

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **036944**(13) **B1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2021.01.19

(21) Номер заявки
201891138

(22) Дата подачи заявки
2016.11.11

(51) Int. Cl. *C07K 14/755* (2006.01)
A61K 48/00 (2006.01)
C12N 15/86 (2006.01)

(54) ВИРУСНЫЕ ВЕКТОРЫ, КОДИРУЮЩИЕ РЕКОМБИНАНТНЫЕ ВАРИАНТЫ FVIII С ПОВЫШЕННОЙ ЭКСПРЕССИЕЙ ДЛЯ ГЕННОЙ ТЕРАПИИ ГЕМОФИЛИИ А

(31) 62/255,323

(32) 2015.11.13

(33) US

(43) 2018.12.28

(86) PCT/US2016/061688

(87) WO 2017/083764 2017.05.18

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
БАКСАЛТА ИНКОРПОРЕЙТЕД
(US); БАКСАЛТА ГМБХ (CH)

(72) Изобретатель:
Фалькнер Фалько-Гюнтер, Хорлинг
Франциска, Ленглер Йоханнес,
Роттенштайнер Ханспетер,
Шайфлингер Фридрих (AT)

(74) Представитель:
Медведев В.Н. (RU)

(56) US-A1-2015071883

DATABASE Geneseq [Online], 5 December 2013 (2013-12-05), "Human diseases associated protein encoding optimized ORF, SEQ ID 1811.", XP002766199, retrieved from EBI accession no. GSN:BAW43417, Database accession no. BAW43417, sequence & WO 2013/151666 A2 (MODERNA THERAPEUTICS [US]), 10 October 2013 (2013-10-10), abstract; claims 1,2; figure 1; sequence 1811

US-A1-2013017997

(57) Данное изобретение предлагает, среди прочего, полинуклеотиды с измененными кодонами, кодирующие варианты фактора VIII для экспрессии в клетках млекопитающих. В некоторых вариантах реализации изобретения в описании также представлены векторы для генной терапии млекопитающих и способы лечения гемофилии А.

B1

036944

036944

B1

Перекрестная ссылка на родственные заявки

Данная заявка заявляет приоритет по предварительной заявке на патент США № 62/255 323, поданной 13 ноября 2015 г., содержание которой включено в данное описание посредством ссылки в полном объеме для всех целей.

Список последовательностей

В данном приложении содержится список последовательностей, который представлен в электронном виде в формате ASCII и полностью включен в данное описание посредством ссылки. Указанная копия в формате ASCII, созданная 7 ноября 2016 г. имеет имя 008073_5115_WO_Sequence_Listing.txt и имеет размер 183,311 байт.

Уровень техники

Коагуляция крови протекает посредством сложного и динамического биологического пути взаимозависимых биохимических реакций, называемого каскадом коагуляции. Фактор коагуляции VIII (FVIII) является ключевым компонентом каскада. Фактор VIII поступает в места кровотечения и образует комплекс Хази с активированным Фактором IX (FIXa) и Фактором X (FX). Комплекс Хази активирует FX, который, в свою очередь, активирует превращение протромбина в тромбин, который затем активирует другие компоненты в коагуляционном каскаде для создания стабильного тромба (см. Saenko et al., *Trends Cardiovasc. Med.*, 9:185-192 (1999); Lenting et al., *Blood*, 92:3983-3996 (1998)).

Гемофилия А представляет собой врожденное X-сцепленное расстройство свертывания крови, характеризующееся дефицитом активности фактора VIII. Уменьшенная активность фактора VIII ингибирует контур положительной обратной связи в каскаде коагуляции. Это приводит к неполной коагуляции, которая проявляется в виде случаев кровотечения с повышенной продолжительностью, обширного кровоизлияния, спонтанным оральных и назальных кровотечений, суставной жесткостью и хронической болью и, возможно, внутреннего кровотечения и анемии в тяжелых случаях (Zhang et al., *Clinic. Rev. Allerg. Immunol.*, 37:114-124 (2009)).

Обычно при гемофилии А применяется заместительная терапия фактора VIII, которая состоит из введения белка фактора VIII (например, полученного из плазмы или рекомбинантно фактора VIII) человеку с гемофилией А. Фактор VIII вводится профилактически для предотвращения или уменьшения частоты случаев кровотечения, в ответ на эпизод острого кровотечения и/или периоперационно, чтобы кровотечение было управляемым во время операции. Однако существует несколько нежелательных особенностей заместительной терапии фактора VIII.

Во-первых, заместительная терапия фактора VIII используется для лечения или контроля гемофилии А, но не излечивает лежащий в основе дефицит фактора VIII. Из-за этого люди с гемофилией А требуют заместительной терапии фактора VIII на протяжении всей своей жизни. Непрерывное лечение является дорогостоящим и требует от человека соблюдения строгого режима терапии, поскольку отсутствие приема лишь нескольких профилактических доз может иметь серьезные последствия для лиц с тяжелой формой гемофилии А.

Во-вторых, поскольку фактор VIII имеет относительно короткий период полувыведения *in vivo*, традиционная профилактическая заместительная терапия фактора VIII требует введения каждый второй или третий день. Это налагает нагрузку на человека в виде соблюдения терапии на протяжении всей его жизни. В то время как препараты третьего поколения «длительного действия» фактора VIII могут снизить частоту введения, профилактическая заместительная терапия фактора FVIII с этими препаратами по-прежнему требует ежемесячного, еженедельного или более частого применения в течение неограниченного срока. Например, профилактическое лечение с помощью ELOCTATE™ [Antihemophilic Factor (Recombinant), Fc Fusion Protein] требует введения каждые три-пять дней (ELOCTATE™ Prescription Information, Biogen Idec Inc., (2015)). Более того, долгосрочные эффекты химически модифицированных биологических препаратов (например, пегилированных полипептидов) еще не полностью изучены.

В-третьих, от 15 до 30% всех лиц, получающих заместительную терапию фактора VIII, образуют ингибирующие антитела к фактору VIII, что делает терапию неэффективной. Обходная терапия фактора VIII (например, введение комплексных концентратов протромбинового комплекса из плазмы или полученного рекомбинантно) можно использовать для лечения гемофилии у индивидуумов, у которых образуются ингибирующие антитела. Однако обходная терапия фактора VIII менее эффективна, чем заместительная терапия фактора VIII (Mannucci P.M., *J Thromb Haemost.*, 1 (7) : 1349-55 (2003)) и может быть связана с повышенным риском сердечно-сосудистых осложнений (Luu and Ewenstein, *Haemophilia*, 10 Suppl. 2:10-16 (2004)).

Соматическая генная терапия имеет большие перспективы в лечении гемофилии А, потому что она устраняет лежащую в основе недостаточную экспрессию фактора VIII (например, из-за миссенс- или нонсенс-мутаций), а не обеспечивает одноразовую дозу активности фактора VIII для индивида. Из-за этой разницы в механизме действия по сравнению с заместительной терапией фактора VIII однократное введение вектора генной терапии фактора VIII может в течение нескольких лет обеспечивать индивидуума фактором VIII, снижая затраты на лечение и устраняя необходимость в продолжении соблюдения терапии пациентом.

Генная терапия фактора коагуляции IX (FIX) была эффективно использована для лечения людей с гемофилией В, связанного с ней состояния свертывания крови, характеризующегося сниженной активностью фактора IX (Manno C.S., et al., Nat Med., 12(3):342-47 (2006)). Однако генная терапия фактора VIII имеет несколько уникальных проблем. Например, полноразмерный полипептид фактора VIII дикого типа (2351 аминокислота, номер доступа UniProt P00451) в пять раз больше, чем полноразмерный полипептид фактора IX дикого типа (461 аминокислота, номер доступа UniProt P00740). По существу, кодирующая последовательность фактора VIII дикого типа представляет собой 7053 пары оснований, которые слишком велики для вставки в векторы генной терапии AAV. Кроме того, наблюдаемая экспрессия рекомбинантных вариантов с удаленным В-доменом фактора VIII (BDD-FVIII) была низкой. Таким образом, несколько групп пытались изменить использование кодонов конструкций BDD-FVIII с ограниченным успехом.

Краткое описание сущности изобретения

Соответственно, существует потребность в вариантах фактора VIII, кодирующие последовательности которых более эффективно упаковываются и переносятся с помощью векторов генной терапии. Существует также потребность в синтетических нуклеиновых кислотах с измененными кодонами, которые экспрессируют фактор VIII более эффективно. Такие варианты фактора VIII и нуклеиновые кислоты с измененными кодонами, позволяют улучшить лечение дефицитов фактора VIII (например, гемофилии А). Вышеупомянутые недостатки и другие проблемы, связанные с лечением дефицитов фактора VIII (например, гемофилии А), снижаются или устраняются описанными вариантами фактора VIII с измененными кодонами.

В соответствии с некоторыми вариантами реализации данное изобретение относится к нуклеиновым кислотам, кодирующим варианты фактора VIII, которые имеют высокую идентичность последовательности с описанными последовательностями с измененными кодонами тяжелой цепи фактора VIII (например, CS01-HC-NA, CS04-HC-NA или CS23-HC-NA) и легкой цепи (CS01-LC-NA, CS04-LC-NA или CS23-LC-NA). В некоторых вариантах реализации изобретения эти нуклеиновые кислоты дополнительно содержат последовательность, кодирующую линкерную последовательность, которая заменяет нативный В-домен фактора VIII (например, линкерные последовательности, содержащие фуриновый сайт расщепления) между последовательностями, кодирующими тяжелые и легкие цепи фактора VIII.

В одном аспекте данное изобретение относится к полинуклеотиду, содержащему нуклеотидную последовательность, кодирующую полипептид фактора VIII. Полипептид фактора VIII содержит легкую цепь, тяжелую цепь и полипептидный линкер, соединяющий С-конец тяжелой цепи с N-концом легкой цепи. Тяжелая цепь полипептида фактора VIII кодируется первой нуклеотидной последовательностью, имеющей по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью CS04-HC-NA (SEQ ID NO: 3). Легкая цепь полипептида фактора FVIII кодируется второй нуклеотидной последовательностью, имеющей по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью CS04-LC-NA (SEQ ID NO: 4). Полипептидный линкер содержит фуриновый сайт расщепления.

В одном варианте реализации полинуклеотидов, описанных выше, полипептидный линкер кодируется третьей нуклеотидной последовательностью, имеющей по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью BDLO04 (SEQ ID NO: 6).

В одном аспекте данное изобретение относится к полинуклеотиду, содержащему нуклеотидную последовательность, кодирующую полипептид фактора VIII. Полипептид фактора VIII содержит легкую цепь, тяжелую цепь и полипептидный линкер, соединяющий С-конец тяжелой цепи с N-концом легкой цепи. Тяжелая цепь полипептида фактора VIII кодируется первой нуклеотидной последовательностью, имеющей по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью CS01-HC-NA (SEQ ID NO: 24). Легкая цепь полипептида фактора FVIII кодируется второй нуклеотидной последовательностью, имеющей по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью CS01-LC-NA (SEQ ID NO: 25). Полипептидный линкер содержит фуриновый сайт расщепления.

В одном варианте реализации полинуклеотидов, описанных выше, полипептидный линкер кодируется третьей нуклеотидной последовательностью, имеющей по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью BDLO01 (SEQ ID NO: 5).

В одном аспекте данное изобретение относится к полинуклеотиду, содержащему нуклеотидную последовательность, кодирующую полипептид фактора VIII. Полипептид фактора VIII содержит легкую цепь, тяжелую цепь и полипептидный линкер, соединяющий С-конец тяжелой цепи с N-концом легкой цепи. Тяжелая цепь полипептида фактора VIII кодируется первой нуклеотидной последовательностью, имеющей по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью CS23-HC-NA (SEQ ID NO: 22). Легкая цепь полипептида фактора FVIII кодируется второй нуклеотидной последовательностью, имеющей по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью CS23-LC-NA (SEQ ID NO: 23). Полипептидный линкер содержит фуриновый сайт расщепления.

В одном варианте реализации полинуклеотидов, описанных выше, полипептидный линкер кодируется третьей нуклеотидной последовательностью, имеющей по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью BDLO23 (SEQ ID NO: 7).

В одном варианте реализации описанных выше полинуклеотидов первая нуклеотидная последова-

ность имеет по меньшей мере 97% идентичности с последовательностью, выбранной из группы, состоящей из CS01-FL-NA, CS01-HC-NA, CS01-LC-NA, CS04-FL-NA, CS04-HC-NA, CS04-LC-NA, CS23-FL-NA, CS23-HC-NA, CS23-LC-NA, CS01-SC1-NA, CS04-SC1-NA, CS23-SC1-NA, CS01-SC2-NA, CS04-SC2-NA и CS23-SC2-NA.

В одном варианте реализации полинуклеотидов, описанных выше, нуклеотидная последовательность имеет по меньшей мере 98% идентичности с последовательностью, выбранной из группы, состоящей из CS01-FL-NA, CS01-HC-NA, CS01-LC-NA, CS04-FL-NA, CS04-HC-NA, CS04-LC-NA, CS23-FL-NA, CS23-HC-NA, CS23-LC-NA, CS01-SC1-NA, CS04-SC1-NA, CS23-SC1-NA, CS01-SC2-NA, CS04-SC2-NA и CS23-SC2-NA.

В одном варианте реализации полинуклеотидов, описанных выше, нуклеотидная последовательность имеет по меньшей мере 99% идентичности с последовательностью, выбранной из группы, состоящей из CS01-FL-NA, CS01-HC-NA, CS01-LC-NA, CS04-FL-NA, CS04-HC-NA, CS04-LC-NA, CS23-FL-NA, CS23-HC-NA, CS23-LC-NA, CS01-SC1-NA, CS04-SC1-NA, CS23-SC1-NA, CS01-SC2-NA, CS04-SC2-NA и CS23-SC2-NA.

В одном варианте реализации полинуклеотидов, описанных выше, нуклеотидная последовательность имеет по меньшей мере 99.5% идентичности с последовательностью, выбранной из группы, состоящей из CS01-FL-NA, CS01-HC-NA, CS01-LC-NA, CS04-FL-NA, CS04-HC-NA, CS04-LC-NA, CS23-FL-NA, CS23-HC-NA, CS23-LC-NA, CS01-SC1-NA, CS04-SC1-NA, CS23-SC1-NA, CS01-SC2-NA, CS04-SC2-NA и CS23-SC2-NA.

В одном варианте реализации полинуклеотидов, описанных выше, нуклеотидная последовательность имеет по меньшей мере 99.5% идентичности с последовательностью, выбранной из группы, состоящей из CS01-FL-NA, CS01-HC-NA, CS01-LC-NA, CS04-FL-NA, CS04-HC-NA, CS04-LC-NA, CS23-FL-NA, CS23-HC-NA, CS23-LC-NA, CS01-SC1-NA, CS04-SC1-NA, CS23-SC1-NA, CS01-SC2-NA, CS04-SC2-NA и CS23-SC2-NA.

В одном варианте реализации полинуклеотидов, описанных выше, нуклеотидная последовательность выбрана из группы, состоящей из CS01-FL-NA, CS01-HC-NA, CS01-LC-NA, CS04-FL-NA, CS04-HC-NA, CS04-LC-NA, CS23-FL-NA, CS23-HC-NA, CS23-LC-NA, CS01-SC1-NA, CS04-SC1-NA, CS23-SC1-NA, CS01-SC2-NA, CS04-SC2-NA и CS23-SC2-NA.

В одном варианте реализации полинуклеотидов, описанных выше, кодируемый полипептид фактора VIII содержит гликозилируемый полипептид, расположенный между двумя последовательными аминокислотами.

В одном варианте реализации полинуклеотидов, описанных выше, полинуклеотид также содержит промоторный элемент, функционально связанный с полинуклеотидом, кодирующим полипептид фактора VIII.

В одном варианте реализации полинуклеотидов, описанных выше, полинуклеотид также содержит энхансерный элемент, функционально связанный с полинуклеотидом, кодирующим полипептид фактора VIII.

В одном варианте реализации полинуклеотидов, описанных выше, полинуклеотид также содержит элемент полиаденилирования, функционально связанный с полинуклеотидом, кодирующим полипептид фактора VIII.

В одном варианте реализации полинуклеотидов, описанных выше, полинуклеотид также содержит интрон, оперативно связанный с нуклеотидной последовательностью, кодирующей полипептид фактора VIII.

В одном варианте реализации описанных выше полинуклеотидов интрон расположен между промоторным элементом и сайтом инициации трансляции (например, первым кодирующим АТГ) нуклеотидной последовательности, кодирующей полипептид фактора VIII.

В другом аспекте описание предлагает вектор генной терапии млекопитающих, содержащий полинуклеотид, как описано выше.

В одном варианте реализации вектора генной терапии млекопитающих, описанного выше, вектор генной терапии млекопитающих представляет собой вектор аденоассоциированного вируса (AAV).

В одном варианте реализации вектора генной терапии млекопитающих, описанного выше, вектор AAV представляет собой вектор AAV-8.

В другом аспекте описание предлагает способ лечения гемофилии А, включающий введение пациенту, нуждающемуся в этом, вектора генной терапии млекопитающих, как описано выше.

В другом аспекте описание предлагает вектор генной терапии млекопитающих, как описано выше для лечения гемофилии А.

В другом аспекте описание предлагает использование вектора генной терапии млекопитающих, как описано выше, для изготовления лекарственного средства для лечения гемофилии А.

Краткое описание графических материалов

На фиг. 1 изображены схематические иллюстрации белковых конструкций фактора VIII человека дикого типа и ReFacto-типа.

На фиг. 2А и 2В изображена нуклеотидная последовательность CS04 с измененными кодонами

(SEQ ID NO: 1), кодирующая вариант фактора VIII в соответствии с некоторыми вариантами реализации ("CS04-FL-NA" для полноразмерной кодирующей последовательности).

На фиг. 3 изображена аминокислотная последовательность фактора VIII (SEQ ID NO: 2), кодируемая нуклеотидной последовательностью CS04 с измененными кодонами, в соответствии с некоторыми вариантами реализации ("CS04-FL-AA" для полноразмерной аминокислотной последовательности).

На фиг. 4 изображена часть нуклеотидной последовательности CS04 с измененными кодонами (SEQ ID NO: 3), кодирующая тяжелую цепь варианта фактора VIII в соответствии с некоторыми вариантами реализации ("CS04-HC-NA").

На фиг. 5 изображена часть нуклеотидной последовательности CS04 с измененными кодонами (SEQ ID NO: 4), кодирующая легкую цепь варианта фактора VIII в соответствии с некоторыми вариантами реализации ("CS04-LC-NA").

На фиг. 6 изображены примерные кодирующие последовательности (SEQ ID NOS: 5-7) для линкеров, замещающих В-домен в соответствии с некоторыми вариантами реализации. BDLO01 (SEQ ID NO: 5), BDLO04 (SEQ ID NO: 6) и BDLO23 (SEQ ID NO: 7) являются соответствующими частями CS01, CS04 и CS23 нуклеотидных последовательностей с измененными кодонами, которые кодируют линкер, замещающий В-домен соответственно.

На фиг. 7А, 7В и 7С изображена векторная последовательность AAV (SEQ ID NO: 8), содержащая нуклеотидную последовательность CS04 с измененными кодонами, в соответствии с некоторыми вариантами реализации ("CS04-AV-NA").

На фиг. 8А и 8В изображена нуклеотидная последовательность CS04Δ с измененными кодонами (760-1667) (SPI; CS04Δ (741-1648), SPE) (SEQ ID NO: 9), кодирующая одноцепочечный вариант фактора VIII в соответствии с некоторыми вариантами реализации ("CS04-SC1-NA").

На фиг. 9 изображена аминокислотная последовательность варианта фактора VIII (SEQ ID NO: 10), кодируемая CS01Δ (760-1667) (SPI; CS01Δ (741-1648), SPE), CS04Δ (760-1667) (SPI, CS04Δ (741-1648), SPE) и CS23Δ (760-1667) (SPI; CS23Δ (741-1648), SPE) нуклеотидными последовательностями с измененными кодонами в соответствии с некоторыми вариантами реализации ("CS01-SC1-AA" "CS04-SC1-AA" и "CS23-SC1-AA" соответственно).

На фиг. 10А и 10В изображена нуклеотидная последовательность CS04Δ с измененными кодонами (772-1667) (SPI; CS04Δ (753-1648), SPE) (SEQ ID NO: 11), кодирующая одноцепочечный вариант фактора VIII в соответствии с некоторыми вариантами реализации ("CS04-SC2-NA").

На фиг. 11 изображена аминокислотная последовательность фактора VIII (SEQ ID NO: 12), кодируемая CS01Δ (772-1667) (SPI; CS01Δ (753-1648), SPE), CS04Δ (772-1667) (SPI, CS04Δ (753-1648), SPE) и CS23Δ (772-1667) (SPI; CS23Δ (753-1648), SPE) нуклеотидными последовательностями с измененными кодонами, в соответствии с некоторыми вариантами реализации ("CS01-SC2-AA" "CS04-SC2-AA" и "CS23-SC2-AA" соответственно).

На фиг. 12А и 12В изображена нуклеотидная последовательность CS01 с измененными кодонами (SEQ ID NO: 13), кодирующая вариант фактора VIII в соответствии с некоторыми вариантами реализации ("CS01-FL-NA").

На фиг. 13А и 13В изображена нуклеотидная последовательность CS08 с измененными кодонами (SEQ ID NO: 14), кодирующая вариант фактора VIII в соответствии с некоторыми вариантами реализации ("CS08-FL-NA").

На фиг. 14А и 14В изображена нуклеотидная последовательность CS10 с измененными кодонами (SEQ ID NO: 15), кодирующая вариант фактора VIII в соответствии с некоторыми вариантами реализации ("CS10-FL-NA").

На фиг. 15А и 15В изображена нуклеотидная последовательность CS11 с измененными кодонами (SEQ ID NO: 16), кодирующая вариант фактора VIII в соответствии с некоторыми вариантами реализации ("CS11-FL-NA").

На фиг. 16А и 16В изображена кодирующая последовательность ReFacto дикого типа CS40 (SEQ ID NO: 17) в соответствии с некоторыми вариантами реализации ("CS40-FL-NA").

На фиг. 17А и 17В изображена нуклеотидная последовательность CH25 с измененными кодонами (SEQ ID NO: 18), кодирующая вариант фактора VIII в соответствии с некоторыми вариантами реализации ("CH25-FL-NA").

На фиг. 18 изображена аминокислотная последовательность фактора VIII дикого типа человека (SEQ ID NO: 19) в соответствии с некоторыми вариантами реализации ("FVIII-FL-AA").

На фиг. 19 изображена схема клонирования конструкций pCS40, pCS01, pCS04, pCS08, pCS10, pCS11 и pCh25 путем вставки синтетических последовательностей ДНК BDD-FVTII типа Refacto в векторную основную цепь pCh-BB01 с помощью сайтов рестрикции AscI и NotI.

На фиг. 20 изображена целостность препаратов генома AAV-вектора, анализируемая с помощью электрофореза в агарозном геле. Дорожка 1, маркер ДНК; дорожка 2, VCS40; дорожка 3, vCS01; дорожка 4, VCS04. AAV-векторы все имеют одинаковые размеры генома, мигрирующие примерно на 5 кб (стрелка, правая сторона). Шкала с левой стороны указывает размер фрагментов ДНК в килобаз (кб).

На фиг. 21 изображен белковый анализ векторных препаратов AAV с помощью PAGE и окрашивания серебром. Дорожка 1, маркер белка (M) ; дорожка 2, VCS40; дорожка 3, vCS01 и дорожка 4, vCS04. Все конструкции имеют одинаковые капсиды AAV8, состоящие из VP1, VP2 и VP3 (стрелки справа) . Шкала на левой стороне указывает размер маркера белка в килодальтонах (кДа).

На фиг. 22А и 22В изображена нуклеотидная последовательность CS23 с измененными кодонами (SEQ ID NO: 20), кодирующая вариант фактора VIII в соответствии с некоторыми вариантами реализации ("CS23-FL-NA").

На фиг. 23 изображена аминокислотная последовательность фактора VIII (SEQ ID NO: 21), кодируемая нуклеотидной последовательностью CS23 с измененными кодонами, в соответствии с некоторыми вариантами реализации ("CS23-FL-AA").

На фиг. 24 изображена часть нуклеотидной последовательности CS23 с измененными кодонами (SEQ ID NO: 22), кодирующая тяжелую цепь варианта фактора VIII в соответствии с некоторыми вариантами реализации ("CS23-HC-NA").

На фиг. 25 изображена часть нуклеотидной последовательности CS23 с измененными кодонами (SEQ ID NO: 23), кодирующая легкую цепь варианта фактора VIII в соответствии с некоторыми вариантами реализации ("CS23-LC-NA").

На фиг. 26 изображена часть нуклеотидной последовательности CS01 с измененными кодонами (SEQ ID NO: 24), кодирующая тяжелую цепь варианта фактора VIII в соответствии с некоторыми вариантами реализации ("CS01-HC-NA").

На фиг. 27 изображена часть нуклеотидной последовательности CS01 с измененными кодонами (SEQ ID NO: 25), кодирующая легкую цепь варианта фактора VIII в соответствии с некоторыми вариантами реализации ("CS01-LC-NA").

На фиг. 28А и 28В изображена нуклеотидная последовательность CS01Δ (760-1667) (SPI; CS01Δ (741-1648), SPE) с измененными кодонами (SEQ ID NO: 26), кодирующая одноцепочечный вариант фактора VIII в соответствии с некоторыми вариантами реализации ("CS01-SC1-NA").

На фиг. 29А и 29В изображена нуклеотидная последовательность CS01Δ (772-1667) (SPI; CS01Δ (753-1648), SPE) с измененными кодонами (SEQ ID NO: 27), кодирующая одноцепочечный вариант фактора VIII в соответствии с некоторыми вариантами реализации ("CS01-SC2-NA").

На фиг. 30А и 30В изображена нуклеотидная последовательность CS23Δ(760-1667) (SPI; CS23Δ(741-1648), SPE) с измененными кодонами (SEQ ID NO: 28), кодирующая одноцепочечный вариант фактора VIII в соответствии с некоторыми вариантами реализации ("CS23-SC1-NA").

На фиг. 31А и 31В изображена нуклеотидная последовательность CS23Δ с измененными кодонами (772-1667) (SPI; CS23Δ (753-1648), SPE) (SEQ ID NO: 29), кодирующая одноцепочечный вариант фактора VIII в соответствии с некоторыми вариантами реализации ("CS23-SC2-NA").

Подробное описание сущности изобретения

Введение

Генная терапия на основе AAV имеет большие перспективы для лечения гемофилии. Для гемофилии В первые клинические данные обнадеживают тем, что уровни FIX около 10% могут поддерживаться, по крайней мере, у некоторых пациентов более 1 года. Однако для гемофилии А достижение терапевтических уровней экспрессии 5-10% с помощью векторов AAV остается сложным по различным причинам. Во-первых, кодирующая последовательность

фактора VIII слишком велика для обычных векторов на основе AAV. Во-вторых, сконструированные конструкции фактора VIII с удаленным или укороченным В-доменом проявляют слабую экспрессию *in vivo*, даже при оптимизации кодонов. В-третьих, эти варианты фактора VIII с удаленным или укороченным В-доменом имеют короткий период полураспада *in vivo*, что усугубляет последствия слабой экспрессии. В-четвертых, даже при экспрессии FVIII эффективно не секретируется из клеток, как и другие факторы свертывания, такие как фактор IX.

Более того, эти проблемы не могут быть решены путем простого введения более высоких доз конструкции генной терапии. Согласно современным знаниям, доза вектора генной терапии на основе AAV должна быть увеличена выше 2×10^{12} vg/kg массы тела (векторных геномов/kg). Это связано с тем, что при таких высоких дозах активируется Т-клеточный иммунный ответ, который разрушает трансфектированные клетки и, как следствие, трансгенная экспрессия уменьшается или даже пропадает. Поэтому необходимы стратегии улучшения экспрессии FVIII, чтобы сделать генную терапию FVIII жизнеспособным вариантом терапии для пациентов с гемофилией А.

Данное описание относится к обнаружению вариантов кодирующих последовательностей фактора VIII с измененными кодонами, которые решают эти и другие проблемы, связанные с генной терапией фактора VIII. Например, описанные в данном документе полинуклеотиды обеспечивают заметно улучшенную экспрессию в клетках млекопитающих и демонстрируют улучшенную упаковку вириона из-за стабилизированных взаимодействий упаковки. В некоторых вариантах реализации эти преимущества реализованы с использованием кодирующих последовательностей для тяжелых и легких цепей фактора VIII с высокой идентичностью последовательностей с конструкциями с измененными кодонами CS01,

CS04 и CS23 (например, с высокой идентичностью последовательности в сравнении с одной из CS01-НС, CS04-НС и CS23-НС тяжелой цепи и высокой идентичностью последовательности в сравнении с одной из последовательностей CS01-LC, CS04-LC и CS23-LC, кодирующих легкую цепь).

В некоторых вариантах реализации изобретения молекулы фактора VIII, кодируемые описанными в данном документе полинуклеотидами, были укорочены путем усечения, удаления или замены В-домена дикого типа. Как таковые, полинуклеотиды лучше подходят для экспрессии фактора VIII с помощью обычных векторов генной терапии, которые неэффективно экспрессируют более крупные полипептиды, такие как фактор VIII дикого типа.

Преимущественно в данном документе показано, что кодирующие последовательности CS01, CS04 и CS23 с измененными кодонами, кодирующие фактор VIII, обеспечивают превосходную экспрессию конструкции фактора VIII с удаленным В-доменом *in vivo*. Например, в примере 2 и в табл. 4 показано, что внутривенное введение векторов генной терапии на основе AAV, имеющих CS01 (SEQ ID NO: 13), CS04 (SEQ ID NO: 1) и CS23 (SEQ ID NO: 20) обеспечивают 18-кратное, 74-кратное и 30-кратное увеличение экспрессии фактора VIII по сравнению с соответствующей конструкцией CS40, кодированной полинуклеотидной последовательностью дикого типа (SEQ ID NO: 17), в нокаутных мышцах по фактору VIII (табл. 4).

Кроме того, в данном документе также показано, что переменные кодирующие последовательности CS01 и CS04 фактора VIII с измененными кодонами, обеспечивают превосходную упаковку вирионов и производство вирусов. Например, в примере 1 показано, что векторные конструкции AAV, содержащие конструкции CS01 и CS04, обеспечивают в 5-7 раз больший вирусный выход по сравнению с соответствующей конструкцией CS40, кодируемой полинуклеотидной последовательностью дикого типа, при выделении из того же количества клеточного осадка.

Определения

Как используется в данном документе, следующие термины имеют значения, приписываемые им, если не указано иное.

Используемые в данном документе термины "Фактор VIII" и "FVIII" используются взаимозаменяемо и относятся к любому белку с активностью фактора VIII (например, активному FVIII, часто называемому FVIIIa) или предшественнику (например, про-белку или пре-про-белку) белка с активностью Фактора VIII, в частности кофакторной активностью Фактора IXa. В типовом варианте реализации полипептид фактора VIII относится к полипептиду, который имеет последовательности с высокой идентичностью последовательности (например, по меньшей мере 70, 75, 80, 85, 90, 95, 99% и более) тяжелых и легких цепей полипептида фактора VIII дикого типа. В некоторых вариантах реализации В-домен полипептида фактора VIII удаляют, усекают или заменяют линкерным полипептидом, чтобы уменьшить размер полинуклеотида, кодирующего полипептид фактора VIII. В типовом варианте реализации изобретения аминокислоты 20-1457 CS04-FL-AA составляют полипептид фактора VIII.

Неограничивающие примеры полипептидов фактора VIII дикого типа включают в себя пре-про-Фактор VIII человека (например, согласно номерам доступа GenBank AAA52485, CAA25619, AAA58466, AAA52484, AAA52420, AAV85964, BAF82636, BAG36452, CAI41660, CAI41666, CAI41672, CAI43241, CAO03404, EAW72645, AAN22513, AAN64380, AAN98389, AAI11968, AAI11970 или AAB61261), соответствующий про-Фактор VIII и их природные варианты; свиной пре-про-Фактор VIII (например, согласно номерам доступа UniProt F1RZ36 или K7GSZ5), соответствующий про-Фактора VIII и их природные варианты; пре-про-Фактор VIII мыши (например, согласно номерам доступа GenBank AAA37385, CAM15581, CAM26492 или EDL29229), соответствующий про-Фактор VIII и их природные варианты; пре-про-Фактор VIII крысы (например, согласно номеру доступа GenBank AAQ21580), соответствующий про-Фактор VIII и их природные варианты; пре-про-Фактор VIII крысы; и другие гомологи Фактора VIII млекопитающих (например, обезьяны, примата, хомяка, морской свинки и т.д.).

Используемый в данном документе термин полипептид фактора VIII включает естественные варианты и искусственные конструкции с кофакторной активностью Фактора IX. Как используется в данном описании, термин фактор VIII охватывает любые природные варианты, альтернативные последовательности, изоформы или мутантные белки, которые сохраняют базальную кофакторную активность фактора IX (например, по меньшей мере 5, 10, 25, 50, 75%, или более соответствующей активности дикого типа). Примеры вариаций аминокислот фактора VIII (относительно FVTII-FL-AA (SEQ ID NO: 19)), обнаруженные в популяции человека, включают, но не ограничиваются ими, S19R, R22T, Y24C, Y25C, L26P/R, E30V, W33G, Y35C/H, G41C, R48C/K, K67E/N, L69P, E72K, D75E/V/Y, P83R, G89D/V, G92A/V, A97P, E98K, V99D, D101G/H/V, V104D, K108T, M110V, A111T/V, H113R/Y, L117F/R, G121S, E129V, G130R, E132D, Y133C, D135G/Y, T137A/I, S138R, E141K, D145H, V147D, Y155H, V159A, N163K, G164D/V, P165S, C172W, S176P, S179P, V181E/M, K185T, D186G/N/Y, S189L, L191F, G193R, L195P, C198G, S202N/R, F214V, L217H, A219D/T, V220G, D222V, E223K, G224W, T252I, V253F, N254I, G255V, L261P, P262L, G263S, G266F, C267Y, W274C, H275L, G278R, G280D, E284K, V285G, E291G/K, T294I, F295L, V297A, N299I, R301C/H/L, A303E/P, I307S, S308L, F312S, T314A/I, A315V, G323E, L326P, L327P/V, C329F, I331V, M339T, E340K, V345A/L, C348R/S/Y, Y365C, R391C/H/P, S392L/P, A394S, W401G, I405F/S, E409G, W412G/R, K427I, L431F/S, R437P/W, I438F, G439D/S/V, Y442C, K444R, Y450D/N, T454I,

F455C, G466E, P470L/R/T, G474E/R/V, E475K, G477V, D478N, T479R, F484C, A488G, R490G, Y492C/H, Y492H, I494T, P496R, G498R, R503H, G513S/V, I522Y, K529E, W532G, P540T, T541S, D544N, R546W, R550C/G/H, S553P, S554C/G, V556D, R560T, D561G/H/Y, I567T, P569R, S577F, V578A, D579A/H, N583S, Q584H/K/R, I585R/T, M586V, D588G/Y, L594Q, S596P, N601D/K, R602G, S603I/R, W604C, Y605H/S, N609I, R612C, N631K/S, M633I, S635N, N637D/I/S, Y639C, L644V, L650F, V653A/M, L659P, A663V, Q664P, F677L, M681I, V682F, Y683C/N, T686R, F698L, M699T/V, M701I, G705V, G710W, N713I, R717L/W, G720D/S, M721I/L, A723T, L725Q, V727F, E739K, Y742C, R795G, P947R, V1012L, E1057K, H1066Y, D1260E, K1289Q, Q1336K, N1460K, L1481P, A1610S, I1698T, Y1699C/F, E1701K, Q1705H, R1708C/H, T1714S, R1715G, A1720V, E1723K, D1727V, Y1728C, R1740G, K1751Q, F1762L, R1768H, G1769R, L1771P, L1775F/V, L1777P, G1779E/R, P1780L, I1782R, D1788H, M1791T, A1798P, S1799H, R1800C/G/H, P1801A, Y1802C, S1803Y, F1804S, L1808F, M1842I, P1844S, T1845P, E1848G, A1853T/V, S1858C, K1864E, D1865N/Y, H1867P/R, G1869D/V, G1872E, P1873R, L1875P, V1876L, C1877R/Y, L1882P, R1888I, E1894G, I1901F, E1904D/K, S1907C/R, W1908L, Y1909C, A1939T/V, N1941D/S, G1942A, M1945V, L1951F, R1960L/Q, L1963P, S1965I, M1966I/V, G1967D, S1968R, N1971T, H1973L, G1979V, H1980P/Y, F1982I, R1985Q, L1994P, Y1998C, G2000A, T2004R, M2007I, G2013R, W2015C, R2016P/W, E2018G, G2022D, G2028R, S2030N, V2035A, Y2036C, N2038S, 2040Y, G2045E/V, I2051S, I2056N, A2058P, W2065R, P2067L, A2070V, S2082N, S2088F, D2093G/Y, H2101D, T2105N, Q2106E/P/R, G2107S, R2109C, I2117F/S, Q2119R, F2120C/L, Y2124C, R2135P, S2138Y, T2141N, M2143V, F2145C, N2148S, N2157D, P2162L, R2169C/H, P2172L/Q/R, T2173A/I, H2174D, R2178C/H/L, R2182C/H/P, M2183R/V, L2185S/W, S2192I, C2193G, P2196R, G2198V, E2200D, I2204T, I2209N, A2211P, A2220P, P2224L, R2228G/L/P/Q, L2229F, V2242M, W2248C/S, V2251A/E, M2257V, T2264A, Q2265R, F2279C/I, I2281T, D2286G, W2290L, G2304V, D2307A, P2319L/S, R2323C/G/H/L, R2326G/L/P/Q, Q2330P, W2332R, I2336F, R2339T, G2344C/D/S и C2345S/Y. Белки фактора VIII также содержат полипептиды, содержащие посттрансляционные модификации.

Как правило, полинуклеотиды, кодирующие фактор VIII, кодируют неактивный одноцепочечный полипептид (например, пре-про-белок), который подвергается посттрансляционной обработке с образованием активного белка фактора VIII (например, FVIIIa). Например, в соответствии с фиг. 1, предварительно пре-про-белок фактора VIII человека сначала расщепляется для высвобождения кодируемого сигнального пептида (не показан), образуя первый одноцепочечный про-белок (показанный как "FVIII дикого типа человека"). Про-белок затем расщепляется между доменами B и A3 с образованием первого полипептида, который содержит тяжелую цепь фактора VIII (например, домены A1 и A2) и B-домен, и второй полипептид, который содержит легкую цепь фактора VIII (например, содержит домены A3, C1 и C3). Первый полипептид далее расщепляется для удаления B-домена, а также для отделения доменов A1 и A2, которые остаются связанными с легкой цепью фактора VIII в зрелом протеине фактора VIIIa. Для обзора процесса созревания фактора VIII см. Graw et al., *Nat Rev Genet.*, 6 (6): 488-501 (2005), содержание которого включено в данное описание посредством ссылки во всей его полноте для всех целей.

Однако в некоторых вариантах реализации изобретения полипептид фактора VIII представляет собой одноцепочечный полипептид фактора VIII. Одноцепочечные полипептиды фактора VIII сконструированы с удалением природных сайтов расщепления и, необязательно, удалением, укорочением или заменой B-домена фактора VIII. Как таковые, они не созревают при расщеплении (кроме отщепления необязательного сигнального и/или лидерного пептида) и активны как одна цепь. Неограничивающие примеры одноцепочечных полипептидов фактора VIII описаны в Zollner et al. (*Thromb Res*, 134(1):125-31 (2014)) и Donath et al. (*Biochem J.*, 312 (1): 49-55 (1995)), описание которых включено в данный документ посредством ссылки во всей их полноте для всех целей.

Используемый в данном документе термин «тяжелая цепь фактора VIII» или просто "тяжелая цепь" относится к объединению доменов A1 и A2 полипептида фактора VIII. В примерном варианте реализации изобретения аминокислоты 20-759 CS04-FL-AA (SEQ ID NO: 2) составляют тяжелую цепь фактора VIII.

Используемый в данном документе термин "легкая цепь фактора VIII" или просто "легкая цепь" относится к объединению доменов A3, C1 и C2 полипептида фактора VIII. В примерном варианте реализации изобретения аминокислоты 774-1457 CS04-FL-AA (SEQ ID NO: 2) составляют легкую цепь фактора VIII. В некоторых вариантах реализации изобретения легкая цепь фактора VIII не содержит кислый пептид а3, который высвобождается во время созревания *in vivo*.

Как правило, тяжелые и легкие цепи фактора VIII экспрессируются в виде одной полипептидной цепи, например, вместе с необязательным B-доменом или замещающим B-домен линкером. Однако в некоторых вариантах реализации изобретения тяжелая цепь фактора VIII и легкая цепь фактора VIII экспрессируются как отдельные полипептидные цепи (например, ко-экспрессированные) и восстанавливаются с образованием белка фактора VIII (например, *in vivo* или *in vitro*).

Используемые в данном документе термины "B-домен замещающий линкер" и "линкер фактора VIII" используются взаимозаменяемо и относятся к укороченным версиям B-домена фактора VIII дикого типа (например, аминокислоты 760-1667 FVIII-FL-AA (SEQ ID NO: 19)) или пептиды, сконструированные для замены B-домена полипептида фактора VIII. Как используется в данном документе, линкер фак-

тора VIII расположен между С-концом тяжелой цепи фактора VIII и N-концом легкой цепи фактора VIII в варианте полипептида фактора VIII в соответствии с некоторыми вариантами реализации. Неограничивающие примеры В-домен замещающих линкеров описаны в патентах США № 4868112, 5112950, 5171844, 5543502, 5595886, 5610278, 5789203, 5972885, 6048720, 6060447, 6114148, 6228620, 6316226, 6346513, 6458563, 6924365, 7041635 и 7943374; Публикациях патентных заявок США № 2013/024960, 2015/0071883 и 2015/0158930; и в публикациях PCT WO 2014/064277 и WO 2014/127215, описание которых включено в данное описание посредством ссылки во всей их полноте для всех целей.

Если не указано иное, нумерация аминокислот фактора VIII относится к соответствующей аминокислоте в полноразмерной последовательности человеческого фактора VIII дикого типа (FVIII-FL-AA), представленной в виде SEQ ID NO: 19 на фиг. 18. Таким образом, когда речь идет о замещении аминокислоты в варианте белка VIII фактора, описанном в данном документе, указанное количество аминокислот относится к аналогичной (например, структурно или функционально эквивалентной) и/или гомологичной (например, эволюционно консервативной в первичной аминокислотной последовательности) полноразмерной аминокислотной последовательности фактора VIII дикого типа. Например, аминокислотная замена T2105N относится к замещению Т-Н в положении 2105 полноразмерной последовательности фактора VIII дикого типа человека (FVIII-FL-AA, SEQ ID NO: 19) и замещению Т на N в положении 1211 варианта белка фактора VIII, кодируемого CS04 (CS04-FL-AA, SEQ ID NO: 2).

Как описано в данном документе, система нумерации аминокислот фактора VIII зависит от того, входит ли в состав сигнальный пептид фактора VIII (например, аминокислоты 1-19 полноразмерной последовательности фактора VIII дикого типа человека). Когда сигнальный пептид входит в состав, нумерация обозначается как "включительно с сигнальным пептидом" или "SPI. Когда сигнальный пептид не входит в состав, нумерация обозначается как "без сигнального пептида" или "SPE. Например, F328S в SPI нумерации обозначает ту же аминокислоту, что и F309S в нумерации SPE. Если не указано иное, вся нумерация аминокислот относится к соответствующей аминокислоте в полноразмерной последовательности фактора VIII дикого типа человека (FVIII-FL-AA), представленной в виде SEQ ID NO: 19 на фиг. 18.

Как описано в данном документе, полинуклеотиды с измененными кодонами обеспечивают повышенную экспрессию трансгенного фактора VIII *in vivo* (например, при введении в качестве части вектора генной терапии) по сравнению с уровнем экспрессии фактора VIII, обеспечиваемым природной кодируемой конструкцией фактора VIII (например, полинуклеотид, кодирующий ту же самую конструкцию фактора VIII человека с использованием кодонов дикого типа). Используемый в данном документе термин "повышенная экспрессия" относится к повышенному уровню активности трансгенного фактора VIII в крови животного, которому вводили полинуклеотид с измененными кодонами, кодирующий фактор VIII, по сравнению с уровнем активности в крови животного трансгенного фактора VIII вводимого в виде природно закодированной конструкции фактора VIII. Уровни активности можно измерять с использованием любой активности фактора VIII, известной в данной области. Типовой анализ для определения активности фактора VIII представляет собой анализ Technochrome FVIII (Technochrome, Вена, Австрия).

В некоторых вариантах реализации изобретения повышенная экспрессия относится к по меньшей мере на 25% большей трансгенной активности фактора VIII в крови животного, которому вводили полинуклеотид фактора VIII с измененными кодонами, по сравнению с уровнем трансгенной активности фактора VIII в крови животного, которому вводили природно кодируемый полинуклеотид фактора VIII. В некоторых вариантах реализации изобретения увеличенная экспрессия относится к по меньшей мере, на 50% большей, по меньшей мере на 75% большей, по меньшей мере на 100% большей, по меньшей мере в 3 раза большей, по меньшей мере в 4 раза большей, по меньшей мере в 5 раз большей, по меньшей мере в 6 раз большей, по меньшей мере в 7 раз большей, по меньшей мере в 8 раз большей, по меньшей мере в 9 раз большей, по меньшей мере в 10 раз большей, по меньшей мере в 15 раз большей, по меньшей мере в 20 раз большей, по меньшей мере в 25 раз большей, по меньшей мере в 30 раз большей, по меньшей мере в 40 раз большей, по меньшей мере в 50 раз большей, по меньшей мере в 60 раз большей, по меньшей мере в 70 раз большей, по меньшей мере в 80 раз большей, по меньшей мере в 90 раз большей, по меньшей мере в 100 раз большей, по меньшей мере в 125 раз большей, по меньшей мере в 150 раз большей, по меньшей мере в 175 раз большей, по меньшей мере в 200 раз большей, по меньшей мере в 225 раз большей или, по меньшей мере, в 250 раз более высокой активности трансгенного фактора VIII в крови животного, которым вводили полинуклеотид фактора VIII с измененными кодонами, по сравнению с уровнем активности трансгенного фактора VIII в крови животного, которым вводили природно кодируемый полинуклеотид фактора VIII.

Как описано в данном документе, полинуклеотиды с измененными кодонами обеспечивают увеличенное векторное продуцирование по сравнению с уровнем векторного продуцирования, обеспечиваемым природно кодируемой конструкцией фактора VIII (например, полинуклеотидом, кодирующим ту же самую конструкцию фактора VIII человека с использованием кодонов дикого типа). Используемый в данном документе термин "повышенное продуцирование вируса" относится к увеличению выхода вектора в культуре клеток (например, титр на литр культуры), инокулированном полинуклеотидом с измененными кодонами, кодирующим фактор VIII, по сравнению с выходом вектора в культуре клеток, иноку-

лированным природно кодируемой конструкцией фактора VIII. Данные о выходе вектора могут быть получены с использованием любого анализа титра вектора, известного в данной области. Типовой анализ для определения выхода вектора (например, вектора AAV) представляет собой qPCR с использованием инвертированных терминальных повторов AAV2 (Aurnhammer, Human Gene Therapy Methods: Part B 23:18-28 (2012)).

В некоторых вариантах реализации изобретения увеличение производства вируса относится к по меньшей мере на 25% большему выходу вектора с измененными кодонами, по сравнению с выходом природно кодируемой конструкции фактора VIII в культуре того же типа. В некоторых вариантах реализации изобретения увеличенное векторное производство относится к по меньшей мере, на 50% большему, по меньшей мере на 75% большему, по меньшей мере на 100% большему, по меньшей мере в 3 раза большему, по меньшей мере в 4 раза большему, по меньшей мере в 5 раз большему, по меньшей мере в 6 раз большему, по меньшей мере в 7 раз большему, по меньшей мере в 8 раз большему, по меньшей мере в 9 раз большему, по меньшей мере в 10 раз большему, по меньшей мере в 15 раз большему или, по меньшей мере, в 20 раз большему выходу вектора по сравнению с выходом природно кодируемой конструкции фактора VIII в культуре одного и того же типа.

Используемый в данном документе термин "гемофилия" относится к группе болезненных состояний, широко характеризующихся сниженной свертываемостью крови или коагуляцией. Гемофилия может относиться к гемофилии типа A, типа B или типа C или к совокупности всех трех типов заболеваний. Гемофилия типа A (гемофилия A) вызвана снижением или потерей активности фактора VIII (FVIII) и является наиболее известным из подтипов гемофилии. Гемофилия типа B (гемофилия B) является результатом потери или уменьшения функции фактора свертывания IX (FIX). Гемофилия типа C (гемофилия C) является следствием потери или снижения активности фактора свертывания XI (FXI). Гемофилия A и B являются X-связанными заболеваниями, тогда как гемофилия C является аутосомной. Обычные способы лечения гемофилии включают как профилактическое введение, так и введение по необходимости факторов свертывания крови, таких как FVIII, FIX, включая Bebulin®-VN и FXI, а также инфузии FEIBA-VN, десмопрессина и плазмы.

Используемый в данном документе термин "генная терапия FVIII" включает в себя любой терапевтический подход к предоставлению пациенту нуклеиновой кислоты, кодирующей фактор VIII, для облегчения, уменьшения или предотвращения повторения одного или нескольких симптомов (например, клинических факторов), связанных с гемофилией. Термин включает проведение процедуры, соблюдение режима, введение любого соединения, лекарственного средства, содержащего нуклеиновую кислоту, кодирующую молекулу фактора VIII, включая любую модифицированную форму фактора VIII (например, вариант фактора VIII) для поддержания или улучшения здоровья человека, больного гемофилией. Специалист в данной области поймет, что либо курс терапии FVIII, либо дозу терапевтического агента FVIII можно изменить, например, на основании результатов, полученных в соответствии с данным изобретением.

Используемый в данном документе термин "обходная терапия" включает в себя любой терапевтический подход, предусматривающий предоставление гемостатических агентов, не относящихся к фактору VIII, соединений или факторов коагуляции пациенту для облегчения, уменьшения или предотвращения повторения одного или нескольких симптомов (например, клинических факторов) связанных с гемофилией. Соединения, не относящиеся к фактору VIII и факторы коагуляции включают, но не ограничиваются ими, обходную активность фактора VIII (FEIBA), рекомбинантный активированный фактор VII (FVIIa), протромбиновые комплексные концентраты и активированные комплексные концентраты протромбина. Эти соединения, не относящиеся к фактору VIII и факторы коагуляции могут быть получены рекомбинантно или из плазмы. Специалист в данной области поймет, что либо курс обходной терапии, либо доза обходной терапии могут быть изменены, например, на основании результатов, полученных в соответствии с данным изобретением.

Используемый в данном документе термин "комбинированная терапия", включает введение нуклеиновой кислоты, кодирующей молекулу фактора VIII и традиционных терапевтических агентов для лечения гемофилии A, включает любой терапевтический подход, обеспечивающий как нуклеиновую кислоту, кодирующую молекулу фактора VIII, так и молекулу фактора VIII и/или гемостатический агент, не относящийся к фактору VIII (например, обходной терапевтический агент) пациенту для облегчения, уменьшения или предотвращения повторения одного или нескольких симптомов (например, клинических факторов), связанных с гемофилией. Термин включает проведение процедуры или соблюдение режима, введение любого соединения, лекарственного средства, включая нуклеиновую кислоту, кодирующую молекулу фактора VIII, включая любую модифицированную форму фактора VIII, которая полезна для поддержания или улучшения здоровья человека, больного гемофилией и включая любой из агентов, которые описаны в данном документе.

Термины "терапевтически эффективное количество или доза" или "терапевтически достаточное количество или доза" или "эффективное или достаточное количество, или доза" относятся к дозе, которая дает терапевтические эффекты, для достижения которых она вводится. Например, терапевтически эффективное количество лекарственного средства, полезного для лечения гемофилии, может быть количе-

ством, которое способно предотвращать или облегчать один или несколько симптомов, связанных с гемофилией. Точная доза будет зависеть от цели лечения и будет определена специалистом в данной области с использованием известных методов (см., например, Lieberman, *Pharmaceutical Dosage Forms* (vols. 1-3, 1992); Lloyd, *The Art, Science and Technology of Pharmaceutical Compounding* (1999); Pickar, *Dosage Calculations* (1999); и Remington: *The Science and Practice of Pharmacy*, 20th Edition, 2003, Gennaro, Ed., Lippincott, Williams & Wilkins).

Используемый в данном документе термин «ген» относится к сегменту молекулы ДНК, которая кодирует полипептидную цепь (например, кодирующая область). В некоторых вариантах реализации изобретения ген расположен в областях, непосредственно предшествующих, следующих за и/или перекрывающихся с кодирующей областью, которая участвует в получении полипептидной цепи (например, регуляторные элементы, такие как промотор, энхансер, последовательность полиаденилирования, 5'-нетранслируемая область, 3'-нетранслируемая область или интрон).

Используемый в данном документе термин "регуляторные элементы" относится к нуклеотидным последовательностям, таким как промоторы, энхансеры, терминаторы, последовательности полиаденилирования, интроны и т. д., которые обеспечивают экспрессию кодирующей последовательности в клетке.

Используемый в данном документе термин "промоторный элемент" относится к нуклеотидной последовательности, которая помогает контролировать экспрессию кодирующей последовательности. Как правило, промоторные элементы расположены на 5'-конце начального сайта трансляции гена. Однако в некоторых вариантах реализации изобретения промоторный элемент может быть расположен внутри последовательности интрона или 3'-конца кодирующей последовательности. В некоторых вариантах реализации изобретения промотор, полезный для вектора генной терапии, получен из гена нативного белка-мишени (например, промотор фактора VIII). В некоторых вариантах реализации изобретения промотор, полезный для вектора генной терапии, специфичен для экспрессии в конкретной клетке или ткани целевого организма (например, промотор, специфичный для печени). В других вариантах реализации изобретения один из множества хорошо охарактеризованных промоторных элементов используется в векторе генной терапии, описанном в данном документе. Неограничивающие примеры хорошо охарактеризованных промоторных элементов включают ранний промотор CMV, промотор β-актина и промотор метил-СрG-связывающего белка 2 (MeCP2). В некоторых вариантах реализации изобретения промотор представляет собой конститутивный промотор, который обеспечивает по существу постоянную экспрессию белка-мишени. В других вариантах реализации изобретения промотор представляет собой индуцибельный промотор, который стимулирует экспрессию белка-мишени в ответ на конкретный стимул (например, воздействие конкретного лечения или агента). Для обзора получения промоторов для AAV-опосредованной генной терапии см. Gray et al. (*Human Gene Therapy* 22: 1143-53 (2011)), чье содержание явно включено в качестве ссылки во всей своей полноте для всех целей.

Используемый в данном документе термин "вектор" относится к любому носителю, используемому для переноса нуклеиновой кислоты (например, кодирующей конструкцию генной терапии фактора VIII) в клетку-хозяина. В некоторых вариантах реализации изобретения вектор содержит репликон, который функционирует для репликации носителя вместе с нуклеиновой кислотой-мишенью. Неограничивающие примеры векторов, полезных для генной терапии включают плазмиды, фаги, космиды, искусственные хромосомы и вирусы, которые функционируют как автономные единицы репликации *in vivo*. В некоторых вариантах реализации изобретения вектор представляет собой вирусный носитель для введения нуклеиновой кислоты-мишени (например, полинуклеотид с измененными кодонами, кодирующий вариант фактора VIII). Многие модифицированные эукариотические вирусы, полезные для генной терапии, известны в данной области. Например, аденоассоциированные вирусы (AAV) особенно хорошо подходят для использования в генной терапии человека, потому что люди являются естественным хозяином этого вируса, природные вирусы, как известно, не способствуют каким-либо заболеваниям и эти вирусы вызывают незначительный иммунный ответ.

Используемый в данном документе термин "островок СрG" относится к области внутри полинуклеотида, имеющей статистически повышенную плотность СрG-динуклеотидов. Как используется в данном документе, область полинуклеотида (например, полинуклеотида с измененными кодонами, кодирующего белок фактора VIII) представляет собой островок СрG, если среди 200 оснований: (i) область имеет содержание GC более 50%, и (ii) отношение наблюдаемых СрG-динуклеотидов к ожидаемым СрG-динуклеотидам составляет по меньшей мере 0.6, как определено соотношением:

$$\frac{N[CpG] * N[\text{длина участка}]}{N[C] * N[G]} \geq 0.6.$$

Дополнительную информацию о методах идентификации островков СрG см. в Gardiner-Garden M. et al., *J Mol Biol.*, 196 (2): 261-82 (1987), чье содержание прямо включено в данный документ посредством ссылки в полном объеме, для всех целей.

Используемый в данном документе термин "нуклеиновая кислота" относится к дезоксирибонуклеотидам или рибонуклеотидам и их полимерам в одно- или двухцепочечной форме и их комплементарным

молекулам. Этот термин охватывает нуклеиновые кислоты, содержащие известные аналоги нуклеотидов или модифицированные остатки или связи, которые являются синтетическими, встречающимися в природе и не встречающимися в природе, которые имеют сходные связывающие свойства, как референтная нуклеиновая кислота, и которые метаболизируются способом, подобным референтным нуклеотидам. Примеры таких аналогов включают, но не ограничиваются ими, фосфоротиоаты, фосфорамидаты, метилфосфонаты, хираль-метилфосфонаты, 2-О-метил-рибонуклеотиды и пептид-нуклеиновые кислоты (ПНК).

Термин "аминокислота" относится к природным и неприродным аминокислотам, включая аминокислотные аналоги и аминокислотные миметики, которые функционируют аналогично природным аминокислотам. Естественно встречающиеся аминокислоты включают те, которые кодируются генетическим кодом, а также те аминокислоты, которые позднее модифицированы, например, гидроксипролин, γ-карбоксиглутамат и О-фосфосерин. Естественно встречающиеся аминокислоты могут включать, например, D- и L-аминокислоты. Используемые в данном документе аминокислоты могут также включать неприродные аминокислоты. Аминокислотные аналоги относятся к соединениям, которые имеют ту же основную химическую структуру, что и встречающаяся в природе аминокислота, то есть любой углерод, связанный с водородом, карбоксильная группа, аминогруппа и группа R, например, гомосерин, норлейцин, метионинсульфоксид или метионинметилсульфоний. Такие аналоги имеют модифицированные R-группы (например, норлейцин) или модифицированные пептидные скелеты, но сохраняют ту же основную химическую структуру, что и встречающаяся в природе аминокислота. Аминокислотные миметики относятся к химическим соединениям, которые имеют структуру, которая отличается от общей химической структуры аминокислоты, но их функция аналогична природной аминокислоте. Аминокислоты могут быть обозначены их общеизвестными трехбуквенными обозначениями, либо однобуквенными символами, рекомендованными Комиссией по биохимической номенклатуре IUPAC-IUB. Нуклеотиды также могут упоминаться их общепринятыми однобуквенными обозначениями.

Что касается аминокислотных последовательностей, специалисту в данной области техники будет понятно, что индивидуальные замены, делеции или вставки в нуклеиновой кислоте или пептидной последовательности, которые изменяют, добавляют или удаляют одну аминокислоту или небольшой процент аминокислот в кодируемой последовательности является "консервативно модифицированным вариантом", где изменение приводит к замещению аминокислоты химически подобной аминокислотой. Таблицы консервативных замещений, представляющие функционально сходные аминокислоты, хорошо известны в данной области. Такие консервативно модифицированные варианты являются дополнением и не исключают полиморфные варианты, межвидовые гомологи и аллели в данном описании.

Консервативные аминокислотные замещения, обеспечивающие функционально сходные аминокислоты, хорошо известны в данной области. В зависимости от функциональности конкретной аминокислоты, например, для каталитических, структурных или стерически важных аминокислот, различные группы аминокислот могут рассматриваться как консервативные замены друг для друга. В табл. 1 представлены группы аминокислот, которые считаются консервативными заменами на основе заряда и полярности аминокислоты, гидрофобности аминокислоты, поверхностным воздействиям/структурным характеристикам аминокислоты и влиянию аминокислоты на вторичную структуру.

Таблица 1. Группы консервативных аминокислотных замен на основе функциональности остатка в белке

| Важная Особенность | Консервативные Группы |
|--|---|
| Заряд/Полярность | 1. Н, R и K |
| | 2. D и E 3. C, T, S, G, N, Q и Y 4. A, P, M, L, I, V, F и W |
| Гидрофобность | 1. D, E, N, Q, R и K 2. C, S, T, P, G, H и Y 3. A, M, I, L, V, F и W |
| Структурное/Поверхностное Расположение | 1. D, E, N, Q, H, R и K 2. C, S, T, P, A, G, W и Y 3. M, I, L, V и F |
| Влияние на Вторичную Структуру | 1. A, E, Q, H, K, M, L и R 2. C, T, I, V, F, Y и W 3. S, G, P, D и N |
| Эволюционное Сохранение | 1. D и E 2. H, K и R 3. N и Q 4. S и T 5. L, I и V 6. F, Y и W 7. A и G 8. M и C |

Термины "идентичная" или процентная "идентичность" в контексте двух или более нуклеиновых кислот или пептидных последовательностей относятся к двум или более последовательностям или подпоследовательностям, которые являются одинаковыми или имеют определенный процент аминокислотных остатков или нуклеотидов, которые являются одинаковыми (например, около 60% идентичности, предпочтительно 65, 70, 75, 80, 85, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99% или больше идентичности в определенной области при сравнении и выравнивании для максимального соответствия участка сравнения или выделенной области) при измерении, например, с использованием алгоритмов сравнения последовательностей BLAST или BLAST 2.0 с параметрами по умолчанию, описанными ниже, или путем ручного выравнивания и визуального осмотра.

Как известно в данной области, множество различных программ могут быть использованы для определения идентичности или сходства последовательности белка (или нуклеиновой кислоты, как описано ниже) при сравнении с известной последовательностью. Идентичность последовательности и/или сходство определяются с использованием стандартных методов, известных в данной области, включая, но не ограничиваясь им, алгоритм идентичности локальной последовательности Smith & Waterman, Adv. Appl. Math., 2:482 (1981), by the sequence identity alignment algorithm of Needleman & Wunsch, J. Mol. Biol., 48:443 (1970), by the search for similarity method of Pearson & Lipman, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 85: 2444 (1988), посредством компьютерных реализаций этих алгоритмов (GAP, BESTFIT, FASTA и TFASTA в программном пакете Wisconsin Genetics, Genetics Computer Group, 575 Science Drive, Madison, WI), программы для последовательностей Best Fit описанной Devereux et al., Nucl. Acid Res., 12: 387-395 (1984), предпочтительно с использованием настроек по умолчанию или путем проверки. Предпочтительно, процентная идентичность вычисляется с помощью FastDB на основе следующих параметров: штраф несоответствия 1; штраф пропуска 1; штраф размера пропуска 0,33; и штраф вставки 30, "Current Methods in Sequence Comparison and Analysis," Macromolecule Sequencing and Synthesis, Selected Methods and Applications, pp. 127-149 (1988), Alan R. Liss, Inc, все из которых включены посредством ссылки.

Примером полезного алгоритма является PILEUP. PILEUP создает множественное выравнивание последовательностей из группы связанных последовательностей с использованием прогрессивных парных выравниваний. Он также может отображать дерево, показывающее отношения кластеризации, используемые для создания выравнивания. PILEUP использует упрощение прогрессивного метода выравнивания Feng & Doolittle, J. Mol. Evol. 35: 351-360 (1987); метод аналогичен методу, описанному Higgins & Sharp CABIOS 5: 151-153 (1989), оба включены посредством ссылки. Полезные параметры PILEUP включают значение пропуска по умолчанию 3.00, значение длины пропуска по умолчанию 0.10 и взвешенные конечные пропуски.

Другим примером полезного алгоритма является алгоритм BLAST, описанный в: Altschul et al., J. Mol. Biol. 215, 403-410, (1990); Altschul et al., Nucleic Acids Res. 25:3389-3402 (1997); и Karlin et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90: 5873-5787 (1993), оба включены посредством ссылки. Особенно полезной программой BLAST является программа WU-BLAST-2, полученная от Altschul et al., Methods in Enzymology, 266:460-480 (1996); [http://blast.wustl.edu/blast/ README.html](http://blast.wustl.edu/blast/README.html)]. WU-BLAST-2 использует несколько параметров поиска, большинство из которых имеют значения по умолчанию. Регулируемые параметры задаются со следующими значениями: интервал перекрытия=1, доля перекрытия=0,125, порог слова (T)=11. Параметры HSP S и HSP S2 являются динамическими значениями и определяются самой программой в зависимости от состава конкретной последовательности и состава конкретной базы данных, с которой осуществляется поиск последовательности интереса; однако значения могут быть скорректированы для повышения чувствительности.

Дополнительным полезным алгоритмом является gapped BLAST, как сообщается в Altschul et al., Nucl. Acids Res., 25: 3389-3402, включена посредством ссылки. Gapped BLAST использует баллы замещения BLOSUM-62; пороговый параметр T установлен в 9; two-hit метод для запуска расширений без пропусков; оценка длины k пропусков равна 10+k; Xu установлен на 16, а Xg установлен на 40 для этапа поиска базы данных и на 67 для выходного этапа алгоритмов. Выравнивания с разрывами запускаются с помощью оценки, соответствующей ~ 22 бит.

Значения процентной идентичности аминокислотной последовательности определяются количеством совпадающих идентичных остатков, деленными на общее количество остатков "более длинной" последовательности в выровненной области. "Более длинная" последовательность - та, которая имеет больше значимых остатков в выровненной области (пробелы, введенные WU-Blast-2, чтобы максимизировать оценку выравнивания, игнорируются). Аналогичным образом, "процентная идентичность последовательности нуклеиновой кислоты" (%) по отношению к кодирующей последовательности идентифицированных полипептидов определяется как процентное содержание нуклеотидных остатков в последовательности-кандидате, которые идентичны остаткам нуклеотидов в кодирующей последовательности белка клеточного цикла. Предпочтительный метод использует модуль BLASTN для WU-BLAST-2, заданный по умолчанию, с интервалом перекрытия и долей перекрытия, установленным в 1 и 0,125 соответственно.

Выравнивание может включать введение пробелов в последовательностях, которые должны быть выровнены. Кроме того, для последовательностей, которые содержат либо больше или меньше амино-

кислот, чем белок, кодируемый последовательностью, изображенной на фиг. 2 (SEQ ID NO: 1), понятно, что в одном варианте реализации изобретения процент идентичности последовательности будет определяться на основе количества идентичных аминокислот или нуклеотидов по отношению к общему количеству аминокислот или нуклеотидов. Таким образом, например, идентичность последовательностей, которые короче, чем изображенная на фиг. 2 (SEQ ID NO: 1), как обсуждается ниже, будет определяться с использованием количества нуклеотидов в более короткой последовательности в одном варианте реализации изобретения. В подсчетах процентной идентичности относительный вес не присваивается различным проявлениям вариации последовательности, таким как вставки, удаления, замены и т.д.

В одном варианте реализации изобретения только тождества оцениваются положительно (+1), и всем формам изменения последовательности, включая промежутки, присваивается значение "0", что устаревает необходимость в взвешенной шкале или параметрах, как описано ниже для расчетов подобия последовательности. Идентичность последовательности может быть рассчитана, например, путем деления количества совпадающих идентичных остатков на общее количество остатков "более короткой" последовательности в выровненной области и умножения на 100. "Более длинная" последовательность - это та, которая имеет больше остатков в выровненной области.

Термин "аллельные варианты" относится к полиморфным формам гена в определенном генетическом локусе, а также кДНК, полученным из мРНК транскриптов генов, и полипептидов, кодируемых ими. Термин "предпочтительный кодон млекопитающих" относится к подмножеству кодонов из множества кодонов, кодирующих аминокислоту, которые наиболее часто используются в белках, экспрессируемых в клетках млекопитающих, как показано в следующем списке: Gly (GGC, GGG); Glu (GAG); Asp (GAC); Val (GTG, GTC); Ala (GCC, GCT); Ser (AGC, TCC); Lys (AAG); Asn (AAC); Met (ATG); Ile (ATC); Thr (ACC); Trp (TGG); Cys (TGC); Tyr (TAT, TAC); Leu (CTG); Phe (TTC); Arg (CGC, AGG, AGA); Gln (CAG); His (CAC) и Pro (CCC).

Используемый в данном документе термин "измененный кодон" относится к полинуклеотидной последовательности, кодирующей полипептид (например, вариант белка варианта VIII), где по меньшей мере один кодон природного полинуклеотида, кодирующего полипептид, был изменен для улучшения свойства полинуклеотидной последовательности. В некоторых вариантах реализации изобретения улучшенное свойство способствует увеличению транскрипции мРНК, кодирующей полипептид, повышенной стабильности мРНК (например, увеличению периода полувыведения мРНК), увеличению трансляции полипептида и/или улучшению упаковки полинуклеотида внутри вектора. Неограничивающие примеры изменений, которые могут быть использованы для получения улучшенных свойств, включают в себя изменение использования и/или распределения кодонов для определенных аминокислот, регулирование глобального и/или локального содержания GC, удаление последовательностей, с высоким содержанием AT, удаление повторяющихся элементов последовательности, корректировку глобального и/или локального содержания динуклеотида CpG, удаление критических регулирующих элементов (например, ТАТА-бокс и ССААТ-бокс), удаление сайтов сплайсинга интрон/экзон, улучшение регуляторных последовательностей (например, введение консенсусной последовательности Козака) и удаление элементов последовательности, способных образовывать вторичную структуру (например, шпильки) в транскрибируемой мРНК.

Как обсуждалось в данном документе, существуют различные номенклатуры для обозначения компонентов, описанных в данном документе. "CS-номер" (например, "CS04", "CS01", "CS23" и т.д.) относятся к полинуклеотидам с измененными кодонами, кодирующим полипептиды FVTII и/или кодируемые полипептиды, включая варианты. Например, CS01-FL относится к полинуклеотидной полноразмерной (Full Length) последовательности CS01 с измененными кодонами, или аминокислотной последовательности (иногда называемой в данном документе как "CS01-FL-AA" для аминокислотной последовательности (Amino Acid sequence) и "CS01-FL-NA" для последовательности нуклеиновой кислоты (Nucleic Acid sequence)), кодируемой полинуклеотидной последовательностью CS01. Аналогично, "CS01-LC" относится либо к последовательности нуклеиновой кислоты с измененными кодонами ("CS01-LC-NA"), кодирующей легкую цепь полипептида FVIII, или аминокислотной последовательности (также иногда упоминаемой в данном документе как "CS01-LC-AA") легкой цепи FVIII, кодируемой полинуклеотидной последовательностью CS01. Аналогично, CS01-HC, CS01-HC-AA и CS01-HC-NA одинаковы для тяжелой цепи FVIII. Как будет понятно специалистам в данной области, для конструкций, таких как CS01, CS04, CS23 и т. д., которые модифицированы только лишь за счет измененных кодонов (например, они не содержат дополнительных аминокислотных замен по сравнению с Refacto) аминокислотные последовательности будут идентичными, поскольку аминокислотные последовательности не изменяются при оптимизации кодонов. Таким образом, конструкции последовательности описания включают, но не ограничиваются ими, CS01-FL-NA, CS01-FL-AA, CS01-LC-NA, CS01-LC-AA, CS01-HC-AA, CS01-HC-NA, CS04-FL-NA, CS04-FL-AA, CS04-LC-NA, CS04-LC-AA, CS04-HC-AA, CS04-HC-NA, CS23-FL-NA, CS23-FL-AA, CS23-LC-NA, CS23-LC-AA, CS23-HC-AA и CS23-HC-NA.

Варианты Фактора VIII с Измененными Кодонами В некоторых вариантах реализации изобретения данное описание предлагает полинуклеотиды с измененными кодонами, кодирующие варианты фактора VIII. Эти полинуклеотиды с измененными кодонами обеспечивают значительно улучшенную экспрес-

сию фактора VIII при введении в конструкции генной терапии на основе AAV. Полинуклеотиды с измененными кодонами также демонстрируют улучшенную упаковку AAV-вирионов по сравнению с конструкциями с традиционной оптимизацией кодонов. Как показано в примере 2 и табл. 4, заявители достигают этих преимуществ благодаря открытию трех полинуклеотидов с измененными кодонами (CS01-FL-NA, CS04-FL-NA и CS23-FL-NA), кодирующих полипептид фактора VIII с тяжелой и легкой цепями фактора VIII человека и коротким 14-аминокислотным замещающим В-доменом линкером (линкер SQ), содержащий фуриновый сайт расщепления для облегчения созревания активного белка FVIIIa *in vivo*.

В одном варианте реализации изобретения полинуклеотиды с измененными кодонами, представленный в данном документе, имеет нуклеотидные последовательности с высокой идентичностью, по меньшей мере, с последовательностями CS01, CS04 или CS23 (SEQ ID NO 13, 1 и 20 соответственно), кодирующими тяжелую цепь фактора VIII и легкую цепь фактора VIII. Как известно в данной области, В-домен фактора VIII является непригодным для активности *in vivo*. Таким образом, в некоторых вариантах реализации изобретения полинуклеотиды с измененными кодонами, представленные в данном документе, полностью не содержат В-домен фактора VIII. В некоторых вариантах реализации изобретения нативный В-домен фактора VIII заменен на короткий аминокислотный линкер, содержащий фуриновый сайт расщепления, например, линкер SQ, состоящий из аминокислот 760-773 CS01, CS04 или CS23 (SEQ ID NO 2, 2 и 21 соответственно). Линкер "SQ" также относится к последовательности BDLO04 (-AA для аминокислотной последовательности и -NA для нуклеотидной последовательности).

В одном варианте реализации изобретения тяжелая и легкая цепи фактора VIII, кодируемые полинуклеотидом с измененными кодонами, представляют собой тяжелую и легкую цепи фактора VIII человека, соответственно. В других вариантах реализации изобретения тяжелая и легкая цепи фактора VIII, кодируемые полинуклеотидом с измененными кодонами представляют собой последовательности тяжелой и легкой цепей другого млекопитающего (например, фактора VIII свиньи). В других вариантах реализации изобретения тяжелая и легкая цепи фактора VIII представляют собой химерные тяжелую и легкую цепи (например, комбинацию первой человеческой последовательности и второй последовательности млекопитающего). В других вариантах реализации изобретения тяжелая и легкая цепи фактора VIII представляют собой гуманизованную версию тяжелой и легкой цепей другого млекопитающего, например, последовательности тяжелой и легкой цепей другого млекопитающего, в котором остатки последовательности человека замещены в выбранных положениях, чтобы уменьшить иммуногенность получаемого пептида при введении человеку.

Содержание GC в генах человека варьирует в широких пределах: от менее 25 до более 90%. Однако, как правило, человеческие гены с более высоким содержанием GC экспрессируются на более высоких уровнях. Например, в Kudla et al. (PLoS Biol., 4 (6): 80 (2006)) показано, что увеличение содержания GC гена увеличивает экспрессию кодируемого полипептида, в первую очередь за счет усиления транскрипции и достижения более высокого уровня устойчивости транскрипта мРНК. Как правило, желаемое содержание GC в конструкции гена с оптимизацией кодонов равно или превышает 60%. Однако родные геномы AAV имеют содержание GC около 56%.

Соответственно в некоторых вариантах реализации изобретения полинуклеотиды с измененными кодонами, представленные в данном документе, имеют содержание CG, которое более соответствует содержанию GC в нативных AAV-вирионах (например, около 56% GC), которое ниже, чем предпочтительное содержание CG полинуклеотидов, которые обычно проходят оптимизацию кодонов для экспрессии в клетках млекопитающих (например, 60% GC или выше). Как указано в примере 1, CS04-FL-NA (SEQ ID NO: 1), которая имеет содержание GC около 56%, имеет улучшенную упаковку вирионов по сравнению с аналогичными последовательностями с измененными кодонами с более высоким содержанием GC.

Таким образом, в некоторых вариантах реализации изобретения общее содержание GC в полинуклеотиде с измененными кодонами, кодирующем полипептид фактора VIII, составляет менее 60%. В некоторых вариантах реализации изобретения общее содержание GC в полинуклеотиде с измененными кодонами, кодирующем полипептид фактора VIII, составляет менее 59%. В некоторых вариантах реализации изобретения общее содержание GC в полинуклеотиде с измененными кодонами, кодирующем полипептид фактора VIII, составляет менее 58%. В некоторых вариантах реализации изобретения общее содержание GC в полинуклеотиде с измененными кодонами, кодирующем полипептид фактора VIII, составляет менее 57%. В некоторых вариантах реализации изобретения общее содержание GC в полинуклеотиде с измененными кодонами, кодирующем полипептид фактора VIII, составляет не более 56%.

В некоторых вариантах реализации изобретения общее содержание GC в полинуклеотиде с измененными кодонами, кодирующем полипептид фактора VIII, составляет от 54 до 59%. В некоторых вариантах реализации изобретения общее содержание GC в полинуклеотиде с измененными кодонами, кодирующем полипептид фактора VIII, составляет от 55 до 59%. В некоторых вариантах реализации изобретения общее содержание GC в полинуклеотиде с измененными кодонами, кодирующем полипептид фактора VIII, составляет от 56 до 59%. В некоторых вариантах реализации изобретения общее содержание GC в полинуклеотиде с измененными кодонами, кодирующем полипептид фактора VIII, составляет от 54 до 58%. В некоторых вариантах реализации изобретения общее содержание GC в полинуклеотиде с из-

менными кодонами, кодирующем полипептид фактора VIII, составляет от 55 до 58%. В некоторых вариантах реализации изобретения общее содержание GC в полинуклеотиде с измененными кодонами, кодирующем полипептид фактора VIII, составляет от 56 до 58%. В некоторых вариантах реализации изобретения общее содержание GC в полинуклеотиде с измененными кодонами, кодирующем полипептид фактора VIII, составляет от 54 до 57%. В некоторых вариантах реализации изобретения общее содержание GC в полинуклеотиде с измененными кодонами, кодирующем полипептид фактора VIII, составляет от 55 до 57%. В некоторых вариантах реализации изобретения общее содержание GC в полинуклеотиде с измененными кодонами, кодирующем полипептид фактора VIII, составляет от 56 до 57%. В некоторых вариантах реализации изобретения общее содержание GC в полинуклеотиде с измененными кодонами, кодирующем полипептид фактора VIII, составляет от 54 до 56%. В некоторых вариантах реализации изобретения общее содержание GC в полинуклеотиде с измененными кодонами, кодирующем полипептид фактора VIII, составляет от 55 до 56%.

В некоторых вариантах реализации изобретения общее содержание GC в полинуклеотиде с измененными кодонами, кодирующем полипептид фактора VIII, составляет $56 \pm 0.5\%$. В некоторых вариантах реализации изобретения общее содержание GC в полинуклеотиде с измененными кодонами, кодирующем полипептид фактора VIII, составляет $56 \pm 0.4\%$. В некоторых вариантах реализации изобретения общее содержание GC в полинуклеотиде с измененными кодонами, кодирующем полипептид фактора VIII, составляет $56 \pm 0.3\%$. В некоторых вариантах реализации изобретения общее содержание GC в полинуклеотиде с измененными кодонами, кодирующем полипептид фактора VIII, составляет $56 \pm 0.2\%$. В некоторых вариантах реализации изобретения общее содержание GC в полинуклеотиде с измененными кодонами, кодирующем полипептид фактора VIII, составляет $56 \pm 0.1\%$. В некоторых вариантах реализации изобретения общее содержание GC в полинуклеотиде с измененными кодонами, кодирующем полипептид фактора VIII, составляет 56%.

Линкер, замещающий В-домен Фактора VIII

В некоторых вариантах реализации изобретения связь между тяжелой цепью FVIII и легкой цепью (например, В-доменом в Факторе VIII дикого типа) дополнительно изменяется. Из-за ограничений по размеру упаковочной емкости AAV, варианты с удаленным, усеченным и/или замещенным на линкер В-доменом должны улучшить эффективность конструкции генной терапии FVIII. Наиболее традиционно используемый замещающий В-домен линкер относится к SQ FVIII, который сохраняет только 14 аминокислот домена В в качестве линкерной последовательности. Другой вариант VIII свиньи ("OBI-1", описанный в патенте США № 6,458,563) хорошо экспрессируется в клетках CHO и имеет более длинный линкер из 24 аминокислот. В некоторых вариантах реализации изобретения конструкции фактора VIII, кодируемые полинуклеотидами с измененными кодонами, описанные в данном документе, содержат в себе линкерную последовательность типа SQ В-домена. В других вариантах реализации изобретения конструкции фактора VIII, кодируемые полинуклеотидами с измененными кодонами, описанные в данном документе, содержат в себе линкерную последовательность типа OBI-1 В-домена.

В некоторых вариантах реализации изобретения кодируемые полипептиды фактора VIII, описанные в данном документе, содержат В-доменный линкер типа SQ (SFSQNPVVKRHQR; BDL-SQ-AA; SEQ ID NO: 30), включая аминокислоты 760-762/1657-1667 В-домена фактора VIII дикого типа человека (FVIII-FL-AA, SEQ ID NO: 19) (Sandberg et al., *Thromb. Haemost.* 85:93 (2001)). В некоторых вариантах реализации изобретения В-доменный линкер SQ-типа имеет одну аминокислотную замену относительно соответствующей последовательности дикого типа. В некоторых вариантах реализации изобретения В-доменный линкер SQ-типа имеет две аминокислотные замены относительно соответствующей последовательности дикого типа.

В некоторых вариантах реализации изобретения кодируемые полипептиды фактора VIII, описанные в данном документе, содержат в себе линкер В-домена типа Greengene, включая аминокислоты 760/1582-1667 В-домена фактора VIII дикого типа человека (FVIII-FL-AA, SEQ ID NO: 19) (Oh et al., *Biotechnol. Prog.*, 17:1999 (2001)). В некоторых вариантах реализации изобретения В-доменный линкер Greengene-типа имеет одну аминокислотную замену относительно соответствующей последовательности дикого типа. В некоторых вариантах реализации изобретения В-доменный линкер Greengene-типа имеет две аминокислотные замены относительно соответствующей последовательности дикого типа.

В некоторых вариантах реализации изобретения кодируемые полипептиды фактора VIII, описанные в данном документе, содержат расширенный линкер В-домена SQ-типа, включая аминокислоты 760-769/1657-1667 Фактора VIII дикого типа человека (FVIII-FL-AA, SEQ ID NO: 19) (Thim et al., *Haemophilia*, 16: 349 (2010)). В некоторых вариантах реализации изобретения удлиненный В-доменный линкер SQ-типа имеет одну аминокислотную замену относительно соответствующей последовательности дикого типа. В некоторых вариантах реализации изобретения удлиненный В-доменный линкер SQ-типа имеет две аминокислотные замены относительно соответствующей последовательности дикого типа.

В некоторых вариантах реализации изобретения кодируемые полипептиды фактора VIII, описанные в данном документе, содержат В-доменный линкер типа OBI-1 свиньи, включая аминокислоты SFA-QNSRPPSASAPKPPVLRHQR (SEQ ID NO: 31) из В-домена свиного фактора VIII дикого типа (Toschi et

al., *Curr. Opin. Mol. Ther.* 12:517 (2010)). В некоторых вариантах реализации изобретения В-доменный линкер типа OBI-1 свиньи имеет одну аминокислотную замену относительно соответствующей последовательности дикого типа. В некоторых вариантах реализации изобретения В-доменный линкер типа OBI-1 свиньи имеет две аминокислотные замены относительно соответствующей последовательности дикого типа.

В некоторых вариантах реализации изобретения кодируемые полипептиды фактора VIII, описанные в данном документе, содержат В-доменный линкер типа OBI-1 человека, включая аминокислоты 760-772/1655-1667 В-домена фактора VIII дикого типа человека (FVIII-FL- AA, SEQ ID NO: 19). В некоторых вариантах реализации изобретения В-доменный линкер типа OBI-1 человека имеет одну аминокислотную замену относительно соответствующей последовательности дикого типа. В некоторых вариантах реализации изобретения В-доменный линкер типа OBI-1 человека имеет две аминокислотные замены относительно соответствующей последовательности дикого типа.

В некоторых вариантах реализации изобретения кодируемые полипептиды фактора VIII, описанные в данном документе, содержат В-доменный линкер типа O8, включая аминокислоты SFSQNSRHQAYRYRRG (SEQ ID NO: 32) из В-домена фактора VIII дикого типа свиньи (Toschi et al., *Curr. Opin. Mol. Ther.* 12:517 (2010)). В некоторых вариантах реализации изобретения В-доменный линкер типа OBI-1 свиньи имеет одну аминокислотную замену относительно соответствующей последовательности дикого типа. В некоторых вариантах реализации изобретения В-доменный линкер типа OBI-1 свиньи имеет две аминокислотные замены относительно соответствующей последовательности дикого типа.

Удаление В-домена из конструкций фактора VIII, по-видимому, не влияет на активность активированного фермента (например, FVIIIa), по-видимому, потому, что В-домен удаляется во время активации. Однако В-домен фактора VIII содержит несколько остатков, которые посттрансляционно модифицированы, например, путем N- или O-опосредованного гликозилирования. Анализ *in silico* (предсказание сайтов N-гликозилирования в белках человека, R. Gupta, E. Jung and S. Brunak, в подготовке (2004)) В-домена фактора VIII дикого типа, предсказывает, что по меньшей мере четыре из этих сайтов гликозилируются *in vivo*. Считается, что эти модификации внутри В-домена вносят вклад в посттрансляционное регулирование и/или период полураспада фактора VIII *in vivo*.

Хотя В-домен фактора VIII отсутствует в зрелом белке фактора VIIIa, гликозилирование в В-доме молекулы предшественника фактора VIII может увеличить период полувыведения белка до активации. Таким образом, в некоторых вариантах реализации изобретения полипептидный линкер кодируемой конструкции фактора VIII, описанный в данном документе, содержит одну или несколько гликозилируемых последовательностей, чтобы обеспечить гликозилирование *in vivo*. В некоторых вариантах реализации изобретения полипептидный линкер содержит по меньшей мере одну консенсусную гликозилируемую последовательность (например, консенсусную последовательность с N- или O-опосредованным гликозилированием). В некоторых вариантах реализации изобретения полипептидный линкер содержит по меньшей мере две консенсусные гликозилируемые последовательности. В некоторых вариантах реализации изобретения полипептидный линкер содержит по меньшей мере три консенсусные гликозилируемые последовательности. В некоторых вариантах реализации изобретения полипептидный линкер содержит по меньшей мере четыре консенсусные гликозилируемые последовательности. В некоторых вариантах реализации изобретения полипептидный линкер содержит по меньшей мере пять консенсусных гликозилируемых последовательностей. В некоторых вариантах реализации изобретения полипептидный линкер содержит по меньшей мере 6, 7, 8, 9, 10 или более консенсусных гликозилируемых последовательностей.

В некоторых вариантах реализации изобретения полипептидный линкер содержит по меньшей мере одну последовательность для N-опосредованного гликозилирования NXS/T, где X представляет собой любую аминокислоту, отличную от P, S или T. В некоторых вариантах реализации изобретения полипептидный линкер содержит по меньшей мере две последовательности для N-опосредованного гликозилирования NXS/T, где X представляет собой любую аминокислоту, отличную от P, S или T. В некоторых вариантах реализации изобретения полипептидный линкер содержит по меньшей мере три последовательности для N-опосредованного гликозилирования NXS/T, где X представляет собой любую аминокислоту, отличную от P, S или T. В некоторых вариантах реализации изобретения полипептидный линкер содержит по меньшей мере четыре последовательности для N-опосредованного гликозилирования NXS/T, где X представляет собой любую аминокислоту, отличную от P, S или T. В некоторых вариантах реализации изобретения полипептидный линкер содержит по меньшей мере пять последовательностей для N-опосредованного гликозилирования NXS/T, где X представляет собой любую аминокислоту, отличную от P, S или T. В некоторых вариантах реализации изобретения полипептидный линкер содержит по меньшей мере 6, 7, 8, 9, 10 или более последовательностей для N-опосредованного гликозилирования NXS/T, где X представляет собой любую аминокислоту, отличную от P, S или T.

Полинуклеотиды с Измененными Кодонами, Кодирующие Вариант Фактора VIII с Расщепляемым Линкером

CS04 полинуклеотиды с измененными кодонами

В одном варианте реализации изобретения полинуклеотиды с измененными кодонами, представ-

ленные в данном документе, содержат нуклеотидную последовательность, кодирующую вариант полипептида фактора VIII, с линкером, который расщепляется *in vivo*. Полипептид фактора VIII содержит легкую цепь фактора VIII, тяжелую цепь фактора VIII и полипептидный линкер, соединяющий С-конец тяжелой цепи с N-концом легкой цепи. Тяжелая цепь полипептида фактора VIII кодируется первой нуклеотидной последовательностью, имеющей высокую идентичность последовательности с CS04-HC-NA (SEQ ID NO: 3), которая представляет собой часть CS04-FL-NA (SEQ ID NO: 1), кодирующей тяжелую цепь фактора VIII. Легкая цепь полипептида фактора VIII кодируется второй нуклеотидной последовательностью с высокой идентичностью последовательности с CS04-LC-NA (SEQ ID NO: 4), которая представляет собой часть CS04-FL-NA (SEQ ID NO: 1) кодирующей легкую цепь фактора VIII. Полипептидный линкер содержит фуриновый сайт расщепления, который позволяет созревать *in vivo* (например, после экспрессии *in vivo* или введения полипептида-предшественника).

В некоторых вариантах реализации изобретения первая и вторая нуклеотидные последовательности имеют по меньшей мере 95% идентичности последовательности с CS04-HC-NA и CS04-LC-NA (SEQ ID NO 3 и 4) соответственно. В некоторых вариантах реализации изобретения первая и вторая нуклеотидные последовательности имеют по меньшей мере 96% идентичности последовательности с CS04-HC-NA и CS04-LC-NA (SEQ ID NO 3 и 4) соответственно. В некоторых вариантах реализации изобретения первая и вторая нуклеотидные последовательности имеют по меньшей мере 97% идентичности последовательности с CS04-HC-NA и CS04-LC-NA (SEQ ID NO 3 и 4) соответственно. В некоторых вариантах реализации изобретения первая и вторая нуклеотидные последовательности имеют по меньшей мере 98% идентичности последовательности с CS04-HC-NA и CS04-LC-NA (SEQ ID NO 3 и 4) соответственно. В некоторых вариантах реализации изобретения первая и вторая нуклеотидные последовательности имеют по меньшей мере 99% идентичности последовательности с CS04-HC-NA и CS04-LC-NA (SEQ ID NO 3 и 4) соответственно. В некоторых вариантах реализации изобретения первая и вторая нуклеотидные последовательности имеют по меньшей мере 99.5% идентичности последовательности с CS04-HC-NA и CS04-LC-NA (SEQ ID NO 3 и 4) соответственно. В некоторых вариантах реализации изобретения первая и вторая нуклеотидные последовательности имеют по меньшей мере 99.9% идентичности последовательности с CS04-HC-NA и CS04-LC-NA (SEQ ID NO 3 и 4) соответственно. В некоторых вариантах реализации изобретения первая и вторая нуклеотидные последовательности идентичны CS04-HC-NA и CS04-LC-NA (SEQ ID NOS 3 и 4) соответственно.

В некоторых вариантах реализации изобретения полипептидный линкер конструкции фактора VIII кодируется третьей нуклеотидной последовательностью, имеющей высокую идентичность последовательности с BDLO04 (SEQ ID NO: 6), которая кодирует 14-аминокислотный линкер, соответствующий аминокислотам 760-773 CS04 -FL-AA (SEQ ID NO: 2). В некоторых вариантах реализации изобретения третья нуклеотидная последовательность имеет по меньшей мере 95% идентичности с BDLO04 (SEQ ID NO: 6). В некоторых вариантах реализации изобретения третья нуклеотидная последовательность имеет по меньшей мере 96% идентичности с BDLO04 (SEQ ID NO: 6). В некоторых вариантах реализации изобретения третья нуклеотидная последовательность имеет по меньшей мере 97% идентичности с BDLO04 (SEQ ID NO: 6). В некоторых вариантах реализации изобретения третья нуклеотидная последовательность имеет по меньшей мере 98% идентичности с BDLO04 (SEQ ID NO: 6). В некоторых вариантах реализации изобретения третья нуклеотидная последовательность идентична BDLO04 (SEQ ID NO: 6).

В некоторых вариантах реализации изобретения полинуклеотид с измененными кодонами имеет нуклеотидную последовательность с высокой идентичностью последовательности с CS04-FL-NA (SEQ ID NO: 1). В некоторых вариантах реализации изобретения нуклеотидная последовательность имеет по меньшей мере 95% идентичности с CS04-FL-NA (SEQ ID NO: 1). В некоторых вариантах реализации изобретения нуклеотидная последовательность имеет по меньшей мере 96% идентичности с CS04-FL-NA (SEQ ID NO: 1). В некоторых вариантах реализации изобретения нуклеотидная последовательность имеет по меньшей мере 97% идентичности с CS04-FL-NA (SEQ ID NO: 1). В некоторых вариантах реализации изобретения нуклеотидная последовательность имеет по меньшей мере 98% идентичности с CS04-FL-NA (SEQ ID NO: 1). В некоторых вариантах реализации изобретения нуклеотидная последовательность имеет по меньшей мере 99% идентичности с CS04-FL-NA (SEQ ID NO: 1). В некоторых вариантах реализации изобретения нуклеотидная последовательность имеет по меньшей мере 99.5% идентичности с CS04-FL-NA (SEQ ID NO: 1). В некоторых вариантах реализации изобретения нуклеотидная последовательность имеет по меньшей мере 99.9% идентичности с CS04-FL-NA (SEQ ID NO: 1). В некоторых вариантах реализации изобретения нуклеотидная последовательность идентична CS04-FL-NA (SEQ ID NO: 1).

В некоторых вариантах реализации изобретения вариант фактора VIII, кодируемый полинуклеотидом с измененными кодонами, имеет аминокислотную последовательность с высокой идентичностью с CS04-FL-AA (SEQ ID NO: 2). В некоторых вариантах реализации изобретения аминокислотная последовательность имеет по меньшей мере 97% идентичности с CS04-FL-AA (SEQ ID NO: 2). В некоторых вариантах реализации изобретения аминокислотная последовательность имеет по меньшей мере 98% идентичности с CS04-FL-AA (SEQ ID NO: 2). В некоторых вариантах реализации изобретения аминокислотная последовательность имеет по меньшей мере 99% идентичности с CS04-FL-AA (SEQ ID NO: 2). В

некоторых вариантах реализации изобретения аминокислотная последовательность имеет по меньшей мере 99.5% идентичности с CS04-FL-AA (SEQ ID NO: 2). В некоторых вариантах реализации изобретения аминокислотная последовательность имеет по меньшей мере 99.9% идентичности с CS04-FL-AA (SEQ ID NO: 2). В некоторых вариантах реализации изобретения аминокислотная последовательность идентична CS04-FL-AA (SEQ ID NO: 2).

CS01 полинуклеотиды с измененными кодонами

В одном варианте реализации изобретения полинуклеотиды с измененными кодонами, представленные в данном документе, содержат нуклеотидную последовательность, кодирующую вариант полипептида фактора VIII, с линкером, который расщепляется *in vivo*. Полипептид фактора VIII содержит легкую цепь фактора VIII, тяжелую цепь фактора VIII и полипептидный линкер, соединяющий С-конец тяжелой цепи с N-концом легкой цепи. Тяжелая цепь полипептида фактора VIII кодируется первой нуклеотидной последовательностью, имеющей высокую идентичность последовательности с CS01-HC-NA (SEQ ID NO: 24), которая представляет собой часть CS01-FL-NA (SEQ ID NO: 13), кодирующей тяжелую цепь фактора VIII. Легкая цепь полипептида фактора VIII кодируется второй нуклеотидной последовательностью с высокой идентичностью последовательности с CS01-LC-NA (SEQ ID NO: 25), которая представляет собой часть CS01-FL-NA (SEQ ID NO: 13) кодирующей легкую цепь фактора VIII. Полипептидный линкер содержит фуриновый сайт расщепления, который позволяет созреть *in vivo* (например, после экспрессии *in vivo* или введения полипептида-предшественника).

В некоторых вариантах реализации изобретения первая и вторая нуклеотидные последовательности имеют по меньшей мере 95% идентичности последовательности с CS01-HC-NA и CS01-LC-NA (SEQ ID NO 24 и 25) соответственно. В некоторых вариантах реализации изобретения первая и вторая нуклеотидные последовательности имеют по меньшей мере 96% идентичности последовательности с CS01-HC-NA и CS01-LC-NA (SEQ ID NO 24 и 25) соответственно. В некоторых вариантах реализации изобретения первая и вторая нуклеотидные последовательности имеют по меньшей мере 97% идентичности последовательности с CS01-HC-NA и CS01-LC-NA (SEQ ID NO 24 и 25) соответственно. В некоторых вариантах реализации изобретения первая и вторая нуклеотидные последовательности имеют по меньшей мере 98% идентичности последовательности с CS01-HC-NA и CS01-LC-NA (SEQ ID NO 24 и 25) соответственно. В некоторых вариантах реализации изобретения первая и вторая нуклеотидные последовательности имеют по меньшей мере 99% идентичности последовательности с CS01-HC-NA и CS01-LC-NA (SEQ ID NO 24 и 25) соответственно. В некоторых вариантах реализации изобретения первая и вторая нуклеотидные последовательности имеют по меньшей мере 99.5% идентичности последовательности с CS01-HC-NA и CS01-LC-NA (SEQ ID NO 24 и 25) соответственно. В некоторых вариантах реализации изобретения первая и вторая нуклеотидные последовательности имеют по меньшей мере 99.9% идентичности последовательности с CS01-HC-NA и CS01-LC-NA (SEQ ID NO 24 и 25) соответственно. В некоторых вариантах реализации изобретения первая и вторая нуклеотидные последовательности идентичны CS01-HC-NA и CS01-LC-NA (SEQ ID NO: 24 и 25) соответственно.

В некоторых вариантах реализации изобретения полипептидный линкер конструкции фактора VIII кодируется третьей нуклеотидной последовательностью, имеющей высокую идентичность последовательности с BDLO04 (SEQ ID NO: 6), которая кодирует 14-аминокислотный линкер, соответствующий аминокислотам 760-773 CS01-FL-AA (SEQ ID NO: 2). В некоторых вариантах реализации изобретения третья нуклеотидная последовательность имеет по меньшей мере 95% идентичности с BDLO04 (SEQ ID NO: 6). В некоторых вариантах реализации изобретения третья нуклеотидная последовательность имеет по меньшей мере 96% идентичности с BDLO04 (SEQ ID NO: 6). В некоторых вариантах реализации изобретения третья нуклеотидная последовательность имеет по меньшей мере 97% идентичности с BDLO04 (SEQ ID NO: 6). В некоторых вариантах реализации изобретения третья нуклеотидная последовательность имеет по меньшей мере 98% идентичности с BDLO04 (SEQ ID NO: 6). В некоторых вариантах реализации изобретения третья нуклеотидная последовательность идентична BDLO04 (SEQ ID NO: 6).

В некоторых вариантах реализации изобретения полинуклеотид с измененными кодонами имеет нуклеотидную последовательность с высокой идентичностью последовательности с CS01-FL-NA (SEQ ID NO: 13). В некоторых вариантах реализации изобретения нуклеотидная последовательность имеет по меньшей мере 95% идентичности с CS01-FL-NA (SEQ ID NO: 13). В некоторых вариантах реализации изобретения нуклеотидная последовательность имеет по меньшей мере 96% идентичности с CS01-FL-NA (SEQ ID NO: 13). В некоторых вариантах реализации изобретения нуклеотидная последовательность имеет по меньшей мере 97% идентичности с CS01-FL-NA (SEQ ID NO: 13). В некоторых вариантах реализации изобретения нуклеотидная последовательность имеет по меньшей мере 98% идентичности с CS01-FL-NA (SEQ ID NO: 13). В некоторых вариантах реализации изобретения нуклеотидная последовательность имеет по меньшей мере 99% идентичности с CS01-FL-NA (SEQ ID NO: 13). В некоторых вариантах реализации изобретения нуклеотидная последовательность имеет по меньшей мере 99.5% идентичности с CS01-FL-NA (SEQ ID NO: 13). В некоторых вариантах реализации изобретения нуклеотидная последовательность имеет по меньшей мере 99.9% идентичности с CS01-FL-NA (SEQ ID NO: 13). В некоторых вариантах реализации изобретения нуклеотидная последовательность идентична CS01-FL-NA (SEQ ID NO: 13).

В некоторых вариантах реализации изобретения вариант фактора VIII, кодируемый полинуклеотидом с измененными кодонами, имеет аминокислотную последовательность с высокой идентичностью с CS01-FL-AA (SEQ ID NO: 2). В некоторых вариантах реализации изобретения аминокислотная последовательность имеет по меньшей мере 97% идентичности с CS01-FL-AA (SEQ ID NO: 2). В некоторых вариантах реализации изобретения аминокислотная последовательность имеет по меньшей мере 98% идентичности с CS01-FL-AA (SEQ ID NO: 2). В некоторых вариантах реализации изобретения аминокислотная последовательность имеет по меньшей мере 99% идентичности с CS01-FL-AA (SEQ ID NO: 2). В некоторых вариантах реализации изобретения аминокислотная последовательность имеет по меньшей мере 99.5% идентичности с CS01-FL-AA (SEQ ID NO: 2). В некоторых вариантах реализации изобретения аминокислотная последовательность имеет по меньшей мере 99.9% идентичности с CS01-FL-AA (SEQ ID NO: 2). В некоторых вариантах реализации изобретения аминокислотная последовательность идентична CS01-FL-AA (SEQ ID NO: 2).

CS23 полинуклеотиды с измененными кодонами

В одном варианте реализации изобретения полинуклеотиды с измененными кодонами, представленные в данном документе, содержат нуклеотидную последовательность, кодирующую вариант полипептида фактора VIII, с линкером, который расщепляется *in vivo*. Полипептид фактора VIII содержит легкую цепь фактора VIII, тяжелую цепь фактора VIII и полипептидный линкер, соединяющий С-конец тяжелой цепи с N-концом легкой цепи. Тяжелая цепь полипептида фактора VIII кодируется первой нуклеотидной последовательностью, имеющей высокую идентичность последовательности с CS23-HC-NA (SEQ ID NO: 22), которая представляет собой часть CS23-FL-NA (SEQ ID NO: 20), кодирующей тяжелую цепь фактора VIII. Легкая цепь полипептида фактора VIII кодируется второй нуклеотидной последовательностью с высокой идентичностью последовательности с CS23-LC-NA (SEQ ID NO: 23), которая представляет собой часть CS23-FL-NA (SEQ ID NO: 20) кодирующей легкую цепь фактора VIII. Полипептидный линкер содержит фуриновый сайт расщепления, который позволяет созреть *in vivo* (например, после экспрессии *in vivo* или введения полипептида-предшественника).

В некоторых вариантах реализации изобретения первая и вторая нуклеотидные последовательности имеют по меньшей мере 95% идентичности последовательности с CS23-HC-NA и CS23-LC-NA (SEQ ID NO 22 и 23) соответственно. В некоторых вариантах реализации изобретения первая и вторая нуклеотидные последовательности имеют по меньшей мере 96% идентичности последовательности с CS23-HC-NA и CS23-LC-NA (SEQ ID NO 22 и 23) соответственно. В некоторых вариантах реализации изобретения первая и вторая нуклеотидные последовательности имеют по меньшей мере 97% идентичности последовательности с CS23-HC-NA и CS23-LC-NA (SEQ ID NO 22 и 23) соответственно. В некоторых вариантах реализации изобретения первая и вторая нуклеотидные последовательности имеют по меньшей мере 98% идентичности последовательности с CS23-HC-NA и CS23-LC-NA (SEQ ID NO 22 и 23) соответственно. В некоторых вариантах реализации изобретения первая и вторая нуклеотидные последовательности имеют по меньшей мере 99% идентичности последовательности с CS23-HC-NA и CS23-LC-NA (SEQ ID NO 22 и 23) соответственно. В некоторых вариантах реализации изобретения первая и вторая нуклеотидные последовательности имеют по меньшей мере 99.5% идентичности последовательности с CS23-HC-NA и CS23-LC-NA (SEQ ID NO 22 и 23) соответственно. В некоторых вариантах реализации изобретения первая и вторая нуклеотидные последовательности имеют по меньшей мере 99.9% идентичности последовательности с CS23-HC-NA и CS23-LC-NA (SEQ ID NO 22 и 23) соответственно. В некоторых вариантах реализации изобретения первая и вторая нуклеотидные последовательности идентичны CS23-HC-NA и CS23-LC-NA (SEQ ID NO: 22 и 23) соответственно.

В некоторых вариантах реализации изобретения полипептидный линкер конструкции фактора VIII кодируется третьей нуклеотидной последовательностью, имеющей высокую идентичность последовательности с BDLO04 (SEQ ID NO: 6), которая кодирует 14-аминокислотный линкер, соответствующий аминокислотам 760-773 CS23-FL-AA (SEQ ID NO: 21). В некоторых вариантах реализации изобретения третья нуклеотидная последовательность имеет по меньшей мере 95% идентичности с BDLO04 (SEQ ID NO: 6). В некоторых вариантах реализации изобретения третья нуклеотидная последовательность имеет по меньшей мере 96% идентичности с BDLO04 (SEQ ID NO: 6). В некоторых вариантах реализации изобретения третья нуклеотидная последовательность имеет по меньшей мере 97% идентичности с BDLO04 (SEQ ID NO: 6). В некоторых вариантах реализации изобретения третья нуклеотидная последовательность имеет по меньшей мере 98% идентичности с BDLO04 (SEQ ID NO: 6). В некоторых вариантах реализации изобретения третья нуклеотидная последовательность идентична BDLO04 (SEQ ID NO: 6).

В некоторых вариантах реализации изобретения полинуклеотид с измененными кодонами имеет нуклеотидную последовательность с высокой идентичностью последовательности с CS23-FL-NA (SEQ ID NO: 20). В некоторых вариантах реализации изобретения нуклеотидная последовательность имеет по меньшей мере 95% идентичности с CS23-FL-NA (SEQ ID NO: 20). В некоторых вариантах реализации изобретения нуклеотидная последовательность имеет по меньшей мере 96% идентичности с CS23-FL-NA (SEQ ID NO: 20). В некоторых вариантах реализации изобретения нуклеотидная последовательность имеет по меньшей мере 97% идентичности с CS23-FL-NA (SEQ ID NO: 20). В некоторых вариантах реализации изобретения нуклеотидная последовательность имеет по меньшей мере 98% идентичности с

CS23-FL-NA (SEQ ID NO: 20). В некоторых вариантах реализации изобретения нуклеотидная последовательность имеет по меньшей мере 99% идентичности с CS23-FL-NA (SEQ ID NO: 20). В некоторых вариантах реализации изобретения нуклеотидная последовательность имеет по меньшей мере 99.5% идентичности с CS23-FL-NA (SEQ ID NO: 20). В некоторых вариантах реализации изобретения нуклеотидная последовательность имеет по меньшей мере 99.9% идентичности с CS23-FL-NA (SEQ ID NO: 20). В некоторых вариантах реализации изобретения нуклеотидная последовательность идентична CS23-FL-NA (SEQ ID NO: 20).

В некоторых вариантах реализации изобретения вариант фактора VIII, кодируемый полинуклеотидом с измененными кодонами, имеет аминокислотную последовательность с высокой идентичностью с CS23-FL-AA (SEQ ID NO: 21). В некоторых вариантах реализации изобретения аминокислотная последовательность имеет по меньшей мере 97% идентичности с CS23-FL-AA (SEQ ID NO: 21). В некоторых вариантах реализации изобретения аминокислотная последовательность имеет по меньшей мере 98% идентичности с CS23-FL-AA (SEQ ID NO: 21). В некоторых вариантах реализации изобретения аминокислотная последовательность имеет по меньшей мере 99% идентичности с CS23-FL-AA (SEQ ID NO: 21). В некоторых вариантах реализации изобретения аминокислотная последовательность имеет по меньшей мере 99.5% идентичности с CS23-FL-AA (SEQ ID NO: 21). В некоторых вариантах реализации изобретения аминокислотная последовательность имеет по меньшей мере 99.9% идентичности с CS23-FL-AA (SEQ ID NO: 21). В некоторых вариантах реализации изобретения аминокислотная последовательность идентична CS23-FL-AA (SEQ ID NO: 21).

Полинуклеотиды с измененными кодонами, кодирующие одноцепочечный белок Фактора VIII

Конструкции фактора VIII, в которых фуриновый сайт расщепления, расположенный на С-конце В-домена удален, сохраняют активность в виде одноцепочечного полипептида, несмотря на то, что нормальное созревание молекулы фактора VIII не может происходить (Leyte et al. (1991)). Аналогично, конструкция Фактора VIII с отсутствующим В-доменом с аттенуированным фуриновым сайтом (содержащим аминокислотную замену R1664H) более биологически активна, чем соответствующая конструкция фактора VIII с фуриновым сайтом расщепления дикого типа (Siner et al. (2013)). Соответственно, в некоторых вариантах реализации изобретения полинуклеотиды с измененными кодонами, представленные в данном документе, содержат нуклеотидную последовательность, кодирующую одноцепочечный вариант полипептида фактора VIII. Одноцепочечный полипептид фактора VIII содержит легкую цепь фактора VIII, тяжелую цепь фактора VIII и полипептидный линкер, соединяющий С-конец тяжелой цепи с N-концом легкой цепи. Полипептидный линкер не содержит фуриновый сайт расщепления.

CS04 одноцепочечные полинуклеотиды с измененными кодонами В одном варианте реализации изобретения полинуклеотиды с измененными кодонами, представленные в данном документе, содержат нуклеотидную последовательность, кодирующую одноцепочечный вариант полипептида фактора VIII. Полипептид фактора VIII содержит легкую цепь фактора VIII, тяжелую цепь фактора VIII и, необязательно, полипептидный линкер, соединяющий С-конец тяжелой цепи с N-концом легкой цепи. Тяжелая цепь полипептида фактора VIII кодируется первой нуклеотидной последовательностью, имеющей высокую идентичность последовательности с CS04-HC-NA (SEQ ID NO: 3), которая представляет собой часть CS04-FL-NA (SEQ ID NO: 1), кодирующей тяжелую цепь фактора VIII. Легкая цепь полипептида фактора VIII кодируется второй нуклеотидной последовательностью с высокой идентичностью последовательности с CS04-LC-NA (SEQ ID NO: 4), которая представляет собой часть CS04-FL-NA (SEQ ID NO: 1) кодирующей легкую цепь фактора VIII. Необязательный полипептидный линкер не содержит фуриновый сайт расщепления.

В некоторых вариантах реализации изобретения первая и вторая нуклеотидные последовательности имеют по меньшей мере 95% идентичности последовательности с CS04-HC-NA и CS04-LC-NA (SEQ ID NO 3 и 4) соответственно. В некоторых вариантах реализации изобретения первая и вторая нуклеотидные последовательности имеют по меньшей мере 96% идентичности последовательности с CS04-HC-NA и CS04-LC-NA (SEQ ID NO 3 и 4) соответственно. В некоторых вариантах реализации изобретения первая и вторая нуклеотидные последовательности имеют по меньшей мере 97% идентичности последовательности с CS04-HC-NA и CS04-LC-NA (SEQ ID NO 3 и 4) соответственно. В некоторых вариантах реализации изобретения первая и вторая нуклеотидные последовательности имеют по меньшей мере 98% идентичности последовательности с CS04-HC-NA и CS04-LC-NA (SEQ ID NO 3 и 4) соответственно. В некоторых вариантах реализации изобретения первая и вторая нуклеотидные последовательности имеют по меньшей мере 99% идентичности последовательности с CS04-HC-NA и CS04-LC-NA (SEQ ID NO 3 и 4) соответственно. В некоторых вариантах реализации изобретения первая и вторая нуклеотидные последовательности имеют по меньшей мере 99.5% идентичности последовательности с CS04-HC-NA и CS04-LC-NA (SEQ ID NO 3 и 4) соответственно. В некоторых вариантах реализации изобретения первая и вторая нуклеотидные последовательности имеют по меньшей мере 99.9% идентичности последовательности с CS04-HC-NA и CS04-LC-NA (SEQ ID NO 3 и 4) соответственно. В некоторых вариантах реализации изобретения первая и вторая нуклеотидные последовательности идентичны CS04-HC-NA и CS04-LC-NA (SEQ ID NOS 3 и 4) соответственно.

миды, фазмиды, искусственные хромосомы и тому подобное.

Неограничивающие примеры вирусных векторов включают ретровирус, например вирус мышинной лейкемии Молони (MMLV), вирус мышинной саркомы Харви, вирус мышинной опухоли молочной железы и вирус саркомы Роуса; аденовирусы, аденоассоциированные вирусы; вирусы типа SV40; полиомавирусы; вирусы Эпштейна-Барра; вирусы папилломы; вирусы герпеса; вирусы осповакцины; и вирусы полиомиелита.

В некоторых вариантах реализации изобретения описанные в данном документе полинуклеотиды с измененными кодонами интегрированы в векторы генной терапии. В некоторых вариантах реализации изобретения вектор генной терапии является ретровирусом и, в частности, ретровирусом с дефективной репликацией. Протоколы для производства ретровирусов с дефицитной репликацией известны в данной области техники. Для обзора см. Kriegler, M., *Gene Transfer and Expression, A Laboratory Manual*, W.H. Freeman Co., New York (1990) and Murty, E. J., *Methods in Molecular Biology*, Vol. 7, Humana Press, Inc., Clifton, N.J. (1991).

В одном варианте реализации изобретения вектор генной терапии представляет собой вектор генной терапии, основанный на аденоассоциированном вирусе (AAV). AAV-системы были описаны ранее и, как правило, хорошо известны в данной области (Kelleher and Vos, *Biotechniques*, 17 (6):1110-17 (1994); Cotten et al., *Proc Natl Acad Sci USA*, 89 (13): 6094-98 (1992); Curiel, *Nat Immun*, 13(2-3):141-64 (1994); Muzyczka, *Curr Top Microbiol Immunol*, 158:97-129 (1992); и Asokan A, et al., *Mol. Ther.*, 20(4): 699-708 (2012), которые включены в данное описание посредством ссылки во всей полноте для всех целей). Подробная информация о генерации и использовании векторов gAAV описана, например, в патентах США № 5139941 и 4797368, каждый из которых включен в данное описание посредством ссылки во всей их полноте для всех целей. В конкретном варианте реализации изобретения вектор AAV представляет собой вектор AAV-8.

В некоторых вариантах реализации изобретения описанные в данном документе полинуклеотиды с измененными кодонами, интегрированы в ретровирусный вектор экспрессии. Эти системы были описаны ранее и, как правило, хорошо известны в данной области (Mann et al., *Cell*, 33:153-159, 1983; Nicolas and Rubinstein, In: *Vectors: A survey of molecular cloning vectors and their uses*, Rodriguez and Denhardt, eds., Stoneham: Butterworth, pp. 494-513, 1988; Temin, In: *Gene Transfer*, Kucherlapati (ed.), New York: Plenum Press, pp. 149-188, 1986). В конкретном варианте реализации изобретения ретровирусный вектор представляет собой лентивирусный вектор (см., Например, Naldini et al., *Science*, 272 (5259): 263-267, 1996; Zufferey et al. *Nat Biotechnol*, 15(9):871-875, 1997; Blomer et al., *J Virol.*, 71 (9): 6641-6649, 1997; патенты США № 6013516 и 5994136).

Широкое разнообразие векторов может быть использовано для экспрессии полипептида фактора VIII из полипептида с измененными кодонами в культуре клеток, включая эукариотические и прокариотические экспрессирующие векторы. В некоторых вариантах реализации изобретения предполагается, что плазмидный вектор используется для экспрессии полипептида фактора VIII в культуре клеток. В общем, плазмидные векторы, содержащие репликон и контрольные последовательности, которые получены от видов, совместимых с клеткой-хозяином, используются в связи с этими хозяевами. Вектор может содержать сайт репликации, а также маркирующие последовательности, которые способны обеспечивать фенотипический отбор в трансформированных клетках. Плазида будет содержать полинуклеотид с измененными кодонами, кодирующий полипептид фактора VIII, функционально связанный с одной или несколькими контрольными последовательностями, например промотором.

Неограничивающие примеры векторов для прокариотической экспрессии включают плазмиды, такие как pRSET, pET, pBAD и т.д., где промоторы, используемые в прокариотических экспрессирующих векторах, содержат lac, trc, trp, recA, araBAD и т.д. Примеры векторов для эукариотической экспрессии включают: (i) для экспрессии в дрожжах векторы, такие как pAO, pPIC, pYES, pMET, с использованием промоторов, таких как AOX1, GAP, GAL1, AUG1 и т.д.; (ii) для экспрессии в клетках насекомых векторы, такие как pMT, pAc5, pIB, pMIB, pBAC и т. д., с использованием промоторов, таких как PH, p10, MT, Ac5, OpIE2, gp64, polh и т.д. и (iii) для экспрессии в клетках млекопитающих векторы, такие как pSVL, pCMV, pRc/RSV, pCDNA3, pBPV и т. д., и векторы, полученные из вирусных систем, таких как вирус осповакцины, аденоассоциированные вирусы, вирусы герпеса, ретровирусы и т.д., с использованием промоторов таких как CMV, SV40, EF-1, UbC, RSV, ADV, BPV и β -актин.

Примеры

Пример 1. Конструирование экспрессирующей последовательности с измененными кодонами варианта Фактора VIII

Необходимо было преодолеть два препятствия, чтобы создать кодирующую последовательность фактора VIII, которая эффективна для генной терапии гемофилии А. Во-первых, из-за ограничений размера генома обычных векторов доставки генной терапии (например, AAV-вирионов) полипептид, кодирующий фактор VIII, должен быть значительно укорочен. Во-вторых, кодирующую последовательность необходимо было изменить, чтобы: (i) стабилизировать взаимодействия при упаковке внутри вектора доставки, (ii) стабилизировать промежуточную мРНК и (iii) улучшить стабильность транскрипции/трансляции мРНК.

Для достижения первой цели Заявители начали с конструкции варианта фактора VIII с удаленным В-доменом, называемой в данном документе "FVIII-BDD-SQ". В этой конструкции В-домен заменяется последовательностью из 14 аминокислот, называемой последовательностью "SQ". Рекombинантный FVIII-BDD-SQ продается под торговым названием REFACTO® и, как было показано, эффективен для лечения гемофилии А. Однако нативная кодирующая последовательность для FVIII-BDD-SQ, которая содержит нуклеотидную последовательность дикого типа человека для тяжелой и легкой цепей фактора VIII, неэффективно экспрессируется в векторах генной терапии.

Чтобы усилить слабую экспрессию нативного FVIII-BDD-SQ, алгоритм оптимизации кодонов, описанный в Fath et al. (PLoS ONE, 6:e17596 (2011)), модифицированный, как описано в Ward et al. (Blood, 117:798 (2011)) и в McIntosh et al. (Blood, 121, 3335-3344 (2013)) применяли к последовательности FVIII-BDD-SQ для создания первой промежуточной кодирующей последовательности CS04a. Однако Заявители признали, что последовательность CS04a, созданная с использованием модифицированного алгоритма, может быть улучшена путем дальнейшей модификации последовательности. Соответственно Заявители повторно вводили CpG-динуклеотиды, повторно вводили кодон CGC для аргинина, меняли распределения лейцинового и серинового кодона, повторно вводили высококонсервативные пары кодонов и удаляли скрытый блок TATA, блок CCAAT и элементы сайта сплайсинга, избегая при этом CpG-островков и локального преобладания AT и GC-богатых участков.

Во-первых, модифицированный алгоритм систематически заменяет кодоны, содержащие CpG-динуклеотиды (например, аргининовые кодоны) на не-CpG динуклеотидные кодоны, и исключает/избегает CpG-динуклеотидов, формируемых соседними кодонами. Это строгое избегание CpG-динуклеотидов обычно делается для предотвращения индуцированного TLR иммунитета после внутримышечной инъекции ДНК-вакцин. Однако это ограничивает возможности оптимизации кодонов. Например, модифицированный алгоритм исключает использование полного набора кодонов CGX аргинина. Это особенно разрушительно в кодировании генов для экспрессии в клетках человека, поскольку CGC является наиболее часто используемым аргининовым кодоном в высоко экспрессируемых генах человека. Кроме того, предотвращение создания CpGs соседними кодонами дополнительно ограничивает возможности оптимизации (например, ограничивает количество пар кодонов, которые могут использоваться вместе).

Поскольку не ожидается, что индуцированный TLR иммунитет будет проблемой, связанной с печеночной генной терапией на основе AAV, кодоны, содержащие CpG, и соседние кодоны, формирующие CpG, были повторно введены в промежуточную кодирующую последовательность CS04a, предпочтительно в последовательности, кодирующей легкую цепь фактора VIII (например, на 3'-конце кодирующей последовательности FVIII-BDD-SQ). Это позволило применять более частое использование предпочтительных кодонов человека, особенно для аргинина. Однако была предпринята осторожность, чтобы избежать создания островков CpG, которые являются областями кодирующей последовательности, имеющими высокую частоту CpG-сайтов. Это противоречит учениям Krinner et al. (Nucleic Acids Res., 42 (6): 3551-64 (2014)), где предполагается, что домены CpG ниже сайтов начала транскрипции способствуют высоким уровням экспрессии генов.

Во-вторых, модифицированный алгоритм применяет исключительно кодоны, такие как CTG для лейцина, GTG для валина и CAG для глутамина. Однако это нарушает принципы сбалансированного использования кодонов, например, как предложено в Haas et al. (Current Biology, 6(3):315-24 (1996)). Для учета чрезмерного использования предпочтительных кодонов с помощью модифицированного алгоритма, альтернативные кодоны лейцина были повторно введены, если это позволялось другими правилами, применяемыми к изменению кодона (например, частота CpG и содержание GC).

В-третьих, модифицированный алгоритм заменяет пары кодонов независимо от того, насколько они консервативны, когда выполняются определенные условия (например, наличие CG-динуклеотидов). Для учета полезных свойств, которые могли быть сохранены путем эволюции, наиболее консервативные пары кодонов, которые были заменены алгоритмом и наиболее консервативные предпочтительные пары кодонов, например, как описано в Tats et al. (BMC Genomics 9:463 (2008)), были проанализированы и скорректированы там, где это позволялось другими правилами, применяемыми к изменению кодонов (например, частота CpG и содержание GC).

В-четвертых, сериновые кодоны, используемые в промежуточной кодирующей последовательности, также были повторно модифицированы. В частности, сериновые кодоны AGC, TCC и TCT были введены в модифицированную кодирующую последовательность с более высокой частотой, чтобы лучше соответствовать природному распределению кодонов человека (Haas et al., supra).

В-пятых, элементы TATA-бокса, CCAAT-бокса и сайты сплайна интрон/экзон были выявлены и удалены из модифицированной кодирующей последовательности. При модификации кодирующей последовательности была предпринята осторожность, чтобы избежать локального избыточного увеличения встречаемости AT- или GC-насыщенных участков.

Наконец, помимо оптимизации использования кодонов в кодирующей последовательности структурные требования для AAV-вириона были рассмотрены при дальнейшей модификации промежуточной кодирующей последовательности CS04a. AAV-векторы (например, часть нуклеиновой кислоты AAV-

вириона) упаковываются в виде одноцепочечных молекул ДНК в их капсиды (для обзора см. Daya and Berns, Clin. Microbiol Rev., 21(4): 583-93 (2008)). Следовательно, содержание GC в векторе, вероятно, будет влиять на упаковку генома и, следовательно, на выход вектора во время продукции. Как и многие алгоритмы, модифицированный алгоритм, используемый в данном документе, создает оптимизированную последовательность генов с содержанием GC не менее 60% (см. Fath et al., PLoS One, 6 (3): e17596 (2011) (erratum in: PLoS One, (6) 3 (2011)). Однако капсидный белок AAV8 кодируется нуклеотидной последовательностью, имеющей более низкое содержание GC около 56%. Таким образом, чтобы лучше имитировать природную кодирующую последовательность белка капсидного AAV8, содержание GC в промежуточной кодирующей последовательности CS04a было снижено до 56%.

Полученная CS04 кодирующая последовательность, изображенная на фиг. 2, имеет общее содержание GC равное 56%.

Содержание CpG-динуклеотида в последовательности является умеренным. Однако CpG-динуклеотиды преимущественно присутствуют в нижерасположенной части кодирующей последовательности, например, части, кодирующей легкую цепь фактора VIII. Последовательность CS04 имеет идентичность нуклеотидной последовательности 79,77% с соответствующими кодирующими последовательностями фактора VIII дикого типа (номер доступа Genbank M14113).

Для сравнения были подготовлены несколько других конструкций ReFacto с оптимизированными кодонами. CS01 был сконструирован путем применения алгоритма оптимизации кодонов Fath et al., модифицированного согласно Ward et al., как это сделано для CS04. Однако, в отличие от CS04, конструкция CS01 не содержит никаких островков CpG. Конструкция CS08 ReFacto была подвергнута оптимизации кодонов, как описано в Radcliff P.M. et al., Gene Therapy, 15: 289-97 (2008), чье содержание полностью включено в данное описание посредством ссылки в полном объеме для всех целей. Конструкцию ReFacto с оптимизированными кодонами, основанную на кодонах CS10, была получена от Eurofins Genomics (Эберсберг, Германия). Конструкция CS11 ReFacto с оптимизированными кодонами, была получена от Integrated DNA Technologies, Inc. (Коралвилль, США). Конструкция CH25 ReFacto с оптимизированными кодонами, была получена от ThermoFischer Scientific's GeneArt services (Регенсбург, Германия). Конструкция CS40 ReFacto состоит из кодирующей последовательности фактора VIII дикого типа. Алгоритм, используемый для построения CS23, основан на JCAT tool (www.jcat.de), онлайн инструмент для оптимизации кодонов (Grote et al., 2005; Nucl. Acids Res. W526-31). Последовательность была дополнительно модифицирована, чтобы больше соответствовать использованию кодонов надсемейства альбумина (Mirsafian et al., 2014; Sc. Word Journal 2014, ID 639682). Идентификаторы последовательностей, общие для каждой из кодирующих последовательностей ReFacto, показаны в табл. 2 ниже.

Таблица 2. Процентная матрица идентичности для конструкций фактора VIII с измененными кодонами

| | CS01 | CS04 | CS08 | CS10 | CS11 | CS40 | CH25 | CS23 |
|------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|------|
| CS01 | 100% | | | | | | | |
| CS04 | 93.0% | 100% | | | | | | |
| CS08 | 80.7% | 82.2% | 100% | | | | | |
| CS10 | 79.1% | 79.4% | 78.4% | 100% | | | | |
| CS11 | 78.3% | 78.3% | 78.1% | 77.5% | 100% | | | |
| CS40 | 79.6% | 79.8% | 76.7% | 77.6% | 75.4% | 100% | | |
| CH25 | 81.3% | 85.1% | 85.0% | 79.9% | 79.4% | 75.8% | 100% | |
| CS23 | 84.3% | 89.2% | 85.1% | 80.3% | 79.9 | 76.5% | 93.2% | 100% |

Плазмиды каждой конструкции были сконструированы путем клонирования различных синтетических фрагментов ДНК в одну и ту же векторную основную плазмиду (pCh-BB01). Синтез ДНК фрагментов BDD-FVIII Refacto-типа с фланкирующими сайтами рестрикции ферментов AscI и NotI были выполнены с помощью ThermoFischer Scientific (Регенсбург, Германия). Основа вектора содержит два фланкирующих инвертированных концевых повторов AAV2 (ITR), которые содержат последовательность промотора/энхансера, полученную из мышинного транскретина печени, сайты рестрикции фермента AscI и NotI для вставки соответствующего BDD-FVIII типа Refacto и синтетический полиА-сайт. После лигирования подготовленной векторной основы и вставок с помощью сайтов AscI и NotI полученные плазмиды амплифицировали в миллиграммном масштабе. Последовательности конструкций BDD-FVIII типа Refacto были подтверждены прямым секвенированием (Microsynth, Balgach, Switzerland). Клонирование приводило к созданию семи различных плазмидных конструкций с именем pCS40, pCS01, pCS04, pCS08, pCS10, pCS11, pCh25 и pCS23 (фиг. 19). Конструкции имеют одинаковую векторную основу и кодируют один и тот же белок FVIII с отсутствующим В-доменом (Refacto-тип BDD-FVIII), но отличаются по своей кодирующей последовательности FVIII.

Векторы AAV8 были получены с помощью трех способов трансфекции плазмидами, как описано в Grieger JC, et al. (Virus Vectors Using Suspension HEK293 Cells and Continuous Harvest of Vector From the

Culture Media for GMP FIX and FLT1 Clinical Vector, Mol Ther., Oct 6. (2015) doi: 10.1038/mt.2015.187. [Epub перед печатью]), чье содержание полностью включено в данное описание посредством ссылки в полном объеме для всех целей. Суспензированные клетки НЕК293 использовали для трансфекции плазмидами с использованием соответствующей векторной плазмиды FVIII, хелперной плазмиды рXX6-80 (несущей аденовирусные хелперные гены) и упаковочной плазмиды рGSK2/8 (вносящей гены гер2 и сар8). Чтобы изолировать конструкции AAV8, клеточный осадок из одного литра культуры обрабатывали с использованием градиентов йодиксанола, как описано в Grieger et al. (2015, Supra). Процедура привела к получению векторных препаратов, называемых vCS01, vCS04, vCS08, vCS10, vCS11 и vCH25. Векторы были количественно оценены с помощью qPCR, используя универсальную процедуру qPCR, с использованием инвертированных концевых повторов AAV2 (Aurnhammer, Human Gene Therapy Methods: Part B 23:18-28 (2012)). Контрольная векторная плазида, несущая инвертированные концевые повторы AAV2, использовалась для получения стандартной кривой. Результирующая конструкция VCS04 представлена как SEQ ID NO: 8 на фиг. 7A-7C.

Целостность векторных геномов анализировали с помощью электрофореза AAV в агарозном геле. Электрофорез проводили, как описано в Fagone et al., Human Gene Therapy Methods 23:1-7 (2012). Вкратце, препараты AAV-вектора инкубировали при температуре 75°C в течение 10 мин в присутствии 0,5% SDS и затем охлаждали до комнатной температуры. Приблизительно 1.5E10 векторных геномов (vg) загружали на дорожку 1% 1×TAE агарозного геля и подвергали электрофорезу в течение 60 мин при напряженности электрического поля 7 В/см длины геля. Затем гель окрашивали с помощью раствора 2× GelRed (Biotium Cat # 41003) и визуализировали с помощью ChemiDocTMMP (Biorad). Результаты, изображенные на фиг. 20, показывают, что вирусные векторы vCS01, vCS04 и vCS40 имеют геном одинакового размера, обозначенный отдельной полосой в диапазоне 5 кб (фиг. 20, дорожки 2-4). Несмотря на размер вектора около 5,2 кб, геном проявляется в виде однородной полоски, подтверждающей правильную упаковку генома несколько завышенного размера (относительно AAV генома дикого типа 4,7 т.п.н.). Все остальные векторы vCS демонстрируют тот же геномный размер (данные не показаны).

Чтобы подтвердить ожидаемый паттерн капсидных белков, SDS PAGE с последующим окрашиванием серебром проводили с векторами vCS01, vCS04 и vCS40 (фиг. 21). Как показано на фигуре, дальнейшая процедура очистки привела к получению высокоочищенного препарата, демонстрирующего ожидаемый паттерн белков VP1, VP2 и VP3 (фиг. 21, дорожки 2-4). Тот же паттерн был получен для всех других вирусных препаратов (не показаны). Процедура SDS-PAGE препаратов AAV проводилась в соответствии со стандартными протоколами. Каждая дорожка содержала 1E10 vg соответствующей вирусной конструкции и разделялась на 4-12% геле Bis-Tris (NuPAGE® Novex, Life Technologies) в соответствии с инструкциями производителя. Окрашивание серебром выполнялось с помощью набора SilverQuest™ (Novex, Life Technologies) в соответствии с инструкциями производителя.

Удивительно, но AAV-векторы vCS01 и VCS04 имели более плотную упаковку вирионов, измеряемую более высокими выходами при производстве вируса AAV по сравнению с кодирующей конструкцией дикого типа VCS40 и другими конструкциями с оптимизированными кодонами. Как показано в табл. 3, векторы vCS01 и vCS04 реплицируются значительно лучше, чем VCS40, что обеспечивает увеличение выхода AAV в 5-7 раз.

Таблица 3. Выход на 1 л клеточной культуры, полученной с помощью векторных конструкций AAV vCS01, vCS04 и vCD40 при очищении от клеточного осадка

| Конструкция | Векторная концентрация [vg/мл] x10E12 | Выход [vg/л] x10E12 | Кратность увеличения относительно wt |
|-------------------|---------------------------------------|---------------------|--------------------------------------|
| vCS40 | 2.0 | 11.0 | – |
| vCS01 | 9.2 | 51.4 | 4.7 |
| vCS04 – образец 1 | 17.6 | 79.2 | 7.2 |
| vCS04 – образец 2 | 15.9 | 58.8 | 5.4 |

Пример 2. Экспрессия in vivo вариантов экспрессирующих последовательностей фактора VIII с измененными кодонами

Для проверки биологической активности вариантов последовательностей фактора VIII с измененными кодонами, конструкции FVIII типа ReFacto, описанные в примере 1, вводили мышам, не имеющим фактора VIII. Вкратце, анализы проводили с использованием нокаутных по C57B1/6 FVIII мышей (на) (6-8 животных на группу) путем инъекции в хвостовую вену 4E12 векторных геномов (vg) на килограмм массы тела мыши. Кровь отбирали через 14 дней после инъекции путем ретроорбитальной пункции, плазму готовили и замораживали, используя стандартные процедуры. Уровни экспрессии измеряли на 14-й день из-за минимального влияния ингибирующих антител в это время, которое наблюдаются у некоторых животных этой мышинной модели в более поздние сроки. Активность FVIII в мышинной плазме

определяли с использованием анализа Technochrome FVIII с незначительными модификациями, как это было предложено производителем (Technoclone, Вена, Австрия). Для анализа образцы плазмы соответствующим образом разбавляли и смешивали с аналитическими реагентами, содержащими тромбин, активированный фактор IX (FIXa), фосфолипиды, фактор X и кальций. После активации FVIII тромбином образуется комплекс с FIXa, фосфолипидами и кальцием. Этот комплекс активирует FX, приводя к образованию активного FX (FXa), который, в свою очередь, отщепляет пара-нитроанилид (pNA) от хромогенного субстрата. Кинетику образования pNA измеряют при 405 нм. Скорость прямо пропорциональна концентрации FVIII в образце. Концентрации FVIII считываются с контрольной кривой, и результаты приведены в виде IU FVIII/миллилитр.

Результаты, представленные в табл. 4 ниже, демонстрируют, что последовательности с измененными кодонами, разработанные с использованием коммерческих алгоритмов (CS10, CS11 и CH25), обеспечили лишь небольшое увеличение BDD-фактора VIII (в 3-4 раза) по сравнению с конструкцией BDD-фактора VIII дикого типа (CS40). Аналогично, конструкция BDD-фактора VIII с измененными кодонами, полученная, как описано в Radcliffe et al. (CS08) обеспечила лишь 3-4-кратное увеличение экспрессии BDD-FVIII. Этот результат согласуется с результатами, полученными в Radcliff et al. Удивительно, что конструкции CS01, CS04 и CS23 обеспечивали значительно более высокую экспрессию BDD-FVIII в исследованиях активности *in vivo* (соответственно в 18, 74 и 30 раз).

Таблица 4. Экспрессия FVIII в плазме нокаутных по FVIII мышей, индуцированная различными векторными конструкциями AAV

| Конструкция | Кодоновый Алгоритм | Средний Уровень Экспрессии FVIII на 14 День [IU/мл] | Стандартное отклонение | Количество мышей | Кратность увеличения относительно wt |
|-------------|--------------------|---|------------------------|------------------|--------------------------------------|
| vCS40 | Человек, дикий тип | 0.03 | 0.03 | 12 | - |
| vCS01 | Способ Заявителей | 0.55 | 0.28 | 22 | 18.3 |
| vCS04 | Способ Заявителей | 2.21 | 1.20 | 55 | 73.7 |
| vCS08 | Radcliffe et al. | 0.11 | 0.01 | 6 | 3.6 |
| vCS10 | Eurofins | 0.09 | 0.01 | 7 | 3.0 |
| vCS11 | IDT | 0.08 | 0.02 | 8 | 2.7 |
| vCH25 | GeneArt | 0.13 | 0.12 | 18 | 4.3 |
| vCS23 | Способ Заявителей | 0.91 | 0.32 | 5 | 30.3 |

Понятно, что примеры и варианты реализации изобретения, описанные в данном документе, предназначены только для иллюстративных целей и что различные модификации или изменения в свете этого будут предложены специалистам в данной области техники и должны быть включены в объем применения данной заявки и объем прилагаемой формулы изобретения. Все публикации, патенты и патентные заявки, приведенные в данном документе, включены посредством ссылки в полном объеме для всех целей.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Полинуклеотид, содержащий нуклеотидную последовательность, имеющую по меньшей мере 99% идентичности с SEQ ID NO: 1, причем полинуклеотид кодирует полипептид фактора VIII.
2. Полинуклеотид по п.1, отличающийся тем, что нуклеотидная последовательность представляет собой SEQ ID NO: 1.
3. Полинуклеотид, содержащий нуклеотидную последовательность, кодирующую полипептид фактора VIII, указанный полипептид фактора VIII, содержащий легкую цепь, тяжелую цепь и полипептидный линкер, соединяющий С-конец тяжелой цепи с N-концом легкой цепи, причем тяжелая цепь полипептида фактора VIII кодируется первой нуклеотидной последовательностью, имеющей по меньшей мере 99% идентичность с SEQ ID NO: 3; причем легкая цепь полипептида фактора FVIII кодируется второй нуклеотидной последовательностью, имеющей по меньшей мере 99% идентичности с SEQ ID NO: 4; а также где полипептидный линкер содержит фуриновый сайт расщепления.
4. Полинуклеотид по п.3, отличающийся тем, что полипептидный линкер кодируется третьей нук-

леотидной последовательностью, имеющей по меньшей мере 95% идентичности с SEQ ID NO: 6.

5. Полинуклеотид по п.3 или 4, отличающийся тем, что первая нуклеотидная последовательность представляет собой SEQ ID NO: 3 и вторая нуклеотидная последовательность представляет собой SEQ ID NO: 4.

6. Полинуклеотид по любому из пп.1-5, отличающийся тем, что полинуклеотид кодирует полипептид фактора VIII, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2.

7. Полинуклеотид, содержащий нуклеотидную последовательность, кодирующую полипептид фактора VIII, причем полипептид фактора VIII содержит легкую цепь, тяжелую цепь и полипептидный линкер, соединяющий С-конец тяжелой цепи с N-концом легкой цепи, причем тяжелая цепь полипептида фактора VIII кодируется первой нуклеотидной последовательностью, имеющей по меньшей мере 99% идентичности с SEQ ID NO: 3.

8. Полинуклеотид по п.7, в котором тяжелая цепь полипептида фактора VIII кодируется нуклеотидной последовательностью SEQ ID NO: 3.

9. Полинуклеотид, содержащий нуклеотидную последовательность, кодирующую полипептид фактора VIII, причем полипептид фактора VIII содержит легкую цепь, тяжелую цепь и полипептидный линкер, соединяющий С-конец тяжелой цепи с N-концом легкой цепи, причем легкая цепь полипептида фактора VIII кодируется первой нуклеотидной последовательностью, имеющей по меньшей мере 99% идентичности с SEQ ID NO: 4.

10. Полинуклеотид по п.9, в котором легкая цепь полипептида фактора VIII кодируется нуклеотидной последовательностью SEQ ID NO: 4.

11. Полинуклеотид по любому из пп.7-10, отличающийся тем, что полинуклеотид кодирует полипептид фактора VIII, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2.

12. Полинуклеотид по любому из пп.1-11, отличающийся тем, что кодируемый полипептид фактора VIII содержит гликозилируемый полипептид, расположенный между двумя следующими друг за другом аминокислотами

13. Полинуклеотид по любому из пп.1-12, дополнительно содержащий промоторный элемент, функционально связанный с полинуклеотидом, кодирующим полипептид фактора VIII.

14. Полинуклеотид по п.13, отличающийся тем, что промоторный элемент представляет собой специфическую для печени промоторную последовательность перед нуклеотидной последовательностью, кодирующей полипептид фактора VIII.

15. Полинуклеотид по п.14, дополнительно содержащий последовательность интрона, расположенную между специфической для печени промоторной последовательностью и нуклеотидной последовательностью, кодирующей полипептид фактора VIII.

16. Вектор на основе аденоассоциированного вируса (AAV), содержащий полинуклеотид по любому из пп.1-15, для лечения гемофилии А.

17. Частица аденоассоциированного вируса (AAV), содержащая полинуклеотид по любому из пп.1-15, для лечения гемофилии А.

18. Клетка-хозяин, инфицированная частицей аденоассоциированного вируса (AAV), содержащей полинуклеотид по любому из пп.1-15.

19. Способ получения частицы аденоассоциированного вируса (AAV), включающий введение полинуклеотида по любому из пп.1-15 в клетку-хозяин млекопитающего, причем полинуклеотид является способным к репликации в указанной клетке-хозяине млекопитающего.

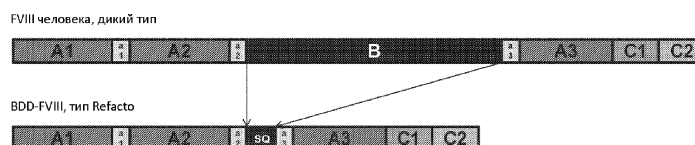
20. Способ лечения гемофилии А, включающий введение пациенту частицы аденоассоциированного вируса (AAV) по п.17.

21. Способ трансдукции клетки-хозяина, включающий контактирование клетки-хозяина с частицей аденоассоциированного вируса (AAV) по п.17.

22. Применение частицы аденоассоциированного вируса (AAV) по п.17 для лечения гемофилии А.

23. Применение частицы аденоассоциированного вируса (AAV) по п.17 для трансдукции клетки-хозяина.

24. Применение частицы аденоассоциированного вируса (AAV) по п.17 для получения лекарственного средства для лечения гемофилии А.



Фиг. 1

CS04-FL-NA

atgcagatttgagctgagcaccctgcttcttccctgtgcctgctgaggttctgcttctctgcccacaggag
gatactaccctgggggctgtggagcttcttctgggaactacatgcagctctgacctgggggagctgacctgt
ggatggcaggttcccacccagagtgcccacaaatccctccattcaacacccctctgtggtctacaagaag
acccctcttctgtggagtttcactgaccacccctgttcaacattgcccacccagggccacccctggatgggac
tccctgggacccacccattcaggctgaggtgtatgacactgtggtcatcaccctcaagaacatggcctc
ccaccctgtgagcctgcatgctgtgggggtcagctactggaaggcctctgaggggctgagtatgcat
gaccagacctcccagagggaaggaaggatgacaaagtgttccctgggggacacccacacctatgtgt
ggcaggtccctcaaggagaatggcccatggcctctgacccacctctgctgacctactccaccttctc
tcatgtggacctggtcaaggacctcaactctggactgattggggccctgctggtgtgacgggagggg
tccctggcccacaaagagaagaccagacctgcacaagttcattctcctgtttgctgtctttgatgagg
gcaagagctggcactctgaacccaagaactccctgatgcaggacaggatgctgacctctgcccagggc
ctggcccagaatgcacacitgtgaatggctatgtgaacaggagcctgctggactcattggctgcac
aggaatctgtctactggcatgtgattggcatggggacacccctgaggtgacctccatttctctgg
agggccacaccccttccctggctcaggacacacagacaggccacgctggagatcagcccatcaccctcc
cactgcccagacctgctgatggacctcggacagtctctgctgttctgcccacacagctcccaccag
catgatggcatggaggcctatgtcaaggtggacagctgacctgaggagccacagctcaggatgaaga
acaatggaggagctgaggactatgatgatgacctgactgactctgagatggatgtggttccctcttga
tgatgacacacagcccatccttctcattcagatcaggctctgtggccaaagaacaccccagaacctgggtg
cactacatttctgctgagggaggagactgggactatgcccactggttccctggccctgatgacagga
gctacaagagccagctaccctcaacaaatggcccacagaggatgggacgaagtacaagaagtcagggt
ctatggcctacactgatgaaccttcaagaccaggaggccattcagcatgagctggcatcctggg
ccactcctgtatggggaggtgggggacacccctgtctcatcatttcaagaaccaggcctccaggccct
acaacatctaccacacatggcatcactgatgtcaggccctgtacagcccgaggctgcccacagggggt
gaacacacctcaaggacttcccatcttctgctggggagatcttcaagtacaagtggactgtcactgtg
gaggatggacccacccaaatctgacccaggtgacctcaccagatactactccagcttctgtgaacatgg
agaggacctggcctctggcctgatggcccactgctcatctgctacaaggagctctgtggaccagag
gggaacccagatcatgtctgacaaagggaatgtgatctgttctctgtcttctgatgagaacaggagc
tggctactgactgagaacattcagcgttctgcccacccctgctgggggtgagctggaggacctg
agttccaggccagcaacatcatgacctccatcaatggctatgtgtttgacagcctccagcttctgt
ctgacctgcatgaggtggcctactggtacattcttctctatggggccacagactgacttctcttctgtc
tcttctctggctacacccctcaacacacagatgggtgatgaggacacccctgacctcttcccatctc
ctgggggagactgtgttctatgagcatgggaacccctggcctgtggattctgggatgcccacactctga
cttccgcaacaggggcatgactgacctgctcacaagtctcctcctgtgacaaagacactggggactac
tatgggacagctatgaggacatctctgacctgctcagcaagaacaatgccattgagcccagga
gcttcagccagaaatccacctgtcctgaaacgcccacagaggagatcaccaggacacccctccagtc
tgaccaggaggagattgactatgatgacacccatttctgtggagatgaagaagaggagctttgacatc
tatgacgaggacagagaacccagagcccagggagcttccagaagaagacacaggcactacttcatgtgt
ctgtggagcgcctgtgggactatggcatgagctccagccccaagtccctcagggaacaggccacgac
tggctctgtgcccacagtccaagaagtgggtcttccaagagtctactgatggcagcttcaaccagccc
ctgtacagaggggagctgaatgagcaccctgggactcctgggcccatacatcagggctgaggtggagg
acaacatcatggtagcttccgcaaccaggcctccaggccctacagcttctacagctccctctcatcag
ctatgagcaggacccagggcaggggctgagccacgcaagaacttctgaaacccaatgaacccaag
acctacttctggaaagtccagcaccacatggccccaccacaggatgagtttgactgcaaggcctggg

(Продолжение)

Фиг. 2А

ccactctctctgatgtggacctggagaaggatgtgcactctggcctgatggcccactcctgggtctg
ccacaccaacacccctgaaccttgcccatggaaggccaagtgaactgtgcaggagtttggcctcttcttc
acctcttctgatgaacccaagagctggtaacttcaactgagaacatggagcgcacactgcaggggcccat
gcaacattcagatggaggacccaccccttcaaaagagaactaccgcttccatgccatcaatggctacat
catggacacccctgcttgggcttgtcatggcccaggaccagaggatcagggtggtaacctgcttctcatg
ggctccaatgagaacattcaactccatccacttctctgggcatgtcttcaactgtgcccagaaggagg
agtaacaagatggccctgtacaacctctacccctggggtcttcttgagactgtggagatgctgcccctcaa
agctggcatctggagggtggagtgcctcattggggagcaccctgcatgctggcatgagcaccctgttc
ctggctacagcaacaagtggcagacccccctgggaatggcctctggccacatcagggaacttccaga
tcaactgacctggccaglatggccagtgggcccccaagctggccaggctccactactctggatccat
caatgctggagcaccacaggaagccattcagctggatcacaagtggacctgctggcccccatgatcatc
catggcatcaagaccagggggcccaggcagaagttctccagcctgtacatcagccagtttcatcatca
tgtacagcctggatggcaagaatggcagacctacagaggccaactccactggaaactcatggtctt
ctttggcaatgtggacagctctggcatcaagcacaacatcttcaaccccccaatcatcgccagatac
atcaggctgcacccacccactacagcatccgagcaccctcaggatggagctgatgggctgtgacc
tgaactcctgcagcatgccccctgggcatggagagcaaggccatttctgatggccagatcactgctc
cagctacttcaaccaactgtttgccacctggagcccacgaaggccaggctgcacctccagggaagg
agcaatgcttggaggccccaggtcaacacccccaaaggagtgctgcagggtgagcttccagaagacca
tgaaggctcactgggtgacccacaggggtcaagagcctgctcaccagcatgtatgtgaaggagtt
cctgatcagctccagccaggatggcccacagtggaacctcttcttccagaatggcaaggctcaagggtg
ttccagggaacccaggacagcttccacctgtggtgaacagcctggacccccctctgacctgacat
acctgaggtattccccccagagctgggtccaccagattggcctgaggatggagggtcctgggatgtga
ggcccaggacctgtactga (SEQ ID NO:1)

Фиг. 2В

CS04-FL-AA

MQIELSTCFLLCLLRFCSATRRYYLGAVELSWDYMQSDLGELPVDAR' FPPRVPKSFFPNTSVVYK
 KTLFVEFTDHLFNIAKFRPPWMGLLGTIQAENVYDTVITLKNMASHFVSLHAVGVSYWKASEGAEY
 DDQTSQREKEDDKVFFGGSHYVWQVLKENGPMASDPLCLTYSYLSHVLDVKDLNSGLIGALLVCRE
 GSLAKEKTQTLHKFILLFAVFDEGKSWHSETKNSLMQRCZAASARAWPKMHTVNGYVNRSLPGLIGC
 HRKSVYWHVIGMGTTEVHSIFLEGHTFLVRNHRQASLEISPTITLTAQTLMDLQGLLPLCHISSH
 QHDGMEAYVVDSCFEPPQLRMKNNEEAEDYDDDLTDSEMDVVRFDDNSPSFIQIRSVAKKHPRITW
 VHYIAAEEEDWDYAPLVLAPDDRYSKYSLNNGPQRIGRYKKVREMAITDETFKTREAIQHESGIL
 GPLLYGEVGDLLIIFKNOASRPYNIYPHIGITDVRPLYPKGVKHLKDFILPGEIIFYKWTVT
 VEDGPTKSDPRCLTRYYSFVNMRDLASGLIGPLLIICYKESYDQSGNQIMSDKRNVLTSVFDENR
 SWYLTEINIQRFPLNPAGVQLEDPEFQASNMHSINGYVFDLSQLSVCLHEVAYWYILSIGAQTDFLS
 VFFSGYTFKHMYVEDTLTLFFPSGETVFMSENPGWLILGCHNSDFRNRGMTALLKVSSCDRNTGD
 YYEDSYEDI SAYLLSKNNAIEFRSFGQNPVVKRKHOREITRTTLQSDQEEIDYDDTISVEMKKEDFD
 IYDEDENQSPRSPQKKTRHYFIAAVERLDWYGMSSSPHVLNRNAGSGSVPOFKKVVFQEFDTGSFTQ
 PLYRGELNHLGLLGPYIRAEVEDNIMVTFRNQASRPYSFYSSLI SYEEDQRCQGAEPKPNVPKPNET
 KTYEYKQVHMHMATEKDEFDCKAWAYFSDVLEKDVHSGLIGPLLVCHTNTLNPFAHQVQVTFQEEFALF
 FTTFIDETKSWYFTENMERNCRAPCNIQMEDPTFKENYRFHAINGYIMDTLPGLVMAQDQIRIRWYLLS
 MGNENIHSIHFSCHVFTYRKKEEYKMALYNLYPGVFTVEMLPKAGIWRVVECLICEHLHAGMSTL
 FLVYNSKCOQTPLGMAHGHIRDFQITASGQYGCWAPKLARLHYSGSINAWSTKEFFSWKRVLLAPMI
 IAGIKTQGARQKFSLSLYISQFTIMYSLDGKKWQTYRGNSGTMLVYFGNVDSSGIKHNIIFNPPIAR
 YIRLHPHYSIRSTLRMELMGCDLNSCMLPMGESKAISDAQITASSYFTNMFTWSPSKARLHLQG
 RSNAWRPQVNNPKEWLQVDFQKTKHVTGVTTQGVKSLTSMYVKEFLISSSCDGHQWTLFPQNGKVK
 VFQGNQDSFTPVVNSLDPPLLTRYLRIFHQSWVHQIALRMEVLGCEAQDLY (SEQ ID NO:2)

Фиг. 3

CS04-HC-NA

gcc
 accaggagat actaccctggg ggcgtgtggag cttctcttggg actacatgca gctcagacctg
 ggggagctgc ctgtggatgc caggttccca cccagagtgc ccaaatccct cocattcaac
 accctcttgg tctacaagaa gacctcttt gtggagtcca ctgaccacct gttcaacatt
 gccaaaccca ggccaccctg gatgggactc ctgggaccca ccatcagagg tgaggtgtat
 gacactgtgg tcatcaccct caagaacatg gccctccacc ctgtgagcct gcattgctgtg
 ggggtcagct actggaaggc ctctgagggg cctgagtatg atgaccagac ctccagagg
 gagaaggagg atgacaaagt gttccctggg ggcagccaca cctatgtgtg gcaggtccct
 aaggagaaat gccccatggc ctctgaccca cctgacctga cctactccta ccttctcat
 gtggacctgg tcaaggacct caactctgga ctgattgggg cctctgttgt gtgcaggagg
 ggcctccctgg ccaagagaa gacccagacc ctgcacaagt tcatctctct gtttgcctgc
 tttgatgagg gcaagagctg gcaactctga accaagaact cctgatgca ggcagggat
 gctgcctctg ccaggggcctg gcccaagatg cactctgtga atggctatgt gaacaggagg
 ctgctctggac tcatctggctg ccaacagaaa tctgtctact ggcattgtgat tggcatgggg
 acaaccctg aggtgcactc cattttctct gagggcacac ccttcttgt caggaaaccac
 agacaggcca gcttgagat cagcccatc acccttctca ctgcccagac cctgctgatg
 gacctcggac agtctcctgct gttctgccc acacagctccc accagcatga tggcatggag
 gcttatgtca aggtggacag ctgacctgag gaggccacag tcaggatgaa gaacaaatga
 gaggtctgag actatgatga tgacctgact gactctgaga tggatgttgt ccgctttgat
 gatgacaaca gcccatcctt cattcaagatc aggtctgttg ccaagaaaca cccaagacc
 tgggtgcact acattgtctg tgaggaggag gactgggact atgcccact ggtcctggcc
 cctgatgaca egagctacaa gagccagtac ctcaacaatg gccacagag gattggaccg
 aagtacaaga aagtcagggt catggccctac actgatgaaa cctcaagac caggaggacc
 attcagcatg agtctggcat cctgggcca cctctgtatg gggaggtggg ggacacctg
 ctcatcatc tcaagaacca ggctccagg ccctacaaca tctaccaca tggcatcact
 gatgtcaggc cctgttacag ccgaggctg ccaaggggg tgaaccact caaggacttc
 cccattctgc ctggggagat ctcaagtac aagtggaact tcactgtgga ggcagggacc
 accaaatctg accccagggt cctcaccaga tactactcca gcttctgtaa catggagagg
 gacctggcct ctggcctgat tggcccactg ctcatctgct acaaggagtc tgtggaccag
 aggggaaacc agatcatgtc tgacaaggag aatgtgatc tgttctctgt ctttgatgag
 aacaggagct ggtacctgac tgagaacatt cagccttcc tggcccaacc tgcctgggtg
 cagctggagg accctgagtt ccaggccagc aacatcatgc actccatcaa tggcatgtg
 tttgacagcc tccagcttct tgtctgctg catgaggtgg cctactggta cattctctct
 attggggccc agactgactt ccttctgtc ttctctctg gctacacct caaacacaag
 atggtgtatg aggcacacct gacctcttc ccttctctg gggagactgt gtcctgagc
 atggagaacc ctggcctgtg gattctggga tggcacaact ctgactcct caacaggggc
 atgactgccc tgcctaaagt ctctctctgt gacaagaaca ctggggacta ctatgaggac
 agctatgag acatctctgc ctacctgtc agcaagaaca atgcatgga gccagg
 (SEQ ID NO:3)

Фиг. 4

CS04-LC-NA

```

g agatcaccag gaccacccctc
cagttctgacc aggaggagat tgactatgat gacaccattt ctgttgagat gaagaagagag
gacttttgaca tctatgacga ggacgagaac cagagcccaa ggagcttcca gaagaagacc
aggcactact tcatgtctgc tgtggagccc ctgtgggact atggcatgag ctccagccccc
catgtcccca ggaaccagggc ccagtctgac tctgtgccc agtllcaagaa agtgggtctc
caagagttca ctgatggcag cttcaccag cccctgtaca gaggggagct gaatgagcac
ctgggactcc tgggcccata catcagggct gaggtygagg acaacatcat ggtgaccttc
cgcaaccagg cctccaggcc ctacagcttc tacagctccc tcatcagcta tgaggaggac
cagaggcagg gggctgagcc acgcaagaac tttgtgaaa ccaatgaac caagacctac
tctggaaaag tccagcaca catggccccc accaaggatg agtttgactg caaggccctg
gectacttct ctgatgtgga cctggagaag gatgtgact ctggcctgat tggcccactc
ctggtctgcc acaccaaac cctgaacctt gcccatgaaa ggcaagtga tgtgcaggag
tttgccctct tctcaccat ctttggatga accaagagct ggtacttcc tgagaacatg
gagcgcaact gcaggggccc atgcaacatt cagatggagg accccactt caagagagac
taccgcttcc atgccatcaa tggctacatc atggacaccc tggctgggct tctcatggcc
caggaccaga ggatcaggtg gtacctgctt tctatgggt ccaatgagaa catlccactc
atccacttct ctgggcatgt cttcaactgt cgcaagaagg aggagtagaa gatggccctg
tacaacctct accctgggggt ctttgagact gtggagatgc tggccctcaa agctggcctg
tgagggggtg agtgccctcat tggggagcac ctgcatgctg gcatgagcac cctgttctctg
gtctacagca acaagtgcga gacccccctg ggaatggct ctggccactc cagggacttc
cagatcactg cctctggcca gtagggccag tggcccacca agctggccag gctccactac
ctgggaccca tcaatgctgt gaggaccagg gaggcattca gctggatcaa agtggacctg
ctggccccc tgaatcaca tggcatcaag acccaggggg ccaggccagaa gttctccagc
ctgtacatca gccagttcat catcatgtac agcctggatg gcaagaaatg gcagacctac
agaggcaact ccactggaac actcatgct tcttttgcca atgtggacag cctgaccatc
aagcacaca tcttcaacc ccaatcatc gccagatata tcaggctgca ccccaccac
tacagcatcc gcagaccct cagatggag ctgatgggt gtgacctgaa cctctgcagc
atgcccctgg gcatggagag caaggccatt tctgatgccc agatcactgc ctcagctac
ttcaccacaa tgtttgccc ctggagccca agcaaggcca gcttccactc ccaaggagag
agcaatgctt ggaggcccca ggtcaaac ccaaaaggat ggctgcaggt ggaacttccag
aagaccatga aggtcactg ggtgaccac cagggggtca agagcctgct caccagcatg
tatgtgaagg agtctctgat cagctccagc caggatggcc accagtggac cctcttcttc
cagaatggca aggtcaaggt gttccagggc aaccaggaca gcttccccc tgtggtgaa
agcctggacc ccccccctt gaccagatc ctgaggatc accccagag ctgggtccac
cagattgccc tgaggatgga ggtcctggga tgtgaggccc aggacctgta c
(SEQ ID NO:4)

```

Фиг. 5

- BDL001** - agc ttctctcaga atccacctgt cctgaagaga caccagaga (SEQ ID NO:5)
- BDL004** - agc ttcagccaga atccacctgt cctgaaacgc caccagagg (SEQ ID NO:6)
- BDL023** - agc ttcagccaga acccccctgt cctgaagagg caccagagg (SEQ ID NO:7)

Фиг. 6

CS04-AV-NA

```

1 tgcgcgcttt cgggtgatgac ggtgaaaacc tctgacacat gcagctccc gagacgggtca
61 cagcttctct gtaacaggat gccgggagca gacaaacccg tcaggggcgcg tcagcggggg
121 tggcgggggt tgggggcttg ctttaactatg cggcatcaga gcagattgta ctgagagtg
181 accatagtgc gtgtgaaata ccgcacagat cgttaaggag aaaaaccgcg atcaggccgc
241 attcgccatt caggctgcgc aactgttggg aaggccgcat ggtgcgggccc tcttcctat
301 taccgcagct ggccgaaagg ggaatgtctg caagccgatt aagtgtggta accccaggt
361 tttccagtc acgacgttgt aaaaagagcg caagtgaatt cctcgagatt taactgctat
421 tggccactcc ctctctgcgc gctgcctcgc tcactgaggg cgggcgacaa aaggtgcgcc
481 gaggccggcg ctttgcggcg gggccctcag ttagcgagcg agcgccgaga gaggagtg
541 ccaactccat cactagggtt cctgagttt aaacttcgct gacgatcga gcttgggctg
601 caggtcgagg gcactgggag gatgttgagt aagatgaaa actactgat accctgcag
661 agacagagta ttaggacatg ttgaaacagg ggcgggcga tcagcaggtg gctctadagg
721 ahcccgtct gtctgcacal ttgfhagagc gagtgttccg atactctaat ctccctagg
781 aaggttcata tttgtgtagg ttacttaltc tctttttgtt gactaagtca ataactcaga
841 tcagcaggtt tggagtgcgc ttggcaggga tcagcagcct gggttggaag gagggggtat
901 aaaaagccct tcaccaggag aagccgtcac acagactagg cgcgccaccg ccaaccatga
961 gattgagctg agcaactgct tcttctgtgt cctgctgagg ttctgcttct ctgcaccag
1021 gagatactac ctgggggctg tggagcttct ttgggaactac atgcagctct acctggggga
1081 gctgcctgtg gatgcagggt tcccaccag agtgcccaaa tcttcccat tcaacacctc
1141 tgtggtctac aagaagaccc tcttctgga gttcautgac cactgttca acatlgccaa
1201 acccaggcca cctggtagg gactcctggg acccaccatt cagctgagg tgtatgcac
1261 tgtggtctac accctcaaga acatggcctc ccaacctgtg agcctgcag ctgtgggggt
1321 cagctactcg aaggcctctg agggggctga gtagatgac cagacctccc agaggagaa
1381 ggaggtgac aaagtgttcc ctgggggcag ccaacacctat gttggcagg tctcaaggga
1441 gaatggcccc atggcctctg acccactctg cctgacctac tctactctt ctcatgtgga
1501 cctggtcaag gacctcaact ctggactgat tggggccctg ctggtgtgca gggagggctc
1561 cctggccaaa gagaagaccc agaccctgca caagttcatt ctctgtttg ctgtctttga
1621 tgagggcagg agctggcact ctgaaaccaa gaactccctg atgcaggaca gggatgctgc
1681 ctctgcccag gctggccca agatgcacac tgtgaatggc tatgtgaaca ggaacctg
1741 tggactcatt ggtgccaca ggaatctgt ctaactgcat gtagttgca tggggcaaac
1801 cctgaggtg cactccatt tctggaggg ccaacacctc ctggccagga accacagaca
1861 ggccagccg gagatcagcc ccatcactt cctcactgca cagacccgc tgatggacct
1921 cggcagcttc ctgctgttct gccacatcag ctcccaccag catgatggca tggaggccta
1981 tgtcaaggtg gacagctgcc ctgaggagcc acagctcagg atgaagaaca atgaggaggc
2041 tgaggactat gatgatgacc tgaactgact tgagatggat gttgtccgct ttgatgatga
2101 caacagccca tcttcaatc agatcaggct tgtggccaa gaaaccccca agacctgggt
2161 gcaactacat gctgctgagg aggaggactg ggaactatgcc ccaactgctc tggccctga
2221 tgacaggagc tacaagagcc agtacctcaa caatggccca cagaggattg gacgcaagta
2281 caagaagatg aggttcatgg cctcactga tgaacacctc aagaccagg aggcacctca
2341 gcaaggtct ggractctgg gccactcct gtagggggag gtaggggaca cctgctctat
2401 catcttcaag aaccaggct ccaaggccca caacatctac ccaatggca tcaatgatgt
2461 caggccccc taccagcca ggtgccaaa gggggtgaaa cactcaagg acttcccat

```

Фиг. 7A

```

2521 tctgcoctggg gagatcttca agtacaagtg gaactgtcaat gtggaggtatg gacaaaccaa
2581 atctgaacccc aggtgctctca ccagatacta ctccagcttt gtgaactgtg agggggaact
2641 ggcctctggc ctgattggcc cactgctcat ctgtacaag gactctgtgg accagagggg
2701 aaaccagatc atgtctgaca agagggaatg gatctgtctc tctgtcttgg atgagaacag
2761 gagctggtag ctgactgaga acattcagcg ctctctggcc aacctgtctg gggtagact
2821 ggaggaacct gagtccagg ccagcaacat catgcactcc atcaatggct atgtgtttga
2881 cagcctccag ctctctgtct gctgcactga ggtggcctac tggtaacatc tttctattgg
2941 ggcccgagact gacttccitt ctgtcttctt ctctggctac accttcaaac acaagatggg
3001 gtatgaggac accctgaccc tcttccatt ctctggggag actgtgttca tgagcatgga
3061 gaacctggc ctgtggattc tgggatgcaa caactctgac ttccgcaaca gggcatgac
3121 tgcctgtctc aaagtctcct cctgtgacaa gaacactggg gaactactatg aggcacgta
3181 tgaggaacatc tctgctatcc tctctcagca gaacactgct attgagccca ggaactttag
3241 ccagaatcca cctgtctctga aacgccaacca gagggagatc accaggaaca cctccagtc
3301 tgaccaggag gagattgact atgatgacac catcttctgt gagatgaaga aagaggactt
3361 tgacatctat gacgaggacg agaaccagag cccaaggagc ttccagaaga agaccaggca
3421 ctacttcaat gctgctgtgg agcgcctgtg ggaactatgg atgagctcca gcccctatg
3481 cctcaggaac agggcccagt ctggctctgt gacacagttc aagaaactgg tcttccaga
3541 gttaactgat ggcagcttca cccagccctt gtaccagggg gagctgaaat agcaactggg
3601 actcctgggc ccatacctca ggcctgaggt ggaggaacaa atcaaggta ccttccgaa
3661 ccaggccctc aggccttaca gcttctacag ctccctcacc agctatgagg aggaaccag
3721 gcaaggggct gagctcagca agaactttg. gaacccaact gaacccaaga cctacttctg
3781 gaaggtccag caccacatgg cccccaacaa ggaatgagtt gactgcaggy cctgggctc
3841 ctctctgat gtggacutgg agaaggaatg gcaacttggc ctgattggcc cactcctggg
3901 ctgcacaccc aacacctga accctgcca tggaaaggcaa gtgaactgtc aggaatttgc
3961 cctcttcttc accacttttg atgaacccaa gagctgggat ttcaactgaga acatggagcg
4021 caactgcagg gcccatgca acattcagat ggaggaaccc acctcaag agcaactacc
4081 ctccatgccc atcaatggct acatcatgga caccctgctt gggctgttca tggcccagga
4141 ccagaggatc aggtgttacc tgttcttcat gggctccaat gagaacatc acctcatcca
4201 ctctctggg catgtcttca ctgtgcgcaa gaaggaggag tacaagatgg cctgttaca
4261 ctctacacct ggggtctttg agactgtgga gatgctgccc tccaagctg gcactgtgga
4321 ggaggagctc ctaattgggg agcacctgca tctgtcgcat agcacctgt tctgtgtcta
4381 cagcaacaaag tccagaccc cctgggaat ggcctctggc cacatcagg acctccaga
4441 cactgctctt ggcctagtat gccagtgggc cccaagctg gccaggtctc actactctg
4501 atccatcaat gcttgagca ccaaggagcc attcagctgg atcaaaagg acctgctggc
4561 ccccatgcat atccatgcca tcaagaccca gggggccagg caggaagtct cccagctgtc
4621 caccagccag tccatctcca tgtacagctt ggaatggcaa aaatgggaga cctacagag
4681 caactcactt ggaacactca tggctcttct tggcaatgtg gacagctctg gcaatcagca
4741 caactcttc aaccccccaa tcatcgccag atacatcagg ctgcacacca cccactacag
4801 caccgcagc accctcagga tggagctgat gggctgtgac ctgaactcct gaagcatgcc
4861 cctgggcatg gagagcaagg ccatttctga tgcaccagat actgcctcca gctacttacc
4921 caacatgttt gccacttggg gcccaagcaa ggcaggctg cactccagg gaaggagcaa
4981 tgcctggagg cccaggtca acaacccaaa ggaatggctg caggtgactt tccagaagac

```

Фиг. 7В

```

5041 catgaaggtc actgggggtga ccacccaggg ggtcaagagc ctgctacca gcatgtatgt
5101 gaaggagttc ctgacagct ccagccaggga tggccaacag tgaacctct tcttccagaa
5161 tggcaaggtc aaggtgttcc agggcaacca ggaacagctt acccctgtgg tgaacagact
5221 ggaaccccc cctctgacca gatacctgag gattacccc cagagctggg tccaccagat
5281 tgccttgagg atggaggtcc tgggatgtga ggcaccaggac ctgtactgat gacgagcgg
5341 cgtctttagt agcagtatcg acaataaaag atctttattt tcatatagatc tgttgttgg
5401 ttttttgtgt gtttaattaa ctgcggaagg aacccctagt gatggagttg gccactccct
5461 ctctgcgcgc tctctctctc actgagggcg ggcgacccaa ggtcgcaccga cgcgcgggct
5521 ttgcccgggc ggcctcaagt agcgagcgag cgcgcagaga gggagtggcc aagacgattt
5581 aaatgacaa ctggcgtaa tcatggtcat agctgttcc tgtgtgaaat tgttatcgc
5641 tacaaltcc acacaaata cgaagcggaa ccaataaagt taaagcctgg ggtgcctaat
5701 gagtgaatca actcacatta attgcgttgc gctcactgct cgttttccag tggggaaccc
5761 tgtcgtgcca cctgcattaa tgaatcgccc aacgcgcggg gagaggcggg ttgcgtattg
5821 ggcgtcttcc cgtctctctg ctcactgact cgtctgcctc ggtcgttcgg ctgcgcgag
5881 cgttatcagc tcactcaaa ggcgttaata ggttatccac agaactcagg gataacagag
5941 gaagaacatc gtgagcaaaa ggcagcagaa aggcacggaa ccgtaaaaag gccgcgttgc
6001 tggcgttttt ccataggctc cgcgcccttg acgagcatca caaaaatcga cgtcacttca
6061 agaggtggcg aaacccgaca ggaactataa gataccaggc gtttccccc cgaagctccc
6121 tctgtgcctc tctgttccg accctgcgcg ttaacggata cctgtccgc tttctcctt
6181 cgggaagcgt ggcgtttct catagctcac gctgtaggta tctcagttcg gtgtaggctg
6241 ttccgtccaa gctgggctgt gtgcacgaac ccccgttca gcccgaccgc tgcgccttat
6301 cgcgttaacta tctgtttgag tccaacccgg taagacagca cttatcgcca ctggcagcag
6361 cactggttaa caggatttag agagcgaggt atgtaggcgg tctacagag ttttgaagt
6421 gctggcctaa ctacgctac actagaagaa cagtatttgg tatctgcgt ctgctgaagc
6481 cagttaacct cggaaaaaga gttggtagct ctgtatccgg caaaaaaac accgctggta
6541 ggggtgtt ttttgtttg aagcagcaga ttacgcgag aaaaaaagg tctcaagaag
6601 atcctttgat ctttctacg gggctgacg ctcaagtggaa cgaaaactca cgttaaggga
6661 ttttgttcat gagattatca aaaaggatct tcaactagat ccttttaaat taaaaatgaa
6721 gttttaaatc aatctaaagt atatatgagt aacttgggtc tgacagttac caatgcttaa
6781 tcaagtgggc acctatctca gcatctgtc tatttcttcc atccatagtt gctgactcc
6841 cgtctgtgta gataactacg atacgggagg gtttaccatc tggcccaggt gctgcaatga
6901 taccgcgaga cccacgctca cgggtctcag atttatcagc aataaaccag ccagccggaa
6961 gggccgagcg cagaagtgtt cctgcaactt tatccgcctc catccagct attaattgtt
7021 gccgggaagc tagagtaagt agttcgccag ttaatagttt gcgcaacgtt gttgccattg
7081 ctacaggcat cgttgttga cgtctgtctg ttggtatggc ttcatcagc tccggttccc
7141 aacgatacag gcgagttaca tgatcccca tgttgtgcaa aaaagcgtt agctccttcg
7201 gctctccgat cgttgtcaga agtaagttgg ccgcagtggt atcaactcatg gttatggcag
7261 cactgcataa tttctttact gtcatgccat ccgtlaagatg cttttctgtg actggtgagt
7321 actcaaccaa gtcattctga gaatagtgt tgcggcgacc gacttgcct tgcgcggcgt
7381 caatacggga taataccgcg cccatagatga gaactttaaa agtgcctatc attggaaaaa
7441 gttcttcggg gcqaaaaact tcaaggatct taccgctgtt gagactccag tcatgtaac
7501 caactcgtgc acccaactga tcttccagat cttttacttt caccagcgtt tctgggtgag
7561 caaaaacagg aaggcaaat gccgcaaaa agggcaataag ggagacacgg aaatgttgaa
7621 tactcatact ctctctttt caatatattt gaagcattta tcaaggttat tgtctcatga
7681 gccgatacat atttgaatgt atttgaaaaa ataaaaaat aggggttccg ccgacatttc
7741 ccgaaaaagt gccacctgac gtcataagaa ccattattat catgacatta acctataaaa
7801 ataggcgtat cagcaggccc ttctgtc (SEQ ID NO:8)

```

Фиг. 7С

CS04Δ(760-1667) - CS04-SC1-NA

ATGCAAGATTGAGCTGAGCACTGCTTCTTCTGCTGCTGCTGAGGTTCTGCTTCTCTGCCACGAGGAGATAC
TACCTGGGGGCTGTGGAGCTTTCTTTGGGACTACATGCACTGTGACCTGGGGGAGCTGCCCTGTGGATGCCAGG
TTCCGACCCAGAGTGGCCAAATCCTTCCGATTCAAGACCTCTGTGGTCTCAAGAAGAGCCCTTTTGTGGAG
TTCACCTGACCACTCTGTCAACATTTGCCAAACCCAGGCCACCTGGATGGGACTCCTGGGACCCACCATCTCAG
GCTGAGGTTGATGACACTGTGGTCAACCCCTCAAGAACATGGCTCCCACTCTGTGAGGCTGCATGCTGTG
GGGCTCAGCTATTTGGAAGCCCTCTGAGGGGGCTCAGTATGATGACCAAGCTCCACAGGAGGAGAGGAT
GACAAAGTGTTCCTTGGGGGACCCACACCTATGTGTGGCAGTCCCTCAAGGAGMATGSCCCCTTGGCTCT
GACCCACTCTGCTGACCTACTCCTACCTTTCTCATGTGGAGCTGGTCAAGGAGCTCAACTCTGAGACTGATT
GGGGCCCTGCTGGTGTGTCAGGGGAGGGCTCCCTGGCCAAAGAGAGACCCAGACCTGCACAAAGTTCAATCTC
CTGTTTGGCTGTCTTTGATGAGGGCAAGAGCTGGCACTCTGAAACCAAGAACTCCCTGATGCAAGGACAGGAT
GCTGCTCTGCGCAGGGCCCTGGCCAAAGATGCACACTGTGAATGCTATGTGAACAGGAGCTGCCTGGACTC
ATTGGCTGGCCACAGGAAATCTGTCTACTGGCATGTGATTGGCATGGGGACACCCCTGAGGTGCATCCATT
TTCCTGGAGGGCCACACCTTCTCTGGTCAGGAACACAGAGCAGGCCAGCCCTGGAGATCAGCCCTCATCACTTC
CTCACTGCCAGACCTCTCTGATGGACTCGGACAGTTCTCTCTTCTGCCACATCAGCTCCACACAGCAT
GATGGCATGGAGGCTATGTCHAGGTGGACAGCTGCCCTGAGGAGCCACAGCTCAGGATGAAGAACATGAG
GAGGCTGAGGACTATGATGATGACCTGACTGACTCTGAGATGGATGTGGTCCGCTTGTATGATGACAAACAGC
CCATCCTTCAITTCAGATCAGGTTCTGTGGCCAAAGAAACACCCAAAGACCTGGGTGCATACATTGCTGCTGAG
GAGGAGGACTGGGACTATGCCCACTGTCTCTGGCCCTGATGACAGGAGCTACAGAGGACCTGACCTCAAC
AATGGCCACAGAGGATTGGAGCAAGTACAAGAAAGTCAGGTTCTATGGCTTACACTGATGAACCTTCAAG
ACCAGGAGGGCCATTCAGCATGAGTCTGGCATCTCTGGGCCCACTCTCTGTATGGGAGGTGGGGGACACCTCTG
CTCATCATCTTCAGAACACAGGCCCTCCAGGCCCTACAAACATCTACCCACATGGCACTCACTGATGTGAGGCC
CTGTACAGCCGACAGGCTGCCAAAGGGGGTGAACACCTCAAGGACTTCCCATTTCTGCTGGGAGATTTTC
AAGTACAGTGGACTGTCACTGTGGAGGATGGACCAACAAATCTGACCCACAGTGCCTCACCAAGATCTACT
TCCAGCTTTGTGAACACTGGAGGGGACCTGGCCCTCTGGCTGATTTGGCCCACTGCTCATCTGCTACAAAGGAG
TCTGTGGACCCAGGGGGAACCAAGATCATCTGTGACAAAGGAAATGTGATTCTGCTCTCTGCTTTGATGAG
AACAGGAGCTCTACTCTCACTGAGAACATTCAGCCCTCTCTGCCAACCCCTGCTGGGGTGCAGCTCGAGGAC
CCTGAGTTCCAGGGCAGCAACATCATGCATCCATCAATGGCTATGTGTTGACAGCCCTCCAGCTTTCTGCTC
TGCCTGCATGAGGTTGGCTTACTGGTACATTTCTTTCTATGGGGCCAGACTGACTCCCTTTCTGCTTCTCTC
TCTGGCTACACCTTCAACACAAAGATGGTGTATGAGGACACCTGACCCCTCTTCCCATTTCTCTGGGAGACT
GTGTTTCATGAGCATGGAGAACCTTGGCTCTGGATTCTGGGATGCCAACACTCTGACTTCCGCAACACAGGGC
ATGACTGCCCTGCTCAAGTCTCTCTCTGTGACAAAGAACCTGGGACTACTATGAGGACAGCTATGAGGAC
ATCTCTGCTTACCTGCTCAGCAAGAACAAATGCCATTGAGGCCAGGGAGATCACCAGGACCACTCTCAAGTCT
GACCAAGGAGGAGATTGACTATGATGACACCAATTTCTGTGGAGATGAAGAAAGAGGACTTTGACATCATGAC
GAGGACGAGAACAGAGCCCAAGGAGCTTCCAGAAAGAACAGGACACTACTTCATTGCTGCTGTCGAGGCC
CTGTGGGACTATGGCATGAGCTCCAGCCCCCATGTCTCAGGAACAGGGCCAGCTTGGCTCTGTGCCACAG
TCAAGAAAGTGGTCTTCCAAAGATTCACTGATGGCAGCTTCACCAGCCCTGTACAGAGGGGAGCTGAAT
GACCACTTGGGACTCTCTGCCCATACATCAGGCTCAGGTTGAGGACACATCATGCTGACCTTCCGCAAC
CAGSCCTCCAGGCCCTCAGACTTCTACAGCTCCCTCATCAGCTATGAGGAGGACACAGGAGCCAGGGGCTGAG
CCACGCAAGACCTTTGTGAACCCATGAACCAAGACCTACTCTTGGAAAGTCCAGCACATGGCTGCC

(Продолжение)

Фиг. 8А

ACCAAGGATGAGTTTGACTGCAAGGCTTGGGCTACTTCTCTCATGTGGACCTGGAGAAGGATGTGCACTCT
GGCCTGATTGGCCCACTCTTGGTCTGCCACACCAACACCTGAAACCTTGCCTATGGAGAGCAAGTGACTCTG
CAGGAGTTTGCCCTCTCTCTCAACCATTTTGAATGAACCAAGAGCTGGTACTTCACTGAGAACATGGAGGCG
AATGCTAGGGGCCCATGTGCAGATTCAGATGGAGGACCCCACTTCAAGAGAGACTACCCCTTCCATGCCATC
AATGGCTACATCATGGACACCTGCCCTGGCTTCTCATGGCCACAGGACCAAGGATCAGGTGGTACCTGCTT
TCTATGGCTCCAAATGAGAACATTCATCCATCCACTCTCTCGGCATGTCTTCACTGTGCCAAGAAAGGAG
GAGTACAAGATGGCCCTGTACAACCTCTACCTTGGGGTCTTTGAGACTGTGGAGATGCTGCCCTCCAAGGCT
GGCATCTGGAGGGTGGAGTGGCTCATTTGGGAGACCTGCACTGCTGGCATGAGCACCTGTTCTGCTCTAC
AGCAACAAGTGCACAGCCCCCTGGGAATGGCTCTGSCACATCAGGGACTTCCAGATCACTGCCCTCTGGC
CAGTATGGCCAGTGGGCCCCCAAGCTGGCCAGGCTCCACTACTCTGGATCCATCAATGCCCTGGAGCACCAAG
GAGCCATTCACTGGATCAAGTGGACCTGCTGGCCCATGATCATCCATGGCATCAAGACCCAGAGGGGCC
AGGCGAAGTTCTCCAGCTGTACATCAGCCAGTTCACTCATCATGTACAGCCCTGGATGGCAAGAAATGGCAC
ACCTACAGAGGCAACTCCACTGGAACACTCATGTTCTTCTTGGCAATGTGACAGCTTGGCATCAAGGAC
AACATCTTCAACCCCAATCATGCCCAAGTACATCAGGCTGCCACCCCACTACAGCATCCCGCAGGACCT
CTCAGGATGGAGCTGATGGGCTGTGACTGAACTCTGCAAGCATGCCCTTGGGCATGGAGAGCAAGCCATT
TCTGATGCCAGATCACTGCTCCAGCTACTTCAACCAATGTTTGGCACTTGGAGGCCAAGCAAGGCCAGG
CTGCCACTCCAGGAGGAGCAATGCTGGAGGCCACAGCTCAACCAACCAGAGGATGCTGCTCAGGTGGAC
TCCAGAGAGACTGAAGAGTCACTGGGCTGACCAACAGGGGCTCAAGAGCCCTGCTCACGAGCATGATGTG
AAGGAGTTCTTGATCAGCTCCAGCCAGGATGGGCCACAGTGGACCTCTTCTTCCAGAAATGGCAAGGTCAAG
CTGTTCTCAGGSCAACCAAGGACAGCTTCAACCTCTGTTGGTGAACAGCTGGAGCCCCCTCTCTGACCAAGAT
CTCAGGATTCAACCCCAAGCTGGTCCACCAAGATGGCTCAGGATGGAGTCCCTGGGATGTGAGGCCAG
GACCTGTAAGA (SEQ ID NO:9)

Фиг. 8В

CS04Δ(760-1667) - CS04-SC1-AA

MQIELSTCFFLCLLRFCSATRRYYLGAVELSWDYMQSDLGELPVDARFPPRPVPSFPFNTSVVYK
TLFVEFTDHLFNIAKPRPPWMGLLGPITQAEVYDTVITLKNMASHPVSLHAVGVSYNKASEGAEYD
DQTSQREKEDDKVFPGGSHYVWQVLKENGPMASDFLCLTYSYLSHVLLVKDLNSGLIGALLVCREG
SLAKEKTQTLHKFTILLFAVFDEGKSWHSETKNSLMQDRDAASARAWPKMHTVNGYVNRSLPGLIGCH
RKSVYWHVIGMGITPEVHSIFLEGHTFLVRNHRQASLEISPIFTLTAQTLIMDLGQFLFCHISSHQ
HDGMEAYVKVDCPEEPQLRMKNNEEAEDYDDDLTDSMDVVRFEEDNSFSFIQIRSVAKHKPKTWV
HYIAAEEEDWDYAPLVLAPDDRYSKQYLNNGPQIRGRKYKVRFMAYTDETFKTREAIQHESSILG
PLLYGEVGDTLIIIFKNQASRPYNIYPHCITDVRPLYSRRLPKGVXHLKDFPIPLPGEIFYXKWTIV
EDGPTKSDPRCLTRYSSFVNMRDLASGLIGPLLICTYKESVDQRGNQIMSDKRNVLFSVFEDNRS
WYLTENIQRLPNPAGVQLEDPEFQASNMHSINGYVFDLQLSVCLHEVAYWYILSIGAQTDFLSV
FFSGYTFKHKMVYEDTLTFLFSGSETVFMENMNPGLWLLGCHNSDFNRNGMTALLKVSSCDKNTG DY
YEDSYEDISAYLLSKNNAIEPREITRTTLOSQDEBIDYDDTISVEMKKEDFDIYDEDEENQSPRSFQK
KTRHYFIAAVERLWDYGMSSSPHVLNRNAGSGSVPOFKKVVFQETDGSFTQPLRYGBELNEHLLIG
PYIRAEEVDNIMVTFRNQASRPYSFSSLSIYEEEDQRQGAEPKKNFVKPNETKTYFWKVQHMAPTK
DEFPCKAWAYFSDVDLEKDVHSGLIGPLLVCHNTLNPAGHRQVTVQEFALFTTIFDETKSWFTEN
MERNCRABCNIMQEDPTFKNYRFAINGYIMDTPLGLVMAQDQIRWYLLSMGSENENIHSIHFSCH
VFTVRKKEEYKMALYNLYPGVFETVEMLPKAGIWRVECLIGELHAGMSTLFLVYSNKKQTPLMQMA
SGHIRDFQITASCQYQWAPKILARLHYSGSINAWSTKEPFSWIKVDLLAPMIHIGIKTQGAQKQFSS
LYISQFIIMYSLDGKKWQTYRGNSTGTLMVFFGNVDSGKIKHNIENPPIIARYIRLHPHYSIRSTL
RMELMGCDLNSCMPLMGESKAISDAQITASSYFTNMFAWSPSKARLHLQGRSNAWRPVNNPEW
LQVDFQTKMVTGVTTQGVKSLLTSMYKVELISSQDGHQWTLFFQNGKVYVQGNQDSFTPVVNS
LEPPLTRYLRHPOSWNHQIALRMEVLGCEAQDLY (SEQ ID NO:10)

Фиг. 9

CS04Δ(772-1667) - CS04-SC2-NA

ATGCAGATTGAGCTGAGCACCTGCTTCTTCCCTGTGCCTGGCTGAGGTTCTGCTTCTCTGCCACGAGG
 AGATACTACCTGGGGCTGTGGAGCTTTCTTGGGACTACATGCAGTCTGACCTGGGGGAGCTGCCT
 GTGGATGCCAGGTTCCACCCAGAGTGGCCAAATCCTTCCATTCACACCTCTGTGGTCTACAAAG
 AAGACCTCTTTGTGGAGTTCACTGACCACCTGTTCAACATTGCCAAACCCAGGCCACCTGGATG
 GGACTCCTGGGACCCACCATTCAGGCTGAGGTGTATGACACTGTGGTCATCACCTCAAGAACATG
 GCCTCCACCCCTGTGAGCCTGCATGCTGTGGGGGTGAGTACTGGAAAGGCTCTGAGGGGGCTGAG
 TATGATGACCAAGACCTCCAGAGGGAGAAGGAGGATGACAAAGTGTTCCTTGGGGGACGCCACACC
 TATGTGTGGCAGGTCTCAAGGAGAATGGCCCATGGCTCTGACCCACTCTGCCTGACCTACTCC
 TACCTTTCTCATGTGGACCTGGTCAAGGACCTCAACTCTGGACTGATTGGGGCCCTGCTGGTGTGC
 AGGGAGGGCTCCCTGGCCAAAGAGAAGACCCAGACCTGCACAAAGTTCATTCTCCTGTTTGTCTGTC
 TTTGATGAGGGCAAGAGCTGGCACTCTGAPACCAGGAACCTCCCTGATGCAGGACAGGGATGCTGCC
 TCTGCCAGGGCTGGCCCAAGATGCACACTGTGAATGGCTATGTGAACAGGACCTGCCTGGACTC
 ATTGGCTGCCACAGGAAATCTGTCTACTGGCATGTGATTGGCATGGGGACAAACCTCTGAGGTGCAC
 TCCATTTCTTGGAGGGCCACACCTTCTGCTGAGGAAACACAGACAGGCAGCTGGAGATCAGC
 CCAATCACCTTCTCACTGCCAGACCTGCTGATGGACCTGGACAGTCTCTGCTGTCTGCCAC
 ATCAGCTCCACCCAGCATGATGGCATGGAGGCTATGTCAAGTGGACAGCTGCCTGAGGAGCCA
 CAGCTCAGGATGAAGAACAATGAGGAGGCTGAGGACTATGATGATGACCTGACTGACTCTGAGATG
 GATGTGGTCCGCTTTGATGATGACAAACAGGCCATCTTCAATTCAGATCAGGCTCTGTGGCCAAAGAAA
 CACCCCAAGACCTGGGTGCACCTACATTGCTGCTGAGGAGGAGGACTGGGACTATGCCCACTGGTGC
 CTGGCCCTGATGACAGGAGCTACAGAGCCAGTACCTCAACAATGGCCACAGAGGATTGGAGCC
 AAGTACAAAGAAAGTCAGGTTCAATGGCTTACACTGATGAACCTTCAAGACCAAGGAGGCCATTGAG
 CATGAGTCTGGCATCTTGGGCCACTCTCTGATGGGGAGGTGGGGGACACCTGCTCATCTCTTC
 AAGAACCAGGCTCCAGGCTTCAACATCTAACCACATGGCATCACTGATGTCAAGCCCTGTGAC
 AGCCGCAGGCTGCCAAAGGGGTGAAACACCTCAAGGACTTCCCATTTCTGCCCTGGGAGATCTTC
 AAGTACAAGTGGACTGTCACTGTGAGGATGGACCAACCAATCTGACCCAGGTGCCTCACCAGA
 TACTACTCCAGCTTTGTGAACATGGAGAGGGACCTGGCTCTGGCTGATTGGCCACTGCTCATC
 TGCTACAAGGAGTCTGTGGACAGAGGGGAAACCAATCATGTCTGACAAAGGAGGATGTGATTTCTG
 TTCTCTGTCTTTGATGAGAACAGGAGCTGGTACCTGACTGAGAACATTCAAGCTTCTCTGCCCAAC
 CCTGCTGGGGTGCAGCTGGAGGACCTGAGTTCAGGCCAGCAACATCATGCACTCCATCAATGGC
 TATGTGTTTGACAGCTCCAGCTTTCTGTCTGCCCTGCATGAGTGGCTTACTGGTACATTTCTTTCT
 ATTTGGGGCCAGACTGATCTCTTTCTGTCTTCTCTCTGCTACACCTTCAAAACAGAGATGGTG
 TATGAGGACACCTGACCTCTTCCCATTTCTCTGGGAGACTGTGTTCAATGAGCATGGAGAACCT
 GGCTGTGGATTTCTGGGATGCCACAACCTTGACTTCCGCAACAGGGGCTGACTGCCCTGCTCAAA
 GTCTCTCTGTGACAAGAACACTGGGGACTACTATGAGGACAGCTATGAGGACATCTCTGCCATAC
 CTGCTCAGCAAGAACATGCCATTGAGCCAGGAGCTTCAGCCAGAAATTCAGACACCCCAAGCACC
 AGGGAGATCACCAAGGACCCCTCCAGTCTGACCAAGGAGGATTTGACTATGATGACACCATTTCT
 TGGAGATGAAGAAAGAGGACTTTGACATCTATGACGAGGACGAGAACAGAGCCCAAGGAGCTTC

(Продолжение)

Фиг. 10А

CAGAAGAAGACAGGCACTACTTCATTGCTGCTGTGGAGGGCTGTGGGACTATGGCATGAGCTCC
 AGCCCCATGTCTCAGGAACAGGGCCAGTCTGGCTCTGTGCCACAGTTCAGAAAGGTCTTTC
 CAAGAGTTCACTGATGGCAGCTTCACCCAGCCCTGTACAGAGGGGAGCTGAATGAGCACCTGGGA
 CTCTTGGGCCCATACATCAGGGCTGAGGTGGAGGACAACATCATGGTGACCTTCCGCAACCAAGGCC
 TCCAGGCCCTACAGCTTCTACAGCTCCCTCATCAGCTATGAGGAGGACCAAGGACAGGGGCTGAG
 CCACGCAAGAACTTTGTGAACCCAAATGAACCAAGACCTACTTCTGGAAAGTCCAGCACCATG
 GCCCCACCAAGGATGAGTTTACTGCAAGGCCCTGGGCTACTTCTCTGATGTGGACCTGGAGAAG
 GATGTGCACTCTGGGCTGATTGGCCCACTCCTGGTCTGCCACCAACACCTGAACCTTGCCCAT
 GGAAGGCAAGTGACTGTGACGAGTTTGCCTCTTCTTCAACATCTTTGATGAAACCAAGAGCTGG
 TACTTCACTGAGAACATGGAGCGCAACTGCAGGGGCCCATGCAACATTCAGATGGAGGACCCACCT
 TCAAAAGAGAATAACCGCTTCCATGCCATCAATGGCTACATCATGGACACCTGCTGGGCTTGT
 ATGGCCAGGACCAAGAGGATCAGTGTGTACCTGCTTCTATGGGCTCCAAATGAGAACAATCACTCC
 ATCCACTTCTCTGGGCACTCTTCACTGTGGCAAGCAAGGAGGATACAAAGATGGCCCTGTACAAC
 CTCTACCTTGGGGTCTTTGAGACTGTGGAGATGCTGCCCTCCAAAGCTGGCATCTGGAGGTGGAG
 TGCTTCATTGGGGAGCACCTGCATGCTGGCATGAGCACCTGTTCTCTGCTTACAGCAACAAGTGC
 CAGACCCCTTGGGAATGGCTCTGGCCACATCAGGGACTTCCAGATCACTGCTTGGCCAGTAT
 GGCCACTGGGCCCCCAAGCTGGCCAGGCTCCACTACTCTGGATCCATCAATGCCCTGGAGCACCAAG
 GAGCCATTGAGTGGATCAAGTGGACCTGCTGGGCCCATGATCATCCATGGCATCAAGACCCAG
 GGGGCCAGGCAGAAAGTTCTCCAGCTCTACATCAGCCACTTCATCATCATGTACAGCTGGATGGC
 AAGAAATGCGAGACTACAGAGGCAACTCCACTGGAACACTCATGGTCTTCTTTGGCAATGTGGAC
 AGCTCTGGCATCAAGCACAACATCTCAACCCCCCAATCATCGCCAGATACATCAGGCTGCACCCC
 ACCCACTACAGCATCCGAGCACCTCAGGATGGAGCTGATGGGCTGTGACCTGAACCTCTGAGC
 ATGCCCTTGGGATGGAGAGCAAGGCCATTCTGATGCCAGATCACTGCTCCAGCTACTTCAAC
 AACATGTTTGGCACCTGGAGCCCAAGCAAGGCCAGGCTGCACCTCCAGGGAAGGAGCAATGCCCTGG
 AGGCCCAGGTCAACAACCCAAAGGAGTGGCTGCAGGTGGACTTCCAGAAGACCATGAAGGTCACT
 GGGGTGACCAACCAAGGGGTCAAGAGCTGCTCACCAAGCATGTATGTGAAGGAGTTCTGATCAGC
 TCCAGCCAGGATGGCCACCACTGGACCTCTTCTTCCAGAAATGGCAAGTCAAGGTGTTCAGGGC
 AACAGGACAGCTTCAACCTGTGTGAACAGCTGGACCCCCCTCTGACCAATACCTGAGG
 ATTCAACCCAGAGCTGGGCTCACCAAGATGGCCCTGAGGATGGAGGTCTGGGATGTGAGGCCAG
 GACCTGTACTGA (SEQ ID NO:11)

Фиг. 10В

CS04Δ(772-1667) - CS04-SC2-AA

MQIELSTCFFLCLLRFCFSATRRYYLGAVELSWDYMQSDLGELPVDARFPFPRVPSFFNTSVVYKK
 TLFVEFTDHLFNIAPRPPFMGLGPTIQAEVYDVVITLKNMASHPVSLHAVGVSYWKASEGAEYD
 DQTSQREKEDDKVFPGGSHTYVWQVLKENGPMASDPLCLTYSYLSHVDLVKDLNSGLIGALLVCREG
 SLAKEKTQTLHKFILLFAVFDGKSWHSETKNSLMQDRDAASARAWFKMHTVNGYVNRSLPGLIGCH
 RKSVMHVITGCTTPEVHSIFLEGHTFLVRNHRQASLEISPIITFLTQAOTLLMDLQGFLLFCHISSHQ
 HDGMEAYVVKVUSCPEEPQLRMKNNEEAEDYDDDLTDSEMDVVRFDNDNSPSFIQIRSVAKKHPTKV
 HYIAAEEDWDYAPIMLAPDURSYYKSYLNGEQRIGRKYKKVRFMAYTDETFKTREAIQHESSGILG
 PLLYGEVGDILLIIFKNQASRPYNIYPHGITDVRFLYSRRLPKGVKHLKDFPILFGEIFKYKWTVTV
 EDGPTKSDPRCLTRYSSSFVNMERDLASGLIGPLICCYKESVDQRCNQIMSDKRNVLFSVFDENRS
 WYLIENTIQRFEPNPAQVQLEDPEFQASNIHNSINGYVFDLSQLSVCLHEVAYWYILSIGAQTDPLSV
 FFSGYTFKHKMVYEDTLTLFFSGETVFMSEMPGLWILGCHNSDFRNRMGTALLKVSSCDKNTGDY
 YEDSYEDISAYLLSKNNATEPRSFQNSRHPSTREITRTTLQSDQEEIDYDDTISVEMKKEDFDIYD
 EDENQSPRSFQKKTRHYFIAAVERLWDYGMSSSPHVLNRNAQSGSVQPKKVVVFQETDGSFTQFLY
 RGEUNEHLGLGPYIRAEVEINMVTFRNQASRPYSFYSSLSIEEDQRQGAERPNKVFVKNETKTY
 FWKVQHMAPTKDEFDCKAWAYFSDVDLEKDVHSGLIGPLLVCHTNTLNFPAHGRQVTVQEFALFFT
 FDETISWYFTENMERNCRAPCNTQMEDPTFENYRFAHNGYIMDTLFGLVMAQDQRIWYLLSMGS
 NENTHSIHFSGHVFTVRKKEEYKALYNLYPGVFETVEMLPKAGIWRVECLIGEHLHAGMSTPLFW
 YSNKQTPGLMASGHIRDFQITASGGYQWAPKLARLHYSGSINAWSTKEPFSWIKVDLAPMLIHG
 IKTQGARQKFSLLYSQFTIIMYSLDCKKKQTYRGNSTGTLMVFFGNVDSGSIKHNIPNPPIIARYIR
 LHPHYSIRSTLRMELMGCDLNSCSMPLGMESKAISDAQITASSYFTNMFATWSPSKARLHLQGRSN
 AWRPQVNNPKEWLQVDVFQTKMKVIGVTIQGVKSLTSMYVKEFLISSSQDGHQWTLFPQNGVKVVFQ
 GNQDSFTPVVNSLDPPLLTRYLRIHFQSWVHQIALRMEVLGCEAQDLY (SEQ ID NO:12)

Фиг. 11

CS01-FL-NA

ATGCAGATTGAGCTGTCCACCTGCTTCTTTCTGTGCCTGCTGAGATTCTGCTTCTCTGCCACCAGG
 ACATACTACCTGGGGCTGTGGAACCTTCTTGGGACTACATGCAGTCTGACCTGGGAGAGCTGCCT
 GTGGATGCCAGGTTCCCAACCCAGAGTGCOCAGTCCCTTCCCATTCACACCTCTGTGCTCTACAAG
 AAGACACTCTTTGTGGAATTCACTGACCACCTGTTCAACATTGCAAAACCCAGACACCCTGGATG
 GGACTCCTGGGACCCACCATTCAGGCTGAGGTGTATGACACTGTGGTCATCACCCTCAAGAACATG
 GCATCCCACTCTGTGTCTCTGCATGCTGTGGGAGTCTCATACTGGAAAGCCTCTGAAGGGGCTGAG
 TATGATGACCAAGACATCCAGAGAGAGAAAGAGGATGACAAGTGTTCCTGGGGGATCTCACACC
 TATGTGTGGCAAGTCTCAAGGAGAAATGGACCCATGGCATCTGACCCACTCTGCCCTGACATACTCC
 TACCTTTCTCATGTGGACCTGCTCAAGGACCTCAACTCTGGACTGATTGGGGGACTGCTGGTGTGC
 AGGGAAGGATCCTCTGGCCAGGAGAAACCCAGACACTGCACAAGTTCATCTCTCTGTTTGTCTCT
 TTTGATGAGGGCAAGTCTTGGCACTCTGAACAAAGAACTCCTGATGCAAGACAGGGATGCTGCC
 TCTGCCAGGGCATGGCCCAAGATGCACACTGTGAATGGCTATGTGAACAGATCACTGCTGGACTC
 ATTGGCTGCCACAGGAAATCTGTCTACTGGCATGTGATGGCATGGGGACAACCCCTGAAGTGCAC
 TCCATTTTCTGGAGGGACACACCTTCTGGTCAGGAACACAGACAAGCCTCTCTGGAGATCTCT
 CCAATCACCTTCTCACTGCACAGACACTGCTGATGGACCTTGGACAGTCTCCTGCTGTCTGCCAC
 ATCTCTTCCACACAGCATGATGGCATGGAAGCCTATGTCAAGGTGGACTCATGCCCTGAGGAACCA
 CAGCTCAGGATGAAGAAACATGAGGAGGCTGAGGACTATGATGATGACCTGACTGACTCTGAGATG
 GATGCGGTGAGATTGATGATGACAACTCTCCATCCTTCATTGAGATCAGGTCTGTGGCAAGAGAA
 CAGCCCAAGACATGGGTGCACTACATTGCTGCTGAGGAAGAGGACTGGGACTATGCACCACTGGTC
 CTGGCCCCCTGATGACAGGAGCTACAACTCTCAGTACCTCAACAATGGCCCAAGAAATTSAGAAGA
 AAGTACAAGAAAGTCAGATTGATGGCTTACACTGATGAAACCTTCAAGACAAGAGAAAGCCATTGAG
 CATGAGTCTGGCATTCTGGGACCACTCCTGTATGGGGAAGTGGGAGACACCTGTCTCATCATCTTC
 AAGAACCAGGCCTCCAGGCCCTACAACTATACCCACATGGCATCACTGATGTCAGGCCCTGTGAC
 AGCAGGAGACTGCCAAAAGGGGTGAAACACCTCAAGGACTTCCCATTTCTGCCTGGAGAGATCTTC
 AAGTACAAGTGGACTGTCACTGTGGAGGATGGACCAACAAAGTCTGACCCAGGTGCTTCACACAGA
 TACTACTCCTCTTTGTGAAATGGAGAGAGACCTGGCATCTGGACTGATGAGACCACTGCTCATCT
 TGCTACAAGGAGTCTGTGGACAGAGAGGCAACAGATCATGTCTGACAAGAGAAATGTGATTCTG
 TTCTCTGTCTTTGATGAGAACAGATCATGGTACCTGACTGAGAACATTCAGAGATTCTTGGCCAC
 CCTGCTGGGGTGCAACTGGAAGACCTGAGTTCAGGCAAGCAACATCATGCACTCCATCAATGGC
 TATGTGTTTGACTCTCTCCAGCTTTCTGTCTGCCTGCATGAGGTGGCTACTGGTACATTCTTTCT
 ATTGGGSCACAACTGACTTCTTTCTGTCTTCTTCTCTGGATACACCTTCAAGCACAAGATGGTG
 TATGAGGACACCTGACACTCTTCCATTTCTTGGGAAACTGTGTTCAATGAGCATGGAGAACCTT
 GGACTGTGGATTCTGGGATGCCACAACCTGACTTCAGAAACAGGGGAATGACTGCATGCTCAAA
 GTCTCCTCTGTGACAAGAACACTGGGGACTACTATGAGGACTCTTATGAGGACATCTCTGCCTAC
 CTGCTCAGCAAGAACAAATGCCATTGAGGCCAGAGACTTCTCTCAGAAATCCACCTGTCTCGAAGAGA
 CACCAGAGAGAGATCACAGGACAACTCCTCAGTCTGACCAGGAAGAGATTGACTATGATGACACC
 ATTTCTSTGGAGATGAAGAAGGAGGACTTTGACATCTATGATGAGGACGAGAACAGTCTCCAAGA
 TCATTCAGAAAGAACACAGCACTACTTCAATGCTGCTGTGGAAAGACTGTGGGACTATGGCATG
 TCTTCTCTCCCATGTCTCAGGAACAGGSCACAGTCTGGCTCTGTGCCACAGTTCAAGAAAGTG
 GTCTTCCAGGAGTTCACTGATGGCTCATTCACCCAGCCCTGTACAGAGGGGAACCTGAATGAGCAC

(Продолжение)

Фиг. 12А

CTGGGACTCCTGGGACATACATCAGGGCTGAGGTGGAAGACAACATCATGGTGACATTGAGAAAC
 CAGGCTCCAGGCCCTACAGCTTCTACTCTTCCCTCATCAGCTATGAGGAAGACCAGAGACAAGGG
 GCTGAGGCCAAGAAAGAACTTTGTGAAACCAATGAAACCAAGACCTACTTCTGGAAAGTCCAGCAC
 CACATGGCACCACCAAGGATGAGTTTCAC TGCAAGGCTGGGCATCTCTCTGATGTGGACCTG
 GAGAAAGATGTGCACCTCTGGCCTGATTGGCCCACTCCCTGGCTTGCACACCAACACCCCTGAACCT
 GCACATGGAAGGCAAGTGACTGTGCAGGAGTTTGGCCTCTCTCTCACCATCTTTGATGAAACCAAG
 TCATGGTACTTCACTGAGAACATGAGAGAAACTGCGAGAGCACCATGCAACATTCAGATGGAAAGAC
 CCCACCTTCAAGGAGACTCAGGTTCCATGCCATCAAAGGCTACATCATGGACACCTGCTGGG
 CTTCCTCATGGCACAGGACCAGAGAAATCAGATGGTACCTTGCCTTCTATGGGATCCAATGAGAACAT
 CACTCCATCCACTTCTCTGGGCAATGCTTCACTGTGAGAAAGAAGGAGGAATACAAGATGGGCTG
 TACAACCTTACCTGGGGCTTTTGAGACTGTGGAGATGCTGCCCTCCAAAGCTGGCATCTGGAGG
 GTGGAATGCCTCATTGGGGAGCACCTGCATGCTGGCATGTCAACCTTCTCTGGCTACAGCAAC
 AAGTCCAGACACCCCTGGGAATGGCCTCTGGCCACATCAGGGACTTCCAGATCACTGGCTCTGGC
 CAGTATGGCCACTGGGCACCCAACTGGCCAGGCTCCACTACTCTGGCTCCATCAATGCATGGTCA
 ACCAAGGAGCCATTTCTTGGATCAAGGTGGACCTGCTGGCACCCATGATCATTCATGGCATCAAG
 ACACAGGGGGCAAGACAGAAATTCCTCTCTGTACATCTCACAGTTCATCATCATGTACTCTCTG
 GATGGCAAGAGTGGCACACATACAGAGGCAACTCCACTGGCACCTCATGGCTCTCTTTTGGCAAT
 GTGGACAGCTCTGGCATCAAGCACAACATCTTCAACCTTCCCATTCATGGCAGATACATCAGGCTG
 CACCCACCCCACTACTCAATCAGATCAACCTTCAGGATGGAACTGATGGGATGTACCTGAACTCC
 TGGCTCAATGCCCTCTGGGAATGGAGAGCAAGGCCATTTCTGATGCCAGATCACTGCATCTCTTAC
 TTCAACCAACATGTTTGGCACTTGGTACCATCAAAAGCCAGGCTGCCACTCCAGGGAGAGCAAT
 GCTTGGAGAGCCCAAGTCAACAAACCAAGGAATGGCTGCAAGTGAGACTTCCAGAGACCAATGAAA
 GTCACTGGGGTGACAACCCAGGGGTCAAGTCTCTGCTCACTCAATGTATGTGAAGGATTCCTG
 ATCTCTTCTCACAGGATGGCCACCTGGACACTTCTTCTCCAGAAATGGCAAAATCAAGSTGTTT
 CAGGGCAACAGGACTCTTTCAACCTGTGGTGAACCTCACTGGACCCCCCTCTCTGACAGATAC
 CTGAGAAATCACCCAGTCTTGGTCCACAGATTGCCCTGAGAAATGGAAGTCTGGGATGTGAG
 GCACAGACCTGTACTGA (SEQ ID NO:13)

Фиг. 12В

CS08-FL-NA

ATGCAGATCGAAGTGAAGCACTTGGCTTCTTCTGTGTCTCTTCTGCGCTTTTGCTTCTCGGCCACAAGG
 AGATACTATCTCGGTGCGCTGGAGCTCAGCTGGGACTACATGCAGAGCGACTTGGGTGAACCTGCCCT
 GTGGACGCCAGGTTTCCACCCCGCGTGGCCCAAGAGTTTCCCGTTCAACACCAAGTGTCTGTACAAAG
 AAAACCCCTCTCTGTGGAATTCACCGACCACTGTTCACATCGCCAAACCGCGCCCTCCCTGGATG
 GGGCTGCTCGGCCCGCAGATCCAGGCTGAGGTCTATGACACGGTGGTGATTACCTCAAGAACATG
 GCTAGCCACCCGCTGAGCCTTGCACGCGGTGGGCGTGTCTATTGGAAAGCGCTCCGAGGGTGGCGAG
 TACGATGACAGACTTTCACAGCGGGAGAGGAAGGACGACAAAGTGTTCGCCGGGGGTTCACACAC
 TATGTCTGGCAGGTCTTGAAGGAGAAATGGTCTATGGGCTCCGACCCATTTGTGCTCACTACTCT
 TACCTAAGCCATGTGGATCTCTGTCAGGACCTGAACTCGGGGCTGATCGGCGCCCTGCTCTGTGTG
 CGGGAGGGCTCACTGGCCAAAGGAGAGACCCAAACTCTGCACAAAGTTTCATCTGCTGTTCGCGGTA
 TTCAGACGAGGGGAAGTCTGGCACTCCGAGACCAAGAACAGCTGATGCAGGACCCGCGACGAGCC
 TCGGCCGTGCGCTGGCCAAAGATGCACACCGTGAACGGCTACGTTAAACAGGAGCTTACCGCGCCTG
 ATCGGCTGCCACCGCAAACTCGGTCTACTGGCATGTGATCGGAATGGGCAACACCGCCGAGGTCCAC
 AGTATCTTCTCGAGGGCCACACTTTCCTGGTCCGGAATCACCGCCAGGCCAGCTTGGAGATCAGC
 OCCATAACCTTTCTGACGGCGCAGACCTTACTCATGGATCTCGGCCAGTTCTCTCTGTCTCTGCCAC
 ATTTCTGCCACCGACCGATGGGATGGAAGCATATGTGAAAGTGGACTCTGCCCGAGGAAACCC
 CAGCTTAGGATGAAGAACAAATGAGGAGGCCGAGGACTACGACGATGACCTTACCGATTGAGAAATG
 GACGTAGTACGCTTTGACGACGACAACTCTCCATCTTTCATACAGATTGCTCCGCTCGCCAAAGAG
 CACCTAAGACTTGGGTGCACTACATCGCGGCCGAGGAGGAGGACTGGGATTTATGCTCCCTGGTG
 CTGGCCCCGACGACCGCAGCTACAAGAGCCAGTACCTGAATACGGGGCCCGAGCGCATCGGCCGG
 AAGTACAAGAAAGTGGCTTCATGGCTTACACGGACGAGACCTTCAAGACCCGGGAGGCTATCCAG
 CATGAGAGCGGCATCTTGGGGCCCCCTCTGTACGGCGAAGTTGGAGACACACTGCTGATCATCTTC
 AAGAACCAGGCGAGCAGGCCCTACAACTCTACCCCCACGGCATTACCGATGTCCGGCCGTGTGTAC
 AGCCGACGGCTGCCAAAGGGCGTGAAGCACTGAAGGACTTTCCGATCTTCCGGGGCGAGATCTTC
 AAGTACAAGTGGACTGTGACCTGTGAGGATGGGCCGACCAAGAGCGATCCGCGCTGCTGACCCGCT
 TACTACTCCAGCTTTGTCAATATGAGCGCGACCTCGCTAGCCCTTGATTTGGCCCTCTCTCTGATC
 TGCTACAAGGACTCCGTGGACCAAGGGGGAATCAGATCATGATGACAAGAGGAACCTGATCTCTG
 TTCTCCGTGTTCGACGAAAACCGCAGCTGGTATCTCACCGAGAAATATCCAGCGCTTCTGTGCCAAC
 CCGCCCGGTGTGCACTGGAGGACCCCGAGTTTCAGGCCAGCAACATCATGATCTTATCAACCGGA
 TATGTGTTTGTATTCCCTGCACTCTCAGTGTGCTGCAAGAGTCCGCTACTGGTATATCTCTCAGC
 ATTGGGSCACAGACCGACTTCTGAGCGTGTCTCTTCCGGGTATACCTTCAAGCACAAGATGGTG
 TACGAGGATACCTTGACCTGTCTCCCTTTAGCGGGCAACCCGTGTTATGTCTATGGAGAACCC
 GGGCTCTGGATCTTGGCTGCCATAACTCCGACTTCCGCAACCGCGGAATGACCGCGCTCTCTGAAA
 GTGTCCAGTTGTGACAAAGACCGCGCACTATTACGAGGACAGTTACGAGGACATCTCTGCGTAC
 CTCTTAGCAAGAAATAACGCCATCGAGCAAGATCTTCAGCCAGAACCCCACTGCTGAAGAGG
 CATCAGCGGGAGATCAACCGCACACCTGCACTCGGATCAGGAGGAGATTGATTACGACGACACG
 ATCAGTGTGGAGATGAAGAGGAGGACTTCGACATCTACGACGAGAGTGAAGAACAGTCCCTCCG
 TCCTTCCAAAAGAGACCCGCACTACTTCATCGCCGCTGTGGAACCGCTGTGGGACTATGGAATG

(Продолжение)

Фиг. 13А

TCTTCTAGCCCTCAGCTTTTGAAGAACCGCGCCAGTCGGGGCAGCGTGCCTCAGTTCAAGAAAGTG
 GTGTTCCAGGAGTTCAACGACGGCTCCTTCAACCCAGCCACTTTACCGGGGCAGCTCAATGAACAT
 CTGGGCTGTGGGACCTACATCAGGGCTGAGTGGAGGACACATCATGGTGACATTCCGGAAT
 CAGGCCAGCAGACCATACAGTTTCTACAGTTCACTCATCTCCTACGAGGAGGCCAGGCCAGGGG
 CCTGAACCCCTAAGAACTTCGTGAAGCCAAACGAAACAAAGACCTACTTCTGGAAGTCCAGCAC
 CACATGGGCACCTACCAAGGACGAGTTCGATTGCAAGGCCCTGGGCTACTTCTCGAGCTGGACCTG
 GACAAAGATGTGCACAGCGGCCCTGATTGGCCCTCTGCTGCTGCTCACACGAACACACTCAACCCCT
 CCACAGCGGGCGCAGGTCACTGTGCAGGAATTCGCCCTGTCTTTACCATCTTTGATGAGACGAAG
 TCCTGGTATTTCAACGAAACATGGAGGGAAGTCGCCGCCACCCCTGCAACATCCAGATGGAAGAT
 CCGACATTCAAGGAGAAGTACCGGTTCCATGCCATCAATGGCTACATCATGGACACCCCTGCCTGGC
 CTCGTGATGGCCCAAGACCAGCGTATCCGCTGGTATCTGCTGTCCGATGGGCTCCACAGAGAATC
 CATAGTATCCACTTCAGCGGGCAFGTCTTCACGGTGAGGAAAAGGAGGAGTACAAGATGGCACTG
 TACAACCTCTATCCCGGCGTGTTCGAGACCGTGGAGATGCTGCCCTCCAAAGGCCGCCATCTGGAGA
 GTGGAATGCCTGATCGGCAGCACCTCCACGCTGGGATGTCCAGCTCTTCTCGTTCACAGCAAT
 AAGTGCCAGACCCCTCTGGGCATGGCGAGCGGCCACATCCGGCACTTCCAGATTACAGCCAGCGGG
 CAGTACGGTCAGTGGGCTCCAAAGCTGCCCTCTGCACACTCTCCGATCCATCAACGCCCTGGTCC
 ACCAAGGAACCGTTCTCTGGATCAAAGTAGACCTGCTAGCCCCCATGATCATTCACGGCATCAAG
 ACACAGCGGCCGACAGAAAGTTCTCGAGCCCTCTATATCTCCAGTTTCATCATCATGATAGGCTG
 GACGGAAGAAGTGGCAGACTTACCGCGAAACTCGACAGGACCCCTGATGTTATCTCGGTAAC
 GTGGACAGCTCCGGAATCAAGCACACATCTTCAACCCACCCATTCATCGCCGCTACATCCGCCCTG
 CACCCCACTCACTATAGCATTAGGTCCACCTCGCAATGGAGCTCATGGGCTGTGACCTGAACAGC
 TGTAGCATGCCCTCGGCATGGAGTCTAAGGCGATCTCCAGCGCACAGATAACCGCATCATCTCAT
 TTTACCAACATGTTCCGTACCTGGTCCCTCCCAAGGCCGACTCCACCTGCAAGGAGATCCAAAG
 GCTGGCGGCCACAGTCAACAAATCCCAAGGAGTGGCTGCAAGTGGACTTTCAGAAAATATGAAG
 GTCCACGGAGTGACCAACAGGGAGTGAAGTCTCTGCTGACCAAGCATGACGTGAAGGAGTTCCTTC
 ATCTCCAGTTCCGAGGATGGCCACCAAGTGGAGCTTGTCTTCCAAACCGGTAAAGTCAAGTCTTC
 CAAGGAAACAGGACAGCTTTACACCCCTCTGTAACCTCCCTGGACCCCGCTTCTCACTAGATAC
 CTCGCAATCCACCTCAGAGCTGGGTGCACAGATTCGCCCTGGCATGGAAGTCTCTGGGTGTGAAG
 GCCCAGGACCTGTACTAA (SEQ ID NO:14)

Фиг. 13В

CS10-FL-NA

ATGCAGATTGAGCTCTCCACCTGCTTCTTTCTGTGCTTCTTCGCTTCTGCTTTTCTGGCCACACGC
 AGGTACTATTTCGGAGCAGTGGAACTGAGCTGGGATTACATGCAGAGTGACCTTGGTGAACCTTCCT
 GTGGACGCTCGTTTTCCACCTAGAGTTCCTCAAGTCTTCCCTTCAACACCTCAGTGGTCTACAAG
 AAAACGCTGTTTTGGAGTTCACTGACCACCTCTTCAACATTGCCAAACCAAGACCCCTTGGATG
 GGATGTCTGGGACCCCAATACAAGCAGAAGTCTACGACACCGTGGTGATTACCTGAAGAACATG
 GCGTCACACCTGTTTCACTTCACGCTGTGGGGTCAGTTATTGGAAGCCTCAGAGGGTGGCGAA
 TACGATGATCAAAACCCAGAGGAGAGAAGGAAGATGACAAGGTCTTTCCTGGGGGTAGCCATACC
 TATGTTTGGCAGGTGCTGAAAGAGAATGGGCCCTATGGCCTCTGATCCCTTGTGCTCCACATCTCT
 TACCTGAGTCACGTCGACCTGGTGAAGACCTGAATAGCGGCTGATTGGTGCACCTGTTGTTGT
 AGAGAGGGGAGTTTGGCCAGGAGAAAACCTCAGACTCTCCACAAGTTTATCTCCTGTTTGTGCTG
 TTCGACGAGGGCAAGTCTTGGCACCTGAAACAAAGAACTCCCTGATGCAGGACAGAGATGCTGCA
 CTGCAAGGGCTTGGCCAAAATGCAACAGTGAACGGCTATGTGAATCGATCACTGCCAGGACTG
 ATAGGCTGTCTATCGCAAGTCAGTGTATTGGCACGTATTCGGGATGGGAACAACTCCAGAGTGCAC
 AGCATCTTCTTGGGGCCACACTTCTCTGTTTCGGAATCATAGACAGGCCAGCCTTGAGATCAGC
 CCAATCACCTTCTGACTGCCCAAACCTTGTGATGGATCTGGGACAGTTCTCCTGTTTTGTGTCAC
 ATCTCCTCCCAACCATGACGGGATGGAGGCTTATGTGAAGTTCGATAGCTGTCCGGAGGAACCA
 CAACTGAGGATGAAGAACACGAAGAGGCAAGGACTATGACGACGATCTGACTGACAGTGAATG
 GACGTGGTTCCGTTTCGACGATGACAATTCTCCTTCATTTATCCAGATCCGTTCCGTGGCCAAAG
 CACCCCAAGACTTGGGTTTATTACATCGCTGCTGAGGAGGAGGATTGGGACTACCGGCCCTTGGTG
 TTGGCCCCAGACGATCGCTCATACAGAGCCAGTACCTTAACAATGGTCCCAAGAGATCGGCCGG
 AAGTACAAGAAGTTAGATTTATGGCTTATACCGACGAGACTTTTAAAACTAGGGAAGCAATTGAG
 CATGAAGTGGCATCTTGGACCCCTGCTGTATGGCGAGTTGGCGACACCTGCTGATTATCTTT
 AAGAACCAGGCAAGCCGGCCCTACAACTATACCCGACGGCATAACCGATGTACGACCCCTGTAC
 AGTCCAGACTTCTTAAAGGGGTGAAACACCTGAAGGACTTCCCAATTCTGCCCGGGGAGATCTTC
 AAGTATAAATGACCGCTGACGGTTGAGGATGGTCCCAAAAGTCCGATCCGAGATGCTTACCCGA
 TATTATTCCAGCTTCTGTAACATGGAAAGGACCTGGCCAGCGGCTCATTTGCCCACTGCTGATT
 TGTTACAAGGAGTCTGTGATCAAGAGGAAACCAAATAATGAGCGACAAACCTAAGCTCATCTCTG
 TTCAGCGTCTTTGATGAGAATAGAAGCTGGTACCTCACAGAAAATATTACGCGGTTTCTGCTTAA
 CCGCGAGGCGTCCAGCTGGGAAGATCCGAGTTCCAAGCTCAAAACATCATGCATAGCATCAACGGA
 TACGTATTCCGATAGCCTGCAGCTGTCCGTCTGTCTCCATGAAGTGGCATATTGGTACATCTCGAGT
 ATCGGGGCGCAGACCGACTTCTGAGCGTGTCTTTCTGGATACAGCTTCAACACAAAATGGTTC
 TATGAAGATACCCCTGACTCTGTTTCCATTCTCAGGAGAGACAGTCTTTATGAGTATGGAAAATCTCT
 GGACTGTGGATCTGGGCTGTTCACATCTGATTTCGGAACAGAGGCTGACAGCCCTGCTTAA
 GTGAGCTCATGCGACAAAGAACCCGGTATTAACAGAGATAGCTATGAGGACATCAGTGGCTAT
 TTGCTTCCAAAGAACAAAGCTATCGAGCCACGGTCTTTCAGTCAGAATCTCCCGTCTCTGAAGCGG
 CATCAGCGCGAAATAACACGCAACCCCTTCACTCAGACCAAGAGGAAATGAGTACGATGATATCT
 ATCTCTGTGGAGATGAAGAAGGAGGATTTCCGACATTTACGACGAGGACGAGAATCAGTCCCCAAGG
 ACCTTTCAGAAAGAAACAGACACTATTTCATTGCCCGCTGGAGCGACTGTGGGATACGGCATG

(Продолжение)

Фиг. 14А

TCTAGCTCTCCGCATGTACTTAGAAATAGGGCACAAAGCGGATCCGTGCCTCAGTTTAAGAAAGTT
 GTCTTTCAGGAGTTACAGATGGCTCCTTCACCCAGCCCTTGTATCCCGGGGAACCAATGAACAC
 CTGGGCTCCTGGGTCTTATATTAGGGCCGAAGTCGAGGACAATATCATGGTGACCTTTAGGAAC
 CAGGCATCTAGACCTTACTCTTTCTACTCCTCCCTGATATCCTATGAGGAGGACACCGGGCAAGGC
 GCTGAGCCTCGGAAGAACTTTGTGAAGCCAAATGAAACCAAAACATACTTTTGGAAAGTTCAGCAC
 CACATGGCTCCACAGAGGACGAATTTGACTGTAAAGCCTGGGCCACTTCTCAGATGTAGATCTC
 GAGAAGACGTGCACTCAGGCTCATTTGGTCCCTCCTGCTCTGTATACTAATACCTTCAATCCA
 GCACCGGACGTCAGGTAACCGTCCAGGAATTTGCCCTGTTCTTTACCATTTTCGATGAGACTAAA
 TCCTGGTACTTTACCGAAAACATGGAGGGAATTCAGAGCCCATGCAACATCCAGATGGAGGAC
 CCTACCTTCAAGAGAACTATCGCTTCCATGCCATTACGGTTACATTTATGGATACTCTCCAGGA
 CTTTGTGATGGCAGGATCAGCGGATAAGATGGTATCTGTGAGCATGGGCTCCACGAGAATATT
 CACAGCATCCATTTCCGGTACGTGTTTACAGTGAGAAAGAAAGAGTACAAGATGGCTCTG
 TATAATCTCTATCCAGGCGTATTGGAACCGGTGGAGATGTTGCCATAGCAAGCCCGGCATTTGGGGA
 GTAGAATGCTTTATCGGGGAACATCTGCAATGCCGGAATGAGCAGCTCTTCTTGGTCTATAGTAAC
 AAGTGCCAGACTCCGCTGGGCATGGCATCTGGCCATAAGCGGACTTTAGATTACGGCTAGCGGG
 CAGTATGGGCAGTGGGCACCCAACTTCCCGCACTGCACATTTCAGGCTCTATCAATGCATGCTCC
 ACCAAGGAACCTTCTCTTGGATTAAAGTGGACCTTTTGGCGCCCATGATAATCCATGGGATCAAA
 ACCCAGGGCGCTCGTCAGAAATTTCTATCACTCTACATCTCTCAGTTTCATAAATATGATTCACTG
 GATGGGAAGAAATGGCAGACTTACAGAGGAAACAGCAGCGGGACGCTGATGGTGTCTTTTGGCAAC
 GTGGACAGCAGCGCATCAACACACAACATCTTCAATCCTCCCATTTATGGCGTTATATTAGGAG
 CATCCCACTCACTACTCTATACCGCAGCACACTTAGGATGGAGCTCATGGGATGCGACCTGAACAGT
 TGTAGTATGCCCTTGGGATGGAGTCCAAAGCTATAAGCGAGCGCAAAATACAGCTAGCTCTAC
 TTTACGAATATGTTGCCACCTGGAGCCCAAGCAAAAGCCCGCTGCATTTGACAGGTGCGAGTAAT
 GCTTGGCGGCCACAGGTGAATAACCTTAAGGAATGGTTGAAGTAGATTTCAGAAAACATATGAAG
 GTAACCGCGCTCACTACACAGGGAGTCAAGTCCCTCTTGACCTCTATGTACGTCAAGGAGTTCTG
 ATTAGCAGCAGTCAAGATGGGCACCAATGCACACTGTTCTTCCGAATGGGAAGTTAAAGTATTT
 CAGGGTAACAGGACTCCTTTACACCTTGGTGAATAGCTTCGACCCACCCCTGCTGACACGATAC
 CTCGCACTCCACCTCAGTCTTGGGTGCATCAATTGGCCTGCGAATGGAGGTGTTGGGATGCGAA
 GCTCAGGACCTCTACTGA (SEQ ID NO:15)

Фиг. 14В

CS11-FL-NA

ATGCAGATCGAACTCTCTACTTTGCTTCTTCTGTGCCCTTCTGAGGTTCTGCTTCTCTGCCACTCGC
 CGATATTACCTCGGGGCGGTGGAGTTGAGTTGGGACTACATGCAATCAGATCTGGGGGAACCTCCCT
 GTGGATGCCCGATTCCCACCGCGCGTGCCTAAGTCTTTCCCATTTAATACTTCTGTGGTGACAAAG
 AAGACATTTGTTGTGGAGTTTACCAGATCACCTGTTCACATCGCCAAACCGCGGCCCATGGATG
 GGTCTGCTTGGGCCCAACCATTCAGCGGAGGTCTATGATACAGTGGTGATAACGCTTAAGAACATG
 CGGAGCCACCCAGTGTCTCTGCTATGCCCTTGGTGATATCATATTGGAAGGCCAGCGAAGGAGCGGAG
 TACGATGACAGACCTCTCAGAGAGAGAAGGAAGACGATAAGGTTTTCCTGGCGGAAGTCATACA
 TATGTATGGCAGGTCCTGAAAGAGAAATGGGCGGATGGCTTCTGACCCCTTTGTCTTACCTATAGT
 TATCTGAGCCACGTGGACCTTGGTCAAGGACCTCAACAGTGGTCTGATTGGGGCTCTGCTTGTGTT
 AGAGAGGCTAGCTTTGGCTAAGGAGAAACCCAAACACTCCATAAGTTTCTTGTCTTCTCGCGGTG
 TTCGACGAGGGAAGAGATTGGCACAGCGAACAAGAAATTCATGATGCAAGACAGGACCGCGCT
 TCCGCAAGGGCTTGGCCTAAGATGCATACGTTGAATGGGTATGTGAACCGGAGCCTCCCGGGGCTG
 ATCGGGTGCCATGCGAAGTCTGTTTACTGGCACGTCATTGGAATGGGGACAACGCCAGAGGTACAT
 AGTATATTTCTTGAAGGCCACAGCTTCTCTGACGGAACCCAGACAGGCTTCCCTGGAGATAAGC
 CCCATTACCTTTCTGACCGCTCAGACTCTGCTGATGGACCTTGGCCAGTTTCTCTGTCTGCGCAT
 ATTAGCAGCCACAGCAGCAGCGGTATGGAAGCATACGTGAAAGTCGATAGCTGTCTCTGAGGAGCT
 CAGCTCAGAATGAAGAACAACAGGAGGCGGAAGACTATGACGATGACCTTACAGATTCCGAGATG
 GACCTGGTGGCTTTGACGACGATAACAGTCTTAGTTTCATTCAAATCAGATCCGTAGCCAAAAG
 CATCCAAAGACATGGGTGCATTACATTGCAGCCGAAGAGGAGGATTTGGGATTTATGCGCCCTTGT
 CTGGCTCCAGATGACAGGAGCTATAAGTCCAGTACTTGAACAACGGGCCACAGCGAATCGGTAGA
 AAAATATAAGAGGTAAAGATTCATGGCTACACTGACGAAACATTTAAAACCAAGGGAAGCTATCCAA
 CACGAATCTGGAATTTCTCGGCCCTCTGCTCTACGGTGAGGTGGGGGACACCTTGTGATCATTTTC
 AAAATCAGGCATCCAGGCCCTTACAACATATACCCCATGGCATCACCGATGTCCGCCCGCTGTAT
 TCCAGAAGACTTCCCAAGGGAGTGAAACATCTGAAAGATTTTCCCATCCTGCCGGCGGAGATCTTT
 AAATACAAATGGACTGTGACTGTAGAGGACGGGCTACAAATCAGACCCACGGTGCCTGACAAGG
 TATTACAGTAGCTTCTGTAACATGGAACCGGACCTCGCCAGCGGACTCATTTGGCCACTGTTGATC
 TGTACAAAGAGTCAAGTGGATCAGAGGGGAATCAGATCATGACCGATAAGAGAAACGTTATCTTG
 TTTAGTGTCTTCGACGAGAACCGGTCTTGGTACCTTACTGAGAATCCAGAGGTTCTTGGCCGAT
 CCGGCTGGGCTTCAGCTCGAGGACCCAGAGTTCAGGCGCAGTAATATAATGCACATCAATCAACGGT
 TATGTGTTTCGATAGCCTGACGCTGAGCGCTGCTCTCCACGAGGTAGCTTATGGTACATATTGTCC
 ATCGGGGCTCAGACCGATTTCTGTCCGTGTTCTTTAGCGGGTATACCTTTAAACATAAAATGGTC
 TATGAAGACACCTGACCCCTGTTCCTTCTCCGGTGAGACTGTGTTCCATGTCCATGGAGAACCCCA
 GGGCTGTGGATCCTGGGGTGTACAATAGTGACTTTAGGAATCGGGGAATGACGGCACTGCTGAAG
 GTGAGTTCTTGGGATAAAAATACAGGAGATTACTATGAGGATAGTTACGAGGATATCAGTGCCTAT
 CTGGTTTCAAAAACAACGCAATTGAGCGCCGGTCTTCTCACAAAACCCCGGTGCTGAAGCGC
 CACCAGCGGAAATTACCCGGACACCTTGCAGTCCGACGAGGGAATCCATTATGACGATACT
 ATCAGTTAGAAATGAAAAGGAGGATTTGATATTACGACGAAGACGAGAACCAGTCTCCGCGA

(Продолжение)

Фиг. 15А

AGTTTTCAGAAGAAAACGGACACTACTTTATAGCTGCCGTGGAACGACTCTGGGATTATGGCATG
 TCCTCCAGCCCTCATGTCTTAGGAATCGAGCGCAGAGTGGCTCTGTGCCCTCAGTTCAAAAAGGTT
 GTGTTCCAGGAATTCACCGACGGCTCATTTACCCAGCGCTGTACAGAGCGCAACTCAACGAACAC
 CTTGGGCTGCTTGGGCCATATATTGAGCAGAGGTGGAAGATAATATCATGGTAACCTTTAGAAAC
 CAGGCGTCAAGACCCCTATTTCCTTCTACAGTTCTCTGATCAGCTACGAGGAGGACCAAAGACAGGGGA
 GCTGAACCCAGGAAGAACTTTGTGAAACCTAATGAGACCAAGACCTACTTCTGSAAGGTCCAGCAC
 CATATGGCCCAACTAAAGATGAATTCGATTGCAAGGCTGGGCTTATTTACGGCAGCTGGATCTC
 GAAAAGGATGTGCACAGCGGGTTGATCGGACCGCTTTTGGTGTGCCACACAAATACCCCTCAATCCT
 GCCACGGGGCGCAGGTACAGTTCAAGAGTTTGCACCTCTCTTTACAATATTTGACGAGACAAAG
 TCATGGTATTTTACAGAGAATATGGAGAGAAATGTCCGGCACCTTGCAACATTTCAGATGGAGGAC
 CCCACATTTAAGGAGAATTACAGATTTTCATGCTATCAATGGGTACATTATGGATACTCTGGCTGGT
 CTGGTCATGGCCAGGATCAGCGCATAAAGTGGTACTTGTCTGAGCATGGGATCTAATGAGAAATATA
 CACAGCATTCACCTTCAGTGGCCACGTTTTTACTGTAGAAAAGAGGAGGTACAAAATGGCGCTC
 TACAACCTTTACCCGGGTGTGTTTGAGACAGTGGAGATGCTGCCAAGCAAGGCAGGCATCTGGAGG
 GTTGAGTGTCTTATTTGGGAGCATCTGCATGTGGAATGTCCACCTCTCTTTCTTGTGTACAGCAAT
 AAGTGCACAGACCCGCTTGGCATGGCCAGCGGCCACATTAGGGACTTTTCAGATAACTGCCAGTGGGA
 CAGTACGGCCAGTGGGCTCCCAAGCTTGCAAGACTCCACTACTCCGGAAGCATAAACGCATGGAGC
 ACCAAGGAACCTTCTCTTGGATTAAGGTGGACCTGCTGGCGCCATGATCATTACGGGACCTAAAA
 ACCCAAGGGGCACGACAGAAATTTTCATCTTTGTATATTAGTCAGTTTATCATCATGTACAGCTTG
 GATGGAAAGAAAGTGGCAGAGCTACAGGGGCAATTCACAGGAACACTTATGGTGTTTTTTGGGAAT
 GTCGATTCCAGCGGGATCAAAACATAACATCTTCAATCTCCTATTATGCGCCGATATATCCGCTG
 CACCCCTACGCATTACTCCATCAGGTCCACATTGAGAATGGAACTGATGGGGTGGCAGCTGAATAGT
 TGTAGTATGCCACTGGGCATGGAGTCTAAAGCCATCAGCGATGCCACAGATCACTGCCAGCTCTTAC
 TTCACCAACATGTTTCAACTTGGTCCCTCTAAAGCTCGCTGCACTGCGAGGAGGCTCCAAAT
 GCATGGCGACCAAGGTGAACAAATCCAAAAGAGTGGCTCCAGGTGCACTTTTCAGAGACAATGAAG
 GTAACAGGAGTGACAACCCAGGGTGTAAAAGCCCTCCTTACGAGTATGTACGTTAAGGAGTTCTG
 ATTTCTAGCTCCACAGACGGACACCAAGTGGACTCTGTCTTCCAGAACGGCAAGGTGAAGGTATTT
 CAGGAAACCAAGGATTCTTTTACCCCGGTAGTGAATAGCCTGATCCACCGTTGCTGACCCGCTAT
 CTGAGAATTCATCCACAATCCTGGGTGCATCAGATTGCCCTCCGATGGAAGTGTCTGGCTGTGA
 CCTCAGGATCTGTATTAG (SEQ ID NO:16)

Фиг. 15В

CS40-FL-NA

ATGCAAAATAGAGCTCTCCACCTGCTTCTTCTGTGCCTTTTGGGATTCTGCTTTAGTGCCACCAGA
 AGATACTACCTGGGTGCAGTGGAACTGTTCATGGGACTATATGCAAGATGATCTGGTGGAGTGCCT
 GTGGACGCAAGATTTCCTCTAGAGTGCACAAATCTTTCCATTCAACACCTCAGTGTGTACAAA
 AAGACTCTGTTTGTAGAAATTCAGCGATCACCCTTTTCAACATCGCTAAGCCAGGCCACCTGGATG
 GGTCTGCTAGTCTTACCATCCAGGCTGAGGTTTATGATACAGTGGTCAATTACACTTAAGAACATG
 GCTTCCCATCTGTCACTCTTCATGCTTGTGTATCTTACTGGAAAGCTTCTGAGGGAGCTGAA
 TATGATGATCAGACCAAGTCAAAAGGAGAAAGATGATAAAGCTTCCCTGGTGGAAAGCCATACA
 TATGCTGGCAGGTCTCGAAAGAGAAATGGTCCAAATGGCCTCTGACCCACTGTGCTTACCTACTCA
 TATCTTCTCATGTGGACCTGGTAAAAGACTTGAATTCAGGCCCTCATGGAGCCCTACTAGTATGT
 AGAGAAGGGAGTCTGGCCAAAGGAAAGACACAGACCTTGACACAAATTTATACTACTTTTGTGTGA
 TTTGATGAAGGGAAGAGTTGGCACTCAGAAACAAAGAACTCCTTGATGCAGGATAGGGAATGCTGCA
 TCTGCTGGGCCCTGGCTTAAATGCACACAGTCAATGGTTATGTAACAGGTCTCTGCCAGGTCTG
 ATTGGATGCCACAGGAATCAGTCTATTGGCATGTGATTGGAATGGGCACCACTCTCGAAGTGCAC
 TCAATATTCTCGAAGGTGCACATTTCTTGTGAGGAACCATCGCCAGGCGTCTTGGAAATCTCG
 CCAATAACTTTCTTACTGCTCAAACTCTTGTATGGACCTTGGACAGTTTCTACTGTTTTGTCTAT
 ATCTCTTCCCAACACATGATGGCATGGAAGCTTATGTCAAAGTAGACAGCTGTCCAGAGGAACCC
 CAACTACGAATGAAAAATAATGAAGAAGCGGAAGACTATGATGATGATCTTACTGATTCTGAAATG
 GATGTGGTCAGGTTTGTATGATGACAACTCTCTCTCTTATCCAAATTGCTCAGTTGCCAAGAAAG
 CATCTTAAACTTTGGGTACATTACATTGCTGCTGAAGAGGAGGACTGGGACTATGCTCCCTTAGTC
 CTGCCCCCGATGACAGAAGTTATAAAAGTCAATATTGAAACATGGCCCTCAGCGGATTGGTAGG
 AAGTACAAAAAAGTCCGATTTATGGCATACACAGATGAAACCTTTAAGACTCGTGAAGCTATTTCAG
 CATGAATCAGGAATCTTGGGACCTTTACTTTATGGGGAAGTTGGAGACACACTGTTGATTATATTT
 AAGAATCAAGCAAGCAGACCATATAACATCTACCCCTCAGGAAATCACTGATGTCCGTCCTTTGTAT
 TCAAGGAGATTACCAAAAGGTGTAAACATTTGAAGGATTTTCCAATTCTGCCAGGAGAAATATTC
 AAATATAAATGGACAGTGAAGTGTGAAGATGGGCCAACTAAATCAGATCTCGGTGCTGACCCGCT
 TATTACTCTAGTTTCTTAAATATGGAGAGAGATCTAGCTTCAGGACTCATTTGGCCCTCTCTCATC
 TGCTACAAAGAAATCTGTAGATCAAGAGGAAACAGATAATGTGACAGCAAGGAAATGTCTATCCTG
 TTTCTGTATTTGATGAGAACCGAAGCTGGTACCTCAGAGAGAAATACAAAGCTTTCTCCCAAT
 CCAGCTGGAGTGCAGCTTGAAGATCCAGAGTTCCAAGCTCCAACTCATGCACAGCATCAATGGC
 TATGTTTTGTATAGTTTGCAGTTTGCAGTTTGTGTTGATGAGGTGGCATACTGGTACATTTCAAGC
 ATTTGGAGCACAGACTGACTTCTTCTGTCTTCTCTCTGGATATACCTTCAAAACAAAAATGGTC
 TATGAAGACACACTCACCTTATTCCTATTCTCAGGAGAACTGTCTTCTATGTCGATGGAAACCCCA
 GGTCATGGATTCTGGGTGCCCAACTCAGACTTTTGGAAACAGAGGATGACCGCTTACTGAAG
 GTTTCTAGTTGTGACAAAGAACTGGTATTATTACGAGGACACTTATGAAGATATTTAGCATAC
 TTGCTGAGTAAAAAATGCCATTGAACCAAGAAAGCTTCTCCAGAAATCCACAGTCTTGAACCGC
 CATCAACGGGAAATACTCTACTACTCTTTCAGTCAGATCAAGAGGAAATGACTATGATGATAC
 ATATCAGTTGAAATGAAGAAAGGAAGATTTGACATTTATGATGAGGATGAAAAATCAGAGCCCCCG
 AGCTTTCAAAAGAAAACACGACACTATTTTATTGCTGCACTGGAGAGGCTCTGGGATTATGGGATG

(Продолжение)

Фиг. 16А

AGTAGCTCCCCACATGTTCTAAGAAACAGGGCTCAGACTGGCAGTGTCCCTCAGTTCAAGAAAGTT
 GTTTTCAGGAATTTACTGATGGCTCCTTTACTCAGCCCTTATACCGTGGAGAACATAATGAACAT
 TTGGGACTCCTGGGGCCATATATAAGAGCAGAAAGTTGAAGATAATATCATGGTAACCTTCAGAAAT
 CAGGCCTCTCGTCCCTATTCTCTATTCTAGCCTTAITTTCTTATCAGGAAGATCAGAGGCCAAGGA
 GCAGAACCTAGAAAAAATTTCTCAAGCCTAATGAAACCAAACCTTACTTTTGGAAAGTGCACAT
 CATATGGCACCCCACTAAAGATGAGTTTGACTGCAAAGCCTGGGCTTATTCTCTGATGTTGACCTG
 GAAAAAGATCTGCACCTCAGGCCTGATTGACCCCTTCTGGCTGCGCACATAACACACTGAACCTT
 GCTCATGGGAGACAAGTCACAGTACAGGAATTTGCTCTGTTTTTCAACCATCTTTGATGAGACCAA
 AGCTGGTACTTCACTGAAAAATATGGAAGAAATCGCAGGCCTCCCTGCAATATCCAGATGGAAGAT
 CCCACTTTTAAAGAGAATTATCCCTTCCATGCCAATCAATGGCTACATAATGGATACACTACCTGGC
 TTAGTAATGGCTCAGGATCAAAGGATTGATGGTATCTGCTCAGCATGGGCAGCAATGAAACATG
 CATTTCTATTCAATTTCAGTGGACATGTGTTCACTGTACGAAAAAAGAGGAGTATAAAATGGCACTG
 TACAATCTCTATCCAGGTGTTTTTGAGACAGTGGAAATGTTACCATCCAAAGCTTGGAAATTTGGCGG
 GTGGAATGCCCTTATTGGCGAGCATCTACATGCTGGGATGAGCACACTTTTCTGGTGTACAGCAAT
 AAGTGTCAAGCTCCCTGGGAATGGCTTCTGGACACATTAGAGATTTTCAGATTACAGCTTCAGGA
 CAAATGAGACAGTGGGCCCAAAGCTGGCCAGACTTCATTAITCCGGATCAATCAATGCGCTGGAGC
 ACCAAGGAGCCCTTTTCTTGATCAAGGTGGATCTGTGTGGACCAATGATTATTCAGCGCATCAAG
 ACCAAGGGTGGCGTCAAGATTTCTCAAGCCTCTACATCTCTCASTTTATCATCATGTATAGTCTT
 GATCGGAAGAAGTGGCAGACTTATCGAGGAAATTCACCTGGAACCTTAATGGTCTCTTTGGCAAT
 GTGGATTCTATCTGGGATAAAAACACAATATTTTAAACCTCCAAATTTATGCTCGATACATCGCTTTG
 CACCACACTCATATAGCATTCGCAGCACTCTTCGCATGGAGTTGATGGGCTGTGATTAAATAGT
 TGCAGCATGCCATTGGGAATGGAGAGTAAAGCAATATCAGATGCACAGATTACTGCTTCATCCTAC
 TTTACCAATATGTTTCCCACTTGGTCTCTTTCAAAAGCTCGACTTCACCTCCAAAGGGAGGATTAAT
 GCCTGGAGACCTCAGGTGAATAATCCAAAGAGTGGCTGCAAGTGCACCTCCAGAAAGCAATGA
 GTACAGGAGTAACTACTCAGGGAGTAAATCTCTGCTTACCAGCATGTATGTGAAGGATTTCCCTC
 ATCTCCAGCATCAAGATGGCCATCAGTGCACCTCTCTTTTTCAGAAATGGCAAGTAAAGGTTTTC
 CAGGGAAATCAAGACTCTCTCACACCTGTGGTGAACCTCTTAGACCCACCGTTACTGACTCGCTAC
 CTTCGAATTCACCCCAAGATTGGGTGCACCAAGATGCGCTGAGGATGGAGGTCTGTGGCTGCGAG
 GCACAGGACCTCTACTGA (SEQ ID NO:17)

Фиг. 16В

CH25-FL-NA

ATGCAGATCGAGCTGTCCACATGCTTTTTTCTGTGCTGTGCGGTTCTGCTTCAGCGCCACCCGG
 CGGTACTACCTGGGCGCGTGGAGCTGTCTTGGGACTACATGCAGAGCGACCTGGGCGAGCTGCC
 GTGGACGCGCGGTTCCCGCCAGAGTGGCCAGAGCTTCCCTTCACACACAGCTGTGGTGTACAAG
 AAAACCTGTTCGTGGAGTTCAACCGACCACTGTTCACATCGCCAAAGCCAGGCCCGCTTGATG
 GGCTGTGGGCCCCACCATCCAGGCCGAGGTGTACGACACCGTGGTGTACCTCGAAGAATATG
 GCCAGCCACCCCGTGAAGCTGCACGCGCTGGGCGTGAAGTACTGGAAGGCCCTCCGAGGCGCGGAG
 TACGACGACCCAGCCAGCCAGCGGAGAAAGAGACGACAAAGTCTTCTCTGCGCGCAGCCACCC
 TACGTGTGGCAGGTCTTGAAGAAACCGGCCCATGGCTCCGACCCCTGTGCTGACCTACAGC
 TACCTGAGCCACGTGGACTGTGGAAGGACCTGAACAGCGGCTGATTGGGGCCCTGCTGGTCTGC
 CGGAGGGGAGCCTGGCCAAAGAGAAAACCCAGACCCCTGCACAAGTTCACTCTGTCTTGGCGTG
 TTCGACGAGGGCAAGAGCTGGCACAGCGAGAACAAAGAACAGCTGTATGCAGACCGGACCGCGC
 TCTGCCAGAGCTCTGGCCAAAGATGCACACCTGAACGGCTACGTGAACAGAAAGCTTGCCTGGCTG
 ATTGGCTGCCACCGGAAGAGCGGTACTGGCAGTGAATCAGCATGGGACCCACACCCGAGGTGCAC
 AGCATCTTCTGGAAGGGCAGACCTTCTGTGTGGGAACCCAGCGGACGGCCAGCTTGGAAATCAGC
 CCTATCACCTTCTGACCGCCAGACACTGTGTGGAACCTGGGCCAGTTCTGTCTTTTGGCAC
 ATCAGCTCTCACCAAGCAGACCGCATGGAAGCCTACGTGAAGSTGGACTCTGCCCGAGGAACCC
 CAGCTCCGGATGAAGAACACAGGGAAGCCGAGGACTACGACGACGACCTGACCGACGCGGAGATG
 GACGTGTGGGTTTCGACGACGACAAACAGCCCAAGCTTCATCCAGATCAGAAGCTGGCCAAAGAA
 CACCCCAAGACCTGGGTGCACTACATCGCCGCGAGGAAGAGGACTGGGACTACGCCCCCTGTGTG
 CTGGCCCCCGACGACAGAAGCTACAAGAGCCAGTACCTGAACAAATGGCCCCCAGCGGATCGGGCGG
 AAGTACAAGAAAGTGGGTTTCTGTGGCTTACACCGACGAGACCTTCAAGACCCGGGAGGCCATCCAG
 CACGAGAGCGCATCTGGGCCCTCTGTGTACGGCGAAGTGGGCGACACACTGCTGATCATCTTC
 AAGAACCAGCCAGCGCGGCCCTACAACATCTACCCCGACGGCATCACCGAGTGGCGGCCCTGTAC
 AGCAGGCGCTGCCCAAGCGGCTGAAGCACCTGAAGGACTTCCCATCTTGCCTGGCGAGATCTTC
 AAGTACAAGTGCACCGTGCACCGTGGAGGACGGCCCCACCAAGAGCGACCCAGATGCTTCACCGG
 TACTACAGCAGCTTCTGTGAACATGGAACGGGACCTGGCTCTCGGGCTGATCGGACCTTGTGTATC
 TGCTACAAAGAAAGCGTGGACCGCGGCAACAGATCATGAGCGACAAGCGGAACGTGATCTGTG
 TTCAGCGTGTTCGATGACAACCGGTCTGTATCTGACCGAGAACATCCAGCGGTTTCTGCCCAAC
 CCTGCCGGGTGCAAGTGGAAAGATCCCGAGTTCCAGGCCAGCAACATCATGCACTCCATCAATGGC
 TACGTGTTTCAGACGCTGCAGCTGTCCGTGTCTGACGAGGTGGCTTACTGTTACATCTTGAGC
 ATCGGCGCCAGCACACTTCTGTAGCGTGTCTTCAGCGGCTACACCTTCAAGCACAGATGGTG
 TACGAGGACACCTTGAACCTGTTCCTTTCAGCGGCGAGACCTGTTCATGAGCATGAAAAACCC
 GGCCTGTGGATCTTGGCTGCCACAACAGCGACTTCGGGAACCGGGCATGACCGCTCTGTGAAG
 GTGTCCAGCTGCGACAAGAACACCGCGGACTACTACGAGGACAGCTACGAGGATATCAGCGCTAC
 CTGCTGTCCAAGAACACCGCATTCGAGCCAGAAAGCTTCAGCCAGAACCCCTGTGCTGAAGCGG
 CACCAGAGAGATCACCGGATCAACCTGCAGTCCGACCAAGAGATCGATTACGACGACAC

(Продолжение)

Фиг. 17А

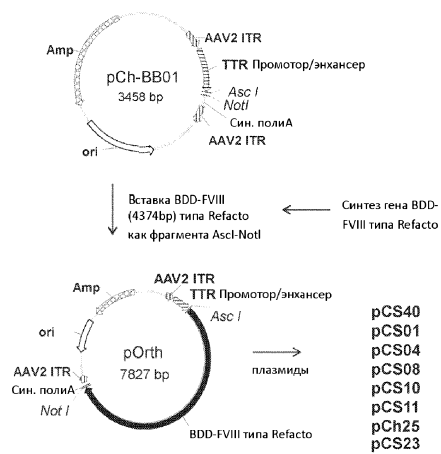
ATCAGCGTGGAGATGAAAAAGAAGATTTCGACATCTACGACGAGGACGAGAACCGAGAGCCCCCGG
 TCCTTCAGAGAGAAAAACCGGCCTACTTTATCGCCCGCCGTGGAGCGGCTGTGGGACTACGGCATG
 AGCAGCAGCCCCCAGGTGCTGCGGAACCGGGCCAGAGCGGCAGCGTGGCCCCAGTTCAAGAAAGTG
 GTGTTCCAGGAATTCACCGACGGCAGCTTCACCCAGCCCCGTGACCGGGGGCAGCTGAACGAGCAC
 CTGGGGCTGCTGGGSCCTTACATCAGGGCCGAAGTGGAGGACAAACATCATGGTGACCTTCCCGAAT
 CAGGCCAGCAGACCTTACTCCTTACAGCAGCCTGATCAGCTACGAGAGGACCGAGCGGCGAGCGG
 GCTGAACCCCGGAAGAACTTCGTGAAGCCCAATGAGACCAAGACCTACTTCTGGAAGTGCAGCAC
 CACATGGCCCCCACCAGGACGAGTTCGACTGCAAGSCCTGGGCTACTTCAGCGAGCTGGATCTG
 GAAAAGGACCTGCACCTCTGGACTGATTGCCCTCTGCTGGTGTGCCACCAACACCCCTGAAGCCC
 GCCCACGGCCGGCAGGTGACCGTGCAGCAATTCGCCCTGTCTTCCACCATCTCGACGAGACCAAG
 TCCTGGTACTTCACCGAGAATATGGAACGGAATGCAGAGCCCCCTGCAACATCCAGATGGAGAT
 CCTACCTTCAAGAGAACTACCGGTTCACGCCATCAACGGCTACATCATGGACACCTTGGCTGGC
 CTGCTGATGGCCAGGACAGAGGATCCGGTGGTATCTGCTGTCCATGGGCGCAACGAGAATATC
 CACAGCATCCACTTCAGCGGCACGTGTTCACCGTGGAGGAAGAAAGAGTACAAGATGGCCCTG
 TACAACCTGTACCCCGCGTGTTCGAGACCTGGAGATGCTGCCACGCAAGCGCGCATCTGGCGG
 GTGGAGTGTCTGATCGGCGAGCACCTGCATGCCGGGATGAGCACCTGTTCTGCTGTACAGCAAC
 AAGTGCAGACCCCCCTGGGCTATGGCCAGCGGCACATCCGGGACTTCAGATCACCGCTCCGGC
 CAGTACCGCCAGTGGGCCCCCAAGCTGGCCCGGTGCCTACAGCGGCAGCATCAACGCTCTGGCTC
 ACCAAGAGAGCCCTTCAGCTGGATCAAGGTGGACCTGCTGGCCCCATGATCATCCACGGCATTAG
 ACCCAGGGCGCCAGGAGAGTTCAGCAGCTGTACATCAGCCAGTTCATCATCATGTACAGCCTG
 CACGCAAGAGTGGCAGACCTACCGGGCAACAGCACCGGCACCTGATGGTGTCTTGGCAAC
 GTGGACAGCAGCGGCATCAAGCACAACATCTTCAACCCCCCATCATCGCCCGGTACATCCGGCTG
 CACCCACCCACTACAGCATCAGATCCACCTGCGGATGGAACATGATGGGCTGCGACCTGAACTCC
 TGACGATCTCTTGGGATGGAAGCAAGGCCATCAGCGACGCCAGATCAGAGCCAGCAGCTAC
 TTCACCAACATGTTGCCACCTGGTCCCCCTCCAAGGCCAGGCTGCACCTGCAGGGCCGGTCCAAC
 GCCTGGCGGCTCAGGTGAACAACCCCAAGAAATGGCTGCAGGTGGACTTTCAGAAAACCATGAAG
 GTGACCGCGGTGACCAACCGAGGCGTGAAAAGCTGCTGACCAAGCATGTACGTGAAGAGATTCTG
 ATCAGCAGCAGCCAGGACGCCACCAAGTGGACCTGTTCTTTCAGAACGGCAAGGTGAAGTGTTC
 CAGGGCAACCGAGACTCCCTTCAACCCCGTGGTGAACCTCCCTGGACCCCCCGCTGACCCCTAC
 CTGCGGATCCACCCCGATCTTGGGTGCACAGATCGCCCTGAGGATGGAAGTCTGCGGATGTGAG
 GCCCAGGATCTGTACTGA (SEQ ID NO:18)

Фиг. 17В

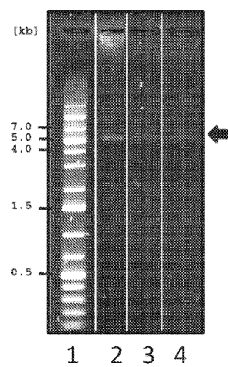
FVIII-FL-AA

mgielsteff lcllrfcfssa trryylgave lswdymqsd l gelpvdarf prvpksfpr
 tsuvyktl fvefthlfnl akprppwmg l lqptiaevy dtuvitlkm ashpvsihav
 gvsywkaseg aeyddtqsr ekeddkvfp gshytvqv l kengpmasdp lcltysylsh
 vdlvkdsng l gailvcre gslakektg l hklfillf fdegkshwae tknslmqdrd
 aasaraupkm htvgvynrs lpgligchrk svywhvimg ttepvhsifl eghtflvrnh
 rqsleispi tfltaqtlm dlqqlflfch isshqhdgme ayukvdsce eplrmkne
 eedydddit dsemvvrfd ddnspsfqi rsvakkhkt wvhyiaeee dwyapvlva
 pddrsyqsq lnnpggrigr kykkrvfmay tdtftkrea iqhesgilp llygevgdtl
 lllfknaqr pynliphgit dvrplysrrl pkgvkhikdf plipgefky kwtvtvedgp
 tksdprcltr yysfvnmr dlasgliglpl licykesvdg rgnqimsdkr nvilfsvde
 nrswylteni qrflpnagv qledpefqas nimhsingy fdsilqlsvcl hevaywylis
 iqagtdflsv ffsqytfkhh mvyedtltlf pfsgetvfms menpgiwlil chnsdfrnrq
 mtallkvssc dkntgdyed syedisayll sknaieprs fsqnsrhpst rqqfnattl
 pendiektop wfahrtmpmk ignvssdl mlrqsptph glslsdlqea kyetfsddps
 pgaidssnsl semthfrpql hhsqdmvftp esqlqlrlne klgttaatel kklfdkvsst
 snnlistips dilaagtdnt sslgppsmpv hydsgldtll fgkssplte sggplslsee
 rndskilles lmsqesswg knvssesqr lfkgkrahgp alltkdnalf kvsislktn
 ktsnnsatnr kthidqpsll ienspsvwn ilesdtefkk vtplihdrml mdknatarl
 nhmenktts knmemvqqk egpipdaqn pdmsffkmlf lpesarwigr thgknslnsg
 qgppskqlvs lqpeksvegg nlfseknkv vkgfeftkdv glkemvfps rnlfltnldn
 lhenntnqge kkiqeeiekk etlignvvl pgihtvtgk nfmklflls trqvvegsyd
 gayapvldf rslndstnr kktahfksk geeenlegl nqtqkiveky acttrispt
 sqnfvtrqs kraikqfrlp leetelekri ivddtstqws knmkhltpst ltqidyneke
 kgaitqspls dcltrahsip qanrsplpia kvssfplsir lyltrvlfgd nsahlpaaasy
 rkfdsgvqes shllqgakk nlsaliltle mtgdqrevgs lqtsatnsvt ykventvlp
 kpdipktsqk vellpkvhiy qkdfptets ngspghldlv egslilqgteg aikwneanrp
 gkvpflrvat essaktpskl ldplawdnhy gtqipkeewk sqekspekta fkkddtilsl
 nacesnhaia ainegqpkpe levtwakqgr terlcsqapp vlkrhgreit rttlgsdgee
 idyddtisve mkkedfdiye edengsprsf qkktthyfia averlwdygm ssaphvlrnr
 aqsgsvpqf kvvfgeftdg sftqplyrge lnehlgllg yiraavedni mvtfrnqsr
 pysfysslis yeedqrqgae prknfvkpne tktyfwkvqh hmaptkdefd ckawayfsdv
 dlekdvhsgl igpillvchn tlnpahgrqv tvqefalfft ifdetkswyf tenmernora
 pcniqmedpt fkenyrfhai ngymdtlpg lvmagdqrrir wyllmsgsne nihsihfsg
 vftvrkkeye kmalynlypg vftvmlps kagiwrvecl igeihhagms tlfivysnkc
 qtplgmasgh irdfqitasg qyggwapkla rihysgsina wstkepfswi kvdlapmii
 hgiktqgarq kfsslyisqf iimysldgkk wqtyrgnstg tlmvffgnvd ssyikhnifn
 ppiaryirl hpthysirst lrmelmcdl nscmpigme skaisdaqit assyftnafa
 twspskarih lqgrsnawrp qvnpkewlq vdfqtkmkvt gvttgqvksl ltsmyvkefl
 isssqdghqw tlfqngkvk vfqgnqdsft pvnslppl ltrylrihpq swnqialrm
 evlgceaqdl y (SEQ ID NO:19)

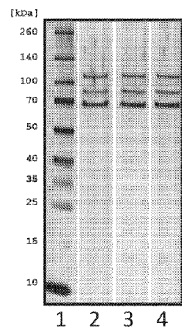
Фиг. 18



Фиг. 19



Фиг. 20



Фиг. 21

CS23-FL-NA

atgcagattgagctgagcaacctgcttcttctgtgctgctgaggttctgcttctctgcccaccagg
 agatactacctggggcgccgtggagctgagctgggactacatgcagttctgacctggggagctgct
 gtggacggccaggttccccccagagtgcccaagagcttcccttcaacacctcagtggtgtacaag
 aagacctgttctgtggagttcacgcacacctgttcaacatcgccaagcccaggccccctggatg
 ggccctgctggggcccccatccaggccgaggtgtacgacacctgggtgatcaacctgaagaacatg
 gccagccaccccgtagcctgcaacgctggcggtggcggtgagctacttgaaggcctctgagggcgccgag
 tatgacgaccagaccagccagagggagaaggaggaacacaaggtgttccccggcgccagccacacc
 tacgtgtggcaggtgctgaaggagaaogggcccaaggccagaccacctgtgacctgacctacagc
 tacctgagccacgtggacctgggtgaaggacctgaactctggcctgatcgccgcccctgctggtgtgc
 agggagggcagcctggccaaaggagaagaccagacctgcacaagtctcatcctgctgttccgcctg
 ttcgatgagggcaagagctggcacaggcagaccaagaacagcctgatgcaggacagggatgcccgc
 tctgccagggcctggcccaagatgcacacctggaacggctacgtgaacaggagcctgcccggcctg
 atcggtctgccacaggaagtctgtgtactggcacgtgatcgccatgggcacccccccagggtgcac
 agcatcttctggagggccacaccttctggtgaggaaccaaggcaggccagcctggagatcagc
 cccatcaaccttctgacggcccagacctgctgatggacctgggcccagttctctgctgttctgccac
 atcagcagccaccagcacgacggcatggaggcctacgtgaaggtggacagctgcccggaggagccc
 cagctgaggatgaagaacaaacgaggagggccgaggactatgatgatgacctgacagactctgagatg
 gacgtggtgaggttligatgatgacaaacagcccagcttcatccagatcaggtctgtggccaaagaag
 caccccaagacctgggtgcaactacatcgcccgccaggagggaggaactgggactacgccccctggtg
 ctggcccccgacgacaggagctacaagagccagtaacctgaacacggccccccagaggatcgccagg
 aagtacaagaaggtcagattcatggcctacacccagcagaccttcaagaccaggaggccatccag
 cacgagctctggcatctctggggccccctgctgtacggcgaggtggcgacacctgctgatcatcttc
 aagaacccagggccagcagggcctacaacatctacccccacggcatcaccgatgtgagggccccctac
 agcaggaggtgctgccaaagggcgtgaagcacctgaaggacttccccatctctggccggcagatcttc
 aagtacaagtgacccgtgacccctggaggatggccccaccaagttctgaccccagggtgacctgacagg
 tactacagcagcttctgtgaacatggagagggacctggcctctggcctgatcgccccctgctgac
 tgcctacaaggagagcgtggaccagaggggcaaccagatcatgtctgcaaaaggaacgtgatcctg
 ttctctgtgtctgatgagaacaggagctgggtatctgacccagacacatccagaggttctctgcccaac
 ccgcgcgctgcaactggaggaccccgagttccaggccagcaacatcatgcacagcatcaacggc
 tacgtgtctgacagcctgcagctgtctgtgtgctgcacggaggtggcctactggtacatcctgagc
 atcgccgcccagaccgacttctgtgtgttcttctgtgctacaccttcaagcaaatgatggtg
 tacgaggaacacctgacctgttcccccttcaggcgccagagacctgttcatgagcatggagaacccc
 ggccctgtggtatctctgggtgcccacaacagcgacttcaggaaacaggggcatgacccgcccctgctgaaa
 gtccagcagctgcgaacagaacacccggcgactactacgaggacagctacgaggacatcagcgccctac
 ctgctgagcaagaacacggccatcgagcccaggagcttcaggccagaacccccccctgctgaaggagg
 caccagagggagatcaccaggaccacctgcagagcgacccaggaggagatcgactatgatgacacc

(Продолжение)

Фиг. 22А

atcagcgtggagatgaagaaggaggacttcgacatctacgacaggagcagaaacagagccccagg
 agcttccagaagaagaccaggcactacttcatcgccgcggtggagaggtctgtgggactatggcatg
 agcagcagccccacgtgctgaggaaacaggccccagagcggtgccccagttcaagaaggtg
 gtgttccagaggttccaccagcggcagcttccaccagccccctgtacagagggcgagctgaacaggacac
 ctgggctctgctggggccccctacatcaggcccgaggtggaggacaacatcatggtgaccttcaggaaac
 caggccagcagggccctacagcttctacagcagcctgatcagctacgagggagaccagagggcagggc
 gccagccccaggaagaactctgtgaagcccaacgagaccaagacatcttctggaaggtgcagcac
 cacatggccccacccaaggacaggttcgactgcgaaggcctgggctacttctctgatgtggacutg
 gagaaggacgtgcacagcgccctgatcgcccccctgctggtgtccacaccaacacctgaacccc
 gccacggcaggcaggtgacctgcaagggttcgacctgttcttccacctcttcgacagagaccag
 agctggtacttcaaccagaaacatggagaggaactgcaggccccctgcaacatccagatggaggac
 cccaccttcaaggagaactacaggttccacggccatcaacggctacatcatggacacctgcccggc
 ctggtgatggcccaggaccagaggatcaggtggtatctgctgagcatgggcagcaacgagaacatc
 cacagcatccacttcaaggccacgtgttccacctgagggaagaaggaggagtaaaagatggccctg
 tacaacctgtaccggcggtgttcgagacctggagatgctgccacgaaggccggcatctggagg
 gtggagtgcctgatcgggcagcactgcacggccggcatgagcacctgttctgggtacagcaac
 aagtgccagacccccctgggcctggccagcggccacatcaggagcttccagatcaccgccccttgcc
 cagtcaggccagtgggcccccaagctggccaggctgcactacagcgccagcatcaacgcttggagc
 accaaggggcccttctcagctggatcaaggtggacctgctggccccatgatctcaaggcatcaag
 acccaggggccagcaggaagttcaagcagcctgtacatcagcaggttcatcatcatgtacagcctg
 gacggcaagaagtggcagacctacaggggcaacagcaccggcaccctgatggtgttcttcggcaac
 gtggacagcagcgccatcaagcaacacatcttcaaccccccatcatcgccaggtacatcagcctg
 caccocccactacagcatcaggagcaccctcgaggtggaactgatgggtgcgacctgaacagc
 tgcagcatgcccctgggcatggagagcaaggccatctctgacggccagatcaccgccaagcagctac
 ttcaaccaatgttgcacacctggagccccagcaaggccagggtgcacctgcaggccaggagcaac
 gctggaggccccaggtgaacacccccaggagtggtgcaggtggacttccagaagacacatgaag
 gtgacccggctgaccaccccaggcggtgaagacctgctgacagcatgtacgtgaaggagttctctg
 atcagcagcagcagggacggccaccagtggaacctgttcttccagaacggcaagtgaaaggttctc
 cagggcaaccaggacagcttccaccccctgggtgaacagcttggaacccccctgctgacaggtat
 ctgaggatccacccccagagctgggtgcacagatcgccctgagaatggaagtgctgggatgcgag
 gccacaggacctgactga (SEQ ID NO: 20)

Фиг. 22В

CS23-FL-AA

MOIELSTCEFLCLLRFCFSATKRYVYLGAVELSWDYMQSDLGELPVDAR' FPPRVKSPFNTSVVYK
 KTLFVEFTDHLFNIAKPRPFWMLLGPITQAEVYDTVVITLKNMASHPVSLHAVGVSYWKASEGAEY
 DDQTSQREKEDDKVFFGGSHTYVWQVLKENGPMASDPLCLTYSLSHVDLVKDLNSGLIGALLVCRE
 GSLAKEKTQTLHKFILLFAVDEGKSWHSETKNSLMQDRDAASARAWPKMHTVNGVYVNSLPLGLIC
 HRKSVYWHVIGMGTTPEVHSIFLEGHTFLVRNHRQASLEISPITFLTAQTLMLDLGQFLLPCHISSH
 QHDGMEAYVKVDSCFEEPQLRMKNNEEAEDYDDDLTDSEMDVVRFDNNSPSTFIQIRSVAKKHPKTW
 VHIAAEEEDWDYAPLV LAPDRSYKSYLNNGPORIGRKYKVRFMAYTDETFKTREAIQHESGLL
 GPLLYGEVGDTHLLIFKNQASRPYNIYPHGITDVRPLYSRRLPKGVKHLKDFPILPGEIFKYKWTVT
 VEDGPTKSDPRCLTRYYSFVNMERDLASGLIGPLLYCYKESVDQQRGNQIMSDKRNVLFSVFDENR
 SWYLTENIQRLPNFAGVQLEDPEFQASNMHSINGYVFDLSQLSVCLHEVAYWYILSIGAQTDFLS
 VFFSGYTFKHKMYYEDTTLTFFSGETVFMSENPGLWILGCHNSDFRNRGMTALLKVSSCDKNTGD
 YYEDSYEDISAYLLSKNNAIEPRSFQNPFLKRRHQREITRTTLQSDQEEIDYDDTISVEMKKEDFD
 IYDEDENQSPRSFQKKTRHYFIAAVERLWDYGMSSSPHVLNRNAQSGSVQFKKVVTFQEBTGDGSPFTQ
 PLYRGELNEHLGLGPYIRAEVEDNIMVTFRNQASRPYSFYSSLISYEEDQQRQGAEPKRNFKPNET
 KTYFWKQHHMPTKDEFDCKAWAYFSVDVLEKDVHSGGLIGPLLVCHTNTLNFAGRGQVTVQEEFALF
 FTTFDETKSWYFTENMERNCRAPCNIQMEDPTFKENYRFHAINGYIMDTPLGLVMAQDQIRWYLLS
 MGSNENIHSIHFSGHVFTVRKKEEYKMALYNLYPGVFETVEMLPKAGIWRVECLIGELHAGMSTL
 FLVYSNKCQTPLGMAAGHIRDFQITASGQYQWAPKLARLHYSGSINAWSTKEPFSWIKVDLLAPMI
 IHGIKTQGARQKFSLSYISQFIIMYSLDGKKWQTYRGNSTGLMVFFGNVDSGKHNINFPPIIAR
 YIRLHPHYSTIRSLRMLMGCDLNSCMLPGMESKAISDAQITASSYFTNMFTAWSPSKARLHLQG
 RSNAWRPQVNNPKEWLQVDFQKTKVTGVTQGVKSLLTSMYVKEFLISSQDGHQWTLFFQNGVKV
 VFQGNQDSFTPVVNSLDPPLTRYLRHPQSWVHQIALRMEVLGCEAQDLY (SEQ ID NO:21)

Фиг. 23

CS23-HC-NA

accaggagat actacactggg cgcgcgtggag ctgagctggg actacatgca gtctgacctg
 ggcgagctgc ctgtggagcg cagggtcccc cccagagtgc ccaagagctt ccccttcaac
 accctcagtg tgtacaagaa gacctgttc gtggagttca ccgaccacct gttcaacatc
 gccaaagcca ggcctccctg gatgggcttg ctgggcccc ccatccagcg cgaggtgtac
 gacacccgtg tcatccacct gaagaacatg gccagccacc ccgtgagctt gcacgccttg
 ggcgtgagct actggaagcg ctctgagggc gccgagtgat acgaccagac cagccagagg
 gagaaggagg acgacaaggt gtccccggc gccagccaca cctacgtgtg gcaggtgctg
 aaggagaacg gcccctaggc cagcgacccc ctgtgacctg cctacagcta cctgagccac
 gtgacacctg tgaaggaact gaactctggc ctgacggcg ccctgctggt gtgcagggag
 gccagccctg ccaaggagaa gacccagacc ctgcacaagt tcatctgct gtctgcctg
 ttcatgaggt gcaagagctg gcacagcgag accaagaaca gcttgatgca ggacagggt
 gccgctctg cccagggctg gcccaagatg cacacccgtg acggtacgt gaacaggagc
 ctgcccggcc tcatcgctg cccaggaag tctgtgtact ggacggtgat cggcatgggc
 accacccctg aggtgcacag catcttcttg gagggccaca ccttctggt gaggaaacc
 aggcaggcca gctggagat cagccctatc accttctga cgcgccagac cctgtgatg
 gacctgggcc agtctctgct gttctgccac atcagcagcc accagcacga cggcatggag
 gccacgtga aggtggacag ctgcccggc gacccccg tggagtgaa gaacaacgag
 gagcccgagg actatgatga tgacctgacc gactctgaga tggacgtggt gagggttgat
 gatgacaaca gcccagctt catccagatc aggtctgtgg ccaagaagca cccaagacc
 tgggtgacct acatcgccgc cagggaggag gaactgggact acgccccctt ggtgctggcc
 cccgacgaca ggagctacaa gacccagtac ctgaacaacg gccccagag gatcggcagg
 aagtacaaga aggtcagatt catggcctac accgacgaga ccttcaagac caggggaggc
 atccagcagc agtctggcat cctgggcccc ctgctgtacg gcgaggtggg cgaacacctg
 ctgatcatct tcaagaacca ggcacgagc cctacaaca tctaccccc cggcatcacc
 gatgtgaggc cctgtacag caggaggctg cccaagggcg tgaagcaact gaaggacttc
 cccatctgc cggcgagat cttaagtag aagtgagcc tgacctgga ggtggcccc
 accaagctg accccagggt cctgaccagg tactacagca gcttctgaa catggagagg
 gacctggcct ctggcctgat cggccccctg ctgatctgct acagggagag cgtggaccag
 aggggcaacc agatcatgtc tgacaagagg aacgtgatcc tgttctctg ttctgatgag
 aacaggagct ggtatctgac cagaaacatc cagaggttcc tgcccccccc cgcggcgctg
 cagctggagg accccaggtt ccaggccagc aacatcatgc acagcatcaa cggctacgtg
 ttccagagcc tgagctgtc tgtgtgctg cagcaggtgg cctactggta catctgagc
 atcggcgccc agaccgactt cctgtctgtg ttcttctctg gctacacctt caagcacaa
 atgtgtgtag aggaacacct gacctgttc ccttcagcg gcgagacctt gttcatgagc
 atggagaacc cggcctgtg gatcctgggc tgccacaaca gcgactcag gaacaggggc
 atgacccccc tgcgaaagt cagcagctgc gacaagaaca cggcgagcta ctacaggagc
 agctacgagg acatcagcgc ctacctgtg agcaagaaca acgcatcga gcccgag
 (SEQ ID NO:22)

Фиг. 24

CS23-LC-NA

```

g agatcaccag gaccacccctg
cagagcgacc aggaggagat cgaactatgat gacaccatca gcgtggagat gaagaaggag
gacttgcaca tctacgcaga ggacgagaac cagagcccca ggagcltcca gaagaaggacc
aggcactact tcatcgccgc cglggagagg clgtgggacl atggcatgag cagcagccccc
cacgtgctga ggaacagggc ccagagcggc agcgtgcccc agttcaagaa ggtgggttlt
caggagtcca ccgacggcag cttcaccag cccctgtaca gaggcgagct gaacgagcac
ctgggcccgc tgggccccla calcaggggcc gagggtggagg acaacalcal ggtgaccttc
aggaaaccagg ccagcaggcc ctacagcttc tacagcagcc tgatcagcta cagaggaggac
cagaggcagg gcgcgcagcc caggaagaac ttcgtgaagc ccaacgagac caagacctac
ttctggaagg tgcagcacca catggccccc accaaggacg agttcgactg caaggccttg
gcctacttct ctgatgtgga cctggagaag gacgtgcaca gcggcctgat cggccccctg
ctgggtgtgc acaccaacac cctgaacccc gccacggca ggcaggtgac cgtgcaggag
ttcgcctctgt tcttaccat cttcgacgag accaagagct ggtacttccac cgaagaacatg
gagaggaaact gcaggggccc ctgcaacatc cagatggagg accccacctt caaggagaac
tacaggttcc acgcatcaaa cggctacatc atggacaccc tgcccggcct ggtgatggcc
caggaccaga jgatcagggt gtatctgctg agcatgggca gcaacgagaa catccacagc
atccacttca cggccacagt gttcaccgtg aggaagaagg aggagtacaa gatggccctg
tacaacctgt acccggcgt gttcgagacc gtggagatgc tgcccagcaa ggcgggcac
tgagggtgtg agtgccatgat cggcgagcac ctgcacgcg ccatgagcac cctgttctctg
gtgtacagca acaagtgcga gacccccctg ggcattggca cggccacat cagggaacttc
cagatccagg cctctggcca gtacggccag tgggccccca ajctggccag gctgcactac
agcggcagca tcaacgcctg gacacccaag gaccccttca gctggatcaa ggtggacctg
ctggccccca tgatcatcca cggcatcaag acccaggggc caggcgagaa gttcagcagc
ctgtacalca gccagttcat catcatgtac agcctggacg gcaagaagtg gcagacctac
aggggcaaca gcaacggcac cctgatgtgt ttcttcggca acgtggacag cagcggcac
aagcacaca tcttcaaccc ccccatcacc gccaggatca tcaagctgca cccacccac
tacagcatca ggagcaacct gcggatggaa ctgatgggtg gcgacctgaa cagctgcagc
atgccccctg gcatggagag caaggccatc tctgacgccc agatcacgc cagcagctac
ttcaccaca tgttccgccc ctggagcccc agcaaggcca ggctgcacct gcagggcagg
agcaacgcct ggaggccccca ggtgaacaac cccaaggagt ggctgcaggt ggacttccag
aagaccatga aggtgacccg cgtgacccc cagggcctga agagcctgct gaccagcatg
tacgtgaagg agttctctgat cagcagcagc caggacggcc accagtggac cctgttcttc
cagaacggca aagtgaaggt gttccagggc aaccaggaca gcttccacccc cgtggtgaa
agcctggacc cccccctgct gaccaggtat ctgaggatcc accccaagag ctgggtgcac
cagatcgccc tgagaatgga agtgctggga tgcgaggccc aggacctgta c
(SEQ ID NO:23)

```

Фиг. 25

CS01-HC-NA

```

gcc
accaggagat actacctggg ggcgtggaa ctttcttggg actacatgca gctgcacctg
ggagagctgc ctgtggatgc cagggttccca cccagagtgc ccaagtcctt cccattcaac
acctctgtgg tctacaagaa gacactcttt gtggaattca ctgaccacct gttcaacatt
gcaaaaccca gaccacccctg gatgggactc ctgggaccca ccatcagcgg tgaggtgtat
gacactgtgg tcatcacctc caagaacatg gcatccaccc ctgtgtctct gcatgctgtg
ggagtctcat actgaaagg ctctgaagg gctgagtatg atgaccagac atccccagaa
gagaaaggag atgacaaggt gttccctggg ggaatcaca cctatgtgtg gcaagctctc
aaggagaatg gaccatggc alctgaccca ctctgcctga catactccta cctttctcat
gtggacctgg tcaaggacct caactctgga ctgattgggg cactgctggt gtgcagggaa
ggatccctgg ccaaggagaa aaccagaca ctgcacaagt tcaattctct gtttctgtc
tttgatgagg gcaagtcttg gcaactctgaa acaagaaact cctgatgca agacagggat
gctgctctct ccaaggcatg gcccaagatg cacactgtga atggctatgt gaacagatca
ctgacctggac tcaattggctg ccacaggaaa tctgtctact ggcatgtgat tggcatgggg
acaacccccg aagtgcactc cttttctctg gagggacaca ccttctggt caggaaaccac
agacaagcct ctctggagat ctctcccatc accttctcca ctgcacagac actgctgatg
gaccttggac agttctctgct gttctgccac atctcttccc accagcatga tggcatggaa
gcctatgtca aggtggactc atgcccgtgag gaaccacagc tcaggatgaa gaacaatgag
gaggctgagg actatgatga tgacctgact gactctgaga tggatgtggt cagatttgat
gatgacaact ctccactctt cattcagatc aggtctgtgg caaagaaaca ccccagaca
tgggtgcact acattgctgc tgaggaaagag gactgggaact atgcacct ggtcctggcc
cctgatgaca ggagctacaa gtctcagtac ctcaacaatg gccacaaaag aattggaaga
aagtacaaga aagtcaagatt catggcctac actgatgaaa ccttcaagac aagagaaggc
attcagcatg agttctggcat tctgggacca ctctgtatg gggaagtggg agacacctctg
ctcatcatct tcaagaacca ggcctccagg cctacaaca tctaccaca tggcatcact
gatgtcaggc cctgtacag caggagactg ccaaaagggg tgaacacct caaggacttc
ccattctgc ctggagagat ctccaagtac aagtggactg tcactgtgga ggatggacca
acaaagtcg accccagggt cctcaccaga tactactcct cttttgtgaa catggagaga
gacctggcat ctggactgat tggaccactg ctcactgct acaaggagtc tgtggaccag
agaggcaacc agatcatgtc tgacaagaga aatgtgatcc tgttctctgt ctttgatgag
aacagatcat ggtacctgac tgagaacatt cagagatccc tgcccacccc tgcctgggtg
caactggaa accctgagtt ccaggcaagc aacatcatgc actccatcaa tggctatgtg
tttgactctc tccagcttcc tgtctgctg catgagggtg cctactggta cattcttct
attggggcac aaactgactt ctttctgtc ttctctctg gataacacct caagcacaag
atgggtgatg aggacacct gacactcttc ccatctctg gggaaactgt gttcatgagc
atggagaacc ctggactgtg gattctggga tggcacaact ctgacttcag aaacagggga
atgactgcac tgcacaaagt ctctctctgt gacaagaaca ctggggacta ctatgaggac
tctatgagg acatctctgc ctacctgtc agcaagaaca atgcatgga gccacaga
(SEQ ID NO:24)

```

Фиг. 26

CS01-LC-NA

g agatcaccag gacaaccctc
 cagttctgacc aggaagagat tgactatgat gacaccattt ctgtggagat gaagaaggag
 gacttttgaca tctatgatga gacgagagac cagtcctccaa gatcattcca gaagaagaca
 agacactact tcatgtctgc tgtggaaaga ctgtgggact atggcatgtc ttcctctccc
 catgtctcca ggaacagggc acagtcctgc tctgtgscac agttcaagaa agtggctctc
 caggagttca ctgatggctc attcaccag cccctgtaca gaggggaaat gaatgagcac
 ctgggactcc tgggaccata catcagggtc gagggtggaag acaacatcat ggtgacatc
 agaaaccagg cctccaggcc ctacagcttc tactcttccc tcatcagcta tgagggaagac
 cagagacaaag gggctgagcc aagaagaac tttgtgaac ccaatgaac caagacctac
 ttctggaaaag tccagcacca catggcacc accaaggatg agtttgactg caaggcctqg
 gcatacttct ctgatgtgga cctggagaaa gatgtgcact ctggcctgat tggccactc
 ctggtctgccc acaccaacac cctgaaccct gcacatggaa ggaagtgac tgtcaggag
 ttggccctct tcttaccat ctgtgatgaa accaagtcac ggtacttccac tgagaacatg
 gagagaaact gcagagcacc atgcaacatt cagatggaag accccacctt caaggagaaac
 tacaggtlcc atgccatcaa tggctacatc atggaacccc tgcctgggct tgtcatggca
 caggaccaga gaatcagatg gtacctgctt tctatgggat ccaatgagaa cattoactcc
 atccacttct ctgggcatgt ctccactgtg agaaagaagg aggaatacaa gatggccctg
 tacaaacctc accctggggt ctlttgagact gtggagatgc tgcctccaa agctggcctc
 tggagggtg aatgcctcat tggggagcac ctgcattgtc gcatgtcaac cctgttctg
 gtctacagca acaagtgcac gacacccctg ggaatggcct ctggccacat cagggacttc
 cagatcactg cctctggcca gtatggccag tgggacccc aactggccag gctccactac
 tctggctcca tcaatgcatg gtcaaccaa gaccattct ctggatcaa ggtggacctg
 ctggcaccac tgatcattca tggcatcaag acacaggggg caagacagaa atctctctct
 ctgtacatct cacagtccat catcatgtac tctctggatg gcaagaagtg gcagacatac
 agaggcaact ccaatggcac cctcatgtct tcttttgaca atgtggacag ccttggcctc
 aagcacaca tottcaaccc tccatcatt gccagatata tcaagctgca ccccaaccac
 tactcaatca gcaaacctc caggatggaa ctgatgggat gtgacctgaa cctctgtcca
 atgcccctgg gaatggagag caaggccatt tctgatgccc agatcactgc atcctcttcc
 ttccaccaac tttttggcac stggtcacca tcaaaagcca ggtccacct ccaaggaga
 agcaatgctt ggagacccc ggtcaacaa ccaaaaggaat ggtgtcaagt ggaactccag
 aagacaatga aagtactgg ggtgacaaac cagggggtca agtctctgct cactcctaatg
 tatgtgaagg agttcctgat ctcttctca caggatggcc accagtggac actcttcttc
 cagaatggca aagtcaaggt gttccagggc aaccaggact ctttcacacc tgtgtgaaac
 tcaactggacc ccccccctct gacaagatac ctgagaatc acccccaqtc tgggtccac
 cagattggcc tgagaatgga agtccctgga tgtgaggcac aagacctgta c
 (SEQ ID NO:25)

Фиг. 27

CS01Δ(760-1667) - CS01-SC1-NA

ATGCAGATTGAGCTGTCCACCTGCTTCTTCTGTGCTGCTGAGATTCTGCTCTCTGCCACCAGGAGATAC
 TACCTGGGGGCTGTGGAACTTTCTTGGGACTACATGCACTCTGACCTGGGAGAGCTGCTGTGGATGCCAGG
 TTCCACCCAGAGCTGCCCAAGTCTTCCCATTCACACCTCTGTGGTCTACAAAGAAAGACACTCTTTGTGGAA
 TTCACTGACCACTGTTTCAACATTCGCAAAACCCAGACCACTGGAATGGGACTCTCTGGACCCACCATTCAG
 GGTGAGGTGTATGACACTGTGCTCATCACCTCAAGAACATGGCATCCCACTCTGTCTCTGTGCTGCTGTG
 GCACTCTCATCTCTGGAAGGCTCTGAAAGGGCTGCACTATGATGACCAACATCCACAGAGAGAGAAAGAGAT
 GACAAGGTGTCTCTGGGGATCTCACACCTATGTGTGGCAAGTCTCAAGAGAGAAATGACCCATGGCATCT
 GACCCACTCTGCTTGACATACCTTCTCTCATGTGGACCTGGTCAAGGACCTCACTCTGGACTGAT
 GGGGCACTGCTGTGTGCAAGGAAAGGATCCCTGGCCCAAGGAGAAACCCAGACACTGCACAAATTCATCTC
 CTGTTTGTCTCTTGTATGAGGGCAAGTCTTGGCACTCTGAAACAAAGAACTCCCTGATGCAAGACAGGGAT
 GCTGCCCTGSCCAGGGGATGGCCCAAGATGCACTGTGAATGGCTATGTGAACAGATCACTGCTGGACT
 ATTGGCTGCCACAGGAATCTGTCTACTGGCATGTGATGGCATGGGGCAACCCCTGAAGTGCATCTCAT
 TTCTGGAGGGACACACCTTCTGGTGGGAACACAGACAAAGCCTCTCTGGAGATCTCTCCATCACTCTC
 CTCACTGCACAGACACTGCTGATGGACCTTGGACAGTCTCTCTGCTCTCTGCCACATCTCTCCACACGAT
 ATGGCATGGAAGCCTATGTCAAGGTGGACTCATGCCCTGAGGAACACAGCTCAGGATGAAGAACATGAG
 GAGGCTGAGGACTATGATGATGACCTGACTGACTCTGAGATGATGTGGTCAAGATTGATGATGACAACTCT
 CCATCTTCTCATTCAGATCAGGTCTGTGGCAAGAAACACCCCAAGACATGGGTGCATACATTGCTGCTGAG
 GAGAGGACTGGGACTATGCACACTGGTCTGTCGCCCTGATGACAGGAGCTACAGTCTCAGTACCTCAAC
 AATGGCCCAAGAAATTTGAAGAAATACAAAGAAAGTCAAGATTCAATGGCTACACTGATGAACCTTTCAAG
 ACAAGAGAAAGCATTCAGCATGAGTCTGGCATTCTGGGACCACTCCCTGATGGGAAAGTGGGAGACACCTG
 CTCATCATCTTTCAAGAACAGGCTCCAGGCCCTTACAAACATCTACCCACATGGCATCACTGATGTCAAGGCC
 CTGTACAGCAGGAGACTGCCAAAAGGGGTGAACACCTCAAGGACTTCCCATTTCTGGCTGGAGAGATCTTC
 AAGTACAAGTGGACTGTCACTGTGGAGGATGGACCAACAAAGTCTGACCCAGGCTGCCACACGATACTAC
 TCTCTTTTGTGAACATGGAGAGAGACCTGGCATCTGGACTGATGGACCACTGCTCATCTGCTACAGGAG
 TCTGTGGACCAAGAGAGGCAACAGATCATGTCTGACAAGAGAAATGTGATTCTGTTCTCTCTCTTTGATGAG
 AACAGATCATGCTACCTGACTGAGAACATTCAGAGATCTCTGCCAACCTCTGCTGGGCTGCACTGGAAGAC
 CCTGAGTCTCAGGCAAGCAACATCATGCACTCCATCAATGGCTGTGTGTTGACTCTCTCCAGCTTTCTGCTC
 TGGCTGATGAGGTGGCTACTGGTACATCTTTCTATTGGGGCACAACTGACTTCTTTCTGCTCTCTCTC
 TCTGGATACACCTTCAAGCACAAAGATGGTGTATGAGGACACCTTGACACTCTTCCATTTCTCTGGGAAACT
 GTCTTCATGAGCATGGAGAACCTTGGACTGTGGATTCTGGGATGCCAACACTTGACTTCAGAAACAGGGGA
 ATGACTGCATGTCAAAAGTCTCTCTCTGTGACAGAAACACTGGGGACTACTATGAGGATCTCTATGAGGAC
 ATCTCTGCTACCTGCTCAGCAAGAAACAAATGCCATTGAGGCCAGAGAGATCACAGGACAAACCTCCAGTCT
 GACCAGGAAGAGATTGACTATGATGACACCATTTCTGTGGAGATGAAGAAAGGAGGACTTTGACATCTATGAT
 GAGGACGAGAACCACTCTCCAGATCATTCAGAAAGAGACAGACACTACTTCATTGCTGCTGTGGAAAGA
 CTGTGGGACTATGGGATGTCTTCTCTCTCCCATGTCTCAGGAACAGGGGACAGCTGTGGCTCTGTGCCACAG
 TTCAAGAAAGTGGTCTTCCAGGAGTCTCACTGATGGCTCATTCACCCAGCCCTGTACAGAGGGGAGCTGAAT
 GAGCACTGGGACTCTCTGGGACCATACATCAGGGCTGAGGTGSAAGACAAACATCATGTTGACATTCAGAAAC
 CAGGCCCTCAGGCCCTACAGCTTCTACTCTTCCCTCATCAGCTATGAGGAAGACACAGACAAAGGCCCTCAG
 CCAAGAAAGAACTTTGTGAACCCCAATGAACCCAGACCTACTTCTGGAAAGTCCAGCACCAATGGCACCC

(Продолжение)

Фиг. 28А

ACCAAGGATGAGTTTGACTGCAAGGCGTGGGCATACTTCTCTGATGTGGACCTGGAGAAAGATGTGCACCT
 GGCCTGATTTGGCCACTCTCTGGTCTGTCACACCAACACCTGAACCTGGACATGGAGGCAAGTGCACCTG
 CAGGAGTTTGGCCCTCTCTTTCACCATCTTTGATGAAACCAAGTCACTGGTACTTCACTGAGAACATGGAGAA
 AACTGCAGAGCACCATGCAACATTCAGATGGAGAGCCCCACCTTCAAGGAGAACTACAGGTTCATGCCCCA
 AATGGCTACATCATGGACACCCCTGCCTGGGCTTGTATGGCACAGGACAGAGAAATCAGATGGTACCTGCTT
 TCTATGGGATCCAAATGAGAACATTCACATCCATCCACTTCTCTGGGCATGCTTCACTGTGAGAAAGAACGAG
 GARTACAAGATGGCCCTGTACAACTCTACCCCTGGGCTTTTGAGACTGTGGAGATGCTGCCCTCCAAAGCT
 GGCATCTGGAGGGTGAATGCTCATTTGGGGAGCACCTGCATGCTGGCATGTCAACCCCTGTCTCTGGTCTAC
 AGCAACAAGTGCCAGACACCCCTGGGAATGGCTCTGGCCACATCAGGGACTTCCAGATCACTGCCCTCTGGC
 CAGTATGGCCAGTGGCCACCCAACTGCCAGGCTCCACTACTCTGGCTCCATCAATGCATGGTCAACCAAG
 GAGCCATCTCTTTGGATCAAGGTGGACCTGCTGGCCACCCATGATCATTCATGGCATCAGACACAGGGGGCA
 AGACAGAAATCTCTCTCTGTACATCTCACAGTTCATCATCTGTACTCTCTGGATGGCAAGATGGCCAG
 ACATACAGAGGCAACTCCACTGCCACCCCTCATGGTCTCTCTTTGGCAATGTTGGACAGCTCTGGCATCAAGCAC
 AACATCTTCAACCCCTCCCATCATTTGCCAGATACATCAGGCTGCCACCCACCCACTACTCAATCAGATCAACC
 CTCAGGATGGAACTGATGGGATGTGACCTGAACTCTGCTCAATGCCCTGGGAATGGAGAGCAAGGCCATTT
 TCTGATGGCCAGATCACTGCATCTCTTACTTCAACCAACATGTTTGGCACTTGGTCAACATCAGAGGCCAGG
 CTGCACCTTCCAGGGAAGAGGCAATGCTTGGAGACCCAGGTCAACCAACCCAAAGGAATGGCTGCAAGTGGAC
 TTCCAGAGACAATGAAAGTCACTGGGGTGACAACCCAGGGGCTCAAGTCTCTGCTCACCTCATGTATGTG
 AAGGAGTTCTTGATCTCTTCTCACAGGATGGCCACCAAGTGGACACTCTCTTCCAGATGGGCAAGTCAAG
 GTGTTCAGGCCAACAGGACTTTTTCACACCTGTGGTGAAGTCACTGGACCCCCCTCTCTGACAGGATAC
 CTGAGAAATTCACCCCAAGTCTTGGGTCCACCAGATTGCCCTGAGAAATGGAAGTCTGGGATGTGAGGCACAA
 GACCTGTACTGA (SEQ ID NO:26)

Фиг. 28В

CS01Δ(772-1667) - CS01-SC2-NA

ATGCAGATTGAGCTGTCCACCTGCTTCTTTCTGTGCTGCTGAGATTCTGCTTCTCTGCCACCAGG
 AGATACTACCTGGGGGCTGTGGAACTTTCTTTGGGACTACATGCAGTCTGAACCTGGGAGAGCTGCCCT
 GTGGATGCCAGGTTTCCACCCAGAGTGGCCAAAGTCTTCCCATTCACACACCTCTGTGGTCTACAAAG
 AAGACACTCTTTGTGGAATTCACTGACCACTGTTCACCATTTGCAAAAACCCAGACCCCTGGGATG
 GGACTCTCTGGGACCCACCATTCAGGCTGAGGTGTATGACACTGTGGTCACTCACCCCTCAAGAACATG
 GCATCCACCCCTGTGTCTCTGCATGCTGTGGGAGTCTCATACTGGAAAGCCTCTGAAGGGGCTGAG
 TATGATGACCAAGACATCCAGAGAGAGAAAGAGGATGACAAGGTGTTCCCTGGGGGATCTCACACC
 TATSTGTGGCAAGTCTCAAGGAGAAATGGACCCATGGGCATCTGACCCACTCTGCCTGACATACTCC
 TACCTTTCTCATGTGGACCTGGTCAAGGACCTCAACTCTGGACTGATTTGGGGCACTGCTGGTGTGC
 AAGGAAGGATCCCTGGCCAAAGGAGAAAACCCAGACACTGCACAAGTTCAATTCTCTGTTTGTCTGTC
 TTTGATGAGGGCAAGTCTTGGCACTCTGAAACAAAGAACTCCCTGATGCAAGACAGGATGCTGCC
 TCTGCCAGGGCATGGCCCAAGATGCACACTGTGAATGGCTATGTGAACAGATCACTGCTGGACTC
 ATTGGCTGCCACAGGAAATCTGTCTACTGGCATGTGATTGGCATGGGGACAAACCCCTGAAGTGCAC
 TCCATTTTCTGGAGGGGACACACCTTCTCTGGTCAGGAACACAGACAGCCCTCTCTGGAGATCTCT
 CCCATCACCTTCTCTACTGACAGACACTGCTGATGGACCTTGGACAGTTCTCTGCTGTCTGCCAC
 ATCTCTTCCACCCAGCATGATGGCATGGAAGCCTATGTCAAAGGTGGACTCATGCCCTGAGGAAACCA
 CAGCTCAGGATGAAGAACAAATGAGGAGGCTGAGGACTATGATGATGACCTGACTGACTCTGAGATG
 GATGTGGTCAGATTGATGATGACAACCTCTCCATCTCTCATTCAGATCAGGTCTGTGGCAAGAGAA
 CACCCCAAGACATGGGTGCACTACATTTGCTGCTGAGGAAGAGGACTGGGACTATGCACCACTGGTC
 CTGGCCCTGATGACAGGAGCTACAAGTCTCAGTACCTCAACAATGGCCCAAGAAATGGAGAGA
 AAGTACAAGAAAGTCAGATTCAATGGCTTACACTGATGAACCTTCAAGACAAGAGAGCCATTGAG
 CATGAGTCTGGCATTCTGGGACCACTCCTGTATGGGGAAGTGGGAGACACCCCTGCTCATCATCTTC
 AAGAACCAGGCCCTCCAGGCCCTACAACTCTACCCACATGGCATCACATGATGTGAGGCCCTGTAC
 AGCAGGAGACTGCCAAAAGGGGTGAAACACCTCAGGACTTCCCCATTCTGCTGGAGAGATCTTC
 AAGTACAAGTGGACTGTCACTGTGGAGGATGGACCAACAAGTCTGACCCAGGTTGCCCTCACAGAG
 TACTACTCTCTTTTGTGAACATGGAGAGAGACCTGGCATCTGGACTGATTGGACCACTGCTCATC
 TGCTACAAGGAGTCTGTGGACAGAGAGGCAACAGATCATGTCTGACAAGAGAAATGTGATTCG
 TTCTCTGTCTTTGATGAGAACAGATCATGGTACCTGACTGAGAACATTCAGAGATTCCTGCCCAAC
 CCTGCTGGGGTGCAACTGGAAGACCTGAGTTCCAGGCAAGCAACATCATGCACTCCATCAATGGC
 TATGTGTTTGACTCTCTCCAGCTTTCTGTCTGCTGCTGATGAGGTGGCCCTACTGGTACATCTTTCT
 ATTGGGGCACAAACTGACTTCTTTCTGTCTTCTCTCTGGATACACCTTCAAGCACAGATGGTG
 TATGAGGACACCTGACACTCTTCCCATCTCTGGGGAAACTGTGTTTATGAGCATGGAGAAACCT
 GGACTGTGGATCTGGGATGCCAACCTCTGACTTCAGAAACAGGGGAATGACTGCACTGCTCAAAA
 GTCTCTCTCTGTGACAAGAACACTGGGGACTACTATGAGGACTCTTATGAGGACATCTCTGCCATC
 CTGCTCAGCAAGAACAAATGCCATTGAGCCCAAGGCTTCTCTCAGAAATCCAGACACCCCAAGCAC
 AAGGAGATCACCAAGACAAACCTCCAGTCTGACCAAGAGAGATTGACTATGATGACACCATTTCT
 GTGGAGATGAAGAGGAGGACTTTGACATCTATGATGAGGACGAGAACAGTCTCCAGATCATTC

(Продолжение)

Фиг. 29А

CAGAAGAAGACAAGACACTACTTTCATTGCTGCTGTGGAAAGACTGTGGGACTATGGCATGTCTTCC
TCTCCCATGTCTCTCAGGAACAGGGCACAGTCTGGCTCTGTGCCACAGTTCAAGAAAGTGGTCTTC
CAGGAGTTCAGTATGCTCATTCACTCAGCCCTGTACAGAGGGGAACATGAATGAGCACCTCGGA
CTCTTGGGACCATACATCAGGGCTGAGGTGGGAAGACAACATCATGGTGACATTCAGAAACAGGGCC
TCCAGGCCCTACAGCTTCTACTCTTCCCTCATCAGCTATGAGGAAGACCAGAGACAAGGGGCTGAG
CCAAGAAAGAACTTTGTGAAACCAATGAAACCAAGACCTACTTCTGGAAAGTCCAGACCCACATG
GCACCCACCAAGGATGAGTTTGACTGCAAGGCCCTGGGCATACTTCTCTGATGTGAGCTGGAGAAA
GATGTGCACCTTGGCCTGATTGGCCCACTCCCTGGTCTGCCACCAACACCTGAACCTTGACAT
GGAAGGCAAGTGACTGTGCAGGAGTTTGCCCTCTTCTTCCACATCTTTGATGAACCAAGTCATGG
TACTTCACTGAGAACATGGAGAGAACTGCAGAGCACCATGCCAACATTCAGATGGAAAGACCCACCC
TTCAAGGAGAACTACAGGTTCCATGCCATCAATGGCTACATCATGGACACCTGCTTGGCTTGTCT
ATGGCACAGGACCAAGAGAAATCAGATGGTACCTGCTTTCTATGGGATCCAAATGAGAACATTCACCTCC
ATCCACTTCTCTGGGCATGTCTTCACTGTGAGAAAGCAAGGAGGAATACAGATGGCCCTGTACAAAC
CTCTACCCCTGGGCTCTTTGAGACTGTGGAGATGCTGCCCTGCCAAGCTGGCATCTGGAGGGTGGAA
TGCCTCATTGGGGAGCACCTGCTGCTGGCATGTCAACCTGTCTCTGGTCTACAGCAACAACTGCC
CAGACACCCCTGGGAATGGCTCTTGGCCCATCAGGGACTTCCAGATTCATGCCCTCTGGCCAGTAT
GCCAGATGGGCACCAAACTTGGCCAGGCTCCACTACTCTGGCTCCATCAATGCATGCTCAACCAAG
GAGCCATCTCTTTGGATCAAGGTGGACCTGCTGGCACCCATGATCATTCATGGCATCAAGACACAG
GGGGCAAGACAGAAATCTCCCTCTCTGTACATCTCACAGTTTATCATCATCTACTCTCTCTGGATGGC
AAGAAGTGGCAGACATACAGAGGCAACTCCACTGGCACCTTCATGGTCTTCTTTGGCAATGTGGAC
AGCTCTGGCATCAAGCACAACTCTTCAACCTTCCCATTCATGGCAGATACATCAGGCTGCCACCC
ACCCACTACTCTAATCAGATCAACCTCAGGATGGAATGATGGGATGTGACCTGAACCTCTGTCCA
ATGCCCTTGGGAATGGAGAGCAAGGCCATTTCTGATGCCAGATCACTGCATCTCTTACTTCAACC
AATATGTTTGGCACCTGTTCACCATCAAAAGCCAGGCTGCACCTCCAGGGAAGAAAGCAATGCCCTGG
AGACCCAGGTCAACAACCCAAAGGAATGGCTGCAAGTGGACTTCCAGAAGCAATGAAGATCACT
GGGTGACAACCAAGGCCCTCAAGTCTCTGCTCACTTCAAGTATATGGAAGGAGTCTCTGATCTCT
TCTTCAGAGGATGGCCACAGTGGACACTCTTCTTCCAGAATGGCAAAGTCAAGGTGTTCCAGGGC
AACCAGGACTCTTTACACCTGTGGTGAACCTCACTGGACCCCCCTCTCTGACAAGATACCTGAGA
ATTCACCCCACTCTTGGGCTCCACAGATGGCCCTGAGAATGGAAGTCTTGGGATGTGAGGCAACA
GACCTGTACTGA (SEQ ID NO:27)

Фиг. 29В

CS23Δ(760-1667) - CS23-SC1-NA

ATCCAGATTGAGCTGAGCACCTGCTCTTCCCTGTCCCTGCTGAGGTTCTGCTTCTCTGCCACAGGAGATAC
TACCTTGGGCGCCGTCGAGCTGAGCTGGGACTACATGAGTCTCACCTTGGGCGAGCTGCTCTGTGGAACCCAGG
TTCCGCGCCAGAGTGGCCCAAGAGCTTCCGCTTCAAGACCTCAATGGTGTACAAAGAGACCTGTTCTGTGGAG
TTCAAGGACCACTCTTTCAAGATCCGCAAGGCCCAAGCCCTTGGATGGCTGTCTGGCCCAAGCATCCAG
GCGGAGGTGTACGACACCTTGGTATCACTGAAAGAACATGGCCAGCCACGCTGAGGCTTGCACGCGGTG
GGCTGTGAGCTACTGGAGGCTCTGTGAGGGCGCCAGTATGACGACCAAGACGACGAGGGAGAGGAGGAC
GACAAAGTGTCTCCCGCGCGGACGCCAACCTACGTTGTGGCAGGTGCTGAAGAGAACGCGCCCATGGCCAGC
GACCCCTTGTGCTGACCTACAGCTACTTGAGCCAGTGGACCTGGTGAAGGACCTGAATCTTGGCTGATC
GGCGCCCTGTCTGTTGTGAGGGAGGGGAGCTTGGCCAAAGGAAAGACCCAGACCTTGCACAAGTTTATCTCTG
CTCTTCTGCGCTGTTCATGAGGCAAGAGCTGGCACAGCGAGACCAAGAACGCTGATGAGGACAGGGAT
GCCGCTCTGTGCGAGGCTTGGCCCAAGATGCGACCCCTGAGCGGCTACGTGAACAGGAGGCTTGGCCGCGCTG
ATCGGCTGCCACAGGAATCTGTGTACTGGCAGCTGATGCGCATGGCCACCAACCCCGAGGTGCACAGCATC
TTCTTGAAGGSCCAACCTTCTTGGTGAAGAACCAAGGCAAGCCAGCTGGAGATCAAGCCCATCACCTTCT
CTGACCCCGGACACCTTCTGATGGACCTGGGCCAGTTCTCTGCTGTCTGCCACATCAGCAGCCACGACAC
GACGGCATGGAGGCTACCTGAAGGTGGACAGCTGCCCGAGGAGGCCCACTGAGGATGAAGAACCAAGAG
GAGGCCGAGGACTATGATGATGACCTGACCGACTCTGAGATGGACGTGGTGAAGTTTATGATGATGACCAAGC
CCAGCTTCAATCCAGATCAGGCTCTTGGCCAAAGAACCCCAAGACCTGGCTGCACTACATCGCCCGCGAG
GACGAGGACTCGGACTACGCCCCCTTGGTGTGCGCCCGGACGACAGGACCTACAAAGACCAAGTACCTGAAC
AAGCGGCCCGCAGGAGTCCGSCAGGAATACAAAGAGGTCAAGATCATGGCTTACACCGACGAGACCTTCAAG
ACCAGGGAGGCCATCCAGACAGAGTCTGGCATCTTGGGCCCTTGGTGTACGGCGAGGTGGGCGACACCTTG
CTCATCATCTTCAAGAACAGGCCACAGGCCCTACAACATCTACCCCAAGGCCATCACGATGTGAGGCCCT
CTTACAGCAGGAGGCTGCCAAGGCCGTGAAGCACTGAAGSACTTCCCATCTTCCCGGCGAGATCTTC
AAGTACAAGTGGACCTGACCGTGGAGGATGGCCCCACCAAGTCTGACCCAGGTGCTGACAGGTACTAC
AGCAGCTTCTGTGAACATGAGAGGGGACCTGGCTCTTGGCTGATCGGCCCTCTGCTGATCTGTACAGGAG
AGCTTGGACCAAGGGGCCAACAGATCATGTCTGACAAGAGGAACGTGATCCTGTCTCTGTGTTCCATGAG
AACAGGAGCTGTATCTGACCGAGAACATCCAGAGGTTCTGTGCCAACCCCGCGGCGTGCAGCTGGAGGAC
CCCGAGTTCCAGGCCAGCAACATCATGCAACAGCATCAACGGCTACGTGTTCCAGAGCTTCAGAGTGTCTGTG
TGCCTGCACAGGTGGCTTACTGCTACATCTTGAAGATCGGCGCCAGACCGACTTCTGTCTGTGTCTCTC
TCTGGCTACACCTTCAAGCACAGATGGTGTACGAGGACACCTTGACCTGTTCCTCTTCCAGGCCAGACCC
GTCTTCAATGAGCATGGAGAACCCCGGCTGTGGATCTTGGCTGCCACACAGCGACTCAGGACAGGCGC
ATGACGCCCTGTGGAAGTCAAGCAGCTGCGACAAAGAACCCGGGACTTACAGGAGCAGTACAGAGGAC
ATCAGCGCTTACCTGCTGAGCAAGAACCAAGCCATCGAGGCCAGGAGATCAACAGGACCACTTCAAGGAC
GACCGAGGAGGATCGACTATGATGACACCATCAGCGTGGAGATGAAGAGGAGGACTTCAAGATCTAAGAC
GACGACGAGAACCAAGAGCCCGAGGACTTCCAGAGAGAACCAAGGCACTACTTCACTGCGCGCTGGAGAGG
CTCTGGGACTATGGCATGACAGCAGCCCACTGCTGAGGAACAGGCCCGAGAGCGGCACTGCGCCCACT
TTCAGAGGTTGTGTTCCAGGAGTTCAACGAGCGGAGCTTCAACCCAGCCCTGTACAGAGGCGAGCTGAAC
GACCACTTGGCTCTGCTGCCCTTACATCAGGCCAGGCTGAGGACACATCATCTGCTGACCTTCAAGGAC
CAGGCCAGACGCTTACAGCTTCTACAGCACCTGATCAGCTACGAGGAGGACCAAGGCGGCGCGAG

(Продолжение)

Фиг. 30А

CCCAGGAAGAACTTCGTGAAGCCCAACGAGACCAAGACCTACTTCTGGAAGGTGCAGCACCACATGGCCCCC
 ACCAAGGACGAGTTCCGACTGCAAGGCTTGGGCTTACTTCTCTGATGTGGACCTGGGAGAGGACGTGCACAGC
 GGCTTGATCGGCCCTTGTGGTGTGCCACACCAACACCTTGAACCCCGCCACGGCAGGCAGGTGACCGTG
 CAGGAGTTCCGCCCTGTCTTACCATCTTTCGACGAGACCAAGAGCTGGTACTTCAACGAGAACTGGAGAGG
 AACTGCAGGGCCCCCTGCAACATCCAGATGGAGGACCCACCTTCAAGGAGAACTACAGGTTCCACGCCATC
 AACGGCTACATCATGGACACCTTGCCTGGCTTGGTGTGGCCAGGACCAAGGATCAGGTGGTATCTGCTG
 AGCATGGGCAGCAACGAGAACATCCACAGCATCCACTTCAGCGGCCACGTGTTTCAACCGTGAGGAAGAGGAG
 GAGTACAAGATGGCCCTGTACAACCTGTACCCCGCGGTGTTCGAGACCTTGGAGATGCTGCCAGCAGGAC
 GGCACTCTGGAAGGTGGAGTGGCTGATCGGCGAGCACCTGCAACGCCGGCATGAGCACCTTGTCTGGTGTAC
 AGCAACAAGTGGCAGACCCCTTGGGATGGCCAGCGGCACATCAGGGACTTCCAGATCACCGCTCTGTGGC
 CAGTACGGCCAGTGGGCCCCCAAGCTGGCCAGGTGCACTACAGCGGCAGCATCAACGCTGGAGCACCAAG
 GAGCCCTTCAGCTGGATCAAGGTGGACCTGCTGGCCCCCATGATCATCCACGGCATCAAGACCCAGGGCGCC
 AGGCAGAAAGTTACGACGCTGTACATCAGCCAGTTCAATCATGTACAGCTGGACGGCAAGAAAGTGGCAG
 ACCTACAGGGCAACAGCACCGGCACCTGTATGGTGTCTTCCGCAACCTGGACAGCAGCGGCATCAAGCAC
 AACATCTTCAACCCCTCCATCATCGCCAGGTACATCAGGCTGCACCCCAACCCACTACAGCATCAGGAGCAC
 CTGGCGATGGAACTGATGGGCTGCGACCTGAACAGCTGCAAGCATGCCCTTGGGATGGAGAGCAAGGCCATC
 TCTGACGCCCGATCAACCGCAGCAGCTACTTCAACCAACATGTTCGCCACCTGGAGCCCGAGCAAGGCCAGG
 CTGCACCTGCAGGGCAGGAGCAACGCTTGGAGGCCCGAGGTGAACAAACCCAGGAGTGGCTGCAGGTGGAC
 TTCCAGAAAGACCATGAAGGTGACCGGCTGACCAACCCAGGGCGTGAAGAGCTTGTGTACAGCATGTACGTG
 AAGAGTTCTTGATCAGCAGCAGCGAGGACCGGCCACAGTGGACCTGTCTTCCAGAACGGCAAGATGAAG
 GTGTTCCAGGGCAACAGGACAGTTTCAACCCCTGCTGGTGAACAGCTTGGACCCCTTGTGTGACAGGTAT
 CTGAGGATCCACCCCGAGGCTGGGTGCACCAAGATCGCCCTGAGAAAGGAGTGTGGGATCGGAGGCCAG
 GACCTGTACTGA (SEQ ID NO:28)

Фиг. 30В

CS23Δ(772-1667) - CS23-SC2-NA

ATGCAGATTGAGCTGAGCACTGCTTCTTCTGTGCTGCTGAGGTTCTGCTTCTTGCACCCAGG
 AGATACTACCTGGGCGCCGTGGAGCTGAGCTGGGACTACATGCAGTCTGACCTGGGCGAGCTGCCT
 GTGGACGCCAGGTTCCCTCCAGAGTGCCCAAGAGCTTCCCTTCAACACCTCAGTGGTGTAAAG
 AAGACCTGTTCGTGGAGTTCAACGACCACTGTTCACATCGCCAAAGCCAGGCCCCCTTGGATG
 GGCTTGTGGGCCCTACCATCCAGGCCAGGTGTACGACACCTGGTGTATACCTGAAGAACATG
 GCCAGCCACCCCTGAGCTCTGCACGCCGTGGGCTGAGCTACTGGAAGGCTCTGAGGGCCCGAG
 TATGACGACCAAGCCAGCCAGAGGGAGAGGAGGACGACAAAGTGTTCCTCGGCGCAGCCACCTC
 TACGTGTGGCAGGTGCTGAAGGAGAACGCCCTATGGCCAGCGACCCCTGTGCTGACCTACAGC
 TACCTGAGCCACGTGGACCTGGTGAAGACCTGAACCTTGGCTGTATGGGCGCCCTGCTGGTGTGC
 AGGGAGGGCAGCTTGGCTGAAGGAGAACGACCAAGCTGCACAAGTTTATCTGCTGTTCGCGCTG
 TTCGATGAGGGCAAGAGCTGGCACAGCGAGACCAAGAACAGCTGATGCAGGACAGGATGCGGCC
 TCTGCAGGGCTTGGCCCAAGATGCACACCTGAAACGCTACGTGAACAGGAGCTTCCCGGCTG
 ATCGGCTGCCACAGGAAGTCTGTGATCTGGCACGTGATCGGCATGGGCAACACCCCGAGGTCGAC
 AGCATCTTCTTGAGGGCCACACCTTCTGGTGAAGAACCAAGGAGGAGGCTGGAGATCAGC
 CCCATCACCTTCTGACCGCCAGACCTTGTGATGGACCTGGGCCAGTTCCTGTGTTCTGCGCAC
 ATCAGCAGCCACAGCAGCAGCGCATGGAGGCTTACGTGAAGGTGGACAGCTGCCCGCAGGAGCC
 CAGCTGAGGATGAAGAACCAAGAGGAGGCCAGGACTATGATGATGACCTGACCGACTCTGAGATG
 GACGTGTTAGGTTTGTATGATGACAAACAGCCCTAGCTTCAATCCAGATCAGGCTCTGGGCCAAGAG
 CACCCCAAGACCTGGTGTACTACATCGCCCGGAGGAGGAGGACTGGGAATACGCCCTCTGGT
 CTGGCCCCGACGACAGGAGCTACAAGAGCCAGTACCTGAACAAAGGCCCTCAGAGGATCGGAGG
 AAGTACAAGAGGTACAGTTTATGGCTTACACCGACGAGACCTTCAAGACAGGGAGGCCATCCAG
 CACGAGTTCTGGCATCTGGGCCCTTGTGTACGGCGAGGTGGGCGACACCTTGTGATCATCTTC
 AAGAACAGGCAGCAGGCCCTACAAATCTTACCCCAAGGATCAGGATGTGAGGCCCTGTATC
 AGCAGGAGGCTGCCAAGGCGTGAAGACCTGAAGGACTTCCCATCTTGCCTGGCGGAGATCTTC
 AAGTACAAGTGGACCTGACCGTGGAGGATGGGCCCAACCAAGTCTGACCCAGGTTGCTGACCAAGS
 TACTACAGCAGCTTCTGTGAACATGAGAGGGACCTGSCCTTGGCTGATCGGCCCTTGTGATC
 TGCTACAAGGAGAGCTGGACAGAGGGGCAACAGATCATGTGACAAAGGAACTGATCTGT
 TTCTCTGTGTTGATGAGAACAGGAGCTGGTATCTGAACGAGAACATCCAGAGGTTCTTGCCTAAC
 CCGGCCGCTGCACTGAGGACCCGAGTTCCAGGCCAGCAACATCATGCACAGCATCAACGGC
 TACGTGTTCAGACGCTGACGCTGTGTGTGCTGACAGAGGTGGCTTCTGGTACATCTGTGAGC
 ATCGGCGCCAGACCGACTTCTGTGTGTGTTCTTCTTGGCTACACCTTCAAGCACAAAGATGGT
 TACGAGGACACCTGACCTGTTCCTTTCAGCGGCGAGACCTGTTTATGAGCATGAGAACCC
 GGCTGTGATCTTGGCTGCCAACAGCGACTTCAAGAACAGGGGATGACCGCTCTGTGAA
 GTGAGCAGCTGCGACAAGAACCGCGGACTACTACGAGGACAGTACGAGGACATCAGCGCTTAC
 CTGCTGAGCAAGAACACCGCATCGAGCCAGGAGCTTACGCCAGAACTCCAGACACCCAGCACC

(Продолжение)

Фиг. 31А

AGGGAGATCACCAGGACCACTTCAGAGCGACAGGAGGAGATCGACTATGATGACACCATCAGC
 GTGGAGATGAAGAAGGAGGACTTCGACATCTACGAGGAGGAGGAGAACAGAGCCCCAGGAGCTTC
 CAGAAAGAGACAGGCACCTACTTCATCGCCCGCTGGAGAGGCTGTGGGACTATGGCATGAGCAGC
 AGCCCCACGTGCTGAGGAACAGGGCCAGAGCGGCAGCGTGCCCCAGTTCAAGAGGTGGTGTTC
 CAGGAGTTTACCGACGGCAGCTTCACCCAGCCCCGTGTACAGAGCGAGCTGAACGAGCACCTGGGC
 CTGCTGGGCCCCACATCAGGGCCGAGGTGGAGGACAACTCATGCTGACCTTCAGGAACAGGGCC
 AGCAGGCCCTACAGCTTCTACAGCAGCTGATCAGCTACGAGGAGGACAGAGGCCAGGGCCCGGAG
 CCCAGGAAGAACTTCGTGAAGCCCAGCGAGACCAAGACCTACTTCTGGAAAGGTGCAGCACCATG
 GCCCCACCAAGGACGAGTTCCAGTGCAGAGGCTGGGGCTACTTCTCTGATGTGGACCTGGAGAA
 GACGTGCACAGCGGCCTGATCGGCCCCCTGCTGGTGTGCCACACCAAGACCTGAACCCCGCCAC
 GGCAGGCGAGGTGACCGTGCAGGAGTTCGCCCTGTTCTTCACCATCTTCGACGACCAAGAGCTGG
 TACTTCACCGACAACATGGAGAGGAAGTGCAGGGCCCCCTGCCAACATCCAGATGGAGGACCCACCC
 TTCAGGAGAACTACAGGTTCCACGCCATCAACGGCTACATCATGGACACCTTGCCTGGCCCTGGTG
 ATGGCCAGGACCAAGGATCAGGTGGTATCTGCTGAGCATGGGCAGCAACGAGAACATCCACAGC
 ATCCACTTCAGCGGCCACCTGTTACCGTGGAGGAAGAAGGAGGAGTACAAGATGGCCCTGTACAA
 CTGTACCCCGCCCTGTTCGAGACCGTGGAGATGCTGCCAGCAAGGCCGGCATCTGGAGGGTGGAG
 TGCCGTGATCGGCGAGCACCTGCACGCCCGCATGAGCACCTGTTCTGCTGGTGTACAGCAACAGTGC
 CAGACCCCCCTGGGCATGGCCAGCGGCCACATCAGGGACTTCCAGATCACCGCCCTCTGGCCAGTAC
 GGCCAGTGGGCCCCAAGCTGGCCAGGCTGCACACAGCGGCAGCATCAACGCCCTGGAGCACCAAG
 GAGCCCTTCAGCTGGATCAAGGTGGACCTGCTGGCCCCCATGATCATCCACGGCATCAAGACCCAG
 GCGCCAGGCAGAAAGTTCAGCAGCCTGTACATCAGCCAGTTTCATCATCTGTACAGCCTGGACGGC
 AAGAACTGGCAGACCTACAGGGGCAACAGCAACGGCCACCTGATGGTGTCTTCGSCAACGTGGAC
 AGCAGGGCATCAAGCACAACTCTCAACCCCCCATCATCGCCAGGTACATCAGGCTGCACCCCC
 ACCCACTACAGCATCAGGAGCACCTTCGGGATGGAATGATGGGCTGGCACCTGAACAGCTGCAGC
 ATGCCCTTGGGCATGGAGAGCAAGGCCATCTCTGACGCCAGATCAACGGCCAGCAGCTACTTCAAC
 AACATGTTTCGCCACCTGGAGCCCCAGCAAGGCCAGGCTGCACCTGCAGGGCAGGAGCAACGCCCTGG
 AGCCCCAGGTGAACAACCCCAAGGACTGGCTGCAGGTGCACTTCAGAAAGACCATGAAGGTGACC
 GGCTGACCAACCCAGGGCGTGAAGAGCCTGCTGACCGCATGTACGTGAAGGAGTTCTGTATCAGC
 AGCAGCCAGGACGGCCACCAAGTGGACCTGTCTTCCAGAACGGCAAGTGAAGGTGTTCCAGGGC
 AACCAAGACAGCTTACCCCCGTGGTGAACAGCCTGGACCCCCCTGCTGACCAAGGTATCTGAGG
 ATCCACCCCCAGAGCTGGGTGCACAGATCGCCCTGGAATGGAAGTCTGGGATGGAGGGCCAG
 GACCTGTACTGA (SEQ ID NO:29)

Фиг. 31В



Евразийская патентная организация, ЕАПВ

Россия, 109012, Москва, Малый Черкасский пер., 2