지칭한다. 일부 실시형태에서, 돌연변이는 하나 이상의 아미노산(예컨대, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20개, 또는 그 초과)의 아미노산)에 결실을 갖는 클라린 1 단백질의 생산을 초래할 수 있다. 일부 실시형태에서, 돌연변이는 CLRN1 유전자의 프레임시프트를 초래할 수 있다. 용어 "프레임시프트"는 코딩 서열의 리딩 프레임에서 시프트를 초래하는 코딩 서열에서의 임의의 돌연변이를 망라하는 것으로 당업계에 공지되어 있다. 일부 실시형태에서, 프레임시프트는 비기능성 단백질을 초래할 수 있다. 일부 실시형태에서, 점 돌연변이는 넌센스 돌연변이(즉, 유전자의 엑손에서 미성숙 정지 코돈을 초래)일 수 있다. 넌센스 돌연변이는 (대응하는 공통 기능성 단백질과 비교하여) 기능적일 수도 있고 그렇지 않을 수도 있는 절단된 단백질의 생산을 초래할 수 있다. 일부 실시형태에서, 돌연변이는 CLRN1 mRNA 또는 클라린 1 단백질 또는 mRNA와 단백질 둘 다의 발현 손실(또는 수준 감소)을 초래할 수 있다. 일부 실시형태에서, 돌연변이는 공통 기능성 클라린 1 단백질과 비교하여 하나 이상의 생물학적 활성(기능)의 손실 또는 감소를 갖는 변경된 클라린 1 단백질의 생산을 초래할 수 있다.

[0605] 일부 실시형태에서, 돌연변이는 CLRN1 유전자에의 하나 이상의 뉴클레오타이드의 삽입이다. 일부 실시형태에서, 돌연변이는 클라린 1 유전자의 조절 및/또는 제어 서열, 즉, 코딩 서열이 아닌 유전자의 부분에 있다. 일부 실시형태에서, 조절 및/또는 제어 서열의 돌연변이는 프로모터 또는 인핸서 영역에 있을 수 있고 CLRN1 유전자의 적절한 전사를 방지하거나 감소시킬 수 있다. 일부 실시형태에서, 돌연변이는 클라린 1 단백질 또는 CLRN1 유전자와 상호작용하는 것으로 알려진 공지된 이중성 유전자에 있다.

[0606] CLRN1 mRNA 및/또는 클라린 1 단백질의 유전자형 분석 및/또는 발현 또는 활성 검출 방법은 당업계에 공지되어 있다(예컨대, 문헌[Ito et al., World J Otorhinolaryngol. 2013 May 28; 3(2): 26-34, 및 Roesch et al.,

Int J Mol Sci. 2018 Jan; 19(1): 209] 참조, 이들 각각은 전문이 본 명세서에 참조에 의해 원용됨). 일부 실시형태에서, CLRN1 mRNA 또는 클라린 1 단백질의 발현 수준은 직접적으로 검출될 수 있다(예를 들어, 클라린 1 단백질 검출, CLRN1 mRNA 검출 등). CLRN1 발현 및/또는 활성을 직접적으로 검출하기 위해 사용될 수 있는 기술의 비제한적인 예는, 예컨대, 실시간 PCR, 정량적 실시간 PCR, 웨스턴 블로팅, 면역침강법, 면역조직화학, 질량 분광법 또는 면역형광법을 포함한다. 일부 실시형태에서, CLRN1 및/또는 클라린 1 단백질의 발현은 간접적으로(예컨대, 기능적 시력 검사, 안구 근육 검사, 시력 검사, 굴절 평가, 시야 검사, 색각 검사 및 망막 검사 등을 통해서) 검출될 수 있다.

[0607] 생물학적 샘플에서의 CLRN1 단백질 농도의 평가

[0608] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 방법은 본 명세서에 기재된 조성물로 치료 전, 동안 및/또는 후에 개체로부터의 하나 이상의 생물학적 샘플에서 CLRN1 단백질 농도를 평가하는 단계를 포함한다.

[0609] 이들 방법의 일부 실시형태에서, 치료, 예컨대, 본 명세서에 기재된 조성물의 1회 또는 2회 이상의 투여 후, CLRN1 단백질의 발현이 증가한다. 일부 실시형태에서, 대조군 수준에 대비해서 비교할 때, 예컨대, 본 명세서에 기재된 임의의 작제물(들)을 포함하는 조성물의 도입 전에 CLRN1 단백질의 발현 수준과 비교할 때 본 명세서에 기재된 바와 같은 활성 CLRN1 단백질의 발현 증가.

[0610] 표적 RNA 및/또는 단백질의 발현 및/또는 활성을 검출하는 방법은 당업계에 공지되어 있다. 일부 실시형태에서, 안구 표적 단백질의 발현 수준은 직접적으로 검출될 수 있다(예컨대, 안구 세포 표적 단백질 또는 표적 mRNA의 검출). 표적 RNA 또는 단백질의 발현 및/또는 활성을 직접적으로 검출하는 데 사용될 수 있는 기술의 비제한적인 예는 다음을 포함한다: 실시간 PCR, 웨스턴 블로팅, 면역침강법, 면역조직화학, 질량 분광법 또는 면역형광법. 일부 실시형태에서, 안구 세포 표적 단백질의 발현은 간접적으로(예컨대, 기능적 시력 검사를 통해서) 검출될 수 있다.

[0611] 일부 실시형태에서, rAAV 입자의 생체분포 및/또는 발산 분석이 수행된다. 일부 실시형태에서, 본 명세서에서는 cDNA를 전달하도록, 예컨대, CLRN1 단백질을 발현하도록 설계된 rAAV-CLRN1 복제-결합성, rAAV 입자를 포함하는 조성물이 개시된다. 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 바와 같은 rAAV 입자는 어서 증후군 유형 III을 가진, 대상체, 예컨대, 인간, 예컨대, 환자를 치료하는 데 사용된다. 일부 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 조성물은 안구 내 경로를 통해서 투여된다. 일부 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 조성물은 (예컨대, 벡터 게놈 qPCR 분석에 의해 측정되는 바와 같이) 저용량의 rAAV 입자로 투여된다. 일부 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 조성물은 신체의 국소 영역에 투여된다. 일부 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 조성물은, 제한된 혈관 확산 및 전신 노출을 초래할 것으로 예상된다. 일부 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 조성물은 달팽이관에서 더 높은 수준의 작제물 서열을 초래한다. 일부 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 조성물은 수집된 대부분의 다른 조직 및 체액에서 더 낮지만 검출 가능한 수준을 초래한다. 일부 실시형태에서, 작제물 서열의 수준은 일반적으로 전체적으로 6개월까지 감소되었다. 일부 실시형태에서, 작제물 서열의 수준은, 예컨대, 본 명세서에 개시된 조성물의 안구 내 투여 후 1개월과 같이, 혈액 샘플에서 시간 경과에 따라 감소한다.

[0612] 본 명세서에 개시된 임의의 방법의 일부 실시형태에서, 생체분포 및 발산을 위한 관련 유체(예를 들어, 혈액, 혈청, 소변, 타액, 비강 및 귀 면봉, 및 CSF 유체)가 수집 및/또는 평가된다. 본 명세서에 개시된 임의의 방법의 일부 실시형태에서, 비표적 조직이 수집 및/또는 평가된다. 일부 실시형태에서, 캡시드 변이체는 항성을 결정할 것으로 예상된다. 일부 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 조성물은 캡시드 변이체, 예컨대, AAV Anc80 캡시드 변이체를 포함한다. 일부 실시형태에서, 예컨대, 동일한 투여 경로를 통해, 동일한 입자 체형으로 그리고/또는 동등한 또는 더 낮은 입자 용량으로 캡시드 변이체를 포함하는 본 명세서에 개시된 조성물의 전달은, 생체 분포 및 발산 패턴의 차를 초래할 것으로 예상되지 않는다.

[0613] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 조성물, 예컨대, rAAV-CLRN1은, 약 2E12 총 vg/달팽이관 미만의 수준으로 투여된다. 일부 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 조성물의 용량은, 예컨대, 부피 및 rAAV 입자 농도의 제한의 함수이다.

[0614] 이와 대조적으로, rAAV 입자를 사용하는 임상 시험은, 일부 경우에, 6개월령 미만의 참가자에게 전신 투여 경로를 통해 1E14 vg/kg 초과를 전달하였다(AveXis 2019, 전체 내용이 본 명세서에 참조에 의해 원용됨). 비교적 낮은 용량의 rAAV 입자를 사용한 다른 국제화된 전달은 표적 영역을 넘어 광범위한 생체분포, 예컨대, 전신 또는 광범위한 rAAV 입자 발산(배설; 일반적으로 qPCR과 같은 방법을 통해 기본 작제물 DNA 농도의 측정)을 보고하지 않았다. 예를 들어, 안구 표적 영역(특히 입자-주입된 눈의 시신경, 시신경교차, 비장 및 간, 그리고 산발적으

로 연구 동물의 림프절)을 넘어서 낮은 수준의 분포가 $7.5E11$ vg/눈의 용량으로 양측으로 전달된 Luxturna®에 대해 보고되었다. 마찬가지로, 3상 임상 시험에서, rAAV 입자는 참가자의 45%의 눈물에서 일시적으로 그리고 낮은 수준으로 발산되었고; $1.5E11$ vg/눈의 용량으로 양측으로 전달된 Luxturna®의 망막하 투여 직후 며칠 동안 참가자의 10%의 혈청(전혈은 아님) 샘플에서도 낮은 수준으로 검출되었다(예컨대, 문헌[Russell 2017; Spark Therapeutics 2017] 참조, 이들 각각은 전체 내용이 본 명세서에 참조에 의해 인용됨).

[0615] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 임의의 방법은, 예컨대, 검증된 qPCR 방법을 사용하여 달팽이관에 일방적 투여 후 시간 경과에 따라서 혈액(예컨대, 혈청 및 전혈)에서 rAAV 입자 서열의 분포를 평가하는 단계를 포함한다. 일부 실시형태에서, 추가의 시편(예를 들어, 외이도 면봉, 비강 면봉, 타액 및 소변)은 대상체로부터의 발산 평가를 위해 수집될 것이다. 일부 실시형태에서, 시편은 적어도 3개의 연속적인 음성 샘플이 얻어질 때까지 대상체로부터 수집된다.

[0616] 일부 실시형태에서, 시력손실과 상관이 있는 단백질은 본 명세서에 기재된 조성물 및/또는 방법으로 치료 전, 동안 및/또는 후에 측정된다.

[0617] 일부 실시형태에서, AAV 캡시드 및/또는 입자에 대한 면역원성이 측정된다. 전신 적용에 비해서 상대적으로 저용량으로 국소 부위에 전달된 AAV 캡시드 및/또는 입자에 대한 면역원성은 일반적으로 특정 패턴의 면역 반응을 나타내지 않았고; 중요하게는, 체액 및 세포-매개 면역학적 모니터링을 통해(예컨대, 각각 효소결합면역흡착제 검정법[ELISA]/중화항체[NAb] 및 효소결합면역흡착점적[ELISPOT] 검정을 통해) 관찰된 반응은 주로 일부 면역학적 보호를 제공하는 투여 경로(들)(ROA)(예컨대, 뇌로의 직접 투여)에 대해서 임상적 상관 관계가 없었다.

[0618] 본 명세서에 개시된 임의의 방법의 일부 실시형태에서, 안구 내 ROA는 유사한 보호 수준을 제공할 것으로 예상된다. 본 명세서에 개시된 임의의 방법의 일부 실시형태에서, 대상체는 본 명세서에 개시된 조성물, 예컨대, rAAV-CLRN1의 투여 3일 전에 시작하여 대략 17일 동안 면역조절 요법, 예컨대, 전신 경구 코르티코스테로이드의 짧은 수술 전후 과정을 받을 것이다. 일부 실시형태에서, 면역조절 요법은 외과적 투여 절차와 관련된 염증을 감소시킨다. 일부 실시형태에서, 면역조절 요법은 또한 캡시드(예를 들어, AAV Anc80) 또는 기본 작제물(예를 들어, 트랜스진 산물, 예컨대, CLRN1 단백질)에 대한 면역 반응에 대한 가능성을 추가로 감소시킬 수 있다.

[0619] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 임의의 방법은 본 명세서에 개시된 조성물의 투여에 반응하여 체액성 면역력(예컨대, 항체 반응)을 평가하는 단계를 더 포함한다. 일부 실시형태에서, 예컨대, 안구 내 ROA를 통해 전달될 때 본 명세서에 개시된 조성물의 형질도입에 대한, 혈청 NAb 수준에 의해 측정된 기존의 면역력의 효과가 평가된다. 일부 실시형태에서, 기존의 NAb 수준은 안구 내 투여 경로에 의해 전달된 AAV 입자의 형질도입을 저해하지 않는다. 일부 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 임의의 방법은 AAV 캡시드 및/또는 트랜스진 산물(예컨대, 단백질) 둘 다에 대한 잠재적인 전신 체액 반응에 대해 혈청을 평가하는 단계를 더 포함한다. 일부 실시형태에서, 전신 체액 반응의 평가에 반응하여, 본 명세서에 개시된 조성물, 예컨대, rAAV-CLRN1의 양측 안구 내 투여를 위한 치료 간격이 개발될 수 있다.

[0620] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 임의의 방법은, 예컨대, 국제화된 투여 경로(ROA), 예컨대, 안구 내 투여를 통해 전달된 rAAV 입자로부터의 AAV 입자, 캡시드 및/또는 작제물(예, 기본 트랜스진) 산물에 대한 세포독성 T 세포 반응을 초래하지 않는다. 예를 들어, Luxturna®에 대한 표지화는 대상체가 임상적으로 유의한 세포독성 T 세포 반응을 갖지 않음을 명시하고(Spark Therapeutics 2017, 전체 내용이 본 명세서에 참조에 의해 인용됨); 단리된 양성 인터페론-감마(IFN-감마) ELISPOT 검정 결과는 임상 개발 프로그램 동안 얻어지지 않았지만(Bennett 2012, 전체 내용이 본 명세서에 참조에 의해 인용됨), 이러한 단리된 결과의 유의성은 미지인데, 이는 임상적 염증 반응이 관찰되지 않았고 용량 제한 독성이 임상 프로그램에서 보이지 않았기 때문이다.

[0621] 소정의 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 임의의 조성물 또는 조성물의 생성물의 약동학이 측정되고 수집된다. 본 명세서에 개시된 임의의 방법의 일부 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 조성물은 국소적으로 투여된다 일부 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 조성물의 국소 전달은 임의의 하나 이상의 유해한 비표적 효과의 가능성의 감소를 초래한다. 일부 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 조성물의 국소 전달은 임의의 유해한 비표적 효과를 초래하지 않는다. 본 명세서에 개시된 임의의 방법의 일부 실시형태에서, 대상체는 혈청 내 CLRN1 단백질(예컨대, 전기화학발광면역검정법을 사용함), 활력 징후, 소변검사 및/또는 임상 화학을 모니터링함으로써 추적 검사된다. 일부 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 조성물이 투여된 대상체의 모니터링은 임의의 비표적 효과의 조기 개입 및/또는 최소화를 허용한다.

[0622] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 바와 같은 조성물의 투여 후, 혈청은 CLRN1 단백질 측정을 위하여 수집

되고 분석될 수 있다. 일부 실시형태에서, 이러한 측정은 조성물 투여 전(기준선), 투여 후 2주, 및 적절한 지속기간(예컨대, 3개월, 6개월, 1년, 2년, 3년, 4년, 또는 5년 초과) 동안 매월 일어날 수 있다. 일부 실시형태에서, CLRN1 단백질은 기준선에서, 또는 비히를 또는 본 명세서에 기재된 저용량의 rAAV-CLRN1 입자의 안구 내 전달을 받은 개체에서 투여후 임의의 시점에서 개체의 혈청에서 검출되지 않을 것이다. 일부 실시형태에서, 보다 고용량의 rAAV-CLRN1, CLRN1 단백질로 본 명세서에 기재된 바와 같은 방법을 통해서 본 명세서에 기재된 바와 같은 조성물을 받은 개체는 혈청에서 검출 또는 정량 한계 미만의 수준에서 또는 보고된 생물학적 활성 범위(11 ng/mL 내지 27 ng/mL[Genentech 2017, 전문이 본 명세서에 참조에 의해 인용됨]) 미만의 수준에서 검출될 수 있다.

[0623] 본 명세서에 개시된 임의의 방법의 일부 실시형태에서, 방법은 (예컨대, 본 명세서에 기재된 전기화학발광면역검정법)을 사용하여 CLRN1 단백질의 존재에 대하여 혈청의 수집 및/또는 평가를 포함한다.

[0624] 생산 방법

[0625] AAV 시스템은 일반적으로 당업계에 충분히 공지되어 있다(예컨대, 문헌[Kelleher and Vos, Biotechniques, 17(6):1110-17 (1994); Cotten et al., P.N.A.S. U.S.A., 89(13):6094-98 (1992); Curiel, Nat Immun, 13(2-3):141-64 (1994); Muzyczka, Curr Top Microbiol Immunol, 158:97-129 (1992); 및 Asokan A, et al., Mol. Ther., 20(4):699-708 (2012)] 참조, 이들 각각은 전문이 본 명세서에 참조에 의해 인용됨). AAV 작제물을 생성하고 사용하는 방법은, 예를 들어, 미국 특허 제5,139,941호, 제4,797,368호 및 PCT 출원 제US2019/060328호에 기재되어 있으며, 이들 각각은 전문이 본 명세서에 참조에 의해 인용된다.

[0626] 바이러스 작제물을 얻는 방법은 당업계에 공지되어 있다. 예를 들어, AAV 작제물을 생산하기 위하여, 방법은 전형적으로 AAV 캡시드 단백질 또는 이의 단편을 인코딩하는 핵산 서열; 기능적 대표 유전자; AAV 역위 말단 반복부(ITR) 및 코딩 서열로 구성된 재조합 AAV 작제물; 및/또는 재조합 AAV 작제물의 AAV 캡시드 단백질로의 패키징을 허용하기에 충분한 헬퍼 기능을 함유하는 숙주 세포를 배양하는 단계를 포함한다.

[0627] 일부 실시형태에서, AAV 캡시드에 AAV 작제물을 패키징하기 위해 숙주 세포에서 배양될 구성요소는 트랜스로 숙주 세포에 제공될 수 있다. 대안적으로, 임의의 하나 이상의 구성요소(예를 들어, 재조합 AAV 작제물, rep 서열, 캡 서열 및/또는 헬퍼 기능)는 당업자에게 공지된 방법을 사용하여 하나 이상의 이러한 구성요소를 함유하도록 조작된 안정적인 숙주 세포에 의해 제공될 수 있다. 일부 실시형태에서, 이러한 안정적인 숙주 세포는 유도성 프로모터의 제어하에 이러한 구성요소(들)를 함유한다. 일부 실시형태에서, 이러한 구성요소(들)는 구성적 프로모터의 제어 하에 있을 수 있다. 일부 실시형태에서, 선택된 안정적인 숙주 세포는 구성적 프로모터의 제어하에 선택된 구성요소(들) 및 하나 이상의 유도성 프로모터의 제어 하에 있는 다른 선택된 구성요소(들)를 함유할 수 있다. 예를 들어, HEK293 세포(구성적 프로모터의 제어하에 E1 헬퍼 기능을 함유)로부터 유래되지만, 유도성 프로모터의 제어 하에 rep 및/또는 cap 단백질을 함유하는 안정적인 숙주 세포가 생성될 수 있다. 기타 적합한 숙주 세포는 통상적인 방법을 사용하여 당업자에 의해 생성될 수 있다.

[0628] 재조합 AAV 작제물, rep 서열, cap 서열 및 본 개시내용의 AAV를 생산하는 데 필요한 헬퍼 기능은 임의의 적절한 유전 요소(예를 들어, 작제물)를 사용하여 패키징 숙주 세포에 전달될 수 있다. 선택된 유전 요소는 당업계에 공지된 임의의 적합한 방법에 의해, 예컨대, 핵산 조작에 숙련된 자에게 전달될 수 있으며 유전 공학, 재조합 공학 및 합성 기술을 포함한다(예컨대, 문헌[Sambrook et al, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harbor, N.Y.] 참조, 이는 전문이 본 명세서에 참조에 의해 인용됨). 유사하게, AAV 입자를 생성하는 방법은 잘 알려져 있고 임의의 적합한 방법이 본 개시내용과 함께 사용될 수 있다(예컨대, 문헌[K. Fisher et al, J. Virol., 70:520-532 (1993)] 및 미국 특허 제5,478,745호 참조, 이는 전문이 본 명세서에 참조에 의해 인용됨).

[0629] 일부 실시형태에서, 재조합 AAV는 삼중 형질주입 방법을 사용하여 생산될 수 있다(예컨대, 미국 특허 제6,001,650호에 기재된 바와 같음, 이는 전문이 본 명세서에 참조에 의해 인용됨). 일부 실시형태에서, 재조합 AAV는 AAV 입자, AAV 헬퍼 기능 작제물, 및 보조 기능 작제물에 패키징된 재조합 AAV 작제물(코딩 서열 포함)을 숙주 세포에 형질주입함으로써 생산된다. AAV 헬퍼 기능 작제물은 생산적 AAV 복제 및 캡슐화를 위하여 트랜스로 기능하는 "AAV 헬퍼 기능" 서열(즉, rep 및 cap)을 인코딩한다. 일부 실시형태에서, AAV 헬퍼 기능 작제물은 임의의 검출 가능한 야생형 AAV 입자(즉, 기능성 rep 및 cap 유전자를 함유하는 AAV 입자)를 생성하는 일 없이 효율적인 AAV 작제물 생산을 지원한다. 본 개시내용과 함께 사용하기에 적합한 작제물의 비제한적인 예는 pHLP19(예컨대, 미국 특허 제6,001,650호 참조, 이는 전문이 본 명세서에 참조에 의해 인용됨) 및 pRep6cap6 작제물(예컨대, 미국 특허 제6,156,303호 참조, 이는 전문이 본 명세서에 참조에 의해 인용됨)을 포함한다. 보조

기능 작제물은 비-AAV 유래 바이러스 및/또는 AAV가 복제에 의존하는 세포 기능(즉, "보조 기능")에 대해서 뉴클레오타이드 서열을 인코딩한다. 보조 기능은, 제한 없이, AAV 유전자 전사, 병상 특이적 AAV mRNA 스플라이싱, AAV DNA 복제, cap 발현 산물의 합성, 및 AAV 캡시드 조립의 활성화와 연관된 이들 모이어티를 비롯하여, AAV 복제에 요구되는 기능을 포함할 수 있다. 바이러스-기반 보조 기능은 임의의 공지된 헬퍼 바이러스, 예컨대, 아데노바이러스, 헤르페스바이러스(기타 다른 단순포진 바이러스 유형-1), 및 백시니아 바이러스로부터 유래될 수 있다.

[0630] 대상체에게 전달하는 데 적합한 AAV 바이러스 작제물을 생성하고 단리시키는 추가의 방법은, 예컨대, 미국 특허 제7,790,449호; 미국 특허 제7,282,199호; WO 2003/042397; WO 2005/033321, WO 2006/110689; 및 미국 특허 제7,588,772호에 기재되어 있고, 이들 각각은 전문이 본 명세서에 참조에 의해 인용된다. 하나의 시스템에서, 생산자 세포주는 ITR에 의해 축적된 코딩 서열을 인코딩하는 작제물 및 rep 및 cap을 인코딩하는 작제물(들)로 일시적으로 형질주입된다. 또 다른 시스템에서, rep 및 cap을 안정적으로 공급하는 패키징 세포주는 ITR에 의해 축적된 코딩 서열을 인코딩하는 작제물로 일시적으로 형질주입된다. 이들 시스템의 각각에서, AAV 입자는 헬퍼 아데노바이러스 또는 헤르페스바이러스에 의한 감염에 반응해서 생성되고, AAV는 오염 바이러스로부터 분리된다. 기타 시스템은 AAV를 회수하기 위하여 헬퍼 바이러스를 이용한 감염을 필요로 하지 않는다—헬퍼 기능(즉, 아데노바이러스 E1, E2a, VA 및 E4 또는 헤르페스바이러스 UL5, UL8, UL52, 및 UL29, 및 헤르페스바이러스 폴리머라제)은 또한 시스템에 의해 트랜스로 공급된다. 이러한 시스템에서, 헬퍼 기능은 헬퍼 기능을 인코딩하는 작제물로 세포에 일시적 형질주입에 의해 공급될 수 있거나, 또는 세포는 헬퍼 기능을 인코딩하는 유전자를 안정적으로 함유하도록 조작될 수 있는데, 이의 발현은 전사 또는 전사후 수준에서 제어될 수 있다.

[0631] 일부 실시형태에서, 정량화후 바이러스 작제물 역가가 결정된다. 일부 실시형태에서, 역가는 정량적 PCR을 사용하여 결정된다. 소정의 실시형태에서, 작제물에 특이적인 TaqMan 프로브는 작제물 수준을 결정하는 데 사용된다. 소정의 실시형태에서, TaqMan 프로브는 서열번호 65로 표시되는 한편, 순방향 및 역방향 증폭 프라이머는 각각 서열번호 66 및 67에 의해 예시된다.

[0632] **작제물의 정량화를 위한 예시적인 TaqMan 프로브(서열번호 65)**

[0633] /56-FAM/TAATTCCAA/ZEN/CCAGCAGAGTCAGGGC/3IABkFQ/

[0634] **작제물의 정량화를 위한 예시적인 순방향 qPCR 프라이머(서열번호 66)**

[0635] GATACAGCTAGAGTCCTGATTGC

[0636] **작제물의 정량화를 위한 예시적인 역방향 qPCR 프라이머(서열번호 67)**

[0637] GATCTGCCAAGTACCTCACTATG

[0638] 본 명세서에 기재된 바와 같이, 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 바이러스 작제물은 아데노-연관 바이러스(AAV) 작제물이다. AAV1, AAV2, AAV3(예컨대, AAV3B), AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAV9, AAV10, AAV11 및 AAV Anc80뿐만 아니라, 이들의 변이체를 비롯한 여러 AAV 혈청형이 특성 규명되어 있었다. 일부 실시형태에서, AAV 입자는 AAV2/6, AAV2/8, AAV2/9 또는 AAV2/Anc80 입자(예컨대, AAV2 ITR을 갖는 AAV6, AAV8, AAV9 또는 Anc80 캡시드 및 작제물을 가짐)이다. 기타 AAV 입자 및 작제물은, 예컨대, 문헌[Sharma et al., Brain Res Bull. 2010 Feb 15; 81(2-3): 273](이는 전문이 본 명세서에 참조에 의해 인용됨)에 기재되어 있다. 일반적으로, 임의의 AAV 입자가 본 명세서에 기재된 코딩 서열을 전달하는 데 사용될 수 있다. 그러나, 혈청형은 상이한 항성을 지니며, 예컨대, 이는 우선적으로 상이한 조직을 감염시킨다. 일부 실시형태에서, AAV 작제물은 자기 보완적 AAV 작제물이다.

[0639] 본 개시내용은, 특히, AAV-기반 작제물을 제조하는 방법을 제공한다. 일부 실시형태에서, 이러한 방법은 숙주 세포의 사용을 포함한다. 일부 실시형태에서, 숙주 세포는 포유동물 세포이다. 숙주 세포는 AAV 헬퍼 작제물, AAV 꼬마유전자 플라스미드, 보조 기능 작제물, 및/또는 재조합 AAV의 생산과 연관된 기타 수송 DNA의 수용체로서 사용될 수 있다. 이 용어는 형질주입된 원래의 세포의 자손을 포함한다. 따라서, 본 명세서에 사용된 바와 같은 "숙주 세포"는 외인성 DNA 서열로 형질주입된 세포를 지칭할 수 있다. 단일 부모 세포의 자손은 자연적, 우발적 또는 고의적 돌연변이로 인해 원래 부모와 형태학 또는 계통 또는 전체 DNA 보체에서 반드시 완전히 동일하지 않을 수 있음을 이해한다.

[0640] 대상체에게 전달하기에 적합한 AAV 입자를 생성하고 단리시키기 위한 추가의 방법은, 예컨대, 미국 특허 제7,790,449호; 미국 특허 제7,282,199호; WO 2003/042397; WO 2005/033321, WO 2006/110689; 및 미국 특허 제

7,588,772호(이들 각각은 전문이 본 명세서에 참조에 의해 인용됨)에 기재되어 있다. 일 시스템에서, 생산자 세포주에는 rep 및 cap을 인코딩하는 작제물(들) 및 ITR이 측접하는 코딩 서열을 인코딩하는 작제물로 일시적으로 형질주입된다. 다른 시스템에서, rep 및 cap을 안정적으로 공급하는 세포주를 패키징하는 것은 ITR에 의해 측접된 코딩 서열을 인코딩하는 작제물로 일시적으로 형질주입된다. 이들 시스템의 각각에서, AAV 입자는 헬퍼 아데노바이러스 또는 헤르페스바이러스에 의한 감염에 반응하여 생산되고, AAV 입자는 오염 바이러스로부터 분리된다. 다른 시스템은 AAV 입자를 회수하기 위하여 헬퍼 바이러스를 이용한 감염을 필요로 하지 않는다-- 헬퍼 기능(즉, 아데노바이러스 E1, E2a, VA 및 E4 또는 헤르페스바이러스 UL5, UL8, UL52 및 UL29, 및 헤르페스바이러스 폴리머라제)은 또한 시스템에 의해 트랜스로 공급된다. 이러한 시스템에서, 헬퍼 기능은 헬퍼 기능을 인코딩하는 작제물로 세포에 일시적 형질주입에 의해 공급될 수 있거나, 또는 세포는 헬퍼 기능을 인코딩하는 유전자를 안정적으로 함유하도록 조작될 수 있는데, 이의 발현은 전사 또는 전사후 수준에서 제어될 수 있다.

[0641] 또 다른 시스템에서, ITR 및 rep/cap 유전자가 측접된 코딩 서열은 바콜로바이러스-기반 작제물에 의한 감염에 의해 곤충 숙주 세포에 도입된다. 이러한 생산 시스템은 당업계에 공지되어 있다(일반적으로, 예컨대, 문헌 [Zhang et al., 2009, Human Gene Therapy 20:922-929] 참조, 이는 전문이 본 명세서에 참조에 의해 인용됨). 이들 및 기타 AAV 생산 시스템을 제조하고 사용하는 방법은 또한 미국 특허 제5,139,941호; 제5,741,683호; 제6,057,152; 제6,204,059호; 제6,268,213호; 제6,491,907호; 제6,660,514호; 제6,951,753호; 제7,094,604호; 제7,172,893호; 제7,201,898호; 제7,229,823호; 및 제7,439,065호에 기재되어 있으며, 이들 각각은 전문이 본 명세서에 참조에 의해 인용된다.

[0642] 실시예

[0643] 이하의 실험예를 참조하여 본 개시내용을 상세히 더욱 설명한다. 이들 예는 단지 예시의 목적으로 제공된 것이며, 달리 명시되지 않는 한 제한하고자 함은 아니다. 따라서, 본 개시내용은 어떠한 방식으로든 하기 예들로 제한되는 것으로 해석되어서는 안 되며, 오히려 본 명세서에 제공된 교시의 결과로서 명백해지는 임의의 그리고 모든 변형을 포함하는 것으로 해석되어야 한다.

[0644] 당업자라면, 선행하는 설명 및 다음의 실시예뿐만 아니라, 당업계에 공지된 것을 사용하여, 본 개시내용의 기술을 제조하고 사용할 수 있는 것으로 여겨진다.

[0645] 실시예 1: 바이러스 작제물의 생산

[0646] 본 실시예는 본 명세서에 기재된 바와 같은 바이러스 작제물을 생성하는 설명을 제공한다. 재조합 AAV(rAAV) 입자는 문헌[Xiao et al. J Virol. 73(5):3994-4003, 1999](이는 전문이 본 명세서에 참조에 의해 인용됨)에서 사용되는 바와 같은 아데노바이러스-무함유 방법을 이용한 형질주입에 의해 생성되었다. AAV ITR을 가진 시스템 플라스미드, AAV Rep 및 Cap 유전자를 가진 트랜스 플라스미드, 및 아데노바이러스 계통으로부터의 필수 영역을 가진 헬퍼 플라스미드를 HEK293 세포에 형질주입시켰다. rAAV 작제물은 기재된 작제물을 사용하는 단일 작제물 전략하에 인간 클라린 1을 발현하였다. 고유한 rAAV 클라린 1 단백질 인코딩 작제물을 캡슐화하기 위하여 AAV Anc80 캡시드를 제조하였다.

[0647] 당업자라면 유사한 작제물이 본 실시예에 따라서 제조될 수 있음을 용이하게 이해할 것이다. 예를 들어, 단일, 이중 또는 다중 작제물 전략하에 포유동물, 영장류 또는 인간 클라린 1을 발현하는 rAAV 작제물이 생성될 수 있다. AAV 혈청형 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, rh8, rh10, rh39, rh43 및 Anc80은 각각 (i) 연쇄체화-트랜스플라이싱 전략(concatemerization-transsplicing strategy), (ii) 하이브리드 인트론-동종 재조합-트랜스플라이싱 전략, (iii) 문헌[Pryadkina et al., Meth. Clin. Devel. 2:15009, 2015](이는 전문이 본 명세서에 참조에 의해 인용됨)에 의해 요약된 바와 같은 엑손 동종 재조합 전략, 및 (iv) 단일 작제물 전략을 시험하기 위한 4개 세트의 클라린 1 작제물을 캡슐화하기 위하여 제조될 수 있다.

[0648] 실시예 2: 바이러스 생산 및 정제

[0649] 이중 AAV 벡터는 다단계 세포 공장에서 성장한 HEK293 세포의 일시적 형질주입에 의해 생산되었다. 혈청형 6 캡시드 단백질을 인코딩하는 바이러스 생산을 위하여 헬퍼 플라스미드로 세포를 공동-형질도입하였다. 세포 용해물의 정제를 요오드사놀 밀도-구배 초원심분리에 의해 수행하고 나서, FPLC 친화성-크로마토그래피에 의한 두 번째 정제 및 농축 단계를 수행하였다(예컨대, 문헌[Asai et al. 2015)Nat. Neurosci. 18 1584-1593; 및 Tereshchenko et al. 2014 Neurobiol. Dis. 65 35-42] 참조; 이들의 각각은 전문이 본 명세서에 참조에 의해 인용됨). 트랜스-스플라이싱 접근법의 경우, 5' 벡터는 -2.8×10^8 형질도입 단위/ μ L의 농도를 달성하였다. 3'

백터는 대략 1.4×10^8 형질도입 단위/ μL 에 도달하였다. 하이브리드 접근법의 경우, 두 바이러스를 동일한 용액에서 동시에 정제하여, 약간 더 높은 바이러스 역가에 도달하였다.

[0650] **실시예 3: 바이러스 입자의 생성 및 정제**

[0651] 본 실시예는 바이러스 작제물의 정제의 설명을 제공한다. 재조합 AAV(rAAV)는 표준 삼중 형질주입 프로토콜을 이용하여 생산되었고, (예컨대, 전문이 본 명세서에 참조에 의해 원용되는 문헌[Pryadkina et al., Mol. Ther. 2:15009, 2015]에 기재된 바와 같이, 2가지 순차적 염화세슘(CsCl) 밀도 구배에 의해) 정제되었다. 두 번째 원심분리의 종료 시, 500 μL 의 11개 분획을 CsCl 밀도 구배 튜브로부터 회수하고 1x PBS에서 투석을 통해 정제하였다. rAAV 게놈을 함유하는 것을 결정하기 위하여 도트 블롯에 의해 분획을 분석하였다. 각 제제의 바이러스 게놈수(vg)는 AAV 작제물 게놈의 ITR 영역에 대응하는 프라이머 및 프로브를 사용하여 정량적 실시간 PCR-기반 역가 방법에 의해 결정되었다(예컨대, 문헌[Bartoli et al. Gene. Ther. 13:20-28, 2006] 참조, 이는 전문이 본 명세서에 참조에 의해 원용됨). 당업자라면 대안적인 제조 및/또는 정제 과정이 본 실시예에 따라서 수행될 수 있음을 용이하게 이해할 것이다. 예를 들어, rAAV 입자는 당업계에 공지된 다양한 칼럼 크로마토그래피 방법을 사용하여 정제될 수 있고/있거나, 바이러스 게놈은 대안적인 프라이머 세트를 사용하여 정량화될 수 있다.

[0652] **실시예 4: 바이러스 입자의 제형**

[0653] 본 실시예는 rAAV 입자, 및 생리학적으로 허용 가능한 용액을 포함하는 조성물의 제조에 관한 것이다. rAAV를 생산하고, 4.45^{12} vg/mL의 역가로 정제하고, 이어서, 생리학적으로 허용 가능한 용액(예컨대, 8.10mM 이염기성 인산나트륨, 1.5mM 인산일칼륨, 2.7mM 염화칼륨, 172mM 염화나트륨, 및 0.001% 플루로닉산 F68의 최종 농도로 제조된, 플루로닉산 F68이 포함된 상업적으로 입수 가능한 1xPBS)으로 6×10^4 , 1.3×10^5 , 1.8×10^5 , 4.5×10^9 및 1.3×10^{10} vg/mL의 희석액으로 제조하였다.

[0654] 당업자라면 본 실시예에 따라서 대안적인 제형을 제조할 수 있음을 쉽게 이해할 것이다. 예를 들어, rAAV 입자는 대안적인 역가로 정제되고, 대안적인 희석액으로 제조되며, 대안적인 적절한 용액에 현탁될 수 있다. 예를 들어, rAAV는 생산되고, 정량화된 역가로 정제될 수 있으며, 생리학적으로 허용 가능한 용액(예컨대, 전문이 본 명세서에 참조에 의해 원용되는 문헌[Chen et al., J Controlled Rel. 110:1-19, 2005]에 기재된 바와 같은, NaCl, 120mM; KCl, 3.5mM; CaCl₂, 1.5mM; 글루코스, 5.5mM; pH 7.5로 조절하기 위하여 NaOH로 적정된 HEPES, 20mM(130mM의 총 Na⁺ 농도)를 포함하는 인공 외립프)로 적절한 희석액으로 제조할 수 있다.

[0655] **실시예 5: 내이에 조성물의 적합한 전달을 위한 디바이스 설명**

[0656] 본 실시예는 내이에 rAAV 입자를 전달하는 데 적합한 디바이스에 관한 것이다. rAAV 입자를 포함하는 조성물은 정원창막(RWM)의 일관되고 안전한 침투를 위해 설계된 특수 마이크로카테터를 사용하여 대상체의 달팽이관으로 전달된다. 마이크로카테터는 전달 절차를 수행하는 외과위가 외이도를 통해 중이강으로 유입될 수 있고 마이크로카테터의 단부를 RWM과 접촉시킬 수 있도록 정형화된다. 마이크로카테터의 원위 단부는 직경이 약 10 미크론 내지 약 1,000 미크론인 적어도 하나의 미세바늘을 포함할 수 있으며, 이는 기재된 바와 같은 rAAV 입자 작제물(예컨대, 본 개시내용의 rAAV 작제물 포함)이 고실계의 달팽이관 외립프에 내이를 손상시키지 않는 속도(예컨대, 생리학적으로 허용 가능한 속도, 예컨대, 대략 30 μL /분 내지 대략 90 μL /분의 속도)로 유입되는 것을 가능하게 하기에 충분하지만 외과적 보수 없이 치유하기에 충분히 작은 RWM 내 천공을 생성한다. 미세바늘(들)에 근접한 미세카테터의 나머지 부분에는 정의된 역가(예컨대, 대략 1×10^{12} 내지 5×10^{13} vg/mL)에서 rAAV/인공 외립프 제형이 로딩된다. 마이크로카테터의 근위 단부는 대략 30 μL 내지 대략 100 μL 의 정확하고 적은 양의 주입을 허용하는 미세조작기에 연결된다.

[0657] 본 실시예는 또한 rAAV 입자를 포함하는 조성물이 정원창막(RWM)의 일관되고 안전한 침투를 위해 설계된 특수 마이크로카테터를 사용하여 대상체의 달팽이관으로 전달되는 것을 기재하며, 이는 "내이로 유체를 전달하기 위한 디바이스, 시스템 및 방법"에 기재되어 있고, 예컨대 WO 2021/242926을 참조하며, 이의 내용은 전문이 본 명세서에 참조에 의해 원용된다.

[0658] **실시예 6: 눈에 조성물의 적합한 전달을 위한 디바이스 설명**

[0659] 본 실시예는 또한 rAAV 입자를 눈에 전달하는 데 적합한 디바이스에 관한 것이다. rAAV 입자를 포함하는 조성물은 망막의 일관되고 안전한 침투를 위해 설계된 특수 마이크로카테터를 사용하여 대상의 눈에 전달된다. 마이크

로카테터는 전달 절차를 수행하는 외과외가 눈에 넣어 마이크로카테터의 끝을 망막과 접촉시킬 수 있도록 정형화되어 있다. 마이크로카테터의 원위 단부는 직경이 약 10 미크론 내지 약 1,000 미크론인 적어도 하나의 미세바늘을 포함할 수 있으며, 이는 기재된 바와 같은 rAAV 입자 작제물(예를 들어, 본 발명의 rAAV 구성을 포함함)이 내이를 손상시키지 않는 속도(예컨대, 생리학적으로 허용되는 속도, 예컨대, 대략 30 $\mu\text{L}/\text{min}$ 내지 대략 90 $\mu\text{L}/\text{min}$)로 눈에 진입할 수 있기에 충분하지만 외과적 복구 없이 치유되기에 충분히 작은 망막 내 천공을 생성한다. 미세바늘(들)에 근접한 미세카테터의 나머지 부분에는 정의된 역가(예컨대, 대략 1×10^{12} 내지 5×10^{13} vg/mL)에서 rAAV/인공 외립프 제형이 로딩된다. 마이크로카테터의 근위 단부는 대략 30 μL 내지 대략 100 μL 의 정밀하고 적은 부피의 주입을 허용하는 미세조작기에 연결된다.

[0660] 특히, 본 실시형태는 sub-RPE 또는 맥락막 위 주사를 피하기 위해 바이러스 주사 전에 작은 사전 수포를 생성하기 위해 현미경-통합 수술 중 광간섭 단층촬영(OCT)을 사용하는 것을 설명한다. 먼저, 피네스 루프를 사용하여 히알로이드를 염색 및 제거하고 부드러운 실리콘 팁으로 상승시킨다. 이어서, 균형을 이룬 염 용액을 망막하 공간에 주사하고 중심와 얹아짐을 확인하기 위해 OCT 스캔을 수행한다. 일단 수포가 만들어지면, 25-게이지 노-듀얼 보어 캐놀라를 사용하여 보레티젠을 도입한다. 이후에 중심와를 주의 깊게 모니터링하여 과도한 스트레칭과 황반 구멍 형성을 방지해야 한다. 공막 만입부는 말초 파손을 배제하는 데 사용될 수 있다. 마지막으로, 공기-유체 교환을 사용하여 바이러스를 제거한다. 예컨대, 문헌["OCT - Assisted Delivery of Luxturna" by Ninel Z Gregori and Janet Louise David, <https://www.aoa.org/clinical-video/oct-assisted-delivery-of-luxturna> (July 19, 2018)]을 참조하며, 이의 내용은 전문이 본 명세서에 참조에 의해 원용된다.

[0661] 다른 예로서, 본 명세서에 기재된 바와 같이, Orbit™ 망막하 전달 시스템(Orbit SDS)(Gyroscope Therapeutics)은 기재된 조성물을 안구에 투여 또는 도입하는 데 사용될 수 있다(예컨대, 문헌["Orbit Subretinal Delivery System Instructions for Use June 2020", <https://www.orbitsds.com/wp-content/uploads/2020/08/AW1009028-Rev.-D-US-IFU-No-Cut-Lines.pdf>]을 참조하고, 이의 내용은 전문이 본 명세서에 참조에 의해 원용된다). 요약하면, 먼저 디바이스 배치를 위해 안구 부위를 준비한다. 다음에, 블레이드를 사용하여, 공막 절개부를 만들어 맥락막을 노출시킨다. 절개부는 맥락막에 인접한 길이 약 3mm일 수 있다. 이어서, 조성물을 눈으로 흐르게 하는 바늘의 전진을 위해 디바이스를 배치한다. 집계를 사용하여 유연한 캐놀라를 눈에 삽입한다. 삽입하기 전에, 망막하 전달 디바이스 몸체를 눈 쪽으로 밀어 추가의 여유부를 제공하고 눈의 곡률에 대한 접선 경로를 유지시킨다. 튜브형 집계로 공막 절개술의 후방 입술 중앙을 잡고 눈에서 멀어지게 당기는 동안, 유연한 캐놀라를 공막 절개술로 삽입하고 원위 팁으로부터 5mm에 위치한 첫 번째 해시 마크까지 전진한 다음 멈춘다.

[0662] 실시예 7: 세포주로부터 생산된 CLRN1 단백질의 발현

[0663] 본 실시예는 예시적인 작제물의 형질도입 및/또는 형질주입, 및 본 명세서에 기재된 예시적인 단백질의 발현에 관한 것이다.

[0664] 세포주(예컨대, HEK293FT)에는 본 명세서에 기재된 바와 같이 2가지 유형의 예시적인 예시적인 rAAV Anc80-CLRN1 입자(rAAV Anc80-CLRN1wt 입자 및 rAAV Anc80-CLRN1 코돈-최적화된 입자)로 형질도입하였다. 형질주입 이벤트를 위하여, HEK293FT 세포를 배양 부피가 500 μL 인 24-웰 플레이트 포맷에서 1.5×10^5 세포/웰로 하룻밤 파종하였다. 대략 800ng의 CLRN1 작제물(실시예 1에 기재된 바와 같음)을 jetprime 형질주입 시약(Polyplus-transfection® SA)을 사용하여 세포에 형질주입시켰다. 형질도입 이벤트를 위하여, HEK293FT 세포를 2 μM 에토포사이드(Fisher Scientific 34120525MG)의 존재하에 배양 부피가 50 μL 인 96-웰 플레이트 포맷에서 4×10^4 세포/웰로 6시간 동안 파종하고, 예시적인 rAAV Anc80-CLRN1 입자(실시예 1에 기재된 바와 같음)를 6.7×10^4 , 1.3×10^5 또는 2.3×10^5 의 MOI로 (표시된 바와 같은 PNGase F 처리와 함께) 배지에 첨가하였다. 형질도입된 세포의 경우, 각 샘플에 대해 처리 후 72시간에 상청액을 수거하였다. 단백질 발현 분석을 위하여, 30 μL 의 샘플을 4-12% Bis-Tris 단백질 겔의 개별 웰에 로딩하고, 당업계에 공지된 바와 같은 표준 웨스턴 블롯팅 절차를 수행하였다. 밴딩 패턴은, 1차 검출 프로브로서의 테스트 항-CLRN1 항체(CLRN1 polyclonal Ab Thermofisher AB2042)와 2차 검출 항체로서의 항-인간 IgG를 이용해서, 형광 판독기를 사용하여 결정하였다(도 17 참조). 글리코실화된 CLRN1 아이소형 A 및 탈글리코실화된 CLRN1 아이소형 A 밴드가 나타나 있다(도 17 참조).

[0665] 실시예 8: CLRN1 단백질 생산의 생체 외 증명

[0666] 본 실시예는 시험관 내 또는 생체 외 성장된 포유동물 달팽이관 외식편에서 CLRN1 단백질을 발현하는 rAAV 작제

물의 도입 및 발현 분석에 관한 것이다. 달팽이관 이식편 배양 모델은, 생체 내에서 발견되는 고유한 세포 환경 내에서 rAAV 입자의 형질도입 및 발현을 연구하기 위하여, 달팽이관의 감각 유모세포 및 비감각 지지세포의 형태 및 분자 특성을 모방하는 신뢰할 수 있는 실험 시스템을 제공할 수 있다.

[0667] 본 명세서에서는 (실시예 1에 기재된 바와 같이) 작제물 rAAV-CLRN1을 포함하는 rAAV(예컨대, rAAV Anc80) 입자에 의해 형질도입된 WT 신생아 마우스 달팽이관 외식편으로부터의 CLRN1 단백질 발현의 생체 외 평가가 기재된다. 이러한 실험에서, 코르티 기관을 절개하여, 커버슬립 상에 놓은 다음, 비히클 또는 소정 범위의 용량의 rAAV 입자를 3 내지 4일 동안 인큐베이션시켰다 - 예컨대, rAAV Anc80-CLRN1 입자를 1.0×10^{10} vg/외식편 또는 3.0×10^{10} vg/외식편으로 형질도입시켰다.

[0668] 외식편을 수거하고, GAPDH(하우스키핑 대조군) 및 CLRN1 단백질 인코딩 뉴클레오타이드(CLRN1을 인코딩하는 mRNA 산물)에 대해서 Taqman 프라이머-프로브를 사용하는 정량적 실시간 폴리머라제 연쇄 반응(qRT-PCR)을 사용하여 리보핵산(RNA) 발현 분석을 위하여 용해시켰다(도 18A).

[0669] CLRN1 RNA는 rAAV Anc80-CLRN1 입자를 받은 외식편에서 검출되었지만, 모의에서는 검출되지 않았다(도 18A). 이들 데이터는 CLRN1 단백질을 인코딩하는 작제물을 포함하는 rAAV Anc80-CLRN1 입자를 WT 마우스 달팽이관에 생체 외로 투여하면 형질도입된 세포로부터 인간 CLRN1 RNA의 발현을 얻는 것을 시사한다. 도 18B는 외식편에서 CLRN1 단백질의 발현을 묘사하는 형광 이미지를 나타낸다.

[0670] 예시적인 실시형태

[0671] 실시형태 1. 프로모터에 작동 가능하게 연결된 코딩 서열을 포함하는 조성물로서, 상기 코딩 서열은 클라린 1 단백질을 인코딩하는, 작제물.

[0672] 실시형태 2. 실시형태 1에 있어서, 상기 코딩 서열은 CLRN1 유전자인, 작제물.

[0673] 실시형태 3. 실시형태 2에 있어서, 상기 CLRN1 유전자는 영장류 CLRN1 유전자인, 작제물.

[0674] 실시형태 4. T실시형태 2 또는 3에 있어서, 상기 CLRN1 유전자는 인간 CLRN1 유전자인, 작제물.

[0675] 실시형태 5. 실시형태 4에 있어서, 상기 인간 CLRN1 유전자는 서열번호 1, 서열번호 2, 서열번호 3, 서열번호 4, 서열번호 5, 또는 서열번호 19에 따른 핵산 서열을 포함하는, 작제물.

[0676] 실시형태 6. 실시형태 4 또는 5에 있어서, 상기 인간 CLRN1 유전자는 서열번호 1에 따른 핵산 서열을 포함하는, 작제물.

[0677] 실시형태 7. 실시형태 4 또는 5에 있어서, 상기 인간 CLRN1 유전자는 서열번호 19에 따른 핵산 서열을 포함하는, 작제물.

[0678] 실시형태 8 실시형태 1에 있어서, 상기 클라린 1 단백질은 영장류 클라린 1 단백질인, 작제물.

[0679] 실시형태 9. 실시형태 1 또는 8에 있어서, 상기 클라린 1 단백질은 인간 클라린 1 단백질인, 작제물.

[0680] 실시형태 10. 실시형태 9에 있어서, 상기 클라린 1 단백질은 서열번호 10에 따른 아미노산 서열을 포함하는, 작제물.

[0681] 실시형태 11. 청구항 1 내지 10 중 어느 하나에 있어서, 상기 프로모터는 유도성 프로모터, 구성적 프로모터 또는 조직-특이적 프로모터인, 작제물.

[0682] 실시형태 12. 실시형태 1 내지 11에 있어서, 상기 프로모터는 내이 세포-특이적 프로모터인, 작제물.

[0683] 실시형태 13. 실시형태 12에 있어서, 상기 내이 세포-특이적 프로모터는 GJB2 프로모터, GJB6 프로모터, CLRN1 프로모터,TECTA 프로모터, DFNA5 프로모터, COCH 프로모터, NDP 프로모터, SYN1 프로모터, GFAP 프로모터, PLP 프로모터, TAK1 프로모터, SOX21 프로모터, SOX2 프로모터, FGFR3 프로모터, PROX1 프로모터, GLAST1 프로모터, LGR5 프로모터, HES1 프로모터, HES5 프로모터, NOTCH1 프로모터, JAG1 프로모터, CDKN1A 프로모터, CDKN1B 프로모터, SOX10 프로모터, P75 프로모터, CD44 프로모터, HEY2 프로모터, LFNG 프로모터 또는 S100b 프로모터인, 작제물.

[0684] 실시형태 14. 실시형태 1 내지 11 중 어느 하나에 있어서, 상기 프로모터는 안구 세포-특이적 프로모터인, 작제물.

- [0685] 실시형태 15. 실시형태 14에 있어서, 상기 세포-특이적 프로모터는 CLRN1 프로모터, RPE65 프로모터, RLBP1 프로모터, VMD2 프로모터, IRBP 프로모터, GNAT2 프로모터, PR1.7 프로모터, PR2.1 프로모터, HB569 프로모터, CAR 프로모터, GRK1 프로모터, RK 프로모터, B-PDE 프로모터, GRM6 프로모터, Nefh 프로모터, Tyh1 프로모터, SYN 프로모터, GFAP 프로모터, 또는 다른 옵션 또는 로돕신 프로모터인, 작제물.
- [0686] 실시형태 16. 실시형태 1 내지 15 중 어느 하나에 있어서, 상기 프로모터는 CAG 프로모터, CBA 프로모터, CMV 프로모터 또는 CB7 프로모터인, 작제물.
- [0687] 실시형태 17. 실시형태 12 또는 14에 있어서, 상기 프로모터는 서열번호 23에 따른 핵산 서열을 포함하는, 작제물.
- [0688] 실시형태 18. 실시형태 1 내지 17 중 어느 하나에 있어서, 폴리아데닐화 서열을 더 포함하는, 작제물.
- [0689] 실시형태 19. 실시형태 18에 있어서, 상기 폴리아데닐화 서열은 ATTAAA, AGTAAA, CATAAA, TATAAA, GATAAA, ACTAAA, AATATA, AAGAAA, AATAAT, AAAAAA, AATGAA, AATCAA, AACAAA, AATCAA, AATAAC, AATAGA, AATTAA 또는 AATAAG인, 작제물.
- [0690] 실시형태 20. 실시형태 18에 있어서, 상기 폴리아데닐화 서열은 서열번호 44 또는 서열번호 45에 따른 서열을 포함하는, 작제물.
- [0691] 실시형태 21. 실시형태 18에 있어서, 상기 폴리아데닐화 서열은 서열번호 44에 따른 서열을 포함하는, 작제물.
- [0692] 실시형태 22. 실시형태 1 내지 21 중 어느 하나에 있어서, 2개의 AAV 역위 말단 반복부(ITR)를 더 포함하되, 2개의 AAV ITR은 코딩 서열 및 프로모터에 측접하는, 작제물.
- [0693] 실시형태 23. 실시형태 22에 있어서, 상기 2개의 AAV ITR는 AAV2 ITR이거나 또는 이로부터 유래되는, 작제물.
- [0694] 실시형태 24. 실시형태 22에 있어서, 상기 2개의 AAV ITR는,
- [0695] 서열번호 21에 따른 핵산 서열을 포함하는 5' ITR 및 서열번호 22에 따른 핵산 서열을 포함하는 3' ITR을 포함하는, 작제물.
- [0696] 실시형태 25. 실시형태 1에 있어서, 상기 작제물은 서열번호 64에 따른 핵산 서열을 포함하는, 작제물.
- [0697] 실시형태 26. 실시형태 1에 있어서, 상기 작제물은 서열번호 68에 따른 핵산 서열을 포함하는, 작제물.
- [0698] 실시형태 27. 실시형태 1 내지 26 중 어느 하나의 작제물을 포함하는 AAV 입자.
- [0699] 실시형태 28. 실시형태 27에 있어서, AAV 캡시드를 더 포함하되, 상기 AAV 캡시드는 AAV2, AAV3, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAV9, AAV10, AAV-rh8, AAV-rh10, AAV-rh39, AAV-rh43 또는 AAV Anc80 캡시드이거나 또는 이로부터 유래되는, AAV 입자.
- [0700] 실시형태 29. 실시형태 28에 있어서, 상기 AAV 캡시드는 AAV Anc80 캡시드인, AAV 입자.
- [0701] 실시형태 30. 실시형태 1 내지 26 중 어느 하나의 작제물을 포함하는 조성물.
- [0702] 실시형태 31. 실시형태 27 내지 29 중 어느 하나의 AAV 입자를 포함하는 조성물.
- [0703] 실시형태 32. 실시형태 30 또는 31에 있어서, 상기 조성물은 약제학적 조성물인, 조성물.
- [0704] 실시형태 33. 실시형태 32에 있어서, 약제학적으로 허용 가능한 담체를 더 포함하는, 조성물.
- [0705] 실시형태 34. 실시형태 30 또는 31 중 어느 하나의 조성물을 포함하는 생체 외 세포.
- [0706] 실시형태 35. 방법으로서, 생체 외 세포를,
- [0707] (i) 실시형태 22 내지 26 중 어느 하나의 작제물; 및
- [0708] (ii) AAV Rep 유전자, AAV Cap 유전자, AAV VA 유전자, AAV E2a 유전자 및 AAV E4 유전자를 일괄적으로 포함하는 하나 이상의 헬퍼 플라스미드로 형질주입시키는 단계를 포함하는, 방법.
- [0709] 실시형태 36. 하기를 포함하는, 방법:
- [0710] 실시형태 1 내지 26 중 어느 하나의 작제물, 실시형태 27 내지 29 중 어느 하나의 입자 중 어느 하나의 입자, 또는 실시형태 32 또는 33의 조성물의 조성물을 대상체의 내이에 도입하는 단계를 포함하는, 방법.

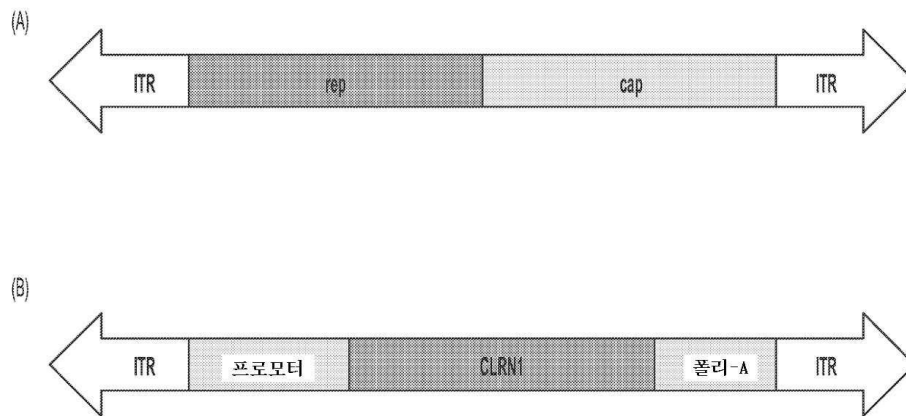
- [0711] 실시형태 37. 하기를 포함하는 치료 방법:
- [0712] 실시형태 1 내지 26 중 어느 하나의 작제물, 실시형태 27 내지 29, 또는 실시형태 32 또는 33의 조성물을 대상체의 내이에 도입하는 단계를 포함하는, 방법.
- [0713] 실시형태 38. 어서 증후군 유형 III을 치료하는 방법으로서,
- [0714] 실시형태 1 내지 26 중 어느 하나의 작제물, 실시형태 27 내지 29 중 어느 하나의 입자, 또는 실시형태 32 또는 33의 조성물을 대상체의 내이에 도입하는 단계를 포함하는, 방법.
- [0715] 실시형태 39. 청력손실을 치료하는 방법으로서,
- [0716] 실시형태 1 내지 26 중 어느 하나의 작제물, 실시형태 27 내지 29 중 어느 하나의 입자, 또는 실시형태 32 또는 33의 조성물을 대상체의 내이에 도입하는 단계를 포함하는, 방법.
- [0717] 실시형태 40. 귀먹음을 치료하는 방법으로서,
- [0718] 실시형태 1 내지 26 중 어느 하나의 작제물, 실시형태 27 내지 29 중 어느 하나의 입자, 또는 실시형태 32 또는 33의 조성물을 대상체의 내이에 도입하는 단계를 포함하는, 방법.
- [0719] 실시형태 41. 실시형태 36 내지 40 중 어느 하나에 있어서, 실시형태 32 또는 33의 조성물은 상기 대상체의 달팽이관에 도입되는, 방법.
- [0720] 실시형태 42. 실시형태 36 내지 41 중 어느 하나에 있어서, 실시형태 32 또는 33의 조성물은 정원창막 주사(round window membrane injection)를 통해 도입되는, 방법.
- [0721] 실시형태 43. 실시형태 36 내지 42 중 어느 하나에 있어서, 상기 대상체의 청력 수준을 측정하는 단계를 더 포함하는, 방법.
- [0722] 실시형태 44. 실시형태 43에 있어서, 청력 수준은 청성뇌간반응(ABR) 검사를 수행함으로써 측정되는, 방법.
- [0723] 실시형태 45. 실시형태 43 또는 44에 있어서, 상기 대상체의 청력 수준을 참조 청력 수준과 비교하는 단계를 더 포함하는, 방법.
- [0724] 실시형태 46. 실시형태 45에 있어서, 상기 참조 청력 수준은 공개된 또는 과거(published or historical) 참조 청력 수준인, 방법.
- [0725] 실시형태 47. 실시형태 45에 있어서, 상기 대상체의 청력 수준은 실시형태 32 또는 33의 조성물이 도입된 후에 측정되고, 상기 참조 청력 수준은 실시형태 32 또는 33의 조성물이 도입되기 전에 측정된 상기 대상체의 청력 수준인, 방법.
- [0726] 실시형태 48. 실시형태 36 내지 47 중 어느 하나에 있어서, 상기 대상체의 클라린 1 단백질의 수준을 측정하는 단계를 더 포함하는, 방법.
- [0727] 실시형태 49. 실시형태 48에 있어서, 상기 클라린 1 단백질의 수준은 상기 대상체의 내이에서 측정되는, 방법.
- [0728] 실시형태 50. 실시형태 48 또는 49에 있어서, 클라린 1 단백질의 수준은 상기 대상체의 달팽이관에서 측정되는, 방법.
- [0729] 51. 실시형태 48 내지 50 중 어느 하나에 있어서, 상기 대상체의 클라린 1 단백질의 수준을 참조 클라린 1 단백질 수준과 비교하는 단계를 더 포함하는, 방법.
- [0730] 실시형태 52. 실시형태 49에 있어서, 상기 참조 청력 수준은 공개된 또는 과거 참조 클라린 1 단백질 수준인, 방법.
- [0731] 실시형태 53. 실시형태 45에 있어서, 상기 대상체의 클라린 1 단백질의 수준은 실시형태 32 또는 33의 조성물이 도입된 후에 측정되고, 상기 참조 클라린 1 단백질 수준은 실시형태 32 또는 33의 조성물이 도입되기 전에 측정된 대상체의 클라린 1 단백질 수준인, 방법.
- [0732] 실시형태 54. 방법으로서,
- [0733] 실시형태 1 내지 26 중 어느 하나의 작제물, 실시형태 27 내지 29 중 어느 하나의 입자, 또는 실시형태 32 또는 33의 조성물을 대상체의 눈에 도입하는 단계를 포함하는, 방법.

- [0734] 실시형태 55. 치료 방법으로서,
- [0735] 실시형태 1 내지 26 중 어느 하나의 작제물, 실시형태 27 내지 29 중 어느 하나의 입자, 또는 실시형태 32 또는 33의 조성물을 대상체의 눈에 도입하는 단계를 포함하는, 방법.
- [0736] 실시형태 56. 어서 증후군 유형 III을 치료하는 방법으로서,
- [0737] 실시형태 1 내지 26 중 어느 하나의 작제물, 실시형태 27 내지 29 중 어느 하나의 입자, 또는 실시형태 32 또는 33의 조성물을 대상체의 눈에 도입하는 단계를 포함하는, 방법.
- [0738] 실시형태 57. 시력손실을 치료하는 방법으로서,
- [0739] 실시형태 1 내지 26 중 어느 하나의 작제물, 실시형태 27 내지 29 중 어느 하나의 입자, 또는 실시형태 32 또는 33의 조성물을 대상체의 눈에 도입하는 단계를 포함하는, 방법.
- [0740] 실시형태 58. 망막색소변성증을 치료하는 방법으로서,
- [0741] 실시형태 1 내지 26 중 어느 하나의 작제물, 실시형태 27 내지 29 중 어느 하나의 입자, 또는 실시형태 32 또는 33의 조성물을 대상체의 눈에 도입하는 단계를 포함하는, 방법.
- [0742] 실시형태 59. 실시형태 54 내지 59 중 어느 하나에 있어서, 실시형태 32 또는 33의 조성물이 안구 주사를 통해서 도입되는, 방법.
- [0743] 실시형태 60. 실시형태 54 내지 59 중 어느 하나에 있어서, 상기 대상체의 시력 수준을 측정하는 단계를 더 포함하는, 방법.
- [0744] 실시형태 61. 실시형태 60에 있어서, 청력 수준은 시력 검사를 수행함으로써 측정되는, 방법.
- [0745] 실시형태 62. 실시형태 60 또는 61에 있어서, 상기 대상체의 시력 수준을 참조 시력 수준과 비교하는 단계를 더 포함하는, 방법.
- [0746] 실시형태 63. 실시형태 62에 있어서, 상기 참조 시력 수준은 공개된 또는 과거 참조 시력 수준인, 방법.
- [0747] 실시형태 64. 실시형태 62에 있어서, 상기 대상체의 시력 수준은 실시형태 32 또는 33의 조성물을 도입한 후에 측정되고, 상기 참조 시력 수준은 실시형태 32 또는 33의 조성물을 도입하기 전에 측정된 상기 대상체의 시력 수준인, 방법.
- [0748] 실시형태 65. 실시형태 54 내지 64 중 어느 하나에 있어서, 상기 대상체의 클라린 1 단백질의 수준을 측정하는 단계를 더 포함하는, 방법.
- [0749] 실시형태 66. 실시형태 65에 있어서, 클라린 1 단백질의 수준은 상기 대상체의 눈에서 측정되는, 방법.
- [0750] 실시형태 67. 실시형태 65 또는 66 중 어느 하나에 있어서, 상기 대상체의 클라린 1 단백질의 수준을 참조 클라린 1 단백질 수준과 비교하는 단계를 더 포함하는, 방법.
- [0751] 실시형태 68. 실시형태 67에 있어서, 상기 참조 시력 수준은 공개된 또는 과거 참조 클라린 1 단백질 수준인, 방법.
- [0752] 실시형태 69. 실시형태 68에 있어서, 대상체에서 클라린 1 단백질의 수준은 실시형태 32 또는 33의 조성물이 도입된 후에 측정되고, 참조 클라린 1 단백질 수준은 실시형태 32 또는 33의 조성물이 도입되기 전에 측정된 대상체의 클라린 1 단백질 수준인, 방법.
- [0753] 실시형태 70. 청력손실을 앓고 있거나 이의 위험이 있는 대상체에서 청력손실의 치료를 위한, 실시형태 1 내지 26 중 어느 하나의 작제물, 실시형태 27 내지 29 중 어느 하나의 AAV 입자, 또는 실시형태 30 내지 33 중 어느 하나의 조성물의 용도.
- [0754] 실시형태 71. 청력손실의 치료를 위한 의약의 제조에서의, 실시형태 1 내지 26 중 어느 하나의 작제물, 실시형태 27 내지 29 중 어느 하나의 AAV 입자, 또는 실시형태 30 내지 33 중 어느 하나의 조성물의 용도.
- [0755] 실시형태 72. 시력손실을 앓고 있거나 이의 위험이 있는 대상체에서 시력손실의 치료를 위한, 실시형태 1 내지 26 중 어느 하나의 작제물, 실시형태 27 내지 29 중 어느 하나의 AAV 입자, 또는 실시형태 30 내지 33 중 어느 하나의 조성물의 용도.

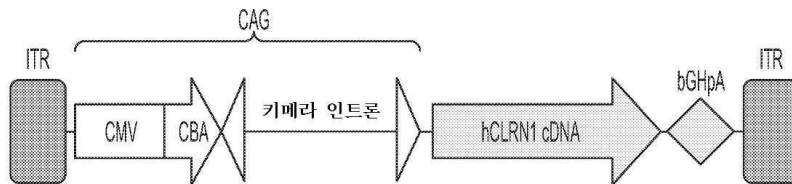
- [0756] 실시형태 73. 시력손실의 치료를 위한 의약의 제조에서의, 실시형태 1 내지 26 중 어느 하나의 작제물, 실시형태 27 내지 29 중 어느 하나의 AAV 입자, 또는 실시형태 30 내지 33 중 어느 하나의 조성물의 용도.
- [0757] 실시형태 74. 어서 증후군 유형 III을 앓고 있거나 이의 위험이 있는 대상체에서 어서 증후군 유형 III의 치료를 위한, 실시형태 1 내지 26 중 어느 하나의 작제물, 실시형태 27 내지 29 중 어느 하나의 AAV 입자, 또는 실시형태 30 내지 33 중 어느 하나의 조성물의 용도.
- [0758] 실시형태 75. 망막색소변성증을 앓고 있거나 이의 위험이 있는 대상체에서 망막색소변성증의 치료를 위한, 실시형태 1 내지 26 중 어느 하나의 작제물, 실시형태 27 내지 29 중 어느 하나의 AAV 입자, 또는 실시형태 30 내지 33 중 어느 하나의 조성물의 용도.
- [0759] 실시형태 76. 어서 증후군 유형 III의 치료를 위한 의약의 제조에서의, 실시형태 1 내지 26 중 어느 하나의 작제물, 실시형태 27 내지 29 중 어느 하나의 AAV 입자, 또는 실시형태 30 내지 33 중 어느 하나의 조성물의 용도.
- [0760] 실시형태 77. 망막색소변성증의 치료를 위한 의약의 제조에서의, 실시형태 1 내지 26 중 어느 하나의 작제물, 실시형태 27 내지 29 중 어느 하나의 AAV 입자, 또는 실시형태 30 내지 33 중 어느 하나의 조성물의 용도.
- [0761] 실시형태 78. 의약으로서 사용하기 위한, 실시형태 1 내지 26 중 어느 하나의 작제물, 실시형태 27 내지 29 중 어느 하나의 AAV 입자, 또는 실시형태 30 내지 33 중 어느 하나의 조성물.
- [0762] 실시형태 79. 청력손실의 치료에 사용하기 위한, 실시형태 1 내지 26 중 어느 하나의 작제물, 실시형태 27 내지 29 중 어느 하나의 AAV 입자, 또는 실시형태 30 내지 33 중 어느 하나의 조성물.
- [0763] 실시형태 80. 시력손실의 치료에 사용하기 위한, 실시형태 1 내지 26 중 어느 하나의 작제물, 실시형태 27 내지 29 중 어느 하나의 AAV 입자, 또는 실시형태 30 내지 33 중 어느 하나의 조성물.
- [0764] 실시형태 81. 어서 증후군 유형 III의 치료에 사용하기 위한, 실시형태 1 내지 26 중 어느 하나의 작제물, 실시형태 27 내지 29 중 어느 하나의 AAV 입자, 또는 실시형태 30 내지 33 중 어느 하나의 조성물.
- [0765] 실시형태 82. 망막색소변성증의 치료에 사용하기 위한, 실시형태 1 내지 26 중 어느 하나의 작제물, 실시형태 27 내지 29 중 어느 하나의 AAV 입자, 또는 실시형태 30 내지 33 중 어느 하나의 조성물.
- [0766] 실시형태 83. 실시형태 30 내지 33 중 어느 하나의 조성물을 포함하는 키트.
- [0767] 실시형태 84. 실시형태 83에 있어서, 상기 조성물은 디바이스에 사전 로딩되는, 키트.
- [0768] 실시형태 85. 실시형태 84에 있어서, 상기 디바이스는 마이크로카테터인, 키트.
- [0769] 실시형태 86. 실시형태 85에 있어서, 상기 마이크로카테터는, 외이도를 통해서 중이강에 진입하여 상기 마이크로카테터의 단부를 RWM과 접촉시킬 수 있도록 정형화되는, 키트.
- [0770] 실시형태 87. 실시형태 85 또는 86에 있어서, 상기 마이크로카테터의 원위 단부는 10 내지 1,000 미크론의 직경을 갖는 적어도 하나의 미세바늘로 구성되는, 키트.
- [0771] 실시형태 88. 실시형태 83 내지 87 중 어느 하나에 있어서, 디바이스를 더 포함하는, 키트.
- [0772] 실시형태 89. 실시형태 88에 있어서, 상기 디바이스는 도 21 내지 24에 기재된 디바이스 또는 WO 2021/242926에 기재된 바와 같은 디바이스인, 키트.
- [0773] 실시형태 90. 실시형태 89에 있어서, 상기 디바이스는 구부러진 부분 및 각진 팁을 포함하는 바늘을 포함하는, 키트.

도면

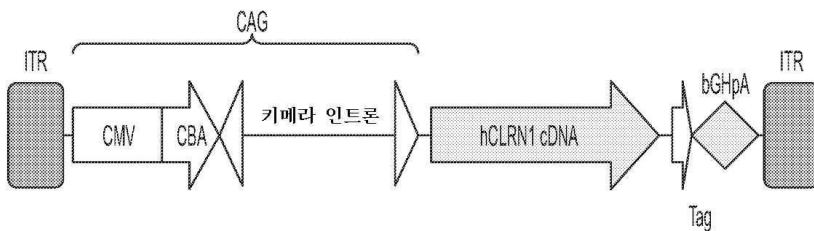
도면1



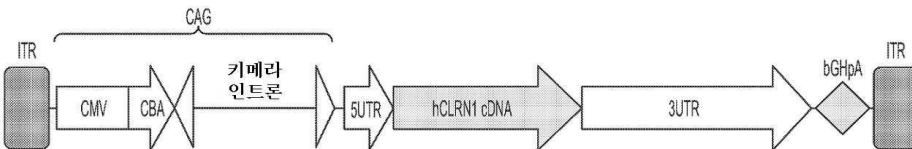
도면2



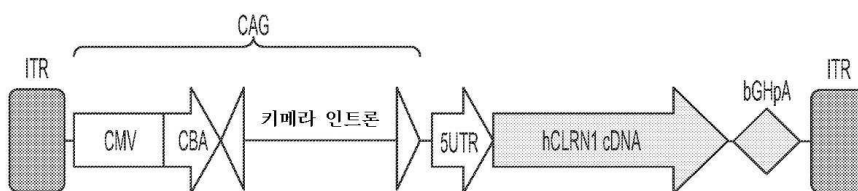
도면3



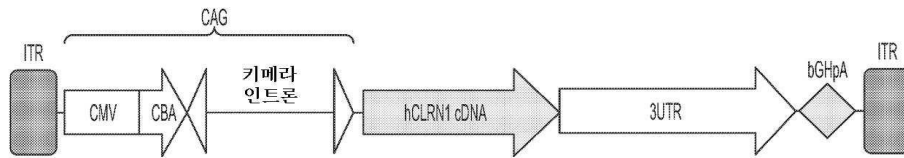
도면4



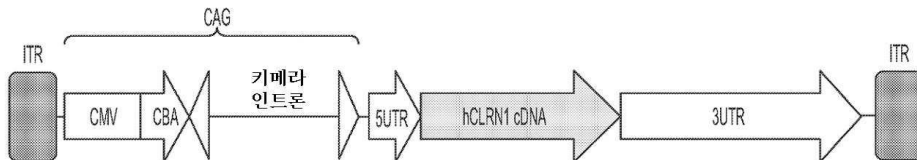
도면5



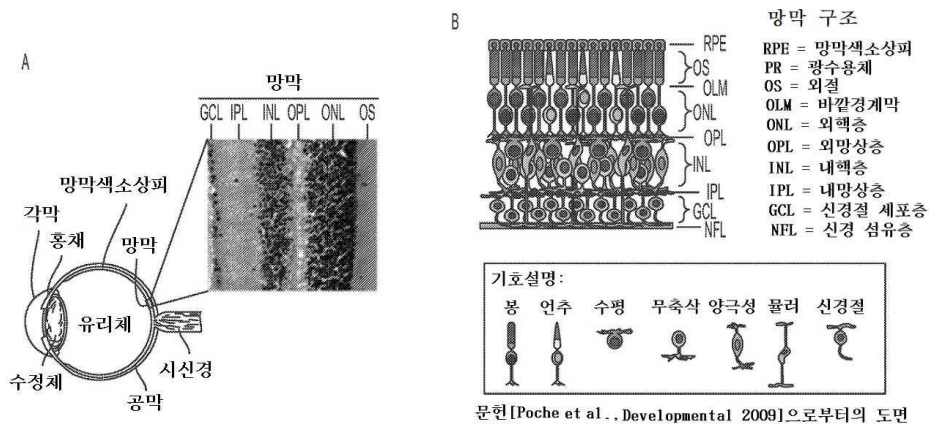
도면6



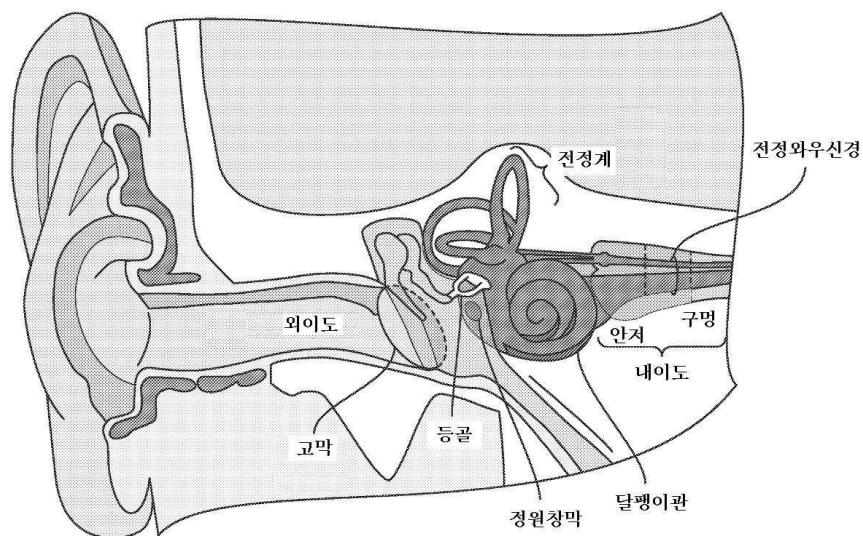
도면7



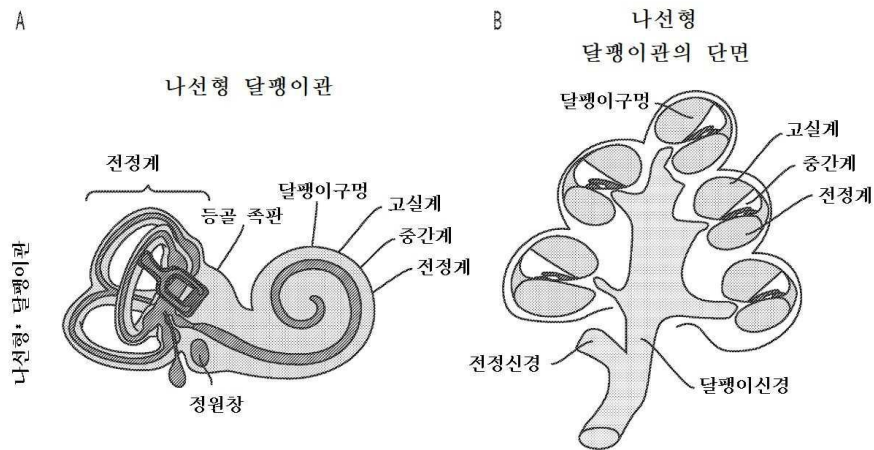
도면8



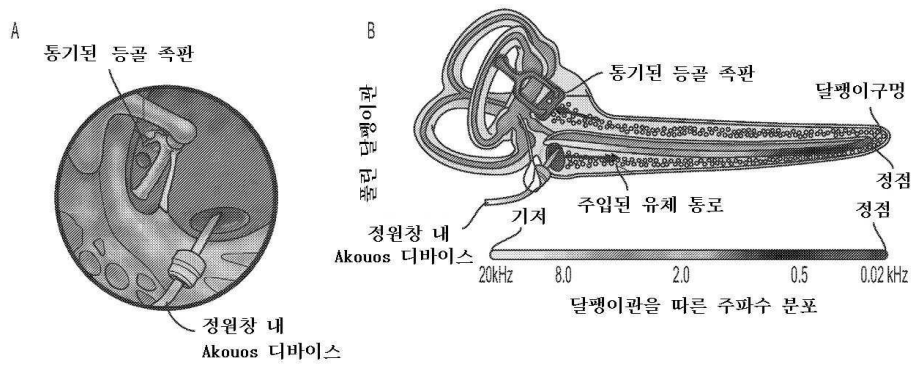
도면9



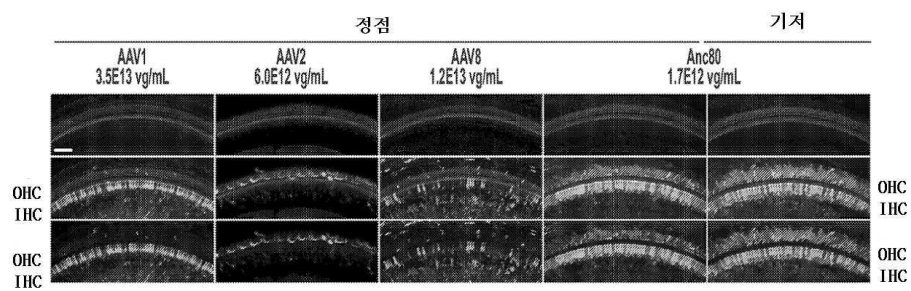
도면10



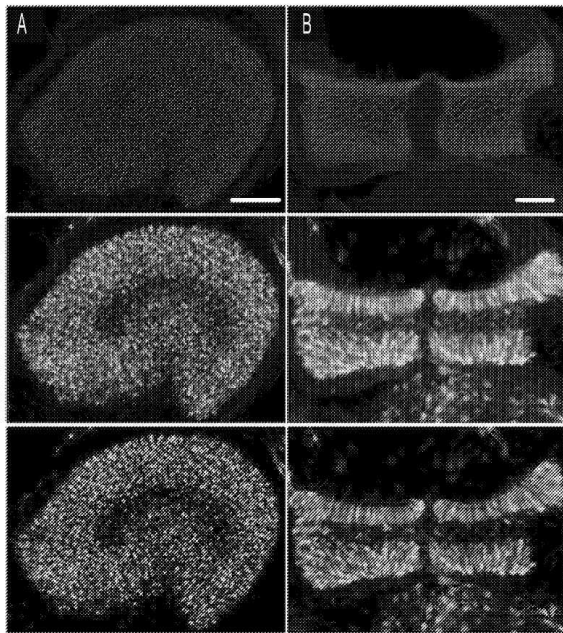
도면11



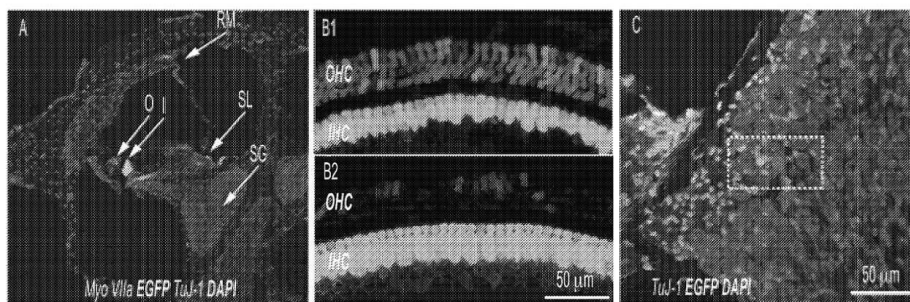
도면12



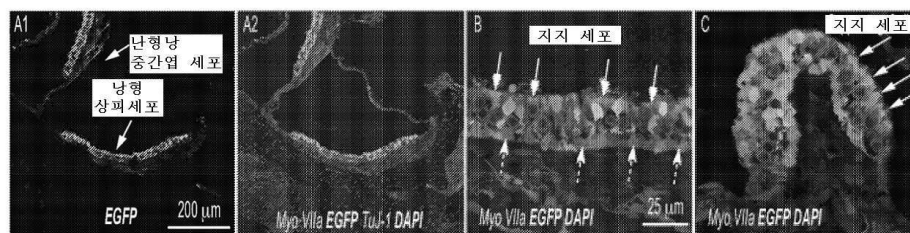
도면13



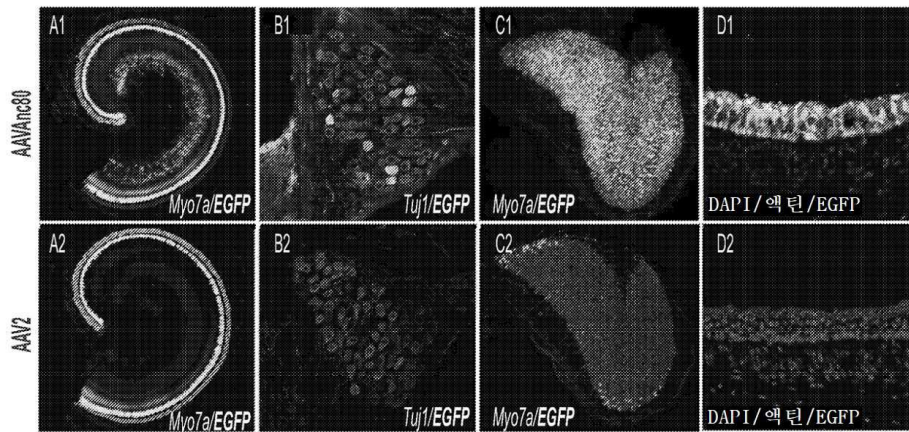
도면14



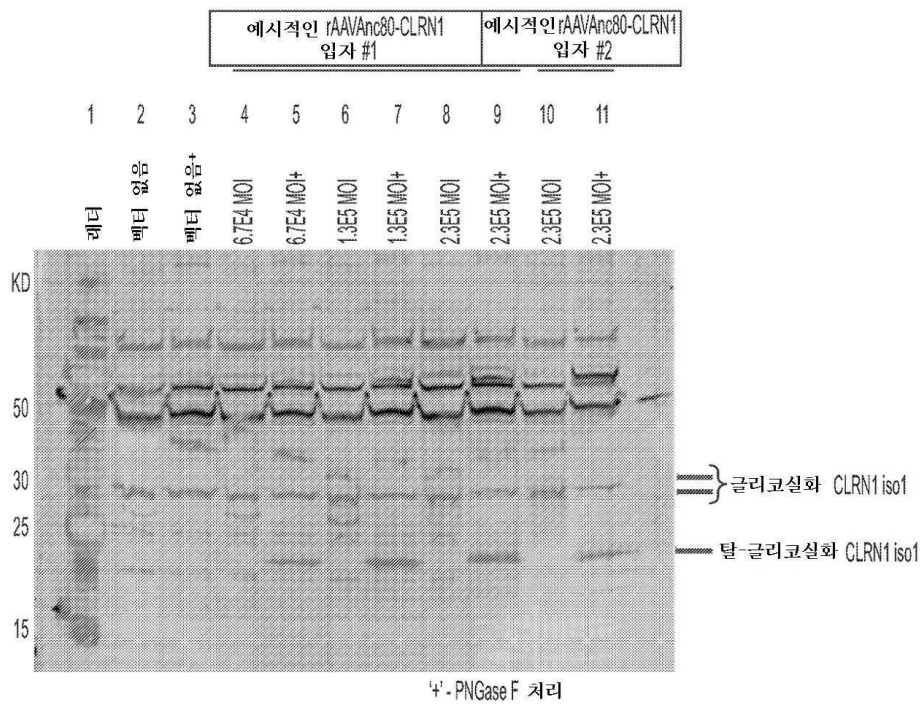
도면15



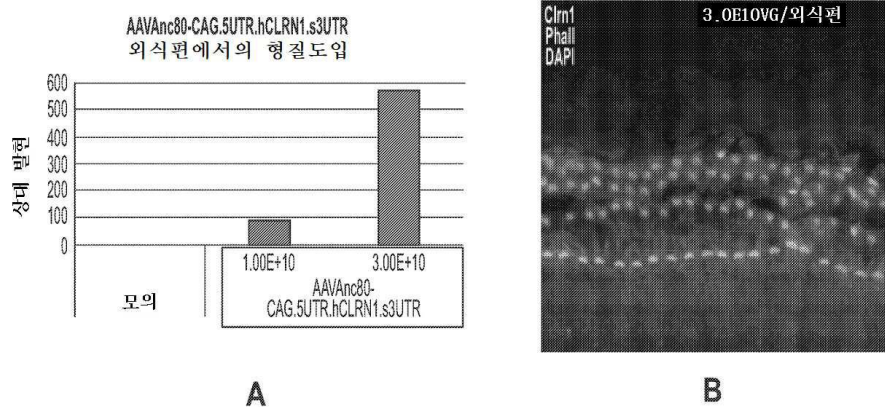
도면16



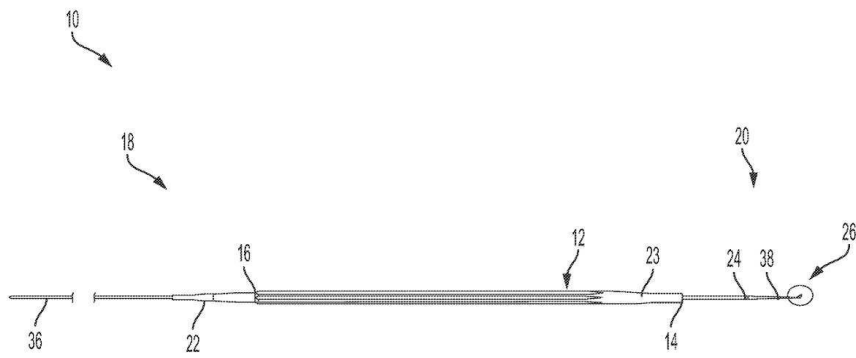
도면17



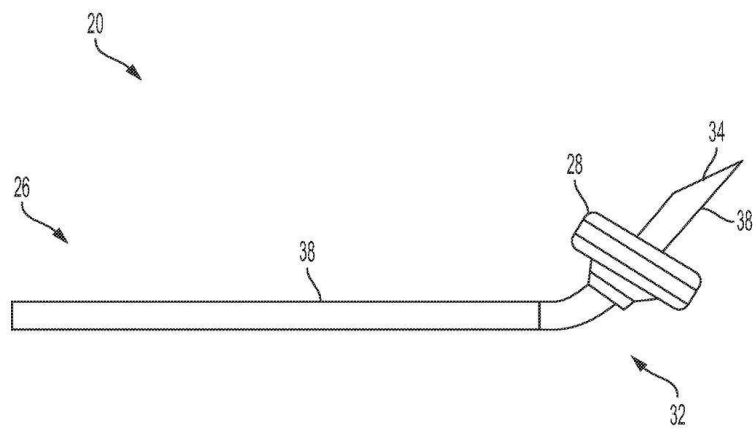
도면18



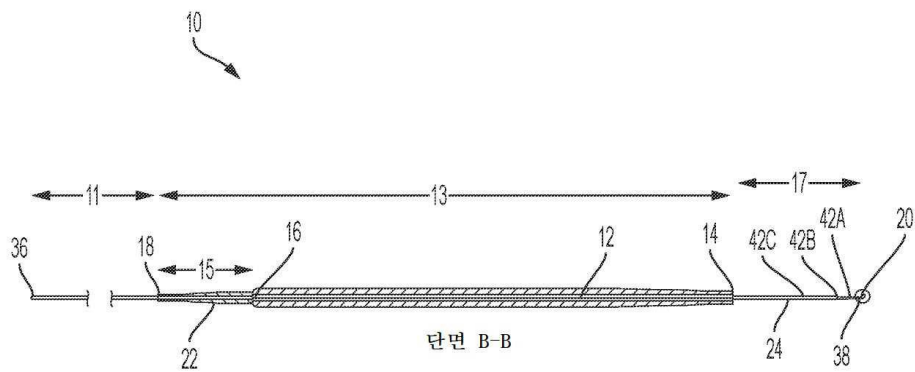
도면19



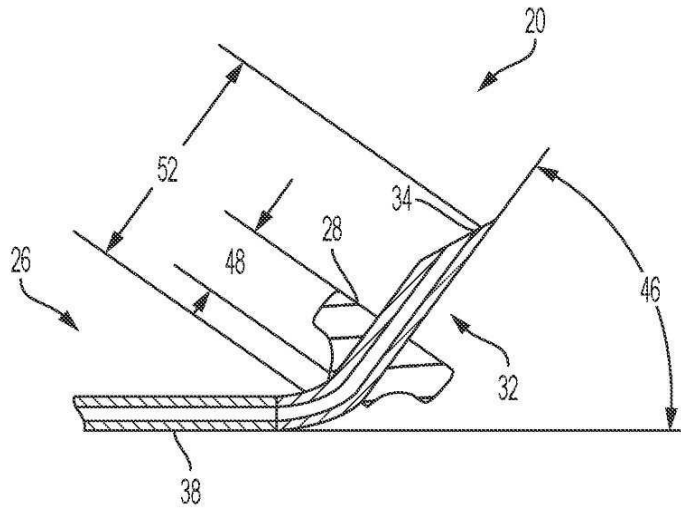
도면20



도면21



도면22



서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> AKOUOS, INC.

<120> COMPOSITIONS AND METHODS FOR TREATING CLRN1-ASSOCIATED HEARING

LOSS AND/OR VISION LOSS

<130> 2013615-0214

<140> PCT/US2021/064924

<141> 2021-12-22

<150> US63/131,413

<151> 2020-12-29

<160> 71

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 696

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 1

atgccaagcc aacagaagaa aatcattttt tgcattggccg gagtggttcag ttttgcatgt 60

gccctcggag ttgtgacagc cttggggaca cgtttgtgga tcaaagccac tgcctctgc 120

aaaacgggag ctctgctcgt caatgcctca gggcaggagc tggacaagtt tatgggtgaa 180

atgcagtacg ggcttttcca cggagagggt gtgaggcagt gtgggttggg agcaaggccc 240

ttctcggttct cattttttcc agatttgctc aaagcaatcc cagttagcat ccacgtcaat 300
 gtcattctct tctctgcat ccttattgtg ttaacatgg tggggacagc cttcttcattg 360
 tacaatgctt ttggaaaacc ttttgaaact ctgcatggtc ccctagggt gtaccttttg 420
 agcttcattt caggctcctg tggcgtctt gtcattgatat tgtttgcctc tgaagtgaag 480
 atccatcacc tctcagaaaa aattgcaaat tataaagaag ggacttatgt ctacaaaacg 540

 caaagtgaag aatataccac ctcatcttgg gtcattttct tttgcttttt tgttcatttt 600
 ctgaatgggc tctaatagc acttgctgga ttccagttcc cttttgcaaa atctaagac 660
 gcagaaacaa ctaattagc tgcagatcta atgtac 696

 <210> 2
 <211> 363
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 2
 atgcaggccc tgcagcagca accagttttt ccagatttgc tcaaagcaat cccagttagc 60
 atccacgtca atgtcattct cttctctgcc atccttattg tgttaacat ggtggggaca 120
 gccttcttca tgtacaatgc ttttggaata ctttttgaaa ctctgcatgg tcccctaggg 180

 ctgtaccttt tgagcttcat ttcaggctcc tgggctgtc ttgtcatgat attgtttgcc 240
 tctgaagtga aaatccatca cctctcagaa aaaattgcaa attataaaga agggacttat 300
 gtctacaaaa cgcaagtga aaaatatacc acctattct ggctgactaa aggccacagc 360
 tga 363

 <210> 3
 <211> 738
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 3
 atgccaagcc aacagaagaa aatcattttt tgcattggcg gagtggtcag ttttgcattg 60
 gccctcggag ttgtgacagc cttggggaca cgtttgtgga tcaaagccac tgcctctgc 120

 aaaacgggag ctctgctcgt caatgcctca gggcaggagc tggacaagtt tatgggtgaa 180
 atgcagtacg ggctttttcca cggagagggt gtgaggcagt gtgggttggg agcaaggccc 240
 ttctcggttct cattttttcc agatttgctc aaagcaatcc cagttagcat ccacgtcaat 300
 gtcattctct tctctgcat ccttattgtg ttaacatgg tggggacagc cttcttcattg 360
 tacaatgctt ttggaaaacc ttttgaaact ctgcatggtc ccctagggt gtaccttttg 420

agcttcattt cagttgccct ttggctgccca gctaccaggc accaggctca aggctcctgt	480
ggctgtcttg tcatgatatt gtttgacctt gaagtgaata tccatcacct ctcaaaaaa	540
attgcaaatt ataaagaagg gacttatgtc taaaaaacgc aaagtgaata atataccacc	600
tcattctggg tcatcttctt ttgctttttt gtcatctttc tgaatgggct cctaatacga	660
cttgctggat ttcagttccc ttttgcaaaa tctaaagacg cagaacaac taatgtagct	720
gcagatctaa tgtactga	738
<210> 4	
<211> 558	
<212> DNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 4	
atgccaagcc aacagaagaa aatcatcttt tgcatggccg gagtggtcag ttttgcatgt	60
gccctcggag ttgtgacagc cttggggaca cgttgttga tcaaagccac tgcctctgc	120
aaaacgggag ctctgctcgt caatgcctca gggcaggagc tggacaagtt tatgggtgaa	180
atgcagtacg ggcttttcca cggagagggt gtgaggcagt gtgggttggg agcaaggccc	240
tttcggttct catgctattt tcttgacccc ttcattggac tccaacagg ggtaccccat	300
ttactcagcc tgcctgctc aacctcttgc aggaggagc acacagtgat acgagtgcag	360
gaaccagctg gctgctttag tgctgtgagg agtaaaactcc atgcaggccc tgcagcagca	420
accagttttt ccagatttgc tcaaagcaat cccagtgcgc atccacgtca atgtcattct	480
cttctctgcc atccttattg tgtaaacat ggtggggaca gccttcttca tgtacaatgc	540
ttttggaaaa ccttttga	558
<210> 5	
<211> 46837	
<212> DNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 5	
aggagatact tgaaggcagt ttgaaagact tgttttacag attcttagtc caaagatttc	60
caattaggga gaagaagcag cagaaaagga gaaaagccaa gtatgagtga tgatagggcc	120
ttcatctact gacatttaac ctggcgagaa ccgtcgatgg tgaagttgcc ttttcagctg	180
ggagctgtcc gttcagcttc cgtaataaat gcagtcaaag aggcagtcac tcccattgc	240
tcacaaaggt cttgtttttg aacctcgccc tcacagaagc cgtttctcat catgccaagc	300

caacagaaga aaatcatttt ttgcatggcc ggagtgttca gttttgcatg tgccctcgga 360
 gttgtgacag ccttggggac accgttgttg atcaaagcca ctgtcctctg caaacggga 420
 gctctgctcg tcaatgcctc agggcaggag ctggacaagt ttatgggtga aatgcagtac 480
 gggcttttcc acggagaggg tgtgaggcag tgtgggttgg gagcaaggcc ctttcggttc 540
 tcatgtgaagt agcaattgca tttgagttat ttaatgcttt aggcagactc ttcccagtgt 600
 tgcgaggaat tatatttgag aattttgccg tgtttactgc aggacttttt aaatcgggtg 660
 gaaccatatg aaaaacctat gactctgagc aatttcttct tcctagtttt tattatttta 720

 tacttgcttt ttattataat atagagttaa ttcattgtta cataattaag gtttttggaa 780
 atattggcaa ttaagatgct taagtattaa ttttatgta aaaaattatg gagtcctttt 840
 aaaaaagtaa acitggggaa ataggaaagc tgtaaagaat gatctttatg ctttttgttc 900
 tttataaaaa gaaccaaggt catgggctcc gtatttaacc aggttgccac ctttctcatg 960
 attttgttcc ctgctcccca ctccctccca ttattcctgc taagaccttt cctgctgcta 1020
 aatattcagt tttcattttt aactaatttg gaatcatttg gctatagaaa tttaaatga 1080
 tctgctgtgc taactgggaa agaaatggat gcctatttag tatagaacat tttaactga 1140

 ttgacctgca aatcatglag agaatatgag agagattttc ttgttgtgat ttttgtaaa 1200
 tggaagtgtat atccacagta tttataacct gtttatctta agaagagaat ttttaaaaat 1260
 taccatgtga ataggcaact cattaaatga aaattaatag gaagtcattt gttatatctc 1320
 ttacaacaca cattcagaag ttattattat ttcagaaggg ctggtttgga acaaccttat 1380
 gaagacacag tcagtaaatt actgcataaa tcactcttca ggaaaggagg ttaccaactg 1440
 aagcatttaa aatgaattat tattttgcc aggttttttt tttctttcta gtataggtag 1500
 aaggctaaat taattgaatt tattattaac atatgcagtg cctaattaaa tttcagtgt 1560

 ggtctattta tatttctgca acattcctta tatcttctta gcagtcattg gacaccaacc 1620
 ttcagctcac ataggttact aagtatatg aattttcata gggctccaga aaatttccaa 1680
 gaattgggtg ttagcttttt aattgatgaa gtggatacca gttcttttca ctgaatggct 1740
 tttattcatt aaggtaatgg ggctgttaga gttgcttagt tttcctgggg aagggaagg 1800
 aagaaaacaa agcagaatgt catgtatat gcaactgtat taaaaaccg aaaaggaaaa 1860
 aagttgagag agatgattta accgtgagtc accggcagcc aaagcgtgag taaagcttct 1920
 cacagatgaa tttagacaaa agcggagaag gtactggtga attttctgga gcctttacat 1980

 tttctacagt gaaatggaga taaactttac tcatgccata ggacatgttt caaaacaata 2040
 ataagatgtt ttctgaacac ttactacata ctaagcactt tatatgcttt gtctcattta 2100
 atccttacac agccacattc ttctgggggt tagcgaatga tttttgtggt tgtgtcctat 2160

gcttgcctg tctaaggatg aagtgttct aattgggtgc cctcctttt gctttctgtg	2220
aggacttgca gaactggtag ggtttaaca gtaccctcac ttatctcaca gaatttcatt	2280
agctcccaga taccctgac attctcccc tagcctagtg aagaaaatct tccatttact	2340
tgttcattct gcagtgacag ctccatcaat atacaataga ctatacatat taagtgtact	2400
gtatatacta tacatgttaa aaatctcatt cattttggtg aggccagct aagaatactt	2460
acagtagagc ttttttttt ttccctagca taaaagtatc ttttcaatg cagcatgaga	2520
cagagttggg aaaacccaaa taaatagatc caatggactc cccaaagagg ataatatca	2580
tttaataaa caccctctc agtgttaaaa ctttctaate aacatgcctt tgggacacat	2640
tgcacctca aagtttacac tccattgca acgcagcttt gtggttcacg tttttccat	2700
tcagaatgtc attaccctgt caatgatgtt tcatcaacgt ttgcttgat gagaatctc	2760
tgatatctt cctgatagaa atgtataagc cctgttcata taaatgaata aaagatctaa	2820
ccttactttc tcagtagtgg cttccttga gcaaaaagca gggacctcca gagagctcag	2880
gtggatgact cttttctgtt tcttcagag ctcaacttac aattagtga caattcattt	2940
cccagaatgt cttctttctt attgtgcctt tagaaagtta ttaagcaaac atttgaattc	3000
acagaatctt accagtglaa gaggaatgga aaaggtaact tatcaaggta acaatcactt	3060
cgtggccagt ttttcggct cactgcaact accctcctg ggttcaagcg attctcctgc	3120
ctcagctcc caagtagctg ggactacagg cgtgcaccac catgcccagc taattttttt	3180
tttgtatttt tagtaaagac agggtttcac catgtgggcc aggcctgtct catggcaagt	3240
tttctttgtg ttgtcatgtt attatcaatt aataggaatt tatatttcag ttctgttagg	3300
tggataaaca ctattttgca tacctaaatg ttccatttat atcagcactg gccaataaaa	3360
atatactata agcaggccgg gtgcagtggc tcacgcctgt aatcccaact tttgggaggc	3420
caacactttg ggaggacaca gggtcaggag atcgagacca tcttggttaa cctggtgaaa	3480
tcccgtctct actaaaaata caaaaatta gccgggcgtg gcgggggcgc ctgtagtccc	3540
agctacttgg gaggtgagg caggagaatg gcacgaaccc gggaggtgga gcttgcagtg	3600
agccgagatc tcgccactgc actccagcct tggtgacaga gcaagactct gtctcaaaaa	3660
aaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaatata tatatatata tatatattac aagccacaag	3720
ccacatatgt acttttaaat gtectagtag ccatattaga aaacaaaagt aaaaaggaat	3780
agatgaaatt aattttaatg atttttttaa acccaagata tccaaaatat tatcatttta	3840
acataaatt aaaaatttat tgagatgttt tacattgttt tttttttct tgacgtgtc	3900
ttggaaatct agagtgtatt ttacatttac attacatcta attcagtcta gccacatttc	3960
acatgctcat ttttttgtgt gtggttttat ggagcagaga gtttaatagg caagaaagaa	4020

aagagaaggc agaagaaaat ggctccccctg tacagagacg cgggggtggg gcgctccaaa 4080

gccaaaagag gaggtcccta agtatggtag acaccagcca ggaatatatg cagtgtctgg 4140

aggaggggat gtctgatttg catagggctca catgtcatt tttatggcta ctgtattggt 4200

cagtacagat ttagatgggg atttgcctcg aacaagtgg tgattgatgg tgttcatatt 4260

ttaattgaat ttttctggg ttctgctgta cacttgatg tgtgttagtt tcatgtgcaa 4320

tgcttggtgc acttttaaaa cccagatata tggcataaca tgagaatgaa aaatggacca 4380

gaaaaatagt ttggcaatgt agtcatgttt gttcctatta aatgttcct attgaccact 4440

ctatctcttt taattataac aagaatctgc cctgccagca tgcccagtta cgctgggaaa 4500

acttctgcct catttactct ggctgattct catccactta tgggtcagtg gttcattttc 4560

tagaggtcac cagcattcat acctagcata caatttcatt cattataatg aaggaatgtt 4620

ttcccttcaa agagacacaa ctagtgggct taatttttct tgatatgtca cctgtaaaat 4680

tttaatgatg atgtttaaac tctaaatgta gccatcaaga caaaaactgc aaattttgag 4740

cctcagtggtg tgtgggtggg tttctgtttc ggtaatttga aacattgcag aatatcatca 4800

aaatatgata cccaagaatc atatggtatc aatcattcct agatatactg atctattcat 4860

tgccaagata gticaatgag ctggcaaaaa catatggaat tattttctta aaatgtgaaa 4920

aataaaattt aaccaatcat gtatcacagc ttgcaacttt agtcatactt tgaaaagcat 4980

tttaatttgg acctcatgat tgaaaattta taaaaagctg aacagaaatt agttcacttc 5040

atattttaga aaagcagagt ttctttacta aatgaggcat ttgacccaaa ttggagagaa 5100

aatgttgaaa ctacttctgt gagcaagcag gtggcttctc aaacacatgt tgggatgaaa 5160

tggttgggcc tcagggtctc agtgcctgtc actgagagtt ggcaactctc atctccatgg 5220

tctctccaa gtgtgactct tgtctcttgc tgacctgacc tgccccaagt gactcactgg 5280

tcatgacctt gcacaccttg cgtctctcct atcacctgc cgatggcaga gctacaaagg 5340

tctttgatgt agctctgtct gatatcctgt gtttccccct atggctctgtg tggaagcagg 5400

tatgggggtg tgtaaagggg aagcctatga agttcatctg caaagactac ctggttaggg 5460

gaggagagga agaagctata tgcaccattt caccagcaag catgggctct tctgcctttt 5520

agcttagggg tctgttgtc tagtctcact cacctattaa aacagtccag caaatagagg 5580

ttttgtttac ctccatttaa aaaaaagca attaatggaa tagaagataa taatgtatga 5640

gaagcactat tggaaagaa aaaccttcaa cttctctcag ccaataatt gcttctcct 5700

ctgtccttcc cagaccttga tgtttgctct attatttcaa aacaactata ttataaatat 5760

ttgagaatgt gtatttcctt gcaaggagat cttaatcccc aagaaggcag gagctgtgta 5820
 ttattcatcc cagtgtctct tcaaacagg gcctcagaca gtgcatggcc caaagaggta 5880
 cttataaac gtttggtaaa ctgacactat tgaattaag caacctggat ttgaggtggg 5940
 tctctgccac tcacaagaga ttacgttttg agaaaattcc atcacttcat tgattttcag 6000
 ttcttgcatc tgtatatggg agacgatact aggtgatttc tgacatctct caccgtttaa 6060
 atgctctgtg atctatacaa cgaggggctc gctgttctag acaagttcct tccagcttta 6120
 cagttgcata acccttctaa tcttagtcac atgatgactc cactgacaga tttttggcca 6180

 ccatcattag acatgctgag ttacgtgtgc ctttgctctg atcctcaaaa ctcatgattt 6240
 ttaaagtttt ctgaaatata taccatttat caggatccag atggatttca tgaccaaagt 6300
 ggatgtttct tttctctccc attacaatct tttacttttt gtgtgggaaa ttgcatgtta 6360
 aagaaagga aattgaagaa tgggatgctt tggaattctg gcaagatgga ttagtgggtt 6420
 ccagaaagta ggggcagcca caaataccga aataaatgag atcgtattat tgagaaagca 6480
 caaatggaag aaggtcaaaa gcaagaagaa gctgacatcc tgcttctcc aatttttct 6540
 ttctctgttt ttccaagaaa ctctcttcc aagccttctg gaaaaactcc actttcctaa 6600

 atctaacttc ttaaactgat aatggcaaga agttaggaat gaccaatatg ttaaacctc 6660
 caagagtatt tgttttgttt tgttttgaga ctgggtctca ctctgtctgc cagcctggag 6720
 tgcagtgggtg tgatcacagc tcactgcagc cttgacctct cctgccaag gaatectccc 6780
 acctcagcct cctgagtaga agggaccaca ggcatgtgcc actacacctg gctaactttt 6840
 aaaaaatttt tttgtagaga tgggttgcc caggcaggtc tcaaactgct gggtcaagc 6900
 aatcctcctg cattggcctc ccaaagtct ggaattatgg gcataagcca ctacgcctga 6960
 cctctccaag ggcattcttt acccagaaga ggaacttggc agaacttata ctccaattgg 7020

 tgaggaatat ggagaaaatg actttaagca aaggaaacttc tggttctgcc tacctaatec 7080
 agaaaaagaa gttttatttc tccctcccc tagtaactat cttcccatat tcacataaaa 7140
 aagtacagaa tcaacattgt tcaagaatta taattttact tgtaagcaca tgtgcacacg 7200
 cacaccata taccttcttt ccttttaaat catccacac cctaatagta gtaaatcat 7260
 tgacccgagc atacctggga gaggaagagg agtctgacag gggcaggttc taagtggcac 7320
 tcctggaact taacctgggt gtatatgaac ttacctatt gaaggatgac tcctcaactg 7380
 ttctcacaat ttgtgtctct gctttctttt ctaatttctg aagtgactc atcttcccca 7440

 aggactttca gacttctcag aagaaaaaaa tattgggtgg gtctctgcca ctggcaaaag 7500
 attagacttt gagaatcata aaagtatact agtatatact cattaatatt gaattactat 7560
 aattaatatt atgatatga tataatgata gaatgatatt gataaaagca atattcaata 7620

atgaatatta tttcagctgc ccacttattg ggtagcctcat aggtgccagg catTTtTgtat	7680
gtattatcta caacccttac atgggacata ttatgatgct gtttctcttg aagaaatatg	7740
gaaactggaa acagagaggt caccacaatt ttccaaagtc acatagctaa taggtagcag	7800
acttgggatt caaattcata tgcatatggt aaatcatgct cttcctctgc tacattttgc	7860
ccccctagaa tatgaaaaag ggatacaaag agatgaagaa aatatgtaag attatccttc	7920
aatttcacta tcttttttaa agtttttttt attatacttt aaattctgaa atacatgtgc	7980
agaacatgca ggtttgttac ataggtatac acgtgccatg atggtttgtt gcacccatca	8040
acctgtcatc tacattaggt atttttctta atgctatccc tcccctagtc ccccaccac	8100
cgacaagccc cgggtgtgta tattccccct cctgtgtcca tgtgttctca ttgttcaact	8160
cccacttatg agtgagaaca tgcggtgttt ggttttctgt tcctgcgtca gtttgctgag	8220
aatgatggtt tccagcttca ttcatgttcc tgcaaaaggc atgaactcat tttatggctg	8280
cataccattc taiggtatgc atgtgccaca ttttcttaat ctagtctatc attgatgggc	8340
atttgctta gttccaagtc cttgctattg tgaacagtgc tgcaataaac atatgtgggc	8400
atatgtcttt atagtagaat gatttataat cttttgggta tagaccaggt aatgggattg	8460
ctgggtcaaa tggcatttct ggttctaggt ccttcaggaa ttgccacact gtcttcaca	8520
atagctgaac tagtttacac tcccaccaac agtgtaaaag cgttcctatt tctccacatc	8580
ctctccaaca tctgttgctt cctgactttt taatgattgc cattctaatt ggagtgagat	8640
ggtatctcag tttggttttg attagcattt ctttaatgac aagtatgat gagctttttt	8700
tcatgtttgt tggccgtata aatgtcttct tttgagaagt gtccgttcat atcctttgcc	8760
cactttttaa cgggggtttt tcttgtaaat ttgtttaact tccttgtaga ttctggatat	8820
tagtcctttg tcagatgggt agattgcaaa aattttcttc cattctgcag gttgcccggt	8880
cactctgata atagtctctt ttgctgcgca gaagtttttt tagtttaatt agatccatt	8940
tgtcaatttt ggcttttgtt gccattgctt ttggtgttta gtcatgaagt ctttgccac	9000
gcctatgtcc tgaatggtaa tgcctagggt ttcttctagg atttttatgg ttttaggtct	9060
tatgtttaaa tctttaatcc atcttgagtt aatttttgta taaggataa ggaaggggtc	9120
cagtttagtt ttctgcatat ggctagccag ttttccaac accatttatt aaatagggaa	9180
tcctttcccc gttgcttgtt ttgtcagggt ttgtcaaaga gcagatgggt gtagatgtgt	9240
ggcattatct ctgaggcctc tgttctgttt cattggcttc tgtatctgtt ttgatacaag	9300
taccatgctg ttttggttac tgtagacttg tagtataatt tgaagtcagg tagcgtata	9360
cctccagttt tgttcttttt gcttaggatt gtcttgacta ttcaggctct tttttggttc	9420
catatgaaat ttaaagtagt tttttctaatt tctgtgaaga aagtcaatgg tagcttgatg	9480

ggaaaagcat tgaatctata agttactttg ggcagtatgg ccattttcat gatattaatt	9540
cttcctatcc gtgagcatgg aatgtttttc ctttgtttg tgtcctttct tatttccttg	9600
agcagtagtt ttagtttctc cttgaagagg tccatcacat cccttgtaag ttgtattcct	9660
aggtattttg ttctctttgt agcaatttg aatggaagt cactcataag ttgtctctct	9720
gtttgtctgt tattggtgta taggaatgct tgtgattttt gcacattgat ttgtatcct	9780
gagactttgc cgaagtgtct tatcagctta aggagatttt gggctgagac gacagggttt	9840
tctaaatata caatcatctc atctgcaaac agagacaatt tgacttcctc tcttcctatt	9900
tgaatacgtc ttattttctt ctcttgctg tttgccctgg ccagaacttc caatactgtg	9960
ttgaatagga gtgttcacca cctattttaa gaatagtatt gaagcctcac aaaagctggt	10020
tctcatgtaa ccatctgaga atatttgcc ttatgacttg aattcattca ttgccttttt	10080
atttcacatt ttagtgatcc tgatgtctaa atcttaatct ttgaccttg caaggtaaaa	10140
tagccaagtc aagcctgttt aataatattg gttgaggaag tcacatgctt atgatcaatc	10200
tttgggttat gtaattatat taccttaatg ttggcagttt aggtgtaagg cagagatc	10260
tgatcacatg tgtggttagc taatttaaga tcaactgcaa ctaaaatctt catggtatga	10320
tcttcaaagt tagctacttt gaccacagca atgatttcac cacagcaatt aacaaaatgg	10380
cagactcttt cctgagggtg catgaacagt tttaaaacaa agtcaaggac caaaagaaaa	10440
gcaggcacat ggcatttgat tcatttcaaa aactagtatt gtattaagag ccaaggggat	10500
agaattgtag catcaattaa aatcttgttt gaaaaaaaaat aaaaacaaac gtccattttt	10560
atctctcaaa tatattaggg ttttcataaa gttatagggt tattttttaa aaaacaaaac	10620
tcataacat tagactgaaa aatttgccctg tcactctcctc atgcagctaa atgcaattgt	10680
ctatggcgag atacactctt attagaggta tgatagcact aactaatagc aaactttgta	10740
cctggtagtc taatttatgc agggttcata tttcgctccc tctcagcatg ctgtaactgt	10800
ggcaaagcca ttctcaggag ttattacccc aacataatca taccctgtg gattaggagc	10860
agttaaatgg gtctgttat cagagacaca tatgtgccac agccgtgtc atccctaagc	10920
caccgtgggt gattaagact cactgatggg actacctctg aataggcttg agtgaggtagg	10980
atacacttca gctgagagaa attcaggtaa ggggctgaga aaatcagatt ttgaatggtt	11040
ttatcatacc atcaggtctc cttttaagtg ctgggtcat ggatttcatt caacctgacc	11100
acatagcctt tggaagcttg gctcaatacc tgagtgtgag attatgggtg atattaaagg	11160
agatgaatgc attgagctga tgtcagagaa tgtcttttac tggattttca taatgactgg	11220

ctgcagatgg gctgagggga aagtcagatc aagagcattt ctgtaagaag aaagaaatct	11280
tccctcttat tctctttcaa gaaaatgaat agctgagcac caagaggcca aatacttttt	11340
taaaaaacac atccttttat gtagagaagg acaggttgag acgaaaaaca ggacctctga	11400
aactgtcttt atagctttta tctaggaaga aattgcggca ccattgctga catcattatc	11460
agaggctgcc ttagttctga gagcttcaca gatggccttt tctgcatttt acatctggcc	11520
agatgaaggc aaaaaggttg atgaaaccaa aactattaga tcagtgttcc ataactctgg	11580
ctgcacttta gaatcatctg gggagtcctt aaaactactg atcctgaggc tccatcccag	11640
accaattgaa tcaggatctc tgggggtggg acctgagcat tggaatgctt taaaagtcc	11700
tcagggactc taatgtgcag ccaaggctga gaatgactga ggtggatggt ggccaagaca	11760
ggtgaggcca agagttagaa gcccttactg ttagggaagg cagaagccac aaggaggagg	11820
ggagggggaa ggagcagtat ttagcatttc ttccacacag ttggggggtt ttctgatcaa	11880
aattaggctg ggatctttcg ctccatttt catgaaggtc ttatgctttg tccacagcca	11940
cctggcctca gggcaatgag caatctgatt gatgaatttt cagtaagaaa ctgagcacac	12000
ttggctctca gcccagtggt ctccctgt ttccaaatct gcccaccagt tacaggagcc	12060
tgctcaccaa ctggttgggt taaagaagtc ggctctgtcc ttggcagga ggccttcagc	12120
tgtctggccc tgtctgtgac tgcgtgggtg aagctgccta atttggggaa ctgatggaa	12180
gatctaaagt atgttctcta acagttttat cagaaataaa gtttaacttt gacctccatc	12240
tgctgtctc ctgtggaagg gctctgtcc ttccaaagag actctcaggg gttctcctta	12300
gaggtgtgtt atcagtccaa agatcatttt agaccagcca ttacagagga tgtccaagaa	12360
attgcacaag ggaaatagaa gtaagaatga gagcaatata tcagatagta aggaaagtat	12420
gtgactgggt tcaataagt aattaacat aaatccaaag ttctgcatt agttatagca	12480
atagtcatcc acctggtcag gaaaaaaaaa gtaaaagact gagctgcaag atagaaagt	12540
tgctgaatt ccacgtactt caaggactac tatggaggat tccttgggtcc caatgcagag	12600
acatgtactc tgaccaccca tgggccaaat cctctttacc caccctcagt gattcctcct	12660
gggacctcac tacattgagt tcttacattc cccactcttt tcgggggaaa tataaccctt	12720
ctgctcttct catgatgta aaaatattta gacaattact taaaatttac aacaatcttc	12780
cacataaatg atctcactta tgtttcttgt gagctctgtg atttatttct attatcatct	12840
atgctgatag ttaaggaaac tgagatatcg agaccaacat gcatagtaaa tggcaaaacc	12900
agatgaattt taaactttcc taactccaaa agccacatcc tgcccaacce gccatgctgc	12960
cgctcagtta atgcctggct gtttgtctcc ccattggccc ctctacccat tgtgctttga	13020
tggcacactg tattccaact gcctgagact cctggttaat gccattacgt acagacttag	13080

gttgaattta ctaggatttt taagatttgt aggataagag atatgactgt tagactggaa	13140
tcagcaatag ataaaagggtt aacaaagtgt cagaataaaa tataatagaa aaccccagca	13200
gatagaagta aaatgaatgg taagacaact gaaatgaaag ccatacatgt agaaatatca	13260
aataaaacac agattaatgg cagacaataa aggaacatac ttagcagtta gtaaaaacac	13320
tttttacctt attcttatta cctccagta accttttttt tttttttttt tgagacaaag	13380
tctcgtgtg tcgtccaggc tggagggtag tgatgtgatc tcggctcact gcaacttctg	13440
cctcttgggc tgaagagatt ctctgcccc agcctcctga gtagctggga ctataggggc	13500
ccatcactgc acctggctaa tttttgtatt tttagtagag acgggggttc accatgttgg	13560
ccaggctggt ctigaactcc tggcctcagg tgatccacc gcctcagcct cccaaagtgc	13620
tgagattaca agcgtgagcc accaagcccg gctgtaacct attgaaaata acattacttg	13680
acatgtgaga caaattatgt gtaagttaaa gagtttatgt gccttcaatg ctcccacct	13740
tcctccctt aaaaagatta ttgagtcccc atgatgtgcc taagccttct gtagactct	13800
gagaatgtga agagagttag aggatacttg ttcaacaacc cagaatctag cagaagtgtt	13860
ttgaaatgac cagccacttg ggagagctat gctagcatat cattcaggat gggctgggtc	13920
atgttttaat aacaagtaag ttgaacttt ataggtttga aacaaaaag atgtgtttct	13980
tgctcacagt tcatattttt tggagattgg ctggagcttc attccaggat actgccacca	14040
tctggaatgt tgacagttac cgtaacagag aaagagtgtt ggaggctgtc aactggcaa	14100
ttaaattcgc tgacctgga ctgacacatg ccacctccac ttatatttta ttggccaagg	14160
cttgttacac agccacatct aacttcagag aggtcaagat gagcaaatcc taccacgagc	14220
tatagatgga tgagtagcac tcattattat cacaattatt ttatttgta taaaaactcc	14280
aagaaggaga ggtactctat gtgaggaata ggcataggaa aatcagaggg aagttcttaa	14340
agatgagcta gatttacta gatggcattg aagaaacatt ccaagtaaat gaacagcata	14400
agcaaatgca tgaagaactt atttgtgtcc tagtacagac gatgcgtgag agtgtggagg	14460
agggaaaagg taagactgga gaggaaggca ggaaccagaa caggacagac tgtgttact	14520
gtcaggcagt taagtctatc ttgtaggcaa catgaagcct ttttaaggaag gcaagcagct	14580
atgtgacagg acagaagatg gattggaaga aaatcaaaag agaagtgggg accagtcata	14640
aggctctcc aatatttggg gatccaaacc aaagcactgg cagagaaata gaaaggaagg	14700
gaaatatttc caaaatatc aaaacagaaa ccaagagaac ttgatgacag aagatgaacc	14760
caggtttcta ctgaatggac agttgttaca ttctctgaga taaggaatac agaaggaaaa	14820
agttgagagg gaatatgaaa ttatttttaa tcatgtttaa ttgatcact tgtggaacat	14880
caaccagaga tgtccatcag ttacaccaat ttgtaggttt tgagagaggc ctgaggtaga	14940

ggcagagaag tgggaatcag cagattagcg gcagtagttg gaaccataac tgaagatgag	15000
atttcccagg gaggggagtt gaacaggaag gtagacaaag gctgagtga gtggctcata	15060
cctgtaatcc cagcactttg ggaggctgca gtgggtagat cacaacaag atcaggagtt	15120
caagaccagc ctggccaaca tggtgaaacc ccgtctctac taaaaaaca caaaaattag	15180
ccgggcgtgg tggcacacac ttgtaatccc agcctcagga ggctgaggca ggagaattgc	15240
ttgaaccggg gaggcagagg ttgcagtga ccaagatcgt gccattgcac tccagcctgg	15300
gcgacagagc gagactccgt cccaccgac ccctaataa agaaagtaga caaagatgtg	15360
tcctagaaaa cactaatatg aatgggtaga gaggggagac ttgtcaagga gatcgagggg	15420
agagtcaagt aggtgaaacc ttagaggata gaccttcacc aaggaagtaa cagtcaacag	15480
gcctaaatgc cacagagatg tcaaatgaga gacactggaa atggttcttt gaatattaca	15540
gccagaacat cacaggagac catttccaaa gcagtcttga tgaagtgggt gggaaggag	15600
gtccctgaag gagctaagga gggactggga gatcatgacc cagagataag tgttcaggt	15660
ataaaaggga aagactgaga tcaggaaata gccacaggat ccctaaggcc aggcttcggg	15720
tggggtggtg tgtgtgtgtg tgtgtgtgtg tgtgtgtgtg tataaatgg gaagaccttg	15780
agtataattc tglactaaga agatagagca gtagagagga aaaggctgaa gacagatggg	15840
agggtaaata gtgaattaga aaggctctgt caaagatgag aaaggatgag tctgaaagca	15900
cagggagaag ggccagcctt ggacaggaga aaacatttct ttactaaga ataaaggga	15960
ggttgggtat acaccacaaa gaaggtgtag atgggtggca atggagtctt gtcaagtga	16020
gggcattcca tgatagcctc acctttctct gtgaaatgag agagtttagt ttacaagata	16080
tttctgagca cticataagc caggttcata gactgaaaga agtggagggtg gagtgtgata	16140
ggtccttaag aataggggaa gtttggata tctgacaagg gacagagagg aaaaaactag	16200
aaaaggcttt gcagaatgtg ggcccacaga tcagaggcta aggggtcccc atttgtgcag	16260
gagagtaagg gcagggaggc aaggctcaca gcccataa tagagccct caccaatga	16320
ctgcaggagg gcagctttcc tatgagagca tccctatcac tgttttact ccgagtcatt	16380
aacttacgac ttactcagct ctgtttcgta atagcagact cgagtaatga gggtatgaca	16440
gcctctctct gcatccaag gtatgcagcg tggatttctt ttttcgttt ctctctcctg	16500
tggcttaggt gccttctgtt ctgctaccag gatagagaac ccagtgacta gtttttcta	16560
gctctctttt tctgactagg tatcttgtca gaaatttctg cttaccagac ttcattggaga	16620
gggaatcaag ctttgaatca gggttgaaaa agtagagctt aatatatata ttacaaaatg	16680

ccactcacgt tcttgagggt accctgtatc tataaccacaa ctagcattct tttagaaagc	16740
accattaccg aagtaatccc tttcctggga attcacccaa aaaggttatt cccacttate	16800
ccccatctcc aaaataaaaa agaaaaatgt gtgtgcttag agatgttcct ggaagcatga	16860
gctgtaatac tgaaccaata gaagacgaac taacagattg cagggcattcc gtttggcaaa	16920
aaacttatgc agttatctaa atgatagtta tgaagacaat atgtataaca cattatatcc	16980
tgagtgaata gaacagaagg tgatttcaaa actgcattgg gataatagta atataggaaa	17040
tagtgagatg aacaaagatt tcaaaggaac aaaaaataag aaaaattttg ctttttatat	17100
tggtaggcgt atgggtgaaa ttccaatttt aattttaatt tcatagtatt aaaattgttc	17160
ataaaaaaag gtccccata gacagtggg ctttgggaca aactaacaga aacagagtag	17220
gaagaaaatt catcttcctt caatccccct tctctgctta aaacaaaaca aaaaagagct	17280
ttgtcatgtt cagggtgtga acgaattctt ttccaatc tggaacttta catctgctat	17340
taaacaggag tcagtttcca tgtaacatgt tgacaatccc ccaagtgtgt tggaataatt	17400
ttttttaatg aggagatttg aaattccatt tcaattgcca acctgcctct ttcaacttct	17460
aaaaacaaag taaaacaaaa caaaaacaca ctgggtccta tcacccctc ttgctactac	17520
tattttatct ccattgcctt gaattctttc caaacttctt tccaccacgc ttgatttgt	17580
tttcagtcgg gtttattgag gcataattta cgtacagtaa aattcatcct tcttagattt	17640
agaggcttat gcattttgac taatgcata tggcttataa tgactaccac aacaaagata	17700
tagaacacac ccattcctcc cgggttctcc ctgtcccttt tttgggtccat ctctctctct	17760
accccccaacc ctttggcaac cactgatctg ttttctgtcc ttatcatttt gctttttcca	17820
ggatgttgta tataaggaat catgcagcat gcagcctctc gagtctgact tcttcagtt	17880
agcacagtta ttaagatct atccgagtta ttgtgagtag cagcatcttt tttattgctg	17940
actagtattt catcacatgg atgggccaca acttgtttat ctgttcacct gtcaatggat	18000
actaagtgtt ttccagtttt tggcaaatat gaataaagta aacatttgca tacagatttt	18060
tgtgtggaca catgttttca attctcttag gtaaatactg agcaatggga ttgctgggtt	18120
atatgttaag tctatgttca gttttctaag ttctgaaaca attggataac tatatgcaaa	18180
aatacaaaat taaccttgac tcaaacctgt accatacaca aaaaataacc tgaaagagat	18240
cacaggtgta aatgtaaacc tagaactaaa aacttcaagg agagaacat agcagaaaat	18300
atttgtgacc ttgcattagg caaagacttc ttagatttga catttgaaac atgatacata	18360
aaaaatcttg ataaattgga gttcataaaa ataagaacta ctcttcaaaa gacactgata	18420
agagaatgaa aatacaagcc acagacagag aaaatatattg tgaatttctt atctgataaa	18480
gggtttgtat ccagcatgca taaagacttt tcaaaactca ataataaaca atccaataag	18540

aaatgcacaa aagatacaaa cacatcatcg aaaatgacct atgaaaggca aataagccca	18600
caaaaaaatt ctcaacatca ttagacactt gggaaatgca aattaaaaca aactgagat	18660
aaactacata tctattaaat ggctaccact ttaaaaacct gtcaagtgcc agccagaatg	18720
tggaacaagt aggactctct tacattgcta gtgggaaggt gaatggtaca gccactttgg	18780
aaaacactcc gcagcttctt atagttacac ataggacctg ggggtagagg atggattgac	18840
tgtaaagggg caaaacttcc tggtaggggt ggggaaagt tttagaaggg tgaaattgtt	18900
ctatatcttg attattgttg tggttacaca actgtctgca tttgtcaaaa ctcacagaac	18960
tgtacactaa aaaggtatat ttttatgctc tgctaatttt actttaatct taaaaatagg	19020
aaggaaaaaa taaatcaat gccactgtgc gactttgggc aagtacttc acttctctgt	19080
gccttggctt ttigaaatct atacattaag gataaaataa taccttcctc atactgttag	19140
aattaaatgt gctaatttat gttttatata tataaagtac ttggccgggt gtggtgactc	19200
acacctgtaa tcccagcact gtgggaggcc gaggtgggca gatcacttga ggacaggagt	19260
tcaagactag cctggtcaac atggtgaaac cctgtctcta ctaaaaatac aaaaattagc	19320
tgggcttggg ggtgcgtgct tgtaatccca gctacttgag tggtctgaggt gggaggatca	19380
cttgaactcc agaggtggag gctgcagtgg gctccacca ctgcctgggt gacagagcta	19440
gactccatct cgaagaaaaa ataagtactt gaaacatagc aaatgtttta taattattgg	19500
cttttttttc ttattgttat tacttgcatt attgctgttt gaagaagttt ggtgataatg	19560
gagagaaaag ggcaattagg ggtctgggat ggtttaagta tgaggagacc gagacacatt	19620
gactcagagt gaagaaatca aagataagag aatgaaagaa agggagggtta attctgaacg	19680
cacagacaaa gtatgttac taacgtggca tcggctgtgt gttgtataa ataactccct	19740
ttcacttgte aatagctaat caaatacttt ctggagacca gaagtgactt gctggatcaa	19800
tgacaactcc tccacagatc aaaatgttca aatccttttt ctgtgttgta atcctaaatc	19860
taaaagaaca gagagacca gcaaatctac ctcccaacat cattaaagt acaactctca	19920
gtatttattt gaatggtctg ctctcagctt caaccaagga aaagtcfaat tagtgttggt	19980
cagaaaaacag aagggtgtta cgagagtctt ggctggctcat tacagacttg gggatttttg	20040
atataaagaa gaagaagaag aagaaacctg ataaagtgt aatatagcaa gcagggatta	20100
gtgtcctgct gggctcatgtt ctcaaacag tgagaatttc agagatttca taagaattaa	20160
actgctccac atgacaattt attttacctt ctggcttttc caggaggcaa atcagtgcac	20220
cttctttctg cttttgtttc aatttggtta caacctcaa ttttaggaca ggctaaacct	20280
agccacccta tcagagatga tgaagtagcc atctttttta caggtgggga gatgaatgga	20340
atcagggttt gtttgtttgt ttgtttaata actgctagta aaaaccaagt caatagctga	20400

ctgagtgttaa gggaggctcc agaaggcagg ttattgtagt atagatgtga ctgcacttat	20460
gatgatgtta ctccccgata aaccctgcat aagttgaaat atcgttaaat tgaaaatgct	20520
tttaatacac cgaatctacc gaacatcata gcttagctca gcctacgtta aatgtgctca	20580
ggacgcacat tgcctacagc tgagccaaat cacctggcaa cacaggacac tgtagagtat	20640
cggttgtctgg cccttgtgat gctgtgactg actgggagct gcgcttagtg cctctaccca	20700
gcattgagag tttcttatcg cttattacta gcctgggaaa agaccaaagt tcaaaactca	20760
aagtgcggtt tctaccgaat gcttataact ttacagacat catgatgttg aaaaatcgaa	20820
ccatcgtagg ttgggatcca tctataaga cgagctacac tgccggaagt gtaagactgc	20880
tatgctgccg gaagatgggg catagtggac aactgcaagt cctgacaaca ggaggtcagc	20940
atctgcgacc ttaacatcc acattgacac taccacagtc ttccaaacag agctgatgat	21000
atagtttggg tgtcgtccct gcccaaactc catgtcgaat cgtaatcccc agtgttggag	21060
gtggggcctg gtgggaggtg attgggtcat gggggcagag ttcttatgaa tggtttagca	21120
cggcccccc ttggtactgt atagtgtgtg agttctcatg cgatctggtt gtttaaaagt	21180
gtgtggcacc tcccctctct ctctttctcc tactctggcc atgtgaagtg ttggctcccg	21240
ctttgccttc caccatgatt gttaaattcc cagaggcttc cctagaagct aatgctgcca	21300
cgtacagcct ggagaactgt gagccaatta aacctcatct ctttttaaat taccagctct	21360
caggccgggc gcggtgactg acacctgtaa tctcagcact ttgggaggct caggcaggaa	21420
gatgatattga ggtcaggagt tcgagaccag cctggccaac atggtgaaac cccatctcta	21480
ctgaaaatat aaaaattagc caggcatggt ggcggtgtcc tgtaatccca gctacttggg	21540
aggctgaggc aggagaatcg cttgaacctg ggagtcagag gttgcagaga gccaaaatgg	21600
agccactgta ctccagcctg ggcaatggag tgagaccctg tctcaaaaaa tatatatata	21660
ttaccagac tcaggtatit ctttacctga gactatgaga gaatggacta atatagctga	21720
agaattttat tttattttta aaaaactttt acgtttgggg gtacctgtaa aagtctgtta	21780
cataggtaaa ctctgtcat gaggatttgt tgtacagatt ctttcctgct cctccccctc	21840
ctcccacctt ccacctcaa gaagatccca gtgtctgttg tttccttctt tgtgttcgta	21900
agttctcatc atgtagctcc cacgtataag tgagaacatg cagtatttgg ttttctgtcc	21960
ctgtgttagt ttgctaagga tgatagcttc caactccatc tatcttcttg caaaagacat	22020
gatctcattc atttttattg ctgcatagta ttccatggtg tatatgtacc acattttctt	22080
tatccagtct gtcattgatg ggcathtagg ttgattctgt gtcttcagaa ttgtgaatag	22140

tgctgcaacg aacattcgtg tgcttgtgtc tttatagtag aatgatttct attcttctgg	22200
tagtaatggg attgctgggt caaatggctg tttctgtttt agctctttgc agaataacca	22260
tactgtttc cacagtgggt gaactaattt acactccac taacagtgtg taagtgttcc	22320
cttttctctg caaccttgcc agcctctgtt atcttttgac ttttaataa aaaccattct	22380
aattagtgtg atggatattc attgttgttt tgatttgcac ttctctaafg atcagtgtg	22440
ttgagctttt tttcatgttc gttggctgca ggtacatctt cttttgaaaa gtgtctgtc	22500
atgtcctttg cccacttttt aatgggggtt tttttctctt gtaaatftaa gttcctcata	22560
gatgctgggt attagacctt tgtcagatgt atagcttgca aatattttct cccattctgt	22620
aggttgtctg cttactcttt tgattgtttc ttttaccatg cagaagctcc taagtftaat	22680
tagatcccat ttgtcaattt ttgcttttgt tgcaattgct tttgggtgtc ttgtcatgaa	22740
atctttgcca ggtcctatgt ccagaatgat attgcctagg ttgtcttcta gggtttttat	22800
agttttgggt tttacattta aatctftaat ccatcttgag ttgatttttg tgtttggtgt	22860
aaggaagggg tccagtttca atattctgca tatggctagc cagtftatcc agcattattt	22920
attgagtaag gagtatctcc tccgttgtct gtttttccca ggtttgttga agatcagatg	22980
gtttaggtg tgtggcctta ttttggggct cttatctctg ttcatfttgt ctatgtgcct	23040
gtttttgtac cagtaccatt ctgttttggt tactgtagcc ctatagcata tttcaaagtt	23100
gggtaacatg atgcctccag ctttattctt tttgcttaga attaccttgg ccatttgggc	23160
tcttttttgt accatatgaa gtttaaaata gtttttttct tagttatgtg aagaatgtcg	23220
ttggtaattt gataggaata acatgtaatg atattgattc ttcttatcca tgagcatggg	23280
atgtttttcc atttgtttgt gtcttctctg atttcttcaa gcagtgtttt gtaactcata	23340
ttgtagagat tattcacctc cttgcttagc tgtattccta ggtattgtat tctttctgta	23400
gtaattgtga atgggattgc ttttctgatt tggccctcag cttggtattg ttggtgtata	23460
ggaatgctag tgattttttg tatcctgaga ctttgctgaa gttattttatc agctgaagga	23520
gcttttgggc tgagactagg gggtttttta gatatagaat catgttctct gcaaacagat	23580
ttagtttgac ttctctctt cctacttggg tgccttttat ttctttctct tgcctgattt	23640
ccctggccag gacttccagt accatgttga ataggcgtgg tgagagaggg cattcttgtc	23700
ttgtgccagt tttcaggag aatgcttcca ctttttggcc attcagtacg atgtttgtgg	23760
tggtttgtca tatatggcta ttattatttt gaggtgtgtt cctttaatac ctagtftatt	23820
gacagttttt aacatgaagc agtgtttaat tttattaaaa gtcttttctg cctctgttga	23880
gatagtcatg tggtttttgt ctttagttct gtttatgtga tgaatcacat ttgttgattt	23940
ccttatgttg gaccaacctt gcatccagg gatgaagcct acttgattgt ggtggtttag	24000

ctttttgata tactactgga ttcagtttgc aagtattttg ttgaggattt ttgcattgat	24060
gttcatcacg gatatcgccc tgaagtttct ttttttgttg tgtctctgtc aggttttgg	24120
atcagaatga tgctggcctc ctagaatgag ttggggagga gttcctcctc ctcaattttt	24180
ttggaatagg ttctgtagga atggtaccag ctcttcttta tacatctggt agagtttggc	24240
tgtgaagcca tcaggctctg ggatttttta gttagtaggg tatttattac tgattcccta	24300
aatagaccga taatgatttt agaagtggag tcggtttttt cctggccag tcttggaag	24360
gtgtatgtat ccaggaattt atttagctct tctaggtttt ctagtgttg tgcatatggg	24420
tgttcatagt agtttctgat ggtttttttt atttccgtgg gatcagtgg aacattctct	24480
tcatcatttc tttttttttt tttttttttt ttttttgaga cggagtctcg ctctgtcgcc	24540
caggctggag tgcagtggcg cgatctcgcc tcactgcaag ctccgcctcc cgggttcacg	24600
ccattctctt gcctcagcct cccgagtagc tgggactaca ggcgcccgt accacgtccg	24660
gctaattttt tgtattttta gtagagacgg ggtttcaccg tgtagccag gatggctctg	24720
atctcctgac ctctgatcc gccgcctcg gcctccaaa gtgtgaggat tacaggcgtg	24780
agccaccg cgccgcccatt ttctaattgt gtttatttga atctctctc ttctcttctt	24840
tattaggcta gctagtggc tatctatctt attaatttt tcaaaaaacc agctcctgga	24900
tttcttgatc ttttgaatgg ttttcatgt atcaatcctt cagttcagct ctgattttgg	24960
ttatttcttg tcttggtcta gctttggggg tgacttggtc ttgcttctct aattctttca	25020
gttctgatgt tagtttgta gtttgagatc taactttttg atgtggacat ttagtgctat	25080
aaatttaact cttaacactg ccttagctgt gtcccagaga gtctggtatg ttgtatcttt	25140
gttctcatta gtttgaaaaa acttcttgat ttctgtctta atttaattat ttatccaaag	25200
tcattcagga acatgttgtt taatttccat gtaattgcat ggttttgagc gattttctta	25260
gtcttgactt ctatttttat tgtaccgtgg tctgagggtg tttgatatga ctttggttct	25320
tttgatttg ctgaggattg ttttatgtcc aattatgtgg ttgattttag agtatgtgcc	25380
atgtggtgat gagaagaatg tatattctgt tggttttggg tacagagttc ttagaggtc	25440
tattagatcc atttggcca atgttgagtt cagatcctga atatctttgc taatttctg	25500
cctccatgat ctaatactgt cagtaaagca ctgaagctc ctactactat tgtgtgggag	25560
tctatgtctc tttataggtc tctaagaact tgccttatga atctgggtgc ttctgtgttg	25620
gatgcatata tatttaggat agttagatct tcttggtgaa ttgaaccctt taccattatg	25680
taacgccctt ctttgtcttt tttttcttt gttaggttga agtcttcttt gtctgaaatt	25740
aggattgcaa cccctgcttt tttctgtttt ctgtttgctt ggtagatttt cctccatccc	25800
tttatttttg acctatgggt gtccttacct attttatctt tatctatcca tccagccatc	25860

cagccatcca ttcatccgta tcatttttaa ccaataagga cttttaaaag cgcaaccaca	25920
acaccattaa cataaccaat aaaatctata acaatgataa aatatcatct aatactcagt	25980
ccatgtccaa ttttccctcg ctatctcaaa atcgtcttct tagaaatggt ctgttcaaat	26040
gagatcacat ggacagagga aggcgaacct cacactgtgg ggactgttgt ggggtggggg	26100
gaggggggag ggatagcatt gggagatata cctaattgcta gatgacaagt tagtgggtgc	26160
agcgcaccag catggcacat gtatatgtat gtaactaacc tgcacaatgt gcacatgtac	26220
cctaaaactt aaagtataat aataaaaaat aaaaaataaa aaataaaaag tgaaaaaaga	26280
aaaaaaaaaa aaaaagaaat ggtctgttca aatcacaaac cagattcaga aacaatagcc	26340
atacattaca ttttattaat atgtctctta aatttctttt aatctattac agtctttgga	26400
atttttatgt cttcgtttat ccttccaatt attaaaaaaa aagtattttt gtattcattg	26460
aatagacaat gcttgcagaa aagtaaaaaa aaaaaaatit agtacaaaaa ggtacatagt	26520
gagctgttcc ttagtctccc tcccagaag caatgttacc actttgtac aaatagtctc	26580
tgccatgaca cacatgccag tccctaaggt ggctgtaaca aggtggttaa gagtgagaac	26640
atgaattcaa attcctatta tgccactcac taagtataaa tcttgggtcat ggtacatgcc	26700
tctgtgcctc agtttttaat aatggtacct acctcatagg gctgttgaga gaattaaatc	26760
agataagtgc ttaaataact attaatatit attattattc acattccctt ttggcttttt	26820
tcccaaatag cagagtgggtg cacatatgtc ttcatttatt tggcttggtt tttcacctca	26880
catcacattt tgatgaataa ttccatacat gtgtgttatag atttgcttca ttccttgtaa	26940
tcattgacta atattccatt gtatgaatat gctactgcta aacatgtacg ttatttccaa	27000
cctcttatta tcaagaaatg ctgcaatgaa tacccttgta atactttagt ggattcatgt	27060
gcaaaaaatat tcataggata aaatcctgaa agttaaatg ctgagctaaa gggatatgtc	27120
attttaatgc tttatagatt gccagctgc ctcaaaggag gttataacaa tttacactec	27180
caagaaaaat gcacaagggt ccccatittc ccatacccta gctaacacag gatattgcta	27240
aatgctttca tctttgtaaa catgatgtat tgaaaatggt atctcaaagt tttaatgtgc	27300
atttttctga ttgtgagaag ataaaggaaa tglagtacaa ctaaacatca gcagtcaaat	27360
gacctggcca tgactcctga gtgaggacac tggtaaacac catcaggatc caaacacctc	27420
tgtattttacg aagaggatgc tccctattgg atagcactaa gcttatttca tgtatgtaca	27480
tatgtagtta gttaattaca tccagcggig gcaaagggtc tgttctgacc caatgaaact	27540
ttctctctcg gcccccttc agcatgtggt caggagtaga gtgttgtggc catgaggcat	27600

gcatttgtac agatgactac ttactcctcc ttgaaacatt tttttccatt tgcttccctg	27660
ctgtctcact catgggtctg ctcttaattc acaaatcact cttttcccag tcttcttggt	27720
tgggttttct cctcttctgt gctttagac atgggggagc cccagggtt ctctcttgaa	27780
ctacagcttc tccctgggtt catctccttg ggatgtctgt tccaatgggt ttaaatacta	27840
gggctaggac tagggagagg tcattgaggc acttagcaca taaagtttaa ggaaacattc	27900
tttatcaggc ccatgcaagt gcaggactgg ccttgagggg tgactaccac cttaaccttt	27960
ccaccctagg caccttgttt gccttaccct agccccagtc ctctttaaca cccagtcctt	28020
ctccctggac ctccagaaac ataaatccta ttgacattt ctacttggag gttttaaggt	28080
aactcaaagc taaaatatct aagacagaac tcttgcatca cttcccatcc tggggcccaa	28140
gcctgtctct tctactagtc tatctcagtt aacagcatca ccatttattc agttgtcag	28200
gacaaaaaat ttgaagtaat ccttgactct tctttttttt tttttgagac ggattctcac	28260
tctgttgccc aggcctggagt gcagtggtgg gaccttggct cactgcaacc tctgcctcct	28320
gggttcaagc aattctcctg cctcagtcct ctgacctcgt gatccactcg cctcggcctc	28380
ccaaagtgtc gggattacag gcgtgagcca ccgcacccgg cctggattct tttttttttt	28440
tttaacaag tctatcttc catctccaaa atgtatccca aatctgacaa cctctccac	28500
cgtaggccag ccccatctc tcccctctga aaatagcctc ccttagatct ctggacattt	28560
gttcttcccc acccccttgt gatcactatt cagcattcag aatgatcttt taatattatg	28620
aaggagactg tgttctctc ctacttaaaa ttctctagtg gcttcctaataaatttagaa	28680
taaaaagcca actcctcgcc atggtcacca ggccaggatc cagtgggtac aacaatctgt	28740
tcccagcaca ataateccac ttctgcctcc ccaccattca ccaggctcca ctgactggc	28800
tcattcctgc ctgattgtg cttcttttcc ctggaaagtt ctttctgtag atctttaag	28860
ggtgatttcc ttctcaacat tcaggtgtca gctcgtttca ctttctgac catgcccac	28920
cactcagaga tactcaaaa tccattacc ctattttatt tctccatcat atgtatcact	28980
atctgaaact atctgttgt tgatgcaggc tattttcttg accccttcat gggactcca	29040
acaggggtac cccatttact cagcctgccc tgetcaacct cttgcaggag ggagcacacg	29100
agtgaacgag tgcaggaacc agctggctgc tttagtgctg tgaggagtaa actccatgca	29160
ggccctcgag cagcaaccag gtaggggtgc ctgcaacccc agggccccag aggggtgtgtt	29220
acaatgctct cgtagctctg ccatctgtgg acagcagtgt gttgtcagct cagtgggccc	29280
tttgcttcat catgtagggt ggctgccctc tgctgtgag ggcaaagggc cagggtgaca	29340
gtcttttttg gtaccacaaa ttgtgcac ctgaattctt gtttgggtgcc caagaagaat	29400
ggggtcacac agatgaactg aaggatggtg aatgcagaga attagcaatg aaagtggctc	29460

tcagcagaga gagaagctga aaagggaatg ggaagggcag gtcactctcc cctgaagtca	29520
agtcacatct ctccaatgtc cagccacat ctctgaagtc aagtttctc tctctgatgt	29580
ccagccactt ctctctctta ctggctgagt ctggggtatt tataggcaga ggataggtgg	29640
tggggcaggc catacataat ttgggaaaag gcaacattct attggtaaaa agacattatt	29700
cataaagaac caattgggaa agagcgggca cacagggatg gaagtctca ctttgggctg	29760
caggtttcag gcttttcagc tcaaaagtga ggtttttcca gggacctgcc ccgtctgcct	29820
aaaatttcta cacttctgtc attgataccg ctggataaca gctctcctat aaagttcagg	29880
ggcttaaaac aaaaatttac taattcaccg ggacagttct tgatagggtc tctcctaact	29940
gttgcagtta catagcaact gggttggagt catcttttct gggcttgaca tccaggacag	30000
cttcttcctt tgtgtgtctg gtgcctcagt gctctccag gcagccttc tctccagaag	30060
agtagcctgg acttcttggc aactcaagct tccaaaagaa aaaaaagcag agactgctgg	30120
ttctcttatt aaacaggcct ggaactggca caatgtactt ctgctgccat attcaggagg	30180
tcaaagcaat cgaaggccaa tccaagttca aaggcatagg agaaaaatga gaagtgtcac	30240
ttaaatgaga agtgacacat gcgtaaaagg gggaaaagca ttgattgtgg ccatttttgg	30300
agataagcta tcacgtttat ttgtttgttt gcttttctaat ggtctgtctt ctccattag	30360
gttataagct ctgtgagaca acaggaatct tgtccatctt gttttatggc tctacttcca	30420
acacctagaa taatgcctgg cacatagtag gtgctcagtg aataacttaa gcacttgata	30480
catgtttggg gaactaaaa gaacagaatt aaacttcccc agattgggtcc tgccagattt	30540
gctgatgcca agcatgctga tgcctcacca gatgaaagaa gccctaaaat gtagggtttc	30600
gctttctctg caacaagaa aaacttgccc tgaacacaaa atctagaaat agatttggcg	30660
tgttttctac attgaaatat ttcccgtagt accagaaatt attttccac agctttgtgc	30720
tacattaaaa tattgaagtt gactgaaaat atctccattc tttaattctg gtgtagacta	30780
gaaacaattt ttttgaaca aagtaaatat gaaaacttcc taatatttga actccccaga	30840
tatccccaga tatctccaaa cttaaaatat cattgcaagt taagataaat ttttttaaat	30900
gactaccgag aaaggtcatt aaagccttgg ttattaaaat gtacagattt gggttataaa	30960
gccagaactt atttgtttaa atcattacat atgaccaagc acagaaaata aattacctca	31020
aatctcctct ttgctaattt ttaactggtaa actctataaa atgacctat ctttaaacct	31080
ttttgtaaac cccttataag ttagtaagtg agaattgatt catcagaagg atttttagtga	31140
tgtttgaaat taaaaaagag agatttgatt tttaaaatta tacttgcaga ctactgctaa	31200
tgaaacttct tctaacccta gttttgtctt atcttcagtt tttccagatt tgctcaaagc	31260
aatccagtg agcatccagc tcaatgtcat tctcttctct gccatcctta ttgtgttaac	31320

catgggtgggg acagccttct tcatgtacaa tgcttttga aaacctttg aaactctgca	31380
tggtcccta gggtgtacc ttttgagctt catttcaggt aagtacaaaa ttctacctct	31440
gaagacaaat gtgcttttca atatgtcaaa aagaccgtct acctaaatat aaagttataa	31500
tcttaacata tatacatgga tgcacactgt agtattatac ataataacaa aaagtgtgga	31560
aataccacac ttgctcaaca gtagggaatt caataaatac tttatggaca tctatatgaa	31620
taactgtgat gctgacatta aattatattt ttgaagatgt aatcaagagg ataaacgctt	31680
gtctcaaaaa gttacatggg aaaagcagta tgtaaaactta tataaacatt gtgaacctaa	31740
tttgattata tatataaaat atagggaata tacatataaa atacatatat gtatatatgg	31800
gggctatata tatatatata tgaaagagat agatagatag atagatagat agatagatag	31860
acagacagac agacaataca gactccaatc tgttggtcgt ggttgtctct gacctatgac	31920
actatggggg acttttattt ttgctcatac ttttcaatat ttcttagtgt tcaataatgt	31980
gctattattt atacataata ataaaaataa ataaatggca tcaaaaaaga gtaaagggcc	32040
agtgttccgc ccacatatga gcagccatat tcaagcctgt agacactttg tgtagcctaa	32100
tgctaggtgt atctgggcaa ggataaactc taaagccaga aattagttca tcaataaaca	32160
tgtgctactc aatagctagg gctgatggaa aagaatataa aaccagctct gtgccaatg	32220
gtgcttacta tctgcaagtg ggagaaggag aaagacgaga aatgaaaaa tgttgttata	32280
atttatatgt agctgttctg taggagatct ctgacttcac cccattctaa ctttgcaaaa	32340
agatccaaca ctttgtcaga ttctctgggag gcaagtaatt ttattgatgg ttcatggag	32400
ggatacagaa cgataacaac tcacacaaag caaacaatgt aatgaaaatc tctattcgac	32460
tgtttctttt tctctgaag ttgccctttg gctgccagct accaggcacc aggctcaagg	32520
tactttcttg ctcttgacac tactcccttc tctcatataa ttcaaccca accacaaacg	32580
tgtatagatc tctctctcta taaaacaaag gcctgtagtt aacaggaggt cacttgcagt	32640
glagcctctg ttcatgttta cttgtgcaca ctgcttaggg tctcaccca tccacattct	32700
gctaatacaca ttattcaccc atccaatgta gatctctcca gtggagattc tgctaataat	32760
ttcttttagat ttgtcacaag tatataatac agttttaaat tgtacagatg attatcctat	32820
aacagaagag tctaagcctt ttacatcttt gtatctctaa cgaaagcatt cagcatgaag	32880
ctctgtacac agcagacaat tcaatatgaa ttgctgact tgaaacagca agcctagaaa	32940
ggagatgtta acttgggtcac ttagacagaa caggtttcag caatcagaat tcagatgaca	33000
tggaactggt agaacaggcg ctttgaagca ataggacatg agccagtgag gagagggatg	33060

gaatatcata aacaaaggcc aagggttttg caatcagagc tgaagagcca agagcacagg	33120
ctcagggtgt gggcagactg aatgagaaag tgattcaatc acatgtgaaa gtccagatga	33180
gaagagagag ttgggattac ttctgtctac caaacatcca aaaccaaaca ggtggatccg	33240
ggtgggtgtgc tgttttactg atgaccattt cacagaattt taacagaagg aatgtaaagc	33300
agtggttctc aaactggagt tcccagatga gcagcgtctg catcatctgg aaacctgata	33360
aagcagcaaa ttctcaggcc ctaccccaga cccactgaat cagaaacttg ggggtctggg	33420
ggaagatggc catctgtatt ttaacaatct ccttcagga gattctgagg ctggctcaag	33480
tttgaactac aggtagtgg ttcaacaggt gttggtggac tgacaaaca aaagagactc	33540
cgaggtaact ccaagatggt aatgtcagaa agcagctacc accctagggt cttgggggaa	33600
ccaacaaaag agtttggcat tgccagaacc tagaatcttg aggagaggcc ccagagcatt	33660
gtgtctcaga ccttgaggac ttggcactgg gacacatga ggggtttctg ggtgtgggaa	33720
agggtctggaa actccccagt tgctgccacc agggagaact acaagtgaag tggagggtgt	33780
gggcctttct ccttttctt ttctgtctt ctctctccc ctggtgtca tgtttgacag	33840
aaaacagctg aaaaggcaga actagtttgg ggagtcttga cctggcatca taaagcagag	33900
aaaagcaaag ctggagtga ggtgagacac aacagctcat tagcagcaac agccgtctag	33960
cgctccagct tctgaatgaa attctgaaga acagcgact tggaagaca attatttgac	34020
agttctgaca gacgacaaa ctaacagcat ttgaaaagca agatgactca gagaatacag	34080
aatttaatcc aaatcccaga tctatctct gcctttggcc aggcctaag caaggagaac	34140
ctgagcacac aaatatatgc aggaatgatc aggacctgtg cctgcattct attctgtctc	34200
accaccttc aaatttgttg taaaaacatg ggctcaataa aggtttgtga atcagggaag	34260
gaagagaagg ggagaaagga agggaggag ccagctccag atctgtgtct tgcagaggat	34320
aaaggccagt gtttttagat caccagtggt ttttctaagc cccaatact tattttga	34380
tatcaaatg ttcaataact aaaaaaaaa cgtttacaac aataaaacat gtttgagggt	34440
cagatggact ggcagtttgt gacctctggg gataaacagg tcactttgga atcacagact	34500
tctcatcc ccttaaatct catatggtac ccagaagccc ttggaacttt ggaagggtgt	34560
tattcacagt tgtaatgtcc atgcagacc tggtcttaag acccaattgt gtaagggtag	34620
gtttgtagcc cttatccaa acattctaag tgtgagccaa tgcgtcacac actcagaggc	34680
cagagactgt attgggttcc tttatttcac gtacagtgca cattccatta agagacccca	34740
gaagtcagct ctcttccact gactggttct ctcccttgt ttctcttgcc aatgtgtgct	34800
gcccagggtg cagtgtcac tgtcagcaga gaagaaaaat gctttctcc ttggacctct	34860
tttctctttt tctctccct actcacattc aggttcccta agcttccccg ctcttgtgc	34920

tgaagtcatt ctatggcat ttttcaact gtctacttcc ctgctggatg ggcaccaag	34980
acttggcatc ctggggcatg tagaaagggg aaagggagg gaagggaaaa gaagtcctcc	35040
caattgtcta tctggacctt tccacactgc ccagagtact gctatgggca tctccttatg	35100
tctcccgatg tggatgcatgc cagaccctgc aggtagaaaa ggaaagaaag caaccattg	35160
gaccaggcca gcaaaggctt cagtcacaca gctggctcat acttatggct tcatattctg	35220
ttgcctcttg aaccagacat ttttccact ctcataacct ccagtttagc tcgtattcct	35280
cagcattctc catgtaatat tgttgcata aacccatgca agtcagccaa ttgtctcttt	35340
ctcatcttgt catttataaa ttgatgctga gaagtccttt tccaagggtt tttagtaata	35400
ccttcatcat ccccatagt tcattttggg cagtgttctg cttctttgac tgtacattag	35460
aatcatctga agaactttct aaaactactg atctcaggtc tcacacaaca ctaattaaat	35520
tatagtctct ggtggggtag ggcttgggca ctgctatctt accttaagct ctctggagtc	35580
attctaattt gtagccagt ctaagggttg caatataagt gaatataatt cacgtatttg	35640
tcaaacattg actgagtgcc cattatgtgc cagccattat aataggcact ggtgatccca	35700
cagtgaatca ggcacacaat gctgtcttca cggagcttgt tgtctagtgg gagagtcaaa	35760
caaaagtga tatcaataat taagtattga cagattgcaa taattacaat aagggtgata	35820
aacaggttgc tataatatac aatagtattg cctttcacca gacatttctt aaagaggtaa	35880
atcatctatc agacacctt taaaaatctc atctaatttc aaaagtgtac ataaataatt	35940
aagtgttac agtttgcaat aattacaatg agggtgataa acaagttgct atgaaagaga	36000
aagatagcag agatctggct ttgagatggt ggtcaggga gactgctcca atagctgagt	36060
tctaaagcta agaaggaact gagaaccttc acagaacgtc ccaagtagaa gagaaagcac	36120
actgaagact ctagggaag aggtctgctt gttgtaggaa ccgaaagaag gccaatgtgg	36180
ctaggtgctg ggtagttagg ggaaatggca caaggaaaa atgaggttag agagatcagt	36240
tgataccagt taatgttga ccctaaacat taacctgggt aagtccttta gaattgattc	36300
taattgcaat gaaaacctt tgaaagattt taaaaagata tctgatagct gatttacctc	36360
tctaagaaat gtctggtgaa agacaatacc atcacattgg agatggaaaa agatgaatgg	36420
attctaaaaa cattctgaaa gtacattcaa aatgttttcc aggtagctta tgcaactaat	36480
aaatagtggg ggcattctgg gtaagacaag ggaggagcag gcttcagtt tagggcaaga	36540
aagggtggg gagaagagct cagcactaaa atcatgtgtt ccatttgggg cacatcgagt	36600
ctgagttgct atgagaccac caagtggaga tgccaagtaa atagtcagtt acatgaatct	36660
ggagttcagt gaagaggtct agaagaaaga tgtatatttg ggcattattc ggatatagat	36720
attatgtaaa gcaataaaa ttgatgagat cacctaggga gagaatgcac atagataaaa	36780

actgacctag gaccacttca tgtctaaaac accaaaagca atgtcaacaa aagccaaaat	36840
tgacaaatgg gatctaatta aactaaagag ctctgcaca gcaaaagaat cagagtgaac	36900
aggcaaccca caaatggaa gaaaattttc acaacctact catctgacaa agggctaata	36960
tccagaatct acagtgaact caaacaaatt tacaagaaaa aaacaaacaa ccccatcaaa	37020
aagtgggtga aggacatgaa cagacacttc tcaaaagaag acatttatgc agccaaaaaa	37080
catatgaaaa aatgctcacc atcactggcc atcagagaaa tgcaaatcaa aaccacaatg	37140
agataccatc tcacaccagt tcaaatggca atcattaaaa agtcaggaaa caacagggtgc	37200
tggagaggat ctggagaaat aggaacactt ttactctgtt ggtgggacta taaactagtt	37260
caaccattgg ggaagtcatt gtggcgattc ctgaggatc tagaactaga aataccattt	37320
gaccagcca tccattact gggatatata ccaaaggact ataaatcatg ctgctataaa	37380
gacacatgca catgtatgtt tattcgggca ctattcacia tagcaaagac ttggaaccaa	37440
cctaaatgtc caacaatgat agactggatt aagaaaatgt ggcacatata cccatggaa	37500
tactatgcag ccataaaaaa tgatgagttc atgtcctttg tagggacatg gatgaagctg	37560
gaaaccatca tctcagcaa actatcgcaa ggacaaaaaa ccaaacaccg catgtttctca	37620
cccatagggt ggaattgaac gatgagaaca catggacacg ggaaggggaa catcacacac	37680
tggggactgt tgtgggtgg gaagaggggg gagggatagc attaggagat atacctaag	37740
ctaatgacg agttattggg tgcagcacac cagcatggca catgtataca tatgtaccta	37800
acctgcatat tagcacacg taccctaaaa cttaaagtat aataataata aaataaaata	37860
aaataaaaaa acaaaaattg atgtaggacc aattcctgaa gaacactgac agttaatttt	37920
ttggtttagg aggaggagaa gccagcaaac gacactgagt agcaatatcc aaagaaaaag	37980
aggaaaaagg aaaactggga gattatgagt gtcccagagg gaatgtttca agattacat	38040
cagcagttag ctttgtgtaa aggtggcctc ctgtaataga ggtgcgggca ggagaaggca	38100
gaatagggaa aaggggtga aaaagcttcc ctcaagattt ataatacagt ggaagagaga	38160
gacagagaga gagaaagaga aagagagaga gagaacttaa ggaggtagag gaagagagag	38220
aacaaaaaaa gagggagctg agtatagaag caattagatt catagttttt agttgcggca	38280
gtgatatttg agtgggggcc ttttatatat tcattctag gtgtttccca gttgatggga	38340
gagggtctta cctagatctg catgtaaaag ggagtaggcc agctggcaga ctgacatgg	38400
atcagtggta gaacatccta gcagtctgt gaatactctc tgagaatgac atgaaaggta	38460
ttggttcagg ctttttgag gtgataaaaa ccacaaaat gtggacttat tgcaaatgt	38520

atttgttacc atttgcaatg attataatta ttctcttata tataggcttt cttacatata	38580
gcttctctta cacatagcgt catgagttat gccttctctt acatatagtg tctgctatga	38640
gttatgccaa gcagggcaaa caaaattgct gcctttcttt aaaaagagga cgctcctagt	38700
atgggcctaa ttaattatga taattacagc tatggcatgg aacataagca cattcatata	38760
cacaaagaca ataaaataaa gaacagttca aaaacagaac agttacatta tatatcagtt	38820
tcagtatgaa taataacctg gactctgaaa tatgtctggg gcacattatt ctgtaattgg	38880
tggtgaaaaa aaatctgcat cttatctcia cgccaatcct tatgaaggag ctgtttttca	38940
ggagtctgag aaagagacac agggatgtcc agtcatcaaa gccgcagagc ctgaggaaga	39000
ataaaggatt tgtggcagga aaaccagta atgaatgtat tctgctagtt tctcagcata	39060
gaacttagaa aagaggccac agaaggaaaa gagaagtaat gttagacagc tgatgttggc	39120
aatgggcaaa gaatttcatt ctcatatgca gggcagtggc taaaggggca gtgttgtgag	39180
gaatcacatt ccaggtcatt catgtccagg gtgtggtagg aggactgtgt ttcatttatt	39240
ttgtacatgg ccagctatg acctgtgca aggaaatgct taatcatttt ctatcacagt	39300
tgcaaagaga ttcttatcct actcagaatg tacgtcttct cttctgttct atttacagtc	39360
acaaccaag tccttgcttt gacctcaaaa gcaccacttg atgtatccac ttcagaaaca	39420
cacacagaca gctcacctct ttctatccct taccttctc cctcttcac tcaaaccacc	39480
tacttctttt geattcactc ttcttcagc ctgaaataat cttctccaa atatctacct	39540
tctcactccc tcaattctct caagatacac ttaaatgtta tattccctat gaggcctccc	39600
ctggccatcc ctecccagcc ttctatccc cctctctgc tttattttat tctcttaat	39660
atatacaca ctctgataaa ccattgaatg tacttatcaa gttattgcct ctctctccct	39720
ttccattgtc tccatcactg agagctctgt gaagaaaagg atttgtacct gtttcattta	39780
gtgctgtacc ccagttccc acaacagcgc aacaggcact caataaatag ttgttgaata	39840
agtgaataaa acagaagtag ctgcatattt tctggtaaca aatgatattc ttctgaaaat	39900
gcatattttt cagacatatt tccgaaaata aattcaaatt agataacat tgtattttta	39960
gaccatttct tctttgcatt aatcatcctt ctcaataata taacatttgt aaaacttagg	40020
ttagatatgg gctcttcaac ttccattac agaagataaa gtgaaaaggc tagaccaat	40080
ggtgttattc cttcatctac atctatcctt tggaaacaca tgaccaaatt gcttgccatc	40140
acaatctcaa aatctacctt ttggtattaa ctcaattcac ttgtccctct gtcccttttt	40200
agatggtagc catcggctctc tggagcagtg tagagtcaga acaacttcta tttggggaag	40260
aatcatttgc tggtgacctt actttcaatt actaacttct tagtgacatt tacataattt	40320
tagagaaaat taacacctac acttgtaaag ttgtggcttt cccacaccta tttatcatct	40380

ctcaatatc ctigaaaagg aaattatcaa ttatcattc tatattggca atgaaatgcc	40440
cctaatatct gtcacatata agacaattga agatgatgtg ttgaaagctt tctgaaaatg	40500
ctgatcatta ctttaaatgg aattgaaatt ccagtttatt atttccaaaa atatgatctt	40560
actgatcata ggataacatt tcataacatt tcagagattt cttcccttc gaggagccaa	40620
acccatagga cctctggact cccacagatc ctggcaggga gttcccactc ataaaagcac	40680
aggtgccctc agagtcatc agggatgaag aagcaaccct cattggccat gtcctacgtt	40740
ccccatatag taaggactgg aggagaccag tgctcaattc tgcagtctca gacagctgtc	40800
agaggagagt catgaatgtg cagtgtctag cacattacaa acgtttgtta attgactgat	40860
cattcatggt gtgacagccc tataactcag ctatcctatt cagtcagaaa ttaactcagt	40920
aatcaaagtc attaaaagga agaaaaaaaa aacctacagt accagacaga tgggtggggaa	40980
atcagacaga tgaaaggaaa aatggctgtg ggtcattgag taagacactg ggcagcaaaa	41040
cctgggcctt gtgcctggtt atactccaca ttatagctcc agcaaggttt ggcaggattt	41100
ccacagtcct ggcttattct aacctttctt gggagcagga gcagtgttgg tcagatagac	41160
agacacataa ggaatctgtc caactggcac cgtgtgaatt tgggtctctg gtgtacatgg	41220
ataactggga aaaagaggag agagacatgt aggactgatc ctaccgtttg tgaagtcttg	41280
ggcaagagta tgaatgaaaa cccacttctc ttccccgcc tggctccact gcacacagta	41340
aagagcctca agcatagggt tgtggacatt gcaccatgta tccaagctct gaccatgcct	41400
cttgaacag ctattcctca gccaccctct gaccatggga ggaatgacct aggagaaatg	41460
accacatagg tcttgaaaat gggctcaggc ctatttacga agtcaattcc ggggtcccag	41520
gagtatggac taaaatgtga gtcaggcatg ccagatgggt atgttctatt gacttcaagg	41580
attcctcatg ctgtgggaag gaacctctcc agaagagaga cagagcagaa ccctctaat	41640
gtggggcaca aagcaggagc ccctcttgc tggattcaaag ggtcatactg gaagagtgtg	41700
ggttgagtct tattctcaca tcactcata cacttacaca cttcttttat agccttagca	41760
gccatgccac aaagagaaac tcttcatgca tatcttttgg tccataagtc ataaatagtt	41820
atccttgatc ccatgtcttt tttagagcca tggacagaga gaagcaaaaa tataccaagt	41880
tcacactgag ttgtctccct tcatactct tagcagtcac tgaaaggta tgagactcag	41940
gtcgggtttc tatcctctgt cctgaaacg acaacgttga cctcgtgatc aaccctagaa	42000
tccagagcaa gatctcagac tgtcctctct actaccagac agcacacttt gttttggggg	42060
ctgtgtgctt gaaatattag ctatggcaaa aggcctttgag tcttatgaca cccaagtaa	42120
cttttacttt aggaatttga aatacagcct tgcgtgaatg ctgtctcctt aacaaagcag	42180
taccttgaa atatttaaca acttgaaaag gaaaccgagc ttgaattttc ctttcaggtg	42240

ctcaggaaat aatgtttcac ttctgtctga aattcacat ctctcagac aaagaaggct	42300
cttatggtaa aaggaatggc attttctcca caattttcga ataaaagata aagagaaaac	42360
agcactgcag cctttttgtt aggatctaac aataaagaaa taatacgggtt ttgccagggg	42420
agagctctgg ttttaagctc agaatacaaa aataggctga caaaatttta caaaggaata	42480
ttctcagcta ccactctgag gatggtagaa agtgaaattt caagaaaatt atattatttg	42540
attatttgat gatgattaag ctgattggcc agtcctatgt gaaattctaa agtagaagaa	42600
atgtgatgtt gtcttttctg ctcacctctc cctcattcc tacccecaaa tctctgcctc	42660
tacccecaac ccagcctgac ctttgggaaa ggaatggggg ctgtcacttg caccgtagct	42720
ctctctgcct gcagtactct cccccacag tccagcctcc ctctgctcag ctaacttttc	42780
ctatagctcc ttctggctac ttctaaggaa ctttcataa tgctgccac cctctcagta	42840
acagcccctc tactatccct tgattacatg cactgtaatt ggtagtaat tgattttatg	42900
tcctctgcca aattatactc catgagagca aaaatcatga gtattatctt taatgtttaa	42960
atctccacaa ctatcccca tataagtcta gagaataaat gaatgagtga attaataat	43020
agaaactcaa gccattatgt tgccactcct aggatatgtt gattaacttt aactgaagag	43080
taaaaagcat ttacctgtcc taaaggagac ataaaattag tgggagagta tttggagaaa	43140
aaaaagacac tgtaatacat tcttttgtgt tgcctaccct gatgtagtca ggtgtccctg	43200
atatggggtg ggctgaggat ttgaaataaa atacctaat tgacattgta agtggaggaa	43260
tcaggatttg aaaccaaatt ggtttgacct aaatcaagct attatgataa ggacttgcaa	43320
gaaaaaagga atccataaaa accatatgaa tagctaccaa ttagtaagca tttatatgtg	43380
tcaattacaa agccaaatgc aaatcatgct ttattttatat tagccacctt ttatagatga	43440
agaaattgag acctgaatat taaaattgcc tacttttaca tagtaagtaa aggaatcagg	43500
gtttgaacce aaattggttt cacctaaggt agaaaacat ccagcaagt ctctattaa	43560
ctggaaccct attgtgggtg cctgagatat aacagtagct gtggaagcgc ttagagtcc	43620
tggccatcct atgtgtcct gatctggtcc ctctgccac ctgcttctgc tccctgtgcc	43680
atccacccat ctggaagtct ccagtggtcc atcttcgggg gagacactca ccagagtttc	43740
cagcttcag ccagtatgga gtgcccctgt ccacagcaa tctcacgaa atcacagcta	43800
catctgttaa aattaggeta ccaatgagt atagatgagg gggaaaaata ataatagtgt	43860
actaaacaaa acaaatgttt attttctca cacataaaaa tctagaggtt gaagtccagg	43920
gctgggtccag aggtccaag gatctgggat ttagactccc tcttcttgt tttccacag	43980

catatggctt ccatttctgg ggccacattg gtccaaaatg tatgctgggg ctccagccat	44040
tgcattccata tticagccac aggaaggagg aagtggggaa gaaaggacag gccctaata	44100
cctgtatagt tcaagaagac tatcccgccc atacttccca accacctta gttgaacaat	44160
gctgtcttaa ttcaagacac tcacatgtct agccaaaaat ctgaattctg ttacaaacaa	44220
ggagaataga gatgtgcgcc acctcaatac tcatccata gctacctttt cctttgtgca	44280
gctgtggcca agtgaagct gaaggagctg tggtaaccct tctgaaggga ggctggggcc	44340
tttcacaaga ggctgcatga ttgacattia tctgcatgg cctgtgaagt acagagaaat	44400
atcttctctt gaagccacat catagcagtg gctgctttgt agcctgattc caccattatg	44460
cctttaaagt gcctagcaat tcagccttca catcatgcaa agaggaatat ctcccagctt	44520
ttgtaagatc agcttaattc taaccacctc cttacctccc actgcactcc tacacgcaca	44580
cacaaatctt cttcactcag agcagaacca taaccaagc cctaccacct agagactgaa	44640
gaatcaggct catgattaca aatatgcaat aatTTTTTgt gtggataatg tcaatgggga	44700
tgatggtaag agaattcctt ggtttacaca ttgacctct tccctgtccc ttacaatcag	44760
gaaatatttg tcccaacacc ttgtttcttc tgttcaggc tctgtggct gtcttgtcat	44820
gatattgttt gcctctgaag tgaaaatcca tcacctctca gaaaaattg caaattataa	44880
agaagggact tatgtctaca aaacgcaaag tgaaaaatat accacctcat tctgggtcat	44940
tttcttttgc tttttgttc attttctgaa tgggctccta atacgacttg ctggatttca	45000
gttccctttt gcaaatcta aagacgcaga aacaactaat gtagctgcag atctaagtta	45060
ctgaaaggca aacctttcta taattttaca agggagtaga cttgcttttg tcacttttag	45120
atgtggttaa ttttgcata ctttttagtc tgcatatatt aaagcatcag gaccttcgt	45180
gacaatgttt acaaattacg tactaaggat acaggctgga aagtaaggga agcagaagga	45240
aggctttgaa aagtgtttt atctggtggg aaattgcttg acccaggtag tcaaaggcag	45300
ttgactagaa tcgacaaatt gttactccat atatatatat gtgtgtgtgt gtgtgtgtgt	45360
gtgtgtgtaa gatgtcttcc tatcaaaaag atatcaaagg cacatggaat atattttaat	45420
aaaaacaaat aatatctcta atatatccac acatttgttg ccagatttca gaaaactgag	45480
ctgcaatcgc tticctaaaa cagtagtgta ttaaatgaac atctataaaa tgtatcaaca	45540
cacattttaa aaaatttgtt taaagtatac tcttaggcca ggctgtgtga ctcacacctg	45600
taattccagc acitcaggag gccaaaggtg gaagatcatt tgagttcagg agttcgagtt	45660
acagcctggg caataaagtg agaccctgtc actaacaaaa ttaaaaaata aaataaatat	45720
aaaatatagg ctttaaaaa gcatagtctt attaacatg tctgttggc aaaatctgca	45780
aactctaaaa gaagaaaaga agaaaaaac aagcttaggg tattttctc cccgtgcctg	45840

agtccaatt acattcacga cagtactttc aatgaacata attgttagga ccactgagga 45900
atcatgaaaa atgatctctg cttagtacat ttgatgcaaa atgacttatt aggggctgtt 45960
tttctagcta tagtgtctcg agtactaata tgcaattatg aaaattatat taaatctggg 46020
attatgacgg taicactgta tcactttggt cttgttctgg ctgtcaccaa gcatgaccca 46080

ggteaacttt tttttccccc tgaattaccc atcaaattga tctgcagctg actaaaggcc 46140
acagctgagc ctggaactga ccttccttc atcctcaacc tgctgtcctc cagaaagcac 46200
caaggaaaaa gcagagaatg acagcaaaca gatcactagg cctctgacca caggtgctga 46260
gtactcagca gccctcatat aataggtttg aaagtactcc ttaaaataaa acactgtttc 46320
cctttggaac tatttacaag gatgaacaaa ccgtatacct gagaaataac ttgctctggt 46380
gtcaattcgc tattcgccag cagacatcag aacacaccga gtttccagat gctgggtttt 46440
ccccttaaat caggaaatac acctggacaa tttctagaag actacaattc agtctagcca 46500

caaaggggat tttttttttt tggtaacagg ctagagcccg gttctgtaag tctttagctg 46560
aaatggtcca gtacaaaagc actggaaatg agtgggctag gaggacaagg accgtctcct 46620
gcgtgaggag ttggttgag gtccccaagg ccaggtaccc cctgcactct tattggattc 46680
ctctctgtct tcttgagtt ttgaaaaact ccttcgaaca ccaggctttt tcttttagaa 46740
aacaagtctc caatcgttct ctgttccgta gaaagagaaa gaaaacctgg agcagctgct 46800
gaaaaatcta atgaggaact aagaggcaaa cccacca 46837

<210> 6

<211> 2087

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 6

acagaagccg ttctcatca tgccaagcca acagaagaaa atcatTTTTT gcatggccgg 60
agtgttcagt ttgcatgtg ccttcggagt tgtgacagcc ttggggacac cgttgtggat 120
caaagccact gtctctgca aaacgggagc tctgctcgtc aatgcctcag ggcaggagct 180
ggacaagttt atgggtgaaa tgcagtacgg gcttttccac ggagagggtg tgaggcagtg 240
tgggttggga gcaaggccct ttcggttctc attttttcca gatttgcctc aagcaatccc 300
agtgagcatc cacgtcaatg tcattctctt ctctgccatc cttattgtgt taacctgggt 360
ggggacagcc ttcttcatgt acaatgcttt tggaaaacct tttgaaactc tgcattgtcc 420

cctagggctg taccttttga gcttcatttc aggtctctgt ggctgtcttg tcatgatatt 480
gtttgcctct gaagtgaaaa tccatcacct ctcaaaaaa attgcaaatt ataaagaagg 540

gacttatgtc tacaaaacgc aaagtgaaaa atataccacc tcattctggg tcattttctt 600
 ttgctttttt gttcattttc tgaatgggct cctaatacga cttgctggat ttcagttccc 660
 ttttgcaaaa tctaaagacg cagaaacaac taatgtagct gcagatctaa tgtactgaaa 720
 ggcaaacctt tctataattt tacaagggag tagacttgct ttggtcactt ttagatgtgg 780
 ttaattttgc atatcctttt agtctgcata tattaagca tcaggaccct tcgtgacaat 840

gtttacaaat tacgtactaa ggatacaggc tggaaagtaa gggaagcaga aggaaggctt 900
 tgaaaagttg ttttatctgg tgggaaattg cttgaccag gtagtcaaag gcagttgact 960
 agaatcgaca aattgttact ccatatata atagtgtgt gtgtgtgtgt gtgtgtgtgt 1020
 glaagatgtc ttctatcaa aaagatatca aaggcacatg gaatatattt taataaaaac 1080
 aaataatc tctaatatat ccacacattt gttgccagat ttcagaaaac tgagctgcaa 1140
 tcgctttcct aaaacagtag tgtattaaat gaacatctat aaaatgtatc aacacacatt 1200
 ttaaaaaatt tgittaaagt atactcttag gccaggcgtg gtgactcaca cctgtaattc 1260

cagcacttca ggaggccaag gtgggaagat cttttagtt caggagtctg agttacagcc 1320
 tgggcaataa agtgagacc tgtcactaac aaaattaaaa aataaaataa atataaaata 1380
 taggctttta aaaagcatag tcttattaac catgtctgtt ggtcaaaatc tgcaactct 1440
 aaaagaagaa aagaagaaaa aaccaagctt agggatattt tctcccgtg cctgagtccc 1500
 aattacattc acgacagtac tttcaatgaa cataattgtt aggaccactg aggaatcatg 1560
 aaaaatgac tctgcttagt acatttgatg caaaatgact tattaggggc tgtttttcta 1620
 gctatagtgt ctcgagtact aatatgcaat tatgaaaatt atattaaatc tgggattatg 1680

acggatcac tgiatcatc tggctttgt ctggctgtca ccaagcatga ccaggtcaa 1740
 cttttttttt cccctgaatt acctatcaa ttgatctgca gctgactaaa ggccacagct 1800
 gagcctggaa ctgaccctc cttcatctc aacctgtgt cctccagaaa gcaccaagga 1860
 aaaagcagag aatgacagca aacagatcac taggcctctg accacaggtg ctgagtactc 1920
 agcagccctc atataatagg ttgaaagta ctcttaaaa taaaacactg tttcccttg 1980
 gaactattta caagatgaa acaaccgtat acctgagaaa taacttgctc tgggtgcaat 2040
 tcgctattcg ccagcagaca tcagaacaca ccgagtttcc agatgct 2087

<210> 7

<211> 1444

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 7

tgcctcccca ccattcacca ggctccactg cactggctca ttctgcctc agttgtgctt	60
cttttcctg gaaagtctt tctgtagatc tttaaaggt gatttccttc tcaacattca	120
gggtgcagct cgtttcactt tectgacat gcccatccac tcagagatca ctcaaaatcc	180
cattacccta ttttatttct ccatcataatg tatcactatc tgaactatc ttgtttgtga	240
tgcaggctat tttcttgacc ctttcatggg actccaaca ggggtacccc atttactcag	300
cctgccctgc tcaacctctt gcaggaggga gcacacgagt gaacgagtgc aggaaccagc	360
tggctgcttt agtgctgtga ggagtaaact ccatgcaggc cctgcagcag caaccagttt	420
ttccagattt gctcaaagca atcccagtga gcatccacgt caatgtcatt ctcttctctg	480
ccatccttat tgtgttaacc atgggtggga cagccttctt catgtacaat gcttttgaa	540
aaccttttga aactctgcat ggtcccttag ggctgtacct tttagcttc atttcaggct	600
cctgtggctg tcttgtcatg atattgtttg cctctgaagt gaaaatccat cacctctcag	660
aaaaaattgc aaattataaa gaagggactt atgtctacaa aacgcaaagt gaaaaatata	720
ccacctcatt ctggctgact aaaggccaca gctgagcctg gaactgaccc ttccttcac	780
ctcaacctgc tgcctccag aaagcaccaa ggaaaaagca gagaatgaca gcaaacagat	840
cactaggcct ctgaccacag gtgctgagta ctgagcagcc ctcatataat aggtttgaaa	900
gtactcctta aaataaaaca ctgtttccct ttggaactat ttacaaggat gaaacaaccg	960
tatacctgag aaataacttg ctctgggtgc aattcgtat tcgccagcag acatcagaac	1020
acaccgagtt tccagatgct gggttttccc cttaaatcag gaaatacacc tggacaattt	1080
ctagaagact acaattcagt ctagccacaa aggggatttt ttttttttg taacaggcta	1140
gagcccggtt ctgtaagtct ttagctgaaa tggctcagta caaaagcact ggaaatgagt	1200
gggctaggag gacaaggacc gtctcctgcg tgaggagttg gttggaggtc cccaaggcca	1260
ggtacccctt gcactcttat tggattcttc tctgtcttct tggagttttg aaaaactcct	1320
tcgaacacca ggcttttttc tttagaaaac aagtctccaa tcgttctctg ttccgtagaa	1380
agagaaagaa aacctggagc agctgctgaa aaatctaag aggaactaag aggcaaacc	1440
acca	1444
<210> 8	
<211> 2398	
<212> DNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 8	
aggagatact tgaaggcagt ttgaaagact tgttttacag attcttagtc caaagatttc	60

caattaggga gaagaagcag cagaaaagga gaaaagccaa gtatgagtga tgatgaggcc 120
 ttcactact gacatttaac ctggcgagaa ccgtcgatgg tgaagttgcc ttttcagctg 180
 ggagctgtcc gttcagcttc cgtaataaat gcagtcaaag aggcagtcctc tteccattgc 240
 tcacaaaggt ctigtitttg aacctcgccc tcacagaagc cgtttctcat catgccaagc 300
 caacagaaga aaatcatttt ttgcatggcc ggagtgttca gttttgcatg tgccctcgga 360
 gttgtgacag ccttggggac accgttgttg atcaaagcca ctgtcctctg caaacggga 420
 gctctgctcg tcaatgcctc agggcaggag ctggacaagt ttatgggtga aatgcagtac 480

gggcttttcc acggagaggg tgtgaggcag tgtgggttgg gagcaaggcc ctttcggttc 540
 tcatttttcc cagatttgc taaagcaatc ccagttagca tccacgtcaa tgcattctc 600
 ttctctgcca tccttattgt gtttaaccatg gtggggacag ctttcttcat gtacaatgct 660
 tttgaaaac cttttgaaac tctgcatggt cccttagggc tgtacctttt gagcttcatt 720
 tcagttgccc ttiggtgccc agctaccagg caccaggctc aaggctcctg tggctgtctt 780
 gtcagtatat tgtttgcctc tgaagtgaat atccatcacc tctcagaaaa aattgcaaat 840
 tataaagaag ggacttatgt ctacaaaacg caaagtgaat aatataccac ctcatctctg 900

gtcattttct ttigtctttt tgttcatttt ctgaatgggc tcctaatacg acttgctgga 960
 tttcagttcc cttttgcaaa atctaaagac gcagaaacaa ctaatgtagc tgcagatcta 1020
 atgtactgaa aggcaaacct ttctataatt ttacaaggga gtagacttgc tttggctcact 1080
 tttagatgtg gtttaatttg catatccttt tagtctgcat atattaaagc atcaggaccc 1140
 ttcgtgacaa tgtttacaaa ttacgtacta aggatacagg ctggaaagta agggaagcag 1200
 aaggaaggct ttgaaaagtt gttttatctg gtgggaaatt gcttgacca ggtagtcaaa 1260
 ggcagttgac tagaatcgac aaattgttac tccatatata tataatgtgtg tgtgtgtgtg 1320

tgtgtgtgtg tgtaagatgt ctctctatca aaaagatata aaaggcact ggaatatatt 1380
 ttaataaaaa caataatat ctctaataa tccacacatt tgttgccaga tttcagaaaa 1440
 ctgagctgca atcgctttcc taaaacagta gtgtattaaa tgaacatcta taaaatgtat 1500
 caacacacat tttaaaaaat ttgtttaaag tatactctta ggccaggcgt ggtgactcac 1560
 acctgtaatt ccagcacttc aggaggccaa ggtgggaaga tcatttgagt tcaggagtcc 1620
 gagttacagc ctgggcaata aagttagacc ctgtcactaa caaaattaaa aaataaaata 1680
 aatataaaat ataggcttta aaaaagcata gtcttattaa ccatgtctgt tggtaaaaat 1740

ctgcaaacac taaaagaaga aaagaagaaa aaaccaagct tagggtattt ttcctcccgt 1800
 gcctgagtc caattacatt cagcacagta ctttcaatga acataattgt taggaccact 1860
 gaggaatcat gaaaaatgat ctctgcttag tacatttgat gcaaaatgac ttattagggg 1920

ctgtttttct agctatagtg tctcgagtac taatatgcaa ttatgaaaat tatattaaat	1980
ctgggattat gacggatca ctgtatcatc ttggtcttgt tctggctgtc accaagcatg	2040
accaggtca actttttttt tccctgaat taccatcaa attgatctgc agctgactaa	2100
aggccacagc tgagcctgga actgaccctt ccttcatcct caacctgctg tcctccagaa	2160
agcaccaagg aaaaagcaga gaatgacagc aaacagatca ctaggcctct gaccacaggt	2220
gtgagtact cagcagccct catataatag gtttgaaagt actccttaaa ataaaacact	2280
gtttcccttt ggaactatit acaaggatga aacaaccgta tacctgagaa ataacttgct	2340
ctggtgtcaa ttcgtatitc gccagcagac atcagaacac accgagtttc cagatgct	2398
<210> 9	
<211> 2259	
<212> DNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 9	
acagaagccg tttctcatca tgccaagcca acagaagaaa atcatTTTTT gcatggccgg	60
agtgttcagt ttgcatgtg ccctcggagt tgtgacagcc ttggggacac cgttgtggat	120
caaagccact gtctctgca aaacgggagc tctgctcgtc aatgcctcag ggcaggagct	180
ggacaagttt atgggtgaaa tgcagtacgg gcttttccac ggagagggtg tgaggcagtg	240
tgggttggga gcaaggccct ttcggttctc atgctatitT cttgaccctc tcatgggact	300
cccaacaggg gtacccatt tactcagcct gccctgctca acctcttgca ggaggagca	360
cacgagtga cagatgcagg aaccagctgg ctgctttagt gctgtgagga gtaaaactcca	420
tgcaggccct gcagcagcaa ccagttttc cagatttgct caaagcaatc ccagtgcga	480
tccacgtcaa tgtcattctc ttctctgcca tccttatitg gttaaccatg gtggggacag	540
ccttcttcat gtacaatgct tttggaaaac cttttgaaac tctgcatggt cccctagggc	600
tgtacctttt gagcttcatt tcaggtcctc gtggctgtct tgtcatgata ttgtttgcct	660
ctgaagtga aatccatcac ctctcagaaa aaattgcaaa ttataaagaa gggacttatg	720
tctacaaaac gcaaagtga aaatatacca cctcattctg ggatcatttc ttttgccttt	780
ttgttctatt tctgaatggg ctctcaatac gacttgctgg atttcagttc ctttttgcaa	840
aatctaaaga cgcagaaaca actaatgtag ctgcagatct aatgtactga aaggcaaacc	900
tttctataat tttaacagg agtagacttg ctttggtcac ttttagatgt ggtaatttt	960
gcatacctt ttagtctgca tatattaaag catcaggacc cttcgtgaca atgtttacaa	1020
attacgtact aaggatacag gctggaaaat aagggaagca gaaggaaggc tttgaaaagt	1080

tgttttatct gggtgggaaat tgcttgaccc aggtagtcaa aggcagttga ctagaatcga 1140
 caaattgtta ctccatatat atatatgtgt gtgtgtgtgt gtgtgtgtgt gtgtaagatg 1200
 tcttcctatc aaaaagatat caaaggcaca tggaaatatat ttttaataaaa acaaataata 1260
 tctctaatat atccacacat ttgttgccag atttcagaaa actgagctgc aatcgctttc 1320
 ctaaaacagt agtgtattaa atgaacatct ataaaatgta tcaacacaca ttttaaaaaa 1380

tttgtttaaa gtatactctt aggccaggcg tggtgactca cacctgtaat tccagcactt 1440
 caggaggcca aggtgggaag atcatttgag ttcaggagtt cgagttacag cctgggcaat 1500
 aaagtgagac cctgtcacta acaaaattaa aaaataaaat aaatataaaa tataggcttt 1560
 aaaaaagcat agtcttatta accatgtctg ttggtcaaaa tctgcaaact ctaaaagaag 1620
 aaaagaagaa aaaaccaagc ttagggatatt tttctcccg tgcctgagtc ccaattacat 1680
 tcacgacagt actttcaatg aacataattg ttaggaccac tgaggaatca tgaanaatga 1740
 tctctgctta gtacatttga tgcaaatga cttattaggg gctgtttttc tagctatagt 1800

gtctcgagta ctaatatgca attatgaaaa ttatattaaa tctgggatta tgacggtatc 1860
 actgtatcat cttggctctg ttctggctgt caccaagcat gaccaggtc aacttttttt 1920
 ttccctgaa ttacctatca aattgatctg cagctgacta aaggccacag ctgagcctgg 1980
 aactgacct tccttcatcc tcaacctgct gtctccaga aagcaccaag gaaaaagcag 2040
 agaatgacag caaacagatc actaggctc tgaccacagg tgctgagtac tcagcagccc 2100
 tcataataa ggittgaaag tactccttaa aataaacac tgtttccctt tggaaactatt 2160
 tacaaggatg aaacaaccgt atacctgaga aataacttgc tctgggtgtca attcgctatt 2220

cgccagcaga catcagaaca caccgagttt ccagatgct 2259

<210> 10

<211> 232

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 10

Met Pro Ser Gln Gln Lys Lys Ile Ile Phe Cys Met Ala Gly Val Phe

1 5 10 15

Ser Phe Ala Cys Ala Leu Gly Val Val Thr Ala Leu Gly Thr Pro Leu

20 25 30

Trp Ile Lys Ala Thr Val Leu Cys Lys Thr Gly Ala Leu Leu Val Asn

35 40 45

Ala Ser Gly Gln Glu Leu Asp Lys Phe Met Gly Glu Met Gln Tyr Gly
50 55 60
Leu Phe His Gly Glu Gly Val Arg Gln Cys Gly Leu Gly Ala Arg Pro
65 70 75 80
Phe Arg Phe Ser Phe Phe Pro Asp Leu Leu Lys Ala Ile Pro Val Ser
85 90 95
Ile His Val Asn Val Ile Leu Phe Ser Ala Ile Leu Ile Val Leu Thr
100 105 110
Met Val Gly Thr Ala Phe Phe Met Tyr Asn Ala Phe Gly Lys Pro Phe
115 120 125
Glu Thr Leu His Gly Pro Leu Gly Leu Tyr Leu Leu Ser Phe Ile Ser
130 135 140
Gly Ser Cys Gly Cys Leu Val Met Ile Leu Phe Ala Ser Glu Val Lys
145 150 155 160
Ile His His Leu Ser Glu Lys Ile Ala Asn Tyr Lys Glu Gly Thr Tyr
165 170 175
Val Tyr Lys Thr Gln Ser Glu Lys Tyr Thr Thr Ser Phe Trp Val Ile
180 185 190
Phe Phe Cys Phe Phe Val His Phe Leu Asn Gly Leu Leu Ile Arg Leu
195 200 205
Ala Gly Phe Gln Phe Pro Phe Ala Lys Ser Lys Asp Ala Glu Thr Thr
210 215 220
Asn Val Ala Ala Asp Leu Met Tyr
225 230
<210> 11
<211> 120
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 11
Met Gln Ala Leu Gln Gln Gln Pro Val Phe Pro Asp Leu Leu Lys Ala
1 5 10 15
Ile Pro Val Ser Ile His Val Asn Val Ile Leu Phe Ser Ala Ile Leu

20 25 30
 Ile Val Leu Thr Met Val Gly Thr Ala Phe Phe Met Tyr Asn Ala Phe
 35 40 45
 Gly Lys Pro Phe Glu Thr Leu His Gly Pro Leu Gly Leu Tyr Leu Leu
 50 55 60

Ser Phe Ile Ser Gly Ser Cys Gly Cys Leu Val Met Ile Leu Phe Ala
 65 70 75 80
 Ser Glu Val Lys Ile His His Leu Ser Glu Lys Ile Ala Asn Tyr Lys
 85 90 95
 Glu Gly Thr Tyr Val Tyr Lys Thr Gln Ser Glu Lys Tyr Thr Thr Ser
 100 105 110
 Phe Trp Leu Thr Lys Gly His Ser
 115 120

<210> 12

<211> 245

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 12

Met Pro Ser Gln Gln Lys Lys Ile Ile Phe Cys Met Ala Gly Val Phe
 1 5 10 15
 Ser Phe Ala Cys Ala Leu Gly Val Val Thr Ala Leu Gly Thr Pro Leu
 20 25 30
 Trp Ile Lys Ala Thr Val Leu Cys Lys Thr Gly Ala Leu Leu Val Asn
 35 40 45
 Ala Ser Gly Gln Glu Leu Asp Lys Phe Met Gly Glu Met Gln Tyr Gly
 50 55 60

Leu Phe His Gly Glu Gly Val Arg Gln Cys Gly Leu Gly Ala Arg Pro
 65 70 75 80
 Phe Arg Phe Ser Phe Phe Pro Asp Leu Leu Lys Ala Ile Pro Val Ser
 85 90 95
 Ile His Val Asn Val Ile Leu Phe Ser Ala Ile Leu Ile Val Leu Thr
 100 105 110

Met Val Gly Thr Ala Phe Phe Met Tyr Asn Ala Phe Gly Lys Pro Phe
115 120 125

Glu Thr Leu His Gly Pro Leu Gly Leu Tyr Leu Leu Ser Phe Ile Ser
130 135 140

Val Ala Leu Trp Leu Pro Ala Thr Arg His Gln Ala Gln Gly Ser Cys
145 150 155 160

Gly Cys Leu Val Met Ile Leu Phe Ala Ser Glu Val Lys Ile His His
165 170 175

Leu Ser Glu Lys Ile Ala Asn Tyr Lys Glu Gly Thr Tyr Val Tyr Lys
180 185 190

Thr Gln Ser Glu Lys Tyr Thr Thr Ser Phe Trp Val Ile Phe Phe Cys
195 200 205

Phe Phe Val His Phe Leu Asn Gly Leu Leu Ile Arg Leu Ala Gly Phe
210 215 220

Gln Phe Pro Phe Ala Lys Ser Lys Asp Ala Glu Thr Thr Asn Val Ala
225 230 235 240

Ala Asp Leu Met Tyr
245

<210> 13

<211> 185

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 13

Met Pro Ser Gln Gln Lys Lys Ile Ile Phe Cys Met Ala Gly Val Phe

1 5 10 15
Ser Phe Ala Cys Ala Leu Gly Val Val Thr Ala Leu Gly Thr Pro Leu
20 25 30

Trp Ile Lys Ala Thr Val Leu Cys Lys Thr Gly Ala Leu Leu Val Asn
35 40 45

Ala Ser Gly Gln Glu Leu Asp Lys Phe Met Gly Glu Met Gln Tyr Gly
50 55 60

Leu Phe His Gly Glu Gly Val Arg Gln Cys Gly Leu Gly Ala Arg Pro

65 70 75 80

Phe Arg Phe Ser Cys Tyr Phe Leu Asp Pro Phe Met Gly Leu Pro Thr

85 90 95

Gly Val Pro His Leu Leu Ser Leu Pro Cys Ser Thr Ser Cys Arg Arg

100 105 110

Glu His Thr Ser Glu Arg Val Gln Glu Pro Ala Gly Cys Phe Ser Ala

115 120 125

Val Arg Ser Lys Leu His Ala Gly Pro Ala Ala Ala Thr Ser Phe Ser

130 135 140

Arg Phe Ala Gln Ser Asn Pro Ser Glu His Pro Arg Gln Cys His Ser

145 150 155 160

Leu Leu Cys His Pro Tyr Cys Val Asn His Gly Gly Asp Ser Leu Leu

165 170 175

His Val Gln Cys Phe Trp Lys Thr Phe

180 185

<210> 14

<211> 258

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide"

<400> 14

Met Pro Ser Gln Gln Lys Lys Ile Ile Phe Cys Met Ala Gly Val Phe

1 5 10 15

Ser Phe Ala Cys Ala Leu Gly Val Val Thr Ala Leu Gly Thr Pro Leu

20 25 30

Trp Ile Lys Ala Thr Val Leu Cys Lys Thr Gly Ala Leu Leu Val Asn

35 40 45

Ala Ser Gly Gln Glu Leu Asp Lys Phe Met Gly Glu Met Gln Tyr Gly

50

55

60

Leu Phe His Gly Glu Gly Val Arg Gln Cys Gly Leu Gly Ala Arg Pro

65 70 75 80

Phe Arg Phe Ser Phe Phe Pro Asp Leu Leu Lys Ala Ile Pro Val Ser

85 90 95

Ile His Val Asn Val Ile Leu Phe Ser Ala Ile Leu Ile Val Leu Thr

100 105 110

Met Val Gly Thr Ala Phe Phe Met Tyr Asn Ala Phe Gly Lys Pro Phe

115 120 125

Glu Thr Leu His Gly Pro Leu Gly Leu Tyr Leu Leu Ser Phe Ile Ser

130 135 140

Gly Ser Cys Gly Cys Leu Val Met Ile Leu Phe Ala Ser Glu Val Lys

145 150 155 160

Ile His His Leu Ser Glu Lys Ile Ala Asn Tyr Lys Glu Gly Thr Tyr

165 170 175

Val Tyr Lys Thr Gln Ser Glu Lys Tyr Thr Thr Ser Phe Trp Val Ile

180 185 190

Phe Phe Cys Phe Phe Val His Phe Leu Asn Gly Leu Leu Ile Arg Leu

195 200 205

Ala Gly Phe Gln Phe Pro Phe Ala Lys Ser Lys Asp Ala Glu Thr Thr

210 215 220

Asn Val Ala Ala Asp Leu Met Tyr Gly Ser Arg Ala Asp Tyr Lys Asp

225 230 235 240

His Asp Gly Asp Tyr Lys Asp His Asp Ile Asp Tyr Lys Asp Asp Asp

245 250 255

Asp Lys

<210> 15

<211> 145

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
polynucleotide"

<400> 15

ttggccactc cctctctgcg cgctcgctcg ctcactgagg ccgcccgggc aaagcccggg	60
cgtcggggcga cctttgggtcg cccggcctca gtgagcgagc gagcgcgag agagggagtg	120
gccaactcca tcactagggg ttctt	145

<210> 16

<211> 145

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
polynucleotide"

<400> 16

aggaaccctt agtgatggag ttggccactc cctctctgcg cgctcgctcg ctcactgagg	60
ccgggcgacc aaaggtcgcc cgacggccgg gctttgcccg ggcgccctca gtgagcgagc	120
gagcgcgag agagggagtg gccaa	145

<210> 17

<211> 119

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
polynucleotide"

<400> 17

ctgcgcgctc gctcgctcac tgaggccgcc cgggcgtcgg gcgaccttg gtcgcccggc	60
--	----

ctcagtgagc gagcgagcgc gcagagagg agtggccaac tccatcacta ggggttctt	119
---	-----

<210> 18

<211> 130

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
polynucleotide"

<400> 18

aggaaccct agtgatggag ttggccactc cctctctgcg cgctcgctcg ctcaactgagg	60
ccgggcgacc aaaggtcgcc cgacgcccgg gctttgcccg ggcgccctca gtgagcgagc	120
gagcgcgag	130

<210> 19

<211> 696

<212

> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
polynucleotide"

<400> 19

atgcctagcc agcagaagaa aatcatcttc tgcattggccg gcgtgttcag ctgcgctgt	60
gctctgggag ttgtgacagc cctgggaacc cctctgtgga tcaaagccac agtgctgtgc	120
aagacaggcg cctgctggt taatgcctct ggccaagagc tggacaagtt catgggcgag	180
atgcagtacg gcctgttcca tggcgaaggc gtcagacagt gtggcctggg agccagacct	240
ttcagattca gttcttccc agacctgtg aaggctatcc ccgtgtccat ccacgtgaac	300
gtgatcctgt tcagcgccat cctgatctg ctgacaatgg tcggaaccgc cttcttcattg	360
tacaagcct tcggcaagcc ctteagagaca ctgcatggac ctctgggcct gtacctgctg	420
agctttatca gcggcagctg tggctgcctg gtcattgattc tgttcgccag cgaagtgaag	480
atccaccacc tgagcgagaa gatcgccaac tacaagagg gcacctacgt ctacaagacc	540
cagtccgaga agtacaccac cagcttttgg gttatcttct tctgtttctt cgtgcacttc	600
ctgaacggcc tgctgatcag actggccggc ttccagtctt cattcgccaa gagcaaggac	660
gccgaaacca caaacgtggc cgccgatctg atgtac	696

<210> 20

<211> 130

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide"

<400> 20

ctgcgcgtc gctcgtcac tgaggccgcc cgggcaaagc cggggcgtc ggcgaccttt 60

ggtcgcccgg cctcagttag cgagcgagcg cgagagagg gaggggccaa ctccatcact 120

aggggttctt 130

<210> 21

<211> 145

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide"

<400> 21

ttggccaactc cctctctgcg cgctcgtcgt ctcactgagg cggggcgacc aaaggtcgcc 60

cgacgcccgg gctttgcccg ggcggcctca gtgagcgagc gagcgcgag agaggagtg 120

gccaactcca tcactagggg ttctt 145

<210> 22

<211> 145

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide"

<400> 22

aggaaccctt agtgatggag ttggccaactc cctctctgcg cgctcgtcgt ctcactgagg 60

ccgcccgggc aaagcccggg cgtcgggcga cctttggtcg cccggcctca gtgagcgagc 120

gagcgcgag agaggagtg gcca 145

<210> 23

<211> 279

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide"

<400> 23

gtcgaggatga gccccacgtt ctgcttcaact ctcccatct cccccccctc cccaccccca 60

atattgtatt tatttatatt ttaattattt tgtgcagcga tgggggcggg gggggggggg 120

gggcgcgcgc caggcggggc ggggcggggc gaggggcggg gcggggcgag gcggagaggt 180

gcggcggcag ccaatcagag cggcgcgctc cgaaagtctt ctttatggc gagcggcg 240

cggcggcggc cctataaaaa gcgaagcgcg cggcggcg 279

<210> 24

<211> 277

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide"

<400> 24

gtcgaggatga gccccacgtt ctgcttcaact ctcccatct cccccccctc cccaccccca 60

atattgtatt tatttatatt ttaattattt tgtgcagcga tgggggcggg gggggggggg 120

gcgcgcgcca ggcggggcgg ggcggggcga ggggcggggc ggggcgaggc ggagaggtgc 180

ggcggcagcc aatcagagcg gcgcgctccg aaagtcttct tttatggcga ggcggcgcg 240

gcggcggccc tataaaaagc gaagcgcgcg gcggcg 277

<210> 25

<211> 660

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide"

<400> 25

gacattgatt attgactagt tattaatagt aatcaattac ggggtcatta gttcatagcc 60

catatatgga gttccgcgtt acataactta cggtaaattg cccgcctggc tgaccgcca 120

acgacccccg cccattgacg tcaataatga cgtatgttcc catagtaacg ccaataggga 180

ctttccattg acgtcaatgg gtggactatt tacggtaaac tgcccacttg gcagtacatc 240

aagtgtatca tatgccaagt acgcccccta ttgacgtcaa tgacggtaaa tggcccgctt 300
ggcattatgc ccagtacatg accttatggg actttcctac ttggcagtac atctacgtat 360
tagtcatcgc tattaccatg ggtcgagggtg agccccacgt tctgcttcac tctccccatc 420
tccccccct cccaccccc aattttgtat ttatttatTT ttttaattatt ttgtgcagcg 480
atggggggcgg gggggggggg ggggcgcgcg ccaggcgggg cggggcgggg cgagggggcgg 540
ggcggggcga ggcggagagg tgcggcggca gccaatcaga gcggcgcgct ccgaaagttt 600

ccttttatgg cgaggcggcg gcggcggcg ccctataaaa agcgaagcgc gcggcggcg 660

<210> 26

<211> 658

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
polynucleotide"

<400> 26

gacattgatt attgactagt tattaatagt aatcaattac ggggtcatta gttcatagcc 60
catatatgga gttccgcgtt acataactta cggtaaattgg cccgcctggc tgaccgcca 120
acgacccccg ccattgacg tcaataatga cgtatgttcc catagtaacg ccaataggga 180
ctttccattg acgtcaatgg gtggactatt tacggtaaac tgcccacttg gcagtacatc 240

aagtgtatca tatgccaagt acgcccccta ttgacgtcaa tgacggtaaa tggcccgctt 300
ggcattatgc ccagtacatg accttatggg actttcctac ttggcagtac atctacgtat 360
tagtcatcgc tattaccatg ggtcgagggtg agccccacgt tctgcttcac tctccccatc 420
tccccccct cccaccccc aattttgtat ttatttatTT ttttaattatt ttgtgcagcg 480
atggggggcgg gggggggggg ggcgcgcgcc aggcggggcg gggcggggcg aggggcgggg 540
cggggcgagg cggagaggtg ggcggcgcgc caatcagagc ggcgcgctcc gaaagtttcc 600
ttttatggcg aggcggcggc ggcggcggcc ctataaaaag cgaagcgcgc ggcggggcg 658

<210> 27

<211> 1673

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide"

<400> 27

gacattgatt attgactagt tattaatagt aatcaattac ggggtcatta gttcatagcc 60
 cataatgga gticcgcgtt acataactta cggtaaattgg cccgcctggc tgaccgcca 120
 acgacccccg cccattgacg tcaataatga cgtatgttcc catagtaacg ccaataggga 180
 ctttccattg acgtcaatgg gtggactatt tacggtaaac tgcccacttg gcagtacatc 240
 aagtgtatca tatgccaagt acgccccctt ttgacgtcaa tgacggtaaa tggcccgcc 300

ggcattatgc ccagtacatg accttatggg actttcctac ttggcagtag atctacgtat 360
 tagtcatcgc tattaccatg ggtcagggtg agccccacgt tctgtttcac tctcccatc 420
 tccccccct cccaccccc aattttgtat ttattttttt tttaattatt ttgtgcagcg 480
 atggggggcg gggggggggg ggggcgcgcg ccaggcgggg cggggcgggg cgaggggcg 540
 ggcggggcga ggcggagagg tgcggcgga gccaatcaga gcggcgcgt cggaaagttt 600
 ccttttatgg cgaggcggcg gcggcgcg ccctataaaa agcgaagcgc gcggcgggcg 660
 ggagtcgtg cgttgcttc gccccgtgcc ccgtccgcg ccgctcgcg ccgccgcc 720

cggctctgac tgaccgcgtt actccacag gtgagcgggc gggacggccc ttctcctccg 780
 ggctgtaatt agcgtttgtt ttaatgacgg ctggtttctt ttctgtggct gcgtgaaagc 840
 cttaaaggcg tccgggaggg ccctttgtgc gggggggagc ggctcggggg gtgcgtgcgt 900
 gtgtgtgtgc gtggggagcg ccgcgtgcgg ccgcgcgtgc ccggcggtg tgagcgtgc 960
 gggcgcgcg cggggctttg tgcgtccgc gtgtgcgga ggggagcgc gccggggcg 1020
 gtcccccg gtgcggggg gctgcgagg gaacaaaggc tgcgtgcgg gtgtgtgcgt 1080
 gggggggtga gcagggggtg tgggcgcgcg ggtcgggctg taaccccc ctgcacccc 1140

ctccccgagt tgcagacac ggcccggctt cgggtgcggg gctccgtgc gggcgtggcg 1200
 cggggctcgc cgtgccgggc ggggggtggc ggcaggtggg ggtgccgggc gggcggggc 1260
 gcctcgggc cggggagggc tcgggggagg ggcgcgcgg ccccgagc gccggcggt 1320
 gtcgaggcg ggcgagcgc agccattgcc ttttatggta atcgtgcgag agggcgcagg 1380
 gacttccttt gtcccaaatc tgtgcggagc cgaaatctgg gagcgccgc cgcacccct 1440
 ctacggggc cggggcgaag cggtcggcg ccggcaggaa ggaaatggc ggggagggc 1500
 ttcgtgcgtc gccgcgcgc cgtcccttc tcccttcca gcctcgggc tgtccggg 1560

gggacggctg cttcggggg ggacggggca ggcgggggtt cggcttctgg cgtgtgaccg 1620
 gcggtctag agcctctgct aacatgttc atgccttctt ctttttcta cag 1673

<210> 28

<211> 1671

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
polynucleotide"

<400> 28

gacattgatt attgactagt tattaatagt aatcaattac ggggtcatta gttcatagcc	60
catatatgga gttccgcgtt acataactta cggtaaatgg cccgcctggc tgaccgcca	120
acgacccccg ccattgacg tcaataatga cgtatgttcc catagtaacg ccaataggga	180
ctttccattg acgtcaatgg gtggactatt tacggtaaac tgcccacttg gcagtacatc	240
aagtgtatca tatgccaagt acgcccccta ttgacgtcaa tgacggtaaa tggcccgctt	300
ggcattatgc ccagtacatg accttatggg actttcctac ttggcagtac atctacgtat	360
tagtcategc tattaccatg ggtcgagggt agccccacgt tctgtttcac tctccccatc	420
tccccccct cccaccccc aattttgtat ttatttattt tttaattatt ttgtgcagcg	480
atgggggcgg gggggggggg ggcgcgcgcc aggcggggcg gggcggggcg aggggcgggg	540
cggggcgagg cggagagggt cggcggcagc caatcagagc ggcgcgctcc gaaagtttcc	600
ttttatggcg aggcggcgcc ggcggcgcc ctataaaaag cgaagcgcgc ggcgggcggg	660
agtcgctgcg ttgccttcgc cccgtgcccc gctccgcgcc gcctcgcgcc gcccgcgccg	720
gctctgactg accgcgttac tcccacaggt gagcggcgcg gacggccctt ctctccggg	780
ctgtaattag cgcttggtt aatgacggct cgtttcttt ctgtggctgc gtgaaagcct	840
taaagggtc cgggagggcc ctttgtgcgg gggggagcgg ctcgggggt gcgtgcgtgt	900
gtgtgtgcgt ggggagcgcc gcgtgcggcc cgcgctgccc ggcggtgtg agcgctgcgg	960
gcgcggcgcg ggcctttgtg cgctccgct gtgcgcgagg ggagcgcggc cgggggcggt	1020
gccccgcggt gcgggggggc tgcgaggga acaaaggctg cgtgcgggt gtgtgcgtgg	1080
gggggtgagc agggggtgtg ggcgcggcgg tgggctgta accccccct gcacccccct	1140
ccccagttg ctgagcacg cccgcttcg ggtgcggggc tccgtgcggg gcgtggcgcg	1200
gggctcgccg tgcggggcgg ggggtggcgg cagggtgggg tgccgggcgg ggcggggccg	1260
cctcgggcgg gggagggtc gggggagggg cgcggcgcc cccggagcgc cggcggtgt	1320
cgaggcgcg cgagccgag ccattgcctt ttatgtaaat cgtgcgagag ggcgcaggga	1380
cttcctttgt cccaaatctg tgcggagccg aaatctggga ggcgcgcgg caccctct	1440

agcgggcgcg gggcgaagcg gtgcggcgcc ggcaggaagg aaatgggcgg ggagggcctt 1500
 cgtgcgtcgc cgcgccgcg tcccccttc cctctccagc ctccgggctg tccgcggggg 1560
 gacggctgcc ttccggggggg acggggcagg gcgggggttcg gcttctggcg tgtgaccggc 1620
 ggctctagag cctctgctaa ccatgttcat gccttcttct ttttctaca g 1671
 <210> 29
 <211> 1725
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 29
 ctatggagtt tgcataacaa acgtttggca gctcgtcttc ttactcca ttaacaagct 60
 gtaacatata gctgcaggtt gctataatct cattaatatt ttggaaactt gaatattgag 120
 tatttctgag tgctcattcc ccatatgcca gccacttctg ccatgctgac tggttccttt 180
 ctctccatta ttagcaatta gcttcttacc ttccaaagtc agatccaagg tatccaagat 240
 actagcaaag gaatcaacta tgtgtgcaag ttaagcatgc ttaatatcac ccaaacaac 300
 aaagaggcag catttcttaa agtaatgaag atagataaat cgggttagtc ctttgcgaca 360
 ctgctggtgc tttctagagt tttatatatt ttaagcagct tgctttatat tctgtctttg 420
 cctcccccc caccagcact tttatttctg gagggttttg gctcgccaca ctttgggaaa 480
 cttatttgat ttcacggaga gctgaaggaa gatcattttt ggcaacagac aagtttaaac 540
 acgatttcta tgggacattg ctaactgggg cccctaagga gaaaggggaa actgagcggg 600
 gaatgggtta aatccttga agcaggggag aggcagggga ggagagaagt cggaggagta 660
 taaagaaaag gacaggaacc aagaagcgtg ggggtggttt gccgtaagt gagtgtttct 720
 taattagaga acggttgaca atagagggtc tggcagaggc tcctggccgc ggtgcggagc 780
 gtctggagcg gagcacgcgc gtgcagctgg tgagcgcaact ctcttttcag gcagctcccc 840
 ggggagctgt gcggccacat ttaacacat catcacccct ccccgccctc ctcaacctcg 900
 gcctctctct cgtcgacagc ctctcttggc ccccaccagc agagctcaca gtagcgagcg 960
 tctctcgccg tctccgcac tcggccgggg cctctctct ccccagctg cgcagcggga 1020
 gccgcaactg cccactgcac ctcccagaa ccagcccagc acgcaaagaa gctgcgcaaa 1080
 gttaaagcca agcaatgcca aggggagggg aagctggagg cgggctttga gtggcttctg 1140
 ggcgcttggc ggggtccagaa tcgcccagag ccgcccgcg tcgtgcacat ctgacccgag 1200
 tcagcttggg caccagccga gagccggctc cgcaccgctc ccgcaccca gccgcggggg 1260
 tggtagacac caccggagtc gaattacagc cctgcaatta acatatgaat ctgacgaatt 1320

taaaagaagg aaaaaaaaaa aaaaacctga gcaggcttgg gagicctctg cacacaagaa 1380

cttttctcgg ggtgtaaaaa ctctttgatt ggctgctcgc acgcgcctgc ccgcgccctc 1440

cattggctga gaagacacgc gaccggcgcg aggagggggt tgggagagga gcggggggag 1500

actgagtggc gcgtgccgct ttttaaaggg gcgcagcgcc ttcagcaacc ggagaagcat 1560

agttgcacgc gacctggtgt gtgatctccg agtgggtggg ggagggtcga ggagggaana 1620

aaaaataaga cgttgcagaa gagacccgga aagggccttt tttttggttg agctggtgtc 1680

ccagtgtctg ctccgatcct gaggctccga gcctttgcag tgcaa 1725

<210> 30

<211> 60

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 30

ctgccttctg agagcgctat aaagcgagcg gaagggtagt ccgcggggca ttccgggcgg 60

<210> 31

<211> 60

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 31

ctctaggcgg gctctgctct tctttaagga gtcccacagg gcctggcccg cccctgacct 60

<210> 32

<211> 2000

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 32

taaagagttg tgagttgtgt aggtgagttg ccatggagct acaaatatga gttgatattc 60

tgaaatccta gacagccatc tccaagggtt agaaaaatcc ttatgcactc acttgcaaag 120

atatccacag catgctctta atggagaaaa acaaaagcctt agatcaaata tgtaaagtaa 180

tttttagttt ttgaaaagg tatgtttggg ctatagataa atctgttcaa aaaacatgag 240

agaagataat aatggttgaa aggagacaca gtgcttgccc tcaagaagtt tttgtctagt 300

gaggagagaga gaacttgat gttaataaaa ttgtgttact aaggtagata gtgagaagta 360

acttaagaga ggatcagata aggtattaag agaatacaga aaagggtctg gattaattct 420

gaacagcatc aaagaatgtt cttgcaagag atagtgtttt caccagatct tgaaggtatg 480

gatgagggtg tacagagtga gtatatcag attctacttt aaaacaaata ctttcctctg 540
 ttgtagtggg gttgagctat acatccaaca ataataaaaa aatacacgca tatatacata 600

tatggagaga gatacatatt ttagtacatg tagcaattga ttaataaatg tacagtttaa 660
 gtcgcatgca aaaccttgga gtgatagcaa acttcattgt aggatgttta gcagcatctc 720
 tggctctctac tcaactagatc ccaatagcat ctccctaggt gtgacaacca aaaatgtctc 780
 caggcattga cctctggagg caaaaaaagc cctttattaa gaaccagtgg tatacataag 840
 taaaacatac acaagagatt cctccctctt tctctgtatg tgaataaaaa ttgcaaagtt 900
 catgacctgg attttccttt taggtttctt ctttagtggt tcttaacttc attgggtgaa 960
 gtaagccttt gaagatctgt tgaaagctgt tgactcattc acttctcagg aaaacgcaca 1020

tgctgactac catttcagag aatttgcac agggttctct ggggaggagt tctgatttct 1080
 gtttccagga gctcgtagaa ttgtcatggt ctgcatatgc aaggcagggt gattacggaa 1140
 ggttgatgta cagaggctctg tattttgag cctcttctgt atttacttca gaacactaac 1200
 aatcaggcga gaatgttctg gtttatcaaa ccttctctc tgcctttcat cttaacatg 1260
 cattagtttt acaaaagttc atccaacag aagacaaaac actgatgagg taggatagct 1320
 ccagctctc ctccctctct tctagtcttg atttccatgt agtccagttt attcctccc 1380
 tgattgtcca ggagaatgag aaaaagaaaa aacagagtct agtgggtaag aaaggccac 1440

ctggacggct tgatttggat tgtgaaataa aacacacaca catgcacacg tagaataagt 1500
 ggctaaaate tgagtaaate gtgaactctc tgtatcctcc acccattgaa tactcctaaa 1560
 agactttcta gaaattcaag gacttattaa tatagaaacc tggccattgt tctcttctc 1620
 ctcccatgt ggiatgagag cacctgtggc aggtctccag agaccacgga cctcttctc 1680
 taggcgggct ctgctcttct ttaaggagtc ccacagggcc tggcccgccc ctgacctcgc 1740
 aaccttgag attagtaacg ggatgagtga ggatccgggt ggccctgcg tggcagccag 1800
 taagagtctc agccttcccg gttcgggaaa gggaagaat gcaggagggg taggatttct 1860

ttctgatag gatcggttgg gaaagaccgc agcctgtgtg tgtctttccc ttcgaccaag 1920
 gtgtctgttg ctccgtaaat aaaacgtccc actgccttct gagagcgcta taaaggcagc 1980
 ggaagggtag tccgcggggc 2000

<210> 33

<211> 1400

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 33

ggctgctcgg aaaacaggac gaggggagag acttgctcaa taagctgaaa gtcttgcccc 60
cgagagggct gcgacagctg ctggaatgtg cctgcagcgt ccgcctcttg gggacccgcg 120
gagcgcgccc tgacggttcc acgcctggcc cgggggtctg cacctctcct ccagtgcgca 180

cctggagctg cgccccgggt caggtagcggg gagggaggga atctcagtgt ccccttcag 240
ccttgcaagc gcctttggcc cctgccccag cccctcggtt tgggggagat ttcagaacgc 300
ggacagcgcc ctggctgcgg gccatagggg actgggtgga actcggaag ccccagagc 360
aggggcttac tcgcttcaag tttggggaac cccgggcagc gggtagcaggc cacgagaccc 420
gaaggttctc aggtgcccc ctgcaggctg gccgtgcgcg ccgtggggcg ctgtgcgca 480
gcgccgaggg ctgcaggacg cggaccagac tcgcggtgca ggggggcctg gctgcagcta 540
acaggtagtc ccgttcttcc tgttctctgc tcttccctc cgatcgtcct cgcttaccgc 600

gtgtctctcc tctcgtctgt cctctggctc gcaggatcatg gcagcgccag gcggcaggtc 660
ggagccgccc cagctccccg agtacagctg cagctacatg gtgtcgcgcc cggctctacag 720
cgagctcgtt ttccagcaac agcacgagcg gcgcctgcag gagcgcaaga cgctgcggga 780
gagcctggcc aagtgtctga ggtagcggcc gcgcgggcct gcgtagagag aagcggagcg 840
gggctgccac gccttgggga gggaagggcg tccccagcgg gcgagagtgg ggtgcggcg 900
gcggagcccc tgggcgccag ctgcttctcc cagaggcccg actttcggtc tccggtctc 960
cacgccgccc ttctgggtggg aggggtggctc catcagctc gggcccgaaa tgaacttacc 1020

tgggaaactc gcctttgggg agagtgggtt ctaggagccc cgtctctctt ttctctctt 1080
gaaggaaact tggagtgcct cttggggtac agtgggtccc tgttgccttc ttgggagctt 1140
gtttaaatga aatgaatagg gaaaccagc tcttgaccag gaggagtctt tgaacactc 1200
aagctaagta ggcgggctac cattcagta gagaccagga tgcaagctag aaccagggg 1260
agcgcggggt gtccaagta cttcatcagc aggctgtggg acccttgggg aaagccacc 1320
tcagtctcta aacccaaca tgccgtaact agatgtcaca aacataaaga aattagagtt 1380
tctaaaacct ttcattatag 1400

<210> 34

<211> 900

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 34

cggaagggtg atgtacagag gtctgtatct tggagcctct tctgtattta cttcagaaca 60
ctaacaatca ggcgagaatg ttctggttta tcaaaccctt ccttctgcct ttcattctaa 120

ccatgcatta gttttaacaa agttcatccc aacagaagac aaaacactga tgaggttagga 180

tagctccagc tcctcctccc tctcttctag tcttgatttc catgtagtcc agttttattcc 240

ttccctgatt gtccaggaga atgagaaaaa gaaaaaacag agtctagtgg gtaagaaagg 300

gccacctgga cggtcttgatt tggattgtga aataaaacac acacacatgc acacgtagaa 360

taagtggcta aaatctgagt aaatcgtgaa ctctctgtat cctccacca ttgaatactc 420

ctaaaagact ttctagaaat tcaaggactt attaatatag aaacctggcc attgttcctc 480

ttctcctccc catgtgggat gagagcacct gtggcaggct cccagagacc acggacctct 540

tcctctaggc gggctctgct cttctttaag gagtccaca gggcctggcc cgcccccgac 600

ctcgcaacct ttgagattag taacgggatg agtgaggatc cgggtggccc ctgcgtggca 660

gccagtaaga gtctcagcct tcccggttcg ggaaagggga agaattgcagg aggggttagga 720

tttctttcct gataggatcg gttgggaaag accgcagcct gtgtgtgtct ttccttcga 780

ccaaggtgtc tgttgctccg taaataaaac gtccactgc cttctgagag cgctataaag 840

gcagcggaag gtagtccgc ggggcattcc gggcggggcg cgagcagaga caggtgagtt 900

<210> 35

<211> 1269

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 35

agggtatatt gtacctcaac gagggcttct ctccaagaaa gccctgaatc cttttcctcc 60

tttttcctgc agattcacta taggacactt ttgaagcaa gagcatgcat tttcccctg 120

gcgctctgca gcggtttctca gagcccagtg tcaactacat aggtgggact gctctcagtt 180

cagagagcgc tgggacactt aagatgaaaa gtccctggaa gttagcaaac agccatctgt 240

cactctggca tcgatttact aaaagtgact tctagggtat tctaaaccac ttttaaaaaa 300

caaatgagtc acttcgactt cctcaccctg caagagatag gaaggcagca gtggagtgt 360

cgctcaggag ctgtatttgt ttagcgatta gcctagagct ttgattttag ggcaaaagcg 420

agccagacag tgcggcagac gtaaggatca aaaaggccac ctatcattcg ccggggacgc 480

ctgcctcctt accctgataa cgtaactatt tctctgcata ggattttagt ttttgtgttt 540

ttgttttgtt ttattctgtt taatcacttc aagtatctca tccattatit gaagcgggct 600

cggaggaaac gtgccgcac ctcagtcct tgtgcgtctg tttaggctct tccgaagcag 660

gtccctctcg actcttagat ctgggtctcc agcacgcatg aagggttaag ggtggggggg 720

tcccctattc cggcgcgcgg cgttgagcac tgaatcttcc aggcggaggc tcagtgggag 780

cgccgagaac tcgccagtlac cgcgcgctgc ctgctgcctg ctgcctccca gcccaggact 840
tgggaaagga gggaggggac aagtggaggg aaagtggggc cgggcggggg gtgcctggga 900
agccaggctg cgctgacgtc actgggcgcg caattcgggc tggagcgctt taaaaaacga 960
gcgtgaagc agagatgtg ctccacaccg ctccaggccg gagcagcagc aaggcgcacc 1020
gccactgtcg ccgtgcagc cagggtgtct ccgaaggccg gcgtggcggc aaccggcacc 1080

tctgtccccg ccgcgttct cctcgccgc cagccgtgg ggtcaggaac gcggcgtctg 1140
gcgtgcaga cccccgtga gttgcagaag ccacaggagc ggcccccggc gcgccacggc 1200
ccgtagcagt ccgtgtcgc tctccgccg cgtccgctc gtggcccct acttcgggca 1260
ccgaccgt 1269

<210> 36

<211> 463

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 36

tgcgtatgag tgcaagtggg ttttaggacc aggatgaggc ggggtggggg tgcctacctg 60
acgaccgacc ccgaccact ggacaagcac ccaaccccca ttcccaaat tgcgcatccc 120

ctatcagaga gggggagggg aaacaggatg cggcgaggcg cgtgcgact gccagcttca 180
gcaccgcgga cagtgccttc gccccgcct ggccggcgcg gccaccgccc cctcagcact 240
gaaggcgcgc tgacgtcact cgccggtccc ccgcaaactc cccttcccgg ccaccttgg 300
cgctccgcg ccgcccggg cccagccgga ccgaccacg cgaggcgcga gatagggggg 360
cacgggcgcg accatctgcg ctgcggcgcc ggcgactcag cgctgcctca gtctgcggtg 420
ggcagcggag gagtctgtc gtgcctgaga gcgcagtcga gaa 463

<210> 37

<211> 2204

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 37

cccactccc tctctgtgct gggactcaca gagggagacc tcaggaggca gtctgtccat 60
cacatgtcca aatgcagagc ataccctggg ctgggcgcag tggcgcaaa ctgtaattcc 120
agcactttgg gaggtgatg tgggaaggatc acttgagccc agaagtctta gaccagcctg 180
ggcaacatgg caagacccta tctctacaaa aaaagttaaa aaatcagcca cgtgtggtga 240
cacacacctg tagtccagc tattcaggag gctgaggtga ggggatcact taaggctggg 300

aggttgaggc tgcagtgagt cgtggttgcg ccactgcact ccagcctggg caacagtgag 360
 accctgtctc aaaagacaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa gaacatatcc tgggtgtggag 420

 taggggacgc tgctctgaca gaggtctggg ggcctgagct ggctctgtga gctggggagg 480
 aggcagacag ccaggccttg tctgcaagca gacctggcag cattgggctg gccgcccccc 540
 agggcctcct cttcatgcc agtgaatgac tcaccttggc acagacacaa tgttcggggt 600
 gggcacagtg cctgcttccc gccgcacccc agccccctc aaatgccttc cgagaagccc 660
 attgagcagg gggcttgcct tgcaccccag cctgacagcc tggcatcttg ggataaaagc 720
 agcacagccc ctagggggt gcccttgcct tgtggcgcca ccggcggtgg agaacaaggc 780
 tctattcagc ctgtgccag gaaaggggat caggggatgc ccaggcatgg acagtgggtg 840

 gcaggggggg agaggagggc tgtctgcttc ccagaagtcc aaggacacaa atgggtgagg 900
 ggactgggca gggttctgac cctgtgggac cagagtggag ggcttagatg gacctgaagt 960
 ctccagggac aacagggccc aggtctcagg ctcttagttg ggcccagtgg ctccagcgtt 1020
 tccaaaccca tccatcccca gaggttcttc ccattctctc aggtctgatgt gtgggaactc 1080
 gaggaataa atctccagtg ggagacggag gggtagccag ggaaacgggg cgctgcagga 1140
 ataaagcga gccagcacag ccagctcatg tgtaacggct ttgtggagct gtcaaggcct 1200
 ggtctctggg agagaggcac agggaggcca gacaaggaag gggtgacctg gagggacaga 1260

 tccaggggct aaagtctga taaggcaaga gagtgccggc cccctcttgc cctatcagga 1320
 cctcactgc cacatagagg ccatgattga cccttagaca aagggttggt gtccaatccc 1380
 agccccagc ccagaaactc caggaatga atgggcagag agcaggaatg tgggacatct 1440
 gtgttaagg gaaggactcc aggagtctgc tgggaatgag gcctagtagg aaatgaggtg 1500
 gcccttgagg gtacagaaca ggttcattct tcgccaatt cccagcacct tgcaggcact 1560
 tacagctgag tgagataatg cctgggttat gaaatcaaaa agttggaaag caggtcagag 1620
 gtcatctggt acagcccttc cttccctttt ttttttttt ttttgtgaga caaggtctct 1680

 ctctgttggc caggctggag tggcgcaaac acagctcact gcagcctcaa cctactgggc 1740
 tcaagcaatc ctccagctc agcctcccaa agtgcctggga ttacaagcat gagccacccc 1800
 actcagccct ttccttctt tttaattgat gcataataat tgtaagtatt catcatggtc 1860
 caaccaaccc tttcttgacc cacttctcta gagagagggt cctcttgctt cagcggtcag 1920
 ggccccagac ccatggtctg gctccaggta ccacctgcct catgcaggag ttggcgtgcc 1980
 caggaagctc tgcctctggg cacagtgacc tcagtggggt gaggggagct ctccccatag 2040

ctgggctgcg gcccaacccc accccctcag gctatgccag ggggtgttgc caggggcacc 2100

cgggcatcgc cagictagcc cactccttca taaagccctc gcatcccagg agcgagcaga 2160

gccagagcag gttggagagg agacgcatca cctccgtgc tcgc 2204

<210> 38

<211> 381

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
polynucleotide"

<400> 38

gacattgatt attgactagt tattaatagt aatcaattac ggggtcatta gttcatagcc 60

catatatgga gttccgcgtt acataactta cggtaaatgg cccgcctggc tgaccgcca 120

acgacccccg cccattgacg tcaataatga cgtatgttc catagtaacg ccaataggga 180

ctttccattg acgtcaatgg gtggactatt tacggtaaac tgcccacttg gcagtacatc 240

aagtgtatca tatgccaagt acgcccccta ttgacgtcaa tgacggtaaa tggcccgcct 300

ggcattatgc ccagtacatg accttatggg actttctac ttggcagtac atctacgtat 360

tagtcacgcg tattaccatg g 381

<210> 39

<211> 1013

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
polynucleotide"

<400> 39

ggagtcgctg cgttgccttc gccccgtgcc ccgctccgcg ccgcctcgcg ccgcccgcgc 60

cggtctgac tgaccgcgtt actccacag gtgagcgggc gggacggccc ttctcctcgc 120

ggctgtaatt agcgcttggc ttaatgacgg ctcgcttctt ttctgtggct gcgtgaaagc 180

cttaaagggc tccgggaggg ccctttgtgc gggggggagc ggctcggggg gtgcgtgcgt 240

gtgtgtgtgc gtggggagcg ccgctgtcgg cccgcgtgc ccggcggctg tgagcgtgc 300

gggcgcggcg cggggctttg tgcgtccgc gtgtgcgcga ggggagcgcg gccgggggcg 360

gtgccccgcg gtgcgggggg gctgcgaggg gaacaaaggc tgcgtgcggg gtgtgtgcgt 420
 ggggggggtga gcaggggggtg tgggcgcggc ggtcgggctg taaccccccc ctgcaccccc 480

ctccccgagt tgetgagcac ggccccgctt cgggtgcggg gctccgtgcg gggcgtggcg 540
 cggggctcgc cgtgccgggc ggggggtggc ggcaggtggg ggtgccgggc ggggcggggc 600
 cgcctcgggc cggggagggc tcgggggagg ggcgcggcgg cccccggagc gccggcggct 660
 gtcgaggcgc ggcgagccgc agccattgcc ttttatggta atcgtgcgag agggcgcagg 720
 gacttccttt gtcccaaadc tgtgcggagc cgaatctgg gaggcgccgc cgcaccccct 780
 ctacggggcg cggggcgaag cgggtcggcg ccggcaggaa ggaaatgggc ggggagggcc 840
 ttcgtgcgtc gccgcgccgc cgtcccttc tccctctcca gcctcggggc tgtccgcggg 900

gggacggctg ctttcggggg ggacggggca gggcggggtt cggcttctgg cgtgtgaccg 960
 gcggtcttag agcctctgct aaccatgttc atgccttctt ctttttcta cag 1013

<210> 40
 <211> 291
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide"
 <400> 40

aggagatact tgaaggcagt ttgaaagact tgttttacag attcttagtc caaagatttc 60
 caattaggga gaagaagcag cagaaaagga gaaaagccaa gtatgagtga tgataggcc 120
 ttcattact gacatttaac ctggcgagaa ccgtcgatgg tgaagttgcc ttttcagctg 180

ggagctgtcc gttcagcttc cgtaataaat gcagtcaaag aggcagtccc ttccattgc 240
 tcacaaaggt cttgtttttg aacctcgccc tcacagaagc cgtttctcat c 291

<210> 41
 <211> 1369
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide"
 <400> 41

aaggcaaac tttctataat tttaacaagg agtagacttg ctttgggtcac ttttagatgt 60
 ggtaatttt gcatatcctt ttagtctgca tatattaaag catcaggacc cttcgtgaca 120
 atgtttacaa attacgtact aaggatacag gctggaaagt aagggaagca gaaggaaggc 180

tttgaaaagt tgttttatct ggtgggaaat tgcttgaccc aggtagtcaa aggcagtiga 240
 ctagaatcga caaattgtta ctccatatat atatatgtgt gtgtgtgtgt gtgtgtgtgt 300
 gtgtaagatg tcttctatc aaaaagatat caaaggcaca tggaatatat ttaataaaaa 360
 acaataata tctctaatat atccacacat ttgttgccag atttcagaaa actgagctgc 420
 aatcgctttc ctaaaacagt agtgtattaa atgaacatct ataaaatgta tcaacacaca 480
 ttttaaaaaa ttgttttaa gtatactctt aggccaggcg tggtagactca cacctgtaat 540
 tccagcactt caggaggcca aggtgggaag atcatttgag ttcaggagt ttcgagttacag 600

cctgggcaat aaagtgagac cctgtcacta acaaaattaa aaaataaaat aaatataaaa 660
 tataggcttt aaaaaagcat agtcttatta accatgtctg ttggtcaaaa tctgcaaact 720
 ctaaaagaag aaaagaagaa aaaaccaacg ttagggattt tttcctccg tgcttgagtc 780
 ccaattacat tcacgacagt actttcaatg aacataattg ttaggaccac tgaggaatca 840
 tgaaaaatga tctctgctta gtacatttga tgcaaaatga cttattaggg gctgtttttc 900
 tagctatagt gtctcgagta ctaatatgca attatgaaaa ttatattaaa tctgggatta 960
 tgacggtatc actgtatcat cttggctctg ttctggctgt caccaagcat gaccaggtc 1020

aacttttttt ttccctgaa ttacccatca aattgatctg cagctgacta aaggccacag 1080
 ctgagcctgg aactgacct tccttcatcc tcaacctgct gtctccaga aagcaccaag 1140
 gaaaaagcag agaatgacag caaacagatc actaggcctc tgaccacagg tgctgagtac 1200
 tcagcagccc tcatataata ggtttgaaag tactccttaa aataaaacac tgtttcctt 1260
 tggaactatt tacaaggatg aaacaaccgt atacctgaga aataacttgc tctgggtgca 1320
 attcgctatt cgccagcaga catcagaaca caccgagttt ccagatgct 1369

<210> 42

<211> 82

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"

<400> 42

gtaagtatca aggttacaag acaggttttaa ggagaccaat agaaactggg ctgtgcgaga 60
cagagaagac tcttgcgttt ct 82
<210> 43
<211> 51
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 43
gataggcacc tattggtctt actgacatcc actttgcctt tctctccaca g 51

<210> 44
<211> 225
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
polynucleotide"
<400> 44
ctgtgccttc tagttgccag ccatactgtt tttgcccctc ccccgtcct tctttgacct 60
tggaagggtgc cactcccact gtcctttcct aataaaatga ggaaattgca tcgcattgtc 120
tgagtaggtg tcattctatt ctgggggggtg ggggtggggca ggacagcaag ggggaggatt 180
gggaagacaa tagcaggcat gctggggatg cgggtgggctc tatgg 225
<210> 45
<211> 122
<212>
> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
polynucleotide"
<400> 45
aacttgttta ttgcagctta taatggttac aaataaagca atagcatcac aaatttcaca 60
aataaagcat ttttttcaact gcattctagt tgtggtttgt ccaaactcat caatgtatct 120

ta 122

<210> 46

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 46

ttgtcgacgc ggccgcacgc gt 22

<210> 47

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 47

ctcctgggca acgtgctggt tattgtgacc ggtcgctagc cacc 44

<210> 48

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 48

taagagctcg ctgatcagcc tcga 24

<210> 49

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 49

aagcttgaat tcagctgacg tgcctcggac cgtcctagg 39

<210> 50

<211> 14

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<

400> 50

gcggccgcac gcgt 14

<210> 51

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 51

ctcctgggca acgtgctggt tattgtgacc ggtgccacc 39

<210> 52

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400>

> 52

taagagctcg ctgatcagcc tcga 24

<210> 53

<211> 34

<212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 53
 aagcttgaat tcagctgacg tgcctcggac cgct 34
 <210> 54
 <211> 33
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400>
 54
 ctctctgggca acgtgctggt tattgtgacc ggt 33
 <210> 55
 <211> 6
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 55
 gccacc 6
 <210> 56
 <211> 9
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 56

taagagctc

9

<210> 57

<211> 159

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide"

<400> 57

Met Ile Ser Leu Ile Ala Ala Leu Ala Val Asp Tyr Val Ile Gly Met

1 5 10 15

Glu Asn Ala Met Pro Trp Asn Leu Pro Ala Asp Leu Ala Trp Phe Lys

20 25 30

Arg Asn Thr Leu Asn Lys Pro Val Ile Met Gly Arg His Thr Trp Glu

35 40 45

Ser Ile Gly Arg Pro Leu Pro Gly Arg Lys Asn Ile Ile Leu Ser Ser

50 55 60

Gln Pro Ser Thr Asp Asp Arg Val Thr Trp Val Lys Ser Val Asp Glu

65 70 75 80

Ala Ile Ala Ala Cys Gly Asp Val Pro Glu Ile Met Val Ile Gly Gly

85 90 95

Gly Arg Val Ile Glu Gln Phe Leu Pro Lys Ala Gln Lys Leu Tyr Leu

100 105 110

Thr His Ile Asp Ala Glu Val Glu Gly Asp Thr His Phe Pro Asp Tyr

115 120 125

Glu Pro Asp Asp Trp Glu Ser Val Phe Ser Glu Phe His Asp Ala Asp

130 135 140

Ala Gln Asn Ser His Ser Tyr Cys Phe Glu Ile Leu Glu Arg Arg

145 150 155

<210> 58

<211> 483

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
polynucleotide"

<400> 58

ggtaccatca gtctgattgc ggcgttagcg gtagattacg ttatcggcat ggaaaacgcc	60
atgccgtgga acctgcctgc cgatctcgcc tggtttaaac gcaacacctt aaataaaccc	120
gtgattatgg gccccatcac ctgggaatca atcggtcgtc cgttgccagg acgcaaaaat	180
attatcctca gcagtcaacc gagtacggac gatcgcgtaa cgtgggtgaa gtcgggtgat	240
gaagccatcg cggcgtgtgg tgacgtacca gaaatcatgg tgattggcgg cggtcgcgtt	300
attgaacagt tcttgccaaa agcgcaaaaa ctgtatctga cgcatatcga cgcagaagtg	360
gaaggcgaca cccatttccc ggattacgag ccggatgact gggaatcggg attcagcgaa	420
ttccacgatg ctgatgcgca gaactctcac agctattgct ttgagattct ggagcggcga	480
taa	483

<210> 59

<211> 474

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
polynucleotide"

<400> 59

atcagtcgta ttgcggcggt agcggttagat tacgttatcg gcatggaaaa cgccatgccg	60
tggaacctgc ctgccgatct cgctgggttt aaacgcaaca ccttaaataa acccgtgatt	120
atgggcccgc atacctggga atcaatcggg cgtccgttgc caggacgcaa aaatattatc	180
ctcagcagtc aaccgagtac ggacgatcgc gtaacgtggg tgaagtcggg ggatgaagcc	240
atcgcggcgt gtggtgacgt accagaaatc atggtgattg gcggcggtcg cgttattgaa	300
cagttcttgc caaaagcgca aaaactgtat ctgacgcata tcgacgcaga agtggaaggc	360
gacacccatt tcccggatta cgagccggat gactgggaat cggatttcag cgaattccac	420
gatgctgatg cgcagaactc tcacagctat tgctttgaga ttctggagcg gcga	474

<210> 60

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 60

Met Gly Val Glu Lys Gln Val Ile Arg Pro Gly Asn Gly Pro Lys Pro

1 5 10 15

Ala Pro Gly Gln Thr Val Thr Val His Cys Thr Gly Phe Gly Lys Asp

20 25 30

Gly Asp Leu Ser Gln Lys Phe Trp Ser Thr Lys Asp Glu Gly Gln Lys

35 40 45

Pro Phe Ser Phe Gln Ile Gly Lys Gly Ala Val Ile Lys Gly Trp Asp

50 55 60

Glu Gly Val Ile Gly Met Gln Ile Gly Glu Val Ala Arg Leu Arg Cys

65 70 75 80

Ser Ser Asp Tyr Ala Tyr Gly Ala Gly Gly Phe Pro Ala Trp Gly Ile

85 90 95

Gln Pro Asn Ser Val Leu Asp Phe Glu Ile Glu Val Leu Ser Val Gln

100 105 110

<210> 61

<211> 78

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<400> 61

ggatcccggtg ctgactacaa agaccatgac ggtgattata aagatcatga catcgactac 60

aaggatgacg atgacaag 78

<210> 62

<211> 2208

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
polynucleotide"

<400> 62

atggctgccg atggttatct tccagattgg ctgaggaca acctctctga gggcattcgc	60
gagtgggtggg acttgaaacc tggagccccg aaacccaaag ccaaccagca aaagcaggac	120
gacggccggg gtctgggtct tcttggttac aagtacctcg gacccttcaa cggactcgac	180
aagggggagc ccgtcaacgc ggcggacgca gcggccctcg agcacgacaa ggcctacgac	240
cagcagctca aagcgggtga caatccgtac ctgcggtata accacgccga cgccagttt	300
caggagcgtc tgcaagaaga tacgtctttt gggggcaacc tcgggcgagc agtcttcag	360
gccaagaagc gggttctcga acctctcggt ctggttgagg aaggcgctaa gacggctcct	420
ggaaagaaga gaccggtaga gcaatcacc caggaaccag actcctcttc gggcatcggc	480
aagaaaggcc agcagcccg gaagaagaga ctcaacttg ggcagacagg cgactcagag	540
tcagtcccc accctcaacc actcggagaa cccccgcag cccctctgg tgtgggatct	600
aatacaatgg cagcaggcgg tggcgtcca atggcagaca ataacgaagg cgccgacgga	660
gtgggtaacg cctcaggaat ttggcattgc gattccacat ggctgggcga cagagtcac	720
accaccagca cccgaacctg ggcctcccc acctacaaca accacctcta caagcaatc	780
tccagccaat cgggagcaag caccaacgac aacacctact tcggctacag cacccttg	840
gggtattttg actttaacag attccactgc cacttctcac cacgtgactg gcagcgactc	900
atcaacaaca actggggatt ccggcccaag agactcaact tcaagctctt caacatccag	960
gtcaaggagg tcacgacgaa tgatggcacc acgacctcg ccaataacct taccagcacg	1020
gttcaggctt ttacggactc ggaataccag ctcccgtacg tctcggctc tgcgcaccag	1080
ggctgcctgc ctccgttccc ggcggacgct ttcattgatt ctcagtacgg gtacctgact	1140
ctgaacaatg gcagtcaggc cgtgggcctg tctccttct actgcctgga gtactttcct	1200
tctcaaatgc tgagaacggg caacaacttt gagttcagct acacgtttga ggacgtgcct	1260
tttcacagca gctacgcgca cagccaaagc ctggaccggc tgatgaaccc cctcatcgac	1320
cagtacctgt actacctgtc tcggactcag accacgagtg gtaccgcagg aaatcggacg	1380
ttgcaatfff ctcaggccgg gcctagtagc atggcgaatc aggcacaaaa ctggctaccc	1440
gggcctgct accggcagca acgcgtctcc aagacagcga atcaaaataa caacagcaac	1500
tttgctgga ccggtgccac caagtatcat ctgaatggca gagactctct ggtaaatccc	1560

gggccgcta tggcaacca caaggacgac gaagacaaat ttttccgat gagcggagtc 1620

ttaatatattg ggaacaggg agctggaaat agcaacgtgg accttgacaa cgttatgata 1680

accagtgagg aagaaattaa aaccaccaac ccagtggcca cagaacagta cggcacggtg 1740

gccactaacc tgcaatcgtc aaacaccgct cctgctacag ggaccgtcaa cagtcaagga 1800

gccttacctg gcatggtctg gcagaaccgg gacgtgtacc tgcagggtcc tatctgggcc 1860

aagattcctc acacggacgg acatttcat ccctcgccgc tgatgggagg ctttgactg 1920

aaacaccgc ctctcagat cctgattaag aatacactg tccccgcaa tcctccaact 1980

accttcagtc cagctaagtt tgcgtcgttc atcacgcagt acagcaccgg acaggtcagc 2040

gtggaaattg aatgggagct gcagaagaa aacagcaaac gctggaacc agagattcaa 2100

tacacttcca actacaaca atctacaaat gtggactttg ctgttgacac aaatggcgtt 2160

tattctgagc ctgcceccat cggcacccgt tacctcacc gtaatctg 2208

<210> 63

<211> 736

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide"

<400> 63

Met Ala Ala Asp Gly Tyr Leu Pro Asp Trp Leu Glu Asp Asn Leu Ser

1 5 10 15

Glu Gly Ile Arg Glu Trp Trp Asp Leu Lys Pro Gly Ala Pro Lys Pro

20 25 30

Lys Ala Asn Gln Gln Lys Gln Asp Asp Gly Arg Gly Leu Val Leu Pro

35 40 45

Gly Tyr Lys Tyr Leu Gly Pro Phe Asn Gly Leu Asp Lys Gly Glu Pro

50 55 60

Val Asn Ala Ala Asp Ala Ala Ala Leu Glu His Asp Lys Ala Tyr Asp

65 70 75 80

Gln Gln Leu Lys Ala Gly Asp Asn Pro Tyr Leu Arg Tyr Asn His Ala

85 90 95

Asp Ala Glu Phe Gln Glu Arg Leu Gln Glu Asp Thr Ser Phe Gly Gly
 100 105 110
 Asn Leu Gly Arg Ala Val Phe Gln Ala Lys Lys Arg Val Leu Glu Pro
 115 120 125
 Leu Gly Leu Val Glu Glu Gly Ala Lys Thr Ala Pro Gly Lys Lys Arg
 130 135 140
 Pro Val Glu Gln Ser Pro Gln Glu Pro Asp Ser Ser Ser Gly Ile Gly

 145 150 155 160
 Lys Lys Gly Gln Gln Pro Ala Lys Lys Arg Leu Asn Phe Gly Gln Thr
 165 170 175
 Gly Asp Ser Glu Ser Val Pro Asp Pro Gln Pro Leu Gly Glu Pro Pro
 180 185 190
 Ala Ala Pro Ser Gly Val Gly Ser Asn Thr Met Ala Ala Gly Gly Gly
 195 200 205
 Ala Pro Met Ala Asp Asn Asn Glu Gly Ala Asp Gly Val Gly Asn Ala

 210 215 220
 Ser Gly Asn Trp His Cys Asp Ser Thr Trp Leu Gly Asp Arg Val Ile
 225 230 235 240
 Thr Thr Ser Thr Arg Thr Trp Ala Leu Pro Thr Tyr Asn Asn His Leu
 245 250 255
 Tyr Lys Gln Ile Ser Ser Gln Ser Gly Ala Ser Thr Asn Asp Asn Thr
 260 265 270
 Tyr Phe Gly Tyr Ser Thr Pro Trp Gly Tyr Phe Asp Phe Asn Arg Phe

 275 280 285
 His Cys His Phe Ser Pro Arg Asp Trp Gln Arg Leu Ile Asn Asn Asn
 290 295 300
 Trp Gly Phe Arg Pro Lys Arg Leu Asn Phe Lys Leu Phe Asn Ile Gln
 305 310 315 320
 Val Lys Glu Val Thr Thr Asn Asp Gly Thr Thr Thr Ile Ala Asn Asn
 325 330 335
 Leu Thr Ser Thr Val Gln Val Phe Thr Asp Ser Glu Tyr Gln Leu Pro

340 345 350
 Tyr Val Leu Gly Ser Ala His Gln Gly Cys Leu Pro Pro Phe Pro Ala
 355 360 365
 Asp Val Phe Met Ile Pro Gln Tyr Gly Tyr Leu Thr Leu Asn Asn Gly
 370 375 380
 Ser Gln Ala Val Gly Arg Ser Ser Phe Tyr Cys Leu Glu Tyr Phe Pro
 385 390 395 400
 Ser Gln Met Leu Arg Thr Gly Asn Asn Phe Glu Phe Ser Tyr Thr Phe

 405 410 415
 Glu Asp Val Pro Phe His Ser Ser Tyr Ala His Ser Gln Ser Leu Asp
 420 425 430
 Arg Leu Met Asn Pro Leu Ile Asp Gln Tyr Leu Tyr Tyr Leu Ser Arg
 435 440 445
 Thr Gln Thr Thr Ser Gly Thr Ala Gly Asn Arg Thr Leu Gln Phe Ser
 450 455 460
 Gln Ala Gly Pro Ser Ser Met Ala Asn Gln Ala Lys Asn Trp Leu Pro

 465 470 475 480
 Gly Pro Cys Tyr Arg Gln Gln Arg Val Ser Lys Thr Ala Asn Gln Asn
 485 490 495
 Asn Asn Ser Asn Phe Ala Trp Thr Gly Ala Thr Lys Tyr His Leu Asn
 500 505 510
 Gly Arg Asp Ser Leu Val Asn Pro Gly Pro Ala Met Ala Thr His Lys
 515 520 525
 Asp Asp Glu Asp Lys Phe Phe Pro Met Ser Gly Val Leu Ile Phe Gly

 530 535 540
 Lys Gln Gly Ala Gly Asn Ser Asn Val Asp Leu Asp Asn Val Met Ile
 545 550 555 560
 Thr Ser Glu Glu Glu Ile Lys Thr Thr Asn Pro Val Ala Thr Glu Gln
 565 570 575
 Tyr Gly Thr Val Ala Thr Asn Leu Gln Ser Ser Asn Thr Ala Pro Ala
 580 585 590

Thr Gly Thr Val Asn Ser Gln Gly Ala Leu Pro Gly Met Val Trp Gln

595 600 605

Asn Arg Asp Val Tyr Leu Gln Gly Pro Ile Trp Ala Lys Ile Pro His

610 615 620

Thr Asp Gly His Phe His Pro Ser Pro Leu Met Gly Gly Phe Gly Leu

625 630 635 640

Lys His Pro Pro Pro Gln Ile Leu Ile Lys Asn Thr Pro Val Pro Ala

645 650 655

Asn Pro Pro Thr Thr Phe Ser Pro Ala Lys Phe Ala Ser Phe Ile Thr

660 665 670

Gln Tyr Ser Thr Gly Gln Val Ser Val Glu Ile Glu Trp Glu Leu Gln

675 680 685

Lys Glu Asn Ser Lys Arg Trp Asn Pro Glu Ile Gln Tyr Thr Ser Asn

690 695 700

Tyr Asn Lys Ser Thr Asn Val Asp Phe Ala Val Asp Thr Asn Gly Val

705 710 715 720

Tyr Ser Glu Pro Arg Pro Ile Gly Thr Arg Tyr Leu Thr Arg Asn Leu

725 730 735

<210> 64

<211> 4653

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
polynucleotide"

<400> 64

ttggccaactc cctctctgcg cgctcgctcg ctcaactgagg ccgggcgacc aaaggtcgcc	60
cgacgcccgg gctttgcccg ggcggcctca gtgagcgagc gagcgcgag agagggagtg	120
gccaaactcca tcaactagggg ttcctttgtc gacgcggccg cacgcgtgac attgattatt	180
gactagttaa taatagtaat caattacggg gtcattagtt catagcccat atatggagtt	240
ccgcgttaca taacttacgg taaatggccc gcctggctga ccgccaacg acccccgccc	300

attgacgtca ataatgacgt atgttcccat agtaacgcca atagggactt tccattgacg 360
tcaatgggtg gactatttac ggtaaaactgc ccacttggca gtacatcaag tgtatcatat 420
gccaaagtacg cccctatttg acgtcaatga cggtaaatgg cccgcctggc attatgccca 480
gtacatgacc ttatgggact ttccctacttg gcagtacatc tacgtattag tcatcgctat 540
taccatgggt cgaggtgagc cccacgttct gcttactctt ccccatctcc ccccccctcc 600
cacccccaat ttgtatttta tttatTTTTT aattattttg tgcagcgatg ggggcggggg 660

gggggggggg gcgcgcgccca ggcgggggcg ggcgggggcga ggggcggggc ggggcgaggc 720
ggagaggtgc ggcggcagcc aatcagagcg gcgcgctccg aaagtttcct tttatggcga 780
ggcggcggcg gcggcgcccc tataaaaagc gaagcgcgcg gcgggcggga gtcgctgctg 840
tgccttcgcc ccgtgccccg ctccgcgccc cctcgcgccc cccgccccgg ctctgactga 900
ccgcttact cccacaggtg agcgggcggg acggcccttc tctccgggc tgtaattagc 960
gcttggttta atgacggctc gtttctttt tgtggctgcg tgaaagcctt aaagggtccc 1020
gggagggccc ttgtgcggg ggggagcggc tcggggggtg cgtgcgtgtg tgtgtcgtg 1080

gggagcgccc cgtgcggccc gcgctgcccg gcggctgtga gcgctgcggg gcggcgcgcg 1140
ggctttgtgc gctccgctg tgcgcgaggg gagcgcgccc gggggcggtg ccccgcggtg 1200
cgggggggct gcgaggggaa caaaggctgc gtgcggggtg tgtgcgtggg ggggtgagca 1260
gggggtgtgg gcgcggcggt cgggctgtaa cccccctg cacccttc cccgagttgc 1320
tgagcacggc ccggcttcgg gtgcggggct ccgtgcgggg cgtggcgcgg ggctcgccgt 1380
gccggcgggg ggggtggcggc aggtgggggt gccgggcggg gcggggccgc ctcgggccgg 1440
ggagggtcgc ggggaggggc gcggcgcccc ccggagcgcc ggcggtgtc gaggcgcggc 1500

gagccgcagc cattgccttt tatggtaatc gtgcgagagg gcgcaggac ttcctttgtc 1560
ccaaatctgt gcggagccga aatctgggag gcgccgccgc acccctcta gcgggcgcgg 1620
ggcgaagcgg tgcggcgccc gcaggaagga aatggcgggg gagggccttc gtgcgtcgcc 1680
gcgccccgt ccccttctcc ctctccagcc tcggggctgt ccgcgggggg acggtgcct 1740
tcggggggga cgggagcagg cggggttcgg ctctggcggt gtgaccggcg gctctagagc 1800
ctctgtaac catgttcatg ctttcttctt tttctacag ctctgggca acgtgctggt 1860
tattgtgacc ggtaggagat acttgaaggc agtttgaaag acttgtttta cagattctta 1920

gtccaaagat ttccaattag ggagaagaag cagcagaaaa ggagaaaagc caagtatgag 1980
tgatgatgag gccttcatct actgacattt aacctggcga gaaccgtcga tggatgaagt 2040
gccttttcag ctgggagctg tccgttcagc ttccgtaata aatgcagtca aagaggcagt 2100
cccttcccat tgctcacaaa ggtcttgttt ttgaacctcg cctcacaga agccgtttct 2160

catcgccacc atgccaagcc aacagaagaa aatcattttt tgcatggccg gagggttcag	2220
ttttgcatgt gccctcggag ttgtgacagc cttggggaca ccgttgtgga tcaaagccac	2280
tgctctctgc aaaacgggag ctctgctcgt caatgcctca gggcaggagc tggacaagtt	2340
tatgggtgaa atgcagtacg ggctttttcca cggagagggt gtgaggcagt gtgggttggg	2400
agcaaggccc tttcggttct ctttttttcc agatttgctc aaagcaatcc cagttagcat	2460
ccacgtcaat gtcattctct tctctgccaat ccttattgtg ttaacatgg tggggacagc	2520
cttcttcattg tacaatgctt ttggaaaacc ttttgaaact ctgcatggtc ccctagggt	2580
gtaccttttg agcttcattt caggctctctg ttgctgtctt gtcattgatat tgtttgcctc	2640
tgaagtgaag atccatcacc tctcagaaaa aattgcaaat tataaagaag ggacttatgt	2700
ctacaaaacg caaagtgaag aatataccac ctcatctctg gtcattttct tttgcttttt	2760
tgttcatttt ctgaatgggc tcctaatacg acttgctgga tttcagttcc cttttgcaaa	2820
atctaaagac gcagaaacaa ctaatgtagc tgcagatcta atgtactaag agctcaaggc	2880
aaacctttct ataattttac aaggagtag acttgctttg gtcactttta gatgtggtta	2940
attttgcata tctttttagt ctgcatatat taaagcatca ggaccttctg tgacaatgtt	3000
tacaaattac gtactaagga tacaggctgg aaagtaaggg aagcagaagg aaggctttga	3060
aaagtgtttt tatctggtgg gaaattgctt gaccaggtg gtcaaaggca gttgactaga	3120
atcgacaaat gttactcca tatatatata tgtgtgtgtg tgtgtgtgtg tgtgtgtgta	3180
agatgtcttc ctatcaaaaa gatatcaaag gcacatggaa tatattttta taaaaacaaa	3240
taatatctct aatatatcca cacatttgtt gccagatttc agaaaactga gctgcaatcg	3300
ctttcctaaa acagtagtgt attaaatgaa catctataaa atgtatcaac acacatttta	3360
aaaaatttgt ttaaagtata ctcttaggcc aggcgtggtg actcacact gtaattccag	3420
cacttcagga ggccaagggt ggaagatcat ttgagttcag gatttcgagt tacagcctgg	3480
gcaataaagt gagacctgt cactaacaaa attaaaaaat aaaataaata taaaatatag	3540
gctttaaaaa agcatagtct tattaacat gtcgtttggt caaaatctgc aaactctaaa	3600
agaagaaaag aagaaaaaac caacgttagg gtatttttcc tcccgtgcct gattcccaat	3660
tacattcacg acagtacttt caatgaacat aattgttagg accactgagg aatcatgaaa	3720
aatgatctct gcttagtaca ttgatgcaa aatgacttat taggggctgt ttttctagct	3780
atagtgtctc gattactaat atgcaattat gaaaattata ttaaatctgg gattatgacg	3840
gtatcactgt atcatcttgg tctgtttctg gctgtcacca agcatgaccc aggtcaactt	3900
tttttttccc ctgaattacc catcaaattg atctgcagct gactaaaggc cacagctgag	3960

cctggaactg acccttcctt catcctcaac ctgctgtcct ccagaaagca ccaaggaaaa 4020

agcagagaat gacagcaaac agatcactag gcctctgacc acagtgctg agtactcagc 4080

agccctcata taataggttt gaaagtactc cttaaaataa aacactgttt ccctttggaa 4140

ctatttaciaa ggatgaaaca accgtatacc tgagaaataa cttgctctgg tgtcaattcg 4200

ctattcgcca gcagacatca gaacacaccg agtttccaga tgcctctgtgc cttctagttag 4260

ccagccatct gttgtttgcc cctcccccgt gccttccttg accctggaag gtgccactcc 4320

cactgtcctt tcctaataaa atgaggaaat tgcacgcacat tgcctgagta ggtgtcattc 4380

tattctgggg ggtgggtgg ggacaggacag caagggggag gattgggaag acaatagcag 4440

gcacgtctggg gatgcggtgg gctctatgga agcttgaatt cagctgacgt gcctcggacc 4500

gtcctaggag gaacccttag tgatggagtt ggccactccc tctctgcgcg ctgctcgtct 4560

cactgaggcc gcccgggcaa agcccgggcg tcgggcgacc tttggtcgcc cggcctcagt 4620

gagcgagcga gcgcgcagag agggagtggc caa 4653

<210> 65

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic probe"

<400> 65

ccagcagagt cagggc 16

<210> 66

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic primer"

<400> 66

gatacagcta gattcctgat tgc 23

<210> 67

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
primer"

<400> 67

gatctgccaa gtacctcact atg

23

<210> 68

<211> 4653

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
polynucleotide"

<400> 68

ttggccactc cctctctgcg cgctcgctcg ctactgagg ccgggcgacc aaaggtcgcc

60

cgacgcccgg gctttgcccg ggcgccctca gtgagcgagc gagcgcgag agagggagt

120

gccaactcca tctactagggg ttcctttgtc gacgcggccg cacgcgtgac attgattatt

180

gactagttaa taatagtaat caattacggg gtcattagtt catagcccat atatggagtt

240

ccgcgttaca taacttacgg taaatggccc gcctggctga ccgccaacg acccccgcgc

300

attgacgtca ataatgacgt atgttcccat agtaacgcca atagggactt tccattgacg

360

tcaatgggtg gactatttac ggtaaactgc ccacttggca gtacatcaag tgtatcatat

420

gccaagtacg cccctattg acgtcaatga cggtaaattg cccgcctggc attatgcccc

480

gtacatgacc ttatgggact ttctacttg gcagtacac tacgtattag tcatcgctat

540

taccatgggt cgaggtgagc cccacgttct gcttactct ccccatctcc ccccccctcc

600

cacccccaat ttgtatttta tttatttttt aattattttg tgcagcgatg ggggcggggg

660

gggggggggg gcgcgcgcca ggcgggggcg ggcggggcga ggggcggggc ggggcgaggc

720

ggagagggtg ggcggcagcc aatcagagcg gcgcgctccg aaagtcttct tttatggcga

780

ggcggcggcg gcggcgccc tataaaaagc gaagcgcgcg gcggcgggga gtcgctgcgt

840

tgcttcgcc ccgtgccccg ctccgcgcg cctcgcgccg cccgccccgg ctctgactga

900

ccgcgttact cccacaggtg agcgggcggg acggcccttc tcctccgggc tgtaattagc

960

gcttggttta atgacggctc gtttcttttc tgtggctgcg tgaaagcctt aaagggtcc

1020

gggagggccc ttigtgcggg ggggagcggc tcggggggtg cgtgcgtgtg tgtgtcgtg	1080
gggagcgccg cgtgcggccc gcgtgccccg gcggctgtga gcgtgcggg cgcggcgcgg	1140
ggctttgtgc gctccgcgtg tgcgcgaggg gagcgcggcc gggggcgggtg ccccgcggtg	1200
cgggggggct gcgaggggaa caaaggctgc gtgcggggtg tgtgcgtggg ggggtgagca	1260
gggggtgtgg gcgcggcggt cgggctgtaa cccccctg cccccctc cccgagttgc	1320
tgagcacggc cgggcttcgg gtgcggggct ccgtgcgggg cgtggcgcgg ggctcgccgt	1380
gccgggcggg gggtagcggc aggtgggggt gccgggcggg gcggggccgc ctcgggccgg	1440
ggagggctcg ggggaggggc gcggcgcccc ccggagcgcc ggcggtgtgc gaggcgcggc	1500
gagccgcagc cattgccttt tatgtaatc gtgcgagagg gcgcagggac ttcctttgtc	1560
ccaaatctgt gcggagccga aatctgggag gcgcccgcc acccctcta gcgggcgcgg	1620
ggcgaagcgg tgcggcgccc gcaggaagga aatgggcggg gagggccttc gtgcgtcgcc	1680
gcgccccgt ccccttctcc ctctccagcc tcggggctgt ccgcgggggg acggctgcct	1740
tcggggggga cggggcaggg cggggttcgg ctcttgccgt gtgaccggcg gctctagagc	1800
ctctgtaac catgttcatg ctttcttctt ttctctacag ctctgggca acgtgctggt	1860
tattgtgacc ggtaggagat acttgaaggc agtttgaaag acttgtttta cagattctta	1920
gtccaaagat ttccaattag ggagaagaag cagcagaaaa ggagaaaagc caagtatgag	1980
tgatgatgag gccttcatct actgacattt aacctggcga gaaccgtcga tggtagaagt	2040
gccttttcag ctgggagctg tccgttcagc ttccgtaata aatgcagtca aagaggcagt	2100
cccttcccat tgcacaaaa ggtcttgttt ttgaacctcg cctcacaga agccgtttct	2160
catcgccacc atgcctagcc agcagaagaa aatcatcttc tgcatggccg gcgtgttcag	2220
cttcgcctgt gctctgggag ttgtgacagc cctgggaacc cctctgtgga tcaaagccac	2280
agtgtgtgc aagacaggcg ccctgctggt taatgcctct ggccaagagc tggacaagtt	2340
catgggcgag atgcagtacg gcctgttcca tggcgaaggc gtgagacagt gtggcctggg	2400
agccagacct ttcagattca gcttcttccc agacctgctg aaggctatcc ccgtgtccat	2460
ccacgtgaac gtgatcctgt tcagcgccat cctgatcgtg ctgacaatgg tcggaaccgc	2520
cttcttcatg tacaacgcct tcggcaagcc ctctgagaca ctgcatggac ctctgggcct	2580
gtacctgctg agctttatca gcggcagctg tggtgcctg gtcatgattc tgttcgccag	2640
cgaagtgaag atccaccacc tgagcgagaa gatcgccaac taaaagagg gcacctacgt	2700
ctacaagacc cagtcgaga agtacaccac cagcttttgg gttatcttct tctgtttctt	2760

cgtgcacttc ctgaacggcc tgctgatcag actggccggc ttccagtttc cattcgccaa 2820

 gagcaaggac gccgaaacca caaacgtggc cgccgatctg atgtactaag agctcaaggc 2880
 aaacctttct ataattttac aaggagtag acttgctttg gtcactttta gatgtggta 2940
 attttgcata tccttttagt ctgcatatat taaagcatca ggacccttcg tgacaatgtt 3000
 tacaaattac gtactaagga tacaggctgg aaagtaaggg aagcagaagg aaggcttga 3060
 aaagtgtttt tatctggtag gaaattgctt gaccaggtga gtcaaaggca gttgactaga 3120
 atcgacaaat tgttactcca tataatataa tgtgtgtgtg tgtgtgtgtg tgtgtgtgta 3180
 agatgtcttc ctatcaaaaa gatataaag gcacatggaa tatattttta taaaaacaaa 3240

 taatatctct aatatatcca cacatttgtt gccagatttc agaaaactga gctgcaatcg 3300
 ctttcctaaa acagtagtgt attaaatgaa catctataaa atgtatcaac acacatttta 3360
 aaaaatttgt ttaaagtata ctcttaggcc aggcgtgggtg actcacacct gtaattccag 3420
 cacttcagga ggccaagggtg ggaagatcat ttgagttcag gagttcaggt tacagcctgg 3480
 gcaataaagt gagaccctgt cactaacaaa attaaaaaat aaaataaata taaaatatag 3540
 gctttaaaaa agcatagtct tattaacat gtctgttgggt caaaatctgc aaactctaaa 3600
 agaagaaaag aagaaaaaac caacgttagg gtatttttcc tcccgtgcct gagtcccaat 3660

 tacattcacg acagtacttt caatgaacat aattgttagg accactgagg aatcatgaaa 3720
 aatgatctct gcttagtaca ttgatgcaa aatgacttat taggggctgt tttctagct 3780
 atagtgtctc gactactaat atgcaattat gaaaattata ttaaatctgg gattatgacg 3840
 gtatcactgt atcatcttgg tcttgttctg gctgtcacca agcatgaccc aggtcaactt 3900
 ttttttccc ctgaattacc catcaaattg atctgcagct gactaaaggc cacagctgag 3960
 cctggaactg acccttctct catctcaac ctgctgtcct ccagaaagca ccaaggaaaa 4020
 agcagagaat gacagcaaac agatcactag gcctctgacc acagggtgctg agtactcagc 4080

 agccctcata taatagggtt gaaagtactc cttaaaataa aacactgttt ccctttggaa 4140
 ctattttaca ggatgaaaca accgtatacc tgagaaataa cttgctctgg tgtcaattcg 4200
 ctattcgcca gcagacatca gaacacaccg agtttcaga tgctctgtgc cttctagttg 4260
 ccagccatct gttgtttgcc cctccccgt gccttcttg accctggaag gtgccactcc 4320
 cactgtcctt tcctaataaa atgaggaaat tgcacgcat tgtctgagta ggtgtcattc 4380
 tattctgggg ggtgggggtg ggcaggacag caagggggag gatigggaag acaatagcag 4440
 gcatgctggg gatgcgggtg gctctatgga agcttgaatt cagctgacgt gcctcggacc 4500

gtcctaggag gaaccctag tgatggagt ggccactccc tctctgcgcg ctgctcgct 4560
 cactgaggcc gcccgggcaa agcccgggcg tcgggcgacc ttggtcgcc cggcctcagt 4620
 gagcgagcga gcgcgcagag agggagtggc caa 4653

<210> 69

<211> 17

<212> DNA

<213> Unknown

<220><221> source

<223> /note="Description of Unknown:

Poly(A) signal sequence"

<400> 69

aaataaaata cgaaatg

17

<210> 70

<211> 736

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide"

<220><221> VARIANT

<222> (168)..(168)

<223> /replace="R"

<220><221> VARIANT

<222> (204)..(204)

<223> /replace="S"

<220><221> VARIANT

<222> (266)..(266)

<223> /replace="G"

<220><221> VARIANT

<222> (311)..(311)

<223> /replace="K"

<220><221> VARIANT

<222> (411)..(411)

<223> /replace="Q"

<220><221> VARIANT

<222> (460)..(460)

<223> /replace="E"

<220><221> VARIANT

<222> (493)..(493)

<223> /replace="T"

<220><221> VARIANT

<222> (562)..(562)

<223> /replace="N"

<220><221> VARIANT

<222> (576)..(576)

<223> /replace="E"

<220><221> VARIANT

<222> (587)..(587)

<223> /replace="A"

<220><221> VARIANT

<222> (609)..(609)

<223> /replace="D"

<220><221> SITE

<222> (1)..(736)

<223> /note="Variant residues given in the sequence have no
preference with respect to those in the annotations
for variant positions"

<400> 70

Met Ala Ala Asp Gly Tyr Leu Pro Asp Trp Leu Glu Asp Asn Leu Ser

1	5	10	15
Glu Gly Ile Arg Glu Trp Trp Asp Leu Lys Pro Gly Ala Pro Lys Pro			
	20	25	30
Lys Ala Asn Gln Gln Lys Gln Asp Asp Gly Arg Gly Leu Val Leu Pro			
	35	40	45
Gly Tyr Lys Tyr Leu Gly Pro Phe Asn Gly Leu Asp Lys Gly Glu Pro			
	50	55	60

Val Asn Ala Ala Asp Ala Ala Ala Leu Glu His Asp Lys Ala Tyr Asp

65 70 75 80

Gln Gln Leu Lys Ala Gly Asp Asn Pro Tyr Leu Arg Tyr Asn His Ala

85 90 95

Asp Ala Glu Phe Gln Glu Arg Leu Gln Glu Asp Thr Ser Phe Gly Gly

100 105 110

Asn Leu Gly Arg Ala Val Phe Gln Ala Lys Lys Arg Val Leu Glu Pro

115 120 125

Leu Gly Leu Val Glu Glu Gly Ala Lys Thr Ala Pro Gly Lys Lys Arg

130 135 140

Pro Val Glu Gln Ser Pro Gln Glu Pro Asp Ser Ser Ser Gly Ile Gly

145 150 155 160

Lys Lys Gly Gln Gln Pro Ala Lys Lys Arg Leu Asn Phe Gly Gln Thr

165 170 175

Gly Asp Ser Glu Ser Val Pro Asp Pro Gln Pro Leu Gly Glu Pro Pro

180 185 190

Ala Ala Pro Ser Gly Val Gly Ser Asn Thr Met Ala Ala Gly Gly Gly

195 200 205

Ala Pro Met Ala Asp Asn Asn Glu Gly Ala Asp Gly Val Gly Asn Ala

210 215 220

Ser Gly Asn Trp His Cys Asp Ser Thr Trp Leu Gly Asp Arg Val Ile

225 230 235 240

Thr Thr Ser Thr Arg Thr Trp Ala Leu Pro Thr Tyr Asn Asn His Leu

245 250 255

Tyr Lys Gln Ile Ser Ser Gln Ser Gly Ala Ser Thr Asn Asp Asn Thr

260 265 270

Tyr Phe Gly Tyr Ser Thr Pro Trp Gly Tyr Phe Asp Phe Asn Arg Phe

275 280 285

His Cys His Phe Ser Pro Arg Asp Trp Gln Arg Leu Ile Asn Asn Asn

290 295 300

Trp Gly Phe Arg Pro Lys Arg Leu Asn Phe Lys Leu Phe Asn Ile Gln

305 310 315 320
 Val Lys Glu Val Thr Thr Asn Asp Gly Thr Thr Thr Ile Ala Asn Asn

 325 330 335
 Leu Thr Ser Thr Val Gln Val Phe Thr Asp Ser Glu Tyr Gln Leu Pro
 340 345 350
 Tyr Val Leu Gly Ser Ala His Gln Gly Cys Leu Pro Pro Phe Pro Ala
 355 360 365
 Asp Val Phe Met Ile Pro Gln Tyr Gly Tyr Leu Thr Leu Asn Asn Gly
 370 375 380
 Ser Gln Ala Val Gly Arg Ser Ser Phe Tyr Cys Leu Glu Tyr Phe Pro

 385 390 395 400
 Ser Gln Met Leu Arg Thr Gly Asn Asn Phe Glu Phe Ser Tyr Thr Phe
 405 410 415
 Glu Asp Val Pro Phe His Ser Ser Tyr Ala His Ser Gln Ser Leu Asp
 420 425 430
 Arg Leu Met Asn Pro Leu Ile Asp Gln Tyr Leu Tyr Tyr Leu Ser Arg
 435 440 445
 Thr Gln Thr Thr Ser Gly Thr Ala Gly Asn Arg Thr Leu Gln Phe Ser

 450 455 460
 Gln Ala Gly Pro Ser Ser Met Ala Asn Gln Ala Lys Asn Trp Leu Pro
 465 470 475 480
 Gly Pro Cys Tyr Arg Gln Gln Arg Val Ser Lys Thr Ala Asn Gln Asn
 485 490 495
 Asn Asn Ser Asn Phe Ala Trp Thr Gly Ala Thr Lys Tyr His Leu Asn
 500 505 510
 Gly Arg Asp Ser Leu Val Asn Pro Gly Pro Ala Met Ala Thr His Lys

 515 520 525
 Asp Asp Glu Asp Lys Phe Phe Pro Met Ser Gly Val Leu Ile Phe Gly
 530 535 540
 Lys Gln Gly Ala Gly Asn Ser Asn Val Asp Leu Asp Asn Val Met Ile
 545 550 555 560

Thr Ser Glu Glu Glu Ile Lys Thr Thr Asn Pro Val Ala Thr Glu Gln

565 570 575

Tyr Gly Thr Val Ala Thr Asn Leu Gln Ser Ser Asn Thr Ala Pro Ala

580 585 590

Thr Gly Thr Val Asn Ser Gln Gly Ala Leu Pro Gly Met Val Trp Gln

595 600 605

Asn Arg Asp Val Tyr Leu Gln Gly Pro Ile Trp Ala Lys Ile Pro His

610 615 620

Thr Asp Gly His Phe His Pro Ser Pro Leu Met Gly Gly Phe Gly Leu

625 630 635 640

Lys His Pro Pro Pro Gln Ile Leu Ile Lys Asn Thr Pro Val Pro Ala

645 650 655

Asn Pro Pro Thr Thr Phe Ser Pro Ala Lys Phe Ala Ser Phe Ile Thr

660 665 670

Gln Tyr Ser Thr Gly Gln Val Ser Val Glu Ile Glu Trp Glu Leu Gln

675 680 685

Lys Glu Asn Ser Lys Arg Trp Asn Pro Glu Ile Gln Tyr Thr Ser Asn

690 695 700

Tyr Asn Lys Ser Thr Asn Val Asp Phe Ala Val Asp Thr Asn Gly Val

705 710 715 720

Tyr Ser Glu Pro Arg Pro Ile Gly Thr Arg Tyr Leu Thr Arg Asn Leu

725 730 735

<210> 71

<211> 5000

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
polynucleotide"

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(5000)

<223> /note="This sequence may encompass 50, 60, 70, 100, 200, 500,

1000, 2000, 3000, 4000, or 5000 nucleotides"

<220>

<221> source

<223> /note="See specification as filed for detailed description of
substitutions and preferred embodiments"

<400> 71

aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa	60
aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa	120
aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa	180
aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa	240
aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa	300
aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa	360
aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa	420
aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa	480
aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa	540
aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa	600
aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa	660
aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa	720
aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa	780
aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa	840
aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa	900
aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa	960
aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa	1020
aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa	1080
aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa	1140
aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa	1200
aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa	1260
aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa	1320
aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa	1380
aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa	1440
aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa	1500

[illegible]

aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	3300
aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	3360
aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	3420
aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	3480
aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	3540
aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	3600
aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	3660
aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	3720
aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	3780
aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	3840
aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	3900
aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	3960
aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	4020
aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	4080
aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	4140
aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	4200
aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	4260
aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	4320
aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	4380
aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	4440
aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	4500
aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	4560
aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	4620
aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	4680
aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	4740
aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	4800
aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	4860
aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	4920
aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	4980
aaaaaaaa	aaaaaaaa					5000