

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **038288**

(13) **B1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2021.08.05

(21) Номер заявки
201891137

(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) 62/255,317

(32) 2015.11.13

(33) US

(43) 2018.12.28

(86) PCT/US2016/061684

(87) WO 2017/083762 2017.05.18

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
**ТАКЕДА ФАРМАСЬЮТИКАЛ
КОМПАНИ ЛИМИТЕД (JP)**

(56) US-A1-2015071883

DATABASE Geneseq [Online], 5 December 2013 (2013-12-05), "Human diseases associated protein encoding optimized ORF, SEQ ID 1811", XP002766200, retrieved from EBI, accession no. GSN:BAW43417, Database accession no. BAW43417, sequence

WO-A2-2013151666

US-A1-2013017997

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

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

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

B1

038288

038288

B1

Перекрестная ссылка на родственные заявки

Заявка на данное изобретение заявляет приоритет по предварительной заявке на патент США № 62/255 317, 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 9 ноября 2016 г. имеет имя 008073_5107_WO_Sequence_Listing.txt и имеет размер 353,479 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 X-азы с активированным фактором IX (FIXa) и фактором X (FX). Комплекс X-азы 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, спонтанных оральных и назальных кровотечений, суставной жесткостью и хронической боли и, возможно, в виде 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 включает в себя 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, пептированных 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. Обходную терапию 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 состоянием 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% идентичность с последовательностью CS04-HC-NA (SEQ ID NO: 3). Легкая цепь полипептида фактора FVIII кодируется второй нуклеотидной последовательностью, имеющей по меньшей мере 95% идентичность 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% идентичность 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% идентичность с последовательностью CS01-HC-NA (SEQ ID NO: 24). Легкая цепь полипептида фактора FVIII кодируется второй нуклеотидной последовательностью, имеющей по меньшей мере 95% идентичность 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% идентичность 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% идентичность с последовательностью CS23-HC-NA (SEQ ID NO: 22). Легкая цепь полипептида фактора FVIII кодируется второй нуклеотидной последовательностью, имеющей по меньшей мере 95% идентичность 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% идентичность с последовательностью BDLO23 (SEQ ID NO: 7).

В одном варианте реализации описанных выше полинуклеотидов первая нуклеотидная последова-

В одном варианте реализации описанных выше полинуклеотидов нуклеотидная последовательность представляет собой последовательность CS23-SC1-NA (SEQ ID NO: 28).

В одном варианте реализации описанных выше полинуклеотидов нуклеотидная последовательность представляет собой последовательность CS23-SC2-NA (SEQ ID NO: 29).

В одном варианте реализации полинуклеотидов, описанных выше, нуклеотидная последовательность имеет по меньшей мере 95% идентичность по отношению к последовательности, 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, CS01m1-FL-NA, CS01m2-FL-NA, CS01m3-FL-NA, CS01m4-FL-NA, CS01m12-FL-NA, CS01m13-FL-NA, CS01m23-FL-NA, CS01m24-FL-NA, CS01m34-FL-NA, CS01m123-FL-NA, CS01m234-FL-NA, CS04m1-FL-NA, CS04m2-FL-NA, CS04m3-FL-NA, CS04m4-FL-NA, CS04m12-FL-NA, CS04m13-FL-NA, CS04m23-FL-NA, CS04m24-FL-NA, CS04m34-FL-NA, CS04m123-FL-NA, CS04m234-FL-NA, CS23m1-FL-NA, CS23m2-FL-NA, CS23m3-FL-NA, CS23m4-FL-NA, CS23m12-FL-NA, CS23m13-FL-NA, CS23m23-FL-NA, CS23m24-FL-NA, CS23m34-FL-NA, CS23m123-FL-NA, CS23m234-FL-NA, CS01-SC1-NA, CS04-SC1-NA, CS23-SC1-NA, CS01m1-SC1-NA, CS01m2-SC1-NA, CS01m3-SC1-NA, CS01m4-SC1-NA, CS01m12-SC1-NA, CS01m13-SC1-NA, CS01m23-SC1-NA, CS01m24-SC1-NA, CS01m34-SC1-NA, CS01m123-SC1-NA, CS01m234-SC1-NA, CS04m1-SC1-NA, CS04m2-SC1-NA, CS04m3-SC1-NA, CS04m4-SC1-NA, CS04m12-SC1-NA, CS04m13-SC1-NA, CS04m23-SC1-NA, CS04m24-SC1-NA, CS04m34-SC1-NA, CS04m123-SC1-NA, CS04m234-SC1-NA, CS23m1-SC1-NA, CS23m2-SC1-NA, CS23m3-SC1-NA, CS23m4-SC1-NA, CS23m12-SC1-NA, CS23m13-SC1-NA, CS23m23-SC1-NA, CS23m24-SC1-NA, CS23m34-SC1-NA, CS23m123-SC1-NA, CS23m234-SC1-NA, CS01-SC2-NA, CS04-SC2-NA, CS23-SC2-NA, CS01m1-SC2-NA, CS01m2-SC2-NA, CS01m3-SC2-NA, CS01m4-SC2-NA, CS01m12-SC2-NA, CS01m13-SC2-NA, CS01m23-SC2-NA, CS01m24-SC2-NA, CS01m34-SC2-NA, CS01m123-SC2-NA, CS01m234-SC2-NA, CS04m1-SC2-NA, CS04m2-SC2-NA, CS04m3-SC2-NA, CS04m4-SC2-NA, CS04m12-SC2-NA, CS04m13-SC2-NA, CS04m23-SC2-NA, CS04m24-SC2-NA, CS04m34-SC2-NA, CS04m123-SC2-NA, CS04m234-SC2-NA, CS23m1-SC2-NA, CS23m2-SC2-NA, CS23m3-SC2-NA, CS23m4-SC2-NA, CS23m12-SC2-NA, CS23m13-SC2-NA, CS23m23-SC2-NA, CS23m24-SC2-NA, CS23m34-SC2-NA, CS23m123-SC2-NA и CS23m234-SC2-NA.

В одном варианте реализации полинуклеотидов, описанных выше, нуклеотидная последовательность имеет по меньшей мере 96% идентичность по отношению к последовательности, 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, CS01m1-FL-NA, CS01m2-FL-NA, CS01m3-FL-NA, CS01m4-FL-NA, CS01m12-FL-NA, CS01m13-FL-NA, CS01m23-FL-NA, CS01m24-FL-NA, CS01m34-FL-NA, CS01m123-FL-NA, CS01m234-FL-NA, CS04m1-FL-NA, CS04m2-FL-NA, CS04m3-FL-NA, CS04m4-FL-NA, CS04m12-FL-NA, CS04m13-FL-NA, CS04m23-FL-NA, CS04m24-FL-NA, CS04m34-FL-NA, CS04m123-FL-NA, CS04m234-FL-NA, CS23m1-FL-NA, CS23m2-FL-NA, CS23m3-FL-NA, CS23m4-FL-NA, CS23m12-FL-NA, CS23m13-FL-NA, CS23m23-FL-NA, CS23m24-FL-NA, CS23m34-FL-NA, CS23m123-FL-NA, CS23m234-FL-NA, CS01-SC1-NA, CS04-SC1-NA, CS23-SC1-NA, CS01m1-SC1-NA, CS01m2-SC1-NA, CS01m3-SC1-NA, CS01m4-SC1-NA, CS01m12-SC1-NA, CS01m13-SC1-NA, CS01m23-SC1-NA, CS01m24-SC1-NA, CS01m34-SC1-NA, CS01m123-SC1-NA, CS01m234-SC1-NA, CS04m1-SC1-NA, CS04m2-SC1-NA, CS04m3-SC1-NA, CS04m4-SC1-NA, CS04m12-SC1-NA, CS04m13-SC1-NA, CS04m23-SC1-NA, CS04m24-SC1-NA, CS04m34-SC1-NA, CS04m123-SC1-NA, CS04m234-SC1-NA, CS23m1-SC1-NA, CS23m2-SC1-NA, CS23m3-SC1-NA, CS23m4-SC1-NA, CS23m12-SC1-NA, CS23m13-SC1-NA, CS23m23-SC1-NA, CS23m24-SC1-NA, CS23m34-SC1-NA, CS23m123-SC1-NA, CS23m234-SC1-NA, CS01-SC2-NA, CS04-SC2-NA, CS23-SC2-NA, CS01m1-SC2-NA, CS01m2-SC2-NA, CS01m3-SC2-NA, CS01m4-SC2-NA, CS01m12-SC2-NA, CS01m13-SC2-NA, CS01m23-SC2-NA, CS01m24-SC2-NA, CS01m34-SC2-NA, CS01m123-SC2-NA, CS01m234-SC2-NA, CS04m1-SC2-NA, CS04m2-SC2-NA, CS04m3-SC2-NA, CS04m4-SC2-NA, CS04m12-SC2-NA, CS04m13-SC2-NA, CS04m23-SC2-NA, CS04m24-SC2-NA, CS04m34-SC2-NA, CS04m123-SC2-NA, CS04m234-SC2-NA, CS23m1-SC2-NA, CS23m2-SC2-NA, CS23m3-SC2-NA, CS23m4-SC2-NA, CS23m12-SC2-NA, CS23m13-SC2-NA, CS23m23-SC2-NA, CS23m24-SC2-NA, CS23m34-SC2-NA, CS23m123-SC2-NA и CS23m234-SC2-NA.

В одном варианте реализации полинуклеотидов, описанных выше, нуклеотидная последовательность имеет по меньшей мере 97% идентичность по отношению к последовательности, 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, CS01m1-FL-NA, CS01m2-FL-NA, CS01m3-FL-NA, CS01m4 -FL-NA, CS01m12-FL-NA, CS01m13-FL-NA, CS01m23-FL-NA, CS01m24-FL-NA, CS01m34-FL-NA, CS01m123-FL-NA, CS01m234-FL-NA, CS04m1-FL -NA, CS04m2-FL-NA, CS04m3-FL-NA, CS04m4-FL-NA, CS04m12-FL-NA, CS04m13-FL-NA, CS04m23-FL-NA, CS04m24-FL-NA, CS04m34-FL-NA, CS04m123-FL-NA, CS04m234-FL-NA, CS23m1-FL-NA, CS23m2-FL-NA, CS23m3-FL-NA, CS23m4-FL-NA, CS23m12-FL-NA, CS23m13-FL-NA, CS23m23 -FL-NA, CS23m24-FL-NA, CS23m34-FL-NA, CS23m123-FL-NA, CS23m234-FL-NA, CS01-SC1-NA, CS04-SC1-NA, CS23-SC1-NA, CS01m1-SC1 -NA, CS01m2-SC1-NA, CS01m3-SC1-NA, CS01m4-SC1-NA, CS01m12-SC1-NA, CS01m13-SC1-NA, CS01m23-SC1-NA, CS01m24-SC1-NA, CS01m34-SC1-NA, CS01m123-SC1-NA, CS01m234-SC1-NA, CS04m1-SC1-NA, CS04m2-SC1-NA, CS04m3-SC1-NA, CS04m4-SC1-NA, CS04m12-SC1-NA, CS04m13-SC1-NA, CS04m23-SC1-NA, CS04m24-SC1-NA, CS04m34-SC1-NA, CS04m123-SC1-NA, CS04m234- SC1-NA, CS23m1-SC1-NA, CS23m2-SC1-NA, CS23m3-SC1-NA, CS23m4-SC1-NA, CS23m12-SC1-NA, CS23m13-SC1-NA, CS23m23-SC1-NA, CS23m24-SC1- NA, CS23m34-SC1-NA, CS23m123-SC1-NA, CS23m234-SC1-NA, CS01-SC2-NA, CS04-SC2-NA, CS23-SC2-NA, CS01m1-SC2-NA, CS01m2-SC2-NA, CS01m3-SC2-NA, CS01m4-SC2-NA, CS01m12-SC2-NA, CS01m13-SC2-NA, CS01m23-SC2-NA, CS01m24-SC2-NA, CS01m34-SC2-NA, CS01m123-SC2-NA, CS01m234- SC2-NA, CS04m1-SC2-NA, CS04m2-SC2-NA, CS04m3-SC2-NA, CS04m4-SC2-NA, CS04m12-SC2-NA, CS04m13-SC2-NA, CS04m23-SC2-NA, CS04m24-SC2- NA, CS04m34-SC2-NA, CS04m123-SC2-NA, CS04m234-SC2-NA, CS23m1-SC2-NA, CS23m2-SC2-NA, CS23m3-SC2-NA, CS23m4-SC2-NA, CS23m12-SC2-NA, CS23m13-SC2-NA, CS23m23-SC2-NA, CS23m24-SC2-NA, CS23m34-SC2-NA, CS23m123-SC2-NA и CS23m234-SC2-NA.

В одном варианте реализации полинуклеотидов, описанных выше, нуклеотидная последовательность имеет по меньшей мере 98% идентичность по отношению к последовательности, 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, CS01m1-FL-NA, CS01m2-FL-NA, CS01m3-FL-NA, CS01m4 -FL-NA, CS01m12-FL-NA, CS01m13-FL-NA, CS01m23-FL-NA, CS01m24-FL-NA, CS01m34-FL-NA, CS01m123-FL-NA, CS01m234-FL-NA, CS04m1-FL -NA, CS04m2-FL-NA, CS04m3-FL-NA, CS04m4-FL-NA, CS04m12-FL-NA, CS04m13-FL-NA, CS04m23-FL-NA, CS04m24-FL-NA, CS04m34-FL-NA, CS04m123-FL-NA, CS04m234-FL-NA, CS23m1-FL-NA, CS23m2-FL-NA, CS23m3-FL-NA, CS23m4-FL-NA, CS23m12-FL-NA, CS23m13-FL-NA, CS23m23 -FL-NA, CS23m24-FL-NA, CS23m34-FL-NA, CS23m123-FL-NA, CS23m234-FL-NA, CS01-SC1-NA, CS04-SC1-NA, CS23-SC1-NA, CS01m1-SC1 -NA, CS01m2-SC1-NA, CS01m3-SC1-NA, CS01m4-SC1-NA, CS01m12-SC1-NA, CS01m13-SC1-NA, CS01m23-SC1-NA, CS01m24-SC1-NA, CS01m34-SC1-NA, CS01m123-SC1-NA, CS01m234-SC1-NA, CS04m1-SC1-NA, CS04m2-SC1-NA, CS04m3-SC1-NA, CS04m4-SC1-NA, CS04m12-SC1-NA, CS04m13-SC1-NA, CS04m23-SC1-NA, CS04m24-SC1-NA, CS04m34-SC1-NA, CS04m123-SC1-NA, CS04m234- SC1-NA, CS23m1-SC1-NA, CS23m2-SC1-NA, CS23m3-SC1-NA, CS23m4-SC1-NA, CS23m12-SC1-NA, CS23m13-SC1-NA, CS23m23-SC1-NA, CS23m24-SC1- NA, CS23m34-SC1-NA, CS23m123-SC1-NA, CS23m234-SC1-NA, CS01-SC2-NA, CS04-SC2-NA, CS23-SC2-NA, CS01m1-SC2-NA, CS01m2-SC2-NA, CS01m3-SC2-NA, CS01m4-SC2-NA, CS01m12-SC2-NA, CS01m13-SC2-NA, CS01m23-SC2-NA, CS01m24-SC2-NA, CS01m34-SC2-NA, CS01m123-SC2-NA, CS01m234- SC2-NA, CS04m1-SC2-NA, CS04m2-SC2-NA, CS04m3-SC2-NA, CS04m4-SC2-NA, CS04m12-SC2-NA, CS04m13-SC2-NA, CS04m23-SC2-NA, CS04m24-SC2- NA, CS04m34-SC2-NA, CS04m123-SC2-NA, CS04m234-SC2-NA, CS23m1-SC2-NA, CS23m2-SC2-NA, CS23m3-SC2-NA, CS23m4-SC2-NA, CS23m12-SC2-NA, CS23m13-SC2-NA, CS23m23-SC2-NA, CS23m24-SC2-NA, CS23m34-SC2-NA, CS23m123-SC2-NA и CS23m234-SC2-NA.

В одном варианте реализации полинуклеотидов, описанных выше, нуклеотидная последовательность имеет по меньшей мере 99% идентичность по отношению к последовательности, 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, CS01m1-FL-NA, CS01m2-FL-NA, CS01m3-FL-NA, CS01m4 -FL-NA, CS01m12-FL-NA, CS01m13-FL-NA, CS01m23-FL-NA, CS01m24-FL-NA, CS01m34-FL-NA, CS01m123-FL-NA, CS01m234-FL-NA, CS04m1-FL -NA, CS04m2-FL-NA, CS04m3-FL-NA, CS04m4-FL-NA, CS04m12-FL-NA, CS04m13-FL-NA, CS04m23-FL-NA, CS04m24-FL-NA, CS04m34-FL-NA, CS04m123-FL-NA, CS04m234-FL-NA, CS23m1-FL-NA, CS23m2-FL-NA, CS23m3-FL-NA, CS23m4-FL-NA, CS23m12-FL-NA, CS23m13-FL-NA, CS23m23 -FL-NA, CS23m24-FL-NA, CS23m34-FL-NA, CS23m123-FL-NA, CS23m234-FL-NA, CS01-SC1-NA, CS04-SC1-NA, CS23-SC1-NA, CS01m1-SC1 -NA, CS01m2-SC1-NA, CS01m3-SC1-NA, CS01m4-SC1-NA, CS01m12-SC1-NA, CS01m13-SC1-NA, CS01m23-SC1-NA, CS01m24-SC1-NA, CS01m34-SC1-NA, CS01m123-SC1-NA, CS01m234-SC1-NA, CS04m1-SC1-NA, CS04m2-SC1-NA, CS04m3-SC1-NA, CS04m4-SC1-NA, CS04m12-SC1-NA, CS04m13-SC1-NA, CS04m23-SC1-NA, CS04m24-SC1-NA, CS04m34-SC1-NA, CS04m123-SC1-NA, CS04m234- SC1-NA, CS23m1-SC1-NA, CS23m2-SC1-NA, CS23m3-SC1-NA, CS23m4-SC1-NA, CS23m12-SC1-NA, CS23m13-SC1-NA, CS23m23-SC1-NA, CS23m24-SC1- NA, CS23m34-SC1-NA, CS23m123-SC1-NA, CS23m234-SC1-NA, CS01-SC2-NA, CS04-SC2-NA, CS23-SC2-NA, CS01m1-SC2-NA, CS01m2-SC2-NA, CS01m3-SC2-NA, CS01m4-SC2-NA, CS01m12-SC2-NA, CS01m13-SC2-NA, CS01m23-SC2-NA, CS01m24-SC2-NA, CS01m34-SC2-NA, CS01m123-SC2-NA, CS01m234- SC2-NA, CS04m1-SC2-NA, CS04m2-SC2-NA, CS04m3-SC2-NA, CS04m4-SC2-NA, CS04m12-SC2-NA, CS04m13-SC2-NA, CS04m23-SC2-NA, CS04m24-SC2- NA, CS04m34-SC2-NA, CS04m123-SC2-NA, CS04m234-SC2-NA, CS23m1-SC2-NA, CS23m2-SC2-NA, CS23m3-SC2-NA, CS23m4-SC2-NA, CS23m12-SC2-NA, CS23m13-SC2-NA, CS23m23-SC2-NA, CS23m24-SC2-NA, CS23m34-SC2-NA, CS23m123-SC2-NA и CS23m234-SC2-NA.

В одном варианте реализации полинуклеотидов, описанных выше, нуклеотидная последовательность имеет по меньшей мере 99,5% идентичность по отношению к последовательности, 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, CS01m1-FL-NA, CS01m2-FL-NA, CS01m3-FL-NA, CS01m4 -
 FL-NA, CS01m12-FL-NA, CS01m13-FL-NA, CS01m23-FL-NA, CS01m24-FL-
 NA, CS01m34-FL-NA, CS01m123-FL-NA, CS01m234-FL-NA, CS04m1-FL -
 NA, CS04m2-FL-NA, CS04m3-FL-NA, CS04m4-FL-NA, CS04m12-FL-NA,
 CS04m13-FL-NA, CS04m23-FL-NA, CS04m24-FL-NA, CS04m34-FL-NA,
 CS04m123-FL-NA, CS04m234-FL-NA, CS23m1-FL-NA, CS23m2-FL-NA,
 CS23m3-FL-NA, CS23m4-FL-NA, CS23m12-FL-NA, CS23m13-FL-NA,
 CS23m23 -FL-NA, CS23m24-FL-NA, CS23m34-FL-NA, CS23m123-FL-NA,
 CS23m234-FL-NA, CS01-SC1-NA, CS04-SC1-NA, CS23-SC1-NA, CS01m1-
 SC1 -NA, CS01m2-SC1-NA, CS01m3-SC1-NA, CS01m4-SC1-NA, CS01m12-
 SC1-NA, CS01m13-SC1-NA, CS01m23-SC1-NA, CS01m24-SC1-NA, CS01m34-
 SC1-NA, CS01m123-SC1-NA, CS01m234-SC1-NA, CS04m1-SC1-NA, CS04m2-
 SC1-NA, CS04m3-SC1-NA, CS04m4-SC1-NA, CS04m12-SC1-NA, CS04m13-
 SC1-NA, CS04m23-SC1-NA, CS04m24-SC1-NA, CS04m34-SC1-NA,
 CS04m123-SC1-NA, CS04m234- SC1-NA, CS23m1-SC1-NA, CS23m2-SC1-NA,
 CS23m3-SC1-NA, CS23m4-SC1-NA, CS23m12-SC1-NA, CS23m13-SC1-NA,
 CS23m23-SC1-NA, CS23m24-SC1- NA, CS23m34-SC1-NA, CS23m123-SC1-
 NA, CS23m234-SC1-NA, CS01-SC2-NA, CS04-SC2-NA, CS23-SC2-NA,
 CS01m1-SC2-NA, CS01m2-SC2-NA, CS01m3-SC2-NA, CS01m4-SC2-NA,
 CS01m12-SC2-NA, CS01m13-SC2-NA, CS01m23-SC2-NA, CS01m24-SC2-NA,
 CS01m34-SC2-NA, CS01m123-SC2-NA, CS01m234- SC2-NA, CS04m1-SC2-
 NA, CS04m2-SC2-NA, CS04m3-SC2-NA, CS04m4-SC2-NA, CS04m12-SC2-NA,
 CS04m13-SC2-NA, CS04m23-SC2-NA, CS04m24-SC2- NA, CS04m34-SC2-NA,
 CS04m123-SC2-NA, CS04m234-SC2-NA, CS23m1-SC2-NA, CS23m2-SC2-NA,
 CS23m3-SC2-NA, CS23m4-SC2-NA, CS23m12-SC2-NA, CS23m13-SC2-NA,
 CS23m23-SC2-NA, CS23m24-SC2-NA, CS23m34-SC2-NA, CS23m123-SC2-NA
 и CS23m234-SC2-NA.

В одном варианте реализации полинуклеотидов, описанных выше, нуклеотидная последовательность имеет по меньшей мере 99,5% идентичность по отношению к последовательности, 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, CS01m1-FL-NA, CS01m2-FL-NA, CS01m3-FL-NA, CS01m4 -
 FL-NA, CS01m12-FL-NA, CS01m13-FL-NA, CS01m23-FL-NA, CS01m24-FL-
 NA, CS01m34-FL-NA, CS01m123-FL-NA, CS01m234-FL-NA, CS04m1-FL -
 NA, CS04m2-FL-NA, CS04m3-FL-NA, CS04m4-FL-NA, CS04m12-FL-NA,

CS04m13-FL-NA, CS04m23-FL-NA, CS04m24-FL-NA, CS04m34-FL-NA,
 CS04m123-FL-NA, CS04m234-FL-NA, CS23m1-FL-NA, CS23m2-FL-NA,
 CS23m3-FL-NA, CS23m4-FL-NA, CS23m12-FL-NA, CS23m13-FL-NA,
 CS23m23 -FL-NA, CS23m24-FL-NA, CS23m34-FL-NA, CS23m123-FL-NA,
 CS23m234-FL-NA, CS01-SC1-NA, CS04-SC1-NA, CS23-SC1-NA, CS01m1-
 SC1 -NA, CS01m2-SC1-NA, CS01m3-SC1-NA, CS01m4-SC1-NA, CS01m12-
 SC1-NA, CS01m13-SC1-NA, CS01m23-SC1-NA, CS01m24-SC1-NA, CS01m34-
 SC1-NA, CS01m123-SC1-NA, CS01m234-SC1-NA, CS04m1-SC1-NA, CS04m2-
 SC1-NA, CS04m3-SC1-NA, CS04m4-SC1-NA, CS04m12-SC1-NA, CS04m13-
 SC1-NA, CS04m23-SC1-NA, CS04m24-SC1-NA, CS04m34-SC1-NA,
 CS04m123-SC1-NA, CS04m234- SC1-NA, CS23m1-SC1-NA, CS23m2-SC1-NA,
 CS23m3-SC1-NA, CS23m4-SC1-NA, CS23m12-SC1-NA, CS23m13-SC1-NA,
 CS23m23-SC1-NA, CS23m24-SC1- NA, CS23m34-SC1-NA, CS23m123-SC1-
 NA, CS23m234-SC1-NA, CS01-SC2-NA, CS04-SC2-NA, CS23-SC2-NA,
 CS01m1-SC2-NA, CS01m2-SC2-NA, CS01m3-SC2-NA, CS01m4-SC2-NA,
 CS01m12-SC2-NA, CS01m13-SC2-NA, CS01m23-SC2-NA, CS01m24-SC2-NA,
 CS01m34-SC2-NA, CS01m123-SC2-NA, CS01m234- SC2-NA, CS04m1-SC2-
 NA, CS04m2-SC2-NA, CS04m3-SC2-NA, CS04m4-SC2-NA, CS04m12-SC2-NA,
 CS04m13-SC2-NA, CS04m23-SC2-NA, CS04m24-SC2- NA, CS04m34-SC2-NA,
 CS04m123-SC2-NA, CS04m234-SC2-NA, CS23m1-SC2-NA, CS23m2-SC2-NA,
 CS23m3-SC2-NA, CS23m4-SC2-NA, CS23m12-SC2-NA, CS23m13-SC2-NA,
 CS23m23-SC2-NA, CS23m24-SC2-NA, CS23m34-SC2-NA, CS23m123-SC2-NA
 и CS23m234-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,
 CS01m1-FL-NA, CS01m2-FL-NA, CS01m3-FL-NA, CS01m4 -FL-NA,
 CS01m12-FL-NA, CS01m13-FL-NA, CS01m23-FL-NA, CS01m24-FL-NA,
 CS01m34-FL-NA, CS01m123-FL-NA, CS01m234-FL-NA, CS04m1-FL -NA,
 CS04m2-FL-NA, CS04m3-FL-NA, CS04m4-FL-NA, CS04m12-FL-NA,
 CS04m13-FL-NA, CS04m23-FL-NA, CS04m24-FL-NA, CS04m34-FL-NA,
 CS04m123-FL-NA, CS04m234-FL-NA, CS23m1-FL-NA, CS23m2-FL-NA,
 CS23m3-FL-NA, CS23m4-FL-NA, CS23m12-FL-NA, CS23m13-FL-NA,
 CS23m23 -FL-NA, CS23m24-FL-NA, CS23m34-FL-NA, CS23m123-FL-NA,
 CS23m234-FL-NA, CS01-SC1-NA, CS04-SC1-NA, CS23-SC1-NA, CS01m1-
 SC1 -NA, CS01m2-SC1-NA, CS01m3-SC1-NA, CS01m4-SC1-NA, CS01m12-
 SC1-NA, CS01m13-SC1-NA, CS01m23-SC1-NA, CS01m24-SC1-NA, CS01m34-
 SC1-NA, CS01m123-SC1-NA, CS01m234-SC1-NA, CS04m1-SC1-NA, CS04m2-
 SC1-NA, CS04m3-SC1-NA, CS04m4-SC1-NA, CS04m12-SC1-NA, CS04m13-
 SC1-NA, CS04m23-SC1-NA, CS04m24-SC1-NA, CS04m34-SC1-NA,
 CS04m123-SC1-NA, CS04m234- SC1-NA, CS23m1-SC1-NA, CS23m2-SC1-NA,
 CS23m3-SC1-NA, CS23m4-SC1-NA, CS23m12-SC1-NA, CS23m13-SC1-NA,
 CS23m23-SC1-NA, CS23m24-SC1- NA, CS23m34-SC1-NA, CS23m123-SC1-
 NA, CS23m234-SC1-NA, CS01-SC2-NA, CS04-SC2-NA, CS23-SC2-NA,
 CS01m1-SC2-NA, CS01m2-SC2-NA, CS01m3-SC2-NA, CS01m4-SC2-NA,
 CS01m12-SC2-NA, CS01m13-SC2-NA, CS01m23-SC2-NA, CS01m24-SC2-NA,
 CS01m34-SC2-NA, CS01m123-SC2-NA, CS01m234- SC2-NA, CS04m1-SC2-
 NA, CS04m2-SC2-NA, CS04m3-SC2-NA, CS04m4-SC2-NA, CS04m12-SC2-NA,
 CS04m13-SC2-NA, CS04m23-SC2-NA, CS04m24-SC2- NA, CS04m34-SC2-NA,
 CS04m123-SC2-NA, CS04m234-SC2-NA, CS23m1-SC2-NA, CS23m2-SC2-NA,
 CS23m3-SC2-NA, CS23m4-SC2-NA, CS23m12-SC2-NA, CS23m13-SC2-NA,
 CS23m23-SC2-NA, CS23m24-SC2-NA, CS23m34-SC2-NA, CS23m123-SC2-NA
 и CS23m234-SC2-NA.

В одном варианте реализации полинуклеотидов, описанных выше, кодируемый полипептид факто-

ра VIII содержит гликозилируемый полипептид, расположенный между двумя последовательными аминокислотами.

В одном варианте реализации полинуклеотидов, описанных выше, кодируемый полипептидный линкер содержит в себе гликозилируемый пептид с аминокислотной последовательностью, имеющей по меньшей мере 92% идентичность с гликозилируемым пептидом, выбранным из группы, состоящей из NG1-AA, NG4-AA, NG5-AA, NG6-AA, NG7-AA, NG9-AA, NG10-AA, NG16-AA, NG17-AA, NG18-AA, NG19-AA, NG20-AA, NG21-AA и NGV-AA.

В одном варианте реализации полинуклеотидов, описанных выше, кодируемый полипептидный линкер содержит гликозилируемый пептид с аминокислотной последовательностью, выбранной из группы, состоящей из NG1-AA, NG4-AA, NG5-AA, NG6-AA, NG7-AA, NG9-AA, NG10-AA, NG16-AA, NG17-AA, NG18-AA, NG19-AA, NG20-AA, NG21-AA и NGV-AA.

В одном варианте реализации полинуклеотидов, описанных выше, гликозилируемый пептид кодируется полинуклеотидом с нуклеотидной последовательностью, имеющей по меньшей мере 95% идентичность с последовательностью, выбранной из группы, состоящей из NG1-NA, NG4-NA, NG5-NA, NG6-NA, NG7-NA, NG9-NA, NG10-NA, NG16-NA, NG17-NA, NG18-NA, NG19-NA, NG20-NA, NG21-NA и NGV-NA.

В одном варианте реализации описанных выше полинуклеотидов гликозилируемый пептид кодируется полинуклеотидом с нуклеотидной последовательностью, выбранной из группы, состоящей из NG1-NA, NG4-NA, NG5-NA, NG6-NA, NG7-NA, NG9-NA, NG10-NA, NG16-NA, NG17-NA, NG18-NA, NG19-NA, NG20-NA, NG21-NA и NGV-NA.

В одном варианте реализации полинуклеотидов, описанных выше, полипептидный линкер кодируется третьей нуклеотидной последовательностью, имеющей по меньшей мере 95% идентичность с последовательностью, выбранной из группы, состоящей из BDLNG1-NA, BDLNG3-NA, BDLNG5-NA, BDLNG6-NA, BDLNG9-NA, BDLNG10-NA, BDLNG16-NA, BDLNG17-NA, BDLNG18-NA, BDLNG19-NA, BDLNG20-NA и BDLNG21-NA.

В одном варианте реализации полинуклеотидов, описанных выше, кодируемый полипептид фактора VIII содержит аминокислотную замену F328S (SPI, F309S SPE) в сравнении с FVIII-FL-AA (SEQ ID NO: 19).

В одном варианте реализации полинуклеотидов, описанных выше, кодируемый полипептид фактора VIII содержит аминокислотные замены I105V, A127S, G151K, M166T и L171P (SPI; I86V, A108S, G132K, M147T и L152P, SPE соответственно) в сравнении с FVIII-FL-AA (SEQ ID NO: 19).

В одном варианте реализации полинуклеотидов, описанных выше, кодируемый полипептид фактора VIII содержит а) аминокислотные делеции AIEPR755-759 в сравнении с FVIII-FL-AA (SEQ ID NO: 19) и б) аминокислотные вставки TTYVNRSLS (SEQ ID NO: 33) после N754 в сравнении с FVIII-FL-AA (SEQ ID NO: 19). В некоторых вариантах реализации (например, когда кодируемая молекула FVIII содержит часть N-концевой области В-домена дикого типа), кодируемый полипептид фактора VIII также содержит аминокислотные делеции SF760-761 в сравнении с FVIII-FL-AA (SEQ ID NO: 19).

В одном варианте реализации полинуклеотидов, описанных выше, кодируемый полипептид фактора VIII содержит а) аминокислотную замену F328S (SPI; F309S SPE) в сравнении с FVIII-FL-AA (SEQ ID NO: 19) и б) аминокислотные замены C1918G и C1922G (SPI; C1899G и C1903 SPE соответственно) в сравнении с FVIII-FL-AA (SEQ ID NO: 19).

В одном варианте реализации полинуклеотидов, описанных выше, кодируемый полипептид фактора VIII содержит а) аминокислотную замену F328S (SPI; F309S SPE) в сравнении с FVIII-FL-AA (SEQ ID NO: 19) и б) аминокислотные замены I105V, A127S, G151K, M166T и L171P (SPI; I86V, A108S, G132K, M147T и L152P, SPE соответственно) в сравнении с FVIII-FL-AA (SEQ ID NO: 19).

В одном варианте реализации полинуклеотидов, описанных выше, кодируемый полипептид фактора VIII содержит а) аминокислотную замену F328S в сравнении с FVIII-FL-AA (SEQ ID NO: 19), б) аминокислотные делеции AIEPR755-759, в сравнении с FVIII-FL-AA (SEQ ID NO: 19) и в) аминокислотную вставку TTYVNRSLS (SEQ ID NO: 33) после N754 в сравнении с FVIII-FL-AA (SEQ ID NO: 19). В некоторых вариантах реализации (например, когда кодируемая молекула FVIII содержит часть N-концевой области В-домена дикого типа), кодируемый полипептид фактора VIII также содержит аминокислотные делеции SF760-761 в сравнении с FVIII-FL-AA (SEQ ID NO: 19).

В одном варианте реализации полинуклеотидов, описанных выше, кодируемый полипептид фактора VIII содержит а) аминокислотные замены I105V, A127S, G151K, M166T и L171P в сравнении с FVIII-FL-AA (SEQ ID NO: 19), б) аминокислотные делеции AIEPR755-759, в сравнении с FVIII-FL-AA (SEQ ID NO: 19) и в) аминокислотную вставку TTYVNRSLS (SEQ ID NO: 33) после N754 в сравнении с FVIII-FL-AA (SEQ ID NO: 19). В некоторых вариантах реализации (например, когда кодируемая молекула FVIII содержит часть N-концевой области В-домена дикого типа), кодируемый полипептид фактора VIII также содержит аминокислотные делеции SF760-761 в сравнении с FVIII-FL-AA (SEQ ID NO: 19).

В одном варианте реализации полинуклеотидов, описанных выше, кодируемый полипептид фактора VIII содержит а) аминокислотную замену F328S в сравнении с FVIII-FL-AA (SEQ ID NO: 19), б) аминокислотные замены C1918G и C1922G в сравнении с FVIII-FL-AA (SEQ ID NO: 19) и в) аминокислот-

ные замены I105V, A127S, G151K, M166T и L171P в сравнении с FVIII-FL-AA (SEQ ID NO: 19).

В одном варианте реализации полинуклеотидов, описанных выше, кодируемый полипептид фактора VIII содержит а) аминокислотную замену F328S в сравнении с FVIII-FL-AA (SEQ ID NO: 19), б) аминокислотные замены C1918G и C1922G в сравнении с FVIII-FL-AA (SEQ ID NO: 19), в) аминокислотные делеции AIEPR755-759 в сравнении с FVIII-FL-AA (SEQ ID NO: 19) и г) аминокислотную вставку TTYVNRSL (SEQ ID NO: 33) после N754 в сравнении с FVIII-FL-AA (SEQ ID NO: 19). В некоторых вариантах реализации (например, когда кодируемая молекула FVIII содержит часть N-концевой области В-домена дикого типа), кодируемый полипептид фактора VIII также содержит аминокислотные делеции SF760-761 в сравнении с FVIII-FL-AA (SEQ ID NO: 19).

В одном варианте реализации полинуклеотидов, описанных выше, кодируемый полипептид фактора VIII содержит а) аминокислотные замены I105V, A127S, G151K, M166T и L171P в сравнении с FVIII-FL-AA (SEQ ID NO: 19), б) аминокислотную замену F328S в сравнении с FVIII-FL-AA (SEQ ID NO: 19), в) аминокислотные замены C1918G и C1922G в сравнении с FVIII-FL-AA (SEQ ID NO: 19), г) аминокислотные делеции AIEPR755-759 в сравнении с FVIII-FL-AA (SEQ ID NO: 19) и д) аминокислотную вставку TTYVNRSL (SEQ ID NO: 33) после N754 в сравнении с FVIII-FL-AA (SEQ ID NO: 19). В некоторых вариантах реализации (например, когда кодируемая молекула FVIII содержит часть N-концевой области В-домена дикого типа), кодируемый полипептид фактора VIII также содержит аминокислотные делеции SF760-761 в сравнении с FVIII-FL-AA (SEQ ID NO: 19).

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 ATG) 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.

В другом аспекте описание предлагает полипептид фактора VIII, содержащий легкую цепь, тяжелую цепь и полипептидный линкер, соединяющий С-конец тяжелой цепи с N-концом легкой цепи. Тяжелая цепь полипептида фактора VIII имеет последовательность, по меньшей мере на 95% идентичную последовательности CS01-NC-AAm23. Легкая цепь полипептида фактора VIII имеет последовательность, по меньшей мере на 95% идентичную последовательности CS01-LC-AAm23. Полипептидный линкер полипептида фактора VIII содержит фуриновый сайт расщепления. Полипептид фактора VIII содержит i) аминокислотные замены I105V, A127S, G151K, M166T и L171P, ii) аминокислотные делеции AIEPR755-759 в сравнении с FVIII-FL-AA (SEQ ID NO: 19) и iii) аминокислотную вставку TTYVNRSL (SEQ ID NO: 33) после N754 в сравнении с FVIII-FL-AA (SEQ ID NO: 19).

В другом аспекте данное описание предлагает полипептид фактора VIII, содержащий легкую цепь, тяжелую цепь и полипептидный линкер, соединяющий С-конец тяжелой цепи с N-концом легкой цепи. Тяжелая цепь полипептида фактора VIII имеет последовательность, по меньшей мере на 95% идентичную последовательности CS01-NCAAm123. Легкая цепь полипептида фактора VIII имеет последовательность, по меньшей мере на 95% идентичную последовательности CS01-LCAAm123. Полипептидный линкер полипептида фактора VIII содержит фуриновый сайт расщепления. Полипептид фактора VIII содержит i) аминокислотные замены I105V, A127S, G151K, M166T и L171P, ii) аминокислотные делеции AIEPR755-759 в сравнении с FVIII-FL-AA (SEQ ID NO: 19), iii) аминокислотную вставку TTYVNRSL

(SEQ ID NO: 33) после N754 в сравнении с FVIII-FL-AA (SEQ ID NO: 19), iv) аминокислотную замену F328S.

В другом аспекте описание предлагает полипептид фактора VIII, содержащий легкую цепь, тяжелую цепь и полипептидный линкер, соединяющий С-конец тяжелой цепи с N-концом легкой цепи. Тяжелая цепь полипептида фактора VIII имеет последовательность, по меньшей мере на 95% идентичную последовательности CS01-HC-AAm234. Легкая цепь полипептида фактора VIII имеет последовательность, по меньшей мере на 95% идентичную последовательности CS01-LC-AAm234. Полипептидный линкер полипептида фактора VIII содержит фуриновый сайт расщепления.

Полипептид фактора VIII содержит i) аминокислотные замены I105V, A127S, G151K, M166T и L171P, ii) аминокислотные делеции AIEPR755-759 в сравнении с FVIII-FL-AA (SEQ ID NO: 19), iii) аминокислотную вставку TTYVNRSL (SEQ ID NO: 33) после N754 в сравнении с FVIII-FL-AA (SEQ ID NO: 19) и iv) аминокислотные замены F328S/C1918G/C1922G.

В одном варианте реализации описанных полипептидов фактора VIII тяжелая цепь полипептида фактора VIII имеет последовательность, по меньшей мере на 96% идентичную последовательности соответствующей тяжелой цепи (например, CS01-HC-AAm23, CS01-HCAAm123 или CS01-HC-AAm234), а легкая цепь полипептида фактора FVIII имеет последовательность, по меньшей мере на 96% идентичную соответствующей последовательности легкой цепи (например, CS01-LC-AAm23, CS01-LCAAm123 или CS01-LC-AAm234).

В одном варианте реализации описанных полипептидов фактора VIII тяжелая цепь полипептида фактора VIII имеет последовательность, по меньшей мере на 97% идентичную последовательности соответствующей тяжелой цепи (например, CS01-HC-AAm23, CS01-HCAAm123 или CS01-HC-AAm234), а легкая цепь полипептида фактора FVIII имеет последовательность, по меньшей мере на 97% идентичную соответствующей последовательности легкой цепи (например, CS01-LC-AAm23, CS01-LCAAm123 или CS01-LC-AAm234).

В одном варианте реализации описанных полипептидов фактора VIII тяжелая цепь полипептида фактора VIII имеет последовательность, по меньшей мере на 98% идентичную последовательности соответствующей тяжелой цепи (например, CS01-HC-AAm23, CS01-HCAAm123 или CS01-HC-AAm234), а легкая цепь полипептида фактора FVIII имеет последовательность, по меньшей мере на 98% идентичную соответствующей последовательности легкой цепи (например, CS01-LC-AAm23, CS01-LCAAm123 или CS01-LC-AAm234).

В одном варианте реализации описанных полипептидов фактора VIII тяжелая цепь полипептида фактора VIII имеет последовательность, по меньшей мере на 99% идентичную последовательности соответствующей тяжелой цепи (например, CS01-HC-AAm23, CS01-HCAAm123 или CS01-HC-AAm234), а легкая цепь полипептида фактора FVIII имеет последовательность, по меньшей мере на 99% идентичную соответствующей последовательности легкой цепи (например, CS01-LC-AAm23, CS01-LCAAm123 или CS01-LC-AAm234).

В одном варианте реализации описанных полипептидов фактора VIII тяжелая цепь полипептида фактора VIII имеет последовательность, по меньшей мере на 99,5% идентичную последовательности соответствующей тяжелой цепи (например, CS01-HC-AAm23, CS01-HCAAm123 или CS01-HC-AAm234), а легкая цепь полипептида фактора FVIII имеет последовательность, по меньшей мере на 99,5% идентичную соответствующей последовательности легкой цепи (например, CS01-LC-AAm23, CS01-LCAAm123 или CS01-LC-AAm234).

В одном варианте реализации описанных полипептидов фактора VIII тяжелая цепь полипептида фактора VIII имеет последовательность, идентичную последовательности соответствующей тяжелой цепи (например, CS01-HC-AAm23, CS01-HC-AAm123 или CS01-HC-AAm234), а легкая цепь полипептида фактора FVIII имеет последовательность, идентичную соответствующей последовательности легкой цепи (например, CS01-LC-AAm23, CS01-LC-AAm123 или CS01-LC-AAm234).

В одном варианте реализации полипептидов фактора VIII, описанных выше, полипептидный линкер имеет по меньшей мере 95% идентичность с последовательностью BDL-SQ-AA (SEQ ID NO: 30).

В одном варианте реализации полипептидов фактора VIII, описанных выше, полипептидный линкер имеет аминокислотную последовательность BDL-SQ-AA (SEQ ID NO: 30).

В одном варианте реализации полипептидов фактора VIII, описанных выше, полипептидный линкер содержит гликозилируемый пептид с аминокислотной последовательностью, имеющей по меньшей мере 92% идентичность с гликозилируемым пептидом, выбранным из группы, состоящей из NG1-AA, NG4-AA, NG5-AA, NG6-AA, NG7-AA, NG9-AA, NG10-AA, NG16-AA, NG17-AA, NG18-AA, NG19-AA, NG20-AA, NG21-AA и NGV-AA.

В одном варианте реализации полипептидов фактора VIII, описанных выше, полипептидный линкер содержит гликозилируемый пептид, выбранный из группы, состоящей из NG1-AA, NG4-AA, NG5-AA, NG6-AA, NG7-AA, NG9-AA, NG10-AA, NG16-AA, NG17-AA, NG18-AA, NG19-AA, NG20-AA, NG21-AA и NGV-AA.

В одном варианте реализации полипептидов фактора VIII, описанных выше, полипептидный линкер имеет аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 95% идентичность с после-

довательностью, выбранной из группы, состоящей из BDLNG1-AA, BDLNG3-AA, BDLNG5-AA, BDLNG6-AA, BDLNG9-AA, BDLNG10-AA, BDLNG16-AA, BDLNG17-AA, BDLNG18-AA, BDLNG19-AA, BDLNG20-AA и BDLNG21-AA.

В одном варианте реализации полипептидов фактора VIII, описанных выше, полипептидный линкер имеет аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из BDLNG1-AA, BDLNG3-AA, BDLNG5-AA, BDLNG6-AA, BDLNG9-AA, BDLNG10-AA, BDLNG16-AA, BDLNG17-AA, BDLNG18-AA, BDLNG19-AA, BDLNG20-AA и BDLNG21-AA.

В другом аспекте описание предлагает полипептид фактора VIII, имеющий аминокислотную последовательность по меньшей мере с 95% идентичностью с последовательностью CS40-FL-AAm23 (SEQ ID NO: 104). Полипептид фактора VIII содержит i) аминокислотные замены I105V, A127S, G151K, M166T и L171P, ii) аминокислотные делеции AIEPR755-759 в сравнении с FVIII-FL-AA (SEQ ID NO: 19) и iii) аминокислотную вставку TTYVNRSL (SEQ ID NO: 33) после N754 в сравнении с FVIII-FL-AA (SEQ ID NO: 19).

В другом аспекте описание предлагает полипептид фактора VIII, имеющий аминокислотную последовательность по меньшей мере с 95% идентичностью с последовательностью CS40-FL-AAm123. Полипептид фактора VIII содержит i) аминокислотные замены I105V, A127S, G151K, M166T и L171P, ii) аминокислотные делеции AIEPR755-759 в сравнении с FVIII-FL-AA (SEQ ID NO: 19), iii) аминокислотную вставку TTYVNRSL (SEQ ID NO: 33) после N754 в сравнении с FVIII-FL-AA (SEQ ID NO: 19) и iv) аминокислотную замену F328S.

В другом аспекте описание предлагает полипептид фактора VIII, имеющий аминокислотную последовательность по меньшей мере с 95% идентичностью с последовательностью CS40-FL-AAm234. Полипептид фактора VIII содержит i) аминокислотные замены I105V, A127S, G151K, M166T и L171P, ii) аминокислотные делеции AIEPR755-759 в сравнении с FVIII-FL-AA (SEQ ID NO: 19), iii) аминокислотную вставку TTYVNRSL (SEQ ID NO: 33) после N754 в сравнении с FVIII-FL-AA (SEQ ID NO: 19) и iv) аминокислотные замены F328S/C1918G/C1922G.

В одном варианте реализации описанных полипептидов фактора VIII полипептид фактора VIII имеет последовательность, по меньшей мере на 96% идентичную соответствующей полноразмерной последовательности (например, CS40-FL-AAm23 (SEQ ID NO: 104), CS40-FL-AAm123 или CS40-FL-AAm234).

В одном варианте реализации описанных полипептидов фактора VIII полипептид фактора VIII имеет последовательность, по меньшей мере на 97% идентичную соответствующей полноразмерной последовательности (например, CS40-FL-AAm23 (SEQ ID NO: 104), CS40-FL-AAm123 или CS40-FL-AAm234).

В одном варианте реализации описанных полипептидов фактора VIII полипептид фактора VIII имеет последовательность, по меньшей мере на 98% идентичную соответствующей полноразмерной последовательности (например, CS40-FL-AAm23 (SEQ ID NO: 104), CS40-FL-AAm123 или CS40-FL-AAm234).

В одном варианте реализации описанных полипептидов фактора VIII полипептид фактора VIII имеет последовательность, по меньшей мере на 99% идентичную соответствующей полноразмерной последовательности (например, CS40-FL-AAm23 (SEQ ID NO: 104), CS40-FL-AAm123 или CS40-FL-AAm234).

В одном варианте реализации описанных полипептидов фактора VIII полипептид фактора VIII имеет последовательность, по меньшей мере на 99,5% идентичную соответствующей полноразмерной последовательности (например, CS40-FL-AAm23 (SEQ ID NO: 104), CS40-FL-AAm123 или CS40-FL-AAm234).

В одном варианте реализации описанных полипептидов фактора VIII полипептид фактора VIII имеет последовательность, идентичную соответствующей полноразмерной последовательности (например, CS40-FL-AAm23 (SEQ ID NO: 104), CS40-FL-AAm123, или CS40-FL-AAm234).

Краткое описание графических материалов

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

На фиг. 2A и 2B 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 NO: 5-7 и 36-48 соответственно, в порядке появления) для замещенных В-доменных линкеров 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, замещаемый 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 CS01m1 с измененными кодонами (SEQ ID NO: 49), кодирующая вариант фактора VIII с аминокислотной заменой F328S в соответствии с некоторыми вариантами реализации ("CS01m1-FL-NA").

На фиг. 9А и 9В 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. 10 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. 11А и 11В 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. 12 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. 13А и 13В изображены аминокислотные и нуклеотидные последовательности для типовых гликозилируемых пептидов, которые вставляются в линкер, замещающий В-домен в соответствии с некоторыми вариантами реализации. "NG1" или "NG1-AA" представляют собой код аминокислотной последовательности, показанный в верхней строке. "NG1-NA" представляют собой код последовательности нуклеиновой кислоты, показанный в нижней строке для каждого набора. На фиг. 13А и 13В изображены аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73 и 75 и нуклеотидные последовательности SEQ ID NO: 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72 и 74 соответственно, в порядке упоминания.

На фиг. 14 изображены результаты предсказания *in silico* N-гликозилирования *in vivo* В-домена фактора VIII дикого типа. На фигуре изображены SEQ ID NO: 76 и 76-82 соответственно, в порядке их упоминания.

На фиг. 15 изображены результаты предсказания *in silico* N-гликозилирования *in vivo* пептидного линкера V3. На фигуре изображены SEQ ID NO: 83 и 83-89 соответственно, в порядке их упоминания.

На фиг. 16А и 16В 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. 17А и 17В 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. 18А и 18В 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. 19А и 19В 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. 20А и 20В изображена кодирующая последовательность ReFacto дикого типа CS40 (SEQ ID NO: 17) в соответствии с некоторыми вариантами реализации ("CS40-FL-NA").

На фиг. 21А и 21В 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. 22 изображена аминокислотная последовательность фактора VIII дикого типа человека (SEQ ID NO: 19) в соответствии с некоторыми вариантами реализации ("FVIII-FL-AA").

На фиг. 23 изображена схема клонирования конструкций pCS40, pCS01, pCS04, pCS08, pCS10, pCS11 и pCh25 путем вставки синтетических последовательностей ДНК BDD-FVIII типа Refacto в векторную основную цепь pCh-BB01 с помощью сайтов рестрикции AscI и NotI.

На фиг. 24 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 килобазах (кб).

На фиг. 25 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. 26А и 26В 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. 27 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. 28 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. 29 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. 30А и 30В изображена нуклеотидная последовательность CS01m13 с измененными кодонами (SEQ ID NO: 90), кодирующая вариант фактора VIII с аминокислотными заменами m1 (F328S) и m3 в соответствии с некоторыми вариантами реализации ("CS01-FL-NA-m13").

На фиг. 31А и 31В изображена нуклеотидная последовательность CS01m23 с измененными кодонами (SEQ ID NO: 91), кодирующая вариант фактора VIII с наборами мутаций m2 и m3 в соответствии с некоторыми вариантами реализации ("CS01-FL-NA-m23").

На фиг. 32А и 32В изображена нуклеотидная последовательность CS01m3 с измененными кодонами (SEQ ID NO: 92), кодирующая вариант фактора VIII с аминокислотными заменами m3 в соответствии с некоторыми вариантами реализации ("CS01-FL-NA-m3").

На фиг. 33А и 33В изображена нуклеотидная последовательность CS01m2 с измененными кодонами (SEQ ID NO: 93), кодирующая вариант фактора VIII с набором мутаций m2 (I105V/A127S/G151K/M166T/L171P (SPI)) в соответствии с некоторыми вариантами реализации ("CS01-FL-NA-m2").

На фиг. 34А и 34В изображена нуклеотидная последовательность CS04m2 с измененными кодонами (SEQ ID NO: 94), кодирующая вариант фактора VIII с набором мутаций m2 (I105V/A127S/G151K/M166T/L171P (SPI)) в соответствии с некоторыми вариантами реализации ("CS01-FL-NA-m2").

На фиг. 35А и 35В изображена нуклеотидная последовательность CS04m3 с измененными кодонами (SEQ ID NO: 95), кодирующая вариант фактора VIII с аминокислотными заменами m3 в соответствии с некоторыми вариантами реализации ("CS04-FL-NA-m3").

На фиг. 36А и 36В изображена нуклеотидная последовательность CS04m23 с измененными кодонами (SEQ ID NO: 96), кодирующая вариант фактора VIII с мутантным комплексом m2 (I105V/A127S/G151K/M166T/L171P (SPI)) и аминокислотной заменой m3 в соответствии с некоторыми вариантами реализации ("CS04-FL-NA-m23").

На фиг. 37А и 37В изображена нуклеотидная последовательность CS04m1 с измененными кодонами (SEQ ID NO: 97), кодирующая вариант фактора VIII с аминокислотной заменой m1 (F328S) в соответствии с некоторыми вариантами реализации ("CS04-FL-NA-m1").

На фиг. 38А и 38В изображена нуклеотидная последовательность CS04m13 с измененными кодонами (SEQ ID NO: 98), кодирующая вариант фактора VIII с аминокислотными заменами m1 и m3 в соответствии с некоторыми вариантами реализации ("CS04-FL-NA-m13").

На фиг. 39А и 39В изображена нуклеотидная последовательность CS23m13 с измененными кодонами (SEQ ID NO: 99), кодирующая вариант фактора VIII с аминокислотными заменами m1 и m3 в соответствии с некоторыми вариантами реализации ("CS23m13-FL-NA").

На фиг. 40А и 40В изображена нуклеотидная последовательность CS23m3 с измененными кодонами (SEQ ID NO: 100), кодирующая вариант фактора VIII с аминокислотными заменами m3 в соответствии с некоторыми вариантами реализации ("CS23-FL-NA-m3").

На фиг. 41А и 41В изображена нуклеотидная последовательность CS23m2 (SEQ ID NO: 101), кодирующая вариант фактора VIII с набором мутаций m2 (аминокислотные замены I105V/A127S/G151K/M166T/L171P) в соответствии с некоторыми вариантами реализации ("CS23-FL-NA-m2").

На фиг. 42А и 42В изображена нуклеотидная последовательность CS23m1 с измененными кодонами (SEQ ID NO: 102), кодирующая вариант фактора VIII с аминокислотной заменой m1 (F328S) в соответствии с некоторыми вариантами реализации ("CS23-FL-NA-m1").

На фиг. 43А и 43В изображена нуклеотидная последовательность CS23m23 с измененными кодонами

ми (SEQ ID NO: 103), кодирующая вариант фактора VIII с набором мутаций m2 (аминокислотные замены I105V/A127S/G151K/M166T/L171P) и m3 аминокислотными заменами в соответствии с некоторыми вариантами реализации ("CS23-FL-NA-m23").

На фиг. 44 изображено клонирование конструкций рCS, выполненное путем вставки синтетического BDD-FVIII типа Refacto, несущего различные мутации (см. вставленную таблицу) в векторную основу рCh-BB01 с помощью сайтов рестрикции Ascl I и NotI.

На фиг. 45 изображен белковый анализ векторных препаратов AAV с помощью PAGE и окрашивания серебром. Дорожка 1, маркер белка (M); дорожка 2, vCS01, дорожка 3, VCS17; дорожка 4, VCS19; дорожка 5, vCS20; дорожка 6, VCS40; дорожка 7, VCS04; дорожка 8, vCS17; дорожка 9, конструкция VCS24. 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. 46 изображена целостность препаратов генома AAV-вектора, анализируемая с помощью электрофореза в агарозном геле. Дорожка 1, маркер ДНК (M); дорожка 2, VCS04, дорожка 3, VCS17; дорожка 4, vCS20; дорожка 5, VCS24; дорожка 6, VCS16; дорожка 7, конструкция vCS40. Векторная нагрузка составляет 1,5E10 vg (векторных геномов) на дорожку. AAV-векторы все имеют одинаковые размеры генома, мигрирующие примерно на 5 кб (стрелка, правая сторона). Шкала с левой стороны указывает размер фрагментов ДНК в килобаззах (кб).

На фиг. 47 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. 48 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. 49A и 49B 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. 50A и 50B 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. 51A и 52B 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. 52A и 52B изображена нуклеотидная последовательность (SEQ ID NO: 29) CS23Δ с измененными кодонами (772-1667) (SPI; CS23Δ (753-1648), SPE), кодирующая одноцепочечный вариант фактора VIII в соответствии с некоторыми вариантами реализации ("CS23-SC2-NA").

На фиг. 53 изображена аминокислотная последовательность фактора VIII (SEQ ID NO: 104), кодируемая нуклеотидной последовательностью CS01m23 с измененными кодонами, в соответствии с некоторыми вариантами реализации ("CS01m23-FL-AA").

На фиг. 54 изображена аминокислотная последовательность фактора VIII (SEQ ID NO: 105), кодируемая нуклеотидной последовательностью CS04m3 с измененными кодонами, в соответствии с некоторыми вариантами реализации ("CS01m23-FL-AA").

На фиг. 55 изображена аминокислотная последовательность фактора VIII (SEQ ID NO: 106), кодируемая нуклеотидной последовательностью CS01m12 с измененными кодонами, в соответствии с некоторыми вариантами реализации ("CS01m12-FL-AA").

На фиг. 56 изображена аминокислотная последовательность фактора VIII (SEQ ID NO: 107), кодируемая нуклеотидной последовательностью CS04m12 с измененными кодонами, в соответствии с некоторыми вариантами реализации ("CS04m12-FL-AA").

На фиг. 57A и 57B изображена нуклеотидная последовательность CS01m12 с измененными кодонами (SEQ ID NO: 108), кодирующая вариант фактора VIII с аминокислотными заменами m1 (F328S) и m2 в соответствии с некоторыми вариантами реализации ("CS01-FL-NA-m12").

На фиг. 58A и 58B изображена нуклеотидная последовательность CS04m12 с измененными кодонами (SEQ ID NO: 109), кодирующая вариант фактора VIII с аминокислотными заменами m1 (F328S) и m2 в соответствии с некоторыми вариантами реализации ("CS04-FL-NA-m12").

Подробное описание сущности изобретения

I. Введение.

Генная терапия на основе AAV имеет большие перспективы для лечения гемофилий. 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. 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 примерах 2 и 4 показано, что внутривенное введение векторов генной терапии на основе AAV, имеющих CS0 (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, кодирующей полинуклеотидной последовательностью дикого типа (SEQ ID NO: 17), в нокаутных мышцах по фактору VIII (табл. 4 и 7).

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, кодирующей полинуклеотидной последовательностью дикого типа, при выделении из того же количества клеточного осадка.

Преимущественно заявители также обнаружили, что улучшенная активность фактора VIII, генерируемая из последовательностей CS01, CS04 и CS23 с измененными кодонами может быть дополнительно усилена путем введения мутаций в последовательность полипептида фактора VIII. Например, как показано в примере 4, мутации F328S, X5 и X1, отдельно и в комбинации друг с другом, дополнительно увеличивают активность FVIII, когда экспрессируется *in vivo* в конструкциях CS01 или CS04 с измененными кодонами в 2-7 раз по сравнению с диким типом (табл. 7). Более поразительно, что эти последовательности с измененными кодонами, кодирующие мутанты фактора VIII, обеспечивали увеличение в 246 раз по сравнению с соответствующей конструкцией CS40, кодирующей полинуклеотидной последовательностью дикого типа (табл. 7).

II. 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) по сравнению с тяжелой и легкой цепями полипептида фактора VIII дикого типа. В некоторых вариантах реализации В-домен полипептида фактора VIII удаляют, укорачивают или заменяют линкерным полипептидом, чтобы уменьшить размер полинуклеотида, кодирующего полипептид фактора VIII. В типовом варианте реализации аминокислоты 20-1457 SEQ ID NO: 2 представляют собой 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 FIRZ36 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 FVIII-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 В и А3 с образованием первого полипептида, который содержит тяжелую цепь фактора VIII (например, домены А1 и А2) и В-домен, и второй полипептид, который содержит легкую цепь фактора VIII (например, содержит домены А3, С1 и С3). Первый полипептид далее расщепляется для удаления В-домена, а также для отделения доменов А1 и А2, 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 В-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 А1 и А2 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 А3, С1 и С2 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 В-доменом или замещающим В-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 "В-домен замещающий линкер" и "линкер фактора VIII" используются взаимозаменяемо и относятся к укороченным версиям В-домена фактора VIII дикого типа (например, аминокислоты 760-1667 FVIII-FL-AA (SEQ ID NO: 19)) или пептиды, сконструированные для замены В-домена полипептида фактора VIII. Как используется в данном документе, линкер фактора 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 данный документ 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 дикого типа (FVIII-FL-AA), представленной в виде SEQ ID NO: 19 на фиг. 22. 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 T-N в положении 2105 полноразмерной последовательности фактора VIII дикого типа человека (FVIII-FL-AA, SEQ ID NO: 19), замещению T на N в положении 1211 варианта белка фактора VIII, кодируемого CS04 (CS04-FL-AA, SEQ ID NO: 2), и замещению T-N в положении 1212 варианта фактора VIII, кодируемого CS04m3 (CS04m3-FL-AA; SEQ ID NO: 105).

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. 22.

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 закодированный 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 1 л культуры), инокулированном полинуклеотидом с измененными кодонами, кодирующим фактор VIII, по сравнению с выходом вектора в культуре клеток, инокулированным 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 коагуляции. Гемофилия может относиться к гемофилии типа А, типа В или типа С или к совокупности всех трех типов заболеваний. Гемофилия типа А (гемофилия А) вызвана снижением или потерей активности фактора VIII (FVIII) и является наиболее известным из подтипов гемофилии. Гемофилия типа В (гемофилия В) является результатом потери или уменьшения функции фактора свертывания IX (FIX). Гемофилия типа С (гемофилия С) является следствием потери или снижения активности фактора свертывания XI (FXI). Гемофилия А и В являются X-связанными заболеваниями, тогда как гемофилия С является аутосомной. Обычные способы лечения гемофилии включают как профилактическое введение, так и введение по необходимости факторов свертывания крови, таких как FVIII, FIX, включая Bebulin®-VH и FXI, а также инфузии FEIBA-VH, 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 А, 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 количеством, 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. 13, 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 конструкции 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 CpG" относится к области внутри полинуклеотида, имеющей статистически повышенную плотность CpG-динуклеотидов. Как используется в данном документе, область полинуклеотида (например, полинуклеотида с измененными кодонами, кодирующего белок фактора VIII) представляет собой остров CpG, если среди 200 оснований:

- (i) область имеет содержание GC более 50 и
- (ii) отношение наблюдаемых CpG-динуклеотидов к ожидаемым CpG-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 островов CpG 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, ме-

тилфосфонаты, 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, т.е. 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.

Нуклеотидные последовательности, которые кодируют конструкции мутантного фактора VIII в данном документе, могут быть идентичны кодирующей последовательности, представленной в данном документе, или могут быть другой кодирующей последовательностью, причем эта последовательность в результате избыточности или вырожденности генетического кода кодирует те же самые полипептиды, что и кодирующие последовательности, представленные в данном документе. Специалисту в данной области техники будет понятно, что каждый кодон в нуклеиновой кислоте (за исключением AUG, который обычно является единственным кодоном для метионина и TGG, который обычно является единственным кодоном для триптофана) может быть модифицирован, чтобы получить функционально идентичную молекулу.

Соответственно, каждый вариант нуклеиновой кислоты, которая кодирует один и тот же полипептид, неявно входит в каждую описанную последовательность по отношению к продукту экспрессии, но не по отношению к фактическим конструкциям генной терапии.

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 воздействием/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. H, 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 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, p. 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 упрощенный прогрессивный метод 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>]. 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 к 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 аминокислот, 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 устраняет 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-боксы и ССААТ-боксы), 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.) относится к полинуклеотидам с измененными кодоном, кодирующим полипептиды FVIII и/или кодируемые полипептиды, включая варианты. Например, CS01-FL относится к полинуклеотидной полноразмерной (Full Length) последовательности CS01 с измененными кодоном, 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 кодоном ("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-NC, CS01-NC-AA и CS01-NC-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-NC-AA,
 CS01-NC-NA, CS04-FL-NA, CS04-FL-AA, CS04-LC-NA, CS04-LC-AA,
 CS04-NC-AA, CS04-NC-NA, CS23-FL-NA, CS23-FL-AA, CS23-LC-NA,
 CS23-LC-AA, CS23-NC-AA и CS23-NC-NA.

Эта номенклатура также применима к гликозилируемым пептидам, как показано на фиг. 13, так что "NGA1-AA" относится к аминокислотной последовательности, а NGA1-NA относится к последовательности нуклеиновой кислоты.

Описание изобретения также включает дополнительные новые варианты фактора VIII, как описано ниже, с соответствующей номенклатурой.

III. Варианты фактора VIII с измененными кодоном.

В некоторых вариантах реализации изобретения данное описание предлагает полинуклеотиды с измененными кодоном, кодирующие варианты фактора VIII. Эти полинуклеотиды с измененными кодоном обеспечивают значительно улучшенную экспрессию фактора VIII при введении в конструкции генной терапии на основе AAV. Полинуклеотиды с измененными кодоном также демонстрируют улучшенную упаковку AAV-вирионов по сравнению с конструкциями с традиционной оптимизацией кодонов. Как показано в примерах 2 и 4, заявители достигают этих преимуществ благодаря открытию трех полинуклеотидов с измененными кодоном (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*. Как дополнительно показано в примере 4, включение различных комбинаций мутаций аминокислот F328S, X5 и X1 в кодируемую молекулу фактора VIII дополнительно увеличивало экспрессию активности фактора VIII *in vivo*.

В одном варианте реализации изобретения полинуклеотид с измененными кодоном, 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 кодоном, 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). Линкером "SQ" также называют BDLO04 (-AA для аминокислотной последовательности и -NA для нуклеотидной последовательности, изображенных на фиг. 6).

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 измененными 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 5 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% .

А. Аминокислотные замены фактора VIII.

Для дальнейшего повышения эффективности экспрессии описанных в данном документе конструкций фактора VIII, основанных на AAV-векторе, аминокислотные замены, известные для улучшения секретиции, увеличения специфической активности и/или повышения стабильности фактора VIII, далее включены в некоторые варианты реализации. Был идентифицирован ряд потенциальных вариантов, которые повышают уровни активности FVIII в плазме при данной векторной дозе. Эти варианты включают те, у которых более эффективный сигнальный пептид, аминокислотные замены, которые препятствуют ViP взаимодействию, аминокислотные замены, сходные с более эффективно секретлируемыми ортологами фактора VIII (например, фактор VIII свиньи), одноцепочечные варианты фактора VIII и аминокислотные замены, которые стабилизируют Фактор VIII и/или уменьшить диссоциацию субъединиц.

Мутация остатков A108, R121 и L2302 (SPE), расположенных на границе между доменами A1 и C2, повышает стабильность фактора VIII. Например, аминокислотная замена A108I вводит гидрофобный остаток, который лучше заполняет междоменное пространство, стабилизируя взаимодействие. Аналогично, двойная аминокислотная замена R121C/L2302C (SPE) вводит дисульфидную связь, охватывающую домены A1-C2, дополнительно стабилизируя взаимодействие. В совокупности все три замены аминокислот повышают термическую стабильность фактора VIII в 3-4 раза. Для обзора см. Wakabayashi et al., *J. Biol. Chem.* 286(29):25748-55 (2011) и Wakabayashi et al., *Thromb Haemost.* 10(3):492-95 (2012). Соответственно, в некоторых вариантах реализации изобретения кодируемый полипептид фактора VIII содержит аминокислотные замены A108I и/или R121C/L2302C.

Мутация E113 (SPE), находящаяся в кальций-связывающем домене фактора VIII, увеличивает специфическую активность свертывания FVIII. Например, E113A, по-видимому, увеличивает образование FX-азы за счет увеличения сродства FVIII к фактору IXa. В частности, замена аминокислоты E113A увеличивает специфическую активность свертывания FVIII в два раза и увеличивает сродство к фактору IXa в четыре раза (*Biochemistry*, 41:8485 (2002), *J. Biol. Chem.*, 279:12677 (2004); и *Biochemistry*, 44:10298 (2005)). Соответственно, в некоторых вариантах реализации изобретения кодируемые полипептиды фактора VIII содержат замену аминокислоты E113A.

Замещение одного или нескольких аминокислотных остатков, окружающих сайт расщепления APC фактора VIII (остатки 331-341 (SPE)), снижает инактивацию фактора VIII активированным белком C, не влияя на активность FVIII. Например, аминокислотные замены PQL333-335VDQ (SPE) уменьшают инактивацию фактора VIII в 16 раз. Аналогично, аминокислотные замены MKN337-339GNQ уменьшают инактивацию фактора VIII в 9 раз. При объединении две тройные замены аминокислот (например, PQLRMKN333-339VDQRGNQ) (SEQ ID NO: 34 и 35 соответственно) уменьшают инактивацию фактора VIII в 100 раз (*J. Biol. Chem.*, 282:20264 (2007)). Соответственно, в некоторых вариантах реализации изобретения кодируемый полипептид фактора VIII содержит аминокислотные замены PQL333-335VDQ и/или MKN337-339GNQ (SPE).

Мутации в интерфайсе домена A2 также повышают стабильность фактора VIII. В частности, мутация заряженных остатков в интерфайсах домена A1-A2 и A2-A3 повышает стабильность и сохранение субъединицы A2 в факторе VIIIA. Например, мутация D519, E665 и E1984 до V или A обеспечивает повышение стабильности в факторе VIII до 2 раз и стабильности в факторе VIIIA до 5 раз. В частности, аминокислотные замены D519A/E665V обеспечивают 3-кратное увеличение стабильности; замены аминокислот D519V/E665V обеспечивают 2-кратное повышение стабильности, 8-кратное уменьшение диссоциации A2 и увеличение потенциала генерации тромбина в 2-4 раза; D519V/E1984A аминокислотные замены обеспечивают 2-кратное увеличение стабильности; и замена аминокислоты D519V/E665V/E1984A обеспечивает 2-кратное повышение стабильности (*Blood* 112:2761-69 (2008), *J. Thromb. Haemost.*, 7:438-44 (2009)).

Соответственно, в некоторых вариантах реализации изобретения кодируемые полипептиды фактора VIII содержат одну или несколько аминокислотных замен D519A/V, E665A/V и E1984A/V.

Особое значение для данного описания представляет ряд конкретных мутаций, которые могут быть включены отдельно или в комбинации с другими вариантами, описанными в данном документе. Эти варианты кодируются следующим образом: "m1" относится к одному изменению аминокислоты, "m2" представляет собой набор из 5 аминокислотных вариантов, "m3" представляет собой комбинацию делеции 7 аминокислот и вставки шести аминокислот, которые охватывают соединение между полипептидным линкером и тяжелой цепью, "m4" представляет собой комбинацию единственной мутации m1 и двойной мутации m5, а "m5" представляет собой набор из двух аблаций цистеина. Эти мутации описаны ниже. Они могут быть включены в любую конкретную конструкцию самостоятельно или в сочетании с

другими вариантами, и они кодируются соответствующим образом. Например, "m23" представляет собой комбинацию вариантов m2 и m3 на конкретном каркасе, как описано в данном документе; таким образом, "CS01m23-FL-NA" или "CS01-FL-NA_{m23}" относится к полинуклеотидной последовательности CS01 с измененными кодонами, с нуклеотидами, кодирующими включенные мутации m2 и m3, и "CS01m23-FL-AA" или "CS01-FL-AA_{m23}" относится к аминокислотной последовательности. Поскольку CS01 имеет измененные кодоны, но не изменяет аминокислотную последовательность Refacto, их можно рассматривать на уровне аминокислот как мутации по сравнению с аминокислотной последовательностью Refacto CS01-FL-AA (SEQ ID NO: 2).

Во многих вариантах реализации изобретения полипептиды описания производятся с включенным вариантом "m1". Мутации в пределах 11 аминокислот гидрофобного β-листа в области A1, который взаимодействует с BiP, усиливают секрецию фактора VIII. Например, замена аминокислоты F328S (SPI, F309S SPE) в зоне взаимодействия увеличила секрецию фактора VIII в 3 раза. Вариант F328S упоминается в данном документе как мутация "m1" и находится в тяжелой цепи. Опять же, как описано в данном документе, множество вариантов может быть реализовано с включенным сигнальным пептидом "Signal Peptide Inclusive" или "SPI", или начиная с конечной белковой последовательности, прошедшей процессинг "Signal Peptide Exclusive" или "SPE". Таким образом, используя нумерацию SPI, мутация F328S такая же, как и у мутанта F309 SPE. Как правило, спецификация использует нумерацию SPI, но, как будет понятно специалистам в данной области, любая система нумерации относится к одной и той же мутации.

Соответственно, в данное описание включены полипептиды, которые содержат мутацию m1, включая CS01-FL-AA_{m1}, CS01-HC-AA_{m1}, CS04-FL-AA_{m1}, CS04-HC-AA_{m1}, CS23-FL-AA_{m1}, CS23-HC-AA_{m1}, CS40-FL-AA_{m1} и CS40-HC-AA_{m1} (все они кодируют одни и те же соответствующие последовательности белка).

Кроме того, в данное описание включены не только полипептидные последовательности, которые содержат мутацию m1, но также и полинуклеотидные последовательности с измененными кодонами, которые кодируют белки с мутацией m1, такие как CS01-FL-NA_{m1}, CS01-HC-NA_{m1}, CS04-FL-NA_{m1}, CS04-HC-NA_{m1}, CS23-FL-NA_{m1}, CS23-HC-NA_{m1}, CS40-FL-NA_{m1} и CS40-HC-NA_{m1}.

Во многих вариантах реализации изобретения полипептиды данного описания производятся с включенным вариантом "m2", который представляет собой мутации I105V/A127S/G151K/M166T/L171P (нумерация SPI; (нумерация SPE - V86I/S108A/K132G/T147M/P152L соответственно). Набор мутаций m2 основан на том факте, что замена аминокислот 82-176 свиньи на соответствующие аминокислоты человека в конструкции генной терапии с удаленным В-доменом повышала активность фактора VIII при экспрессии в клетках HEK293 (W. Xiao, сообщение). Обратная мутация одиночных аминокислот последовательности свиньи в соответствующие аминокислоты последовательности человека конструкции BDD-FVIII идентифицировала пять аминокислот в области A1, которые способствуют этому явлению: I105V, A127S, G151K, M166T и L171P (SPI). Введение комбинации этих мутаций в человеческую конструкцию повторило улучшенную активность более крупного замещения свиньи. Соответственно, в некоторых вариантах реализации изобретения кодируемые полипептиды фактора VIII содержат одну или несколько аминокислотных замен, выбранных из I105V, A127S, G151K, M166T и L171P, со всем набором из 5 аминокислот, m2, находя особое применение во многих вариантах реализации изобретения. Что касается мутации m1, варианты m2 находятся в тяжелой цепи, и, следовательно, данное описание включает полипептиды, которые содержат мутацию m2, включая CS01-FL-AA_{m2}, CS01-HC-AA_{m2}, CS04-FL-AA_{m2}, CS04-HC-AA_{m2}, CS23-FL-AA_{m2}, CS23-HC-AA_{m2}, CS40-FL-AA_{m2} и CS40-HC-AA_{m2} (все из которых кодируют одни и те же соответствующие последовательности белка).

Кроме того, в данное описание включены не только полипептидные последовательности, которые содержат мутацию m2, но также и полинуклеотидные последовательности с измененными кодонами, которые кодируют белки с мутацией m2, такие как CS01-FL-NA_{m2}, CS01-HC-NA_{m2}, CS04-FL-NA_{m2}, CS04-HC-NA_{m2}, CS23-FL-NA_{m2}, CS23-HC-NA_{m2}, CS40-FL-NA_{m2} и CS40-HC-NA_{m2}.

В дополнительных вариантах реализации изобретения полипептиды и полинуклеотиды изобретения содержат m3 мутации. m3 представляет собой замену семи аминокислот на шесть в интерфейсе домена HC-B, что вводит дополнительный сайт гликозилирования, введенный вблизи интерфейса. Соответственно, в некоторых вариантах реализации изобретения m3 представляет собой делецию аминокислот AIEPRSF755-761 и добавление аминокислот TTYVNRSL (SEQ ID NO: 33) после N754 относительно FVIII-FL-AA (SEQ ID NO: 19) (например, AIEPRSF755-761TTYVNRSL) ("TTYVNRSL" описано как SEQ ID NO: 33). Остатки AIEPR755-759 относительно SEQ ID NO: 19, находятся в конце тяжелой цепи, а остатки S760 и F761 находятся в В-доме. В некоторых вариантах реализации изобретения, где В-домен FVIII удален, усечен или заменен, остатки S760 и F761 могут отсутствовать в последующей мутированной аминокислотной последовательности. Соответственно, в некоторых вариантах реализации изобретения m3 представляет собой делецию аминокислот AIEPR755-759 и добавление аминокислот TTYVNRSL (SEQ ID NO: 33) после N754 относительно FVIII-FL-AA (SEQ ID NO: 19) (например, AIEPR755-759TTYVNRSL ("TTYVNRSL" описано как SEQ ID NO: 33).

Варианты m3 находятся в соединении между тяжелой цепью и доменом В и, следовательно, данное описание включает полипептиды, которые содержат мутацию m3, включая CS01-FL-AA_{m3},

CS01-HC-AAm3, CS04-FL-AAm3, CS04-HC-AAm3, CS23-FL-AAm3, CS23-HC-AAm3, CS40-FL-AAm3 и CS40-HC-AAm3 (все они кодируют одни и те же соответствующие последовательности белка).

Кроме того, в данное описание включены не только полипептидные последовательности, которые содержат мутацию m3, но также и полинуклеотидные последовательности с измененными кодонами, которые кодируют белки с мутацией m3, такие как CS01-FL-NAm3, CS01-HC-NAm3, CS04-FL-NAm3, CS04-HC-NAm3, CS23-FL-NAm3, CS23-HC-NA-m3, CS40-FL-NAm3 и CS40-HC-NAm3.

В дополнительных вариантах реализации изобретения полипептиды и полинуклеотиды изобретения содержат m4 мутации. Устранение дисульфидной связи C1899-C1903 в факторе VIII также усиливало секрецию. Более того, увеличение секреции фактора VIII является аддитивным для комбинации аминокислотных замен F328S (SPI, F309S SPE) и C1918G/C1922G (Miao et al., Blood, 103:3412-19 (2004), Selvaraj et al., J. Thromb. Haemost., 10:107-15 (2012)). Соответственно, в некоторых вариантах реализации изобретения кодируемые полипептиды фактора VIII содержат m4 мутации, которые представляют собой аминокислотные замены F328S (SPI, F309S SPE) и C1918G/C1922G (SPI). Поскольку вариант F328S находится в тяжелой цепи, а два варианта цистеина находятся в легкой цепи, полипептидные последовательности, которые содержат мутации m4, представляют собой CS01-FL-AAm4, CS01-HC-AAm4, CS01-LC-AAm4, CS04-FL-AAm4, CS04-HC-AAm4, CS04-LC-AAm4, CS23-FL-AAm4, CS23-HC-AAm4 и CS23-LC-AAm4.

Кроме того, в данное описание включены не только полипептидные последовательности, которые содержат мутацию m4, но также и полинуклеотидные последовательности с измененными кодонами, которые кодируют белки с мутацией m4, такие как CS01-FL-NAm4, CS01-HC-NAm4, CS01-LC-NAm4, CS04-FL-NAm4, CS04-HC-NAm4, CS04-LC-NAm4, CS23-FL-NAm4, CS23-HC-NAm4, CS23-LC-NAm4, CS40-FL-NA-m4, CS40-HC-NA-m4 и CS40-LC-NA-m4.

В дополнительных вариантах реализации изобретения полипептиды и полинуклеотиды изобретения содержат m5 мутации. Как и выше, устранение дисульфидной связи C1899-C1903 в факторе VIII также увеличивает секрецию. Аминокислотные замены C1918G/C1922G (SPI), содержащиеся в легкой цепи, называются в данном документе как набор мутаций m5.

Варианты m5 находятся в легкой цепи и, таким образом, данное описание включает полипептиды, которые содержат мутацию m5, включая CS01-FL-AAm5, CS01-LC-AAm5, CS04-FL-AAm5, CS04-LC-AAm5, CS23-FL-AAm5, CS23-LC-AAm5, CS40-FL-AAm5 и CS40-LC-AAm5 (все из которых кодируют одни и те же соответствующие последовательности белка).

Кроме того, в данное описание включены не только полипептидные последовательности, которые содержат мутацию m5, но также и полинуклеотидные последовательности с измененными кодонами, которые кодируют белки с мутацией m5, такие как CS01-FL-NAm5, CS01-LC-NAm5, CS04-FL-NAm5, CS04-LC-NAm5, CS23-FL-NA-m5, CS23-LC-NA-m5, CS40-FL-NA-m5 и CS40-LC-NA-m5.

В дополнение к конкретным конструкциям (как аминокислотным последовательностям, так и нуклеиновым кислотам), которые содержат m1, m2, m3, m4 и m5 отдельно, могут быть сделаны комбинации наборов мутаций, как описано в данном документе. Как отмечено в данном документе, они обозначены как "m12", который представляет собой комбинацию наборов m1 и m2 или "m123", который представляет собой комбинацию наборов m1, m2 и m3. Таким образом, в описание включены двойные комбинации, включающие m12, m13, m14, m15, m23, m24, m25, m34, m35 и m45. Также включены тройные комбинации, m123, m124, m125, m234, m235 и m345. Далее включены комбинации четырех наборов: m1234, m1235, m1345 и комбинация m12345.

Особый интерес в некоторых вариантах реализации изобретения представляют следующие наборы мутаций: m1, m2, m3 и m4, m23, m123 и m234.

В. 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 линкерную последовательность типа SQ В-домена. В других вариантах реализации изобретения конструкции фактора VIII, кодируемые полинуклеотидами с измененными кодонами, описанные в данном документе, содержат 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, 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 гликозилируемый пептид вводится в линкер SQ-типа В-домена. В некоторых вариантах реализации изобретения гликозилируемый пептид выбирают из тех, которые показаны на фиг. 13 (SEQ ID NO: 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73 и 75 соответственно, в порядке их упоминания).

В некоторых вариантах реализации изобретения кодируемые полипептиды фактора VIII, описанные в данном документе, содержат 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 гликозилируемый пептид вводится в линкер Greengene-типа В-домена. В некоторых вариантах реализации изобретения гликозилируемый пептид выбирают из тех, которые показаны на фиг. 13 (SEQ ID NO: 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73 и 75 соответственно, в порядке их упоминания).

В некоторых вариантах реализации изобретения кодируемые полипептиды фактора VIII, описанные в данном документе, содержат расширенный линкер В-домена SQ-типа (SFSQNPVLRHQR, BDL-SQ-AA, SEQ ID NO: 30), 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 гликозилируемый пептид вводится в удлиненный линкер SQ-типа В-домена. В некоторых вариантах реализации изобретения гликозилируемый пептид выбирают из тех, которые показаны на фиг. 13 (SEQ ID NO: 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73 и 75 соответственно, в порядке их упоминания).

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 гликозилируемый пептид вводится в В-доменный линкер типа OBI-1 свиньи. В некоторых вариантах реализации изобретения гликозилируемый пептид выбирают из тех, которые показаны на фиг. 13 (SEQ ID NO: 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73 и 75 соответственно, в порядке их упоминания).

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 гликозилируемый пептид вводится в В-доменный линкер типа OBI-1 человека. В некоторых вариантах реализации изобретения гликозилируемый пептид выбирают из тех, которые показаны на фиг. 13 (SEQ ID NO: 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73 и 75 соответственно, в порядке их упоминания).

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. В некоторых вариантах реализации изобретения гликозилируемый пептид вводится в В-доменный линкер типа OBI-1 свиньи. В некоторых вариантах реализации изобретения гликозилируемый пептид выбирают из тех, которые показаны на фиг. 13 (SEQ ID NO: 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73 и 75 соответственно, в порядке их упоминания).

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* (фиг. 14). 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 последовательностей гликозилирования, чтобы обеспечить гликозилирование *in vivo*. В некоторых вариантах реализации изобретения полипептидный линкер содержит по меньшей мере одну консенсусную последовательность гликозилирования (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 N-X-S/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 N-X-S/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 N-X-S/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 N-X-S/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 N-X-S/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 N-X-S/T, где X представляет собой любую аминокислоту, отличную от P, S или T.

В некоторых вариантах реализации изобретения полипептидный линкер содержит гликозилируемый пептид с высокой идентичностью последовательности с любой из SEQ ID NO: 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73 и 75 соответственно, в порядке их упоминания, как изображено на фиг. 13A, 13B. В некоторых вариантах реализации изобретения гликозилируемый полипептид имеет по меньшей мере 92% идентичность с любой из SEQ ID NO: 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73 и 75 соответственно, в порядке их упоминания, как изображено на фиг. 13A, 13B. В некоторых вариантах реализации изобретения гликозилируемый пептид имеет не более двух аминокислотных замен по отношению к любой из SEQ ID NO: 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73 и 75, соответственно, в порядке их упоминания, как изображено на фиг. 13A, 13B. В некоторых вариантах реализации изобретения гликозилируемый пептид имеет не более одной аминокислотной замены по отношению к любой из SEQ ID NO: 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73 и 75, соответственно, в порядке их упоминания, как изображено на фиг. 13A, 13B. В некоторых вариантах реализации изобретения гликозилируемый пептид имеет аминокислотную последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73 и 75 соответственно, в порядке их упоминания, как изображено на фиг. 13A, 13B.

В некоторых вариантах реализации изобретения гликозилируемый пептид имеет по меньшей мере 92% идентичность с любой из SEQ ID NO: 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73 и 75 соответственно, в порядке их упоминания, как изображено на фиг. 13A, 13B, и кодируется полинуклеотидной последовательностью, имеющей по меньшей мере 90% идентичность с соответствующей нуклеотидной последовательностью, выбранной из SEQ ID NO: 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72 и 74 соответственно, как изображено на фиг. 13A, 13B. В некоторых вариантах реализации изобретения гликозилируемый пептид имеет по меньшей мере 92% идентичность с любой из SEQ ID NO: 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73 и 75 соответственно, в порядке их упоминания, как изображено на фиг. 13A, 13B, и кодируется полинуклеотидной последовательностью, имеющей по меньшей мере 95% идентичность с соответствующей нуклеотидной последовательностью, выбранной из SEQ ID NO: 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72 и 74 соответственно, в порядке их упоминания, как изображено на фиг. 13A, 13B. В некоторых вариантах

ты 760-773 CS04-FL-AA, SEQ ID NO: 2). В конкретном варианте реализации изобретения пептид выбран из любой из SEQ ID NO: 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73 и 75 соответственно, в порядке их упоминания, как изображено на фиг. 13А, 13В, гликозилируемый пептид, имеющий по меньшей мере 92% идентичность с любой из SEQ ID NO: 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73 и 75 соответственно, в порядке их упоминания, как изображено на фиг. 13А, 13В, гликозилируемый пептид, имеющий не более двух аминокислотных замен по отношению к любой из SEQ ID NO: 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73 и 75 соответственно, в порядке их упоминания, как изображено на фиг. 13А, 13В, и гликозилируемый пептид, имеющий не более одной аминокислотной замены по отношению к любой из SEQ ID NO: 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73 и 75 соответственно, в порядке их упоминания, как изображено на фиг. 13А, 13В. В некоторых вариантах реализации изобретения гликозилируемый пептид вводится в SQ-пептид между остатками N768 и P769 (относительно CS04-FL-AA, SEQ ID NO: 2).

В некоторых вариантах реализации изобретения полипептидный линкер конструкции фактора VIII кодируется третьей нуклеотидной последовательностью, имеющей высокую идентичность последовательности с любой из тех, которые изображены на фиг. 6 (SEQ ID NO: 5-7 и 36-48 соответственно, в порядке их упоминания). В некоторых вариантах реализации изобретения третья нуклеотидная последовательность имеет по меньшей мере 95% идентичность с любым из тех, которые изображены на фиг. 13 (SEQ ID NO: 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72 и 74 соответственно, в порядке их упоминания). В некоторых вариантах реализации изобретения третья нуклеотидная последовательность имеет по меньшей мере 96% идентичность с любым из тех, которые изображены на фиг. 13 (SEQ ID NO: 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, и 74 соответственно, в порядке их упоминания). В некоторых вариантах реализации изобретения третья нуклеотидная последовательность имеет по меньшей мере 97% идентичность с любым из тех, которые изображены на фиг. 13 (SEQ ID NO: 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72 и 74 соответственно, в порядке их упоминания). В некоторых вариантах реализации изобретения третья нуклеотидная последовательность имеет по меньшей мере 98% идентичность с любым из тех, которые изображены на фиг. 13 (SEQ ID NO: 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72 и 74 соответственно, в порядке их упоминания). В некоторых вариантах реализации изобретения третья нуклеотидная последовательность имеет по меньшей мере 99% идентичность с любым из тех, которые изображены на фиг. 13 (SEQ ID NO: 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72 и 74 соответственно, в порядке их упоминания). В некоторых вариантах реализации изобретения третья нуклеотидная последовательность имеет по меньшей мере 99,5% идентичность с любым из тех, которые изображены на фиг. 13 (SEQ ID NO: 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72 и 74 соответственно, в порядке их упоминания). В некоторых вариантах реализации изобретения третья нуклеотидная последовательность имеет по меньшей мере 99,9% идентичность с любым из тех, которые изображены на фиг. 13 (SEQ ID NO: 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72 и 74 соответственно, в порядке их упоминания). В некоторых вариантах реализации изобретения третья нуклеотидная последовательность идентична любой из тех, которые изображены на фиг. 13 (SEQ ID NO: 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72 и 74 соответственно, в порядке их упоминания).

С. 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, 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 CS04-НС-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% идентичность последовательности с CS04-НС-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% идентичность последовательности с CS04-НС-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% идентичность последовательности с CS04-НС-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% идентичность последовательности с CS04-НС-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% идентичность последовательности с CS04-НС-NA и

нуклеотидом CS04, содержит аминокислотные замены m24. В одном варианте реализации изобретения вариант фактора VIII, кодируемый полинуклеотидом CS04, содержит аминокислотные замены m25. В одном варианте реализации изобретения вариант фактора VIII, кодируемый полинуклеотидом CS04, содержит аминокислотные замены m34. В одном варианте реализации изобретения вариант фактора VIII, кодируемый полинуклеотидом CS04, содержит аминокислотные замены m35.

В одном варианте реализации изобретения вариант фактора VIII, кодируемый полинуклеотидом CS04, содержит аминокислотные замены m123. В одном варианте реализации изобретения вариант фактора VIII, кодируемый полинуклеотидом CS04, содержит аминокислотные замены m234. В одном варианте реализации изобретения вариант фактора VIII, кодируемый полинуклеотидом CS04, содержит аминокислотные замены m125.

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% идентичность 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% идентичность 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% идентичность 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% идентичность 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% идентичность 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% идентичность 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% идентичность 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% идентичность с BDLO04 (SEQ ID NO: 6). В некоторых вариантах реализации изобретения третья нуклеотидная последовательность имеет по меньшей мере 96% идентичность с BDLO04 (SEQ ID NO: 6). В некоторых вариантах реализации изобретения третья нуклеотидная последовательность имеет по меньшей мере 97% идентичность с BDLO04 (SEQ ID NO: 6). В некоторых вариантах реализации изобретения третья нуклеотидная последовательность имеет по меньшей мере 98% идентичность 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% идентичность с CS01-FL-NA (SEQ ID NO: 13). В некоторых вариантах реализации изобретения нуклеотидная последовательность имеет по меньшей мере 96% идентичность с CS01-FL-NA (SEQ ID NO: 13). В некоторых вариантах реализации изобретения нуклеотидная последовательность имеет по меньшей мере 97% идентичность с CS01-FL-NA (SEQ ID NO: 13). В некоторых вариантах реализации изобретения нуклеотидная последовательность имеет по меньшей мере 98% идентичность с CS01-FL-NA (SEQ ID NO: 13). В некоторых вариантах реализации изобретения нуклеотидная

последовательность имеет по меньшей мере 99% идентичность с CS01-FL-NA (SEQ ID NO: 13). В некоторых вариантах реализации изобретения нуклеотидная последовательность имеет по меньшей мере 99,5% идентичность с CS01-FL-NA (SEQ ID NO: 13). В некоторых вариантах реализации изобретения нуклеотидная последовательность имеет по меньшей мере 99,9% идентичность 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% идентичность с CS01-FL-AA (SEQ ID NO: 2). В некоторых вариантах реализации изобретения аминокислотная последовательность имеет по меньшей мере 98% идентичность с CS01-FL-AA (SEQ ID NO: 2). В некоторых вариантах реализации изобретения аминокислотная последовательность имеет по меньшей мере 99% идентичность с CS01-FL-AA (SEQ ID NO: 2). В некоторых вариантах реализации изобретения аминокислотная последовательность имеет по меньшей мере 99,5% идентичность с CS01-FL-AA (SEQ ID NO: 2). В некоторых вариантах реализации изобретения аминокислотная последовательность имеет по меньшей мере 99,9% идентичность с CS01-FL-AA (SEQ ID NO: 2). В некоторых вариантах реализации изобретения аминокислотная последовательность идентична CS01-FL-AA (SEQ ID NO: 2).

В некоторых вариантах реализации изобретения вариант фактора VIII, кодируемый полинуклеотидом CS01, имеющий высокую гомологию последовательности с CS01-FL-AA (например, по меньшей мере 95, 96, 97, 98, 99, 99,5 или 99,9% идентичность) содержит одну или несколько аминокислотных замен, выбранных из m1, m2, m3, m4 и m5.

В одном варианте реализации изобретения вариант фактора VIII, кодируемый полинуклеотидом CS01, содержит аминокислотную замену m1. В одном варианте реализации изобретения вариант фактора VIII, кодируемый полинуклеотидом CS01, содержит аминокислотную замену m2. В одном варианте реализации изобретения вариант фактора VIII, кодируемый полинуклеотидом CS01, содержит аминокислотную замену m3. В одном варианте реализации изобретения вариант фактора VIII, кодируемый полинуклеотидом CS01, содержит аминокислотную замену m4. В одном варианте реализации изобретения вариант фактора VIII, кодируемый полинуклеотидом CS01, содержит аминокислотную замену m5.

В одном варианте реализации изобретения вариант фактора VIII, кодируемый полинуклеотидом CS01, содержит аминокислотные замены m12. В одном варианте реализации изобретения вариант фактора VIII, кодируемый полинуклеотидом CS01, содержит аминокислотные замены m13. В одном варианте реализации изобретения вариант фактора VIII, кодируемый полинуклеотидом CS01, содержит аминокислотные замены m23. В одном варианте реализации изобретения вариант фактора VIII, кодируемый полинуклеотидом CS01, содержит аминокислотные замены m24. В одном варианте реализации изобретения вариант фактора VIII, кодируемый полинуклеотидом CS01, содержит аминокислотные замены m25. В одном варианте реализации изобретения вариант фактора VIII, кодируемый полинуклеотидом CS01, содержит аминокислотные замены m34. В одном варианте реализации изобретения вариант фактора VIII, кодируемый полинуклеотидом CS01, содержит аминокислотные замены m35.

В одном варианте реализации изобретения вариант фактора VIII, кодируемый полинуклеотидом CS01, содержит аминокислотные замены m123. В одном варианте реализации изобретения вариант фактора VIII, кодируемый полинуклеотидом CS01, содержит аминокислотные замены m234. В одном варианте реализации изобретения вариант фактора VIII, кодируемый полинуклеотидом CS01, содержит аминокислотные замены m125.

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-NC-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% идентичность последовательности с CS23-NC-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% идентичность последовательности с CS23-NC-NA и CS23-LC-NA (SEQ ID NO: 22 и 23) соответственно. В некоторых вариантах реализации

вариант фактора VIII, кодируемый полинуклеотидом CS23, содержит аминокислотную замену m5.

В одном варианте реализации изобретения вариант фактора VIII, кодируемый полинуклеотидом CS23, содержит аминокислотные замены m12. В одном варианте реализации изобретения вариант фактора VIII, кодируемый полинуклеотидом CS23, содержит аминокислотные замены m13. В одном варианте реализации изобретения вариант фактора VIII, кодируемый полинуклеотидом CS23, содержит аминокислотные замены m23. В одном варианте реализации изобретения вариант фактора VIII, кодируемый полинуклеотидом CS23, содержит аминокислотные замены m24. В одном варианте реализации изобретения вариант фактора VIII, кодируемый полинуклеотидом CS23, содержит аминокислотные замены m25. В одном варианте реализации изобретения вариант фактора VIII, кодируемый полинуклеотидом CS23, содержит аминокислотные замены m34. В одном варианте реализации изобретения вариант фактора VIII, кодируемый полинуклеотидом CS23, содержит аминокислотные замены m35.

В одном варианте реализации изобретения вариант фактора VIII, кодируемый полинуклеотидом CS23, содержит аминокислотные замены m123. В одном варианте реализации изобретения вариант фактора VIII, кодируемый полинуклеотидом CS23, содержит аминокислотные замены m234. В одном варианте реализации изобретения вариант фактора VIII, кодируемый полинуклеотидом CS23, содержит аминокислотные замены m125.

D. 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% идентичность 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% идентичность 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% идентичность 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% идентичность 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% идентичность 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% идентичность 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% идентичность 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 NO: 3 и 4) соответственно.

В некоторых вариантах реализации изобретения полинуклеотид с измененными кодонами имеет нуклеотидную последовательность с высокой идентичностью последовательности с CS04-SC1-NA (SEQ ID NO: 9). В некоторых вариантах реализации изобретения нуклеотидная последовательность имеет по меньшей мере 95% идентичность с CS04-SC1-NA (SEQ ID NO: 9). В некоторых вариантах реализа-

мый полинуклеотидом CS04-SC2, имеющий высокую гомологию последовательности с CS04-SC2-AA (например, по меньшей мере 95, 96, 97, 98, 99, 99,5 или 99,9% идентичности), содержит одну или несколько аминокислотных замен, выбранных из m1, m2, m3, m4 и m5.

В одном варианте реализации изобретения одноцепочечный вариант фактора VIII, кодируемый полинуклеотидом CS04, содержит аминокислотную замену m1. В одном варианте реализации изобретения вариант фактора VIII, кодируемый полинуклеотидом CS04, содержит аминокислотную замену m2. В одном варианте реализации изобретения вариант фактора VIII, кодируемый полинуклеотидом CS04, содержит аминокислотную замену m3. В одном варианте реализации изобретения вариант фактора VIII, кодируемый полинуклеотидом CS04, содержит аминокислотную замену m4. В одном варианте реализации изобретения вариант фактора VIII, кодируемый полинуклеотидом CS04, содержит аминокислотную замену m5.

В одном варианте реализации изобретения одноцепочечный вариант фактора VIII, кодируемый полинуклеотидом CS04, содержит аминокислотные замены m12. В одном варианте реализации изобретения вариант фактора VIII, кодируемый полинуклеотидом CS04, содержит аминокислотные замены m13. В одном варианте реализации изобретения вариант фактора VIII, кодируемый полинуклеотидом CS04, содержит аминокислотные замены m23. В одном варианте реализации изобретения вариант фактора VIII, кодируемый полинуклеотидом CS04, содержит аминокислотные замены m24. В одном варианте реализации изобретения вариант фактора VIII, кодируемый полинуклеотидом CS04, содержит аминокислотные замены m25. В одном варианте реализации изобретения вариант фактора VIII, кодируемый полинуклеотидом CS04, содержит аминокислотные замены m34. В одном варианте реализации изобретения вариант фактора VIII, кодируемый полинуклеотидом CS04, содержит аминокислотные замены m35.

В одном варианте реализации изобретения одноцепочечный вариант фактора VIII, кодируемый полинуклеотидом CS04, содержит аминокислотные замены m123. В одном варианте реализации изобретения вариант фактора VIII, кодируемый полинуклеотидом CS04, содержит аминокислотные замены m234. В одном варианте реализации изобретения вариант фактора VIII, кодируемый полинуклеотидом CS04, содержит аминокислотные замены m125.

CS01 одноцепочечные полинуклеотиды с измененными кодонами.

В одном варианте реализации изобретения полинуклеотиды с 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 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. Необязательный полипептидный линкер не содержит фуриновый сайт расщепления.

В некоторых вариантах реализации изобретения первая и вторая нуклеотидные последовательности имеют по меньшей мере 95% идентичность 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% идентичность 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% идентичность 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% идентичность 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% идентичность 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% идентичность 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% идентичность 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 полинуклеотид с измененными кодонами имеет нуклеотидную последовательность с высокой идентичностью последовательности с CS01-SC1-NA (SEQ ID NO: 26). В некоторых вариантах реализации изобретения нуклеотидная последовательность имеет по меньшей мере 95% идентичность с CS01-SC1-NA (SEQ ID NO: 26). В некоторых вариантах реализации изобретения нуклеотидная последовательность имеет по меньшей мере 96% идентичность с CS01-SC1-NA (SEQ ID NO: 26). В некоторых вариантах реализации изобретения нуклеотидная последо-

линуклеотидом CS23, содержит аминокислотную замену m1. В одном варианте реализации изобретения вариант фактора VIII, кодируемый полинуклеотидом CS23, содержит аминокислотную замену m2. В одном варианте реализации изобретения вариант фактора VIII, кодируемый полинуклеотидом CS23, содержит аминокислотную замену m3. В одном варианте реализации изобретения вариант фактора VIII, кодируемый полинуклеотидом CS23, содержит аминокислотную замену m4. В одном варианте реализации изобретения вариант фактора VIII, кодируемый полинуклеотидом CS23, содержит аминокислотную замену m5.

В одном варианте реализации изобретения одноцепочечный вариант фактора VIII, кодируемый полинуклеотидом CS23, содержит аминокислотные замены m12. В одном варианте реализации изобретения вариант фактора VIII, кодируемый полинуклеотидом CS23, содержит аминокислотные замены m13. В одном варианте реализации изобретения вариант фактора VIII, кодируемый полинуклеотидом CS23, содержит аминокислотные замены m23. В одном варианте реализации изобретения вариант фактора VIII, кодируемый полинуклеотидом CS23, содержит аминокислотные замены m24. В одном варианте реализации изобретения вариант фактора VIII, кодируемый полинуклеотидом CS23, содержит аминокислотные замены m25. В одном варианте реализации изобретения вариант фактора VIII, кодируемый полинуклеотидом CS23, содержит аминокислотные замены m34. В одном варианте реализации изобретения вариант фактора VIII, кодируемый полинуклеотидом CS23, содержит аминокислотные замены m35.

В одном варианте реализации изобретения одноцепочечный вариант фактора VIII, кодируемый полинуклеотидом CS23, содержит аминокислотные замены m123. В одном варианте реализации изобретения вариант фактора VIII, кодируемый полинуклеотидом CS23, содержит аминокислотные замены m234. В одном варианте реализации изобретения вариант фактора VIII, кодируемый полинуклеотидом CS23, содержит аминокислотные замены m125.

Е. Экспрессирующие векторы фактора VIII.

В некоторых вариантах реализации изобретения описанные в данном документе полинуклеотиды с измененными кодонами, интегрированы в экспрессирующие векторы. Неограничивающие примеры экспрессирующих векторов включают вирусные векторы (например, векторы, подходящие для генной терапии), векторы в виде плазмид, векторы в виде бактериофагов, космиды, 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 Murry, 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 rAAV 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, p. 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; Zuferey 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 -актиновый.

IV. 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". Рекомбинантный 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 ТАТА-бокса, ССААТ-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 АТ- или GC-насыщенных участков.

Наконец, помимо оптимизации использования кодонов в кодирующей последовательности, структурные требования для ААV-вириона были рассмотрены при дальнейшей модификации промежуточной кодирующей последовательности CS04a. ААV-векторы (например, часть нуклеиновой кислоты ААV-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 ААV8 кодируется нуклеотидной последовательностью, имеющей более низкое содержание GC около 56%. Таким образом, чтобы лучше имитировать природную кодирующую последовательность белка капсидного ААV8, 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 (Mirafian et al., 2014: *Sc. Word Journal* 2014, ID 639682). Идентификаторы последовательностей, общие для каждой из кодирующих последовательностей ReFacto, показаны в табл. 2.

Таблица 2

Процентная матрица идентичности для конструкций фактора FVIII 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 мышинового 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 и pCh25 (фиг. 23). 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 плаزمидами, как описано в Grieger J.C., 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. [Еpub перед печатью]), чье содержание полностью включено в данное описание посредством ссылки в полном объеме для всех целей. Суспензированные клетки HEK293 использовали для трансфекции плазмидами с использованием соответствующей векторной плазмиды FVIII, хелперной плазмиды pXX6-80 (несущей аденовирусные хелперные гены) и упаковочной плазмиды pGSK2/8 (вносящей гены *gsp2* и *cap8*). 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 × 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 ChemiDoc™MP (Biorad). Результаты, изображенные на фиг. 24, показывают, что вирусные векторы vCS01, vCS04 и vCS40 имеют геном одинакового размера, обозначенный отдельной полосой в диапазоне 5 кб (фиг. 24, 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 кб). 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. 25). Как показано на фиг. 25, дальнейшая процедура очистки привела к получению высокоочищенного препарата, демонстрирующего ожидаемый паттерн белков VP1, VP2 и VP3 (фиг. 25, дорожки 2-4). Тот же паттерн была получен для

всех других вирусных препаратов (не показаны). Процедура SDS-PAGE препаратов AAV проводилась в соответствии со стандартными протоколами. Каждая дорожка содержала 1×10^{10} 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

В1. Конструкция	В2. Векторная концентрация		В5. Выход		В8. Кратность увеличения	
	В3. [vg/мл]	В4. $\times 10^6$	В6. [vg/л]	В7. $\times 10^6$	В9. относительно wt	
В10. vCS40	В11. 2.0		В12. 11.0		В13. -	
В14. vCS01	В15. 9.2		В16. 51.4		В17. 4.7	
В18. vCS04 - Образец 1	В19. 17.6		В20. 79.2		В21. 7.2	
В22. vCS04 - Образец 2	В23. 15.9		В24. 58.8		В25. 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 C57Bl/6 FVIII мышей (на) (6-8 животных на группу) путем инъекции в хвостовую вену 4×10^8 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 мышшиной модели в более поздние сроки. Активность FVIII в мышшиной 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 ME FVIII/мл.

Результаты, представленные в табл. 4, 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 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 [МЕ/мл]	Стандартное отклонение	Количество мышей	Кратность увеличения относительно wt
vCS40	Человек, дикий тип	0.03	0.03	12	-
vCS01	Способ Заявителе й	0.55	0.28	22	18.3
vCS04	Способ Заявителе й	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 Заявителе й	0.91	0.32	5	30.3

Пример 3. Разработка гликолизуемых пептидов линкера, замещающего В-домен.

Другие исследования показали, что включение небольшого пептида ("V3-пептида"), содержащего шесть предполагаемых N-опосредованных сайтов гликозилирования из В-домена фактора VIII дикого типа, в конструкцию генной терапии с удаленным В-доменом, увеличивает уровни фактора VIII в плазме мышей (McIntosh et al., Blood, 121(17):3335-44 (2013)). Однако для поддержания небольшого размера линкера, замещающего В-домен сайты гликозилирования были вынесены из контекста В-домена дикого типа. В предсказании *in silico* (Gupta et al., Supra) линкера, содержащего пептид V3, предполагается, что только два из этих сайтов гликозилирования в V3-пептиде будут модифицированы *in vivo* (фиг. 15).

Таким образом, заявители пытались идентифицировать альтернативные гликолизуемые пептиды, которые поддерживали бы более высокие уровни гликозилирования *in vivo*, которые более близки к гликозилированию дикого типа, нежели V3-пептид. Заявители разработали и испытали *in silico* несколько альтернативных гликолизуемых пептидов. Было предсказано, что некоторые из этих пептидов, показанные на фиг. 13А, 13В, имеют равную или большую степень гликозилирования *in vivo*, нежели V3-пептид, в случаях, когда они помещены между аминокислотами N768 и P769 линкера, замещающего В-домен в SEQ ID NO: 2. Результаты предсказаний *in silico* приведены в табл. 5. В табл. 5 также приводятся результаты экспериментов по исследованию экспрессии, проведенных для нескольких конструкций, кодирующих белок фактора VIII типа ReFacto, с гликолизуемым пептидом, включенным в линкер, замещающий В-домен, взяв за основу CS01 с измененными кодонами.

Таблица 5

Прогнозирование N-гликозилирования в пептидах с линкером, замещающим В-домен и эффективность векторных конструкций AAV in vivo

Последовательность	Число прогнозируемых сайтов N-гликозилирования	Уровень экспрессии, День 28 [МЕ/мл]	SD	Количество мышей [n]	Кратность экспрессии
vCS01	0	0.74	0.52	5	21
vNG1/CS01	4	n.d.	-	-	-
vNG4/CS01	3	1.93	0.57	6	55
vNG5/CS01	2	n.d.	-	-	-
vNG6/CS01	1	0.80	0.67	5	23
vNG9/CS01	1	n.d.	-	-	-
vNG10/CS01	2	2.66	0.52	6	76
vNG16/CS01	2	1.59	0.57	6	45
vNG17/CS01	2	n.d.	-	-	-
vNG18/CS01	2	n.d.	-	-	-
vNG19/CS01	2	0.88	0.25	5	25
vNG20/CS01	2	n.d.	-	-	-
vNG21/CS01	2	n.d.	-	-	-
vCS40	0	0.035	0.030	12	1

Векторы AAV, содержащие варианты NG, были сконструированы так, как описано в примере 1, и тестировались на нокаутных по FVIII мышах, как описано в примере 2. Все вирусные векторы (кроме контрольного вектора VCS40), показанные в табл. 5, основаны на алгоритме, используемом для vCS01. Также был подготовлен параллельный набор конструкций с использованием алгоритма VCS04 (серия VNG/CS04) и протестирован в мышинной модели. Результаты сравнивали с уровнями экспрессии, полученными с помощью конструкции vCS40 дикого типа. В этом примере были выбраны уровни экспрессии 28-го дня, поскольку уровни экспрессии большинства конструкций достигли наивысших уровней в этот момент времени. Три вектора AAV достигали более чем 40-кратных уровней экспрессии FVIII, включая VNG4/CS01, vNG10/CS01 и VNG16/CS01 (табл. 5). Ожидается, что соответствующие конструкции VNG4/CS04, VNG10/CS04 и VNG16/CS04 будут показывать еще более высокую экспрессию, поскольку они основаны на лучшем алгоритме VCS04.

Удивительно, но векторы AAV серии vNG/CS01 имели более плотную упаковку вириона, измеряемую более высокими выходами при производстве вируса AAV по сравнению с кодирующей конструкцией дикого типа VCS40. Как показано в табл. 6, векторы на основе vNG/CS01 реплицируются значительно лучше, чем VCS40, обеспечивая примерно 3-кратное увеличение выхода в титре AAV.

Таблица 6

Выход на 1 л клеточной культуры конструкций AAV вектора при очищении от клеточного осадка

Последовательность	Конц. вектора [vg/мл] $\times 10^{12}$	Выход [vg/л] $\times 10^{12}$	Кратность увеличения относительно дикого типа
vCS01	9.17	51.35	4.7
vNG1/CS01	2.13	17.04	1.5
vNG4/CS01	5.74	33.01	3.0
vNG5/CS01	6.91	27.29	2.5
vNG6/CS01	7.01	40.66	3.7
vNG9/CS01	6.39	29.39	2.7
vNG10/CS01	8.57	37.71	3.4
vNG16/CS01	5.3	28.36	2.6
vNG17/CS01	4.24	32.22	2.9
vNG18/CS01	6.11	37.88	3.4
vNG19/CS01	9.42	39.56	3.6
vNG20/CS01	4.09	30.27	2.8
vNG21/CS01	n.d.	-	-
vCS40	2.03	11	1.0

Пример 4. Получение конструкций мутантного BDD-FVIII.

Были клонированы и скринированы многочисленные различные мутантные конструкции BDD-FVIII типа Refacto, несущие аминокислотные мутации в тяжелой цепи фактора VIII и/или линкере, замещающем В-домен. Соответствующие векторы, называемые в данном документе серией векторов "vCS", кодируют варианты BDD-FVIII из CS01, CS04 и CS23 основ с измененными кодонами. Способ, используемый для создания основ CS01 и CS04, описан в примере 1. Способ, используемый для построения CS23, был 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 лучше соответствовать использованию кодонов надсемейства альбумина (Mirzafian et al., Sc. Word Journal, ID 639682 (2014)), содержание которого полностью включено в данное описание посредством ссылки в полном объеме для всех целей.

Комбинации трех типов мутаций были включены в последовательности FVIII серии конструкций vCS. Первое изменение аминокислоты, введенное в последовательность FVIII, представляет собой мутацию X1 (TTYVNRSL (SEQ ID NO: 33); X. Xiao), которая вводит дополнительный сайт гликозилирования вблизи линкера, замещающего В-домен. Мутация X1 также упоминается в данном документе как мутация m3. Второе изменение аминокислоты, сделанное в последовательности FVIII, включает мутацию F328S (SPI, F309S SPE), изменение аминокислоты, известное, как приводящее к улучшению секреции FVIII (Swaaroor, J. Biol. Chem., 272:24121-24 (1997)). Эта мутация также упоминается в данном документе как мутация m1. Третьим изменением является так называемая мутация X5, которая представляет собой комбинацию из пяти аминокислотных изменений в домене A1 тяжелой цепи, которая улучшает специфическую активность и секрецию BDD-FVIII (Cao et al., 2014; тезисы ASGCT № 460, подробности мутаций описаны в устном докладе). Мутация X5 также упоминается в данном документе как мутация m2. Затем были реализованы комбинации X1 и F328S (SPI, F309S SPE), а затем комбинации X1 и X5, также называемые "X6", а также были сделаны другие комбинации X5 и F328S (SPI, F309S SPE) (табл. 7).

Синтез генов и клонирование векторных плазмид.

Плазмиды 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 повтора AAV2 (ITR), которые содержат последовательность промотора/энхансера, полученную из мышинового транстиретина 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 получению различных плазмидных конструкций, как изображено на фиг. 44.

Маломасштабные векторные препараты и количественная оценка с помощью количественной ПЦР (qPCR). Векторы AAV8 были получены с помощью трех способов трансфекции плазмидами, полностью как описано в Grieger et al. (2015, Supra). Суспензированные клетки HEK293 использовали для трансфекции плазмидами с использованием соответствующей векторной плазмиды FVIII, хелперной плазмиды pXX6X80 (несущей аденовирусные хелперные гены) и упаковочной плазмиды pGSK2/8 (вносящей гены *g_{er}2* и *g_{er}8*). В последующем процессе клеточный осадок 1 л культуры обрабатывали с использованием градиентов йодиксанола, как описано выше.

Процедура привела к получению векторов, как указано в табл. 8. 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, точно оцененная количественно, несущая инвертированные концевые повторы AAV2, использовалась для получения стандартной кривой.

Характеристики AAV вектора.

Целостность векторного генома анализировали с помощью электрофореза AAV в агарозном геле. Электрофорез проводили согласно Fagone et al. (Human Gene Therapy Methods, 23:1-7 (2012)). 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 × 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 ChemiDoc™MP (Biorad). Результаты отбора векторов показаны на фиг. 45. Вирусные векторы VCS04 (контроль), vCS17, vCS20, vCS24, vCS16 и vCS40 (контроль) демонстрируют геномы одного и того же размера в виде отдельной полоски в диапазоне 5 кб (фиг. 45, полосы 2-7, стрелка справа). 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 кб).

Чтобы подтвердить чистоту вектора и ожидаемый паттерн капсидных белков, SDS PAGE с последующим окрашиванием серебром проводили с векторами, как изображено на фиг. 46. Как показано на фиг. 46, дальнейшая процедура очистки привела к получению высокоочищенного препарата, демонстрирующего ожидаемый паттерн белков VP1, VP2 и VP3 (фиг. 46, дорожки 2-9; стрелки справа). Процедура SDS-PAGE препаратов AAV проводилась в соответствии со стандартными протоколами. Каждая дорожка содержала 1E10 vg и разделение проводилось с помощью 4-12 геля 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.

Исследование активности векторов *in vivo* Различные конструкции BDD-FVIII типа Refacto были подвергнуты скринингу в мышинной модели. Исследование проводили на нокаутных по C57Bl/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. Активность FVIII в плазме мышей определяли с помощью хромогенного анализа Technoclone с незначительными модификациями (Technochrome FVIII, Technoclone, Вена, Австрия). Вкратце, образец 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 ME FVIII/мл.

Результаты исследования активности у мышей (данные экспрессии FVIII на 14-й день в международных единицах на миллилитр [ME/мл] в мышинной плазме и кратность увеличения экспрессии по сравнению с контролем vCS40 дикого типа) показаны в табл. 7. AAV-векторы vCS19, vCS26 и vCS32 все содержат сайт гликозилирования X1 в соответствующих CS01, CS04 и CS23 основах с измененными кодонами. Как показано в табл. 7, были получены удивительно высокие уровни экспрессии по сравнению с конструкцией дикого типа vCS40 (уровень, определенный как 1). Например, vCS26 демонстрирует в 202 раза более высокие уровни экспрессии по сравнению с вектором VCS40 дикого типа. Другая контрольная конструкция для векторов серии X1, vCH111, которая содержит мутацию X1 в контексте кодонов Geneart, показала более умеренное увеличение экспрессии (в 12 раз).

Векторы vCS16, vCS28 и VCS34 все содержат мутацию усиления секреции F328S (SPI, F309S SPE) в соответствующих CS01, CS04 и CS23 основах с измененными кодонами. Как показано в табл. 7, высокие уровни экспрессии (в 45-93 раз выше, чем контроль VCS40 дикого типа) были получены с помощью VCS16 и VCS28.

Векторы vCS20, VCS24 и VCS33 содержат мутацию X5 в соответствующих CS01, CS04 и CS23 основах с измененными кодонами. Наилучшим вариантом в серии X5 был VCS20, достигающий уровней >3 единицы/мл после 14-го дня и 121-кратное увеличение по сравнению с контролем VCS40 дикого типа.

Векторы vCS17, VCS29 и VCS31 содержат комбинацию мутаций X1 и F328S (SPI, F309S SPE) в соответствующих CS01, CS04 и CS23 основах с измененными кодонами (табл. 6). Конструкции VCS17 и vCS29 достигли очень высоких уровней экспрессии в исследованиях на мышинной модели (115-246-кратное увеличение по сравнению с контролем vCS40). Примечательно, что в используемой мышинной модели с нокаутом FVIII большинство мышей, обработанных конструкцией vCS17, со временем не развивали нейтрализующие антитела, о чем свидетельствуют увеличение уровней FVIII в более поздние моменты времени (например, 28-й день и 42-й день, данные не показаны). Это неожиданное открытие, потому что для некоторых других конструкций уровни экспрессии начали уменьшаться со временем из-за образования нейтрализующих антител. Основа CS01 в сочетании с мутациями F328S, усиливающими секрецию (SPI, F309S SPE) и X1, приводила к низкой индукции иммуногенности.

Векторы vCS18, VCS27 и VCS35 содержат комбинацию мутаций X1 и X5 в соответствующих CS01, CS04 и CS23 основах с измененными кодонами. Комбинация этих двух мутаций также была очень эффективной. 145-кратное увеличение по сравнению с контролем vCS40 может быть достигнуто, например, с помощью VCS18 (табл. 7).

Векторы vCS48 и VCS49 содержат комбинацию мутаций X5 и F328S (SPI, F309S SPE) в соответствующих основах CS01 и CS04 с измененными кодонами. Комбинация этих двух мутаций также была очень эффективной. Одно из самых больших увеличений среди всех мутантов, в 239 раз превышающее контроль VCS40, может быть достигнуто с помощью vCS49, подтверждающее особое значение комбинаций, содержащих мутацию F328S (SPI, F309S SPE).

Еще одно удивительное наблюдение заключалось в том, что мутантные векторы AAV формируются значительно лучше, чем в случае конструкции VCS40, содержащей кодоны BDD-FVIII дикого типа. Оп-

тимизация последовательности привела к увеличению выхода векторов в несколько раз. В некоторых из лучших экспрессирующих конструкций (например, vCS29, vCS17, vCS20 и vCS26) увеличение выхода в результате изменения кодонов и/или мутантной последовательности было примерно в 3-5 раз выше по сравнению с вектором дикого типа (табл. 8).

Экспрессия BDD-FVIII в плазме мышей, нокаутных по FVIII, обработанных различными векторными конструкциями AAV, приведена в табл. 7. Конструкции имеют одинаковую векторную основную цепь, однако кодируют различные типы мутированных FVIII, включая различные версии оптимизации кодонов. Уровни экспрессии измеряли на 14-й день из-за минимального влияния ингибирующих антител в этот момент времени, которое обычно наблюдаются у некоторых животных этой мышшиной модели в более поздние сроки. N.d., не определено

Таблица 7

Данные активности конструкций vCS in vivo

#	Векторы:	Алгоритм, мутации	Уровень экспрессии, День 14 [МЕ/мл]	SD	Количество мышей [n]	Кратность экспрессии
1	vCS19	CS01, X1	2.34	1.10	13	78
2	vCS26	CS04, X1	6.07	2.72	12	202
3	vCS32	CS23, X1	n.d.	-	-	-
4	vCS16	CS01, F328S	1.35	0.88	6	45
5	vCS28	CS04, F328S	2.78	0.92	7	93
6	vCS34	CS23, F328S	n.d.	-	-	-
7	vCS20	CS01, X5	3.62	1.96	21	121
8	vCS24	CS04, X5	0.79	0.89	18	26
9	vCS33	CS23, X5	n.d.	-	-	n.d.
10	vCS17	CS01, X1, F328S	3.44	1.92	20	115
11	vCS29	CS04, X1, F328S	7.39	2.64	9	246
12	vCS31	CS23, X1, F328S	n.d.			n.d.
13	vCS18	CS01, X1+X5 (X6)	4.34	2.50	6	145
14	vCS27	CS04, X1+X5 (X6)	8.03	3.97-	6-	268-
15	vCS35	CS23, X1+X5 (X6)	n.d.	-	-	-
19	vCS48	CS01, X5, F328S	2.54	0.72	8	85
20	vCS49	CS04, X5, F328S	7.17	1.30	7	239
	контроли					
16	vCS40	Человек, дикий тип	0.03	0.03	12	1
17	vCh25	Geneart	0.13	0.12	18	4
18	vCh111	Geneart+X1	0.37	0.21	17	12

Таблица 8

Выход на 1 л клеточной культуры (эффективность упаковки),
полученный с использованием различных векторных конструкций ААV.
Векторы очищали от клеточного осадка; n.d., не определено

	конструкция	Алгоритм, мутации	Конц. вектора [vg/мл] $\times 10^{12}$	Выход [vg/л] $\times 10^{12}$	Кратность увеличения относительно wt
1	vCS19	CS01, X1	9.71	36	3.22
2	vCS26	CS04, X1	5.93	32	2.87
3	vCS32	CS23, X1	n.d.	n.d.	n.d.
4	vCS16	CS01, F328S	6.51	29	2.56
5	vCS28	CS04, F328S	5.85	32	2.88
6	vCS34	CS23, F328S	n.d.	n.d.	n.d.
7	vCS20	CS01, X5	9.90	50	4.48
8	vCS24	CS04, X5	3.00	16	1.46
9	vCS33	CS23, X5	n.d.	n.d.	n.d.
10	vCS17	CS01, X1, F328S	8.94	37	3.34
11	vCS29	CS04, X1, F328S	7.42	53	4.72
12	vCS31	CS23, X1, F328S	n.d.	n.d.	n.d.
13	vCS18	CS01, X1+X5 (X6)	21.20	53	4.75
14	vCS27	CS04, X1+X5 (X6)	4.15	19	1.67
15	vCS35	CS23, X1+X5 (X6)	n.d.	n.d.	n.d.
16	vCS48	CS01, X5, F328S	7.14	42.1	3.77
17	vCS49	CS04, X5, F328S	8.27	37.2	3.33
18	vCS40	Человек, дикий тип	2.03	11	1.00

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 данного документа 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, 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, где

тяжелая цепь полипептида фактора VIII кодируется первой нуклеотидной последовательностью, имеющей по меньшей мере 95% идентичность с SEQ ID NO: 3;

легкая цепь полипептида фактора FVIII кодируется второй нуклеотидной последовательностью, имеющей по меньшей мере 95% идентичность с SEQ ID NO: 4;

полипептидный линкер содержит фуриновый сайт расщепления; а также

полипептидный линкер содержит гликозилируемый пептид с аминокислотной последовательностью, имеющей по меньшей мере 92% идентичность с гликозилируемым пептидом, выбранным из группы, состоящей из SEQ ID NO: 51, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 55, SEQ ID NO: 57, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 71 и SEQ ID NO: 73.

2. Полинуклеотид по п.1, отличающийся тем, что полипептидный линкер кодируется третьей нуклеотидной последовательностью, имеющей по меньшей мере 95% идентичность с SEQ ID NO: 6.

3. Полинуклеотид по п.1 или 2, отличающийся тем, что

первая нуклеотидная последовательность имеет по меньшей мере 99% идентичность с SEQ ID NO: 3;

вторая нуклеотидная последовательность имеет по меньшей мере 99% идентичность с SEQ ID NO: 4.

4. Полинуклеотид по п.1 или 2, отличающийся тем, что

первая нуклеотидная последовательность представляет собой SEQ ID NO: 3;

вторая нуклеотидная последовательность представляет собой SEQ ID NO: 4.

5. Полинуклеотид по п.1, отличающийся тем, что кодируемый полипептидный линкер содержит

гликозилируемый пептид, выбранный из группы, состоящей из SEQ ID NO: 51, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 55, SEQ ID NO: 57, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 71 и SEQ ID NO: 73.

6. Полинуклеотид по п.1, отличающийся тем, что кодируемый полипептидный линкер содержит гликозилируемый пептид, имеющий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 55.

7. Полинуклеотид по п.1 или 5, отличающийся тем, что гликозилируемый пептид кодируется полинуклеотидом с нуклеотидной последовательностью, имеющей по меньшей мере 95% идентичность с последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 52, SEQ ID NO: 54, SEQ ID NO: 56, SEQ ID NO: 58, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 62, SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 70 и SEQ ID NO: 72.

8. Полинуклеотид по п.1 или п.5, отличающийся тем, что гликозилируемый пептид кодируется полинуклеотидом, имеющим по меньшей мере 95% идентичность с нуклеотидной последовательностью SEQ ID NO: 54.

9. Полинуклеотид по п.1 или п.5, отличающийся тем, что гликозилируемый пептид кодируется полинуклеотидом с нуклеотидной последовательностью, выбранной из одной из SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 52, SEQ ID NO: 54, SEQ ID NO: 56, SEQ ID NO: 58, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 62, SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 70 и SEQ ID NO: 72.

10. Полинуклеотид по п.1 или п.5, отличающийся тем, что гликозилируемый пептид кодируется полинуклеотидом, имеющим нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 54.

11. Полинуклеотид по п.1, отличающийся тем, что полипептидный линкер кодируется третьей нуклеотидной последовательностью, имеющей по меньшей мере 95% идентичность с последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 46 и SEQ ID NO: 47.

12. Полинуклеотид по п.1, отличающийся тем, что полипептидный линкер кодируется третьей последовательностью, имеющей по меньшей мере 95% идентичность с нуклеотидной последовательностью SEQ ID NO: 38.

13. Полинуклеотид по п.1, отличающийся тем, что полипептидный линкер кодируется третьей последовательностью, имеющей нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 38.

14. 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, где тяжелая цепь полипептида фактора VIII кодируется первой нуклеотидной последовательностью, имеющей по меньшей мере 95% идентичность с SEQ ID NO: 3;

легкая цепь полипептида фактора FVIII кодируется второй нуклеотидной последовательностью, имеющей по меньшей мере 95% идентичность с SEQ ID NO: 4;

полипептидный линкер содержит фуриновый сайт расщепления; а также кодируемый полипептид фактора VIII содержит аминокислотные замены I105V, A127S, G151K, M166T и L171P относительно SEQ ID NO: 19.

15. Полинуклеотид по п.14, отличающийся тем, что полипептидный линкер кодируется третьей нуклеотидной последовательностью, имеющей по меньшей мере 95% идентичность с SEQ ID NO: 6.

16. Полинуклеотид по любому из пп.14 или 15, отличающийся тем, что кодируемый полипептидный линкер содержит гликозилируемый пептид с аминокислотной последовательностью, имеющей по меньшей мере 92% идентичность с гликозилируемым пептидом, выбранным из группы, состоящей из SEQ ID NO: 51, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 55, SEQ ID NO: 57, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 71 и SEQ ID NO: 73.

17. Полинуклеотид по любому из пп.14 или 15, отличающийся тем, что кодируемый полипептидный линкер содержит гликозилируемый пептид, выбранный из группы, состоящей из SEQ ID NO: 51, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 55, SEQ ID NO: 57, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 71 и SEQ ID NO: 73.

18. Полинуклеотид по любому из пп.14 или 15, отличающийся тем, что кодируемый полипептидный линкер содержит гликозилируемый пептид, имеющий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 55.

19. Полинуклеотид по любому из пп.16-18, отличающийся тем, что гликозилируемый пептид кодируется полинуклеотидом с нуклеотидной последовательностью, имеющей по меньшей мере 95% идентичность с последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 52, SEQ ID NO: 54, SEQ ID NO: 56, SEQ ID NO: 58, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 62, SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 70 и SEQ ID NO: 72.

20. Полинуклеотид по п.19, отличающийся тем, что гликозилируемый пептид кодируется полинуклеотидом, имеющим по меньшей мере 95% идентичность с нуклеотидной последовательностью SEQ ID NO: 54.

21. Полинуклеотид по любому из пп.16-18, отличающийся тем, что гликозилируемый пептид коди-

руется полинуклеотидом с нуклеотидной последовательностью, выбранной из одной из SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 52, SEQ ID NO: 54, SEQ ID NO: 56, SEQ ID NO: 58, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 62, SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 70 и SEQ ID NO: 72.

22. Полинуклеотид по п.21, отличающийся тем, что гликозилируемый пептид кодируется полинуклеотидом, имеющим нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 54.

23. Полинуклеотид по любому из пп.16-18, отличающийся тем, что полипептидный линкер кодируется третьей нуклеотидной последовательностью, имеющей по меньшей мере 95% идентичность с последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 46 и SEQ ID NO: 47.

24. Полинуклеотид по п.23, отличающийся тем, что полипептидный линкер кодируется третьей последовательностью, имеющей по меньшей мере 95% идентичность с нуклеотидной последовательностью SEQ ID NO: 38.

25. Полинуклеотид по п.23, отличающийся тем, что полипептидный линкер кодируется третьей последовательностью, имеющей нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 38.

26. Полинуклеотид по любому из пп.1-25, отличающийся тем, что кодируемый полипептид фактора VIII содержит аминокислотную замену F328S относительно SEQ ID NO: 19.

27. Полинуклеотид по любому из пп.1-25, отличающийся тем, что кодируемый полипептид фактора VIII содержит:

- a) делецию аминокислот AIEPRSF755-761 относительно SEQ ID NO: 19;
- b) вставку аминокислот TTYVNRSL (SEQ ID NO: 33) после N754 относительно SEQ ID NO: 19.

28. Полинуклеотид по любому из пп.1-26, отличающийся тем, что кодируемый полипептид фактора VIII содержит:

- a) аминокислотную замену F328S относительно SEQ ID NO: 19;
- b) аминокислотные замены C1918G и C1922G относительно SEQ ID NO: 19.

29. Полинуклеотид по любому из пп.1-26, отличающийся тем, что кодируемый полипептид фактора VIII содержит:

- a) аминокислотную замену F328S относительно SEQ ID NO: 19;
- b) делецию аминокислот AIEPRSF755-761 относительно SEQ ID NO: 19;
- c) вставку аминокислот TTYVNRSL (SEQ ID NO: 33) после N754 относительно SEQ ID NO: 19.

30. Полинуклеотид по любому из пп.1-26, отличающийся тем, что кодируемый полипептид фактора VIII содержит:

- a) аминокислотные замены I105V, A127S, G151K, M166T и L171P относительно SEQ ID NO: 19;
- b) делецию аминокислот AIEPRSF755-761 относительно SEQ ID NO: 19;
- c) вставку аминокислот TTYVNRSL (SEQ ID NO: 33) после N754 относительно SEQ ID NO: 19.

31. Полинуклеотид по любому из пп.1-26, отличающийся тем, что кодируемый полипептид фактора VIII содержит:

- a) аминокислотную замену F328S относительно SEQ ID NO: 19;
- b) аминокислотные замены C1918G и C1922G относительно SEQ ID NO: 19;
- c) аминокислотные замены I105V, A127S, G151K, M166T и L171P относительно SEQ ID NO: 19.

32. Полинуклеотид по любому из пп.1-26, отличающийся тем, что кодируемый полипептид фактора VIII содержит:

- a) аминокислотную замену F328S относительно SEQ ID NO: 19;
- b) аминокислотные замены C1918G и C1922G относительно SEQ ID NO: 19;
- c) делецию аминокислот AIEPRSF755-761 относительно SEQ ID NO: 19;
- d) вставку аминокислот TTYVNRSL (SEQ ID NO: 33) после N754 относительно SEQ ID NO: 19.

33. Полинуклеотид по любому из пп.1-26, отличающийся тем, что кодируемый полипептид фактора VIII содержит:

- a) аминокислотные замены I105V, A127S, G151K, M166T и L171P относительно SEQ ID NO: 19;
- b) аминокислотную замену F328S относительно SEQ ID NO: 19;
- c) аминокислотные замены C1918G и C1922G относительно SEQ ID NO: 19;
- d) делецию аминокислот AIEPRSF755-761 относительно SEQ ID NO: 19;
- e) вставку аминокислот TTYVNRSL (SEQ ID NO: 33) после N754 относительно SEQ ID NO: 19.

34. Полинуклеотид по любому из пп.1-33, дополнительно содержащий промоторный элемент, функционально связанный с полинуклеотидом, кодирующим полипептид фактора VIII.

35. Полинуклеотид по п.34, отличающийся тем, что промоторный элемент представляет собой специфическую для печени промоторную последовательность перед нуклеотидной последовательностью, кодирующей полипептид фактора VIII.

36. Полинуклеотид по п.35, дополнительно содержащий последовательность интрона, расположенную между специфической для печени промоторной последовательностью и нуклеотидной последовательностью, кодирующей полипептид фактора VIII.

37. Вектор на основе аденоассоциированного вируса (AAV), содержащий полинуклеотид по любому

му из пп.1-36, для лечения гемофилии А.

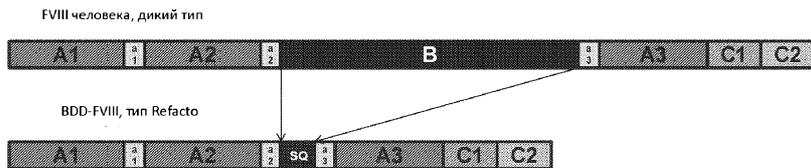
38. Частица аденоассоциированного вируса (AAV), содержащая полинуклеотид по любому из пп.1-36, для лечения гемофилии А.

39. Клетка-хозяин, инфицированная частицей аденоассоциированного вируса (AAV), содержащей полинуклеотид по любому из пп.1-36.

40. Способ получения частицы аденоассоциированного вируса (AAV), включающий введение полинуклеотида по любому из пп.1-36 в клетку-хозяин млекопитающего, причем полинуклеотид является способным к репликации в указанной клетке-хозяине млекопитающего.

41. Способ лечения гемофилии А, включающий введение пациенту, нуждающемуся в этом, частицы аденоассоциированного вируса (AAV) по п.38.

42. Способ трансдукции клетки-хозяина, включающий контактирование клетки-хозяина с частицей аденоассоциированного вируса (AAV) по п.38.



Фиг. 1

CS04-FL-NA

```

atgcagattgagctgagcaccctgcttcttccctgtgctgctgaggttctgcttctctgccaccagga
gatactacctggggctgtggagcttcttgggaactacatgcagctgacctgggggagctgctgt
ggatgccagggttcccaccagagtgcccacaaatccttcccattcaacacctctgtggtctacaagaag
acctcttctgtggagtctactgaccacctgttcaacattgcccacccagggccacctggatgggac
tctctgggaccaccatctaggctgaggtgatgacactgtggtcatcaccctcaagaacatggctc
ccacctgtgagcctgcatgctgtgggggtcagctactggaaggcctctgaggggctgagtatgat
gaccagacctcccagaggagaggaggtgacaagtgttccctgggggagccacacctatgtgt
ggcaggctctcaaggagaatggcccatggcctctgacccactctgactgacctactctactcttct
tcatgtggacctggtcaaggacctcaactctggactgattggggcctgctggtgtgacgggagggc
tccctggccaaagagaagaccagacctgcacaagtctcatctctctgttggctgtcttggatgagg
gcaagagctggcactctgaaaccaagaactccctgattgacggacagggatgctgctctgcccaggc
ctggcccaagatgcacactgtgaatggctatgtgacaggagcctgctggactcattggctggcac
aggaaatctgtctactggcatgtgattggcatggggacaaccctgaggtgactccatttctctg
agggccacaccttctgtgaggaaccacagacagggccagcctggagatcagcccatcactctct
cactgcccagacctctgtgaggacctcggacagttctctgctgttctgcccacatcagctcccaccag
catgaggcatggaggctatgtcaagggtggacagctgcccctgaggagccacagctcaggatgaaga
acaatgaggagctgaggactatgatgatgacctgactgactctgagatggatgtggctccgtctga
tgatgacaacagcccatctctcattcagatcaggctctgtggccaaagaacaccccagacctgggtg
cactacattgctgctgaggaggagactgggactatgcccactggctctggccctgatgacagga
gtacaagagccagtaacctcaacaatggccacagaggatggaccgaagtacaagaagtcaggtt
cattggcctacctgatgaaaccttcaagaccagggagggcattcagcatgagctggcatctctggg
cactctctgtatggggaggtgggggacacctgctcactcactctcaagaaccaggcctccaggccct
acaacatctaccacatggcatcactgatgtcaggccctgtacagccgcaggctgcccagggggt
gaaacacctcaaggacttcccattctgctggggagatcttcaagtacaagtgactgtcactgtg
gaggtggccaaccaaatctgaccccagggtgctcaccagatactactccagcttctgtgaacatgg
agaggacctggcctctggctgatggccactgctcatctgctacaaggagtctgtggaccagag
gggaaaccagatcattgtctgacaagaggaaatgtgattctgttctctgtcttggatgagaacaggagc
tggtacctgactgagaacattcagccttctgcccacacctgctgggtgagctggaggaccctg
agttccaggccagcaacatcactgacctccatcaatggctatgtgttggacagcctccagcttctgt
ctgctgcatgaggtggcctactggtacattcttctctatggggccagactgactctcttctgtc
tcttctctggctacaccttcaaacacaagatgggtgatgaggacacctgacctcttcccattct
ctggggagactgtgttcatgagcatggagaacctggcctgtggattctgggatgcccacactctga
cttccgcaacaggggcatgactgcccctgctcaagtctctctgtgacaagaacctggggactac
tatgaggacagctatgaggacatctctgctacctgctcagcaagaacaaatgccattgagcccagga
gcttcagccagaatccacctgtcctgaaacgcccaccagaggagatcaccaggaccacctccagctc
tgaccaggaggagattgactatgatgacaccattctgtggagatgaagaaggaggacttggacatc
tatgacgaggacgagaaccagagcccaggagcttccagaagaagaccaggcactactcattgctg
ctgtggagcctgtgggactatggcatgagctccagccccatgtcctcaggaaacaggggccagctc
tggctctgtgccacagttcaagaaagtggcttcccaagagttcactgatggcagcttcccccagccc
ctgtacagaggggagctgaatgagccctgggactctggcccactacatcagggctgaggtggagg
acaacatcattggtgaccttccgcaaccaggcctccagggcctcagcttctacagctcctctcactcag
ctatgagGaggaccagagggcaggggctgagcccagcaagaacttggtaaacccaatgaaaccaag
acctacttctggaagtccagaccacatggcccccacaaaggatgagttgactgcaaggcctggg
    
```

Фиг. 2А

cctactctctgagtggaacctggagaaggatgtgcaactctggcctgattggcccaactcctggtctg
 ccacacacacacctgaacctgcccattggaaggcaagtgaactgtgcaaggatttggcctctctctc
 accatctttgatgaaaccaagagctggtacttcaactgagaacatggagcgaactgcaggccccat
 gcaacattcagatggaggaccccccttcaagagaactaccgcttccatgccatcaatggctacat
 catggacacctgctgggcttgcattggcccaggaccagaggatcaggtggtacchgtcttctatg
 ggctccaatgagaacatcactccatccacttctctgggcaigtctcactgtgcgcaagaaggagg
 agtacaagatggccctgtacaacctctacctggggtctttgagactgtggagatgctgccctccaa
 agctggcatctggagggtggagtgctcattggggagcaacctgcattgctggcatgagcaacctgttc
 ctggtctacagcaacaagtgcagacccccctgggaatggcctctggcccaatcagggaactccaga
 tcaactgctctggccagatagccagtgggcccccaagctggccaggtccactactctggatccat
 caatgctggagcaccagggaccattcagctggatcaaagtggacctgctggccccatgatcatic
 catggcatcaagccccaggggccaggcagaagtctccagcctgtacatcagccagttcaticatca
 tgtacagcctggatggcaagaatggcagacctacagaggcaactccactggacaactcatggtctt
 ctttggcaatgtggacagctctggcatcaagcaacatcttcaaccccccaatcatcgccagatac
 atcaggtgcacccccactacagcatcccgagcaccctcaggatggagctgatgggctgtgacc
 tgaactcctgcagcatgccctgggcatggagagcaaggccattctgatgccagatcactgctc
 cagctacttcaacaactgtttgcaacctggagccccagcaaggccaggtgcaacctccaggaagg
 agcaatgctggaggccccaggtcaacaacccccaaaggagtgctgcaagtggaactccagaagacca
 tgaaggtcactgggtgaccaccaggggtcaagagcctgctcaccagcatgatagtgaaggagt
 cctgatcagctccagccaggatggccaccagtgaccctctctccagaatggcaaggccaaggtg
 tccagggcaaccaggaagcttaccctctggtgaacagcctggacccccctcctgaccagat
 acctgaggattccccccagagctgggtcccacagattgcccctgaggatggaggtcctgggatgta
 ggccccaggacctgtactga (SEQ ID NO:1)

Фиг. 2B

CS04-FL-AA

MQIELSTCFFLCLLRFCFSATRRYYLGAVELSWDYMQSDLGELPVDAR' FPPRVPKSFFPNTSVVYK
 KTLFVFTDHLFNIAKPRPPWMLLGP TIQAEVYDVTVITLKNMASHPVSLHAGVSVYWKASEGAEY
 DDQTSQREKEDDKVFPFGSHTYVWQVLKENGFMASDPLCLTYSYLSHVIDLKDLNSGLIGALLVCRE
 GSLAKEKTQTLHKFILLFAVDEGKSWHSETKNLSMQDRDAASARAWPKMHTVNGYVNRSLPGLIGC
 HRKSVYHVIGMGTPEVHSIFLEIGHTFLVRNHRQASLEISPIITFLTAQTLMLDLGQFLFCHISSH
 QHDGMEAYVKVDSCEPEPQLRMKNNEEAEDYDDDLTDSMDVVRFDDBNSPSTFQIRSVAKKHPKRW
 VHYIAAEEDWDYAPLVLAPDDRSYKSYLNNQPQIRGRYKVRFMAYTDETFKTREAIQHESGIL
 GPLLYGEVGBTLIIIFKNQASRPYNIYPHGI TDVRPLYRRLPKGVKHLKDFIILPGEIFRYKWTVT
 VEDGPTKSDPRCLTRYSSFVNMRDLASGLIGPLLI CYKESVDQRGNQIMSDKRNVI LFSVFDENR
 SWYLTENIQRFLEPNPAGVQLEDPEFQASNIMHSINGYVFDLSQLSVCLHEVAYWYILS IGAQTDPLS
 VFFSGYTFKHKMVEEDTLTFPFGGETVFMSMENPGLWILGCHNSDFRNRGMTALLKVS SCDKNTGD
 YYEDSYEDISAYLLSKNNAIEPRSFQNPVPLKRHQREITRTTLQSDQEEIDYDDTISVEMKKEDFD
 IYDEDENQSPRSFQKTRHYFIAAVERLWDYGMSSSPHVLNRNAQSGSVFPQFKVVFQEFDTGSGFTQ
 PLYRCELNEHLGLGPYIRAEVEDNIMVTFRNQASRPYSFYSSLIYEEEDQRQCAEPRKNFVKPNET
 KTYFWKVVQHMAPTKDEFDCKAWAYFSDVDLEKDVHSGLIGPLLVCHTNTLNPAGHRQNTVQEFALF
 FTIFDETKSWYFTENMERNCRAPCNIQMEDPTFKENYRFHAINGYIMDTLPGLVMAQDQIRIRWYLLS
 MGSNENIHSIHPSGHVFTVRKKEEYKMALYNLYPGVFETVEMLPSKAGIWRVECLIGEHLHAGMSTL
 FLVYSNKCQTPFGMASGHIRDPQITASGQYQWAPKLARLHYSGSINAWSTKPEPFSWIKVDDLAPMI
 IHGIKTQGARQKFSYSSLIYSSQPIIMYSLDGKKWQTYRGNSTGTLMVFFGNVDSGGIKHNI FNPPPIAR
 YIRLHPHYSIRSTLRMELMGCDLNSC SMLPGMESKAI SDAQITASSYFTNM FATWSPSKARLHLQ
 RSNARFPQVNNPKENLQVDFQKTMKVTGVTQGVKSLLTSMYVKEFLISSSQDGHQWTLFFQNGKVK
 VFQGNQDSFTPVVNSLDPLLRITRYLRIFHQSWVHQIALRMEVLGCEAQDLY (SEQ ID NO:2)

Фиг. 3

CS04-HC-NA

```

gcc
accaggagat actacctggg ggctgtggag ctttcttggg actacatgca gctgacctg
ggggagctgc ctgtggatgc caggttccca cccagagtgc ccaaatcctt cccattcaac
acctctgtgg tctacaagaa gacctctttt gtggagttca ctgaccacct gttcaacatt
gccaacccca ggccacctg gatgggactc ctgggaccca ccattcaggc tgagggtgat
gacctgtgg tcatccctt caagaacatg gctcccacc ctgtgacct gcatgctgtg
ggggtcagct actggaaggg ctctgagggg gctgagtatg atgaccagac ctcccagagg
gagaaggagg atgacaaaagt gttccctggg ggcaagccaca cctatgtgtg gcaggctctc
aaggagaatg gccccatggc ctctgaccca ctctgacct cctactccta ccttctcat
gtggacctgg tcaaggacct caactctgga ctgattgggg cctgtctggt gtgcaggggg
ggctccctgg ccaaaagaaa gacccagacc ctgcacaagt tcattctctt gtttctgtc
tttgatgagg gcaagagctg gcaactctgaa accaagaact cctgatgca ggacagggat
gctgacctcg ccagggctg gcccaagatg ccaactgtga atggctatgt gaacaggagg
ctgctggac tcattggctg ccacagaaa tctgtctact ggcattgtgat tggcatgggg
acaaccctg aggtgcactc catttctctg gaggccaca cctccctggt caggatgga
agacaggcca gctggagat cagcccctc accttctca ctgcccagac cctgctgatg
gacctcggac agttcctgct gttctgccc atcagctccc accagcatga tggcatggag
gctatgtca aggtgacag ctgacctgag gagccacagc tcaggatgaa gaacaatgag
gaggctgagg actatgtga tgacctgact gactctgaga tggatgtggt ccgcttggat
gatgacaaca gccatcctt cattcagatc aggtctgtgg ccaagaaaca ccccaagacc
tgggtgcact acattgctg tgaggaggag gactgggact atgcccact ggtcctggcc
cctgatgaca ggagctaca gagccagtac ctcaacaatg gcccacagag gattggaccg
aagtaacaaga aagtcaggtt catggcctac actgatgaaa ccttcaagac caggaggggc
attcagcatg agtctggcat cctgggccc ctctgtatg gggagggtgg ggacaccctg
ctcatctct tcaagaacca ggctcctcagg cctacaaca tctaccaca tggcactct
gatgtcagcc cctgtacag ccgcaagctg ccaaggggg tgaaccact caaggacttc
cccattctgc ctggggagat cttcaagtac aagtggactg tcaactgtga ggatggacca
accaaatctg accccagtg cctcaccaga tactactca gcttgtgaa catggagagg
gacctggcct ctggcctgat tggcccactg ctcatctgct acaaggagtc tgtggaccag
aggggaaacc agatctatgc tgacaagagg aatgtgattc tgttctctgt cttgatgag
aacaggagct ggtacctgac tgagaacatt cagccttcc tgcccaccc tgcctgggtg
cagctggagg acctgagtt ccaggccagc aacatcatgc actccatcaa tggctatgtg
tttgacagcc tccagcttc tgtctgctg catgaggtgg cctactgga cattcttct
attggggccc agactgactt ccttctctg tcttctctg gctacacct caaacacaag
atggtgtatg aggacacct gacctcttc ccattctctg gggagactgt gttcatgagc
atggagaacc ctggcctgtg gattctggga tgccacaact ctgacttccg caacaggggc
atgactgccc tgcctcaagt ctctctctgt gacaagaaca ctggggacta ctatgaggac
agctatgagg acatctctgc ctacctctc agcaagaaca atgccattga gccaccg
(SEQ ID NO:3)

```

Фиг. 4

CS04-LC-NA

```

g agatcaccag gaccacctc
cagctgacc aggaggagat tgactatgat gacaccattt ctgtggagat gaagaagag
gactttgaca tctatgacga ggacgagaac cagagcccaa ggagcttcca gaagaagacc
aggcactact tcattgctgc tgtggagcgc ctgtgggact atggcatgag ctccagccc
catgtcctca ggaacagggc ccagctctggc tetgtgccac agttcaagaa agtggcttc
caagagttca ctgatggcag cttcaccag cccctgtaca gggggagct gaatgagcac
ctgggactcc tgggcccata catcagggt gaggtggagg acaacatcat ggtgaccttc
cgcaaccagg cctccaggcc ctacagcttc tacagctccc tcatcagcta tgaggaggac
cagaggcagg gggctgagcc acgcaagaac tttgtgaaac ccaatgaaac caagacctac
ttctggaaag tccagacca catggccccc accaaggatg agtttgacty caaggcctgg
gctactctct ctgatgtgga cctggagaag gatgtgcact ctggcctgat tggcccactc
ctggctgccc acaccaaac cctgaacct gcccatgaa ggcaagtgac tgtgcaagg
tttgcctct tcttaccat ctttgatgaa accaagagct ggtacttca tgagaacatg
gagcgcaact gcagggcccc atgcaacatt cagatggagg accccacct caaagagaac
taccgcttcc atgccaacaa tggctacatc atggaacccc tgcctggct tgtcatggcc
caggaccaga ggatcaggtg gtaactgctt tctatggct ccaatgagaa cattcactc
atccactct ctgggcatgt cttcactgtg cgcagaaggg aggagtaca gatggcctg
tacaacctct acctgggggt ctttgagact gtggagatgc tgcctccaa agctggcatc
tggaggggtg agtgcctcat tgggagcac ctgcatgctg gcatgagcac cctgttctg
gtctacagca acaagtgcc gacccccctg ggaatggct ctggccacat cagggacttc
cagatcactg cctctggcca gtatggcag tgggccccca agctggccag gctccactac
ctggatcca tcaatgctg gagcaccag gagccattca gctggatcaa agtggacctg
ctggccccca tgatcatcca tggcatcaag acccaggggg ccaggccagaa gttctccagc
ctgtacatca gccagttcat catcatgtac agcctggatg gcaagaatg gcagacctac
agaggcaact ccaactggaac actcatggtc ttctttggca atgtggacag ctctggcatc
aagcacaaca tcttcaaccc ccaatcctc gccagataca tcaggctgca ccccaccac
tacagcatcc gcaagcaccct caqgatggag ctgatggct gtgacctgaa ctctccagc
atgcccctgg gcatggagag caaggccatt tetgatgccc agatcactgc ctccagctac
ttcacaaca tqtttgccac ctggagccca agcaaggcca ggtgcacct ccagggaaag
agcaatgct ggaggccccca ggtcaacaac ccaaggaggt ggtgcaagg ggacttccag
aagaccatga aggtcactgg ggtgaccacc cagggggtca agagcctgct caccagcatg
tatgtgaag agttcctgat cagctccagc caggatggcc accaagtgac cctctcttc
cagaatggca aggtcaaggt gttccaggg aaccaggaca gcttcacccc tgtggtgaa
agcctggacc cccccctct gaccagatc ctgaggatc acccccagag ctgggtccc
cagattgccc tgaggatgga ggtctggga tgtgagggcc aggacctgta c
(SEQ ID NO:4)

```

Фиг. 5

BDL001 - agc ttcctcaga atccacctgt cctgaagaga caccagaga (SEQ ID NO:5)
BDL004 - agc ttcagccaga atccacctgt cctgaacgc caccagagg (SEQ ID NO:6)
BDL023 - agc ttcagccaga accccccgt gctgaagagg caccagagg (SEQ ID NO:7)
BDLNG1 - agcttcagccagaatGTGAGCAACAATGTGAGCAACAATGCCACCAATAATGCTACCAACccacctgtcctgaaacgccaccagagg (SEQ ID NO:36)
BDLNG4 - agcttcagccagaatGTGAGCAACAATGCCACCAACAATGTGAGCAACccacctgtcctgaaacgccaccagagg (SEQ ID NO:37)
BDLNG5 - agcttcagccagaatGTGAGCAATAATGCCACCAACccacctgtcctgaaacgccaccagagg (SEQ ID NO:38)
BDLNG6 - agcttcagccagaatGTGAGCAATAATccacctgtcctgaaacgccaccagagg (SEQ ID NO:39)
BDLNG9 - agcttcagccagaatAGGAGCCTGccacctgtcctgaaacgccaccagagg (SEQ ID NO:40)
BDLNG10 - agcttcagccagaatGCCACTAATGTGCTAACCACTCTGCTACCTCTGCTGACTTGTGCTGAGCccacctgtcctgaaacgccaccagagg (SEQ ID NO:41)
BDLNG16 - agcttcagccagaatGCCACCAACTATGTGAACAGGAGCCTGccacctgtcctgaaacgccaccagagg (SEQ ID NO:42)
BDLNG17 - agcttcagccagaatGCCACCAACTATGTGAACAGGAGCCTGTCTGCCAUCTCTGCTGACTTGTGCTGAGCCAGAAATccacctgtcctgaaacgccaccagagg (SEQ ID NO:43)
BDLNG18 - agcttcagccagaatGTGAGCAACAATGTGAGCAATGCTGTGCTGCTGCTGCTGCTccacctgtcctgaaacgccaccagagg (SEQ ID NO:44)
BDLNG19 - agcttcagccagaatATCACTGTGGCCTCTGCCACTCTAACATCACTGTGGCCTCTGCTGACccacctgtcctgaaacgccaccagagg (SEQ ID NO:45)
BDLNG20 - agcttcagccagaatATCACTGTGACCAACATCACTGTGACTGCCccacctgtcctgaaacgccaccagagg (SEQ ID NO:46)
BDLNG21 - agcttcagccagaatCAGACTGTGACCAAGATCACTGTGACTGCCccacctgtcctgaaacgccaccagagg (SEQ ID NO:47)
BDLNGV - agcttcagccagaatGCCACTAATCTGCTAACCAACAGCAAGCACAGCAATGACAGCAATGCTCTccacctgtcctgaaacgccaccagagg (SEQ ID NO:48)

Фиг. 6

CS04-AV-NA

1 tgcgctgttt cggatgatgac ggtgaaaacc tctgacacat gcagctcccg gagacggtca
61 cagctctgtct gtaagcggat gccgggagca gacaagcccg tcagggcgcg tcagcgggtg
121 ttggcgggtg tcggggctgg cttaaactatg cggcaatcaga gcagattgta ctgagagtgc
181 accatatgag gtgtgaaata ccgcaacagat gcgtaagggag aaaaatcccg atcagggccc
241 attcgcattt caggctgcgc aactgttggg aaggcggate ggtgcggccc tcttcgctat
301 tacgccagct ggcgaaagg ggatgtgctg caaggcgatt aagttgggta acccagggg
361 tttccagtc acgacgttgt aaaaacgagg ccagtgaatt cctcgagatt taactgact
421 tggcactcc ctctctcgc gctcctcgc tcactgaggc cgggggacca aaggtcggcc
481 gacgccggg ctttgcggg gggcctcag tgagcgagcg agcgcgcaga gagggagtgg
541 ccaactccat cactaggggt tctgagttt aaacttcgtg gcagattcga gcttgggctg
601 caggtcagag gcactgggag gatgtgagt aagatggaaa actactgatg accttgcag
661 agacagagta ttaggacatg ttgaaacagg ggcggggcga tcagcaggtg gctctagagg
721 atccccgtct gtcgcaacat ttctgtaggc gagtgttccg atactcctaat ctccctaggg
781 aaggttcata tttgtgtagg ttaactatc tctttttgtt gactaagtca ataatcagaa
841 tcagcaggtt tggagtcagc ttggcagggg tcagcagcct ggttgggaaq gaggggggat
901 aaaaagccct tcaccagag aagccgtccac acagactagg cggccaccgc ccacctgca
961 gattgagctg agcactgct tcttctgtg cctgctgagg ttctgctct ctgcccacag
1021 cagatactac ctggggctg tggagcttct ttgggactac atgcagctg acctggggga
1081 gctgctctg gatgccagg tcccaccag agtgcccaca tctctcccat tcaacacctc
1141 tgtggctac aagaagacc tcttctgga gttcactgac cacctgttca acattgccaa
1201 acccagggca cctggatgg gactcctggg acccaccatt caggtgagg tgtatgacac
1261 tgtggtcact accctcaaga acatggctc ccaccctgtg agcctgcatg ctgtgggggt
1321 cagctactg aagccctctg aaggggctga gtatgatgac cagacctccc agagggagaa
1381 ggaagatgac aaagtgttc ctggggcag ccacacatg gtgtggcagg tcccaagga
1441 gaatggccc atggctctg acccactctg cctgacatc tctaccttt ctcatgtgga
1501 cctggccaag gacctcaact ctggaactg tggggccctg ctggtgtgca gggagggctc
1561 cctggccaaa gagaagacc agaccctgca caagttcatl ctctgtttg ctgtttttga
1621 tgagggcaag agctggcact ctgaaaccac gaactccctg atgcaggaca gggatgctgc
1681 ctctgccagg gctggccca agatgcacac tgtgaatggc tatgtgaaca ggaacctgcc
1741 tggactcatt gctgcccaca ggaactctgt ctactggcat gtagttgca tgggacaac
1801 cctgaggtg cactccatt tctggaggg ccacaccttc ctggtcagga accacagaca
1861 ggcagcctg gagatcagcc ccactccctt cctcactgac cagacctgc tgatggact
1921 cggacagttc ctgctgtct gccacatcag ctcccaccag catgatggca tggaggccta
1981 tgtcaaggtg gacagctcc ctgaggagcc acagctcagg atgaagaaca atgaggagcc
2041 tgaggactat gatgatgacc tgactgactc tgagatggat gtagtccct ttgatgatga
2101 caacagcca tcttcatc agatcaggtc tctggcnaag aaaaacccca agacctgggt
2161 gactacatt gctgctgagg aggaggact ggaactatcc ccactggtcc tggccctga
2221 tgacaggagc tacaagacc agtacctcaa caatggccca cagaggattg gacgcaagta
2281 caagaaagtc aggtlcaig cctacactga tgaaaccttc aagaccaggg aggccattca
2341 gcatgactc gccatccig gccactcct giatggggag gtaggggaca cctgctcat
2401 catctcaag aaccaggcct ccaggcccta caacatctac ccacatggca tcactgatg
2461 caggccctg tacagccga gctgcccaca ggggtgaaa cactcaagg acttcccat

Фиг. 7А

2521 tctgcctggg gagatcttca agtacaagtg gactgtcaact gtggaggatg gaccaacca
 2581 atctgacccc aggtgcctca ccagatacta ctccagcttt gtgaacatgg agagggacct
 2641 ggccctctggc ctgatggcc caotgctcat ctgctacaag gaggctgtgg accagagcgg
 2701 aaaccagatc atgtctgaca agaggaatgt gattctgttc tctgtctttg atgagaacag
 2761 gagctggtag ctgactgaga acattccagcg ctctcctccc aacctctctg gggctgagct
 2821 ggaggacctg gaggttccagg ccagcaacat catgcaactcc atcaatggct atgtgtttga
 2881 cagcctccag cttttctgtc gctgcatga ggtggcctac tggatcatc tttctattgg
 2941 ggcccagact gaettccctt ctgtcttctt ctctggctac acctcaaac acaagatggg
 3001 gtatgaggac acctgaccc tcttccatt ctctggggag actgtgttca tggacatgga
 3061 gaacctggc ctgtggatc tgggatgcca caactctgac tccgcaaca gggcatgac
 3121 tgcctgtctc aaagtctct cctgtgacaa gaacactggg gactactatg aggacagctc
 3181 tgaggacatc tetgctacc tgotcagcaa gaacaatgct attgagcca ggagctcag
 3241 ccagaatcca cctgtctga aacgccacca gaggagatc accaggacca cctccagtc
 3301 tgaccaggag gagattgact atgatgacac cattctctgt gagatgaaga aagaggactt
 3361 tgacatctat gacgaggcag agaaccagag ccaaggagc tccagaaga agaccctgca
 3421 ctactctcatt gctgctgtgg agcgcctgtg gactatggc atgagctcca gccccatgt
 3481 cctcaggaac agggcccagt ctgctctgt gcccagcttc aagaaagtgg tctccaaga
 3541 gttcactgat ggcagcttca cccagccctc gtcagaggg gagctgaatg agcacctggc
 3601 actcctgggc ccatacatca gggctgaggt gaggacaac atcctggtga cctccgca
 3661 ccaggcctcc aggcctaca gctctacag ctccctcctc agctatgagg aggaccagag
 3721 gcagggggct gggccacgca agaactttgt gaaacccaat gaaaccaaga cctactctg
 3781 gaaagtccag caccacatgg cccccacca ggtgagttt gactgcaagg cctgggctc
 3841 cttctctgat ttggacctgg agaaggatgt gcaactctggc ctgattggcc cactcctggt
 3901 ctgcccacc aaacacctga acctgacca tggaaaggca gtgactgtgc aggagtttgc
 3961 cctctctctc accatctttg atgaaaccaa gactgtgtac ttcactgaga acatggagcg
 4021 caactgacg gccccatgca acatccagat ggaggacccc acctcaaaag agaactcaaa
 4081 ctctccatgc atcaatggct acatccatgga caccctgctt gggctgtca tggcccagga
 4141 ccagaggatc aggtgtgtac tgccttctat gggctcaat gagaacatc actccatcca
 4201 ctctctggg catgtcttca ctgtgagcaa gaaggaggag caaagatgg cctgtcaaa
 4261 cctctaccct ggggtctttg agactgttga gatgctgccc tccaaagctg gcatctggag
 4321 ggtggagtgc ctcatgggg agcacctgca tctgtggcat agcacctctg tctgtgtcta
 4381 cagcaacaag tcccagacc cctgggaaat gcccctggc cacatcaggg acttccagat
 4441 cactgctctt ggcagtatg gccagtgggc ccccagctg gccaggtctc actactctgg
 4501 atccatcaat gctggagca ccaaggagcc attcagctgg atcaaaagtgg acctgtggc
 4561 ccccatgac atccatggca tcaagaccca gggggccagg cagaagttc ccaactgta
 4621 catcagccag ttcacatca tgtacagcct ggtgggcaag aatggcaga cctacagagg
 4681 caactccact ggaacactca tggctctctt tggcaatgtg gacagctctg gcatcaagca
 4741 caacatcttc aacccccaa tcatcgccag atacatcagg ctgaccccca ccaactacag
 4801 catccggcag acctcagga tggagctgat gggctgtgac ctgactcct gtagctgccc
 4861 cctgggcatg gagagcaagg ccatctctga tggccagatc actgctcca gtaactca
 4921 caacatgctt gccacctgga gcccagaaca ggcagctg cactccagg gaaggagcaa
 4981 tgcctggagg cccaggttca acaacccaaa ggagtggcty caggtggact tccagaagac

Фиг. 7В

5041 catgaaggtc actggggtga ccaaccaggg ggtcaaggag ctgctcaccg gcatgtatgt
 5101 gaaggagttc ctgatcagct ccagccagga tggccaccag tggaccctct tcttccagaa
 5161 tggcaaggtc aaggtgttcc agggcaacca ggacagcttc acctctgtgg tgaacagcct
 5221 ggaaccccc ctctgacca gatacctgag gattcaacccc cagagctggg tccaccagat
 5281 tgcctgagg atggaggtcc tgggatgta ggcaccagac ctgtactgat gaggagcggc
 5341 cgtctctagt agcagtatcg ataataaag atctttatct tcatagatc tgtgtgttg
 5401 tttttgtgt gttaattaa ctgcgcaagg aacctctagt gatggagtg gccactcct
 5461 ctctgcccgc tgcctcgtc actgaggccg ggcgaccaa ggtgcccga cgcctgggct
 5521 ttgcccgggc ggcctcagtc agcagcagag cgcgacagga gggagtggcc aagaagattt
 5581 aaatgacaa ctltggcglaa tcatggtcat agctgttcc tgtgtgaaat tgttatccg
 5641 tcaacaattc acacaacata cagcccgaa gcaataaagt taaagctctg ggtgctaat
 5701 gagttagcta actcacatta attgcttgc gctcactgcc cgtttccag tccggaaacc
 5761 tctgtgtcca gctgcataa tgaatcgccc aacgcccggg gaggcgggt ttcgctattg
 5821 ggcctcttcc cgtctctctg ctactgact cgtctgctc ggtctctg ctgcccagag
 5881 cgttatcagc tcaactcaag gcgtaatac ggttatccac agaactcagg gataacgag
 5941 gaaagaacat tggagcaaaa gcccagcaaa aggcaggaa cctgaaaaag gccgcgttgc
 6001 tggcgttttt ccataggctc cccccctg acgagcatca caaaaatcga cgtcaagtc
 6061 agaggtggcg aaacccgaca ggactataaa gataccaggg gtttccccct ggaagctccc
 6121 tctgtggcctc tctgttccg acctgcccgc ttaccggata cctgctccc tttctcctt
 6181 cgggaagcgt ggcctttct catagctcac gctgtaggtc tctcagttcg gttgagctg
 6241 ttcgctccaa gctgggctgt gtcacgaac cccccctca gccccagcgc tgcgcttat
 6301 ccggttaacta tctgtctgag tccaacccgg taagacacga cttatcgcca ctggcagcag
 6361 ccactgttaa caggattagc agagcaggt atgtaggcgg tctacagag tcttgaagt
 6421 ggtggcctaa ctaccgctac actagaagaa cagtatttgg tatctgctct ctgctgaagc
 6481 cagttacctt cggaaaaaga gttggtagct ctgtatccgg caaacaacc acctggtga
 6541 cgggtggttt tttgtttgc aagcagcaga ttaccgagc aaaaaagga tctcaagaag
 6601 atcctttgat cttttctacg ggtctgacg ctcagtgaa cgaaaactca cgttaaggga
 6661 tttgtctat gagattatca aaaaagatct tcaactagat ccttttaaat taaaatgaa
 6721 gttttaaatc aatctaaagt atatatgagt aaacttggct tgacagttac caatgcttaa
 6781 tcaagtggcg acctatctca gcatctgtc tattctgttc atccatagtt gctgactcc
 6841 cgtctgtgta gataactacg ataccggagg gcttaccatc tggcccagct gctgcaatga
 6901 taccgagaga cccacgctca cggctccag atttatcagc aataaacag ccagccggaa
 6961 ggcgagcag cagaagtggt cctgcaactc tatcccctc catccctct attaattgtt
 7021 gccgggaagc tagagtaagt agttccagc ttaatagttt gcgcaactt gttgcaattg
 7081 ctacaggtc cgtggtgta cgtctgtctg ttggtatggt ttcattcagc tccggttccc
 7141 aacgatacaag gcgagttaca tgatcccca tgttgtgcaa aaaaagcgtt agctcctctg
 7201 gtccctcagat cgttctcaga agtaagttgg ccgagctgt atcactcatg gttatggcag
 7261 cactgcataa tctcttact gtcactccat ccgtaagatg cttttctgtg actggtgagt
 7321 actcaaccaa gtcattctga gaatagtgtc tgcgagacc gagtgtctct tgcctggct
 7381 caatacggga taataccgag ccacatagca gaactttaa agtctctc attggaaaac
 7441 gttctctggg cgaaaaact tcaaggatct taccgctgtt gagatccagt tctggtaac
 7501 ccactctgac acccaactga tcttcagcat cttttacttt caccagcgtt tctgggtgag
 7561 caaaaacagc aaggcaaat gccgcaaaa agggaaatag ggcgacacgg aaatgttga
 7621 tactcatact ctctcttttt caatatattt gaagcattta tcaaggttat tctctcatga
 7681 gcggatacat atttgaatgt atttagaana ataaacaaat aggggttccg ccacattttc
 7741 cccgaaagt gccacctgac gctaaagaaa ccattattat catgacatta acctataaaa
 7801 atagcgtat cagcggccc tttctgc (SEQ ID NO:8)

Фиг. 7С

CS01m1-FL-NA

ATGCAGATTGAGCTGTCCACCTGCTTCTTTCTGTGCTGCTGAGATTCTGCTTCTTCCACCCAGGA
GATACCTACCTGGGGGCTGTGGAACCTTCTTGGGACTACATGCAGTCTGACCTGGGAGAGCTGGCTGT
GGATGGCCAGGTTCACCACAGAGTGCACAAGTTCCTTCCCATCAACACCTCTGTGGTCTACAAAGAAG
ACACTCTTTTGGGAATTCACCTGACCCACCTGTCAACATTGCAAAAACCCAGACCCACCTGGATGGGAC
TCCTGGGACCCACATTGAGGCTGAGGTGATGACACTGTGGTGCATCACCTCAAGAACATGGCATC
CCACCTGTGTCTGTGCATGCTGTGGAGTCTCATACGGAAAGCTCTGAAGGGCTGACTATGAT
GACCAGACATCCAGAGAGAGAAAGAGGATGACAAGGTGTCCCTGGGGGATCTCACACCTATGTGT
GGCAAGTTCCTCAAGGAGAATGGACCCATGGCATCTGACCCACTCTGCTGACATCTCTACCTTTCT
TCATGTGGACCTGGTCAAGGACCTCAACTCTGGACTGATTGGGGCACTGCTGGTGTGCAGGGGAAGGA
TCCCTGGCCAAAGGAGAAAACCCAGACACTGCACAAGTTCATTCTCCCTGTGTGTGTGTGTGTGTGT
GCAAGTCTGGCACTCTGAAACAAAAGACTCCCTGATGCAAGACAGGGATGCTGCTCTGCCAGGGC
ATGGCCCAAGATGCACACTGTGAATGGCTATGTGAACAGATCACTGCTGGACTCATTGGCTGCCAC
AGGAAATCTGTCTACTGGCATGTGATGGCATGGGGACAACCCCTGAAGTGCACCTCCATTTCCCTGG
AGGGACACACCTTCCGTGTCAGGAACACAGACAAGCTCTCTGAGATCTCTCCATCACCTTCTCT
CACTGCACAGACTGCTGATGGACCTGGACAGTTCCTGCTGTCTGCTGCCACATCTCTCCACCCAG
CATGATGGCATGGAAAGCTTATGTCAAGTGGACTCATGCCCTGAGGAACACAGCTCAGGATGAAGA
ACAAATGAGGAGGCTGAGGACTATGATGATGACCTGACTGACTCTGAGATGGATGTGGTGCAGATTTGA
TGATGACAACTCTCCATCTCTCATTCAGATCAGGTCTGTGGCAAGAAAACCCCAAGACATGGGTG
CACTACATTTGCTGCTGAGGAAGAGGACTGGGACTATGCACCACTGGTCTGCCCTGTGATGACAGGA
GCTACAACTCTCAGTACCTCAACAATGGCCCAAAAGAAATGGAAAGAAAGTACAAGAAAGTCAAGAT
CATGGCTACACTGATGAAACCTTCAAGACAAGAGAGCCATTGAGCATGAGTCTGGCATTCTGGGA
CCACTCTGTATGGGGAAGTGGGAGACACCTTCTCATCATCTCAAGAACCAGGCTCCAGGCCCT
ACAACATCTACCCACATGGCATCACTGATGTGACGGCCCTGTACAGCAGGAGACTGCCAAAAGGGGT
GAAACACTCAAGGACTTCCCATTTCTGCTGGAGAGATCTCAAGTACAAAGTGGACTGTCACTGTG
GAGGATGGACCAACAAGTCTGACCCAGGTGCTCACCAGATACTACTCTCTTTTGTGAACATGG
AGAGGACCTGGCATCTGGACTGATTGGACCACTGCTCATCTGCTACAAGGAGTCTGTGGACAGAG
AGGCAACAGATCATGTCTGACAAGAGAAATGTGATTTCTGCTCTGCTTGTGATGAGAACAGATCA
TGTACTGACTGAGAACATTCAGAGATTTCTGCCAACCCTGCTGGGGTGCACCTGGAAAGACCTTG
AGTTCACAGGCAAGCAACATTCAGACTCCATCAATGGCTATGTGTTGACTCTCTCCAGCTTCTGT
CTGCTGATGAGGTGGCCACTGCTGATCATTTCTTCTATTTGGGGCACAAACTGACTCTCTTCTGTG
TCTTCTCTGGATACACCTTCAAGCACAAAGTGGTGTATGAGGACACCTGGACACTCTCCCATCTCT
CTGGGAAACTGTGTCTATGAGCATGGAGAACCCTGGACTGTGGATTTCTGGGATGCCACAACCTGTA
CTTCAGAAAACAGGGGAATGACTGCCACTGCTCAAAGTCTCTCTCTGTGACAAAGACACTGGGGAC
TATGAGGACTCTTATGAGGACATCTCTGCTTACTGCTCAGCAAGAACAATGCCATTGAGCCOAGAA
GCTTCTCTCAGAACTCACCTTCTCTGAGAGACACAGAGAGAGATCACAGGACAAACCTCCAGTCT
TGACCAGGAAGAGATTGACTATGATGACACCAATTTCTGTGGAGATGAAGAAGGAGGACTTTGACATC
TATGATGAGGACAGAGAAGTCTCCAAAGATCATTCAGAGAAGACAAGACACTACTTCATTTGCTG
CTGTGGAAGACTGTGGGACTATGGCATGCTTCTCTTCCCATGTCTCAGGAACAGGGCAGAGTCT
TGGCTCTGTGCCACAGTTCAAGAAAGTGGTCTTCCAGGAGTTCATGATGGTCTATTCACCCAGCCC
CTGTACAGAGGGGAATGATGAGCACCTGGGACTCTGGGACCATACATCAGGGCTGAGGTGGAAAG
ACAACATCATGGTGCATTCAGAAAACCCAGGCTCCAGGCCCTACAGCTTCTACTCTTCCCTCATCAG
CTATGAGGAAGACAGAGAACGGGCTGAGCCAAAGAAAGAACTTTGTGAAACCAATGAACCCAAAG
ACCTACTTCTGGAAAGTCCAGCACACATGGCACCCCAAGGATGAGTTTGAATGCAAGGCTGGG

Фиг. 8А

CATACTTCTGATGTGGACCTGGAGAAAGATGTGCACCTTGGCTGATTGGCCACTCTGGTCTG
CCACACCAACACCTTGAACCTTGCACATGGAAAGCAAGTACTGTGAGGAGTTTGGCCCTTCTCTC
ACCATCTTGGATGAAACCAAGTCACTGACTTCACTGAGAACATGGAGAGAACTGCAGAGCACCAT
GCAACATTCAGATGGAAGACCCACCTTCAAGGAGAACTACAGGTTCATGCCATCAATGGCTACAT
CATGGACACCTTGGCTGGCTTGTGCATGGCAGGACCAAGAGAAATCAGATGGTACTGCTTCTATG
GGATCCAAATGAGAACATTCACFCCATCCACTTCTCTGGGCATGTCTTACITGTGAGAAAGAAAGGAG
AATACAAGATGGCCCTGTACAACTCTACCTGGGGTCTTTGAGACTGTGGAGATGCTGCCCTCCAA
AGCTGGCATCTGGAGGTTGAAATGCTCATTTGGGAGCACCTGCATGCTGGCATGTCAACCTGTCT
CTGGTCTACAGCAACAGTGCAGACACCCCTGGGAATGGCTCTGGCCCATCAGGGACTTCCAGA
TCACTGCCCTTGGCCAGTATGGCAGTGGGACCCAAACTGGCCAGGCTCCACTACTCTGGCTCCAT
CAATGCATGGTCAACCAAGGACCATTTCTTGGATCAAGTGGACCTGCTGCCACCAATGATCAT
CATGGCATCAAGACACAGGGGCAAGACAGAAAATCTCTCTCTGTACATCTCACAGTTCATCATCA
TGTACTCTCTGGATGGCAAGAGTGGCAGACATACAGGGAACCTCCACTGGCACCTCATGCTCTT
CTTTGGCAATGTGGACAGCTCTGGCATCAAGCACAACATCTTCAACCTTCCCATCATTTGCCAGATC
ATCAGGCTGCACCCACCCACTACTCAATCAGATCAACCTCAGGATGGAATGATGGGATGTGACC
TGAACCTCTCTCAATGCCCTGGGAATGGAGAGCAAGGCCATTTCTGATGCCAGATCACTGCATC
CTCTTACTTCAACCAACATGTTGGCACCTGGTCAACATCAAAAGCCAGGCTGCACCTCCAGGGGAAG
AGCAATGCCCTGGAGACCCAGGTCAACAAACCAAGGAATGGCTGCAAGTGGACTTCCAGAAAGCA
TGAAGTCACTGGGCTGACAAACCCAGGGGTCAGTCTCTGCTCACTCAATGTATGTGAAGGATTT
CCTGATCTCTTCTCACAGATGGCCACCACTGGACACTCTCTTCCAGAAATGGCAAAATCAAGGTT
TTCCAGGCAACCCAGGACTCTTTCACACTTGGTGAATCACTGGACCCCCCTCTGACAGAT
ACCTGAGAAATCACCCCAAGTCTGGGTCCACAGATGCCCAGAAATGGAAATGGAAATCCCTGGGATGTA
GCCACAAGACTGTACTGA (SEQ ID NO: 49)

Фиг. 8В

CS04Δ(760-1667) - CS04-SC1-NA

ATGCAGATTGAGCTGAGTACCTGCTKTCCTGTGCTGCTGAGGTTCTGCTTCTGCCCACAGGAGATAC
TACCTGGGGGGCTGTGGAGCTTTCTTGGCACTACATGCAGCTGACCTGGGGGAGCTGCTGTGGATGCCAGG
TTCACCACCCAGAGTGCCTAAATCCTTCCCATTCACAGACCTCTGTGGTCTACACAGAGAGCCCTTTTGGGAG
TTTACTGAGCCACCTGTTCACATTTGCCAAACCCAGGCCACCCCTGGATGCGACTGCCGGGACCCACCATTCAG
GCTGAGGTTGATGACACTGTGGTATCACCCCTCAAGAACATGGCCCTCCACCCCTGTGAGCCCTGCATGCTGTG
GGGCTCAGCTACTGGAGGCCCTCTGAGGGGGCTCAGTATGATGACACAGCTCCACAGAGAGAGAGGAGGAT
GACAAAGTGTTCCTGGGGGACAGCCACCTATCTGTGGCAGTCCCTCAAGGAGAAATGGCCCCATGGCCCTT
GACCCACCTGCTGCTGACCTACTCTACTCTTCTCATGTGGACCTGGTCAAGGACCTCAACTCTGGACTGAT
GGGCCCCCTGCTGCTGTGACGGGAGGGCTCCCTGGCCAAAGAGAGAGACCCAGACCCCTGCACAAATTCATTC
CTGTTCCTGTTCATGATGAGGGCAAGAGCTGGCACTCTGAAACCAAGAACTCCCTGATGACAGGACAGGGAT
GCTGCTCTGCCAGGGCCCTGCCCAAGATGCACACTGTGAATGCTATGTGAACAGGAGCCCTGCCCTGGACTC
ATTTGGCTGCCACAGGAAATCTGTCTACTGGCATGTGATTTGGCATGGGGACAAACCCCTGAGGTTGCATCCATP
TTCTGGAGGGCCACACCTTCCCTGGTCAGGAACCCAGACAGAGCCAGCCCTGGAGATGAGCCCACTCACCTTC
CTGACTGCCACAGACCTGCTGATGGACTCCGGACAGTTCCCTGTCTTCTGGCACTCAGCTCCACACAGGAT
GATGGCATGCGAGCCATGTCTAAGGTGGACAGCTGCCCTGAGGAGCCACAGCTCAGGATGAAGAACAATGAG
GAGGCTGAGGACTATGATGATGACCTGACTGACTCTGAGATGGATGGTCCGCTTGTATGATGACCAACAGC
CCATCCTTCAATTCAGATCAGGCTCTGTGGCCAAAGAAACCCCAAGACCTGGGTGCATACATTTGCTGTGAG
GAGGAGGACTGGGACTATGCCCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCT
ATTTGGCCCCACAGAGGATTTGGACCCAAATACAGAAAGTCAAGGTTCAATGGCTGACATGATGAAACCTTCAAG
ACCAGGGAGGCCATTCAGCATGAGTCTGGCATCTGGGGCCCACTCCCTGTATGGGGAGTGGGGGACCCCTGT
CTCATCATCTCAAGAAACAGGGCCCTCCAGGCCCTACACACTTACCCACATGGCATCAGTATGATGAGGCC
CTGTACAGCCCGCAGGCTGCCAAAGGGGTTGAAACACCTCAAGGACTTCCCATTTCTGCTGGGGAGATCTC
AGTACAAAGTGGACTGTCTGTGGAGGATGGACCAACCAATCTGACCCCGAGTGGCTCACCAGATACAT
TCCACCTTTGTGAACTATGAGAGGGACCTGGCCCTTGGCTGTATGGCCCACTGCTCATCTGCTTCAAGGAG
TCTGTGGACCCAGGGGAAACAGATCCTGTCTGACAAAGGAAATGTGATTTCTGTTCTGTGCTTTGATGAG
AACAGGAGCTGGTACCTGATGAGAACATTCAGCCCTCCCTGCCCAACCCCTGGGGGTGGAGCTGGAGGAC
CCCTGAGTTCCAGGCCAGCAACATCATGCACTCCATCAATGGCTATGTTGTTGACAGCCCTCCAGCTTTCTGTC
TGCTTGCATGAGGTGGCTACTGGTACATCTTCTTCTATTTGGGGCCAGACTGACTTCCCTTTCTGCTTCTG
TCTGGCTACACCTTCAAGAGCAAGTGTGTATGAGGACACCCCTGACCTCTTCCCATTTCTGGGGAGACT
GTCTTATGAGCATGGAGAACCCCTGGCTCTGGATTTGGGATGCCACAACCTCTGACTTCCGCAACAGGGCC
ATGACTGCCCTGCTCAAAGTCTCCTCCTGTGACAAAGACACTGGGGACTACTATGAGGACAGCTATGAGGAC
ATCTCTGCCCTACCTGCTCAGCAAGACAAATGCCATTTGAGCCCAAGGGAGATCACCAGGACCCCTCCAGTGT
GACCCAGGAGGAGATGACTATGATGACACCAATTTCTGTGGAGATGAAAGAAAGAGGACTTTGACATCTATGAC
GAGGACGAGACCCAGCCCAAGGAGCTTCCAGGAGAGGACAGGCACTACTTCACTGCTGCTGTGGACCC
CTGTGGCACTATGGGATGAGCTCCAGCCCCCATGTCTCCAGGAACAGGGCCAGTCTGGCTCTGTGCCACAG
TTCAGAAAGTGGTCTTCCAAAGATTCACTGATGGCACTTCCACCCAGCCCTGTACAGAGGGGAGCTGAAT
GAGCACTGGGACTCCTGGGCCATACATCAGGGCTGAGGTGGAGGACAACTCATGTTGACCTTCCGCAAC
CAGGCCCTCCAGGCCCTACAGCTTCTACAGCTCCTCATCAGCTATGAGGAGGACAGAGGACAGGGCCCTGAG
CCACCCAAAGAACTTTGTGAAACCAATGAAACCAAGACCTACTTCTGAAAGTCCAGCCACCATGGCCCC

Фиг. 9А

ACCAAGGATGAGTTTGAAGGCTGGGGCTACTTCTCTGATGTGACCTGGAGAAGGATGTGCACTCT
GGCCTGATTTGGCCACTCCTGGTCTGCCACACCACACCCCTGAACCCCTGGCCATGGAGGCAAGTACTGTG
CAGGAGTTTCCCTCTTCTTACCCTCTTTGATGAAACCAAGAGCTGGTACTTCACTGAGAACATFGAGGAG
AACTGCAGGGCCCCATGCAACATTCAGATGGAGACCCCACTTCAAGAGAACTACCGCTTCCATGCCATC
AATGGCTACATCATGGACCCCTGCCTGGCTTTCTCATGGCCAGGACCCAGAGGATCAGTGGTACTGCTT
TCTATGGGCTCCAAATGGAACATTCACCTCCACTCTCTGGGCTGCTTCACTTCCGCAAGAGGAG
GAGTCAAGATGGCCCTGTACAACTCTACCCCTGGGCTTGTGAGACTTTGGAGATGTGGCCCTCCAAAGCT
GCCATCTGGAGGCTGGATCCTCATTTGGGACAGCTGCACTGCTGGCACTGAGGACCCCTGCTTCTGCTTAC
AGCAACAAGTGGCAGACCCCTGGGAATGGCTCTGGCCACATCAGGGACTTCCAGATCACTGCTCTGGC
CAGTATGGCCAGTGGGGCCCAAGTGGCCAGGCTCCACTACTTGGATCCATCAATGCTGGAGCACCAG
GAGCCATTCAGCTGGAACAAAGTGGACTGCTGGCCCCCATGATCATCCATGGCATCAAGACCCAGGGCC
AGGCAAGTCTTCCAGGCTGTACATCAGCCAGTTCACTCATCATGATACAGGCTGGATGCCAAAGAAATGGGAC
ACCTACAGAGGCACTCCACTGGAACTCATGGTCTCTTTGGCAATGAGGACGCTTGGGCACTCAAGCAC
AACATCTTCAACCCCAATCATGCCAGATACATCAGGCTGGCCCGCCACTACAGCATCCGAGCACCC
CTCAGGATGGAGCTGATGGCTGTGACCTGAATCTTGGAGCATGCCCTGGGATGAGGAGCAAGGGCCATP
TCTGATGCCAGATCATGCTGCCAGCTACTTCAACCAACTTTTGGCACTGGAGCCCAAGCAAGGCCAGG
CTGCCACTCCAGGCAAGGAGCAATGCCCTGGAGGCCCCAGGCTCAACAAACCAAGGAGTGGCTGAGCTGAG
TTCCAGAAAGCCATGAGGCTCACTGGGCTCACCCACCCAGGGCTCAAGAGCCCTGCTCAACAGCATGTG
AAGGAGTTCTGATCAGCTCCAGCCAGGATGGCCACCGTGGACCCCTCTTCTTCCAGAAATGGCAAGTCAAG
GTGTCCAGGGCAACCCAGGACAGCTTCAACCCCTGGTGAACAGGCTGGACCCCCCTCTGCTGACAGATAC
CTGAGGATTCACCCCAAGAGCTGGGTCCACAGATTCGCCCTGAGGATGGAGGCTCCGAGATGAGGGCCAG
GACCTGTACTGA (SEQ ID NO:9)

Фиг. 9В

CS04Δ(760-1667) - CS04-SC1-AA

MQIELSTCFFLCLRFCFSATRRYYLGAVELSDWYMQSDLGELPVDARFPPRPVKSFPFNTSVVYKK
TLFVEFTDHLFNIAKRPFPWMGLLGPTIQAEEVYDVTVI TLKNMASHPVSLHAVGVSYWKAEGAEYD
DQTSQREKEDDKVFFGGSHTYVWQVLKENGPMASDPLCLTYSYLSHVDLVBKLNLSGLIGALLVCREG
SLAKEKTQTLHKFILLFAVDFDEGKSWHSETKNSLMQDRDAASARAWPKMHTVNGVYVNRSLPGLIGCH
RKSVMYVHVIGMGTTFEVHSTFLEHGTFLVRNHRQASLEISPIFTLTAQTLMLDLGQFLLFCHISSHQ
HDGMEAYVKVDSCPREPQLRMKNNEEAEDYDDDLTBSMDVVRFDNDNSPFIQIRSVAKKHPRTWV
HYIAAEEEDWDYAPLVLAPDDRYSQYLNNGPQRIGRKYKVRPMAYTEFTFKTREAIQHESGLIG
PILLYGEVGDILLIIPKNOASRPYNIYPHGI TDVRFYSRRLPKGVKHLKDFPILPGEIPKYKWTVTV
EDGPTKSDPRCLTRYYSFVNMRDLASGLIGPILLICYKESVDQRGNQIMS DKRNVLFSVDFENRS
WYLTENLQRFPLPNPAGVQLEDPEFQASNIHMSINGYVFDLSQLSVGLEHVAWYVYLLSIAQTDFLSV
FFSGYTFKHKMYVEDTLFLPFSGETVFMSENPLWILGCHNSDFNRNMTALLKVVSSCDKNTGDY
YEDSYEDI SAYLLSKNNAIEPRELTRTLQSDQEEIDYDDTISVEMKEDFDIYDENQSPRSFQK
KTRHYFIAAVERLWDYGMSSSPHVLFNRAQSGSVYQFKVVFQEF TDGSEFTQPLYRGEINEHLGLLG
PYLRAEVEDNLMVTFRNQASRPYSFSSLI SYEEDQRQGAEPREKNEVKPNETKYFFWVKVQHMMAETK
DEFDCKAWAYFSVDVLEKDVHSGLIGPLLVCHNTINLPAHGRQVTVQSEPALFTTIFDETksWYFTEN
MERNCRAPCNIQMEDPTFKENYRFAHNGYIMDTLPGIWMADQDRIRWYLLSMGSENENIHSIHFSGH
VFTVRKKEEYKMALYNLYPVGFTEVMELEPSKAGIWRVECLICEHLHAGMSTFLVYSNKQCTPLGMA
SGHIRDFQITASQYGGWAPKLARLHYSYGSINAWSTKEPFSWKVLDLAPMIHGIKQAGARQKFS
LYISQFIIMYSLDGKWKQTYRGNSTGTLMVFFGNVDSGLKHNIFNPPLIARYIRLHPHTYSIRSTL
RMELMGCDLNSCMLPGHESKALSDAQITASSYFTNFATWSPSKARLHLQGRSNARWFOVNNKPEW
LQVDFQKIMKVTGVTTCQVKSLTSMYVKEFLISSQDGHQWTLFFQNGKVKVFEQGNQDSFTPVVNS
LDPLPLTRYLRHHPQSWVHQIALRMEVLGCEAQBLY (SEQ ID NO:10)

Фиг. 10

CS04Δ(772-1667) - CS04-SC2-NA

ATGCAGATTGAGCTGAGCACCTGCTTCTTCTGTGCTGCTGAGGTTCTGCTTCTCTGCCACCGG
AGATACACCTGGGGCTGTGGAGCTTCTTGGGACTACATGCAGTCTGACCTGGGGGAGCTGCTT
GTGGATGCCAGGTTCCACCCAGAGTGCCTAAATCCTTCCCATCAACACCTCTGTGGTCTACAAG
AAGACCTCTTTGTGGAGTCACTGACCACCTGTTCAACATTGCCAAACCCAGGCCACCTGGATG
GGACTCTGGGACCCACGCTTCAAGGAGTATGAGGTTGATGACACTGGGTCAFCACCTCAAGAACATG
GCTCCACCCCTGTGAGCTGCATGCTGTGGGGTCACTACTGGAAGGCTCTGAGGGGCTGAG
TATGATGACCAGACTCCAGAGGAGAAGGAGGATGACAAAGTCTTCCCTGGGGCAGCCACACCT
TATGTGTGGCAGGTTCTCAAGGAGAAATGGCCCCATGGCTCTGACCCACTCTGCTGACCTACTCC
TACCTTTCTCATGTGGACCTGGTCAAGGACCTCAACTCTGGACTGATTGGGGCTCTGCTGGTGTGC
AGGGAGGGCTCCCTGGCCAAAGAGAGACCCAGACCTGCACAAAGTTCATTCTCTGTGTTGCTGTCT
TTTGATGAGGGCAAGAGCTGGCACTCTGAAACCAAGAACCTCCCTGATGCAGGACAGGGATGCTGCC
TCTGCCAGGGCTGGCCCAAGATGCACACTGTGAATGGCTATGTGAACAGGAGCTGCTGGACTC
ATTGGCTGCCACAGGAAATCTGTCTACTGGCATGTGATTGGCATGGGGACAACCCCTGAGGTGCAC
TCCATTTCTGGAGGGCCACACCTTCTGGTCAAGAACACAGACAGGCCAGCTGGAGATCAGC
CCCTACCTTCTCACTGCCAGACCTGGTGTGACCTGGGACATTCCTGCTGTCTGTGCCAC
ATCAGCTCCACCCAGCATGATGGCATGGAGGCTATGTCAAGGTGGACAGCTGCCCTGAGGAGCCA
CAGCTCAGGATGAAGAACAAATGAGGAGGCTGAGGACTATGATGATGACTGACTGACTCTGAGATG
GATGTGGTCCGCTTTGATGATGACAAACAGCCCTCTCTTCAATCAGATCAGGCTCTGTGGCCAAAGAA
CACCCCAAGACCTGGGTCACTACATTTGCTGCTGAGGAGGAGGACTGGGACTATGCCCACTGGTC
CTGGCCCTGATGACAGGAGCTACAGAGGCTGACTACTCAACAAATGCCCAACAGAGGATGGAGCC
AAGTACAAGAAAGTCAAGTTCATGGCTTACACTGATGAAACCTTCAAGACCCAGGGAGGCTTCAAG
CATGAGTCTGGCATCTGGCCACCTCTGTATGGGGAGGTGGGGACACCTGCTCATCATCTTC
AAGAACAGGCTCCAGGCTTACAAACATCTACCCACATGGCATCACTGATGTGAGGCCCCCTGTAC
AGCCGAGGCTGCCAAAGGGGTGAAACACCTCAAGGACTTCCCTATTCTGCTGGGGAGATCTTC
AAGTACAAGTGGACTGTCACTGTGGAGGATGGACCAACCAATCTGACCCAGGTGCTCACCAGA
TACTACTCCAGCTTTGTGAACATGGAGAGGAGCTGGCTCTGGCTGATTGGCCACTGCTCATC
TGCTACAAGGAGTCTGTGGACAGAGGGGAACCCAGATCATGTCTGACAAAGAGGAAATGTGATTTCTG
TTCTCTGTCTTTGATGAGAACAGGAGCTGGTACTGACTGAGAACATTCAGCCCTTCTGCCCCAAC
CCTGCTGGGTGACAGCTGGAGGACCTGAGTTCAGGGCCAGCAACATCATGCACTCCATCAATGGC
TATGTGTTGACAGCCCTCAGCTTTCTGTCTGGCTGCATGAGGTGGCTACTGGTACATTTCTTCT
ATTGGGGCCAGACTGACTTCTTTCTGTCTTCTTCTTCTGGCTAACCCTTCAACACCAAGATGGTG
TATGAGGACACCTGACCCCTTCCCATTTCTGGGGAGACTGTGTTGATGAGCATGGAGAACCCCT
GGCTGTGGATTTGGGATGCCACAACCTGACTTCCGCAACAGGGGCACTGACTGCCCTGCTCAAA
GFTCTCTCTGTGACAAAGACTGGGGACTATGAGGACAGCTTATGAGGACATCTCTGCTTAC
CTGCTCAGCAAGAACAAATGCCATTGAGCCAGGAGCTTCAAGCAGAATCCAGACACCCAGCACC
AGGGAGATCACAGGACCCCTCCAGCTGACAGGAGGAGATTGACTATGATGACACCAATTTCT
GTGGAGATGAAGAAAGAGGACTTTGACATCTATGACGAGGACGAGAACCCAGAGCCCAAGGAGCTTC

Фиг. 11А

CAGAAGAGACAGGCACTACTTCAATGCTGCTGTGGAGGCTGTGGGACTATGGCAAGAGCTCC
AGCCCCATGTCTCAGGAACAGGGCCAGTCTGGCTGTGTGGCCACAGTTCAAGAAAGTGGTCTTC
CAAGAGTTCACTGATGGCAGCTTCAACCCAGCCCTGTACAGAGGGGAGCTGAATGAGCAGCTGGGA
CTCTGGGCCATACATCAGGCTGAGGTGGAGGACAACTCATGGTCACTTCCGCAACCCAGGCC
TCCAGGCCCTACAGCTTCTACAGCTCCCTCATCAGCTATGAGGAGGACAGAGGCAAGGGGGTGG
CCACGCAAGAACTTTGTGAACCCAAATGAAACCAAGACTTACTTCTGGAAAGTCCAGCACCACATG
GCCCCACCAAGGATGAGTTGACTGCAAGGCCCTGGCCCTACTTCTCTGATGTGGACCTGGAGAAG
GATGTGCACTCTGGCTGATTGGCCCACTCTGCTGTGCCACCAACCAACCCCTGAACCTTGGCCAT
GGAAGGCAAGTACTGTGCAGGAGTTTGGCCCTTCTTCCACCATCTTGTGATGAAACCAAGAGCTGG
TACTTCACTGAGAACATGGAGGCAACTGAGGGCCCAATGCAACATTCAGATGGAGGACCCCACT
TTCAAGAGAACTACCGCTTCCATGCCATCAATGGCTACATCATGGACACCTGCCCTGGGCTTSTC
ATGGCCAGGACCAAGAGGATCAGGTGGTACTGCTTTCTATGGCTTCAATGAGAACATTCACCTCC
ATCCACTTCTCTGGGCATGTCTTCACTGTGGCCAAAGAGGAGGATCAAGATGGCCCTGTACAAC
CTTACCTGGGGTCTTTGAGACTGTGAGATGCTGCCCTCCAAAGCTGGCATCTGGAGGTGGAG
TGCTCATTTGGGAGCACCTGCATGCTGGCATGAGCACCTGTCTCTGCTTACAGCAACAAGTGC
CAGACCCCTGGGAATGGCTCTGGCCACATCAGGGACTTCCAGATCACTGCTCTGGCCAGTAT
GGCCAGTGGCCCCCAAGCTGGCCAGGCTCCACTACTTGTGATCCATCAATGCCCTGGAGCACAAG
GAGCCATTCAGCTGGATCAAGTGGACTGCTGGCCCCATGATCATCCATGGCATCAAGACCCAG
GGGGCAGGCAGAAGTTCTCCAGCTGTACATCAGCCAGTTTCAATCATCATGTACAGGCTGGATGGC
AAGAAATGGCAGACTACAGAGGCAACTCCACTGGAACACTCATGGTCTTCTTTGGCAATGGGAC
AGCTCTGGCATCAAGCACAACATCTTCAACCCCAATCATCGCCAGATACATCAGGCTGCACCC
ACCCACTACAGCATCCGACACCCCTCAGGATGGAGCTGATGGCTGTGACTGAACTCTGTGAGC
ATGCCCTGGGCATGGAGAGCAAGGCCATTTCTGATGCCAGATCACTGCCCTCAGCTACTTCAAC
AACATGTTGCCACTGGAGCCCAAGCAAGGCCAGGCTGCACCTCCAGGGAAGGAGCAATGGCTGG
AGGCCCAAGTCAACAAGCCAAAGGAGTCTGTCAGGTGGACTTCCAGAAGCATGAAGGTCACT
GGGGTGAACACCCAGGGCTCAAGAGCTGCTCAACAGCATGTATGTGAAGGAGTTCTGATCAGC
TCCAGCCAGGATGGCCACAGTGGACCTCTTCTTCCAGAATGGCAAGGTCAAGGTGTTCCAGGGC
AACAGGACAGCTTCAACCCCTGTGGTGAACAGCTGGACCCCCCTCTGACAGATACCTGAGG
ATTCACCCCAAGGCTGGTCCACAGATGGCTTGGGATGGAGTCTGGGATGTGAGGCCAG
GACTGTACTGA (SEQ ID NO:11)

Фиг. 11В

CS04Δ(772-1667) - CS04-SC2-AA

MQIELSTCCFFLCLLRFCFSATRRYYLGAVELSWDYMQSDLGELFVDARFFPRVPKSFPENTSVVYKTLFVEF
TDHLFNIAKPRPPMGLLGPTIQAEVYDTVVETLKNMASHFVSLHVGVSYWKASEGAEYDDQTSQREKEDDK
VFPGGSHTYVWQVLKENGPMASDPLCLTYSYLSHVLDLVKDLNSGLIGALLVCREGSLAKKKTQTLHKFILLFA
VFDEGKSWHSETKNSLMQDRDAASARAWPKMHTVNGYVNRSLPGLIGCHRKSVYWHVIGMGTPEVHSIFLFG
HTFLVNRHQASLEISFITFLTAQTLLMDLGGQFLLFCHISSHQHDGMEAYVKVDSQPEBFPQLRMKNNEEAEDY
DDDLTDESEMDVVRPDDNSPFSFIQIRSVAKKHKPTWVHYIAAEEEDWDYAPLVAPDDRYSKQYLNNQPRI
GRKYKVRFMAYTDETFKTRAIQHESGILGPLYGEGVDTLLIIKKNQASRPYNIYPHGTIDVVRPLYSRRLF
KGVKHLKDFPILPGEIFKYKWTVTVEDGPTKSDPRLTRYYSSEFVNMERDLASGLIGPLLCYKESVDQRGNQ
IMSDKRNVILFSPDENRSWYLTENIQRFELNPAGVQLEDEPFQASNIMHSINGYVFDLSQLSVCLHEVAYWY
ILSIGAQTDFLSVFFSGYTFRHKMVEYEDTTLTFFPFGGETVFMSEMENPGLWILGCHNSDEFNRGMTALLKRVSSC
DKNTGDYEDSYEDI SAYLLSKNNAIEPRSEFQNSRHSTREITRTTIQSDQREIDYDDFI SVEMKKEDFDIY
DEDENQSPRSPCKKTRHYFIAAVERLNDYGMSSSPHVLNRRAQSGVPOPKKVVFOEFTDGSFTQPLRGELN
EHLGLLGPYIRAEVEDNIMVTFRNQASRPYSFYSSLLSYBEDQRQGAEPKKNFVKPNETKTYFWKVVQHMAET
KDEPDCANAYESDNDLEKDVHSLGELLEVCHTNTLNPAGKQVTVQEPALFTTIFDETKSWYFTEMNERNC
RAPCNIQMEDFTFKENYRPHAINGYIMDTLPGLVMAQDQRIWYLLSMGSENENIHSIHFSGHVFTRKKEEYK
MALYNLYPGVPEVEMLPKAGIWRVECLIGELHAGMSTFLVYSNKCQTFMGASGHIRDFQITASGQYQGQ
WAPKLABLHYSGSINAWSTKEPFSWIKVDLLAPMIHIGIKTQGARQKFSLSISQFTIMYSLDGGKKNQTYRGN
STGYLFFGNYDSSGIKHNI FNPPILARYIRLHPTHYSIRSTLRMELMGC DLNSCSMPLGMEKASISDAQIT
ASSYFTNMFATWSFKARLHLQGRSNARFQVNNFKEWLQVDFQKTMKVTGVTTQGVKSLTSMYVKEFLISS
SQDGHQWTLFFQNGKVKVFGNQDSFTFVNVSLDPELTLRYLRIHPQSWVHQIALRMEVLGCEAQDLY
(SEQ ID NO:12)

Фиг. 12

NG1: V S N N V S N N A T N N A T N (SEQ ID NO:51)
GTG AGC AAC AAT GTG AGC AAC AAT GCC ACC AAT AAT GCT ACC AAC (SEQ ID NO:50)
NG4: V S N N A T N N V S N (SEQ ID NO:53)
GTG AGC AAC AAT GCC ACC AAC AAT GTG AGC AAC (SEQ ID NO:52)
NG5: V S N N A T N (SEQ ID NO:55)
GTG AGC AAT AAT GCC ACC AAC (SEQ ID NO:54)
NG6: V S N N (SEQ ID NO:57)
GTG AGC AAT AAT (SEQ ID NO:56)
NG9: R S L (SEQ ID NO:59)
AGG AGC CTG (SEQ ID NO:58)
NG10: A T N V S N N S A T S A D S A V S (SEQ ID NO:61)
GCC ACT AAT GTG TCT AAC AAC TCT GCT ACC TCT GCT GAC TCT GCT GTG AGC (SEQ ID NO:60)
NG16: A T N Y V N R S L (SEQ ID NO:63)
GCC ACC AAC TAT GTG AAC AGG AGC CTG (SEQ ID NO:62)

Фиг. 13А

NG17: A T N Y V N R S L S A T S A D S A V S Q N (SEQ ID NO:65)
GCC ACC AAC TAT GTG AAC AGG AGC CTG TCT GCC ACC TCT GCT GAC TCT GCT GTG AGC CAG AAT (SEQ ID NO:64)
NG18: V S N N V S N A V S A V S A (SEQ ID NO:67)
GTG AGC AAC AAT GTG AGC AAT GCT GTG TCT GCT GTG TCT GCT (SEQ ID NO:66)
NG19: I T V A S A T S N I T V A S A D (SEQ ID NO:69)
ATC ACT GTG GCC TCT GCC ACC TCT AAC ATC ACT GTG GCC TCT GCT GAC (SEQ ID NO:68)
NG20: I T V T N I T V T A (SEQ ID NO:71)
ATC ACT GTG ACC AAC ATC ACT GTG ACT GCC (SEQ ID NO:70)
NG21: Q T V T N I T V T A (SEQ ID NO:73)
CAG ACT GTG ACC AAC ATC ACT GTG ACT GCC (SEQ ID NO:72)
NGV: A T N V S N N S N T S N D S N V S (SEQ ID NO:75)
GCC ACT AAT GTG TCT AAC AAC AGC AAC ACC AGC AAT GAC AGC AAT GTG TCT (SEQ ID NO:74)

Фиг. 13В

* Предсказание N-опосредованных сайтов гликозилирования в 1-й последовательности

Название: **CSG_HUMAN** Длина: 405

(Последовательность)

Сиквоны Asp-Xaa-Ser/Thr (включая Asp-Pro-Ser/Thr) показаны Синим
 Аспарагины, которые, согласно предсказанию, N-гликозилированы показаны красным
 Обратите внимание, что не все сиквоны, согласно предсказанию, гликозилированы

```

MPLLQYELIILNPTSCQNTVQADKFNALVYSSSRKSLASAVDFATSLYRDLVALSPKRIPISTPISMAALMGLG 99
TQCTTRAGLLQQLQFNITERSKTEINQGFHLLKLFASDTSLSRTHKALFLDGLLELLESPADIKETTPSEVLAHF 169
GKATASRQINSYVNGTYQKIVDFSGLDSPALLVIVYIPIKPTKQDFDLASTKREKSTVDEFTTVYKVPKHLQSGSTI 249
SVLSDSILFQILVYRNYVQKQVTFPIIPKQKRSSTVIAALLSRTLRKNSAQLTSQVQLYIPFTTISQVYDLDVLEKRS 329
IADLPTKQANPSRIITDAQLKSSVYKRAVILQNKELVDTAOSTVYINLTSRPIILRPSQFFIMIFDRPTWSSLFLAR 409
MKNFV
    
```

(Обозначения)

'N' – предсказанный сайт N-гликозилирования
 'n' – Asp с положительной оценкой, но не встречающийся среди сиквонов Asp-Xaa-Ser/Thr

```

.....N..... 99
.....N..... 169
.....N..... 249
.....N..... 329
.....N..... 409
    
```

(Пороговое значение = 0.5)

Название последовательности	Позиция	Потенциал	Общая оценка	Результат N-гликозилирования
CSG_HUMAN	31 NMSN	0.7166	{9/9}	** <-- Предсказан как N-Гликозилированный (**)
CSG_HUMAN	36 NLYE	0.6356	{8/9}	+ <-- Предсказан как N-Гликозилированный (**)
CSG_HUMAN	176 NKTQ	0.3941	{7/9}	-- <-- Отрицательный сайт
CSG_HUMAN	260 NOTV	0.7405	{8/9}	**
CSG_HUMAN	330 NPSR	0.4223	{7/9}	-- См. ниже для
CSG_HUMAN	369 NLYS	0.5684	{8/9}	** дополнительной информации

Фиг. 14

Название: Последовательность Длина: 41

LSKNNAIIEPRSFQATNVSNNSNTSNDNSNVSPPVVKRHQR
 N . N

(Пороговое значение = 0.5)

Название последовательности	Позиция	Потенциал	Общая оценка	Результат N-гликозилирования
Последовательность	15 NATN	0.6224	{8/9}	+
Последовательность	18 NVSN	0.6453	{9/9}	++
Последовательность	21 NNSN	0.4158	{8/9}	-
Последовательность	24 NTSN	0.4158	{8/9}	-
Последовательность	27 NDSN	0.3619	{8/9}	-
Последовательность	30 NVSP	0.1149	{9/9}	---

Фиг. 15

CS01-FL-NA

ATGCAGATTGAGCTGTCCACCTGCTTCTTCTGTGCCTGTGAGATCTGCTTCTCTGCCACCAGG
 AGATACTACCTGGGGGCTGTGGAACTTCTTGGGACTACATGCAGTCTGACCCTGGGAGAGCTGCT
 GTGGATGCCAGGTTCCACCCAGAGTGCOCOAAGTCTTCCCATTC AACACCTCTGTGGTCTACAAG
 AAGACACTCTTTGTGGAAATCACTGACCACCTGTTCAACATTTGCAAAACCCAGACCACCTGGATG
 GGACTCCTGGGACCACCACTTCAGGCTGAGGTGTATGACACTGTGGTCAACCCCTCAAGRACATG
 GCATCCCACCTGTGTCTCTGCATGCTGTGGAGTCTCATACTGGAAGCCCTCTGAAGGGGCTGAG
 TATGATGCCAGACATCCCAGAGAGAGAAAGAGGATGACAAGGTGTTCCCTGGGGGATCTCACACC
 TATGTGTGGCAAGTCTCAAGGAGAATGGACCCATGGCATCTGACCACCTGCTGCCAGACACTCC
 TACCTTCTCATGTGGACCTGGTCAAGGACCTCAACTCTGGACTGATGGGGCCTGCTGGTGTGC
 AGGGAAGGATCCCTGGCCAAAGGAGAAAACCCAGACACTGCACAAGTTCATCTCTCTGTTTGTCTGTC
 TTTGATGAGGGCAAGTCTTGGCACTCTGAAACAAAGAACTCCCTGATGCAAGACAGGGATGCTGCC
 TCTGCCAGGGCATGGCCAAAGATGCACACTGTGAATGGCTATGTGAACAGATCACTGCCCTGGACTC
 ATTGGCTGCCACAGGAAATCTGTCTACTGGCATGTGATTGGCATGGGGCAACCCCTGAAGTGCAC
 TCCATTTTCTGAGGGACACACCTTCTGGTCAGGAACCACAGACAAGCCCTCTGGAGATCTCT
 CCGATCACCTTCTCACTGCACAGACACTGCTGATGGACCTGGACAGTTCCTGTCTGTCTGCCAC
 ATCTCTTCCCACCAGCATGATGGCATGGAAGCCTATGTCAAGGTGGACTCATGCCCTGAGGAACCA
 CAGCTCAGGATGAAGAACAATGAGGAGGCTGAGGACTATGATGATGACCTGACTGACTCTGAGATG
 GATGTGGTGCAGATTTGATGATGCAACTCTCCATCTCTCATTCAGATCAGGTCTGTGGCAAGAAA
 CACCCCAAGACATGGGTGCATACATGCTGCTGAGGAAGAGGACTGGACTATGCACCACCTGGTCT
 CTGGCCCCCTGATGACAGGAGCTACAAGTCTCAGTACCTCAACAATGGCCCAAAAGAAATGGGAAGA
 AAGTACAAGAAAGTCAGATTCATGGCCCTACACTGATGAAACCTTCAAGACAAGAGAGGCCATTCAG
 CATGAGTCTGGCATTCTGGGACCCTCTGTATGGGGAAGTGGGAGACACCTTGCTCATCATCTTC
 AAGAACCAGGCTCCAGGCCCTACAACATCTACCCACATGGCATCACTGATGTCAGGCCCCCTGTAC
 AGCAGGAGACTGCCAAAAGGGGTGAAACACCTCAAGGACTTCCCCATTTGCTGCTGGAGAGATCTC
 AAGTACAAGTGGACTGTCACTGTGGAGGATGGACCAACAAGTCTGACCCAGGCTGCCACACAGA
 TACTACTCCTCTTTTGTGAACATGGAGAGAGACTGGCATCTGGACTGATTTGGACCCTGCTCATC
 TGGTACAAGGAGTCTGTGGACCAGAGAGGCAACCAGATCACTGTGACAAGAGAAATGTGATCTCTG
 TCTCTGTCTTTGATGAGAACAGATCATGGTACCTGACTGAGAACATTCAGAGATTCCTGCCCCAAC
 CCTGCTGGGTGCAACTGGAAGACCCTGAGTCCAGGCAAGCAACATCATGCACTCCATCAATGGC
 TATGTGTGTGACTCTCTCCAGCTTTCTGTCTGCTGCTGCTGAGGTGGCCCTACTGGTACATCTTTCT
 ATGGGGCACAACTGACTTCCCTTCTGTCTCTCTCTGGATACACCTTCAAGCACAAAGATGGTGT
 TATGAGGACACCTGACACTCTTCCCATCTCTGGGGAACCTGTTTCAATGAGCATGGAGAACCCT
 GGACTGTGGATTTCTGGGATGCCACAACCTCTGACTTCAGAAAACAGGGGAATGACTGCACCTGCTCAA
 GTCTCCTCCTGTGACAAAGACACTGGGACTACTATGAGGACTCTTATGAGGACATCTCTGCCCTAC
 CTGCTCAGCAAGAACAATGCCATGAGCCCAAGAGCTCTCTCAGAAATCCACCTGTCTCTGAAGAGA
 CACCAGAGAGAGATCACCCAGGACAACCTCCAGTCTGACCAGGAAGAGATTGACTATGATGACACC
 ATTTCTGTGAGATGAAGAAGGAGGACTTTGACATCTATGATGAGGACAGAGACCAGTCTCCAAAGA
 TCAATCCAGAAAGACAAGACACTACTTCAATGCTGCTGTGGAAGAGACTGTGGGACTATGGCATG
 TCTTCTCTCCCATGTCTCAGGAACAGGGCACAGTCTGGCTCTGTGCCACACTCAAGAAAGTG
 GTCTTCCAGGAGTTCATGATGGCTCATTCACCCAGCCCTGTACAGAGGGGAACGATGAGCAC

Фиг. 16А

CTGGGACTCCTGGGACCATACATCAGGGCTGAGGTGGAAGACAACATCATGGTGACATTCAGAAAC
 CAGGCTCCAGGCCCTACAGCTTCTACTCTTCCCTCATCAGCTATGAGGAAGACCAGAGACAGGG
 GCTGAGCCAAAGAAAGAACTTTGTGAAACCCAAATGAAACCAAGACCTACTTCTGGAAAAGTCCAGCAC
 CACATGGCACCCACCAAGGATGAGTTTGAAGTGCACAGGCTGGGCATACCTCTCTGATGTGGACCTG
 GAGAAAGATGTGCACCTCTGGCTGATTTGGCCACCTCTGGTCTGCCACACCAACACCTGAACCT
 GAGACTGGAAGGCAAGTGAAGTGTGCAAGGAGTTGGCCCTCTCTTCAACCATCTTTGATGAAACCAAG
 TCAATGGTACTTCACTGAGAACATGGAGAGAAACTGCAGAGACCATGCAACATTCAGATGGAAGAC
 CCCACCTTCAAGGAGAACTACAGGTTCCATGCCATCAATGGCTACATCATGGACACCTTGCCTGGG
 CTTTGTCATGGCACAGGACCAGAGAATCAGATGTTACCTGCTTTCTATGGGATCCAAATGAGAAACAT
 CACTCCATCCACTTCTCTGGGCAATGTCTTCACTGTGAGAAAGAGGAGGAATACAAGATGGCCCTG
 TACAACCTTACCCCTGGGCTCTTTGAGACTGTGGAGATGCTGCCCTCCAAAGCTGGCATCTGGAGG
 GTGGAAATGGCTCATTTGGGAGGACCTGCAATGCTGGCATGTCAACCTGTTCTTGGTCTACAGCAAC
 AAGTGGCAGACACCCCTGGGAATGGCCCTTGGCCACATCAGGACTTCCAGATCACTGCCCTTGGC
 CAGTATGGCCAGTGGGACCCAAACTGGCCAGGCTCCACTACTCTGGCTCATCAATGCATGGTCA
 ACCAAGGAGCCATCTCTGGATCAAGGTGGACCTGCTGGCACCCATGATCATTCATGGCATCAAG
 ACACAGGGGGCAAGACAGAAATCTCTCTCTGTACATCTCACAGTTCATCATCATGTACTCTCTG
 GATGGCAAGAAATGGCAGACATACAGAGGCAACTCCACTGGCACCCCTCATGGTCTTCTTTGGCAAT
 GTGGACAGCTCTGGCATCAAGCACAACTCTTCAACCTCCCATCATGGCAGATACATGAGGCTG
 CACCCACCCACTACTCAATCAGATCAACCCCTCAGGATGGAACATGATGGGATGTGACCTGAACTCC
 TGCTCAATGCCCTGGAAATGGAGAGCAAGGCCATTTCTGATGCCAGATCACTGCATCTCTTAC
 TTCACCAACATGTTGCCACCTGGTCAACATCAAAAGCCAGGCTGCACCTCCAGGGAAGAAAGCAAT
 GCCTGGAGACCCAGGTCAACAACCCAAAGGAATGGCTGCAAGTGGACTTCCAGAAAGACAATGAAA
 GTCACTGGGGTGCAACCCAGGGGGTCAAGTCTCTGCTCAACCTCAATGTATGTGAAGGAGTCTCTG
 ATCTCTTCCCTCACAGGATGGCCACCAGTGGACACTCTCTTCCAGAAATGGCAAAAGTCAAGGTCTC
 CAGGGCAACCCAGGACTCTTTCACACCTGTGGTGAACCTCACTGGACCCCCCTCTGACAAAGATAC
 CTGAGAATTCACCCCAAGTCTTGGTCCACCAGATTCGCCCTGAGAAATGGAAGTCTGGGATGTGAG
 GCACAAGACCTGTACTGA (SEQ ID NO:13)

Фиг. 16В

CS08-FL-NA

ATGCAGATCGAACTGAGCACTTGGCTTCTCCTGTGTCTCCTGCGCTTTTGGCTTCCGCCACAAGG
AGATACTATCTCGGTGCCGTGGAGCTCAGCTGGGACTACATGCAAGAGCGACTTGGGTGAAGTCCCT
GTGGACGCCAGGTTCACCCCGCGTGCACCAAGAGTTCCCGTTCAACACCAGTGTGTGTACAAG
AAAACCCCTCTTCGTGGAAATCACCCGACCCCTGTTCACATCGCCAAACCGCGCCCTCCCTGGATG
GGGCTGCTCGGCCGACGATCCAGGCTGAGGCTATGACACGGGTGGTGTATACCCCTCAAGAACATG
GCTAGCCACCCGGTGAGCCTGCACGCGGTGGGGCTGTCTATTGGAAGCGTCCGAGGGTGCAGGAG
TACGATGACCAAGACTTCACAGCGGGAGAAGGAAGACGACAAAGTGTTCGCCGGGGTTCCCAACC
TATGCTGTGGCAGGTCCCTGAAGGAGAAATGTCCTATGGCTCCGACCCATTGTGCTCACCTACTCT
TACC TAAGCCATGTGGATCTCGTCAAGGACCTGAACCTCGGGCTGATCGGGCCCTGCTCGTGTGC
CGGGAGGGTCACTGGCCAAGGAGAAGACCCAAACTTCGACAACTTCATCCTGCTGTTCGCGGTA
TTGCGAGGGGAAAGTCTTCCACTCCGAGACCAAGAACAGCTGATGCAAGACCGCGACGAGCC
TCGGCCCGTGGCTGGCCAAAGATGCACACCGTGAACCGCTACGTTAACAGGAGCCTACCCGGCCTG
ATCGGCTGCCACCGCAAAATCGGTC TACTGECATGTGATCGGAATGGGCACAACGCCCGAGGTCCAC
AGTATCTTCCCTGAGGCGCCACACTTTCCTGGTCCGGAATCACCGCCAGGCCAGCCTGGAGATCAGC
CCCAATAACCTTTCGACGGCGCAGACCTTACTCATGGATCTCGGCGAGTTCCTCCTGTTCGCCAC
ATTTCCGTCCCAACCAGCAGATGGGATGGAAGCATATGTGAAAGTGGACTCCCTGCCCGAGGAACCC
CAGCTTAGGATGAAGAACAATGAGGAGCCGAGGACTACGACGATGACCTTACCGATTCAGAAATG
GACGTAGTACGCTTTGACGACGACAACCTCTCCATCCTTCAACAGATTCCGCTCCGCGCAAGAG
CACCCTAAGACTTTGGGTGCATACATCGCCGCGGAGGAGGACTGGGATTAATGCTCCCTGGTG
CTGGCCCGGACCGACCGCAGCTACAAGACCGAGTACCTGAATTAAGCGGCCACAGCGCATCGGCCGG
AAGTACAAGAAAGTGGGTTTATGCTTACACCGGACGAGACTTCAAGACCCGGGAGGCTATCCAG
CATGAGAGCGGCACTTTGGGGCCCTCCTGTACGGCGAAGTTGGAGACACTGCTGATCATCTTC
AAGAACCAGGCGAGCAGGCTTACAACATCTACCCCGCGCATTACCGATGTCCGGCCGTTTAC
AGCCGACGGCTGCCAAGGGCGTGAAGCACCCTGAAGGACTTTCGATCCTCGCGGGCGAGATCTTC
AAGTACAAGTGGACTGTGACCGTGGAGGATGGCCGACCAAGAGCGATCCGCGCTGCCGAGCCGCT
TACTACTCCAGCTTTGTCATAATGAGGCGCGACTCGCTAGCGGCTGATGCGCCCTCTGCTGATC
TGCTACAAGGAGTCCGTGGACAGAGGGGGAATCAGATCATGAGTGAACAGAGGAACGTGATCCTG
TCTCCGTGTTCGACGAAAACCGCAGCTGGTATCTCACCGAGAAATCCAGCGCTTCTGCCCAAC
CGGGCCGCTGTGCAGCTGGAGGACCCCGAGTTTCAGGCCAGCAACATCATGCATTCATCAACGGA
TATGTGTTGATTCCTGCGAGCTCTCAGTGTGTCTGCACGAGGTCGCTACTGGTATATCCTCAGC
ATGGGGCAGACCCGACTTCTGAGCGTGTCTCTCCGGGTATACCTTCAAGCAAGATGGTG
TACGAGGATACCCCTGACCCCTGTCCCTTTAGCGCGCAACCGTGTATTATGTCTATGGAGAACCC
GGGCTCTGGATCCTTGGCTGCCATAACTCCGACTCCGCAACCGCGGAATGACCGCGCTCCTGAAA
TCTCCGAGTTGTGACAAGAACAACCGCGACTATTACGAGGACAGTACGAGGACATCTCTGCGTAC
CTCCCTAGCAAGAAATACCGCCATCGAGCCAAAGTCTTCAGCCAGAACCCCGCAGTCTGAAGAGG
CATCAGCGGGAGATCACCCGACGACCCCTGCAGTCCGATCAGGAGGAGATGATACGACGACAGC
ATCAGTGTGGAGATGAAGAAGGAGGACTTCGACATCTACGACGAAGATGAAAACCAAGTCCCTCGG
TCTTCCAAAAGAAGACCCGCACTACTTCATCGCCCTGTGGAACCGCTGTGGACTATGGAATG

Фиг. 17A

TCTTCTAGCCCTCAGCTTTTGAAGAACCGCGCCAGTCCGGCAGCGTGGCCAGTTCAAAGAAAGT
GTGTTCCAGGAGTTCACCCGACCGCTCCTTCAACCCAGCCACTTACCCGGGGGAGCTCAATGAACAT
CTGGCCCTGCTGGACCCCTACATCAGGGCTGAGGTGGAGGACAACATCATGGTGACATTCGGGAAAT
CAGGCCAGCAGACCAATACAGTCTTCTACAGTTCACTCATCTCCTACGAGGAGGACCCAGCGCCAGGGG
GCTGAACCCCGTAAAGAACTTCGTGAAGCCAAACGAAACAAAGACCTACTTCTGGAAAGTCCAGCAC
CACATGACACCTTACCAAGGACGAGTTCGATGCAAGGCTGGGCTACTTCTCCGACGTGGACCTG
GAGAAAGATGTGCACAGCGGCTGATGGCCCTCTGCTGTGTGTCAACAGCAACACTCAACCCCT
GCACACGGCGGCGAGTCACTGTGCAGGAATTCGCCCTGTCTTTACCATCTTGTGATGAGAGGAA
TCTGGTATTTACCCGAAAACATGGAGAGGAACCTCCGCGCACCTGCAACATCCAGATGGAAGAT
CCGACATTCAAAGGAGAACTACCGGTTCCATGCCATCAATGGTACATCATGGACACCTGCCTGGC
CTCGTATGGCCCAAGACCGGATTCGCTGGTATCTGCTGTGGATGGGCTCCAAACGAGAACATC
CATAGTATCCACTTCAGCGGGCATGTCTTCAAGGTTGAGGAAAAGGAGGATCAAGATGGCACTG
TACAACCTCTATCCCGGCTGTTCGAGACCGTGGAGATGCTGCCCTCCAAAGCCGCGCATCTGGAGA
GTGGAATGCTGATCGCGGAGCACCTCCACGCTGGGATGTCCACGCTGTTCCTCGTTACAGCAAT
AAGTGGCAGACCCCTCTGGCATGGCGAGCGGCCACATCCGCGACTTCCAGATTACAGCCAGCGCC
CAGTACGGTCACTGGGCTCCAAAGCTGGCCGCTCTGCACTACTCCGGATCCATCAACCGCTGGTCC
ACCAAGGAAACCGTCTCCTGGATCAAAAGTAGACCTGTAGCCCCATGATCATTCACGGCATCAAG
ACACAAGCGCCCGACAGAAATCTCGAGCCTCTATATCTCCAGTTCAATCATCATGATAGGCTG
GACGGAAAGAAAGTGGCAGACTTACCCCGGAAACTCGACAGGACCCCTGATGGTATCTTCGGTAAC
GTGGACAGCTCCGGAAATCAAGGACAACATCTTCAACCCACCCATTTACCGCCCTACATCCGCTG
CACCCCACTCACTATAGCATTAGGTCACCCCTGCCAATGGAGCTCATGGCTGTGACCTGAACAGC
TGTAGCATGCCCTCGGCATGGAGTCTAAGGCGATCTCCGACGACAGATAACCGGCACTACCTAC
TTTACCAACATGTTCCGTACCTGGTCCCGCTCCAAAGGCCGACTCCACCTGCAAGGAGATCCAAC
GCCGCGCCGACAGGTCAACAAATCCCAAGGAGTGGCTGCAAGTGGACTTTCAGAAAACATGAAA
GTACCCGGAGTGAACACACAGGGAGTGAAGTCTCTGCTGACCAGCATGTACGTGAAGGATTCCTC
ATCTCCAGTTCCGAGGATGACCAACAGTGGAGCTTCTTCTCCAAAACGGTAAAGTCAAAGTCTCT
CAAGGGAACAGGACAGCTTTACACCCCTGTTGAACCTCCCTGGACCCCGGCTTCTCACATAGTAC
CTCCGATCCACCCCTCAGAGCTGGGTGCACAGATTCGCTGGCATGGAGTCTGGGCTGTGAA
GCCAGGACCTGFACTAA (SEQ ID NO:14)

Фиг. 17B

CS10-FL-NA

ATGCAGATTGAGCTCTCCACCTGCTTCTTCTCTGCTTCTTCGGCTTCTGCTTTTCTGCCACAGCG
AGGTACTATTTGGGAGCAGTGGAACTGAGCTGGGATTACATGCAGAGTACCTTGGTGAACCTTCT
GTGGACCGCTCGTTTCCACCTAGAGTTCCCAAGTCCCTTCCCTTCAACACCTCAGTGGTCTACAAG
AAAAGCGCTGTTTGGAGTTCACTGACCCCTCTTCAACATGGCCAAACCAAGACCCCTTGGATG
GGATTGCTGGGACCCACAATACAAGCAGAAGTCTACGACACGGTGGTGTATACCTGAAGAACATG
GCGTCACACCCCTGTTTCACTTCAACCTGTTGGGGTCACTTATGGAAAGCCTCAGAGGGTSCGGAA
TACGATGATCAAAACCAAGCAGAGGGAGAGGAAGATGACAAGTCTTCCCTGGGGGTAGCCATACC
TATGTTTGGCAGGTGCTGAAAGAGAATGGGCTATGGCTCTGATCCCTTGTGCTCACATACTCT
TACCTGAGTCACTCGACCTGGTGAAGACCTGAAATAGCGGTCTGATTGGTGCACCTGCTTGTGTGT
AGGAGGGGGAGTTGGCCAAAGGAGAAAACCTGACACTCTCCACAAGTTTATCCTCCTGTTTGTGTG
TTCGACGAGGGCAAGTCTTGGCACTCTGAAACAAAAGAACTCCCTGATGCAGGACAGAGATGCTGCA
TCTGCAAGGGCTTGGCCAAAATGCACACAGTGAACGGCTATGTAATCGATCACTGCCAGGACTG
ATGAGCTGTCTATCCCAAGTCACTGATGATGTCACCTTATCGGGATGGGAACAACCTCCAGAACTGCAC
AGCATCTTCCCTTGGAGGCCACCTTCTCTGGTTCGGAAATCATAGACAGGCCAGCTTGGATCAGC
CCAAATCACCTTCTGACTGCCCAAACTTGGTGTGATGATCTGGGACAGTTCCTCCTGTTTGTCTAC
ATCTCTTCCCAACCAATGACGGGATGGAGCTTATGTAAGGTGATAGCTGTCCGGAGGAACCA
CAACTGAGGATGAAGAACAACGAAGAGGACAGAGGACTATGACGACGATCTGACTGACAGTGAATG
GACGTGGTTCGGTTCGACGATGACAATTTCTCTTCAATTTATCCAGATCCGTTCCTGGCCAAAGAA
CAGCCCAAGACTTGGGTTTATACATCGCTGCTGAGGAGGAGGATGGGACTACGCGCTTGGTG
TGGCCCCAGACGATCGCTCATACAAGGCCAGTACCTTAAACAATGGTCCACAAAAGATCGGCCG
AAGTACAAGAAGGTAGATTTATGGCTTATACCGACGAGACTTTTAAAACAGGGAGGCAATTCAG
CATGAAAGTGGCATTTTGGACCCCTGCTGTATGGCGAGGTGGCGACACCTGCTGATATATCTT
AAGAACCAGGCAAGCCGGCTTACAACATCTACCCGACGGCATAACCGATGTACGACCCCTGTAC
AGTCCGACACTTCTTAAAGGGGTGAACACCTGAAAGACTTCCCAATCTGCCCGGGGAGATCTTC
AAGTATAAATGGACCGTGGAGTGGTGGATGGTCCCAAAAGTCCGATCCGAGATGCTTACCCGA
TATTTATCCAGCTTCTGAAACATGGAAGGGACCTGGCCAGCGGGCTGATGGGCCACTGCTGAT
TCTTACAAGGAGTCTGCGATCAAAAGAGGAAAACCAATATAGCGGCAAAACCTAACGTCATCCTG
TTCAGCGTCTTGGATGAGAAFGAAGCTGGTACCTCACAGAAAATATTACGCGGTTCTGCTTAC
CCCGCAGCGCTCCAGCTGGAAGATCCCGACTTCCAAAGCTTCAACATCATGCAATAGCATCAACGGA
TACCTATTGATAGCTGACGCTGCTCCCTCTCTCTCAATGAAGTGGCATAATGGTACATCCTGAGT
ATCGGGCGCAGACCGACTTCTGAGCGTGTCTTTCTGGATACACGTTCAAAACAAAATAGGCTC
TATGAAAGTACCTGACTCTGTTTCCATCTCAGGAGAGACAGTCTTATGAGTATGAAAATCTCT
GGACTGTGGATCTGGCTGTCAAAATCTGATTTTCGGAAACAGAGCATGACAGCCCTGCTTAA
GTGAGCTCATGGACAAAGACCGGTTTACTACGAAAGATAGCTATGAGGACATCAGTGGCTAT
TTGCTCTCAAGAACAACGCTATCGAGCCAGGCTTTTCACTCAGAAATCTCCCGTCTGAAAGCGG
CATCAGCGGCAAAATACACGCCAACAACCTTCACTCAGACCAAGAGGAAAATCGATACGATGATCT
ATCTCTGTGGAGTGAAGAGGGAGGATTTGACATTTACGACGAGGACGAGAAATCAGTCCCAAGG
AGCTTTCAGAAGAAAACAGACACTATTTTATTTGCCGCGGTGGAGCGACTGTGGACTACGGCATG

Фиг. 18А

TCTAGCTCTCCGATGTACTTAGAAATAGGGCACAAAGCGGATCCGTCCTCAGTTTAAAGAAAGTT
GTCTTTCAGGAGTTTACAGATGGTCTCTTCAACCCAGCCCTTGTATCGGGGGAACCTCAATGAACAC
CTGGCCCTCTCGGTCCTTATATTAGGGCCGAAAGTCCGAGGACAAATATCATGTTGACCTTTAGGAA
CAGGCATCTAGACCTTACTCTTCTACTCTCCCTGATACTTATGAGGAGGACCAAGCGGCAAGGC
GCTGAGCCTCGGAAGACTTGTGAAGCCAAATGAAAGCCAAAACATACTTTTGGAAAGTTCAAGCAC
CACATGGCTCCCAAGGAGGACGAATTTGACTGTAAAGCCGCGGCTACTTCTCAGATGTAGATCTC
GAGAAAGACGTCGACTCAGGGCTCATTTGGTCCCTCTGGTCTGTACATACTAATACCTCAATCCA
GCACACGACGTCAGGTAACCGTCCAGGAATTTGCCCTGTCTTTTACCATTTCGATGAGACTAAA
TCTGGTACTTTACCAAAAACATGGAGAGGAATTCAGAGCCCATGCAACATCCAGATGGAGGAC
CCTACCTTCAAAGAGAACTATCGCTTCCATGCCATTAACGGTTACATTTATGGATCTCTCCAGGA
CTTTGTGATGGCACAGGATCAGCGGATAAGATGGTATCTGTTGAGCATGGCTTCCAAACGAGAAATAT
CACAGCATCCATTTCTCCGGTCACTGTTTACAGTGAAGAAAGAAAGAGTACAAAGTGGCTCTG
TATAATCTCTATCCAGCGGATTTGAAACGGTGGAGATGTTGCCATGCAAGGCCGGCATTGGCGGA
GTAGAAATGCTTATCGGGGAACATCTGCATGCCGGAATGAGCAGCTCTTCTGGTGTATAGTAAC
AAGTGGCAGACTCCGCTGGGCATGGCATCTGGCCATATACGGGACTTTCAGATTAACGGCTAGCGGG
CAGTATGGGAGGGGACCCCAAACTTGCAGGACTGCACATTCAGGCTCATCAATGCATGGTCC
ACCAAGGAACCTTCTCTTGGATTAAGGTGGACCTTTGGCGCCCATGATAATCCATGGGATCAAA
ACCCAGGGCGCTCGTCAAAATTTCTATCACTCTACATCTCTCAGTTTCAATAATGTATTTCACTG
GATGGGAAGAAATGGCAGACTTACAGAGGAAACAGACCCGGGACGCTGATGGTGTCTTTGGCAAC
GTGGACAGCAGCGGCTCAAAACACAACATCTTCAATCCTCCCATTTATGCCCGTATATAGACTG
CATCCCACTCACTACTCTATACGACGACACTTAGGATGGAGCTCATGGGATGGCAGCCTGAACAGT
TGTAGTATGCCCTTGGGATGGAGTCCAAAGCTATAAGCCAGCCACAAAATACAGCTAGCTCTTAC
TTTACGAATATGTTCCGCCAGTGGAGCCCAAGCAAAGCCCGGCTGCATTTGCAGGGTGGGAGTAA
GCTTGGCGCCCAAGGTGAATAACCTTAAGGAATGGTTGCAAGTATGATTTCCAGAAAACATGAAG
GTAACCGGGCTCACTACACAGGGAGTCAAGTCCCTCTTGACCTCTATGTACCTCAAGGAGTCTCTG
ATTAGCAGCAGTCAAGGATGGGACCAATGGACACTGTTCTTCCAGAAATGGGAAAGTTAAAGTATTT
CAGGGTAAACAGGACTCTTTACACCTGFGTGAATAGCCTGACCCACCCCTGCTGACACGATAC
CTCCGCACTCCACCTCAGTCTTGGTGCATCAAAATGGCCGCGAATGGAGGTGTGGGATGGCAA
GCTCAGGACCTCTACTGA (SEQ ID NO: 15)

Фиг. 18В

CS11-FL-NA

ATGCAGATCGAAGTCTCTACTTGTCTTCTTCCTGTGCCTTCTGAGGTTCTGCTTCTCTGCCACTCGC
CGATATTACCTGGGGCCGTGGACTTGGAGTGGGACTACATGCAATCAGATCTGGGCGAACTCCCT
GTGGATGCCCGATGCCACCAGCCGCTGCCCAAGTCTTCCCATTTAATACATCTGTGGTGTACAAG
AAGACATGTGTTGGAGGTTTACCGATCACCTGTTCAACATCGCCAAACCGCGGCCCCATGGATG
GGTCTGCTTGGGCCACCATTCAAGCGGAGGTTCTATGATACAGTGGTGATAACGCTTAAGAACATG
GCGAGCCACCAGTGTCTCTGCATGCCSTTGGTGTATCATATGGGAAGGCCAGCGAAGGAGCGGGAG
TACGATGACCCAGACTCTCAGAGAGAGAGGAGGAGCGATAAGGTTTTTCCCTGGCGGAAGTCATACA
TATGTATGGCAGTCTGAAAGAGAATGGCCGATGGCTTCTGACCCCTTTGTCTTACCTATAGT
TATCTGAGCCACCTGGACCTGGTCAAGGACCTCAACAGTGGTCTGATGGGGCTCTGCTGTCTTGT
AGAGAGGTAGCTTGGCTAAGGAGAAAACCCAAACACTCCATAAGTTCATTTTGTCTTGGCGGTG
TTCGACGAGGAAAGATTGGCAAGCGAAACAAAGAAATTCAGTGTGCAAGACAGGGACCGCCCT
TCCGCAAGGGCTTGGCTAAGATGCATACGGTGAATGGGTATGTGAACCGGAGCCCTCCCGGGCTG
ATCGGGTCCCATGCCAAGTCTGTTTACTGGCAGGTCATGGAAATGGGACAACCGCAGAGGTACAT
AGTATATTTCTTGAAGGCCACAGTCTCCTGCTACGGAACCCAGCAGGCTTCCCTGGAGATAAGC
CCCATTACCTTCTGACCCGCTCAGACTCTGCTGTATGGACCTTGGCCAGTTTCTCCCTGTCTGCCAT
ATTAGCAGCCACCAGCAGCGGTATGGAAAGCATACGTTGAAAGTGGATAGTGTCTCTGAGGAGCCT
CAGCTCAGAAATGAAGAACAACGAGGAGGCCGAAGACTATGACGATGACCTTACAGATCCGAGATG
GACCTGGTGGCTTTGACGACGATAACAGTCTTAGTTTCATTCAAATCAGATCCGTAGCCAAAAG
CATCCAAAGACATGGGTGCATTCATTTGACCGCAAGAGGAGGATGGGATATGGCCCTTGGT
CTGGCTCCAGATGACAGGAGCTATAACTCCAGTACTTGAACAACCGGCCACAGCGAATCGGTAGA
AAATATAAGAGGTAAGATTCATGGCCCTACACTGACGAAACATTTAAACCCAGGGAAGCTATCCAA
CACGAAATCTGAAATTTCCGGCCCTCTGCTCTAGGGTGGGTTGGGGGACACCTTGGCTGATCATTTTC
AAAAATCAGGCATCCAGGCTTACAACATATACCCCATGGCATCACCGATGTCCGCCCCGTGTAT
TCCAGAAGACTCCCAAGGGAGTGAACATCTGAAAGATTTTCCCATCTTCCCGGGCGAGATCTTT
AAATACAAATGGACTGTGACTGTAGAGGACGGCCCTACAAAATCAGACCCACGGTGTCTGACAAAG
TATTACAGTAGCTTGTCAACATGGAACCGGACCTCCGACGCGGACTCATGGCCCACTGTTGATC
TCTTACAAGAGTCACTGGATCAGAGGGGAAATCAGATCACTGAGCGAATAGAGAAAACGTTATCCTG
TTTAGTGTCTTCGACGAGAACCCTGCTTGGTACCTTACTGAGAACATCCAGAGGTTCTGCTCCGAAAT
CCGGCTGGCGTTCAGCTCGAGGACCCAGAGTCCAGGCCAGTAAATATAATGCATCTCAATCAACGGT
TATGTGTTCGATAGCTTCGACCTGAGCCCTCTGCTCCAGGAGGTAGCCATTTGGTACATATTTGCT
ATCCGGGCTCAGACCGATTTCTGCTCCGGTCTCTTAGCGGGTATACCTTTAAACATAAAAAGGTC
TATGAAGACACCTGACCCCTTCCCATCTCCGGTGAAGCTGTGTTTCATGTCCATGGAGAACCCA
GGGCTGTGGATCTTGGGCTGTCAATAGTGAATTTAGGAAATCGGGGAATGACGGCACTGCTGAAG
GTGAGTCTTTCGATAAAAATACAGGAGATTAATAAGGATAGTACGAGGATATCAGTGTCTAT
CTGCTTTCAAAAACAAACGCAATTAAGCCCGGCTCTTCTCACAAAACCCCGGCTGCTGAAGCC
CACAGCCGCAAAATACCCGGACAACCTTCCAGTCCGACAGGAGGAAATCGATATGACGATACT
ATCAGTGTGAAAATGAAAAGGAGSATTTGTATTTACGACGAAAGCAGGAACCAAGTCTCCCGCA

Фиг. 19А

AGTTTTCAGAAGAAAACCGGACACTACTTTATAGCTGCCGTGGAACGACTCTGGGATTTATGGCATG
TCCCTCCAGCCCTCATGTCTCTTAGGAATCGAGCGCAGAGTGGCTCTGTGCTCTGTTCAAAAAGGTT
GTGTTCCAGGAAATTCACCGACGGCTCATTTACCCAGCCGCTGTACAGAGGCGAAGTCAACGAACAC
CTTGGGCTGCTTGGGCCATATATTCGAGCAGAGGTTGGAAGATAATATCATGGTAACCTTTAGAAAC
CAGGGCTCAAGACCTATTTCTTCTACAGTCTCTGTATCAGCTACGAGGAGGACCAAGACAGGGA
GCTGAACCCAGGAAGAACTTTGTGAAACCTAATGAGACCAAGACCTACTTCTGGAAGTCCAGCAC
CATATGGCCCAACTAAAGATGAATTCGATGGCAAGCCCTGGGCTTATTTACGCGACTGGATCTCT
GAAAAGGATGTGCACAGCGGGTTGATCGGACCGCTTTGGTGTGCCACACAAATACCTTCAATCTT
GCCACCGGCGGCAAGGTCACAGTTCAGAGTTCGACTCTCTTTACAATATTTGACGAGACAAAG
TCAATGGTATTTTACAGAGAAATAGGAGAGAAATTTGCTGGCACCTTGCACCATTCAGATGGAGAC
CCGACATTTAAGGAGAATACAGATTTCAATGCTATCAATGGGTACATATGGATACTCTGCTGGT
CTGGTCAATGGCCAGGATCAGCCATAAGTGGTACTTCTGAGCATGGGATCTAATGAGAATATA
CACAGCATTCATCTCAGTGGCCACGTTTACTGTGTAGAAAAGAGGAGGATACAAAATGGCGCTC
TACAACCTTTACCCGGGTGTGTTTGGACAGTGGAGATGCTGCCAAGCAAGGCAAGGATCTGGAGG
GTGAGTGTCTTATGGGAGCACTGCAATGCTGGAATGTCCACCTCTTCTTGTGTACAGCAAT
AAGTGGCAGACACCGCTTGGCATGGCCAGCGCCACATTAGGGACTTTTACAGATAACTGCCAGTGG
CAGTACGGCCAGTGGGCTCCCAAGCTTGCAGACTCCACTACTCCGGAAGCATAAACGATGGAGC
ACCAAGGAACCTTCTCTTGGATTAAGTGGACCTGCTGGCCCAATGATCATTCACGGCATAAAA
ACCCAAAGGGCACGACAGAAATTTTCACTTTGTATATTAGTCAGTTTATCATCATGTACAGCTTG
GATGGAAGAGAGTGGCAGACGTACAGGGGCAATCTACAGGAACACTTATGCTGTTTTTTGGGAAT
GTGATTCAGCGGGATCAAACATAACATCTTCAATCTCTTATATCGCCGATATATCCGCTG
CACCTTACGCATTAATCCATCAGTCCACATTAAGAAATGAACTGATGGGTGGACCTGAAATAGT
TGTAGTATGCCACTGGGCATGGAGTCTAAAGCCATCAGCGATGCAACAGATCACTGCCAGCTCTTAC
TTACCAACATGTTTGCACACTTGGTCCCTCTTAAAGCTCGCTGCACTCTGAGGGAGCTCAAAAT
GATGGCGACCAAGGTAACCAATCCAAAAGAGTGGCTCCAGGTGCACTTTCAAGAGCAATGAAG
GTAACAGGAGTGCACACCCAGGGTGTAAAAGCCCTCTTACGAGTATGTACGTTAAGGAGTTTTCTG
ATTTCTAGCTCCGAGGACGGACCCAGTGGACTCTGTCTTCTCAGAAAGCGCAAGTGAAGGTATTT
CAGGGAACCCAGGATCTTTTACCCCGTAGTGAATAGCTGGATCCACCGTTGCTGACCCGCTAT
CTGAGAAATCATCCACAATCCCTGGGTGCATCAGATTTGCCCTCCGGATGGAAGTGTCTGGCTGTGAA
GCTCAGGATCTGTATTAG (SEQ ID NO:16)

Фиг. 19В

CS40-FL-NA

ATGCAAAATAGAGCTCTCCACCTGCTTCTTCTGTGCCTTTTGGGATCTGTCTTGTAGTGCACCAGA
AGATACTACCTGGGTGCAGTGGAACTGTCAATGGGACTATATGCAAAAGTGATCTCGGTGAGCTGCCT
GTGGACCGCAAGATTTCCCTCCTAGAGTGCACAAATCTTTTCCATTCAACACCTCAGTCTGTACAAA
AAGACTCTGTTTGTAGAATTACCGGATCACCTTTTCAACATCGCTAAGCCRAGGCCACCTCGATG
GGTCTGCTAGGTCTACCATCCAGGCTGAGGTTTATGATACAGTGGTCACTTACACTTAAGAACATG
GCTTCCCATCTCTCAGTCTTCAATGCTTGTGGTGTATCTACTGGAAAGCTTCTGAGGGAGCTGAA
TATGATGATCAGACCCAGTCAAGGGGAGAAAGAGATGATAAAGTCTTCCCTGGTGGAAAGCCATACA
TATGCTGTGGCAGGCTCTGAAAGAGAATGGTCCAATGGSCCTGTGACCCACTGTGCCTTACCTACTCA
TATCTTTCTCATGTGGACCTGGTAAAAGACTTGAATTCAGGCCTCATTTGGAGCCCTACTAGTATGT
AGAGAAGGGAGTCTGGCCAAAGGAAAAGACACAGACCTTGCACAAATTTATACTACTTTTGTCTGTA
TTTGTATGAAGGAAAAGTTGGCAGTCAAGAAACAAAGAACTCCTTGTATGCAGGATAGGGATGCTGCA
TCTGCTCGGGCCTGGCCTAAAATGCACACAGTCAATGGTATGTAACAGGCTCTCTGCCAGGTCAG
ATTGGATGCCACAGGAAATCAGTCTATTGGCATGTGATTTGGAATGGGCACCCTCTTGAAGTGCAC
TCAAATTTCTCGAAGGTCAACATTTCTTGTGAGGAACCATCGCCAGGCTCTTGGAAATCTCG
CCAATAACTTTCCCTACTGCTCAAAACACTCTTGTATGGACCTTGGACAGTTTCTACTGTTTGTCTAT
ATCTCTTCCCACCAACATGATGGCATGGAAAGCTTATGTCAAAAGTAGACAGCTGTCCAGAGGAAACC
CAACTACGAATGAAAAATAATGAAGAAGCGGAAGACTATGATGATGATCTTACTGATTTGAAATG
GATGTGGTCAAGTTTGTATGATGACAACCTCTCCTTCTTTATCCAAATTCGCTCAGTTGCCAAGAAG
CATCTAAAACCTTGGGTACATTTACATTTGCTGCTGAAGAGGAGGACTGGGACTATGCTCCCTTAGTC
CTCGCCCCGATGACAGAAGTTATAAAGTCAATATTTGAACAATGGCCCTCAGCGGATTTGTTAGG
AAGTACAAAAAAGTCCGATTTATGGCATAACAGATGAAACCTTTAAGACTCTGTAAGCTATTTCAG
CATGGAATCAGGAACTTGGGACCTTACTTTATGGGGAAGTTGGAGACACACTGTTGATTATATTT
AAGAATCAAGCAAGCAGACCATATAACATCTACCCCTCACGGAATCACTGATGTCCGCTCTTGTAT
TCAAGGAGATTTACCAAAAGGTGTAAAAACATTTGAAGGATTTTCCAATTTCTGCCAGGAGAAATATC
AAATATAAATGGACAGTGTACTGTAGAAGATGGGCCAACTAAATCAGATCTCTCGGTGGCTGACCCCG
TATTACTCTAGTTTCCGTTAATATGGAGAGAGATCTAGCTTCAAGACTCATTTGGCCCTCTCCTCATC
TGCATCAAAAGAACTCTGTAGATCAAAAGAGGAAACAGATAATGTCAGACAGAGGAAATGTCATCTCG
TTTTCTGTATTTGATGAGAACCAGGCTGGTACCTCACAGAGAAATACAAACGCTTTCTCCCAAT
CCAGCTGGAGTGCAGCTTGGGATCCAGAGTTCCAAAGCTCCAACATCATGCACAGCATCAATGGC
TATGTTTTGATAGTTTGCAGTTGTCTGTTTGTTCATGAGGTGGCATACTGGTACATTTCTAAGC
ATTTGGAGCAGACACTGACTTCCCTTCTGCTCTCTCTCTGGATATACCTTCAAAACAAAAATGGTC
TATGAGACACACTCACCCCTATTTCCATTTCTCAGGAGAACTGTCTTCTATGTCGATGGAAAACCCA
GGTCTATGGATTTCTGGGGTCCACAACTCAGACTTTCGGAACAGAGGCATGACCCCTTACTGAAG
GTTTCTAGTTTGTACAAAGAACTGGTATTTATACGAGGACACTTATGAAGATATTTCCAGCATAC
TTGCTGAGTAAAAACAATGCCATTTGAACCAAGAGCTTCTCCAGAAATCCACCAGCTTTGAAACGC
CATCAACGGGAAATACTCTACTACTCTTCTCAGTCAGATCAAGAGGAAATTTACTATGATGATACC
ATATCAGTTGAAATGAAGAAGGAAGATTTTGCATTTATGATGAGGATGAAAAATCAGAGCCCCCGC
AGCTTTCAAAAGAAAACAGACACTATTTTATTTGCTGCACTGGAGAGGCTCTGGGATTTATGGGATG

Фиг. 20А

AGTAGCTCCCCACATGTTCTAAGAAACAGGGCTCAGAGTGGCAGTGTCCCTCAGTTCAAGAAAAGTT
GTTTTCCAGGAATTTACTGATGGCTCCTTTACTCAGCCCTTATACCCGTGGAGAACTAAATGAACAT
TTGGGACTCTCGGGGCCATATATAAGAGCAGAAAGTTGAAGATAATATCATGGTAACCTTTGAGAAAT
CAGGCCCTCTCGTCCCTATTTCCCTTCTATTTAGCTTATTTCTTATGAGGAAAGATCAGAGGCCAAGGA
GCAGAAACCTAGAAAAAACTTTGTCAAAGCCTAATGAAACCAAACTTACTTTTGGAAAAGTCAACAT
CATATGGACACCCACTAAAAGATGAGTTTACTTCAAAAGCCTGGGCTTATTTCTCTGATGTTGACCTG
GAAAAAGATGTGCACTCAGGCTGATTTGGACCCCTTCTGGTCTGCCACACTAACACACTGAACCTT
GCTCATGGGAGACAAAGTACAGTACAGGAATTTGCTCTGTTTTTCCACCATCTTTGATGAGACCAAA
AGCTGGTACTTCACTGAAAAATGGAAGAAACTGACGGGCTCCCTGCAATATCCAGATGGAAGAT
CCCACTTTTAAAGAGAATTTATCGCTTCCATGCAATCAATGGCTACATAATGGATACACTACCTGGC
TTAGTAAATGGCTCAGGATCAAAAGGATTCGATGGTATCTGCTCAGCATGGGCAGCAATGAAAACATC
CATTTCTATTTCACTTGGACATGTGTTCACTGTACGAAAAAAGAGGAGTATAAAAATGGCAGT
TACAATCTCTATCCAGGTGTTTTTGGACAGTGGAAATGTTACCATCCAAAGCTGGAAATTTGGGG
GTGGAATGCTTATTTGGCGAGCATCTACATGCTGGGATGAGCACACTTTTCTGGTGTACAGCAAT
AAGTGTCAAGCTCCCTGGGAATGGCTTCTGGACATAGAGATTTTCCAGATTACAGCTTCAGGA
CAATATGGACAGTGGGCCCAAGCTGGCCAGACTTCAATTTCCGGATCAATCAATGCTGGAGC
ACCAAGGAGCCCTTTCTTGGATCAAGTGGATCTGTTGGCACCAATGATTTTCCAGGCATCAAG
ACCCAGGGTGGCCCTCAGAAGTTCTCCAGCCCTACATCTCTCAGTTTATCATCATGTATAGTCTT
GATGGGAAGAAAGTGGCAGACTTATCGAGGAAATTTCCACTGGAACTTAAATGGCTTCTTTGGCAAT
GTGGATTCATCTGGGATAAAACACAATATTTTAAACCTCCAATTTATGCTCGATACATCCGTTTGG
CACCCAACTCATTTAGCATTTCCAGCACTCTTCCGATGGAGTTGATGGGCTGTGATTTAAATAGT
TGCAGCATGCCATTTGGGAATGGAGGTAAGCAATATCAGATGCACAGATTTACTGCTTCACTCTTAC
TTTACCAATATGTTTTGCCACCTGGCTCTCTTCAAAAAGCTGACTTCACTTCAAGGGAGGAGTAAT
GCCCTGGAGACTCAGGTGAATTAATCAAAAGAGTGGCTGCAAGTGGACTTCCAGAGACAAATGAAA
GTACAGGAGTAACTACTCAGGAGTAAATCTCTGCTTACCAGCATGTATCTGAAGGAGTTCTCTC
ATCTCCAGCAGTCAAGATGGCCATCAGTGGACTCTCTTTTTTTCAGAAATGGCAAAGTAAAGTTTTT
CAGGGAAATCAAGACTCTTTCACACCTCTGGTGAACCTCTAGACCCACCCTTACTGACTCGCTAC
CTTCCGAATTCACCCCCAGAGTTGGGTGCACCAAGATTTGCCCTGAGGATGGAGGTTCTGGGCTGCCAG
GCACAGGACCTTACTGA (SEQ ID NO:17)

Фиг. 20В

CH25 - FL - NA

```

ATGCAGATCGAGCTGTCCACATGCTTTTCTGTGCCTGCTGGGGTCTGTCTTCAGCGCCACCCGG
CGGTACTACCTGGGCGCGCTGGAGCTGTCTGGGACTACATGCAGAGCGACCTGGGCGAGCTGGCC
GTGGACGCCCGGTTCGCCCCACAGAGTGCCTCAAGAGCTTCCCTTCAACACCAGCGTGGTGTACAA
AAAACCCCTGTTCGGTGGAGTTCACCGACCCCTGTTCACATCGCCAAAGCCAGGCCCCCTGGATG
GGCTGCTGGGCCCCACCATCCAGGCCGAGGTGTACGACACCGTGGTGTATCCCTGAAGAACATG
GCCAGCCACCCCGTGGACCTGCACGCCGTGGCGTGAAGCTACTGGAAGGCCCTCCGAGGGCCCGGAG
TACGACGACCCAGACCCAGCCAGCGGGGAGAAGAGGACGACAAAGTCTTTCTGGCGGACCCACACC
TACGTGTGGCAGGTCCCTGAAGAAGAAACGGGCCCATGGCTCCGACCCCTGTGCTGACCTACAGC
TACCTGAGCCAGCTGGACCTGGTGAAGGACCTGAACAGCGGGCTGATTTGGGCCCCTGCTGGTCTGC
CGGGAGGGGACCTGGCCAAAGAGAAAACCCAGACCTGCACAAATTCATCTGCTGTTCGCCGTG
TTCGACCGAGGGCAAGAGCTGGCACAGCGAGACCAAGAACAGCTGATGCGAGGACCGGGACCGCCG
TCTGCCAGAGCTGGCCCAAGATGCACACCGTGAACGGCTACGTGAACAGAGCCCTGCCCGGCTG
ATTGGCTGCCACCGAAGAGCCGTGTACTGGCACGTGATCGGCATGGGCACCCACACCCGAGGTGCAC
AGCATCTTCTGGAAAGGGCACACCTTCTGGTGGGAAACCCCGGACCGCCAGGCTGGAAATCGAC
CCTATCACCTTCTGACCGCCACAGACCTGCTGATGGAOCTGGGCCAGTTCCTGCTGTTTTGCCAC
ATCAGCTCTCACCAGCAGCAGCGCATGGAACTACGTGAAGGTGGACTCTGCGCCGAGGAAACCC
CAGCTGGGATGAAGAACAACCGGAAGCCGAGGACTACGACGAGGACCTGACCGACAGCGATG
GACCTGGTGGCTTCGACGACGACAAACGCCCCAGCTTCTATCCAGATCAGAAAGCGTGGCCAAAG
CACCCCAAGACCTGGTGCACACTACATCCCGCCGAGGAAGAGGACTGGGACTACGCCCCCTGGT
CTGCCCCCGACGACAGAACTACAGAGCCAGTACCTGAACAATGGCCCGCCAGCGGATCGGCCGG
AAGTACAAGAAAGTGGCTTCAATGSCCTACCCGACCGAGACCTCAAGACCCGGGAGGCCATCCAG
CAGGAGAGCGGCATCTGGGCCCCCTGTGTACGGCGAAGTGGCGGACACACTGCTGATCATCTTC
AAGAACCCAGCCAGCCGCGCTACAACATCTACCCCCACGGCATCAGCGACGTGGGCCCCCTGTAC
AGCAGGGCGGTGCCCAAGGGCGTGAAGCACCTGAAGGACTTCCCATCTGCCCGGCGAGATCTTC
AAGTACAAGTGGACCTGTGACCTGGAGGACCGCCCAACAGAGCGACCCAGATGCTGACCCGG
TACTACAGCAGCTTCGTGAACATGGAAAGGACCTGGCTCCGGGCTGATCGGACCTCTGCTGAT
TGCATACAAAGAAAGCGTGGACCGGGGCAACAGATCATGAGCGACAAGCGGAACTGATCGATG
TTCAGCGTGTTCGATGAJAAACCGCTTCTGGTATCTGACCGAGAACATCCAGCGGTTCGCCAAC
CCTGCCGGGTGCAGCTGGAAAGTCCCGACTCCAGGCAGCAACATCATGCATCCATCAATGGC
TACGTGTTCACAGCCCTGCAGCTGTCCGTGTCTGACGAGGTGGCCACTGGTACATCTGAGC
ATCGGCCGCCAGACCCGACTTCTGAGCGTGTCTTCAGCGGCTACACCTTCAAGCACAAAGTGTGT
TACGAGGACACCCTGACCTGTTCCTTTCAGCGCGGAGACCGTGTTCATGAGCATGGAAAACCC
GGCTGTGSAATCTGGGCTGCCACACAGCGACTTCCGGAACCGGGGATGACCCCTGCTGAAG
GTGTCCAGCTGCGACAAAGAACACCGCGGACTACTACGAGGACAGCTACGAGGATATCAGCGCC
CTGCTGTCCAAGAACACCCCATCGAGCCGAGAGCTTCAGCCAGAACCCCTGTGCTGAAGCGG
CACCAAGAGAGATCACCCGGACCCCTGCACTCCGACCCAGGAAGAGATCGATACGACGACAC

```

Фиг. 21А

```

ATCAGCGTGGAGATGA AAAAAGAAAGATTTCCGACATCTACGACGAGGACGAGAACCAGAGCCCCGG
TCCCTCCAGAAAGAAAACCCGGCCTACTTATCGCCGCGCTGGAGCGGCTGTGGGACTACGGCATG
AGCAGCAGCCCCACCTGCTGGCGAACCGGGCCAGAGCGCGCAGCGTCCCCAGTTCAGAAAGTGT
GTGTTCAGGAATTCACCGACCGCAGCTTCACCCAGCCCTGTACCCGGGGAGCTGAACGAGCAC
CTGGGGCTGCTGGGGCCCTACATCAGGGCCGAAAGTGGAGGACAACATCATGGTGAACCTCCGGAA
CAGGCCAGCAGACCCCTACTCCTTCTACAGCAGCCCTGATCAGCTACGAGAGGACCCAGCGCGAGGG
CCTGAACCCCGGAAAGACTTCGTGAAGCCCAATGAGACCAAGACTACTTCTGGAAAGTGCAGCAC
CAGATGGCCCCACCAAGGACGAGTTCGACTGCAAGGCCCTGGCCACTTTCAGCGAGCTGGATGAG
GAAAAGGACGTGCACCTGGACTGATTTGGCCCTCTGCTGGTGTGCCACACCAACCCCTGAACCC
GCCACCGCGCGGAGGAGCTGACCGTGCAGGAATTCGCCCTGTCTTCCACATCTTCGACGAGACCAAG
TCTTGGTACTTTCACCGAGAATAAGAAACGAACTGCAGAGCCCTGCAACATCCAGATGGAAGAT
CCTACTTCAAAAGAGAACTACCGGTTCACCGCCATCAAGCGCTACATCATGGACACCCCTGCCTGGC
CTGGTGTGGCCAGGACAGAGGATCCCGTGGTATCTGCTGTCCATGGGCAGCAACGAGAAATATC
CACAGCATCCACTTCAGCGGCCACGTGTTCACCGTGGGAAGAAAGAGATCAAGATGGCCCTG
TACAACTGTACCCCGCGTGTTCGAGACCGTGGAGATGCTGCCAGCAAGGCCGATCTGGCGG
GTGGAGTGTCTGATCGCGGAGCACCCTGCATGCCGGATGAGCACCCTGTTCTGGTGTACAGCAAC
AAGTGCAGACCCCTGGGCAATGGCCAGCGCCACATCCGGGACTTCCAGATCACCGCCCTCCGGC
CAGTACCGGCAGTGGGCCCCCAAGCTGGCCCGGCTGGACTACAGCGCGGAGCATCAACCCCTGCTCC
ACCAAGAGCCCTTCACTGGAATCAAGGTGGACCTGCTGGCCCTATGATCATCCACGGCATTAAG
ACCCAGGGCGCCAGGCAAGATTCAGCAGCCCTGTACATCAGCCAGTTCATCATCATGTACAGGCTG
GACCGCAAGAAAGTGGCAGACCTACCGGGCAACAGCACCGGCCCTGATGGTGTCTTCCGGCAAC
CTGGACAGCAGCGGCATCAAGCACAACATCTTCAACCCCCCATCATCGCCCGGTACATCCGGCTG
CACCCACCCACTACAGCATCAGATCCACCCCTGGGATGGAACTGATGGGCTGGGACCTGAACCTC
TGCAGCTGCTCTGGCATGGAAAGCAAGGCCATCAGCGAGCCCGAGATCACAGCCAGCAGCTAC
TTCACCAACATGTTCCGCCACTGGTCCCCCTCAAGGCCAGGCTGCACCTGCAGGGCCGGTCCAAC
GCCTGGCGGCTCAGGTGAACACCCCAAGAAATGGCTGCAGGTGGACTTTCAGAAAACCATGAAG
GTGACCGGCTGACCCAGGCGCTGAAAGCCCTGCTGACCGAGCTTACGTGAAAGAGTTCTGTG
ATCAGCAGCAGCCAGGACCGCCACAGTGGACCCCTGTTCTTTCAGAACCGCAAGGTGAAAGTGTTC
CAGGGCAACAGGACTCTTCAACCCCTGGGTGAACCTCCCTGGACCCCCCTGCTGACCCGCTAC
CTGGGATCCACCCCGAGTCTGGGTGCACAGATCGCCCTGAGGATGGAAAGTGTGGATGTGAG
GCCAGGATCTGTACTGA (SEQ ID NO:18)

```

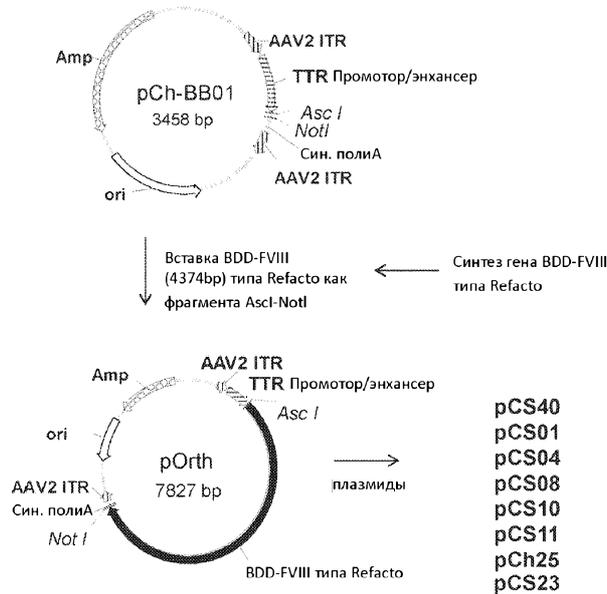
Фиг. 21В

FVIII-FL-AA

```

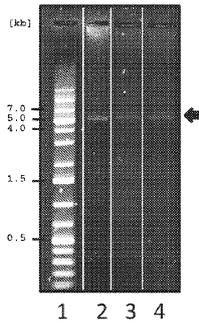
mqielstcfff lcllrfcfsa trryylgave lswdymqsdI geipvdarfp prvpkspfpfn
tsvvykktlf veftdhlfni akprppwagl lgptigaevy dtvvitlknm ashpvsihav
gvsywkaseg aeyddqtsqr ekeddkvfpq gshtyvwqvl kengpmasdp lcltysylsh
vdlvkdnag ligallvcre gslakektqt lkhfillfav fdegkswhse tknslmqdrd
aasarawpkm htvngyvnrS lpgligchrk svywhvigmg ttpcvhsifl eghtflvrnh
rqasleispi tfltagtilm dlqgflfich isshqhdgme ayukvdscpe epqlrmkne
eaedyddlt dsemdvvrfd ddnspsfiqu rsvakkhpkf wvnyiaaeed dwdyaplvia
pddrsyksqy lnnqpqrigr kykkvrmaay tdetfktrea iqhesgilqp llygevgdfl
liifknqasr pyniypghit dvrplysrll pkgvkhkldf pilpgeifky kwtvtvedgp
tkadprcltr yysfvnmmer dlasgligpl licykesvdq rgnqimsdkr nvilfsvfe
nrsawylteni qrfllpnpagv qledpefqas nimhsingyv fdsllqsvcl hevaywyils
igaqtdflsv ffsqytfkhh mvvedtltif pfsgetvfms menpgliwlg chnsdfnrg
mtallkvssc dkntgdyyed syedisayil sknnaieprs fsqnsrhpst rqqkfnatti
pendiektop wfahrtmpmk iqnvssdIl mlrgsptph glslsdigea kyetfsddps
pqaidsnnel seathfrpqi hhsqdmvftp esglqlrine klgttaatel kklDfkvst
snalistips dnlaagtont sslqppampv hydsqldttl fgkksplte sggplsisee
nndskllesg lmsqesswg knvstesgr lfkgkrahgp alitkdnaif kvsislktn
ktsnnsatnr kthidgpsll ienspsvwgn ilestdtefkk vtplihdrml mdknatafl
nhmsnktts knmemvqqkk egppppdaqn pdmsffkalf lpesarwiqr thgknslnsg
qqpspkqlvs lqpeksvegg nflsekknkv vqkgeftkdv glkemvfps rnlfltnldn
lhennthnce kkiqeeiekk etliqenvvl pgihtvtgk nfmknlflis trqnvegsyd
gayavplqdf rslndstnrt kkhtahfskk geeenleglg nqtqkiveky acttrispnt
sqgnfvtrsr kralqgfllp leetelekri ivddtstqws knmkhltpst ltqidyneke
kgaitqspIs dcltrshsip qanrspIpia kvssfpSIRP iyItrvlfgd nsshpaasy
rkKdsqvqes shflqqakkn nlsIaiitle mtgdqrevgs lgtSatsnvt ykkventvip
kpdlpktsqk vellpkvhiy qkdlftets ngspghldlv egslIqgteg aikwneanrp
gkvpflrvat essaktpskl ldplawdnhy gtqipkeewk sqekspekta fkkkdtIlsI
nacesnaha ainegqnkpe ievtwakqgr terlcsqnpv vlkrhgreit rttIqsdgee
idyddtisve mkkedfdiyd edengsprsf qkktrhyfia averIwdygm sssphvlrnR
aagsgvppqfk kvvfqeftdg sftqplyrge lnehlgllgp yiraavednI mvtfrnqasr
pysfyssllis yeedqrqgae prknfvkpne tktyfwkvqh hmaptkdefd ckawayfsdv
dlekdvhsgl igpIlvchn tlnpahgrqv tvgefalfit ifdetkswyf tenmerncra
pcnigmedpt fkenyrfhai ngyimdtlpg lvmagdqrir wylilmsgsne nihsIhfsgH
vftvrkkeey kmalynlypg vfetvemlps kagiwrvecl igehlhags tlflyvsnkc
qtplgmasgh irdfqitasg qyggwapkla rlhysgsina wstkepfswi kvdlIapmii
hgiktqgarq kfsslyisqf IImyslDgkk wqtyrgnstg tlmvffgnvd ssgikhnifn
ppIiaryirl hpthysirst lrmelmqcdl nscsmplgme skaisdaqit assyftnmfa
twspskarlh lqgrsnawrp qvnpkewiq vdfgktnkvt gvttgqvkSl ltsmyvkefl
isssqdgqhw tIffqngkvk vfqgnqdsft pvvnsldppl ltrylrinhq swvnhqialrm
evigceaqdl y (SEQ ID NO:19)
    
```

Фиг. 22

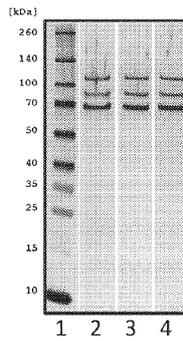


Фиг. 23

038288



Фиг. 24



Фиг. 25

CS23-FL-NA

```
atgcagattgagctgagcaacctgcttcttccctgtgacctgctgaggtcttgcttctctgccaccagg
agataactacctgggcccgtggagctgagctgggactacatgcagctctgacctgggcgagctgacct
gtggacgccagggtcccccccagagtgcccagagcttccccctcaacacctcagtggtgtacaag
aagaccctgttcgtggagttcacgcaccacctgttcaacatcgccaagcccaggccccctggatg
ggcctgtgggcccccaccatcccaggccaggtgtacgcacacctgggtgatccacctgaaagaactg
gccagccaccccgtgagcctgcacgacctggcctgagctactggaagacctctgagggcccgag
tatgacgaccagaccagccagaggggagaagggagcgcacaagggtgtccccggccggcagccacacc
tacgtgtggcagggtgctgaaggagaacggccccatggccagccgacccccctgtgacctgacctacgsc
tacctgagccacgtggacctgggtaaggaacctgaactctggcctgatcggccacctgctgggtgtgc
agggagggcagcctggccaaaggagaagaccagacctgcacaagtcaatcctgctgttcgcccgtg
ttcgatgagggcaagagctggccacggagaccsaagaacagacctgatgcaggacagggatgccccc
tctgccagggcctggcccaagatgcacacctgaaacggctacgtgacagggacctgcccggcctg
atcggctgccacaggaagtctgtgactggcacgtgatcggcatgggcaccaccccggaggtgcac
agcatcttctggagggccacaccttctggtgaggaaccaagggcagggccagcctggagatcagc
ccccatcaacttctgaccccccagacctgctgatggacctgggcccagttcctgctgttctgccac
atcagcagccaccagcagcggcatggajggcctacgtgaaggtggcagctgccccgaggagccc
cagctgagggatgaagaacaacagggagggccgaggactatgatgatgacctgaccgactctgagatg
gacctggtgaggtttgatgatgaacaacagcccagcttcaatccagatcaggtctgtggccaaagaag
caccocaaagacctgggtgcactacatcgccggccgaggaggagactgggactacgccccctgtg
ctggccccccgacgacagggactacaagagccagtaacctgaacaacggccccccagaggatcgggcag
aagtaacaagaaggtcagatcaatggcctacaaccgacgagacctcaagaccagggagggccatccag
caccgagctggcactcctgggccccctgctgtacggcaggtgggcgacacctgctgatactctc
aagaaccagggccagggccctacaacatctacccccacggcatcaccgatgtgagggccccctgtac
agcagggagctgcccaggcgtgaagcaacctgaaggacttccccatcctgcccggcgagatcttc
aagtaacaagtggaacctgacctggagggatggccccaccaagttgacccccaggtgacctgaccagg
tactacagcagcttctgtgaacatggagagggacctggcctctggcctgatcggccccctgctgatac
tgctacaaggagagctgggaccagggggcaaccagatcagttctgacaaggagaaactgatcctg
ttctctgtgtcgaatgaagaacaggagctgglatctgaccgagaacatccagaggttccctgcccac
cccggccggcgtgcactggaggaaccccaggttccagggccagcaacatcagccacagcatcaacggc
tacgtgttcgacagctcgcagctgtctgtgtgacctgcacgaggtggcctactgggtacatcctgagc
atcggcccccagaccgacttctgtctgtgttcttctctgtgctacacctcaagcaacaagaggtg
tacgaggaacacctgacctgttccccctcagcggcagacacctgttcaatgagcatggagaacccc
ggcctgtggtcctggcctgcccacaacagcagcttcaggaaacaggggcatgaccgcccctgctgaaa
gtcagcagctgcgacaagaacacccggcactactacgaggacagctacgaggacatcagcgcctac
ctgctgagcaagaacaacggccatcagagcccagagcttcagccagaacccccccctgctgaaaggg
caccagagggagatcaccaggaaccacctgcagagcagaccagggagatcgactatgatgacacc
```

Фиг. 26А

atcagcgtggagatgaagaaggaggacttgcacatctacgacgaggaacagagccccagg
 agcttccagaagaagaccaggcacttctcatcgccgccgtggagaggctgtgggactatggcatg
 agcagcagccccacgtgttgaggaaacagggccagagcggcagcgtgccccagttcaagaaggtg
 gtgttccaggagtccaccgacggcagcttccaccagccccgtacagagcggagctgaacgagcac
 ctgggcccctgctgggccccatcaccagggccaggtggaggaacaacatcatggtgacctcaggaac
 cagjccagcagccccacagcttctacagcaacctgatcagctacgagggaggaacagagcagggc
 gccgagccccaggaagaacttcgtgaagcccaacgagaccaagaccttcttggaggtgcagcac
 cacatggcccccccaaggacaggttcgactgcaagccctgggaccttctctgatgtggacctg
 gagaaggacgtgcacagcggcctgatcgccccctgctggtgtgcccacaccaaacacctgaacccc
 gccacgjcagggcaggtgacctgacaggagtgcgacctgttcttccaccatcttcagcagagaccaag
 agctgjtacttccaccagagaacatggagaggaactgcajggccccctgcaacatccagatggaggac
 cccaccttcaaggagaactacaggttccaccgcatcaacggctacatcatggacacctgccccggc
 ctggtgatggccccaggaacagaggatcagggtggtatctgctgagcatgggcagcaacagagaacatc
 cacagcatccacttcagcggccacgtgttccaccgtgaggaagaaggagagatcaagatggccccg
 tacaacctgtacccccggctgttcagagaccgtggagatgctgcccagcaaggccccgcatctggagg
 gtggagtgcctgatcggcgagcaacctgcacggccgcatgagcaacctgttctctggtgtacagcaac
 aagtgcacagccccctgggcatggccagcggccacatcagggacttccagatccagccctctggc
 cagtaacggcccagtggycccccaagctggccagctgcactacagcggcagcatcaacggcctggagc
 accaaggagcccttcagctggatcaaggtggacctgctggcccccatgatcatccacggcatcaag
 acccagggccgacaggaagaagttcagcagcctgtacatcagccagttccatcatcatgtacagcctg
 gacggcaagaagtggcagacctacaggggcaacagcaacggccacctgatggtgttcttggcaac
 gtggacagcagggcatcaagcacaacatcttcaaccccccatcatcggcaggtacatcaggctg
 cccccccactacagatcagggacacacctgggagtggaactgatggctggcagctgaacagc
 tgcagcatgccccggcagtgagagcaaggccatctctgacggccagatcaccggcagcagctac
 ttcaccaacatgttcggccacctggagccccagcaaggccaggtgcacctgcajggcagggagcaac
 gcoctggagggccccaggtgaacaacccccagggagtgctgcaaggtggacttccagaagaccatgaag
 gtgacccggcgtgacccccagggcgtgaagagcctgctgaccagcatgtagctgaaggagttctctg
 atcagcagcagcaggaacggccaccagtgacctgttcttccagaacggcaagtgaaaggtgttc
 cagggcaaccagagcagcttccaccctggtggaacagcctggacccccccctgctgaccaggtat
 ctgaggatccacccccagagctgggtgcaaccagatcgccctgagaatggaagtgcctgggatggag
 gccacagacctgtactga (SEQ ID NO:20)

Фиг. 26B

CS23-FL-AA

MQIELSTCFFLCLRFCFSATRRYYLGAVELSWDYMQSDDLGELEFVDAR' FPPRVPKSFPFNTSVVYK
 KTLFVEFTDHLFNIAKPRFPWMGLLGPITQAEVYDVTVITLKNMASHPVSLHAVGVSYWKASEGAEY
 DDQTSQREKEDDKVFPGSHTYVWQVLKENGPMASDPLCLTYSYLSHVDLVKDLNSGLIGALLVCRE
 GSLAKEKTQTLHKFTLLFAVFDEGKSWHSETKNSLMQDRDAASARAWPKMHTVNGYVNRSLPGLIGC
 HKKSVMVHVIGMGTTPPEVHSIFLEGHTFLVRNHRQASLEISPIITFLTAQTLMLDLGQFLLFCHISSH
 QHDGMEAYVKVDSCEPEPQLRMKNNEEAEDYDDDLTDESEMDVVRFDNDNSPSTQIRSVAKKHPKTW
 VHYIAEEEEFDWYAPLVLAPEPNSYKSYLNNGPQRIGRKYKVRFMAYTDETFNTREAIQHESGIL
 GPLLYGEVGDTHLLIFKNQASRPYNIYPHGITDVRPLYSRRLPKGVKHLKDFPILPGEIFKYKWTVT
 VEDGPTKSDPRCLTRYSSFVNMERDLASGLIGPLLCYKESVDQRGNQIMSDKRNVI LFSVFDENR
 SWYLTENIQRFLPNPAGVQLEDPEFQASNTMHSINGYVFDLQLSVCLHEVAYWYILSIGAQTFELLS
 VFFSGYTFKHKMVEDETLTLPFSGETVFMSENFGLWILGCHNSDFRNRGMTALLKVSSCDKNTGD
 YYEDSYEDI SAYLLSKNNAIEPRSFQNPVVKRHRQREITRTTLQSDQEEIDYDDTISVEMAKKEDFD
 IYDEDENQSPRSFQKKTRHYFIAAVERLWDYGMSSSFHVLKNRAQSGSVFQFKKVVFEFTDGSFTQ
 PLYRGELEHLGLLGPYIRAEVEDNIMVTFRNQASRPYSFYSSLISYEEQKQGAEPKRNFKPNET
 KTYFVKVQHMAPTKDEFDCKAWAYFSDVDLEKDVHSGLIGPLLVCHTNTLNPFAHGRQVTVQEFALF
 FTIFDETKSWYFTENMERNCRAPCNIQMEDPTFKENYKFAINGYIMDPLPGLVMAQDQIRIWRVLLS
 MGSNENIHSIHFSGHVFTVRKKEEYKMALYNLYPGVFETVEMLPKAGIWRVECLIGELHAGMSTL
 FLVYSNKCQTPPLGMASGHIRDQITASGQYQWAPKLARLHYSGSINAWSTKEPFSWIKVDLLAPMI
 IHGIKTQGARQKFSSLYISQPIIMYSLDGKRWQTYRGNSTGTLMVFFGNVDSGKHNIFNPPIIAR
 YIRLHPTHYSIRSTLRMELMGCDLNSCSMPLQMESKAISDAQITASSYFTNMFTWSPSKARLHLQG
 RSNAWRPQVNNPKEWLQVDFQKTMKVTGVTTQGVKSLTSMYVKEFLISSQDGHQWTLFFQNGKVK
 VFQGNQDSFTPVVNSLDPPPLTRYLKIHPQSWVHQAIRMEVLGCEAQLDLY (SEQ ID NO:21)

Фиг. 27

CS23-HC-NA

```

                                gcc
accaggagat actacctggg cgcctggag ctgagctggg actacatgca gtctgacctg
ggcagctgct ctgtggagcc caggttcccc ccagagtgcc ccaagagctt ccccttcaac
acctcagtgq tgtacaagaa gacctgttcc gtggagttca ccgaccacct gttcaacatc
gccaagccca ggccccctg gatgggctg ctgggcccc ccatccaggc cgaggtgtac
gacaccgtgg tgatccctct gaagaacatg gccagccacc ccgtgagcct gcacgcctg
ggcgtgagct actggaaggg cctctgaggg gccogagtat acgaccagac cagccagagg
gagaaggagg acgacaaggt gttccccggc gccagccaca cctacgtgtg gcaggtgctg
aaggagaacg gccccatggc cagcagcccc ctgtgcctga cctacagta cctgagccac
gtggacctyg tgaaggacct gaactctggc ctgatcggcg cctctctggt gtgcagggag
ggcagcctgg ccaaggagaa gaccagacc ctgcacaagt tcatcctgct gttcgcctg
ttcagtgagg gcaagagctg gccacagcag accaagaaca gctctgatga ggcagggat
gccgcctctg ccagggcctg gcccaagatg cacaccctga acggctacgt gaacaggagg
ctgccccggc tgatcggctg ccacaggaag totgtgtact ggcacgtgat ccggtgctg
accaccccc aggtgcacag catcttctg gagggccaca ccttctctgt gaggaaacc
aggcaggcca gcctggagat cagccccatc accttctgta ccgcccagac cctgctgatg
gacctgggcc agttctctgct gttctgccac atcagcagcc accagcaga cggcatggag
gctacgtga aggtggacag ctgccccgag gaggccccagc tgaggatgaa gaacaacgag
gagggccgag actatgatga tgacctgacc gactctgaga tggacgtggt gaggtttgat
gatgacaaca gccccagctt catccagatc aggtctgtgg ccaagaagca ccccaagacc
tgggtgcact acatcgccgc cgaggaggag gactgggact acgccccctt ggtgctggcc
cccgacgaca ggagctacaa gagccagtac ctgaacaacg gcccccagag gatcggcagg
aagtacaaga aggtcagatt catggcctac accgacgaga ccttcaagac caggggaggc
atccagcacg agtctggcat cctgggcccc ctgctgtacg gcgaggtggg cgcacacctg
ctgatcatct tcaagaacca ggccagcagg ccttacaaca tctaccccc cggcatcacc
gatgtgagcc cctgtacag caggaggctg cccaagggcg tgaagcact gaaggaactt
ccatcctgc ccggcgagat cttcaagtac aagtggaccg tgaccgtgga ggtatggcccc
accaagtctg accccaggtg cctgaccagg tactacagca gcttctgtaa catggaggg
gacctggcct ctggcctgat cggccccctg ctgatctgct acaaggagag cgtggaccag
aacaggagct ggtatctgac cgagaacatc cagaggttcc tgccccacc cgcggcgtg
cagctggagg accccagatt ccaggccagc aacatcatgc acagcatcaa ccgctacgtg
ttcagacacc tgcagctgtc tgtgtgctg cagcaggtgg cctactggta catcctgagc
atcggggccc agaccgactt cctgtctgtg ttcttctctg gctacacct caagcacaag
atggtgtacg aggacacctt gacctgttc ccttccagcg gcgagacctg gttcatgagc
atggagaacc ccggcctgtg gatcctgggc tgcacaaca gcgacttcag gaacaggggc
atgaccgccc tgetgaaagt cagcagctgc gacaagaaca ccggcgacta ctacgaggac
agctacgagg acatcagcgc ctacctgctg agcaagaaca acccactcga gccccagg
(SEQ ID NO:22)

```

Фиг. 28

CS23-LC-NA

```

                                g
cagagcgacc agggaggat cgactatgat gacaccatca gcctggagat gaccacctg
gacttcgaca tctacgacga ggacgagaac cagagcccca ggagcttcca gaagaagacc
aggcactact tcatcgccgc cgtggagagg ctgtgggact atggcatgag cagcagcccc
cacgtgctga ggaacagggc ccagagcggc agcgtgcccc agttcaagaa ggtggtgtt
caggagttea ccgacggcag cttcaccagg cccctgtaca gaggcagct gaacgagcac
ctgggctgct tgggccccca catcagggcc gagggtggag acaacatcat ggtgacctt
aggaaccagg ccagcaggcc ctacagcttc tacagcagcc tgatcagcta cgaggaggac
cagaggcagc ggcggcagcc caggaaagac ttctgtaagc ccaacgagac caagacctac
tcttggaagg tgcagcacca catggccccc accaaggacg agttcgaact caaggcctg
gacctactct ctgatgtgga cctggagaag gacgtgcaca gcggcctgat ccgccccctg
ctggtgtgcc acaccaacac cctgaacccc gcccaaggca ggcaggtyac cgtgcaggag
ttcgccctgt tottaccat cttcagcag accaagagct ggtacttca cgaagaacatg
gagaggaaact gcaggcccc ctgcaacatc cagatggagg accccactt caagggaac
tacaggttcc acgcatcaa cggctacatc atggacacc tgcccgctt ggtgatggcc
caggaccaga ggatecagtg gtatctgctg agcatgggca gcaacgagaa catccacagc
atccacttca gcggccactg gttcaccgtg aggaagaagg aggagtaca gatggccctg
tacaacctgt accccggcgt gttcagagcc gtggagatgc tgcacagcaa gccggcctc
tggagggtgg agtgcctgat cggcagcacc ctgcacgccc gcctgagcac cctgttctg
gtgtacagca acaagtcca gacccccctg ggcctggcca gcggcccat cagggacttc
cagatcaccg cctctggcca gtacggccag tgggccccca agctggccag gctgcactac
agcggcagca tcaacgcctg gaggaccaag gaggccctca gctggataa ggtggacctg
ctggccccca tgatcatcca cggcatcaag acccagggcg ccaggcagaa gttcagcagc
ctgtacatca gccagttcat catcatgtac agcctggagc gcaagaaagt gcagacctac
aggggcaaca gcaccggcac cctgatgtg ttcttcggca acgtggacag cagcggcatc
aagcacaaca tottcaaccc ccccatcatc gccaggtaca tcaaggctga ccccacccc
tacagctaca ggaacacct gcggatggaa ctgatgggct gcgacctgaa cagctgcagc
atgccccctg gcatggagag caaggccatc tctgacgccc agatcaccg cagcagctac
ttcacaaca tgttcggcac ctggagcccc agcaaggcca ggtgcacct gcagggcagg
agcaaccgct ggaggcccc ggtgaacaac cccaaggagt ggtgcaggt ggaactccag
aagaccatga aggtgaccgg cgtgaccacc cagggcgtga agagcctgct gaccagatg
tacgtgaagg agttcctgat cagcagcagc caggacggcc accagtygac cctgttctc
cagaaccgca aagtgaagggt gttccagggc aaccaggaca gcttaccccc cgtggtgaac
agcctggacc cccccctgct gaccaggtat ctgaggatcc acccccagag ctgggtgac
cagatcggcc tgagatgga agtgcctgga tgcaggcccc aggacctgta c
(SEQ ID NO:23)

```

Фиг. 29

CS01m13-FL-NA

ATGCAGATTGAGCTGTCCACCTGCTTCTTTCTGTGCTGCTGAGATTCTGCTTCTCTGCCACCAGG
AGATACTACCTGGGGCTGTGGAACCTTCTTTGGGACTACATGCACTCTGACCTGGGAGAGCTGCCT
GTGGATGCCAGGTTCCACCACAGAGTGCCCAAGTCCCTTCCCATCAACACCTCTGTGGTCTACAA
AAGACACTCTTTGTGGAATTCACCTGACCACCTGTTCACATTGCAAAAACCCAGACCACCTGGATG
GGACTCCTGGGACCCACCATTTCAGGCTGAGGTGTATGACACTGTGGTCACTACCCCTCAAGAACATG
GCATCCACCCCTGTGTCTCTGCATGCTGTGGGAGTCTCATACTGGAAAGCCTCTGAAGGGCTGAG
TATGATGACCAGACATCCAGAGAGAGAAAGAGGATGACAAGGTGTTCCCTGGGGGATCTCACACC
TATGTGTGGCAAGTCCCAAGGAGAATGGACCCATGGCATCTGACCCACTCTGCCTGACATACTCC
TACCTTCTCATGTGGACCTGGTCAAGGACTCAACTCTGGACTGATTGGGGCACTGCTGGTGTGC
AGGAAGGATCCCTGGCCAAAGGAGAAAACCCAGACACTGCACAAGTTCATTCTCCTGTTTGTCTG
TTGGCTGAGGGCAAGTCTTGGCACTCTGAAAACAAAGAACTCCCTGATGCAAGACAGGGATGCTGCC
TCTGCCAGGGCATGGCCCAAGATGCACACTGTGAATGGCTATGTGAACAGATCACTGCTTGGACTC
ATTGGCTGCCACAGGAATCTGTCTACTGGCATGTGATTGGCATGGGACAAACCCCTGAAGTGCAC
TCCATTTCTGGAGGGACACACCTTCCCTGGTCAGGAACCCAGACACAAGCCTCTCTGGAGATCTCT
CCCATCACCTTCCCTCACTGCACAGACACTGCTGATGGACCTTGGACAGTTCCTGCTGTCCCTGCCAC
ATCTCTTCCACCCAGCATGATGGCATGGAAGCCTATGTCAAGGTGGACTCATSCCTGAGGAACCA
CAGCTCAGGATGAAGAACAAATGAGGAGGCTGAGGACTATGATGATGACCTGACTGACTCTGAGATG
GATGTGGTCAAGATTGATGATGACAACCTCTCCATCCTTCATTGATCAGATCAGGCTCTGTGGCAAGAAA
CACCCCAAGACATGGGTGCACTACATTGCTGCTGAGGAAGAGGACTGGGACTATGCACCCTGGTCT
CTGGCCCTGATGACAGGAGCTACAAGTCTCAGTACCTCAACAATGGCCACAAGAAATGGAAAGA
AAGTACAAGAAAGTCAAGATTCATGGCTTACACTGATGAACCTTCAAGACAAAGAGAACCAITCAG
CATGAGTCTGGCACTCTGGGACCACTCTGTATGGGAAAGTGGGAGACACCCCTGCTCATCATCTTC
AAGAACACAGGCTCCAGGCCCTACAACATCTACCCACATGGCATCACTGATGTCAGGCCCTGTAC
AGCAGGAGACTGCCAAAGGGTGAACACCTCAAGGACTTCCCATTTCTGCCAGGAGATCTTC
AAGTACAAGTGGACTGTCACTGTGGAGGATGGACCAACAAGTCTGACCCCAAGTGCCTCACAGA
TACTTCCCTCTTTGTGAACATGGAGAGAGACTGGGCATCTGGACTGATGGACCCACTGCTCATC
TGCTACAAAGGAGTCTGTGGACAGAGAGGCAACAGATCATGCTGACAAGAGAAATGTGATTTCTG
TTCTCTGCTTTGATGAGAACAGATCATGGTACCTGACTGAGAACATTCAGAGATTCCTGCCAAC
CCTGCTGGGGTGAACCTGGAAAGCCCTGAGTTCAGGGCAAGCAACATCATGCACCTCCATCATG
TATGTGTTGACTCTCTCCAGCTTCTGTCTGCTGCTGCTGATGAGGTGGCCACTGTTACATTTCT
ATTGGGGCACAACCTGACTTCCCTTCTGCTCTCTCTCTGGATACACCTTCAAGCACAAGATGGTG
TATGAGGACACCCCTGACACTCTTCCCATCTCTGGGAAACTGTGTTTATGAGCATGGAGAACCT
GGACTGTGATTTCTGGATGCCACAACCTGACTTCCAGAAACAGGGGAATGACTGCACCTGCTCAA
GTCTCTCTGTGACAAGAACACTGGGGACTACTATGAGGACTCTTATGAGGACATCTCTGCTTAC
CTGCTCAGCAAGAACAAATACCACCTACGTGAACCCCTCCCTGCTCAGAAATCCACCTGCTCAG
AGACACCAGAGAGATCACCCAGGACAAACCTCCACTCTGACCAGGAAGAGATGACTATGATGAC
ACCATTCTCTGGAGATGAAGAAGGAGGACTTGCATCTATGATGAGGACGAGAAACCTCTCCA
AGATTCATCCAGAAAGACAAGACACTACTTGCATGCTGCTGTGGAAAGACTGTGGGACTATGGC
ATGCTTCTCTCCCAATGCTCAGGAAACAGGGCAACTCTGGCTCTGTGCCACAGTTCAAGAAA

Фиг. 30А

GTGGTCTTCCAGGAGTTCACTGATGGCTCATTCACCCAGCCCTGTACAGAGGGGAACCTGAATGAG
CACCTGGGACTCCTGGGACCAATACATCAGGGCTGAGGTGGAAGACAACATCATGTTGACATTCAGA
AACCAAGGCTCCAGGCCCTACAGCTTCTACTCTCCCTCATCAGCTATGAGGAAGACCCAGAGACAA
GGGCTGAGCCAAAGAAAGAACTTTGTGAAACCCAAATGAAACCAAGACCTACTTCTGGAAAGTCCAG
CACCATATGSCACCCACCAAGGATGAGTTTGAAGTCAAGGCTGGGCACTCTCTGTATGTGGAC
CTGGAGAAAGATGTGCACTCTGGCTGATTTGCCCACTCTGGTCTGCCACACCAACCCCTGAAAC
CCTGCACATGGAAGGCAAGTGAAGTGTGAGGAGTTTGCCTCTCTTCCACCTCTTTGATGAAAC
AAGTCAATGGTACTTCACTGAGAACATGGAGAGAACTGCAGAGCACCATGCAACATTCAGATGGAA
GACCCACCTTCAAGGAGAATACAGGTTCCATGCCATCAATGGCTACATCATGGACACCCCTGCT
GGCTTGTCTGGCACAGGACCAGAGAAATCAGATGGTACCTGCTTTCTATGGGATCCAAATGAGAAC
ATTCACTCCATCCACTTCTCTGGGCATGCTTCACTGTGAGAAAGAAAGGAGAAATACAAAGTGGCC
CTGTACAACTCTACCTTGGGGTCTTTGAGACTGTGAGATGCTGCCCTCCAAAGCTGGCATCTGG
AGGGTGGAAATGCTCATTTGGGGAGCACCTGCATGCTGGCATGTCAACCTGTTCTCTGGTCTACAG
AACAAAGTGCACAGACACCCCTGGGAATGGCTCTGGCCACATCAGGGACTTCCAGATCACTGCCCT
GGCCAGTATGGCCAGTGGGCACCCAAACTGGCCAGGCTCCACTACTCTGGCTCCATCAATGCATGG
TCAACCAAGGACCAATCTCTTGGATCAAGTGGACCTGCTGGCCACCATGATCATTCATGGCATC
AAGACACAGGGGGCAAGACAGAAATCTCCCTCTGTACATCTCACAGTTTCACTCATCATCTACTCT
CTGTATGGCAAGAAAGTGGCAGACATACAGAGGCAACTCCACTGGCACCCCTCATGGTCTTCTTTGGC
AATGTGGACAGCTCTGGCATCAAGCACAACTCTCAACCTTCCCATCATTTGCCAGATACATCAGG
CTGCACCCACCCACTACTCAATCAGATCAACCTCAGGATGGAAGTGTGGGATGTGACCTGAACT
TCCCTCAATGCCCTTGGAAATGGAGAGCAAGGCCAATTTCTGATGCCAGATCACTGCATCTCT
TACTTCAACCAATGTTTGGCACTTGGTCAACATCAAAAGCCAGGCTGCACCTCCAGGGAGAGAGC
AATGCTGGAGACCCAGGTCAACCAACCAAGGAAATGGCTGCAAGTGGACTTCCAGAAAGCAATG
AAAGTCACTGGGGTGAACAACCCAGGGGCTCAAGTCTCTGCTCACCTCAATGTATGTGAAGGATCT
CTGATCTCTCTCACAGGATGGCCACCAAGTGGACACTCTCTTCCAGAAATGGCAAGTCAAGGTG
TTCCAGGGCAACCCAGGACTCTTTCACACCTGTGGTGAAGTCACTGGACCCCTCCCTGACAAGA
TACCTGAGAAATCACCCCACTTGGGTCCACCAAGATGGCTGAGAAATGGAAGTCTTGGGATGT
GAGGCACAAGACCTGTACTGA (SEQ ID NO: 90)

Фиг. 30В

CS01m23-FL-NA

ATGCAGATTGAGCTGCCACCTGCTTTCTGTGCTGCTGAGATTCTGCTTCTGCCCACCAGG
AGATACTACCTGGGGCTGTGGAACCTTCTTGGGACTACATGCAGTCTGACCTGGGAGAGCTGCCT
GTGGATGCCAGGTGCCACCAGAGTGCCTCAAGTCTTCCCATTCACACCTCTGTGGTCTACAAG
AAGACACTCTTTGTGAATTTCATGACCACCTGTTCACCATTTGCAAAACCAGACACCTGGATG
GGACTCTGGGACCCACCATTGAGGCTGAGGTGATGACACTGTGGTCTGACCCCTCAAGAACATG
GCATCCCACCCTGTGTCTGCTGCTGCTGGGAGTCTCATACTGGAAATCTCTGAAGGGGCTGAG
TATGATGACCAGACATCCCAGAGAGAGAAAAGAGGATGACAAGGTGTCCCTGGGAAGTCTCACACC
TATGTGTGGCAAGTCTCAAGGAGAAATGGACCCACTGSCATCTGACCCACCTGCCTGACATACTCC
TACCTTTCTCATGTGGACCTGGTCAAGGACCTCAACTCTGGACTGATGGGGCACTGCTGGTGTGC
AGGGAAGGATCCCTGGCCAGGAGAAAACCCAGACACTGCACAAGTTCATCTCCCTGTTGTGTGTC
TTTGATGAGGCAAGTCTTTGGCACTCTGAAACCAAGAACTCCCTGATGAGACAGGGATGCTGCC
TCIGCCAGGGCATGGCCCAAGATGCACACTGTGAATGGCTATGTGAACAGATCACTGCCTGGACT
ATTGGCTGCCACAGGAAATCTGTCTACTGGCATGTGATTGGCATGGGGACAACCCCTGAAGTGCAC
TCCATTTTCTGGAGGGACACACCTTCTGGTCAAGAACCCAGACAGACCTCTCTGGAGATCTCT
CCCATACCTTCTCACTGCACAGACACTGCTGATGGACCTGGACAGTCTCTGCTGTCTGCCCAC
ATCTCTTCCCACCAGCATGATGGCATGGAAGCCTATGTCAAGTGGACTCATGCCCTGAGGAAACA
CAGCTCAGGATGAAGAACAAATGAGGAGGCTGAGGACTATGATGATGACTGACTGACTCTGAGAT
GATGTGTGAGATTTGATGATGACAACCTCTCCATCTTCAATTCAGATCAGGTCTGTGGCAAGAAA
CACCCCAAGACATGGGTGCACATACATTGCTGTGAGGAAGAGGACTGGGACTATGCACCACTGGTC
CTGGCCCTGTGACAGGAGTACAAGTCTCAGTACCTCAACAATGGCCCAAGAAATGGAAGA
AAGTACAAGAAAGTCAAGTTCATGGCTACACTGATGAACCTTCAAGACAAGAGAGCCATTCAG
CATGAGTCTGGCAATCTGGGACCACCTCTGTATGGGAAAGTGGGAGACACCTGCTCATCATCTTC
AAGAACCCAGGCTCCAGGCTTACAACATCTACCCACATGGCATCACTGATGTCAGGCCCCCTGTAC
AGCAGGAGACTGCCAAAGGGGTGAACACCTCAAGGACTTCCCATCTCTGGCTGGAGAGATCTCT
AAGTACAAGTGGACTGCACTGTGGAGGATGGACCAACAAGTCTGACCCAGGTGCTCACCAGA
TACTACTCTCTTTTGTGAACATGGAGAGAGACCTGGCATCTGGACTGATGGACCACTGCTCATC
TGCCTACAAGGAGTCTGTGGACCAGAGGCAACCCAGATCATGCTGACAAAGAGAAATGATGATCTG
TTCCTGCTCTTTGATGAGAACAGATCATGGTACCTGACTGAGAACATTCAGAGATTCCTGCCCAAC
CCTGCTGGGTGCAACTGGAAGACCTTGAGTTCAGGGCAAGCAACATCATGCACTCCATCAATGGC
TATGTGTTGACTCTCCAGCTTCTGTCTGCTGCTGCTGCAAGGTTGGCTACTGGTACATCTTCT
ATTGGGCAACAACAGACTGCTCTTCTGTCTTCTCTCTGGATACACCTTCAAGCAGAGATGGTG
TATGAGGACACCTGACACTCTTCCCATCTCTGGGAAACTGTGTTTATGAGCATGGAGAACCCT
GGACTGTGGATCTGGGATGCCACAACCTGCACTTCAGAAACAGGGGAATGACTGCACTCAAA
GTCTCCCTCTGTGACAAGAACTGGGACTACTATGAGGACTCTTATGAGGACATCTCTGCTAC
CTGCTCAGCAAGAACAAATACCACCTACGTTGAACCCCTCCCTGCTCAGAAATCCACCTGTCTGAA
AGACACCAGAGAGAGATCACAGGACAAACCTCCAGTCTGACCAAGAGAGATGACTATGATGAC
ACCATTTCTGTGGAGATGAAGAAGGAGGACTTTGACATCTATGATGAGGAGGAGAACCAGTCTCA
AGTCAATTCAGAAAGAGACAGACACTACTTCAATGCTGCTGTGGAAAGACTGGGACTATGCTC
ATGTCTTCTCTCCCCATGCTCTCAGGAAACAGGGCACAGTCTGGCTCTGTGCCACAGTTCAGAAA

Фиг. 31А

GTGGTCTCCAGGAGTTCACTGATGGCTCAATCACCCAGCCCTGTACAGAGGGGAACCTGAATGAG
CACCTGGGACTCTGGGACCATACATCAGGGCTGAGGTGGAAAGACAACATCATGGTGCATTCAGA
AACCAGGCTCCAGGCTCCAGGCTTCTACTCTTCCCTCATCAGCTATGAGGAAGACCCAGAGACAA
GGGGCTGAGCCAAAGAAAGAACTTTGTGAAACCCAAATGAAACCAAGACCTACTTCTGGAAAGTCCAG
CAGCATGGCACCCACCAAGGATGAGTTTGAAGTCAAGGCTGGGCAACTTCTCTGATGTGGAC
CTGGAGAAAGATGTGCACCTTGGCCCTGATTTGGCCACTCTTGGTCTGCCACCAACACCCCTGAAC
CCTGCACATGGAAAGCAATGACTGTGCAGGAGTGTGGCCCTTCTTCCACCATCTTTGATGAAAC
AAGTCAATGGTACTTCACTGAGAACATGGAGAGAAACTGCAGAGCACCATGCAACATTCAGATGGAA
GACCCACCTTCAAGGAGAACTACAGGTTCATGCCATCAATGGCTACATCATGGACACCCCTGCCT
GGCTTGTCAATGGCACAGGACCAAGAAATCAGATGGTACCTGCTTCTATGGGATCCATGAGAAC
ATTCACTCCATCCACTTCTCTGGGATGTCTTCACTGTGAGAAAGAAAGGAAATACAAGATGGCC
CTGTACAACCTCTACCCCTGGGCTCTTGAAGTGTGGAGATGCTGCCCTCCAAAGCTGGCATCTGG
AGGGTGGAAATGCTCATTTGGGAGCACCTGCATGCTGGCATGTCAACCCCTGTTCTCTGTCTACAGC
AACAAAGTGCCAGACACCCCTGGGAATGGCTCTGGCCACATCAGGGACTTCCAGATCACTGCCCT
GGCCAGTATGGCCAGTGGGACCCAAACTGGCCAGGCTCCACTACTCTGGCTCCATCAATGSCATGG
TCAACCAAGGAGCCATTTCTTGGATCAAGGTGGACCTGCTGGCACCCATGATCATTCATGGCATC
AAGACACAGGGGGCAAGACAGAAATTTCTCTCTGTACATCTCACAGTTCATCATCATGTACTCT
CTGGATGCCAAGAGTGGCAGACATACAGAGGCAACTCCACTGGCACCTCATGGTCTTCTTTGGC
AATGTGGACAGCTCTGGCATCAAGCACAACTCTTCAACCCCTCCATCATTTGCCAGATACATCAGG
CTGCACCCCAACCTACTCAATCAGATCAACCCCTCAGGATGGAACTGATGGGATGTGACTTGAAC
TCTGCTCAATGCCCTGGGAATGGAGAGCAAGGCCATTTCTGATGCCAGATCACTGCATCTCTCT
TACTTCAACCAATGTTTGGCACTGGTCAACCTCAAAAGCCAGGCTGCACCTCCAGGGGAAGAGC
AATGCCCTGGAGACCCAGGTCAACAAACCAAGGAATGGCTGCAAGTGGACTTCCAGAAAGCAATG
AAAGTCACTGGGTGACAACCCAGGGGCTCAAGTCTCTGCTCACTCAATGATGTGAAGGAGTTC
CTGATCTCTCTCACAGGATGGCCACCAAGTGGACACTCTCTTCCAGAAAGGCAAGTCAAGGTG
TCCAGGGCAACCAAGGACTCTTCAACCTGTGGTGAACCTCACTGGACCCCTCCCTCTGACAAGA
TACCTGAGAAATCACCCCAAGTCTTGGGTCACCAAGATGCTGCTGAGAAATGGAAGTCTGGGATG
GAGGCACAAGACCTGTACTGA (SEQ ID NO:91)

Фиг. 31В

CS01m3-FL-NA

ATGCAGATTGAGCTGTCCACCTGCTTCTTCTGTGCCTGCTGAGATTCTGCTTCTCTGCCACCAGG
AGATACTACCTGGGGCTGTGGAACCTTCTTGGGACTACATGCAGTCTGACCTGGGAGAGCTGCCT
GTGGATGCCAGGTTGCCACCCAGAGTGCCTCAAGTCTCCCATTCACACCTCTGTGGTCTACAAAG
AAGACACTCTTTGGGAATTCAC TGACCACCTGTTCACATTGCAAAAAGCCAGACACCCCTGGATG
GGACTCCTGGGACCCACCATTGAGGCTGAGGTTGTAIGACACTGTGGTCACTACCCCTCAAGAACATG
GCATCCCACCTGTGTCTCTGCATGCTGTGGGAGTCTCATACTGGAAAAGCCTCTGAAGGGGCTGAG
TATGATGACCCAGACATCCAGAGAGAGAAAAGAGGATGACAAGGTGTCCCTGGGGGATCTCACACC
FATGTGTGGCAAGTCTCAAGGAGAATGGACCCATGGCATCTGACCCACTCTGCTGACATACTCC
TACCTTCTCATGTGGACCTGGTCAAGGACCTCAACTCTGGACTGATTGGGGCACTGCTGGTGTGC
ACGGGAAGATCCCTGGCCAGGAGAAAACCCAGACACTGCACAAGTTCATPCTCTGTTCCTGTCT
TTTGATGAGGGCAAGTCTTGGCACTCTGAACAAGAACTCCCTGATGCAAGACAGGGATGCTGCC
TCTGCCAGGGATGGCCCAAGATGCACACTGTGAATGGCTATGTGAACAGATCACTGCCTGGACTC
ATTGGCTGCCACAGGAATCTGTCTACTGGCATGTGATGGCATGGGGACAACCCCTGAAGTGCAC
TCCATTTTCTGGAGGACACACCTTCTGGTCAAGAACACAGACAAGCCTCTCTGGAGATCTCT
CCCATCACTTCTGACTGCACAGACACTGCTGATGGACCTTGGACAGTTCCTGCTGTCTGGCCAC
ATCTCTTCCACAGCATGATGGCATGGAAGCCTATGTCAAGGTGGACTCATGCCCTGGAGGAACA
CAGCTCAGGATGAAGAACAATGAGGAGGCTGAGGACTATGATGATGACCTGACTGACTCTGAGATG
GATGTGGTCAGATTTGATGATGACAACCTCTGCATCTCATTGATCAGATCAGGCTGTGGCAAGAAA
CAGCCCAAGACATGGGTGCACATCATGTCTGCTGAGGAAGAGGACTGGGACTATGCACCTGGTCT
CTGGCCCTGATGACAGGACTACAAAGTCTCAGTACCTCAACAATGGCCCAAAAGAAATGGGAAGA
AAGTACAAGAAAGTCAAGTTCATGGCTACACTGATGAAACCTTCAAGACAAGAGAAAGCCATTCAG
CATGGTCTGGCAATCTGGGACCACTCTGTATGGGAAAGTGGGAGACACCTGCTCATCATCTTC
AAGAACCAGGCTCCAGGCTTACAACATCTAACCACATGGCATCACTGATGTGAGGCTCTGTAC
AGCAGGAGACTGCCAAAGGGGTGAAACACCTCAAGGACTTCCCATCTGCTGGAGAGATCTCTC
AATGACAAGTGGACTGTCTACTGTGGAGGATGGACCAACAAAGTCTGACCCAGGTCCTCACAGA
TACTACTCTCTTTGTGAACATGGAGAGAGACCTGGCATCTGGACTGATGGACCACTGCTCAATC
TCTACAAGGACTCTGTGGACCAAGAGAGGCAACAGATCATGTCTGACAAGAGAAATGTGATTCCT
TTCTCTGTCTTTGATGAGAACAGATCATGTGACCTGACTGAGAACATTCAGAGATTTCTGCCAAC
CTGCTGGGTGCAACTGSAAGACCCCTGAGTTCAGGGCAAGCAACATCATGCATCCATCAATGGC
TATGTGTGTGACTCTCTCCAGCTTCTGTCTGCTGCTGCATGAGGTGGCTACTGGTACATCTCTCT
ATGGGGCAACAACCTGACTTCTCTTCTGCTCTCTCTCTGATACACCTTCAAGCACAAGATGGTG
TATGAGGACACCTGACACTCTTCCATCTCTGGGGAAACTGTGTTGATGAGCATGGGAAACCTT
GGACTGTGGATCTGGGATGCCAACCTCTGACTTTCAGAAAAGGGGAAATGACTGCACTGCTCAAA
GTCTCTCTGTGACAAGAACACTGGGGACTACTATGAGGACTCTTATGAGGACATCTCTGCTTAC
CTGCTCAGCAAGAACAAATACCACCTACGTTGAACCCCTCCCTGCTCAGAAATCCACCTGCTCTGAA
AGACACCAGAGAGATCACCAGGACAACCCCTCCACTCTGACCAGGAGAGATGACTATGATGAC
ACCATTTCTGTGGAGATGAAGAAGGAGGACTTTGACATCTATGATGAGGACGAGAAACCAAGTCTCA
AGATCATTCAGAAAGAACACAGACACTACTTCAATGCTGCTGTGGAAAGACTGTGGACATAGGC
ATGTCTCTCTCCCATGTCTCAGGAACAGGGCCACAGTCTGGCTCTGTGCCACAGTTCAGAAA

Фиг. 32А

GTGGTCTTCCAGGAGTTCACTGATGGCTCATTCACCCAGCCCTGTACAGAGGGGAACTGAAATGAG
CACCTGGGACTCCTGGGACCATACATCAGGGCTGAGGTGGAAGACAACATCATGGTGCATTCAGA
AACAGGCCCTCCAGGCCCTACAGCTTCTACTCTTCCCTCATCAGCTATGAGGAAAGACCAGAGACA
GGGGCTGAGCCAAAGAAAGAACTTTGTGAACCCAAATGAAACCAAGACCTACTTCTGGAAAGTCCAG
CACACATGGCACCCACCAAGGATGAGTTGACTGCAAGGCCCTGGGCACTTCTCTGATGTGGAC
CTGGGAAAGATGTGCACCTTGGCCCTGATGGCCCACTCTGGTCTGCCACACCAACACCTTGAAC
CTGACATGGAAAGCAAGTGAAGTGTGCAAGGATTTGCCCTCTCTTCCACCATCTTTGATGAAACC
AAGTCAATGGTACTTCACTGAGAACATGGAGAGAACTGCAGAGCCCAAGCAACATTCAGATGGAA
GACCCACCTTCAAGGAGAACTACAGGTTCCATGCCATCAATGGCTTACATCATGGACACCCCTGACC
GGGCTTGTGATGGCACAGGACAGAGAAATCAGATGGTACCTGCTTCTATGGGATCCAAATGAGAAC
ATTCACCTCCACTTCTCTGGGATGCTTCACTGTGAGAAAGAAAGGAGGAATACAAGATGGCC
CTGTACAACCTTACCTGGGGCTTTGAGACTGTGGAGATGCTGCCCTCCAAAGCTGGCATCTGG
AGGTTGGAATGCTCATTTGGGGAGCACCTGCAATGCTGGCATGTCAACCCCTGTTCTGGTCTACAGC
AACAAATGGCAGACACCCCTGGGAATGGCTCTGGCCACATCAGGGACTTCCAGATCACTGCCTCT
GGCCAGTATGGCCAGTGGGACCCAAACTGGCCAGGCTCCACTACTCTGGCTCCATCAATGCATGG
TCAACCAAGGAGCCATTTCTTGGATCAAGGTGGACCTGCTGGCACCCATGATCATTCAATGGCATC
AAGACACAGGGGGCAAGACAGAAATCTCTCTCTGTACATCTCACAGTTCAATCATATGACTCT
CTGGATGGCAAGAAATGGCAGACATACAGAGGCAACTCCACTGGCACCCCTCATGGTCTCTTTGGC
AATGTGGACAGCTCTGSCATCAAGCACAACTCTCAACCCCTCCATCATTTGCCAGATACATCAGG
CTGCACCCCAACCACTACTCAATCAGATCAACCTCAGGATGGAACCTGATGGGATGTGACCTGAAC
TCTGCTCAATGCCCTGGGAATGGAGAGCAAGGCCATTTCTGATGCCAGATCACTGCATCTCTCT
TACTTCAACCAACTGTTTGGCCCTGGTCAACATCAAAAGCCAGGCTGCACCTCCAGGGAAGAAC
AATGCTGGAGACCCAGGCTCAACCAACCCAAAGGAATGGCTGCAAGTGGACTTCCAGAAAGCAATG
AAAGTCACTGGGGTGCACACCCAGGGGCTCAAGTCTCTGCTCACTCAATGTATGTGAAGGAGTTC
CTGATCTCTCTCAGGATGGCCACCACTGGACACTCTTCTCCAGAAATGGCAAGTCAAGGTG
TTCCAGGGCAACCAAGGACTCTTTCACACCTGTGGTGAACCTCACTGGACCCCTCCCTCTGACAAGA
TACCTGAGAAATCACCCCACTCTGGTCCACAGATGSCCTGAGAAATGGAAGTCTGGGATGT
GAGGCACAAGACCTGTACTGA (SEQ ID NO: 92)

Фиг. 32В

CSO1m2-FL-NA

ATGCAGATTGAGCTGTCCACCTGCTTCTTCTGTGCCTGCTGAGATTCTGCTTCTGTGCCACCAGG
AGATACTACCTGGGGGCTGTGGAACCTTTCTTGGGACTACATGCAGTCTGACCTGGGAGAGCTGCCT
GTGGATGCCAGGTTCCACCAGAGATGCCCAAGTCCCTCCCATTCACACACCTCTGTGGTCTACAAAG
AAGACACTCTTTGTGGAAATCACTGACACCTGTTCACACTTGCAAAACCCAGACCCCTGGATG
GGACTCTGGGACCCACCAATTCAGGCTGAGGTGTATGACACTGTGGTGTGACCTCAAGAACATG
GCATCCACCTGTGTCTGTGCATGCTGTGGGAGTCTCATACTGGAAATCTCTGGAAGGGCTGAG
TATGATGACCAGACATCCAGAGAGAGAAAGAGGATGACAAGGTGTCCCTGGGAAGTCTCACACC
TATGTGTGGCAAGTCTCAAGGAATGGACCCACTGCATCTGACCCACCTGCCTGACATACTCC
TACCCTTCTCATGTGGACCTGGTCAAGGACCTCAACTCTGGACTGATGGGGCACTGGTGGTGTGC
AGGGAAGGATCCCTGGCCAAAGGAGAAAACCCAGACACTGCACAAGTTCATTCCTCTGTTTCTGCTG
TTTGTATGAGGGCAAGTCTTGGCACTCTGAAACAAGAACTCCCTGATGCAAGACAGGGATGCTGCC
CTGGCCAGGGCATGGCCAAAGATGCACACTGTGAATGGTATGTGAACAGATCACTGCCCTGGACTC
ATTGGCTGGCCACAGGAATCTGTCTACTGGCATGTGATTGGCATGGGACAAACCCCTGAAGTGCAC
TCCATTTTCTGGAGGGACACACCTTCTGGTCAAGAACCCAGACAAGCCTCTCTGGAGATCTCT
CCCATACCTTCTCTACTGCACAGACACTGCTGATGGACCTTGGACAGTTCCTGGTGTCTGGCCAC
ATCTCTTCCACACAGCATGATGGCATGGAAAGCTATGTCAAGGTGGACTCATGCCCTGAGGAACCA
CAGCTCAGGATGAAGAACATGAGGAGGCTGAGGACTATGATGATGACCTGACTGACTCTGAGATG
GATGTGGTCAAGTTGATGATGACAACCTCCATCTTCATTCAGATCAGGTCTGTGGCAAGAAA
CACCCCAAGACATGGGTGCATACATGCTGCTGAGGAAGAGGACTGGGACTATGCACCACTGGTC
CTGGCCCTGTATGACAGGAGCTACAAGTCTCAGTACCTCAACAATGGCCCAAGAAATGGAAAG
AAGTACAAAGAAATCAGATTCATGGCTTACACTGATGAACCTTCAAGACAAAGAAAGCCATTGAG
CATGATCTGGCAATCTGGGACCACTCTGTATGGGGAAGTGGGAGACACCCCTGCTCATCATCTTC
AAGAACCAAGGCTCCAGGCCCTACAACATCTACCCACATGGCATCACTGATGTCAGGCCCTGTAC
AGCAGGAGACTGCCAAAGGGGGTGAACACCTCAAGGACTTCCCATCTCTGGCTGGAGAGATCTTC
AAGTACAAAGTGGACTCTACTGTGGAGGATGGACCAACAAGTCTGACCCAGGTGCTCACCAGA
TACTACTCTCTTTTGTGAACATGGAGAGAGACCTGGCATCTGGACTGATGGACCACTGCTCATC
TGCTACAAAGAGTCTGTGGACAGAGAGGCAACCAGATCATGTCTGACAAGAGAATGTGATTTCTG
TTCTCTGCTTTGATGAGAACAGATCATGGTACCTGACTGAGAACATTCAGAGATTCCTGGCCAAAC
CCTGCTGGGTGCAACTGGAAGACCTGAGTTCAGGCAAGCAACATCATGCACCTCCATCAATGGC
TATGTGTTGACTCTCTCCAGCTTTCTGTCTGCTGCTGCATGAGGTGGCTTACTGGTACATCTTTCT
ATGGGGCAAAAACCTGACTTCTCTTTCTGTCTCTCTGATAACCTTCAAGCACAAGATGGTG
TATGAGGACACCCCTGACACTCTTCCCATCTCTGGGGAACCTGTGTTTATGAGCATGGAGAACCT
GGACTGTGGATCTGGGATGCCACAACCTGACTTCCGAAAACAGGGGAATGACTGCACCTGCTCAA
GTCTCTCTGTGACAAAGACCTGGGACTACTATGAGGACTCTTATGAGGACATCTCTGCCTAC
CTGCTCAGCAAGAACAAATGCCATTGAGCCAGAGACTCTCTCAGAAATCCACTGTCTGAGAGAG
CACCCAGAGAGATCACAGGACAAACCTCCAGTCTGACCAAGGAAGAGATTGACTATGATGACACC
ATTTCTGTGGAGATGAAGAGGAGGACTTTGACATCTATGATGAGGACGAGAACCAGTCTCAAAGA
TCATTCASAAGAAGACAAAGACACTACTTCATTTGCTGTGGAAAGACTGTGGACTATGGCATG
TCTTCTCTCCCCATGCTCCAGGAACAGGGCAAGTCTGGCTCTGTGCCACAGTTCAGAAGAGTG

Фиг. 33А

GTCTCCAGGAGTTCACATGATGGCTCATTCACCCAGCCCTGTACAGAGGGGAATGAATGAGCAC
CTGGGACTCCCTGGGACCATACATCAGGGCTGAGGTGGAAGCAACATCATGGTGCATTCAGAAGC
CAGGCCCTCCAGGCCCTACAGCTTCTACTCTTCCCTCATCAGCTATGAGGAAAGACCCAGAGACAAGG
GCTGAGCCAAAGAAAGAACTTTGTGAACCCAATGAAACCAAGACTACTTCTGGAAAATCCAGAC
CAGATGGCACCCACCAAGGATGAGTTGACTGCAAGGCTGGGCATACTTCTGTATGTGGACCTG
GAGAAAAGATGTGCACTCTGGCCGATTTGGCCCACTCTGGTCTGCCACACCAACCCCTGAACCCCT
GCACATGGAAGGCAATGACTGTGCAGGAGTTGGCCCTCTCTTCAACATCTTTGATGAAACCAAG
TCATGGTACTTCACTGAGAACATGGAGGAAACTGCAGAGCACTATGCACATTCAGATGGAGAC
CCCACCTTCAAGGAGAACTACAGGTTCATGCCATCAATGGCTACATCATGGACACCCCTGCCCTGG
CTTGTATGGCACAGGACCCAGAGAATCAGATGGTACCTGCTTTCTATGGGATCCAAAGAGAACTT
CACTCCATCCACTTCTCTGGGCATGTCTCACTGTGAGAAAAGGAGGAAATACAAAGATGGCCCTG
TACAACCTTACCTGGGGTCTTTGAGACTGTGAGATGCTGCCCTCCAAAGCTGGCATCTGGAGG
GTGGAAATGCTCATTTGGGGAGCACCTGATGCTGGCATGTCAACCTGTTCCTGGTCTACAGCAAC
AAGTGCAGACACCCCTGGGAATGGCTCTGGCCACATCAGGACTTCCAGATCCTGCTCTGGC
CAGTATGGCCAGTGGGACCCAACTGCCCCAGGCTCCACTACTCTGGCTCCAAATGCAATGGTGTCA
ACCAAGGAGCCATCTCTTGGATCAAGGTGGACCTGCTGGCACCATGATCAATCATGGCATCAAG
ACACAGGGGGCAAGACAGAAATTCCTCTCTGTACATCTCACAGTTCATCACTGACTCTCTG
GATGGCAAGAAGTGGCAGACATACAGGCAACTCCACTGGTACCTCATGGTCTTTCTTTGGCAAT
GTGGACAGCTCTGGCATCAAGCACAACATCTTCAACCTCCCATCATTCAGAGATACATCAGGCTG
CACCCACCCACTACTCAATCAGATCAACCTCAGGATGGAATGATGGATGTGACCTGAACTCC
TGCTCAATGCCCTGGGAATGGAGAGCAAGGCCATTTCTGATGCCAGATCACTGCATCTCTTAC
TTCAACCAATGTTTGGCACTGGTCAACATCAAAAGCCAGGCTGCACCTCCAGGGAAAGAAAT
GCCTGGAGACCCAGTCAACAACCCAAAGGAATGCTGCAAGTGGACTTCCAGAGACAATGAAA
GTCACTGGGGTGCACACCCAGGGGTCAAGTCTCTGCTCACCTCAATGATGTGAAAGGACTTCTG
ATCTCTTCTCACAGGATGGCCACAGTGGACACTCTTCTCCAGAATGGCAAGTCAAGGTGTTC
CAGGGCAACCCAGGACTCTTCCACACTGTGCTGAACTCACTGGACCCCCCTCTGACAAGATAC
CTGAGAAATCACCCCACTTGGGTCCACCAGATTCCTGAGAAATGGAAAGTCTGGGATGTGAG
GCACAAAGACCTGTAATGA (SEQ ID NO: 93)

Фиг. 33В

CS04m23-FL-NA

ATSCAGATTGAGCTGAGCACCTGCTTCTTCTGTCCTGCTGAGGTTCTGCTTCTTCTGCCACCAGG
 AGATACTACCTGGGGGCTGTGGAGCTTTCTTGGGACTACATGCAGTCTGACCTGGGGGAGCTGCCT
 GTGATGCCAGGTTCCACCAGAGTGCCTCAAAATCCTTCCCAATCAACACCTCTGTGGTCTACAAG
 AAGACCCTCTTTGTGGAGTTCACATGACCACCTGTCAACATGCCCCAACCCAGGCCACCCTGGATG
 GGACTCCTGGGACCCACCATTCAGGCTGAGGTGTATGACACTGTGGTGTGACCCCTCAAGAACATG
 GCCTCCCACCCTGTGAGCCTGCATGCTGTGGGGTCAAGTACTGGAACTCCTCTGAGGGGCTGAG
 ATGATGACCCAGACTCCAGAGGGAGAAGGAGGATGACAAAGTTCCTTGGGAAAGACCACACC
 TATGTGTGGCAGTCTCAAGGAGAATGGCCCCACTGCCTCTGACCCACCCTGCTGACCTACTCC
 TACCTTTCTCATGTGACCTGGTCAAGGACCTCAACTCTGGAATGATGGGGCCCTGCTGGTGTGC
 AGGGAGGGCTCCTGGCCAAAGAGAAGACCAGACCCTGCACAAGTTTATTCTCTGTTTCTGTCTC
 TTTGATGAGGGCAAGGCTGGCACTCTGAAACCAAGAACTCCCTGATGCAGGACAGGGATGCTGCC
 TCTGCCAGGGCTGGCCCAAGATGCACACTGTGAATGGCTATGTGAACAGGAGCCTGCTGGACTC
 ATTGGCTGCCACAGGAATCTGTCTACTGGCATGTGATGGCATGGGGACAACTCCTGAGGTGCAC
 TCCATTTTCTGGAGGGCCACACTTCTTGGTCAAGAACACAGACAGGCCAGCCTGGAGATCAGC
 CCCATCACTTCTTCACTGCCAGACCTGCTGATGGACTCGGACAGTTCCTGCTGTTCTGGCCAC
 ATGACTCCACAGCATGATGGCATGGAGGCTATGTCAAGTGGACAGCTGCCTGAGGAGGCCA
 CAGCTCAGGATGAAGAACAATGAGGAGGCTGAGGACTATGATGATGACCTGACTGACTCTGAGATG
 GATGTGGTCCGCTTTGATGATGACAACAGCCCATCCTTCAATCAGATCAGGTCTGTGGCCAAAGAA
 AAGCCCAAGACTGGGTGCACATCATTTGCTGAGGAGGAGGACTGGGACTATGCCCCACTGTCTC
 CTGGCCCTGATGACAGGACTACAAGAGCCAGTACCTCAACAATGGCCACAGAGGATGGACGC
 AASTACAAGAAAGTCAGGTTTCATGGCTACACTGATGAAACTTCAAGACAGGGAGGCCATTCAG
 CATGAGTCTGGCATCCTGGGCCACTCCTGTATGGGGAGGTGGGGGACACCCTGCTCATCTCTC
 AAGAACCAGGCTCCAGGCCACAAACATCTACCCACATGGCATCACTGATGTGAGGCCCCGTGAC
 AGCCGACGGCTGCCAAAGGGGGTGAACACCTCAAGGACTTCCCATTCTGCTGGGGAGATCTTC
 AASTACAAGTGGACTGTCACTGTGGAGGATGGAACAACCAAACTGACCCAGGTGCTCACCAGA
 TACTACTCCAGCTTTGTGAACATGGAGAGGGACCTGGCCCTGTGCTGATTTGGCCACTGCTCATC
 TGCTACAAGGAGTCTGTGGACAGAGGGGAAACAGATCATGCTGACAAGAGGAAATGATTTCTG
 TTCTCTGTCTTTGATGAGAACAGGAGCTGGTACCTGACTGAGAAACATTCAGCGCTTCTCTGCCA
 CCTGCTGGGTGTCAGCTGGAGGCCCTGAGTTCCAGGCCACAGCAACATCATGCACTCCATCAATGGC
 TATGTGTTTGACAGCCTCCAGCTTTCTGTCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTG
 ATTTGGGCCAGACTGACTTCTCTTCTGTCTTCTTCTTCTGCTTACACTTCAAAACACAGATGGTG
 TATGAGGACACCCTGACCTCTTCCCATTTCTCTGGGGAGACTGTGTTTATGAGCATGGAGAACCT
 GGCCCTGGGATTTCTGGGATGCCACAACCTGACTTCCGCAACAGGGGCATGACTGCCCTGCTCAA
 GTCTCTCTGTGACAGAACACTGGGGACTACTATGAGGACAGCTATGAGGACATCTCTGCCATAC
 CTGCTCAGCAAGAACAAACACTACCTGAAACCCCTCCCTGAGCCAGAAATCCACTGTCTGAAA
 CCCCACAGAGGGAGATCACCAGGACCACCCTCCAGTCTGACAGGAGGAGATGACTATGATGAC
 ACCATTTCTGTGGAGATGAAGAAGAGGACTTTGACATSTATGACGAGGACGAGAACAGAGCCCA
 AGGAGCTTCCAGAAGAGACCAGGCACTACTTCAATGCTGTGGAGCCCTGTGGGACTATGGC
 ATGAGCTCCAGCCCCATGCTCTCAGGAACAGGCCCCAGTCTGGCTCTGTGGCCACAGTTCCAGAAA

Фиг. 36А

GTGGTCTTCCAAGAGTTCACATGATGGCAGCTTCAACCAGCCCTGTACAGAGGGGAGCTGAATGAG
 CACTGGGACTCCTGGGCCCATACATCAGGGCTGAGGTGGAGGACAACATCATGGTGAACCTCCCC
 AACAGGCCTCCAGGCCCTACAGCTTCTACAGCTCCCTCATCAGCTATGAGGAGGACCCAGAGCAG
 GGGCTGAGCCAGCAAGAATTTGTGAACCAATGAAACCAAGACTACTTCTGGAAAGTCCAG
 CACCACATGGCCCCCAAGGATGAGTTGACTGCAAGGCCCTGGCCACTTCTCTGATGTGGAC
 CTGGAGAAGGATGTGCACTCTGGCCTGATTTGGCCACTCCTGGTCTGCCACACCAACCCCTGAAC
 CCTGCCATGGAAGGCCAAGTGAATGTGCAGGAGTTTCCCTCTTCTCACCATCTTTGATGAAACC
 AAGAGCTGGTACTTCACTGAGAACATGGAGGCCAATGCAAGGCCCATGCAACATTCAGATGGAG
 GACCCCACTTCAAAGAGAACTACCGCTTCCATGCCATCAATGGCTACATCATGGACACCTTCCCT
 GGGCTGTCTATGGCCAGGACCAGAGGATCAGGTGGTACCTGCTTTCTATGGGCTCAATGAGAAC
 ATTCACTCCACTTCTCTGGGCATGCTTCACTGTGCGCAAGAAAGGAGTACAAGATGGCC
 CTGTACAACCTTACCTGGGGTCTTTGAGACTGTGGAGATGCTGCCCTCCAAAGCTGGCATCTGG
 AGGGTGGAGTGCCTCATTTGGGGAGCACCCTGCATGCTGGCATGAGGACCCCTGCTTCTGGTCTACAGC
 AACAAGTGGCAGACCCCTGGGAATGGCCCTGEGCCACATCAGGSACTTCCAGATCACTGCCCTCT
 GGCCAGTATGGCCAGTGGGCCCCCAAGCTGGCCAGGCTCCACTACTCTGGATCCATCAATGCCCTGG
 AGCACCAGGAGCCATTCAGCTGGATCAAGTGGACCTGCTGGCCCTCATGATCATCCATGGCATC
 AAGACCCAGGGGGCCAGGCAAGTCTCCAGCTGTACATCAGCCAGTTTATCATCATGATGACAGC
 CTGGATGCCAAGAAATGGCAGACCTACAGAGGCAACTCCACTGGAACACTCATGGTCTTCTTTGGC
 AATGTGACAGCTCTGGCATCAAGCACAACATCTCAACCCCAATCATGCCAGATACATCAGG
 CTGCACCCACCCACTACAGCATCCGACAGCACCCTCAGGATGGAGCTGATGGCTGTGACCTGAAC
 TCCCTGCAGCATGCCCTGGGCATGGAGAGCAAGGCCATTTCTGATGCCAGATCACTGCCCTCCAGC
 TACTTCAACCAACATGTTTGGCCACTGGAGCCCAAGCAAGGCCAGGCTGCACCTCCAGGGAAAGGAGC
 AATGCCCTGGAGGCCCCAGGTCAACAACCCAAAGGAGTGGCTGCAGGTGGACTTCCAGAAGACCATG
 AAGGTCACTGGGGTGAACACCCAGGGGTCAAGAGCCTGCTCACCAGCATSTATGTGAAGGAGTTC
 CTGATCACTCCAGCCAGGATGGCCACCAGTGGACCCCTTCTTCCAGAAATGGCAAGGTCAAGGTG
 TTCCAGGGCAACCAGGACAGCTTCAACCCTGTGGTGAACAGCCTGGACCCCCCTCCTGACCAGA
 TACCTGAGGATTCACCCCAAGAGCTGGGTCCACCAGATTTGCCCTGAGGATGGAGGTCTGGGATGT
 GAGGCCAGGACTGACTGA (SEQ ID NO: 96)

Фиг. 36В

CS04m13-FL-NA

ATGCAGATTGAGCTGAGCACCCTGCTTCTTCTGCTGCTGAGGTTCTGCTTCTGCCACCCAGG
 AGATACCTACCTGGGGGCTGTGGAGCTTTCTTGGGACTACATGACGCTGACCTGGGGGAGCTGGCT
 GTGGATGCCAGTTCCTCCACCCAGAGTGCCTAAATCTTCCATTCAACACCTCTGTGGCTACAAG
 AAGACCTCTTTGTGGAGTTCAGTACCACCTGTTCACATTGCCAAACCCAGGCCACCTGGATG
 GGACTCTGGGACCCACCATTCAGGCTGAGTGTATGACACTGTGGTTCATCACCTCAAGAACATG
 GCCTCCACCCCTGTGAGCTGCATGCTGTGGGGGTCAGTACTGGAGGGCTCTGAGGGGGCTGAG
 TATGATGACCAGACCTCCAGAGGGAGAGGAGGATGACAAAGTGTCCCTGGGGGACCCACAC
 TATGTTGGCAGGCTCTCAAGGAGAAATGGCCCATGGCCCTGACCCACTCTGCCTGACCTACTCC
 TACCTTTCTCATGTGGACCTGTCAAGGACCTCAACTCTGGACTGATTGGGGCCCTGCTGGTGTGC
 AGGGAGGGCTCCCTGGCCAAAGAGAAAGACCCAGACCTGCACAAAGTTCATCTCTCTGTTGCTGTC
 TTTGATGAGGGCAAGAGCTGGCACTCTGAAACCAAGAACTCCCTGATCCAGGACAGGGATGCTGCC
 TCTGGCAGGGCCCTGGCCCAAGATGCACACTGTGAATGGCTATGTGAACAGGAGGCTGCCTGGACTC
 ACCCAAGACCTGGGTGCATACATTTGCTGCTGAGGAGGAGGACTGGGACTATGCCCACTGGTCTC
 TCGCCCTGATGACAGGAGCTACAAGAGCCAGTACCTCAACAAATGGCCACAGAGGATTGGACGC
 AAGTACAAGAAAGTCAAGTTCATGGCTACACTGATGAAACCTTCAAGACACAGGGAGGCCATTCAG
 CATGATCTGGCATCTCTGGGCCACTCTCTGTATGGGAGGTGGGGGACACCTGCTCATCTCTTC
 AAGAACCAGGGCTCCAGGGCCCTACAACATCTACCACATGGCATCACTGATGTGAGGCCCTGTAC
 AGCCGAGGGCTCCAAAGGGGGTGAACACCTCAAGGACTTCCCATCTGCTGGGGAGATCTTC
 AAGTACAAGTGGACTGCTACTGTGGAGGATGGACCAACCAATCTGACCCAGGTGCTTCCACAGA
 TACTACTCCAGCTTTGTGAACATGGAGAGGGACCTGGCCCTGAGCCGATGGCCCACTGCTCATC
 TGCTACAAAGGAGTCTGTGACACAGGGGAAACACAGATCATGCTGACAAAGGAAATGTGATCTG
 TTCTCTGCTTTGATGAGAACAGGAGCTGGTACCTGACTGAGAACATTCAGCCCTTCTTCCCAAC
 CTTGCTGGGGTGCAGCTGGAGGACCTGAGTTCCAGGCCAGCAACATCATGCACTCCATCAATGGC
 TATGTGTTTGACAGCTCCAGCTTTCTGTCTGCCATGAGGTGGCTACTGGTACATCTTCTCT
 ATTGGGGCCAGACTGACTTCTTTCTGTCTTCTTCTCTGGCTACACCTTCAAACACAAGATGGT
 TATGAGGACACCCCTGACCTCTTCCCATCTCTGGGGAGACTGTGTTTCATGAGCATGGAGAACCCT
 GGCTGTGGATTTCTGGGATGCCACAACTCTGACTTCCCAACAGGGGGATGACTGCTCTGCTCAA
 GTCTCTCTGTGACAAAGAACTGGGACTACTATGAGGACAGCTATGAGGACATCTCTGCTAC
 CTCTCAGCAAGAAACAAATACCACTTACGTGAACCCCTCCCTGAGCCAGAATCCACCTGTCTGAAA
 CGCCACAGAGGGAGATCAACAGGACCACTTCCAGTCTGACAGGAGGAGATTGACTATGATGAC
 ACCATTTCTGTGGAGATGAAGAAAGAGGACTTTGACATCTATGACGAGGACGAGAACCAGAGCCCA
 AGGAGCTTCCAGAAAGAGACAGGCACTACTTCAATGCTGCTGTGAGCCCTCTGGGACTATGGC
 ATGAGCTCCAGCCCACTGCTCAGGAACAGGGCCAGTCTGGCTCTGTGCCACAGTTCAGAAA

Фиг. 38А

GTGGTCTTCCAAGAGTTCAGTGTGGCAGCTTCAACCAGCCCTGTACAGAGGGGAGCTGAAATGAG
 CACCTGGGACTCTGGGCCCATACATCAGGGCTGAGGTGGAGGACAAACATCATGGTACCTTCCCG
 AACCCAGGCTCCAGGGCCCTACAGCTTCTACAGCTCCCTCATCAGCTATGAGGAGGACACAGGGCAG
 GGGCTGAGCCACGCAAGAACTTTGTGAACCAATGAAACCAAGACCTACTTCTGGAAAGCTCCAG
 CACCACATGGCCCCACCAAGGATGAGTTTGACTGCAAGGCTGGGGCTACTTCTCTGATGTGGAC
 CTGGAGAAGGATGTGCACTCTGGCTGATTTGGCCACTCTGCTTGCACACCAACACCTGAAAC
 CTGCCCCATGGAAGGCAAGTGAAGTGTGAGGAGTTTGGCCCTCTCTTCAACATCTTTGATGAAACC
 AAGAGCTGGTACTTCACTGAGAACATGGAGCCCACTGGAGGCCCCATGCAACATTCAGATGGAG
 GACCCCACTTCAAAGAGAACTACCGCTTCCATGCCATCAATGGCTACATCATGGACACCTGCTCT
 GGGCTTGTATGGCCAGGACAGAGATCAGGTGGTACCTGCTTCTATGGGCTCCAATGAGAAC
 ATTCACTCCATCCACTTCTCTGGGCATGCTTCACTGTGCGCAAGAGGAGGATCAAGATGGCC
 CTGTACAACCTTACCTGGGGTCTTTGAGACTGTGGAGATGCTGCCCTCCAAAGCTGGCATCTGG
 AAGGTGGAGTGCCTCATTGGGGAGCACCTGCAATGCTGGCATGAGCACCTGTCTCTGGTCTACAGC
 AACAGTGCAGACCCCTCCGGAAATGGCTCTGCGCACATCAGGACTTCCAGATCACTGCTCT
 GGCCAGTATGGCCAGTGGGCCCCCAAGCTGGCCAGGCTCCACTACTCTGGATCCATCAATGCCTGG
 AGCACCAAGGAGCCATTCAGCTGGATCAAAGTGGACCTGCTGGCCCCATGATCATCATGGCATC
 AAGACCCAGGGGCCAGGCAAGTCTCCAGCTGTACATCAGCCAGTTCATCATCTGATACAGC
 CTGGATGGCAAGAAATGGCAGACCTACAGAGGCAACTCCACTGGAACACTCATGGTCTTCTTTGGC
 AATGTGGACAGCTCTGGCATCAAGCACAACTCTTCAACCCCAATCATGCGCAGATACATCAGG
 CTGACCCCACTTACAGCATCCGACACCTCTCAGGATGGAAGCTGATGGGCTGTGACTGAAAC
 TCCCTGACGATGCCCTGGGCATGGAGAGCAAGGCCATTTCTGATGCCAGATCACTGCTCCAGC
 TACTTCAACCAATGTTTGGCCCTGGAGCCCAAGCAAGGCCAGGCTGCACCTCCAGGGAAAGGAGC
 AATGCTTGGAGGCCAGCTCAACCAACCAAGGAGTGGCTGCAAGGTGGACTTCCAGAAAGACCATG
 AAGGTCACTGGGTGACCCACAGGGGTCAGAGCCTGCTCACCAGCATGATGTGAAGGAGTTC
 CTGATCACTCCAGCCAGATGGCCACCAAGTGGACCTCTTCTTCCAGAAATGGCAAGTCAAGGTG
 TTCCAGGGCAACCCAGGACAGCTTCAACCTGTGGTGAACAGCCTGGACCCCTCTCTGACCCAGA
 TACCTGAGGATTCACCCCAAGAGCTGGTCCACAGATTTGCCCTGAGGATGGAGGCTCTGGGATGT
 GAGGCCCAAGACTGTACTGA (SEQ ID NO: 98)

Фиг. 38В

CS23m13-FL-NA

ATGCAGATTGAGCTGAGCACCTGCTTCTTCTGCTGCTGAGGTTCTGCTTCTGTCACCCAGG
 AGATACTACCTGGGCGCCGTGGAGCTGAGCTGGGACTACATGCAGTCTGACCTGGGCGAGCTGCTT
 GTGGAGCCAGGTTCCCCCCAGAGTGGCCAGAGCTTCCCTTCAACACCTCAGTGGTGTACAAAG
 AAGACCCTGTTCGTGGAGTTACCCGACDACCCTGTCAACATCGCCARGCCAGGCCCCCTGGATG
 GGCTGTGGGCCCCACCATCCAGGCGGAGGTGTACGACACCCTGGTGTACACCCTGAAGAACATG
 GCCAGCCACCCCTGAGCCTGCACGCCGTGGGCTGAGCTACTGGAAGGCCCTCTGAGGGCCCGAG
 TATGACGACCCAGACCCAGGAGGAGAGGAGGACGACAAGGTGTTCCTCCGGCGGAGCCACACC
 TAGCTGTGGCAGGTGCTGAAGGAGAACCAGCCCATGGCCAGCGACCCCTGTGCTTACCTACAGC
 TACCTGAGCCACCTGGACCTGGTGAAGGACCTGAACCTGTGCTGATCGGCGCCCTGCTGGTGTGC
 AGGGAGGCCAGCCTGGCCAGGAGAAGACCCAGACCCCTGCACAAGTTCATCCTGCTGTTCCGCGTG
 TTCGATGAGGGCAAGAGCTGGCACAGCGAGACCAAGAACAGCCTGATGCAGGACAGGGATGCCGCC
 TCTGGCAGGGCCCTGGCCCAAGATGCACACCCTGAACCGCTACGTGAACAGGAGCCTGCCCGCCCTG
 ATCGGCTGCCACAGGAAGTCTGTACTGGCACCTGATCGGCATGGGCACCCACCCCGAGTGCAC
 AGCATCTTCTGGAGGGCCAGACCTTCTGTGGTGAAGAACCCAGGCGAGCCAGCCTGGAGATCAGC
 CCCATCACCTTCTGACCGCCAGACCTGCTGTGAGGACCTGGGCCAGTTCCTGCTGTCCGAC
 ATCAGCAGCCACCCAGCAGCGGATGGAGGCTACCTGAAGGTGGACAGCTGCCCGAGGAGCC
 CAGCTGAGGATGAAGAACAAGGAGGAGCCGAGGACTATGATGATGACCTGACCGACTCTGAGATG
 GACGTGGTGAAGTGTGATGATGACAACAGCCAGCTTCAATCCAGATCAGGCTGTGGCCAAAGAAG
 CACCCCAAGACCTGGSTGCCACTACATCGCCCGCAGGAGGAGGACTGGGACTACGCCCCCTGGTG
 CTGGCCCCGACGACAGGAGCTACAAGAGCCAGTACCTGAACAACGGCCCCCAGAGGATGGCAGG
 AAGTACAAGAAGGTGAGATTTCATGGCTTACACCCGACGAGACCTTCAAGACCCAGGGAGGCCATCCAG
 CAGGATCTGGCATCCCTGGGCCCCCTGCTGTACGGCGAGGTGGGCGACACCCTGCTGATCATCTTC
 AAGAACCAGGCCAGCAGGCCCTACAACATCTACCCCCAGGCGATCACCGATGTGAGGCCCTGTAC
 AGCAGGAGGCTGCCAAGGGCGTGAAGCACCTGAAGGACTTCCCCATCTGCCCGGCGAGATCTTC
 AAGTACAAGTGGACCTGACCGTGGAGGATGGCCCCACCAAGTCTGACCCAGGTGCTGACCAGG
 TACTACAAGCAGCTTCTGTGAACATGGAGAGGAGCCTGGCCCTCTGGCTGATCGGCCCTCTGTGATC
 TGCTACAAGGAGAGCCTGGACCCAGAGGGGCAACCAGATCATGTCTGACAGAGGAACCTGATCTTG
 TCTCTGTGTTGATGAGAAGAGGAGCTGGTATCTGACCCGAGAACATCCAGAGGTTCTGCCCAAC
 CCGCGCGGCGTGCAGCTGGAGGACCCCGAGTTCCAGGCCAGCAACATCATGCAAGGATCAACCGC
 TACGTGTTGACAGCCTGCAGCTGCTGTGTGCTGCAAGAGGTGGCCTACTGGTACATCTGAGC
 ATCGGCGCCAGAACCGACTTCTGTCTGTGTTCTCTCTGGCTACACCTTCAAGCACAAGATGGTG
 TACGAGGACACCTGACCCCTGTTCCTTCCAGCGCGAGACCGTGTTCATGAGCATGGGAACCC
 GGCTGTGGATCCCTGGCTGCCACAACAGCCGACTTCAGGAACAGGGGCATGACCGCCCTGCTGAAA
 STCAGCAGCTGGGACAAGAACCACCGCCGACTACTACGAGGACAGCTACGAGGACATCAGCGCCTAC
 CTGCTGAGCAAGAACAACACCACCTACCTGAACCGCTCCCTGAGCCAGAACCCCCCTGCTGAAAG
 AAGCACCAGGGGAGATCAACAGGACCCACCTTGCAGAGCGACCCAGGAGGAGATCGATATGATGAC
 ACCATCAGCGTGGAGATGAAGAAGGAGGACTTCGACATCTCCGACAGGACGAGAACCAGAGCCCC
 AGGAGCTTCCAGAGAAGACAGGCACTACTTCATCGCCCGCTGGAGAGGCTGTGGGACTATGGC
 ATGAGCAGCAGCCCCACGTGCTGAGGAACAGGGCCAGAGCGGCAGCCTGCCCGAGTCAAGAAG

Фиг. 39А

GTGGTGTCCAGGAGTTCACCGACGGCAGCTTCAACCAGCCCTGTACAGAGGCGAGCTGAACGAG
 CACCTGGGCTGCTGGGCCCCTACATCAGGGCCGAGGTGGAGGACAACATCATGGTGACCTCAGG
 AACAGGCCAGCAGGCCCCTACAGCTTACAGCCAGCCTGATCAGCTACGAGGAGGACCCAGAGGCGAG
 GCGGCCAGGCCAGGAAGAACTTCTGTGAAGCCAAAGCAGACCAAGACCTACTTCTGGAAGGTGCAG
 CACCACATGGCCCCCACCAGGACGAGTTCGACTGCAAGGCCCTGGGCCACTTCTCTGATGTGGAC
 CTGGAGAAGGACGTGCACAGCGGCCCTGATCGGCCCTGCTGCTGTGCCACACCACCCCTGAAC
 CCGCCACCGCCAGGAGGCTGACCGTGCAGGAGTTCGCCCCCTGTCTTCCACCATCTTCGACGAGACC
 AAGAGCTGGTACTTACCCGAGAACATGGAGAGGAACTGCAGGGCCCCCTGCAACATCCAGATGGAG
 GACCCACCTTCAAGGAGAACTACAGGTTCCAGCCCATCAACGGCTACATCATGGACACCCCTGCC
 GGCTGTGTGATGGCCAGGACAGAGGATCAGGTTGGTATCTGCTGAGCATGGGACGAAACGAGAAC
 ATCCACAGCATCCACTTACCGGCCACCTGTTCAACCTGAGGAAGAAGGAGGAGTACAAGATGGCC
 CTGTACAACCTGTACCCCGGCTGTTCGAGACCCCTGGAGATGCTGCCAGCAAGGCCGGCATCTGG
 AAGGTGGAGTGCCTGATCGGCGAGCCTGACCGCCGGCATGAGCACCCCTGTCTCTGGTGTACAGC
 AACAAAGTGCAGACCCCTGGGCTGCGCAGCGGCCACATCAGGGACTTCCAGATCACCCGCTCT
 GGCCAGTACGGCAGTGGGCCCCCAAGCTGGCCAGGCTGCCTACAGCGGCAGCATCAACGCTGG
 AGCACCAGGAGCCCTTACGCTGGATCAAGGTGGACCTGCTGGCCCCCATGATCATCCACGGCATC
 AAGACCCAGGGCGCCAGGCAAGTTACAGCAGCCTGTACATCAGCCAGTTTATCATCATGTACAGC
 CTGGACGGCAAGAAGTGGCAGACCTACAGGGCAACAGCACCGGCCACCCCTGATGGTGTCTTCGGC
 AACGTGGACAGCAGCGGCATCAAGCAACACTTCAACCCCCCATCATCGCCAGGTACATCAGG
 CTGCACCCCAACCTACAGCATCAGGAGCACCTGCGGATGGAACTGATGGGCTGCGACCTGAAC
 AGCTGCAGCATGCCCTGGGCTGGAGAGCAAGGCCATCTCTGACGCCAGATCACCGCCAGCAGC
 TACTTCAACCAACATGTTCCGCCACTGGAGCCCCAGCAAGGCCAGGCTGCACCTGCAGGGCAGGAGC
 AACGCCCTGGAGGCCCCAGGTGAACAACCCCAAGGAGTGGCTGCAGGTGGACTTCCAGAAGACCATG
 AAGGTGACCGGCTGACCCACCCAGGCGCTGAAGAGCCTGCTGACAGCATGTACGTGAAGGAGTTC
 CTGCATGACAGCAGGCGAGGACCGCCACCTGAGGACCTGTTCTTCCAGAACGGCAAGTGAAGGTG
 TCCAGGGCAACCAAGCAGCTTCAACCCCTGGTGAACAGCCTGGACCCCCCTGCTGACAGG
 TATCTGAGGATCCACCCCAAGAGCTGGTGCACAGATCGCCCTGAGAATGGAAGTGTGGGATGC
 GAGGCCAGGACCTGTACTGA (SEQ ID NO: 99)

Фиг. 39В

CS23m3-FL-NA

ATGCAGATTGAGCTGAGCACCTGCTTCTTCTGTCCTGCTGAGGTTCCTGCTTCTGCCACCAGG
 AGATACTACCTGGGCGCCGTGGAGCTGAGCTGGGACTACATGCAGCTCTGACCTGGGCGAGCTGGCT
 GTGGACGCCAGGTTCCCCCAGAGTGGCCAGAGCTTCCCCTTCAACAACCTCAGTGGTGTACAAG
 AAGAACCCTGTTCTGGAGTTTCAACCACCTGTTTCAACATGGCCAGCCAGGCCCCCTGGATG
 GGCTTGTGGCCCCACATCCAGGCGAGGTTACGACACCTGGTGTATCACCTGAAGAACATG
 GCCAGCCACCCGCTGAGCTGCAGCCGCTGGGCTGAGCTACTGGAAAGGCTCTGAGGGCCCGAG
 TATGACGACCCAGCCAGCCAGAGGGAGAGGAGGACGACAAGGTGTCCCCGCGGCGAGCCACACC
 TACGTGTGGCAGGTGCTGAAGGAGAACCGCCCATGGCCAGCGACCCCTGTGCTGACCTACAGC
 TACCTGAGCCACGTGGACCTGGTGAAGGACCTGAACTCTGGCTGATCGGGCCCTGCTGGTGTG
 AGGGAGGGCAGCTGGCCAGGAGAGAGCCAGACCTGCACAAGTTCATCTGCTGTTCSCCGTG
 TTCGATGAGGGCAAGAGTGGCCAGCGAGACCAAGAACAGCTGATGCGAGGACAGGGATGCCGCC
 TCTGCCAGGGCTGGCCCAAGATGCACCCGTTGAACGGCTACGTGAACAGGAGCTGCCCGGCTG
 ATCGGCTGCCACAGGAATCTGTGTACTGGCAGCTGATCGGCATGGGCACCACCCCGAGGTGCAC
 AGCATCTTCCGAGGGCCACACCTTCTGCTGAGGAACACAGGCGAGCCAGCTGGAGATCAAC
 CCCATCACCTTCTGACCGCCAGACCTGCTGATGGACCTGGGCGAGTTCTGCTGTCTGCCAC
 ATCACGACCACAGCACGACGCTGAGGCTGAGGCTACGTGAAGTGGACAGCTGCCCGAGGACCC
 CAGCTGAGGATGAAGAACAGCAGGAGGCGGAGGACTATGATGATGACCTGACCGACTCTGAGATG
 GACCTGGTGGAGTTGATGATGACACAGCCCGAGCTTTCATCCAGATCAGGCTGTGGCCCAAGAG
 CACCCCAAGACTGGGTGCACACTACATCGCCGCGAGGAGGAGGACTGGGACTACGCCCCCTGGTG
 CTGGCCCCCGAGCAGCAGGACTACAGAGCCAGTACCTGAACAAGGGCCCCAGAGGATCGGAGG
 AAGTACAAGAAGGTGAGATTCATGGCTACACCGACGAGACCTTCAGACAGGAGGGCCATCCAG
 CACGAGTCTGGCATCTGGCCCTGCTGTGTAGGGGAGGTGGGCGACACCTGCTGATCATCTC
 AAGAACCAGGCCAGCAGGCCCTACAACATCTACCCACAGGCTACCCGATGTGAGGCCCTGTAC
 AGCAGGAGGCTGCCCAAGGGCTGAAGCAGCTGAAGGACTTCCCATCTGCCCGGAGATCTTC
 AAGTACAAGTGGACCTGACCGTGGAGGATGGCCCAAGTCTGACCCAGGCTGACCCAGGCTGAC
 TACTACAGCAGCTTCTGTAACATGGAGAGGAGCTGGCTCTGGCTGATCGGCCCTGCTGATC
 TECTACAAGGAGAGCTGGACAGAGGGGCAACAGATCATGTCTGACAAGAGGAACTGATCTCTG
 TTCTCTGTGTTGATGAGAACAGGAGCTGGTATCTGACCGAGAACATCCAGAGGTTCTGCCCAAC
 CCCGCGCGCTGAGCTGAGGACCCCGAGTTCCAGGCCAGCAACATCATGCACAGCATCAACGGC
 TACGTGTTCCAGCAGCTGCAGCTGTCTGTGTGCTGCACAGGTTGGCTACTGGTACATCTGAGC
 ATCGGCGCCAGACCCACTTCTGTCTGTGTTCTTCTCTGGCTACACCTTCAAGCACAAGATGTG
 TACGAGGACACCTGACCTGTTCCTTCCCTTCAAGGCGAGACCGTGTTCATGAGCATGGAGAACCC
 GGCTGTGGATCTGGCTGCCCAACAGCGACTTCAGGAACAGGGGCTGACCCGCTGCTGAAA
 GTACGACGCTGACACAAGACCCGCGACTACTACGAGGACAGCTACGAGGACATCAAGCCCTAC
 CTGTGAGCAAGAACACACCTACCTGAAACGCTCCCTGAGCCAGAACCCCCGCTGCTGAAG
 AGGCACAGAGGGAGATCACAGGACCCCTGACAGGCGACAGGAGGAGATCGACTATGATGAC
 ACCATCAGCTGGAGATGAAGAGGAGGACTTCGACATCTACGACGAGGACGAGAACAGAGACCC
 AGGAGCTTCCAGAAGAACACAGGCACTACTTCATCGCCGCTGGAGAGGCTGTGGGACTATGSC
 ATGAGCAGCAGCCCCAGTGTGAGGAACAGGGCCAGAGCGGAGGCTGCCCACTTCAAGAA

Фиг. 40А

GTGGTGTTCAGGAGTTCAACCAGCGCAGCTTCAACCAGCCCTGTACAGAGGCGAGCTGAACGAG
 CACCTGGGCTGCTGGGCCCTACATCAGGGCCGAGGTGGAGGACAACATCATGGTGAACCTCAGG
 AACAGGCCAGCAGGCCCCACAGCTTCTACAGCAGCTGATCAGCTACGAGGAGGACCAAGAGGAG
 GCGCGAGGCCAGGAAAGAACTTCTGTAAGCCCAACAGAGACCAAGACCTACTTCTGGAAAGTGCAG
 CACCACATGGCCCCACCAAGGACGAGTTCGACTGCAAGGCCCTGGGCTACTTCTGTGATGTGGAC
 CTGGAGAGGACGCTGCACAGCGGCTGATCGGCCCTTGTGGTGTGCCACACCAACACCTGAAC
 CCGGCCACGGCAGGCGAGGTGACCGTGCAGGAGTTCGCCCTGTTCTTACCATCTTCGACGAGACC
 AAGAGCTGGTACTTCAACCAGAACATGAGAGGAGACTGCAGGGCCCCCTGCAACATCCAGATGGAG
 GACCCACCTTCAAGGAGAACTACAGGTTCACGCCATCAACCGCTACATCATGGACACCTGCC
 GGCTGGTGTGATGGCCAGGACAGAGGATCAGGTGGTATCTGCTGAGCATGGCGAGCAACGAGAAC
 ATCCACAGCATCCACTTCAAGCGGCCAGCTGTTCACCGTGAAGGAGAAAGGAGGATCAAGATGGCC
 CTGTACAACCTGTACCCCGGCGTGTTCGAGACCGTGGAGATGCTGCCAGCAAGGCCGCACTGSG
 AGGGTGGAGTGCCTGATCGGCGAGCACCCTGCAGCCCGGCTGAGGACCCCTGTTCTGGTGTACAGC
 AACAAAGTGCACAGCCCTGGGCTGGCCAGCGGCCACATCAGGAGCTTCCAGATCACCGCTCT
 GGCCAGTACGGCCAGTGGGCCCCCAAGCTGGCCAGGCTGCACACAGCGGCGAGCATCAACGCCCTGG
 AGCACCAGGAGCCCTCAGCTGGATCAAGGTGGACCTGCTGGCCCCATGATCATCACCGGCTATC
 AAGACCCAGGGCGCCAGGAGAAAGTTACAGCCTGTACATCAGCCAGTTCATCATCATGTACAGC
 AGCTGCAGCATGCCCTGGGCTGGAGAGCAAGGCCATCTGTAGGCCAGATCACCGCCAGGAGC
 TACTTCAACACATGTTCCGCCCTGGAGCCCCAGCAAGGCCAGGCTGCACCTGCAGGCGAGGAGC
 AAGCCCTGAGGCCCCAGTGAACAAACCCAGGAGTGGCTGCAGGTTGGACTTCCAGAAGACCATG
 AAGGTGACCGGCTGACACCCAGGCGCTGAAGAGCTGCTGACCAAGCATGACGTGAAGGAGTTC
 CTGATCAGCAGCAGCAGGACCGCCACAGTGGACCTGTCTTCCAGAACGGCAAAGTGAAGGTG
 TTCAGGGCAACAGGACAGCTTCAACCCTGTTGAACAGCTGGACCCCCCTGCTGACCAAG
 TATCTGAGGATCCACCCCAAGCTGGGTGCACAGATCCCTGAGAAATGGAAGTGTGGGATGC
 GAGGCCAGGACTGTACTGA (SEQ ID NO:100)

Фиг. 40В

CS23m2-FL-NA

ATGCAGATTAGCTGAGCACCTGCTTCTTCCTGTGCCTGCTGAGGTTCTGCTTCTGCCACCAGG
AGATACTACCTGGGGCCCGTGGAGCTGAGCTGGGACTACATGCAGTCTGACCTGGGGGAGCTGCCT
GTGGACGCCAGGTTCCCCCCCCAGAGTGCCTAAGAGCTTCCCCCTTCAACACCTCAGTGGTGTACAAG
AAGACCTGTTCGTGGAGTTCAACGACACCTGTCAACATCGCCAAAGCCAGGCCCCCTGGATG
GGCTTGTGGGCCCCACCATCCAGGCCGAGGTGTACGACACCGTGGTGGTCAACCTGAAGAACATG
GCCAGCCACCCCGTGAAGCTGCACGCGCTGGGCGTGAAGTACTGGAAGTCTCTGAGGGGCGCCGAG
TATGACGACCAGACCCAGCCAGAGGGAGAAGGAGGACGACAAGGTGTCCCGGCAAGAGCCACACC
TACGTGTGGCAGGTGTGAAGGAGAACGGCCCACTGCCAGCGACCCCCCTGCCTGACCTACAGC
TACCTGAGCCACGTGGACCTGGTGAAGGACCTGAACTCTGGCTGATCGGGCCCTGCTGGTGTGC
AGGAGGGGACGCTGECCAAGGAGAAGCCAGACCCCTGCACAAGTTCATCTGCTGTTTCCCGGTG
TTCGATGAGGGCAAGAGCTGGCACAGCGAGACCAAGAACAGCCTGATGCAGGACAGGGATGCGCGC
TCTGCCAGGGCCTGGCCCAAGATGCACACCGTGAACGGCTACCTGAACAGGAGCCTGCCCGGCTG
ATCGGCTGCCACAGGAAGTCTGTACTGGCACGTGATCGGCATGGGACCCACCCCGAGGTGCAC
AGCATCTTCTGGAGGGCCACACCTTCTGGTGAAGAACACAGGCGAGCCAGCTGGAGATCAGC
CCCATACCTTCTGACCGCCAGACCTTCTGATGGACCTGGGCCAGTTCCTGCTGTTTCCGCAC
ATCAGCAGCCACAGCACGACGGCATGGAGGCTTCTGTAAGGTGACAGCTGCCCGAGGAGCC
CAGCTGAGGATGAAGAACAACGAGGAGGCCGAGGACTATGATGATGACCTGACCGACTCTGAGATG
GACCTGGTGAAGTTGATGATGACAACAGCCCAAGTTCATCCAGATCAGGTCTGTGGCCAAAGAAG
CACCCCAAGACCTGGGTGCATACATCGCCCGGAGGAGGAGGACTGGGACTACGCCCCCTGGTG
CTGGCCCCGACGACGAGGACTACAAAGGCCAGTACCTGAACAACGGCCCCAGAGGATCGGGCAGG
AAGTACAAGAAGGTGAGTTTACATGGCTTACACCGACGAGACCTTCAAGACCCAGGGAGCCATCCAG
CACAGTCTGGCATCTGGCCCCCTGCTGTACGGCGAGGTGGGGACACCCCTGCTGATCATCTTC
AAGAACCCAGGCCAGGAGCCCTTACAACATCTACCCCCACGGCATCACCGATGAGGGCCCTGTAC
AGCAGGAGGCTGCCAAGGGCGTGAAGCACCTGAAGGACTTCCCATCTGCCCCGGGAGATCTTC
AAGTACAAGTGGACCGTGAACCTGGAGGATGGCCCAACCAAGTCTGACCCCAAGTCTGACAGG
TACTACAGCAGCTTCTGTAACATGGAGAGGGACCTGGCTCTGGCTGATCGGCCCTGCTGATC
TGCTACAAAGGAGAGCGTGGACCCAGAGGGGCAACAGATCATGCTTACAAAGAGGAACCTGATCCTG
TCTCTGTGTTTCGATGAGAACAGGAGCTGGTATCTGACCGAGAACAATCCAGAGGTTCTGCCCAAC
CCCCCGCGCTGCAGCTGGAGGACCCCGAGTTCAGGCCAGCAACAATCATGCACAGCATCAACGGC
TACGTGTTCGACAGGCTGCAGCTGTCTGTGTGCTGACCGAGGTGGCCCTACTGGTACATCTGAGC
ATCGGGCCCGACAGCCGACTTCTGTCTGTGTTCTTCTCTGGCTACACCTTCAAGCACAAGATGGTG
TACAGGACACCCCTGACCCCTGTTCCCTTTCAGCGCGAGACCGTGTTCATGAGCATGGAGAACCC
GGCTGTGGATCTGGGTGCCACAACAGCGACTTCAGGAACAGGGGCATGACCGCCCTGCTGAAA
GTCAGCAGCTGCGACAAGAACACCGGGGACTACTACGAGGACAGCTACGAGGACATCAGCGCTAC
CTGCTGAGCAAGAACAACCGCCATCGAGCCCAAGGAGCTTCAAGCAGAACCCCCCTGCTGAAGAGG
CACAGAGGGAGATCACAGGACCCCTGCAGAGCGACCCAGGAGGAGATCCACTATGATGACACC
ATCAGCTTGGAGATGAAGAAGGAGGACTTGCATCTACGACGAGGACGAGAACCAGAGCCCGAGG
AGCTTCCAGAAGAAGACAGGCATCTACTTCTATCGCCCGTGGAGAGGCTGTGGGACTATGGCATG
AGCAGCAGCCCCACGTCTGAGGAACAGGGCCAGAGCGGCGAGCTGCCCAAGTTCAGAAGGTTG

Фиг. 41А

GTGTCCAGGAGTTACCGACGGCAGCTTCAACCCAGCCCTGTACAGAGGGGAGCTGAACGAGCAC
CTGGGCTGCTGGGCCCTTACATCAGGGCCGAGGTGGAGGACAACATCATGTTGACCTTCAGGAAC
CAGGGCCAGCAGGCCCTTACAGCTTCTACAGCAGCCCTGATCAGCTACGAGGAGGACCCAGAGGAGGGC
GCCGACCCAGGAAGAACTTCTGTGAAGCCAAAGGAGCAACAGACTTACTTCTGAAAGGTGCAGCAC
CACATGGCCCCACCAAGGACGAGTTCGACTGCAAGGCCCTGGGCTTACTTCTCTGATGTGGACCTG
GAGAAAGGACGTGCACAGCGCCCTGATCGGCCCCCTGCTGGTGTGCCACACCAACCCCTGAACCCC
GCCCACGGCAGGACGTTGACCGTGCAGGAGTTCGCCCTGTTCTTCAACATCTTCAGCAACCAAG
AGCTGTACTTCAACGAGAACATGGAGAGGAACTGCAGGGCCCTTGCACAATCCAGATGGAGGAC
CCACCTTCAAGGAGAACACAGGTTCCAGCCATCAACGGCTACATCATGACACCCCTGCCCGGC
CTGGTGTGGCCAGGACAGAGGATCAGGTGGTATCTGCTGAGCATGGGACCAACGAGAACATC
CACAGCATCCACTTACGGGCCACGTGTTCAACCTGAGGAAGAAGGAGGAGTACAAGATGGCCCTG
TACAACCTTACCCCGGCTGTTCGAGACCGTGGAGATGCTGCCAGCAAGGCCGGCATCTGAGG
GTGGAGTGCCTGATCGGGCAGCACCTGACCGCCGGCATGAGCACCTGTTCTGTTGATACAGCAAC
AAGTGGCAGACCCCTGGGCTGGCCAGGGCCACATCAGGGACTTCCAGATCACCGCTCTGGC
CAGTACGGCCAGTGGGCCCAAGCTGGCCAGGCTGCATACAGCGGCAGCATCAACCCCTGGAGC
ACCAAGGAGCCCTTCACTGGATCAAGGTGGACCTGCTGGCCCCATGATCATCCACGGCATCAAG
ACCCAGGGCGCCAGGCAGAACTTCAAGCAGCTGTACATCAGCCAGTTCATCATGATGACAGCCTG
GACGGCAAGAAGTGGCAGACTTACAGGGCAACAGCACCGGCACCCCTGATGTTCTTCCGGCAAC
GTGGACAGCAGCGGCATCAAGCACAACTCTTCAACCCCCCATCATGCCAGGTACATCAGGCTG
CACCCACCCACTACAGCATCAGGAGCACCCCTGGGATGGAAGTGTGGGCTGCCACCTGAACAGC
TGCAGCATGCCCTGGGCTGGAGAGCAAGGCCATCTGTGACGCCAGATCACCGCCAGCAGCTAC
TTCACCAACTGTTGCCACCTGGAGCCCGAGCAAGGCCAGGCTGCACCTGCAGGGCAGGAGCAAC
GCTGGAGGCCCCAGGTGAACAACCCCAAGGAGTGGCTGCAGGTGGACTTCCAGAAGACCATGAAG
GTGACCGGCTGACCAACCCAGGGCGTGAAGAGCCTGCTGACCAGCATGACCTGAAGGAGTTCCTG
ATCAGCAGCAGCCAGGACGCCACCACTGGACCCCTGTTCTTCCAGAACGGCAACTGAAAGTGTTC
CAGGGCAACAGGACAGCTTACCCCCCTGGTGAACAGCCTGGACCCCCCTGCTGACCCAGTAT
CTGAGGATCCACCCAGAGCTGGGTGCACAGATCGCCCTGAGGATGGAAGTGTGGGATGGGAG
GCCAGGACCTGACTGA (SEQ ID NO:101)

Фиг. 41В

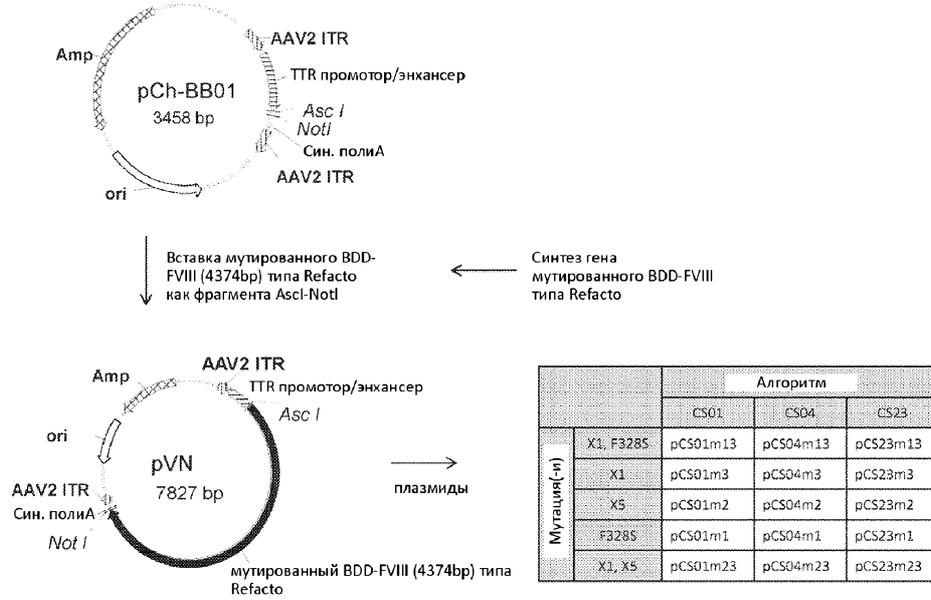
CS23m1-FL-NA

ATGCAGATTGAGCTGAGCACCTGCTTCTTCTGTCCTGCTGAGGTTCTGCTTCTGCCACCAGG
AGATACTACCTGGGCGCCGTGGAGCTGAGCTGGGACTACATGCAGTCTGACCTGGGCGAGCTGCCT
STGGACGCCAGGTTCCCCCCAGAGTGCCTAAGAGCTTCCCTTCAACACCTCAGTGGTGTACAAAG
AAGACCTGTTCGTGGAGTTACCCGACACCTGTTCAACATCGCCAAAGCCAGGCCCCCTGGATG
GGCTGCTGGGCCCCACCATCCAGGCCGAGGTGTACGACACCGTGGTGTACACCTGAAGAATG
GCCAGCCACCCCGTGAGCCTGCACGCCGTGGGCGTGAGCTACTGGAAGGCTCTGAGGGCGCCGAG
TATGACGACCAGACAGCCAGAGGGGAGAAGGAGGACGACAAGGTGTTCCCGGGCGAGCCACACC
TAGCTGTGGCAGGTGCTGAAGGAGAACGGCCCATGGCCAGCGACCCCTGTGCTGTGACCTACAGC
TACCTGAGCCACCTGGACCTGGTGAAGGACCTGAACTGTGGCTGATCGGCGCCCTGCTGGTGTGC
AGGGAGGGCAGCTGGCCAAAGGAGAAGACCCAGACCTGCACAAGTTCATCCTGCTGTTGCCCGTG
TTCGATGAGGGCAAGAGCTGGCACAGCGAGACCAAGAACAGCTGATGACGACAGGGATGCCGCC
TCTGCCAGGGCCTGGCCCAAGATGCAACCCCTGAACCGCTACGTGACAGGACCTGGCCGCTG
ATCGGCTGCCACAGGAAGTCTGTACTGGCACGTGATCGGCATGGGCAACCCCGAGGTTGCAC
AGCATCTTCTGGAGGGCCACACCTTCTGTGTGAGGAACCCAGGCAGGCCAGCTGGAGATCAGC
CCCATCACCTTCTGACCGCCAGACCTCTGCTGATGGACCTGGGCAAGTTCCTGCTGTCTGCCAC
ATCAGCAGCCACAGCACGACCGCATGGAGGCTACGTGAAGGTGGACAGCTGCCCGAGGAGCCCC
CAGCTGAGGATGAAGAACAACAGGAGGGCCGAGGACTATGATGATGACCTGACCCGACTCTGAGATG
GACCTGGTGGGTTTGTATGATGACAAACAGCCCGAGCTTATCCAGATCAGGTCTGTGGCCAAAGAG
CACCCCAAGACCTGGGTGCACTACATCGCCGCCGAGGAGGAGCTGGGACTACGCCCCCTGCTG
CTGGCCCCCGACAGGAGCTACAAAGACCAAGTACTGAAACAGGCCCGCCAGAGGATCGGCAGG
AAGTACAAGAAGTCAAGATTCTGGCTACACCGACGAGACCTTCAAGAACAGGGAGGCCATCGCAG
CACGAGTCTGGCATCTGGGCCCTGTGTACGGCGAGGTGGGCAACCCCTGCTGATCATCTTCA
AAGAACCAGGCCAGCAGGCCCTACAAACATGACCCCCAGCGCATACCCGATGTGAGGCCCTGTAC
AAGTACAAGTGGACCGTACCCGTGGAGGATGGCCCCCAAGTCTGACCCAGGTGCTGACCCAGG
TACTACAGCAGCTTCTGTGAACATGGAGAGGGACCTGGCCCTGGCTGATCGGCCCTGCTGATC
TGCTACAAGGAGAGCGTGGACCAAGAGGGCAACAGATCATGTCTGACAAAGGAAACCTGATCCTG
TCTCTGTGTTGATGAGAACAGGAGCTGGTATCTGACCGAGAACATCCAGAGGTTCTTGGCCCAAC
CCCGCCGGCGTGCAGCTGGAGGACCCGAGTTCGAGGCAGCAACATCATGCACAGCATCAACCGGC
TACGTTGTGCAAGCCTGCAGCTGTCTGTGTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTG
ATCGGCCCCAGACCCGACTCCTGTCTGTGTTCTTCTCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTG
TACGAGGACACCTGACCTGTTCCTTTCAGCGGCAGACCGTGTTCATGAGCATGGAGAACCC
GGCTGTGGATCCTGGCTGCCAACAACAGCAGCTTCAAGAACAGGGGCATGACCCGCTGCTGAAA
CTCAGCAGCTGGCAGCAAGAACAACCCGCGACTACTACGAGGACAGCTACGAGGACATCAGCCGCTAC
CTGCTGAGCAAGAACAACGCCATCGAGCCAGGAGCTTCAAGCAAGAACCCCGCTGCTGAAGAGG
ACCACAGAGGAGATACCCAGGACCCCTGCAGAGCGACAGGAGGAGATCGACTATGATGACACC
ATCAGCTGGAGATGAAGAAGGAGGACTTCGACATCTACGACGAGGACGAGAACCAGAGCCAGG
AGCTTCCAGAAAGAACAGGCACTACTTATCGCCCGCGTGGAGAGGCTGTGGGACTATGGCATG
AGCAGCAGCCCCACGTGTGAGGAACAGGGCCAGAGCGGCAGCGTGGCCAGTTCAGAAGAGGTG

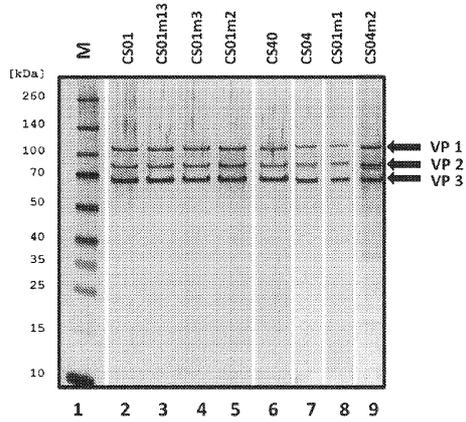
Фиг. 42A

GTGTTCCAGGAGTTACCCGACGGCAGCTTCAACCAGCCCTGTACAGAGCCGAGCTGAACGAGCAC
CTGGCCCTGCTGGGCCCTTACATCAGGGCCGAGGTGGAGGACAACATCATGGTGAACCTCAGGAAC
CAGGCCAGCAGGCCCTACAGCTTCTACAGCAGCTGATCAGCTACGAGGAGGACCCAGAGGCAGGGC
GCCGAGCCAGGAAGAAGTCTGTGAAGCCCAACAGAGACCAAGACCTACTTCTGGAAGGTGCAGCAC
CACATGGCCCCACCAAGGACGAGTTCGACTGCAAGGCCCTGGGCTACTTCTCTGATGTGGACCTG
GAGAAGGACCTGCACAGCGGCTGATCGGCCCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTG
GCCACGGCAGGCGAGTGCAGCTGCAGGAGTTCGCCCTGTTCTTCAACCATCTTCGACGAGACCAAG
AGCTGGTACTTCAACCGAGAACAAGGAGAGGAACTGCAGGGCCCTGCAACATCCAGATGGAGGAC
CCACCTTCAAGGAGAACTACAGGTTCCACGCCATCAACCGCTACATCATGGACACCCCTGCCCGGC
CTGGTGTATGGCCAGGACCAAGGATCAGGTGGTATCTGCTGAGCAAGGGCAGCAACGAGAACAATC
CACAGCATCCACTTCAGCGGCCACTGTTCACCCGTGAGGAAGAAGGAGGAGTACAAGATGGCCCTG
TACAACCTGTACCCCGCGTGTTCGAGACCGTGGAGATGCTGCCAGCAAGGCCGGCAATCTGGAGG
GTGGAGTGCCTGATCGGCAGCACTTGCACGCGGCATGAGCACTCTGTTCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTG
AAGTGCAGACCCCTGGGCAAGGCCAGCGGCCACATCAGGACTTCCAGATCACCGCTCTGGC
CAGTACGGCAGTGGCCCCAAGCTGGCCAGGCTGCACTACAGCGGCAGCATCAACCGCTGGAGC
ACCAAGGAGCCCTTCAGCTGGATCAAGGTGGACCTGCTGGCCCCATGATCATCCACGGCATCAAG
ACCCAGGGCCAGGCAGAAGTTCAGCAGCTGTACATCAGCCAGTTCATCAATCATGTACAGCTTG
GACGGCAAGAAGTGGCAGACTACAGGGCAACAGCACCGGCACCTGATGTTGTTCTTGGGCAAC
GTGGACAGCAGCGGCATCAAGCACAACATCTCAACCCCCATCATCGCCAGGTACATCAGGCTG
CACCCACCCACTACAGCATCAGAGCACCTTGGGATGGAACCTGATGGGCTGCGACCTGAACAGC
TGCAGCATGCCCTGGGCATGGAGAGCAAGGCCATCTCTGACGCCAGATCACCGCCAGCAGCTAC
TTCACCAACATGTTCGCCACTGGAGCCCAAGCAAGGCCAGGCTGCACCTGCAGGGCAGGAGCAAC
GCCGTGGAGGCCCAAGGTGAACAACCCCAAGGAGTGGCTGCAGGTGGACTTCCAGAAGACCATGAAG
GTGACCGGCTGACCAACCCAGGGCTGAAGAGCCTGCTGACCAAGCATGTACGTGAAGGAGTCTCTG
ATCAGCAGCAGCCAGGACGGCCACCAAGTGGACCTGTTCTTCCAGAACGGCAAGTGAAGGTGTT
CAGGGCAACCAGGACAGCTTCAACCCCGTGGTGAACAGCTGGACCCCGCTGCTGACCAAGGTAT
CTGAGGATCCACCCAGAGCTGGGTGCACAGATCGCCCTGAGAAATGGAAGTCTGGGATGCGAG
GCCAGGACCTGTACTGA (SEQ ID NO:102)

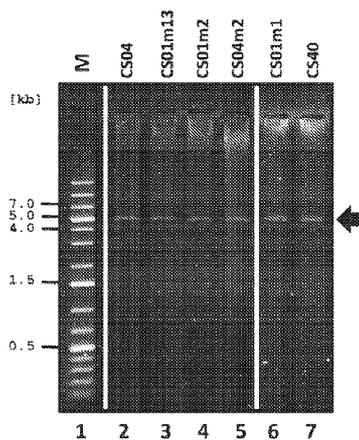
Фиг. 42B



Фиг. 44



Фиг. 45



Фиг. 46

CS01-HC-NA

```

                                gcc
accaggagat actacctggg ggtgtggaa cttctctggg actacatgca gctgacctg
ggagagctgc ctgtggatgc caggttccca cccagagtgc ccaagtcctt cccattcaac
acctctgtgg tctacaagaa gacactcttt gtggaattea ctgaccacct gttcaacatt
gcaaaaccca gaccacctgg gatgggactc ctgggaccca ccattcaggg tgaggtgtat
gacactgtgg tcatcacctt caagaacatg gcatcccccc ctgtgtctct gcatgctgtg
ggagtctcat actggaaagc ctctgaaggg gctgagtatg atgaccagac atcccagaga
gagaaaagag atgacaagggt gttccctggg ggatctcaca cctatgtgtg gcaagtctct
aaggagaatg gaccocatgg atctgaccca ctctgcctga catactctca cctttctcat
gtggacctgg tcaaggacct caactctgga ctgattgggg cactgctggt gtgcaggaa
ggatccctgg ccaaggagaa aaccagaca ctgcacaagt tcattctcct gtttctgtc
ttgatgagg gcaagtcttg gcaacttgaa acaaagaact cctgatgca agacaggat
gtgctctctg ccagggatg gcccaagatg cacactgtga atggctatgt gaacagatca
ctgcctggac tcattggctg ccacaggaaa tctgtctact ggcattgtat tggcatggaa
acaacctctg aagtgcactc cattttctct gagggacaca ccttctctgt caggaaaccac
agacaagcct ctctggagat ctctcccate accttctctc ctgcacagac actgctgtatg
gaccttggac agttctctct gttctgccc atctcttccc accagcatga tggcatggaa
gcctatgtca aggtggactc atgcccctgag gaaccacagc tcaggatgaa gaacaatgag
gaggtgagg actatgatga tgacctgact gactctgaga tggatgtggt cagatttgat
gatgacaact ctccatcctt cattcagatc aggtctgtgg caaagaaaca ccccaagaca
tgggtgcact acattgtctg tgaggaagag gactgggact atgcaccact ggtcctggcc
cctgatgaca ggagctacaa gtctcagtac ctcaacaatg gcccaacaag aattggaaga
aagtacaaga aagtccagatt catggcctac actgatgaaa ccttcaagac aagagaagcc
attcagcatg agtctggcat tctgggacca ctctgtatg gggaaagtgg agacacctg
ctcatcatct tcaagaacca ggctccagg cctacaaca tetacccaca tggcatcact
gatgtcaggc cctgtacag caggagactg ccaaaagggg tgaaacact caaggacttc
ccattctgc ctggagagat cttcaagtac aagtggactg tcaactgtga ggatggacca
acaagctctg accccaggtg cctcaccaga tactactcct cttttgtgaa catggagaga
gacctggcat ctggactgat tggaccactg ctcatctctc acaaggatc tgtggaccag
agaggcaacc agatcatgtc tgacaagaga aatgtgattc tgttctctgt ctttgatgag
aacagatcat ggtacctgac tgagaacatt cagagattcc tgcaccaacc tgcctgggtg
caactggaag accctgagtt ccagggcaagc aacatcatgc actccatcaa tggctatgtg
tttgactctc tccagctttc tgtctgctg catgaggtgg cctactggta cattctttct
attggggcac aaactgactt cctttctgtc ttcttctctg gatacactt caagcacaag
attggttatg aggacacctt gacactcttc ccattctctg gggaaactgt gttcatgagc
atggagaacc ctggactgtg gattctggga tgcacaact ctgacttcag aacacaggga
atgactgcac tgetcaaggt ctctctctgt gacaagaaca ctggggacta ctatgaggac
tcttatgagg acatctctgc ctacctgctc agcaagaaca atgccattga gccacaga
(SEQ ID NO:24X)

```

Фиг. 47

CS01-LC-NA

```

                                g
cagctcgacc aggaagagat tgactatgat gacaccattt ctgtggagat gaagaaggag
gactttgaca tctatgatga ggaagagaac cagtctccaa gatcattcca gaagaagaca
agacactact tcatlgtctg tvtggaaaga ctgtgggact atggcatgtc tctctctccc
catgtctcca ggaacagggc acagctctggc tctgtgccac agttcaagaa agtggctctc
caggaqtlca ctgatggctc attcaccacag cccctgtaca gaggggaaat gaatgagcac
ctgggactcc tgggaccata catcagggtt gaggttggaa acaacatcat gctgacatc
agaaacacag cctccaggcc ctacagcttc tactcttccc tcatcagctc tgaggaagac
cagagacaag gggctgagcc aagaaaagaac ttgtgaaac ccaatgaaac caagacctag
ttctggaaag tccagcacca catggcacc cccagggatg agtttgactg caaggcctgg
gcatacttot ctgatgtgga cctggagaaa gatgtgcact ctggcctgat tggcccactc
ctggtctgcc acaccaacac cctgaacctt gcacatggaa ggcaagtgc tgtgcaggag
tttgccctct tcttaccat ctttgatgaa accaagtcat ggtacttca tgagaacatg
gagagaaaact gcagagcacc atgcaacatt cagatggaa gccccacct caaggagaac
taccagttcc atgcatcaca tggctacatc atggacaccu tgcctgggct tgtcatggca
caggaccaga gaatcagatg gtaacctgctt tctatgggat ccaatgagaa catctactcc
atccacttct ctgggcatgt cttcactgtg agaaaagaag aggaatacaa gatggcctg
tacaacctct accctggggc ctttgagact gtggagatgc tgccttcaa agctggcatc
tggaggttgg aatgcctcat tggggagcac ctgcatgctg gcatgtcaac cctgttctctg
gtctacagca acaagtgcga gacaccctg ggaatggcct ctggccaat cagggacttc
cagatcactg cctctggcca gtatggccag tgggcacca aactggccag gctccactac
tctggctcca tcaatgcctg gtaaccaag gagccattct cttggatcaa ggtggacctg
ctggcaccca tcatcattca tggcatcaag acacagggg caagacagaa atctctctct
ctgtacatct ccaagttcat catcalgtac tctctggatg gcaagaagtg gcagacatc
agaggcaact ccactgcac cctcalgctc tcttttggca atctggcag ctctggcatc
aagcacaaca tcttcaaccc tccatcatt ggcagataca tcaggctgca cccccacc
tactcaatca gatcaaccc caggatggaa ctgatggat gtagctgaa ctctgctca
atgcccctgg gaatggagag caaggccatt tctgatgcc agatcactgc atctcttacc
ttcaccaca tgtttgcac ctggtcacc tcaaaagcca ggtctcact ccagggaaga
agcaatgct ggaacccca ggtcaacaac ccaaaaggaat ggtctcaagt ggaactccag
aagacaatga aagtcactgg ggtgacaacc caggggtca agtctctgct caactcaatg
tatgtgaagg agttcctgat ctcttctca caggatggcc accagtgag actcttctc
cagaatggca aagtcaagggt gttccaggcc aaccaggact ctttcaacc tctgggtgac
tcactggacc cccccctct gacaagatac ctggaattc accccagtc tgggtccac
cagattgccc tgagaatgga agtccctgga tvtgaggcac aagacctgta c
(SEQ ID NO:25)

```

Фиг. 48

CS01A(760-1667) - CS01-SC1-NA

ATGCAGATTGAGCTGTCCACCTGCTCTTTCTGTGCTGCTGAGATTCTGCTTCTCTGCCACCAGGAGATAC
TACCTGGGGCTGTGGAACTTTCTTTGGGACTACATGCAGTCTGACCTGGGAGAGCTGCCCTGTGGATGCCAGG
TTCACCCAGAGAGTGCCTAAGTCCCTTCCCATTCACACCTCTGTGGTCTACAAGAAGACACTCTTTTGGGAA
TTCACCTGACCACCTGTTCACATTCGAAAACCCAGACCACCTGTGATGGGACTGCTGGGACCCACCATTCAG
GCTGAGGTGTATGACACTGTGGTTCATCCCTCAAGAACATGGCATCCACCCCTGTGTCTGTGCATGCTGTG
GGAGTCTCATACTGGAAAGCCTCTGAAGGGCTGAGTATGATGACCAGACATCCAGAGAGAGAAAGAGGAT
GACRAGGTGTTCCTGGGGGATCTCACACCTATGTGTGGCAAGTCTCAAGGAGATGGACCCATGGCATCT
GACCCACTCTGGCTGACATCTCTACCTTTCTCATGTGGACCTGGTCAAGGACCTCAACTCTGGACTGATT
GGGGCACTGCTGTGTGTGAGGGGAAGGATCCCTGGCCAAAGGAGAAAACCCAGACACTGCACAAAGTTCATTTCTC
CTGTTCCTGCTCTTTGATGAGGGCAAGTCTTGGCACTCTGAAACAAGAACTCCCTGATGCAAGACAGGGAT
GCTGCCCTCTGCCAGGCATGGCCCAAGATGCACACTGTGAATGGCTATGTGAACAGATCACTGCCCTGGACTC
ATTGCTGCCACAGGAAATCTGTCTACTGGCATGTGATTTGGCATGGGGACACCCCTGAAGTGCACCTCATTT
TTCTGGAGGGACACACCTTTCTGGTCAGGAACCCAGACAGGCTCTCTGGAGATCTCTCCCATCACCTTCTC
CTCACTGCACAGACACTGCTGATGGACCTTGGACAGTTCTCTGCTGTTCTGCCACATCTCTTCCACCAGCAT
GATGGCATGGAGCCCTATGTCAAGGTGGACTCATGCCCTGAGTAACCAAGCTCAGGATGAAGAACAAATGAG
GAGGCTCAGGACTATGATGATGACCTGACTGACTCTGAGATGATGATGGTTCAGATTGATGATGACAACTCT
CCATCTTCAATTCAGATCAGGTCTGTGGCAAAAGAAACACCCCAAGACATGGGTGCACACTACATTTGCTGCTGAG
GAAGAGGACTGGGACTATGCAACACTGTCTCTGGCCCTGATGACAGGAGCTACAAGTCTGACTACCTCAAC
AATGGCCCAACAAGAAATGGAGAAAGTACAAGAAAGTCAAGATTCATGGCCACACTGATGAAACCTTCAAG
ACAAGAAAGCCATTCAGCATGAGTCTGGCATTTCTGGACCACTCTCTGATGGGGAAGTGGGAGACACCCCTG
CTCATCATCTCAAGAACCAGGCTCCAGGCCCTACAACATCTACCCACATGGCATCACTGATGCTCAGGCC
CTGTACAGCAGGAGACTGCCAAAAGGGTGAACAACCTCAAGGACTTCCCATTTCTGCCCTGGAGAGATCTTC
AAGTACAAGTGGACTGTCTACTGTGGAGGATGGCAACAAGTCTGACCCAGGTGCCCTCAGCAGATACTAC
TCCCTCTTTGTGAACATGGAGAGAGACTGGCATCTGGACTGATGGACCACTGCTCATCTGTCTACAGGAG
TCTGTGGACCAGAGAGGCCAACCAGATCATGTCTGACAAGAGAAATGTGATTTCTGTTCTCTGTCTTTGATGAG
AACAGATCATGGTACCTGACTGAGAACATTCAGAGATTCCTGCCCAACCCCTGCTGGGTGCAACTGGAAAGC
CCTGAGTTCCAGGCAAGCAACATCATGCACTCCATCAATGGCTATGTGTTGACTCTCTCCAGCTTTCTGTCT
TGCTGATAGGTTGGCTACTGGTACATCTTTCTAATTTGGGGCAACAACACTGACTTCCCTTCTGTCTCTCTC
TCTGGATACACTTCAAGCACAAAGATGGTGTATGAGGACACCCCTGACACTTTCCTCATTTCTCTGGGAAACT
GTGTTCTATGAGCATGGAGAACCCTGGACTGTGGATCTGGGATGCCACAACCTGACTTCAGAAACAGGGGA
ATGACTGCACCTGCTCAAGTCTCCTCCTGTGACAGAACACTGGGACTACTATGAGGACTCTATGAGGAC
ATCTCTGCTACTGCTCAGCAAGAACATGCTCTTTGAGCCAGAGAGATCACCCAGGACACCCCTCCAGTCT
GACCCAGGAGAGATGACTATGATGACACCCATTTCTGTGGAGATGAAGAAGGAGGACTTTGACATCTATGAT
GAGGACGAGAACAGTCTCCAAAGATCATCCAGAGAGAGACAGACACTACTTCAATGCTGCTGTGGAAAGA
CTGTGGCACTATGGCATCTCTCCCTCTCCCATCTCCCTCAGGAAACAGGGCACAGTCTGGCTCTGTGCCACAG
TTCAGAAAGTGTCTTCCAGGAGTTCAGTGTGGCTCATTCACCCAGGCTCTGTACAGGGGGAACTGAT
GAGCACCTGGGACTCTTGGACCAATACATCAGGGCTGAGGTGGAAGACAAATCATGTTGACATTCAGAAAC
CAGGCCCTCCAGGCCCTTCTACTCTTCCCTCATCAGCTATGAGGAGAGACAGAGACAAAGGGCTGAG
CCAGAAAGAACTTTCTGAAACCAATGAAACCAAGACCTACTTCTGGAAAGTCCAGCACACATGGCACCC

Фиг. 49А

ACCAGGATGAGTTTGACTGCAAGGCTGGGCATACCTCTCTGATGTGGGCTGGAGAAAGATGTGCACTCT
GGCCTGATTTGGCCACTCCCTGGTCTGCCACACCCACCCCTGAACCTGCACATGGAAAGGCAAGTGACTGTG
CAGGAGTTTGGCTCTCTTCCACCATTTGATGAAACCAAGTCAATGGTACTTCACTGAGAACATGGAGAGA
AATGCGAGAGCACCATGCAACATTCAGATGGAAGACCCCACTTCAAGGAGAACTACAGGTTCCATGCCATC
AATGGCTACATCATGGACACCCCTGCCCTGGCTTTCTCATGGCACAGGACAGAGAAATCAGATGGTACCTGCTT
TCTATGGGATCCATGAGAACATTCACCTCCATCCACTTCTCTGGGCATGCTTCACTGTGAGAAAGAGGAG
GAATACAAGATGGCCCTGTACAACCTCTACCCCTGGGTCTTTGAGACTGTGGAGATGCTGCCCTCCAAAGCT
GGCATCTGGAGGGTGGAAATGCTCATTTGGGGAGCACCTGCAATGCTGGCATGTCAACCTGTCTCTGGTAC
AGCAACAAGTGCACACACCCCTGGGAATGGCTCTGGCCACATCAGGACTTCCAGATCACTGCCCTCTGGC
CAGTATGGCCAGTGGCCACCCAAACTGGCCAGGCTCCACTACTTCTGGCTCCATCAATGGCATGGTCAACCAAG
GAGCCAATCTCTTTGGATCAAGGTGGACTGCTGGCACCCATGATCATTTGATGGCATCAAGACACAGGGGGCA
AGACAGAAATTTCTCTCTCTGTGATCTCACAGTTCATCATCTGACTCTCTGGATGGCAAGAAATGGCCAG
ACATACAGAGCCAACTCCACTGGCACCCCTATGCTCTCTTTGGCAATGCGACAGCTCTGGCATCAAGCAC
AACATCTTCAACCTTCCATCATTTGCCAGATACATCAGGCTGCACCCCAAGCACTACTCAATCAGATCAACC
CTCAGGATGAACTGATGGGATGTGACCTGAACCTCTGCTCAATGGCCCTGGGAATGGAGAGCAAGGCCATTT
TCTGATGCCAGATCACTGCATCTCTTACTTCAACCAACATGTTTGGCCACTGGTCAACATCAAAAGCCAGG
CTGCACCTCCAGGGAAGAGCAATGCCCTGGAGACCCCAAGTCAACAAACCAAGGAATGGCTGCAAGTGGAC
TTCAGAGAGCAATGAAAGTCACTGGGGTGCACACCCAGGGGTCAGTCTGCTCACTCAATGATGTG
AAGGAGTTCTCTGATCTCTCTCTCACAGGATGGCCACCAAGTGGACACTTCTTCTCCAGAAAGCCAAAGTCAAG
GTGTCCAGGGCAACCCAGGACTCTTTACACCTGTGTGAACTCACTGGACCCCCCTCTCTGACAAAGTAC
CTGAGAAATCACCCCAAGTCTTGGGTCCACCAAGATGGCCCTGAGAAATGGAACTCTGGGATGTGAGGCACA

Фиг. 49В

CS01A(772-1667) - CS01-SC2-NA

ATGCAGATTGAGCTGCCACCTGCTTCTTTCTGTGCCTGCTGAGATTCTGCTTCTCTGCCACCAGG
AGATACTACTCTGGGGCTGTGGAACTTTCTTGGGACTAGATGCAGCTCTGACCTGGGAGAGCTGCCT
GTGGATGCCAGGTTCCCACCCAGAGTGGCCAGTCTCTCCCATTCACACACCTCTGTGGTCTACAAG
AAGACACTCTTTGTGGAAATCACTGACCACCTGTTCAACATTCGAAAACCCAGACCACCCTGGATG
GGACTCTCTGGGACCACCATTTCAGGCTGAGGTGATGACACTGTGGTCACTCACCTCAAGAACATG
GCATCCCACCTCTGTCTCTGCATGCTGTGGGAGTCTCATACTGGAAAGCCCTCTGAAGGGCTGAG
TATGATGAGCCAGACATCCAGAGAGAGAAAGAGGATGACAAGGTGTTCCTGGGGGATCTCACACC
TATGTGTGGCAAGTCTCAAGGAGAATGGACCCATGGCATCTGACCCACTCTGCCTGACATACTCC
TACCTTTCTCATSTGGACCTGGTCAAGGACCTCAACTCTGGACTGATTGGGGCACTGCTGCTGTGC
AGGGAAAGSATCCCTGGCCAAAGGAGAAAACCCAGACACTGCACAAGTTCATTCTCTGTGTGCTGT
TTTGATGAGGGCAAGTCTTGGCACCTTGAACAAGAACTCCCTGATGCAGACAGGGATGCTGDC
TCTGGCCAGGGCATGGCCCAAGATGCACACTGTGAATGGCTATGTGAACAGATCACTGCTGGACTC
ATTGGCTGCCACAGGAAATCTGTCTACTGGCATGTGATTGGCATGGGGACAAACCCCTGAAGTGCAC
TCCATTTTCTGGAGGGACACACCTTCTGGTCAAGAACACAGACAAAGCCCTCTGTGGAGATCTCT
CCCATCACCTTCTCACTGCACAGACACTGCTGTGATGGACTTGGACAGTTCCTGCTGTCTGCCAC
ATCTCTTCCCACAGCATGATGGCATGGAAGCCATGTCAAGGTGGACTCATGCCCTGAGGAACCA
CAGCTCAGGATGAAGAACAATGAGGAGGCTGAGGACTATGATGATGACCTGACTGACTCTGAGATG
GATGTGGTCAAGTTTATGATGACAACTCTCCATCTTCAATTCAGATCAGGTCTGTGGCAAGAAA
CACCCCAAGACATGGGTGCACATCTTGTCTGCTGAGGAAAGAGGACTGGGACTATGCACCACTGGTC
CTGGGCCCTGATGACAGGAGCTACAAGTCTCAGTACCTCAACAATGGGAAATTCGAAGA
AAGTACAAGAAGTCAAGTTTCAATGGCTTACTGATGAACCTTCAAGACAGAGAAGCCATTCAG
CATGAGTCTGGCATCTGGGACCACTCTGTATGGGAAAGTGGGAGACACCCCTGCTCATCATCTTC
AAGAACCAGGCTCCAGGCCCTACAACATCTACCCACATGGCATCATGATGTCAGGCCCTGTATC
AGCAGGAGACTGCCAAAAGGGGTGAAACACCTCAAGGACTTCCCATTTCTGCCTGGAGAGATCTTC
AAGTACAAGTGGACTGTCTGAGGAGGCTGAGGACTGAGGACTGAGGACTGAGGACTGAGGACTGAGG
TACTACTCTCTTTTGTGAACATGGAGAGAGCTGGCATCTGGACTGATTGGACCACTGCTCATC
TGCATACAAGGAGTCTGTGGACAGAGAGGCAACAGATCATGTCTGACAAGGAAATGTGATCTGTG
TCTCTGTCTTTGATGAGAACAGATCACTGGTACTGACTGAGAACATTCAGAGATTCCTGCCAAC
CCTGCTGGGGTCAACTGGAAGACCTGAGTCCAGGCAAGCAACATCATGCACTCCATCAATGGC
TATGTGTTGACTCTCTCCAGCTTCTGTCTGCCTGCATGAGGTGGCTACTGGTACATCTTTCT
ATTGGGGCACAACCTGACTTCTTTCTGTCTTCTCTCTGGATACACCTTCAAGCAAGAGTGGTG
TATGAGGACACCTGACACTCTTCCCATCTCTGGGAAACTGTGTTCATGAGCATGGGAAACCT
GGACTGTGGATCTGGGATGCCACAACCTGACTTCAAGAACAGGGAAATGACTGCACTGCTCAAA
GTCTCTCTGTGCAAGAACACTGGGACTACTATGAGGACTCTTATGAGGACATCTCTGCCTAC
CTGCTCAGCAAGAACATGCCATTGAGCCAGAACTCTCTCAGAAATCCAGACACCCAGCACCT
AGGAGATCACAGGACAACTCCAGTCTGACCAGGAAGAGATTGACTATGATGACACCATTTCT
GTGGAGATGAAGAAGGAGGACTTTGACATCTATGATGAGGACGAGAACAGTCTCCAAGATCATTC

Фиг. 50A

CAGAAGAAGACAAAGACACTACTTCAATGCTGTGTGGAAAGACTGTGGACTATGGCATGTCTTCC
TCTCCCATGTCTCTCAGGAACAGGGGCACAGTCTGGCTCTGTGCCACAGTTCAAGAAAGTGTCTTTC
CAGGAGTTCACTGATGGCTCATTCACCCAGCCCTGTACAGAGGGAACTGAATGAGCACCTGGGA
CTCTGGGACCATACATCAGGGCTGAGGTGGAAAGACAACATTCAGTGCATTCAGAAACAGGCC
TCCAGGCCCTACAGCTTCTACTCTTCCCTCATCAGCTATGAGCAAGACCAGAGACAAGGGGTGAG
CCAAGAAAGAACTTTGTGAAACCCAAATGAAACCAAGACTACTTCTGGAAAGTCCAGCACCATG
GCACCCCAAGGATGAGTTTGAATGCAAGGCTGGGCACTTCTCTGATGTGGACCTGGGAAA
GATGTGCACTCTGGCTGATTTGGCCACTCTGGTCTGCCACCAACACCTTGAACCTGCACAT
GGAAAGCAAGTACTGTGCAGGAGTTTGGCCCTCTTCTCACCATCTTTGATGAAACCAAGTCAATG
TACTTCACTGAGAACATGGAGAGAACTGCCAGGACCATGCAACATTCAGATGGAAAGACCCACCC
TTCAAGGAGAACTACAGGTTCATGCCATCAATGGCTACATCATGGACACCTGCCCTGGGCTGTG
ATGGCACAGGACAGACATCAGATGGTACCTGCTTTCTATGGGATCCAATGAGAACATTCACTCC
ATCCACTTCTCTGGGCATCTTCACTGTGAAAGAAGGAGGAATACAAGATGGCCCTGTACAAC
CTCTACCTGGGGTCTTTGAGACTGTGGAGATGCTGCCCTCCAAAGCTGGCATCTGGAGGGTGGAA
TGGCTCATTTGGGAGCCACTGCATGCTGGCATGTCACCCCTGTCTCTGGTCTACAGCAACAGTGC
CAGACACCCCTGGGAAAGGCTCTGGCCACATCAGGCACTTCCAGATCACTGCCCTGTGGCAGTAT
GGCCAGTGGGACCCAAACTGGCCAGGCTCCACTACTCTGGCTCCATCAATGCATGGTCAACCAAG
GAGCCATTCTTTGGATCAAGGTGGACTGCTGGCACCCATGATCATTCATGGCATCAAGACACAG
GGGGCAAGACAGAAATTCCTCTCTGTACATCTCACAGTTCAATCATCTACTCTCTGTGATGGC
AAGAAGTGGCAGACATACAGAGGCAACTCCACTGGCACCCCTCATGGTCTCTTTGGCAATGTGGAC
AGCTCTGGCATCAAGCACAACTCTCAACCTTCCCATCATTTGCCAGATACATCAGGCTGCACCC
ACCCACTACTCAATCAGATCAACCTCAGGATGGAAGTGGATGGATGTCACCTGAACTCTGTCTCA
ATGCCCTGGCAATGGAGAGCAAGGCCATTTCTGATGCCAGATCACTGCATCTCTTACTTCAAC
AACATGTTTGGCACTGGTCAACATCAAAAGCCAGGCTGCACCTCCAGGGAAGAAGCAATGCCTGG
AGACCCAGGTTCAACAACCCAAAGGAATGGCTGCAAGTGGACTTCCAGAAGACAAATGAAAGTCACT
GGGTGACAAACCCAGGGGTCAAGTCTCTGCTCACCTCAATGATGTGAAGGAGTTCTGTACTCT
TCTTCAAGGATGGCCACAGTGGACACTCTTCTTCCAGAAATGGCAAGTCAAGGTGTTCAGGGC
AACAGGACTTTCACACTGTGTGAACTCACTGACCCCTCCCTCTGACAAGATACCTGAGA
ATTCAACCCAGTCTTGGTCCACAGATGCCCTGAGAAATGGAAGTCTGGGATGTGAGGCACAA
GACCTGACTGA (SEQ ID NO:27)

Фиг. 50B

CS23A(772-1667) - CS23-SC2-NA

ATGCGAGATTGAGCTGAGCACCCTGCTTCTTCCCTGTGCTGCTGAGGTCTGCTTCTCTGCCACCAGG
AGATACTACCTGGGGCCCGTGGAGCTGAGCTGGGACTACATGCAGTCTGACCTGGGGGAGCTGCCT
GTGGACCGCCAGGTTCCCCCCAGAGTGCCTCAAGAGCTTCCCTTCAACACCTCAGTGGGTACAAAG
AAGACCTGTTCGTGGAGTTCAACGACCACCTGTTCACATCGCCAAAGCCAGGCCCCCTGGATG
GGCCCTGTGGGCCCCACCATCCAGGCCGAGGTGTACGACACCGTGGTGTACACCTGAAAGAACATG
GCCAGCCACCCCTGAGCCTGCACGCCCTGGGGCTGAGCTACTGGAGGCCCTGTGAGGGCCCGCAG
TATGACGACCAGACCCAGCCAGAGGGAGAGGAGGACGACAGGTGTTCCTCCGGCCGAGCCACACC
TACGTGTGGCAGGTGTGAAGGAGAACGGCCCATGGCCAGCGACCCCTGTGCTGACCTACAGC
TACCTGAGCCACCTGGACCTGTTGAAGSACCTGAACTCTGGCCTGATCGGCCCTGCTGGTGTGC
AGGGAGGGCAGCCTGGCCAAAGGAGAAAGCCAGACCTGCACAAGTTCATCTGCTGTTCCGCCGTG
TTCGATGAGGGCAAGAGCTGGCACAGCGAGACCAAGAACAGCCTGATGCAAGGACAGGGATGCGGCC
TCTGCCAGGGCCTGGCCCAAGATGCACACCTGAACGGCTACGTGAACAGGAGCCTGCCCGCCCTG
ATCGGCTGCCACAGGAAGTCTGTGTACTGGCACGTGATCGGCATGGGCACCCACCCCGAGGTGCAC
AGCATCTTCTGGAGGGCCACACCTTCTGGTGGAGAACACAGGCAGGCAGCCAGCTGGAGATCAGC
CCCATCACCTTCTGACCGCCCCAGACCTTCTGATGGACCTGGGCCAGTTCCTGCTGTCTGCCAC
ATCAGCAGCCACCCAGCAGCAGCGCATGGAGGCCCTAGCTGAAGTGGACAGCTGCCCGAGGAGGCC
CAGCTGAGGATGAAGAACAACGAGGAGGGCCGAGGACTATGATGATGACCTGACCGACTCTGAGATG
GACGTGGTGGGTTGATGATGACAAACAGCCCGCAGCTTCATCCAGATCAGGTCTGTGGCCAAAGAA
CACCCCAAGACCTGGTGCATACATCGCCCGCAGGAGGAGGACTGGGACTACGCCCCCTGTGTG
CTGGCCCCCGCAGCAGGAGCTACAAGAGCCAGTACTGAAACAACGGCCCGCAGAGGATGGCCAGG
AAGTACAAGAAGGTGAGATTGATGCTTACACCGCAGGACCTTCAAGACCAGGGAGGCCATCGAG
CACGAGTCTGGCATCCTGGGCCCTGTGTGTACGGCCGAGGTGGGGCAGACCCCTGCTGATCATCTC
AAGAACAGGGCCAGCAGGCCCTACAACATCTACCCCCACGGCATCACCAGATGTGAGGCCCTGTAC
AGCAGGAGGCTGCCAAGGGCTGAAGCACCTGAAGGACTTCCCATCTGCCCGCGAGATCTTC
AAGTACAAGTGGACCTGACCTGGAGGATGGCCCCACCAAGTTCAGCCCGAGGTGCTGACAGG
TACTACAGCAGCTTCGTGAACATGGAGAGGGACCTGGCCTCTGGCTGATCGGCCCTGCTGATC
TGCTACAGGAGAGCGTGGACAGAGGGCAACAGATCATGTCTGACAGAGGAACCTGATCATCTG
TTCCTCTGTTCGATGAGAAACAGGAGCTGGTATCTGACCGAGAACATCCAGAGGTTCTGCCCAAC
CCCGCCGCTGCGAGCTGGAGGACCCCGAGTTCAGGCCAGCAACATCATGCACAGCATCAACGGC
TACGTGTTCGACAGCCTGCAGCTGTCTGTGCTGCACGAGGTGGCCTACTGGTACATCTGAGC
ATCGGGCCCGCAGCCGACTTCTGTCTGTGTCTCTCTGGCTACACCTTCAAGCACAAGATGGTG
TACAGAGCACCCCTGACCTGTTCCTCCCTTCAAGCCGCGAGACCGTGTTCATGAGCATGGAGAACC
GGCCTGTGGATCCTGGGCTGCCACAAACAGCGACTTCAGGAACAGGGGCATGACCGCCCTGCTGAAA
GTCAGCAGCTGCGACAAGAACACCCGGCAGTACTACGAGGACAGCTACAGGAGCATCAGCGCCTAC
CTGCTGAGCAAGAACACCCCATCGAGCCAGGAGTTCAGCCAGAACTCCAGACACCCCGAGCACC

Фиг. 52А

AGGGAGATCACCAGGACCACCTTGCAGAGCCAGCAGGAGGATCGACTATGATGACACCATCAGC
GTGGAGATGAAGAAGGAGGACTTCGACATCTACGACGAGGACGAGAACCAGAGCCCGAGGAGCTTC
CAGAAGAAGACCCAGGCACTACTTCAATCGCCCGCTGGAGAGGCTGTGGGACTATGGCATGAGCAGC
AGCCCCCAGTGTGAGGAACAGGGCCAGAGCGGCAGCGTCCCCAGTTCAGAAGGTGGTGTTC
CAGGAGTTCACCGACGGCAGCTTCAACCCAGCCCTGTACAGAGGGCAGGTGAACGAGCACCTGGGC
CTGCTGGGCCCTACATCAGGGCCGAGGTGGAGGACAACATCATGGTGAACCTCAGGAACCCAGGCC
AGCAGGCCCTACAGCTTCTACAGCAGCCTGATCAGCTACGAGGAGGACCAAGGGCAGGGCCCGCAG
CCCGAAGAAGTTCGTGAAGCCCAACGAGACCAAGACCTACTTCTGGAAGGTGCAGCACCCATG
GCCCCCAAGGACGAGTTCGACTGCAAGGCCCTGGCCCTACTTCTGATGTGGACCTGGAGAAG
GAGCTGCACAGCGCCTGATCGGCCCTGCTGGTGTGCCACCAACACCTGAAACCCCGCCAC
GGCAGGCAGGTGACCGTGCAGGAGTTCGCCCTGTCTTCAACATCTTCGACGAGACCAAGAGCTGG
TACTTCAACCGAGAACATGGAGAGGAACCTGCAGGGCCCTGCAACATCCAGATGGAGGACCCCAAC
TTCAGGAGAACTACAGGTTCACCGCCATCAACGGCTACATCATGGACACCTGCCCGCCTGGTG
ATGGCCCGAGGACAGAGGATCAGGTGGTATCTGCTGAGCATGGGCAGCAACGAGAACATCCACAGC
ATCCACTTCAGCGGCCAGCTGTTCACCGTGGAGGAAGAGGAGTACAAGAATGGCCCTGTACAA
CTGTACCCCGGCTGTTCGAGACCTGGAGATGCTGCCAGCAAGGCCGGCATCTGGAGGTGGAG
TGCTGATCGGGCAGCACCTGCACGGCCGGCATGAGCACCTGTTCCTGGTGTACAGCAAGTGC
CAGACCCCTGGGCATGGCCAGCGGCCACATCAGGACTTCCAGATCACCBCCTGTGGCCAGTAC
GGCCAGTGGCCCCCAAGCTGGCCAGGCTGCACCTACAGCGGCAGCATCAACGCTGGAGCACCAAG
GAGCCTTCAGCTGGATCAAGGTGGACCTGCTGGCCCATGATCATCCACGGCATCAAGACCCAG
GGCGCCAGGCAGAACTTCAGCAGCCTTACATCAGCCAGTTCATCATCATGTACAGCCTGGACGGC
AAGAAGTGGCAGACTACAGGGGCAACAGCACCCGGCACCCCTGATGGTGTCTTCGGCAACGTGGAC
AGCAGCGGCATCAAGCACAACATCTCAACCCCCATCATCGCCAGGTACATCAGGCTGCACCCC
ACCCACTACAGCATCAGGAGCACCTGCGGATGGAACCTGATGGCTGGCACCTGAACAGCTGCAGC
ATGCCCTGGGCATGGAGAGCAAGGCCATCTCTGACGCCAGATCACCGCCAGCAGCTACTTACC
AACATGTTCGCCACCTGGAGCCCAAGCAAGGCCAGGCTGCACCTGGCAGGGCAGGAGCAACCCCTGG
AGGCCCCAGGTGAACAACCCCAAGGAGTGGCTGCAGGTGGACTTCCAGAAACCATGAAGGTGACC
GGCTGACCAACCAGGGCTGAAGAGCCTGCTGACAGCATGTACGTGAAGGAGTTCCTGATCAGC
AGCAGCCAGGACGGCCACAGTGGACCTGTCTTCCAGAACGGCAAGTGAAGGTGTTCAGGG
AACAGGACAGCTTCAACCCCTGGTGAACAGCCTGGACCCCTGCTGACAGGATCTGAGG
ATCCACCCAGAGCTGGTGCACAGATCGCCCTGAGAATGGAAGTGTGGATGCGAGGCCAG
GACCTGTACTGA (SEQ ID NO:29)

Фиг. 52В

CS01m23-FL-AA (SEQ ID NO: 104)

MQIELSTCFFLCCLRFCFSATRYYLGAVELSWDYMQSDLGELPVDARFPPRVKSPFPFN
 TSVVYKKTLEVEFTDHLFENIAKPRPFWMLLGPFIQAEVYDVTVVITLKNMASHPVSLHAV
 GVSYWKSSEGAEYDDQTSQREKEDDKVFPFGKSHYYVQVLKENGPTASDPPCLTYSYLSH
 VDLVKDLNSGLIGALLVCREGSLAKEKTQTLHKFILLFAVFDGKSWHSETKNSLMQDRD
 AASARAWPKMHTVNGYVNRSLPGLIGCHRKSVYWHVIGMGTTPEVHSIFLEGHTFLVRNH
 ROASLEISPIITFLTAQTLMLDGLQFLFCHISSHQHDGMEAYVKVDSCEPEEPQLRMKNNE
 EAEDYDDDLTDSEMDVVRFDNNSPSFIQIRSVAKKHKPTWVHYIAAEEEDWDYAPLVLA
 PDDRSYKSOYLNNGPQRIGRKYKVRFMAYTDETFKTRAIQHESGILGPLYGEVGDTL
 LIIFKNQASRPYNIYPHGITDVRPLYSRRLPKGVKHLKDFPILPGEIFKYKWTVTVEDGP
 TKSDPRCLTRYSSFVNMERDLASGLIGPLLI CYKESVDQQRGNQIMSDKRNVILFSVFEE
 NRSWYL TENIQRFLPNPAGVQLEDPEFQASNIMHSINGYVFDLSQLSVCLHEVAYWYILS
 IGAQTDFLSVFFSGYTFKHVMYEDTTLTLPFSGETVFMSEMPGLWILGCHNSDFRNRG
 MTALLKVVSSCDKNTGDYEDSYEDISAYLLSKNNTYVNRSLSQNPPVLRKHQREITRTT
 LQSDQEEIDYDDTISVEMKKEDEFDIYEDENQSPRSFQKTRHYFIAAVERLWDYGMSSS
 PHVLRNRAQSGSVPPQFKVVVFQEFDTGSGFTQPLYRGELNEHLGGLGPIRAEVEDNIMVT
 FRNQASRPYSFYSSLSIYEEEDQRQGAEPKRFVKNPNETKTYFWKVVQHMMAPTKEFDCKA
 WAYFSDVDLEKDVHSGLIGPLLVCHTNTLNPAHGRQVTVQEFALFFTIFDETKSWYFTEN
 MERNCRAPCNIQMEDPTFKENYRFHAINGYIMDTLPGLVMAQDQIRWYLLSMGNSNENIH
 SIHFSGHVFTVRKKEEYKMALYNLYPGVFETVEMLPKAGIWRVECLIGEHLHAGMSTLF
 LVYSNKCQTPGLMASGHIRDFQITASGQYQWAPKLARLHYSGSINAWSTKEPFSWIKVD
 LLAPMIHGIKTQGARQKFSLSYISQFIIMYSLDGKKWQTYRGNSTGTLMVFFGNVDSG
 IKHNIENPPIIARYIRLHPHYSIRSTLRMELMGC DLNSCSMPLGMESKAI SDAQITASS
 YFTNMFATWSPSKARLHLQGRSNARFQVNNPKEWLQVDFQKTMKVTGVTTOGVKSLLS
 MYVKEFLISSSQDGHQWTLFPQNGKVKVFPQGNQDSFTPVVNSLDPPLLTRYLRIHPQSWV
 HQIALRMEVLGCEAQDLY

Фиг. 53

CS04m3-FL-AA (SEQ ID NO: 105)

MQIELSTCFFLCCLRFCFSATRYYLGAVELSWDYMQSDLGELPVDARFPPRVKSPFPFN
 TSVVYKKTLEVEFTDHLFENIAKPRPFWMLLGPFIQAEVYDVTVVITLKNMASHPVSLHAV
 GVSYWKA SEGAEYDDQTSQREKEDDKVFPFGGSHYYVQVLKENGPMASDPLCLTYSYLSH
 VDLVKDLNSGLIGALLVCREGSLAKEKTQTLHKFILLFAVFDGKSWHSETKNSLMQDRD
 AASARAWPKMHTVNGYVNRSLPGLIGCHRKSVYWHVIGMGTTPEVHSIFLEGHTFLVRNH
 ROASLEISPIITFLTAQTLMLDGLQFLFCHISSHQHDGMEAYVKVDSCEPEEPQLRMKNNE
 EAEDYDDDLTDSEMDVVRFDNNSPSFIQIRSVAKKHKPTWVHYIAAEEEDWDYAPLVLA
 PDDRSYKSOYLNNGPQRIGRKYKVRFMAYTDETFKTRAIQHESGILGPLYGEVGDTL
 LIIFKNQASRPYNIYPHGITDVRPLYSRRLPKGVKHLKDFPILPGEIFKYKWTVTVEDGP
 TKSDPRCLTRYSSFVNMERDLASGLIGPLLI CYKESVDQQRGNQIMSDKRNVILFSVFEE
 NRSWYL TENIQRFLPNPAGVQLEDPEFQASNIMHSINGYVFDLSQLSVCLHEVAYWYILS
 IGAQTDFLSVFFSGYTFKHVMYEDTTLTLPFSGETVFMSEMPGLWILGCHNSDFRNRG
 MTALLKVVSSCDKNTGDYEDSYEDISAYLLSKNNTYVNRSLSQNPPVLRKHQREITRTT
 LQSDQEEIDYDDTISVEMKKEDEFDIYEDENQSPRSFQKTRHYFIAAVERLWDYGMSSS
 PHVLRNRAQSGSVPPQFKVVVFQEFDTGSGFTQPLYRGELNEHLGGLGPIRAEVEDNIMVT
 FRNQASRPYSFYSSLSIYEEEDQRQGAEPKRFVKNPNETKTYFWKVVQHMMAPTKEFDCKA
 WAYFSDVDLEKDVHSGLIGPLLVCHTNTLNPAHGRQVTVQEFALFFTIFDETKSWYFTEN
 MERNCRAPCNIQMEDPTFKENYRFHAINGYIMDTLPGLVMAQDQIRWYLLSMGNSNENIH
 SIHFSGHVFTVRKKEEYKMALYNLYPGVFETVEMLPKAGIWRVECLIGEHLHAGMSTLF
 LVYSNKCQTPGLMASGHIRDFQITASGQYQWAPKLARLHYSGSINAWSTKEPFSWIKVD
 LLAPMIHGIKTQGARQKFSLSYISQFIIMYSLDGKKWQTYRGNSTGTLMVFFGNVDSG
 IKHNIENPPIIARYIRLHPHYSIRSTLRMELMGC DLNSCSMPLGMESKAI SDAQITASS
 YFTNMFATWSPSKARLHLQGRSNARFQVNNPKEWLQVDFQKTMKVTGVTTOGVKSLLS
 MYVKEFLISSSQDGHQWTLFPQNGKVKVFPQGNQDSFTPVVNSLDPPLLTRYLRIHPQSWV
 HQIALRMEVLGCEAQDLY

Фиг. 54

CS01-FL-AAm12 (SEQ ID NO: 106)

MQIELSTCFFLCLLRFCFSATRRYYLGAVELSWDYMQSDLGELPVDARFPPRVPKSFFNTSVVYK
 KTLFVEFTDHLFNIAPRPPMGLGPTIQAEVYDTVVVTLKNMASHPVSLHAVGVSYWKSSEGAE
 YDDQTSQREKEDDKVFPKSHTYVWQVLKENGFTASDPPCLTYSYLSHVDLVKDLNSGLIGALLVC
 REGSLAKEKTQTLHKFILLFAVFDGKSWHSETKNSLMQDRDAASARAWPKMHTVNGYVNRSLPGL
 IGCHRKSYYVHWIYMGTTPEVHSIFLEGHTFLVRNHRQASLEISPIITFLTAQTLMLDLGQFLLSCH
 ISSHQHDGMEAYVVKVDSCEPEPQLRMKNNEEAEDYDDDLTDSMDVVRFDDENSPSFIQIRSVAKK
 HPKTVVHYIAAEEDWDYAPLVLAPDDRSYKSQYLNNGPQRIGRKYKVRFMAYTDETFKTRAIQ
 HESGILGPLLYGEVGDITLLIIFKNQASRPYNIYPHGITDVRPLYSRRLPKGVKHLKDFIIPGEIF
 KYKWTVTVEDGPTKSDPRCLTRYSSFVNMERDLASGLIGPLLI CYKESVDQRGNQIMSDKRNVL
 FSVFDENRSWYL TENIQRFLPNPAGVQLEDPEFQASNIMHSINGYVFDLSQLSVCLHEVAYWYILS
 IGAQTDFLSVFFSGYTFKHKMVYEDTLTLPFSGETVFMSEMPGLWILGCHNSDFRNRGMTALLK
 VSSCDKNTGDYEDSYEDISAYLLSKNNAIEPRFSQNPVVKRHRQREITRITLQSDQEEIDYDDT
 ISVEMKKEDEFDIYDEDENQSPRSFQKTRHYFIAAVERLWDYGMSSSPHVLNRNRAQSGSVQPKKV
 VFQEFDDGFTQPLRYGELNEHLGLGPYIRAEVEDNIMVTFRNQASRPYSFYSSLI SYEEDQRQG
 AEPKRNFKVKNETKTYFWKVQHMAPTKDEFDCKAWAYFSDVDLEKDVHSGLIGPLLVCHTNTLNP
 AHGRQVTVQEFALFFTIIFDETKSWYFTENMERNCRAPCNIQMEDPTFKENYRFHAINGYIMDTLPG
 LVMAQDQIRIRWYLLSMGNSNENIHSIHFSGHVFTVRKKEEYKMALYNLYPGVFETVEMLPKAGIWR
 VECLIGEHLHAGMSTFLVYSNKKQTPFGMASGHIRDFQITASGQYQWAPKLARLHYSGSINAWS
 TKEPFSWIKVDLLAPMIHGIKTQGARQKFSLSYISQFIIMYSLDGKKWQTYRGNSTGTLMVFFGN
 VDSGSIKHNIFNPPIIARYIRLHPHYSIRSTLRMELMGCDDLNSCMLPGMESKAI SDAQITASSY
 FTNMFATWSPSKARLHLQGRSNARWPQVNNPKEWLQVDFQKTMKVTGVTQGVKSLLSMYKEFL
 ISSSQDGHQWTLFFQNGKVKVFOGNQDSFTPVVNSLDPPELLTRYLRIRHPQSWVHQIALRMEVLGCE
 AQDLY

Фиг. 55

CS04-FL-AAm12 (SEQ ID NO: 107)

MQIELSTCFFLCLLRFCFSATRRYYLGAVELSWDYMQSDLGELPVDARFPPRVPKSFFNTSVVYK
 KTLFVEFTDHLFNIAPRPPMGLGPTIQAEVYDTVVVTLKNMASHPVSLHAVGVSYWKSSEGAE
 YDDQTSQREKEDDKVFPKSHTYVWQVLKENGFTASDPPCLTYSYLSHVDLVKDLNSGLIGALLVC
 REGSLAKEKTQTLHKFILLFAVFDGKSWHSETKNSLMQDRDAASARAWPKMHTVNGYVNRSLPGL
 IGCHRKSYYVHWIYMGTTPEVHSIFLEGHTFLVRNHRQASLEISPIITFLTAQTLMLDLGQFLLSCH
 ISSHQHDGMEAYVVKVDSCEPEPQLRMKNNEEAEDYDDDLTDSMDVVRFDDENSPSFIQIRSVAKK
 HPKTVVHYIAAEEDWDYAPLVLAPDDRSYKSQYLNNGPQRIGRKYKVRFMAYTDETFKTRAIQ
 HESGILGPLLYGEVGDITLLIIFKNQASRPYNIYPHGITDVRPLYSRRLPKGVKHLKDFIIPGEIF
 KYKWTVTVEDGPTKSDPRCLTRYSSFVNMERDLASGLIGPLLI CYKESVDQRGNQIMSDKRNVL
 FSVFDENRSWYL TENIQRFLPNPAGVQLEDPEFQASNIMHSINGYVFDLSQLSVCLHEVAYWYILS
 IGAQTDFLSVFFSGYTFKHKMVYEDTLTLPFSGETVFMSEMPGLWILGCHNSDFRNRGMTALLK
 VSSCDKNTGDYEDSYEDISAYLLSKNNAIEPRFSQNPVVKRHRQREITRITLQSDQEEIDYDDT
 ISVEMKKEDEFDIYDEDENQSPRSFQKTRHYFIAAVERLWDYGMSSSPHVLNRNRAQSGSVQPKKV
 VFQEFDDGFTQPLRYGELNEHLGLGPYIRAEVEDNIMVTFRNQASRPYSFYSSLI SYEEDQRQG
 AEPKRNFKVKNETKTYFWKVQHMAPTKDEFDCKAWAYFSDVDLEKDVHSGLIGPLLVCHTNTLNP
 AHGRQVTVQEFALFFTIIFDETKSWYFTENMERNCRAPCNIQMEDPTFKENYRFHAINGYIMDTLPG
 LVMAQDQIRIRWYLLSMGNSNENIHSIHFSGHVFTVRKKEEYKMALYNLYPGVFETVEMLPKAGIWR
 VECLIGEHLHAGMSTFLVYSNKKQTPFGMASGHIRDFQITASGQYQWAPKLARLHYSGSINAWS
 TKEPFSWIKVDLLAPMIHGIKTQGARQKFSLSYISQFIIMYSLDGKKWQTYRGNSTGTLMVFFGN
 VDSGSIKHNIFNPPIIARYIRLHPHYSIRSTLRMELMGCDDLNSCMLPGMESKAI SDAQITASSY
 FTNMFATWSPSKARLHLQGRSNARWPQVNNPKEWLQVDFQKTMKVTGVTQGVKSLLSMYKEFL
 ISSSQDGHQWTLFFQNGKVKVFOGNQDSFTPVVNSLDPPELLTRYLRIRHPQSWVHQIALRMEVLGCE
 AQDLY

Фиг. 56

CS01-FL-Nam12 (SEQ ID NO: 108)

ATGCAGATTGAGCTGTCCACCTGCTTCTTTCCTGTGCCTGCTGAGATTCTGCTTCTCTGCCACCAGG
AGATACTACCTGGGGCTGTGGAACCTTCTTTGGGACTACATGCAGTCTGACCTGGGAGAGCTGCCCT
GTGGATGCCAGGTTCCACCACAGAGTGGCCAAAGTCTTCCATTCAAACCTCTCTGTGGTCTACAAG
AAGACACTCTTGTGGAAATTCACCTGACCACCTGTTCACCATTCGCAAAACCCAGACCACCCCTGGATG
GGACTCTGGGACCCACCATTCAGGCTGAGGTGTATGACACTGTGGTCTGTCACCCCTCAAGAACATG
GCATCCCACTGTCTCTGATGCTGTGGGAGTCTCATACTGGAAATCCCTCTGAAGGGGTGAG
TATGATGACGAGACATCCGAGAGAGAGAAAGAGGATGACAAAGGTTCCTCTGGGAGTCTCACACC
TATGTGTGGCAAGTCTCAAGGAGAATGGACCCACTGCATCTGACCCACCTGGCTGACATACCTCC
TACCTTTCTCATGTGGACCTGGTCAAGGACCTCAACTCTGGACTGATGGGGCACTGGTGGTGTGC
AGGGAAGGATCCCTGGCAAGGAGAAAACCCAGACACTGCACAAGTTCATTCTCTGTTCCTGTCT
TTTGTATGAGGGCAAGTCTTGGCACTCTGAAACAAAAGAACTCCCTGATGCAAGACAGGGATGCTGCC
TCTGGCCAGGGCATGGCCAAAGATGCACACTGTGAATGGCTATGTGAACAGATCACTGGCTGGACTC
ATTGGCTGCCACAGGAAATCTGTCTACTGGCATGTGATGGCATGGGGACAACCCCTCAAGTGCAC
TCCATTTCTCTGGAGGGACACACCTTCCCTGGTCAAGAACCCAGACAAAGCCCTCTCTGGAGATCTCT
CCCATCACCTTCTCTACTGCACAGACACTGCTGATGGACTTGGACAGTTCCTGCTGTCTCTGCCAC
ATCTCTTCCACCAGCATGATGGCATGGAAAGCTTATGTCAGGTGACCTCAAGCCCTGAGGAAACCA
CAGCTCAGGATGAAGAACAATGAGGAGGCTGAGGACTATGATGATGACCTGACTGACTCTGAGATG
GATGTGCTCAGATTTGATGATGACAACCTCCATCTCTCATTCAGATCAGGTCTGTGGCAAAGAAA
CACCCCAAGACATGGGTGCACCTACATTTGCTGGTGGAGAAAGGACTGGGACTATGCACCACCTGGTTC
CTGGCCCCGATGACAGGAGCTACCAAGTCTCAGTACCTCAACAATGGCCACAAGAAATGGAAAG
AAGTACAAGAAAGTCAATTCATGGCTTACACTGATGAAACCTTCAAGACAAGAGAAGCCATTCAG
CATGAGTCTGGCATCTCTGGACCACTCCCTGTATGGGAAAGTGGGACACACCCCTGCTCATCTCTC
AAGAACCAGGCTTCCAGGCCCTACAAACATCTACCCACA TGGCATCACTGATGTGAGGCCCTGTAC
AGCAGGACTGCCAAAAGGGTGAACACCTCAAGGACTTCCCATTTCTGGCTGGAGAGATCTCTC
AATCAAGTGGACTGTCACTGTGGAGGATGGACCAACAAGTCTGACCCAGGTGGCTTCAACAGA
TACTACTCTCTTTTGTGAACATGGAGAGACCTGGCATCTGGACTGATGGACCACCTGCTCATC
TGCTACAAGGAGTCTGTGGACCAGAGAGGCCAACAGATCATGCTGACAAAGAGAAATGTGATCTCTG
TCTCTGTCTTTGATGAGAACGATCATGGTACCTGACTGAGAACATTCAGAGATTCCTGCCAAC
CCTGGTGGGTGCAACTGGAGACCTTGAGTTCAGCCAAAGCAACATCATGCACTCCATCAATGGC
TATGTGTGTGACTCTCTCCAGCTTTCTGTCTGCCCTGCATGAGGTGGCTACTGGTACATCTTTCT
ATTGGGGCACAACCTGACTTCTCTTCTGTCTCTCTCTCTGGATACACCTTCAAGCACAAGATGGTG
TATGAGGACACCCCTGACACTCTTCCATTTCTCTGGGAAACTGTGTTCATGAGCATGGAGAACTG
GGACTGTGGATTTCTGGATGCCACAACTCTGACTTCAGAAAACAGGGGAATGACTGCACCTGCTCAA
GTCTCTCTCTGTGACAAGAACACTGGGACTACTATGAGGACTCTTATGAGGACATCTCTGGCTAC
CTGCTCAGCAAGAACAAATGCCATTTGAGCCAGAAAGCTTCTCTCAGAAATCCACCTGCTCTGAAGA
CACCAGAGAGATCACCAGGACAACCCCTCCAGTCTGACCAGGAAGAGATTGACTATGATGACACC
ATTCTGTGTGAGATGAAGAAGGAGGACTTTGACATCTATGATGAGGACAGAAACAGTCTCCAAAG
TCCATTCACAGAAAGACACAAAGACTACTTTCATTTCTGCTGTGGAAACACTCTGGGACTATGGCATG
TCTTCTCTCTCCCATGCTCTCAGGAACAGGGCACAGTCTGGCTCTGTGCCACAGTTCAAGAAAGTG

Фиг. 57А

GTCTTCCAGGAGTTCACCTGATGGCTCATTCACCCAGGCCCTGTACAGAGGGGAACTGAAATGAGCAC
CTGGGACTCTCTGGACCATACATCAGGGCTGAGGTGGAAAGACAACATCATGGTGCATTCAGAAAC
CAGGCCCTCCAGGCCCTACAGCTTCTACTCTTCCCTCATCAGCTATGAGGAAAGACCAGAGACAAGGG
GCTGAGCCCAAGAAAGAACTTTGTGAAACCCAAATGAAACCAAGACTTACTTCTGGAAAGTCCAGCAC
CAGATGGCACCCACCAAGGATGAGTTTGACTGCAAGGCTTGGGCACTCTCTCTGATGTGGACCTTG
GAGAAAGATGTGCACCTTGGCTGATTTGGCCACTCTCTGCTGCCACACCAACACCCCTGAACCCCT
CCACATGGAAAGGCAAGTACTGTGCAAGGATTTGCCCTCTCTCTCCACCATCTTTGATGAAACCAAG
TCAATGGTACTTCACTGAGAACATGGAGAGAACTGCAGAGCACCAATGCAACATTCAGATGGAAAGC
CCCACCTTCAAGGAGAACTACAGTTCCATGCCATCAATGGCTACATCATGGACACCCCTGCTGAGG
CTGTCTATGGCACAGGACCAAGAAATCAGATGGTACCTGCTTTCTATGGGATCCAAATGAGAACAT
CACTCCATCCACTTCTCTGGGATGTCTTCACTGTGAGAAAGAAAGGAAATACAAGATGGCCCTG
TACAACCTCTACCTCGGGTCTTTGAGACTGTGGAGATGCTGGCCCTCCAAAGCTGGCATCTGGAGG
GTGGAAATGCCCTCAATGGGGACCACTGCATGCTGGCATGTCAACCCCTTCTCTGGTCTACAGCAAC
AAGTGGCCACACACCCCTGGGAATGGCTCTGGCCACATCAGGGACTTCCAGATCACTGCTCTGGC
CAGTATGGCCAGTGGGCACCCAACTGGCCAGGCTCCACTACTCTGGCTCCATCAATGCATGGTCA
ACCAAGGAGCCATCTCTTGGATCAAGGTGGACCTGCTGGACCCCATGATCATTCATGGCATCAAG
ACACAGGGGGCAAGACAGAAATCTCTCTCTGTACATCTCACAGTTCATCATCATGTACTCTCTG
GATGGCAAGAAAGTGGCAGACATACAGAGGCCAATCCACTGGCACCCCTCATGGTCTTCTTTGGCAAT
GTGGACAGCTTGGCATCAAGCAAACTCTTCAACCCCTCCATCATTTGCCAGATACATCAGGCTG
CACCCACCCACTACTCAATCAGATCAACCCCTCAGGATGGAACCTGATGGGATGTGACCTGAACTG
TCTCAATGCCCTGGGAATGGAGAGCAAGGCCATTTCTGATGCCAGATCACTGCATCTCTTAC
TTCAACCAACATGTTTGGCACCTGGTCAACATCAAAAGGCCAGGCTGCACCTCCAGGGAAGAAAGCAAT
GCCCTGGAGACCCAGGTTCAACAACCCAAAGGAAATGGCTGCAGTGGACTTCCAGAAAGACAATGAAA
GTCACTGGGTGACAACCCAGGGGTCAAGTCTCTGCTCACTCAATGATGTGAAGGAGTTCTCTG
ATCTCTTCCACAGGATGGCCACAGTGGACACTCTCTTCCAGAAATGGCAAGTCAAGGTGTTT
CAGGGCAACAGGACTCTTTCACACCTGTGGTGAACCTCACTGGACCCCCCTCTGACAAAGATAC
CTGAGAAATCAACCCAGTCTTGGGTCAACAGATTTGCCCTGAGAAATGGAAGTCTGGGATGTGAG
GCACAACACTGTACTGA

Фиг. 57В

CS04-FL-NAm12 (SEQ ID NO: 109)

ATGCAGATTGAGCTGAGCACCTGCTTCTTCCCTGTGCCTGCTGAGGTTCTGCTTCTTCCACCAGG
AGATACCTACCTGGGGGCTGTGGAGCTTTCTTGGGACTACATGCAGTCTGACCTGGGGGAGCTGCCT
GFGGATGCCAGGTTCCACCAGAGTGCCCAAACTCTTCCCATCAACACCTCTGTGGTCTACAAG
AAGACCTCTTTGTGGAGTTCACTGACCACCTGTTCACATTCGCCAAACCCAGGCCACCTGGATG
GGACTCCTGGGACCACCATTCAGGCTGAGGTGTATGACACTGTGGTCTGCACCCCAAGAACATG
GCCTCCACCCCTGTGAGGCTGCATGCTGTGGGGTCAAGTACTGGAAGTCCCTGAGGGGGCTGAG
TATGATACCCAGACCTCCAGAGGGAGAGGAGGATGACAAAGTGTTCCTGGGAAGAGCCACACC
TATGTGTGGCAGGTCCTCAAGGAGAATGGCCCACTGCTCTGACCCACCTGCTGACCTACTTCC
TACCTTTCTCATGTGGACCTGGTCAAGGACCTCAACTCTGGACTGATTGGGGCCCTGCTGGTGTGC
AGGGAGGGCTCCCTGGCCAAAGAGAAGACCCAGACCTGCACAAGTTCATCTCTGTTTGTGTGTC
TTTGATGAGGGCAAGAGCTGGCCTCTGAAACCAAGAACTCCCTGATGCAGGACAGGGATGCTGACC
TCTGCCAGGGCTGGCCCAAGATGCACACTGTGAATGGCTATGTGAACAGGAGGCTGCTGGACTC
ATTGGCTGGCCACAGGAAATCTGTCTACTGGCATGTGATTTGGCATGGGGACAACCCCTGAGGTGCAC
TCCATTTTCTTGGAGGGCCACACCTTCTTGGTCAAGGACACAGAGAGGCGCCTGGGAGATCAGC
CCCATCACCTTCTTCACTGCCCAGACCTGCTGATGGACCTGGGACAGTTCCTGCTGTCTGCCAC
ATCAGCTCCACCCAGCATGATGGCATGGAGGCTATGTCAAGGTGGACAGCTGCCCTGAGGAGCCCA
CAGCTCAGGATGAAGAACAATGAGGAGGCTGAGGACTATGATGATGACCTGACTGACTCTGCATG
GATGTGTGCTCTTGTGATGACAAACAGCCATCTCTCATTCAGATCAGGTTCTGTGGCCAAAGAAA
CACCCCAAGACCTGGGTGCACTACATTTGCTGCTGAGGAGGAGGACTGGGACTATGCCCCATGGTC
CTGGCCCTGTATGACAGGAGCTACAAGAGCCAGTACCTCAACAATGGCCCAAGAGGATGGACGC
AAGTACAAGAAAGTCAGGTTTCAATGGCTTACACTGATGAAACCTTCAAGACCCAGGGAGCCATTCAG
CATGATCTGGCATCTTGGGCCACTCTGTATGGGGAGGTTGGGGACACCTGCTCATCATCTTTC
AAGAACCCAGGCTCCAGGCCCTCAACATCTACCCACATGGCATCACTGATGTGAGGCCCTGTAC
AGCCGAGGCTGGCCAAAGGGGTGAAACACCTCAAGGACTTCCCATTTCTGCTGGGGAGATCTTC
AAGTACAAGTGGACTGTCACTGTGGAGGATGGACCAACCAAACTGACCCAGGTCCTCACCAGA
TACTACTCCAGCTTTGTGAACATGGAGAGGACCTGGCCCTGGCCCTGATTGGCCCACTGCTCATC
TGGTACAAGGAGTCTGTGGACCAGAGGGGAAACCCAGATCATGCTGACAAAGAGGAAATGTGATTTCTG
TTCTCTGCTTTGATGAGAAGCAGGAGCTGGTACCTGACTGAGAACATTCAGGCTTCTGCTCCCAAC
CCTGCTGGGGTGCAGCTGGAGGACCTGAGTTCCAGGCCAGCAACATCATGCACTCCATCAATGGC
TATGTGTTTGACAGCCTCCAGCTTTCTGTCTGCTGCTGCTGCTGGTACACCTTCAACACACAAGATGGTG
TATGAGGACACCTGACCCCTCTCCCATTTCTTGGGGAGACTGTGTTGATGAGCATGGAGAACCCT
GGCCCTGTGGATCTGGGATGCCACAACCTGACTTCCGCAACAGGGGGCATGACTGCCCTGCTCAA
GTCTGCTGCTGTGACAAAGCACTGGGGACTACTATGAGGACAGCTATGAGGACATCTCTGCTTAC
CTGCTCAGCAAGAAACAATGCCATGAGCCAGGAGCTTCCAGCCAGAAATCCACCTGTCTGAAACGC
CACCAAGGGGAGATCACCAAGGACCCCTCCAGTCTGACCAGGAGGAGATGACTATGATGAGGACCC
ATTTCTGTGGAGATGAAGAAAGAGGACTTTCACATCTATGACGAGGACGAGAACCAGAGCCCAAGG
AGCTTCCAGAAAGAGCAGGCACTACTTCAATGTCTGCTGTGGAGGCGCTGTGGGACTATGGGATG
AGCTCCAGCCCCATGTCTCAGGAACAGGGCCAGTCTGGCTGTGTGCCAAGTTCAGAAAGATG
GTCTTCCAAAGAGTTCACTGATGGCAGCTTCAACCAGCCCTGTACAGAGGGGAGTGAATGAGCAC
CTGGGACTCTGGGCCATACATCAGGGCTGAGGTGGAGGCAACATCATGGTGACCTTCCGCAAC

Фиг. 58А

CAGGCCTCCAGGCCCTACAGCTTCTACAGCTCCCTCATCAGCTATGAGGAGGACCAGAGGAGGGG
GCTGAGCCACGCAAGAATTTGTGAAACCCAAATGAAACCAAGACCTACTTCTGGAAAGTCCAGCAC
CACATGGCCCCACCAAGGATGAGTTTGAATGCAAGGCTGGCCACTTCTCTGATGTGGACCTG
GAGAAGGATGTGCACTCTGGCCTGATTTGGCCACTTCTGGTCTGCCACACCACACCCCTGAACCTT
GCCATGGAAGGCAAGTACTGTGCAGGAGTTTGGCCCTCTTCTTCCACATCTTTGATGAAACCAAG
AGCTGGTACTTCACTGAGAACATGGAGCCCAACTGCAAGGGCCCATGCAACATTCAGATGGAGGAC
CCCACCTTCAAGAGAACTACCCCTTCCATGCCATCAATGGCTACATCATGGACACCTGCTTGGG
CTTGTCAATGGCCACGACAGGAGATCAGTGGTACCTGCTTCTATGGGCTCCAAATGAGAACATTC
CACTCCATCCACTTCTCTGGGCATGTCTTCACTGTGCCAAGAAAGGAGGAGTACAAGATGGCCCTG
TACAACCTCTACCCCTGGGGTCTTTGAGACTGTGGAGATGCTGCCCTCCAAAGCTGGCATCTGGAGG
GTGGAGTGCCTCATTTGGGGAGCACCTGCATGCTGGCATGAGCACCTGTCTCTGGTACAGCAAC
AAGTGGCAGACCCCTTGGGAATGGCCCTTGGCCACATCAGGGACTTCCAGATCACTGCCCTCTGGC
CAGTATGGCCAGTGGGCCCCCAAGCTGGCCAGGCTCCACTACTCTGGATCCATCAATGCTTGGAGC
ACCAAGGAGCCATTCAGCTGGATCAAAGTGGACCTGCTGGCCCCATGATCATCCATGGCATCAAG
ACCCAGGGGGCCAGGCAAGTTCTCCAGCCTGTACAACAGCAGTTTCACTCATCATGTACAGCCTG
GATGGCAAGAAATGGCAGACCTACAGAGGCAACCTCCACTGGAACACTCATGGTCTTCTTTGGCAAT
GTGGACAGCTCTGGCATCAAGCACAACATCTTCAACCCCAATCATCGCCAGATACATCAGGCTG
CACCCACCCACTACAGCATCCGACGACCCCTCAGGATGGAGCTGATGGGCTGTGACCTGAACTCC
TGCAGCATGGCCCTGGGCATGGAGAGCAAGGCCATTTCTGATGCCAGATCACTGCCCTCCAGCTAC
TTCACCAACATGTTTGGCCACTGGAGCCCAAGCAAGGCCAGGCTGCACCTCCAGGGAGGAGCAAT
GCCTGGAGGCCCCAGGTCAACCAACCCAAAGAGTGGCTGCAGGTTGACTTCCAGAAAGACCATGAAG
GTCACTGGGGTGAACCCAGGGGGTCAAGAGCCCTGCTCACCAGCATGATGTGAAGGAGTTCTGTG
ATCAGCTCCAGCCAGGATGGCCACCCAGTGGACCTCTTCTTCCAGAAATGGCAAGGTCAGGTTCTC
CAGGGCAACCCAGGACAGCTTCAACCTGTGTGAAACAGCCTGGACCCCCCTCTGACCAAGATAC
CTGAGGATTCACCCCAAGGCTGGGTCCACCAGATTTGCCCTGAGGATGGAGGTCCTGGATGTGAG
GCCAGGACCTGTACTGA

Фиг. 58В



Евразийская патентная организация, ЕАПВ

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